

**UNIVERSIDADE FEDERAL
RURAL DO RIO DE JANEIRO**

**Constituintes Químicos
Isolados da Raiz de**

Piptadenia rigida

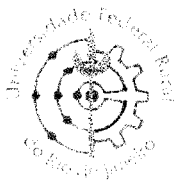
Mario Sergio da Rocha Gomes

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ORIENTADOR:

Profº. Dr. Mário Geraldo de Carvalho

2002



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

**CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DA RAIZ
DE *Piptadenia rigida* (Leguminosae-Mimosoideae)**

Mario Sergio da Rocha Gomes

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Seropédica, RJ



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

**CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DA RAIZ DE
Piptadenia rigida (Leguminosae-Mimosoideae)**

Mario Sergio da Rocha Gomes

Sob Orientação do Professor
Dr. Mário Geraldo de Carvalho

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Magister Scientiae** em Química Orgânica. Área de concentração Produtos Naturais.

Seropédica, RJ
Abril de 2002

581.1924
G633c
T

Gomes, Mario Sergio da Rocha, 1977-
Constituintes químicos isolados da raiz
de Piptadenia rigida (Leguminosae-
Mimosoideae) / \ Mario Sergio da Rocha
Gomes. - 2002.
158f. : il.(col.), graf., tab.

Orientador: Mário Geraldo de Carvalho.
Dissertação(mestrado)- Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto
de Ciências Exatas.
Bibliografia: f. 97-101.

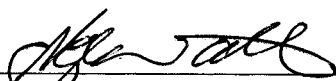
1. Química vegetal - Teses. 2. Química
orgânica - Teses. 3. Produtos naturais -
Teses. 4. Análise espectral - Teses. I.
Carvalho, Mário Geraldo de. II.
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Instituto de Ciências Exatas.
III. Título.

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

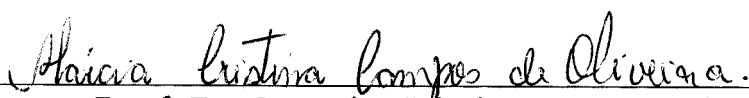
MARIO SERGIO DA ROCHA GOMES

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica, área de concentração Produtos Naturais, como requisito parcial para obtenção do grau de Magister Scientiae, em abril de 2002.

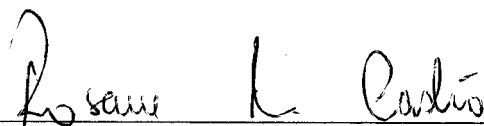
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 30/04/2002



**Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho
Departamento de Química – UFRRJ
(Orientador)**



**Prof. Dr. Márcia Cristina Campos de Oliveira
Departamento de Biologia – FEUDUC – RJ**



**Prof. Dr. Rosane Nora Castro
Departamento de Química - UFRRJ**



**Prof. Dr. Marco Edílson Freire de Lima
Departamento de Química - UFRRJ
(Suplente)**

“Nunca eu tivera querido dizer palavra tão louca: bateu-me o vento na boca, e depois no teu ouvido. Levou somente a palavra, deixou ficar o sentido. Não havia nada que eu pudesse fazer, mas eu fiz. Alcançar tal era impossível e eu busquei. Não havia mais esperanças e eu as mantinha. Não restava tempo para mais nada, mas eu lutei até a última hora. A última palavra havia sido dada, mas eu ainda assim falei. Enfim, estou passando pela vida e tudo vai se fechando. Mas a felicidade está em mim. Pois, se nada tenho, por tudo lutei. E sem me arrepender de nada, num futuro, poderei dizer...Tentei!”

Cecília Meireles /J. Cosmo Zaratustra

AGRADECIMENTOS

A Deus.

A Sinéa da Silva Rocha Gomes, minha mãe, pelo apoio e dedicação permanente.

À Ana Paula Gnocchi Coelho pelo amor, incentivo, compreensão e dedicação.

À todos da minha família que apoiaram o meu crescimento profissional.

Ao prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho, pela dedicada orientação e amizade.

Ao prof. Dr. Francisco de Assis pela amizade, dedicação e estímulo desde o início dos trabalhos.

Ao prof. Dr. Marcos Edílson Freire de Lima pela amizade e colaboração neste trabalho.

Ao prof. Dr. Acácio Geraldo de Carvalho, do Instituto de Florestas – UFRRJ, pela coleta e identificação do material vegetal da *Piptadenia rigida*.

A todos os professores pertencentes ao Programa de Pós-graduação em Química Orgânica da UFRRJ.

Aos amigos Marco Antônio Soares de Souza e Miguel Rascado Fraguas Neto pela amizade e incentivo.

Aos amigos Ari, Bauer, Ildomar, José Luiz (Didi) e Marcelo pela amizade, colaboração e incentivo.

Às amigas Cássia, Juliana, Patrícia, Rogéria e Tânia pela amizade, colaboração e incentivo.

A todos os colegas estudantes do curso de Pós-graduação em Química Orgânica da UFRRJ pela amizade.

Aos técnicos Áurea, Eli e Francis pela amizade e obtenção dos espectros de RMN, IV e Massa.

Ao funcionário Fábio pelo fornecimento e recuperação de vidrarias.

A todos os funcionários do Departamento de Química pela convivência amigável e boa vontade nos serviços prestados.

Ao Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas (UFRRJ), pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao CNPq pela bolsa de estudos.

ÍNDICE GERAL

Índice de Tabelas.....	iv
Índice de Esquemas.....	vii
Índice de Figuras.....	ix
Abreviaturas.....	xv
Resumo.....	xviii
Abstract.....	xix
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. A PLANTA.....	5
2.1. A Família Leguminosae-Mimosoideae.....	5
2.2. O Gênero <i>Piptadenia</i>	8
2.2.1. Características gerais.....	11
2.3. A Espécie <i>Piptadenia rigida</i> Benth.....	16
2.3.1. Constituintes Isolados do Caule.....	17
2.3.2. Constituintes Químicos da Semente.....	17
2.3.3. Classificação taxonômica da espécie.....	18
2.3.4. Características botânicas da espécie.....	18
3. CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>Piptadenia rigida</i> Benth.....	21
3.1. Constituintes Químicos Isolados da Raiz.....	21
3.1.1. Extrato de diclorometano.....	21

3.1.2. Extrato metanólico.....	21
3.1.3. Derivado do sitosterol.....	23
3.1.4. Derivado da betulina.....	23
3.1.5. Derivados do 4-hidroxi-3,5-dimetoxi-benzaldeído.....	23
3.1.6. Derivado do lupeol.....	24
3.1.7. Derivado do 3,4-diidroxi-benzoato de metila.....	24
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	25
4.1. Coleta da Planta.....	25
4.2. Elaboração dos Extratos.....	25
4.3. Isolamento e Purificação dos Constituintes dos Extratos.....	26
4.3.1. Fracionamento do extrato de diclorometano.....	26
4.3.1.1. Processamento da fração PRRDP.....	26
4.3.1.2. Processamento da fração PRRDS.....	27
4.3.2. Fracionamento do extrato metanólico.....	29
4.3.2.1. Processamento da fração hexânica.....	29
4.3.2.2. Processamento da fração clorofórmica.....	31
4.4. Reações de Derivação.....	35
4.4.1. Acetilação.....	35
4.4.2. Oxidação com PCC.....	35
4.4.3. Metilação com diazometano.....	36
4.5. Especificações dos Materiais e Equipamentos.....	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39

5.1. Identificação dos Constituintes Isolados da Planta.....	39
5.1.1. Identificação da substância 1.....	39
5.1.2. Identificação da substância 2.....	42
5.1.3. Identificação da substância 3.....	45
5.1.4. Identificação da substância 4.....	49
5.1.5. Identificação da substância 5.....	52
5.1.6. Identificação da substância 6.....	54
5.1.7. Identificação da substância 7.....	58
5.1.8. Identificação da substância 8.....	60
5.2. Identificação Estrutural dos Derivados.....	65
5.2.1. Identificação de 9.....	65
5.2.2. Identificação de 10.....	67
5.2.3. Identificação dos compostos da mistura (11 + 12 + 13 + 14 + 15).....	69
5.2.4. Identificação de 16.....	81
5.2.5. Identificação de 17.....	83
6. CONSIDERAÇÕES BIOSINTÉTICAS.....	85
6.1. Origens biossintéticas dos constituintes isolados de <i>Piptadenia rigida</i>	85
7. CONCLUSÕES.....	96
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Importância Econômica das Leguminosas	5
Tabela 2: Classificação Taxonômica da <i>Piptadenia rígida</i>	18
Tabela 3: Comparação dos dados de RMN ^1H (200,13 MHz, CDCl_3) da substância 1 com o padrão da literatura.....	40
Tabela 4: Comparação dos dados de RMN ^{13}C PND (50,3 MHz, CDCl_3) da substância 1 com o padrão da literatura.....	41
Tabela 5: Comparação dos dados de RMN ^1H (200,13 MHz, CDCl_3) da substância 2 com o padrão da literatura.....	43
Tabela 6: Comparação dos dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) da substância 2 (PND e DEPT) com os valores da literatura.....	44
Tabela 7: Dados do espectro de IV da substância 5 em pastilha de KBr.....	45
Tabela 8: Comparação dos dados de RMN ^1H (200,13 MHz) e ^{13}C (50,3 MHz) da substância 3 em CDCl_3 com os padrões da literatura.....	47
Tabela 9: Comparação dos dados de RMN ^1H (200,13 MHz, CDCl_3) da substância 4 com o padrão da literatura.....	50
Tabela 10: Comparação dos dados de RMN ^{13}C PND (50,3 MHz, CDCl_3) da substância 4 com os dados da literatura.....	51
Tabela 11: Dados do espectro de IV da substância 5 em pastilha de KBr.....	52

Tabela 12: Dados de RMN ^1H (200,13 MHz) e ^{13}C PND (50,3 MHz) em acetona d_6 da substância 5 comparados com o padrão da literatura.....	53
Tabela 13: Dados do espectro de IV da substância 6 em pastilha de KBr.....	54
Tabela 14: Comparação dos dados de RMN ^1H (200,13 MHz, acetona d_6) da substância 6 com o padrão da literatura.....	56
Tabela 15: Comparação dos dados de RMN ^{13}C PND (50,3 MHz, acetona d_6) da substância 6 com os dados da literatura.....	57
Tabela 16: Dados de RMN ^1H (200,13 MHz) e ^{13}C PND (50,3 MHz) em acetona d_6 da substância 7 comparados com o padrão da literatura.....	59
Tabela 17: Comparação dos dados de RMN ^1H (200,13 MHz, MeOD) da substância 8 com os dados da literatura.....	62
Tabela 18: Comparação dos dados de RMN ^{13}C PND (50,3 MHz, MeOD) da substância 8 com os dados da literatura.....	63
Tabela 19: Comparação dos valores obtidos nos espectros de RMN ^1H (200,13 MHz) e ^{13}C (50,3 MHz) do derivado 9 com a substância de partida 1 (sitosterol).....	66
Tabela 20: Comparação dos valores obtidos nos espectros de RMN ^1H (200,13 MHz) do derivado 10 com a substância de partida 2 (betulina).....	68
Tabela 21: Dados do espectro de IV das substâncias (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) em pastilha de KBr.....	69

Tabela 22: Dados obtidos no espectro de RMN ^1H (200,13 MHz) das substâncias (11 + 12 + 13 + 14 + 15) registrado em CDCl_3	73
Tabela 23: Dados obtidos no espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) das substâncias (11 + 12 + 13 + 14 + 15) registrado em CDCl_3	74
Tabela 24: Dados de CG-EM dos produtos de metilação da substância 3.....	75
Tabela 25: Comparação dos valores obtidos no espectro de RMN ^1H (200,13 MHz) do derivado 16 com a substância de partida 4 (lupeol).....	82
Tabela 26: Comparação dos valores de RMN ^1H (200,13 MHz) da substância 5 com seu derivado metilado 17.....	84

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1: Elaboração dos extratos de diclorometano e metanol.....	25
Esquema 2: Processamento do extrato de diclorometano.....	26
Esquema 3: Fracionamento cromatográfico do extrato de diclorometano.....	28
Esquema 4: Fracionamento da fração hexânica.....	29
Esquema 5: Fracionamento cromatográfico da fração PRRMH-AM1.....	31
Esquema 6: Fracionamento da fração clorofórmica.....	32
Esquema 7: Fracionamento da fração PRRMCE.....	34
Esquema 8: Proposta de fragmentação da substância 3 no espectrômetro de massas registrado por impacto de elétrons.....	48
Esquema 9: Proposta de fragmentação da substância 8 no espectrômetro de massas registrado por impacto de elétrons.....	64
Esquema 10: Possíveis mecanismos de reação de 3 com diazometano.....	75
Esquema 11: Proposta de fragmentação da substância 11 no espectrômetro de massas registrado por impacto de elétrons.....	76
Esquema 12: Proposta de fragmentação da substância 12 no espectrômetro de massas registrado por impacto de elétrons.....	77
Esquema 13: Proposta de fragmentação da substância 13 no espectrômetro de massas registrado por impacto de elétrons.....	78

Esquema 14: Proposta de fragmentação da substância 14 no espectrômetro de massas registrado por impacto de elétrons.....	79
Esquema 15: Proposta de fragmentação da substância 15 no espectrômetro de massas registrado por impacto de elétrons.....	80
Esquema 16: Proposta biossintética dos terpenóides.....	87
Esquema 17: Proposta biossintética dos terpenóides.....	88
Esquema 18: Proposta biossintética dos terpenóides.....	89
Esquema 19: Proposta biossintética dos terpenóides.....	90
Esquema 20: Proposta biossintética de formação da substância 1	91
Esquema 21: Proposta biossintética de formação das substâncias 2 e 4	92
Esquema 22: Proposta biossintética de formação do ácido gálico.....	93
Esquema 23: Proposta biossintética de formação das substâncias 3 e 5	94
Esquema 24: Proposta biossintética de formação das substâncias 6 , 7 e 8	95

ÍNDICE DAS FIGURAS

Figura 1: Espectro de IV da substância 1 obtido em pastilha de KBr.....	102
Figura 2: Espectro de RMN ^1H da substância 1 registrado em CDCl_3	103
Figura 3: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância 1 registrado em CDCl_3	104
Figura 3a: Expansão (65-0 ppm) do espectro de RMN ^{13}C PND da substância 1 registrado em CDCl_3	105
Figura 4: Espectro de RMN ^{13}C da substância 1 com DEPT ($\theta = 90$ e 135°) registrado em CDCl_3	106
Figura 5: Espectro de IV da substância 2 obtido em pastilha de KBr.....	107
Figura 6: Espectro de RMN ^1H da substância 2 registrado em CDCl_3	108
Figura 7: Espectro de RMN 2D [^1H , ^1H -COSY] da substância 2 registrado em CDCl_3	109
Figura 8: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância 2 registrado em CDCl_3	110
Figura 8a: Expansão (52,9-12,4 ppm) do espectro de RMN ^{13}C PND da substância 2 registrado em CDCl_3	111

Figura 9: Espectro de RMN ^{13}C da substância 2 com DEPT ($\theta = 90$ e 135°) registrado em CDCl_3	112
Figura 10: Espectro de IV da substância (2 + 3) obtido em pastilha de KBr.....	113
Figura 11: Espectro de RMN ^1H da substância (2 + 3) registrado em CDCl_3	114
Figura 12: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância (2 + 3) registrado em CDCl_3	115
Figura 13: Espectro de RMN ^{13}C da substância (2 + 3) com DEPT ($\theta = 90$ e 135°) registrado em CDCl_3	116
Figura 14: Espectro de massas da substância (2 + 3) obtido com impacto de elétrons.....	117
Figura 15: Espectro de IV da substância 4 obtido em pastilha de KBr.....	118
Figura 16: Espectro de RMN ^1H da substância 4 registrado em CDCl_3	119
Figura 17: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância 4 registrado em CDCl_3	120
Figura 17a: Expansão (54-10,6 ppm) do espectro de RMN ^{13}C PND da substância 4 registrado em CDCl_3	121

Figura 18: Espectro de RMN ^{13}C da substância 4 com DEPT ($\theta = 90$ e 135°) registrado em CDCl_3	122
Figura 19: Espectro de IV da substância 5 obtido em pastilha de KBr.....	123
Figura 20: Espectro de RMN ^1H da substância 5 registrado em acetona d_6	124
Figura 21: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância 5 registrado em acetona d_6	125
Figura 22: Espectro de IV da substância 6 obtido em pastilha de KBr.....	126
Figura 23: Espectro de RMN ^1H da substância 6 registrado em acetona d_6	127
Figura 24: Espectro de RMN 2D [^1H , ^1H -COSY] da substância 6 registrado em acetona d_6	128
Figura 25: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância 6 registrado em MeOD.....	129
Figura 26: Espectro de IV da substância 7 obtido em pastilha de KBr.....	130
Figura 27: Espectro de RMN ^1H da substância 7 registrado em acetona d_6	131
Figura 28: Espectro de RMN 2D [^1H , ^1H -COSY] da substância 7 registrado em acetona d_6	132

Figura 29: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância 7 registrado em acetona d_6	133
Figura 30: Espectro de IV da substância 8 obtido em pastilha de KBr.....	134
Figura 31: Espectro de RMN ^1H da substância 8 registrado em MeOD.....	135
Figura 32: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância 8 registrado em MeOD.....	136
Figura 33: Espectro de massas da substância 8 obtido com impacto de elétrons.....	137
Figura 34: Espectro de IV da substância 9 obtido em pastilha de KBr.....	138
Figura 35: Espectro de RMN ^1H da substância 9 registrado em CDCl_3	139
Figura 36: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância 9 registrado em CDCl_3	140
Figura 37: Espectro de IV da substância 10 obtido em pastilha de KBr.....	141
Figura 38: Espectro de RMN ^1H da substância 10 registrado em CDCl_3	142
Figura 39: Espectro de IV da substância (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) obtido em pastilha de KBr.....	143

Figura 40: Espectro de RMN ^1H da substância (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) registrado em CDCl_3	144
Figura 41: Espectro de RMN 2D [^1H , ^1H -COSY] da substância (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) registrado em CDCl_3	145
Figura 42: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) registrado em CDCl_3	146
Figura 42a: Expansão (160-58 ppm) do espectro de RMN ^{13}C PND da substância (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) registrado em CDCl_3	147
Figura 42b: Expansão (58-10 ppm) do espectro de RMN ^{13}C PND da substância (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) registrado em CDCl_3	148
Figura 43: Espectro de RMN ^{13}C da substância (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) com DEPT ($\theta = 90$ e 135°) registrado em CDCl_3	149
Figura 44: Espectro de massas da substância 11 obtido com impacto de elétrons.....	150
Figura 45: Espectro de massas da substância 12 obtido com impacto de elétrons.....	151
Figura 46: Espectro de massas da substância 13 obtido com impacto de elétrons.....	152
Figura 47: Espectro de massas da substância 14 obtido com impacto de elétrons.....	153
Figura 48: Espectro de massas da substância 15 obtido com impacto de elétrons.....	154

Figura 49: Espectro de IV da substância 16 obtido em filme de NaCl.....	155
Figura 50: Espectro de RMN ^1H da substância 16 registrado em CDCl_3	156
Figura 51: Espectro de IV da substância 17 obtido em pastilha de KBr.....	157
Figura 52: Espectro de RMN ^1H da substância 17 registrado em CDCl_3	158

ABREVIATURAS

δ	deslocamento químico medido em ppm
$[M^+]$	pico do íon molecular
1D	unidimensional
2D	bidimensional
amb	ambiente
CC	cromatografia em coluna
CCDA	cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	cromatografia em camada delgada preparativa
CG-EM	cromatografia de gás acoplada a espectrômetro de massas
cm	centímetro
COSY	correlation spectroscopy
d	dubleto
dd	duplo dubleto
dl	dubleto largo
DEPT	distortionless enhancement by polarization transfer
EM	espectroscopia de massas
Extr	extrato
g	grama
h	hora

HOMOCOSY	homonuclear correlated spectroscopy
Hz	Hertz
IV	infra-vermelho
J	constante de acoplamento
kg	quilograma
LQPN	laboratório de química de produtos naturais
m	metro
m	multiplete
max	máximo
mg	miligrama
MHz	Megahertz
mL	miliLitro
mm	milímetro
Mo-1	modelo 1
Mo-2	modelo 2
m/z	relação massa-carga
nm	nanômetro
PCC	pyridinium chlorochromato
PF	ponto de fusão
PND	próton noise decoupling
ppm	partes por milhão
Rf	razão de fronteira

RMN ^1H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ^{13}C	ressonância magnética nuclear de carbono-13
s	singleto
sl	singleto largo
UV	ultravioleta

RESUMO

O presente trabalho relata o primeiro estudo fitoquímico da raiz da espécie *Piptadenia rigida* (Leguminosae-Mimosoideae) coletada no campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. As raízes foram submetidas à extração com diclorometano e metanol. O fracionamento cromatográfico desses extratos, conduziu ao isolamento e identificação do sitosterol (1), da betulina (2), do 4-hidroxi-3,5-dimetoxi-benzaldeído (3), do lupeol (4), do 3,4-diidroxi-benzoato de metila (5), e dos flavonóides: isoliquiritigenina (6), 7,8,3',4'-tetraidroxiflavanona (7) e 7,3',4'-triidroxi-flavona (8). Foram preparados derivados das substâncias naturais usando anidrido acético e piridina, diazometano ou PCC. Todas as substâncias foram identificadas com base na análise dos espectros de IV, RMN e EM e confirmadas por comparação com os dados da literatura. As substâncias 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 estão sendo registradas pela primeira vez no gênero *Piptadenia*.

ABSTRACT

This study describes the phytochemical investigation of *Piptadenia rigida* (Leguminosae-Mimosoideae) collected in the campus of UFRRJ. The chromatographic fractionation of the dichlorometane and methanol extracts from the roots of *P. rigida* afforded sitosterol (1), betulin (2), 4-hydroxy-3-dimethoxy benzaldehyde (3), lupeol (4), methyl-3,4-dihydroxy benzoate (5), isoliquiritigenin (6), 7,8,3',4'-tetrahydroxy flavanone (7) and 7,3',4'-trihydroxyflavone (8).

The acetyl, methyl and oxo-derivatives were prepared. The structure was proposed by IR, RMN and spectral analysis. This is the first registry of these compounds 1-7 in *Piptadenia* genus.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A relação entre o homem e as plantas consideradas curativas sempre existiu em todas as fases de desenvolvimento das várias civilizações. Provavelmente a tendência a utilizar plantas para tratamento dos seus males é inata no homem, como em outros animais¹.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% da humanidade não têm acesso à medicina ocidental, seja por habitar longe dos centros urbanos, seja por não poder pagar um tratamento moderno¹.

A prática da medicina tradicional em pequenas comunidades étnicas ou sociais induz o consumidor a tomar um produto por boa fé, sem saber se há princípios benéficos ou nocivos. Em geral, a planta dita “medicinal” chega às mãos do usuário despojada de qualquer informação fidedigna, o que torna impossível a previsão de eventuais efeitos colaterais que a planta possa provocar².

Uma planta não é uma fábrica montada especificamente para uma determinada produção. É um ser vivo que está sujeito a estresse por fatores ambientais variáveis, como fertilidade do solo, umidade, radiação solar, vento, temperatura, herbívora, biota associada, poluição atmosférica e do solo. Além da fase do seu ciclo vegetativo por ocasião da coleta, esses e outros fatores ainda mais sutis podem influenciar e alterar a composição química do vegetal¹.

Além da variabilidade da composição química vegetal, é preciso lembrar a complexidade das plantas. Um único órgão pode conter grande número de substâncias distintas, pertencentes a diferentes classes químicas, das quais, quase sempre, apenas poucas são conhecidas do ponto de vista de sua estrutura química e atividade farmacológica².

A preocupação com a estrutura química das plantas teve início no século XIX, com a investigação dos princípios ativos de antigas ervas medicinais por dois cientistas franceses, Caventou e Pelletier, que isolaram a quinina da casca da *Cinchona*. A partir disso surgiu um grande interesse em descobrir novas plantas medicinais no novo mundo, e foram realizadas expedições nas impenetráveis selvas e florestas. Com isso ocorreu o desenvolvimento da quimioterapia e a expansão das companhias farmacêuticas trazendo um grande número de investimentos em novos equipamentos para os laboratórios de fitoquímica⁴.

Até a Segunda Guerra Mundial, um grande número de produtos naturais tinham sido isolados de plantas superiores que ainda hoje são utilizados como agentes clínicos, tendo como exemplos: a quinina (da casca da *Cinchona*), a morfina e a codeína (do látex do *Opium*), a digoxina (das folhas da *Digitalis*), a atropina (derivado da (-)-hiosciamina e hioscina (das espécies de *Solanaceae*)⁴.

Os antibióticos surgiram durante e depois da Segunda Guerra Mundial, devido os efeitos antibacteriais de um conjunto de produtos naturais isolados das espécies de *Penicillium*, *Cephalosporium* e *Streptomyces*. Nos anos pós-guerra foram poucas as descobertas de novas drogas de plantas superiores, tendo como um notável acontecimento a descoberta da reserpina das espécies *Rauwolfia* iniciando a era dos tranquilizantes e também a vinblastina e a vincristina da *Catharantus roseus* que foram eficazes na quimioterapia contra o câncer⁴.

Durante os recentes anos, a atenção das indústrias farmacêuticas está ligada ao mundo natural, e este pode ser representado por três drogas clínicas: o taxol, o etoposídeo e a artemisinina⁴.

O taxol é obtido da casca da *Taxus brevifolia*, onde experimentos com o extrato cru apresentou atividade contra células cancerígenas em testes de laboratórios no início

da década de 60. Entretanto, somente em 1971 ocorreu a elucidação estrutural do complexo diterpênico. Mas somente nos anos 90 que o taxol e seus derivados semi-sintéticos foram apresentados clinicamente efetivos contra os cânceres mamários e ovárianos⁴.

A resina podophyllina obtida da raiz da *Podophyllum peltatum*, é tóxica, e é usada clinicamente na remoção de verrugas. O maior constituinte da resina é a lignana podophyllotoxina que inibi a divisão celular, onde tais efeitos indicam um potencial para o uso quimioterápico contra o câncer. Contudo, uma modificação semi-sintética do glicosídeo, etoposídeo, tem um diferente modo de ação inibitório da Topoisomerase II (Sua atividade está acentuadamente aumentada nas células em proliferação. A importância da enzima reside no fato de que, durante a replicação da hélice de DNA, é necessário que ocorra um giro reversível em torno da forquilha de replicação para impedir que a molécula-filha de DNA se torne irremediavelmente emaranhada durante a segregação mitótica. O giro em torno do eixo é reproduzido pela topoisomerase II, que efetua um corte em ambos os filamentos do DNA e, posteriormente, procede à reunião das rupturas.), tendo aplicação clínica no tratamento de cânceres pulmonares e testiculares^{4,5}.

A artemisinina é um sesquiterpeno endoperóxido que tem sido isolado como princípio ativo da erva antimalarial chinesa *Artemisia annua*. Testes clínicos tem demonstrado que a artemisinina é um eficaz antimalarial e pode ser usado para o tratamento de infecções de *Plasmodium falciparum*, a causa da malária cerebral humana maligna⁴.

As plantas continuam sendo usadas no mundo inteiro para o tratamento de doenças e no desenvolvimento ininterrupto de novas drogas dos seus constituintes. Isto tem trazido o desenvolvimento de testes de separação e bio ensaios conduzindo ao

isolamento de princípios ativos que se podem tornar agentes clínicos naturais, derivados sintéticos ou análogos sintetizados com acréscimo ou redução favorável da ação clínica dos efeitos. Este tipo de busca necessita de uma interação multidisciplinar aproximando outras disciplinas da química de produtos naturais. As técnicas em fitoquímica têm revolucionado nossa habilidade para investigar os agentes medicinais presentes nas plantas e está sendo reconhecido pelas indústrias interessadas em plantas nos últimos anos⁴.

Apesar das considerações acima se deve destacar as contribuições dos trabalhos de química de produtos naturais com outras áreas do conhecimento como: o conhecimento a biodiversidade com a ecologia, agronomia, quimiotaxonomia, etc. Não se faz estudo de planta apenas com o objetivo de resolver os problemas imediatos do ser humano. E sim com interesse maior, que é o conhecimento da natureza revelando para o futuro as informações por menores que sejam, mas, que certamente serão utilizadas para o enriquecimento científico futuro, quando aliado a novas informações químicas.

2. A PLANTA

2.1. A Família Leguminosae – Mimosoideae

A família Leguminosae (Fabaceae) é de ampla distribuição geográfica, representada por 650 gêneros aproximadamente e mais de 18.000 espécies subordinadas a três subfamílias distintas⁶.

As espécies das subfamílias Caesalpinoideae e Mimosoideae são principalmente tropicais, e as da subfamília Faboideae encontram-se mais frequentemente nas regiões temperadas. Essa subfamília abrange espécies com características consideradas mais avançadas dentro das Leguminosas^{6,7}.

De modo geral, as leguminosas são caracterizadas como ervas anuais ou perenes, eretas, prostradas, difusas ou escandentes, subarbustos, arbustos eretos, sarmentosos ou escandentes, e árvores de pequeno, médio ou grande porte^{6,7}.

As espécies da família Leguminosae possuem importantes valores econômicos. Veja na Tabela 1 algumas espécies e suas utilizações⁷.

Tabela 1: Importância Econômica das Leguminosas⁷ (continua)

I. Alimentícias

Arachis hypogaea L. – Amendoim

Phaseolus vulgaris L. – Feijão

Lens culinaris Medicus – Lentilha

Pisum sativum L. – Ervilha

Phaseolus lunatus L. – Feijão de Lima

Vicia faba L. – Fava

Tabela 1: Continuação

II. Madeira

Dalbergia latifolia Roxb. – Pau-rosa Indiano

Dalbergia nigra Fr. Allem. – Pau-rosa Brasileiro

III. Corante

Indigofera tinctoria Ait. – Indigo

IV. Goma e Resina

Acacia senegal Willd. – Goma Arábica

Myroxylon balsamum (L.) Harms – Bálsamo

V. Óleo e Sabor

Arachis hypogaea L. – Amendoim

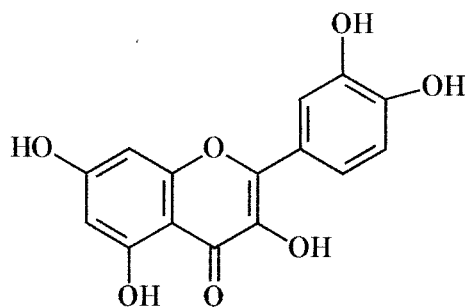
Glycine max (L.) Merr. – Soja

Tamarindus indica L. – Tamarindo

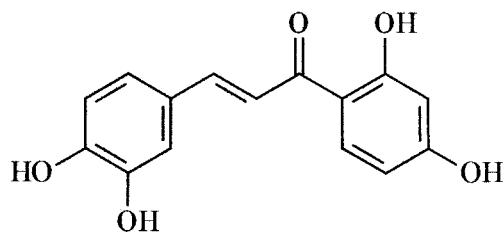
A subfamília Mimosoideae compreende cerca de 50-60 gêneros, que abrangem aproximadamente 2.800 espécies, distribuídas nas regiões tropicais, subtropicais e cálido-temperadas do globo. Quase dois terços das espécies conhecidas estão subordinadas aos gêneros *Acacia* (1.200 espécies), *Mimosa* (400-500 espécies) e *Inga* (350-400 espécies). Suas relações são mais estreitas com as espécies da subfamília Caesalpinoideae, das quais, provavelmente, se originaram, estando aparentemente ligadas pelos gêneros *Dimorphandra* e *Pentaclethra* ⁶.

A química desta família é composta por várias classes de substâncias, destacando-se as classes dos flavonóides e alcalóides que são tidos como marcadores

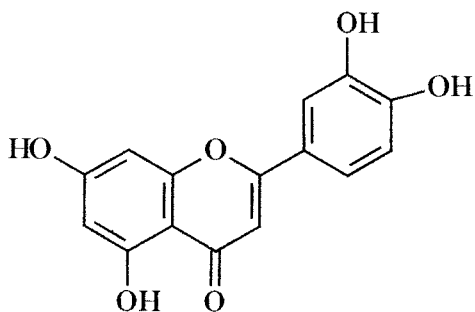
taxonômicos. Entre os flavonóides são encontrados: flavonóis (I), flavonóis glicosilados (XIV, **Página 11**), chalconas (II), flavonas (III) entre outras. Já na classe dos alcalóides encontram-se: alcalóides derivados da fenilalanina (IV), da tirosina (V) e do triptofano (VI-XII, **Página 10 e 11**)⁸.



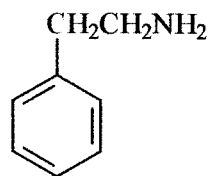
Gossipetina (I)



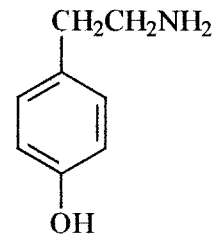
Buteina (II)



Luteolina (III)



Fenetilamina (IV)



Tiramina (V)

2.2. O Gênero *Piptadenia*

O gênero *Piptadenia* compreende cerca de 80 espécies tropicais sobretudo americanas. No Brasil ocorrem nos estados do Amazonas, Bahia, Ceará, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, Paraíba, Paraná, Piauí, Pernambuco, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, São Paulo ^{9,10}.

O gênero *Piptadenia* tem sido considerado repetidamente como heterogêneo e várias tentativas foram feitas no sentido de fragmentá-lo em outros gêneros menores. Brenan (1955) apresentou um cuidadoso estudo subdividindo-o em vários gêneros: *Anadenanthera* Speg., *Pityrocarpa* Benth e *Piptadenia* Benth. Porém ao fazê-lo ele se viu forçado a lançar mão de caracteres insignificantes que coloca a sistemática fitológica fora do plano pragmático. Portanto seguiremos os botânicos brasileiros, como Ducke e G. M. Barroso, mantendo como *Piptadenia sensu Benth* ⁹.

Este gênero, da família Leguminosae-Mimosaceae, despertou o interesse dos pesquisadores devido a evidência do uso de espécies de *Piptadenias*, desde a chegada de Cristóvão Colombo no novo mundo. Onde um escritor que o acompanhava, Ramon Pane, descreveu a inalação de um rapé narcótico pêlos nativos das Ilhas do Caribe. As tribos indígenas da América do Sul também utilizavam o mesmo rapé, que era produzido a partir das sementes de *Piptadenia peregrina*, chamada pôr eles de cohoba ou paricá. O rapé era utilizado pelos sacerdotes num cerimoniais , onde eles os inalavam por um tubo bifurcado colocado no nariz, que produzia um tipo de intoxicação e diziam permitir supostas visões, possibilitando a comunicação com espíritos ^{11, 12, 13}.

Então 1953, Stromberg, fez o primeiro estudo químico do gênero, isolando em grande quantidade das sementes de *Piptadenia peregrina* o alcalóide indólico 5-

hidroxi-N,N-dimetiltriptamina (bufotenina)[VI] e revelou que tanto as folhas como os galhos não apresentaram qualquer evidencia de possuírem alcalóides ¹².

Em 1955, Fish et al., observaram em testes que as cascas de *P. peregrina* não possuíam bases orgânicas. Dando continuação aos testes examinaram as sementes e vagens de *P. peregrina*, *P. macrocarpa* e *P. paniculata*. E chegaram a conclusão que com exceção da *P. paniculata*, todas as amostras de sementes informaram grande quantidade de alcalóides e uma pequena variação de intensidade nas vagens. Então eles reuniram as amostras de sementes de *P. peregrina* e *P. macrocarpa*, e isolaram: bufotenina [VI], óxido de bufotenina [VII] e óxido de N,N-dimetiltriptamina [IX]. Já num experimento separado com as vagens isolaram somente a N,N-dimetiltriptamina [VIII] ¹³.

Em 1959, Pachter et al., pesquisando as sementes de uma planta narcótica utilizada pelos índios do Brasil, identificada como *P. columbrina Benth.*, isolou a bufotenina [VI] e a classificou como sendo o alcalóide principal da mesma ¹⁴.

Em 1963, Legler e Tschesche informaram o isolamento da N-metiltriptamina [X], 5-metoxi-N-metiltriptamina [XI] e 5-metoxi-N,N-dimetiltriptamina [XII] das cascas de *P. peregrina* coletada no Brasil ¹⁵.

Em 1964, Guillermo e Rúveda, investigando o florescimento de cinco espécies na Argentina. Isolaram de *P. macrocarpa* a bufotenina [VI] e a N,N-dimetiltriptamina [VIII] das sementes e vagens, detectaram óxido de bufotenina [VII] nas sementes e isolaram das cascas a 5-metoxi-N-metiltriptamina [XI]. De *P. excelsa* identificaram a bufotenina [VI] e óxido de bufotenina [VII] nas sementes e vagens, e isolaram a N,N-dimetiltriptamina [VIII] das vagens. Já as outras três espécies *P. paraguayensis* (casca, sementes e vagens), *P. rigida* (sementes) e *P. viridiflora* (sementes e vagens misturadas)

deram teste negativo para alcalóides com exceção da casca de *P. paraguayensis*, que apresentou uma fraca indicação com este teste ¹⁶.

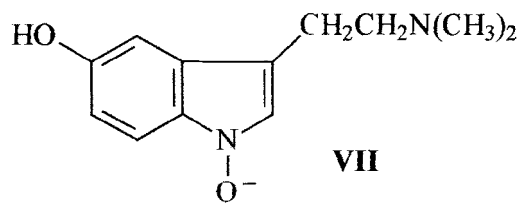
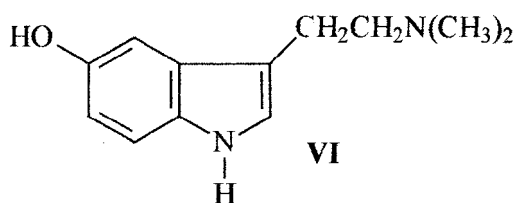
Em 1967, Paris et al., confirmaram a presença de alcalóides indólicos em *P. peregrina* do Haiti e informou a presença de taninos (catequinas e catecools) e leucoantocianinas na mesma, constatando também a ausência de alcalóides indólicos em *P. Africana Hook. F.* ¹⁷.

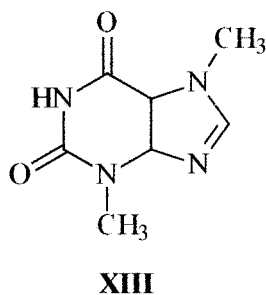
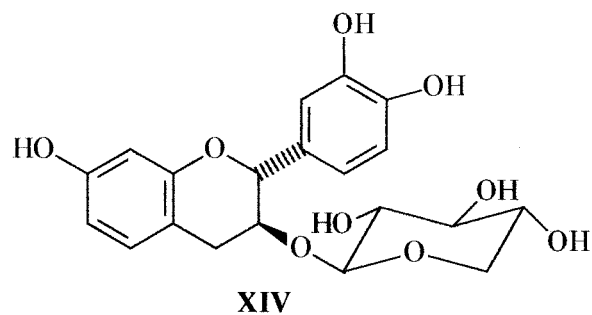
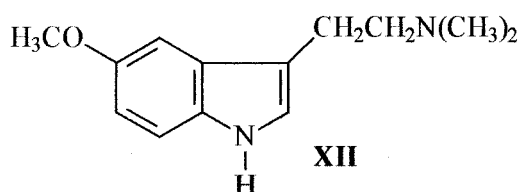
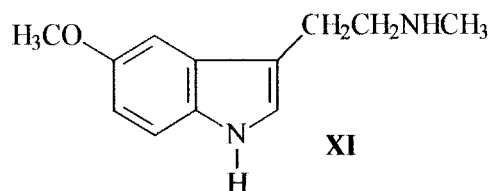
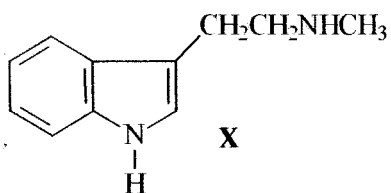
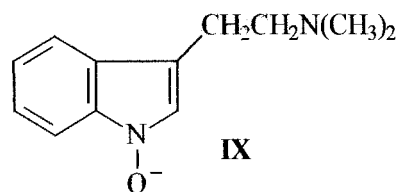
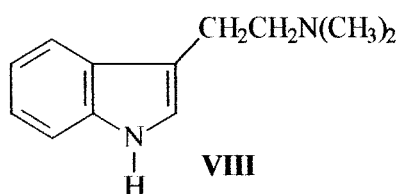
Em 1972, Yamasato et al., fazendo uma investigação taxonômica revelaram a presença da bufotenina [VI] em *P. contorta* e *P. moniliformis*, isolaram a N,N-dimetiltriptamina [VIII] de *P. contorta*, e de *P. leprostachya* isolaram das sementes a teobromina [XIII] ¹⁸.

Em 1976, Bulhões et al., numa abordagem fitoquímica de plantas nativas do nordeste brasileiro, constataram a presença de esteróides, heterosídeos e taninos (catequinas e pirogálicos) na casca do caule de *P. columbrina* ¹⁹.

Em 1997 e 1999, Delgobo et al., isolaram monossacarídeos, oligossacarídeos e heteropolissacarídeos da goma que exsuda da casca de *P. columbrina* que é utilizada para problemas respiratórios, ^{20,21}.

Em 1999, Piacente et al., investigando a casca de *P. macrocarpa* isolaram como composto principal um novo flavonóide chamado fisetinido1-3-O-β-D-xilopiranosideo (anadantosideo) [XIV] ²².





2.2.1. Características gerais

Os índios das Ilhas do Caribe e da América do Sul, conhecem as Piptadenias por vários nomes vulgares como: cebil, cohoba, niopo, paricá, vilca, yopo, etc. Já no Brasil são conhecidas popularmente como: angico, angico branco, angico do campo, angico roxo, angico vermelho, angico bravo, angico preto, angico rajado, angico do cerrado, e na Argentina e Paraguai são conhecidas como cebil, cebil colorado e cebil itá^{9,23}.

Estas espécies, além da utilização das sementes para o rapé alucinógeno pelos índios, possuem várias aplicações na medicina popular como: hemostáticas, antidisentéricas, vermífugas, antipiréticas, úteis contra leucorréias e gonorréia com ação na fibra do útero, e antioxidante contra os efeitos dos radicais livres. A goma que exsuda de seu caule, é empregada contra infecções pulmonares e das vias respiratórias. As plantas são melíferas, onde as abelhas que se alimentam de suas flores produzem um mel de superior qualidade ^{20, 22, 23, 24, 25}.

Testes revelaram nestas espécies uma ação moluscocida, e atividades antimicrobiais contra microorganismos gram-positivos, gram-negativos e filamentosos, e fungos como leveduras ^{26, 27, 28}.

Estudos com plantas tidas como cianogênicas revelaram a sensibilidade de animais a espécies desse gênero. Devido a intoxicação por sintomatologia de natureza neuromuscular, e a resposta imediata à medicação específica confirmando que os animais ingeriram glicosídeos cianogênicos ^{29, 30}.

São utilizadas na indústria dos curtumes por possuírem a casca rica em taninos. Possuem a madeira dura e pesada utilizável na construção naval e civil, dormentes de estradas de ferro, marcenaria, carpintaria, assoalhos e tetos, lenha e carvão. No passado, madeiras mais nobres acabavam sendo utilizadas e os angicos relegados. Hoje, com a escassez das espécies utilizadas, o angico volta a figurar nas madeiras como opção para a construção civil e telhados ^{9, 23}.

Sendo rústicos e adaptados a terrenos secos, são recomendados para recuperação ambiental, crescendo muito bem em solos pobres e degradados, podendo ser útil ainda na arborização urbana e no paisagismo ⁹.

A espécie *Piptadenia rigida*



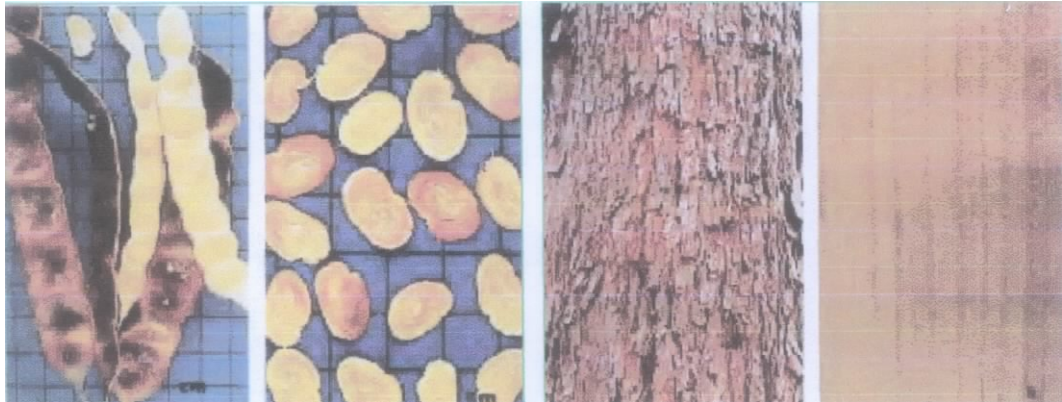
Vista Geral



Galhos, Folhas e Frutos

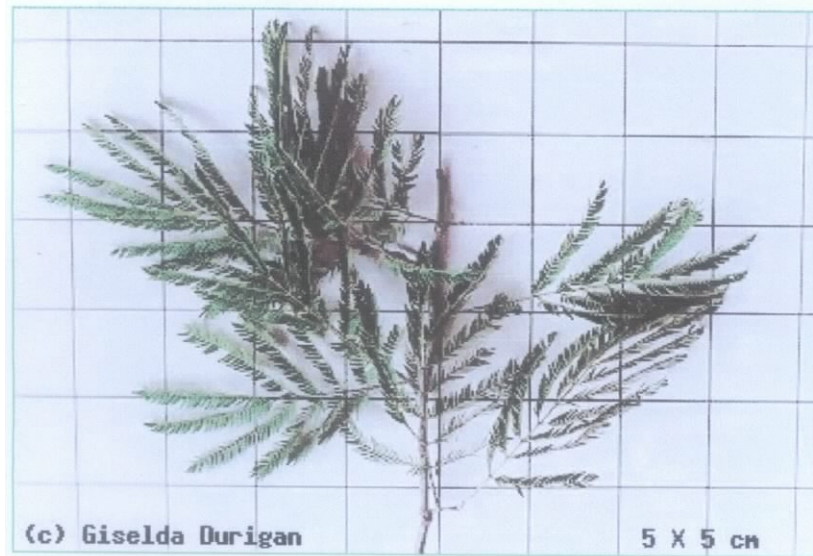


Folhas e Flores

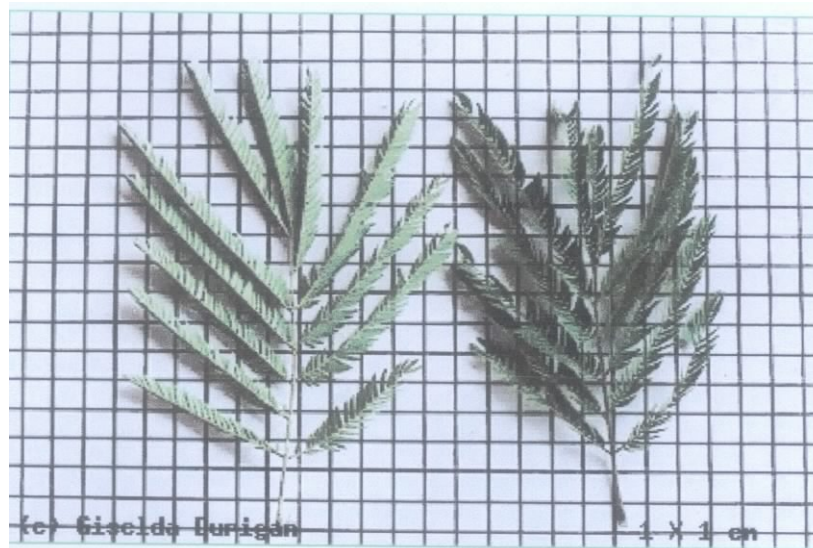


Frutos e Sementes

Tronco e Madeira



Ramo e Folhas



Folhas e Pinna

2.3. A Espécie *Piptadenia rigida* Benth.

A espécie apresenta um sinônimo, *Parapiptadenia rigida* Benth., sua área de distribuição geográfica vai do Ceará até o Rio Grande do Sul, Minas Gerais e Mato Grosso. Preferindo as florestas pluviais, sendo comum, no vale do Xapecó (SC) e nas matas do Iguazu (PR), chegando à Argentina, Uruguai e Paraguai. Aparece ainda nos capões, nas galerias e capoeiras, nestas podendo predominar amplamente ^{5,19}.

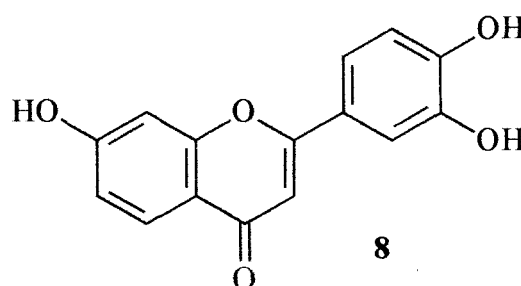
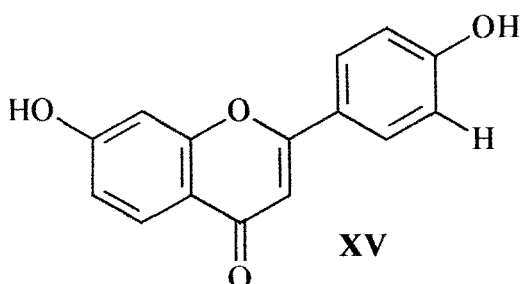
A espécie pode ser encontrada pelos seguintes nomes vulgares: angico, angico amarelo, angico branco, angico cedro, angico do banhado, angico do curtume, angico dos montes, angico rosa, angico sujo, angico verdadeiro, angico vermelho, brincos de saguim, brincos de sahuay, paricá e guarucaia no Brasil; angico colorado, cebil branco e curupay-rá, na Argentina; curupay-ná, no Paraguai ^{5,19}.

A casca é amarga, adstringente e rica em taninos (15-20%), é usada na indústria do curtume. Possui aplicações populares como: antileucorréia, antidisentérica, antidiarreica, útil na cura de úlceras e inchação das pernas; as folhas possuem atividade hemostática em qualquer tipo de ferimento e até em comoções cerebrais; a goma resinosa que exsuda da casca, “goma de angico”, é bem conhecida como expectorante energético e tem varias aplicações medicinais e industriais ^{5,19}.

A madeira compacta, bastante dura, pouco elástica e muito resistente, é própria para obras hidráulicas e expostas, carretas, postes, dormentes, esteios, construção civil e naval, revestimento de galerias, lenha e carvão ^{5,19}.

2.3.1. Constituintes Isolados do Caule

O estudo químico realizado com o caule desta espécie foi feito no Laboratório de Produtos Naturais (LQPN-UFRRJ), e da fração clorofórmica do extrato metanólico, foram isolados de dois flavonóides, a 7,4'-diidroxiflavona [XV] e a 7,3',4'-triidroxiflavona [8]³¹.



2.3.2. Constituintes Químicos da Semente

Em 1964, Guillermo et. al., em uma investigação através de prospecção fitoquímica informaram que, as sementes de *P. rígida* não possuem alcalóides¹⁶. Entretanto seria interessante fazer o estudo mais detalhado das substâncias desta parte da planta, isto permitirá confirmar a ausência desta classe de substância e , talvez identificar constituintes de outras classes de metabólitos especiais.

2.3.3. Classificação taxonômica da espécie

Tabela 2: Classificação taxonômica da *Piptadenia rigida*^{6,9}.

Reino	<i>Plantae</i>
Divisão	<i>Angiospermae</i>
Classe	<i>Dicotyledoneas</i>
Ordem	<i>Rosales</i>
Família	<i>Leguminosae</i>
Sub-Família	<i>Mimosoideae</i>
Gênero	<i>Piptadenia</i>
Espécie	<i>Piptadenia rigida</i>

2.3.4. Características botânicas da espécie

Porte: Árvore de caule inerte, que pode alcançar 20-30 m X 80 cm na floresta; em geral é menor, indo a 10-15 m; os fustes atingem 8 m X 50 cm; râmulos angulosos e canaliculados na ponta, sem acúleos⁹.

Casca: grossa (2-5 cm), escura, fendilhada e apresentando placas pardas pouco aderentes, inerte; exsuda goma por ferimento; é pardo-avermelhada⁹.

Folhas: geralmente com 6 pares de pinas opostas, distantes entre si, medindo 4-8 cm; folíolos 18-30 pares, opostos, sésseis ou quase, firmemente membranáceos,

lanceolados, mais ou menos falciformes, arredondados e oblíquos na base, com a nervura central junto a margem e mais 1-2 nervuras menores basais, curtamente pilosos ou glabros na página inferior, discolores, apiculados, 6-11 mm de comprimento por via de regra; pecíolo com uma glândula bastante alongada e rimosa, localizada acima da base; pode haver mais 2-3 entre as últimas pinas⁹.

Espigas: cilíndricas, compactas, amareladas em vivo e ferrugineas em seco, solitárias na axilas foliares, 4-6 cm; pedúnculos algo pilosos, 10-15 mm de comprimento; bractéolas mínimas⁹.

Flores: minúsculas (2 mm, não computando os estames longamente exsertos); cálice 5-denticulado, com menos de 1 mm; corola 5-partida, com 1,5 mm de comprimento; estames 10, livres; filetes de 3-4 mm; anteras com uma pequenina glândula apical, séssil e caduca; ovário estipitado e glabro⁹.

Legume: típico que se abre por meio de duas fendas, desprendendo as valvas, com fundas depressões entre as lojas seminíferas, ondulado, plano e retilíneo, relativamente fino, pardo-avermelhado-escuro, por dentro pardo amarelado, sob lente nitidamente reticulado-nervoso, a ponta prolongada em cúmen de 1 cm, medindo 8-13 X 1,5-2 cm⁹.

Semente: elítica, plana, muito delgada, castanha, lisa, brilhante, geralmente com um pequeno funículo aderente, circundadas por estreita asa membranácea que se rompe com facilidade, medindo 12-15 X 7-10 mm⁹.

Madeira: pardo-avermelhada, podendo revelar tonalidade amarelada, uniforme; superfície algo lustrosa e lisa; sabor levemente adstringente. Pesada, dura e bastante durativa. Alburno pardo-rosado⁹.

Informações gerais: Floresce em novembro-dezembro e frutifica em maio-agosto. Em Minas Gerais a floração dá-se em fevereiro-março e a frutificação em

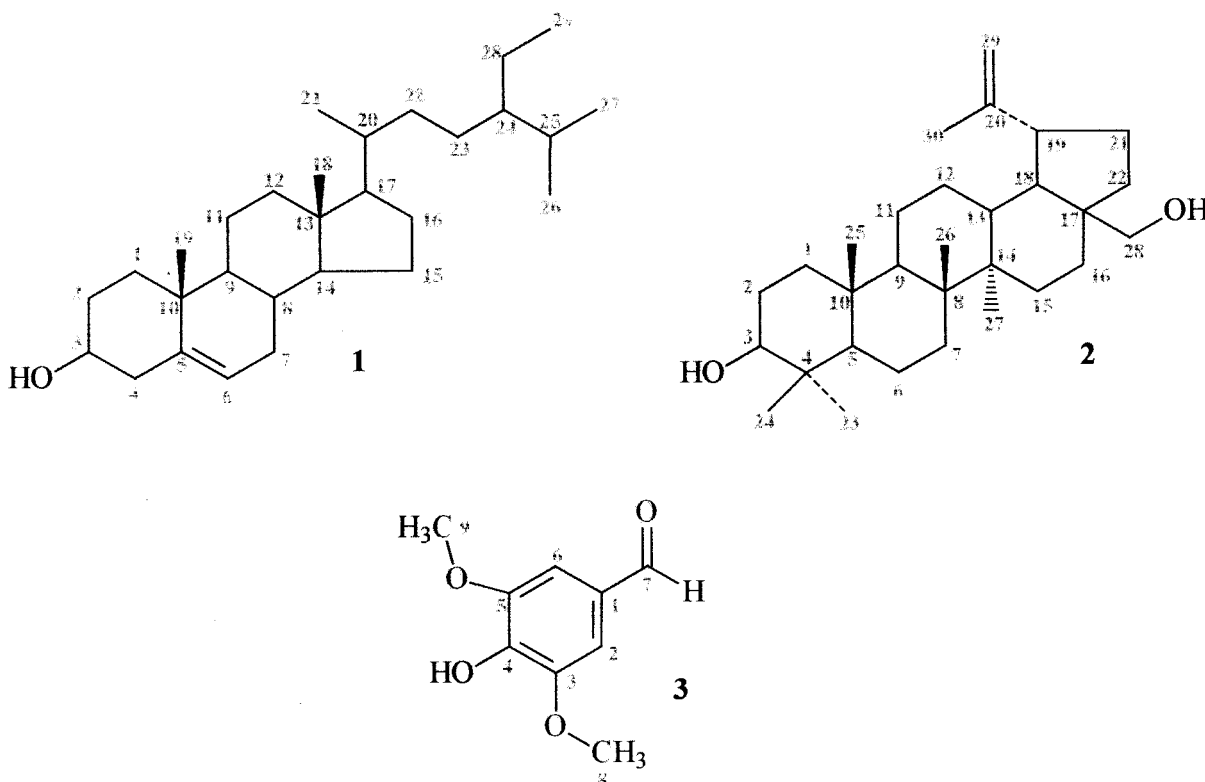
outubro-novembro. As sementes germinam sem dificuldade em cerca de 8-10 dias. O crescimento é rápido e a espécie pouco exigente quanto a solo e umidade; aos 18 anos pode alcançar, em média, 18 m X 23 cm⁹.

3. CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Piptadenia rigida* Benth.

3.1. Constituintes Químicos Isolados da Raiz

3.1.1. Extrato de diclorometano

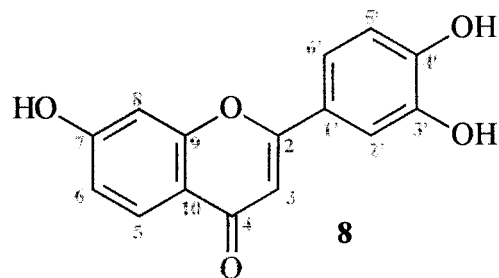
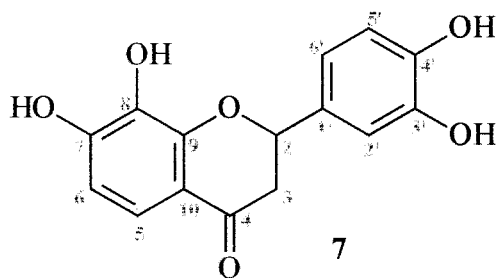
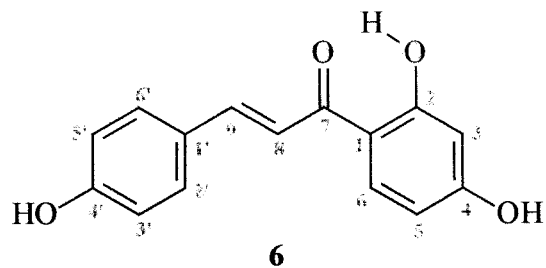
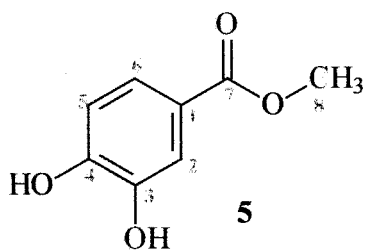
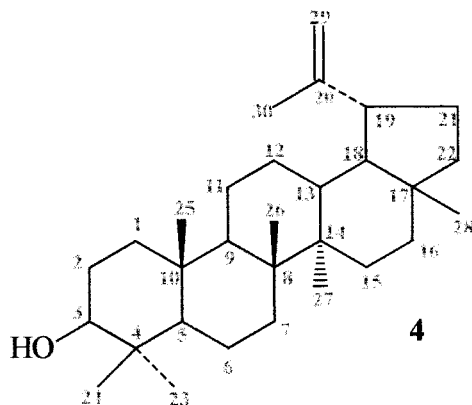
O fracionamento do extrato em diclorometano da raiz desta espécie, permitiu o isolamento e a identificação do esteróide sitosterol (1), do triterpeno betulina (2) e do 4-hidroxi-3,5-dimetoxi-benzaldeído (3). A análise por CCDA das demais frações em menor quantidade, revelou misturas complexas de substâncias que poderão ser isoladas posteriormente.



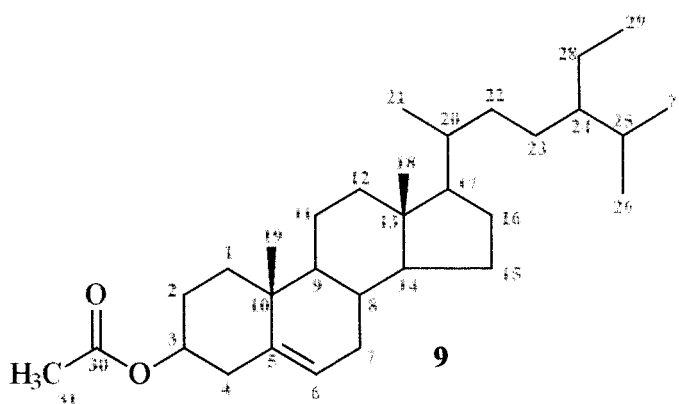
3.1.2. Extrato metanólico

O fracionamento cromatográfico realizado com o extrato metanólico da raiz desta espécie, permitiu o isolamento e a identificação das substâncias: do esteróide

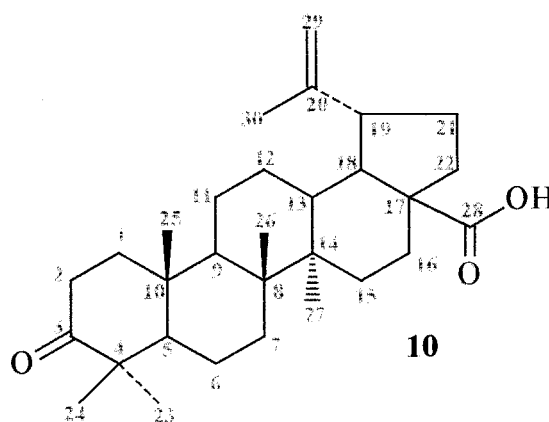
sitosterol (1), do triterpeno lupeol (4), do 3,4-diidroxibenzoato de metila (5), da chalcona isoliquiritigenina (6), da flavanona 7,8,3',4'-tetraidroxiflavanona (7) e da flavona 7,3',4'-triidroxiflavona (8).



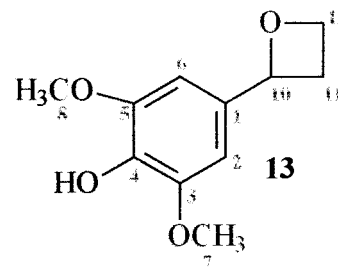
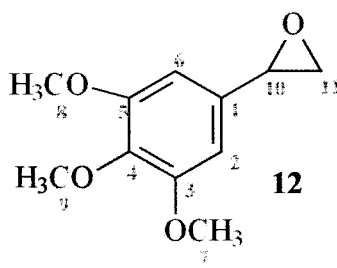
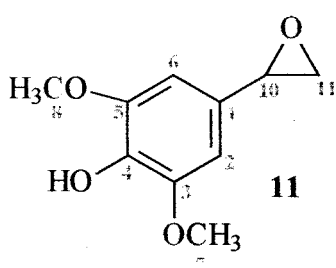
3.1.3. Derivado do sitosterol

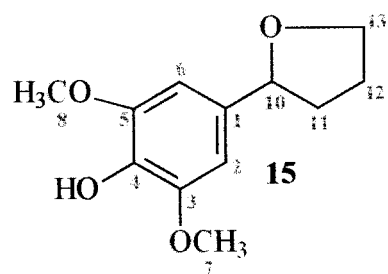
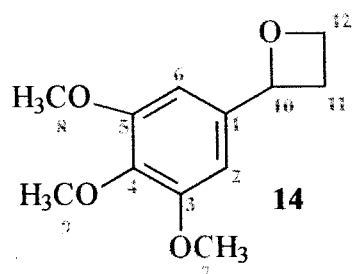


3.1.4. Derivado da betulina

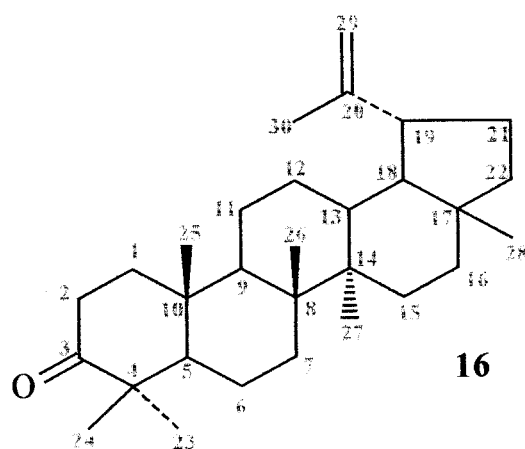


3.1.5. Derivados do 4-hidroxi-3,5-dimetoxi-benzaldeído

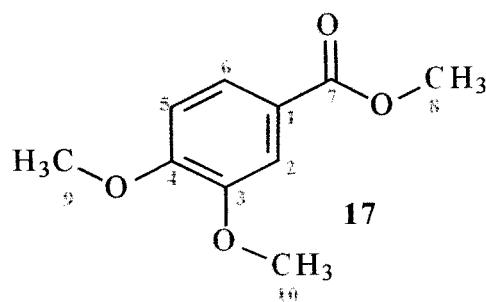




3.1.6. Derivado do lupeol



3.1.7. Derivado do 3,4-diidroxi-benzoato de metila



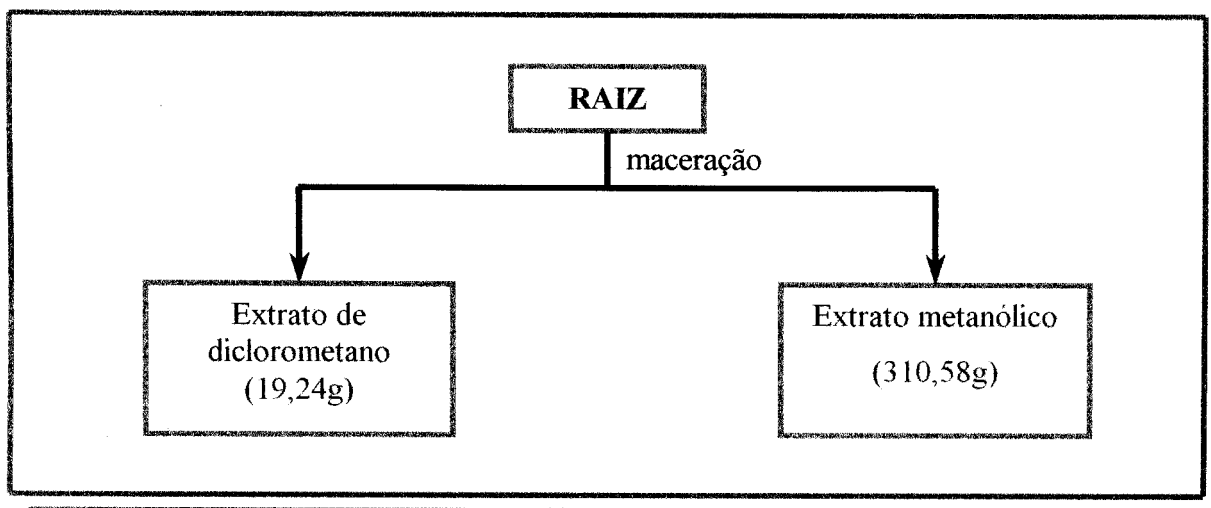
4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Coleta da Planta

O material vegetal em estudo foi coletado no Jardim Florestal do Instituto de Florestas (IF) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pelo Prof. Dr. Acácio Geraldo de Carvalho (Departamento de Ciências Ambientais – IF – UFRRJ) e identificada pelo Prof. José Aguiar Sobrinho (Departamento de Ciências Ambientais – IF – UFRRJ).

4.2. Elaboração dos Extratos

A raiz seca e moída (6,344 Kg) foi submetida à extração com diclorometano e metanol através de maceração. Os resíduos dos extratos foram obtidos por destilação dos solventes em evaporador rotativo. Obteve-se 19,24g do resíduo do extrato de diclorometano **PRRD** (*Piptadenia rígida*, raiz, diclorometano) e 310,58g do resíduo do extrato metanólico **PRRM** (*Piptadenia rígida*, raiz, metanol).

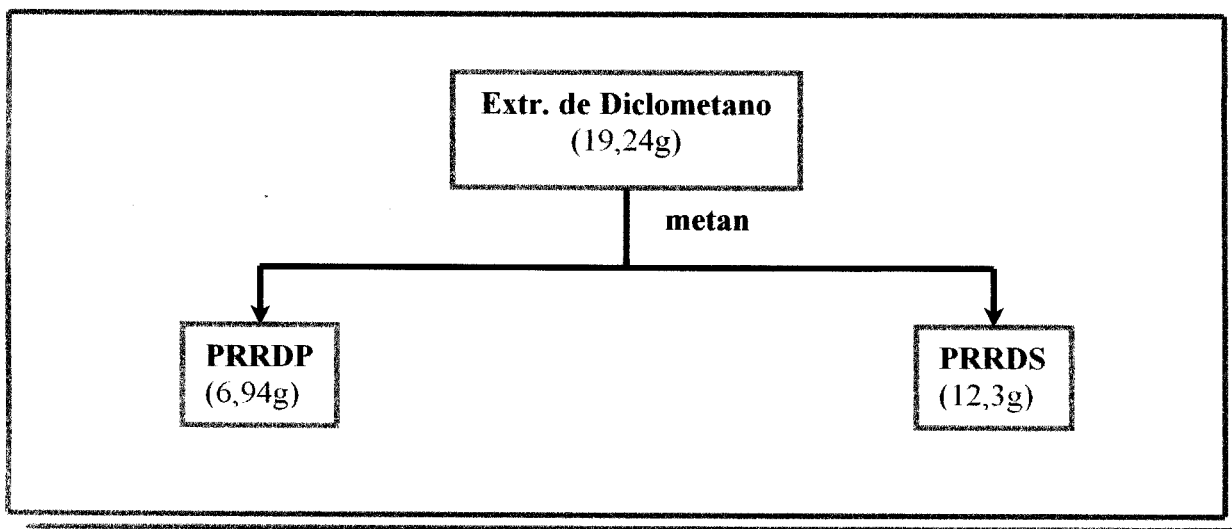


Esquema 1: Elaboração dos extratos de diclorometano e metanol

4.3. Isolamento e Purificação dos Constituintes dos Extratos

4.3.1. Fracionamento do extrato de diclorometano

O extrato obtido em diclorometano (**PRRD**), foi solubilizado em metanol e formou um precipitado que foi filtrado em um funil de Hirsch, obtendo-se 6,94g de **PRRDP** (onde **P** significa precipitado em metanol) e 12,3g de **PRRDS** (onde **S** significa solúvel em metanol).



Esquema 2: Processamento do Extrato de diclorometano

4.3.1.1. Processamento da fração PRRDP

A fração **PRRDP** foi fracionada através de CC (cromatografia em coluna de sílica gel), sendo eluída com clorofórmio em polaridade crescente com metanol, obtendo-se 217 frações de 100 ml. A comparação das frações eluídas foi acompanhada através de CCDA (cromatografia em camada delgada analítica) e reveladas em UV

(254 e 362 nm) e vapores de iodo, foram reunidos os grupos que revelavam substâncias análogas.

A fração 13-15 foi submetida a cristalização em metanol, após filtração em funil de Hirsch, foram obtidos cristais incolores na forma de agulha, que foram analisados através de espectros de RMN ^1H e ^{13}C . A partir da análise dos espectros e comparação com a literatura, identificou-se a amostra como sendo do esteróide sitosterol (**1**), 3 β -hidroxi-24(R)-etil- Δ^5 -colesteno, (437mg, PF 132-133° C).

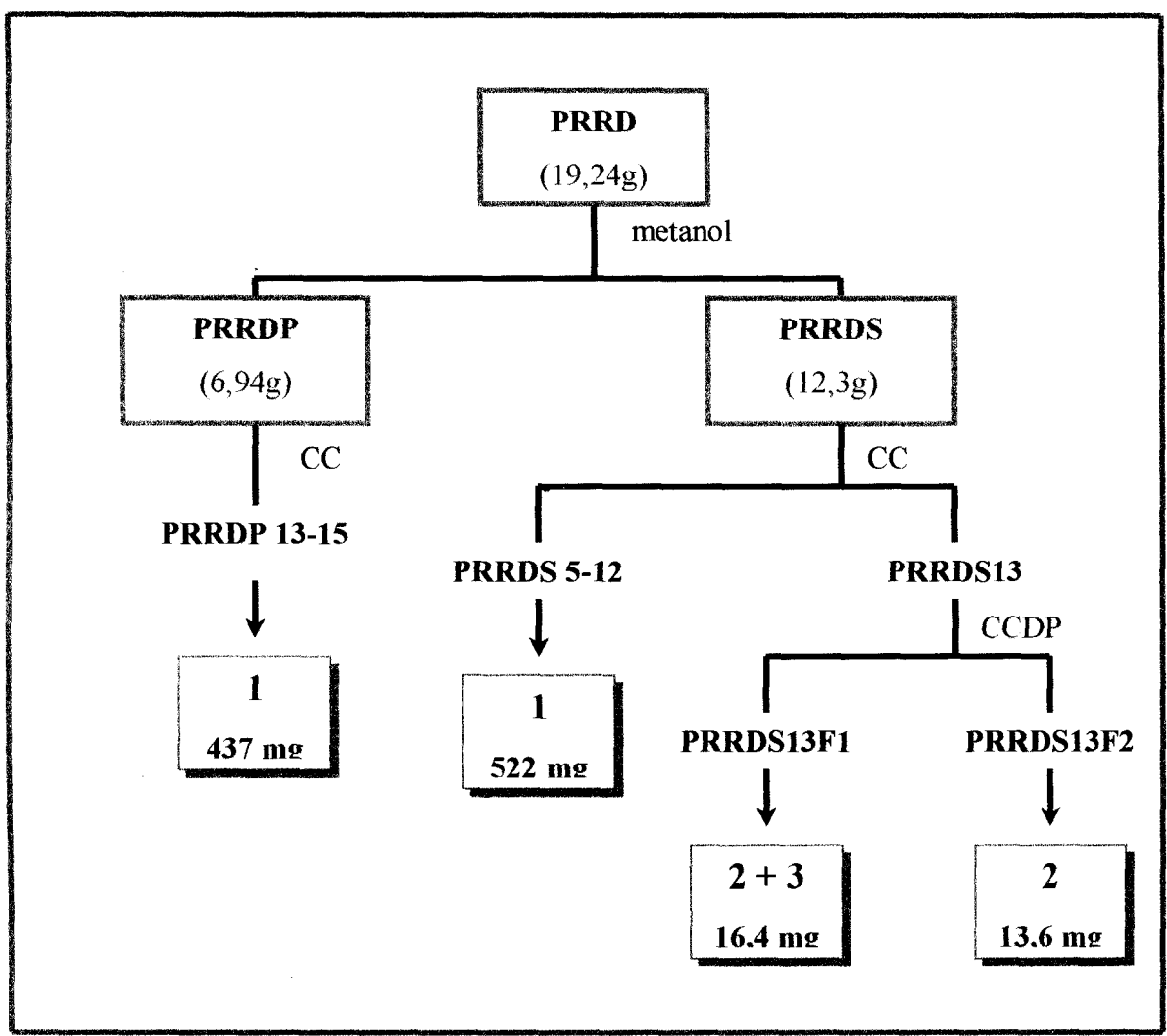
4.3.1.2. Processamento da fração PRRDS

A fração **PRRDS** foi fracionada através de CC, sendo eluída com clorofórmio em polaridade crescente com metanol, obtendo-se 77 frações de 100 ml. A comparação das frações eluídas foi acompanhada através de CCDA e reveladas em UV (254 e 362 nm) e vapores de iodo, foram reunidos os grupos que revelavam substâncias análogas.

A fração 5-12 (1,669 g) foi submetida a cristalização em metanol, após filtração em funil de Hirsch, foram obtidos cristais incolores que apresentaram PF132-133° C, 522 mg.. Então foi feita uma comparação desta fração com a fração PRRDP 13-15 em CCDA, demonstrando serem substâncias de mesmo Rf. Deste modo chegamos a conclusão que se tratava da mesma substância o esteróide sitosterol (**1**).

A fração 13 (520 mg) foi fracionada através de CC e as frações foram analisadas através de CCDA e foram reunidos os grupos que continham substâncias análogas, num total de 9 grupos. A fração 13F (onde F corresponde à fração 11-13) foi cromatografada através de CCDP (cromatografia em camada delgada preparativa) com hexano/acetato de etila (8:2). A fração obtida, denominada PRRDS13F1, foi analisada por CCDA que

mostrou a mistura de duas substâncias, a amostra foi analisada por espectros RMN ^1H , ^{13}C , DEPT, IV e EM que confirmaram a mistura de um aldeído (4-hidroxi-3,5-dimetoxi-benzaldeído, **3**) com a substância (**2**), (16,4 mg). A segunda fração obtida da placa de CCDP, denominada PRRDS13F2, foi analisada através de espectros de RMN ^1H , ^{13}C , DEPT e IV. À partir da análise dos espectros e comparação com a literatura, identificou-se a amostra como sendo o triterpeno betulina (**2**), (13,6 mg, PF 258-259°C).



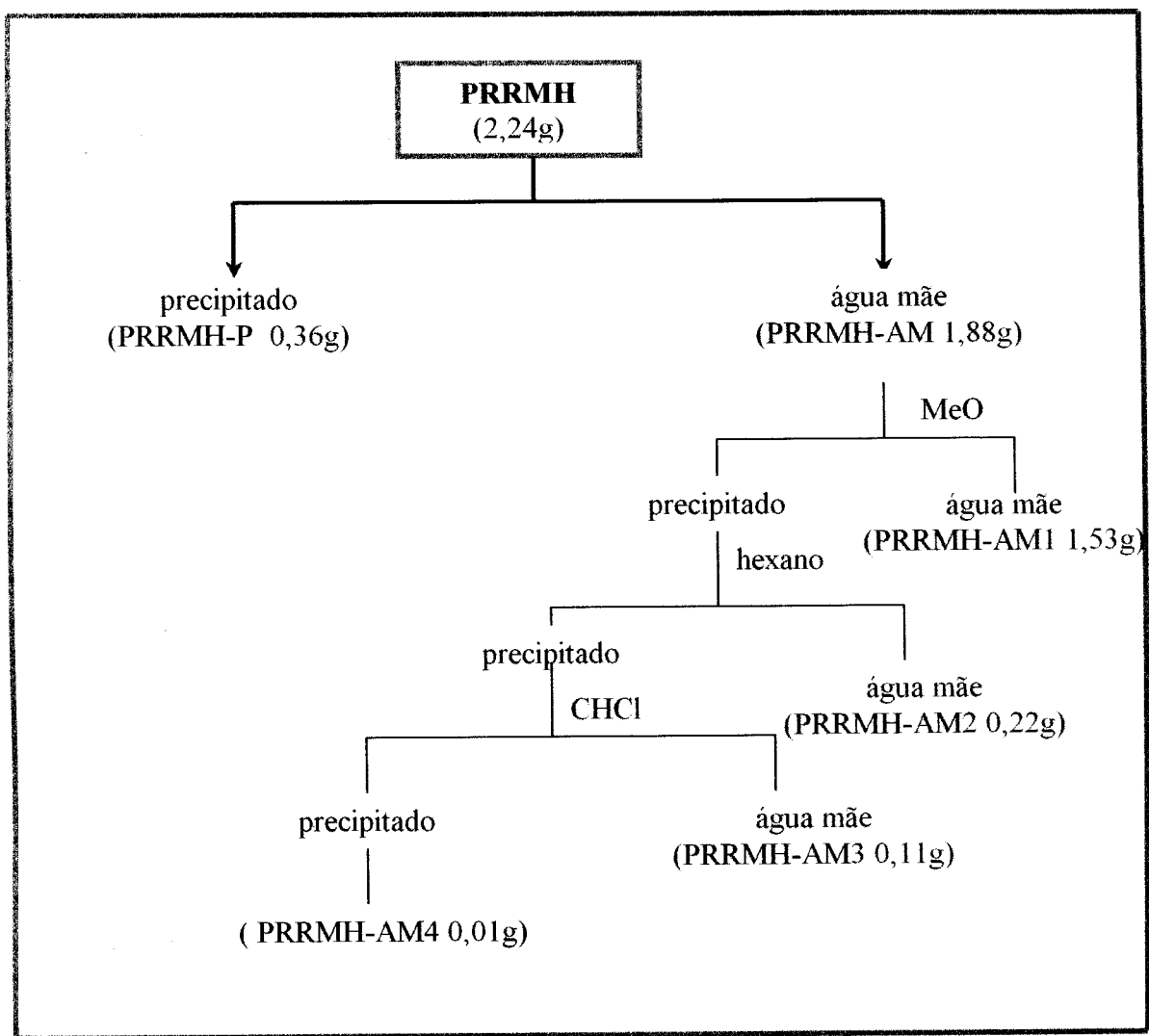
Esquema 3: Fracionamento cromatográfico do extrato de diclorometano.

4.3.2. Fracionamento do extrato metanólico

O extrato metanólico (PRRM 310,58g) foi solubilizado em metanol/água 8:2 e submetido à partição com hexano, clorofórmio, acetato de etila e butanol.

4.3.2.1. Processamento da fração hexânica

A fração hexânica (PRRMH 2,24g) foi fracionada pelo sistema de solventes mostrado no esquema 4.



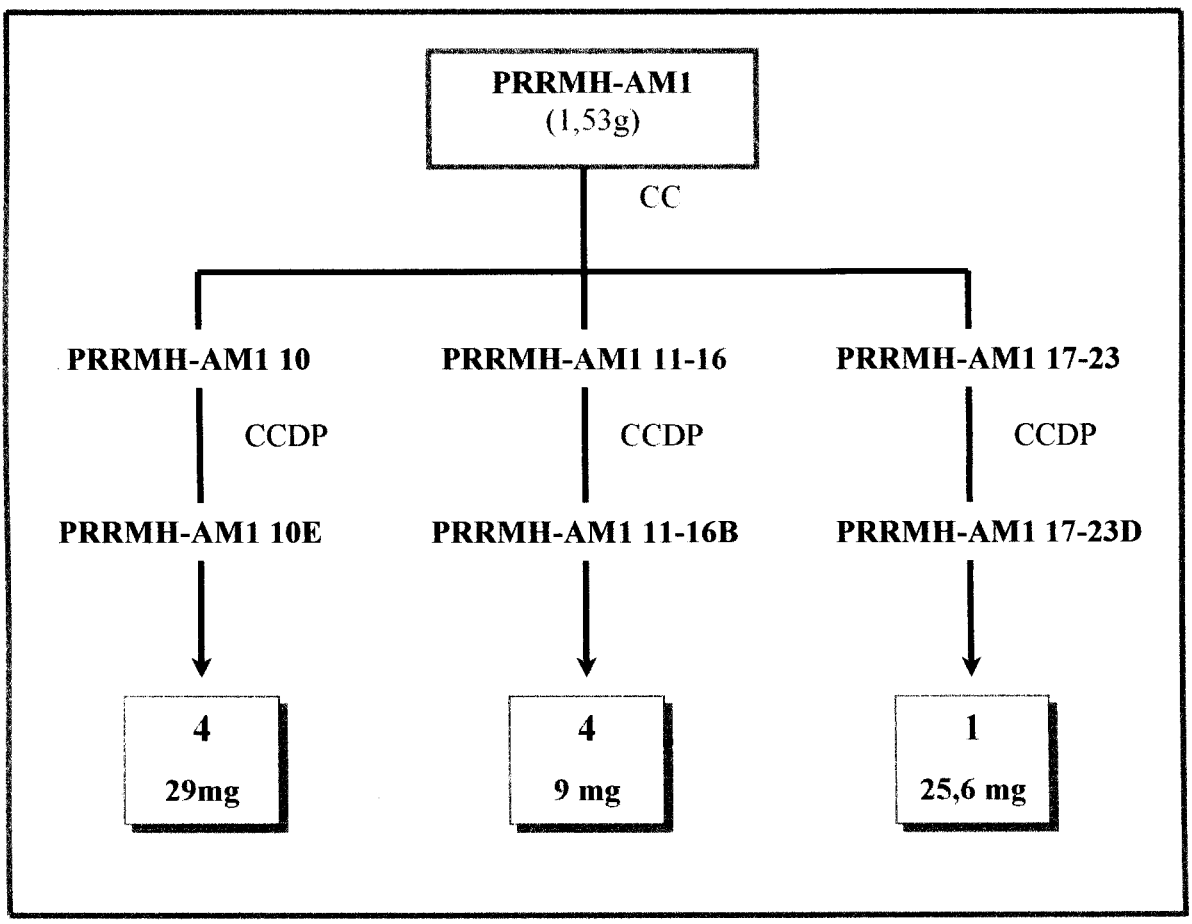
Esquema 4: Fracionamento da fração hexânica

A fração PRRMH-AM1 foi fracionada através de CC, usando como eluente inicial clorofórmio. Foram obtidas 136 frações de 10 ml que foram analisadas através de CCDA e reunidas as frações análogas.

A fração 10 (70 mg) foi fracionada através de CCDP em hexano/acetato de etila (8:2). A fração obtida, denominada de PRRMH-AM1-10E, foi analisada através de espectros de RMN ^1H , ^{13}C , DEPT e IV. A partir da análise dos espectros da amostra e comparação com dados da literatura, a amostra foi determinada como sendo o triterpeno lupeol (4), (29 mg, PF 194-195° C).

A fração PRRMH-AM1 11-16 (40 mg) foi fracionada através de cromatografia de CCDP em hexano/acetato de etila (8:2). A fração obtida, denominada de PRRMH-AM1 11-16B (9 mg), foi analisada através de espectros de RMN ^1H e ^{13}C . Após analisar os espectros chegamos à conclusão de que se tratava do triterpeno lupeol (4), apesar da amostra possuir PF 182-183° C, mas a diminuição no PF é devido a uma outra substância em pequena quantidade contida na amostra.

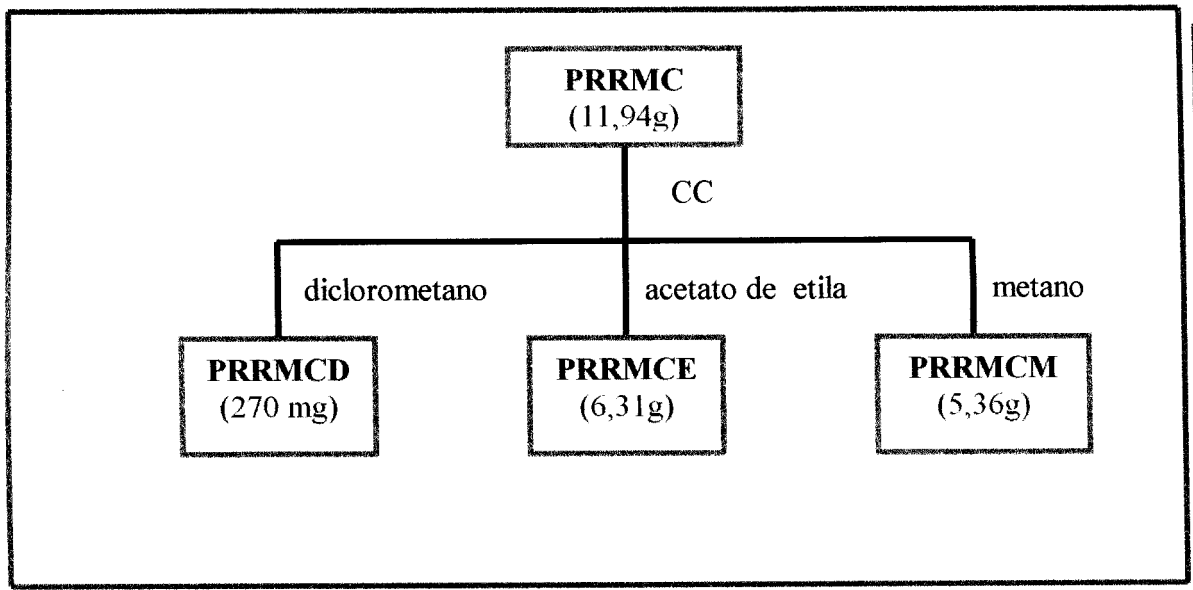
A fração 17-23 (210 mg) foi fracionada através de CCDP em hexano/acetato de etila (7:3). A fração com cristais incolores e PF 132-133° C obtida, denominada de PRRMH-AM1 17-23D (25,6 mg), foi comparada através de CCDA com as amostras PRRDP 13-15 e PRRDS 5-12, e chegamos à conclusão que se tratava do esteróide sitosterol.



Esquema 5: Fracionamento cromatográfico da fração PRRMH-AM1

4.3.2.2. Processamento da fração clorofórmica

A fração clorofórmica (PRRMC 11,92g) foi submetida a fracionamento em CC filtrante e eluída com solventes em polaridade crescente (diclorometano, acetato de etila e metanol), obtendo-se 3 frações (PRRMCD 270 mg, PRRMCE 6,31g e PRRMCM 5,36g, respectivamente).



Esquema 6: Fracionamento da fração clorofórmica

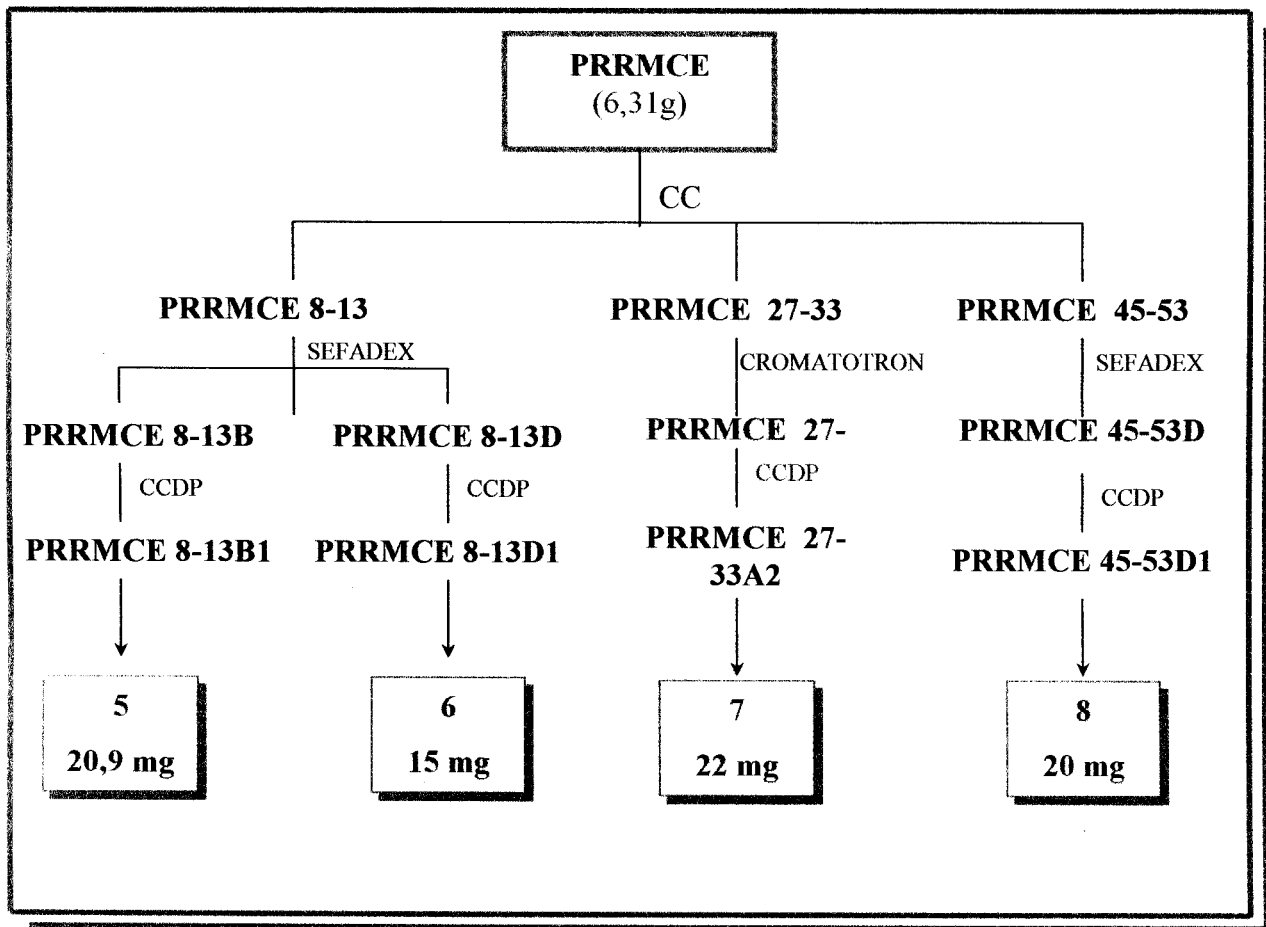
A fração PRRMCE (6,31g), foi fracionada através de CC, usando como eluente inicial clorofórmio em polaridade crescente com metanol, obtendo-se 119 frações de 100ml. A comparação das frações eluídas foi acompanhada através de CCDA e reveladas em UV(254 e 362nm), e foram reunidos os grupos que revelaram substâncias análogas.

A fração PRRMCE 8-13 (294,3 mg), foi fracionada em sefadex LH-20, utilizando como eluente clorofórmio/metanol (7:3), obtendo-se 21 frações que foram analisadas por CCDA e reunidas num total de 4 grupos. A fração PRRMCE 8-13B (onde B corresponde a fração 11-13), apresentou teste positivo para fenóis com cloreto de alumínio (reagente que indica presença de hidroxilas fenólicas), desse modo foi cromatografada em CCDP tendo como eluente diclorometano/metanol (9:1). A fração obtida, denominada de PRRMCE 8-13B1, foi analisada através de espectros de RMN ^1H , ^{13}C , $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY e IV. A partir da análise dos espectros, a substância foi identificada como sendo o 3,4-dihidroxibenzoato de metila (5), (20,9 mg, óleo). A fração PRRMCE 8-13D (onde D corresponde a fração 18-21), apresentou teste positivo

como eluente diclorometano/metanol (9:1). A fração obtida, denominada de PRRMCE 8-13D1, foi analisada através de espectros de RMN ^1H , ^{13}C , $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY e IV. A partir da análise dos espectros da amostra e comparação com dados da literatura, foi determinada como sendo a chalcona isoquiritigenina (**6**), (15 mg, PF 158° C).

A fração PRRMCE 27-33 (216,4 mg), foi cromatografada em Cromatotron tendo como eluente diclorometano/acetato de etila (1:1) onde foram recolhidas 19 frações que após serem analisadas por CCDA foram reunidas em 6 grupos. A fração denominada PRRMCE 27-33A apresentou teste positivo em cloreto de alumínio e foi cromatografada em CCDP tendo como eluente diclorometano/metanol (8:2). A fração obtida, denominada PRRMCE 27-33A2, foi analisada através de espectros de RMN ^1H , ^{13}C , HOMOCOSY e IV. A análise dos espectros da amostra e comparação com dados da literatura, foi identificada como sendo a 7,8,3',4'-tetraidroxiflavanona (**7**), (22 mg, óleo)

A fração PRRMCE 45-53 (161 mg), foi fracionada em sefadex LH-20 tendo como eluente clorofórmio/metanol (7:3), obtendo-se 38 frações que foram analisadas por CCDA e as frações foram reunidas em 5 grupos. A fração PRRMCE 45-53D (onde D corresponde a fração 36-37), apresentou teste positivo para fenóis cloreto de alumínio, desde modo foi cromatografada em CCDP tendo como eluente clorofórmio/acetato de etila (1:3). A fração obtida, denominada de PRRMCE 8-13D1, foi analisada através de espectros de RMN ^1H , ^{13}C , $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY e IV. A partir da análise dos espectros e comparação com dados da literatura, foi determinada como sendo o flavonóide 7,3',4'-triidroxiflavona (**8**), (20 mg, PF 213-214° C).



Esquema 7: Fracionamento da fração PRRMCE

4.4.Reações de Derivação

4.4.1. Acetilação de 1

a) Formação de 9: 70mg de 1 foram dissolvidos em piridina (2,0 ml) e adicionou-se anidrido acético (2,0 ml). Essa solução ficou em agitação magnética a temperatura ambiente por 24 horas. Dissolvida a solução em CH_2Cl_2 , adicionou-se água gelada (50 ml). A solução orgânica foi lavada com água duas vezes e com HCl 10% (20 ml) três vezes para tirar a piridina da fase orgânica. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado. O produto da reação foi analisado através de RMN ^1H , ^{13}C e IV.

4.4.2. Oxidação com PCC (pyridinium chlorochromate)

Preparação do PCC: Em uma solução de 25g de óxido de cromo com 45 ml de ácido clorídrico 6N, adicionou-se 19,8g de piridina. A solução ficou sobre agitação magnética a uma temperatura de 40° C por 10 min. A solução foi resfriada a 10° C e ocorreu a formação de precipitados laranja, que foi filtrado e seco³².

Formação de 10: 30 mg de PCC foi adicionado em uma solução de 13,6 mg de 2 em 5 ml de CH_2Cl_2 sob agitação magnética à temperatura ambiente por 2 horas. Então o excesso de solvente foi evaporado e o material foi filtrado em CC com carvão ativo, tendo como eluente hexano/acetato de etila (7:3). O produto da reação foi analisado por RMN ^1H e IV.

Formação de 16: 50 mg de PCC foi adicionado em uma solução de 29 mg de 4 em 5 ml de CH_2Cl_2 sob agitação magnética à temperatura ambiente por 2 horas. Então o

excesso de solvente foi evaporado e o material foi filtrado em CC com carvão ativo, tendo como eluente hexano/acetato de etila (7:3). O produto foi analisado por RMN ^1H e IV.

4.4.3. Metilação com diazometano

Preparação do Diazometano: Em um balão em banho de gelo colocou-se 2,14g de n-metil-n-nitroso-sulfonamida (Diazald ®) que foi solubilizado em 30 ml de éter etílico. Em seguida adicionou-se aos poucos uma solução de 10 ml de álcool etílico com 0,4g de KOH. Tampou-se o balão e deixou em agitação magnética (leve), até a homogeneização. Adaptou-se o balão ao kit de destilação Diazald com aquecimento brando em banho-maria. Após a destilação o diazometano foi condensado em um balão que deve estar em banho de gelo. O produto deve ser mantido à baixa temperatura.

- a) **Formação de 11, 12, 13, 14 e 15:** 13 mg de **3** foram dissolvidas em metanol e, então, adicionou-se excesso de diazometano. Após a evaporação do solvente, fez-se análise do resíduo com RMN ^1H , ^{13}C , DEPT, IV e EM, confirmando a formação dos produtos.

- b) **Formação de 17:** 15 mg de **5** (3,4-diidroxibenzoato de metila) foram dissolvidas em metanol e, então, adicionou-se excesso de diazometano. Após a evaporação do solvente, fez-se análise do resíduo com RMN ^1H e IV.

4.5. Especificação dos Materiais e Equipamentos

Os solventes de grau analítico da Merck, Grupo Química e Vetec, após destilação foram utilizados para extrações, partições e sistemas cromatográficos.

Para cromatografia em coluna sob pressão atmosférica e coluna rápida utilizou-se como adsorvente sílica-gel 60 da Merck, 230-400 mesh.

Para CCDA (espessura de 0,25 mm) e CCDP (espessura de 1,0 mm) utilizou-se como adsorvente sílica-gel 60 da Merck. As placas analíticas foram reveladas com vapores de iodo e irradiação no UV (254 e 356 nm). As placas CCDP foram reveladas com irradiação no UV (254 e 356 nm).

Para CCDA foram utilizadas também cromatofolhas de alumínio da Merck (sílica gel 60 F₂₅₄). As placas foram reveladas com vapores de iodo, irradiação no UV (254 e 356 nm) e com reveladores químicos.

Para cromatografia no cromatotron foi utilizada sílica kieselgel DGF₂₅₄, malha 5-40 µm da RIEDEL-DE HAËN.

Os espectros de RMN ¹H (1D) e (2D) foram registrados em espectrômetro Bruker AC-200 (¹H: 200,13 MHz; ¹³C: 50,3 MHz), utilizando-se como solventes CDCl₃, CD₃COCD₃, CD₃OD e TMS como referência interna. Os deslocamentos químicos foram medidos em unidades ppm (δ) da frequência aplicada e as áreas relativas dos picos de absorção obtidas por integração eletrônica.

Os espectros de absorção na região do IV foram registrados em espectrômetro Perkin Elmer FT – IR 1600 em pastilhas de KBr ou filme sobre cristal de NaCl. Os valores para as absorções foram medidos em unidades de números de ondas (cm⁻¹) e os espectros calibrados com filme de poliestireno de 0,5 mm de espessura, utilizando a absorção em 1601 cm⁻¹ como referência.

Os espectros de massas foram registrados em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas da marca VARIAN, modelo SATURN 2000.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Identificação dos Constituintes Isolados da Planta

5.1.1. Identificação da substância 1

A substância 1 foi identificada como sendo o esteróide sitosterol, este metabólito esteroidal está amplamente distribuído na natureza vegetal, mas muitas das vezes é isolado em mistura com um outro esteróide, o stigmasterol.

O espectro de IV (Figura 1, Página 102) revela a presença de bandas de deformação axial de ν_{O-H} (3424 cm^{-1}) que é confirmada pela banda em 1105 cm^{-1} (ν_{C-O}) de álcool secundário e a dupla ligação em 1646 cm^{-1} ($\nu_{C=C}$). As demais bandas estão de acordo com o esqueleto do esteróide.

O espectro de RMN ^1H (Figura 2, Página 103) possui sinais em δ_{H} 5,34 (sl) correspondente ao hidrogênio olefínico atribuído ao H-6, em δ_{H} 3,50 (m) de hidrogênio carbinólico atribuído ao H-3 e os sinais entre δ_{H} 0,6 e 2,2 de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos. Entre estes sinais pode-se destacar os singletos em δ_{H} 0,65 e 0,98 das metilas 18 e 19.

Considerando os dados anteriores, os conceitos da biossíntese de terpenos (Capítulo 6), os deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos (δ_{C} 140,69; δ_{CH} 121,62) carbinólico (δ_{CH} 71,66) e a contagem do número de sinais presentes no espectro de RMN ^{13}C (PND e DEPT, Figuras 3 e 4, Páginas 104 e 106) pode-se propor a

estrutura do sitosterol que foi confirmada através da comparação do PF (132-133^o C) e de deslocamentos químicos de hidrogênios e de carbonos (Tabelas 3 e 4, Páginas 40 e 41) da substância **1** com o padrão da literatura³³.

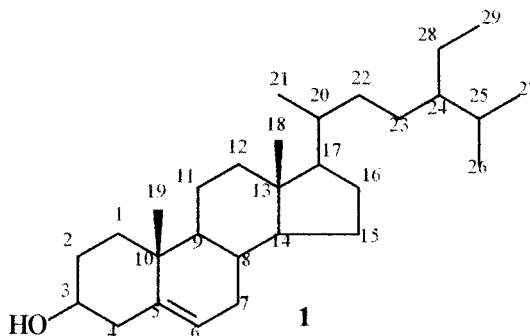


Tabela 3: Comparação dos dados de RMN ¹H (200,13 MHz, CDCl₃) da substância **1** com o padrão da literatura³³.

H	1 δ _H	Sitosterol ³³ δ _H
3	3,50 (m)	3,52 (m)
6	5,34 (sl)	5,35 (m)
18	0,65 (s)	0,68 (s)
19	0,98 (s)	1,01 (s)
21	0,91 (s)	0,92 (d)
26	0,82 (d)	0,83 (d)
27	0,80 (d)	0,81 (d)
29	0,88 (d)	0,84 (d)

Tabela 4: Comparação dos dados de RMN ^{13}C PND (50,3 MHz, CDCl_3) da substância **1** com o padrão da literatura³³.

C	1 δ_{C}	Sitosterol ³³ δ_{C}
5	140,70	140,7
10	36,41	36,5
13	42,18	42,3
CH		
3	71,65	71,8
6	121,63	121,7
8	31,80	31,9
9	50,03	50,1
14	56,67	56,8
17	55,97	56,0
20	36,08	36,1
24	45,72	45,8
25	29,04	29,1
CH₂		
1	37,17	37,2
2	31,53	31,6
4	42,18	42,3
7	31,80	31,9
11	21,01	21,1
12	39,69	39,8
15	24,22	24,3
16	28,17	28,2
22	33,84	33,9
23	25,95	26,0
28	22,98	23,0
CH₃		
18	11,79	11,9
19	19,76	19,4
21	18,70	18,8
26	18,98	19,8
27	19,76	19,0
29	11,91	12,0

5.1.2. Identificação da substância 2

O espectro de IV (Figura 5, Página 107) apresentou banda de absorção de 3400 cm^{-1} sugerido à presença de grupo hidroxila ($\nu_{\text{O-H}}$). As bandas de 2929 e 2866 cm^{-1} (ν_{CH}), 1461 e 1375 cm^{-1} ($\delta_{\text{C-H}}$) correspondem às absorções de CH, CH_2 e CH_3 .

A análise do espectro de RMN ^1H (Figura 6, Página 108) permitiu identificar os sinais correspondentes aos hidrogênios metílicos entre δ_{H} 0,73 e δ_{H} 1,65; o duplo dubleto em δ_{H} 3,2 corresponde ao hidrogênio carbinólico H-3; os dois sinais de dubletos em δ_{H} 3,7 (H-28b; $J=10$ Hz) e em δ_{H} 3,3 (H-28a; $J=10$ Hz) correspondem aos hidrogênios carbinólicos geminais do carbono 28; os dois sinais de singletos largos em δ_{H} 4,6 e 4,5 (H-29b e 29a, respectivamente) correspondem aos hidrogênios vinílicos geminais. O singlete em δ_{H} 1,65 pode ser atribuído à metila ligada ao carbono sp^2 . O espectro de RMN ^1H , $^1\text{H-COSY}$ (Figura 7, Página 109) mostra sinais de acoplamento entre os hidrogênios H-29a e H-29b, H-28a e H-28b e confirma atribuição destes sinais aos carbonos pertencentes a estes grupos funcionais.

Os espectros de RMN ^{13}C (PND e DEPT, Figuras 8 e 9, Páginas 110 e 112), que confirmaram a presença dos carbonos olefinicos (δ_{C} 150,4 e δ_{CH_2} 109,6) e dos carbonos carbinólicos (δ_{CH} 78,9 e δ_{CH_2} 60,5). Considerando as propostas biossintéticas de terpenos naturais, (Capítulo 6) a presença de mais de 5 carbonos quaternários, 5 metínicos, 10 metilênicos e 6 metilas permitiu atribuir a esta estrutura de um triterpeno pentacíclico da série lupano. Estes dados e informações descritos acima permitiram

propor a estrutura da betulina para **2**. A comparação dos deslocamentos químicos de C e H com os dados da betulina registrada na literatura³⁴ serviu para confirmar a proposta estrutural desta substância (Tabelas 5 e 6, Páginas 43 e 44).

Além da betulina estar bem distribuída entre as plantas, é a primeira vez que é isolada em espécies deste gênero. Ela possui algumas atividades farmacológicas como: atividade antiinflamatória e atividade contra células tumorais³⁵.

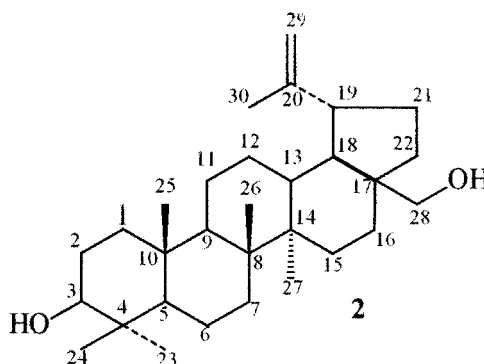


Tabela 5: Comparação dos dados de RMN ¹H (200,13 MHz, CDCl₃) da substância **2** com o padrão da literatura³⁴.

H	2 δ _H	Betulina ³⁴ δ _H
3	3,2 (dd)	3,2
23	0,87 (s)	0,92
24	0,73 (s)	0,75
25	0,80 (s)	0,81
26	0,95 (s)	0,96
27	0,99 (s)	1,01
28a	3,31 (d)	3,32
28b	3,78 (d)	3,78
29a	4,56	4,60
29b	4,66	4,60
30	1,65	1,68

Tabela 6: Comparação dos dados de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) da substância 2 (PND e DEPT) com os valores da literatura³⁴.

C	2 δ_{C}	Betulina ³⁴ δ_{C}
4	38,82	38,3
8	40,88	41,0
10	37,12	37,4
14	42,67	42,8
17	47,76	47,8
20	150,47	150,3
CH		
3	78,97	79,0
5	55,26	55,4
9	50,34	50,6
13	37,27	37,0
18	47,76	47,8
19	48,70	48,8
CH₂		
1	38,66	38,8
2	27,35	27,4
6	18,26	18,3
7	34,18	34,3
11	20,77	20,9
12	25,17	25,6
15	26,99	27,1
16	29,11	29,3
21	29,69	29,8
22	33,93	34,0
28	60,50	60,8
29	109,69	109,6
CH₃		
23	27,96	28,0
24	15,34	15,3
25	16,07	16,1
26	15,95	16,1
27	14,71	14,7
30	19,04	19,4

5.1.3. Identificação da substância 3

O espectro IV (Figura 10, Página 113) em pastilha de KBr, mostra bandas de absorção onde as atribuições estão demonstradas na Tabela 7 abaixo.

Tabela 7: Dados do espectro de IV da substância 3 em pastilha de KBr.

ν_{max} (cm ⁻¹)	Atribuição
3377	ν_{O-H}
3076	ν_{C-H} Aromático
1680	$\nu_{C=O}$
1605	$\nu_{C=C}$
1512	
1462	
1251	ν_{C-O}
1113	ν_{O-H} Álcool secundário
881	δ_{C-H}
838	Anel aromático

O espectro de RMN ¹H (Figura 11, Página 114) de uma fração contendo a betulina mostrou sinais adicionais correspondendo a hidrogênios de anel aromático, de grupo metoxila e de aldeído: δ_H 9,79 (s, 2H) e 3,94 (s, 6H).

Os espectros de ¹³C PND E DEPT (Figuras 12 e 13, Página 115 e 116), possuem sinais em 56,44 (OCH₃), 106,65 (2CH), 190,73 (CH), 128,33 (1C), 147,31 (1C) e

150,43 (2C) que não pertencem à betulina. A comparação dos valores dos espectros com os padrões da literatura^{36,37} estão na Tabela 8 (Página 47).

Estes dados e o valor de $m/z=182$ u do EM permitiu propor a estrutura do 3,5-dimetoxi-4-hidroxi-benzaldeído. Este composto está em mistura com a betulina na fração devido as seguintes considerações:

- a) o valor de C-3 de δ 78,97 está compatível com grupo OH neste carbono;
- b) a placa em camada fina desta fração revelou duas manchas próximas;
- c) as integrações dos sinais no espectro de RMN ^1H do aldeído são diferentes da integração do H-3 da betulina. Isto confirma se tratar de uma mistura;
- d) o espectro de massa de uma das substâncias detectadas no CG apresentou M^+182 .

A Tabela 8 mostra as atribuições dos δ_{H} e δ_{C} de **3**. Os modelos Mo-1³⁶ e Mo-2³⁷

da literatura serviu para confirmar o padrão de substituição proposto. Se os grupos OCH₃ estivessem em 2,6 e OH em 4 o valor δ_{CH} seria aproximadamente 95 (Mo-1) e o valor 107,3 está mais compatível para a proposta (Mo-2). Este valor está mais próximo do δ_{CH} de **3**.

A análise do espectro de massas (Figura14, Página117) obtido com impacto por elétrons, permitiu propor as fragmentações da substância **3** (Esquema 8, Página 48).

Este espectro mostra o pico [M^+] em m/z 182 (100%), $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$, e os picos que permitem propor alguns fragmentos m/z 167 [14%, m/z 182 – 15 (CH_3), $\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_5$], 153 [10%, m/z 182 – 29 (HC=O), $\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_4$], 135 [12%, m/z 153 – 18 (H_2O), $\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_3$], 93 [20%, m/z 153 – 60 ($2x \text{H}_2\text{C=O}$), $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}$] e 65 [31%, m/z 93 – 28 (CO), C_5H_5].

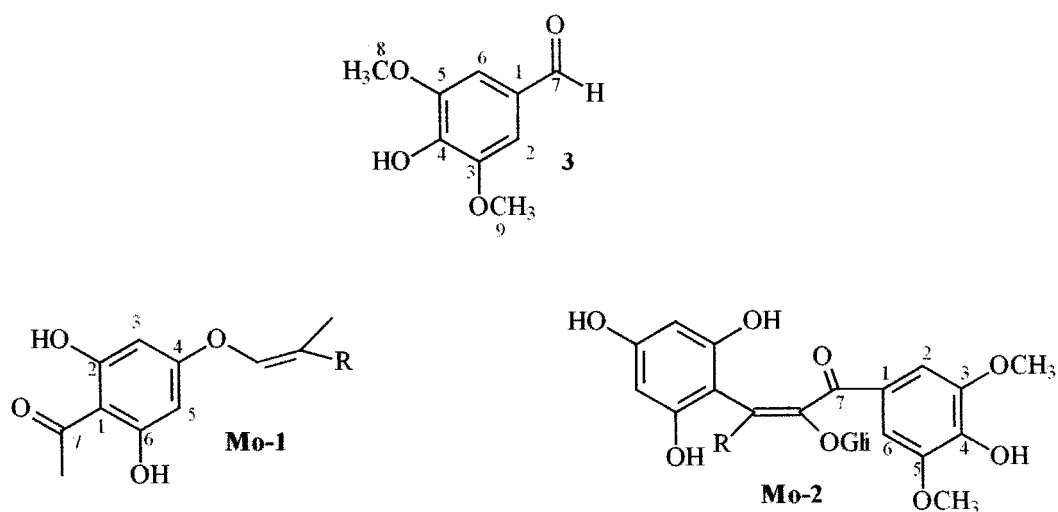
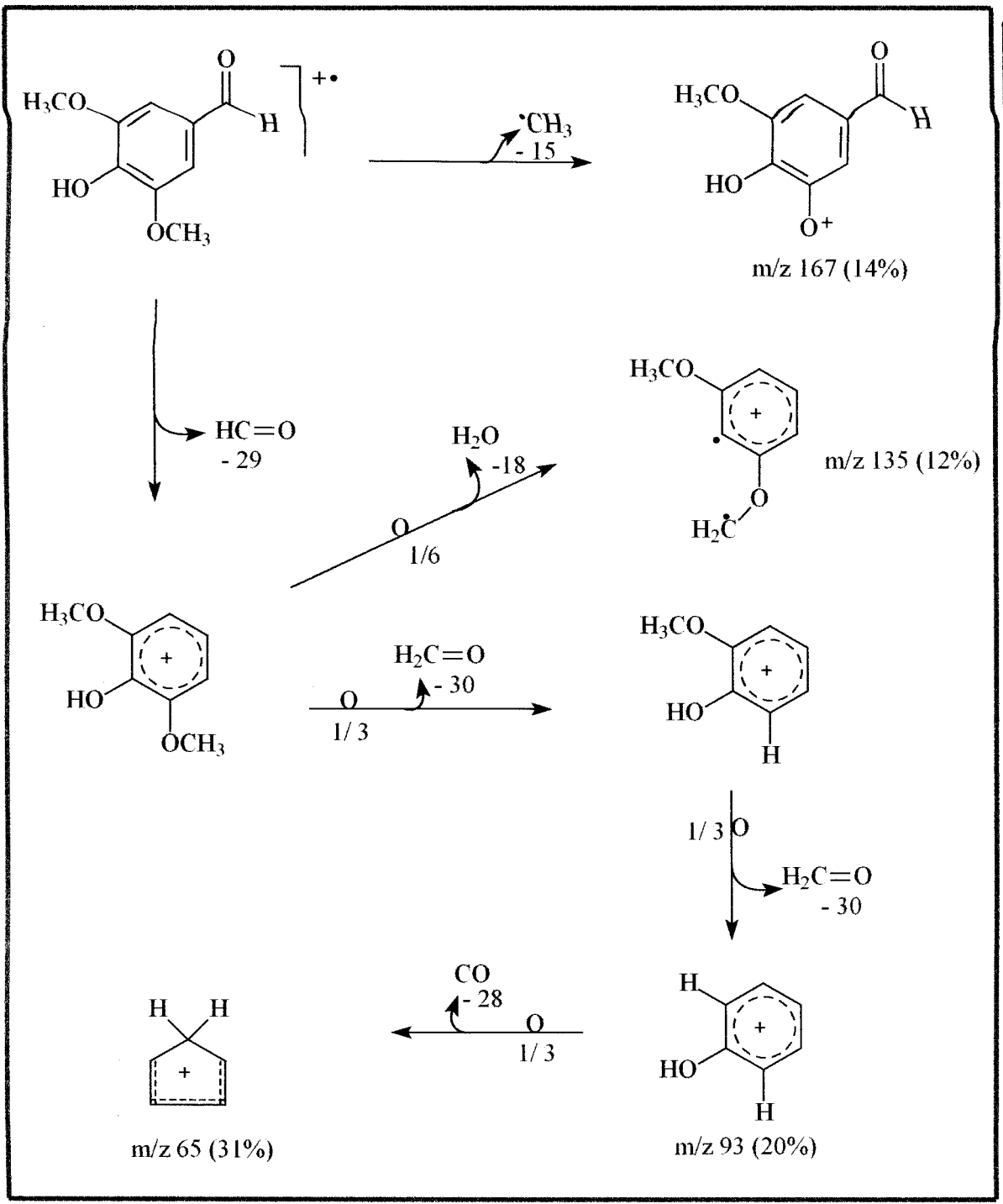


Tabela 8: Comparação dos dados de RMN ^1H (200,13 MHz) e ^{13}C (50,3 MHz) da substância **3** em CDCl_3 com os padrões das literaturas ^{36, 37}.

C	3 δ_{H}	3 δ_{C}	Mo-1 ³⁶ δ_{C}	Mo-2 ³⁷ δ_{C}
1	-	128,33	105,3	126,9
2	7,12	106,61	163,6	107,3
3	-	147,31	95,0	147,3
4	-	140,79	165,4	140,7
5	-	147,31	95,0	147,3
6	7,12	106,61	163,6	107,3
7	9,79	190,73	203,7	182,1
OCH ₃	3,94	56,44	-	55,84



Esquema 8: Proposta de fragmentação da substância 3 no espectrômetro de massas registrada por impacto de elétrons.

5.1.4. Identificação da substância 4

O espectro de IV (Figura 15, Página 118) da substância 4 apresenta bandas de absorção em 3353 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$), 2927 e 2855 cm^{-1} (ν_{CH}), 1458 e 1380 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-H}}$ de CH, CH₂ e CH₃) e 1641 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=C}}$).

Os sinais simples observados no espectro de RMN ¹H (Figura 16, Página 119) representam os hidrogênios metílicos (δ_{H} 0,73 e 1,65). O duplo dubleto em δ_{H} 3,2 ($J=10,8$ e $5,2$ Hz) corresponde ao hidrogênio carbinólico H-3. Os sinais de dois dubletos em δ_{H} 4,6 e 4,5 (2,1 Hz) de dois hidrogênios vinílicos e o singlete em 1,65 confirma a presença deste grupo funcional sustentando um grupo metila. Estes sinais são característicos de triterpenos da série lupano. (Capítulo 6).

Os espectros de RMN ¹³C (PND e DEPT Figuras 17 e 18, Páginas 120 a 122), confirmam a presença de carbonos olefínicos (δ_{C} 150,9 e δ_{CH_2} 109,3) e do carbono carbinólico (δ_{CH} 79,0). Os demais sinais estão de acordo com os deslocamentos químicos dos carbonos metínicos, metilênicos e metílicos do triterpeno da série indicada acima permitindo propor a estrutura do lupeol para 4. A comparação dos deslocamentos químicos dos hidrogênios e dos carbonos do lupeol ^{38, 39} estão nas Tabelas 9 e 10 (Páginas 50 e 51).

O lupeol, assim como a betulina, está sendo isolado pela primeira vez no gênero *Piptadenia*, e também está amplamente distribuído nas plantas superiores e possuindo atividade biológica contra células tumorais³⁵.

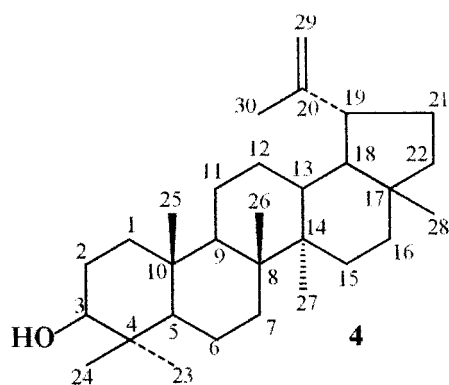


Tabela 9: Comparação dos dados de RMN ^1H (200,13 MHz, CDCl_3) da substância **4** com o padrão da literatura³⁸.

H	4 δ_{H}	Lupeol ³⁸ δ_{H}
3	3,16 (m)	3,40 (m)
18	2,31 (m)	2,28 (m)
19	2,39 (m)	2,35 (m)
23	1,00 (s)	0,94 (s)
24	0,80 (s)	0,84 (s)
25	0,76 (s)	0,77 (s)
26	0,94 (s)	0,92 (s)
27	0,91 (s)	0,82 (s)
28	0,73 (s)	0,75 (s)
29	4,66 (d); 4,54 (d)	4,50 (sl); 4,70 (sl)
30	1,65 (s)	1,67 (s)

Tabela 10: Comparação dos dados de RMN ^{13}C PND (50,3 MHz, CDCl_3) da substância **4** com os dados da literatura³⁹.

C	4 δ_{C}	Lupeol ³⁹ δ_{C}
4	38,85	38,8
8	40,82	40,8
10	37,15	37,1
14	42,82	42,8
17	42,97	43,0
20	150,99	150,9
CH		
3	79,0	78,9
5	55,28	55,3
9	50,40	50,4
13	38,03	38,0
18	48,28	48,2
19	47,97	47,9
CH₂		
1	38,66	38,7
2	27,38	27,4
6	18,29	18,3
7	34,24	34,2
11	20,89	20,9
12	25,11	25,1
15	27,38	27,4
16	35,57	35,5
21	29,81	29,8
22	39,97	40,0
29	109,32	109,3
CH₃		
23	27,96	28,0
24	15,34	15,4
25	16,10	16,1
26	15,95	15,9
27	14,53	14,5
28	17,98	18,0
30	19,29	19,3

5.1.5. Identificação da substância 5

A Tabela 11 mostra as atribuições das bandas de absorção presente no espectro de IV (Figura 19, Página 123) em pastilha de KBr.

Tabela 11: Dados do espectro de IV da substância 5 em pastilha de KBr.

ν_{\max} (cm ⁻¹)	Atribuição
3318	$\nu_{\text{O-H}}$
1692	$\nu_{\text{C=O}}$
1604	$\nu_{\text{C=C}}$
1522	
1442	
1233	$\nu_{\text{C-O}}$
888	$\delta_{\text{C-H}}$
831	Anel aromático

Os sinais de deslocamento químico no espectro de RMN ¹H (Figura 20, Página 124) em δ_{H} 7,34 (m, 2H) e δ_{H} 7,29 (dl, J=8,2 Hz, 1H) de 3H aromáticos e o singlete em δ_{H} 3,69 (OCH₃) permite sugerir um sistema aromático trissubstituído.

O espectro de RMN ¹³C (PND Figura 21, Página 125) da substância 5 apresenta, além dos sinais de carbonos aromáticos quaternários (δ_{C} 121,96; 144,98 e 150,17),

metínicos (δ_{CH} 115,02; 116,14 e 122,36), um sinal de carbonila de éster em δ_C 166,45 ppm, e um sinal em δ_C 51,18 de grupo metoxila de éster. Estas informações e os dados acima estão de acordo com a estrutura do 3,4-diidroxi-benzoato de metila para **5**, isolado pela primeira vez no gênero *Piptadenia*.

Os dados de deslocamento químico de RMN 1H e a comparação dos deslocamentos químicos dos carbonos registrados na literatura⁴⁰ estão na Tabela 12.

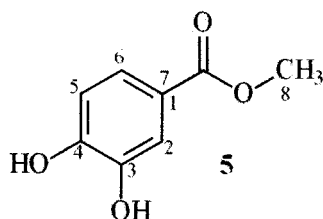


Tabela 12: Dados de RMN 1H (200,13 MHz) e ^{13}C PND (50,3 MHz) em acetona d_6 da substância **5**, comparados com o padrão da literatura⁴⁰.

C	5 δ_H	5 δ_C	Literatura ⁴⁰ δ_C
1	-	122,36	124,5
2	7,28 (s)	116,14	117,5
3	-	144,98	145,3
4	-	150,17	150,8
5	6,79 (d, J=8,14Hz)	115,02	115,7
6	7,32 (d, J=8,14Hz)	121,96	123,9
7	-	166,45	167,0
8	-	51,18	52,3

5.1.6. Identificação da substância 6

O espectro de IV (Figura 22, Página 126) em pastilha de KBr da substância 6 apresenta bandas de absorção atribuídas abaixo na Tabela 13.

Tabela 13: Dados do espectro de IV da substância 6 em pastilha de KBr.

ν_{\max} (cm ⁻¹)	Atribuição
3382	$\nu_{\text{O-H}}$
2923	
2853	$\nu_{\text{C-H}}$
1630	$\nu_{\text{C-O}}$
1547	$\nu_{\text{C=C}}$
1511	
1450	
1222	$\nu_{\text{C-O}}$
831	$\delta_{\text{C-H}}$
796	

O espectro de RMN ¹H (Figura 23, Página 127) da substância 6 possui sinais correspondentes a hidrogênios de dois anéis aromáticos: δ_{H} 6,33 (1H, d, J=2,0 Hz), 6,45 (1H, dd, J=8,72 Hz e J=2,44Hz), 6,90 (2H, d, J=8,72 Hz), 7,67 (2H, d, J=9,06 Hz), 8,01 (1H, d, J=9,06 Hz), e dois sinais de uma enona trans em δ_{H} 7,65 (1H, d, J=15,0 Hz) e 7,84 (1H, d, J=15,0 Hz). O espectro bidimensional ¹H,¹H COSY (Figura 24, Página 128) possui sinais de acoplamentos entre dubletos de 2H constituindo um sistema AA', BB', entre os três sinais em 6,33 (d), 6,45 (dd) e 8,01(d) do outro anel aromático e entre

os dubletos de $J = 15$ Hz que pertencem aos hidrogênios da enona. O valor em δ_H 8,01 (d, 1H) é compatível com um hidrogênio orto a carbonila permitindo sugerir o anel trissubstituído ligado a este grupo. Os dois anéis aromáticos e a enona constituem um esqueleto básico de uma chalcona conhecida como isoliquiritigenina já registrada nas literaturas ^{41,42}.

Esta proposta é confirmada pelos dados do espectro de RMN ¹³C (Figura 25, Página 129) de **6** que apresenta deslocamentos químicos correspondentes a chalcona citada acima cuja comparação dos dados com os valores da literatura^{41,42} confirma a proposta estrutural (Tabela 14 e 15, Páginas 56 e 57). É a primeira vez que se registra esta chalcona neste gênero.

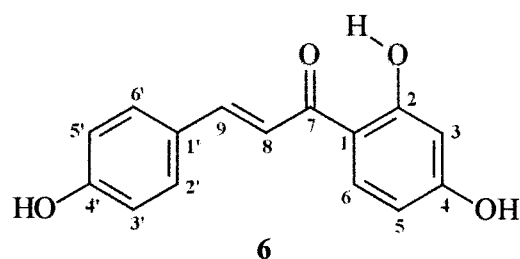


Tabela 14: Comparação dos dados de RMN ^1H (200,13 MHz, acetona d_6) da substância **6** com o padrão da literatura⁴¹.

H	6 δ_{H}	Isoliquiritigenina ⁴¹ δ_{H}
3	6,33 (d) J= 2,01 Hz	6,35 (d) J= 2,6 Hz
5	6,45 (dd) J= 8,72 Hz e J= 2,44 Hz	6,45 (dd) J= 8,6 Hz e J= 2,6 Hz
6	8,01 (d) J= 9,06 Hz	8,10 (d) J= 8,6 Hz
8	7,65 (d) J= 15,0 Hz	7,76 (d) J= 15,1 Hz
9	7,84 (d) J= 15,0 Hz	7,82 (d) J= 15,1 Hz
2'	7,67 (d) J= 9,06 Hz	7,73 (d) J= 8,7 Hz
3'	6,90 (d) J= 8,72 Hz	6,92 (d) J= 8,7 Hz
5'	6,90 (d) J= 8,72 Hz	6,92 (d) J= 8,7 Hz
6'	7,67 (d) J= 9,06 Hz	7,73 (d) J= 8,7 Hz

Tabela 15: Comparação dos dados de RMN ^{13}C PND (50,3 MHz, acetona d_6) da substância **6** com os dados da literatura⁴².

C	6 δ_{C}	Isoliquiritigenina ⁴² δ_{C}
1	116,19	113,2
2	—	164,6
3	103,91	102,6
4	—	165,4
5	109,49	107,9
6	133,35	132,3
7	—	191,4
8	118,34	117,8
9	145,51	143,8
1'	127,83	125,8
2'	131,74	130,6
3'	116,95	115,8
4'	—	159,9
5'	116,95	115,8
6'	131,74	130,6

5.1.7. Identificação da substância 7

A substância 7 forneceu espectro de IV (Figura 26, Página 130) com bandas de absorção em 3380 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$), 2924 e 2854 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-H}}$), 1665 cm^{-1} que pode ser atribuída a carbonila conjugada além dos sinais em 1606 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=C}}$), 1284 cm^{-1} ($\nu_{\text{Ar-O}}$), 1180 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$), 808 e 723 cm^{-1} ($\delta_{\text{C-H}}$).

O espectro de RMN ^1H (Figura 27, Página 131, Tabela 16, Página 59) possui sinais em: δ_{H} 2,63 Hax (1H, d, $J=14\text{Hz}$), 3,04 Heq (1H, d, $J=16\text{Hz}$), correspondentes a 2H geminais cuja vizinhança com o hidrogênio carbinólico em δ_{H} 5,36 Heq (1H, dl, 11Hz) é revelada pelo espectro de 2D [1H,1H-COSY]. Os sinais dos hidrogênios aromáticos em δ_{H} 6,57 (1H, d, $J=8,2\text{ Hz}$), 6,85 (2H, sl), 7,03 (1H, sl) e 7,28 (1H, d, $J=8,2\text{ Hz}$) representam dois anéis aromáticos oxigenados.

O espectro bidimensional ^1H , ^1H - COSY (Figura 28, Página 132) possui sinais de interações dos hidrogênios: δ_{H} 6,57 (1H) e 7,28 (1H) que constituem um sistema AB e os dois singletos largos em δ_{H} 6,85 (2H) e 7,03 (1H) apresentando um acoplamento a longa distância de três hidrogênios de um anel aromático trissubstituído. Estes dados estão compatíveis com uma flavanona sem H em ponte com a carbonila. Esta dedução se baseia também, na ausência do sinal em torno de 13 ppm ($\delta_{\text{O-H}}$ em ponte) e no valor 7,28 (d, $J=8,2\text{Hz}$) de 1H orto a carbonila sofrendo o efeito de proteção da OH em *para*.

O espectro de RMN ^{13}C PND (Figura 29, Página 133) da substância 7 apresenta sinais de deslocamentos químicos, que foram comparados com os dados da literatura⁴³ confirmando a proposta estrutural (Tabela 16, Página 59).

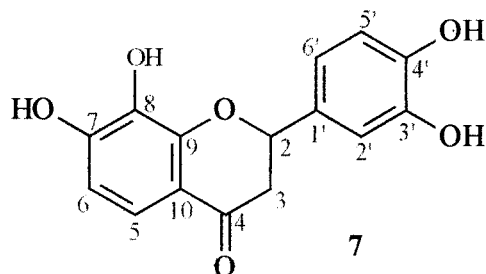


Tabela 16: Dados de RMN ^1H (200,13 MHz, acetona d_6) e ^{13}C PND (50,3 MHz) da substância 7 comparados com o padrão da literatura⁴³.

C	7 δ_{H}	7 δ_{C}	7,8,3',4'- tetraidroxiflavanona ⁴³
2	5,36 (dd)	80,72	80,4
3	2,63 (d) J= 14 Hz	44,51	43,8
	3,04 (d) J= 16 Hz		
4	—	190,59	194,5
5	7,28 (d) J= 8,2 Hz	118,87	119,7
6	6,57 (d) J= 8,2 Hz	110,04	111,1
7	—	152,17	153,2
8	—	133,18	133,8
9	—	152,00	152,0
10	—	110,04	111,1
1'	—	131,45	131,5
2'	7,03 (sl)	114,41	115,2
3'	—	148,35	145,9
4'	—	145,59	145,6
5'	6,85 (sl)	115,50	116,5
6'	6,85 (sl)	118,08	119,5

5.1.8. Identificação da substância 8

A análise do espectro de IV (Figura 30, Página 134) da substância **8** permitiu identificar as bandas de absorção em 3238 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$) de grupo hidroxila, 1624 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$) de carbonila de cetona conjugada, 1272 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-O-C}}$) de éter cíclico e em 866 e 816 cm^{-1} (ν_{CH}) banda de deformação de CH aromático fora do plano do anel aromático substituído.

O espectro de RMN ^1H (Figura 31, Página 135) de **8** possui sinais correspondentes de sete hidrogênios aromáticos: δ_{H} 6,68 (1H, s), 6,96 (1H, dd), 6,99 (2H, sl), 7,46 (2H, m) e 8,01 (1H, d, $J = 8,56\text{ Hz}$). O sinal duplo em 8,01 representa um hidrogênio vizinho a apenas um hidrogênio que é representado pelo duplo duplete (δ_{H} 6,96) que acopla com H que absorve em δ_{H} 6,99. Estes sinais são do hidrogênio de um anel aromático trissubstituído ligado a grupo carbonila. O sinal singleto em δ_{H} 6,68 permitiu propor uma unidade benzopirenona. Os demais sinais de δ_{H} em 7,46 (m, 2H), 6,98 (sl) representam outro anel aromático trissubstituído. Este anel e a unidade acima permite propor a estrutura de uma flavona com três grupos hidroxilas. Esta proposta foi confirmada pelas informações obtidas no espectro de RMN ^{13}C (Figura 32, Página 136) contendo uma C=O (δ_{C} 180,4).

O espectro de massas (Figura 33, Página 137) apresenta picos cujas fragmentações estão de acordo com o Esquema 9 (Página 64). Este espectro mostra o pico $[\text{M}^{+2}]$ em m/z 272 (1%), $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$, e os picos que permitem propor alguns fragmentos m/z 178 [100%, m/z 270 – 92, $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$], 161 [43%, m/z 270 – 109, $\text{C}_9\text{H}_5\text{O}_3$], 133 [14%, m/z 161 – 28 (CO), $\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_2$], 109 [1%, m/z 161 – 52, $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_2$], 161 [43%, 178 – 17 (OH), $\text{C}_9\text{H}_5\text{O}_3$] e 92 [1%, m/z 270 – 178, $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}$].

As flavonas constituem uma classe de compostos freqüentes na natureza. Este padrão de oxigenação dos flavonóides **7** e **8** podem ser usados como característica dos marcadores taxonômicos da família e, provavelmente do gênero *Piptadenia*. As flavonas tem sido descritas por possuírem certas funções farmacológicas e farmacêuticas como: inibidoras de HIV-1 proteinase, prostagladina endoperóxido sintase e do acceptor NAD(P)H-quinona óxidoredutase. Estudos indicam que a ação inibidora das flavonas envolve a substituição de grupo hidroxila no C-7⁴⁴.

A comparação dos valores encontrados nos espectros com os dados das literaturas ^{42, 45} estão nas Tabela 17 e 18 (Páginas 62 e 63), servirá para confirmar a proposta estrutural de **8**.

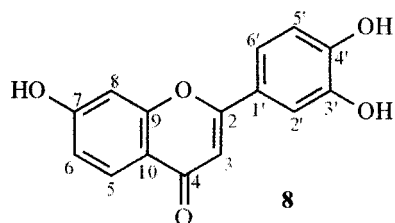
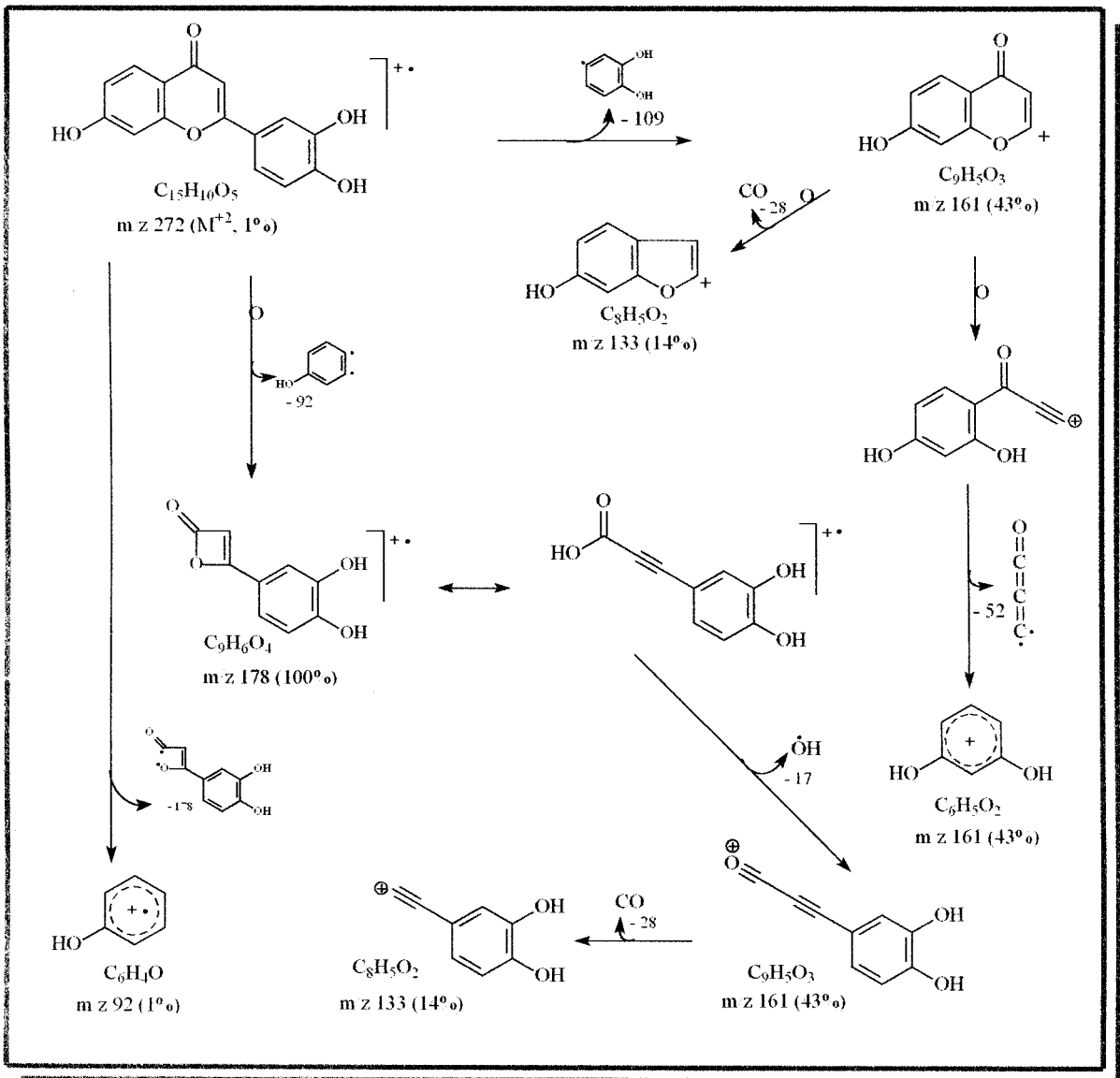


Tabela 17: Comparação dos dados de RMN ^1H (200,13 MHz, MeOD) da substância **8** com os dados da literatura⁴⁵.

H	8	7, 3',4' - triidroxiflavanona ⁴⁵
	δ_{H}	δ_{H}
3	6,68 (s)	6,79 (s)
5	8,01 (d, J = 8,36 Hz)	7,89 (d) J= 8,7Hz
6	6,96 (dd)	6,93 (dd) J= 8,7 Hz e J= 2,2 Hz
8	6,99 (d)	7,00 (d) J= 2,2 Hz
2'	7,48 (d)	7,43 (d) J= 2,1 Hz
5'	6,98 (d)	6,90 (d) J= 8,9 Hz
6'	7,45 (d)	7,40 (dd) J= 8,9 Hz e J=2,1 Hz

Tabela 18: Comparação dos dados de RMN ^{13}C PND (50,3 MHz, MeOD) da substância **8** com os dados da literatura⁴².

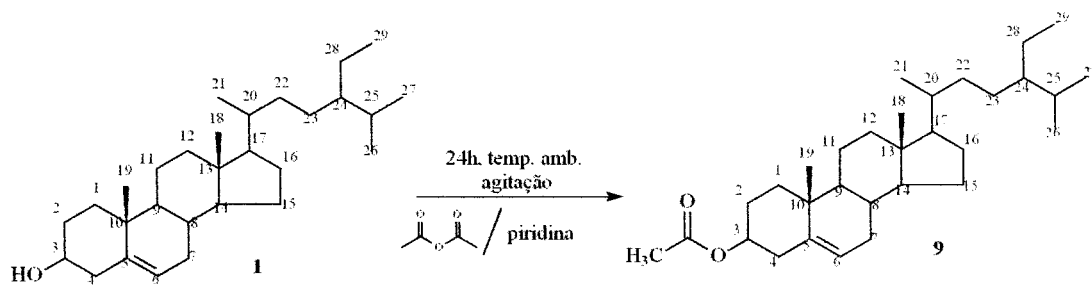
C	8	7, 3',4' - triidroxiflavanona ⁴³
	δ_{C}	δ_{C}
2	165,7	162,7
3	105,2	104,7
4	180,4	176,3
5	127,8	126,4
6	114,2	114,7
7	165,3	162,4
8	103,6	102,4
9	157,8	157,4
10	116,6	116,1
1'	124,1	122,9
2'	116,5	114,0
3'	147,2	145,8
4'	151,0	149,5
5'	116,9	116,2
6'	120,3	119,4



Esquema 9: Proposta de fragmentação da substância **8** no espectrômetro de massas registrado por impacto de elétrons.

5.2. Determinação Estrutural dos Derivados

5.2.1. Determinação de 9

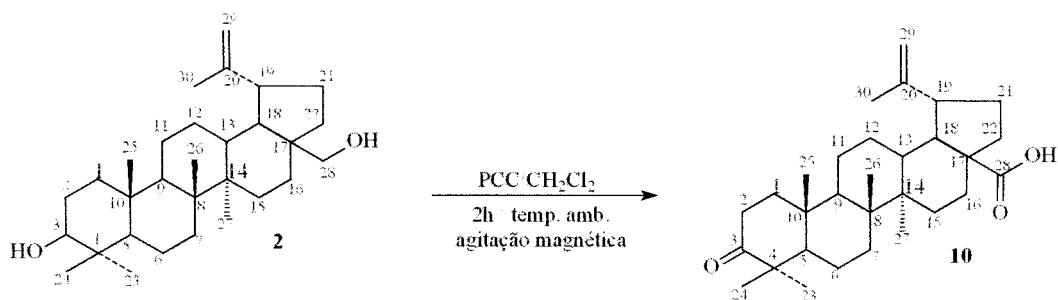


A reação de **1** com anidrido acético e piridina forneceu o acetato do sitosterol (**9**) resultante da substituição do grupo hidroxila por um acetato. A substituição pode ser confirmada no espectro de IV (Figura 34, Página 138) pelo desaparecimento da banda de absorção em 3424 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$) e o aparecimento de uma banda em 1731 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$) de uma carbonila de éster. No espectro de RMN ^1H (Figura 35, Página 139) observou-se o deslocamento do H-3 em δ_{H} 3,50 (m) para 4,59 (m) bom para hidrogênio metínico ligado ao oxigênio da função éster, e ocorreu também o aparecimento de um sinal em δ_{H} 1,99 de hidrogênios metílicos de acetatos. No espectro de RMN ^{13}C (Figura 36, Página 140) mostrou o aparecimento de um sinal em δ_{C} 170,43 da carbonila de éster e um sinal em δ_{C} 20,98 da metila ligada a carbonila, sendo observado também o deslocamento do C-2 de δ_{C} 31,53 para 27,72. Os demais sinais estão de acordo com a substância de partida, que podem ser observados na Tabela 19 (Página 66).

Tabela 19: Comparação dos valores obtidos nos espectros de RMN ^1H (200,13 MHz) e ^{13}C (50,3 MHz) do derivado **9** com a substância de partida **1**(sitosterol).

C	9 δ_{H}	1 (sitosterol) δ_{H}	9 δ_{C}	1 (sitosterol) δ_{C}
1	—	—	36,94	37,17
2	—	—	27,72	31,53
3	4,59 (m)	3,50 (m)	73,90	71,65
4	—	—	42,24	42,18
5	—	—	139,56	140,70
6	5,35 (sl)	5,34 (sl)	122,60	121,63
7	—	—	31,83	31,80
8	—	—	31,83	50,03
9	—	—	49,98	36,41
10	—	—	36,51	21,01
11	—	—	21,38	36,69
12	—	—	39,66	42,18
13	—	—	42,24	56,67
14	—	—	56,62	24,22
15	—	—	24,23	28,17
16	—	—	28,20	55,97
17	—	—	55,98	11,79
18	0,64 (s)	0,65 (s)	11,80	19,76
19	0,98 (s)	0,98 (s)	19,77	36,08
20	—	—	36,12	18,70
21	0,90 (s)	0,91 (s)	18,74	33,84
22	—	—	33,87	25,95
23	—	—	25,99	45,72
24	—	—	45,76	29,04
25	—	—	29,08	18,98
26	0,85 (s)	0,82 (s)	18,98	19,76
27	0,81 (s)	0,80 (s)	19,77	22,98
28	—	—	22,99	11,91
29	0,87 (s)	0,88 (s)	11,92	—
30	—	—	170,43	—
31	1,99 (s)	—	20,98	—

5.2.2. Determinação de 10



A reação de oxidação da substância **2** com PCC, forneceu um produto cuja confirmação foi feita, á partir da análise dos espectros de IV e RMN ¹H, permitindo confirmar a formação da substância **10**. A confirmação foi feita através da comparação dos valores obtidos para **10** com os dados da substância de origem **2** (Tabela 20, Página 68).

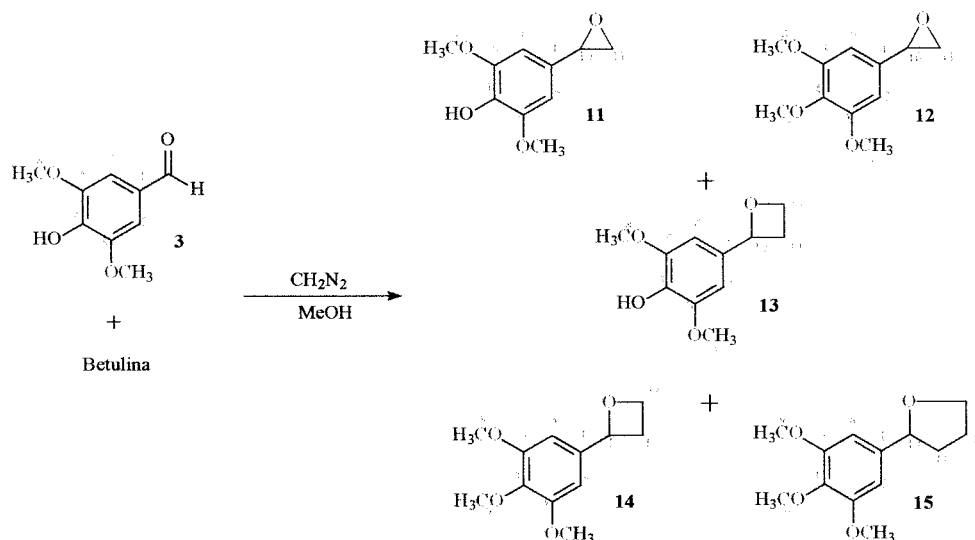
No espectro de IV (Figura 37, Página 141) foi observada uma banda de absorção em 1706 cm⁻¹ ($\delta_{C=O}$) da função carbonila esperada, e a permanência da banda em 3423 cm⁻¹ (δ_{O-H}) larga confirmando a formação do grupo ácido carboxílico.

O espectro de RMN ¹H (Figura 38, Página 142) foi mais informativo, com o desaparecimento dos sinais em δ_H 3,78 (1H, d) e 3,31 (1H, d) com acoplamentos geminais, pertencentes aos hidrogênios do carbono carbinólico 28 e confirmando assim a formação do ácido carboxílico; e o desaparecimento do sinal em δ_H 3,2 (1H, m) do hidrogênio do carbono carbinólico 3 confirmando a formação da função cetona. Tais funções eram esperadas pois o reagente utilizado oxida álcoois secundários a cetonas e álcoois primários em ácidos carboxílicos.

Tabela 20: Comparação dos valores obtidos nos espectros de RMN ^1H (200,13 MHz) do derivado **10** com a substância de partida **2** (betulina).

H	10 δ_{H}	2 (betulina) δ_{H}
3	—	3,2
23	0,94	0,87
24	0,85	0,73
25	0,91	0,80
26	1,00	0,95
27	1,05	0,99
28a	—	3,31
28b	—	3,78
29a	4,58	4,56
29b	4,71	4,66
30	1,43	1,65

5.2.3. Identificação dos compostos da mistura (11 + 12 + 13 + 14 + 15)



A reação de **3** com diazometano forneceu os derivados acima, as estruturas foram propostas de acordo com os espectros de RMN ^1H , ^{13}C , DEPT, IV e CG-EM. Apesar da amostra ser constituída de uma mistura da betulina com o aldeído, o diazometano reagiu somente com o aldeído, pois, os sinais pertencentes a betulina não sofreram alteração.

O espectro de IV (Figura 39, Página 143) em pastilha de KBr, mostrou bandas de absorção cujas as atribuições estão na Tabela 21 abaixo.

Tabela 21: Dados do espectro de IV das substâncias (**2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15**) em pastilha de KBr.

ν_{max} (cm ⁻¹)	Atribuições
3389	$\nu_{\text{O-H}}$
3076	$\nu_{\text{C=C-H}}$
2932, 2865	$\nu_{\text{C-H}}$
1642, 1590, 1507, 1460	$\nu_{\text{C=C}}$
1422	$\nu_{\text{epóxido}}$
1237	$\nu_{\text{C-O}}$ (fenol)

Os espectros de RMN ^1H e ^1H , ^1H -COSY (Figura 40 e 41, Página 144 e 145) apresentaram além dos sinais correspondentes aos hidrogênios da betulina, os sinais em δ_{H} 7,19 (s), 7,11 (s), 6,48 (s), 6,44 (s) e 6,38 (s) de hidrogênios aromáticos e, sinais em δ_{H} 3,89 e 3,82 (s) de metoxilas. Apresenta um multiplete em δ_{H} 3,82; 3,12; 2,79; 2,56 e 2,15 (Tabela 22, Página 73) correspondentes a hidrogênios carbinólicos de epóxidos e pirâmicos.

Nos espectros de RMN ^{13}C PND e DEPT (Figuras 42 e 43, Páginas 146 a 149) apresentam os sinais correspondentes a betulina e sinais adicionais em: de δ_{C} (105,86), de δ_{CH} (105,80; 102,13; 77,21; 52,56), de δ_{CH_2} (51,25; 26,4) que estão despostos na Tabela 23 (Página 74).

Com base nos possíveis mecanismos de adição do nucleófilo $\text{H}_2\text{C}^--\text{N}_2^+$ (Esquema 10, Página 75) à carbonila, , nos sinais observados nos espectros de RMN ^{13}C e nos valores dos picos registrados no CG-EM (Tabela 24, Página 75), propôs-se a formação de **11**, **12**, **13**, **14** e **15**. O espectro de **11** (M^+ 196) não revelou a perda de 29u e ou 14u isto faz eliminar a possibilidade do aldeído entre os produtos. Assim para **11** propôs-se a estrutura do epóxido dimetoxilado (Esquema 11, Página 76). O valor do M^+ 210 e a fácil perda de 15u e de 43u esta de acordo com a estrutura do epóxido **12**.

O valor de δ_{CH} 77 ppm no espectro de RMN ^{13}C e o valor de M^+ 210 com perda, de 43 formando o pico 167 correspondente ao íon tropílio permitiu propor a estrutura **13**. O mesmo acontece para o valor de M^+ 224 de fácil perda, de 43 formando o pico base 181 que corresponde também ao íon tropílio permitindo propor a estrutura do trimetóxi-furano para **14**.

A facilidade de perda de CH_3 preferencial a perda de 43u levam a proposta do dimetoxi-furano **15**. A perda de 29u para formar 195 permite eliminar a possibilidade de epóxido como em **14**.

Abaixo estão descritos os íons moleculares e as fragmentações dos picos principais observados em cada espectro de massa com impacto por elétrons foram atribuídas através de reações relativamente simples, informativas e previstas nas estruturas:

11) O espectro de massas (Figura 44, Página 150), apresentou o pico m/z 196 [M^+ , 100%], e foram observados os seguintes fragmentos (Esquema 11, Página 76): m/z 165 [4%, m/z 196 – 31 (CH_3O), $C_9H_9O_3$], m/z 135 [5%, m/z 165 – 30 (CH_2O), $C_8H_7O_2$], m/z 181 [57%, m/z 196 – 15 (CH_3), $C_9H_9O_4$], m/z 153 [10%, m/z 181 – 43 (C_2H_3O), $C_8H_9O_3$], m/z 123 [5%, m/z 153 – 30 (CH_2O), $C_7H_7O_2$], m/z 93 [26%, m/z 123 – 30 (CH_2O), C_6H_5O].

12) O espectro de massas (Figura 45, Página 151), apresentou o pico m/z 210 [M^+ , 30%], e foram observados os seguintes fragmentos (Esquema 12, Página 77): m/z 181 [100%, m/z 210 – 29 (HCO), $C_{10}H_{13}O_3$], m/z 151 [5%, m/z 181 – 30 (CH_2O), $C_9H_{11}O_2$], m/z 167 [5%, m/z 210 – 43 (C_2H_3O), $C_9H_{11}O_3$], m/z 148 [17%, m/z 210 – 62 ($C_2H_6O_2$), $C_9H_8O_2$].

13) O espectro de massas (Figura 46, Página 152), apresentou o pico m/z 210 [M^+ , 60%], e foram observados os seguintes fragmentos (Esquema 13, Página 78): m/z 195 [100%, m/z 210-15 (CH_3), $C_{10}H_{11}O_4$], m/z 139 [15%, m/z 195 – 56 (C_3H_4O), $C_7H_7O_3$], m/z 153 [2%, m/z 210-57 (C_3H_5O), $C_8H_9O_3$], m/z 167 [11%, m/z 210 – 43 (C_2H_3O), $C_9H_{11}O_3$], m/z 137 [8%, m/z 167-30 (CH_2O), $C_8H_9O_2$], m/z 107 [5%, m/z 137 – 3 (CH_2O), C_7H_7O], m/z 81 [7%, 107 – 26 (C_2H_2), C_5H_5O].

14) O espectro de massas (Figura 47, Página 153), apresentou o pico m/z 224 [M^+ , 37%], e foram observados os seguintes fragmentos (Esquema 14, Página 79): m/z 181 [100%, m/z 224 – 43 (C_2H_3O), $C_{10}H_{13}O_3$], m/z 151 [2%, m/z 181 – 30 (CH_2O), $C_9H_{11}O_2$], m/z 121 [2%, m/z 151 – 30 (CH_2O), C_8H_9O], m/z 91 [2%, m/z 121 – 30

(CH₂O), C₇H₇], m/z 65 [2%, m/z 91 – 26 (C₂H₂), C₅H₅], m/z 182 [12%, m/z 224 – 42 (C₂H₂O), C₁₀H₁₄O₃], m/z 167 [5%, m/z 182 – 15 (CH₃), C₉H₁₁O₃], m/z 167 [5%, m/z 224 – 57 (C₃H₅O), C₉H₁₁O₃], m/z 137 [4%, m/z 167 – 30 (CH₂O), C₈H₉O₂], m/z 107 [2%, m/z 137 – 30 (CH₂O), C₇H₇O], m/z 77 [3%, m/z 107 – 30 (CH₂O), C₆H₅] e m/z 51 [2%, m/z 77 – 26 (C₂H₂), C₄H₃].

15) O espectro de massas (Figura 48, Página 154), apresentou o pico m/z 224 [M⁺, 100%], e foram observados os seguintes fragmentos (Esquema 15, Página 80): m/z 209 [52%, m/z 224 – 15 (CH₃), C₁₁H₁₃O₄], m/z 179 [10%, m/z 209 – 30 (CH₂O), C₁₀H₁₁O₃], m/z 181 [62%, m/z 224 – 43 (C₂H₃O), C₁₀H₁₃O₃], m/z 151 [10%, m/z 181 – 30 (CH₂O), C₉H₁₁O₂], m/z 153 [10%, 224-71 (C₄H₇O), C₈H₉O₃], m/z 195 [12%, m/z 224 – 29 (HCO), C₁₁H₁₅O₃].

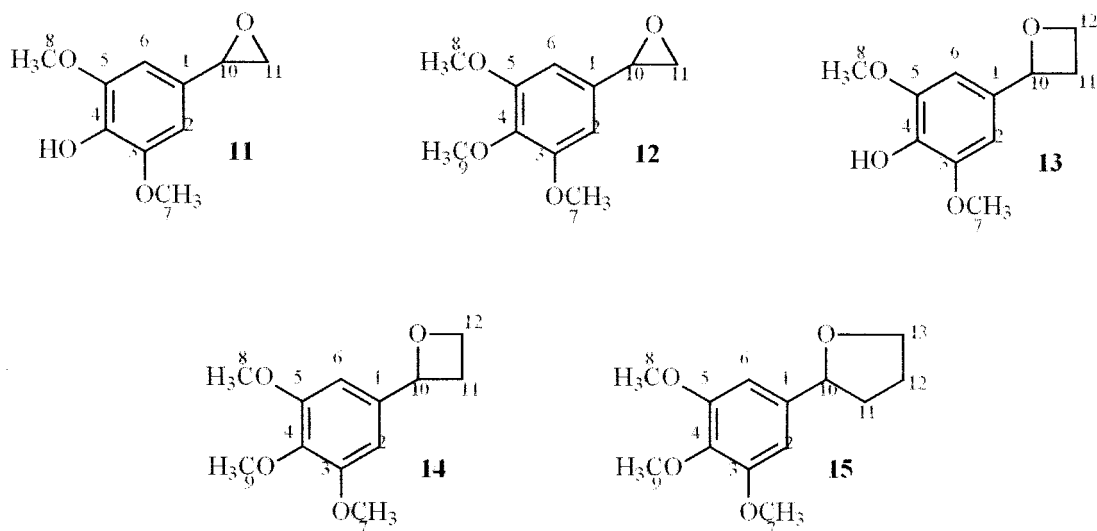


Tabela 22: Dados obtidos no espectro de RMN ^1H (200,13MHz) das substâncias **11**, **12**, **13**, **14** e **15** registrado em CDCl_3 .

H	3	11	12	13	14	15
	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}
2	7,12	[6,38	—	7,19]
6	7,12	[6,38	—	7,19]
7	3,94	3,82	3,82	3,82	3,82	3,82
8	3,94	3,82	3,82	3,82	3,82	3,82
9	—	—	3,89	—	3,89	—
10	9,79	3,7-4,0	3,7-4,0	3,7-4,0	3,7-4,0	3,7-4,0
11	—	2,8-3,12	2,8-3,12	2,15-2,5	2,15-2,5	2,15-2,5
12	—	—	—	2,8-3,12	2,8-3,12	2,15-2,5
13	—	—	—	—	—	2,8-3,12

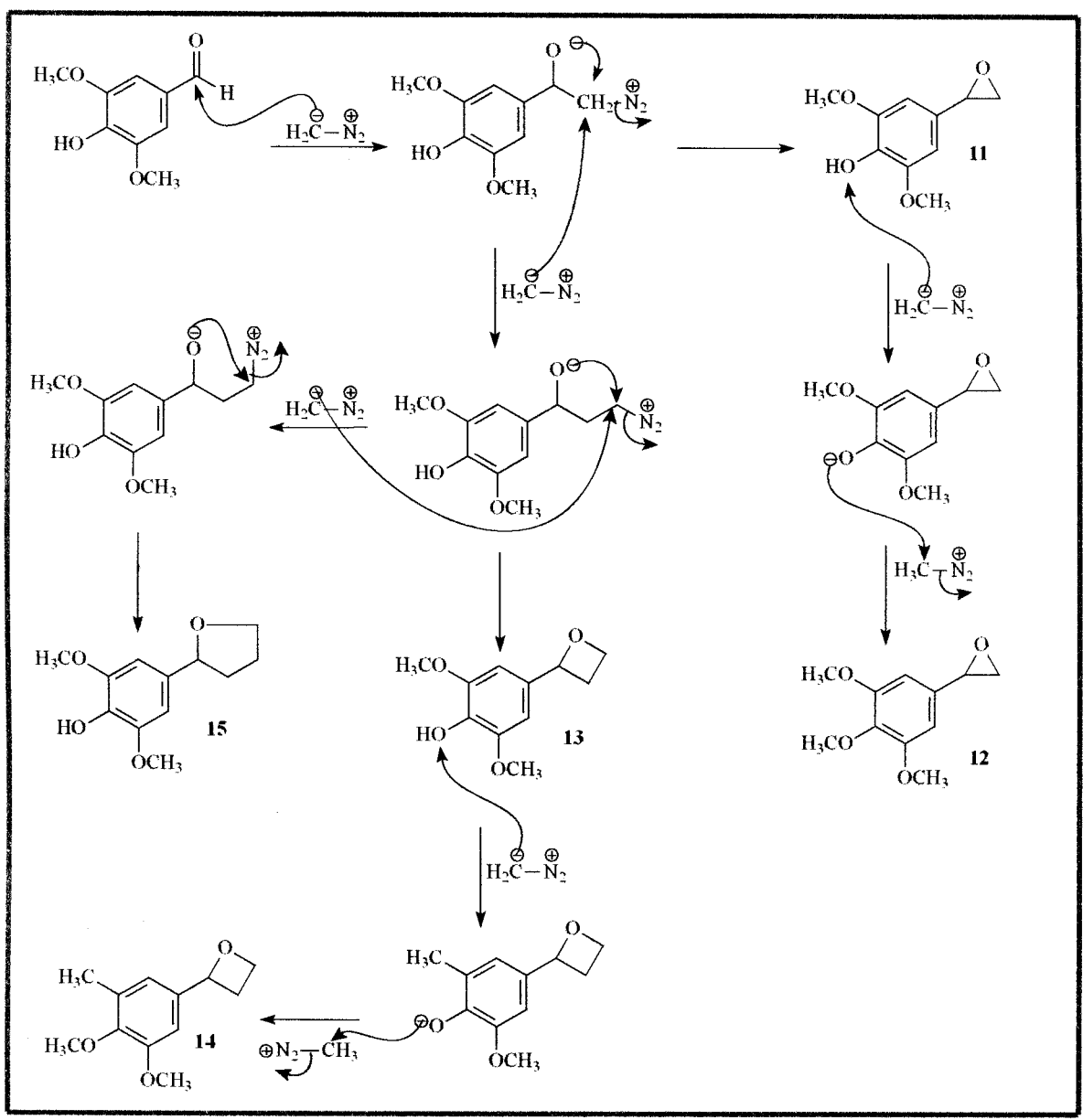
Tabela 23: Dados obtidos no espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz) das substâncias **11**, **12**, **13**, **14** e **15** registrado em CDCl_3 .

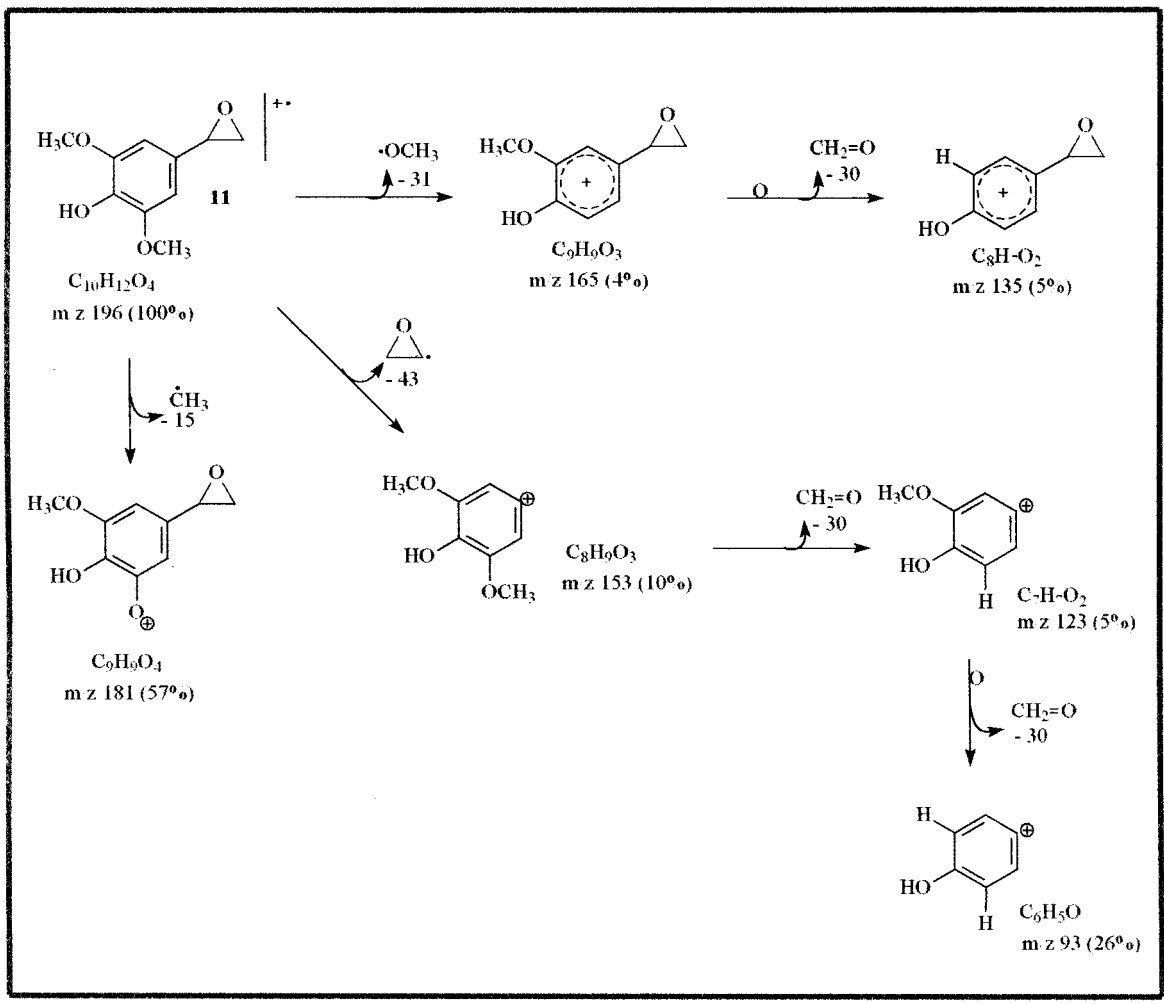
C	3 δ_{C}	11 δ_{C}	12 δ_{C}	13 δ_{C}	14 δ_{C}	15 δ_{C}
1	128,33	—	—	—		
2	106,61	[105,86	105,8	102,1]
3	150,43	—	—	—	—	—
4	147,31	—	—	—	—	—
5	150,43	—	—	—	—	—
6	106,61	[105,86	105,8	102,1]
7	56,44	56,11	56,11	56,11	56,11	56,11
8	56,44	56,11	56,11	56,11	56,11	56,11
9	—	—	60,87	—	60,87	—
10	190,73	52,6	52,6	77,0	77,0	77,0
11	—	—	—	27,4	27,4	—
12	—	—	—	51,3	51,3	—
13	—	—	—	—	—	—

Tabela 24: Dados de CG-EM dos produtos de metilação da substância 3.

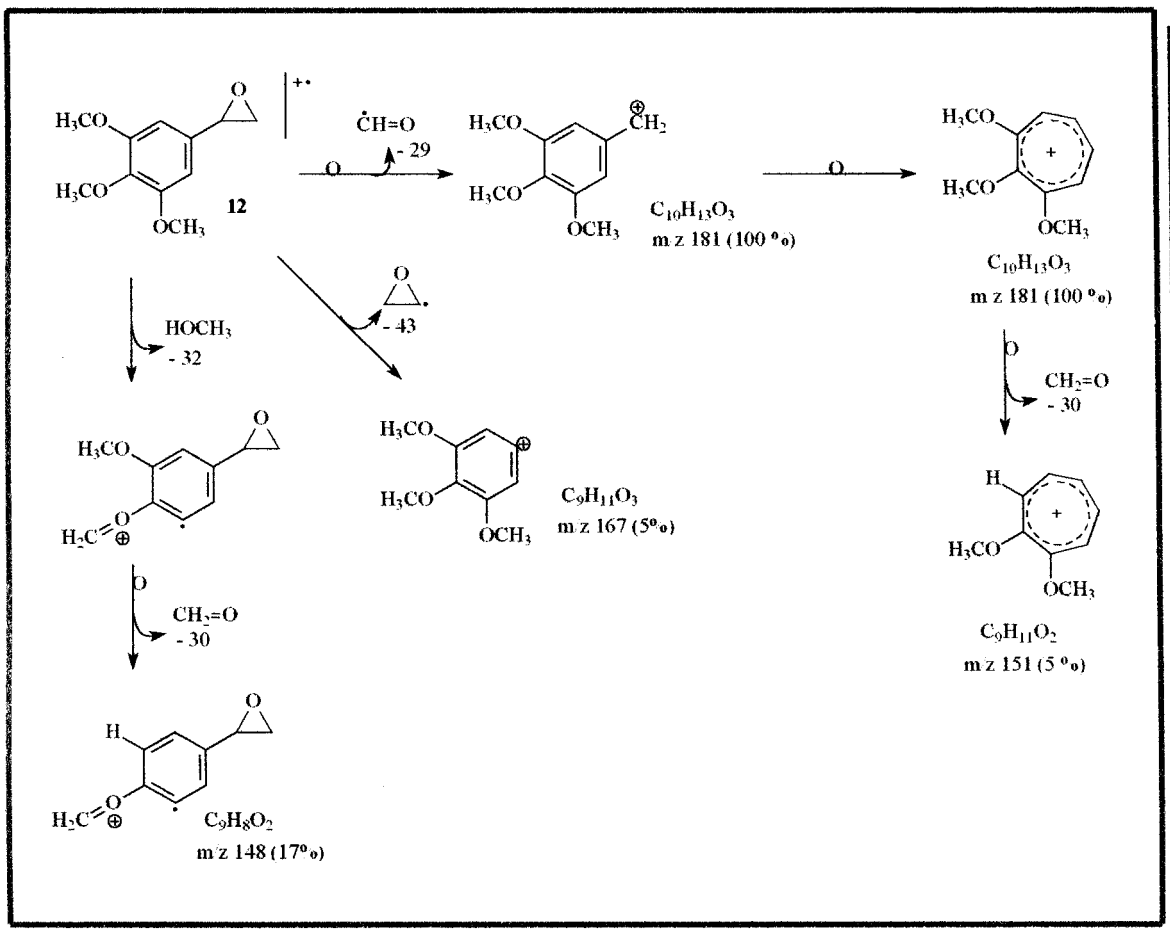
substância	TR	área	%	M ⁺
11	6,385	42991	4,44	196
12	7,186	277793	2,87	210
13	7,563	188216	19,44	210
14	8,100	622739	64,34	224
15	9,020	86105	8,89	224

Esquema 10: Possíveis mecanismos da reação de 3 com diazometano

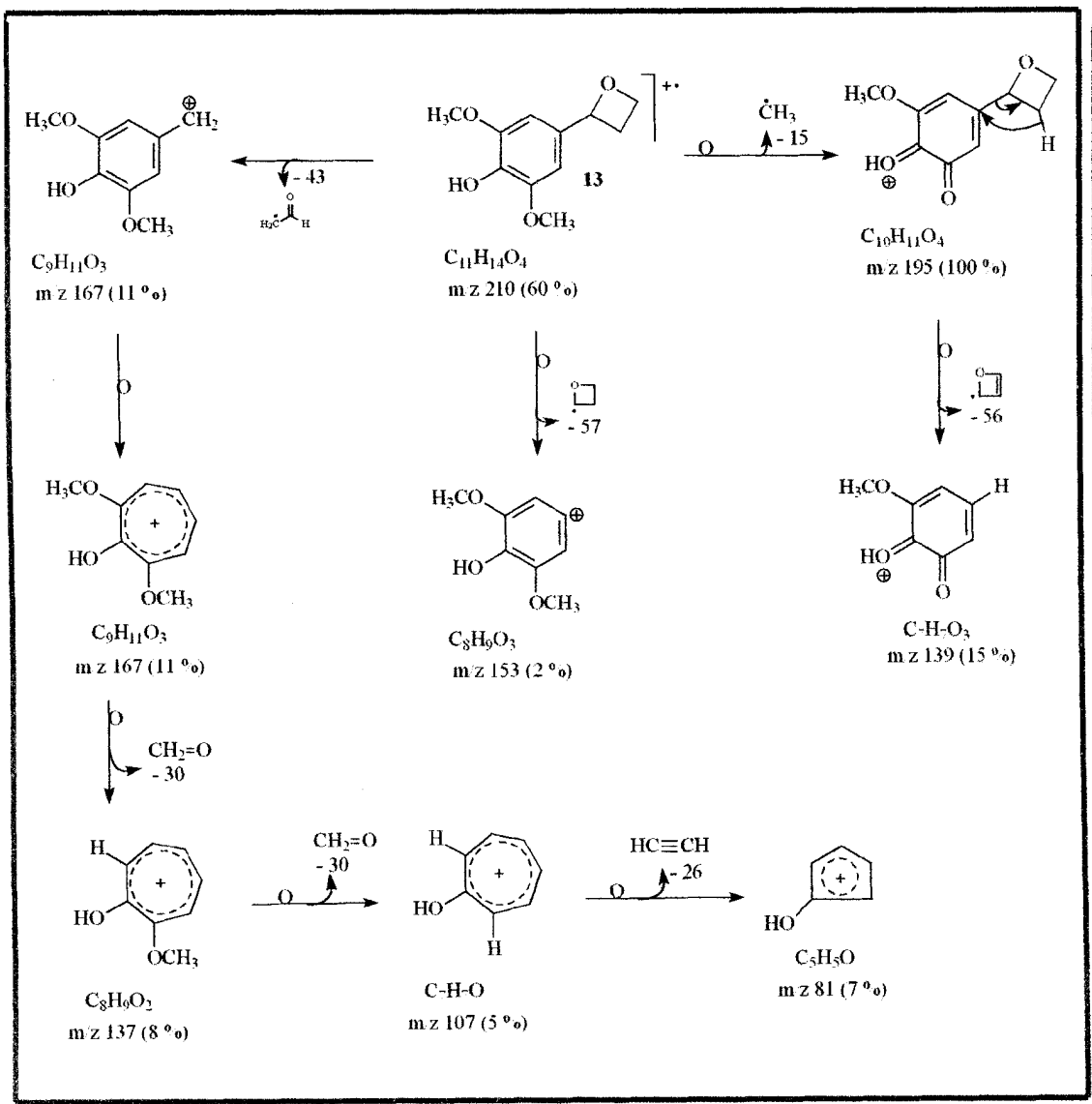




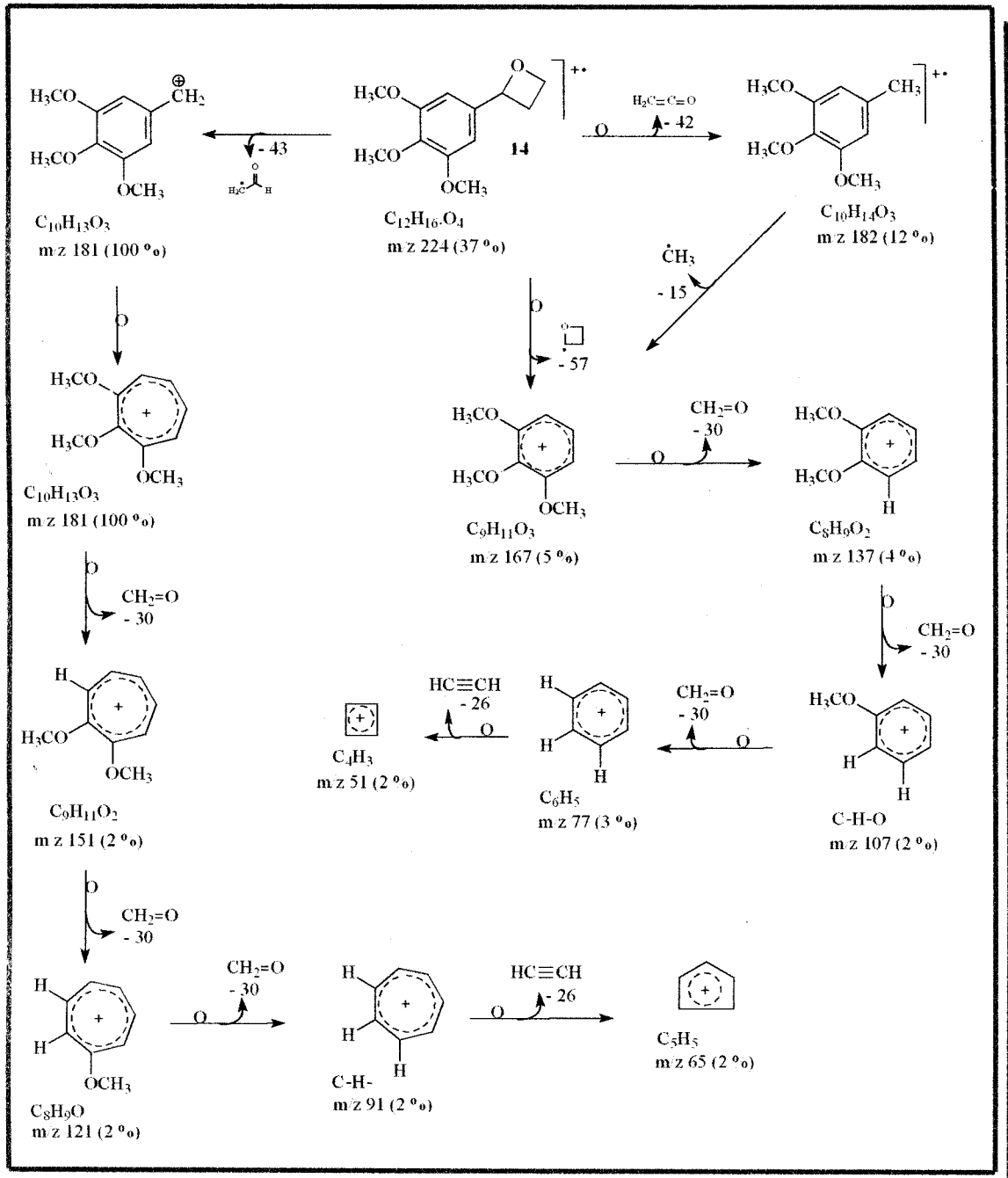
Esquema 11: Proposta de fragmentação da substância 11 no espectrômetro de massas registrado por impacto de elétrons.



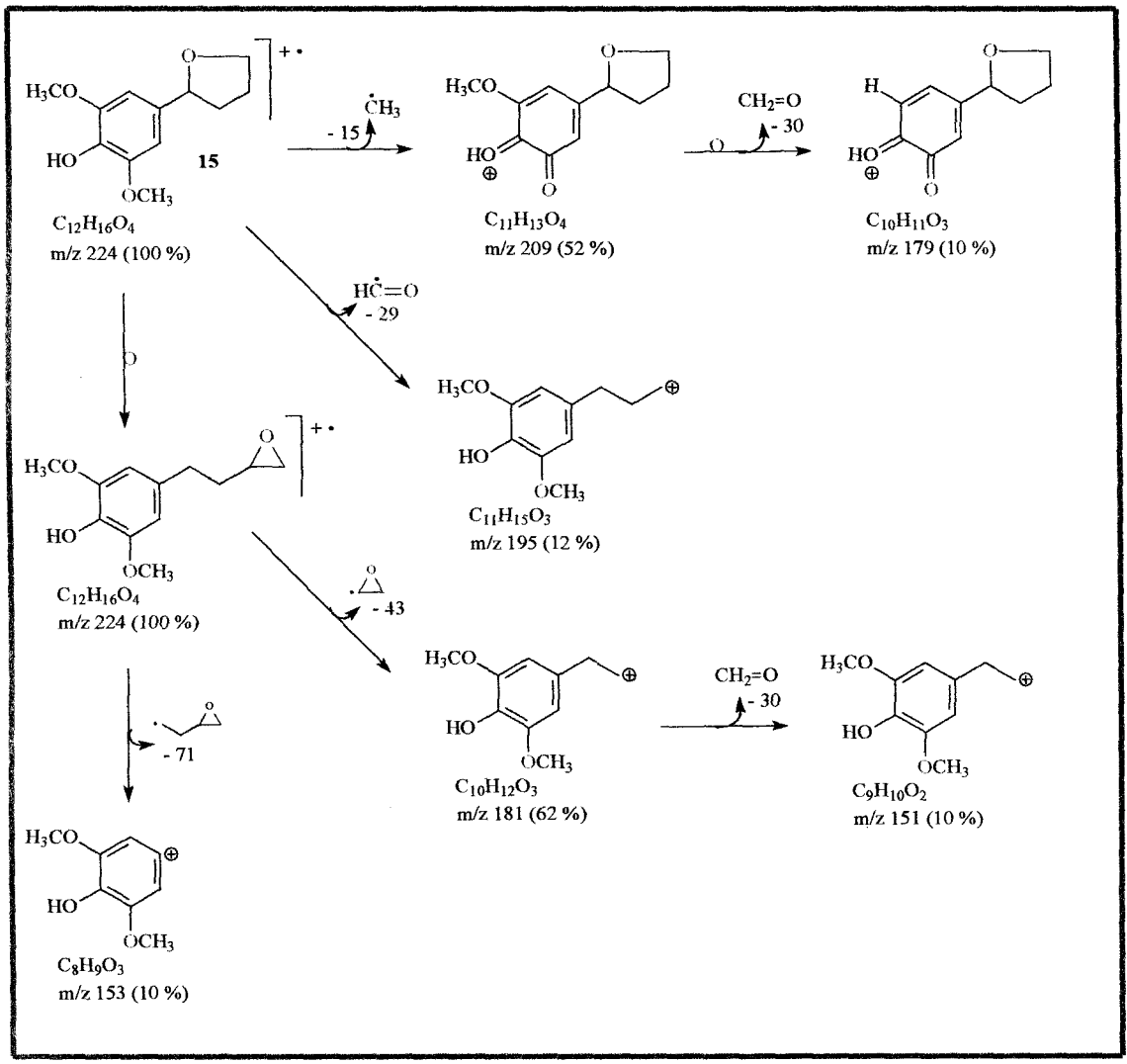
Esquema 12: Proposta de fragmentação da substância 12 no espectrômetro de massas registrado por impacto de elétrons.



Esquema 13: Proposta de fragmentação da substância 13 no espectrômetro de massas registrado por impacto de elétrons.

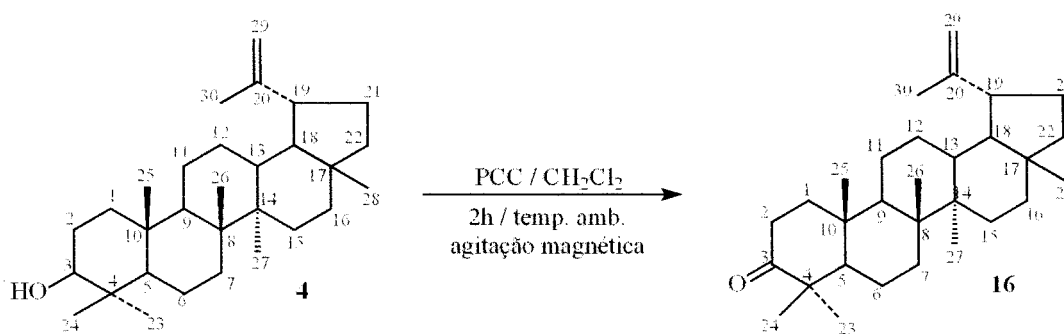


Esquema 14: Proposta de fragmentação da substância 14 no espectrômetro de massas registrado por impacto de elétrons.



Esquema 15: Proposta de fragmentação da substância **15** no espectrômetro de massas registrado por impacto de elétrons.

5.2.4. Determinação de 16



O derivado **16** foi obtido por reação com PCC, e foi identificado com a análise dos espectros de RMN ^1H e IV que permitiram visualizar as modificações esperadas do esqueleto estrutural da substância **4**.

Com o espectro de IV (Figura 49, Página 155) pode-se observar o desaparecimento da banda de absorção em 3353 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$) do grupo hidroxila do C-3 e o surgimento de uma banda em 1705 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$) da função cetona confirmando a formação do produto no mesmo carbono.

No espectro de RMN ^1H (Figura 50, Página 156) o produto foi confirmado com o desaparecimento do sinal em $\delta_{\text{H}} 3,16$ (1H, m) referente ao hidrogênio ligado ao carbono carbinólico C-3. Os demais sinais estão comparados na Tabela 25 (Página 82).

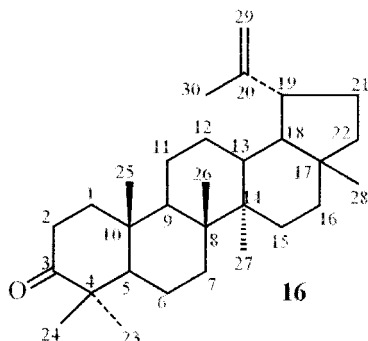
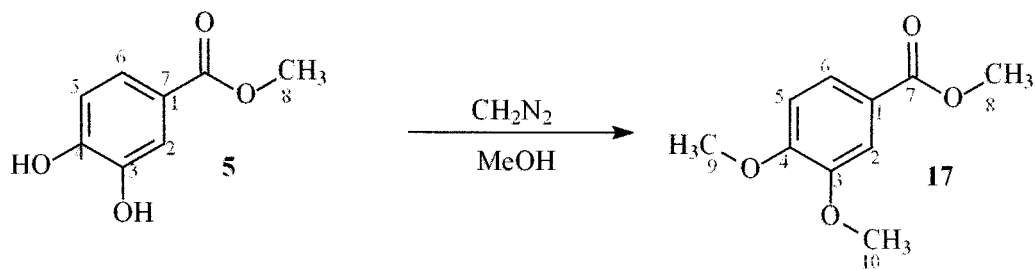


Tabela 25: Comparação dos valores obtidos nos espectros de RMN ^1H (200,13MHz) do derivado **16** com a substância de partida **4** (lupeol).

H	16 δ_{H}	4 δ_{H}
18	2,37 (m)	2,31 (m)
19	2,39 (m)	2,39 (m)
23	1,04 (s)	1,00 (s)
24	0,92 (s)	0,80 (s)
25	0,90 (s)	0,76 (s)
26	1,00 (s)	0,94 (s)
27	1,00 (s)	0,91 (s)
28	0,76 (s)	0,73 (s)
29	4,65 (sl); 4,54 (sl)	4,66 (d); 4,54 (d)
30	1,65 (s)	1,65 (s)

5.2.5. Identificação de 17



O derivado **17** foi metilado com diazometano tendo como produto de partida o 3,4-diidroxibenzoato de metila. O espectro de IV (Figura 51, Página 157) apresentou o desaparecimento da banda de absorção em 3318 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$) do grupo hidroxila indicando a formação do produto esperado. E o espectro de RMN ^1H (Figura 52, Página 158) confirmou a formação do produto com o sinal em $\delta_{\text{H}} 3,90$ (s) com o dobro de intensidade do sinal em $\delta_{\text{H}} 3,86$ da metoxila de éster, mostrando que existem duas outras metoxilas na substância. Os demais sinais estão assinalados na Tabela 26 (Página 84).

Tabela 26: Comparação dos valores de RMN ^1H (200,13 MHz) da substância **5** com seu derivado metilado **17**.

H	5 δ_{H}	17 δ_{H}
2	7,38 (s)	7,51 (s)
5	6,79 (d) J = 8,14 Hz	6,85 (d) J = 8,04 Hz
6	7,32 (d) J = 8,14 Hz	7,67 (d) J = 7,74 Hz
8	3,69 (s)	3,86 (s)
9	—	3,90 (s)
10	—	3,90 (s)

6. Considerações Biossintéticas

6.1. Origens biossintéticas dos constituintes isolados de *Piptadenia rigida*.

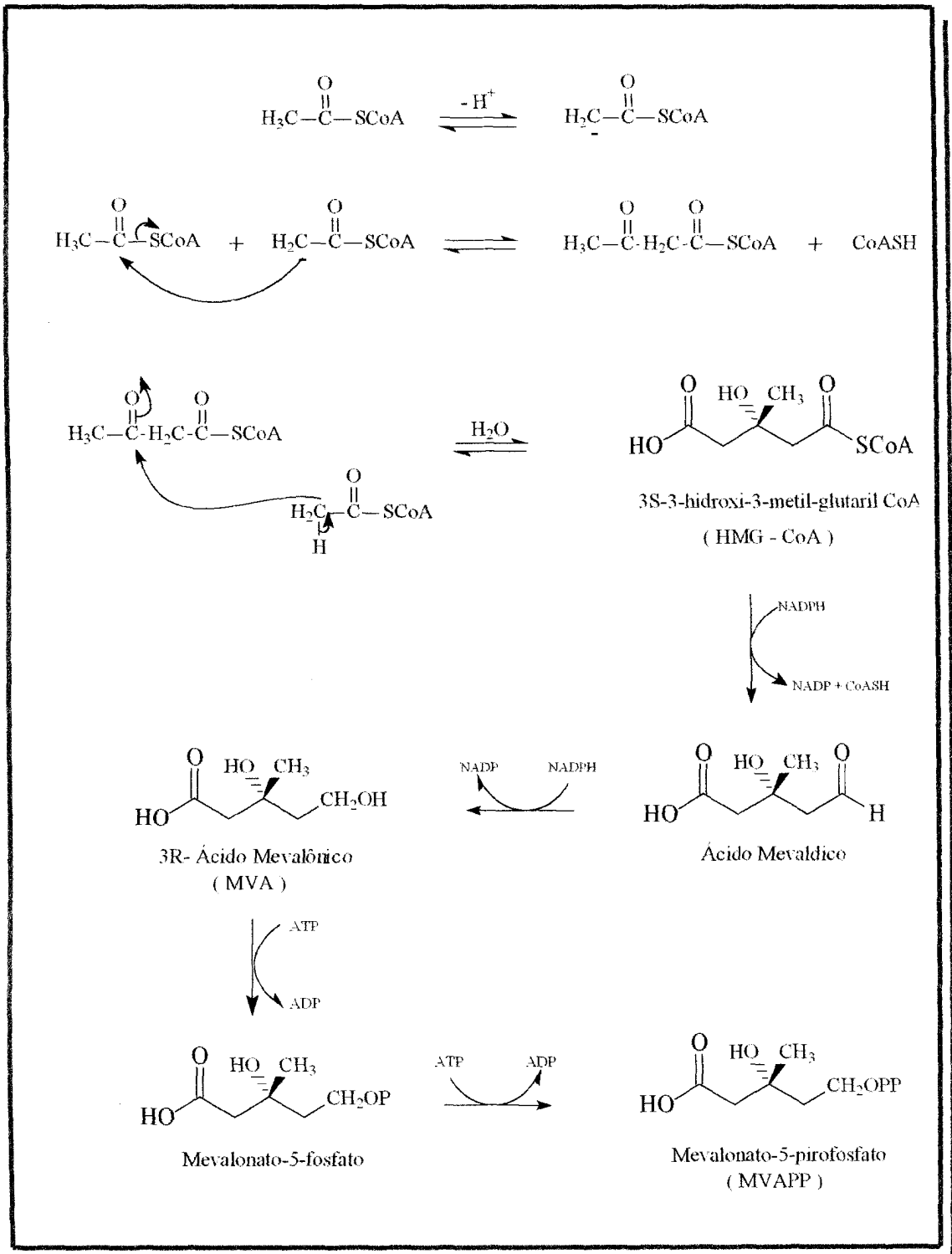
Para o químico de produtos naturais o conhecimento dos precursores e, às vezes, das etapas necessárias para as elaborações das diferentes classes de substâncias naturais é a base fundamental de raciocínio para a determinação estrutural das substâncias isoladas.

O número de compostos definidos estruturalmente aumentou rapidamente no último século. Wallach notou que muitos compostos, especificamente as principais fragrâncias das plantas, os óleos essenciais, poderiam ser analisados a partir de cadeias C_5 chamadas unidades isopentenil ou isopreno. Estes compostos, os quais possuem tipicamente composição molecular $C_{10}H_{16}$, receberam o nome coletivo de terpenos, etimologicamente derivados da *Pistacia terebinthus*, a qual exsuda uma resina. Os terpenóides são classificados de acordo com o número múltiplo de unidades C_5 : monoterpenos, C_{10} ; sesquiterpenos, C_{15} ; diterpenos, C_{20} ; sesterterpenos, C_{25} ; triterpenos, C_{30} ; e tetraterpenos, C_{40} . A formação biossintética do esteróide sitosterol (1) e dos triterpenos lupeol (4) e betulina (2) estão apresentados nos Esquemas 16 a 21 (Página 87 a 92)⁴⁶.

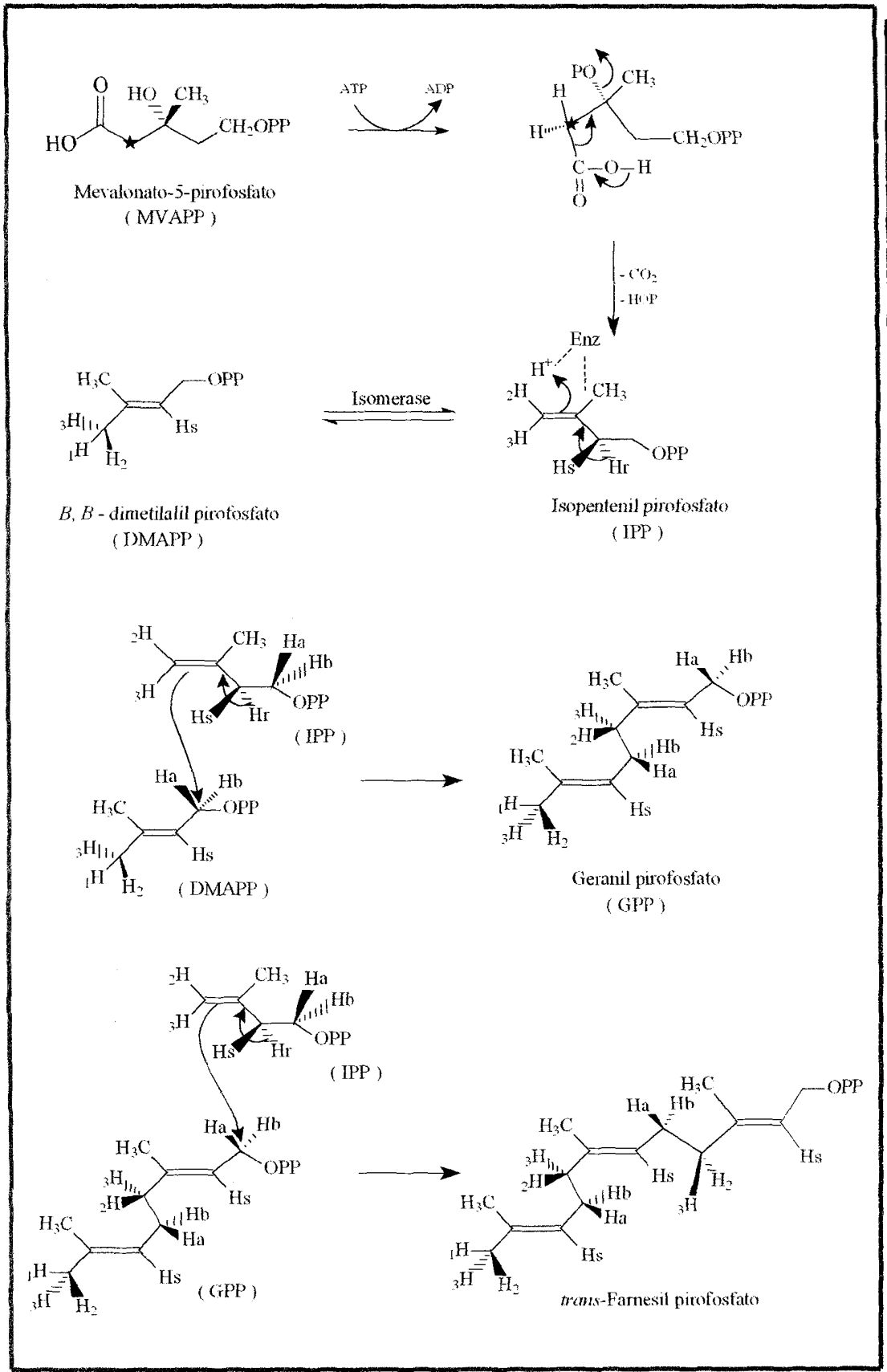
O 4-hidroxi-3,5-dimetoxi-benzaldeído (3) e o 3,4-diidroxi-benzoato de metila (5) têm como precursor o ácido gálico. O ácido gálico é um composto conhecido como precursor dos galotaninos, que é uma classe de compostos presentes na família em grande abundância. Daí vêm a grande utilização destas espécies na indústria do

curtume⁴⁶. As Propostas biossintéticas estão apresentadas nos Esquemas 22 a 23 (Páginas 93 a 94).

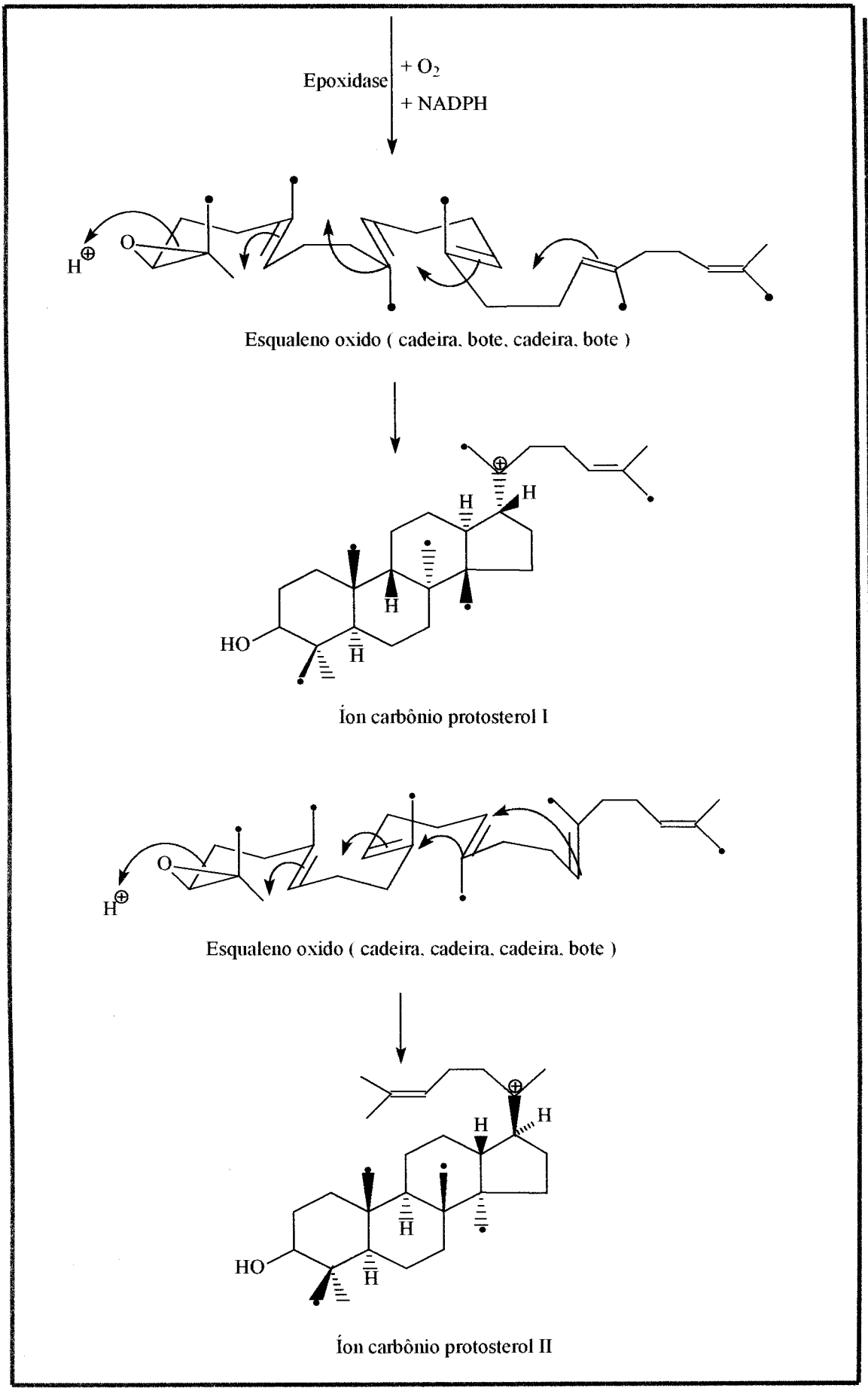
O caminho biossintético do ácido chiquímico exibiu um amplo número de compostos que têm como característica em parte de sua cadeia estrutural um lado C₆-aromático-C₃, por exemplo os amino ácidos aromáticos, os ácidos cinâmicos, as cumarinas, os flavonóides, as ligninas, etc...⁴⁶ E é desse caminho biossintético que são originárias: a isoliquiritigenina (**6**), a 7,8,3',4'-tetraidroxiflavanona (**7**) e a 7,3',4'-triidroxiflavona (**8**) cujas propostas biossintéticas estão no Esquema 24 (Página 95).



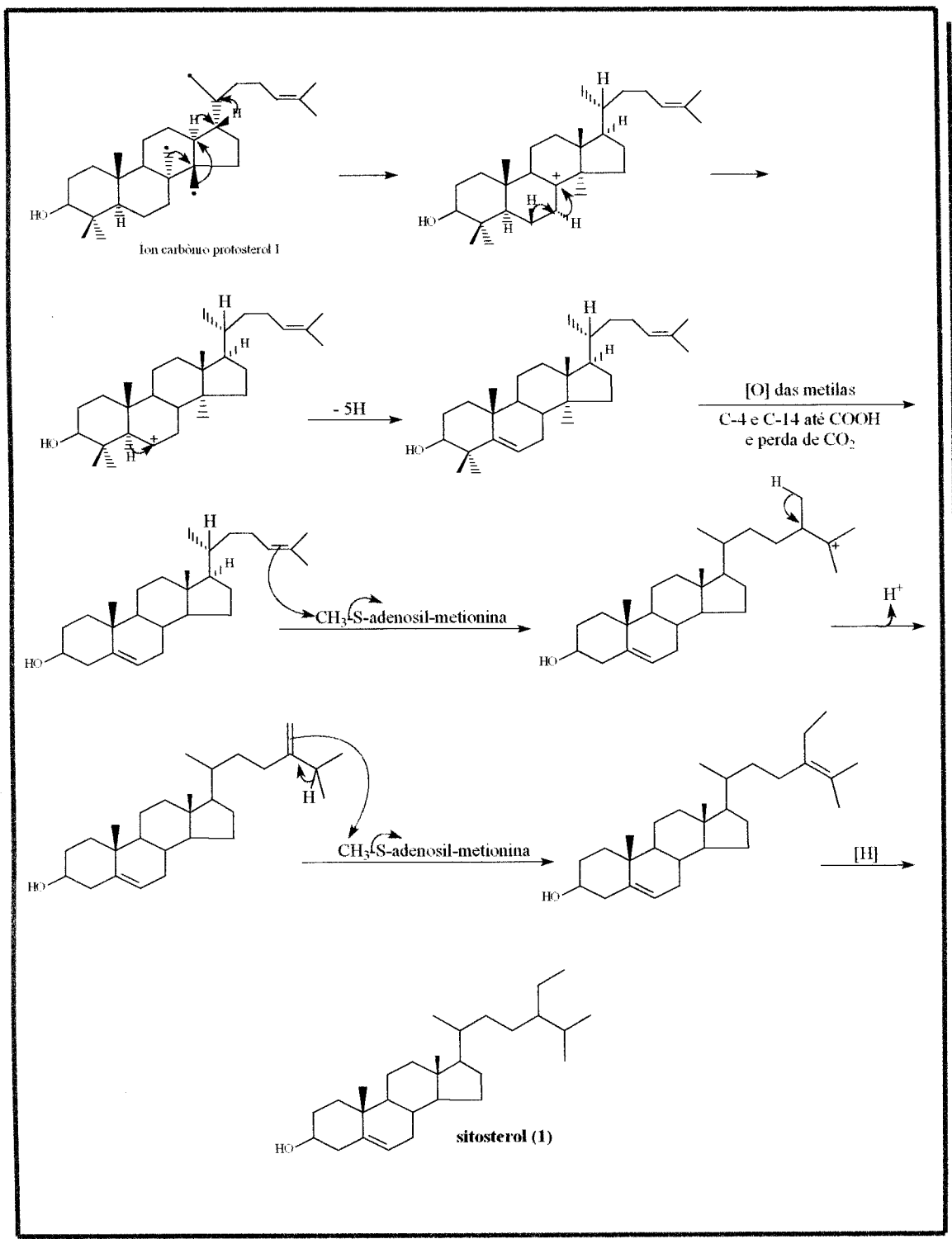
Esquema 16: Proposta Biossintética dos Terpenóides ⁴⁶.



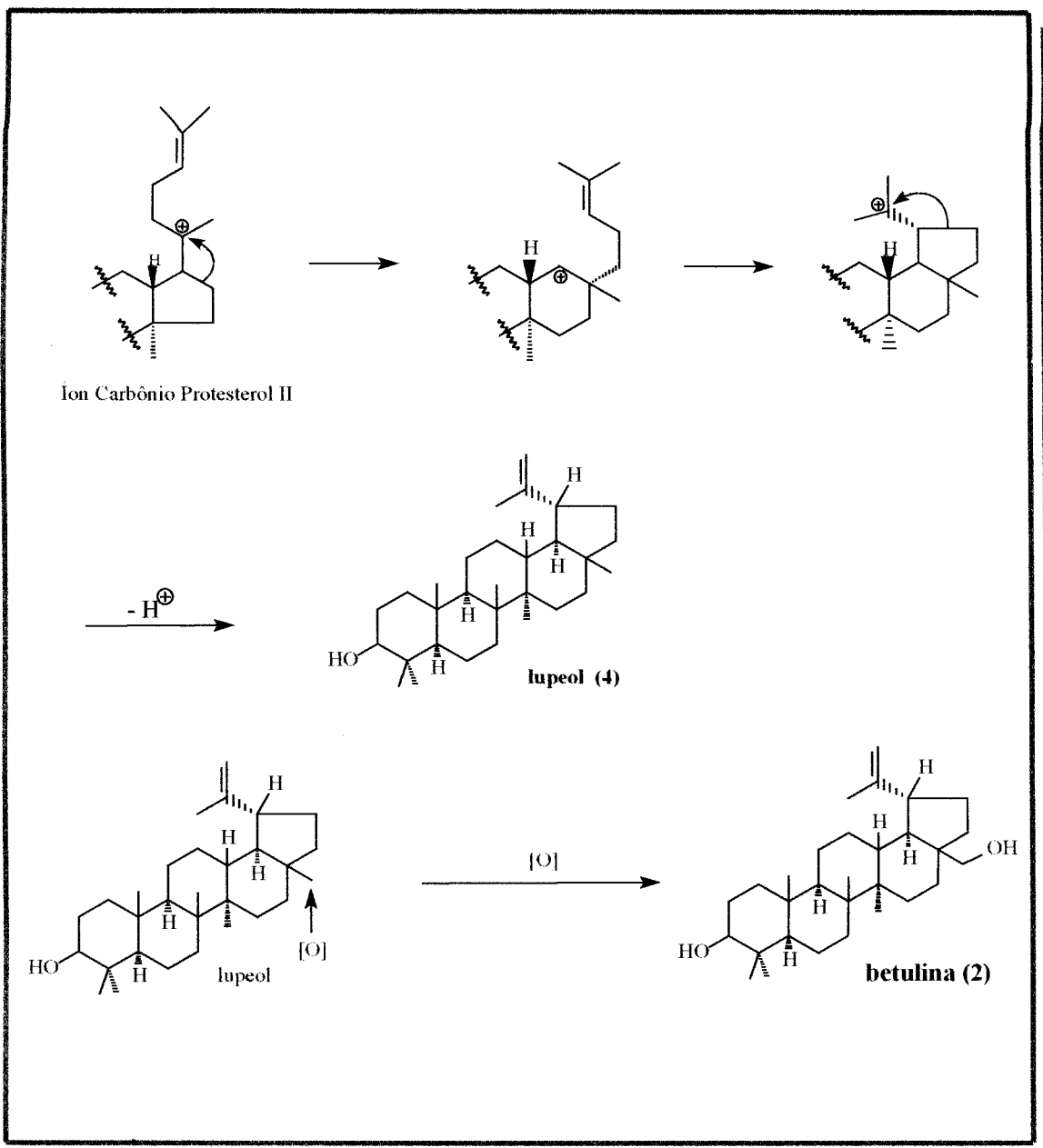
Esquema 17: Proposta Biossintética dos Terpenóides ⁴⁶.



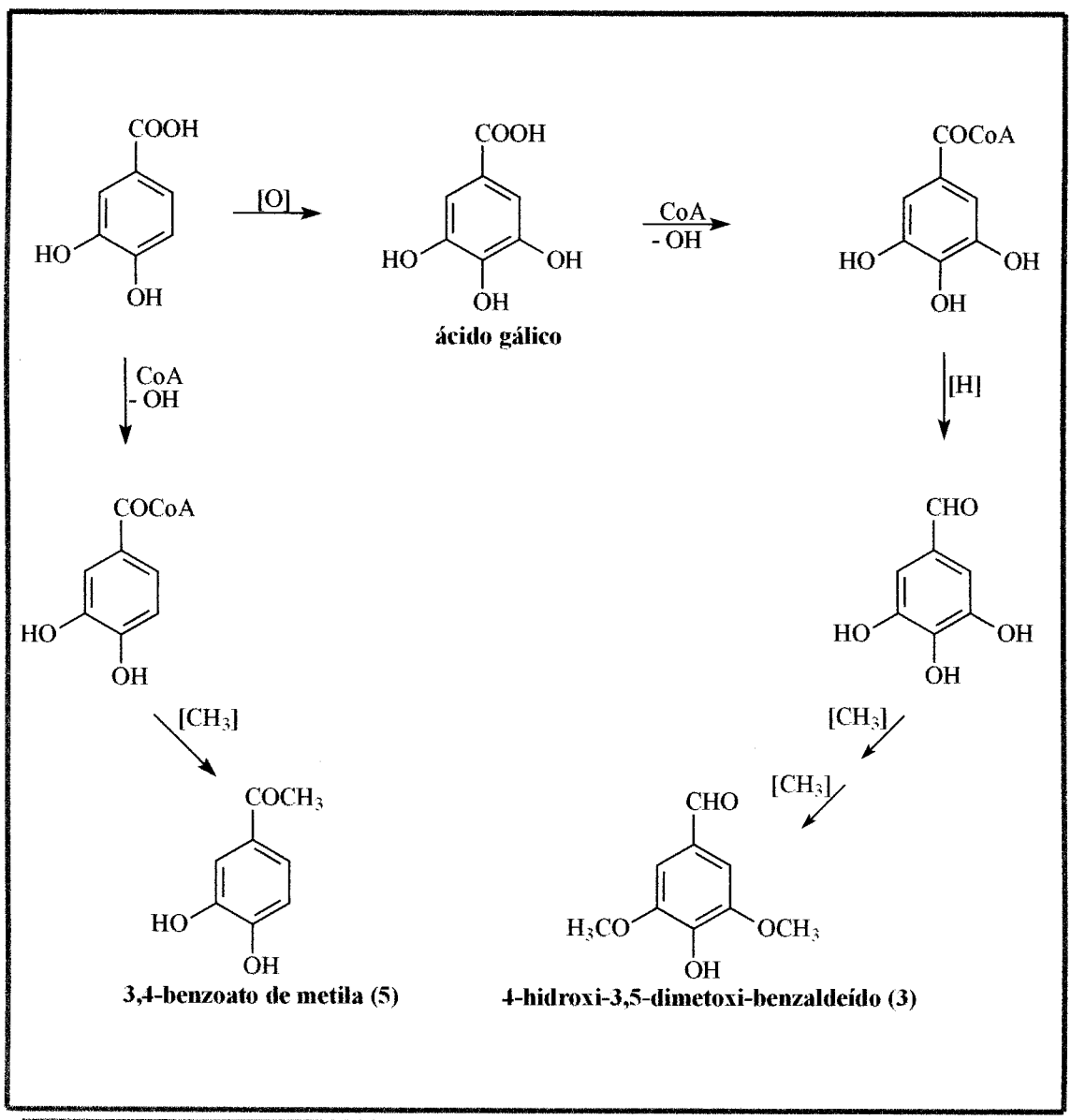
Esquema 19: Proposta Biossintética dos Terpenóides ⁴⁶.



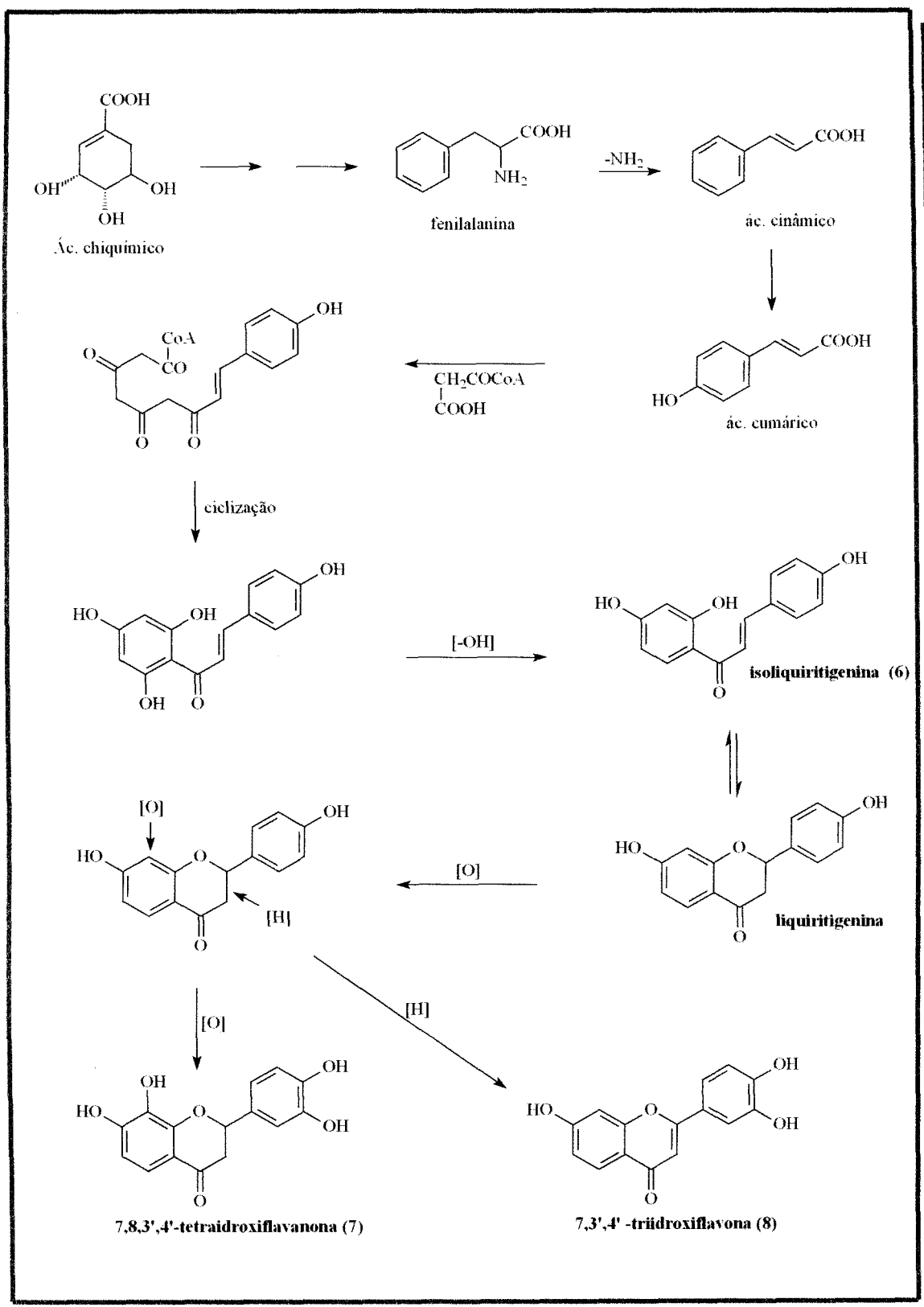
Esquema 20: Proposta biossintética de formação da substância 1⁴⁶.



Esquema 21: Proposta biossintética da formação das substâncias **2** e **4**⁴⁶.



Esquema 23: Proposta biossintética da formação das substâncias 3 e 5 ⁴⁶.



Esquema 24: Proposta biossintética da formação das substâncias 6, 7 e 8⁴⁶.

7. Conclusão

Neste trabalho, obtiveram-se oito substâncias isoladas pela primeira vez no gênero *Piptadenia*, sendo elas: três terpenóides (sitosterol **1**, betulina **2** e lupeol **4**), um aldeído (4-hidroxi-3,5-dimetoxi-benzaldeído **3**), um éster (3,4-diidroxibenzoato de metila **5**), uma chalcona (isoliquiritigenina **6**), uma flavanona (7,8,3',4'-tetraidroxiflavanona **7**) e uma flavona (7,3',4'-triidroxiflavona **8**).

O presente trabalho contribui para o conhecimento fitoquímico de espécies brasileiras e deixa perspectivas para um estudo químico mais detalhado, já que o gênero possui outras classes de compostos em outras partes da planta.

8. Referências Bibliográficas

1. Gottlieb, O., R.; Kaplan, M., A.; “Das plantas medicinais aos fármacos naturais”. *Ciência Hoje*. **1993**, 15 (89), 51-54.
2. Mors, W., B.; “Looking at the origins”. *Ciência e Cultura*. **1997**, 49 (5/6), 310-313.
3. Gottlieb, O., R.; Kaplan, M., A.; “Amazônia: Tesouro químico a preservar”. *Ciência Hoje*. **1990**, 11(61), 17-20.
4. Phillipson, D., J.; “Phytochemistry and medicinal plants”. *Phytochemistry*. **2001**, 56, 237-243.
5. Rang, H., P.; Dale, M., M.; Ritter, J., M.; “Farmacologia”. Ed. Guanabara Koogan. **2001**, 4ª Edição.
6. Barroso, G., M.; “Sistemática de Angiosperma do Brasil”. Imp. Univ. UFV. **1991**, vol 02.
7. Allen, O., N. & Allen, E., K.; “The Leguminosae – A Source Book of Characteristics, Uses, and Nodulation”. The University of Wisconsin. **1981**.
8. Harbone, J., B.; “Chemotaxonomy of the Leguminosae”. Ed. Academic Press Inc. (London) LTD. **1971**.
9. Rizzini, C., T.; “Manual de Dendrologia Brasileira – Árvores e Madeiras Úteis do Brasil”. Ed. Nacional. SP. **1998**.
10. Lorenzi, H.; “Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e cultivo de plantas arbóreas naturais do Brasil”. Nova Odessa, SP. Ed. Plantarum. **1992**.
11. Granier-Doyeux, M.; “Native hallucinogenic grugs piptadenias”. **1965**.
12. Stromberg, V.; “The Isolation of Butotenine from *Piptadenia peregrina*”. *Journal of the American Chemical Society*. **1954**, 20, 1707.

13. Fish, M., S.; Johnson, N., M.; Horning, E., C.; "Alkaloids Indole Bases of *P. peregrina* (L.) Benth. And Related Species". *Journal of the American Chemical Society*. **1955**, 27, 5892-5895.
14. Pachter, J., I.; Zacharias, D., E.; Ribeiro, O.; "Indole Alkaloids of *Acer saccharinum* (the Silver Maple), *Dictyoloma incanescens*, *Piptadenia columbrina*, and *Mimosa hostilis*". *Journal of Organic Chemistry*. **1959**, 16, 1285-1287.
15. Legler, G. & Tschesche, R.; "Die Isolierung von N-Methyltryptamin, 5-Methoxy-N-Methyltryptamin und 5-Methoxy-N,N-Dimethyltryptamin aus der Rinde von *Piptadenia peregrina* Benth.". *Die Naturwissenschaften*. **1963**, 50 (3), 94-95.
16. Iacobucci, G., A. & Rúveda, E., A.; "Bases Derived from Tryptamine in Argentine *Piptadenia* Species". *Phytochemistry*. **1964**, 3, 465-467.
17. Paris, R.; Saint-Firmin, M., A.; Echeperé, S.; "Sur les alcaloïdes et les flavonoïdes d'une Légumineuse d'Haïti: *Piptadenia peregrina* Benth. Absence d'alcaloïdes chez le *Piptadenia africana* Hook. F.". *Annales Pharmaceutique Françaises*. **1967**, 25, (7-8), 509-513.
18. Yamasato, S.; Kawanishi, K.; Kato, A.; Hashimoto, Y.; "Organic Bases from Brazilian *Piptadenia* Species". *Phytochemistry*. **1972**, 11, 737-739.
19. Bulhões, G., C., C.; Silva, A., M.; Sá, M., A., M.; "Abordagem Fitoquímica de Plantas Nativas do Nordeste Brasileiro". *Anais do departamento de Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, Recife*. **1976**, 15, 33-38.
20. Delgobo, C., L.; Gorin, P., A., J.; Jones, C.; Iacomini, M.; "Gum Heteropolysaccharide and Free Reducing Mono- and Oligosaccharides of *Anadenanthera columbrina*". *Phytochemistry*. **1997**, 47 (7), 1207-1214.

21. Delgobo, C., L.; Gorin, P., A., J.; Tischer, C., A.; Iacomini, M.; “The free reducing oligosaccharides of angico branco (*Anadenanthera columbrina*) gum exude: na aid for structural assignments in the heteropolysaccharide”. *Carbohydrate Reserarch*. **1999**, 320, 167-175.
22. Piacente, S.; Balderrama, L.; De Tommasi, N.; Morales, L.; Vargas, L.; Pizza, C.; “Anadanthoside: a flavanol-3-O- β -D-Xylopyranoside from *Anadenanthera macrocarpa*”. *Phytochemistry*. **1999**, 51, 709-711.
23. Corrêa, M., P.; “Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Plantas Exóticas Cultivadas”. Imprensa Nacional, RJ, 125-128.
24. Costa, L., S., M.; Albuquerque, M., L., S.; Trugo, L., C.; Quinteiro, L., M., C.; Barth, O., M.; Ribeiro, M.; De Maria, C., A., B.; “Determination of non-volatile compounds of different botanical origin Brazilian honeys”. *Food Chemistry*. **1999**, 65, 347-352.
25. Desmarchelier, C.; Romão, R., L.; Coussio, J.; Ciccía, G.; “Antioxidant and free radical scavenging activities in extracts from medicinal trees used in the ‘caatinga’ region in northeastern Brazil”. *Journal of Ethnopharmacology*. **1999**, 67, 69-77.
26. Amorim, J., P. & Pessoa, S., B.; “Experiências de alguns vegetais como moluscicida”. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*. **1962**, 14(1), 255-260.
27. Sousa, M., P. & Rouquayrol, M., Z.; “Atividade Moluscicida de Plantas do Nordeste Brasileiro”. *Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas*. **1974**, 7 (4), 389-393.
28. Chiappeta, A., A.; De Mélló, J., F.; “Plantas Superiores com Atividade Biológica. Plantas de Pernambuco – II. III”. *Revista do Instituto de Antibióticos*. Universidade Federal de Pernambuco. **1984/5**, 22 (1/2), 99-111.

29. Tokarnia, C., H.; Peixoto, P., V.; Brito, M., F.; Duarte, M., D.; Brust, L., A., C.; “Estudos experimentais com plantas cianogênicas em bovinos”. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. **2000**, 20 (2), 65-70.
30. Brito, M., F.; França, T., N.; Oliveira, K., D.; Cerqueira, V., D.; “Estudos experimentais em coelhos com plantas cianogênicas”. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. **2000**, 20 (2), 65-70.
31. Silva, C., J.; De Oliveira, C., C.; De Carvalho, M., G.; “Flavonóides Isolados de *Piptadenia rigida*”. *Resumos-SBQ*, PN-041. **2000**.
32. Corey, E., J.; Schmidt, G.; “Useful procedures for the oxidation of alcohols involving pyridinium dichromate in aprotic media”. *Tetrahedron Letters*. **1979**, 5, 399-402.
33. Kojima, H.; Sato, N.; Hatano, A.; Ogura, H.; “Sterol Glucosides from *Prunella vulgaris*”. *Phytochemistry*. **1990**, 29 (7), 2351-2355.
34. Siddiqui, S.; Hafeez, F.; Begum, S.; Siddiqui, D., S.; “Oleanderol, A New Pentacyclic Triterpene from the Leaves of *Nerium oleander*”. *Journal of Natural Products*. **1988**, 51 (2), 229-233.
35. Mallavadhani, U., V.; Panda, A., K.; Rao, Y., R.; “Pharmacology and chemotaxonomy of Diospyros”. *Phytochemistry*. **1998**, 49 (4), 901-951.
36. Ahsan, M.; Gray, A., T.; Waterman, P., G.; Armstrong, J., D.; *Journal Natural Products*. **1994**, 57 (5), 675-676.
37. Bakker, J.; Bridhe, P.; *Phytochemistry*. **1997**, 44 (71), 1375-1387.
38. Sobrinho, D., C.; Hauptli, M., B.; Appolinário, E., V.; Kollenz, C., L., M.; De Carvalho, M., G.; Braz-Filho, R.; *Journal of the Brazilian Chemical Society*. **1991**, 2 (1), 15-20.
39. Patra, A.; Mukhopadhyay, A., K.; Mitra, A., K.; “Carbon-13 Resonance

- Assignments of some Friedelanes and Taraxasteranes". *Organic Magnetic Resonance*. **1981**, 17 (3), 186-188.
40. Scott, K., N.; "Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance of Biologically Important Aromatic Acids. I. Chemical Shifts of Benzoic Acid and Derivatives". *Journal of the American Chemical Society*. **1972**, 94 (24), 8564-8568.
41. Almtorp, G., T.; Bachmann, T., L.; Torssell, K., B., G.; "Syntheses of Flavonoids via the Isoxazoline Route". *Acta Chemica Scandinavica*. **1991**, 45, 212-215.
42. Agrawal, P., K.; Baural, M., C.; "In Carbon-13 NMR of Flavonoids". Elsevier, Amsterdam. **1989**.
43. Foo, L., Y.; "Configuration and Conformation of Dihydroflavonols from *Acacia melanoxydon*". *Phytochemistry*. **1987**, 26 (3), 813-817.
44. Rastelli, G.; Costantino, L.; Albasini, A.; "Theoretical and experimental study of flavones as inhibitors of xanthine oxidase". *Eur. J. Med. Chemistry*. **1995**, 30, 141-146.
45. Wollenweber, E.; "Flavones and Flavonoids in The Flavonoids-Advances in Research since 1986". Ed. By J. B. Harbone, Chapman & Hall, N. Y. **1994**.
46. Torssell, K., B., G.; "Natural Product Chemistry – A Mechanistic and Biosynthetic Approach to Secondary Metabolism". John Wiley & Sons Limited. **1983**.

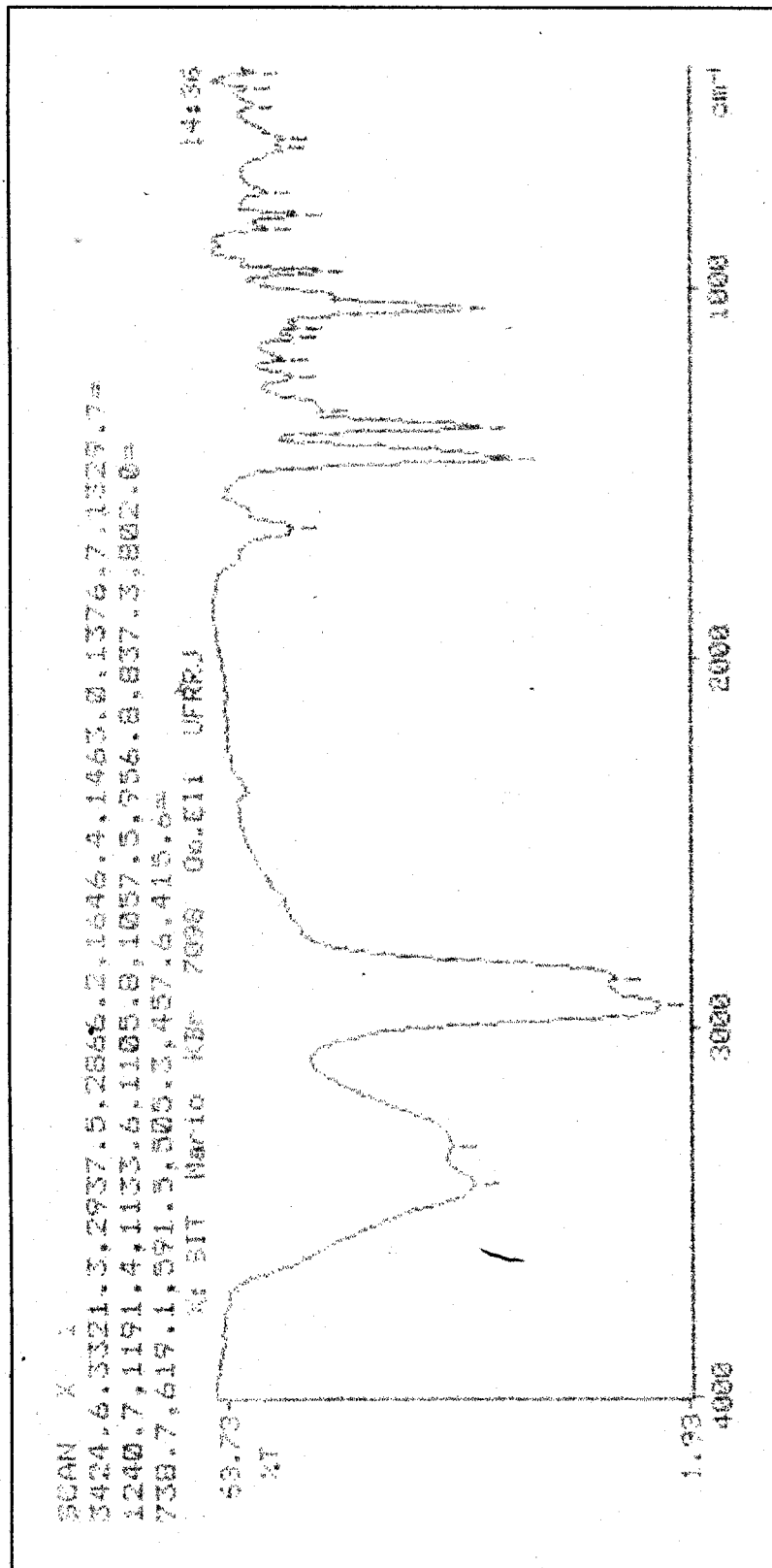


Figura 1: Espectro de IV da substância 1 obtido em pastilha de KBr.

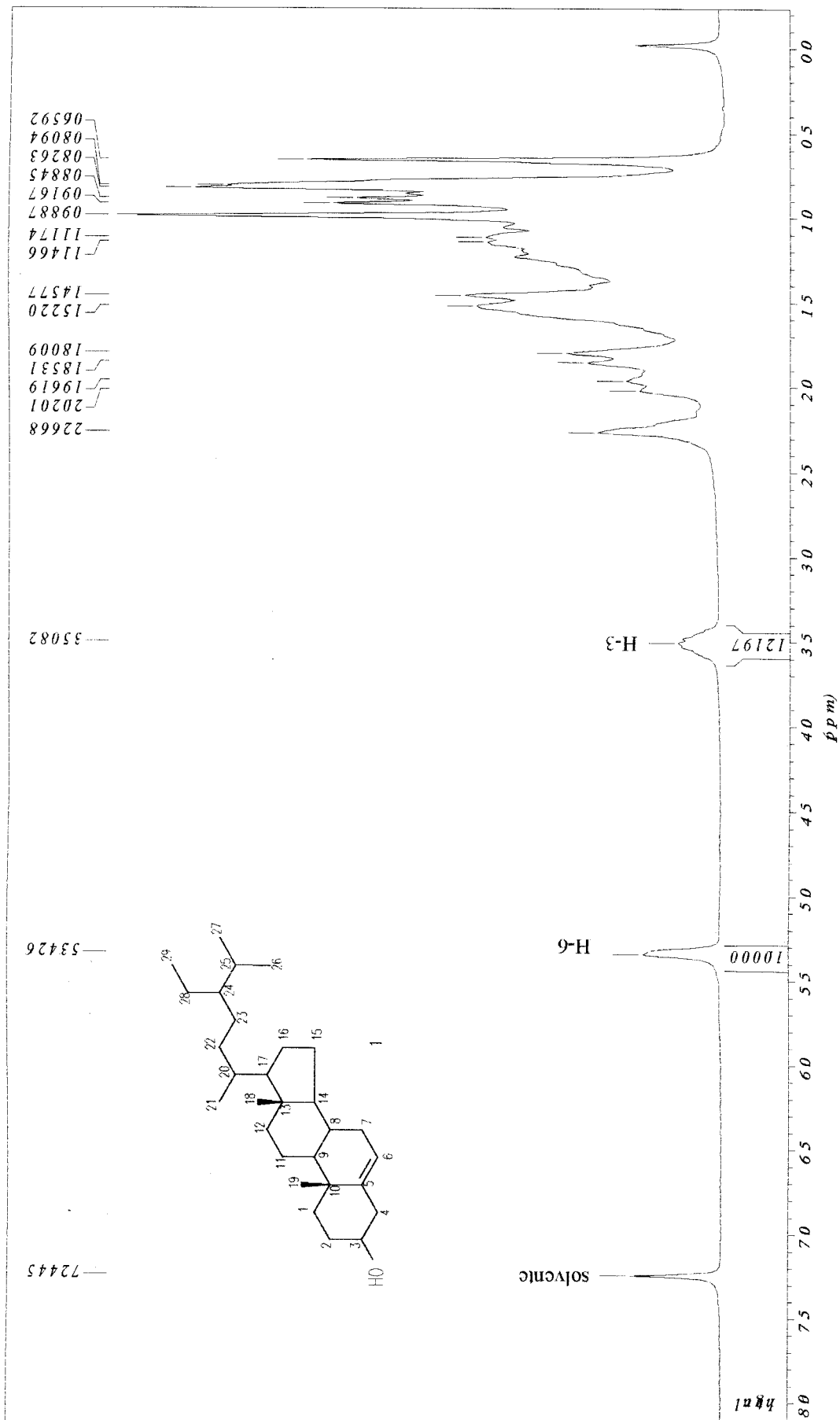


Figura 2: Espectro de RMN ^1H da substância 1 registrado em CDCl_3 .

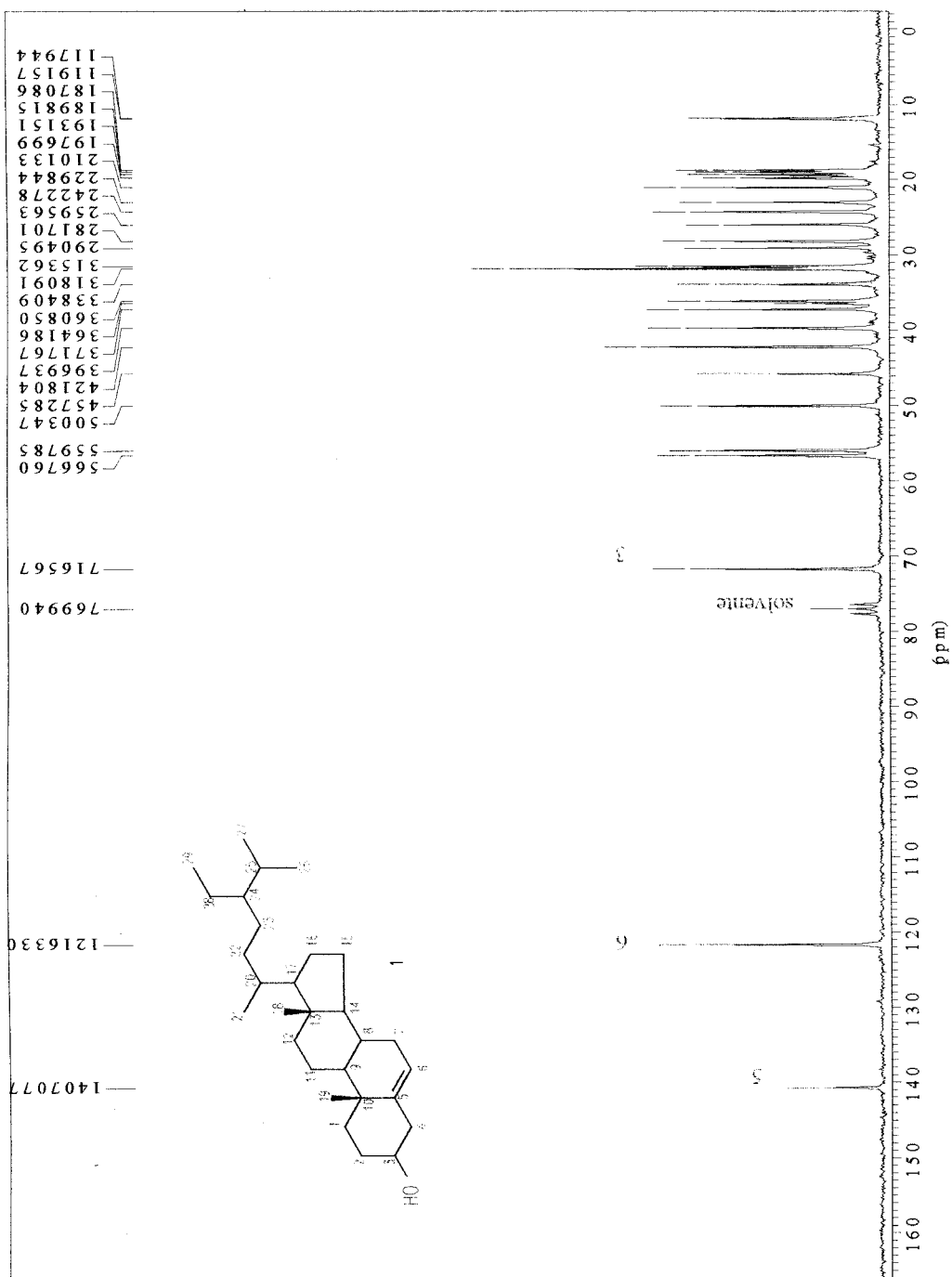


Figura 3: Espectro de RMN ¹³C PND da substância 1 registrado em CDCl₃.

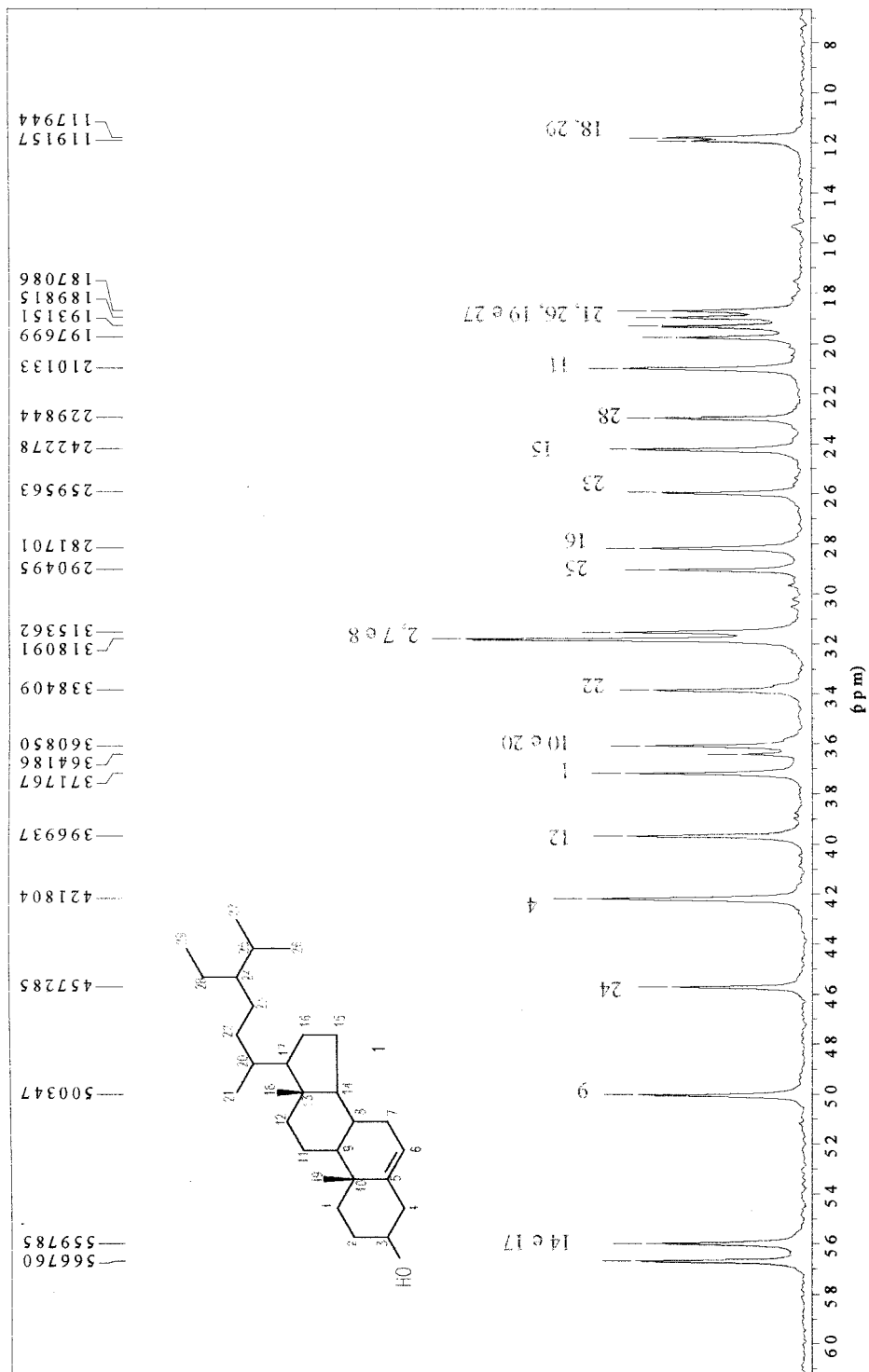


Figura 3a: Expansão (65-0 ppm) do espectro de RMN ^{13}C PND da substância 1 registrado em CDCl_3

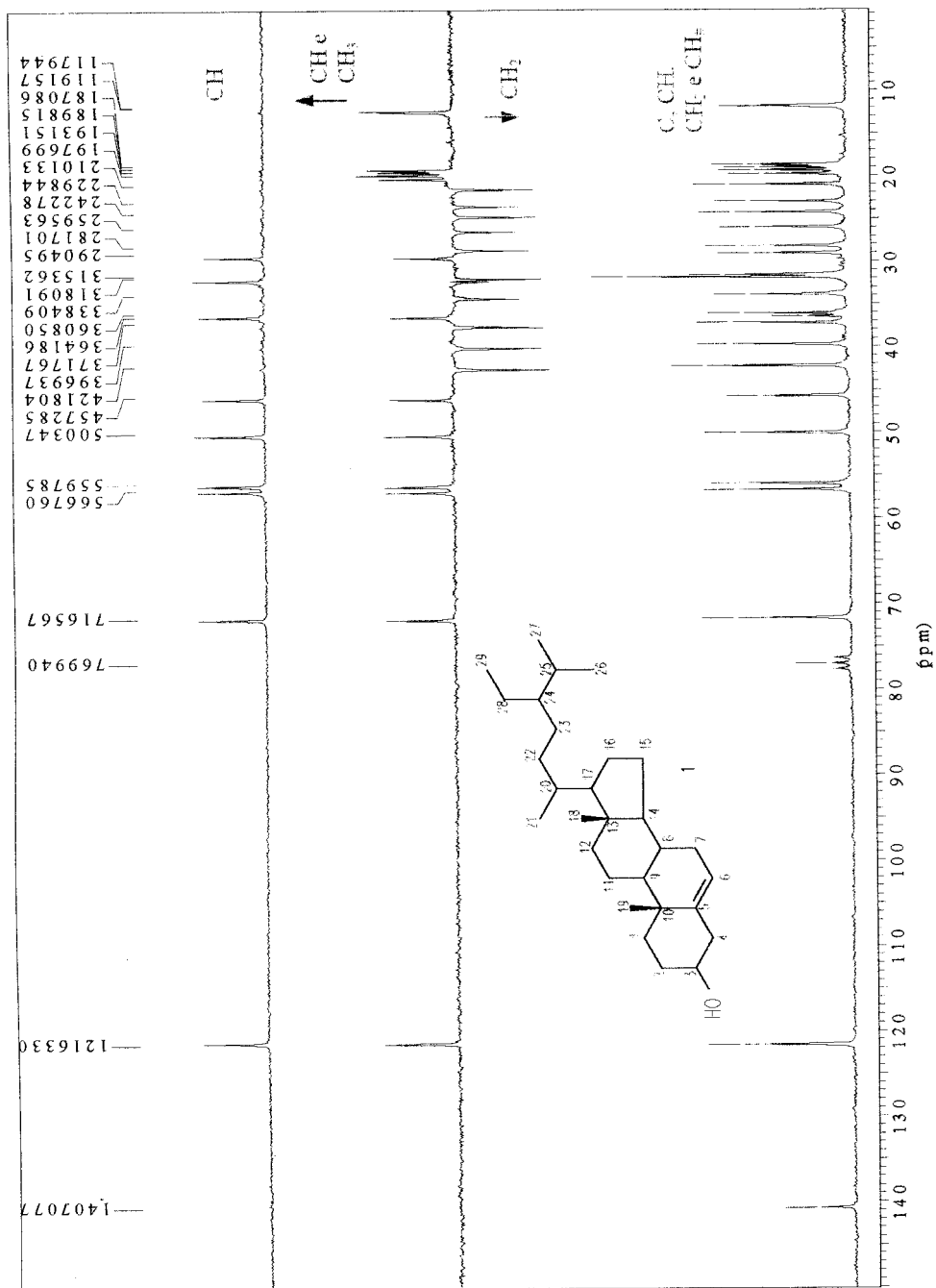


Figura 4: Espectro de RMN ^{13}C da substância **1** com DEPT ($\theta = 90$ e 135°) registrado em CDCl_3 .

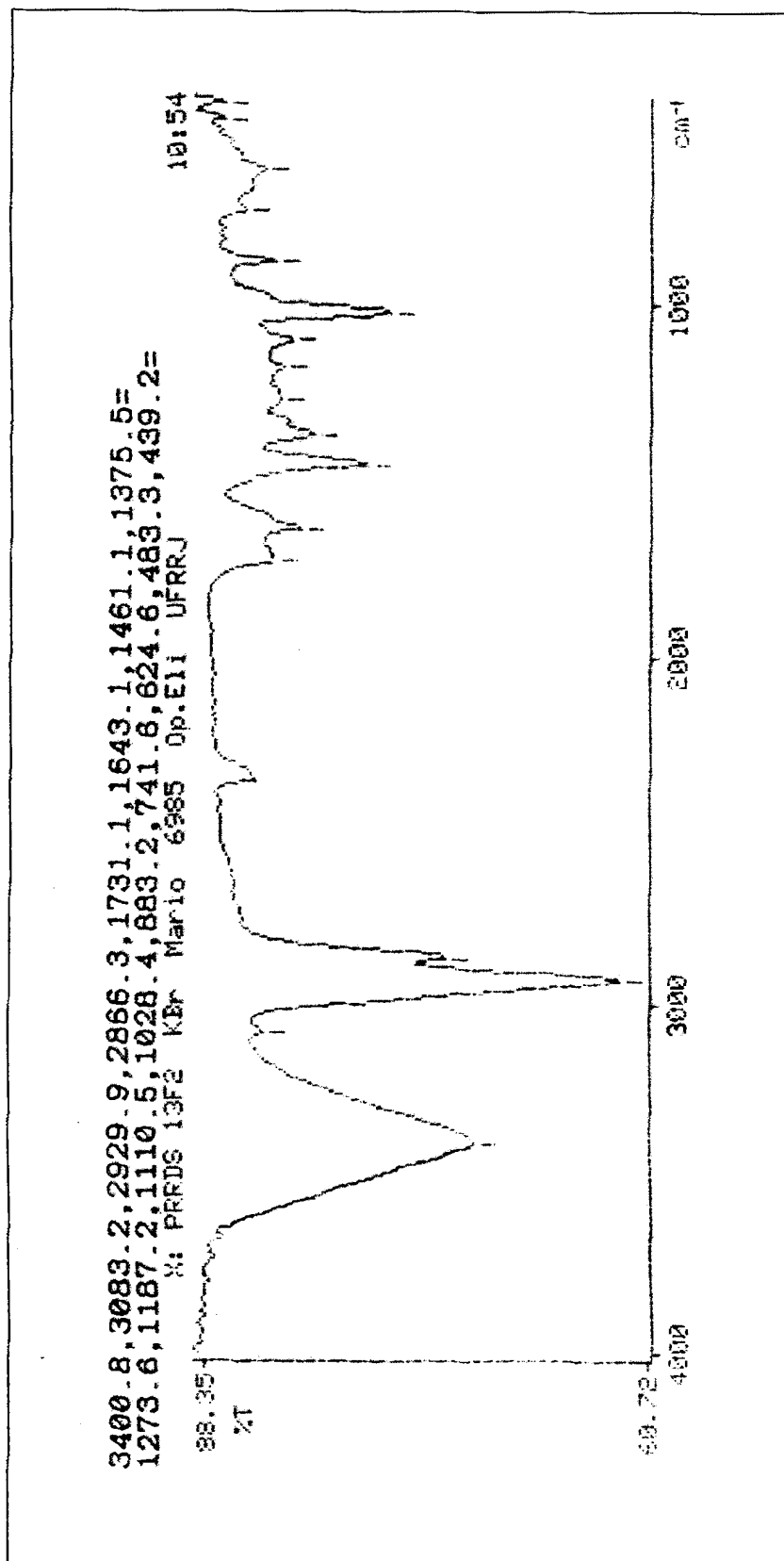


Figura 5: Espectro de IV da substância 2 em pastilha de KBr.

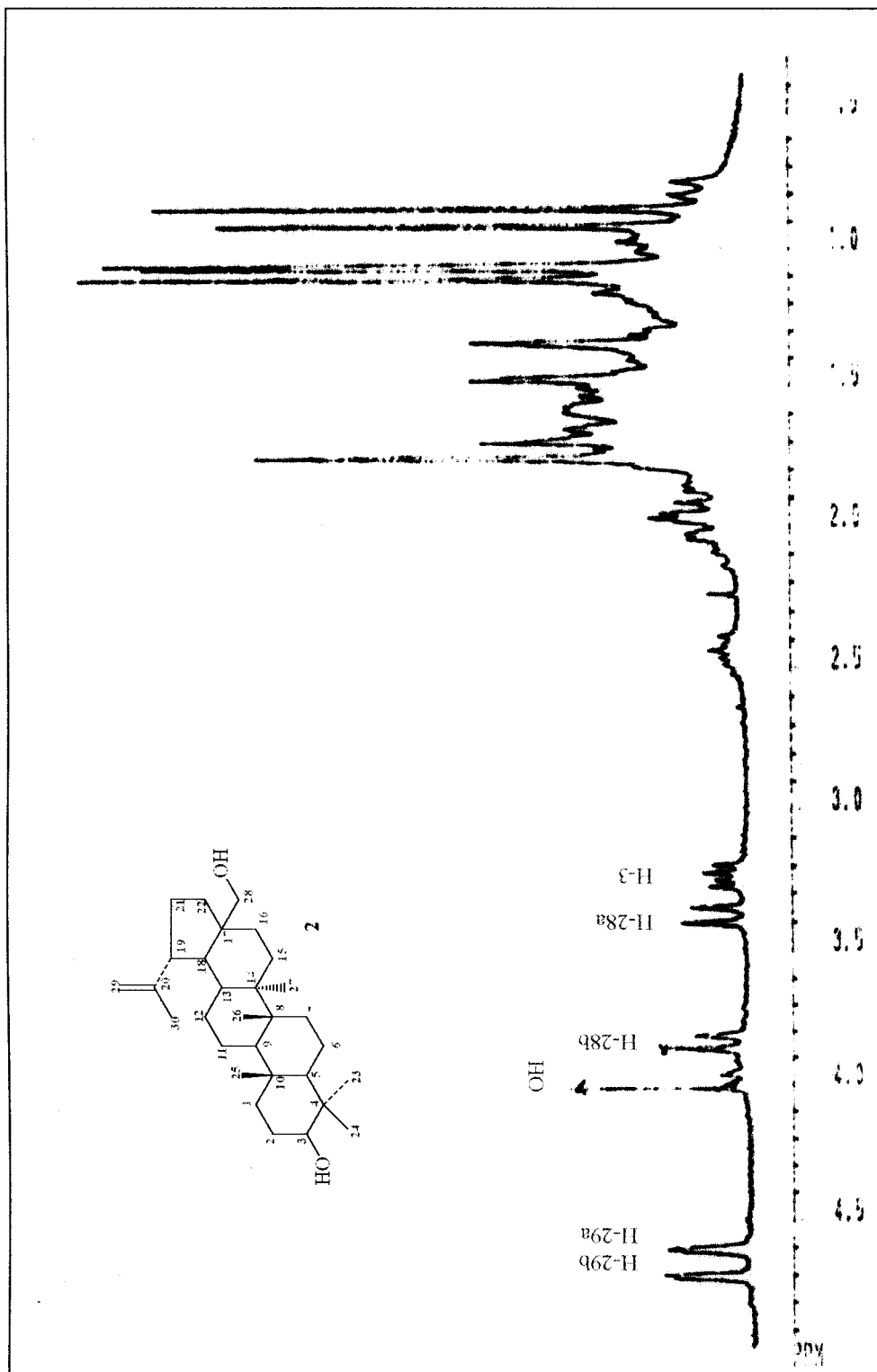


Figura 6: Espectro de RMN ^1H da substância **2** registrado em CDCl_3 .

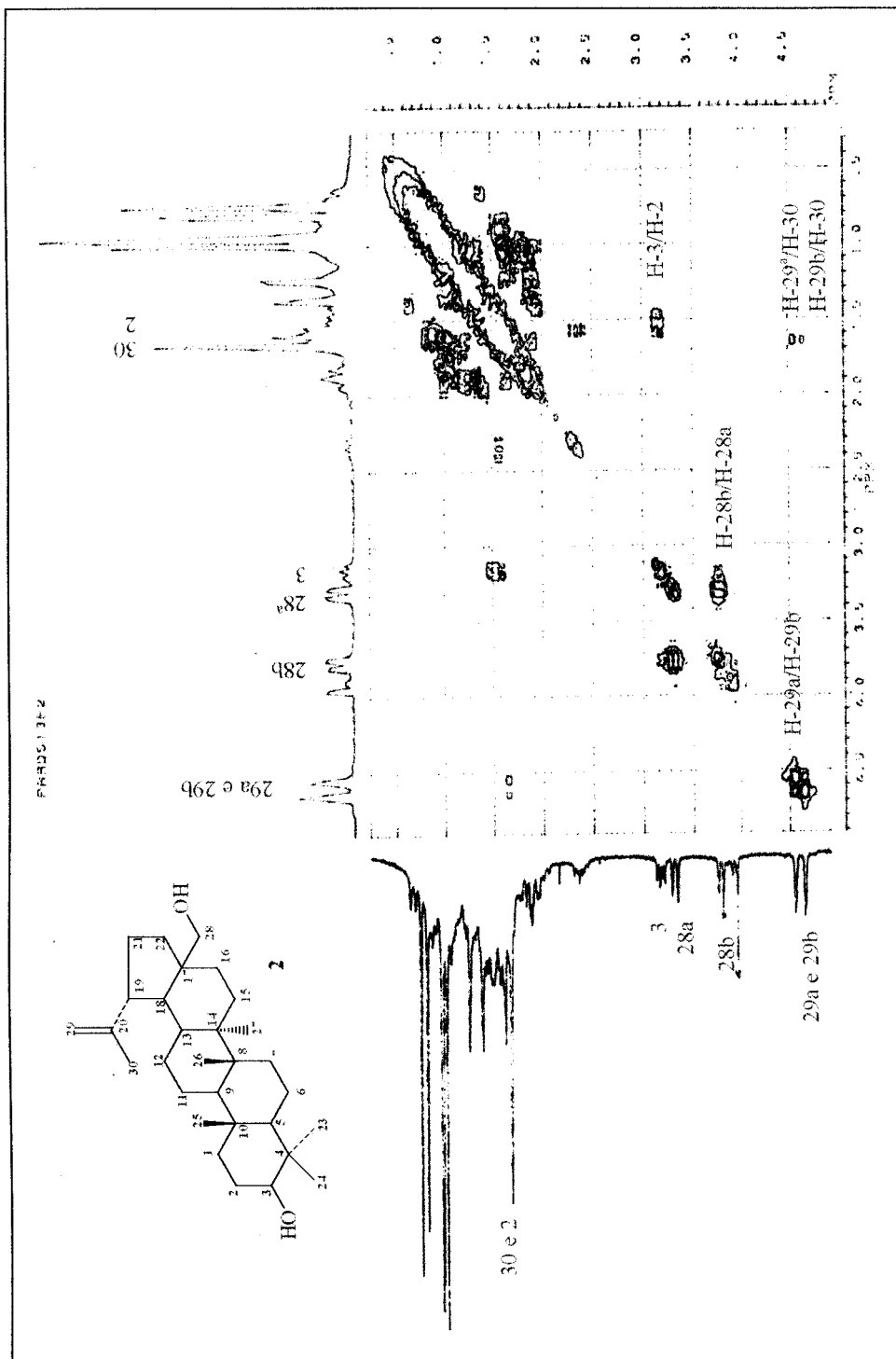


Figura 7: Espectro de RMN 2D [^1H , ^1H -COSY] da substância **2** registrado em CDCl_3 .

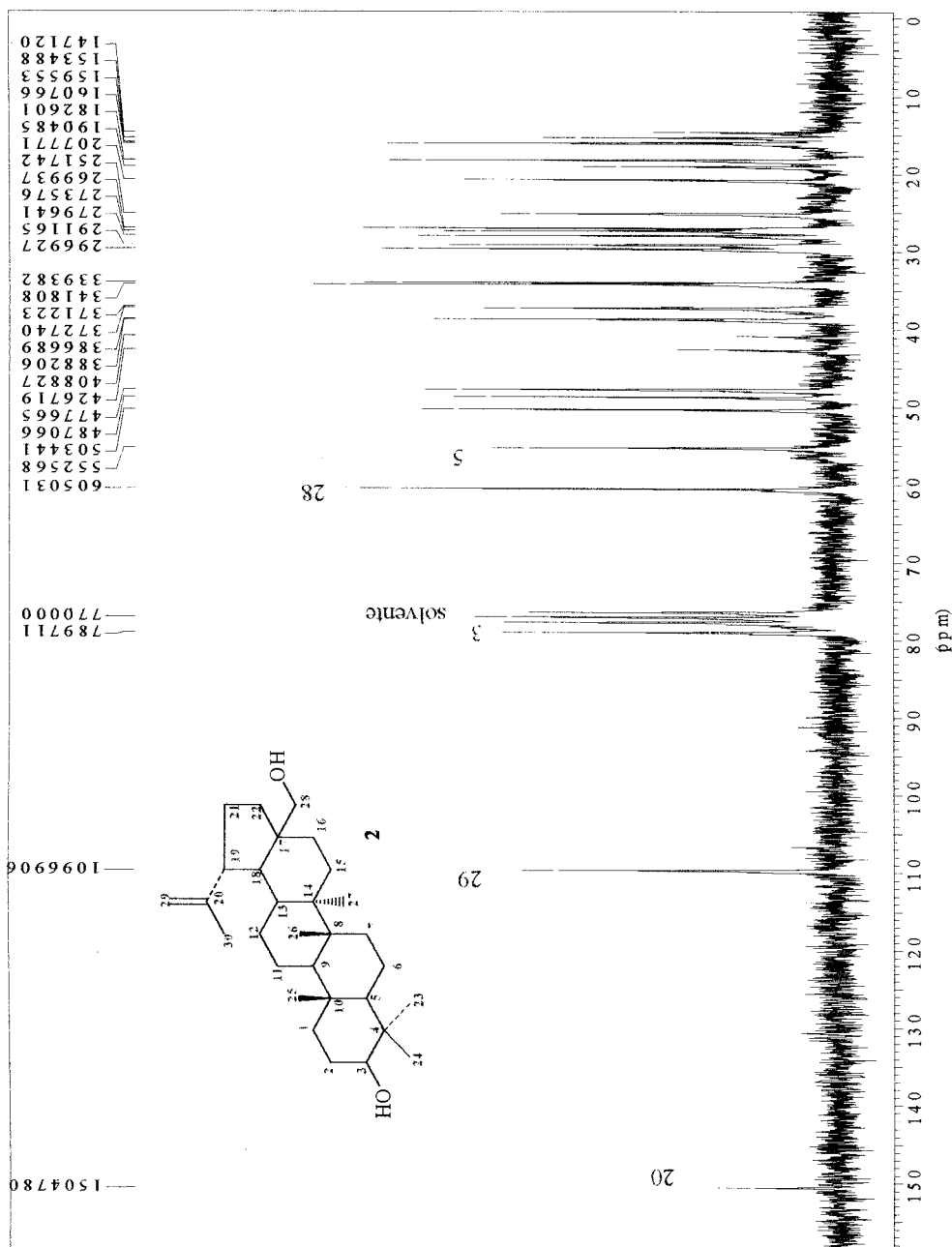


Figura 8: Espectro de ¹³C PND da substância 2 registrado em CDCl₃.

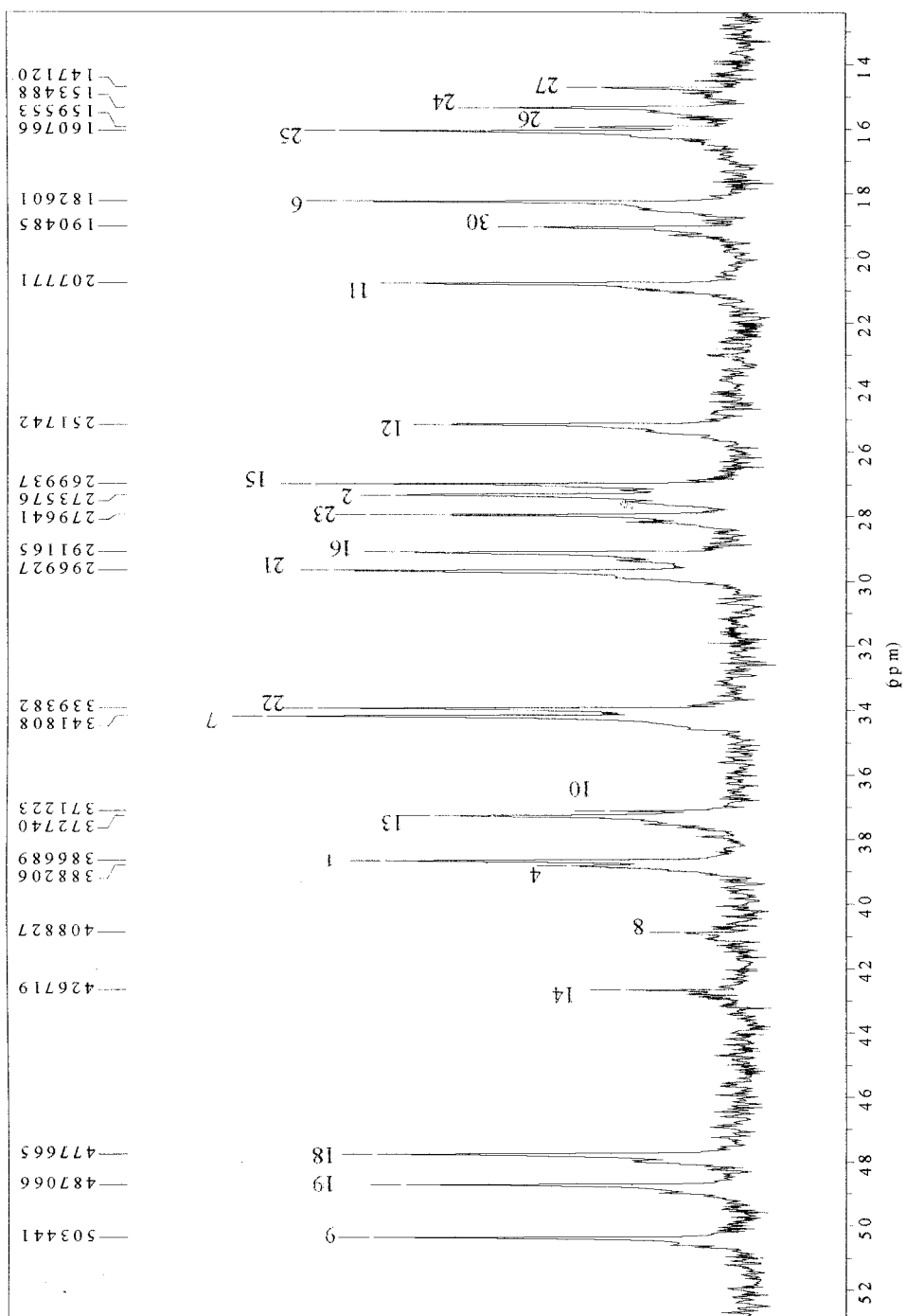


Figura 8a: Expansão (52,9 -12,4 ppm) do espectro de RMN ^{13}C PND da substância **2** registrado em CDCl_3 .

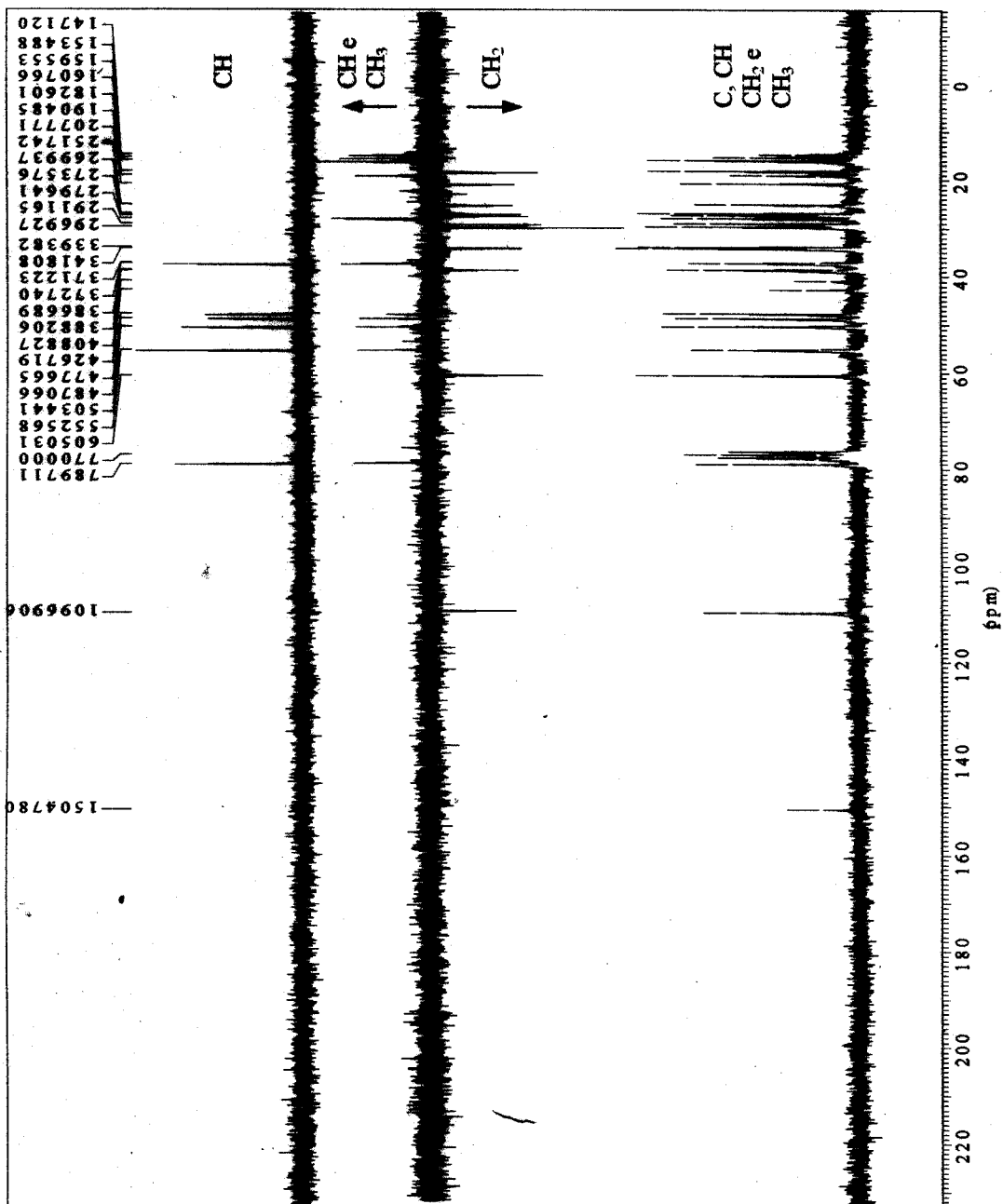


Figura 9: Espectro de RMN ^{13}C da substância 2 com DEPT ($\theta = 90$ e 135°) registrado em CDCl_3 .

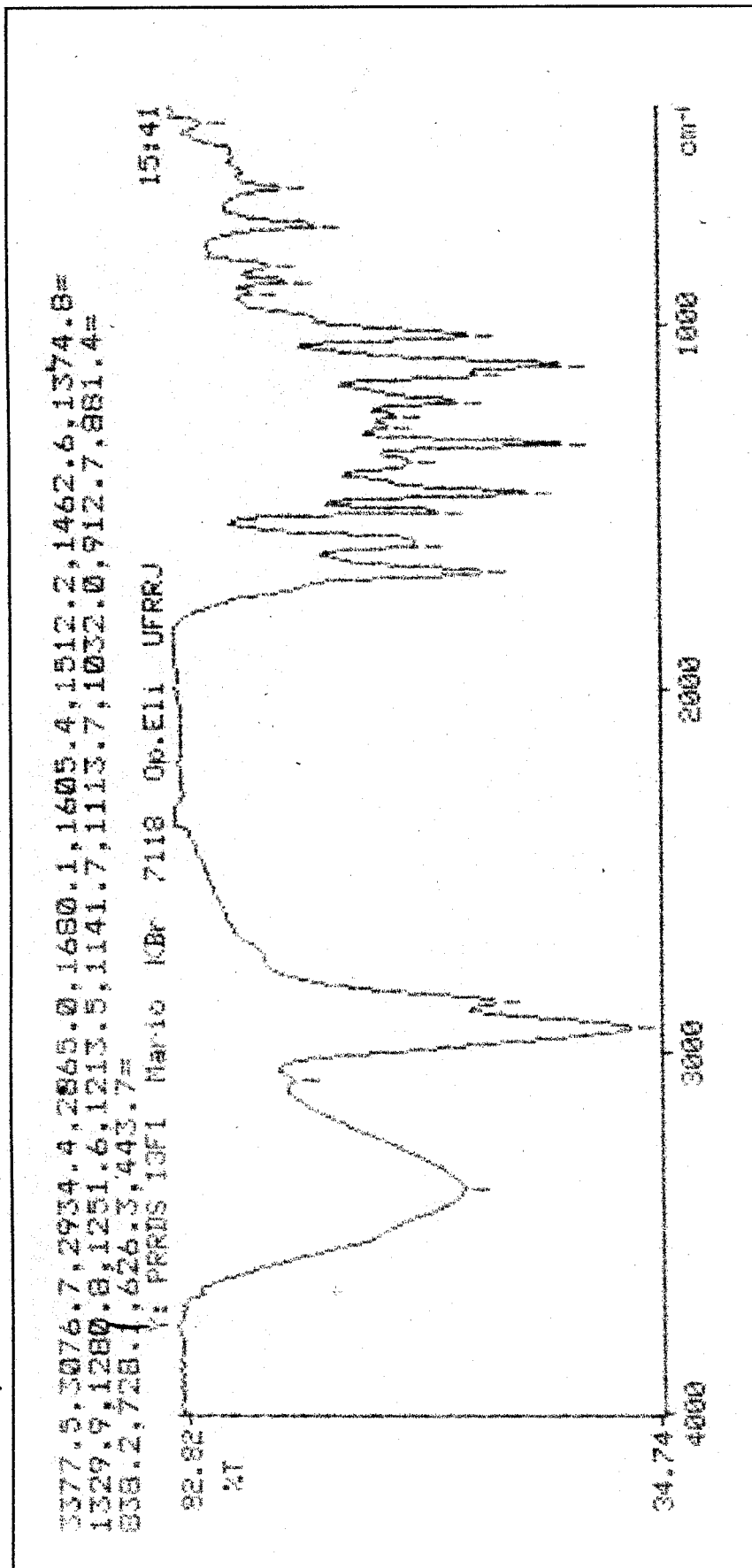


Figura 10: Espectro de IV da substância 3 em pastilha de KBr.

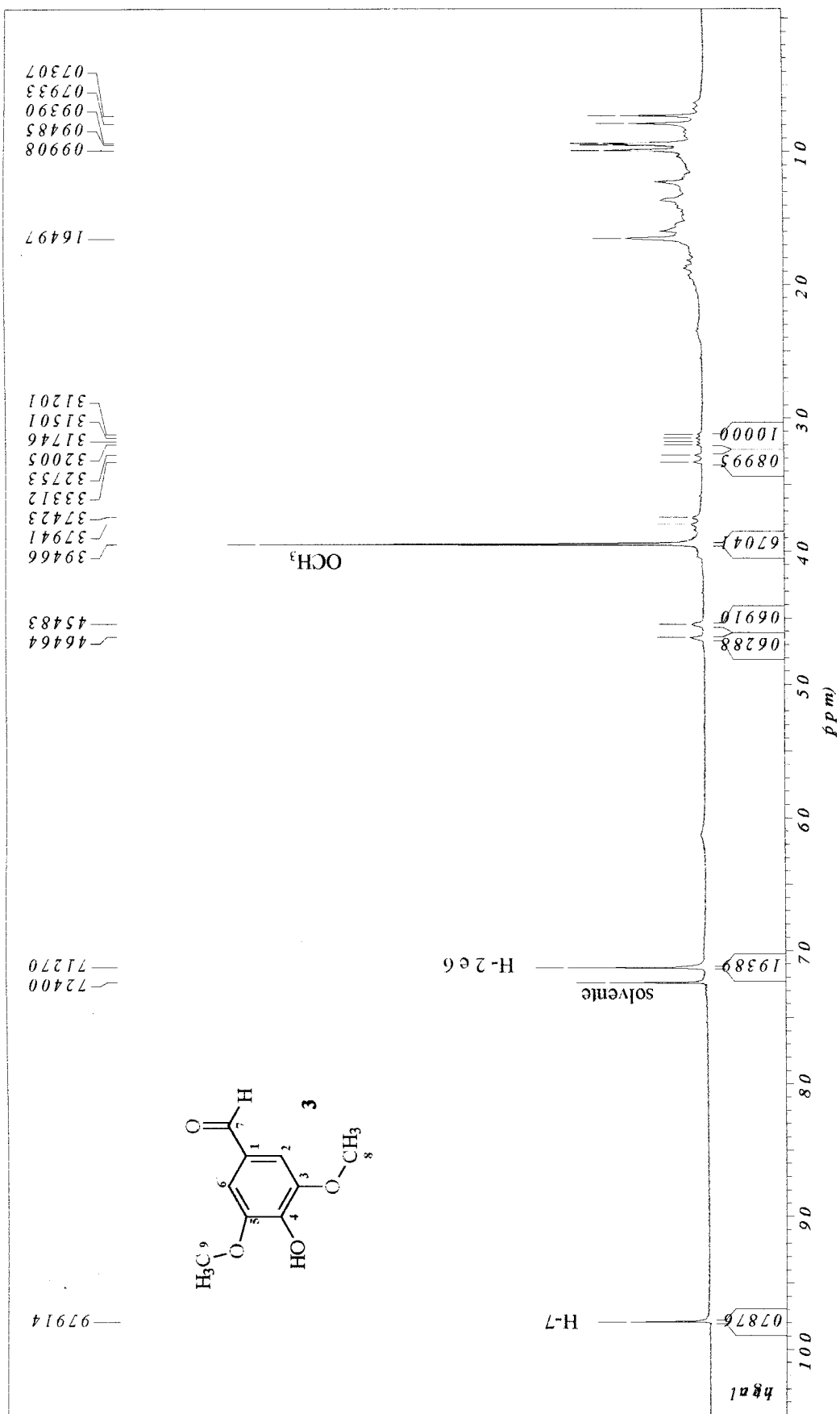


Figura 11: Espectro de RMN ¹H da substância **3** registrado em CDCl₃.

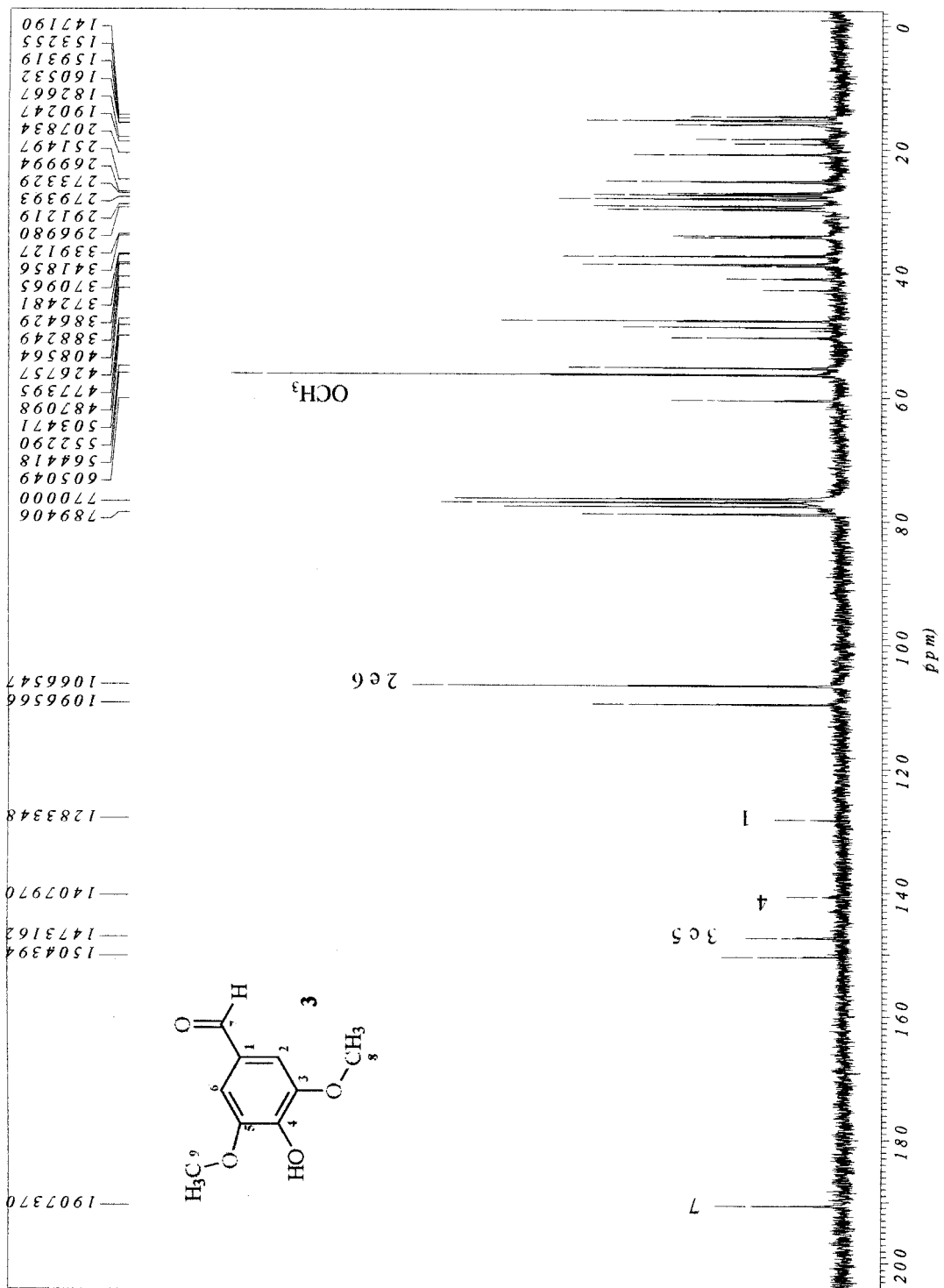


Figura 12: Espectro de RMN ¹³C PND da substância 3 registrado em CDCl₃.

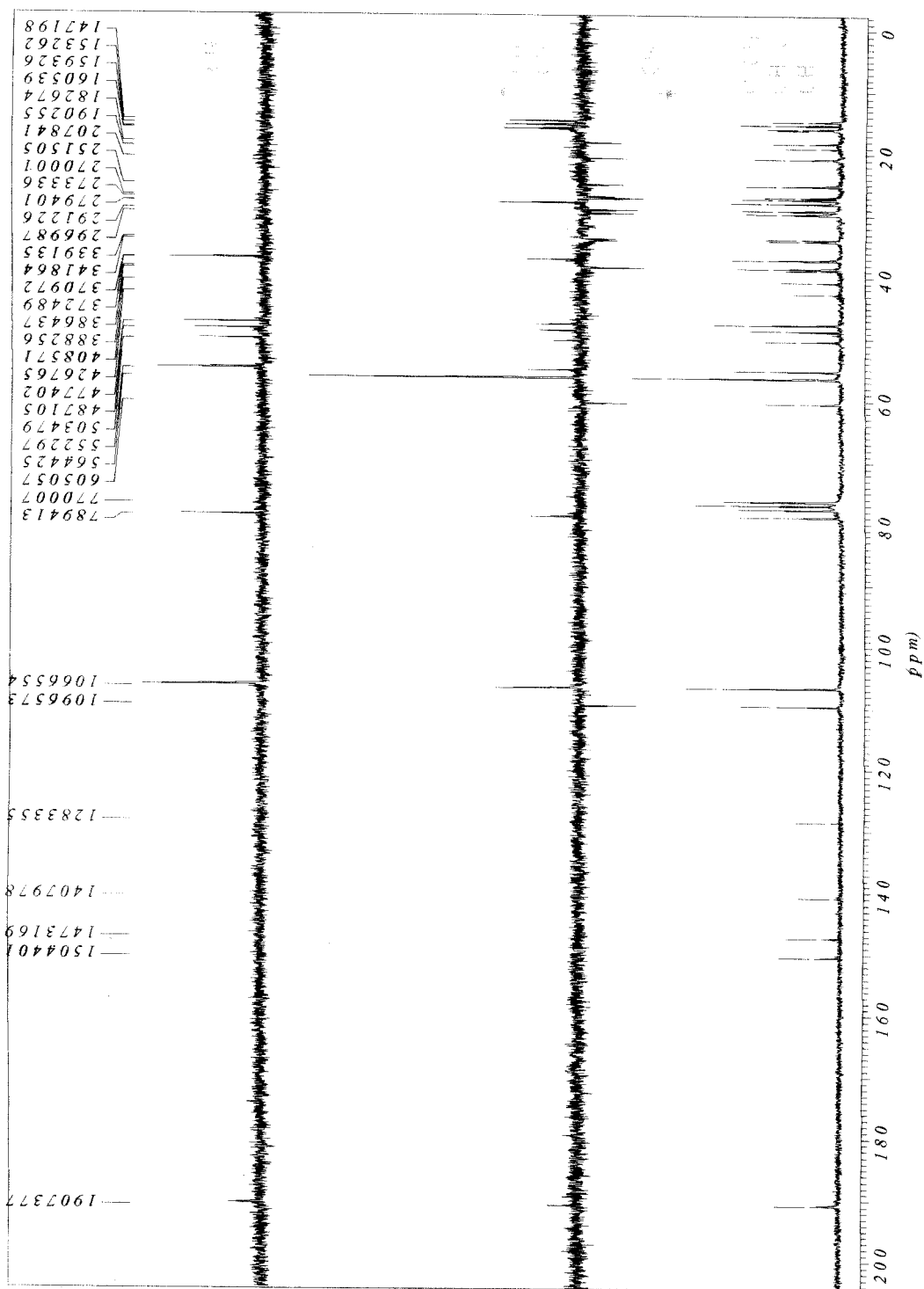


Figura 13: Espectro de RMN ^{13}C da substância 3 com DEPT ($\theta = 90$ e 135°) registrado em CDCl_3 .

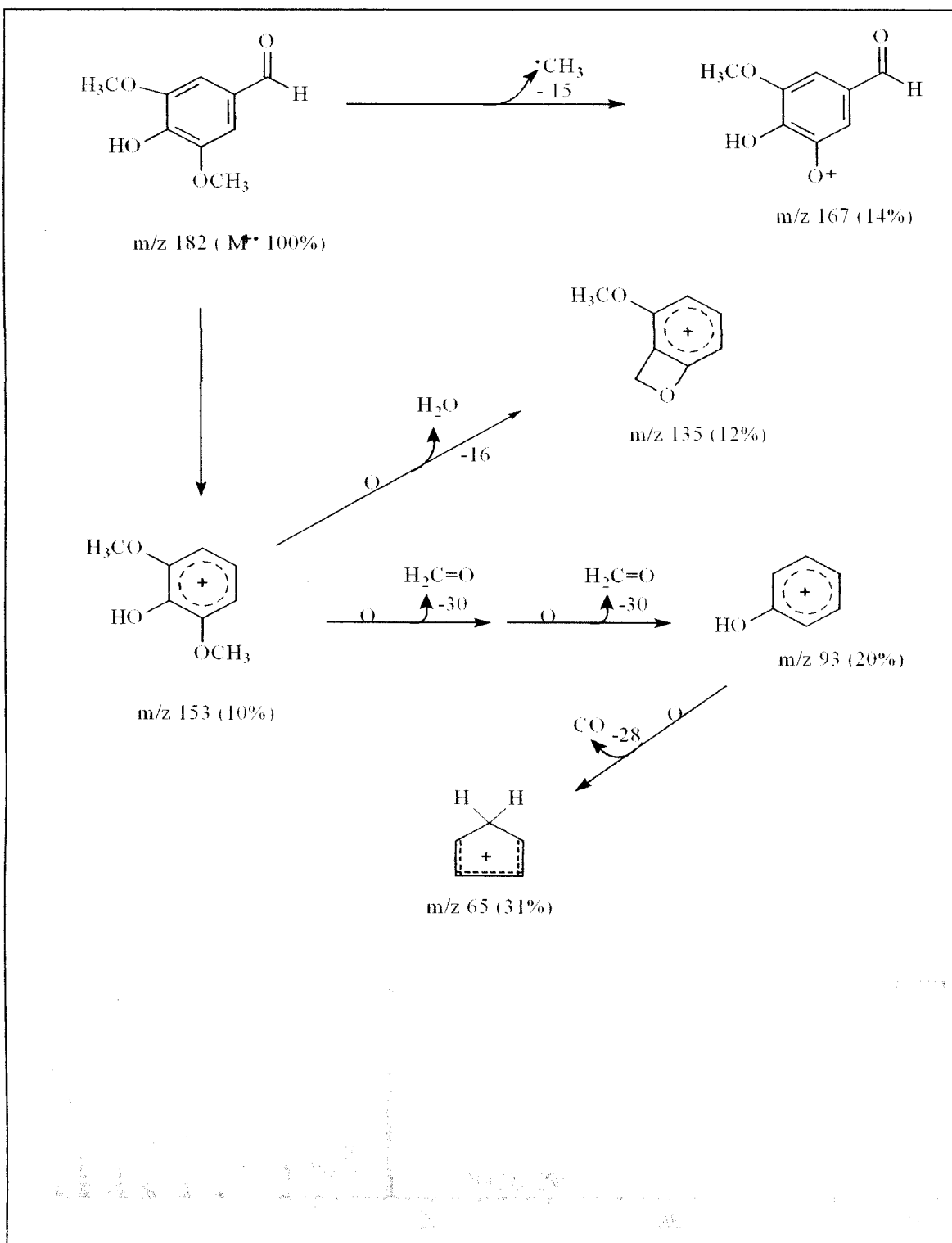


Figura 14: Espectro de massas da substância 3 obtido com impacto de elétrons.

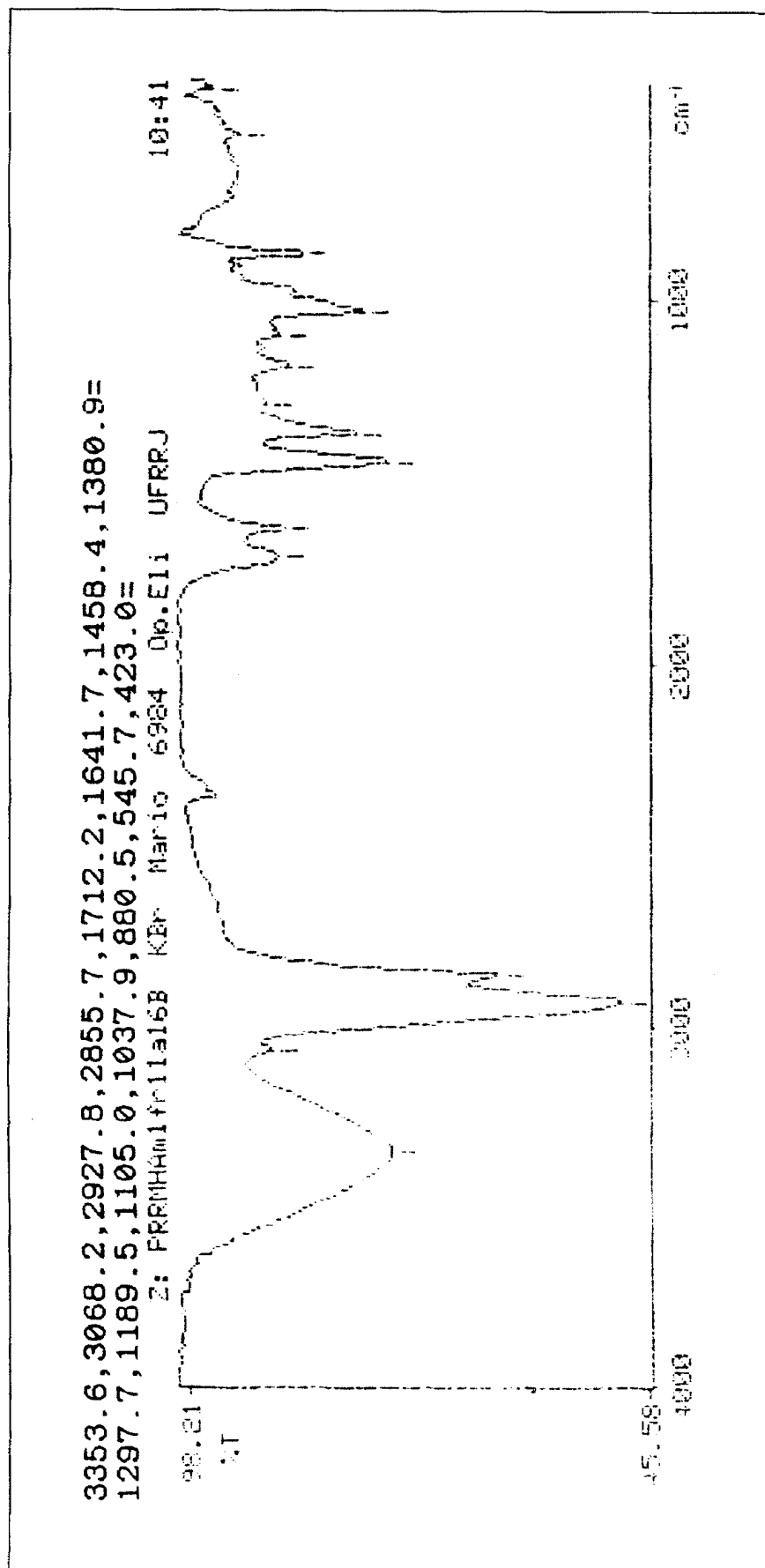


Figura 15: Espectro de IV da substância 4 em pastilha de KBr.

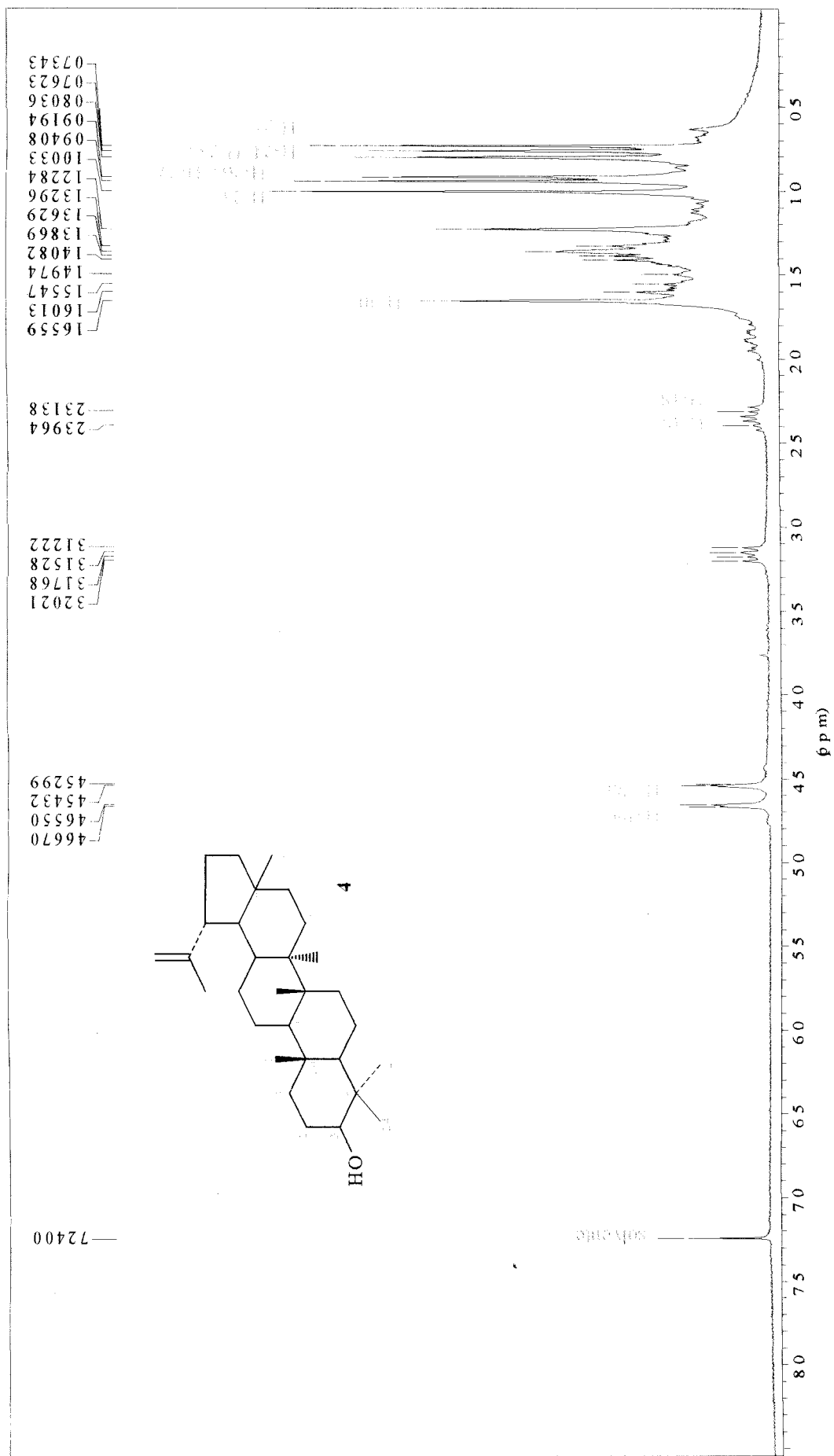


Figura 16: Espectro de RMN ¹H da substância 4 registrado em CDCl₃.

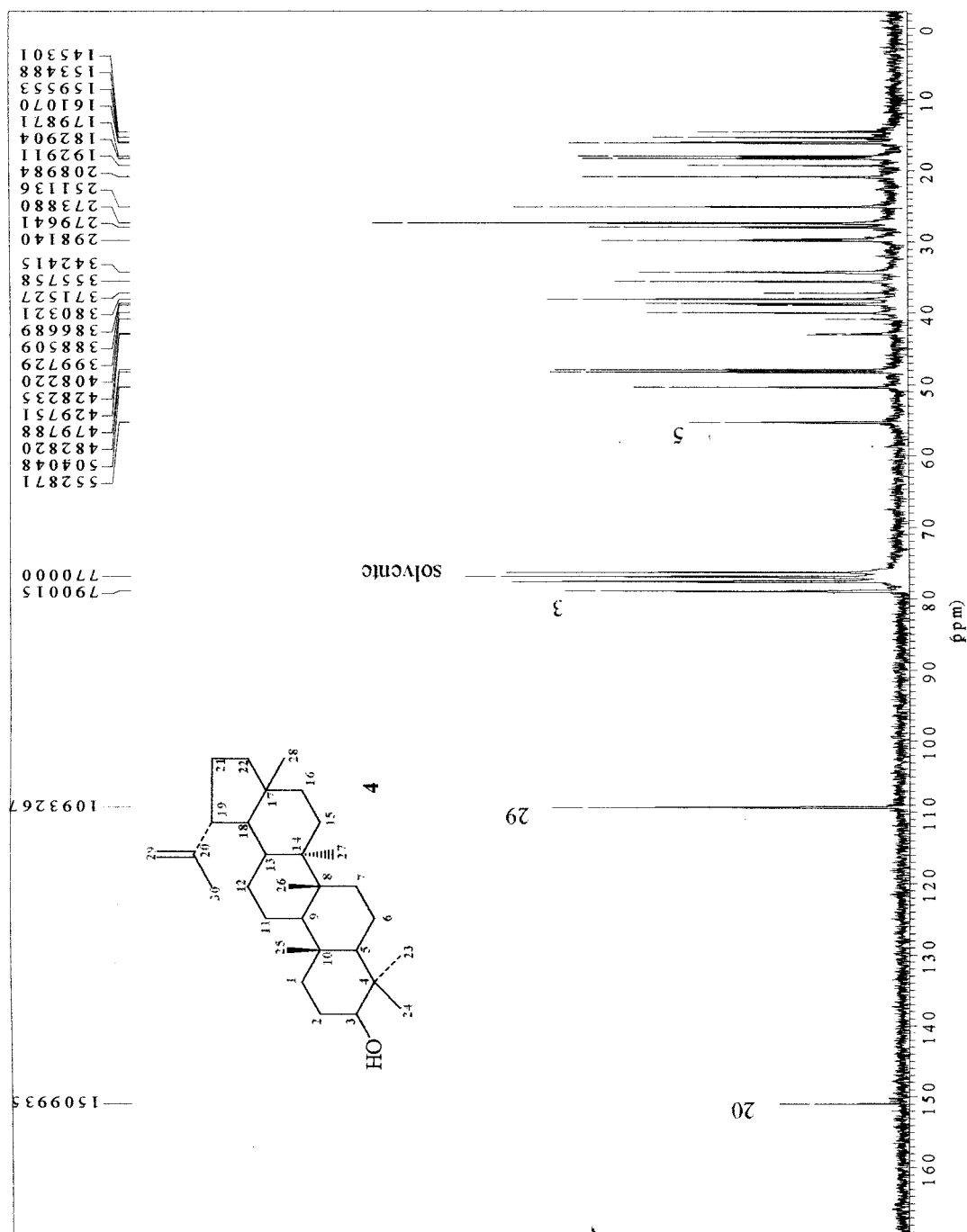


Figura 17: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância 4 registrado em CDCl_3 .

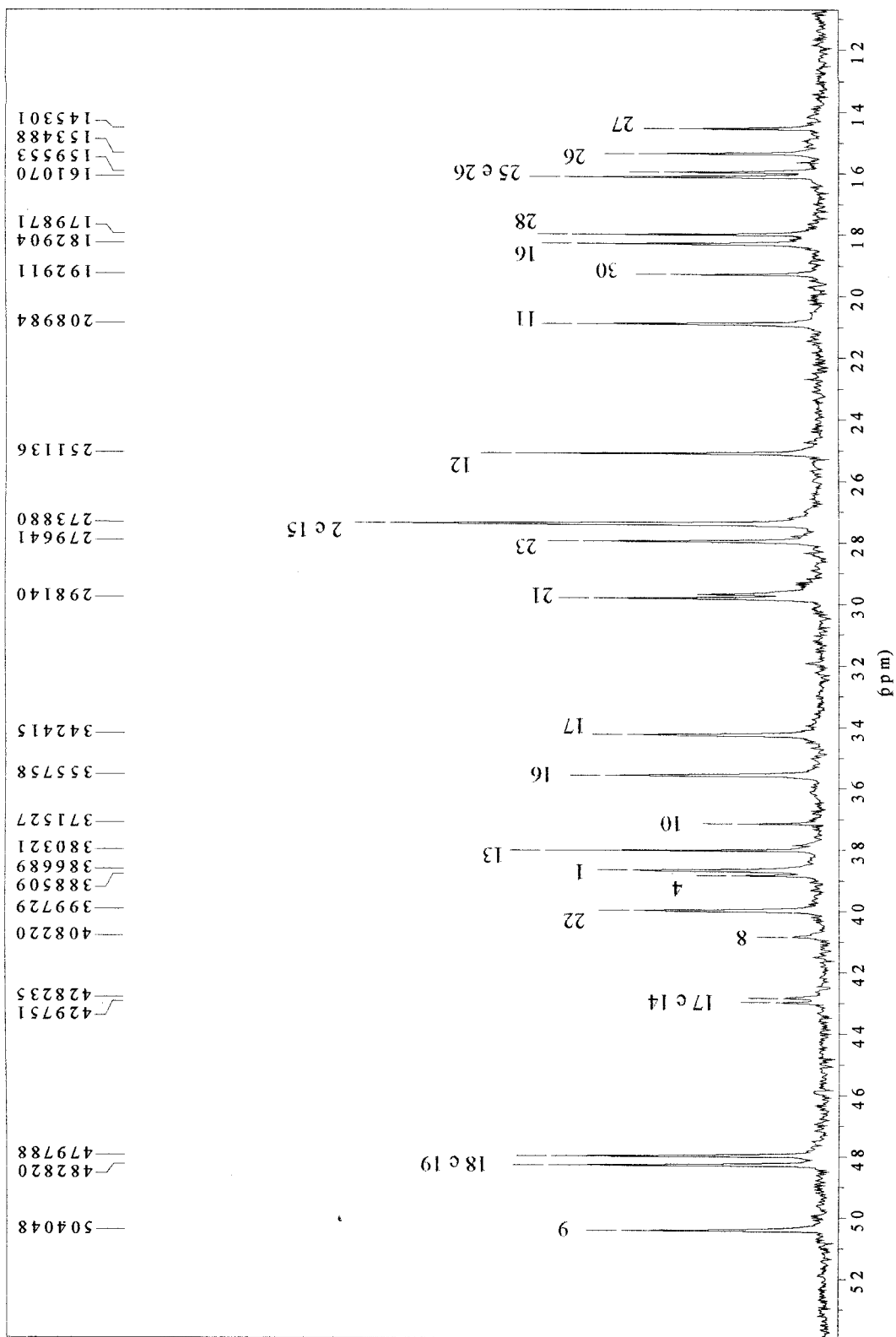


Figura 17a: Expansão (54 -10,6 ppm) do espectro de ¹³C PND da substância 4 registrado em

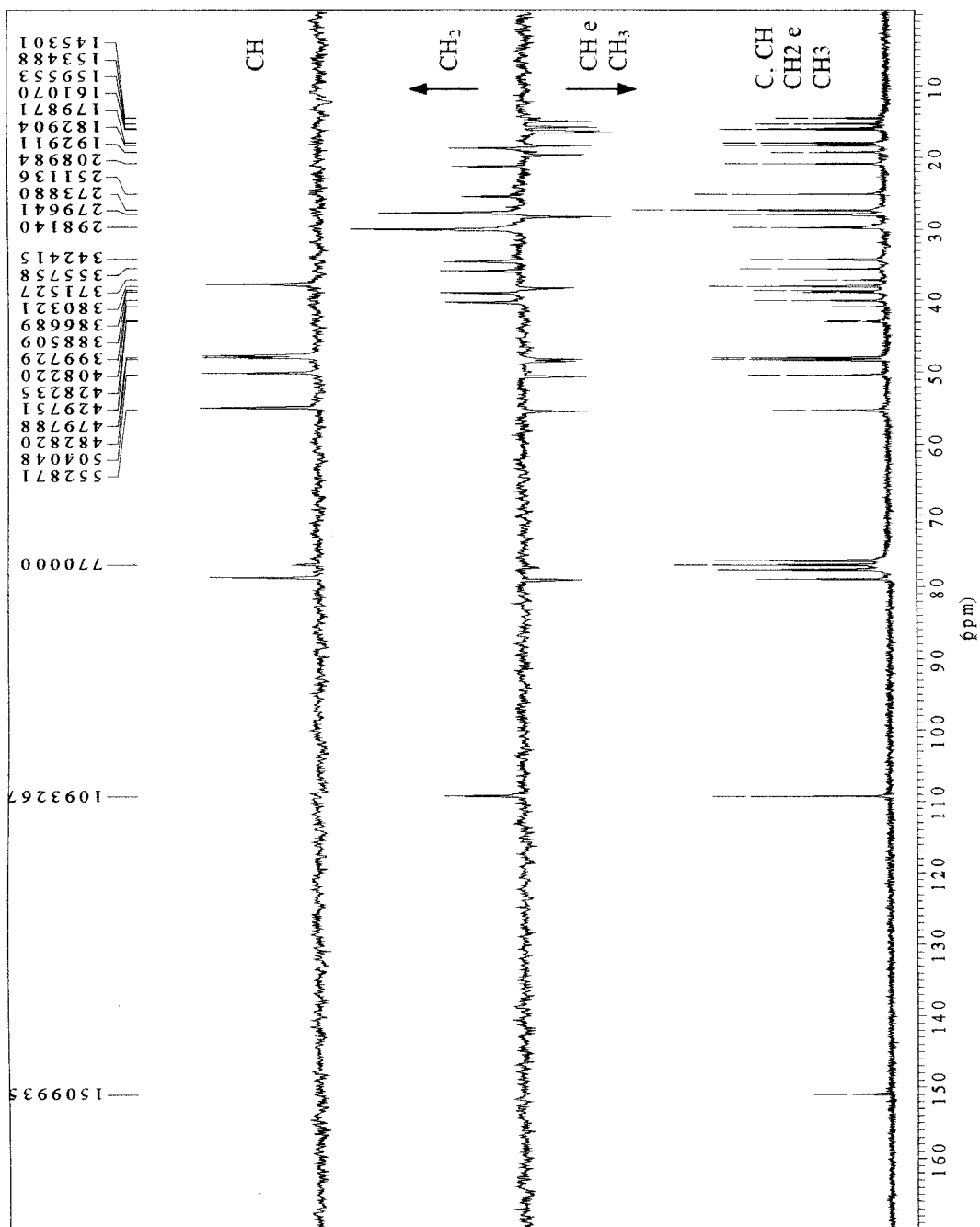


Figura 18: Espectro de RMN ¹³C da substância **4** com DEPT ($\theta = 90$ e 135°) registrado em CDCl₃.

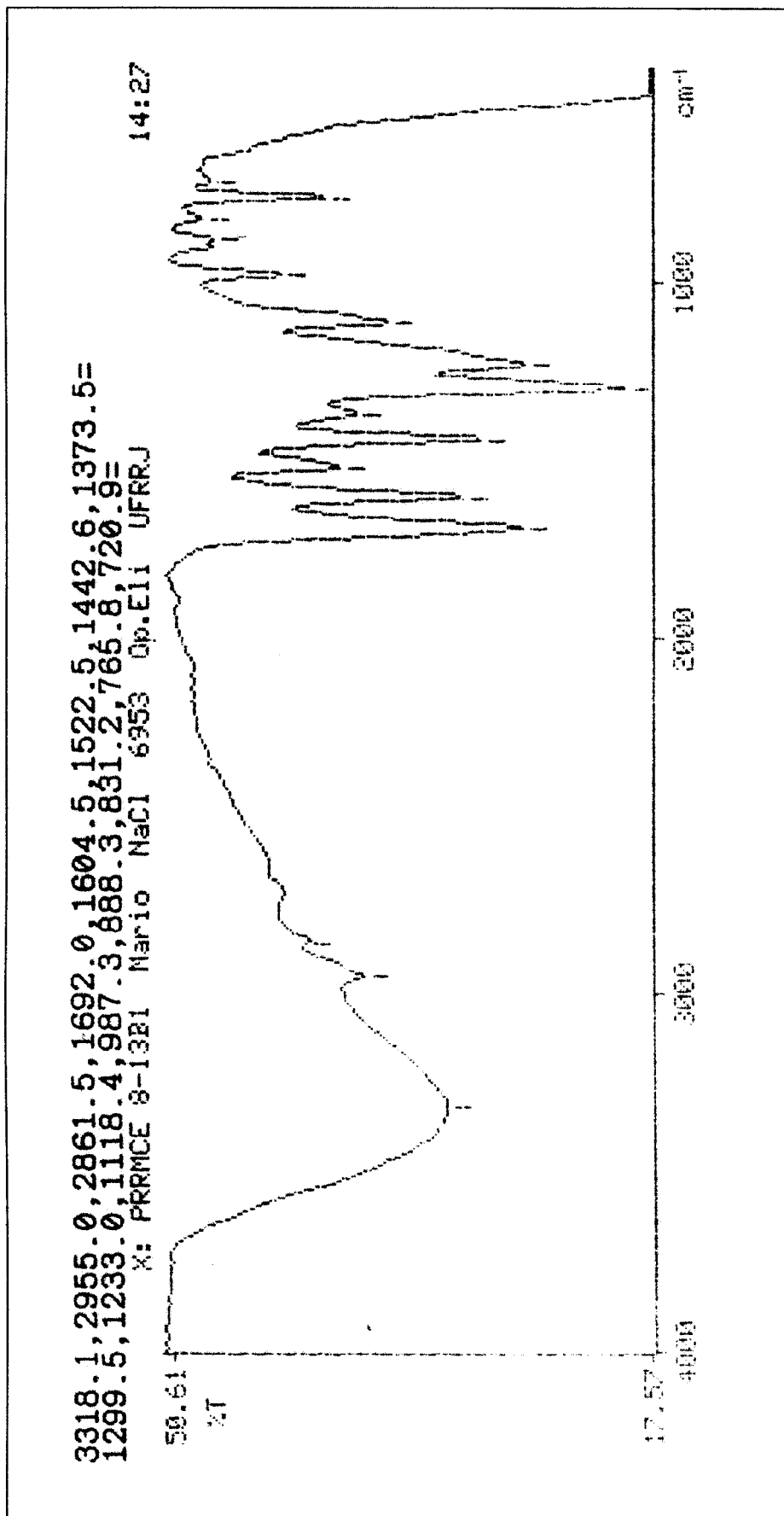


Figura 19: Espectro de IV da substância 5 em filme de NaCl.

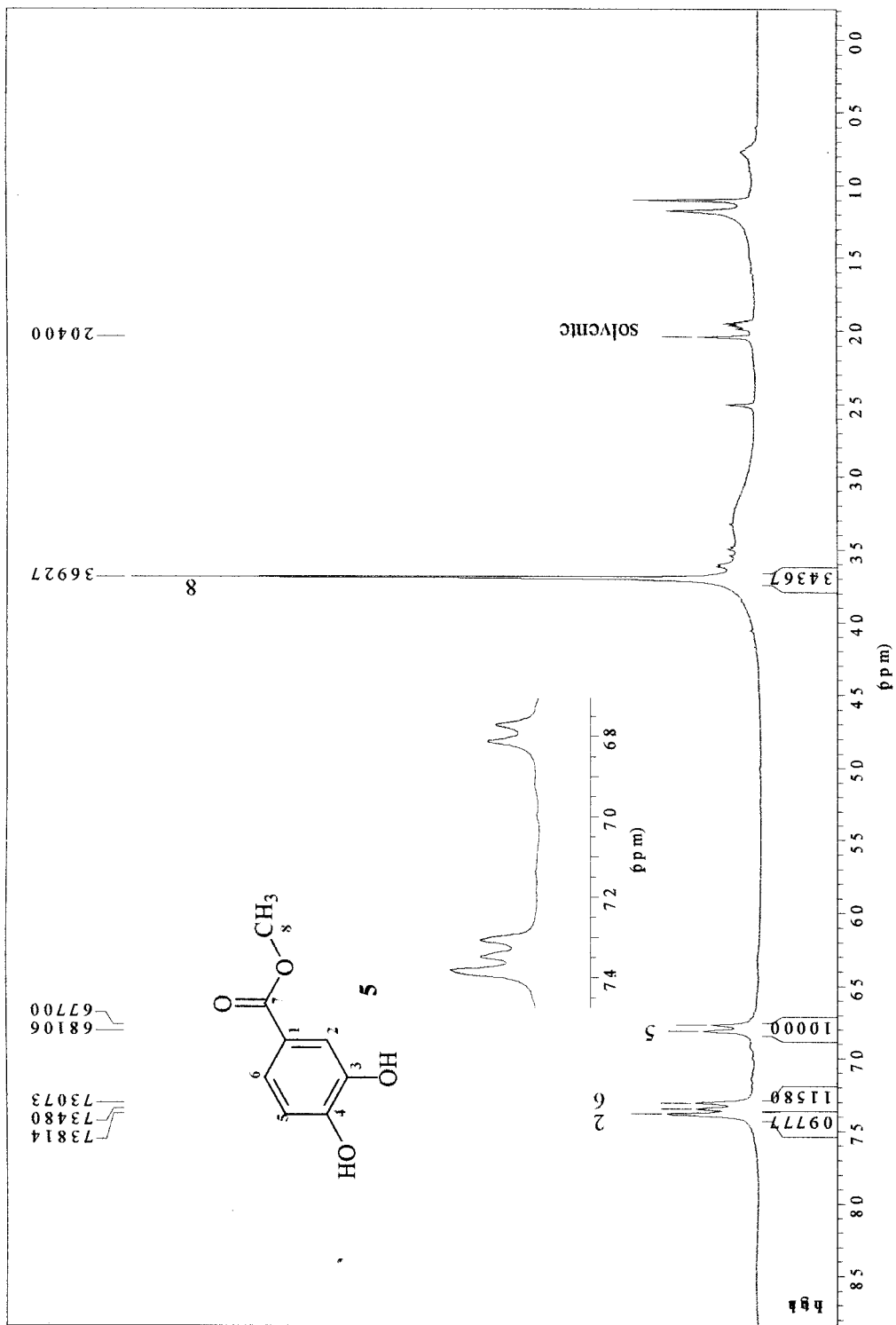


Figura 20: Espectro de RMN ^1H da substância **5** registrado em acetona d_6 .

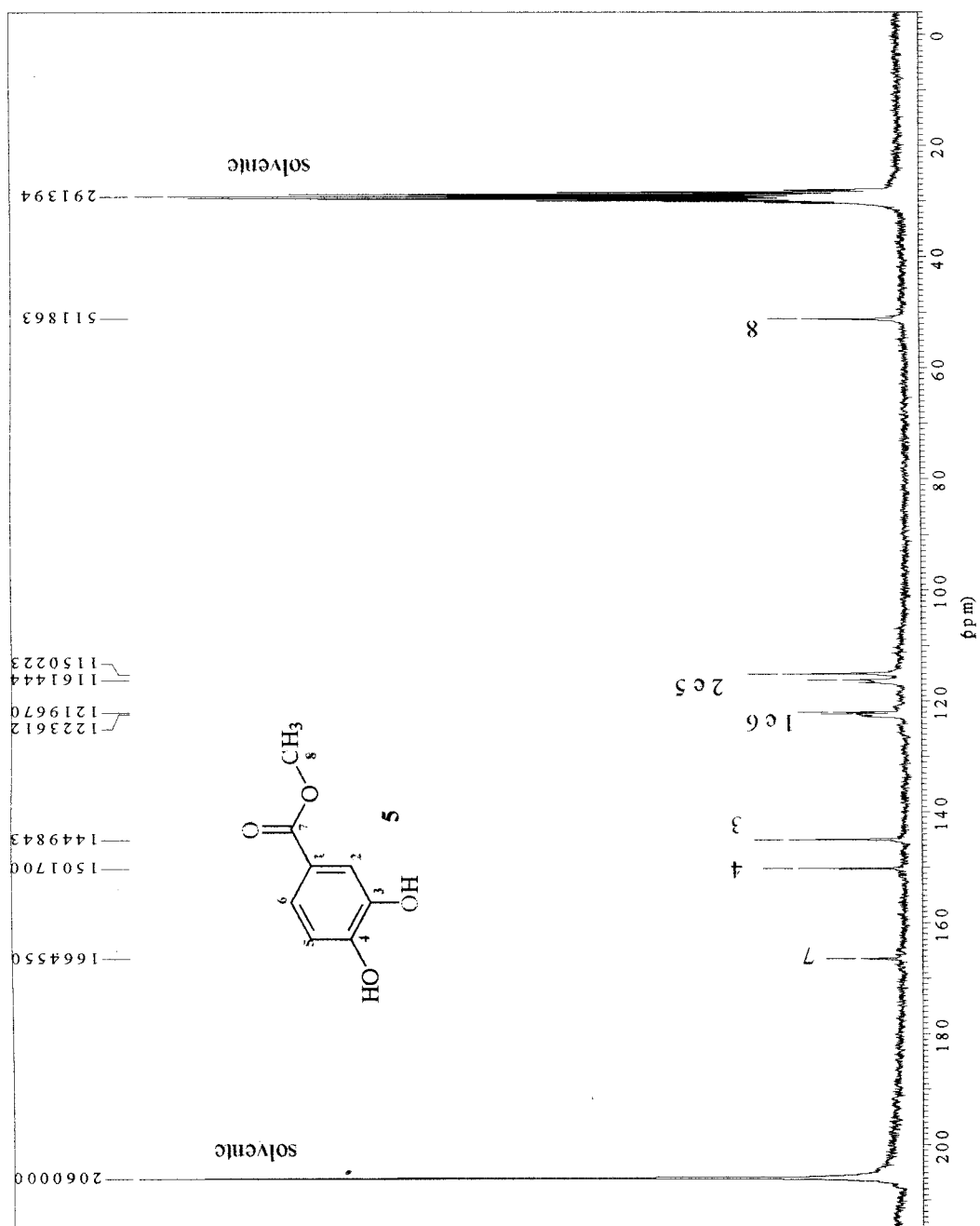


Figura 21: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância **5** registrado em acetona d_6 .

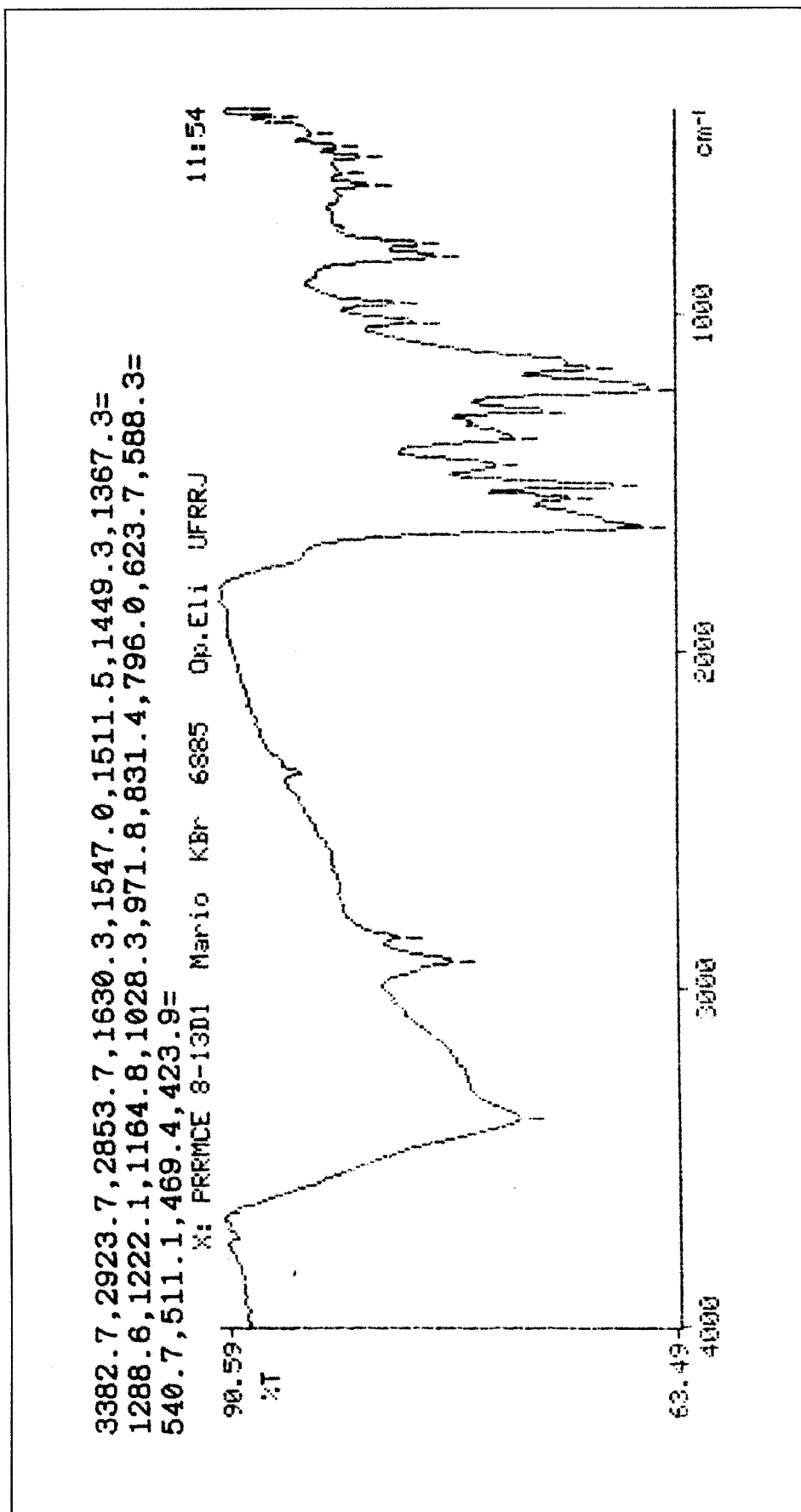


Figura 22: Espectro de IV da substância 6 em pastilha de KBr.

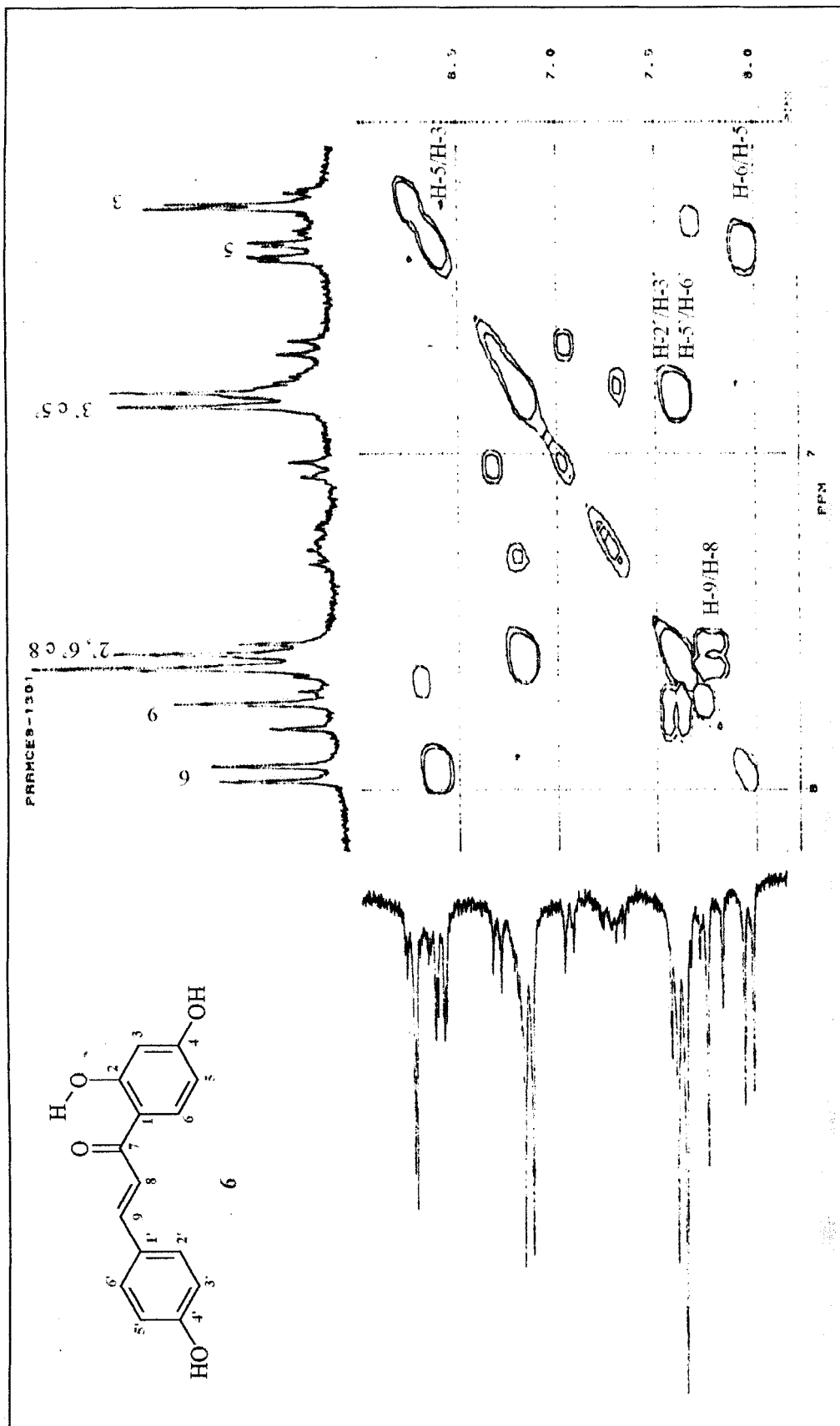


Figura 24: Espectro de RMN 2D [^1H , ^1H - COSY] da substância 6 registrado em MeOD.

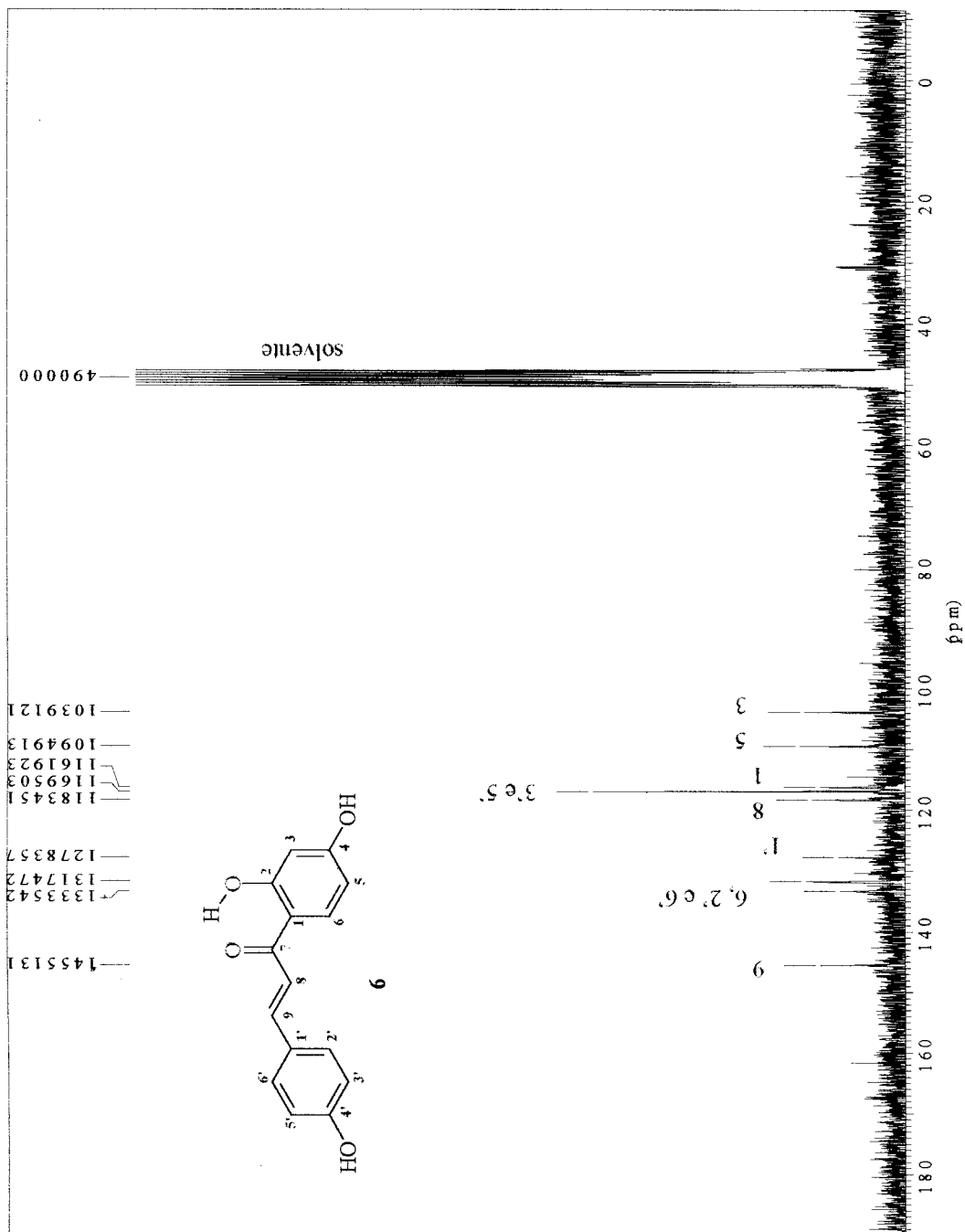


Figura 25: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância **6** registrado em MeOD.

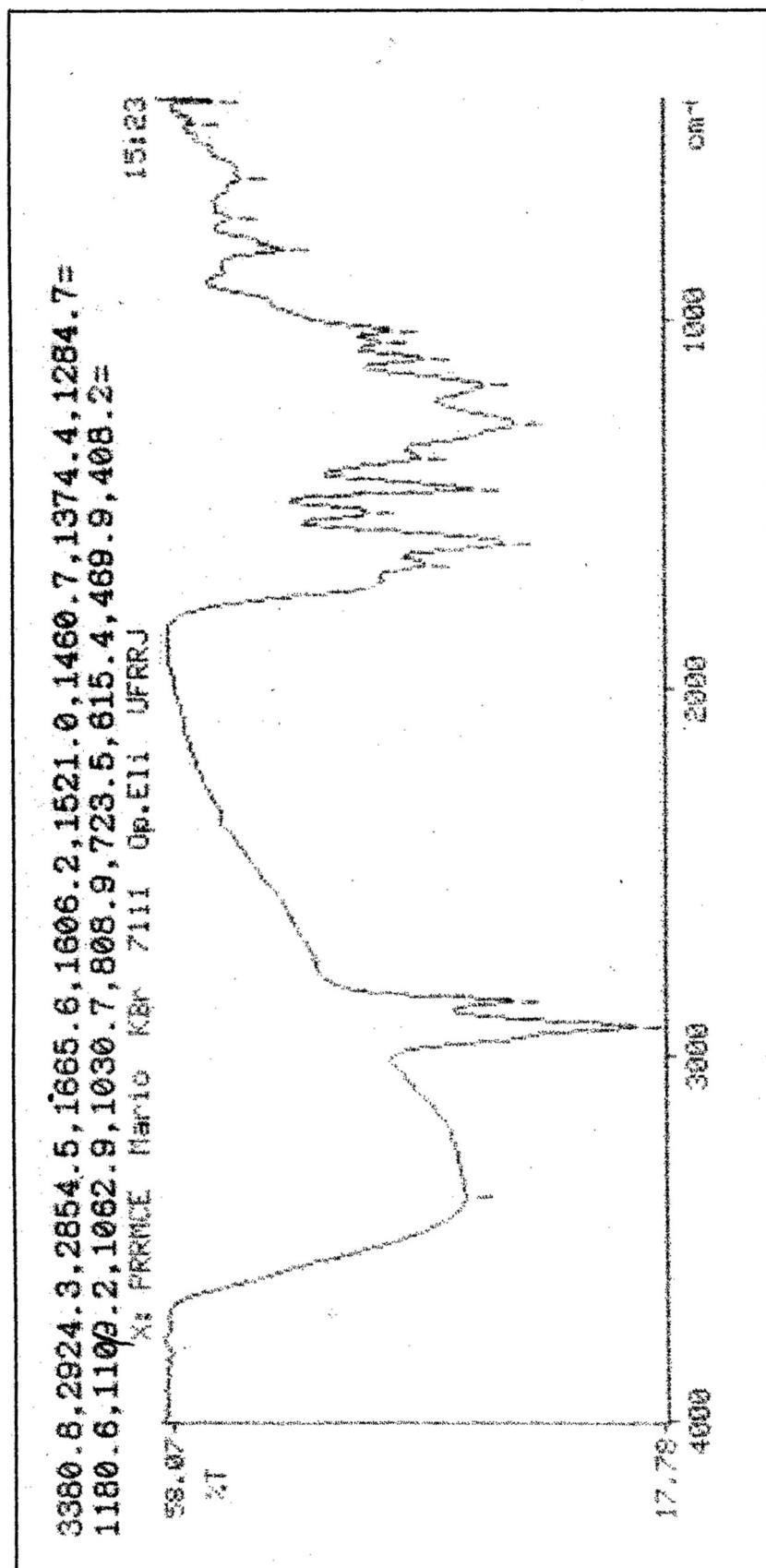


Figura 26: Espectro de IV da substância 7 registrado em pastilha de KBr.

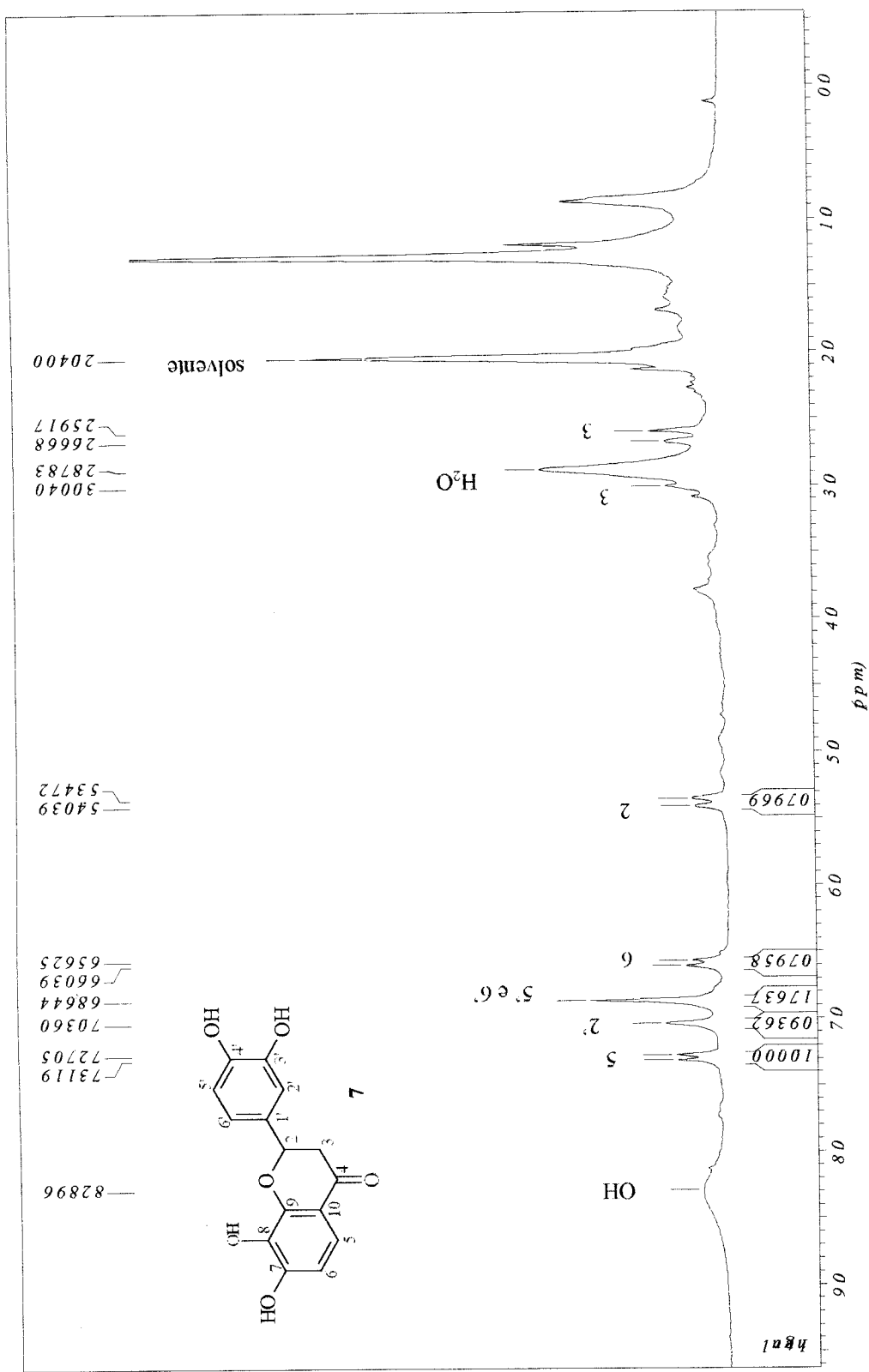


Figura 27: Espectro de RMN ¹H da substância 7 registrado em acetona d₆.

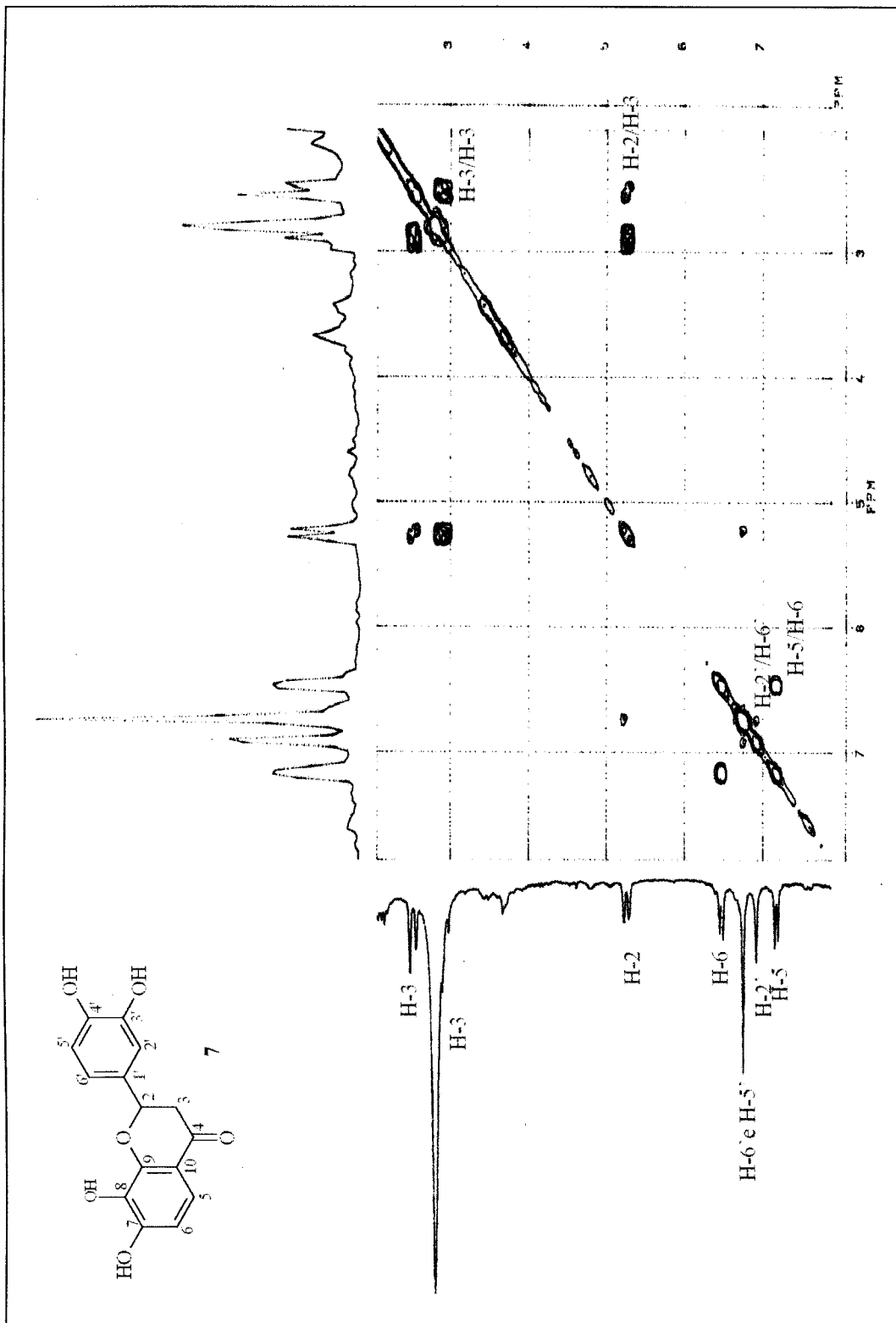


Figura 28: Espectro de RMN 2D [^1H , ^1H -COSY] da substância 7 registrado em acetona d_6 .

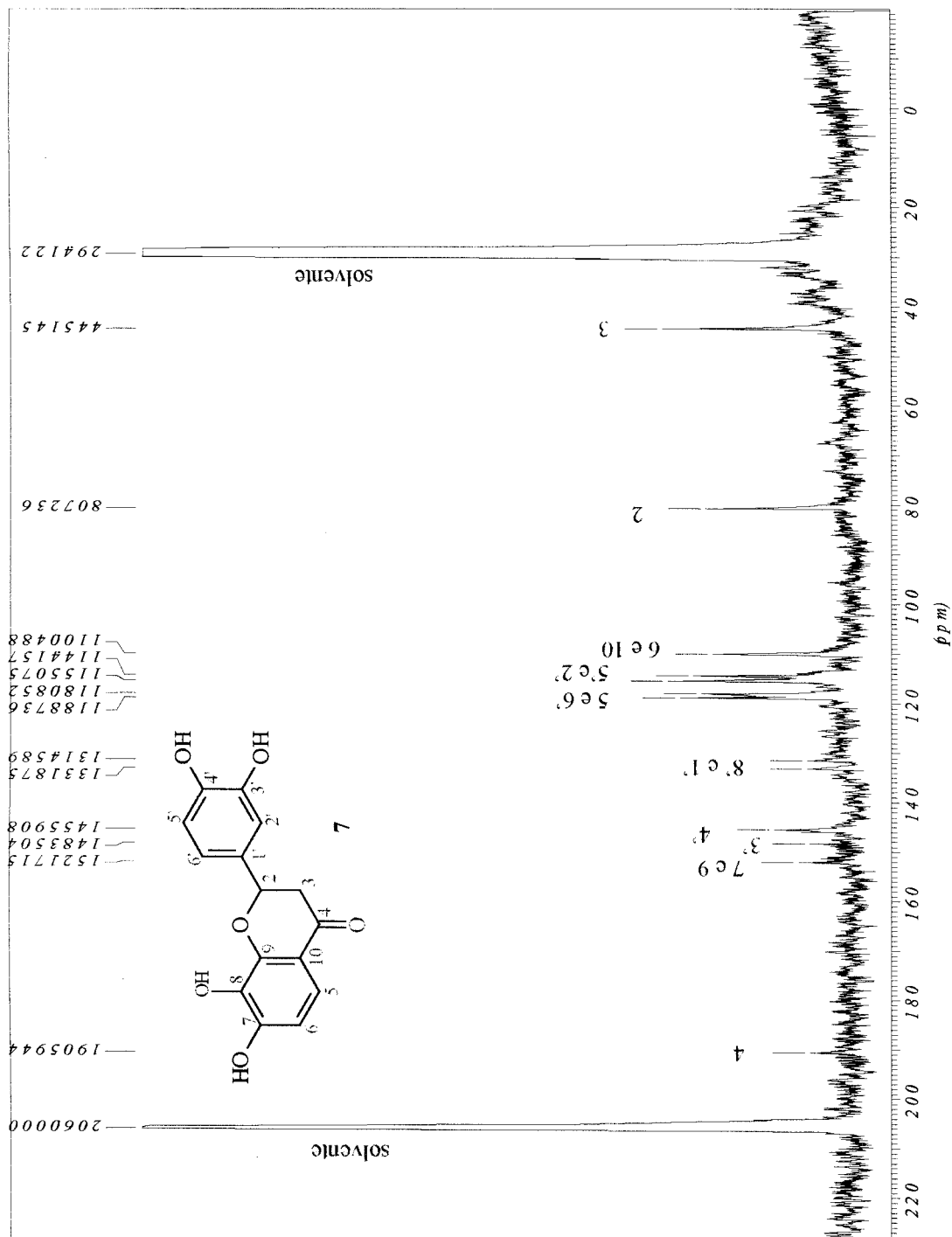


Figura 29: Espectro de RMN ¹³C PND da substância 7 registrado em acetona d₆.

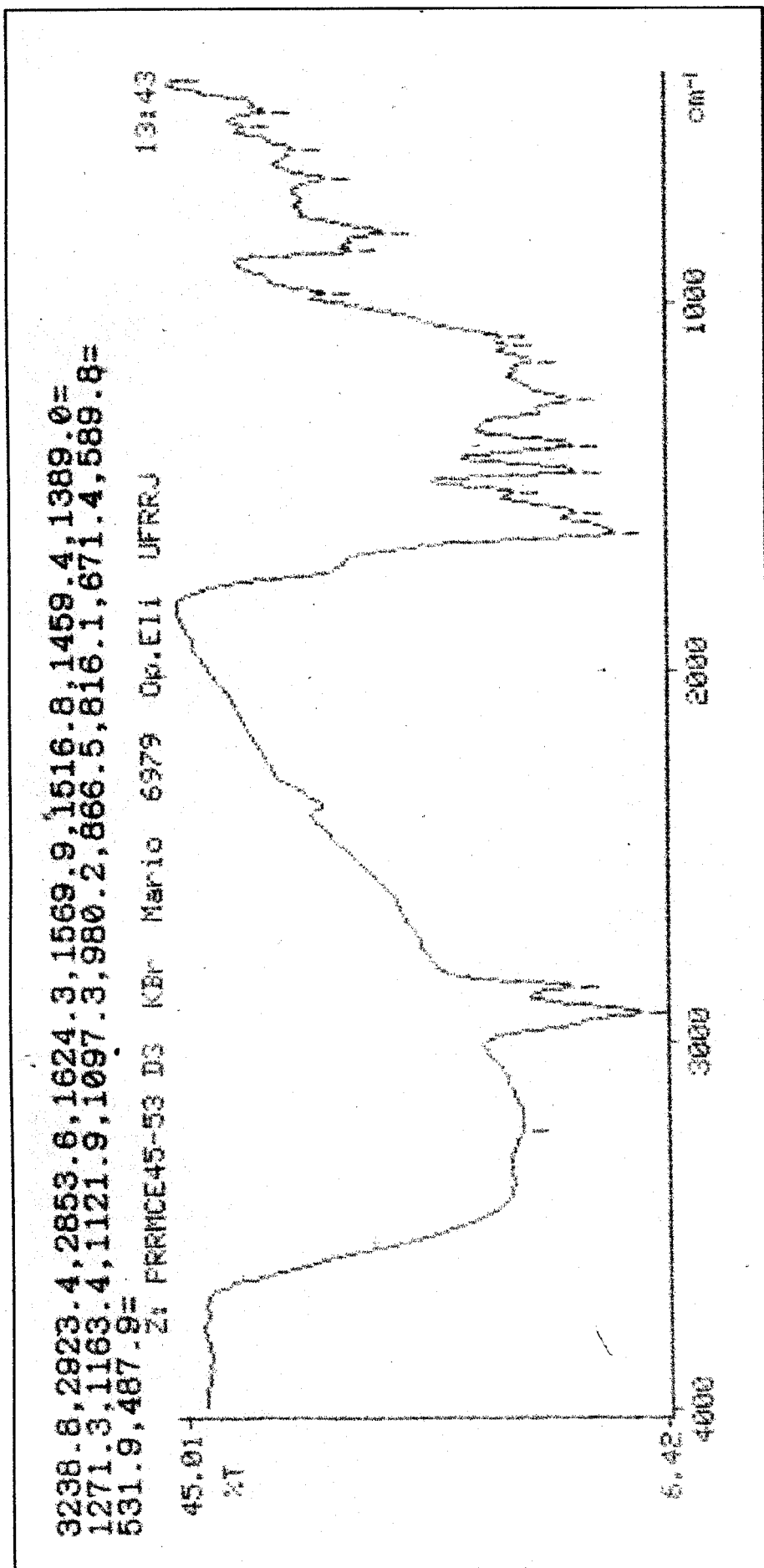


Figura 30: Espectro de IV da substância 8 registrado em pastilha de KBr.

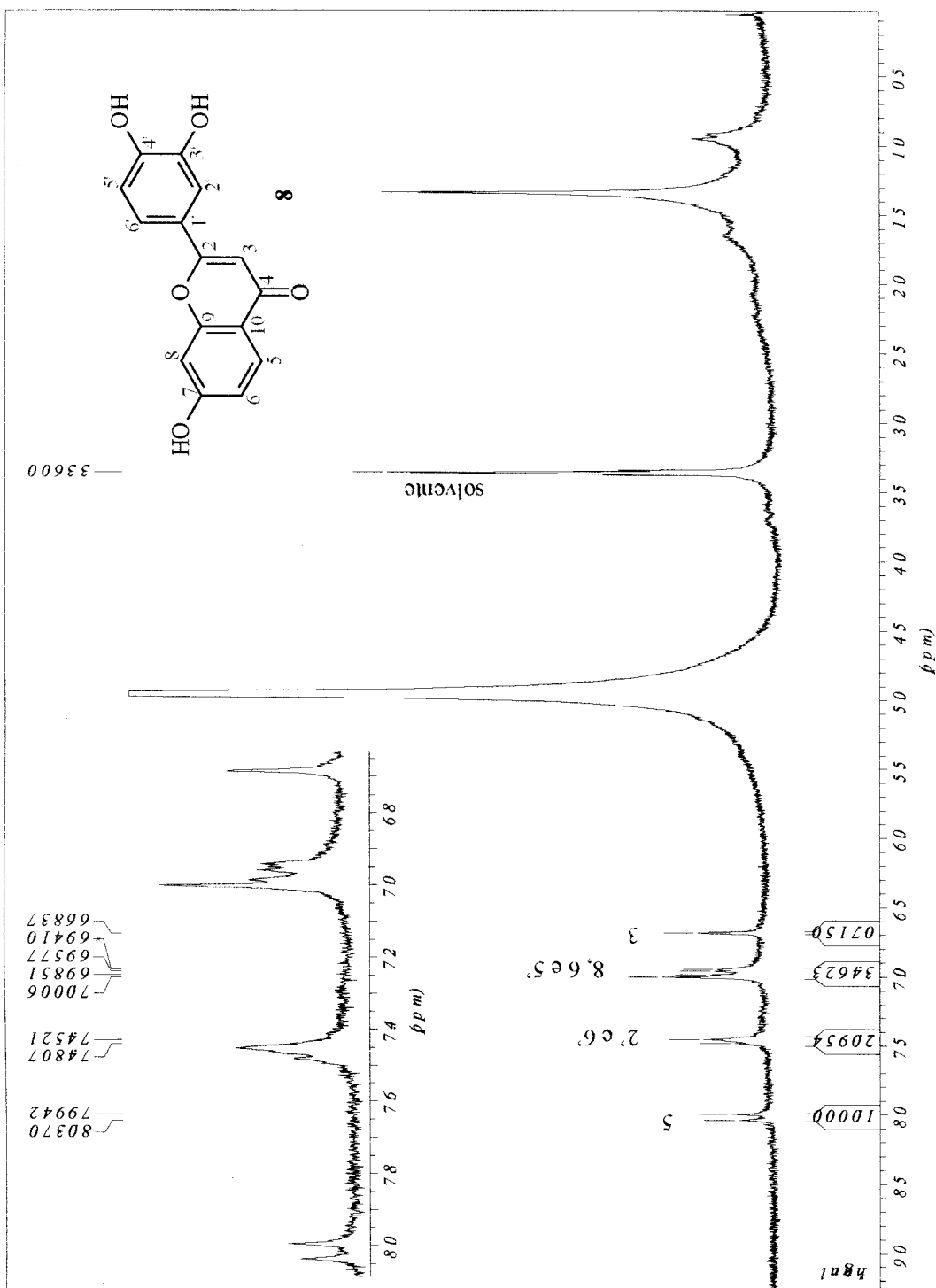


Figura 31: Espectro de RMN ¹H da substância **8** registrado em MeOD.

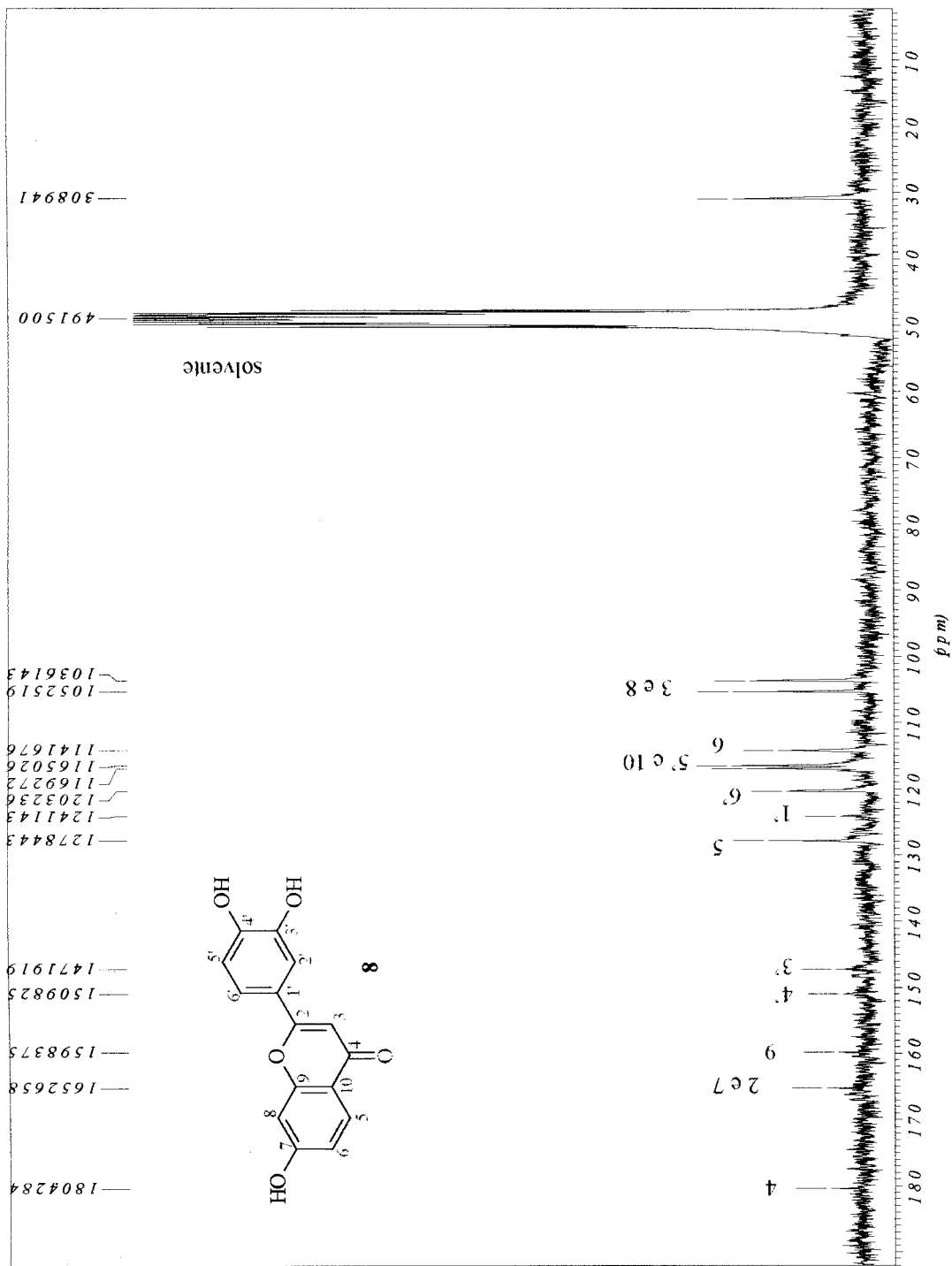


Figura 32: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância 8 registrado em MeOD.

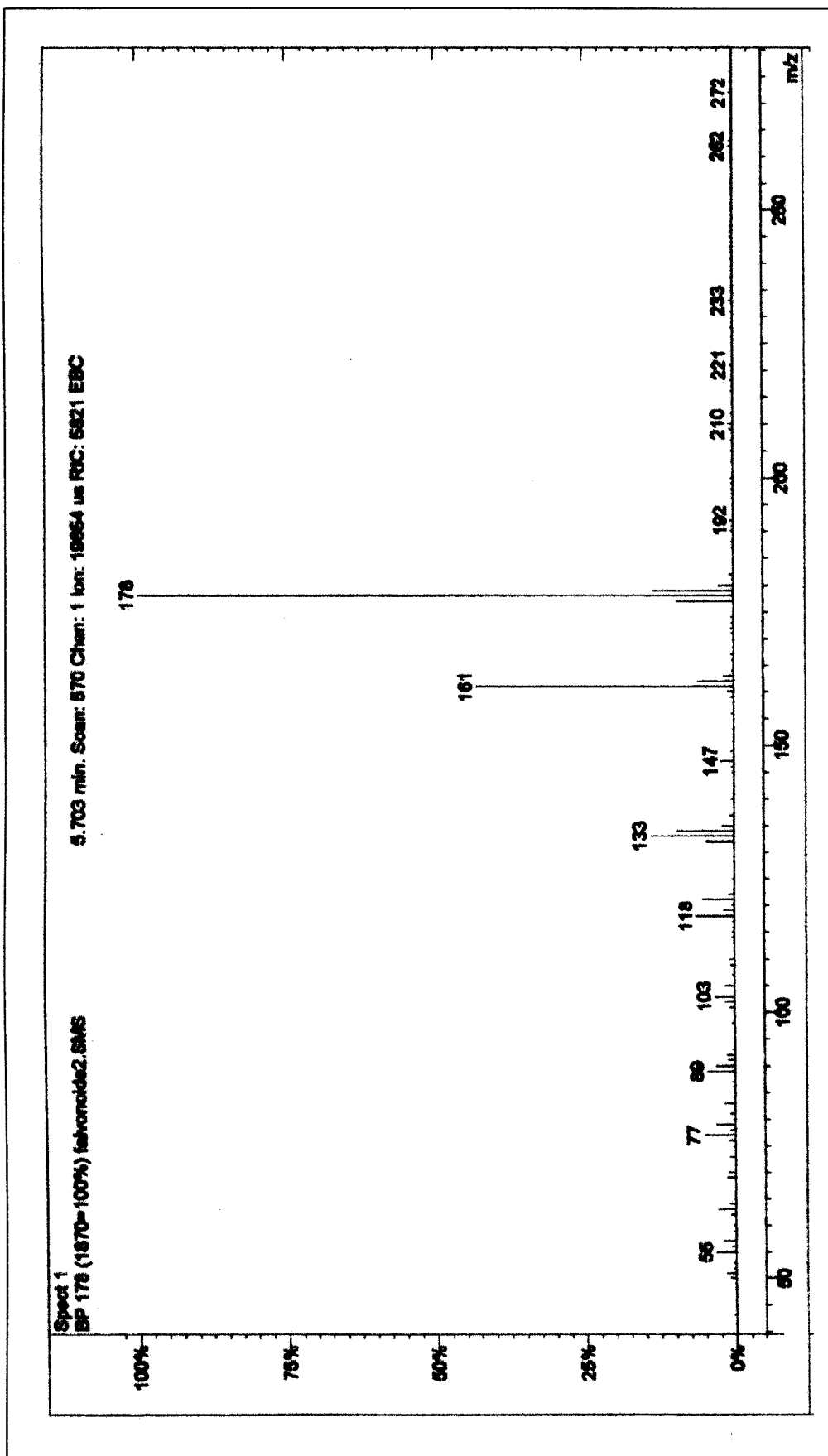


Figura 33: Espectro de massas da substância 8 obtido com impacto de elétrons.

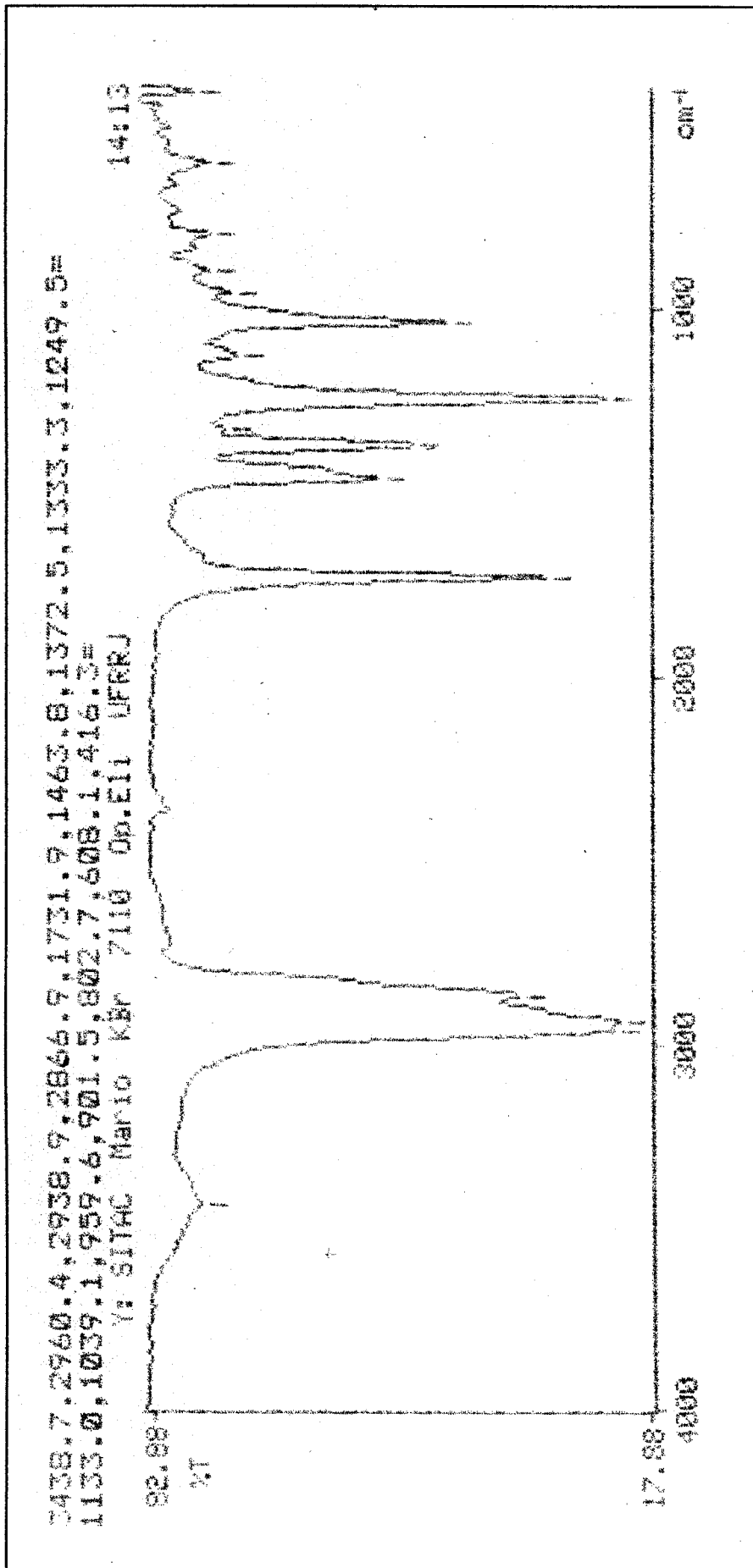


Figura 34: Espectro de IV da substância 9 registrado em pastilha de KBr.

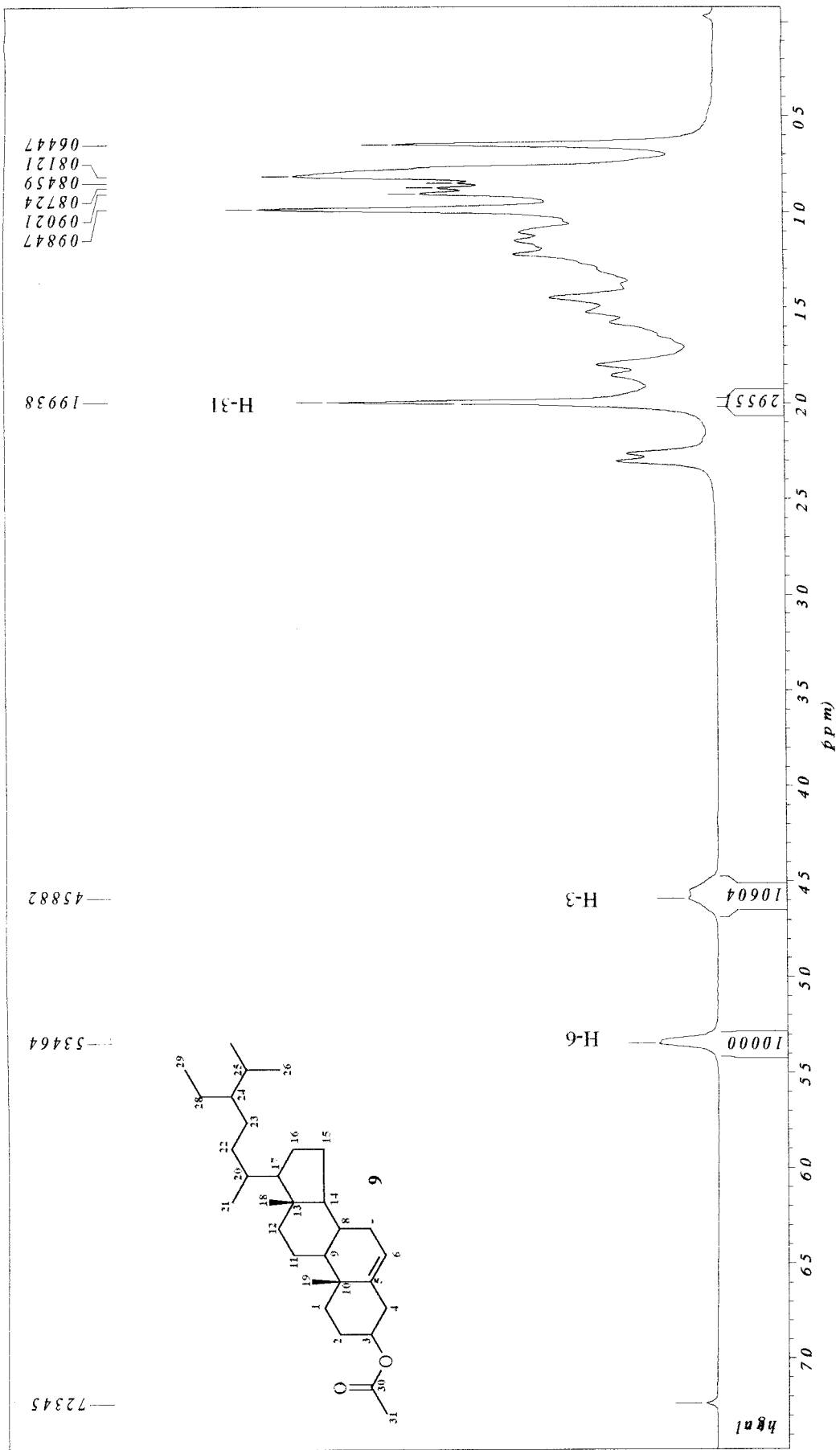


Figura 35: Espectro de RMN ^1H da substância **9** registrado em CDCl_3 .

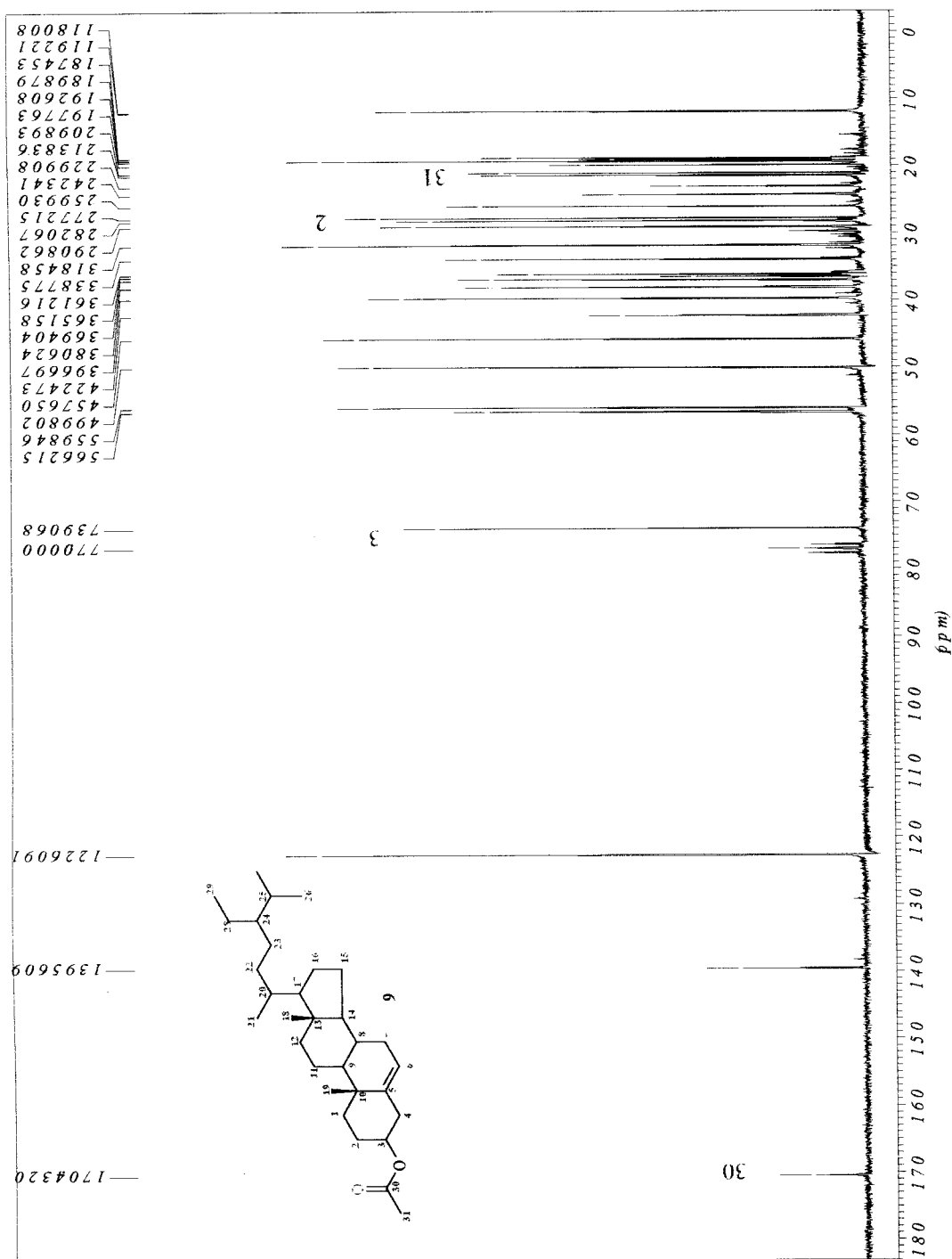


Figura 36: Espectro de RMN ^{13}C PND da substância 9 registrado em CDCl_3 .

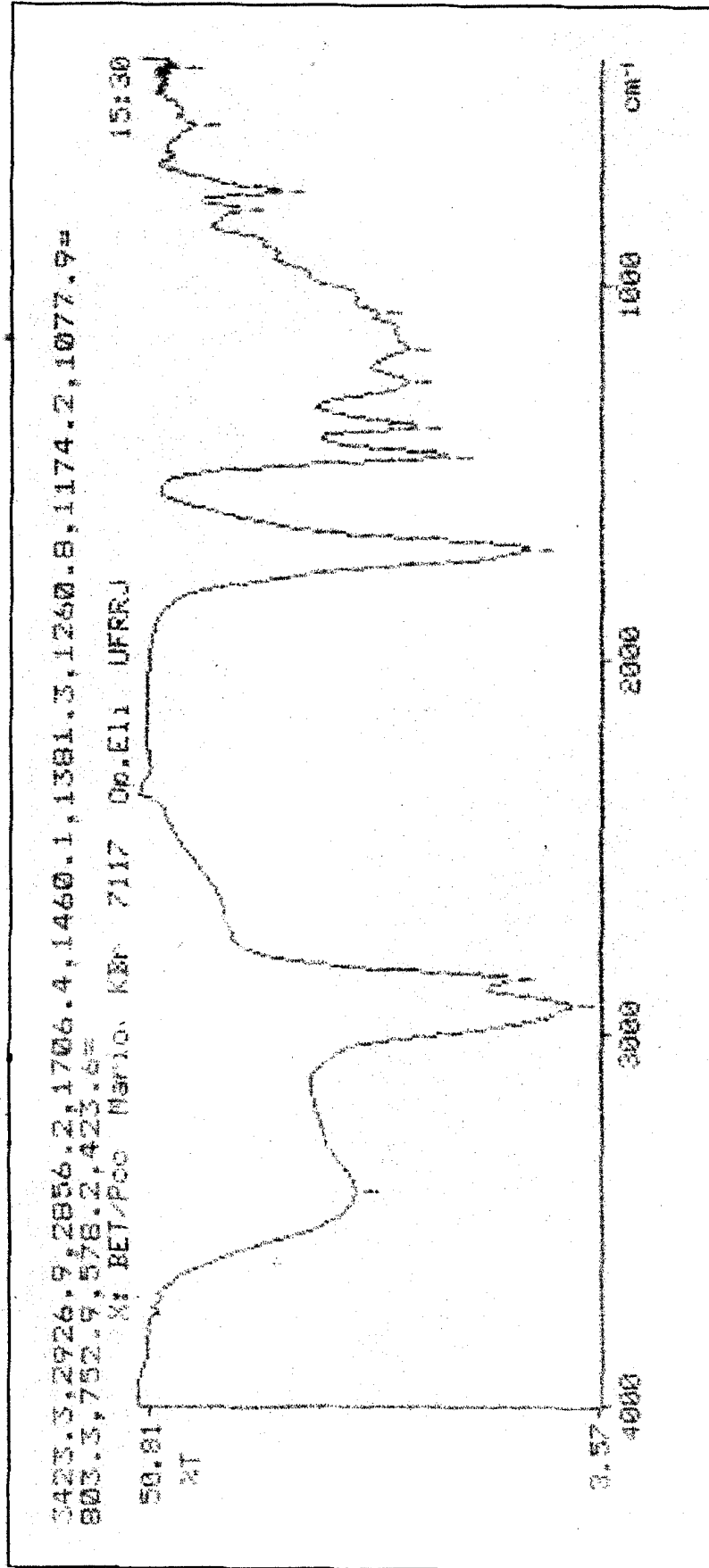


Figura 37: Espectro de IV da substância 10 cm pastilha de KBr.

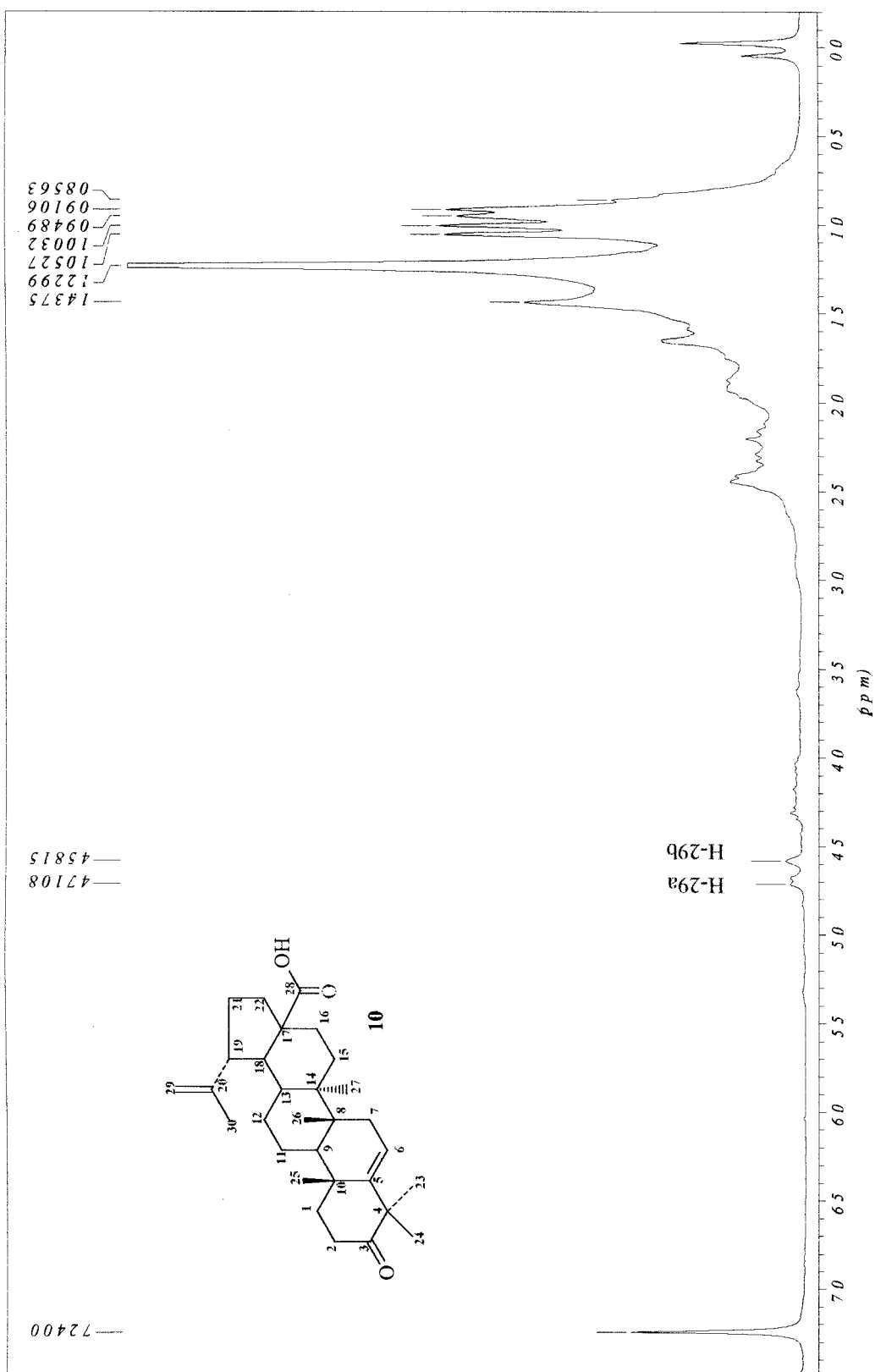


Figura 38: Espectro de RMN ^1H da substância **10** registrado em CDCl_3 .

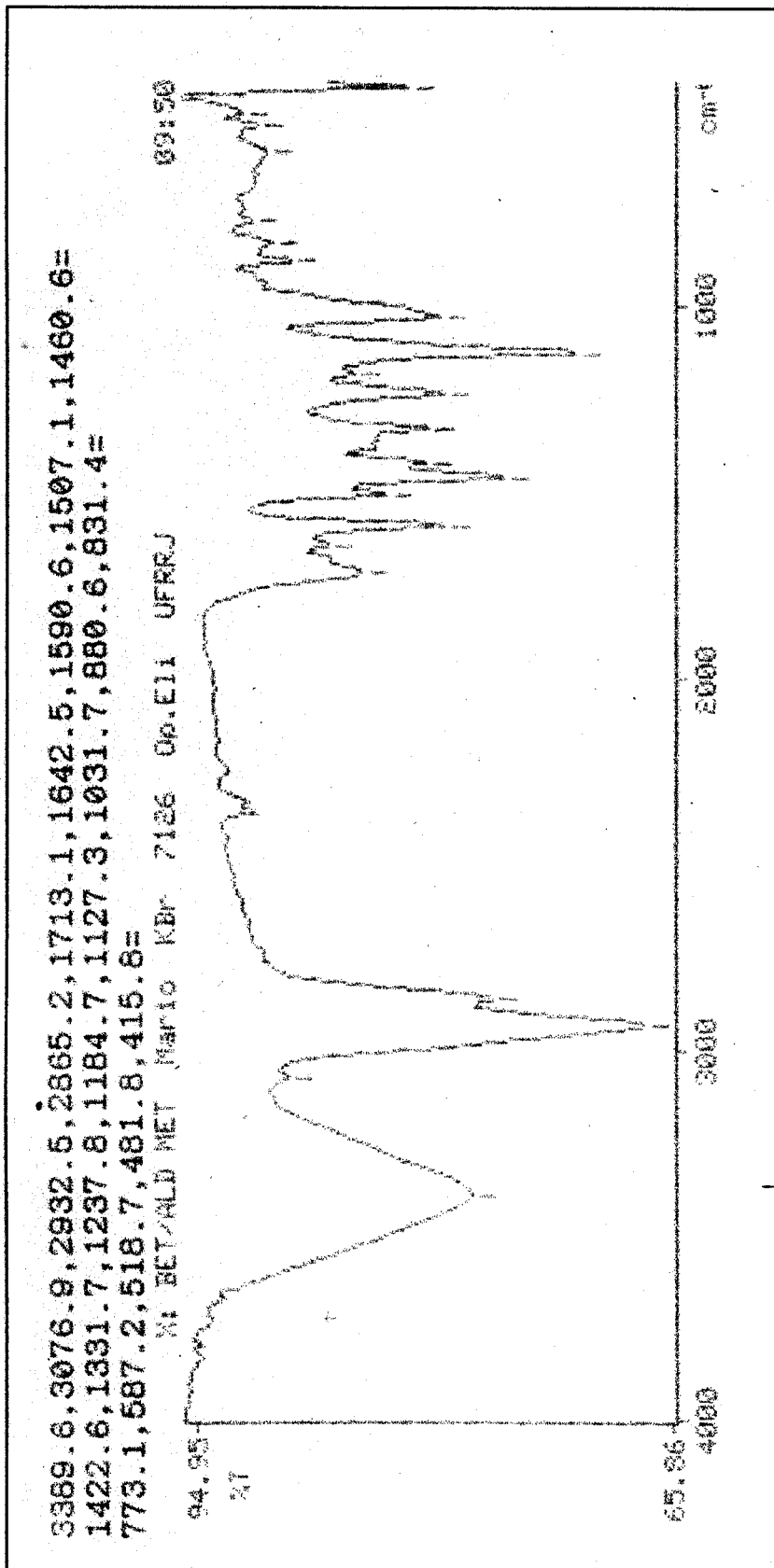


Figura 39: Espectro de IV das substâncias (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) em pastilha de KBr.

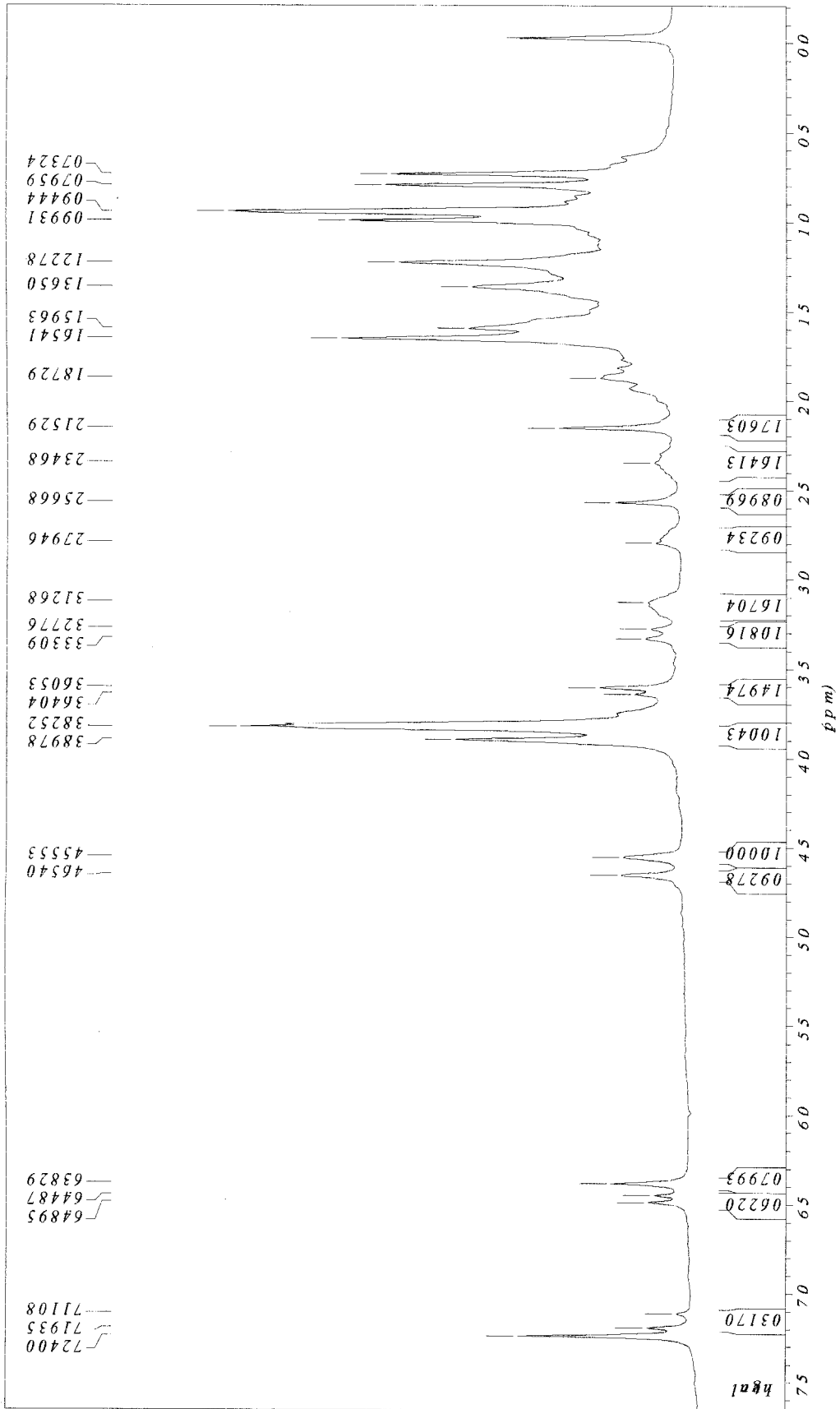


Figura 40: Espectro de RMN ¹H das substâncias (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) registrado em CDCl₃.

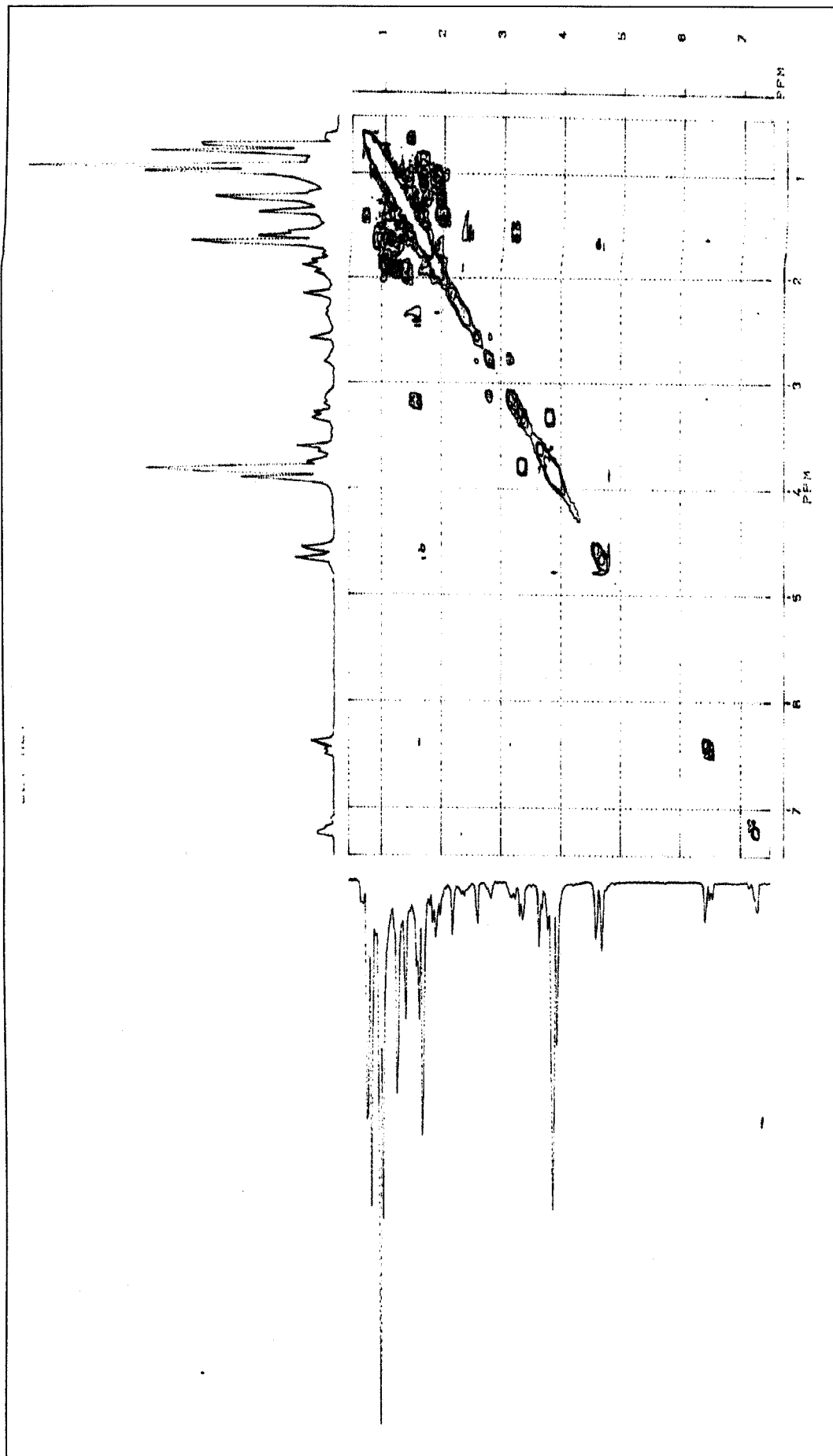


Figura 41: Espectro de RMN 2D [^1H , ^1H -COSY] das substâncias (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) registrado em CDCl_3 .

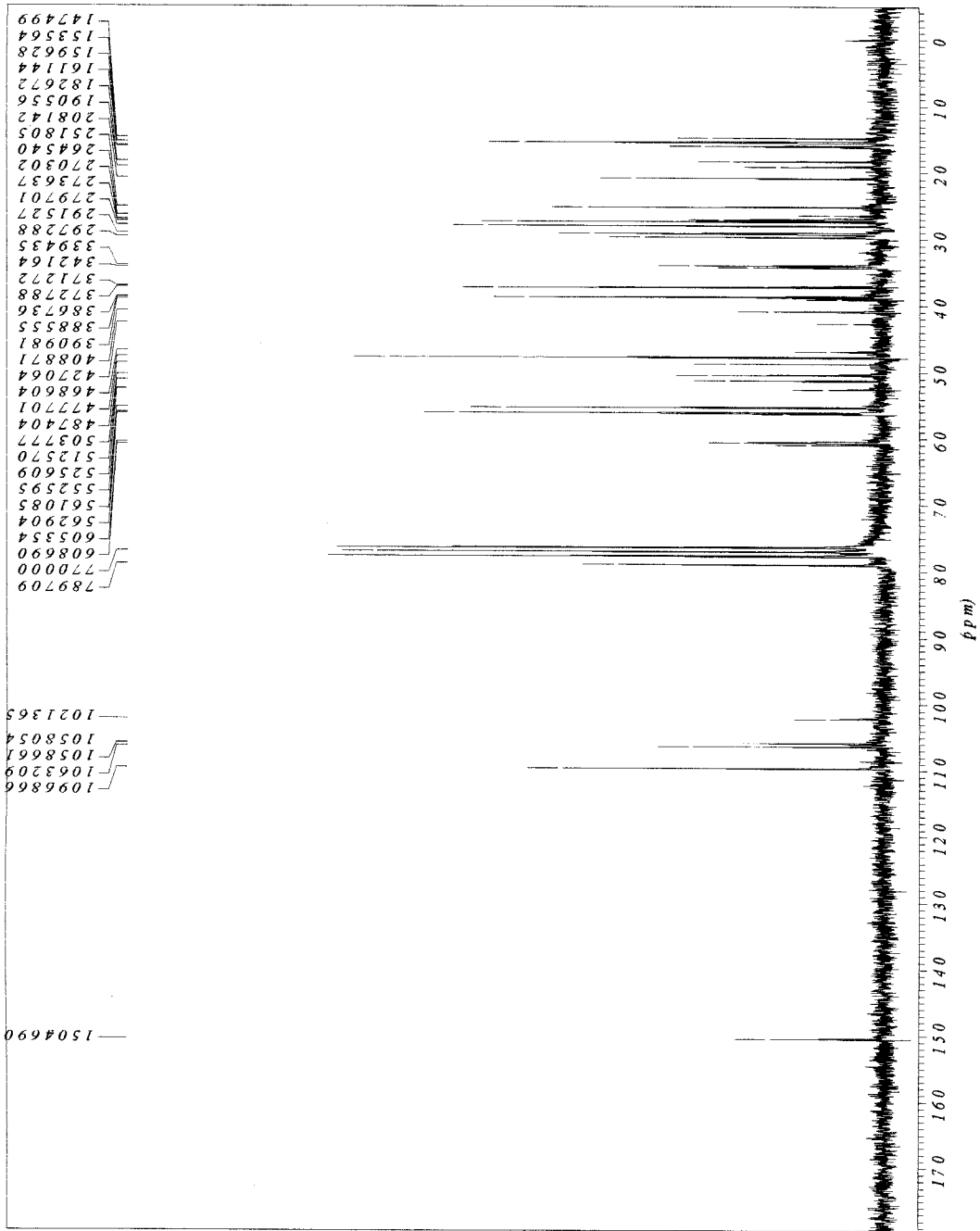


Figura 42: Espectro de RMN ^{13}C PND das substâncias (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) registrado em CDCl_3 .

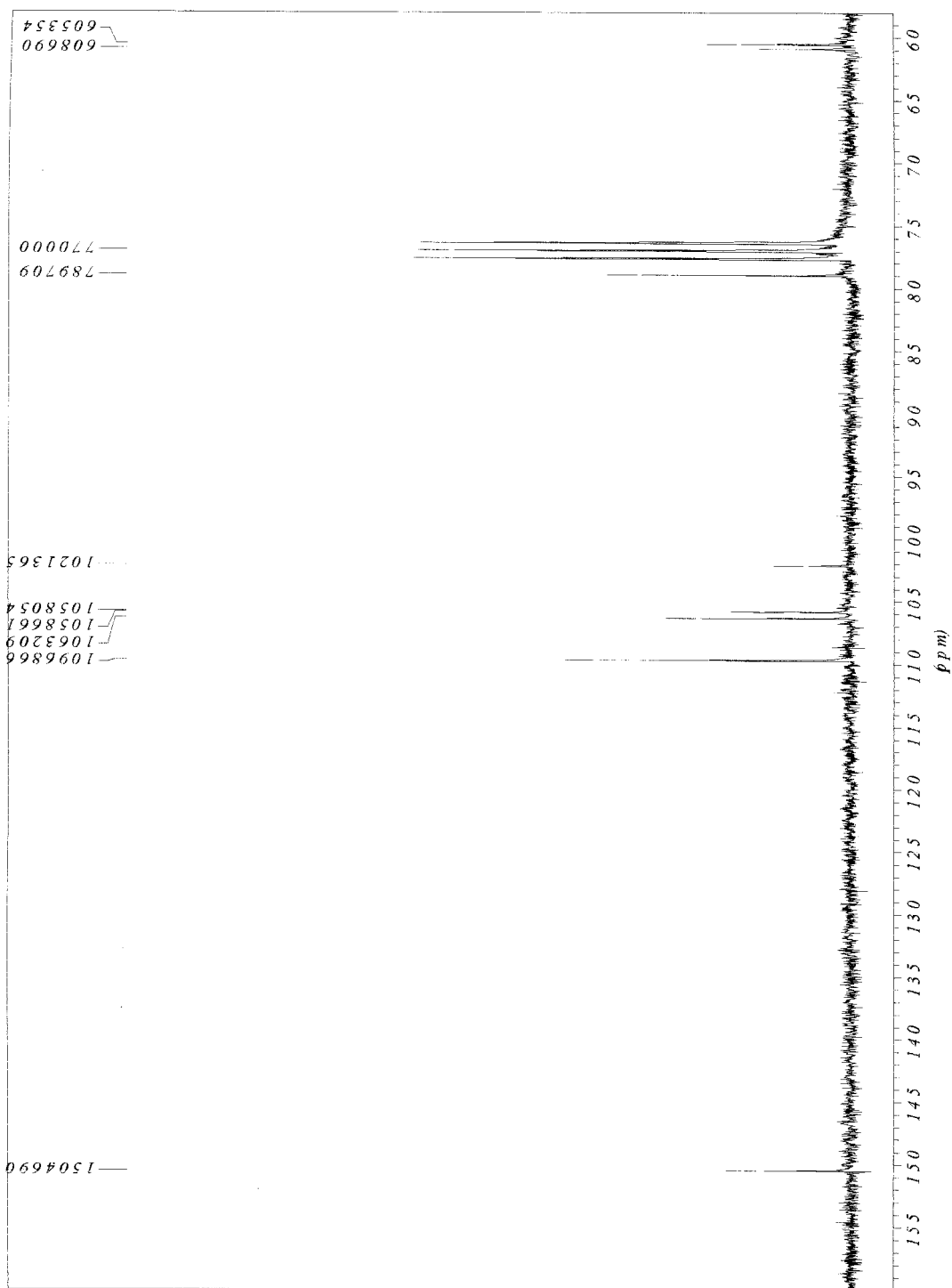


Figura 42a: Expansão (160-58 ppm) do espectro de RMN ^{13}C PND das substâncias (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) registrado em CDCl_3 .

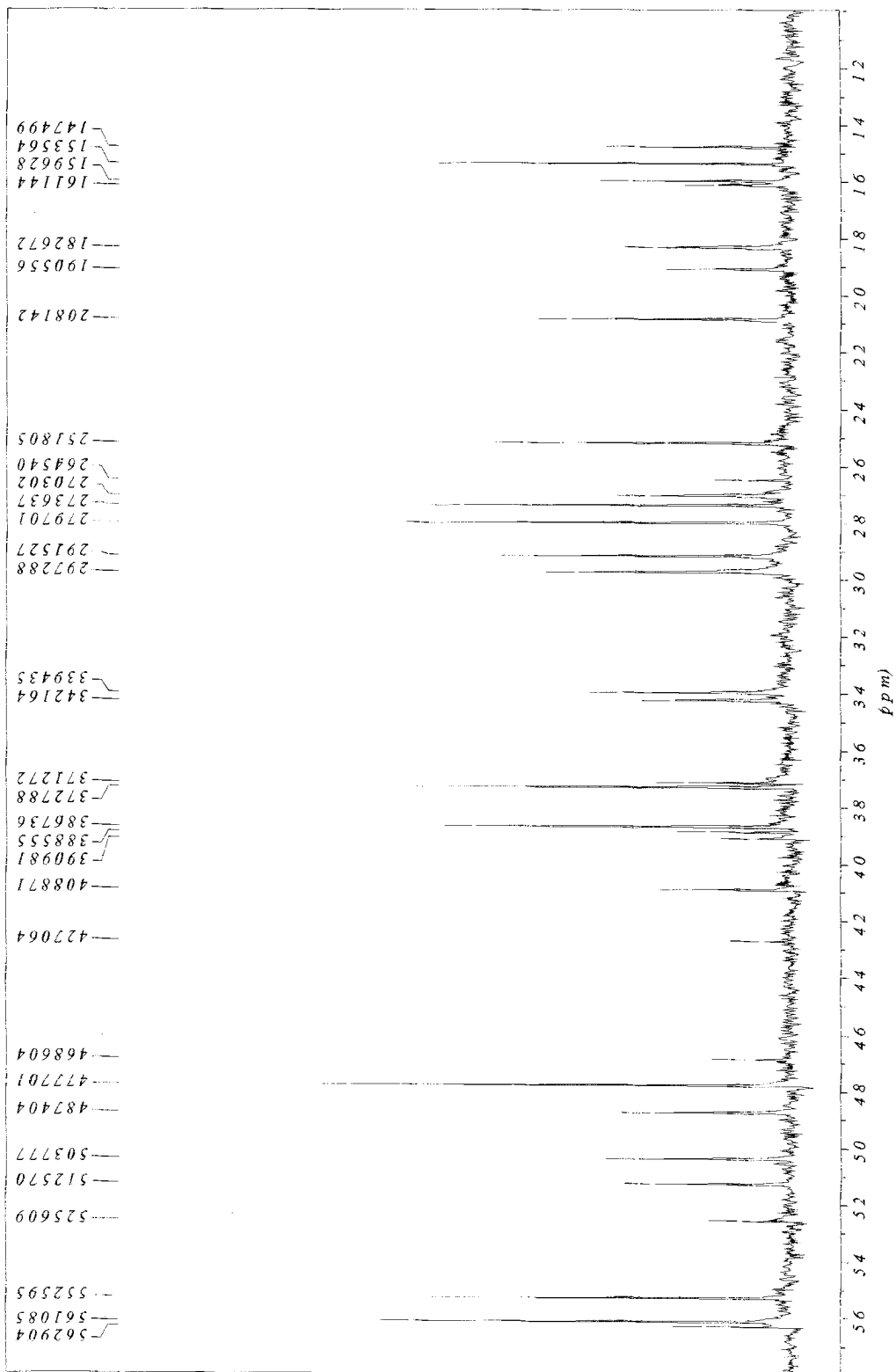


Figura 42b: Expansão (58-10 ppm) do espectro de RMN ^{13}C PND das substâncias (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) registrado em CDCl_3 .

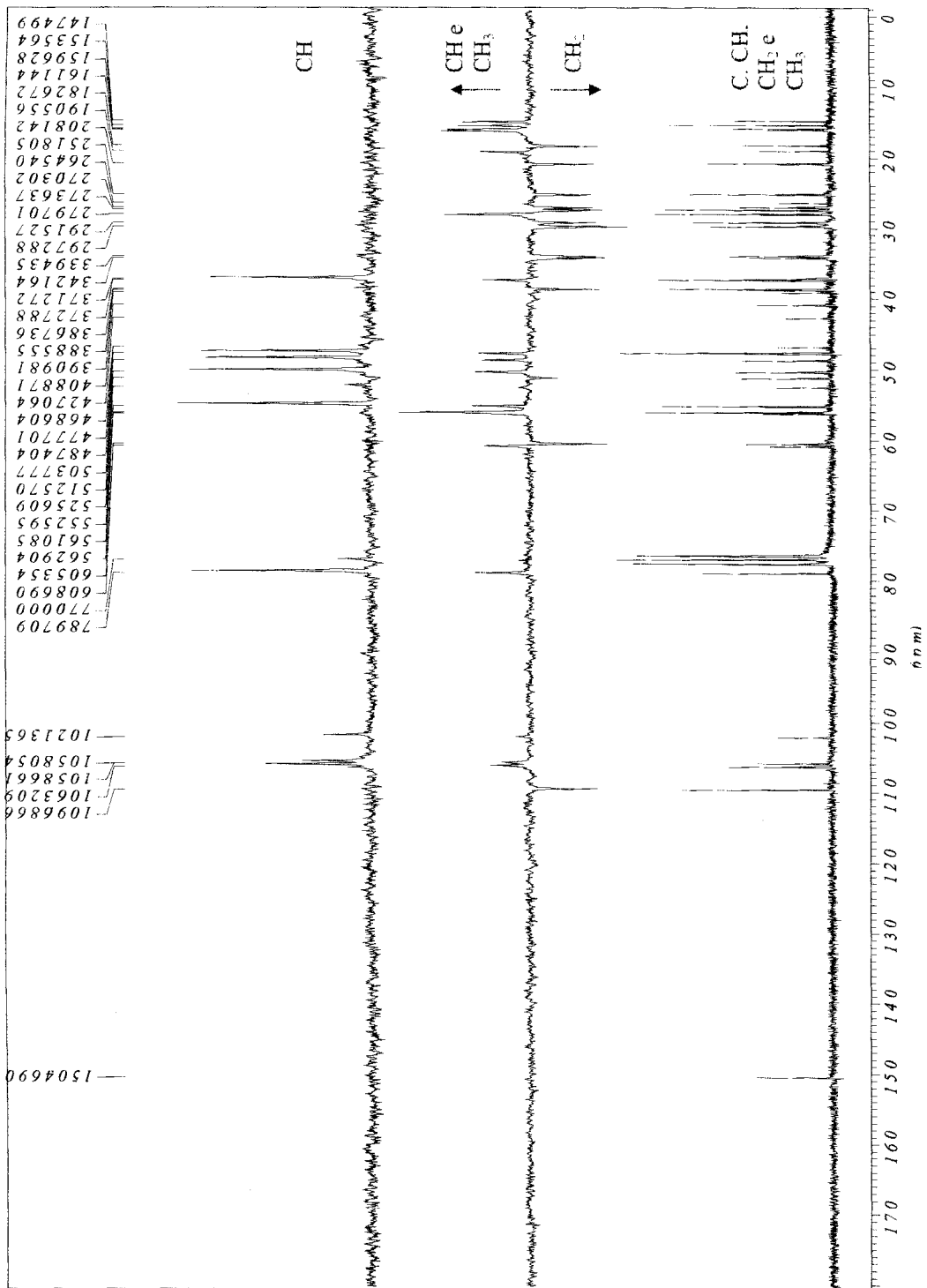


Figura 43: Espectro de RMN ¹³C das substâncias (2 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15) com DEPT (θ = 90 e 135°) registrado em CDCl₃.

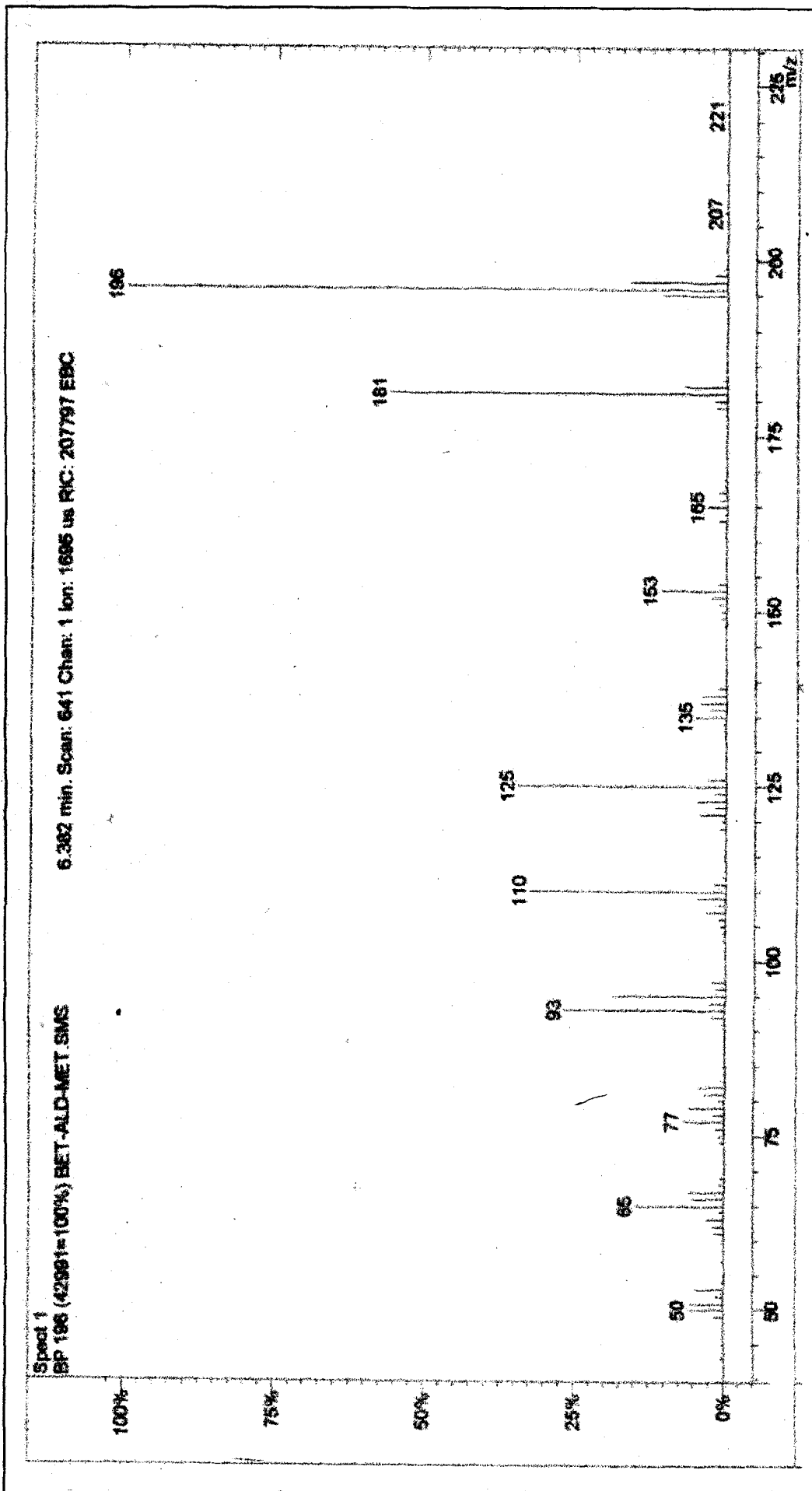


Figura 44: Espectro de massas da substância 11 obtido com impacto de elétrons.

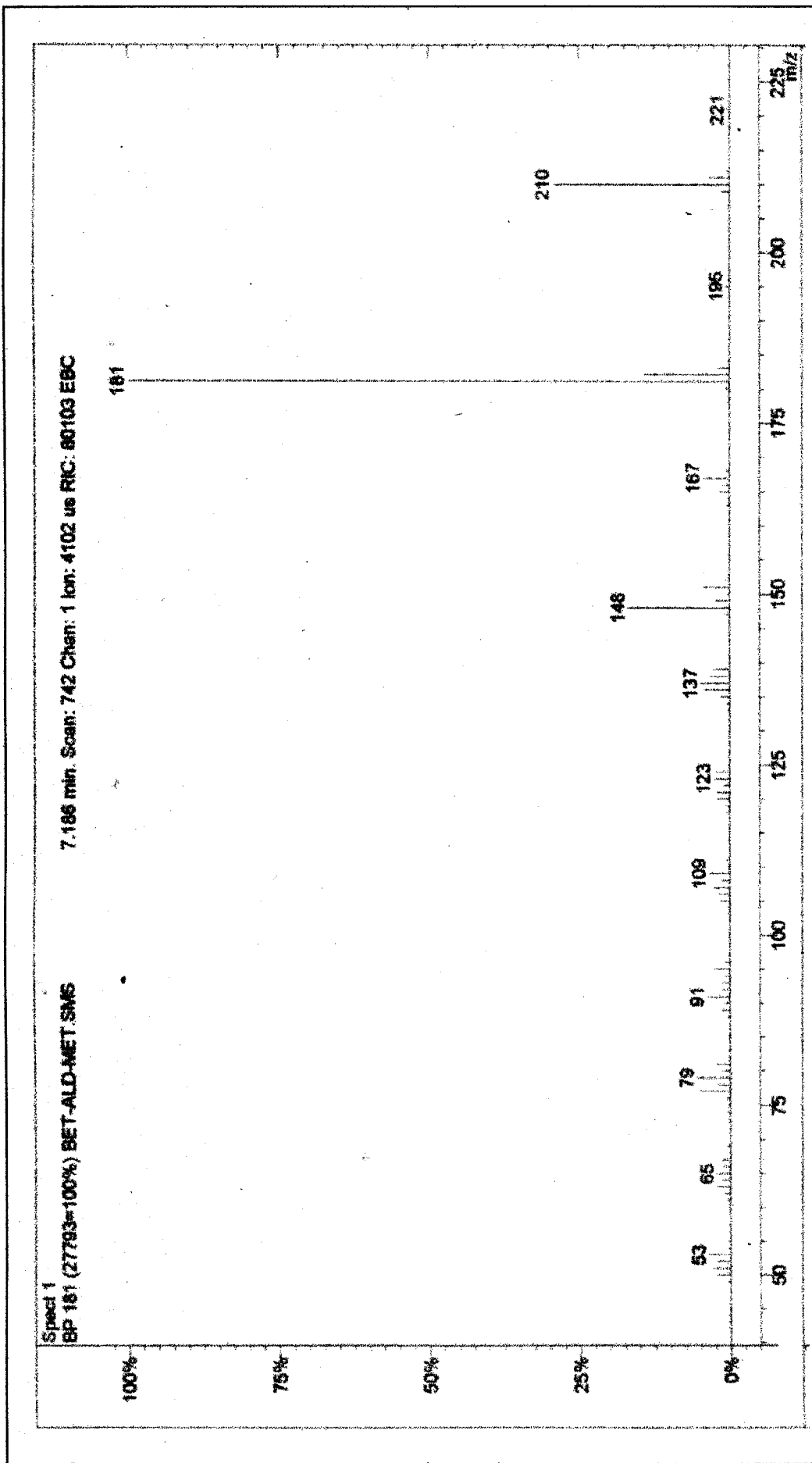


Figura 45: Espectro de massas da substância 12 obtido com impacto de elétrons.

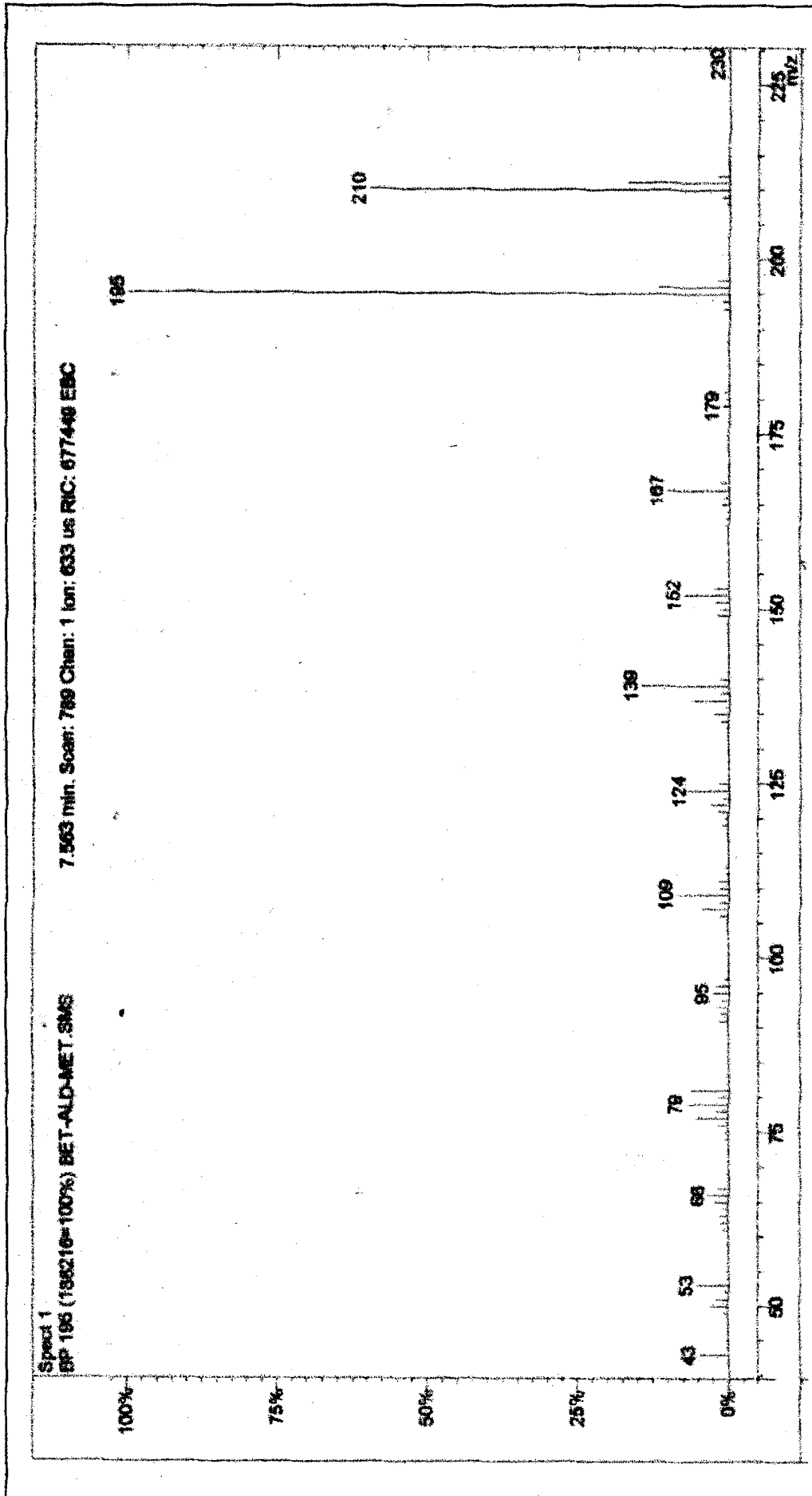


Figura 46: Espectro de massas da substância 13 obtido com impacto de elétrons.

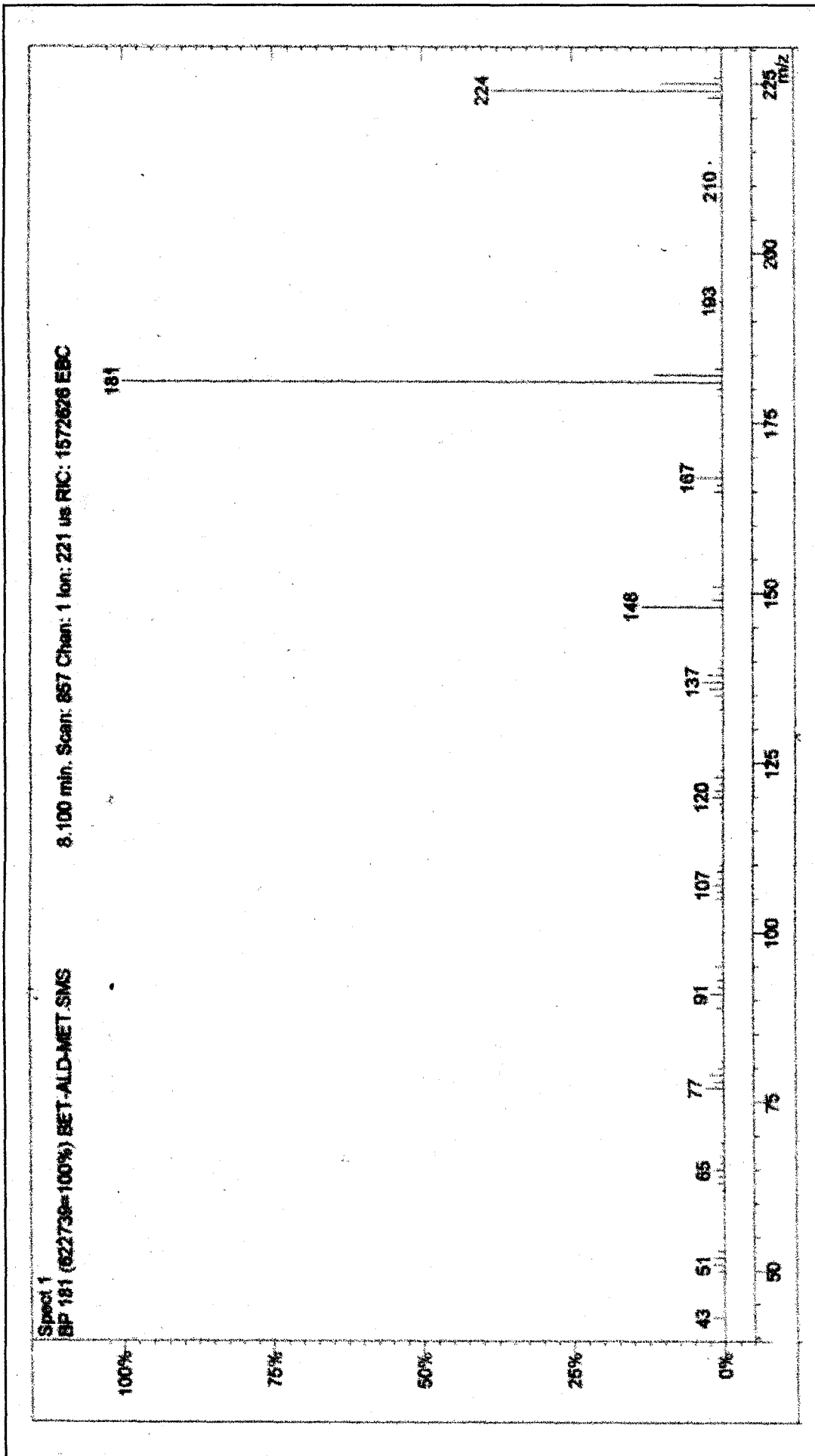


Figura 47: Espectro de massas da substância 14 obtido com impacto de elétrons.

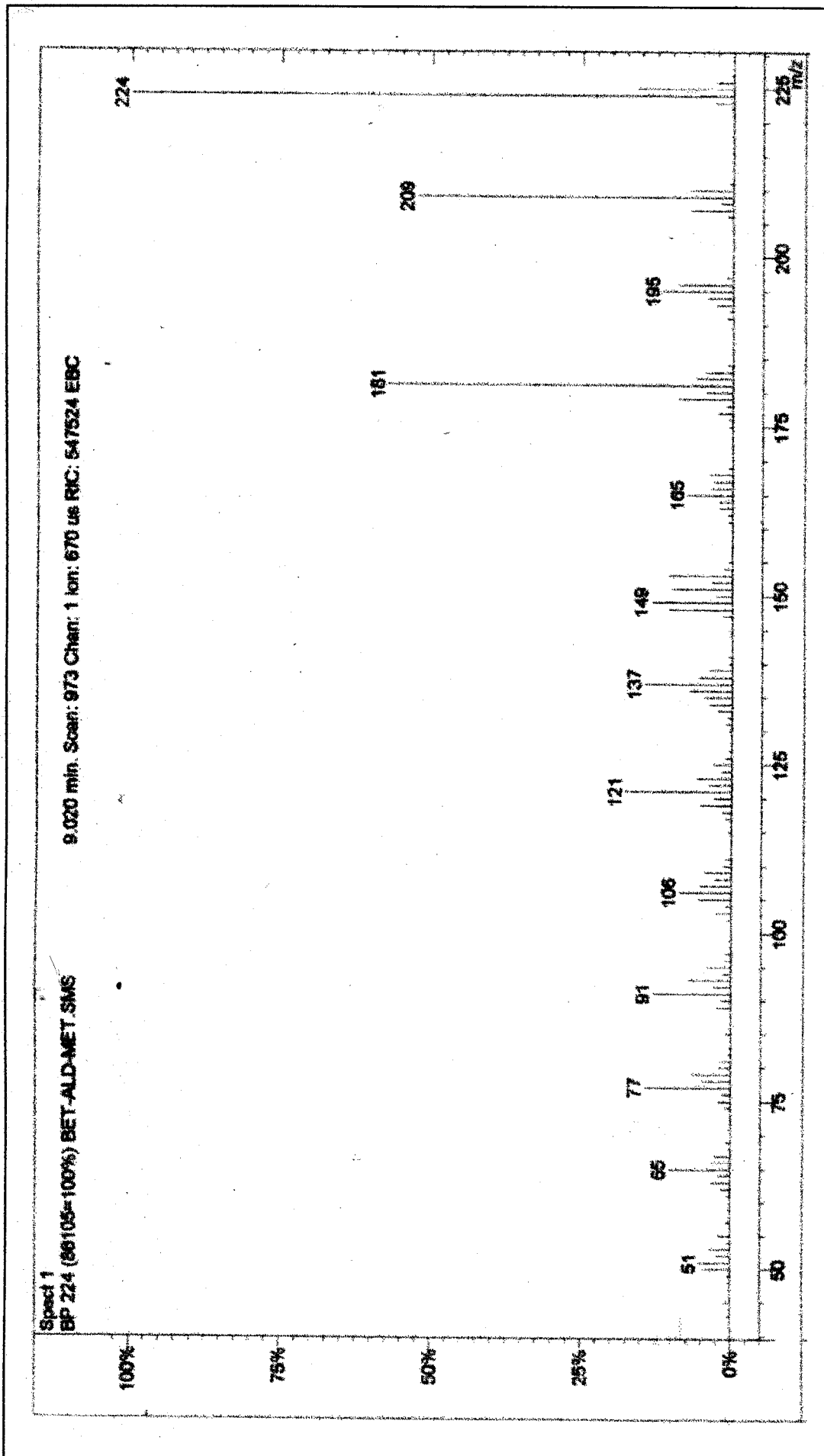


Figura 48: Espectro de massas da substância 15 obtido com impacto de elétrons.

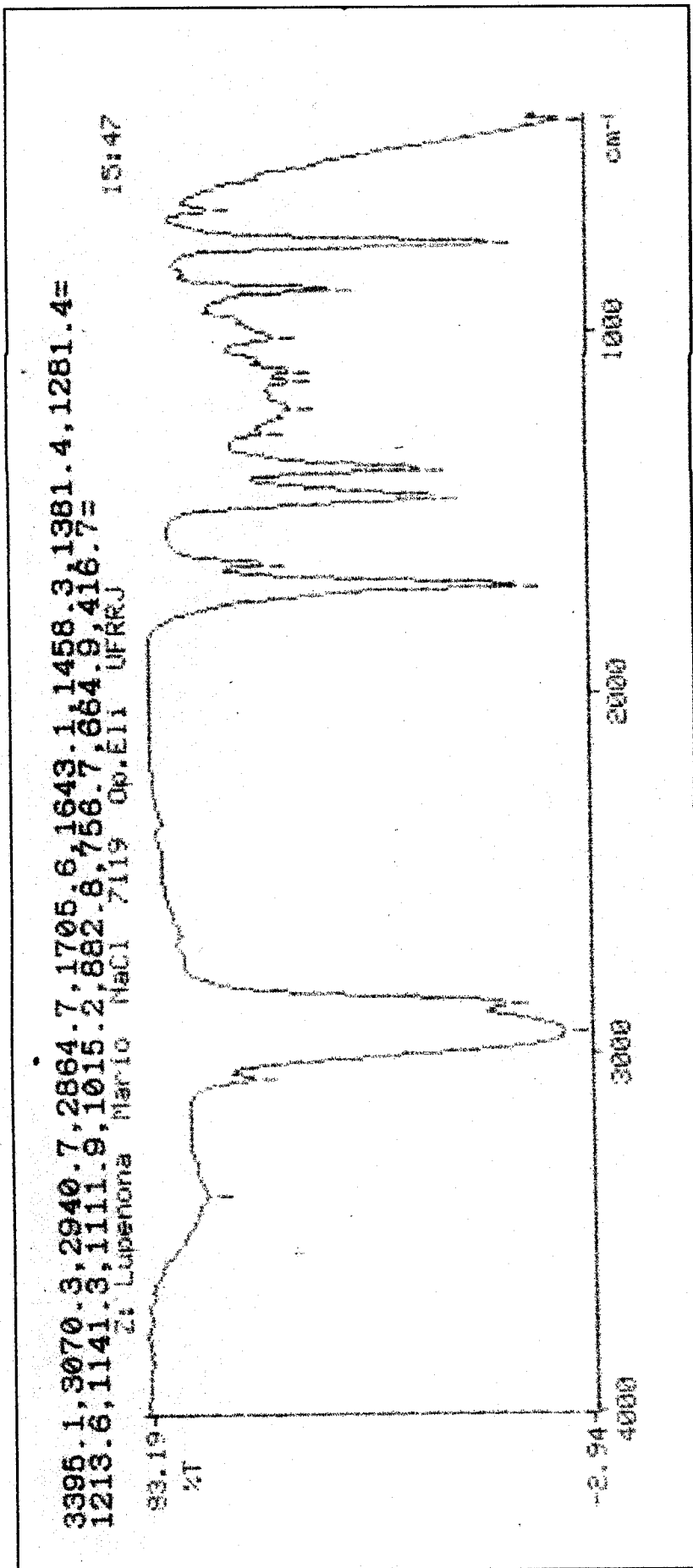


Figura 49: Espectro de IV da substância 16 em filme de NaCl.

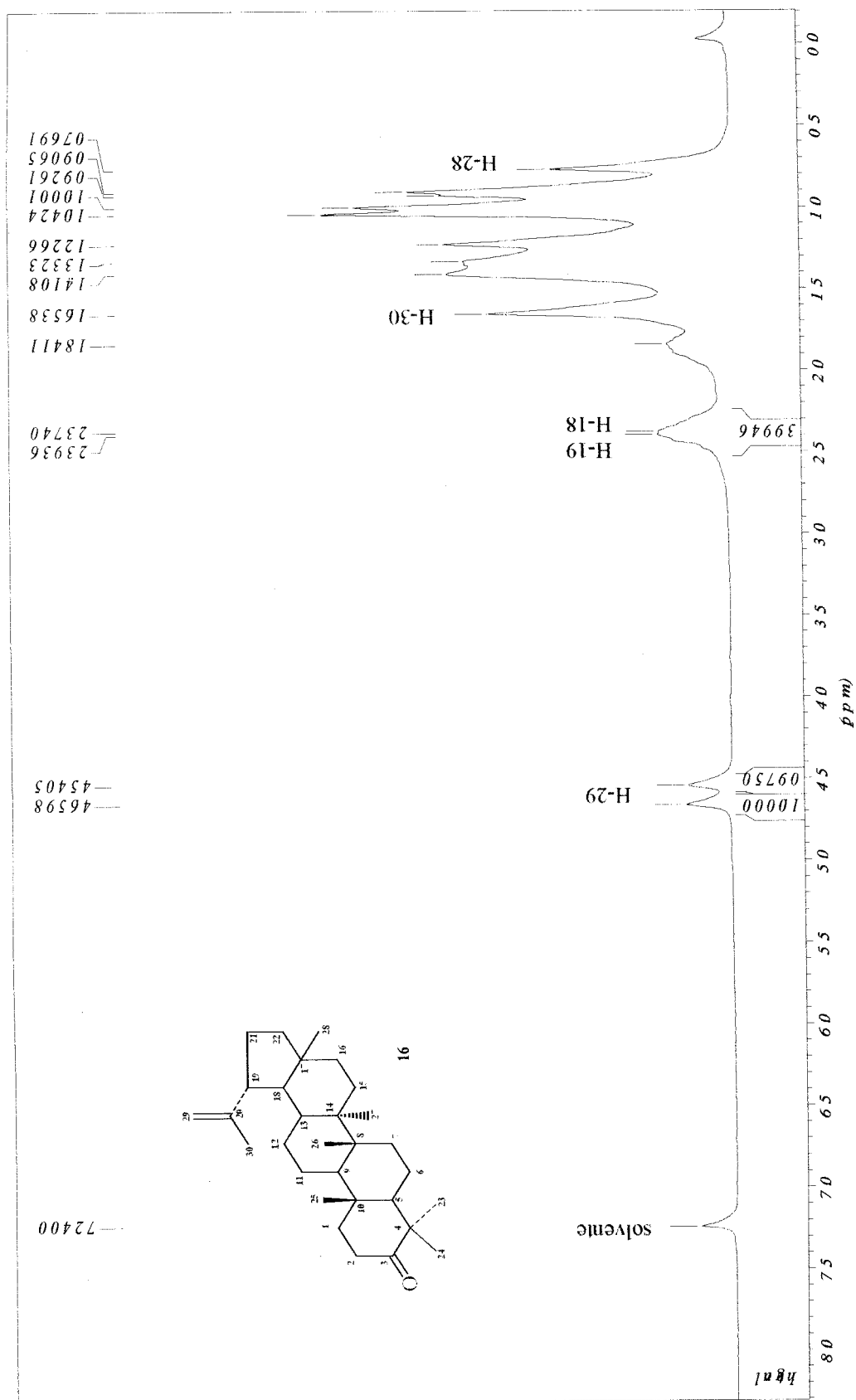


Figura 50: Espectro de RMN ¹H da substância 16 registrado em CDCl₃.

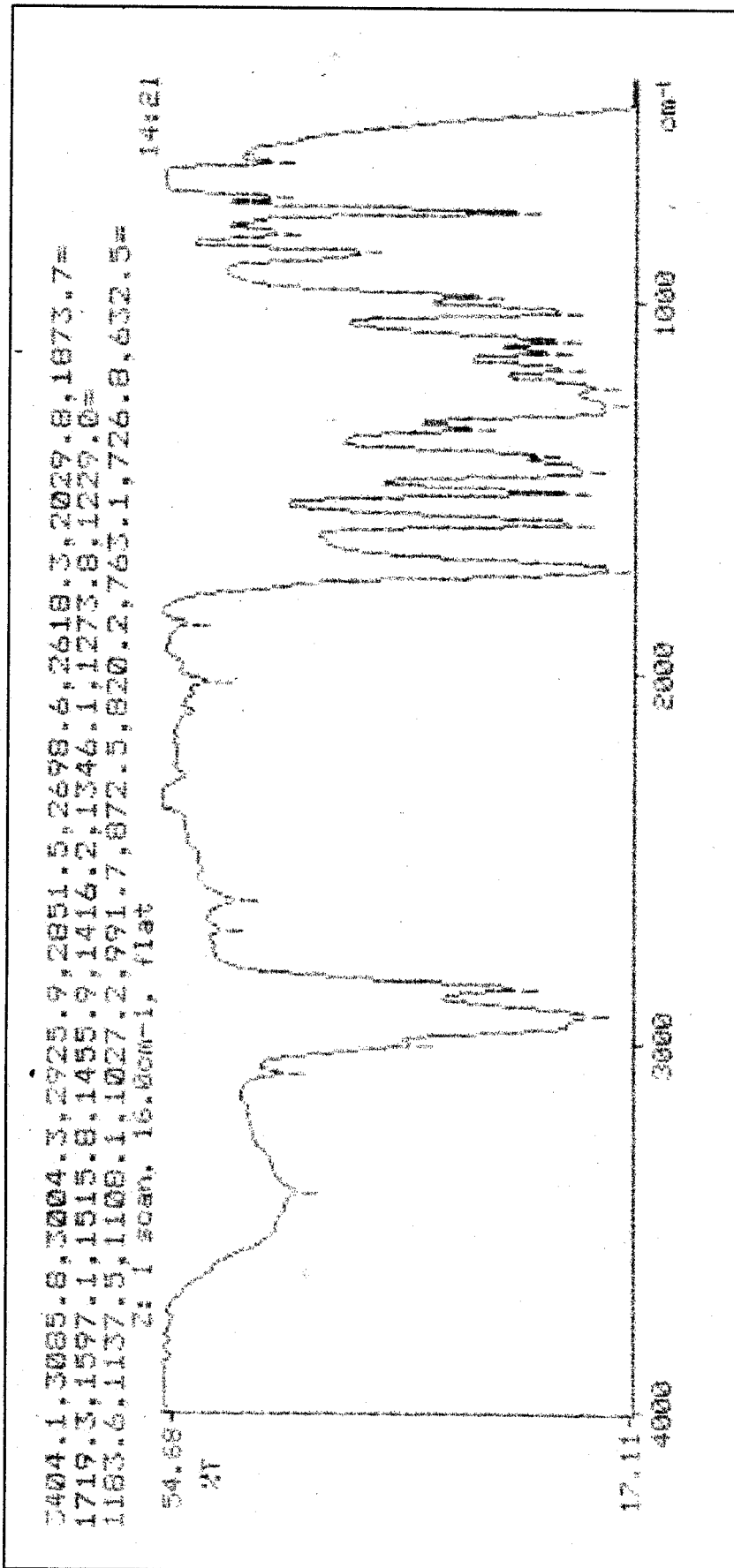


Figura 51: Espectro de IV da substância 17 em filme de NaCl.

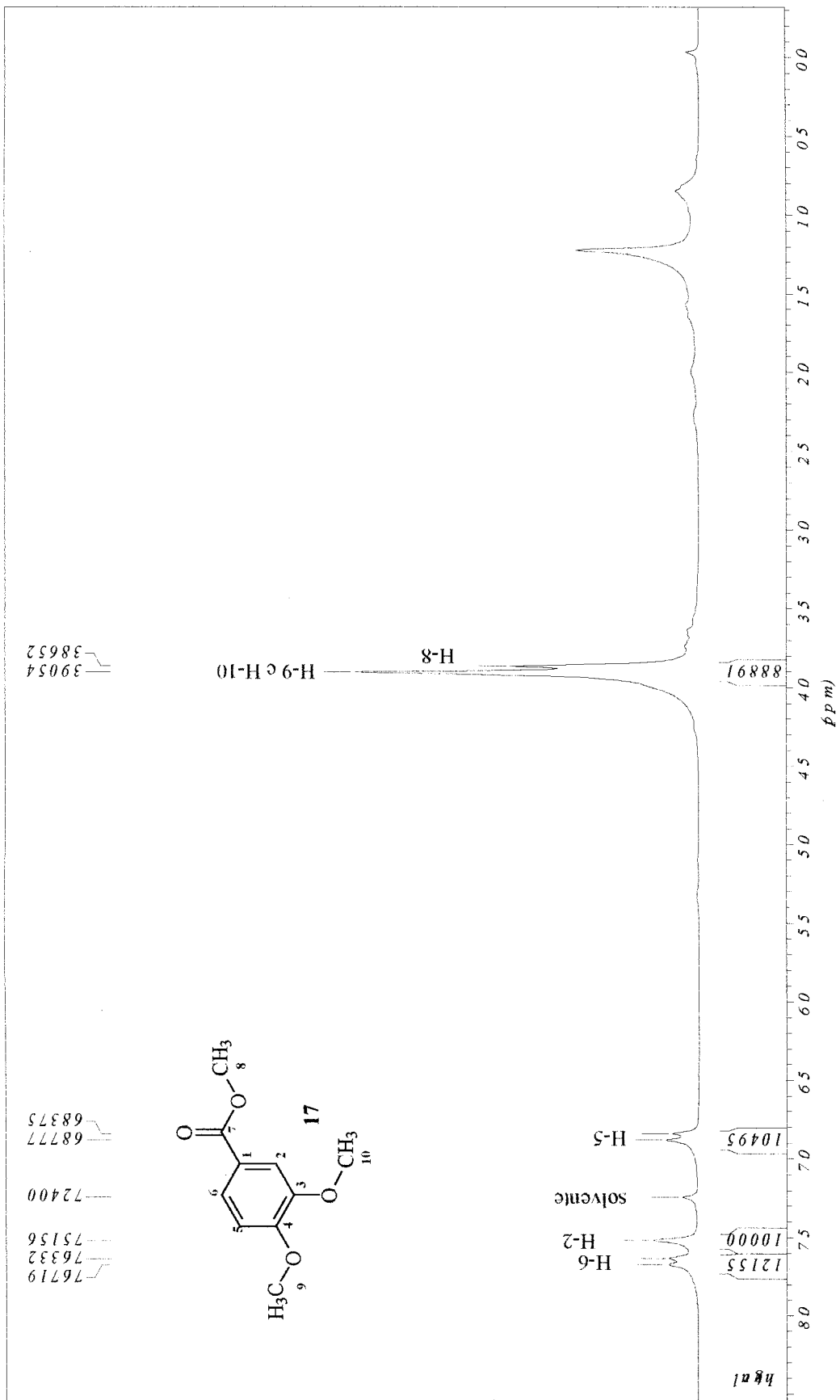


Figura 52: Espectro de RMN ^1H da substância 17 registrado em CDCl_3 .