



**Universidade Federal do Ceará
Centro de Ciências
Depto. de Química Orgânica e Inorgânica
Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica**

Ricardo José Pereira Júnior

**Estudo Fitoquímico de *Stachytarpheta
sessilis* Moldenk**

FORTALEZA – CE

2008

RICARDO JOSÉ PEREIRA JÚNIOR

**Estudo Fitoquímico de *Stachytarpheta*
sessilis Moldenk**

Dissertação apresentada ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, campus do PICI, para a obtenção do título de Mestre em Química Orgânica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Mary Anne Sousa Lima

FORTALEZA – CE

2008

P492e Pereira Júnior, Ricardo José
Estudo fitoquímico de *Stachytarpheta sessilis* Moldenk / Ricardo José
Pereira Júnior, 2008.
137f ; il. color. enc.

Orientadora: Profa. Dra. Mary Anne Sousa Lima
Área de concentração: Química Orgânica
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de
Ciências. Depto. de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza, 2008.

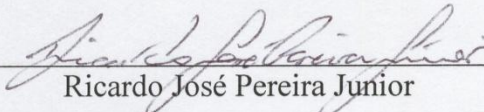
1. *Stachytarpheta sessilis*. 2. Talos. 3. Folhas. 4. Flavonas. I. Lima,
Mary Anne Souza (orienta.). II. Universidade Federal do Ceará – Programa
de Pós-Graduação em Química Orgânica. III. Título.

CDD 547

RICARDO JOSÉ PEREIRA JÚNIOR

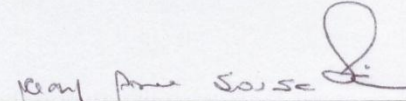
Estudo Fitoquímico de *Stachytarpheta sessilis* Moldenk

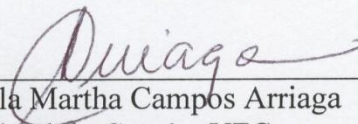
Esta Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.

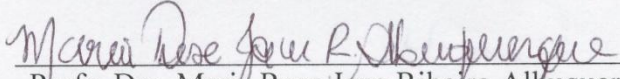

Ricardo José Pereira Júnior

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 28/11/2008

EXAMINADORES:


Profª. Dra. Mary Anne Sousa Lima
Universidade Federal do Ceará – UFC


Profª. Dra. Ângela Martha Campos Arriaga
Universidade Federal do Ceará – UFC


Profª. Dra. Maria Rose Jane Ribeiro Albuquerque
Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA

O término deste trabalho encerra uma etapa da minha vida que, em um determinado momento entreguei nas mãos de Deus, O Criador dos Céus e da Terra, e deste então Ele tem me conduzido em seus caminhos. À Ele dedico e agradeço todos os momentos do meu trabalho e pessoas as quais colocou em meu caminho para que pudéssemos compartilhar conhecimentos e emoções.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora prof^a. Mary Anne que aceitou me orientar e com paciência me conduziu na realização deste trabalho e também por sua amizade nestes anos.

Ao prof^o. Manoel Andrade que foi fundamental em minha tomada de decisão em um momento de indefinição profissional e que me incentivou e encorajou a vir para Fortaleza e também por todo apoio prestado ao chegar e me instalar nesta cidade.

À minha amada esposa Janete que soube ser paciente, ouvinte, e com muito amor me apoiou em todos os momentos fáceis e difíceis do meu trabalho. Te amo muito minha pequena.

À minha família que mesmo a distância consegue estar tão presente em amor, carinho, oração e incentivo. Aos meus pais Ricardo e Cecília que me ensinaram nos caminhos do Senhor e souberam me educar com amor. A minha irmã Ana Cecília que me apoiou, ajudou e compartilhou idéias durante meus trabalhos e a minha irmã Elza Cecília com seu esposo Geraldo e filha Bruna que sempre me incentivaram e me encorajaram. À todos vocês meu muito obrigado. Amo vocês de coração.

Aos meus colegas de laboratório, Julieta que foi uma grande colega e amiga de estudos, ao Artur que doou muito de seus conhecimentos, a Patrícia, Priscila, Karen, João Henrique, Vito, Antônia que sempre ajudaram e alegraram nosso laboratório.

A todos os professores do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica que estão sempre dispostos ao ensinamento.

Aos professores, Edilberto que contribuiu grandemente para a realização deste trabalho e prof^a. Otília que dedicou muito carinho em seus ensinamentos.

Ao Curso de pós graduação em Química Orgânica e a todos os funcionários pelo trabalho dedicado a nós alunos.

À Coordenação de Amparo a Pesquisas – CAPES pelo apoio financeiro e fornecimento da bolsa de estudos.

Aos demais órgãos de fomento CNPq e FUNCAP pelo suporte financeiro aos projetos do grupo.

RESUMO

Este trabalho relata o estudo da composição química não-volátil de *Stachytarpheta sessilis* (Verbenaceae), coletada no município de Quixadá – CE, a partir da investigação de extratos de raízes, talos e folhas desta espécie. Os extratos etanólicos dos talos (SSTE) e folhas (SSFE) de *S. sessilis* foram submetidos, separadamente, à partição líquido-líquido com hexano, diclorometano e acetato de etila. A fração diclorometano dos talos (SSTE-D) foi submetida a sucessivas cromatografias, resultando no isolamento da flavona crisoeriol e triterpeno pentacíclico do tipo ursano ácido ursólico. Sucessivas cromatografias da fração acetato de etila (SSTE-A) levaram ao isolamento do esteróide stigmasterol na sua forma glicosilada e da flavona luteolina. O tratamento cromatográfico da fração diclorometano das folhas (SSFE-D) levou a obtenção da mistura de flavonas crisoeriol e apigenina. Sucessivas cromatografias a partir do extrato hexânico das talos (SSTH) permitiram a obtenção da mistura dos triterpenos pentacíclicos do tipo ursano α e β -Amirina. A caracterização estrutural das substâncias isoladas foi possível através de análise espectroscópica, utilizando-se as técnicas de RMN uni e bidimensionais, Espectrometria de Massa e Infravermelho.

Palavras-chave: *Stachytarpheta sessilis*, talos, folhas, flavonas.

ABSTRACT

This work outlines the study of non-volatile chemical composition of *Stachytarpheta sessilis*, collected in Chorozinho – CE, Brazil, through the investigation of roots, aerial parts and leaves extracts. Ethanol extracts of aerial parts and leaves of *S. sessilis* were submitted to liquid-liquid partition with hexane, dichloromethane (CH₂Cl₂) and ethyl acetate (EtOAc). The CH₂Cl₂ fraction of aerial parts was submitted to successive chromatography and the chrysoeriol flavone and the pentacyclic ursane triterpene ursolic acid were obtained. Successive chromatography of the EtOAc fraction yielded the isolation of glycosyl stigmaterol and luteolin flavone. Chromatographic treatment of the CH₂Cl₂ fraction from leaves yielded the isolation of a mixture of chrysoeriol and apigenin flavones. Successive chromatography from the hexane extract of aerial parts yielded the isolation of pentacyclic triterpene α and β amyrine as a mixture. The structural characterization of the isolated compounds was possible by spectroscopic analysis, using NMR uni and bidimensional, mass spectrometry and infrared techniques.

Key words: *Stachytarpheta sessilis*, aerial parts, leaves, flavones.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa informativo dos níveis de endemismo de <i>Stachytarpheta</i> dentro de cada estado no Brasil.....	18
Figura 2 - Ocorrência de <i>S. sessilis</i> nos estados do CE, RN e MA.	18
Figura 3 - <i>Stachytarpheta sessilis</i> em seu habitat natural com destaque para as flores.	23
Figura 4 - Publicações sobre o gênero <i>Stachytarpheta</i> , até os dias atuais.	25
Figura 5 - Sub-estrutura I para SS1.	32
Figura 6 - Sub-estrutura IIa para SS1.	32
Figura 7 - Sub-estrutura IIb para SS1.	33
Figura 8 - Sub-estrutura III para SS1.	33
Figura 9 - Estrutura de crisoeriol (SS1).....	34
Figura 10 - Espectro de infravermelho (KBr) de SS1.	36
Figura 11 - Espectro de massa 70 eV de SS1.	36
Figura 12 - Espectro de RMN ¹ H (C ₅ D ₅ N, 500 MHz) de SS1.	37
Figura 13 - Expansão do espectro de RMN ¹ H de SS1 (C ₅ D ₅ N, 500 MHz).	37
Figura 14 - Espectro de RMN ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 125 MHz) de SS1.	38
Figura 15 - Espectro de RMN ¹³ C-DEPT 135 (C ₅ D ₅ N, 125 MHz) de SS1.....	38
Figura 16 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C (C ₅ D ₅ N) de SS1 (HSQC).....	39
Figura 17 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C (C ₅ D ₅ N, HMBC) de SS1.	40
Figura 18 - Expansão do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C (HMBC) de SS1.....	41
Figura 19 - Sub-estrutura I para SS2.	44
Figura 20 - Sub-estrutura II para SS2.....	44
Figura 21 - Estrutura da flavona apigenina (SS2).	45
Figura 22 - Espectro de RMN ¹ H (C ₅ D ₅ N, 500 MHz) de SS2.....	48
Figura 23 - Expansão do espectro de RMN ¹ H (C ₅ D ₅ N, 500 MHz) de SS2.	48
Figura 24 - Espectro de RMN ¹³ C (C ₅ D ₅ N, 125 MHz) de SS2.....	49
Figura 25 - Expansão do espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ¹ H- ¹ H (C ₅ D ₅ N, COSY).....	50
Figura 26 - Espectro de RMN ¹³ C-DEPT 135 (C ₅ D ₅ N, 125 MHz) de SS2.....	50
Figura 27 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C (C ₅ D ₅ N, HSQC) de SS2.	51
Figura 28 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C (C ₅ D ₅ N, HMBC) de SS2.	52
Figura 29 - Expansão I do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C (C ₅ D ₅ N, HMBC) de SS2.	53
Figura 30 - Expansão II do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C (C ₅ D ₅ N, HMBC) de SS2.	54
Figura 31 - Espectro de massa 70 eV de SS2.	55
Figura 32 - Espectro de infravermelho (KBr) de SS2.	55
Figura 33 - Sub-estrutura I para SS3.	58
Figura 34 - Sub-estrutura II para SS3.....	58
Figura 35 - Sub-estrutura III para SS3.	58
Figura 36 - Fragmentação via retro Diels-Alder em SS3.....	59
Figura 37 - Estrutura do triterpeno ácido ursólico (SS3).	59
Figura 38 - Espectro de infravermelho (KBr) de SS3.	62
Figura 39 - Espectro de RMN ¹ H (DMSO-d, 500 MHz) de SS3.....	62

Figura 40 - Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO-d, 500 MHz) de SS3.....	63
Figura 41 - Espectro de RMN ^{13}C (DMSO-d, 125 MHz) de SS3.....	63
Figura 42 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 (DMSO-d, 125 MHz) de SS3.....	64
Figura 43 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (DMSO-d, HSQC) de SS3.....	64
Figura 44 - Expansão do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (DMSO-d, HSQC) de SS3.....	65
Figura 45 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (DMSO-d, HMBC) de SS3.....	66
Figura 46 - Expansão I do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (DMSO-d, HMBC) de SS3.....	67
Figura 47 - Expansão II do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (DMSO-d, HMBC) de SS3.....	68
Figura 48 - Expansão III do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (DMSO-d, HMBC) de SS3.....	69
Figura 49 - Espectro de massa 70 eV de SS3.....	70
Figura 50 - (A) α -amirina e (B) β -amirina.....	72
Figura 51 - Espectro de infravermelho de SS4 e SS5.....	74
Figura 52 - Espectro de massa de SS4 e SS5.....	74
Figura 53 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de SS4 e SS5.....	75
Figura 54 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) de SS4 e SS5.....	75
Figura 55 - Sub-estrutura I para SS6.....	78
Figura 56 - Sub-estrutura II para SS6.....	78
Figura 57 - Estrutura de SS6.....	80
Figura 58 - Espectro na região do infravermelho de SS6.....	82
Figura 59 - Espectro de RMN de ^1H (500MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS6.....	82
Figura 60 - Expansão do espectro de RMN ^1H na faixa de 0,5 a 2,2 ppm, de SS6.....	83
Figura 61 - Expansão do espectro de RMN ^1H na faixa de 3,9 a 5,4 ppm, de SS6.....	83
Figura 62 - Espectro de RMN ^{13}C -BB (125MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS6.....	84
Figura 63 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS6.....	84
Figura 64 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (HSQC - $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS6.....	85
Figura 65 - Expansão 1 do HSQC de SS6.....	85
Figura 66 - Expansão 2 do HSQC de SS6.....	86
Figura 67 - Expansão 3 do HSQC de SS6.....	86
Figura 68 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (HMBC - $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS6.....	87
Figura 69 - Expansão 1 do HMBC de SS6.....	88
Figura 70 - Expansão 2 do HMBC de SS6.....	88
Figura 71 - Expansão 3 do HMBC de SS6.....	89
Figura 72 - Expansão 4 do HMBC de SS6.....	89
Figura 73 - Sub-estrutura I para SS7.....	92
Figura 74 - Sub-estrutura IIa para SS7.....	92
Figura 75 - Sub-estrutura IIb para SS7.....	92
Figura 76 - Sub-estrutura III para SS7.....	93
Figura 77 - Estrutura de luteolina (SS7).....	93
Figura 78 - Espectro de massa 70 eV de SS7.....	96
Figura 79 - Espectro de infravermelho de SS7.....	96
Figura 80 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS7.....	97

Figura 81 - Expansão de 6,5 a 8,0 ppm do espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS7.	97
Figura 82 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS7.....	98
Figura 83 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS7.....	98
Figura 84 - Expansão do espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) de SS7.....	99
Figura 85 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação ^1H - ^{13}C (HSQC) de SS7.....	100
Figura 86 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a mais de uma ligação ^1H - ^{13}C (HMBC) de SS7.	101
Figura 87 - Exsicata de <i>Stachytarpheta sessilis</i> Moldenk.	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sinonímia botânica do gênero <i>Stachytarpheta</i> (CORRÊA, 1984).....	22
Tabela 2 - Metabólitos secundários isolados no gênero <i>Stachytarpheta</i>	26
Tabela 3 - Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (125 MHz, C ₅ D ₅ N) de SS1 por padrão de hidrogenação.....	31
Tabela 4 - Correlação heteronuclear de RMN ¹ H e ¹³ C (HSQC e HMBC) de SS1.	34
Tabela 5 - Comparação de dados de RMN ¹³ C de SS1 (125 MHz, C ₅ D ₅ N) com os descritos na literatura para crisoeriol (125 MHz, DMSO-d) (LIU, 1992).	35
Tabela 6 - Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C-BB/DEPT (C ₅ D ₅ N, 125 MHz) de SS2 por padrão de hidrogenação.	43
Tabela 7 - Correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C (HSQC e HMBC) de SS2.	45
Tabela 8 - Comparação de dados de RMN ¹³ C-BB (125 MHz, C ₅ D ₅ N) de SS2 com os descritos na literatura para apigenina (25,2 MHz, DMSO-d) (AGRAWAL, 1989).....	46
Tabela 9 - Comparação de dados de RMN ¹³ C e ¹ H de SS2 e SS1.	47
Tabela 10 - Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C-BB/DEPT (125 MHz, DMSO-d) de SS3 por padrão de hidrogenação.	57
Tabela 11 - Correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C (HSQC e HMBC) de SS3.	60
Tabela 12 - Comparação dos dados de RMN ¹³ C de SS3 (125 MHz, DMSO-d) com o descrito na literatura para o ácido ursólico (75 MHz, DMSO-d) (TUNDIS, 2002).....	61
Tabela 13 - Comparação dos dados de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de SS4 e SS5 com os descritos na literatura para a mistura α,β-amirina (125 MHz, CDCl ₃) (BANDEIRA et. al., 2007).	73
Tabela 14 - Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C-BB-DEPT (125 MHz, C ₅ D ₅ N) de SS6 por padrão de hidrogenação.	77
Tabela 15 - Correlação heteronuclear de RMN ¹ H e ¹³ C (HSQC e HMBC) de SS6.	79
Tabela 16 - Comparação de dados de RMN ¹³ C (125 MHz, C ₅ D ₅ N) de SS6 com os descritos na literatura para stigmasterol glicosilado (125 MHz, C ₅ D ₅ N) (PIRES, 2002).....	81
Tabela 17 - Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (125 MHz, C ₅ D ₅ N) de SS7 por padrão de hidrogenação.	91
Tabela 18 - Correlação heteronuclear de RMN ¹ H e ¹³ C (HSQC e HMBC) de SS7.	94
Tabela 19 - Comparação de dados de RMN ¹³ C de SS7 (125 MHz, C ₅ D ₅ N) com os descritos na literatura para luteolina (125 MHz, DMSO-d) (FLAMINI, 2001).	95
Tabela 20 - Solventes de eluição da fração SSTE-D.....	109
Tabela 21 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-D.	109
Tabela 22 - Solventes de eluição da fração SSTE-D2.....	110
Tabela 23 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-D2.	110
Tabela 24 - Solventes de eluição da fração SSTE-D2-F6.	111
Tabela 25 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-D2-F6.....	111
Tabela 26 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-D2-F6-F3.	112
Tabela 27 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-A.	112
Tabela 28 - Solventes de eluição da fração SSTE-A-F5.	113
Tabela 29 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-A-F5.....	113
Tabela 30 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-A-F4.....	114
Tabela 31 - Segundo fracionamento cromatográfico de SSTE-A2.	115
Tabela 32 - Solventes de eluição da fração SSTE-A2-F7.	115
Tabela 33 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-A2-F7.....	115
Tabela 34 - Solventes de eluição da fração SSFE-D.	117

Tabela 35 - Fracionamento cromatográfico de SSFE-D.....	117
Tabela 36 - Solventes de eluição da fração SSFE-D-F4.....	118
Tabela 37 - Fracionamento cromatográfico de SSFE-D-F4.....	118
Tabela 38 - Fracionamento preliminar de SSTH.....	118
Tabela 39 - Solventes de eluição da fração SSTH-D.	119
Tabela 40 - Fracionamento cromatográfico de SSTH-D.....	119
Tabela 41 - Solventes de eluição da fração SSTH-D-F4.....	120
Tabela 42 - Fracionamento cromatográfico de SSTH-D-F4.	120
Tabela 43 - Solventes de eluição da fração SSTH-D-F4-F2.	121
Tabela 44 - Fracionamento cromatográfico de SSTH-D-F4-F2.....	121
Tabela 45 - Solventes de eluição da fração SSTH-D-F4-F2-F2.....	122
Tabela 46 - Fracionamento cromatográfico de SSTH-D-F4-F2-F2.	122

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1 - Obtenção dos extratos hexânico e etanólico das raízes de <i>Stachytarpheta sessilis</i> Moldenk e seus rendimentos.	107
Fluxograma 2 - Obtenção dos extratos hexânico e etanólico dos talos de <i>Stachytarpheta sessilis</i> Moldenk e seus rendimentos.	107
Fluxograma 3 - Obtenção dos extratos hexânico e etanólico das folhas de <i>Stachytarpheta sessilis</i> Moldenk e seus rendimentos.	108
Fluxograma 4 - Partição do extrato etanólico SSTE.	108
Fluxograma 5 - Partição do extrato etanólico SSFE.	116

LISTA DE ABREVIATURAS

RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio.
MHz	Megahertz.
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono.
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer.</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence.</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Band Correlation.</i>
CCD	Cromatografia em Camada Delgada.
glc	Glicose
Rf	Coeficiente de Retenção.
SSRH	Extrato hexânico das raízes de <i>S. sessilis</i> .
SSRE	Extrato etanólico das raízes de <i>S. sessilis</i> .
SSFH	Extrato hexânico das folhas de <i>S. sessilis</i> .
SSFE	Extrato etanólico das folhas de <i>S. sessilis</i> .
SSTE	Extrato etanólico dos talos de <i>S. sessilis</i> .
RDA	Retro Diels-Alder.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS	20
2.1 Considerações botânicas da família verbenaceae.....	20
2.2 Considerações botânicas do gênero <i>Stachytarpheta</i>	21
2.3 Considerações botânicas de <i>Stachytarpheta sessilis</i> (Moldenk).	23
3 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	25
4. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL	30
4.1 Determinação estrutural de SS1	30
4.2 Determinação estrutural de SS2	42
4.3 Determinação estrutural de SS3	56
4.4 Determinação estrutural de SS4 e SS5.	71
4.5 Determinação estrutural de SS6.	76
4.6 Determinação estrutural de SS7.	90
5 PARTE EXPERIMENTAL	103
5.1 Métodos cromatográficos	103
5.1.1 Cromatografia de adsorção.....	103
5.1.2 Cromatografia de exclusão.	104
5.2 Métodos espectrométricos.	104
5.2.1 Espectrometria na região do infravermelho (IV).....	104
5.2.2 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹ H) e de carbono-13 (RMN ¹³ C).....	104
5.2.3 Espectrometria de massa.	105
5.2.4 Ponto de fusão (PF).	105
5.3 Estudos dos constituintes químicos não voláteis de <i>Stachytarpheta sessilis</i> Moldenk.	105
5.3.1 Material botânico.	105
5.3.2 Obtenção dos extratos das raízes, talos e folhas de <i>Stachytarpheta sessilis</i> Moldenk.	106
5.3.3 Partição do extrato etanólico dos talos de <i>Stachytarpheta sessilis</i> Moldenk – SSTE.	108
5.3.3.1 Fracionamento cromatográfico da fração SSTE-D.	109
5.3.3.2 Segundo Fracionamento cromatográfico da fração SSTE-D2.	110
5.3.3.2.1 Fracionamento cromatográfico da fração SSTE-D2-F6.....	111
5.3.3.2.2 Fracionamento cromatográfico da fração SSTE-D2-F6-F3, isolamento de SS3.....	111
5.3.3.3 Fracionamento cromatográfico de SSTE-A.	112
5.3.3.3.1 Fracionamento cromatográfico de SSTE-A-F5.....	113
5.3.3.3.2 Filtração de SSTE-A-F5-F5.	114
5.3.3.3.3 Fracionamento cromatográfico de SSTE-A-F4.....	114
5.3.3.4 Segundo fracionamento cromatográfico de SSTE-A2.	114
5.3.3.4.1 Fracionamento cromatográfico de SSTE-A2-F7.....	115

5.3.3.4.2 Fracionamento cromatográfico de SSTE-A2-F7-F3 e SSTE-A2-F7-F4...	116
5.3.4 Partição do extrato etanólico das folhas de <i>Stachytarpheta sessilis</i> Moldenk – SSFE.....	116
5.3.4.1 Fracionamento cromatográfico da fração SSFE-D.....	117
5.3.4.2 Fracionamento cromatográfico da fração SSFE-D-F4.....	117
5.3.5 Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico dos talos SSTH.....	118
5.3.5.1 Fracionamento cromatográfico da fração SSTH-D.....	119
5.3.5.2 Fracionamento cromatográfico da fração SSTH-D-F4.....	120
5.3.5.3 Fracionamento cromatográfico da fração SSTH-D-F4-F2.....	120
5.3.5.4 Fracionamento cromatográfico da fração SSTH-D-F4-F2-F2.....	121
6 CONCLUSÃO.....	124
7 CONSTANTES FÍSICAS.....	126
7.1 Constantes físicas e dados espectrométricos dos constituintes químicos isolados de <i>Stachytarpheta sessilis</i> Moldenk.....	126
7.1.1 SS1.....	126
7.1.2 SS2.....	127
7.1.3 SS3.....	128
7.1.4 SS4 e SS5.....	129
7.1.5 SS6.....	130
7.1.6 SS7.....	131
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	133



CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Verbenaceae é uma ampla família de plantas que habitam em regiões temperadas, tropicais e subtropicais de ambos hemisférios, com cerca de 100 gêneros e 2000 espécies. No Brasil a família é representada por 16 gêneros e aproximadamente 140 espécies (RIBEIRO et. al., 1999). Dentro das dicotiledôneas com princípios aromáticos, essa família é considerada importante já que alguns de seus representantes, entre eles *Aloysia citriodora* e *Lippia turbinata*, são utilizadas na medicina popular por suas propriedades digestivas (BONZANI et. al., 2003). *Lippia alba*, é usada topicamente em tinturas alcoólicas contra reumatismo, dores musculares ou em infusões para problemas estomacais. As folhas de *L. berlandieri* (orégano) fervidas com leite são usadas como expectorante e antiespasmódico, frescas ou secas para condimentar carne, pastas, etc. Medicinalmente emprega-se em infusão *Verbena litoralis* (verbena) em casos de diarreia (GONZÁLES, 2006).

O gênero *Stachytarpheta* é representado por cerca de 133 espécies e representado no Brasil por 79 espécies (ATKINS, 2005). Na **Figura 1, pág. 18**, é possível perceber a larga distribuição nos estados brasileiros e também que a grande concentração do gênero se encontra nos estados de Goiás, Distrito Federal, Minas Gerais e Bahia. Já no estado do Ceará, são encontradas 4 espécies endêmicas, *S. sessilis*, *S. angustifolia*, *S. coccínea* e *S. cearensis*.

Dentre as espécies do gênero, *S. jamaicensis* e *S. cayennensis* são largamente utilizadas na medicina popular para tratamentos de úlceras estomacais, contra queda de cabelo (HERNANDEZ et. al., 1998), distúrbios intestinais (VELA et. al., 1997), e também no combate do mosquito *Aedes aegypti* (CHARIANDY et. al., 1999). As folhas de *S. cayennensis* e *S. jamaicensis* na forma de infusão e decocção também costumam ser usadas na medicina popular para diversas doenças, tais como inflamações, dores, febre, insuficiência hepática, alterações renais, hipertensão, estresse e diabetes (PENIDO et. al., 2006). A investigação farmacológica de *S. cayennensis* revelou uma notável propriedade gastroprotetora para o tratamento de gastrite e úlceras (COIMBRA, 1958).

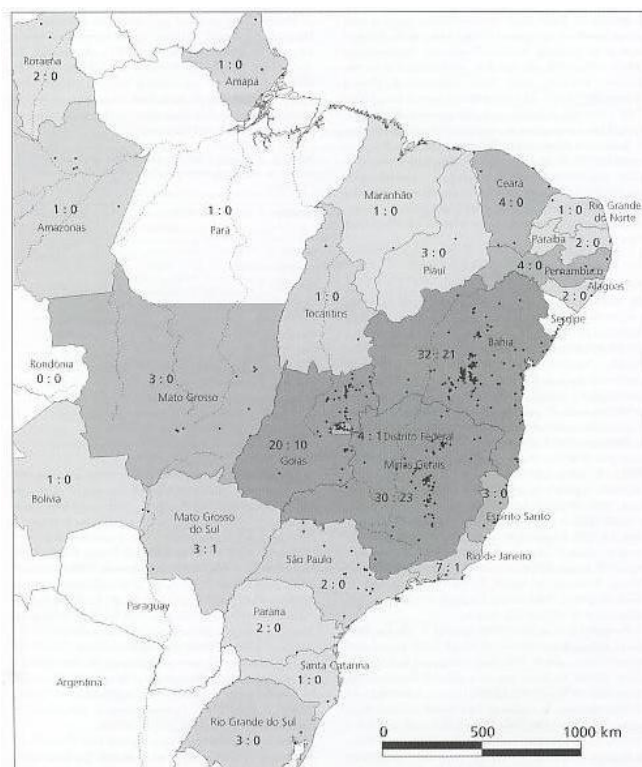


Figura 1 - Mapa informativo dos níveis de endemismo de *Stachytarpheta* dentro de cada estado no Brasil.

Stachytarpheta sessilis (Verbenaceae) Moldenk possui ocorrência no Brasil apenas na região nordeste, mais especificamente nos estados do Rio Grande do Norte, Ceará e Paraíba (ATKINS, 2005) (**Figura 2**). A total ausência de estudos químicos e farmacológicos relacionados à espécie *Stachytarpheta sessilis* nos motivou a selecionar esta espécie para estudo.

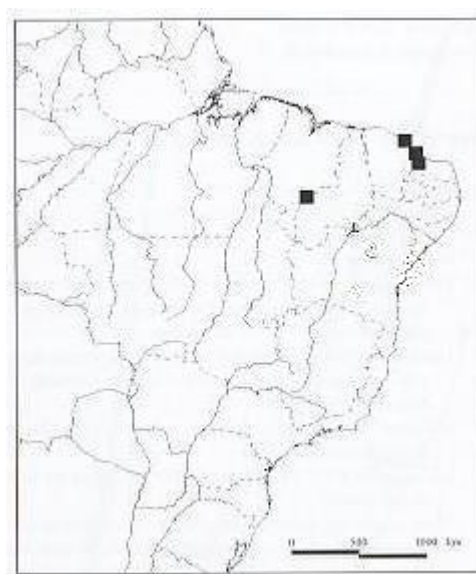


Figura 2 - Ocorrência de *S. sessilis* nos estados do CE, RN e MA.



CAPÍTULO 2

CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2.1 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS DA FAMÍLIA VERBENACEAE

Segundo Gonzáles (2006) a família Verbenaceae é caracterizada por ervas, arbustos, árvores ou trepadeiras lenhosas, com ramos regulares e estípulas ausentes. Folhas simples, opostas e verticiladas, margens inteiras ou serradas. Inflorescências racemosas ou cimosas, cabeças, tirsos, espigas ou flores solitárias, ocasionalmente envolvidas por folhas. Flores leves e evidentemente zigomórficas; bissexuadas ou unissexuadas (planta com órgãos reprodutores masculinos e femininos), cálice tubular e apresenta 5 lobos persistentes, as vezes acrescido de frutos; a corola apresenta 4 a 5 lobos, as vezes bilabiada; androceu com 2 a 5 estames, anteras dorsadas; as vezes presente 2 estaminódios (*Stachytarpheta*) cerca da metade do tubo da corola; gineceu sincárpico, ovário inteiro e com 4 lóculos, 2 carpelos (4 aparências), placentação axilar, 1 óvulo por lóculo. O fruto é carnoso e provido de núcleo ou múltiplo decomponível em frutos simples com 2 a 4 sementes, raramente a cápsula se abre em duas partes.

Verbenaceae é reconhecida por suas folhas sempre opostas, sem estípulas, as vezes com folhagem aromática e ramos quadrangulares, flores perfeitas, levemente bilabiadas, ovário bicapilar e frutos drupáceos ou esquizocárpico.

As flores são polinizadas por insetos das famílias Diptera, Hymenoptera e Lepidóptera. Os frutos são dispersos por aves, mamíferos e outras tem adaptações para fazê-la fluvialmente.

2.2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS DO GÊNERO *Stachytarpheta*.

A origem do nome *Stachytarpheta* vem do grego, onde "stachys" significa espiga e "tarphos" significa denso.

O gênero *Stachytarpheta* está compreendido na família Verbenaceae e é reconhecido pelas seguintes características: ervas ou arbustos de folhas simples de margem serreada, não aromáticas, a inflorescência é uma espiga, longa e fina com flores pequenas, tubulosas, rosáclaro. Crescem em áreas alteradas (RIBEIRO, 1999).

De acordo com Martius (1851), a morfologia do gênero pode ser descrita em linhas gerais como:

“Plantas herbáceas, subarbustivas ou arbustivas. Folhas geralmente opostas, raramente alternadas. A inflorescência é terminal, podendo ter suas flores dispostas em espiga ou em capítulo, as flores encontram-se em pequenas escavações longitudinais presentes no raque, as escavações são sobrepostas por uma bráctea persistente, as flores são sésseis. O cálice é tubuloso, comprimido e membranáceo. A corola é tubulosa, cilíndrica, de tubo curto. O androceu apresenta dois estames férteis e dois estaminóides, como é típico do gênero; os estames são inclusos e estão inseridos na parte superior do tubo da corola. O gineceu apresenta ovário ínfero, é bilocular, unilocular; com estilete terminal, capilar; o estigma é terminal”.

Para Gonzáles (2006) estas espécies são caracterizadas por apresentar flores com dois estames férteis, corolas de cor azul, púrpura ou brancas; frutos esquizocarpos secos, incertos nos cálices.

Amplamente encontrado em toda a América do Sul, o gênero apresenta algumas sinonímias que diferem de um país para o outro e até mesmo de uma região para a outra, como é o caso do Brasil **Tabela 1, pág. 22**.

Tabela 1 - Sinonímia botânica do gênero *Stachytarpheta* (CORRÊA, 1984).

<i>Nome popular</i>	<i>Nome Científico</i>	<i>Sinonímia</i>	<i>Localidades</i>
Gervão	<i>Stachytarpheta bicolor</i> Hook <i>S. dichotoma</i> Vaal <i>S. gibberosa</i> Rahb. <i>S. jamaicensis</i> Salib <i>S. umbrosa</i> HBK <i>S. urticifolia</i> Sims	Aguará-Ponda, Erva gervão, Rinchão, Verbena falsa	Pará e Ilha de Marajó
Gervão Bastardo	<i>Stachytarpheta pseudo chascanum</i> Walper	Gervão falso	-
Gervão das Caatingas	<i>Stachytarpheta láctea</i> Schawer	-	-
Gervão do Alagadiço	<i>Stachytarpheta elatior</i> Schrader <i>S. palustris</i> Schott	Erva santa	Minas Gerais
Gervão Falso	<i>Verbena fluminensis</i> Vall <i>V. pseudogervão</i> St. Hil	Gervão da folha grande	São Paulo
		Gervão da folha larga	Minas Gerais
Gervão Cheiroso	<i>Verbena laciniata</i> Brig <i>V. erinoid</i> Lam <i>V. mendancina</i> Phil	Marganta morada	Uruguai
		Moss verbena	Anglo-americanos
		Sanda laguen	Peru
		Yerba meona	Argentina
Gervão Roxo	<i>S. cayennensis</i> Vahl <i>V. cayennensis</i> Rich	Cola de millo e Verbena	Panamá
		Portweed	Antilhas inglesas
Gervão Verdadeiro	<i>S. jamaicensis</i> Vahl <i>Abena jamaicensis</i> Hitch <i>Valerianoides jamaicensis</i> Kuntze	Verbena azul	Hispânicos
		Verveine bleul	Franceses

2.3 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS DE *Stachytarpheta sessilis* (Moldenk).

Stachytarpheta sessilis (Moldenk) é descrita como uma erva terrestre de aproximadamente 50 cm, com caule em haste pilosa, levemente coberto da propagação da luz, cabelos unisseriado. Folhas sésseis, ápice agudo, base truncar, margem irregularmente serrada, superfície superior e inferior escassamente coberta com cabelos unisseriado. Inflorescência de 9-19 cm de comprimento com 5 mm de largura, brácteas estritamente triangulares com 8 mm de comprimento. Cálice com 9 mm de comprimento. Corola vermelho profundo, lobos com 5 mm de comprimento, tubo levemente curvado com 10 mm de comprimento. Frutas pálidas, ápice tirar fora e achatada (**Figura 3**) (ATKINS, 2005).

Tem como habitat natural a caatinga sendo encontrada no Brasil nos estados do Maranhão, Ceará e Rio Grande do Norte.

Foto:E.R.Silveira



Figura 3 - *Stachytarpheta sessilis* em seu habitat natural com destaque para as flores.



CAPÍTULO 3

LEVANTAMIENTO BIBLIOGRÁFICO

3 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

O levantamento bibliográfico realizado através do “software” SciFinder Scholar 2006, revelou 69 relatos de estudo fitoquímicos em espécies de *Stachytarpheta*, desde a década de 30 até os dias atuais (**Figura 4**).

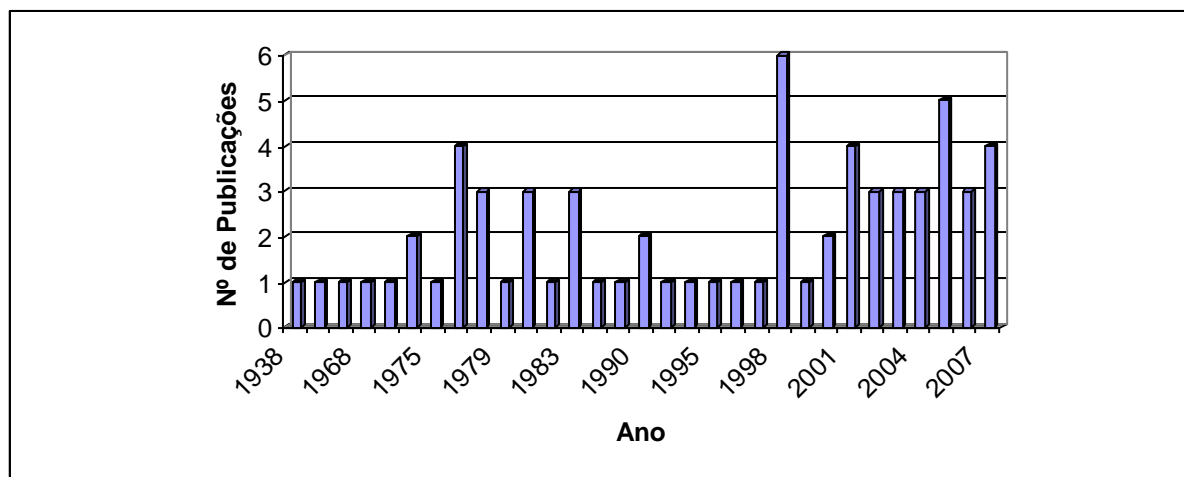


Figura 4 - Publicações sobre o gênero *Stachytarpheta*, até os dias atuais.

Algumas espécies das quais já foram relatados estudos fitoquímicos, como *S. mutabilis*, *S. guayenensis*, *S. australis*, *S. indica* e *S. dichotoma* tiveram até agora o relato da investigação química das suas raízes e folhas. *S. cayennensis* e *S. jamaicensis*, são as mais difundidas e estudadas através do estudo de suas raízes, talos, folhas e flores. Dentre as classes de metabólitos secundários isolados foram relatados a presença de iridóides (LEITAO et. al., 2005), esteróides (SUBRAMANIAM, S.; RAMACHANDRAN, A. G. N.; VEDANTHAN, T. N. C., 1974), flavonóides (DURET, S.; JACQUEMIN, H.; PARIS, R. T., 1976), feniletanóides e fenilpropanóides glicosilados (SCHAPOVAL et. al., 1998 e LEITAO et. al., 2005), triterpenos (GANAPATY, BABU, G. J.; NAIDU. K. D., 1998).

A **Tabela 2, pág. 26**, apresenta as substâncias isoladas e conhecidas até o momento no gênero *Stachytarpheta*.

Tabela 2 - Metabólitos secundários isolados no gênero *Stachytarpheta*.

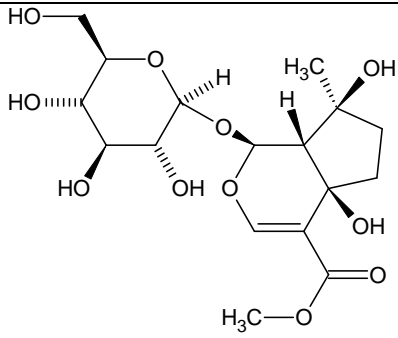
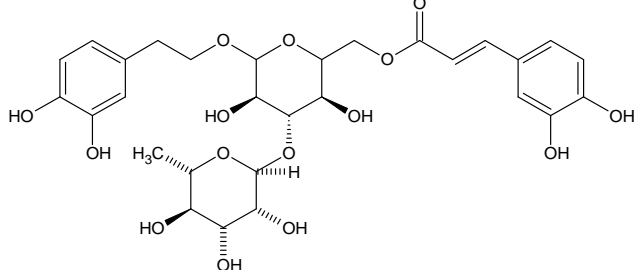
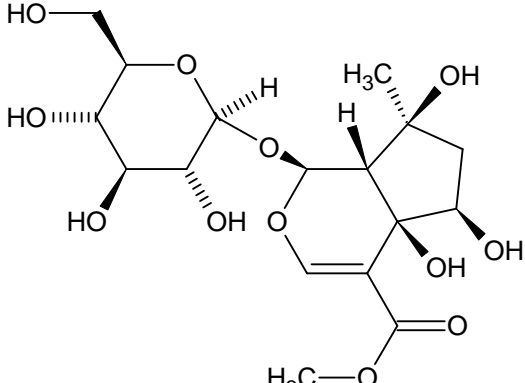
<i>Espécie</i>	<i>Substâncias isoladas</i>	<i>Referência</i>
<p><i>S. cayennensis</i> <i>S. dichotoma</i> <i>S. jamaicensis</i> <i>S. australis</i> <i>S. mutabilis</i> <i>S. guyanensis</i> <i>S. indica</i></p>	 <p>Ipolamida</p>	<p>ADEBAJO et. al., 2007; LEITÃO et. al., 2005; FUTURO, 1998; SCHAPOVAL et. al., 1998. BRITO, 1987. DAMTOFT, 1984; JALAD, 1980. AKISUE, 1981. BERNAYS, 1981; DE LUCA, 1980; GARNIER, 1977. GARNIER, 1977. TANTISEWIE, 1975.</p>
<p><i>S. cayennensis</i></p>	 <p>Isoverbascosídeo</p>	<p>ADEBAJO et. al., 2007; LEITAO et. al., 2005.</p>
<p><i>S. cayennensis</i> <i>S. mutabilis</i></p>	 <p>6β-Hidroxiipolamida</p>	<p>ADEBAJO, 2007. DE LUCA, 1983.</p>

Tabela 2 – continuação.

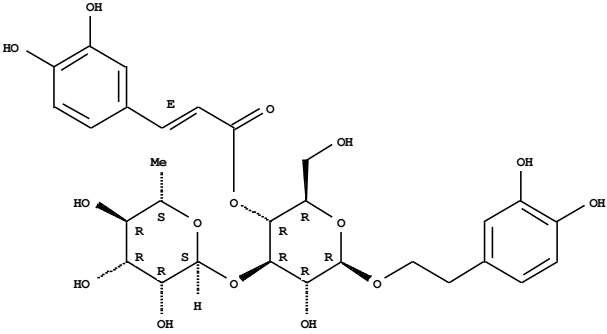
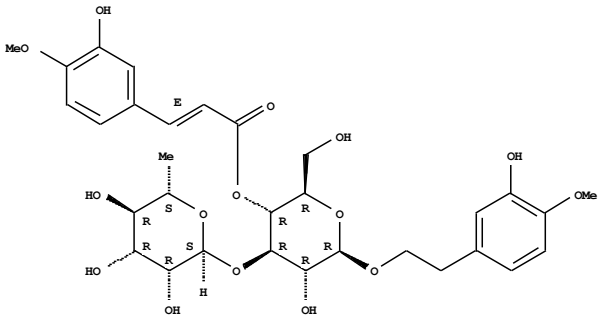
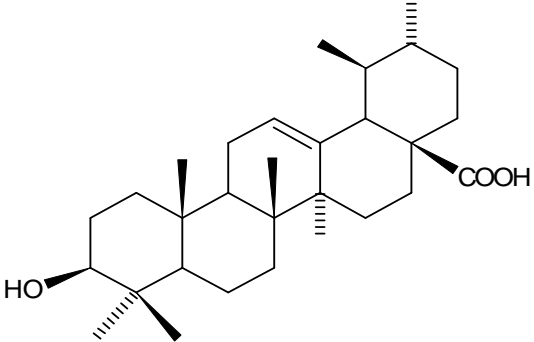
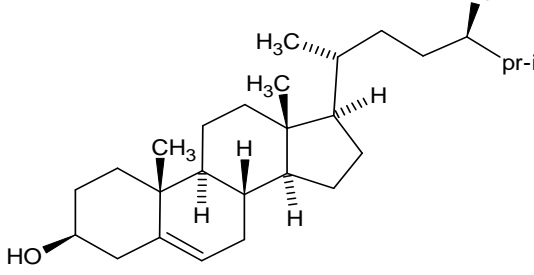
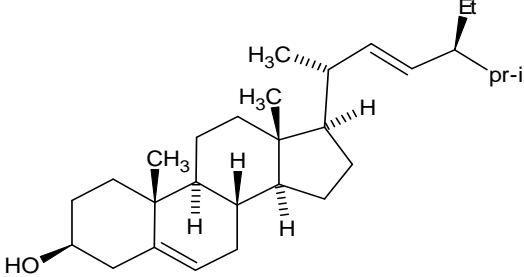
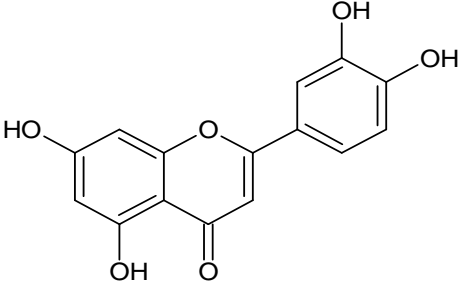
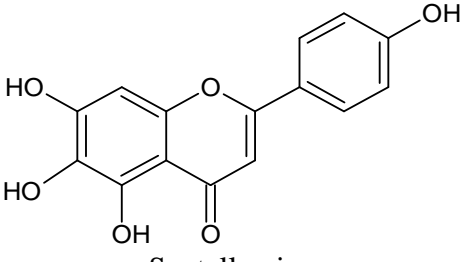
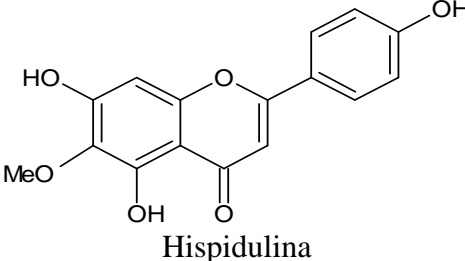
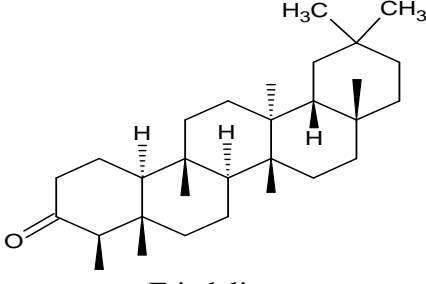

<p><i>S. cayennensis</i></p>	 <p>Verbascosídeo</p>	<p>LEITAO et. al., 2005; SCHAPOVAL et. al., 1998.</p>
<p><i>S. cayennensis</i></p>	 <p>Martinosídeo</p>	<p>LEITAO et. al., 2005.</p>
<p><i>S. indica</i></p>	 <p>Ácido ursólico</p>	<p>GANAPATY, BABU, NAIDU, 1998; SUBRAMANIAN, 1974.</p>
<p><i>S. indica</i></p>	 <p>β-Sitosterol</p>	<p>GANAPATY, BABU, NAIDU, 1998;</p>

Tabela 2 – continuação.

<i>S. indica</i>	 <p style="text-align: center;">Stigmasterol</p>	GANAPATY, BABU, NAIDU, 1998; SUBRAMANIAN, 1974.
<i>S. indica</i>	 <p style="text-align: center;">Luteolina</p>	GANAPATY, BABU, NAIDU, 1998;
<i>S. indica</i>	 <p style="text-align: center;">Scutellareina</p>	GANAPATY, BABU, NAIDU, 1998; SUBRAMANIAN, 1974.
<i>S. indica</i>	 <p style="text-align: center;">Hispidulina</p>	GANAPATY, BABU, NAIDU, 1998; SUBRAMANIAN, 1974.
<i>S. indica</i>	 <p style="text-align: center;">Friedelina</p>	SUBRAMANIAN, 1974.



CAPÍTULO 4
DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

4. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

4.1 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE SS1

O tratamento cromatográfico da fração diclorometano (SSTE-D) obtida da partição do extrato etanólico dos talos de *S. sessilis*, seguido por cromatografia em coluna do tipo “flash”, resultou no isolamento de um sólido amorfo, de cor amarela e ponto de fusão acima de 300°C, codificado de **SS1**.

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho (**Fig. 10, pág. 36**) mostrou uma banda larga em 3448 cm⁻¹, correspondente a deformação axial da ligação O-H, caracterizando a presença de hidroxila, além de banda em 2930 cm⁻¹, relativa a deformação axial das ligações C-H. A presença de uma carbonila conjugada foi evidenciada através da absorção em 1653 cm⁻¹ e as bandas esqueléticas em 1624, 1559 e 1510 cm⁻¹ foram atribuídas a deformações axiais das ligações C=C de anel aromático. Observou-se ainda absorções em 1209, 1171, 1150 e 1030 cm⁻¹, que foram atribuídas a deformações axiais de C-O.

O espectro de RMN ¹H (500 MHz, C₅D₅N) (**Fig. 12 e 13, pág. 37**), mostrou seis sinais na faixa de δ 7,6-6,7 atribuídos a hidrogênios ligados a carbono *sp*²; um sinal em δ 13,80 (1H, s) correspondente a uma hidroxila em posição “peri” a uma carbonila, e ainda um sinal simples e intenso em δ 3,84 (3H, s, H-OCH₃) atribuído a hidrogênios de grupo metoxila. Os dubletos em δ 6,77 (1H, d, J = 1,6 Hz, H-6) e δ 6,87 (1H, d, J = 1,6 Hz, H-8) foram atribuídos a hidrogênios aromáticos com relação *meta* entre si. Os sinais em δ 7,66 (1H, dd, J = 8,3 e 1,65 Hz, H-6’), 7,29 (1H, d, J = 8,3 Hz, H-5’) e 7,62 (1H, d, J = 1,65 Hz, H-2’), revelaram presença de um sistema AMX através dos respectivos valores das constantes de acoplamento.

O espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz) (**Fig. 14, pág. 38**) exibiu dezesseis linhas espectrais, das quais a absorção em δ 56,4 foi associada a um carbono *sp*³ oxigenado, e as quatorze linhas restantes na faixa de δ 95,3 – 166,2 foram relacionadas a carbonos *sp*². Dentre os carbonos insaturados, observou-se que os seis sinais na faixa de δ 149,3 - 166,2 provavelmente se encontravam oxigenados.

A análise comparativa entre os espectros de RMN ¹³C-BB e RMN ¹³C-DEPT 135 (**Fig. 15, pág. 38**) revelou a existência de seis carbonos metínicos, um metílico e nove carbonos não-hidrogenados como mostrado na **Tabela 3, pág. 31**.

Tabela 3 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de **SS1** por padrão de hidrogenação.

C	CH	CH ₃	Fórmula Parcial
163,5	121,7	56,9	
152,7	117,3		
158,9	110,7		
183,1	104,6		
166,2	100,3		
164,9	95,3		
149,3			
122,9			
105,4			
C₉O (1 carbonila)	C₆H₆	CH₃O (1 metoxila)	C₁₆H₉O₂

A reunião de todos os dados espectroscópicos descritos acima permitiu a obtenção da fórmula parcial $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{O}_2$, sugerindo, desta forma, a estrutura de um esqueleto flavonoídico para **SS1**.

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C a uma ligação, com detecção no canal de hidrogênio (HSQC) (**Fig. 16, pág. 39**) permitiu associar inequivocamente os sinais de todos os hidrogênios a seus respectivos carbonos (**Tabela 4, pág. 34**).

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C a mais de uma ligação, com detecção no canal de hidrogênio (HMBC) (**Fig. 17 e 18, pág. 40 e 41**) mostrou os acoplamentos à longa distância entre o hidrogênio olefínico em δ 6,98 (H-3) com os carbonos em δ 105,4 (C-10); δ 164,9 (C-2) e com o carbono carbonílico em δ 183,1 (C-4), e definitivamente sugeriu a estrutura de uma flavona **Figura 5, pág. 32**.

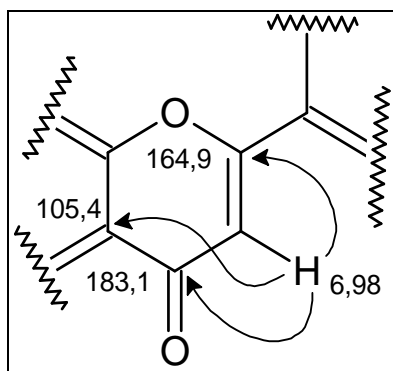


Figura 5 - Sub-estrutura I para SS1.

Nesta análise, foram ainda observadas as correlações dos sinais dos hidrogênios aromáticos em δ 7,62 (H-2') e 7,66 (H-6') com o carbono oxigenado em δ 164,9 (C-2), e do hidrogênio em δ 7,29 (H-5') com os carbonos oxigenados em δ 152,7 (C-4') e 149,3 (C-3'). Tais informações levaram à confirmação de que o anel B encontrava-se 3',4'-O-dissubstituído como mostrado na sub-estrutura abaixo (**Figura 6**).

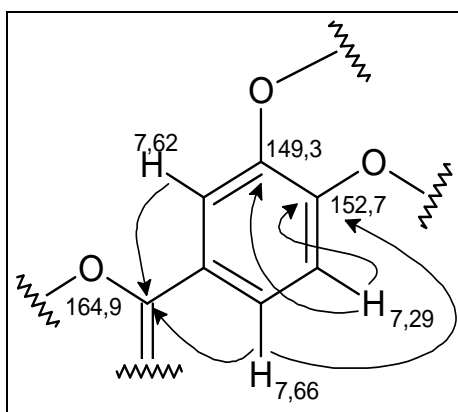


Figura 6 - Sub-estrutura IIa para SS1.

No entanto, as posições relativas do grupo metoxila no carbono 3' e da hidroxila no carbono 4', só puderam ser determinada através da observação da importante correlação do hidrogênio do grupo metoxila em δ 3,84 (O-CH₃) com o carbono em δ 149,3 (C-3') (**Figura 7, pág. 33, Tabela 4, pág. 34**).

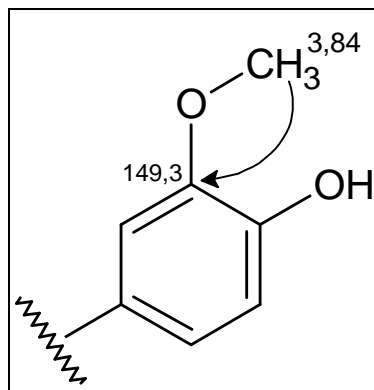


Figura 7 - Sub-estrutura IIb para **SS1**.

Em adição, foram também observadas as correlações dos sinais do hidrogênio em δ 6,77 (H-6) com o carbono em δ 95,3 (C-8), dos hidrogênios em δ 6,87 (H-8) com o sinal de carbono mono-hidrogenado em δ 100,3 (C-6), e da correlação de ambos com o carbono em δ 105,4 (C-10), o que indicou as posições H-6 e H-8, para estes hidrogênios, respectivamente. Esta observação foi posteriormente confirmada pelas correlações do hidrogênio da hidroxila quelada em δ 13,80 (H-hidroxila) com os carbonos em δ 100,3 (C-6), 105,4 (C-10), 163,5 (C-5) e 166,2 (C-7), e permitiu a construção da sub-estrutura abaixo (**Figura 8**).

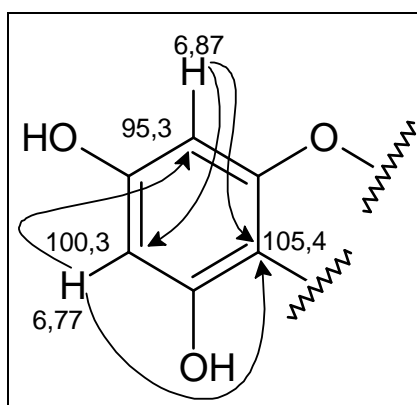


Figura 8 - Sub-estrutura III para **SS1**.

A comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C de **SS1** com aqueles publicados na literatura (**Tabela 5, pág. 35**) para flavonas, indicou para **SS1** a estrutura da 5,7,4'-trihidroxi-3'-metoxiflavona (crisoeriol) (**Figura 9, pág. 34**), isolada anteriormente da espécie *Schouwia thebica* (Cruciferae) (AMANI, 2006), sendo relatada pela primeira vez no gênero *Stachytarpheta*.

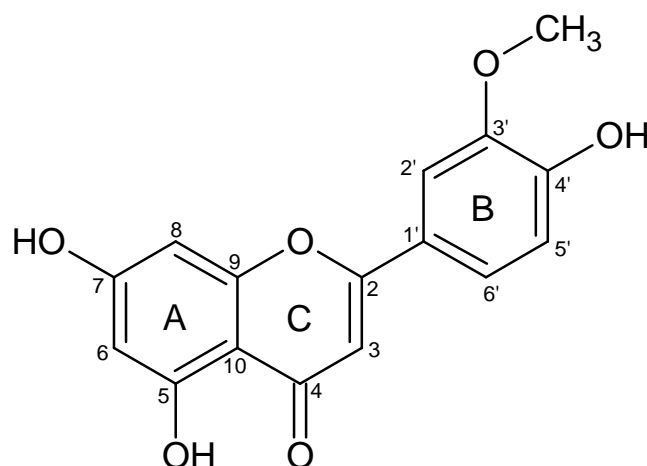


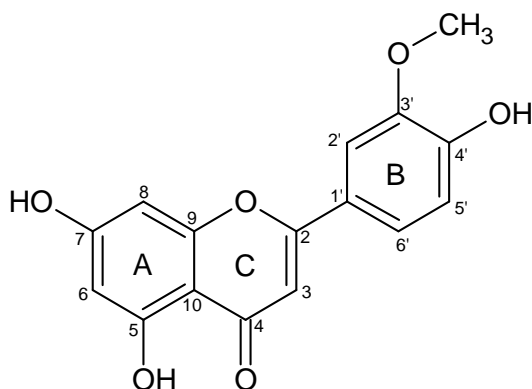
Figura 9 - Estrutura de crisoeriol (SS1).

Tabela 4 - Correlação heteronuclear de RMN ^1H e ^{13}C (HSQC e HMBC) de SS1.

C	^{13}C -BB	HSQC	HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
2	164,9		(H-3)	(H-2'), (H-6')
3	104,6	6,98 (1H,s)		
4	183,1		(H-3)	
5	163,5		(H-6)	
6	100,3	6,77 (1H, d, J = 1,6 Hz)		(H-8)
7	166,2		(H-6), (H-8)	
8	95,3	6,87 (1H, d, J = 1,6 Hz)		(H-6)
9	158,9		(H-8)	
10	105,4			(H-3), (H-6), (H-8)
1'	122,9		(H-2'), (H-6')	(H-2'), (H-3)
2'	110,7	7,62 (1H, d, J = 1,65 Hz)		(H-6')
3'	149,3			(H-2'), (OCH ₃), (H-2')
4'	152,7		(H-5'), (H-2')	(H-6')
5'	117,3	7,29 (1H, d, J = 8,3 Hz)		
6'	121,7	7,66 (1H, dd, J = 8,3;1,65 Hz)	(H-2')	(H-2')
OCH ₃	56,4	3,84 (3H, s)		

Tabela 5 - Comparação de dados de RMN ^{13}C de **SS1** (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) com os descritos na literatura para crisoeriol (125 MHz, DMSO-d) (LIU, 1992).

	SS1	CRISOERIOL
C	δ_{C}	δ_{C}
2	164,9	163,2
3	104,6	103,1
4	183,1	181,5
5	163,5	161,5
6	100,3	98,8
7	166,2	164,4
8	95,3	93,9
9	158,9	157,3
10	105,4	103,2
1'	122,9	121,4
2'	110,7	110,3
3'	149,3	150,7
4'	152,7	147,9
5'	117,3	115,7
6'	121,7	120,2
OMe	56,4	55,9



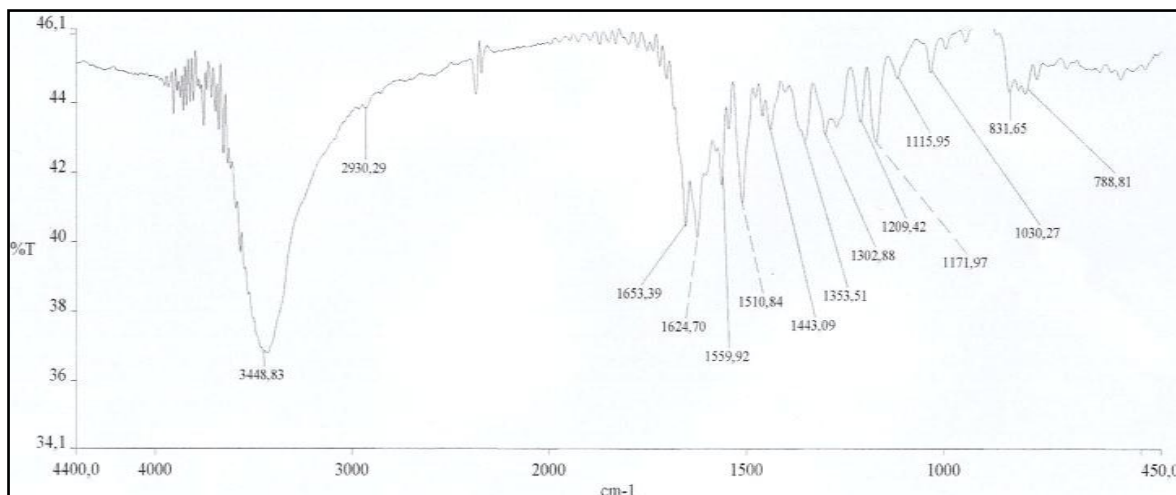


Figura 10 - Espectro de infravermelho (KBr) de SS1.

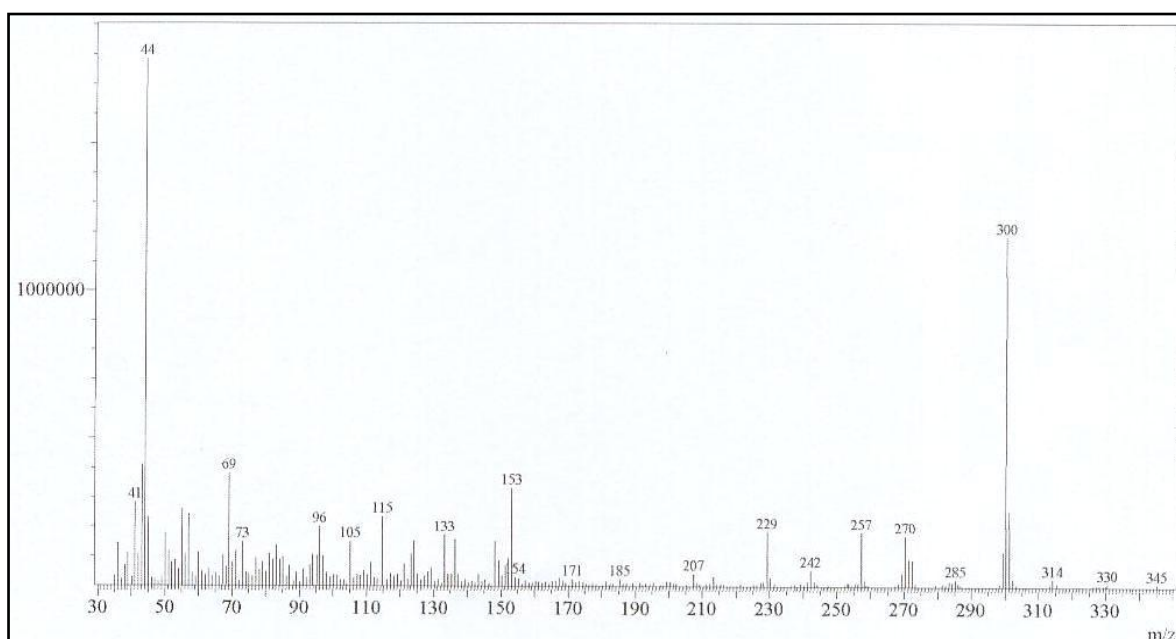


Figura 11 - Espectro de massa 70 eV de SS1.

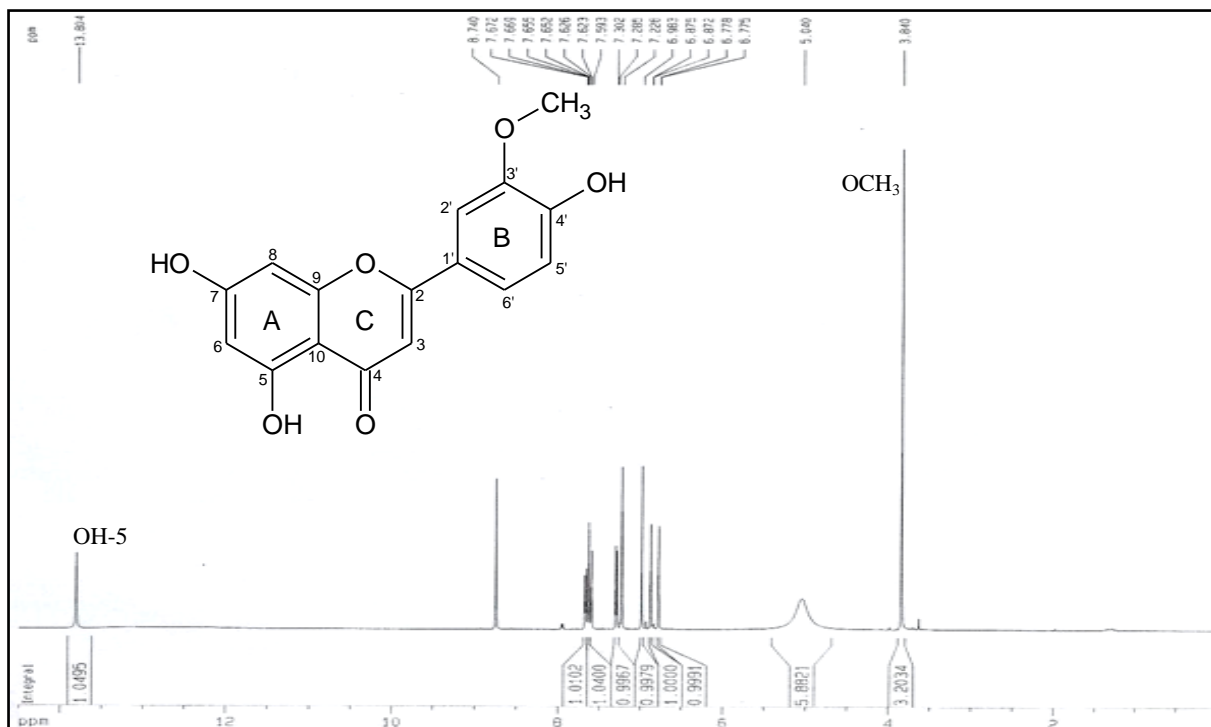


Figura 12 - Espectro de RMN ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) de **SS1**.

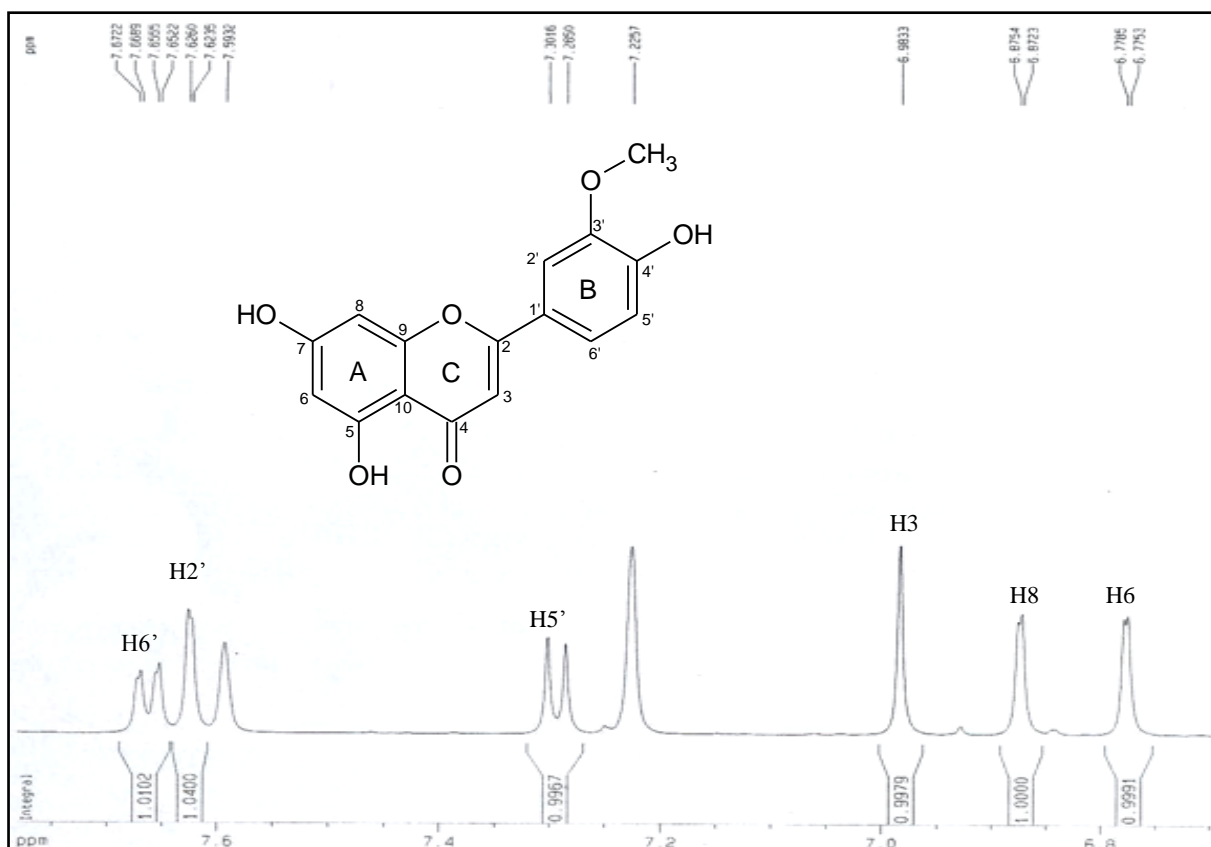


Figura 13 - Expansão do espectro de RMN ^1H de **SS1** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz).

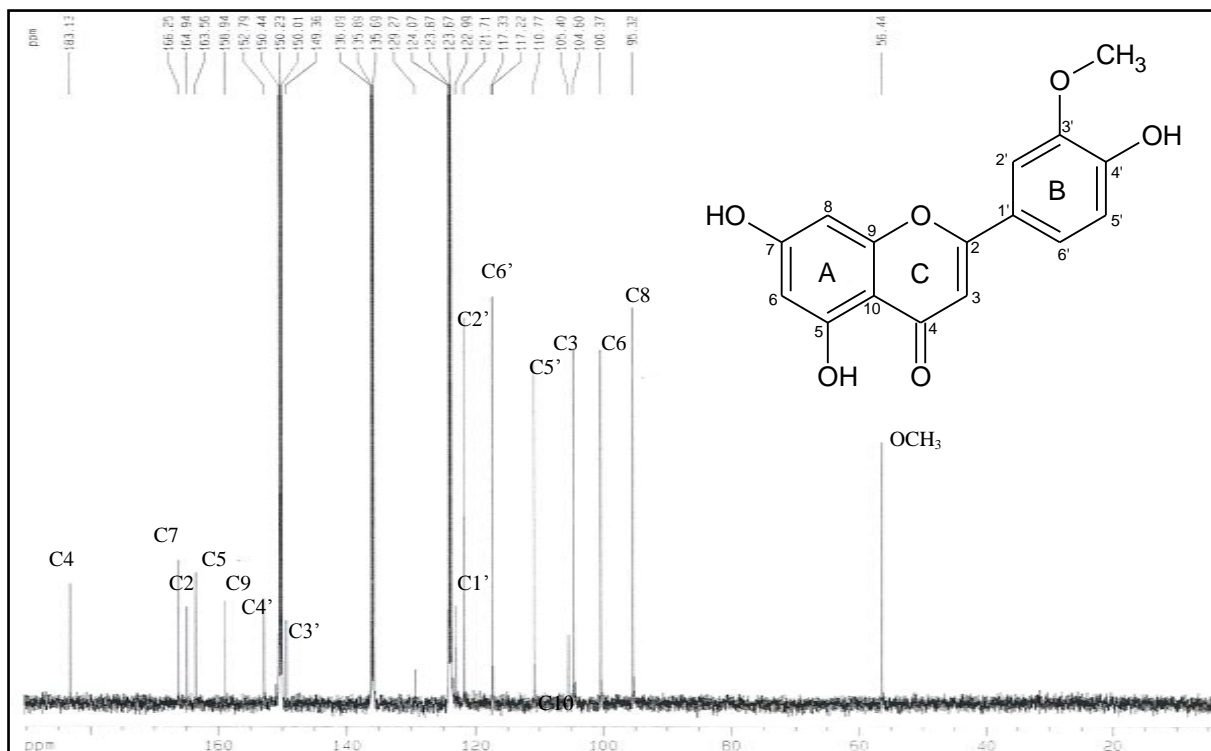


Figura 14 - Espectro de RMN ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) de SS1.

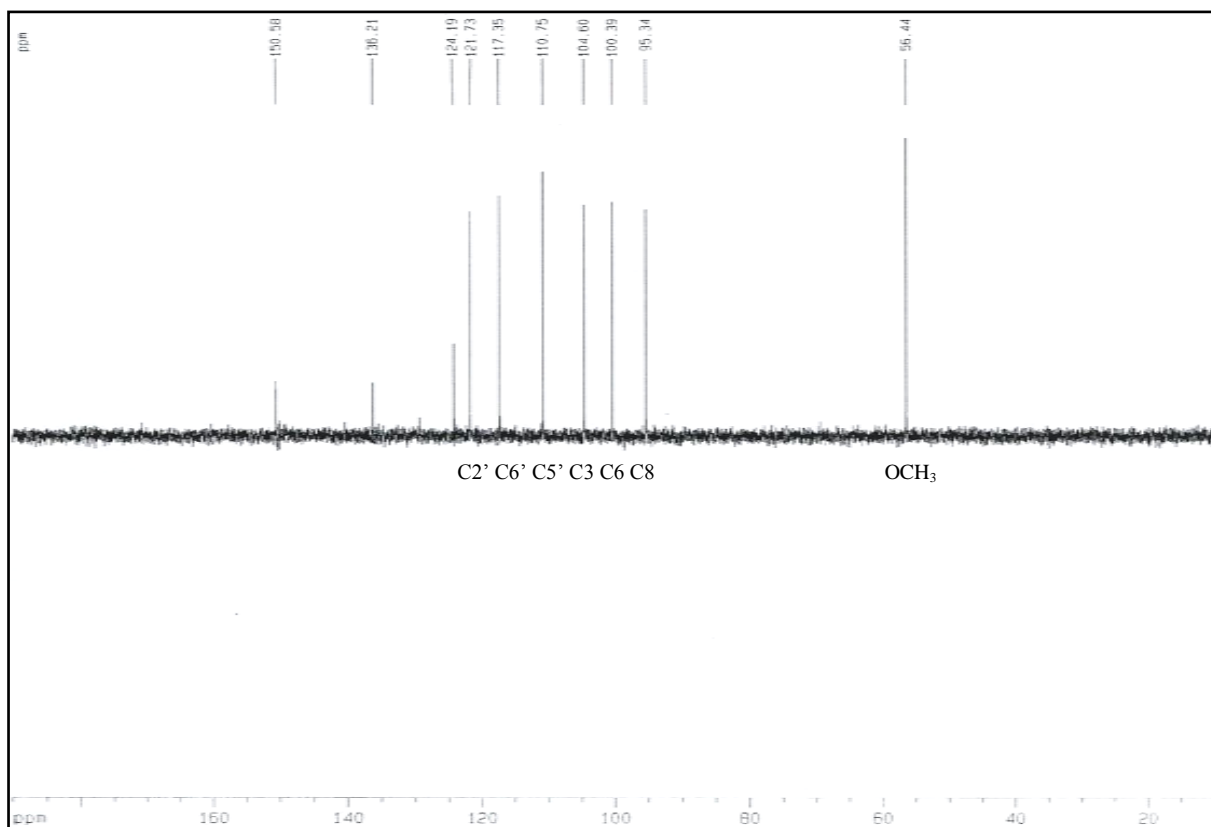


Figura 15 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) de SS1.

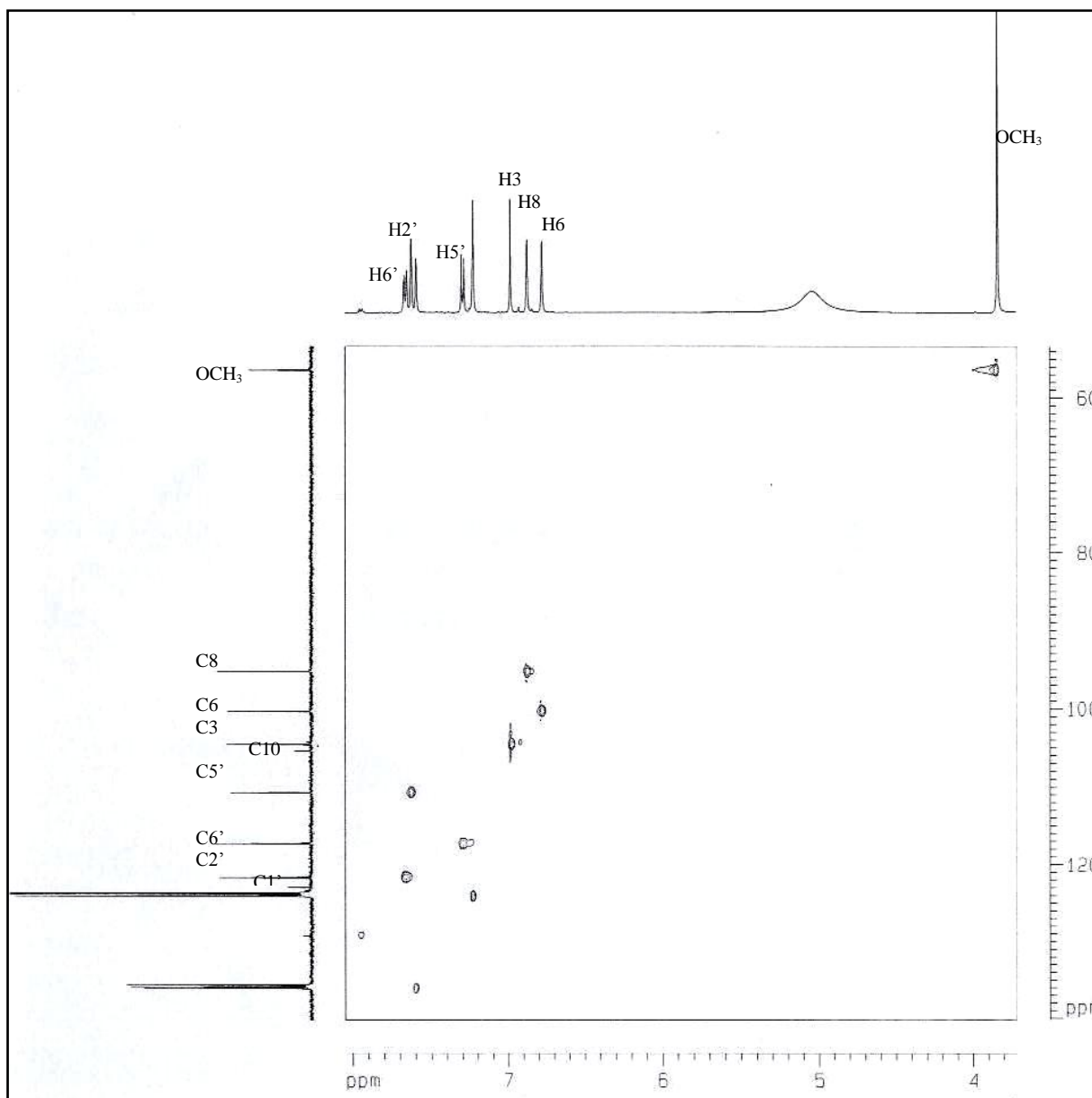
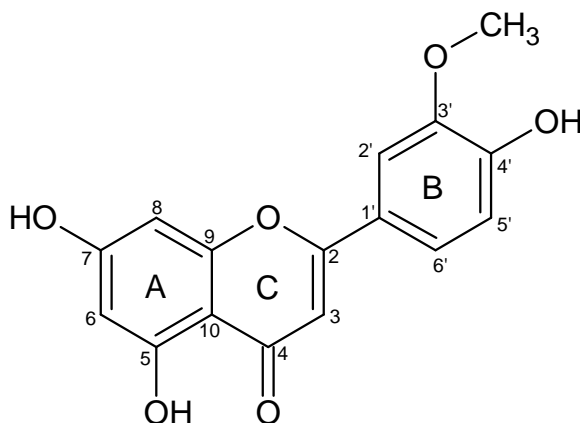


Figura 16 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS1 (HSQC).



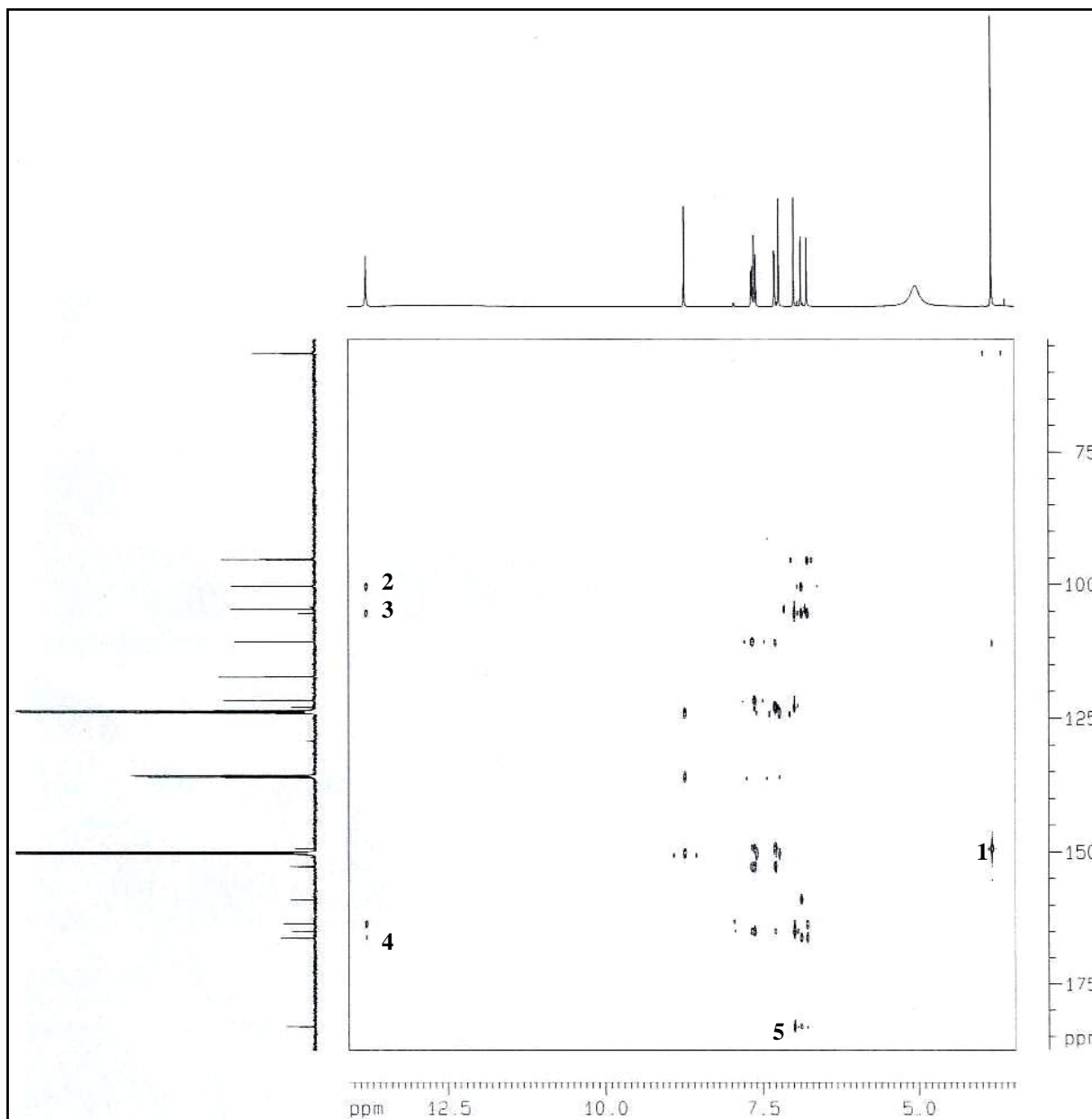
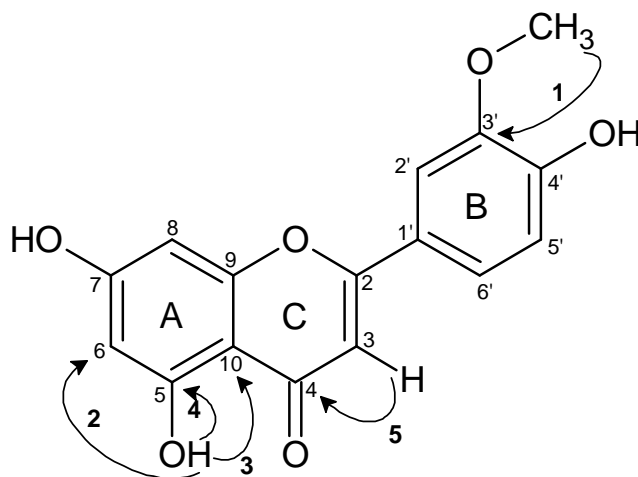


Figura 17 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, HMBC) de SS1.



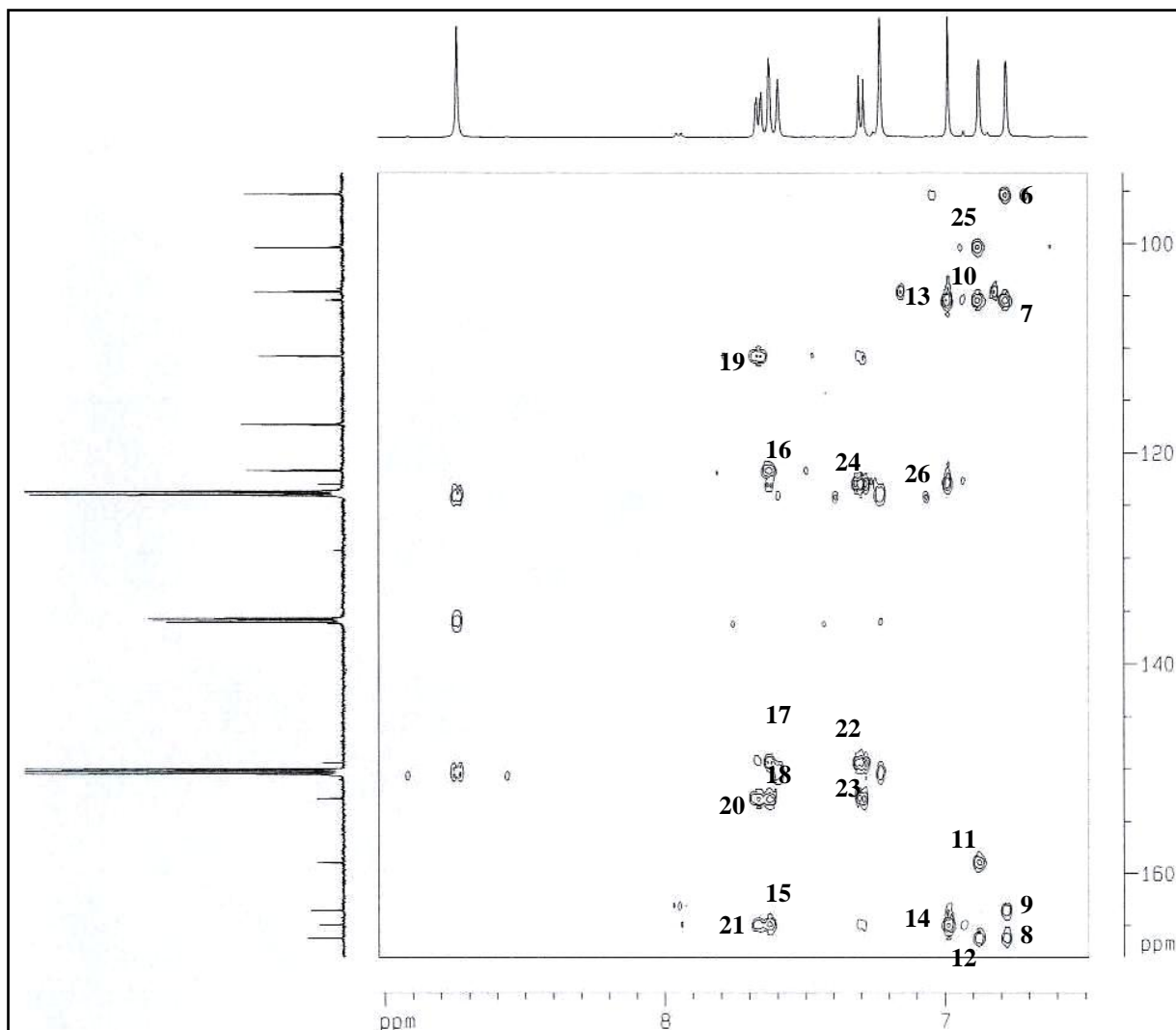
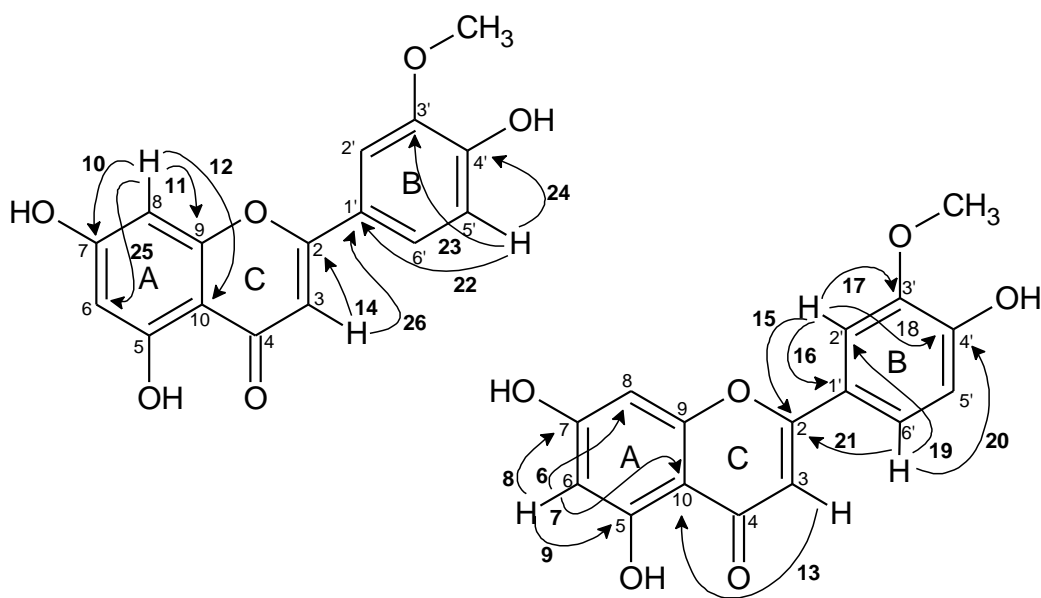


Figura 18 - Expansão do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (HMBC) de SS1.



4.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE SS2

O tratamento cromatográfico a partir da fração diclorometano, obtida da partição do extrato etanólico das folhas de *S. sessilis*, seguido de cromatografia em coluna do tipo “flash”, resultou no isolamento de um sólido amorfo de cor amarela com ponto de fusão acima de 300 °C, que vem a ser de uma mistura de duas substâncias e codificado de SS2.

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho (**Fig. 32, pág. 55**) mostrou uma banda larga em 3423 cm^{-1} , correspondente a deformação axial da ligação OH de hidroxila; além de bandas em 1653 cm^{-1} relativa à deformação axial de C=O de carbonila conjugada, e bandas esqueléticas de anel aromático em 1622, 1510 e 1435 cm^{-1} .

O espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) (**Fig. 22 e 23, pág. 48**) revelou a presença de dez sinais na faixa de δ 7,95 a 6,76, os quais foram associados a hidrogênios ligados a carbonos sp^2 . Dentre estes, os dubletos centrados em δ 7,94 (2H, d, $J = 7,6\text{ Hz}$, H-2'/6') e δ 7,23 (2H, d, $J = 7,6\text{ Hz}$, H-3'/5'), em adição aos sinais em δ 7,65 (1H, d, $J = 8,0\text{ Hz}$, H-6') e δ 7,28 (1H, d, $J = 8,0\text{ Hz}$, H-5'), foram associados à dois sistemas aromáticos dissustituídos contendo hidrogênios em posição *orto*, de acordo com valores das constantes de acoplamento observadas.

O espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz) de SS2 (**Fig. 24, pág. 49**) exibiu vinte e três linhas espectrais. As absorções em δ 183,0 e δ 56,3 puderam ser claramente atribuídas a uma carbonila conjugada e um grupo metoxila, respectivamente. Os demais sinais na faixa de δ 166,2 - 95,1 foram atribuídos a carbonos sp^2 , dos quais oito destes estariam oxigenados, de acordo com a teoria do deslocamento químico (SILVERSTEIN, 2007).

A análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -DEPT 135 (**Fig. 26, pág. 50**) revelou a existência de dez sinais de carbonos aromáticos, um de carbono metílico e treze sinais de carbono não hidrogenados, conforme mostrado na **Tabela 6, pág. 43**.

Tabela 6 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB/DEPT ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) de **SS2** por padrão de hidrogenação.

C	CH	CH ₃	Fórmula Parcial
183,0	129,2	56,3	
166,2	121,6		
164,8	117,2		
163,4	117,1		
162,9	110,6		
158,8	104,5		
158,8	104,2		
152,7	100,3		
149,2	95,2		
122,9	95,1		
122,6			
105,3			
C₁₂O (1 carbonila)	C₁₀H₁₀	CH₃O (1 metoxila)	C₂₃H₁₃O₂

Desta forma, os dados espectroscópicos de RMN observados para **SS2** corroboraram a existência de uma mistura de flavonóides.

O espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} - ^1\text{H}$ (COSY) (**Fig. 25, pág. 50**) permitiu associar que os sinais em δ 7,94 (H-2'/6') e δ 7,24 (H-3'/5') estariam relacionados a um dos compostos denominado de **SS2**, e os sinais em δ 7,65 (H-6') e δ 7,28 (H5') e δ 7,61 (H-2') seriam pertencentes ao segundo composto.

Por se tratar de uma mistura de flavonóides e a grande semelhança entre os espectros obtidos para esta mistura com a do composto **SS1** já isolado neste trabalho, por comparação dos dados já obtidos bem como na literatura, identificou-se este segundo composto com sendo a substância crisoeriol (**SS1**) tendo sua determinação descrita no item 4.1. A **Tabela 9, pág. 47** mostram os dados obtidos para as duas substâncias encontradas nesta mistura (**SS2** e **SS1**).

Os dados seguintes referem-se a determinação estrutural do primeiro composto então identificado como **SS2** nesta mistura.

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$, com detecção no canal de hidrogênio (HSQC) (**Fig. 27, pág. 51**), permitiu associar os sinais de

cada hidrogênio aos seus respectivos carbonos para cada substância da mistura (**Tabela 7, pág. 45**).

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$, a mais de uma ligação, com detecção no canal de hidrogênio (HMBC) (**Fig. 28, 29 e 30, pág. 52, 53 e 54**) revelou as correlações do sinal de hidrogênio em δ 6,91 (H-3) com os sinais de carbono em δ 164,8 (C-2); 183,0 (C-4); 122,6 (C-1') e 105,3 (C-10). A correlação do sinal de hidrogênio em δ 6,84 com o carbono em δ 100,3 (C-6), e do sinal de hidrogênio em δ 6,76 com o carbono em δ 95,1 (C-8), determinou as posições relativas 8 e 6, respectivamente, no anel A para estes hidrogênios (**Figura 19**).

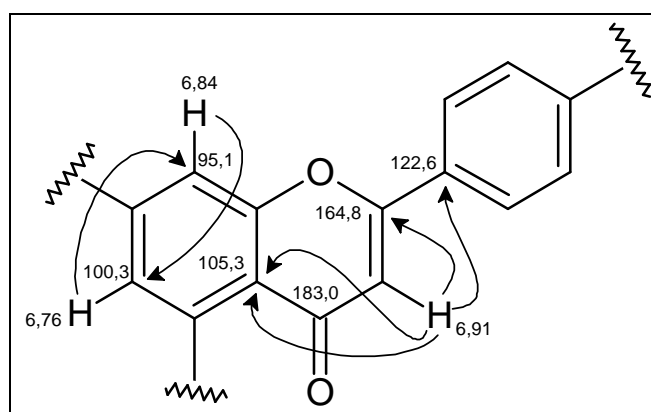


Figura 19 - Sub-estrutura I para **SS2**.

O padrão de hidrogenação do anel B de **SS2** foi determinado pelas correlações dos hidrogênios em δ 7,94 com os carbonos em δ 164,8 (C-2), 129,2 (C-2'/6') e 162,9 (C-4'), e também pelas correlações dos hidrogênios em δ 7,23 com os sinais de carbono em δ 122,6 (C-1'); 117,1 (C-3'/5') e 162,9 (C-4'). Estas correlações permitiram atribuir as posições 2' e 6' para os hidrogênios em δ 7,94, e 3' e 5' para os hidrogênios em δ 7,23, respectivamente. De acordo com estes dados, ficou estabelecida a posição da hidroxila no carbono 4' do anel B (**Figura 20**).

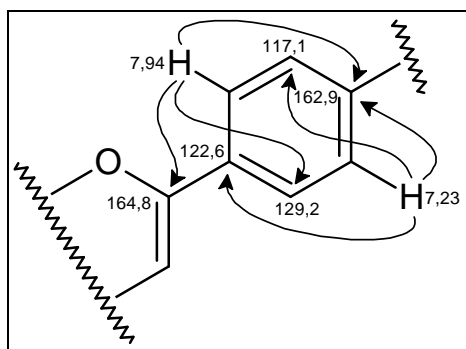


Figura 20 - Sub-estrutura II para **SS2**.

Tabela 7 - Correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (HSQC e HMBC) de **SS2**.

C	$^{13}\text{C-BB}$	HSQC	HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
2	164,8		(H-3)	
3	104,2	6,91 (1H, s)		
4	183,0		(H-3)	
5	163,4		(H-6)	
6	100,3	6,76 (2H, s)		6,84
7	166,2		(H-6), (H-8)	
8	95,2	6,84 (1H, s)		(H-6)
9	158,8		(H-8)	
10	105,3			(H-8), (H-3)
1'	122,6			(H-3), (H-3'/5')
2'/6'	129,2	7,94 (2H, d, J = 7,6 Hz)		
3'/5'	117,1	7,24 (2H, d, J = 5,1 Hz)		
4'	162,9		(H-3'/5')	(H-2'/6')

Desta forma, a análise dos dados espectroscópicos obtidos para **SS2** e a posterior comparação com os dados registrados na literatura para flavonas (**Tabela 8, pág. 46**) confirmaram que **SS2** tratava-se da flavona 4',5,7-trihidroxiflavona (Apigenina) (AGRAWALL, 1989) (**Figura 21**, abaixo), anteriormente isolada de *Alibertia myrciifolia* (Rubiaceae) (LUCIANO, 2004), porém de caráter inédito no gênero *Stachytarpheta*.

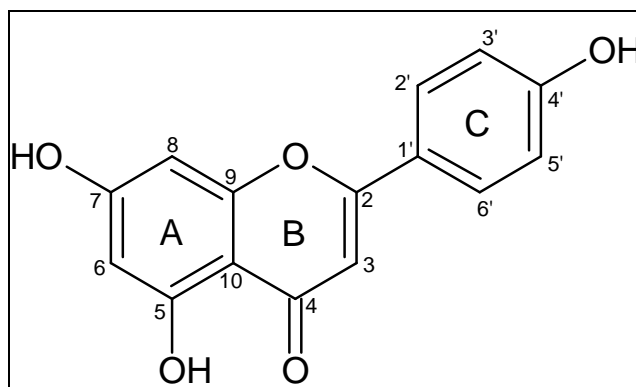
**Figura 21** - Estrutura da flavona apigenina (**SS2**).

Tabela 8 - Comparação de dados de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de **SS2** com os descritos na literatura para apigenina (25,2 MHz, DMSO-d) (AGRAWAL, 1989).

	SS2	APIGENINA
C	δ_{C}	δ_{C}
2	164,8	165,5
3	104,2	104,3
4	183,0	183,2
5	163,4	162,0
6	100,3	100,3
7	166,2	164,9
8	95,2	95,6
9	158,8	158,7
10	105,3	105,1
1'	122,6	122,7
2'/6'	129,2	129,8
3'/5'	117,1	117,3
4'	162,9	161,8

Tabela 9 - Comparação de dados de RMN ^{13}C e ^1H de **SS2** e **SS1**.

SS2			SS1		
	$^{13}\text{C-BB}$	HSQC		$^{13}\text{C-BB}$	HSQC
C	δ_{C}	δ_{H}	C	δ_{C}	δ_{H}
2	164,8		2	164,8	
3	104,2	6,91 (1H, s)	3	104,5	6,97 (1H, s)
4	183,0		4	183,0	
5	163,4		5	163,4	
6	100,3	6,76 (2H, s)	6	100,3	6,76 (2H, s)
7	166,2		7	166,2	
8	95,2	6,84 (1H, s)	8	95,1	6,87 (1H, s)
9	158,8		9	158,8	
10	105,3		10	105,3	
1'	122,6		1'	122,9	
2'/6'	129,2	7,94 (2H, d, J = 7,6 Hz)	2'	110,6	7,61 (1H, s)
3'/5'	117,1	7,24 (2H, d, J = 7,6 Hz)	3'	149,2	
4'	162,9		4'	152,7	
			5'	117,2	7,28 (1H, d, J = 7,95 Hz)
			6'	121,6	7,65 (1H, d, J = 8,05 Hz)
			OCH ₃	56,3	3,85 (3H, s)

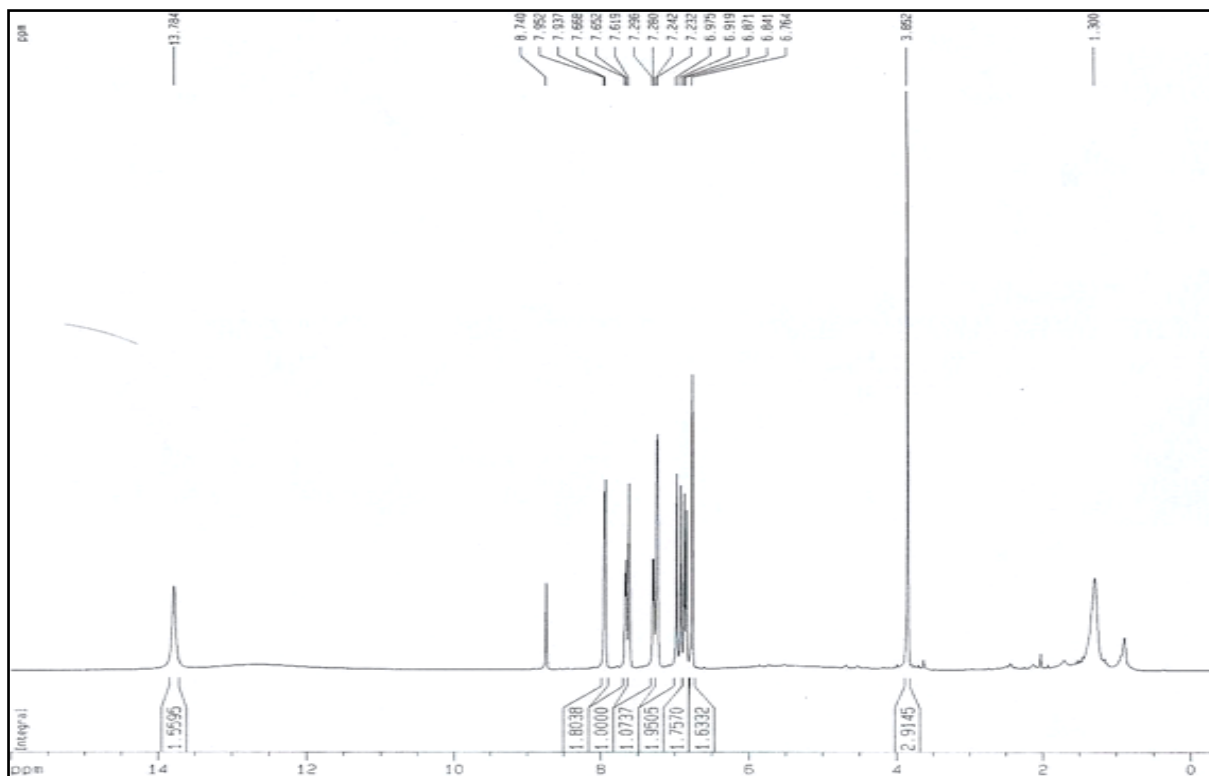


Figura 22 - Espectro de RMN ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) de SS2.

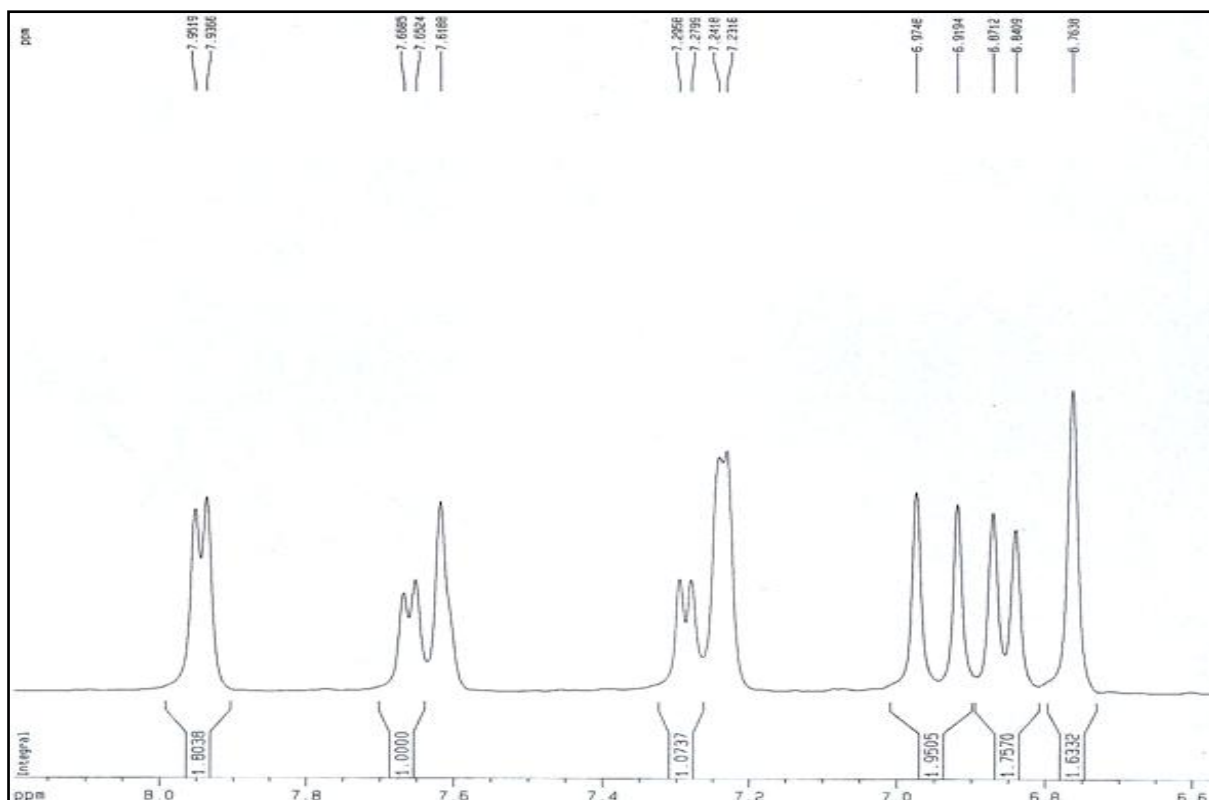


Figura 23 - Expansão do espectro de RMN ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) de SS2.

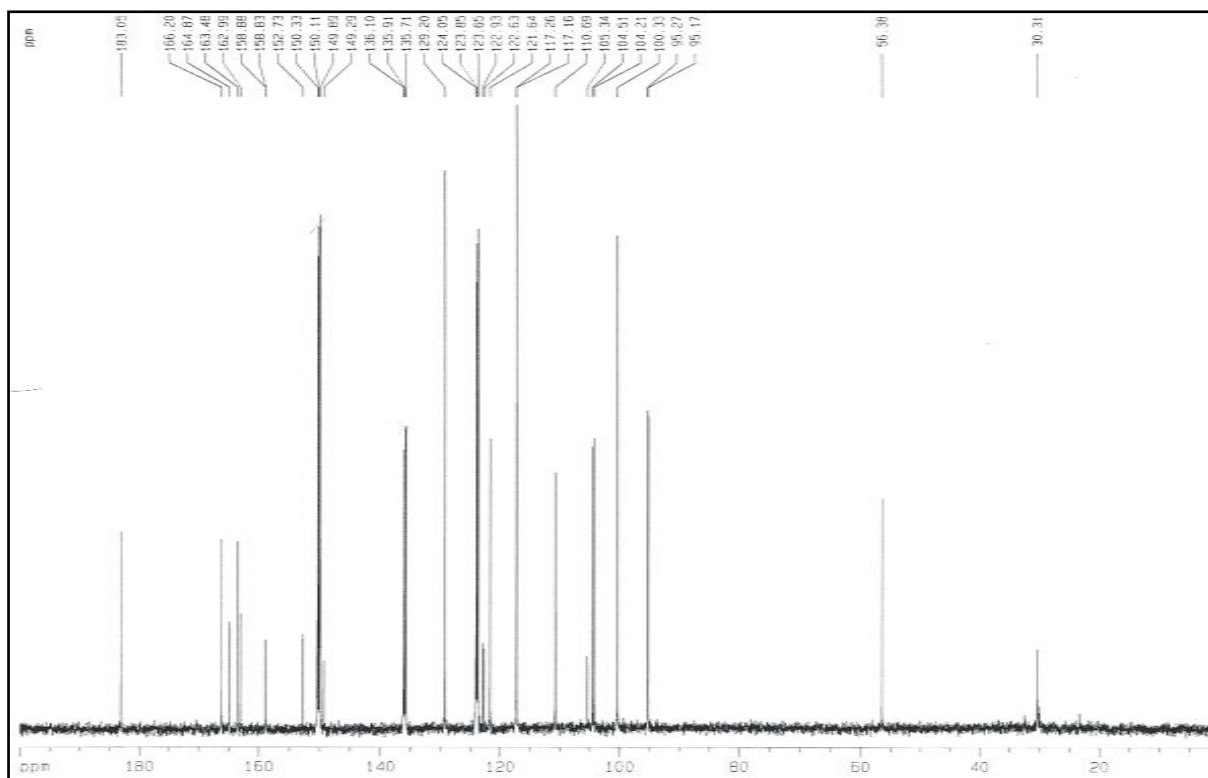


Figura 24 - Espectro de RMN ¹³C (C₅D₅N, 125 MHz) de SS2.

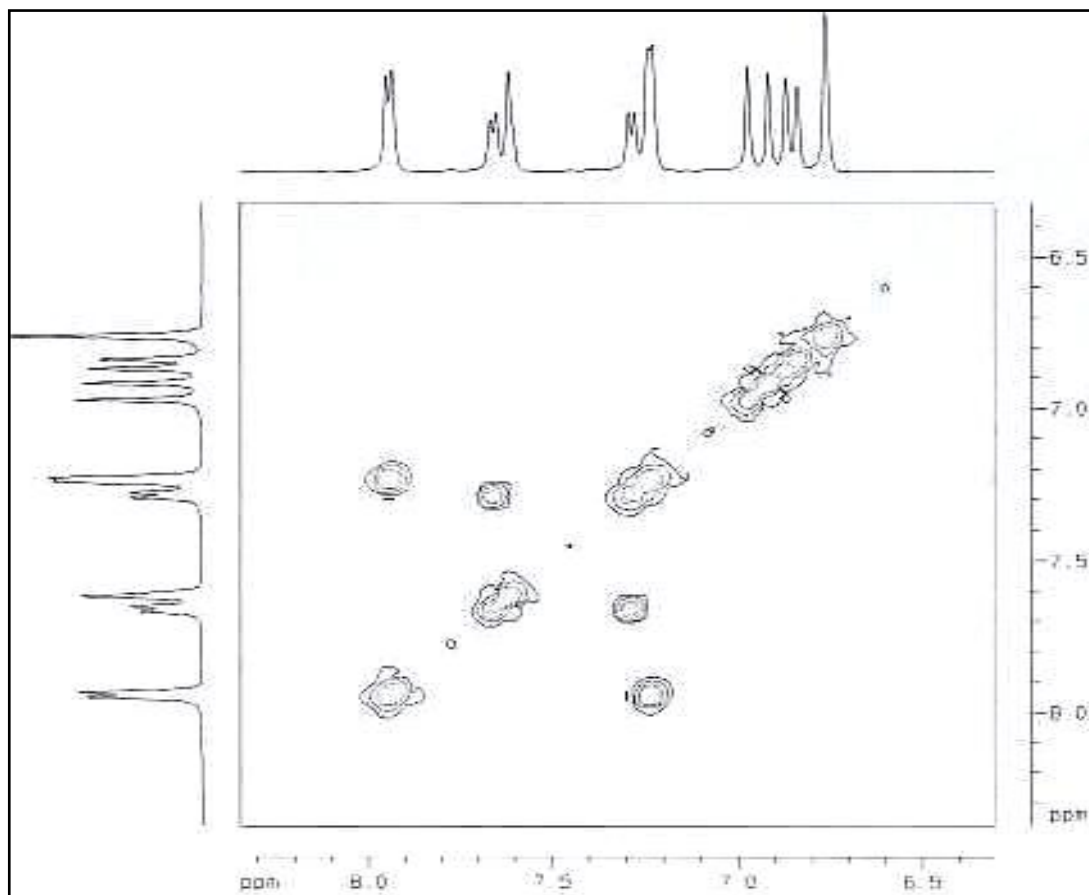


Figura 25 - Expansão do espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ¹H-¹H (C₅D₅N, COSY).

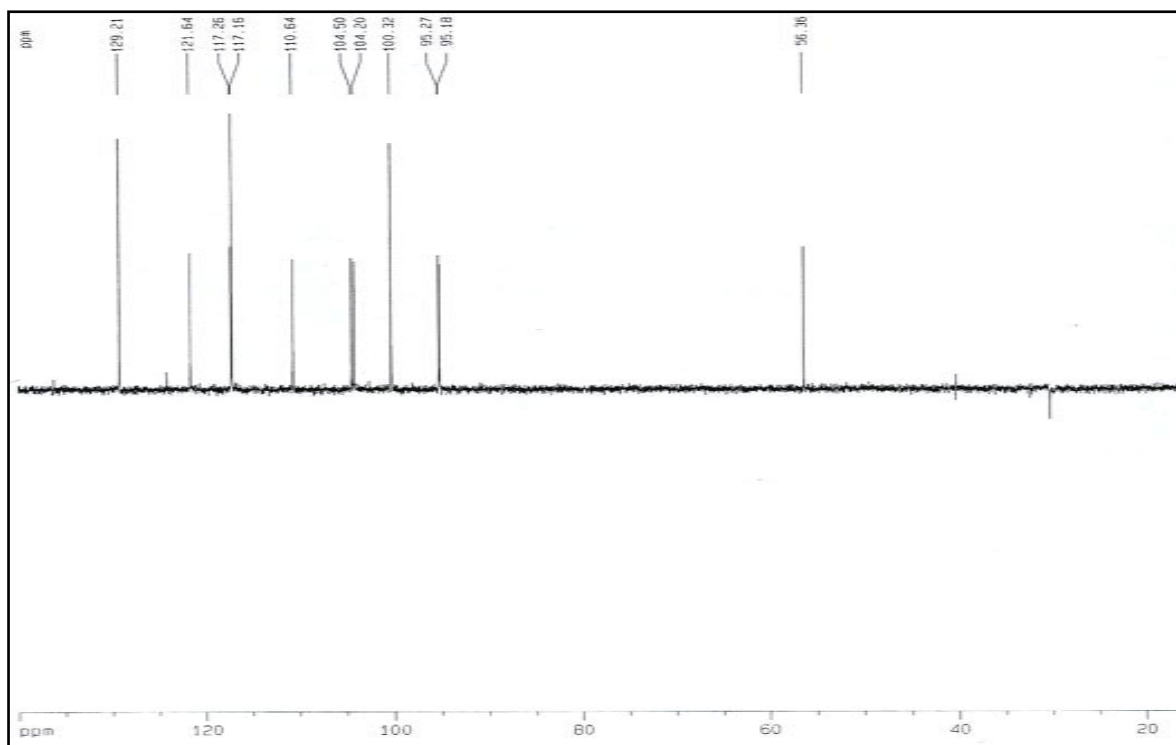


Figura 26 - Espectro de RMN ¹³C-DEPT 135 (C₅D₅N, 125 MHz) de SS2.

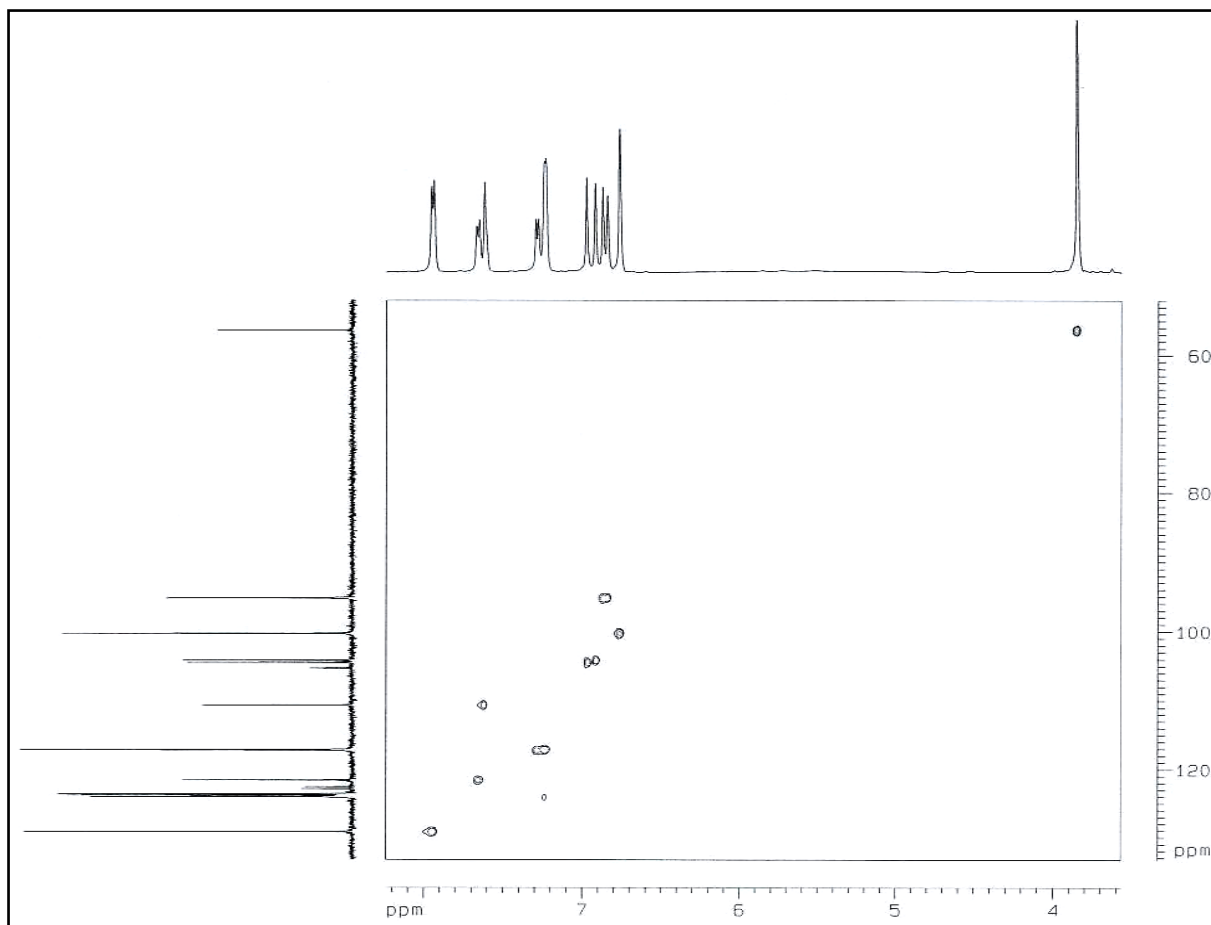


Figura 27 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, HSQC) de **SS2**.

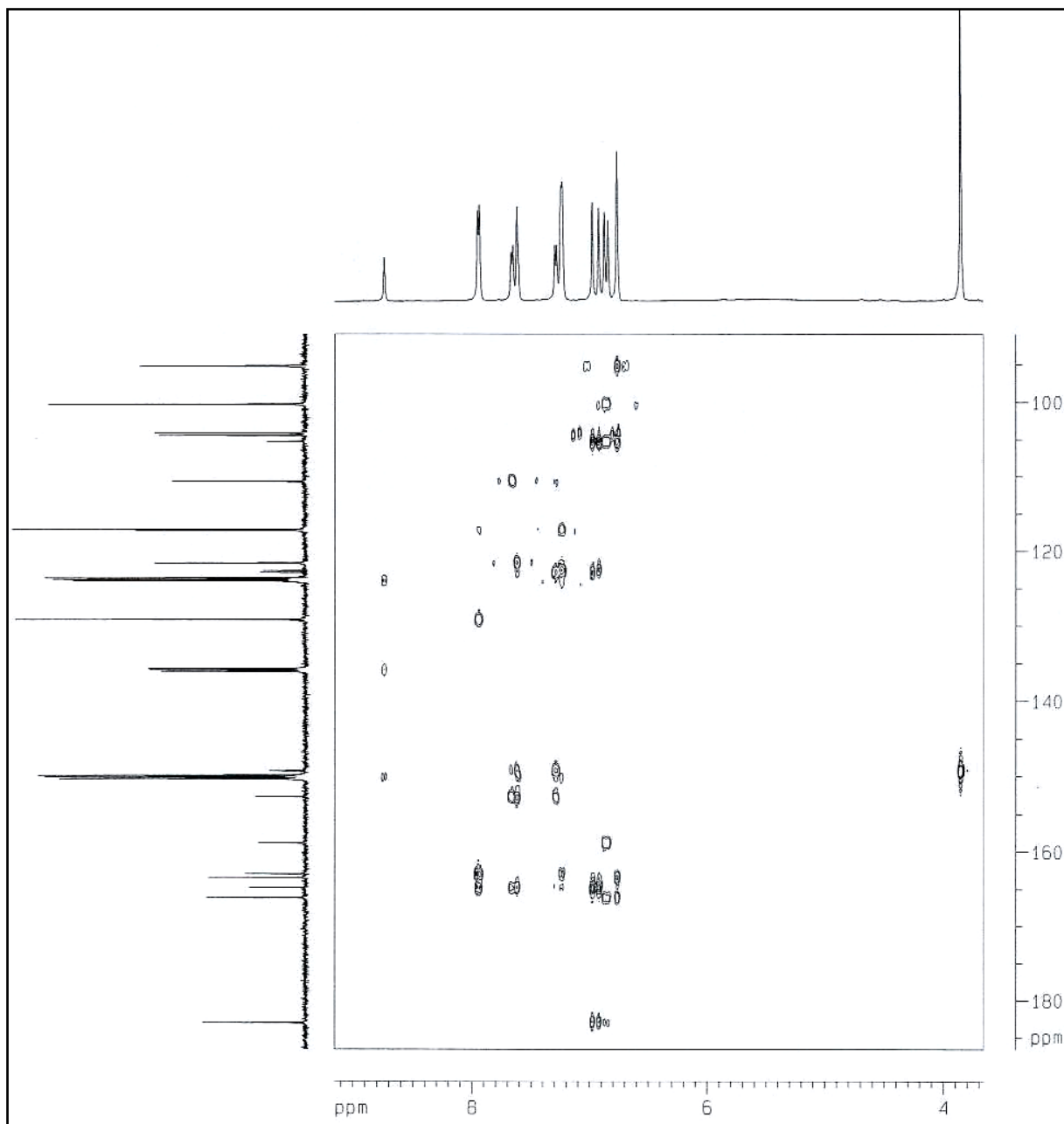


Figura 28 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, HMBC) de SS2.

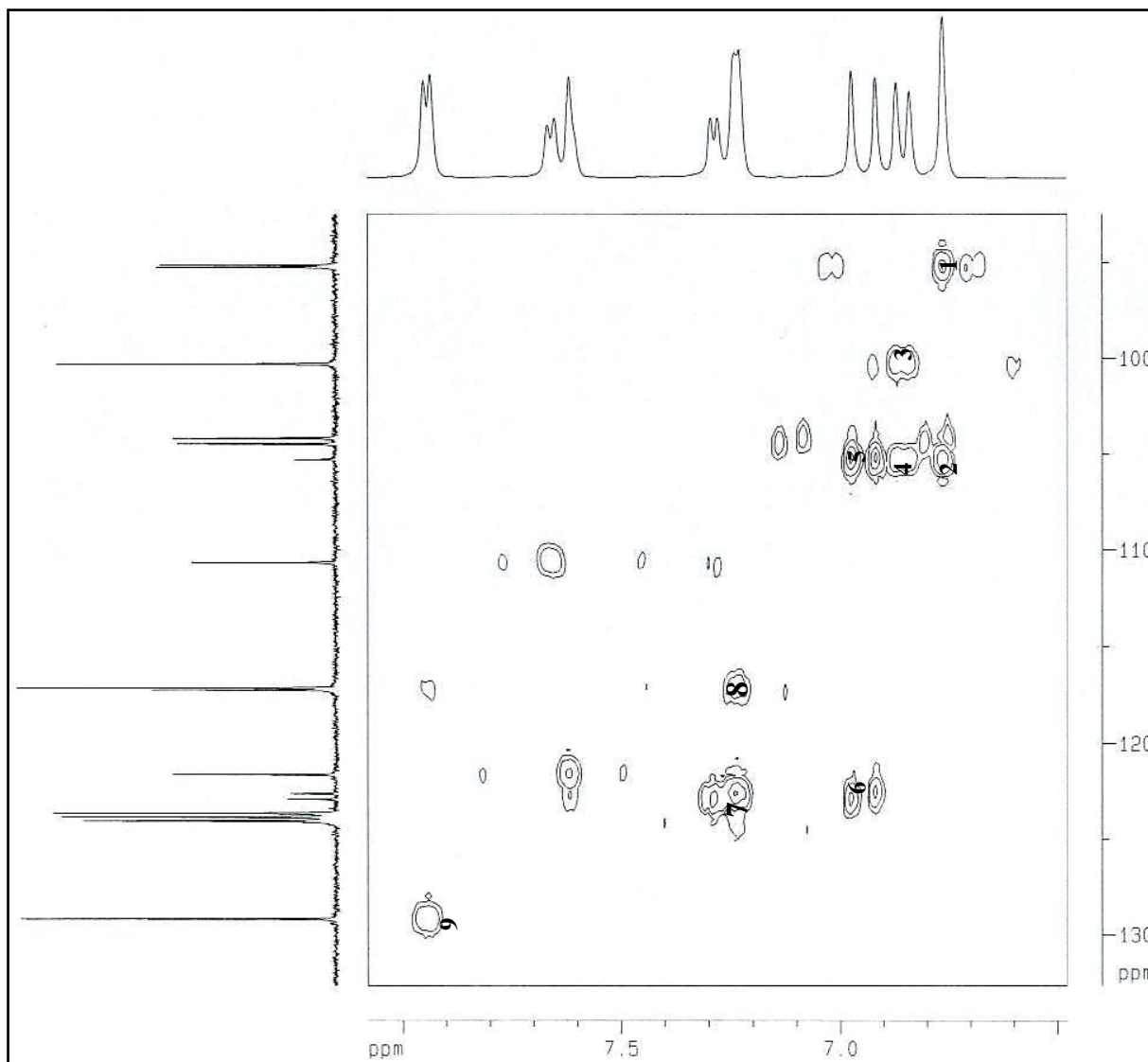
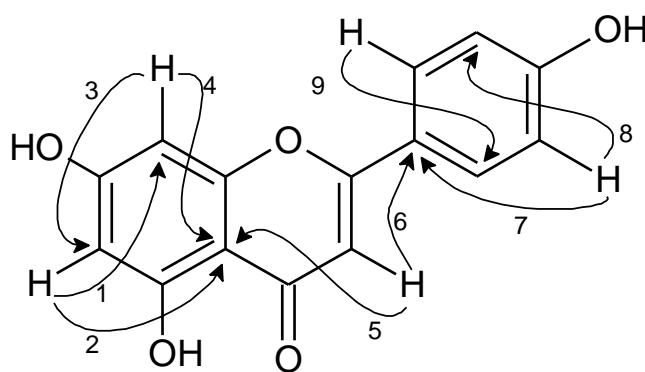


Figura 29 - Expansão I do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, HMBC) de **SS2**.



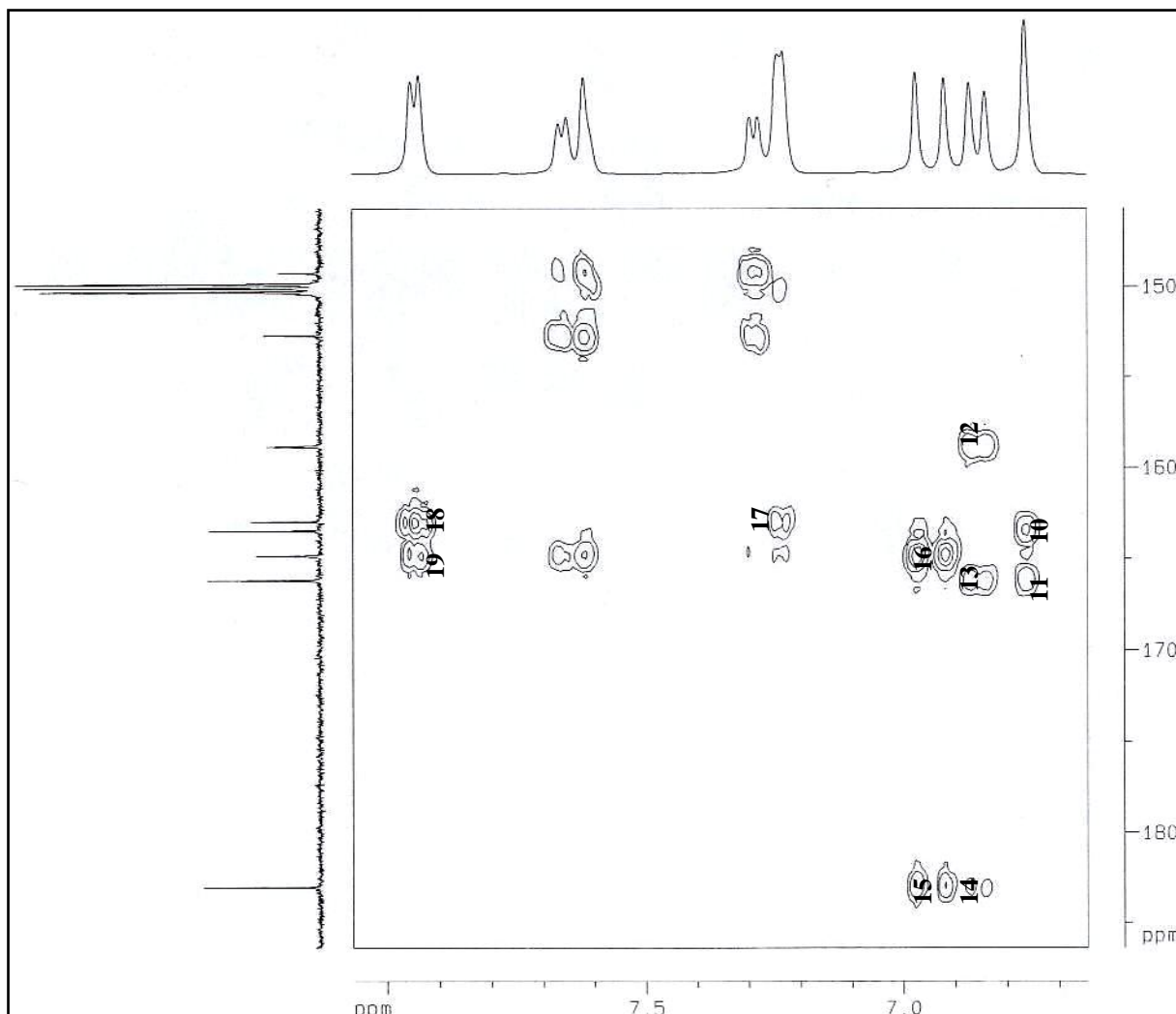
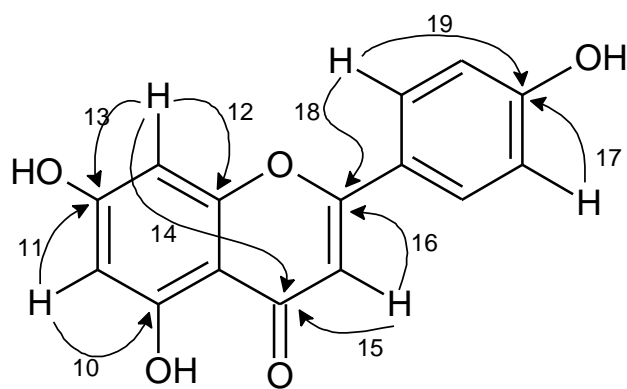


Figura 30 - Expansão II do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, HMBC) de SS2.



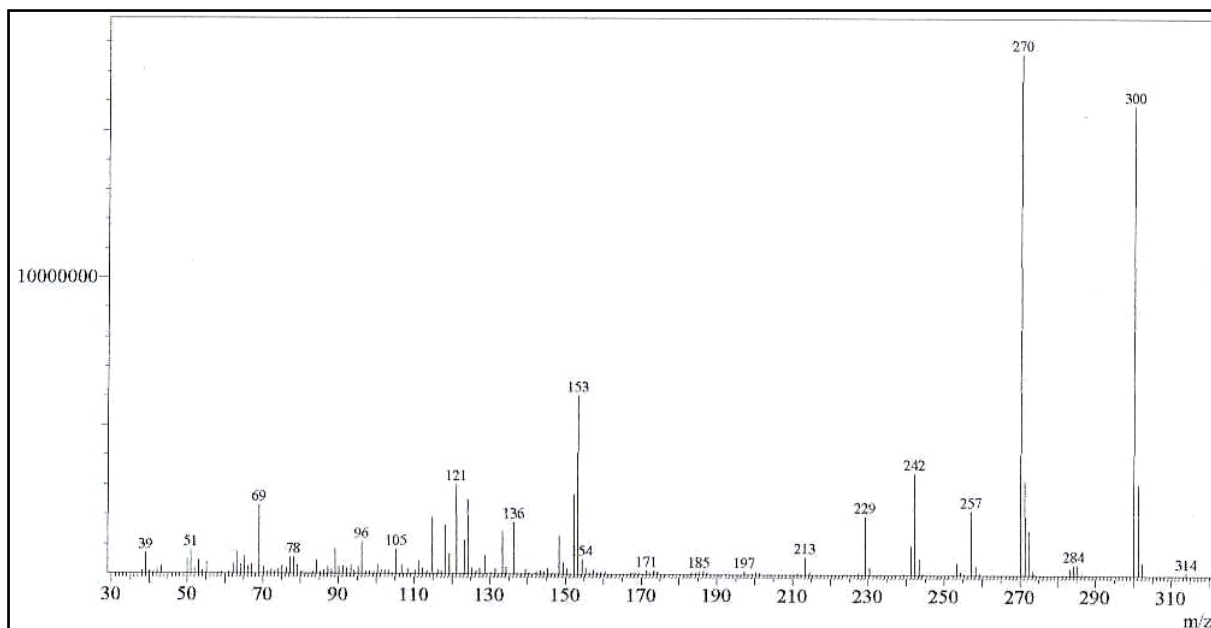


Figura 31 - Espectro de massa 70 eV de SS2.

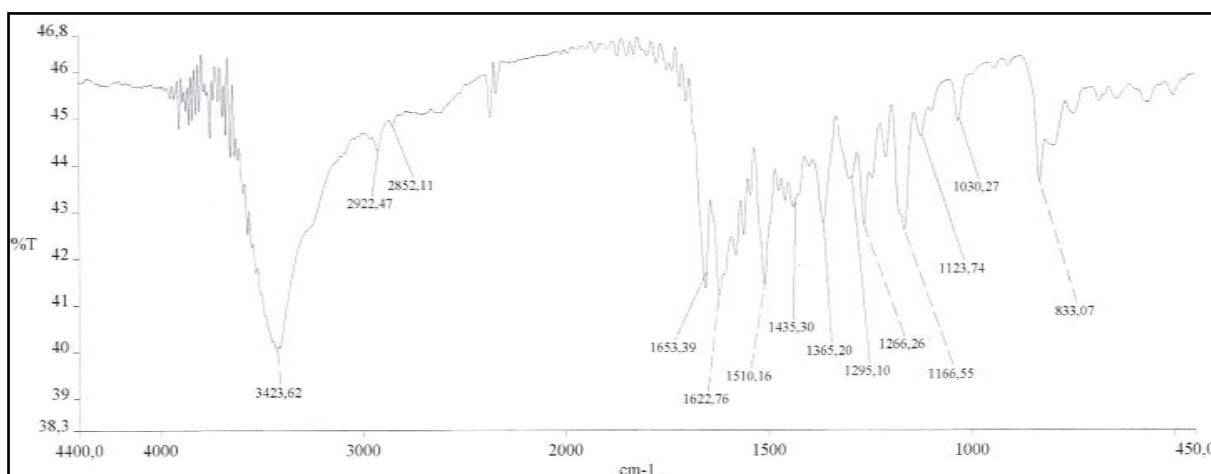


Figura 32 - Espectro de infravermelho (KBr) de SS2.

4.3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE SS3

O tratamento cromatográfico a partir da fração diclorometano, obtida da segunda partição do extrato etanólico dos talos de *S. sessilis*, seguido de cromatografia em coluna do tipo “flash” e coluna Sephadex LH-20, resultou no isolamento de **SS3**, um sólido amorfo branco com ponto de fusão de 216-218 °C.

O espectro de absorção na região do infravermelho de **SS3** (**Fig. 38, pág. 62**) mostrou uma banda larga em 3425 cm⁻¹, correspondente à deformação axial de O-H, caracterizando a presença de hidroxila. Foram ainda visualizadas absorções em 2922 cm⁻¹ e 2859 cm⁻¹ correlacionados às deformações axiais das ligações C-H, absorção em 1688 cm⁻¹ relativa à deformação axial da ligação C=O de carbonila, e uma absorção em 1458 cm⁻¹ relativa à deformação angular da ligação C-H.

O espectro de RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) (**Fig. 39 e 40, pág. 62 e 63**) revelou o caráter triterpênico de **SS3**, através da visualização de sete sinais atribuídos a hidrogênios de grupos metilas na faixa de δ 0,61 a 1,03. Foram observados ainda um singlete em δ 5,12 (s, H-12) atribuído a um hidrogênio de carbono olefínico, e um sinal em δ 3,00 atribuído a um hidrogênio ligado a carbono carbinólico (m, H-3).

O espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, DMSO-d₆) de **SS3** (**Fig. 41, pág. 63**), permitiu observar 30 linhas espectrais na faixa de δ 178,3 a 15,2. A absorção em δ 178,3 (C-28) pôde ser atribuída a um carbono carbonílico provavelmente de ácido carboxílico, confirmando a banda em 1688 cm⁻¹ vista no espectro de infravermelho. As absorções em δ 138,2 (C-13) e δ 124,5 (C-12) revelaram a presença de uma dupla ligação, enquanto que o sinal em δ 76,8 foi relacionado a um carbono saturado oxigenado. As demais absorções observadas foram relacionadas a carbonos saturados e não-funcionalizados.

Comparando-se os espectros de RMN ¹³C-BB e ¹³C-DEPT 135 (**Fig. 42, pág. 64**), pôde-se determinar que um dos carbonos olefínicos em δ 124,5 (C-12) e o carbono oxigenado em δ 76,8 (C-3) eram monohidrogenados. Dentre os demais sinais, cinco foram atribuídos a carbonos metínicos [δ 54,7 (C-5), 52,3 (C-18) 47,0 (C-9), 38,49 (C-19) e 38,43 (C-20)]; nove metilênicos [δ 38,2 (C-22), 36,3 (C-1), 32,6 (C-7), 30,1 (C-21), 27,5 (C-15), 26,9 (C-2), 23,8

(C-16), 22,8 (C-11) e 17,9 (C-6)]; e sete metílicos [δ 28,2 (C-23), 23,2 (C-27), 21,0 (C-30), 17,0 (C-29), 16,9 (C-125), 16,0 (C-24) e 15,2 (C-26)], como observado na **Tabela 10**.

Tabela 10 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB/DEPT (125 MHz, DMSO-d) de **SS3** por padrão de hidrogenação.

C	CH	CH ₂	CH ₃	TOTAL
178,3	124,5	38,2	28,2	
138,2	76,8	36,3	23,2	
46,8	54,7	32,6	21,0	
41,6	52,3	30,1	17,0	
39,0	47,0	27,5	16,9	
38,3	38,49	26,9	16,0	
36,5	38,43	23,8	15,2	
		22,8		
		17,9		
C₇	C₇H₇	C₉H₁₈	C₇H₂₁	C₃₀H₄₆O₃
1xO (carboxila) 2xO (hidroxila)				

A reunião dos dados espectroscópicos de **SS3** permitiu sugerir a fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_3$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. Estes dados foram relacionados a uma estrutura triterpênica pentacíclica em um esqueleto do tipo ursano, contendo uma dupla ligação e uma carbonila de ácido carboxílico.

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C , com detecção no canal de hidrogênio (HSQC) (**Fig. 43 e 44, pág. 64 e 65**) permitiu associar inequivocamente os sinais de hidrogênios a seus respectivos carbonos (**Tabela 11, pág 60**).

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C , com detecção no canal de hidrogênio (HMBC) (**Fig. 45, 46, 47 e 48, pág. 66, 67, 68 e 69**), mostrou os acoplamentos a mais de uma ligação entre hidrogênios e carbonos ($^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$). As posições relativas da função ácido carboxílico em C-28 e da dupla ligação nos carbonos C-12 e C-13, foram estabelecidas através da observação das correlações do sinal em δ 2,10 (H-18) com os carbonos em δ 178,3 (C-28), 138,2 (C-13), e 124,5 (C-12); do sinal em δ 1,03 (H-27) com os carbonos em δ 138,2 (C-13) e 41,6 (C-14); e do hidrogênio em δ 1,5 (H-16) com o carbono em δ 178,3 (C-28), como mostrado na **Figura 33, pág 58**.

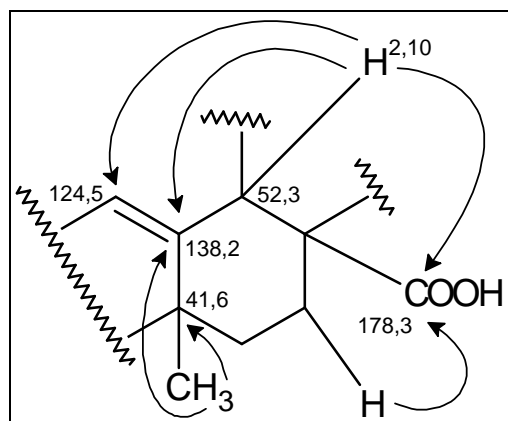


Figura 33 - Sub-estrutura I para SS3.

A posição da dupla ligação em δ 124,5 (C-12) e 138,2 (C-13) foi definitivamente estabelecida através das correlações do hidrogênio em δ 5,12 (H-12) com os sinais dos carbonos em δ 52,3 (C-18); δ 47,0 (C-9); δ 41,6 (C-14) e δ 22,8 (C-11), como mostrado na **Figura 34**.

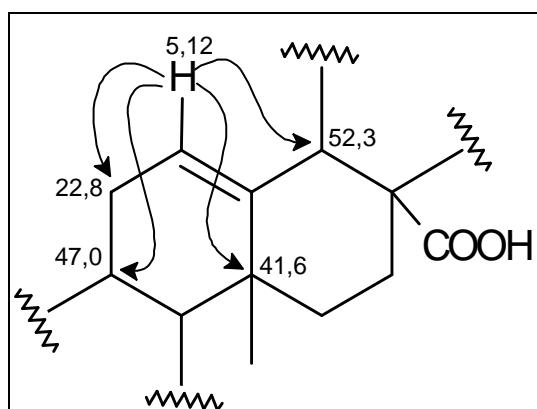


Figura 34 - Sub-estrutura II para SS3.

Por outro lado, a posição do grupo hidroxila em C-3 foi determinada através das correlações de ambos os grupos metilas em δ 0,89 (C-23) e δ 0,67 (C-24) com o carbono em δ 76,8 (C-3), (**Figura 35**).

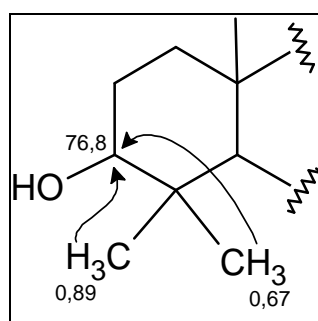


Figura 35 - Sub-estrutura III para SS3.

O espectro de massa de **SS3** (**Fig. 49**, pág. 70) obtido por inserção direta apresentou o sinal do íon molecular em 456 m/z, confirmando a fórmula molecular $C_{30}H_{46}O_3$. Neste espectro foi também observado o íon do pico base em 248 m/z, cuja fragmentação é característica de um triterpeno ursano contendo grupo carboxila em C-28 ao sofrer uma reação do tipo retro Diels-Alder, como mostrado na **Figura 36** abaixo.

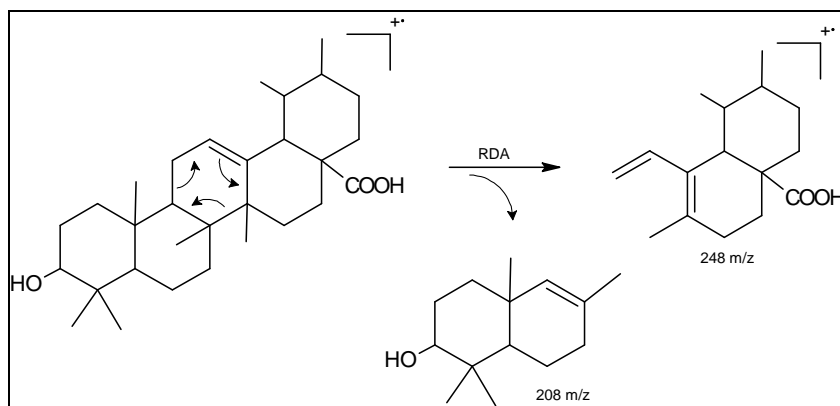


Figura 36 - Fragmentação via retro Diels-Alder em **SS3**.

A reunião de todos os dados espectroscópicos obtidos para **SS3** através da detalhada análise de seus espectros, bem como a comparação destes com dados registrados na literatura (**Tabela 12**, pág 61) para triterpenos de esqueleto ursano, permitiram determinar que **SS3** se tratava do ácido 3 β -hidroxi, urs-12-en-28-óico (ácido ursólico) (**Figura 37**, abaixo), anteriormente isolado de *Putoria calabrica* (Rubiaceae) (TUNDIS, 2002), *Brillantaisia palisatii* (Acanthaceae) (BERRONDO, 2003), e no gênero *Stachytarpheta* em *S. indica* (Verbenaceae) (SUBRAMANIAN, 1974) e de muitas outras espécies.

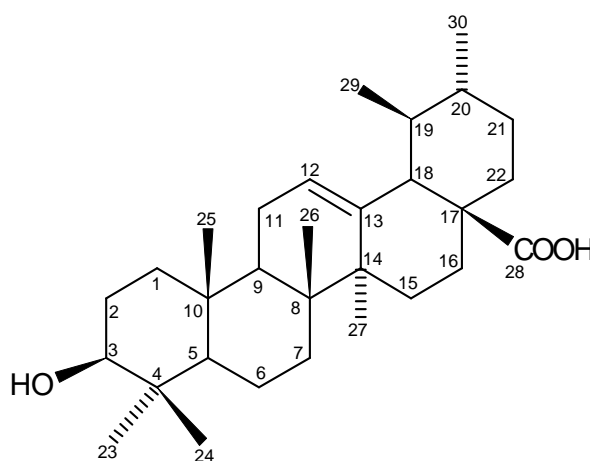


Figura 37 - Estrutura do triterpeno ácido ursólico (**SS3**).

Tabela 11 - Correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (HSQC e HMBC) de **SS3**.

C	δ_{C}	HSQC	HMBC	
			$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1	36,3	1,56 (2H, m)		
2	26,9	1,45 (2H, m)		
3	76,8	3,00 (1H, dd, $J = 9,1; 4,1$ Hz)		0,67 e 0,89
4	38,3			0,67 e 0,89
5	54,7	0,65 (1H, m)		
6	17,9	1,44 (2H, m)		
7	32,6	1,41 (2H, m)		0,80
8	39,0			1,03
9	47,0	1,47 (1H, m)		5,12; 0,86 e 0,74
10	36,5			
11	22,8	1,85 (2H, m)	5,12	
12	124,5	5,12 (1H, s)		2,10
13	138,2		2,10	1,03
14	41,6		1,03	2,10 e 5,12
15	27,5	0,98 (2H, d)		
16	23,8	1,5 (2H, m)		
17	46,8		2,10	
18	52,3	2,10 (1H, d, $J = 2,9$ Hz)		0,86; 5,12 e 0,80
19	38,4	1,33 (1H, m)	2,10	
20	38,4	0,91 (1H, m)		0,80
21	30,1	1,41 (2H, m)		
22	38,2	1,56 (2H, m)		
23	28,2	0,89 (3H, s)		0,67
24	16,0	0,67 (3H, s)		0,89
25	16,9	0,74 (3H, s)		
26	15,2	0,86 (3H, s)		
27	23,2	1,03 (3H, s)		
28	178,3			2,10 e 1,5
29	17,0	0,80 (3H, d, $J = 6,4$ Hz)		2,10
30	21,0	0,91 (3H, d, $J = 9,1$ Hz)		

Tabela 12 - Comparação dos dados de RMN ^{13}C de **SS3** (125 MHz, DMSO-d) com o descrito na literatura para o ácido ursólico (75 MHz, DMSO-d) (TUNDIS, 2002).

	SS3	Ácido ursólico
C	δ_{C}	δ_{C}
1	36,3	37,4
2	26,9	28,0
3	76,8	77,9
4	38,3	39,4
5	54,7	55,8
6	17,9	19,0
7	32,6	33,7
8	39,0	40,1
9	47,0	48,1
10	36,5	37,6
11	22,8	23,9
12	124,5	125,6
13	138,2	139,2
14	41,6	42,7
15	27,5	28,6
16	23,8	24,8
17	46,8	47,9
18	52,3	53,4
19	38,4	39,5
20	38,4	39,5
21	30,1	31,2
22	38,2	39,3
23	28,2	29,3
24	16,0	16,2
25	16,9	17,9
26	17,0	18,2
27	23,2	24,3
28	178,3	179,3
29	15,2	17,1
30	21,0	22,1

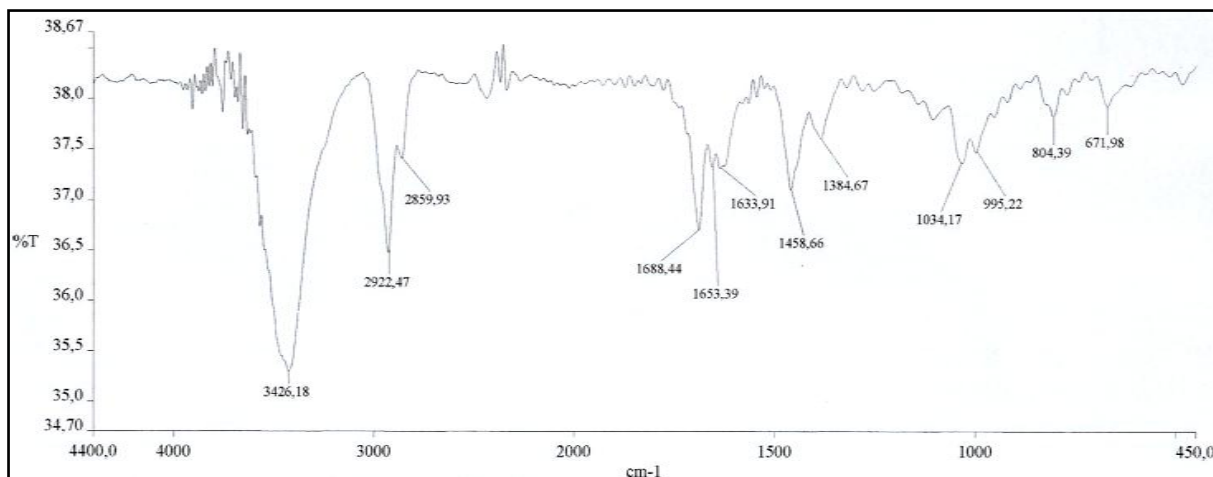


Figura 38 - Espectro de infravermelho (KBr) de **SS3**.

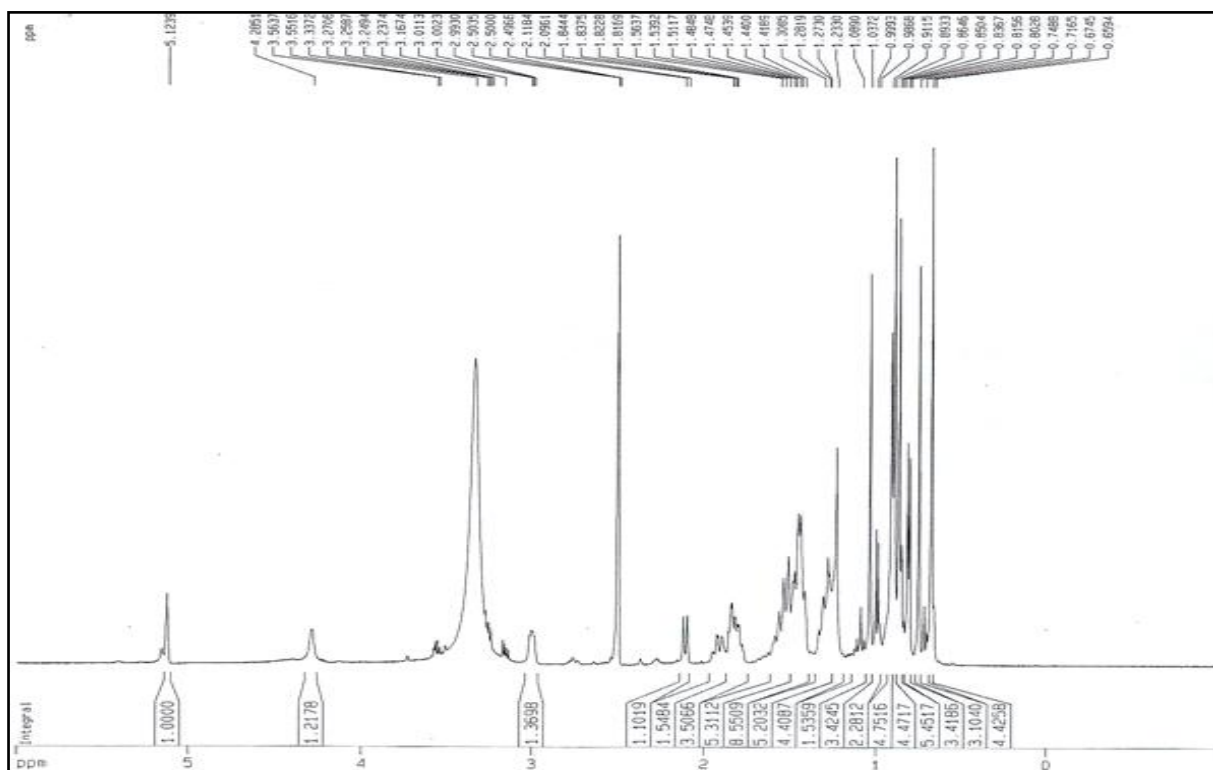


Figura 39 - Espectro de RMN ^1H (DMSO-d, 500 MHz) de **SS3**.

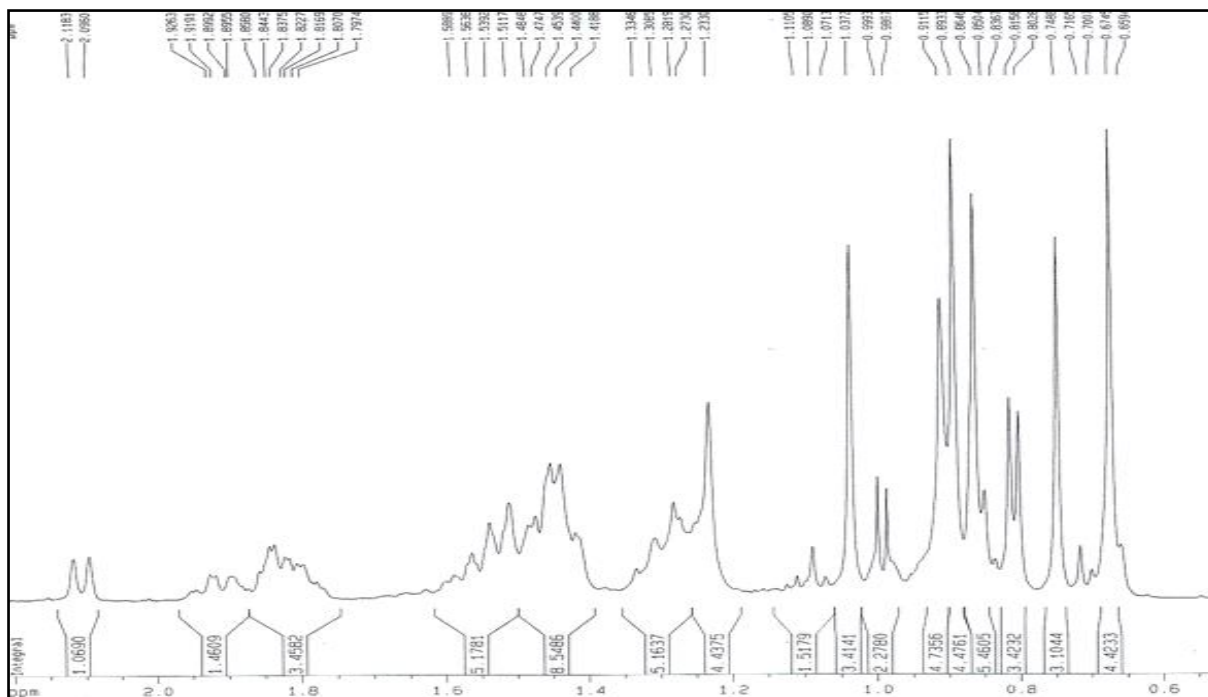


Figura 40 - Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO-d, 500 MHz) de SS3.

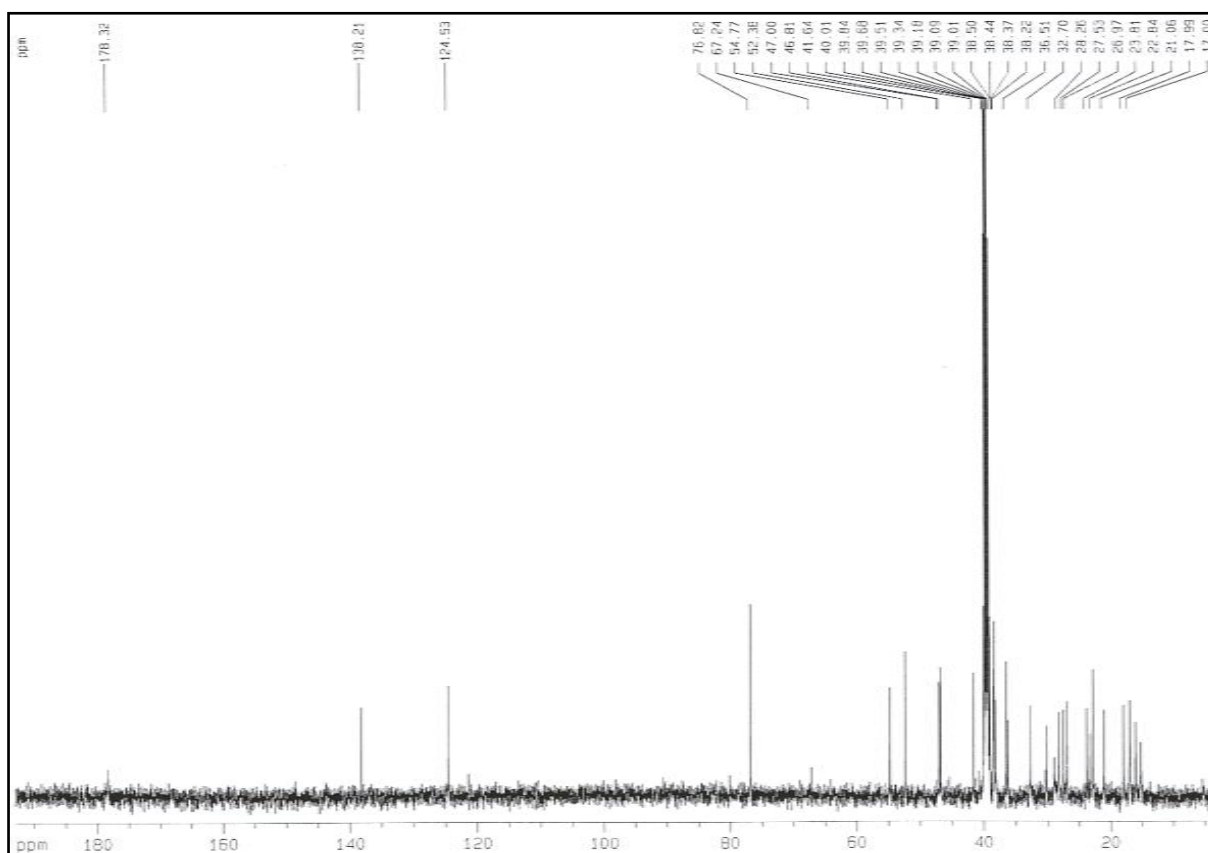


Figura 41 - Espectro de RMN ^{13}C (DMSO-d, 125 MHz) de SS3.

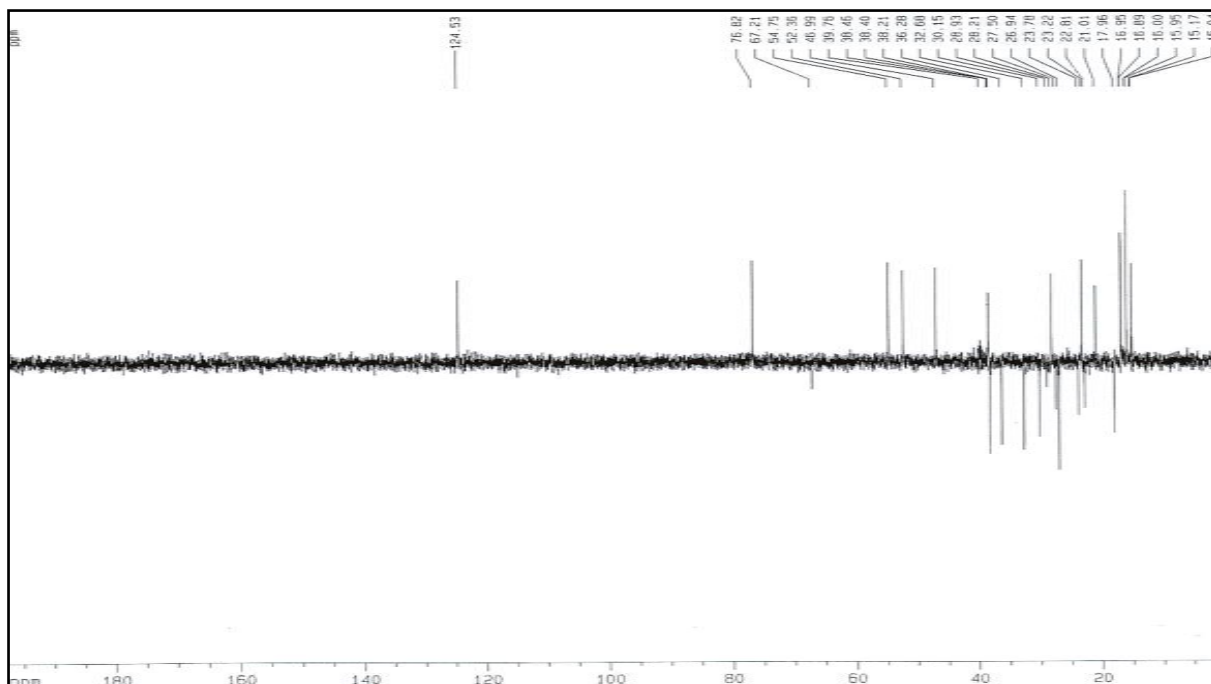


Figura 42 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 (DMSO-d, 125 MHz) de **SS3**.

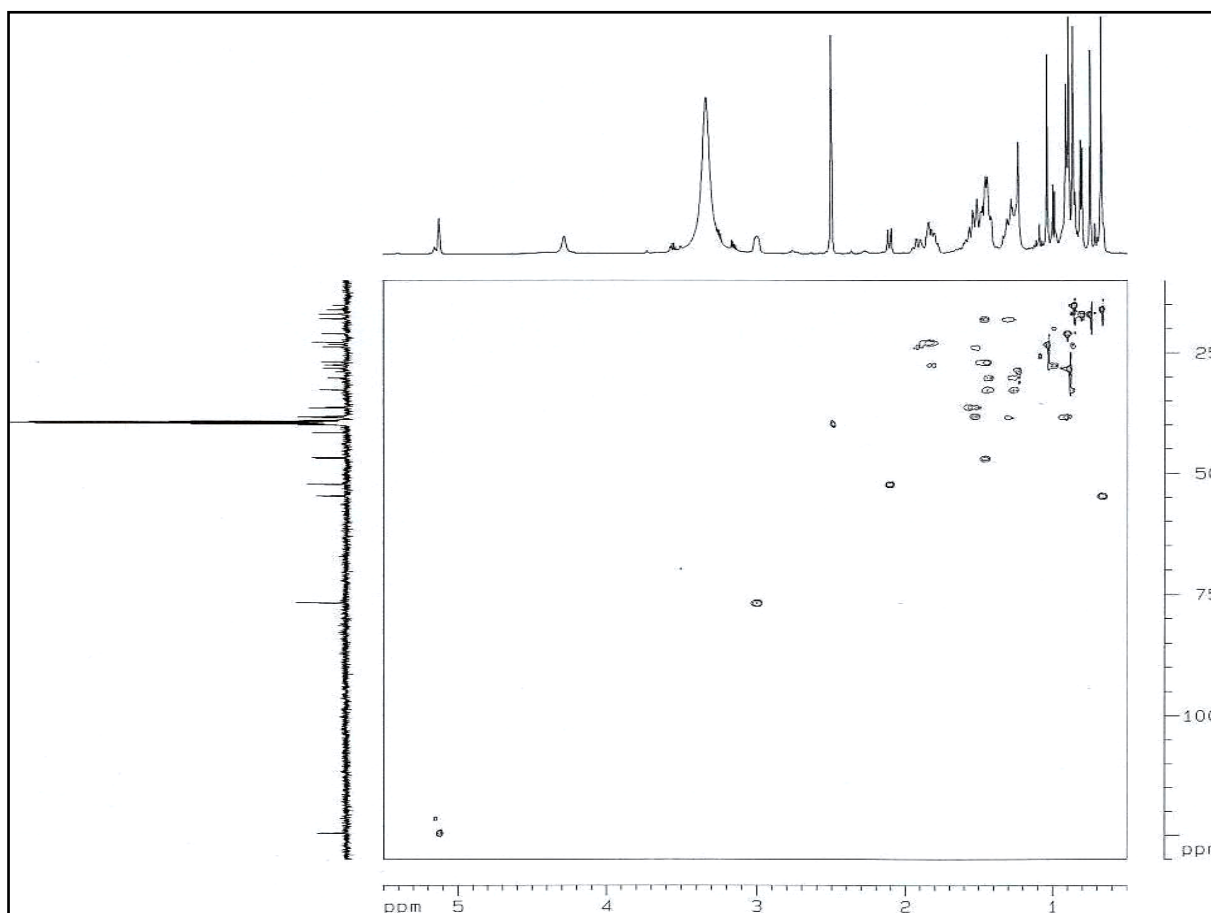


Figura 43 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (DMSO-d, HSQC) de **SS3**.

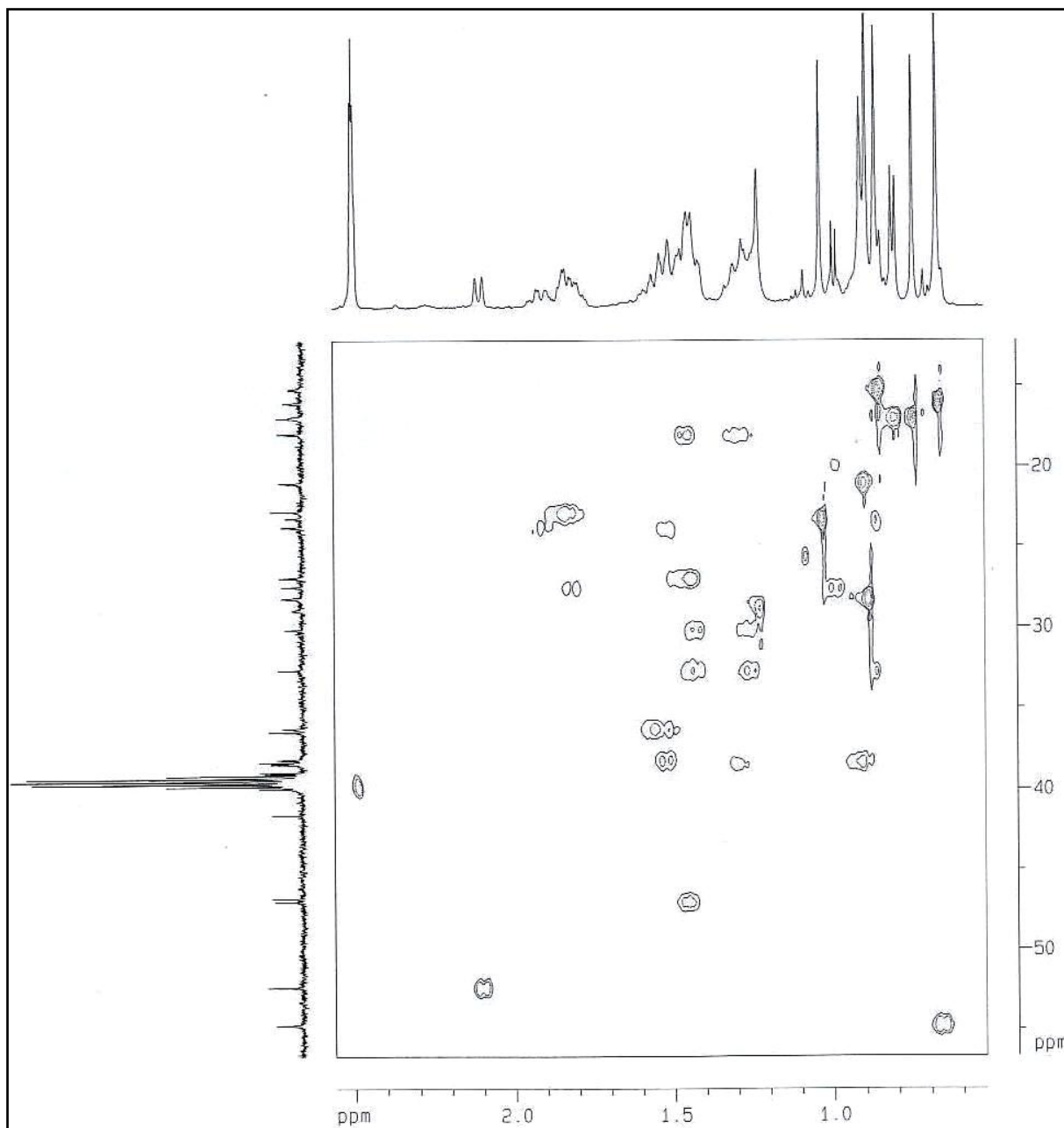


Figura 44 - Expansão do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (DMSO- d_6 , HSQC) de SS3.

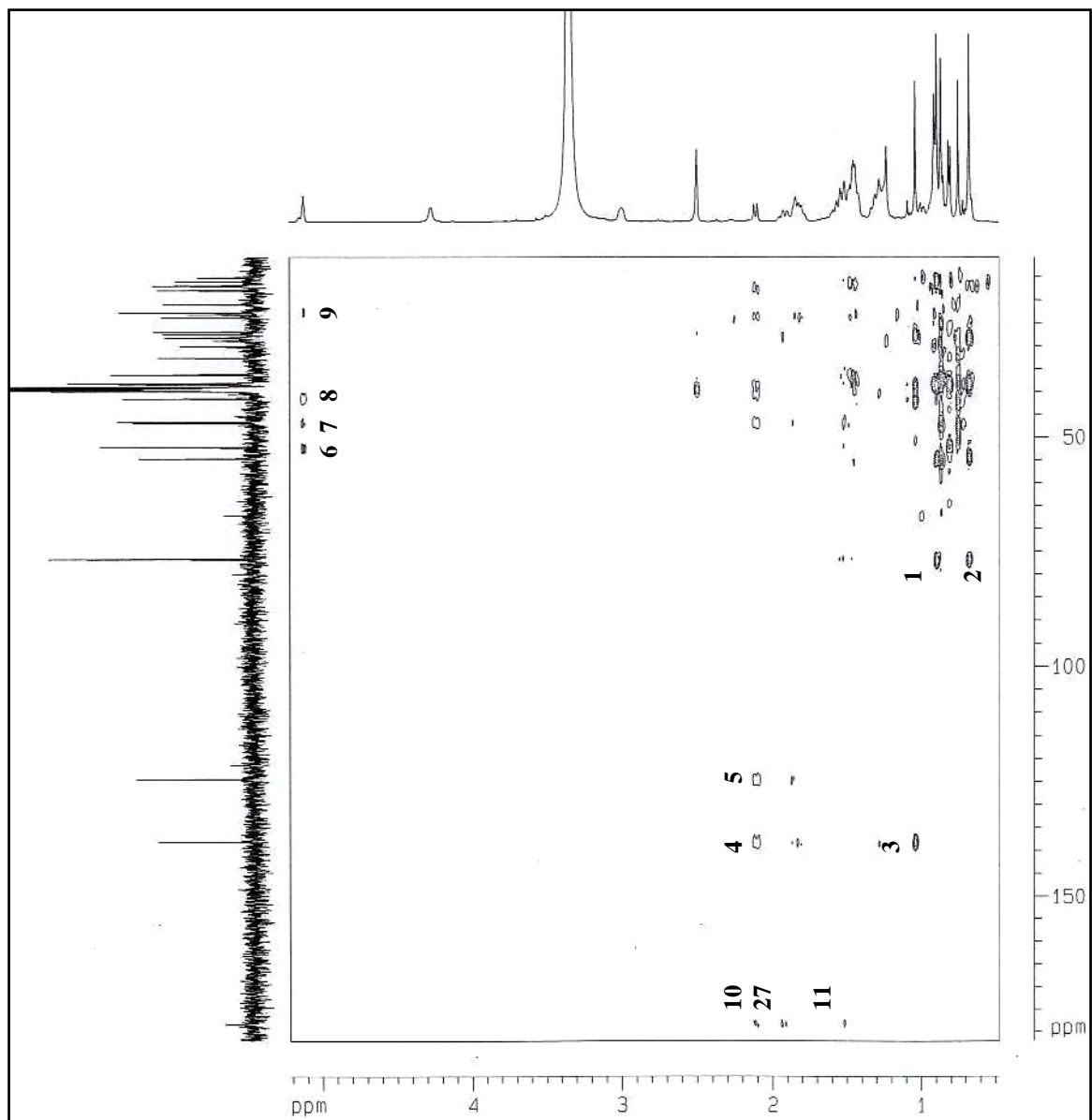
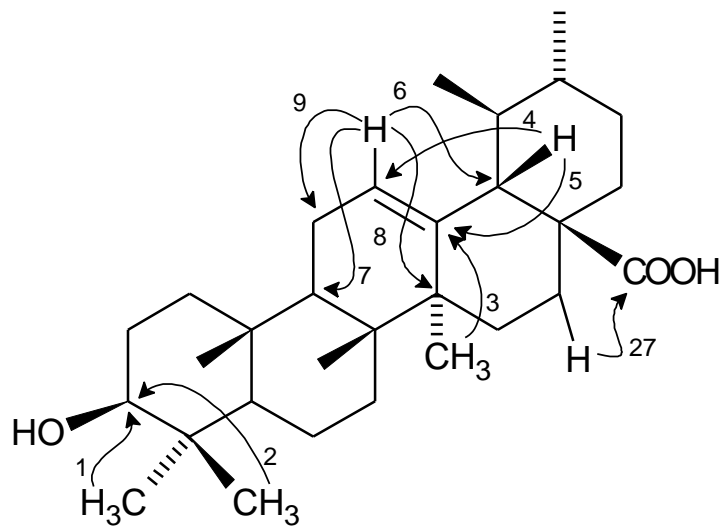


Figura 45 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (DMSO-d, HMBC) de SS3.



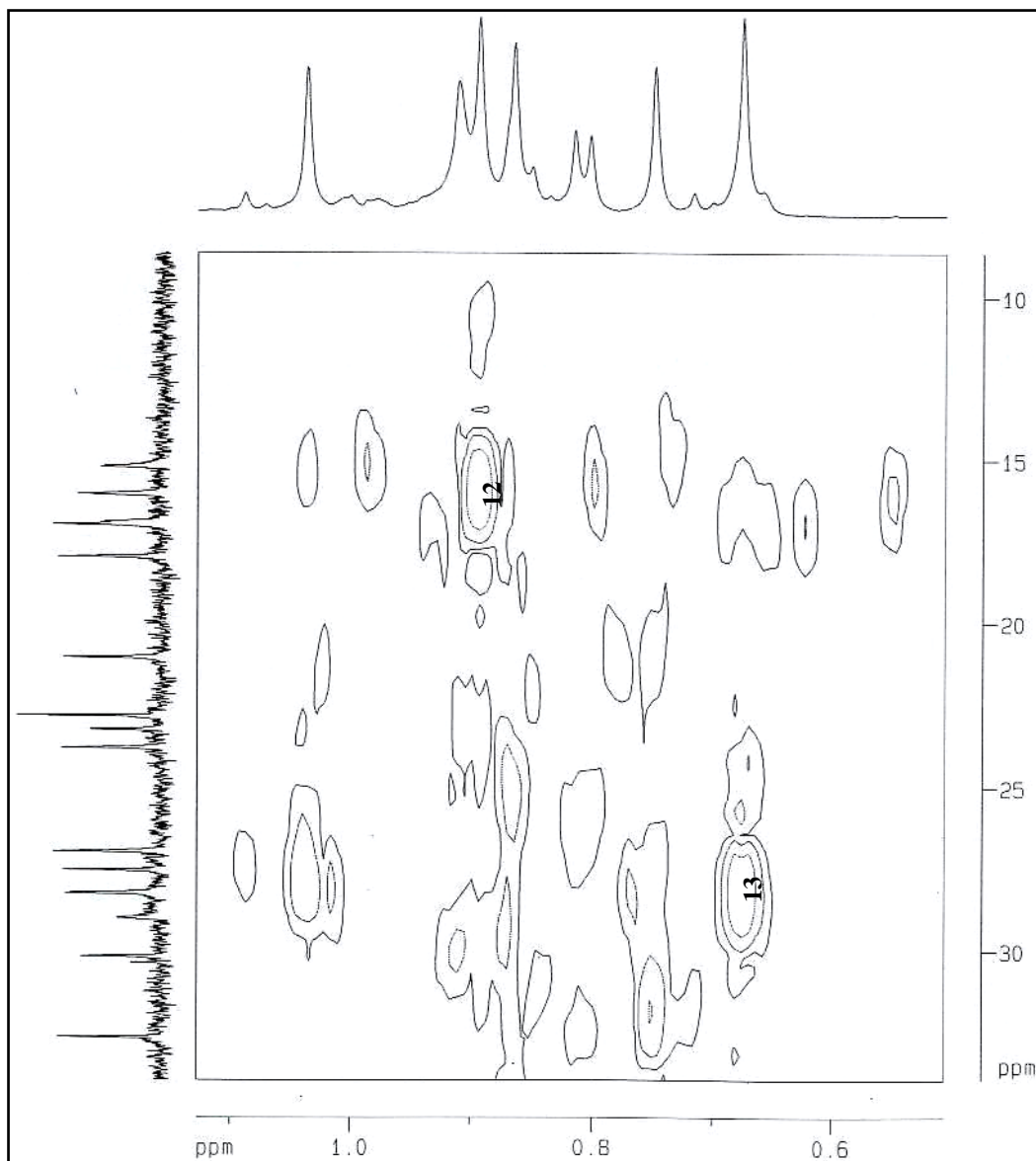
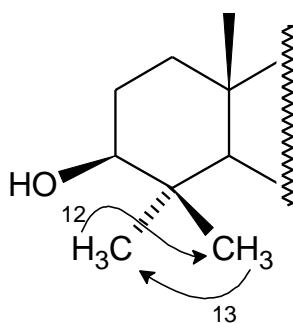


Figura 46 - Expansão I do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (DMSO-d, HMBC) de **SS3**



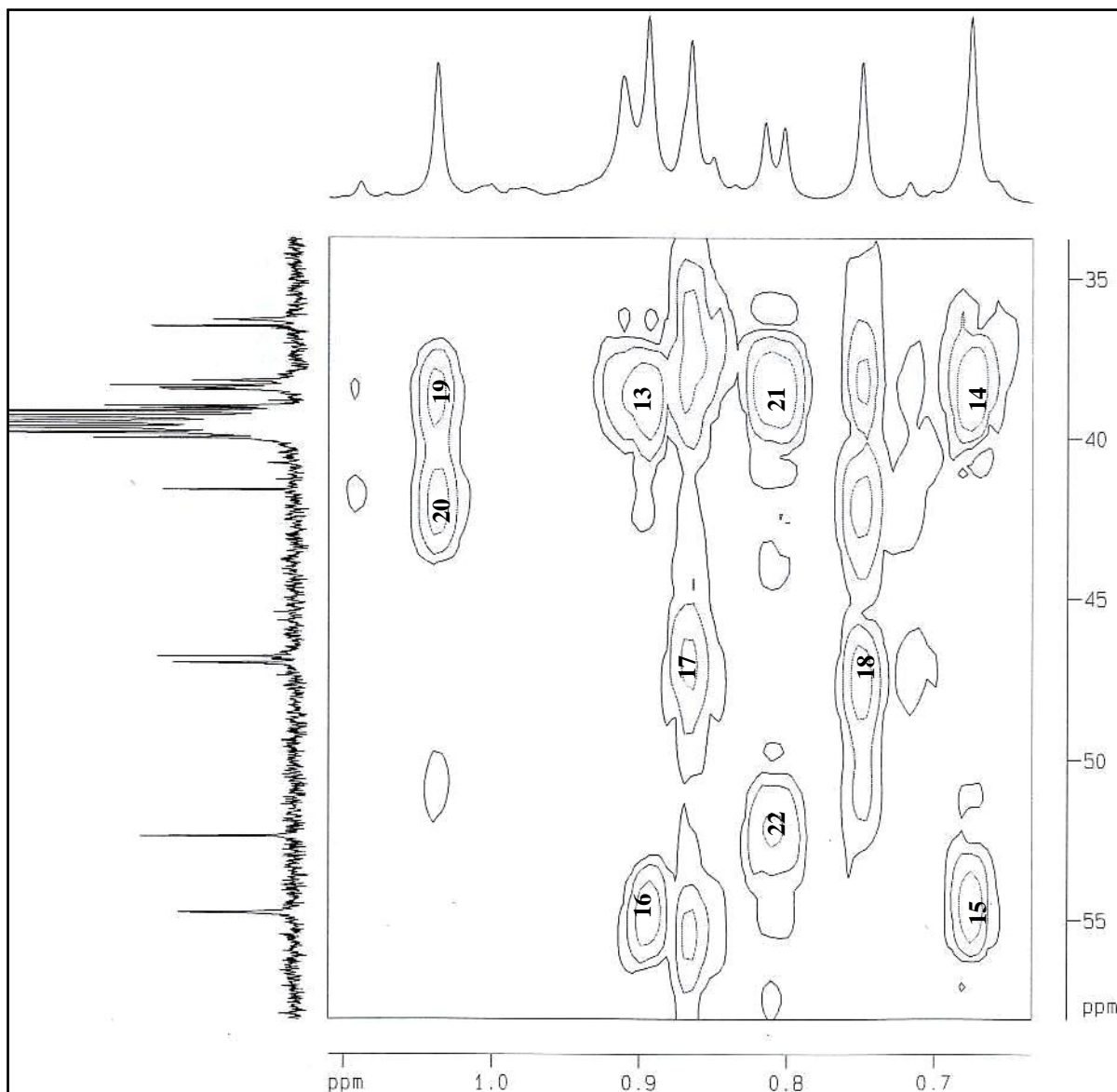
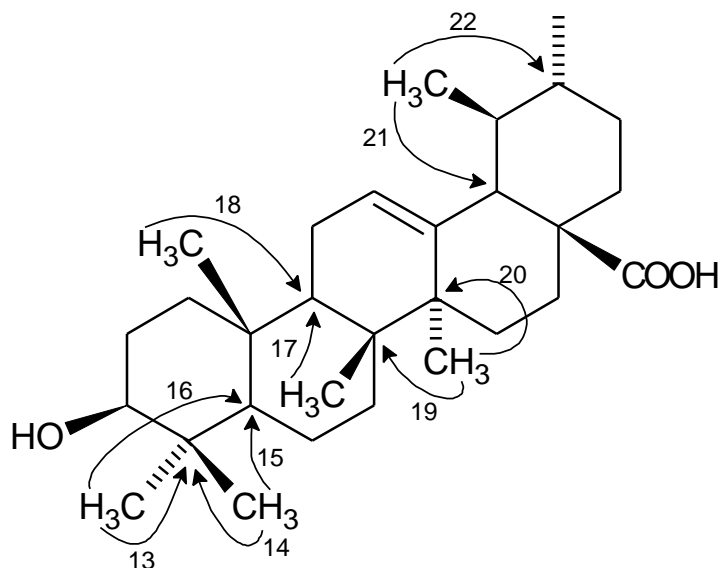


Figura 47 - Expansão II do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (DMSO-d, HMBC) de **SS3**.



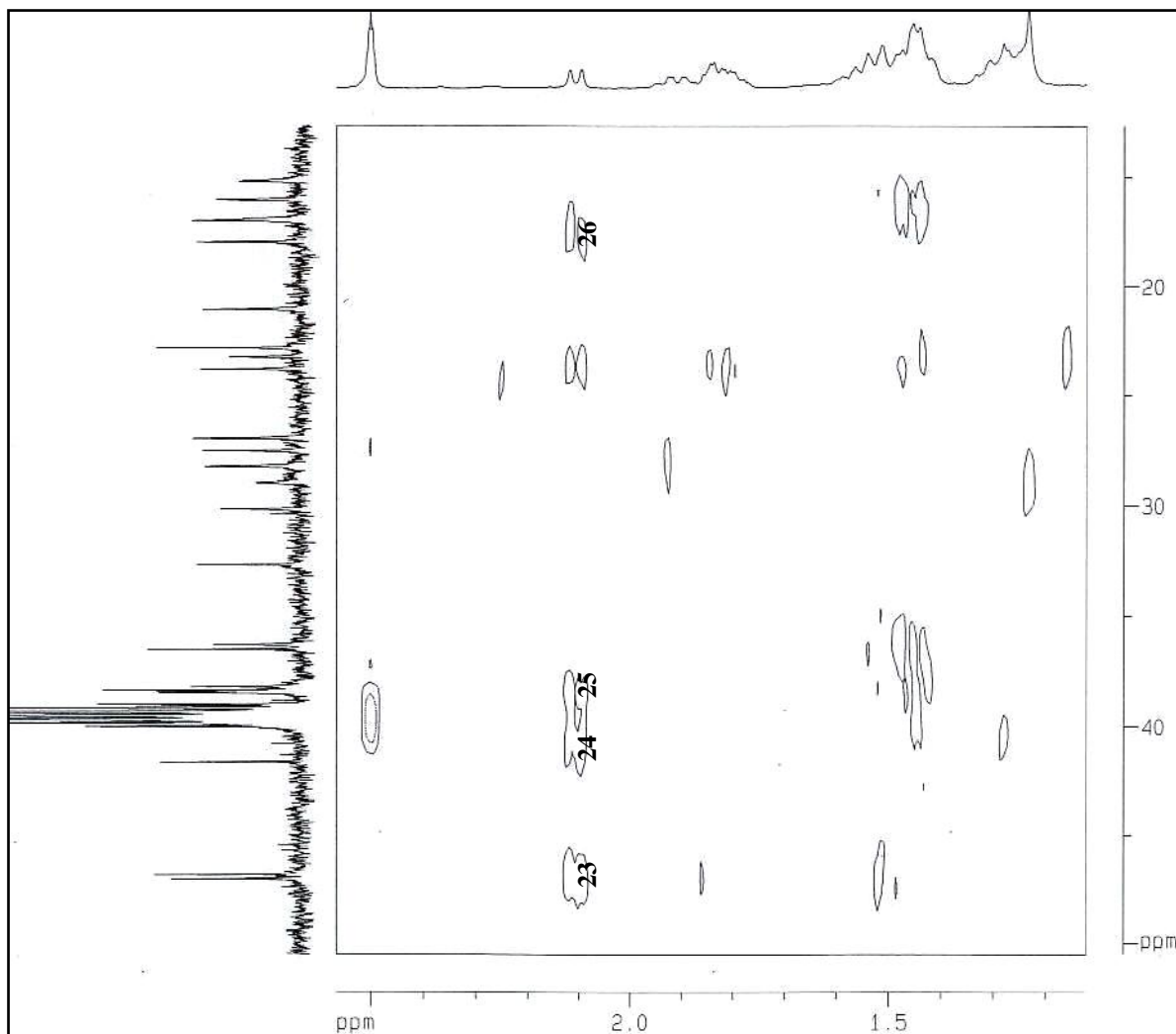
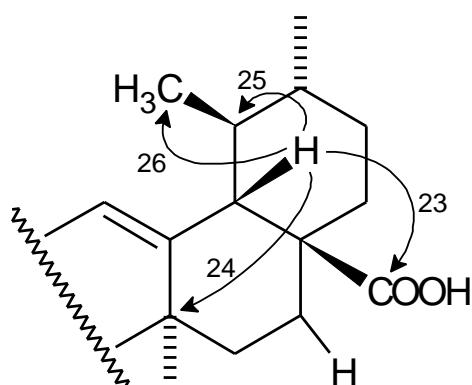


Figura 48 - Expansão III do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (DMSO-d, HMBC) de SS3.



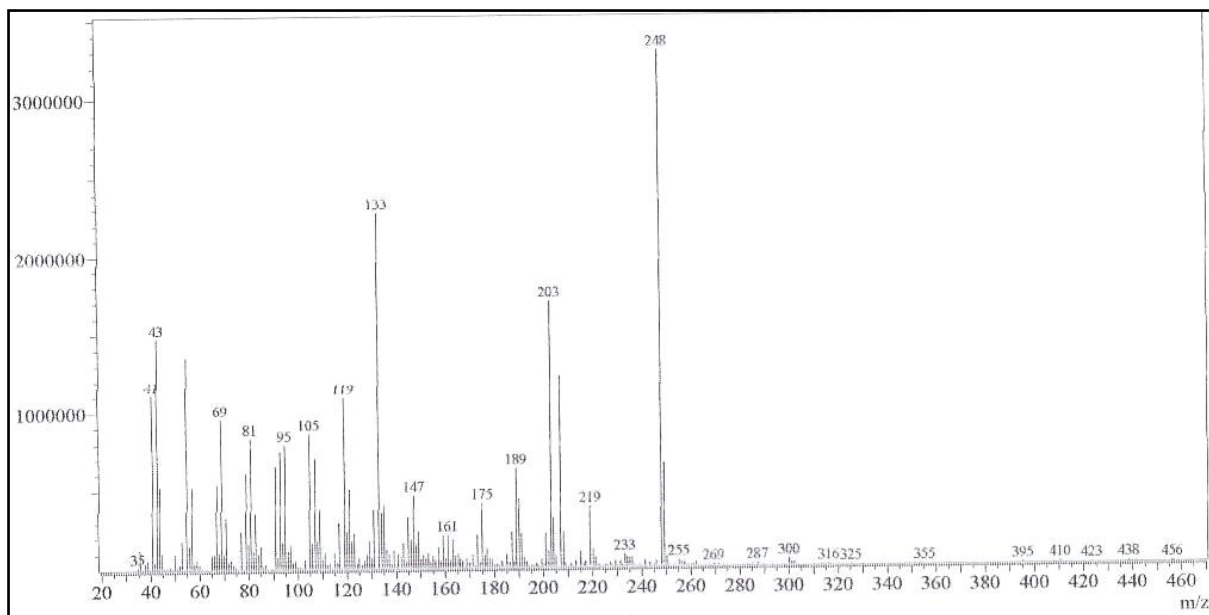


Figura 49 - Espectro de massa 70 eV de **SS3**.

4.4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE SS4 e SS5.

O tratamento cromatográfico da fração diclorometano resultante da coluna filtrante do extrato hexânico dos talos, forneceu cristais em forma de agulhas denominado de **SS4** e **SS5**.

O espectro na região do infravermelho de **SS4** e **SS5** (**Fig. 51, pág. 74**) mostrou uma banda intensa em 3429 cm^{-1} correspondente à deformação axial da ligação O-H, além de bandas em 2926 ; 1460 e 1380 cm^{-1} relacionadas a deformações axiais da ligação C-H de carbonos alifáticos. Também foi observada uma banda em 1637 cm^{-1} referente a deformação axial da ligação C=C, e outra em 1035 cm^{-1} representando uma deformação axial de ligação C-O.

A análise de espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) de **SS4** e **SS5** (**Fig. 54, pág. 75**.) revelou a existência de 51 linhas espectrais. Dentre estas, foi observada a presença de quatro carbonos insaturados em δ 145,3; δ 139,7; δ 124,6 e 121,9; além dos sinais em δ 79,2 e 79,2 que foram atribuídos a carbonos oxigenados.

O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **SS4** e **SS5** (**Fig. 53, pág. 75**) mostrou absorções de hidrogênios olefínicos em δ 5,13 (1H, t, $J = 3,6\text{ Hz}$, H-12 α) e 5,18 (H-12 β), corroborando os dados encontrados no espectro de RMN ^{13}C . Observou-se também sete sinais em δ 1,08 (3H, s, H-27), 1,00 (3H, s, H-26), 0,97 (3H, s, H-23), 0,96 (3H, s, H-25), 0,93 (3H, d, $J = 11,7\text{ Hz}$, H-30), 0,81 (3H, d, $J = 4,7\text{ Hz}$, H-29) e 0,80 (6H, s, H-28/24), que foram relacionados a grupamentos metila.

Após a análise de todos os dados obtidos, e a posterior confrontação destes com dados descritos na literatura (**Tabela 13, pág 73**) para triterpenos, foi possível relacionar a estrutura de **SS4** e **SS5** com a mistura dos triterpenos do tipo ursano α e β -amirina, respectivamente. Estas substâncias estão sendo relatadas pela primeira vez no gênero *Stachytarpheta* (**Figura 50, pág. 72**).

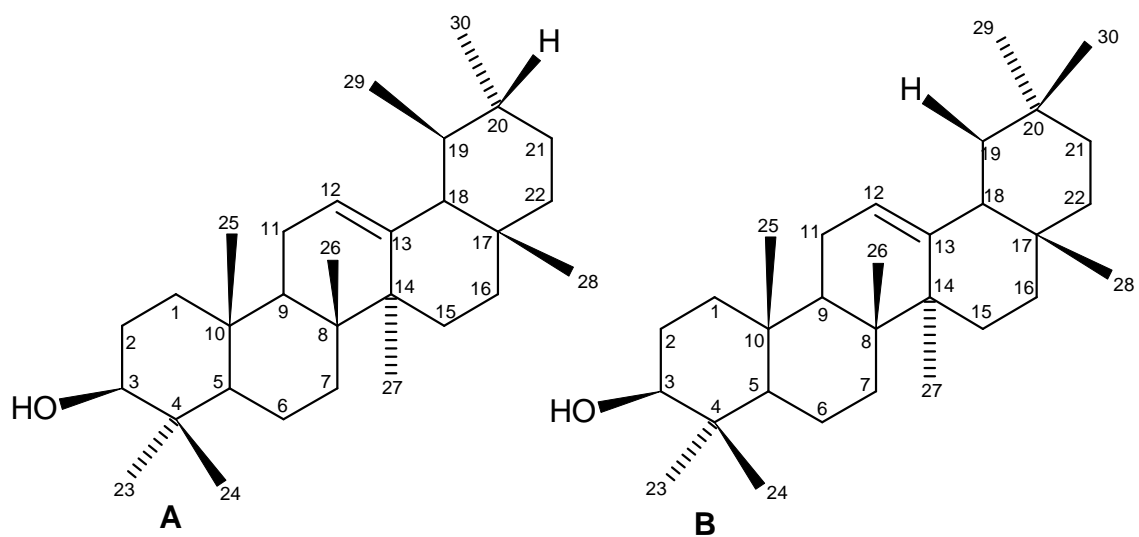


Figura 50 - (A) α -amirina e (B) β -amirina.

Tabela 13 - Comparação dos dados de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **SS4** e **SS5** com os descritos na literatura para a mistura α,β -amirina (125 MHz, CDCl_3) (BANDEIRA et. al., 2007).

C	MISTURA – SS4 e SS5		BANDEIRA et. al., 2007	
	$\delta_C - \alpha$	$\delta_C - \beta$	α, β -AMIRINA	
	$\delta_C - \alpha$	$\delta_C - \beta$	$\delta_C - \alpha$	$\delta_C - \beta$
1	38,8	38,9	39,2	38,6
2	27,1	27,4	-	27,3
3	79,2	79,2	79,1	79,1
4	38,8	38,8	-	38,8
5	55,4	55,4	55,2	55,2
6	18,6	18,5	19,6	18,4
7	32,8	32,8	32,4	32,6
8	40,2	39,8	39,3	39,8
9	47,9	47,8	47,1	47,6
10	37,1	37,1	36,6	36,9
11	23,4	23,5	23,6	23,5
12	124,6	121,9	121,2	121,7
13	139,7	145,3	145,2	145,2
14	42,2	41,7	41,8	41,7
15	26,8	26,3	26,0	26,1
16	28,6	27,1	26,8	26,9
17	33,5	31,4	32,1	32,5
18	59,3	47,4	46,8	47,2
19	39,88	47,0	46,7	46,8
20	39,88	31,2	35,0	31,1
21	31,2	34,9	34,6	34,7
22	41,7	37,1	37,0	37,1
23	28,3	28,3	-	38,1
24	15,7	15,8	15,1	15,5
25	15,7	15,8	15,7	15,6
26	17,0	17,02	16,9	16,8
27	23,4	26,2	13,3	26,0
28	28,3	28,3	28,8	28,4
29	17,6	33,5	17,5	33,4
30	21,6	23,9	21,4	23,7

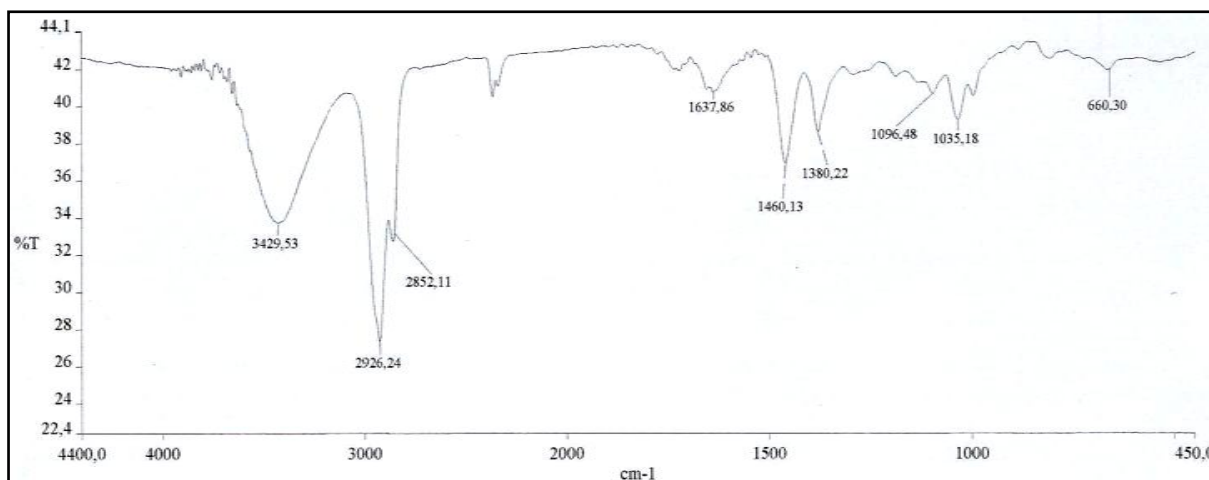


Figura 51 - Espectro de infravermelho de SS4 e SS5.

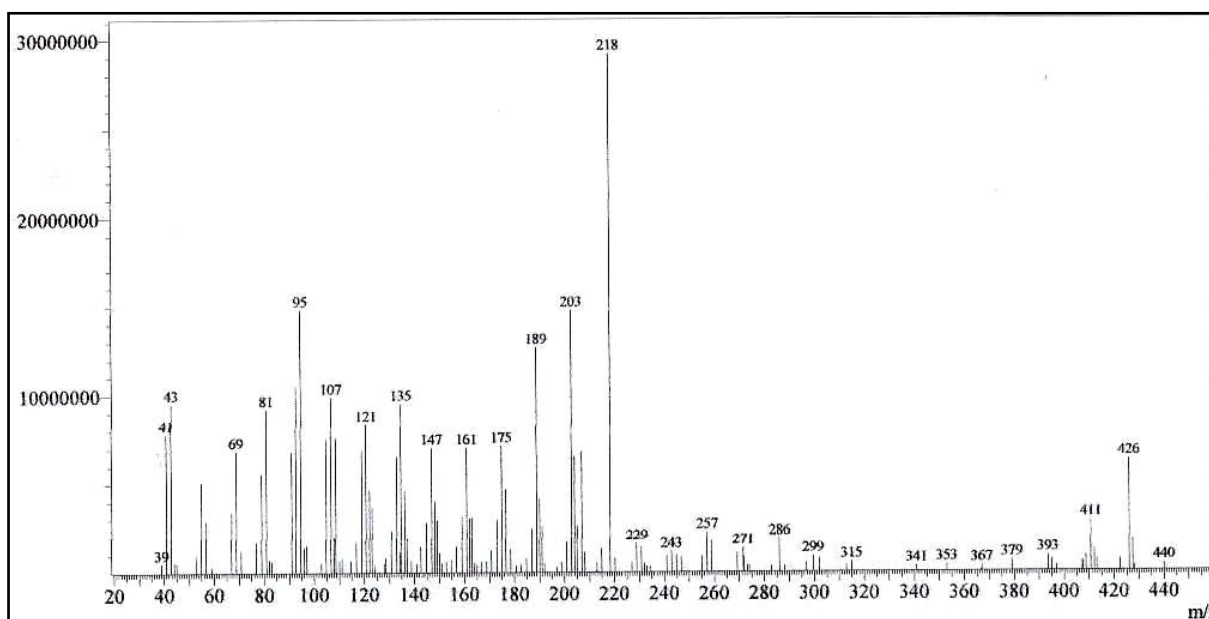


Figura 52 - Espectro de massa de SS4 e SS5.

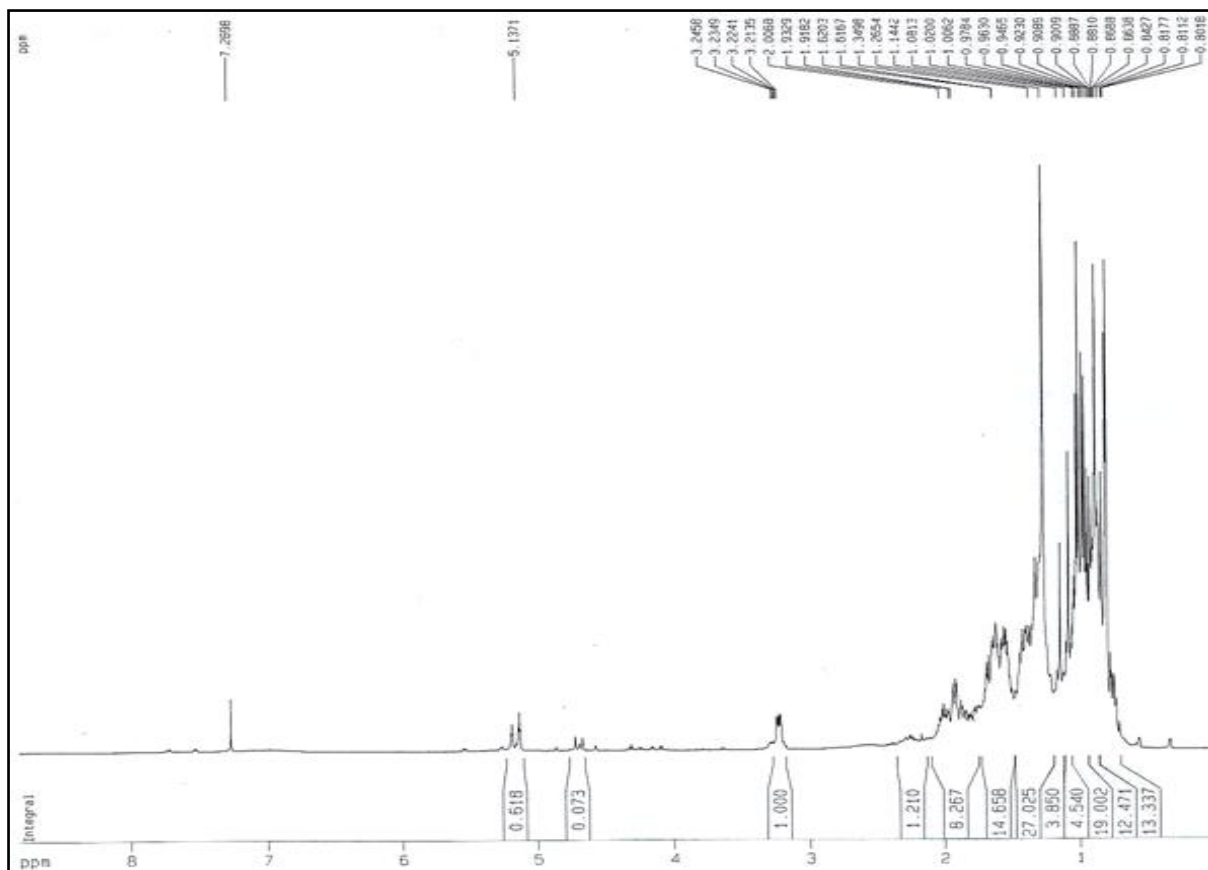


Figura 53 - Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de SS4 e SS5.

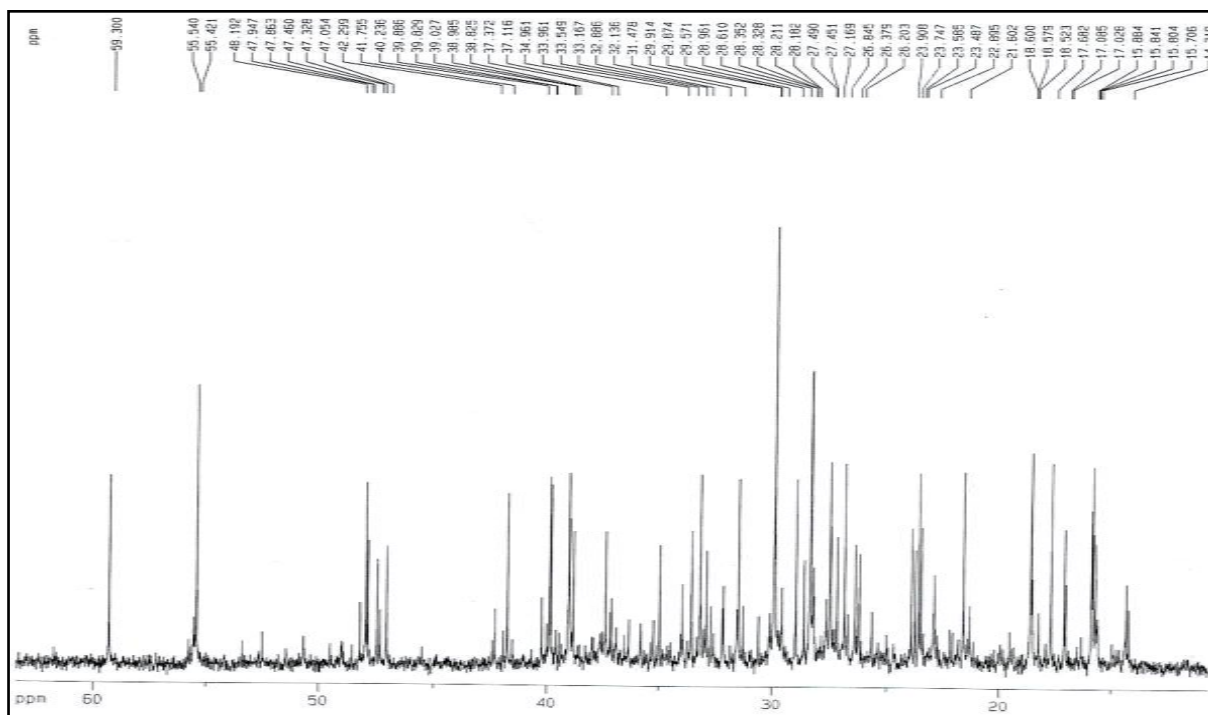


Figura 54 - Expansão do espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, CDCl₃) de SS4 e SS5.

4.5 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE SS6.

O tratamento cromatográfico da fração acetato de etila (SSTE-A) obtida da partição do extrato etanólico dos talos de *S. sessilis*, seguido por cromatografia em coluna Sephadex LH-20, coluna clássica e filtração, resultou no isolamento de **SS6**, um sólido amorfo branco e ponto de fusão entre 268 - 270°C.

O espectro na região do infravermelho de **SS6** (**Fig. 58, pág. 82**) mostrou uma banda intensa em 3407 cm⁻¹ correspondente à deformação axial da ligação O-H, além de bandas em 2923 e 2859 cm⁻¹ relacionadas a deformações axiais da ligação C-H de carbonos alifáticos. Também foi observada uma banda em 1655 e 1458 cm⁻¹ referente a deformação axial da ligação C=C, e outra em 1029 cm⁻¹ representando uma deformação axial de ligação C-O.

O espectro de RMN ¹H (500 MHz, C₅D₅N) de **SS6** (**Fig. 59, 60 e 61, pág. 82 e 83**), revelou o seu caráter esteróidal, através da visualização de seis sinais atribuídos a hidrogênios de grupos metila na faixa de δ 0,60 a 1,09. Foram observados ainda um sinal em δ 5,19, (H-6), δ 5,20 (H-22) e δ 5,06 (H-23) atribuídos a hidrogênio de carbonos olefínicos. A unidade glicosídica foi determinada através da observação de sinais característicos na faixa de δ 4,00 a 5,04; onde o sinal em δ 5,04 (s, H-1') foi atribuído ao hidrogênio anomérico.

O espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, C₅D₅N) de **SS6** (**Fig. 62, pág. 84**), permitiu observar 34 linhas espectrais na faixa de δ 139,9 a 12,6, onde as absorções em δ 139,9 (C-5), 139,0 (C-22); 130,0 (C-23) e 118,2 (C-6) revelaram a presença de quatro carbonos olefínicos. Comparando-se os espectros de RMN ¹³C-BB e ¹³C-DEPT 135 (**Fig. 63, pág. 84**), pôde-se determinar que um dos carbonos olefínicos em δ 139,9 (C-5) era não-hidrogenado, enquanto que os outros em δ 139,0 (C-22); 130,0 (C-23) e 118,2 (C-6) eram metínicos. Dentre os demais sinais de carbonos saturados, dois foram atribuídos a carbonos metínicos δ 34,9 (C-10) e 43,8 (C-13); nove metilênicos [δ 37,7 (C-1), 30,4 (C-2), 35,1 (C-4), 30,4 (C-7 e C-2), 22,1 (C-11), 40,0 (C-12), 23,7 (C-15), 29,2 (C-16) e 63,3 (glc C-6)] e seis metílicos [δ 12,8 (C-18), 13,4 (C-19), 21,6 (C-21), 22,0 (C-26), 19,5 (C-27), 12,6 (C-29)], como observado na **Tabela 14, pág. 77**.

Tabela 14 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB-DEPT (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de **SS6** por padrão de hidrogenação.

C	CH	CH ₂	CH ₃	TOTAL
139,9	77,4	37,7	12,8	
43,8	118,2	30,4	13,4	
34,9	32,5	35,1	21,6	
	49,9	30,4	22,0	
	56,4	22,1	19,5	
	55,6	40,0	12,6	
	40,5	23,7		
	139,0	29,2		
	130,0	63,3		
	51,8	20,6		
	41,4			
	102,6			
	75,7			
	79,0			
	72,1			
	78,8			
C ₃	C ₁₆ H ₁₆	C ₁₀ H ₂₀	C ₆ H ₁₈	C ₃₅ H ₄₄ O ₆

A reunião dos dados espectroscópicos de **SS6** permitiu sugerir a fórmula molecular parcial $\text{C}_{35}\text{H}_{44}\text{O}_6$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. Este dado foi relacionado a uma estrutura de esteróide glicosilado, contendo duas duplas ligações e uma unidade glicosídica.

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C , com detecção no canal de hidrogênio (HSQC) (**Fig. 64, 65, 66 e 67, pág. 85 e 86**) permitiu associar inequivocamente os sinais de hidrogênios a seus respectivos carbonos (**Tabela 15, pág 79**).

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C , com detecção no canal de hidrogênio (HMBC) (**Fig. 68, 69, 70, 71 e 72, pág. 87, 88 e 89**), mostrou os acoplamentos a mais de uma ligação entre hidrogênios e carbonos ($^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$). Através da observação das correlações do sinal em δ 5,20 (H-22) com os carbonos em δ 130,0 (C-23) a duas ligações, δ 51,8 (C-24) e 21,6 (C-21) a três ligações, e também da correlação do sinal em δ 5,06 (H-23) com os carbonos em δ 41,4 (C-25) a três ligações e δ 51,8 (C-24) e 139,0 (C-

22) a duas ligações, foi possível determinar a posição da dupla ligação nos carbonos C22-C23, como mostrado na **Figura 55**.

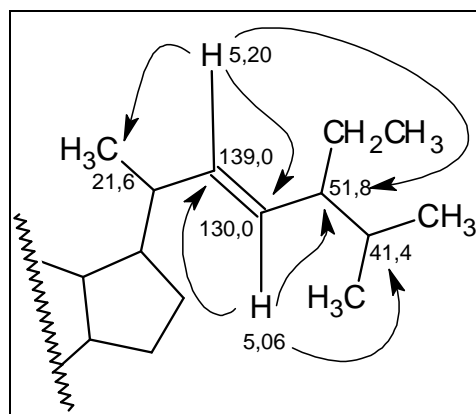


Figura 55 - Sub-estrutura I para SS6.

A posição da porção glicosídica foi estabelecida através da correlação do hidrogênio do carbono anomérico δ 5,04 (H-1') com o carbono em δ 77,4 (C-3) a três ligações. O sinal em δ 139,9 foi atribuído ao carbono-5 através da correlação com sinal em δ 0,74 (H-19), como mostrado na **Figura 56**.

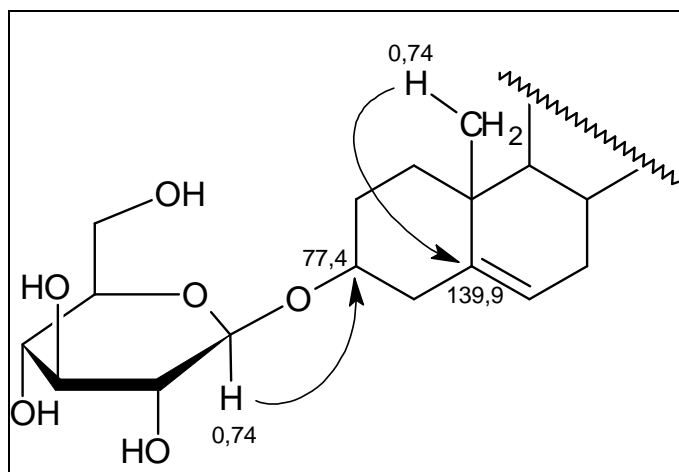


Figura 56 - Sub-estrutura II para SS6.

Tabela 15 - Correlação heteronuclear de RMN ^1H e ^{13}C (HSQC e HMBC) de **SS6**.

C	δ_{C}	DEPT	HSQC	HMBC	
				$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1	37,7	CH ₂			
2	30,4	CH ₂	1,71		
3	77,4	CH			5,04
4	35,1	CH ₂	2,05		
5	139,9	C			0,74
6	118,2	CH	5,19		
7	30,4	CH ₂			
8	32,5	CH			
9	49,9	CH			
10	34,9	C			
11	22,1	CH ₂			
12	40,0	CH ₂	1,97		
13	43,8	C			
14	56,4	CH			
15	23,7	CH ₂			
16	29,2	CH ₂			
17	55,6	CH			
18	12,8	CH ₃	0,89		
19	13,4	CH ₃	0,74		
20	40,5	CH			
21	21,6	CH ₃	0,93		5,20
22	139,0	CH	5,20	5,06	
23	130,0	CH	5,06	5,20	
24	51,8	CH		5,06	5,20
25	41,4	CH			5,06
26	22,0	CH ₃	1,09		
27	19,5	CH ₃	0,88		
28	26,0	CH ₂			
29	12,6	CH ₃	0,60		
1'	102,6	CH	5,04		
2'	75,7	CH	4,07		
3'	79,0	CH	4,30		
4'	72,1	CH	4,28		
5'	78,8	CH	4,00		
6'	63,3	CH ₂	4,42/4,50		

A reunião de todos os dados espectroscópicos obtidos para **SS6** através da detalhada análise de seus espectros, bem como a comparação destes com dados registrados na literatura (**Tabela 16, pág 81**) permitiu a identificação de **SS6** como sendo a substância 3-O- β -D-glucopyranosyl-24(S)-ethyl-22E-dihydrocholesterol (**Figura 60, abaixo**), anteriormente isolado de *Brachiaria decumbens* Stapf (Poaceae) (PIRES, 2002). Esta substância está sendo relatada pela primeira vez no gênero *Stachytarpheta*.

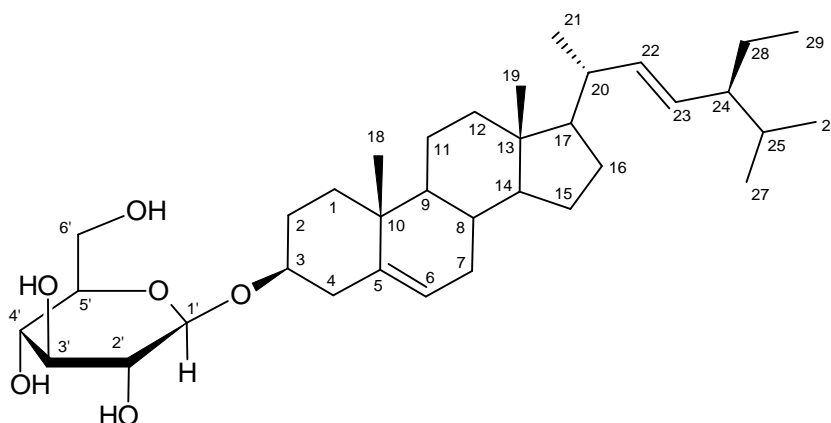


Figura 57 - Estrutura de SS6.

Tabela 16 - Comparação de dados de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de **SS6** com os descritos na literatura para stigmasterol glicosilado (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (PIRES, 2002).

C	SS6	stigmasterol glicosilado (S)	stigmasterol glicosilado (R)
1	37,7	37,6	37,6
2	30,4	30,4	30,4
3	77,4	78,2	78,2
4	41,4	39,5	39,5
5	139,9	141,1	141,1
6	118,2	122,1	122,1
7	30,4	32,3	32,3
8	32,5	32,2	32,2
9	49,9	50,5	50,5
10	34,9	37,1	37,1
11	22,1	21,5	21,5
12	40,0	40,0	40,1
13	43,8	42,5	42,6
14	56,4	57,0	57,1
15	23,7	24,7	24,7
16	29,2	28,7	28,7
17	55,6	56,2	56,4
18	12,8	12,3	12,3
19	13,4	19,2	19,2
20	40,5	41,0	41,0
21	21,6	19,6	20,2
22	139,0	139,0	139,0
23	130,0	129,6	129,6
24	51,8	51,6	51,6
25	35,1	32,4	32,4
26	22,0	21,7	19,4
27	19,5	19,4	21,5
28	26,0	25,9	23,8
29	12,6	12,7	12,2
1'	102,6	102,7	102,7
2'	75,7	75,5	75,5
3'	79,0	78,8	78,8
4'	72,1	71,8	71,8
5'	78,8	78,7	78,7
6'	63,3	63,0	63,0

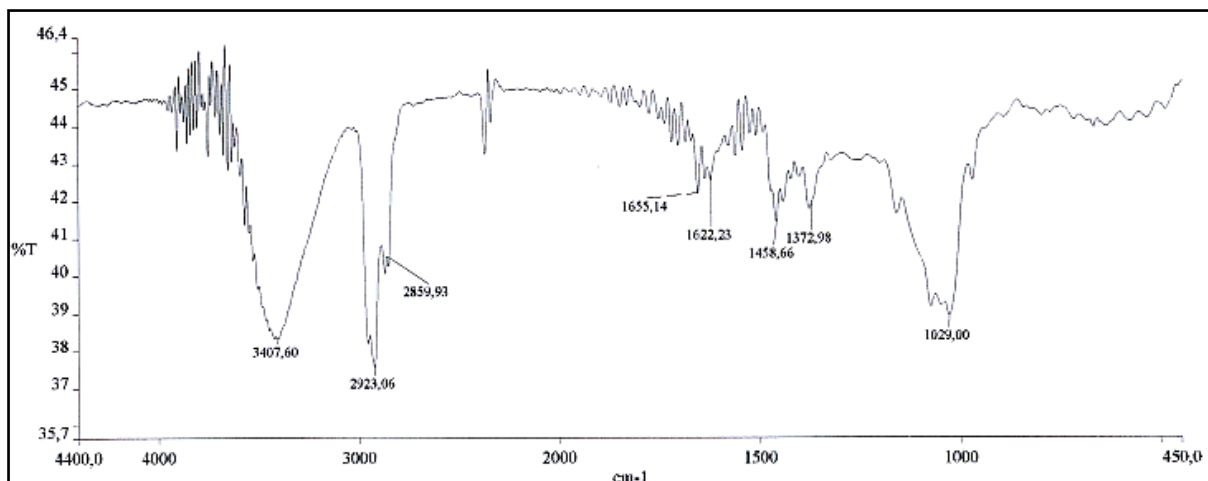


Figura 58 - Espectro na região do infravermelho de SS6.

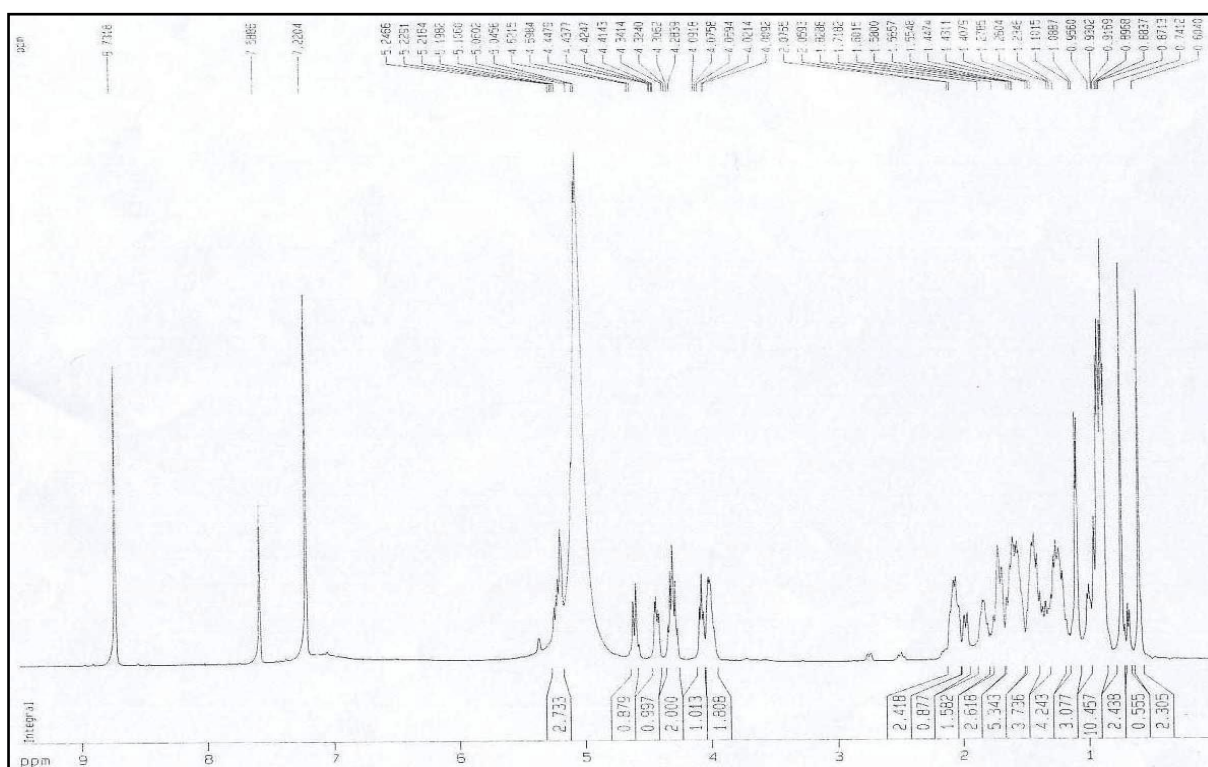


Figura 59 - Espectro de RMN de ^1H (500MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS6.

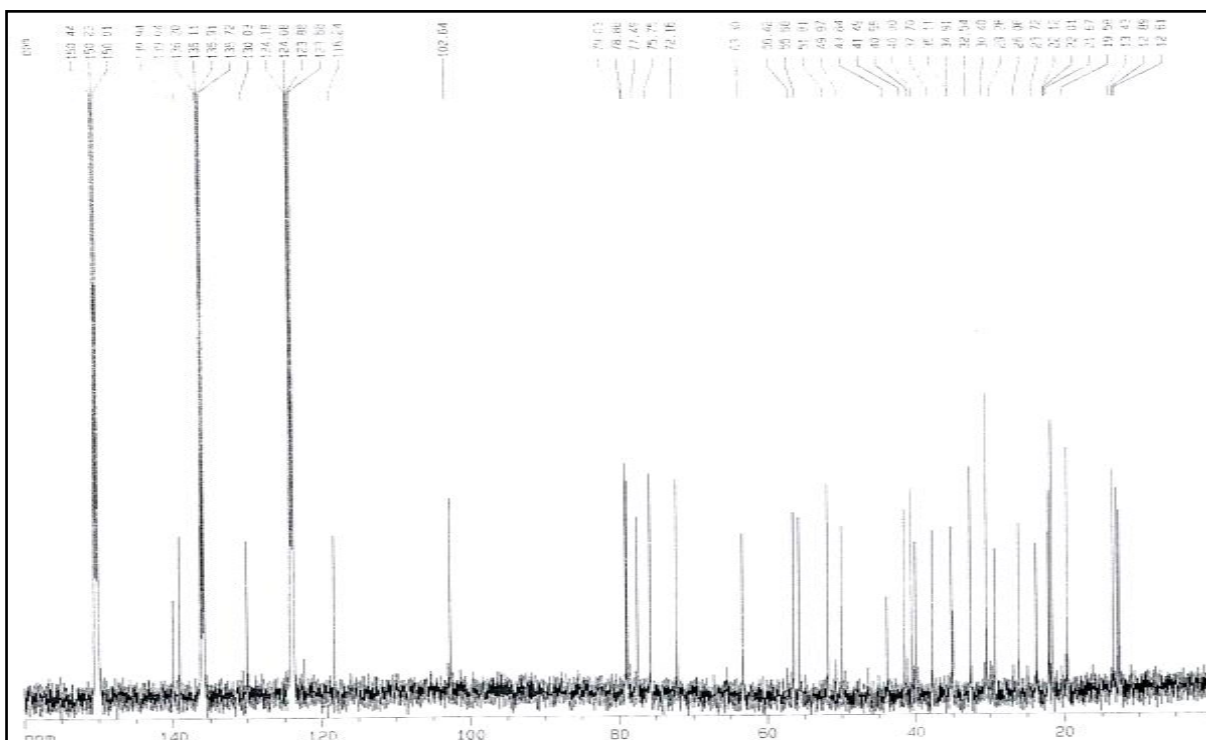


Figura 62 - Espectro de RMN ^{13}C -BB (125MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS6.

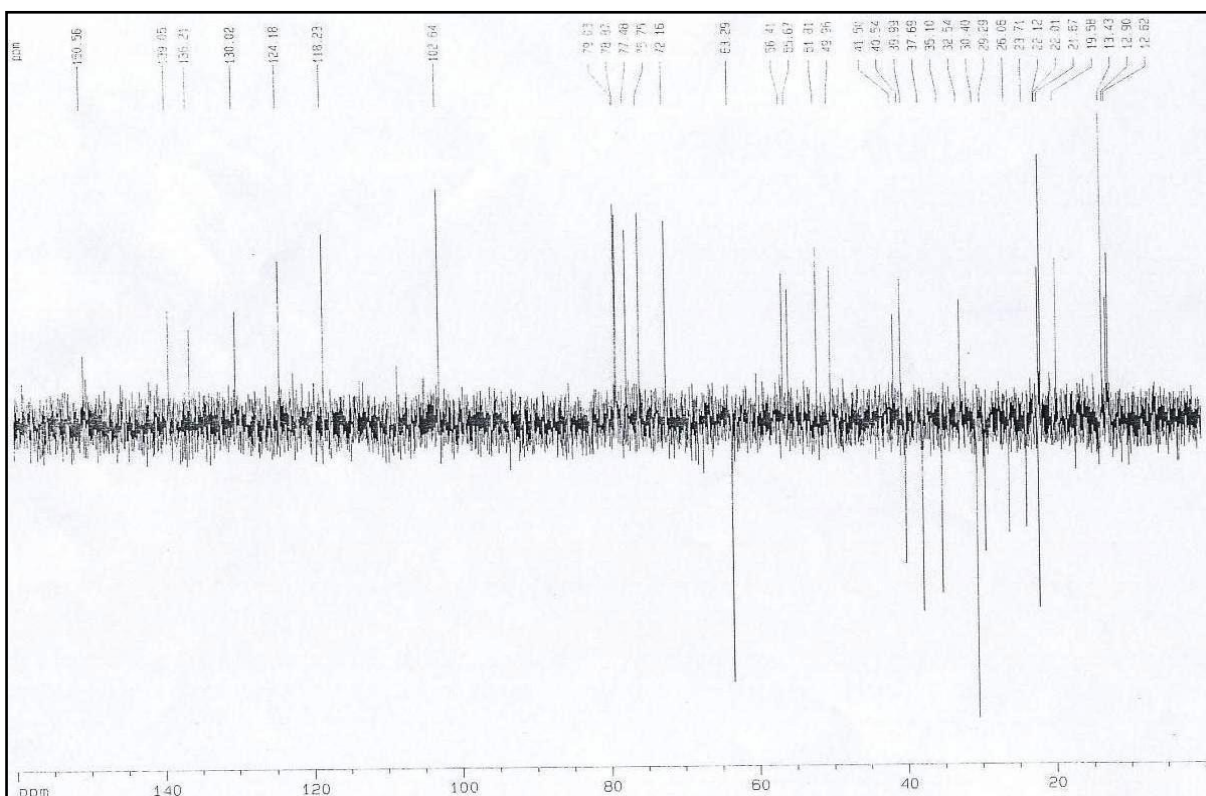


Figura 63 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS6.

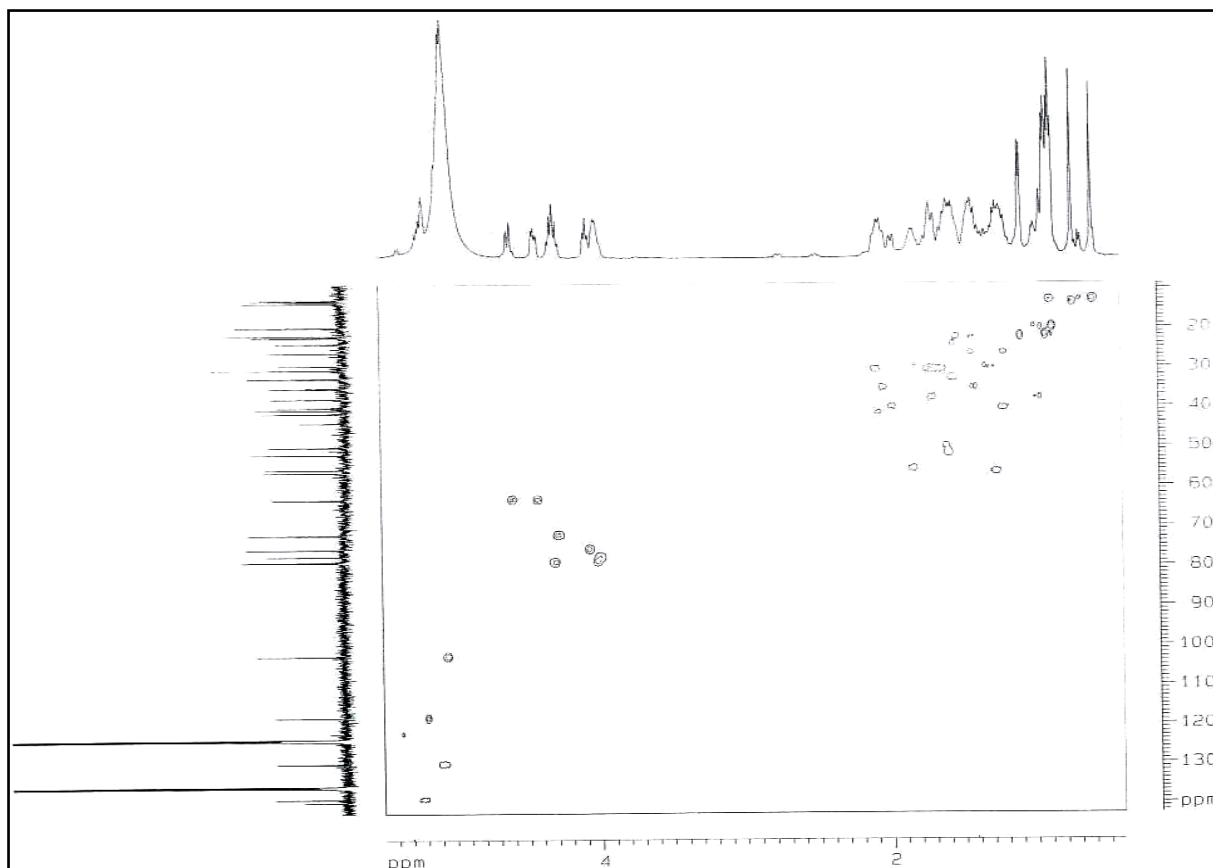


Figura 64 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (HSQC - $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS6.

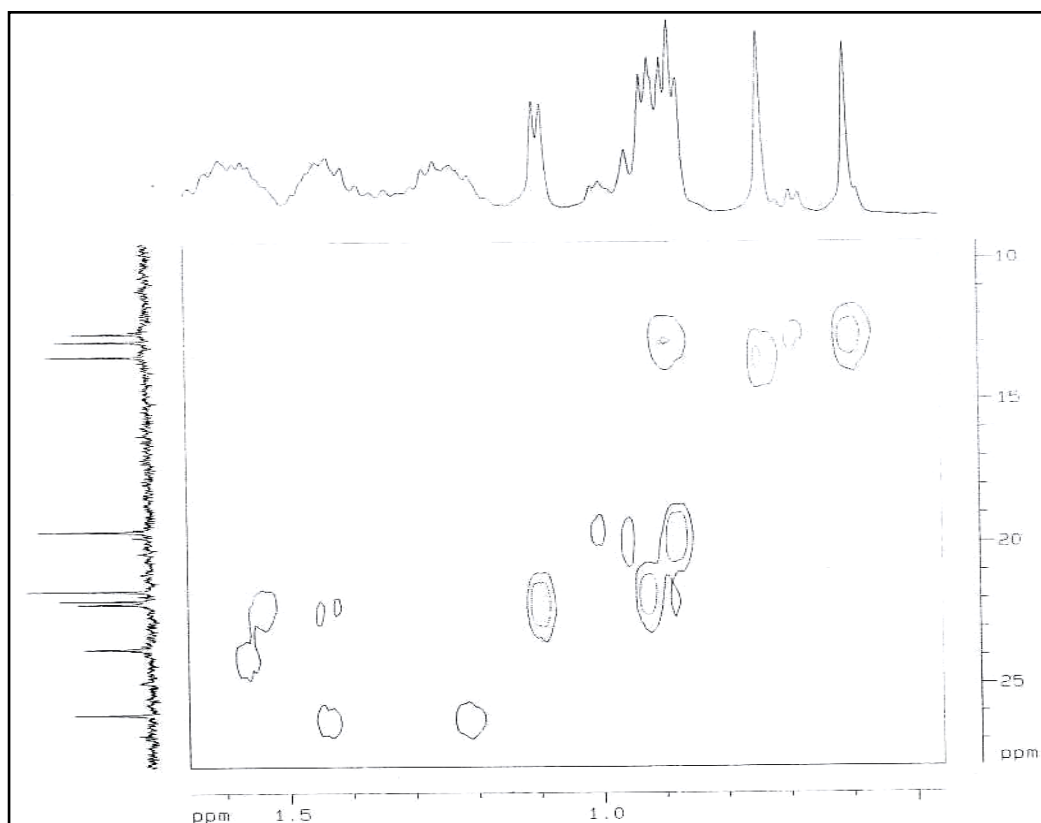


Figura 65 - Expansão 1 do HSQC de SS6.

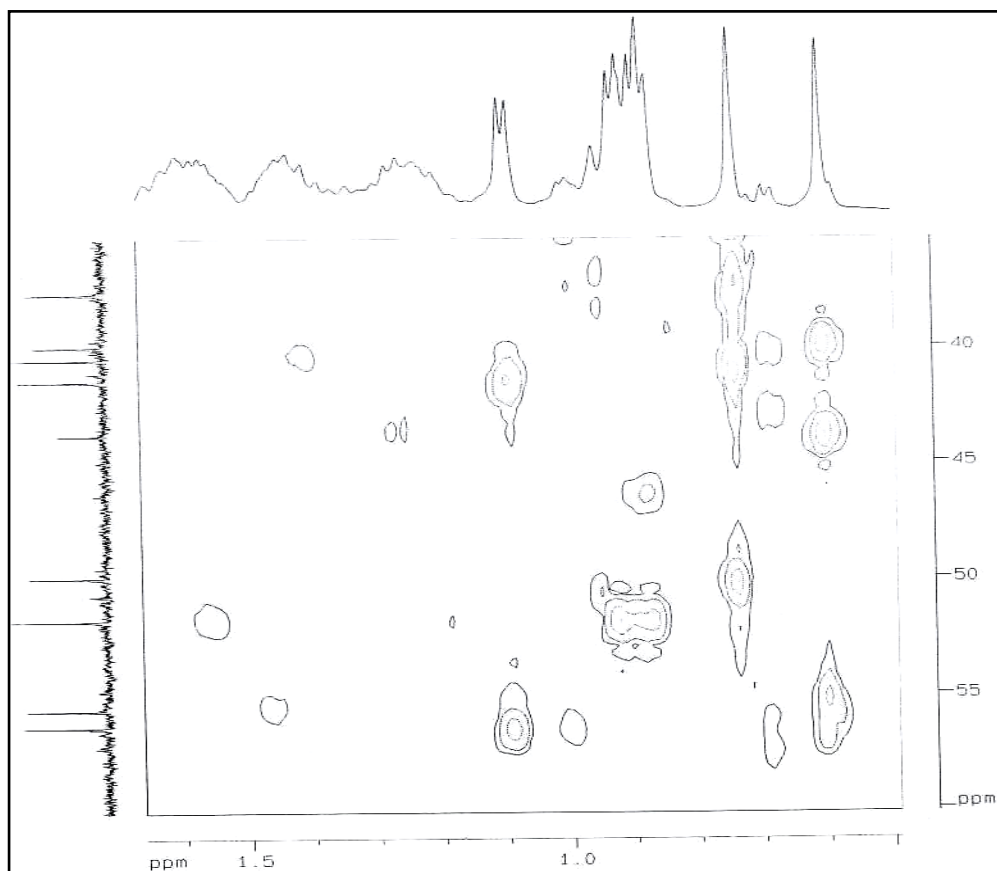


Figura 66 - Expansão 2 do HSQC de SS6.

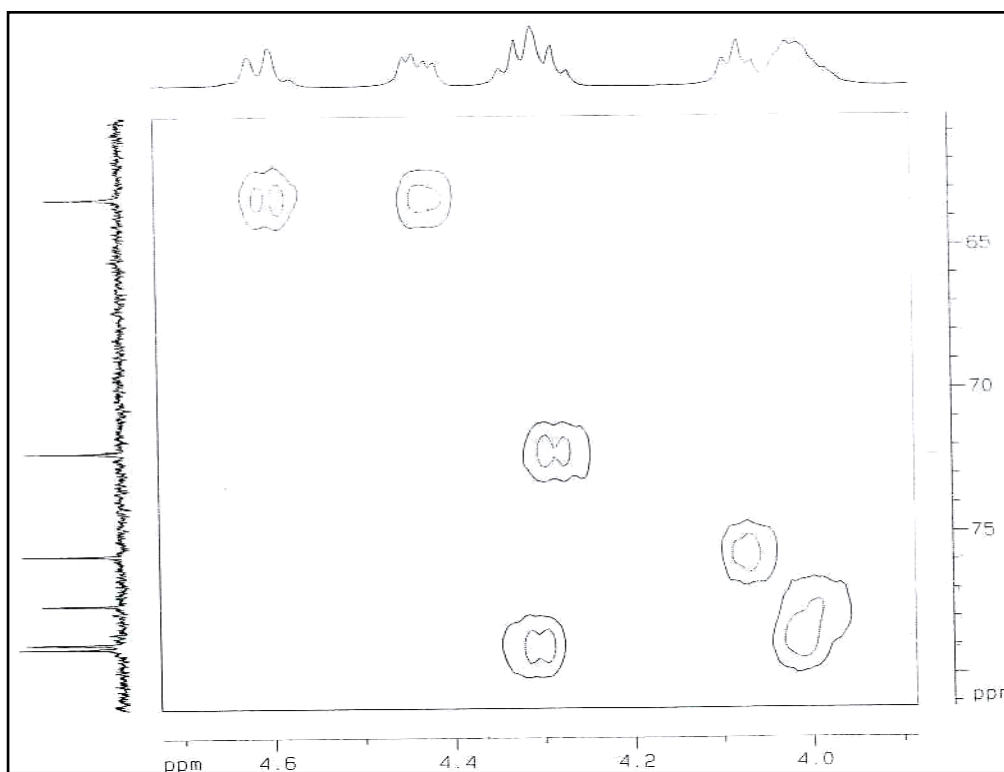


Figura 67 - Expansão 3 do HSQC de SS6.

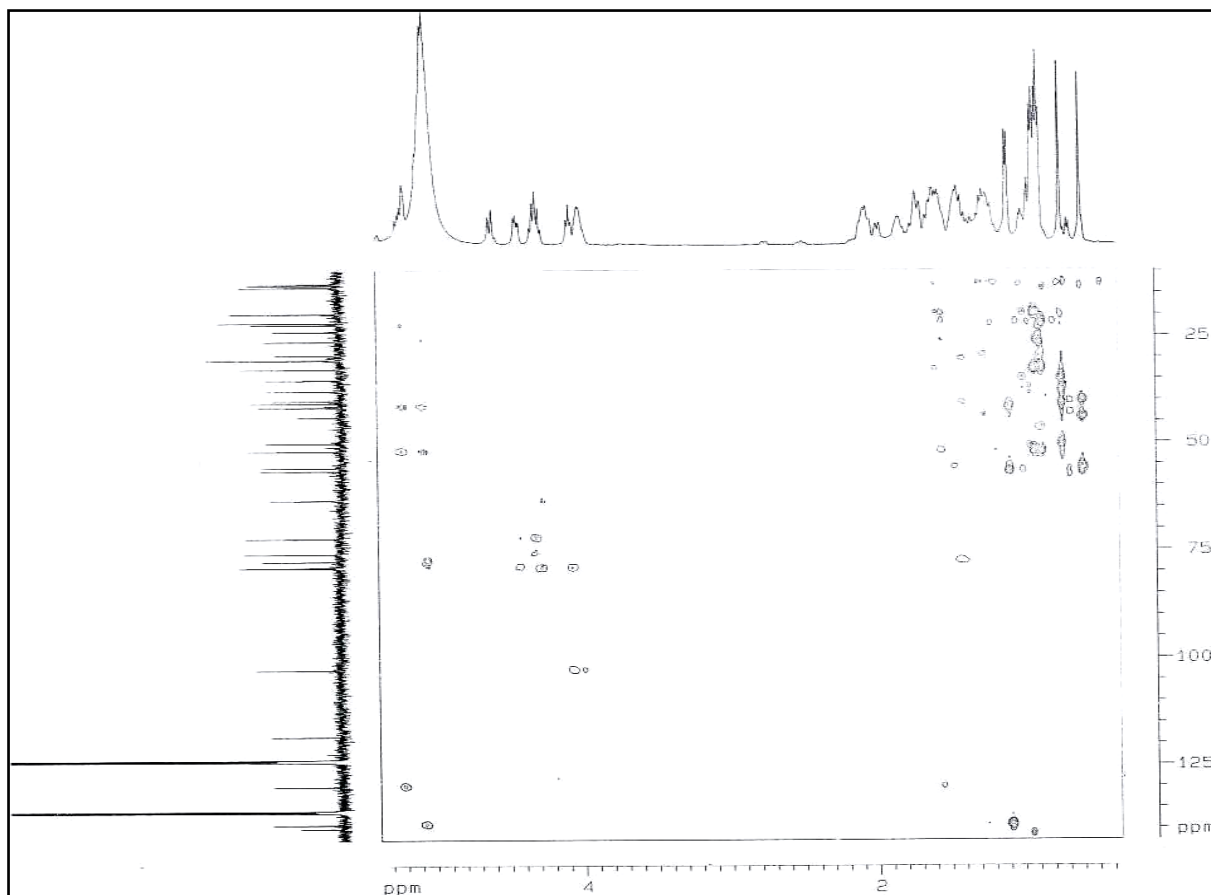


Figura 68 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C (HMBC - $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de **SS6**.

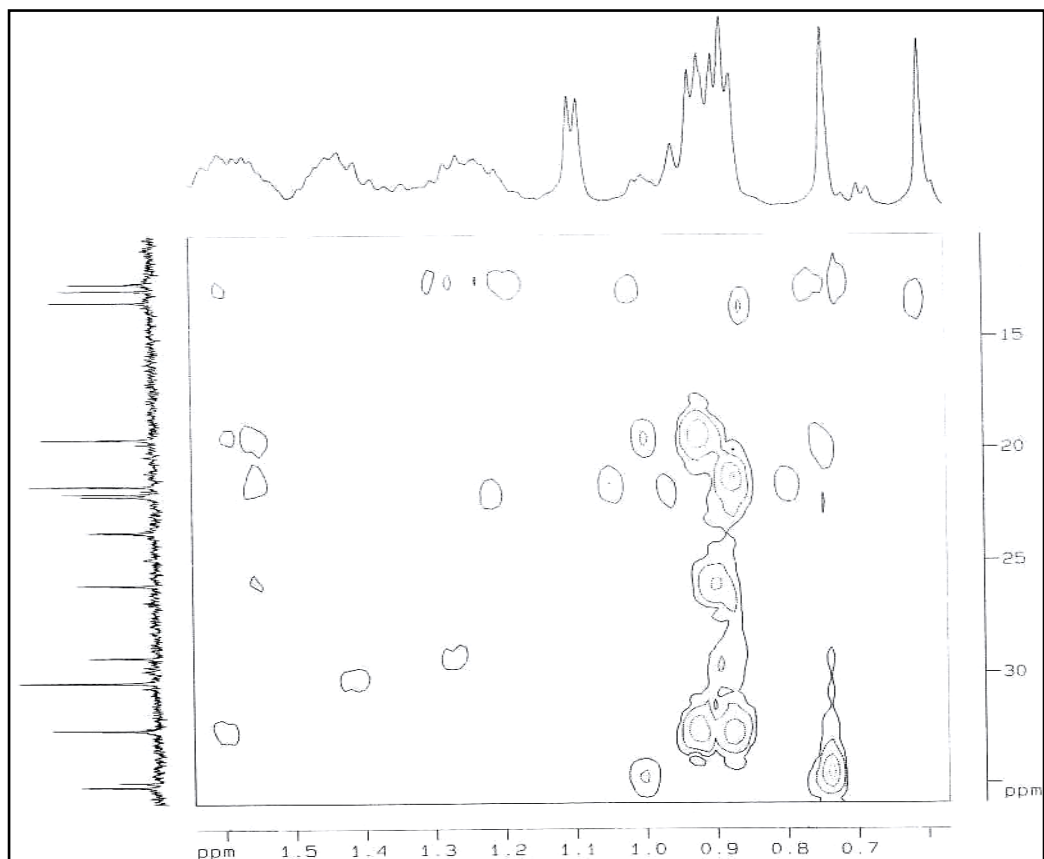


Figura 69 - Expansão 1 do HMBC de SS6.

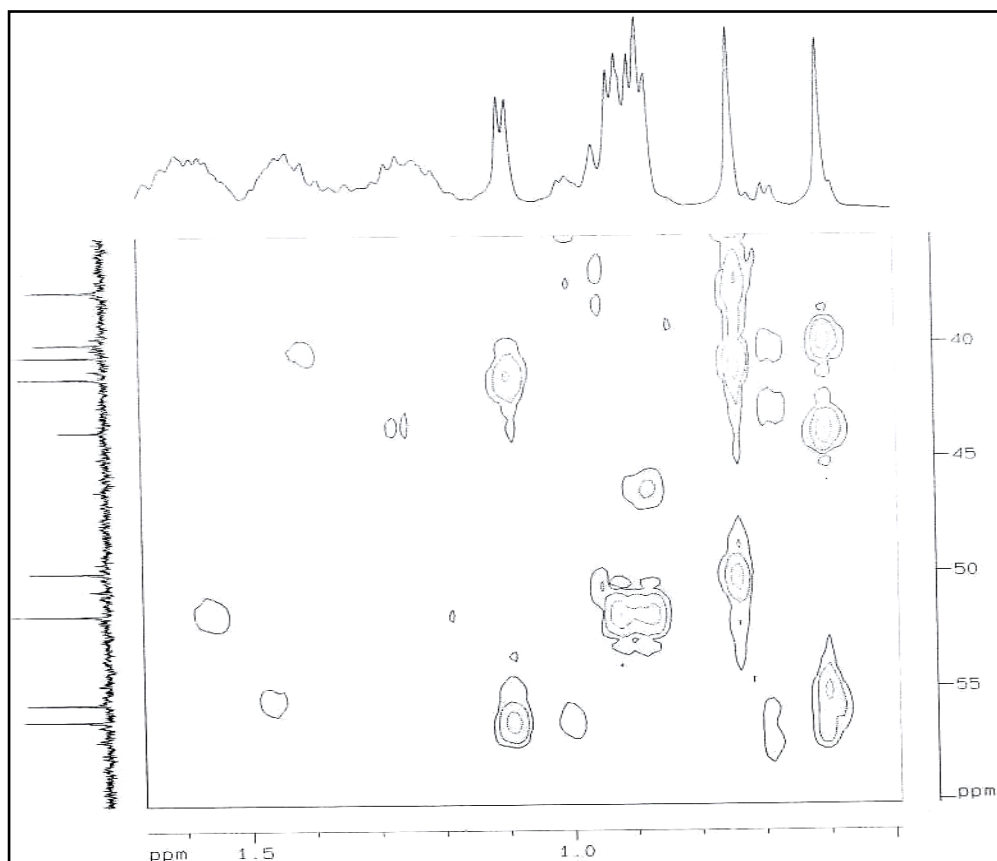


Figura 70 - Expansão 2 do HMBC de SS6.

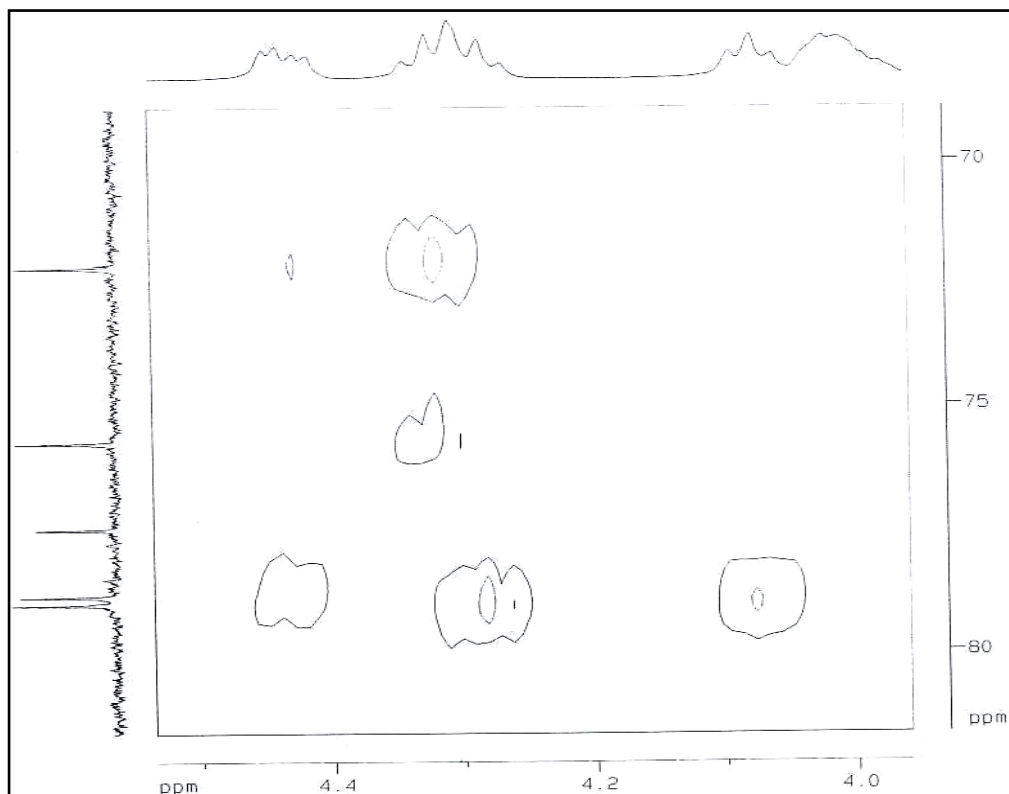


Figura 71 - Expansão 3 do HMBC de **SS6**.

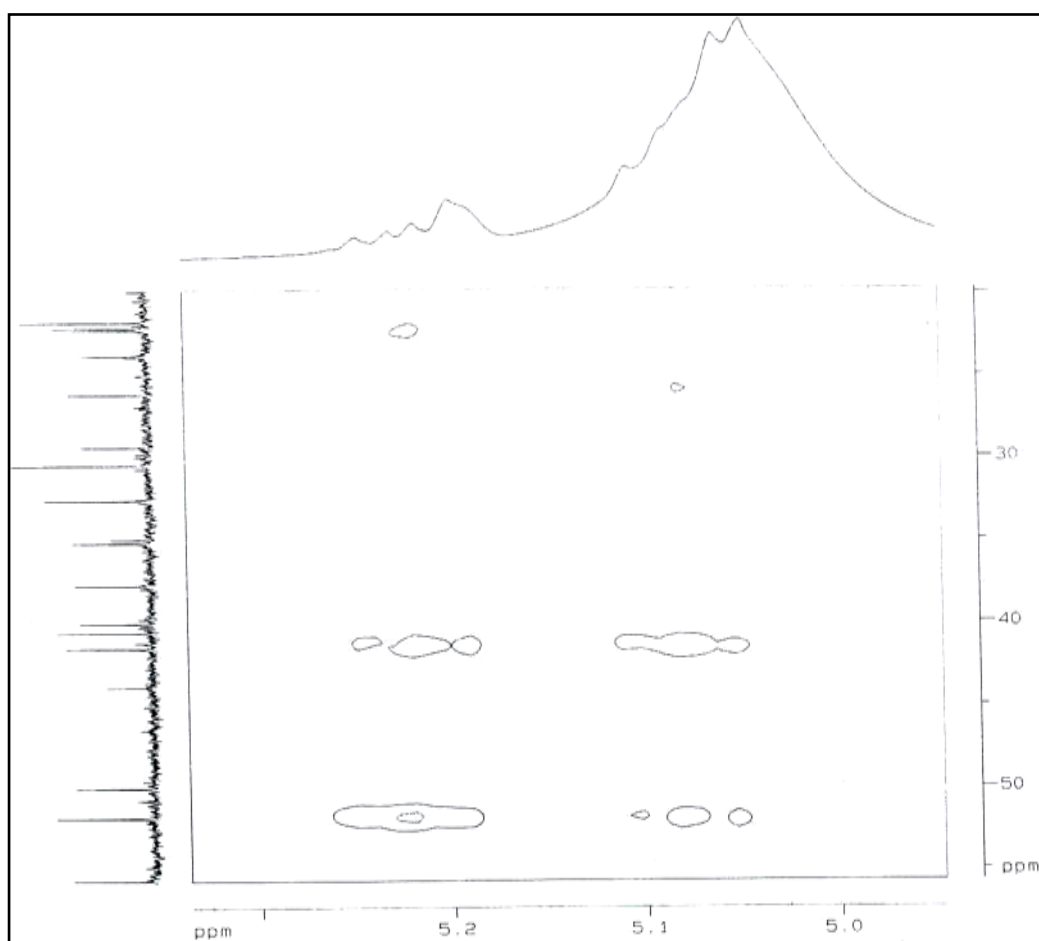


Figura 72 - Expansão 4 do HMBC de **SS6**.

4.6 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE SS7.

Sucessivos tratamentos cromatográficos da fração acetato de etila (SSTE-A) obtida da partição do extrato etanólico dos talos de *S. sessilis*, resultou no isolamento de **SS7**, um sólido amorfo amarelo escuro, e ponto de fusão acima de 300°C.

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de **SS7** (**Fig. 79, pág. 96**) mostrou uma banda larga em 3410 cm⁻¹, correspondente a deformação axial da ligação O-H, caracterizando a presença de hidroxila, além de bandas em 2922 cm⁻¹, relativa a deformação axial das ligações C-H. A presença de uma carbonila conjugada foi evidenciada através da absorção em 1657 cm⁻¹, e as bandas esqueléticas em 1613, 1511 e 1447 cm⁻¹ foram atribuídas a deformações axiais das ligações C=C de anel aromático. Observou-se ainda absorções em 1261, 1168, 1115 e 1030 cm⁻¹, que foram atribuídas a deformações axiais de C-O.

O espectro de RMN ¹H (500 MHz, C₅D₅N) de **SS7** (**Fig. 80 e 81, pág. 97**), revelou cinco sinais na faixa de δ 7,92 a 6,7 atribuídos a hidrogênios ligados a carbono *sp*²; um sinal em δ 13,77 (1H, s) indicando ser uma hidroxila em posição “peri” a uma carbonila, e ainda um sinal simples e largo em δ 5,10 característico de um hidrogênio de grupo hidroxila. O sinal em δ 6,74 (2H, s, H-6/8) apresentou dois hidrogênios diferentes, o singlete em δ 6,91 (1H, s, H-3) foi associado a um único hidrogênio sem outros vizinhos, o dubleto em δ 7,91 (1H, d, J = 1,9Hz, H-2’) e o duplo dubleto em δ 7,53 (1H, dd, J = 1,9 e 8,3Hz, H-6’) indicaram relação *meta* entre si, que também apresentou uma relação *orto* com o dubleto em δ 7,29 (1H, d, J = 8,3Hz, H-5’). Sinais que revelaram a presença de um sistema AMX através dos respectivos valores das constantes de acoplamento.

O espectro de RMN bidimensional de correção homonuclear ¹H – ¹H (COSY) (**Fig. 84, pág. 99**) revelou a correlação entre os sinais δ 7,91 (H-2’), 7,53 (H-6’) e 7,29 (H-5’), confirmando a presença de um sistema do tipo AMX.

O espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, C₅D₅N) de **SS7** (**Fig. 79, pág. 96**) exibiu quinze linhas espectrais entre δ 183,0 e 95,1; das quais a absorção em δ 183,0 foi associada a um carbono de carbonila, e as quatorze linhas restantes na faixa de δ 95,1 – 166,1 foram

relacionadas a carbonos sp^2 . Dentre os carbonos insaturados, observou-se que seis sinais na faixa de δ 148,1 - 166,1 provavelmente encontravam-se oxigenados.

A análise comparativa entre os espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -DEPT 135 (**Fig. 83, pág. 98**) revelou a existência de seis carbonos metínicos, e nove carbonos não hidrogenados como mostrado na **Tabela 17**.

Tabela 17 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de **SS7** por padrão de hidrogenação.

C	CH	Fórmula Parcial
183,0	119,8	$\text{C}_{15}\text{H}_6\text{O}_1$
166,1	117,2	
165,2	114,9	
163,4	104,2	
158,8	100,2	
152,0	95,1	
148,1		
123,2		
105,3		
C_9O (1 carbonila)	C_6H_6	

A reunião de todos os dados espectroscópicos descritos acima permitiu a obtenção da fórmula parcial $\text{C}_{15}\text{H}_6\text{O}_1$, sugerindo, desta forma, a estrutura de um esqueleto flavonoídico para **SS7**.

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C a uma ligação, com detecção no canal de hidrogênio (HSQC) (**Fig. 85, pág. 100**) permitiu associar inequivocamente os sinais de todos os hidrogênios a seus respectivos carbonos (**Tabela 18, pág. 94**).

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C a mais de uma ligação, com detecção no canal de hidrogênio (HMBC) (**Fig. 86, pág. 101**) mostrou os acoplamentos à longa distância entre o hidrogênio olefínico em δ 6,91 (H-3) com os carbonos em δ 105,3 (C-10); δ 165,2 (C-2) e com o carbono carbonílico em δ 183,0 (C-4), e definitivamente sugeriu a estrutura de uma flavona (**Figura 73, pág. 92**).

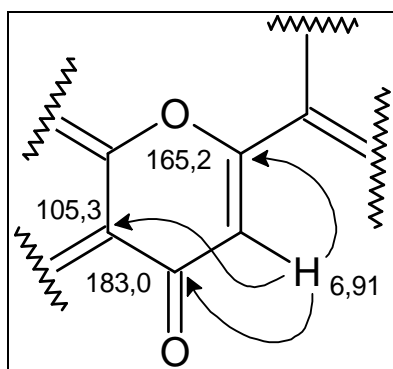


Figura 73 - Sub-estrutura I para SS7.

Nesta análise, foram ainda observadas as correlações dos sinais dos hidrogênios aromáticos em δ 7,91 (H-2') e 7,53 (H-6') com o carbono oxigenado em δ 165,2 (C-2), e do hidrogênio em δ 7,29 (H-5') com os carbonos oxigenados em δ 152,0 (C-4') e 148,1 (C-3'), e também com do hidrogênio em δ 7,53 com o carbono oxigenado em δ 152,0 (C-4'). Tais informações levaram à confirmação de que o anel B encontrava-se 3',4'-O-dissubstituído como mostrado na sub-estrutura abaixo (**Figura 74 e 75**).

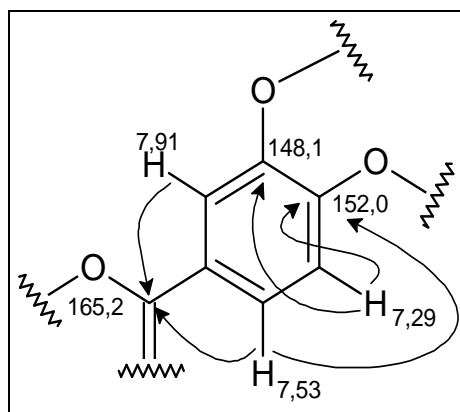


Figura 74 - Sub-estrutura IIa para SS7.

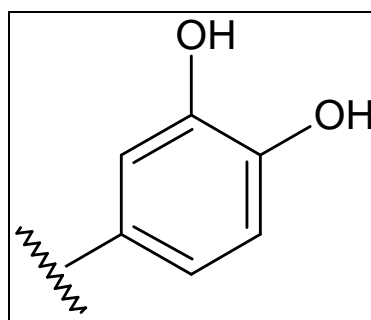


Figura 75 - Sub-estrutura IIb para SS7.

Em adição, foram também observadas a correlação do sinal do hidrogênio em δ 6,74 (H-6/8) com os carbonos em δ 95,1 (C-8), 100,2 (C-6) e 105,3 (C-10), o que indicou a posições da hidroxila em C-7 e permitiu a construção da sub-estrutura abaixo (**Figura. 76**).

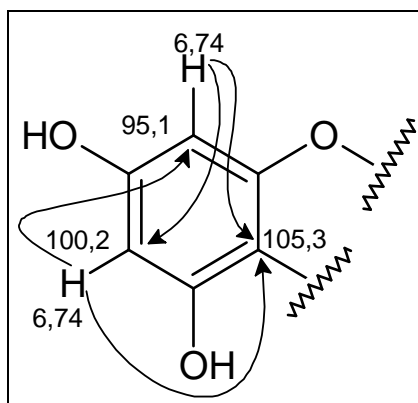


Figura 76 - Sub-estrutura III para **SS7**.

A comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C de **SS7** com aqueles publicados na literatura (**Tabela 19, pág. 95**) para flavonas, indicou para **SS7** a estrutura da 4H-1-benzopirano-4-ona-2-(3,4 dihidroxifenil)-5,7-dihidroxi (luteonina) (**Figura 77**, abaixo), isolada anteriormente da espécie *Centaurea bracteata* (Asteraceae) (FLAMINI, 2001), sendo relatada pela primeira vez no gênero *Stachytarpheta*.

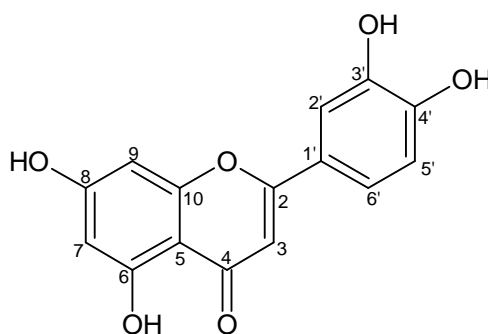


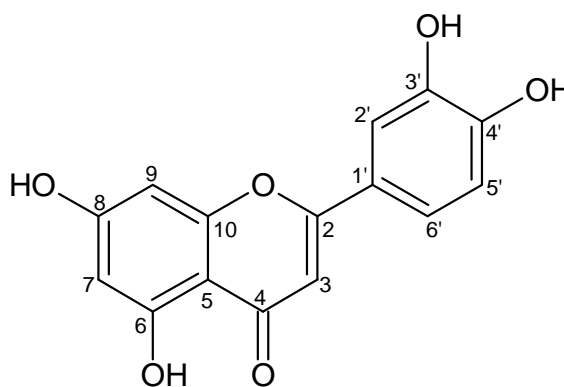
Figura 77 - Estrutura de luteolina (**SS7**).

Tabela 18 - Correlação heteronuclear de RMN ^1H e ^{13}C (HSQC e HMBC) de **SS7**.

	$^{13}\text{C-BB}$	HSQC	HMBC	
C	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
2	165,2		6,91	7,91
3	104,2	6,91 (1H,s)		
4	183,0		6,91	
5	163,4		6,74	
6	100,2	6,74 (2H, s)		6,74
7	166,1		6,74	
8	95,1	6,74 (2H, s)		6,74
9	158,8		6,74	
10	105,3			6,74 e 6,91
1'	123,2			7,29 e 6,91
2'	114,9	7,91 (1H, d, $J = 1,9$ Hz)		7,53
3'	148,1		7,91	7,29
4'	152,0		7,29	7,91 e 7,53
5'	117,2	7,29 (1H, d, $J = 8,3$ Hz)		
6'	119,8	7,53 (1H, dd, $J = 8,3;1,9$ Hz)		7,91

Tabela 19 - Comparação de dados de RMN ^{13}C de **SS7** (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) com os descritos na literatura para luteolina (125 MHz, DMSO-d) (FLAMINI, 2001).

		AGRAWAL	FLAMINI, 2001
	SS7	LUTEOLINA	LUTEOLINA
C	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
2	165,2	164,5	163,9
3	104,2	103,3	102,9
4	183,0	182,2	181,7
5	163,4	162,1	161,5
6	100,2	99,2	98,8
7	166,1	164,7	164,2
8	95,1	94,2	93,8
9	158,8	157,9	157,3
10	105,3	104,2	103,7
1'	123,2	122,1	121,5
2'	114,9	113,8	113,4
3'	148,1	146,2	145,8
4'	152,0	150,2	149,7
5'	117,2	116,4	116,0
6'	119,8	119,3	119,0



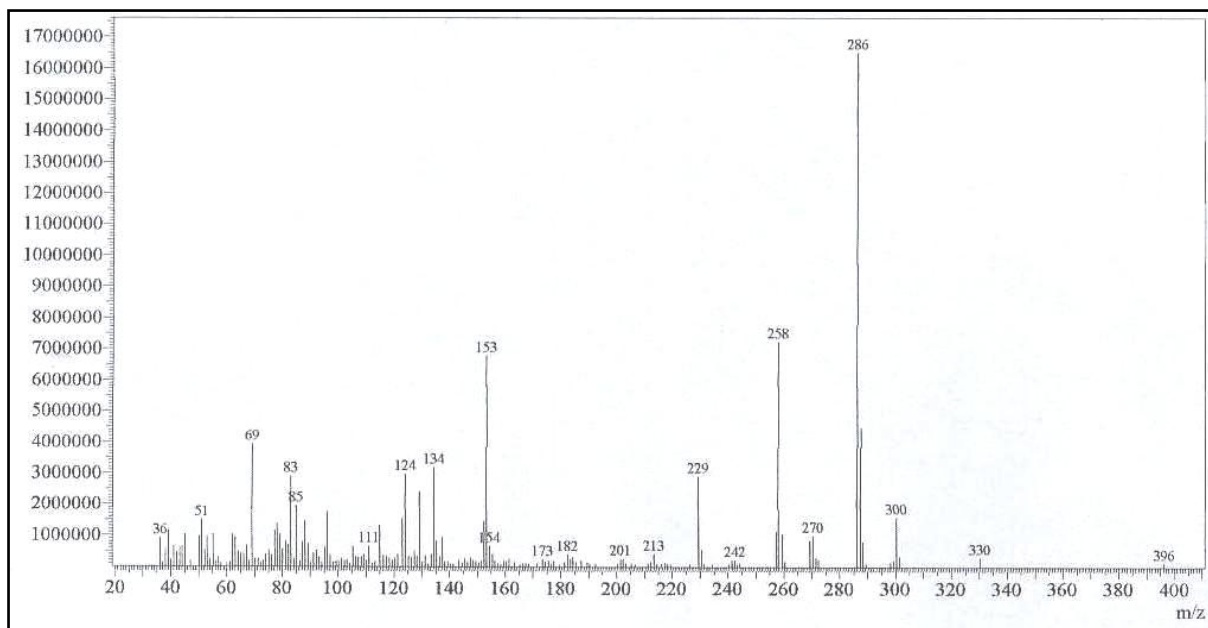


Figura 78 - Espectro de massa 70 eV de SS7.

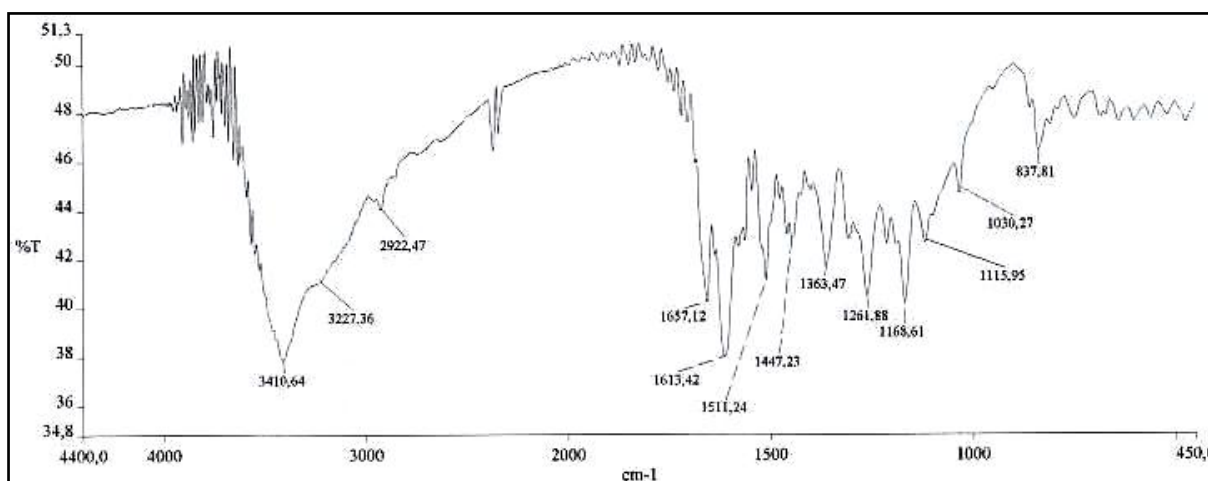


Figura 79 - Espectro de infravermelho de SS7.

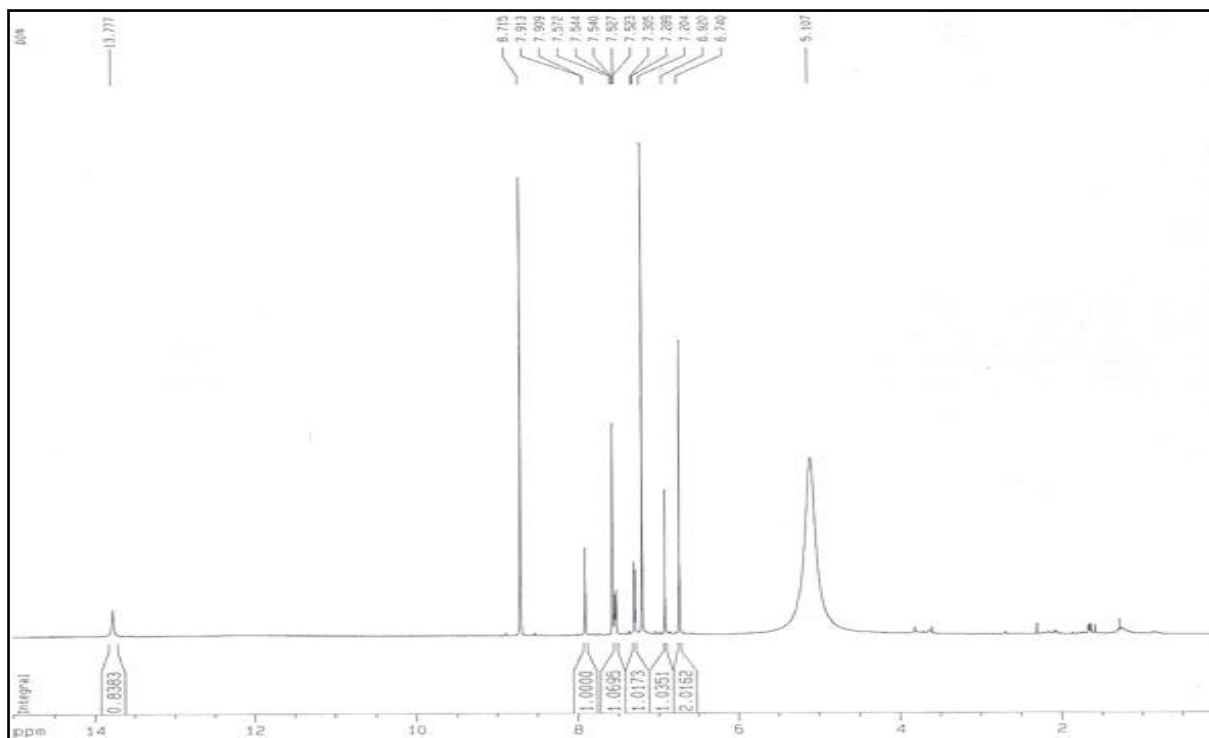


Figura 80 - Espectro de RMN ¹H (500 MHz, C₅D₅N) de SS7.

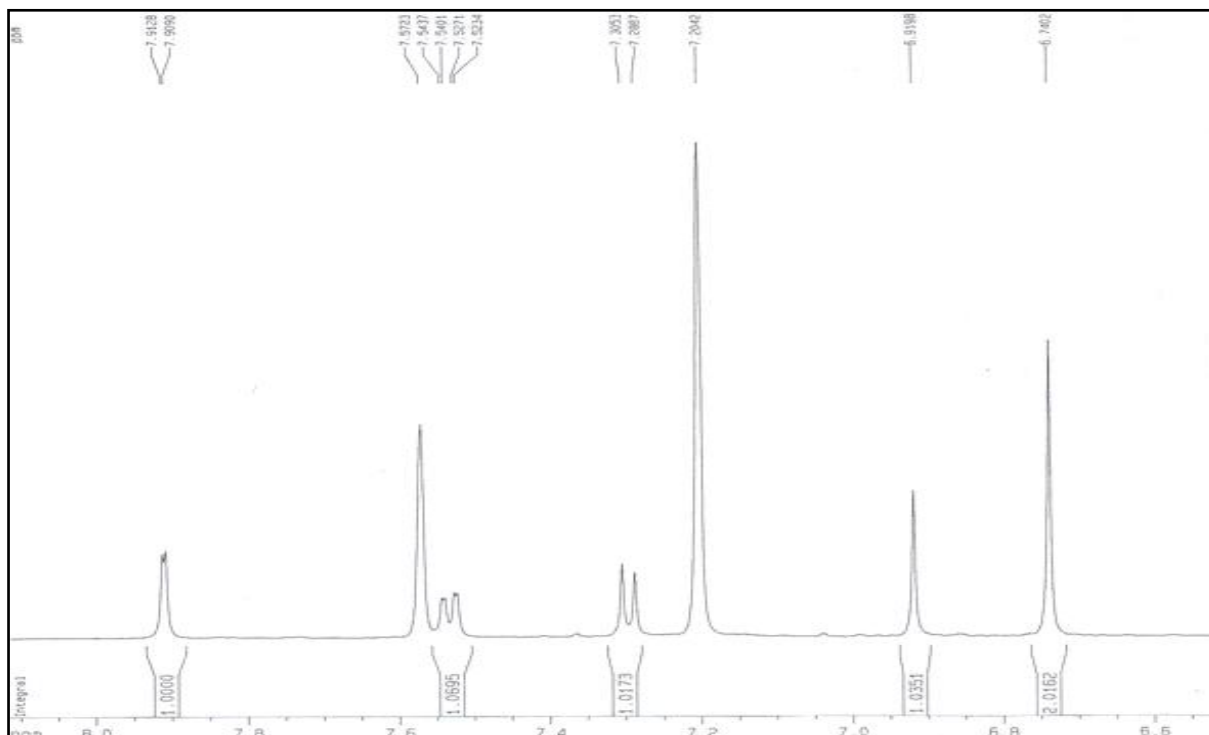


Figura 81 - Expansão de 6,5 a 8,0 ppm do espectro de RMN ¹H (500 MHz, C₅D₅N) de SS7.

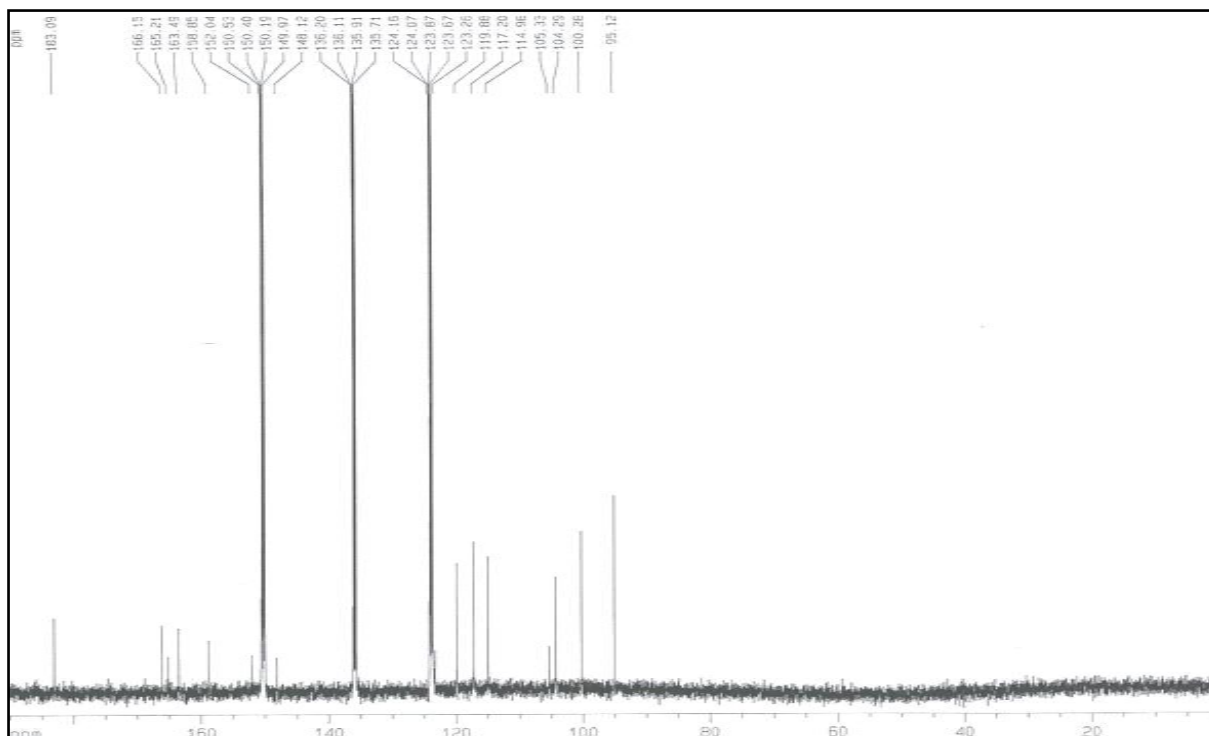


Figura 82 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS7.

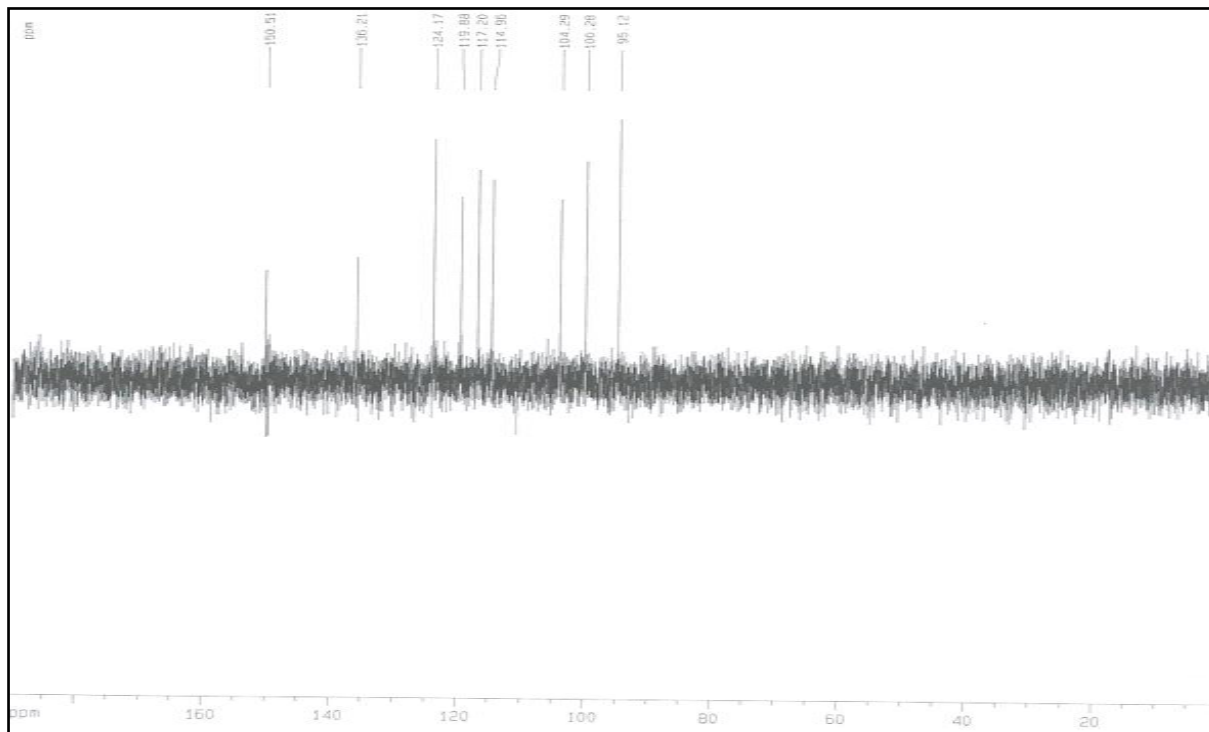


Figura 83 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SS7.

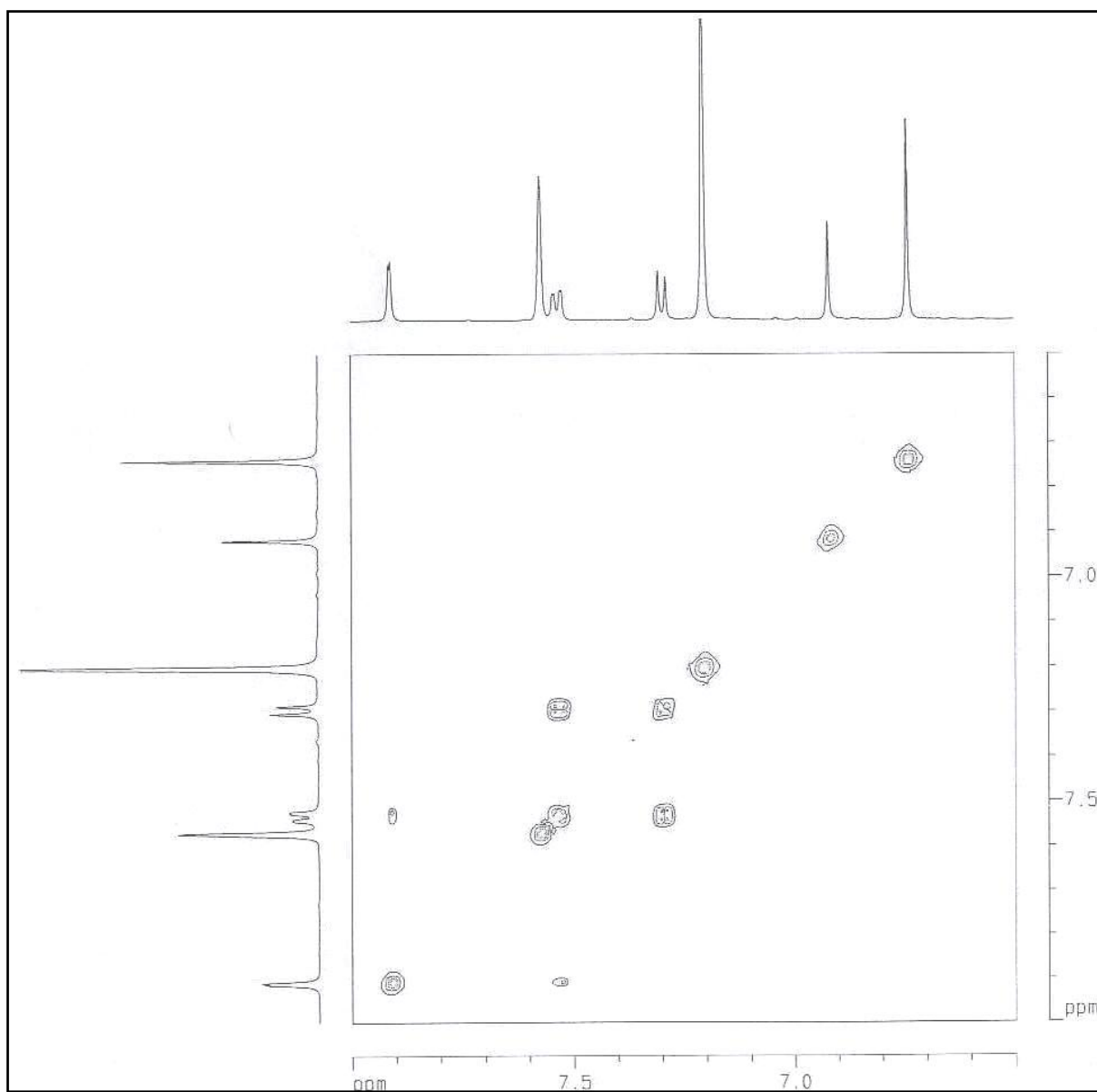


Figura 84 - Expansão do espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) de **SS7**.

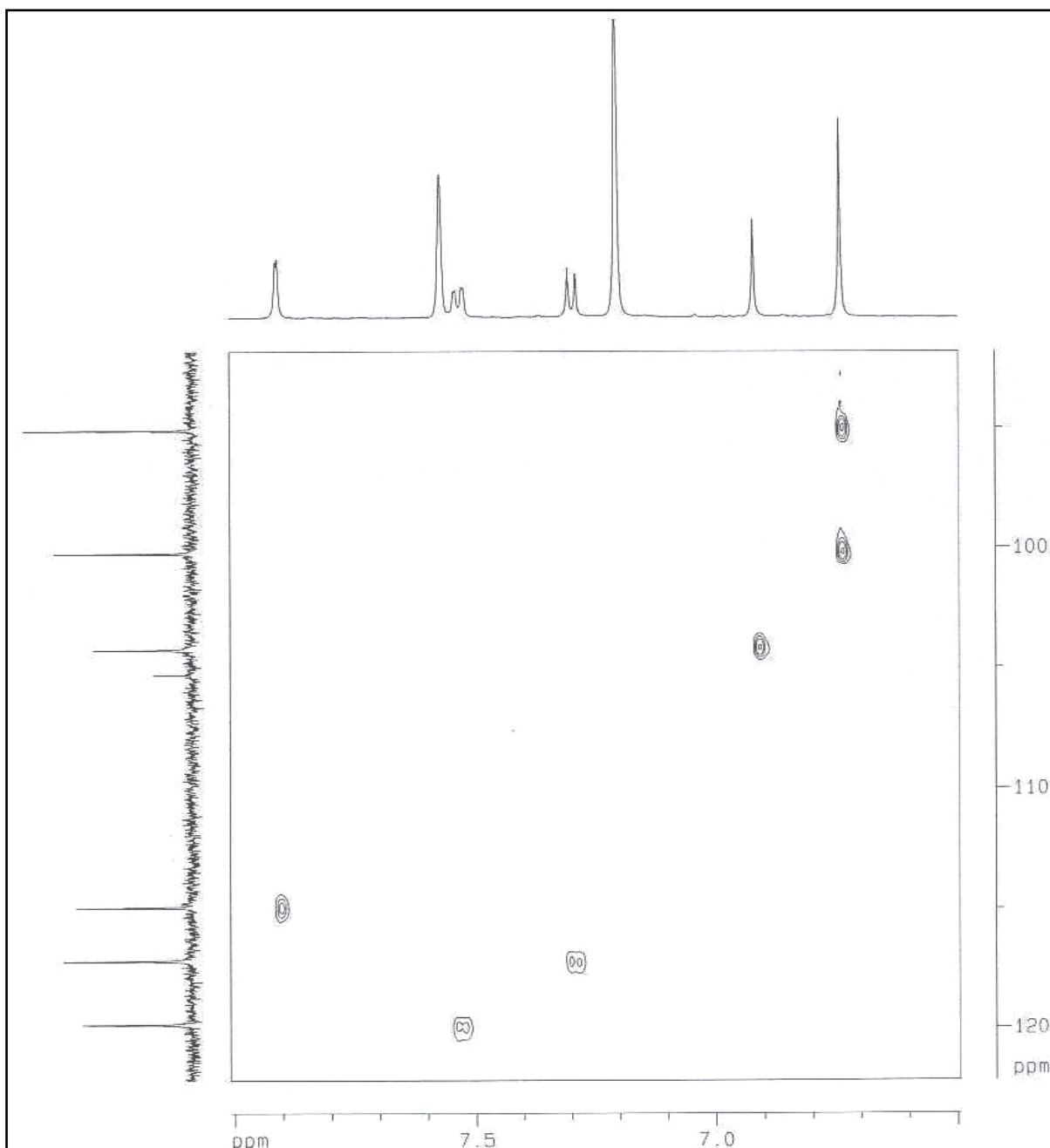


Figura 85 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação ^1H - ^{13}C (HSQC) de **SS7**.

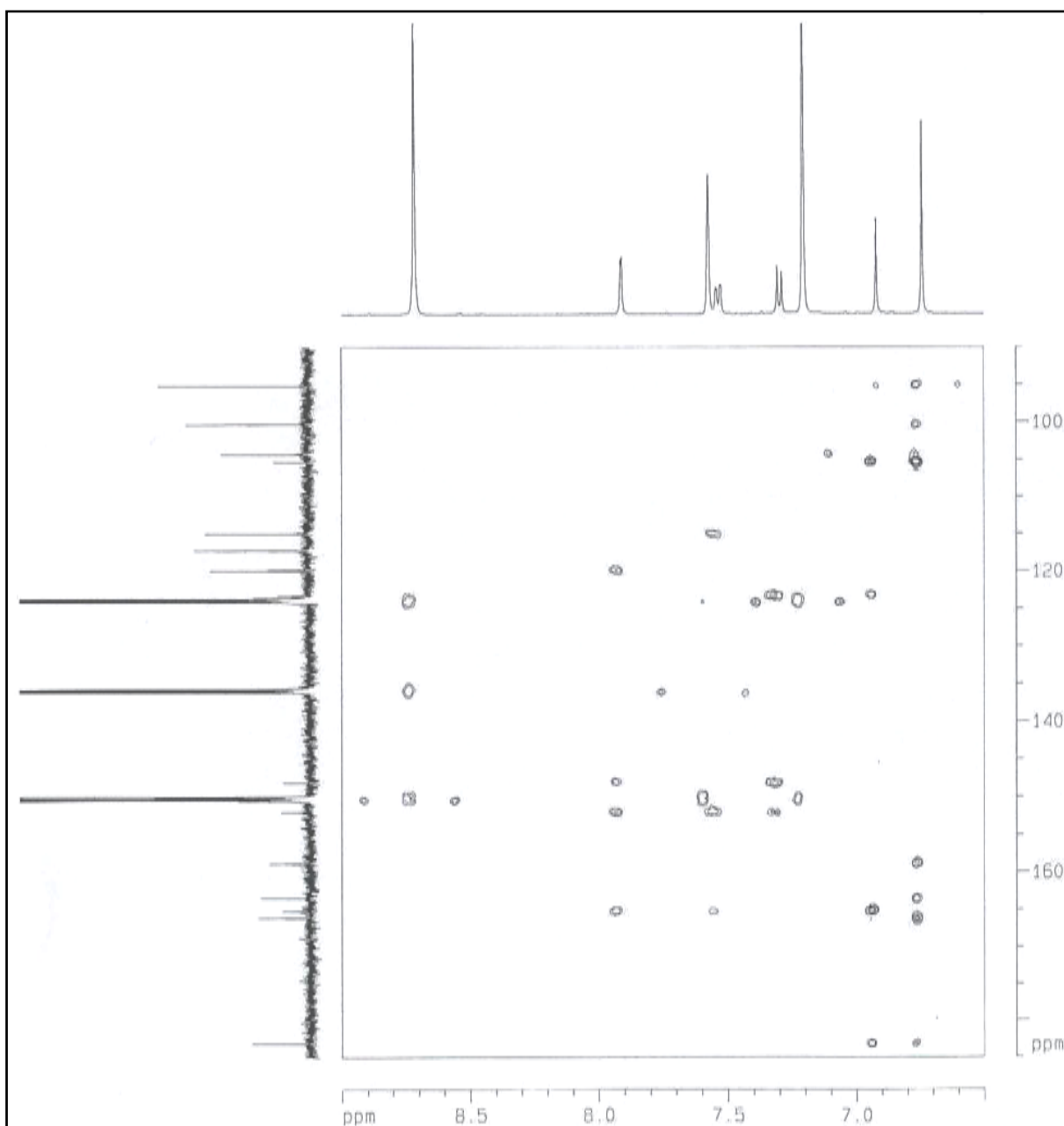


Figura 86 - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a mais de uma ligação $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (HMBC) de **SS7**.



CAPÍTULO 5

PARTE EXPERIMENTAL

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

5.1.1 Cromatografia de adsorção

As cromatografias de adsorção foram realizadas utilizando-se colunas com gel de sílica 60 ($\text{\O} \mu\text{m}$ 63-200) e de sílica 60 para cromatografia “flash” ($\text{\O} \mu\text{m}$ 40-63), da Merck e da Vetec. O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as alíquotas das amostras e a quantidade de gel de sílica utilizada. As colunas utilizadas na cromatografia de adsorção sob pressão média (cromatografia “flash”) foram de vidro resistente à pressão e continham bulbos no ápice, para armazenamento do solvente. Foi empregada nesta técnica, bomba de ar comprimido modelo Inalar Compact nº 4724059.

Para cromatografia de camada delgada (CCD) utilizou-se cromatoplasmas de gel de sílica 60 ($\text{\O} \mu\text{m}$ 2-25), sobre alumínio, da Merck (com indicador de fluorescência na faixa de 254 nm). As placas preparativas empregadas foram feitas utilizando-se placas de vidro de dimensões 20x20 cm com gel de sílica 60 ($\text{\O} \mu\text{m}$ 2-25).

Os eluentes utilizados nos procedimentos cromatográficos foram: hexano, clorofórmio, acetato de etila, metanol, puros ou combinados em proporções crescentes de polaridade. Os eluentes utilizados nos tratamentos por cromatografia de adsorção sobre pressão média foram escolhidos após análise prévia das frações por CCD, a fim de permitir ao constituinte desejado (ou aquele de menor R_f) apresentar R_f entre 0,15 e 0,30. Estes eluentes escolhidos foram utilizados no acondicionamento da sílica nas colunas e como eluentes de partida no procedimento cromatográfico.

A revelação das substâncias nas cromatoplasmas analíticas foi obtida por exposição à luz ultravioleta em dois comprimentos de onda (254 e 365 nm) realizado em aparelho Spectroline modelo ENF 240C/F, por contato com vapores de iodo (I_2) e por aspersão com solução de vanilina ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$) e ácido perclórico (HClO_4) em etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), seguido de aquecimento em chapa aquecedora em 110°C por aproximadamente 2 minutos.

5.1.2 Cromatografia de exclusão.

Os fracionamentos por cromatografia de exclusão foram efetuados em gel de Dextrana Sephadex LH-20 da Pharmacia Fine Chemicals, utilizando-se metanol puro como eluente.

5.2 MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS.

5.2.1 Espectrometria na região do infravermelho (IV).

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em espectrômetro Perkin Elmer, modelo FT-IR Spectrum 1000 da central analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, utilizando pastilha de KBr para análises das amostras.

5.2.2 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e de carbono-13 (RMN ^{13}C).

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e carbono-13 (RMN ^{13}C) uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelo Avance DPX-300 ou modelo Avance DRX-500, pertencente ao Centro Nordeste de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear, da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN-UFC), operando na frequência do hidrogênio a 300,13 MHz e a 500,13 MHz, e na frequência do carbono a 75,47 MHz e a 125,75 MHz, respectivamente.

Os solventes utilizados nas dissoluções das amostras para obtenção dos espectros foram: clorofórmio deuterado (CDCl_3), metanol deuterado (CD_3OD), piridina deuterado ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) e dimetilsulfóxido deuterado ($\text{C}_6\text{D}_6\text{SO}$) comercializados pela Norell, Merck e Aldrich.

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em parte por milhão (ppm) e referenciados, no caso dos espectros de hidrogênio, pelos picos dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não deuteradas dos solventes deuterados utilizados: clorofórmio (δ 7,27), dimetilsulfóxido (δ 2,50), piridina (δ 7,22; δ 7,58 e δ 8,74). Nos picos dos carbonos-13 dos solventes: clorofórmio (δ 77,20), dimetilsulfóxido (δ 39,51), piridina (δ 123,87 δ 135,91 e δ 150,35).

A multiplicidade dos sinais de hidrogênio nos espectros de RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: s (singlete), d (dublete), dd (duplo dublete), t (triplete), q (quarteto), e m (multiplete).

A técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), foi utilizada na determinação do padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN ^{13}C , descrito segundo a convenção: C (carbono não-hidrogenado), CH (carbono metínico), CH_2 (carbono metilênico), CH_3 (carbono metílico).

5.2.3 Espectrometria de massa.

Os espectros de massa dos compostos isolados foram obtidos em um espectrômetro de Massa Hewlett-Packard, modelo HP-5791 A, acoplado a cromatógrafo gás-líquido modelo HP A série II (CGL/EM), provido de coluna capilar DB-5 (dimetilpolisiloxano) com 30,0 m de comprimento; 0,25 mm de diâmetro interno e filme de 0,1 μm . A razão de aquecimento do injetor foi de 35-180 $^\circ\text{C}/4^\circ\text{C}/\text{min}$ e 180-280 $^\circ\text{C}/35^\circ\text{C}/\text{min}$, utilizando hidrogênio como gás de arraste.

5.2.4 Ponto de fusão (PF).

Os pontos de fusão foram obtidos em equipamentos de microdeterminação Micro Química Equipamento Ltda., com placa aquecedora modelo MQAPF-302, pertencente ao departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. As determinações foram realizadas com gradiente de aquecimento de 3 $^\circ\text{C}/\text{min}$.

5.3 ESTUDOS DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS NÃO VOLÁTEIS DE *Stachytarpheta sessilis* Moldenk.

5.3.1 Material botânico.

As raízes, talos e folhas de *Stachytarpheta sessilis* Moldenk foram coletados no município de Quixadá-CE em 30 de junho de 2006, pelo professor Dr. Edilberto Rocha Silveira, do Departamento de Química Orgânica da Universidade Federal do Ceará - UFC.

A identificação botânica foi realizada pelo prof. Edson de Paula Nunes, pertencente ao Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, e a exsicata referente à coleta

encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra, no Departamento de Biologia de Universidade Federal do Ceará, sob nº 39321 (**Figura 87**).

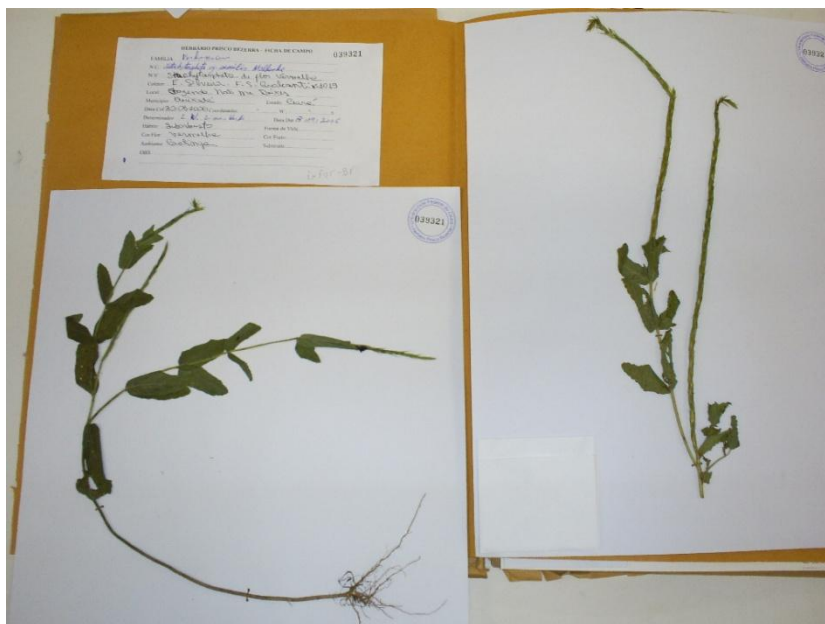


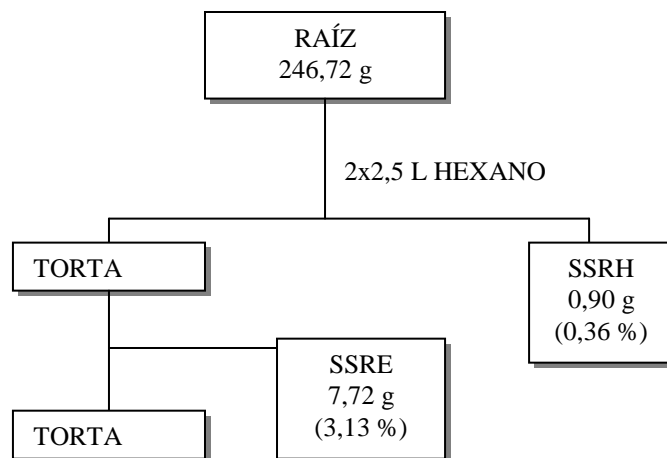
Figura 87 - Exsicata de *Stachytarpheta sessilis* Moldenk.

5.3.2 Obtenção dos extratos das raízes, talos e folhas de *Stachytarpheta sessilis* Moldenk.

246,72 g de raízes de *Stachytarpheta sessilis* Moldenk, depois de secas e trituradas, foram extraídas exaustivamente com hexano a frio em erlenmeyer de 3,0 L utilizando-se 2,5 L (2x) do solvente. Após destilação do solvente sob pressão reduzida em evaporador rotativo, obteve-se um extrato de cor verde denominado de **SSRH** (0,90 g).

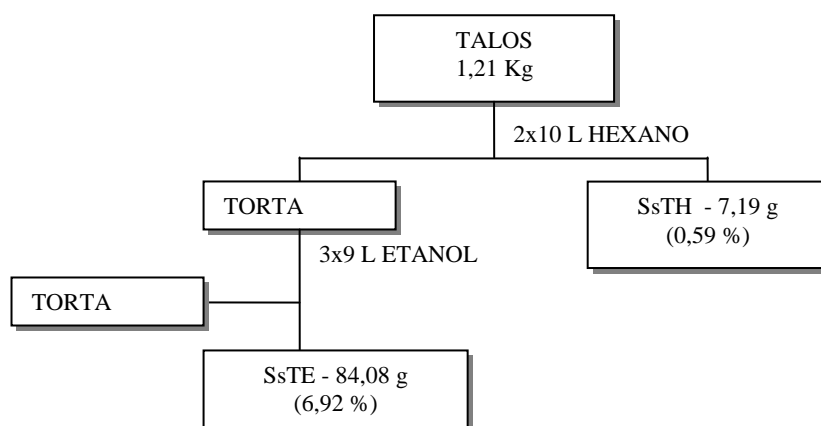
A torta proveniente da extração com hexano, depois de seca, foi submetida a extração exaustiva com etanol a frio, fornecendo um extrato de cor verde escuro, denominado **SSRE** (7,72g) (**Fluxograma 1, pág. 107**).

Fluxograma 1 - Obtenção dos extratos hexânico e etanólico das raízes de *Stachytarpheta sessilis* Moldenk e seus rendimentos.



1,21 Kg de talos de *Stachytarpheta sessilis* Moldenk, depois de secos e triturados, foram extraídos exhaustivamente com hexano a frio. Após destilação do solvente sob pressão reduzida em evaporador rotativo, obteve-se um extrato de cor verde escuro denominado de **SsTH** (7,19 g). A torta proveniente da extração com hexano, depois de seca, foi submetida a uma extração exhaustiva com etanol a frio, fornecendo um extrato de cor verde escuro, denominado **SsTE** (84,08 g) (**Fluxograma 2**).

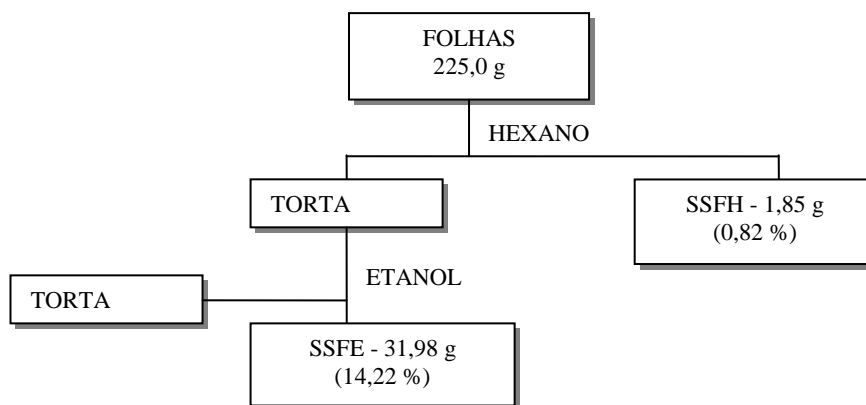
Fluxograma 2 - Obtenção dos extratos hexânico e etanólico dos talos de *Stachytarpheta sessilis* Moldenk e seus rendimentos.



225,0 g de folhas de *Stachytarpheta sessilis* Moldenk, depois de secas e trituradas, foram extraídas exhaustivamente com hexano a frio. Após destilação do solvente sob pressão reduzida em evaporador rotativo, obteve-se um extrato de cor verde amarelado denominado de **SSFH** (1,85 g). A torta proveniente da extração com hexano, depois de seca, foi submetida

a uma extração exaustiva com etanol a frio, fornecendo um extrato de cor verde escuro, denominado **SSFE** (31,98 g) (**Fluxograma 3**).

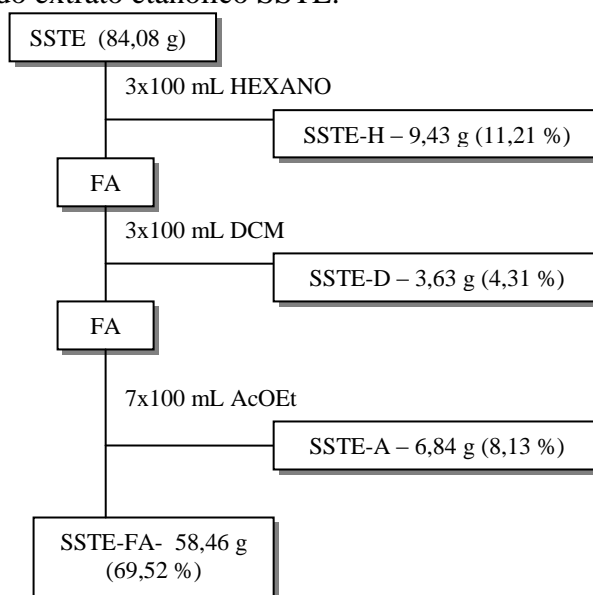
Fluxograma 3 - Obtenção dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Stachytarpheta sessilis* Moldenk e seus rendimentos.



5.3.3 Partição do extrato etanólico dos talos de *Stachytarpheta sessilis* Moldenk – SSTE.

84,08 g de SSTE foi submetida à partição líquido-líquido através da dissolução em uma mistura 1:1 MeOH e água destilada e extração com os solventes: hexano, diclorometano e acetato de etila. As frações foram denominadas **SSTE-H**, **SSTE-D** e **SSTE-A** respectivamente. A fase aquosa remanescente foi denominada de **SSTE-FA** (**Fluxograma 4**).

Fluxograma 4 - Partição do extrato etanólico SSTE.



5.3.3.1 Fracionamento cromatográfico da fração SSTE-D.

O fracionamento cromatográfico em coluna “flash” de SSTE-D (507,7 mg) foi realizado com adsorção da amostra em aproximadamente 630,0 mg de sílica gel 60 (\emptyset 40-63 μ m), pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre 25,93 g de sílica gel 60 (\emptyset 40-63 μ m) em uma coluna de 2,5 cm de diâmetro. A eluição realizada através do uso dos solventes; clorofórmio (CHCl_3), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH) seguindo um gradiente de concentração em ordem crescente de polaridade (**Tabela 20**), levando a obtenção de 50 frações. A análise em CCD permitiu a reunião de frações que se mostraram semelhante como mostra a **Tabela 21**.

Tabela 20 - Solventes de eluição da fração SSTE-D.

SOLVENTE	VOLUME (mL)	FRAÇÕES (~10 mL)
CHCl_3 / AcOEt 5 %	100	0 (50mL) 1 a 5
CHCl_3 / AcOEt 10 %	50	6 a 9
CHCl_3 / AcOEt 20 %	50	10 a 15
CHCl_3 / AcOEt 40 %	50	16 a 21
CHCl_3 / AcOEt 60 %	50	22 a 27
CHCl_3 / AcOEt 80 %	50	28 a 33
AcOEt	50	34 a 38
AcOEt/MeOH 50 %	50	39 a 43
MeOH	100	44 a 50

Tabela 21 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-D.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	1-3	2,8	0,5
2	4-10	4,8	0,9
3	11-14	22,0	4,3
4	15-17	10,3	2,0
5	18-21	12,6	2,4
6	22-25	26,1	5,1
7	26-29	15,9	3,1
8	30-37	41,8	8,2
9	38-42	20,5	4,0
10	43-46	252,1	49,6
11	47-50	68,3	13,4

Observou-se a precipitação de um sólido amorfo amarelo na fração 6, que após recristalização em acetato de etila, mostrou-se homogêneo em CCD e foi denominado de **SS1** (10,2 mg). Análise dos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C de **SS1** permitiu a sua caracterização como sendo a flavona crisoeriol.

5.3.3.2 Segundo Fracionamento cromatográfico da fração SSTE-D2.

Fracionamento cromatográfico em coluna “flash” de SSTE-D2 (1,16 g), foi realizado por adsorção da amostra em aproximadamente 806,6 mg de sílica gel 60 (\emptyset 40-63 μm), pulverização em gral de porcelana e acondicionamento em 31,35 g de sílica gel 60 (\emptyset 40-63 μm) em uma coluna de 2,5 cm de diâmetro. A eluição se deu com o uso dos solventes hexano (Hex), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), puros ou em misturas binárias seguindo uma ordem crescente de polaridade, e levou a obtenção de 127 frações (**Tabela 22**). A análise em CCD permitiu a reunião de frações que se mostraram semelhantes, como mostra a **Tabela 23**.

Tabela 22 - Solventes de eluição da fração SSTE-D2.

SOLVENTE	VOLUME (mL)	FRAÇÕES (~15 mL)
Hex/DCM 90 %	400	1 a 31
DCM	300	32 a 51
DCM / AcOEt 10 %	400	52 a 83
DCM / AcOEt 30 %	300	84 a 122
DCM / AcOEt 50 %	200	123 (100 mL)
AcOEt	200	124 (100 mL)
MeOH	300	125 a 127 (100 mL)

Tabela 23 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-D2.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	1 – 12	42,80	3,67
2	13 – 22	14,00	1,20
3	23 – 45	26,30	2,25
4	46 – 56	3,40	0,29
5	57 – 62	35,10	3,00
6	63 – 89	85,60	7,34
7	90 – 119	113,10	9,70
8	120 – 122	14,00	1,20
9	123	61,30	5,26
10	124	111,80	9,59
11	125	611,00	52,42
12	126	35,30	3,03
13	127	6,10	0,52

5.3.3.2.1 Fracionamento cromatográfico da fração SSTE-D2-F6.

A fração SSTE-D2-F6 (63-89) foi adsorvida em 299,2 mg de sílica 60 (\varnothing μ m 40-63) e recromatografada em 14,24 g de sílica 60 (\varnothing μ m 40-63) em uma coluna de 2,0 cm de diâmetro. Foram utilizados como eluentes os solventes diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH) em mistura binária seguindo um gradiente crescente de polaridade, para a obtenção de 146 frações (**Tabela 24**). A análise em CCD permitiu a reunião de frações semelhantes como mostra a **Tabela 25**.

Tabela 24 - Solventes de eluição da fração SSTE-D2-F6.

SOLVENTE	VOLUME (mL)	FRAÇÕES (~15 mL)
DCM / AcOEt 5 %	400	1 a 40
DCM / AcOEt 10 %	200	41 a 60
DCM / AcOEt 20 %	200	61 a 78
DCM / AcOEt 50 %	200	79 a 94
DCM / AcOEt 80 %	200	95 a 109
AcOEt	200	110 a 125
AcOEt / MeOH	200	126 a 140
MeOH	100	141 a 146

Tabela 25 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-D2-F6.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	1 – 16	6,00	7,00
2	17 – 25	6,10	7,10
3	26 – 64	47,70	55,72
4	65 – 84	7,90	9,22
5	85 – 109	7,10	8,29
6	110 – 125	4,00	4,67
7	126 – 146	6,10	7,10

5.3.3.2.2 Fracionamento cromatográfico da fração SSTE-D2-F6-F3, isolamento de SS3.

47,7 mg de SSTE-D-F6-F3 foram dissolvidas em metanol e apenas uma parte foi solubilizada (24,0 mg), resultando em uma fração solúvel e em uma fração insolúvel na forma de um sólido amorfo. A fração solúvel foi submetida a cromatografia por exclusão em gel de Sephadex LH-20 utilizando metanol como fase móvel, numa vazão de aproximadamente 1 mL/4 min. Foram coletadas 16 frações de aproximadamente 2 mL. A análise em CCD permitiu a reunião das frações semelhantes como mostra **Tabela 26, pág. 112**.

Tabela 26 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-D2-F6-F3.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	1 – 3	10,80	22,60
2	4 – 9	18,20	67,50
3	10 - 16	3,70	7,70

Após análise em CCD das frações obtidas, a fração 1-3 se mostrou idêntica à fração não-solúvel. Desta forma, estas frações foram reunidas e a fração resultante (24,6 mg) foi submetida à cromatografia de fase reversa em cartucho de C18, por eluição com metanol. Neste procedimento foi obtido um sólido branco amorfo (14,4 mg), denominado de **SS3**. A posterior análise espectroscópica de RMN de ^1H e ^{13}C de **SS3**, permitiu a sua caracterização como sendo o triterpeno de esqueleto ursano ácido ursólico.

5.3.3.3 Fracionamento cromatográfico de SSTE-A.

A fração SSTE.A (2,05 g) foi submetida a cromatografia por exclusão em gel de Sephadex LH-20 utilizando metanol como fase móvel, numa coluna de $\varnothing=3,5\text{m}$ e altura e 29 cm com vazão de aproximadamente 1 mL/6 min. Foram coletadas 70 frações de aproximadamente 10 mL, uma de 300 mL, duas de 200 mL e outra de 50 mL, totalizando 74 frações. As frações foram analisadas em CCD e posteriormente reunidas como mostra a **Tabela 27**.

Tabela 27 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-A.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	1-8	110,20	5,30
2	9-12	131,80	6,40
3	13-16	347,40	12,60
4	17-26	801,50	39,00
5	27-35	371,00	18,00
6	36-40	83,20	4,00
7	41-56	154,90	7,30
8	57-74	150,70	6,80

5.3.3.3.1 Fracionamento cromatográfico de SSTE-A-F5.

A fração SSTE-A-F5 com 371,0 mg foi adsorvida em 580 mg de sílica 60 (\varnothing μ m 40-63) e recromatografada em 33,25 g de sílica 60 (\varnothing μ m 40-63) em uma coluna de $\varnothing=2,5$ cm e altura de 24 cm. Foram utilizados como eluentes os solventes diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH) em mistura binária seguindo um gradiente crescente de polaridade, para a obtenção de 97 frações (**Tabela 28**), sendo as 27 primeiras de aproximadamente 5 mL as 67 seguintes de aproximadamente 10 mL e as duas ultimas de 100 e 75 mL. As frações foram analisadas em CCD e posteriormente reunidas como mostra a **Tabela 29**.

Tabela 28 - Solventes de eluição da fração SSTE-A-F5.

SOLVENTE	VOLUME (mL)	FRAÇÕES
DCM/AcOEt 85 %	100	0 (50 mL)
		1 a 10 (~5 mL)
DCM/AcOEt 90 %	100	11 a 27 (~5 mL)
DCM/AcOEt 95 %	100	28 a 38 (~10 mL)
AcOEt	100	39 a 47 (~10 mL)
AcOEt/MeOH 5 %	100	48 a 56 (~10 mL)
AcOEt/MeOH 10 %	100	57 a 67 (~10 mL)
AcOEt/MeOH 30 %	100	68 a 78 (~10 mL)
AcOEt/MeOH 50 %	100	79 a 87 (~10 mL)
MeOH	200	89 e 90

Tabela 29 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-A-F5.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	1-10	2,20	0,59
2	11-17	2,20	0,59
3	18-24	4,50	1,21
4	22-45	0,70	0,18
5	46-55	14,80	3,98
6	56-73	110,10	29,66
7	74-82	60,10	16,19
8	83-97	174,10	46,91

5.3.3.3.2 Filtração de SSTE-A-F5-F5.

A fração SSTE-A-F5-F5 (14,8 mg) foi filtrada resultando em 7,0 mg de um sólido branco denominado **SS6**.

5.3.3.3.3 Fracionamento cromatográfico de SSTE-A-F4.

A fração SSTE-A-F4 (801,5 mg) foi submetida a cromatografia por exclusão em gel de Sephadex LH-20 utilizando metanol como fase móvel, numa coluna de Ø=3,5 cm e altura de 24 cm com vazão de aproximadamente 1 mL/5 min. Foram coletadas 34 frações e aproximadamente 10 mL e uma de 125 mL e outra de 150 mL, totalizando 36 frações coletadas. As frações foram analisadas em CCD e posteriormente reunidas como mostra a **Tabela 30**.

Tabela 30 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-A-F4.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	1-9	40,00	4,90
2	10-12	116,20	14,40
3	13-16	350,60	43,70
4	17-20	178,30	22,20
5	21-34	71,50	8,90
6	35	13,70	1,70
7	36	30,60	3,80

As frações 2 e 3 foram filtradas e delas separado 7,9 mg de um sólido branco que através de uma co-cromatografia em CCD que após revelação com vanilina, mostrou-se idêntica a **SS6**. As frações foram então reunidas somando 14,9 mg do sólido denominado de **SS6**. A posterior análise espectroscópica permitiu identificar **SS6** como sendo o esteróide estigmasterol glicosilado.

5.3.3.4 Segundo fracionamento cromatográfico de SSTE-A2.

A fração SSTE-A2 (2,04 g) foi submetida à cromatografia por exclusão em gel de Sephadex LH-20 utilizando metanol como fase móvel, numa coluna de Ø=4,0 cm e altura e 29 cm com vazão de aproximadamente 1 mL/3 min. Foram coletadas 36 frações que foram analisadas em CCD e posteriormente reunidas como mostra a **Tabela 31**, **pág. 115**.

Tabela 31 - Segundo fracionamento cromatográfico de SSTE-A2.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	1-9	187,90	9,20
2	10-13	167,40	8,20
3	14-17	308,10	15,10
4	18-23	500,20	24,50
5	24-28	350,60	17,10
6	29-33	159,80	7,80
7	34	298,00	14,60
8	35	33,10	1,60
9	36	30,30	1,40

5.3.3.4.1 Fracionamento cromatográfico de SSTE-A2-F7.

A fração SSTE-A2-F7 (298,0 mg) foi adsorvida em 660 mg de sílica 60 (\varnothing μ m 40-63) e recromatografada em 11,0 g de sílica 60 (\varnothing μ m 40-63) em uma coluna de \varnothing = 2,0 cm. Foram utilizados como eluentes os solventes diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH) em mistura binária seguindo um gradiente crescente de polaridade, para a obtenção de 69 frações (**Tabela 32**). Após análise em CCD as frações semelhantes foram reunidas como mostra a **Tabela 33**.

Tabela 32 - Solventes de eluição da fração SSTE-A2-F7.

SOLVENTE	VOLUME (mL)	FRAÇÕES (~10 mL)
DCM/AcOEt 20 %	400	1 a 48
DCM/AcOEt 50 %	100	49 a 59
AcOEt	100	60 a 68
MeOH	150	69

Tabela 33 - Fracionamento cromatográfico de SSTE-A2-F7.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	1-7	9,30	3,10
2	8-32	4,50	1,50
3	33-50	4,50	1,50
4	51-68	5,50	1,80
5	69	43,80	14,70

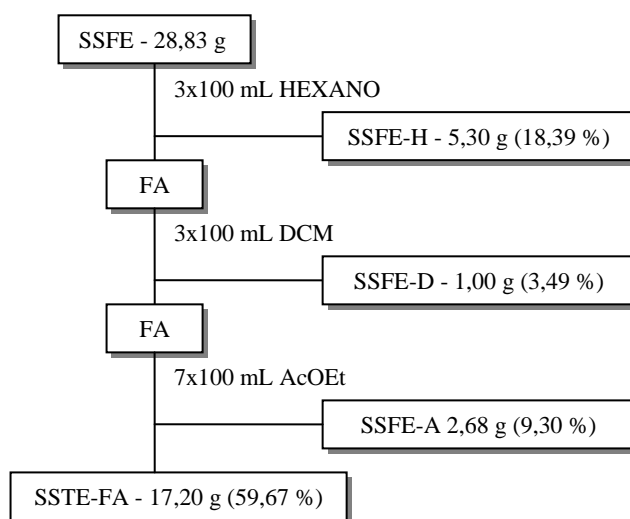
5.3.3.4.2 Fracionamento cromatográfico de SSTE-A2-F7-F3 e SSTE-A2-F7-F4.

As frações SSTE-A2-F7-F3 e SSTE-A2-F7-F4 com 4,5 mg cada uma foram submetidas a cromatografia de fase reversa em cartucho de C18/18 (Speed™) separadamente e nas mesmas condições, sendo utilizado como eluentes os sistemas de solventes H₂O/destilada (1/2 mL); H₂O/MeOH 10% (2 mL); H₂O/MeOH 30% (2 mL); H₂O/MeOH 50% (2 mL); H₂O/MeOH 80% (2 mL) MeOH 100% (3 mL) e AcOEt 100% (3 mL). Nas duas etapas foram coletadas 33 frações. As frações foram analisadas em CCD após reveladas com vapor de iodo (I₂), sendo possível o isolamento de 7,0 mg de um sólido amarelo-alaranjado denominado de **SS7**. Após análise espectroscópica, **SS7** foi identificado como sendo a flavona luteolina.

5.3.4 Partição do extrato etanólico das folhas de *Stachytarpheta sessilis* Moldenk – SSFE.

28,83 g de **SSFE** foram dissolvidos em uma solução de 30 mL de metanol e 100 mL de água destilada. A solução resultante foi transferida para um funil de separação de capacidade de 1,0 L, e submetida à partição líquido/líquido utilizando os solventes: hexano, diclorometano e acetato de etila. As frações foram denominadas **SSFE-H**, **SSFE-D** e **SSFE-A**, respectivamente, e a fase aquosa remanescente foi denominada de **SSFE-FA (Fluxograma 5)**.

Fluxograma 5 - Partição do extrato etanólico SSFE.



5.3.4.1 Fracionamento cromatográfico da fração SSFE-D.

Cromatografia “flash” da fração SSFE-D (1,00 g) por adsorção em 36,86 g de sílica gel 60 (\varnothing 40-63 μ m) em uma coluna de 2,5 cm de diâmetro, e a posterior eluição com os solventes diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), forneceu 88 frações (**Tabela 34**). A análise em CCD permitiu a reunião de frações que se mostraram semelhantes, como mostrado na **Tabela 35**.

Tabela 34 - Solventes de eluição da fração SSFE-D.

SOLVENTE	VOLUME (mL)	FRAÇÕES (~10 mL)
DCM	170	0 (150 mL)
DCM/AcOEt 4 %	100	1 a 8
DCM/AcOEt 10 %	100	9 a 15
DCM/AcOEt 20 %	50	16 a 20
DCM/AcOEt 30 %	100	21 a 31
DCM/AcOEt 40 %	100	32 a 42
DCM/AcOEt 50 %	100	43 a 53
DCM/AcOEt 70 %	100	54 a 64
AcOEt	100	65 a 76
AcOEt/MeOH 50 %	100	77 a 86
MeOH	100	87 (100 mL)

Tabela 35 - Fracionamento cromatográfico de SSFE-D.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	0-5	21,90	2,18
2	6-20	49,30	4,90
3	21-28	30,00	2,98
4	29-59	106,60	10,60
5	60-74	118,00	11,73
6	75-76	25,20	2,50
7	77	315,10	31,34
8	78-87	266,00	26,45

5.3.4.2 Fracionamento cromatográfico da fração SSFE-D-F4

Observou-se a precipitação de um sólido amarelo pálido na fração 4 (99,10 mg), que foi filtrado e submetido a recromatografia em coluna “flash” contendo 19,70 g de sílica gel 60 (\varnothing 40-63 μ m) em uma coluna de 1,5 cm de diâmetro, por eluição com a mistura dos solventes

hexano (Hex) e acetato de etila (AcOEt), em ordem crescente de polaridade (**Tabela 36**). Deste procedimento foram obtidas 76 frações, que foram reunidas em quatro frações resultantes após a análise comparativa em CCD, como mostrado a **Tabela 37**.

Tabela 36 - Solventes de eluição da fração SSFE-D-F4.

SOLVENTE	VOLUME (mL)	FRAÇÕES (~10 mL)
HEX/AcOEt 60 %	600	1 a 60
AcOEt	100	61 a 74
MeOH	200	75 a 76

Tabela 37 - Fracionamento cromatográfico de SSFE-D-F4.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	1-28	39,20	39,45
2	29-62	40,10	40,46
3	63-73	10,10	10,20
4	74-76	7,10	7,16

A fração 1 apresentou-se como um sólido amarelo amorfo e homogêneo em CCD e foi denominado de **SS2** (39,20 mg). A análise espectroscópica de **SS2** levou a identificá-lo como sendo a mistura dos flavonóides crisoeriol (**SS1**, 52,70 %) e apigenina (**SS2** 47,30 %).

5.3.5 Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico dos talos SSTH.

O extrato SSTH (7,19 g) foi submetido a fracionamento cromatográfico preliminar em coluna filtrante por adsorção em 10,95 g de gel de sílica 60(\emptyset μ m 63-200) em uma coluna de 6,0 cm de diâmetro. A eluição se deu com uso dos solventes: hexano (Hex), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), puros ou em misturas binárias seguindo uma ordem crescente de polaridade, levando à obtenção das seguintes frações **Tabela 38**.

Tabela 38 - Fracionamento preliminar de SSTH.

SOLVENTE	VOLUME (mL)	MASSA (g)	DENOMINAÇÃO
Hex	200	0,45	H
Hex / DCM	200	2,18	HD
DCM	200	0,98	D
DCM / AcOET	200	2,71	DA
MeOH	200	0,67	M

5.3.5.1 Fracionamento cromatográfico da fração SSTH-D

A fração SSTH-D (981,9 mg) foi adsorvida em 1,25 g de sílica 60 (\emptyset μ m 40-63) e recromatografada em 30,15 g de sílica 60 (\emptyset μ m 40-63), em uma coluna de 2,5 cm de diâmetro. Foram utilizados como eluentes os solventes hexano (Hex), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH) puros ou em mistura binária em um gradiente crescente de polaridade, para a obtenção de 105 frações (**Tabela 39**). A análise em CCD permitiu a reunião de frações semelhantes como mostra a **Tabela 40**.

Tabela 39 - Solventes de eluição da fração SSTH-D.

SOLVENTE	VOLUME (mL)	FRAÇÕES (~15 mL)
Hex / DCM 10 %	200	0
Hex / DCM 20 %	100	Até 10
Hex / DCM 40 %	300	Até 40
Hex / DCM 70 %	100	Até 50
DCM	100	Até 60
DCM / AcOEt 10 %	100	Até 67
DCM / AcOEt 30 %	100	Até 74
DCM / AcOEt 50 %	100	Até 82
DCM / AcOEt 70 %	100	Até 90
AcOEt	100	Até 97
AcOEt / MeOH	100	Até 104
MeOH	100	105

Tabela 40 - Fracionamento cromatográfico de SSTH-D.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	1 – 20	-	-
2	21 – 29	4,40	0,45
3	30 – 39	36,30	3,70
4	40 – 52	323,80	32,97
5	53 – 56	93,30	9,50
6	57 – 63	126,70	12,90
7	64 – 65	132,70	13,51
8	66 – 77	151,80	15,45
9	78 – 97	19,10	1,95
10	98 – 105	80,10	8,15

5.3.5.2 Fracionamento cromatográfico da fração SSTH-D-F4.

A fração SSTH-D-F4 (323,8 mg) foi adsorvida em 400 mg de sílica 60 (\emptyset μ m 40-63) e posteriormente recromatografada em 12,80 g de sílica 60 (\emptyset μ m 40-63) em uma coluna de 2,0 cm de diâmetro. Foram utilizados como eluentes os solventes hexano (Hex), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), em puros ou em mistura seguindo um gradiente crescente de polaridade, levando à obtenção de 79 frações (**Tabela 41**). A análise em CCD permitiu a reunião de frações semelhantes como mostra a **Tabela 42**.

Tabela 41 - Solventes de eluição da fração SSTH-D-F4.

SOLVENTE	VOLUME (mL)	FRAÇÕES (~15 mL)
Hex / DCM 40 %	250	Até 15
Hex / DCM 50 %	100	Até 26
Hex / DCM 60 %	150	Até 46
Hex / DCM 80 %	50	Até 51
DCM	50	Até 557
DCM / AcOEt 10 %	50	Até 63
DCM / AcOEt 50 %	50	Até 68
AcOEt	50	Até 74
MeOH	50	Até 79

Tabela 42 - Fracionamento cromatográfico de SSTH-D-F4.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	0-6	31,9	9,85
2	7-22	152,1	46,97
3	23-41	38,3	11,82
4	42-58	7,2	2,22
5	59-65	45,6	14,08
6	66-79	13,6	4,20

5.3.5.3 Fracionamento cromatográfico da fração SSTH-D-F4-F2.

A fração SSTH-D-F4-F2 (152,1 mg) foi adsorvida em 100 mg de sílica 60 (\emptyset μ m 40-63) e recromatografada em 10,10 g de sílica 60 (\emptyset μ m 40-63), em uma coluna de 1,5 cm de diâmetro. Foram utilizados como eluentes os solventes: hexano (Hex), diclorometano (DCM),

acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH) para a obtenção de 124 frações (**Tabela 43**). A análise em CCD permitiu a reunião de frações semelhantes como mostra a **Tabela 44**.

Tabela 43 - Solventes de eluição da fração SSTH-D-F4-F2.

SOLVENTE	VOLUME (mL)	FRAÇÕES (~15 mL)
Hex / DCM 20 %	100	1 a 20
Hex / DCM 30 %	50	21 a 29
Hex / DCM 40 %	50	30 a 39
Hex / DCM 50 %	150	40 a 70
Hex / DCM 60 %	50	71 a 80
Hex / DCM 70 %	50	81 a 88
Hex / DCM 80 %	50	89 a 98
Hex / DCM 90 %	50	99 a 106
DCM	50	106 a 114
DCM / AcOEt 50 %	50	115 a 118
AcOEt	50	116 a 122
MeOH	50	123 e 124

Tabela 44 - Fracionamento cromatográfico de SSTH-D-F4-F2.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	0-50	17,50	11,50
2	51-68	48,30	31,75
3	69-88	40,10	23,36
4	89-114	4,10	2,69
5	115-122	40,80	26,82
6	123-124	-	-

5.3.5.4 Fracionamento cromatográfico da fração SSTH-D-F4-F2-F2.

A fração SSTH-D-F4-F2-F2 (48,3 mg) foi recromatografada em 7,10 g de sílica 60 (\emptyset μ m 40-63) em uma coluna de 1,5 cm de diâmetro. Foram utilizados como eluentes os solventes: hexano (Hex), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH) em mistura binária e também puros em gradiente crescente de polaridade. Deste procedimento foram obtidas 77 frações (**Tabela 45, pág. 122**), as quais foram posteriormente reunidas após a análise comparativa em CCD, como mostrado na **Tabela 46, pág. 122**.

Tabela 45 - Solventes de eluição da fração SSTH-D-F4-F2-F2.

SOLVENTE	VOLUME (mL)	FRAÇÕES (~10 mL)
Hex / DCM 30 %	500	1 a 57
Hex / DCM 60 %	50	58 a 64
DCM	50	65 a 71
AcOEt	50	72 a 76
MeOH	50	77

Tabela 46 - Fracionamento cromatográfico de SSTH-D-F4-F2-F2.

FRAÇÃO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1	1-21	-	-
2	22-45	36,00	74,50
3	46-71	2,00	4,10
4	72-76	10,00	20,70
5	77	-	-

A fração 22-45 apresentou-se como um sólido branco e denominado de **SS4** (36,0 mg), que após submetido á análise espectroscópica foi identificado com sendo a mistura dos triterpenos α e β -amirina,



CAPÍTULO 6

CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

O estudo químico dos constituintes não-voláteis do extrato etanólico dos talos de *Stachytarpheta sessilis* possibilitou o isolamento do triterpeno do tipo ursano ácido 3 β -hidroxi, urs-12-en-28-óico (ácido ursólico), do esteróide 3-O- β -D-glucopyranosyl-24(S)-ethyl-22E-dihydrocholesterol (stigmasterol glicosilado) e dos flavonóides 4H-1-benzopirano-4-ona-2-(3,4 dihidroxifenil)-5,7-dihidroxi, (luteolina) e 5,7,4'-trihidroxi-3'-metoxiflavona (crisoeriol). A partir da investigação do extrato hexânico foi possível o isolamento dos triterpenos do tipo ursano α e β -amirina. Em adição, a flavona 4',5,7-trihidroxiflavona (apigenina) foi isolada a partir do extrato etanólico das folhas.

Apesar da vasta ocorrência dos metabólitos secundários isolados na família Verbenaceae, o gênero *Stachytarpheta* ainda é pouco explorado do ponto de vista químico e farmacológico. As flavonas apigenina e crisoeriol e os triterpenos α e β -amirina estão sendo relatados pela primeira vez para o gênero.

A flavona apigenina é descrita na literatura como responsável por efeitos anti-depressivo (NAKAZAWA, 2003), enquanto que o crisoeriol apresenta efeito carcinogênico (LIU, 1992). Para o triterpeno ácido ursólico são atribuídos os efeitos antimalarial e antiinflamatório (ROSAS, 2007), e para os triterpenos α e β -amirina são relatados os efeitos antiinflamatório e antiviral (VILLASENOR, 2004).



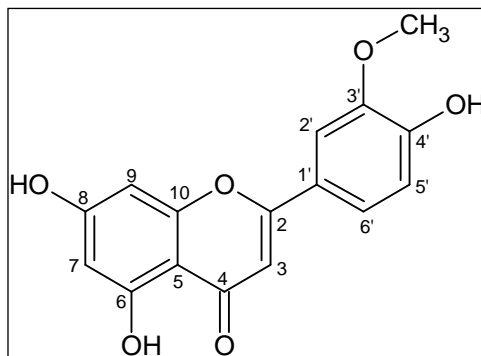
CAPÍTULO 7

CONSTANTES FÍSICAS

7 CONSTANTES FÍSICAS

7.1 CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Stachytarpheta sessilis* Moldenk.

7.1.1 SS1.



Nome: 5,7,4'-trihidroxi-3'-metoxiflavona - CRISOERIOL

Fórmula Molecular: C₁₆H₁₂O₆

Massa molecular: 300 daltons

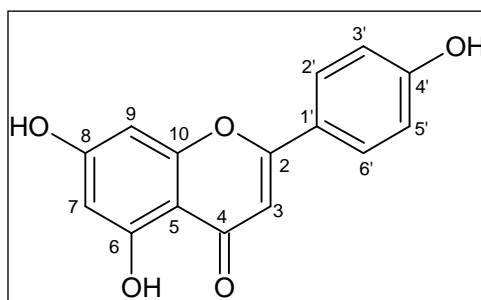
Solubilidade: Piridina

Absorção na região do infravermelho, KBr (cm⁻¹): 3448; 2930; 1624; 1559; 1510; 115; 1030 e 831.

Espectrometria de RMN ¹H (500 MHz, C₅D₅N): 6,98 (H-3); 6,77 (H-6); 6,87 (H-8); 7,62 (H-2'); 7,29 (H-5'); 7,66 (H-6'); 3,84 (OCH₃).

Espectrometria de RMN ¹³C (125 MHz, C₅D₅N): 164,9 (C-2); 104,6 (C-3); 183,1 (C-4); 163,5 (C-5); 100,3 (C-6); 166,2 (C-7); 95,3 (C-8); 158,9 (C-9); 105,4 (C-10); 122,9 (C-1'); 121,7 (C-2'); 149,3 (C-3'); 152,7 (C-4'); 110,7 (C-5'); 117,3 (C-6'); 56,4 (OCH₃).

7.1.2 SS2.



Nome: 4',5,7-trihidroxi-flavona - APIGENINA

Fórmula Molecular: C₁₅H₁₀O₅

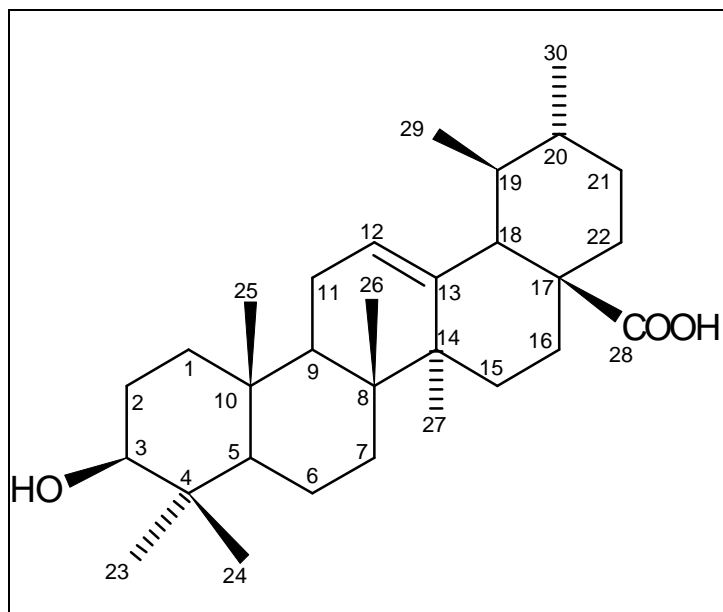
Massa molecular: 287 Daltons

Solubilidade: Piridina

Espectrometria de RMN ¹H (500 MHz, C₅D₅N): 6,91 (H-3); 6,76 (H-6); 6,84 (H-8); 7,94 (H-2'/6'); 7,24 (H-3'/5').

Espectrometria de RMN ¹³C (ppm) (125 MHz, C₅D₅N): 164,8 (C-2); 104,2 (C-3); 183,0 (C-4); 163,4 (C-5); 100,3 (C-6); 166,2 (C-7); 95,2 (C-8); 158,8 (C-9); 105,3 (C-10); 122,6 (C-1'); 129,2 (C-2'/6'); 117,1 (C-3'/5'); 162,9 (C-4').

7.1.3 SS3.



Nome: Ácido 3β-hidroxi, urs-12-en-28-óico (Ácido Ursólico)

Fórmula Molecular: C₃₀H₄₆O₃

Massa molecular: 456 Daltons

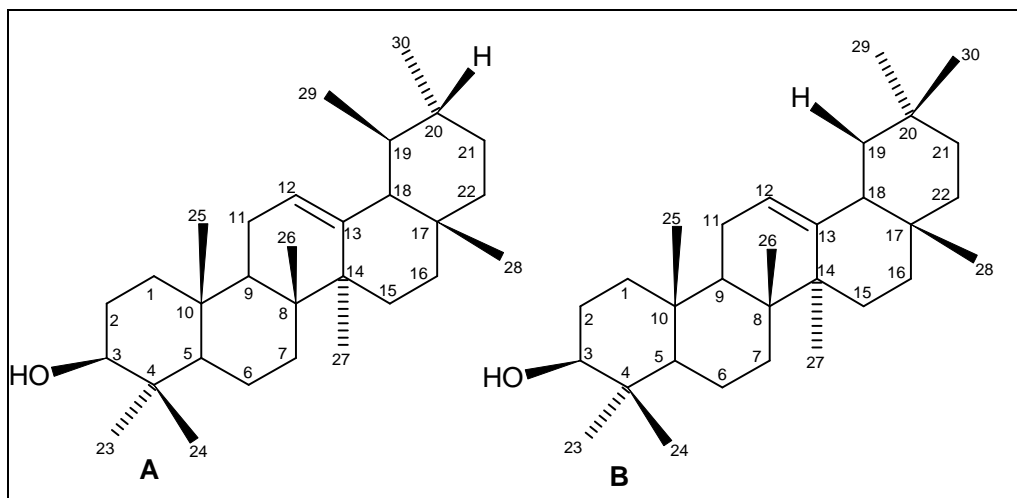
Solubilidade: Metanol, DMSO.

Absorção na região do infravermelho, KBr (cm⁻¹): 3426; 2922; 2859; 1688; 1653; 1633; 1458; 1384; 1034; 995; 804 e 971.

Espectrometria de RMN ¹H (ppm) (500 MHz, C₅D₅N): 5,12 (H-12); 3,00 (H-3); 2,10 (H-18); 1,03 (H-27); 0,90 (H-30); 0,89 (H-23); 0,86 (H-26); 0,80 (H-29); 0,74 (H-25) e 0,67 (H-24).

Espectrometria de RMN ¹³C (ppm) (125 MHz, C₅D₅N): 178,3 (C-28); 138,2 (C-13); 124,5 (C-12); 76,8 (C-3); 54,7 (C-5); 52,3 (C-18) 47,0 (C-9); 46,9 (C-17); 41,6 (C-14); 39,0 (C-8); 38,4 (C-19, 20); 38,3 (C-8); 38,2 (C-22); 36,3 (C-1); 32,6 (C-7); 30,1 (C-21); 27,5 (C-15); 26,9 (C-2); 23,8 (C-16); 22,8 (C-11); 17,9 (C-6); 28,2 (C-23); 23,2 (C-27); 21,0 (C-30); 17,0 (C-29); 16,9 (C-25); 16,0 (C-24); 15,2 (C-26).

7.1.4 SS4 e SS5



Nome: (A) α -amirina, (B) β -amirina.

Fórmula Molecular: $C_{30}H_{50}O$

Massa molecular: 426 Daltons

Solubilidade: Clorofórmio

Absorção na região do infravermelho, KBr (cm^{-1}): 3429; 2926; 1460; 1380; 1637 e 1035.

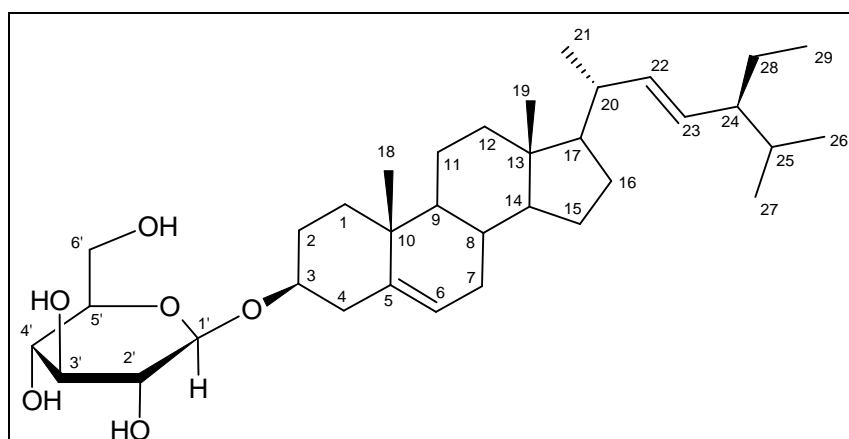
Espectrometria de RMN 1H (ppm) (500 MHz, $CDCl_3$): 5,13 (12 α); 5,18 (H-12 β); 1,08 (H-27); 1,00 (H-26); 0,97 (H-23); 0,96 (H-25); 0,93 (H-30); 0,81 (H-29) e 0,80 (H-28, 24).

Espectrometria de RMN ^{13}C (ppm) (125 MHz, $CDCl_3$):

α -amirina: 38,8 (C-1); 27,1 (C-2); 79,2 (C-3); 38,8 (C-4); 55,4 (C-5); 18,6 (C-6); 32,8 (C-7); 40,2 (C-8); 47,9 (C-9); 37,1 (C-10); 17,6 (C-11); 124,6 (C-12); 139,7 (C-13); 42,2 (C-14); 28,6 (C-15); 26,8 (C-16); 33,5 (C-17); 59,3 (C-18); 39,8 (C-19); 39,8 (C-20); 31,2 (C-21); 41,7 (C-22); 28,3 (C-23); 15,7 (C-24); 15,7 (C-25); 17,0 (C-26); 23,4 (C-27); 28,3 (C-28); 23,4 (C-29); 21,6 (C-30).

β -amirina: 38,9 (C-1); 27,4 (C-2); 79,2 (C-3); 38,8 (C-4); 55,4 (C-5); 18,5 (C-6); 32,8 (C-7); 39,8 (C-8); 47,8 (C-9); 37,1 (C-10); 23,5 (C-11); 121,9 (C-12); 145,3 (C-13); 41,7 (C-14); 26,3 (C-15); 27,1 (C-16); 31,4 (C-17); 47,4 (C-18); 47,0 (C-19); 31,2 (C-20); 34,9 (C-21); 37,1 (C-22); 28,3 (C-23); 15,8 (C-24); 15,8 (C-25); 17,02 (C-26); 26,2 (C-27); 28,3 (C-28); 33,5 (C-29); 23,9 (C-30).

7.1.5 SS6



Nome: 3-O- β -D-glucopyranosyl-24(S)-ethyl-22E-dihydrocholesterol.

Fórmula Molecular: C₃₅H₅₈O₆

Massa molecular: 574 Daltons

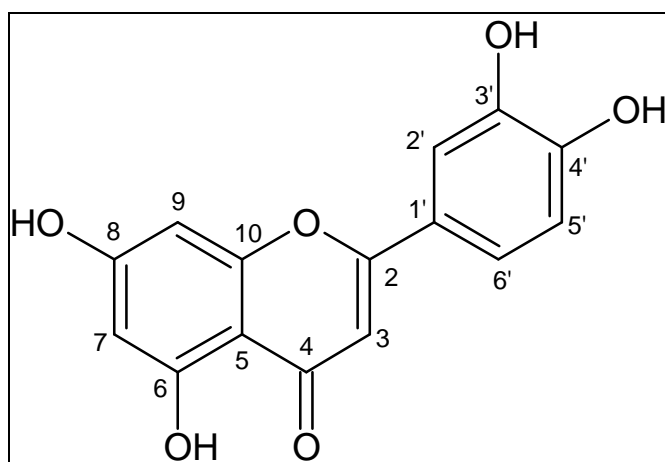
Solubilidade: Piridina

Absorção na região do infravermelho, KBr (cm⁻¹): 3407; 2923; 2859; 1655; 1458 e 1029.

Espectrometria de RMN ¹H (ppm) (500 MHz, C₅D₅N): δ 1,71 (H-2), 2,05 (H-4), 5,19 (H-6), 1,97 (H-12), 0,89 (H-18), 0,74 (H-19), 2,03 (H-20), 0,93 (H-21), 5,20 (H-22), 5,06 (H-23), 1,56 (H-24), 1,54 (H-25), 1,09 (H-26), 0,88 (H-27), 0,95 (H-28), 0,87 (H-29), 5,04 (glc H-1), 4,07 (glc H-2), 4,30 (glc H-3), 4,28 (glc H-4), 4,00 (glc H-5), 4,42; 4,50 (glc H-6).

Espectrometria de RMN ¹³C (ppm) (125 MHz, C₅D₅N): δ 37,7 (C-1), 30,4 (C-2), 77,4 (C-3), 35,1 (C-4), 139,9 (C-5), 118,2 (C-6), 30,4 (C-7), 32,5 (C-8), 49,9 (C-9), 34,9 (C-10), 22,1 (C-11), 40,0 (C-12), 43,8 (C-13), 56,4 (C-14), 23,7 (C-15), 29,2 (C-16), 55,6 (C-17), 12,8 (C-18), 13,4 (C-19), 40,5 (C-20), 21,6 (C-21), 139,0 (C-22), 130,0 (C-23), 51,8 (C-24), 41,4 (C-25), 22,0 (C-26), 19,5 (C-27), 26,0 (C-28), 12,6 (C-29), 102,6 (glc C-1), 75,7 (glc C-2), 79,0 (glc C-3), 72,1 (glc C-4), 78,8 (glc C-5), 63,3 (glc C-6).

7.1.6 SS7



Nome: 3', 4', 5, 7 – tetrahidroxiflavona (luteolina)

Fórmula Molecular: C₁₅H₁₀O₆

Massa molecular: 286 Daltons

Solubilidade: Piridina

Absorção na região do infravermelho, KBr (cm⁻¹): 3410; 2922; 1657; 1613; 1511; 1447; 1261; 1168; 1115 e 1030.

Espectrometria de RMN ¹H (ppm) (500 MHz, C₅D₅N): δ 6,91 (H-3), 6,74 (H-6 e H-8), 7,91 (H-2'), 7,29 (H-5'), 7,53 (H-6').

Espectrometria de RMN ¹³C (ppm) (125 MHz, C₅D₅N): δ 165,2 (C-2), 104,2 (C-3), 183,0 (C-4), 163,4 (C-5), 100,2 (C-6), 166,1 (C-7), 95,1 (C-8), 158,8 (C-9), 105,3 (C-10), 123,2 (C-1'), 114,9 (C-2'), 148,1 (C-3'), 152,0 (C-4'), 117,2 (C-5'), 119,8 (C-6').



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEBAJO, A. C.; OLAWODE, E. O.; OMOBUWAJO, O. R.; ADESANYA, S. A.; BEGROW, F.; ELKHAWAD, A.; AKANMU, M. A.; EDRADA, R.; PROKSCH, P.; SCHMIDT, T. J.; KLAES, M.; VERSPOHL, E. J. Hypoglycemic constituents of *Stachytarpheta cayennensis* leaf. **Planta Medica**. v. 73, n. 3, p. 241-250. 2007.

AGRAWAL, P. K. Carbon-13 NMR of flavonoids. New York: **Elsevier**, 1989.

AHMAD, V. U.; RAHMAN, A. U. Handbook of Natural Products Data “Pentacyclic triterpenoids”, v. 2. New York: **Elsevier**, 1994.

AMANI, S. A.; MAITLAND D. J.; SOLIMANC G. A. Hepatoprotective activity of *Schouwia thebica* webb. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v. 16, n. 17, p. 4624-4628. 2006.

ANDERSSON, D.; CHENG, Y.; DUAN, R. Ursolic acid inhibits the formation of aberrant crypt foci and affects colonic sphingomyelin hydrolyzing enzymes in azoxymethane-treated rats. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**. v. 134, n. 1, p. 101-107. 2008.

AKISUE, D.; DE ALVARENGA, M. A.; BARROS, D. A. D.; GOTTLIEB, O. R. Presence of ipolamiide in *Stachytarpheta australis* Moldenk. **Anais de Farmácia e Química de São Paulo**. v. 21, n. 1, p. 57-60. 1981.

ATKINS, S. The genus *Stachytarpheta* (Verbenaceae) in Brazil. **Kew Bulletin**. v. 60, n. 3, 2005.

BANDEIRA, P. N.; LEMOS, T. L.G.; COSTA, S. M. O.; dos SANTOS, H. S. Obtenção de derivados da mistura triterpenoídica α e β -amirina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n. 2, p. 204-208. 2007.

BERNAYS, E.; DE LUCA, C. Insect antifeedant properties of iridoid glycoside: ipolamiide. **Experientia**. v. 37, n. 12, p. 90-1289. 1981.

BONZANI, N. E.; FILIPPA, E. M.; BARBOZA, G. E. Estúdio anatómico comparativo de tallo en algunas especies de verbenaceae. **Anales de el Instituto de Biología**. Série Botánica. V.74, n. 1, p. 31-45. 2003.

BRITO, N. R. S.; LAINETTI, R.; GUIMARAES, L. A. S.; MAGALHAES, H. G. Ipolamiide, an iridoid glucoside from *Stachytarpheta dichotoma*. **Bulletin des Societes Chimiques Belges**. v. 96, n. 8, p. 633. 1987.

CHARIANDY C M.; SEAFORTH C E.; PHELPS R H.; POLLARD G V.; KHAMBAY B P. Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. **Journal of Ethnopharmacology**. v.64, n. 3, p. 265-270. 1999.

CHOWDHURY, R.; RASHID, M. U.; KHAN, O. F.; HASAN, C. M. Ipolamiide and β - spinasterol from *Stachytarpheta urticaefolia*. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 31, n. 10, p. 1209-1211. 2003.

COIMBRA, R. **Notas de fitoterapia em catálogos dos dados principais sobre plantas utilizadas em medicina e farmácia.** Rio de Janeiro: Silva Araujo-Roussel, 1958.

CORREA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e exóticas cultivadas.** v. 3. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926-1978.

DE LUCA, C. Isolation of ipolamiide from *Stachytarpheta mutabilis*. **Fitoterapia.** v. 52, n. 6, p. 279-80. 1980.

DE LUCA, C.; GUIISO, M.; MARTINO, C. 6 β -Hydroxyipolamiide, na iridoid glucoside from *Stachytarpheta mutabilis*. **Phytochemistry.** v. 22, n. 5, p. 1185. 1983.

DAMTOFT, S.; JENSEN, S. R.; NIELSEN, B. J. The identity of iridoid glucoside tarphetalin with ipolamiide. **Phytochemistry.** v. 23, n. 4, p. 907. 1984.

DI STASI, L. C. Plantas medicinais: arte e ciência. **Um guia de estudo interdisciplinar.** São Paulo: Unesp, 1996.

DURET, S.; JACQUEMIN, H.; PARIS, R. R. Malagasy plants. XIX. Chemical composition of *Stachytarpheta jamaicensis* (L) Vahl (*S. Indica* Vahl), Verbenaceae. **Plantes Medicinales et Phytotherapie.** v. 10, n. 2, p. 96-104. 1976.

FLAMINI, G.; ANTOGNOLI, E.; MORELLI, I. Two the flavonoids and other compounds from de aerial parts of *Centaurea bracteata* from Italy. **Phytochemistry.** v. 57, p. 559-564. 2001.

FUTURO, D. O.; KAPLAN, M. A. C. Analisis of iridoid glucosides from *Stachytarpheta cayennensis* by NMR spectroscopy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências.** v. 70, n. 4, p. 755-759. 1998.

FURASTÉ, P. A. Normas Técnicas para o Trabalho Científico, Explicação das normas da ABNT. 13. ed. Porto Alegre, 2004.

GALLO, M. B. C.; ROCHA, W. C.; DA CUNHA, U. S.; DIOGO, F. A.; DA SILVA, F. C.; VIEIRA, P. C.; VENDRAMIM, J. D.; FERNANDES, J. B.; DA SILVA, M. F. G. F.; BATISTA-PEREIRA, L. G. Bioactivity of extracts and isolated compounds from *Vitex polygama* (Verbenaceae) and *Siphoneugena densiflora* (Myrtaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science.** v. 62, n. 11, p. 1072-1081. 2006.

GANAPATY, S.; BABU, G. JAYA.; NAIDU, K. C. Phytoconstituents from the roots of *Stachytarpheta indica*. **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences.** v. 20, n. 3, p. 697-699. 1998.

GARNIER, J. Chemical study of two Guyanan Verbenaceae: *Stachytarpheta guyannensis* Vahl. and *Stachytarpheta mutabilis* Vahl. **Plantes Medicinales et Phytotherapie.** v. 11, n. 4, p. 305. 1977.

GONZALES, J. **Verbenaceae draft-borrador**. Flora Digital de la Selva, Organización para Estudios Tropicales, 2006.

HARBORN, J. B. **The flavonoids advances in research**. London: Chapman & Hall, 1994.

HERNANDEZ, K. J. M.; RIVERA, L. A.; ROMAN, F. R. Isolation and determination of a terpene in *Stachytarpheta jamaicensis*. In: 216th ACS National Meeting, 1998, Boston. Book of Abstracts. USA, 1998. p. 23-27.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: UFSCar, 2003.

JANG, D. S.; PARK, E. J.; KANG, Y.; HAWTHOME, M. E.; VIGO, J. S.; GRAHAM, J. G.; CABIESES, F.; FONG, H. H. S.; MEHTA, R. G.; PEZZUTO, J. M.; KINGHON, A. D. Potential cancer chemopreventive flavonoids from the stems of *Tephrosia toxicaria*. **Journal of Natural Products**. v. 66, n. 9, p. 1166-1170. 2003.

JAWAD, F. H.; DOORENBOSX, N. J.; CHENGT, P. C. Tarphetalin: a novel iridoid glucosid from *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vohl. **Egyptian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 18, n. 4, p. 511. 1980.

JIMENEZ-ARELLANES, A.; MECKES, M.; TORRES, J.; LUNA-HERRERA, J. Antimycobacterial triterpenoids from *Lantana hispida* (Verbenaceae). **Journal of Ethnopharmacology**. v. 111, n. 2, p. 202-205. 2007.

KHAN, A.; GILANI, A. H. Selective bronchodilatory effect of Rooibos tea (*Aspalathus linearis*) and its flavonoid, chrysoeriol. **European Journal of Nutrition**. v. 45, n. 8, p. 463-469. 2006.

LEITAO, G. G.; ANDRE DE SOUZA, P.; MORAES, A. A.; BROWN, L. Step-gradient CCC separation of phenylpropanoid and iridoid glycosides from roots of *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**. v. 28, n. 12/13, p. 2053-2060. 2005.

LIANG, Y. C.; HUANG, Y. T.; TSAI, S. H.; LIN-SHIAU, S. Y.; CHEM, C. F.; LIN, J. K. Suppression of Incucible Cyclooxygenase and Inducible Nitric Oxide sunthase by Apigenin and Relate Flavonoids in Mouse Macrophages. **Carcinogenesis**. v. 20, n. 10, p. 1945-1952. 1999.

LIU, Y.; Ho, D.; CASSADY, J. M. Isolation of potential cancer chemopreventive agents from *Eriodictyon Californicum*. **Journal of Natural Products**. v. 55, n. 3, p. 357-363. 1992.

LUCIANO, J. H. S. **CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE PLANTAS DO NORDESTE: *Phyla nodiflora* (L.) Greene e *Alibertia myciffolia* Spruce ex K. Schum.** 2004. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.

MA, C.; CAI, S.; CUI, J.; W. R.; TU, P.; HATTORI, M.; DANESHTALAB, M. The cytotoxic activity of ursolic acid derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 40, n. 6, p. 582-589. 2005.

MALIK, A. and YULDASHEV, M. P. Flavonoids of *lycopus lucidus*. **Chemistry of Natural Compounds** (Translation of Khimiya Prirodnykh Soedinenii). v. 38, n. 1, p. 104-105. 2002.

MARTIUS, C. F. P. **Flora brasiliensis, enumerato plantarum**. vol. IX. Brasília:1847-1851.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. Fortaleza: UFC, 1998.

MORAIS, S. M.; BRAZ-FILHO, R. **Produtos naturais: estudos químicos e biológicos**. Fortaleza: UECE, 2007.

NAKAZAWA, T.; YASUDA, T.; UEDA, J.; OHSAWA, K. Antidepressant-like effects of apigenin and 2,4,5-trimethoxycinnamic acid from *Perilla frutescens* in the forced swimming test. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**. v. 26, n. 4, p. 474-480. 2003.

PENIDO A. C.; COSTA A. K. A.; FUTURO B. D. O.; PAIVA C. S. R.; KAPLAN D M.A.C.; FIGUEIREDO C. M. R.; HENRIQUES M. G. M. O. Anti-inflammatory and anti-ulcerogenic properties of *Stachytarpheta cayennensis* (L.C. Rich) Vahl. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 104, n. 1/2, p. 225-233. 2006.

PEREIRA de OLIVEIRA, F.; LIMA, E. O.; PINTO de SIQUEIRA JUNIOR, J.; LEITE DE SOUZA, E.; SANTOS, B. H. C.; BARRETO, H. M. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, n. 4, p.510-516. 2006.

PIRES, V. S.; TAKETA, A. T. C.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Saponins and Sapogenins from *Brachiaria decumbens* Stapf. **Journal of Brazilian Chemical Society**. v. 13, n. 2, p. 135-139. 2002.

POUCHERT, J. C.; BEHNKE, J. The aldrich library of ¹³C and ¹H FT NMR spectra. Aldrich Chemical Company. Inc., vol. 02. 1994.

PRANCE, G.T. Floristic inventory of the tropics: where do we stand. **Annals of the Missouri Botanical Garden**. v. 4, n. 64, p. 659-684. 1977.

RIBEIRO, J. E. L. S. *et al.* **Flora da reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia central**. Manaus: INPA, 1999.

ROENGSUMRAN, S.; SOOKKONGWAREE, K.; JAIBOON, N.; CHAICHIT, N.; PETSOM, A. Crystal structure of ipolamiide monohydrate from *Stachytarpheta indica*. **Analytical Sciences**. v. 18, n. 9, p. 1063-1064. 2002.

ROSAS, L. V.; CORDEIRO, M. S. C.; CAMPOS, F. R.; NASCIMENTO, S. K. R.; JANUARIO, A. H.; FRANCA, S. C.; NOMIZO, A.; TOLDO, M. P. A.; ALBUQUERQUE, S.; PEREIRA, P. S. *In vitro* evaluation of the cytotoxic and trypanocidal activities of *Ampelozizyphus amazonicus* (Rhamnaceae). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 40, n. 5, p. 663-670. 2007.

SCHAPOVAL, E. E.; VARGAS, M. R.; CHAVES, C. G.; BRIDI, R.; ZUANAZZI, J. A.; HENRIQUES, A. T. Antiinflammatory and antinociceptive activities of extracts and isolated

compounds from *Stachytarpheta cayennensis*. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 60, n. 1, p. 53-59. 1998.

SENA FILHO, J. G.; MELO, J. G. S.; SARAIVA, A. M.; GONVALVES, A. M.; PSIOTTANO, M. N. C.; Xavier, H. S. Antimicrobial activity and phytochemical profile from the roots of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, n. 4, p. 506-509. 2006.

SEO, S.; TOMITA, Y.; TORI, K. Carbon-13 NMR spectra of urs-12-enes and application to structural assignments of compents of *Isodon japnicus* hara tissue cultures. **Tetrahedron Letters**. v. 1, p. 7-10. 1975.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, N. V. J.; MORRILL, T. C. **Identificação Espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SUBRAMANIAN, S. S.; RAMACHANDRAN, A. G. N.; VEDANTHAM, T. N. C. Chemical examination of the leaves of *Stachytarpheta indica*. **Indian Journal of Pharmacy**. v. 36, n. 1, p. 15-16. 1974.

TANTISEWIE, B.; STICHER, O. Isolation of ipolamiide from *Stachytarpheta indica*. **Phytochemistry**. v. 14, n. 5-6, p. 1462. 1975.

TIWARI, O. P.; TRIPATHI, Y. B. Antioxidant properties of different fractions of *Vitex negundo* Linn. **Food Chemistry**. v. 100, n. 3, p. 1170-1176. 2006.

UMBETOVA, A. K. Flavonoids of plants from the genus *Tamarix*. **Chemistry of Natural Compounds (Translation of Khimiya Prirodnikh Soedinenii)**. v. 40, n. 3, p. 297-298. 2004.

VARPOORTE, R.; MARASCHIN, M. Engenharia do metabolismo de plantas medicinais. In: YUNES, R.A. da (Org.). **Plantas Medicinais sob a Ótica da Química Medicinal Moderna**. 1ª ed. Chapecó: UNOESC; 2001.

VELA, S. M.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; LAPA, A. J. Inhibition of gastric acid secretion by the aqueous extract and purified extracts of *Stachytarpheta cayennensis*. **Planta Medica**. v. 63, n. 1, p. 36-39. 1997.

VILLASENOR, I. M.; CANLAS, A. P.; FAUSTINO, K. M.; PLANA, K.G. Evaluation of the bioactivity of triterpene mixture isolated from *Carmona retusa* (Vahl.) Masam leaves. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 92, n. 1, p. 53-56. 2004.