



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA

**ESTUDO QUÍMICO DE
Baccharis salzmannii DC.**

Paulo Riceli Vasconcelos Ribeiro

**Fortaleza-Ce
2010**

PAULO RICELI VASCONCELOS RIBEIRO

**ESTUDO QUÍMICO DE
Baccharis salzmannii DC**

**Dissertação submetida ao
Programa de Pós-Graduação
em Química da Universidade
Federal do Ceará como parte
dos requisitos exigidos para
obtenção do título de Mestre em
Química**

**Fortaleza
2010**

R371e Ribeiro, Paulo Riceli Vasconcelos
Estudo químico de *Bacharis salzmannii* DC / Paulo Riceli
Vasconcelos Ribeiro. -- Fortaleza, 2010.
140 f.; il. color. enc.

Orientadora: Profa. Dra. Mary Anne Sousa Lima
Área de concentração: Química Orgânica
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro
de Ciências, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica,
Fortaleza, 2010.

1. *Bacharis salzmannii*. 2. Química Vegetal. I. Lima, Mary Anne
Sousa (Orient.). II. Universidade Federal do Ceará – Pós-Graduação
em Química. III. Título.

CDD 547

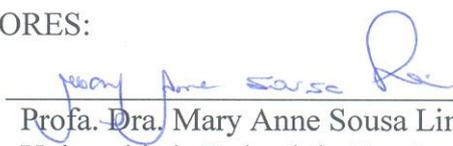
Esta Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química, área de concentração Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.



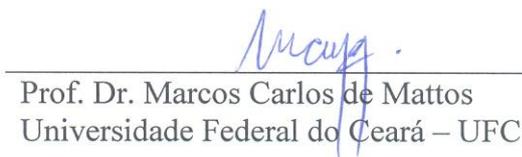
Paulo Riceli Vasconcelos Ribeiro

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 29/07/2010

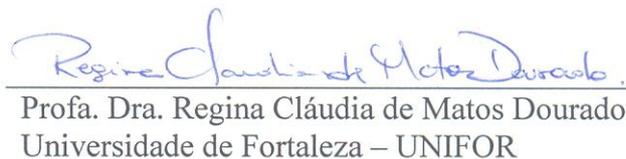
EXAMINADORES:



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



Prof. Dr. Marcos Carlos de Mattos
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dra. Regina Cláudia de Matos Dourado
Universidade de Fortaleza – UNIFOR

*“O temor do Senhor é o
princípio do saber.”
Provérbios 1:7*

**À Deus que através de sua luz me fez enxergar a luz.
Aos meus pais por todos os incentivos e ideais de carinho,
afeto e dedicação.
À minha irmã por sempre compartilhar gestos de afeto.
À Luciana, pelo carinho e amor.**

AGRADECIMENTOS

Aqui está meu singelo, mais não menos importante, agradecimento a aqueles que dignamente propuseram sugestões ou críticas, em favor desse trabalho.

À professora Mary Anne Sousa Lima, por sua determinação, transmissão de seus conhecimentos, dedicação e afeição principalmente na busca do aprimoramento ético e acadêmico de seus alunos.

Ao Dr. Raimundo Braz-Filho, professor sempre prestativo e gentil, onde através de seus conhecimentos científicos identificou as substâncias inéditas.

Aos professores do curso de pós-graduação em Química da UFC pela contribuição inestimável em minha formação acadêmica.

Ao prof. Edilberto Rocha Silveira pela coleta do material vegetal estudado e aquisição dos espectros de RMN, e à prof^a. Otília Deusdênia L. Pessoa pela aquisição dos espectros de massa de alta resolução.

Aos colegas do laboratório Lafiplam pela amizade e estímulo dado no isolamento das substâncias.

Aos funcionários do Depto. de Química Orgânica e Inorgânica da UFC: Mundinha, Lana, Célia e Sr. Paulo pelo suporte técnico.

Aos colegas do laboratório LPN pela amizade, carinho e apoio nos momentos difíceis.

As agências de fomento CNPq, CAPES, FUNCAP, PRONEX.

E obrigado a todos que de alguma forma modificaram meu caminho até esse momento.

*"Agradeço pela crítica
mais severa apenas se ela
permanecer imparcial".
(Otto Bismarck)*

Sumário

LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS	14
LISTA DE SIGLAS	17
RESUMO	18
ABSTRACT	19
CAPÍTULO 1- Introdução	20
CAPÍTULO 2 - Considerações Botânicas	23
2.1 - Considerações botânicas sobre a Família Asteraceae	24
2.2- Considerações botânicas sobre o Gênero <i>Baccharis</i>	24
2.3 - Considerações botânicas sobre a espécie <i>Baccharis salzmannii</i> DC	24
CAPÍTULO 3 - Levantamento Bibliográfico	26
CAPÍTULO 4 - Parte Experimental	45
4.1 Métodos Cromatográficos	46
4.2 Métodos de Análise Espectroscópica.....	47
4.3 Métodos Físicos.....	48
4.4 Estudo dos Constituintes Químicos Não Voláteis das folhas de <i>Baccharis salzmannii</i>	48
CAPÍTULO 5- Determinação Estrutural	64
5.1 Determinação Estrutural de BS-1.....	65
5.2 Determinação Estrutural de BS-2.....	75
5.3 Determinação Estrutural de BS-3.....	85
5.4 Determinação Estrutural de BS-4.....	91
5.5 Determinação Estrutural de BS-5.....	108
5.6 Determinação Estrutural de BS-6.....	121
CAPÍTULO 6 - Conclusão	130
CAPÍTULO 7 - Referências Bibliográficas.....	132

Lista de Figuras

Figura 1. Fotos da espécie <i>Baccharis salzmannii</i> em seu habitat natural, com destaque para folhas e flores	25
Figura 2. Estrutura dos diterpenos labdanos gaudichaudols A (1) e C (2)	27
Figura 3. Estrutura dos diterpenos clerodanos gaudichaudona (1) e acetato de articulina (2)	28
Figura 4. Estrutura do tricoteceno baccharin.....	28
Figura 5. Esqueletos do tipo clerodano (1), labdano (2) e caurano (3)	30
Figura 6. Estrutura da (-)-clerodina.....	30
Figura 7. Estrutura dos esqueletos ent e neo clerodanos	30
Figura 8. Correlações à longa distância de H-3 confirmando a localização da carbonila em C-4.....	67
Figura 9. Correlações à longa distância confirmando as localizações das hidroxilas em C-4', C-5 e C-7.....	67
Figura 10. Estrutura básica de uma flavona acima e estrutura da 5,7,4'-Tri-hidroxi-flavona (apigenina) abaixo.....	68
Figura 11. Espectro na região do infravermelho de BS-1.....	71
Figura 12. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, C ₅ D ₅ N) de BS-1.....	71
Figura 13. Expansão (6.7 - 8.1 ppm) do espectro de RMN ¹ H (500 MHz, C ₅ D ₅ N) de BS-1.....	72
Figura 14. Espectro de RMN ¹³ C – BB (125 MHz, C ₅ D ₅ N) de BS-1.....	72
Figura 15. Espectro de RMN ¹³ C – DEPT (125 MHz, C ₅ D ₅ N) de BS-1.....	73
Figura 16. Espectro bidimensional de ¹ H, ¹³ C – HSQC (500 x 125 MHz, C ₅ D ₅ N) de BS-1.....	73
Figura 17. Espectro bidimensional de ¹ H, ¹³ C – HMBC (500 x 125 MHz, C ₅ D ₅ N) de BS-1.....	74
Figura 18. Espectro de massa (IE, 70 ev) de BS-1.....	74
Figura 19. Correlações à longa distância dos hidrogênios H-2 e H-3 com o	77

carbono C-4 confirmando estrutura da flavanona.....	
Figura 20. Correlações à longa distância dos carbonos confirmando as localizações das hidroxilas em C-5, C-7 e C-4'	77
Figura 21. Estrutura básica de uma flavanona acima e estrutura da 5,7,4'-Tri-hidroxi-flavanona (narigenina).....	78
Figura 22. Espectro na região do infravermelho de BS-2.....	81
Figura 23. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, (CD ₃) ₂ CO)) de BS-2.....	81
Figura 24. Expansão (2.5 - 3.8 ppm) do espectro de RMN ¹ H (500 MHz, (CD ₃) ₂ CO)) de BS-2.....	82
Figura 25. Espectro de RMN ¹³ C – BB (125 MHz, (CD ₃) ₂ CO) de BS-2.....	82
Figura 26. Espectro de RMN ¹³ C – DEPT (125 MHz, (CD ₃) ₂ CO) de BS-2.....	83
Figura 27. Expansão (2,5-8.0 ppm) do Espectro bidimensional de ¹ H, ¹³ C – HSQC (500 x 125 MHz, (CD ₃) ₂ CO) de BS-2.....	83
Figura 28. Espectro de RMN bidimensional de ¹ H, ¹³ C – HMBC (500 x 125 MHz, (CD ₃) ₂ CO) de BS-2.....	84
Figura 29. Espectro de massa (IE, 70 ev) de BS-2.....	84
Figura 30. Estrutura do ácido caurenóico	86
Figura 31. Espectro na região do infravermelho de BS-3.....	88
Figura 32. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de BS-3.....	88
Figura 33. Espectro de RMN ¹³ C – BB (125 MHz, CDCl ₃) de BS-3.....	89
Figura 34. Espectro de RMN ¹³ C – DEPT (125 MHz, CDCl ₃) de BS-3.....	89
Figura 35. Espectro de massa (IE, 70 eV) de BS-3.....	90
Figura 36. Correlações observadas no espectro de HMBC confirmando a localização das hidroxilas em C-6, C-15, C-18 e C-19.....	93
Figura 37. Correlações à longa distância confirmando a localização da ligação dupla nos carbonos C-3 e C-4.....	94
Figura 38. Estrutura do (-)-(5R,6S,8R,9S,10R)-clerod-3-en-6,15,18,19-tetraol.....	95
Figura 39. Espectro na região do infravermelho de BS-4.....	98
Figura 40. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, MeOD) de BS-4.....	98

Figura 41. Expansão (0.4 - 2.2 ppm) do espectro de RMN ^1H (500 MHz, MeOD) de BS-4.....	99
Figura 42. Expansão (3.10 - 4.30 ppm) do espectro de RMN ^1H (500 MHz, MeOD) de BS-4.....	99
Figura 43. Espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, MeOD) de BS-4.....	100
Figura 44. Expansão (0 – 55ppm) de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, MeOD) de BS-4	100
Figura 45. Espectro de RMN ^{13}C – DEPT (125 MHz, MeOD) de BS-4.....	101
Figura 46. Espectro de RMN bidimensional de $^1\text{H},^{13}\text{C}$ – HSQC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-4.....	101
Figura 47. Espectro de RMN bidimensional de $^1\text{H},^{13}\text{C}$ – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-4.....	102
Figura 48. Expansão (0.3 – 1.9 ppm, 25-70 ppm) do Espectro bidimensional de $^1\text{H},^{13}\text{C}$ – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-4.....	103
Figura 49. Expansão (3.2 – 5.5 ppm, 35-85 ppm) do Espectro bidimensional.....	103
Figura 50. Expansão (3.0 – 5.4 ppm, 45-60 ppm) do Espectro bidimensional de $^1\text{H},^{13}\text{C}$ – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-4.....	104
Figura 51. Expansão (3.0 – 5.4 ppm, 125-165 ppm) do Espectro bidimensional de $^1\text{H},^{13}\text{C}$ – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-4.....	104
Figura 52. Correlações do mapa de contorno $^1\text{H}, ^1\text{H}$ NOESY (500 x 500 MHz, MeOD) de BS-4.....	105
Figura 53. Espectro de massa (IE, 70 eV) de BS-4.....	106
Figura 54. Espectro de massa de alta (MS/MS), modo positivo, de BS-4.....	107
Figura 55. Espectro de massa de alta (MS/MS), modo negativo, de BS-4.....	107
Figura 56. Correlações à longa distância, comprovando a localização do grupo metila em C-5.....	110
Figura 57. Estrutura do (-)-(5R,6S,8R,9S,10R)-clerod-3-en-6,15,18-triol.....	110
Figura 58. Espectro na região do infravermelho de BS-5.....	113
Figura 59. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, MeOD) de BS-5.....	113
Figura 60. Espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, MeOD) de BS-5.....	114

Figura 61. Expansão (0 – 50ppm) de RMN ¹³ C – BB (125 MHz, MeOD) de BS-5	114
Figura 62. Espectro de RMN ¹³ C – DEPT (125 MHz, MeOD) de BS-5.....	115
Figura 63. Espectro de RMN bidimensional de ¹ H, ¹³ C – HSQC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-5.....	115
Figura 64. Expansão (0.6 – 2.6 ppm, 15-50 ppm) do espectro bidimensional de ¹ H, ¹³ C – HSQC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-5.....	116
Figura 65. Espectro de RMN bidimensional de ¹ H, ¹³ C – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-5.....	116
Figura 66. Expansão (0.4 – 2.8 ppm, 15-60 ppm) do espectro bidimensional de ¹ H, ¹³ C – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-5.....	117
Figura 67. Expansão (0.6– 2.4 ppm, 60-85 ppm) do espectro bidimensional de ¹ H, ¹³ C.....	117
Figura 68. Expansão (0.5 – 6.0 ppm, 120-155 ppm) do espectro bidimensional de ¹ H, ¹³ C – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-5.....	118
Figura 69. Expansão (3.0 – 6.5 ppm, 15-70 ppm) do espectro bidimensional de ¹ H, ¹³ C – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-5.....	118
Figura 70. Espectro de massa (IE, 70 eV) de BS-5.....	119
Figura 71. Espectro de massa de resolução (MSMS), modo positivo, de BS-5....	120
Figura 72. Espectro de massa de resolução (MSMS), modo negativo, de BS-5..	120
Figura 73. Correlações à longa distância confirmando a localização da ligação dupla nos carbonos C-4 e C-12.....	122
Figura 74. Correlações à longa distância confirmando a localização das metilas em C-11, C-14 e C-15.....	123
Figura 75. Estrutura do [7,10;1,5] patchou-4(12)-eno.....	123
Figura 76. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, MeOD) de BS-6.....	125
Figura 77. Espectro de RMN ¹³ C – BB (125 MHz, MeOD) de BS-6.....	125
Figura 78. Espectro de RMN ¹³ C – DEPT (125 MHz, MeOD) de BS-6.....	126
Figura 79. Espectro de RMN bidimensional de ¹ H, ¹³ C – HSQC (500 x 125MHz, MeOD) de BS-6.....	126
Figura 80. Expansão (0 – 4.0 ppm, 13-55 ppm) do espectro bidimensional de	127

$^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ – HSQC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-6.....	
Figura 81. Espectro de RMN bidimensional de $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ – HMQC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-6.....	127
Figura 82. Expansão (2.5 – 4.5.2 ppm, 19-65 ppm) do espectro bidimensional de $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ – HMQC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-6.....	128
Figura 83. Expansão (0.9 – 4.5.2 ppm, 16-45 ppm) do espectro bidimensional de $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ – HMQC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-6.....	128
Figura 84. Expansão (0.7 – 3.0 ppm, 5.2 ppm, 16-70 ppm) do espectro bidimensional de $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ – HMQC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-6.....	129
Figura 85. Espectro de massa (IE, 70 eV) de BS-6.....	129

Lista de Tabelas

Tabela 1. Algumas espécies com atividade biológica no gênero <i>Baccharis</i>	32
Tabela 2. Flavonóides isolados a partir de espécies do gênero <i>Baccharis</i>	33
Tabela 3. Terpenos isolados a partir de espécies do gênero <i>Baccharis</i>	38
Tabela 4. Relação dos constituintes químicos isolados de espécies do gênero <i>Baccharis</i>	44
Tabela 5. Fracionamento de BSFFE.	49
Tabela 6. Fracionamento de BSFFE-PM	49
Tabela 7. Fracionamento de BSFFE-PA/M (70-83)	50
Tabela 8. Fracionamento cromatográfico da fração BSFFE-PM2.....	51
Tabela 9. Fracionamento cromatográfico de BSFFE-PM2 (121-130)	52
Tabela 10. Fracionamento cromatográfico de BSFFE-PM2 (121-130)(39-70).....	53
Tabela 11. Fracionamento cromatográfico de BSFFE-PD.....	53
Tabela 12. Fracionamento de BSFFE-PD-FD.....	54
Tabela 13. Fracionamento de BSFFE-PD-FD (1-18).....	55
Tabela 14. Fracionamento de BSFFE-PD-FD (1-18)(25-38).....	55
Tabela 15. Fracionamento de BSFFE-PD-FD (1-18)(25-38)(71-82).....	56
Tabela 16. Fracionamento cromatográfico de BSFFE-PD-FD/A.....	57
Tabela 17. Fracionamento cromatográfico de BSFFE-PD-FD/A (42-58).....	58
Tabela 18. Fracionamento cromatográfico de BSFFE-PD-FD/A (42-58)(63-70)....	58
Tabela 19. Fracionamento cromatográfico de BSFFE-PD-FD/A (42-58)(63-70)(24-82).....	59
Tabela 20. Fracionamento cromatográfico de BSFFE-PD-FD/A (42-58)(63-70)(24-82)(38-75).....	59
Tabela 21. Fracionamento cromatográfico de BSFFE-PD (segundo fracionamento).....	60

Tabela 22. Fracionamento cromatográfico de BSFFE-PD2-FD.....	61
Tabela 23. Fracionamento cromatográfico de BSFFE-PD2-FD (6-10).....	61
Tabela 24. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de BS-1 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e RMN $^{13}\text{DEPT}$, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}/125$ MHz).....	66
Tabela 25. Correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C – HSQC e HMBC (500 X 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BS-1.....	69
Tabela 26. Análise comparativa de dados de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BS-1 com dados da literatura (25,2 MHz, DMSO) (AGRAWAL, 1989)*	70
Tabela 27. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de BS-2 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e RMN $^{13}\text{DEPT}$, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ 125 MHz.....	76
Tabela 28. Correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C – HSQC e HMBC (500 X 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de BS-2.....	79
Tabela 29. Análise comparativa de dados de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de BS-2 com dados da literatura (25,2 MHz, DMSO) (AGRAWAL, 1989)*.....	80
Tabela 30. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de BS-3 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e RMN $^{13}\text{DEPT}$, CDCl_3 , 125 MHz).....	86
Tabela 31. Análise comparativa de dados de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) de BS-3 com a literatura.....	87
Tabela 32. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de BS-4 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e RMN $^{13}\text{DEPT}$, MeOD, 125 MHz).....	92
Tabela 33. Correlação Heteronuclear ^1H , ^{13}C – HSQC e HMBC (500 X 125 MHz, MeOD) de BS-4.....	96
Tabela 34. Análise comparativa de dados de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, MeOD) de BS-4 com Modelo 1 e Modelo 2.....	97
Tabela 35. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de BS-5 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e RMN $^{13}\text{DEPT}$, MeOD, 125 MHz).....	109
Tabela 36. Correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C – HSQC e HMBC (500 X 125 MHz, MeOD) de BS-5.....	111
Tabela 37. Análise comparativa de dados de RMN ^{13}C (125 MHz, MeOD) de BS-4 e BS-5.....	107
Tabela 38. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de BS-6 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e RMN $^{13}\text{DEPT}$, MeOD, 125 MHz).....	115

Tabela 39. Correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C – HSQC e HMBC (500 X 125 MHz, MeOD) de BS-6.....

118

Lista de Siglas

CCD	Cromatografia em Camada Delgada
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by polarization Transfer</i>
EM	Espectrometria de Massa
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantun Coherence</i>
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
IV	Infravermelho
IE	Impacto Eletrônico
BSFE	Extrato Etanólico da Folhas de <i>Baccharis salzmannii</i>
BSTE	Extrato Etanólico dos Talos de <i>Baccharis salzmannii</i>
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
dd	Duplo Dupleto
Hz	Hertz
J	Constante de Acoplamento Escalar
m	Multiplete
δ	Deslocamento Químico
s	Singleto
ppm	Partes por Milhão

Resumo

O presente trabalho apresenta o estudo químico das folhas da espécie vegetal *Baccharis salzmännii* DC (Asteraceae), coletada na cidade de Jacobina-BA. A investigação química realizada com o extrato etanólico das folhas, levou ao isolamento dos flavonóides 5,7,4'-Tri-hidroxi-flavona (apigenina) e 5,7,4'-Tri-hidroxi-flavanona (narigenina), do diterpeno ácido caurenóico, além de três compostos de caráter inédito na literatura(-)-(5R,6S,8R,9S,10R)-clerod-3-en-6,15,18,19-tetraol, (-)-(5R,6S,8R,9S,10R)-clerod-3-en-6,15,18-triol e do sesquiterpeno [7,10;1,5] patchou-4(12)-eno. Para o isolamento dos metabólitos secundários foram utilizadas técnicas cromatográficas usuais como cromatografia flash, cromatografia por exclusão em sephadex, cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência. A elucidação estrutural das substâncias isoladas foi realizada através do uso de técnicas espectrométricas de Infravermelho, Massa e Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio e carbono, utilizando experimentos uni e bidimensionais, além de comparação com dados reportados na literatura.

Abstract

This work presents the chemical study from the leaves of the species *Baccharis salzmännii* DC (Asteraceae) collected in the city of Jacobina, Bahia. The phytochemical investigation of the ethanol extract of leaves provided the isolation of the flavonoids 5,7,4'-trihydroxy-flavone (apigenin) and 5,7,4'-trihydroxy-flavanone (narigenina), of the diterpene kaurenoic acid, two clerodane compounds, namely, (-)-(5R,6S,8R,9S,10R)-6,15,18,19-tetrahydroxy-cleroda-3-ene, (-)-(5R,6S,8R,9S,10R)-6,15,18-trihydroxy-cleroda-3-ene reported for the first time in literature, and of the sesquiterpene patchoulane [7.10;1,5] patchou-4(12)-ene. For isolation of the metabolites were used usual chromatographic techniques as flash chromatography, exclusion chromatography on sephadex, thin layer chromatography and High Performance Liquid Chromatography. For structural elucidation of the isolated compounds was performed through the use spectrometrical techniques, infrared (IR), nuclear magnetic resonance (NMR) uni and bidimensional experiments, mass spectrometric (MS), and comparison with the literature data.



Capítulo 1
Introdução

1-Introdução.

As plantas são utilizadas como terapia para os seres humanos desde a antiguidade. Apesar de todo o avanço tecnológico, as plantas continuam sendo utilizadas na medicina popular e em estudos científicos para o desenvolvimento de novos medicamentos.

A família Asteraceae é o grupo sistemático mais numeroso dentro das Angiospermas, compreendendo cerca de 1.100 gêneros e 25.000 espécies. São plantas de aspecto extremamente variado, incluindo principalmente pequenas ervas ou arbustos e raramente árvores. Cerca de 98% dos gêneros são constituídos por plantas de pequeno porte, e são encontradas em todos os tipos de habitats, mas principalmente nas regiões tropicais montanhosas na América do Sul (VERDI, 2005).

O gênero *Baccharis* é o maior da família Asteraceae possuindo cerca de 500 espécies distribuídas através do Norte e Sul da América. Estas espécies são distribuídas nas regiões quentes e temperadas do Brasil, Argentina, Colômbia, Chile e México. A alta concentração de espécies no Brasil e nos Andes indica que esta área é o provável centro de origem do gênero (VERDI, 2005).

Espécies de *Baccharis* são geralmente arbustos com 0,5 a 4,0 m de altura que apresentam elevado valor sócio-econômico. No Brasil, possuem ampla dispersão nos estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Rio Grande do Sul, onde são utilizadas para controle ou tratamento de várias doenças, e são consumidas na forma de chás com indicações para males do estômago, fígado, anemias, inflamações, diabetes, doenças na próstata, sendo também descritas como remédio para o processo de desintoxicação do organismo (MELO, 2001).

Baccharis genistelloides é um exemplo de erva medicinal muito usada para uma variedade de doenças, tais como desordens digestivas e do fígado, malária, úlceras, diabetes, anemia, diarreia, inflamações urinárias, amigdalite, verminoses, enquanto que, *Baccharis trimera* a “carqueja”, é indicada para problemas do fígado e vesícula biliar como cálculos, além de problemas digestivos, úlcera, gastrite, má-digestão (VERDI, 2005).

A literatura relata que cerca de 120 espécies de *Baccharis* foram estudadas quimicamente e entre estas, em torno de 30 apresentam estudos de atividade biológica. De modo geral, os compostos que mais se destacam são os flavonóides, além de diterpenos clerodanos e labdanos, embora também se tenha sido observado com certa freqüência a presença de diterpenos cauranos, triterpenos, ácidos cumáricos, tricotecenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides. [VERDI, 2005].

Dentro deste contexto, o presente trabalho descreve a investigação química das folhas da espécie *Baccharis salzmannii*, visando o isolamento e a caracterização estrutural de metabólitos secundários com possível potencial farmacológico. A ausência de estudos fitoquímicos relacionados a esta espécie, motivou seu estudo.



Capítulo 2
Considerações
Botânicas

2 - Considerações Botânicas.

2.1- Considerações botânicas sobre a Família Asteraceae.

Asteraceae compreende 1100 gêneros e aproximadamente 25000 espécies, arrançadas em três subfamílias e 17 tribos. No Brasil apresenta grande importância, visto que em diversos levantamentos florísticos tem participado com em torno de 10% do total de espécies vasculares. Os frutos freqüentemente apresentam pápus persistente e transformado em uma estrutura de dispersão, sendo a anemocoria e a zoocoria as formas de dispersão mais significativas. A eficiência na dispersão confere às Asteraceae extrema importância no conhecimento da recuperação de áreas degradadas, onde participam tanto como pioneiras na colonização de ambientes degradados, quanto na ocorrência em clareiras e bordas de mata (HEIDEN, 2007; VERDI, 2005).

2.2 - Considerações botânicas sobre o Gênero *Baccharis*.

O gênero *Baccharis* é um grande grupo com mais de 500 espécies distribuídas nas regiões temperadas e tropicais do Brasil, Argentina, Colômbia, Chile e México (VERDI, 2005).

Comumente as espécies de *Baccharis* que possuem cladódios são denominadas popularmente de carqueja. Os cladódios consistem em expansões laterais do caule cuja função é a fotossíntese e fazem o papel da folha, uma vez que estas estão totalmente ausentes, mostram-se reduzidas, ou com função fisiológica restrita para a planta. O nome carqueja foi dado primeiramente à espécie *Baccharis genistifolia*, onde depois, se estendeu as outras espécies como a *Baccharis trimera* (BUDEL, 2005).

Devido ao gênero *Baccharis* possuir aproximadamente 500 espécies, comparativamente existe poucos trabalhos de morfoanatomia e de controle de qualidade envolvendo as mesmas, principalmente no que diz respeito ao Brasil que possui aproximadamente 120 espécies (BUDEL, 2005).

2.3 - Considerações botânicas sobre a espécie *Baccharis salzmannii* DC.

Baccharis salzmannii DC é um arbusto dióico, ereto, 1,9 a 3 m de altura e de caule glutinoso. As folhas alternas, 0,6-9,3 cm x 0,4-4,2 cm, são elípticas, obovadas ou oblongo-obovadas de ápice obtuso a agudo, brácteas involucrais 5-7- seriadas, imbricadas, esverdeadas, glutinosas, persistentes com

receptáculo convexo, epaleáceo. Suas flores são alvas a esverdeadas. O ovário é atrofiado por aborto com pápus de inúmeras cerdas brancas (ARISTONIO, 2006).

Foto: E. R. Silveira



Foto: E. R. Silveira



Foto: E. R. Silveira

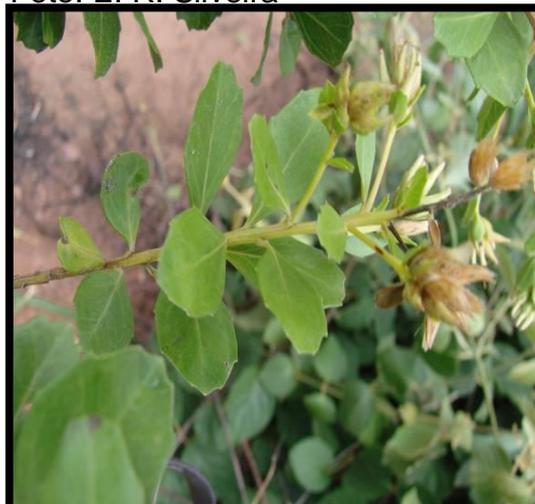


Figura 1. Fotos da espécie *Baccharis salzmannii* em seu habitat natural, com destaque para folhas e flores.



Capítulo 3
Levantamento
Bibliográfico

3.0 Levantamento Bibliográfico sobre o gênero *Baccharis*.

Neste levantamento bibliográfico são apresentadas as espécies do gênero *Baccharis* estudadas quimicamente, bem como, suas atividades biológicas apresentadas. Os dados foram fornecidos através de ferramentas de busca como SciFinder Scholar e Science Direct até 2010 onde verificou-se registros de estudos para 120 espécies do gênero *Baccharis*. Dentre as espécies mais estudadas destacam-se: *B. articulata*, *B. dracunculifolia*, *B. megapotamica*, *B. incarum*, *B. trimera*, *B. trinervis*, *B. salicifolia*, *B. crispa*, *B. coridifolia*, *B. grisebachii* e *B. tricuneata*.

3.1 Atividades Farmacológicas do gênero *Baccharis*.

Das 120 espécies do gênero *Baccharis* que foram estudadas quimicamente, em torno de 30 espécies apresentam estudos de atividade biológica (VERDI, 2005).

Dentre os diterpenos testados, os labdanos gaudichaudols A-C (Figura 2, página 27), os clerodanos gaudichaudona e o acetato de articulina (Figura 3, página 28) mostraram significativa atividade citotóxica contra algumas células testadas (FULLAS, 1994, STAPEL, 1980). O diterpeno clerodano dilactônico de *Baccharis trimera* (figura 47, página 39) apresentou efeito vasorelaxante para a musculatura lisa vascular em ratos. Esse efeito pode estar relacionado à vasodilatação e melhora da circulação sanguínea constatada pela medicina popular para esta planta (TORRES, 2000).

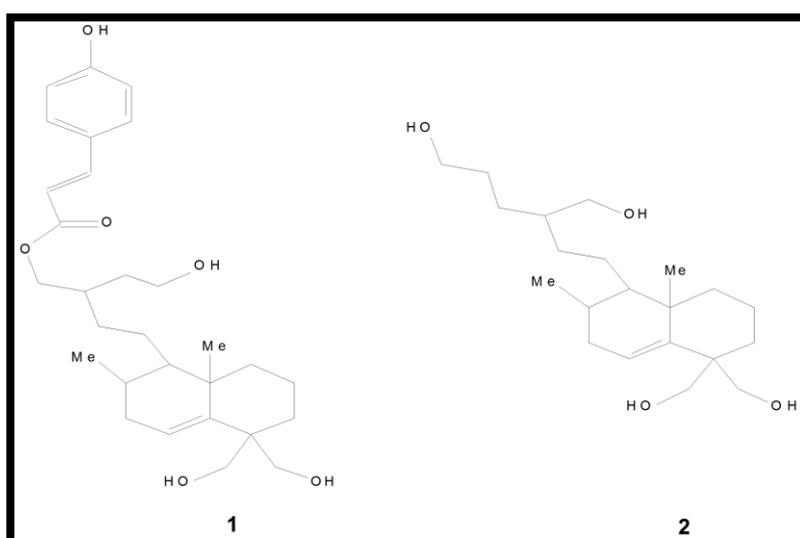


Figura 2. Estrutura dos diterpenos labdanos gaudichaudols A (1) e C (2).

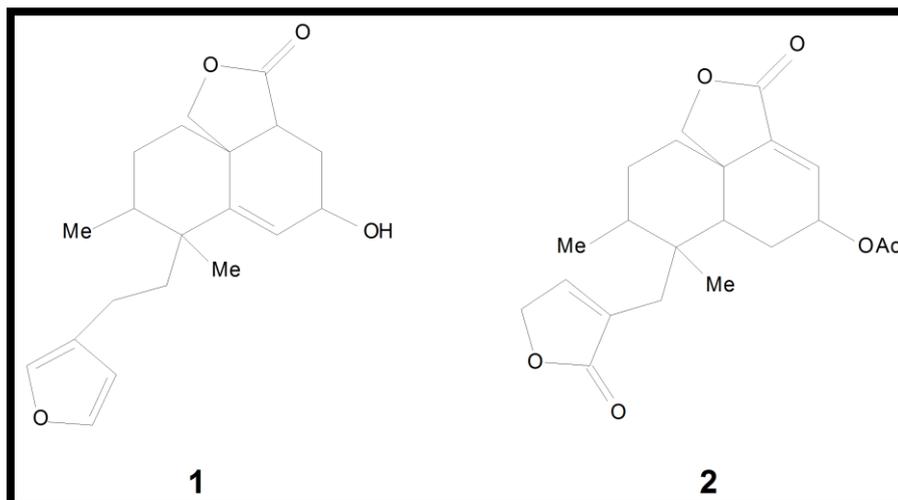


Figura 3. Estrutura dos diterpenos clerodanos gaudichaudona (1) e acetato de articulina (2).

Os tricotecenos eram conhecidos, até pouco tempo, como metabólitos produzidos exclusivamente por fungos, principalmente dos gêneros *Fusarium* e *Myrothecium*. Em 1976 este tipo de metabólito foi primeiramente detectado em plantas superiores ao ser isolado de *Baccharis megapotamica*, sendo denominado baccharin (figura 4), onde foi ativo contra leucemia implantada em ratos (VERDI, 2005). Esses diterpenos constituem uma nova classe de compostos potencialmente importantes no desenvolvimento de fármacos anticâncer e estão presentes principalmente em espécies coletadas na Argentina e nas regiões sul e sudeste do Brasil, Rio Grande do Sul, Paraná e São Paulo (KUPCHAN, 1976).

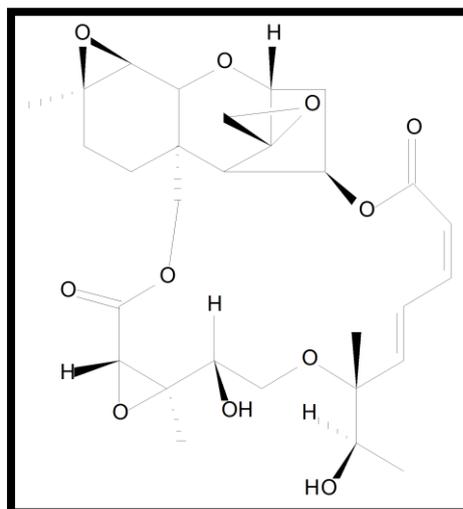


Figura 4. Estrutura do tricoteceno baccharin

Uma relação dos constituintes químicos isolados das espécies do gênero *Baccharis* pode ser visto na tabela 4, página 44.

3.2-Principais constituintes encontrados no gênero *Baccharis*.

3.2.1-Flavonóides.

Os flavonóides, juntamente com os diterpenos, são os compostos de maior ocorrência no gênero *Baccharis*, e são descritos como bons marcadores quimiotaxonômicos para os mais baixos níveis hierárquicos da família Asteraceae. Estes compostos apresentam-se normalmente como agliconas livres e muito raramente na forma glicosilada, o que é uma característica da família Asteraceae. Existem 298 ocorrências de flavonóides no gênero *Baccharis*, perfazendo um total de 109 compostos diferentes, sendo 24 com unidade flavanona e 85 com unidade flavona, das quais 48% apresentam-se oxigenadas em C-3. O padrão de oxigenação mais freqüente ocorre em C-5 e C-7 do anel A, e C-4' do anel B. O grupo metoxila aparece com maior freqüência em C-7 e C-6 do anel A e C-4' do anel B (VERDI, 2005). A tabela 2, página 33 demonstra algumas substâncias com esqueletos flavonoídicos isolados do gênero *Baccharis*.

3.2.2-Terpenos.

Os diterpenos são os compostos encontrados em maior quantidade no gênero *Baccharis*. Dentre estes, destacam-se principalmente os de esqueleto clerodanos e, menos comum, esqueletos labdanos e cauranos (figura 5, página 30). Os clerodanos tem seu nome derivado da (-)-clerodina, o primeiro diterpeno da classe dos clerodanos (figura 6, página 30) que foi isolado a partir da espécie *Clerodendron infortunatum* L. Os neo-clerodanos estão relacionados com os *ent*-labdanos, nos quais a cadeia carbônica ligada a C-9 está α -orientada, enquanto os *ent*-neoclerodanos são biogeneticamente relacionados aos labdanos da série normal, os de maior ocorrência no reino vegetal, onde a cadeia carbônica ligada ao carbono C-9, encontra-se β -orientada (figura 7, página 30; MACIEL, 2006; RODRÍGUEZ et al., 1994).

É bastante comum a utilização de prefixos que designam modificações no esqueleto de clerodanos. A utilização do prefixo *ent* indica inversão de todos

centros estereogênicos. A designação *seco* indica a quebra de alguma ligação do esqueleto anelar e enquanto que a *nor* indica a ausência de um carbono na estrutura.

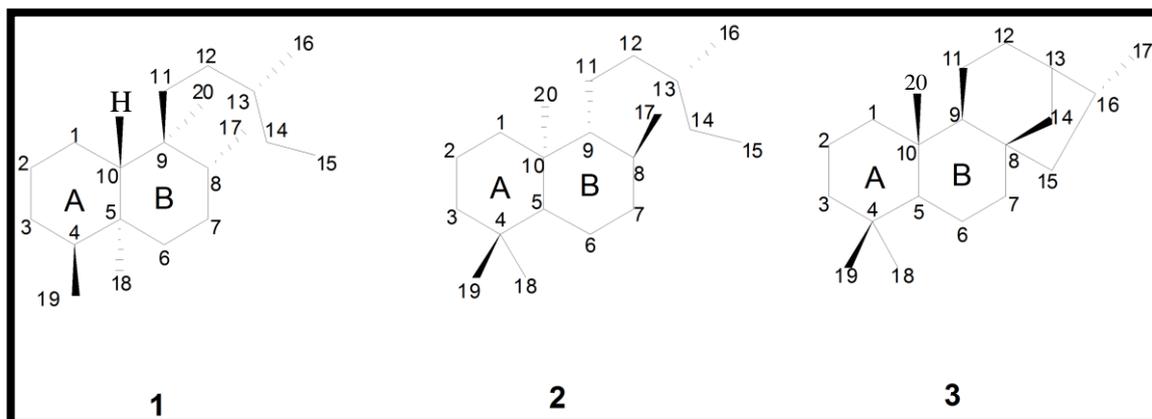


Figura 5. Esqueletos do tipo clerodano (1), labdano (2) e caurano (3).

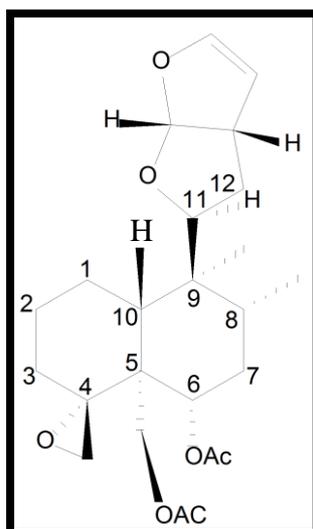


Figura 6. Estrutura da (-)-clerodina

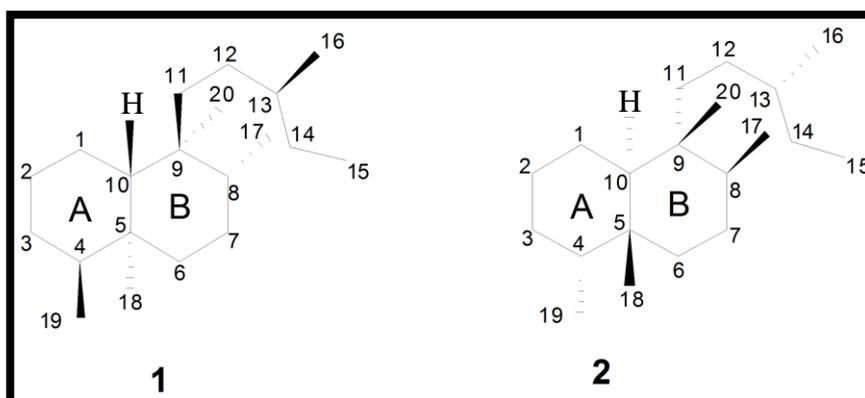


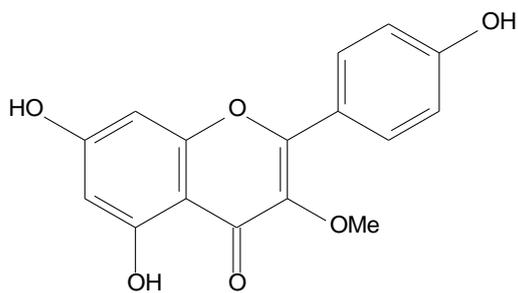
Figura 7. Estrutura dos esqueletos ent e neo clerodanos

Os triterpenos apresentam 103 relatos em 48 espécies de *Baccharis*. O composto de maior ocorrência é o ácido oleanólico, que foi encontrado em 24 espécies, seguido pelo óxido de baccharis que foi encontrado em 17 espécies. A tabela 3, página 38 mostra Terpenos isolados a partir de espécies do gênero *Baccharis*.

Tabela 1. Algumas espécies com atividade biológica no gênero *Baccharis*.

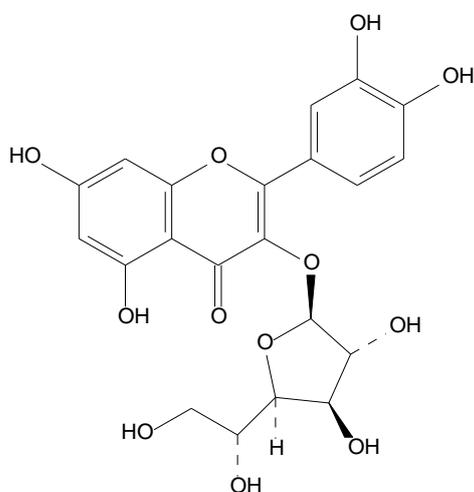
Espécie	Compostos/Extratos	Bioatividade	Referência
<i>Baccharis anômala</i>	Folhas	antimicrobiana	BUDEL, 2008
<i>Baccharis artemisioides</i>	diterpenos clerodanos	“antifeedant”	SOSA, 1994
<i>Baccharis articulata</i>	Extrato	Antioxidante	OLIVEIRA, 2003
<i>Baccharis boliviensis</i>	extrato e ácido ferrúlico	Alelopática	CAZON, 2000
<i>Baccharis crispa</i>	diterpenos clerodanos, flavonóides, extrato	“antifeedant”, antimicrobiana, antioxidante	ENRIZ, 2000; PALACIUS, 1983
<i>Baccharis gaudichaudiana</i>	diterpenos clerodanos, labdanos e flavonóides	Citotóxica	FULLAS, 1994
<i>Baccharis genistelloides</i>	Extrato	antiviral, gastroprotetiva	GONZALES, 2000. ABAD, 1999;
<i>Baccharis illinita</i>	Extrato	Antinociceptiva	FREITAS, 2009
<i>Baccharis incarum</i>	Extrato	síntese protéica	PEREZ-GARCIA, 2001
<i>Baccharis latifolia</i>	Extrato	síntese protéica	PEREZ-GARCIA, 2001
<i>Baccharis linearis</i>	ácido oleanólico, extrato, terpenos e flavonóides	alelopática, citotóxica	ARGANDONA, 1993
<i>Baccharis megapotamica</i>	Tricotecenos	aleloquímica, toxidade cerebral, antileucêmica	KUTI, 1990; BERGMANN, 1993
<i>Baccharis papillosa</i>	Flavonóides	Antioxidante	ESCOBAR, 2009.
<i>Baccharis trimera</i>	diterpenos clerodano e flavonóide	Vasorelaxante	GOSMANN, 2010 PAUL et al, 2009 TORRES, 2000

Tabela 2. Flavonóides isolados a partir de espécies do gênero *Baccharis*.



(1)

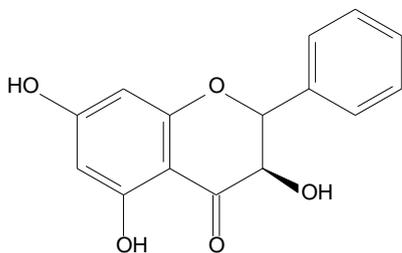
4',5,7-Tri-hidroxi-3-metoxi-flavona



(3)

Isotrifoliina

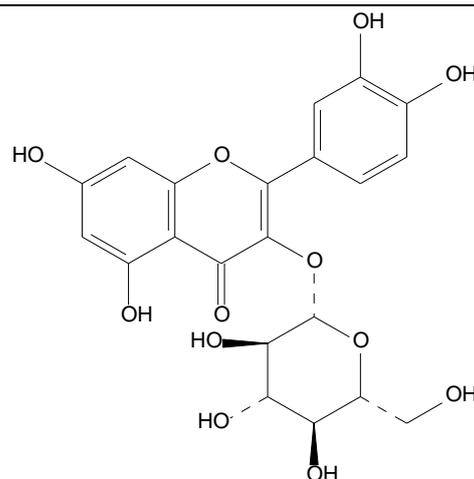
3-β-D-glucofuranosidio- 3,3',4',5,7-penta-hidroxi-flavona



(5)

Pinobancasina

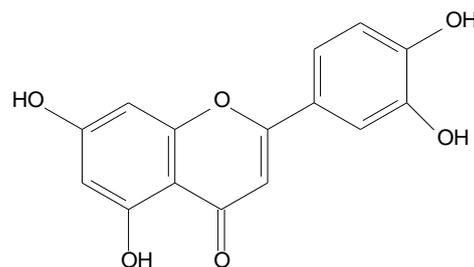
3,5,7-Tri-hidroxi-flavanona



(2)

Astragalina

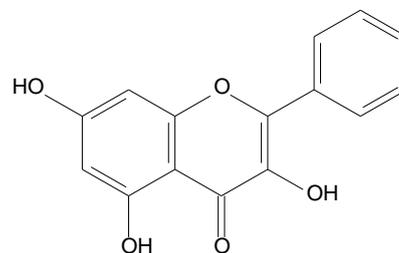
3-β-D-glucopiranosideo 4',5,7-tri-hidroxi-flavona



(4)

Luteolin

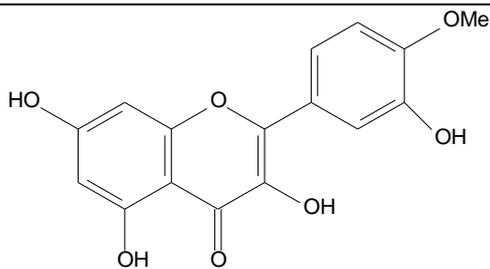
3',4',5,7-Tetra-hidroxi-flavona



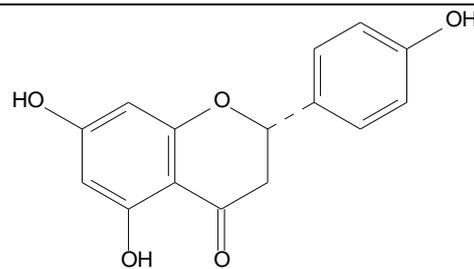
(6)

Norisalpinina

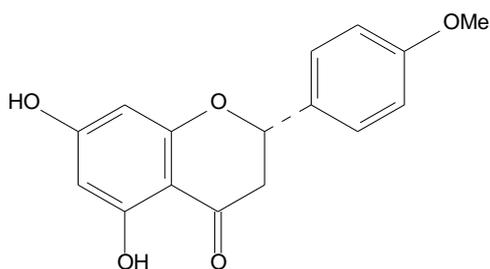
3,5,7-Tri-hidroxi-flavona



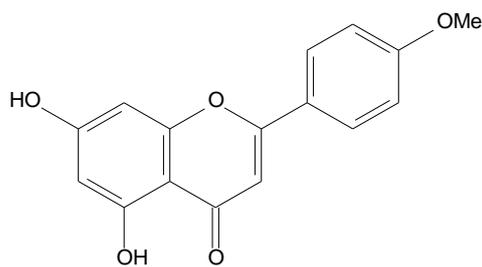
(7)
 Tamarixetina
 3,3',5,7-Tetra-hidroxi-4'metoxi-flavona



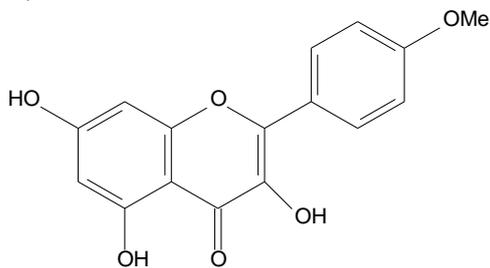
(8)
 Narigenina;
 4',5,7-Tri-hidroxi-flavanona



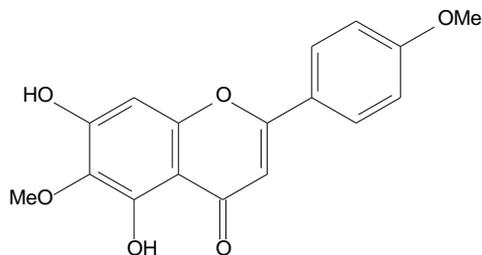
(9)
 Poncirtina
 5,7-Di-hidroxi-4'-metoxi-flavanona



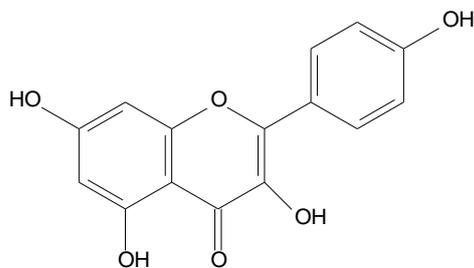
(10)
 Acacetina
 5,7-Di-hidroxi-4'-metoxi- flavona



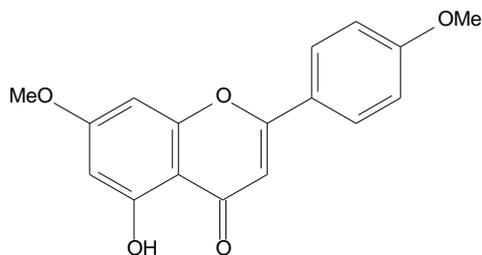
(11)
 Caempferol 4'-O-metil éter;
 3,5,7-Tri-hidroxi-4'-metoxi- flavona



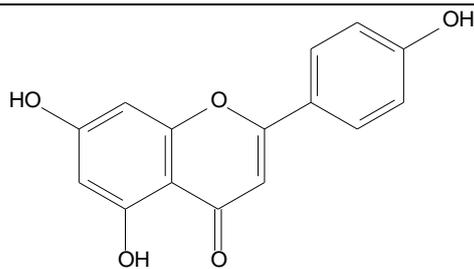
(12)
 Pectolinariogenina
 5,7-Di-hidroxi-4',6-dimetoxi-flavona



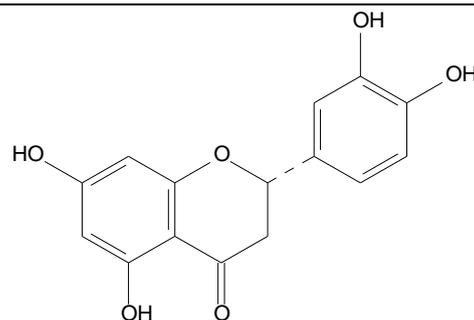
(13)
 Campferol
 3,4',5,7-Tetra-hidroxi- flavona



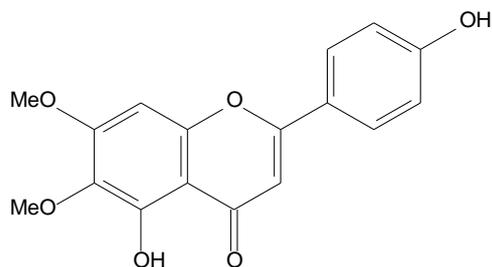
(14)
 Apigenina dimetil éter
 5-Hidroxi-4',7-dimetoxi-flavona



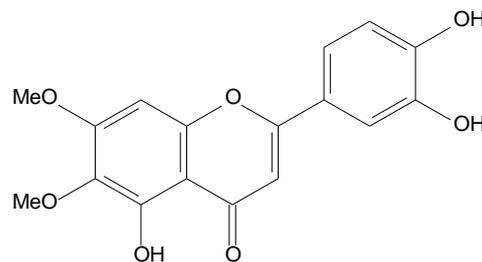
(15)
 Apigenina
 4',5,7-Tri-hidroxi-flavona



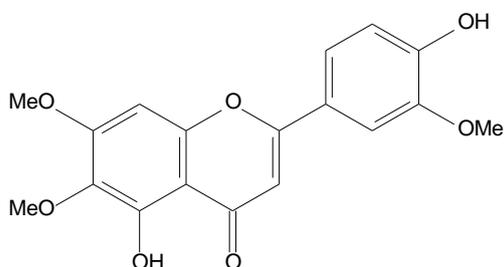
(16)
 Eriodictiol
 3',4',5,7-Tetra-hidroxi-flavanona



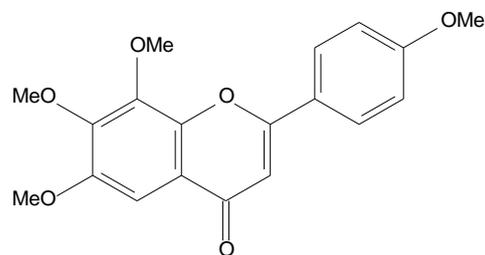
(17)
 Skrofulleina
 4',5-Di-hidroxi-6,7-dimetoxi-flavona



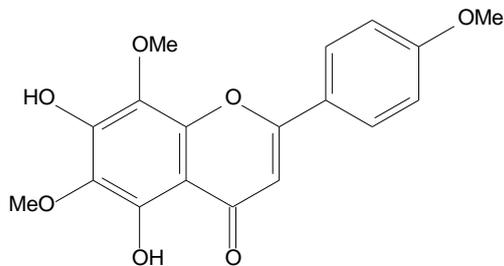
(18)
 Cirsiliol
 3',4',5-Tri-hidroxi-6,7-dimetoxi-flavona



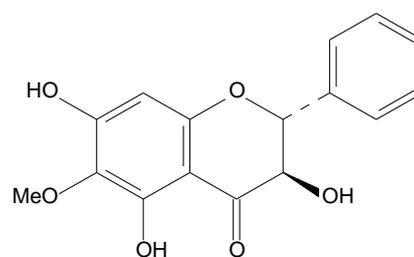
(19)
 Eupatrina
 4',5-Di-hidroxi-3',6,7-trimetoxi-flavona



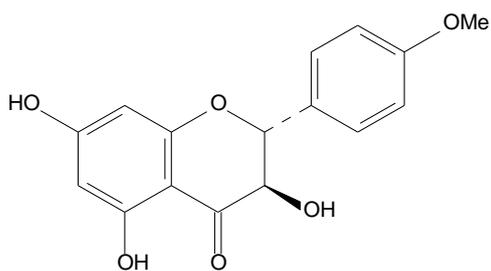
(20)
 Gardenina B
 5-Hidroxi-4',6,7,8-tetrametoxi-flavona



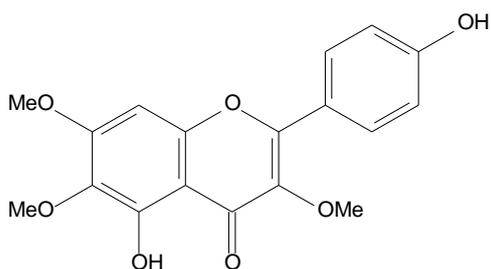
(21)
 Navadensina
 5,7-Di-hidroxi-4',6,8-trimetoxi-flavona



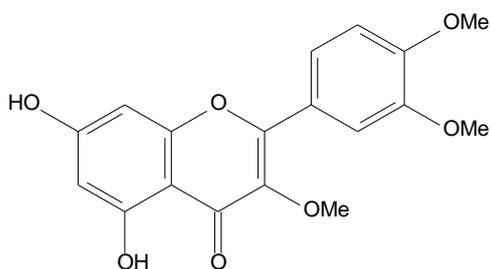
(22)
 Alnustinol
 3,5,7-Tri-hidroxi-6-metoxi-flavanona



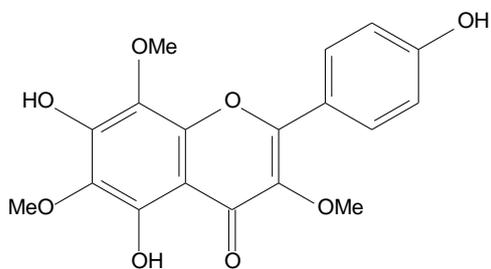
(23)
 3,5,7-Hidroxi-4'metoxi-flavanona



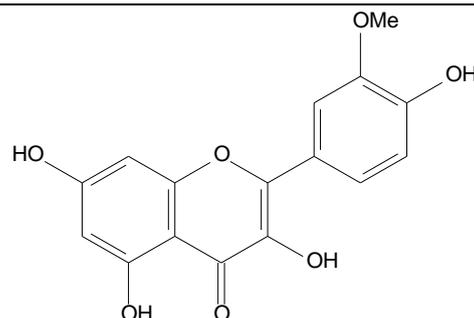
(25)
 Penduletina
 4',5-Di-hidroxi-3,6,7-trimetoxi- flavona



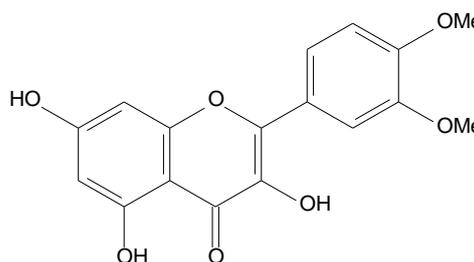
(27)
 5,7-Di-hidroxi-3,3',4'-trimetoxi-flavona



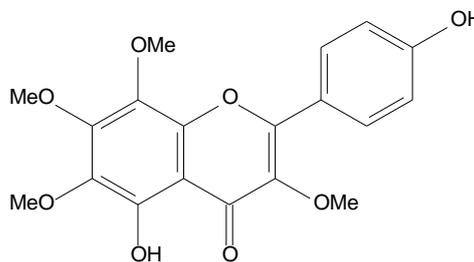
(29)
 Sarotrina
 4',5,7-Tri-hidroxi-3,6,8-trimetoxi-flavona



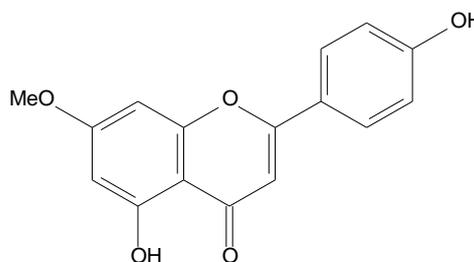
(24)
 Quercetina 3'-metil éter
 3,4',5,7-Tetra-hidroxi-3'-metoxi-flavona



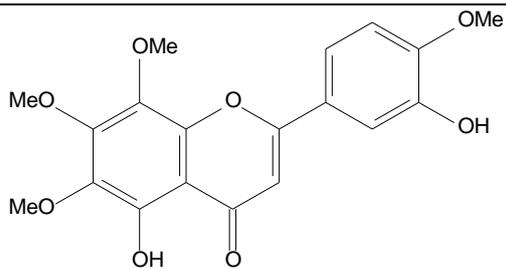
(26)
 3,5,7-Tri-hidroxi-3',4'-dimetoxi-
 flavona



(28)
 Calcicopterina
 5,4'-Di-hidroxi-3,6,7,8-tetrametoxi-
 flavona



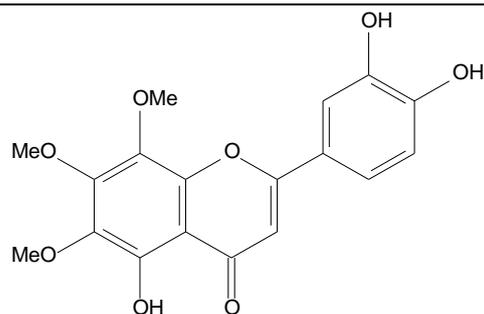
(30)
 Genquanina
 5,4'-Di-hidroxi-7-metoxi-flavona



(31)

Gardenina D

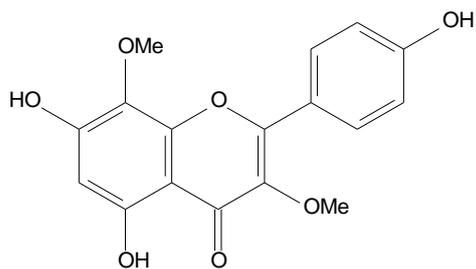
3',5'-Di-hidroxi-6,7,8,4'-tetrametoxi-flavona



(32)

Sideritoflavona

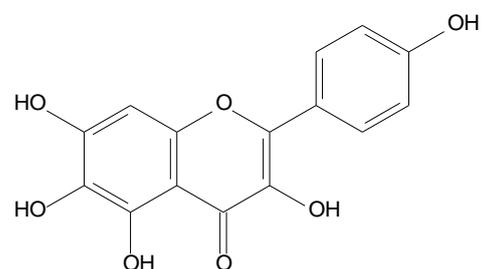
3',4',5'-Tri-hidroxi-6,7,8- trimetoxi-flavona



(33)

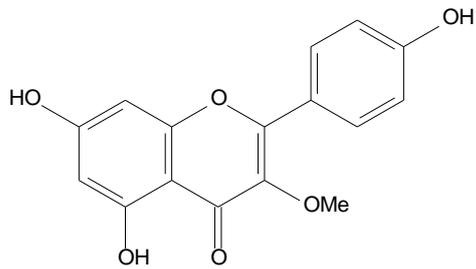
Herbacetina

4',5,7-Tri-hidroxi-3,8-dimetoxi-flavona



(34) Galetina

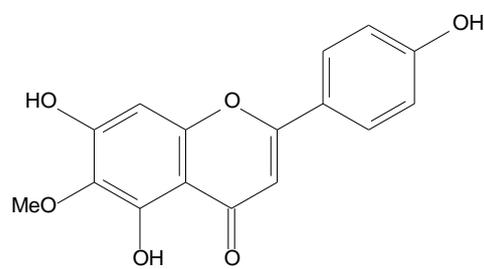
3,4',5,6,7-Penta-hidroxi-flavona



(35)

Jaranol

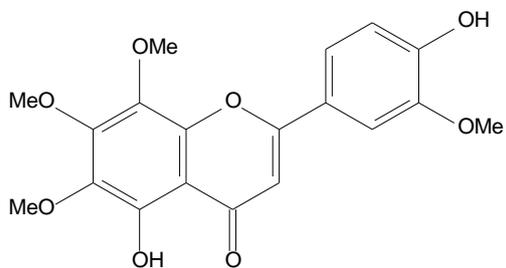
4',5-Di-hidroxi-3,7-dimetoxi-flavona



(36)

Hispedulina

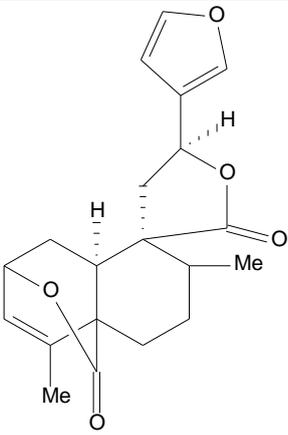
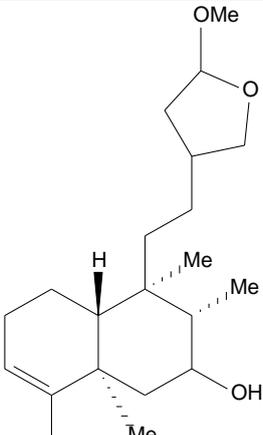
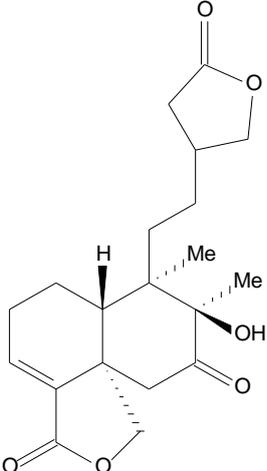
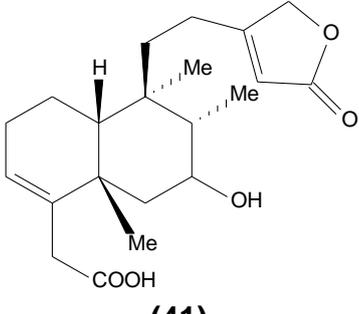
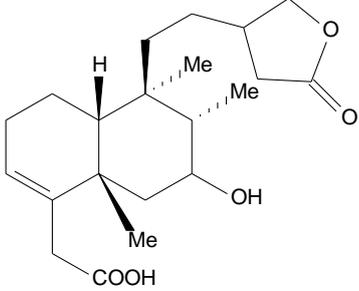
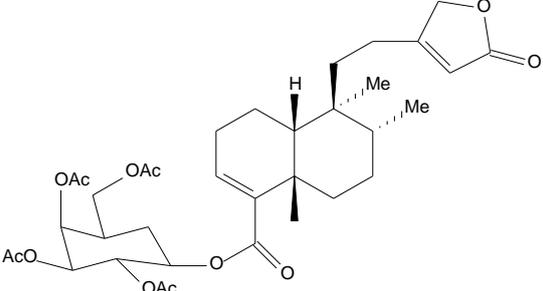
4',5,7-Tri-hidroxi-6-metoxi-flavona

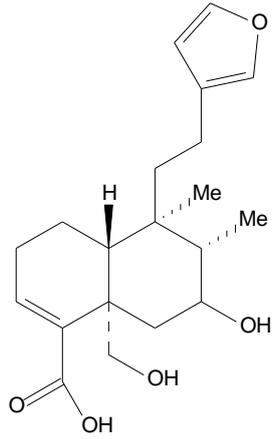


(37)

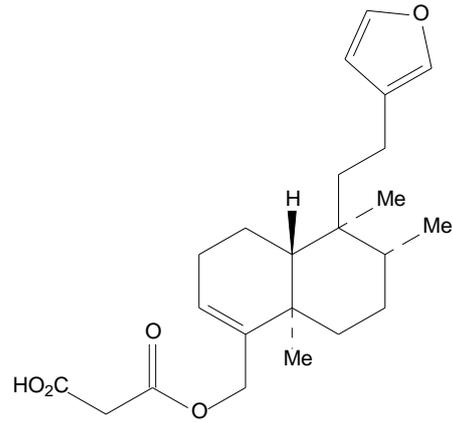
4',5-Di-hidroxi-3',6,7,8-tetrametoxi-flavona

**Tabela 3. Terpenos isolados a partir de espécies do gênero *Baccharis*.
 Diterpenos de esqueleto Clerodano.**

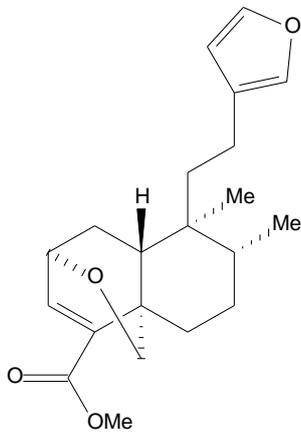
 <p>(38) Deoxibartemidiolídio</p>	 <p>(39) 15,16-epoxi-7β,18-di-hidroxi-15-metoxi-ent-clerod-3-eno</p>
 <p>(40) Ácido 8β-hidroxi-7-oxo-ent-cleroda-3-en-16,19-dilactona,15,18-dióico.</p>	 <p>(41) Marrubiagenina</p>
 <p>(42) 13,14-Di-hidro-marrubiagenina</p>	 <p>(43) cis-cleroda-3,13(14)-dien-15,16-olide-18-O-[β-galactopiranosil]-peracetilester.</p>



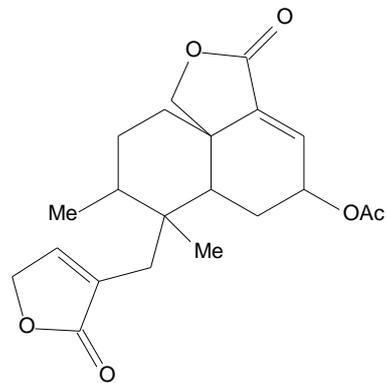
(44)
 Ácido hautrivaico



(45)
 Malonato de bacchalineol

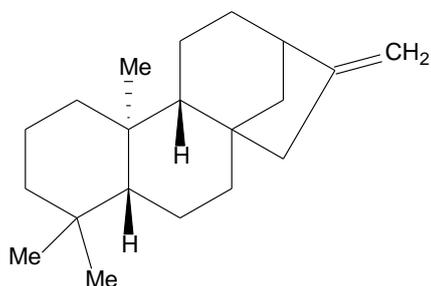


(46)
 bartemidiolido

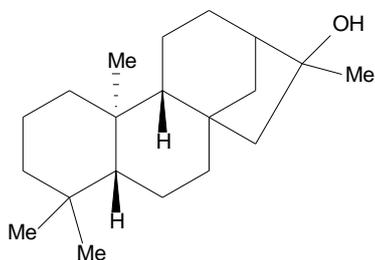


(47)
 Acetato de Articulina

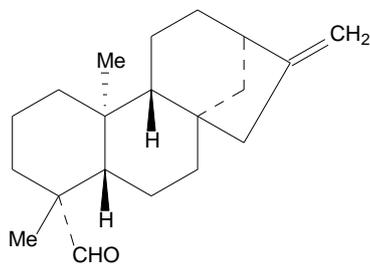
Diterpenos de esqueleto do tipo Caurano.



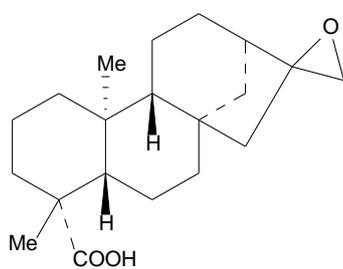
(48)
 Caur-16-eno



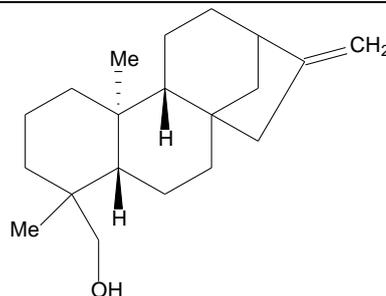
(50)
 Cauran-16-ol



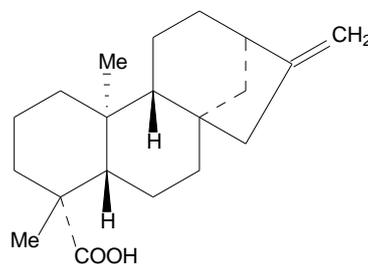
(52)
 Caur-16-en-18-al



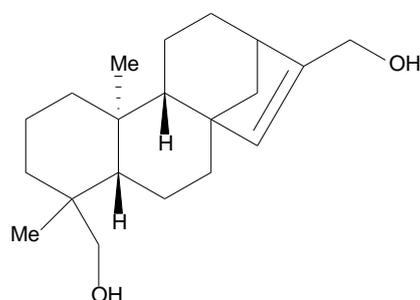
(54)
 Ácido 16,17-Epoxi-cauran-18-óico



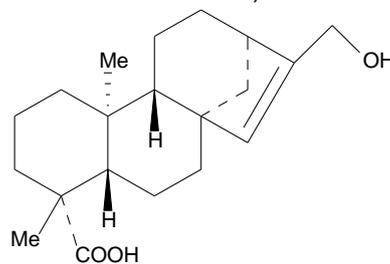
(49)
 Caur-16-en-18-ol



(51)
 Ácido caurenóico

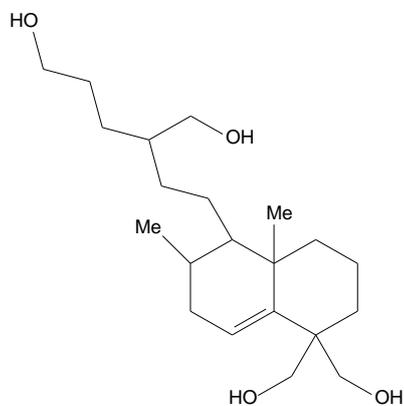


(53)
 Caur-15-en-17,18-diol.

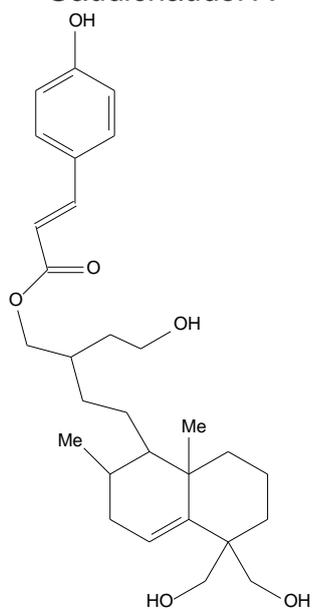


(55)
 Ácido 17-hidroxi-caur-15-en-19-óico

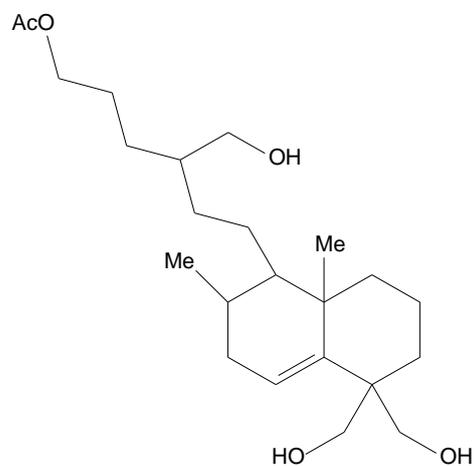
Diterpenos de esqueleto do tipo Labdano.



(56)
 Gaudichaudol A

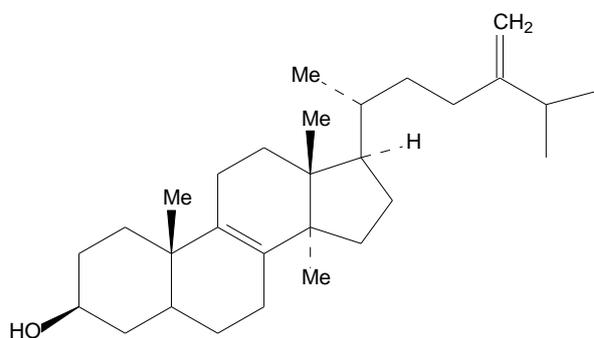


(58)
 Gaudichaudol C

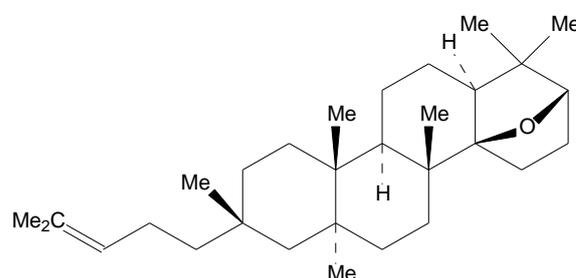


(57)
 Gaudichaudol B

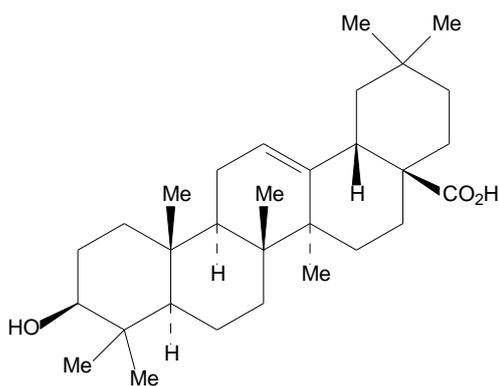
Triterpenos.



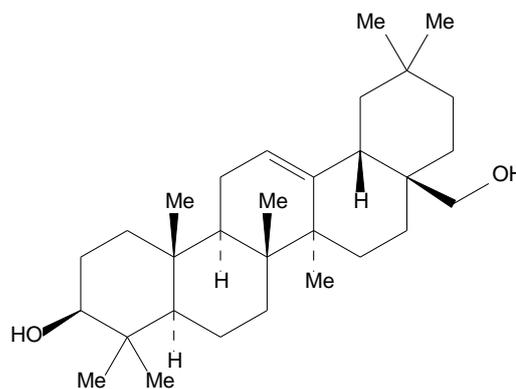
(59)
 14-Metil- ergosta-8,24(28)-dien-3-ol



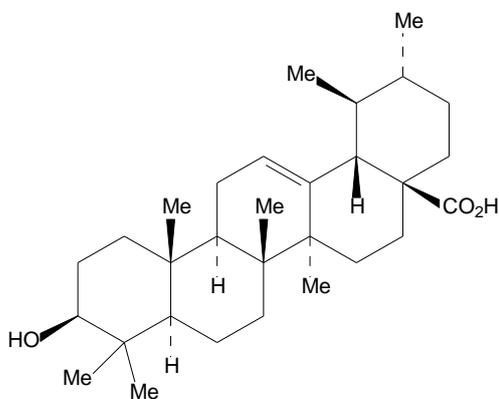
(60)
 Óxido de *Baccharis*



(61)
 Ácido oleanólico

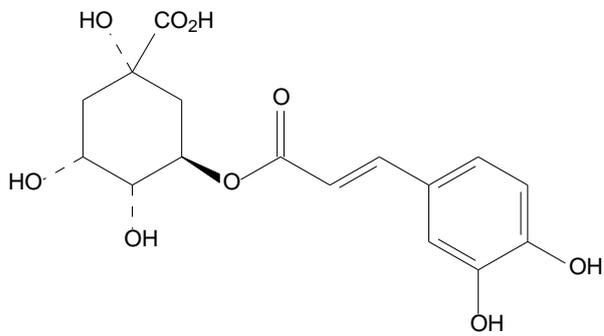


(62)
 Eritrodíol

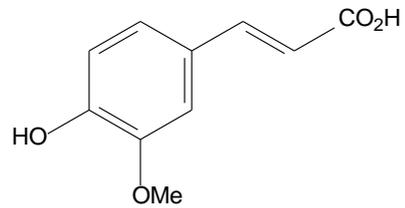


(63) Ácido ursólico

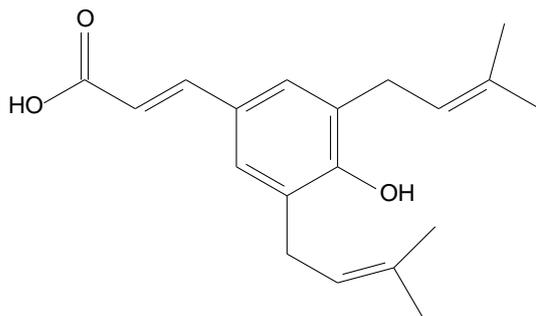
Outros Compostos isolados do gênero *Baccharis*.



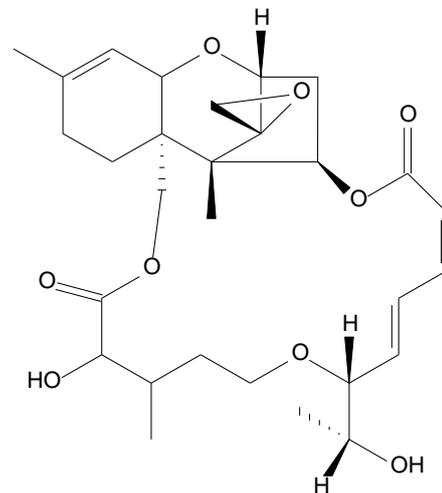
(64)
 Ácido clorogênico



(65)
 Ácido trans-ferúlico



(66)
 Artepillin C



(67)
 Roridin A

Tabela 4. Relação dos constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Baccharis*.

Espécies	Estrutura	Referências
<i>Baccharis alaternoides</i>	1	BOHLMANN, 1982.
<i>Baccharis angustifolia</i>	2, 3, 4	WAGNER, 1972.
<i>Baccharis artemisioides</i>	38, 46	TONN, 1989.
<i>Baccharis articulata</i>	38, 39, 40, 47	DAI, 1993.
<i>Baccharis bigelovii</i>	4, 5, 6, 7	WOLLENWEBER, 1986.
<i>Baccharis conferta</i>	8, 9, 10, 11, 12, 13	WEIMANN, 2002
<i>Baccharis conferta</i>	14, 61, 62	WEIMANN, 2002
<i>Baccharis coridifolia</i>	67	GARCIA, 2002.
<i>Baccharis draculinifolia</i>	23, 63, 64, 65, 66	KUMAZAWA, 2003; MIDORIKAWA, 2003.
<i>Baccharis gaudichaudiana</i>	43, 49, 56, 57, 58; 59, 60	FULLAS, 1994; AKAIKE, 2003; ZDERO, 1989.
<i>Baccharis genistelloides</i>	14,15, 16, 17, 18, 19	KUROYANAGI, 1985.
<i>Baccharis grisebachii</i>	20, 21, 22, 44	FERESIN, 2003; JAKUPOVIC, 1990.
<i>Baccharis heterophylla</i>	30	WOLLENWEBER, 1986; JAKUPOVIC, 1990.
<i>Baccharis illinita</i>	4, 9, 15, 55	VERDI, 2004.
<i>Baccharis incarum</i>	45	GIVOVICH, 1986.
<i>Baccharis ligustrina</i>	8, 36	MOREIRA, 2003.
<i>Baccharis minutiflora</i>	48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55	BOHLMANN, 1982.
<i>Baccharis neaei</i>	37, 38, 39	FAIN,1992.
<i>Baccharis quitensis</i>	28, 31, 32	WOLLENWEBER, 1986.
<i>Baccharis salicifolia</i>	10,13,15, 24, 25, 26, 27	WOLLENWEBER, 1986.
<i>Baccharis sagittalis</i>	41, 42, 43	FERESIN, 2003; DIEGO, 2002.
<i>Baccharis sarothroides</i>	28, 29, 33, 34, 35	WOLLENWEBER, 1986.
<i>Baccharis vaccinoides</i>	12, 17, 36	WOLLENWEBER, 1986.

A photograph of a plant with green, rounded leaves and clusters of small, light-colored flowers or buds. The text "Capítulo 4 Parte Experimental" is overlaid in the center.

Capítulo 4
Parte
Experimental

4- Parte Experimental

4.1 Métodos Cromatográficos

4.1.1 Cromatografia de Adsorção.

As cromatografias de adsorção foram realizadas utilizando-se colunas de gel de sílica 60 (\varnothing 63 – 200 μ m) e de sílica para cromatografia “flash” (\varnothing 40 – 63 μ m), da Merck. 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 nas cromatografias de adsorção sob pressão média (cromatografia flash) foram de vidro resistente à pressão, e continham bulbos no ápice, para armazenamento de solvente. Foi empregada nessa técnica, bomba de ar comprimido modelo inalar compact N° 4724059 de Ind. de Aparelhos Médicos Ltda.

Para a cromatografia de camada delgada (CCD) utilizou-se cromatoplasmas de sílica 60 (\varnothing 2 – 25 μ m) sobre placas de vidro da marca CARLO ERBA e sobre alumínio da Merck ambos com indicador de fluorescência na faixa de 254 nm.

Os eluentes utilizados nos procedimentos cromatográficos foram: hexano, diclorometano, 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 com menor R_F) apresentar R_F próximo de 0,3. Estes eluentes escolhidos foram utilizados no empacotamento da sílica nas colunas e como eluentes de partidas 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), em um aparelho Spectroline modelo ENF 240 C/F, e ainda por aspensão em solução (1:1) de vanilina a 1% em etanol com solução de ácido perclórico a 5% em água destilada. As placas cromatográficas foram submetidas a aquecimento a 100 °C por 3 minutos.

4.2. Métodos de Análise Espectroscópica.

4.2.1 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 de carbono-13 (RMN ^{13}C) uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelo Advance DPX-500, pertencentes ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear, da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN-UFC), operando na frequência do hidrogênio a 500,13 MHz e a frequência do carbono a 125,75 MHz, respectivamente.

Os solventes utilizados nas dissoluções das amostras para obtenção dos espectros foram a acetona $[(\text{CD}_3)_2\text{CO}]$, metanol $[\text{MeOD}]$ e piridina $(\text{C}_5\text{D}_5\text{N})$ deuterados, comercializadas pela Merck e Aldrich.

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em parte por milhão (ppm) e referidos, no caso dos espectros de hidrogênio, pelos picos dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais do solvente deuterado utilizado, acetona (δ_{H} 2,04 ppm) metanol (δ_{H} 4,78, 3,31 ppm) para o RMN ^1H , e acetona (δ_{C} 30,07 ppm), metanol (δ_{C} 49,0 ppm), piridina (δ_{C} 123,5, 135,5, 149,2) nos espectros de RMN ^{13}C .

As multiplicidades dos sinais de hidrogênio nos espectros de RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: s (singleto), d (dubleto), dd (duplo dubleto), t (tripleto), 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) e CH_3 (carbono metílico).

4.2.2 Espectroscopia 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 (DQOI/UFC), utilizando pastilhas de KBr.

4.2.3 Espectrometria de Massas.

Os espectros de massa de baixa resolução foram registrados num espectrômetro Shimadzu, modelo QP 5000/DI-50, através de impacto eletrônico a 70 eV, pertencente à Central Analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

4.3 Métodos Físicos.

4.3.1 Ponto de Fusão (PF).

Os pontos de fusão foram determinados em equipamentos de microdeterminação Mettler, com placa aquecedora FP90, pertencente ao Departamento de Química Orgânica da Universidade Federal do Ceará. As determinações foram realizadas com gradiente de aquecimento de 3 °C/min.

4.4 Estudos dos Constituintes Químicos Não-Voláteis de *Baccharis salzmannii*.

O material vegetal foi coletado no município de Jacobina-BA, pelo professor Dr. Edilberto Rocha Silveira, pertencente ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, em março de 2009. O material foi identificado pela profa. Maria Lenise Guedes da Universidade federal da Bahia.

4.4.1 Obtenção do extrato etanólico de *Baccharis salzmannii*.

840,0 g das folhas de *Baccharis salzmannii* foram triturados e dessecados, e posteriormente submetidas a uma extração exaustiva com etanol a frio. Após destilação do solvente sob pressão reduzida, obteve-se um extrato de aspecto esverdeado denominado de BSFE (121,3 g).

2,36 kg dos talos foram triturados e secos, e posteriormente submetidos a uma extração exaustiva a frio com etanol. Após destilação do solvente sob pressão reduzida, obteve-se um extrato de aspecto amarelado que foi denominado de BSTE (41g).

4.4.2 Partição líquido-líquido do Extrato Etanólico das Folhas de *Baccharis salzmannii* – BSFE.

A partição líquido-líquido de BSFE (121,3 g) foi realizado com a dissolução do extrato em solução H₂O:MeOH 1:1 transferindo-se, em seguida, a solução resultante para um funil de separação de 2,0L. Foram utilizados os solventes diclorometano, acetato de etila e metanol, obedecendo uma ordem crescente de polaridade. Ao final, foram obtidos três frações resultantes (Tabela 5).

Tabela 5. Fracionamento de BSFE.

Denominação	Eluente	Peso (g)
BSFE-PD	Diclorometano	80,6
BSFE-PA	Acetato de etila	15,0
BSFE-PM	Metanol	6,0

4.4.3 Fracionamento Cromatográfico da fração BSFE-PM.

Uma alíquota da fração BSFE-PM (3,0 g) foi adsorvida em gel de sílica 60 (Ø 63 – 200 µm) e posteriormente acondicionada em uma coluna normal de 4.5 cm de diâmetro, previamente empacotada com 54,3 g de gel de sílica 60 (Ø 63 – 200 µm). Para a eluição foram utilizados os solventes hexano, acetato de etila e metanol, seguindo ordem crescente de polaridade. Ao final do experimento, foram coletadas 200 frações com volume médio de 10 mL cada (Tabela 6). As frações foram analisadas em CCD e posteriormente reunidas em 12 frações resultantes, de acordo com as suas semelhanças.

Tabela 6. Fracionamento de BSFE-PM.

Denominação	Eluente	Peso (mg)
F1 (1-44)	Hexano/AcOEt 30%	12.9
F2 (45-69)	Hexano/AcOEt 50%	5.7
F3 (70-83)		63.0
F4 (84-99)		106.9
F5 (100-103)		36.0

F6 (104-120)	Hexano/AcOEt 80%	91.7
F7 (121-126)		15.1
F8 (127-132)		17.6
F9 (133-138)		35.1
F10 (139-173)	Acetato/MeOH5%	91.0
F11 (174-180)	Acetato/MeOH 50%	92.3
F12(181-200)	MeOH	302.1

4.4.4 Fracionamento Cromatográfico de BSFE-PM (139-173).

A fração BSFE-M (139-173) apresentou um sólido cristalino amarelado que foi lavado com uma mistura binária de diclorometano/metanol (1:1), levando à obtenção de 6,0 mg de um sólido que foi denominado de BS-1. Após análise espectrométrica, BS-1 foi caracterizado como sendo o flavonóide apigenina.

4.4.5 Fracionamento Cromatográfico da fração BSFE-PM (70-83).

A fração BSFE-PM (70-83) (63,0 mg) foi adsorvida em gel de sílica 60 (\emptyset 40 – 63 μ m) e posteriormente acondicionada em uma coluna flash de 2 cm de diâmetro, previamente empacotada com 30.2 g de gel de sílica 60 (\emptyset 40 – 63 μ m). Utilizou-se para a eluição os solventes hexano, acetato de etila e metanol, seguindo ordem crescente de polaridade. Ao final deste procedimento, foram coletadas 115 frações (Tabela 7) que foram reunidas em 5 frações resultantes, de acordo com suas semelhanças em CCD.

Tabela 7. Fracionamento de BSFE-PA/M (70-83).

Denominação	Eluente	Peso (mg)
(1-42)	Hexano/ AcOEt 20%	10,8
(43-56)	Hexano/ AcOEt 50%	25,0
(57-75)		1,4
(76-103)	AcOEt 100%	2,6
(104-115)	MeOH	4,8

A fração BSFE-PM (70-83) (43-56) apresentou-se como um sólido cristalino amarelado que foi denominado de BS-2. Após análise espectroscópica e comparação com dados da literatura, BS-2 foi caracterizada como sendo o flavonóide narigenina.

4.4.6 Fracionamento Cromatográfico da fração BSFE-PM. (segundo fracionamento).

O restante da fração BSFE-PM (3,0 g), proveniente do procedimento do item 4.4.2, foi adsorvida em gel de sílica 60 (\varnothing 63 – 200 μ m) e acondicionada em uma coluna normal de 4.5 cm de diâmetro, previamente empacotada com 58.21 g de gel de sílica 60 (\varnothing 63 – 200 μ m). Utilizou-se para a eluição os solventes hexano, acetato de etila e metanol, seguindo ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 140 frações (Tabela 8), que foram posteriormente reunidas em 14 frações resultantes de acordo com suas semelhanças, após análise em CCD.

Tabela 8. Fracionamento Cromatográfico da fração BSFE-PM2.

Denominação	Eluente	Peso (mg)
F1 (1-17)	Hexano/ AcOEt 30%	6,6
F2 (18-33)		5.1
F3 (34-51)		36,0
F4 (52-56)	Hexano/ AcOEt 60%	37,9
F5 (57-68)		41,0
F6 (69-74)		19,7
F7 (75-79)	Hexano/ AcOEt 90%	37.0
F8 (80-92)		73.1
F9 (93-100)	AcOEt 100%	17,0
F10 (101-120)	AcOEt /MeOH 15%	18,0
F11 (121-130)		263,4
F12(131-136)	AcOEt /MeOH 40%	418,4
F13(136-139)		457,2
F14(140)		MeOH

4.4.7 Fracionamento Cromatográfico da fração BSFE-PM2 (121-130).

A fração BSFE-PM2 (121-130) 263,4 mg foi adsorvida em gel de sílica 60 (\emptyset 63 – 200 μ m) e posteriormente, acondicionada em uma coluna normal de 2 cm de diâmetro, previamente empacotada com 31,0 g de gel de sílica 60 (\emptyset 63 – 200 μ m). Utilizou-se para a eluição os solventes hexano, acetato de etila e metanol, seguindo ordem crescente de polaridade. Ao final do procedimento foram coletadas 79 frações de 10 mL, que foram posteriormente reunidas em 9 frações resultantes (Tabela 9) de acordo com suas semelhanças, após análise em CCD.

Tabela 9. Fracionamento cromatográfico de BSFE-PM2 (121-130).

Denominação	Eluente	Peso (mg)
F1 (1)	Hexano/ AcOEt 80%	3,0
F2 (2-6)		11,7
F3 (7-12)		71,0
F4 (13-18)		2,5
F5 (19-26)		3,9
F6 (27-38)	AcOEt 100%	1,5
F7 (39-70)		65,1
F8 (71-78)		70,4
F9 (79)	MeOH	61,7

4.4.8 Fracionamento Cromatográfico da fração BSFE-PM2 (121-130) (39-70).

A fração BSFE-PM2 (121-130) (39-70) (65,1 mg) foi adsorvida em gel de sílica 60 (\emptyset 40 – 63 μ m) e posteriormente acondicionada em uma coluna flash de 2,5 cm de diâmetro, previamente empacotada com 36.7 g de gel de sílica 60 (\emptyset 40 – 63 μ m). Para eluição foram utilizados os solventes diclorometano, acetato de etila e metanol, seguindo uma ordem crescente de polaridade. Ao final deste procedimento foram coletadas 84 frações, que foram reunidas em 6 frações resultantes (Tabela 10) de acordo com suas semelhanças em CCD.

Tabela 10. Fracionamento cromatográfico de BSFE-PM2 (121-130) (39-70).

Denominação	Eluente	Peso (mg)
F1(1-31)	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 40%	7,0
F2(32-42)	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 50%	1,5
F3(43-50)	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 70%	1,8
F4(51-68)	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 80%	22,2
F5(69-80)	AcOEt 100%	4,5
F6(81-84)	MeOH	4,6

A fração BSFE-M2 (121-130) (39-70) (51-68) (22,2 mg) apresentou-se como um óleo amarelado, homogêneo em CCD, e foi denominado de BS-4. Após a análise espectrométrica, BS-4 foi caracterizado como um diterpeno de esqueleto clerodano de caráter inédito na literatura.

4.4.9 Coluna Filtrante da fração BSFE-PD.

A fração BSFE-PD (15,0 g), proveniente do procedimento do item 4.4.2, foi acondicionada em uma coluna normal de 7,5 cm de diâmetro, previamente empacotada com 69,7 g de gel de sílica 60 (Ø 63 – 200 µm). Utilizou-se como eluentes os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade. Ao final do experimento foram obtidas 5 frações resultantes (Tabela 11) após análise em CCD.

Tabela 11. Fracionamento cromatográfico de BSFE-PD.

Denominação	Eluente	Peso (g)
H/D	Hexano/ CH ₂ Cl ₂ 1:1	3,0
D/A	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt	1,88
A	AcOEt	1,87
A/M	AcOEt /MeOH	2,41
M	MeOH	0,11

4.4.10 Cromatografia da fração BSFE-PD-FD.

A fração BSFE-PD-FD (3 g) foi adsorvida em gel de sílica 60 (\varnothing 63 – 200 μ m) suficiente para promover a adsorção, e posteriormente acondicionada em uma coluna normal de 4.5 cm de diâmetro, previamente empacotada com 60.70 g de gel de sílica 60 (\varnothing 63 – 200 μ m). Para eluição utilizou-se misturas binárias de hexano/AcOEt e MeOH, em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 51 frações com volume médio de 10 mL cada. As frações foram reunidas em 4 frações resultantes (tabela 12) de acordo com suas semelhanças, após análise em CCD.

Tabela 12. Fracionamento de BSFE-PD-FD.

Denominação	Eluente	Massa (mg)
F1(1-18)	Hexano/ AcOEt 20%	450
F2(19-24)	Hexano/ AcOEt 30%	114,5
F3(25-43)	AcOEt 100%	1030
F4(44-51)	MeOH	317

4.4.11 Cromatografia da fração BSFE-PD-FD (1-18).

A fração BSFE-PD-FD (1-18) (450 mg) foi adsorvida em gel de sílica 60 (\varnothing 63 – 200 μ m) suficiente para promover a adsorção, e posteriormente acondicionada em uma coluna normal de 3 cm de diâmetro, previamente empacotada com 36,7 g de gel de sílica 60 (\varnothing 63 – 200 μ m). Para eluição utilizou-se misturas binárias de hexano/AcOEt e MeOH, seguindo uma ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 83 frações com volume médio de 10 mL cada. As frações foram reunidas em 10 frações resultantes (tabela 13) de acordo com suas semelhanças, após análise em CCD.

Tabela 13. Fracionamento de BSFE-PD-FD (1-18).

Denominação	Eluente	Peso (mg)
F1 (1-15)	Hexano/ AcOEt 5%	9,5
F2 (16-24)	Hexano/ AcOEt 10%	82,0
F3 (25-38)	Hexano/ AcOEt 15%	169,0
F4 (39-46)	Hexano/ AcOEt 20%	53,3
F5 (47-53)	Hexano/ AcOEt 30%	35,4
F6 (54-57)	Hexano/ AcOEt 35%	11,6
F7 (58-63)	Hexano/ AcOEt 40%	21,3
F8 (64-74)	Hexano/ AcOEt 50%	22,5
F9 (75-82)	AcOEt 100%	8,4
F10 (Metanólica)	MeOH	27,0

4.4.12 Cromatografia da fração BSFE-PD-FD (1-18) (25-38).

A fração BSFE-PD-FD (1-18) (25-38) (169 mg) foi adsorvida em gel de sílica 60 (\emptyset 63 – 200 μ m) suficiente para promover a adsorção, e posteriormente acondicionada em uma coluna normal de 3 cm de diâmetro, previamente empacotada com 25,60 g de gel de sílica 60 (\emptyset 63 – 200 μ m). Para eluição utilizou-se misturas binárias de hexano/ CH₂Cl₂ e MeOH, seguindo ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 83 frações com volume médio de 10 mL cada. As frações foram reunidas em 4 frações resultantes (tabela 14) de acordo com suas semelhanças, após análise em CCD.

Tabela 14. Fracionamento de BSFE-PD-FD (1-18)(25-38).

Denominação	Eluente	Massa (mg)
F1(1-61)	Hexano/ CH ₂ Cl ₂ 15%	15,0
F2(62-70)	Hexano/ CH ₂ Cl ₂ 40%	4,5
F3(71-82)	AcOEt 100%	130,0
F4(83)	Metanol	20,0

4.4.13 Cromatografia da fração BSFE-PD-FD (1-18) (25-38) (71-82).

A fração BSFE-PD-FD (1-18) (25-38) (71-82) (131 mg) foi adsorvida em gel de sílica 60 (\varnothing 63 – 200 μm) suficiente para promover a adsorção, e posteriormente acondicionada em uma coluna normal de 2.5 cm de diâmetro, previamente empacotada com 27,57 g de gel de sílica 60 (\varnothing 63 – 200 μm). Para eluição utilizou-se misturas binárias de hexano/ CH_2Cl_2 e MeOH, seguindo uma ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 112 frações com volume médio de 10 mL cada. As frações foram reunidas em 3 frações resultantes (tabela 15) de acordo com suas semelhanças, após análise em CCD.

Tabela 15. Fracionamento de BSFE-PD-FD (1-18) (25-38) (71-82).

Denominação	Eluente	Massa (mg)
F1(1-66)	Hexano/ CH_2Cl_2 25%	12,3
F2(67-111)	Hexano/ CH_2Cl_2 70%	111,0
F3(112)	Metanol	6,0

A fração 67-111 (111 mg) foi recromatografada em CLAE, utilizando a mistura de solventes Hexano/AcOet (93:7), fluxo de 4,72 mL/min e coluna de fase normal. Foram injetados 200 μL de solução filtrada da amostra, dissolvida em fase móvel. O cromatograma visualizado a 260-400 nm, mostrou a separação em 5 picos principais: pico 1 ($t_R=8,064$), pico 2 ($t_R=8,299$), pico 3 ($t_R=11,311$), pico 4 ($t_R=11,678$), pico 5 ($t_R=12,043$). O pico 2 apresentou-se como um sólido branco e foi denominado de BS-3 (7,8 mg). Após análise espectroscópica, BS-3 foi caracterizado como o diterpeno ácido caurenóico.

4.4.14 Cromatografia da fração BSFE-PD-FD/A.

A fração BSFE-PD-FD/A (1,88 g) foi adsorvida em gel de sílica 60 (\varnothing 63 – 200 μm) e acondicionada em uma coluna normal de 3,5 cm de diâmetro, previamente empacotada com 55,9 g de gel de sílica 60 (\varnothing 63 – 200 μm). Utilizou-se para a eluição os solventes hexano, acetato de etila e metanol, seguindo uma ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 103 frações,

que foram reunidas em 14 frações resultantes (Tabela 16) de acordo com suas semelhanças, após análise em CCD.

Tabela 16. Fracionamento cromatográfico de BSFE-PD-FD/A.

Denominação	Eluente	Peso (mg)
F1 (1-8)	HexanoAcOEt 5%	6,1
F2 (9-11)		2,9
F3 (12-17)	HexanoAcOEt 10%	15,1
F4 (18)	HexanoAcOEt 15%	15,2
F5 (19-28)	Hexano/AcOEt 20%	103,4
F6 (29-35)	Hexano/AcOEt 30%	48,3
F7 (36-41)	Hexano/AcOEt 40%	116,9
F8 (42-58)	Hexano/AcOEt 50%	370,7
F9 (59-80)	Hexano/AcOEt 60%	150,2
F10 (81-86)	Hexano/AcOEt 80%	15,0
F11(87-100)	Hexano/AcOEt 90%	87,2
F12(101)	AcOEt 100%	161,4
F13(102)	AcOEt /MeOH 50%	66,5
F14(103)	MeOH	60,6

4.4.15 Cromatografia da fração BSFE-PD-FD/A-(42-58).

A fração BSFFE-PD-FD/A (42-58) (370,0 mg) foi adsorvida em gel de sílica 60 (\emptyset 63 – 200 μ m) e acondicionada em uma coluna normal de 3,0 cm de diâmetro, previamente empacotada com 370,0 mg de gel de sílica 60 (\emptyset 63 – 200 μ m). Utilizou-se para a eluição os solventes hexano, acetato de etila e metanol, seguindo ordem crescente de polaridade. Ao final do procedimento foram coletadas 79 frações, que foram reunidas em 8 frações resultantes (Tabela 17), após análise em CCD.

Tabela 17. Fracionamento cromatográfico de BSFE-PD-FD/A (42-58).

Denominação	Eluente	Peso (mg)
(1-23)	Hexano/AcOEt 30%	9,0
(24-28)		5,7
(29-44)		9,5
(45-52)	Hexano/AcOEt 40%	8,0
(53-62)	Hexano/AcOEt 60%	38,0
(63-70)	Hexano/AcOEt 70%	171,0
(71-78)	AcOEt 100%	47,0
(79)	MeOH	65,4

4.4.16 Cromatografia da fração BSFE-PD-FD/A (42-58) (63-70).

A fração BSFE-PD-FD/A (42-58) (63-70) (171,0 mg) foi adsorvida em gel de sílica 60 (\varnothing 40 – 63 μ m) e posteriormente acondicionada em uma coluna flash de 2,5 cm de diâmetro, previamente empacotada com 22,0 g de gel de sílica 60 (\varnothing 40 – 63 μ m). Utilizou-se para a eluição os solventes hexano, acetato de etila e metanol, seguindo ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 93 frações, que foram posteriormente reunidas em 6 frações resultantes, de acordo com suas semelhanças em CCD (Tabela 18).

Tabela 18. Fracionamento cromatográfico de BSFE-PD-FD/A (42-58) (63-70).

Denominação	Eluente	Peso (mg)
F1(1-11)	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 20%	7,3
F2(12-17)		26,0
F3(18-23)		14,0
F4(24-82)	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 30%	78,0
F5(83-92)		7,7
F6(93)	MeOH	33,7

4.4.17 Cromatografia da fração BSFE-PD-FD/A (42-58) (63-70) (24-82).

A fração BSFE-PD-FD/A (42-58) (63-70) (24-82) (78,0 mg) foi adsorvida em gel de sílica 60 (\varnothing 40 – 63 μ m) e posteriormente acondicionada em uma coluna flash de 2,5 cm de diâmetro, previamente empacotada com 25,0 g de

gel de sílica 60 (\varnothing 40 – 63 μm). Para eluição foram utilizados os solventes diclorometano, acetato de etila e metanol seguindo uma ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 77 frações, que foram posteriormente reunidas em 4 frações resultantes de acordo com suas semelhanças em CCD (tabela 19).

Tabela 19. Fracionamento cromatográfico de BSFE-PD-FD/A (42-58) (63-70) (24-82).

Denominação	Eluente	Peso (mg)
F1(1-37)	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 10%	13,0
F2(38-75)	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 20%	51,0
F3(76)	AcOEt 100%	6,50
F4(77)	MeOH	18,0

4.4.18 Cromatografia da fração BSFE-PD-FD/A (42-58) (63-70) (24-82) (38-75).

A fração BSFE-PD-FD/A (42-58) (63-70) (24-82) (38-75) (51,0 mg) foi adsorvida em gel de sílica 60 (\varnothing 40 – 63 μm) e acondicionada em uma coluna flash de 2,5 cm de diâmetro, previamente empacotada com 27,0 g de gel de sílica 60 (\varnothing 40 – 63 μm). Utilizou-se para a eluição os solventes hexano, acetato de etila e metanol, seguindo ordem crescente de polaridade. Ao final do procedimento foram coletadas 29 frações, que foram reunidas em 6 frações resultantes de acordo com suas semelhanças em CCD (Tabela 20).

Tabela 20. Fracionamento cromatográfico de BSFE-PD-FD/A (42-58) (63-70) (24-82) (38-75).

Denominação	Eluente	Peso (mg)
F1(1-7)	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 40%	6,0
F2(8-10)		5,8
F3(11-12)		7,2
F4(13-20)		28,3
F5(21-28)		1,0

F6(29)	MeOH	7,2
--------	------	-----

A fração BSFE-PD-FD/A (42-58) (63-70) (24-82) (38-75) (13-20) apresentou-se como um óleo e foi denominado de BS-5. Após análise espectroscópica, BS-5 foi caracterizado como um diterpeno de esqueleto clerodano de caráter inédito na literatura.

4.4.19 Coluna Filtrante da fração BSFE-PD (2° fracionamento).

A fração BSFE-PD (30,0 g), proveniente do procedimento do item 4.4.2, foi acondicionada em uma coluna normal de 8 cm de diâmetro, previamente empacotada com 100 g de gel de sílica 60 (\varnothing 63 – 200 μ m). Utilizou-se como eluentes os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade. Ao final do experimento foram obtidas 5 frações resultantes (Tabela 21) após análise em CCD.

Tabela 21. Fracionamento cromatográfico de BSFE-PD2.

Denominação	Eluente	Peso (g)
FD	CH ₂ Cl ₂	1,44
FD/A	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt	6,60
FA	AcOEt	6,62
FA/M	AcOEt/MeOH	5,86
FM	MeOH	0,126

4.4.20 Cromatografia da fração BSFE-PD2-FD.

A fração BSFE-PD-FD (1.44 g) foi adsorvida em gel de sílica 60 (\varnothing 63 – 200 μ m) suficiente para promover a adsorção, e posteriormente acondicionada em uma coluna normal de 3 cm de diâmetro, previamente empacotada com 30.0 g de gel de sílica 60 (\varnothing 63 – 200 μ m). Para eluição utilizou-se misturas binárias de hexano/AcOEt e MeOH, seguindo em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 91 frações com volume médio de 10 mL cada. As frações foram reunidas em 13 frações resultantes de acordo com suas semelhanças, após análise em CCD (tabela 22).

Tabela 22. Fracionamento cromatográfico de BSFE-PD2-FD.

Denominação	Eluente	Peso (mg)
F1 (1-5)	Hexano/AcOEt 5%	15,5
F2 (6-10)		443,0
F3 (11-20)		252,4
F4 (21-26)	Hexano/AcOEt 15%	156,0
F5 (27-33)		348,7
F6 (34-41)	Hexano/AcOEt 20%	135,4
F7 (42-49)		41,0
F8 (50-53)	Hexano/AcOEt 25%	10,2
F9 (54-63)	Hexano/AcOEt 30%	19,4
F10 (64-68)		6,7
F11(69-75)	Hexano/AcOEt 50%	4,8
F12(76-90)	AcOEt 100%	14,7
F13(91)	MeOH	17,2

4.4.21 Cromatografia da fração BSFE-PD-FD (6-10).

A fração BSFE-PD-FD (6-10) (443,0 mg) foi adsorvida em gel de sílica 60 (\emptyset 40 – 63 μ m) suficiente para promover a adsorção, e posteriormente acondicionada em uma coluna normal de 3 cm de diâmetro, previamente empacotada com 38,72 g de gel de sílica 60 (\emptyset 40 – 63 μ m). Para eluição utilizou-se uma mistura binária de hexano/AcOEt e MeOH, seguindo ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 66 frações com volume médio de 10 mL cada. As frações foram reunidas em 5 frações resultantes de acordo com suas semelhanças, após análise em CCD (tabela 23).

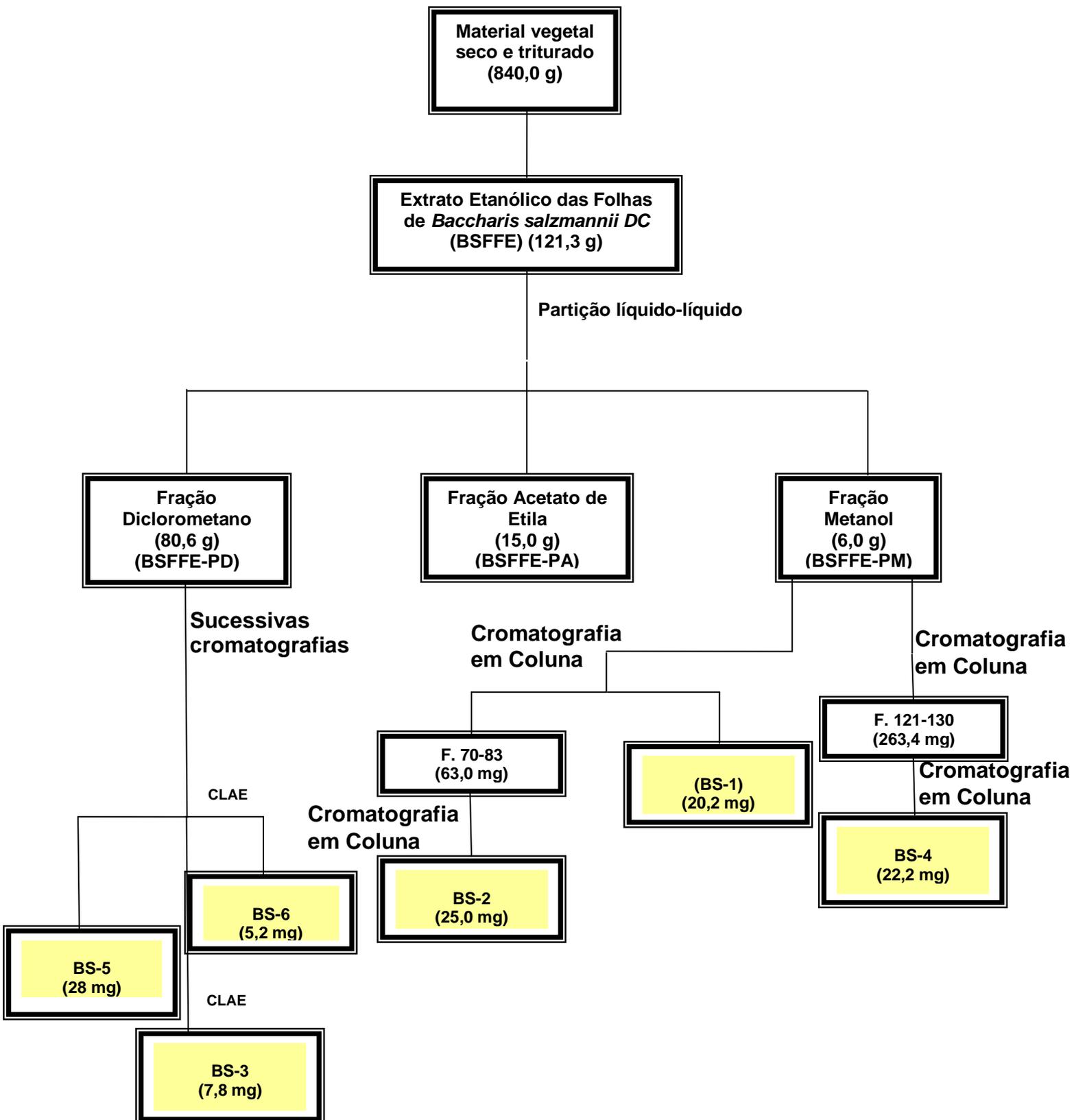
Tabela 23. Fracionamento cromatográfico de BSFE-PD2-FD (6-10).

Denominação	Eluente	Peso (mg)
F1(1-15)	Hexano/AcOEt 5%	1,5
F2(16-37)		217,0
F3(38-47)	Hexano/AcOEt 20%	31,3
F4(48-65)		83,0

F5(66)	Metanol	44,2
--------	---------	------

A fração 16-37 (217,0 mg) foi recromatografada em CLAE, utilizando a mistura de solventes hexano/isopropanol (80:20), fluxo de 3,0 mL/min e coluna de fase normal. Foram injetados 200 µL de solução filtrada da amostra, dissolvida em fase móvel. O cromatograma visualizado a 260-400 nm, mostrou a separação em 4 picos principais: pico 1 (tR=2.792), pico 2 (tR=3.145), pico 3 (tR=3.334) e pico 4 (tR=3.672). O pico 4 apresentou-se como um óleo incolor e foi denominado de BS-6 (5,2 mg). Após análise espectroscópica, BS-6 foi caracterizado como um sesquiterpeno de esqueleto patchoulano, de caráter inédito na literatura.

Fluxograma geral representando o procedimento experimental para o isolamento de BS-1, BS-2, BS-3, BS-4, BS-5 e BS-6.





Capítulo 5
Determinação
Estrutural

5- Determinação Estrutural.

5.1 -Determinação de BS-1.

O tratamento cromatográfico da fração metanólica, obtida a partir do particionamento do extrato etanólico das folhas de *Baccharis salzmännii*, resultou no isolamento de um sólido amarelo com ponto de fusão 344-345 °C, denominado BS-1.

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de BS-1 (figura 11, página 71) permitiu observar uma banda em 3280 cm⁻¹ característica de deformação axial da ligação O-H; uma banda em 2831 cm⁻¹ atribuída a deformação axial de grupamento CH₃; uma banda em 1652 cm⁻¹ relativa a deformação axial da ligação C=O de cetona conjugada; além de absorções características de deformação axial de anel aromático em 1607, 1501 e 1445 cm⁻¹. As absorções entre 1260 e 1155 cm⁻¹ foram atribuídas à deformações axiais da ligação C-O, e a banda em 828 cm⁻¹ foi atribuída à deformação angular da ligação C-H de anel aromático.

A análise do espectro de RMN ¹H (C₅D₅N, 500 MHz) de BS-1 (Figura 12 e 13, página 71 e 72) permitiu identificar a presença de dois hidrogênios aromáticos que mantêm entre si relação meta em δ_H 6.77 (d, $J=2,0$ Hz, H-6) e 6.84 (d, $J=2,0$ Hz, H-8), além de sinais característicos de um sistema tipo A₂B₂ em δ_H 7.94 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2`/6`) e 7.24 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3`/5`), um hidrogênio olefínico em δ_H 6.93 (s, H-3) e um hidrogênio em δ_H 13.80 (s), característico de hidroxila quelada em um anel de seis membros.

A análise do espectro de RMN ¹³C-BB (C₅D₅N, 125 MHz) (Figura 14, página 72) revelou a presença de treze linhas espectrais atribuídas a quinze átomos de carbono, levando-se em consideração que os carbonos em δ_c 129.8 e 117.7 são magneticamente equivalentes, como já observado no espectro de RMN ¹H. A tabela 24 na página 66 apresenta os deslocamentos químicos observados através da comparação entre os espectros de RMN ¹³C-BB e RMN ¹³C-BB DEPT (Figura 14 e 15, página 72 e 73) tendo sete carbonos metínicos (CH) e oito carbonos não-hidrogenados.

Tabela 24. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de BS-1 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e RMN $^{13}\text{DEPT}$, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}/125\text{ MHz}$).

δ	C	CH	CH ₂	CH ₃	Total
183.6		129.8 (x2)			
166.8					
165.4		117.7 (x2)			
164.1			-	-	-
163.5		105.9			
159.4					
123.3		100.9			
104.8		95.7			
C ₂ (C-OH) ₃ 2 (C-O) C=O		C ₇ H ₇			C ₁₅ H ₁₀ O ₅

A análise do espectro de massa de BS-1 (Figura 18, página 76) revelou o pico do íon molecular em m/z 270 Daltons, sugerindo a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$, com IDH igual a 10.

Através da análise no espectro HSQC (Figura 16, página 73) foi possível observar a correlação de cada hidrogênio com seus respectivos carbonos (tabela 25, página 69).

A análise do espectro HMBC (figura 17, página 74) revelou todos os acoplamentos á longa distância entre os hidrogênios e carbonos de BS-1 (acoplamentos $^2\text{J}_{\text{CH}}$ e $^3\text{J}_{\text{CH}}$). Neste espectro foi possível observar o acoplamento do hidrogênio em δ_{H} 6.93 (H-3) com o carbono em δ_{C} 183.6, o que confirmou a localização da carboxila em C-4

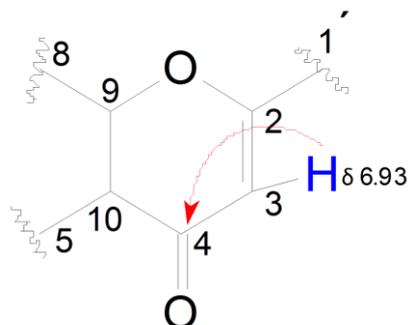


Figura 8. Correlações à longa distância de H-3 confirmando a localização da carboxila em C-4.

Através do acoplamento dos hidrogênios em δ_H 6.84 (H-8) e 6.77 (H-6) com o carbono em δ_C 166.8 (C-7), e do hidrogênio δ_H 6.77 (H-6) com o carbono em δ_C 163.5 (C-5), foi possível confirmar a posição das hidroxilas em C-5 e C-7 no anel A, respectivamente. Em adição, as correlações dos hidrogênios em δ_H 7.94 (H-2'), 7.23 (H-3'), 7.23 (H-5'), 7.94 (H-6') com o carbono oxigenado em δ_C 164.1 (C-4'), determinaram a posição da hidroxila em C-4' no anel B.

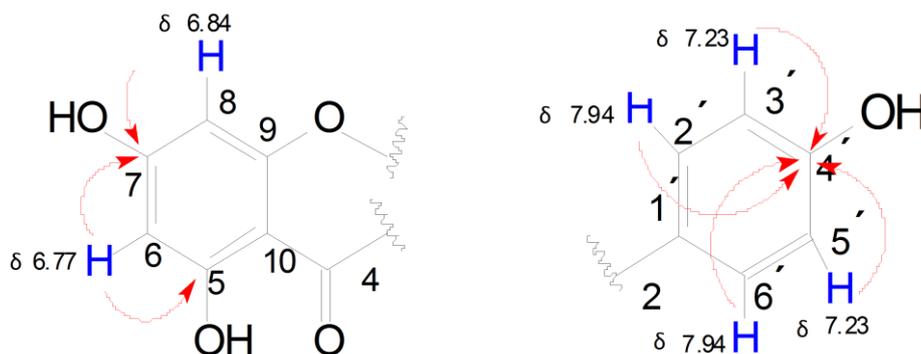
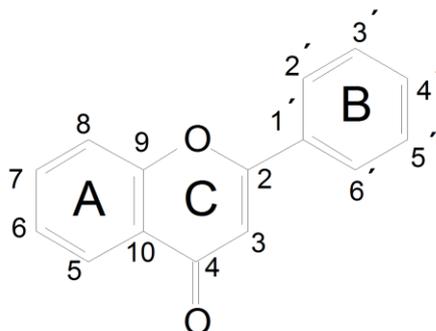


Figura 9. Correlações à longa distância confirmando as localizações das hidroxilas em C-4', C-5 e C-7.

A tabela 26 na página 70 mostra a comparação dos dados espectroscópicos de BS-1 com a posterior comparação com dados da literatura para flavonóides, sugerindo para BS-1 um esqueleto do tipo flavona (Figura 10;

AGRAWAL, 1989). Assim determinou-se que BS-1 (Figura 10) tratava-se da 5,7,4'-Tri-hidroxi-flavona (apigenina), já isolado em *Baccharis trimera* (VERDI, 2005).



Estrutura básica de uma flavona.

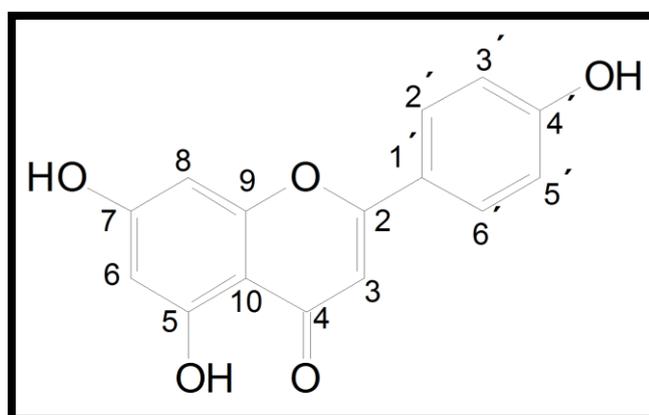


Figura 10. Estrutura básica de uma flavona acima e estrutura da 5,7,4'-Tri-hidroxi-flavona (apigenina) abaixo.

Tabela 25. Correlação Heteronuclear ^1H , ^{13}C – HSQC e HMBC (500 X 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BS-1.

	HSQC		HMBC	
	Δc	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	165.4	-	H-3	-
3	104.8	6.93 (s, 1H)	-	-
4	183.6	-	H-3	-
5	163.5	-	H-6	-
6	100.9	6.77 (d, 1H, $J=2$)	-	H-8
7	166.8	-	H-6, H-8	-
8	95.7	6.84 (d, 1H, $J=2$)	-	H-6
9	159.4	-	H-8	-
10	105.9	-	-	H-3, H-8
1'	123.3	-	-	H-3, H-3', H-5'
2'	129.8	7.94 (d, 1H, $J=8.5$)	-	H-6', H-2
3'	117.7	7.23 (d, 1H, $J=9$)	-	H-5'
4'	164.1	-	H-3', H-5'	H-2', H-6'
5'	117.7	7.23 (d, 1H, $J=9$)	-	-
6'	129.8	7.94 (d, 1H, $J=8.5$)	-	-

Tabela 26. Análise comparativa de dados de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BS-1 com dados da literatura (25,2 MHz, DMSO MAIS ÁGUA; AGRAWAL, 1989).

	BS-1	Literatura *
Carbono	δ C	δ C
2	165.4	165.5
3	104.8	104.3
4	183.6	183.2
5	163.5	162.0
6	100.9	100.3
7	166.8	164.9
8	95.7	95.6
9	159.4	158.7
10	105.9	105.1
1'	123.0	122.7
2'/6'	129.8	129.8
3'/5'	117.7	117.3
4'	164.1	161.8

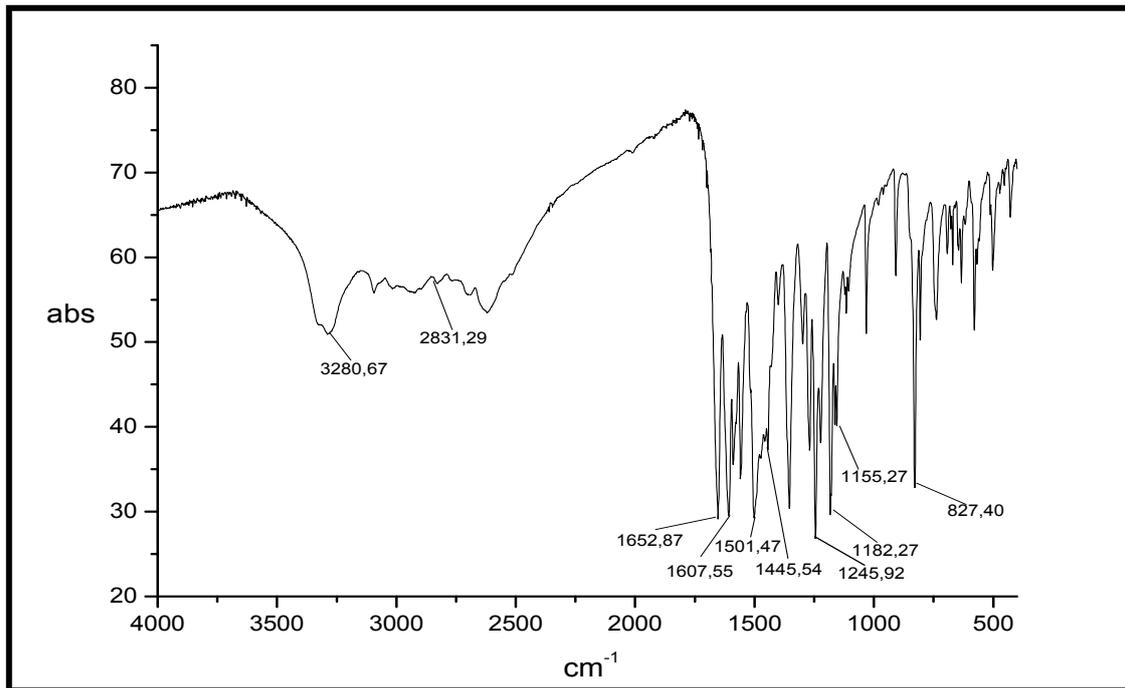


Figura 11. Espectro na região do infravermelho de BS-1.

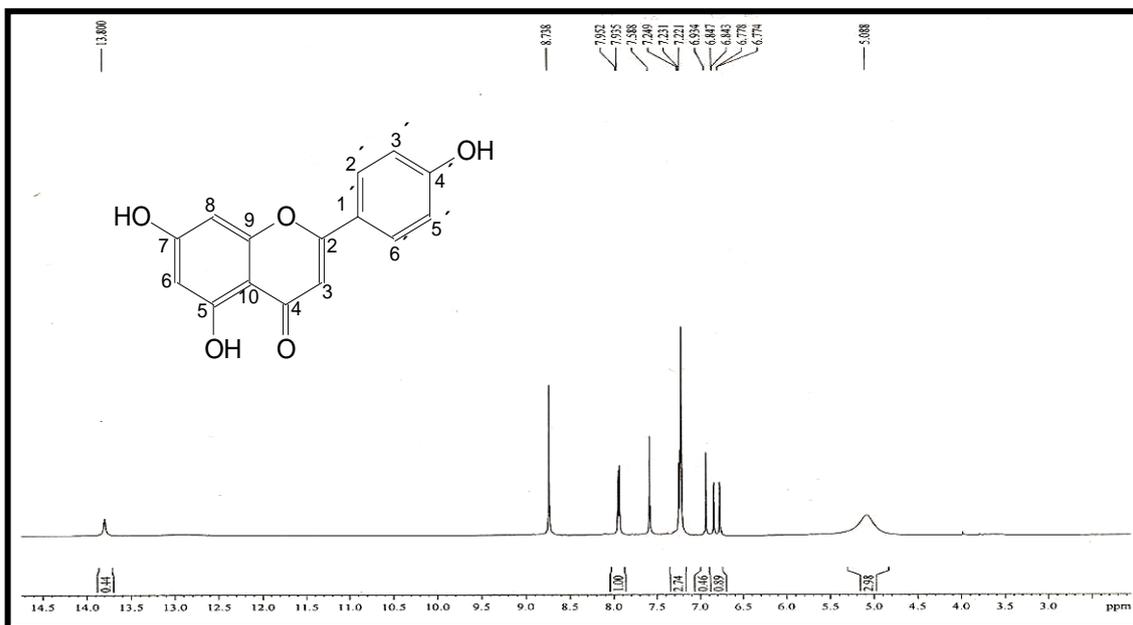


Figura 12. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BS-1.

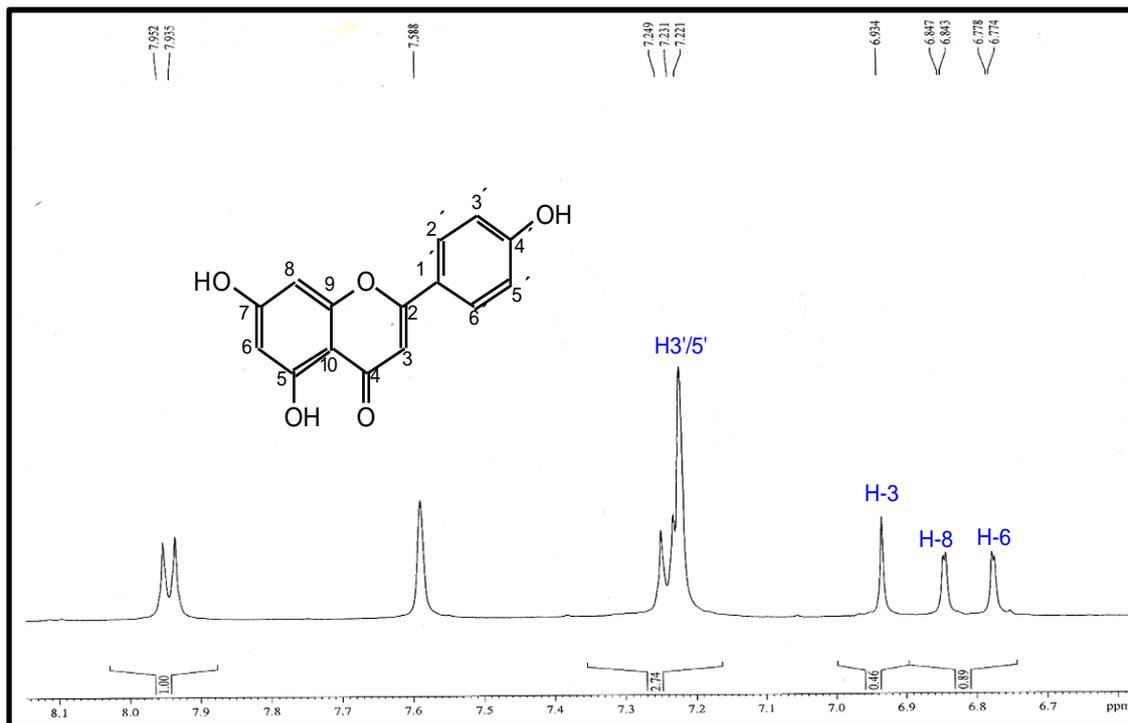


Figura 13. Expansão (6.7 - 8.1 ppm) do espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BS-1.

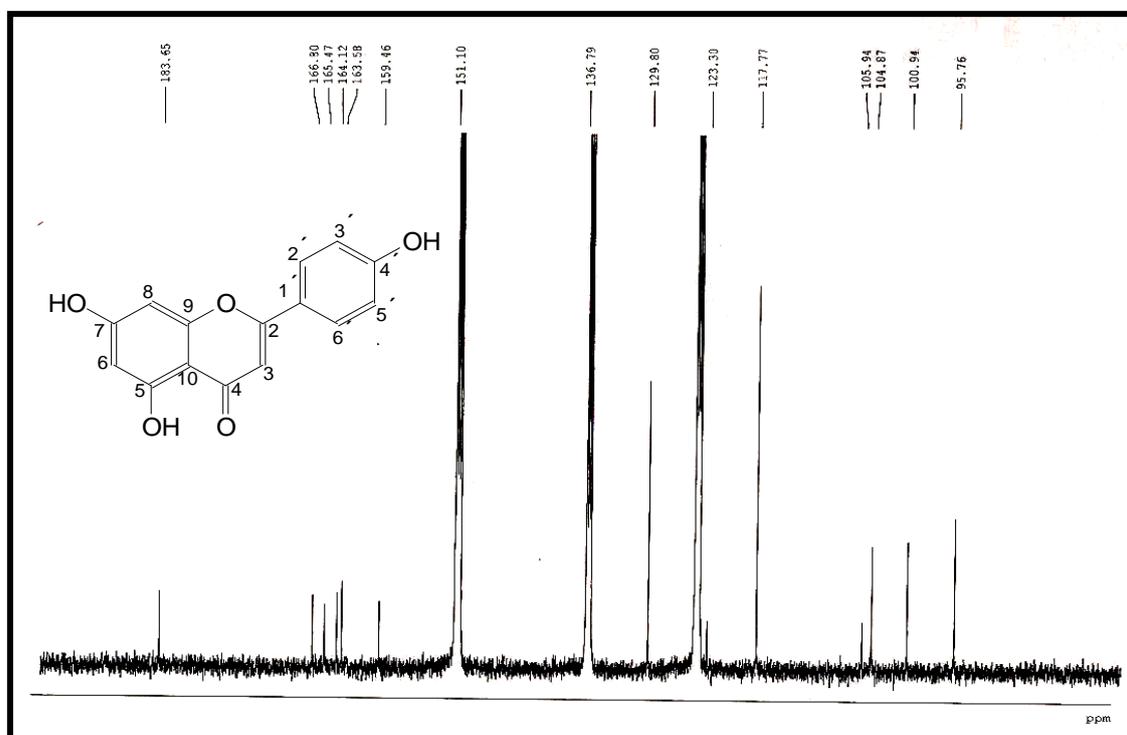


Figura 14. Espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BS-1.

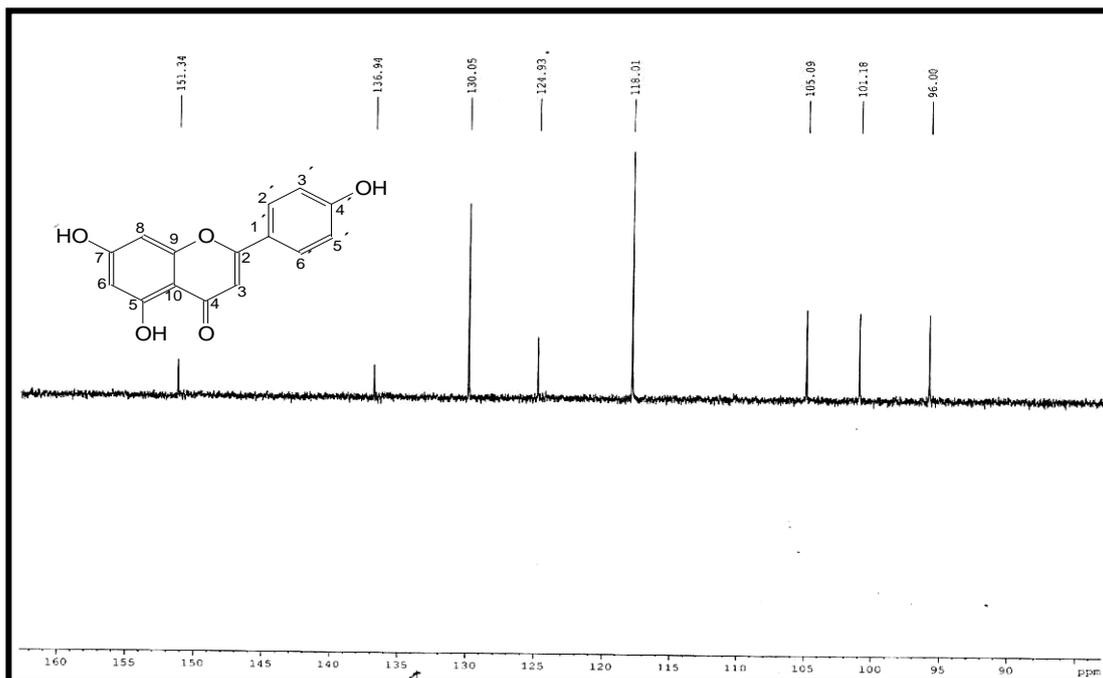


Figura 15. Espectro de RMN ^{13}C – DEPT (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BS-1.

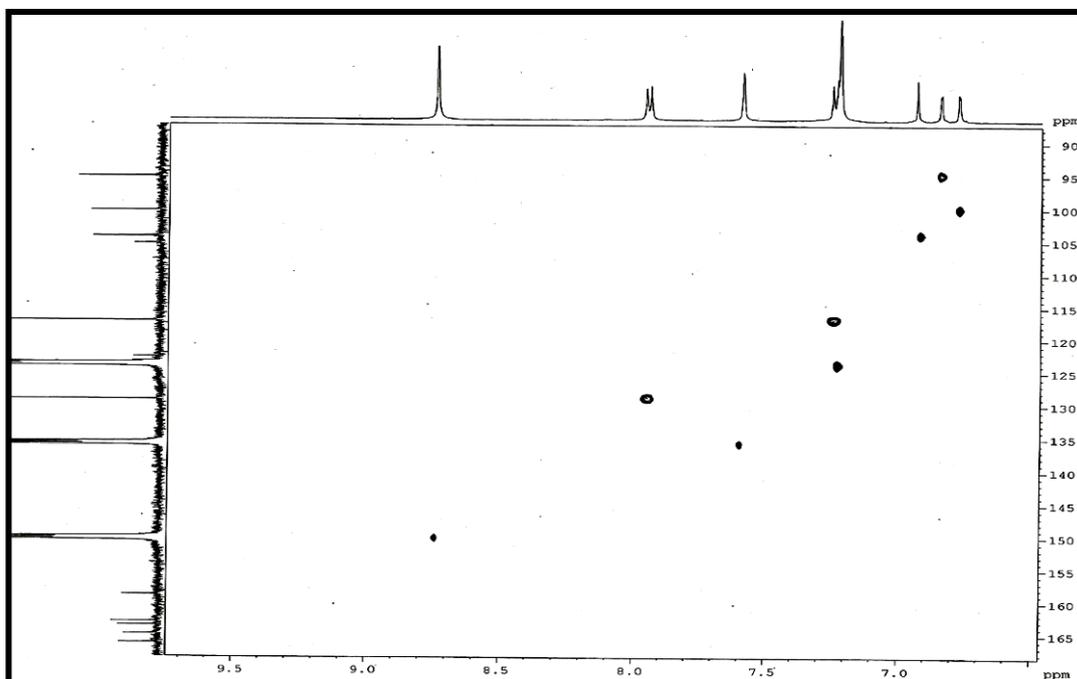


Figura 16. Espectro bidimensional de $^1\text{H},^{13}\text{C}$ – HSQC (500 x 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BS-1.

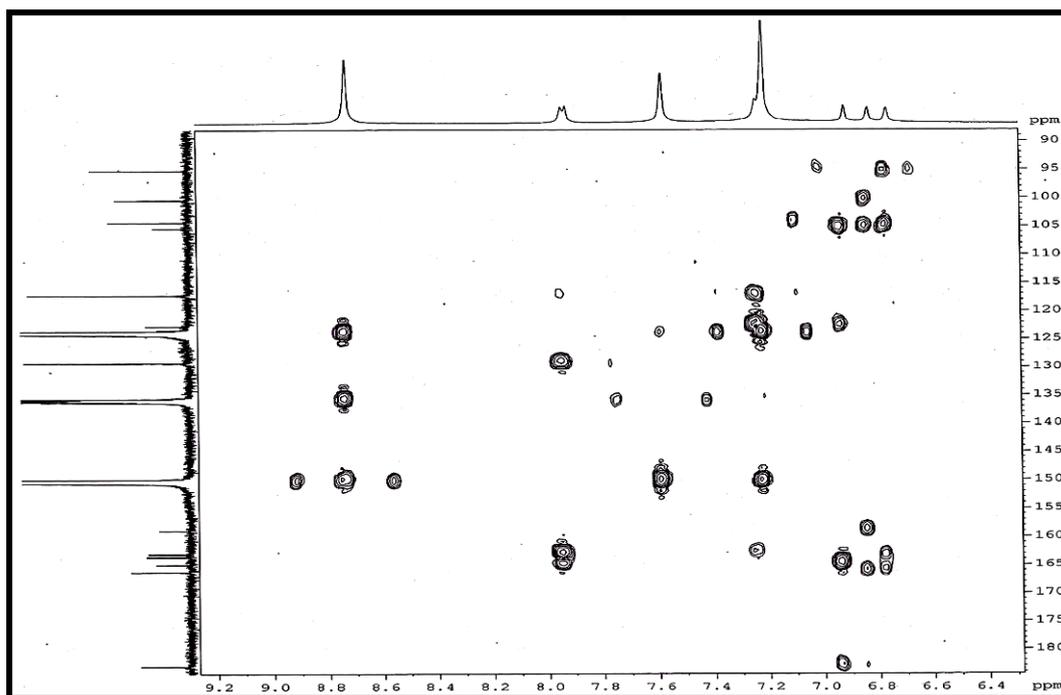


Figura 17. Espectro bidimensional de ^1H , ^{13}C – HMBC (500 x 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de BS-1.

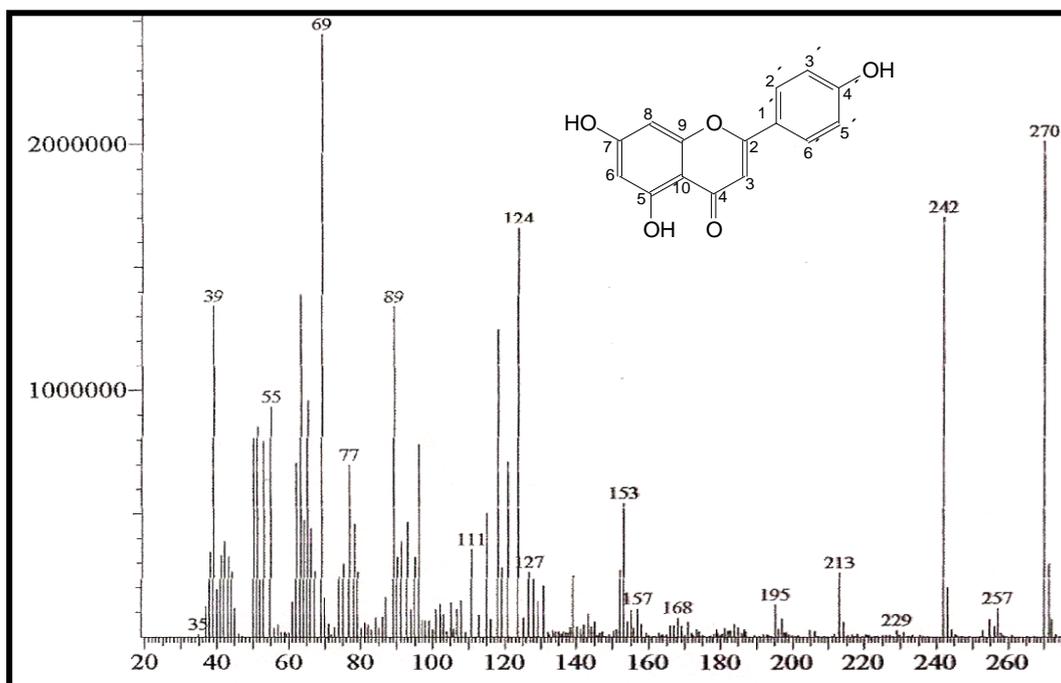


Figura 18. Espectro de massa (IE, 70 eV) de BS-1.

5.2- Determinação estrutural de BS-2.

O tratamento cromatográfico a partir da fração metanólica, obtida do extrato etanólico das folhas de *Baccharis salzmännii*, resultou no isolamento de um sólido amarelado com ponto de fusão 227,8-229,9 °C que foi denominado de BS-2.

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de BS-2 (Figura 22, página 81) permitiu observar uma banda em 3149 cm^{-1} , característica de deformação axial da ligação O-H quelada, uma banda em 2919 e 2831 cm^{-1} relativa a deformação axial de grupamento CH_2 e CH_3 , respectivamente; banda em 1630 cm^{-1} , relativa a deformação axial da ligação C=O de cetona conjugada, além de absorções características de deformação axial de anel aromático em 1604, 1500 e 1464 cm^{-1} . As absorções entre 1260 e 1155 cm^{-1} foram atribuídas a deformações axiais da ligação C-O, e a banda em 828 e 729 cm^{-1} foi atribuída a deformação angular da ligação C-H de anel aromático.

A análise do espectro de RMN ^1H ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 500 MHz) de BS-2 (Figura 23 e 24, página 81 e 82) permitiu identificar a presença de seis hidrogênios aromáticos, dos quais dois que mantêm entre si relação meta em δ_H 5.95 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-8/H-6), e quatro sinais relacionados a um sistema para-dissubstituído tipo A_2B_2 em δ_H 7.37 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2'/6') e δ_H 6.89 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3'/5'). Além disso, foram observados um sinal de hidrogênio de carbono carbinólico em δ_H 5.43 (1H, dd, $J=13.0$ e 3.0 Hz, H-2), e sinais de hidrogênios metilênicos em δ_H 3.17, (1H, dd, $J=17.0$ e 13.0 Hz, Ha-3) e em δ_H 2.72, (1H, dd, $J=17.0$ e 3.0 Hz, Hb-3). O sinal em δ_H 12.16 (s) foi relacionado a uma hidroxila quelada em um anel de seis membros.

A análise do espectro de RMN ^{13}C -BB ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, (Figura 25, página 82) revelou a presença de treze linhas espectrais atribuídas a quinze átomos de carbono, levando-se em consideração a equivalência magnética dos carbonos em δ_c 129,3 e 116,3. A tabela 27 na página 76 demonstra a comparação entre os espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -BB DEPT (figura 25 e 26, página 82 e 83) tendo um carbono metilênico (CH_2), sete carbonos metínicos (CH), e sete carbonos não-hidrogenados (C).

Tabela 27. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de BS-2 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e RMN $^{13}\text{DEPT}$, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ 125 MHz).

δ	C	CH	CH ₂	CH ₃	Total
197.2		129.0 (x2)	43.62		
167.6		116.3 (x2)			
165.4		96.9			
164.4		96.0			
158.8		80.0		-	
130.8					
103.3					
C ₂	C ₆ H ₆	CH ₂			
(C-OH) ₃	HC-O				
(C-O)					
C=O					
					C₁₅H₁₂O₅

A análise do espectro de massa (Figura 29, página 84) revelou o pico do íon molecular em m/z 272 Daltons, e confirmou a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_5$, com índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a dez.

Através da análise no espectro HSQC foi possível observar os acoplamentos de cada hidrogênio aos seus respectivos carbonos (Tabela 28 e figura 27, página 79 e 83). Em adição, a análise no espectro de HMBC (figura 28, página 84) revelou os acoplamentos à longa distância entre todos os hidrogênios e carbonos (acoplamentos $^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$). Neste espectro foi possível observar as correlações dos hidrogênios em δ_{H} 2.72 (H-3a), 3.16 (H-3b) e 5.43 (H-2) com o carbono carbonílico em δ_{C} 197.2 (C-4) localizando a carboníla.

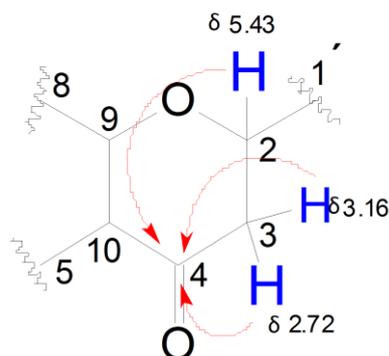


Figura 19. Correlações à longa distância dos hidrogênios H-2 e H-3 com o carbono C-4 confirmando a localização da carboxila.

Através do acoplamento dos hidrogênios em δ_H 5.95 (H-8) e 5.95 (H-6) com o carbono em δ_C 167.6 (C-7), do hidrogênio em δ_H 5.95 (H-6) com o carbono em δ_C 165.4 (C-5), e dos hidrogênios em δ_H 7.37 (H-2'), 6.89 (H-3'), 6.89 (H-5') e 7.37 (H-6') com o carbono em δ_C 158.0 (C-4'), foi confirmada a localização dos grupos hidroxila em C-5, C-7 e C-4', respectivamente.

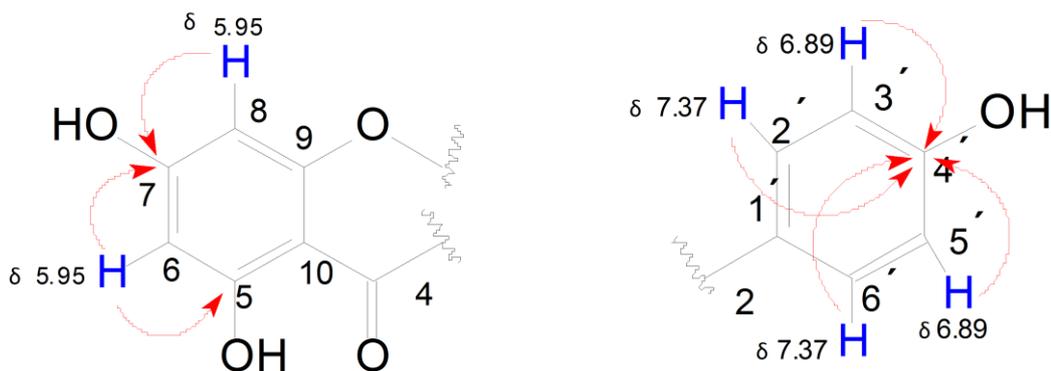
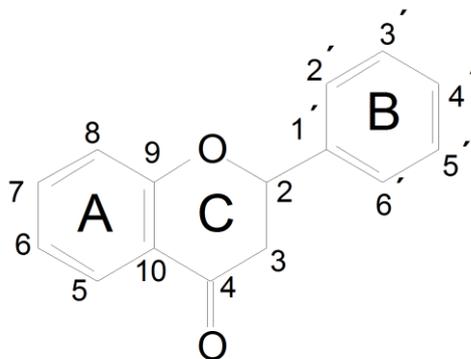


Figura 20. Correlações à longa distância dos carbonos confirmando as localizações das hidroxilas em C-5, C-7 e C-4'.

A tabela 29 na página 80 mostra a comparação dos dados espectroscópicos de BS-2 com a posterior comparação com dados da literatura para flavonóides, sugerindo para BS-2 um esqueleto flavonoídico do tipo flavanona (Figura 21, página 78; AGRAWAL, 1989). A análise dos dados espectroscópicos obtidos e a posterior comparação com dados de RMN ^{13}C descritos na literatura para flavanonas, revelaram que BS-2 (figura 21) trata-se

da 5,7,4'-Tri-hidroxi-flavanona (narigenina), de caráter inédito no gênero *Baccharis*.



Estrutura básica de uma flavanona.

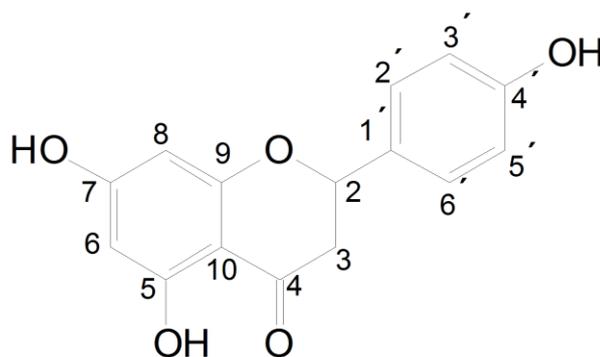


Figura 21. Estrutura básica de uma flavanona acima e estrutura da 5,7,4'-Tri-hidroxi-flavanona (narigenina).

Tabela 28. Correlação Heteronuclear ^1H , ^{13}C – HSQC e HMBC (500 X 125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de BS-2.

	HSQC		HMBC	
	Δc	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	80.0	5.43 (1H, dd, $J=12.5$ e 3.0 Hz)	H-3b	H-2', H-6'
3	43.6	2.72 (1H, dd, $J=17.0$ e 3.0); 3.17 (1H, dd, $J=17.0$ e 12.5 Hz)	H-2	-
4	197.2	-	H-3a, H-3b	H-2
5	165.4	-	H-6	-
6	96.9	5.95 (1H, d, $J=2.5$ Hz)	-	H-8
7	167.6	-	H-6, H-8	-
8	96.0	5.95 (1H, d, $J=2.5$ Hz)	-	H-6
9	164.4	-	H-8	-
10	103.3	-	-	H-3a, H-6
1'	130.8	-	H-2, H-2', H-6'	H-3a, H-3', H-5'
2'	129.0	7.37 (1H, d, $J=8.5$ Hz)	H-3'	H-6', H-2
3'	116.3	6.89 (1H, d, $J=8.5$ Hz)	H-2'	H-5'
4'	158.0	-	H-3', H-5'	H-2', H-6'
5'	116.3	6.89 (1H, d, $J=8.5$ Hz)	H-6'	H-3'
6'	129.0	7.37 (1H, d, $J=8.5$ Hz)	H-5'	H-2', H-2

Tabela 29. Análise comparativa de dados de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de BS-2 com dados da literatura (25,2 MHz, ACETONA; AGRAWAL, 1989).

	BS-2	Literatura *
Carbono	δ C	δ C
2	80.0	80.1
3	43.6	43.7
4	197.2	197.3
5	164.4	165.0
6	96.9	97.0
7	167.6	168.0
8	96.0	96.1
9	164.4	164.5
10	103.3	103.1
1'	130.8	130.7
2'/6'	129.0	128.8
3'/5'	116.3	116.2
4'	158.8	158.5

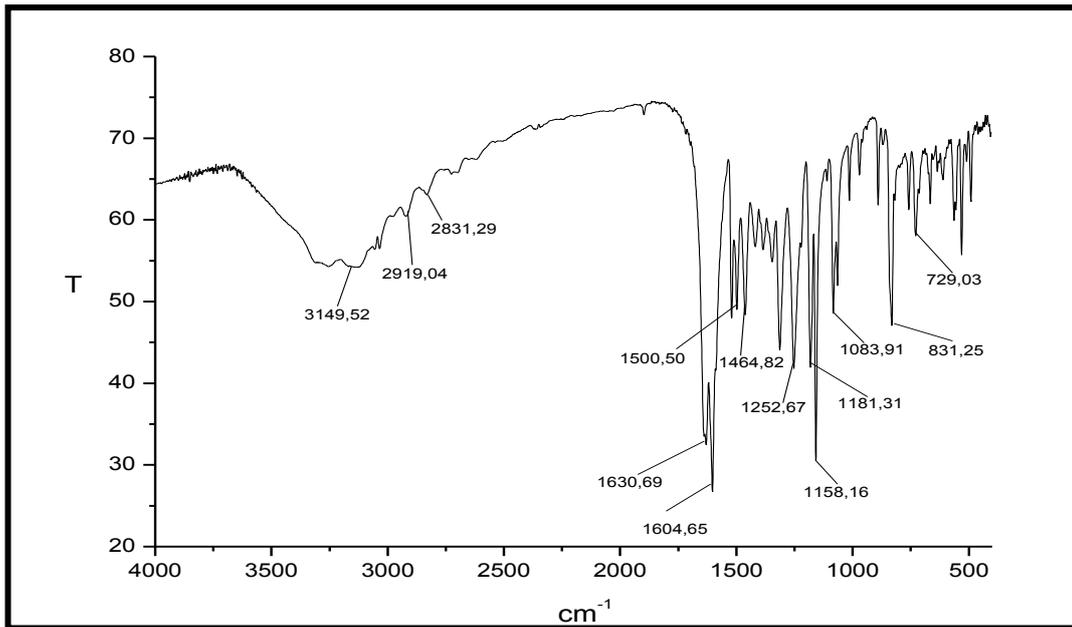


Figura 22. Espectro na região do infravermelho de BS-2.

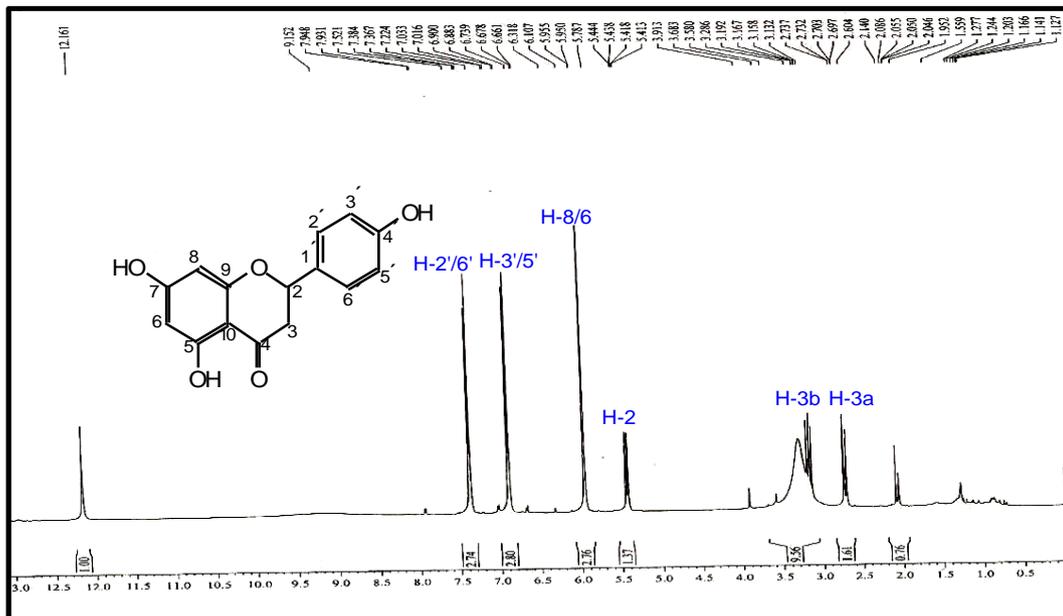


Figura 23. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de BS-2.

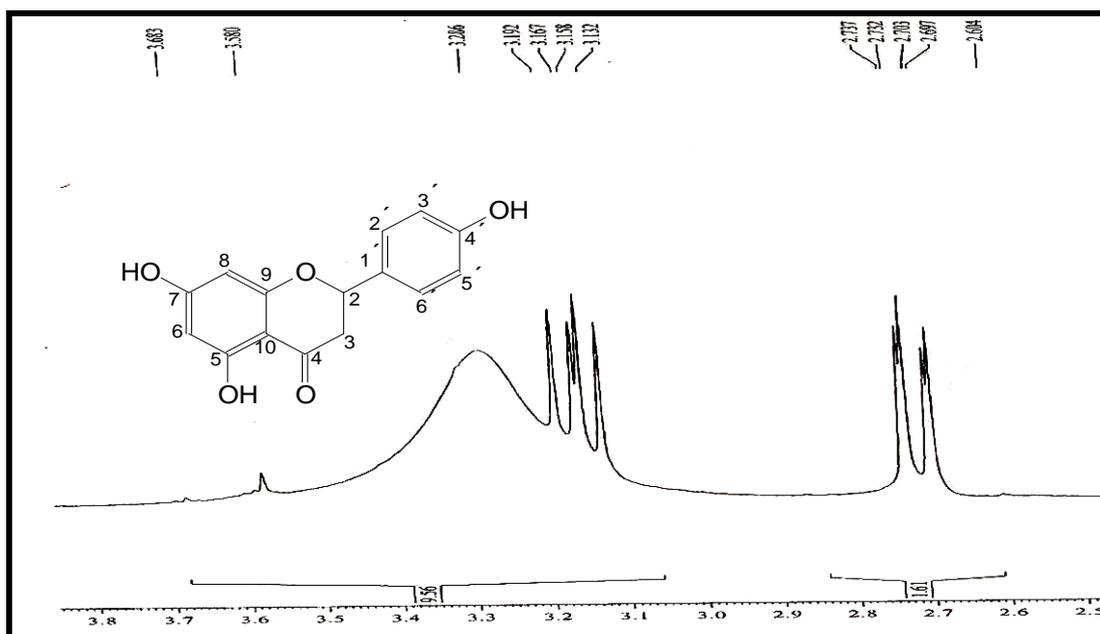


Figura 24. Expansão (2.5 - 3.8 ppm) do espectro de RMN ^1H (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de BS-2.

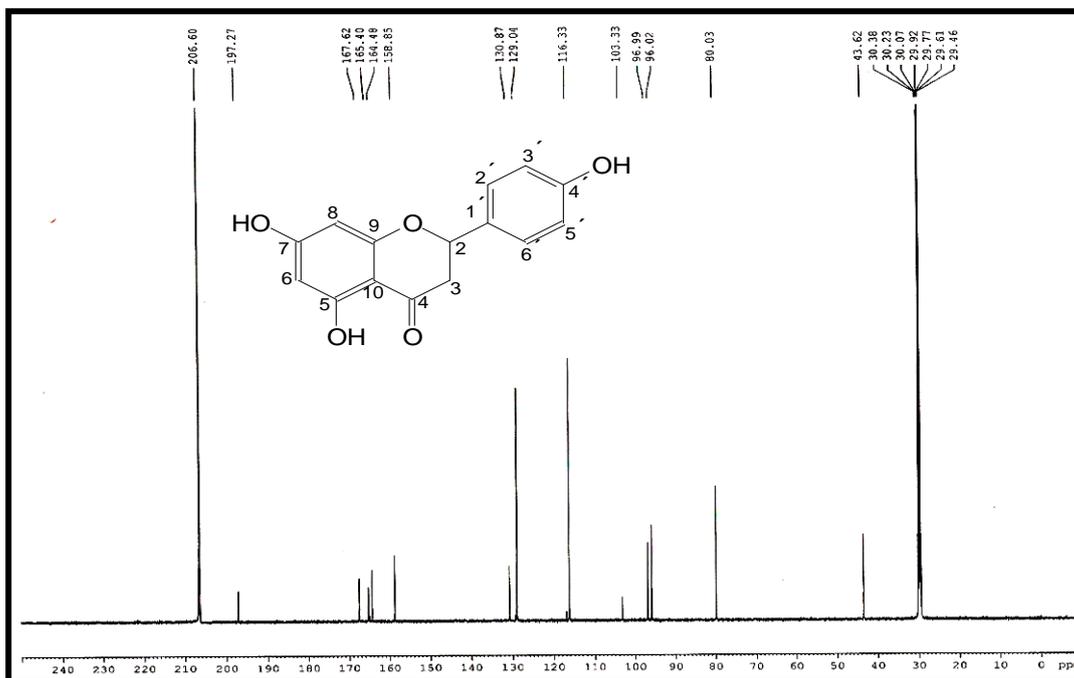


Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de BS-2.

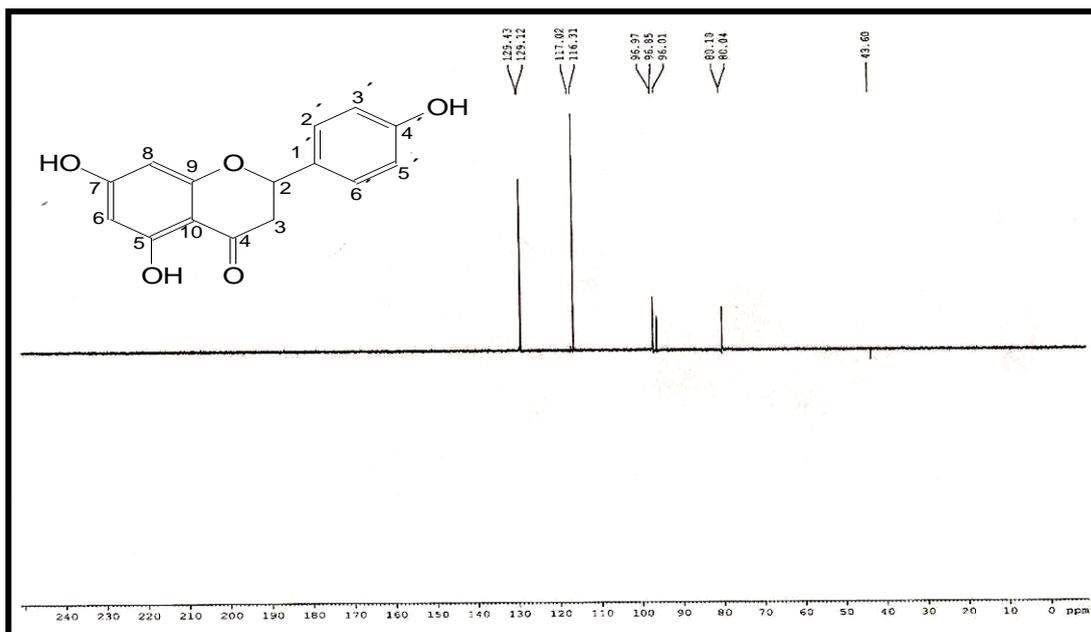


Figura 26. Espectro de RMN ¹³C – DEPT (125 MHz, (CD₃)₂CO) de BS-2.

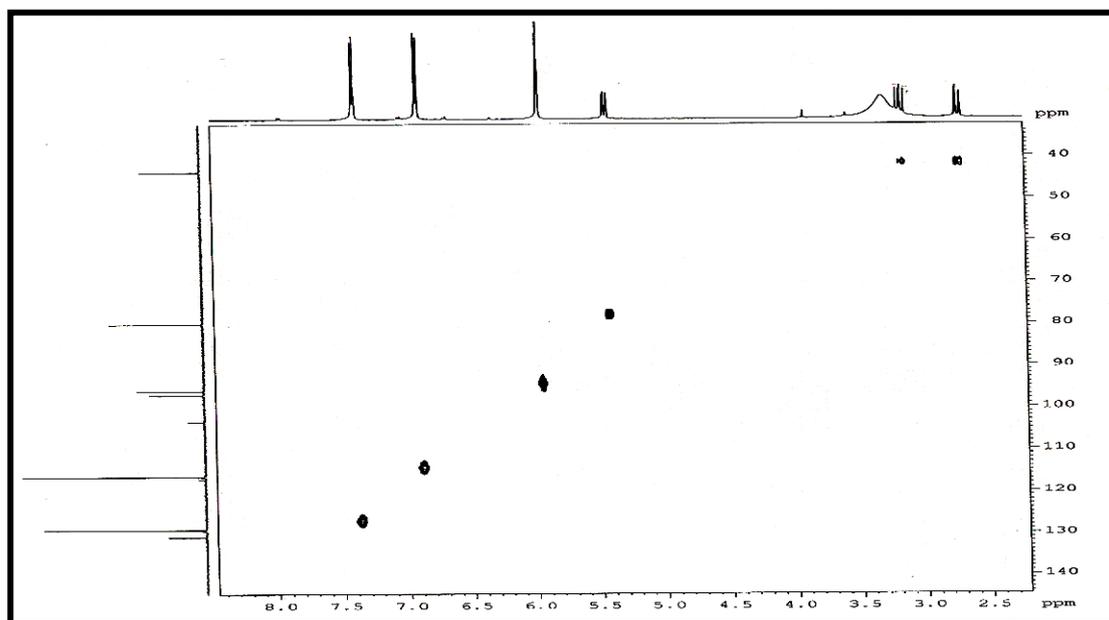


Figura 27. Expansão (2,5-8.0 ppm) do Espectro bidimensional de ¹H, ¹³C – HSQC (500 x 125 MHz, (CD₃)₂CO) de BS-2.

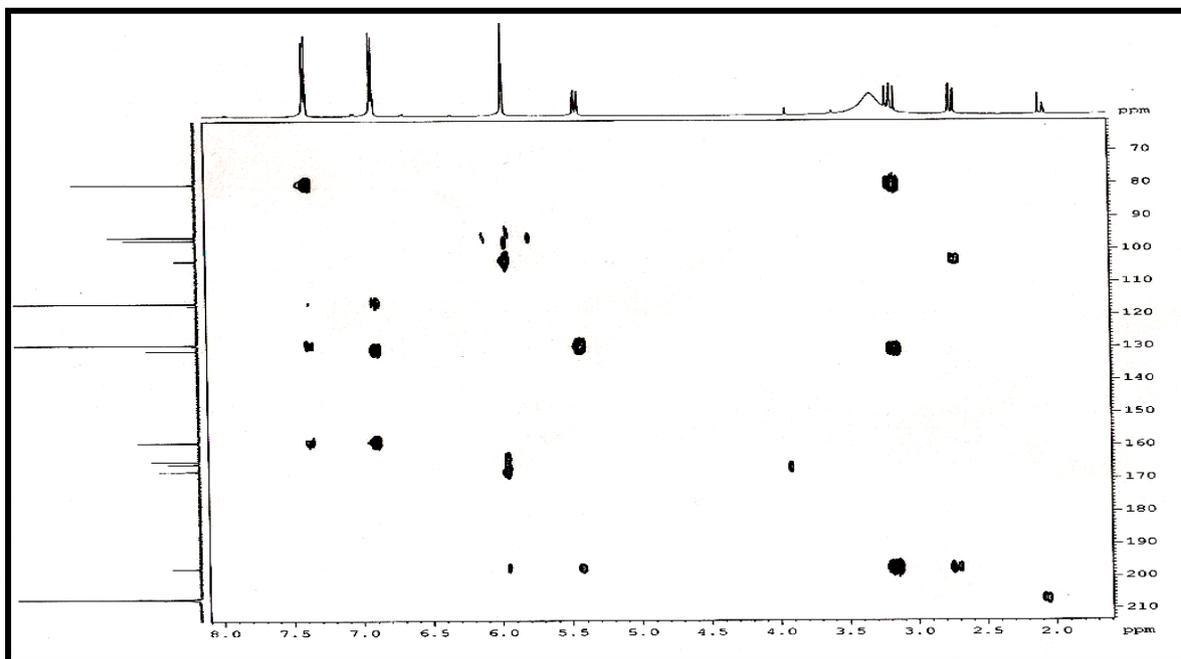


Figura 28. Espectro de RMN bidimensional de ¹H, ¹³C – HMBC (500 x 125 MHz, (CD₃)₂CO) de BS-2.

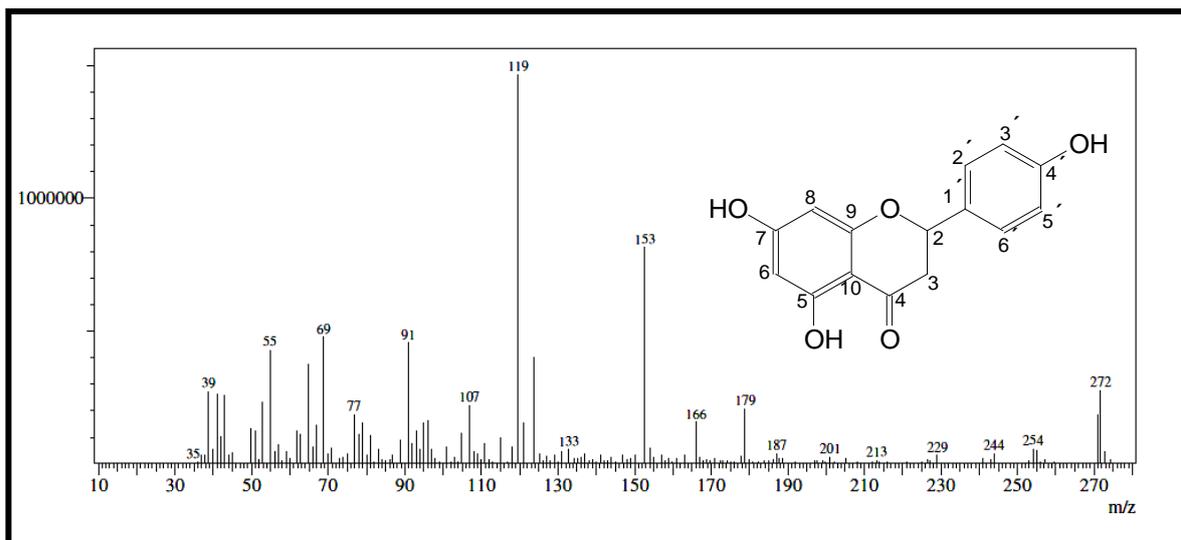


Figura 29. Espectro de massa (IE, 70 eV) de BS-2.

5.3-Determinação Estrutural BS-3.

O tratamento cromatográfico da fração diclorometano, obtida da partição do extrato etanólico de *Baccharis salzmannii*, resultou no isolamento de cristais na forma de agulha com ponto de fusão de 175.2 a 179.3 °C, que foi denominado de BS-3.

A análise do espectro de absorção na região do IV de BS-3 (Figura 31, página 88) permitiu a identificação de uma banda em 3.071 cm^{-1} características de deformação axial da ligação C-H de carbono sp^2 ; uma banda em 2.934 cm^{-1} característica de deformação axial OH de ácido carboxílico; uma banda em 1.691 cm^{-1} característica de deformação angular de carbonila; e uma banda em 1.267 cm^{-1} característica de deformação axial de ligação C-O.

O espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, figura 32, página 88) permitiu identificar a presença de sinais característicos de dois grupos metilas em δ_H 0.95 (s, 3H, H-20) e δ_H 1.35 (s, 3H, H-18), um sinal em δ_H 2.65 (s, 1H, H-13) característico de hidrogênio alílico, e dois singletos em δ_H 4.75 (s, 1H, H-17a) e 4.81 (s, 1H, H-17b) referentes a hidrogênios olefínicos.

O espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz) (Figura 33, página 89) de BS-3 permitiu identificar a presença de vinte linhas espectrais. A tabela 30 na página 88 apresenta os deslocamentos químicos observados no referido espectro. Dentre os sinais observados foram identificados sinais de carbonos olefínicos em δ_C 103.0 e 155.8, e um sinal em δ_C 183.4 referente à carbonila de ácido carboxílico.

A comparação entre os espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -BB DEPT (Figura 33 e 34, página 89) permitiu identificar a presença de dois carbonos metílicos (CH_3) dez carbonos metilênicos (CH_2), três carbonos metínicos (CH) e sete carbonos não-hidrogenados (C) (tabela 30).

Tabela 30. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de BS-3 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e RMN $^{13}\text{DEPT}$, CDCl_3 , 125 MHz).

δ	C	CH	CH ₂	CH ₃	Total
183.4		57.1	103.0		
155.8		55.2	49.0		
44.3		43.9	41.3		
43.7			40.8		
39.7			39.7	28.9	
			37.9	15.6	
			21.8		
			19.1		
			18,4		
			33.1		
	C ₄ COOH	C ₃ H ₃	C ₁₀ H ₂₀	C ₂ H ₆	
					C₂₀H₃₀O₂

A partir dos dados obtidos, pôde-se propor para BS-3 a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$ com IDH igual a 6, em acordo com o sinal do íon molecular no espectro de massa em m/z 302 Daltons (Figura 35, página 90).

A reunião de todos os dados espectroscópicos obtidos, e posterior comparação com dados de RMN ^{13}C descritos na literatura para diterpenos do tipo caurano (Tabela 31, página 87; MAHATO, 1994), pôde-se caracterizar BS-3 como sendo o ácido caurenóico, já isolado da espécie *Baccharis minutiflora* (BOHLMANN, 1982).

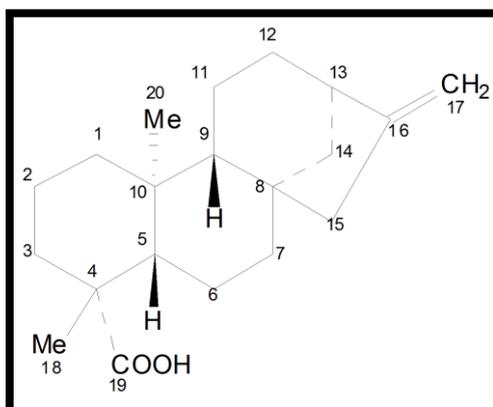


Figura 30. Estrutura do ácido caurenóico

Tabela 31. Análise comparativa de dados de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) de BS-3 com a literatura [MAHATO, CDCl_3 , 1994].

	BS-3	Ácido caurenóico
Carbono	δ C	δ C
1	40.8	40.8
2	19.1	19.2
3	37.9	37.8
4	43.9	43.9
5	57.1	57.2
6	21.8	21.9
7	41.3	41.4
8	44.3	44.3
9	55.2	55.3
10	39.7	39.8
11	18.4	18.5
12	33.1	33.2
13	43.9	43.9
14	39.7	39.8
15	49.0	49.1
16	155.8	155.9
17	103.0	103.1
18	29.7	29.0
19	183.4	185.0
20	15.6	15.6

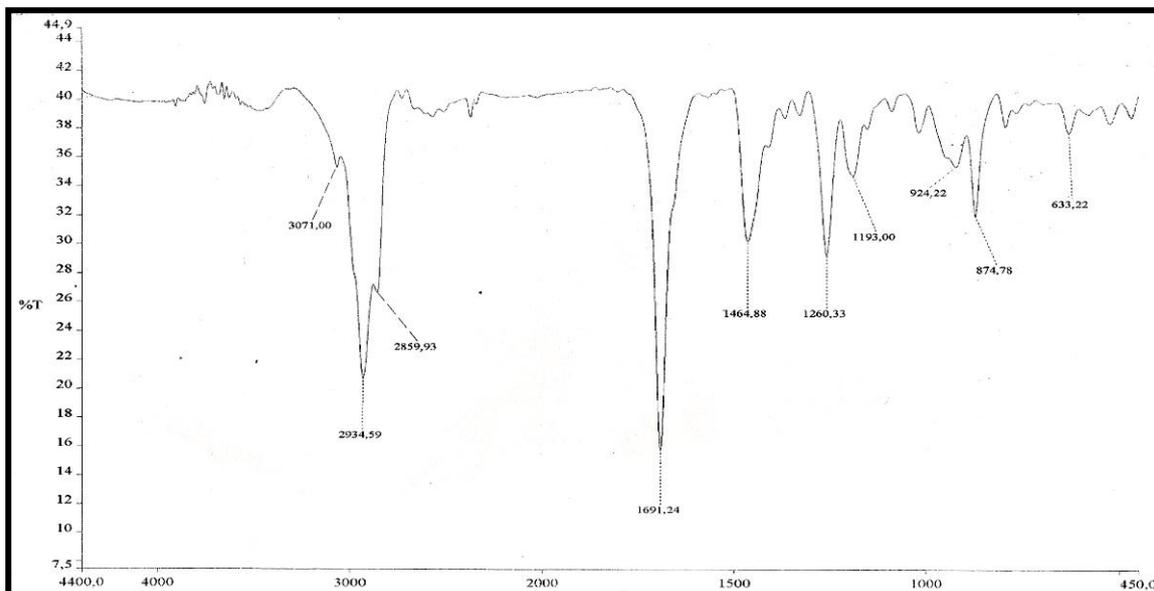


Figura 31. Espectro na região do infravermelho de BS-3.

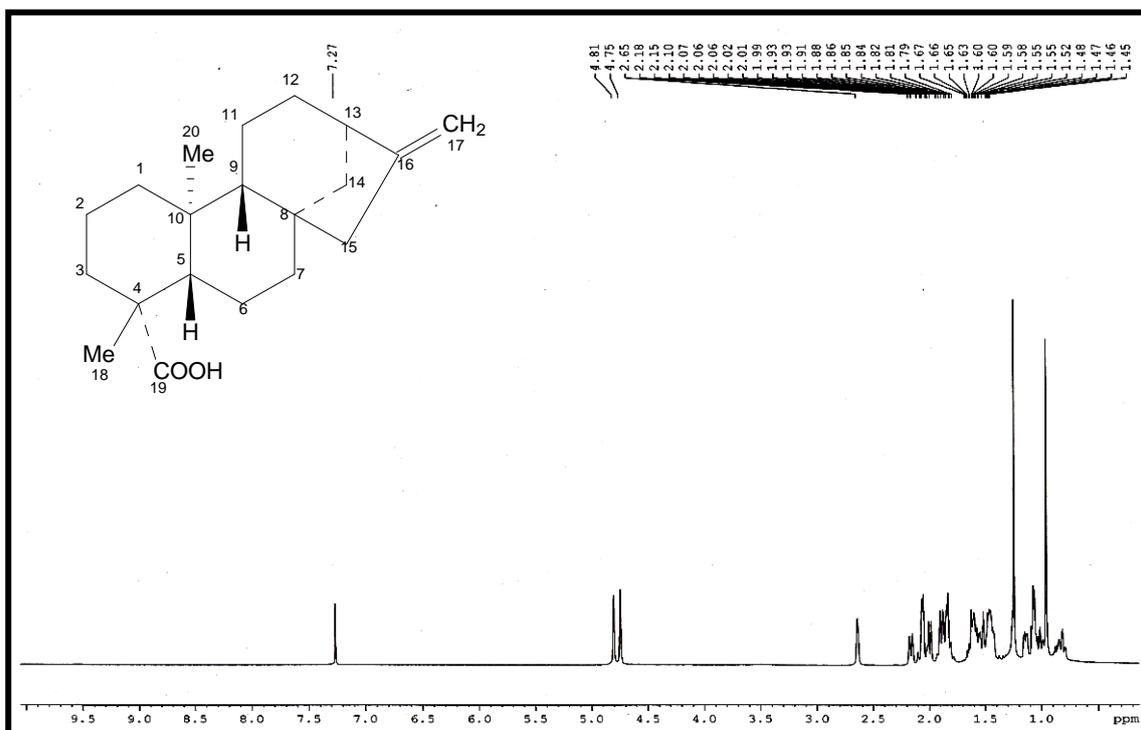


Figura 32. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de BS-3.

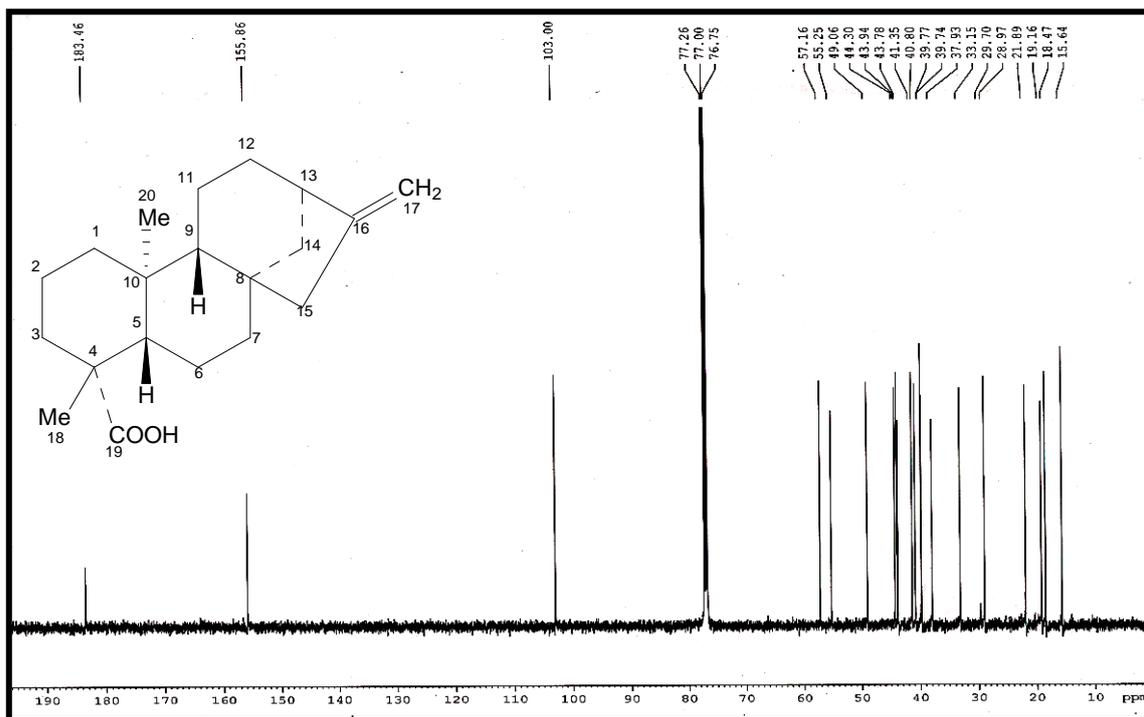


Figura 33. Espectro de RMN ¹³C – BB (125 MHz, CDCl₃) de BS-3.

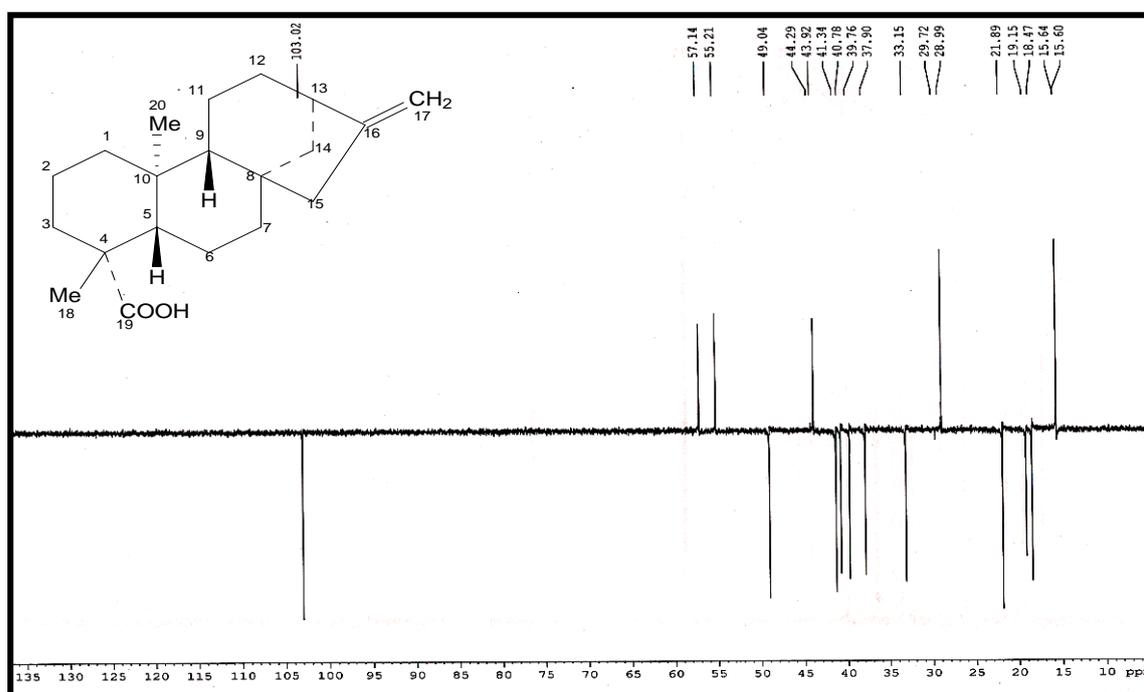


Figura 34. Espectro de RMN ¹³C – DEPT (125 MHz, CDCl₃) de BS-3.

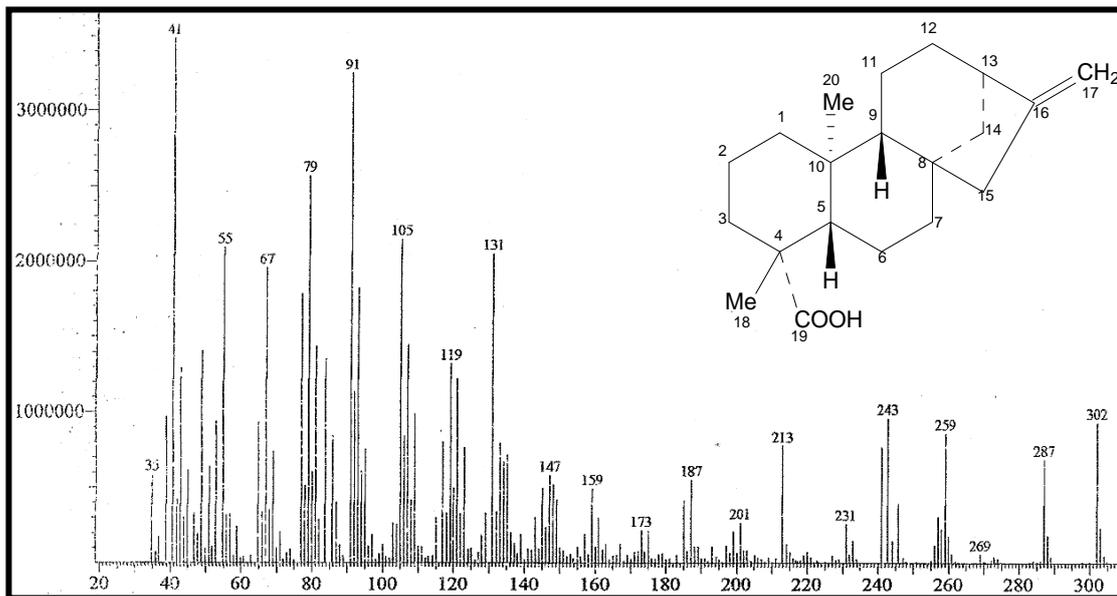


Figura 35. Espectro de massa (IE, 70 eV) de BS-3.

5.4- Determinação Estrutural de BS-4.

O tratamento cromatográfico da fração metanólica, obtida da partição do extrato etanólico de *Baccharis salzmannii*, resultou no isolamento de um óleo amarelado com $[\alpha]_D^{20} = -34^\circ$ (c 0,001; MeOH) que foi denominado de BS-4.

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de BS-4 (Figura 39, página 98) permitiu observar uma banda em 3375 cm^{-1} característica de deformação axial da ligação O-H de álcool; uma banda em 1650 cm^{-1} relativa a deformação axial da ligação C=C; além de bandas em 1456 e 1383 características de deformação angular simétrica de CH_2 e assimétrica de CH_3 , respectivamente, e bandas em 1093 e 1062 cm^{-1} relativas a deformação axial da ligação C-O.

A análise do espectro de RMN ^1H (MeOD, 500 MHz) (Figura 40, 41 e 42, página 98 e 99) de BS-4 permitiu identificar a presença de sinais referentes a três grupos metilas em δ_H 0.77 (3H, s, H-20), 0.84 (3H, d, $J=8.0$ Hz, H-17) e 0.91 (3H, d, $J=8.0$ Hz, H-16), quatro sinais referentes a hidrogênios de carbono carbinólico em δ_H 3.57 (2H, m, H-15), 3.67 (2H, m, H-6), 3.78 (2H, d, $J=11,5$ Hz, H-19), 4.23 (2H, s, H-18), e um sinal de hidrogênio olefínico em δ_H 5.83 (1H, sl, H-3).

No espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, MeOD) (Figura 43, página 100) observou-se a presença de 20 sinais. Através da teoria do deslocamento químico, observou-se três sinais característicos de carbonos metílicos em δ_c 16.0, 18.8 e 20.3, quatro sinais relacionados a carbonos oxigenados em δ_c 61.2, 64.3, 67.7, 77.0, além de sinais relativos a carbonos olefínicos em δ_c 130.5, 144.3, corroborando os dados observados no espectro de RMN ^1H .

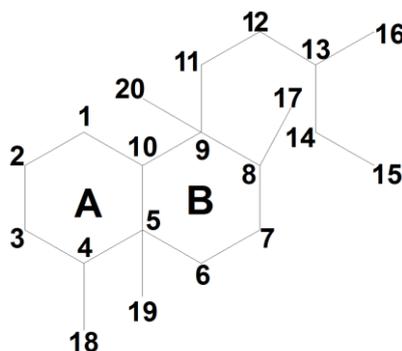
A tabela 32 na página 92 mostra a análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C - BB e RMN ^{13}C - DEPT 135 (Figura 43 e 45, página 100 e 102) onde permitiu identificar a presença de três carbonos metílicos, nove carbonos metilênicos, cinco carbonos metínicos e três carbonos não-hidrogenados.

Tabela 32. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de BS-4 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e RMN $^{13}\text{DEPT}$, MeOD, 125 MHz).

δ	C	CH	CH ₂	CH ₃	Total
144.0		130.5	67.7	20.3	
49.0		77.0	64.3	18.8	
39.3		47.2	61.2	16.0	
		35.9	40.8		
		31.4	38.1		
			36.7		
			30.8	-	
			27.5		
			18.9		
	C ₃	C ₄ H ₄ HC-OH	C ₆ H ₁₂ H ₂ C-OH (H ₂ C-OH) ₂	C ₃ H ₉	C ₂₀ H ₃₆ O ₄

A partir dos dados obtidos, pôde-se propor para BS-4 a fórmula molecular C₂₀H₃₆O₄ com IDH igual a 3, em acordo com o sinal do íon molecular no espectro de massa em m/z 340 Daltons. A figura 53 na página 106 mostra uma proposta mecanística para as fragmentações justificando os principais picos registrados no espectro de massa.

A análise dos dados apresentados e a posterior comparação com dados de RMN descritos na literatura para diterpenos [MARTA, 1998; MORALES, 2000], sugere para BS-4 a estrutura de um diterpeno de esqueleto do tipo clerodano.



Estrutura básica de um esqueleto clerodano.

Através da análise no espectro HSQC (Figura 46, página 101) foi possível observar os acoplamentos de cada hidrogênio com seus respectivos carbonos. (tabela 33, página 98)

A análise do espectro de HMBC (Figura 47, página 102) forneceu os acoplamentos á longa distância entre hidrogênios e carbonos (acoplamentos $^2J_{CH}$ e $^3J_{CH}$). Neste espectro foi possível observar o acoplamento dos hidrogênios em δ_H 2.09 (H-2a) e 3.67 (H-6) com o carbono em δ_c 144.0 (C-4), além do acoplamento do hidrogênio em δ_H 5.83 (H-3) com o carbono em δ_c 67.74 (C-18). Em adição, foram também observados os acoplamentos do hidrogênio em δ_H 3.67 (H-6) com o carbono em δ_c 47.28 (C-19), os acoplamentos dos hidrogênios em δ_H 1.63 (H-7) e 3.78 (H-19) com o carbono δ_c 77.04 (C-6), e o acoplamento dos hidrogênios em δ_H 1.32 (H-14a) e 1.58 (H-14b) com o carbono em δ_c 61.23 (C-15). A partir destes dados, foi possível identificar a posição relativa dos quatro carbonos hidroxilados em C-6, C-15, C-18 e C-19, respectivamente.

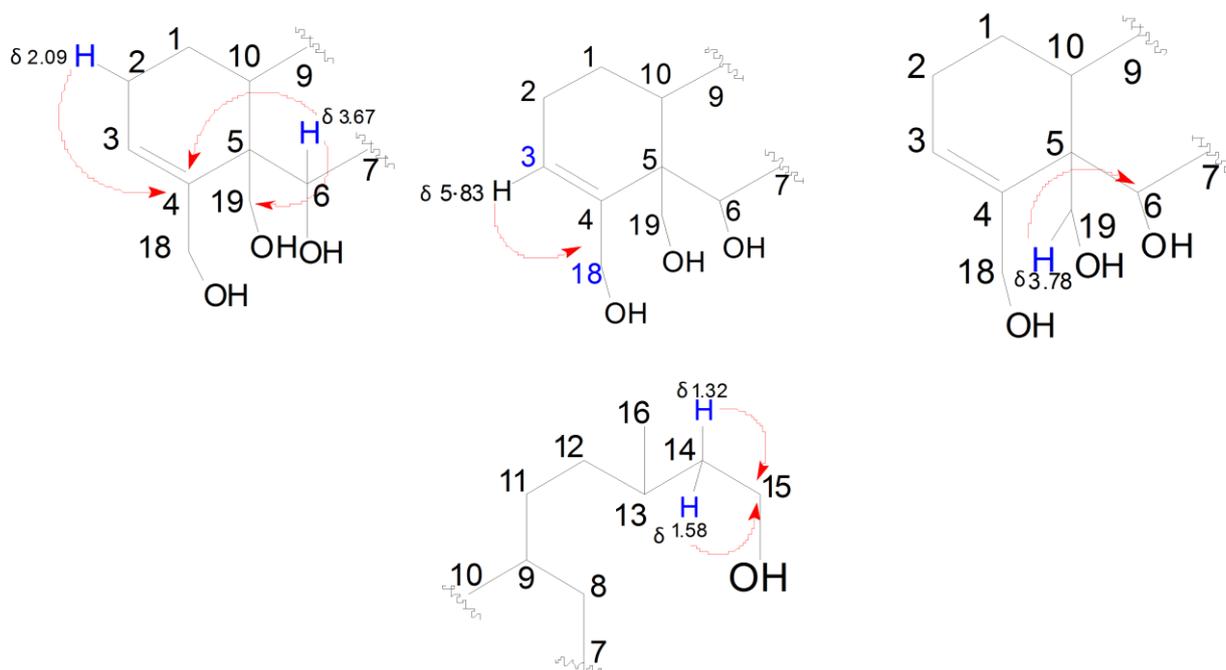


Figura 36. Correlações observadas no espectro de HMBC confirmando a localização das hidroxilas em C-6, C-15, C-18 e C-19.

A reunião de todos os dados espectroscópicos obtidos, e posterior comparação com dados de RMN ^{13}C descritos na literatura para diterpenos clerodanos, tornou possível caracterizar BS-4 como sendo (-)-(5R,6S,8R,9S,10R)-clerod-3-en-6,15,18,19-tetraol, de caráter inédito na literatura. A encontra-se de acordo com o pico do íon molecular em m/z 363,2521 no massa de alta resolução (figura 54, página 107).

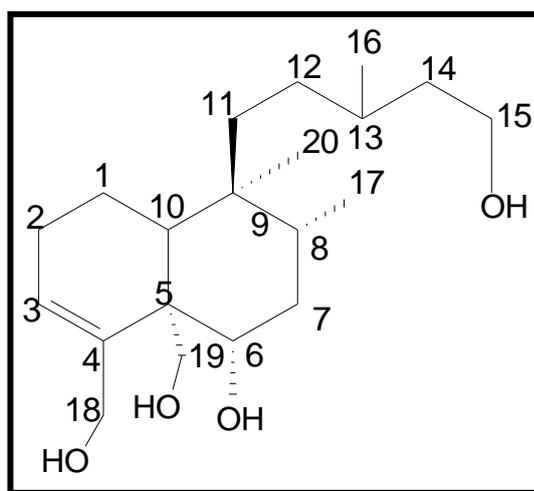


Figura 38. Estrutura do (-)-(5R,6S,8R,9S,10R)-clerod-3-en-6,15,18,19-tetraol.

Tabela 33. Correlação Heteronuclear ^1H , ^{13}C – HSQC e HMBC (500 X 125 MHz, MeOD) de BS-4.

	HSQC		HMBC	
	Δc	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
1	18.9	1.58 (1Ha, m); 1.78 (1Hb, m)	H-2b	-
2	27.5	2.09 (1Ha, m); 2.20 (1Hb, td)	H-3	-
3	130.5	5.83 (1H, sl)	2H-2	2H-18; H-1b
4	144.0	-	2H-18	2H-19; H-2a; H-6
5	49.0	-	2H-19; H-6	H-3; 2H-18; 2H-1; H-7
6	77.0	3.67 (1H, dd, $J=7.4$ Hz)	2H-7	2H-19;
7	38.1	1.63 (2H, m)	-	3H-17
8	35.9	1.65 (1H, m)	3H-17; H-7	3H-20
9	39.3	-	H-20; 3H-20	H-7; 3H-17
10	47.2	1.40 (1H, m)	H-1 ^a	2H-19; H-2a; 3H- 20
11	36.7	1.35 (2H, m)	-	3H-20
12	30.8	1.05 (2H, m)	-	3H-16; 2H-14
13	31.4	1.47 (2H, m)	3H-16	2H-15
14	40.8	1.32 (1Ha, m); 1.58 (1Hb, m)	2H-15	3H-16
15	61.2	3.57 (2H, m)	2H-14	-
16	20.3	0.91 (3H, d, $J=6.6$ Hz)	-	2H-14; H-12
17	16.0	0.84 (3H, d, $J=6.6$ Hz)	-	-
18	67.7	4.23 (2H, s)	-	H-3
19	64.3	3.78 (1Ha, d, $J=11.5$ Hz); 4.14 (1Hb, d, $J=11.5$ Hz)	-	H-6; H-10
20	18.8	0.77 (3H, s)	-	H-20

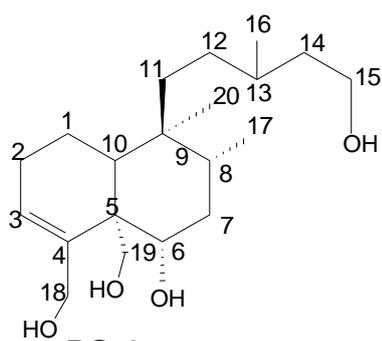
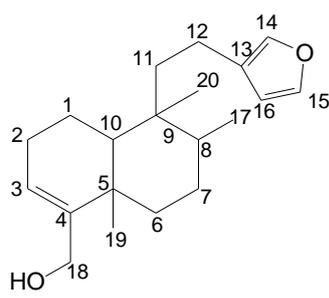
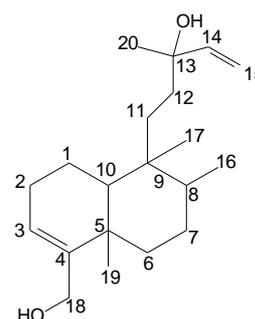

BS-4

Modelo 1

Modelo 2

Tabela 34. Análise comparativa de dados de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, MeOD) de BS-4 com Modelo 1 e Modelo 2. (MARTA, CDCl_3 , 1998; MORALES, CDCl_3 , 2000).

	BS-4	Modelo 1	Modelo 2
Carbono	δ C	δ C	δ C
1	18.9	18.2	17.4
2	27.5	26.6	23.7
3	130.5	122.3	124.5
4	144.0	148.2	143.2
5	49.0	37.5	36.25
6	77.0	36.4	36.8
7	38.1	27.3	28.6
8	35.9	36.3	37.3
9	39.3	38.8	39.8
10	47.2	46.4	45.2
11	36.7	38.6	31.6
12	30.8	18.2	35.1
13	31.4	125.9	73.3
14	40.8	111.2	145.2
15	61.2	142.9	111.7
16	20.3	138.6	27.6
17	16.0	16.0	15.8
18	67.7	63.1	64.3
19	64.3	31.4	34.9
20	18.8	18.3	17.4

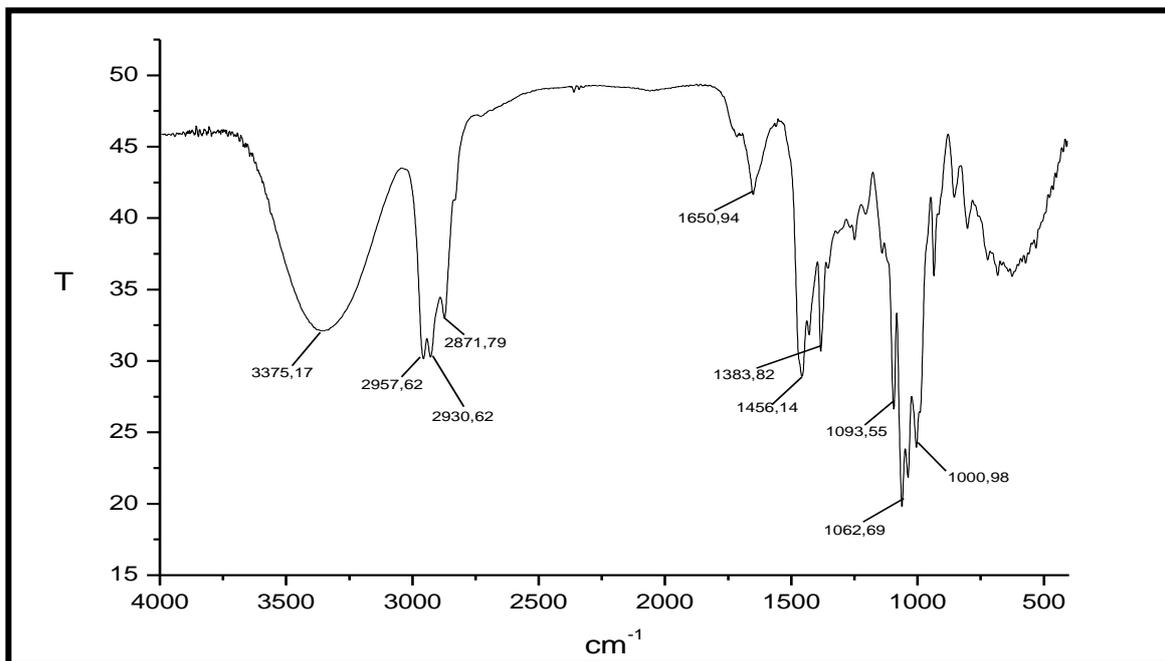


Figura 39. Espectro na região do infravermelho de BS-4.

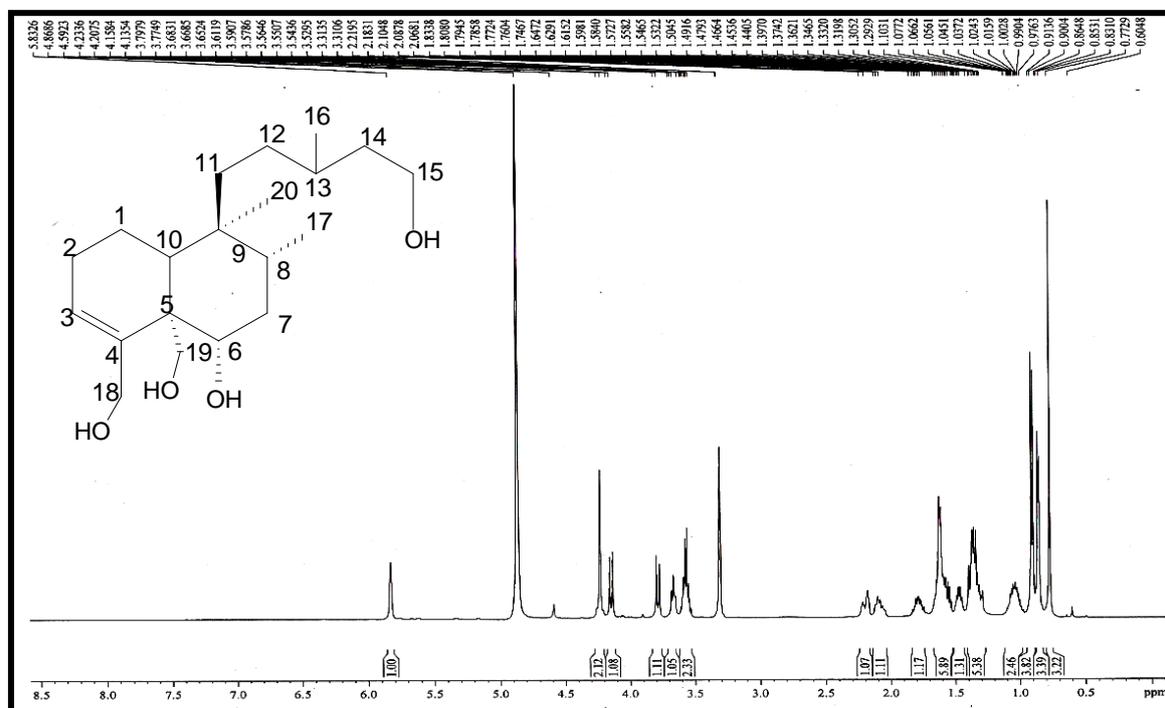


Figura 40. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, MeOD) de BS-4.

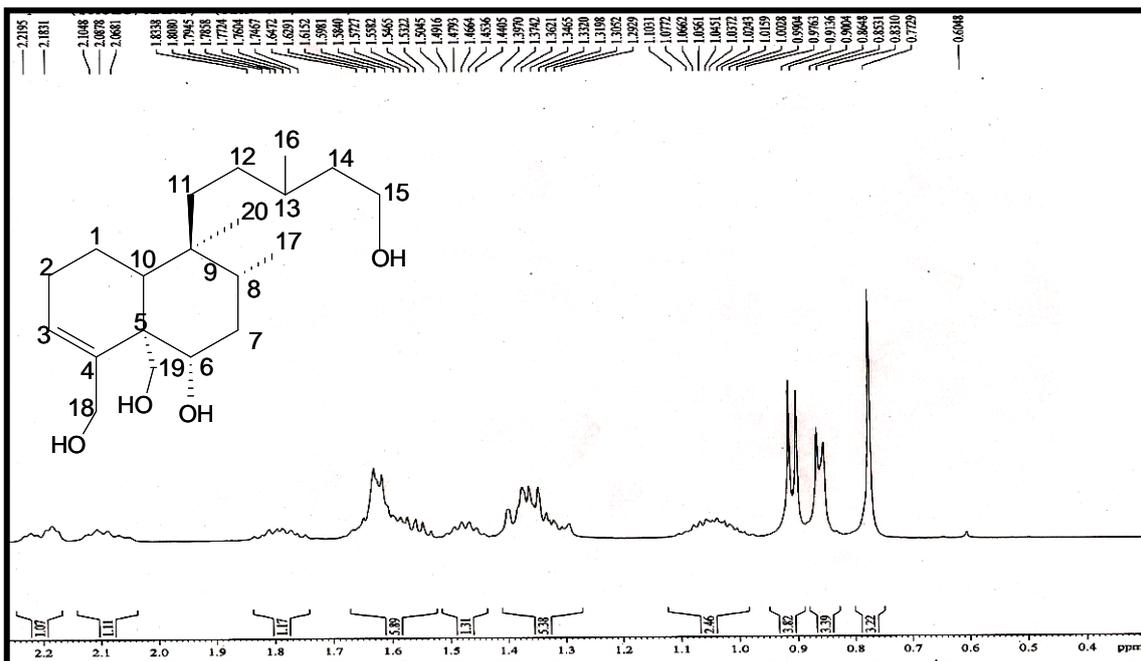


Figura 41. Expansão (0.4 - 2.2 ppm) do espectro de RMN ^1H (500 MHz, MeOD) de BS-4.

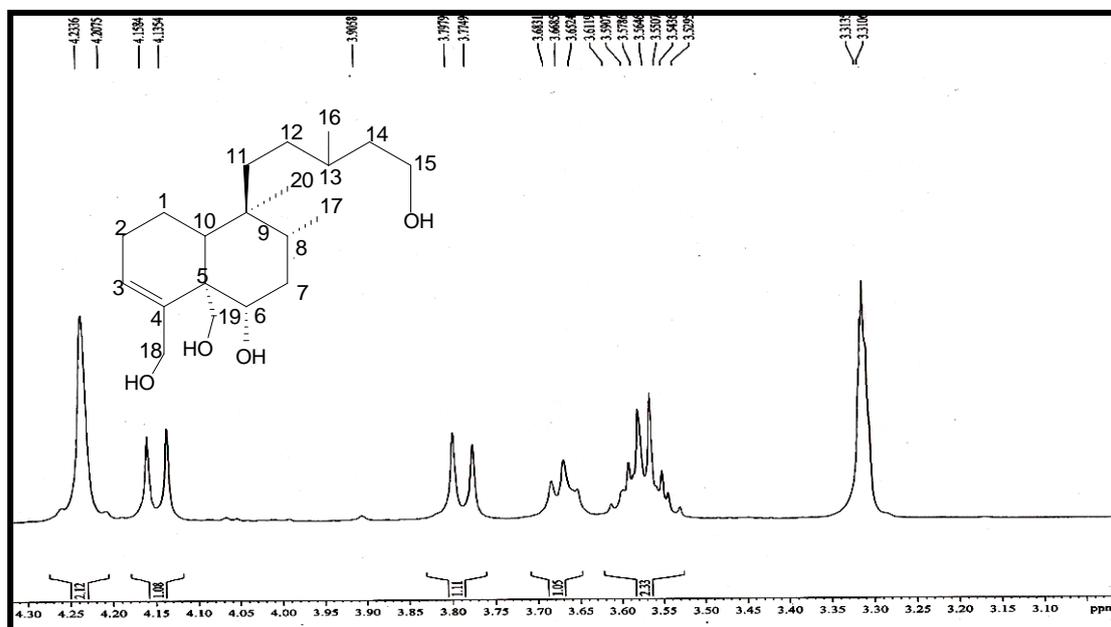


Figura 42. Expansão (3.10 - 4.30 ppm) do espectro de RMN ^1H (500 MHz, MeOD) de BS-4.

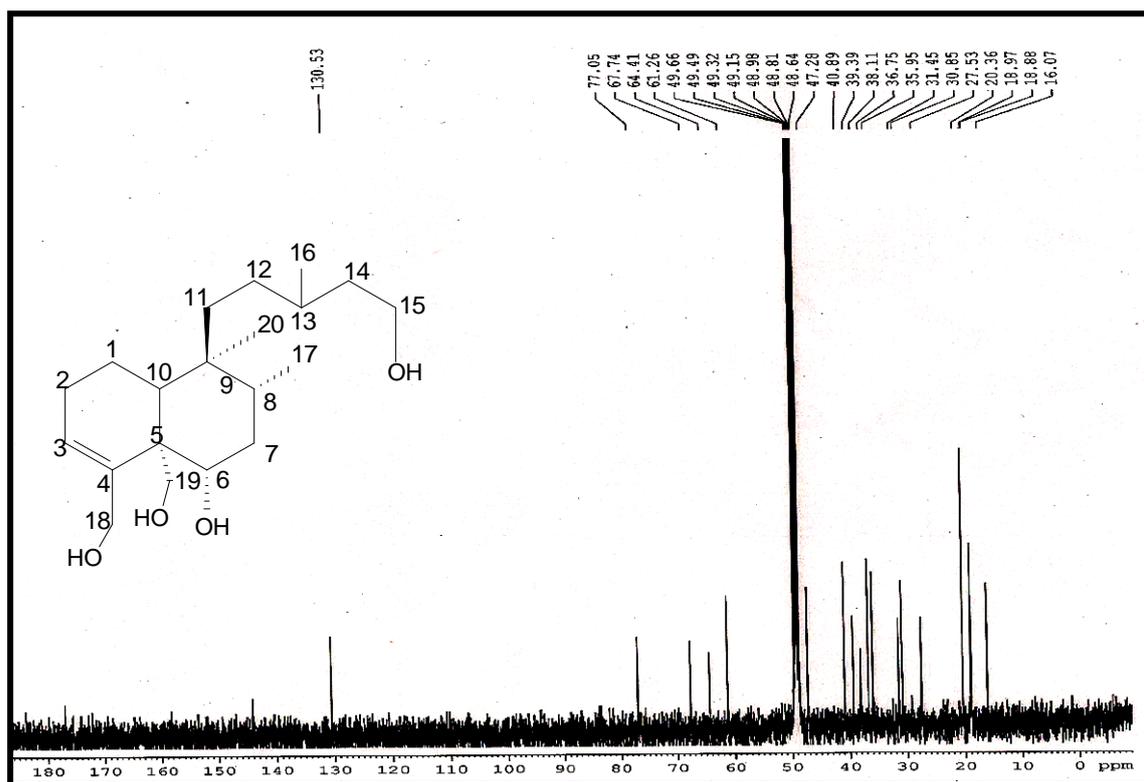


Figura 43. Espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, MeOD) de BS-4.

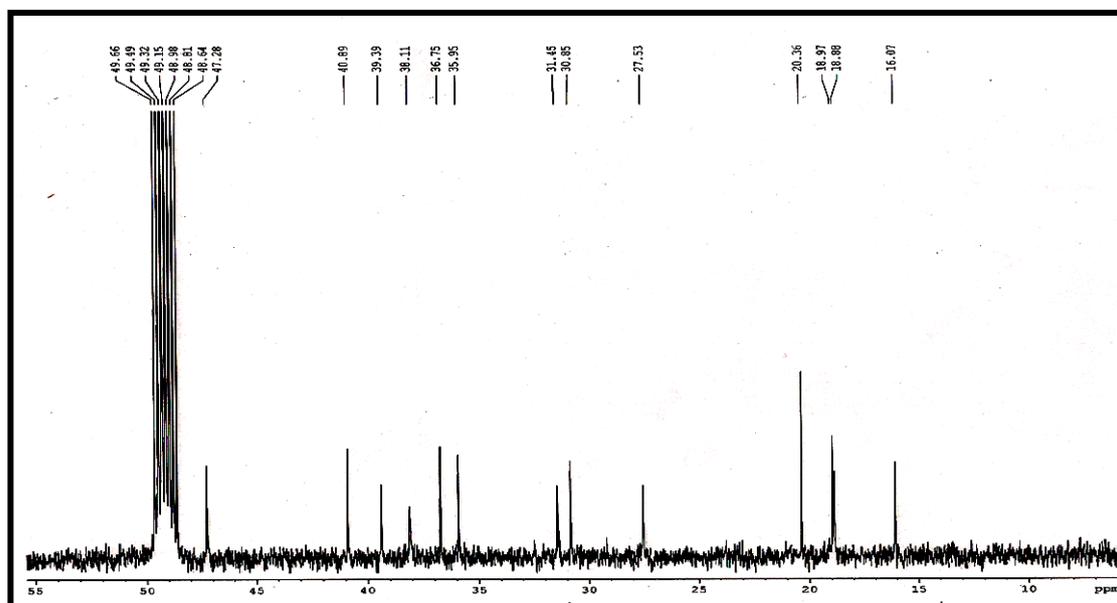


Figura 44. Expansão (0 – 55ppm) de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, MeOD) de BS-4.

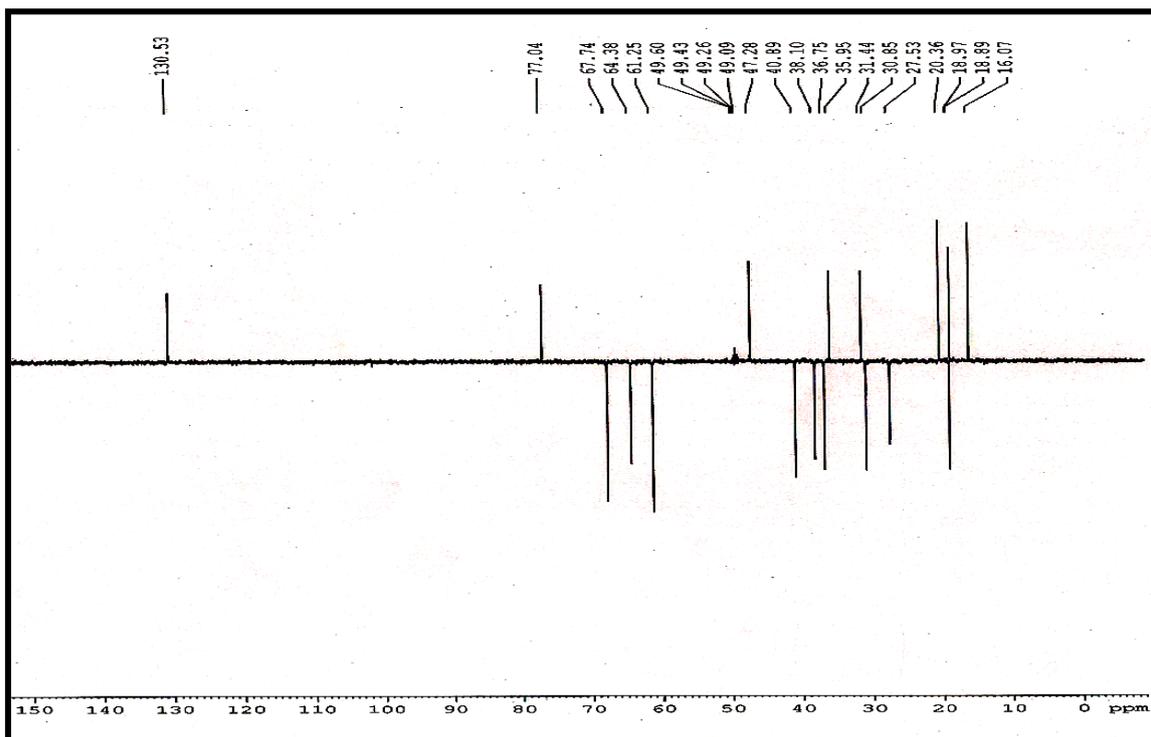


Figura 45. Espectro de RMN ^{13}C – DEPT (125 MHz, MeOD) de BS-4.

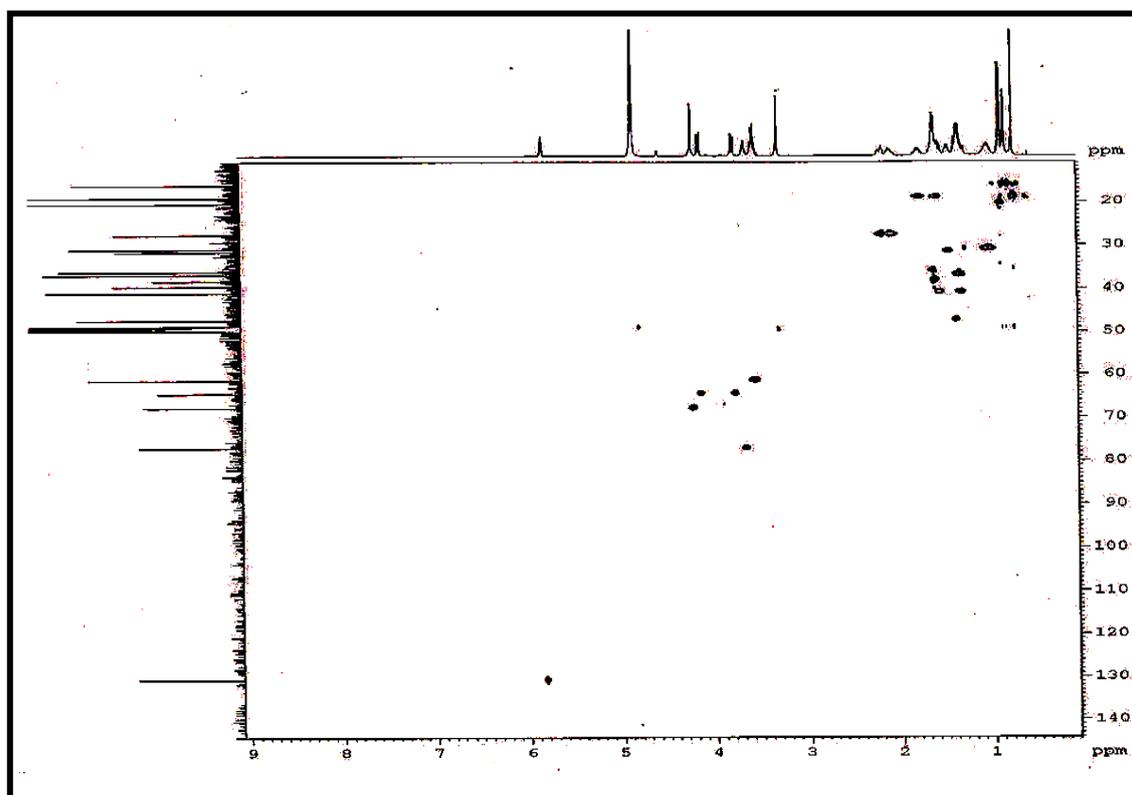


Figura 46. Espectro de RMN bidimensional de ^1H , ^{13}C – HSQC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-4.

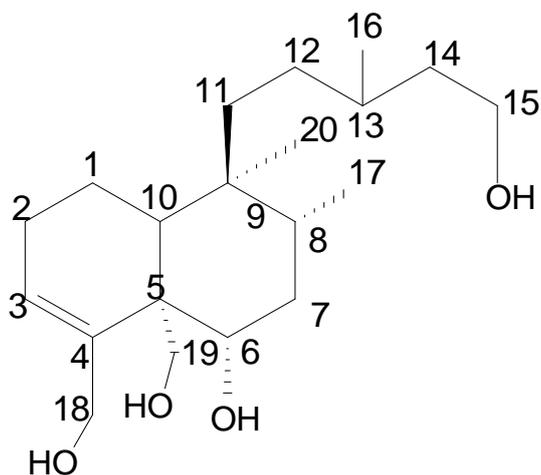
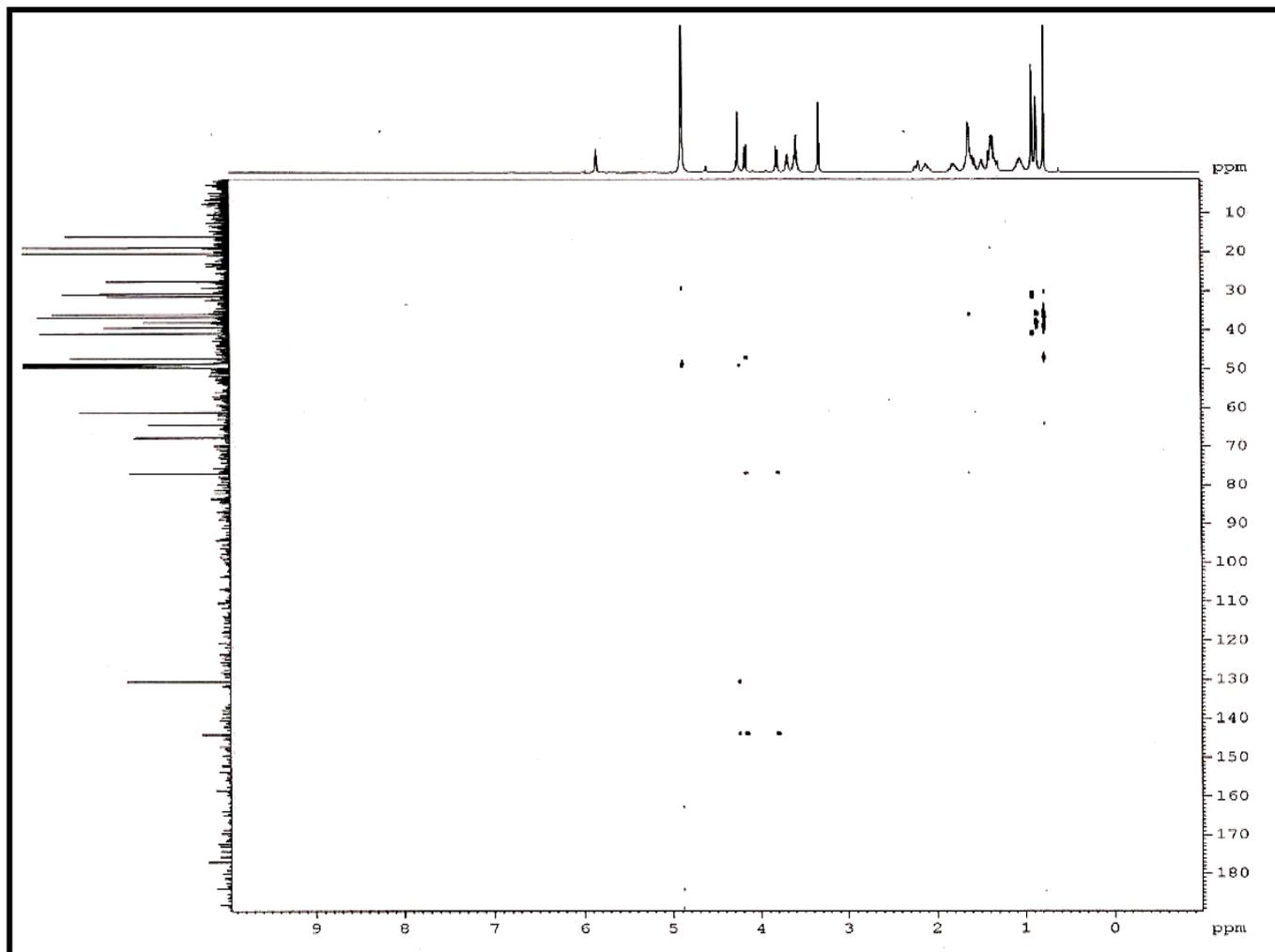


Figura 47. Espectro de RMN bidimensional de $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-4.

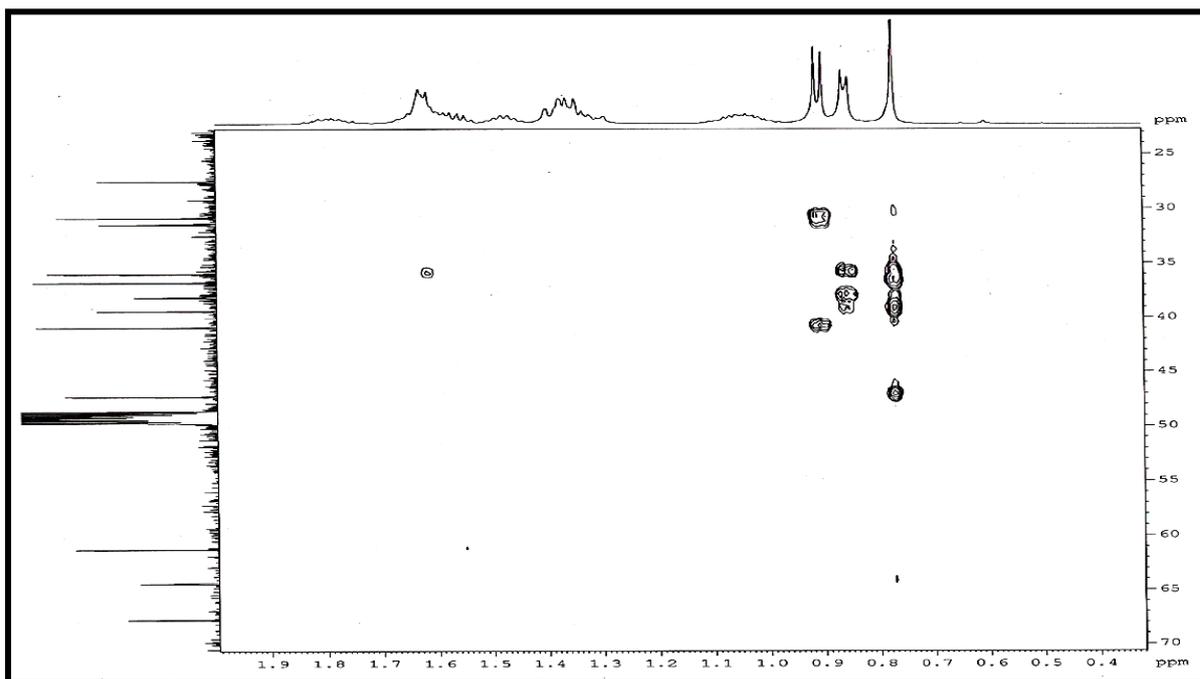


Figura 48. Expansão (0.3 – 1.9 ppm, 25-70 ppm) do Espectro bidimensional de ^1H , ^{13}C – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-4.

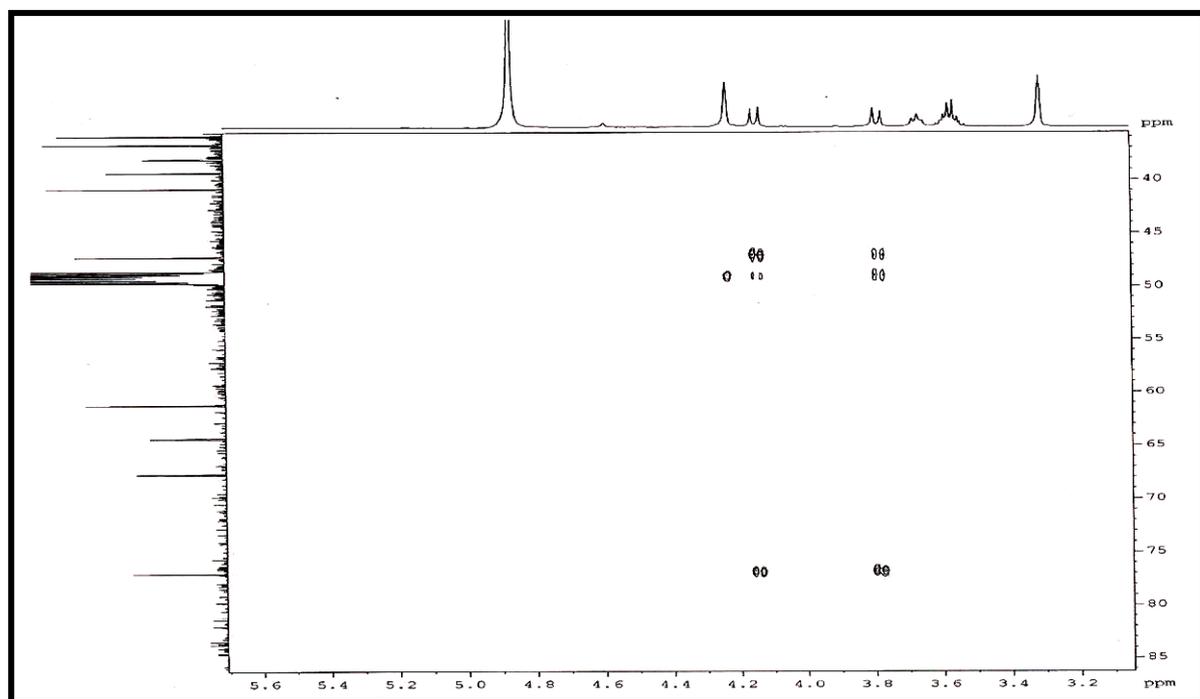


Figura 49. Expansão (3.2 – 5.5 ppm, 35-85 ppm) do Espectro bidimensional de ^1H , ^{13}C – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-4.

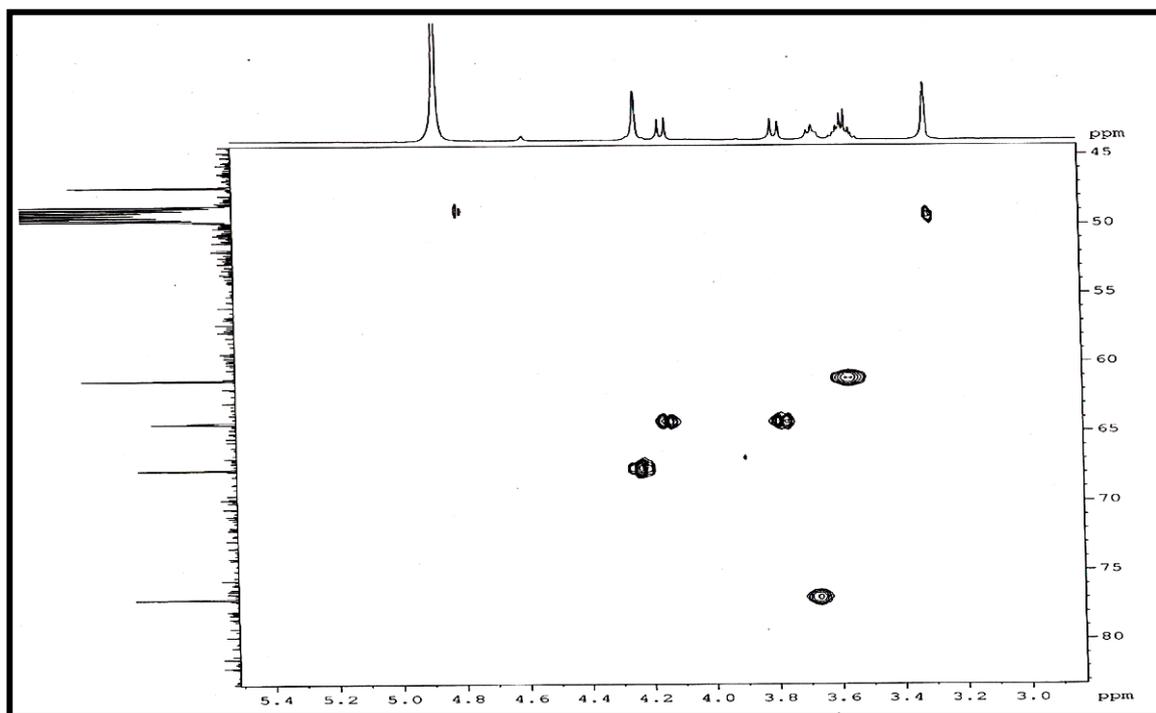


Figura 50. Expansão (3.0 – 5.4 ppm, 45-60 ppm) do Espectro bidimensional de ^1H , ^{13}C – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-4.

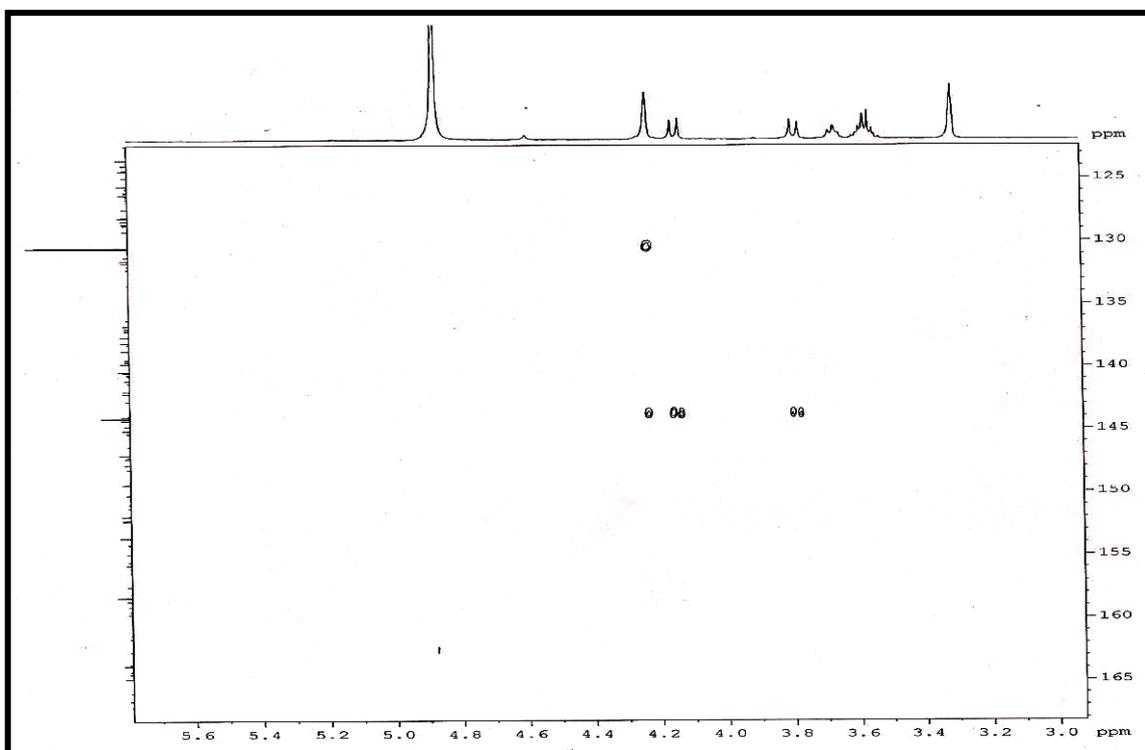


Figura 51. Expansão (3.0 – 5.4 ppm, 125-165 ppm) do Espectro bidimensional de ^1H , ^{13}C – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-4.

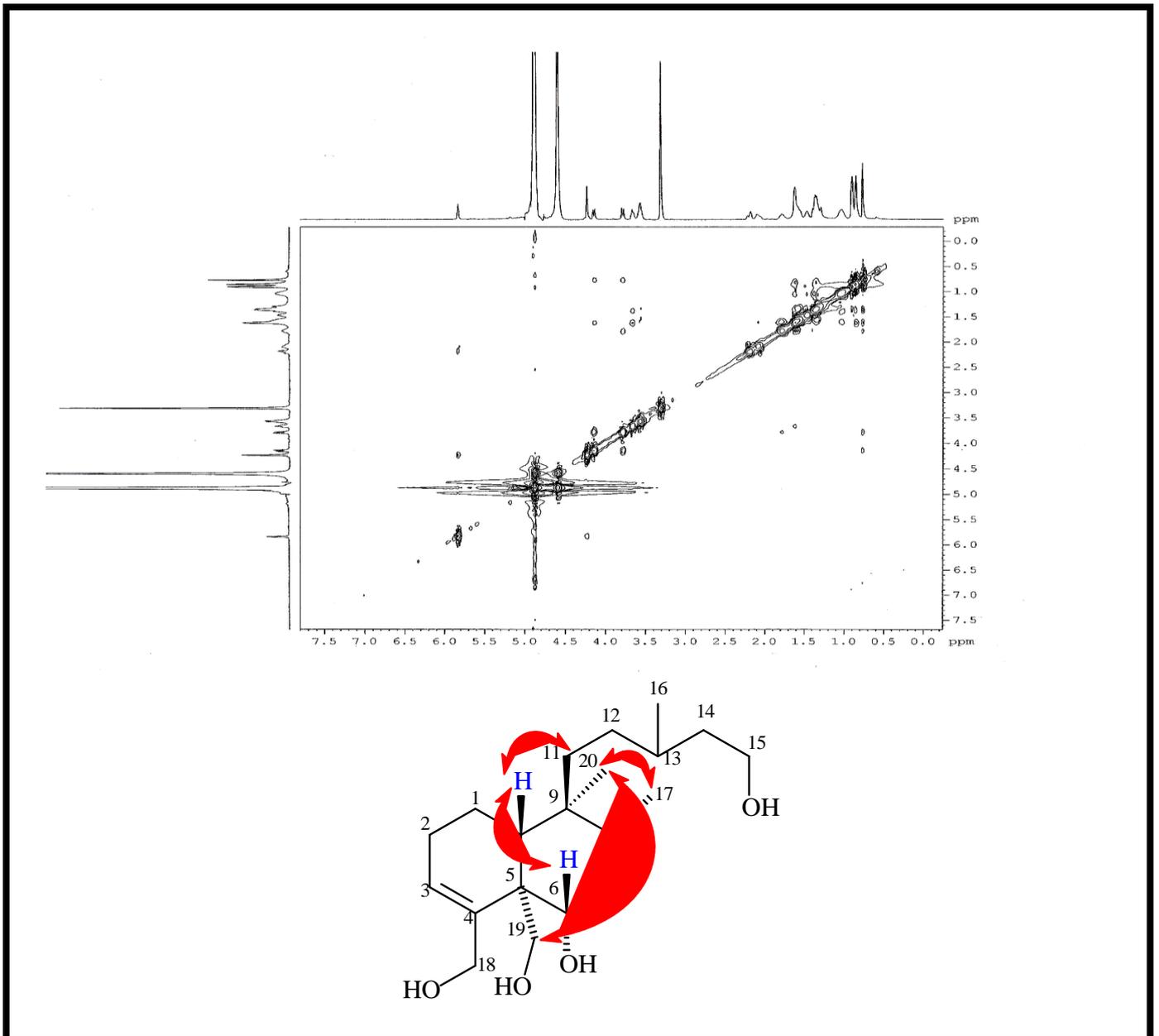


Figura 52. Espectro de ^1H , ^1H NOESY (500 x 500 MHz, MeOD) de BS-4.

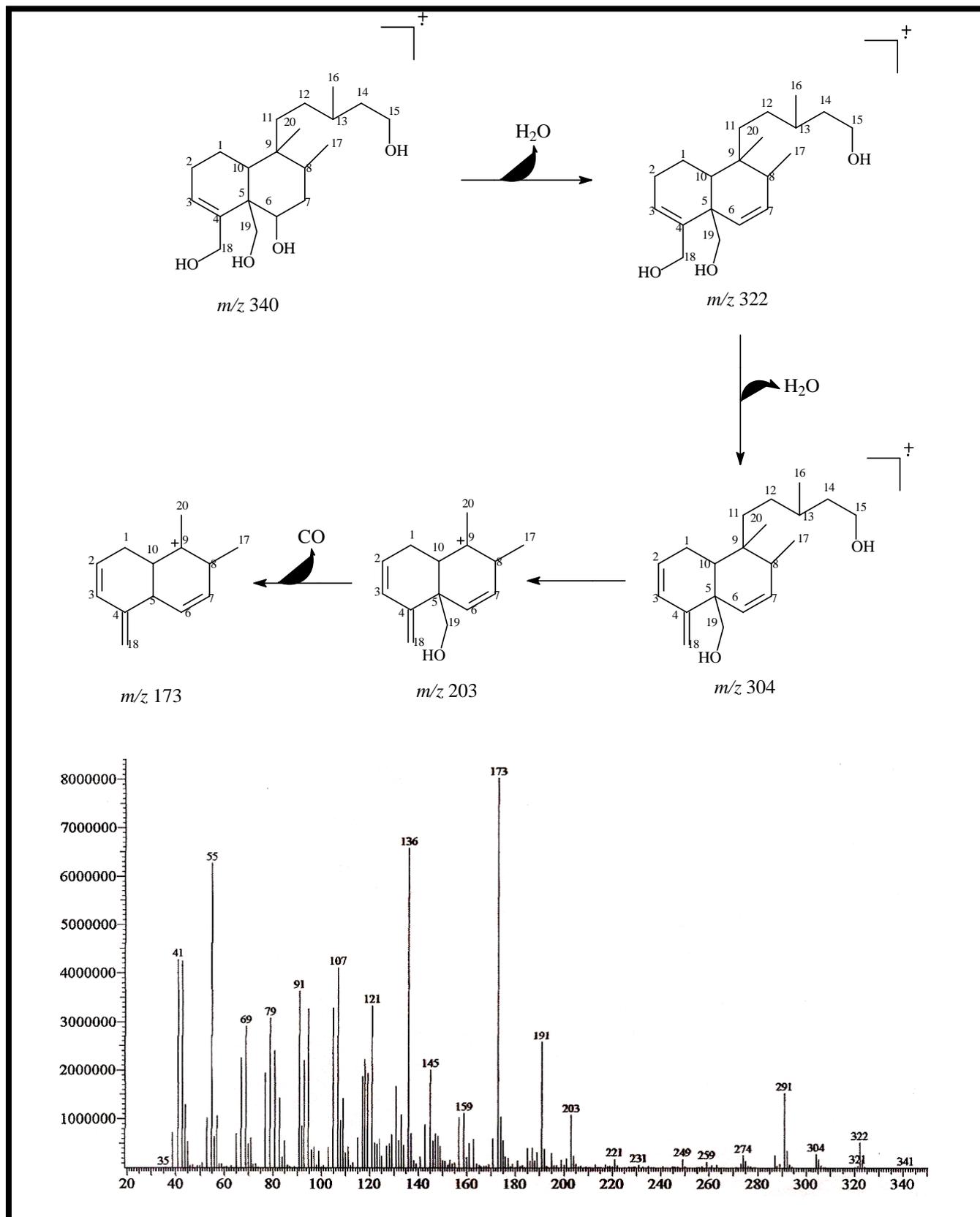


Figura 53. Espectro de massa (IE, 70 eV) de BS-4. Proposta mecânica para as fragmentações justificando os principais picos registrados no espectro de massa

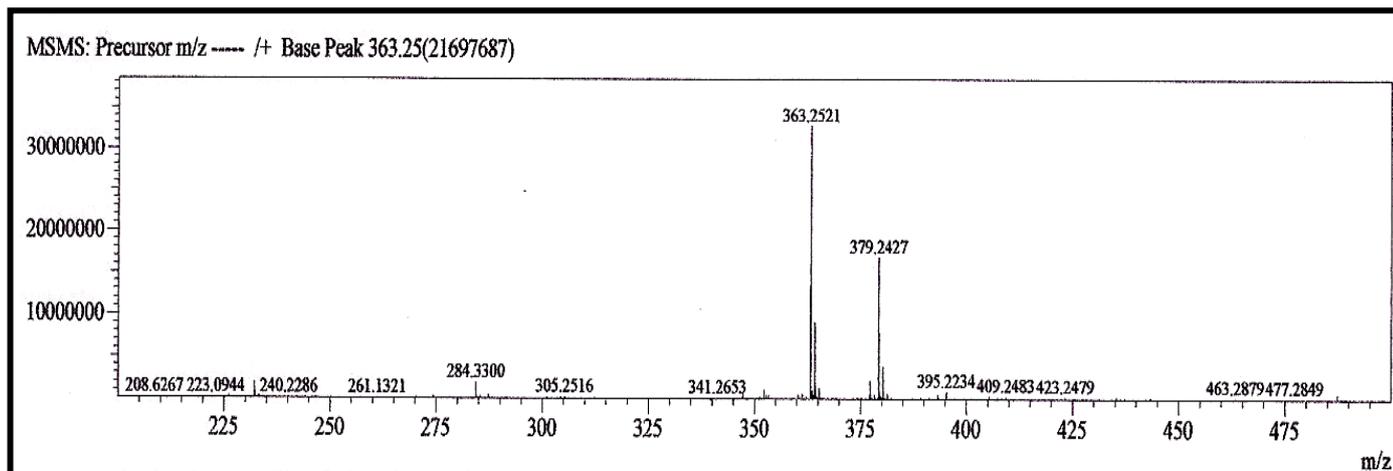


Figura 54. Espectro de massa de alta (MS/MS), modo positivo, de BS-4.

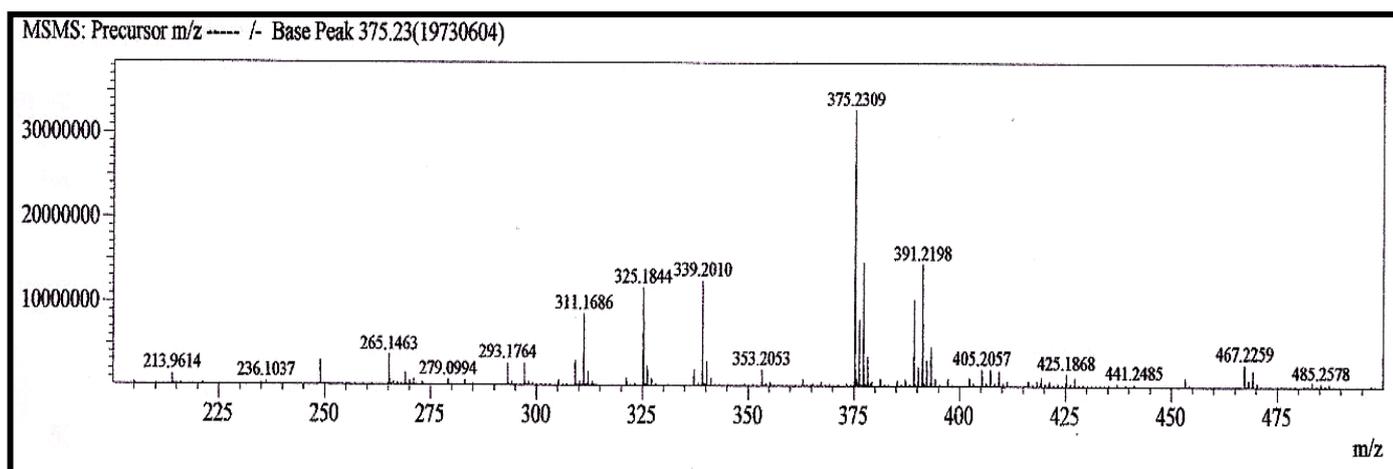


Figura 55. Espectro de massa de alta (MS/MS), modo negativo, de BS-4.

5.5- Determinação Estrutural BS-5.

O tratamento cromatográfico da fração diclorometano, obtida da partição do extrato etanólico de *Baccharis salzmännii*, resultou no isolamento de um óleo amarelo com $[\alpha]_D^{20} = -34^\circ$ (c 0,001; MeOH) que foi denominado de BS-5.

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de BS-5 (Figura 58, página 113) permitiu observar uma banda em 3375 cm^{-1} característica de deformação axial da ligação O-H de função álcool; bandas em 2967 , 2930 e 2871 cm^{-1} ; banda em 1649 cm^{-1} relativa a deformação axial da ligação C=C, além de bandas em 1458 e 1381 , características de deformação angular simétrica de CH_2 e assimétrica de CH_3 respectivamente.

A análise do espectro de RMN ^1H (MeOD, 500 MHz) (Figura 59, página 113) revelou grande similaridade com os dados observados para BS-4. Neste espectro foi possível identificar a presença de sinais relativos a quatro grupos metilas em δ_H 0.73 (3H, s, H-20), 0.82 (3H, d, $J=14.7\text{ Hz}$, H-17), 0.86 (3H, d, $J=11.0\text{ Hz}$, H-16) e 1.08 (3H, s, H-19); sinais de hidrogênios ligados a carbono carbinólico em δ_H 3.57 (2H, m, H-15), 4.04 (1H, d, $J=12.8\text{ Hz}$, H-18a) e 4.17 (1H, d, $J=12.8\text{ Hz}$, H-18b), e um sinal de hidrogênio olefínico δ_H 5.57 (1H, s, H-3).

O espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, MeOD) (Figura 60, página 114) de BS-5 também mostrou-se bastante similar a BS-4. A única diferença observada foi a ausência do carbono metilênico oxigenado em δ_c 64,3 de BS-4, e a presença de um carbono metílico em δ_c 16.9 adicional em BS-5.

A análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C - BB e RMN ^{13}C -DEPT 135 (Figura 60 e 62, página 114 e 116) permitiu identificar a presença de quatro carbonos metílicos, oito carbonos metilênicos, cinco carbonos metínicos, e três carbonos não-hidrogenados apresentados na tabela 35 na página 111.

Tabela 35. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de BS-5 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e RMN $^{13}\text{DEPT}$, MeOD, 125 MHz).

δ	C	CH	CH ₂	CH ₃	Total
147.8		127.3	66.7	20.4	
47.0		76.5	61.2	18.8	
39.4		46.5	40.9	16.9	
		36.0	37.3	16.1	
		31.4	36.7		
			30.8		
			27.8		
			19.0		
	C ₃	C ₄ H ₄ HC-OH	C ₆ H ₁₂ 2x (H ₂ C-OH)	C ₄ H ₁₂	C₂₀H₃₆O₃

A partir dos dados obtidos, pôde-se propor para BS-5 a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_3$, com IDH igual a 3. Estes dados estão de acordo com o sinal do íon molecular no espectro de massa em m/z 324. A Figura 70, página 119 mostra uma proposta mecanística para as fragmentações justificando os principais picos registrados no espectro de massa.

Através do espectro de HMBC (Figura 65, página 116), observou-se o acoplamento dos hidrogênios em δ_H 1.36 (H-10) e δ_H 3.57 (H-6) com o carbono metílico em δ_c 16.95 (C-19), além do acoplamento dos hidrogênios metílicos em δ_H 1.08 (H-19) com o carbono olefínico em δ_c 147,89 (C-4). A partir desses dados, pôde-se comprovar a localização do grupo metila em C-5.

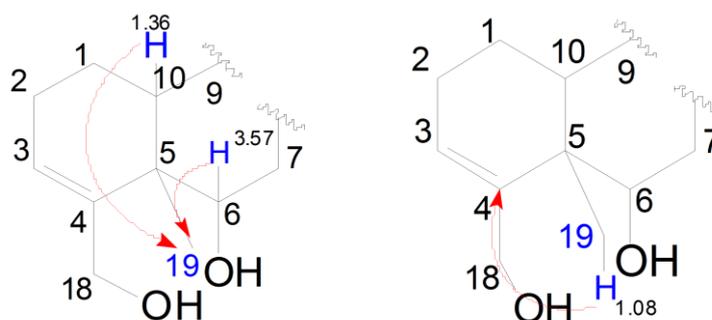


Figura 56. Correlações à longa distância, comprovando a localização do grupo metila em C-5.

A estereoquímica de BS-5 foi definida através de comparação com BS-4 onde apresentou similar rotação. Igualmente a estereoquímica de BS-4, a estereoquímica da hidroxila no carbono C-6 foi identificada através do acoplamento axial-axial do hidrogênio H-6 com H-7, localizando a hidroxila na posição equatorial. A tabela 37 na página 112 mostra a comparação entre BS-4 e BS-5.

A junção de todos os dados espectroscópicos obtidos, e comparação com os dados de RMN ^{13}C da literatura para diterpenos de esqueleto do tipo clerodano, tornou possível determinar que BS-5, trata-se do (-)-(5R,6S,8R,9S,10R)-clerod-3-en-6,15,18-triol, de caráter inédito na literatura. A estrutura encontra-se de acordo com o pico do íon molecular em m/z 347,2558 no espectro de massa de alta resolução (figura 70, página 119).

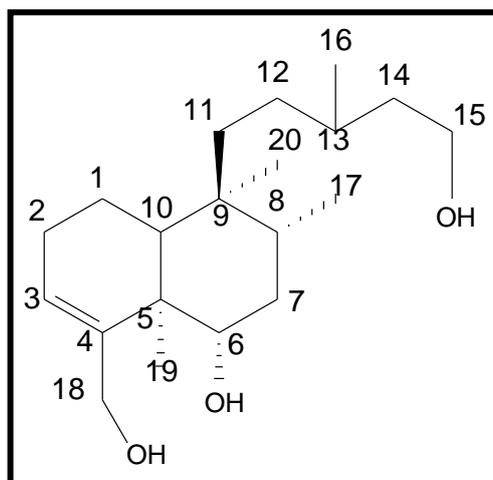
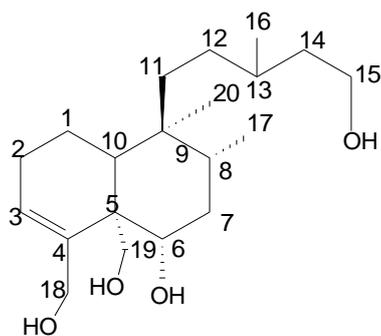


Figura 57. Estrutura do (-)-(5R,6S,8R,9S,10R)-clerod-3-en-6,15,18-triol.

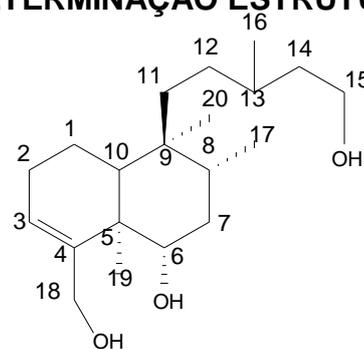
Tabela 36. Correlação Heteronuclear ^1H , ^{13}C – HSQC e HMBC (500 X 125 MHz, MeOD) de BS-5.

	HSQC		HMBC	
	Δc	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1	19.0	1.64 (2H,m)	H-10	H-3
2	27.8	2.07 (2H, m)	2H-1; H-3	H-10
3	127.3	5.57 (1H, s)	2H-2	2H-1; H18a; H-18b
4	147.8	-	H-18a; H-18b	2H-2; H-6; 3H-19
5	47.0	-	H-10; 3H-19	2H-1; H-7a, H-18a; H-18b
6	76.5	3.57 (1H, m)	H-7a; H-7b	H-8, 3H-19
7	37.4	1.36 (1Ha, m); 1.58 (1Hb, m)	H-8; H-6	3H-17
8	36.0	1.64 (1H, m)	3H-17	H-6; 2H-11, 3H-20
9	39.4	-	H-8; H-11; H-10	2H-1; H-7a; 2H-12
10	45.4	1.36 (1H, m)	2H-1	H-8; 2H-11, 3H-19; 3H-20
11	36.7	1.58 (2H, m)	-	H-8; H-10; 3H-20
12	30.8	1.08 (2H, m)	H-13	2H-14; 3H-16
13	31.4	1.45 (1H, m)	2H-14; 3H-16	2H-15
14	40.9	1.36 (2H, m)	H-13; 2H-15	H-16
15	61.2	3.57 (2H, m)	2H-14	H-13
16	20.4	0.86(d, 3H, $J=11$ Hz)	H-13	2H-14; 2H-12
17	16.1	0.82 (d, 3H, $J=14.75$ Hz)	H-8	H-7a; H-7b
18	66.7	4.04 (d, 1H, $J=12.8$ Hz); 4.17 (d, 1H, $J=12.8$ Hz)	-	H-3
19	16.9	1.08 (s)	-	H-10; H-6
20	18.8	0.73 (s, 3H)	-	H-10; 2H-11

DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL



BS-4



BS-5

Tabela 37. Análise comparativa de dados de RMN ^{13}C (125 MHz, MeOD) de BS-4 e BS-5.

	BS-4	BS-5
Carbono	δ C	δ C
1	18.9	19.0
2	27.5	27.8
3	130.5	127.3
4	144.0	147.8
5	49.0	47.0
6	77.0	76.5
7	38.1	37.4
8	35.9	36.0
9	39.3	39.4
10	47.2	45.4
11	36.7	36.7
12	30.8	30.8
13	31.4	31.4
14	40.8	40.9
15	61.2	61.2
16	20.3	20.4
17	16.0	16.1
18	67.7	66.7
19	64.3	16.9
20	18,8	18.8

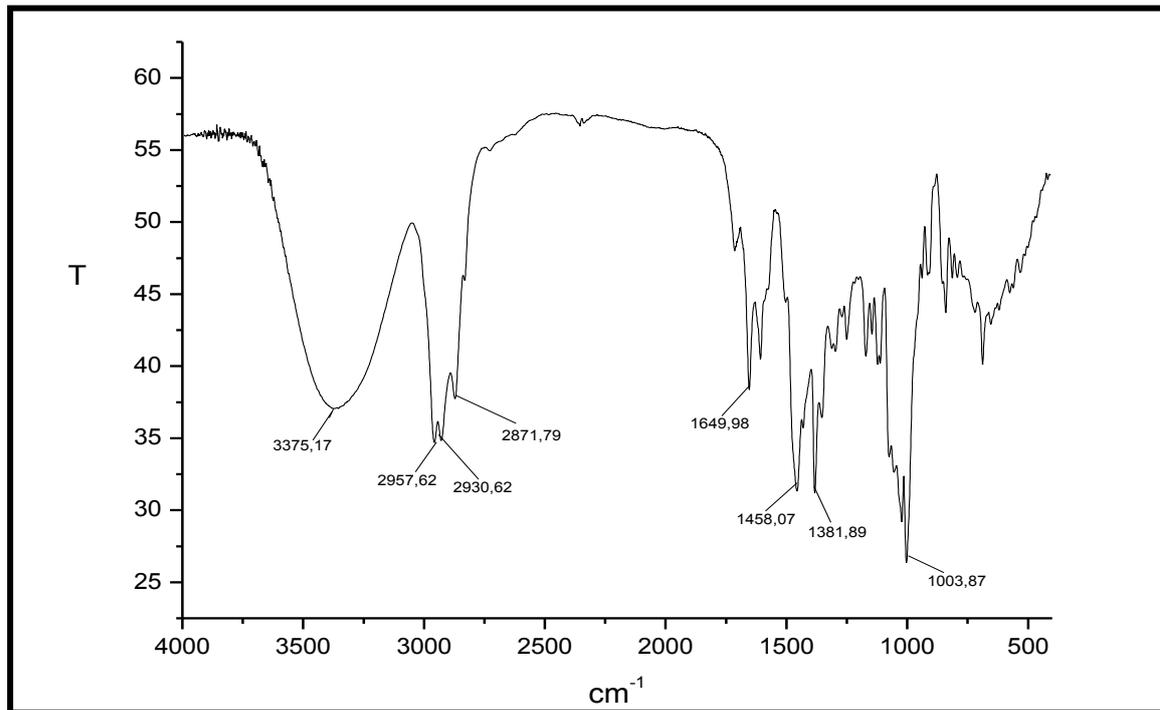


Figura 58. Espectro na região do infravermelho de BS-5.

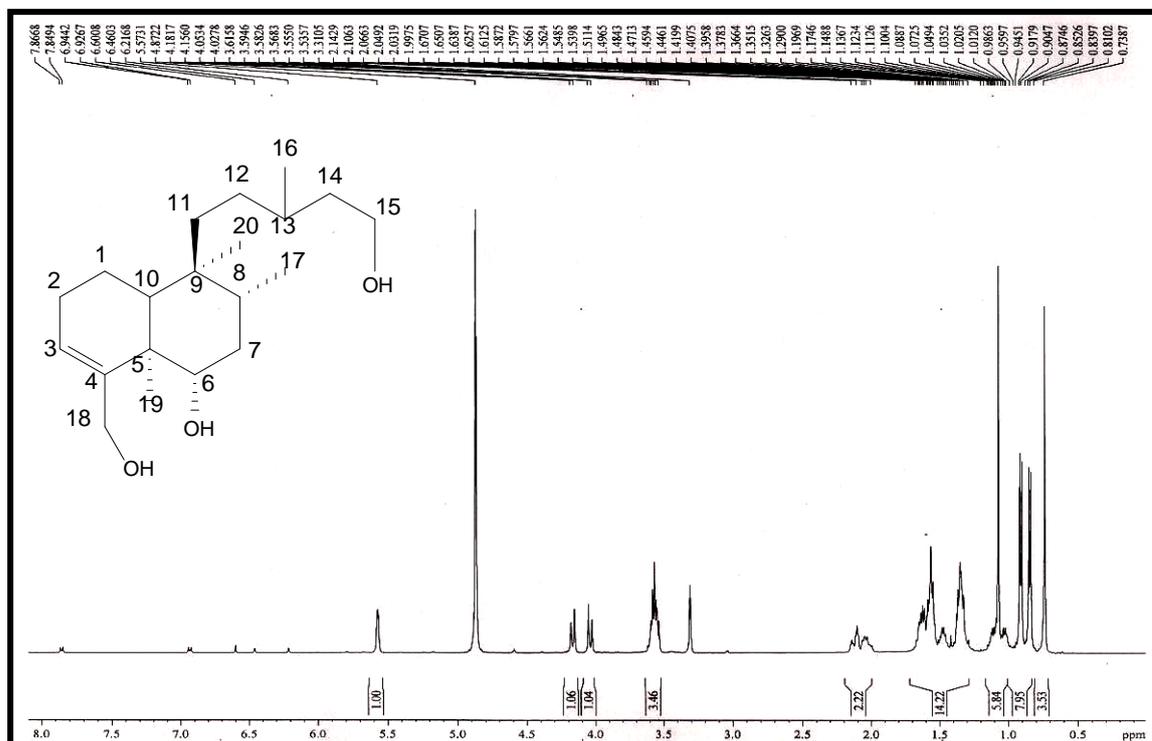


Figura 59. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, MeOD) de BS-5.

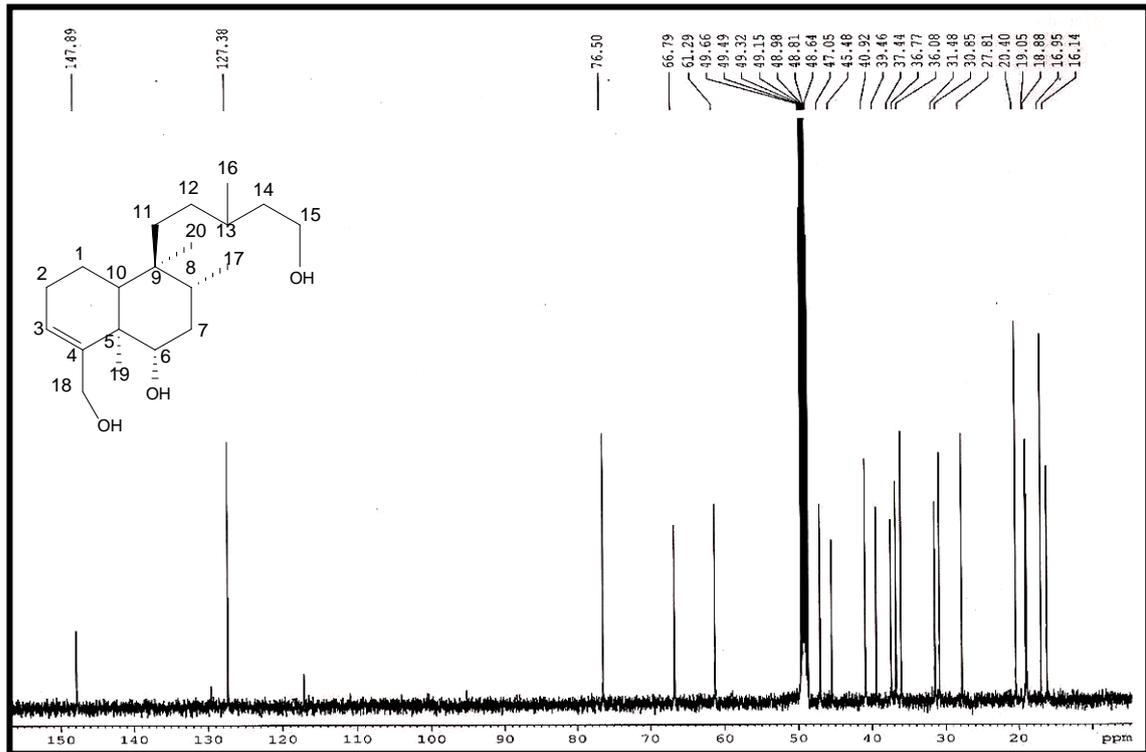


Figura 60. Espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, MeOD) de BS-5.

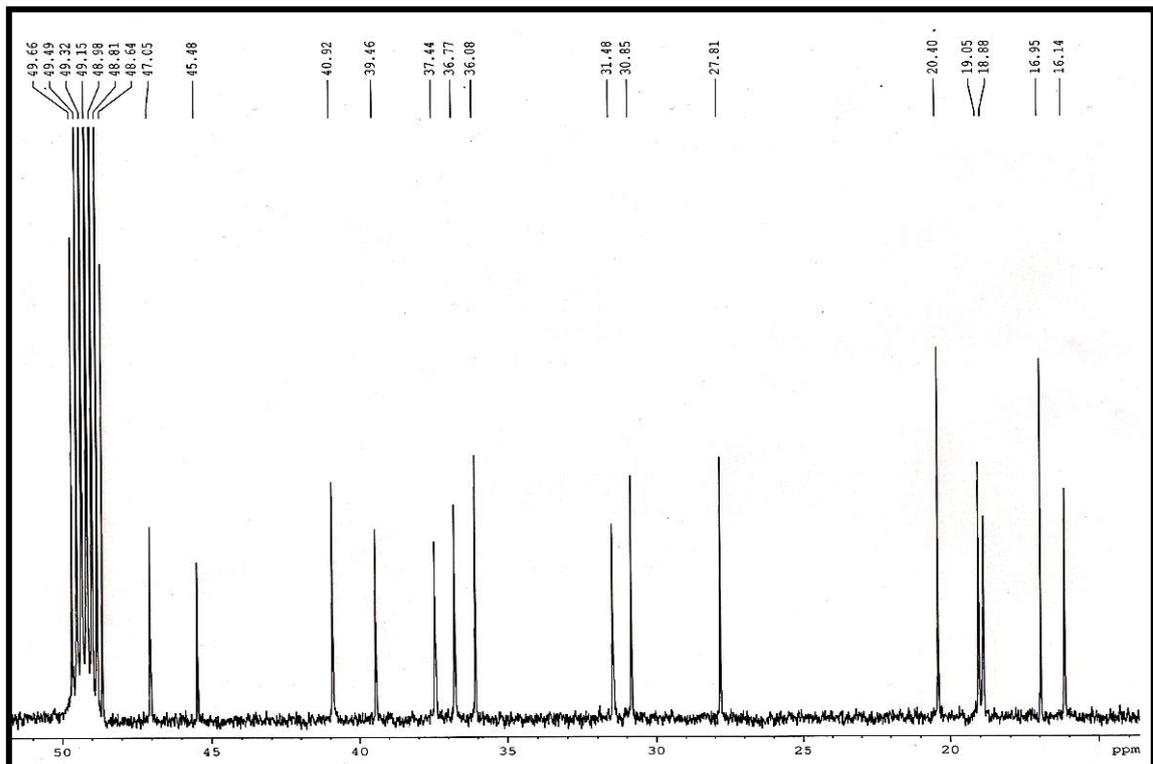


Figura 61. Expansão (0 – 50ppm) de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, MeOD) de BS-5.

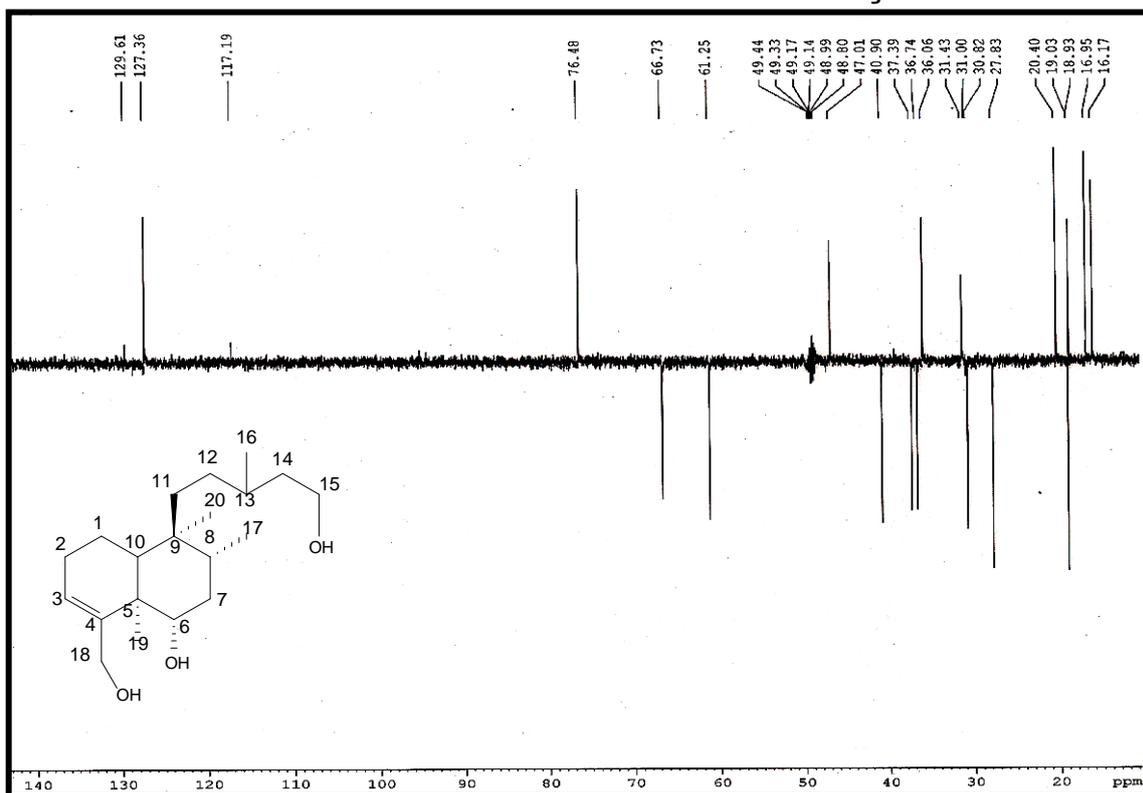


Figura 62. Espectro de RMN ^{13}C – DEPT (125 MHz, MeOD) de BS-5.

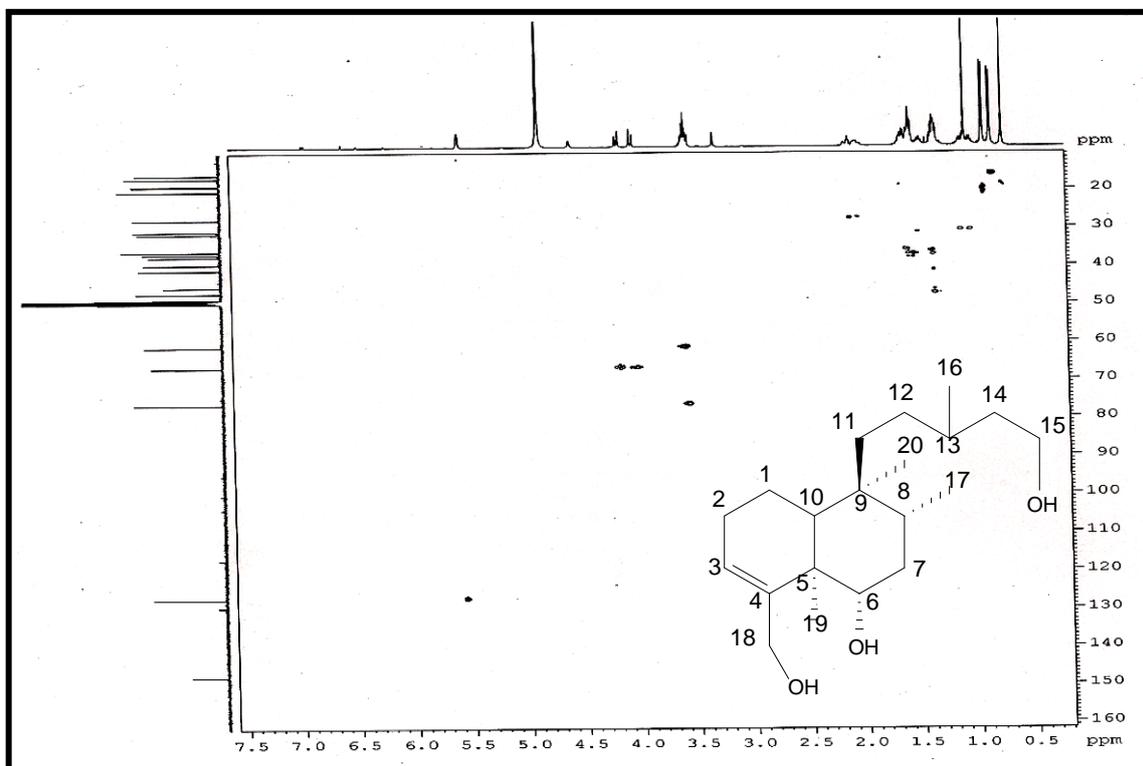


Figura 63. Espectro de RMN bidimensional de ^1H , ^{13}C – HSQC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-5.

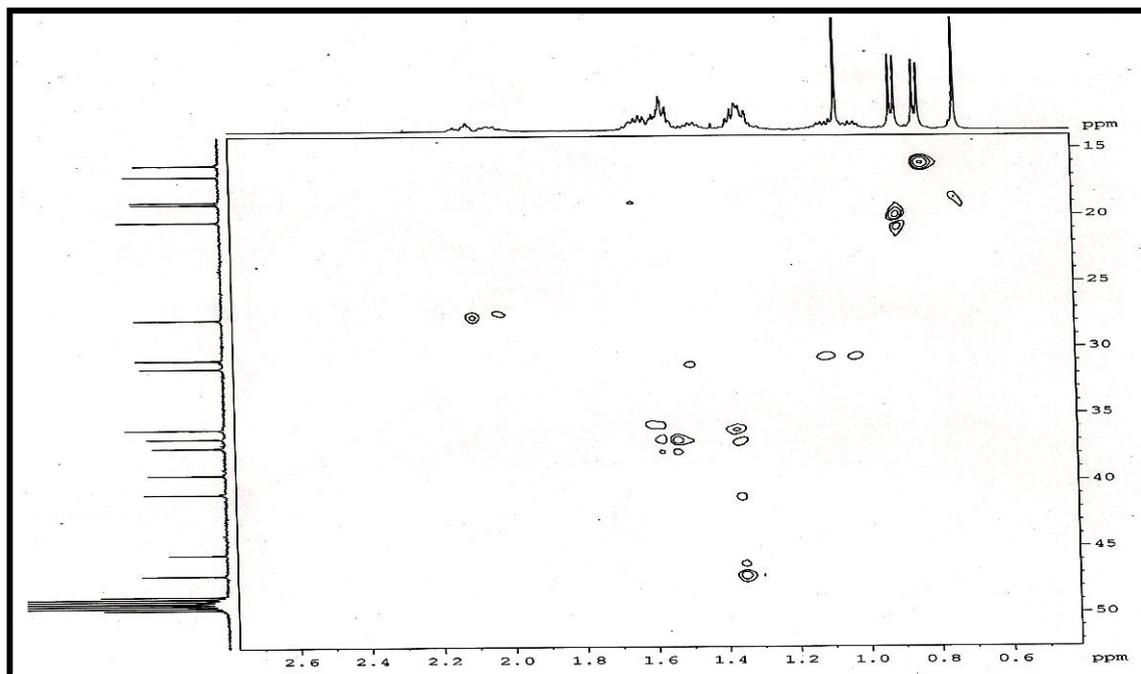


Figura 64. Expansão (0.6 – 2.6 ppm, 15-50 ppm) do Espectro bidimensional de ^1H , ^{13}C – HSQC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-5.

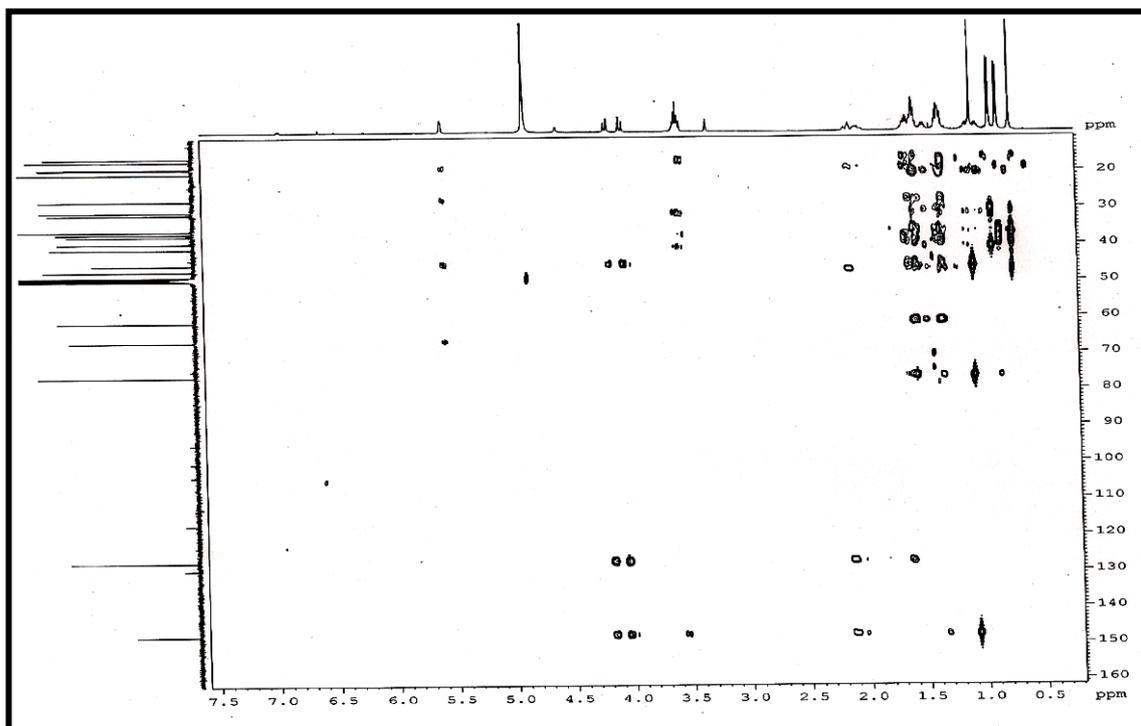


Figura 65. Espectro de RMN bidimensional de ^1H , ^{13}C – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-5.

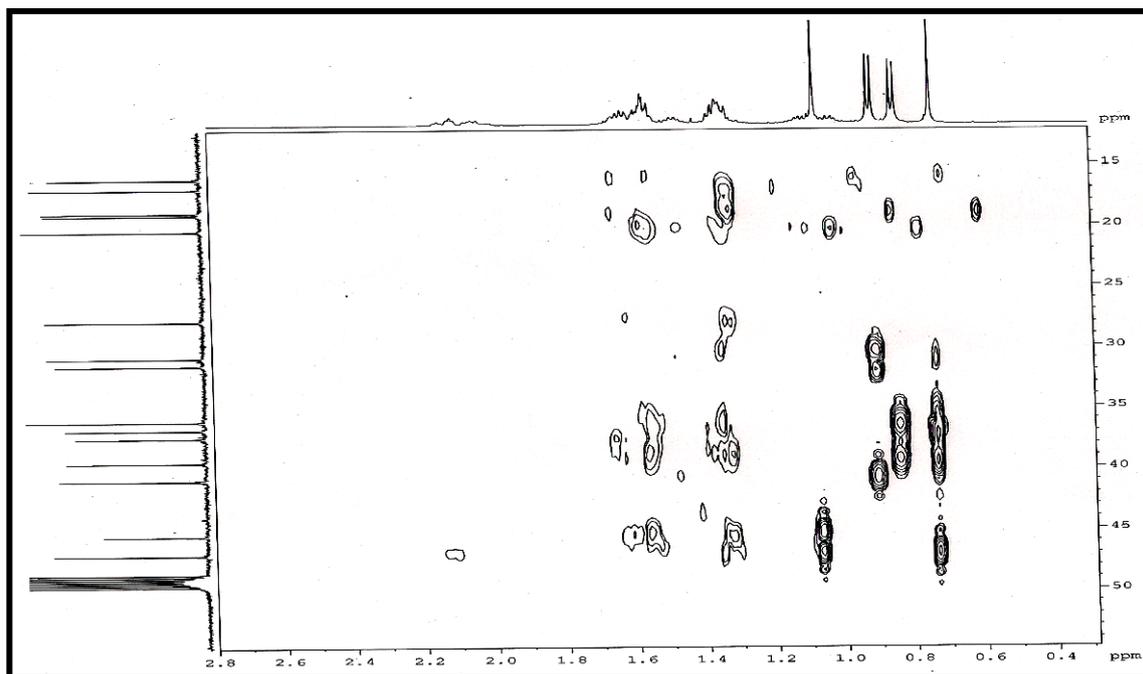


Figura 66. Expansão (0.4 – 2.8 ppm, 15-60 ppm) do Espectro bidimensional de ^1H , ^{13}C – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-5.

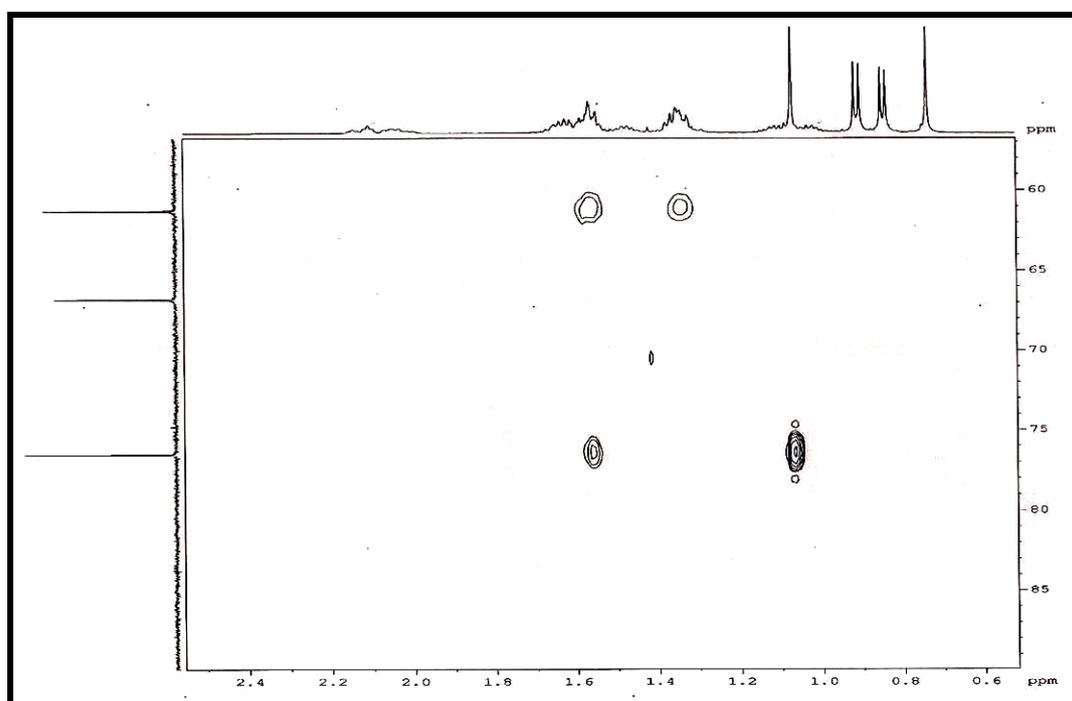


Figura 67. Expansão (0.6– 2.4 ppm, 60-85 ppm) do Espectro bidimensional de ^1H , ^{13}C .

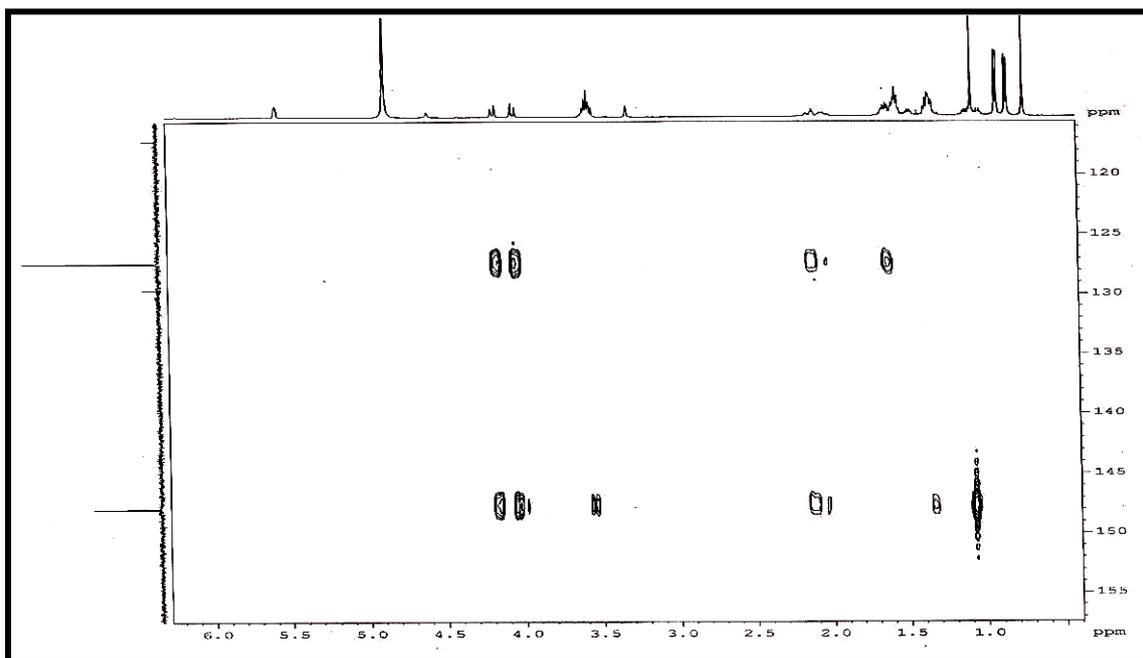


Figura 68. Expansão (0.5 – 6.0 ppm, 120-155 ppm) do Espectro bidimensional de ^1H , ^{13}C – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-5.

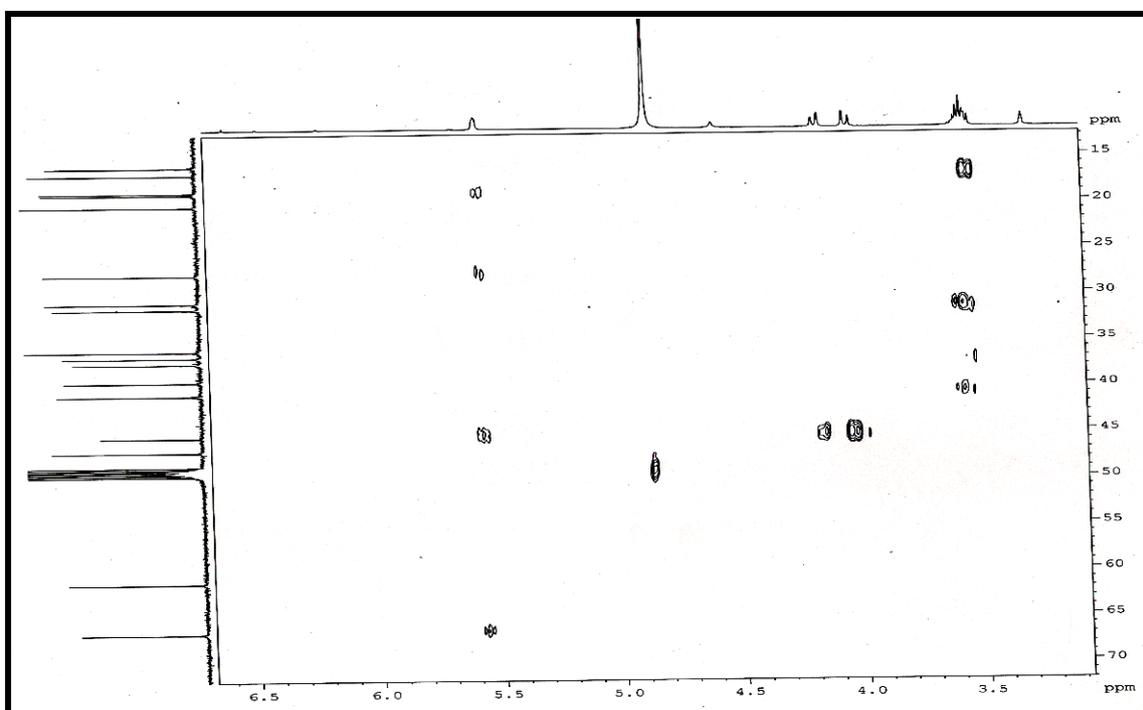


Figura 69. Expansão (3.0 – 6.5 ppm, 15-70 ppm) do Espectro bidimensional de ^1H , ^{13}C – HMBC (500 x 125 MHz, MeOD) de BS-5.

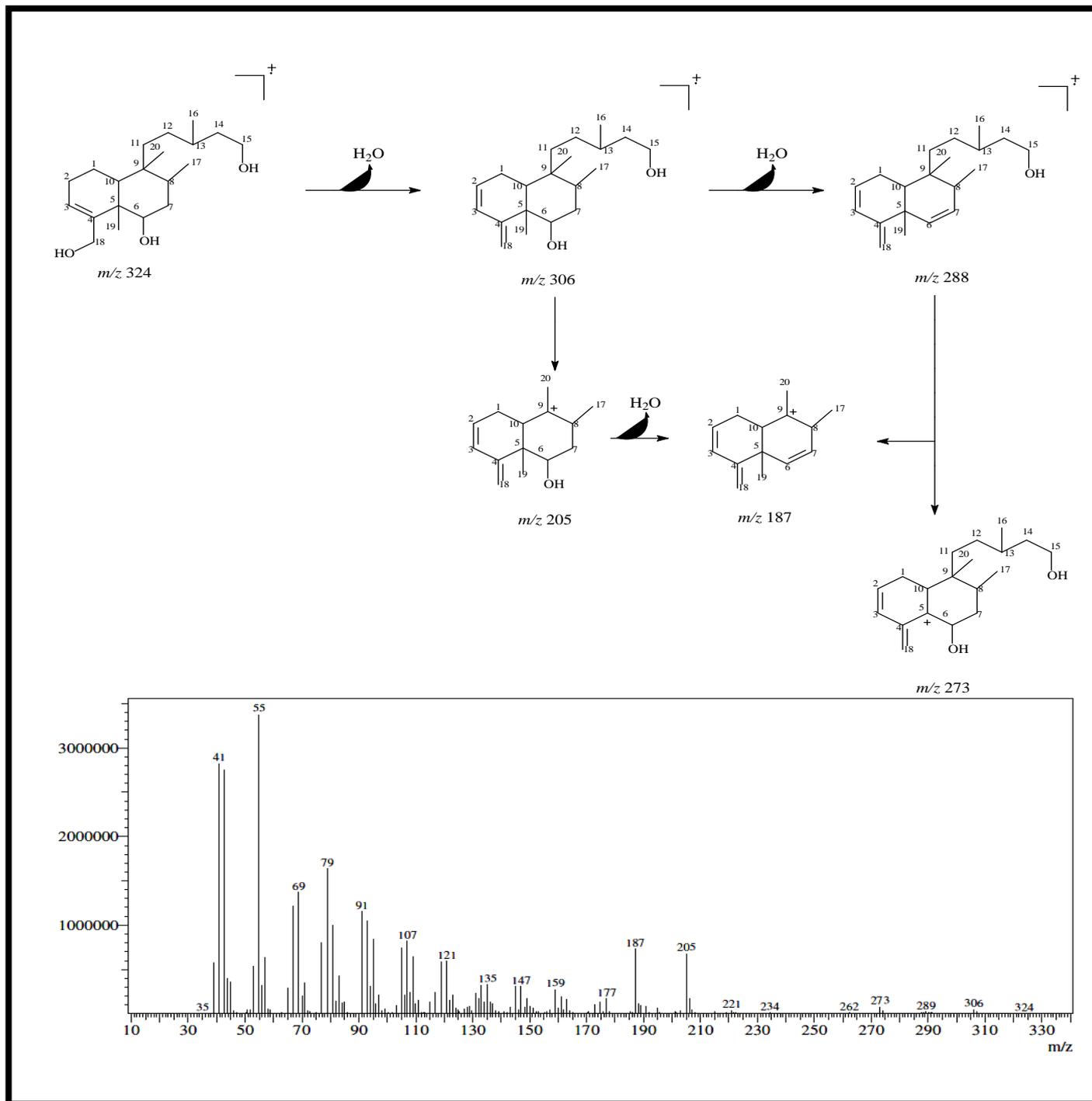


Figura 70. Espectro de massa (IE, 70 eV) de BS-5. Proposta mecânica para as fragmentações justificando os principais picos registrados no espectro de massa.

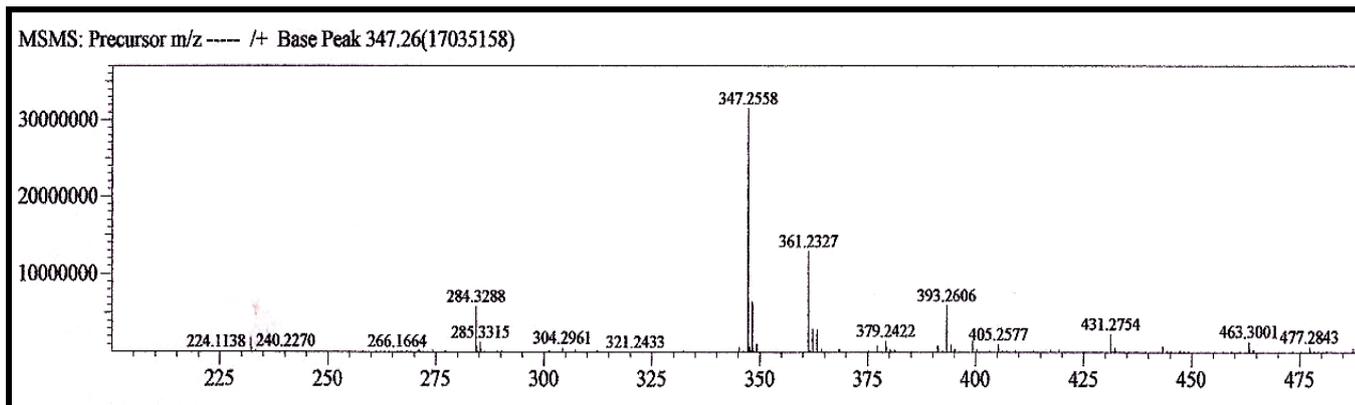


Figura 71. Espectro de massa de resolução (MSMS), modo positivo, de BS-5.

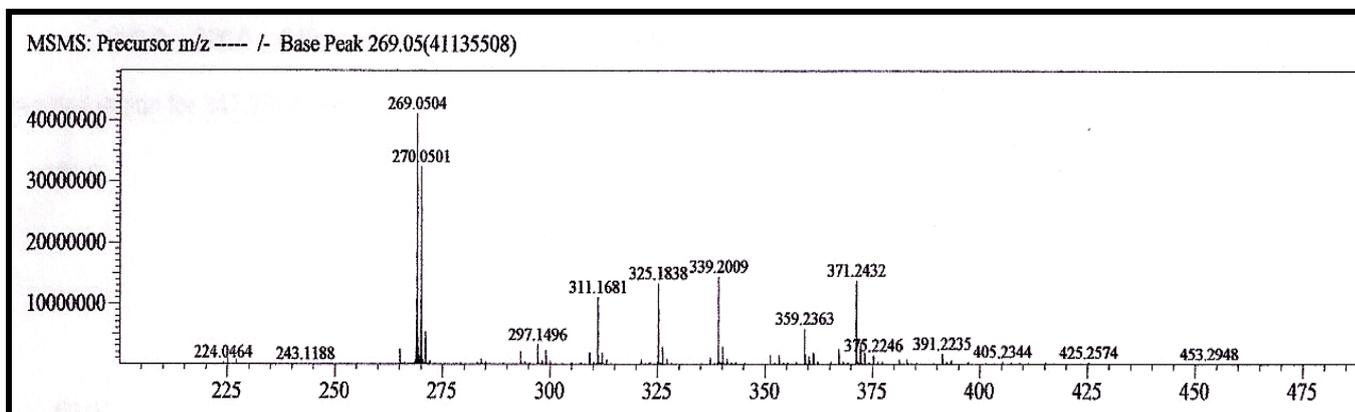


Figura 72. Espectro de massa de resolução (MSMS), modo negativo, de BS-5.

5.6- Determinação Estrutural BS-6

O tratamento cromatográfico da fração diclorometano, obtida da partição do extrato etanólico de *Baccharis salzmanni*, resultou no isolamento de um óleo incolor, que foi denominado de BS-6.

A análise do espectro de RMN ^1H de BS-6 (CDCl_3 , 500 MHz) (Figura 76, página 125) permitiu identificar a presença de sinais característicos de três grupos metilas em δ_{H} 1.02 (s, 3H, H-14), 1.06 (s, 3H, H-15) e 1.21 (s, 3H, H-11) além de sinais referentes a hidrogênios olefínicos em δ_{H} 4.98 (1H, s, H-12a) e 4.86 (1H, s, H-12b).

No espectro de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, CDCl_3 , 500 MHz) (Figura 77, página 125) observou-se a presença de 15 sinais. Através da teoria do deslocamento químico, observou-se três sinais característicos de carbonos metílicos em δ_{C} 16.9, 30.1, 21.6, e sinais relacionados a dois carbonos olefínicos em δ_{C} 112.7 e 151.7.

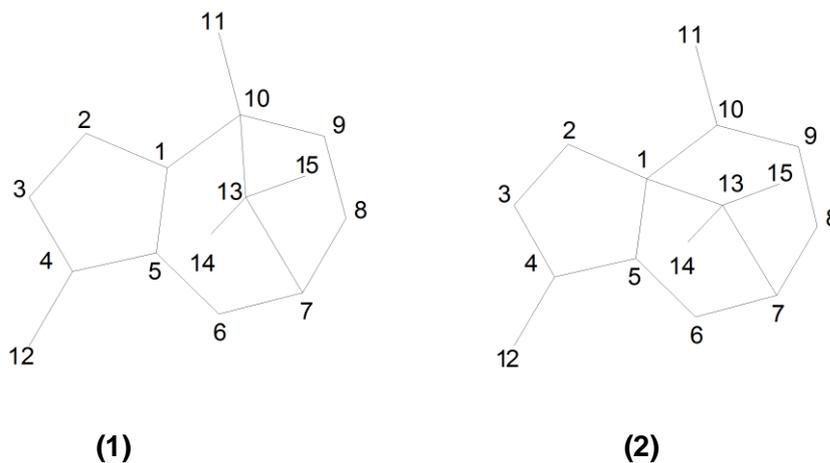
A análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C - BB e RMN ^{13}C -DEPT 135 (Figura 77 e 78, página 125 e 126) permitiu identificar a presença de três carbonos metílicos, seis carbonos metilênicos, três carbonos metínicos, e três carbonos não-hidrogenados.

Tabela 38. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C -BB de BS-6 com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -DEPT, CDCl_3 , 125 MHz).

δ	C	CH	CH ₂	CH ₃	Total
151.7		69.7	112.7	16.98	
59.7		48.7	39.8	30.18	
34.1		51.0	39.2	21.65	
			29.9		
			29.9		
			27.9		
	C ₃	C ₃ H ₃	C ₆ H ₁₂	C ₃ H ₉	C ₁₅ H ₂₄

A partir dos dados obtidos pôde-se propor para BS-6 a fórmula molecular $C_{15}H_{24}$, com IDH igual a 4, em acordo com o sinal do íon molecular no espectro de massa em m/z 204 (Figura 85, página 129).

A análise dos dados apresentados, e posterior comparação com dados de RMN descritos na literatura para sesquiterpenos, tornou possível sugerir para BS-6 uma das estruturas de dois esqueletos sesquiterpenicos: β -patchoulano(1) e α -patchoulano(2) [FARALDOS et al, 2009].



Estrutura básica de um esqueleto β e α patchoulano.

Através do espectro de HMBC (Figura 81, página 127) observou-se o acoplamento dos hidrogênios em δ_H 2.35 (H-3) e δ_H 2.61 (H-5) com o carbono olefínico em δ_C 112.7 (C-12), e acoplamento dos hidrogênios em δ_H 1.70 (H-2), 2.35 (H-3), 2.61 (H-5) e 1.75 (H-6) com o carbono olefínico em δ_C 151.7 (C-4). A partir desses dados pôde-se comprovar a localização da ligação dupla entre os carbonos C-12 e C-4.

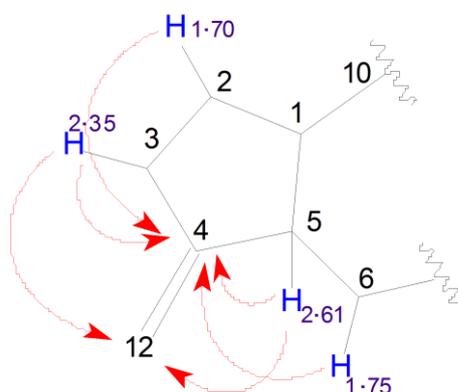


Figura 73 - Correlações à longa distância confirmando a localização da ligação dupla nos carbonos C-4 e C-12.

Através do acoplamento dos hidrogênios em δ_H 2.00 (H-9) e 2.34 (H-1) com o carbono em δ_c 16.9 (C-11), além do acoplamento dos hidrogênios em δ_H 1.75 (H-7) e 1.06 (H-15) com o carbono em δ_c 30.1 (C-14) e acoplamento dos hidrogênios em δ_H 1.75 (H-7) e 1.02 (H-14) com o carbono em δ_c 21.65 (C-15), pôde-se comprovar a localização dos grupos metilas dos carbonos C-11, C-14 e C-15, respectivamente.

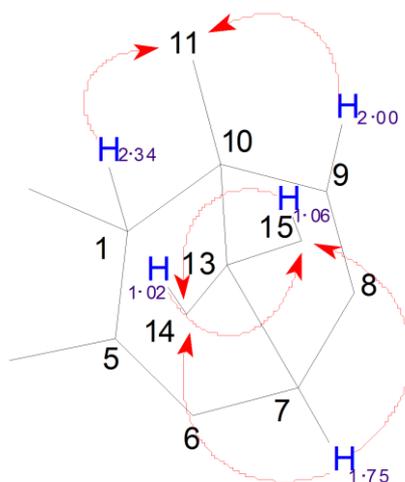


Figura 74. Correlações à longa distância confirmando a localização das metilas em C-11, C-14 e C-15.

A junção de todos os dados obtidos possibilitou determinar que BS-6 trata-se do sesquiterpeno [7,10;1,5] patchou-4(12)-eno, de caráter inédito como produto natural [FARALDOS et al, 2009].

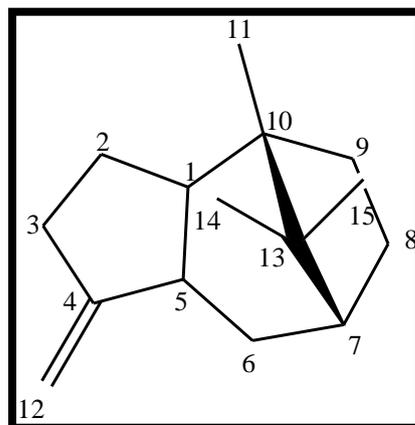


Figura 75. Estrutura do [7,10;1,5] patchou-4(12)-eno.

Tabela 39. Correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C – HSQC e HMBC (500 X 125 MHz, CDCl_3) de BS-6.

	HSQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1	69.7	2.34 (1H,m)	-	2H-3; 2H-9; 3H-11
2	27.9	1.40(1H, m); 1.70(1H, m)	H-3b	H-5
3	29.9	2.10(1H, m); 2.35(1H, m)	-	H-1; H-5
4	151.7	-	2H-3; H-5	2H-2; H-6
5	48.7	2.61(1H, m)	2H-6	2H-2; 2H-3, H-7; 2H-15
6	39.8	1.55(1H, m), 1.75(1H,m)	H-5	-
7	51.0	1.75 (1H,m)	-	H-9; 3H-14; 3H-15
8	29.9	1.55(1H, m); 2.25(1H,m)	H-7	2H-6
9	39.2	1,00(1H,m); 2,00(1H,m)	H-8	H-1; H-7; 3H-11
10	59.75	-	2H-9; 3H-17	2H-8
11	16.9	1.21 (3H, s)	-	2H-9
12	112.7	4.86 (1H, s); 4.98 (1H,s)	-	2H-3; H-5
13	34.1	-	H-7; 3H-14; 3H-15	2H-6
14	30.1	1.02 (3H, s)	-	H-7; 3H-15
15	21.6	1.06 (3H, s)	-	H-7; 3H-15

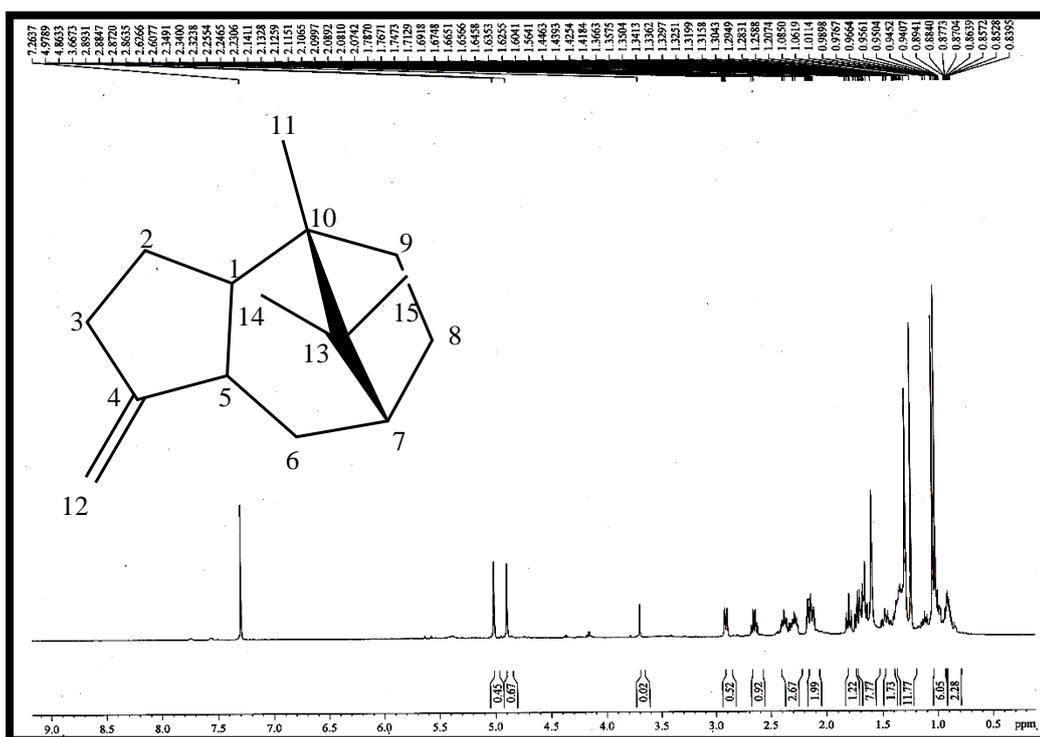


Figura 76. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de BS-6.

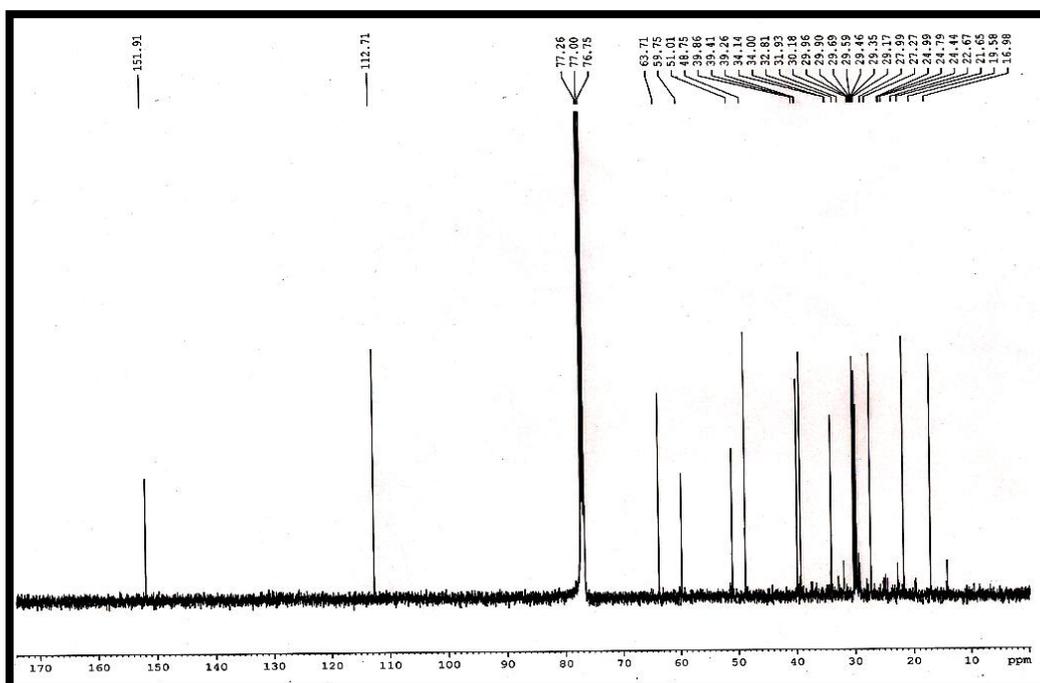


Figura 77. Espectro de RMN ¹³C – BB (125 MHz, CDCl₃) de BS-6

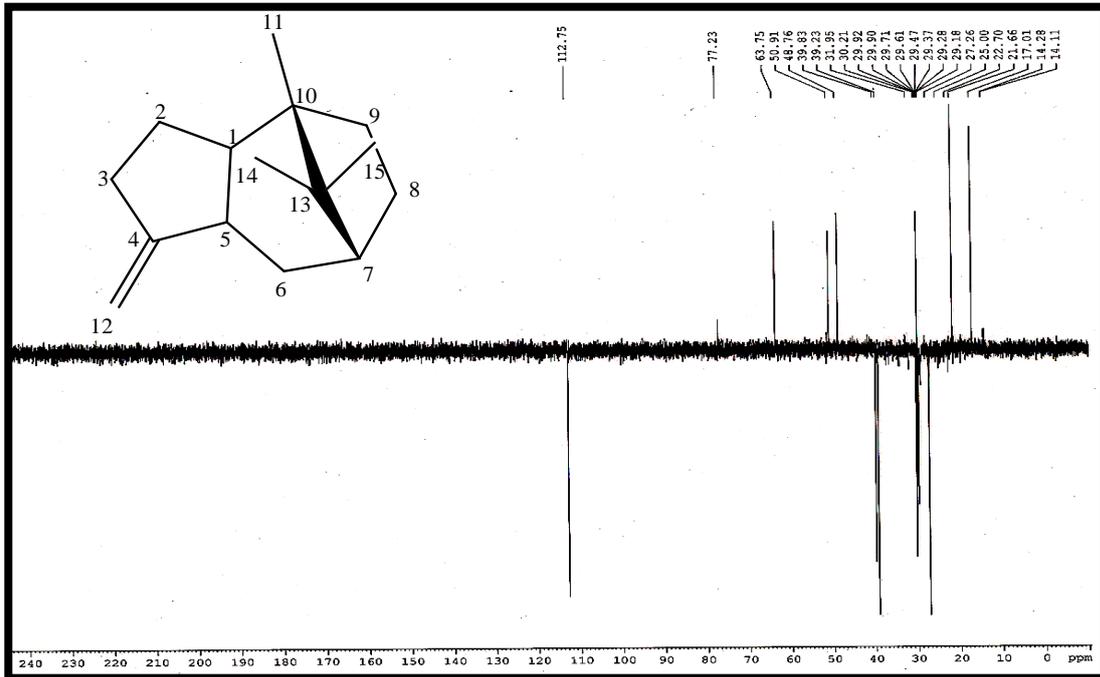


Figura 78. Espectro de RMN ^{13}C – DEPT (125 MHz, CDCl_3) de BS-6.

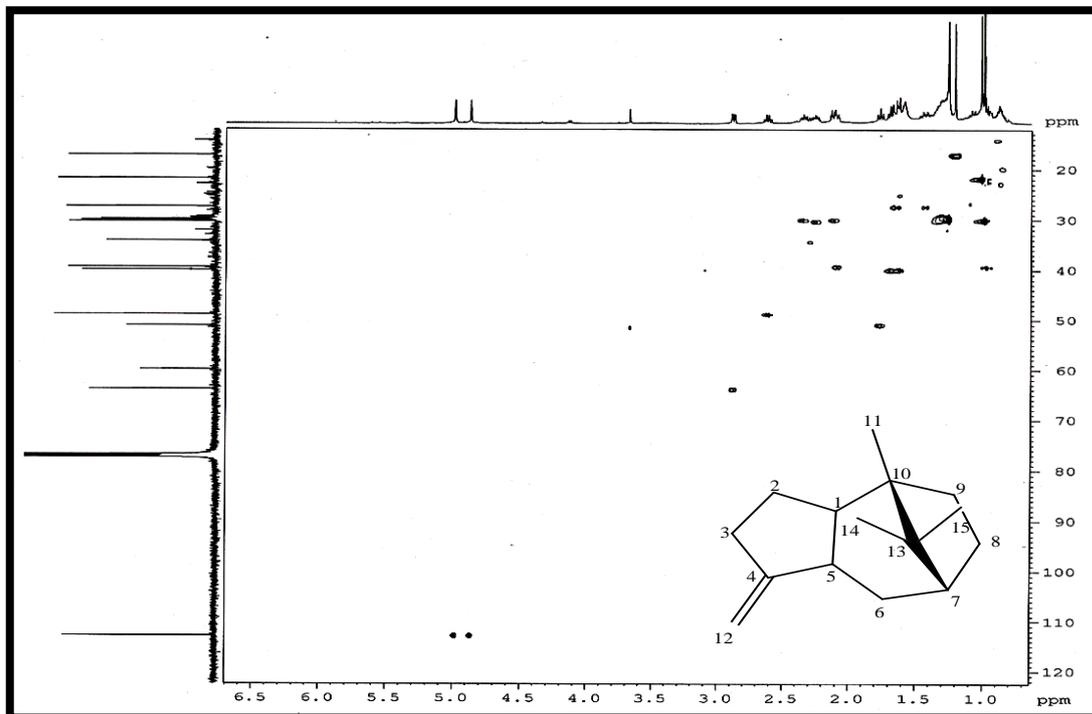


Figura 79. Espectro de RMN bidimensional de $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ – HSQC (500 x 125 MHz).

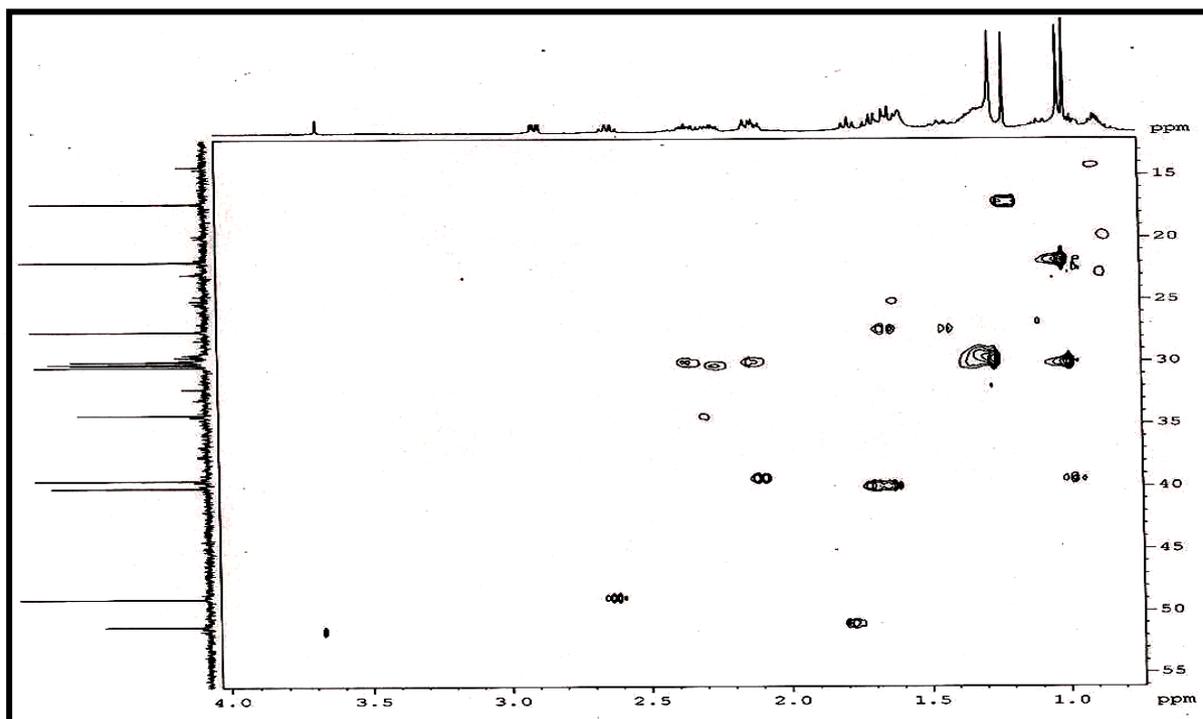


Figura 80. Expansão (0 – 4.0 ppm, 13-55 ppm) do espectro bidimensional de ^1H , ^{13}C – HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de BS-6.

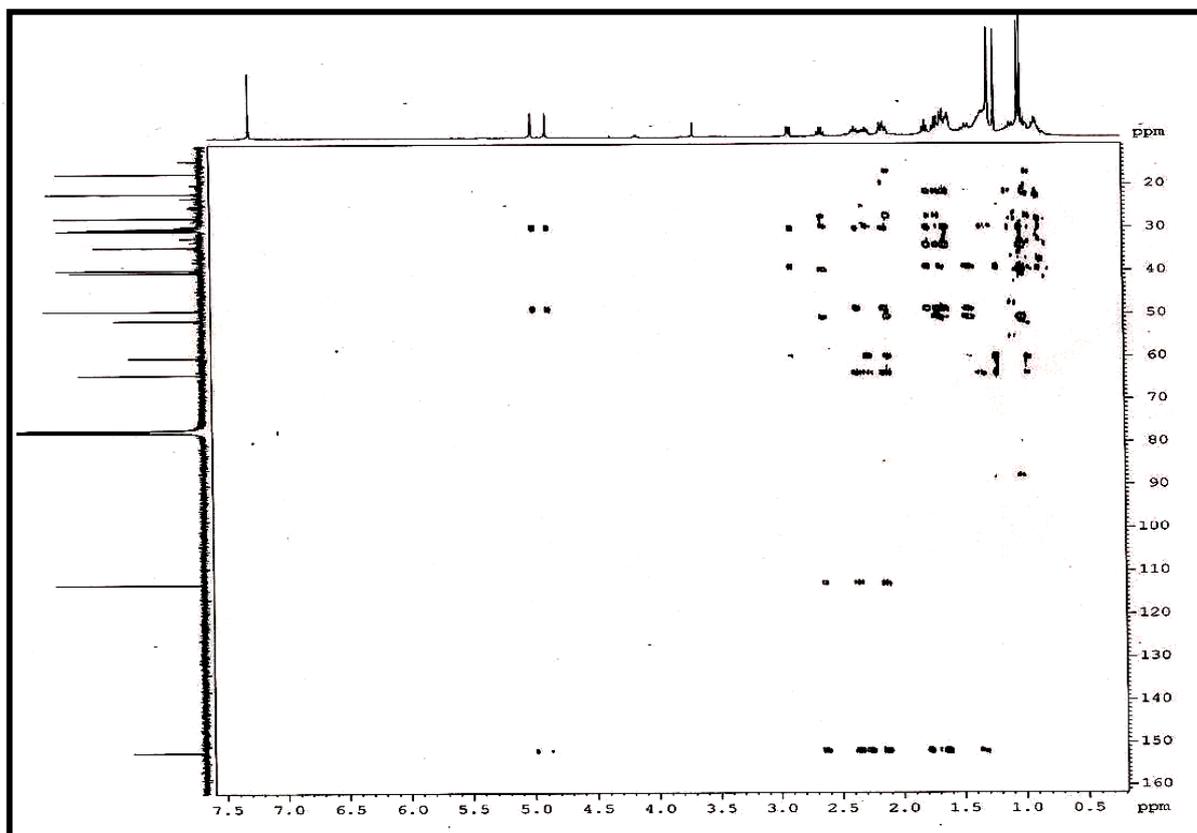


Figura 81. Espectro de RMN bidimensional de ^1H , ^{13}C – HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de BS-6

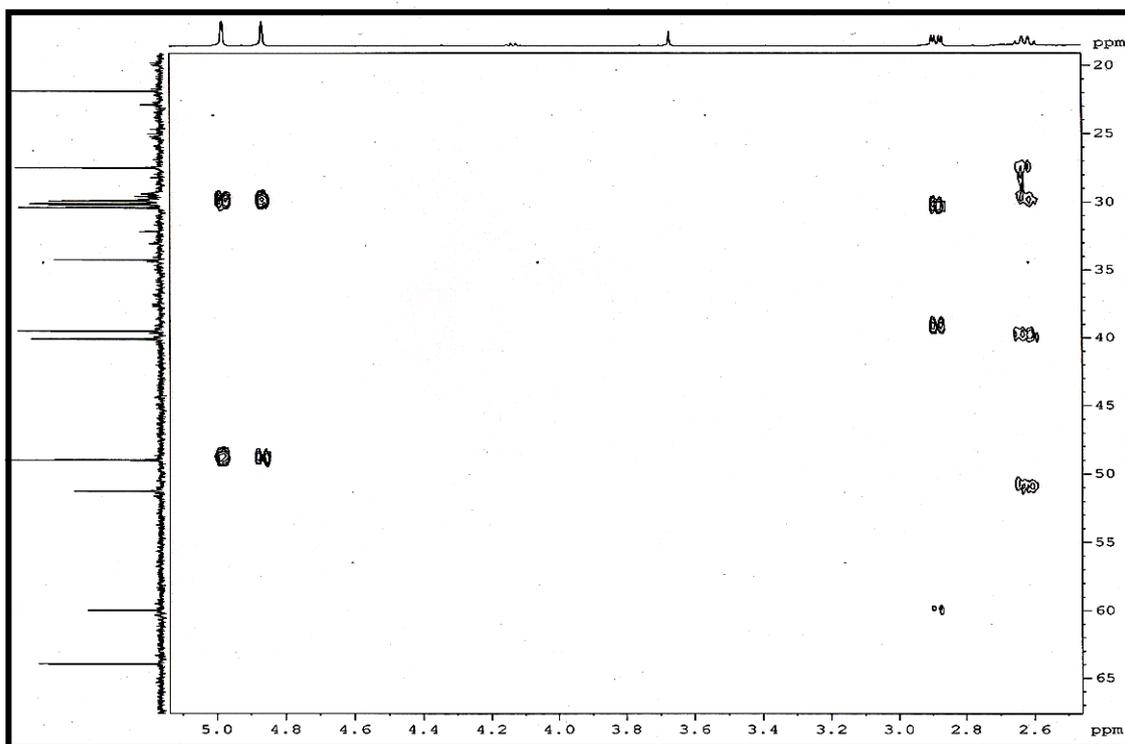


Figura 82. Expansão (2.5 – 4.5.2 ppm, 19-65 ppm) do espectro bidimensional de ^1H , ^{13}C – HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de BS-6.

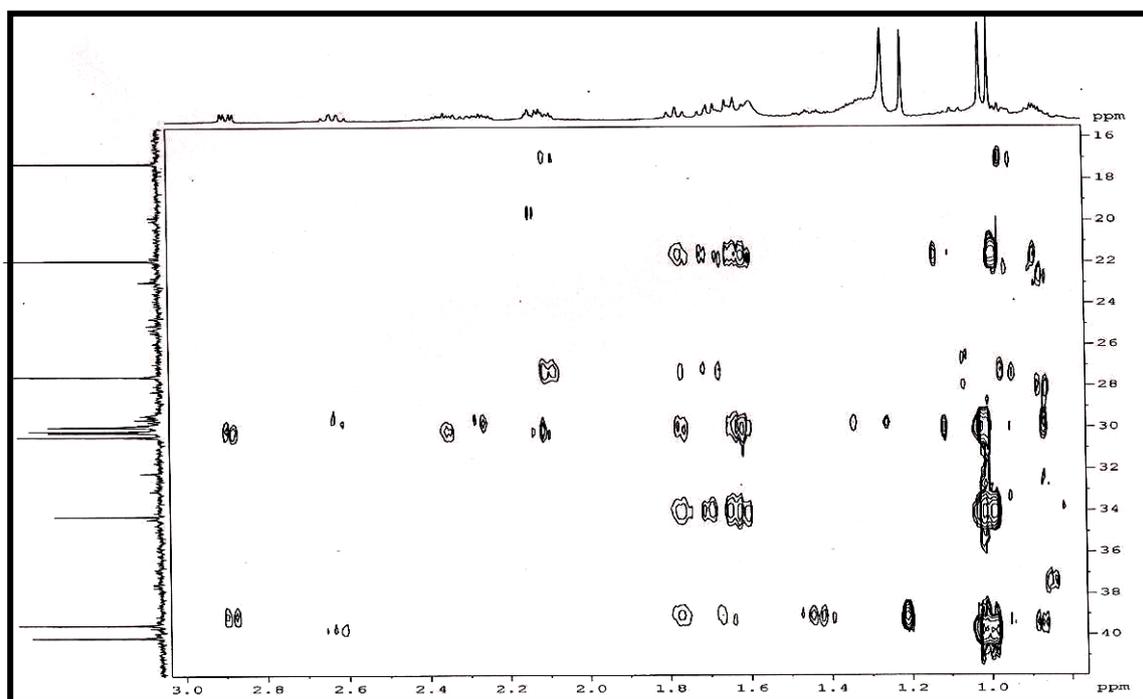


Figura 83. Expansão (0.9 – 4.5.2 ppm, 16-45 ppm) do espectro bidimensional de ^1H , ^{13}C – HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de BS-6.

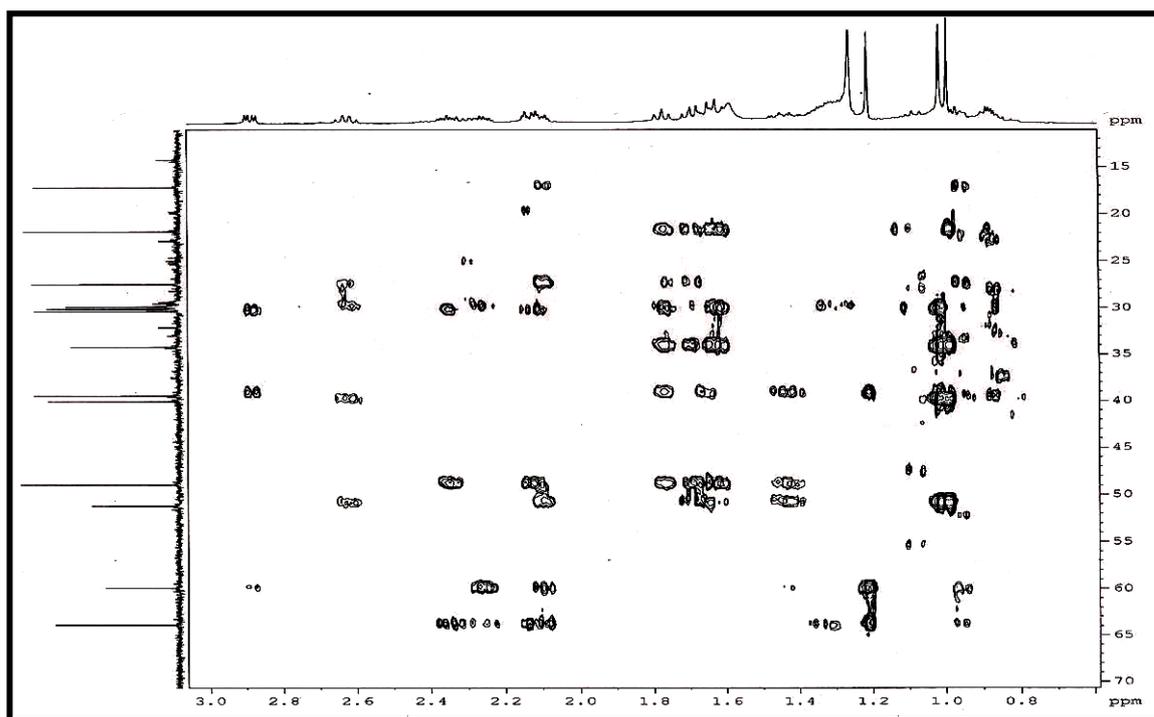


Figura 84. Expansão (0.7 – 3.0 ppm, 5.2 ppm, 16-70 ppm) do espectro bidimensional de $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ – HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de BS-6.

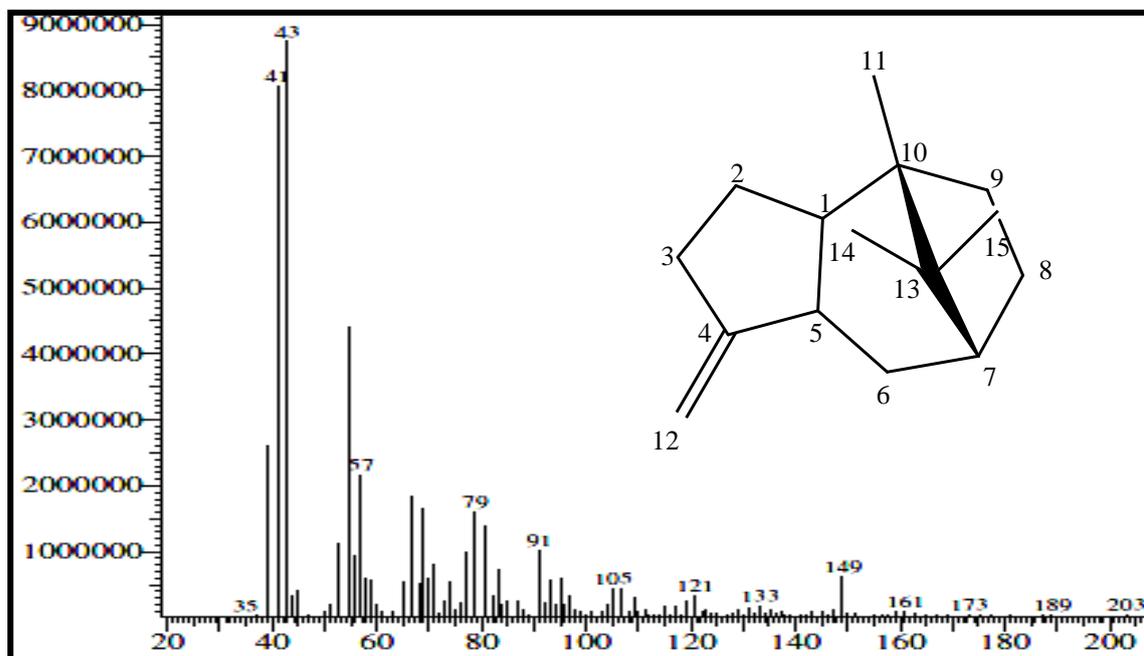


Figura 85. Espectro de massa (IE, 70 eV) de BS-6.



Capítulo 6
Conclusão

6- Conclusão.

O estudo fitoquímico de *Baccharis salzmännii* foi realizado através da investigação dos constituintes não-voláteis do extrato etanólico das folhas. Este estudo resultou no isolamento dos flavonóides 5,7,4'-Tri-hidroxi-flavona (apigenina) e 5,7,4'-Tri-hidroxi-flavanona (narigenina), do diterpeno ácido caurenóico, além dos diterpenos de esqueleto clerodano, (-)-(5R,6S,8R,9S,10R)-clerod-3-en-6,15,18,19-tetraol, (-)-(5R,6S,8R,9S,10R)-clerod-3-en-6, 15,18-triol, e do sesquiterpeno [7,10;1,5] patchou-4(12)-eno de caráter inédito na literatura.

Relatos da literatura revelam que os flavonóides apigenina e narigenina apresentam atividades farmacológicas conhecidas como atividade antiinflamatória, antitrombótica, antioxidante e antiviral.

Os flavonóides e diterpenos possuem vasta ocorrência no gênero *Baccharis*, desta forma, os resultados obtidos com a investigação fitoquímica de *Baccharis salzmännii* corroboram com a quimiotaxonomia do gênero *Baccharis*, no entanto faz-se necessária a extensão do estudo fitoquímico a outras partes da planta.



Capítulo 7
Referências
Bibliográficas

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1-ABAD, M. J.; BERMEJO, P.; GONZALES, E.; IGLESIAS, I.; IRURZUN, A.; CARRASCO, L. Antiviral activity of Bolivian plant extracts. **Gen. Pharmacol.**, v. 32, n. 4, p. 499-503, 1999.

2-AGRAWAL, P. K. In carbon-13 NMR of flavonoids. Amsterdam: **Elsevier**, 1989.

3-AKAIKE S, S. M., SEKINE, T., SEO, S., KIMURA, N., IKEGAMI, F. A new ent-clerodane diterpene from the aerial parts of *Baccharis gaudichaudiana*. **Chem. Pharm. Bull.** , v.51, n.2, p.197-199, 2003.

4-ARGANDONA, V. H.; FAINI, F. A. Oleanolic acid content in *Baccharis linearis* and its effects on *Heliothis zea* larvae. **Phytochemistry**, v. 33, n. 6, p. 1377-1379, 1993.

5-ARISTONIO, M. T & HORTENCIA, P. B. Asteraceae no Parque Metropolitano de Pituaçu, Salvador. **Ludiana**, v. 7, p 87-96, 2006.

6-ARIZA, E. L. Las especies de *Baccharis* de Argentina Central. **Bol. Nat. Acad. Cienc.**,p.175-305, 1973.

7-BERGMANN, F.; YAGEN, B. Toxicological studies with trichothecenes, applied to the rat brain in vivo and in vitro. **J. Toxicol. Toxin. Rev.**, v. 12, n. 1, p. 91-102, 1993.

8-BOHLMANN, F.; KRAMP, W.; JAKUPOVIC, J.; ROBINSON, H.; KING, R. M. Naturally-occurring terpene derivatives. Part 381. Diterpenes from *Baccharis* species. **Phytochemistry**, v. 21, n. 2, p. 399-403, 1982.

9-BUDEL, J. M.; DUARTE, M. R. Estudo farmacobotânico de partes vegetativas aéreas de *Baccharis anomala* DC, Asteraceae. **Rev. Bras. Farmacol.**, vol.18, p.761-768, 2008.

10-BUDEL, J. M., DUARTE, M. R., SANTOS, C.A.M., FARAGO, P. V., MATZENBACHER, N.I. O progresso da pesquisa sobre o gênero *Baccharis*, Asteraceae: I - Estudos botânicos. **Rev. Bras. Farmacog.**, v.15, n.3, p. 268-271, 2005.

11-CAZON, A; Identificación de un compuesto alelopático de *Baccharis boliviensis* (Asteraceae) y su efecto en la germinación de *Trichocereus pasacana* (Cactaceae). **Rev. Biol. Trop.**, v. 48, n. 1, p. 47-51, 2000.

12-DAI, J.; SUTTISRI, R.; BORDAS, E.; SOEJARTO, D. D.; KINGHORN, A. D. Clerodane diterpenoids from *Baccharis articulata*. **Phytochemistry**, v. 34, n. 4, p. 1087-1090, 1993.

13-DIEGO A. C., EDUARDO J. B., MARTA E. S., JOSÉ C. G., OSCAR S. G., CARLOS E. T. Clerodane diterpenes from *Baccharis sagittalis*: insect antifeedant activity. **Phytochemistry**, v.61, n.8, p. 899-905, 2002.

14-ENRIZ, E. Structure-antifeedant activity relationship of clerodane diterpenoids. Comparative study with withanolides and azadirachtin. **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 1384-1392, 2000.

15-ESCOBAR, Z.; FLORES, Y.; TEJEDA, L.; ALVARADO, J. A.; STERNER, O.; ALMANZA, G. R. Phenolic compounds from *Baccharis papillosa* subsp. *papillosa*. **Rev. Bol. Quím.**, v. 26, n. 2, p. 111-117, 2009.

16-FAINI, F. A.; CASTILLO, M.; TORRES, M. R. Flavonoids of *Baccharis incarum*. **J. Nat. Prod.**, v. 45, n. 4, p. 501-502, 1982.

17-FAINI, F.; LABBE, C.; POLANCO, M. I. Diterpenoids from *Baccharis neaei*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 9, p. 3274-3276, 1992.

18-FARALDOS, J. A.; WU, S.; CHAPPELL, J.; COATES, R. M. Double Deuterium-Labeled Patchouli Alcohol from Cyclization of Singly Labeled [2-²H₁]Farnesyl Diphosphate Catalyzed by Recombinant Patchoulol Synthase. **JACS**, v.132, 2998-3008, 2010.

19-FERESIN, G. E.; TAPIA, A.; GIMENEZ, A.; RAVELO, A. G.; ZACCHINO, S.; SORTINO, M.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Constituents of the Argentinian medicinal plant *Baccharis grisebachii* and their antimicrobial activity. **J. Ethnopharmacol.**, v. 89, n. 1, p. 73-80, 2003.

20-FREITAS, C. S.; BAGGIO, C. H.; DOS SANTOS, A. C.; MAYER, B.; TWARDOWSCHY, A.; LUIZ, A. P.; MARCON, R.; SOLDI, C.; PIZZOLATTI, M. G.; DOS SANTOS, E.; MARQUES, M. C. A.; SANTOS, A. R. S. Antinociceptive properties of the hydroalcoholic extract, fractions and compounds obtained from the aerial parts of *Baccharis illinita* DC in mice. **Bras. Clin. Pharmacol. Toxicol.**, v. 104, n. 4, p. 285-292, 2009.

21-FULLAS, F.; HUSSAIN, R. A.; CHAI, H. B.; PEZZUTO, J. M.; SOEJARTO, D. D.; KINGHORN, A. D. Cytotoxic constituents of *Baccharis gaudichaudiana*. **J. Nat. Prod.**, v. 57, n. 6, p. 801-807, 1994.

22-GARCIA, C. C.; ROSSO, M. L.; BERTONI, M. D.; MAIER, M. S., DAMONTE, E. B.; Evaluation of the antiviral activity against Junin virus of macrocyclic trichothecenes produced by the hypocrealean epibiont of *Baccharis coridifolia*. **Plant. Med.**, v.68, p. 209-212 2002.

23-GIVOVICH, A.; SAN-MARTIN, A.; CASTILLO, M. Neoclerodane diterpenoids from *Baccharis incarum*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 12, p. 2829-2831, 1986.

24-MORALES, G.; SIERRA, P.; LOYOLA, L. A., BORQUEZ, J. Diterpenoids from *Haplopappus rigidus*. **Phytochemistry**, n.55, 863-866, 2000.

25-GONZALES, E.; IGLESIAS, I.; CARRETERO, E.; VILLAR, A. Gastric cytoprotection by Bolivian medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.**, v. 70, n. 3, p. 329-333, 2000.

26-GOSMANN, G.; OLIVEIRA, C. B.; COMUNELLO, L. N. *Baccharis trimera* (Less.) DC. Carqueja. **Rec. Prog. Med. Plants**, v. 28, p. 107-120, 2010.

27-HEIDEN G.; BARBIERI, R. L.; WASUM, R. A.; SCUR, L.; SARTORI M. A família Asteraceae em São Mateus do Sul, Paraná. **Revista Brasileira de Biociências** v. 5, n. 2, p. 249-251, 2007.

28-JAKUPOVIC, J.; SCHUSTER, A.; GANZER, U.; BOHLMANN, F.; BOLDT, P. E. Sesqui- and diterpenes from *Baccharis species*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2217-2222, 1990.

29-JOLY, A. B.; *Botânica: introdução a taxonomia vegetal*, 7ª ed., **Cia Editora Nacional**: São Paulo, 1967.

30-KUPCHAN, S. M.; JARVIS, B. B.; DAILEY, R. G., Jr.; BRIGHT, W.; BRYAN, R. F.; SHIZURI, Y. Tumor inhibitors. Baccharin, a novel potent antileukemic trichothecene triepoxide from *Baccharis megapotamica*. **J. Am. Chem. Soc.** v. 98, n. 22, p. 7092-7093, 1976.

31-KUMAZAWA, S.; YONEDA, M.; SHIBATA, I.; KANAEDA, J.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T.; Direct Evidence for the Plant Origin of Brazilian Propolis by the Observation of Honeybee Behavior and Phytochemical Analysis. **Chem. Pharm. Bull.**, v.51, n.6, p. 740-742, 2003.

32-KUROYANAGI, M.; FUJITA, K.; KAZAOKA, M.; MATSUMOTO, S.; UENO, A.; FUKUSHIMA, S.; KATSUOKA, M. Studies on the constituents of *Baccharis genistelloides*. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 33, n. 11, p. 5075-5078, 1985.

33-KUTI, J. O.; JARVIS, B. B.; MOKHTARI-REJALI, N.; BEAN, G. A. Allelochemical regulation of reproduction and seed germination of two Brazilian *Baccharis* species by phytotoxic trichothecenes. **J. Chem. Ecol.** v. 16, n. 12, p. 3441-53, 1990.

34-MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ¹³C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids a compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, n. 6, p. 1517-1575, 1994.

35-MALAGARRIGA, R. D. P.; *Memoria Sociedade Ciencia Natural* **1976**, 23, 129.

36-MARCIEL, M.A.M., CORTEZ, J.K.P.C., GOMES, F.E.S., O gênero *Croton* e aspectos relevantes de diterpenos clerodanos. **Rev. Fitos.**, v.2, n.3, p.54-73, 2006

37-MARTA, C; FRED, Y. F; PAULO M. I. Assignment of ¹³C NMR Data of Methyl (+)-Hardwickiate and its Derivatives. **Mag. Res. Chem**, v. 36, p. 542-544, 1998.

38-MELO, S. F., SOARES S. F. Effect of the *Cymbopogon citratus*, *Maytenus ilicifolia* and *Baccharis genistelloides* extracts against the stannous chloride oxidative damage in *Escherichia coli*. **Mutat Res** v.496, n.1-2, p.33-38, 2001.

39-MIDORIKAWA, K.; BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; MATSUSHIGE, K.; MESSAGE, D.; HUERTAS, A. A. G.; KADOTA, S. Buds of *Baccharis dracunculifolia*: potent source of biologically active caffeoylquinic acids and labdane -type diterpenes of Brazilian propolis. **Wak. Iyak. Zasshi**, v. 20, n. 5, p.187-194, 2003.

40-MOREIRA, F. P. M.; BRANCO, A.; PIZZOLATTI, M. G.; MORAIS, A. A.; MONACHE, F. D. Acid triterpenes and flavonoids from *Baccharis ligustrina*. **Biochem. Syst. Ecol.** 31, n. 3, p. 319-321, 2003.

41-OLIVEIRA, S. Antioxidant activity of *Baccharis articulata* extracts: Isolation of a new compound with antioxidant activity. **Free Rad. Res.**, v. 37, p. 555, 2003.

42-PALACIOS, P.; GUTKIND, G.; RONDINA, R. V.; DE TORRES, R.; COUSSIO, J. D. Genus *Baccharis*. II. Antimicrobial activity of *B. crispa* and *B. notoserigila*. **Planta Med.** v.49, n.2, p.128, 1983.

43-PAUL, E. L.; UNARDELLI, A.; CABERLON, E.; OLIVEIRA, C. B.; SANTOS, R. C. V.; BIOLCHI, V.; BASTOS, C. M. A.; MOREIRA, K. B.; NUNES, F. B.; GOSMANN, G.; OLIVEIRA, J. R. Anti-inflammatory and Immunomodulatory effects of *Baccharis trimera* aqueous extract on induced fleurisy in rats and lymphoproliferation In Vitro. **Inflammation**, v.32, n.6, p. 419-425, 2009.

44-PEREZ-GARCIA, F.; MARIN, E.; ADZET, T.; CANIGUERAL, S. Activity of plant extracts on the respiratory burst and the stress protein synthesis. **Phytomedicine**, v. 8, n. 1, p. 31-38, 2001.

45-RODRÍGUEZ, B.; DE LA TORRE, M.C.; PERALES, A.; MALAKOV, P.J.; PAPANOV, G.Y.; SIMMONDS, M.S.J.; BLANEY, W.M. Oxirane-opening reactions of some 6,19- oxygenated 4á,18-epoxy-*neo*-clerodanes isolated from *Teucrium*. Biogenesis and antifeedant activity of their derivatives. **Tetrahedron**, v.50, n.18, p.5451-5468, 1994.

46-ROJAS J., MORALES A. Estudio de los componentes químicos del *Baccharis decussata* (K) Hieron. **Ciência**, v.8, n.2, p.251-256, 2000.

47-SELL, C. S. Introduction to Terpenoid Chemistry. **The Royal Society of Chemistry**, 2003.

48-SILVERSTEIN, R. M.; Webster, F. X.; **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos.**, 7ª ed. Rio de Janeiro, LTC, 2006.

49-SOSA, M. E.; TONN, C. E.; GIORDANO, O. S. Insect antifeedant activity of clerodane diterpenoids. **J. Nat. Prod.**, v. 57, n. 9, p. 1262-1265, 1994.

50-STAPEL, G.; MENSSEN, H. G.; SNATZKE, G. Isolation and structure elucidation of two diterpenes from *Baccharis articulata*. **Planta Med.**, v. 39, n. 4, p. 366-374, 1980.

51-TONN, C. E.; GIORDANO, O. S.; DELGADO MARTIN, J.; MARTIN, V. S. Deoxybartemidiolide, a clerodane-type diterpene from *Baccharis artemisioides*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 5, p. 1537-1538, 1989.

52-TORRES, L. M. B.; GAMBERINI, M. T.; ROQUE, N. F.; LIMA-LANDMAN, M. T.; SOUCCAR, C. S.; LAPA, A. J. Diterpene from *Baccharis trimera* with a relaxant effect on rat vascular smooth muscle. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 617-619, 2000.

53-VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C. e PIZZOLATTI, M. G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos Químicos, Econômicos e Biológicos. **Quím. Nova**, v. 28, p. 85-94, 2005.

54-VERDI L.G., BRIGHENTE I. M.C., SCHRIPSEMA J, BRAZ F. R., PIZZOLATTI MG. Kaurene diterpenes and flavonoids from *Baccharis illinita* flowers. **Biochem. Syst. Ecol.**, v.32, p.837–840, 2004.

55-VIRGINIA E. J. H, PEDRO C. R, OSCAR S. G. Neo-Clerodane diterpenoids from *Baccharis flabellata*. **Phytochemistry**, v.61, n.4, p.389-394, 2002.

56-WAGNER, H.; IYENGAR, M. A.; HERZ, W. Flavonol 3-glucosides in *Baccharis angustifolia* and *Berlandiera pumila*. **Phytochemistry**, v. 11, n. 1, p. 444-444, 1972.

57-WÄCHTER, G. A., MONTENEGRO, G, TIMMERMANN, B. N. Diterpenoids from *Baccharis pingraea*. **J. Nat. Prod.**, v.62, n.2, p.307–308,1999.

58-WEIMANN, C.; GORANSSON, U.; PONGPRAYOON-CLAESON, U.; CLAESON, P.; BOHLIN, L.; RIMPLER, H.; HEINRICH, M. Spasmolytic effects of *Baccharis conferta* and some of its constituents. **J. Pharm. Pharmacol**, v. 54, n. 1, p. 99-104, 2002.

59-WOLLENWEBER, E.; SCHOBER, I.; DOSTAL, P.; HRADETZKY, D.; ARRIAGA-GINER, F. J.; YATSKIEVYCH, G. Flavonoids and terpenoids from the exudates of some *Baccharis* species. **J. Bioscienc.**, v. 41, p. 87-93, 1986.

60-ZDERO, C.; BOHLMANN, F.; SOLOMON, J. C.; KING, R. M.; ROBINSON, H. ent-Clerodanes and other constituents from Bolivian *Baccharis* species. **Phytochemistry**, v. 28, n. 2, p. 531-542, 1989.