

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E  
INORGÂNICA

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE  
PLANTAS NATIVAS DO NORDESTE

*Mentha villosa* Backer e  
*Bursera leptophloeos*

E

SÍNTESE DE DERIVADOS DO EUGENOL

EVELINE SOLON BARREIRA CAVALCANTI

TESE DE DOUTORADO

1997

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE PLANTAS NATIVAS DO  
NORDESTE

*Mentha villosa* Backer ( Labiatae) e  
*Bursera leptophloeos* ( Burseraceae)

E

SÍNTESE DE DERIVADOS DO EUGENOL

Tese submetida à coordenação do curso de Pós-graduação e Química Orgânica como  
requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor.

Universidade Federal do Ceará- Centro de Ciências  
Departamento de Química Orgânica e Inorgânica

Fortaleza- Ceará

1997

Esta Tese foi aprovada como parte dos requisitos necessários a obtenção do Grau de Doutor em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.

---

Eveline Solon Barreira

TESE APROVADA EM: 26/02/1997

EXAMINADORES:

---

Prof. Francisco José Queiroz Monte  
Universidade Federal do Ceará - Orientador

---

Prof. Yvone Brígido Memória Pouliquen  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof. Telma Leda Gomes de Lemos  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof. Vanderlan da Silva Bolzani  
Universidade Estadual Paulista-Araraquara

---

Prof. Eliezer Jesus de Lacerda Barreiro  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Este trabalho foi realizado sob a orientação do **Prof. Francisco José Queiroz Monte** do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

Co- Orientador: **Professor Raimundo Braz Filho** da Universidade Estadual do Norte Fluminense - Rio de Janeiro

## ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS _____	VIII
RESUMO _____	X
ABSTRACT _____	XII
ÍNDICE DE FIGURAS _____	XIV
ÍNDICE DE QUADROS _____	XXI
ÍNDICE DE TABELAS _____	XXII
ÍNDICE DE ESQUEMAS _____	XXIV
ABREVIATURAS _____	XV
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> _____	1
<b>CAPÍTULO 01 - FLAVONOLIGNANAS E SEUS PRECURSORES</b> _____	4
1.1. INTRODUÇÃO _____	4
1.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO _____	5
1.3. EXPERIMENTAL _____	39
1.4. CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS DO EUGENOL E DE SEUS DERIVADOS _____	48
1.5. BIBLIOGRAFIA _____	61
1.6. ESPECTROS _____	65
<b>CAPÍTULO 02 - ESTUDO QUÍMICO DA <i>Mentha villosa</i> Backer</b> _____	125
2.1. INTRODUÇÃO _____	125
2.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA _____	136
2.3. PARTE EXPERIMENTAL _____	146
2.4. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES DA <i>Mentha villosa</i> _____	151

2.5. CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS	165
2.6. BIBLIOGRAFIA	172
CAPÍTULO 03 - ESTUDO QUÍMICO DE <i>Bursera leptophloeos</i>	214
3.1. INTRODUÇÃO	214
3.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	215
3.3. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL	222
3.4. EXPERIMENTAL	247
3.5. CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS DOS CONSTITUINTES ISOLADOS DE <i>Bursera leptophloeos</i>	264
3.6. BIBLIOGRAFIA	274
3.7. ESPECTROS	278
CAPÍTULO 04- METODOLOGIA	326
4.1. MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS	326
4.2. MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS	327
CAPÍTULO 05- EFEITOS DO EUGENOL E SEUS DERIVADOS EM PRE- PARAÇÕES DE MÚSCULOS ESQUELÉTICO (SAPO) E LISO (COBAIO)	329
5.1. BIBLIOGRAFIA	332
CONCLUSÃO GERAL	333

## DEDICO

À **DEUS**, pela força e conforto nos momentos de desilusão e angústia, que me impulsionou a ir sempre adiante.

À meu amado pai, **José Coracy Gomes Barreira**, pelo exemplo de vida, dedicação e incentivo na minha vida acadêmica, com carinho e muitas, muitas saudades.

À minha mãe, Maria Luíza, por seu amor e exemplo de humildade.

Ao meu marido, João de Deus, meu grande amor e incentivador neste curso, por seu amor, cumplicidade e carinho.

Aos meus filhos queridos Thaís e João Victor por darem à minha vida o pleno significado de Amor e Alegria e por suportarem minha ausência nestes anos dedicados ao estudo, pesquisa e elaboração desta tese.

Ao Prof. José Wilson de Alencar por sua valiosa amizade e por sua incansável dedicação à meu querido pai.

Às minhas irmãs, Isabel Natércia, Mônica Maria e Martha Inês, os meus agradecimentos por fazerem parte da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Francisco José Queiroz Monte, orientador, por sua amizade e por sua contribuição científica para a execução deste trabalho.

Ao Prof. Raimundo Braz Filho, da Universidade Estadual do Norte Fluminense, exemplo de profissionalismo e dedicação, pela amizade, pela valiosa ajuda na interpretação dos espectros e pela orientação oferecida no transcorrer deste trabalho.

Aos professores membros do comitê de dissertação.

Ao Prof. Francisco José de Abreu Matos, pela sua amizade, informações e sugestões importantes.

À Profa. Maria Iracema Lacerda Machado pela amizade e sugestões cedidas.

Ao Prof. Afrânio Aragão Craveiro, pela amizade e manifestação de apoio sempre que requisitado.

Ao Prof. Edilberto Rocha Silveira pela amizade e pelo exemplo de amor à pesquisa.

Ao Prof. Afrânio Gomes Fernandes e à Francisca Simões Cavalcante, pela identificação botânica e pela preparação das exsiccatas do material vegetal aqui descrito.

À coordenadora do Curso de Pós-Graduação, Profa. Yvone Brígido Memória Pouliquen, pela amizade e pelo apoio nos momentos oportunos.

Às Profas. Mirian Pinheiro de Sousa e Maria Elisa Oliveira Matos, pela amizade e conselhos prestados no dia a dia.

Aos Profs. José Henrique Leal Cardoso e Andreлина N. C. de Sousa pelos testes farmacológicos.

Aos funcionários Tereza Lima Rocha, Laurilane Maria Barbosa Bandeira, Allan Kelvin Mendes Sales, Raimunda Cassiano de Moraes, Margarida Ramos, Miguel



Raimundo da Silva e a bolsista Luciana Said Fontenele, pela amizade e diversos serviços prestados.

Ao Sr. Paulo Ribeiro, pela coleta da *Bursera leptophloeos*.

À Daniel Esdras de Andrade Uchôa, Mary Anne Souza Lima e Maria José Cajazeiras, pela obtenção dos espectros.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação pela amizade demonstrada no convívio diário.

Aos demais professores do Curso de Química, pela amizade, ensinamentos e contribuição na formação acadêmica.

À todas as pessoas que de alguma forma tenham contribuído direta ou indiretamente no transcorrer desta tese.

À SIC e ao NUTEC por me liberarem para fazer esta tese.

Ao CNPq e FUNCAP pelo suporte financeiro.

## RESUMO

O presente trabalho foi desenvolvido em três etapas. A primeira, teve como objetivo a síntese de flavonolignanas através da reação de acoplamento de derivados do álcool coniferílico a "syntons" estirênicos previamente sintetizados: isoeugenol, O-acetileugenol, O-metileugenol, O-metiliseugenol, O-benzileugenol, O-benziliseugenol, O-alileugenol, O-aliliseugenol e O-benzoileugenol.

Flavonolignanas, são substâncias com interessantes atividades biológicas: hipolipidêmica, antiinflamatória e antineoplásica<sup>1</sup>. Durante a reação de isomerização do eugenol, foi obtido além do isoeugenol o seu dímero, um composto do tipo 1-arilindano<sup>2</sup>.

A segunda parte, envolveu o estudo da planta *Mentha villosa*, tendo como objetivo principal o isolamento de constituintes aromáticos ( flavonóides ) *orto*-diidroxilados para acopla-los aos derivados do eugenol isomerizados, e obtenção das flavonolignanas. Adicionalmente esta espécie desperta interesse, pois são conhecidas algumas de suas atividades biológicas, sendo usada como remédio alternativo no tratamento da giardíase, amebíase e esquistossomose<sup>3,4,5</sup>. Não foram obtidos os compostos desejados, isolando-se porém como derivados acetilados: 2 $\beta$ , 3 $\beta$ -di- O-acetilurs-12-en-28-oato de metila, derivado do ácido 2 $\beta$ , 3 $\beta$ -diidroxurs-12-en-28-óico, 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ -di- O-acetilolean-12-en-28-oato de metila, acetato do ácido 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ -diidroxiolean-12-en-28-óico, e 3 $\beta$ -24-diacetoxi-urs-12-en-28-oato de metila, produto de acetilação do ácido 3 $\beta$ -24-dihidroxurs-12-en-28-óico, sendo estes três compostos naturais identificados pela primeira vez nesta espécie. Além destes compostos foram também isolados os ácidos ursólico e oleanóico bem como outros triterpenóides das séries ursano e oleanano já descritos em trabalho anterior<sup>6</sup>.

A terceira parte, constou do estudo da *Bursera leptophloeos*, uma planta da família Burseraceae, rica em flavonóides<sup>7</sup>. Entretanto, o estudo do extrato metanólico da casca da raíz, também não forneceu os flavonóides desejados. Por outro lado, foram isolados constituintes diversos, destacando-se um sesquiterpeno furânico inédito<sup>8</sup>.

Todos os compostos sintetizados e isolados tiveram suas estruturas analisadas sobretudo por espectroscopia de RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C, incluindo técnicas especiais : <sup>1</sup>H x <sup>1</sup>H- COSY, <sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C- HMQC, <sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C- HMBC e NOESY.

## ABSTRACT

The present work was carried out in three steps. The main goal of the first one was to synthesize flavonolignans through the coupling reaction of coniferil alcohol derivatives with previously synthesized styrene synthons: isoeugenol, O-acetyleneugenol, O-methyleugenol, O-methylisoeugenol, O-benzyleugenol, O-benzylisoeugenol, O-allyleneugenol, O-allylisoeugenol and O-benzoyleneugenol.

Flavonolignans have interesting biological activities: hypolipidemic, antiinflammatory and antineoplastic. During the isomerization of eugenol, besides isoeugenol an 1-aryllindane dimer was also obtained.

The second part involved the phytochemical study of *Mentha villosa* pursuing the isolation of ortho-dihydroxylated phenolic compounds (flavonoids) to couple them with isomerized eugenol derivatives in order to obtain flavonolignans. Additionally, this species was of interest because its known biological activity as an alternative remedy for the treatment of giardiasis, amebiasis and squistossomosis. No flavonoids were obtained but: the methyl 2 $\beta$ , 3 $\beta$ -di-O-acetylurs-12-en-28-oate derivative of 2 $\beta$ , 3 $\beta$ -dihydroxyurs-12-en-28-oic acid, methyl 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ -di-O-acetylolean-12-en-28-oate, acetate of acid 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ -dihydroxyolean-12-en-28-oic acid, and methyl 3 $\beta$ -24-diacetoxi-urs-12-en-28-oate, product of acetylation of 3 $\beta$ -24-dihydroxyurs-12-en-28-oic acid, were isolated and identified for the first time for this species. Ursolic and oleanolic acids, as well as other triterpenoids with ursane and oleanane kind already reported were also isolated.

The third part was the phytochemical analysis of *Bursera leptophloeos* from the Burseraceae a well known family rich in flavonoids. Again, no flavonoids were isolated

from the methanol extract from its roots. Instead, several constituents, including a novel furan sesquiterpene, were isolated.

All synthetic and natural compounds had their structures determined by spectroscopy analysis particularly  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR, including special techniques such as :  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY,  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMQC,  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC and NOESY.

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 01- Espectro de massa do eugenol	66
FIGURA 02- Espectro na região do I.V. do eugenol	67
FIGURA 03- Espectro de RMN $^1\text{H}$ do eugenol	68
FIGURA 04- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ do eugenol	69
FIGURA 05- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT $135^\circ$ do eugenol	70
FIGURA 06- Espectro de massa do di-isoeugenol	71
FIGURA 07- Espectro de RMN $^1\text{H}$ do di-isoeugenol	72
FIGURA 08- Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) do di-isoeugenol	73
FIGURA 09- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY - $^1J_{\text{CH}}$ ) do di-isoeugenol	74
FIGURA 10- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY - $^nJ_{\text{CH}}$ , $n=2$ e $3$ ) do di-isoeugenol	75
FIGURA 11- Experiências de Efeito Nuclear Overhauser (NOE) do di-isoeugenol	76
FIGURA 12- Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY) do di-isoeugenol	77
FIGURA 13- Espectro de massa do acetileugenol	78
FIGURA 14- Espectro na região do I.V. do acetileugenol	79
FIGURA 15- Espectro de RMN $^1\text{H}$ do acetileugenol	80
FIGURA 16- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - PND do acetileugenol	81
FIGURA 17- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT $135^\circ$ do acetileugenol	82
FIGURA 18- Espectro de massa do metileugenol	83
FIGURA 19- Espectro na região do I.V. do metileugenol	84
FIGURA 20- Espectro de RMN $^1\text{H}$ do metileugenol	85
FIGURA 21- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - PND do metileugenol	86

FIGURA 22- Espectro de RMN <sup>13</sup> C - DEPT 135° do metileugenol_____	87
FIGURA 23- Espectro de massa do metiliso Eugenol_____	88
FIGURA 24- Espectro de RMN <sup>1</sup> H do metiliso Eugenol_____	89
FIGURA 25- Espectro de RMN <sup>13</sup> C do metiliso Eugenol_____	90
FIGURA 26- Espectro de massa do benzileugenol_____	91
FIGURA 27- Espectro na região do I.V. do benzileugenol_____	92
FIGURA 28- Espectro de RMN <sup>1</sup> H do benzileugenol_____	93
FIGURA 29- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- PND do benzileugenol_____	94
FIGURA 30- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- DEPT 135° do benzileugenol_____	95
FIGURA 31- Espectro de massa do benziliso Eugenol_____	96
FIGURA 32- Espectro na região do I.V. do benziliso Eugenol_____	97
FIGURA 33- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- PND do benziliso Eugenol_____	98
FIGURA 34- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- DEPT 135° do benziliso Eugenol_____	99
FIGURA 35- Espectro de massa do alileugenol_____	100
FIGURA 36- Espectro de RMN <sup>1</sup> H do alileugenol_____	101
FIGURA 37- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- PND do alileugenol_____	102
FIGURA 38- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- DEPT 135° do alileugenol_____	103
FIGURA 39- Cromatograma do espectro de massa do aliliso Eugenol_____	104
FIGURA 40- Espectro de massa do aliliso Eugenol_____	105
FIGURA 41- Espectro de RMN <sup>1</sup> H do aliliso Eugenol_____	106
FIGURA 42- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- PND do aliliso Eugenol_____	107
FIGURA 43- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- DEPT 135° do aliliso Eugenol_____	108
FIGURA 44- Espectro de massa do benzoileugenol_____	109
FIGURA 45- Espectro de RMN <sup>1</sup> H do benzoileugenol_____	110

FIGURA 46- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - PND do benzoileugenol _____	111
FIGURA 47- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT 90° do benzoileugenol _____	112
FIGURA 48- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT 135° do benzoileugenol _____	113
FIGURA 49- Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ a longa distância (COLOC) do benzoileugenol _____	114
FIGURA 50- Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY( HETCOR) do benzoileugenol _____	115
FIGURA 51- Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY ) do benzoileugenol _____	116
FIGURA 52- Espectro de massa do benzoiliso Eugenol _____	117
FIGURA 53- Espectro de RMN $^1\text{H}$ do benzoiliso Eugenol _____	118
FIGURA 54- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - PND do benzoiliso Eugenol _____	119
FIGURA 55- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT 135° do benzoiliso Eugenol _____	120
FIGURA 56- Espectro de massa do acetil-diiso Eugenol _____	121
FIGURA 57- Espectro de RMN $^1\text{H}$ do acetil-diiso Eugenol _____	122
FIGURA 58- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - PND do acetil-diiso Eugenol _____	123
FIGURA 59- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT 135° do acetil-diiso Eugenol _____	124
FIGURA 60- <i>Mentha villosa</i> Backer _____	186
FIGURA 61- Cromatografia líquida de alta eficiência( CLAE) de I _____	187
FIGURA 62- Cromatografia líquida de alta eficiência( CLAE) de II _____	188
FIGURA 63- Cromatografia líquida de alta eficiência( CLAE) de III _____	189
FIGURA 64- Espectro de massa de I _____	190
FIGURA 65- Espectro de massa de II _____	191
FIGURA 66- Espectro de massa de III _____	192
FIGURA 67- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT 135° de I _____	193



FIGURA 68- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - PND de I	194
FIGURA 69- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY - $^1J_{\text{CH}}$ ) de I	195
FIGURA 70- Espectro de RMN $^1\text{H}$ de I	196
FIGURA 71- Experiência bidimensional de efeito nuclear overhauser( NOE) homonuclear de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de I	197
FIGURA 72- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT $135^\circ$ de II	198
FIGURA 73- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - PND de II	199
FIGURA 74- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY - $^1J_{\text{CH}}$ ) de II	200
FIGURA 75- Espectro de RMN $^1\text{H}$ de II	201
FIGURA 76- Experiência bidimensional de efeito nuclear overhauser( NOE) homonuclear de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de II	202
FIGURA 77- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT $135^\circ$ de III	203
FIGURA 78- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - PND de III	204
FIGURA 79- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY - $^1J_{\text{CH}}$ ) de III	205
FIGURA 80- Espectro de RMN $^1\text{H}$ de III	206
FIGURA 81- Experiência bidimensional de efeito nuclear overhauser( NOE) homonuclear de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de III	207
FIGURA 82- Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY ) de II	208
FIGURA 83- Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY ) de I	209
FIGURA 84- Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY ) de III	210
FIGURA 85- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY- $^nJ_{\text{CH}}$ , $n= 2$ e $3$ ) de I	211
FIGURA 86- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY- $^nJ_{\text{CH}}$ , $n= 2$ e $3$ ) de II	212

FIGURA 87- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY- $^n J_{\text{CH}}$ , $n= 2$ e $3$ ) de <b>III</b>	213
FIGURA 88- <i>Bursera leptophloeos</i>	279
FIGURA 89- Espectro de massa de <b>I</b>	280
FIGURA 90- Espectro na região do I.V. de <b>I</b>	281
FIGURA 91- Espectro de RMN $^1\text{H}$ de <b>I</b>	282
FIGURA 92- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - PND de <b>I</b>	283
FIGURA 93- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT $90^\circ$ e $135^\circ$ de <b>I</b>	284
FIGURA 94- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY - $^1 J_{\text{CH}}$ ) de <b>I</b>	285
FIGURA 95- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY- $^n J_{\text{CH}}$ , $n= 2$ e $3$ ) de <b>I</b>	286
FIGURA 96- Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY ) de <b>I</b>	287
FIGURA 97- Experiência bidimensional de efeito nuclear overhauser ( NOE) de <b>I</b>	288
FIGURA 98- Espectro na região do I.V. de <b>II</b>	289
FIGURA 99- Espectro de massa de <b>II</b>	290
FIGURA 100- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - PND de <b>II</b>	291
FIGURA 101- Espectro de RMN $^1\text{H}$ de <b>II</b>	292
FIGURA 102- Espectro na região do I.V. de <b>III</b>	293
FIGURA 103- Espectro de massa de <b>III</b>	294
FIGURA 104- Espectro de RMN $^1\text{H}$ de <b>III</b>	295
FIGURA 105- Espectro na região do I.V. de <b>IV</b>	296
FIGURA 106- Espectro de massa de <b>IV</b>	297
FIGURA 107- Espectro de RMN $^1\text{H}$ de <b>IV</b>	298

FIGURA 108- Espectro na região do I.V. de V	299
FIGURA 109- Espectro de massa de V	300
FIGURA 110- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- PND de V	301
FIGURA 111- Espectro de RMN <sup>1</sup> H de V	302
FIGURA 112- Espectro na região do I.V. de VI	303
FIGURA 113- Espectro de massa de VI	304
FIGURA 114- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- PND de VI	305
FIGURA 115- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- DEPT 135° de VI	306
FIGURA 116- Espectro de RMN <sup>1</sup> H de VI	307
FIGURA 117- Espectro na região do ultravioleta (UV) de VI em EtOH(meio neutro)	308
FIGURA 118- Espectro na região do ultravioleta (UV) de VI em EtOH e na presença de NaOAc	308
FIGURA 119- Espectro na região do I.V. de VII	309
FIGURA 120- Espectro de massa de VII	310
FIGURA 121- Espectro de RMN <sup>1</sup> H de VII	311
FIGURA 122- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- PND de VII	312
FIGURA 123- Espectro na região do I.V. de VIII	313
FIGURA 124- Espectro de RMN <sup>1</sup> H de VIII	314
FIGURA 125- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- PND de VIII	315
FIGURA 126- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- DEPT 135° de VIII	316
FIGURA 127- Espectro na região do I.V. de IX	317
FIGURA 128- Espectro de RMN <sup>13</sup> C- PND de IX	318
FIGURA 129- Espectro de RMN <sup>1</sup> H de IX	319
FIGURA 130- Espectro na região do I.V. de X	320

FIGURA 131- Espectro de massa de X _____	321
FIGURA 132- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - PND de X _____	322
FIGURA 133- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT $135^\circ$ de X _____	323
FIGURA 134- Espectro de RMN $^1\text{H}$ de X _____	324
FIGURA 135- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY - $^1J_{\text{CH}}$ ) de X _____	325

## ÍNDICE DE QUADROS

QUADRO 01- Fragmentações no espectrômetro de massa do eugenol_____	6
QUADRO 02- Fragmentações no espectrômetro de massa do acetileugenol_____	19
QUADRO 03- Fragmentações no espectrômetro de massa do metileugenol_____	20
QUADRO 04- Fragmentações no espectrômetro de massa do benzileugenol_____	23
QUADRO 05- Fragmentações no espectrômetro de massa do benziliso Eugenol_____	25
QUADRO 06- Fragmentações no espectrômetro de massa do alileugenol_____	26
QUADRO 07- Fragmentações no espectrômetro de massa do aliliso Eugenol_____	28
QUADRO 08- Fragmentações no espectrômetro de massa do benzoileugenol_____	30
QUADRO 09- Fragmentações no espectrômetro de massa do acetil-diiso Eugenol_____	33
QUADRO 10- Constituintes químicos isolados de espécies de <i>Mentha</i> _____	127
QUADRO 11- Obtenção dos derivados I e II_____	157
QUADRO 12- Obtenção dos derivados III e IV_____	158
QUADRO 13- Fragmentação proposta para I, II, III e IV_____	159
QUADRO 14- Substâncias isoladas de espécies do gênero <i>Bursera</i> e atividades biológicas_____	216
QUADRO 15- Fragmentações no espectrômetro de massa de IIa e IIb_____	228
QUADRO 16- Fragmentações no espectrômetro de massa de III_____	230
QUADRO 17- Fragmentações no espectrômetro de massa de IV_____	231
QUADRO 18- Fragmentações no espectrômetro de massa de V_____	232
QUADRO 19- Fragmentações no espectrômetro de massa de VI_____	236
QUADRO 20- Fragmentações no espectrômetro de massa de VII_____	237
QUADRO 21- Fragmentações no espectrômetro de massa de X_____	246

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01- Dados de RMN $^1\text{H}$ ( 200 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 MHz ) do eugenol (5)	7
Tabela 02- Dados de RMN $^1\text{H}$ ( 200 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 MHz ) do dímero 7, em $\text{CDCl}_3$ como solvente e TMS como referência	15
Tabela 03- Dados de RMN $^1\text{H}$ ( 200 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS ) de 7 comparados com os dados das substâncias 9-11 ( 100 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS) registrados na literatura	17
Tabela 04- Comparação dos dados de RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS ) de 7 e 10 ( 25,2 MHz, $\text{CDCl}_3$ , TMS )	18
Tabela 05- Dados de RMN $^1\text{H}$ ( 200 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 MHz ) do O- acetileugenol, em $\text{CDCl}_3$ como solvente e TMS como referência	19
Tabela 06- Dados de RMN $^1\text{H}$ ( 200 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 MHz ) do O- metileugenol, em $\text{CDCl}_3$ como solvente e TMS como referência	21
Tabela 07- Dados de RMN $^1\text{H}$ ( 200 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 MHz ) em $\text{CDCl}_3$ como solvente do, O- metiliso Eugenol, com dados de RMN $^{13}\text{C}$ dos isômeros <i>cis</i> [Z(21a)] e <i>trans</i> [E(21)]	22
Tabela 08- Dados de RMN $^1\text{H}$ ( 200 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 MHz ) em $\text{CDCl}_3$ como solvente do O- benzileugenol	24
Tabela 09- Dados de RMN $^1\text{H}$ ( 200 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 MHz ) em $\text{CDCl}_3$ como solvente do O- benziliso Eugenol	25
Tabela 10- Dados de RMN $^1\text{H}$ ( 200 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 MHz ) em $\text{CDCl}_3$ como solvente do O- alileugenol	27
Tabela 11- Dados de RMN $^1\text{H}$ ( 200 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 MHz ) em $\text{CDCl}_3$ como solvente do O- aliliso Eugenol	28
Tabela 12- Dados de RMN $^1\text{H}$ ( 200 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 MHz ) em $\text{CDCl}_3$ como solvente do O- benzoileugenol	30
Tabela 13- Dados de RMN $^1\text{H}$ ( 200 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 MHz ) em $\text{CDCl}_3$ como solvente do di- isoeugenol acetilado	34
Tabela 14- Comparação dos dados de RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 Mhz, $\text{CDCl}_3$ , TMS ) de alguns derivados do eugenol e do isoeugenol	36

Tabela 15- Comparação de dados de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) de I, II, III e IV com dados de triterpenóides descritos na literatura _____	150
Tabela 16- Cromatografia da fração clorofórmica do extrato etanólico de <i>M. villosa</i> _____	153
Tabela 17- Dados de RMN $^1\text{H}$ ( 200 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 MHz ) para o furanosesquiterpeno (I) em $\text{CDCl}_3$ e TMS como padrão interno _____	225
Tabela 18- Proposta para a fragmentação de (I) (somente os picos principais) _____	226
Tabela 19- Dados RMN $^{13}\text{C}$ ( 50,3 MHz ) - PND de (VI ) comparados com dados de análogos da literatura _____	234
Tabela 20- Dados de RMN $^{13}\text{C}$ de VIIa e do ácido vanílico obtido na literatura _____	238
Tabela 21- Dados de RMN $^{13}\text{C}$ de VIII e Glicosídeo/Ac _____	240
Tabela 22- Dados de RMN $^{13}\text{C}$ de (IXa) e (IXb) comparados com dados de análogos da literatura _____	243
Tabela 23- Constituintes voláteis do óleo essencial das cascas do caule e das raízes de <i>Bursera leptophloeos</i> _____	248
Tabela 24- Fracionamento do extrato hexânico da raiz da <i>Bursera leptophloeos</i> através de coluna filtrante _____	249
Tabela 25- Fracionamento do extrato etanólico da raiz da <i>Bursera leptophloeos</i> através de coluna filtrante _____	252
Tabela 26- Fracionamento do extrato metanólico(soxhlet) da casca da raiz da <i>Bursera leptophloeos</i> _____	256
Tabela 27- Fracionamento do extrato hexânico da casca do caule da <i>Bursera leptophloeos</i> _____	259
Tabela 28- Fracionamento do extrato metanólico da casca do caule da <i>Bursera leptophloeos</i> _____	261

## ABREVIATURAS

RMN  $^1\text{H}$  - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN  $^{13}\text{C}$  - Ressonância Magnética Nuclear de Carbono - 13

I.V. - Infravermelho

U.V. - Ultravioleta

E.M. - Espectro de Massa

PND- Proton Noise Decoupled

DEPT- Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

COSY- CORrelation SpectroscopY - RMN de Correlação homonuclear de Hidrogênio e Hidrogênio ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ )

NOE- Nuclear Overhauser Effect

NOESY- Nuclear Overhauser Effect - homonuclear de Hidrogênio e Hidrogênio ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  - NOESY)

ppm- parte por milhão

J - constante de acoplamento

CCD- Cromatografia de Camada Delgada

CGL/EM - Cromatografia Gás-Líquido acoplada a Espectrometria de Massa

TMS - Tetra Metil Silano

$\text{CDCl}_3$ - Clorofórmio Deuterado

$T_R$  - Tempo de Retenção

$\text{Ag}_2\text{O}$  - Óxido de prata

$\text{HNO}_3$ - Ácido Nítrico

p.f. Ponto de Fusão

MVEA- Extrato etanólico da parte aérea da *Mentha villosa*

MVEA-C- Extrato etanólico da parte aérea da *Mentha villosa* extraída com clorofórmio



## ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 01- Rota sintética de flavonolignanas (3 e 4) _____	4
Esquema 02- Proposta mecanística para esta reação envolvendo como etapa inicial o acoplamento oxidativo intermolecular O- $\beta$ via radical livre _____	4
Esquema 03- Síntese do isoeugenol(6) através de reação de isomerização do eugenol (5) _____	5
Esquema 04- Postulação biossintética para a produção do dímero 8 _____	8
Esquema 05- Proposta mecanística para a formação do dímero di-isoeugenol (7) à partir de isoeugenol em meio alcalino( KOH ) na presença de EtOH sêco _____	14
Esquema 06- Derivados reacionais do eugenol _____	44
Esquema 07- Estudo do extrato etanólico da parte aérea da <i>Mentha villosa</i> _____	146
Esquema 08- Estudo da fração MVEA-C da <i>Mentha villosa</i> _____	148
Esquema 09- Fluxograma do estudo do extrato hexânico da raiz da <i>Bursera leptophloeos</i> _____	251
Esquema 10- Fluxograma do estudo do extrato etanólico da raiz da <i>Bursera leptophloeos</i> _____	255
Esquema 11- Fluxograma do estudo do extrato metanólico(soxhlet) da casca da raiz da <i>Bursera leptophloeos</i> _____	258
Esquema 12- Fluxograma do estudo do extrato hexânico da casca do caule <i>Bursera leptophloeos</i> _____	260
Esquema 13- Fluxograma do estudo do extrato metanólico da casca do caule da <i>Bursera leptophloeos</i> _____	263

CLAE- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

HMQC-Heteronuclear Multiple Quantum Coerence (  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - COSY-  $^1J_{\text{CH}}$  )

HMBC- Heteronuclear Multiple Bond Coerence (  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - COSY-  $^2J_{\text{CH}}$  e  $^3J_{\text{CH}}$  )

$\text{CH}_2\text{N}_2$ - Diazometano

R.D.A. - Retro Diels-Alder

BLHR- Extrato hexânico da raiz da *Bursera leptophloeos*

BLER- Extrato etanólico da raiz da *Bursera leptophloeos*

BLMCR- Extrato metanólico da casca da raiz da *Bursera leptophloeos*

BLHCC- Extrato hexânico da casca do caule da *Bursera leptophloeos*

BLMCC- Extrato metanólico da casca do caule da *Bursera leptophloeos*

F.M. Fórmula Molecular

P.M. Pêso Molecular

## INTRODUÇÃO GERAL

1

O projeto de tese original visou inicialmente a síntese, isolamento e modificação estrutural de flavonóides e flavonolignanas com atividade biológica.

Com o objetivo de explorar o potencial sintético da reação de acoplamento entre sistemas aromáticos *orto*-dihidroxiados e derivados estirênicos para a obtenção de flavonolignanas, programou-se a síntese do isoeugenol, através da reação de isomerização do eugenol e, modificações estruturais do eugenol e do isoeugenol através de reações de metilação, acetilação, benzilação, benzoilação, alilação, alquilação e nitração (Capítulo 1).

O interesse por esta síntese foi despertado pela atividade biológica revelada por algumas flavonolignanas tais como: hipolipidêmica, antiinflamatória e antineoplásica<sup>1</sup>. As investigações biológicas demonstraram também ausência de efeitos colaterais.

Os derivados do isoeugenol e do eugenol obtidos foram submetidos a testes farmacológicos pelo Prof. Henrique Leal Cardoso e sua equipe ( Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde da UFC ). Alguns destes derivados mostraram efeitos bastante interessantes na musculatura de sapos e cobaio.

Durante a reação de isomerização do eugenol<sup>2</sup> obteve-se, além do isoeugenol o seu dímero do tipo 1- arilindano. Esta reação foi realizada em meio básico<sup>3</sup>. Levantamento bibliográfico realizado no *Chemical Abstracts* revelou a obtenção deste dímero, do tipo 1-arilindano do isoeugenol, somente em meio ácido. A obtenção e a elucidação estrutural deste dímero serão posteriormente discutidas no Capítulo 1.

Para a produção de flavonolignanas foi utilizada a reação de flavonóides contendo sistemas *orto*-dihidroxiado localizado nos anéis A e/ou B e derivados estirênicos em presença de óxido de prata (Ag<sub>2</sub>O).

Para obtenção de flavonóides *orto*-dihidroxiados, apropriados estruturalmente para a síntese de flavonolignanas, programou-se o seu isolamento da planta *Mentha villosa*. Em estudos anteriores, foi isolado uma substância flavonoídica que foi obtida em pequena quantidade não permitindo sua elucidação estrutural. A escolha desta espécie deu-se em função da necessidade de seu estudo, já que são

conhecidas algumas de suas atividades biológicas, sendo usada como remédio alternativo no tratamento de giardíase, amebíase e esquistossomose<sup>4,5,6</sup>.

A espécie *Mentha villosa* (tipo peciolado), da família das Labiatae, é comumente conhecida como hortelã rasteira, hortelã de panela ou hortelã da folha miúda.

Existem vários tipos de hortelã rasteira aclimatados no Brasil, todos originados da Europa e muitos parecidos.

Utilizou-se neste trabalho um espécimen de *Mentha villosa* Backer aclimatada em Fortaleza e cultivada no Horto de Plantas medicinais do Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal do Ceará(UFC).

O trabalho desenvolvido não permitiu isolar flavonóides, provavelmente devido a época de coleta e a outros fatores ambientais. As substâncias isoladas do espécimen de *Mentha villosa* estudada, são inéditas nesta espécie e serão descritas no Capítulo 2.

Diante deste resultado inesperado, programou-se o estudo químico da planta *Bursera leptophloeos* Marth., uma planta rica em flavonóides, de acordo com informações pessoais da Professora Mirian P. Sousa e resultados publicados<sup>7</sup>. Através de uma pesquisa bibliográfica no *Chemical Abstracts* constatou-se que este trabalho sobre a *Bursera leptophloeos* Marth. foi o único publicado.

A espécie *Bursera leptophloeos* Marth., da família das Burseraceae, comumente conhecida como "Imburana de espinho"<sup>8</sup>, é uma árvore resinosa largamente distribuída na região semiárida do Nordeste do Brasil.

Entretanto, o extrato metanólico da casca da raiz de um espécimen de *Bursera leptophloeos*, obtido em Soxhlet, também não forneceu as substâncias flavonoidicas esperadas. Por outro lado, obteve-se uma substância inédita<sup>9</sup>, que foi caracterizada com base em métodos espectroscópicos como sendo um sesquiterpeno furânico (Capítulo 3).

**BIBLIOGRAFIA:**

1. SHARMA,D.K. and HALL,I.H. : Hypolipidemic, anti-inflammatory, and antineoplastic activity and cytotoxicity of flavonolignans isolated from *Hydnocarpus wightiana* seeds, *J.Nat. Prod.*, **54**(5), 1298-1302(1991).
2. LEMOS, T. L. G. de : Fotoxidações e transformações de arilpropanóides, Universidade Federal do Ceará, Dissertação de Mestrado (1980).
3. BARREIRA,E.S.; MONTE,F.J.Q.; CARVALHO,M. G. e BRAZ-FILHO,R.: Obtenção de dímero tipo arilindano em meio básico. Atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos de hidrogênio e carbono, *Química Nova*, **18**(3), 245- 2 (1995).
4. MELO,C.de; SANTANA,C. F.; ALMEIDA,E.R. e SANTOS,E.R.: Observações sobre o tratamento de Enteroparasitoses com a *Mentha crispa*. Inst. de antibióticos(UFPe). IX Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Rio de Janeiro(1986).
5. MATOS, F.J.A., *Farmácias Vivas*, 2ªedição(1994).
6. MUNIZ,M.:Uso da hortelã da folha miúda no tratamento de esquistossomose, *Ciência Hoje*,**16**(96) (1990).
7. SOUZA,M.P.; MACHADO,M.I.L. and BRAZ-FILHO,R.: Six flavonoids from *Bursera leptophloeos*, *Phytochemistry*,**28**(9),2467-2470(1989).
8. BRAGA,R.: Plantas do Nordeste. Especialmente do Ceará. Coleção Mossoroense, 3ª edição, R.N., 286 (1976).
9. BARREIRA,E.S.; MONTE,F.J.Q. and BRAZ-FILHO,R.: A new furanosesquiterpene from *Bursera leptophloeos* Marth., *Nat. Prod. Lett.*, **8**, 285-289 (1996).

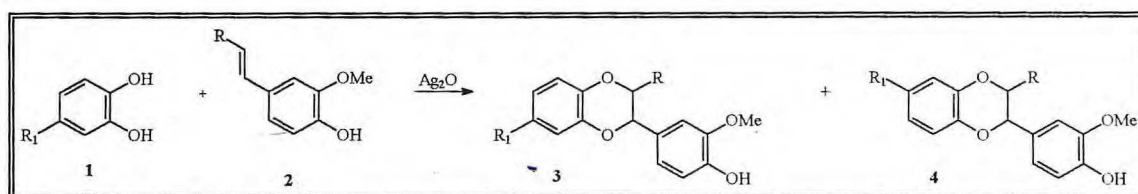
## CAPÍTULO 1. FLAVONOLIGNANAS E SEUS PRECURSORES

### 1.1. INTRODUÇÃO

Como já mencionado, nosso objetivo inicial envolvia a síntese de flavonolignanas com atividades biológicas.

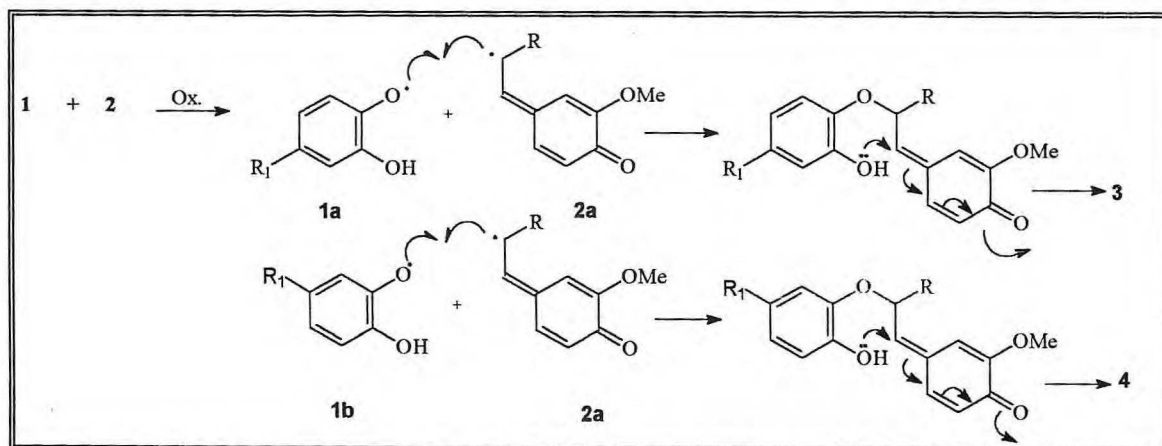
Para a produção destas flavonolignanas utilizou-se a reação de flavonóides contendo sistemas *orto*-dihidroxilado (rutina e quercetina) com derivados estirênicos (isoeugenol e anetol) na presença de óxido de prata ( $\text{Ag}_2\text{O}$ ). Reações análogas foram descritas na literatura para a síntese do silibin<sup>1</sup> e para a síntese de cumarinolignóides<sup>2</sup>.

O Esquema 1 resume, uma rota sintética para a obtenção de flavonolignanas (3 e 4), diversamente substituídas, partindo de substratos flavonoídicos *orto*-dihidroxilados (1) e arilpropenóides (2), relativamente simples e, portanto, de fácil acesso<sup>1</sup>.



Esquema 1

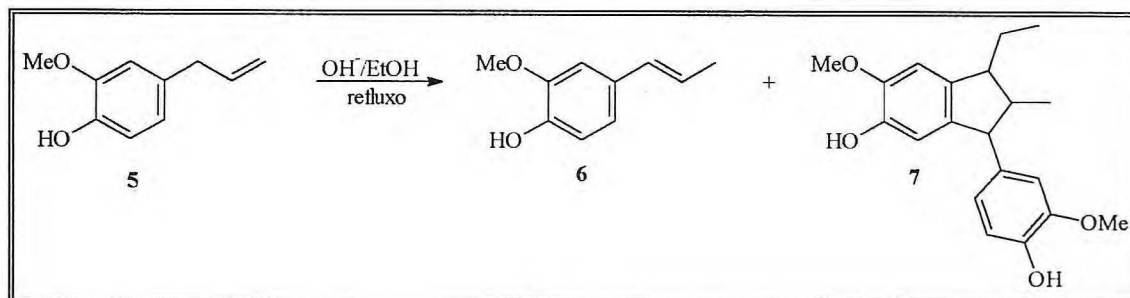
A literatura<sup>1</sup> registra uma proposta mecanística para esta reação, envolvendo como etapa inicial o acoplamento oxidativo intermolecular O- $\beta$  via radical livre (1a+ 2a e 1b + 2a) (Esquema 2).



Esquema 2

Um dos grupos hidroxila localizado na posição *orto* atua como nucleófilo no sistema quinonametideo (intermediário) para produzir o anel dioxânico das flavonolignanas (3 e 4).

Como mencionado anteriormente, por ocasião da obtenção do isoeugenol (6) através de reação de isomerização do eugenol (5), obteve-se além do isoeugenol, o seu dímero do tipo 1- arilindano (7, Esquema 3).



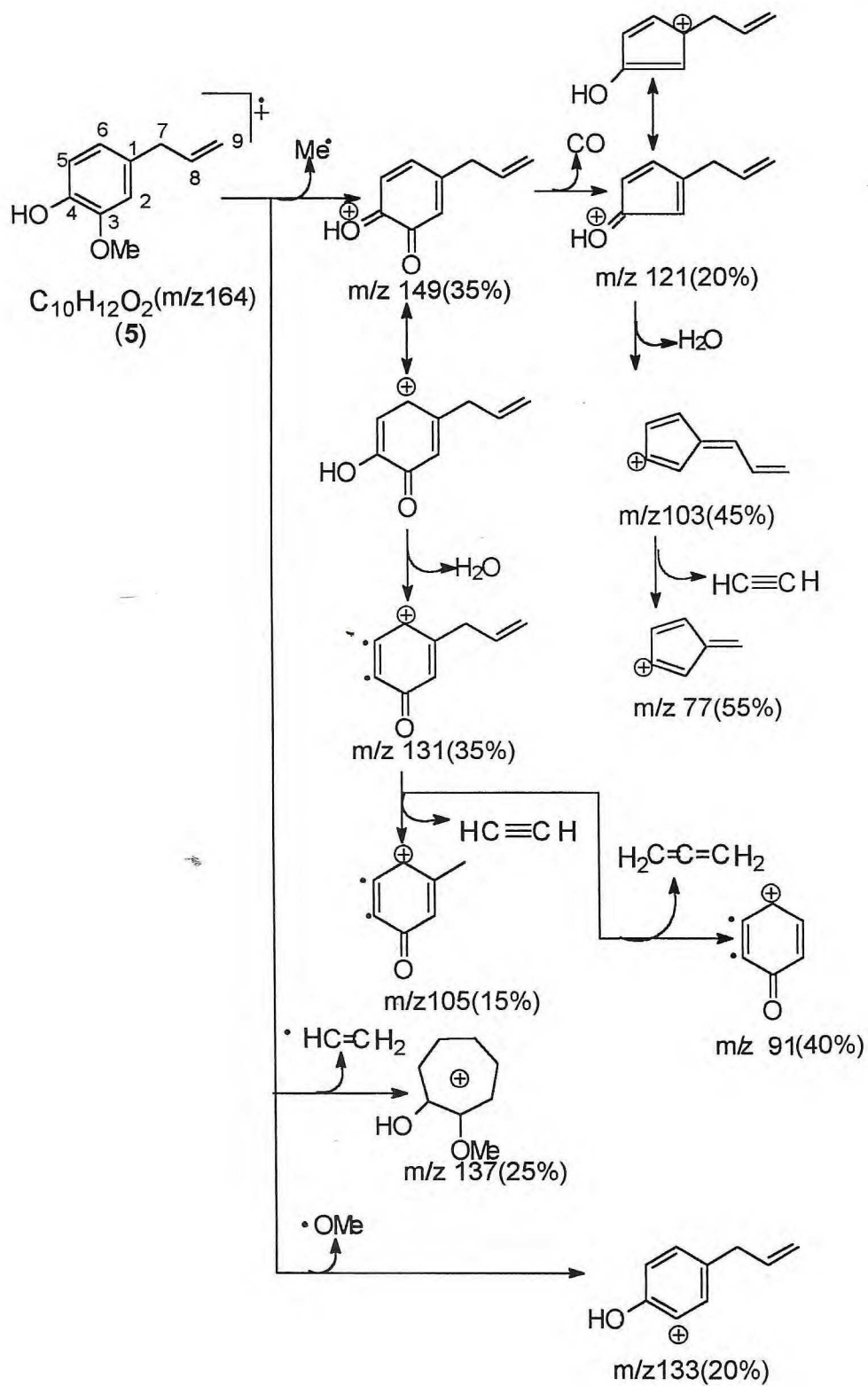
Esquema 3

## 1.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1.2.1. DERIVADOS DO EUGENOL

O eugenol disponível no laboratório foi analisado por dados espectrais para assegurar sua identidade e pureza, além de facilitar a interpretação dos dados espectrais de derivados programados para obtenção.

A fórmula molecular  $C_{10}H_{12}O_2$  do eugenol foi confirmada através do espectro de massa ( $M^+$  164, 100%, Fig. 01, p. 66), observando-se também picos em  $m/z$  77, 91, 103, 105, 121, 131, 133, 137 e 149, que foram atribuídos aos fragmentos inseridos no Quadro 01 (p. 6).



QUADRO 01



O espectro de IV (Infra-Vermelho) apresenta as bandas de absorção em  $\nu_{3450}$  ( $\nu_{OH}$ ), 1600, 1500, 1450  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{C=C}$  aromático), 1280 ( $\nu_{C-O}$ ), 1240, 1040 ( $\nu_{C-O-C}$ ) e 1648  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{C=C}$  terminal) (Fig. 02, p.67).

Os dados do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , Fig. 03, p. 68) e do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (50,0 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , Fig. 04, p. 69) PND e DEPT 135° (Fig. 05, p. 70) do eugenol (5), estão resumidos na Tabela 01.

Tabela 01. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (50,3 MHz) do eugenol (5).

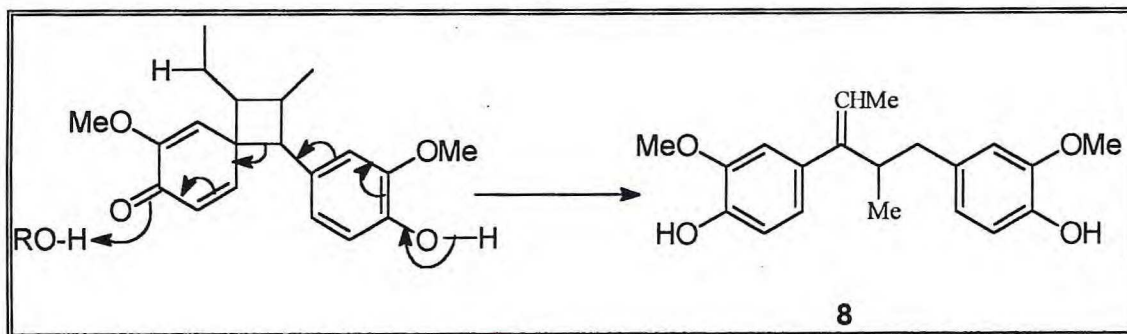
C	$\delta_c$	$\delta_H$
1	131,29	-
3	146,21	-
4	143,46	-
<b>CH</b>		
2	110,88	7,1-6,75(m)
5	114,15	7,1-6,75(m)
6	120,63	7,1-6,75(m)
8	137,52	6,2-6,0(m)
<b>CH<sub>2</sub></b>		
7	39,27	3,42(d, J=6,6 Hz)
9	114,79	5,22(dl)
		5,17(dl)
<b>CH<sub>3</sub></b>		
MeO-3	55,05	3,85(s)

#### a) Isomerização do eugenol em meio básico e obtenção do dímero tipo 1-arilindano (7)<sup>3</sup>.

Objetivando a preparação de derivados estirênicos oxigenados apropriados para acoplar a sistemas *orto*-hidroxilados<sup>1,2</sup>, tendo em vista a obtenção de compostos com atividades biológicas<sup>4</sup>, efetuou-se a reação do eugenol com hidróxido de potássio (KOH) em etanol (EtOH) seco, durante 10 horas sob refluxo. O produto da reação apresentou-se como uma mistura de um óleo (isoeugenol) e de um sólido cristalino esbranquiçado (7, 11%). O espectro de massas deste último registrou o dobro do peso molecular ( $M^+ 328$ ) do eugenol, indicando a formação de um dímero.

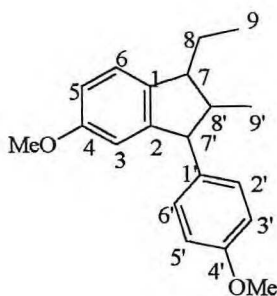
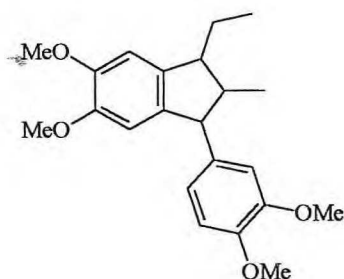
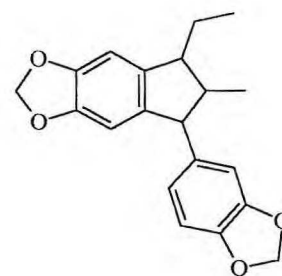
De acordo com pesquisa realizada no *Chemical Abstracts* sobre “dimerização” observou-se que, a maioria das reações de dimerização foram efetuadas em meio ácido<sup>5-12</sup>. Outras reações de dimerização aparecem descritas: Oxidativas<sup>13-17</sup>, fotoxidativas<sup>18-23</sup>, meio básico<sup>24-30</sup>, radical livre<sup>31</sup>, Diels- Alder<sup>32</sup>, reação de Ullman<sup>33</sup> e ciclodimerização<sup>34</sup>.

Nas reações de dimerização em meio básico, as condições experimentais usadas são diferentes das descritas neste trabalho. A única reação de dimerização em meio básico do isoeugenol descrita na literatura<sup>24</sup>, produziu o dímero 8, produto diferente do tipo 1-arilindano (7). O intermediário espirociclobutânico postulado no Esquema 04, pode ser proposto como precursor do dímero 8.

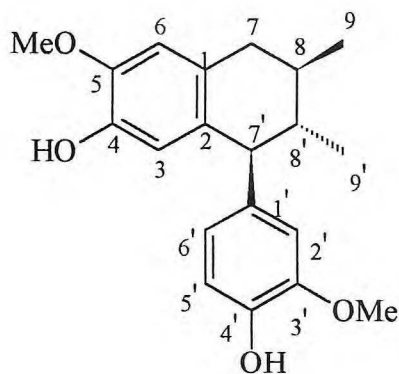


Esquema 04

Dímeros tricíclicos do tipo 1- arilindano obtidos de derivados do propenil benzeno em meio ácido são bastante conhecidos<sup>35-36</sup>. Os produtos diméricos metanetol (9), di-isohomogenol (10) e di-isosafrol (11) foram preparados a partir do anetol, isohomogenol e isosafrol, respectivamente<sup>37</sup>.

(9) 7,8'-*cis*-7',8'-*cis*  
(β- racemato)(9a) 7,8'-*trans*-7',8'-*trans*  
(γ- racemato)(10) 7,8'-*cis* -7',8'-*trans*  
(α- racemato).(10a) 7,8'-*cis*-7',8'-*cis*  
(β- racemato)(10b) 7,8'-*trans*- 7',8'-*trans*  
(γ - racemato)(11) 7,8'-*cis*-7',8'-*trans*  
(α- racemato)(11a) 7,8'-*trans*- 7',8'-*trans*  
(γ- racemato)

Estas substâncias aproximam-se estruturalmente das neolignanas (12), formadas na natureza por dimerização oxidativa de duas unidades C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> através de intermediários quinonametídeos<sup>38</sup>.



12

O mecanismo biossintético proposto para esta classe de substâncias naturais utiliza grupo hidroxila localizado na posição *para* em relação ao substituinte propenil ( $C_3$ ) para formação de intermediário quinonametídeo e acoplamento radicalar das duas unidades pelos átomos de carbono 8 e 8' (e.g. 12) como primeira etapa da bioreação<sup>38</sup>. Na dimerização *in vitro* em meio ácido a reação ocorre através de intermediário carbocátion benzílico que favorece a formação da ligação  $\sigma$  entre os átomos 7 e 8' (9 - 11). O dímero 7 obtido como produto secundário na reação de isomerização do eugenol (5) à isoeugenol (6) em meio alcalino, se forma provavelmente através de intermediário quinonametídeo, guardando estreita semelhança com o processo de bioprodução de neolignanais.

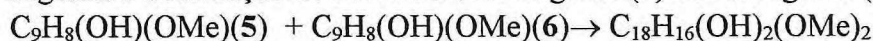
Neste trabalho utilizou-se a numeração adotada para neolignanais<sup>38</sup>, para facilitar o reconhecimento de cada unidade envolvida na reação de dimerização através da atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono-13, conservando-se também a expectativa de surgimento deste tipo de produto natural<sup>39</sup>.

## Resultados e Discussão

Os dímeros metanetol (9), di-isohomogenol (10) e di-isosafrol (11) foram obtidos em meio ácido como mistura de racematos, denominados  $\alpha$  (7,8'-*cis*-7',8'-*trans*),  $\beta$  (7,8'-*cis*-7',8'-*cis*) e  $\gamma$  (7,8'-*trans*-7',8'-*trans*), com rendimentos variando entre 6 a 70%<sup>37</sup>.

Neste trabalho obtivemos apenas um dos racematos, o di-isoeugenol (7), formado em meio alcalino (KOH/EtOH, 10 h) na reação de isomerização do eugenol (5) em isoeugenol (6).

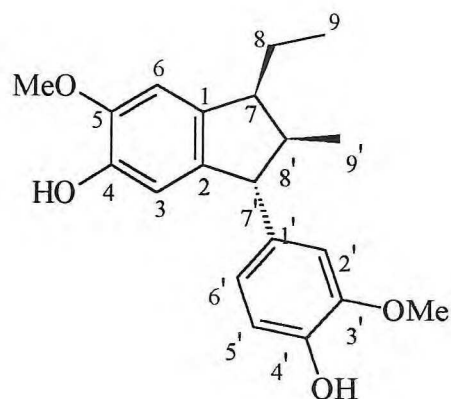
A estrutura de 7 (di-isoeugenol) foi deduzida com base na interpretação de dados fornecidos pelos espectros de massas, de RMN  $^1H$  e RMN  $^{13}C$ . O espectro de massa (Fig. 06, p.71) revelou o pico correspondente ao íon molecular ( $M^+$ ) em  $m/z$  328, sugerindo a formação de um dímero do eugenol (5) ou isoeugenol (6) na reação:



A análise comparativa dos espectros de RMN  $^{13}C$ -PND (Proton Noise Decoupled) e RMN  $^{13}C$ -DEPT [Distortionless Enhancement by Polarization Transfer  $\theta =$

$90^\circ$  (somente sinais de CH) e  $\theta = 135^\circ$  (sinais de CH e  $\text{CH}_3$  em fase oposta de  $\text{CH}_2$ )<sup>40</sup> permitiu reconhecer os sinais e números de carbono quaternário [ $\text{C}_7$ , todos  $\text{sp}^2$ , sendo quatro ligados a átomos de oxigênio em condições análogas às observadas no eugenol (5) ou isoeugenol (6):  $\delta$  146,40; 145,09; 144,47 e 144,07], metínicos[(CH)<sub>8</sub>, sendo cinco carbonos  $\text{sp}^2$  ( $\delta$  121,65; 113,93; 110,96; 110,57; 107,44) e três  $\text{sp}^3$  ( $\delta$  56,69; 49,21 e 48,27)], metilênico( $\text{CH}_2$ , carbono  $\text{sp}^3$  :  $\delta$  22,35), metílicos[( $\text{CH}_3$  :  $\delta$  13,79 e 12,22] e metoxílicos [(OMe)<sub>2</sub>:  $\delta$  56,11 e 55,87] (Tabela 02, p. 15). A formulação  $\text{C}_7(\text{CH})_8(\text{CH}_2)(\text{CH}_3)_2(\text{OMe})_2$  deduzida por estes dados e dois grupos hidroxílicos, representados por sinais simples ( $\delta$  5,53 e 5,49) no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 02, Fig. 07, p. 72), garantiram a fórmula molecular  $\text{C}_7(\text{CH})_8(\text{CH}_2)(\text{CH}_3)_2(\text{OMe})_2(\text{OH})_2$  [m/z 328(M.+)] para o dímero 7. Assim, a reação de dimerização envolveu a conversão de um carbono metínico aromático de um dos monômeros em quaternário [(CH)<sub>6</sub> aromáticos(três em cada monômero)  $\rightarrow$  (CH)<sub>5</sub> aromáticos no dímero] e os quatro carbonos metínicos  $\text{sp}^2$  olefinicos das unidades propenila dos dois monômeros em três metínicos  $\text{sp}^3$  e um grupo metilênico.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (1D)(Fig. 07, p. 72) de 7 (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) permitiu reconhecer a presença de um grupo arila com o mesmo padrão de substituição de um dos monômeros (anel aromático 1,3,4- trissubstituído) pelos sinais em  $\delta$  6,60 (d,  $J=1,8\text{Hz}$ , H-2'), 6,83 (d,  $J=7,9\text{Hz}$ , H-5') e 6,63 (dd,  $J=1,8$  e  $J=7,9\text{Hz}$ , H-6'), e uma unidade arila 1,2,4,5-tetrasubstituída pelos singletos em  $\delta$  6,47 (H-3) e  $\delta$  6,76 (H-6), um grupo etila [ $\delta$  1,8- 1,6(m, H-8a); 1,5-1,3(m, H-8b) e 0,96(t,  $J=7,3\text{Hz}$ , 3H-9)], um grupo metila [ $\delta$  1,02(d,  $J=7,1$  Hz, 3H-9')] ligado a carbono metínico [ $\delta$  2,6-2,4(m, H-8')], dois hidrogênios metínicos [ $\delta$  3,72(d,  $J=9,5$  Hz, H-7'), 3,0-2,8(m, H-7) e dois grupos metoxila [ $\delta$  3,88(s, MeO-5) e 3,79(s, MeO-3')], além de duas hidroxilas correspondentes aos sinais simples em  $\delta$  5,53 e 5,49. O espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  - COSY= COrrelation SpectroscopY)(Fig. 08, p. 73) revelou os picos transversais correspondentes a interação spin-spin(acoplamento escalar) de H-7'( $\delta$  3,72) com H-8'( $\delta$  2,6-2,4), de H-8' com os 3H-9'( $\delta$  1,02), de H-7( $\delta$  3,0-2,8) com H-8b( $\delta$  1,5-1,3), de H-8a( $\delta$  1,8-1,6) com H-8b( $\delta$  1,5-1,3) e com os 3H-9( $\delta$  0,96), de H-8b com os 3H-9( $\delta$  0,96), além dos referentes aos acoplamentos de H-2', H-5' e H-6', já esperados devido a multiplicidade dos sinais (Tabela 02, p. 15). A interpretação correta destes dados recebeu contribuição dos espectros de experiências bidimensionais de Correlação Heteronuclear de Hidrogênio e carbono-13, modulados com valores de constante de acoplamento (J) para interação spin-spin de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  através de uma ligação ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY-  $^1J_{\text{CH}}$ ,  $^1J_{\text{CH}} = 140$  Hz; Fig. 09, p. 74) ou duas e três ligações [ $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - COSY-  $^nJ_{\text{CH}}$ ( $n=2$  e 3),  $^nJ_{\text{CH}} = 7,0$  Hz, COLOC( COrrelation spectroscopy via LOng -range Coupling); Fig.10, p. 75], além de Efeito Nuclear Overhauser(NOE)( Fig. 11, p. 76 ) homonuclear de hidrogênio e hidrogênio[ 1D, por subtração de espectros (1D,  $^1\text{H}\{^1\text{H}\}$ -NOE, e 2D,  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  - NOESY ( Fig. 12, p.77 )] (Tabela 02, p. 15). Os resultados destas experiências permitiram também a atribuição inequívoca de todos os deslocamentos químicos dos átomos de carbono e hidrogênio ( exceto dos hidrogênios hidroxílicos) do dímero di-isoeugenol (7), sendo que os dados obtidos por NOE (Tabela 02, p. 15) foram utilizados adicionalmente para definir as configurações dos componentes do racemato obtido (7a).



7a

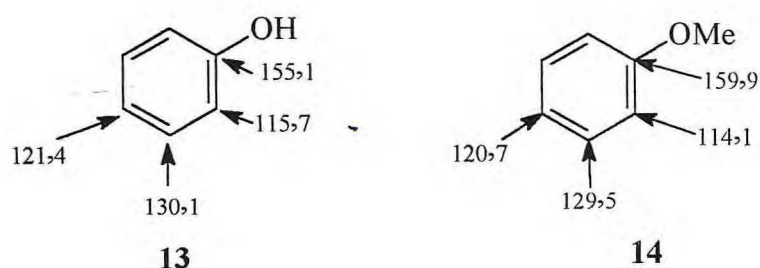
Os efeitos NOE observados (Tabela 02, p.15, Fig. 11, p. 76) entre H-3[ $\delta$  6,47(s)] e H-7'[ $\delta$  3,72(d,  $J=9,5\text{Hz}$ )] e entre H-6[ $\delta$  6,72(s)] e MeO-5[ $\delta$  3,88(s)], tanto por  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (Tabela 02, Fig. 12, p. 77) como por subtração de espectros [ $^1\text{H}\{^1\text{H}\}$ -NOE: irradiação na frequência de H-3 produziu NOE (7%) no H-7' e irradiação na frequência dos hidrogênios do grupo MeO-5 gerou NOE (15%) no H-6], asseguraram a atribuição correta dos deslocamentos químicos de H-3, H-6 e MeO-5. O NOE registrado entre H-2'( $\delta$  6,60) e MeO-3'( $\delta$  3,79) nas duas experiências (1D e 2D) confirmou os deslocamentos químicos dos hidrogênios das duas metoxilas (Tabela 02).

Com base nestes resultados, tornou-se relativamente fácil interpretar os espectros bidimensionais de correlação heteronuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  [ $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ( $n=1; n=2$  e  $3$ , COLOC)] e atribuir os deslocamentos químicos descritos na Tabela 02 para o dímero di-isoeugenol (7).

A configuração relativa 7,8'-*cis*-7',8'-*trans*- di-isoeugenol (7a), um dos estereoisômeros do racemato [7S,8'R,7'R(7a) ou 7R,8'S,7'S], foi definida por resultados adicionais observados nos espectros de acoplamento dipolar (proximidade espacial) de núcleos de hidrogênio por experiência de NOE. A estereoquímica 7,8'-*cis* tornou-se evidente pelos NOE observados nos H-8'( $\delta$  2,6-2,4, 14% de NOE) com irradiação na frequência de H-7( $\delta$  3,0-2,8), interação espacial confirmada pela irradiação na frequência do H-8' e NOE(12%) em H-7, e 3H-9[ $\delta$  1,02, 14% de NOE juntamente com 3H-9'( $\delta$  0,96) devido a superposição parcial dos dois sinais] com irradiação na frequência de H-8a( $\delta$  1,8-1,6). A configuração 7',8'-*trans* foi deduzida dos NOE em H-2' e H-6'[ $\delta$  6,60 e 6,63, 8% de NOE(soma)] com irradiação no H-8'( $\delta$  2,6-2,4), sendo que o espectro  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY revelou os picos transversais correspondentes à proximidade espacial entre H-7' e os 3H-9' (Tabela 02, p. 15). Assim, a configuração relativa do dímero obtido em meio alcalino do isoeugenol foi definida como 7,8'-*cis*-7',8'-*trans*-di-isoeugenol. A comparação da constante de acoplamento( $J$ ) de H-7' e dos valores de deslocamentos químicos de H-7, H-7', H-8', e dos grupos metila e etila com dados registrados na literatura<sup>37</sup> para os três racematos ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ), revelou-se em acordo com a estrutura  $\alpha$ - racemato (Tabela 03, p.17). Obviamente os dados de RMN relatados neste trabalho para o di-isoeugenol (7a) servem também para confirmação da estrutura do  $\alpha$ -racemato obtido em meio ácido<sup>37</sup>.

A comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de 7a e 7,8'-*cis*-7',8'-*trans*-di-isohomogenol (10)<sup>41</sup>, éter 4,4'-di-O-metil de 7a, também contribuiu para a definição da

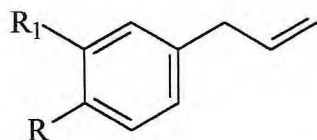
configuração relativa de **7a** (Tabela 04, p.18). Os deslocamentos químicos de CH-7 e CH<sub>2</sub>-8, CH<sub>3</sub>-9, CH-7' e CH-8' são praticamente iguais, identificando a mesma estereoquímica nos dois dímeros (**10** e **7a**). As diferenças significativas observadas nesta comparação restringiram-se aos deslocamentos químicos dos átomos de carbono do grupo arila, como previsto pela presença de funções hidroxila em 4 e 4' de **7a** e metoxilas em **10**. Assim, os carbonos 3 e 5' de **7a** revelam maiores valores de deslocamentos químicos [ $\delta$  111,0(C-3) e 113,9(C-5')] do que os de **10** [ $\delta$  107,9(C-3) e 111,1(C-5')] devido a ausência de efeito  $\gamma$  de proteção exercido pela metila no carbono *orto* em relação ao grupo metoxílico [ $\Delta\delta = 111,0(7a) - 107,9(10) = 3,1$  ppm(C-3) e  $\Delta\delta = 113,9(7a) - 111,5(10) = 2,8$  ppm(C-5)]. Já os carbonos 4 e 4' em **7a** revelam menores valores de deslocamento químico [ $\delta$  144,5(C-4) e 144,1(C-4')] do que **10** [ $\delta$  147,4(C-4) e 147,8(C-4')] devido a ausência do efeito  $\beta$  de desproteção do grupo metílico da função metoxila (**13** e **14**)<sup>42</sup>.



Obviamente, a atribuição dos deslocamentos químicos de C-4 e C-4' de **10** ainda depende de experiências utilizando as novas técnicas de RMN para confirmação, já que na época da publicação<sup>41</sup> (1976) estas técnicas não se encontravam disponíveis (Tabela 04).

Finalmente o Esquema 05 ( p. 14) resume proposta de mecanismo para a formação do dímero tricíclico di-isoegenol (**7a**), 7,8'-*cis*-7',8'-*trans*-2,7',7,8'-di-isoegenol (nomenclatura adotada para neolignanas)<sup>38</sup> ou 1 $\beta$ -etil-2 $\beta$ -metil-3 $\alpha$ (4-hidroxi-3-metoxifenil)-5-hidroxi-6-metoxiindano, a partir do isoegenol (**6**) em meio alcalino (KOH/EtOH), passando por intermediário quinonametídeo monomérico **15** (e/ou **16**, isômero configuracional) para formação da ligação  $\sigma$  entre os átomos de carbono 7 de **15** (e/ou **16**) e 8' de **6a** ( ou **6b**, isômero conformacional) e produzir o *eritro*-intermediário estereoespecífico **17**. O intermediário **17** dispõe de nova unidade quinonametídeo para a etapa de substituição eletrofílica na unidade aromática e formação do dímero tricíclico(**7**), através de estado de transição e intermediário dotados de menor interação estérica entre a unidade quinonametídeo e o grupo metila, o que justifica também a ausência de produto envolvendo o átomo de carbono *orto* em relação ao grupo metoxila.

O éter metílico do eugenol (**5a**, isohomogênol), safrol (**5b**) e o éter benzílico do eugenol (**5c**) por não apresentarem grupo hidroxílico na posição *para* ao grupo alílico, não levaram a formação do dímero, conforme confirmação experimental. Estes resultados se coadunam com o mecanismo postulado para dimerização do isoeugenol (**6**)



**5** R=OH; R<sub>1</sub>=OMe(eugenol)

**5a** R=R<sub>1</sub>=OMe

**5b** R,R<sub>1</sub>=OCH<sub>2</sub>O

**5c** R=OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; R<sub>1</sub>=OMe

Esquema 05. Proposta mecanística para a formação do dímero di-isoeugenol (7) à partir de isoeugenol em meio alcalino(KOH) na presença de EtOH sêco antes do uso, durante 10h de reação (6a e 6b são isômeros conformacionais; 15 e 16 são isômeros configuracionais).

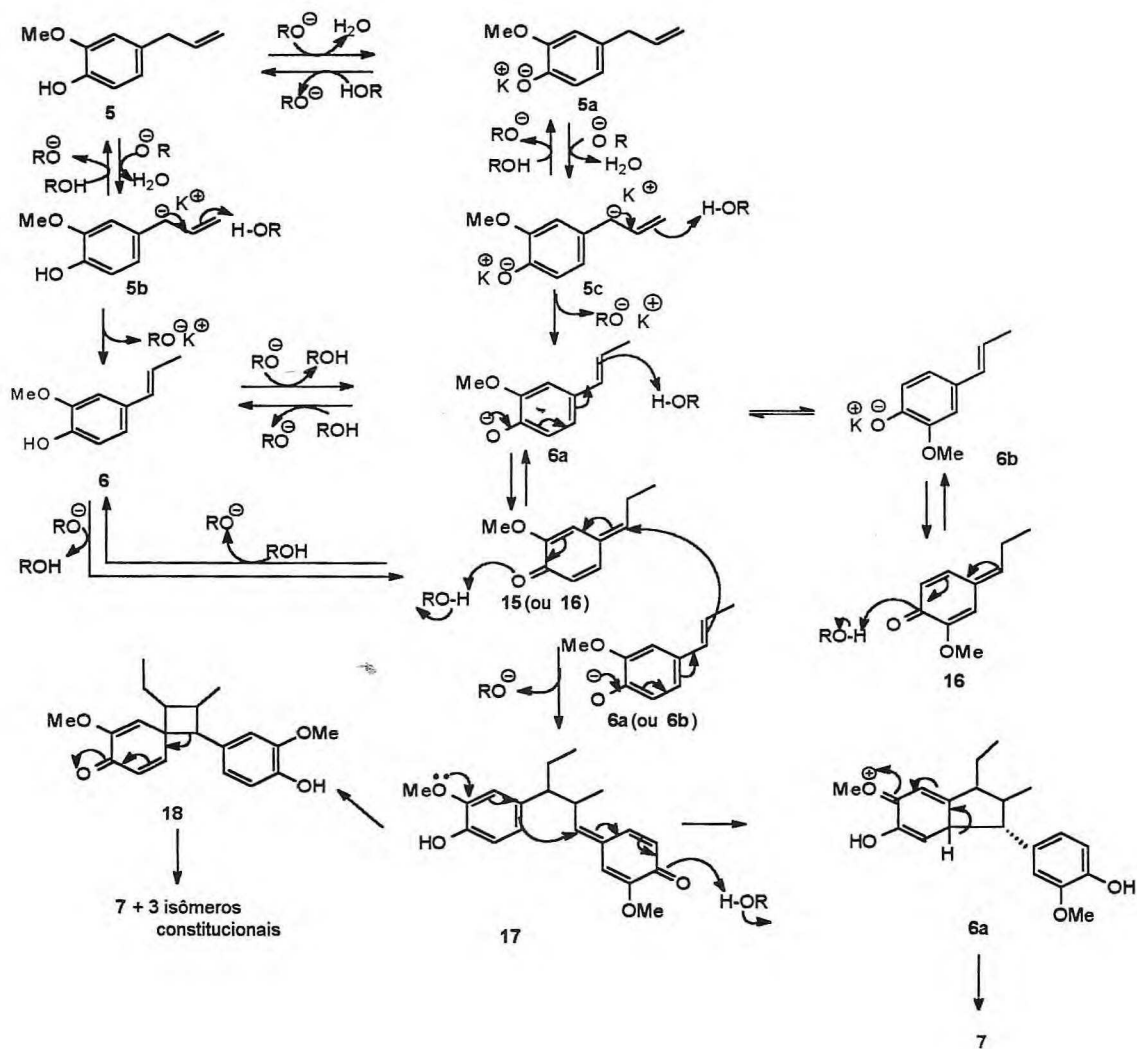




Tabela 02. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200MHz) e  $^{13}\text{C}$  (50,3 MHz) do dímero 7, em  $\text{CDCl}_3$  como solvente e TMS como referência. Os deslocamentos químicos estão descritos em  $\delta$ (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz (entre parenteses). A atribuição dos deslocamentos químicos apoiou-se em espectros bidimensionais de correlação homonuclear de  $^1\text{H}$  e  $^1\text{H}$  ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY) e heteronuclear [ $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY-  $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ( $n=1$ , uma ligação,  $n=2$ , duas ligações e  $n=3$ , três ligações)], NOE por subtração de espectro e bidimensional  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  - NOESY.

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY <sup>c</sup>	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY <sup>d</sup>	$^1\text{H}\{^1\text{H}\}$ -NOE(%) <sup>e</sup>
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$			
1	138,67	-		H-3			
2	139,09	-	H-7'	H-6			
3	110,96	6,47(s)				H-7'	H-7'(7)
4	144,47	-		H-6			
5	145,09	-		H-3, MeO-5			
6	107,44	6,76(s)				MeO-5	
7	48,47	3,0-2,8		3H-9, 3H-9'	H-8b		H-6(6), H-8'(14)
8	22,35	1,8-1,6(m, H-8a)	3H-9		H-8b, 3H-9		H-7(10), H-8b(16), 3H-9 e 3H-9'(14)
	-	1,5-1,3(m, H-8b)			H-7, H-8a, 3H-9		H-7'(7), H-8a(18)
9	12,22	0,96(t, J=7,3)			H-8a, H-8b		H-6(6), H-7
MeO-5	56,11	3,88(s)				H-6	H-6(19)
1'	135,79	-	H-7'	H-5' -			
2'	110,57	6,60(d, J=1,8)		H-6'		H-7', MeO-3'	
3'	146,40	-		H-5', MeO-3'			
4'	144,07	-		H-2', H-6'			
5'	113,93	6,83(d, J=7,9)					
6'	121,65	6,63(dd, J=7,9 e 1,8)		H-2', H-7'		H-7'	
7'	56,69	3,72(d, J=9,5)		3H-9'	H-8'	H-3, H-2', 3H-9'	H-3(8), H-2'e H-6'(23)
8'	49,21	2,6-2,4(m)	3H-9'		H-7', 3H-9'		H-7(12), H-2'e H-6'(8), 3H-9'(8)

9'	13,79	1,02(d,J=7,1 )				H-7'	
MeO-3'	55,87	3,79				H-2'	H-2'(16)
HO	-	5,53(s)					
HO	-	5,49(s)					

<sup>a</sup> A multiplicidade dos sinais foi deduzida pela comparação dos espectros de RMN<sup>13</sup>C-PND e RMN<sup>13</sup>C-DEPT

<sup>b</sup> Valores obtidos do espectro unidimensional (1D) de RMN <sup>1</sup>H.

<sup>c</sup> O hidrogênio indicado na mesma linha do da segunda coluna corresponde a interação spin-spin(escalar) entre si.

<sup>d</sup> Idem, para interação dipolo-dipolo(dipolar)

<sup>e</sup> Na mesma linha indicou-se os NOE observados por irradiação dos hidrogênios que aparecem na segunda coluna.

Tabela 03. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) de 7 comparados com os das substâncias 9 - 11(100MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) registrados na literatura<sup>37</sup>.

Dímero <sup>a</sup>	$\delta_{\text{H}}^b$			$^3\text{J}^c$		$\delta_{\text{H}}^b$		
	H-7	H-8'	H-7'	$\text{J}_{7,8'}$	$\text{J}_{7',8'}$	3H-9'	2H-8	3H-9
$\alpha$ -Di-iso homoge nol(10)	2,90	2,40	3,77	7,2	9,5	1,04	1,65	0,96
$\alpha$ -Di- isosafrol (11)	2,82	2,45	3,65	7,2	9,5	1,00	1,50	0,92
$\alpha$ -Di-iso eugenol( 7)	3,0-2,8	2,6-2,4	3,72		9,5	1,02	1,8-1,6 1,5-1,3	0,96
$\beta$ -Meta- netol(9)	2,94	2,73	4,29	7,0	7,0	0,44	1,60	1,07
$\beta$ -Di-iso homoge nol(10a)	2,95	2,77	4,27	7,0	7,0	0,47	1,61	1,07
Metane- tol(9a)	2,63	1,97	3,58	9,2	9,6	1,09	1,79	0,96
$\gamma$ -Di-iso homoge nol(10b)	2,69	2,00	3,65	9,0	9,0	1,15	1,80	1,00
$\gamma$ -Di- isosafrol (11a)	2,65	1,96	3,52	9,5	9,0	1,10	1,75	0,97

<sup>a</sup>  $\alpha$ - racemato= 7,8'-*cis*- 7',8'-*trans*-;  $\beta$ - racemato= 7,8'-*cis*-7',8'-*cis*-;  $\gamma$ - racemato= 7,8'-*trans*- 7',8'- *trans*.

<sup>b</sup> Os valores descritos em  $\tau$  para 9-11 foram convertidos em  $\delta$ (ppm); a numeração 1,2 e 3 foi modificada para 7,8' e 7', respectivamente.

<sup>c</sup> Desprezou-se a segunda casa decimal resgistrada em alguns valores de J.

Tabela 04. Comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (50,3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) de 7 e 10 (25,2 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS). Nesta comparação os valores de 7 foram aproximados para somente uma casa decimal, desprezando a centesimal quando menor ou igual a 5 e aumentando a decimal de uma unidade quando a centesimal revelou-se superior a 5.

C	7	10
1	138,7	137,7
2	139,1	136,3 <sup>a</sup>
4	144,5	147,4
5	145,1	147,2
1'	135,8	139,0 <sup>a</sup>
3'	146,4	148,6
4'	144,1	147,8
<b>CH</b>		
3	111,0	107,9
6	107,4	107,9
7	48,5	48,3
2'	110,6	110,7
5'	113,9	111,1
6'	121,6	120,4
7'	56,7	56,7
8'	49,2	49,3
<b>CH<sub>2</sub></b>		
8	22,3	22,2
<b>CH<sub>3</sub></b>		
9	12,2	12,0
9'	13,8	13,6
MeO-4	-	55,8
MeO-5	56,1	55,8
MeO-3'	55,9	55,5
MeO-4'	-	55,5

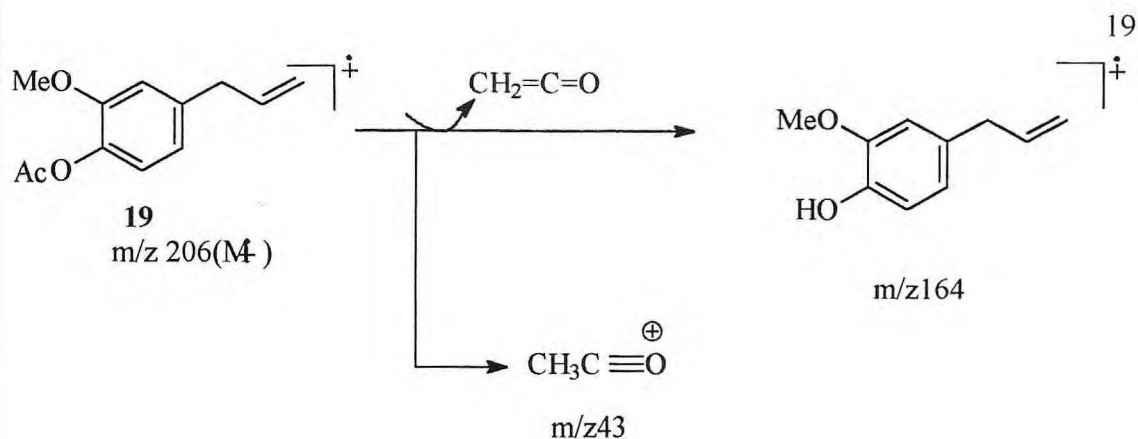
<sup>a</sup> Estes valores devem ser trocados.

#### b) Acetilação do eugenol (19)

O eugenol foi acetilado de acordo com a técnica descrita no item 1.3.1.1.b., p.40, obtendo-se um óleo amarelo claro.

O espectro de massa (EM) (Fig. 13, p. 78) apresentou picos principais em m/z 206 (íon molecular  $\text{M}^+$ ), 164(100%) e 43(80%), justificadas de acordo com as fragmentações mostradas no Quadro 02, p.19.

O espectro na região do I.V. apresentou as seguintes bandas de absorção:  $\nu$  1775, 1650, 1610, 1515, 1470  $\text{cm}^{-1}$ , dentre outras (Fig. 14, p. 79).



### QUADRO 02

A acetilação também foi confirmada através dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 15, p.80), RMN  $^{13}\text{C}$ - PND (Fig. 16, p. 81) e DEPT  $135^\circ$  (Fig. 17, p. 82) (Tabela 05, abaixo), onde podemos observar no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  a absorção do carbono metílico do grupo acetil em  $\delta$  19,35 e no espectro de RMN  $^1\text{H}$  a absorção dos prótons metílicos do grupo acetil em  $\delta$  2,13 (singleto).

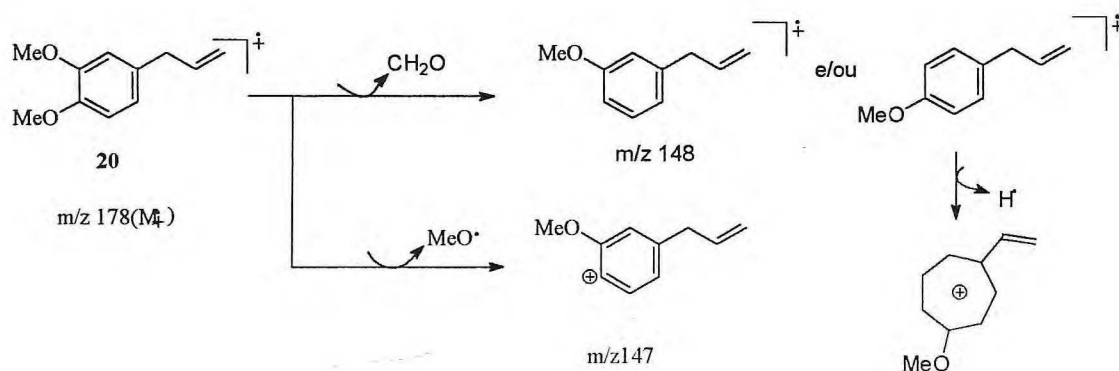
Tabela 05. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  ( 50,3 MHz) do O- acetileugenol, em  $\text{CDCl}_3$  como solvente e TMS como referência. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) estão descritos em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hz.

C	$\delta_c$	$\delta_H$
1	138,1	-
3	150,3	-
4	137,4	-
Ac	167,9	-
<b>CH</b>		
2	111,8	6,73(d, J= 1,4)
5	121,7	6,89(d, J=7,9)
6	119,8	6,68(dd, J=7,9 e 1,4)
8	136,5	6,10-5,80(m)
<b>CH<sub>2</sub></b>		
7	39,1	3,26(d, J=6,4)
9	115,0	5,04(d, J=16,9) 5,02(d, J=16,9)
<b>CH<sub>3</sub></b>		
MeO	54,5	3,60(s)
Ac	19,3	2,13(s)

### c) Metilação (20) e isomerização (21) do eugenol

O eugenol foi metilado de acordo com a técnica apresentada no item 1.3.1.1.c, p.40, obtendo-se um material oleoso amarelo claro.

O espectro de massa (EM) (Fig. 18, p.83) deste material apresentou pico base em  $m/z$  178(100%) e picos em  $m/z$  163(30%), 147(35%), 107(45%), 103(50%), 91(60%) e 77(30%) dentre outros, justificados através das fragmentações mostradas no Quadro 03.



QUADRO 03

O espectro na região do I.V. apresentou as seguintes bandas de absorção:  $\nu$  3001, 2976, 2908, 2834, 1638, 1606, 1591  $cm^{-1}$ , dentre outras (Fig. 19, p. 84).

Os dados de RMN<sup>1</sup>H (Fig. 20, p. 85), RMN<sup>13</sup>C- PND (Fig. 21, p. 86) e DEPT 135° (Fig. 22, p. 87) estão resumidos na Tabela 06, p. 21. A presença de dois singletos no espectro de RMN<sup>1</sup>H, em  $\delta$  3,29 e 3,26, bem como a presença de duas linhas espectrais no espectro de RMN<sup>13</sup>C em  $\delta$  54,34 e 54,25, confirmam a ocorrência da metilação.

Tabela 06. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (50,3MHz) do O-metileugenol, em  $\text{CDCl}_3$  como solvente e TMS como referência. Os deslocamentos químicos estão descritos em  $\delta$ (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz.

C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	131,25	-
3	148,04	-
4	146,55	-
<b>CH</b>		
2	110,45	6,4-6,2(m)
5	111,01	6,4-6,2(m)
6	119,27	6,4-6,2(m)
8	136,75	5,6-5,4(m)
<b>CH<sub>2</sub></b>		
7	38,54	2,84(d, J=6,6)
9	114,08	4,63(dl, J= 16,9) e 4,61(dl, J=10,3)
<b>CH<sub>3</sub></b>		
MeO	54,34	3,29(s)
MeO	54,25	3,26(s)

O eugenol metilado (O-metileugenol), foi isomerizado usando-se a mesma técnica apresentada no item 1.3.1.1.c, p. 40, obtendo-se um material oleoso amarelo-alaranjado.

O espectro de massa deste material apresentou o pico base em  $m/z$  178(100%) e os mesmos picos do O-metileugenol (Fig. 23, p. 88 ).

A isomerização foi confirmada através de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 24, p. 89) e RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 25, p. 90), onde observou-se, que a absorção do carbono 7 que no O-metileugenol estava em  $\delta$  38,54 passou para  $\delta$  130,60 devido a mudança de posição da dupla ligação. Foi também observado que a proporção do isômero *trans* é muito maior que do isômero *cis* ( Tabela 07, p.22).

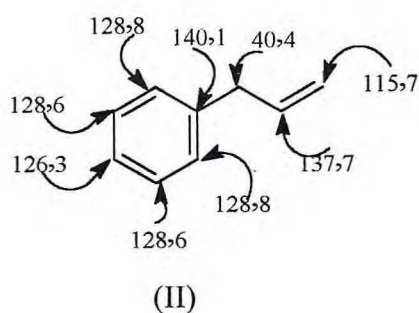
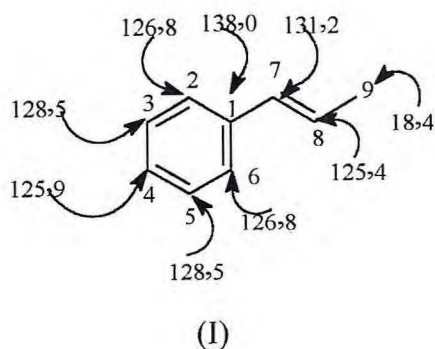
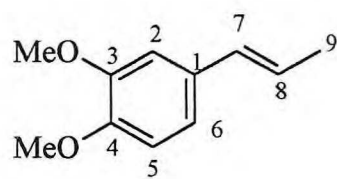
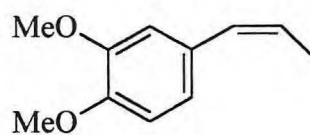


Tabela 07. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (50,3 MHz), em  $\text{CDCl}_3$  como solvente, do O- metiliseugenol, com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  dos isômeros *cis* [Z(2)] e *trans*[E(1)].



21

*E=trans*

21a

*Z=cis*

C	$\delta_c$		$\delta_H^b$
	E(21)	Z(21a) <sup>a</sup>	E(21)
1	130,89		-
2	108,42	110,79	6,9-6,6
3	148,82	148	-
4	148,02	147	-
5	111,05	112	6,9-6,6
6	118,50	122	6,9-6,6
7	130,60	129	6,30(d, J=15,8)
8	123,17	125	6,10(dd, J=15,8e 6,0)
9	18,12	15	1,83(d, J=6,0)
OMe	55,36	55,36	3,85(s)
	55,36	55,36	3,83(s)

<sup>a</sup> Os valores sem decimais correspondem a dados não plotados pelo computador. Por isto, são aproximações que estão em acordo com dados bibliográficos<sup>42</sup>.

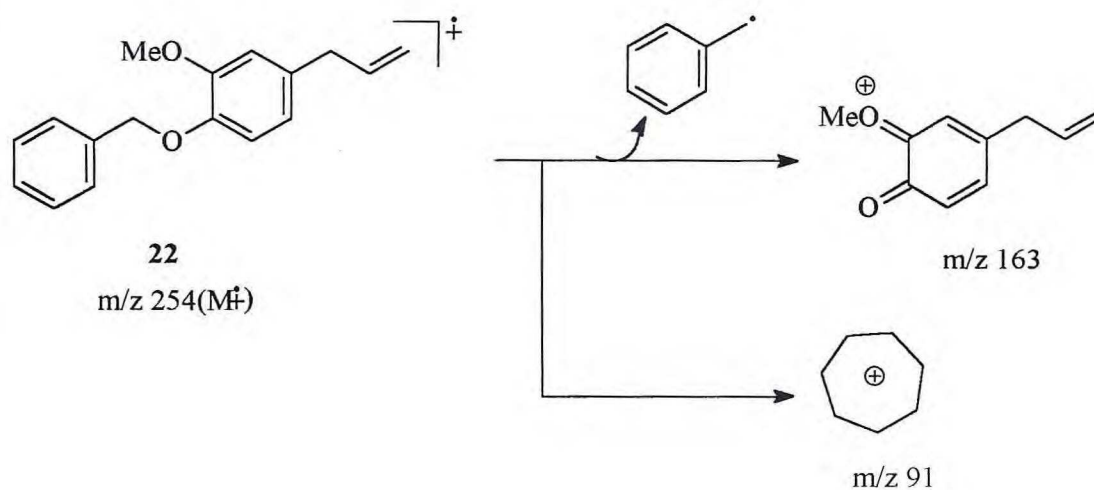
<sup>b</sup> As constantes de acoplamento (J) estão em Hz e os deslocamentos químicos em  $\delta$  (ppm).

#### d) Benzilação (22) e isomerização (23)

O eugenol foi benzilado usando-se a técnica descrita no item 1.3.1.1.d, p. 42, obteve-se um óleo amarelo claro.

O espectro de massa (Fig. 26, p. 91) deste produto obtido apresentou o pico do íon molecular em  $m/z$  254( $M^+$ ) e outros picos principais em  $m/z$  91(100%) e 163(12%), justificados de acordo com as fragmentações mostradas no Quadro 04, p.23.



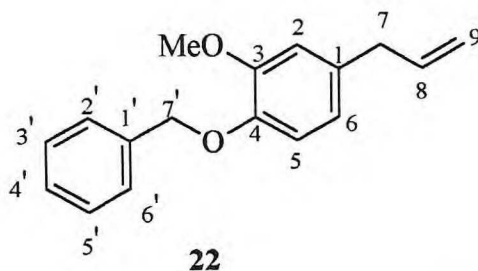


## QUADRO 04

O espectro na região do I.V. apresentou as seguintes bandas de absorção:  $\nu$  2935, 2908, 1591, 1458, 1262, 1227, 1031  $\text{cm}^{-1}$ , dentre outras ( Fig. 27, p. 92 ).

A benzilação do eugenol foi também confirmada através de dados de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 28, p. 93), RMN  $^{13}\text{C}$ - PND (Fig. 29, p. 94) ( Tabela 08, p. 24) e DEPT 135° (Fig. 30, p. 95).

Tabela 08. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200 Mhz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (50,3 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  como solvente do O-benzileugenol



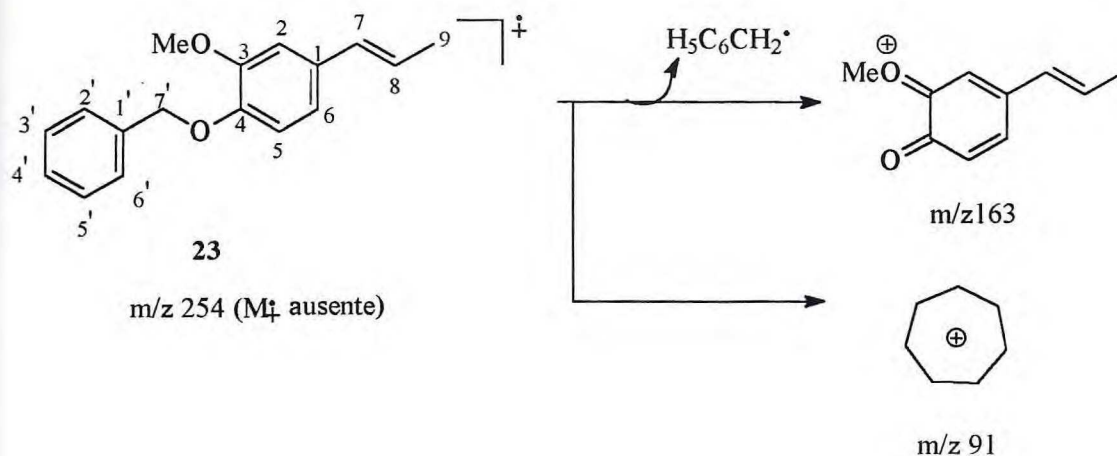
C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$
1	132,52	-
3	149,09	-
4	146,04	-
1'	136,82	-
<b>CH</b>		
2	111,88	6,9-6,6
5	113,63	6,9-6,6
6	119,86	6,9-6,6
8	137,08	6,1-5,9(m)
2',6'	126,70	7,6-7,3
3',5'	127,80	7,6-7,3
4'	127,08	7,6-7,3
<b>CH<sub>2</sub></b>		
7	39,19	3,38(d, J=6,5)
9	114,97	5,2-5,0 <sup>a</sup>
7'	70,34	5,16(s)
<b>CH<sub>3</sub></b>		
MeO-3	55,07	3,90(s)

<sup>a</sup> Superposição com o sinal dos  $\text{CH}_2$ -7'

<sup>b</sup> Os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hz, e os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm.

O O-benzileugenol foi posteriormente isomerizado usando-se a mesma técnica mencionada no item 1.3.1.1.d, p. 41, obteve-se um material sólido amorfo de cor branco amarelado.

O espectro de massa do O-benzilisoegenol (Fig. 31, p. 96), não apresentou o pico do íon molecular ( $m/z$  254), mas apresentou os picos em  $m/z$  163(10%) e 91(100%), que estão de acordo com as fragmentações mostradas no Quadro 05, p.25.



## QUADRO 05

A isomerização do O-benzileugenol foi também confirmada através de dados de RMN  $^1H$  (Fig. 32, p.97), RMN  $^{13}C$ - PND (Fig. 33, p. 98) (Tabela 09, abaixo) e DEPT 135° (Fig. 34, p. 99). A presença de somente um grupo  $CH_2$  no isômero foi confirmada através do espectro DEPT.

Tabela 09. Dados de RMN  $^1H$  (200 MHz) e RMN  $^{13}C$  (50,3 MHz) em  $CDCl_3$  como solvente do O-benzilisoegenol.

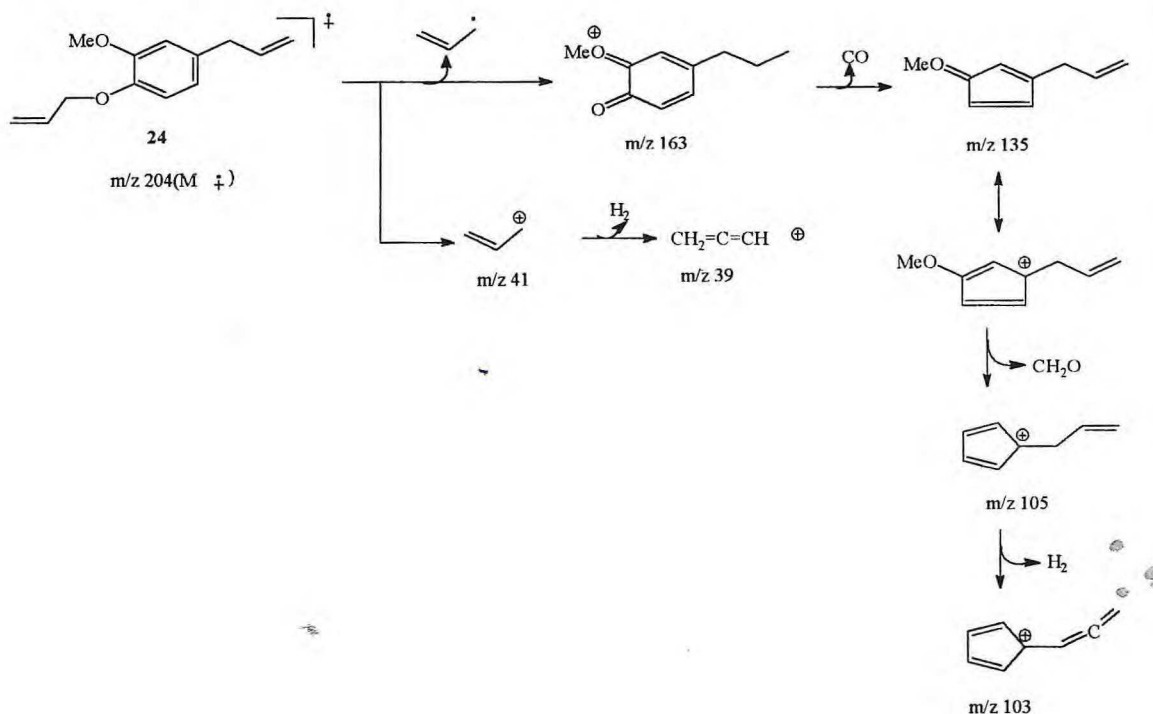
C	$\delta_C$	$\delta_H^a$
1	131,49	-
3	149,48	-
4	147,11	-
1'	137,05	-
<b>CH</b>		
2	108,89	6,95(s)
5	113,88	6,83(s)
6	118,41	6,83(s)
7	130,45	6,35(d, J=15,9)
8	123,76	6,14(dq, J=15,9 e J=6,3)
2',6'	127,11	7,5-7,3
3',5'	128,33	7,5-7,3
4'	127,61	7,5-7,3
<b>CH<sub>2</sub></b>		
7'	70,85	5,15(s)
<b>CH<sub>3</sub></b>		
9	18,24	1,89(d, J=6,3)
MeO-3	55,70	3,91(s)

<sup>a</sup> Os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hz, e os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm.

### e) Alilação (24) e isomerização(25)

O eugenol foi O-alquilado com brometo de alila usando a técnica descrita no item 1.3.1.1.e, p. 42, obtendo-se um material oleoso amarelo claro.

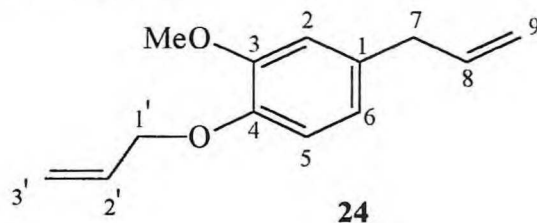
O espectro de massa apresentou o pico do íon molecular em  $m/z$  204(30%), e outros picos principais em  $m/z$  163 (pico base, 100%), 103(98%), 135(25%), 105(30%), 41(100%), 39(80%) (Fig. 35, p. 100), que apresentou-se em acordo com as fragmentações mostradas no Quadro 06, abaixo.



Quadro 06

A O-alilação do eugenol foi confirmada também através de dados de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 36, p. 101), RMN  $^{13}\text{C}$ -PND (Fig. 37, p. 102) e DEPT 135° (Fig. 38, p. 103) (Tabela 10, p. 27), onde no espectro de RMN  $^1\text{H}$  destacou-se um duplete em  $\delta$  4,49 relativo aos prótons 2H-1'.

Tabela 10. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (50,3 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  como solvente do O-alileugenol.



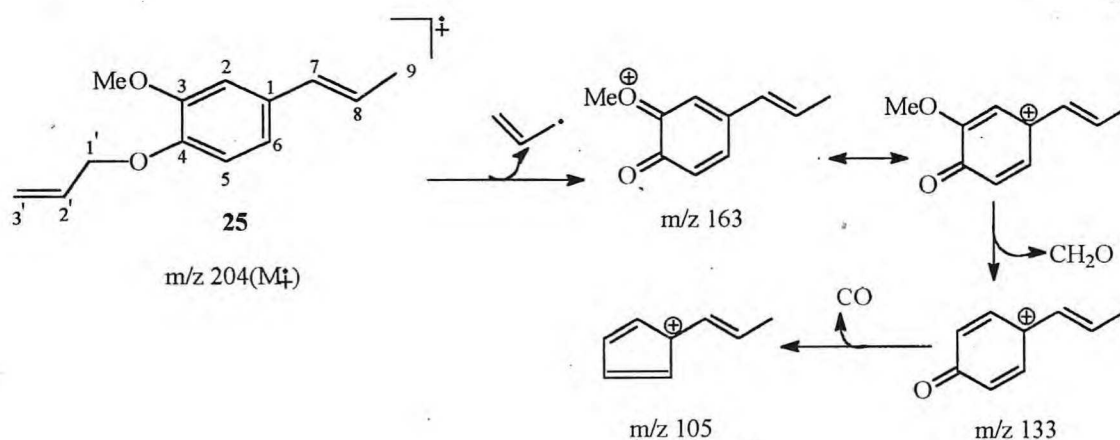
C	$\delta_c$	$\delta_H^a$
1	132,41	-
3	148,90	-
4	145,83	-
<b>CH</b>		
2	111,73	6,67(sl)
5	113,12	6,72(d, J=8,0)
6	119,83	6,65(dl, J=8,0)
8	137,11	6,1-5,8(m)
2'	133,08	6,1-5,8(m)
<b>CH<sub>2</sub></b>		
7	39,25	3,27(d, J=6,6)
9	115,04	5,03(d, J=16,5) 5,02(d, J=10,4)
1'	69,31	4,49(d, J=5,4)
3'	116,94	5,34(dd, J=17,1e1,5) 5,20(dd, J=10,4 e 1,5)
<b>CH<sub>3</sub></b>		
MeO-3	55,16	3,77(s)

<sup>a</sup> Os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hz, e os deslocamentos químicos em  $\delta$  (ppm).

O O- alileugenol foi posteriormente submetido a reação de isomerização, descrita no ítem 1.3.1.1.a, p. 40, e obteve-se um material oleoso amarelo amarronzado.

No cromatograma do EM do O-aliliseugenol apareceram dois picos com tempos de retenção:  $T_r=12,520$  min e  $T_r=13,370$  min que correspondem aos isômeros *cis* (24%) e *trans*, respectivamente, sendo o último em maior proporção (63%) (Fig. 39, p. 104).

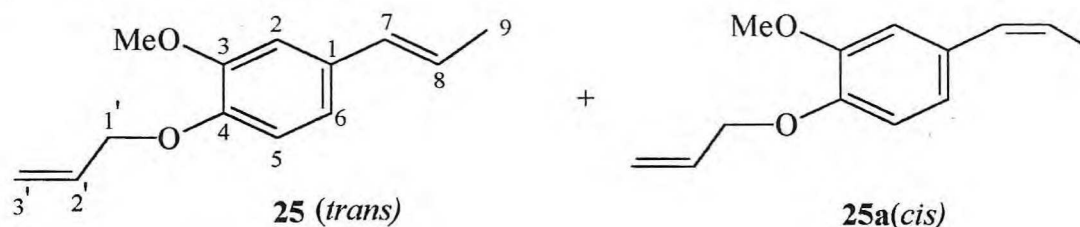
O espectro de massa do isômero *trans* (Fig.40, p. 105), apresentou principalmente os picos em  $m/z$  204( $M^+$ ), 163(100%), 133(10%), 105(30%), justificados através das fragmentações mostradas no Quadro 07, p. 28.



### Quadro 07

A isomerização do O-alileugenol foi também confirmada através de dados de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 41, p. 106), RMN  $^{13}\text{C}$ - PND (Fig. 42, p. 107) e DEPT 135° (Fig. 43, p. 108) (Tabela 11).

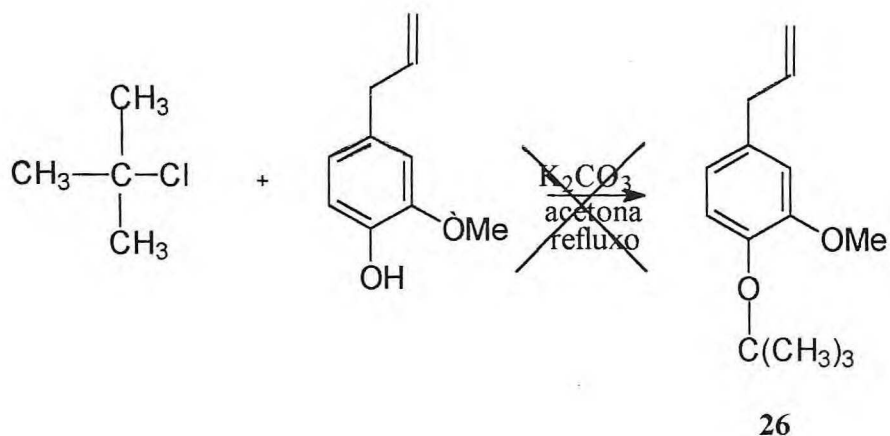
Tabela 11. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (50,3 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  como solvente do O-alilisoegenol.



C	$\delta_{\text{C}}(\text{trans})$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}(\text{cis})$
1	130,54	-	130,15
3	148,65	-	148,20
4	146,39	-	145,92
<b>CH</b>			
2	108,28	6,87(s)	111,83
5	112,60	6,82(d, J=6,4)	112,28
6	117,72	6,82(d, J=6,4)	120,48
7	129,97	6,35(d, J=16,9)	128,84
8	122,51	6,2-5,6(m)	124,16
2'	132,69	6,2-5,6(m)	132,69
<b>CH<sub>2</sub></b>			
1'	68,75	4,54(d, J=5,2)	68,75
3'	116,44	5,34(dd, J=17,2 e 1,5) 5,20(dd, J=10,4 e 1,5)	116,44
<b>CH<sub>3</sub></b>			
9	17,43	1,85(d, J=5,42)	13,75
MeO-3	54,67	3,83(s)	54,67

<sup>a</sup> Os valores da constante de acoplamento (J) estão em Hz, e os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm.

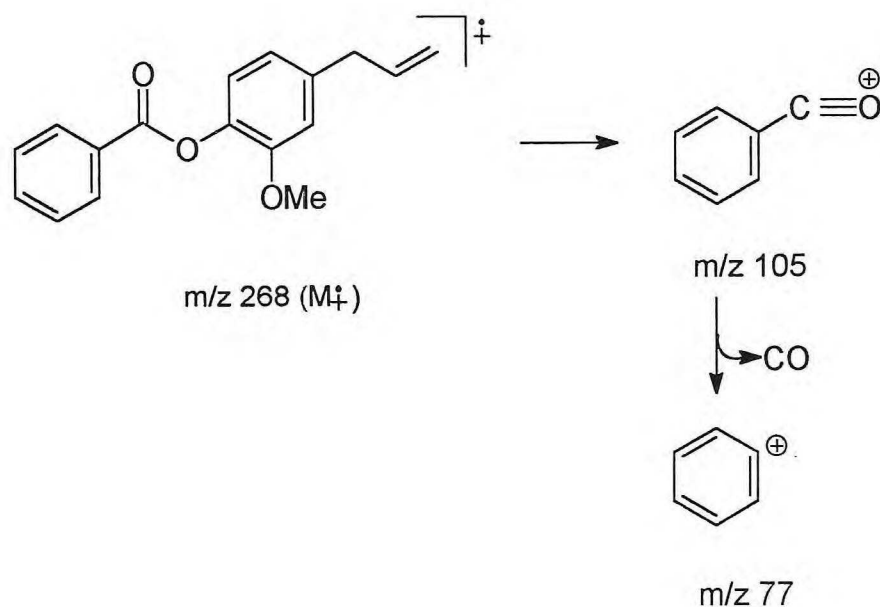
## f) Éter isobutílico (26)



## g) Benzoilação (27)

O eugenol foi benzoilado de acordo com a técnica descrita no ítem 1.3.1.1.g, p. 43, obtendo-se uns cristais brancos na forma de agulha.

O espectro de massa (Fig. 44, p. 109), apresentou picos principais em  $m/z$  268(65%) (ion molecular  $M^+$ ), 105 (100%) e 77( 80 %), justificados de acordo com as fragmentações mostradas no Quadro 08, p.30.

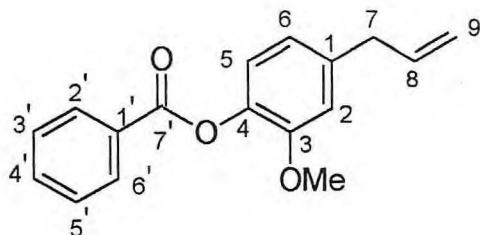


#### Quadro 08

A benzoilação também foi confirmada através dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 45, p. 110), RMN  $^{13}\text{C}$ - PND (Fig. 46, p. 111) e DEPT  $90^\circ$  (Fig. 47, p. 112) e  $135^\circ$  (Fig. 48, p. 113) (Tabela 12, p. 31), COLOC (Fig. 49, p. 114), HETCOR (Fig. 50, p. 115) e COSY (Fig. 51, p. 116). Atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono e hidrogênio (Tabela 12) foi feita com base na interpretação dos espectros bidimensionais de correlação heteronuclear através de uma ligação ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^1J_{\text{CH}}$ , Fig. 50) e a longa distância [ $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^nJ_{\text{CH}}$  ( $n=2$  e  $3$ ), Fig. 49]. Por exemplo, o C-3 ( $\delta\ 150,9$ ) foi facilmente localizado através de correlação a longa distância ( $^3J_{\text{CH}}$ ) com os hidrogênios metoxílicos ( $\delta\ 3,80$ ). Este carbono, tem também um pico de correlação com o sinal em  $\delta\ 7,10$  (d,  $J=7,7\text{Hz}$ ) inequivocamente atribuído ao H-5. A partir de H-5, pode-se atribuir o deslocamento químico de C-5 utilizando-se o espectro de correlação heteronuclear através de uma ligação ( $^1J_{\text{CH}}$ ). Deste modo, foram correlacionados todos os átomos de carbono e hidrogênio do benzoileugenol e por analogia os do acetileugenol.



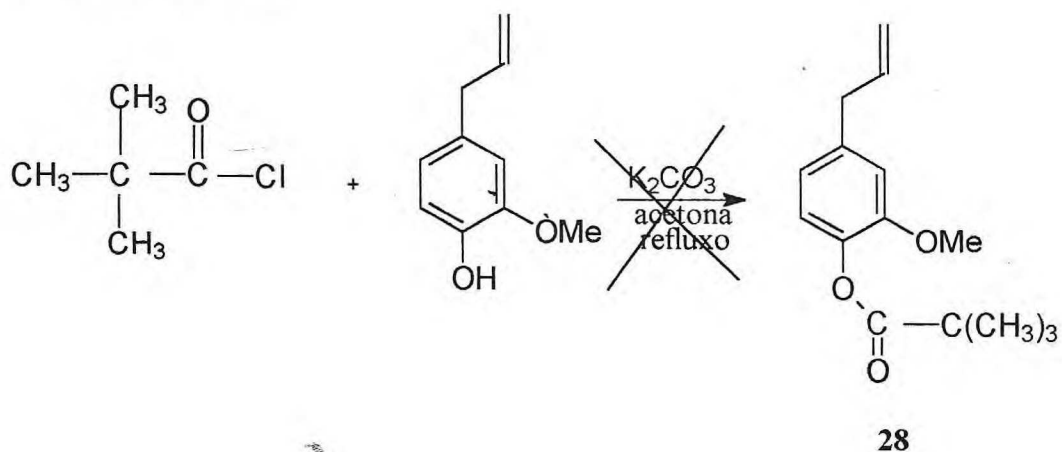
Tabela 12. Dados de RMN  $^1\text{H}$  ( 200 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (50,3 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  como solvente do O- benzoileugenol.


 $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{COSY} - ^1\text{J}_{\text{CH}}$ 
 $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{COSY} - ^n\text{J}_{\text{CH}}$ 

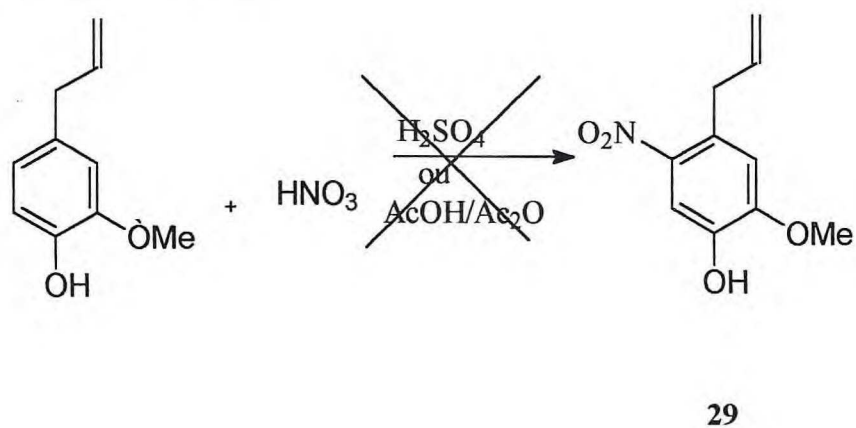
C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
1	138,8	-	2H-7	H-5
3	150,9	-	H-2	H-5, MeO-3
4	138,0	-		2H- 2,6
1'	129,3	-		2H- 3',5'
7'	164,7	-		2H- 2',6'
<b>CH</b>				
2	112,6	6,86(s)		
5	122,5	7,10(d, J=7,7)		
6	120,5	6,84(dd, J= 7,7 e 2,0)		
8	136,9	6,15-5,90(m)	2H-7	
2',6'	128,3	8,25(dl, J=7,7)		
3',5'	130,1	7,50(tl, J=7,7)		
4'	133,2	7,63(tl, J=7,7)		
<b>CH<sub>2</sub></b>				
7	39,9	3,43(d, J=6,6)		
9	116,0	5,22-5,10(m)		
<b>CH<sub>3</sub></b>				
MeO-3	55,7	3,80(s)		

O O-benzoileugenol não foi submetido a reação de isomerização devido a probabilidade de hidrólise do composto em meio alcalino.

**i) Trimetilacetato (28)**



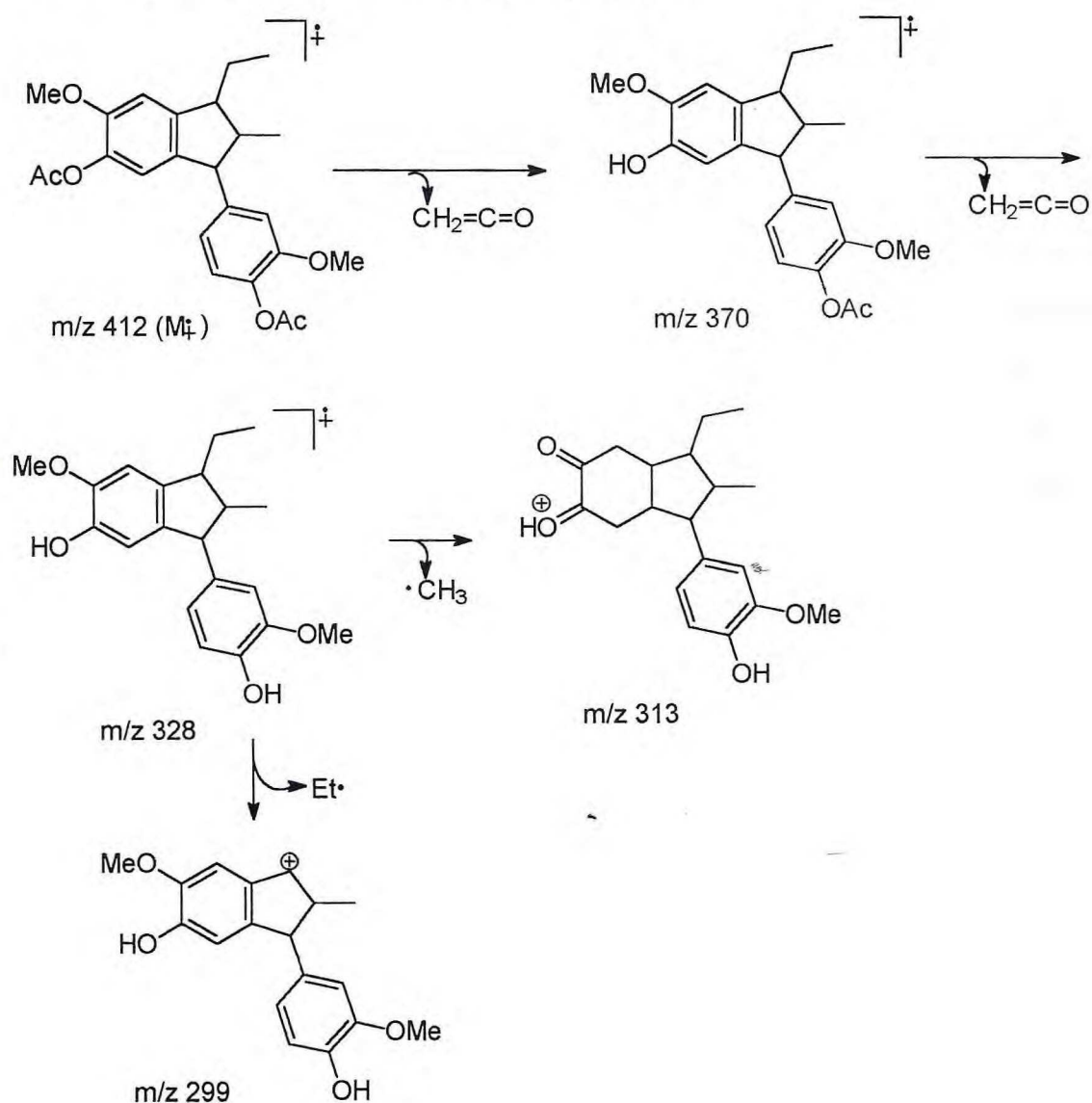
**j) Nitroeuugenol (29)**



### k) Dímero acetilado (30)

O di-isoeugenol (dímero), foi acetilado de acordo com a técnica descrita no ítem 1.3.1.1.j, p. 44 , obtendo-se um sólido cristalino amarelo claro.

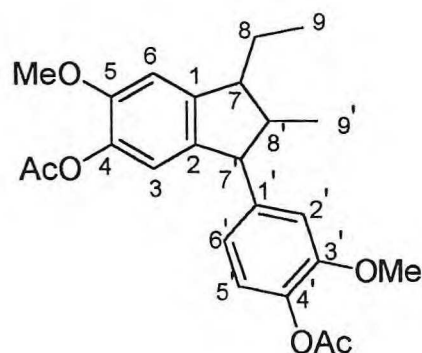
O espectro de massa (Fig. 52, p. 117), apresentou os principais picos em  $m/z$  412(34%)(ion molecular  $M^+$ ), 370(77%), 328(99,8%), 299(100%) justificados de acordo com as fragmentações mostradas no Quadro 09.



Quadro 09

A acetilação foi também confirmada através de dados de RMN  $^1H$  (Fig. 53, p. 118), RMN  $^{13}C$ -PND (Fig. 54, p. 119) e DEPT 135° (Fig. 55, p. 120) (Tabela 13, p. 34).

Tabela 13. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (50,3 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  como solvente do di-isoeugenol acetilado.



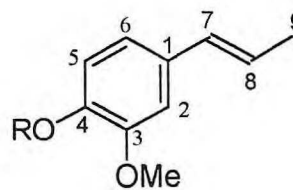
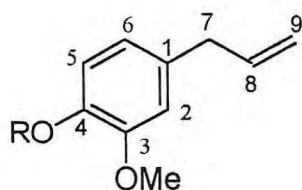
C	$\delta_c$	$\delta_H$
1	137,7	-
2	137,4	-
3	111,3	6,57(s)
4	145,2	-
5	148,9	-
6	108,2	6,85(s)
7	48,1	3,0- 2,8 (m)
8	21,3	1,8-1,6 (m, Ha) 1,5-1,3 (m, Hb)
9	11,4	0,97 (t, J=7,3)
MeO-5	55,2	3,83(s)
1'	137,3	-
2'	108,2	6,68(d, J=2,0)
3'	150,1	-
4'	141,7	-
5'	111,4	6,93(d, J=8,5)
6'	121,5	6,72(dd, J= 8,5 e 2,0)
7'	55,8	3,78(d, J=8,5)
8'	48,7	2,6-2,4 (m)
9'	12,9	1,02(d, J=7,1)

MeO-3'	55,0	3,74(s)
Me-4	19,9	2,29(s)
Me-4'	19,9	2,23(s)
C=O(4)	168,5	-
C=O(4')	168,4	-

A tabela 14 ( p.36) mostra um estudo comparativo com os dados de RMN  $^{13}\text{C}$  ( 50,3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) de alguns derivados do eugenol e do isoeugenol. De acôrdo com os dados desta tabela podemos concluir que:

- 1) A alquilação do grupo HO-4 desprotege os carbonos C-3 ( não sente efeito  $\gamma$ ) e C-4 (efeito  $\beta$ ).
- 2) A alquilação do grupo HO-4 protege o C-5 ( efeito  $\gamma$ ), sendo que o grupo  $\text{CH}_3$  exerce maior efeito protetor do que o grupo  $\text{CH}_2$ .

Tabela 14. Comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  ( 50,3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS) de alguns derivados do eugenol e do isoeugenol.



I: R=H, II: R=Me, III: R=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>

IV: R= CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>

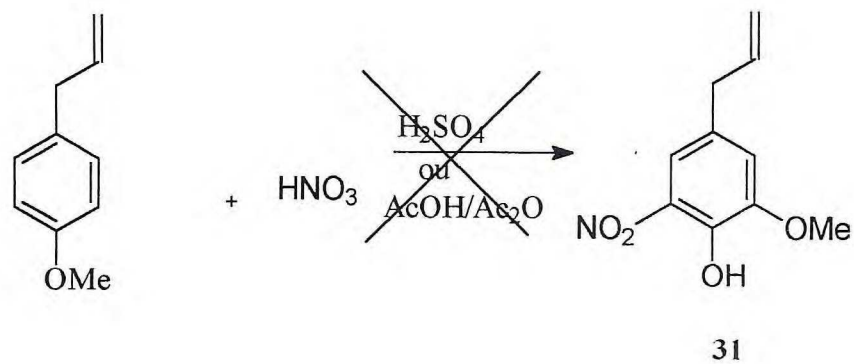
V: R=H, VI: R=Me, VII: R= C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>

VIII: R= CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>

C	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	131,3	131,2	132,5	132,4	130,2	130,8	131,4	130,5
3	146,2	148,0	149,0	148,9	147,2	148,3	149,3	148,6
4	143,5	146,5	146,0	145,8	145,3	148,0	147,1	146,3
<b>CH</b>								
2	110,9	110,4	111,8	111,7	108,8	108,4	108,9	108,2
5	114,1	111,0	113,6	113,1	115,0	111,0	113,8	112,6
6	120,6	119,2	119,8	119,8	119,6	118,5	118,4	117,7
7	-	-	-	-	131,3	130,6	130,4	129,9
8	137,5	136,7	137,0	137,1	123,1	123,2	123,7	122,5
<b>CH<sub>2</sub></b>								
7	39,3	38,5	39,2	39,2	-	-	-	-
9	114,8	114,1	114,9	115,0	-	-	-	-
<b>CH<sub>3</sub></b>								
9	-	-	-	-	18,1	18,1	18,2	17,4
MeO-3	55,0	54,3	55,0	55,1	55,4	55,3	55,7	54,6
MeO-4	-	54,2	-	-	-	55,3	-	-

## 1.2.2. DERIVADO DO ANETOL

## a) Nitroanetol (31)

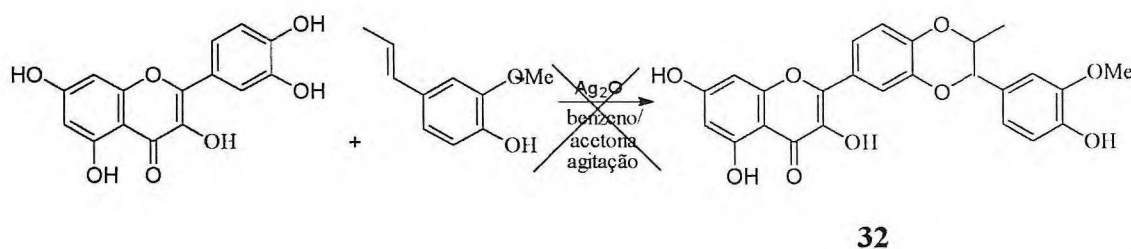


### 1.2.3. REAÇÕES DE ACOPLAMENTO OXIDATIVO

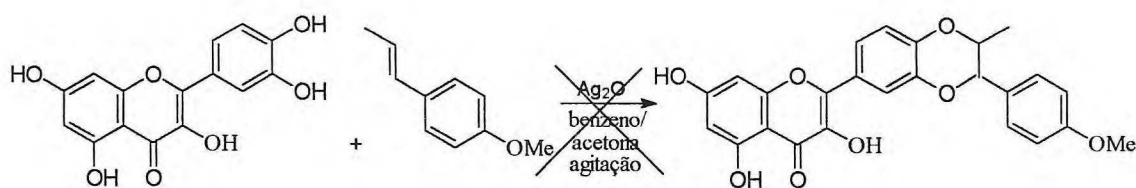
Como já mencionado na Introdução Geral, nosso objetivo inicial envolvia a síntese de flavonolignanas com atividades biológicas.

Para a produção destas flavonolignanas utilizou-se a reação de flavonóides contendo sistemas *orto*-dihidroxiados (rutina e quercetina), derivados estirênicos (isoeugenol e anetol) na presença de óxido de prata ( $\text{Ag}_2\text{O}$ ). Reações análogas foram descritas na literatura para a síntese do silibin<sup>1</sup> e para a síntese de cumarinolignóides<sup>2</sup>.

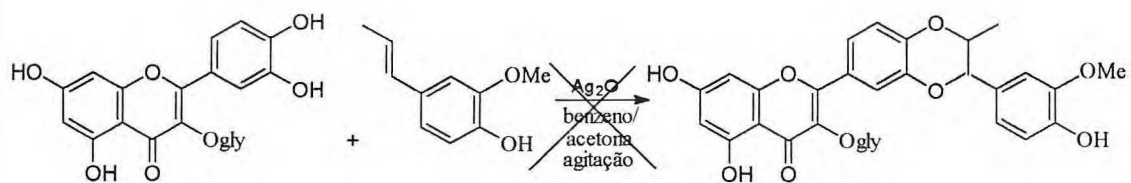
#### a) Acoplamento oxidativo entre a quercetina e o isoeugenol (32)



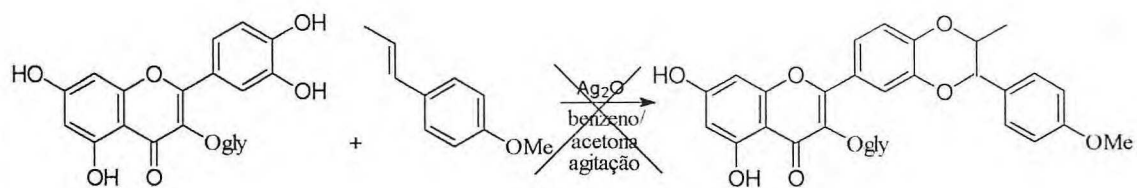
#### b) Acoplamento oxidativo entre a quercetina e o anetol (33)





**c) Acoplamento oxidativo entre a rutina e o isoeugenol (34)**

34

**d) Acoplamento oxidativo entre a rutina e o anetol (35)**

35

### 1.3. EXPERIMENTAL

#### 1.3.1. Material e Métodos

##### 1.3.1.1. Derivados do Eugenol

###### a) Isomerização em meio básico e obtenção do dímero tipo 1-arilindano (7).

A mistura de eugenol (1,5 mL; 9,7 mmol), KOH (6,0 g) e etanol sêco (15 mL) foi refluxada durante 10h. Após a mistura alcançar a temperatura ambiente, adicionou-se HCl até pH ácido e extraíu-se com éter etílico. A solução etérea foi sêca com sulfato de sódio anidro e destilada sob vácuo. O resíduo foi cromatografado em coluna de sílica-gel, usando-se éter de petróleo, CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>/AcOEt (1:1) e AcOEt (100%) como eluentes. As frações eluídas com éter de petróleo forneceram o isoeugenol (6, 1,34 g, 89,30%) e com CHCl<sub>3</sub>/AcOEt (1:1) o di-isoeugenol (7, 0,32 g, 11,0%, p.f.=173,0-175,0°C).

###### b) Acetato (19)

Eugenol (5 mL) foi colocado em um balão (50 mL) e dissolvido com 5 mL da mistura piridina/anidrido acético(1:4), sob agitação. Após 48h de reação, acompanhada por CCD, observou-se a formação do produto acetilado. Adicionou-se água lentamente, 20 mL de HCl 1N, e extraíu-se com clorofórmio em um funil de separação. A solução clorofórmica foi sêca com sulfato de sódio anidro e concentrada em evaporador rotativo sob vácuo. O produto (óleo amarelo claro, 5,3 g, 84,52%) acetilado(O-Acetileugenol) foi caracterizado através de I.V., EM, RMN<sup>1</sup>H e RMN<sup>13</sup>C-PND e DEPT 135°.

###### c) Éter metílico(20) e isomerização (21)

###### \* com CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>

Em um funil de separação de 250 mL foram colocados 30 mL de solução aquosa de KOH 50% e 100 mL de éter etílico. Adicionou-se vagarosamente o N-nitroso-metil-uréia até a fase etérea permanecer com coloração amarelada. Separou-se a fase aquosa e transferiu-se a solução etérea de diazometano para um erlenmeyer contendo o eugenol (5 mL) dissolvido em éter. A mistura reacional foi deixada em repouso por 24h.

Após este período, o éter foi evaporado e o resíduo resultante foi dissolvido em  $\text{CHCl}_3$  e filtrado em pequena quantidade de sílica-gel. O material (óleo amarelo claro, metileugenol, 3,12 g, 57,5%) foi caracterizado através de I.V., EM, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ .

**\* com  $\text{CH}_3\text{I}$  na presença de  $\text{K}_2\text{CO}_3$ <sup>43</sup>.**

Em um balão de 100 mL adaptado com um agitador e a um refrigerador para refluxo total, introduziu-se 5,2 mL (0,03 mol) de eugenol, 2,5 mL (0,14 mol) de iodeto de metila, 4,4 g (0,12 mol) de carbonato de potássio anidro e 50 mL de acetona sêca. Deixou-se a mistura sob refluxo por 8h. Após este período adicionou-se 100 mL de água destilada até dissolução dos sólidos, e extraíu-se com éter etílico. A fase orgânica foi submetida a extração com 50 mL de solução de hidróxido de sódio a 10%, sêca com sulfato de sódio anidro e evaporada. O produto, metileugenol, material oleoso amarelo alaranjado, 4,8 g, 85,7% (com melhor rendimento que com  $\text{CH}_2\text{N}_2$ ) foi caracterizado através de I.V., CGL/EM, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ -PND e DEPT 135°.

A isomerização do metileugenol (5 mL) foi feita usando-se a mesma técnica de isomerização do eugenol. O produto (óleo amarelo alaranjado, 4,46g, 82,3%) foi identificado através de CGL/EM, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ .

**d) Éter benzílico (22) e isomerização (23) .**

O eugenol (10 mL=11,48 g, 0,07 mol) foi dissolvido em 38 mL (0,518 mol) de acetona previamente purificada por tratamento com  $\text{KMnO}_4$  e  $\text{K}_2\text{CO}_3$  anidro (calcinado em mufla a 400°C durante 2h) e destilada. À solução assim obtida, acrescentou-se 9,2 mL (10,23 g; 0,08 mol) de cloreto de benzila (purificado por destilação à pressão reduzida) e 20 g (0,15 mol) de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  anidro. A mistura resultante foi mantida sob refluxo em banho-maria durante 16 h.

Decorrido este período, a fase líquida sobrenadante foi separada do precipitado ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) por filtração em funil de buchner. A acetona foi destilada à pressão reduzida e o óleo resultante (20 g) foi submetido a uma coluna cromatográfica de sílica-gel. As frações coletadas foram analisadas por CCD. A fração obtida por eluição com clorofórmio forneceu, após evaporação do solvente, um óleo amarelado (6,35 g). RMN  $^{13}\text{C}$  e EM permitiram caracterizar este líquido como uma mistura constituída de benzileugenol e cloreto de benzila. A mistura foi então submetida a destilação à pressão

reduzida, sendo o cloreto de benzila coletado a 45°C. O resíduo (óleo amarelo claro, 5,5 g, 30,93%) que permaneceu no balão foi identificado como sendo o O-benzileugenol através de análise de I.V., EM, RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C-PND e DEPT 135°.

O O-benzileugenol (1,5 mL) foi isomerizado usando-se a mesma técnica de isomerização do eugenol. O produto (sólido amorfo branco amarelado, 0,21 g, 14%) foi caracterizado através de CGL/EM, RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C-PND e DEPT 135°, após purificação do produto por cromatografia em coluna de sílica-gel.

#### e) Éter alílico (24)<sup>43</sup> e isomerização (25).

Colocou-se em um balão de 100 mL, adaptado a um agitador e condensador para refluxo, 5,2 mL (0,03 mol) de eugenol, 3,0 mL (0,03 mol) de brometo de alila, 5,0 g (0,14 mol) de carbonato de potássio anidro e 70 mL de acetona sêca. Deixou-se a mistura sob refluxo por 8h. Após este período, adicionou-se 100 mL de água destilada até dissolver o material sólido. A fase líquida foi submetida a extração com éter etílico em um funil de separação. A solução etérea foi lavada com 50 mL de solução de hidróxido de sódio a 10%, sêca com sulfato de sódio anidro e evaporada. O resíduo (óleo amarelo claro, 6,40 g, 99,0 %) obtido foi caracterizado através de CGL/EM, RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C-PND e DEPT 135°.

O alileugenol (1,0 mL) foi isomerizado usando-se a mesma técnica de isomerização do eugenol. O produto (óleo amarelo amarronzado, 0,38 g, 30,9%) da reação foi caracterizado através de análise de CGL/EM, RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C-PND e DEPT 135°.

#### f) Éter isobutílico (26)<sup>43</sup>

Em um balão de 100 mL, equipado com agitador e condensador para refluxo, introduziu-se 5,2 mL (0,03 mol) de eugenol, 3,5 mL (0,03 mol) de cloreto de isobutila, 4,4 g (0,03 mol) de carbonato de potássio anidro e 50 mL de acetona sêca. Deixou-se a mistura reacional sob refluxo por 8h. Após este período, adicionou-se 100 mL de água destilada até dissolver os sólidos e extraíu-se com éter etílico. Lavou-se a fase orgânica com 2x 50 mL de NaOH 10%. Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro e evaporou-se o éter. Não foi obtido o produto esperado.

**g) Ester benzoílico (27)<sup>44</sup>.**

Eugenol (5,5 mL = 0,03 mol) foi dissolvido em solução saturada de bicarbonato de sódio (14,0 g; 0,16 mol) e adicionou-se, gôta a gôta, 3,9 mL (0,03 mol) de cloreto de benzoila. Deixou-se a mistura reacional sob agitação magnética por 24 h. Após este período extraíu-se a fase orgânica com éter etílico. A solução etérea foi lavada com 100 mL de solução de hidróxido de sódio a 10%, secou-se com sulfato de sódio anidro e evaporou-se o éter. O produto (cristais brancos em forma de agulha, 2,0 g, 22,3%) obtido foi caracterizado através de E.M, RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C- PND e DEPT 90 e 135°, COLOC, HETCOR, <sup>1</sup>H x <sup>1</sup>H - COSY.

**h) Trimetilacetato (28)<sup>43</sup>**

Em um balão de 100 mL, equipado com agitador e condensador para refluxo, introduziu-se 5,2 mL (0,03 mol) de eugenol, 4,0 mL (0,03 mol) de cloreto de trimetilacetila, 5,0 g (0,03 mol) de carbonato de potássio anidro e 50 mL de acetona seca. Deixou-se a mistura reacional sob refluxo por 8 h. Após este período, adicionou-se 100 mL de água destilada até dissolver os sólidos e extraíu-se com éter etílico. Lavou-se a fase orgânica com 2x 50 mL de NaOH 10%. Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro e evaporou-se o éter. Não foi obtido o produto esperado.

**i) Nitração do eugenol (29)****\* Com HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.**

Em um balão redondo de 100 mL, colocou-se 1,0 g de eugenol, 1,25 g de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e manteve-se a mistura sob agitação por 30min.(em banho-maria). Após este período, resfriou-se a mistura em banho de gelo. Adicionou-se cuidadosamente, em pequenas porções e com agitação constante, 2,6 mL de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>). A reação foi acompanhada pelo desprendimento de vapores nitrosos. Quando o desprendimento de vapores diminuiu de intensidade, a mistura foi aquecida em banho-maria, dentro da capela, por 2h. Ao fim deste período, resfriou-se a mistura e adicionou-se 10 mL de água, com agitação em banho de gelo. Separou-se o precipitado por filtração em buchner, lavando-se com água gelada para remoção do ácido nítrico usado em excesso. Obteve-se um material resinoso marrom escuro, que foi cromatografado em sílica-gel.

As 17 frações iniciais ( marrons escuras) não foram analisadas por causa da coloração e por isto pensamos que ocorreu uma reação de polimerização.

**\* Com HNO<sub>3</sub>/AcOH/Ac<sub>2</sub>O**

Ao eugenol (0,0076 moles), dissolvido em anidrido acético (16 mL) e resfriado a uma temperatura de 15-20°C, foi adicionado, gôta a gôta, ácido nítrico (95%; 0,012 mol) dissolvido em ácido acético (5,0 mL)-anidrido acético (5,0 mL). A mistura reacional foi mantida sob agitação até que todo o ácido nítrico fosse adicionado, cêrca de 10 minutos. Após 2h à temperatura ambiente, a mistura foi aquecida a 50°C por 10min. e resfriada, adicionando-se a seguir 50 mL de água e solução de NaCl. Em seguida extraíu-se com éter etílico. Lavou-se a camada etérea com água, secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro. O produto obtido foi cromatografado em sílica-gel. Obteve-se 30 frações, onde nenhuma das frações correspondeu ao produto esperado.

**j) Acetilação do di-isoegenol (30)**

O di-isoegenol (1,0 g, 7) foi acetilado usando-se a mesma técnica de acetilação do eugenol(b). O produto ( sólido amorfo branco amarelado, 0,65 g, 52,0%) da reação foi caracterizado através de E.M., RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C- PND e DEPT 135°.

**1.3.2. Derivados do anetol**

**a) Nitração do anetol**

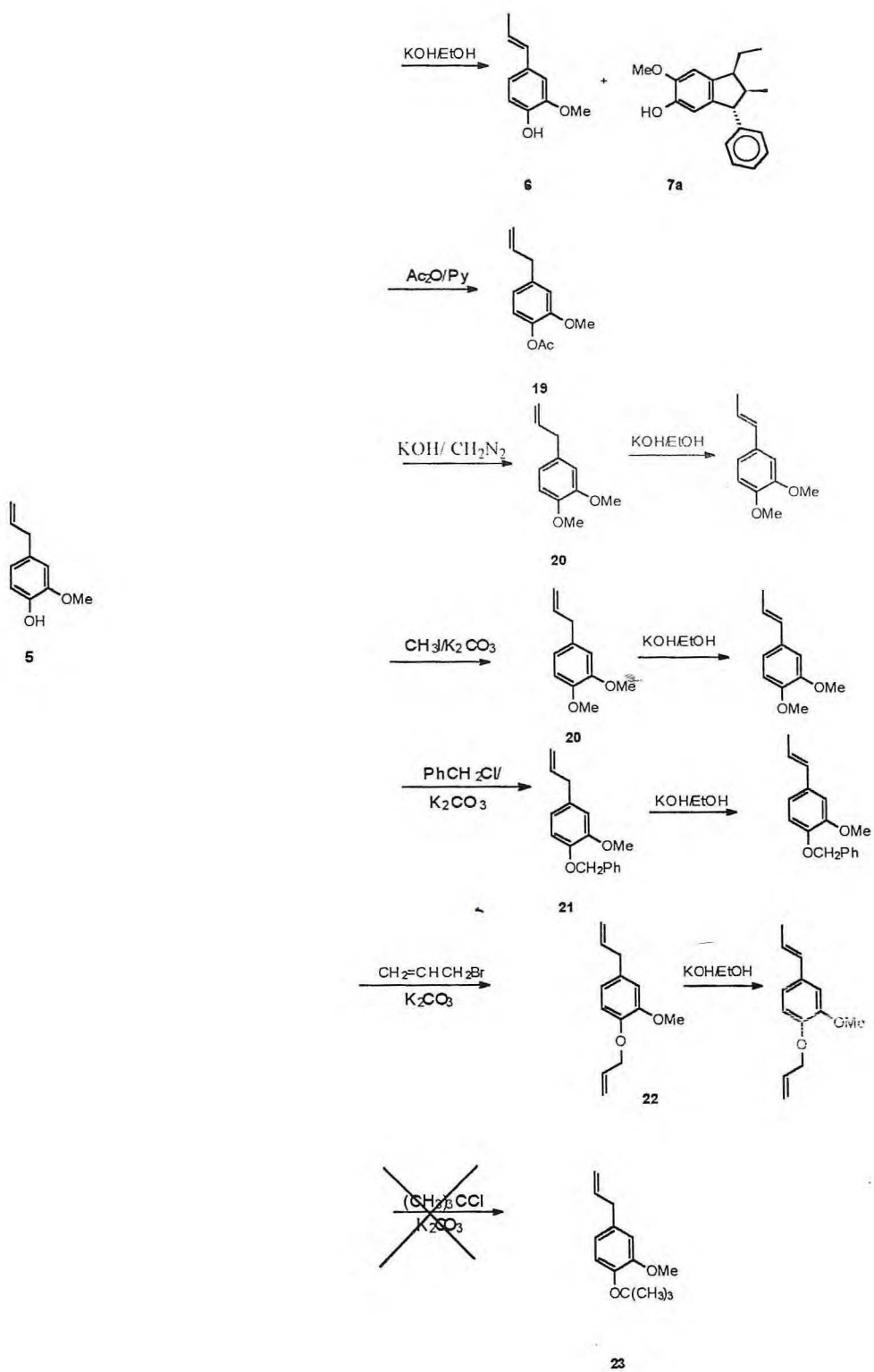
**\* Com HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**

A reação de nitração do anetol foi feita usando-se a mesma técnica de nitração do eugenol( com HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). O produto obtido foi cromatografado em sílica-gel. Obteve-se 23 frações, onde nenhuma delas correspondeu ao produto esperado.

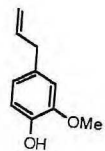
**\* Com HNO<sub>3</sub>/AcOH/Ac<sub>2</sub>O**

A reação de nitração do anetol foi feita usando-se a mesma técnica de nitração do eugenol( com HNO<sub>3</sub>/AcOH/Ac<sub>2</sub>O ). O produto obtido(1,7449 g) foi cromatografado em sílica-gel. Obteve-se 184 frações, onde nenhuma delas correspondeu ao produto esperado.

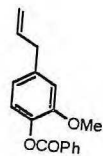
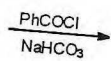
## ESQUEMA 06 - Derivados reacionais do eugenol



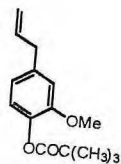
CONT. DO ESQUEMA 06



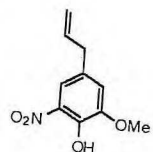
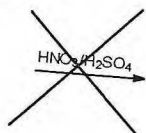
6



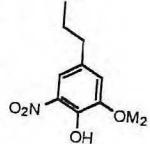
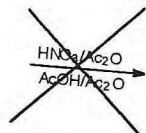
24



25



26



27



### 1.3.3. DERIVADOS DAS REAÇÕES DE ACOPLAMENTO OXIDATIVO

#### a) Reação de acoplamento oxidativo entre a quercetina e o isoeugenol<sup>1</sup>

Quercetina (453,00 mg; 0,0015 mol) e isoeugenol (246,00 mg; 0,0015 mol) foram dissolvidos em benzeno:acetona secos (18:5 v/v). Foi adicionado à mistura 1,5 g de óxido de prata ( $\text{Ag}_2\text{O}$ ) e a suspensão foi agitada por 40h a 55°C, quando se verificou por CCD ( $\text{CHCl}_3$ :AcOEt:Acetona, 18:1:1 v/v) a ausência de material de partida. Foi observado uma mudança na coloração da mistura reacional, de roxo para amarelo esverdeado. A mistura foi filtrada em papel de filtro, centrifugada (para separar o precipitado) e o solvente foi destilado à vácuo. Foi feita uma coluna cromatográfica do produto obtido usando-se como eluentes  $\text{CHCl}_3$ /MeOH(50/50) coletando-se as frações de 1 a 8 e MeOH(100%) as frações de 9 a 21. A fração 2 forneceu um material sólido com p.f.=206,4-209,8°C e a fração 4 forneceu também um material sólido com p.f.=257,0-266,0°C. As frações 2,3 e 4 foram acetiladas com anidrido acético e piridina, e posteriormente foram analisadas através dos métodos espectrométricos convencionais. Observou-se que o produto esperado não foi obtido.

#### b) Reação de acoplamento oxidativo entre a quercetina e o anetol

Quercetina (906,00 mg; 0,003 mol) e anetol(440,00 mg; 0,003 mol) foram dissolvidos em benzeno:acetona secos(18:5 v/v). Adicionou-se à mistura reacional 1,5 g de óxido de prata e a suspensão foi agitada por 66 h a 55°C, até que por CCD( $\text{CHCl}_3$ :AcOEt:Acetona, 18:1:1 v/v) verificou-se a ausência de material de partida. A mistura reacional foi filtrada, o solvente foi evaporado á vácuo, e o produto, um material oleoso, foi cromatografado em sílica-gel, e eluído com:

$\text{CHCl}_3$ /MeOH(95/5)- frações 1 a 6

$\text{CHCl}_3$ /MeOH(90/10)- frações 7 a 9

$\text{CHCl}_3$ /MeOH(80/20)- frações 10 a 12

$\text{CHCl}_3$ /MeOH(50/50)- frações 13 a 14

MeOH(100%)- fração 15

As frações foram analisadas por CCD, reunindo-se àquelas que se mostraram semelhantes. Juntou-se as frações: 3-5, 6-7 e 9-14. As frações 3-5 e 6-7 foram acetiladas

e posteriormente foram analisadas através dos métodos espectrométricos convencionais. Observou-se que o produto esperado não foi obtido.

**c) Reação de acoplamento oxidativo entre a rutina e o isoeugenol**

Rutina (1,83 g; 0,003 mol) e isoeugenol (540,00 mg; 0,003 mol) foram dissolvidos em benzeno:acetona sêcos (18:5 v/v). Adicionou-se à mistura reacional 1,5 g de óxido de prata e a suspensão foi agitada por 48h a 55°C, quando se verificou por CCD (CHCl<sub>3</sub>:AcOEt:Acetona, 18:1:1 v/v) a ausência de material de partida. A mistura reacional foi filtrada, o solvente evaporado à vácuo, e o produto, um material oleoso (1,1648 g), foi cromatografado em sílica-gel, e eluído com: hexano, CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH e MeOH com gradiente crescente de polaridade. Obteve-se 32 frações que foram analisadas por CCD e reuniu-se àquelas que se mostraram semelhantes. Juntou-se as frações: 3-7, 8-11, 12-24 (rutina), 25-27 e 29-30.

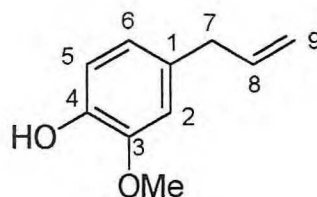
A fração 2 (106,50mg) desta coluna foi recromatografada em sílica-gel eluindo-se com: hexano, hexano/CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>/acetato e acetato com gradiente crescente de polaridade. Obteve-se 58 frações que foram analisadas por CCD reunindo-se àquelas que se mostraram semelhantes. As frações foram posteriormente analisadas pelos métodos espectrométricos convencionais. Observou-se que o produto esperado não foi obtido.

**d) Reação de acoplamento oxidativo entre a rutina e o anetol**

Rutina (1,8300 g; 0,003 mol) e anetol (500,00 mg; 0,003 mol) foram dissolvidos em benzeno:acetona sêcos (18:5 v/v). Adicionou-se à mistura reacional 1,5 g de óxido de prata e a suspensão foi agitada por 60h a 55°C, até que por CCD (CHCl<sub>3</sub>:AcOEt:Acetona, 18:1:1 v/v) verificou-se a ausência de material de partida. A mistura reacional foi filtrada, o solvente evaporado à vácuo, e o produto, um material oleoso (990,00mg), foi cromatografado em sílica-gel, e eluído com: CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH e MeOH com gradiente crescente de polaridade. Obteve-se 40 frações que foram analisadas por CCD e reuniu-se àquelas que se mostraram semelhantes. A fração 1 era anetol. As frações 9-10, 11 e 15-29 foram acetiladas. As frações foram posteriormente analisadas pelos métodos espectrométricos convencionais. Observou-se que o produto esperado não foi obtido.

#### 1.4. CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS DO EUGENOL E DE SEUS DERIVADOS.

⇒EUGENOL (5)



Líquido amarelo

F.M.: C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>

P.M.: 164

Espectrometria de Massa: m/z(%)

164(100), 149(35), 131(33), 103(45), 91(42), 77(52), 55(30), 51(27)

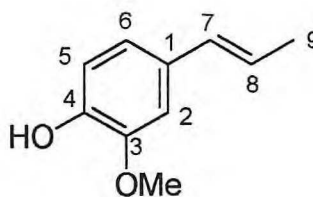
Espectrometria na região do I.V.: KBr (cm<sup>-1</sup>)

3560, 3480, 3320, 3080, 2820, 1640, 1610, 1510, 1460, 1440, 1370, 1270, 1240, 1210, 1150, 1119, 1020, 920, 860, 830, 810, 750.

Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H ( 200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): Tabela 01, p. 7.

Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C ( 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): Tabela 01, p.7

## =&gt;ISOEUGENOL (6)



Líquido marrom

F.M.:  $C_{10}H_{12}O_2$

P.M.: 164

Espectrometria de Massa: m/z (%)

164(100), 149(40), 131(42,5), 103(55), 91(50), 77(60), 55(40), 51(30).

Espectrometria na região do I.V. : KBr ( $cm^{-1}$ )

3415, 3009, 2970, 2936, 1676, 1596, 1513, 1461, 1430, 1372, 1268, 1230, 1152, 1125, 1032, 755.

Espectrometria de RMN  $^1H$  ( $\approx 200$  MHz,  $CDCl_3$ , ppm):

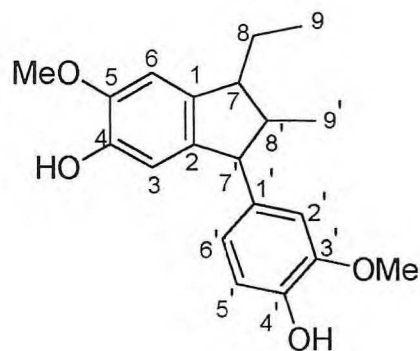
1,86(d, Hz, H-9), 3,33(d, , H-7), 3,84(s, MeO-3), 5,05(s, OH).

Espectrometria de RMN  $^{13}C$  ( 50,3 MHz,  $CDCl_3$ , ppm):

18,1 (C-9), 55,4( MeO-3), 108,8(C-2), 115,0(C-5), 119,5(C-6), 123,1(C-8), 130,2(C-1), 131,3(C-7), 145,3(C-4), 147,2(C-3).

## ⇒DI- ISOEUGENOL (7)

Sólido cristalino branco

F.M.: C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>

P.M.: 328

p.f.: 173,0- 175,0°C

Espectrometria de Massa: m/z (%)

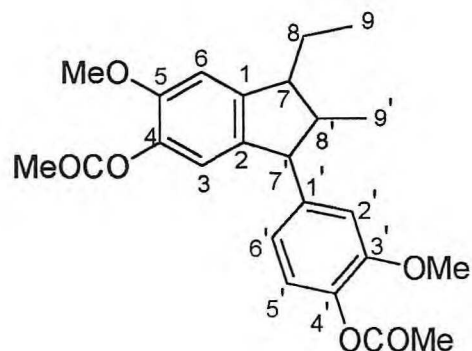
328(55),289(100), 258(5), 205(25), 189(7), 181(5), 175(15), 149(10), 131(6), 119(5), 105(5), 83(24),69(19).

Espectrometria na região do I.V.: KBr (cm<sup>-1</sup>)

3372, 2960, 2928, 2882, 2873, 2842, 1609, 1524, 1500, 1489, 1431, 1341, 1310, 1277, 1226, 1203, 1183, 1120, 1068, 1034.

Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): Tabela 02, p.15Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C ( 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): Tabela 02, p.15

## ⇒DI-ISOEUGENOL ACETILADO (30)

F.M.: C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub>

P.M.: 412

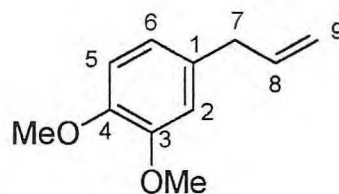
Espectrometria de Massa: m/z (%)

412(33), 370(77), 341(20), 328(99), 311(5), 299(100), 283(5), 267(9), 239(8), 204(65),  
189(17), 175(23), 165(7), 145(6), 137(13), 115(7), 83(6).

Espectrometria na região do I.V.: KBr (cm<sup>-1</sup>):

2957, 1762, 1501, 1454, 1420, 1372, 1301, 1255, 1221, 1197, 1149, 1119, 1031, 911.

Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): Tabela 13, p. 34Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C (50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): Tabela 13, p. 34

$\Rightarrow$ O- METILEUGENOL (20)

Óleo amarelo claro

F.M.:  $C_{11}H_{14}O_2$

P.M.: 178

Espectrometria de Massa:  $m/z$ (%)

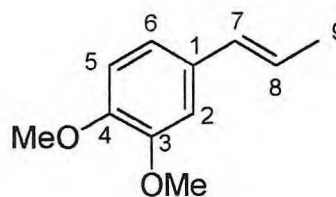
178(100), 163(35), 147(37,5), 107(47,5), 103(52,5), 91(65), 79(25), 77(30), 65(25), 63(17,5), 51(25).

Espectrometria na região do I.V.: KBr ( $cm^{-1}$ )

3001, 2976, 2908, 2834, 1638, 1606, 1591, 1515, 1464, 1432, 1419, 1337, 1261, 1236, 1189, 1154, 1140, 1030, 995, 914, 807, 766.

Espectrometria de RMN  $^1H$  (200 MHz,  $CDCl_3$ , ppm): Tabela 06, p. 21

Espectrometria de RMN  $^{13}C$  (50,3 MHz,  $CDCl_3$ , ppm): Tabela 06, p. 21

$\Rightarrow$ O- METILISOEUGENOL (21)F.M.:  $C_{11}H_{14}O_2$ 

P.M.: 178

Espectrometria de Massa: m/z (%)

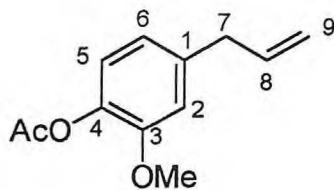
178(100), 163(52,5), 147(17,5), 135(22,5), 115(30), 107(92,5), 103(60), 91(82,5), 79(30), 77(37,5), 65(28,7), 63(22,5), 51(27,5).

Espectrometria na região do I.V.: KBr ( $cm^{-1}$ )

3001, 2956, 2930, 2838, 1591, 1513, 1459, 1417, 1263, 1238, 1141, 1028.

Espectrometria de RMN  $^1H$  (200 MHz,  $CDCl_3$ , ppm): Tabela 07, p. 22Espectrometria de RMN  $^{13}C$  (50,3 MHz,  $CDCl_3$ , ppm): Tabela 07, p. 22



$\Rightarrow$ O- ACETILEUGENOL (19)F.M.:C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>

P.M.:206

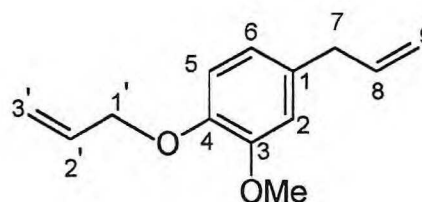
Espectrometria de Massa: m/z(%)

206(5), 164(100), 149(32,5), 137(12,5), 133(20), 131(28,7), 121(20), 104(30), 103(32,5), 91(42,5), 77(30), 65(20), 51(22,5), 43(87,5).

Espectrometria na região do I.V.: KBr (cm<sup>-1</sup>)

1775, 1650, 1610, 1515, 1470, 1375, 1270, 1200, 1150, 1125, 1040, 910, 820, 750.

Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): Tabela 05, p. 19Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C ( 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): Tabela 05, p. 19

$\Rightarrow$ O-ALILEUGENOL (24)F.M.: C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>

P.M.: 204

Espectrometria de Massa: m/z (%)

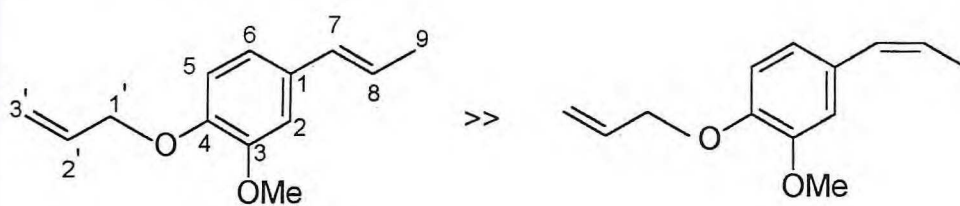
204(28,7), 163(100), 135(22,5), 107(43,7), 103(92,5), 91(82,5), 79(35), 77(42,5), 65(30), 55(20), 51(27,5), 41(100), 39(71,2).

Espectrometria na região do I.V.: KBr (cm<sup>-1</sup>)

3002, 2810, 1638, 1584, 1512, 1464, 1420, 1333, 1261, 1230, 1190, 1133, 1111, 1001, 996, 918, 803.

Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H ( 200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): Tabela 10, p. 27Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C ( 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): Tabela 10, p. 27

⇒O-ALILISOEUGENOL(25)



TRANS(IXa)

CIS(IXb)

F.M.:  $C_{13}H_{16}O_2$

P.M.: 204

Espectrometria de Massa: m/z(%)

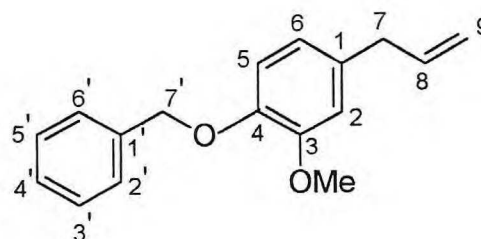
204(25), 163(90), 135(16,2), 115(22,5), 107(100), 103(45), 91(75), 79(27,5), 77(33),  
65(30), 41(57,5), 39(57,3).

Espectrometria na região do I.V.: KBr ( $cm^{-1}$ )

3017, 2959, 2934, 2914, 2876, 2857, 1601, 1583, 1512, 1462, 1418, 1263, 1226, 1158,  
1140, 1023, 998, 964, 926.

Espectrometria de RMN  $^1H$  ( 200 MHz,  $CDCl_3$ , ppm): Tabela 11, p. 28.

Espectrometria de RMN  $^{13}C$  ( 50,3 MHz,  $CDCl_3$ , ppm): Tabela 11, p. 28.

$\Rightarrow$ O- BENZILEUGENOL (22)F.M.: C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>

P.M.: 254

Espectrometria de Massa: m/z(%)

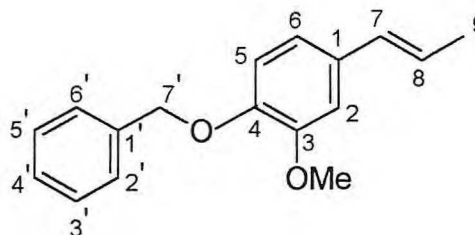
254(5), 163(10), 103(10), 91(100), 65(17,5)

Espectrometria na região do I.V.: KBr(cm<sup>-1</sup>)

2935, 2908, 1591, 1512, 1458, 1419, 1381, 1262, 1227, 1140, 1031, 913, 740, 697.

Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H ( 200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm ): Tabela 08, p. 24Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C ( 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm ): Tabela 08, p. 24

## ⇒O- BENZILISOEUGENOL (23)

F.M.: C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>

P.M.: 254

Espectrometria de Massa: m/z(%)

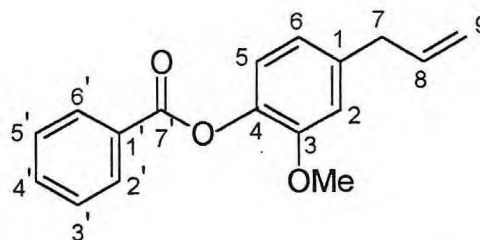
254(ausente), 163(5), 91(100), 79(10), 77(12,5), 65(32,5), 51(15), 41(21,2), 39(30).

Espectrometria na região do I.V.: KBr ( cm<sup>-1</sup>)

2934, 2912, 2860, 1583, 1511, 1457, 1416, 1380, 1260, 1225, 1161, 1137, 1033, 1007, 984, 854, 783, 743, 698.

Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H ( 200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm ): Tabela 09, p. 25Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C ( 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm ): Tabela 09, p. 25

⇒O- BENZOILEUGENOL (27)



Sólido branco cristalino

F.M.: C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>

P.M.: 268

p.f.: 67,5-67,7°C

Espectrometria de Massa: m/z(%)

268(67), 163(7), 131(6), 115(6), 105(100), 91(36), 83(9), 77(80), 65(17).

Espectrometria na região do I.V.: KBr (cm<sup>-1</sup>)

1738, 1603, 1509, 1452, 1421, 1316, 1281, 1262, 1201, 1170, 1148, 1120, 1050, 1033, 999, 912, 803, 707.

Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H ( 200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm ): Tabela 12, p. 31

Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C ( 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): Tabela 12, p. 31

## 1.5. BIBLIOGRAFIA

1. MERLINI, L.; ZANAROTTI, A.; PELTER, A.; ROCHEFORT, M.P. and HÄNSEL, R.: Benzodioxans by Oxidative Phenol Coupling. Synthesis of Sylibin, *J. C. S. Perkin I*, 775-778(1980).
2. ARNOLDI, A.; ARNONE, A. and MERLINI, L. : Synthesis of natural coumarinolignoids Propacin and Cleomiscosin A and B. An empirical spectroscopic method to distinguish regioisomers of natural benzodioxane lignoids, *Heterocycles*, **22**, 1537-1544(1984).
3. BARREIRA, E.S.; MONTE, F.J.Q.; CARVALHO, M.G. e BRAZ-FILHO, R. : Obtenção de dímero tipo arilindano em meio básico. Atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono, *Química Nova*, **18**, 245-249 (1995).
4. SHARMA, D.K. and HALL, I.H. : Hypolipidemic, anti-inflammatory and antineoplastic activity and cytotoxicity of flavonolignans isolated from *Hydnocarpus wightiana* seeds, *J. Nat. Prod.*, **54**, 1298-1302(1991).
5. MULLER, S.; RALTSCHÉWA, M. and PAPP, M. : Resin phenols. I. Dimerization of isoeugenol methyl ether, *Ber.* **75B**, 692-703(1942).
6. PAILER, M.; MÜLLER, U. and PORSCHINSKI, K. : Polymerization of isosafrole and isoeugenol methyl ether. II. The structure of the isosafrole dimer, m. 146°, *Monatsh*, **79**, 620-628(1948).
7. PAILER, M.: Polymerization of isosafrole and isoeugenol methyl ether, *Monatsh*, **77**, 45-51(1947).
8. HAASE, A. : Dimerization of isosafrole and methylisoeugenol, *Acta Polon. Pharm.*, **17**, 241-242(1960).
9. ZAITSEV, B.A.; KISELEVA, R.F.; DENISOV, V.M. and KOL'TSOV, A.I. : Acid-catalyzed dimerization and aralkylation in (di)vinylaromatic compound-aromatic solvent systems, *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. khim.*, (11), 2566-2574(1990).
10. STAROSTINA, E.B.; CHASHCHIN, A.M. and POLYAKOVA, N.P.: Dimerization of camphene in the presence of aqueous perchloric acid solutions, *Gidroliz. hesokhim. Prom-st.*, 19-20(1990).
11. AL-FARHAN, E.; KEEHN, P.M. AND STEVENSON, R.: Arylpropene cyclization and structure of the arylindane product from *Acorus calamus*, *J. Chem. Res., Synop.*, 36-37(1992).
12. AL-FARHAN, E.; KEEHN, P.M. and STEVENSON, R. : Dimerization of isoeugenol, isoeugenyl, methyl ether and isoeugenyl acetate, *J. Chem. Res., Synop.*, 100-101(1992).

13. SARKANEN, K.V. and WALLIS, A.F.A.: Oxidative dimerizations of (E-) and (Z)-isoeugenol (2-methoxy-4-propenylphenol) and (E-) and (Z)-2,6-dimethoxy-4-propenylphenol, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1869-1878(1973).
14. BLACK, D.St.C.; CHOY, A.; CRAIG, D.C.; IVORY, A.J. and KUMAR, N.: Formation of 7,7'-biindolyls by oxidative dimerization of 4,6-dimethoxy-2,3-diphenylindole, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 111-112(1989).
15. SHEVCHENKO, S.M.; APUSHKINSKII, A.G. and GINDIN, V.: Stereoselective oxidative combination of alkenyl phenols, *Khim. Drev.*, 112-114(1990).
16. HUDLICKY, T. et al. : Stereoselective dimerization of arene-cis-diol acetonides derived from the oxidation of halobenzenes by *Pseudomonas putida*: absolute configuration of the adduct by X-ray crystallography, *J. Org. Chem.*, **57**, 1026-1028(1992).
17. INABA, M.; MITSUNE, N. and MIZUTANI, M.: Preparation of 4,4'-biphenols, *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 04,338,347*(1992).
18. ESKINS, K.; GLASS, C.; ROHWEDDER, W.; KLEIMAN, R. and SLONEKER, J.: Dimers of isoeugenol by dye-sensitized photooxidation, *Tetrahedron Lett.*, 861-864(1972).
19. CHIANG, H-C and LI, S.-Y: Studies on the photodimerization of isoeugenol, *J. Chin. Chem. Soc.*, **25**, 141-147(1978).
20. INOUE, Y.; OKANO, T.; YAMASAKI, N. and TAI, A. : Enantiodifferentiating photocyclodimerization of phenyl vinyl ethers and 4-methoxystyrene sensitized by chiral aromatic esters, *J. Photochem. photobiol., A*, **66**, 61-68(1992).
21. MOORTHY, J.N. and VENKATESAN, K.: Unusual photobehavior of crystalline 7-methylcoumarin, *J. Mater. Chem.*, **2**, 675-676(1992).
22. FONSECA, S.F. and ROSSI, E.R.B.: Synthesis of a 7,7'-cyclo lignane and a 7',8'-cyclo-7,8'-neolignane via photodimerization of (E)-cinnamic acid in the solid state, *J. Chem. Res. Synop.*, 406-407(1992).
23. MENG, J.; FU, D. and GAO, Z.: Photodimerization of coumarins in the crystalline state-first example of a non topochemically controlled reaction in the ground state, *Ganguang Kexue Yu Kuang Huaxue*, **10**, 87-90(1992).
24. ZARUBIN, M.Ya. and KUTNEVICH, A.M.: Mechanism of isoeugenol polymerization(dimerization) under the influence of alkalies and the structure of the polymer product, *Izv. Vyssh. Ucheb. Zaved, Les. Zh.*, **12**, 95-98(1969).
25. AMINOFF, H.; BURNOW, G.; FALCK, K. and MIKSCHE, G.E.: Degradation of lignin by Kraft Cooking. IV. Dimerization of coniferyl alcohol in aqueous sodium hydroxide, *Acta Chem. Scand., Ser. B*, **28**, 373-374(1974).



26. OSZBACH,G.; SZABO,D. and VITAI,M.E.: The base-catalyzed dimerization of 2-arylidencyclohexanones, *Acta Chim. Acad. Sci. Hung*, **90**, 51-57(1976).
27. FOSTER,S.J.; REES,C.W. and WILLIAMS,D.J.: 3aH-indenes. Part 3. Base induced dimerization of 3,7a-dihydro-4,7a-dimethyl-5H-inden-5-one. X-ray structure determination of the hexacyclic dimer system, *J.Chem. Soc., Perkin Trans 1*, 711-717(1985).
28. WENDELIN,W.; SCHERMANZ,K. and BREITMAIER,E.: Special reactions of  $\alpha,\beta$ -unsaturated ketones. I. Dimerization of 2-benzyliden-1-indanone in the presence of strong bases, *Monatsh. Chem.*, **119**, 355-365(1988).
29. OHARA,S. and HEMINGWAY,R.W.: Condensed tannins: The formation of a diarylpropanol-catechinic acid dimer from base-catalyzed reactions of (+)-catechin, *J. Wood Chem. Technol.*, **11**, 195-208(1991).
30. SCHUBERT,P.F.: Process for the dimerization of olefins over alkali metal/alkali metal carbonate catalyst; process for minimizing the formation of fines in the catalyst bed, *U.S. US 5,132,483*(1992).
31. MILLER,I.J.: Dimerization of isoeugenol by free radicals, *Tetrahedron Lett.*, 4955-4958(1972).
32. DIAZ,P.J.; MAGRANER,J.; ROSADO,A. and VELEZ,H.: Cyclodimerization of myrcene, *Rev. Cienc. Quim.*, 193-202(1985).
33. ZENG,S.: Preparation of bibenzodioxole compound as medicine for hepatites, *Faming Zhuanli Shenqing Gong-Kai Shuomingshu CN 86,107,486* (1988).
34. NIGMATOV,A.G. and SEREBRYAKOV,E.P.: Cyclodimerization of citral dienamine, *Izv. Akad Nauk SSSR, Ser. Khim.*,(5), 1189-1192(1991).
35. TIEMANN,F.: *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*,**24**, 2870(1891).
36. ANGELI,A. and MOLE,P.: *Gazzetta Ital.*, **24**(II), 127 (1894).
37. MAC MILLAN,J.; MARTIN,I.L. and MORRIS,D.J.: Tricyclic dimers of propenylphenyl ethers- I(NMR and Stereochemistry), *Tetrahedron*, **25**, 905-914(1969).
38. GOTTLIEB,O.R.: *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.*, **35**, 1 (1978).
39. SAXENA,D.B.: Phenyl indane from *Acorus calamus*, *Phytochemistry*, **25**, 553-555(1986).
40. DEROME,A.E.: Modern NMR Techniques for Chemistry Research, Pergamon Press, Oxford (1988).

41. WENKERT,E.; GOTTLIEB,H.E.; GOTTLIEB,O.R.; PEREIRA,M.O. da S. and FORMIGA,M.D.:  $^{13}\text{C}$  NMR Spectroscopy of neolignans, *Phytochemistry*, **15**, 1547-1551(1976).
42. BREITMAIER,E. and VOELTER,W.: Carbon- 13 NMR Spectroscopy: High-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry, 3<sup>a</sup> ed., VHC, Weinheim (1987).
43. CHAVANNE,M.; JULLIEN, A.; BEAUDOIN, G.J. et FLAMAND, E. : *Chimie Organique Experimentale*, 2<sup>a</sup> ed., modulo Éditeur, Quebec, 751 ( 1991 ).
44. BARREIRA,E.S.: Contribuição a análise de drogas por métodos cromatográficos e espectrométricos com auxílio de computador, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará (1987).



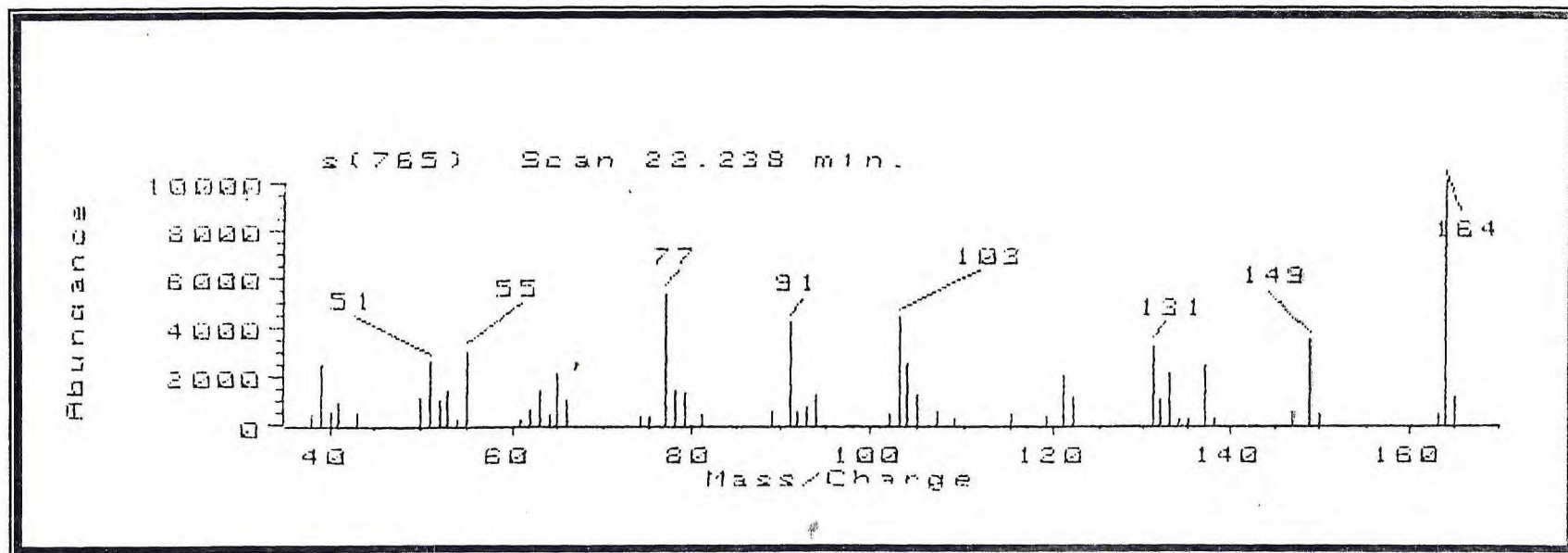


FIGURA 01- Espectro de massa do eugenol

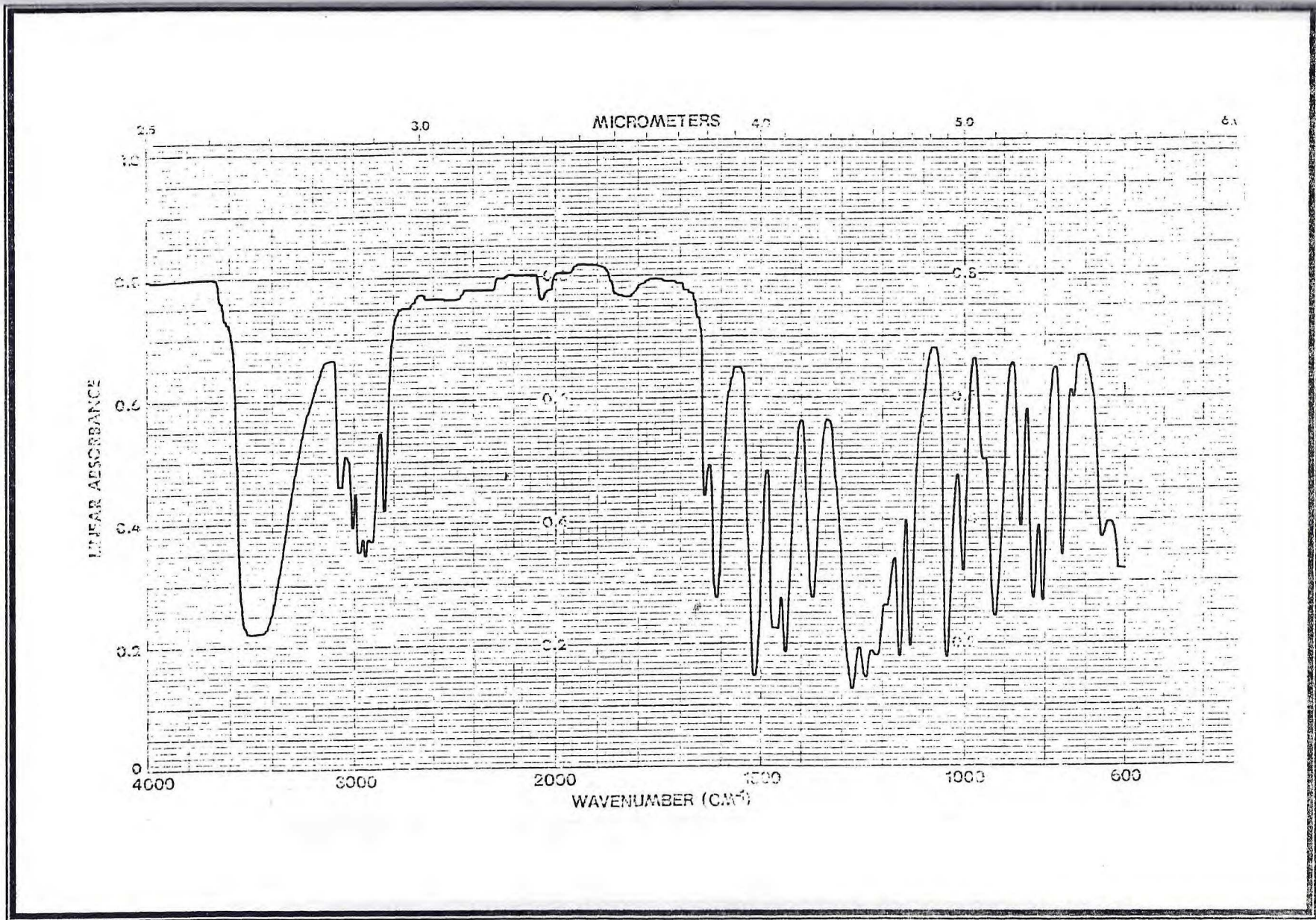


FIGURA 02- Espectro na região do I.V. do eugenol

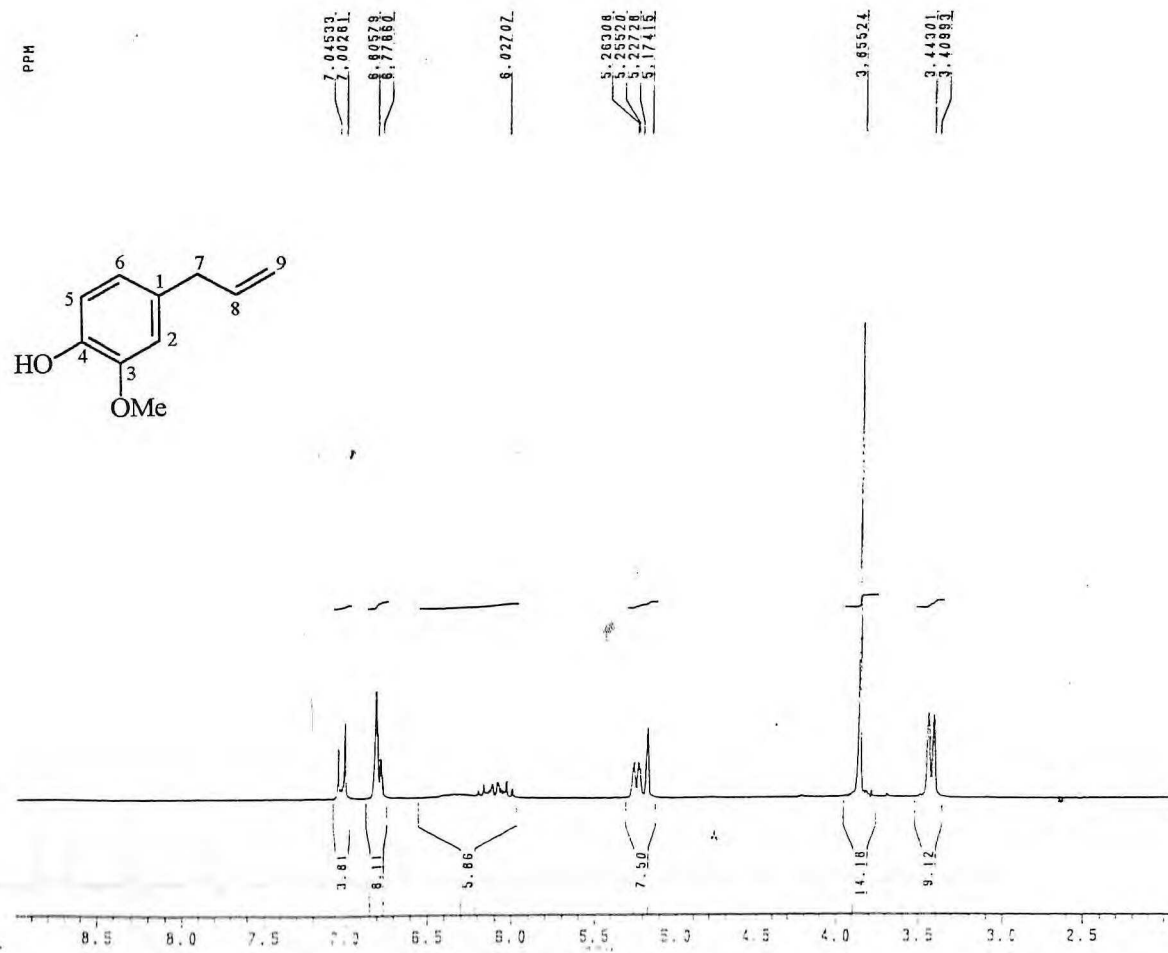


FIGURA 03- Espectro de RMN <sup>1</sup>H do eugenol

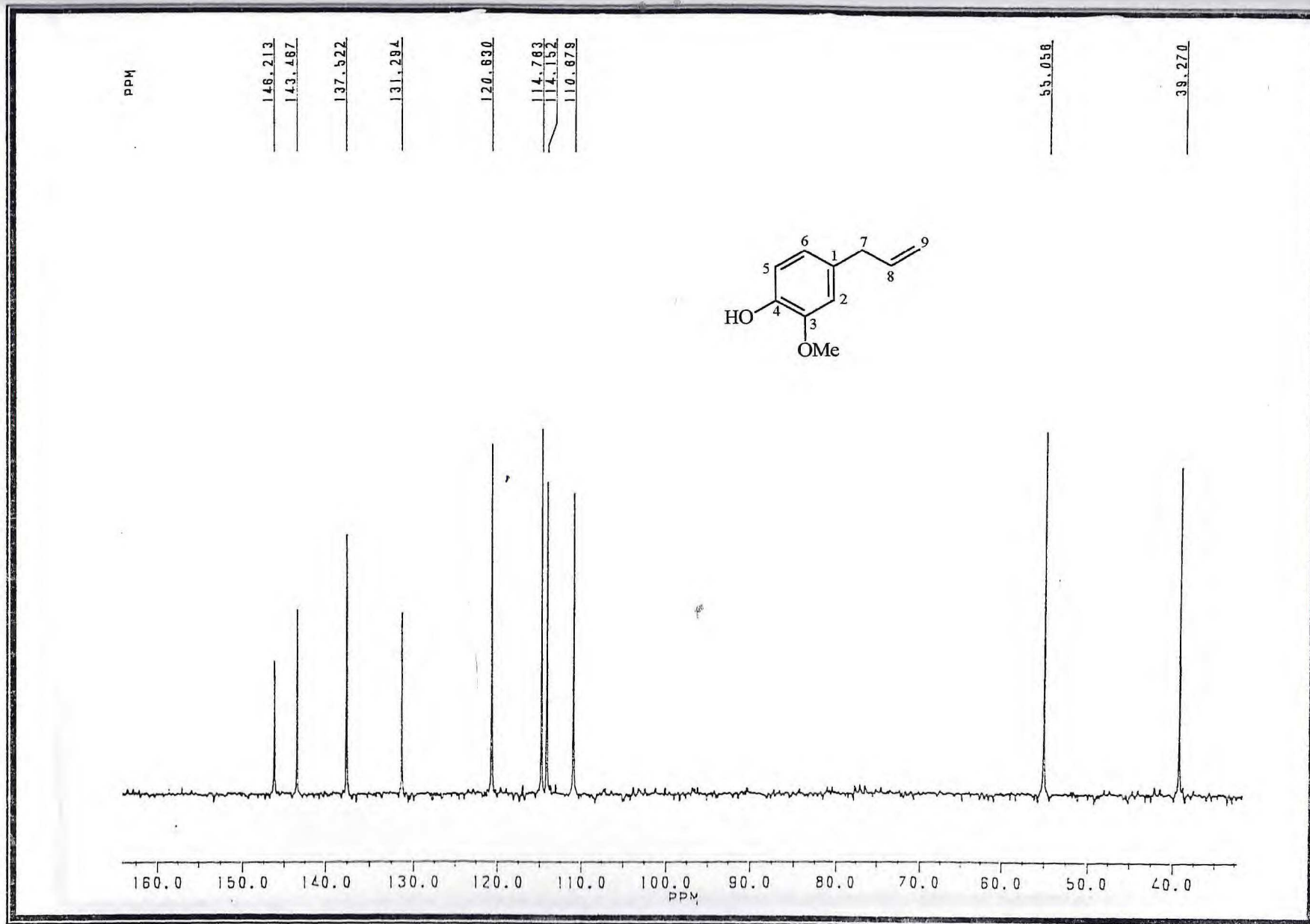


FIGURA 04- Espectro de RMN <sup>13</sup>C do eugenol

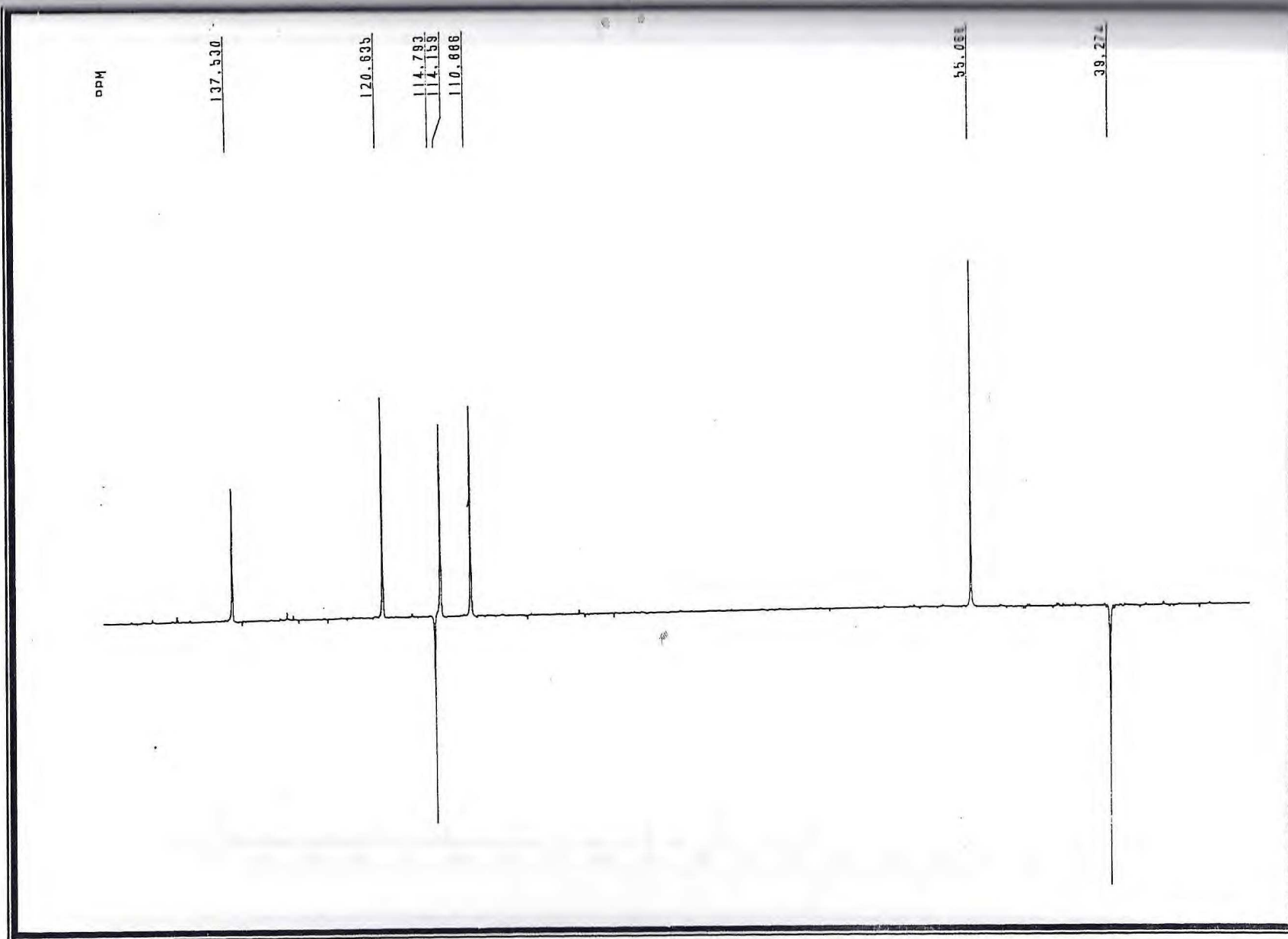


FIGURA 05- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT  $135^\circ$  do eugenol



File:DIISOEUGENOL Ident:62 Acq:18-NOV-1996 16:02:22 +1:51 Cal:PFK  
AutoSpecE EI+ Magnet BpI:679583 TIC:4290182 Flags:HALL  
File Text:Diiso eugenol solido

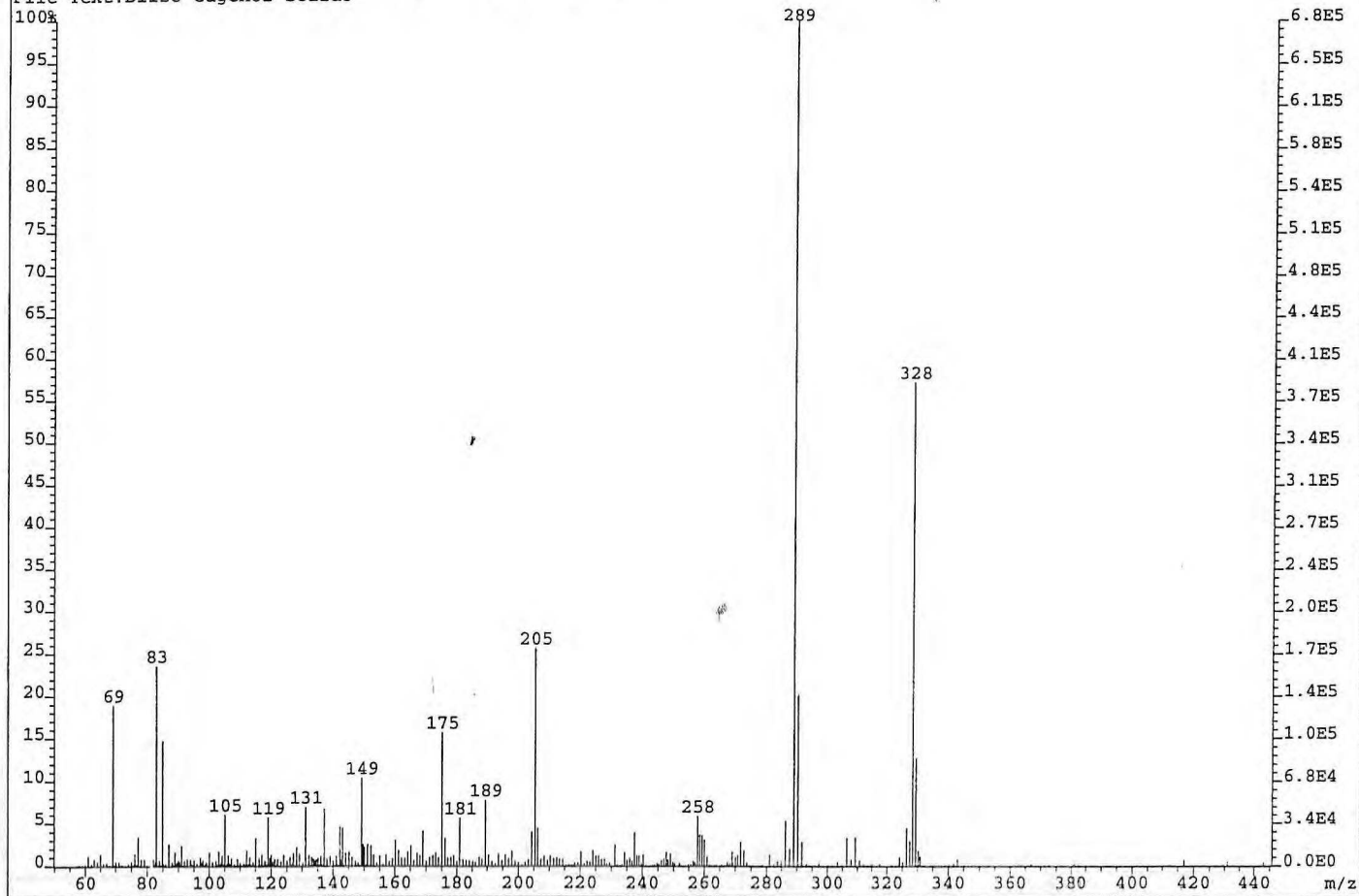


FIGURA 06- Espectro de massa do di-isoeugenol

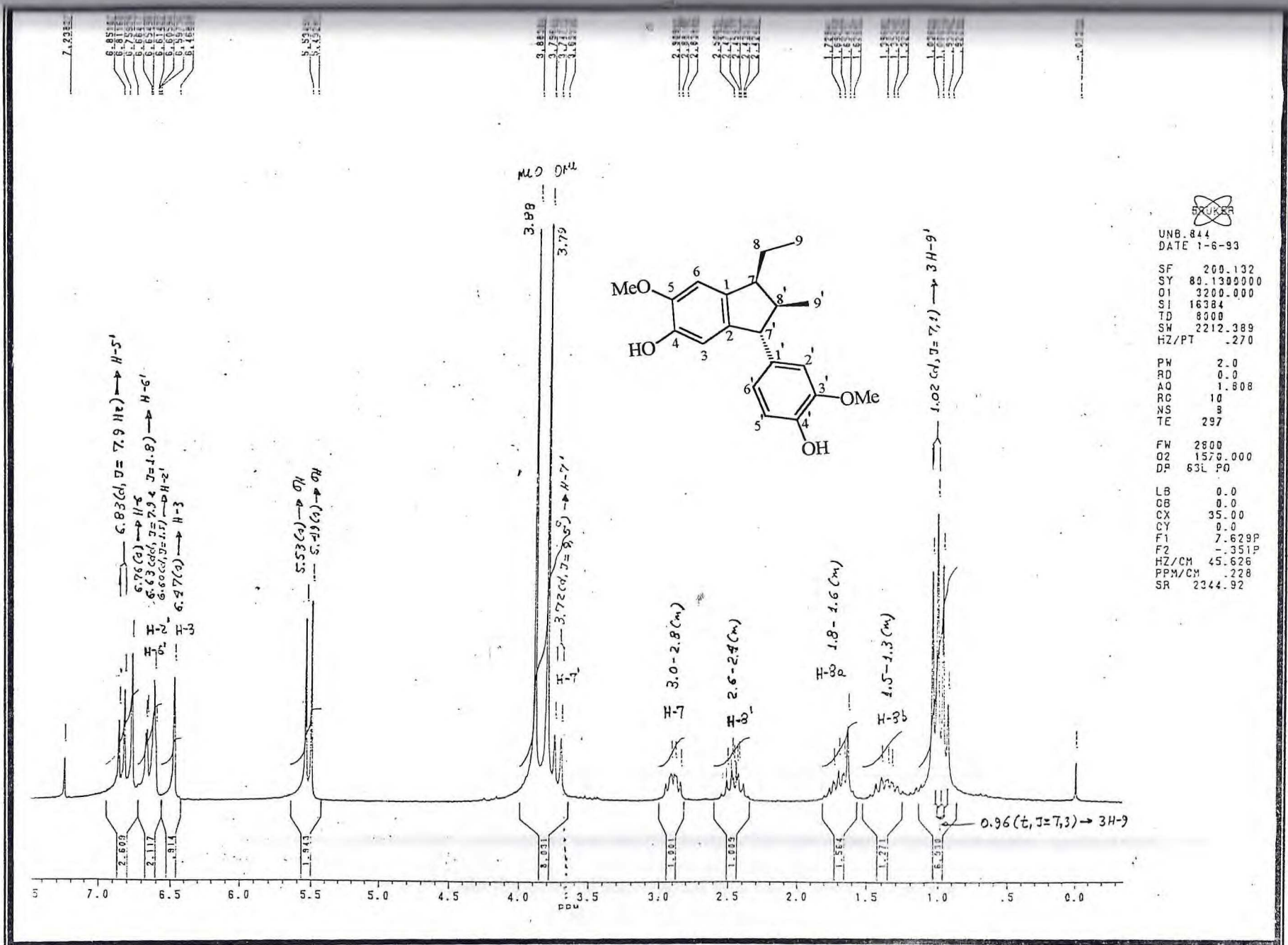


FIGURA 07- Espectro de RMN <sup>1</sup>H do di-isoeugenol

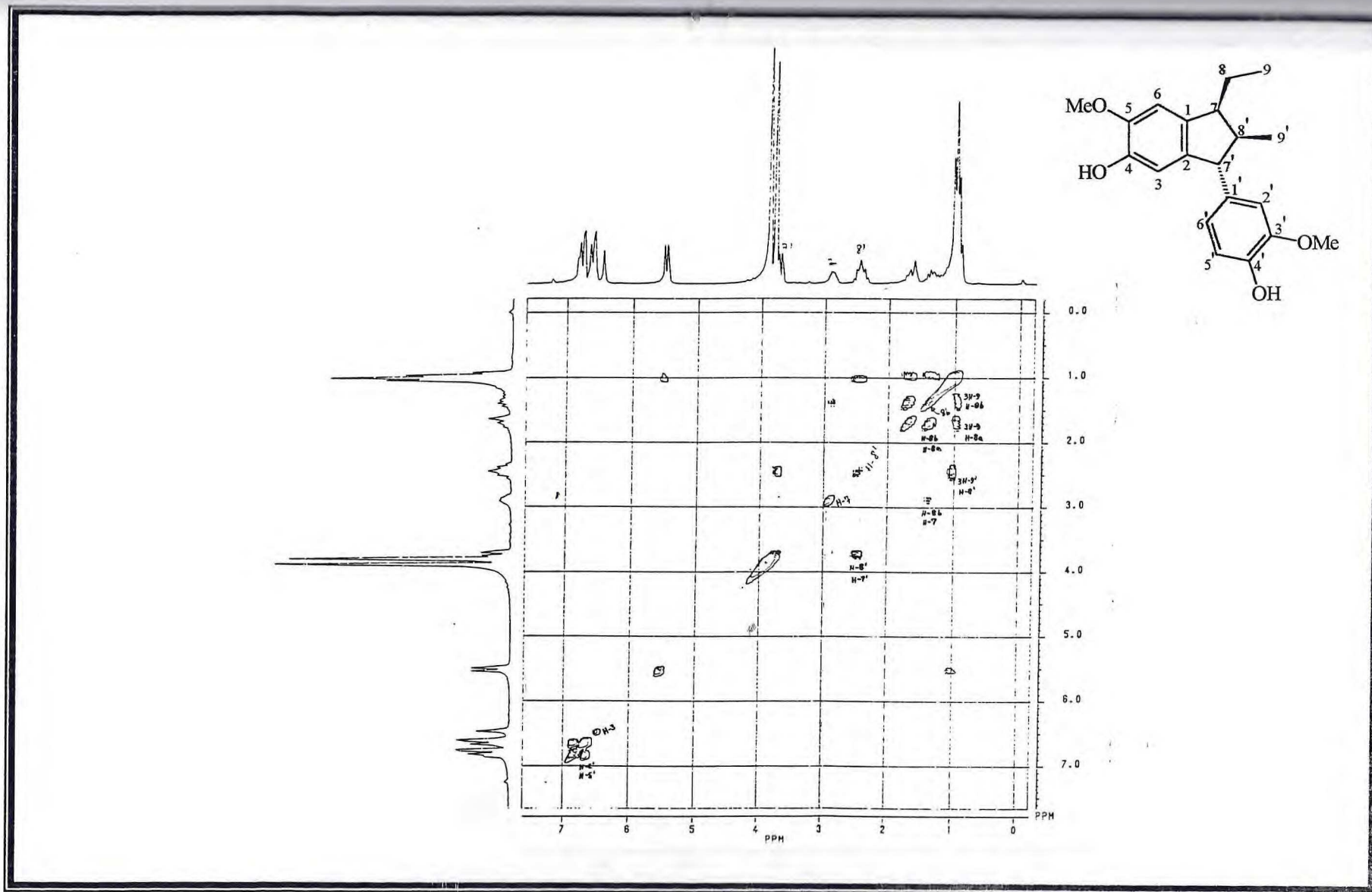


FIGURA 08- Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  - COSY) do di-isoeugenol

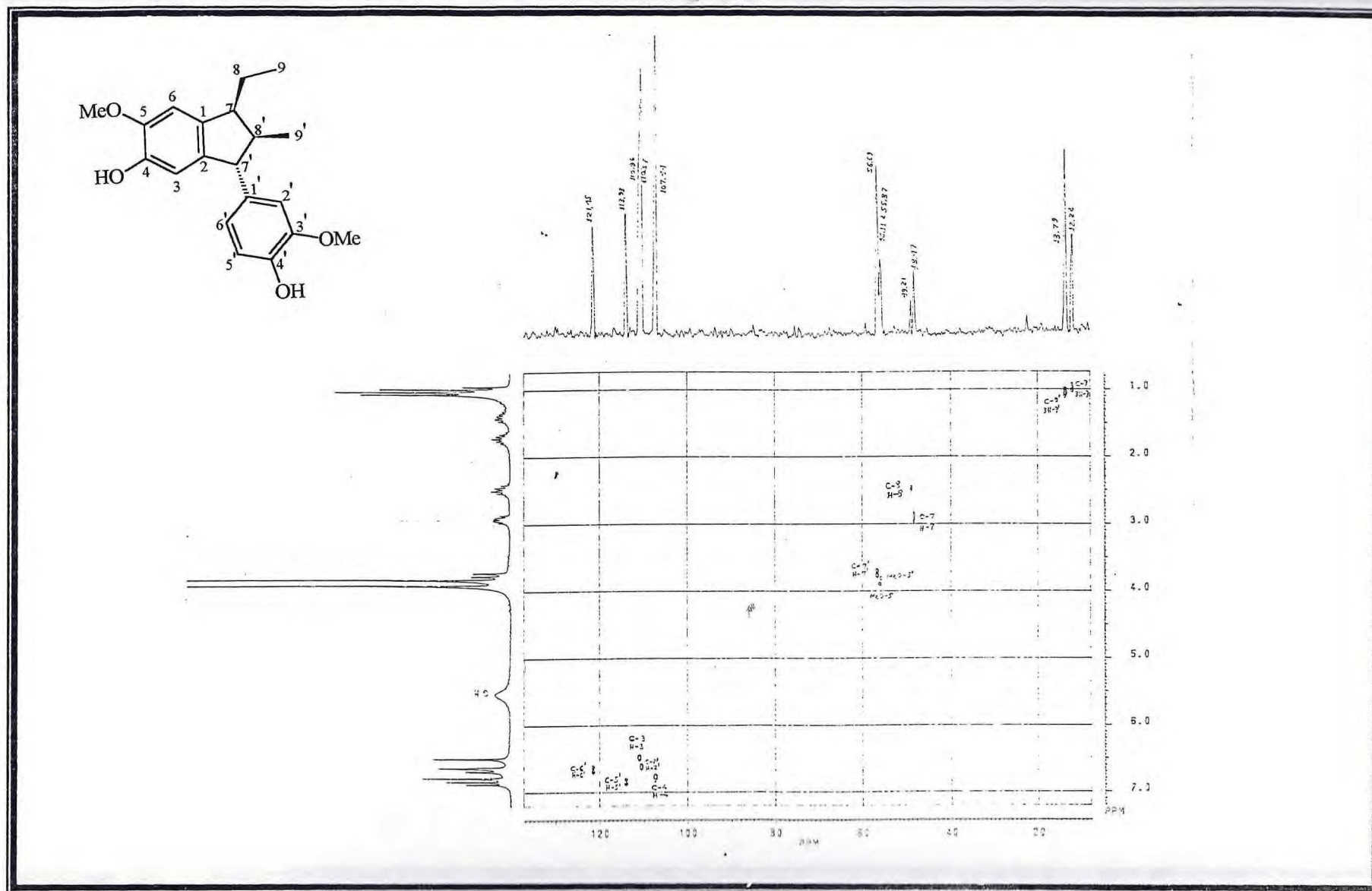


FIGURA 09- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - COSY -  $^{-1}J_{\text{CH}}$ ) do di-isoeugenol



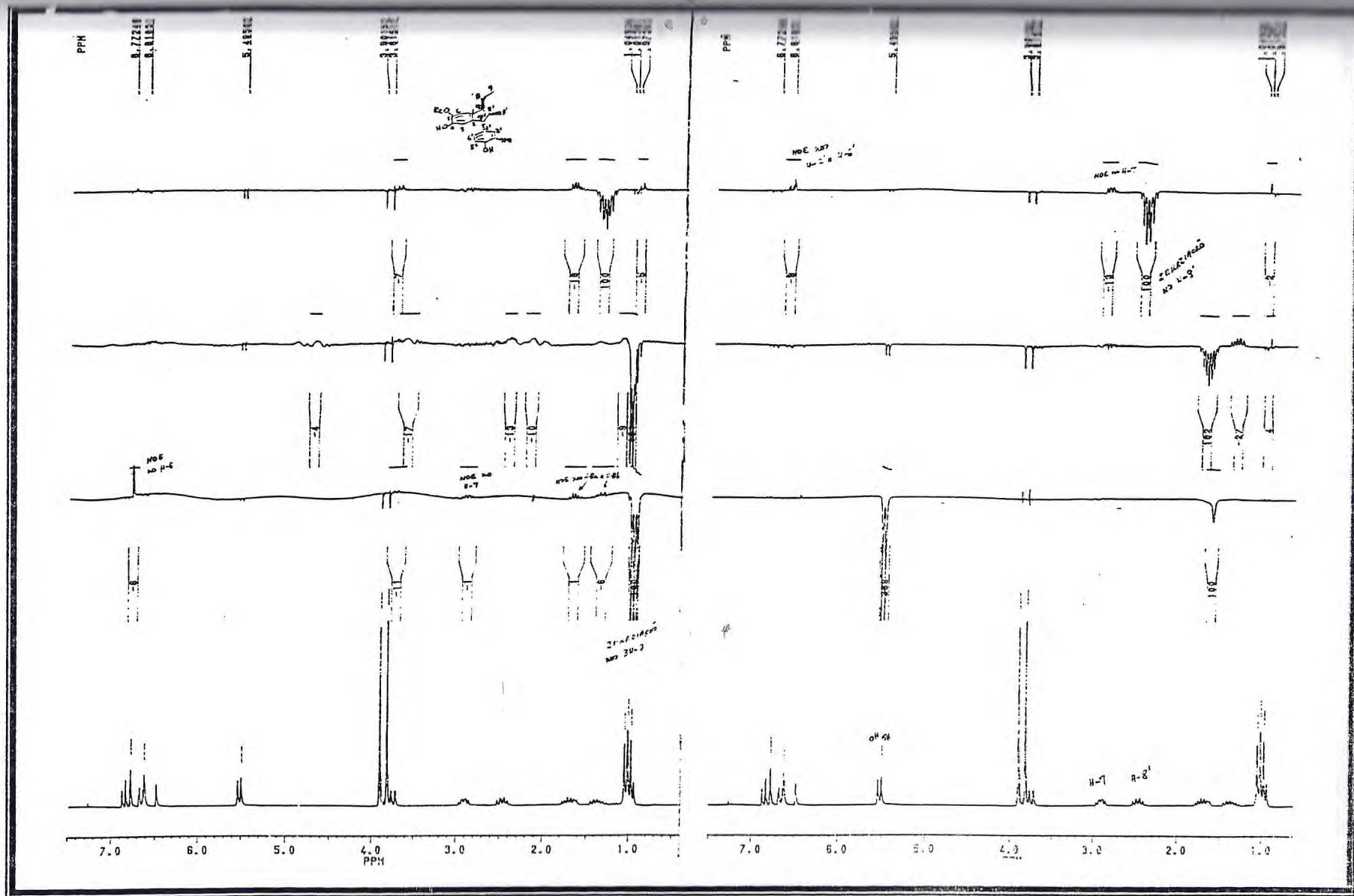


FIGURA 11- Experiências de Efeito Nuclear Overhauser (NOE) do di-isoeugenol

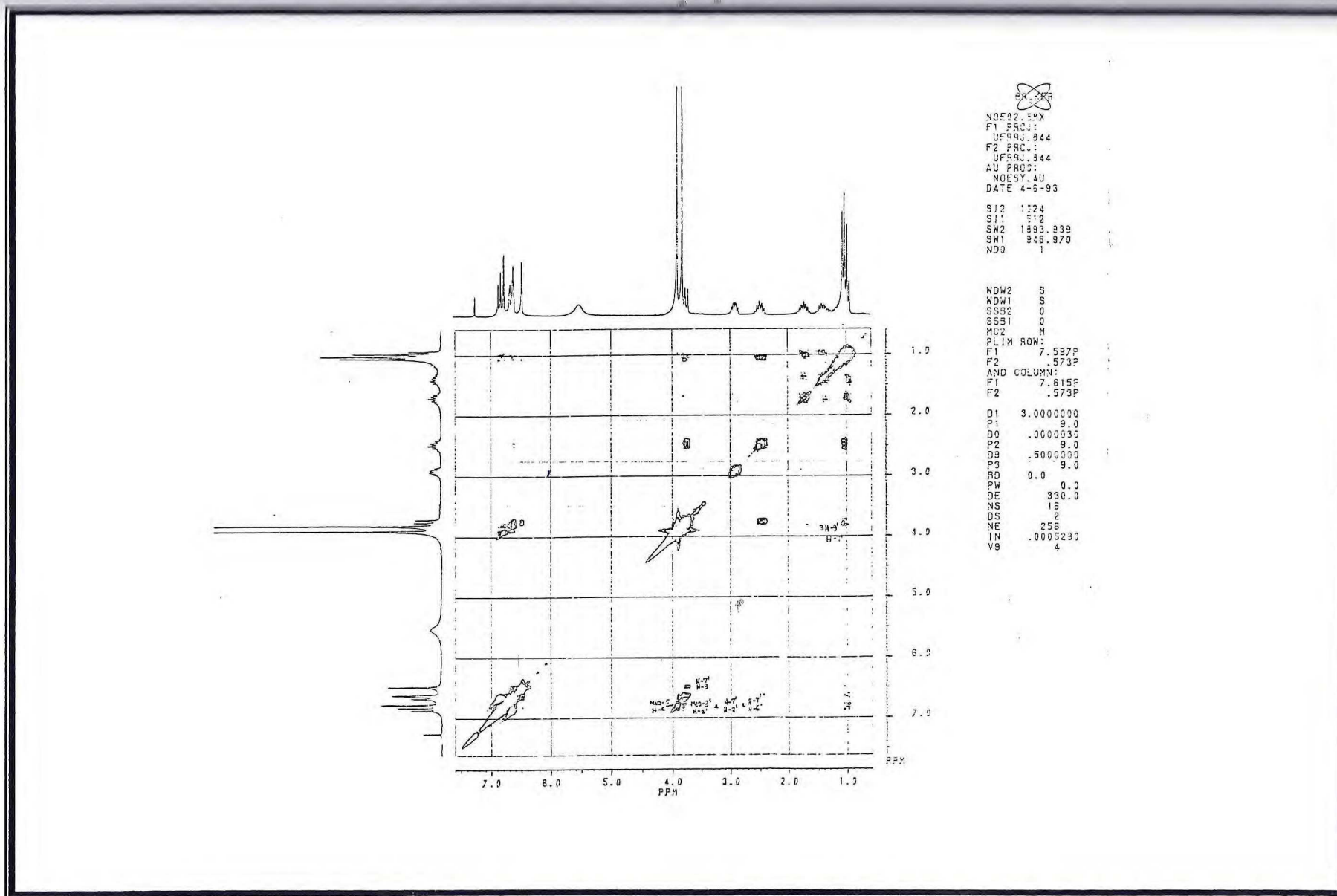


FIGURA 12-Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  - NOESY) do di-isoeugenol

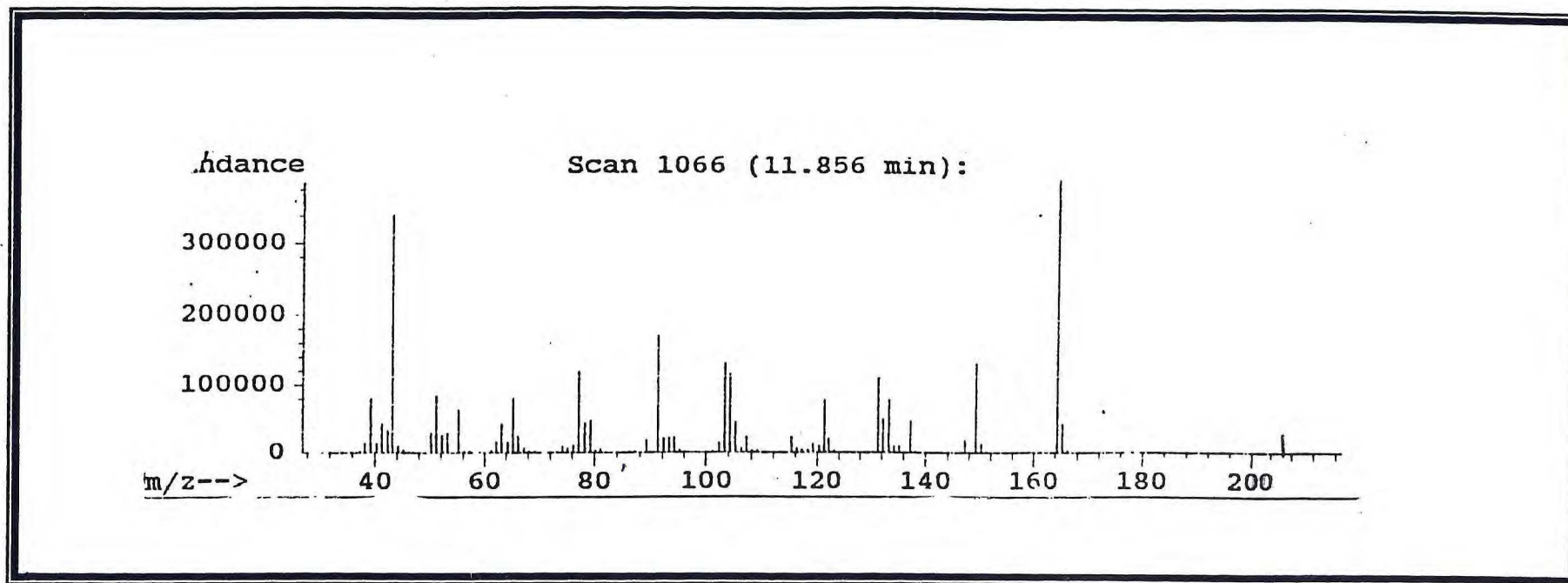


FIGURA 13- Espectro de massa do acetilugenol



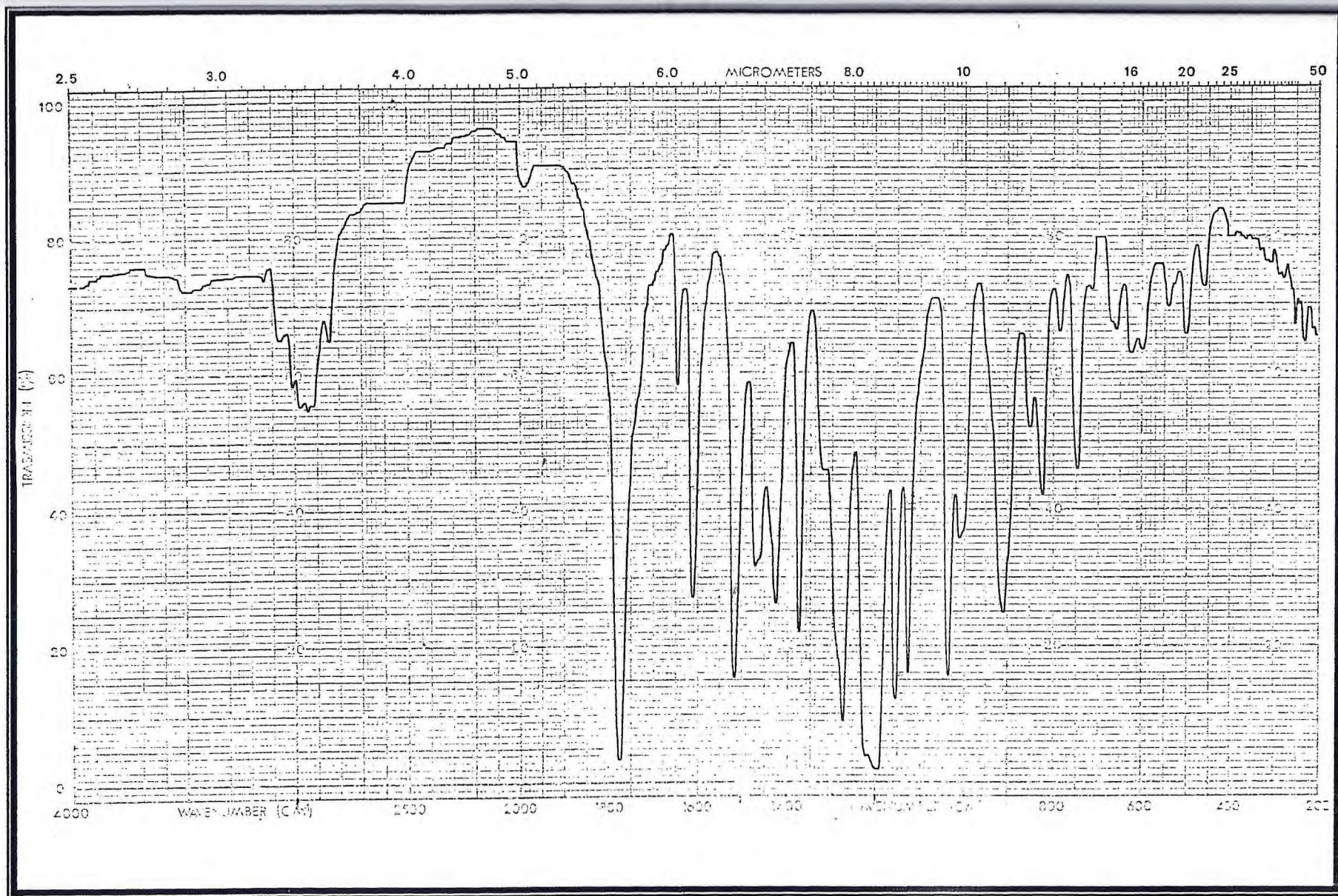


FIGURA 14- Espectro na região do I.V. do acetileno

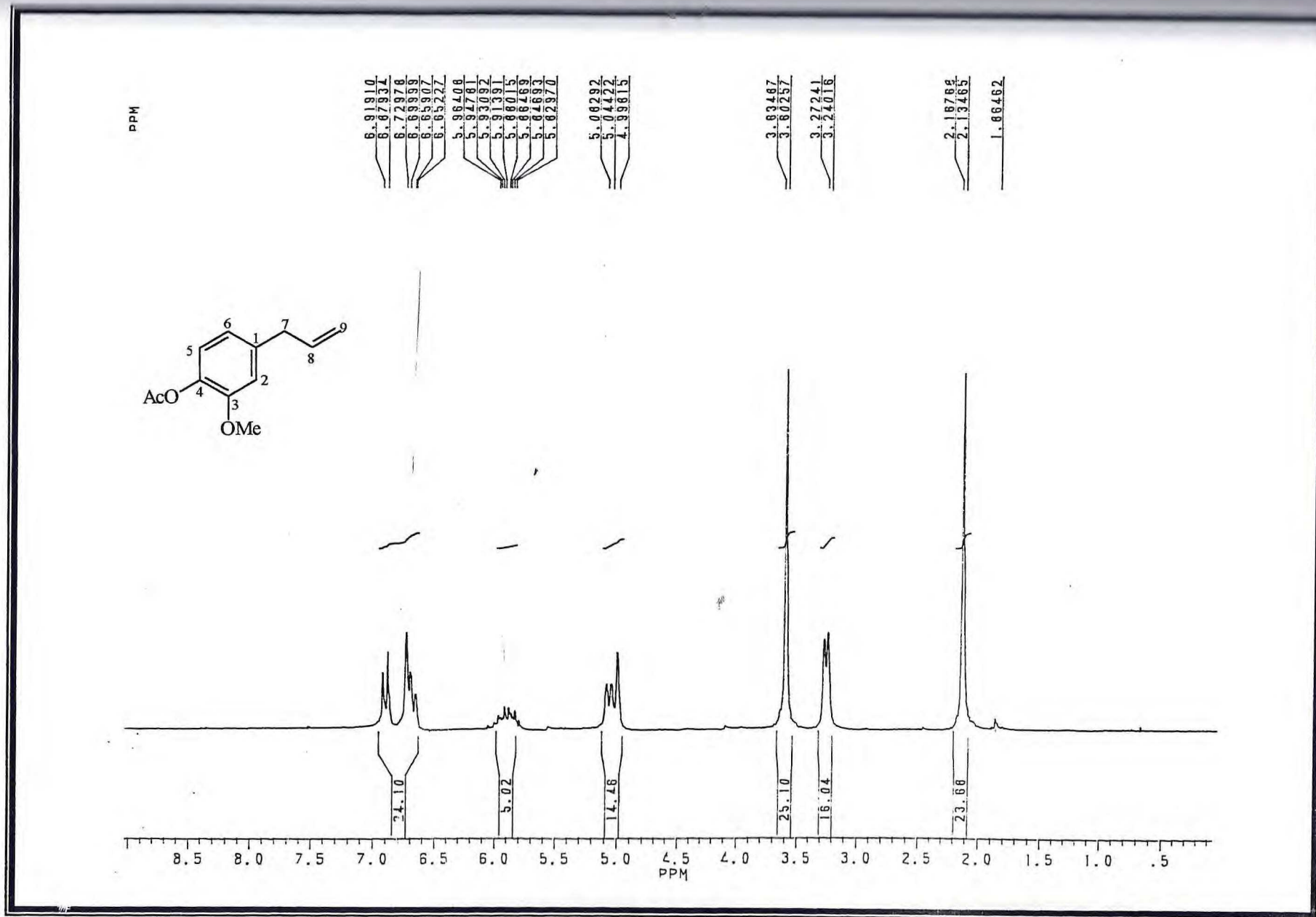


FIGURA 15- Espectro de RMN <sup>1</sup>H do acetilugenol

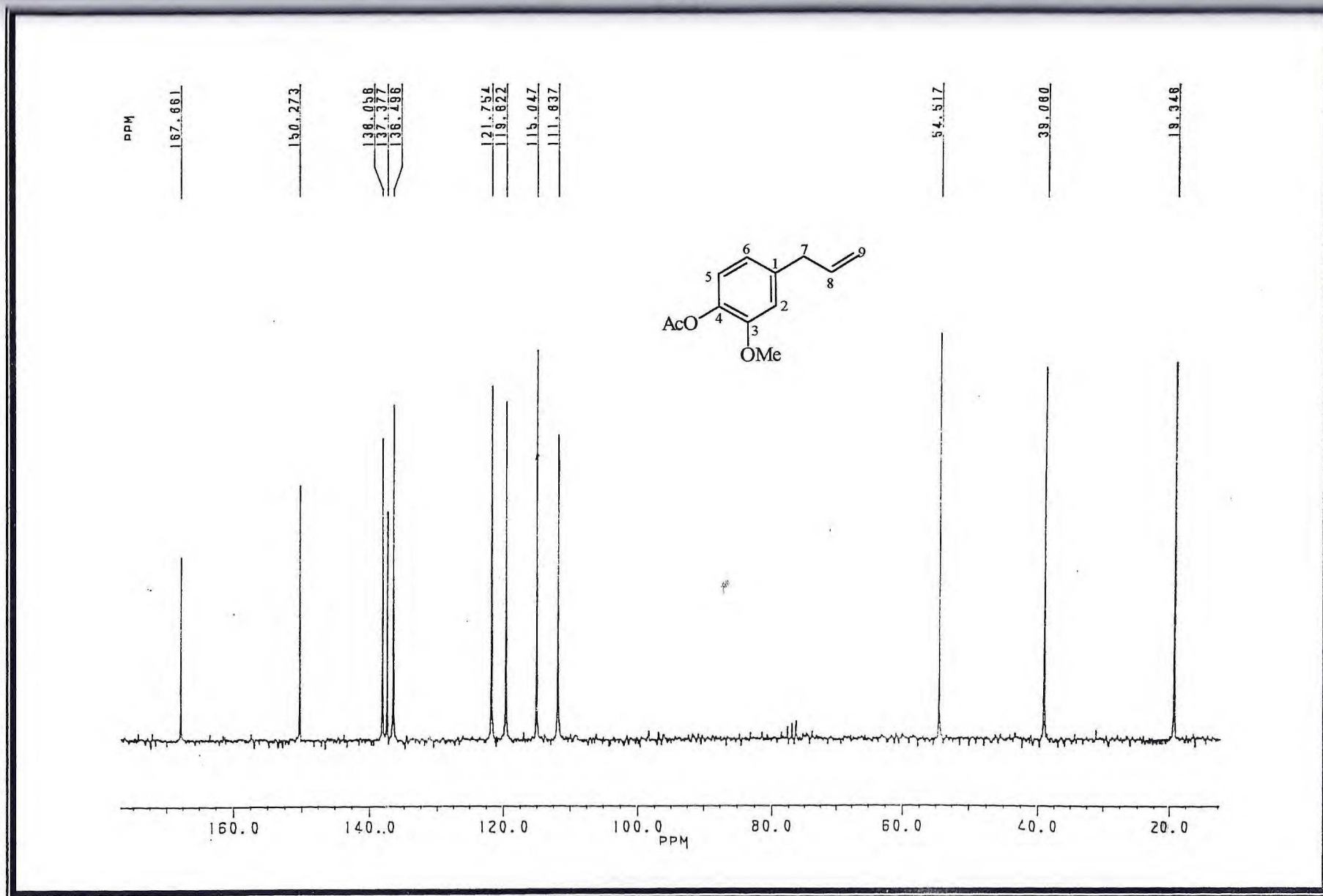


FIGURA 16- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- PND do acetileugenol

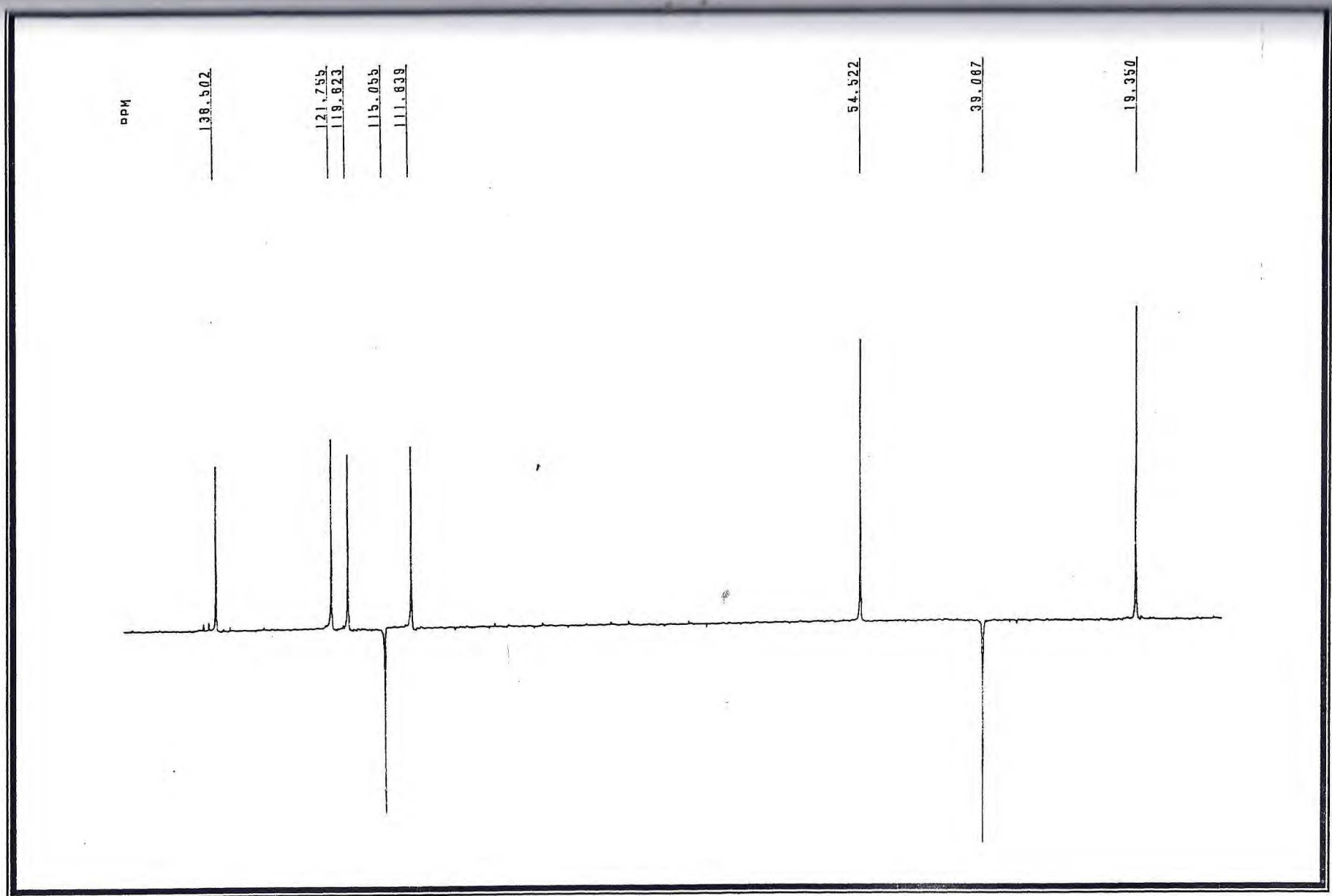


FIGURA 17- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - DEPT 135 $^{\circ}$  do acetilugenol

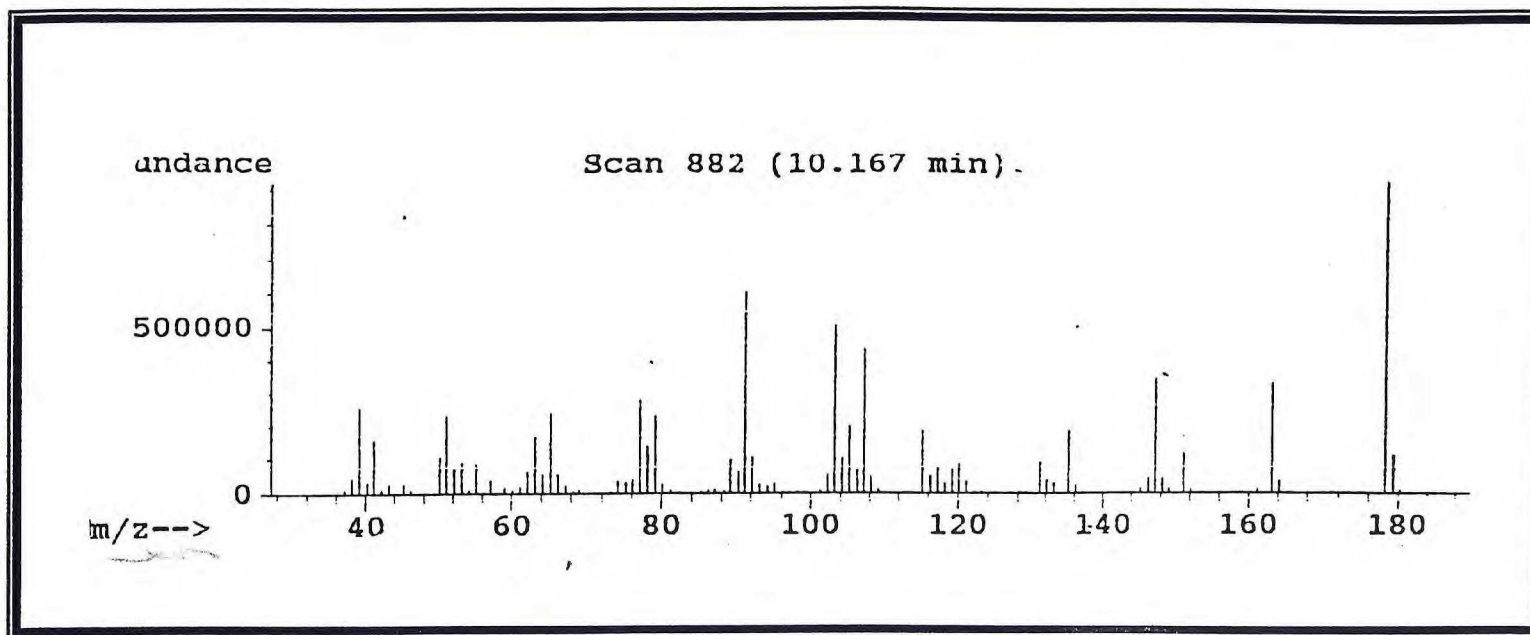


FIGURA 18- Espectro de massa do metileugenol

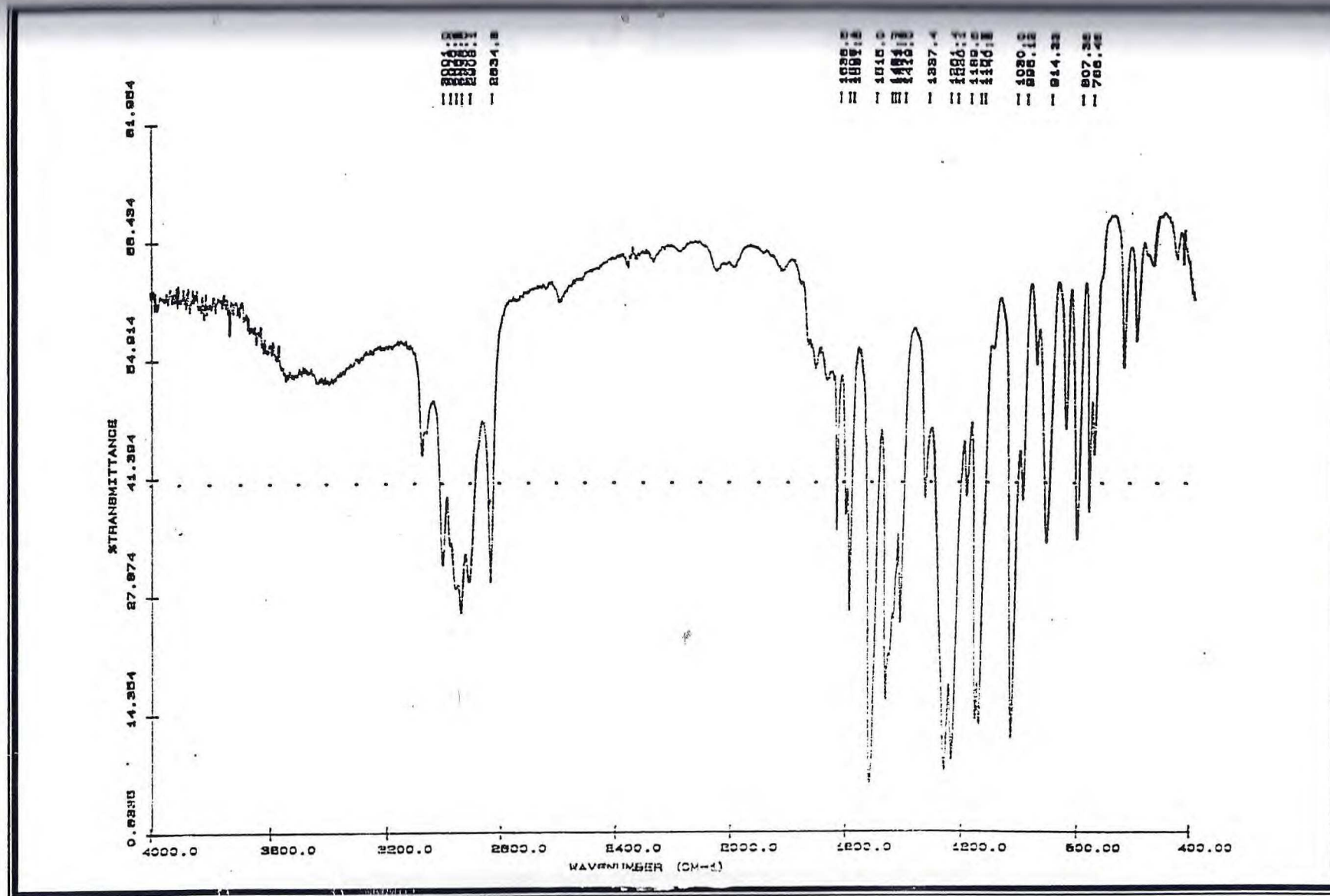


FIGURA 19- Espectro na região do I.V. do metileugenol

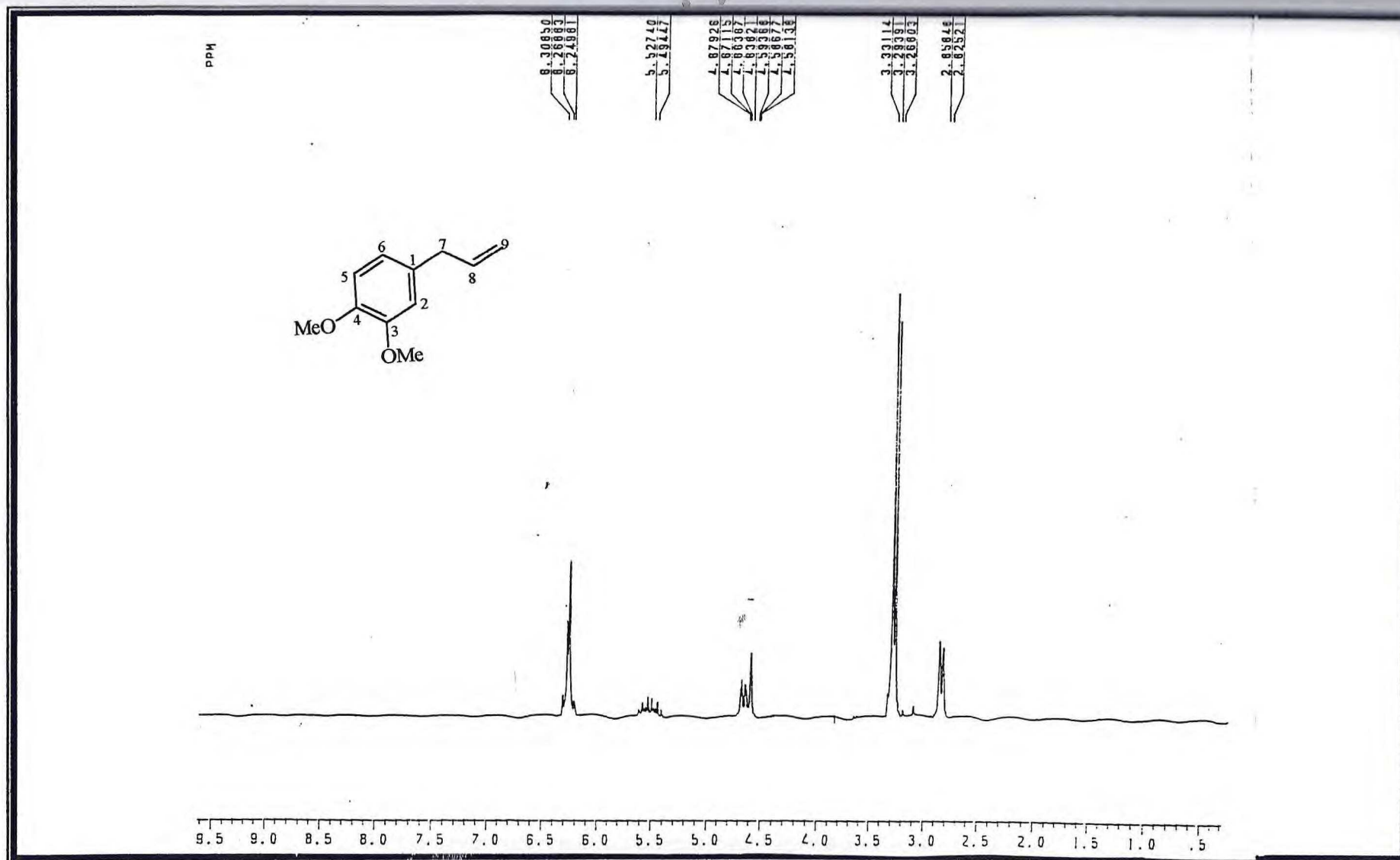


FIGURA 20- Espectro de RMN <sup>1</sup>H do metileugenol

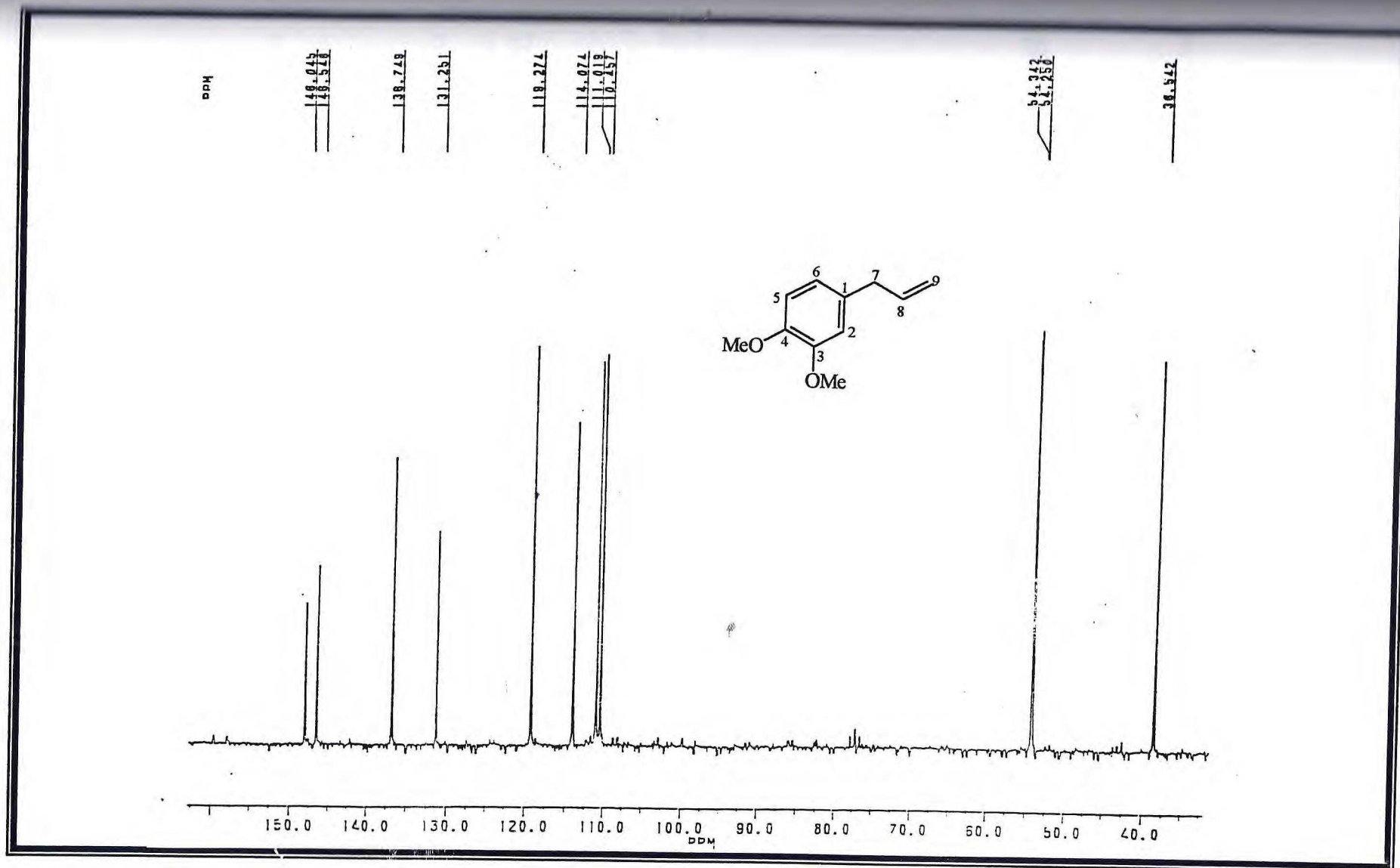


FIGURA 21- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - PND do metileugenol



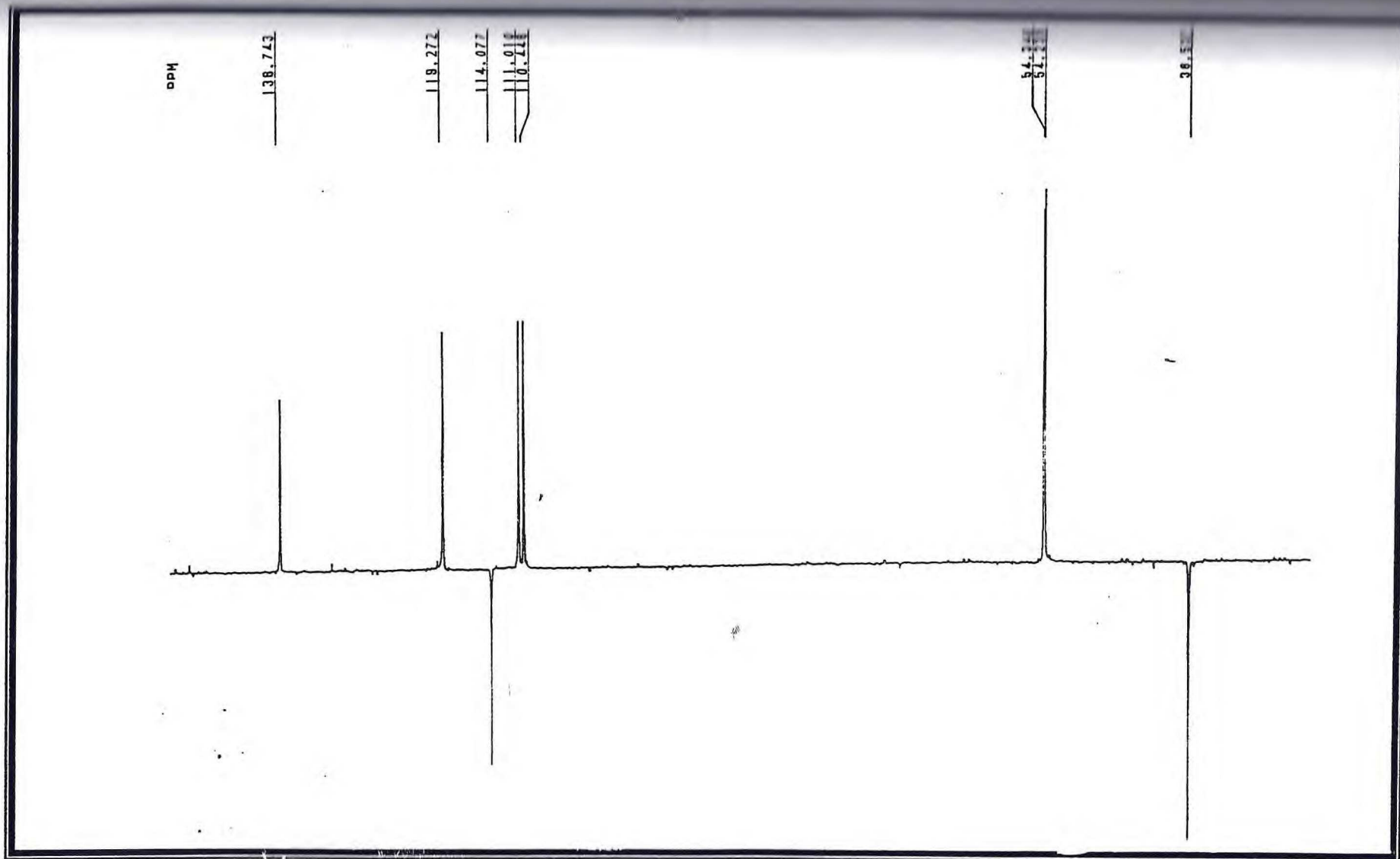


FIGURA 22- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135 $^\circ$  do metileugenol

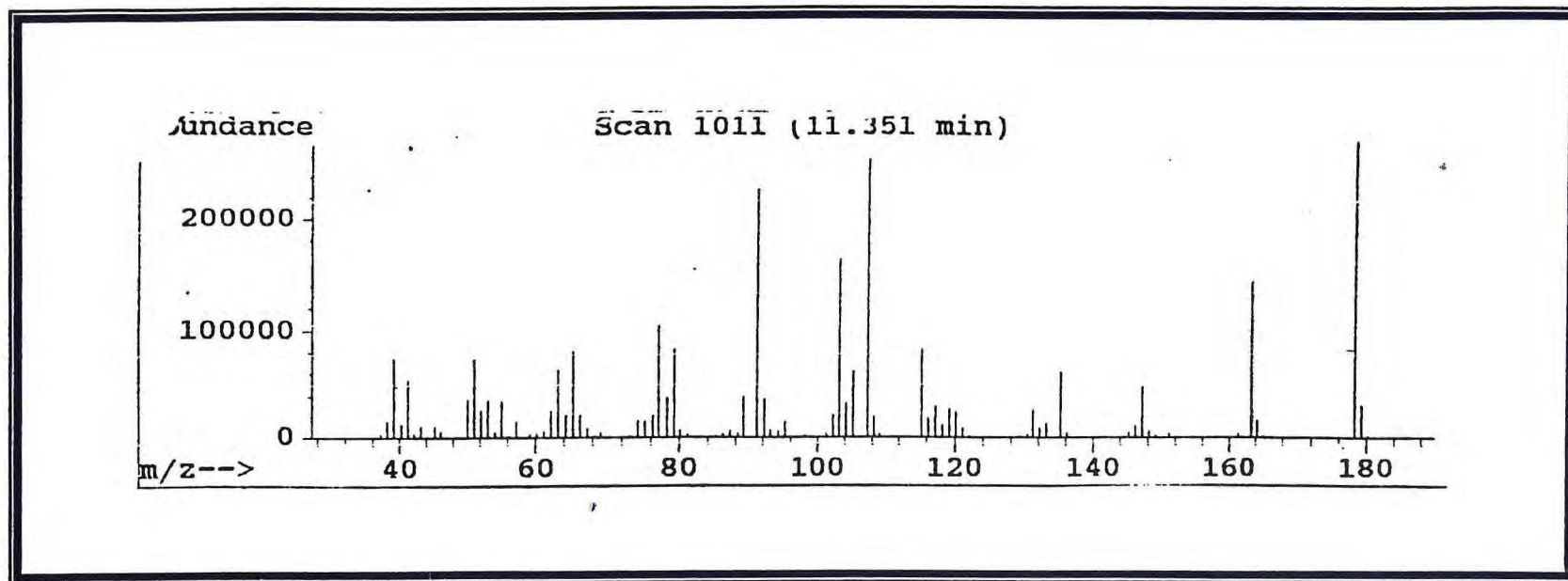


FIGURA 23- Espectro de massa do metilisoegenol

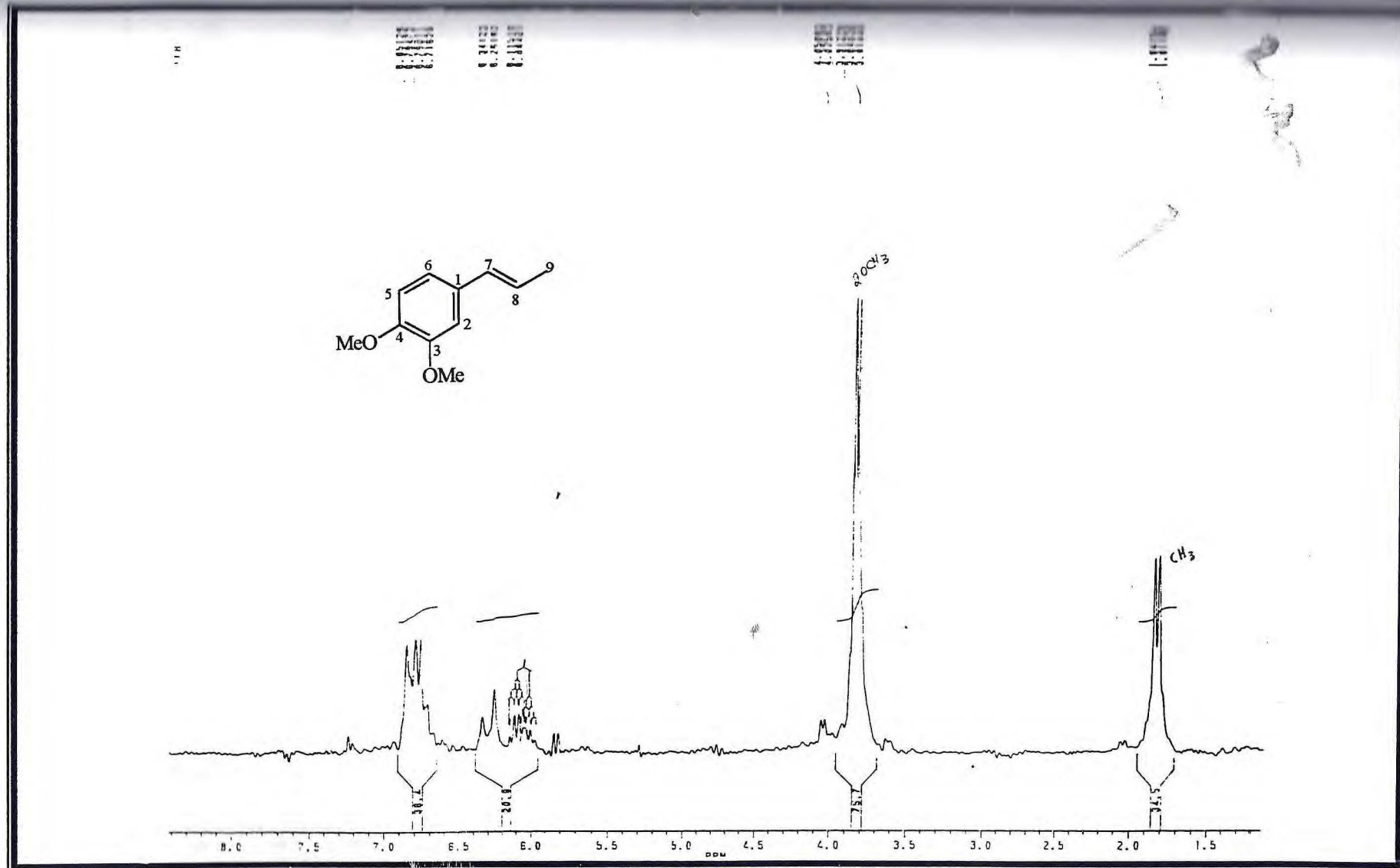


FIGURA 24- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do metilisoegenol

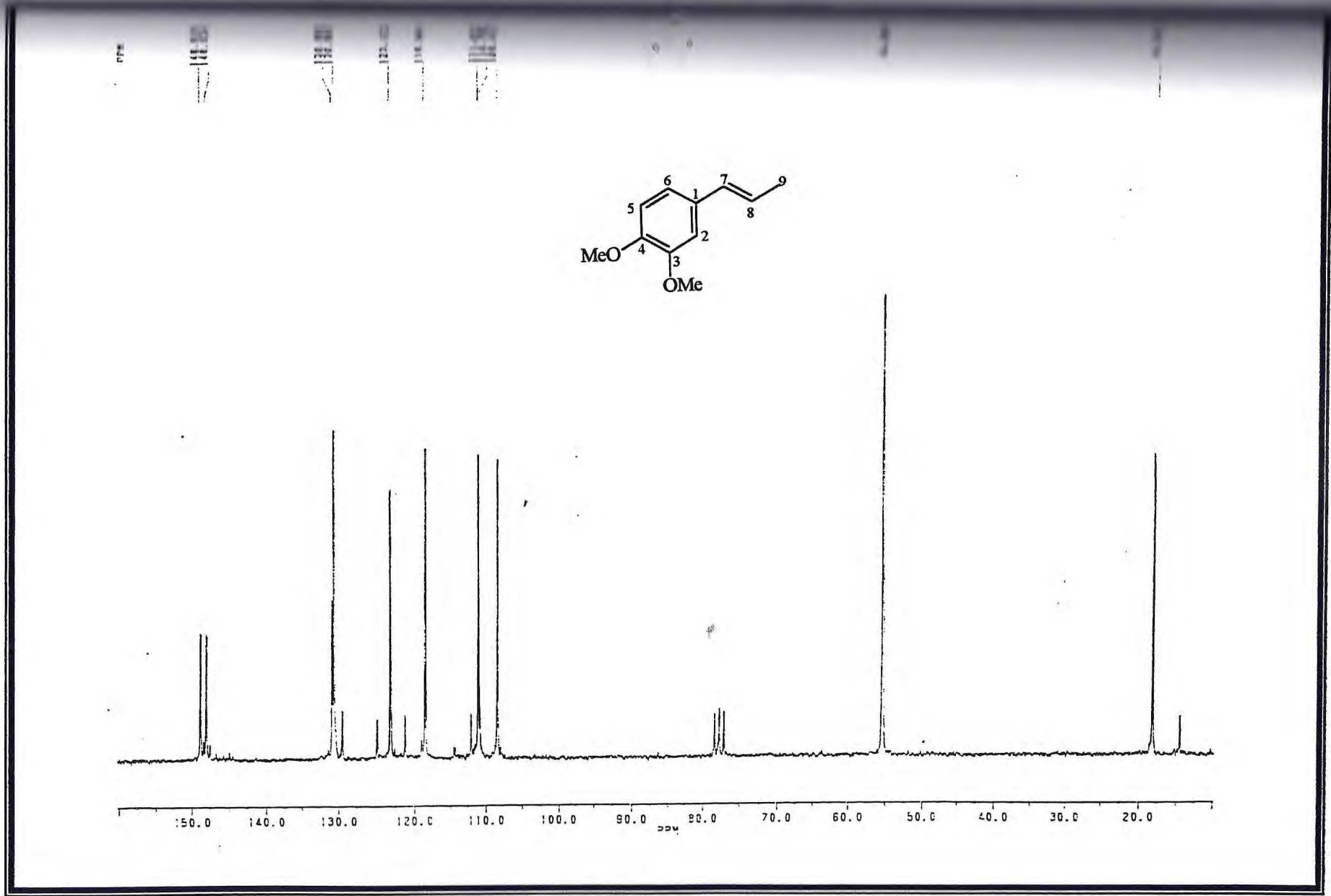


FIGURA 25- Espectro de RMN <sup>13</sup>C do metlisoegenol

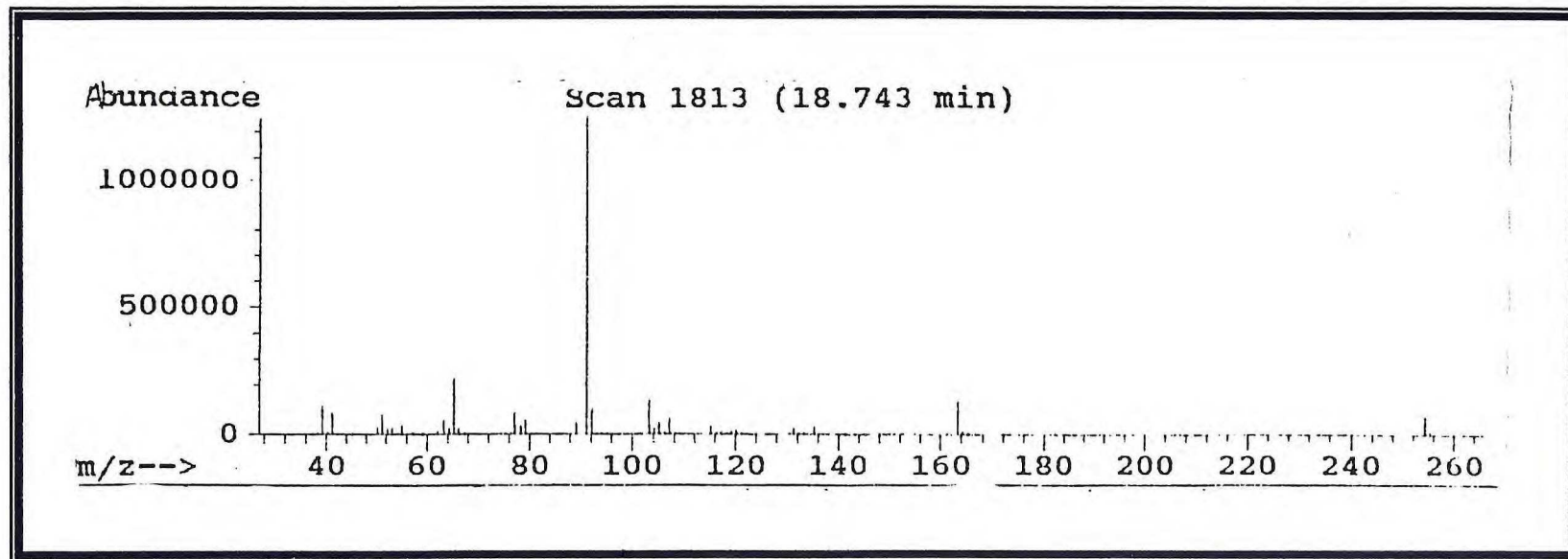


FIGURA 26- Espectro de massa do benzileugenol

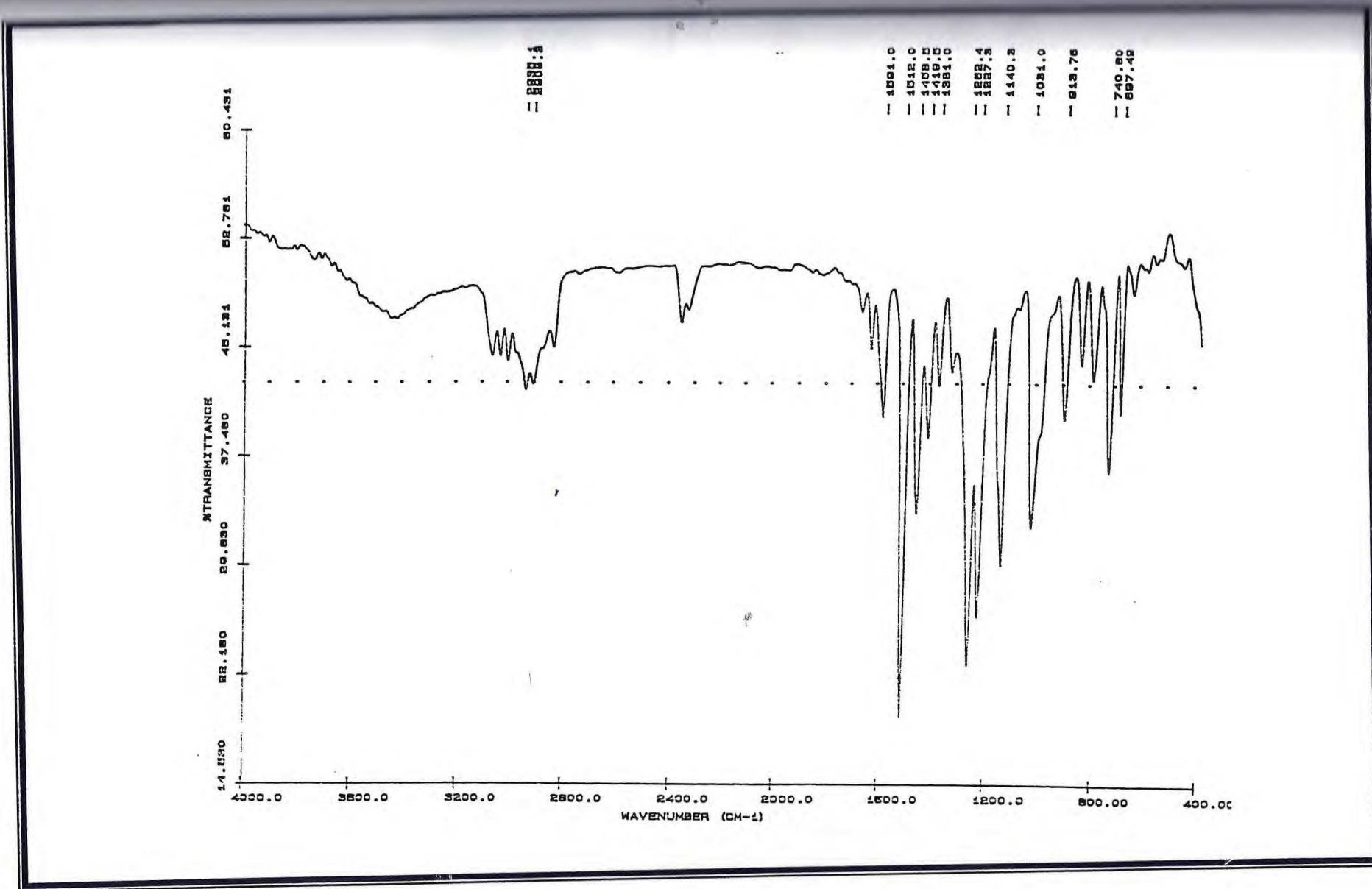


FIGURA 27- Espectro na região do I.V. do benzileugenol

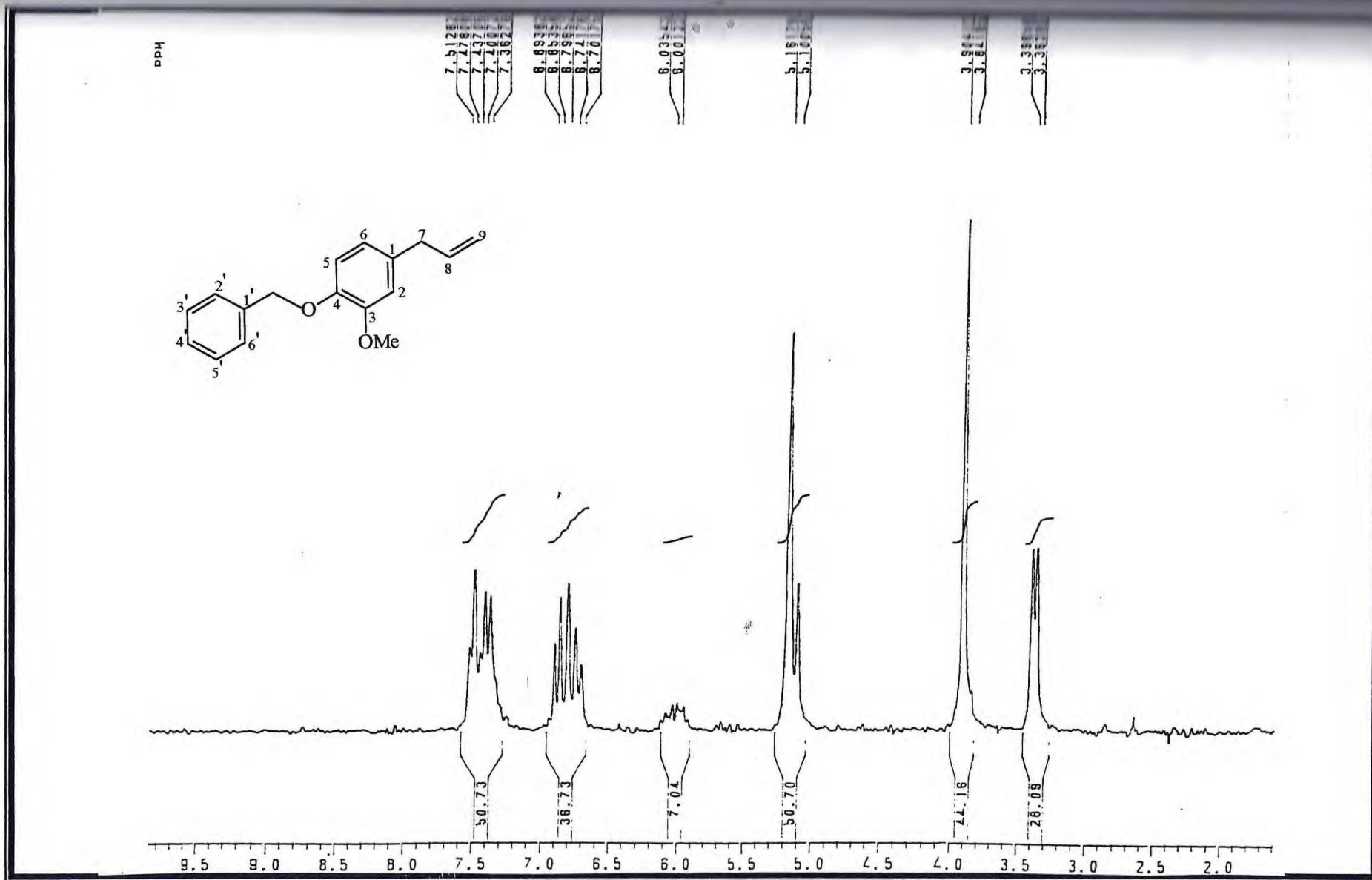


FIGURA 28- Espectro de RMN <sup>1</sup>H do benzileugenol

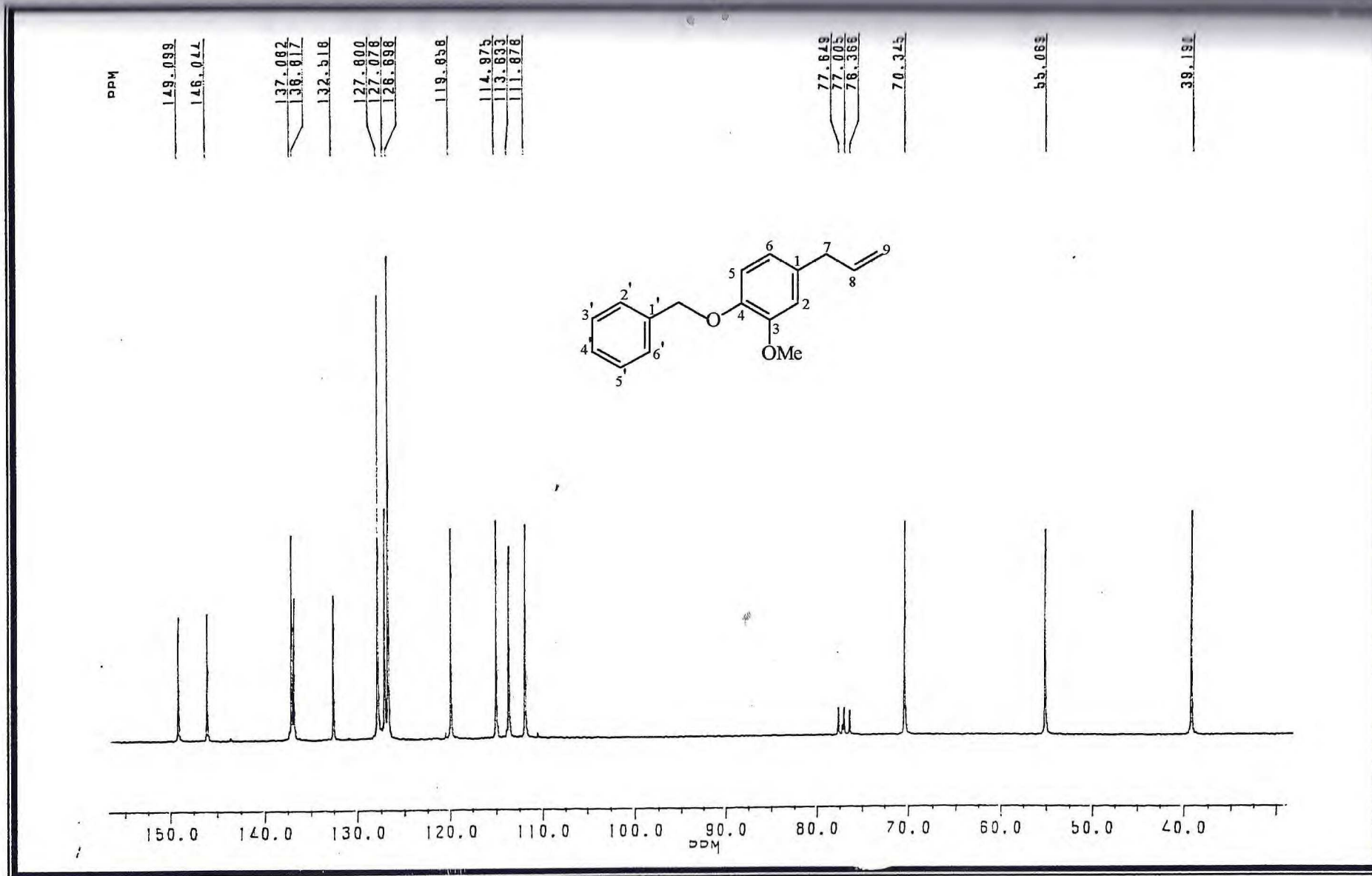


FIGURA 29- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- PND do benzileugenol



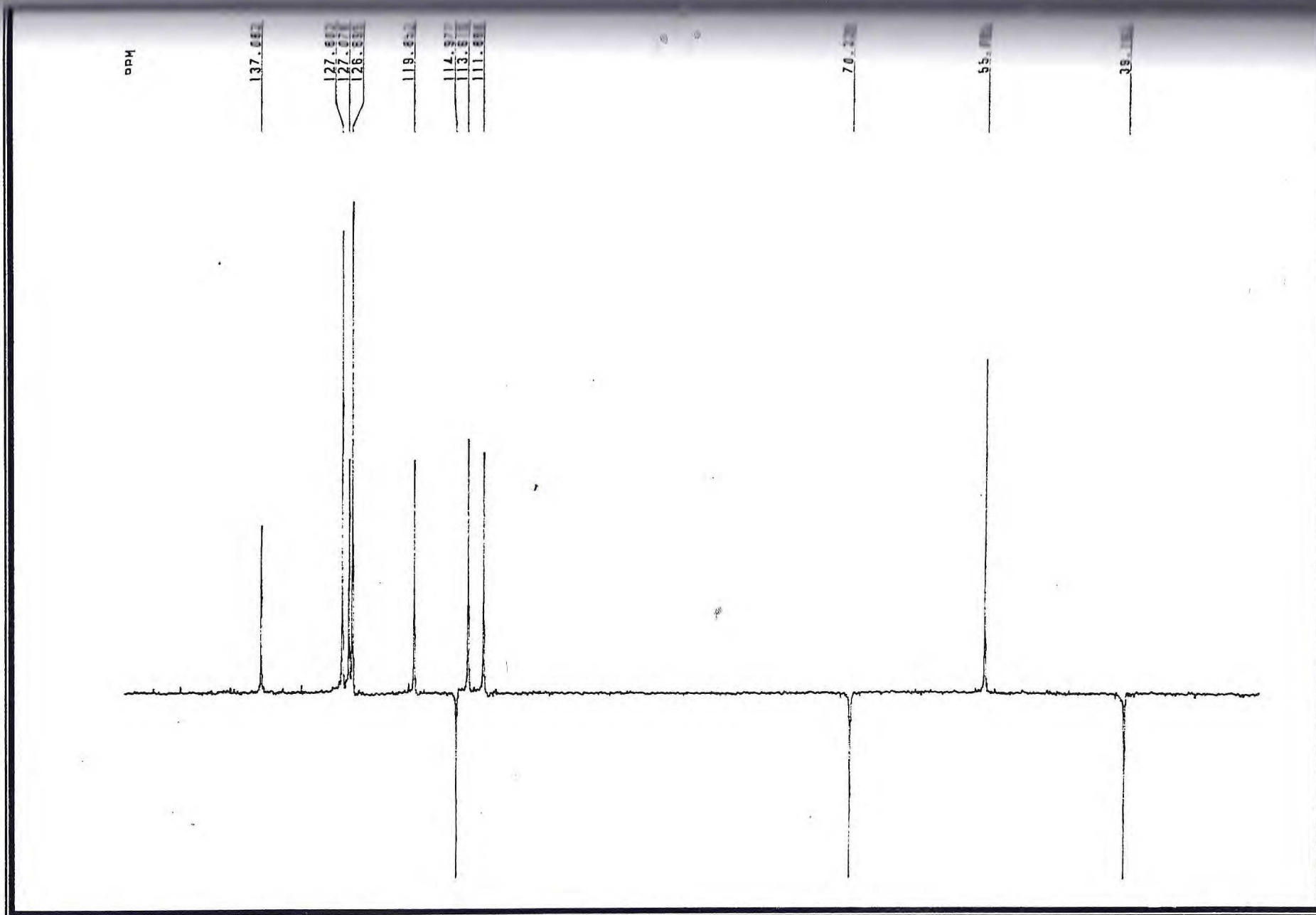


FIGURA 30- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - DEPT  $135^\circ$  do benzileugenol

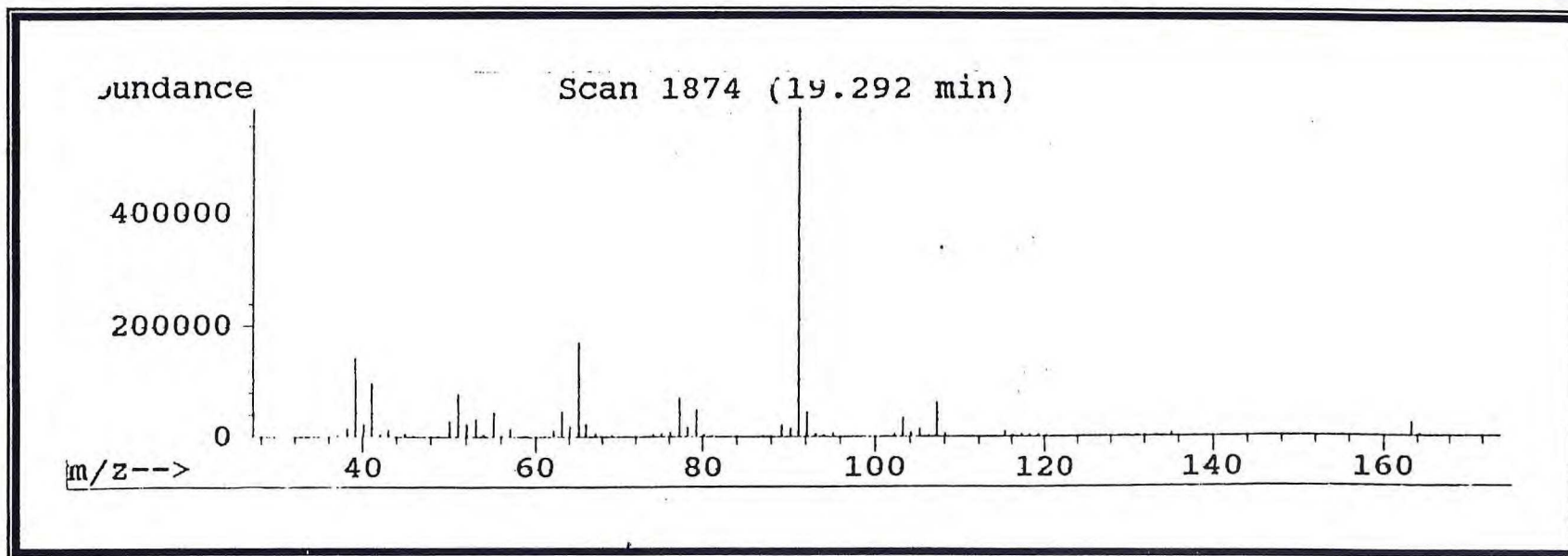


FIGURA 31- Espectro de massa do benzilisoegenol

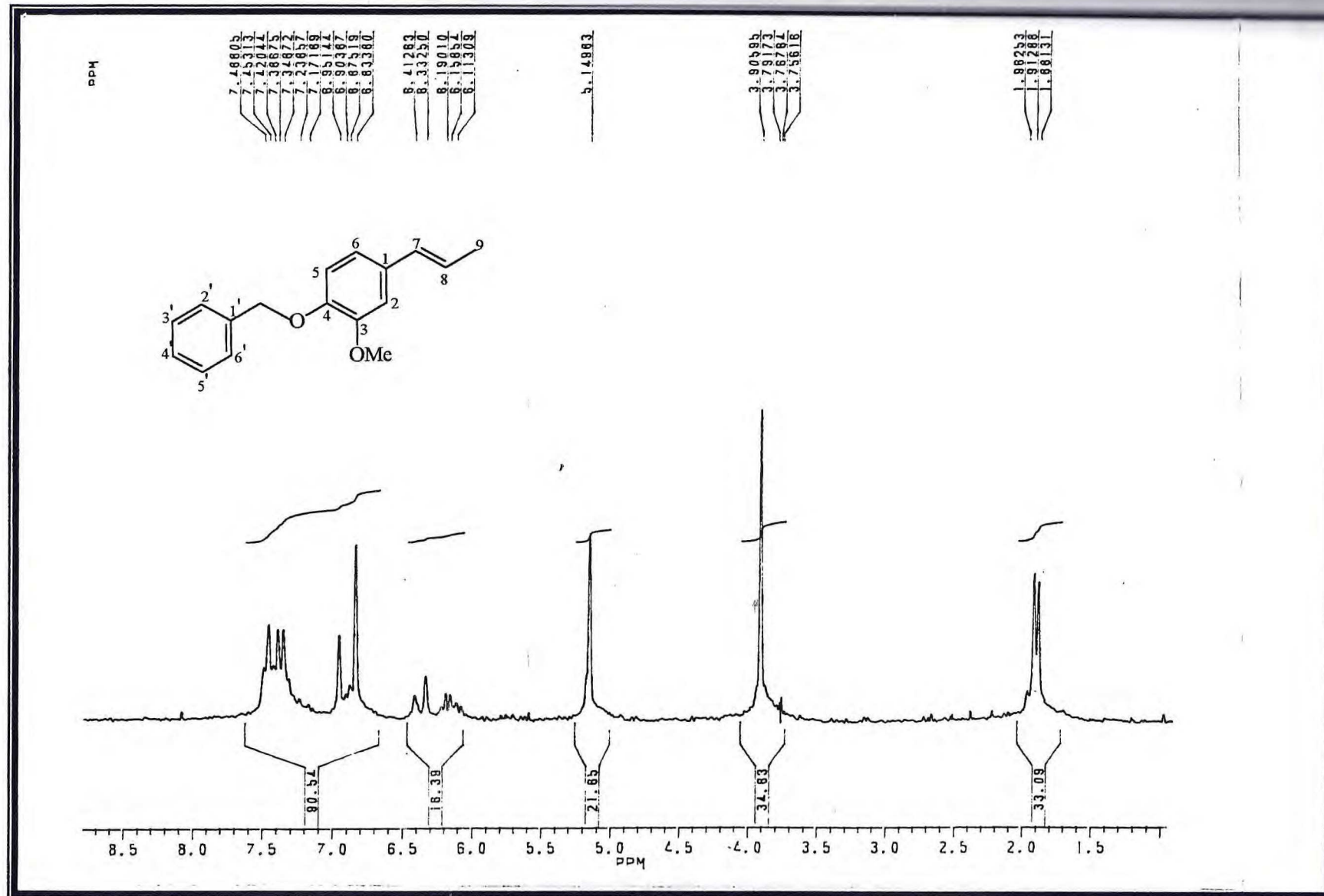


FIGURA 32- Espectro de RMN <sup>1</sup>H do benzilisoegenol

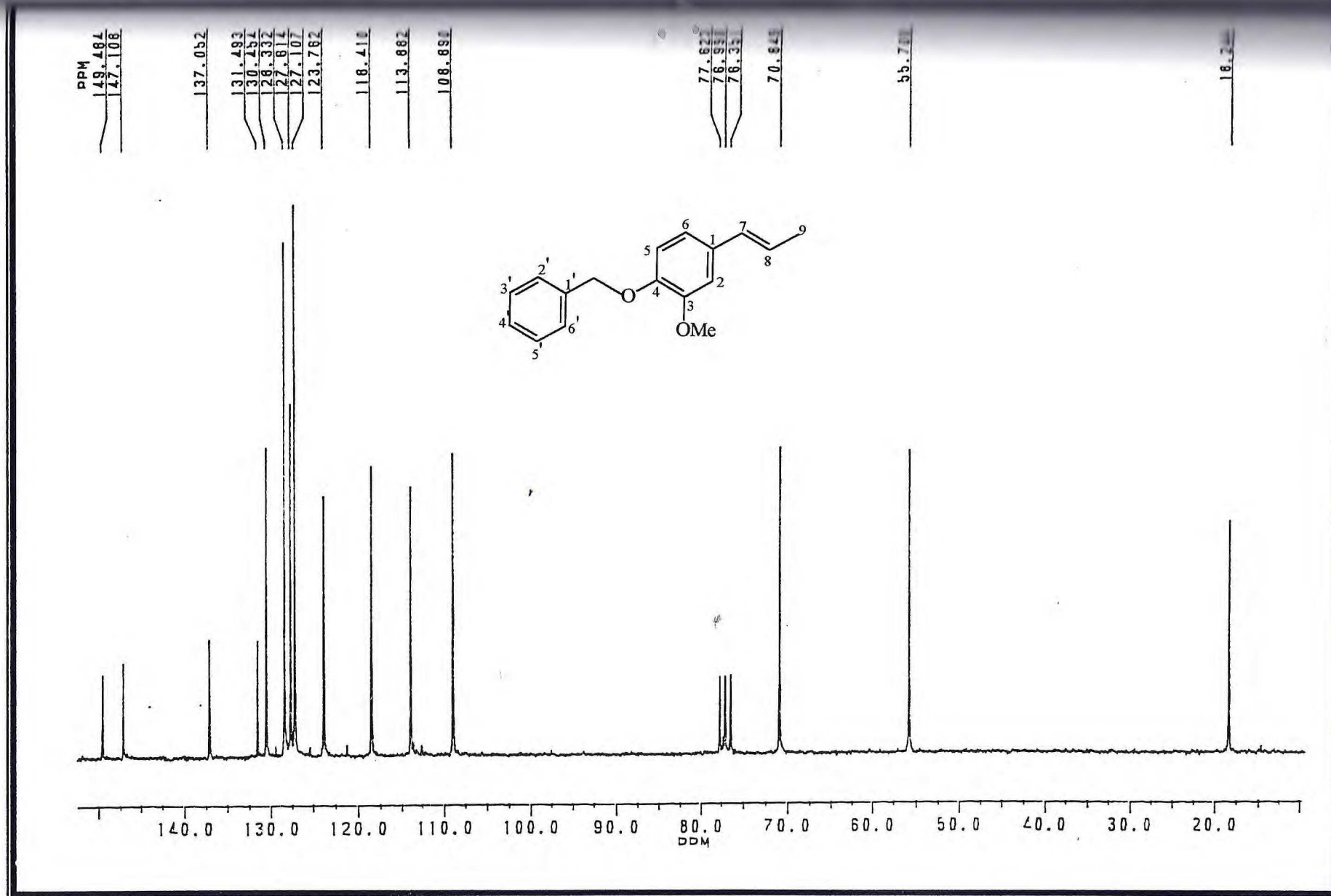


FIGURA 33- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- PND do benzilisoegenol

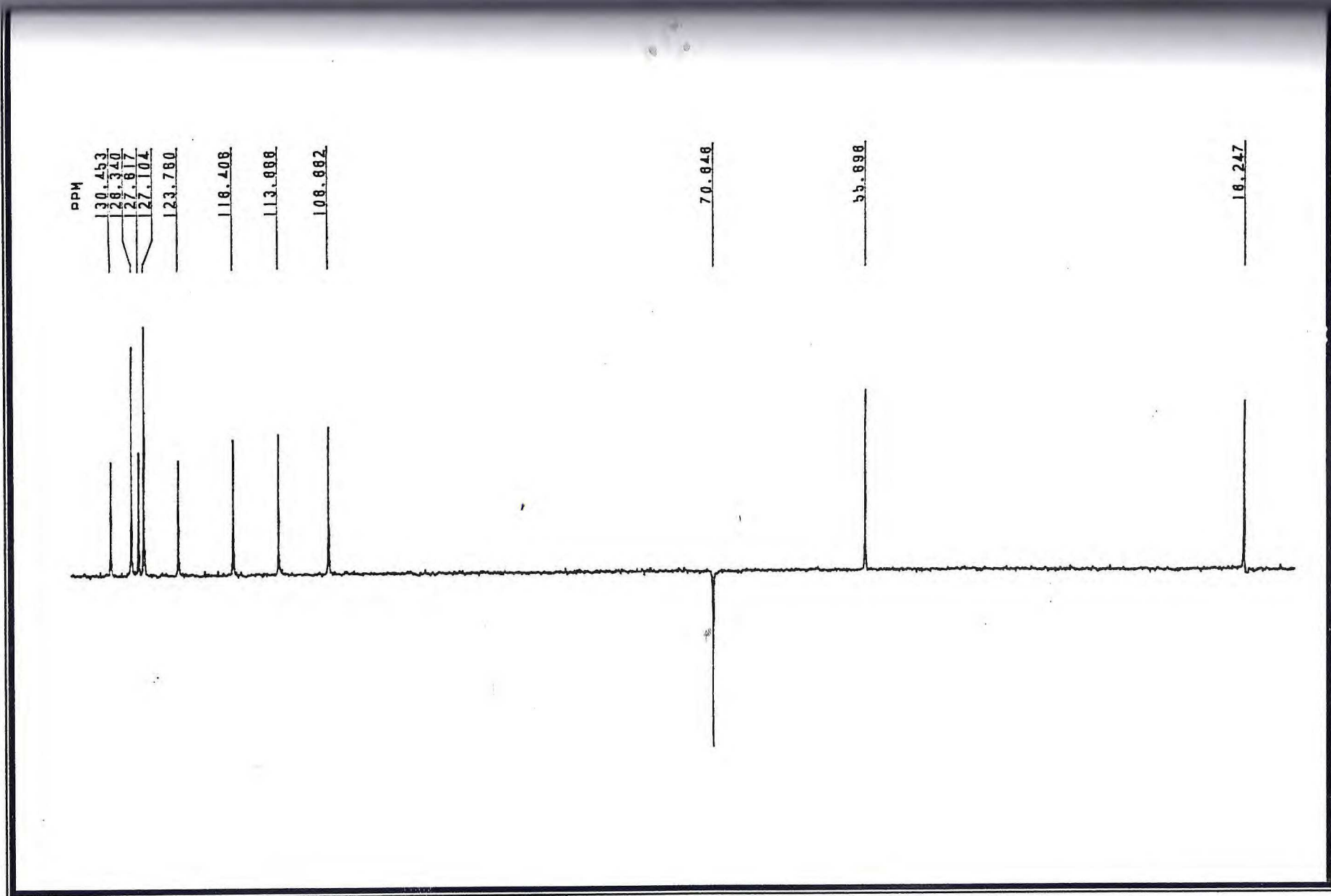


FIGURA 34- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- DEPT 135° do benzilisoegenol

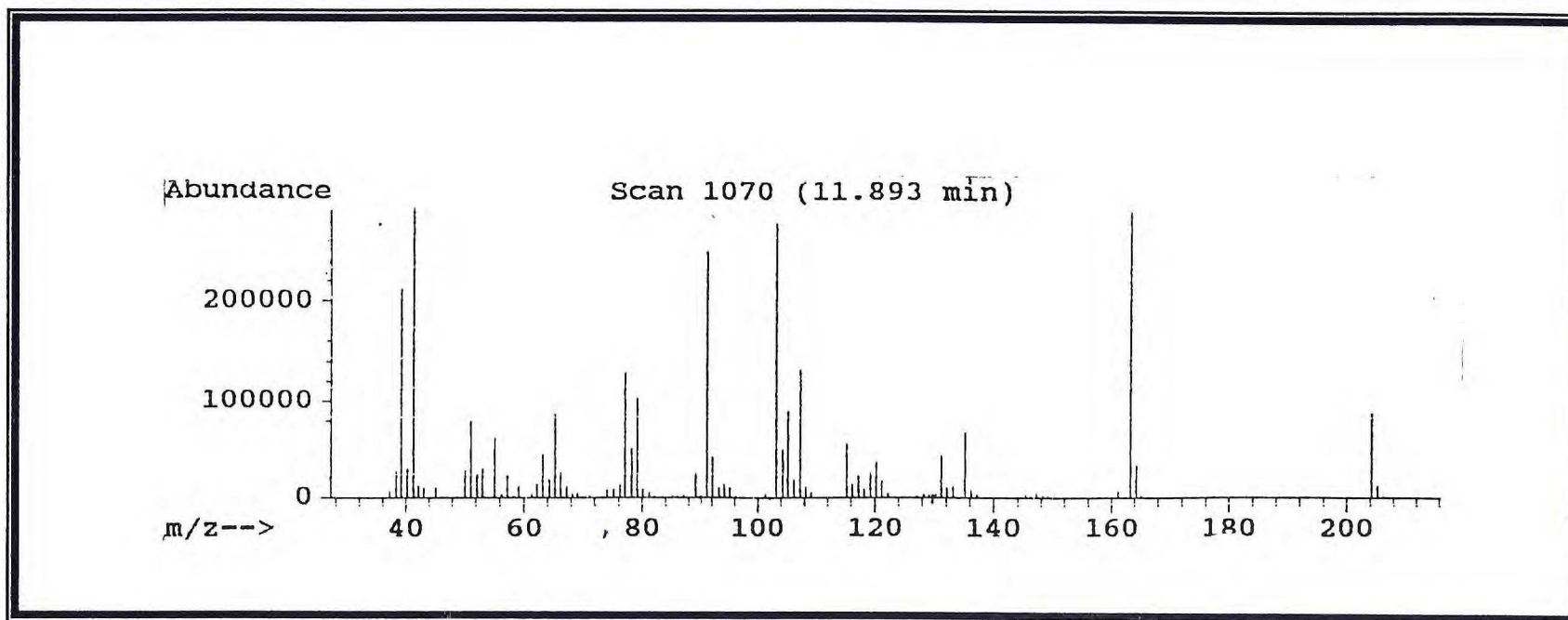


FIGURA 35- Espectro de massa do alileugenol

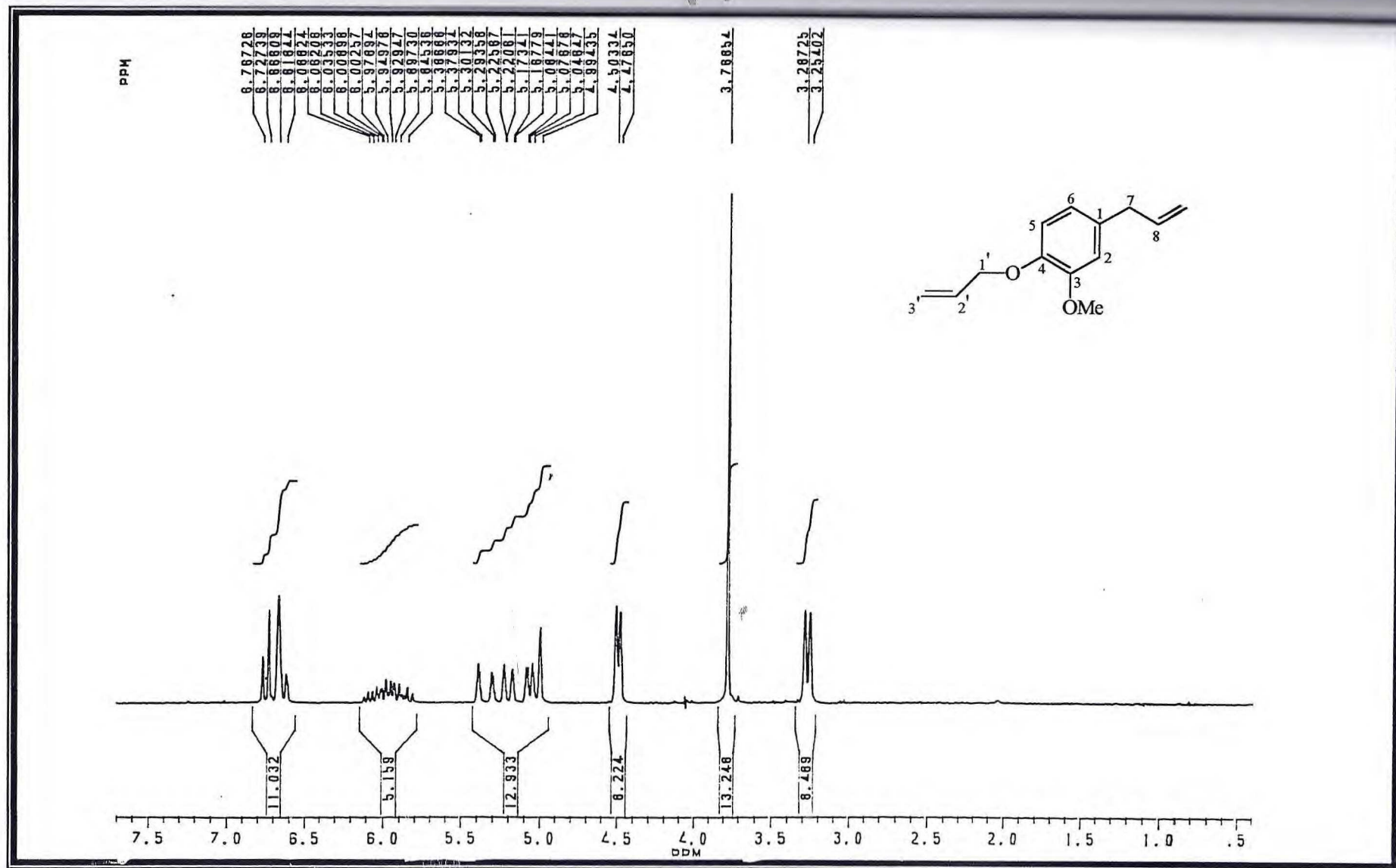


FIGURA 36- Espectro de RMN <sup>1</sup>H do alileugenol

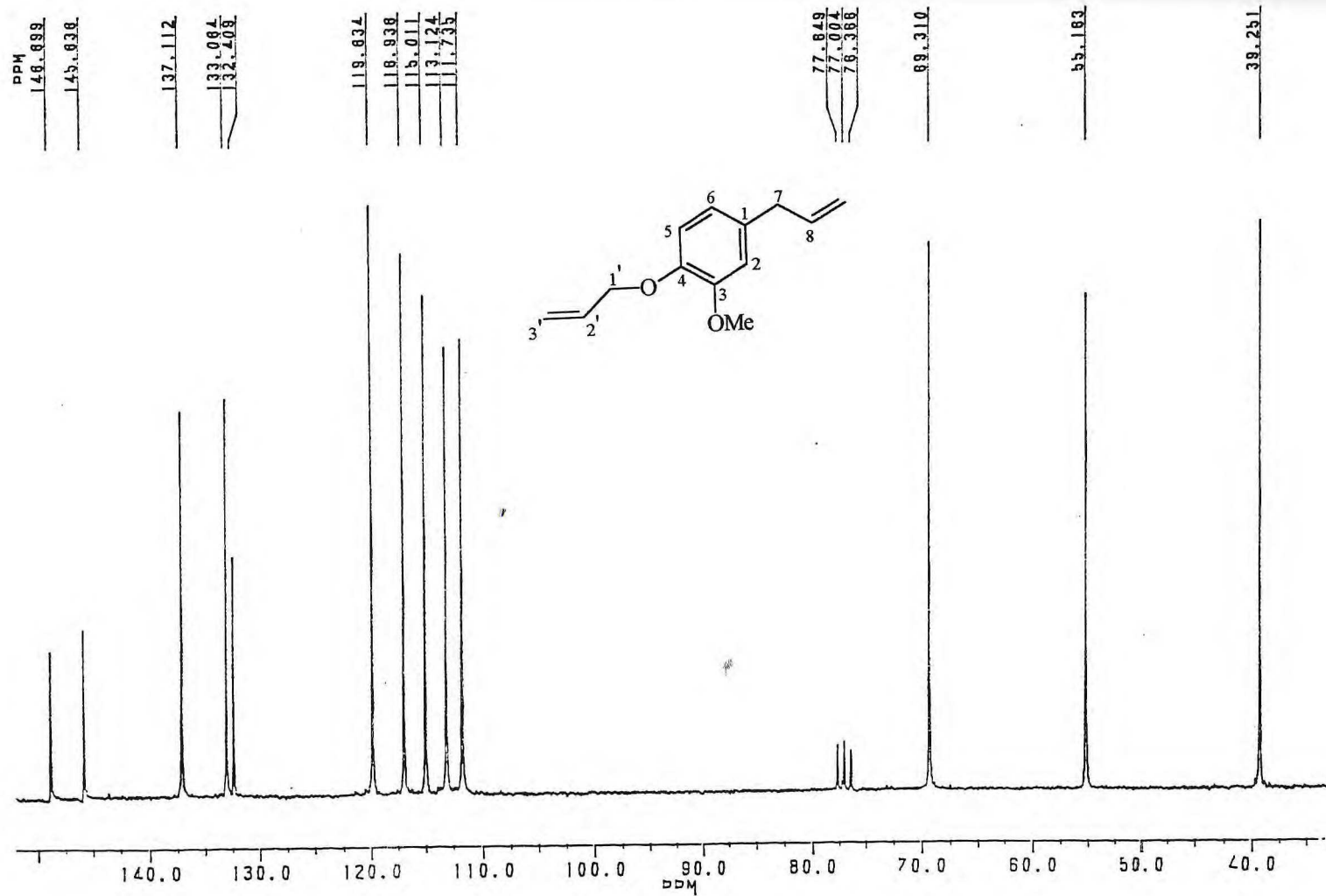


FIGURA 37- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - PND do alileugenol



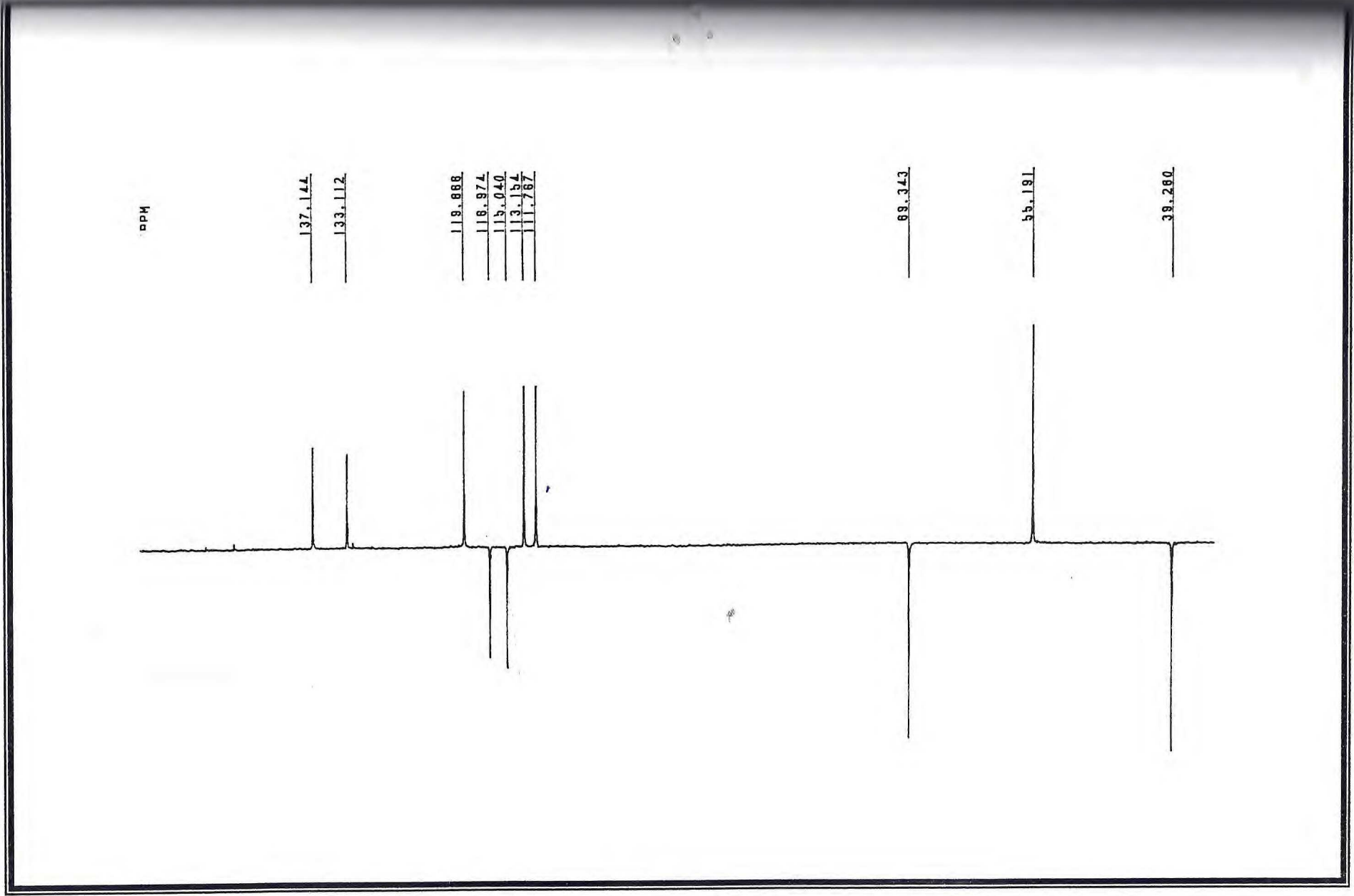


FIGURA 38- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- DEPT 135° do alileugenol

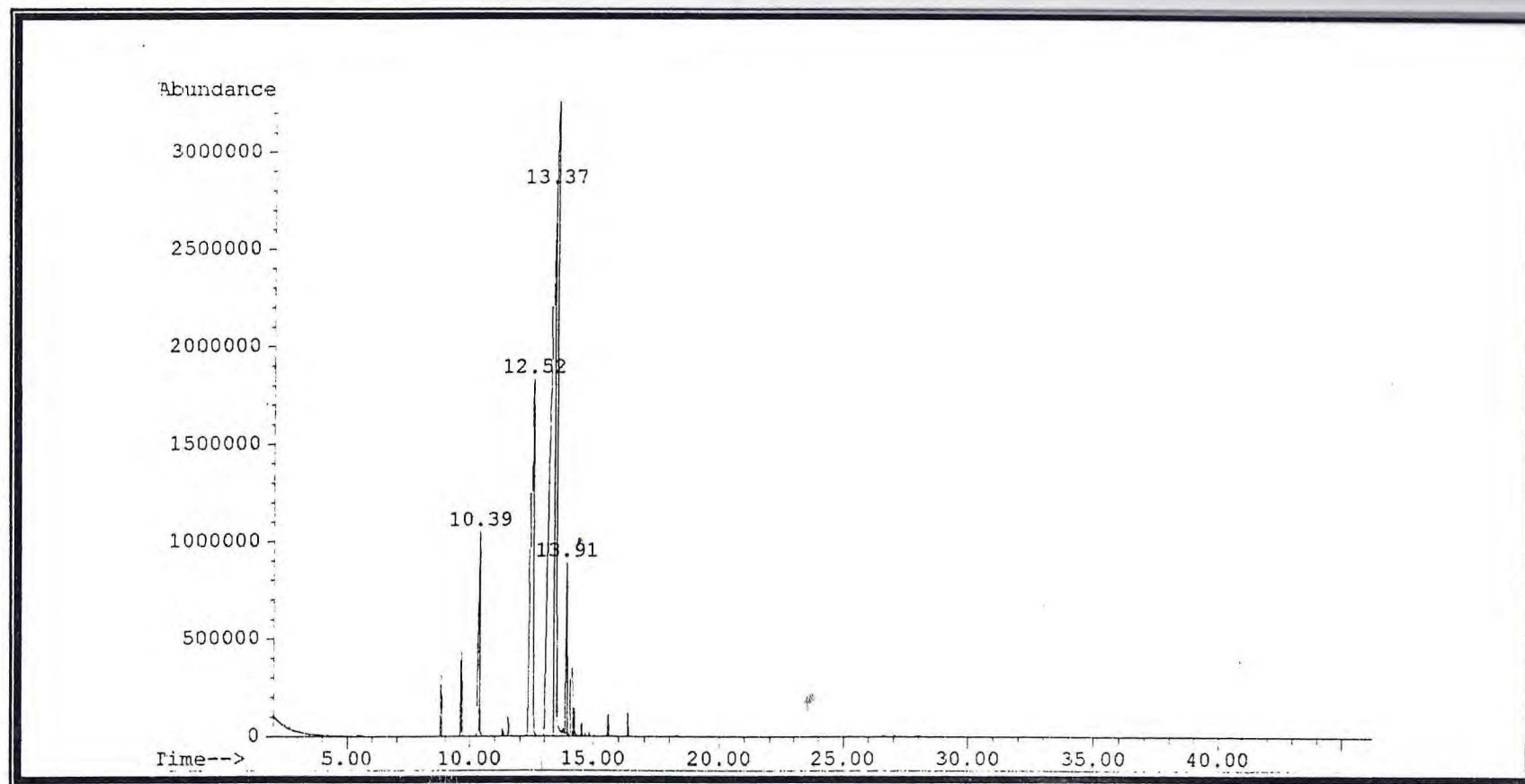


FIGURA 39- Cromatograma do espectro de massa do alilisoegenol

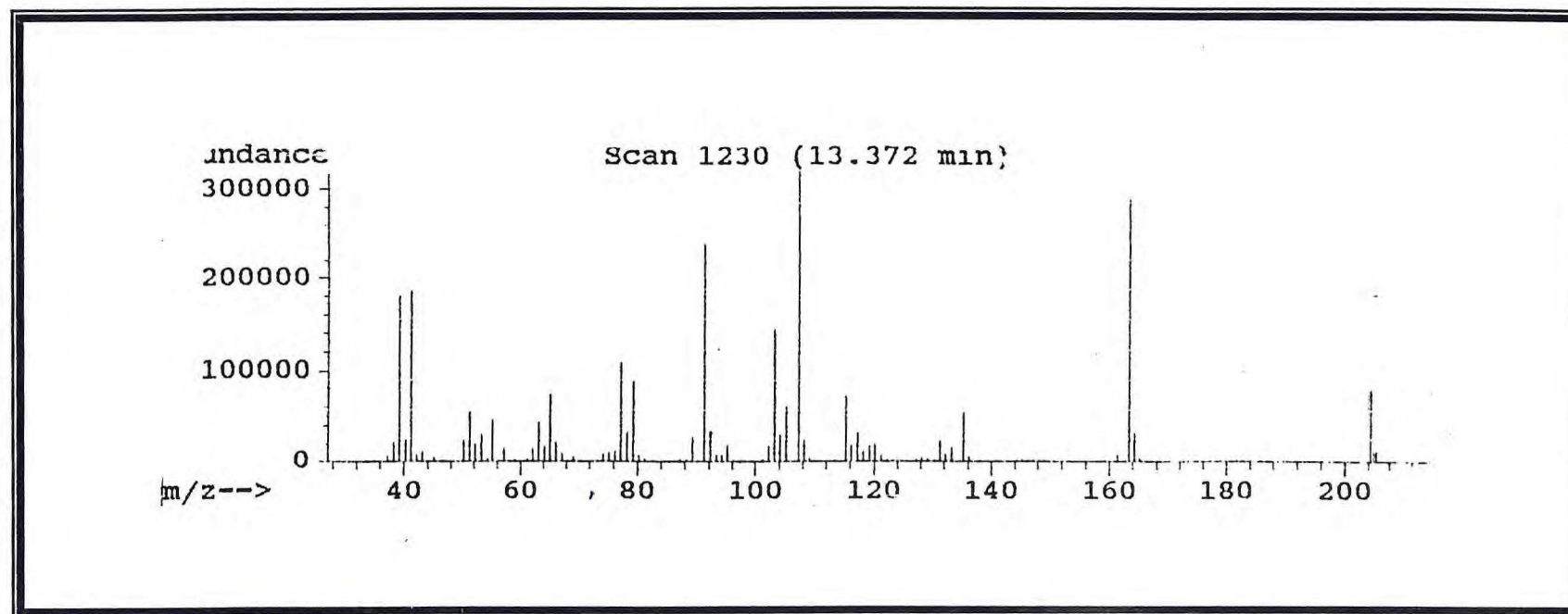


FIGURA 40- Espectro de massa do alilisoegenol

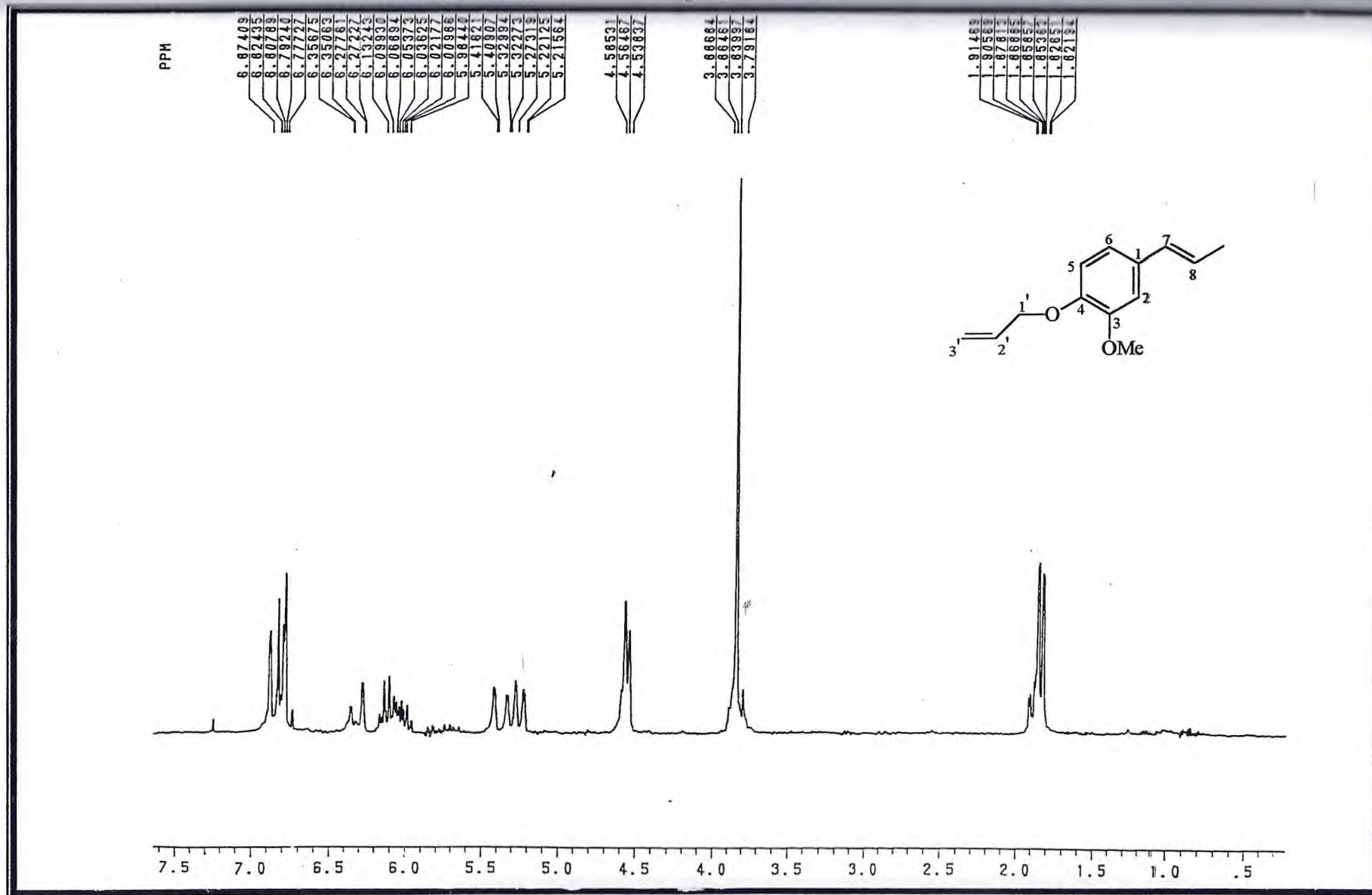


FIGURA 41- Espectro de RMN <sup>1</sup>H do alilisoegenol

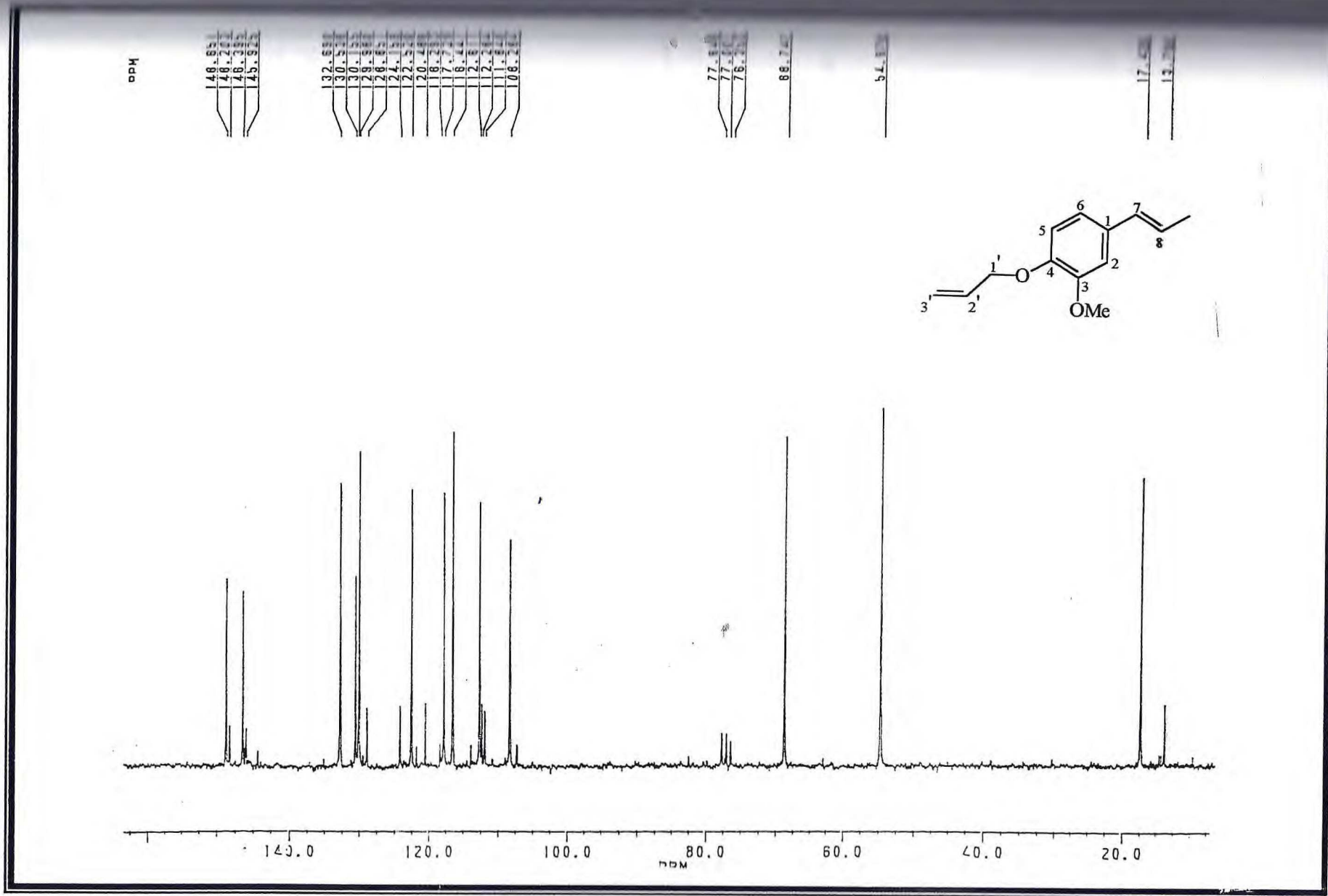


FIGURA 42- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - PND do alilisoegenol

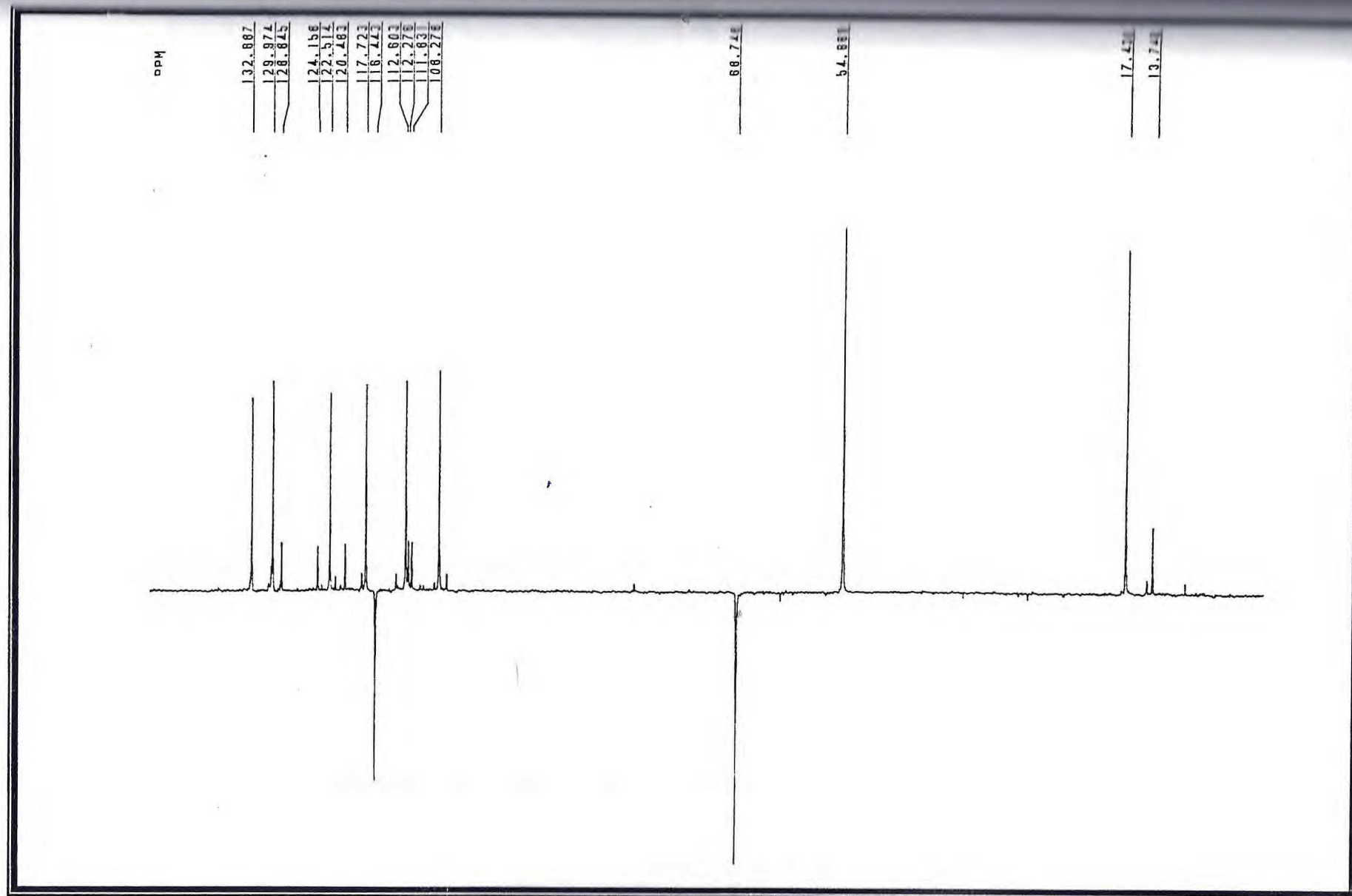


FIGURA 43- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- DEPT 135° do alilisoegenol

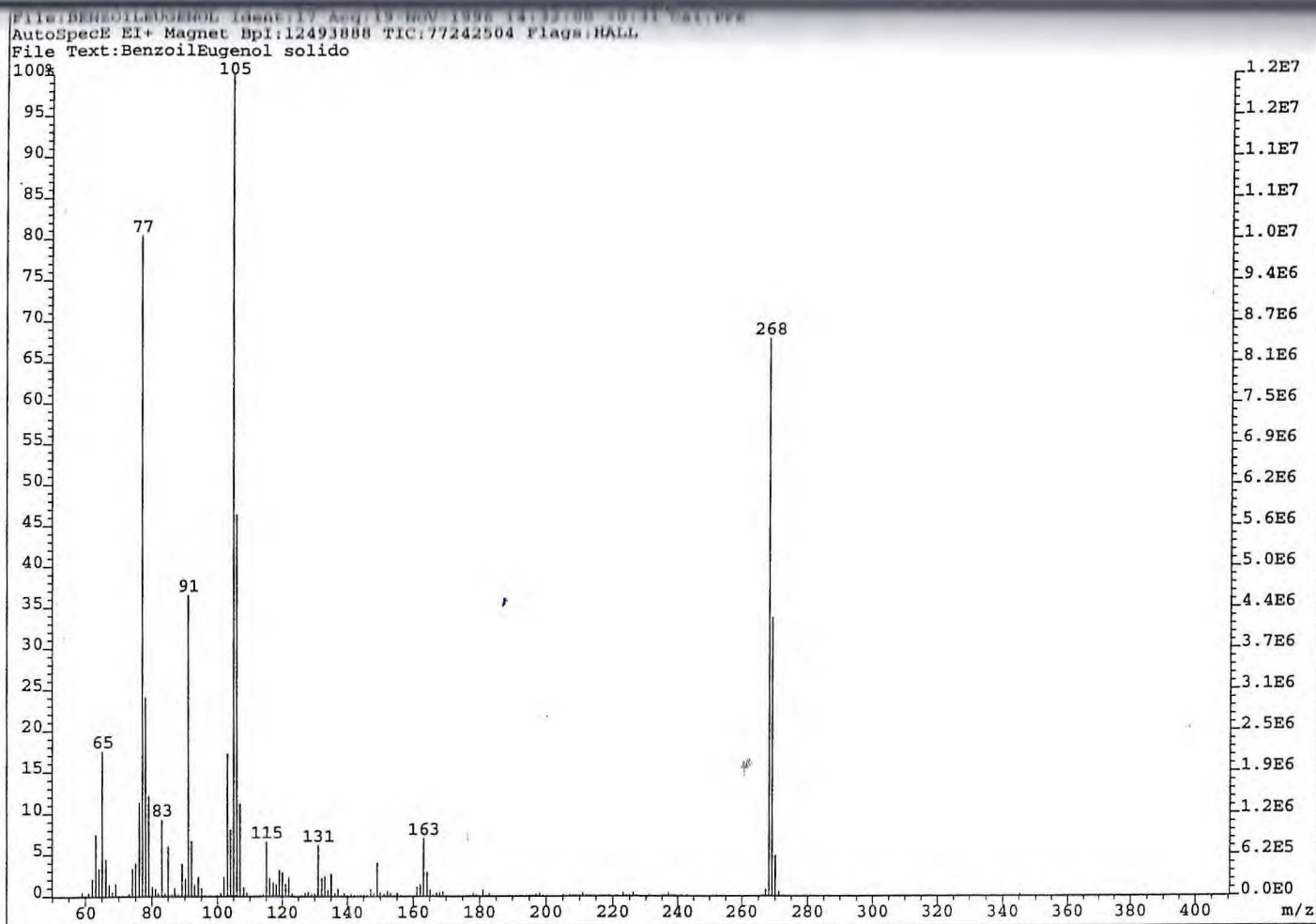


FIGURA 44- Espectro de massa do benzoileugenol

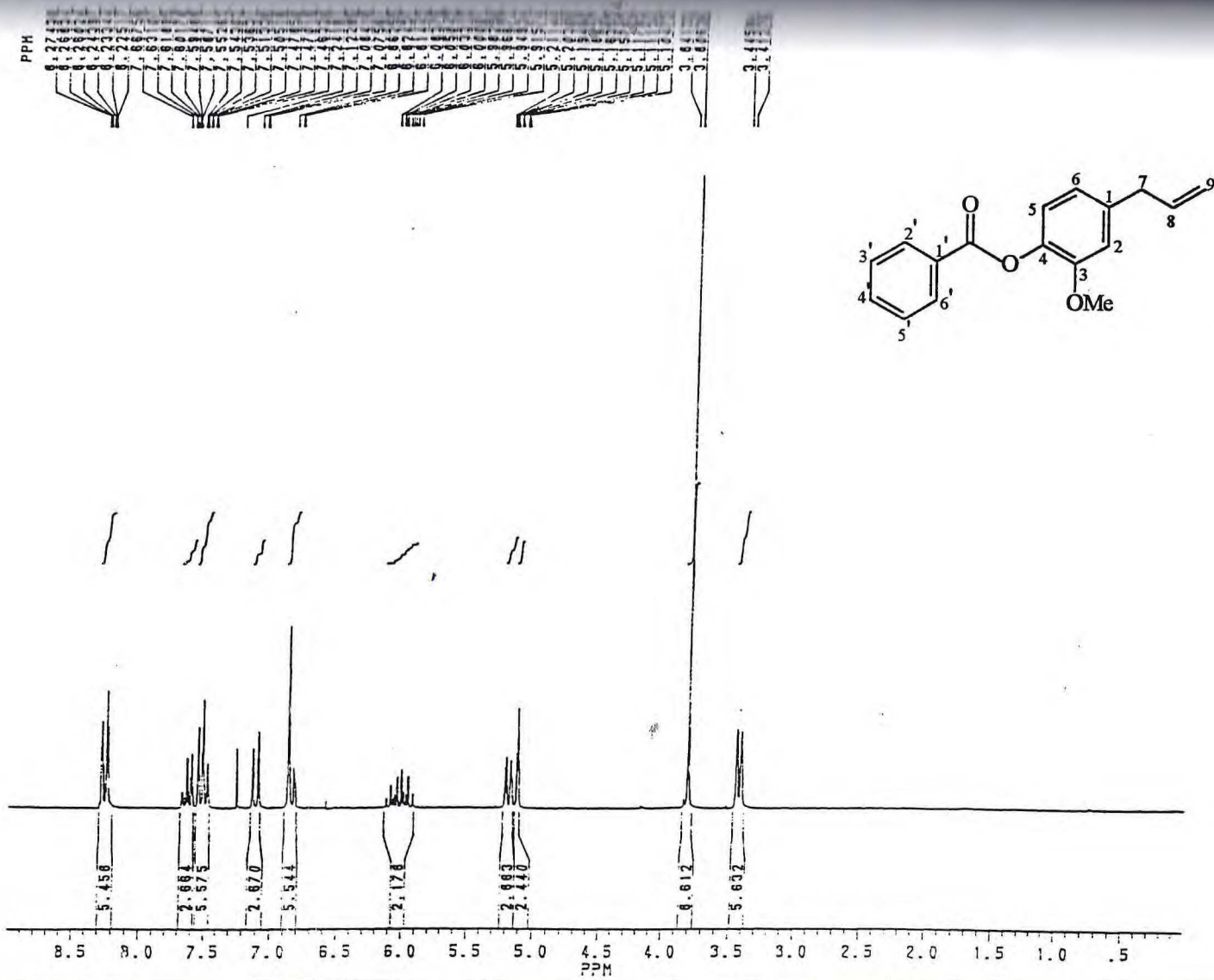


FIGURA 45- Espectro de RMN <sup>1</sup>H do benzoileugenol



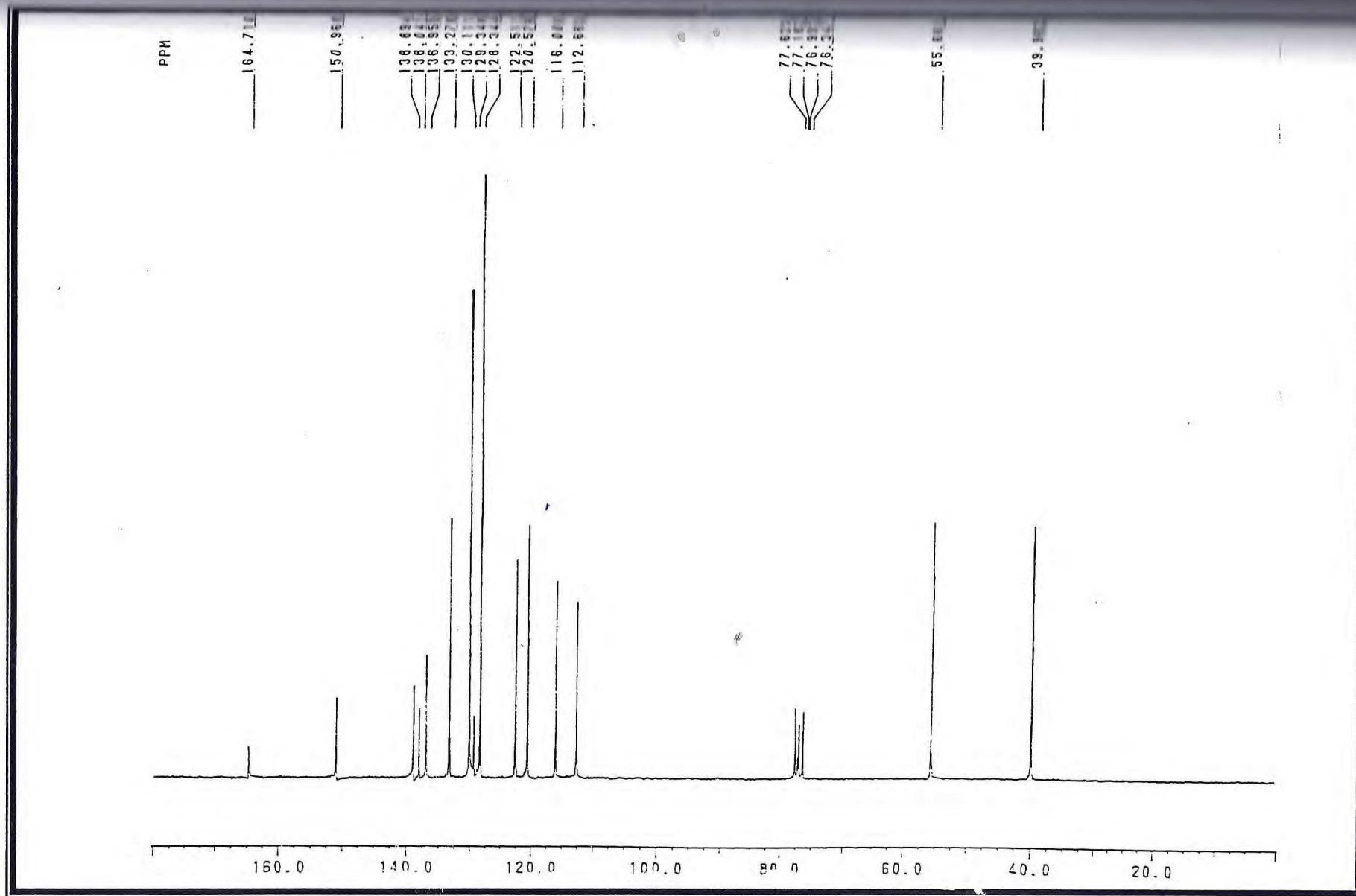


FIGURA 46- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- PND do benzoileugenol

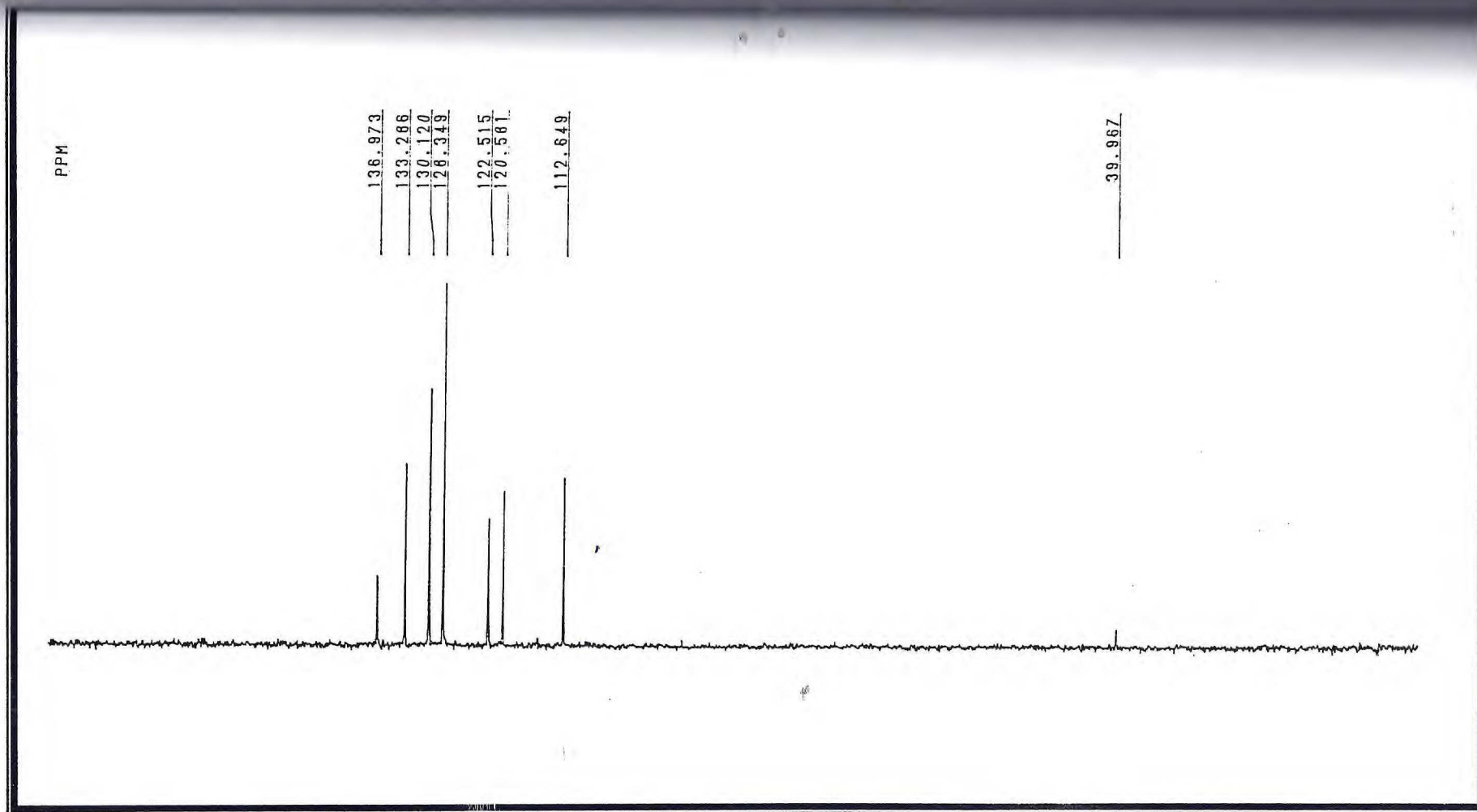


FIGURA 47- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - DEPT 90<sup>o</sup> do benzoileugenol

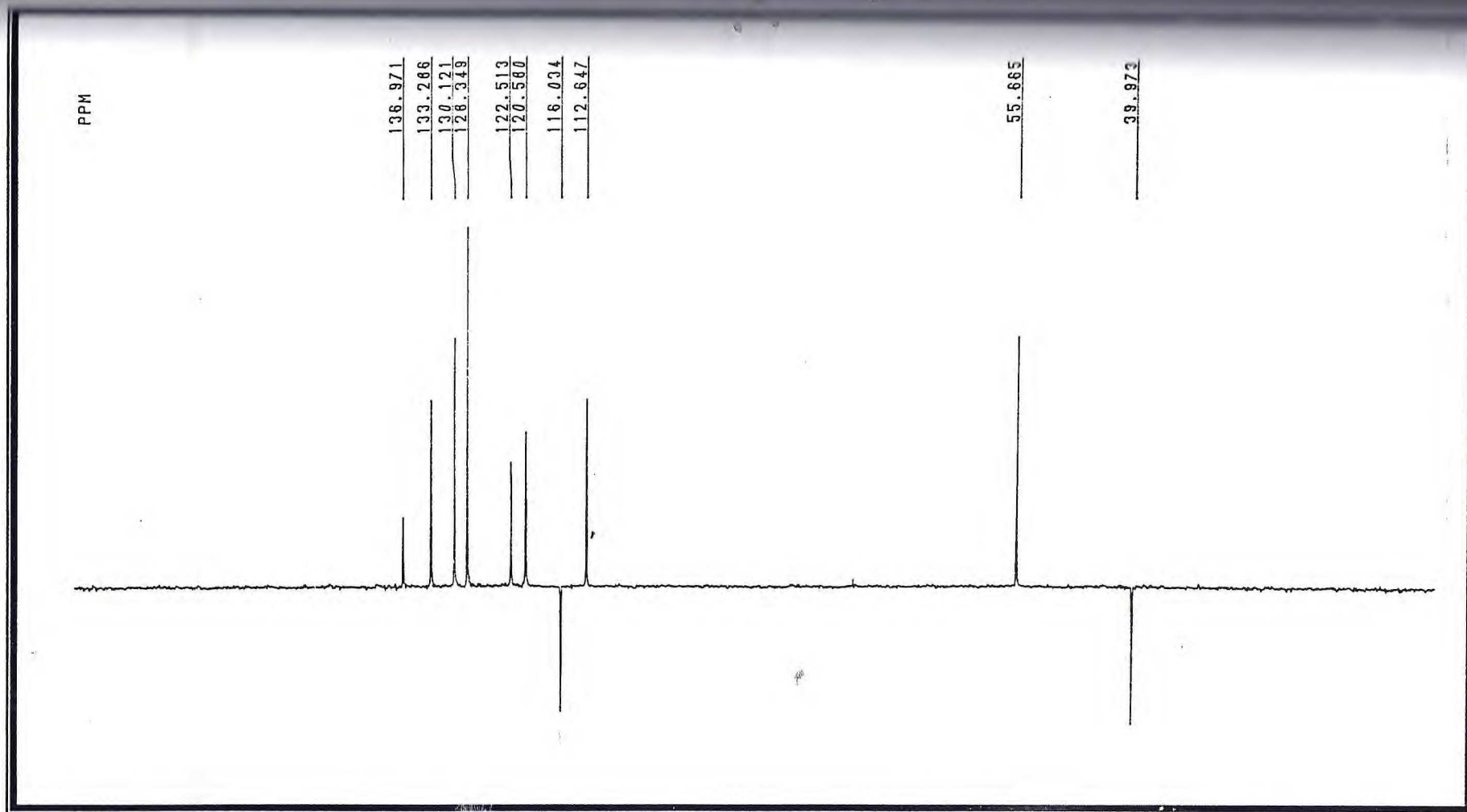


FIGURA 48- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- DEPT 135° do benzoileugenol

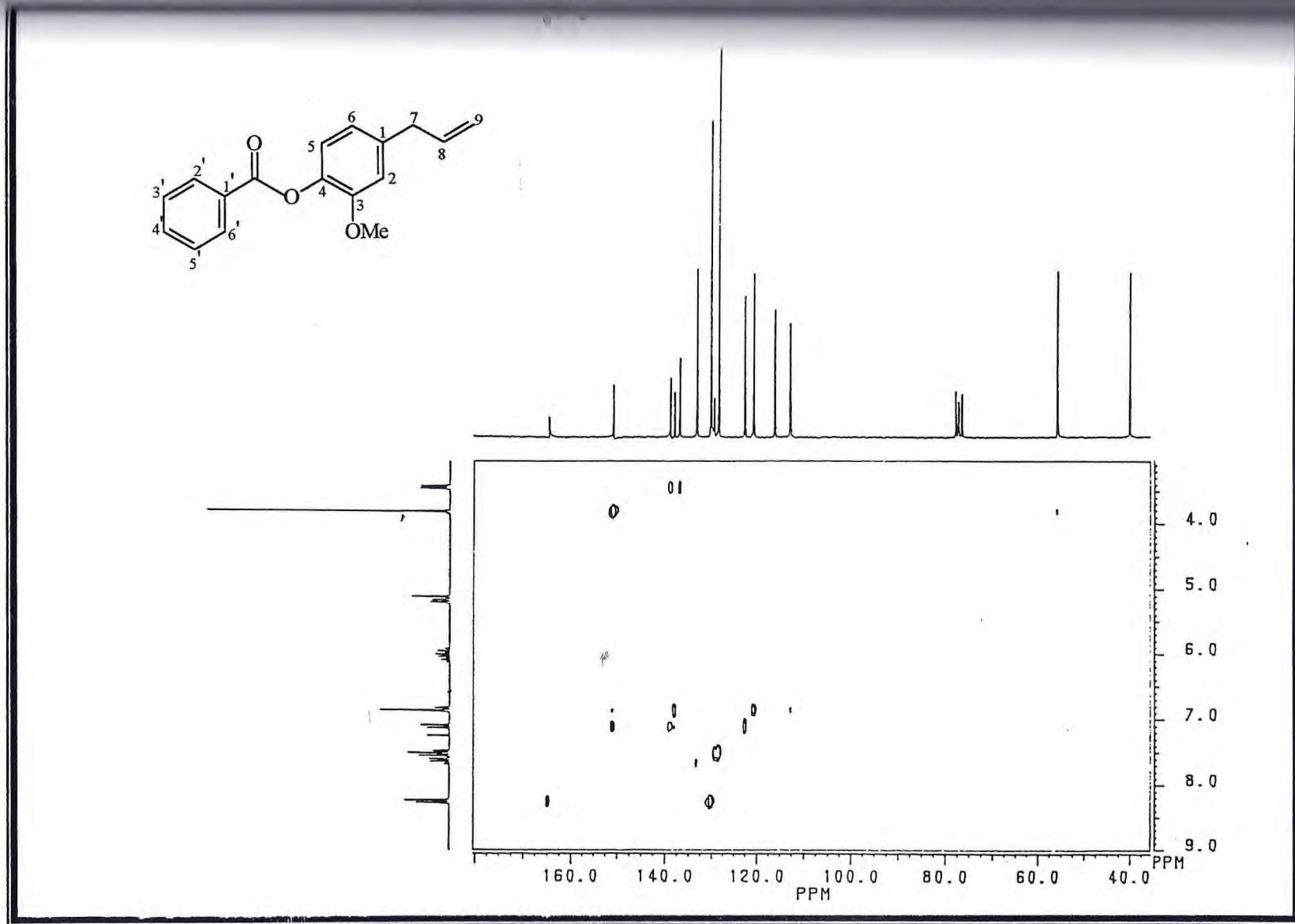


FIGURA 49- Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  a longa distância (COLOC) do benzoileugenol

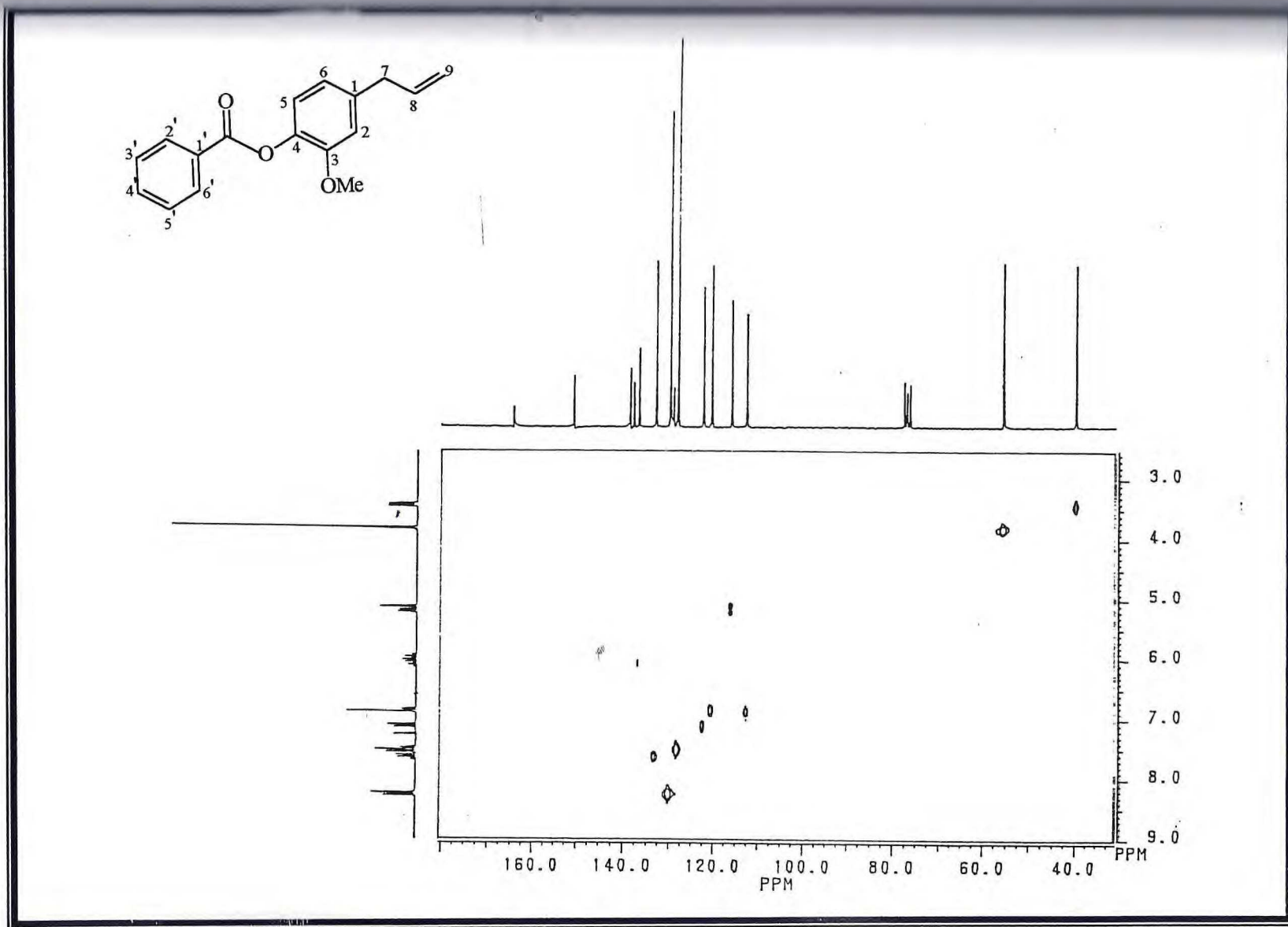


FIGURA 50- Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY( HETCOR) do benzoileugenol

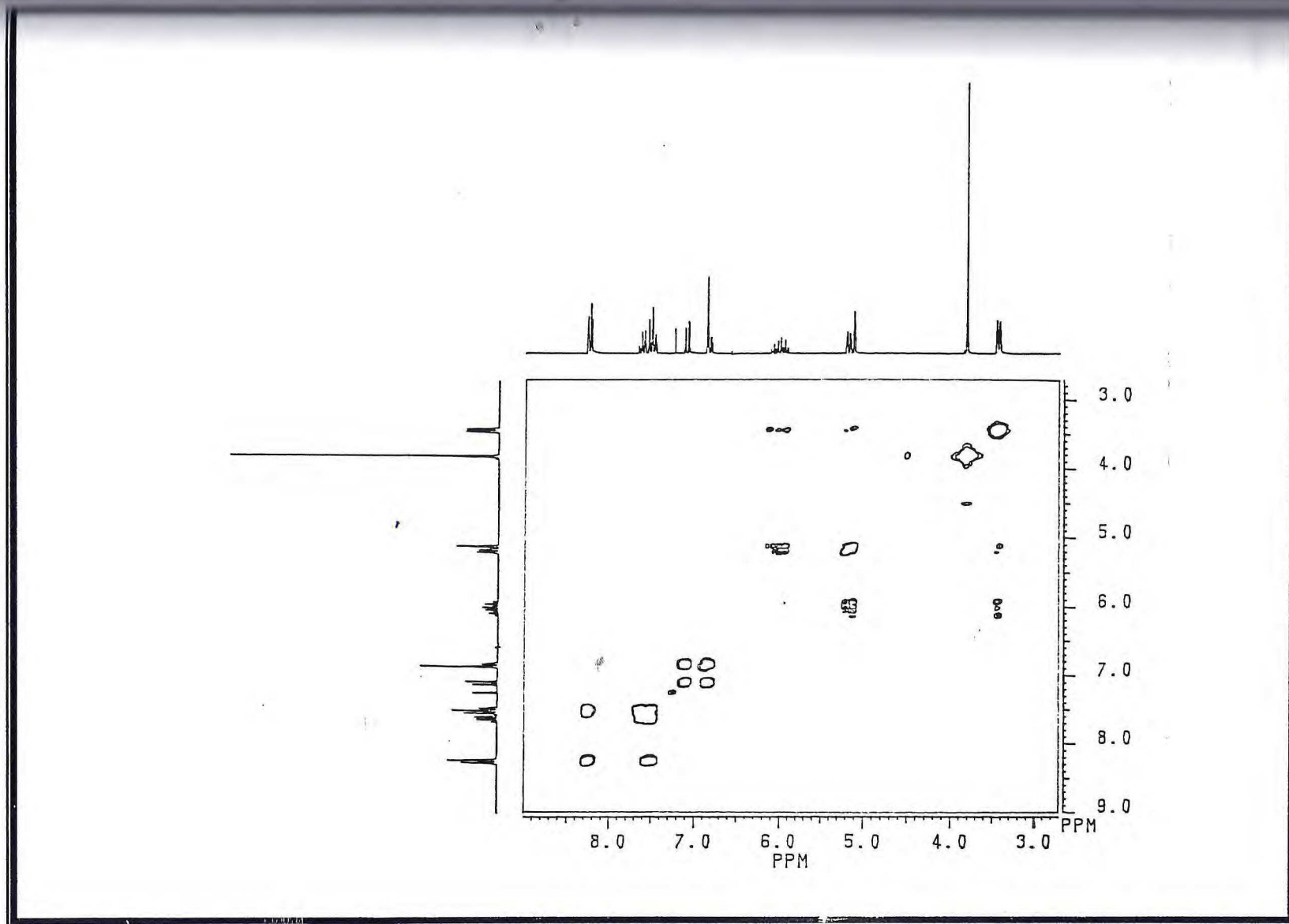


FIGURA 51- Espectro bidimensional de correlação homonuclear (<sup>1</sup>H x <sup>1</sup>H - COSY) do benzoileugenol

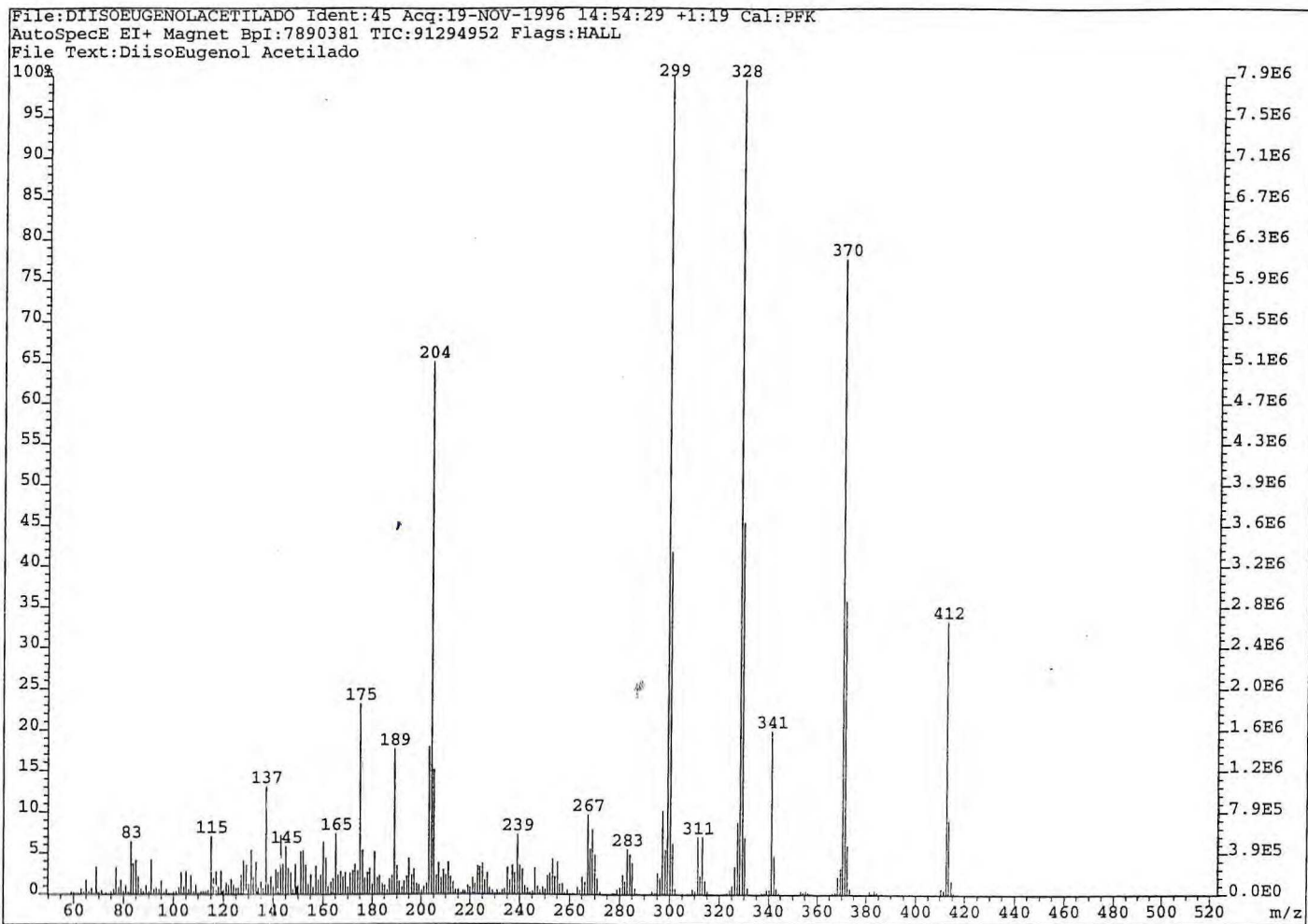


FIGURA 52. Espectro de massa do acetil-diisoeugenol

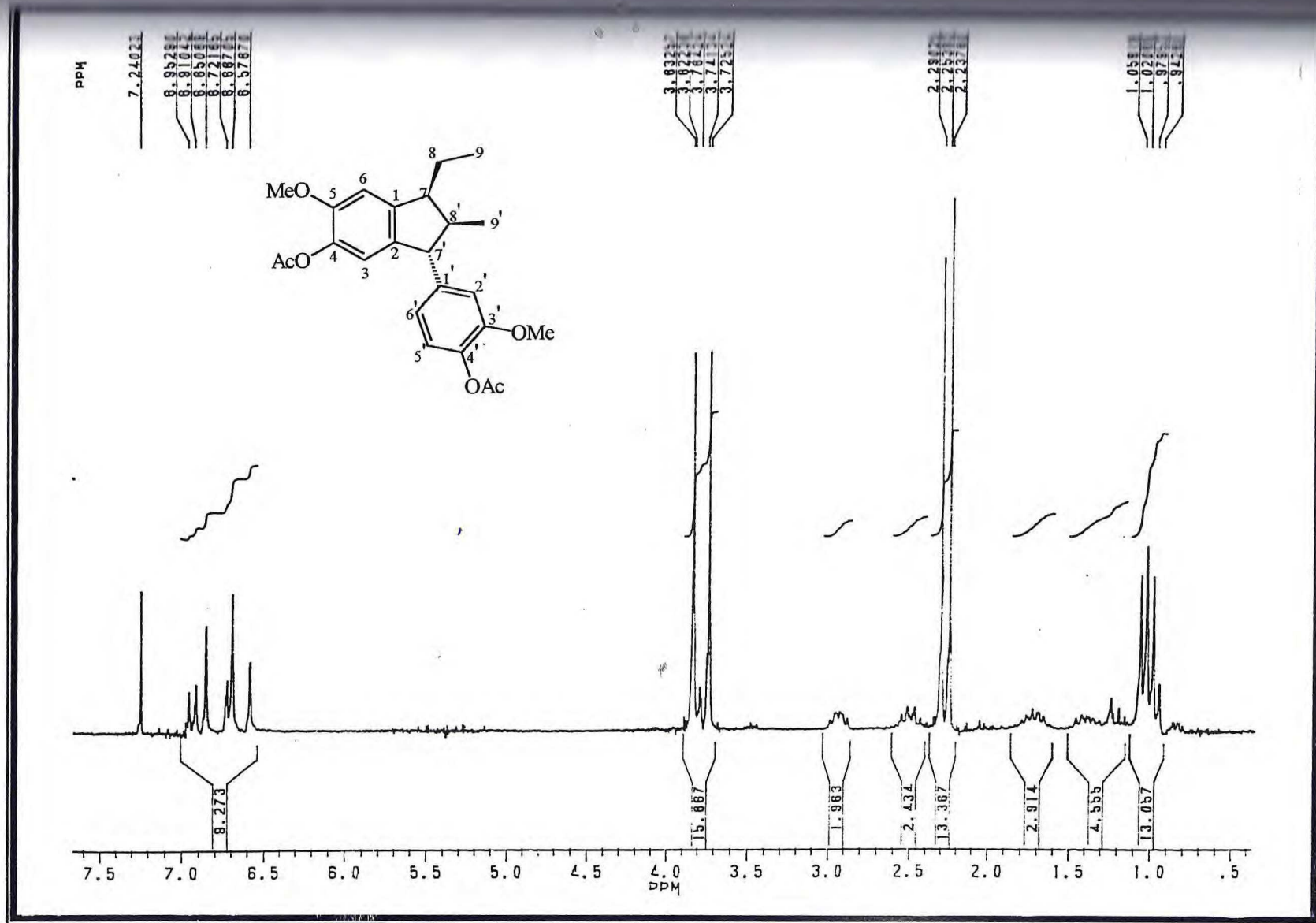


FIGURA 53- Espectro de RMN <sup>1</sup>H do acetil-diisoeugenol



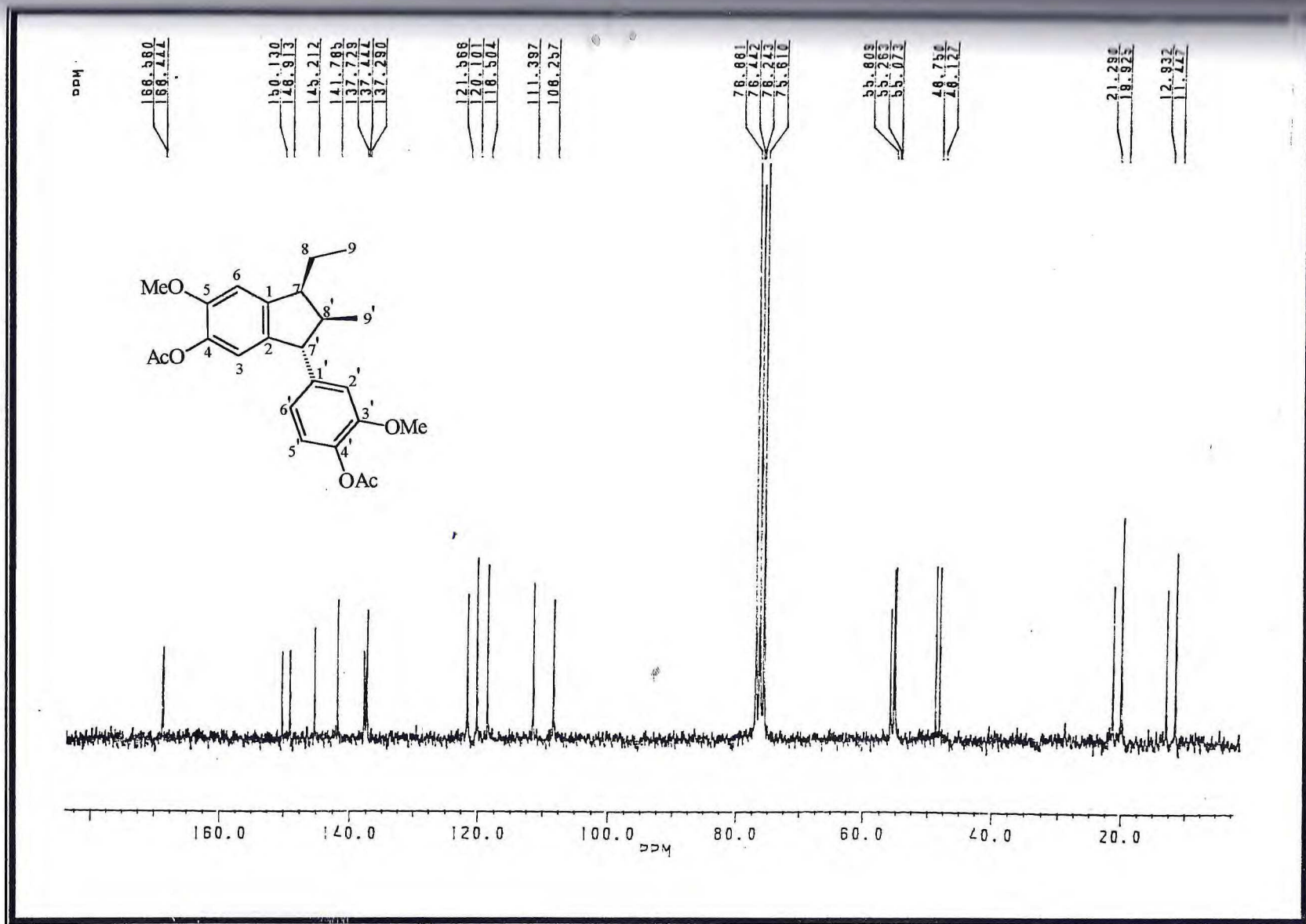


FIGURA 54-Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -PND do acetil-diisoeugenol

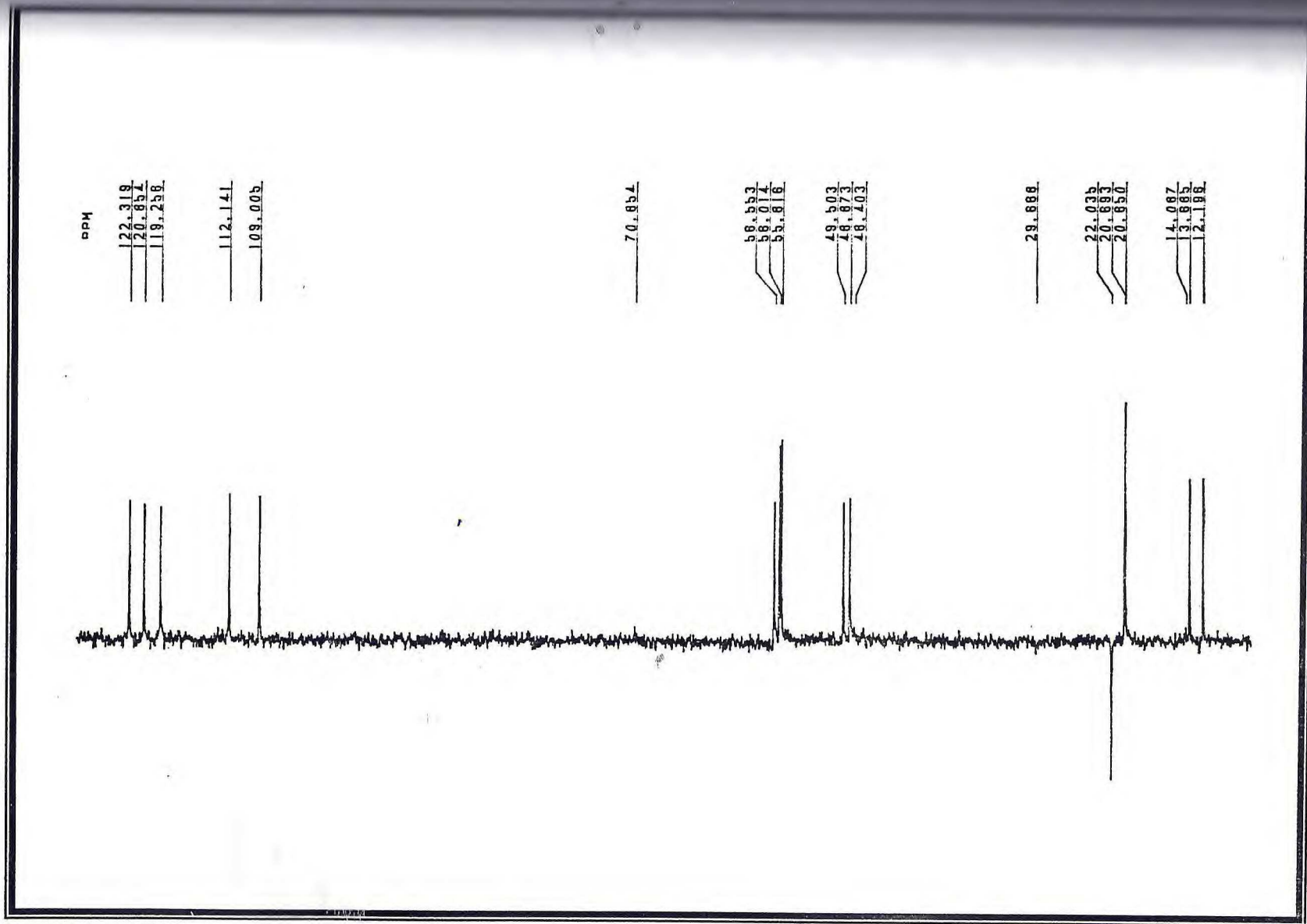


FIGURA 55- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - DEPT 135° do acetil-diisoeugenol

## CAPÍTULO 02 - ESTUDO QUÍMICO DA *Mentha villosa* Backer

### 2.1. INTRODUÇÃO

A família Labiatae é bastante rica em espécies distribuídas em 220 gêneros que habitam quase todo o mundo<sup>1</sup>. As 4000 espécies conhecidas têm ampla dispersão, ocorrendo principalmente nas regiões do Mediterrâneo, no Oriente e nas regiões montanhosas subtropicais. No Brasil, existem registros de 20 gêneros e 300 espécies vegetais. Estas espécies encontram-se espalhadas em todo território nacional e têm como característica principal o grande número de gêneros isolados morfologicamente<sup>2</sup>.

Seus espécimes são ervas anuais ou perenes ou subarbustos ou ainda arbustos, e só raramente algumas são mencionadas como árvores de pequeno porte, como em certas espécies de *Hyptis*. Os ramos jovens dessas plantas geralmente são tetragonulares, as folhas são simples, opostas, cujo limbo mostra todas as transições entre bordo inteiro, dentado, lobado ou partido. A inflorescência, tipicamente derivadas de uma série de ramos, são cimosas e frequentemente, formam-se em cada axila foliar, em pseudovercículos florais (verticilastros), que se dispõem em pares opostos, para constituírem inflorescências cimosas compostas. Em casos mais simples formam-se dicásios trifloros, que depois de uma ou mais divisões evoluem em duplos verticilos trifloros, em que depois de uma ou mais divisões, evoluem em duplos verticilos multifloros ou parcifloros, axilares ou distribuídos nas extremidades dos ramos. Nesse caso, as folhas superiores modificam-se em brácteas e ramo passando a constituir uma falsa espiga ou racemo, a que se dá o nome de “episcastros”. Em *Eriope*, as cimas trifloras reduzem-se a uma única flor, na qual somente o par de bracteólas na base do cálice indica a sua origem triflora<sup>2</sup>.

*Mentha villosa* ( Fig. 56, p. 182) é uma erva cultivada em todo Brasil conhecida vulgarmente como “hortelã da folha miúda”, “hortelã de panela” ou “hortelã rasteira”. Esta planta tem sido geralmente referida como *Mentha crispa* L. , que segundo determinações recentes representa um híbrido resultante do cruzamento entre *Mentha spicata* L. e a *Mentha suaveolens* Ehrh<sup>3</sup>.

Na medicina popular as espécies de *Mentha* são muito conhecidas e são difundidas por suas propriedades antiparasitárias, estomáticas, calmantes, analgésicas e no tratamento de cólicas menstruais<sup>4</sup>.

## 2.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA<sup>5</sup>

O nome genérico *Mentha* L. é derivado do nome grego Minthi; de acordo com a mitologia Grega, o Deus do universo, Plutão, transformou a ninfa Minthi na planta menta para protegê-la do ciúme de seu marido Proserpine.

O gênero *Mentha*, um membro da subfamília Nepetoideae e da tribo Mentheae, é dividido em 5 seções e consiste de aproximadamente 25 espécies.

Muitas espécies de *Mentha* são caracterizadas por uma grande variação morfológica. Por outro lado a hibridização que ocorre frequentemente quando as espécies da seção *Mentha* estão em contato, contribui para a variação complexa, caracterizando muitas populações.

Independentemente de sua alta variabilidade morfológica, muitas espécies de *Mentha* são caracterizadas por uma grande diversidade química, no que diz respeito aos constituintes de seus óleos essenciais.

A família Labiatae ou menta é melhor conhecida por seus óleos essenciais. Algumas destas mentas, principalmente algumas espécies do gênero *Mentha* L., são de maior importância econômica, o que tem resultado em um grande estudo sobre sua composição química.

Muitas mentas mostraram possuir atividades antibactericidas, devido, possivelmente, aos mono- e sesquiterpenos nos seus óleos essenciais, apesar de que outros compostos também possam ser responsáveis por esta atividade.

Provavelmente as plantas que têm maior importância econômica na família das Labiatae são dois membros do gênero *Mentha*: "Spearmint" (*Mentha spicata*) e "peppermint" (*Mentha piperita*), ambas importantes devido a composição química de seus óleos essenciais. "Peppermint" é uma fonte de mentol (*Mentha arvensis* L. é outra fonte importante deste composto) e "spearmint" é produtora de carvona. A importância econômica destas duas mentas estimulou estudos sobre a biossíntese de mono- e sesquiterpenos.

Estudos biossintéticos levaram a um melhor entendimento sobre a variação química que pode ocorrer com uma espécie particular. A ocorrência de variedades químicas (especificamente químicas ou quemo-tipos) tem sido importante na seleção de clones de *Mentha* com a finalidade de serem usados na agricultura e horticultura, onde diferentes clones foram selecionados por suas características aromáticas. Estes clones têm uma base química para os diferentes aromas e contêm diferentes misturas de compostos terpênicos.

Um grupo de possível significância taxonômica nesta família é o dos esteres cafeoilícos. Por outro lado, ácido cafeíco e ácidos hidrocínâmicos presentes nestas plantas são de ocorrência limitadas. Esteres di- e trissacarídeos são também encontrados nesta família.

Ácido rosmarínico, um outro derivado do ácido cafeíco, é abundantemente encontrado em Labiatae, mas não está presente em todos os gêneros. Zoz e Litvinenko (1979) admitiram que os glicosídeos de ácido rosmarínico e iridóides são exclusivos em 55 gêneros de Labiatae. Ácido litospérmico, um derivado do ácido rosmarínico, é conhecido somente em Labiatae e Boraginaceae, e é de potencial interesse taxonômico. Ácido clorogênico é encontrado em Labiatae e em outras 12 famílias.

Poucos alcalóides ocorrem nesta família. O alcalóide sesquiterpênico patchouli piridina e epiguaipiridina foram isolados do óleo de patchouli. Estracidrina, um derivado simples da prolina é um alcalóide pirrolidínico encontrado em Labiatae e em outras numerosas famílias.

Os açúcares estaciase e ajugose são encontrados em Labiatae. Eles são da série rafinose de açúcares, formados por sucessivas adições de unidades de galactose à molécula de sucrose. Estes compostos são indigestos por seres humanos.

A família Labiatae é rica em número de classes de substâncias, entre elas, flavonóides. Em adição, estas substâncias têm atividades biológicas significantes e têm um importante papel na adaptação e crescimento destas plantas no habitat semi-árido.

Os flavonóides são metabólitos fenólicos secundários e ocorrem em Labiatae como: flavonas, flavonóis, flavanonas, dihidroflavonois e chalconas. Oxigenações nas posições 5,7 e 4' são comuns nestes compostos. Os flavonóides de Labiatae, excluindo antocianinas, podem ser divididos, de acordo com suas propriedades de solubilidade e localização subcelular, em 3 grupos principais: o lipofílico, de flavonóides livres (agliconas), localizado externamente na superfície aérea; o pouco hidrofílico, flavonóides glicosídicos que estão localizados principalmente no tecido epidermal; e de solubilidade intermediária, flavonóides como as flavonas monoglicosídicas metoxiladas, que estão provavelmente localizados nas células epidermais.

Existem aproximadamente 147 flavonóides simples (agliconas) estruturalmente diferentes nas espécies Labite. A maioria deles são: flavonas (60%), flavonóis (16%), flavanonas (20%). Dihidroflavonóis (2%) e chalconas (2%) são raramente encontrados em Labiatae. Isoflavonas não foram encontradas nesta família.

Existem cerca de 140 flavonóides glicosídeos estruturalmente diferentes encontrados em Labiatae. A maioria deles têm como agliconas as flavonas (75%), seguido por flavonóis (10%), flavanonas (13%), chalconas (1%) e dihidroflavonois (1%).

Atualmente é aceita a definição de que raças químicas infraespecíficas podem ter interesse na presença ou ausência de um caminho biossintético particular e não na simples presença ou ausência de um composto particular.

Trabalhos publicados sugerem que a produção qualitativa dos óleos essenciais de plantas Labiatae são claramente controlados por sistemas genéticos simples.

Culturas de tecidos de plantas receberam recentemente muita atenção como sendo uma possível fonte para a produção de produtos naturais sob condições controláveis e reproduzíveis.

A acumulação de óleos essenciais em algumas Labiatae está associada com a presença de estruturas secretoras altamente especializadas, conhecidas como tricomas glandulares presentes principalmente nas folhas e cálices.

A Labiatae contém uma rica ordem de compostos incluindo monoterpénóides, sesquiterpénóides, diterpénóides, glicosídeos de iridóides e flavonóides que podem ser usados na busca de alternativas para a presente geração de inseticidas sintéticos.

Alguns monoterpénóides de Labiatae mostraram uma variedade de efeitos biológicos contra insetos. Por exemplo, pulegona, limoneno e linalol quando aplicados topicamente em *Musca domestica* e *Blattella germanica* mostraram potente atividade inseticida em altas concentrações. Estes mesmos compostos químicos são relativamente potentes contra *Sitophilus oryzae* (gorgulho de arroz) e *Blattella germanica* atuando como fumigantes.

d-Limoneno mostrou-se potente contra larva (*Diabrotica vergifera vergifera*) e também é tóxico contra pulga de gato (*Ctenocephalides felis*). Monoterpenóides de *Mentha* também mostraram inibição contra uma variedade de vermes.

Todos os compostos, exceto isomentona, mostraram significativa atividade antialimentar.

Alguns gêneros de Labiatae constituem uma fonte rica de diterpénóides. Alguns diterpénóides do tipo neo-clerodano mostraram potente atividade antialimentar.

Os iridóides glicosídicos são derivados de monoterpénóides e ocorrem como glicosídeos. Eles mostraram ser importantes na interação planta-inseto e são usados como inseticidas botânicos. Muitos são conhecidos por afastar insetos de alimentos.

Os flavonóides têm um importante papel na relação filogenética entre plantas e insetos. Muitos flavonóides tais como luteolina e canferol são onipresentes, mas alguns, tal como escutelarina, tem uma distribuição mais restrita dentro desta família.

Os usos medicinais dos constituintes desta família são bem documentados. Por exemplo, são comumente usados como antisépticos locais e no tratamento de tumores, cânceres, inchações e como alucinógenos nas espécies ricas em óleos essenciais. Mentol, um álcool terpênico monocíclico, opticamente ativo, está presente no óleo essencial de várias espécies de Labiatae, incluindo "peppermint", *Mentha x piperita* L. Ele é usado externamente como um analgésico em reumatismo e é usado por inalação no alívio de congestões nasais e sinusites. Mentol também estimula o sistema nervoso central, mas não é usado com esta finalidade por causa de sua toxicidade. O maior sintoma inclui vômitos, convulsões, colapso e coma. Mentol pode também produzir reações alérgicas em indivíduos sensíveis, tais como dermatites, dores de cabeça e erupções na pele.

Uma espécie de *Mentha* não identificada é mencionada por Laurin (1979) como sendo anti-inflamatória.

Na Itália, uma infusão ou tintura das folhas e inflorescências de *Mentha* sp. é digestiva, refrescando e parando fermentações intestinais. Ela tem suaves propriedades analgésicas e promove flatulência.

Na China e no Japão as folhas de *Mentha arvensis* L. são usadas como um estimulante e no Nordeste da Tailândia a infusão é recomendada para dores de estômago.

*Mentha australia* R. Br. é citada como tóxica para o gado. Uma infusão com esta espécie ou com *Mentha saturejoides* R. Br. tem sido usada por índios australianos como abortiva, e em forma de xarope é usada no tratamento de tosses e resfriados.

*Mentha cunninghamii* Benth. é usada por Maori de Nova Zelândia para induzir transpiração.

Uma infusão de *Mentha diemenica* Spreng. é usada no sul de Nova Wales no tratamento de desordens menstruais, e *Mentha gracilis* R. Br. por indígenas do sul de Nova Wales para repelir pulgas e percevejos.

Uma infusão de *Mentha longifolia* (L.) Huds. é citada por produzir acentuada diurese.

Em Messina, Sicília, *Mentha pulegium* L., é prescrita como vermífida e é usada na África do Sul como inseticida.

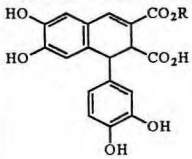
No Norte da África e Espanha, uma infusão de *Mentha spicata* L. é usada por suas propriedades afrodisíacas.

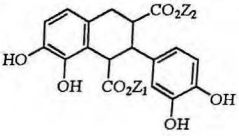
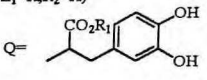
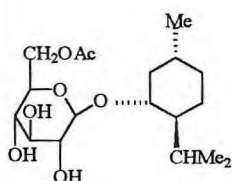
Foi realizado um levantamento bibliográfico no *Chemical Abstracts* sobre espécies de *Mentha*.

No Quadro 10 descreve-se as estruturas, nomes comuns e atividades biológicas e constituintes químicos isolados de espécies de *Mentha* e as referências bibliográficas citadas no *Chemical Abstracts*.

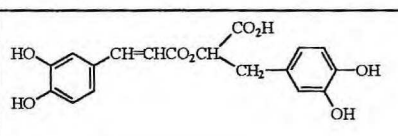


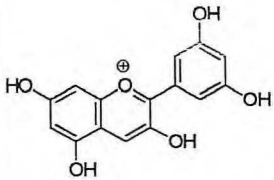
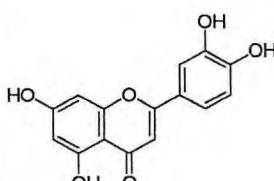
Quadro 10. Constituintes químicos isolados de espécies de *Mentha*.

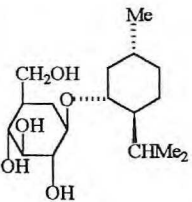
ESPÉCIE	ATIVIDADE	ESTRUTURAS E/OU NOMES COMUNS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS
<i>Mentha arvensis</i> <sup>6</sup>		pulegona (principal), mentona e mentol
<i>Mentha</i> <sup>7</sup>		(S)-4-limoneno
<i>Mentha arvensis</i> <sup>8</sup>		mentol(80%)
<i>Mentha citrata</i> <sup>8</sup>		linalol R=H(72%) e acetato de linalila R=Ac(44%)
<i>Mentha spicata</i> <sup>8</sup>		carvona(61-78%)
<i>Mentha longifolia</i> <i>himalaiensis</i> <sup>9</sup>		óxido de <i>cis</i> e <i>trans</i> piperitona e óxido de piperitenona
<i>Mentha pulegium</i> <sup>10</sup>		nitritos e nitratos
<i>Mentha piperita</i> <sup>10</sup>		nitritos e nitratos
<i>Mentha verticillata</i> <sup>11</sup>		carvona e <i>trans</i> -carveol
<i>Mentha arvensis</i> <sup>12</sup>		mentona, mentol, pulegona e neoisomentol
<i>Mentha spicata</i> <sup>13</sup>	anticorpo policlonal	limoneno sintase
<i>Mentha arvensis</i> X <i>Mentha spicata</i> <sup>14</sup>		polissacarídeos extracelulares [ácido galacturônico(principal), arabinose, galactose, glucose, xilose, raminose, manose, ácido urônico, aminoácidos(alanina, prolina, hidroxiprolina, valina, ácido aspártico e serina)]
<i>Mentha haplocalyx</i> <sup>15</sup>	anti-inflamatória	 <p>R=H, Ácidos 1,2-dihidronaftaleno-2,3-dicarboxílicos</p>
<i>Mentha haplocalyx</i> BRIQ <sup>16</sup>	anti-inflamatória	Derivados ácidos de 1-(3,4-dihidroxifenil)-1,2-dihidronaftaleno-2,3-

		 <p>I(Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub>=H, Q; R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>=H, Me; quando Z<sub>2</sub>=H, R<sub>1</sub>=H e quando Z<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=H)</p> <p>Q= </p> <p>dicarboxílicos</p>
<i>Mentha japonica</i> Makino <sup>17</sup>		mentona e pulegona (principais)
<i>Mentha viridis</i> <i>lavanduliodora</i> <sup>18</sup>		linalol e acetato de linalila (principais), limoneno, 1,8-cineol, β-cariofileno, terpineol e geraniol.
<i>Mentha arvensis</i> <sup>19</sup>	antibactericida, antifun- gicida e antimicrobiana	óleo essencial
<i>Mentha arvensis</i> <sup>20</sup>		mentol e mentona
<i>Mentha longifolia</i> L. <sup>21</sup>	nutricional	proteínas, ácidos graxos, mono- dissacarídeos, amidos, fibra, cinza, água, cafeína, ácidos carboxílicos, substâncias taninas, minerais ( Na, K, Ca, Mg, P, Fe ) vitaminas (β-caroteno, B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , PP, P e C)
<i>Mentha arvensis</i> var. <i>piperascens</i> Mal. <sup>22</sup>		l-mentil-6'-O-acetil-β-D-glucosídeo  β-sitosteril-β-D- glucosídeo e l-mentil-β-D-glucosídeo- O-acetil
<i>Mentha verticillata</i> X <i>Mentha spicata</i> L. <sup>23</sup>		óxido de piperitenona (62%) e carvona
<i>Mentha x. verticillata</i> <sup>24</sup>		mentol(principal), limoneno, mentona, acetato de mentila, germacreno D, e β- cariofileno
<i>Mentha gentilis cardiaca</i> <sup>25</sup>		dihidrocarvil, neodihidrocarvil, <i>trans</i> -

		carvil, <i>cis</i> -carvil e 3-octil- $\beta$ -D-glucosídeo
<i>Mentha arvensis</i> (L.) <sup>26</sup>		$\alpha$ - pineno, $\beta$ -pineno, limoneno, acetato de geranila, acetato de linalila, piperitona, $\alpha$ - e $\beta$ -citral, linalol, citronelol, nerol e geraniol.
<i>Mentha arvensis</i> <sup>27</sup>		mentol, mentona, pulegona, acetato de mentila, d-isomentona e neomentol
<i>Mentha longifolia</i> e <i>Mentha spicata</i> <sup>28</sup>		glicosídeo do eugenol, 2- metoxi-1- vinilfenol e seus isômeros
<i>Mentha sachalinensis</i> X <i>Mentha caucasica</i> , <i>Mentha incana</i> , <i>Mentha</i> <i>royleana</i> , <i>Mentha</i> <i>haplocalyx</i> ou <i>Mentha</i> <i>aquatica</i> <sup>29</sup>		mentol(14-93%) e mentona(16-75%)
<i>Mentha</i> <sup>30</sup>		limoneno (principal), dihidrocarvona, carvona, <i>trans</i> -dihidrocarvil acetato, <i>trans</i> - carvil acetato e 3-octil acetato
<i>Mentha arvensis</i> <sup>31</sup>	antibactericida,antifun- gicida e inseticida	óleo essencial
<i>Mentha citrata</i> (MC), <i>Mentha gentilis</i> (MG) e <i>Mentha spicata</i> var. <i>longifolia</i> (MSL) <sup>32</sup>		linalol (principal),acetato de linalila (MC), mentona (MG), mentol (MG), 1,8-cineol (MG e MC) e cariofileno (MG)
<i>Mentha longifolia</i> <sup>33</sup>		$\beta$ - sitosterol, ácido ursólico, luteolina, hesperetina, hesperetina-7-rutinosídeo e 3'-hidroxi-4',5,6,7-tetrametoxiflavona
<i>Mentha longifolia</i> (L.) Hudson, <i>Mentha</i> <i>suaveolens</i> Ehrh. e <i>Mentha</i> <i>spicata</i> L. <sup>34</sup>		5,6,4'-trihidroxi-7,8,3'-trimetoxiflavona (Timonina) e 5,6,4'-trihidroxi-7,3'- dimetoxiflavona

<i>Mentha</i> <sup>35</sup>		mentona, isomentona e mentol
<i>Mentha arvensis</i> X <i>Mentha piperita</i> <sup>36</sup>		mentol (61,75%), mentona, mentofurano, isomentona, α- tujeno, α- pineno, linalol, pulegona e neomentol
<i>Mentha arvensis</i> <sup>37</sup>		monogalactosil diglicerídeos e digalactosil diglicerídeos (principais), fosfatidilcolina, ácido linoleico e ácido palmítico
<i>Mentha piperita e Mentha arvensis</i> <sup>38</sup>		d-mentol, l-mentol, mentil - acetato, l-d-isomentona, l e d-mentona e neoisomentol
<i>Mentha canadensis</i> X <i>Mentha incana</i> <sup>39</sup>		mentol (38,2-77,3%), acetato de mentila e mentofurano
<i>Mentha denticulata</i> Strail <sup>40</sup>		mentofurano, 1,8-cineol, mentona e pulegona
<i>Mentha pallescens</i> (MP) e <i>Mentha rubescens</i> (MR) <sup>41</sup>		mentol, mentona e mentofurano em (MR) e acetato de mentila, mentol, mentofurano e (MP)
<i>Mentha sachalinensis</i> X <i>Mentha aquatica</i> <sup>42</sup>		mentol, mentona, piperitona, mentofurano e pulegona
<i>Mentha arvensis</i> <sup>43</sup>		mentona, mentol e acetato de mentila
<i>Mentha</i> <sup>44</sup>	adstringente	 <p>ÁCIDO ROSMARÍNICO</p>
<i>Mentha rotundifolia</i> <sup>45</sup>		rotundifolona(+) e óxido de piperitenona
<i>Mentha citrata</i> X <i>Mentha aquatica</i> <sup>46</sup>		β-pineno(22,3%) e isopinocanfona(29,9%)
<i>Mentha</i> ssp. <sup>47</sup>		cumarinas, escopoletina, astol e angelicina
<i>Mentha suaveolens</i> Ehrh. <sup>48</sup>		α-pineno, canfeno, β-pineno, 1,8-cineol, limoneno, p-cimeno e óxido de piperitenona(32-67%)
<i>Mentha suaveolens</i>		óxido de piperitona(23%), óxido de piperitona

<i>timija</i> <sup>48</sup>		piperitenona(21%) e terpenos(2%)
<i>Mentha arvensis</i> <sup>49</sup>	biologicamente ativo	(-)-mentol (principal)
<i>Mentha piperita</i> e <i>Mentha citrata</i> <sup>50</sup>	antifungicida, antibactericida e antimicrobiana	óleos essenciais
<i>Mentha crispa</i> <sup>51</sup>		linalol, acetato de linalila, limoneno, p-cimol, geranial, neral, pulegona, carvona, piperitona e isômeros de $\alpha$ e $\beta$ - metilheptenona
<i>Mentha piperita</i> e <i>Mentha crispa</i> <sup>52</sup>	bactericida e agentes que melhoram as defesas do organismo	óleo essencial
<i>Mentha rotundifolia</i> (Linn.) Huds. <sup>53</sup>		óxido de piperitenona, óxido de piperitona, acetato de (+)-1,2-epoxineomentil
<i>Mentha aquatica</i> X <i>Mentha spicata</i> <sup>54</sup>		mentol (principal)
<i>Mentha asiatica</i> Boriss <sup>55</sup>		carvona (principal), pulegona, piperitona e diosfenoleno (produto secundário do óxido de piperitenona)
<i>Mentha rotundifolia</i> (L.) Hudson <sup>56</sup>		agliconas, ácido cafeico, ácido p-hidroxibenzóico, ácido ferúlico, ácido p-cumarico, apigenina, luteolinidina, pelargonidina, cianidina:  , delfinidina, petunidina e luteolina: 
<i>Mentha arvensis</i> var		mentol

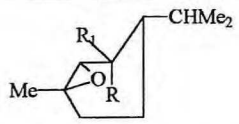
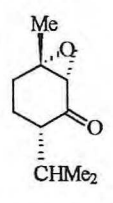
<i>piperascens</i> <sup>57</sup>		
<i>Mentha arvensis</i> var <i>piperascens</i> X <i>Mentha</i> <i>rotundifolia</i> <sup>57</sup>		mentona
<i>Mentha arvensis</i> L. X <i>Mentha piperita</i> X <i>Mentha</i> <i>crispa</i> <sup>58</sup>		acetato de mentila (principal)
<i>Mentha arvensis</i> Linn. var. <i>piperascens</i> Holmes <sup>59</sup>		mentol
<i>Mentha piperita</i> <sup>60</sup>		p-mentano, l-mentol, l- mentona, limoneno e terpinoleno
<i>Mentha gentilis</i> L. <sup>61</sup>		(+)-pulegona (principal)
<i>Mentha</i> <i>piperita</i> (peppermint) <sup>62</sup>	antioxidativa	óleo essencial
<i>Mentha arvensis</i> <i>piperascens</i> <sup>63</sup>	medicinal	l-mentil-β-D-glucosídeo 
<i>Mentha citrata</i> Ehrh., <i>Mentha piperita</i> L. e <i>Mentha spicata</i> Huds. <sup>64</sup>	antifúngica	óleo essencial
<i>Mentha longifolia</i> L. var. <i>abyssinica</i> Schw <sup>65</sup>		mentol, aldeído isovalérico, cetonas terpenóides e vários fenóis não identificados
<i>Mentha arvensis</i> var <i>piperascens</i> (Japanese peppermint) <sup>66</sup>		mentil glucosídeo, mentona e mentol
<i>Mentha crispa</i> Schrader <sup>67</sup>		carvona e limoneno
<i>Mentha</i> (Vietnamese) <sup>68</sup>		acetato de mentila, mentol, pulegona

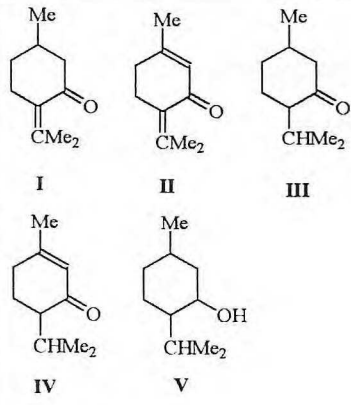
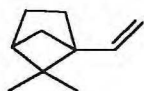
		carvona, mentona e $\beta$ -pineno
<i>Mentha arvensis</i> e <i>Mentha piperita</i> <sup>69</sup>	contra dermatofites e antifungica	óleo essencial
<i>Mentha arvensis</i> var. <i>piperascens</i> <sup>70</sup>		ácidos oleanólico, pomólico e ursólico
<i>Mentha longifolia</i> (L.) L. <sup>71</sup>		pulegona, piperitona, mentol e mentona
<i>Mentha spicata</i> X <i>Mentha viridis</i> (Svejen) <sup>72</sup>		açúcar, vitamina C e carvona
<i>Mentha</i> <sup>73</sup>		monoacetato de l-mentil- $\beta$ -D-glucosídeo, sitosterol $\beta$ -D-glucosídeo e l-mentil $\beta$ -D-glucosídeo
<i>Mentha arvensis</i> X <i>Mentha piperita</i> <sup>74</sup>		carvona, pulegona, mentol, isomentol, acetato de mentila e limoneno
<i>Mentha arvensis</i> e <i>Mentha piperita</i> <sup>75</sup>		l-mentol, acetato de mentila e mentona
<i>Mentha citrata</i> Ehrh. <sup>76</sup>		linalol, acetato de linalila, piperitona e acetato de geranila
<i>Mentha rotundifolia</i> (Linn.) Huds <sup>77</sup>		óxido de piperitenona, óxido de piperitona, 1,2-epoxineomentol, acetato de 1,2-epoxineomentila, piperitenona e 4-hidroxipiperitona
<i>Mentha asiatica</i> Boriss <sup>78</sup>		mentol
<i>Mentha kopetdagensis</i> Boriss <sup>78</sup>		carvacetol, pulegona, mentol e canfora
<i>Mentha arvensis</i> X <i>Mentha piperita</i> <sup>79</sup>		l-mentil- $\beta$ -D-glucosídeo e palmitato de metila
<i>Mentha longifolia</i> L., ssp. <i>caucasica</i> Briq. <sup>80</sup>		incanol e 1-terpine-4-ol
<i>Mentha aquatica</i> <sup>81</sup>	ação colagógica	flavonóides
<i>Mentha gentilis</i> Linn. var. <i>lanata</i> (Rydb.) <sup>82</sup>		(-)-mentol, acetato de (-)-mentila, (+)-pulegona, mentofurano, $\delta$ -elemeno, $\alpha$ -

		copaeno, $\beta$ -burboneno, $\beta$ -elemeno, $\beta$ -cariofileno, <i>trans</i> - $\beta$ -farneseno, $\alpha$ -humuleno, $\alpha$ -muuroleno, $\delta$ -cadineno, $\alpha$ -cadineno, calameneno e calacoreno
<i>Mentha aquatica</i> L. e <i>Mentha longifolia</i> (L.) Huds <sup>83</sup>		mentofurano, mentona, mentol e acetato de mentila
<i>Mentha japonica</i> Makino <sup>84</sup>		pulegona e mentona
<i>Mentha aquatica</i> L. <sup>85</sup>		luteolina-7-rutinosídeo, hesperidina, acacetina 7-rutinosídeo, luteolina-7- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, hesperetina 7- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, eriodictiol 7- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, apigenina 7- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, apigenina 7-rutinosídeo, eriodictiol 7-rutinosídeo, acacetina, apigenina e luteolina
<i>Mentha</i> <sup>86</sup>		vitamina C, carotenos, catecóis e leucoantocianinas
<i>Mentha crispata</i> L. <sup>87</sup>		sacaropina e ácido 2-aminoadípico
<i>Mentha arvensis</i> L. var. <i>parietariaefolia</i> <sup>88</sup>		rafínose e estaciose
<i>Mentha sachalinensis</i> X <i>Mentha caucasica</i> <sup>89</sup>		$\alpha$ - e $\beta$ -pinenos, (-)-limoneno, (+)-linalol, acetato de metila, (-)-mentol e piperitona
<i>Mentha citrata</i> Ehrh.(bergamot mint oil) <sup>90</sup>		linalol (78,09%) e acetato de linalila (9,22%)
<i>Mentha longifolia</i> X <i>Mentha suaveolens</i> <sup>91</sup>		dihidrocarvona e óxido de piperitona
<i>Mentha</i> <sup>92</sup>		xilose, ribose, glucose, galactose, frutose e sacarose
<i>Mentha asiatica</i> <sup>93</sup>		ácido 9-hidroxi,12- <i>cis</i> ,15- <i>cis</i> -octadecadienóico e cetoácidos com 6 insaturações

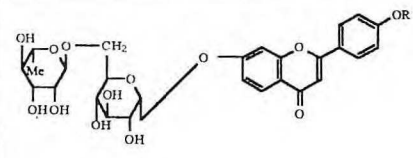


<i>Mentha longifolia</i> <sup>94</sup>		5,7-dihidroxicromona-7- rutinosídeo( postmortem), eriodictiol 7-rutinosídeo
<i>Mentha longifolia</i> <sup>95</sup>		$\alpha$ -pineno, mirceno, limoneno, aloocimeno, (+)-linalol, cariofileno e humuleno
<i>Mentha longifolia</i> <sup>96</sup>		óxidos de <i>cis</i> e <i>trans</i> -piperiteno e óxidos de piperitona e piperitenona
<i>Mentha pulegium</i> <sup>97</sup>		l-mentona, d-pulegona, d-isomentona, d-isopulegona, piperitona, isopiperitona e 1,1,3-trimetilciclopentanona
<i>Mentha gentilis</i> <sup>98</sup>		pulegona (78,1%), borneol, (-)-(1R,3R)-3-hidroxi-p-ment-4(8)-eno( <i>cis</i> -pulegol), (+)-(1R)-8-hidroxi-p-ment-3-eno e (-)-(1R)-8-hidroxi-p-ment-4-en-3-ona
<i>Mentha gentilis</i> <sup>99</sup>		(-)-(R)-8-hidroxi-p-ment-4-en-3-ona
<i>Mentha longifolia</i> <sup>100</sup>		luteolina 7-glucosídeo, luteolina 7-rutinosídeo, luteolina 7- glucuronídeo, apigenina 7- glucuronídeo, acetina 7-rutinosídeo, diosmetina 7-rutinosídeo, hesperetina 7- rutinosídeo, eriodictiol 7-rutinosídeo e as agliconas acetina e eriodictiol
<i>Mentha x. niliaca</i> ( <i>Mentha longifolia</i> X <i>Mentha suaveolens</i> ) <sup>101</sup>		$\alpha$ -pineno, canfeno, $\beta$ -pineno, sabineno, limoneno, 1,8-cineol, ocimeno, cariofileno, germacreno D, óxido de piperitona, óxido de piperitenona, timol, acetato de 1,2-epoxi-mentila
<i>Mentha rotundifolia</i> X <i>Mentha longifolia</i> <sup>102</sup>		acetato de mentila (I) e seu

		 <p>(I) R=OAc, R<sub>1</sub>=H (II) R=H, R<sub>1</sub>=OAc</p> <p>estereoisômero(II)</p>
<i>Mentha rotundifolia</i> <sup>103</sup>		óxido de piperitenona (81,5%)
<i>Mentha asiatica</i> , <i>Mentha daurica</i> , <i>Mentha chinensis</i> , <i>Mentha haplocalyx</i> e <i>Mentha piperita</i> <sup>104</sup>		flavona glicosilada isoraifolina luteolina 7-glucosídeo, metosídeo, ácidos rosmarínico e cafeíco
<i>Mentha asiatica</i> <sup>105</sup>		vitamina PP e caroteno
<i>Mentha piperita</i> <sup>105</sup>		ácido ascórbico
<i>Mentha longifolia</i> <sup>106</sup>		7-β-(6-O-ramnopiranosil-D-glucopiranosiloxi)-5-hidroxicromona
<i>Mentha rotundifolia</i> <sup>107</sup>		óxido de (-)-piperitona(I, Z=O) e acetato de 1,2-epoxi -mentila(I, Z= α-OAC,β-H)(II)
		 <p>(I)</p>
<i>Mentha aquatica</i> <sup>108</sup>	efeito virucidal(contra vírus tipo A)	ésteres graxos
<i>Mentha piperita</i> <sup>109</sup>		limoneno (72,2%), cineol, mentofurano, mentona, mirceno, <i>cis</i> -β-ocimeno e pulegona
<i>Mentha daurica</i> <sup>110</sup>		substâncias cumarínicas

<i>Mentha gattefossei</i> <sup>111</sup>		 <p>I= (+)-pulegona  II= piperitenona  III= (-)-mentona  IV= piperitona  V= (-)-mentol</p>
<i>Mentha kopetdaghensis</i> <sup>112</sup>	bacteriostática e propriedades diuréticas	lipídeo, flavonoíde, cumarina e glicosídeo
<i>Mentha aquatica</i> X <i>Mentha spicata</i> <sup>113</sup>		cetonas 2-oxigenadas, carvona, dihidro-carvona, pulegona e mentona
<i>Mentha x. cardiaca</i> <sup>114</sup>		1-vinil-5,5-dimetil-[2.1.1]-biciclohexano 
<i>Mentha x. gentilis</i> ( <i>Mentha arvensis</i> X <i>Mentha spicata</i> ) <sup>115</sup>		α-pineno, β-pineno, sabineno, mirceno, α-terpineno, limoneno, 1,8-cineol, <i>cis</i> -ocimeno, γ-terpineno, <i>trans</i> -ocimeno, p-cimeno, terpinoleno, 3-octanol, linalol(48%), 3-dodecanona, carvona, p-cimen-8-ol, carvacrol
<i>Mentha rotundifolia</i> X <i>Mentha longifolia</i> <sup>116</sup>		dihidrocarvona
<i>Mentha crispa</i> X <i>Mentha aquatica</i> <sup>117</sup>		cineol, limoneno, terpinoleno, carvona, carveol, acetato de carvila, dihidrocarveol, acetato de dihidrocarveol, pulegona, mentona, mentol, acetato de mentila,

		mentofurano e hidrocarbono
<i>Mentha sachalinensis</i> X <i>Mentha royleana</i> <sup>118</sup>		$\alpha$ - e $\beta$ -pineno, limoneno, (-)- mentol (71%), neomentol, neoisomentol, isomentol, mentona, isomentona, acetato de mentila, acetato de neomentila, acetato de neoisomentila, acetato de isomentila, piperitona e óxido de piperitona
<i>Mentha arvensis</i> var <i>partitariaefolia</i> <sup>119</sup>		3-octanol e acetato de 3-octila
<i>Mentha arvensis</i> var <i>agresti</i> <sup>119</sup>		3-octanol, cariofilina e seus óxidos
<i>Mentha sylvestris</i> <sup>120</sup>		(-)-linalol, (+)-linalol (63,2%), C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> O, carvona e pulegona
<i>Mentha rotundifolia</i> X <i>Mentha spicata</i> ( <i>Mentha cordifolia</i> ) <sup>121</sup>		óxido de piperitenona
<i>Mentha arvensis</i> e <i>Mentha piperita</i> <sup>122</sup>		ácido rosmarínico
<i>Mentha arvensis</i> <sup>123</sup>		amino-ácidos livres: ácido aspártico, ácido glutâmico, serina, glicina, treonina, alanina, asparagina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, metionina e lisina
<i>Mentha longifolia</i> <sup>124</sup>		mentol
<i>Mentha crispa</i> <sup>125</sup>		mentol e carvona
<i>Mentha arvensis</i> var <i>glabrata</i> <sup>126</sup>		d-pulegona (80-90%), $\alpha$ - e $\beta$ - pineno, sabineno, limoneno, 1,8-cineol, 1-octen-3-ol, mentona, isomentona, piperitona, óxido de <i>cis</i> e <i>trans</i> -pulegona, piperitenona
<i>Mentha piperita</i> <sup>127</sup>		vitamina C
<i>Mentha piperita</i> <sup>128</sup>	antibactericida	óleo essencial
<i>Mentha piperita</i> <sup>129</sup>		mentosídeo(I)

		 <p>R= 3,4-(OH)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>CH=CHC(O)</p>
<i>Mentha piperita</i> <sup>130</sup>		mevalônico quinase, fosfomevalônico quinase, glutamil transferase e fosfatase alcalina
<i>Mentha piperita</i> <sup>131</sup>		α- e β-pineno, cineol, mirceno e pulegona
<i>Mentha sachalinensis</i> X <i>Mentha haplocalyx</i> <sup>132</sup>		l-mentol, d-neomentol, l- mentona e d-isomentona
<i>Mentha sachalinensis</i> X <i>Mentha incana</i> <sup>132</sup>		d-neomentol e óxido de piperitona
<i>Mentha arvensis</i> var <i>praecox</i> <sup>133</sup>		(+)-pulegona (48%), (-)-mentona, (+)-3-octanol e (-)-limoneno
<i>Mentha rotundifolia</i> <sup>134</sup>		isopiperitenona
<i>Mentha piperita</i> <sup>135</sup>		mentona, mentofurano, limoneno e cineol
<i>Mentha piperita</i> <sup>136</sup>		pineno, limoneno, pulegona e piperitona
<i>Mentha piperita</i> <sup>137</sup>		mentol(50%)
<i>Mentha</i> <sup>138</sup>		α- tocoferol
<i>Mentha sachalinensis</i> <sup>139</sup>		mentol (63-88%) e mentona (7-14%)
<i>Mentha piperita</i> <sup>140</sup>		ácido labiatênico (ácido rosmarínico)
<i>Mentha rotundifolia</i> <sup>141</sup>		(+)-neoisopulegol
<i>Mentha longifolia</i> <sup>142</sup>		quercitrina e vitamina K
<i>Mentha longifolia</i> X <i>Mentha sylvestris</i> <sup>143</sup>		ácido oleanólico, ácido ursólico I, ursólico II e substâncias graxas
<i>Mentha sachalinensis</i> <sup>144</sup>		l-mentol (> 75%) e l-mentona (8,3%)
<i>Mentha sylvestris</i> <sup>145</sup>		óxido de piperitona
<i>Mentha piperita</i> e <i>Mentha viridis</i> <sup>146</sup>		clorofila e caroteno
<i>Mentha timija</i> <sup>147</sup>		pulegona (85-88%), l-mentona, isopulegona, limoneno, α-pineno, borneol

		esterificado e 1-octen-3-ol e seus acetatos
<i>Mentha pulegium</i> (pennyroyal, poejo) <sup>148</sup>		pulegona
<i>Mentha citra</i> <sup>149</sup>		acetato de linalila, linalol e aldeído
<i>Mentha aquatica</i> <sup>149</sup>		l-carvona
<i>Mentha arvensis</i> <sup>149</sup>		pulegona, piperitona, mentona e mentol
<i>Mentha haplocalyx</i> Briquet <sup>150</sup>		estaciose
<i>Mentha piperita</i> <sup>151</sup>		vitamina C (ácido ascórbico)
<i>Mentha cardiaca</i> <sup>152</sup>		carvona
<i>Mentha sativa</i> <sup>153</sup>		caroteno
<i>Mentha piperita</i> (pepper - mint) <sup>154</sup>		caroteno
<i>Mentha suaveolens</i> Ehrh <sup>155</sup>		mentol, pulegona e mentona
<i>Mentha longifolia</i> L. <sup>156</sup>		óxido de piperitenona (44,2-57,2%), 1,8-cineol, mirceno, limoneno, β-cariofileno e germacreno D
<i>Mentha arvensis</i> (Japanese mint) <sup>157</sup>	antifumigante	óleo essencial
<i>Mentha cordifolia</i> <sup>158</sup>		carvona (59,5-64,5%), limoneno, <i>trans</i> -carveol, dihidrocarvona e acetato de <i>trans</i> -carvil
<i>Mentha rotundifolia</i> (Naana Ordinaire) <sup>159</sup>		lipiona (80%)
<i>Mentha spicata</i> (Naana Faas) <sup>159</sup>		carvona (80%)
<i>Mentha arvensis</i> (Naana Menthe) <sup>159</sup>		mentona, neomentol e mentol
<i>Mentha longifolia, Mentha spicata</i> e <i>Mentha x. villosa-nervata</i> <sup>160</sup>		carvona (principal), dihidrocarvona, limoneno e 1,8-cineol

<i>Mentha asiatica e Mentha arvensis</i> <sup>161</sup>		rosefurano, óxido de rosefurano (63,17%), (Z)- $\beta$ -ocimeno e linalol
<i>Mentha piperita</i> <sup>161</sup>		mentona e mentol
<i>Mentha mozaffariani</i> Jamzad <sup>162</sup>		cariofileno, $\alpha$ -humuleno, calameneno, epóxido de piperitona, $\alpha$ -terpineol, 4-terpineol, linalol e borneol
<i>Mentha arvensis</i> L. <sup>163</sup>	valor nutricional	calcio, ferro, cobre, magnésio, zinco, tiamina, riboflavina e ácido ascórbico.
<i>Mentha arvensis</i> <sup>164</sup>	valor nutricional	proteínas, açúcares, lipídeos, cálcio, magnésio, ferro, potássio, cobre e aminoácidos
<i>Mentha viridis</i> <i>lavanduliodora</i> <sup>165</sup>	Farmacéutica	linalol e acetato de linalila (principais), 1,8-cineol, $\alpha$ -terpineol, $\beta$ -cariofileno, acetato de nerila, $\alpha$ -terpineno, acetato de geranila e geraniol
<i>Mentha</i> ssp. <sup>166</sup>		ácidos graxos não polares: ácido palmítico, $\alpha$ -linolenico e oleico (principais).
<i>Mentha villosa</i> <sup>167</sup>		ácido oleanóico, ácido ursólico, ácido 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ -24-triidroxiurs-12-en-28-óico, ácido 2 $\alpha$ , 3 $\beta$ -24-triidroxiolean-12-en-28-óico, $\alpha$ -pineno, $\beta$ -pineno, 1,8-cineol, limoneno, linalol, $\beta$ -cariofileno, cis- $\beta$ -farneseno, $\delta$ -cadineno e $\gamma$ -elemeno

## 2.3.DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUÍNTES DA *Mentha villosa*

### 2.3.1. Introdução

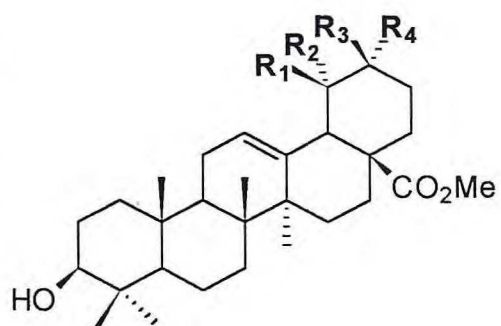
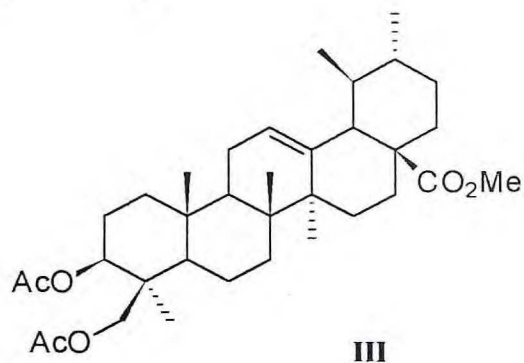
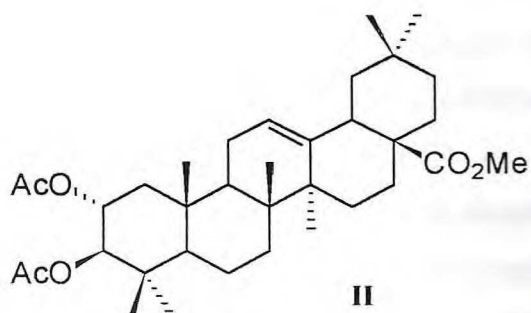
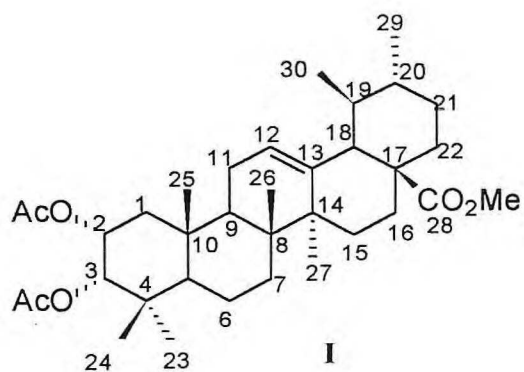
Fracionamento do eluato clorofórmico do extrato etanólico da *M.villosa* através de sucessivas cromatografias em coluna de sílica-gel ( Esquema 07, p. 152), permitiu isolar cinco frações denominadas: MVEA-C/C/A/A(16-19), MVEA-C/C/A/A(20-23), MVEA-C/C/A/A/M(21-30), MVEA-C/C/M/M(57-62) e MVEA-C/C/A(25-31). Análise preliminar por CCD, EM e RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ), indicou que as frações tratavam-se de misturas de ácidos triterpenoídicos das classes oleanano e ursano. As reações de metilação com diazometano, e acetilação com anidrido acético/ piridina, produziram os correspondentes ésteres metílicos acetilados.

Cromatografia preparativa de MVEA-C/C/A/A(16-23) resultou ainda em uma mistura de substâncias de acôrdo com cromatograma em fase gasosa (Fig. 57, p.183). Cromatografia Líquida de Alta Eficiência(CLAE)( Fig. 61, p. 187) permitiu então a separação do triterpeno pentacíclico I, puro, confirmado por cromatografia em fase gasosa (Fig. 58, p. 184).

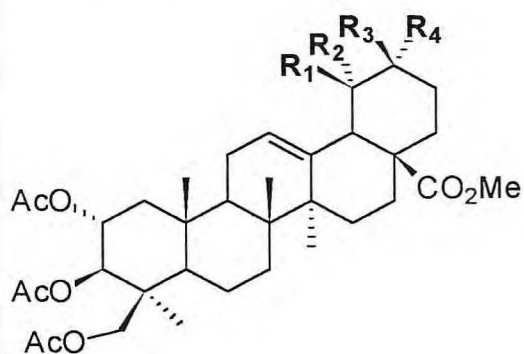
De modo análogo, a mistura de produtos revelada por cromatografia de gás de MVEA-C/C/A/A/M(21-30) (Fig.59,p. 185) após cromatografia preparativa, foi resolvida por CLAE (Figs.62 e 63 , p.188 e 189) originando os triterpenos derivados II e III , puros, de acôrdo com cromatografia em fase gasosa (Figs. 60a e 60b, p. 186). Cromatografia em fase gasosa de MVEA-C/C/A(25-31) e MVEA-C/C/M/M(57-62) revelou também que ambas tratavam-se de misturas de substâncias. Separação através de CLAE dos respectivos componentes, resultou nos triterpenos pentacíclicos IVa, IVb e Va, Vb, iguais aos já identificados por Eliete Felipe de Oliveira em sua tese de mestrado<sup>167</sup>.



## 2.3.2. ESTRUTURAS DE I, II, III, IVa, IVb, Va e Vb



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<b>IVa:</b>	Me	H	H	Me
<b>IVb:</b>	H	H	Me	Me



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<b>Va:</b>	Me	H	H	Me
<b>Vb:</b>	H	H	Me	Me

Os triterpenóides **I**, **II** e **III**,  $C_{35}H_{54}O_6$  ( $M^+$  570) exibiram picos intensos em  $m/z$  282 e  $m/z$  203 em seus espectros de massa (Figs. 64, 65 e 66, p. 190, 191 e 192) correspondentes a íons resultantes de uma fragmentação típica retro Diels-Alder envolvendo o anel C (Quadro 13, p.159) de urs-12-enos ou olean-12-enos com carbometoxi no C-17 e sem grupos hidroxila nos anéis D/E<sup>168</sup>.

Os espectros bidimensionais modulados pela interação spin-spin heteronuclear de  $^1H$  e  $^{13}C$  através de uma ligação ( $^1H \times ^{13}C$ - COSY- $^1J_{CH}$ ; HMQC= Heteronuclear Multiple- Quantum Coerence) e duas e três ligações ( $^1H \times ^{13}C$ -COSY-  $^2J_{CH}$  e  $^3J_{CH}$ ; HMBC=Heteronuclear multiple-Bond Coerence) permitiram estabelecer a correlação entre os sinais de hidrogênio e carbono e, conseqüentemente, atribuir inequivocamente os deslocamentos químicos correspondentes.

O espectro de RMN  $^{13}C$  de **I** utilizando a técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)  $\phi=135^\circ$  (Fig. 67, p. 193), permitiu reconhecer os sinais correspondentes a carbonos primários (10  $CH_3$ ), secundários (8  $CH_2$ ) e terciários (8  $CH$ ). Os sinais dos carbonos quaternários (9  $C$ ) foram obtidos pela diferença entre os sinais dos espectros totalmente desacoplados RMN  $^{13}C$  -PND(Fig. 68, p. 194) e RMN  $^{13}C$ - DEPT  $135^\circ$ . Os espectros modulados pela interação spin-spin entre  $^1H$  e  $^{13}C$  através de uma ligação ( $^1J_{CH}$ ) (Fig. 69, p. 195) permitiram a correlação entre os sinais de hidrogênio e carbono dos grupos  $CH$ ,  $CH_2$  e  $CH_3$ . A análise destes dados, juntamente com outras informações obtidas dos espectros de RMN  $^1H$  e de massas, permitiu deduzir a fórmula molecular expandida  $(C)_6 (CH)_8 (CH_2)_8 (CH_3)_7 (COOMe) (AcO)_2$  e classificar a substância natural como triterpenóide( $C_{30}$ ) contendo dois grupos hidroxila (esterificados pela reação de acetilação) e um dos grupos metila bioconvertido em carboxila(esterificada por reação de metilação com diazometano).

O espectro de RMN  $^1H$  a 500 MHz (Fig. 70, p. 196) de **I** mostrou sinais para dois grupos metila secundários em  $\delta$  0,85 (d,3H) e 0,94 (d,3H), cinco grupos metila terciários ligados a carbono saturado em  $\delta$  0,74 (s,3H), 0,87 (s,3H), 0,98 (s,3H), 1,04 (s,3H) e 1,12 (s,3H), um próton olefínico em  $\delta$  5,27 (t, $J=3,5$  Hz, 1H), dois grupos acetoxi em  $\delta$  1,95 (s,3H) e 2,11 (s,3H) e um grupo carbometoxi em  $\delta$  3,60 (s,3H).

O próton do carbono C-2, que sustenta um dos grupos acetoxi, aparece como um multipeto em  $\delta$  5,23, sugerindo que o proton, H-2 ocupa posição axial e, conseqüentemente, a acetoxila está em posição equatorial. A orientação beta para H-2 foi confirmada pela experiência bidimensional de efeito nuclear Overhauser (NOE= Nuclear Overhauser Effect) homonuclear de

hidrogênio e hidrogênio ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  - NOESY). Picos transversais no espectro NOESY (Fig. 71, p. 197), do sinal facilmente correlacionado com o H-2 $\beta$  ( $\delta$  5,23) estabelece sua proximidade espacial com relação a H-1 $\beta$  ( $\delta$  1,68), H-3 $\beta$  ( $\delta$  4,97), 3H-24 ( $\delta$  0,98) e 3H-25 ( $\delta$  1,04).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  exibiu também um dubleto ( $J = 10,5$  Hz) para um único proton, centrado em  $\delta$  2,24, característico de H-18 de triterpenóides tipo ursano<sup>169-170</sup>. A feição dubleto surge como resultado do acoplamento com um único proton no C-19.

O proton do carbono C-3, sustentando o outro grupo acetoxi, aparece como singlete largo ( $\delta$  4,97), sugerindo posição equatorial e, indicando que o grupo acetoxi está em posição axial. A orientação beta para H-3 foi confirmada pelo espectro  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY. Picos transversais no espectro NOESY (Fig. 71, p. 197) do sinal facilmente correlacionado com o H-3 $\beta$  ( $\delta$  4,97) estabelece sua proximidade espacial com relação a 3H-24 ( $\delta$  0,98). Esta dedução foi confirmada pela absorção do carbono-5 em  $\delta$  49,6.

Estes resultados e a comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de **I** com valores descritos na literatura<sup>169-170</sup> (Tabela 15, p. 150) permitiu a identificação do derivado obtido como 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ -di-O-acetilurs-12-en-28-oato de metila e, conseqüentemente, o ácido 2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ -diidroxius-12-en-28-óico como a substância natural isolada pela primeira vez de *Mentha villosa*.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **II** utilizando a técnica DEPT 135° (Fig. 72, p. 198) permitiu reconhecer os sinais correspondentes a carbonos primários (10 CH<sub>3</sub>), secundários (9 CH<sub>2</sub>) e terciários (6 CH). Os sinais dos carbonos quaternários (10 C) foram obtidos pela diferença entre os sinais do espectro totalmente desacoplado RMN  $^{13}\text{C}$ -PND (Fig. 73, p. 199) e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135°. O espectro bidimensional de correlação heteronuclear modulado pela interação entre  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  através de uma ligação ( $^1J_{\text{CH}}$ ) (Fig. 74, p. 200) permitiu a correlação entre os sinais de hidrogênio e carbono dos grupos CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>. A análise destes dados, juntamente com outras informações obtidas dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e de massas, permitiu deduzir a fórmula molecular expandida (C)<sub>7</sub> (CH)<sub>6</sub> (CH<sub>2</sub>)<sub>9</sub> (CH<sub>3</sub>)<sub>7</sub> (COOMe) (AcO)<sub>2</sub> e classificar a substância natural como triterpenóide (C<sub>30</sub>) contendo dois grupos hidroxilas (esterificados pela reação de acetilação) e um dos grupos metila bioconvertido em carboxila (esterificada por reação de metilação com diazometano).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 500 MHz (Fig. 75, p. 201) de **II** mostrou sinais para sete grupos metila terciários ligados a carbonos saturados em:  $\delta$  0,88 (s,3H), 0,72 (s,3H), 0,89 (s,3H),

0,90 (s,3H), 0,92 (s,3H), 1,04 (s,3H) e 1,11 (s,3H), um proton olefinico em  $\delta$  5,26 (t,1H), grupos acetoxi em  $\delta$  1,97 (s,3H) e 2,05 (s,3H) e um grupo carbometoxi em  $\delta$  3,60 (s,3H).

O proton do carbono C-2, acetoxilado, aparece como um triplo dubleto ( $\delta$  5,09) com constantes de acoplamento (J) de 4,5, 10,3 e 10,5 Hz. Os valores de J=10,3 e J=10,5 sugeriram posição axial para H-2 e H-3 ( $\delta$  4,73, d, J=10,3) e, conseqüentemente, os grupos acetoxi de C-2 e C-3 foram localizados em posição equatorial. A orientação beta para H-2 foi confirmada através de  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY. Picos transversais no espectro NOESY (Fig. 76, p. 202), do sinal facilmente correlacionado com o H-2 $\beta$  ( $\delta$  5,09) estabeleceram sua proximidade espacial com relação a H-1 $\beta$  ( $\delta$  2,00), 3H-24 ( $\delta$  0,89) e 3H-25 ( $\delta$  1,04).

A orientação alfa para H-3 foi também confirmada por  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY. Picos transversais no espectro NOESY (Fig. 76, p. 202) do sinal facilmente correlacionado ao H-3 ( $\delta$  4,73) indicaram sua proximidade espacial com relação a H-1 $\alpha$  ( $\delta$  1,03) e 3H-23 ( $\delta$  0,88). O espectro de RMN  $^1\text{H}$  mostrou o sinal de H-18 ( $\delta$  2,86) como duplo dubleto (J=15,6 e 5,2) sendo o desdobramento no caso resultante do acoplamento com dois átomos de hidrogênio metilênicos do C-19.

Assim, os dados espectrais discutidos permitiram caracterizar a substância **II** como 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -di-O-acetilolean-12-en-28-oato de metila e o produto bioproduzido pela *Mentha villosa* como ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -diidroxiolean-12-en-28-óico isolado pela primeira vez nesta espécie.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **III** utilizando a técnica DEPT com  $\theta=135^\circ$  (Fig. 77, p. 203), permitiu reconhecer os sinais correspondentes a carbonos primários (9  $\text{CH}_3$ ), secundários (10  $\text{CH}_2$ ) e terciários (7  $\text{CH}$ ). Os sinais dos carbonos quaternários (9  $\text{C}$ ) foram obtidos pela diferença entre os sinais dos espectros totalmente desacoplados RMN  $^{13}\text{C}$ -PND (Fig. 78, p. 204) e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT  $135^\circ$ . O espectro modulado pela interação entre  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  através de uma ligação ( $^1J_{\text{CH}}$ ) (Fig. 79, p. 205) permitiu a correlação entre os sinais de hidrogênio e carbono dos grupos  $\text{CH}$ ,  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ . A análise destes dados, juntamente com outras informações obtidas dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e de massas, permitiu deduzir a fórmula molecular expandida  $(\text{C})_6 (\text{CH})_7 (\text{CH}_2)_{10} (\text{CH}_3)_6 (\text{COOMe}) (\text{AcO})_2$  e classificar a substância natural como triterpenóide ( $\text{C}_{30}$ ) contendo dois grupos hidroxilas (esterificados pela reação de acetilação) e um dos grupos metila bioconvertido em carboxila (esterificado por reação de metilação com diazometano).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 500 MHz (Fig. 80, p. 206) de **III** exibiu sinais para dois grupos metila secundários em  $\delta$  0,85 (d,  $J=6,8\text{Hz}$ , 3H) e 0,90 (d,  $J=6,8\text{Hz}$ , 3H), quatro grupos metila terciários ligados a carbono saturado ( $\text{sp}^3$ ) em  $\delta$  0,73 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 1,01 (s, 3H) e 1,07 (s, 3H), um proton olefinico em  $\delta$  5,25 (t,  $J=4,3\text{Hz}$ , 1H), dois grupos acetoxi em  $\delta$  2,04 (s, 3H) e 2,07 ppm (s, 3H) e um grupo carbometoxi em  $\delta$  3,60 (s, 3H).

O proton do carbono C-3, sustentando um grupo acetoxi, aparece como um duplo dubleto ( $\delta$  4,58) com constantes de acoplamento ( $J$ ) de 10,4 e 5,2 Hz, sugerindo H-3 axial devido ao  $J=10,4$  Hz e conseqüentemente o grupo acetoxi deve ocupar a posição equatorial. A orientação alfa para H-3 foi confirmada por  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY. Picos transversais no espectro NOESY (Fig. 81, p. 207) do sinal de H-3 $\alpha$  ( $\delta$  4,58) estabeleceram sua proximidade espacial com relação a H-1 $\alpha$  (1,60) e 3H-23 ( $\delta$  1,01).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  exibiu também um dubleto ( $J=10,4$  Hz), interação axial-axial, para um único proton, centrado em  $\delta$  2,24, característico de H-18 de triterpenóides do tipo urs-12-eno. A feição dubleto surge como resultado do acoplamento com um único proton no C-19 e confirma as estereoquímicas dos carbonos quirais C-18 e C-19.

Os protons do grupo hidroximetilênico 2H-24 acetilado são representados por dois dubletos, constituindo um sistema AB:  $\delta$  4,12 (d,  $J=10,4\text{Hz}$ , 1H) e 4,38 (d,  $J=10,4\text{Hz}$ , 1H).

Assim, os dados espectrais discutidos permitiram caracterizar a substância **III** como 3 $\beta$ ,24- diacetoxi-urs-12-eno-28-oato de metila e o produto bioproduzido pela *Mentha villosa* como ácido 3 $\beta$ ,24-diidroxiursan-12-en-28-óico isolado pela primeira vez nesta espécie.

A análise comparativa dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  de **III** (Figs. 78, p. 204), **I** e **II** (Figs. 68 e 73, p. 194 e 199) incluindo-se os dados correspondentes de triterpenóides registrados na literatura (Tabela 15, p. 150), mostrou os efeitos esperados como decorrência da presença de metila em C-19 (série urs-12-eno):

- O metila em C-19 exerce efeito  $\gamma$  (proteção) sobre o C-13 e  $\delta$  (desproteção) sobre o C-12.
- O metila em C-19 exerce efeito  $\beta$  desprotetor sobre o C-18 ( $\sim \delta 41 \rightarrow 52$ ).
- O metila em C-19 deixa de exercer o seu efeito  $\beta$  desprotetor sobre o C-21.

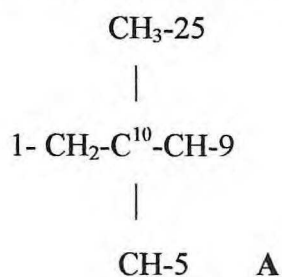
As estruturas de **I** e **III** podem também ser facilmente diferenciadas da de **II** através dos sinais dos átomos de hidrogênio H-18 nos espectros de RMN  $^1\text{H}$ (1D): **I**, d,  $\delta$  2,24; **II**, dd,  $\delta$  2,86 e **III**, d,  $\delta$  2,24. A atribuição destes deslocamentos químicos foi confirmada pela aplicação

das técnicas bidimensionais de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  COSY). Os espectros mostraram claramente a relação vicinal do H-18 de **II** com 2H-19 (Fig. 82, p. 208) e a relação vicinal do H-18 de **I** e **III** com um único H-19 nos espectros (Figs. 83 e 84, p. 209 e 210).

As substâncias **I**, **II** e **III** foram identificadas pela primeira vez nesta espécie. Os produtos naturais **IVa**, **IVb**, **Va** e **Vb**, conforme citado, já haviam sido registrados nesta espécie<sup>167,168,171</sup> e foram identificados por comparação direta, envolvendo dados espectrais (parte experimental).

### 2.3.3. CONCLUSÃO

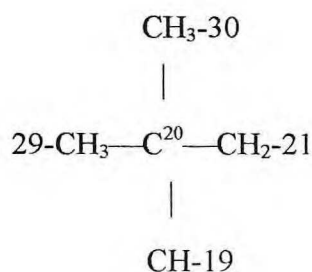
As substâncias **I**, **II** e **III** foram identificadas com base em seus íons moleculares ( $M^+$  570) revelados pelos respectivos espectros de massa e em dados de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135°. Por outro lado, a interpretação dos espectros de experiências bidimensionais de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13, modulados com valores de constantes de acoplamento ( $J$ ), decorrentes da interação spin-spin de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  através de duas e três ligações ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  HMBC) possibilitou a caracterização dos átomos de carbono quaternários nos três produtos. Por exemplo, conforme ilustrado pelo espectro de  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY a longa distância (Fig. 85, p. 211) de **I**, a correlação do sinal dos hidrogênios do grupo  $\text{CH}_3$ -25 ( $\delta$  1,04) permitiu identificar o carbono quaternário C-10 ( $\delta$  36,6,  $^2J_{\text{CH}}$ ), além dos carbonos C-1 ( $\delta$  42,1,  $^3J_{\text{CH}}$ ), C-5 ( $\delta$  48,1,  $^3J_{\text{CH}}$ ) e C-9 ( $\delta$  47,4,  $^3J_{\text{CH}}$ ), tendo como base a unidade **A**:



Outro exemplo é dado no espectro (Fig. 86, p. 212) de **II**, pela identificação dos sinais dos carbonos quaternário C-20 ( $\delta$  30,7), dos carbonos metilênicos C-19 ( $\delta$  45,8) e C-21 ( $\delta$  32,4) e dos carbonos metílicos C-29 ( $\delta$  33,1) e C-30 ( $\delta$  23,6), a partir das correlações dos

deslocamentos químicos dos hidrogênios dos grupos metila CH<sub>3</sub>-29 e CH<sub>3</sub>-30, através da unidade

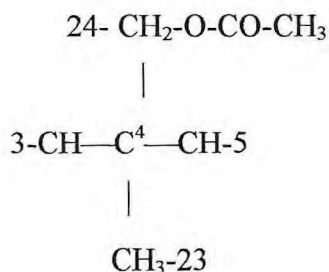
**B:**



**B**

Usando procedimento análogo, foram identificados todos os outros carbonos quaternários dos triterpenos ( C-4, C-8, C-10, C-14, C-20), com exceção do C-17.

Os espectros <sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C-HMBC permitiram também identificar em cada composto, três absorções correlacionadas a carbonos carbonílicos, devido a dois grupos acetoxila e a um grupo carbometoxila. No espectro de **III** (Fig.87,p. 213) observou-se o acoplamento (<sup>2</sup>J<sub>CH</sub>) dos carbonos carbonílicos dos grupos acetoxila com os átomos de hidrogênio dos respectivos grupos metila e, os acoplamentos (<sup>3</sup>J<sub>CH</sub>) dos carbonos C-3, C-5 ,C-23 e do carbono carbonílico do grupo acetoxila com os átomos de hidrogênio do C-24, representado pelos sinais em δ 4,38 (d,J=10,4Hz) e 4,12 (d,J=10,4Hz) na dimensão dos hidrogênios (unidade C).



**C**

Estas deduções permitiram compor a Tabela 15.

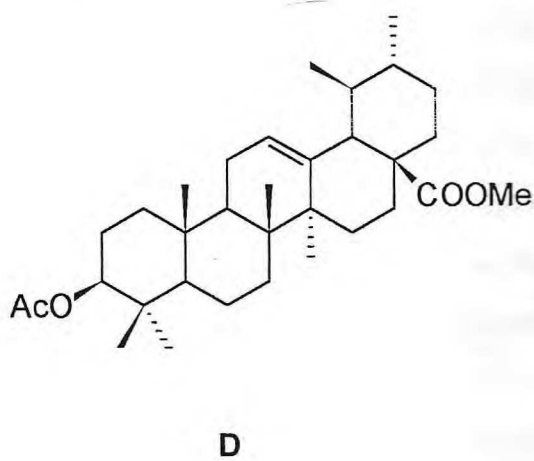
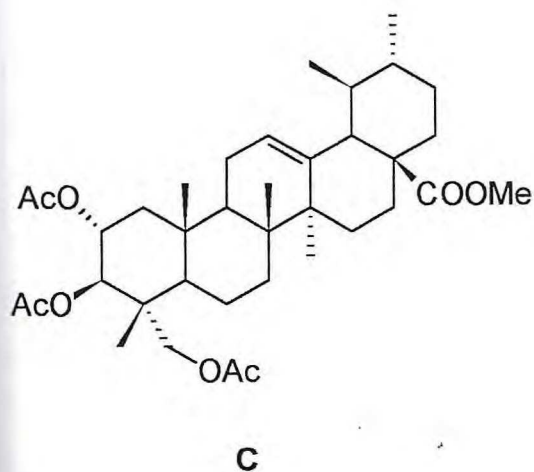
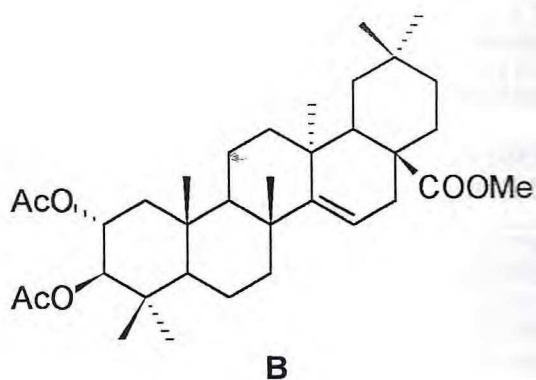
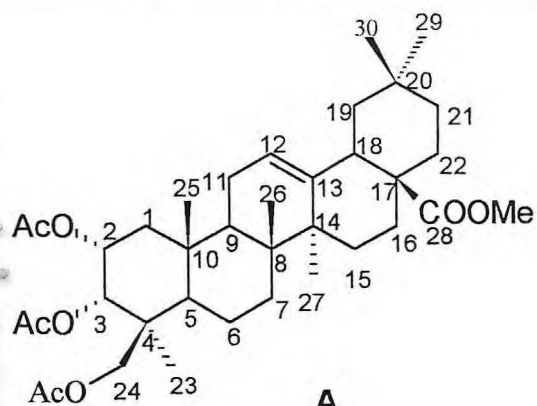
Tabela 15. Comparação de dados de RMN  $^{13}\text{C}(\delta)$  de I,II,III e IV com dados de triterpenóides descritos na literatura<sup>167,168,171</sup> representados pelas letras A, B, C e D.

**Triterpenóides**

C	I	A	II	B	III	C	IV	D
1	39,0	41,6	43,9	43,2	38,5	38,8	38,3	38,8
2	68,3	69,7	70,0	69,9	23,6	67,7	23,6	27,4
3	77,2	71,9	80,6	80,6	80,2	77,2	80,9	78,8
4	38,1	40,9	39,3	39,2	41,0	41,0	37,8	38,8
5	49,6	50,1	54,9	55,2	56,0	42,0	55,3	55,4
6	17,8	17,7	18,2	18,6	19,3	18,4	18,2	18,3
7	32,7	32,9	33,9	35,4	33,4	32,3	32,9	33,0
8	39,7	39,5	39,3	40,0	39,6	39,4	39,5	39,6
9	47,4	47,7	47,6	49,0	47,6	47,4	47,5	47,5
10	38,4	39,3	38,2	38,9	36,6	38,4	36,7	37,0
11	23,3	23,5	23,5	17,3	23,4	23,2	23,3	23,3
12	125,3	122,3	121,9	31,6	125,3	125,0	125,5	125,3
13	138,3	143,6	143,9	37,3	138,2	138,3	138,3	138,1
14	42,0	41,6	41,7	160,1	41,8	42,1	42,0	42,0
15	28,0	27,6	27,6	116,8	28,0	27,9	28,0	28,2
16	24,2	22,6	23,0	30,9	24,2	24,1	24,2	24,3
17	48,0	46,4	46,7	51,2	48,1	48,0	48,0	48,1
18	52,8	41,1	41,2	41,8	52,9	52,8	52,9	52,8
19	38,9	45,7	45,8	40,8	39,1	39,0	39,1	39,1
20	39,1	30,6	30,7	29,2	38,9	39,0	38,9	38,8
21	30,6	36,6	32,4	33,7	30,6	30,6	30,7	30,7
22	36,6	32,3	32,3	32,0	36,6	36,6	36,7	36,7
23	27,8	65,7	28,4	29,6	22,6	71,8	28,1	28,2
24	21,6	13,7	17,6	17,5	65,5	17,2	16,7	15,6
25	16,3	16,4	16,4	16,4	15,4	16,5	15,5	15,7
26	17,0	17,2	16,8	28,3	16,7	16,9	16,9	16,9
27	23,7	25,8	25,9	26,1	23,5	23,7	23,6	23,3



28	178,0	184,0	178,2	178,2	178,7	178,0	178,0	177,7
29	21,2	33,8	33,1	33,2	21,2	21,2	21,2	21,2
30	16,9	23,5	23,6	22,3	17,0	16,9	17,0	17,0
CH <sub>3</sub> O-28	51,5	51,5	51,5	51,9	51,4	51,6	51,5	51,4
CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> -3	170,7	170,0	171,0	170,3	171,2	170,1	171,0	170,6
CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> -3	21,0	21,2	20,9	21,0	21,2	20,9	21,3	21,0
CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> -2	170,4	170,0	170,3	170,6	-	170,4	-	-
CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> -2	21,1	20,7	21,2	20,7	-	21,0	-	-
CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> - 23/24	-	169,5	-	-	171,6	171,4	-	-
CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> - 23/24	-	20,8	-	-	21,1	21,0	-	-



## 2.3. PARTE EXPERIMENTAL DA *Mentha villosa* Backer

### 2.3.1. MATERIAL E MÉTODOS

Vários espécimens da espécie *Mentha villosa* Backer, família Labiatae, foram coletados no Horto de Plantas Medicinais, localizado no Campus do Pici da UFC.

A classificação botânica foi realizada pelo Dr. Ray Harley do Kew Garden (Inglaterra) e as exsiccatas da planta encontram-se depositadas no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, registradas sob o número 16.544.

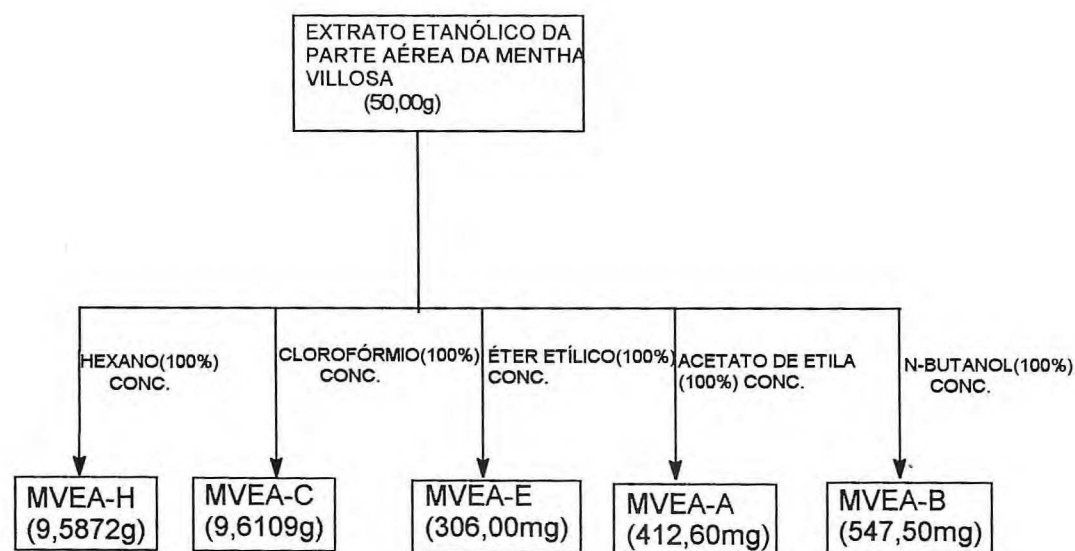
O material utilizado foi a parte aérea da planta, que depois de seco ao ar, foi triturado e submetido à extração à frio com etanol.

### 2.3.2. ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES

A parte aérea (4,500 kg) foi extraída exaustivamente com etanol à temperatura ambiente. Após evaporação do solvente sob pressão reduzida obteve-se 50,00 g do extrato bruto, além de um precipitado esverdeado (5,2561 g) separado por filtração. Este precipitado mostrou-se insolúvel em solventes orgânicos. Para avaliar a possibilidade de um sal foi enviado para análise no Departamento de Química Analítica e Físico-Química da UFC. O material analisado mostrou ser cloreto de potássio.

O extrato bruto (50,00 g) foi dissolvido em água e extraído, em funil de separação, com: hexano, clorofórmio, éter etílico, acetato de etila e n- butanol (Esquema 07).

Esquema 07. Estudo do extrato etanólico da parte aérea da *Mentha villosa*.



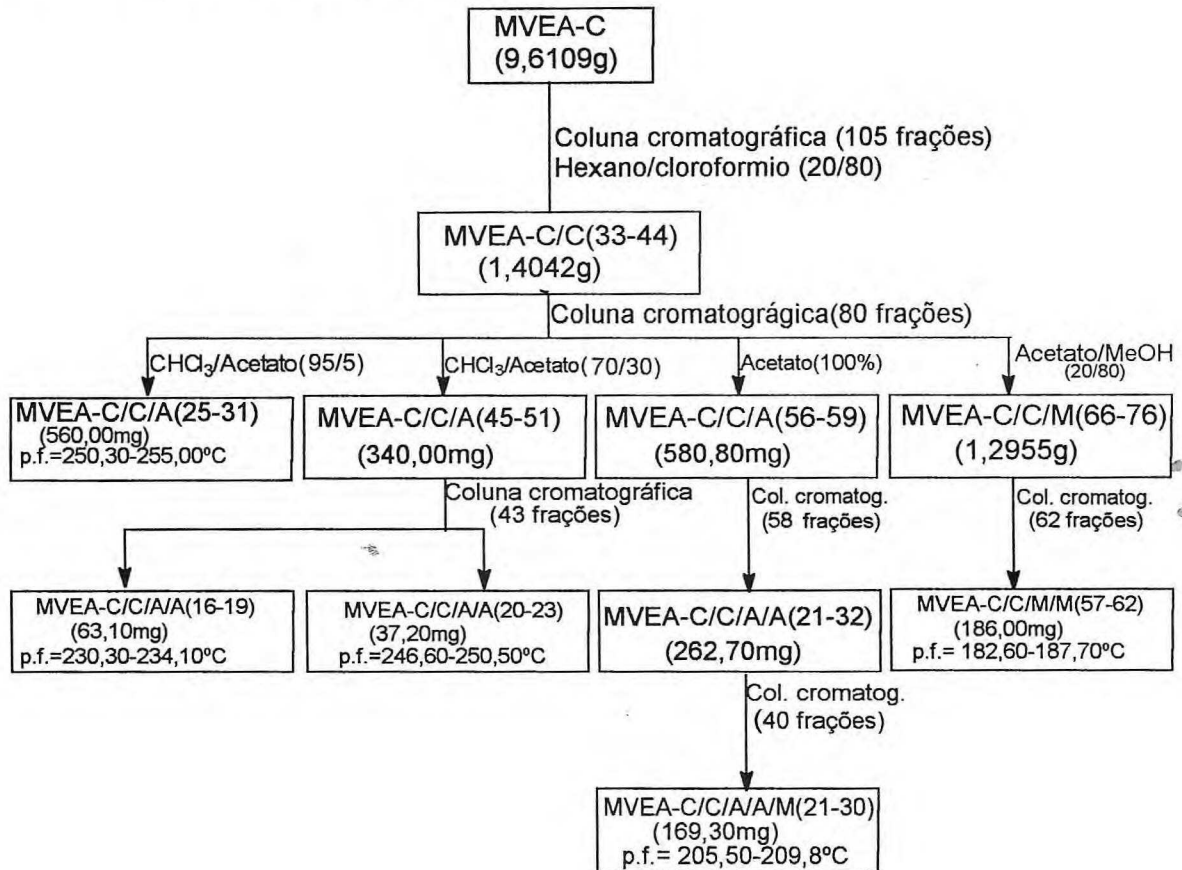
Foi feita uma coluna cromatográfica da fração **MVEA-C** (9,6109 g), utilizando-se a sequência de eluentes com polaridade crescente: hexano, hexano/ $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3$ /acetato, acetato, acetato/MeOH e MeOH. As 105 frações coletadas (250 mL cada uma) foram analisadas através de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), reunindo-se àquelas que se mostraram semelhantes (Tabela 16, Fr. 01 a 105, Esquema 08).

Tabela 16 - Cromatografia da fração clorofórmica do extrato etanólico da *M. villosa*.

FRAÇÕES	ELUENTE	ASPECTO	DENOMINAÇÃO
Fr. 1-3	hexano/ $\text{CHCl}_3$ (95/5)	amarelo	<b>MVEA-C/C(1-3)</b>
Fr. 4-7	hex./ $\text{CHCl}_3$ (90/10)	amarelo	<b>MVEA-C/C(4-7)</b>
Fr. 8-9	hex./ $\text{CHCl}_3$ (85/15)	amarelo escuro	<b>MVEA-C/C(8-9)</b>
Fr. 10-11	hex./ $\text{CHCl}_3$ (80/20)	amarelo escuro	<b>MVEA-C/C(10-11)</b>
Fr. 12-13	hex./ $\text{CHCl}_3$ (75/25)	amarelo escuro	<b>MVEA-C/C(12-13)</b>
Fr. 14-16	hex./ $\text{CHCl}_3$ (65/35)	amarelo escuro	<b>MVEA-C/C(14-16)</b>
Fr. 17-18	hex./ $\text{CHCl}_3$ (65/35)	amarelo escuro	<b>MVEA-C/C(17-18)</b>
Fr. 19-20	hex./ $\text{CHCl}_3$ (50/50)	sólido amarelo escuro	<b>MVEA-C/C(19-20)</b>
Fr. 21-28	hex./ $\text{CHCl}_3$ (50/50)	marrom escuro	<b>MVEA-C/C(21-28)</b>
Fr. 29-32	hex./ $\text{CHCl}_3$ (40/60)	sólido esverdeado	<b>MVEA-C/C(29-32)</b>
Fr. 33-44	hex./ $\text{CHCl}_3$ (20/80)	sólido amarelado	<b>MVEA-C/C(33-44)</b>
Fr. 45-51	$\text{CHCl}_3$ /acetato(95/5)	sólido amarelado	<b>MVEA-C/A(45-51)</b>
Fr. 52-55	$\text{CHCl}_3$ /acetato(80/20)	sólido amarelado	<b>MVEA-C/A(52-55)</b>
Fr. 56-59	$\text{CHCl}_3$ /acetato(70/30)	sólido amarelado	<b>MVEA-C/A(56-59)</b>
Fr. 60-65	$\text{CHCl}_3$ /acetato(60/40)	marrom esverdeado	<b>MVEA-C/A(60-65)</b>
Fr. 66-76	$\text{CHCl}_3$ /acetato(30/70)	verde claro	<b>MVEA-C/A(66-76)</b>
Fr. 77-78	$\text{CHCl}_3$ /acetato(20/80)	marrom	<b>MVEA-C/A(77-78)</b>
Fr. 79-80	$\text{CHCl}_3$ /acetato(10/90)	marrom	<b>MVEA-C/A(79-80)</b>
Fr. 81-85	acetato(100%)	marrom	<b>MVEA-C/A(81-85)</b>
Fr. 86-87	acetato/MeOH(95/5)	marrom	<b>MVEA-C/M(86-87)</b>
Fr. 88-91	acetato/MeOH(80/20)	marrom	<b>MVEA-C/M(88-91)</b>
Fr. 92-93	acetato/MeOH(80/20)	marrom	<b>MVEA-C/M(92/93)</b>
Fr. 94-95	acetato/MeOH(70/30)	marrom	<b>MVEA-C/M(94-95)</b>

Fr. 96-98	acetato/MeOH(50/50)	marrom	<b>MVEA-C/M(96-98)</b>
Fr. 99-105	MeOH(100%)	marrom	<b>MVEA-C/M(99-105)</b>

Esquema 08- Estudo da fração MVEA-C



As frações isoladas (Esquema 08) denominadas: MVEA-C/C/A/A(16-19) e MVEA-C/C/A/A(20-23), MVEA-C/C/A/A/M(21-30), MVEA-C/C/A(25-31) e MVEA-C/C/M/M(57-62), foram metiladas e acetiladas.

Cromatografia em camada delgada de MVEA-C/C/A/A(16-19) e MVEA-C/C/A/A(20-23) permitiu observar que as mesmas eram iguais e conseqüentemente foram reunidas (MVEA-C/C/A/A(16-23)).

### 2.3.3. OBTENÇÃO DOS DERIVADOS

#### a) Acetilação das frações isoladas da *M. villosa* (Quadros 11 e 12, p. 157 e 158)

As frações foram acetiladas usando-se a técnica convencional, dissolvendo-se 50,0 mg de cada amostra em 2 mL de piridina e 4 mL de anidrido acético. A mistura reacional foi mantida à temperatura ambiente por 24h. Completada a reação, foi adicionado água à mistura reacional e o produto extraído com clorofórmio. A fase clorofórmica foi lavada com solução aquosa de HCl 5%, depois seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada à vácuo.

#### b) Metilação das frações isoladas da *M. villosa* (Quadros 11 e 12, p. 157 e 158)

As frações acetiladas, foram posteriormente metiladas usando a técnica convencional de metilação com diazometano. Colocou-se 30 mL de solução aquosa de hidróxido de potássio 50% e 100 mL de éter etílico em um funil de separação de 250 mL e adicionou-se cuidadosamente o N-nitroso-metil-uréia até coloração amarela da fase etérea. À solução etérea de diazometano separada, adicionou-se as frações a serem metiladas. Após 24h neutralizou-se o excesso de diazometano com ácido acético e evaporou-se o solvente.

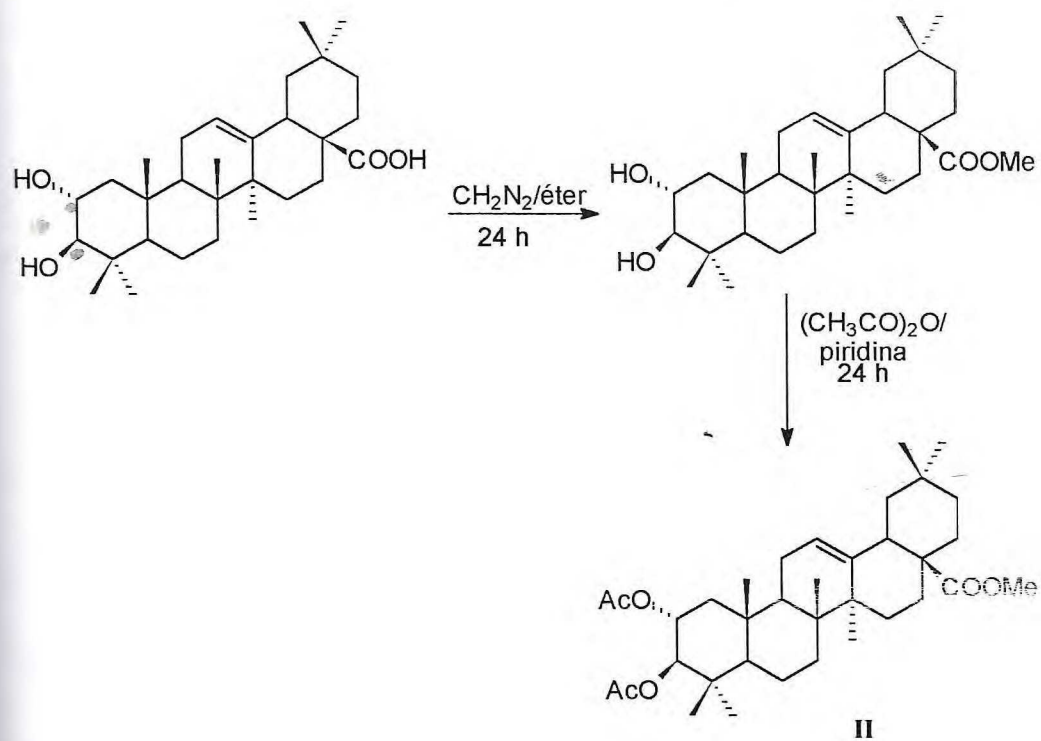
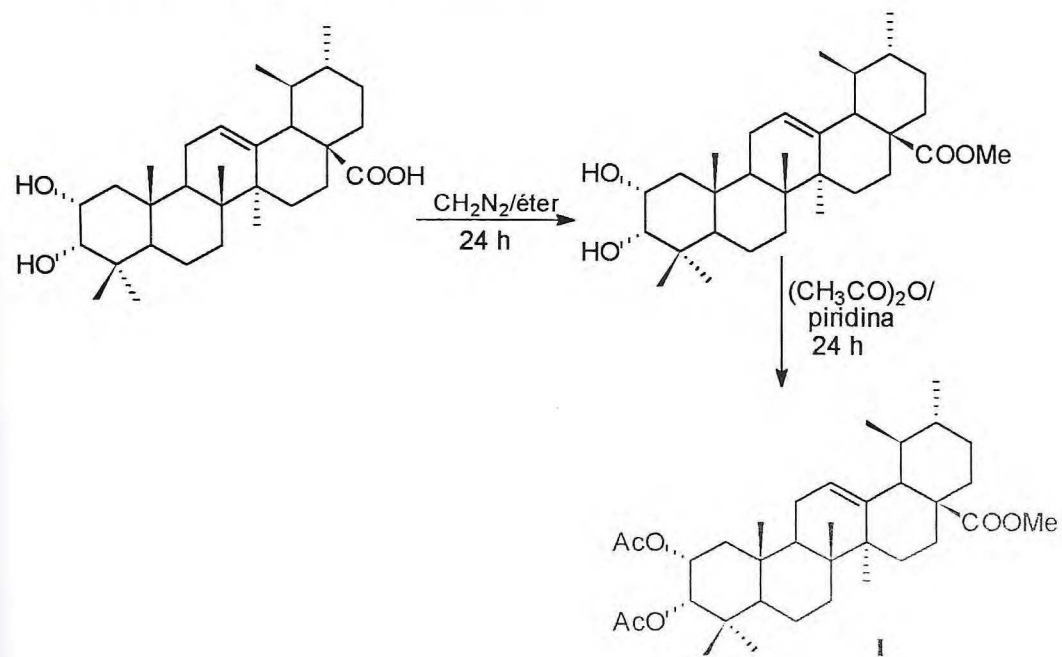
Cromatografia em placa preparativa de MVEA-C/C/A/A(16-23)AcMe apresentou uma mistura da qual separou-se a fração com Rf 0,18, por ser largamente majoritária. Do mesmo modo, cromatografia em placa preparativa de MVEA-C/C/A/A(21-30)AcMe revelou uma mistura de substâncias tendo-se separado as substâncias com Rf 0,35 e Rf 0,25. Procedimento análogo com a fração MVEA-C/C/A/C(25-31)AcMe e com MVEA-C/C/M/M(57-62)AcMe permitiu separar frações com Rfs 0,65 e 0,60, respectivamente.

#### 2.3.4. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) DAS FRAÇÕES ACETILADAS E METILADAS.

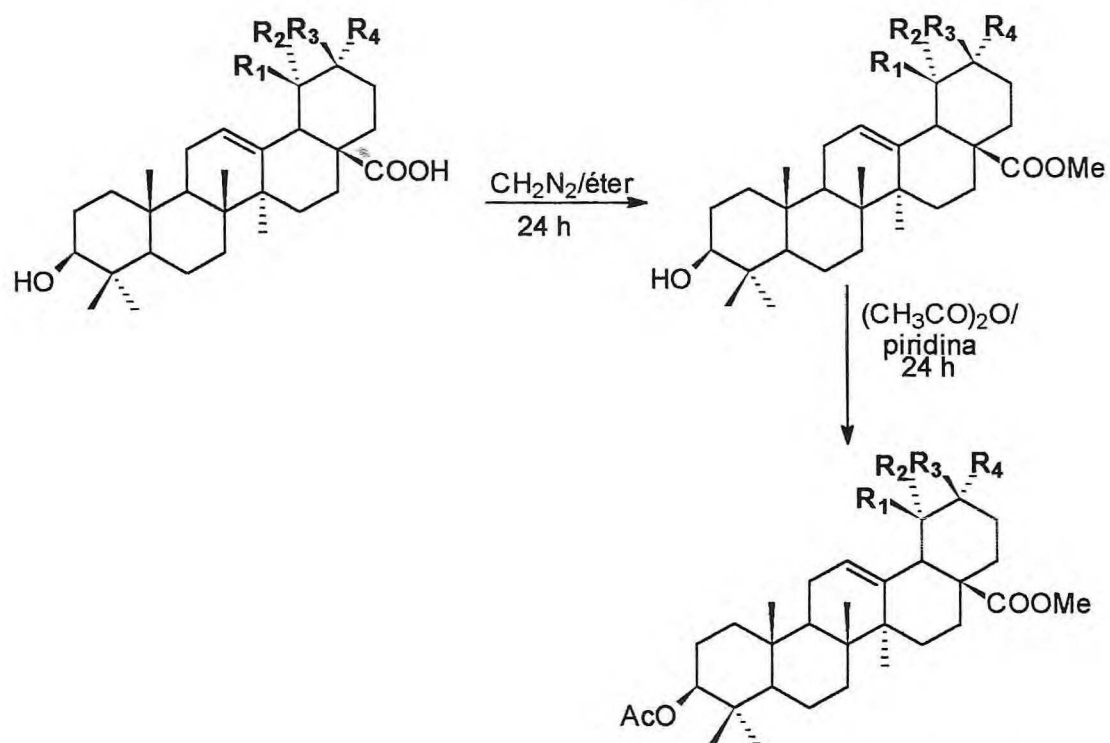
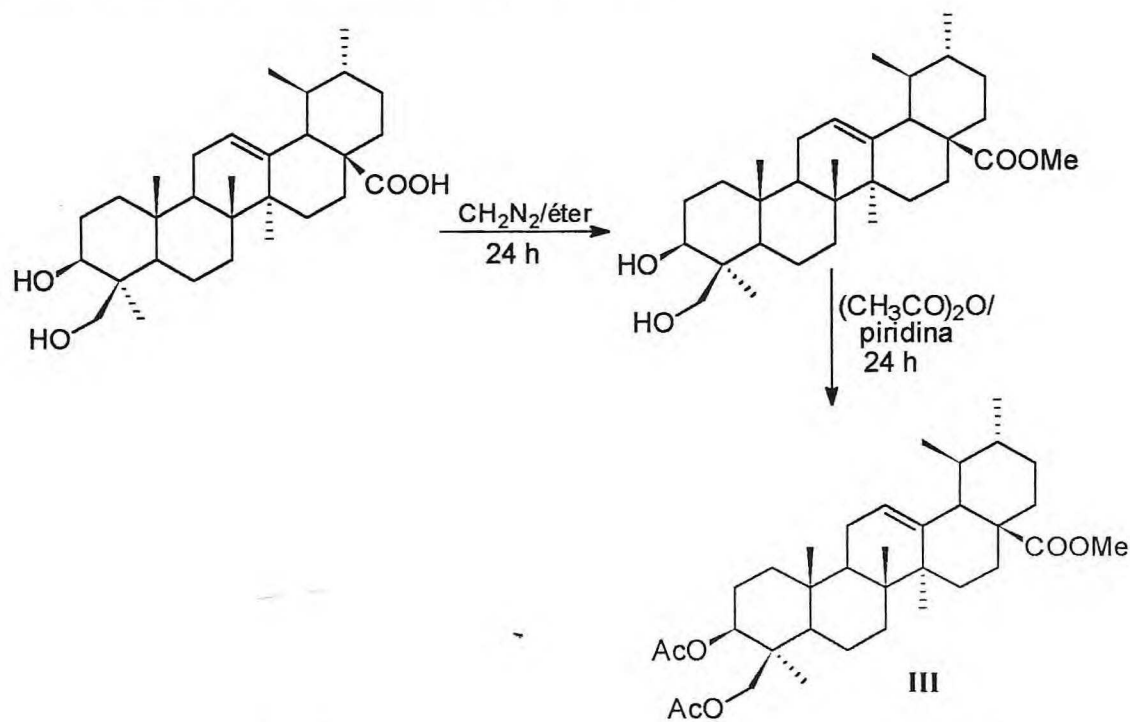
Injetou-se 9 mg de MVEA-C/C/A/A(16-23)AcMe com Rf 0,18 em cromatográfico líquido de alta eficiência, utilizando-se coluna de fase inversa RP18, dando origem a um cromatograma ( Fig. 61 , p.187) com 3 picos (1,2 e 3) de intensidades relativas 36: 100: 66. Foi coletada a fração relativa ao pico 3, que após evaporação do solvente forneceu a substância I (2,3 mg). As frações relativas aos dois primeiros picos ainda não foram analisadas.

Do mesmo modo, 10,5 mg de MVEA-C/C/A/A/M(21-30)AcMe com Rf 0,25 injetados no cromatografo líquido originou um cromatograma (Fig. 62, p. 188) com 4 picos (1,2,3 e 4) de intensidades relativas 10,7: 5,0: 100,0 : 8,2. Foi coletada a fração relativa ao pico 3, que após evaporação forneceu a substância II (5 mg). Analogamente a substância com Rf 0,25 (11 mg) originou no cromatografo líquido um cromatograma (Fig. 63, p. 189) com 4 picos (1,2,3 e 5) de intensidades relativas 3,3:18,3:67:100,0. Foi coletada a fração relativa ao pico 5, que após evaporação do solvente, forneceu a substância III (5,5 mg).

## Quadro 11. Obtenção dos derivados I e II.



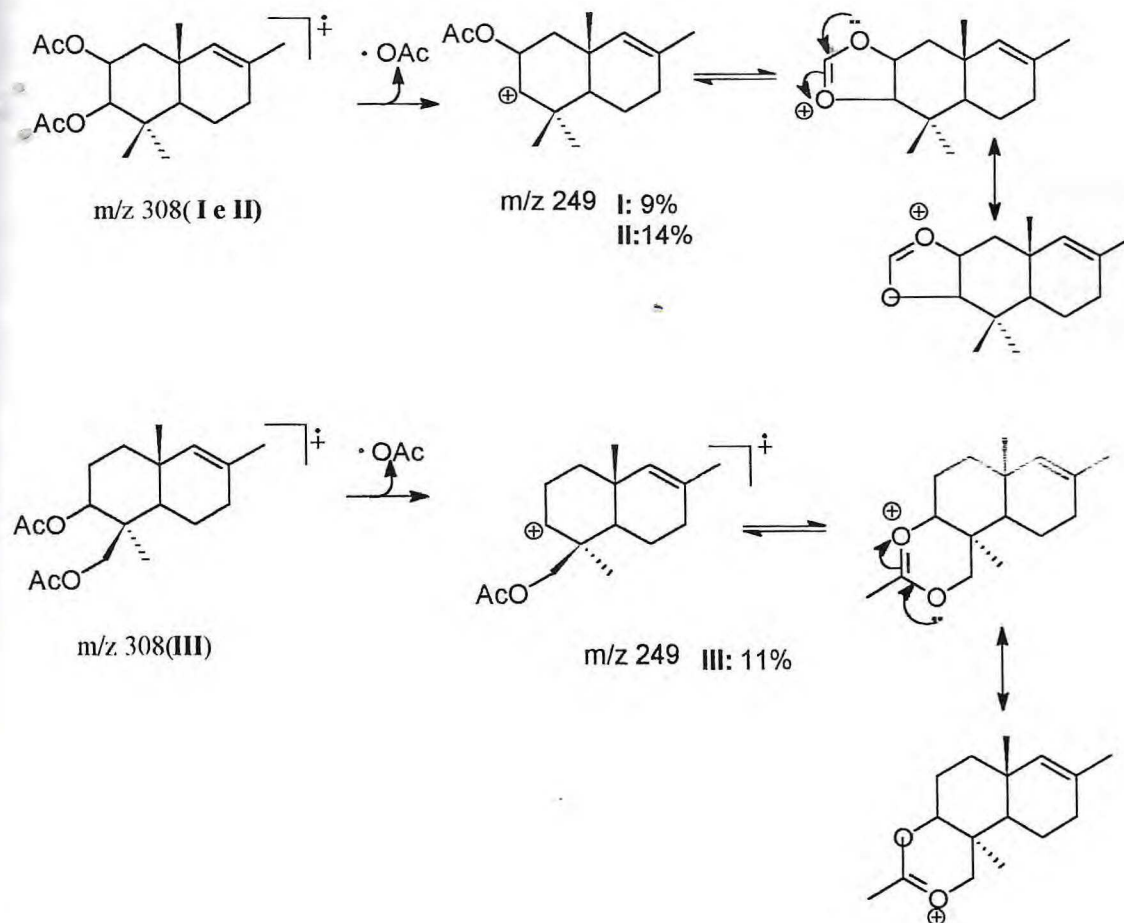
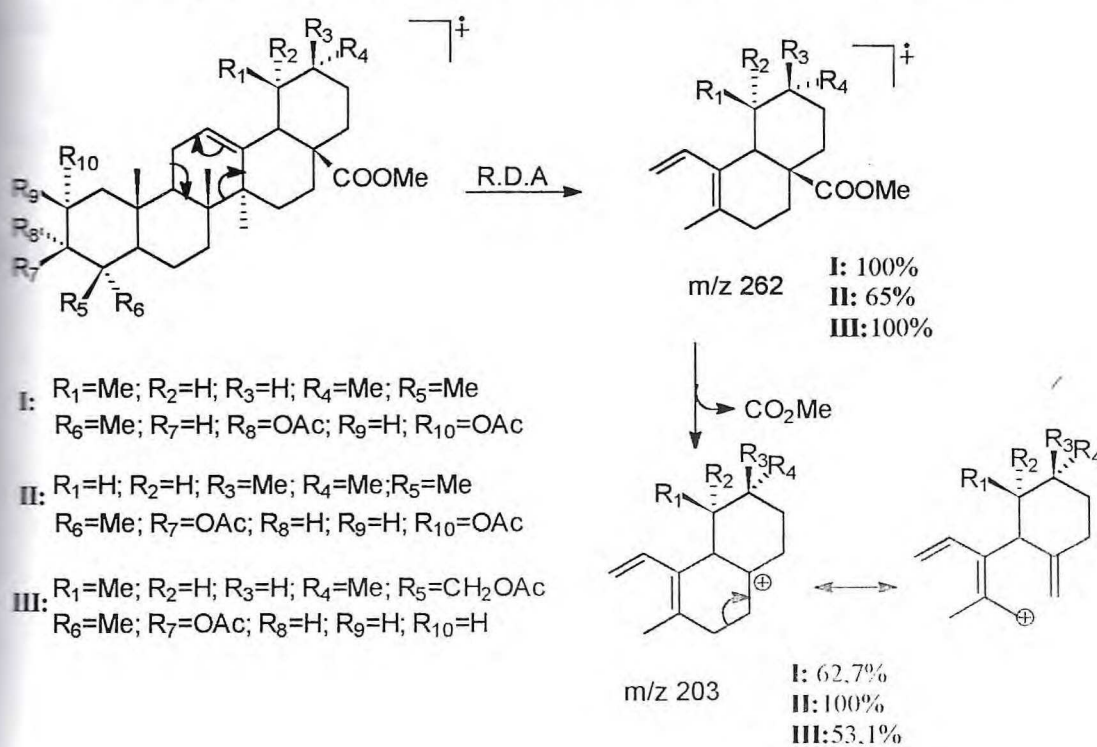
Quadro 12. Obtenção dos derivados III, IVa e IVb.



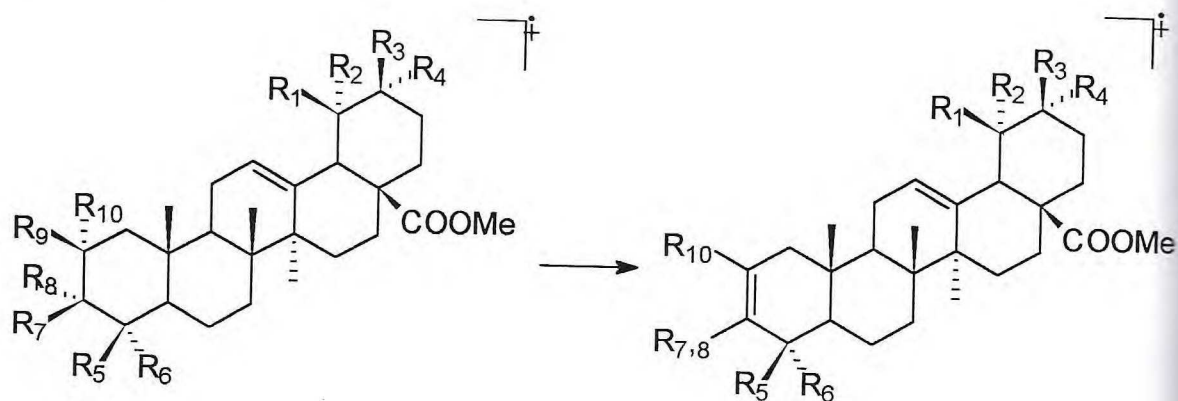
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
IVa	Me	H	H	Me
IVb	H	H	Me	Me



Quadro 13. Fragmentação proposta para I, II e III no espectrômetro de massa.

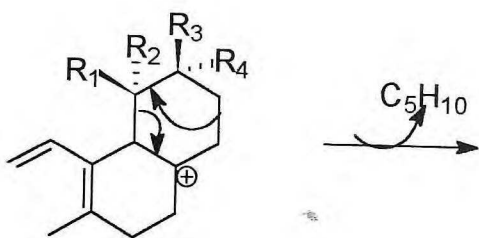


Cont. Quadro 13



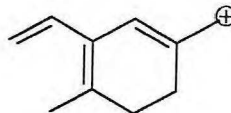
m/z 570 (I, II, III)

m/z 510  
 I: 9%  
 II: 12%  
 III: 12%



m/z 203

I: 63%  
 II: 100%  
 III: 53%

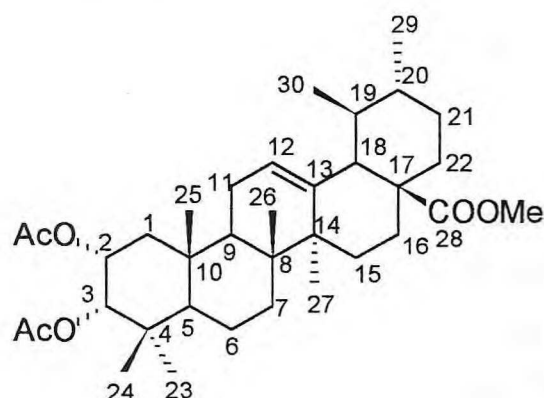


m/z 133

I: 39%  
 II: 22%  
 III: 30%

## 2.5. CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS DOS CONSTITUÍNTES ISOLADOS DA *Mentha villosa*.

⇒ MVEA-C/C/A/A(16-19) e MVEA-C/C/A/A(20-23) (I)



Sólido branco amorfo

F.M.: C<sub>35</sub>H<sub>54</sub>O<sub>6</sub>

P.M.: 570

p.f.: 230,3-234,1°C

Espectrometria de Massa: m/z(%)

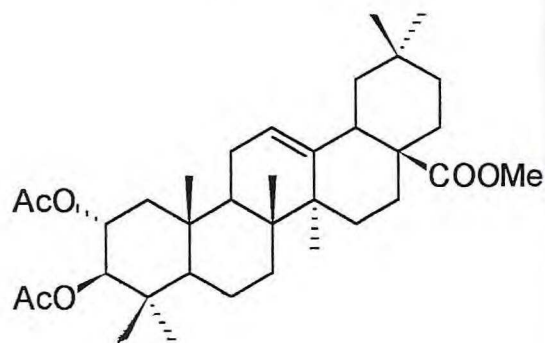
570(3,4), 510(6,2), 450(5,5), 435(2,0), 262(100), 249(9,3), 233(5,8), 203(59,3), 189(17,2), 145(6,2), 133(34,5), 97(18,6), 51(9,6).

Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H ( 500MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):

5,24(dd,H-2), 4,97(s, H-3), 1,13(H-5), 1,65(H-9), 5,25(t, H-12), 2,24(d, H-18), 1,35(H-19), 1,32(H-20), 1,68 e 1,38(H-1), 1,48 e 1,31(H-6), 1,50 e 1,32(H-7), 1,94(m, H-11), 1,77 e 1,11(H-15), 2,00 e 1,65(H-16), 1,50 e 1,27(H-21), 1,68 e 1,58(H-22), 0,87(s, 3H-23), 0,98(s, 3H-24), 1,04(s, 3H-25), 0,74(s, 3H-26), 1,12(s, 3H-27), 0,85(d, 3H-29), 0,94(d, 3H-30), 2,11(s, AcO), 1,95(s, AcO), 3,60(s, MeO-28)

Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C ( 125MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : Tabela 15, p. 150

⇒ MVEA-C/C/A/A/M (21-30) (II)



Sólido branco amorfo

F.M.: C<sub>35</sub>H<sub>54</sub>O<sub>6</sub>

P.M.: 570

p.f.: 205,5-209,8°C

Espectrometria de Massa: m/z(%)

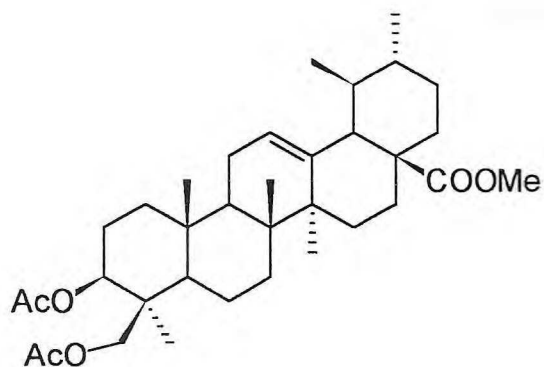
570(6,2), 538(2,0), 510(9,6), 495(2,0), 435(9,3), 391(5,5), 262(63,4), 249(13,8), 247(8,3), 213(4,1), 203(100), 189(25,5), 173(9,6), 149(22,0), 97(23,4), 83(32,4), 69(48,2), 57(69,6).

Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H ( 400MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm)

5,09(ddd, J=4,5; 10,5 e 10,3 Hz, H-2), 4,73(d, J=10,3 Hz, H-3), 5,26(t, J=3,5 Hz, H-12), 2,86(dd, J= 15,6 e 5,2 Hz, H-18), 3,60(s, OCH<sub>3</sub>-28), 2,05(s, AcO-3), 1,97(s, AcO-2), 0,88(s, 3H), 0,89(s, 3H), 1,04(s, 3H), 0,72(s, 3H), 1,11(s, 3H), 0,90(s, 3H), 0,92(s, 3H).

Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C ( 125MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): Tabela 15 , p. 150.

⇒ MVEA-C/C/A/A/M(21-30) (III)



Sólido branco amorfo

F.M.:  $C_{35}H_{54}O_6$

P.M.: 570

p.f.: 205,5-209,8°C

Espectrometria de Massa: m/z(%)

570(11,7), 510(9,6), 307(7,6), 262(100), 249(11,0), 233(4,1), 203(51,3), 189(11,8), 173(5,5), 145(5,5), 133(28,3), 119(9,3), 105(7,0), 81(5,5).

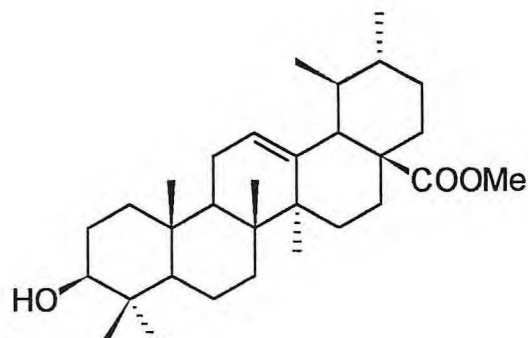
Espectrometria de RMN  $^1H$  ( 400MHz,  $CDCl_3$ , ppm):

4,58(dd, J=10,4 e 5,2 Hz, H-3), 5,25(t, J=4,3 Hz, H-12), 2,24(d, J=10,4 Hz, H-18), 4,38 e 4,12(d, J= 10,4 Hz, H-24), 3,60(s,  $OCH_3$ -28), 1,01(s, 3H), 0,95(s, 3H), 0,73(s, 3H), 1,07(s, 3H), 0,90(d, J=6,8 Hz, H-29), 0,85(d, J=6,8 Hz, H-30), 2,04(s, AcO-3), 2,07(s, AcO-24).

Espectrometria de RMN  $^{13}C$  ( 125 MHz,  $CDCl_3$ , ppm): Tabela 15, p. 150.

⇒ MVEA-C/C/A(25-31) (IV)

IVa) Ursolato de metila



Sólido branco amorfo

F.M.:  $C_{33}H_{52}O_4$

P.M.: 512

p.f.: 250,3-255,0°C

Espectrometria de Massa: m/z(%)

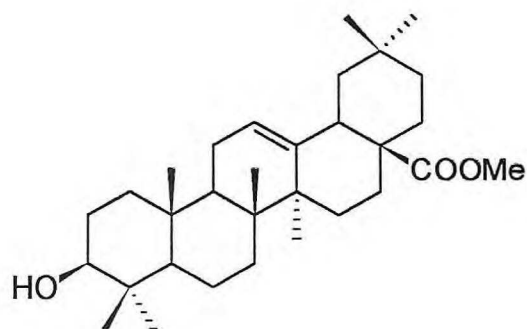
512(5,6), 452(8,4), 437(2,8), 314(2,1), 262(100), 249(23,1), 233(8,6), 203(68,6), 189(21), 147(4,9), 133(35,7), 95(6,3), 86(47,9), 84(74,9), 51(17,5).

Espectrometria de RMN  $^1H$  ( 400MHz,  $CDCl_3$ , ppm)

5,24(t, J=3,6 Hz, H-12), 4,49(dd, J=11,5 e 5,5 Hz, H-3), 3,60(s,  $OCH_3$ -28), 2,22(d, J=12,0 Hz, H-18), 2,04(s, AcO-3), 1,06(s, 3H), 0,93(d, J=6,0 Hz, H-29), 0,85(d, J=6,0 Hz, H-30), 0,93(s, 3H), 0,85(s, 3H), 0,84(s, 3H), 0,74(s, 3H).

Espectrometria de RMN  $^{13}C$  ( 125 MHz,  $CDCl_3$ , ppm): Tabela 15, p. 150.

## IVb) Oleanato de metila



Sólido branco amorfo

F.M.:  $C_{33}H_{52}O_4$

P.M.: 512

p.f.: 250,3-255,0°C

Espectrometria de Massa: m/z(%)

512(10), 452(20), 437(3,5), 262(73), 203(100), 202(26,3), 109(21,4), 149(84), 133(14), 95(7), 86(40,7), 84(60,7), 70(8,4), 51(18).

Espectrometria de RMN  $^1H$  ( 400 MHz,  $CDCl_3$ , ppm):

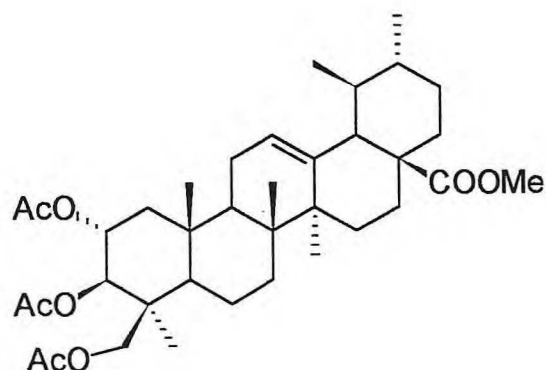
5,28(t, J=4,0 Hz , H-12), 4,99(dd, J=9,0 e 5,0 Hz, H-3), 3,62(s,  $OCH_3$ -28), 2,85(dd, J=12,0 e 3,4 Hz, H-18), 2,04(s, AcO-3), 1,12(s, 3H), 0,93(s, 3H), 0,92(s, 3H), 0,86(s, 3H), 0,85(s, 3H), 0,72(s, 3H).

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

38,1(C-1), 23,6(C-2), 80,9(C-3), 37,8(C-4), 55,3(C-5), 18,2(C-6), 32,8(C-7), 39,2(C-8), 47,5(C-9), 36,8(C-10), 23,3(C-11), 125,3(C-12), 143,7(C-13), 41,8(C-14), 27,7(C-15), 23,5(C-16), 46,5(C-17), 41,3(C-18), 45,9(C-19), 30,7(C-20), 33,8(C-21), 32,4(C-22), 28,1(C-23), 16,7(C-24), 15,4(C-25), 16,8(C-26), 25,9(C-27), 178,0(C-28), 33,1(C-29), 23,7(C-30), 51,5( $CH_3$ -28), 171,1( $CO_2$ -3), 21,3 ( $CH_3$ -3).

⇒MVEA-C/C/M/M(57-62) (V)

Va) 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ - 24-triacetoxi-urs-12-en-28-ursolato de metila



Sólido branco

F.M.: C<sub>37</sub>H<sub>56</sub>O<sub>8</sub>

P.M.: 628

p.f.: 275,8-279,6°C

Espectrometria de Massa: m/z(%)

628(3), 569(2,6), 5,8(6,6), 508(3,3), 262(100), 249(17), 233(6,6), 203(86), 189(17), 173(12,6), 133(42), 119(14), 83(20).

Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H( 500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):

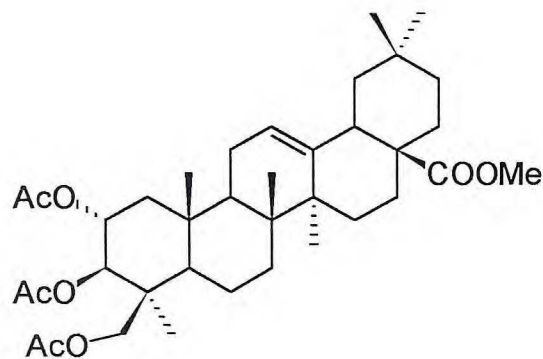
5,24(t, 1H), 5,16(td, J= 12,0 e 4,8 Hz, H-2), 4,82( d, J= 12,0 Hz, H-3), 4,20(s, 2H-24), 2,22(d, J= 12,0 Hz, H-18), 3,60(s, 3H), 2,04(s, 6H), 1,96(s, 3H), 1,07(s, 3H), 1,06(s, 3H), 1,03(s, 3H), 0,94(d, J=12,0 Hz, 3H-30), 0,84(d, J=6,4 Hz, 3H-29), 0,74(s, 3H).

Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):

44,3(C-1), 69,2(C-2), 79,9(C-3), 43,0(C-4), 55,6(C-5), 19,2(C-6), 33,2(C-7), 39,3(C-8), 47,6(C-9), 37,5(C-10), 23,3(C-11), 125,0(C-12), 138,6(C-13), 41,8(C-14), 27,9(C-15), 24,2(C-16), 48,0(C-17), 52,9(C-18), 39,0(C-19), 38,8(C-20), 30,6(C-21), 36,6(C-22), 23,1(C-23), 65,5(C-24), 16,2(C-25), 16,7(C-26), 23,5(C-27), 178,8(CO-28), 17,0(C-29), 21,1(C-30), 51,5(C-28), 171,0(CO-3), 20,8(C-3), 171,0(CO-2), 20,8(C-2), 170,8(C-23/24), 21,0(C-23/24).



Vb) 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ - 24-triacetoxi-olean-12-en-28-oleanolato de metila



Sólido branco

F.M.: C<sub>37</sub>H<sub>56</sub>O<sub>8</sub>

P.M.: 628

p.f.: 259,5-262,3°C

Espectrometria de Massa: m/z(%)

628(2,6), 569(3,3), 5,8(6,6), 508(3,3), 448(2), 435(3,3), 407(2), 389(3,3), 262(62,6), 249(12,6), 215(3,3), 203(100), 189(22), 149(12,6), 133(19,3), 119(14), 83(28,6), 57(26,6).

Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H( 500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):

5,24(t, 1H), 5,16(td, J= 12,0 e 4,8 Hz, H-2), 4,82(d, J= 12,0 Hz, H-3), 4,20(s, 2H-24), 2,85(dd, J= 12,0 e 3,4 Hz, H-18 axial), 2,04(s, 6H), 1,11(s, 3H), 1,05(s, 3H), 1,02(s, 3H), 0,92(s, 3H), 0,88(s, 3H), 0,71(s, 3H).

Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):

44,1(C-1), 69,2(C-2), 79,9(C-3), 43,0(C-4), 55,6(C-5), 19,3(C-6), 33,1(C-7), 39,6(C-8), 47,7(C-9), 38,1(C-10), 23,0(C-11), 121,8(C-12), 143,9(C-13), 41,8(C-14), 27,6(C-15), 23,5(C-16), 47,3(C-17), 41,3(C-18), 45,9(C-19), 30,8(C-20), 33,8(C-21), 32,3(C-22), 23,1(C-23), 65,4(C-24), 16,1(C-25), 16,7(C-26), 25,8(C-27), 178,4(CO-28), 33,1(C-29), 23,6(C-30), 51,5(C-28), 171,1(CO-3), 21,0(C-3), 171,0(CO-2), 21,0(C-2), 170,9(C-23/24), 20,8(C-23/24).

## 2.6. BIBLIOGRAFIA

1. SCHULTZ,A.R.H.: Introdução à Botânica Sistemática, **2**, 281, Porto Alegre, Ed. da Universidade, UFRGS (1985).
2. HARLEY,R.M.: A review of Eriope and Eriopidion, *Hooker's Icon.*, **38**, 107 (1976).
3. MATOS,F.J.A.: *Farmácias Vivas*, 108-109, 2ª ed. MV. e atual, Ed. EUFC, Fortaleza (1991).
4. OLIVEIRA,R.A.G.; ANDRADE,J.M.; BARBOSA,L.; MUGUET,B.; VASCONCELOS,E. e MOURA,T.: Plantas Mediciniais utilizadas pela população de Caaporã e da Prefeitura do Conjunto Costa e Silva-Pb., *Bol. Inf. Bim. GIPLAM*, **9**, (1988).
5. HARLEY,R.M. and REYNOLDS, T.: *Advances in Labiate Science*, Royal Botanic Gardens Kew, Richmond, Surrey UK (1992).
6. ASAI,I.; YOSHIHIRA,K.; OMOTO,T.; SAKUI,N. and SHIMOMURA,K.: Growth and monoterpene production in shoot culture and regenerates of *Mentha arvensis*, *Shokubutsu Soshiki Baiyo*, **11**, 218-225 (1994).
7. CROTEAU,R.: The biosynthesis of limonene in *Mentha* species, *Prog. Flavour Precursor Stud. Proc. Int. Conf.*, 113-122 (1993).
8. KAUL,B.L.: Successful use of mutation breeding technique for the genetic improvement of some aromatic plants, *Newer Trends Essent. Oils Flavours, Sel. Pap. Int. Symp.*, 241-248 (1993).
9. KHARKWAL,H.; SHAH,G.C.; MATHELA,C.S. and LAURENT,R.: Variation in the terpenoid composition of *Mentha longifolia himalaiensis*, *Indian Perfum.*, **38**, 29-32 (1994).
10. PENUELA,M.J.T. and BOSCH,N.B.: Nitrites and nitrates in medicinal plants and their infusion: pennyroyal and linden, *An. Bromatol.*, **44**, 153-158 (1994).
11. SCANNERINI,S. and MUCCIARELLI,M.: Paraquat on carvone biosynthesis in *Mentha*, *J. Essent. Oil Res.*, **5**, 651-657 (1993).
12. KAWABE,S.; FUJIWARA,H.; MURAKAMI,K. and HOSOMI,K.: Volatile constituents of *Mentha arvensis* cultures, *Biosci., Biotechnol. Biochem.*, **57**, 657-658 (1993).
13. ALONSO,W.R.; CROCK,J.E. and CROTEAU,R.: Production and characterization of polyclonal antibodies in rabbits to 4S-limonene synthase from spearmint( *Mentha spicata*), *Arch. Biochem. Biophys.*,**301**, 58-63 (1993).
14. UCHIYAMA,T.; NUMATA,M.;TERADA,S. and HOSINO,T.: Production and composition of extracellular polysaccharide from cell suspension cultures of *Mentha*, *Plant Cell, Tissue Organ. Cult.*, **32**, 153-159 (1993).

15. MATANO, Y., KANITA, M.; SAITO, J. and SUZUKI, A.: 1,2-Dihydronaphthalene-2,3-dicarboxylic acid as anti-inflammatory agents, *Jpn. Kokai Tokkio Koho JP 05 25,083/93 25,083* (1993).
16. MATANO, Y.; WATANO, T.; OONO, A.; KANITA, M.; SAITO, J. and SUZUKI, A.: Isolation of 1-(3,4-dihydroxyphenyl)-1,2-dihydronaphthalene-2,3-dicarboxylic acid derivatives from leaf of *Mentha haplocalyx* as anti-inflammatory agents, *Jpn. Kokai Tokkio Koho JP 05 25,082/93, 25,082* (1993).
17. UMEMOTO, K.: Chemical constituents of wild mints. XVIII. Essential oil of self-pollinated plants of *Mentha japonica* Makino containing menthone and pulegone, *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, **67**, 145-147 (1993).
18. SACCO, T.; PERACINO, V. and MAFFEI, M.: Phenotypic plasticity in *Mentha viridis* *travanduliodora*, *J. Essent. Oil Res.*, **4**, 497-510 (1992).
19. SINGH, S.P.; NEGI, S.; CHAND, L. and SINGH, A.K.: Antibacterial and antifungal activities of *Mentha arvensis* essential oil, *Fitoterapia*, **63**, 76-78 (1992).
20. SHARMA, S. and TYAGI, B.R.: Character correlation, path coefficient and heritability analyses of essential oil and quality components in Japanese mint, *J. Genet. Breed.*, **45**, 257-262 (1991).
21. GEVORKYAN, N.A. and ARUTYUNYAN, A.F.: Nutritional value of *Thymus vulgaris* L. and *Mentha longifolia* L., *Rastit. Resur.*, **27**, 90-92 (1991).
22. SHIMIZU, S.; SHIBATA, H. and MAEJIMA, S.: A new monoterpene glucoside 1-menthyl-6'-O-acetyl- $\beta$ -D-glucoside in *Mentha arvensis* var. *piperascens* Mal. (Studies on terpene glucosides in *Mentha* plants. Part 1), *J. Essent. Oil Res.*, **2**, 21-24 (1990).
23. MAFFEI, M.: F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> hybrids from *Mentha x verticillata* clone 7303 X *Mentha spicata* L. A chemogenetic study, *Flavour Fragrance J.*, **5**, 211-217 (1990).
24. MAFFEI, M.: *Mentha x verticillata*: a potential new source of menthol, *J. Essent. Oil Res.*, **2**, 243-245 (1990).
25. SHIMIZU, S.; SHIBATA, H.; KARASAWA, D. and KOZAKI, T.: Carvyl- and dihydrocarvyl- $\beta$ -D-glucosides in spearmint (Studies on terpene glycosides in *Mentha* plants, Part II), *J. Essent. Oil Res.*, **2**, 81-86 (1990).
26. VOROB'EVA, E.A. and SHIKIMAKA, A.F.: Acyclic monoterpenes in the essential oil of *Mentha arvensis*(L.), *Izv. Akad. Nauk Mold. SSR, Ser. Biol. Khim. Nauk*, **75** (1989).

27. DUNG,N.X.; VO,D.C. and HANH,L.T.: Study of some types of *Mentha arvensis* species. *Tap Chi Hoa Hoc*, **26**, 15-20 (1988).
28. MERKS,I.J.M. and SVENDSEN,A.B.: Occurrence of glycosidic bound volatile compounds in plants. Part IV. Occurrence and possible role of glycosidic bound eugenol and 2-methoxy-4-vinylphenol in the lignin biosynthesis of some Lamiaceae, *Planta Med.*, **55**, 88-89 (1989).
29. NIKOLAEV,A.G. and PISOVA,M.T.: The inheritance of terpenoid composition of essential oils in interspecific hybrids of *Mentha* L., *Rastit. Resur.*, **24**, 591-597 (1988).
30. NAM,C.B.: The separation and identification of terpenoids by chromatography, *Tap Chi Hoa Hoc*, 12-15 (1988).
31. SUKARI,M.A. and TAKAHASHI,S.: Biological activity some Malaysian plant extracts. *Pertanika*, **11**, 249-253 (1988).
32. SHIMIZU,S.: Studies on mints containing dextro-or-levo-rotatory linalool as a dominant constituents in the essential oils, *Kiyo-Iida Joshi Tanki Daigaku*, 24-33 (1988).
33. AL-HAZIMI,H.M.G.: Chemical constituents of *Mentha longifolia*, *Orient. J. Chem.*, **4**, 281-285 (1988).
34. TOMAS-BARBERAN,F.A.; HUSAIN,S.Z. and GIL,M.I.: The distribution of methylated flavones in the Lamiaceae, *Biochem. Syst. Ecol.*, **16**, 43-46 (1987).
35. MATSUI,M. and ASAI,M.: Analysis of menthone, isomenthone, anethole, and cinnamaldehyde in crude drugs by headspace gas chromatography, *Shimadzu Hyoron*, **44**, 219-223 (1987).
36. JASKONIS,J. and ZVINIENE,N.: Biological and biochemical peculiarities of the main taxa of mint cultivated and growing naturally in the Lithuanian SSR(8. Species *Lekarstvenaya* peppermint), *Liet. TSR Mokslu Akad. Darb., Ser. C*, 24-29 (1987).
37. RAO, K.S. and LAKSHMINARAYANA,G.: Lipid class and fatty acid compositions of essential oil tissues of *Peucedanum graveolens*, *Mentha arvensis* and *Colocasia esculenta* plants, *J. Agr. Food Chem.*, **36**, 475-478 (1988).
38. VARSHNEY,S.C.: Peppermint oil in flavors, *Indian Perfum.*, **31**, 33-36 (1987).
39. PLATOSHINA,O.N. and KUBRAK,M.N.: Inheritance of essential oil components following crossing of complex hybrids of *Mentha* L. species, *Rastit. Resur.*, **24**, 85-92 (1988).
40. GALLINO,M.: Chemical and botanical study of *Mentha denticulata* Strail(sensu Fiori) native to Piedmont, *Essenze Deriv. Agrum.*, **56**, 337-344 (1986).

41. MAFFEI, M. and SACCO, T.: Chemical and morphometrical comparison between two peppermint notomorphs, *Planta Med.*, **53**, 214-216 (1987).
42. NIKOLAEV, A.G.; Le ZUI, H. and POPOV, Yu.S.: Variability in the terpenoid composition of the hybrid progeny of Sakhalin mint and water mint, *Izv. Akad Nauk Mold. SSR, Ser. Biol. Khim. Nauk*, 33-37 (1986).
43. AKHILA, A.: Biosynthesis of menthol and related monoterpenes in *Mentha arvensis*, **126**, 379-386 (1987).
44. OKUDA, T.; HATANO, T.; AGATA, I. and NISHIBE, S.: The components of tannic activities in Labiatae plants. I. Rosmarinic acid from Labiatae plants in Japan, *Yakugaku Zasshi*, **106**, 1108-1111 (1986).
45. SHIMIZU, S.: Chemical constituents of *Mentha rotundifolia* and the mints related to *rotundifolia*, *Kyo-Iida Joshi Tanki Daigaku*, 13-28 (1986).
46. LINCOLN, D.E.; MURRAY, M.J. and LAWRENCE, B.M.: Chemical composition and genetic basis for the isopinocampone chemotype of *Mentha citrata* hybrids, *Phytochemistry*, **25**, 1857-1863 (1986).
47. VECHER, A.S.; PASHTET, N.V. and VASIL'KEVICH, S.I.: Coumarin compounds of spice plants, *Vestsi Akad. Navuk BSSR, Ser. Biyal. Navuk*, 41-45 (1985).
48. HOLEMAN, M.; BELLAKHDAR, J.; BERRADA, M.; ILIDRISSI, A. and PINEL, R.: Comparative chemical study of different populations of *Mentha suaveolens* Ehrh. from Morocco, *Actes-Colloq. Int. Plant Aromat. Med. Maroc., 1st.*, 191-196 (1985).
49. YAMAHARA, J.; MEKI, K.; SAWADA, T.; FUJIMURA, H. and KONISHI, T.: Biologically active principles of crude drugs. Cholagogic substances in *Mentha arvensis*, *Shoyakugaku Zasshi*, **39**, 93-98 (1985).
50. MAITI, D.; KOLE, C.R. and SEN, C.: Antimicrobial efficacy of some essential oils, *Z. Pflanzenkrankh Pflanzenschutz*, **92**, 64-68 (1985).
51. JASKONIS, J. and ZVINIENE, N.: Biological and biochemical characteristics of the major taxons of mint cultivated and grown naturally in the Lithuanian SSR. 6. Crispleaf mint, *Liet. TSR Mokslu Akad. Darb., Ser. C*, 56-61 (1985).
52. TOTH, L.M.; PAPAY, V.; TOTH, L.; PAPAY, I. and TOROK, A.: Extract that improves the defense of the organism, *Hung. Teljes HU 35*, 176, (1985).

53. FUJITA,S. and NEZU,K.: Studies on the essential oils of the genus *Mentha*. Part XIII. Components of essential oils of *Mentha rotundifolia*(Linn.) Huds. II., *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, **59**, 703-706 (1985).
54. REZNIKOVA,S.A.; BUGAENKO,L.A. and MAKAROV, V.V.: Characterization of menthol oil formation in *Mentha x. piperita* L. in connection with its resynthesis, *Rastit. Resur.*, **20**, 544-552 (1984).
55. SHARIPOVA,F.S.; EL'CHIBEKOVA,L.A.; NEDEL'KO,E.S. and GUSAK,L.E.: Wild mints of Kazakhstan. I. Study of the chemical composition of the essential oil of *Mentha asiatica* Boriss, *Izv. Akad. Nauk Kaz. SSR, Ser. Khim.*, 67-71 (1983).
56. MARIN PARES,E.: A pharmacognostic study on *Mentha rotundifolia*(L.) Hudson, *Circ. Farm.*, **41**, 133-152 (1983).
57. PEIRIS,B.D.; BALASUBRAMANIAM,S.; JAYAWARDANE,A.L. and HERATH, H.M.W. Effect of plant maturity on oil composition of two mint varieties recently introduced to Sri Lanka. *J. Natl. Sci. Counc. Sri Lanka*, **10**, 143-147 (1982).
58. TOPALOV,V.: Bulgarian clones of *M. arvensis* L. with high content of essential oil, *Nauchn. Tr.- Vissh Selskostop. Inst. "Vasil Kolarov", Plovdiv*, **26**, 205-210 (1981).
59. BHAUMIK,C. and DATTA,P.C. : Menthol in static and suspension cultures of *Mentha arvensis* Linn. var. *piperescens* Holmes, *Indian Drugs*, **19**, 387-388 (1982).
60. KJONAAS,R. and CROTEAU,R.: Demonstration that limonene is the first cyclic intermediate in the biosynthesis of oxygenated p-menthane monoterpenes in *Mentha piperita* and other *Mentha* species, *Arch. Biochem. Biophys.*, **220**, 79-89 (1983).
61. UMEMOTO,K. and NAGASAWA,T.: Studies on the wild mints of Tokai Districts. Part XI. Essential oil of *Mentha gentilis* L. containing (+)-pulegone as a main component, *Nagoya Gakuin Daigaku Ronshu, Jinbun, Shizen kagakuhen*, **18**, 71-83 (1982).
62. LEE,C.Y.; CHIOU,J.W. and CHANG,W.H.: Studies on the antioxidative activities of spices grown in Taiwan(II), *Chung-Kuo Nung Yeh Hua Hsueh Hui Chih*, **20**, 61-66 (1982).
63. SAKATA,I.; HIGASHAMA,T.; IWAMURA,H. and KOSHIMIZU,K.: Studies on menthyl glycosides, *Koryo*, **130**, 79-81 (1981).
64. DIKSHIT,A. and HUSAIN,A.: Antifungal action of some essential oils against animal pathogens, *Fitoterapia*, **55**, 171-176 (1984).

65. ROVESTI,P.: Ecological effects on the composition of essential oils. Part XVIII. Essential oils of *Mentha longifolia* L. var. *abyssinica* Schw. of East Africa, *Riv. Ital. IPPPOS*, **63**, 263-264 (1981).
66. SAKATA,I. and KOSHIMIZU,K.: Seasonal variations in menthyl glucoside, menthol, menthone and related monoterpenes in developing Japanese peppermint, *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, **54**, 1037-1043 (1980).
67. GALLINO,M. and CODIGNOLA,A.: Mint varieties of the *viridis* species: *Mentha crispata* Schrader. Botanical and chemical research, *Essenze Deriv. Agrum.*, **50**, 79-85 (1980).
68. LOI,D.T. and NAM,C.B.: Chemical types of the wild northeastern Vietnamese mint species, *Duoc Hoc*, 15-18 (1979).
69. GOUTAM,M.P.; JAIN,P.C. and SINGH,K.V.: Activity of some essential oils against dermatophytes, *Indian Drugs*, **17**, 269-270 (1980).
70. KARASAWA,D. and SHIMIZU,S.: Triterpene acids in callus tissues from *Mentha arvensis* var. *piperascens* Mal., *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 1203-1205 (1980).
71. KAPELEV,I.G. and AKIMOV,YU.A.: Intraspecies chemical variability of *Mentha longifolia* (L.) L., *Rastit. Resur.*, **16**, 436-441 (1980).
72. MADZHAROVA,D.; BIGEVA,KH. and BUBAROVA,M.: New yielding species "svejen"-*Mentha spicata* L./*Mentha viridis* Huds., *Herba Hung.*, **18**, 205-210 (1979).
73. MAEJIMA,S.; SHIBATA,H. and SHIMIZU,S.: Distillation residues of *Mentha*, *Koen Yoshishu-Koryo, Terupen oyobi Seiyu Kagaku ni kansuru Toronkai*, 23rd., 31-32 (1979).
74. TOPALOV,V.: Research on the generative progeny of *Mentha arvensis*, *Int. Congr. Essent. Oils[Pap.]*, 7th., 126-127 (1979).
75. ALVAREZ BUILLA,H.; CASTANO,R.; BALUJA,R. and BACALLAO,J.: Preliminary study of Cuban oils from *Mentha arvensis* and *Mentha piperita*, *Rev. Cubana Farm.*, **13**, 115-122 (1979).
76. DUHAN,S.P.S.; SINGH,V.P. and BHATTACHARYA,A.K.: Effect of gibberellic acid on the grown, yield and quality on *Mentha citrata* Ehrh., *Indian Perfum.*, **22**, 239-243 (1978).
77. FUJITA,S. and NEZU,K.: Essential oils of *Mentha*. 13. Essential oils of *Mentha rotundifolia*(Linn.) Huds. 2., *Koen Yoshishu-Koryo, Terupen oyobi Seiyu Kagaku ni kansuru Toronkai*, 23rd., 33-35 (1979).

78. ASHIROVA, A.A.: Experiments on cultivation of ethereal oil plant( *Seriphidium balchanorum*(Krasch.) Poljak, *Mentha asiatica* Boriss and *Mentha kopetdagensis* Boriss.) under the conditions of Turkmenistan, *Int. Congr. Essent. Oils, [Pap.], 7th.*, 163-164 (1979).
79. SAKATA, I. and KOSHIMIZU, K.: Constituents of Japanese peppermint. Part VII. Occurrence of 1-menthyl- $\beta$ -D-glucoside and methyl palmitate in rhizoma of Japanese peppermint, *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1959-1960 (1978).
80. CHOBANU, V.I.: Variability of the composition of terpenoids from *Mentha longifolia* L., ssp. *caucasica* Briq. in ontogenesis, *Aktual. Vopr. Fiziol. Biokhim. Rast. Mold., Master. Resp. Kont. Fiziol. Biokhim., 2nd.*, 269-271 (1977).
81. GELLA, E.V. and PASECHNIK, I.KH.: Flavonoids with a cholagogic action, *Otkrytiya, Izobret., Prom. Obraztsy, Tovarnye Znaki*, **55**, 11 (1978).
82. FUJITA, S.; TAKA, K. and FUJITA, Y.: Studies on the essential oils of the genus *Mentha*. Part XI. On the components of the essential oils of *Mentha gentilis* Linn. var. *lanata*(Rydb.) Fujita et Fujita(comb. nov.), *Nippon Nogeï Kagaku Kaishi*, **52**, 272-280 (1978).
83. BAYRAKTAR-ALPMEN, G.: Gas chromatography studies on some samples of *Mentha aquatica* L. and *M. longifolia*(L.) Huds., *Istanbul Univ. Eczacilik Fak. Mecm.*, **13**, 178-183 (1977).
84. FUJITA, S.; NAKANO, T. and FUJITA, Y.: Studies on the essential oils of the genus *Mentha*. Part IX. A biochemical study of the essential oils of *Mentha japonica* Makino, *Nippon Nogeï Kagaku Kaishi*, **51**, 405-408 (1977).
85. BURZANSKA-HERMANN, Z.; RZADKOWSKA-BODALSKA, H. and OLECHNOWICZ-STEPIEN, W.: Isolation and identification of flavonoid compounds of *Mentha aquatica* L. herb., *Rocz. Chem.*, **51**, 701-709 (1977).
86. TROFIMOVA, E.P.: Some wild food plants of Tadzhikistan as sources of vitamins, *Izv. Akad. Nauk Tadzh. SSR, Otd. Biol. Nauk*, 43-48 (1977).
87. NAWAZ, R. and SOERENSEN, H.: Distribution of saccharopine and 2-amino adipic acid in higher plants, *Phytochemistry*, **16**, 599-600 (1977).
88. LOMBARD, A.; TOURN, M.L. and BUFFA, M.: In situ reactions on silica gel thin layers in studies on plant oligosaccharides, *J. Chromatogr.*, **134**, 242-245 (1977).
89. PELYAKH, E.M.; CHOBANU, V.I.; NIKOLAEV, A.G. and ZUONG, N.Q.: Composition of the terpenoids of an interspecies hybrid of mint and its alteration during ontogenesis, *Izv. Akad. Nauk Mold. SSR, Ser. Biol. Khim. Nauk*, 16-23 (1976).



90. GULATI, B.C. and DUHAN, S.P.S.: Essential oils of *Mentha citrata* Ehrh. (bergamot mint oil), *Riechst., Aromen, Koerperpflege*, **26**, 180-185 (1976).
91. HENDRIKS, H.; VAN OS, F.H.L. and FEENSTRA, W.J.: Crossing experiments between some chemotypes of *Mentha longifolia* and *Mentha suaveolens*, *Planta Med.*, **30**, 154-162 (1976).
92. LOMBARD, A.; TOURN, M.L. and BUFFA, M.: The soluble carbohydrates from the leaves of various species and varieties of *Mentha*, *Atti. Accad. Sci. Torino, Cl. Sci. Fis., Mat. Nat.*, **109**, 195-203 (1975).
93. GUSAKOVA, S.D.; KHOLMATOV, K.H.K. and UMAROV, A.U.: Composition of oils from the seeds of *Origanum tyttanthum* and *Mentha asiatica*, *Khim. Prir. Soedin.*, 149-155 (1976).
94. STOCKER, M. and POHL, R.: Postmortem formation of 5,7-dihydroxychromone-7-rutinoside in *Mentha longifolia*, *Phytochemistry*, **15**, 571-572 (1976).
95. BANG, B.T. and NIKOLAEV, A.G.: Composition of *Mentha longifolia* essential oil, *Izv. Akad. Nauk Mold. SSR, Ser. Biol. Khim. Nauk*, 89 (1975).
96. HEFENDEHL, F.W.: Monoterpene composition of a carvone-containing polyploid strain of *Mentha longifolia*, *Int. Congr. Essent. Oils, [Pap.]*, 6th., 15-16 (1974).
97. PAREDES, A.C.: Aromatic plant species of Ecuador, *Politecnica*, **3**, 163-170 (1973).
98. NAGASAWA, T.; UMEMOTO, K.; TSUNEYA, T. and SHIGA, M.: Wild mints Tokai districts. IV. New terpenic alcohols in the essential oil of *Mentha gentilis* containing (+)-pulegone as a main component, *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, **49**, 217-221 (1975).
99. NAGASAWA, T.; UMEMOTO, K.; TSUNEYA, T. and SHIGA, M.: Wild mints of Tokai districts. III. The (-)-1R-8-hydroxy-4-p-menthen-3-one isolated from essential oil of *Mentha gentilis*, *Agric. Biol. Chem.*, **39**, 553-554 (1975).
100. BOURWIEG, D. and POHL, R.: Flavonoids from *Mentha longifolia*, *Planta Med.*, **24**, 304-314 (1973).
101. VAN OS, F.H.L. and HENDRIKS, H.: Population of *Mentha x. niliaca* found in natural conditions at Oudemolen, *Acta Bot. Neerl.*, **24**, 129-133 (1975).
102. NAGELL, A.; HEFENDEHL, F.W. and HOYER, J.: Two stereoisomeric 1,2-epoxymenthyl acetates from an oil of *Mentha rotundifolia* X *Mentha longifolia*, *Z. Naturforsch., Teil C*, **29**, 294-295 (1974).
103. NAGELL, A. and HEFENDEHL, F.W.: Composition of the essential oil of *Mentha rotundifolia*, *Planta Med.*, **26**, 1-8 (1974).

104. PULATOVA, T.P.: Phenolic compounds of some species of mint, *Uzb. Biol. Zh.*, **17**, 17-20 (1973).
105. KADYROV, S.I.: Vitamin content in wild herbs and their use for public feeding, *Voprosy Sovetsk. Obshchestv. Pitan. Sele.*, 127-129 (1972).
106. BOURWIEG, D.; JANISTYN, B.; STOCKER, M. and POHL, R.: Detection of 5-hydroxychromone-7-rutinoside in *Mentha longifolia*, *Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.)*, **307**, 131-136 (1974).
107. SHIBATA, H. and SHIMIZU, S.: Essential oil of *Mentha rotundifolia*. VII. Absolute configuration of 1,2-epoxy methylacetate isolated from a new chemical strain of *M. rotundifolia*, *Agr. Biol. Chem.*, **37**, 2675-2676 (1973).
108. VICHKANOVA, S.A. and GORYUNOVA, L.V.: Viricidal effect of fatty esters in vitro, *Trudy Vses. Nauch.-Issled. Inst. Lek. Rast.*, **14**, 217-221 (1971).
109. HEFENDEHL, F.W. and MURRAY, M.J.: Monoterpene composition of a chemotype of *Mentha piperita* having high limonene, *Planta Med.*, **23**, 101-109 (1973).
110. PULATOVA, T.P.: Coumarin substances in some plants of the Labiatae family growing in Uzbekistan, *Med. Zh. Uzb.*, 16-17 (1972).
111. FUJITA, S.; NAKANO, T. and FUJITA, Y.: Essential oils of the genus *Mentha*. VIII. Biochemical study of the essential oils of *Mentha gattefossei*, *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, **46**, 393-397 (1972).
112. KARRYEV, M.O.: Production of medicinal preparations from some species of essential-oil-bearing plants of the Turkmenian flora, *Postep Dziedziny Lek. Rosl., Pr. Ref. Dosw. Wygloszone Symp.*, 149-152 (1972).
113. MURRAY, M.J.; LINCOLN, D.E. and MARBLE, P.M.: Oil composition of *Mentha aquatica* X *Mentha piperita*, *Can. J. Genet. Cytol.*, **14**, 13-29 (1972).
114. HOGG, J.W. and LAWRENCE, B.M.: Essential oils and their constituents. VIII. New bicyclic monoterpene from *Mentha cardiaca*, *Flavour Ind.*, **3**, 321-333 (1972).
115. LAWRENCE, B.M. and MORTON, J.K.: 3-Dodecanone in *Mentha gentilis*, *Phytochemistry*, **11**, 2639-2640 (1972).
116. HENDRIKS, H. and VAN OS, F.H.L.: Heredity of the essential oil composition in artificial hybrids between *Mentha rotundifolia* and *Mentha longifolia*, *Planta Med.*, **21**, 421-425 (1972).
117. HEFENDEHL, F.W. and MURRAY, M.J.: Changes in monoterpene composition in *Mentha aquatica* produced by gene substitution, *Phytochemistry*, **11**, 189-195 (1972).

118. GRUSHCHANSKII,A.I. and NIKOLAEV,A.G.: Composition of terpenoids of the interspecific mint hybrid MS-401, *Aktual. Probl.Izuch. Efirnomaslich. Rast. Efirn. Masel*, 133 (1970).
119. SACCO,T. and NANO,G.M.: Botanical and chemical study of *Mentha arvensis*, *Allionia*, 16, 59-64 (1970).
120. GOGOL,O.N.: Chemical variability in seed descendents of *Mentha sylvestris*, *Tr. Khim. Prir. Soedin.*, 106-113 (1969).
121. CANTORIA,M.: Physiological and chemical studies for the identification of Philippine mint, *Philipp. J. Sci.*, 97, 277-283 (1968).
122. ELLIS,B.E. and TOWERS,G.H.N.: Biogenesis of rosmarinic acid in *Mentha*, *Biochem. J.*, 118, 291-297 (1970).
123. ARORA,S.K. and SINGH,M.: Free amino acids of *Mentha arvensis*, *Sci. Cult.*, 34, 373 (1968).
124. KAZMI,S.M.A. and SIDDIQUI,A.H.: Culture of *Mentha longifolia*, *Pak. J. Sci. Ind. Res.*, 11, 282-283 (1968).
125. EL-HAMIDI,E. and ETMAN,M.A.: Chemotaxonomic studies of *Mentha* subspecies reference to *Mentha crispa*, *Herba Hung*, 5, 288-294 (1966).
126. RUDLOFF,E.V. and HEFENDEHL,F.W.: Gas-liquid chromatography of terpenes. XV. The volatile oil of *Mentha arvensis* var. *glabrata*, *Can. J. Chem.*, 44, 2015-2022 (1966).
127. STEPONAVICIENE,V.: Vitamin C content in herbs cultivated in Lithuanian SSR, *Lietuvus TSR Aukstuju Mokyklu Mokslo Darbai, Med.* 6, 215-218 (1964).
128. HARAGSIMOVA,L.: Effect produced in vitro on *Bacillus larvae* by inhibitors of plant origin, *Vedecke Prace Vzykum. Ustavu Vcelar Skebo*, 13-52 (1963).
129. GELLA,E.V.; MAKAROVA,G.V.; BORISYUK,YU. G. and LITVINENKO,V.I.: Flavonoids of *Mentha piperita*.II., *Farmatsevt. Zh.*, 21, 58-66 (1966).
130. LOOMIS,W.D. and BATTAILE,J.: Plant phenolic compounds and the isolation of plant enzymes, *Phytochemistry*, 5, 423-438 (1966).
131. VAN OS.,F.H.L.: Biogenesis of essential oils in *Mentha piperita*, *Bull. Soc. Pharm. Strasbourg*, 7, 49-62 (1964).
132. NIKOLAEV,A.G.: Variability of terpenoid composition in *Mentha* plants, *Tr. Pervoi Resp. Nauchn. Konf. Fiziologov.i Biokhimikov Rast. Moldavii, Akad. Nauk Moldavsk. SSR, Inst. Fiziol. i Biokhim. Rast.*, 102-108 (1964).

133. SACCO, T. and SHIMIZU, S.: Botanical and Chemical studies on a mint of the *arvensis* group( *Mentha arvensis* var. *praecox*), self-grown in Piedmont, Italy, *Perfumery Essent. Oil Record*, **56**, 211-213 (1965).
134. HANDA, K.L.; SMITH, D.M.; NIGAM, I.C. and LEVI, L.: Essential oils and their constituents. XXIII. Chemotaxonomy of the genus *Mentha*, *J. Pharm. Sci.*, **53**, 1407-1409 (1964).
135. HEFENDEHL, F.W.: Changes in the composition of the ethereal oil in excised wilting leaves of *Mentha piperita*, *Planta*, **62**, 321-333 (1964).
136. MALINGRE, TH.M.: Problems in gas-chromatographic determination of the composition of ethereal oils of *Mentha piperita*, *Kongr. Pharm. Wiss., Vortr. Originalmit.* **23**, Muenster(Westfalen), Ger., 259-266 (1964).
137. SVIDERSKAYA, Z.I.: Isolation of menthol from *Mentha piperita*, *Sb. Nauchn.-Issled. Rabot po Maslichn. i Efiromaslichn. Kul'-turam, Vses. Nauchn.-Issled. Inst. Maslichn. Efiromaslich. Kult.*, 163-167 (1962).
138. BOOTH, V.H. and BRADFORD, M.P.: Tocopherol contents of vegetables and fruits, *Brit. J. Nutr.*, **17**, 575-581 (1963).
139. NIKOLAEV, A.G. and DEREVYANCHENKO, S.A.: Changes in the chemical characteristics of *Mentha sachalinensis*, V. Changes during vegetative reproduction, *Tr. po Khim. Prirodn. Soedin., Kishinevsk. Gos. Univ.*, 63-70 (1961).
140. HERRMANN, K.: The "tannin" in leaves of Labiatae, *Arch. Pharm.*, **293**, 1043-1048 (1960).
141. SHIMIZU, S.; IKEDA, N. and UEDA, H.: Studies on the essential oil of *Mentha rotundifolia*. V. Isolation of (+)-neoiso-isopulegol, a new stereoisomer of isopulegol and piperitenone from a variety of *Mentha rotundifolia*, *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **24**, 324-325 (1960).
142. GÁNJU, K. and PURI, B.: Bioflavonoids from Indian vegetables and fruits, *Indian J. Med. Research*, **47**, 563-570 (1959).
143. THEODOSSIOU, PH.: Triterpenic acids in the Labiatae in Greece, *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*, **19**, 172-177 (1959).
144. NIKOLAEV, A.G. and NIKOLAEVA, D.A.: A new source of menthol, *Med. Prom. S.S.S.R.*, **12**, 21-24 (1958).
145. REITSEMA, R.H. and VARNIS, V.J.: Isolation of piperitone oxide from *Mentha sylvestris*, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 3792-3794 (1956).

146. VIL'YAMS, V.V.: Biosynthesis of polyprenic compounds in plants. I., *Izvest. Timiryazev. Sel'skokhoz. Akad.*, 195-220 (1953).
147. SFIRAS, J.: A few constituents of *Mentha timija*, *Recherches*, 39-41 (1952).
148. SOUZA, A.H. de: Poejo (pennyroyal, *Mentha pulegium*) and its essential oil, *Rev. brasil. farm.*, **31**, 257-264 (1950).
149. FUJITA, Y.: Genesis of *Mentha* family and its origin, with additional notes on ancient Chinese and Korean *Mentha*, *Koryo*, 8-11 (1951).
150. MURAKAMI, S.: Investigations on the carbohydrates of Labiates. V. The distribution of stachyose in the underground organs of Labiates, *Acta Phytochim.*, **13**, 161-184 (1943).
151. FRANJO, M.F.: Content of vitamin C in some medicinal plants, *Farm. Glasnik*, **6**, 1-6 (1950).
152. BALLENTINE, K.D. and SCHWARTING, A.E.: *Mentha cardiaca*, I. Pharmacognostical studies and a preliminary investigation of the volatile oil, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **38**, 241-243 (1949).
153. BASU, N.M.; RAY, G.K. and De, N.K.: The vitamin C and carotene contents of several herbs and flowers used in the Ayur-Vedic system of medicine, *J. Indian Chem. Soc.*, **24**, 358-360 (1947).
154. BALAKHOVSKII, S.D. and ROSENBERG, G.N.: The preparation of concentrates and the extraction of crystalline carotene from peppermint leaves, *Bull. biol. Méd. exptl. U.R.S.S.*, **5**, 521-522 (1938).
155. VELASCO-NEGUERUELA, A.; PEREZ-ALONSO, M.J.; ESTEBAN, J.; GARCIA VALLEJO, M.C.; ZYGADLO, J.A.; GUZMAN, C.A. and ARIZA-ESPINAR, L.: Essential oils of *Calamintha nepeta* (L.) Savi and *Mentha aff. suaveolens* Ehrh., grown in Cordoba, Argentina, *J. Essent. Oil Res.*, **8**, 81-84 (1996).
156. VENSKUTONIS, P.R.: A chemotype of *Mentha longifolia* L. from Lithuania rich in piperitenone oxide, *J. Essent. Oil Res.*, **8**, 91-95 (1996).
157. SINGH, M.; SRIVASTAVA, S.; SRIVASTAVA, R.P. and CHAUHAN, S.S.: Effect of Japanese mint (*Mentha arvensis*) oil as fumigant on nutritional quality of stored sorghum, *Plant Foods Hum. Nutr. (Dordrecht, Neth.)*, **47**, 109-114 (1995).
158. ZHOU, Z. and CHOU, G.: The chemical components in the essential oils from *Mentha cordifolia*, *Zhiwu Ziyuan Yu Huanjing*, **4**, 63-64 (1995).

159. KOYALTA,D.; SANOKHO,A.; MIRALLES,J. and BASSENE,E.: Essential oil composition of three Senegalese mint species, *Riv. Ital. EPPOS*, **4**, 544-547 (1993).
160. KOKKINI,S.; KAROUSOU,R. and LANARAS,T. : Essential oil of spearmint( carvone-rich ) plants from the island of Crete(Greece), *Biochem. Syst. Ecol.*, **23**, 425-430 (1995).
161. KARASAWA,D.; SHATAR,S.; ERDENECHIMEG,A.; OKAMOTO,Y.; TATEBA,H. and SHIMIZU,S.: A study on Mongolian mints. A new Chemotype from *Mentha asiatica* Borriss. and constituents of *M. arvensis* L. and *M. piperita* L., *J. Essent. Oil Res.*, **7**, 255-260 (1995).
162. RUSTAIYAN,A.; SABERI,M.M. and JASSBI,A.R.: Constituents of the essential oil of *Mentha mozaffariani* Jamzad, *J. Sch. Pharm., Med. Sci. Univ. Tehran*, **4**, 13-26 (1994).
163. BENSON,E.M.; PETERS,J.M.; EDWARDS,M.A. and HOGAN,L.A.: Wild edible plants of the Pacific Northwest, *J. Amer. Diet. Ass.*, **62**, 143-147 (1973).
164. YEOH,H.H. and WONG,P.F.M.: Food value of lesser utilized tropical plants, *Food Chem.* **46**, 239-241 (1993).
165. MAFFEI,M.; GALLINO,M. and SACCO,T.: Glandular trichomes and essential oils of developing leaves in *Mentha viridis lavanduliodora*, *Planta Med.*, 187-193 (1986).
166. MAFFEI,M. and SCANNERINI,S.: Fatty acid variability in some *Mentha* species, *Biochem. Syst. Ecol.*, **20**, 573-582 (1992).
167. OLIVEIRA,E.F. de. : Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste, *Mentha x. villosa* Hudson(Labiatae), Universidade Federal do Ceará,Dissertação de Mestrado (1995).
168. SOUSA,M.P.: Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste, *Guettarda angelica*,Universidade Federal do Ceará, Dissertação de Mestrado (1981).
169. KOJIMA,H. et al.: Pentacyclic Triterpenoids from *Prunella vulgaris*(Labiatae), *Phytochemistry*, **26**, 1107-1111 (1987).
170. BHANDARI,S.P.S.; GARG,H.S.; AGRAWAL,P.K. and BHAKUNI,P.S. : Ursane Triterpenoids from *Nepeta eriostachia*, *Phytochemistry*, **29**, 3956-3958 (1990).
- 171.FURUYA,T.; ORIHARA,Y. and HAYASHY,C.: Triterpenoids from *Eucalyptus perriniana* cultured cells, *Phytochemistry*, **26**, 715-719 (1987).

**2.7. FIGURA, CROMATOGRAMAS E ESPECTROS**

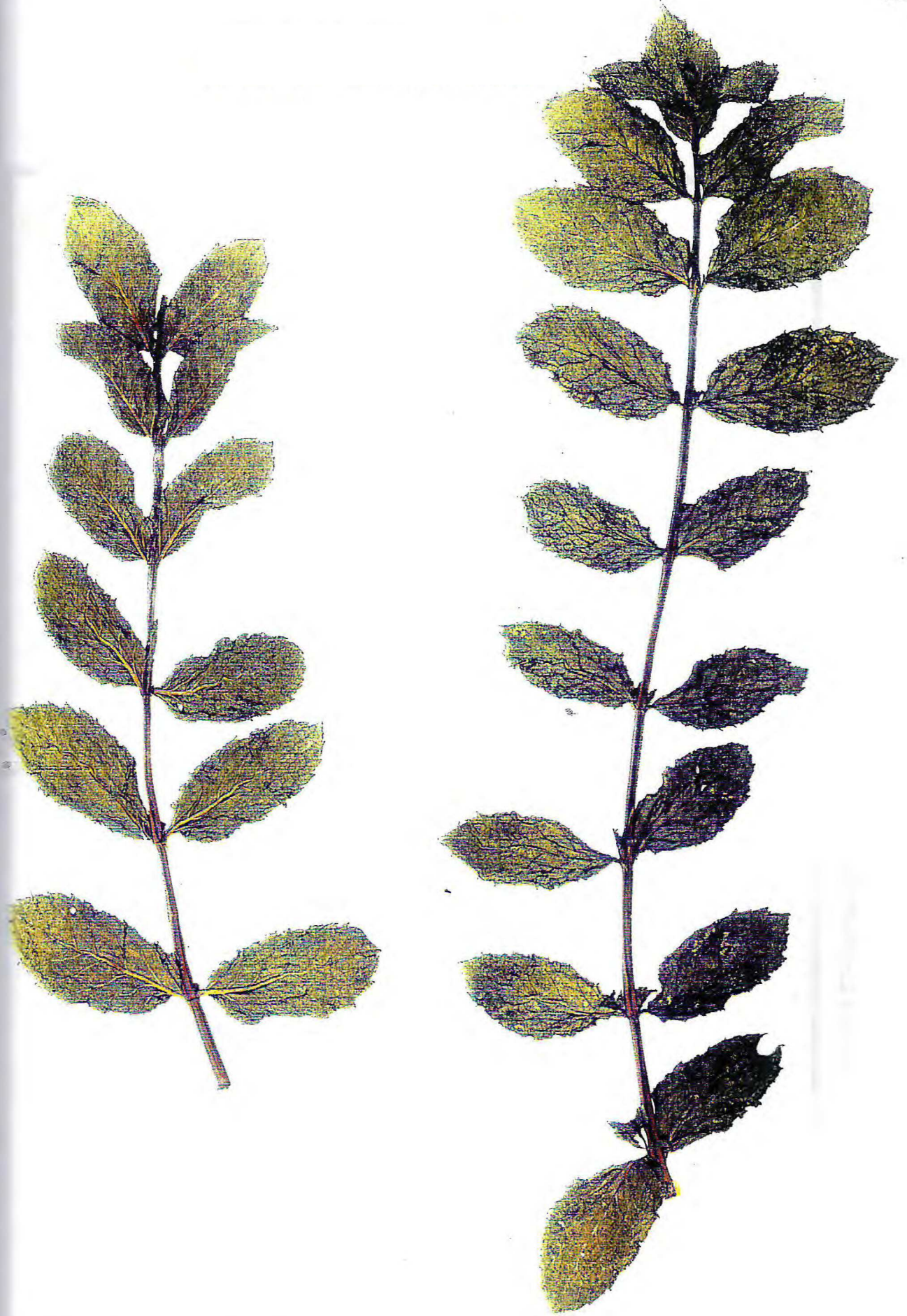


FIGURA 56- *Mentha villosa* Backer



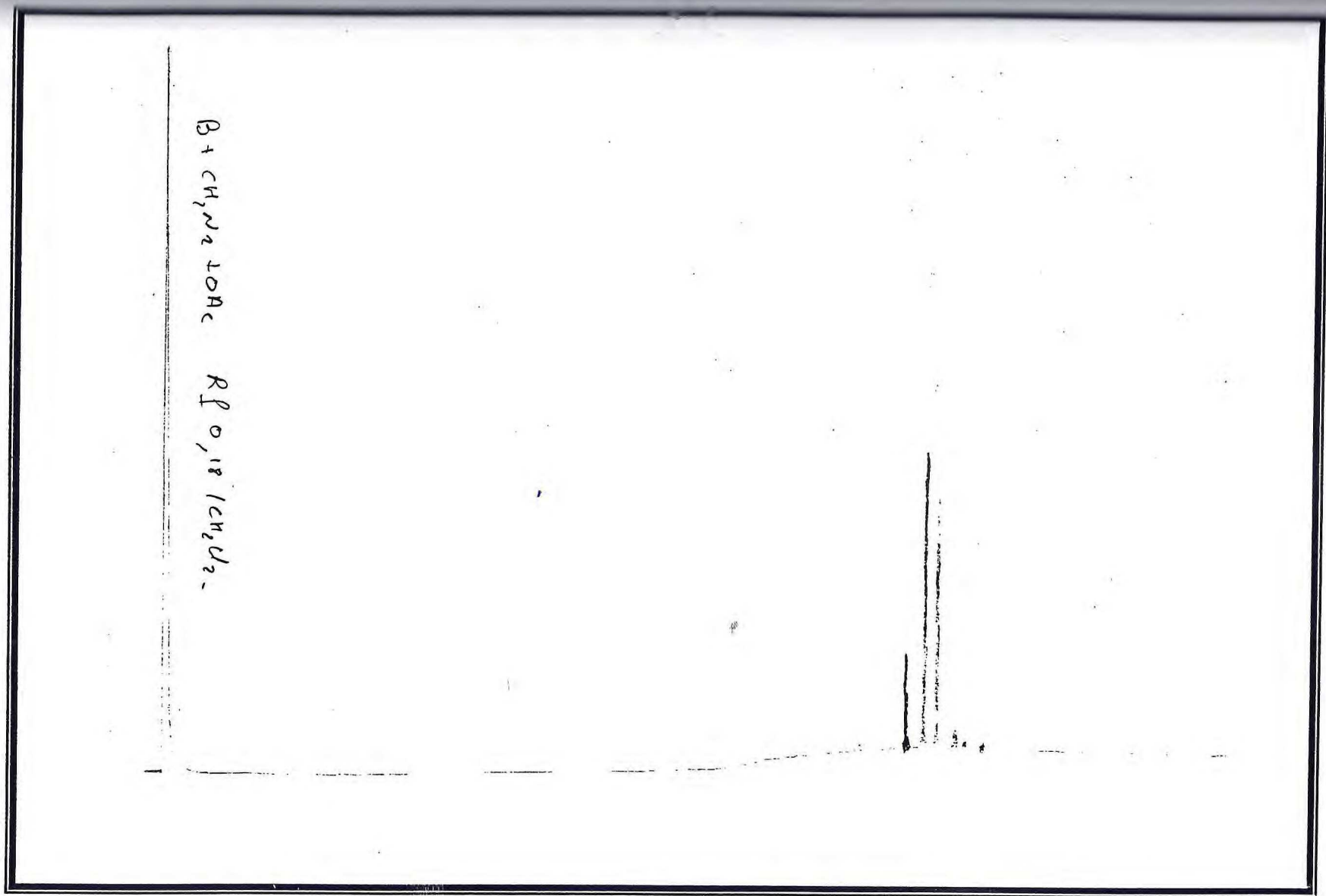


FIGURA 57-Cromatografia em fase gasosa de MVEA-C/C/A/A(16-23)

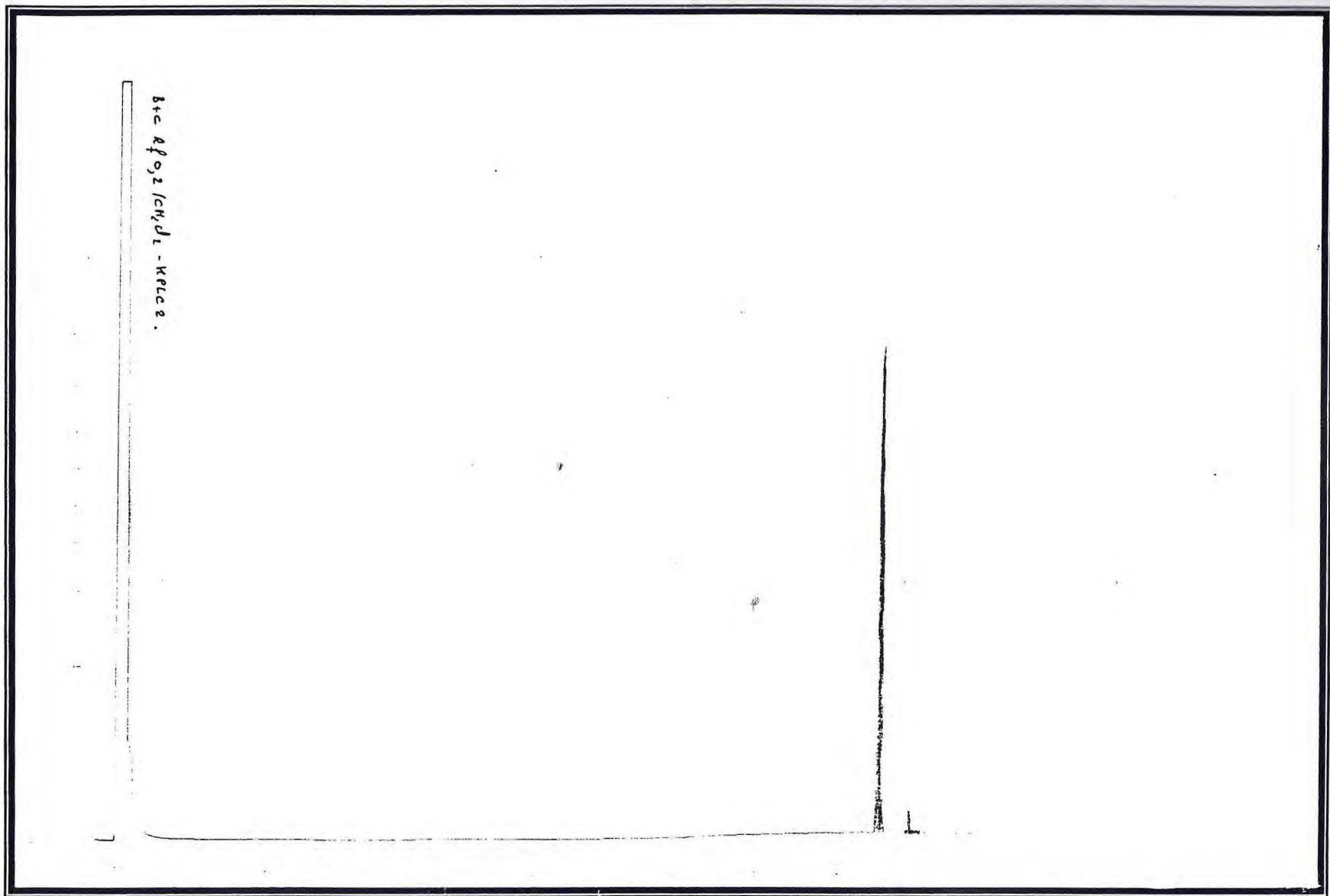
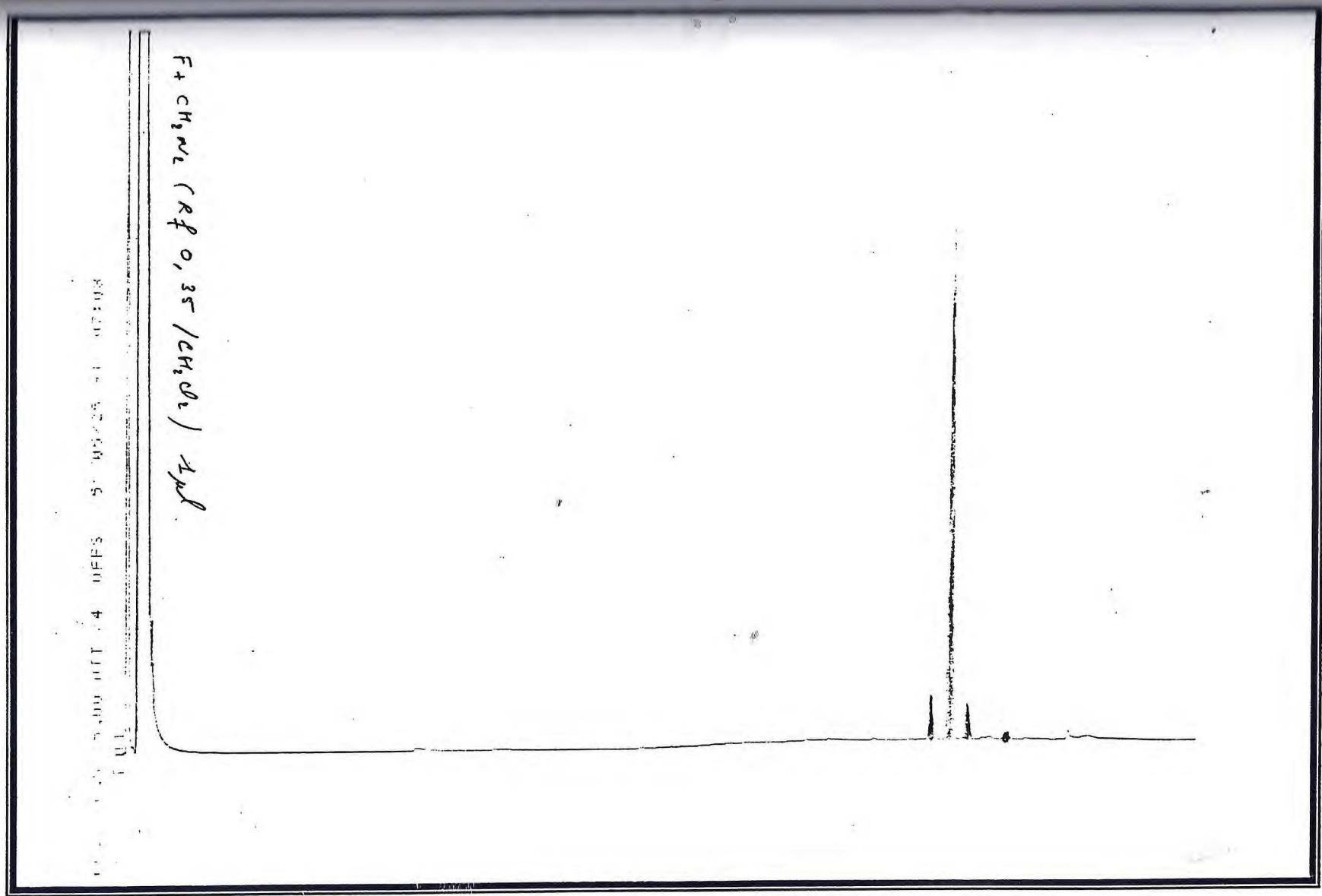


FIGURA 58-Cromatografia em fase gasosa de I



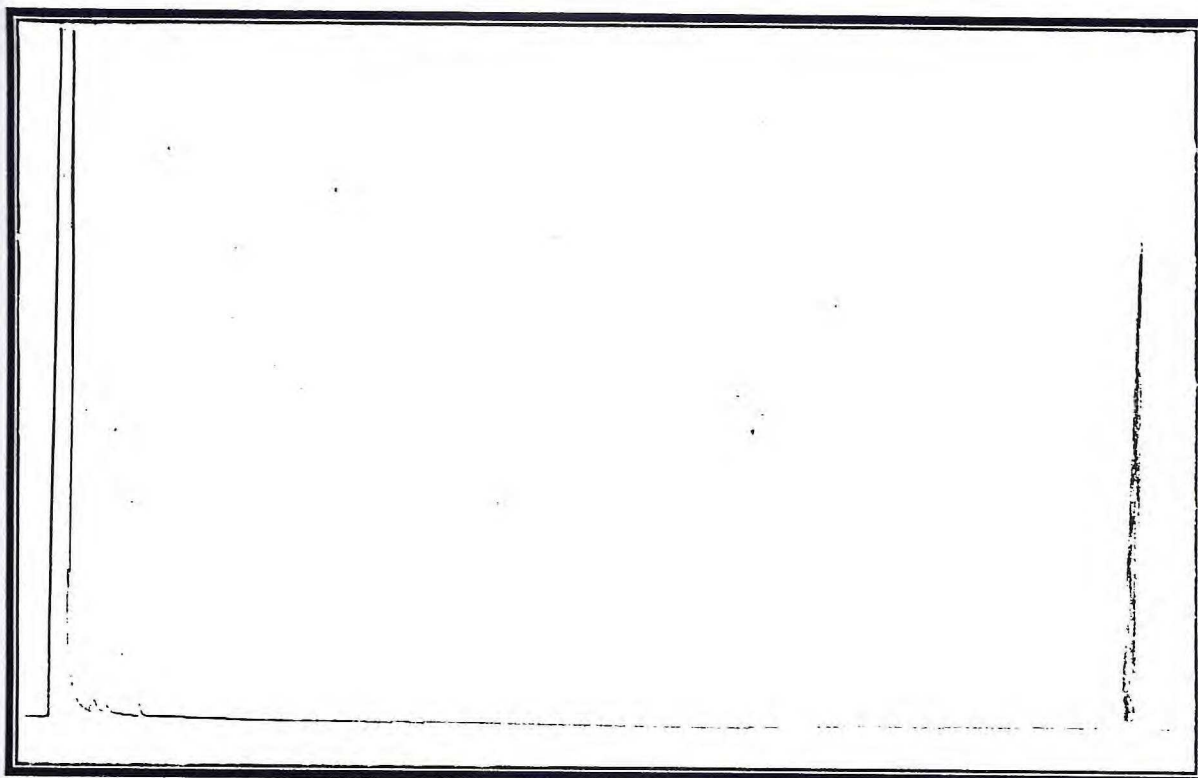


FIGURA 60a -Cromatografia em fase gasosa de II

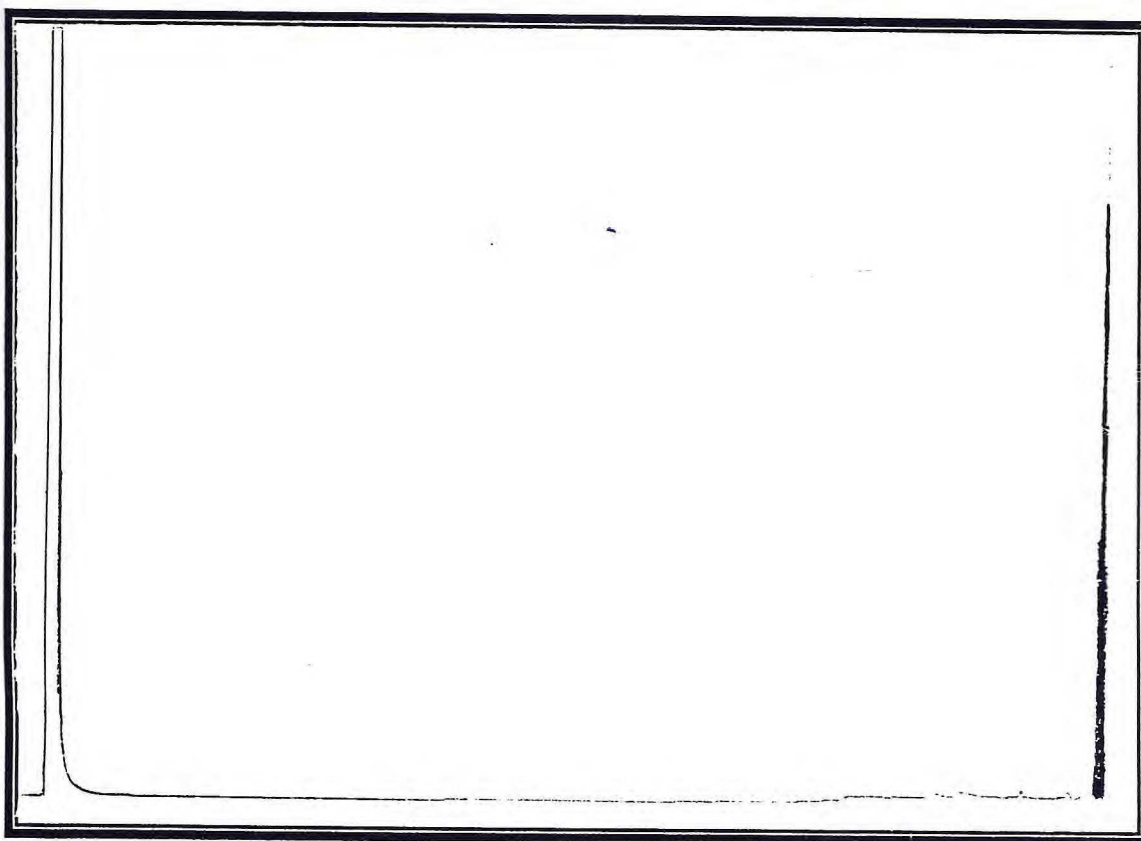


FIGURA 60b-Cromatografia em fase gasosa de III

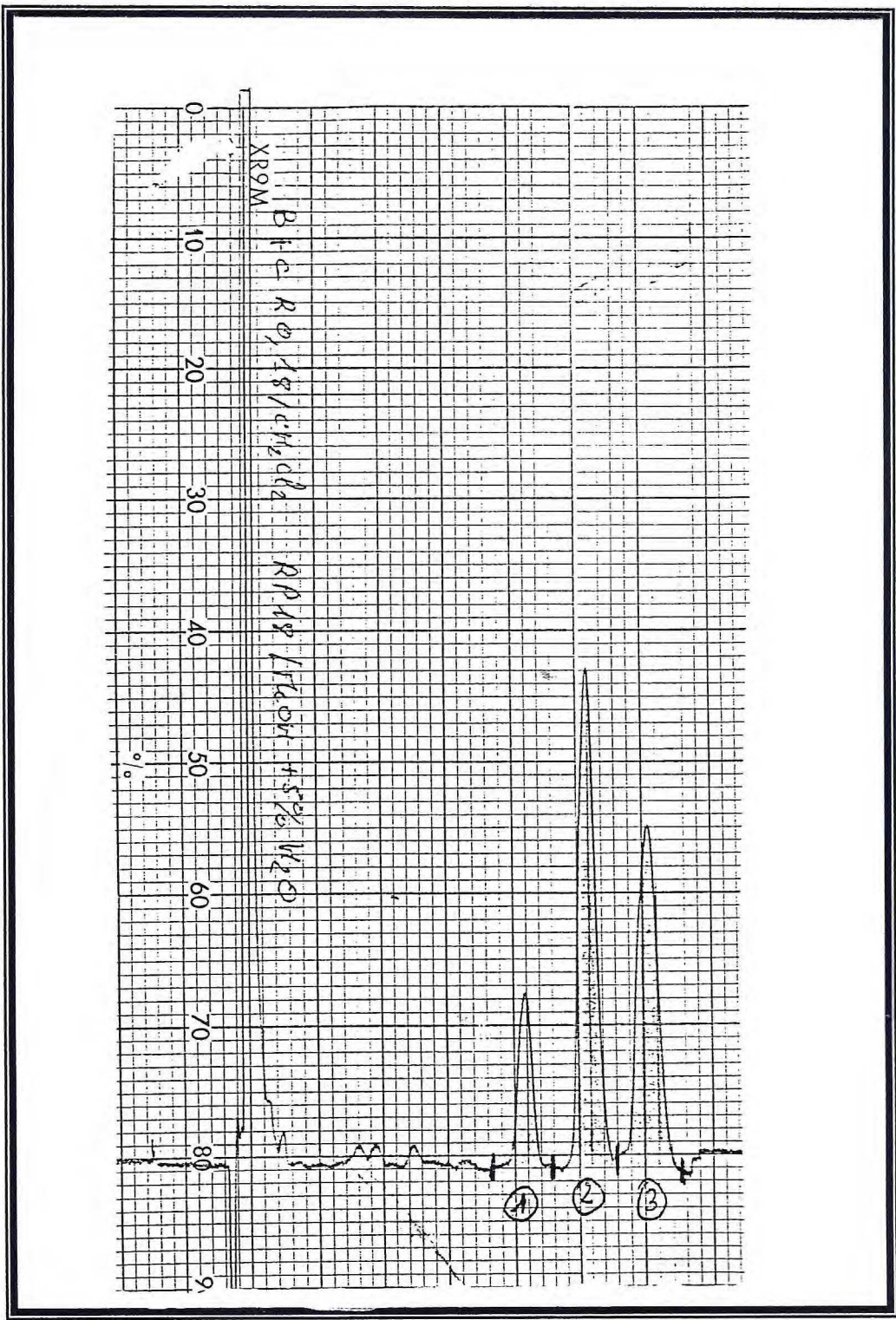


FIGURA 61- Cromatografia líquida de alta eficiência( CLAE) de I

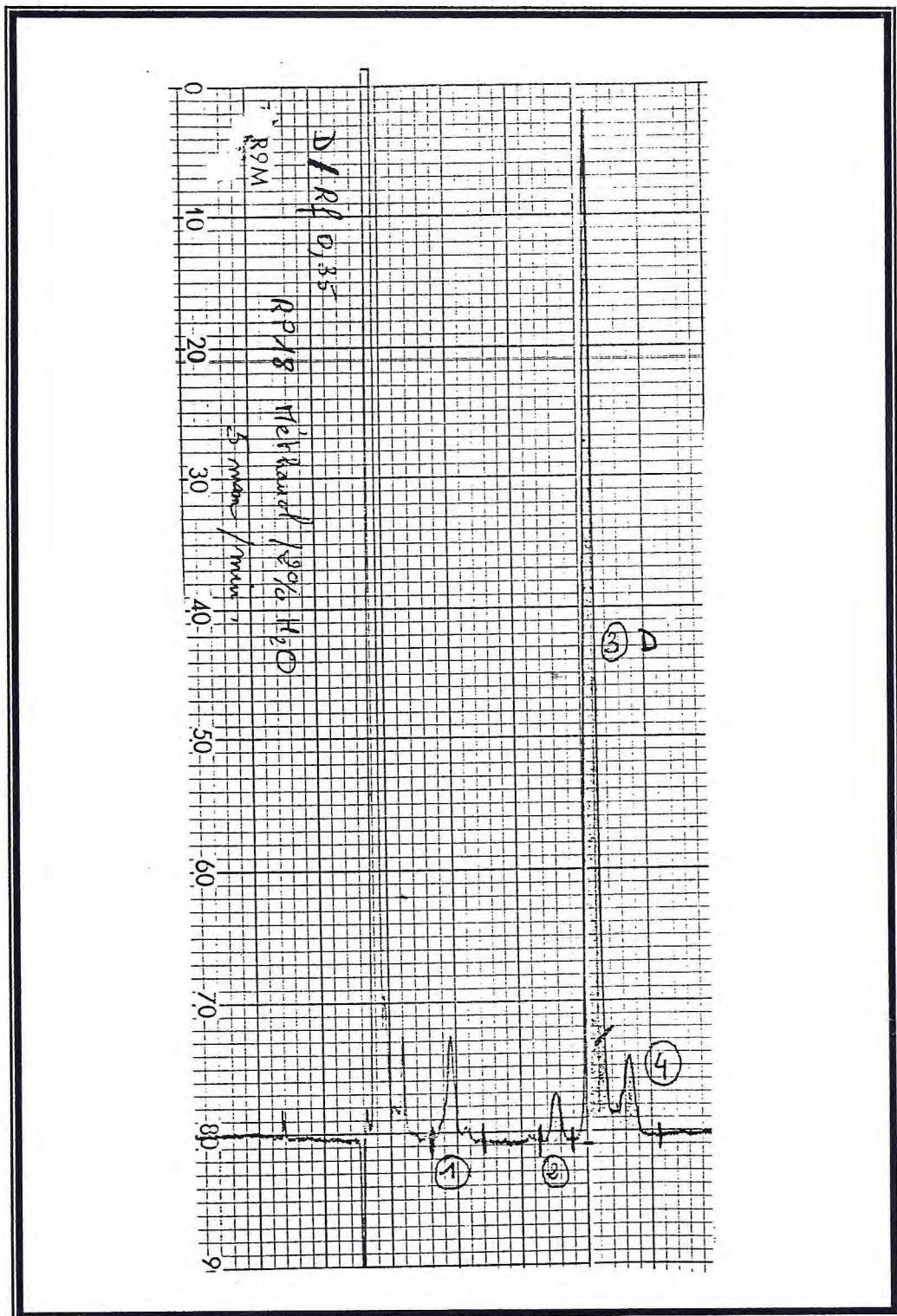


FIGURA 62- Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de II

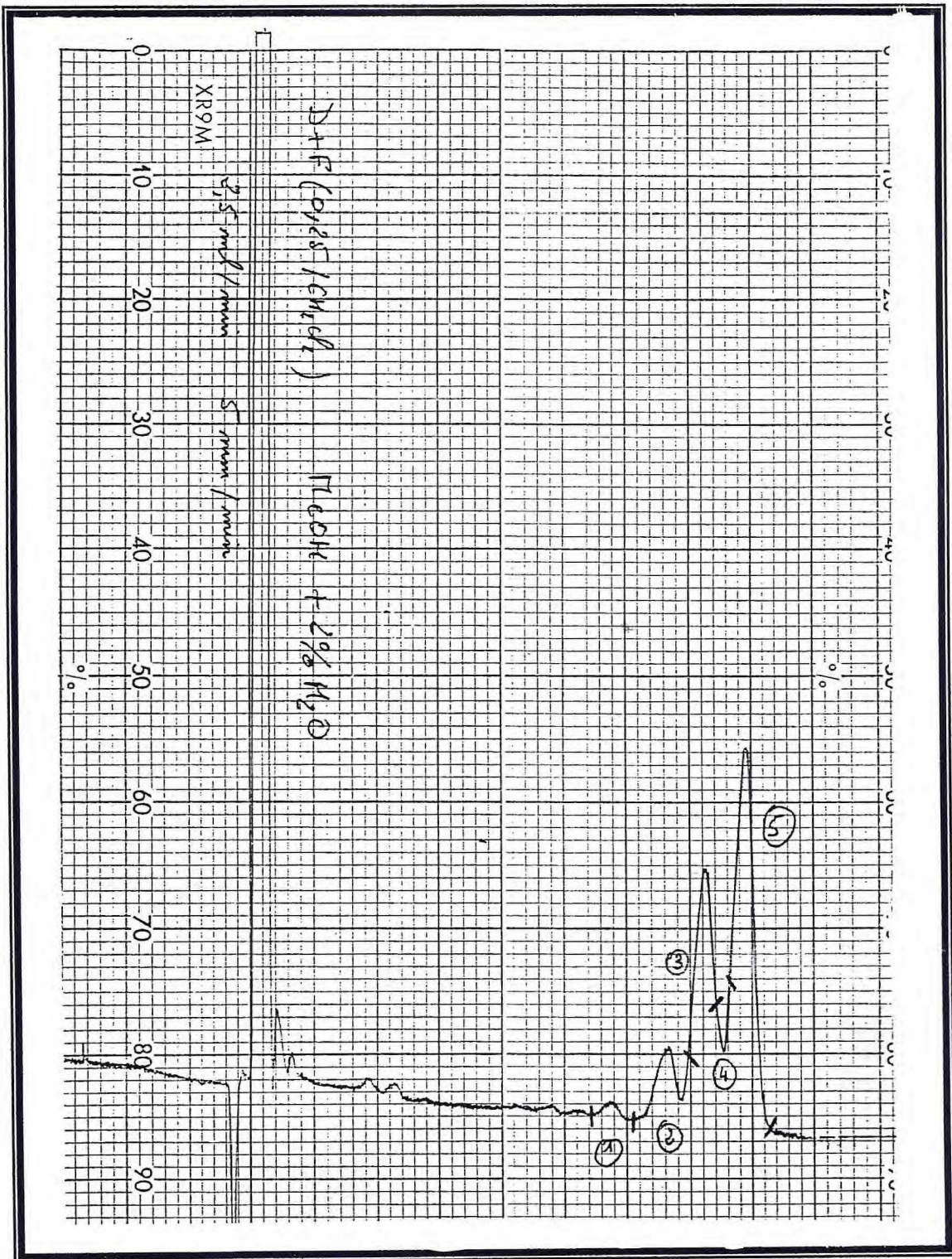


FIGURA 63- Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de III

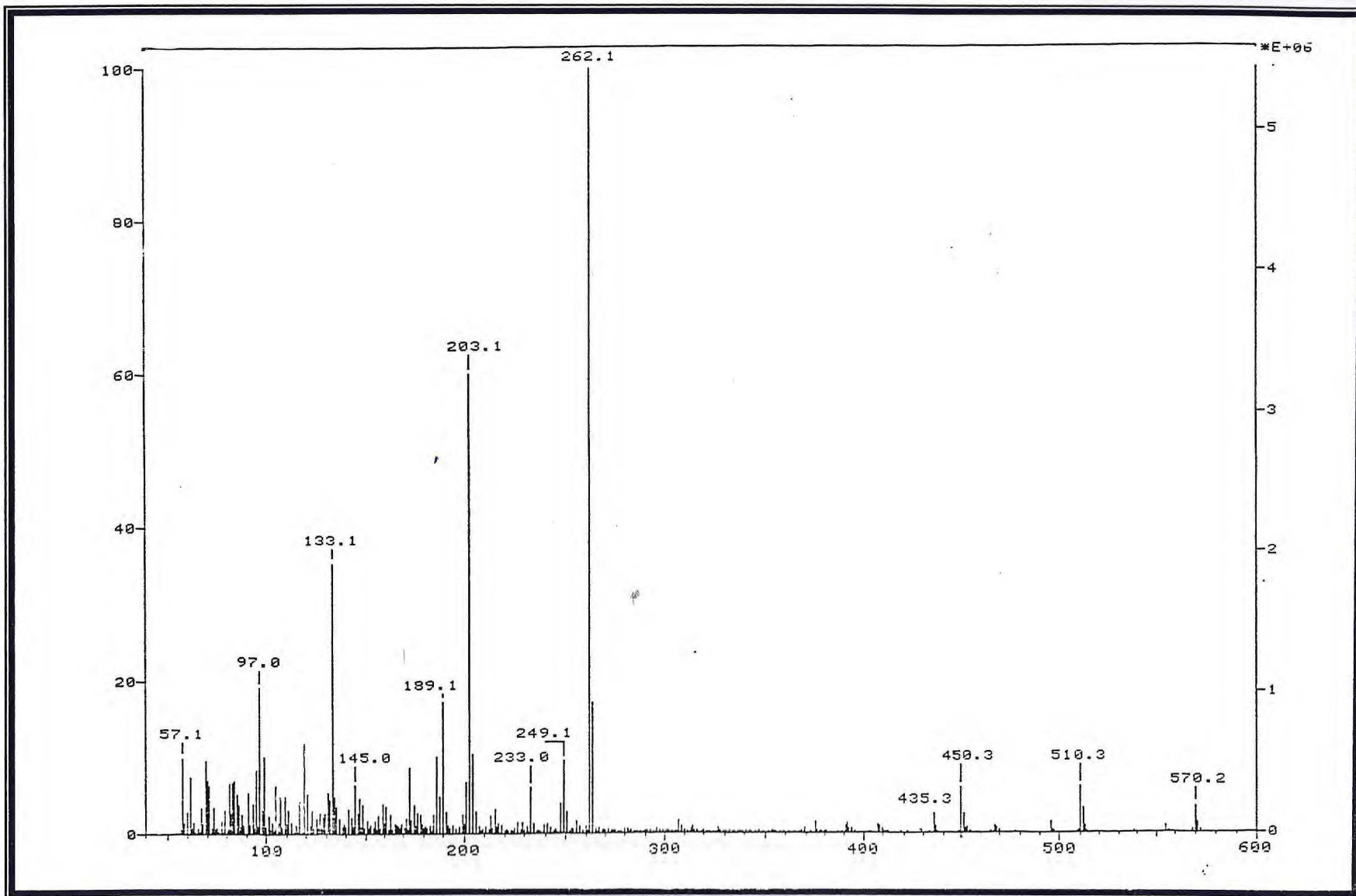


FIGURA 64- Espectro de massa de I



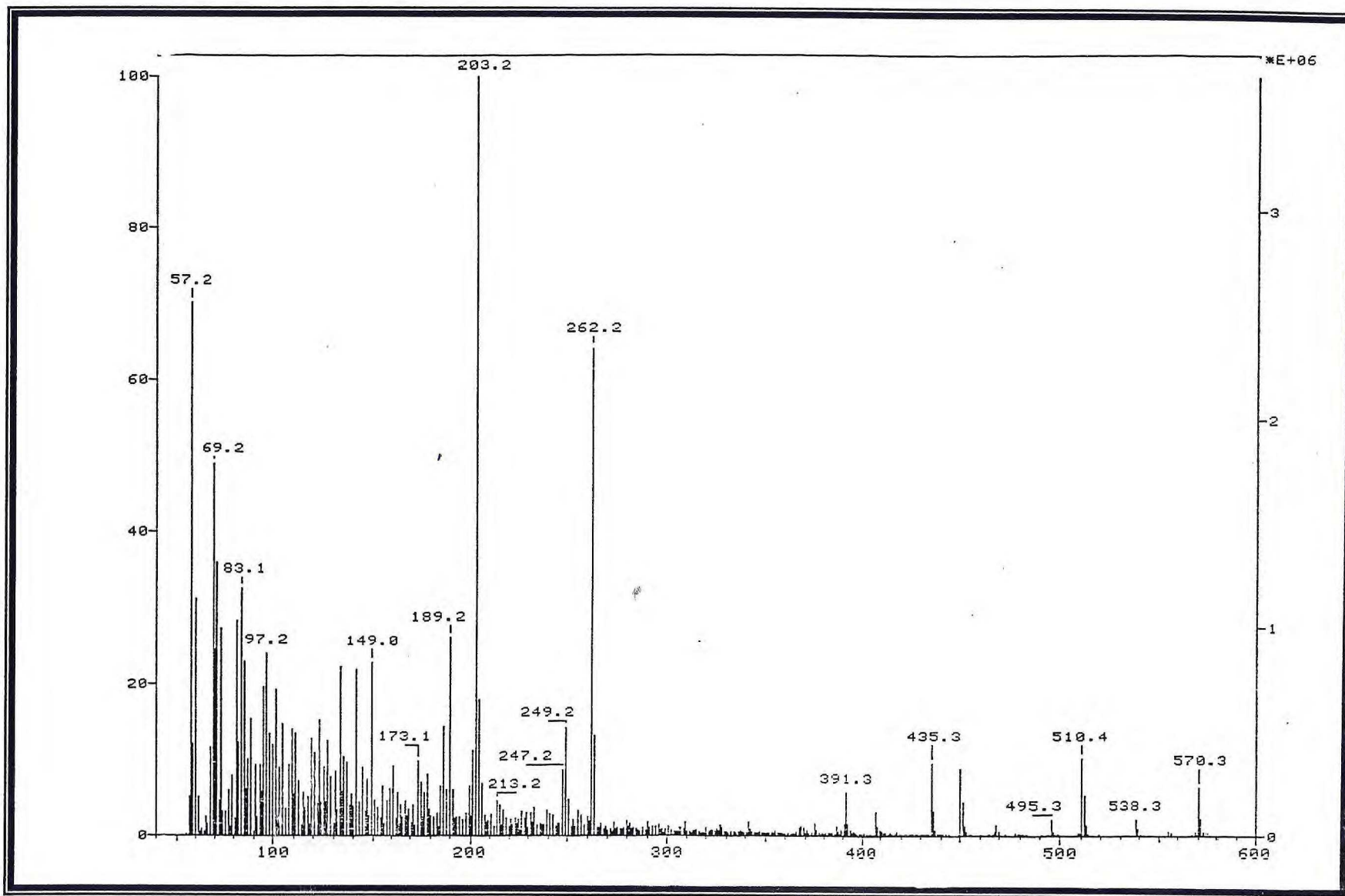


FIGURA 65- Espectro de massa de II

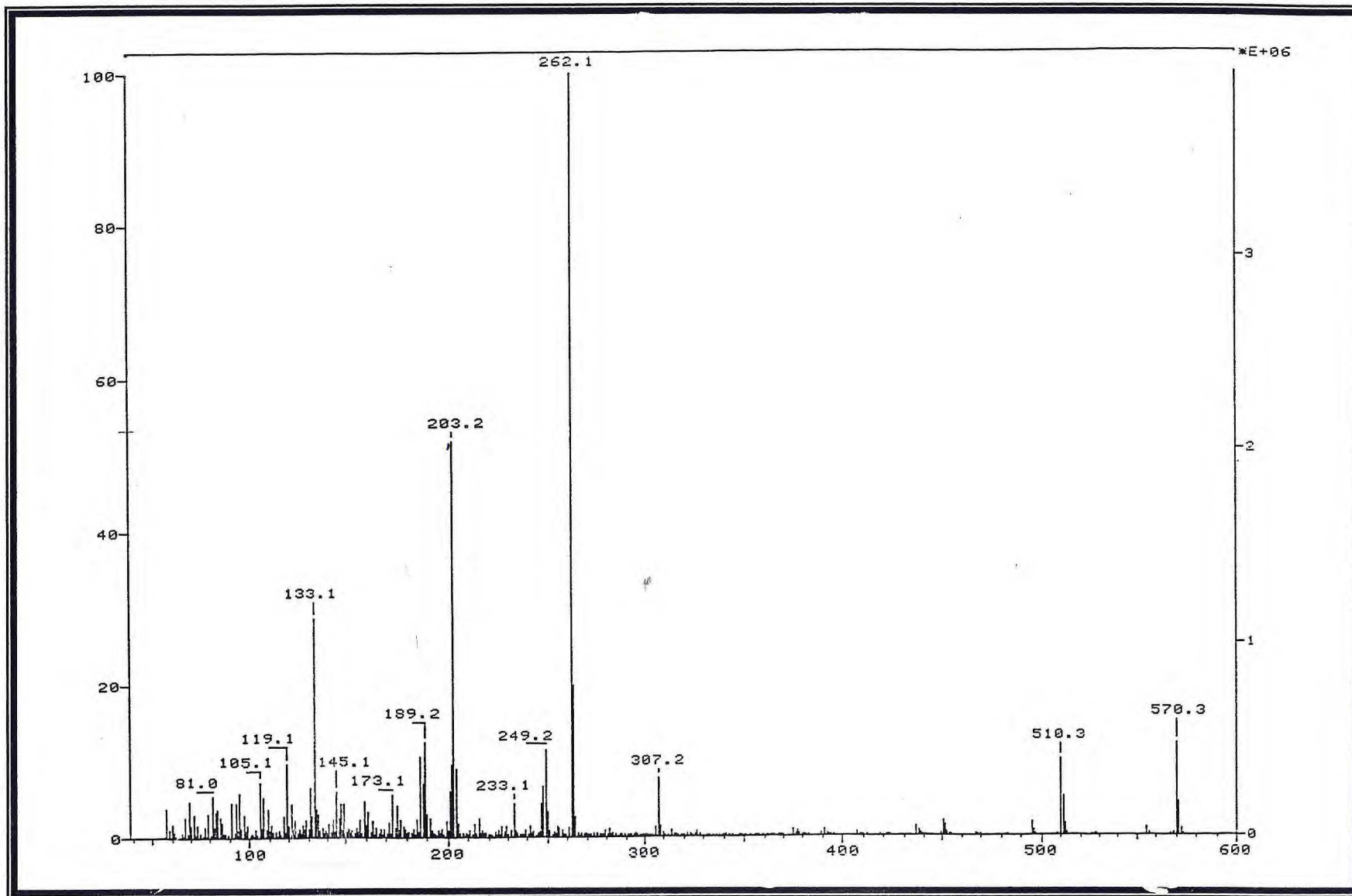


FIGURA 66- Espectro de massa de III

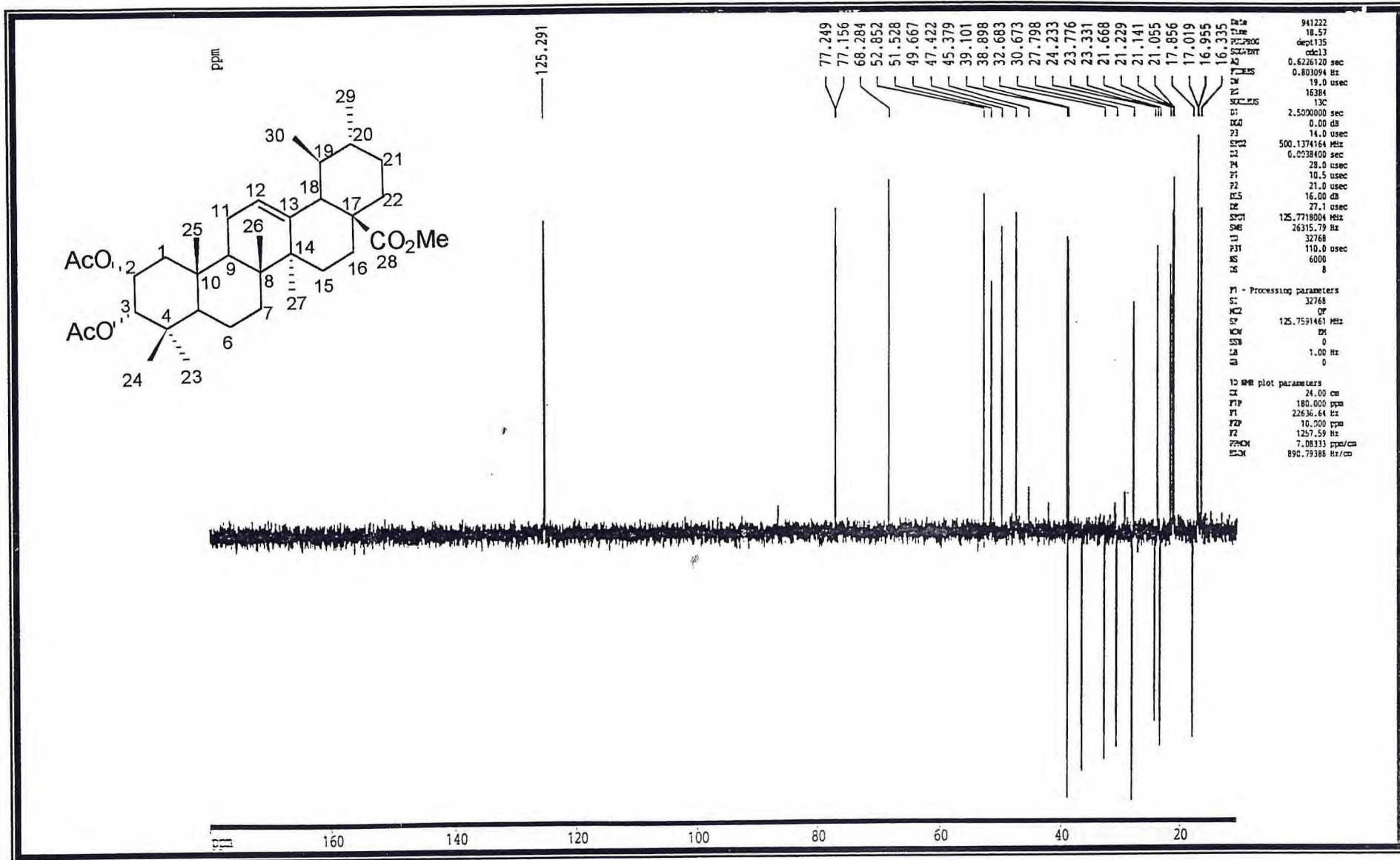


FIGURA 67- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- DEPT 135° de I

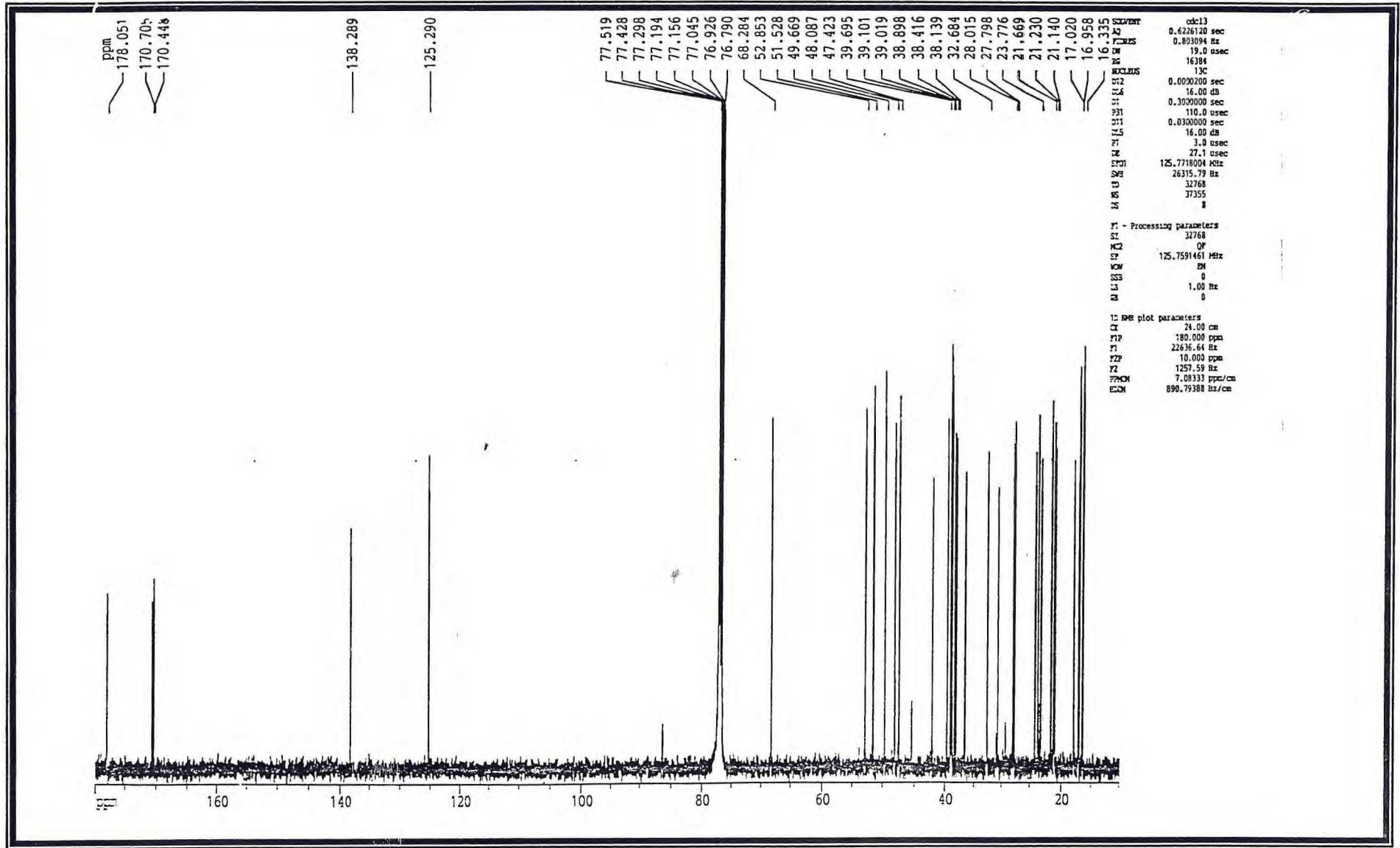


FIGURA 68- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- PND de I

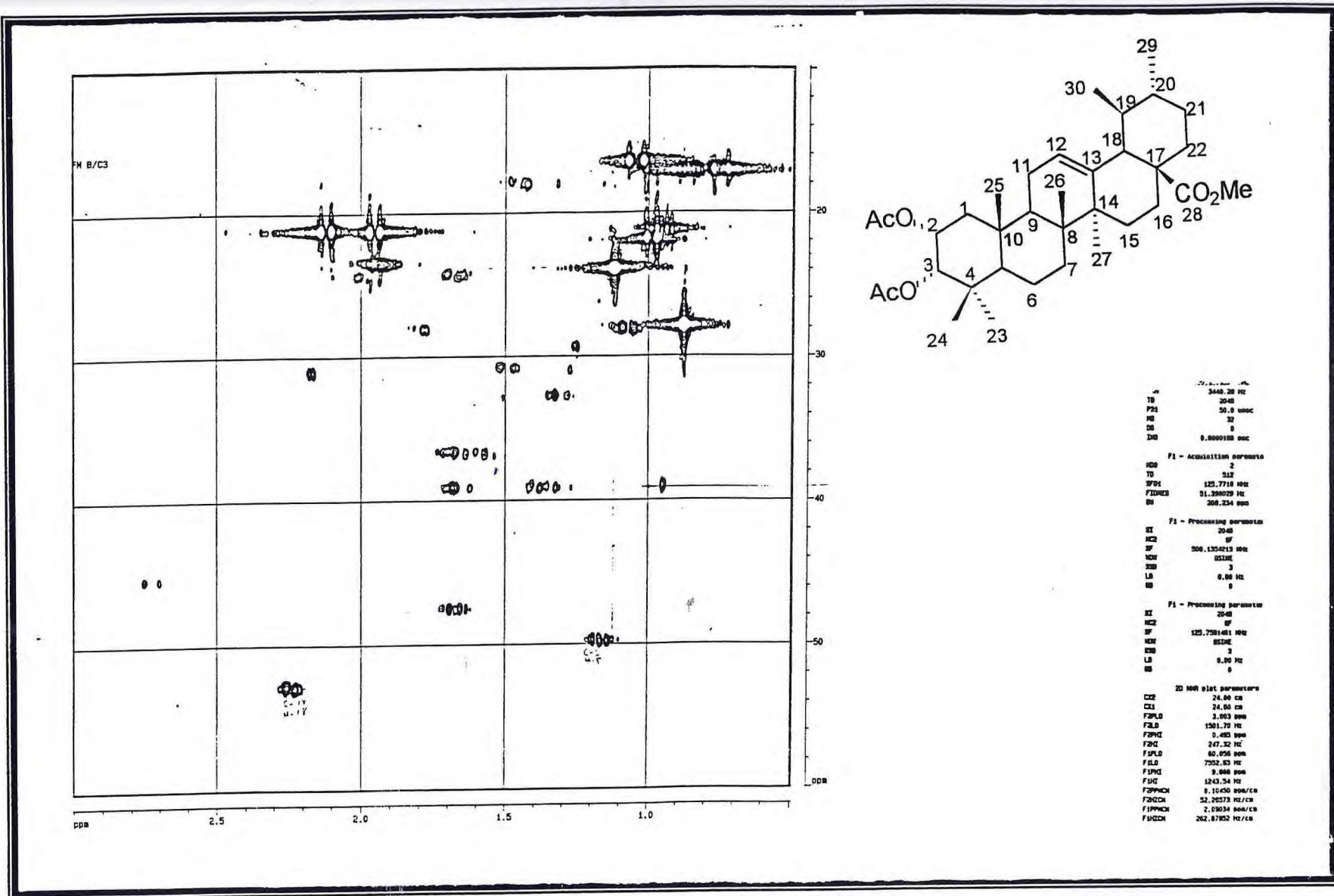


FIGURA 69- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear (<sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C - COSY - <sup>1</sup>J<sub>CH</sub>) de I

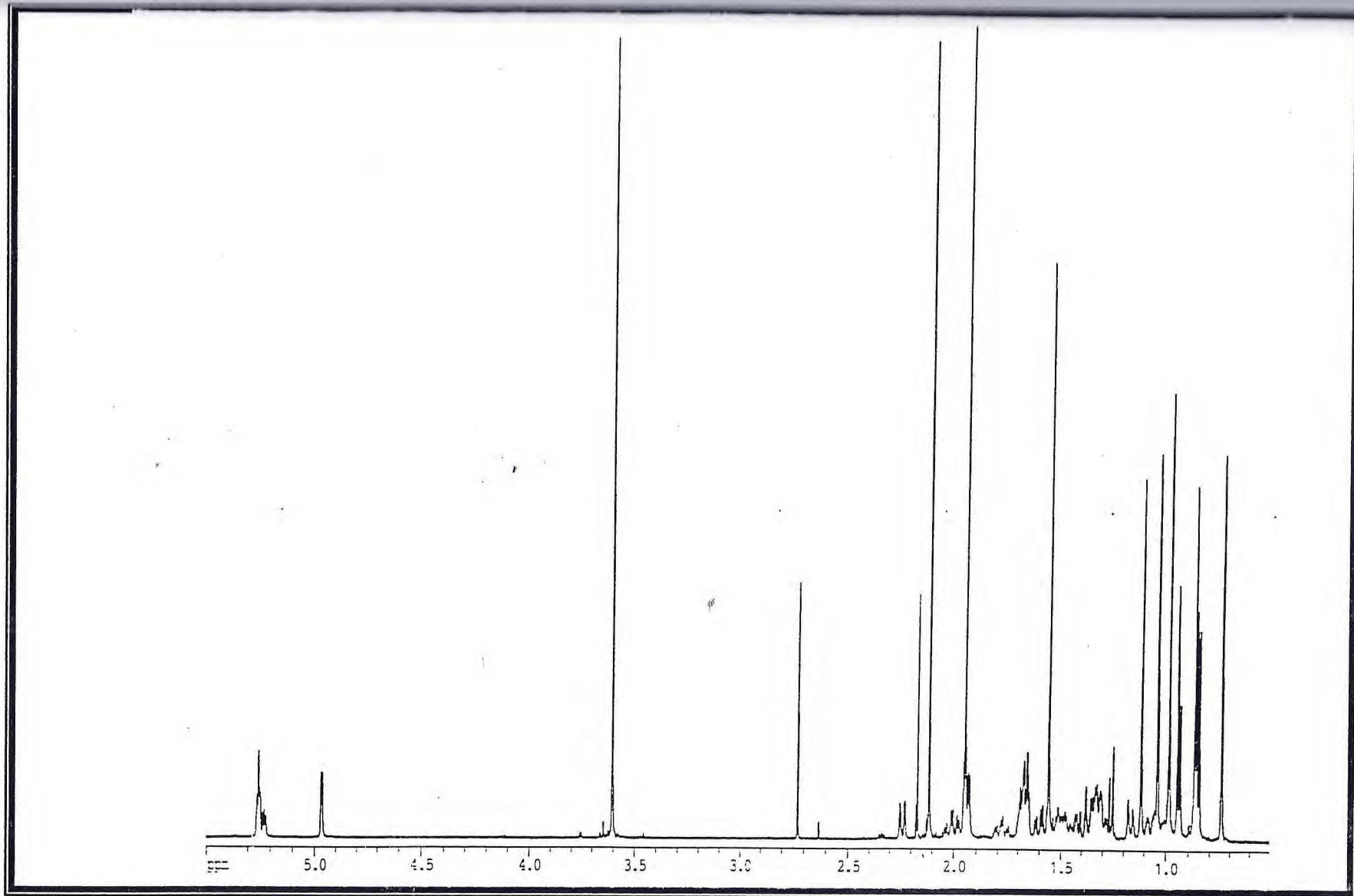
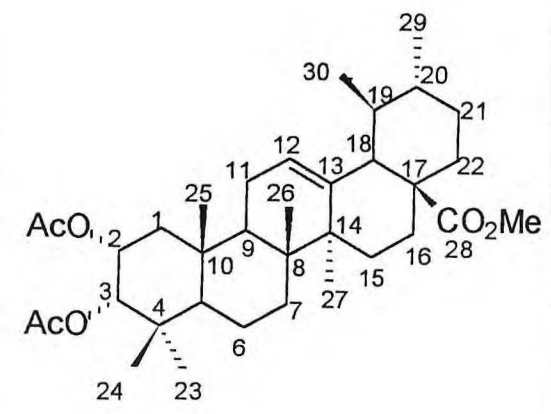
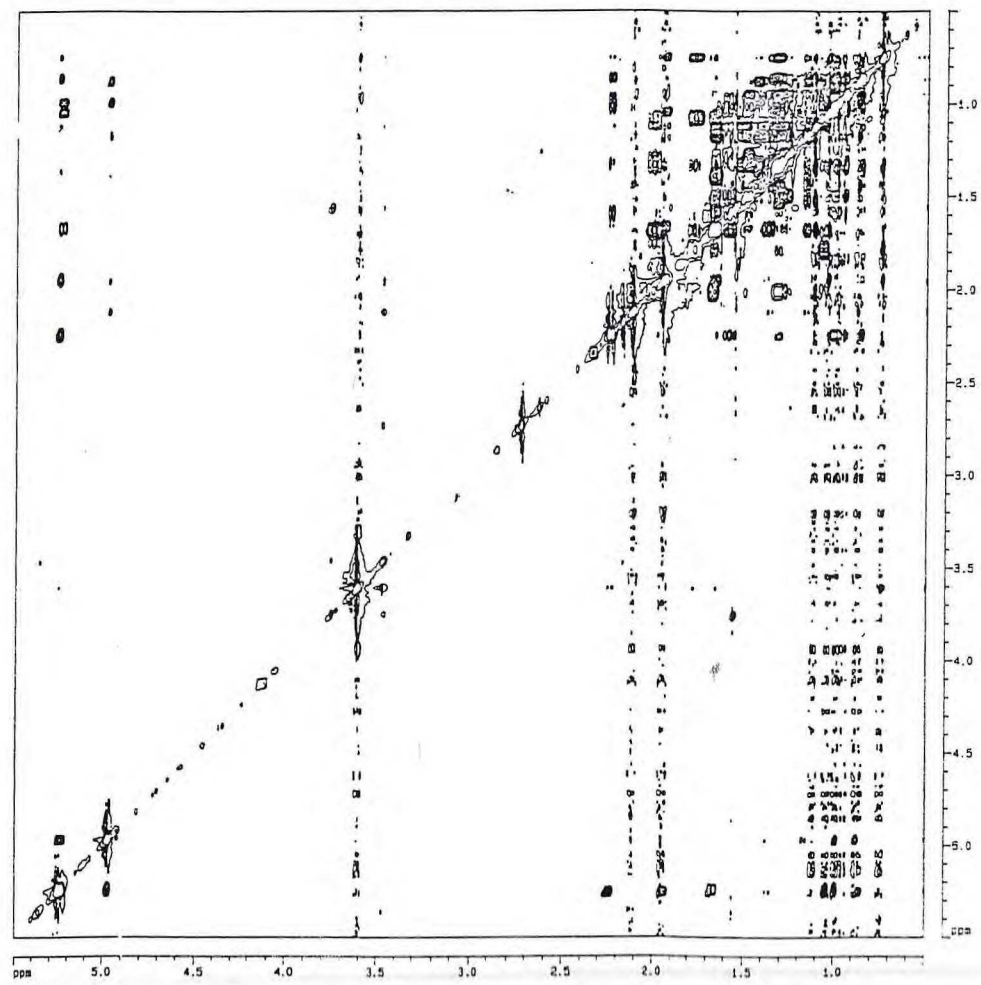


FIGURA 70- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de I



```

N00      1
TD       512
SFO1    500.1372 MHz
FIDRES  6.734914 Hz
SM       6.895 ppm

F1 - Processing parameters
SI       2048
MC2     0F
SF       500.1354213 MHz
MDM     QSINE
SSB      2
LB       0.00 Hz
GB       0

F1 - Processing parameters
SI       2048
MC2     States-TPPI
SF       500.1354213 MHz
MDM     QSINE
SSB      2
LB       0.00 Hz
GB       0

2D NMR plot parameters
CX2     24.00 cm
CX1     24.00 cm
FZPLO   5.501 ppm
FZLO    2751.03 Hz
FZPHI   0.498 ppm
FZHI    249.01 Hz
F1PLO   5.500 ppm
F1LO    2750.99 Hz
F1PHI   0.498 ppm
F1HI    248.97 Hz
F2PPMCM 0.20845 ppm/ca
F2HZCM  104.25085 Hz/ca
F1PPMCM 0.20845 ppm/ca
F1HZCM  104.25085 Hz/ca

```

FIGURA 71- Experiência bidimensional de efeito nuclear overhauser( NOE) homonuclear de  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de I

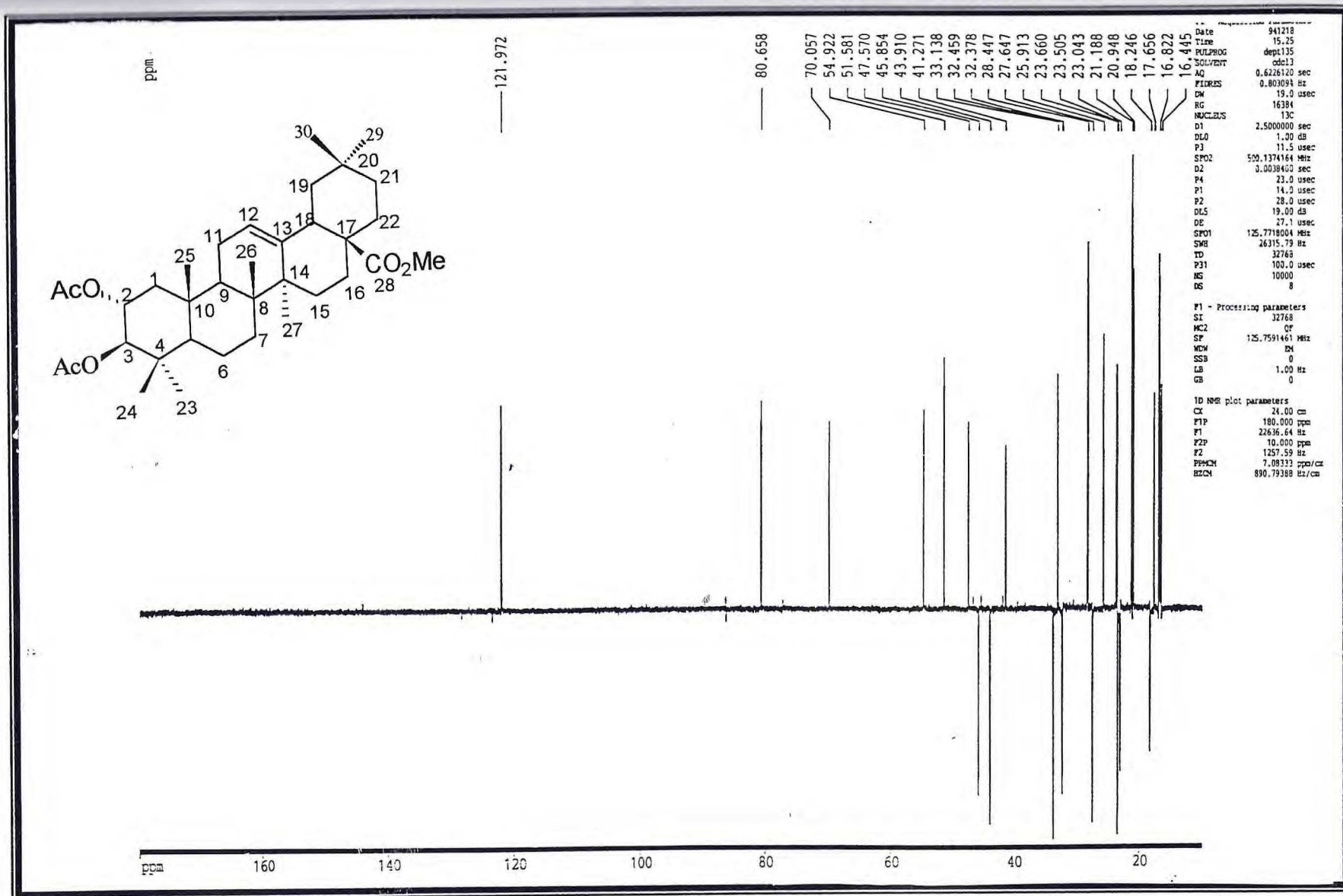


FIGURA 72- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- DEPT 135° de II





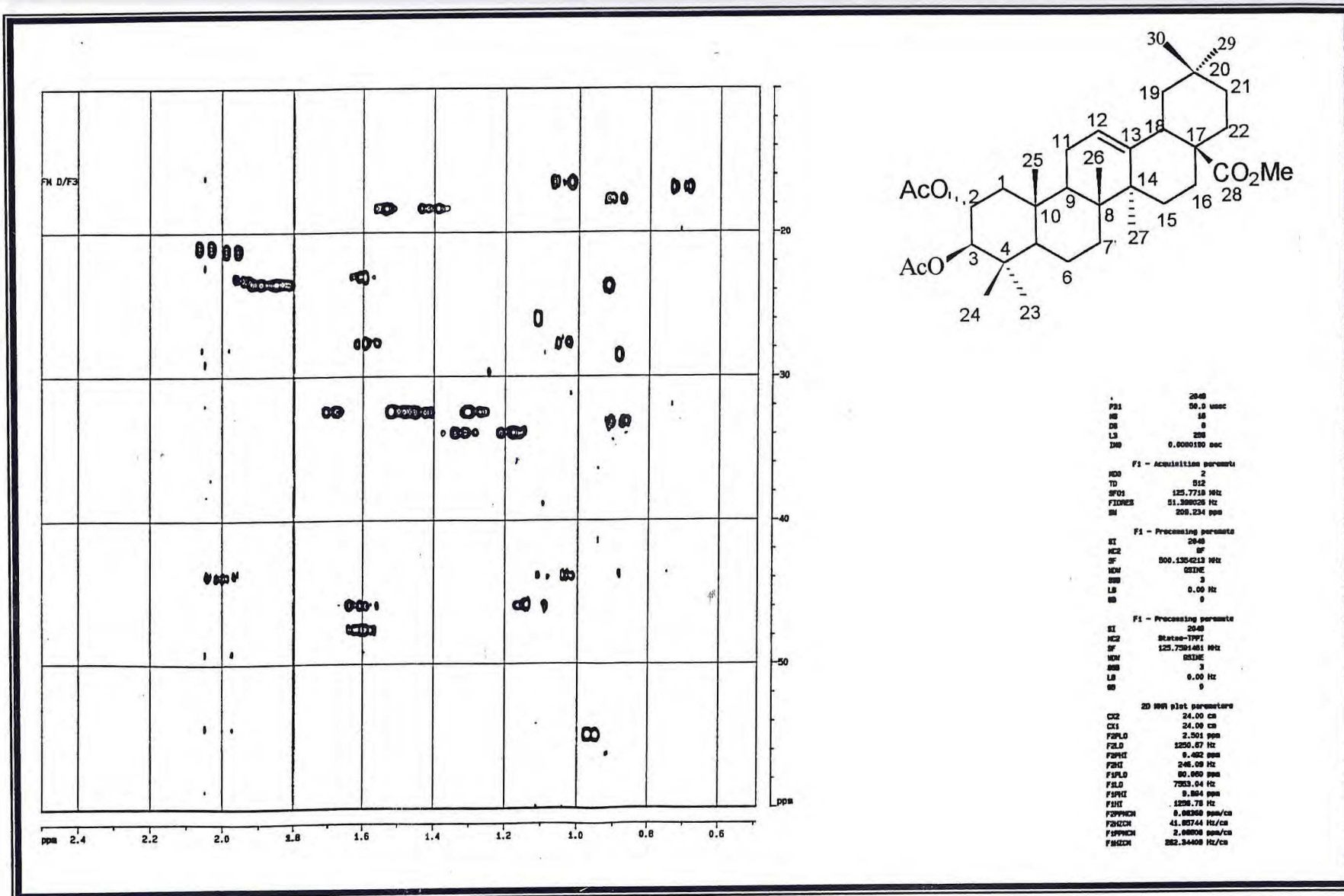


FIGURA 74- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear (<sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C - COSY - <sup>1</sup>J<sub>CH</sub>) de II

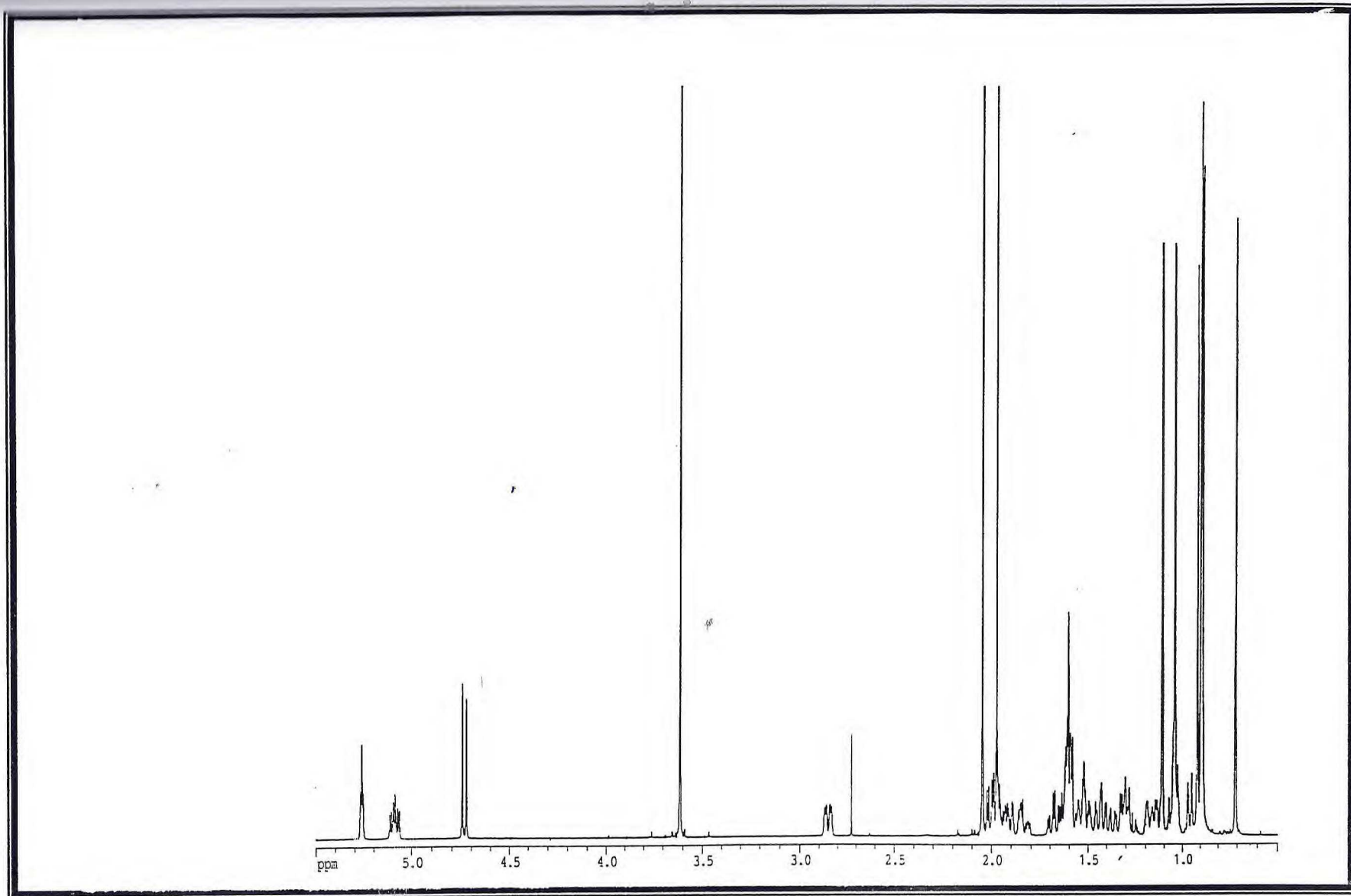


FIGURA 75- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de II

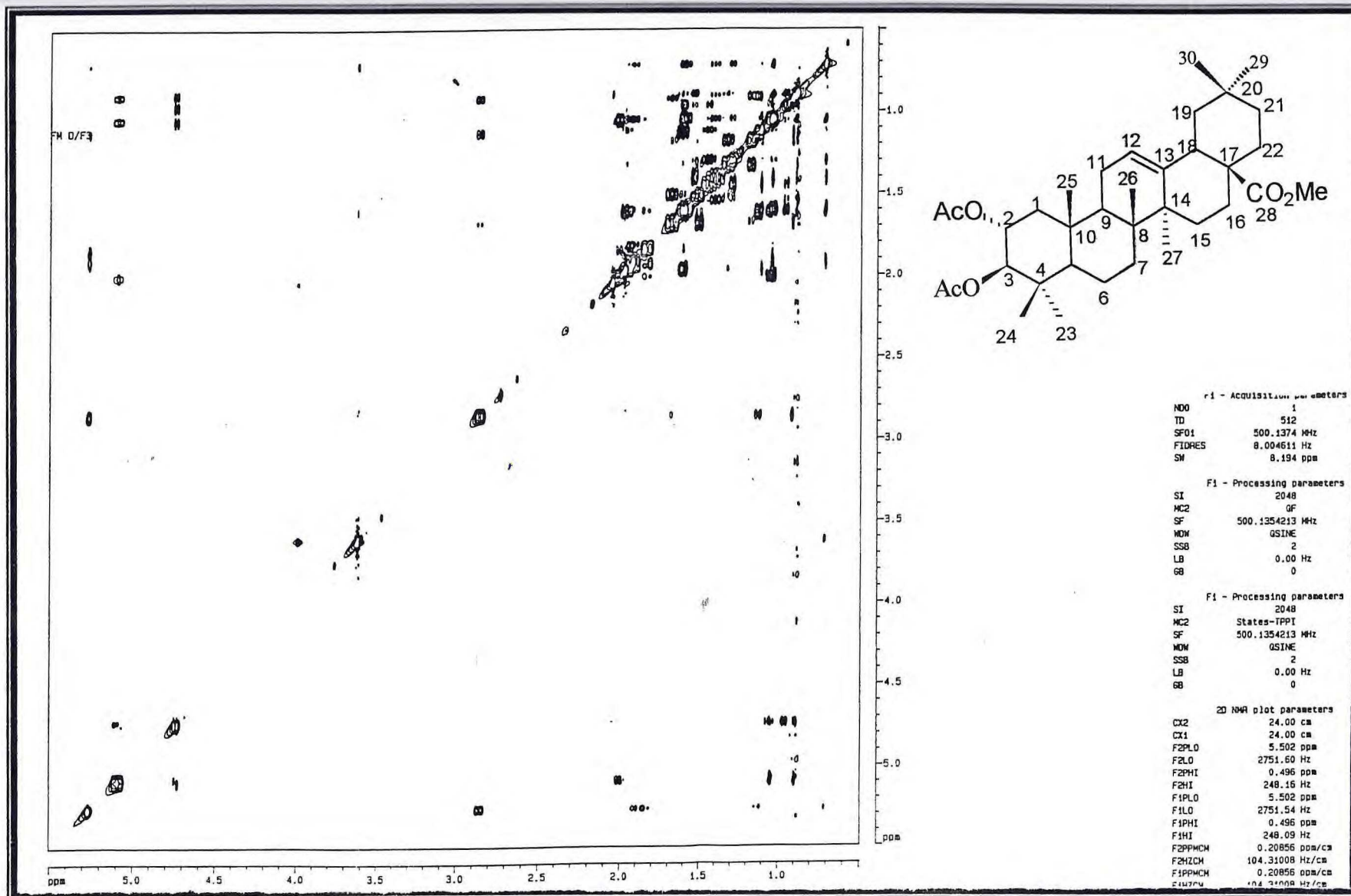


FIGURA 76- Experiência bidimensional de efeito nuclear overhauser( NOE) homonuclear de  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de II

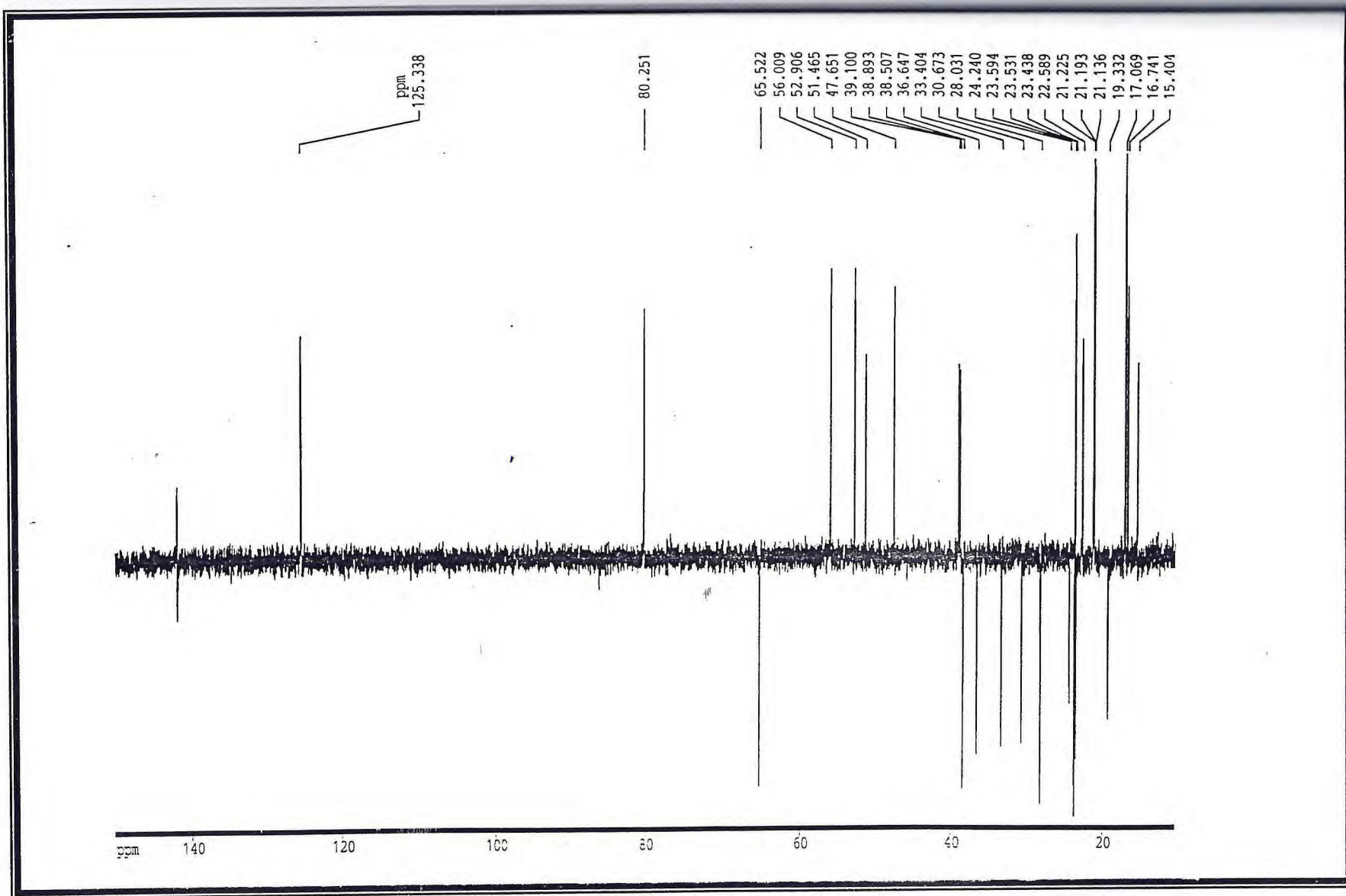


FIGURA 77- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - DEPT  $135^\circ$  de III

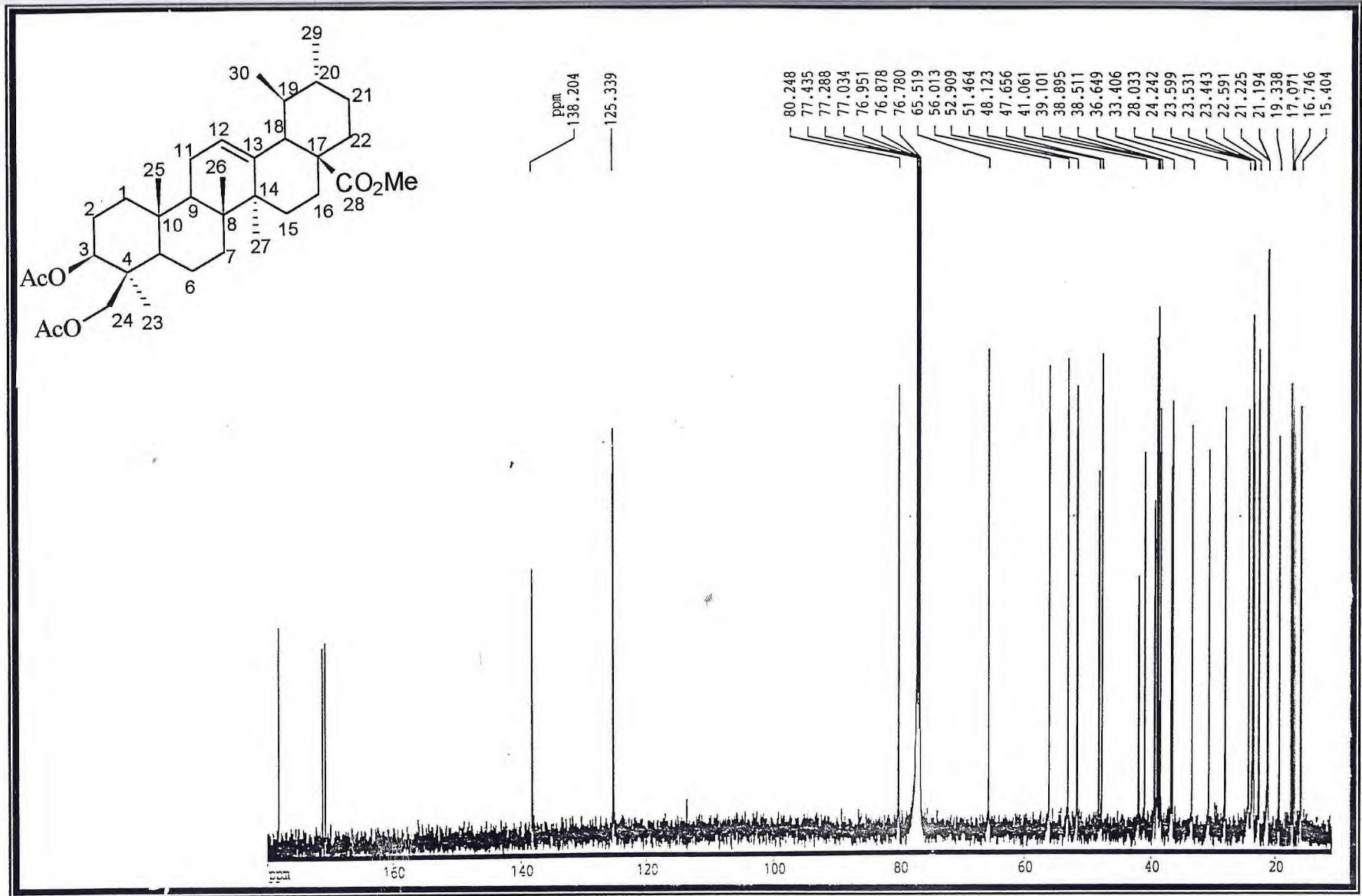


FIGURA 78- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- PND de III

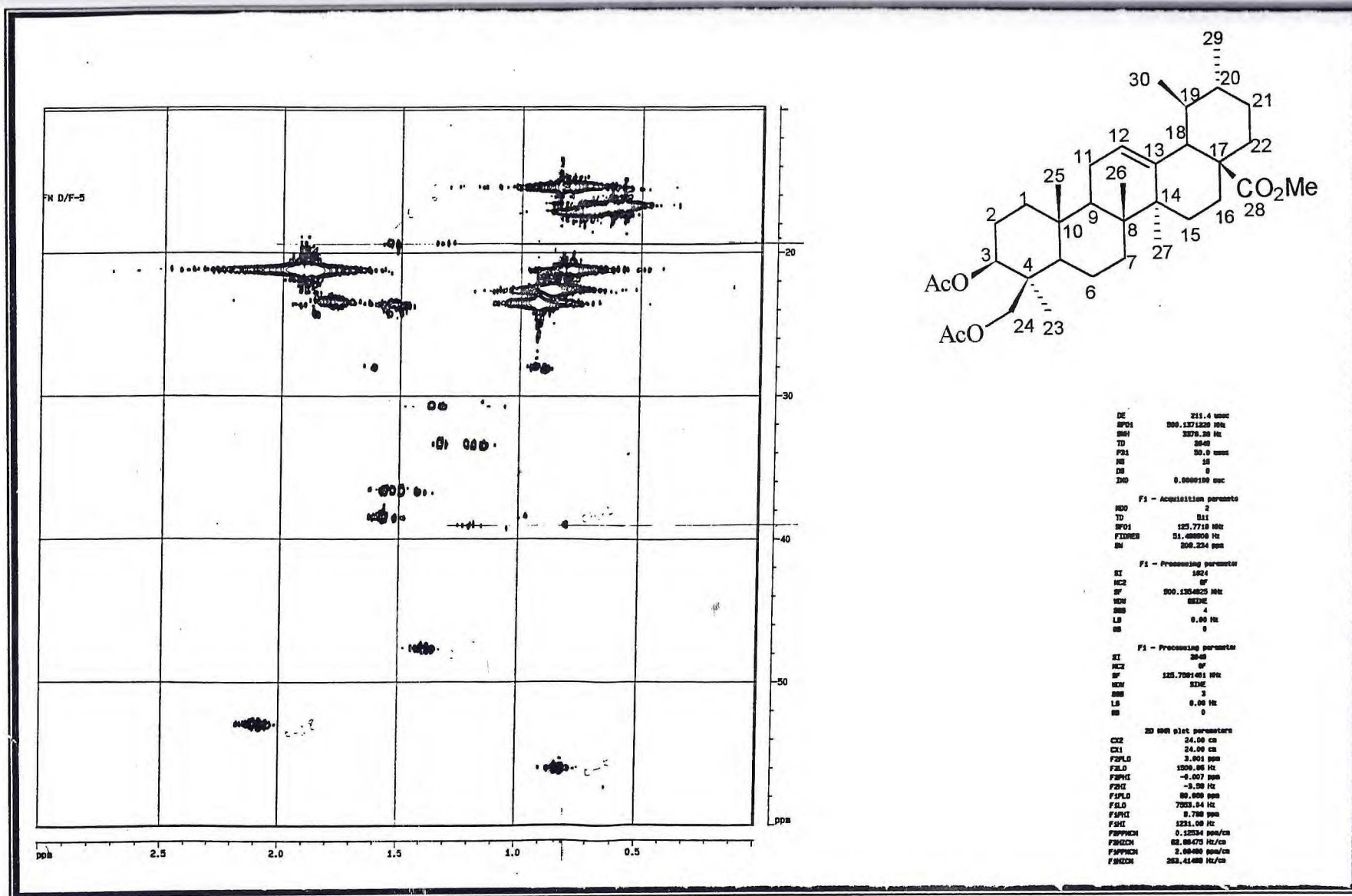


FIGURA 79- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear  
 (<sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C - COSY - 1 JCH) de III

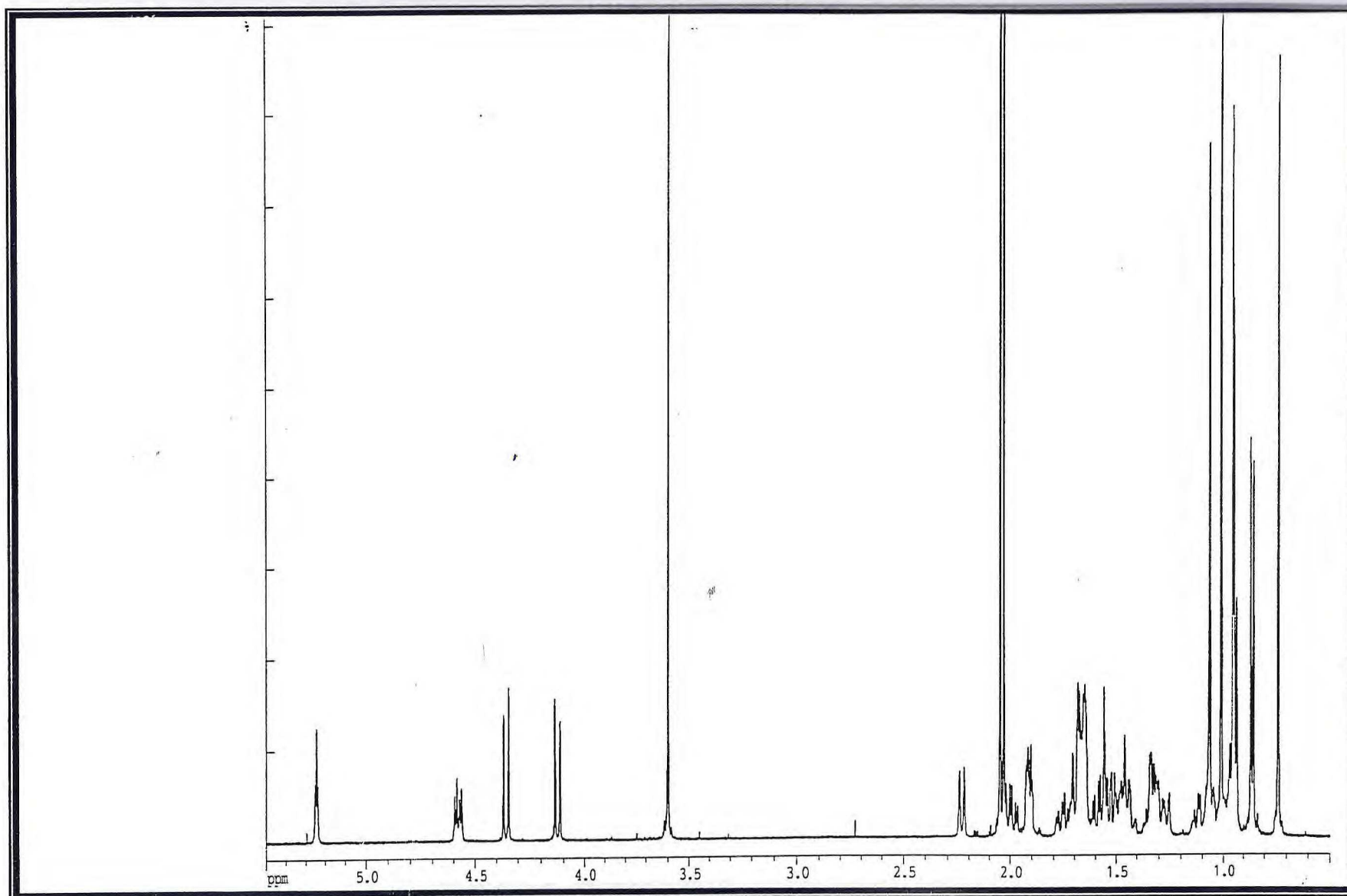


FIGURA 80- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de III



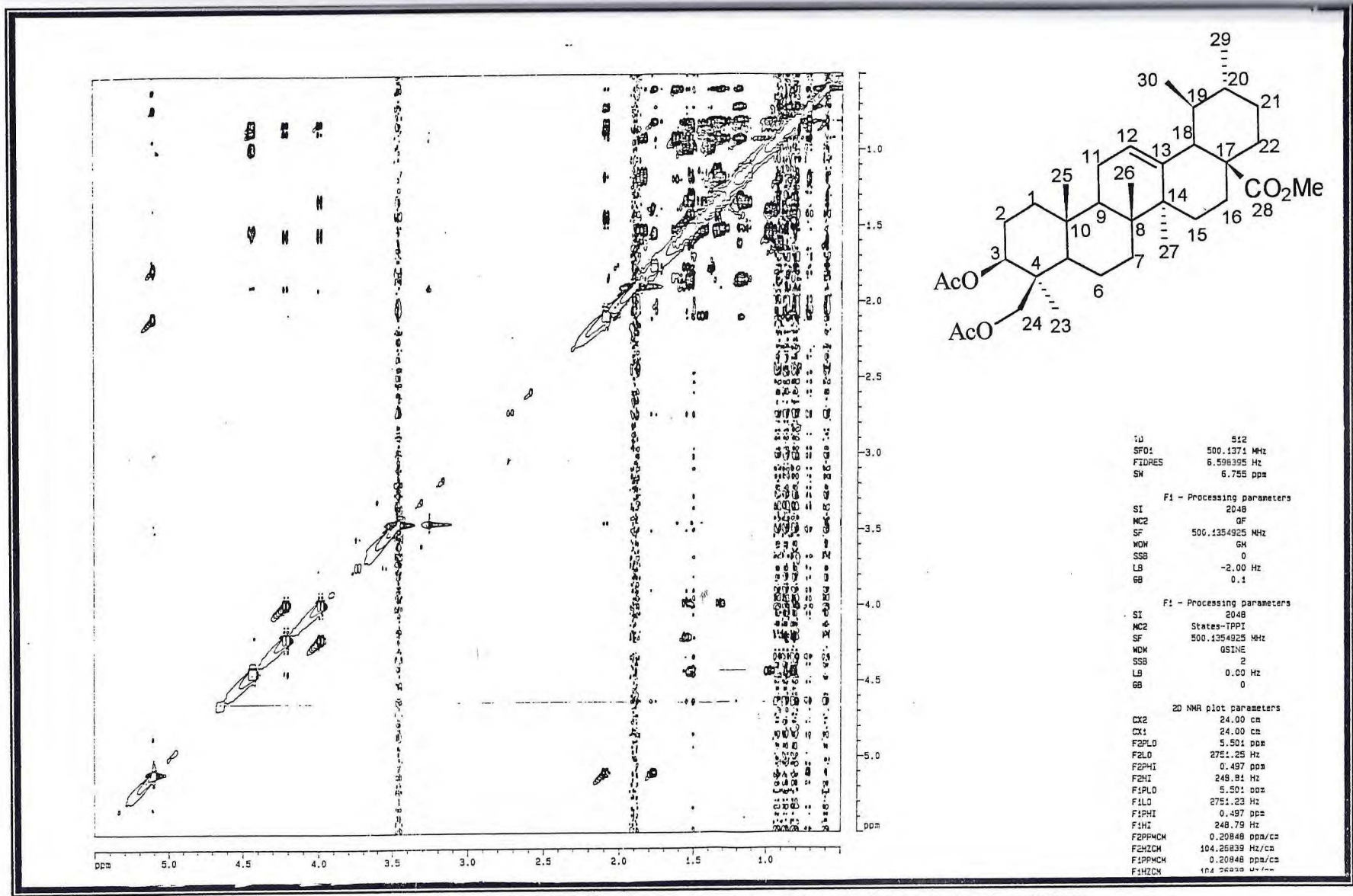


FIGURA 81- Experiência bidimensional de efeito nuclear overhauser( NOE) homonuclear de  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY de III

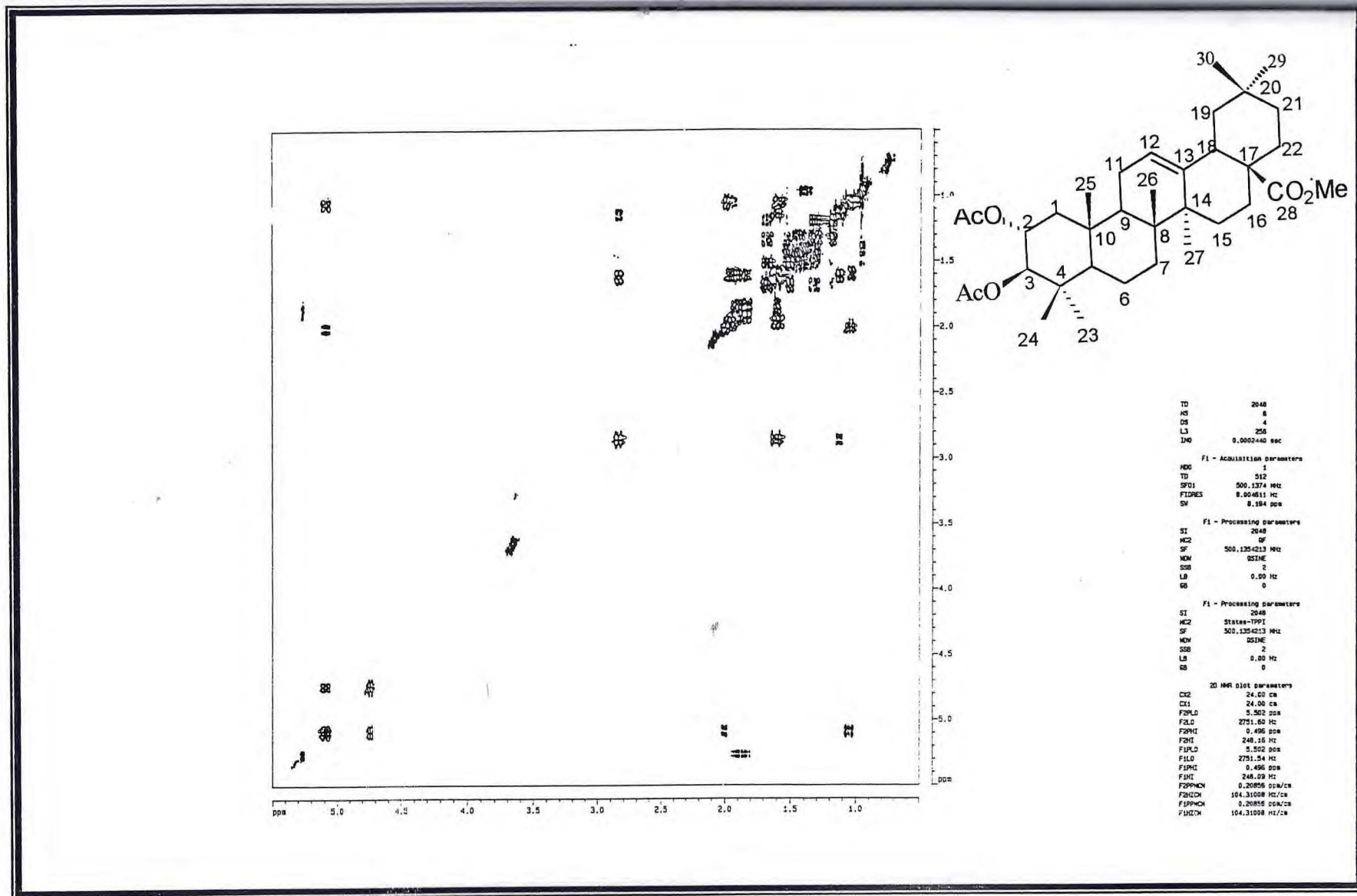


FIGURA 82- Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  - COSY) de II

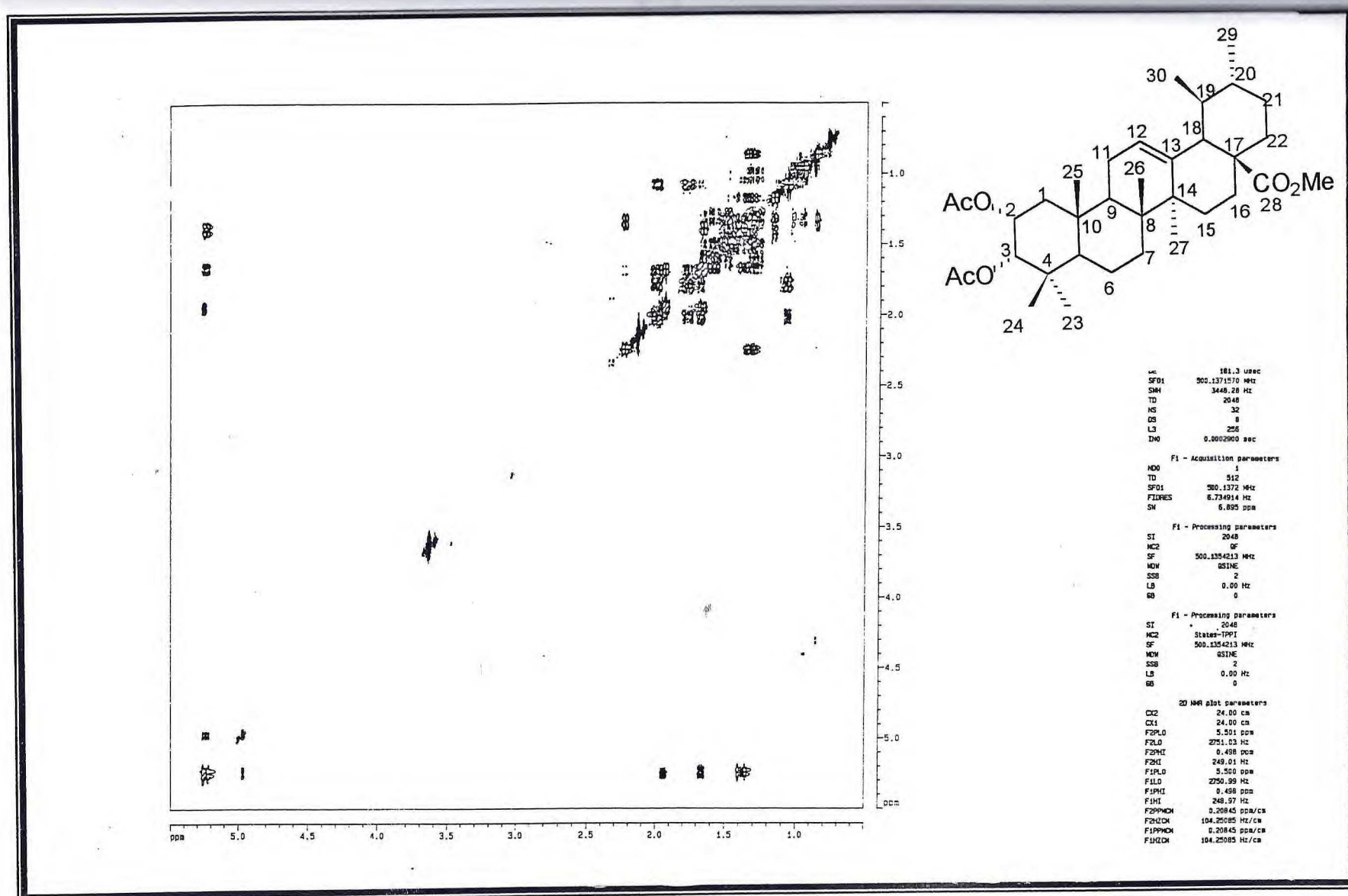


FIGURA 83- Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  - COSY) de I

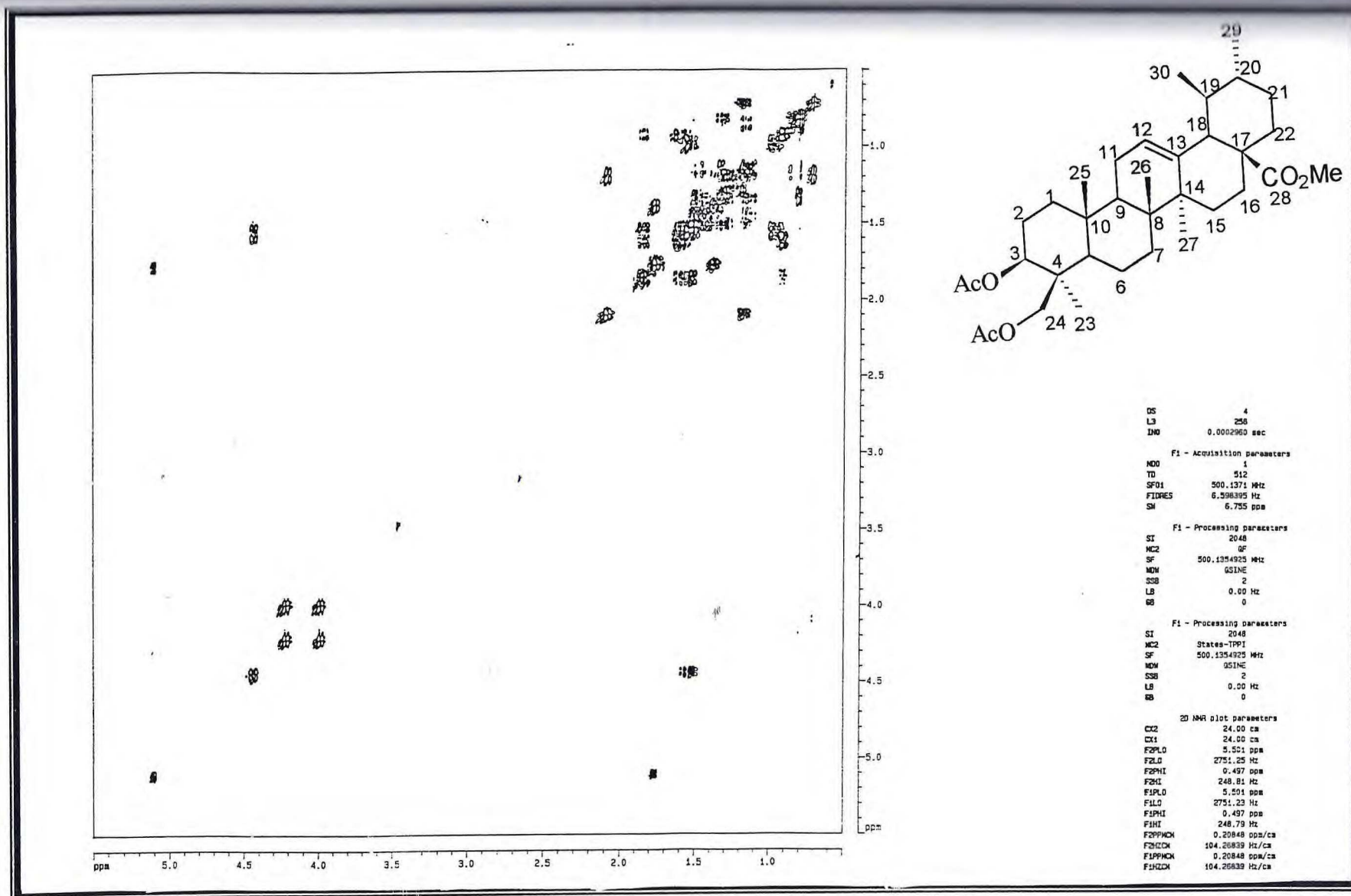


FIGURA 84- Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  - COSY) de III

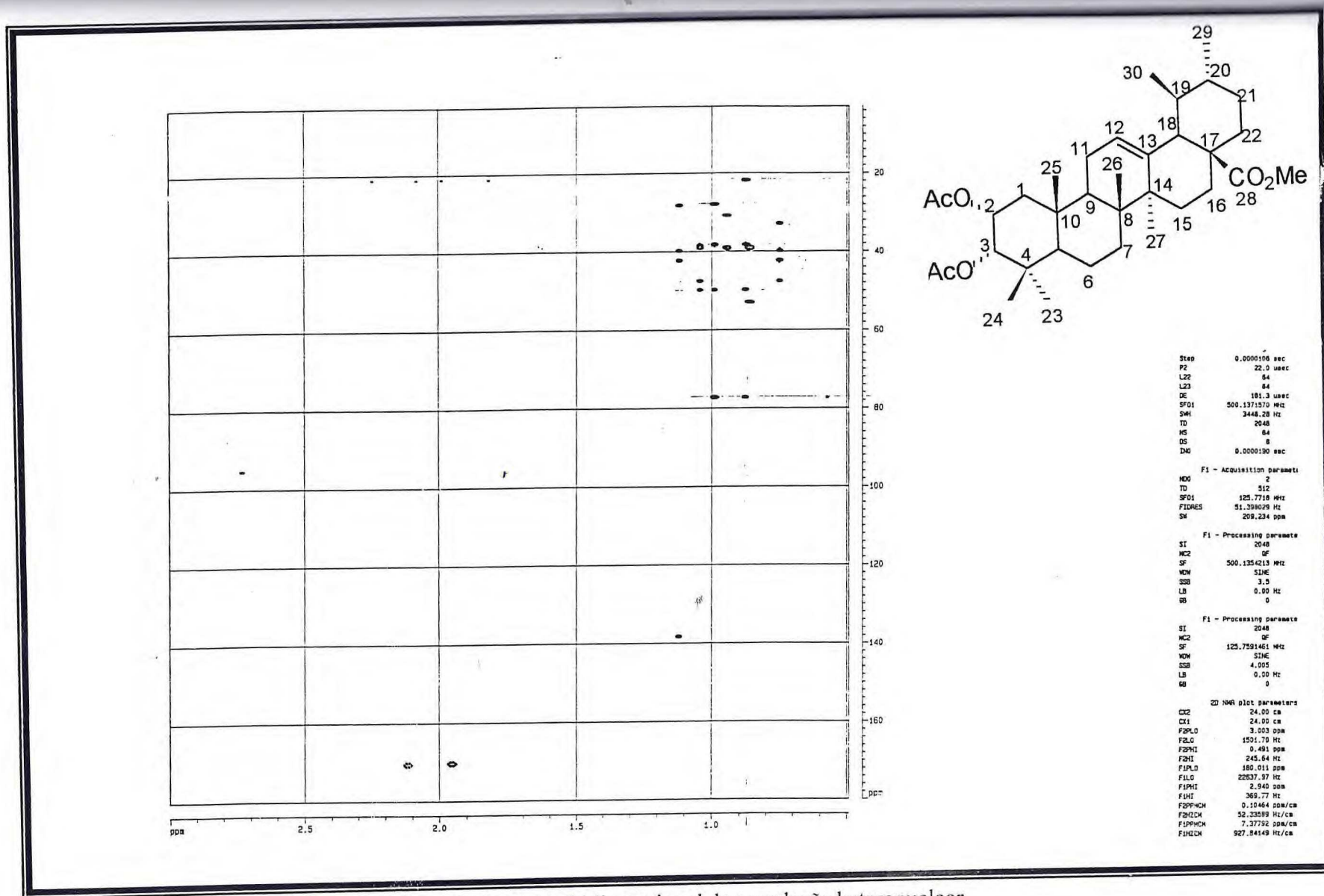
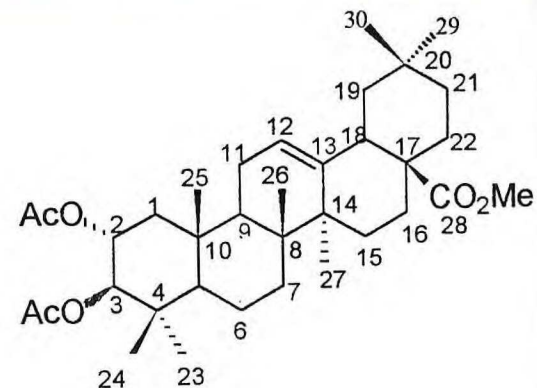
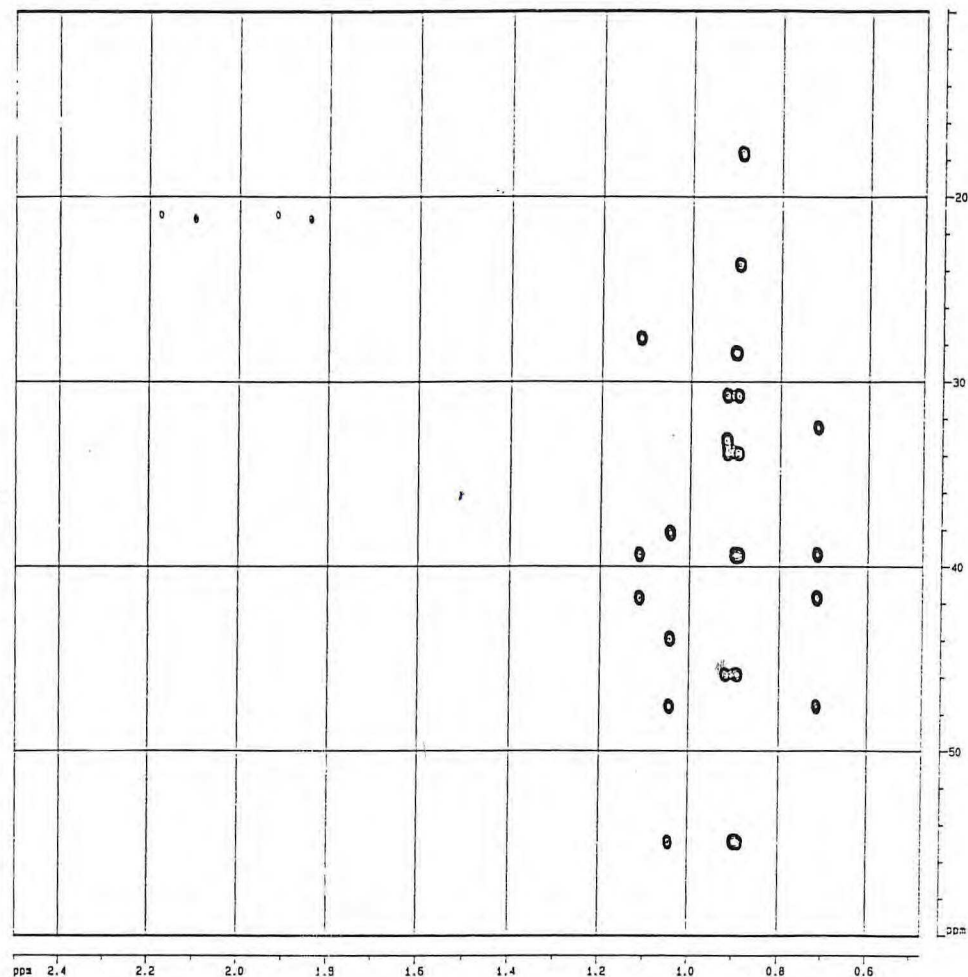


FIGURA 85- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{COSY} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ ,  $n=2$  e  $3$ ) de I



```

L22      0.00
DE       84
DE       174.3 usec
SF01    500.1374184 MHz
SMH     4098.35 Hz
TD      2048
HS       48
DS       16
JAO     0.0000190 sec

F1 - Acquisition paramete
ND0      2
TD       512
SF01    125.7718 MHz
FIDRES  51.339526 Hz
SM      209.234 ppm

F1 - Processing paramete
SI       2048
MC2     0F
SF      500.1254213 MHz
NDW     64
SSB     0
LB      -1.99 Hz
GB      0.3795

F1 - Processing paramete
SI       2048
MC2     0F
SF     125.7591461 MHz
NDW     512
SSB     7.205
LB      0.00 Hz
GB      0

2D NMR plot parameters
CQ2     24.00 cm
CX1     24.00 cm
F2PLD   2.501 ppm
F2LO    1250.87 Hz
F2PHI   0.478 ppm
F2PI    238.09 Hz
F1PLD   60.050 ppm
F1LO    7553.04 Hz
F1PHI   9.891 ppm
F1PI    1243.83 Hz
F2PMCH  0.08435 ppm/cm
F2MCH   42.19037 Hz/cm
F1PMCH  2.09034 ppm/cm
F1MCH   262.87949 Hz/cm

```

FIGURA 86- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - COSY- $^n J_{\text{CH}}$ ,  $n = 2$  e  $3$ ) de II

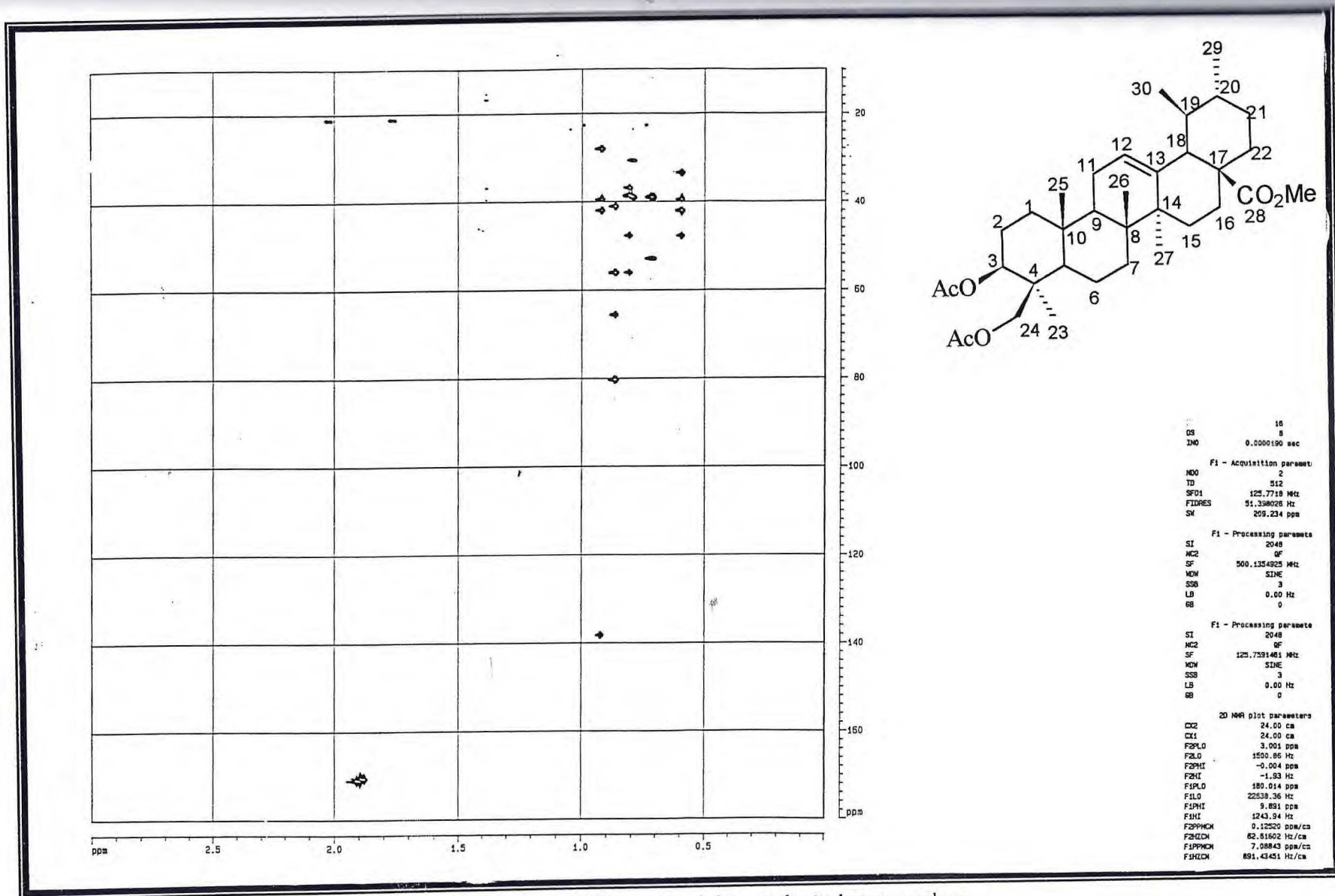


FIGURA 87- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - COSY- $^n J_{\text{CH}}$ ,  $n=2$  e 3) de III

## CAPÍTULO 03- ESTUDO QUÍMICO DA *Bursera leptophloeos*.

### 3.1. INTRODUÇÃO<sup>1</sup>

A família Burseraceae compreende 20 gêneros distribuídos nos trópicos de todo o mundo. São plantas lenhosas, arbustivas ou arbóreas, com espinhos desenvolvidos. Folhas com disposição alterna, compostas, raramente simples. Flores pequenas em inflorescência axilares ou terminais, hermafroditas ou de sexos separados, radiais, trímeras e pentâmeras. Sépalas soldadas (3 a 5). Pétalas em geral livres, raramente soldadas (*Tetragastris*) ou ausentes. Estames em número igual ao dos segmentos do perianto, fixos por fora de um disco sobre o eixo floral. Ovário com 2-5 carpelos. Fruto drupáceo com vários lóculos (2 a 5).

No Brasil ocorrem espécies de alguns gêneros, dos quais *Protium* e *Bursera* são os mais conhecidos. Uma das espécies deste último gênero é a *Bursera leptophloeos*, conhecida como “imburana” da caatinga do Nordeste. Esta árvore, com casca côr-de-cobre, esfolhando-se, tem tronco grosso irregular com muitos nós. Os gêneros *Tetragastris*, *Crepidospermum*, *Hemicrepidospermum* e *Trahinickia* ocorrem na Amazônia.

Quase todos os representantes desta família bioproduzem substâncias balsâmicas no lenho. De uma espécie do gênero *Commiphora* extraí-se a mirra, usada desde os tempos imemoriais em certas cerimônias religiosas dos povos do Oriente.



### 3.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A família Burseraceae envolve aproximadamente 20 gêneros e cerca de 560 espécies pantropicais<sup>2</sup>. Entre as espécies de *Bursera*, estão citadas no *Chemical Abstracts*:

*Bursera simaruba*

*Bursera delpechiana*

*Bursera serrata*

*Bursera leptophloeos*

*Bursera penicillata*

*Bursera graveolens*

*Bursera ariensis*

*Bursera microphylla*

*Bursera klugii*

*Bursera morelensis*

*Bursera schlechtendalii*

*Bursera fagaroides*

*Bursera graveolens villosula*

*Bursera aloexylon*

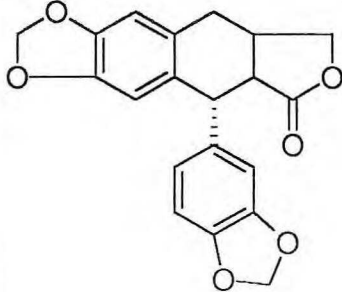
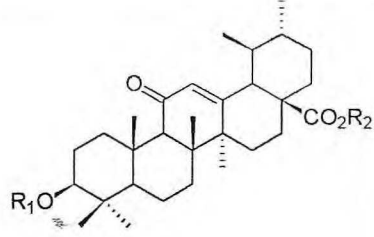
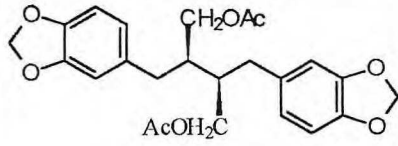
*Bursera paniculata*

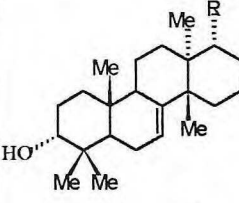
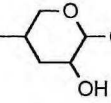
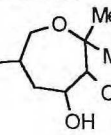
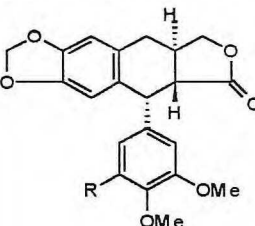
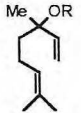
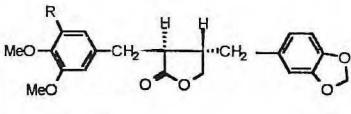
O espécimen de *Bursera leptophloeos* usado para estudo( Fig. 88,p. 279), foi coletado na Fazenda de Santo Onofre, Itapiúna-Ce, e está catalogado no Herbário Prisco Bezerra (Nº 23.549) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

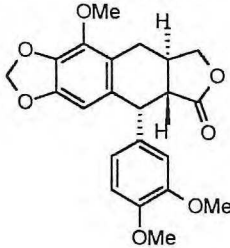
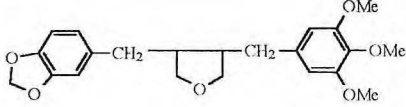
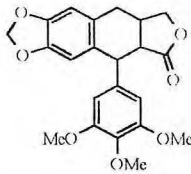
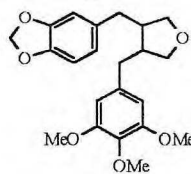
Foi realizado um exaustivo levantamento bibliográfico no *Chemical Abstracts* sobre espécies de *Bursera*, bem como sobre a família Burseraceae, encontrando-se somente um trabalho envolvendo a espécie *Bursera leptophloeos*<sup>3</sup>.

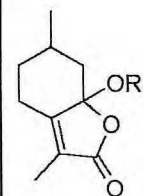
No Quadro 14 descreve-se as estruturas de constituintes químicos isolados de espécies de *Bursera*, nomes comuns e atividades biológicas e as referências bibliográficas citadas pelo *Chemical Abstracts*.

Quadro 14. Substâncias isoladas de espécies do gênero *Bursera* e atividades biológicas.

Espécie	Atividades	Estruturas e/ou nomes comuns das substâncias isoladas
<i>Bursera simaruba</i> <sup>4</sup>	metabólito bioativo	 <p><b>PICROPOLIGAMAINA</b></p>
<i>Bursera delpechiana</i> <sup>5</sup>		 <p>1 R<sub>1</sub>= Ac, R<sub>2</sub>= Me  2 R<sub>1</sub>= Ac, R<sub>2</sub>= H  3 R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>= Me  4 R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=H</p> <p>e α-amirina, β-amirina, lupeol, 3β- acetoxiurs-11-en-28, 13-olideo, ác. acetil ursólico, ác. acetil ursonico e ác. ursólico.</p>
<i>Bursera ariensis</i> <sup>6</sup>		 <p><b>BILIGNANA(ARIENSIS)</b></p>

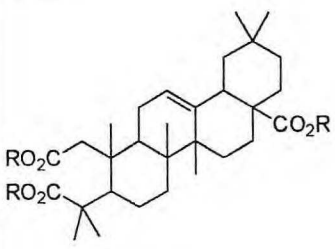
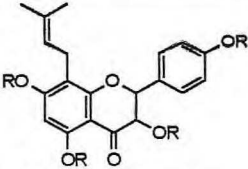
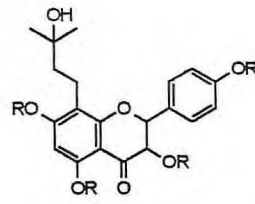
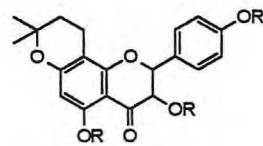
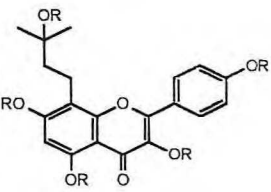
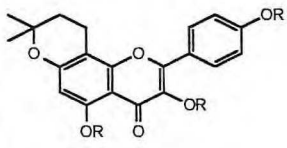
<i>Bursera klugii</i> <sup>7</sup>	Leucemia linfocítica e Carcinoma epidermóide do nasofaringe	 <p>1, R=  CMe<sub>2</sub>OH</p> <p><b>SAPELIN A</b></p> <p>2, R= </p> <p><b>SAPELIN B</b></p>
<i>Bursera morelensis</i> <sup>8</sup>	Carcinoma epidermóide e Leucemia linfocítica	 <p>1, R=OMe(DEOXIPODOFILOTOXINA) 2, R=H (MORELENSIS)</p>
<i>Bursera delpechiana</i> <sup>9</sup>		 <p>1, R=H(LINALOL) 2, R=Ac(ACETATO DE LINALILA) GERANIOL, TERPINEOL, ACETATO DE GERANILO E ACETATO DE TER- PINIL.</p>
<i>Bursera schlechtendalii</i> <sup>10</sup>	Antitumor contra adenocarcinoma de faringe nasal	<p><math>\alpha</math>- amirina e</p>  <p>1, R=OMe 2, R=H LIGNANAS</p>

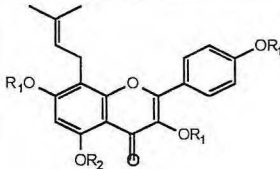
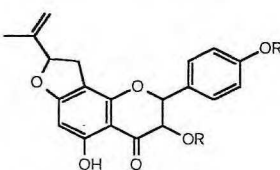
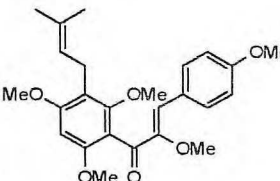
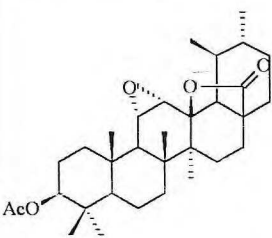
<i>Bursera fagaroides</i> <sup>11</sup>	Agente antitumoral contra carcinoma de Walker	 <p>5'-dimetoxi- <math>\beta</math> - PELTATIN-A- metileter</p>
<i>Bursera microphylla</i> <sup>12</sup>	Agente antitumoral	 <p>BURSERANA(LIGNANA)</p>  <p>DEOXIPODOFILOTOXINA</p> 
<i>Bursera microphylla</i> <sup>13</sup>	Agente antitumoral	Deoxipodofilotoxina e $\beta$ -sitosterol
<i>Bursera microphylla</i> <sup>14</sup>		$\alpha$ e $\beta$ - pineno, canfeno, felandreno, limoneno e cineol
<i>Bursera graveolens var villosula</i> <sup>15</sup>	Sedativa e analgésica (vapores da madeira)	Limoneno, $\alpha$ - terpineol, car- vona, mentofurano, lactona

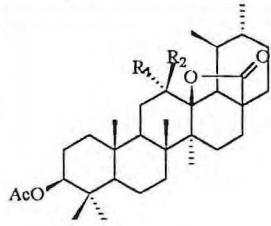


R= H e R=COMe e ác.

2,3-seco-oleana-12-en-2,3,28-

		<p>trióico</p>  <p>R=H e R= Me</p>
<p><i>Bursera leptophloeos</i><sup>3</sup></p>		 <p>1,R=H, 8-(<math>\gamma,\gamma</math>-dimetilalil)-5,7,4'-trihidroxi-dihidroflavonol</p>  <p>2,R=H, 8-(3"-hidroxi-3"-metilbutil)-5,7,4'-trihidroxi-dihidroflavonol</p>  <p>3,R=H, 6",6"-Dimetil-dihidropirano(2",3":7,8)-5,4'-dihidroxi-dihidroflavonol</p>  <p>4,R=H, 8-(3"-hidroxi-3"-metilbutil)-5,7,4'-trihidroxi-dihidroflavonol</p>  <p>5,R=H, 6",6"-Dimetil-dihidropirano(2",3":7,8)-5,4'-dihidroxi-dihidroflavonol</p>

		 <p>6, R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=H, 8-(<math>\gamma,\gamma</math>-dimetilalil)- 5,7,4'-trihidroxi flavonol</p>  <p>7, R=H, 5'-Isopropenildihidro- furano (2',3',7,8)-5,4'-dihidro- xidihidro flavonol</p>  <p>8, 3'-(<math>\gamma,\gamma</math>-dimetilalil)- 2',4',6',4', <math>\alpha</math>-penta- metoxichalcona</p>
<p><i>Bursera delpechiana</i><sup>16</sup></p>		<p>acetato de <math>\alpha</math>-amirina, ácido 11- dehidrousólico lactona e 3<math>\beta</math>-acetoxi-11<math>\alpha</math>, 12<math>\alpha</math>-epoxiurs- 28, 13-olideo</p>  <p>e 3<math>\beta</math>-acetoxi-12<math>\beta</math>-hidroxiurs- 28,13-olideo</p>

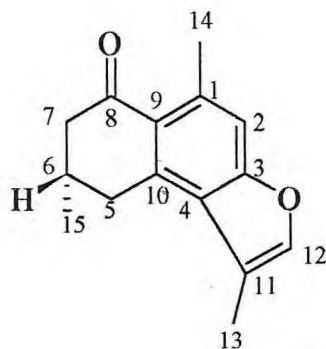
		 <p>R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=OH</p>
<i>Bursera graveolens</i> (H.B.R.) <sup>17</sup>	antimicrobiana	óleo essencial
<i>Bursera penicillata</i> (= <i>Bursera delpechiana</i> ) <sup>18</sup>		Ácidos mirístico, palmítico, esteárico,oleico e linoleico
<i>Bursera microphylla</i> A. Gray <sup>19</sup>		n-C <sub>27</sub> , n-C <sub>29</sub> , n-C <sub>30</sub> , n-C <sub>31</sub> (54,1%), n-C <sub>32</sub> e n-C <sub>33</sub> (alcanos epicutílares)
<i>Bursera graveolens</i> <sup>20</sup>		Geraniol, nerol, álcool linalílico, álcool 1-linalílico e os hidrocarbonetos octileno e nolineno
<i>Bursera dulphichiana</i> <sup>21</sup>	antifúngica e antibactericida	óleo essencial
<i>Bursera schlechtendalli</i> <sup>22</sup>		2 lignanas: (-)- <i>trans</i> -2-(3'',4'',5''-trimetoxi-benzil) 3-(3',4'-metileno- dioxi-benzil)-butirolactona e (-)- <i>trans</i> -2-(3'',4''-dimetoxi -benzil)-3-(3',4'-metileno- dioxi- benzil) butirolactona e o álcool triacontanol e α-amirina

### 3.3.DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DA *Bursera leptophloeos*.

⇒ A fração denominada BLMCR-C/H(6-8) (I) (Tabela 26, p. 256, Esquema 11, p. 258) apresentou-se como um material cristalino branco, com p.f.=121,0-123,0°C.

A fórmula molecular  $C_{15}H_{16}O_2$  de (I) foi determinada através dos espectros de massa de baixa-resolução (M.+ 228, 94%) ( Fig. 89,p. 280), IV[ $\nu$  1670 $cm^{-1}$ (cetona conjugada), 1600 $cm^{-1}$ , 1575 $cm^{-1}$ (aromático)](Fig. 90,p. 281 ), RMN  $^1H$  ( Fig. 91, p.282 ) e RMN  $^{13}C$  (Tabela 17, p. 225), envolvendo a análise comparativa dos espectros de RMN  $^{13}C$ -PND (Fig. 92, p. 283) e RMN  $^{13}C$ -DEPT 135° ( Fig. 93, p. 284) para assinalar os sinais de carbonos quaternários, metínicos, metilênicos e metílicos, além de correlação heteronuclear bidimensional (2D) através de uma ligação CH (  $^1H \times ^{13}C$ - COSY-  $^1J_{CH}$  ) (Fig. 94, p. 285 ) e a longa distância através de duas e três ligações CH[  $^1H \times ^{13}C$ - COSY-  $^nJ_{CH}$  (n=2,3), COLOC]( Fig. 95, p. 286) e homonuclear (2D) de hidrogênio (  $^1H \times ^1H$ - COSY) (Fig. 96,p. 287). O espectro de RMN  $^{13}C$  (PND) mostrou 15 sinais de carbono e a comparação com o espectro de RMN  $^{13}C$ -DEPT ( $\theta = 90$  e  $\theta = 135^\circ$ ) permitiu reconhecer a existência de sinais correspondentes a três carbonos metílicos (  $\delta_C$  24,19; 21,51 e 11,27), dois metilênicos (  $\delta_C$  48,80 e 35,67), três metínicos [ $\delta_C$  142,05, 113,17( $sp^2$ ) e 29,85( $sp^3$ )] e sete não protonados [  $\delta_C$  199,66; 157,00; 140,54; 138,55; 126,54; 124,35 e 116,69 (Tabela 17)]. Experiências de correlação bidimensional (2D) de carbono- hidrogênio modulados para  $^1J_{CH}$ ( $^1H \times ^{13}C$ - COSY-  $^1J_{CH}$ ) e para  $^2J_{CH}$  e  $^3J_{CH}$ ( $^1H \times ^{13}C$ -COSY-  $^nJ_{CH}$ ) permitiram estabelecer a correlação dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono (Tabela 17).Estes experimentos, em combinação com  $^1H \times ^1H$ -COSY (Tabela 17) e NOE ( Fig. 97,p. 288) obtido por subtração de espectros, permitiu o assinalamento completo dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono-13 da substância I.



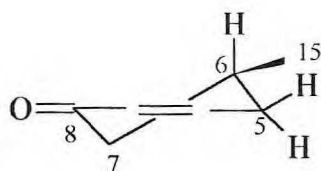


(I)

A localização dos grupos metila em C-1, C-6 e C-11 baseou-se nos deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , na multiplicidade de sinais, na correlação heteronuclear  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  2D, na correlação homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  2D e na aplicação de parâmetros usuais de deslocamentos químicos<sup>23</sup>. A alternativa 5-oxo-7-metil foi descartada com base nos resultados de NOE obtidos por subtração de espectros ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOE)<sup>24,25</sup>: a) Irradiação em  $\delta_{\text{H}}$  2,38 (3H-13) produziu 8% de NOE em  $\delta_{\text{H}}$  3,51 (br d, pseudoequatorial H-5) e 2% de NOE em  $\delta_{\text{H}}$  7,30 (H-12); b) Irradiação em  $\delta_{\text{H}}$  2,68 (3H-14) induziu 2% de NOE em  $\delta_{\text{H}}$  7,11 (H-2). O NOE observado entre o H-5 pseudoequatorial e 3H-13 foi também usado para confirmar o esqueleto furanocadalenol.

Desta forma, a estrutura do novo furanosesquiterpeno isolado de *Bursera leptophloeos* foi estabelecida e a configuração relativa mostrada em (I) foi determinada com base na existência do único centro quiral, C-6.

A constante de acoplamento vicinal ( $J = 10,1\text{Hz}$ ) observada para um dos sinais H-5 [ $\delta_{\text{H}}$  2,84 (dd,  $J = 16,2; 10,1\text{Hz}$ ), Tabela 17] indicou que relação *trans*-pseudoequatorial entre este hidrogênio e o átomo de hidrogênio H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  2,2-2,2, m) adota a conformação preferida mostrada em A, com orientação pseudoaxial em H-6 (e metila pseudoequatorial).



(A)

Finalmente, nossa atenção foi direcionada para a presença dos picos principais registrados no espectro de massa do furanosesquiterpeno (I) (Tabela 18, p. 226). Uma proposta de racionalização mecanística para justificar os principais picos que aparecem no espectro de massa está descrita na Tabela 18.

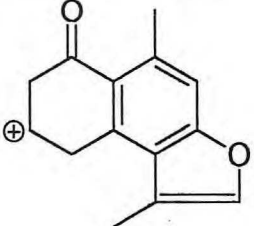
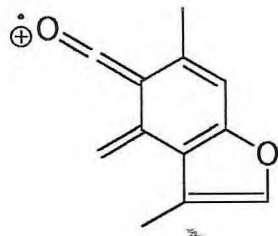
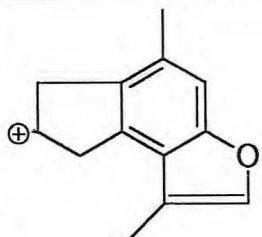
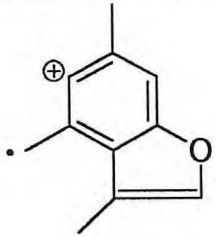
O trabalho correspondente a este novo sesquiterpeno foi recentemente publicado<sup>26</sup>.

Tabela 17. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (50,3 MHz) para o furanosesquiterpeno (I) em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como padrão interno. Os deslocamentos químicos estão expressos em  $\delta$  (ppm) e as constantes de acoplamento (J, entre parentesis) em Hz<sup>a</sup>.

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}\text{-COSY-}^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}\text{-COSY-}^n\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H} \times ^1\text{H}\text{-COSY}$
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	
1	126,54	-	H-2, 3H-14	-	-
3	157,00	-	-	H-12	-
4	124,35	-	-	3H-13	-
8	199,66	-	-	-	-
9	138,55	-	-	3H-14	-
10	140,54	-	-	-	-
11	116,69	-	3H-13	-	-
<b>CH</b>					
2	113,17	7,11(s)	-	3H-14	3H-14
6	29,85	2,40-2,20(m)	3H-15	-	3H-15, H-5a
12	142,05	7,20(s)	-	3H-13	3H-13
<b>CH<sub>2</sub></b>					
5	35,67	3,51(dl,16,2) 2,84(dd,16,2;10,1)	-	3H-15	H-5a, H-5b
7	48,80	2,40-2,20 2,80-2,60	-	3H-15	H-7a, H-7b
<b>CH<sub>3</sub></b>					
13	11,27	2,38(s)	-	-	H-12
14	24,19	2,68(s)	-	H-2	H-2
15	21,51	1,15(d, 5,6)	-	-	H-6

<sup>a</sup> Multiplicidade dos sinais dos átomos de carbono deduzido por análises comparativa de RMN  $^{13}\text{C}$ - PND e DEPT. Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento dos átomos de hidrogênio obtidos do espectro de RMN  $^1\text{H}$  unidimensional.

Tabela 18. Propostas para fragmentação de (I) (somente picos principais)

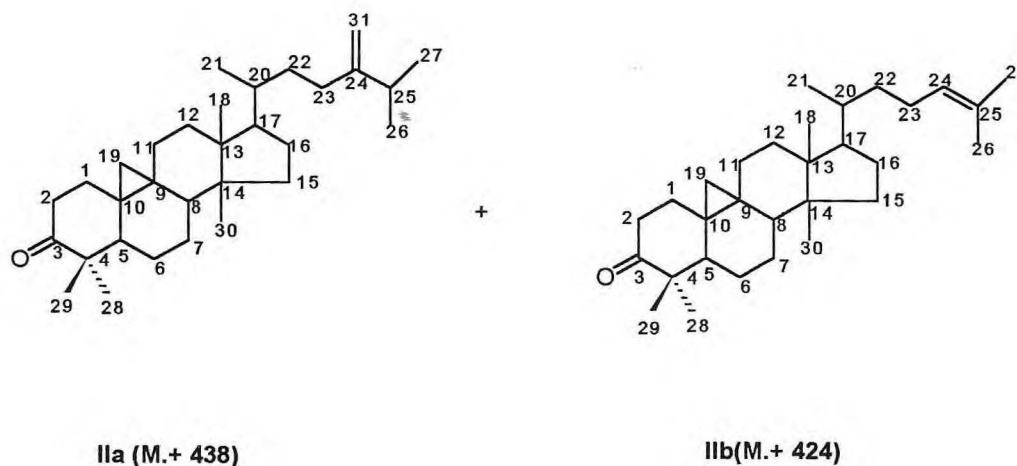
m/z	Intensidade relativa (%)	Interpretação
228	94	[M <sup>+</sup> ]
213	53	 [M-15] <sup>+</sup>
186	100	 M-42(H <sub>3</sub> CCH=CH <sub>2</sub> )
185	22	 m/z 213-28(CO)
158	91	 m/z 186-28(CO)

⇒ BLHR-C/C(21-24) (**II**) é um sólido amorfo, amarelo claro com p.f.= 62,0-70,8°C.

O espectro de absorção na região do I.V.(Fig. 98, p. 289), apresentou bandas compatíveis com a presença de carbonila ( $\nu_{C=O}$  1733  $\text{cm}^{-1}$ ), ligação dupla terminal [ $\nu_{C=C}$  1686  $\text{cm}^{-1}$ (banda fraca) e  $\delta_H$  887  $\text{cm}^{-1}$ ] e de ligação dupla trissubstituída ( $\nu_{C=C}$  1675  $\text{cm}^{-1}$ ).

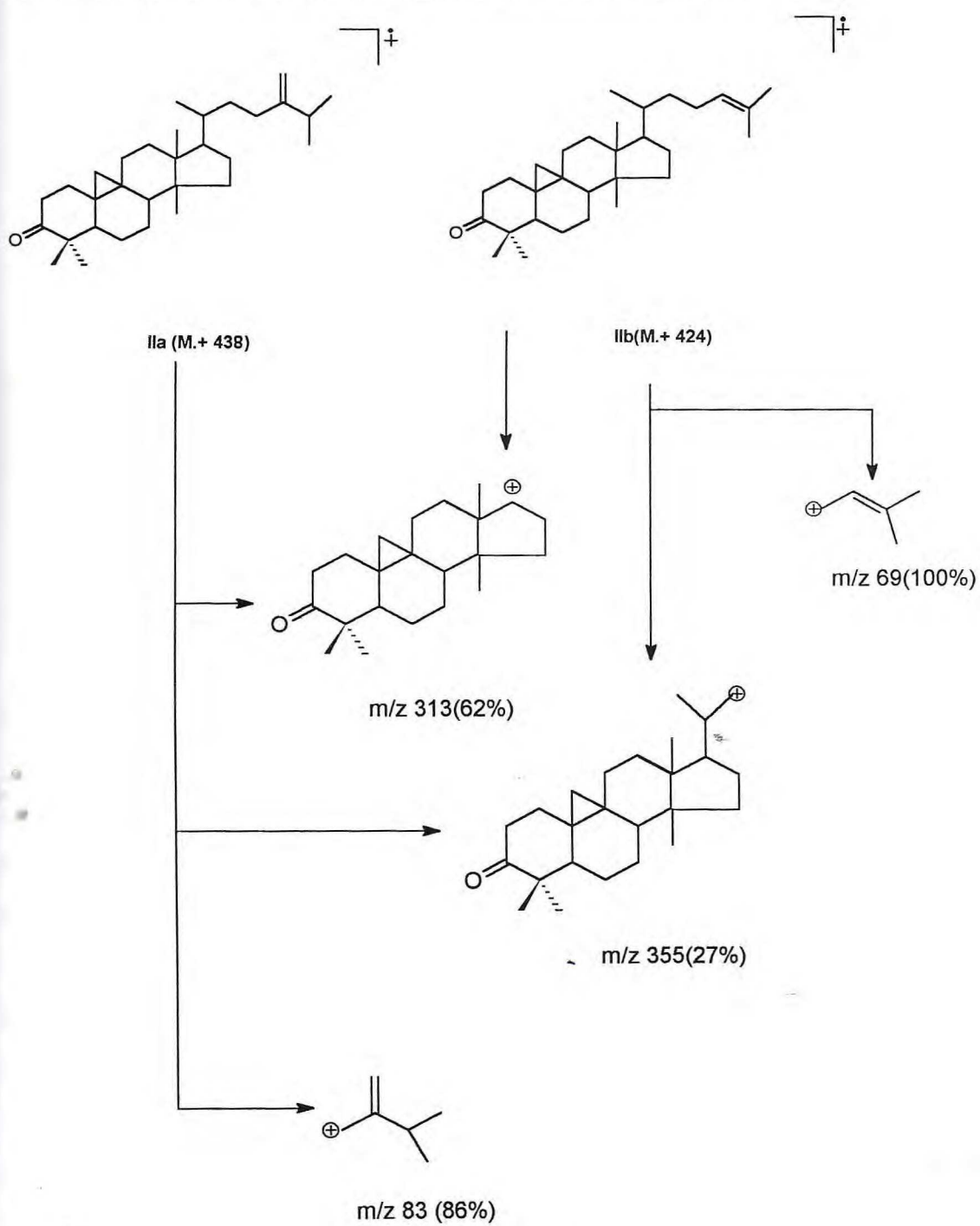
O espectro de massa (Fig. 99, p. 290), obtido por impacto eletrônico a 70 eV, forneceu os picos correspondentes ao íon molecular( $M^+$ ) em m/z 438 daltons (45%) e m/z 424 daltons (49%) e o pico base em m/z 69 (100%), sugerindo a possibilidade de se tratar de uma mistura envolvendo duas substâncias naturais com as fórmulas moleculares  $C_{31}H_{50}O$  (**IIa**) e  $C_{30}H_{48}O$  (**IIb**) (Quadro 15).

O espectro de RMN  $^{13}C$ - PND (Proton Noise Decoupled) (Fig. 100, p. 291) apresentou 32 linhas espectrais correspondentes a mistura. O sinal em  $\delta$  216,7(C-3) foi atribuído a carbonila.



O espectro de RMN  $^1H$  (Fig. 101, p. 292) permitiu reconhecer dentre outras, as absorções em  $\delta$  4,69 e 4,64 ppm (d, 2H-31) de **IIa** e  $\delta$  5,1 (t, H-24) de **IIb**,  $\delta$  1,57 e 1,66 (s, 3H-26 e 3H-27 de **IIb**). Os sinais em  $\delta$  0,76 e 0,55 representam os prótons metilênicos do carbono 19.

A comparação dos espectros, principalmente RMN  $^{13}C$ , com dados descritos na literatura<sup>23</sup> permitiu identificar as duas substâncias (**IIa** e **IIb**) componentes da mistura.

Quadro 15. Fragmentações no espectrômetro de massa de **IIa** e **IIb**.

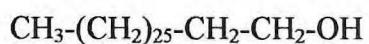
⇒BLHR-C(24-27) (**III**) é um sólido amorfo, branco, com p.f. = 72,5-76,0°C.

O espectro de absorção no I.V. (Fig. 102, p. 293) apresentou bandas compatíveis com a presença de hidroxila ( $\nu_{\text{OH}}$  3435- 3380  $\text{cm}^{-1}$ ) e bandas típicas de grupamentos metílicos e metilênicos ( $\nu_{\text{C-H}}$  2918- 2849).

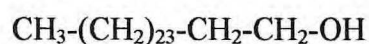
O espectro de massa (Fig. 103 ,p. 294), obtido por impacto eletrônico a 70 eV, forneceu picos em m/z 392 (5%) e 364 (5%), interpretados como correspondentes a fragmentos formados de íons moleculares de álcoois após a eliminação de água, e o pico base aparece em m/z 83 daltons (100%). Os picos em m/z 392 e 364 são compatíveis com as fórmulas,  $\text{C}_{28}\text{H}_{56}$  e  $\text{C}_{26}\text{H}_{52}$  respectivamente. Consequentemente, os álcoois correspondentes assumem  $\text{C}_{28}\text{H}_{58}\text{O}$  e  $\text{C}_{26}\text{H}_{54}\text{O}$  (Quadro 16).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 104, p. 295) apresentou os deslocamentos químicos atribuídos aos prótons metílicos e metilênicos em  $\delta$  0,82; 0,85(t) e 1,23(sl) ppm. A absorção em  $\delta$  3,61ppm (t, J=6,9 Hz, H-1) foi atribuída aos hidrogênios metilênicos de carbono ligado a hidroxila sendo a absorção em  $\delta$  5,1ppm (s, OH) atribuída ao hidrogênio da hidroxila. Estes dados se coadunam com as deduções do espectro de massa

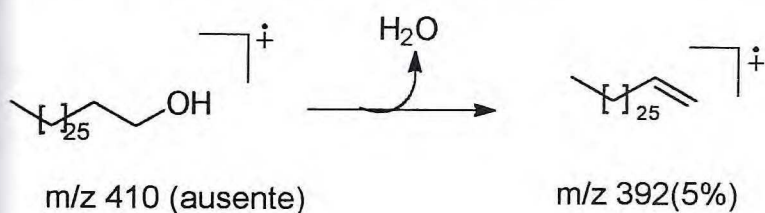
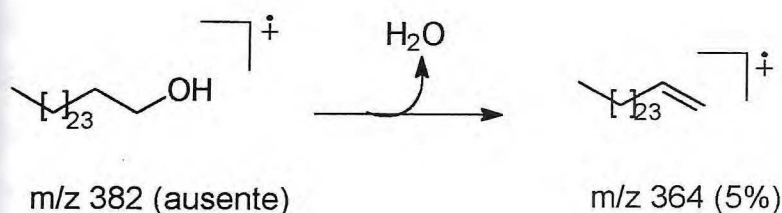
Através destes dados foi possível propor para **III** uma mistura de dois álcoois alifáticos (**IIIa** e **IIIb**). Com base nas intensidades dos picos em m/z 392 e 364 (Fig. 103, p. 294) e considerando-se a mesma estabilidade para os íons moleculares, pode-se admitir que a mistura contém aproximadamente 50% de cada álcool.



**IIIa** ( $\text{M}^+$  410)



**IIIb** ( $\text{M}^+$  382)

Quadro 16. Fragmentações no espectrômetro de massa de **IIIa** e **IIIb**.**IIIa****IIIb**

$\Rightarrow$ BLHR-C(30-32) (**IV**) é um sólido branco cristalino com p.f.= 58,0-63,0°C.

O espectro de absorção no I.V.(Fig. 105, p. 296) apresentou bandas compatíveis com os grupos: carbonila de ácido ( $\nu_{\text{C=O}}$  1705  $\text{cm}^{-1}$ ), hidroxila de ácido ( $\nu_{\text{OH}}$  3400- 2500  $\text{cm}^{-1}$ ) e grupos metílicos e metilênicos ( $\nu_{\text{C-H}}$  2956- 2849  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\delta_{\text{CH}}$  1380 e 1460  $\text{cm}^{-1}$ ).

O espectro de massa (Fig. 106 , p. 297) revelou picos em m/z 452, 424, 396, 368 que foram atribuídos a componentes de uma mistura de ácidos carboxílicos alifáticos (**IVa** - **IVd**). Os picos em m/z 73 (100%, pico base) e 60 foram interpretados como representantes dos fragmentos inseridos também no Quadro 17 (p. 231). Esta mistura é previsível por argumentação biogenética, já que são policetídeos bioproduzidos pela via do acetilcoenzima A.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 107 ,p. 298 ) apresenta os deslocamentos químicos em  $\delta$  2,28 ppm (t) atribuído aos hidrogênios sustentados pelo carbono  $\alpha$  em relação ao grupo carboxílico, interagindo com os dois hidrogênios do carbono  $\beta$ . Os deslocamentos químicos em  $\delta$  1,56- 0,68 ppm foram atribuídos aos hidrogênios metílicos e metilênicos e em  $\delta$  5,70 ppm foi correlacionado ao hidrogênio da hidroxila. Este espectro revela a presença de outras substâncias, provavelmente terpenoídicas. Alguns

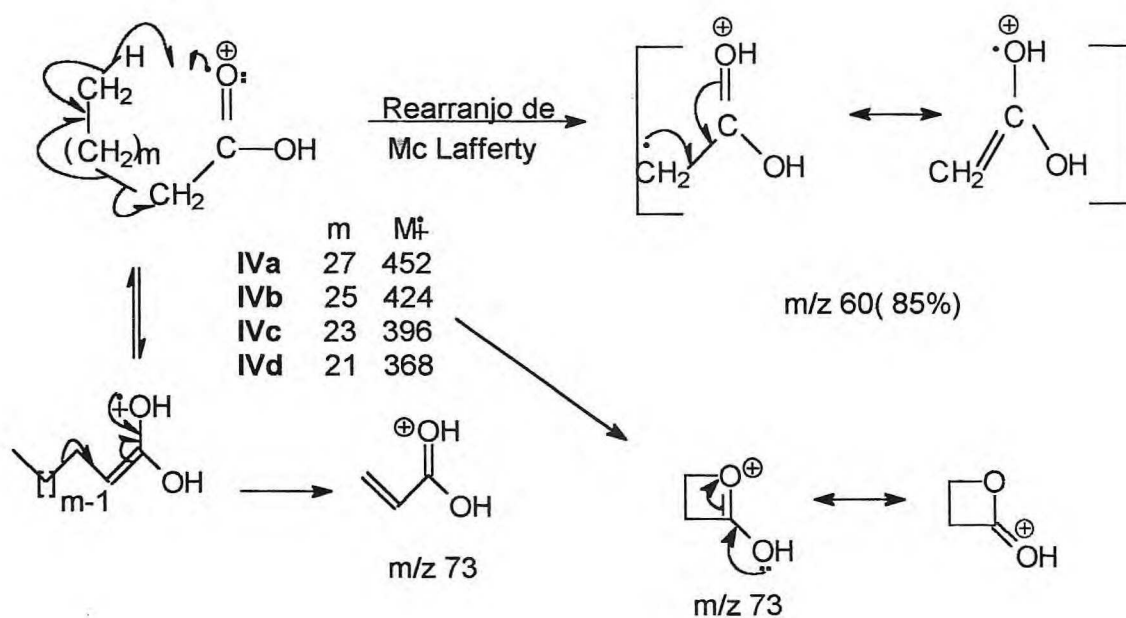


sinais presentes neste espectro e o pico em  $m/z$  412 registrado no espectro de massa (Fig. 106, p. 297) permitem especular a respeito da presença de estigmasterol ou seu isômero.

Através destes dados foi possível considerar IV como uma mistura de ácidos carboxílicos alifáticos (IVa - IVd).

		n	M <sup>+</sup>	%
CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> -COOH	IVa	28	452	35
	IVb	26	424	37
	IVc	24	396	30
	IVd	22	368	40

Quadro 17. Fragmentações no espectrômetro de massa de IV



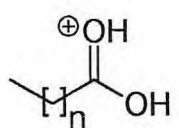
A fração BLHR-C(30-32) (IV) é igual a fração BLHR-C(33-35).

⇒ BLER-H/H(2) (V) é um sólido amorfo, branco, com p.f.= 59,3-66,0°C.

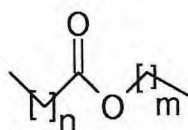
O espectro de absorção na região do I.V.(Fig. 108 , p. 299) apresentou bandas compatíveis com a presença de carbonila de ester saturado ( $\nu_{C=O}$  1735  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu_{C-O}$  1195 e 1175  $\text{cm}^{-1}$ ) e bandas típicas de grupamentos metílicos e metilênicos ( $\nu_{C-H}$  2956-2949  $\text{cm}^{-1}$ ).

O espectro de massa (Fig. 109 ,p. 300) revelou-se compatível com uma mistura de esteres alifáticos, podendo-se observar duas séries de íons moleculares com diferença de 28 daltons : i) m/z 494, 466 e 438 e ii) m/z 454, 426 e 398. Assim, a análise desta mistura requer investigação através de GC/MS, para garantir esta interpretação preliminar. Os picos em m/z 369, 341, 313, 285 e 257 podem ser atribuídos aos fragmentos envolvendo as unidades acila dos esteres, formados através de arranjo de átomos de hidrogênio.

Quadro18. Fragmentações de V no espectrômetro de massa.

	n	m/z	%
	22	369	82
	20	341	20
	18	313	15
	16	285	60
	14	257	98

As unidades alquila podem ser deduzidas através dos grupos acila correspondentes aos fragmentos acima postulados. Como exemplo:-

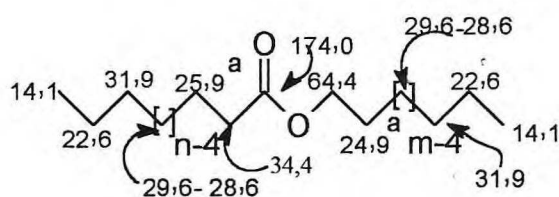


$$15 + 14n + 44 + 14m + 15 = 494$$

$$n=22 \rightarrow m=8$$

$$n=14 \rightarrow m=16$$

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - PND apresentou 12 linhas espectrais, mostrando que vários carbonos têm a mesma absorção (Fig. 110, p. 301 ).



<sup>a</sup> podem ser trocados

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  apresenta os sinais com deslocamentos químicos atribuídos aos prótons metílicos em  $\delta$  0,85 (t) e metilênicos em  $\delta$  1,58- 1,10 ppm. A absorção em  $\delta$  2,20 ppm (t, 2H) foi atribuída aos hidrogênios vizinhos ao grupo carboxílico. O sinal em  $\delta$  4,03 ppm (t, 2H) foi correlacionado com os átomos de hidrogênio do grupo metilênico hidroxilado do ester (Fig. 111, p. 302).

$\Rightarrow$  BLER-C(54-74)(VI) é um sólido cristalino, amarelo esverdeado com p.f.= 198,0-202,9°C.

O espectro de absorção na região do I.V. (Fig. 112, p. 303) apresentou bandas compatíveis com a presença de carbonila lactônica conjugada ( $\nu_{\text{C=O}}$  1704  $\text{cm}^{-1}$ ), hidroxila fenólica ( $\nu_{\text{OH}}$  3338- 3281  $\text{cm}^{-1}$ ), sistema aromático ( $\nu_{\text{C=C}}$  do anel 1600, 1585,1500, 1460  $\text{cm}^{-1}$ ) e  $\nu_{\text{C-O}}$  1288-1141  $\text{cm}^{-1}$ .

O espectro de massa (Fig. 113 ,p. 304), forneceu o pico correspondente ao íon molecular ( $\text{M}^+$ ) em m/z 192 daltons (100%) que também corresponde ao pico base, sugerindo a fórmula molecular  $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$  . As principais fragmentações para o citado composto são mostradas no Quadro 19.

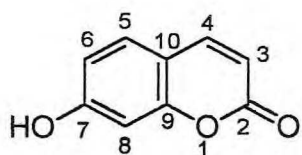
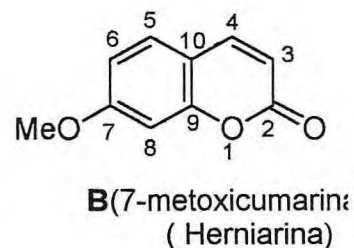
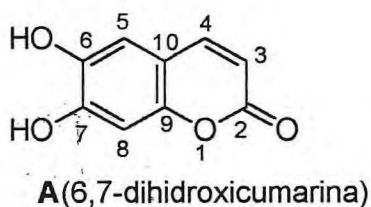
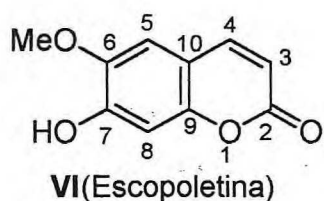
A confirmação da fórmula molecular baseou-se nas informações acima citadas, no número de sinais de átomos de carbono revelado pelo espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -PND (Fig. 114, p. 305) e na determinação do número de átomos de hidrogênio através dos sinais de carbono nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ - DEPT 135° ( Fig.115, p.306) e RMN  $^1\text{H}$  ( Fig. 116, p. 307 ).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - PND apresentou 10 linhas espectrais, correspondentes ao número de átomos de carbono. A comparação deste espectro com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - DEPT  $135^\circ$  permitiu reconhecer os sinais correspondentes a carbonos: metílico, metínicos, e quaternários. Assim, surgiu a expansão da fórmula molecular  $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$  para  $(\text{C}=\text{O})(\text{C}=\text{CH})_2(\text{C}=\text{C})(\text{CH}=\text{CH})(\text{C}-\text{OH})(\text{C}-\text{OMe})$ , contendo cinco insuficiências de hidrogênio, sendo as duas restantes atribuídas a dois sistemas cíclicos.

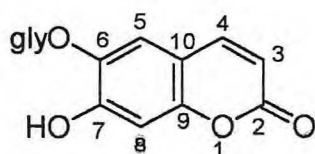
Os dados de RMN  $^{13}\text{C}$ - PND de VI foram comparados com dados de outras cumarinas (A, B, C, D, E e F) descritas na literatura (Tabela 19).

Tabela 19. Dados de RMN  $^{13}\text{C}$ - PND de (VI) comparados com dados de análogos da literatura<sup>27-30</sup>.

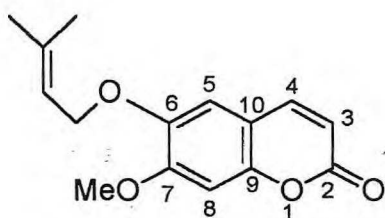
C	VI	A	B	C	D	E	F
2	162,4	161,4	160,1	160,7	160,5	161,4	161,5
3	110,9	112,0	112,3	111,7	112,1	113,3	113,2
4	144,2	144,5	143,8	144,3	144,4	143,3	143,3
5	107,7	112,9	129,1	129,5	115,0	109,7	107,8
6	145,1	143,2	129,1	113,3	142,6	146,4	146,5
7	150,8	150,6	162,4	161,6	151,4	153,3	152,0
8	102,4	103,2	100,5	102,5	103,1	99,9	101,0
9	149,4	149,1	155,3	155,7	150,5	150,0	149,8
10	110,6	111,4	112,0	111,5	110,8	111,3	112,2
CH <sub>3</sub> O	55,2	-	55,6	-	-	-	-



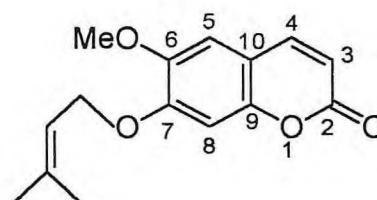
**C** (7-hidroxicumarina)  
(Umbeliferona)



**D** (6-β-D-glucosil-7-hidroxicumarina)

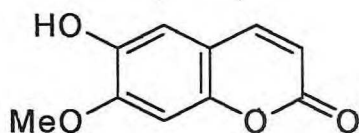


**E** (6-(3,3-dimetilaliloxi)-7-metoxicumarina)



**F** (7-(3,3-dimetilaliloxi)-6-metoxicumarina)

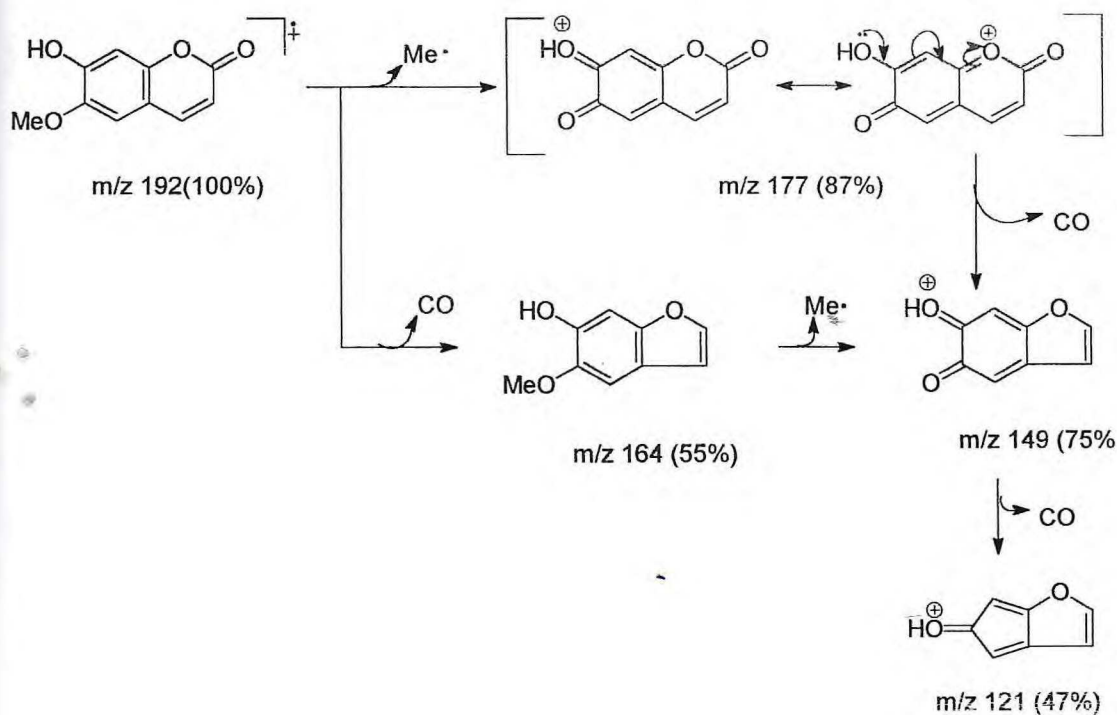
A hipótese da substância VI ser a isoescopoletina (G) foi eliminada após leitura do espectro na região do ultra-violeta (UV) na presença de acetato de sódio (AcONa) (Figs. 117 e 118, p. 308) e através de informação encontrada na literatura<sup>28</sup>, revelando que a isoescopoletina não apresenta o pico  $[M - 15]^+$  com a intensidade significativa quando comparada com a da escopoletina ( $m/z$  177 intenso).



**G** (Isoescopoletina)

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  a caracterização adicional do sistema cumarínico foi evidenciado através dos deslocamentos químicos atribuídos aos prótons metínicos em  $\delta$  6,17 ppm (d,  $J=9,4$  Hz, H-3) e  $\delta$  7,72 ppm (d,  $J=9,4$  Hz, H-4). Os sinais em  $\delta$  6,92 ppm (s, H-5), 6,75 ppm (s, H-8), 3,87 ppm (s,  $\text{OCH}_3$ ) e 4,68 ppm (s, OH-7), confirmaram o padrão de substituição e a presença dos substituintes OH e OMe.

Quadro 19. Fragmentações de VI no espectrômetro de massa.

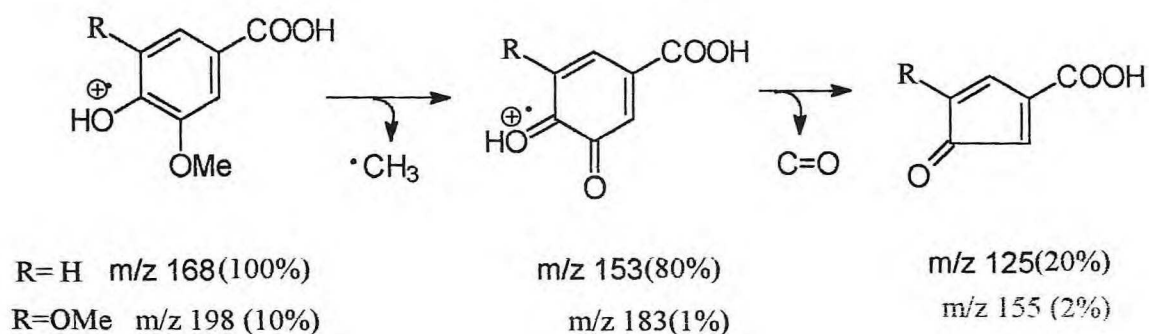


⇒ BLER-M/C(49-61) (**VII**) é um sólido cristalino, branco, com p.f.= 182,0-185,5°C.

O espectro na região do I.V. (Fig. 119, p.309) apresentou bandas compatíveis com a presença de hidroxila de ácido ( $\nu_{\text{OH}}$  3200- 2500  $\text{cm}^{-1}$ ), carbonila de ácido conjugada ( $\nu_{\text{C=O}}$  1683  $\text{cm}^{-1}$ ), hidroxila fenólica ( $\nu_{\text{OH}}$  3487  $\text{cm}^{-1}$ - livre),  $\nu_{\text{C=C}}$  do anel aromático 1600, 1500,1460  $\text{cm}^{-1}$  e ligação éter ( $\nu_{\text{C-O}}$  1238  $\text{cm}^{-1}$ ).

O espectro de massa (Fig. 120, p.310), revelou dois picos correspondentes a dois íons moleculares ( $\text{M}^+$ ), sugerindo ser uma mistura, com íons moleculares  $m/z$  168,0345 daltons (100%,  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4 \rightarrow m/z$  168,0423;  $\Delta m/z = 0,0078$ ) para **VIIa** e  $m/z$  198,0441 daltons (10%,  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5 \rightarrow m/z$  198,0540;  $\Delta m/z = 0,0099$ ) para **VIIb**. A diferença de 30 daltons foi atribuída à presença de uma metoxila adicional em **VIIb**. A estrutura de **VIIa** está em acôrdo com os espectros de RMN  $^1\text{H}$  ( Fig. 121, p. 311) e RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 122, p. 312). Considerando-se a mesma estabilidade para os íons moleculares de **VIIa** e **VIIb**, as percentagens aproximadas dos dois componentes na mistura podem ser calculadas: 9,1 de **VIIb** e 90,9% de **VIIa**.

Quadro 20. Fragmentações no espectrômetro de massa de **VIIa** e **VIIb**.



Os dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de **VIIa** foram comparados com dados da literatura<sup>31</sup> (Tabela 20, p. 238). Os picos restantes são pertencentes a substância **VIIb**.

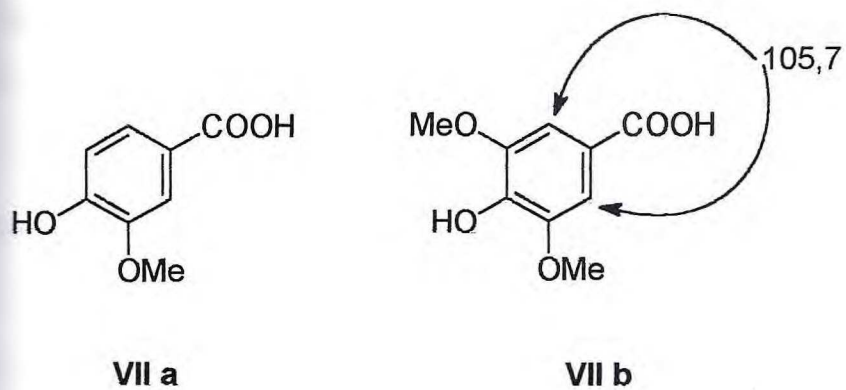


Tabela 20. Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de VIIa e do ácido vanílico obtidos na literatura<sup>31</sup>

C	Literatura <sup>a</sup>	VIIa
1	122,8	121,6
2	113,5	112,0
3	148,0	146,1
4	152,0	150,7
5	115,5	114,1
6	124,9	125,1
C=O	167,9	166,3
MeO	56,3	56,1

<sup>a</sup> As amostras foram dissolvidas em solução de perdeuterioacetona.



⇒ BLER-M/C(1-11) (**VIII**) é um sólido cristalino, branco, com p.f.=160,7-164,2°C, e é igual a fração BLMCC-A/C(10-11).

O espectro no I.V. (Fig. 123 , p. 313) de **VIII** revelou bandas características de grupos OH ( $\nu_{OH}$  3300  $cm^{-1}$ ) e alquila ( $\nu_{C-H}$  2950-2800 $cm^{-1}$ )

A análise dos espectros de RMN  $^1H$  (Fig. 124 , p. 314) e RMN  $^{13}C$ - PND e DEPT 135° (Figs. 125 e 126 , p. 315 e 316 ) do derivado acetilado permitiu reconhecer a presença de esteróides 3- $\beta$ -O- $\beta$ -O- glicopiranosilsterol (**VIII**) e 3- $\beta$ -O- $\beta$ -O- glicopiranosilestigmasterol (**VIIIa**) acetilados. A confirmação destes compostos, envolveu principalmente a comparação dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono, com valores descritos na literatura<sup>32</sup>(Tabela 21 ). Os sinais em  $\delta$  128,5 e 139,0 representam os átomos de carbono C-23 e C-22, respectivamente, de **VIIIa**.

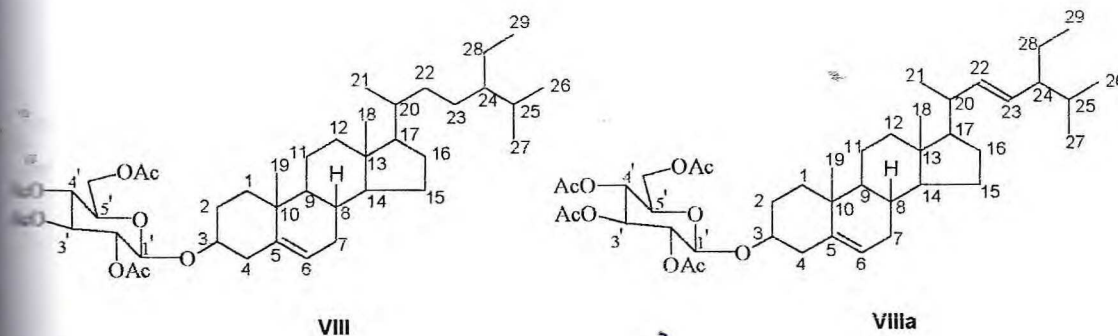


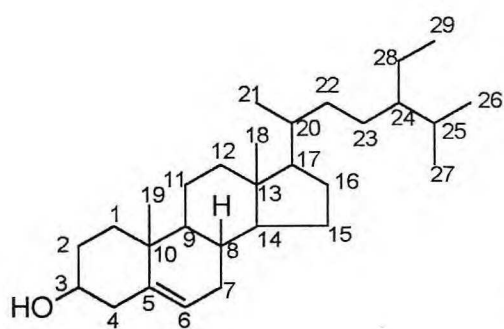
Tabela 21. Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de VIII e Glicosídeo/Ac.<sup>32</sup>

C	VIII	Glicosídeo/Ac
1	37,1	37,2
2	29,3	29,5
3	80,0	80,0
4	38,8	38,9
5	140,2	140,3
6	122,1	122,0
7	31,7	31,8
8	31,8	31,8
9	50,1	50,2
10	36,6	36,5
11	20,9	20,9
12	39,6	39,7
13	42,3	42,3
14	55,9	56,7
15	24,2	24,2
16	28,2	28,1
17	56,7	56,1
18	11,8	11,9

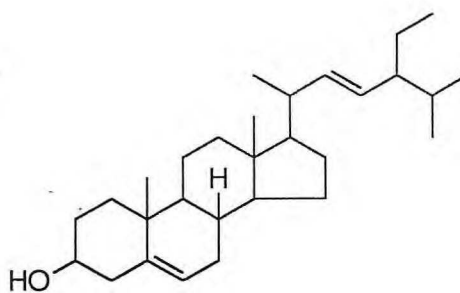
19	19,3	19,2
20	36,0	36,0
21	18,7	18,7
22	33,6	34,0
23	25,9	26,1
24	45,7	45,8
25	29,0	29,1
26	19,7	19,7
27	18,9	18,9
28	23,0	23,0
29	11,8	11,0
1'	99,6	99,6
2'	71,6	71,7
3'	72,8	73,0
4'	68,4	68,7
5'	71,4	71,5
6'	62,0	61,9

⇒ BLMCR-C/C(30-31) (**IX**) é um sólido cristalino, branco, com p.f.= 120,0-123,0°C e apresenta no I.V. bandas características de grupos OH ( $\nu_{OH}$  3400  $cm^{-1}$ ) e alquila ( $\nu_{C-H}$  2950- 2800 $cm^{-1}$ ) (Fig 127, p. 317 ).

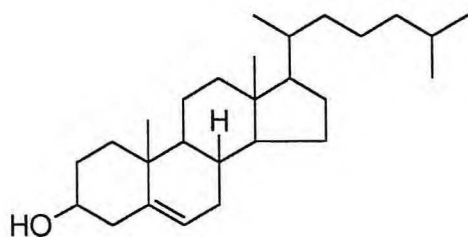
Comparação de **IX** com amostra padrão em CCD, indicou a presença de uma mistura de  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol. A confirmação destes compostos, no entanto, envolveu principalmente a comparação dos dados fornecidos pelos espectros de RMN  $^{13}C$ - PND e DEPT 135° (Figs.128 e 129, p. 318 e 319 ) com valores descritos na literatura<sup>23</sup> (Tabela 22).



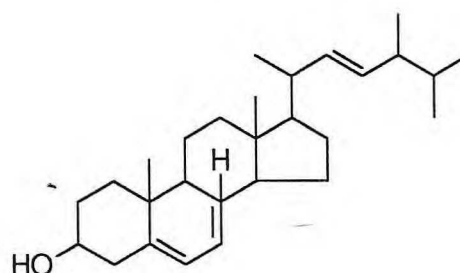
**IX a** ( $\beta$ -sitosterol)



**IX b**(Estigmasterol)



Colesterol



Ergosterol

Tabela 22. Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de (IXa) e (IXb) comparados com dados de análogos da literatura<sup>23</sup>.

C	IXa	$\beta$ -sitosterol	Colesterol	IXb	Ergosterol
1	37,2	37,2	37,7	37,2	38,6
2	31,6	31,6	31,6	31,9	32,6
3	71,7	71,8	71,3	71,7	69,7
4	42,2	42,3	42,4	42,3	41,1
5	140,7	140,7	141,2	140,7	140,7
6	121,7	121,7	121,3	121,7	119,4
7	31,8	31,9	32,0	31,6	116,7
8	31,8	31,9	32,0	31,9	140,6
9	50,0	50,1	50,5	51,2	46,5
10	36,4	36,5	36,5	36,7	37,2
11	21,0	21,1	21,2	21,2	21,2
12	39,7	38,8	28,3	39,7	28,3
13	42,2	42,3	42,4	42,2	43,0
14	56,7	56,7	56,9	56,8	54,6
15	24,2	24,3	24,3	24,3	23,1
16	28,2	28,2	40,0	28,9	39,4
17	55,9	56,0	56,5	55,9	56,0

18	11,8	11,8	12,0	11,8	11,8
19	19,8	19,4	19,4	19,3	16,0
20	36,1	36,1	35,8	40,4	40,5
21	18,9	19,0	18,8	18,9	19,4
22	33,8	33,9	36,4	138,3	132,2
23	25,9	26,1	24,1	129,2	136,0
24	45,7	45,8	39,6	45,8	43,0
25	29,0	29,1	28,0	29,1	19,7
26	18,7	18,7	22,5	18,7	33,2
27	19,8	19,8	22,8	19,8	21,0
28	22,1	22,0	-	23,0	17,4
29	11,9	11,9	-	12,2	-

⇒ BLHCC-C/A(350-494) (X) é um sólido cristalino, branco, com p.f. = 238,5-241,8°C.

O espectro de absorção na região do I.V.(Fig. 130, p. 320), apresentou bandas compatíveis com a presença de amida ( $\nu_{\text{N-H}}$  3459- 3291  $\text{cm}^{-1}$ ), carbonila de amida ( $\nu_{\text{C=O}}$  1649  $\text{cm}^{-1}$ ) e aromaticidade ( $\nu_{\text{C=C}}$  1598, 1580, 1494  $\text{cm}^{-1}$ ).

O espectro de massa (Fig. 131, p. 321), forneceu o pico correspondente ao íon molecular ( $\text{M}^+$ ) em m/z 212 daltons (7%) e o pico base em m/z 93 daltons (100%), sugerindo a fórmula molecular  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{ON}_2$  (Quadro 21).

A confirmação da fórmula molecular  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{ON}_2$  baseou-se nas informações acima citadas, no número de sinais de átomos de carbono revelado pelo espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - PND (Fig. 132, p. 322) e na determinação do número de átomos de hidrogênio em decorrência da multiplicidade dos sinais de carbono deduzida através do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (Fig. 133, p. 323: CH e  $\text{CH}_3$  em fase oposta a  $\text{CH}_2$ ) e espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 134, p. 324).

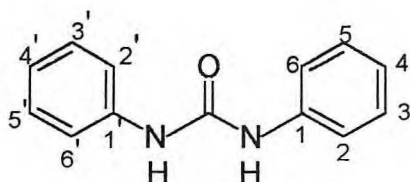
O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - PND apresentou cinco linhas espectrais. A comparação deste espectro com o RMN  $^{13}\text{C}$ - DEPT 135° permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Assim, surgiu a expansão da fórmula molecular  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{ON}_2$  para  $(\text{C}=\text{O}) (\text{C}=\text{CH})_2 (\text{CH}=\text{CH})_4$ , contendo seis insuficiências de hidrogênio. As duas insuficiências restantes foram atribuídas a dois sistemas cíclicos.

De acordo com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - PND pôde-se atribuir o sinal em  $\delta$  153,8 ppm a carbonila conjugada da amida, assim como reconhecer o caráter dos carbonos aromáticos pelas absorções em  $\delta$  140,7 (C-1,1'),  $\delta$  119,2(C-2,2',6,6'),  $\delta$  129,3 (C-3,5,3',5') e  $\delta$  122,4(C-4,4').

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  foi evidenciado a caracterização do anel aromático monossustituído. As absorções em  $\delta$  7,86 ppm (d, J=8,0 Hz, H-2,6,2',6'),  $\delta$  7,33 ppm (t, J=8,0 Hz, H-3,5,3',5') e  $\delta$  7,03 ppm (t, J=8,0 Hz, H-4,4') foram atribuídas aos prótons metínicos do anel aromático. O sinal em  $\delta$  9,35 ppm(s) foi atribuído ao próton do nitrogênio.

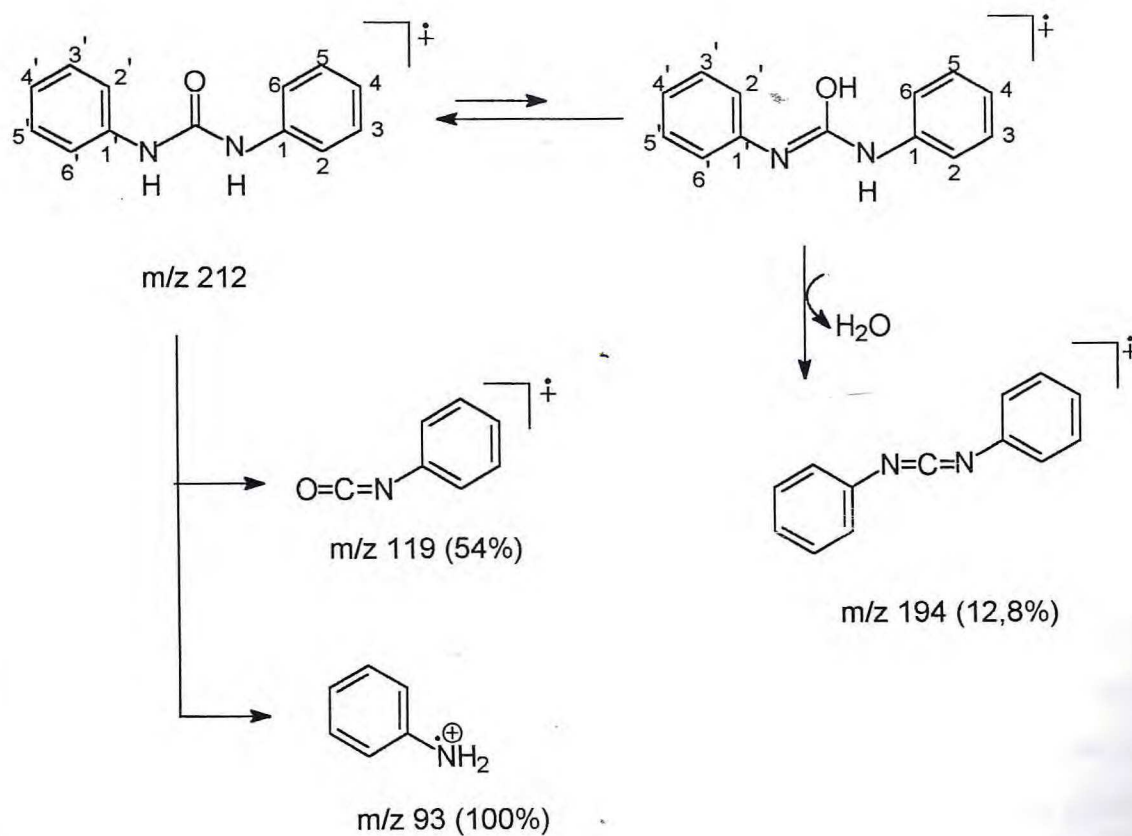
Através do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$  x  $^{13}\text{C}$ - COSY-  $^1J_{\text{CH}}$ ) (Fig.135, p. 325) cada absorção de hidrogênio foi correlacionada através de uma ligação ( $^1J_{\text{CH}}$ ) com seu respectivo carbono.

De acordo com os dados acima mencionados, foi concluído que **X** tratava-se da  $N,N'$ - difeniluréia.



**X**( $N,N'$ - difeniluréia)

Quadro 21. Fragmentações de (**X**) no espectrômetro de massa.





### **3.4. EXPERIMENTAL**

#### **3.4.1. MATERIAL E MÉTODOS**

Uma espécimen da espécie *Bursera leptophloeos*, família Burceraceae, foi coletada na fazenda de Santo Onofre no município de Itapiúna, Estado do Ceará. Uma exsicata da planta representando esta coleta encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, registrada sob o número 23.549.

Esta espécimen foi separada em raiz (3,8700 kg), lenho (6,3450 kg), casca da raiz (315,00 g) e casca do caule (2,1300 kg). As partes, depois de sêcas ao ar, foram trituradas e submetidas, separadamente, à extração (à frio) com hexano e depois com etanol.

#### **3.4.2. ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES**

##### **3.4.2.1. OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL**

O lenho (1,0900 g) e a raiz (345,00 g) foram extraídos com vapor d'água e não forneceram óleo essencial. A casca do caule (2,1100 g) e a casca da raiz (555,00 g) forneceram 1,8 mL e 0,2 mL de óleo essencial, respectivamente (Tabela 23).

Tabela 23- Constituintes voláteis do óleo essencial das cascas do caule e das raízes de *Bursera leptophloeos*.

CASCA DO CAULE	CASCA DA RAÍZ
$\alpha$ - cubebeno	$\beta$ - elemeno
<i>Trans</i> - cariofileno	<i>Trans</i> - cariofileno
$\alpha$ - bergamopteno	$\alpha$ - santaleno
$\beta$ - selineno	$\alpha$ - bergamopteno
$\alpha$ - muuroleno	$\alpha$ - humuleno
calameno	selin-4,7(11)-dieno
$\delta$ -cadineno	eremofileno
óxido de cariofileno	$\delta$ -cadineno
guaíol	elemol
germacrona	óxido de cariofileno
	germacrona
	$\alpha$ -isopropil-1-metoxi-4,7-dimetilnaftaleno

### 3.4.2.2. ESTUDO DOS CONSTITUINTES FIXOS

#### \* Preparação dos extratos e isolamento dos constituintes da raíz, da casca da raíz e da casca do caule.

As raízes moídas (3,8700kg) foram extraídas exaustivamente com hexano à temperatura ambiente. Após evaporação do solvente sob pressão reduzida, obteve-se 8,8150g de extrato bruto.

Este extrato bruto (8,8150g) foi cromatografado em coluna de sílica-gel, utilizando-se a sequência dos seguintes eluentes: hexano, hexano/clorofórmio, clorofórmio, clorofórmio/metanol e metanol. As 96 frações coletadas (250mL cada uma) foram concentradas sob pressão reduzida, analisadas em CCD e em seguida reuniu-se àquelas que se mostraram semelhantes (Tabela 24, Fr. 1 a Fr. 96, Esquema 09).

Tabela 24- Fracionamento do extrato hexânico da raiz da *Bursera leptophloeos* através de coluna filtrante

FRACÇÕES	ELUENTE	ASPECTO	DENOMINAÇÃO
Fr. 1	hexano(100%)	amarelo claro	BLHR-H(1)
Fr. 2	hexano(100%)	amarelo claro	BLHR-H(2)
Fr. 3	hexano(100%)	sólido amarelo claro	BLHR-H(3)
Fr. 4-5	hexano(100%)	sólido amarelo claro	BLHR-H(4-5)
Fr. 6-11	hexano(100%)	óleo amarelo claro	BLHR-H(6-11)
Fr. 12-19	hexano/CHCl <sub>3</sub> (95/5)	sólido amarelo claro	BLHR-C(12-19)
Fr. 20-23	hexano/CHCl <sub>3</sub> (90/10)	sólido branco-amarelado	BLHR-C(20-23)
Fr. 24-27	hex./CHCl <sub>3</sub> (80/20)	sólido branco-amarelado	BLHR-C(24-27)
Fr. 28-29	hex./CHCl <sub>3</sub> (70/30)	sólido branco-amarelado	BLHR-C(28-29)
Fr. 30-32	hex./CHCl <sub>3</sub> (70/30)	sólido branco-amarelado	BLHR-C(30-32)
Fr. 33-35	hex./CHCl <sub>3</sub> (60/40)	sólido branco-amarelado	BLHR-C(33-35)
Fr. 36-41	hex./CHCl <sub>3</sub> (50/50)	sólido branco-amarelado	BLHR-C(36-41)
Fr. 42-43	hex./CHCl <sub>3</sub> (40/60)	sólido branco-amarelado	BLHR-C(42-43)
Fr. 44	hex./CHCl <sub>3</sub> (40/60)	óleo amarelo claro	BLHR-C(44)
Fr. 45-47	hex./CHCl <sub>3</sub> (40/60)	óleo amarelo claro	BLHR-C(45-47)
Fr. 48-49	hex./CHCl <sub>3</sub> (30/70)	óleo amarelo claro	BLHR-C(48-49)
Fr. 50-53	hex./CHCl <sub>3</sub> (30/70)	óleo amarelo claro	BLHR-C(50-53)
Fr. 54-59	hex./CHCl <sub>3</sub> (20/80)	óleo amarelo claro	BLHR-C(54-59)
Fr. 60-65	hex./CHCl <sub>3</sub> (10/90)	óleo amarelo claro	BLHR-C(60-65)
Fr. 66-70	CHCl <sub>3</sub> (100%)	óleo + cristais	BLHR-C(66-70)
Fr. 71	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(99/1)	óleo amarelo	BLHR-M (71)
Fr. 72-74	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(97/3)	óleo amarelo	BLHR-M (72-74)
Fr. 75-76	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(97/3)	óleo marrom claro	BLHR-M(75-76)
Fr. 77-83	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(90/10)	óleo marrom claro	BLHR-M(77-83)
Fr. 84-89	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(80/20)	óleo marrom claro	BLHR-M(84-89)
Fr. 90-92	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(60/40)	óleo marrom claro	BLHR-M(90-92)
Fr. 93-95	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(30/70)	óleo marrom claro	BLHR-M(93-95)
Fr. 96	MeOH(100%)	óleo marrom claro	BLHR-M(96)

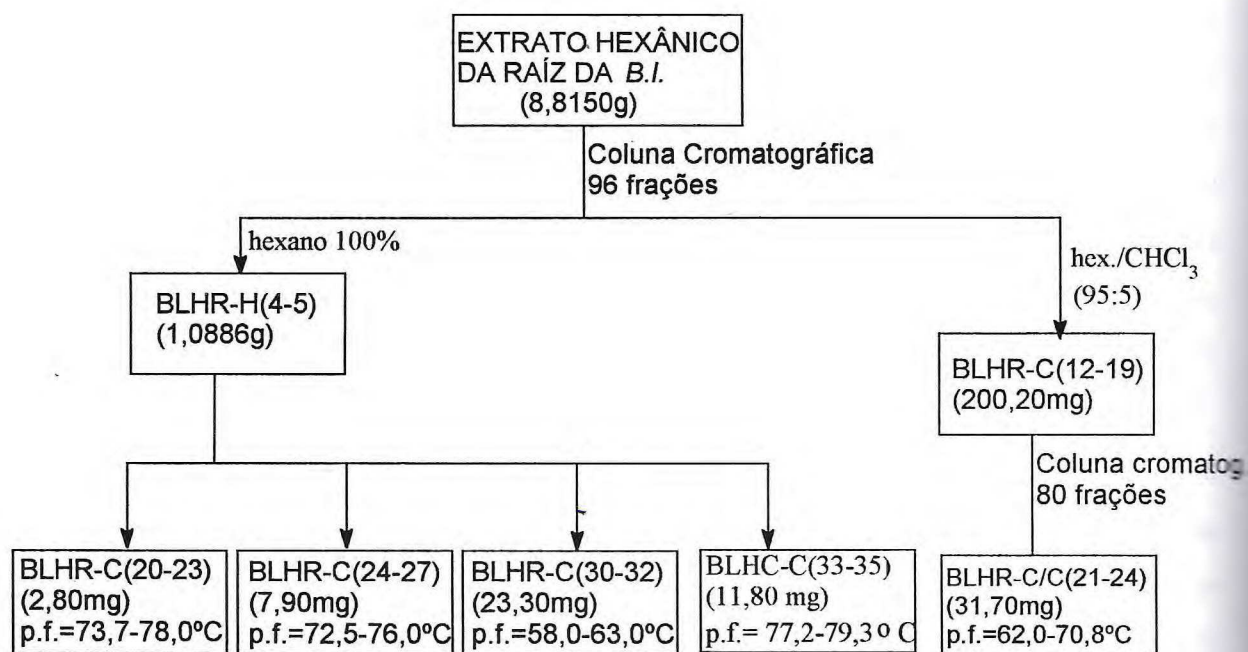
A coluna quando eluída com hexano (100%), Fr.4-5 (Tabela 24), denominada BLHR-H(4-5) foi recromatografada em sílica-gel e eluída sequencialmente com: hexano, hexano/CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH e MeOH, usando-se um gradiente crescente de polaridade. As 93 frações obtidas foram comparadas por CCD e reuniu-se àquelas que se mostraram semelhantes. As frações eluídas com: hex/CHCl<sub>3</sub>(90/10)[BLHR-H/C(20-23)] (2,80mg), hex./CHCl<sub>3</sub>(80/20)[BLHR-H/C(24-27)](7,90 mg) , hex./CHCl<sub>3</sub>(70/30)[BLHR-H/C(30-32)](23,30 mg) e hex./CHCl<sub>3</sub>(60/40)[BLHR-H/C(33-35)](11,80 mg), forneceram uma substância sólida branca com os respectivos pontos de fusão: p.f.=73,7-78,0°C; p.f.=72,5-76,0°C; p.f.=58,0-63,0°C e p.f.=77,2-79,3°C.

A coluna quando eluída com hex./CHCl<sub>3</sub>(95/5)(Tabela 24), denominada BLHR-C(12-19) (200,20 mg) foi recromatografado em sílica-gel e eluída sequencialmente com: hexano, hexano/CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH e MeOH, usando-se gradiente crescente de polaridade. As 80 frações obtidas depois de comparadas por CCD foram reunidas. A fração 21-24, denominada BLHR-C/C(21-24)(31,70 mg) apresentou-se como um sólido amarelo claro com p.f. 62,0-70,8°C, sendo identificado, através de métodos cromatográficos, como uma mistura de duas substâncias naturais.

A coluna quando eluída com hex./CHCl<sub>3</sub> (80/20) forneceu uma fração denominada BLHR-C(24-27) (7,90 mg) que apresentou-se na forma de um sólido branco amorfo, com p.f. = 72,5-76,0°C, que foi identificado, através de métodos cromatográficos, como sendo uma mistura de dois álcoois alifáticos.

As frações BLHR-C(30-32) e BLHR-C(33-35) revelaram-se idênticas por CCD e foram identificadas, através de métodos espectrométricos, como sendo uma mistura de ácidos carboxílicos alifáticos.

Esquema 09- Fluxograma do estudo do extrato hexânico da raiz da *Bursera leptophloeos*



A torta da raiz (3,8700 kg) foi também extraída exaustivamente com etanol à temperatura ambiente. Após evaporação do solvente sob pressão reduzida, obteve-se 54,31 g do extrato bruto. Este extrato foi cromatografado em coluna de sílica-gel, utilizando-se a sequência dos seguintes eluentes em gradiente crescente de polaridade: hexano, clorofórmio e metanol. As 174 frações coletadas (250mL cada uma) foram analisadas através de CCD, reunindo-se àquelas que se mostraram semelhantes (Tabela 25, Fr.1 a Fr.174, Esquema 10).

Tabela 25- Fracionamento do extrato etanólico da raiz da *Bursera leptophloeos* através de coluna filtrante.

FRAÇÕES	ELUENTE	ASPECTO	DENOMINAÇÃO
Fr. 1	hexano(100%)	óleo verde claro	BLER-H(1)
Fr. 2	hexano(100%)	óleo verde claro	BLER-H(2)
Fr. 3	hexano(100%)	óleo verde claro	BLER-H(3)
Fr. 4-6	hexano(100%)	óleo verde claro	BLER-H(4-6)
Fr. 7-29	hex./CHCl <sub>3</sub> (70/30)	óleo verde claro	BLER-C(7-29)
Fr. 30-44	hex./CHCl <sub>3</sub> (40/60)	óleo verde claro	BLER-C(30-44)
Fr. 45-53	hex./CHCl <sub>3</sub> (30/70)	marrom claro	BLER-C(45-53)
Fr. 54-74	hex./CHCl <sub>3</sub> (10/90)	amarelo esverdeado	BLER-C(54-74)
Fr. 75-101	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(95/5)	marrom escuro	BLER-M(75-101)
Fr. 102-107	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(90/10)	marrom	BLER-M(102-107)
Fr. 108-111	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(80:20)	marrom escuro	BLER-M(108-111)
Fr. 112-113	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(80:20)	marrom escuro	BLER-M(112-113)
Fr. 114-118	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(80/20)	marrom escuro	BLER-M(114-118)
Fr. 119-122	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(80/20)	marrom escuro	BLER-M(119-122)
Fr. 123-128	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(70/30)	marrom escuro	BLER-M(123-128)
Fr. 129-134	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(70/30)	marrom escuro	BLER-M(129-134)
Fr. 135-149	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(50/50)	marrom escuro	BLER-M(135-149)
Fr. 150-167	CHCl <sub>3</sub> /MeOH(30/70)	marrom escuro	BLER-M(150-167)
Fr. 168-174	MeOH(100%)	sólido marrom	BLER-M(168-174)

A coluna (Tabela 25) quando eluída com hexano(100%), forneceu uma fração denominada BLER-H(4-6) (Tabela 25, Esquema 10) (367,60 mg) que foi recromatografada em sílica-gel e eluída com: hexano, hexano/CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH e MeOH, com gradiente crescente de polaridade. As 67 frações obtidas depois de comparadas por CCD e reuniu-se as que se mostraram semelhantes. A fração 2, eluída com hexano(100%), denominada BLER-H/H(2) forneceu um sólido branco (10,60mg) com p.f.=60,3-66,0°C que foi identificado como um éster alifático.

A coluna (Tabela 25) quando eluída com hexano/ $\text{CHCl}_3$ (70/30) forneceu uma fração denominada [BLER-C(7-29)(2,0313g), que também foi recromatografada em sílica-gel e eluída com: hexano, hex./ $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3$ /acetato, acetato, acetato/MeOH e MeOH com gradiente crescente de polaridade. As 30 frações obtidas foram analisadas por CCD, reunindo-se àquelas que se mostraram semelhantes.

A coluna (Tabela 25) quando eluída com hexano/ $\text{CHCl}_3$ (40/60) forneceu uma fração denominada [BLER-C(30-44)(3,0473g)], que também foi recromatografada em sílica-gel e eluída com o mesmo sistema de solventes da coluna cromatográfica anterior. As 29 frações obtidas foram analisadas por CCD, reunindo-se àquelas que se mostraram semelhantes.

A coluna (Tabela 25) quando eluída com  $\text{CHCl}_3$ (100%) forneceu uma fração denominada BLER-C(54-74) que após recristalização forneceu um sólido amarelo esverdeado(80,00mg) com p.f.=198,0-202,9°C que apresentou uma grande fluorescência quando exposto à lâmpada de UV e foi identificada, através de métodos espectrométricos, como sendo uma cumarina.

A coluna (Tabela 25) quando eluída com  $\text{CHCl}_3$ /MeOH(95/5), forneceu uma fração denominada [BLER-M(75-101)(8,3303g)] que foi recromatografada em sílica-gel e eluída com o mesmo sistema de solventes da coluna anterior. As 109 frações obtidas foram analisadas por CCD, reunindo-se àquelas que se mostraram semelhantes. A coluna quando eluída com hexano/ $\text{CHCl}_3$ (10/90) forneceu uma fração denominada BLER-M/C(49-61)(30,0mg) que forneceu um sólido branco com p.f.=182,0-185,5°C e foi identificada, através de métodos espectrométricos, como sendo uma mistura contendo o ácido vanílico em maior percentagem (90,9%).

A coluna (Tabela 25) quando eluída com  $\text{CHCl}_3$ /MeOH(90/10) forneceu uma fração denominada [BLER-M(102-107)(1,9748g)] que foi recromatografada em sílica-gel e eluída com o mesmo sistema de solventes da coluna anterior. As 34 frações obtidas foram analisadas por CCD onde reuniu-se as que se mostraram parecidas. A coluna quando eluída com  $\text{CHCl}_3$ /acetato(50/50), forneceu uma fração denominada BLER-M/A(20-21)(101,30mg) que foi recromatografada obtendo-se 50 frações que foram analisadas por CCD.

A coluna (Tabela 25) quando eluída com  $\text{CHCl}_3$ /MeOH(90/10) forneceu uma fração denominada [BLER-M(108-111)] que forneceu um precipitado branco

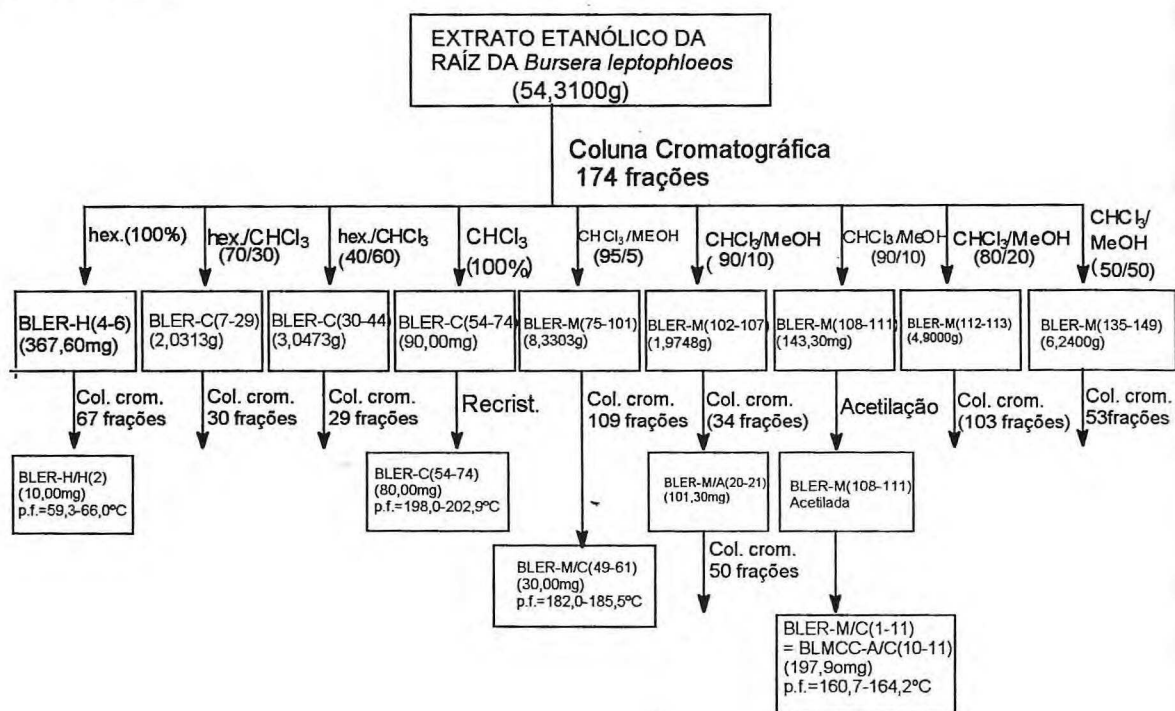
(143,30mg) quando tratado com acetato de etila, este precipitado foi acetilado, recromatografado em sílica-gel e eluído com o mesmo sistema de solventes da coluna anterior. As 47 frações obtidas foram analisadas por CCD onde reuniu-se as que se mostraram semelhantes. A coluna quando eluída com  $\text{CHCl}_3/\text{acetato}(9,5/0,5)$ , denominada BLER-M/C(1-11) apresentou-se como um sólido branco cristalino (197,90mg), p.f.=160,7-164,2°C, e foi identificado após acetilação, através de métodos espectrométricos, como sendo uma mistura de dois esteróides glicosilados e acetilados.

A coluna (Tabela 25) quando eluída com  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}(80/20)$  forneceu uma fração denominada [BLER-M(112-113)(4,9000g)] que foi recromatografada em sílica-gel e eluída com os mesmo sistema de solventes da coluna anterior. As 103 frações obtidas foram analisadas por CCD.

A coluna (Tabela 25) quando eluída com  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}(50:50)$  forneceu uma fração denominada [BLER-M(135-149)(6,2400g)] que foi também recromatografada em sílica-gel e eluída com o mesmo sistema de solventes da coluna anterior. As 53 frações obtidas foram analisadas por CCD.



Esquema 10 - Fluxograma de estudo do extrato etanólico da raiz da *Bursera leptophloeos*



A casca da raiz da *Bursera leptophloeos* (315,00 g) foi extraída em soxhlet, com hexano e depois com metanol. Obteve-se um resíduo (1,5312 g) e um precipitado (197,00 mg) do extrato hexânico e 19,8113 g do extrato metanólico.

O precipitado obtido do extrato hexânico apresentou-se como um pó de coloração amarelo pálido com p.f.=71,3-73,6°C.

O resíduo obtido do extrato hexânico em soxlet (1,5312 g) não foi submetido a estudos adicionais.

O extrato bruto (19,8113 g) da casca da raiz extraído com metanol (soxhlet) foi cromatografado em coluna de sílica-gel, utilizando-se a sequência dos seguintes eluentes: hexano, hex./CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>/acetato, acetato, acetato/MeOH e MeOH. As 47 frações coletadas (250mL cada uma) foram concentradas à vácuo sob pressão reduzida, analisadas em CCD e em seguida reuniu-se àquelas que se mostraram semelhantes (Tabela 26, Fr.1 a Fr.47, Esquema 11).

Tabela 26- Fracionamento do extrato metanólico(soxhlet) da casca da raiz da *Bursera leptophloeos*

FRAÇÕES	ELUENTE	ASPECTO	DENOMINAÇÃO
Fr.1-2	hex./CHCl <sub>3</sub> (95/5)	amarelo claro	BLMCR-H(1-2)
Fr. 3-4	hex./CHCl <sub>3</sub> (90/10)	amarelo claro	BLMCR-C(3-4)
Fr.5-6	hex./CHCl <sub>3</sub> (70/30)	amarelo claro	BLMCR-C(5-6)
Fr.7-8	hex./CHCl <sub>3</sub> (60/40)	amarelo claro	BLMCR-C(7-8)
Fr.9-11	hex./CHCl <sub>3</sub> (40/60)	amarelo claro	BLMCR-C(9-11)
Fr.12-20	CHCl <sub>3</sub> /acetato(90/10)	amarelo claro	BLMCR-A(12-20)
Fr.21-24	CHCl <sub>3</sub> /acetato(80/20)	amarelo claro	BLMCR-A(21-24)
Fr. 25-28	CHCl <sub>3</sub> /acetato(50/50)	verde amarronzado	BLMCR-A(25-28)
Fr. 29-33	CHCl <sub>3</sub> /acetato(20/80)	marrom	BLMCR-A(29-33)
Fr. 34-39	acetato(100%)	marrom escuro	BLMCR-A(34-39)
Fr. 40-42	acetato/MeOH(70/30)	marrom claro	BLMCR-M(40-42)
Fr.43-46	acetato/MeOH(50/50)	marrom claro	BLMCR-M(43-46)
Fr.47	MeOH(100%)	sólido marrom	BLMCR-M(47)

A fração 5-6, denominada BLMCR-C(5-6)(Tabela 26, Esquema 11) foi recromatografada em sílica-gel e eluída com : hex., hex./CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH e MeOH com gradiente crescente de polaridade. As 74 frações obtidas foram comparadas por CCD e reuniu-se àquelas que se mostraram semelhantes. A coluna quando eluída com hexano(100%) forneceu um sólido branco cristalino (70,00 mg) denominado BLMCR-C/H(6-8) com p.f.=121,0-123,0°C, e foi identificado, através de métodos espectrométricos, como sendo um sesquiterpeno furânico.

A coluna quando eluída com hex./CHCl<sub>3</sub>(90/10) forneceu um sólido branco cristalino, denominado BLMCR-C/C(17/22), identificado, através de métodos espectrométricos, como fitato.

A fração 7-8, denominada BLMCR-C(7-8)(437,80mg) foi recromatografada em sílica-gel e eluída com o mesmo sistema de solventes da coluna anterior. As 80 frações obtidas, foram comparadas por CCD e reuniu-se as que se mostraram

semelhantes. A coluna quando eluída com hex./CHCl<sub>3</sub>(80/20) forneceu um sólido branco denominado BLMCR-C/C(30-31), que foi identificado, através de métodos espectrométricos, como sendo uma mistura de  $\beta$ -sitosterol com estigmasterol.

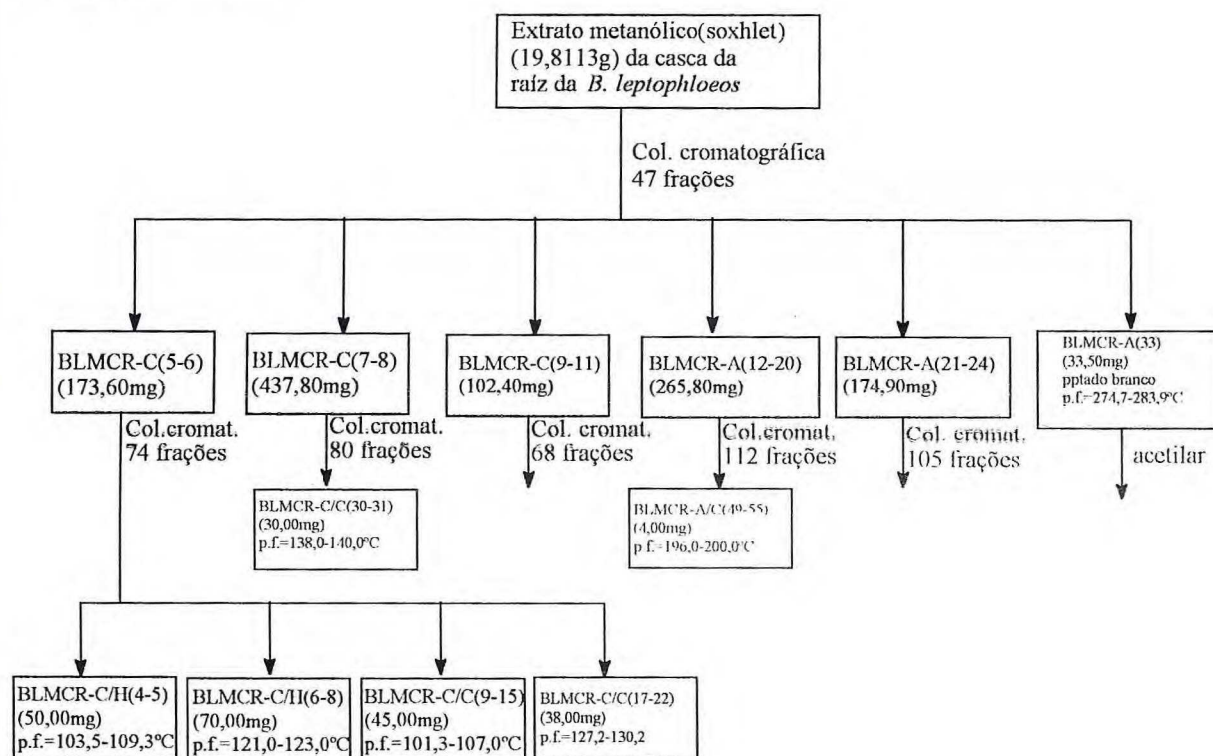
A fração denominada BLMCR-C(9-11) (102,40mg) foi recromatografada em sílica-gel e eluída com o mesmo sistema de solventes da coluna anterior. As 68 frações obtidas foram comparadas por CCD e reuniu-se àquelas que se mostraram semelhantes.

A coluna (Tabela 26) quando eluída com hex./CHCl<sub>3</sub>(70/30) a CHCl<sub>3</sub>/acetato(90/10) forneceu uma fração denominada BLMCR-A(12-20)(265,80mg) que foi recromatografada em sílica-gel com a mesma sequência de solventes citada na coluna anterior. As 112 frações obtidas foram analisadas por CCD e reuniu-se àquelas que se mostraram semelhantes. A coluna quando eluída com CHCl<sub>3</sub>(100%) forneceu um sólido amarelo cristalino(4,00mg), que apresentou forte fluorescência quando exposto a lâmpada de UV, denominado BLMCR- A/C(49-55) com p.f.=196,0-200,0°C que foi identificado, através de métodos espectrométricos, como sendo uma cumarina.

A fração denominada BLMCR-A(21-24)(174,90mg) foi recromatografada em sílica-gel e eluída com o mesmo sistema de solventes da coluna anterior. As 105 frações obtidas foram comparadas por CCD e reuniu-se àquelas que se mostraram semelhantes.

A fração denominada BLMCR-A(33) foi acetilada e identificada através de métodos espectrométricos como sendo o glicosídeo do  $\beta$ -sitosterol acetilado.

Esquema 11- Fluxograma de estudo do extrato metanólico(soxhlet) da casca da raiz da *Bursera leptophloeos*.



As cascas do caule moídas (2,1300 kg) foram extraídas exaustivamente com hexano à temperatura ambiente. Após evaporação do solvente sob pressão reduzida, obteve-se 20,5324 g do extrato hexânico.

Este extrato bruto (20,5324 g) foi cromatografado em coluna de sílica-gel, utilizando-se a sequência dos seguintes eluentes: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. As 12 frações coletadas (250mL cada uma) foram concentradas sob pressão reduzida, analisadas por CCD e em seguida reuniu-se àquelas que se mostraram semelhantes (Tabela 27, Fr. 1 a Fr. 12, Esquema 12).

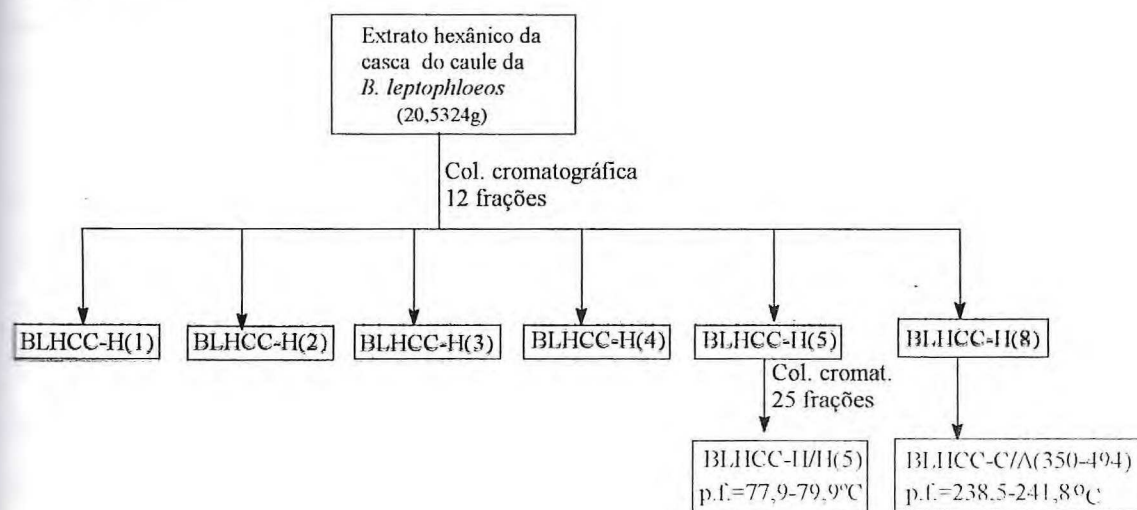
Tabela 27- Fracionamento do extrato hexânico da casca do caule da *Bursera leptophloeos*

FRAÇÕES	ELUENTE	ASPECTO	DENOMINAÇÃO
Fr.1	hexano(100%)	óleo amarelo claro	BLHCC-H(1)
Fr.2	hexano(100%)	óleo amarelo	BLHCC-H(2)
Fr.3	hexano(100%)	sólido branco	BLHCC-H(3)
Fr.4	hexano(100%)	óleo róseo	BLHCC-H(4)
Fr.5	hexano(100%)	sólido amarelo claro	BLHCC-H(5)
Fr.6	hexano(100%)	sólido esverdeado	BLHCC-H(6)
Fr.7	hexano(100%)	sólido esverdeado	BLHCC-H(7)
Fr.8	clorofórmio(100%)	marrom	BLHCC-C(8)
Fr.9	acet. de etila(100%)	marrom	BLHCC-A(9)
Fr.10	acet. de etila(100%)	marrom	BLHCC-A(10)
Fr.11	acet. de etila(100%)	marrom esverdeado	BLHCC-A(11)
Fr.12	metanol(100%)	verde claro	BLHCC-M(12)

A coluna (Tabela 27) quando eluída com hexano(100%), denominada BLHCC-H(5) foi recromatografada em coluna de sílica-gel e eluída com: hexano/ $\text{CHCl}_3$ (50/50),  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  e MeOH. As 25 frações obtidas foram analisadas por CCD e juntou-se àquelas que se mostraram semelhantes. A coluna quando eluída com hexano(100%), forneceu um sólido branco denominado BLHCC-H/H(5)(73,2 mg) que foi identificado através de métodos espectrométricos como sendo uma mistura de ácidos carboxílicos alifáticos.

A coluna (Tabela 27) quando eluída com  $\text{CHCl}_3$ (100%), denominada BLHCC-C(8) foi recromatografada em coluna de sílica-gel e eluída com: hexano, hexano/ $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3/\text{Acetato}$ , Acetato e MeOH, com gradiente crescente de polaridade. As 506 frações obtidas foram analisadas por CCD e juntou-se àquelas que se mostraram semelhantes. A coluna quando eluída com  $\text{CHCl}_3/\text{Acetato}$  forneceu um sólido branco cristalino, denominado BLHCC-C/A(350-494)(100,5mg) que foi identificado através de métodos espectrométricos como sendo a  $\text{N}_2\text{N}'$ -difeniluréia.

Esquema 12- Fluxograma de estudo do extrato hexânico da casca do caule da *Bursera leptophloeos*.



A torta da casca do caule (2,1300 g) foi também extraída exhaustivamente com metanol à temperatura ambiente. Após evaporação do solvente à vácuo, obteve-se 225,93 g do extrato bruto. Usou-se 93,70 g deste extrato bruto e fez-se uma coluna filtrante com sílica-gel utilizando-se a seguinte sequência de eluentes: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. As 20 frações coletadas (250ml. cada uma) foram concentradas à vácuo, analisadas por CCD e em seguida reuniu-se àquelas que se mostraram semelhantes (Tabela 28, Fr. 1 a Fr.20, Esquema 13).

Tabela 28. Fracionamento do extrato metanólico da casca do caule da *Bursera leptophloeos*

FRACÇÕES	ELUENTE	ASPECTO	DENOMINAÇÃO
Fr.1	hexano(100%)	óleo esverdeado	BLMCC-H(1)
Fr.2	clorofórmio(100%)	óleo esverdeado	BLMCC-C(2)
Fr.3	clorofórmio(100%)	crístais(agulhas)brancos	BLMCC-C(3)
Fr.4	clorofórmio(100%)	crístais branco-esverdeado	BLMCC-C(4)
Fr.5	clorofórmio(100%)	marrom esverdeado	BLMCC-C(5)
Fr.6	acet.de etila(100%)	marrom esverdeado	BLMCC-A(6)
Fr.7-8	acet.de etila(100%)	marrom esverdeado	BLMCC-A(7-8)
Fr.9	acet.de etila(100%)	marrom + pptado branco	BLMCC-A(9)
Fr.10-11	acet.de etila(100%)	marrom + pptado branco	BLMCC-A(10-11)
Fr.12	acet.de etila(100%)	marrom escuro	BLMCC-A(12)
Fr.13	metanol(100%)	marrom escuro	BLMCC-M(13)
Fr.14	metanol(100%)	marrom escuro	BLMCC-M(14)
Fr.15	metanol(100%)	marrom escuro	BLMCC-M(15)
Fr.16	metanol(100%)	sólido marrom escuro	BLMCC-M(16)
Fr.17	metanol(100%)	sólido marrom avermelhado	BLMCC-M(17)
Fr.18	metanol(100%)	sólido marrom avermelhado	BLMCC-M(18)
Fr.19	metanol(100%)	sólido marrom avermelhado	BLMCC-M(19)
Fr.20	metanol(100%)	sólido marrom avermelhado	BLMCC-M(20)

A coluna ( Tabela 28) quando eluída com  $\text{CHCl}_3$ (100%), forneceu uma fração denominada BLMCC-C(3)(450,00 mg) e apresentou-se como crístais do tipo agulha brancos com p.f.=127,2-130,2°C, que foi identificado, através de métodos espectrométricos, como sendo ftalato.

A fração denominada BLMCC-A(9)(182,40mg) apresentou um precipitado sólido branco- esverdeado que foi filtrado num funil de buchner e lavado com  $\text{CHCl}_3$ , o precipitado branco apresentou p.f.= 91,2-97,0°C e foi acetilado depois cromatografado

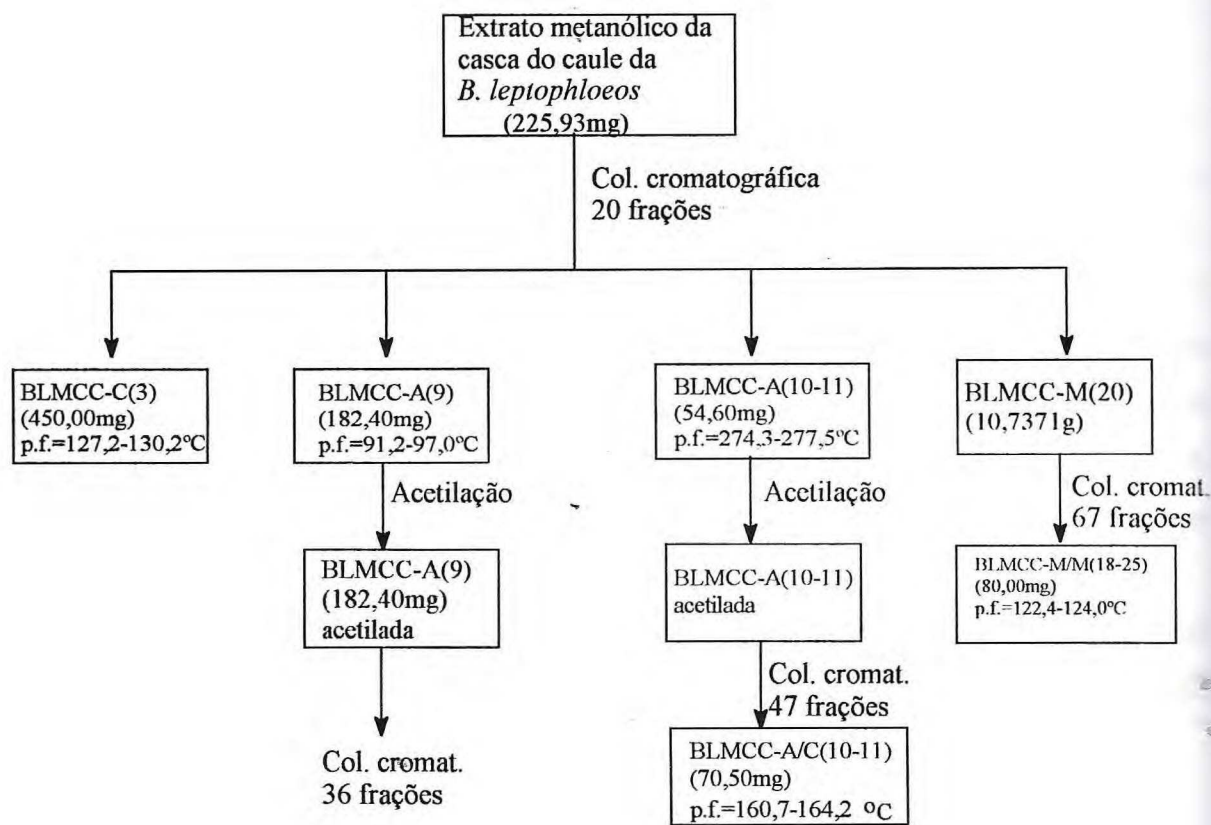
em sílica-gel, sendo eluído com:  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3/\text{acetato}$ , acetato, acetato/MeOH e MeOH. As 36 frações obtidas foram analisadas por CCD e reuniu-se àquelas que se mostraram semelhantes. A fração denominada BLMCC-A(9) acetilada foi identificada, através de métodos espectrométricos, como sendo uma mistura de dois álcoois alifáticos.

A fração denominada BLMCC-A(10-11)(54,60mg) apresentou um precipitado branco que foi filtrado num funil de buchner e lavado com  $\text{CHCl}_3$ , o precipitado branco apresentou p.f.=274,3-277,5°C, e mostrou-se insolúvel em solventes orgânicos. Este precipitado foi acetilado, cromatografado em sílica-gel e eluído com:  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3/\text{acetato}$ , acetato, acetato/MeOH e MeOH. As 47 frações obtidas foram analisadas por CCD e reuniu-se àquelas que se mostraram semelhantes. A coluna quando eluída com  $\text{CHCl}_3/\text{acetato}(9,5/0,5)$  forneceu uns cristais branco, denominado BLMCC-A/C(10-11) com p.f.=160,7-164,2°C, que foi identificado, através de métodos espectrométricos, como sendo uma mistura de dois esteróides glicosilados e acetilados.

A fração denominada de BLMCC-M/M(18-25), apresentou-se como cristais tipo agulhas com p.f.: 122,4-124,0°C e foi identificada através de métodos espectrométricos como sendo ftalato.

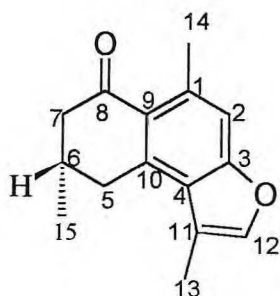


Esquema 13- Fluxograma de estudo do extrato metanólico da casca do caule da *Bursera leptophloeos*.



### 3.5. CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS DOS CONSTITUINTES ISOLADOS DA *Bursera leptophloeos*

#### ♣ BLMCR-C/H(6-8)(I)



Sólido branco cristalino

F.M.: C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>

P.M.: 228

p.f.=121,0-123,0°C

Espectrometria de massa: m/z (%)- Tabela 18, p. 226.

• Espectrometria na região do IV: KBr(cm<sup>-1</sup>).

• 1670,1600,1575

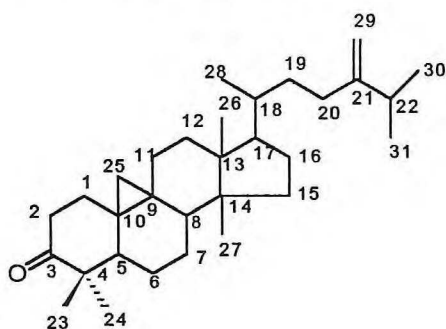
Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H: (200MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):

δ (multiplicidade, constante de acoplamento, correlação estrutural)- Tabela 17, p. 225.

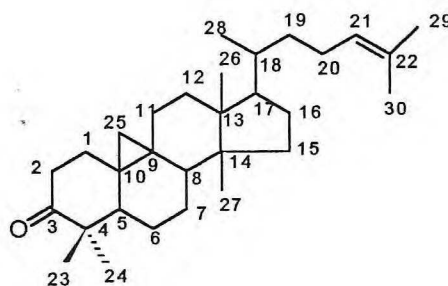
Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C(50,3MHz,CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ( correlação estrutural)- Tabela 17, p.225.

Espectrometria de RMN(2D), Tabela 17, p. 225.

## ♣BLHR-C/C(21-24)(II)



II a



II b

Sólido amorfo amarelo claro

F.M.:  $C_{30}H_{50}O$ (IIa) e  $C_{30}H_{48}O$ (IIb)

P.M.: 438(IIa) e 424 (IIb)

p.f.: 62,0-70,8°C

Espectrometria de massa: m/z(%)

438(45), 424(50), 409(28), 395(19), 381(10), 368(7), 355(27), 340(32), 325(13), 313(62), 300(30), 286(32), 271(30), 257(25), 243(30), 231(32), 219(35), 203(39), 189(33), 175(54), 161(50), 149(68), 135(63), 119(75), 107(85), 95(91), 83(86), 81(90), 69(100), 59(24).

Espectrometria na região do I.V: KBr ( $cm^{-1}$ )

2968, 2945, 2929, 2865, 1733, 1715, 1687, 1455, 1448, 1377, 1362, 1339, 1271, 1114, 888.

Espectrometria de RMN  $^1H$  ( 200 MHz,  $CDCl_3$ , ppm):

0,53-0,56 (d), 0,75-0,77 (d), 0,82-2,24 (m), 2,6-2,63 (d), 2,67-2,70 (d), 4,64-4,69 (d).

Espectrometria de RMN  $^{13}C$  ( 50,3 MHz,  $CDCl_3$ , ppm):

18,0; 18,2; 19,2; 20,7; 21,0; 21,4; 21,8; 21,9; 22,1; 22,5; 25,8; 26,6; 28,1; 29,5; 31,2; 32,7; 33,3; 33,7; 34,8; 35,5; 35,8; 36,0; 36,2; 37,4; 45,2; 47,8; 48,3; 48,7; 50,1; 52,2; 76,3; 105,9; 216,7.

**♣BLHR-C(24-27)(III)**

Sólido amorfo branco

 $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{25}\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$ F.M.:  $\text{C}_{28}\text{H}_{58}\text{O}$ 

P.M.: 410

p.f.: 72,5-76,0°C

Espectrometria de massa: m/z (%)

392(5), 364(5), 153(8), 139(13), 125(27), 111(52,5), 97(100), 83(100)

Espectrometria na região do I.V.: KBr

3435- 3293, 2957-2918, 2849, 1736, 1716, 1473, 1463

Espectrometria de RMN  $^1\text{H}$  ( 200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm ):

0,81-0,85(m), 1,22(s), 1,54(m), 3,58-3,65(t), 5,14(s).

♣ BLHR-C(30-32)(IV) , igual a BLHR-C(33-35)

Sólido branco cristalino

F.M.:  $C_{30}H_{60}O_2$

$CH_3-(CH_2)_{28}-COOH$

P.M.: 452

p.f.: 58,0-63,0°C

Espectrometria de massa: m/z (%)

452(36), 424(37), 412(24), 396(30), 382(15), 368(37), 354(10), 339(5), 325(11),  
297(7), 289(9), 271(10), 241(8), 229(21), 185(20), 171(13), 161(8), 147(14), 129(63),  
111(34), 97(60), 83(71), 73(100), 60(85).

Espectrometria na região do I. V.: KBr ( $cm^{-1}$ )

2956, 2917, 2871, 2849, 1705, 1678, 1463

Espectrometria de RMN  $^1H$  ( 200 MHz,  $CDCl_3$ , ppm ):

0,68-1,64(m), 2,22-2,35(t), 5,70(s), 13,40(s)

**♣ BLER-H/H(2) (V) , igual a BLHCC-H(3)**

Sólido amorfo branco

F.M.:  $C_{33}H_{66}O_2$  $CH_3-(CH_2)_n-COO-(CH_2)_m-CH_3$ 

P.M.: 494

p.f.: 60,3-66,0°C

Espectrometria de massa: m/z (%)

494(10), 466(38), 438(7,5), 411(23), 398(44), 369(83), 341(21), 313(15), 285(59,5), 271(21), 257(99), 125(30), 111(57), 97(91), 83(96), 71(100).

Espectrometria na região do I.V.: KBr ( $cm^{-1}$ )

2956, 2918, 2849, 1734, 1472, 1469, 1377, 1292, 1180, 739.

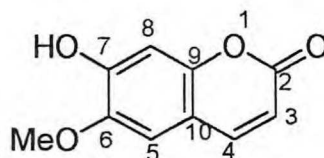
Espectrometria de RMN  $^1H$  ( 200 MHz,  $CDCl_3$ , ppm ):

0,86(t), 1,22(sl), 1,56(m), 2,27(t), 4,03(t)

Espectrometria de RMN  $^{13}C$  ( 50,3 MHz,  $CDCl_3$ , ppm ):

174,0; 64,4; 34,4; 31,9; 29,6; 29,2; 29,1; 28,6; 25,9; 24,9; 22,6; 14,1.

## ♣BLER-C(54-74)(VI)



Sólido cristalino amarelo esverdeado

F.M.: C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>

P.M.: 192

p.f.: 198,0-202,9°C

Espectrometria de massa: m/z (%)

192(100), 177(85), 164(55), 149(75), 135(9), 121(47), 105(13), 96(5), 93(19), 85(22), 79(40), 69(14), 65(23).

Espectrometria na região do I.V.: KBr (cm<sup>-1</sup>)

3335, 3262, 3283, 3261, 2485, 1704, 1625, 1608, 1566, 1512, 1446, 1434, 1397, 1288, 1263, 1246, 1219, 1200, 1170, 1141, 1019, 926, 909, 862, 820.

Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H ( 200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm ):

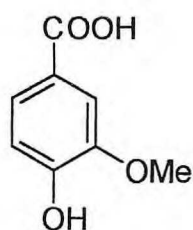
3,87(s), 4,68(s), 6,17(d), 6,75(s), 6,92(s), 7,72(d).

Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C ( 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm ): Tabela 19, p. 234.

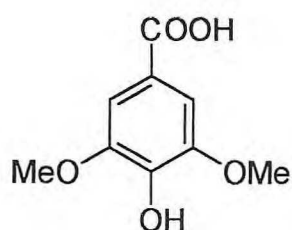
Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135° ( 67,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm ):

55,2; 102,4; 107,7; 110,9; 144,2.

## ♣ BLER-M/C(49-61)(VII)



VII a



VII b

Sólido branco cristalino

F.M.:  $C_8H_8O_4$ (VIIa) e  $C_9H_{10}O_5$ (VIIb)

P.M.: 168(VIIa) e 198(VIIb)

p.f.: 182,0-185,5°C

Espectrometria de massa: m/z (%)

168(100), 153(80), 125(20), 108(6), 97(27), 79(8), 63(5).

Espectrometria na região do I.V.: KBr ( $cm^{-1}$ )

3487, 2990, 2970, 2662, 1683, 1666, 1597, 1523, 1434, 1299, 1281, 1238, 1204, 1187, 1112, 1029, 765.

Espectrometria de RMN  $^1H$  ( 200 MHz,  $CDCl_3$ , ppm ):

3,94(s), 5,14(s), 6,97-6,93(d), 7,57(s), 7,72-7,68(d).

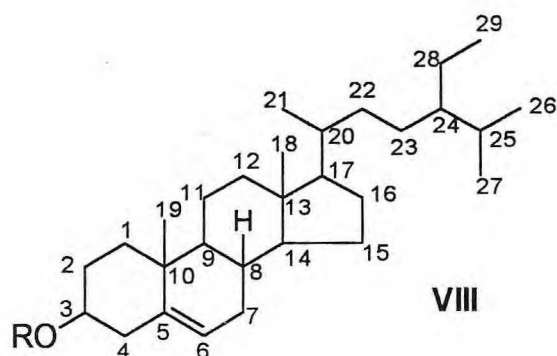
Espectrometria de RMN  $^{13}C$  ( 50,3 MHz,  $CDCl_3$ , ppm ): Tabela 20, p. 238.

Espectrometria de RMN  $^{13}C$ - DEPT 135° ( 67,5 MHz,  $CDCl_3$ , ppm ):

29,6; 56,1; 56,4; 112,0; 114,1; 125,1.



♣ BLER-M/C(1-11)(VIII), igual a BLMCC-A/C(10-11) acetilados



Sólido branco cristalino

R= glicose/Ac

F.M.: C<sub>35</sub>H<sub>60</sub>O<sub>6</sub>

P.M.: 576

p.f.: 160,7-164,2°C

Espectrometria na região do I.V. : KBr (cm<sup>-1</sup>)

3464, 3460, 3400, 3390, 3385, 3300, 3296, 3266, 2950, 2932, 2889, 2884, 2881, 1644, 1465, 1438, 1279, 1269, 1164, 1105, 1075, 1054, 1028.

Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C do composto acetilado ( 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): Tabela 21, p. 240.

## ♣ BLMCR-C/C(30-31)(IX)

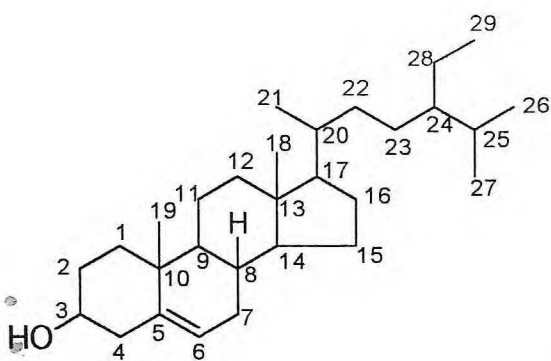
Sólido branco cristalino

F.M.:  $C_{29}H_{50}O$ (IXa) e  $C_{29}H_{48}O$ (IXb)

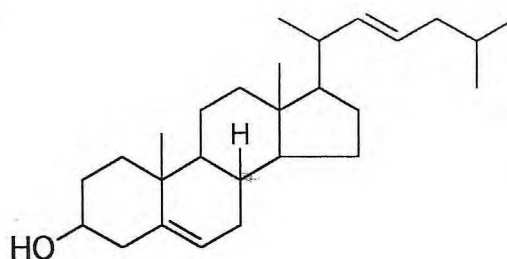
P.M.: 414(IXa) e 412(IXb)

p.f.: 120,0-123,0°C

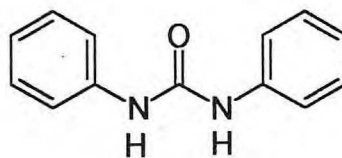
Espectrometria de RMN  $^{13}C$  (50,3 MHz,  $CDCl_3$  ppm ): Tabela 22, p. 243.



IX a



IX b

**\* BLHCC-C/A(350-494)(X)**

Sólido branco cristalino

F.M.: C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>ON<sub>2</sub>

P.M.: 212

p.f.: 238,5-241,8°C

Espectrometria de massa: m/z (%)

212(39,5), 194(24), 119(80), 93(100), 77(32), 66(51,5).

Espectrometria na região do I.V.: KBr (cm<sup>-1</sup>)

3459, 3430, 3328, 3291, 1649, 1598, 1555, 1494, 1443, 1311, 1234, 754, 698.

Espectrometria de RMN <sup>1</sup>H ( 200 MHz, deuteropiridina, ppm ):

7,86(d), 7,33(t), 7,03(t), 9,35(s)

Espectrometria de RMN <sup>13</sup>C (50,3 MHz, deuteropiridina, ppm ):

153,8; 140,7; 119,2; 129,2; 122,4.

### 3.6. BIBLIOGRAFIA

1. JOLY, A.B.: BOTÂNICA, Introdução a Taxonomia vegetal, Companhia Editora Nacional, São Paulo-SP, 412 (1977).
2. BARROSO, G.M.: Sistemática de Angiospermas do Brasil. Imprensa Universitária. Universidade Federal de Viçosa, M.G. (1984).
3. SOUZA, M.P.; MACHADO, M.I.L. and BRAZ-FILHO, R.: Six flavonoids from *Bursera leptophloeos*, *Phytochemistry*, **28**, 2467-2470 (1989).
4. PERAZA-SANCHES, S.R. and PENA-RODRIGUEZ, L.M.: Isolation of picropolygamain from the resin of *Bursera simaruba*, *J. Nat. Prod.*, **55**, 1768-1771 (1992).
5. SYAMASUNDAR, K.V.; MALLAVARAPU, G.R. and KRISHNA, E.M.: Triterpenoids of the resin of *Bursera delpechiana*, *Phytochemistry*, **30**, 362-363 (1991).
6. HERNANDEZ, J.D.; ROMAN, K.U.; ESPINEIRA, J. and JOSEPH-NATHAN, P.: Ariensin, a new lignin from *Bursera ariensis*, *Planta Med.*, **47**, 215-217 (1983).
7. JOLAD, S.D.; WIEDHOPF, R.M. and COLE, J.R.: Cytotoxic agents from *Bursera klugii* (Burseraceae). I: isolation of sapelins A and B., *J. Pharm. Sci.*, **66**, 889-890 (1977).
8. JOLAD, S.D.; WIEDHOPF, R.M. and COLE, J.R.: Cytotoxic agents from *Bursera morelensis* (Burseraceae): deoxypodophyllotoxin and a new lignan, 5'-desmethoxydeoxypodophyllotoxin, *J. Pharm. Sci.*, **66**, 892-893 (1977).
9. RODES, L.; KAYANO, I. and SODGOPAL : Steam distillation of husks of Indian linaloe (*Bursera delpechiana*), *An. Acad. Bras. Cienc.*, **44**, 289-294 (1972).

10. McDONIEL,P.B. and COLE,J.R.: Antitumor activity of *Bursera schlechtendalii*(Burseraceae). Isolation and structure determination of two new lignans, *J. Pharm. Sci.*, **61**, 1992-1994 (1972).
11. BIANCHI,E.; SHETH,K. and COLE,J.R.: Antitumor agents from *Bursera fagaroides*( Burseraceae) (  $\beta$ - peltatin A-methyl ether and 5'-demethoxy- $\beta$ -peltatin A-methyl ether), *Tetrahedron Lett.*, 2759-2762 (1969).
12. COLE,J.R.; BIANCHI,E. and TRUMBULL,E.R.: Antitumor agents from *Bursera microphylla*.II. Isolation of a new lignan: burseran, *J. Pharm. Sci.*, **58**, 175-176 (1969).
13. BIANCHI,E.; CALDWELL,M.E. and COLE,J.R.: Antitumor agents from *Bursera microphylla*. I. Isolation and characterization of deoxypodophyllotoxin, *J. Pharm. Sci.*, **57**, 696-697 (1968).
14. MOONEY,H.A. and EMBODEN,W.A.Jr.: The relations of terpene composition, morphology, and distribution of populations of *Bursera microphylla*, *Brittonia*, **20**, 44-51 (1968).
15. CROWLEY,K.J.: Some terpenic constituents of *Bursera graveolens* var. *villosula*, *J. Chem Soc.*, 4254-4256 (1964).
16. SYAMASUNDAR,K.V. and MALLAVARAPU,G.R.: Two triterpenoid lactones from the resin of *Bursera delpechiana*, *Phytochemistry*, **40**, 337-339 (1995).
17. VALENZUELA DE SILVA,E.M. and GRACIA DE GARCIA,C.L.: Preliminary chemical studies of some Columbian plants, *Rev. Colomb. Cienc. Quim.-Farm.*, **4**, 21-24 (1985).
18. THEAGARAJAN;P.V.V.: Chemical investigation of fatty oil of *Bursera penicillata* seed, *Indian For.*, **109**,41-44 (1983).

19. PROKSCH,P.; STERNBURG,C. and RODRIGUEZ,E.: Epicuticular alkanes from desert plants of Baja California, *Biochem. Syst. Ecol.*, **9**, 205-206 (1981).
20. PAREDES,A.C.: Aromatic plant species of Ecuador, *Politecnica*, **3**(1), 163-170 (1973).
21. GROVER,G.S. and RAO,J.T.: Effect of essential oils against bacteria and fungi( oils from the Burseraceae plant family), *Riechst., Aromen., Kosmet.*, **27**, 303-304 (1977).
22. McDONIEL,P.B.: Isolation and characterization of potential antitumor agents from *Bursera schlechtendalii*, *Diss. Abstr. Int. B.*, **31**, 1853-1854 (1970).
23. BREITMAIER,E. and VOELTER,W.: Carbon-13 NMR Spectroscopy: High-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry, 3<sup>rd</sup>ed., VHC, Weinheim (1987).
24. SONDEERS,J.K.M. and HUNTER,B.K.: Modern NMR Spectroscopy: A guide for chemists(2nd. edn.), Oxford University Press,Oxford (1993).
25. HIKINO,H.; AGATSUMA,K.; KONNO,C. and TAKEMOTO,T.: Thermal rearrangement of curzerenones , *Tetrahedron Letters*, **42**, 4417 (1968).
26. BARREIRA,E.S.; MONTE,F.J.Q. and BRAZ-FILHO,R.: A new furanosesquiterpene from *Bursera leptophloeos* Marth. , *Natural Product Letters*, **8**, 285-289 (1996).
27. CUSSANS, N.J. and HUCKERBY, T.N.: Carbon-13 NMR spectroscopy of heterocyclic compounds- IV. A 20 MHz study of chemical shifts and carbon- proton coupling constants in a series of hidroxi,metoxi and glucosyl coumarins, *Tetrahedron*, **31**, 2719-2726 (1975).

28. MURRAY, R.D.H.; MÉNDEZ, J. and BROWN, S.A. : The Natural Coumarins, Occurrence, Chemistry and Biochemistry, John Wiley & Sons LTD (1982).
29. CARDONA, L.; GARCIA, B.; PEDRO, J.R. and PÉREZ, J. : 6-Prenyloxy-7-methoxycoumarin, a coumarin- hemi -terpene ether from *Carduus tenuiflorus*, *Phytochemistry*, **31**, 3989-3991 (1992).
30. SOUZA, M.P. de; MATOS, M.E.O.; MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.L. e CRAVEIRO, A.A. : Constituintes Químicos Ativos de Plantas Medicinais Brasileiras, Laboratório de Produtos Naturais, UFPA, Fortaleza (1991).
31. SCOTT, K.N. : Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance of Biologically Important Aromatic Acids. I. Chemical shifts of Benzoic Acid and derivatives, *Journal of American Chemical Society*, **94**, 8564-8568 (1972).
32. MACARI, P.A.T. ; EMERENCIANO, V.P. e FERREIRA, Z.M.G.S. : Identificação de triterpenos de *Miconia albicans* Triana através de análise por microcomputador, *Química Nova*, **13**, 260-262 (1990).

### 3.7. ESPECTROS





FIGURA 88- *Bursera leptophloeos*

File:fr-6-8DROGAS.D 1enc:319-314 win 100PPM Acq:20-JUL-1995 vs:5/:31 Cal:CALPFK  
AutoSpecE EI+ Magnet BpM:186 BpI:10911744 TIC:207491456 Flags:HALL  
File Text:fr-6-8 da coluna 5-6 em acetona

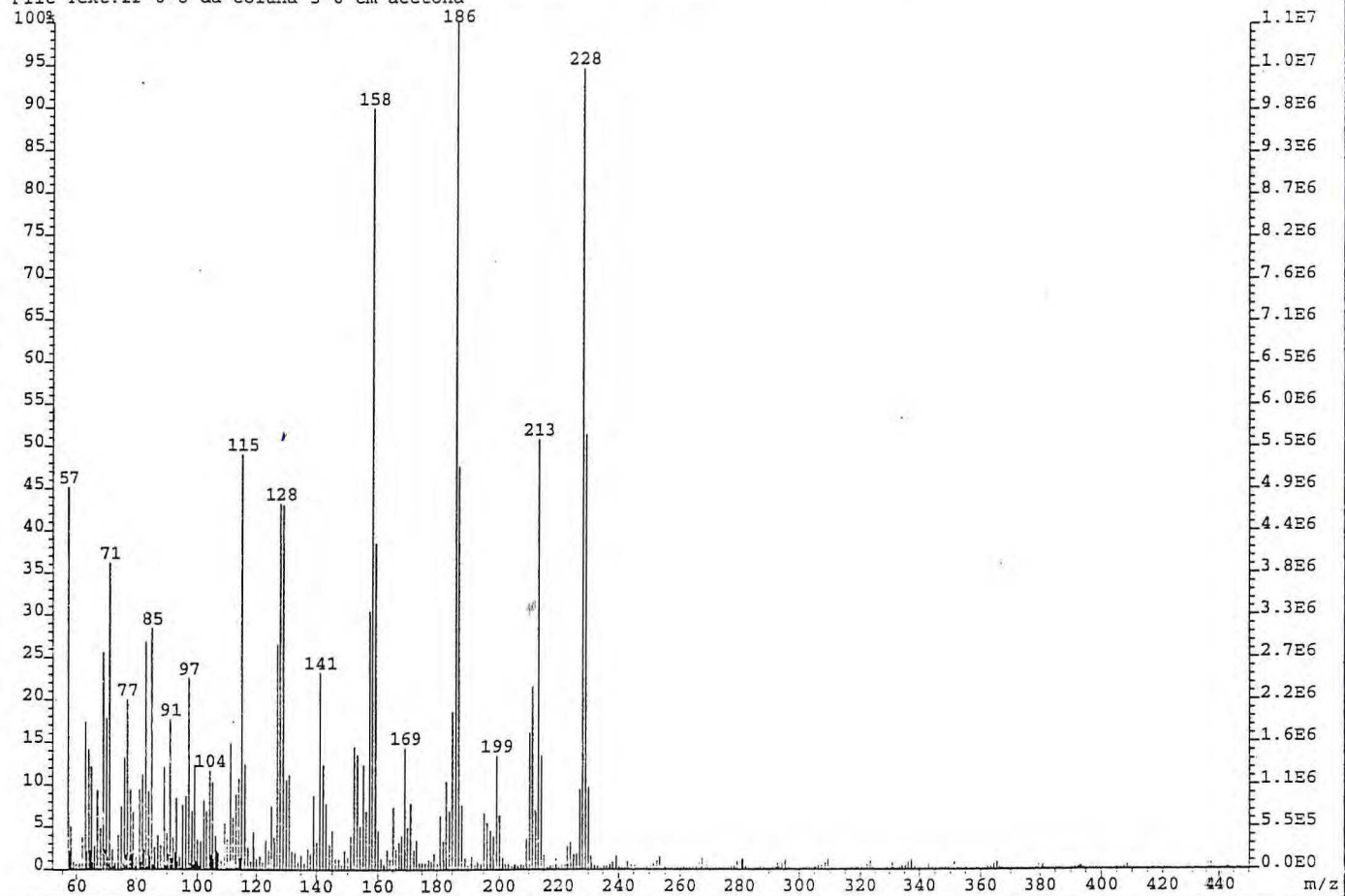


FIGURA 89- Espectro de massa de I

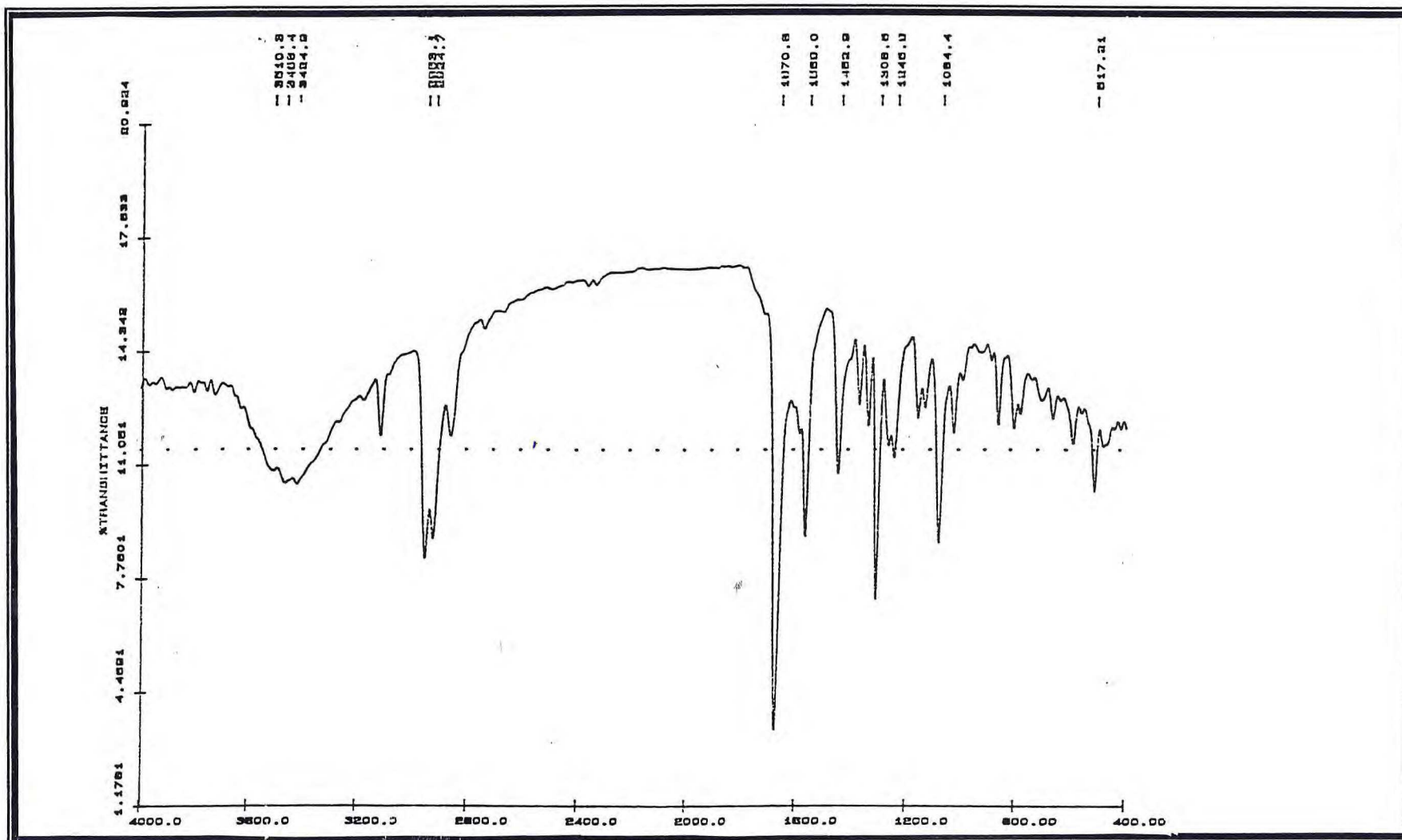


FIGURA 90- Espectro na região do I.V. de I

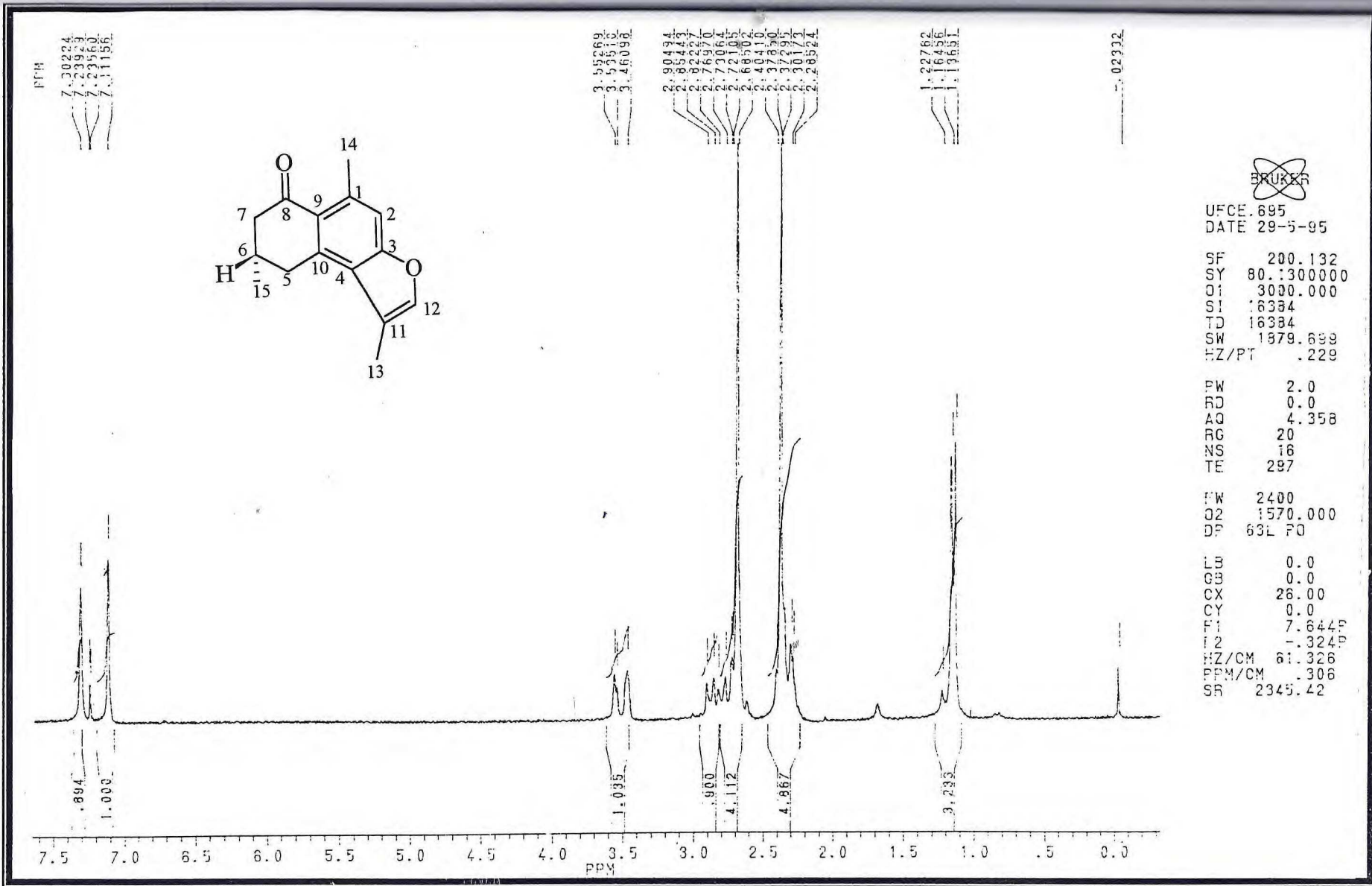


FIGURA 91- Espectro de RMN <sup>1</sup>H de I

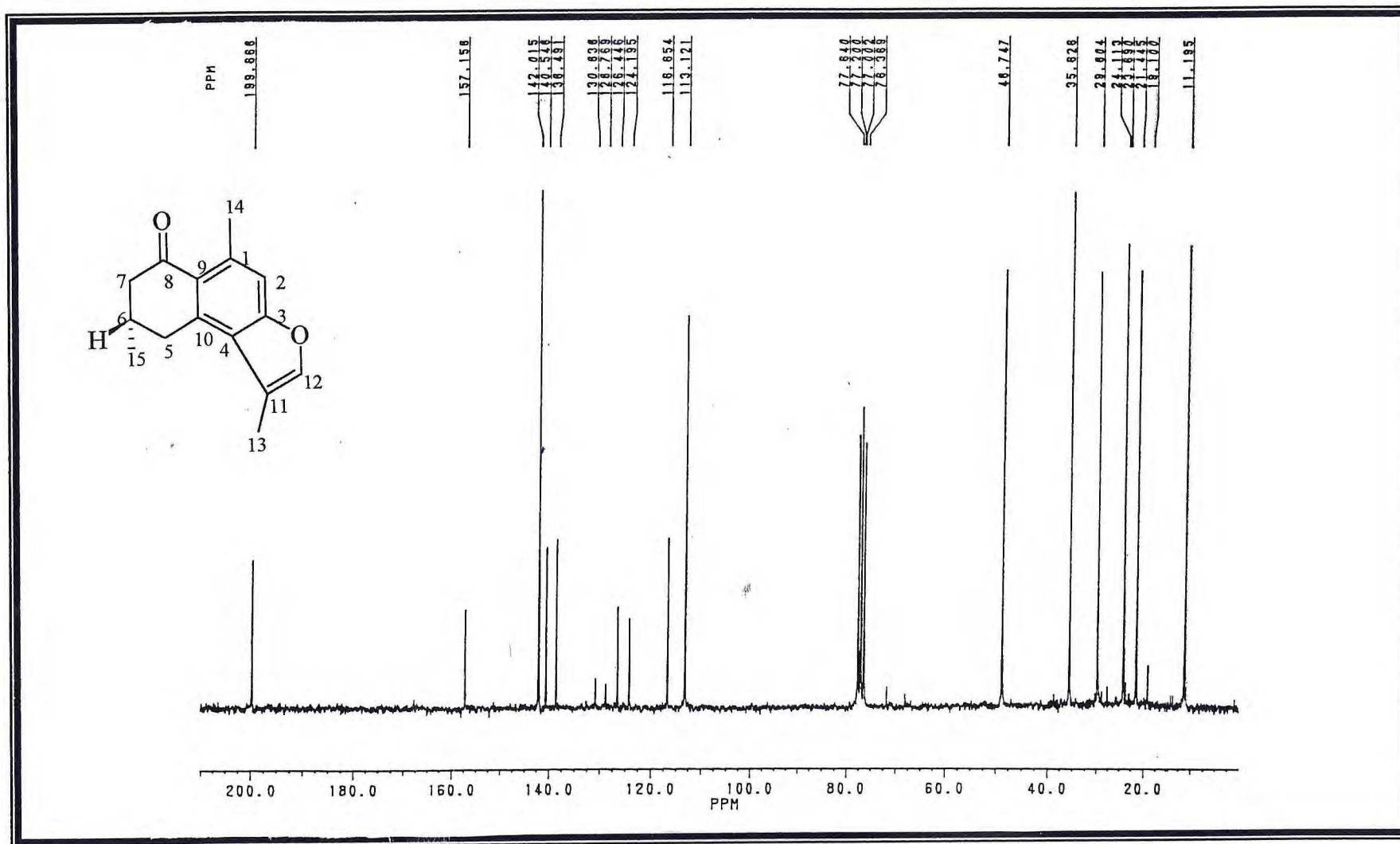


FIGURA 92- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - PND de I

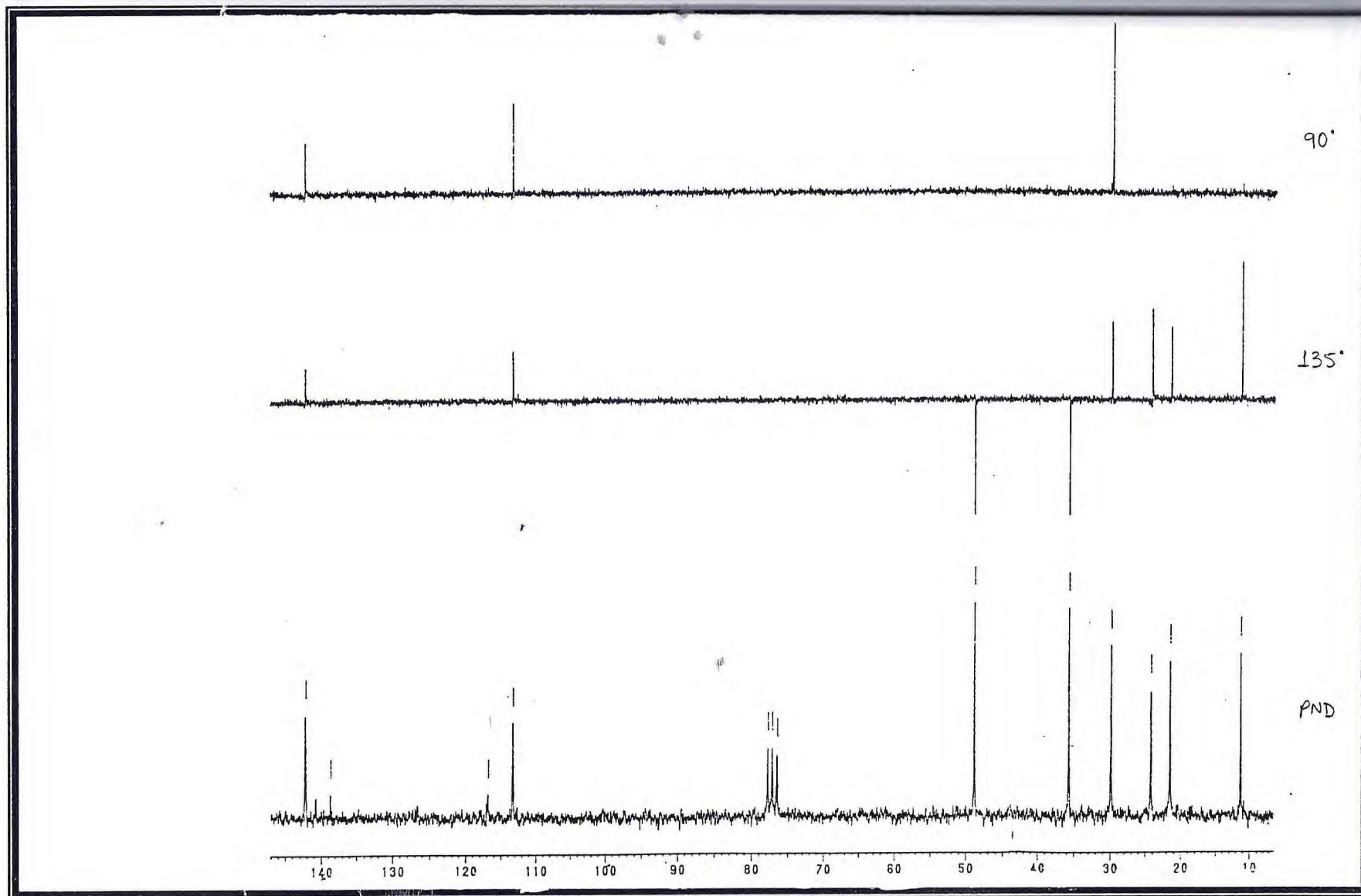


FIGURA 93- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - DEPT  $90^\circ$  e  $135^\circ$  de I

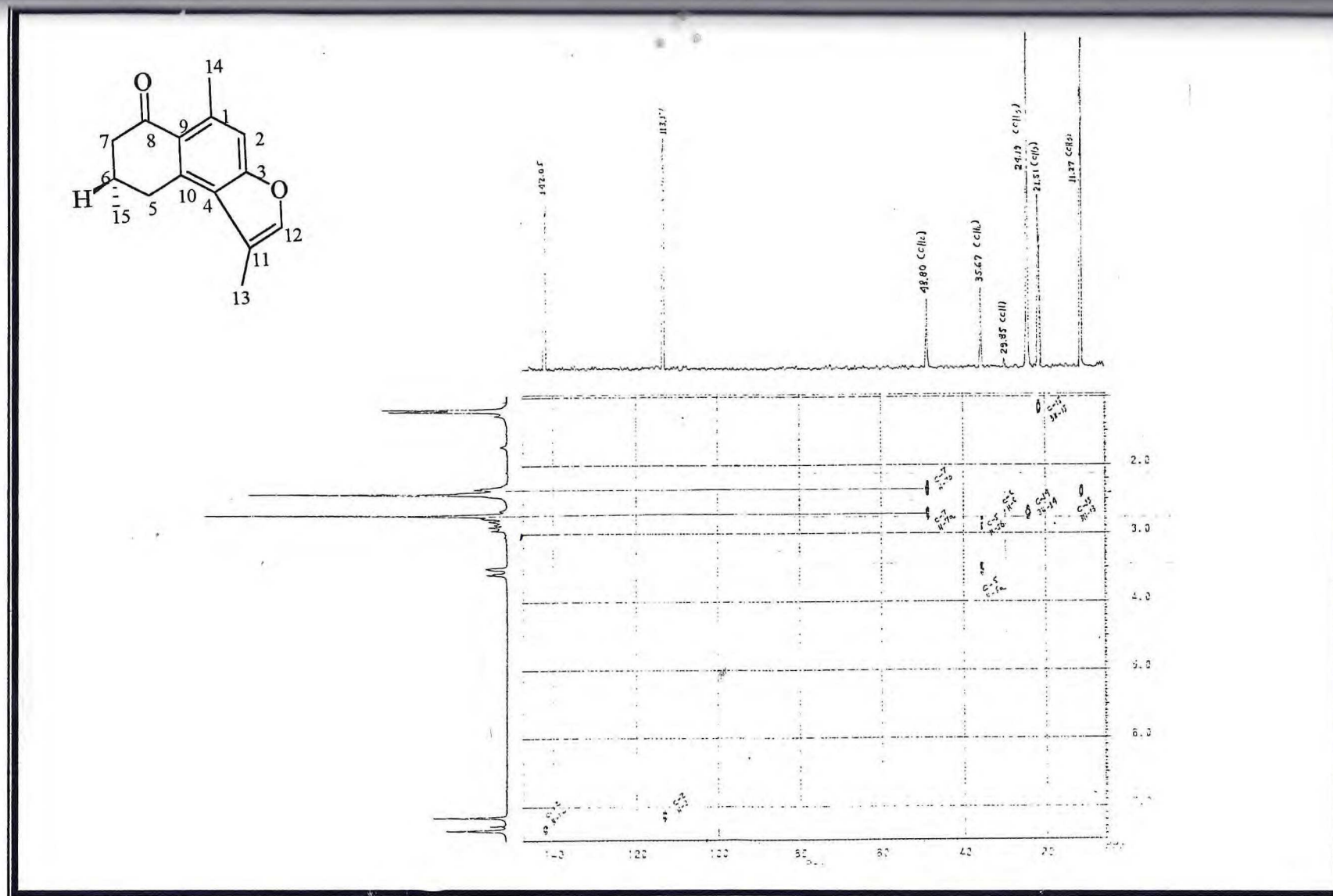


FIGURA 94- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear  
 ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{COSY} - ^1\text{J}_{\text{CH}}$ ) de I

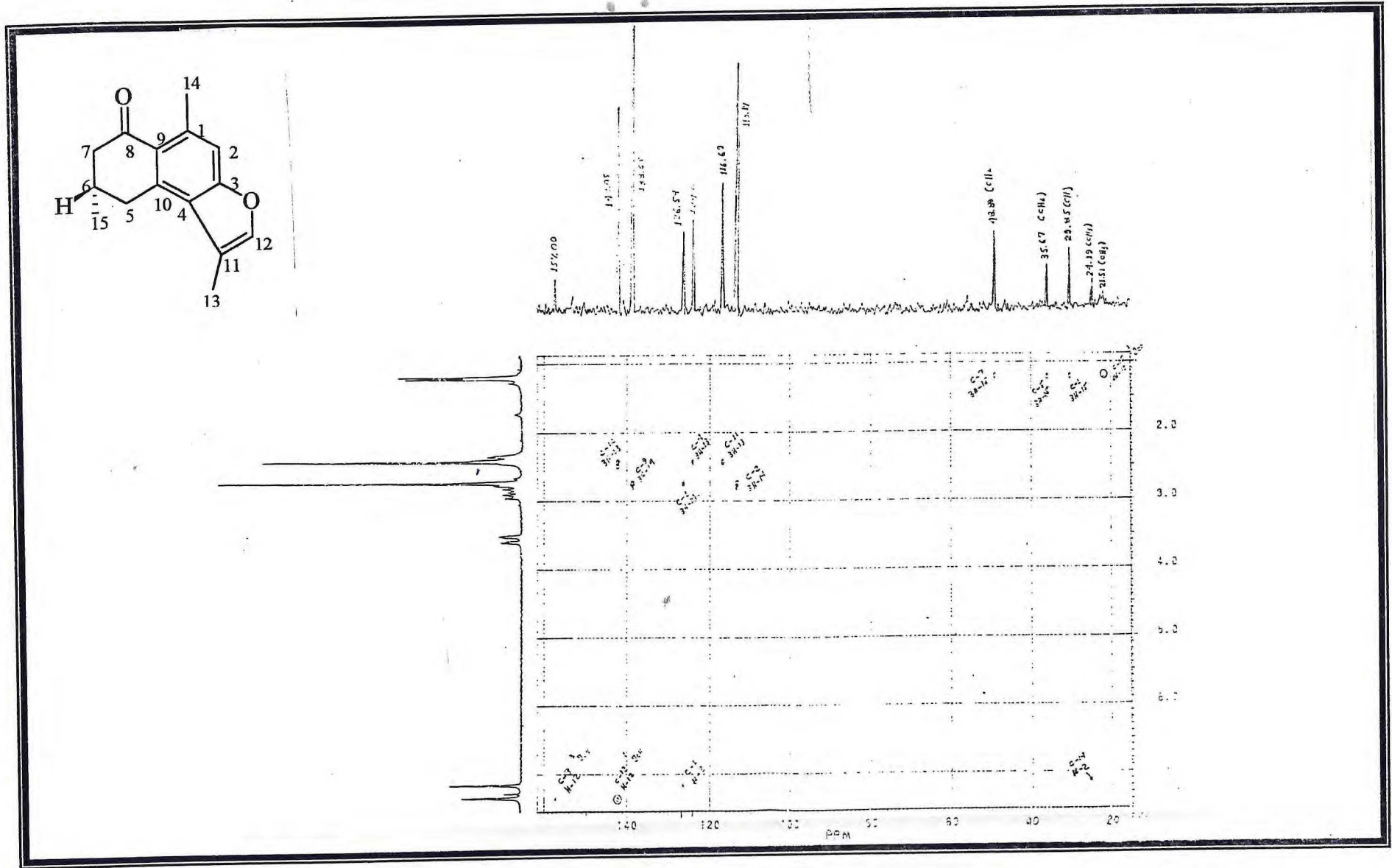


FIGURA 95- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ,  $n=2$  e  $3$ ) de I



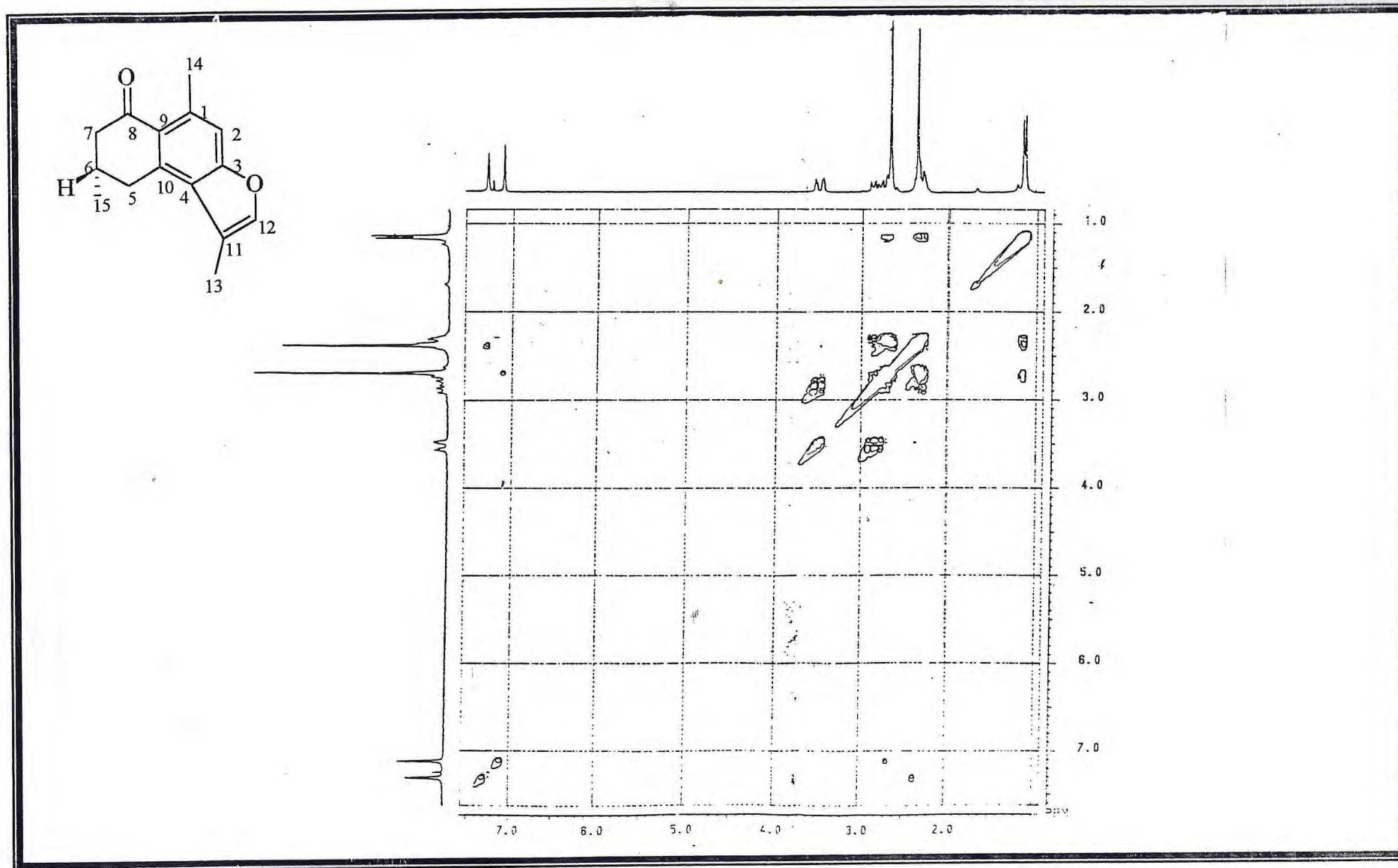


FIGURA 96- Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  - COSY) de I

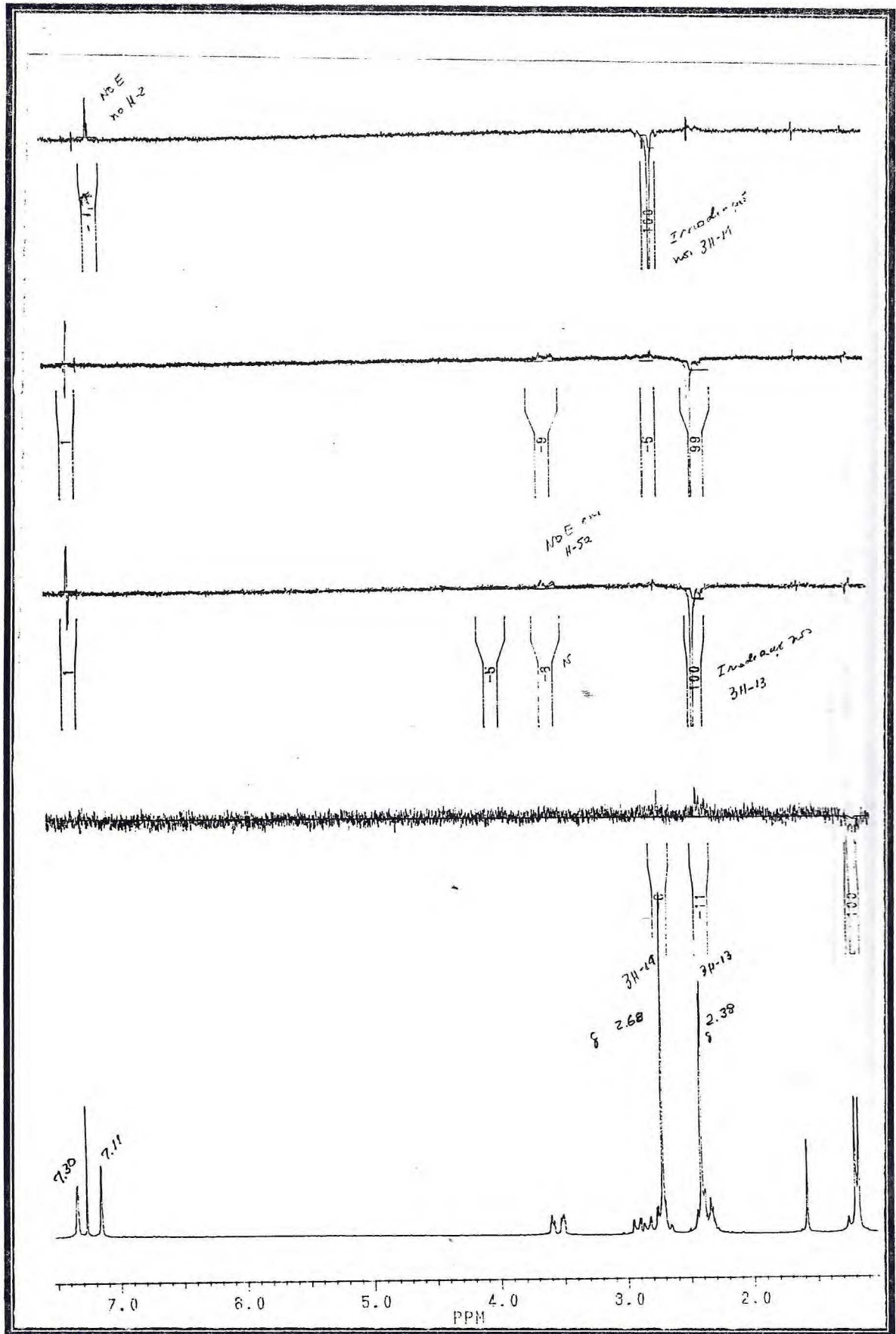


FIGURA 97- Experiência bidimensional de efeito nuclear overhauser (NOE) de I



file:FR21-24 Ident:320-318 Win 100PPM Acq:14-NOV-1995 15:40.01 Cal:PERFLUORQUERCENE  
AutoSpecE EI+ Magnet BpM:69 BpI:16101376 TIC:1011375488 Flags:HALL  
File Text:Fr 21-24 em CHCl3

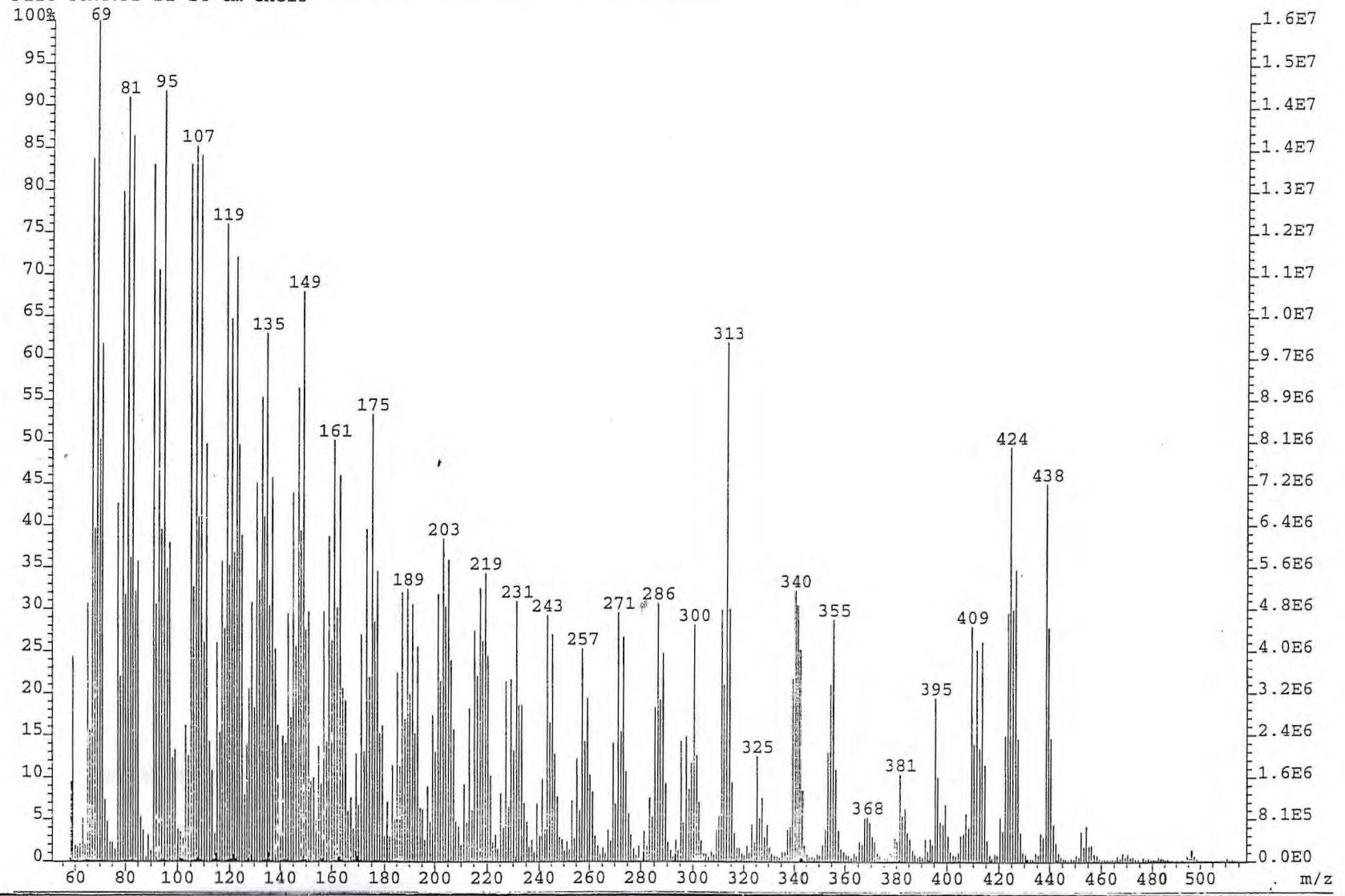


FIGURA 99- Espectro de massa de II

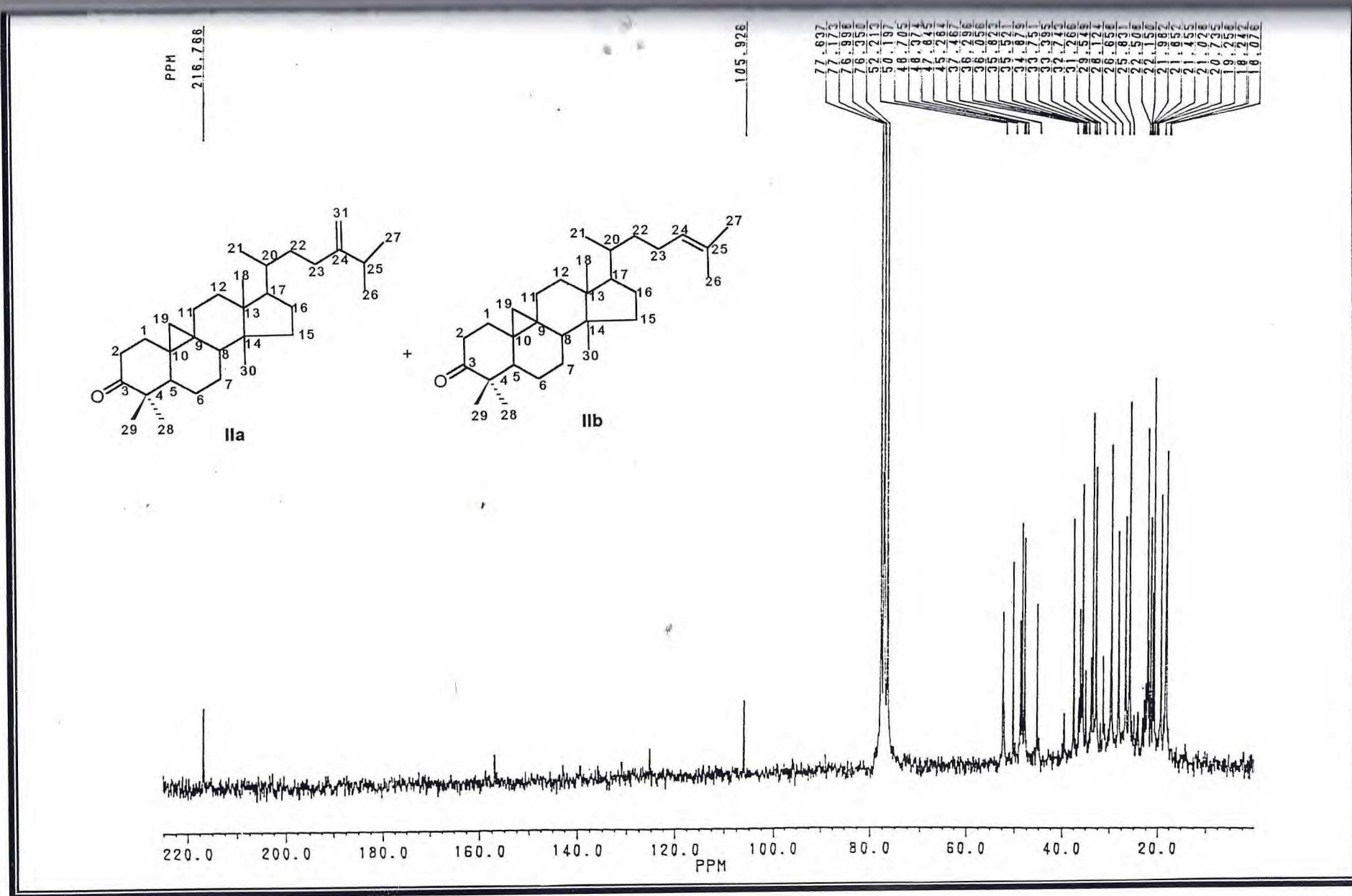


FIGURA 100- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- PND de II

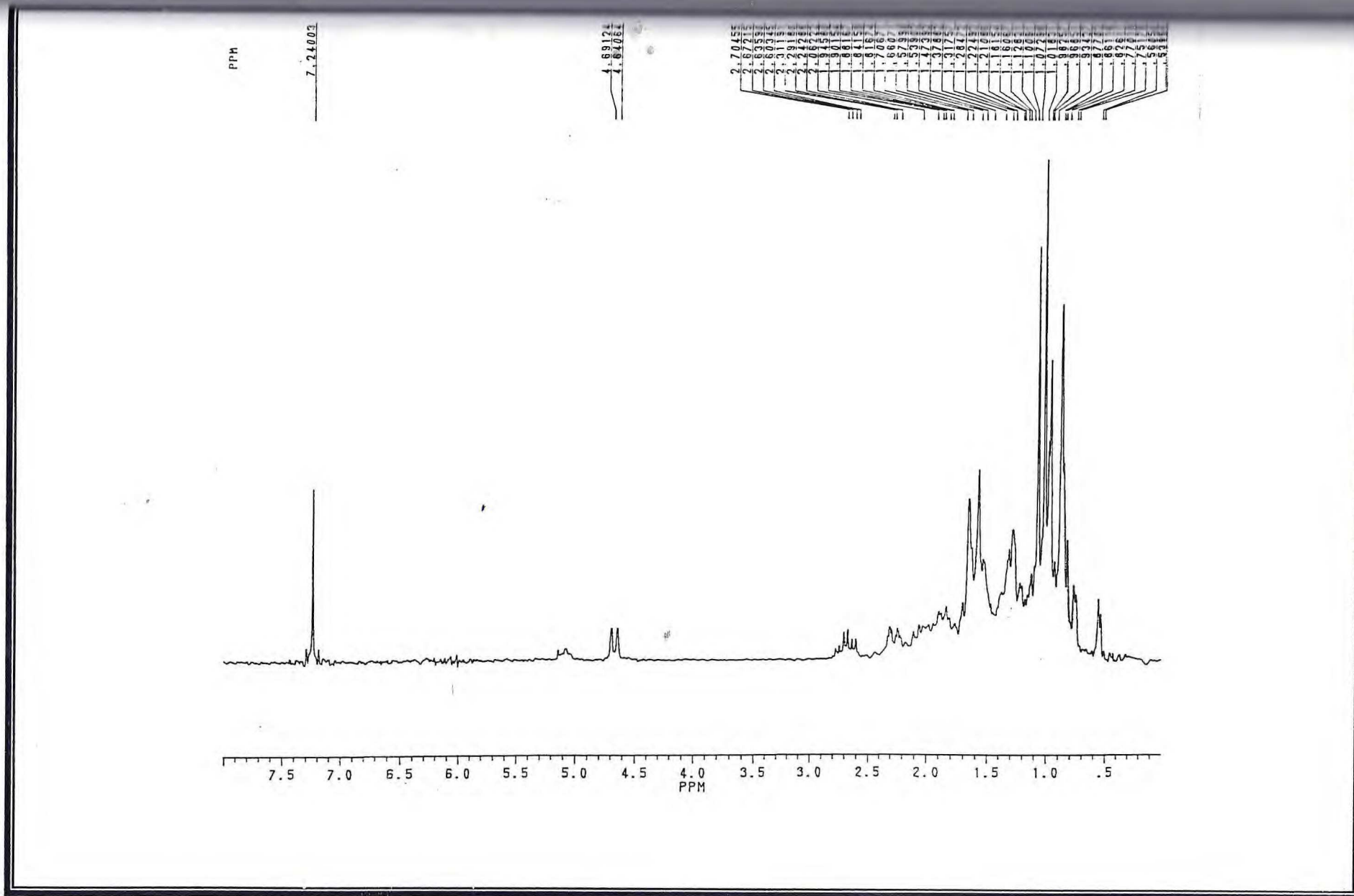


FIGURA 101- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de II

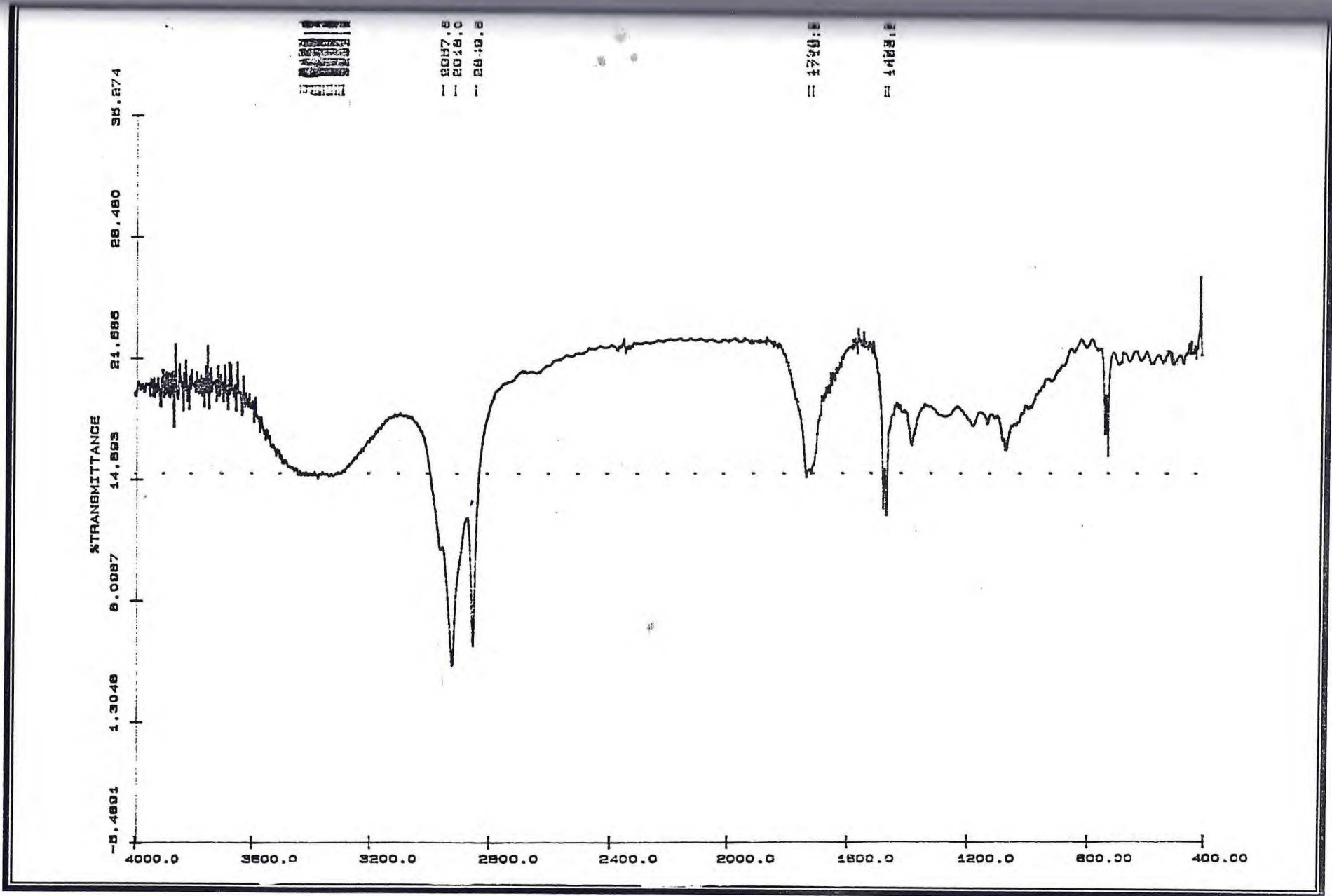


FIGURA 102- Espectro na região do I.V. de III

FILE:FA24-37 IDENT:18\_41 Win 100PPM Acq:23-MAY-1998 11:05:43 #0:54 Cal:PPK  
AutoSpecE EI+ Magnet BpM:83 BpI:2063744 TIC:28151590 Flags:HALL  
File Text:Fr 24- 27 em CHCl3

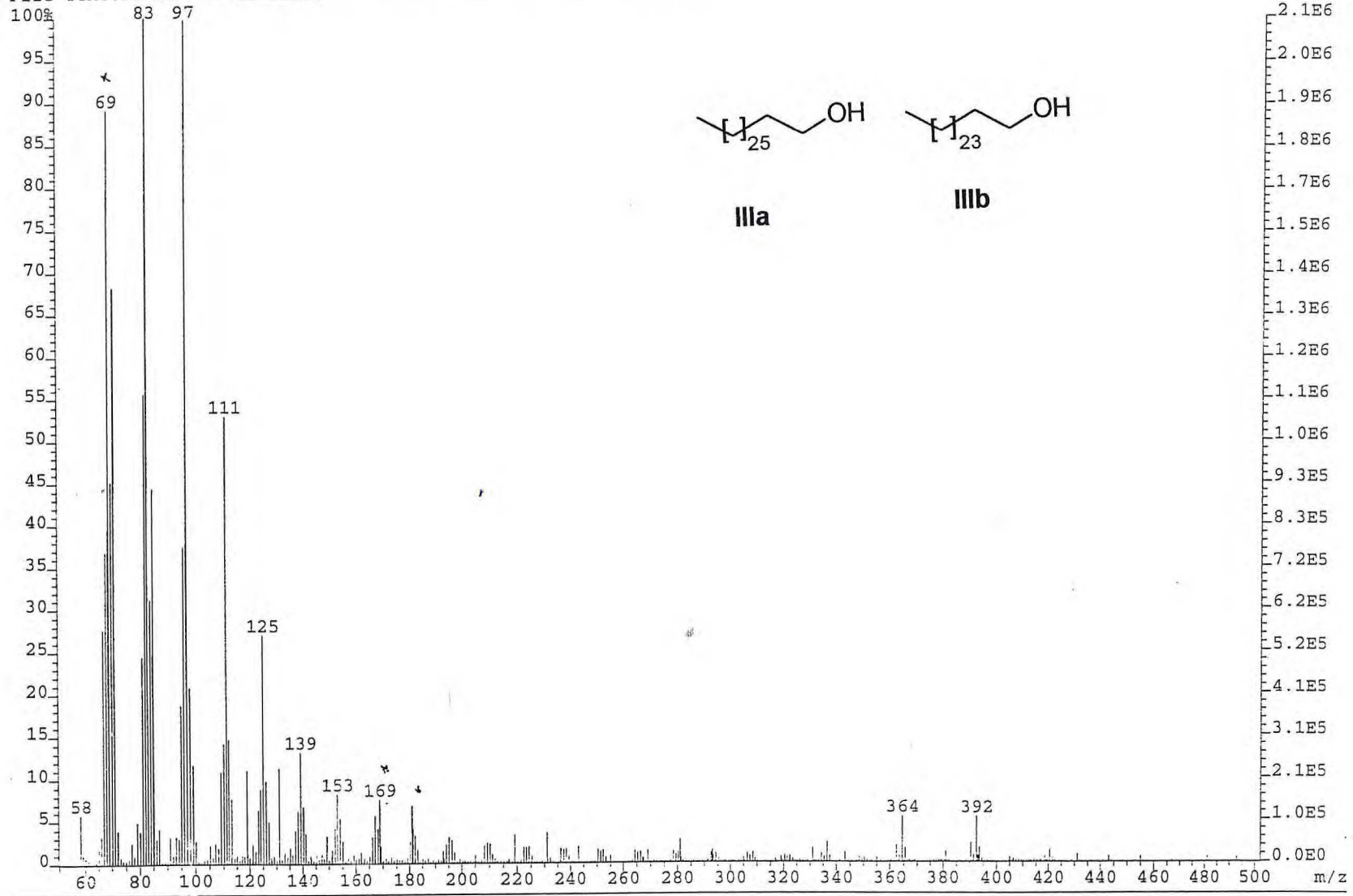


FIGURA 103- Espectro de massa de III



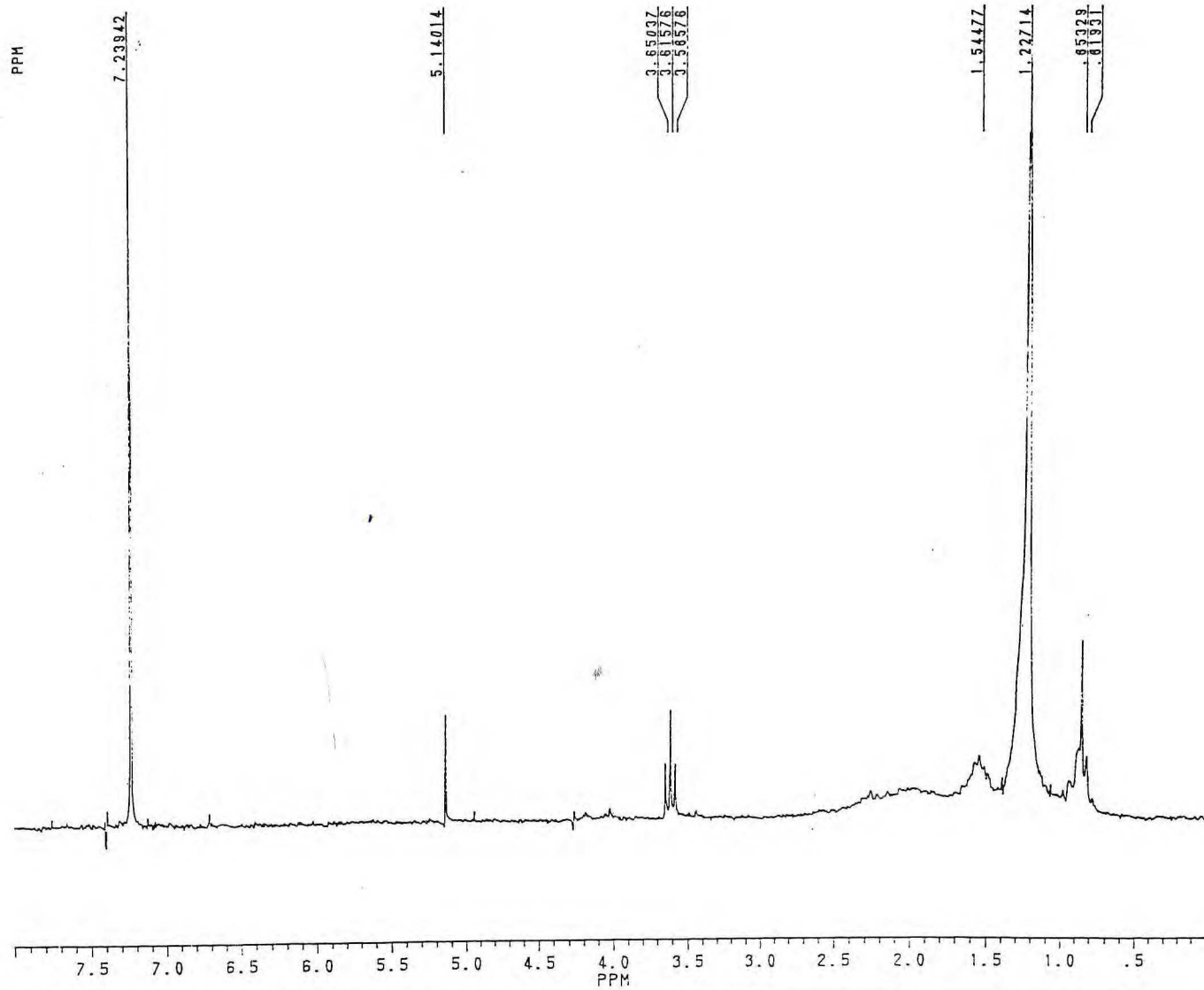


FIGURA 104- Espectro de RMN <sup>1</sup>H de III

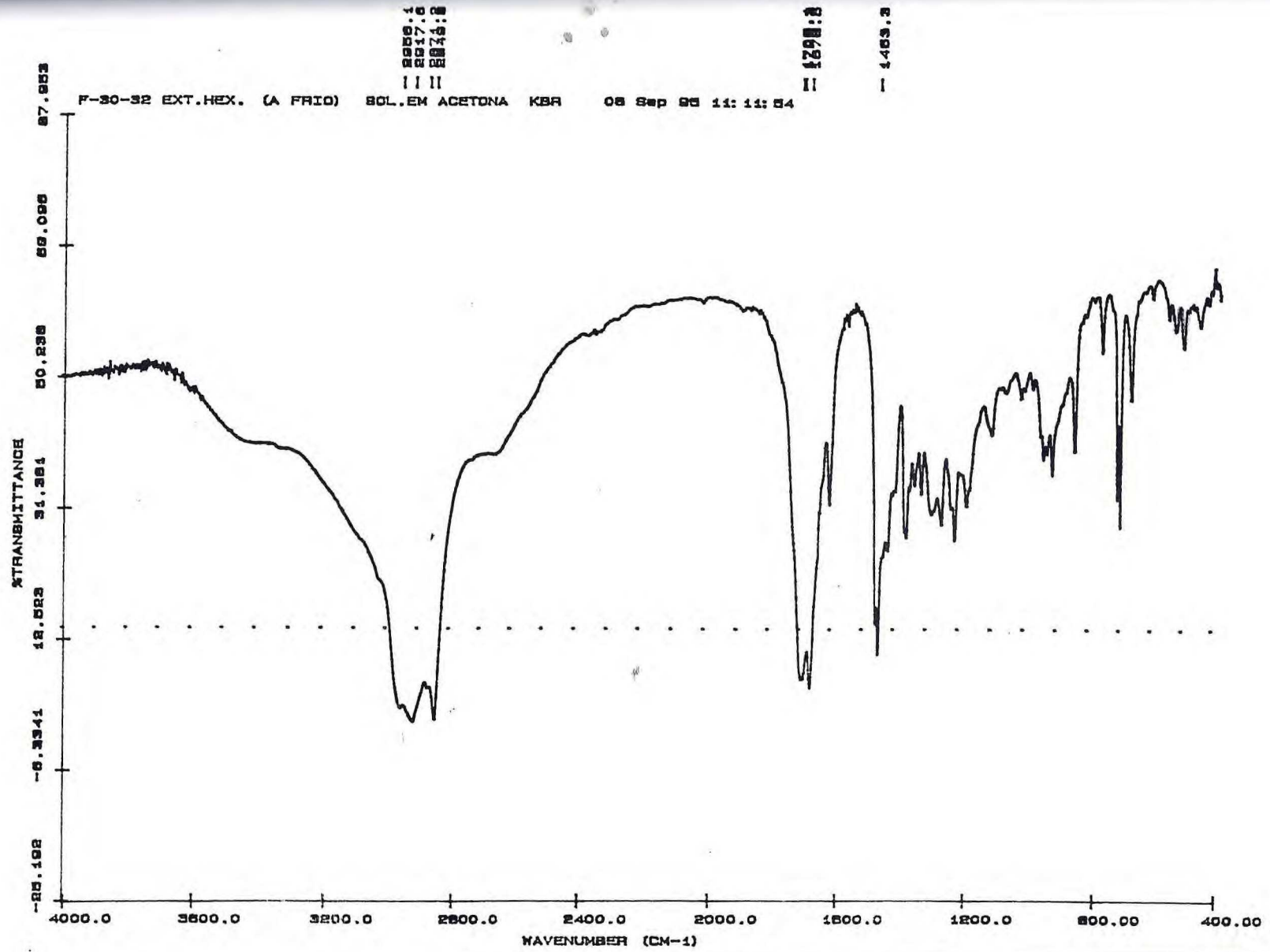


FIGURA 105- Espectro na região do I.V. de IV

File:FR-30-32 Ident:10\_203 Win 100PPM Acq:23-MAY-1996 15:00:52 +3:09 Cal:PFK  
AutoSpecE EI+ Magnet BpM:73 BpI:2094415 TIC:56725548 Flags:HALL  
File Text:FR 30- 32 solido

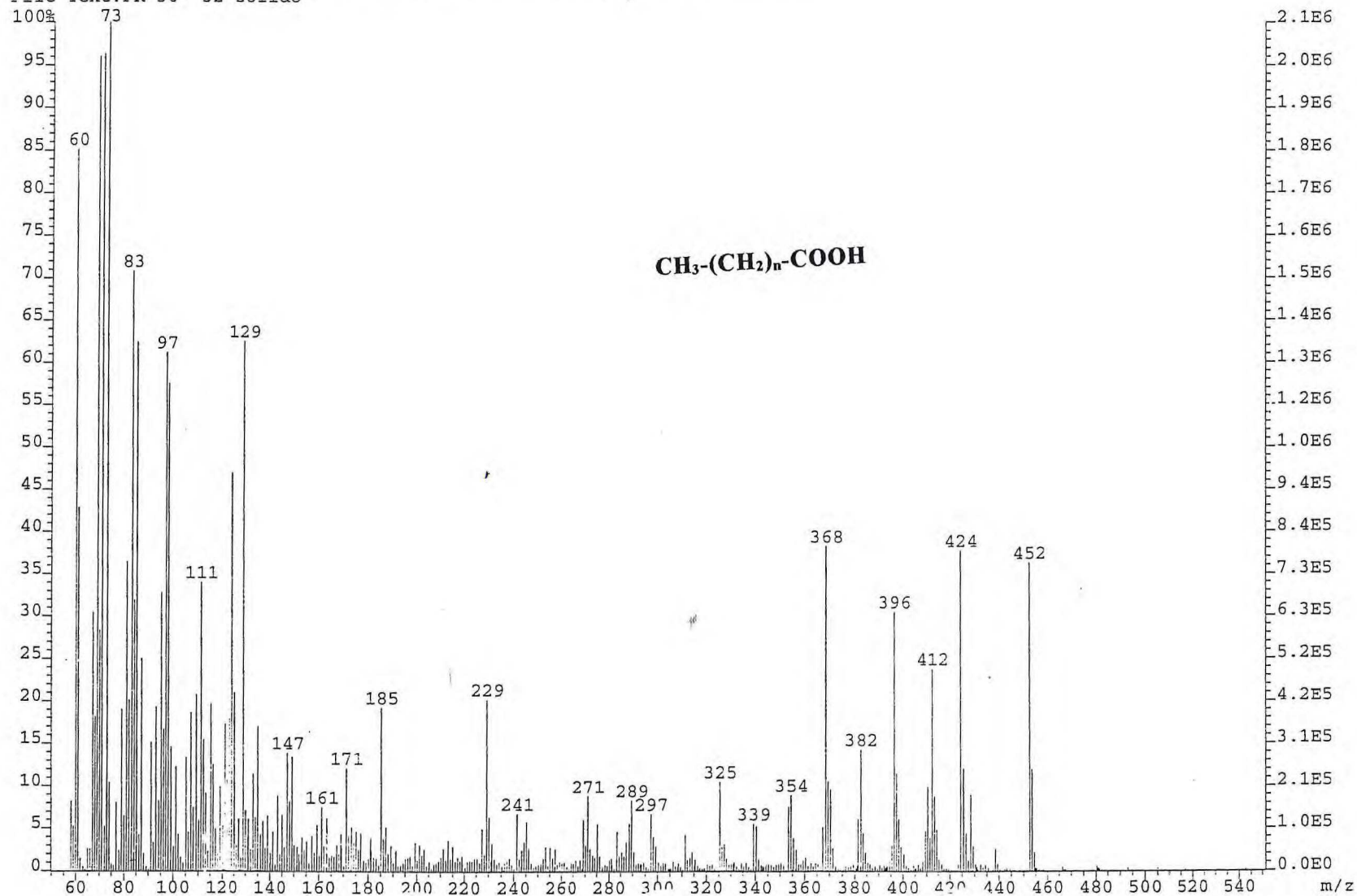


FIGURA 106- Espectro de massa de IV

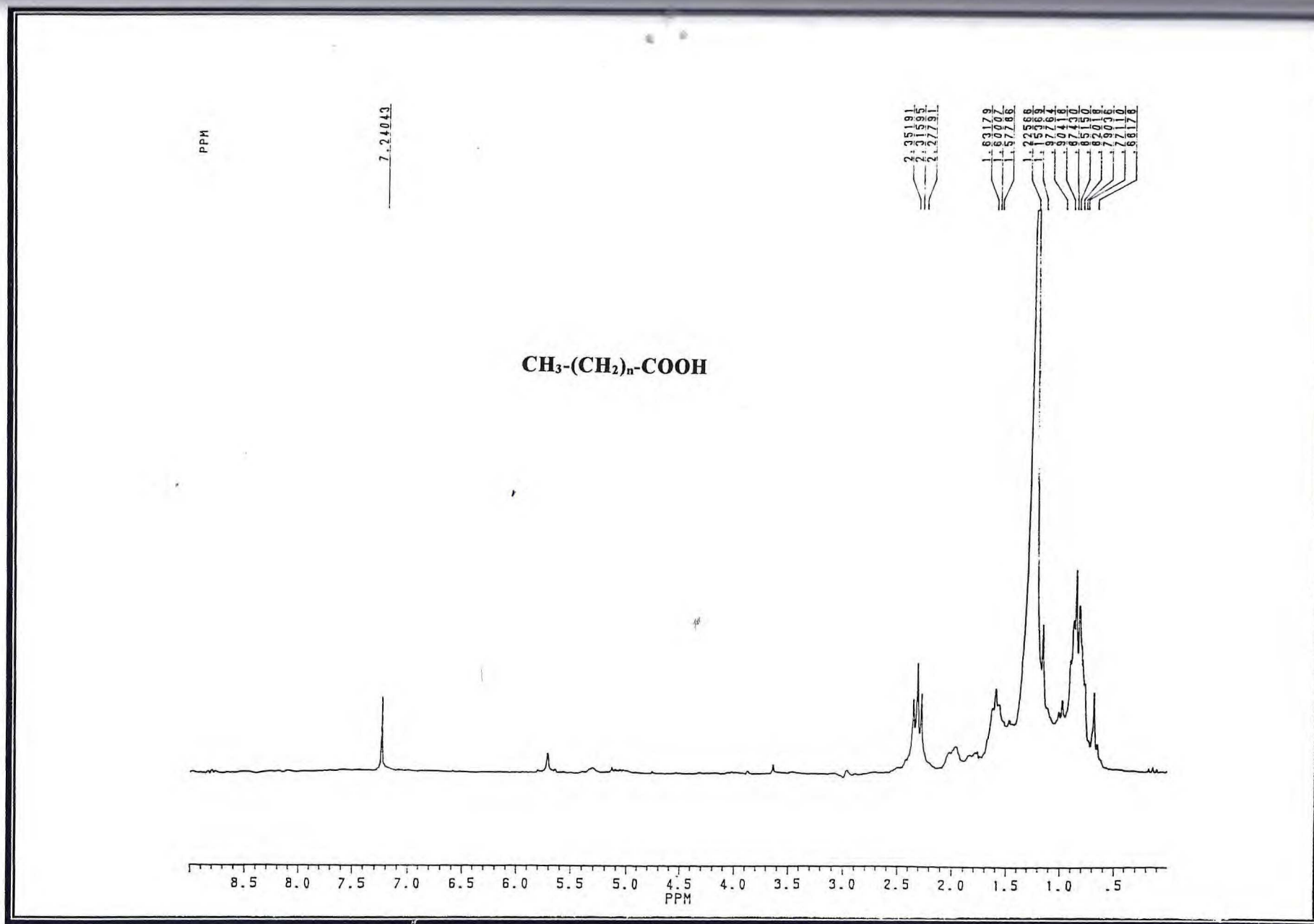


FIGURA 107- Espectro de RMN <sup>1</sup>H de IV

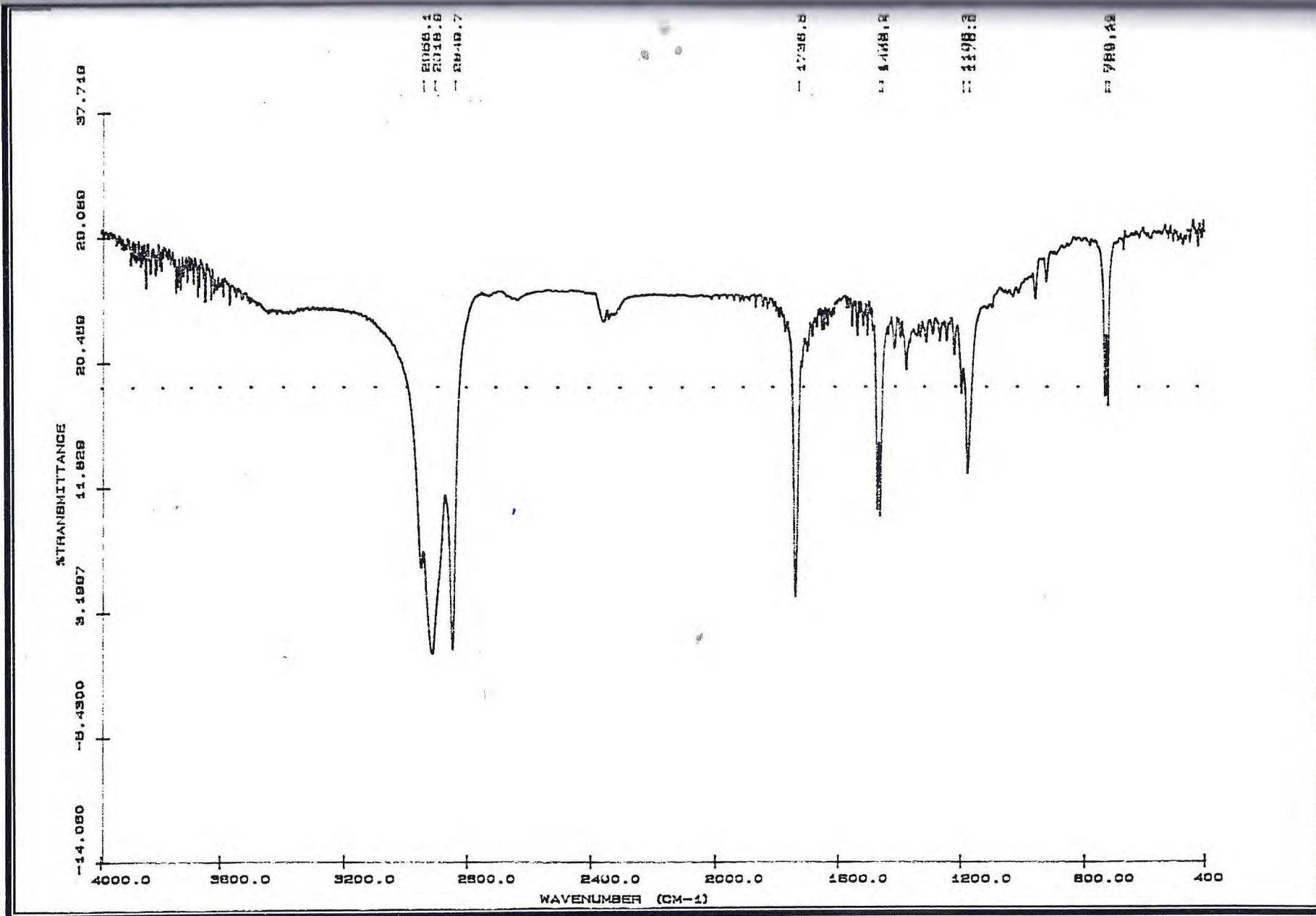


FIGURA 108- Espectro na região do I.V. de V

File:EVELINEFR2 Ident:345 Acq:25-SEP-1996 15:06:05 +10:07 Cal:PFK  
AutoSpecE EI+ Magnet BpI:5316711 TIC:168914640 Flags:HALD  
File Text:Eveline Fr 2 solido

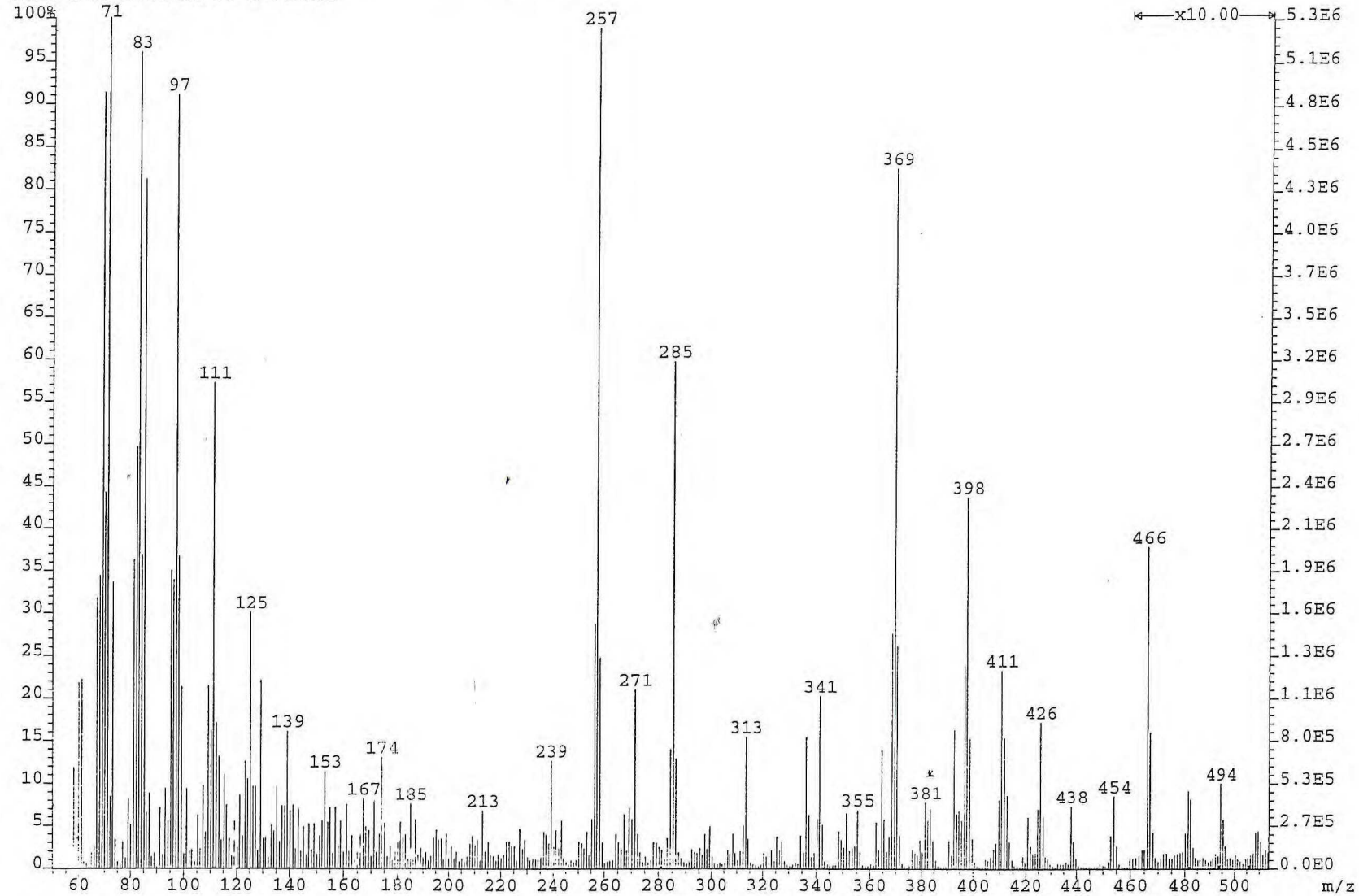


FIGURA 109- Espectro de massa de V

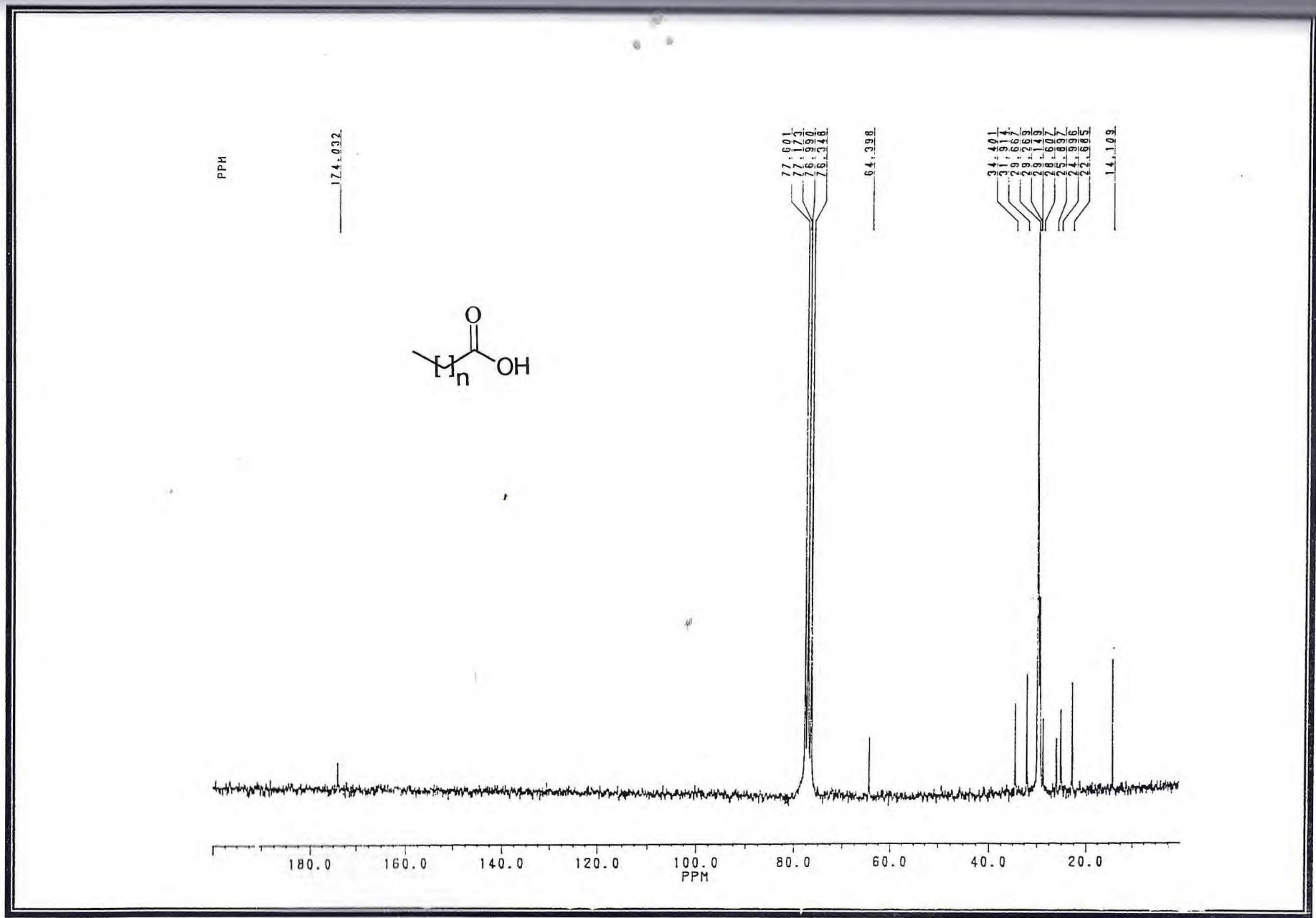


FIGURA 110- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- PND de V

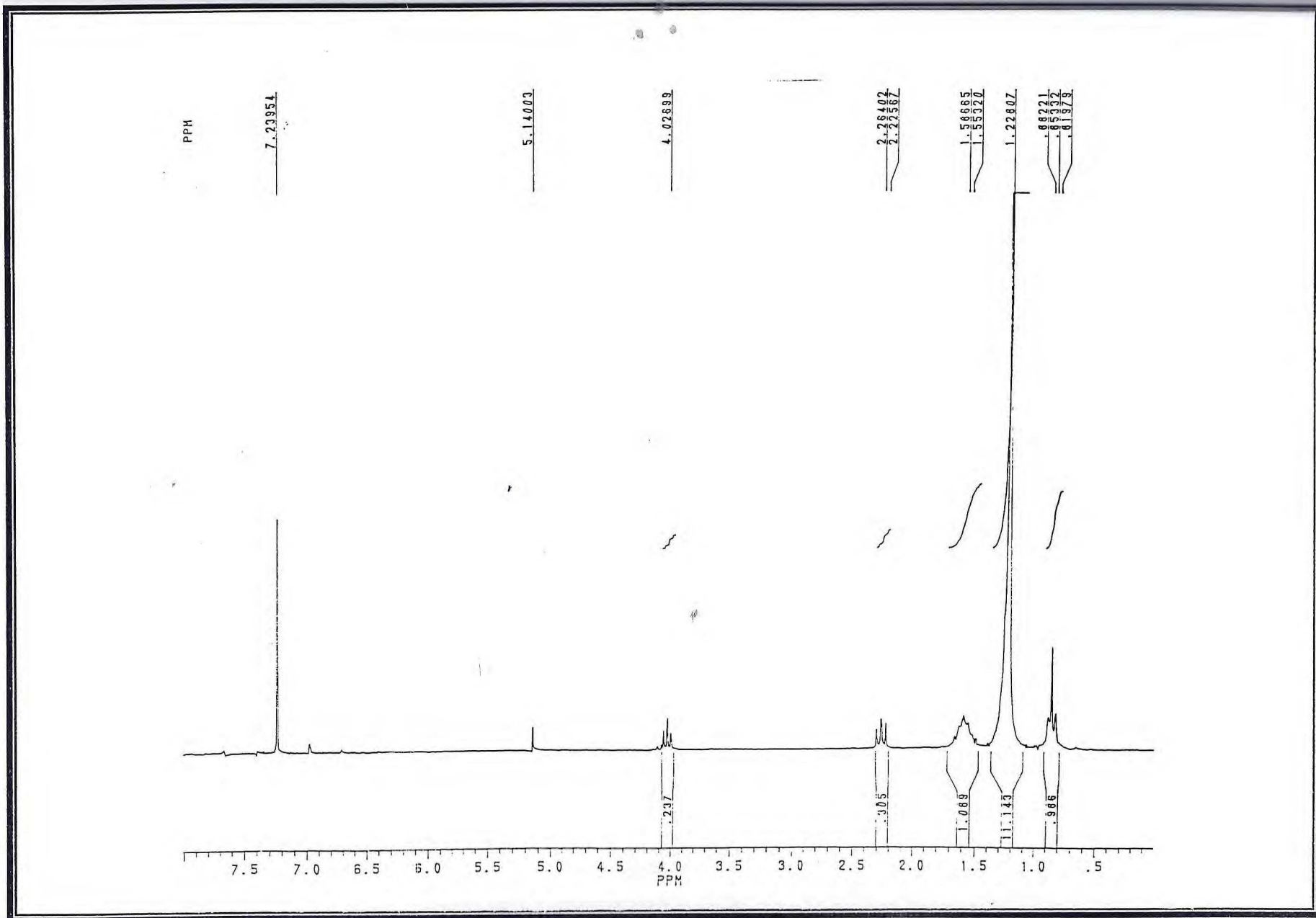


FIGURA 111- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de V



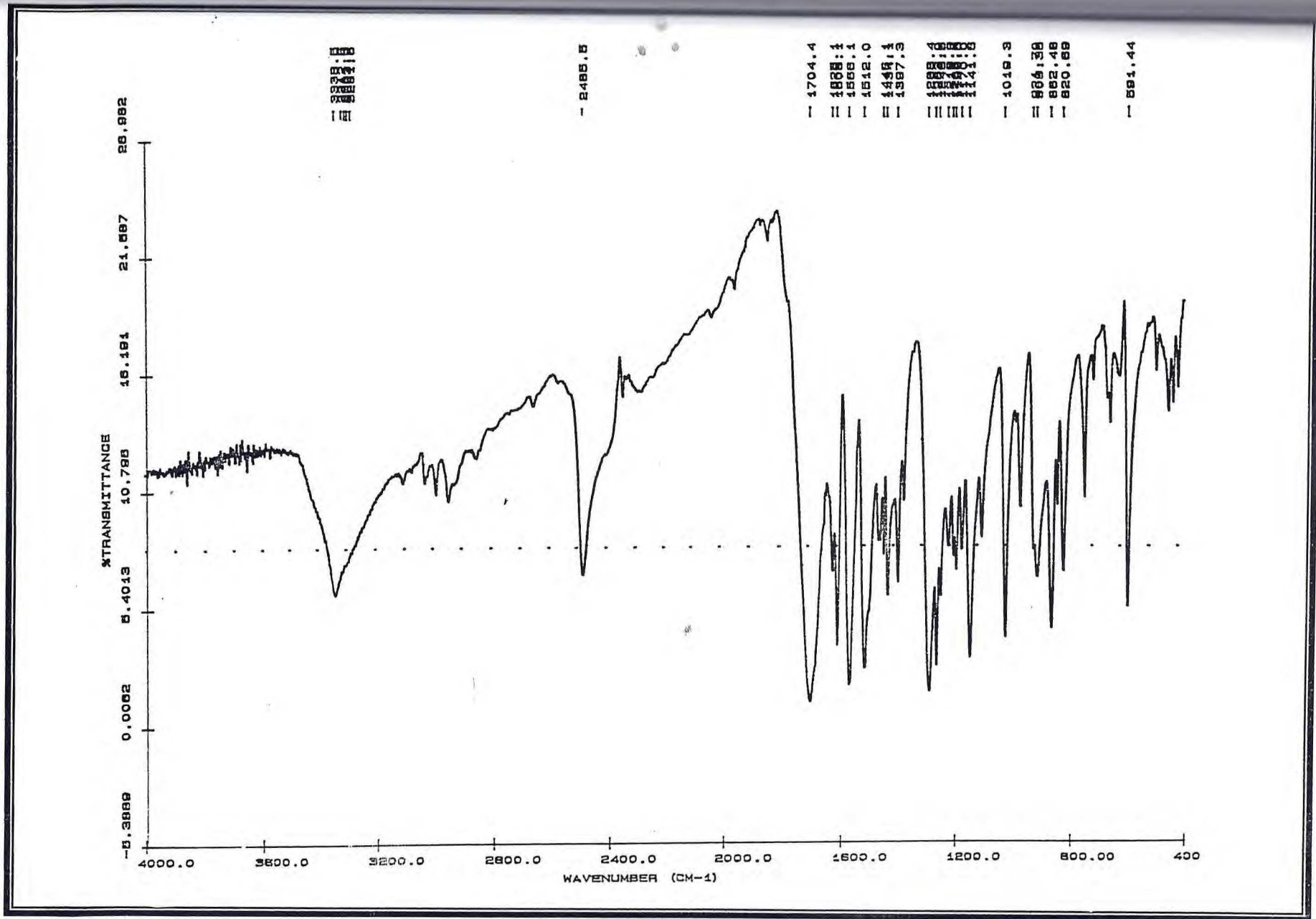


FIGURA 112- Espectro na região do I.V. de VI

file:FR54-74 Ident:84-13 win 100PPM Acq:14-NOV-1995 16:01:22 Cal:PERFLUORQUEROSENE  
AutoSpecE EI+ Magnet BpM:192 BpI:8107008 TIC:87063040 Flags:HALL  
File Text:Fr 54- 74 Septum

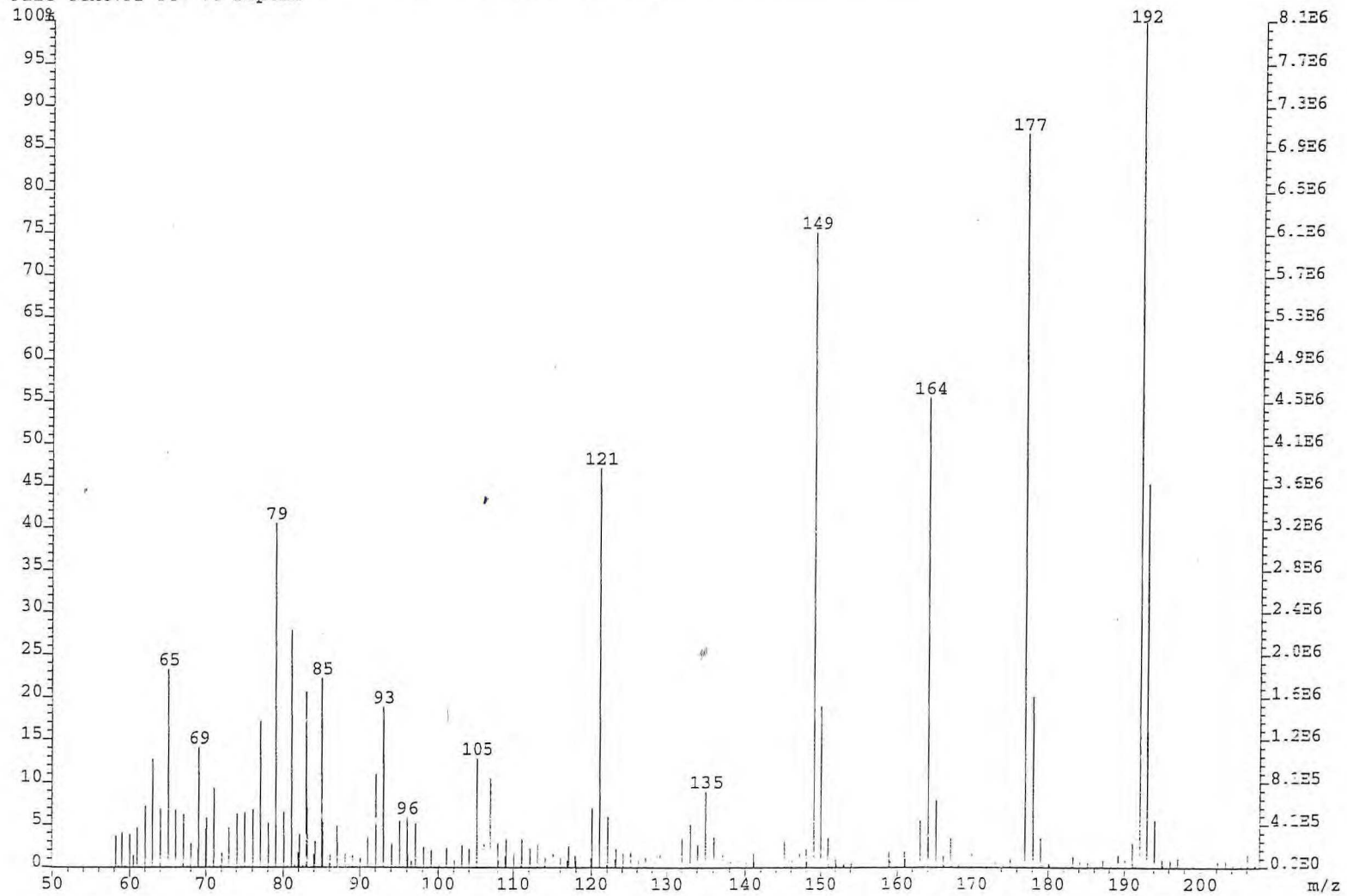


FIGURA 113- Espectro de massa de VI

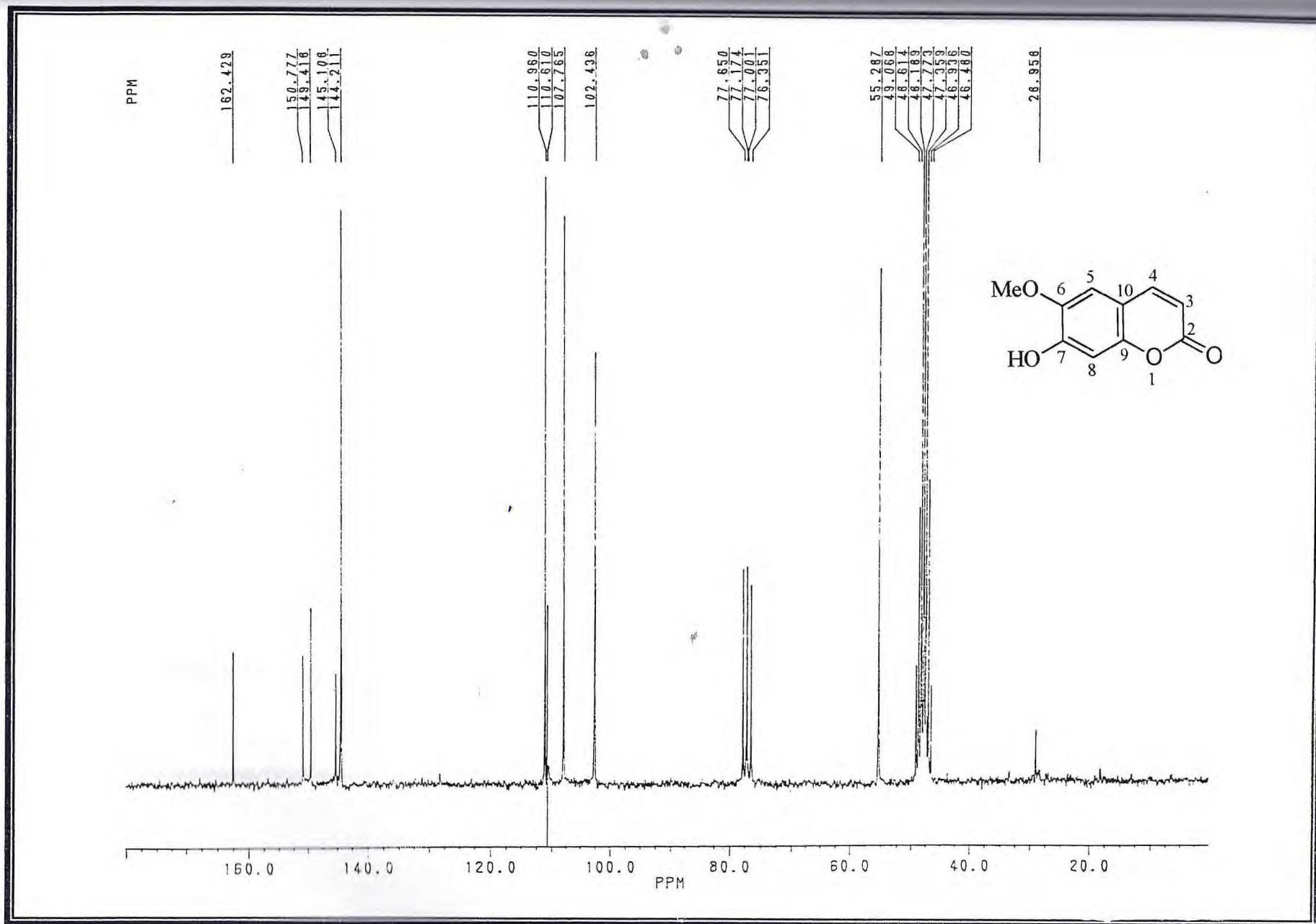


FIGURA 114- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - PND de VI

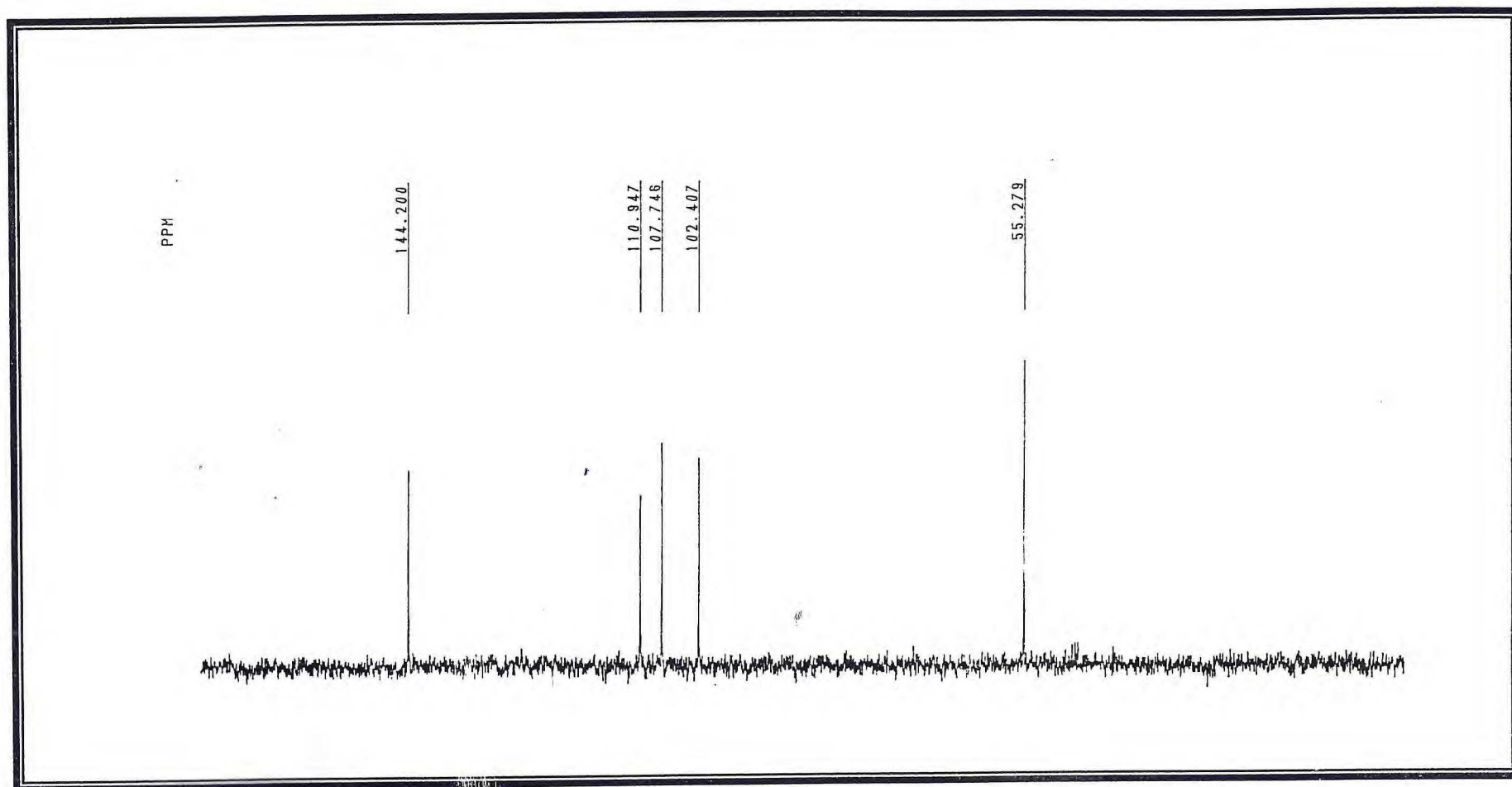


FIGURA 115- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- DEPT 135° de VI

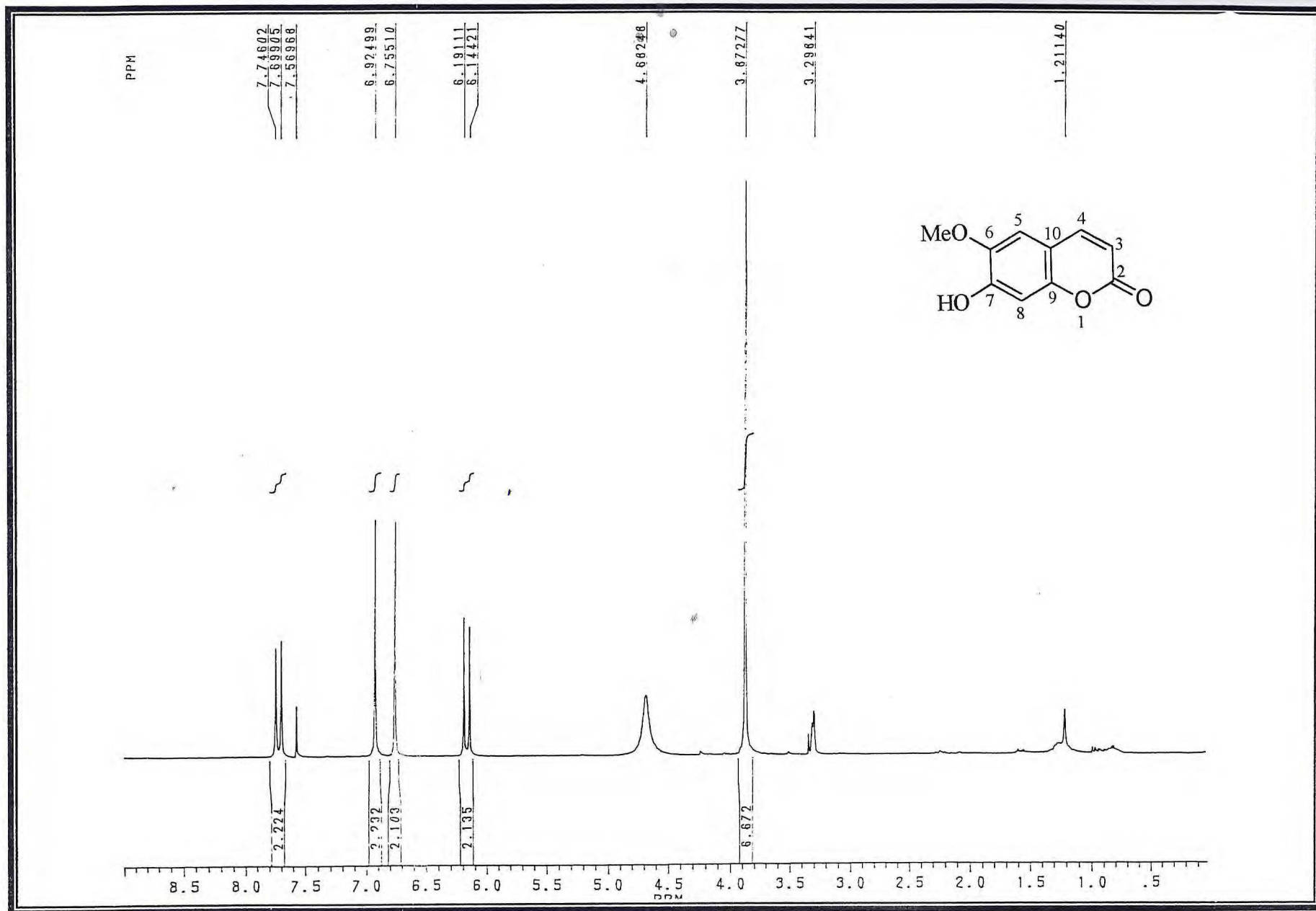


FIGURA 116- Espectro de RMN <sup>1</sup>H de VI

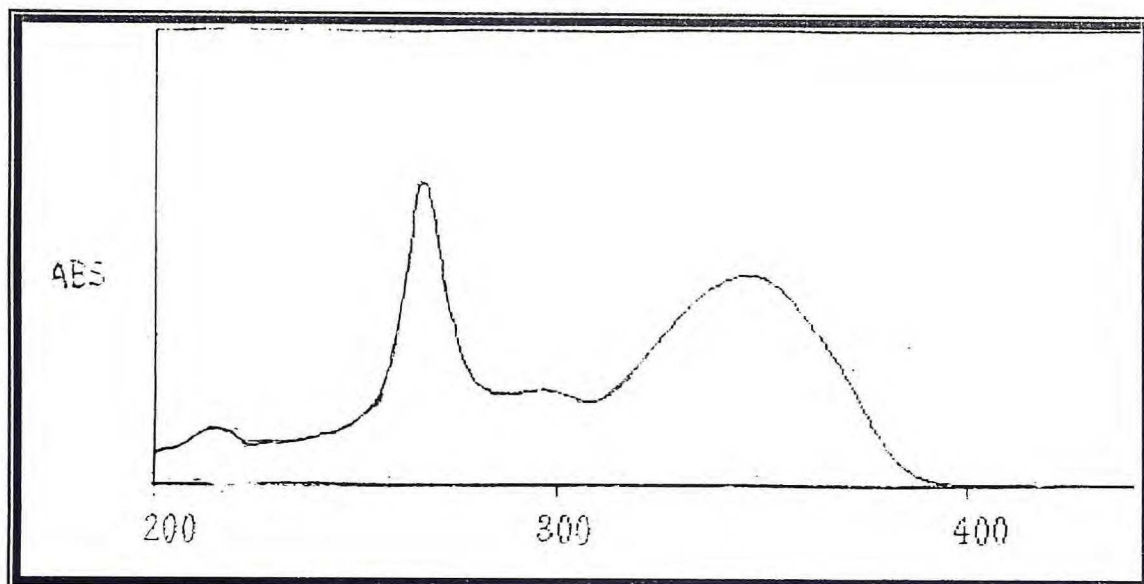


FIGURA 117- Espectro na região do ultravioleta (UV) de VI em EtOH(meio neutro)

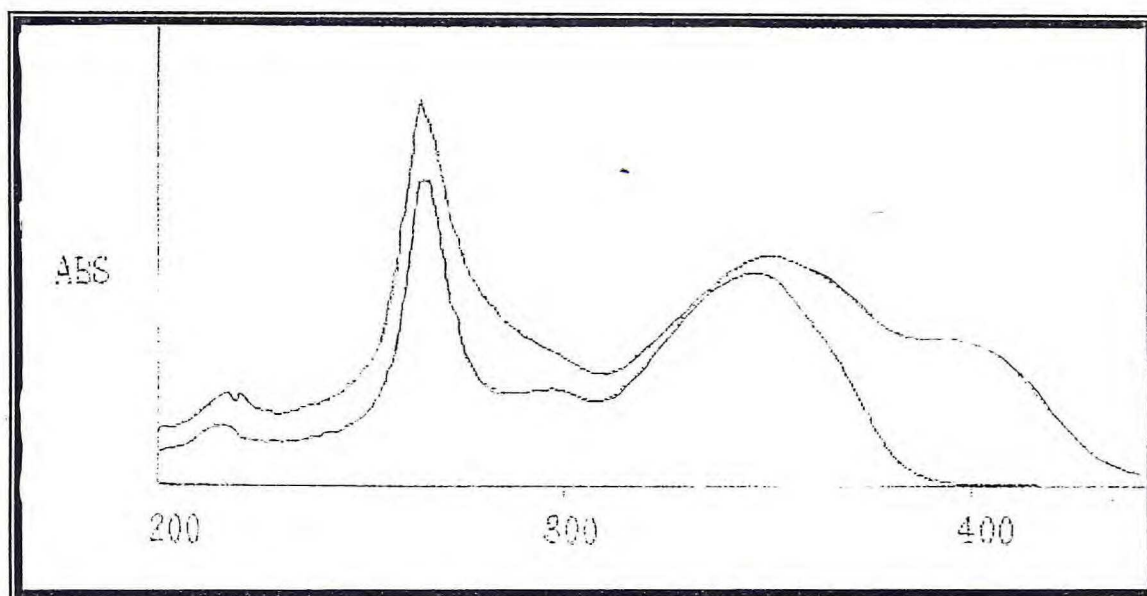


FIGURA 118- Espectro na região do ultravioleta (UV) de VI em EtOH e na presença de NaOAc

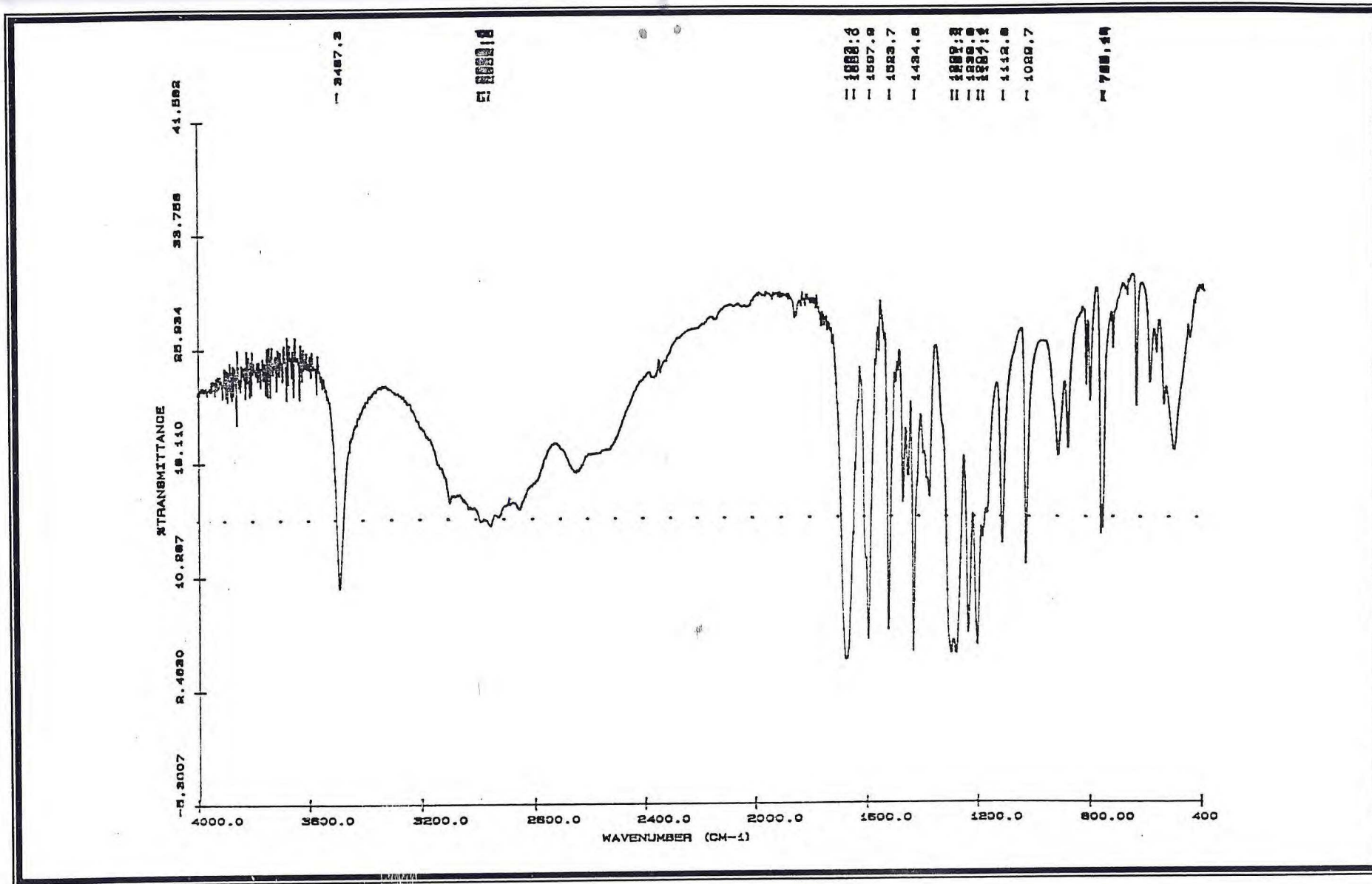


FIGURA 119- Espectro na região do I.V. de VII

File: @al:Prk  
AutoSpecE EI+ Magnet EpM:168 EpI:10883072 TIC:45064844 Flags:NORM  
File Text:

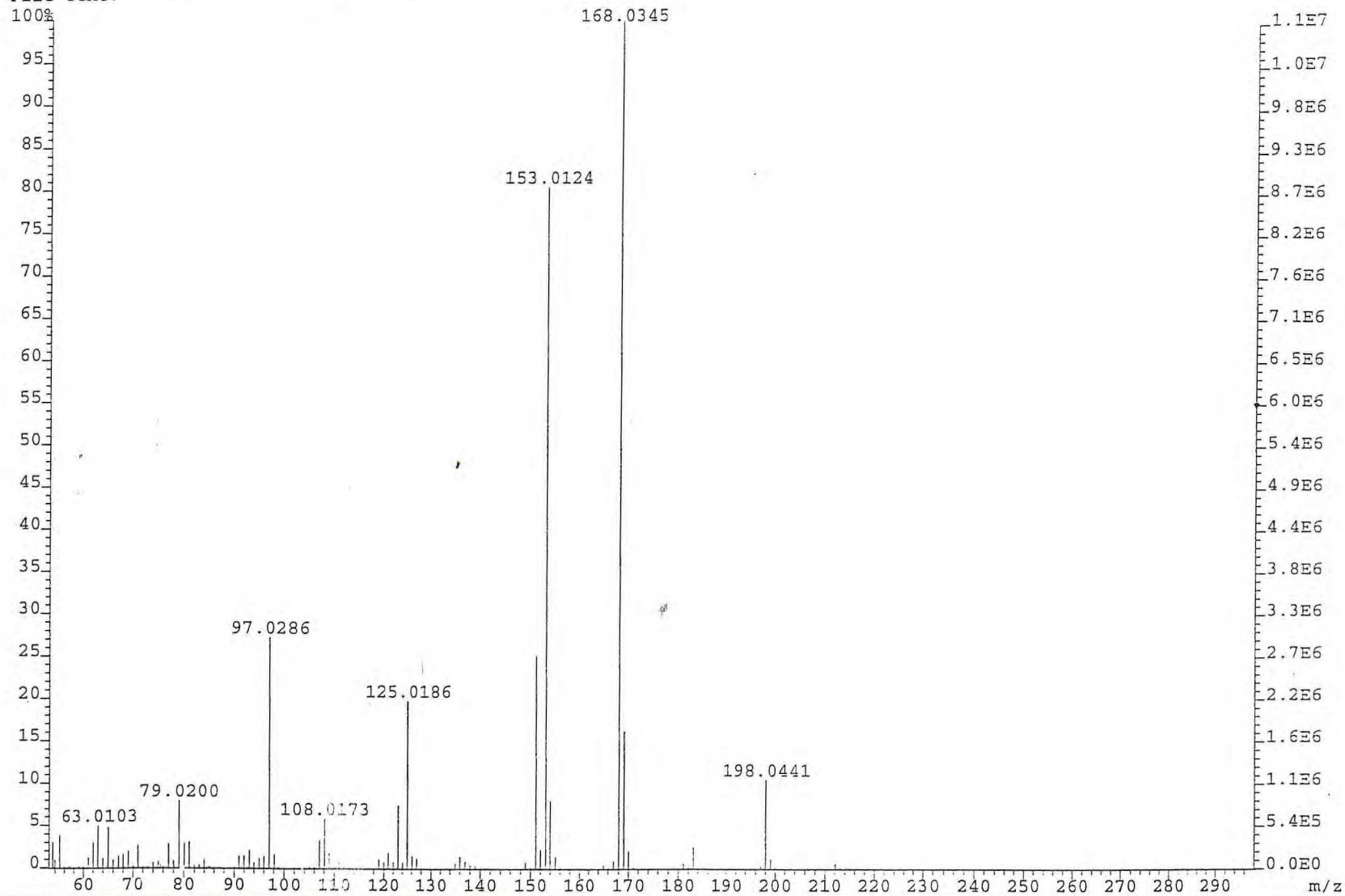


FIGURA 120- Espectro de massa de VII



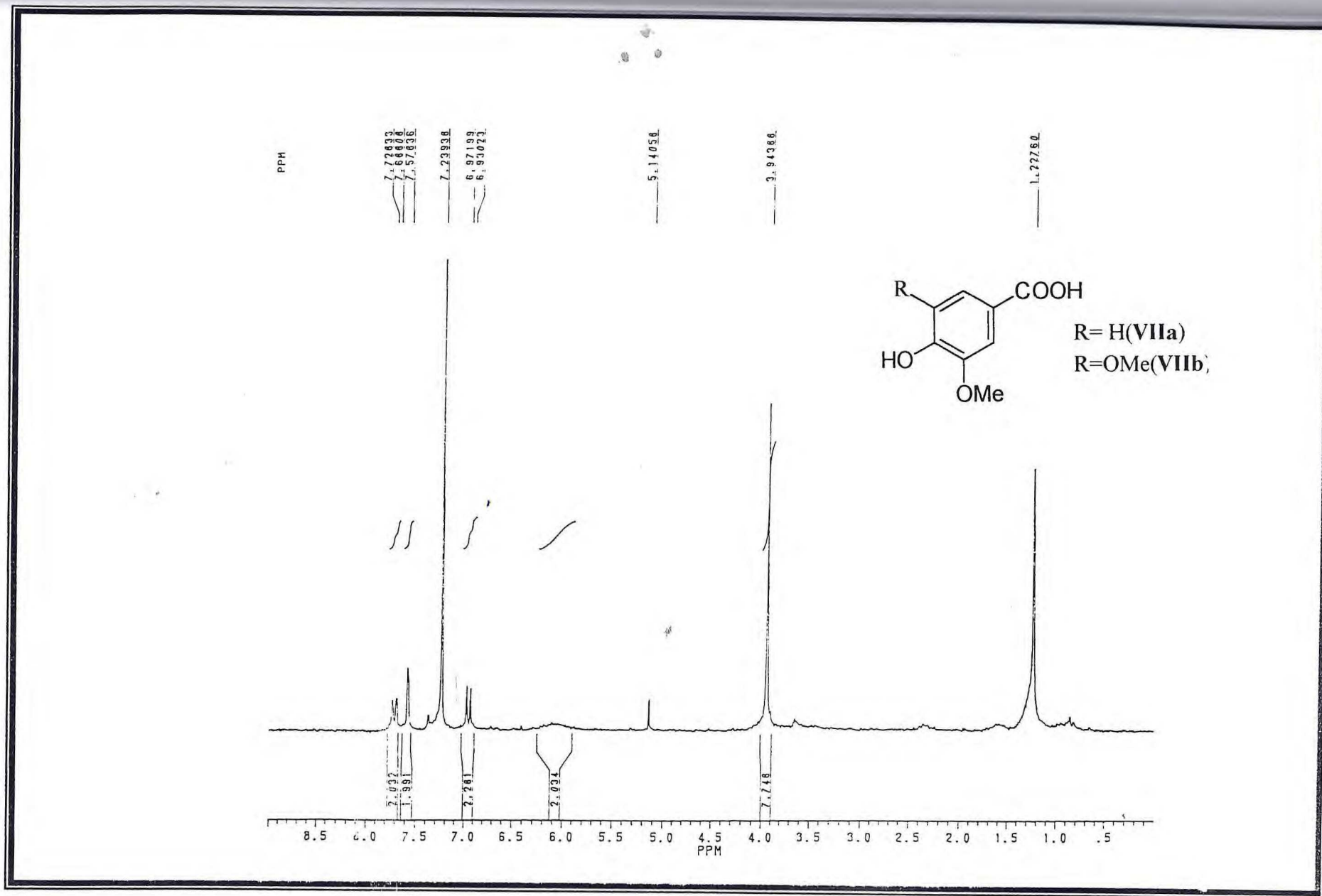


FIGURA 121- Espectro de RMN <sup>1</sup>H de VII

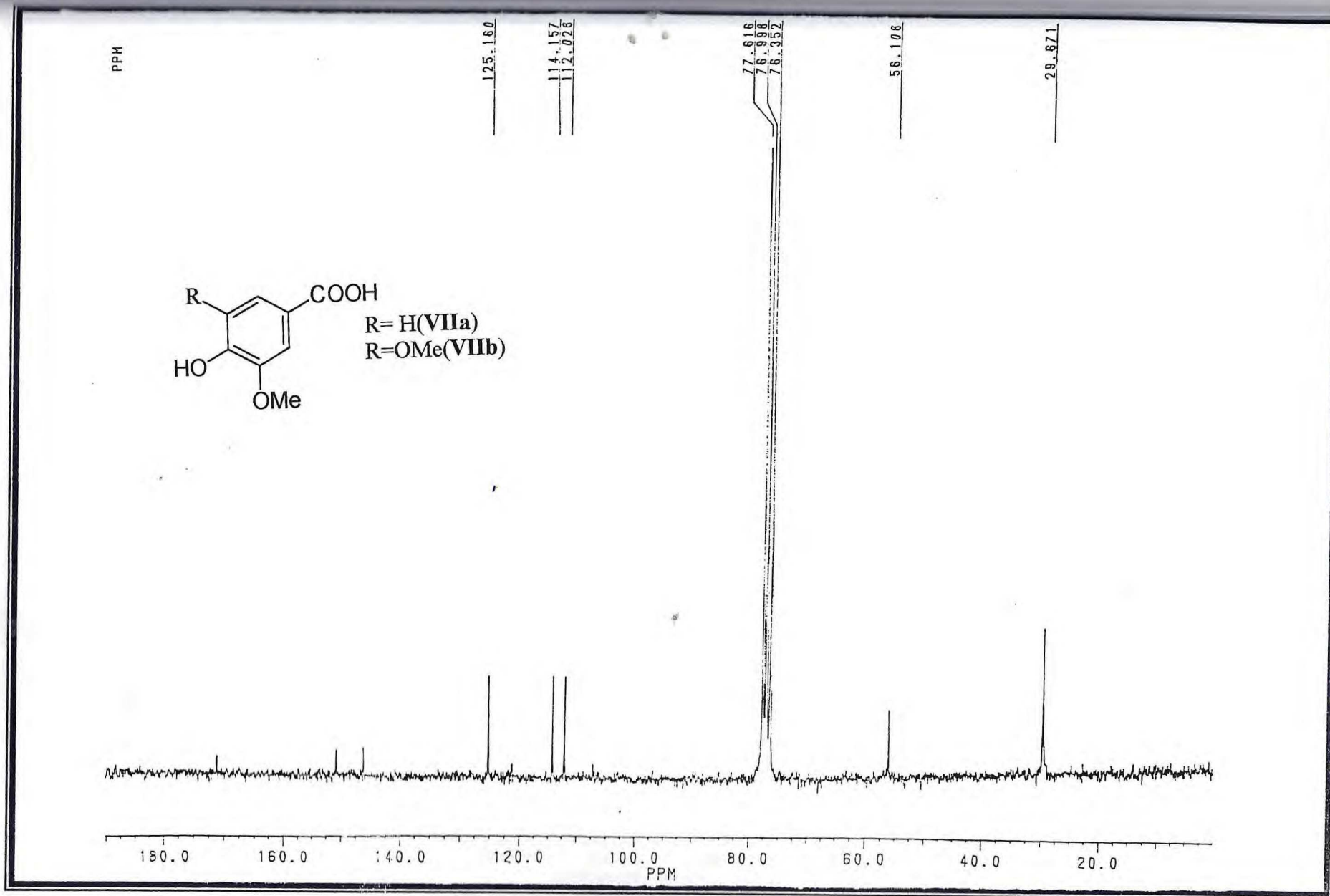


FIGURA 122- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - PND de VII

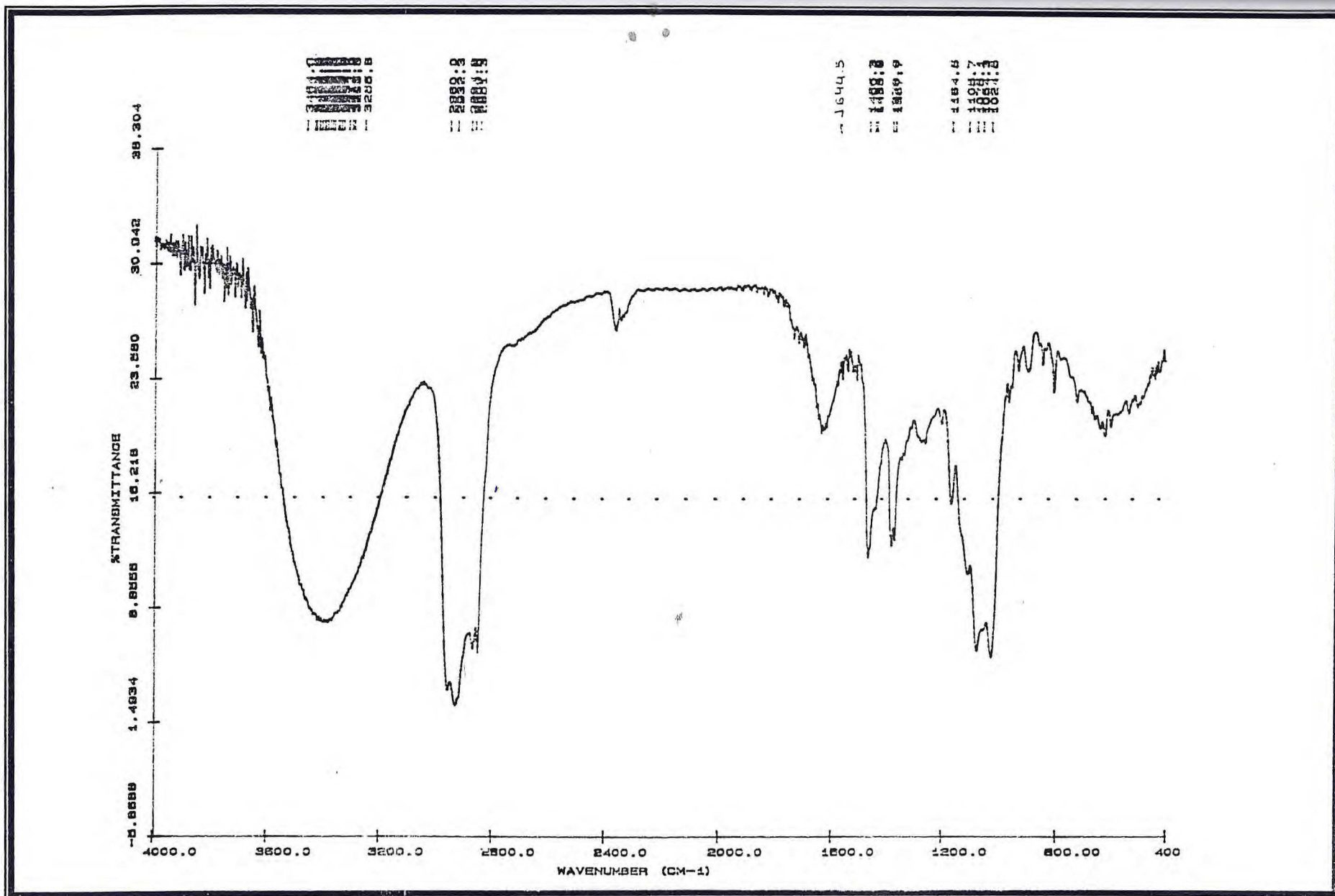


FIGURA 123- Espectro na região do I.V. de VIII

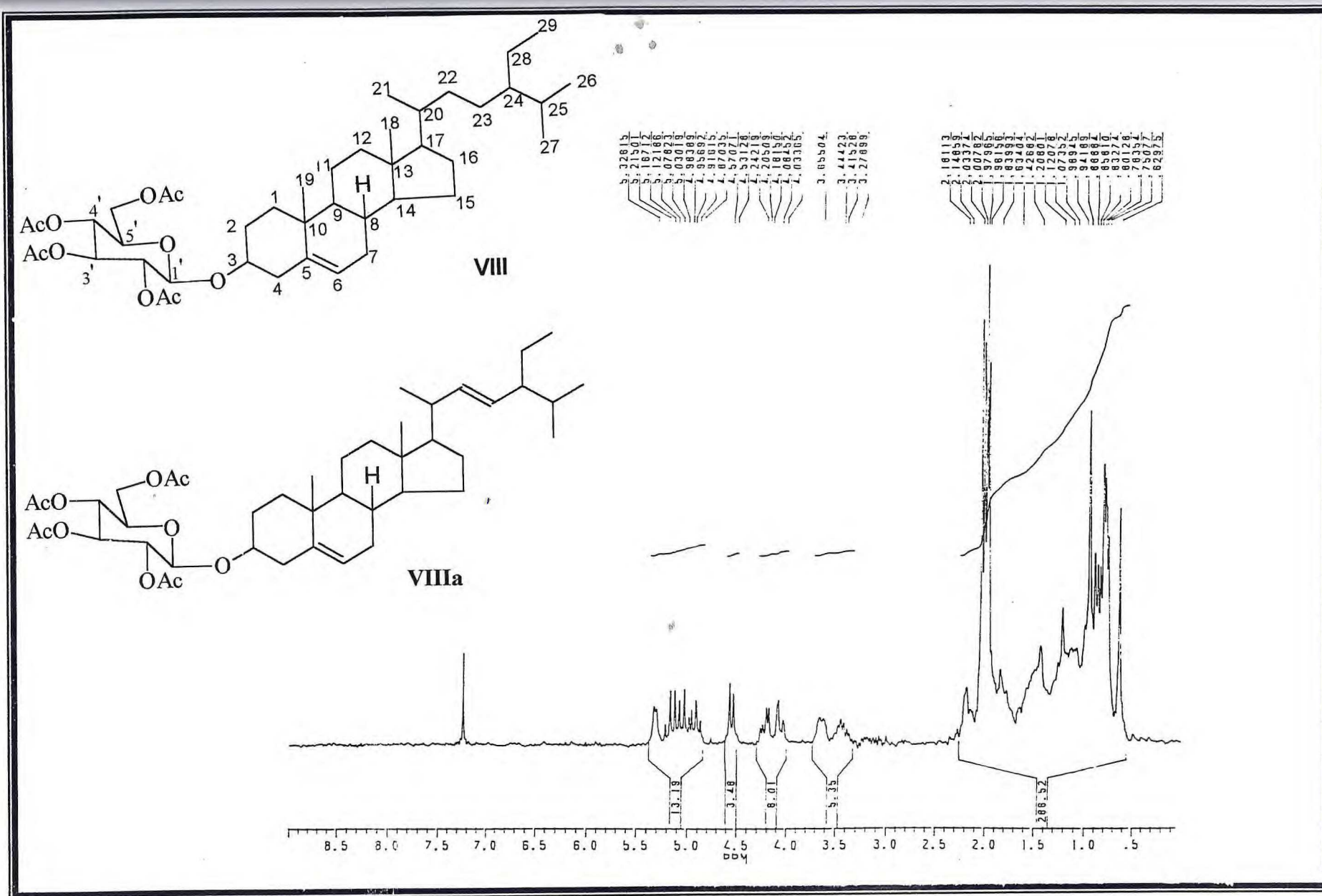


FIGURA 124- Espectro de RMN <sup>1</sup>H de VIII

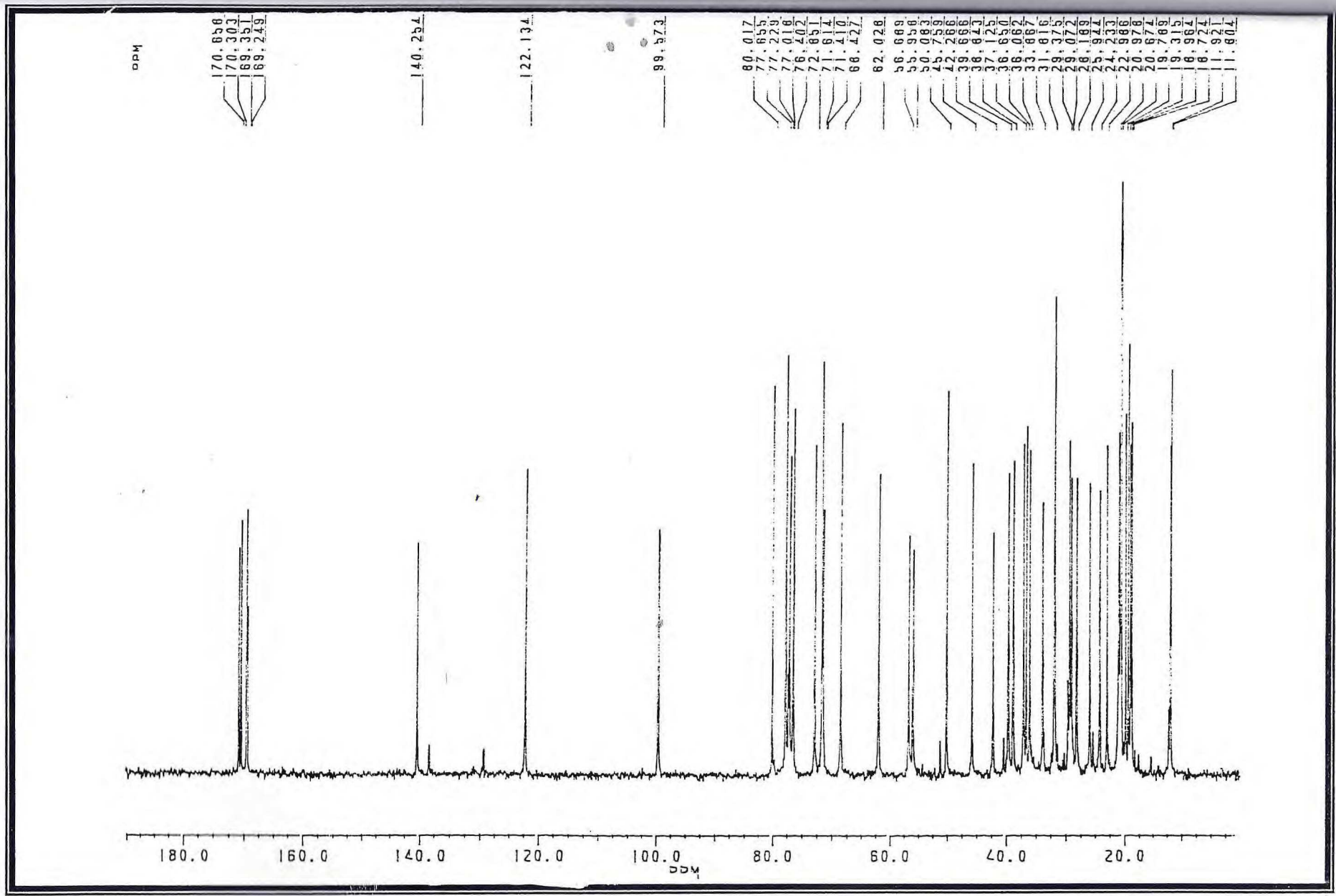


FIGURA 125- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- PND de VIII

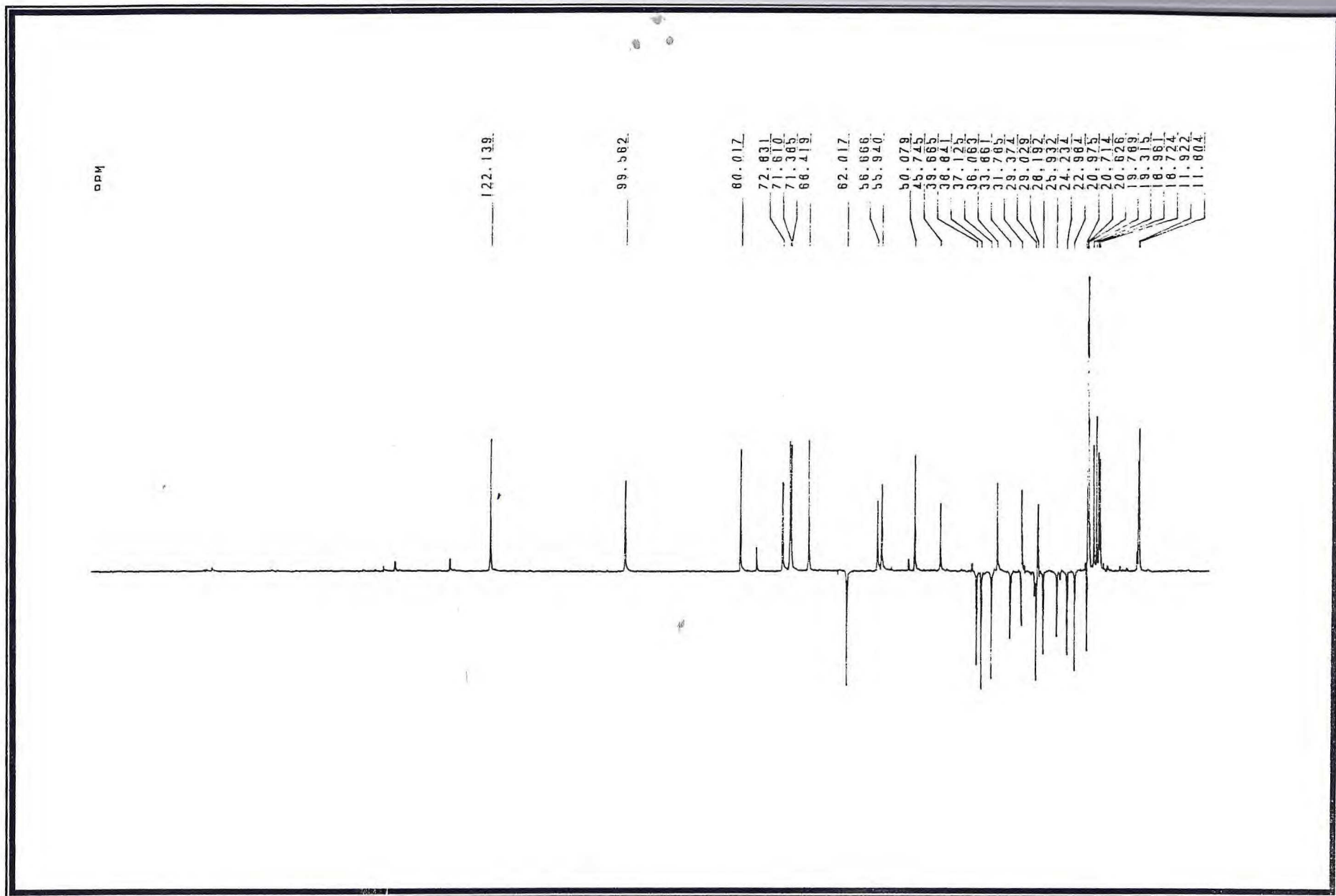


FIGURA 126- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - DEPT  $135^\circ$  de VIII

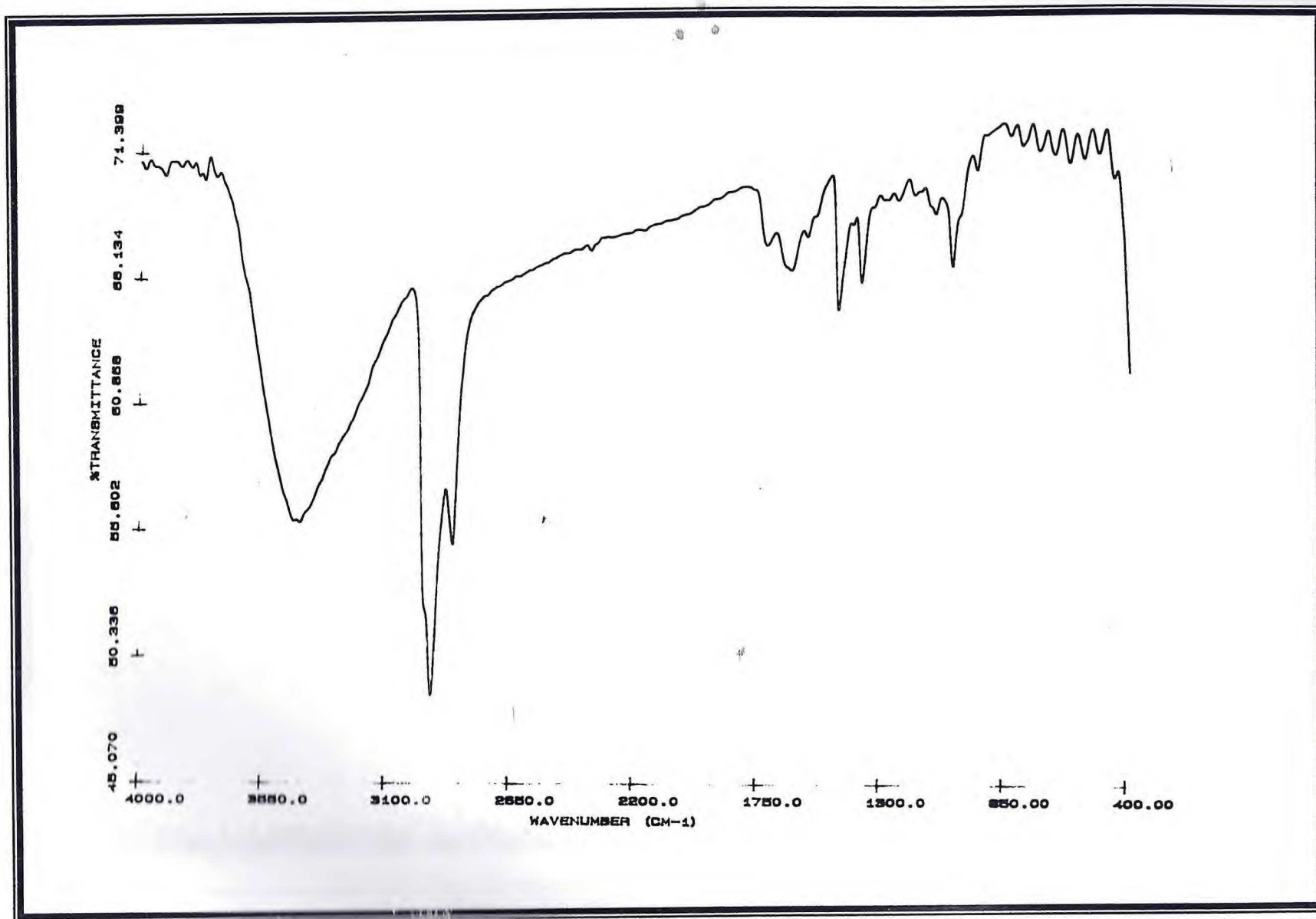


FIGURA 127- Espectro na região do I.V. de IX

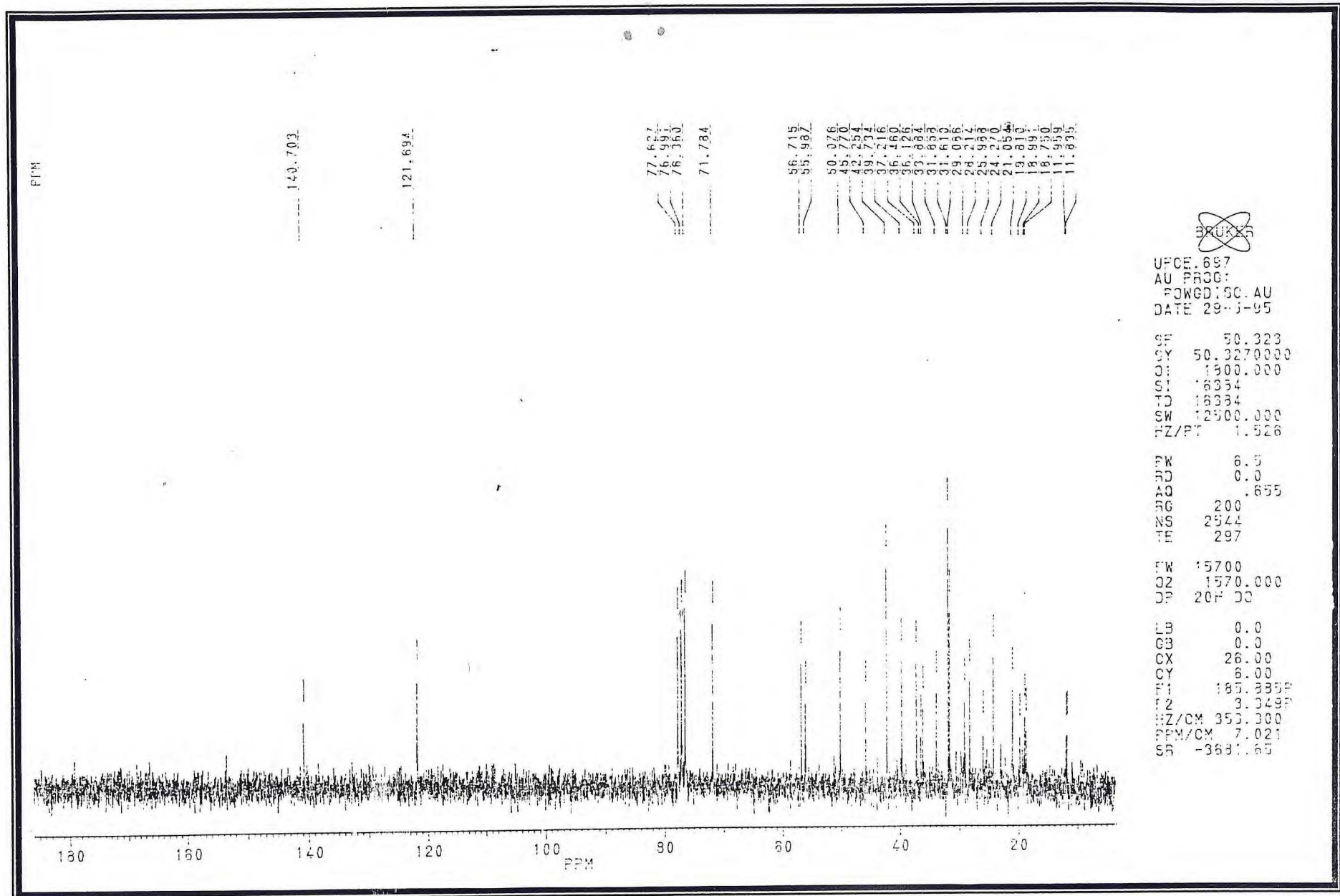


FIGURA 128- Espectro de RMN <sup>13</sup>C- PND de IX



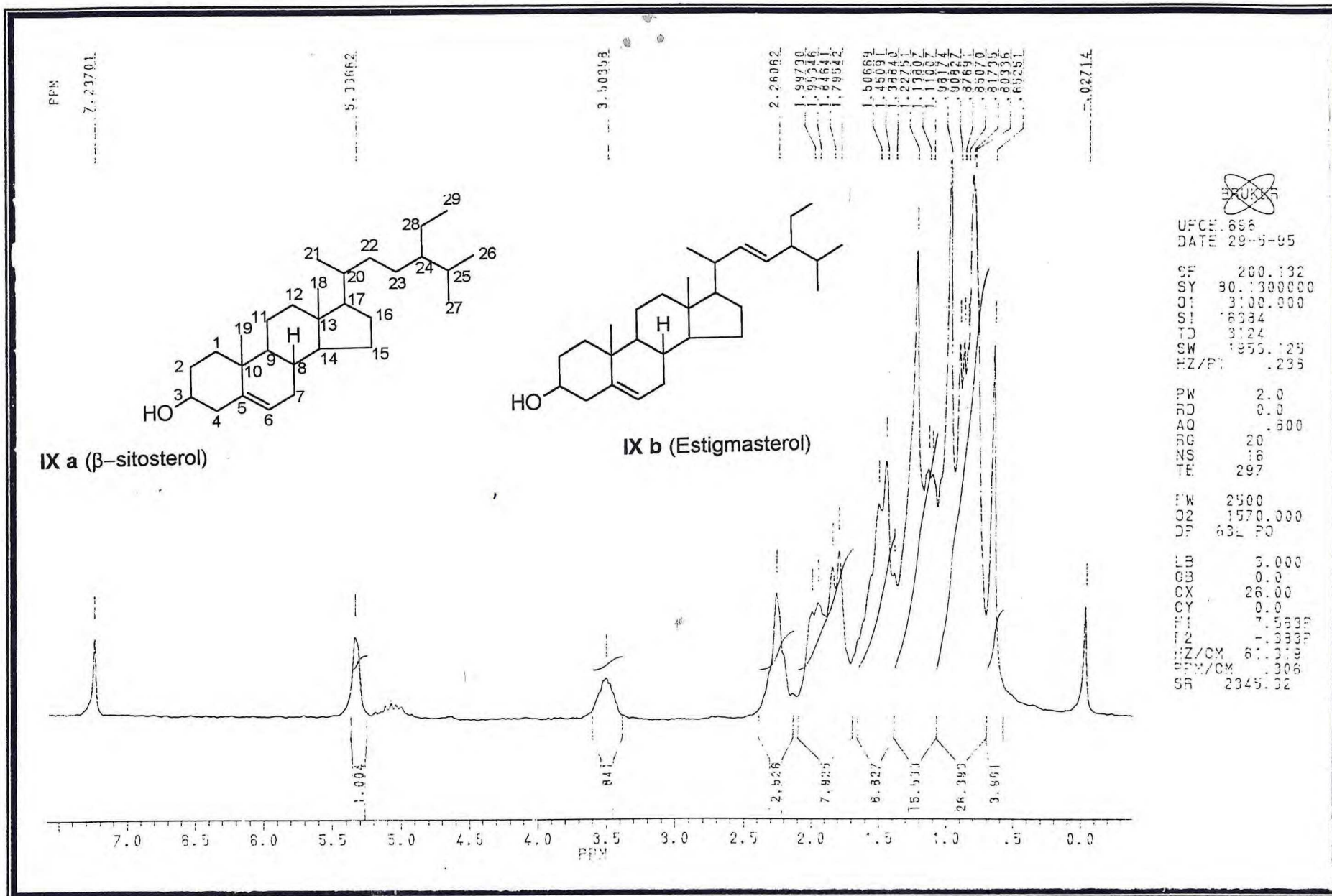


FIGURA 129- Espectro de RMN <sup>1</sup>H de IX

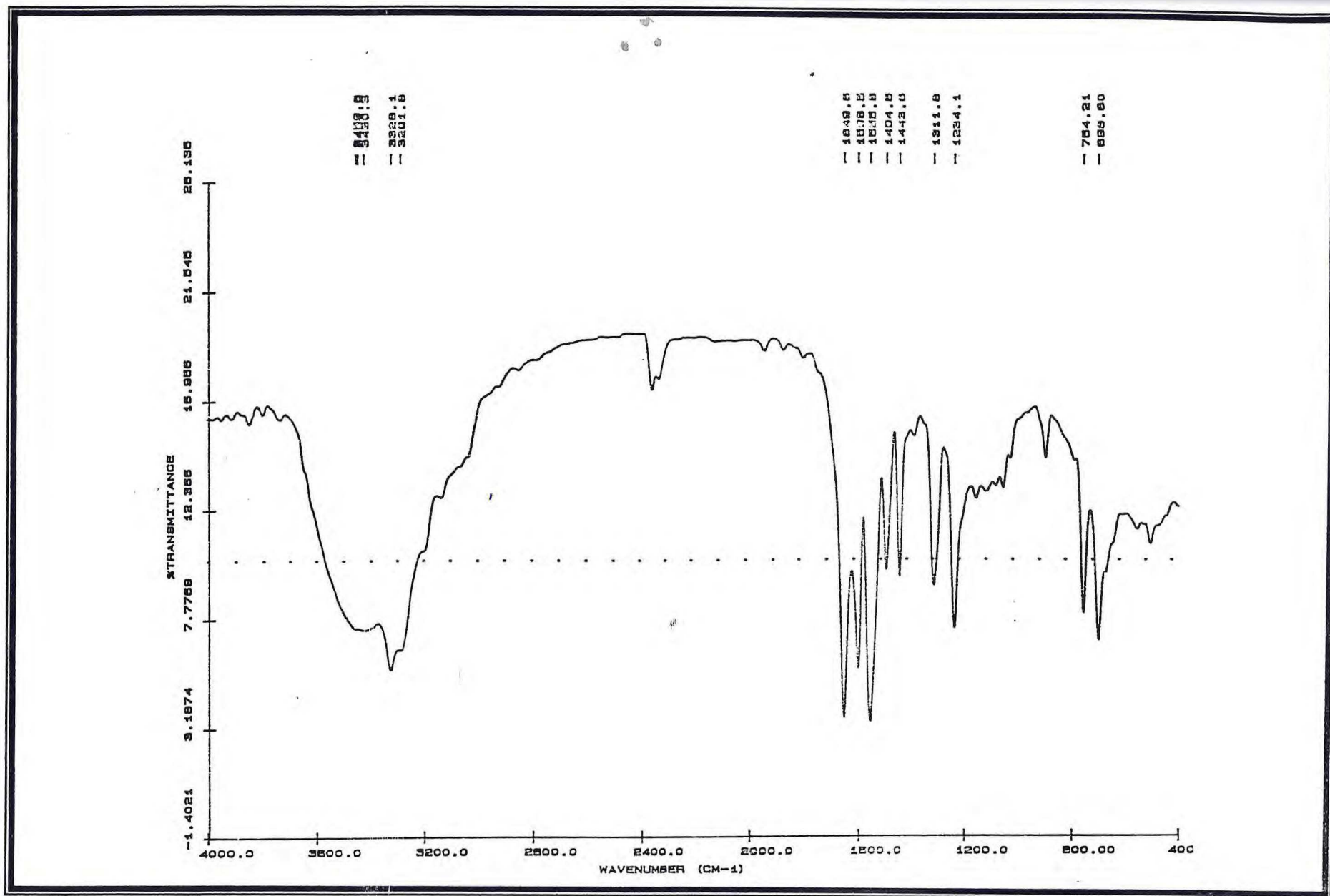


FIGURA 130- Espectro na região do I.V. de X

AutoSpecE EI+ Magnet BpI:9018553 TIC:65620200 Flags:HALL  
File Tex

Cal: PPA

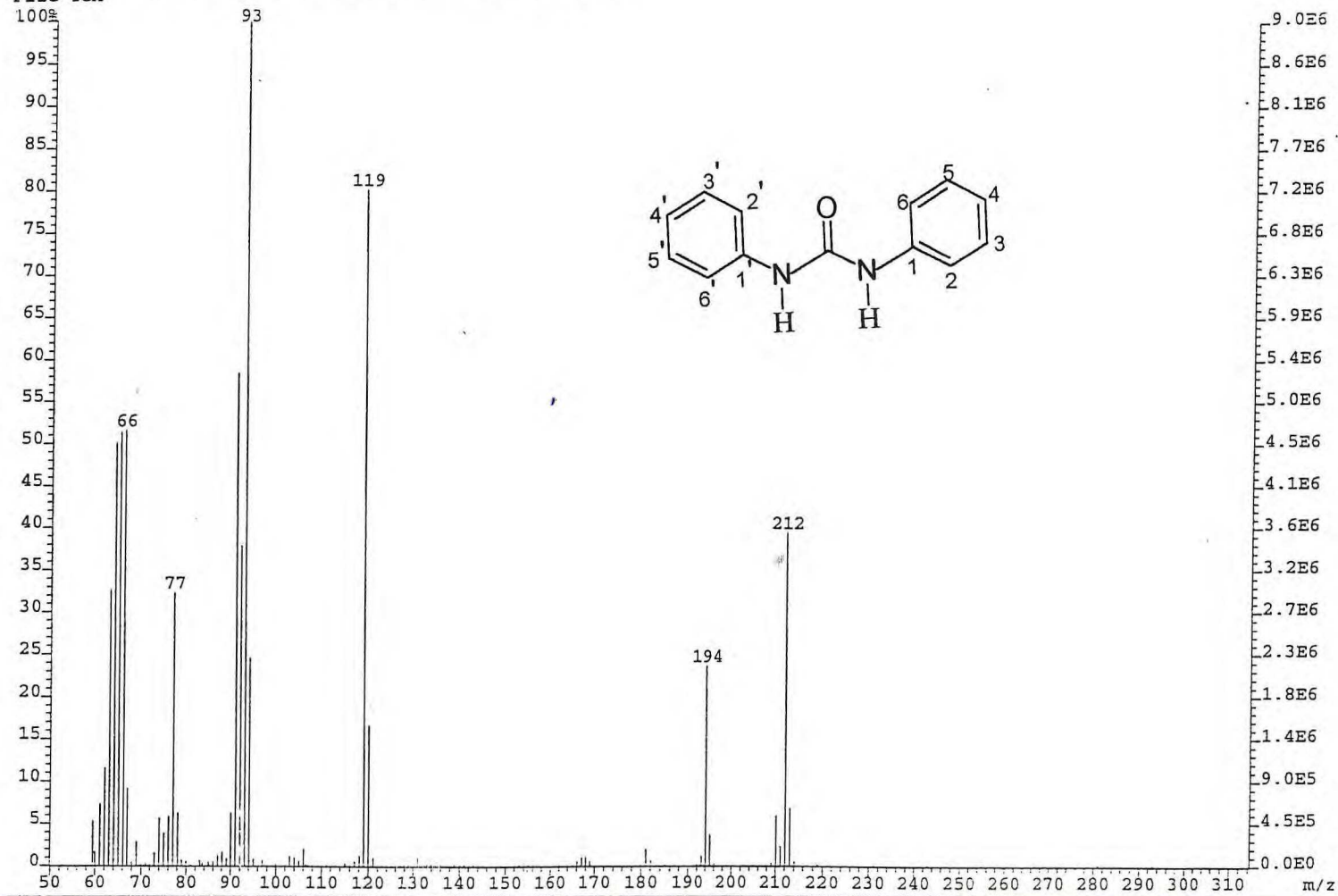


FIGURA 131- Espectro de massa de X

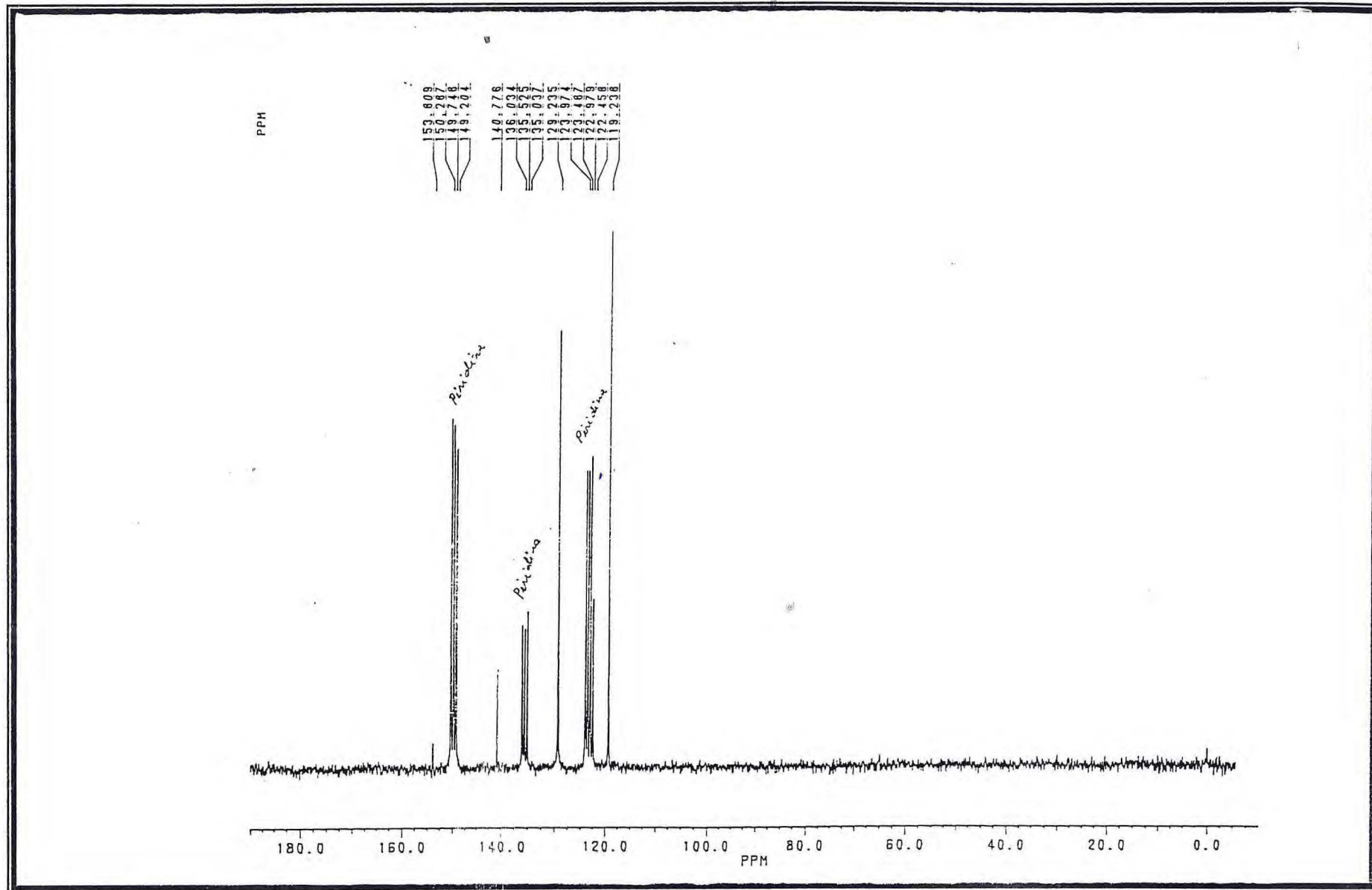


FIGURA 132- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - PND de X

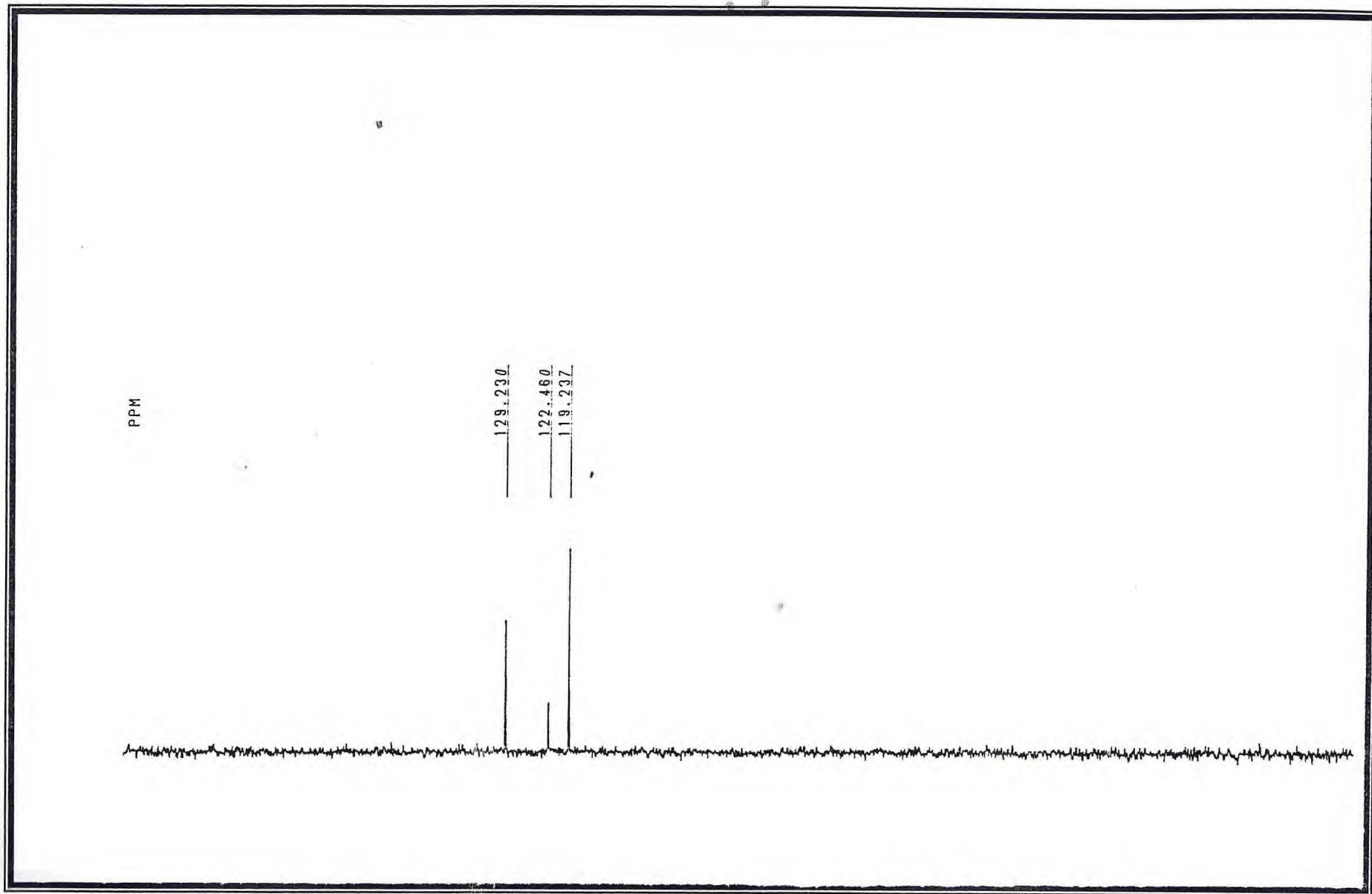


FIGURA 133- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ - DEPT 135° de X

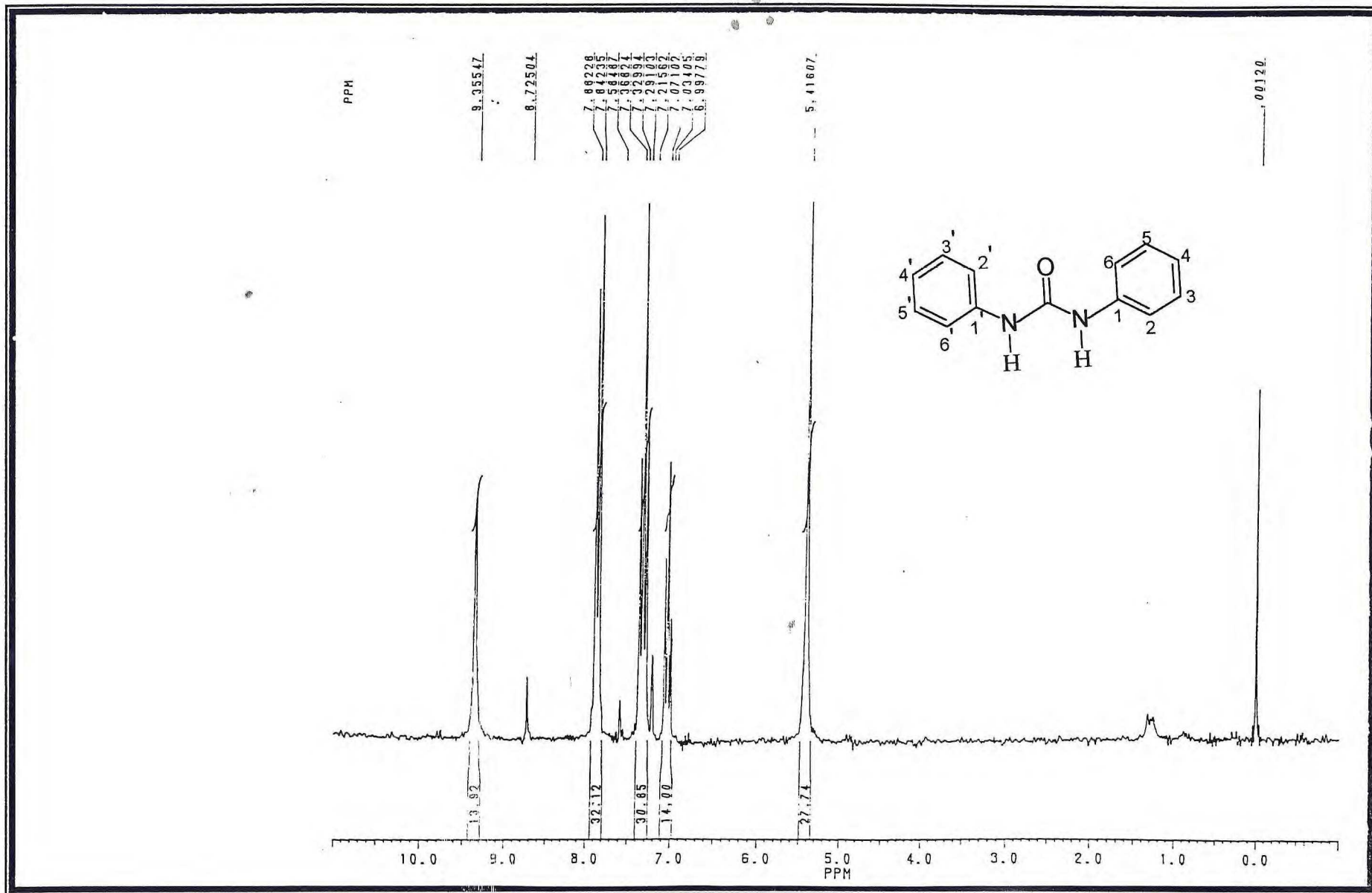


FIGURA 134- Espectro de RMN <sup>1</sup>H de X

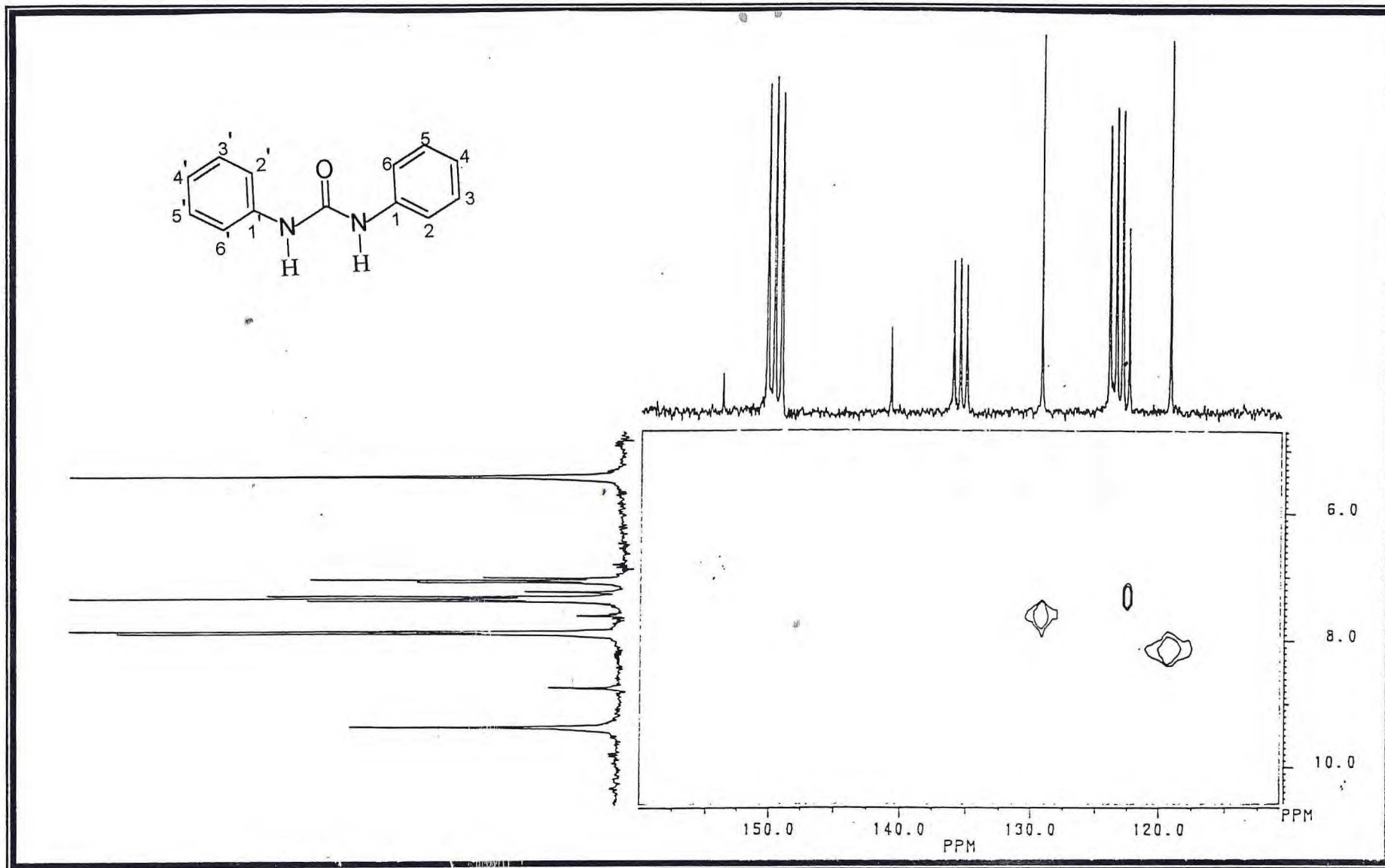


FIGURA 135- Espectro bidimensional de correlação heteronuclear  
 $(^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{COSY} - ^1J_{\text{CH}})$  de X

## CAPÍTULO 04- METODOLOGIA

### 4.1. MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

#### 4.1.1. Cromatografia em coluna

As cromatografias de adsorção em coluna foram executadas utilizando-se sílica-gel( $\phi_{mm} = 0,05-0,20$ ) Carlo Erba (cod. 453336). O comprimento e diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades de amostras e adsorventes utilizados.

#### 4.1.2. Cromatografia em camada delgada(CCD)

Para cromatografia analítica em camada delgada(CCD) utilizou-se placas de vidro nas dimensões de 10 x 5 cm com camada de sílica-gel 60-PF<sub>254,366</sub>(Art. 7741- Merck).

A revelação das substâncias em placas analíticas de sílica, foi realizada pela exposição em lâmpada de irradiação modelo UVSL-25 da MINERAL LIGHT com dois comprimentos de onda(254 e 366nm), pela pulverização com uma solução de vanilina e ácido perclórico em etanol, seguido de aquecimento em estufa ou por vapores de iodo presentes em câmara saturada.

Como eluentes foram usados os solventes: hexano, clorofórmio( $CHCl_3$ ), acetato de etila, etanol e metanol. Estes solventes foram usados puros ou em misturas binárias programadas para produzir ordem de polaridade crescente.

#### 4.1.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência(CLAE)

A purificação das substâncias da *Mentha x. villosa* foi efetuada através de CLAE, em aparelho WATERS, com detector refratométrico, utilizando coluna ZORBAX RP 18, 250 x 9,4mm, do Instituto de Química da Universidade Louis Pasteur de Strasbourg, França. Como fase móvel usou-se a mistura metanol:água(5%) com fluxo de 5mL/min.



## 4.2. MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS

Os espectros apresentados neste trabalho foram obtidos em aparelhos pertencentes ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, ao PADETEC, ao Departamento de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Os modelos e as condições operacionais utilizados para a obtenção dos espectros das substâncias estão descritos abaixo.

### 4.2.1. Espectrometria no Infravermelho(IV)

Os espectros de absorção na região do Infravermelho foram registrados em Espectrômetro Pekin-Elmer, modelo 720, utilizando para substâncias sólidas e líquidas pastilhas de KBr e filmes, respectivamente.

### 4.2.2. Espectrometria no Ultravioleta(UV)

Os espectros na região do Ultravioleta foram obtidos em Espectrofotômetro HITACHI modelo U-2000 e celas retangulares de quartzo de caminho ótico igual a 1,00cm.

Utilizou-se etanol como solvente. Como aditivo foi utilizado acetato de sódio( AcONa).

### 4.2.3. Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio(RMN $^1\text{H}$ ) e de Carbono-13(RMN $^{13}\text{C}$ ).

Os espectros de RMN unidimensionais(1D) e bidimensionais(2D) foram obtidos em Espectrômetro Bruker, modelo AC-200, que trabalha com frequência de 200MHz para os espectros de Hidrogênio e 50,3MHz para os de Carbono-13, utilizando pulsos de frequência e transformada de Fourier(FT).

As sequências de pulsos utilizadas nas experiências bidimensionais(2D) estão contidas no programa Bruker XHCORR-AU, para correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 através de uma ligação e a longa distância( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY,  $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ,  $n= 1,2$  e  $3$ ), COSY-AU, para correlação homonuclear de hidrogênio( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY) e NOESY-AU para interação dipolar homonuclear de hidrogênio ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY, Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy).

Nas experiências unidimensionais de  $^1\text{H}\{^1\text{H}\}$ -NOE por subtração de espectros usou-se o programa Bruker NOEDIFF.AU e de DEPT(Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) o DEPTVAR.AU(  $\phi=90^\circ$  e  $\phi=135^\circ$ ).

As amostras para análise foram dissolvidas nos solventes deuterados: deuteroclorofórmio( $\text{CDCl}_3$ ), hexadeuterodimetilsulfóxido( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ), tetradeuterometanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) ou pentadeuteropiridina( $(\text{C}_5\text{D}_5\text{N})$ ), tendo TMS(TetraMetilSilano) como referência interna e colocadas em tubos de 5mm de diâmetro.

Os deslocamentos químicos( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão(ppm) e as multiplicidades dos deslocamentos indicados segundo a convenção: s (singleto), sl (singleto largo), d (dubleto), dd (duplo dubleto), t (tripleto), q (quarteto) e m (multiplete).

Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram referenciados, no caso dos espectros de RMN  $^1\text{H}$ , pelos picos de hidrogênios pertencentes as moléculas residuais não deuteradas dos solventes deuterados utilizados: clorofórmio ( $\delta$  7,24), piridina ( $\delta$  7,19; 7,55 ou 8,71), acetona ( $\delta$  2,04) e dimetilsulfóxido ( $\delta$  2,49). Nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ , os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram referenciados pelos picos dos carbonos-13 dos solventes: clorofórmio ( $\delta$  77,0), piridina ( $\delta$  123,5; 135,5 ou 149,9), acetona ( $\delta$  29,8 ou 206,0) e dimetilsulfóxido ( $\delta$  39,7).

A técnica DEPT (com ângulos de nutação de  $90^\circ$ : somente CH; de  $135^\circ$ :  $\text{CH}_2$  em fase oposta de CH e  $\text{CH}_3$ ) foi utilizada na determinação do padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN  $^{13}\text{C}$ , descrito segundo a convenção: C (carbono não hidrogenado), CH (carbono metínico),  $\text{CH}_2$  (carbono metilênico) e  $\text{CH}_3$  (carbono metílico). Os carbonos não hidrogenados foram caracterizados pela subtração do espectro DEPT  $135^\circ$  do espectro PND.

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  das substâncias isoladas da *Mentha x. villosa* foram registrados em Espectrômetros Bruker, modelos AM e ARX, do Instituto de Química da Universidade Louis Pasteur de Strasbourg, França, usando transformada de Fourier (FT), operando na frequência de 500MHz para o hidrogênio e 125,75MHz para carbono-13, respectivamente, utilizando como solvente clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ).

#### 4.2.4. Espectrometria de massa (EM)

Os espectros de massa foram registrados em Espectrômetro de massa HEWLETT-PACKARD, modelo HP-5971, acoplado a cromatógrafo de gás e Espectrômetro VG Analytical 7070 E- HF. Os espectros foram obtidos a 70eV e o símbolo  $m/z$  (relação massa/carga) foi usado para atender as recomendações da IUPAC. Os espectros de massa foram também registrados em Espectrômetro VG Autospec, modelo M da Fisions Instruments, empregando a técnica de impacto eletrônico a 70eV. Os Espectrômetros mencionados são pertencentes ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC.

Os espectros de massa das substâncias isoladas da *Mentha x. villosa* foram registrados em Espectrômetros de massa Finnigan, modelo MAT TSQ 70, por EI a 70eV, do Instituto de Química da Universidade Louis Pasteur de Strasbourg, França.

#### 4.3. DETERMINAÇÃO DO PONTO DE FUSÃO (p.f.)

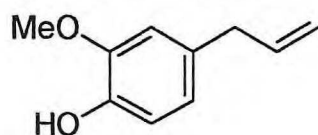
Os pontos de fusão, não corrigidos, foram determinados no equipamento de micro determinação METTLER, modelo FP 52, com placa aquecedora e unidade de controle FP 5, existente no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC.

## CAPÍTULO 05- EFEITOS DO EUGENOL E SEUS DERIVADOS EM PREPARAÇÕES DE MÚSCULOS ESQUELÉTICO (SAPO) E LISO(COBAIO)

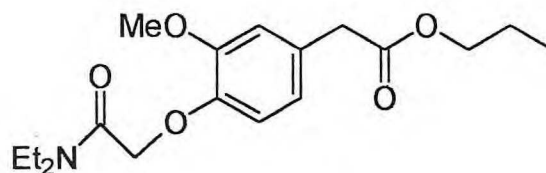
As investigações das ações do eugenol e seus derivados em músculos esquelético e liso foram realizadas pelos profs. Dr. José Henrique Leal Cardoso e Andrelina Noronha Coelho de Sousa e pelos farmacêuticos Pedro Caldas Magalhães, Cristiane Callado e Ednardo Lima Barata, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará.

O eugenol é um constituinte importante do óleo essencial de muitas plantas do Nordeste do Brasil e é muito usado em medicina popular<sup>1</sup>. É também usado terapêuticamente em odontologia<sup>2</sup>.

Em tecidos excitáveis, o eugenol tem um efeito anestésico local<sup>3</sup>. Ele deprime a transmissão neuromuscular<sup>4,5,6</sup>, a contração miocárdial, a pressão sanguínea<sup>7</sup> e o sistema nervoso central<sup>8</sup>. Em pesquisas realizadas para obtenção de novos anestésicos<sup>8</sup>, um dos derivados do eugenol(I), o propanidid(II) tem sido usado clinicamente<sup>9</sup>. Os efeitos do benzileugenol sobre o sistema nervoso central têm sido muito estudados e foi encontrado uma atividade anticonvulsivante.



(I)



(II)

Um aspecto da atividade do eugenol que até agora não foi estudado é a relação excitação-contração.

Neste estudo relata-se os efeitos do eugenol e seus derivados na contração de músculos(Tabela 29).

Foi usado sapos( *Bufo paracnemis*) de ambos os sexos, pesando de 100 a 200g, onde os músculos e sartório foram dissecados pelos métodos usuais. Após remoção, os músculos foram colocados em uma câmara de 10mL contendo solução **Ringer** a temperatura ambiente por 20 min.

A solução **Ringer** contém( em mM): NaCl, 110,1; KCl, 4,0 ; CaCl<sub>2</sub>, 2,0 ; glicose, 3,9 ; e o tampão Tris(hidroximetil)aminometano, 10,0. O pH foi 7,4. Em soluções com alto teor de KCl, foi feita substituição isotônica de 80mM de KCl por NaCl.

Soluções de eugenol e seus derivados foram preparadas por adição da substância pura diretamente na solução **Ringer**. Estas substâncias a altas concentrações não foram completamente solúveis em água e na solução **Ringer**, formando uma suspensão coloidal estável após agitações vigorosas. Em alguns experimentos estas substâncias foram inicialmente solubilizadas na mistura de 10% de dimetilsulfóxido(DMSO), 10% de polietilenoglicol 600(PEG) e 80% de Tween 80, para melhorar suas solubilizações na solução **Ringer**.

Os resultados estão sumarizados na Tabela 29.

Tabela 29. Efeitos do eugenol e seus derivados em preparações de músculos esquelético e liso.

Substância	Preparação	Efeitos	Concentração
Eugenol	Sartório de sapo	Contração mantida sem causar despolarização, Potencialização da contração pela cafeína e pelo esfriamento e bloqueio pela procaina	3,0-12mM 3,0-6mM
	Íleo de cobaio	Bloqueio da contração induzida por 80 mM de K <sup>+</sup> Relaxamento concentração-dependente	0,1-2,5mM 1,0-200µg/mL
Benzileugenol	Sartório de sapo	Sem contração Bloqueio da contração induzida pelo eugenol sem alteração dos outros efeitos do eugenol	1,0-4,0mg/mL 0,6-2,4mg/mL
	Íleo de cobaio	Não altera a contração induzida por 80 mM de K <sup>+</sup> , cafeína e quinina Aumento do tônus	12,0mM 1,0-50µg/mL
Acetileugenol	Sartório de sapo	Bloqueio da contração induzida por 60 mM de K <sup>+</sup>	1,0-50µg/mL
		Contração concentração-dependente Potencialização da cafeína	0,01-3,0mg/mL 0,6-1,0mg/mL
Benziliso Eugenol	Íleo de cobaio	Bloqueio da contração induzida por 80 mM de K <sup>+</sup>	0,03-1,0mg/mL
		Sem efeito no tônus Bloqueio da contração induzida por 60mM de K <sup>+</sup>	0,5-20µg/mL 0,5-20µg/mL
Diiso Eugenol	Íleo de cobaio	Sem efeito no tônus Bloqueio da contração induzida por 60 mM de K <sup>+</sup>	5,0-40µg/mL 5,0-40µg/mL
	Sartório de sapo	Sem efeito contraturante	0,5-3,0mg/mL

<b>Metileugenol</b>	<b>Óleo de cobaio</b>	Diminuição do tônus dependente de concentração Bloqueio da contração induzida por 60 mM de $K^+$ Relaxamento da contração já estabelecida com 60mM de $K^+$	1,0-200 $\mu$ g/mL 1,0-100 $\mu$ g/mL 1,0-100 $\mu$ g/mL
---------------------	-----------------------	---	--

### 5.1. BIBLIOGRAFIA

1. CRAVEIRO, A.A.; FERNANDES, A.G.; ANDRADE, C.H.S.; MATOS, F.J.A. e ALENCAR, J.W.: Óleos essenciais de canelas silvestres regionais, *Ciência e Cultura*, **29**, 455 (1977).
2. FRANCIS, L.E. and WOOD, D.R.: *Dental Pharmacology and Therapeutics*, W.B. Saunders, Philadelphia, 53 (1961).
3. SIEMONEIT, K.D.; ZIPF, H.F. and DITTMANN, E.C.: Untersuchungen zur endoanästhetischen und hypnotisch/narkotischen Wirkung von 2-Methoxy-4-allylphenoxyessigsäure-N,N-diäthylamid (G 29505) und verwandten Phenolderivaten, *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **164**, 30-46 (1966).
4. OZEKI, M.: The effects of eugenol on the nerve and muscle in crayfish, *Comp. Biochem. Physiol. C.*, **50**, 183-191 (1975).
5. BRODIN, P. and ROED, A.: Effects of eugenol on rat phrenic-nerve diaphragm preparations, *Arch. oral Biol.*, **8**, 611-615 (1984).
6. BRODIN, P. and ROED, A.: Inhibition by local anesthetic drugs at low and high stimulation frequencies: A comparison between the isolated phrenic nerve of rat and phrenic nerve-diaphragm preparation, *Neuropharmacology*, **23**, 83-88 (1984).
7. STICHT, F.D. and SMITH, R.M.: Eugenol: Some pharmacological observations, *J. Dental Res.*, **50**, 1531-1535 (1971).
8. DALMEIER, K. and CARLINI, E.A.: Anesthetic, hypothermic, myorelaxant, and anticonvulsant effects of synthetic eugenol derivatives and natural analogues, *Pharmacology*, **22**, 113-127 (1981).
9. DUNDEE, J.W.: Comparative analysis of intravenous anesthetics, *Anesthesiology*, **35**, 137-148 (1971).

## CONCLUSÃO GERAL

A primeira parte deste trabalho, visando a obtenção de "flavonolignanas", embora não tenha atingido este objetivo, permitiu por outro lado, a preparação de vários derivados do eugenol, alguns dos quais, com interessantes atividades farmacológicas, conforme resultados descritos na tese. Adicionalmente, foi obtido um dímero tipo arilindano, em condições experimentais diferentes daquelas descritas na literatura, objeto de publicação na revista Química Nova (1995). O fato da não ocorrência de flavonolignanas, deveu-se certamente, às condições de reatividade do reagente utilizado ( $\text{Ag}_2\text{O}$ ), uma vez que a reação de acoplamento oxidativo foi feita com base nas condições descritas na literatura.

A segunda parte, possibilitou um excelente treinamento no tocante ao isolamento e purificação de produtos naturais de plantas. Foram empregadas técnicas usuais de fracionamento e purificação ( cromatografia em coluna de sílica e em placa preparativa), bem como, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Esta última, desde sua introdução, tem evoluído como uma metodologia que continua a trazer significativa contribuição para a química. Após repetidas cromatografias em colunas, observou-se que os compostos isolados de *Mentha villosa* tratavam-se de misturas de triterpenos ácidos isoméricos de estruturas muito semelhantes, que não podiam ser resolvidas por cromatografia em coluna. Entretanto, a cromatografia líquida de alta eficiência, permitiu a separação e purificação de vários triterpenos pentacíclicos na forma de seus ésteres metílicos acetilados, a partir das citadas misturas. *Mentha villosa* é usada como remédio alternativo, no tratamento de giardíase, amebíase e esquistossomose. Alguns pesquisadores creditam sua ação farmacológica ao óxido de piperitenona, um componente isolado do óleo essencial de suas folhas. Observou-se entretanto, a presença de vários triterpenos pentacíclicos das séries oleanano e ursano no extrato alcoólico desta planta. De acordo com recentes trabalhos publicados sobre esta classe de compostos, observou-se que os mesmos apresentavam atividades biológicas. Desta

forma, um estudo biológico deste espécimen vegetal, visando sua ação farmacológica, merece ser iniciado.

A terceira e última parte, em sequência à segunda, permitiu o isolamento de vários constituintes de *Bursera leptophloeos*, entre eles, um sesquiterpeno furânico inédito, cujo estudo foi publicado na revista "Natural Products Letters" (1996).

Finalmente, a preparação e o isolamento dos vários compostos propiciou a oportunidade de trabalho com espectros obtidos em aparelhos de RMN a 400 e 500 MHz, evidenciando técnicas modernas de determinação estrutural uni (1D) e bidimensional ( 2D : COSY, NOESY, HMQC, HMBC ).