



UFC

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA

JOSÉ GUSTAVO LIMA DE ALMEIDA

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE PLANTAS DO
NORDESTE: *Andira surinamensis* e *Piper divaricatum*

FORTALEZA
2007

JOSÉ GUSTAVO LIMA DE ALMEIDA

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE PLANTAS DO
NORDESTE: *Andira surinamensis* e *Piper divaricatum*

Dissertação submetida à coordenação do Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química Orgânica.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Otília Deusdênia Loiola Pessoa.

FORTALEZA
2007

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



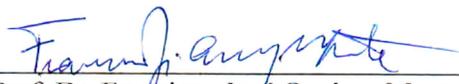
José Gustavo Lima de Almeida

TESE APROVADA EM: 12 / 07 / 2007

Examinadores:



Profa. Dra. Otilia Dcusdênia Loiola Pessoa
Universidade Federal do Ceará - UFC



Prof. Dr. Francisco José Queiroz Monte
Universidade Federal do Ceará - UFC



Profa. Dra. Sônia Maria Oliveira Costa
Universidade Estadual do Ceará

A minha mãe e meus irmãos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado à vida e inteligência.

A minha mãe e meus irmãos, Antônia Lima, Gardênia, Garciane e Genário, pelo apoio e incentivo nas horas difíceis.

A minha orientadora Prof. Otília, pelo ensino, amizade, confiança e pelo interesse no estudo fitoquímico, me encorajando a prosseguir.

Aos meus amigos, Artur, João Carlos, João Henrique, Samy, Max, Irineu Albuquerque, Renata Paiva, Renata Mendonça, Rose Jane, Mônica, Milena, Patrícia, Priscila, Ceixa, Simone, Michele, Isabel e principalmente Eribeldo Silva e Diene Belizário por fazerem parte do meu dia-a-dia e contribuírem de forma direta ou indireta na conclusão deste trabalho.

Ao Prof. Edilberto R. Silveira coordenador do CENAUREMN.

Aos operadores do CENAUREMN, Glauber, Rose Jane, João Henrique, Daniel e Edângelo por terem dedicado seu tempo na obtenção dos espectros aqui apresentados.

Ao CNPq, CAPES e FUNCAP pelo apoio financeiro e concessão das bolsas.

*“... não importa tanto o tema da dissertação quanto a
experiência de trabalho que ela comporta.”*

Umberto Eco

RESUMO

Este trabalho descreve o estudo fitoquímico das cascas e do lenho de *Andira surinamensis* (Leguminosae), bem como a composição química volátil dos óleos essenciais das folhas e frutos de *Piper divaricatum* G. Mey (Piperaceae). O estudo fitoquímico dos extratos de *A. surinamensis*, utilizando técnicas clássicas de cromatografia em gel de sílica, resultou no isolamento de um dímero isoflavona inédito na literatura, 4'-metoxiisoflavona-(7-O-7'')-3''',4'''-metilenodioxiiisoflavona (Surinamensina), um triterpeno pentacíclico comumente conhecido como Lupeol e mais quatro isoflavonas: 5,7-dihidroxi-4'-metoxiisoflavona (biochanina A), 5,4'-dihidroxi-7-metoxiisoflavona (prunetina), 7,3'-dihidroxi-4'-metoxiisoflavona (calicosina) e 5,7,3'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavona (pratenseína). A determinação estrutural dos compostos isolados foram elucidadas por técnicas espectroscópicas tais como: espectro de massa, espectro de infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H , ^{13}C uni e bidimensionais. A composição química dos óleos essenciais das folhas e frutos de *Piper divaricatum* G. Mey., foram analisadas por CG / EM e CG / DIC. Um total de 24 compostos, representando mais do que 94% da composição química dos óleos, foram identificados. Ambos os óleos mostraram grande concentrações de monoterpenos, em especial, o óleo das folhas que apresentou 81,1%. Os óleos mostraram composição química similares, mas o óleo dos frutos pode ser facilmente distinguido do óleo das folhas pela exclusiva presença do α -felandrene (4,60%), (*E*)-muuro-la-4(14),5-dieno (9,0%) e do (*E*)-cariofileno (11,4%). Os maiores constituintes do óleo das folhas foram: linalool (23,4%), β -pineno (25,3%) e α -pineno (18,8%), enquanto que os óleo frutos apresentaram β -pineno (18.0%), α -pineno (17.6%) e (*E*)-cariofileno (11.4%), como compostos majoritários.

Palavras-chave: RMN ^1H ; RMN ^{13}C ; RMN 2D; *Andira surinamensis*; Leguminosae; isoflavonas; *Piper divaricatum*; óleo essencial.

ABSTRACT

This work describes the phytochemical investigation of extracts from the branch wood and branch barks of *Andira surinamensis* (Leguminosae), as well as, the volatile chemical composition of essential oil from leaves and fruits of *Piper divaricatum* G. Mey (Piperaceae). The phytochemical investigation of *A. surinamensis* extracts, using classic methods of chromatography on silica gel, yielded a novel isoflavone dimer, 4'-methoxyisoflavone-(7-O-7'')-3''',4''''-methylenedioxyisoflavone (surinamensin), along with the triterpene lupeol and the known isoflavones 5,7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone (biochanin A), 5,4'-dihydroxy-7-methoxyisoflavone (prunetin), 7,3'-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone (calycosin) and 5,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyisoflavone (pratensein). The structures of all isolated compounds were elucidated by spectroscopic methods, such as MS, IR and particularly 1D and 2D homonuclear and heteronuclear NMR spectroscopy and, comparison with published data for closely related compounds. The chemical composition of the essential oils from leaves and fruits of *Piper divaricatum* G. Mey., was analyzed by GC/MS and GC-FID. Twenty-four components, representing more than 94.0% of the chemical compositions of the oils, were identified. Both oils showed higher concentrations of monoterpenoids, particularly the oils from leaves (81.1%). The oils showed some compositional similarities but the fruit oil could be easily distinguished from the leaf oil by the exclusive presence of α -phellandrene (4.60%), (*E*)-muurola-4(14),5-diene (9,0%) and significant content of (*E*)-caryophyllene (11.4%). The major constituents of the leaf oils were linalool (23.4%), β -pinene (25.3%) and α -pinene (18.8%), while the fruit oils of the fruits contained β -pinene (18.0%) and α -pinene (17.6%) and (*E*)-caryophyllene (11.4%) as prevalent compounds.

Keywords: ^1H NMR; ^{13}C NMR; 2D NMR; *Andira surinamensis*; Leguminosae; Isoflavones; *Piper divaricatum*; oil essential

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE FLUXOGRAMAS.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	viii
CAPÍTULO 1	
INTRODUÇÃO.....	02
CAPÍTULO 2	
2.1 Considerações botânicas sobre a família Leguminosae.....	06
2.2 Considerações botânicas sobre o gênero <i>Andira</i>	07
2.3 Considerações botânicas sobre a espécie <i>Andira surinamensis</i>	08
2.4 Considerações botânicas sobre a família Piperaceae.....	10
2.5 Considerações botânicas sobre o gênero <i>Piper</i>	10
2.6 Considerações botânicas sobre a espécie <i>Piper divaricatum</i>	11
CAPÍTULO 3	
LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	
3.1 Espécies estudadas do gênero <i>Andira</i> e constituintes químicos isolados	14
3.2 Levantamento bibliográfico dos constituintes químicos voláteis do gênero <i>piper</i> estudados no Brasil	23
CAPÍTULO 4	
DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DAS CASCAS E LENHO DE <i>ANDIRA SURINAMENSIS</i> E CONSTITUINTES VOLÁTEIS DE <i>PIPER DIVARICATUM</i>	
4.1 Determinação estrutural de ASCH-1.....	30
4.2 Determinação estrutural de ASCE-1 e ASCE-2.....	35
4.3 Determinação estrutural de ASCE-3.....	48

4.4 Determinação estrutural de ASLE-1.....	65
4.5 Determinação estrutural de ASLE-2.....	69
4.6 Determinação estrutural de ASLE-3.....	81
4.7 Determinação estrutural de ASLE-4a/b.....	90
4.8 Identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas e frutos de <i>P. divaricatum</i>	95

CAPÍTULO 5

PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Métodos de análise.....	106
5.2 Métodos físicos de análise.....	106
5.2.1 Espectroscopia na região do Infravermelho (IV).....	107
5.2.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	107
5.2.3 Espectrometria de Massa (EM).....	108
5.2.4 Ponto de fusão.....	108
5.2.5 Rotação óptica.....	108
5.3 Material vegetal.....	108
5.4 ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS FIXOS DAS CASCAS DO LENHO DE <i>ANDIRA SURINAMENSIS</i>	
5.4.1 Elaboração do extrato hexânico.....	109
5.4.1.1 Fracionamento cromatográfico do extrato ASCH.....	109
5.4.1.2 Fracionamento cromatográfico da fração ASCH-hc.....	109
5.4.1.3 Isolamento de ASCH-1.....	110
5.4.2 Elaboração do extrato etanólico.....	112
5.4.2.1 Cromatografia de partição do extrato ASCE.....	112
5.4.2.2 Fracionamento cromatográfico da fração PASCE-h.....	112
5.4.2.3 Fracionamento cromatográfico da fração PASCE-h4 e isolamento do	113

composto ASCE-3.	
5.4.2.4 Isolamento da mistura ASCE-1 e ASCE-2.....	113
5.5 ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS FIXOS DO LENHO DE <i>ANDIRA SURINAMENSIS</i>	
5.5.1 Elaboração do extrato hexânico e etanólico.....	115
5.5.1.1 Cromatografia de partição do extrato ASLE.....	115
5.5.1.2 Fracionamento cromatográfico da fração ASLE-D.....	115
5.5.1.3 Fracionamento cromatográfico da fração ASLE-DA2 e isolamento da substância ASLE-1	116
5.5.1.4 Fracionamento cromatográfico da fração 47-96 e isolamento da substância ASLE-2	117
5.5.1.5 Fracionamento cromatográfico da fração ASLE-Ac.....	118
5.5.1.6 Isolamento da substância ASLE-4a/b.....	118
5.5.1.7 Fracionamento cromatográfico da fração ASLE-DA1.....	120
5.5.1.8 Fracionamento cromatográfico da fração 20-29 e isolamento da substância ASLE-3	120
5.6 ESTUDO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DE <i>PIPER DIVARICATUM</i>	
5.6.1 Obtenção do óleo essencial das folhas e frutos de <i>P. divaricatum</i>	123
CAPÍTULO 6	
CONCLUSÃO.....	125
CAPÍTULO 7	
CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROSCÓPICOS.....	127
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	134

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fotografia da espécie <i>A. surinamensis</i>	9
Figura 2	Fotografia das folhas e frutos de <i>P. divaricatum</i>	12
Figura 3	Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ASCH-1	32
Figura 4	Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ASCH-1	32
Figura 5	Espectro RMN ^{13}C -BB de ASCH-1 (125 MHz, CDCl_3)	33
Figura 6	Expansão do espectro RMN ^{13}C -BB de ASCH-1 (125 MHz, CDCl_3)	33
Figura 7	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ASCH-1 (125 MHz, CDCl_3)	34
Figura 8	Espectro de infravermelho (KBr) de ASCH-1	34
Figura 9	Espectro de RMN ^1H de ASCE-1 e ASCE-2 (acetona- d_6 – 500 MHz)	39
Figura 10	Expansão do espectro de RMN ^1H de ASCE-1 e ASCE-2 (acetona- d_6 – 500 MHz)	39
Figura 11	Espectro de RMN ^{13}C de ASCE-1 e ASCE-2 (acetona- d_6 – 125 MHz)	40
Figura 12	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ASCE-1 e ASCE-2 (acetona- d_6 – 125 MHz)	40
Figura 13	Espectro de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HSQC (500, 125 MHz, acetona – d_6) de ASCE-1 e ASCE-2.	41
Figura 14	Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC (500, 125 MHz, acetona – d_6) com sinais marcados para o composto ASCE-1.	42
Figura 15	Expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC (500, 125 MHz, acetona – d_6) de ASCE-1 e ASCE-2.	43
Figura 16	Expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC (500, 125 MHz, acetona – d_6) de ASCE-1 e ASCE-2.	44
Figura 17	Expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC (500, 125 MHz, acetona – d_6) de ASCE-1 e ASCE-2.	45
Figura 18	Espectro bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H - COSY (500 MHz, acetona – d_6) de ASCE-1 e ASCE-2.	46
Figura 19	Espectro de infravermelho (KBr) de ASCE-1 e ASCE-2	47
Figura 20	Espectro de RMN ^1H de ASCE - 3 (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)	53

Figura 21	Expansão do espectro de RMN ^1H de ASCE - 3 (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)	53
Figura 22	Espectro de RMN ^{13}C de ASCE - 3 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)	54
Figura 23	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de ASCE - 3 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)	54
Figura 24	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ASCE - 3 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)	55
Figura 25	Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H - COSY (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASCE - 3	56
Figura 26	Espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C - HMQC (500 MHz, 125 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASCE - 3	57
Figura 27	Expansão do espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C - HMQC (500 MHz, 125 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASCE - 3	58
Figura 28	Espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C - HMBC (500 MHz, 125 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASCE - 3	59
Figura 29	Expansão do espectro de correlação heteronuclear - HMBC (500 MHz, 125 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASCE - 3	60
Figura 30	Expansão do espectro de correlação heteronuclear - HMBC (500 MHz, 125 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASCE - 3	61
Figura 31	Expansão do espectro de correlação heteronuclear - HMBC (500 MHz, 125 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASCE - 3	62
Figura 32	Espectro de infravermelho (KBr) de ASCE-3	63
Figura 33	Espectro de massa de ASCE-3	63
Figura 34	Espectro de RMN ^1H de ASLE-1 (acetona- d_6 - 500 MHz)	67
Figura 35	Espectro de RMN ^{13}C de ASLE-1 (acetona- d_6 - 125 MHz)	68
Figura 36	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ASLE-1 (acetona- d_6 - 125 MHz)	68
Figura 37	Espectro de RMN ^1H de ASLE-2 (piridina- d_5 - 500 MHz)	72
Figura 38	Expansão do espectro de RMN ^1H de ASLE-2 (piridina- d_5 - 500 MHz)	72
Figura 39	Espectro de RMN ^{13}C de ASLE-2 (piridina- d_5 - 125 MHz)	73
Figura 40	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de ASLE-2 (piridina- d_5 - 125 MHz)	73
Figura 41	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ASLE-2 (piridina- d_5 - 125 MHz)	74
Figura 42	Espectro infravermelho de ASLE-2 (KBr)	74
Figura 43	Espectro bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H - COSY (500MHz, piridina - d_5) de ASLE-2	75

Figura 44	Espectro de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HSQC (500, 125 MHz, piridina – d_5) de ASLE-2	76
Figura 45	Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC (500, 125 MHz, piridina – d_5) de ASLE-2	77
Figura 46	Expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC (500, 125 MHz, piridina – d_5) de ASLE-2	78
Figura 47	Expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC (500, 125 MHz, piridina – d_5) de ASLE-2	79
Figura 48	Espectro de massas do composto ASLE-2	80
Figura 49	Espectro de RMN ^1H de ASLE - 3 (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)	83
Figura 50	Expansão do espectro de RMN ^1H de ASLE – 3 (500 MHz,	83
Figura 51	Espectro de RMN ^{13}C de ASLE – 3 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)	84
Figura 52	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ASLE – 3 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)	84
Figura 53	Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H – COSY (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASLE-3	85
Figura 54	Espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C – HSQC (500 MHz, 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASLE-3	86
Figura 55	Espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C – HMBC (500 MHz, 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASLE-3	87
Figura 56	Expansão do espectro de correlação heteronuclear – HMBC (500 MHz, 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASLE-3	88
Figura 57	Expansão do espectro de HMBC (500 MHz, 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASLE-3	89
Figura 58	Espectro de RMN ^1H (500 MHz, piridina- d_5) de ASLE-4a/b	92
Figura 59	Espectro de RMN ^{13}C BB (125 MHz, piridina- d_5) de ASLE-4a/b	92
Figura 60	Expansão do espectro de RMN ^{13}C BB (125 MHz, piridina- d_5) de ASLE-4a/b	93
Figura 61	Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, piridina- d_5) de ASLE-4a/b	93
Figura 62	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, piridina- d_5) de ASLE-4a/b	94

Figura 63	Espectro infravermelho de ASLE-4a/b (KBr)	94
Figura 64	Cromatograma CG-EM do óleo essencial das folhas de <i>P. divaricatum</i> .	97
Figura 65	Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de <i>P. divaricatum</i>	97
Figura 66	Cromatograma CG-EM do óleo essencial dos frutos de <i>P. divaricatum</i>	98
Figura 67	Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos frutos de <i>P. divaricatum</i>	98
Figura 68	Espectro de massa do α -pineno	99
Figura 69	Espectro de massa do β -pineno	99
Figura 70	Espectro de massa do mirceno	99
Figura 71	Espectro de massa do α -felandreno	99
Figura 72	Espectro de massa do silvestreno	100
Figura 73	Espectro de massa do 1,8-cineole	100
Figura 74	Espectro de massa do linalool	100
Figura 75	Espectro de massa do isoborneol	100
Figura 76	Espectro de massa do borneol	101
Figura 77	Espectro de massa do α -terpineol	101
Figura 78	Espectro de massa do δ -elemeno	101
Figura 79	Espectro de massa do β -elemeno	101
Figura 80	Espectro de massa do (<i>E</i>)-cariofileno	102
Figura 81	Espectro de massa do α -humuleno	102
Figura 82	Espectro de massa do germacreno-D	102
Figura 83	Espectro de massa do (<i>E</i>)muuro-la-4(14),5-dieno	102
Figura 84	Espectro de massa do biciclogermacreno	103
Figura 85	Espectro de massa do γ -cadineno	103
Figura 86	Espectro de massa do δ -cadineno	103
Figura 87	Espectro de massa do germacreno B	103
Figura 88	Espectro de massa do globulol	104
Figura 89	Espectro de massa do viridiflorol	104
Figura 90	Espectro de massa do β -eudesmol	104
Figura 91	Espectro de massa do α -eudesmol	104
Figura 92	Sistema de hidrodestilação utilizado na obtenção do óleo essencial das folhas e frutos de <i>P. divaricatum</i>	122

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Constituintes fixos isolados neste trabalho da espécie <i>A. surinamensis</i>	04
Tabela 02	Levantamento bibliográfico das espécies de <i>Andira</i> , suas partes estudadas, compostos químicos isolados e suas respectivas estruturas	15
Tabela 03	Estruturas dos metabólitos secundários isolados do gênero <i>Andira</i>	19
Tabela 04	Espécies do gênero <i>Piper</i> encontrados na flora brasileira	23
Tabela 05	Estruturas dos principais componentes identificados nos óleos essenciais de <i>Piper</i> .	26
Tabela 06	Comparação entre os dados de RMN ^{13}C -BB do ASCH-1 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) com os dados descritos na literatura para o Lupeol [MAHATO e KUNDU, 1994].	31
Tabela 07	Comparação entre os dados de RMN ^{13}C BB de ASCE-1 e ASCE-2 (δ , acetona - d_6 , 125 MHz) com os dados descritos na literatura para a biochanina A (δ , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 25 MHz) [PELTER et al, 1978] e prunetina (δ , $\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz) [DEMUNER et al, 2003]	37
Tabela 08	Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C , RMN ^1H e acoplamento heteronuclear de $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ (HMBC) para substância ASCE-1	38
Tabela 09	Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C , RMN ^1H e acoplamento heteronuclear de $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ (HMBC) para substância ASCE-2	38
Tabela 10	Comparação entre os dados de RMN ^{13}C BB de ASCE-3 (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) com os dados descritos na literatura para a formononetina (δ , CD_3OD) [HERATH et al, 1998] e pseudobaptigenina (δ , $\text{DMSO} - d_6$, 25 MHz) [MURTHY et al, 1986]	50
Tabela 11	Comparação entre os dados de RMN ^1H de ASCE-3 com os dados descritos na literatura para a formononetina (CD_3OD) [HERATH et al, 1998] e pseudobaptigenina ($\text{DMSO}-d_6$) [OHASHI et al, 1976]	51
Tabela 12	Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C , RMN ^1H e acoplamento heteronuclear de $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ (HMBC) para substância ASCE-3	52
Tabela 13	Comparação entre os dados de RMN ^{13}C BB de ASLE-1 (δ , acetona - d_6 , 125 MHz) com os dados descritos na literatura para a biochanina A	66

(δ , acetona - d_6 , 25 MHz) [PELTER et al, 1978].

Tabela 14	Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e RMN ^1H para substância ASLE-1	67
Tabela 15	Comparação entre os dados de RMN ^{13}C BB de ASLE-2 (δ , piridina - d_5 , 125 MHz) com os dados descritos na literatura para calicosina (δ , DMSO, 75 MHz) [KAMNAING et al, 1999]	71
Tabela 16	Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C , RMN ^1H e acoplamento heteronuclear de ^{13}C x ^1H (HMBC) para substância ASLE-2	71
Tabela 17	Comparação entre os dados de RMN ^{13}C BB de ASLE-3 (δ , piridina - d_5 , 125 MHz) com os dados descritos na literatura para pratenseína (δ , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 75 MHz) [AGRAWAL, 1989].	82
Tabela 18	Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C , RMN ^1H e acoplamento heteronuclear de ^{13}C x ^1H (HMBC) para substância ASLE-3	82
Tabela 19	Comparação entre os dados de RMN ^{13}C -BB de ASLE-4a e ASLE-4b (δ , piridina- d_5 , 125 MHz) com os dados descritos na literatura para a mistura β -sitosterol (a) e estigmasterol (b) glicosilados (δ , piridina- d_5 , 100 MHz) [KOJIMA et al, 1990]	91
Tabela 20	Constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas e dos frutos de <i>P. divaricatum</i>	96
Tabela 21	Dados resultante do fracionamento cromatográfico da fração ASCH	109
Tabela 22	Dados referente ao tratamento cromatográfico da fração ASCH-hc	110
Tabela 23	Dados do fracionamento cromatográfico da fração 43-53 de ASCH-hc	110
Tabela 24	Dados resultante da cromatografia de partição do extrato ASCE	112
Tabela 25	Dados resultante do fracionamento cromatográfico da fração PASCE-h	112
Tabela 26	Dados do fracionamento cromatográfico da fração PASCE-h4	113
Tabela 27	Dados do fracionamento cromatográfico da fração 27-44	114
Tabela 28	Dados resultante da cromatografia de partição do extrato ASLE	115
Tabela 29	Dados resultante da cromatografia em coluna da fração ASLE-D	116
Tabela 30	Dados resultante da cromatografia em coluna da fração ASLE-DA2	116
Tabela 31	Dados resultante da cromatografia “flash” da fração 47-96	117
Tabela 32	Dados resultante da cromatografia em coluna da fração ASLE-Ac	118

Tabela 33	Dados resultante da cromatografia em coluna das frações 37-60	118
Tabela 34	Dados resultante da cromatografia em coluna da fração ASLE-DA1	120
Tabela 35	Dados resultante da cromatografia “flash” da fração 20-29	120

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1	Obtenção do extrato hexânico das cascas do lenho de <i>A. surinamensis</i> , e isolamento do composto ASCH-1	111
Fluxograma 2	Obtenção do extrato etanólico das cascas do lenho de <i>A. surinamensis</i> , e isolamento dos compostos ASCE-1, ASCE-2 e ASCE-3	114
Fluxograma 3	Obtenção dos extratos hexânico e etanólico do lenho de <i>A. surinamensis</i> e isolamento dos compostos ASLE-1, ASLE-2 e ASLE-4a/b.	119
Fluxograma 4	Obtenção do extrato etanólico das cascas do lenho de <i>A. surinamensis</i> e isolamento dos compostos ASLE-3.	121
Fluxograma 5	Metodologia de extração do óleo essencial das folhas e frutos de <i>P. divaricatum</i>	123

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ASCE	Extrato etanólico das cascas do lenho de <i>A. surinamensis</i>
ASCE-1	Composto 1 isolado do extrato etanólico das cascas do lenho de <i>A. surinamensis</i>
ASCE-2	Composto 2 isolado do extrato etanólico das cascas do lenho de <i>A. surinamensis</i>
ASCE-3	Composto 3 isolado do extrato etanólico das cascas do lenho de <i>A. surinamensis</i>
ASCH	Extrato hexânico das cascas do lenho de <i>A. surinamensis</i>
ASCH-1	Composto 1 isolado extrato hexânico das cascas do lenho de <i>A. surinamensis</i>
ASCH-ac	Fração acetato de etila do extrato hexânico das cascas do lenho de <i>A. surinamensis</i>
ASCH-c	Fração diclorometano do extrato hexânico das cascas do lenho de <i>A. surinamensis</i>
ASCH-h	Fração hexânica do extrato hexânico das cascas do lenho de <i>A. surinamensis</i>
ASCH-hc	Fração hexânica/CH ₂ Cl ₂ do extrato hexânico das cascas do lenho de <i>A. surinamensis</i>
ASLE	Extrato etanólico do lenho de <i>A. surinamensis</i>
ASLE-1	Composto 1 isolado do extrato etanólico do lenho de <i>A. surinamensis</i>
ASLE-2	Composto 2 isolado do extrato etanólico do lenho de <i>A. surinamensis</i>
ASLE-3	Composto 3 isolado do extrato etanólico do lenho de <i>A. surinamensis</i>
ASLE-4a/b	Composto 4a/b isolado do extrato etanólico do lenho de <i>A. surinamensis</i>
BB	Broad Band decoupling
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG	Cromatografia Gasosa
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
EM	Espectrometria de Massa
FD	Folhas de <i>P. divaricatum</i>

FRD	Frutos de <i>P. divaricatum</i>
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
p.f.	Ponto de fusão
p/p	Porcentagem peso / peso
PASCE-ac	Fração acetato de etila da partição do extrato etanólico de <i>A. surinamensis</i>
PASCE-dc	Fração diclorometano da partição do extrato etanólico de <i>A. surinamensis</i>
PASCE-h	Fração hexânica da partição do extrato etanólico de <i>A. surinamensis</i>
PASCE-hd	Fração hidroalcolica da partição do extrato etanólico de <i>A. surinamensis</i>
ppm	Partes por milhão
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
δ	Deslocamento químico
Φ	Diâmetro

Capítulo 1

Introdução

INTRODUÇÃO

A química dos produtos naturais tem como um dos principais objetivos, o isolamento e caracterização de compostos químicos de plantas superiores, que eventualmente é complementada pela avaliação da atividade biológica das substâncias isoladas, com a perspectiva de um possível aproveitamento destas substâncias.

A natureza, de forma geral, tem contribuído com a maioria das substâncias orgânicas conhecidas. Entretanto, é o Reino Vegetal que tem contribuído de forma mais significativa para o fornecimento de substâncias úteis ao tratamento de doenças que acometem os seres humanos [PHILLIPSON e ANDERSON, 1998]. A fantástica variedade e complexidade de metabólitos secundários biossintetizados pelas plantas teriam-se formado e evoluído, como mecanismo de defesa dos vegetais às condições ambientais rica em microrganismos, insetos, animais e também às condições de adaptação e regulação [REINBOTHE et al, 1990]. Assim as plantas constituem num enorme laboratório de síntese orgânica, fruto de milhões de anos de evolução e adaptação sobre a terra. É importante ressaltar que, devido ao fantástico desenvolvimento de técnicas analíticas de separação e elucidação estrutural, nas últimas três décadas - mais recentemente, de instrumentos analíticos hifenados, conhecem-se cerca de 50.000 metabólitos secundários isolados de angiospermas, muitos desses ainda sem qualquer avaliação com relação ao seu potencial farmacológico. Devido a tais constatações, os produtos naturais e derivados foram, e continuam sendo, notoriamente, de importância crucial em determinados setores de uma sociedade moderna, mesmo considerando-se o grande número de produtos produzidos por síntese.

O presente trabalho relata o estudo dos constituintes químicos das cascas e lenho dos galhos de *Andira surinamensis* (Leguminosae), bem como a identificação da composição química dos óleos essenciais das folhas e frutos de *Piper divaricatum* (Piperaceae).

O gênero *Andira* compreende um grupo de vegetais vulgarmente conhecidos por “Angelins”, os quais são bastante conhecidos pelo povo, dada a sua utilização como plantas medicinais. Em face das suas propriedades vermífugas, estas plantas já eram bastante divulgadas na Europa desde 1755, onde médicos e farmacêuticos de diversos países preconizavam a industrialização das cascas de vários deles, transformando-os em pó, com o qual procuravam obter uma droga de ampla aplicação anti-helmíntica. Como exemplo de angelins com importância

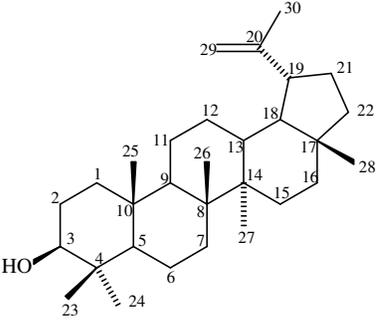
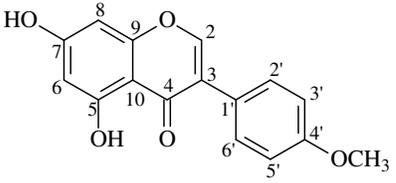
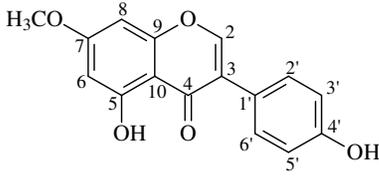
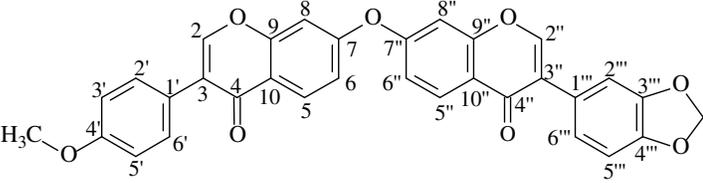
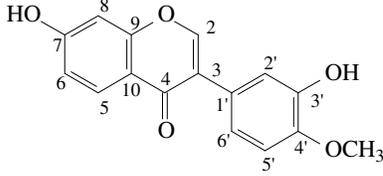
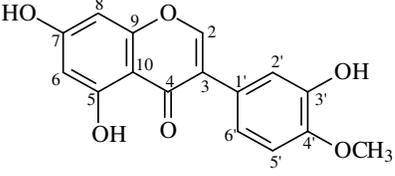
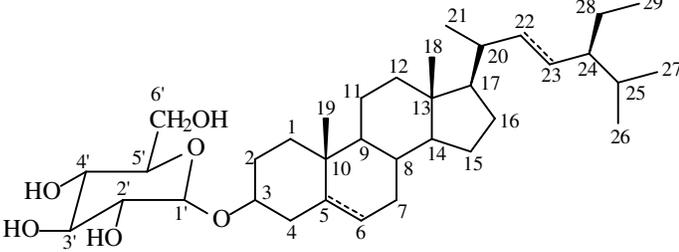
medicinal tem-se a casca e o lenho de *A. vermífuga*, que reduzidos a pó, são úteis no tratamento de úlceras, enquanto a mucilagem apresenta efeitos purgativos, eméticos e narcóticos. A casca do lenho de *A. legalis* constitui efeitos terapêuticos mais seguros, como vermífugo, propriedade esta, estendida às sementes [MATTOS, 1979]. Silva e colaboradores (2003), divulgaram a avaliação da ação anti-helmíntica dos extratos brutos de *A. anthelmia* e *A. fraxinifolia*, sendo o extrato bruto da espécie *A. anthelmia* um potente anti-helmíntico, porém necessitando de estudos complementares em virtude dos efeitos tóxicos detectados.

Trabalhos sobre o estudo químico deste gênero relatam principalmente a presença de isoflavonas [BRAZ et al, 1973], flavanóis [LOCK et al, 1991], rotenóides, 2-aril-3-hidroximetil-benzofuranos [KRAFT et al, 2002] e compostos do tipo 2-arilbenzofurano-3-carbaldeídos [KRAFT et al, 2001].

Com base em levantamento bibliográfico realizado no *Sci Finder*[®] *School*[™] para a espécie *A. surinamensis*, nenhum estudo químico sobre sua constituição química foi encontrado, despertando assim o interesse em estudá-la.

As espécies do gênero *Piper* (Piperaceae) são amplamente aplicadas na medicina popular no tratamento de muitas doenças em função das propriedades antimicrobianas, antioxidantes e efeitos citotóxicos exibidas por seus constituintes [MOREIRA et al, 1998; MAIA et al, 1998]. Os óleos essenciais das diversas partes de espécies de *Piper* vêm sendo bastante estudados, mostrando-se como misturas variadas de constituintes voláteis com predominância de monoterpenos (C10) e sesquiterpenos (C15) [DORMAN e DEANS, 2000]. Quanto à espécie *Piper divaricatum*, foi encontrado somente um relato sobre o estudo químico dos talos [AVELLA et al, 1994], entretanto, não foi encontrado na literatura qualquer trabalho sobre sua composição química volátil, justificando o estudo realizado.

Tabela 01: Constituintes fixos isolados neste trabalho da espécie *A. surinamensis*

 <p>ASCH-1 β-Lup-20(29)-en-3-ol (Lupeol)</p>	 <p>ASCE-1 5,7-Dihidroxi-4'- metoxiisoflavona (Biochanina A)</p>	 <p>ASCE-2 5,4'-Dihidroxi-7- metoxiisoflavona (Prunetina)</p>
 <p>ASCE-3 4'-Metoxiisoflavona-(7-O-7'')-3''',4'''-metilenodioxiisoflavona (Surinamensina)</p>		
 <p>ASLE-2 7,3'-Dihidroxi-4' metoxiisoflavona (Calicosina)</p>	 <p>ASLE-3 5,7,3'-Dihidroxi-4' metoxiisoflavona (Pratenseína)</p>	
 <p>ASLE-4a: Δ⁵ - β-Sitosterol glicosilado ASLE-4b: Δ^{5,22} - Estigmasterol glicosilado</p>		

Capítulo 2



Considerações Botânicas



2. CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2.1 - Considerações botânicas sobre a família Leguminosae.

A família Leguminosae (leguminosas) é uma das maiores, também conhecida como Fabaceae, com ampla distribuição geográfica. É constituída por aproximadamente 18.000 espécies, distribuídas em 619 gêneros, pertencendo boa parte originalmente à flora brasileira. Uma característica típica dessa família é apresentar o fruto do tipo legume, também conhecido como vagem (há exceções). É subdivididas em 3 subfamílias distintas: Faboideae (ou Papilionoideae), Caesalpinioideae (ou Caesalpiniaceae) e Mimosoideae (ou Mimosaceae) [POLHILL e RAVEN, 1981; JOLY, 1993].

As Plantas que compõem esta família têm hábitos muito variados, podem ser desde grandes árvores, típicas das matas tropicais a arbustos, subarbutos, ervas anuais ou perenes e também trepadeiras. Estão dispostas em diferentes ambientes, com variações de altitude e latitude. As folhas são sempre de disposição alterna, compostas, pari ou imparipinadas. Suas flores são variadas, sempre cíclicas, de simetria radial até fortemente zigomorfa, com androceu formado de 4 a 10 estames, livres ou soldados entre si e óvulo sempre súpero, unicarpelar e unicolor. Assim como as folhas, os folíolos são sempre pulvino, o que permite movimento diuturno. Apresenta fruto variado, em geral legume e seco. As sementes são algumas vezes envoltas em mucilagem ou polpa doce [JOLY, 1998].

Como mencionado, a família Leguminosae pode ser dividida em 3 importantes subfamílias:

Mimosoideae: é a menor dentre as leguminosas, compreendendo cerca de 40 gêneros. Dentre os gêneros que se encontram no Brasil, destacam-se pelo número de espécies: *Mimosa*, *Calliandra*, *Ingá*, *Pithecellobium*, *Parkia* e *Piptadenia*.

Caesalpinioideae: esta subfamília contém cerca de 150 gêneros. O gênero com maior número de espécies é *Cássia*. Outros gêneros frequentes são: *Caesalpinia*, *Dimorphandra*, *Bauhinia*, *Copaifera*, *Hymenaea* e *Swartzia*.

Papilionoideae: também conhecida por Faboideae, compreende cerca de 400 gêneros e é, portanto a maior dentre as leguminosas. Estão incluídos nesta categoria todos os nossos legumes: *Phaseolus* (feijão), *Pisum* (ervilha), *Lens* (lentilha), *Vicia* (fava), *Cicer* (grão-de-bico), etc. Os

gêneros nativos que mais se destacam são: *Phaseolus*, *Crotalaria*, *Erythrina*, *Andira*, *Sophora*, *Dalbergia*, *Indigofera*, *Desmodium*, *Clitoria* e *Mucuna* [Joly, 1998].

2.2 - Considerações botânicas sobre o gênero *Andira*

Em face das propriedades vermífugas, esse gênero foi amplamente utilizado na Europa desde 1755, onde médicos e farmacêuticos de diversos países preconizavam a industrialização da casca, transformando-a em pó, com o qual procuravam obter uma droga de aplicação anti-helmíntica [MATTOS, 1979]. Algumas espécies que pertencem ao gênero *Andira* ainda têm sido utilizadas popularmente como anti-helmínticas, apesar de seus efeitos tóxicos serem citados por diversos autores. As sementes são eméticas e/ou vermífugas, bem como a casca e as folhas [PIO CORRÊA, 1984; RIZZINI, 1970].

As espécies pertencentes ao gênero *Andira* compreendem o grupo de vegetais vulgarmente conhecidos por “angelins”, representado por mais de 38 espécies distribuídas pela América Tropical, sendo que a maioria é originária do Brasil, onde são encontradas 27 espécies, sendo que o maior número de espécies encontram-se na Amazônia, decrescendo à medida que se aproxima do sul do país, não sendo encontrado nenhum representante do gênero no Rio Grande do Sul [MATTOS, 1979].

Segundo Mattos (1979), o gênero *Andira* apresenta as seguintes características:

Árvore ou arbusto. Casca cinzentada. Ramos terminais suberosos ou não. Estípulas persistentes ou caducas. Estípelas setáceas e rígidas. Folhas compostas, imparipenadas. Folíolos opostos, às vezes, subopostas. Inflorescências terminais, paniculadas. Brácteas e bractéolas, geralmente, muita caducas. Flores róseas ou violáceas, subsésseis ou curto-pediceladas. Base oblíqua ou algo articuladas. Estames 10, sendo nove unidos até mais ou menos 2/3 do tamanho do androceu e o vexilar livre. Ovário longo-estipitado. Estigma pequeno, terminal. Legume drupáceo, obovóide ou ovóide, geralmente achatado ou ligeiramente achatado. Semente única.

2.3 - Considerações botânicas sobre a espécie *Andira surinamensis*

Ferreira e colaboradores (2004), descreve a espécie *A. surinamensis* da seguinte forma:

Árvore ou arbusto, 4-42 m de altura; tronco reto e cônico; base digitada; ritidoma marrom-acinzentado do claro, estriado a fissurado superficialmente; casca morta marrom, fina (>1 mm); casca viva rósea alaranjada, 4mm espessura, exsudando resina incolor de odor forte, que oxida e fica alaranjada. Folha imparipinada, 15,0-26,0 cm de comprimento; gemas na base do pecíolo; estípulas caducas, 1,3- 2,0 mm; pecíolo 3,2-4,8 cm; base dilatada. Folíolos 7-9 com 2,4-12,2 cm compr., 1,1-5,7 cm larg., oblongos, elípticos, opostos; ápice obtuso; base arredondada, margem ligeiramente recurvada; peciólulos 3,0-4,0 mm compr.; inflorescência em heterocládio duplo racemo pubescente, terminal ou ocasionalmente axilar, 11-28 cm compr; brácteas 2 mm compr., esparso-pubescentes; pedicelo 2,0-4,0mm compr.; bractéolas 1mm compr., curto-pubescentes. Flor 15-17 mm compr., róseo-violácea a violácea; cálice campanulado, 6,0-8,0 mm compr., pubescência marrom-avermelhada externamente; corola arroxeadada a lilás-violácea; vexilo 11-14 mm compr., 6,0-8,0 mm larg.; alas 11-14 mm compr., 4 mm larg.; estames 10, diadelfos, 11-14 mm compr.; gineceu 12-14 mm compr. e 15 mm larg.; estigma curto, 3,0-4,0 mm compr.; ovário glabro, unilocular, 4-5 óvulos. Fruto drupa, 4,5-6,8 cm compr, verde-amarelado ficando enegrecido quando seco, cálice e androceu persistentes na base do fruto.

Reconhecimento no campo: consistência cartácea dos folíolos e o brilho na face superior são características que facilmente a diferenciam no campo das demais. Ao corte, a casca viva de cor alaranjada, bastante fibrosa também é muito útil na sua identificação [FERREIRA et al, 2004].

O decocto da casca, segundo Mattos (1979), é um vermífugo bastante difundido nas comunidades rurais do Estado de Roraima, e também como remédio para malária.

Figura 1: Fotografia da espécie *A. surinamensis*.



2.4 - Considerações botânicas sobre a família Piperaceae

Piperaceae é uma família de plantas dicotiledóneas, que inclui as diversas variedades de pimenta. A família Piperaceae inclui 10 gêneros que são: *Arctotonia*; *Macropiper*; *Manekia*; *Peperomia*; *Piper*; *Pothomorphe*; *Sarcorhachis*; *Trianaeopiper*; *Verhuellia* e *Zippelia*, as quais englobam cerca de 1400 a 2000 espécies, que habitam lugares úmidos e sombrios da região tropical. No Brasil, são encontrados apenas cinco gêneros, que perfazem 460 espécies [AGARDH, 1824].

Agardh (1824), descreve esta família da seguinte forma:

Ervas eretas ou escandentes, subarbustos, arbustos ou pequenas árvores, terrestres ou epífitas. Folhas estipuladas, alternas, opostas ou verticiladas, sésseis ou pecioladas, inteiras, de consistência e formas as mais diversas, tricomas muito variados, geralmente dotadas de glândulas translúcidas. Flores aclamídeas, diminutas, monoclinas ou diclinas, protegidas por bracteólas pediceladas ou sésseis, sacadogaleadas ou peltadas, dispostas esparsas ou congestas em espigas, formando umbelas ou não, ou dispostas em racemos, axilares ou terminais, opostos ou não às folhas. Estames 2-6, livres ou adnatos às paredes do ovário; anteras rimosas, bitecas ou unitecas. Ovário súpero, séssil, geralmente imerso na raque, ou pedicelado, unilocular, uniovulado; óvulo basal, ortótopo; estilete presente ou ausente, 1-4 estigmas variáveis na forma. Fruto drupa, séssil ou pedicelado. Endosperma escasso, apresentando perisperma; embrião mínimo.

2.5 - Considerações botânicas sobre o gênero *Piper*

Piper, da família Piperaceae, inclui mais de 1000 espécies, fazendo deste o maior gênero das angiospermas basais, as chamadas paleoervas. As florestas brasileiras abrigam 283 espécies de *Piper* [FIGUEIREDO e SAZIMA, 2000]. As plantas do gênero *Piper* são popularmente conhecidas como pimenteiros ou falsos-jaborandís, dentre elas a pimenta-do-reino (*P. nigrum*) [YUNCKER 1971]. Este gênero é composto por arbustos, herbáceas, lianas ou pequenas árvores, com folhas alternadas, simples, inteiras, geralmente assimétricas, penínérveas ou palminérveas. O

fruto é uma drupa pequena, em forma de espiga, com sementes minúsculas [JARAMILLO e MANOS, 2001]. As plantas do gênero *Piper* alcançam entre 2,2 a 5,5 metros e produzem em média 40 infrutescências contendo um número grande de sementes (em média 472 sementes) [BIZERRIL e RAW, 1998]. As infrutescências aparecem no fim das estações chuvosas e ficam expostas verticalmente acima da copa da planta [FLEMING 1981, 1985].

2.6 - Consideração botânicas sobre a espécie *Piper divaricatum*

Guimarães (2004), descreve esta espécie da seguinte forma:

Arbusto com até 7m de altura, dotado de glândulas, glabro. Folhas com bainha curta, pecíolo sulcado com 1-3,5 cm compr.; lâmina oblongo-elíptica ou lanceolada, 8-14 x 3-7 cm, base assimétrica, ápice agudo, revoluta na margem, papirácea, brilhante em ambas as faces; nervuras secundárias 5-7, dispostas até o ápice da lâmina. Espigas eretas ou pêndulas, até 6 cm compr., 5 mm diâm., alcançando na frutificação até 1 cm diâm.; pedúnculo 1-1,5 cm; raque glabra;. Estames 4. Drupa oblonga ou obpiramidal, glandulosa no ápice, 3 estigmas sésseis.

Peckolt e Peckolt (1888), informam que a raiz é aromática, de sabor forte, semelhante ao do gengibre; as folhas e as raízes, quando em infusão, são empregadas internamente contra dores reumáticas e cólicas, e, quando cozidas, são utilizadas sob a forma de banhos contra reumatismo.

Figura 2: Fotografia das folhas e frutos de *P. divaricatum*.



Fotógrafo: Prof. Edilberto R. Silveira

Capítulo 3

Levantamento Bibliográfico

3. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

3.1 ESPÉCIES ESTUDADAS DO GÊNERO *ANDIRA* E CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS

Através de levantamento bibliográfico no *Chemical Abstracts* e no *Sci Finder® Scholar™*, acerca do gênero *Andira*, verificou-se que são escassos os estudos a respeito de isolamento de constituintes químicos. Das 38 espécies já descritas, apenas *A. flaxinifolia*, *A. inermis* e *A. parviflora* foram objeto de investigação fitoquímica.

As espécies descritas são: *A. amazonum*, *A. acuminata*, *A. anthelmia*, *A. anthelminthica*, *A. bahiensis*, *A. cuyabensis*, *A. flaxinifolia*, *A. frondosa*, *A. grandifolia*, *A. handroana*, *A. humilis*, *A. inermis*, *A. juss*, *A. kuhlmanni*, *A. lanei*, *A. laurifolia*, *A. legalis*, *A. macrothyrsa*, *A. marauensis*, *A. micans*, *A. micrantha*, *A. multistipula*, *A. nítida*, *A. paniculata*, *A. parvifolia*, *A. parviflora*, *A. pauciflora*, *A. pernambucensis*, *A. pisonis*, *A. racemosa*, *A. retusa*, *A. stipulacea*, *A. surinamensis*, *A. trifoliolata*, *A. unifoliolata*, *A. vermifuga*, *A. vilosa* e *A. zehntneri*.

Os estudos prévios descritos na literatura acerca do isolamento dos constituintes químicos, revelaram classes de compostos químicos tais como: flavonas, isoflavonas, pterocarpanos e triterpenos (Tabela 02, pág. 15).

O interesse medicinal sobre o gênero *Andira* iniciou-se desde 1975, quando médicos e farmacêuticos de vários países preconizavam a industrialização de uma droga com atividade anti-helmíntica [MATTOS, 1979]. As cascas das raízes de *A. inermis*, na época, foram empregadas como vermífugo e purgativo. Enquanto os extratos das folhas e talos da mesma espécie mostraram atividade contra o *Plasmodial falciparum* [KRAFT et al, 2000].

Tabela 2: Levantamento bibliográfico das espécies de *Andira*, suas partes estudadas, compostos químicos isolados e suas respectivas estruturas.

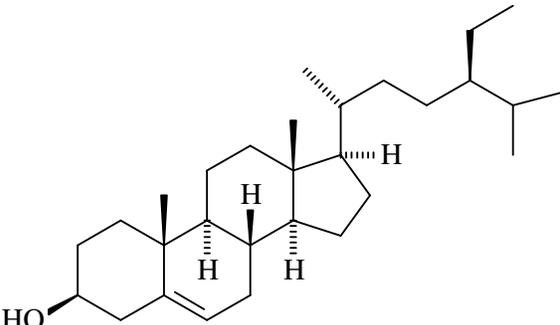
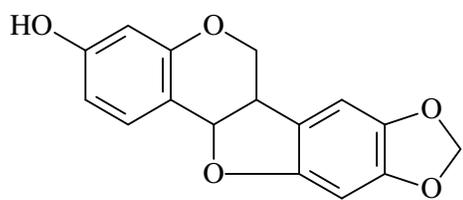
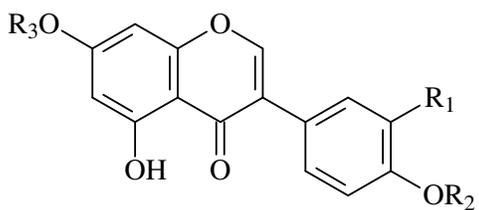
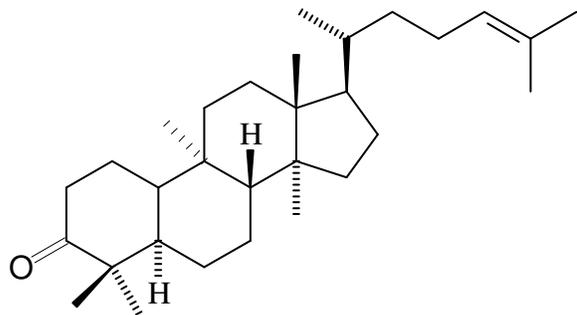
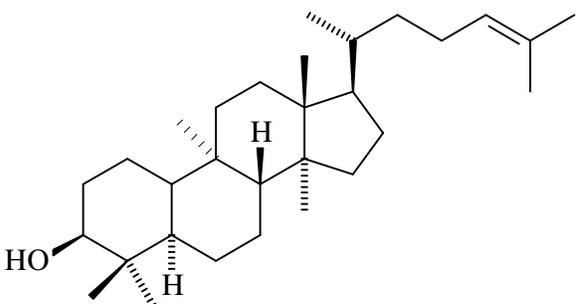
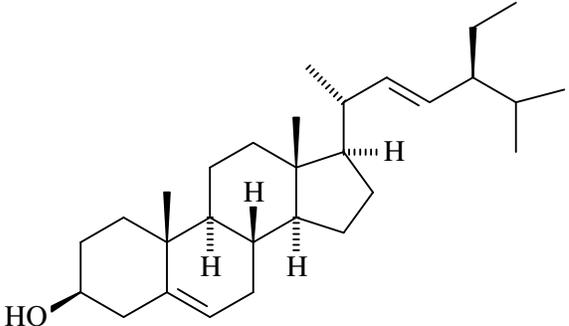
ESPÉCIE	PARTE ESTUDADA	COMPOSTO ISOLADO	ESTRUTURA	REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA
<i>Andira flaxinifolia</i>	raízes	β -Sitosterol	1	SILVA et al, 2006
		Stigmasterol	6	“
		Ácido betulínico	30	“
		Lupeol	31	“
		5,7-Dihidroxi-4'-metoxiisoflavona	3	“
		3',5,7-Trihidroxi-4'-metoxiisoflavona	15	“
		5,7-Dihidroxi-3-O- α -L-ramnopiranosilcromona	29	“
		Astilbina	24	“
		Engelitina	25	“

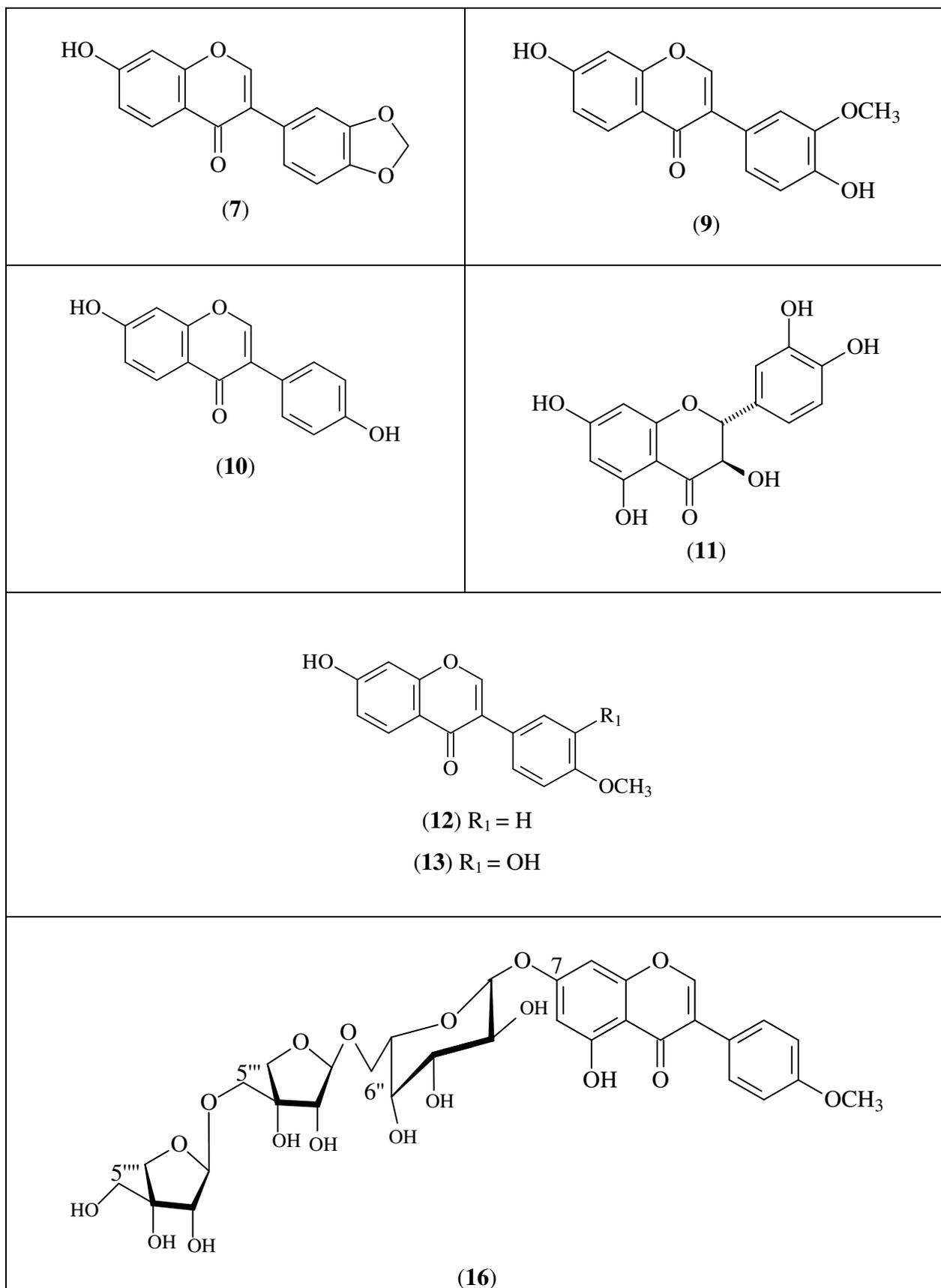
ESPÉCIE	PARTE ESTUDADA	COMPOSTO ISOLADO	ESTRUTURA	REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA
<i>Andira inermis</i>	aéreas	7-Hidroxi-4'-metoxiisoflavona	12	KRAFT et al, 2000
		3',7-Dihidroxi-4'-metoxiisoflavona	13	“
		4',5-Dihidroxi-7-metoxiisoflavona	14	“
		5,7-Dihidroxi-4'-metoxiisoflavona	3	“
		4',5,7-Trihidroxiisoflavona	8	“
		3',5,7-Trihidroxi-4'-metoxiisoflavona	15	“
		Andinermal A	19	KRAFT et al, 2001
		Andinermal B	20	“
		Andinermal C	21	“
		4',5-Dihidroxi-7-metoxiisoflavona	14	“
		7-Hidroxi-4'-metoxiisoflavona	12	“
		5,7-Dihidroxi-4'-metoxiisoflavona	3	“
		3''-O-trans-Cinnamoyl-astilbina	22	“
		4',6-Dimetoxi-7-hidroxiisoflavona	23	“
		Astilbina	24	“
		Engelitina	25	“
3',7-Dihidroxi-4'-metoxiisoflavona	13	“		

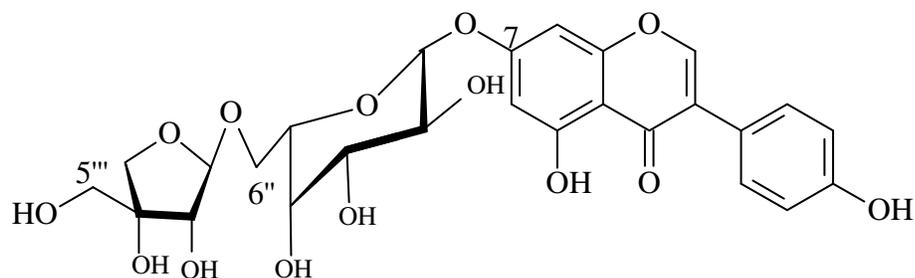
ESPÉCIE	PARTE ESTUDADA	COMPOSTO ISOLADO	ESTRUTURA	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA
<i>Andira inermis</i>		Andirol A	26	KRAFT et al, 2002
		Andirol B	27	“
		Andinermol	28	“
		Andinermal A	19	“
	raízes	5-Hidroxi-4'-metoxi-7-O-β-D-apiofuranosil-(1→5)-β-D-apiofuranosil-(1→6)-β-D-glicopiranosideo isoflavona	16	SILVA et al, 2000
		4',5-Dihidroxi-7-O-β-D-apiofuranosil-(1→6)-β-D-glicopiranosideo isoflavona	17	“
		5-Hidroxi-4'-methoxi,7-(6-O-β-D-apiofuranosil-β-D-glucopiranosideo) isoflavona	18	“
	aéreas	β-Sitosterol	1	LOCK et al, 1991
		Stigmasterol	6	“
		7-Hidroxi-3',4'-metoxilenodioxiiisoflavona	7	“
		4',5,7-Trihidroxiiisoflavona	8	“
		3'-metoxi-7-hidroxiiisoflavona	9	“
		4',7-Dihidroxiiisoflavona	10	“
	3,5,7,3',4'-Pentahidroxiflavanona	11	“	

ESPÉCIE	PARTE ESTUDADA	COMPOSTO ISOLADO	ESTRUTURA	REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA
<i>A. inermis</i>	aéreas	β -Sitosterol	1	COCKER et al, 1962
		3-Hidroxi-8,9-metilenodioxipterocarpano	2	“
		5,7-Dihidroxi-4'-metoxiisoflavona	3	“
<i>A. parviflora</i>	aéreas	5,7-Dihidroxi-4'-metoxiisoflavona	3	BRAZ et al, 1973
		Cicloartenona	4	“
		Cicloartenol	5	“

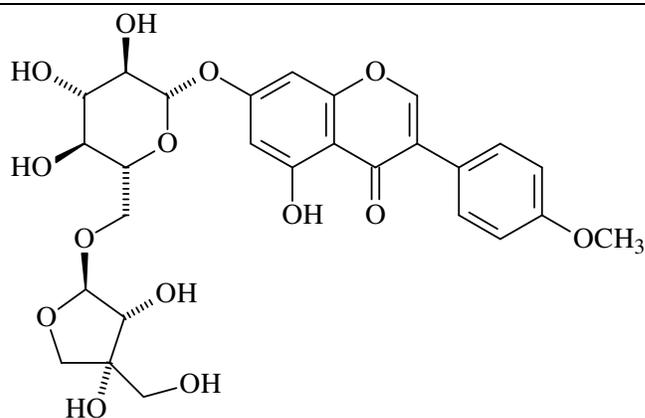
Tabela 03: Estruturas dos metabólitos secundários isolados do gênero *Andira*.

 <p>(1)</p>	 <p>(2)</p>
 <p>(3) $R_1 = H$, $R_2 = CH_3$ e $R_3 = H$ (8) $R_1 = H$, $R_2 = H$ e $R_3 = H$ (14) $R_1 = H$, $R_2 = H$ e $R_3 = CH_3$ (15) $R_1 = OH$, $R_2 = CH_3$ e $R_3 = H$</p>	 <p>(4)</p>
 <p>(5)</p>	 <p>(6)</p>

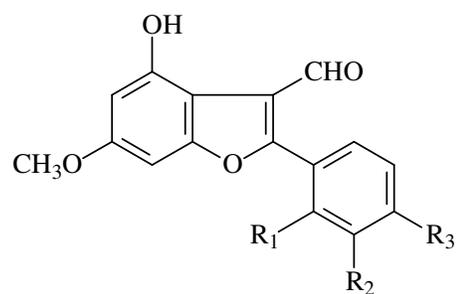




(17)

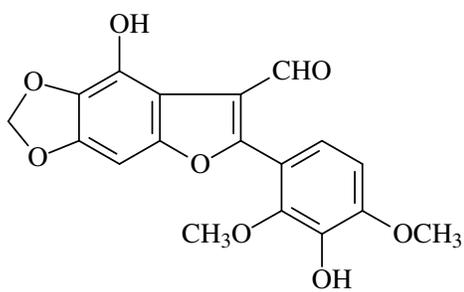


(18)

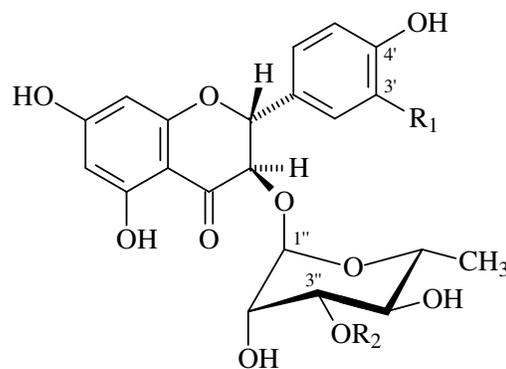


(19) R₁ = R₃ = OCH₃; R₂ = OH

(21) R₁ = OCH₃; R₂ = R₃ = OH



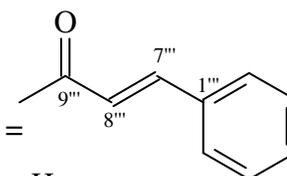
(20)

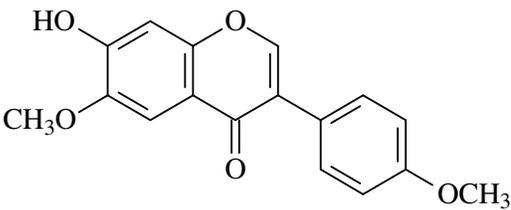
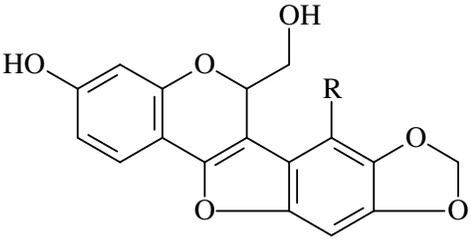
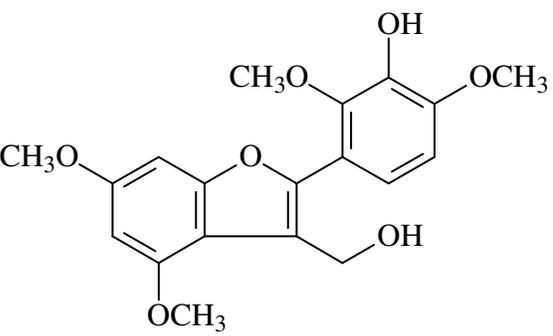
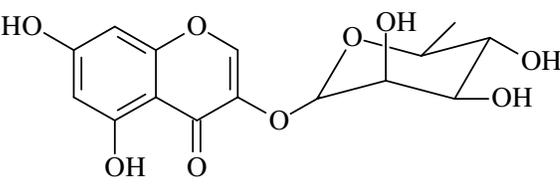
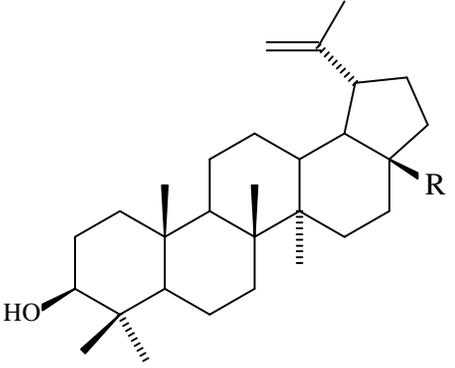


(22) R₁ = OH; R₂ =

(24) R₁ = OH; R₂ = H

(25) R₁ = H; R₂ = H



 <p>(23)</p>	 <p>(26) R = OCH₃ (27) R = H</p>
 <p>(28)</p>	 <p>(29)</p>
 <p>(30) R = COOH (31) R = CH₃</p>	

3.2 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS VOLÁTEIS DO GÊNERO *PIPER*, ESTUDADOS NO BRASIL

O gênero *Piper* conta com mais de 1000 espécies e as florestas brasileiras abrigam 283 espécies de *Piper* [FIGUEIREDO e SAZIMA, 2000]. Levantamento bibliográfico realizado no *Sci Finder® Scholar™*, permitiram compilar dados acerca da composição volátil das espécies estudadas de diversas regiões do Brasil. De acordo com o levantamento 38 espécies de *Piper* foram investigadas, na Tabela a seguir encontra-se a relação de *Piper* estudados, origem e principais constituintes químicos identificados. Os monoterpenos e sesquiterpenos são os constituintes majoritários.

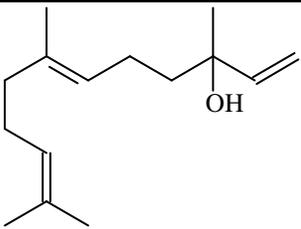
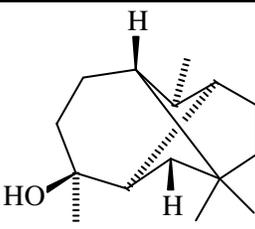
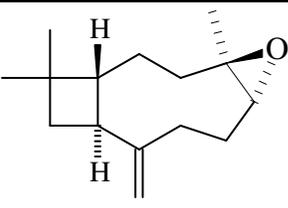
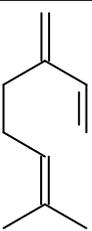
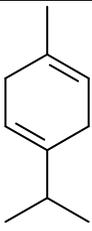
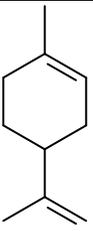
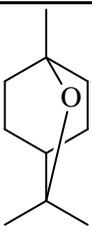
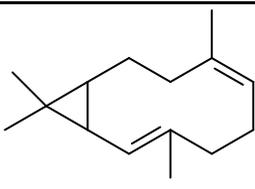
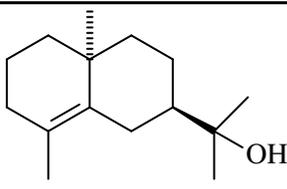
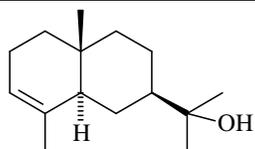
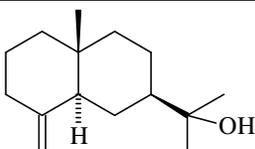
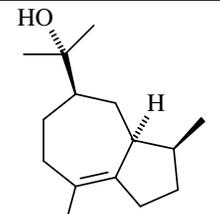
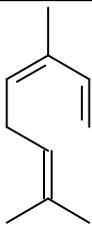
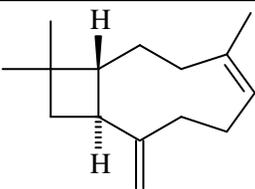
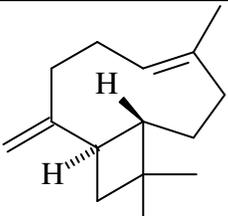
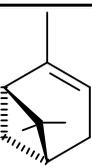
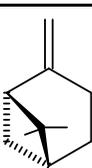
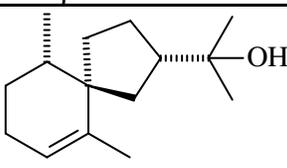
Tabela 04: Espécies do gênero *Piper* encontrados na flora brasileira:

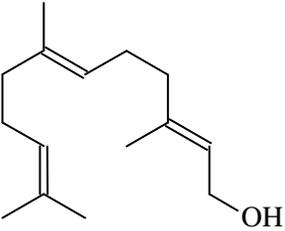
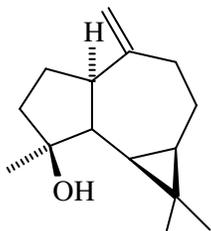
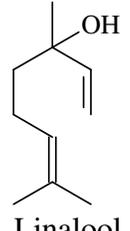
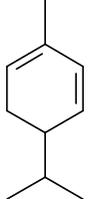
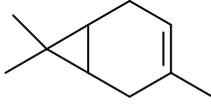
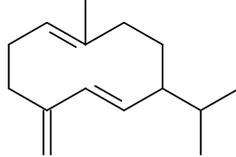
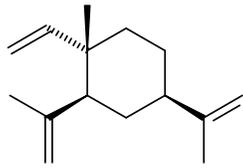
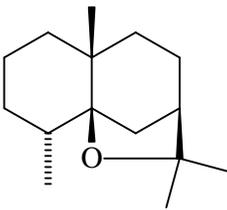
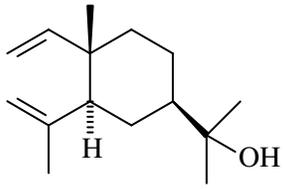
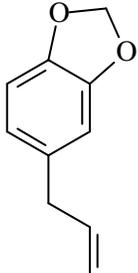
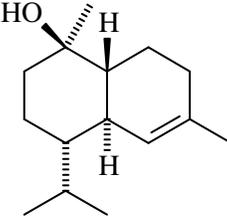
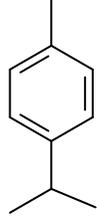
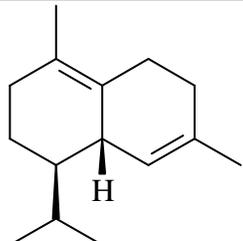
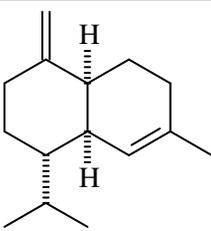
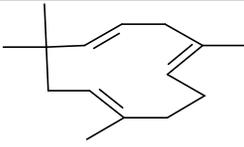
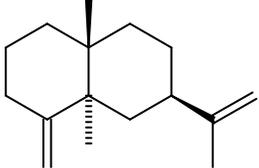
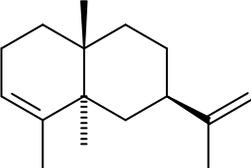
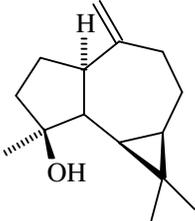
Espécies de <i>Piper</i>	Região do Brasil	Compostos majoritários	Referência bibliográfica
<i>P. aducum</i>	Pernambuco	(<i>E</i>)-Nerolidol – 81,5% Longipinanol – 13,6%	OLIVEIRA et al, 2006
<i>P. xylosteróides</i>	Brazília	Mirceno - 31% γ - Terpineno - 26%	POTZERNHEIM et al, 2006
<i>P. vicosanum</i>	Minas Gerais	Limoneno – 45,5% 1,8-Cineole – 15,0%	MESQUITA et al, 2006
<i>P. arboreum</i>	Brasília	Biciclogermacreno – 12,1% 10- <i>epi</i> - γ -Eudesmol – 11,6% Oxido cariofileno – 10,1%	POTZERNHEIM et al, 2006
<i>P. dilatatum</i>		<i>cis</i> - β -Ocimeno – 19,6% β -Cariofileno – 11,3%	
<i>P. hispidum</i>		β -Pineno – 19,7% α -Pineno – 9,0%	
<i>P. carniconnectivum</i>	Amazonas	Oxido cariofileno – 21,3% Spatulenol – 23,7% β -Pineno – 19,0%	FACUNDO et al, 2006
<i>P. arboreum</i>	Ceará	Biciclogermacreno – 25,0% (<i>E</i>)-Nerolidol – 11,1%	CYSNE et al, 2005
<i>P. crassinervium</i>		α -Pineno – 11,2% β -Pineno – 20,0% 1,8-Cineole – 10,8% Linalool – 28,6%	
<i>P. dilatatum</i>		α -Felandreno – 22,5% Δ -3-Careno – 10,2% Biciclogermacreno – 25,0%	

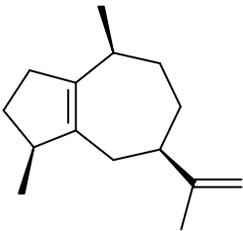
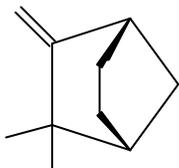
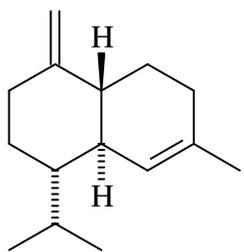
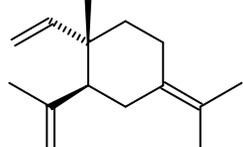
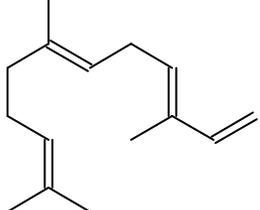
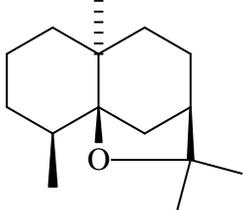
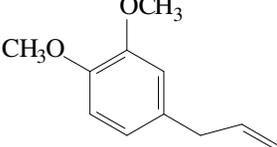
<i>P. dilatatum</i>	Ceará	β -Cariofileno – 10,2%	CYSNE et al, 2005
<i>P. tuberculatum</i>		Germacreno D – 11,8% β -Cariofileno – 37,7%	
<i>P. cernuum</i>	Santa Catarina	β -Cariofileno - 4,4% β -Dihidroagarofurano – 31,0% Elemol – 12,0% 10- <i>epi</i> - γ -Eudesmol – 13,0%	ABREU et al, 2005
<i>P. mikianium</i>	Santa Catarina	Safrole – 82,0%	ABREU et al, 2002
<i>P. amplum</i>	Rio de Janeiro	α -Pino - 16,7% (<i>E</i>)-Cariofileno - 9,82% (<i>E</i>)-Nerolidol - 8,3%	SANTOS et al, 2001
<i>P. arboreum</i>		γ -Eudesmol - 14,6% α -Eudesmol - 12,2% Bulnesol - 8,1%	
<i>P. dilatatum</i>		α -Pino - 17,7% Mirceno - 41,7%	
<i>P. goesii</i>		(<i>E</i>)-Cariofileno - 13,3% Germacreno - D 28,8% (<i>E,E</i>)- α -Farneseno 14,0%	
<i>P. hispidum</i>		α -Cariofileno - 9,2% Germacreno - D 7,1%	
<i>P. hoffmanseggianum</i>		β -Cariofileno – 10,1% 10- <i>epi</i> - γ -Eudesmol – 15,9% Hinesol – 19,3%	
<i>P. mollicomum</i>		(<i>E</i>)-Nerolidol – 23,2% (<i>E,E</i>)-Farnesol 10,4%	
<i>P. cernum</i>		Rio de Janeiro	
<i>P. dactylostigmum</i>	Amazonas	α -Cadinol – 21,7%	LUZ et al, 2000
<i>P. plurinervosum</i>		1,8-Cineole – 31,6%	
<i>P. vitaceum</i>		Limoneno – 33,2% <i>p</i> -Cimeno – 12,8% (<i>E</i>)-Nerolidol – 20,6%	
<i>P. permucronatum</i>	Rio de Janeiro	δ -Cadineno – 12,7% γ -Muuroleno – 7,4% α -Cadinol – 6,9% β -Cariofileno - 6,8%	TORQUILHO et al, 1999

<i>P. gaudichaudianum</i>	São Paulo	β-Cariofileno - 12,1% α-Humuleno - 13,3% β-Selineno - 15,7% α-Selineno - 16,6%	ANDRADE e ALMEIDA, 1998
<i>P. regnellii</i>		β-Cariofileno - 23,4% (E)-Nerolidol - 13,7% Spatulenol - 11,1%	
<i>P. arboreum</i>	Amazonas	Germacreno D - 72,8%	MACHADO et al, 1994
<i>P. hispidum</i>		γ-Cadineno - 25,1% Campheno - 15,6% α-Guaieno - 11,4% γ-Elemeno - 10,8%	
<i>P. gaudichaudianum</i>	Porto Alegre	α-Humuleno - 37,5% β-Cariofileno - 17,4%	POSER et al, 1994
<i>P. mikanianum</i>		Limoneno - 14,8% Biciclogermacreno - 14,3% β-Cariofileno - 10,5%	
<i>P. cavalcantei</i>	Manaus	Safrole - 69,0% Metileugenol - 8,0%	ALENCAR et al, 1972

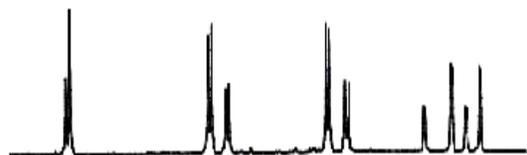
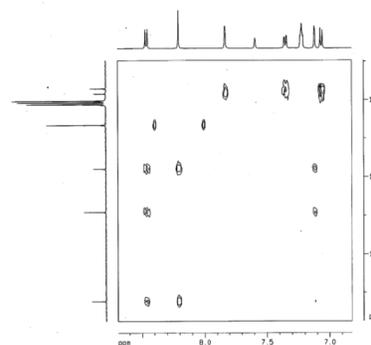
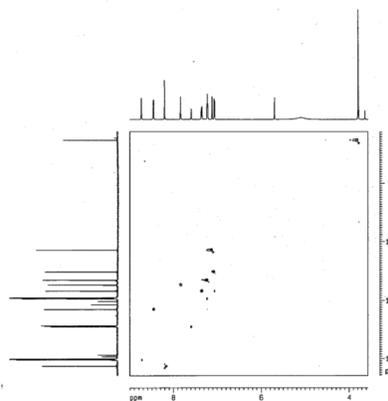
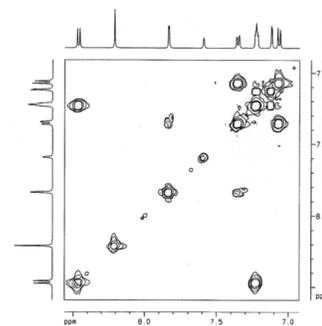
Tabela 05: Estruturas dos principais componentes identificados nos óleos essenciais de *Piper*.

 <p>(E)-Nerolidol</p>	 <p>Longipinanol</p>	 <p>Oxido cariofileno</p>
 <p>Mirceno</p>	 <p>γ-Terpineno</p>	 <p>Limoneno</p>
 <p>1,8-Cineole</p>	 <p>Bicyclgermacreno</p>	 <p>10-<i>epi</i>- γ-Eudesmol</p>
 <p>α-Eudesmol</p>	 <p>γ-Eudesmol</p>	 <p>Bulnesol</p>
 <p><i>cis</i>-β-Ocimeno</p>	 <p>α-Cariofileno</p>	 <p>β-Cariofileno</p>
 <p>α-Pineno</p>	 <p>β-Pineno</p>	 <p>Hinesol</p>

 <p>(<i>E,E</i>)-Farnesol</p>	 <p>Spatulenol</p>	 <p>Linalool</p>
 <p>α-Felandreno</p>	 <p>Δ-3-Careno</p>	 <p>Germacreno D</p>
 <p>β-Elemeno</p>	 <p><i>cis</i>-Dihidroagarofurano</p>	 <p>Elemol</p>
 <p>Safrole</p>	 <p>α-Cadinol</p>	 <p><i>p</i>-Cimeno</p>
 <p>δ-Cadineno</p>	 <p>γ-Muuroleno</p>	 <p>α-Humuleno</p>
 <p>β-Selineno</p>	 <p>α-Selineno</p>	 <p>Spatulenol</p>

 <p>α-Guaieno</p>	 <p>Campheno</p>	 <p>γ-Cadineno</p>
 <p>γ-Elemeno</p>	 <p>(<i>E,E</i>)-α-Farneseno</p>	 <p>β-Dihidroagarofurano</p>
 <p>Metileugenol</p>		

Capítulo 4



Determinação Estrutural



4. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

4.1 - Determinação estrutural de ASCH-1

A substância denominada ASCH-1, foi isolada a partir da fração hexano/diclorometano 1:1, do extrato hexânico (item 5.4.1.3, pág. 117). Este composto apresentou-se como cristais em forma de agulhas, ponto de fusão na faixa de 172-174 °C e $[\alpha]_D^{25} = + 11$ ($c = 0.076$, MeOH).

O espectro de absorção na região no infravermelho (IV) (Fig. 08, pág. 34) apresentou uma absorção intensa em 3415 cm^{-1} , característico de deformação axial de ligação O-H, absorções em 3231 e 2949 cm^{-1} correspondentes a deformação axial assimétrico e simétrico de ligação C-H de grupamentos CH_2 e CH_3 , respectivamente; uma absorção em 1624 cm^{-1} de deformação axial de C=C, além de absorção em 1039 cm^{-1} , representativo de ligação C-O.

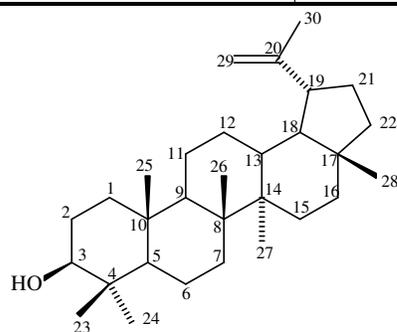
O espectro de RMN ^{13}C - BB (Fig. 05, pág. 33), revelou sinais correspondentes a trinta átomos de carbono. A análise do espectro DEPT 135°, (Fig. 07, pág. 34), apresentando sinais de CH e CH_3 em fase oposta a CH_2 , possibilitou reconhecer sete carbonos metílicos (CH_3), onze metilênicos (CH_2) e seis metínicos (CH). Enquanto o número de átomos de carbono não hidrogenado (C), foi verificado por subtração dos espectros de RMN ^{13}C -BB e DEPT 135°. É importante ressaltar a presença de três sinais, um em δ_c 79,2 referente a um carbono metínico oxigenado (HC-OH), e dois sinais em δ_c 109,5 (CH_2) e 151,2 (C), referente a uma ligação dupla dissustituída e terminal.

O espectro de RMN ^1H (Fig. 03, pág. 32), revelou sete singletos em δ_H 0,76; 0,79; 0,83; 0,95; 0,97; 1,03 e 1,68, correspondentes a sete metilas, sendo que a última encontra-se na região mais desprotegida, sugerindo estar ligada a carbono sp^2 . Os singletos em δ_H 4,57 e 4,69, cada um com integração para um hidrogênio e um multiplete centrado em δ_H 3,19 com integração para um hidrogênio, caracterizaram uma dupla ligação terminal e um carbono carbinólico, corroborando com o espectro de RMN ^{13}C .

De acordo com os dados de IV, RMN ^{13}C e RMN ^1H e em comparação com os dados da literatura (Tabela 06, pág. 31), é plausível sugerir para ASCH-1, um triterpeno pentacíclico de esqueleto do tipo lupano com uma ligação dupla entre os carbonos 20 e 29 de nomenclatura usual lupeol.

Tabela 06: Comparação entre os dados de RMN ^{13}C -BB do ASCH-1 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) com os dados descritos na literatura para o Lupeol [MAHATO e KUNDU, 1994].

Carbono	ASCH-1	Lupeol
1	38,9	38,7
2	27,6	27,4
3	79,2	78,9
4	39,0	38,8
5	55,5	55,5
6	18,5	18,3
7	34,5	34,3
8	41,0	40,8
9	50,6	50,4
10	37,4	37,1
11	21,1	20,9
12	25,3	25,1
13	38,3	38,0
14	43,0	42,8
15	27,6	27,4
16	35,8	35,5
17	43,2	43,0
18	48,5	48,0
19	48,2	47,9
20	151,2	150,9
21	30,0	29,8
22	40,2	40,0
23	28,2	28,0
24	15,5	15,4
25	16,3	16,1
26	16,2	15,9
27	14,7	14,5
28	18,2	18,0
29	109,5	109,3
30	19,5	19,3



Estrutura do ASCH-1: Lupeol

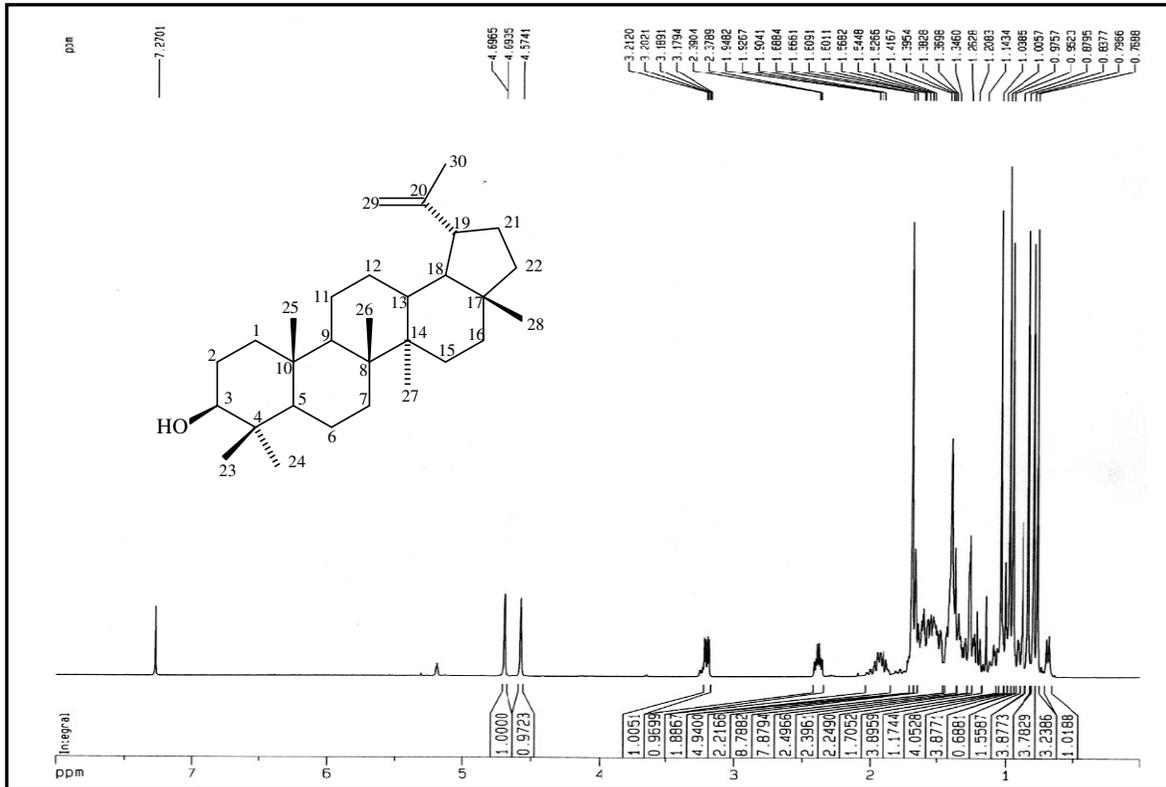


Figura 3: Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de ASCH-1.

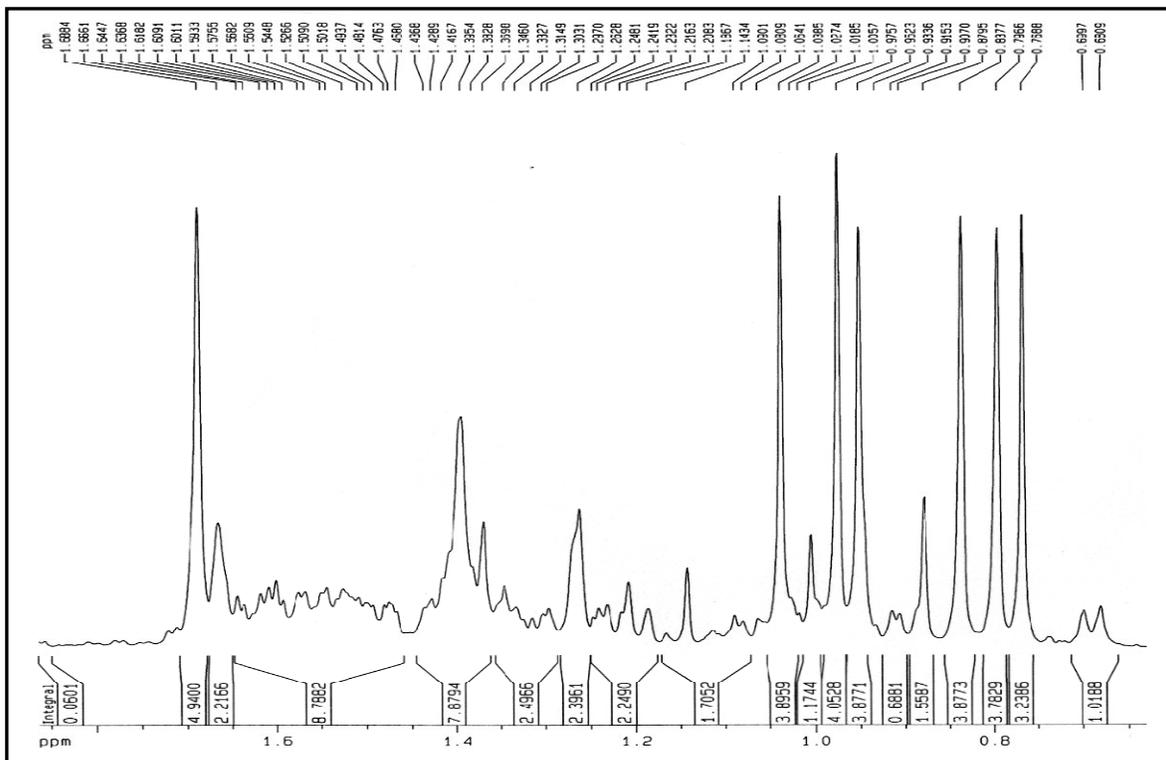


Figura 4: Expansão do espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de ASCH-1.

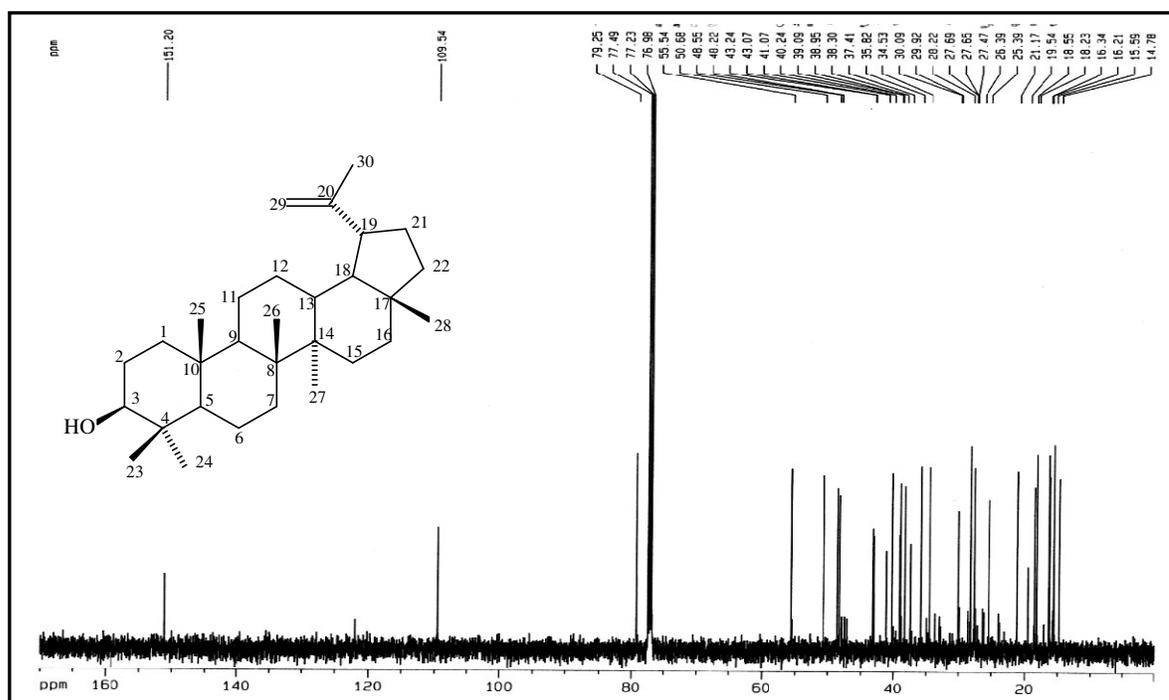


Figura 5: Espectro RMN ¹³C-BB de ASCH-1 (125 MHz, CDCl₃)

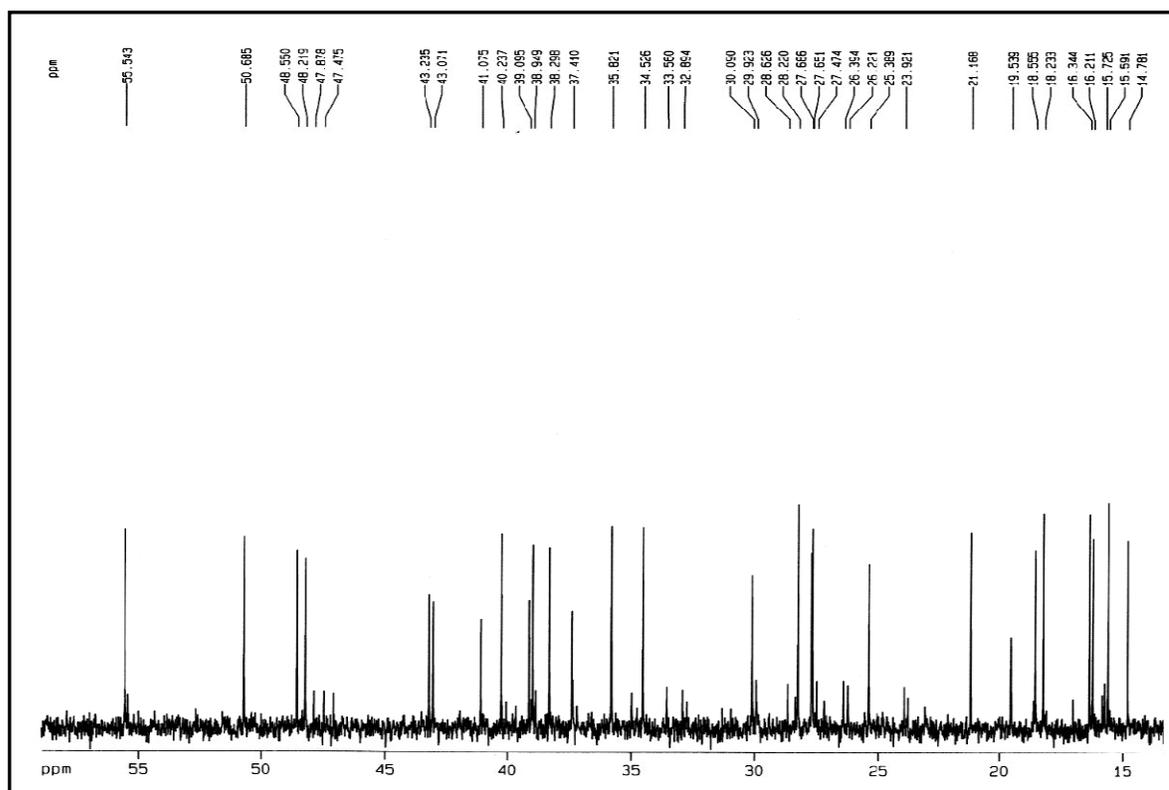


Figura 6: Expansão do espectro RMN ¹³C-BB de ASCH-1 (125 MHz, CDCl₃).

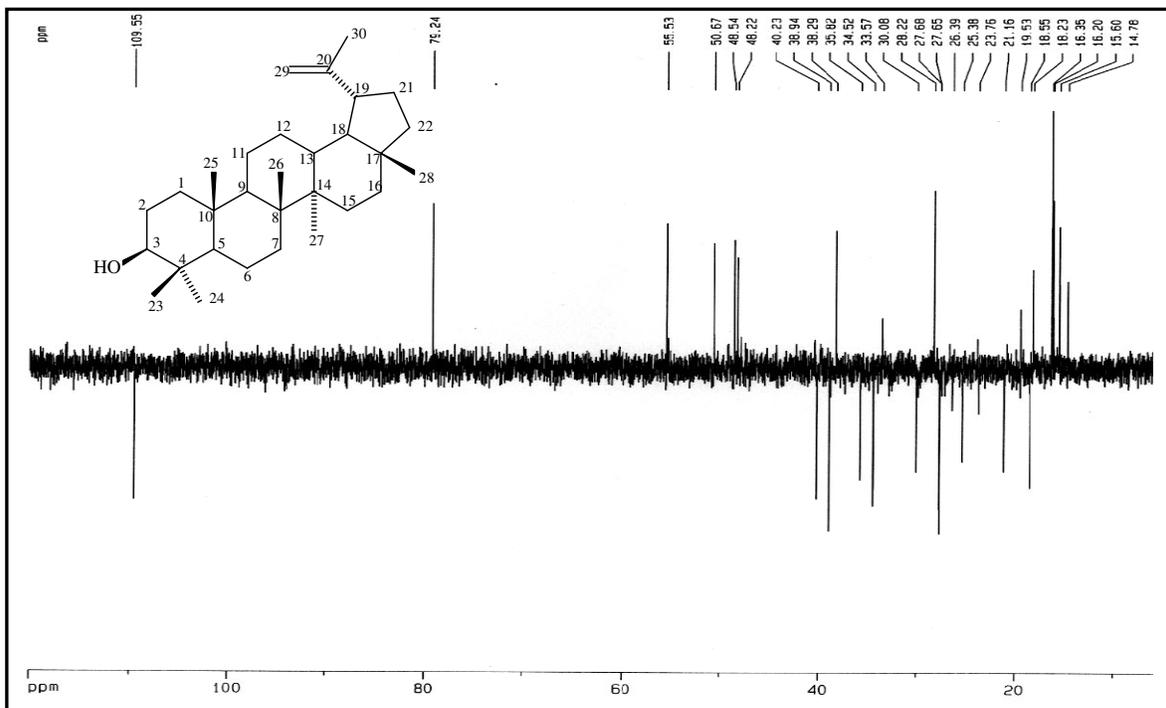


Figura 7: Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ASCH-1 (125 MHz, CDCl_3)

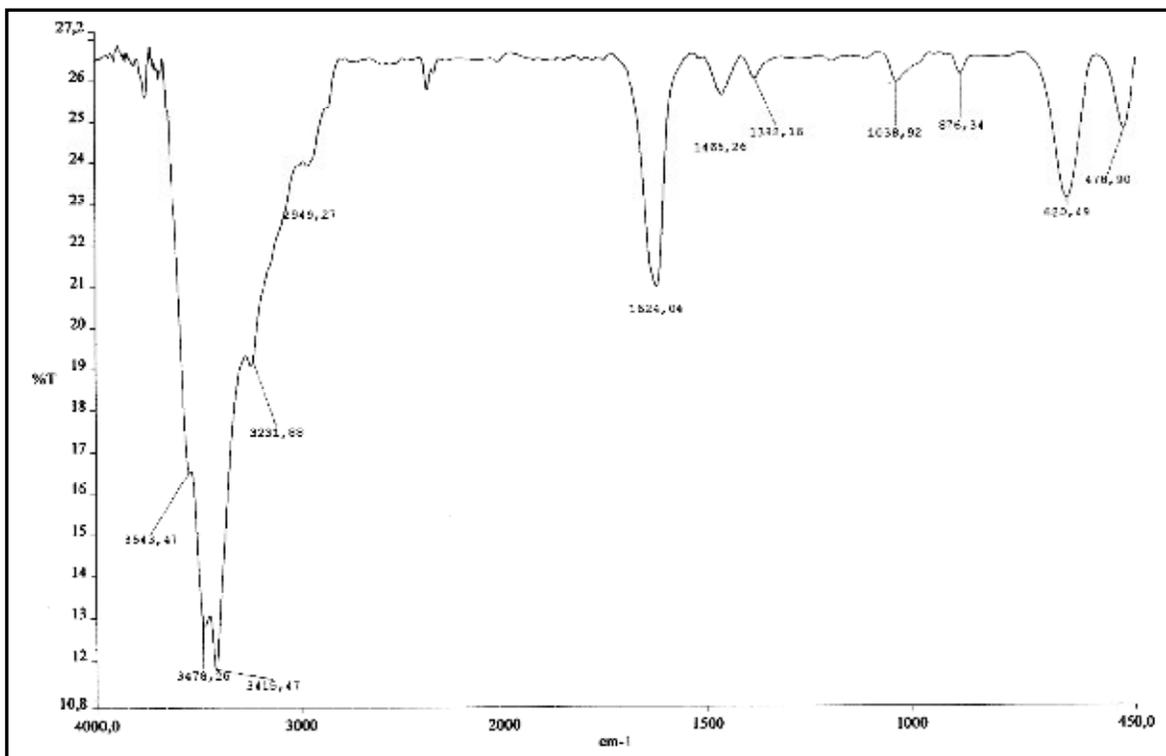


Figura 8: Espectro de infravermelho (KBr) de ASCH-1

4.2 – Determinação estrutural de ASCE-1 e ASCE-2

A mistura de compostos denominados de ASCE-1 e ASCE-2 foi isolada a partir da fração $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 10% (item 5.4.2.4, pág. 120), após sucessivas colunas cromatográficas. Esta mistura foi obtida na forma de um sólido branco amorfo.

O espectro de IV (Fig. 19, pág. 47) mostrou uma banda larga centrada em 3405 cm^{-1} , característica de grupo hidroxila, uma absorção intensa em 1655 cm^{-1} de deformação axial de ligação $\text{C}=\text{O}$ conjugada, bandas em 1248 cm^{-1} e 1049 cm^{-1} para deformação axial assimétrica e simétrica de ligação $\text{C}-\text{O}-\text{C}$.

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C de ASCE-1 demonstraram que o composto em questão tratava-se de uma mistura de dois isoflavonóides, na proporção de aproximadamente 2:1. O composto majoritário foi denominado ASCE-1 e o minoritário ASCE-2.

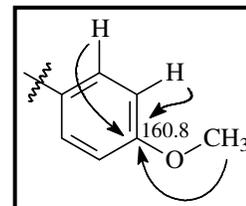
O espectro de RMN ^1H (Fig. 09, pág. 39) de ASCE-1 mostrou quatro sinais dubletos, em δ_{H} 7,55; 7,00; 6,41 e 6,28 ppm, um singleto na região de aromático em δ_{H} 8,19 ppm, além disso, um singleto intenso em δ_{H} 3,83 ppm, característico de um grupo metoxila e um sinal em δ_{H} 12,99 indicativo de grupo hidroxila envolvida em ligação de hidrogênio. O par de dubletos em δ_{H} 6,41 e 6,28 ppm, ambos apresentando constante de acoplamento igual a 1,9 Hz são característicos de hidrogênios *meta* posicionados, enquanto o segundo par de dubleto em δ_{H} 7,55 e 7,00 ppm, com constante de acoplamento de 8,7 Hz, são condizentes com átomos de hidrogênios mantendo-se entre si uma relação *orto*. Com base nos valores da integração, estes dois últimos sinais correspondem cada um, a dois átomos de hidrogênios. No espectro HSQC (Fig. 13, pág. 41), foi observado as correlações dos hidrogênios δ_{H} 8,19; 7,55; 7,00; 6,28 e 6,41 com os carbonos δ_{C} 154,6; 131,2; 114,6; 100,0 e 94,6, respectivamente.

O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 11, pág. 40) de ASCE-1 mostrou 14 linhas espectrais, duas delas mostraram intensidade bastante elevada, sugerindo sobreposição de sinais. A comparação dos espectros de RMN ^{13}C e DEPT 135° (Fig. 12, pág. 40) permitiu determinar o padrão de hidrogenação correspondentes a sete carbonos metínicos, um metílico e oito carbonos não-hidrogenados, sendo o sinal em δ_{C} 181,6 ppm correspondente a uma carbonila conjugada, enquanto que os deslocamentos químicos em δ_{C} 154,6; 164,0; 165,2; 159,1 e 160,8 ppm foram compatíveis com átomos de carbonos aromáticos oxigenados. O sinal de carbono em δ_{C} 154,6

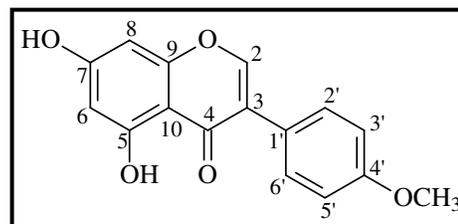
correlacionado ao sinal de hidrogênio em δ_H 8,19 (Fig. 13, pág. 41) é característico de isoflavonas e representa o carbono sp^2 (C2).

Com base nestas informações ASCE-1 trata-se de uma isoflavona trissubstituída, onde um dos grupos substituintes (hidroxila) reside no C5.

O espectro HMBC (Fig. 14, pág. 42) foi de fundamental importância para a localização inequívoca do grupo metoxila. O acoplamento a três ligações do sinal de hidrogênio em δ_H 3,83 (O-Me) com o sinal de carbono em δ_C 160,8, bem como dos sinais de hidrogênio em δ_H 7,55 e 7,00 com este sinal de carbono, foram suficientes para deduzir que o grupo se encontra localizado no C4' do anel B da isoflavona.



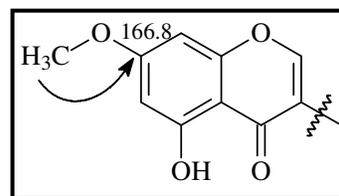
Com base nos dados descritos acima e comparação com os dados da literatura (Tabela 07, pág. 37) concluiu-se que ASCE-1 trata-se da isoflavona biochanina A.



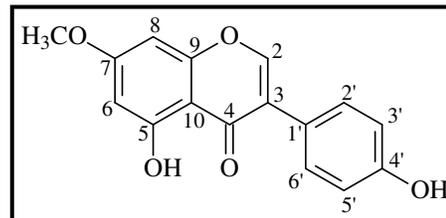
Estrutura de ASCE-1

A determinação de ASCE-2, composto minoritário, foi relativamente fácil visto que os sinais correspondentes a este composto possuem deslocamentos químicos semelhantes à aqueles de ASCE-1.

O espectro de HMBC (Fig. 14, pág. 42) também foi fundamental para elucidação inequívoca deste composto. A correlação a longa distancia do sinal em δ_H 3,92 (OCH₃), com o sinal de carbono em δ_C 166,80 confirma a posição da metoxila ligada ao carbono C7 da isoflavona em discussão.



Estes dados em comparação com os da literatura (Tabela 07, pág. 37) levou a estrutura de ASCE-2, uma isoflavona denominada de prunetina.



Estrutura de ASCE-2

Tabela 07: Comparação entre os dados de RMN ^{13}C BB de ASCE-1 e ASCE-2 (δ , acetona - d_6 , 125 MHz) com os dados descritos na literatura para a biochanina A (δ , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 25 MHz) [PELTER et al, 1978] e prunetina (δ , $\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz) [DEMUNER et al, 2003].

Carbono	ASCE-1	Biochanina A
2	154,61	154,46
3	123,94	124,20
4	181,69	181,57
5	164,03	163,94
6	100,01	99,91
7	165,22	165,01
8	94,69	94,54
9	159,18	159,05
10	106,27	106,21
1'	124,32	123,84
2'	131,21	131,09
3'	114,66	114,54
4'	160,82	160,70
5'	114,66	114,20
6'	131,21	130,60
OCH ₃	55,7	55,60
	ASCE-2	Prunetina
2	154,64	154,3
3	124,35	122,4
4	181,90	180,3
5	163,73	161,7
6	98,94	97,9
7	166,80	165,2
8	93,05	92,3
9	159,07	157,4
10	106,92	105,4
1'	123,04	121,0
2'	131,27	130,0
3'	116,12	115,0
4'	158,63	157,5
5'	116,12	115,0
6'	131,27	130,0
OCH ₃	56,53	55,9

Tabela 08: Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C , RMN ^1H e acoplamento heteronuclear de ^{13}C x ^1H (HMBC) para substância ASCE-1.

HMBC					
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{H} , CD_3OD [NAIR, 1991]	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
2	154,61	8,19 (s)	8,01 (s)		
3	123,94			H-2	H-6'
4	181,69				H-2
5	164,03			H-6	
6	100,01	6,28 (d, 1,9 Hz)	6,25 (d, 1,8 Hz)		H-8
7	165,22			H-6 / H-8	
8	94,69	6,41 (d, 1,9 Hz)	6,35 (d, 1,8 Hz)		H-6
9	159,18			H-8	H-2
10	106,27				H-6 / H-8
1'	124,32				H-3' / H-2
2'	131,21	7,55 (d, 8,7 Hz)	7,40 (d, 8,0 Hz)		H-6'
3'	114,66	7,00 (d, 8,7 Hz)	6,90 (d, 8,0 Hz)	H-2'	H-5'
4'	160,82			H-3'	H-2' / 3H-OCH ₃
5'	114,66	7,00 (d, 8,7 Hz)	6,90 (d, 8,0 Hz)	H-6'	H-3'
6'	131,21	7,55 (d, 8,7 Hz)	7,40 (d, 8,0 Hz)		H-2'
4'-OCH ₃	55,7	3,83 (s)	3,75 (s)		

Tabela 09: Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C , RMN ^1H e acoplamento heteronuclear de ^{13}C x ^1H (HMBC) para a substância ASCE-2.

HMBC					
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{H} , $\text{DMSO-}d_6$ [VITOR, 2004]	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
2	154,64	8,21 (s)	8,35 (s)		
3	124,35			H-2	H-6'
4	181,90				H-2
5	163,73				
6	98,94	6,35 (d, 2,2 Hz)	6,22 (d, 2,0 Hz)		H-8
7	166,80				3H-OCH ₃
8	93,05	6,54 (d, 2,2 Hz)	6,38 (d, 2,0 Hz)		H-6
9	159,07			H-8	H-2
10	106,92				H-6 / H-8
1'	123,04				H-3' / H-2
2'	131,27	7,46 (d, 8,5 Hz)	7,49 (d, 8,7 Hz)		H-6'
3'	116,12	6,91 (d, 8,6 Hz)	6,99 (d, 8,7 Hz)	H-2'	H-5'
4'	158,63			H-3'	H-2'
5'	116,12	6,91 (d, 8,6 Hz)	6,99 (d, 8,7 Hz)		H-3'
6'	131,27	7,46 (d, 8,5 Hz)	7,49 (d, 8,7 Hz)		H-2'
7-OCH ₃	56,53	3,92 (s)	3,78 (s)		

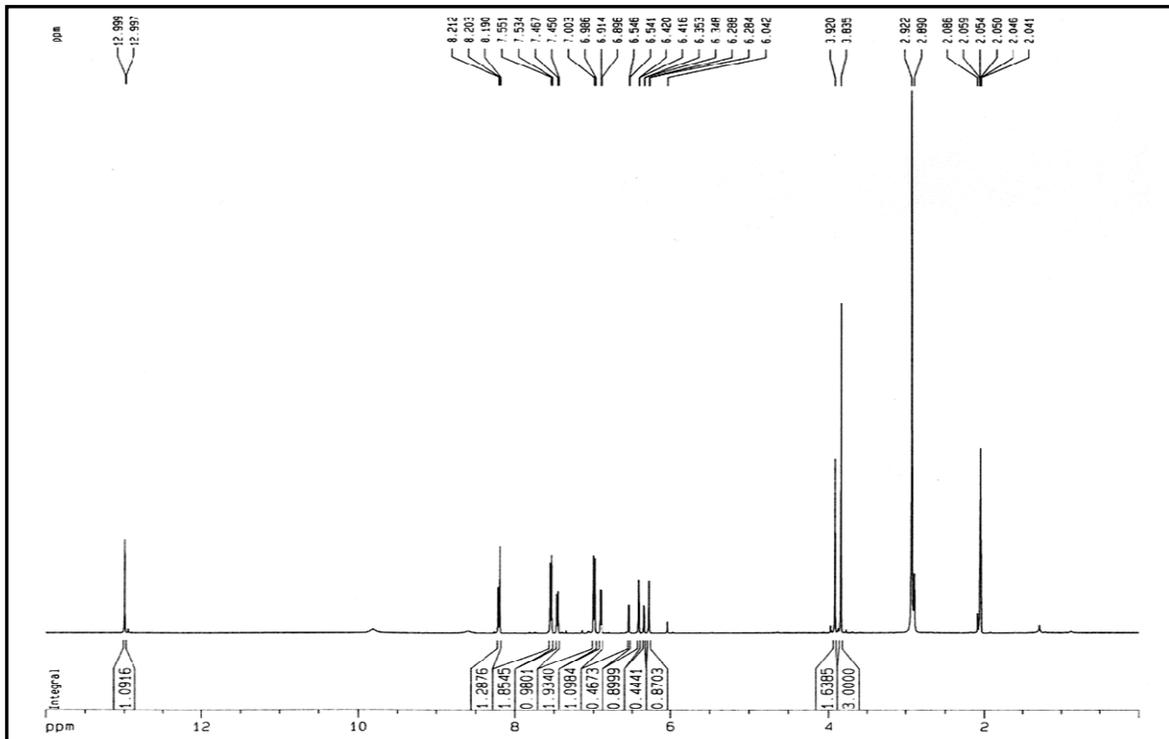


Figura 9: Espectro de RMN ^1H de ASCE-1 e ASCE-2 (acetona- d_6 – 500 MHz)

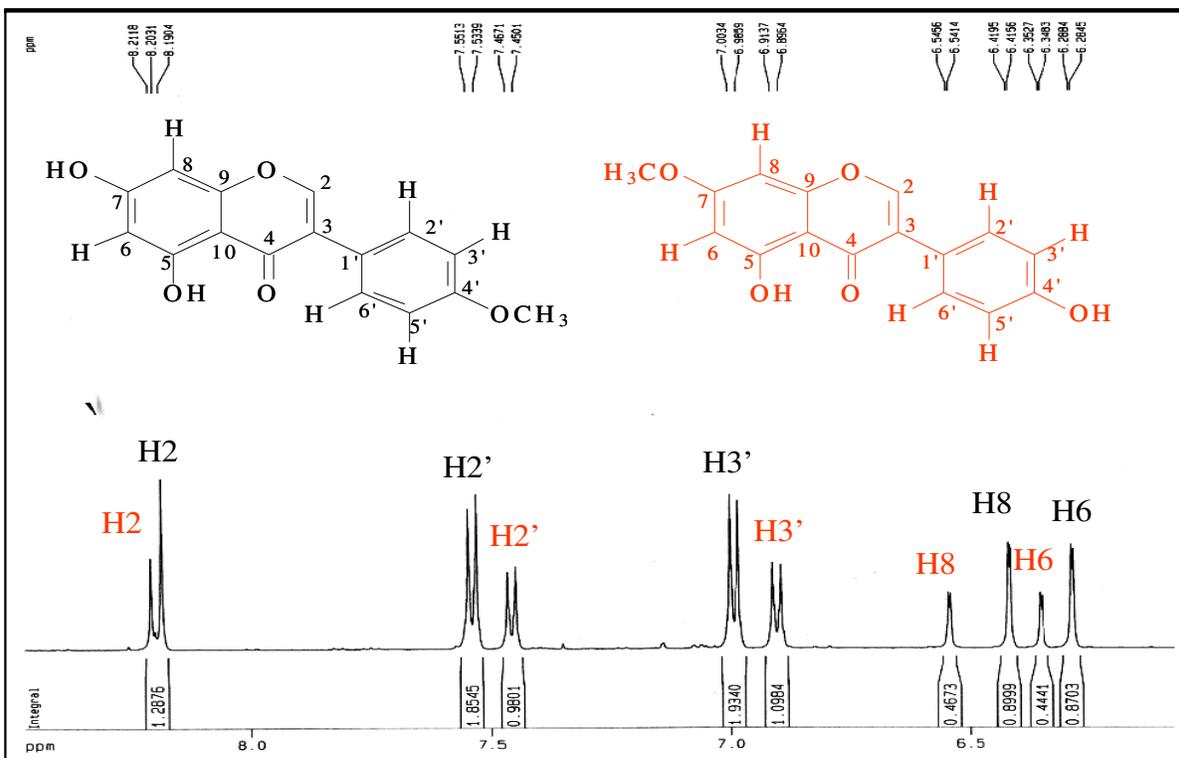


Figura 10: Expansão do espectro de RMN ^1H de ASCE-1 e ASCE-2 (acetona- d_6 – 500 MHz)

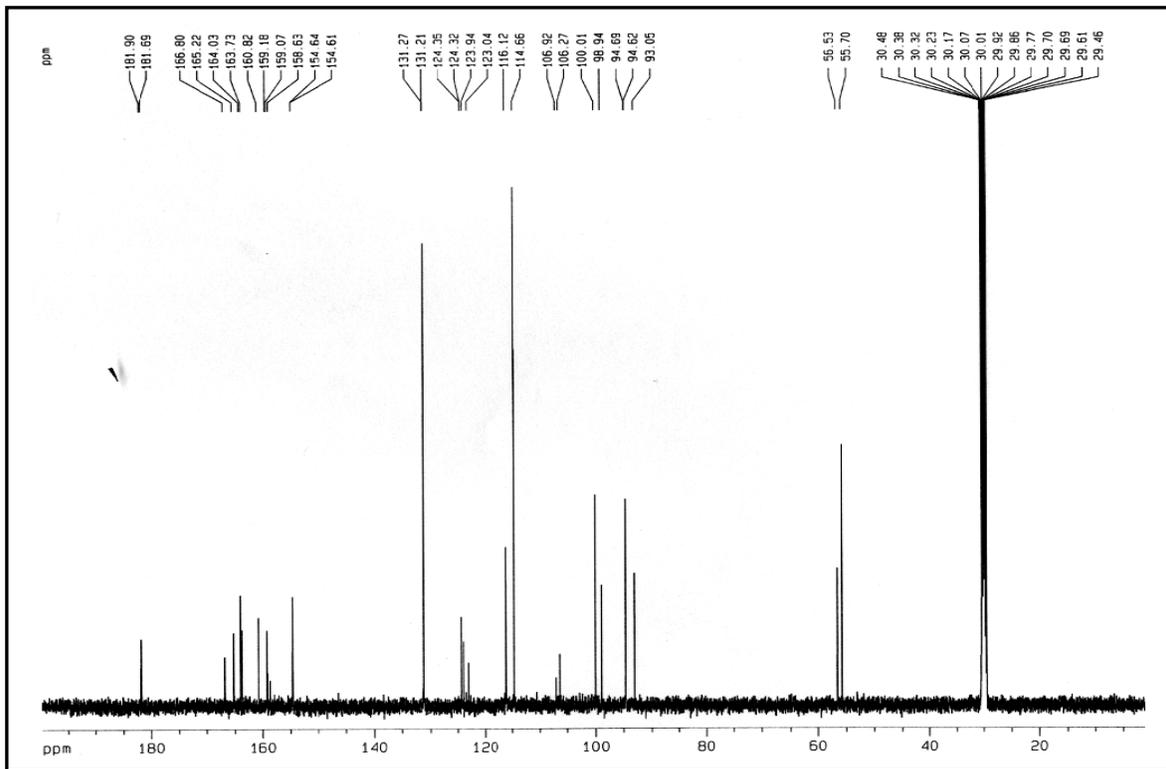


Figura 11: Espectro de RMN ^{13}C de ASCE-1 e ASCE-2 (acetona- d_6 – 125 MHz)

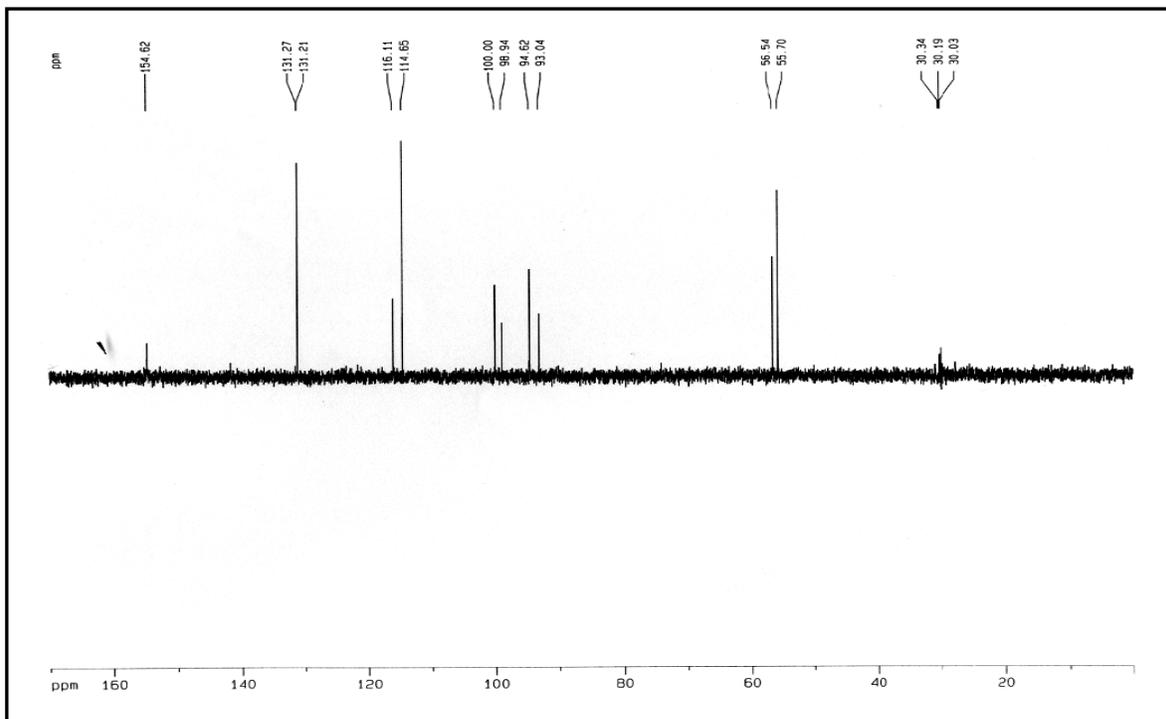


Figura 12: Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ASCE-1 e ASCE-2 (acetona- d_6 – 125 MHz)

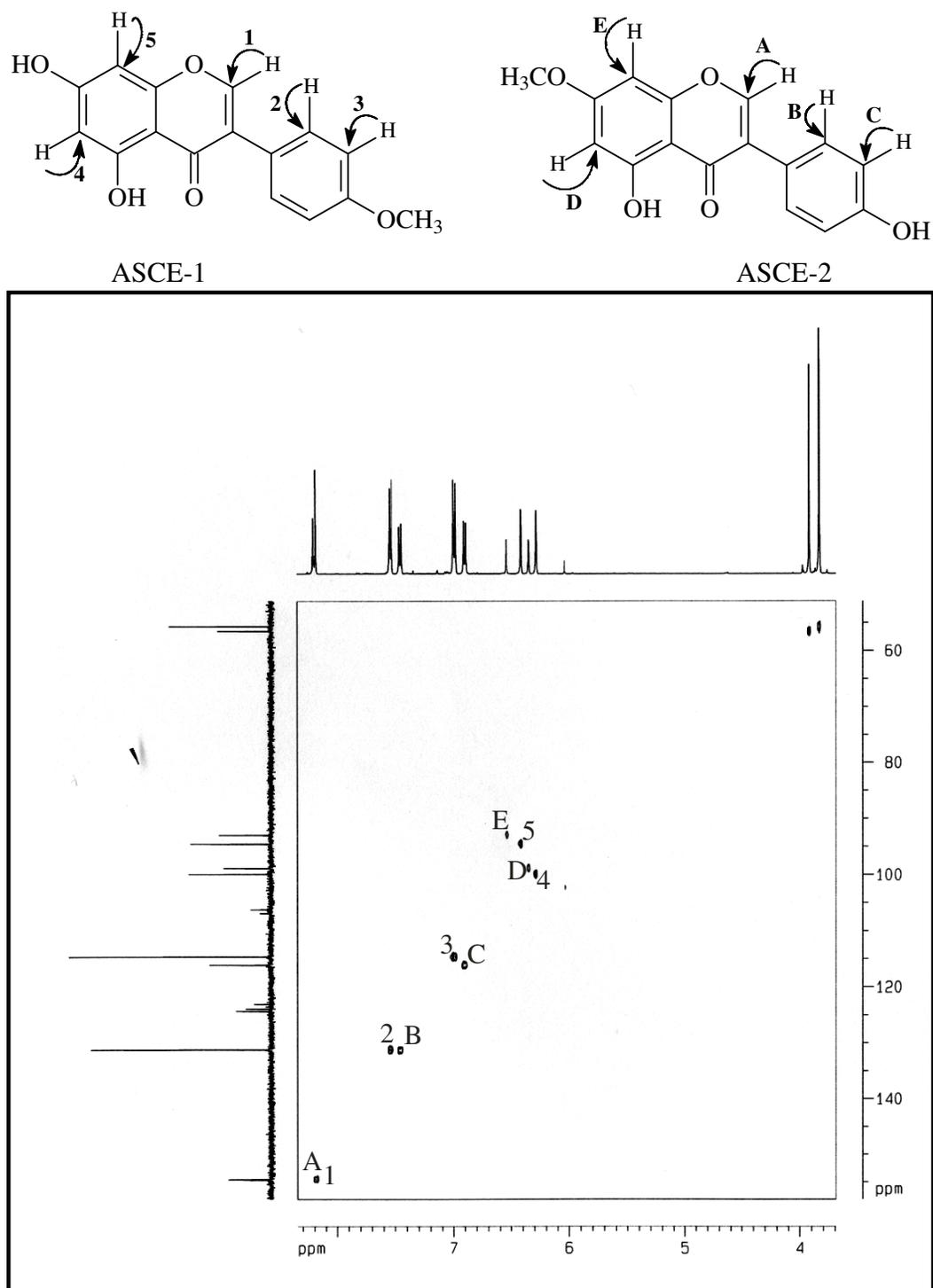


Figura 13: Espectro de correlação heteronuclear ¹H, ¹³C HSQC de ASCE-1 e ASCE-2 (500, 125 MHz, acetona - d₆).

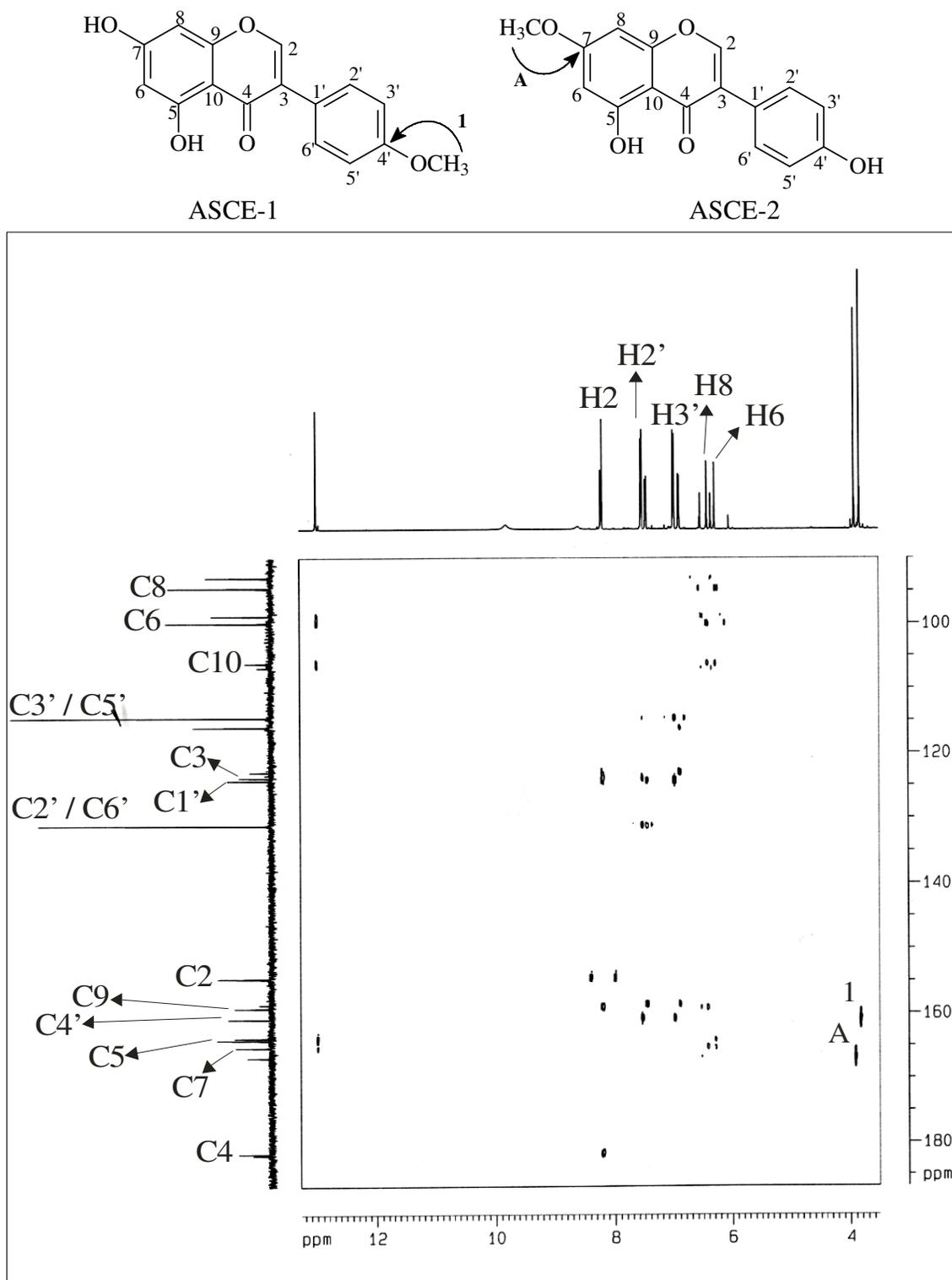


Figura 14: Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC (500, 125 MHz, acetona - d_6) com sinais marcados para o composto ASCE-1.

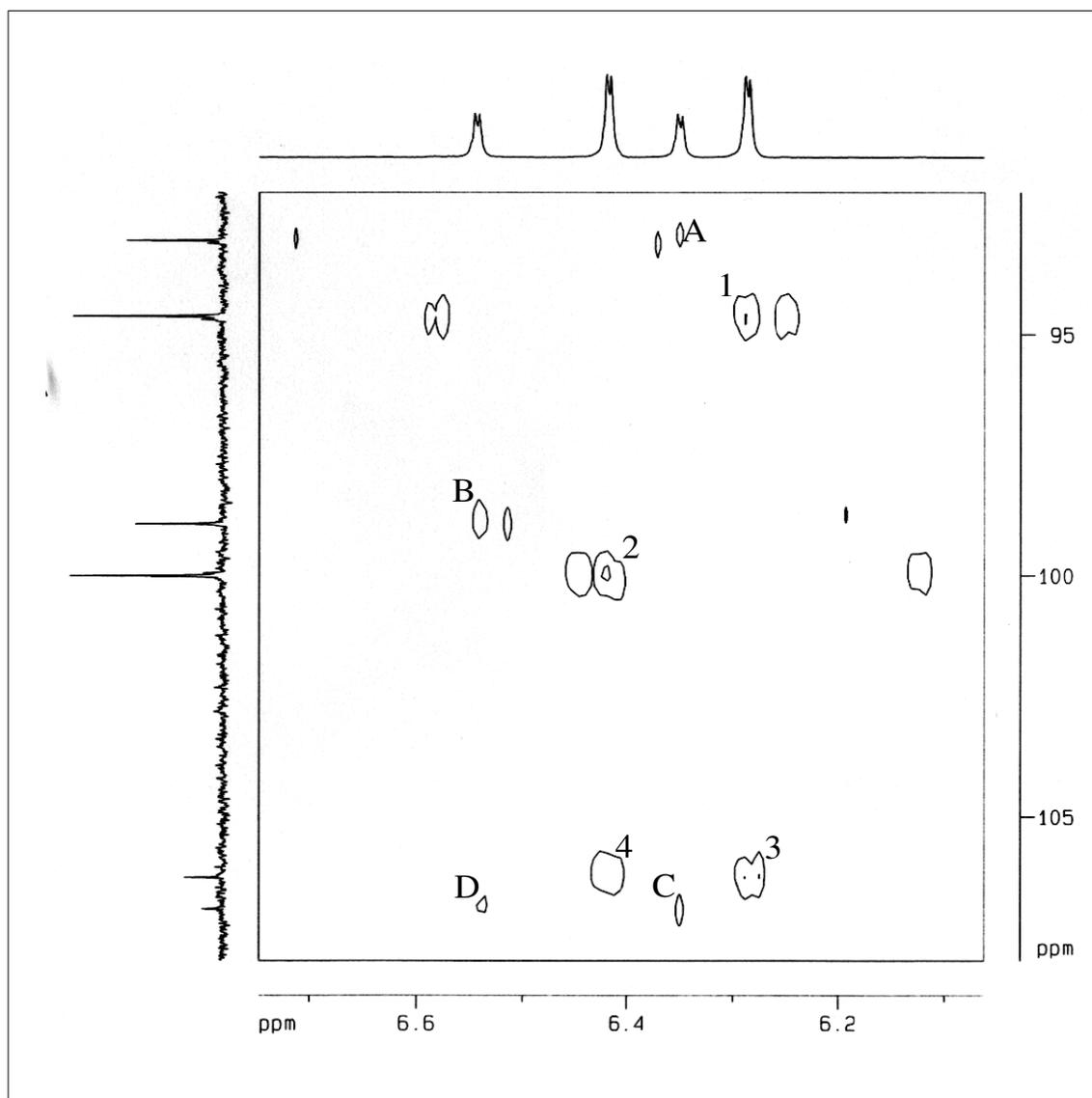
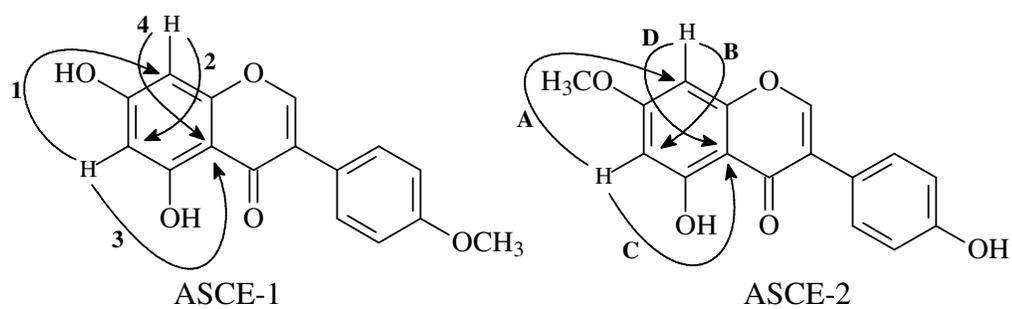


Figura 15: Expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC de ASCE-1 e ASCE-2 (500, 125 MHz, acetona - d_6).

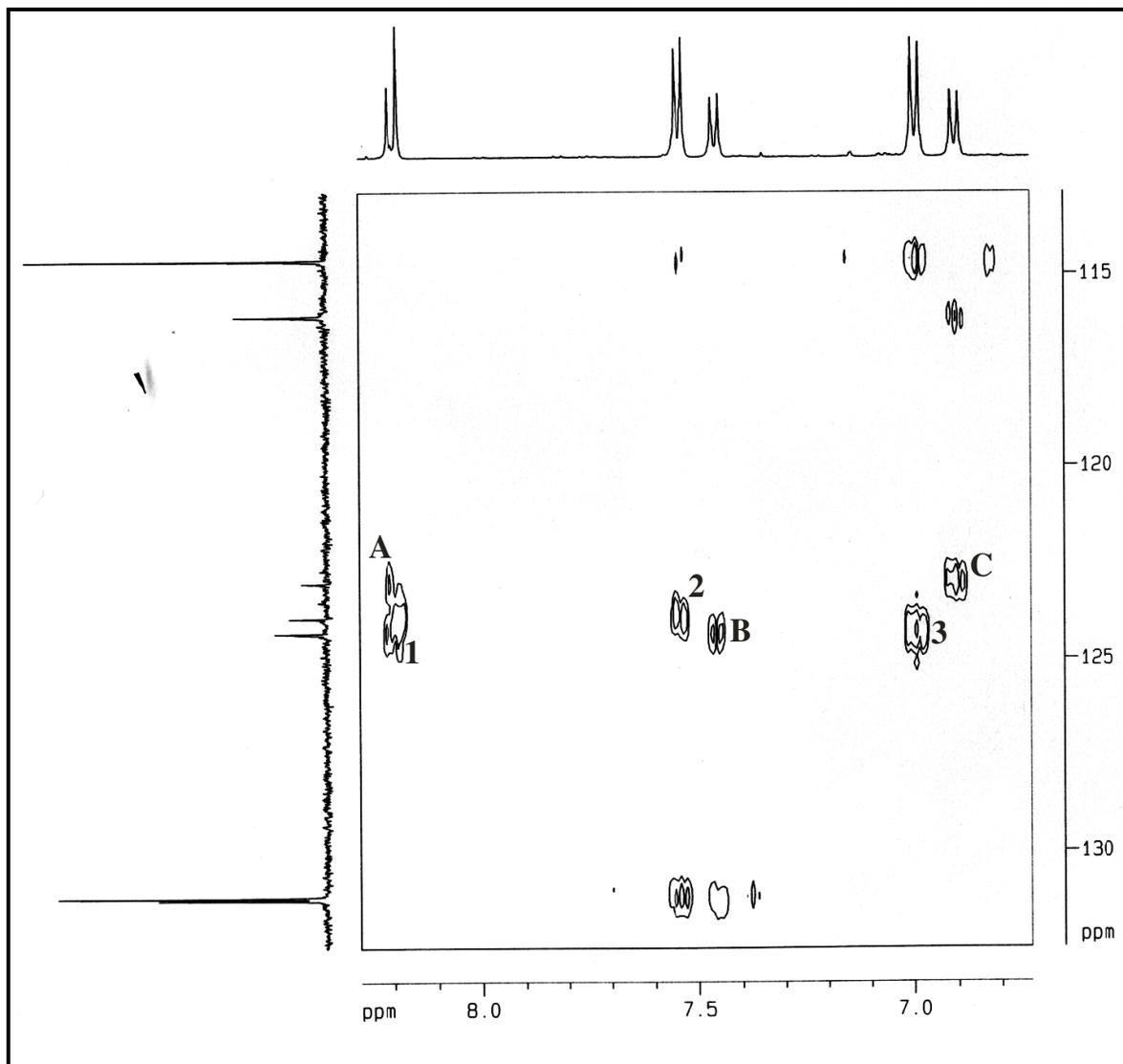
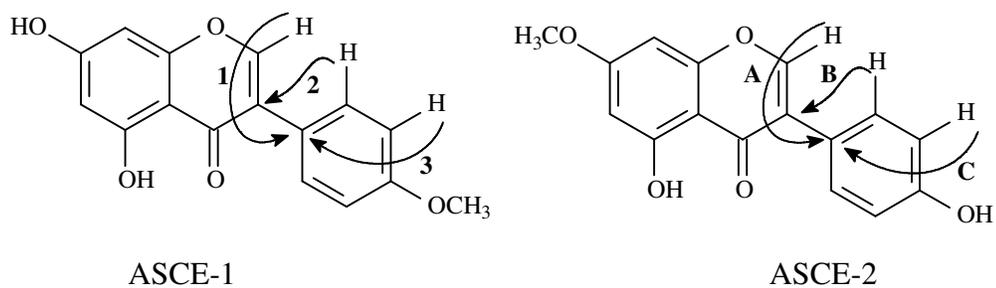


Figura 16: Expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC de ASCE-1 e ASCE-2 (500, 125 MHz, acetona - d_6).

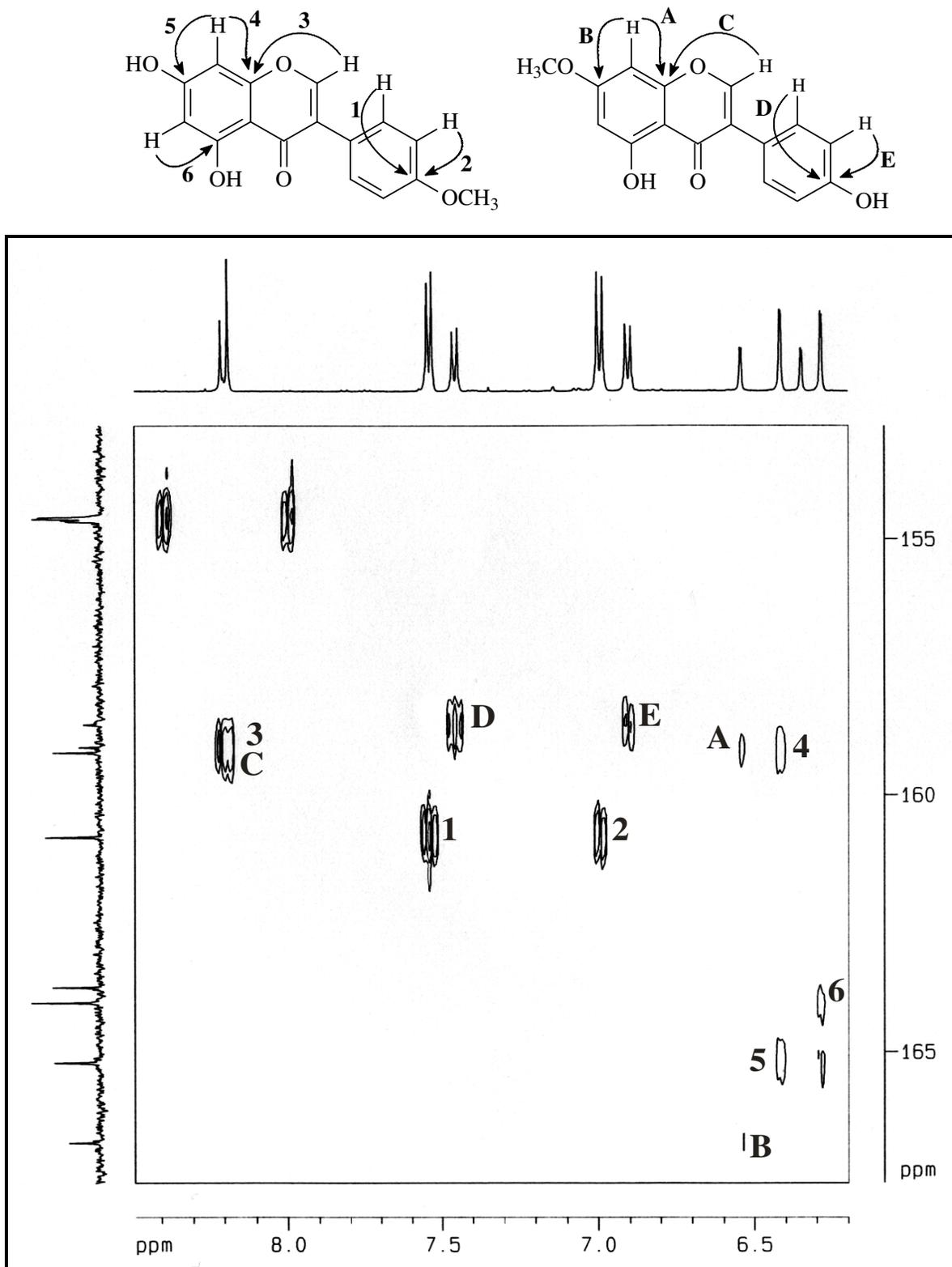


Figura 17: Expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC de ASCE-1 e ASCE-2 (500, 125 MHz, acetona - d_6).

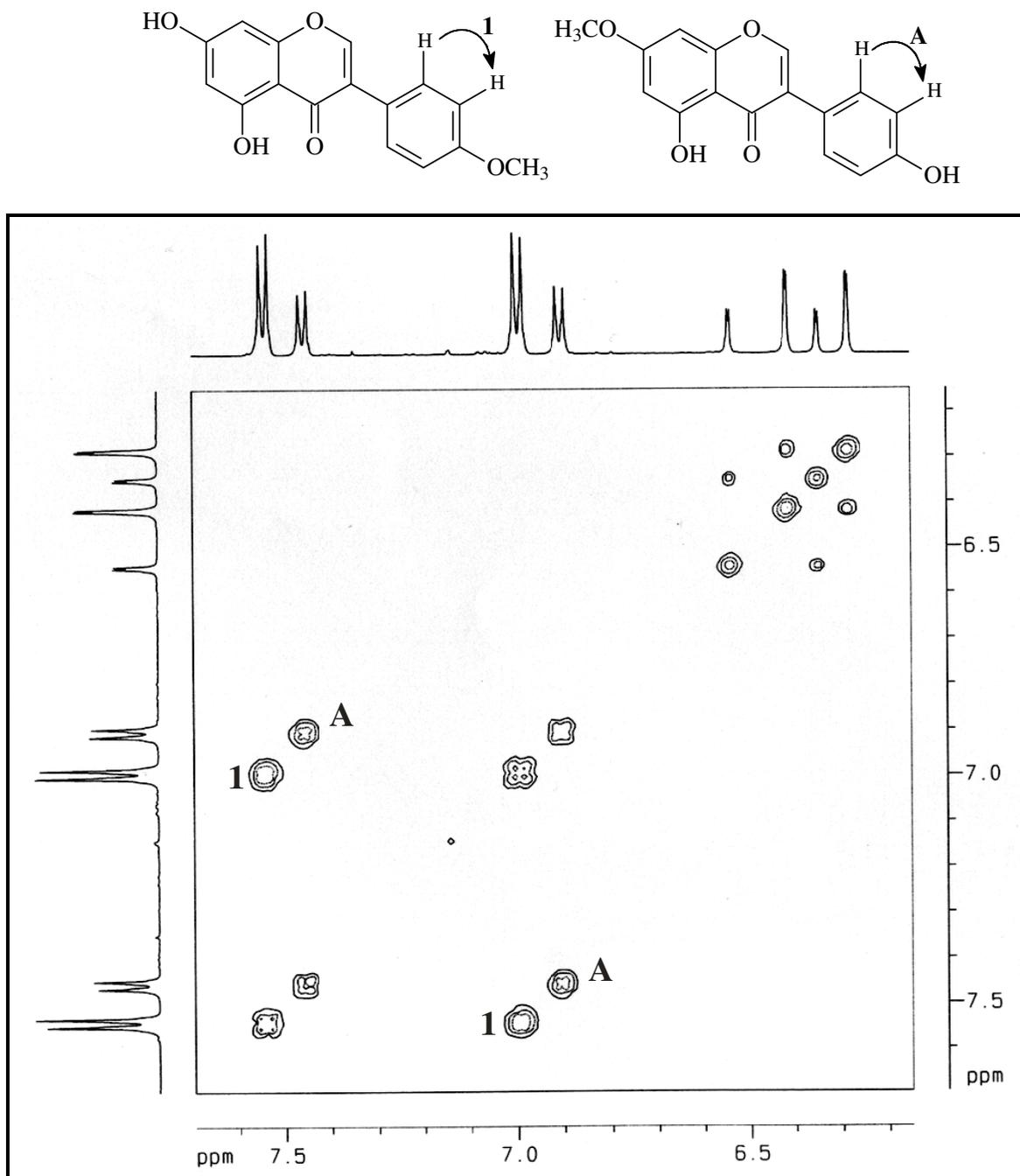


Figura 18: Espectro bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H – COSY de ASCE-1 e ASCE-2 (500 MHz, acetona – d_6).

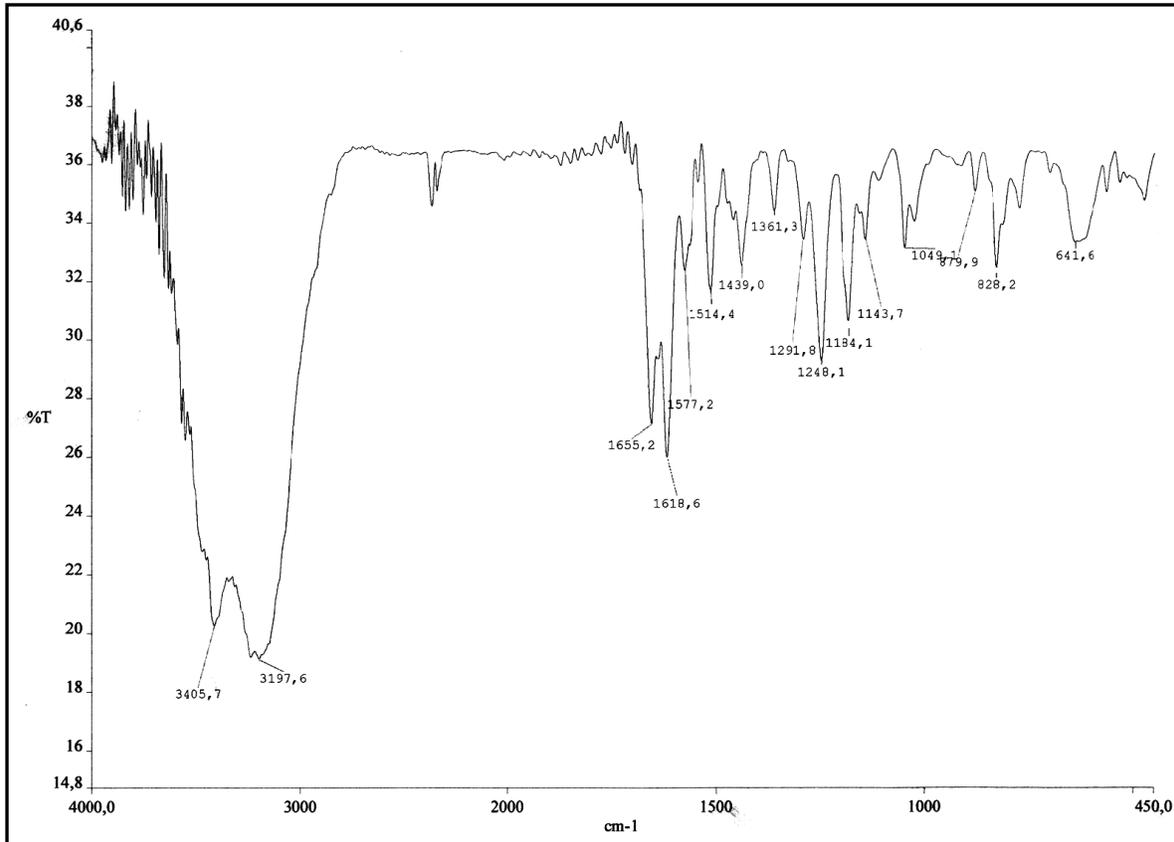


Figura 19: Espectro de infravermelho (KBr) de ASCE-1 e ASCE-2.

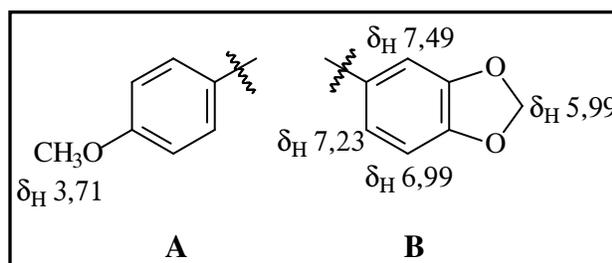
4.3 - Determinação estrutural de ASCE-3

A partir da fração $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{AcOEt}$ 20% (item 5.4.2.3, pág. 120) foi possível isolar a substância denominada ASCE-3, o qual apresenta faixa de fusão em 271-273 °C.

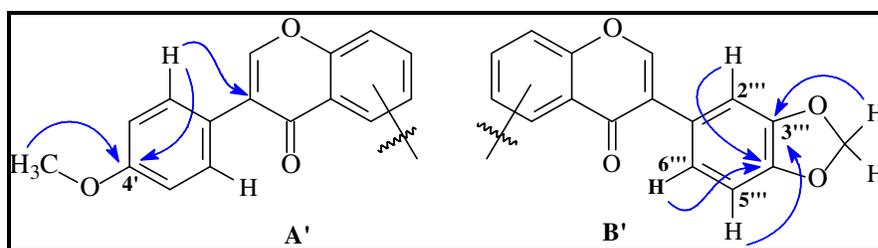
O espectro de IV (Fig. 32, pág. 63) apresentou uma banda intensa em 1624 cm^{-1} de deformação axial de ligação $\text{C}=\text{O}$ conjugada, bandas na faixa de 1598 a 1454 cm^{-1} , indicativas de deformação axial de ligação $\text{C}=\text{C}$ de anel aromático, além das bandas na faixa de 1277 a 1032 cm^{-1} , representativas de ligação $\text{C}-\text{O}$.

O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 22, pág. 54), apresentou 28 linhas espectrais, várias delas apresentando-se em pares e concentradas especialmente na região de aromático, um indicativo de que ASCE-3 poderia tratar-se de um dímero flavonóidico. A análise comparativa deste espectro com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT (Fig. 24, pág. 55) possibilitou determinar o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Conforme estes espectros foram identificados apenas dois sinais referentes a carbono sp^3 , um em $\delta_{\text{C}} 102,1$ correspondente a um carbono metilênico e outro em $\delta_{\text{C}} 55,7$ ppm, característico de grupo metoxila. A natureza aromática de ASCE-3 foi evidenciada pela presença quase que exclusiva de carbonos com hibridação sp^2 . Foram identificados 11 sinais de carbonos metínicos em $\delta_{\text{C}} 103,6; 109,0; 110,9; 114,7; 116,4; 116,4; 123,3; 128,7; 131,2; 153,2$ e $153,4$. Destes, quatro ($\delta_{\text{C}} 103,6; 114,7; 128,7; 131,2$) apresentaram-se bastante intensos, indicativo de sinais sobrepostos. Por diferença dos espectros, foram determinados 15 sinais relativos a carbonos não-hidrogenados, sendo dois correspondentes a carbonilas em $\delta_{\text{C}} 176,1$ e $175,9$ ppm.

O espectro de RMN ^1H de ASCE-3 (Fig. 20, pág. 53) confirmou a presença dos grupos metilenodioxí e metoxila através dos sinais em $\delta_{\text{H}} 5,99$ (s) e $3,71$ (s), respectivamente. Na região de aromático foram observados dois dubletos, um em $\delta_{\text{H}} 7,81$ e outro em $\delta_{\text{H}} 7,10$, ambos apresentando constante de acoplamento $8,5\text{ Hz}$ e integração para dois hidrogênios. Este sistema permitiu inferir a presença de um anel aromático *para* substituído. O singlete em $\delta_{\text{H}} 7,49$, juntamente com os sinais em $\delta_{\text{H}} 6,99$ (d, $7,9\text{ Hz}$) e $7,23$ (m) juntamente com o sinal relativo a um grupo metilenodioxí sugeriu um anel aromático trissubstituído. Estas informações permitiram deduzir as



subunidades **A** e **B**. Os singletos em δ_H 8,18 (s) e δ_H 8,17 (s) correlacionados no espectro HMQC (Fig. 26, pág. 57) com os sinais de carbono em δ_C 153,4 (CH) e 153,2 (CH) são característicos de isoflavonas. Através do espectro HMBC (Fig. 29, pág. 60) observou-se as correlações a três ligações entre os sinais em δ_H 3,71 (OMe) e 7,81 (H2' / H6') com os sinais de carbono em δ_C 160,4 (C4') e 125,1 (C3). Também foram observados os acoplamentos entre os sinais em δ_H 5,99 (OCH₂O); 7,49 (H2'''); 6,99 (H5''') e 7,23 (H6''') com os sinais de carbono em δ_C 148,5 (C3''') e 148,3 (C4'''), assim como as correlações do sinal de hidrogênio em δ_H 8,18 (H2'') com os sinais de carbono em δ_C 175,9 (C4'') e 127,3 (C1'''). Estas informações aliadas a aquelas dos espectros de RMN ¹H e ¹³C, permitiram expandir as subunidades **A** e **B** para **A'** e **B'**.



A comparação dos dados de RMN ¹H e ¹³C de ASCE-3 com os dados espectroscópicos para as isoflavonas formononetina e pseudobaptigenina (Tabela 11, pág. 51) (Tabela 10, pág. 50), mostraram-se semelhantes exceto para os deslocamentos químicos referentes aos carbonos C-7 dos referidos compostos (δ_C 163,0 formononetina e δ_C 161,4 pseudobaptigenina). A maior desproteção atribuída aos referidos carbonos para ASCE-3 permitiu sugerir a ligação destas subunidades (**A'** e **B'**) através do carbono C-7. No espectro de massa obtido a 70 eV nota-se o pico m/z 532 daltons, correspondente ao íon molecular (Fig. 33, pág. 63), e ainda os picos em m/z 282 e 268, referentes as unidades monoméricas formononetina e pseudobaptigenina.

A reunião desses dados e comparação com os dados da literatura permitiu elucidar de forma inequívoca a estrutura da isoflavona dimérica, cujos deslocamentos químicos foram assinalados com o auxílio dos experimentos HMQC e HMBC. Esta isoflavona dimérica está sendo registrada pela primeira vez na literatura. Apesar da frequência de isoflavonas no gênero *Andira*, inclusive considerados como marcadores quimiotaxonômicos, este é o primeiro relato de uma isoflavona dimérica no gênero.

Tabela 10: Comparação entre os dados de RMN ^{13}C BB de ASCE-3 (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) com os dados descritos na literatura para a formononetina (δ , CD_3OD) [HERATH et al, 1998] e pseudobaptigenina (δ , $\text{DMSO} - d_6$, 25 MHz) [MURTHY et al, 1986].

Carbono	ASCE-3	Formononetina
2	153,2	153,1
3	125,1	125,1
4	176,1	177,5
5	128,7	128,0
6	116,4	115,7
7	164,6	163,0
8	103,6	102,8
9	159,0	158,0
10	118,3	117,5
1'	125,8	124,8
2'	131,2	130,6
3'	114,7	114,3
4'	160,4	160,2
5'	114,7	114,3
6'	131,2	130,6
OCH_3	55,7	55,6
Pseudobaptigenina		
2''	153,4	153,7
3''	125,1	123,4
4''	175,9	174,5
5''	128,7	126,9
6''	116,4	115,6
7''	164,6	161,4
8''	103,6	103,9
9''	159,0	156,9
10''	118,4	118,7
1'''	127,3	125,6
2'''	110,9	109,3
3'''	148,5	147,0
4'''	148,3	147,0
5'''	109,0	107,9
6'''	123,3	122,2
OCH_2O	102,1	100,9



Tabela 11: Comparação entre os dados de RMN ^1H de ASCE-3 com os dados descritos na literatura para a formononetina (CD_3OD) [HERATH et al, 1998] e pseudobaptigenina ($\text{DMSO-}d_6$) [OHASHI et al, 1976]

Carbono	δ_{H} (piridina- d_5)	Formononetina
2	8,17 (s)	7,94 (s)
3		
4		
5	8,47 (d, 9,0 Hz)	8,07 (d, 8,8 Hz)
6	7,25 (d, 9,0 Hz)	6,92 (d, 8,8 Hz)
7		
8	7,13 (s)	6,83 (d, 2,1 Hz)
9		
10		
1'		
2'	7,81 (d, 8,5 Hz)	7,44 (d, 8,7 Hz)
3'	7,10 (d, 8,5 Hz)	6,95 (d, 8,7 Hz)
4'		
5'	7,10 (d, 8,5 Hz)	6,95 (d, 8,7 Hz)
6'	7,81 (d, 8,5 Hz)	7,44 (d, 8,7 Hz)
OCH_3	3,71 (s)	3,83 (s)
Pseudobaptigenina		
2''	8,18 (s)	8,30 (s)
3''		
4''		
5''	8,45 (d, 9,6 Hz)	8,02 (d, 8 Hz)
6''	7,22 (m)	6,94 (m)
7''		
8''	7,13 (s)	6,94 (m)
9''		
10''		
1'''		
2'''	7,49 (s)	7,10 (m)
3'''		
4'''		
5'''	6,99 (d, 7,9 Hz)	7,10
6'''	7,23 (m)	7,10 (m)
OCH_2O	5,99 (s)	6,06 (s)

Tabela 12: Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C , RMN ^1H e acoplamento heteronuclear de $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ (HMBC) para substância ASCE-3.

Carbono	δ_{C}	δ_{H}	3J
2	153,2	8,17 (s)	
3	125,1		H-2' / H-6'
4	176,1		H-2 / H-5
5	128,7	8,47 (d, 9,0 Hz)	
6	116,4	7,25 (d, 9,0 Hz)	H-8
7	164,6		H-5
8	103,6	7,13 (s)	H-6
9	159,0		H-2 / H-5
10	118,3		H-6
1'	125,8		H-3' / H-5'
2'	131,2	7,81 (d, 8,5 Hz)	H-6'
3'	114,7	7,10 (d, 8,5 Hz)	H-5'
4'	160,4		H-2' / OCH ₃
5'	114,7	7,10 (d, 8,5 Hz)	H-3'
6'	131,2	7,81 (d, 8,5 Hz)	H-2'
OCH ₃	55,7	3,71 (s)	
2''	153,4	8,18 (s)	
3''	125,1		H-2''' / H-6'''
4''	175,9		H-2'' / H-5''
5''	128,7	8,45 (d, 9,6 Hz)	
6''	116,4	7,22 (m)	H-8''
7''	164,6		H-5''
8''	103,6	7,13 (s)	H-6''
9''	159,0		H-2'' / H-5''
10''	118,4		H-6''
1'''	127,3		H-5'''
2'''	110,9	7,49 (s)	H-6'''
3'''	148,5		H-5'''
4'''	148,3		H-2''' / H-6'''
5'''	109,0	6,99 (d, 7,9 Hz)	
6'''	123,3	7,23 (m)	H-2'''
OCH ₂ O	102,1	5,99 (s)	

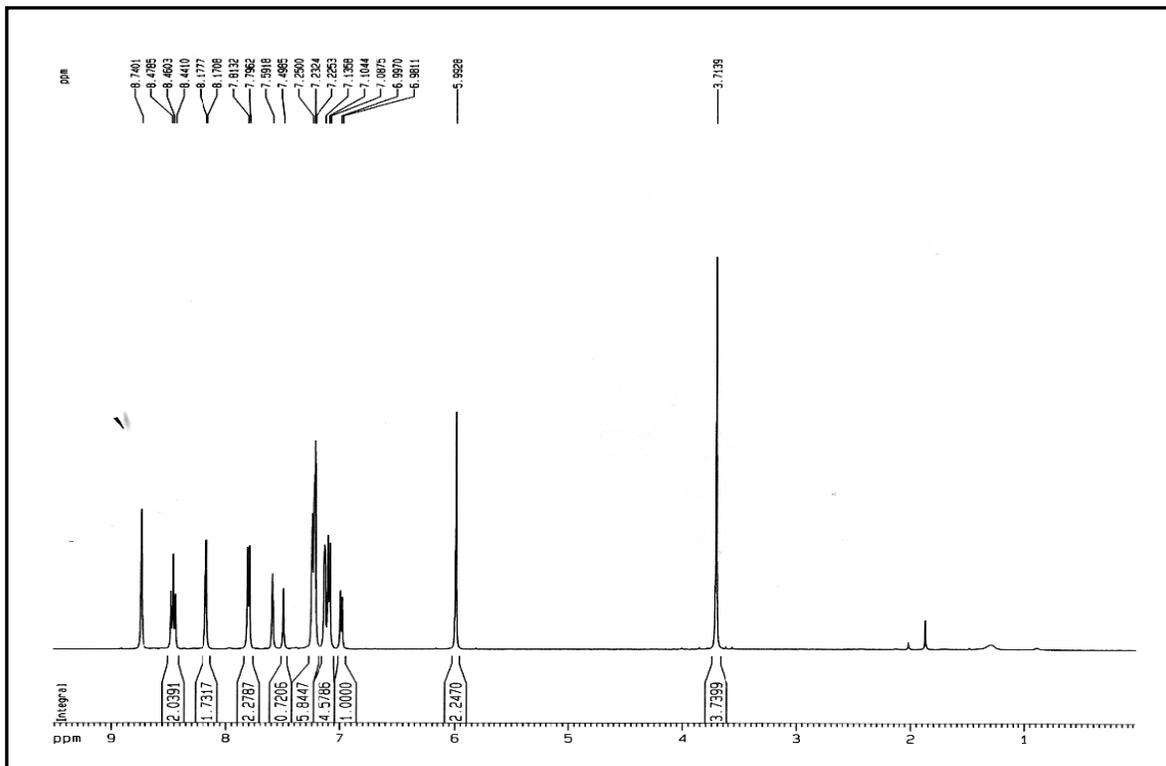


Figura 20: Espectro de RMN ^1H de ASCE-3 (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

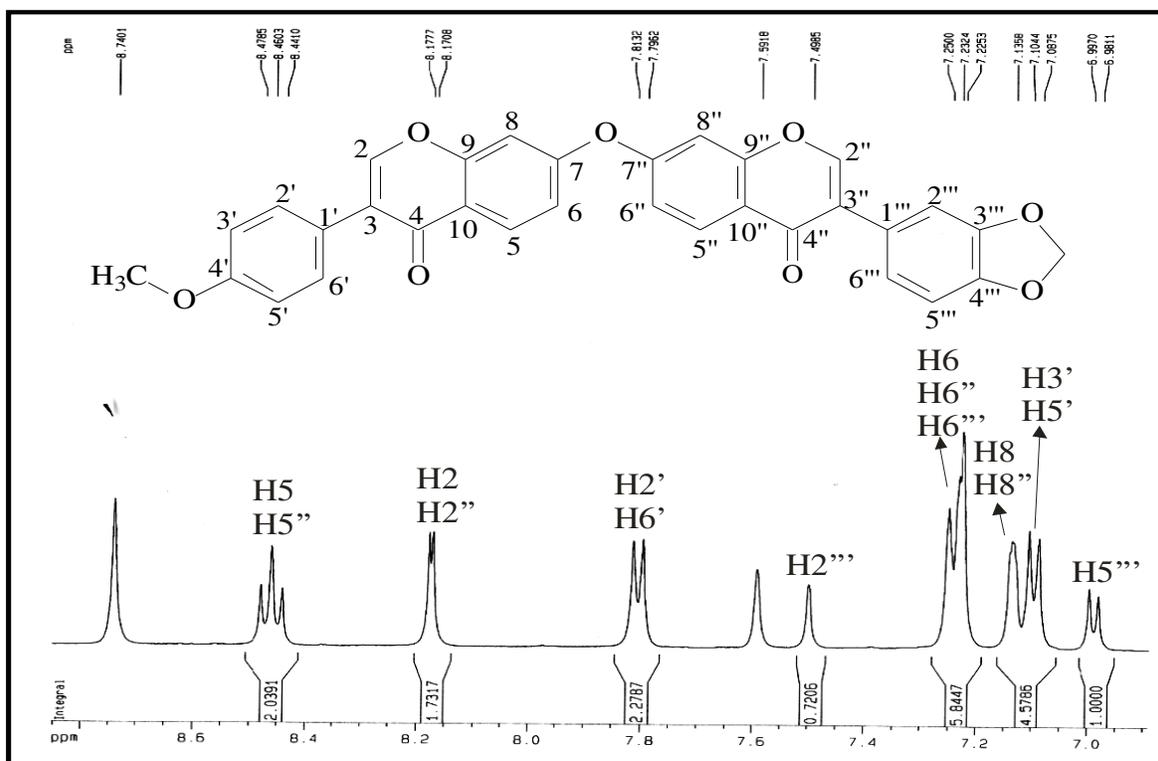


Figura 21: Expansão do espectro de RMN ^1H de ASCE-3 (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

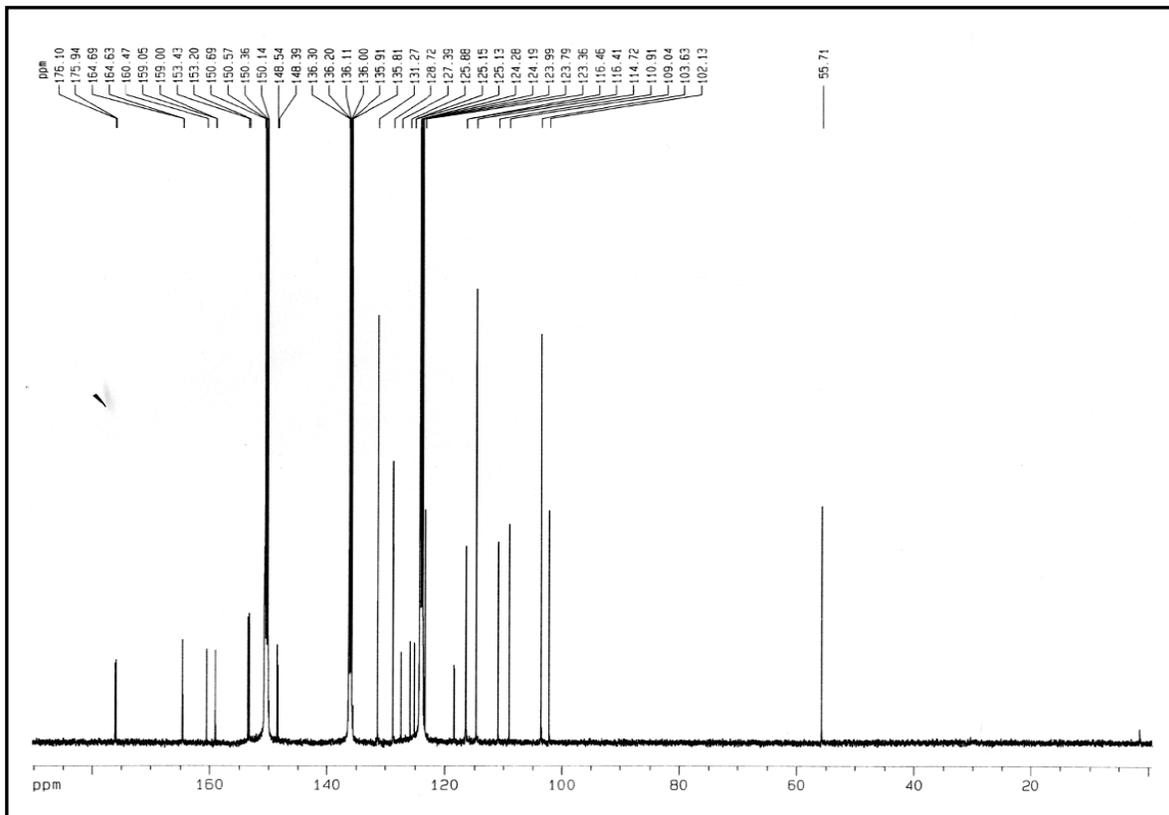


Figura 22: Espectro de RMN ^{13}C de ASCE-3 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

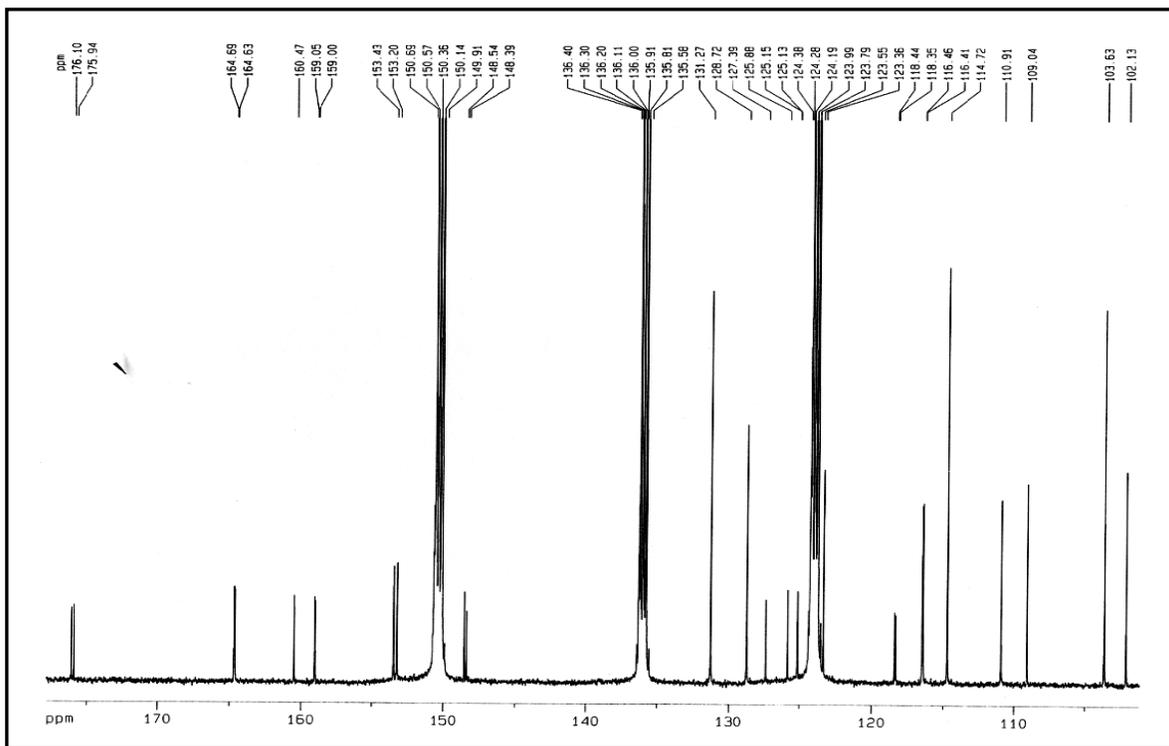


Figura 23: Expansão do espectro de RMN ^{13}C de ASCE-3 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

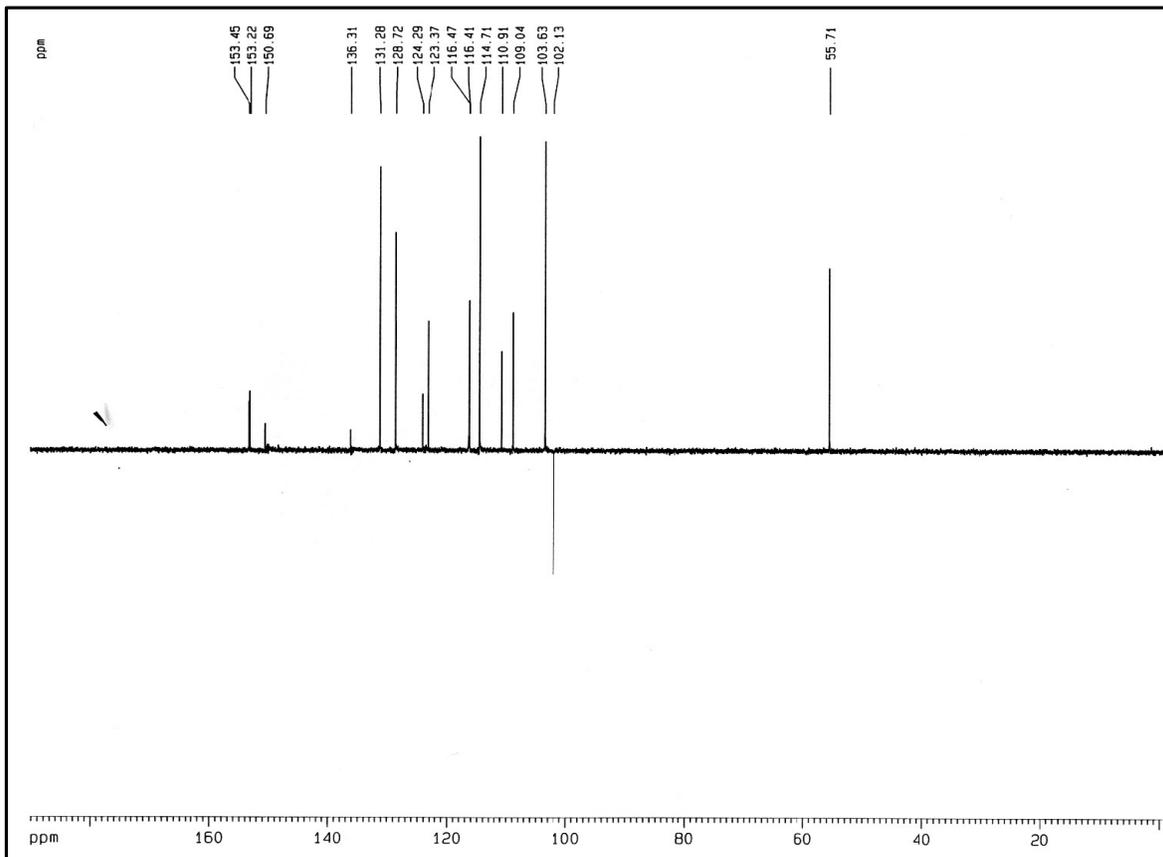
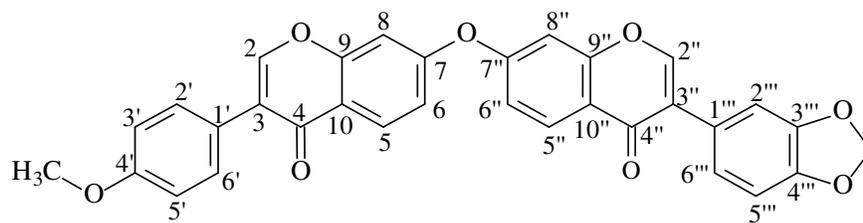


Figura 24: Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ASCE-3 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)



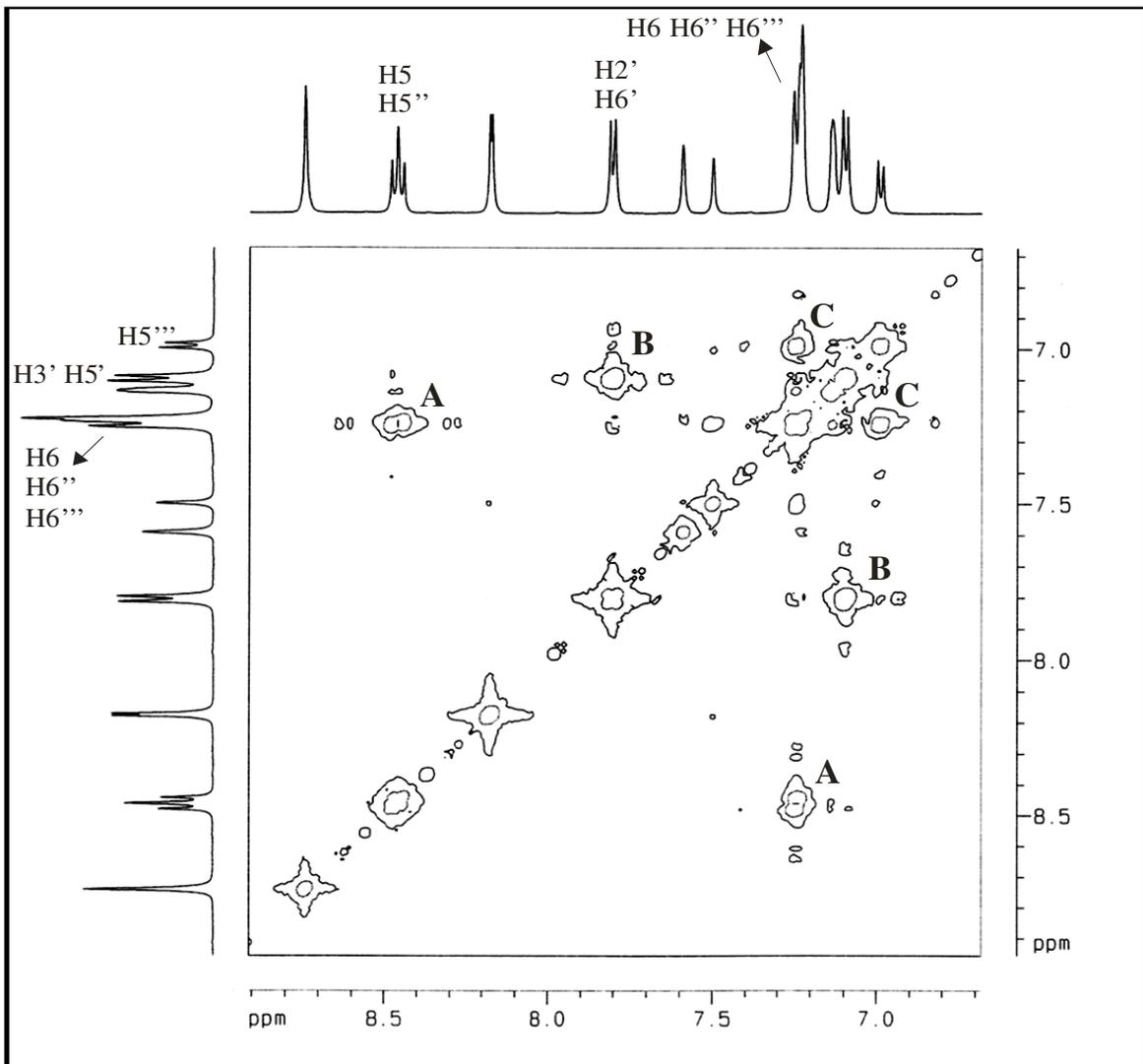
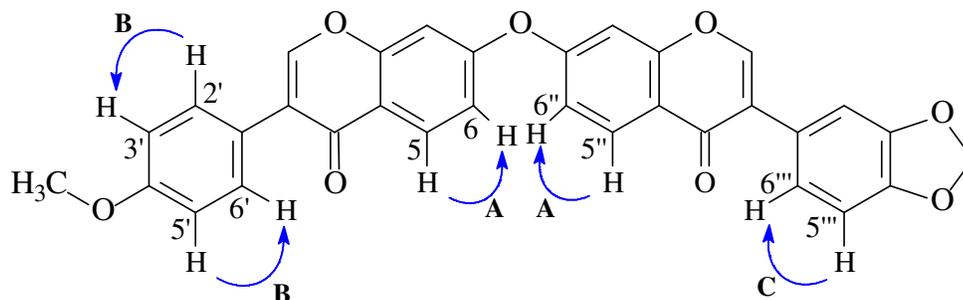


Figura 25: Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H – COSY de ASCE-3 (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).



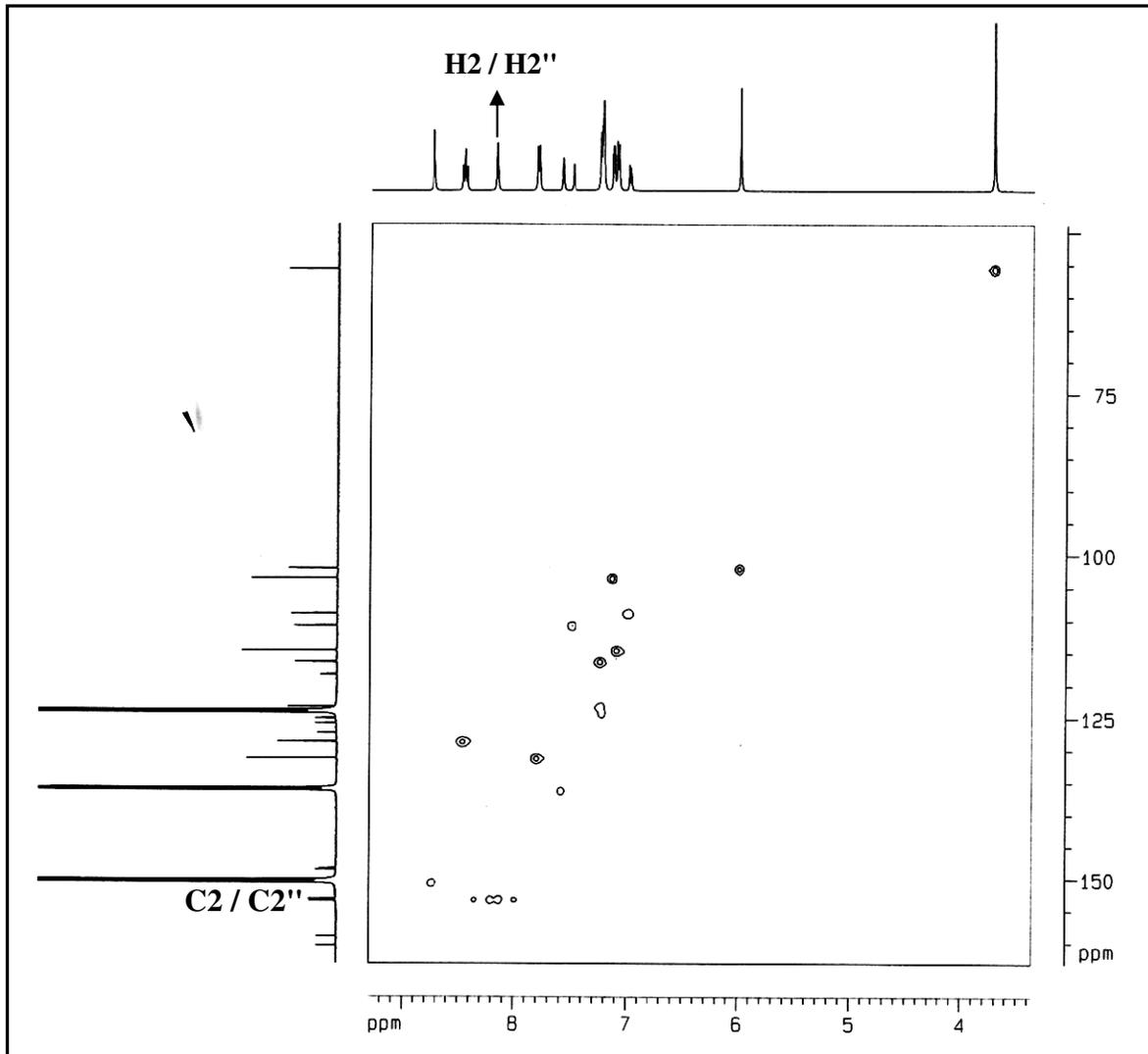
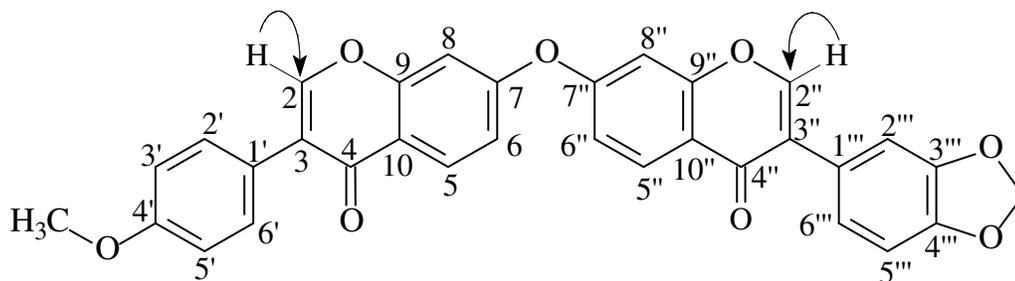


Figura 26: Espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C – HMQC de ASCE-3 (500 MHz, 125 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)



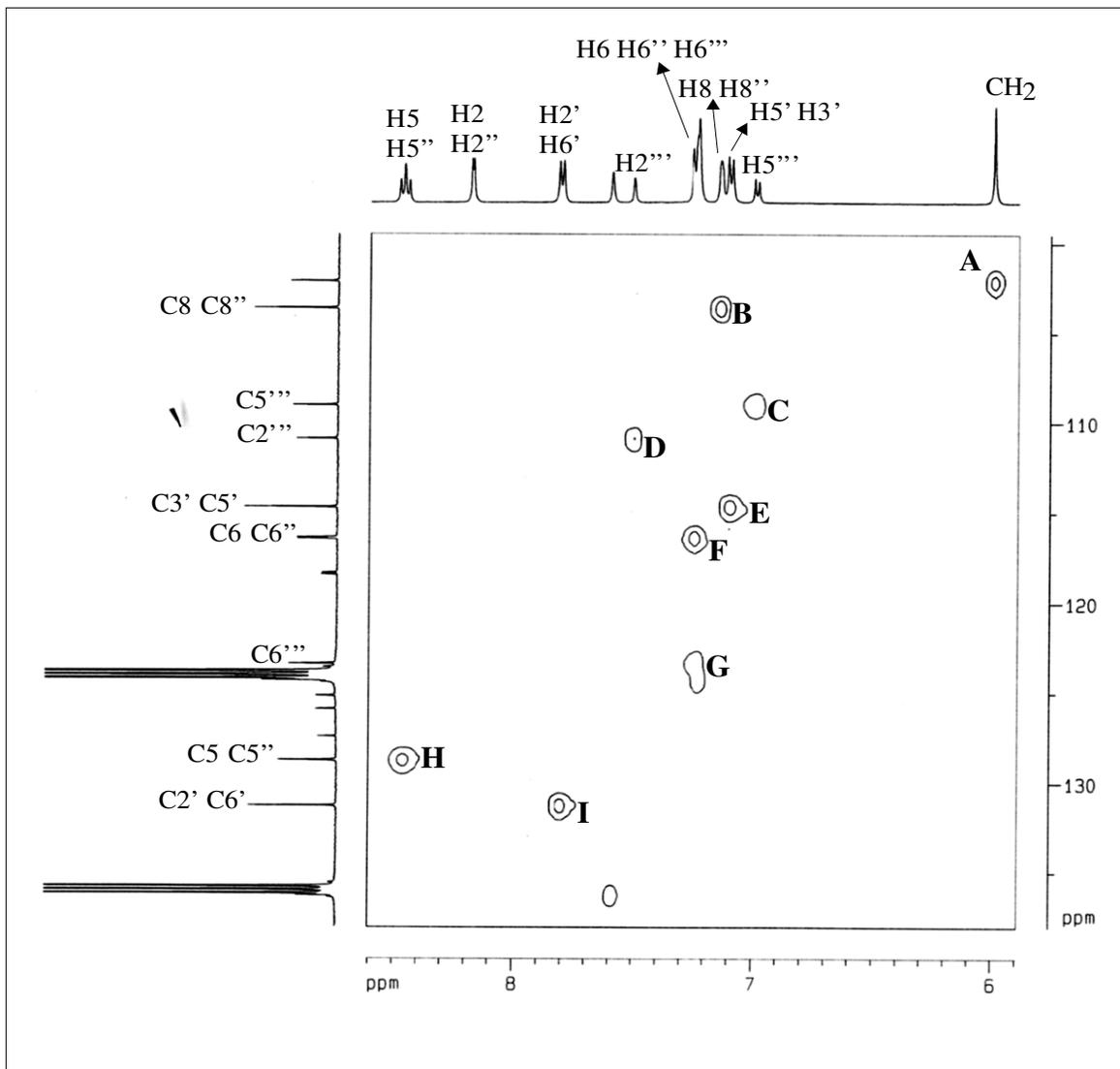
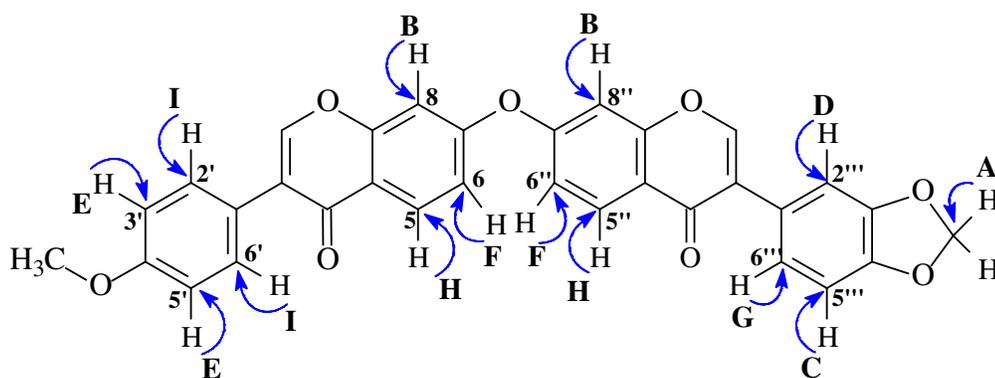


Figura 27: Expansão do espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C – HMOC de ASCE-3 (500 MHz, 125 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)



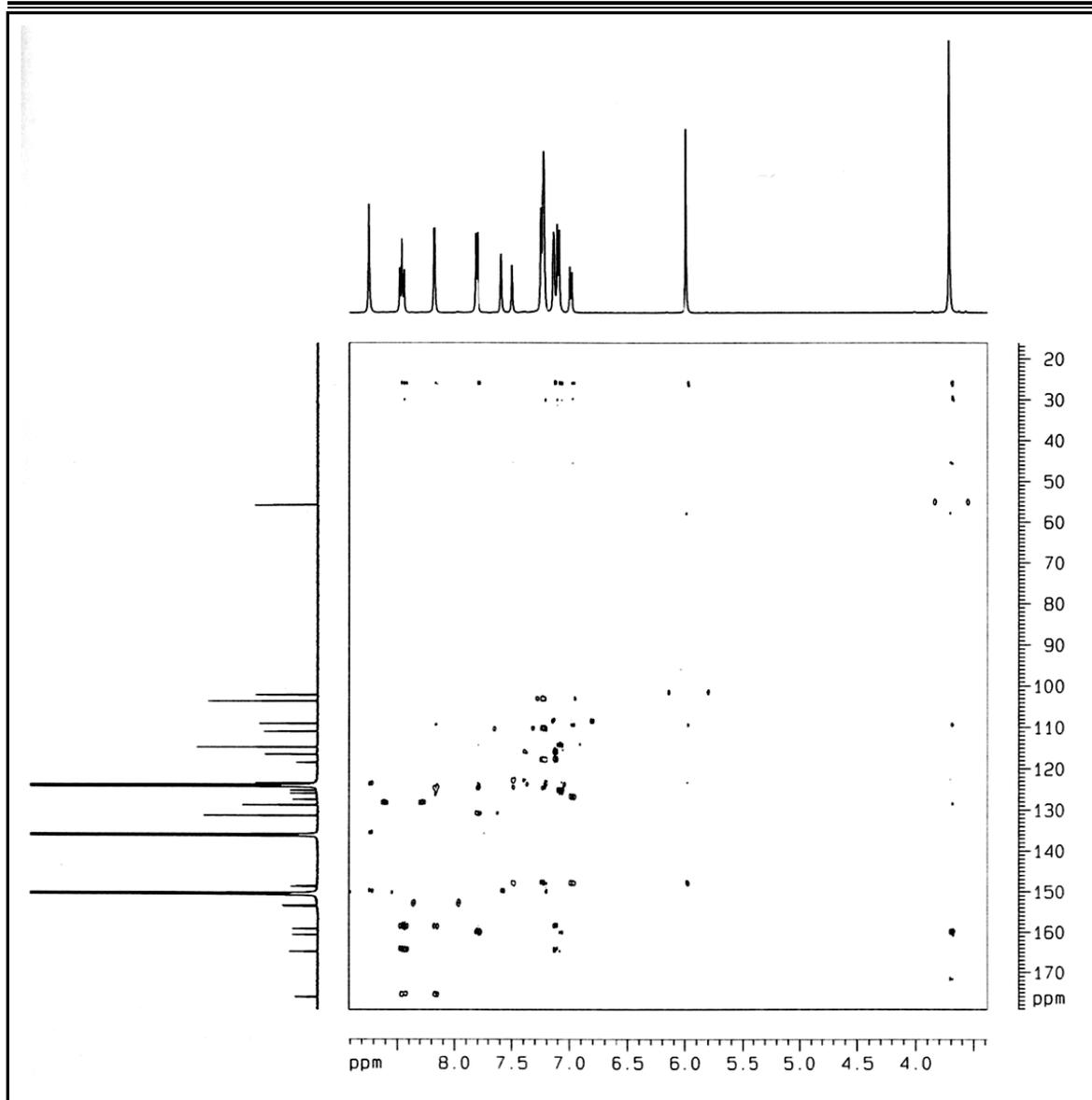


Figura 28: Espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C – HMBC de ASCE-3 (500 MHz, 125 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

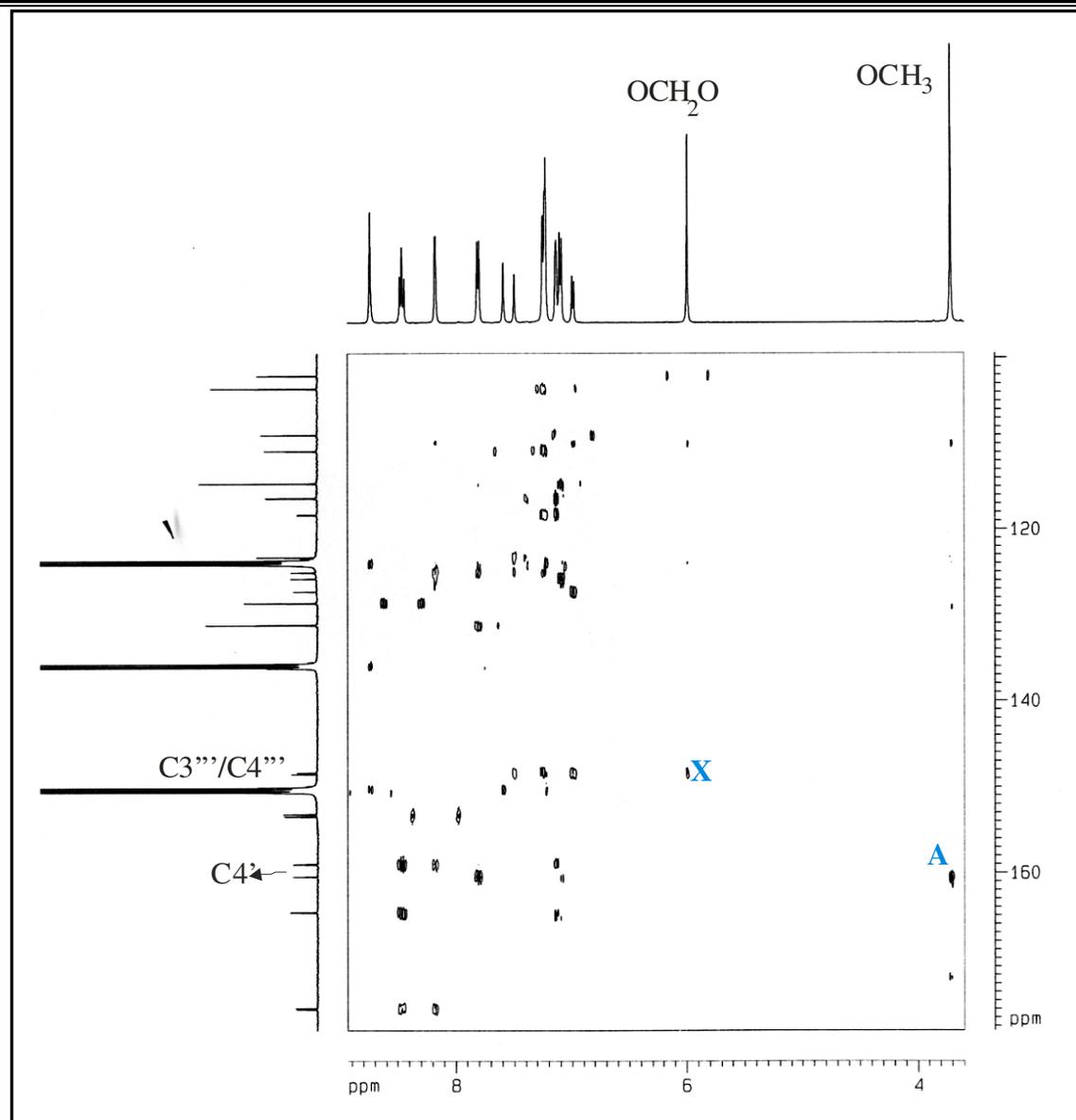
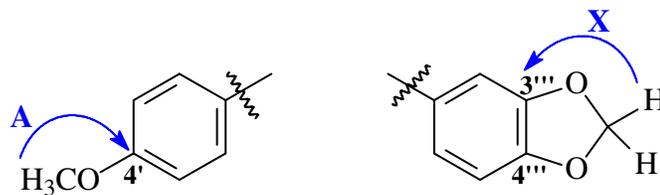


Figura 29: Expansão do espectro de correlação heteronuclear – HMBC de ASCE-3 (500 MHz, 125 MHz C₅D₅N)



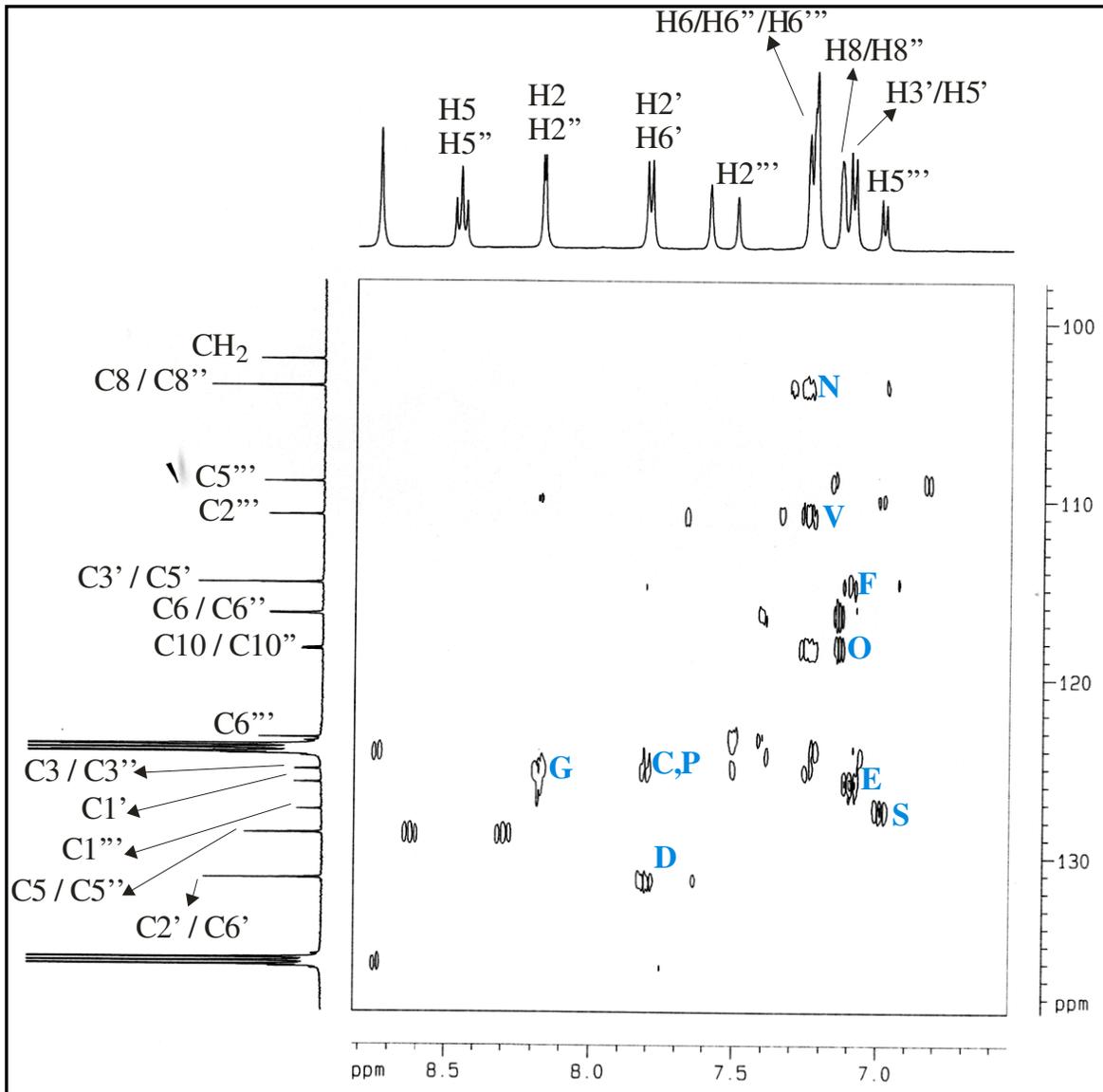
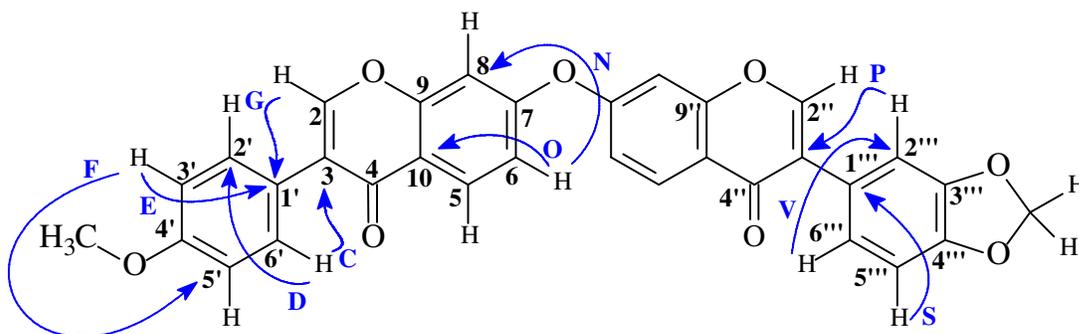


Figura 30: Expansão do espectro de correlação heteronuclear – HMBC de ASCE-3 (500 MHz, 125 MHz C₅D₅N)



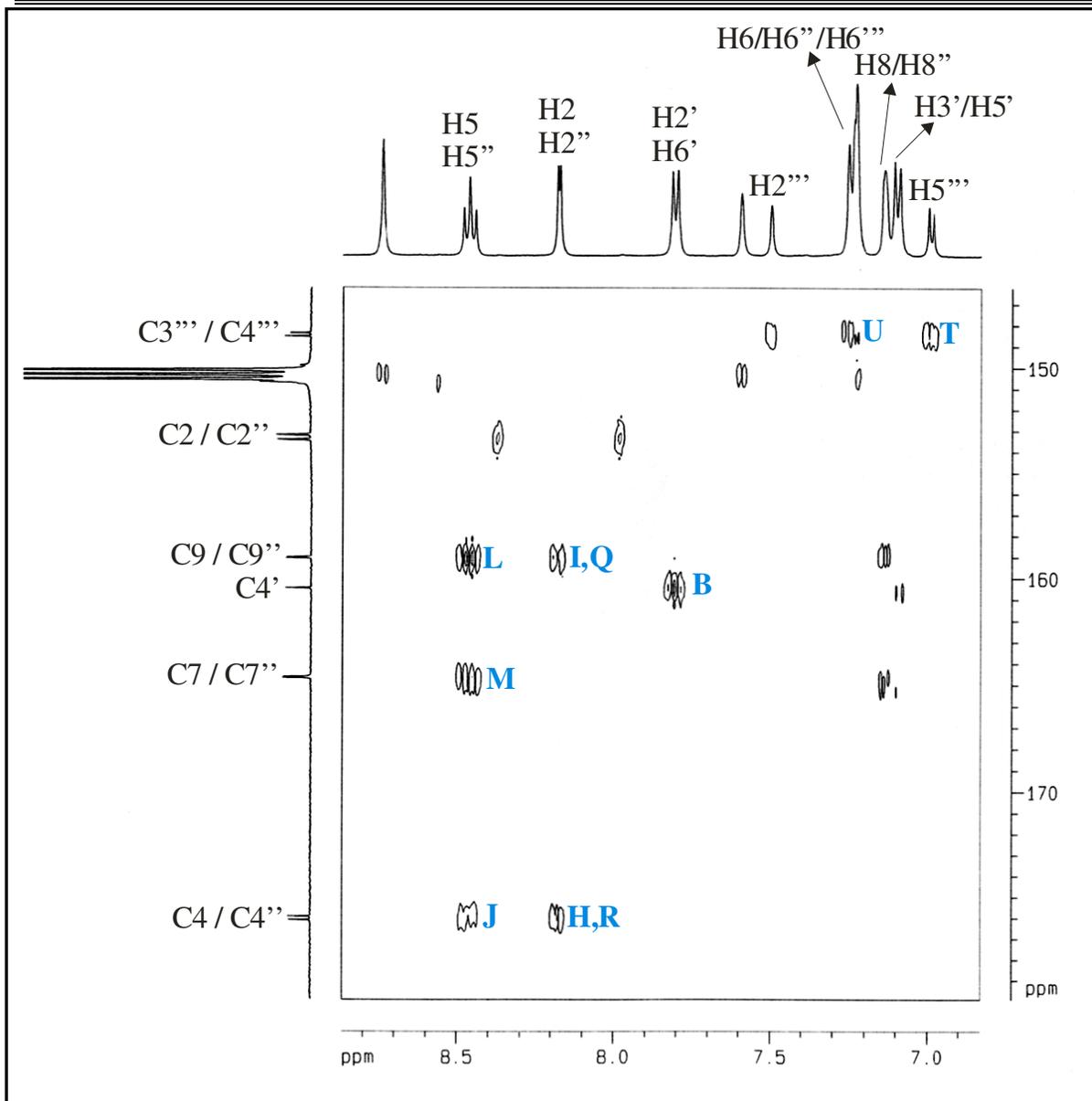
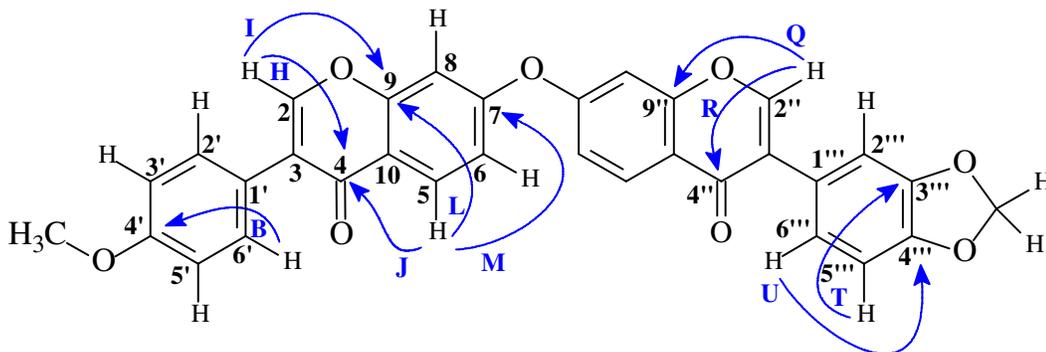


Figura 31: Expansão do espectro de correlação heteronuclear – HMBC de ASCE-3 (500 MHz, 125 MHz C₃D₅N)



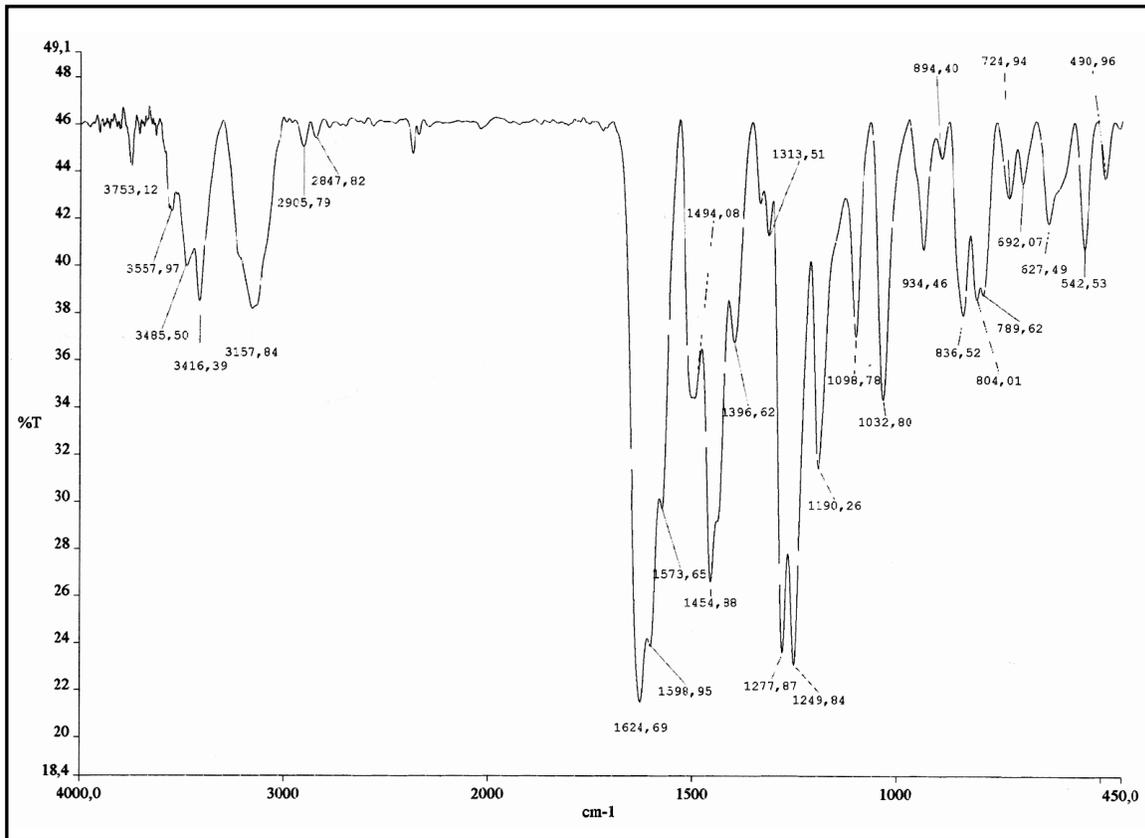


Figura 32: Espectro de infravermelho (KBr) de ASCE-3

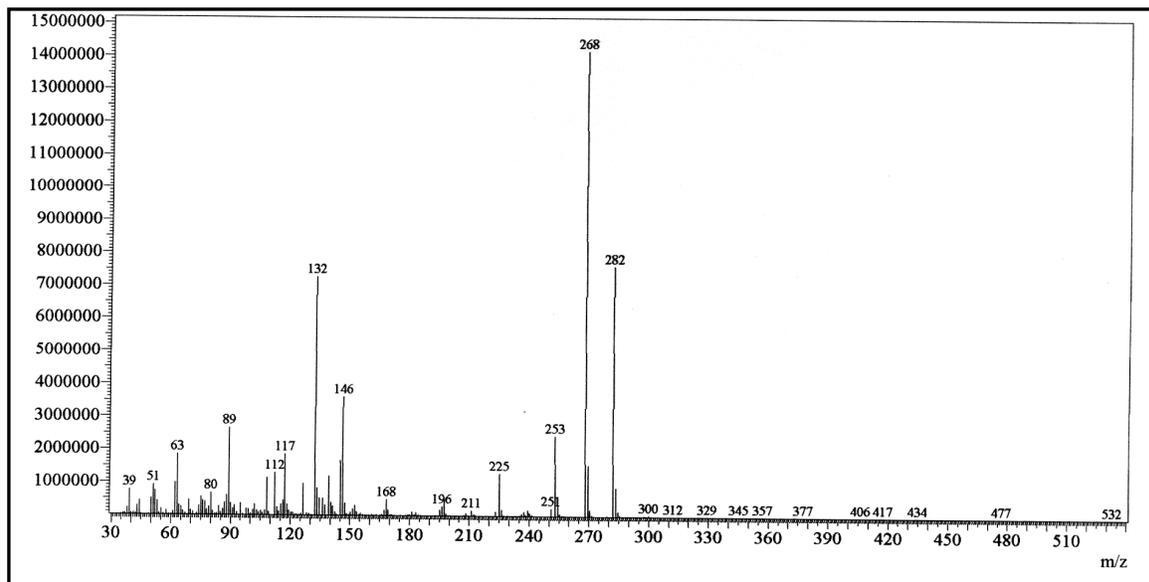
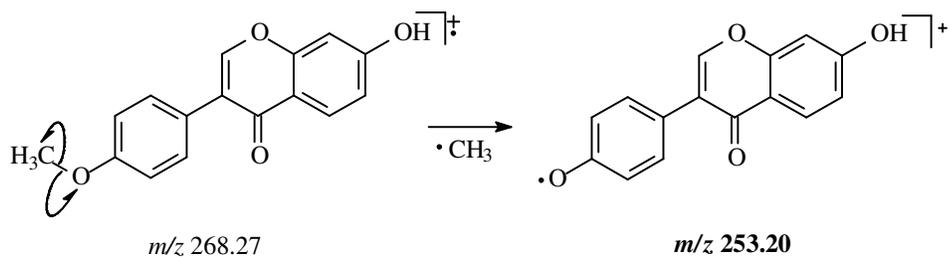
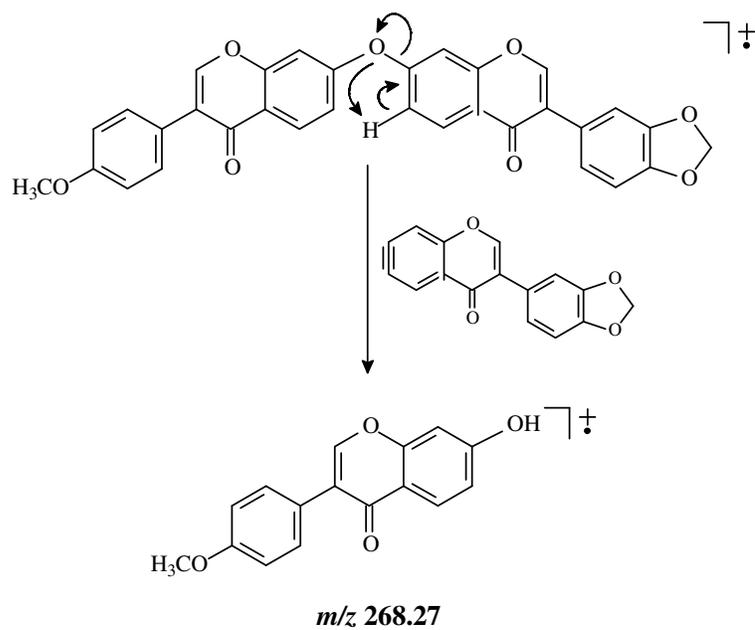
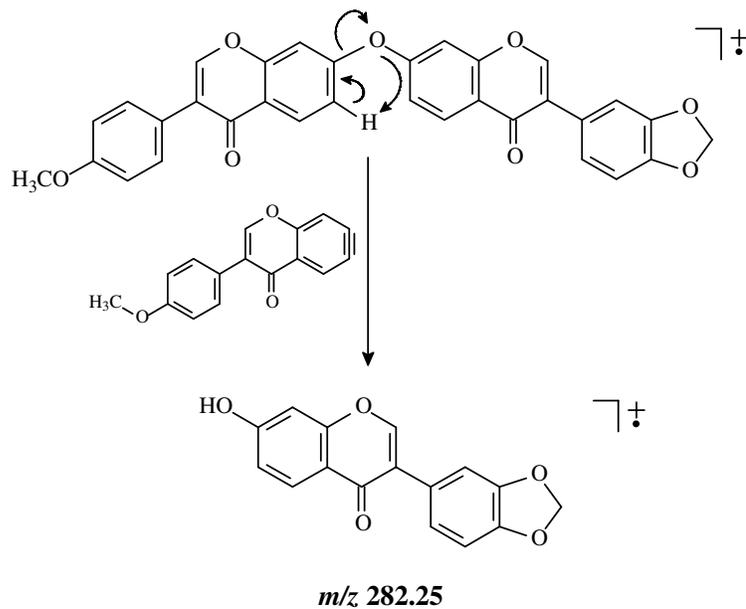
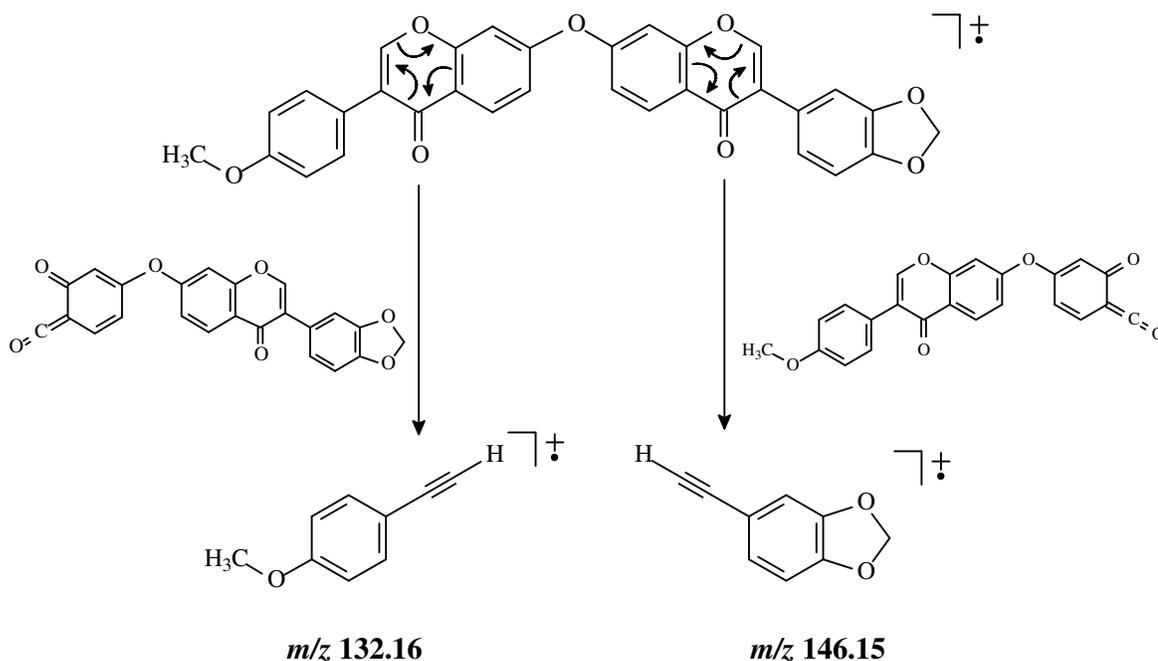


Figura 33: Espectro de massa de ASCE-3

- Fragmentação do composto ASCE-3





4.4 - Determinação estrutural de ASLE-1

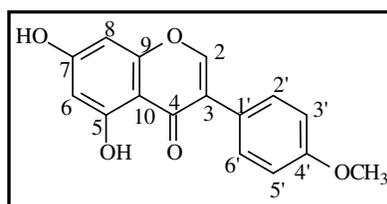
O composto denominado de ASLE-1 foi isolado a partir da fração CH_2Cl_2 , obtida da partição líquido-líquido do extrato etanólico do lenho de *A. surinamensis*, (item 5.5.1.3, pág. 123). ASLE-1 apresentou-se na forma de um sólido amarelo, com faixa de fusão 205 - 207 °C.

O espectro de RMN ^1H (Fig. 34, pág. 68) de ASLE-1 apresentou quatro sinais dubletos, em δ_{H} 7,54; 6,99; 6,41 e 6,28, um singlete na região de aromático em δ_{H} 8,17, além de, um singlete intenso em δ_{H} 3,83, característico de um grupo metoxila e um sinal em δ_{H} 12,98 indicativo de grupo hidroxila, envolvida em ligação de hidrogênio. Na região de aromático o espectro mostrou um par de dubletos em δ_{H} 6,41 e 6,28, ambos apresentando constante de acoplamento igual a 2,0 Hz compatíveis com a presença de hidrogênios *meta* posicionados. Os dubletos em δ_{H} 7,54 e 6,99 ppm, com constante de acoplamento de 8,5 Hz, foram condizentes com átomos de hidrogênios mantendo-se entre si uma relação *orto*.

O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 36, pág. 69) de ASLE-1 mostrou 14 linhas espectrais, duas delas mostraram intensidade bastante elevada, sugerindo sobreposição de sinais. A comparação dos espectros de RMN ^{13}C e DEPT 135° (Fig. 37, pág. 69) permitiu determinar o padrão de hidrogenação: sete carbonos metínicos, um metílico e oito carbonos não-hidrogenados, sendo o

sinal em δ_C 181,3 ppm correspondente a uma carbonila conjugada, enquanto que os deslocamentos químicos em δ_C 154,2; 158,9; 160,5; 163,7 e 164,8 ppm são compatíveis com átomos de carbonos aromáticos oxigenados.

Com base nos dados descritos acima e comparação com os dados da literatura (Tabela 13, pág. 67) concluiu-se que ASLE-1 trata-se do composto 5,7-dihidroxi-4'-metoxiisoflavona, também conhecida como biochanina A (p.f.: 212-214 °C, [NAIR et al, 1991]) isolado anteriormente das cascas do lenho.



ASLE-1

5,7-Dihidroxi-4'-metoxiisoflavona

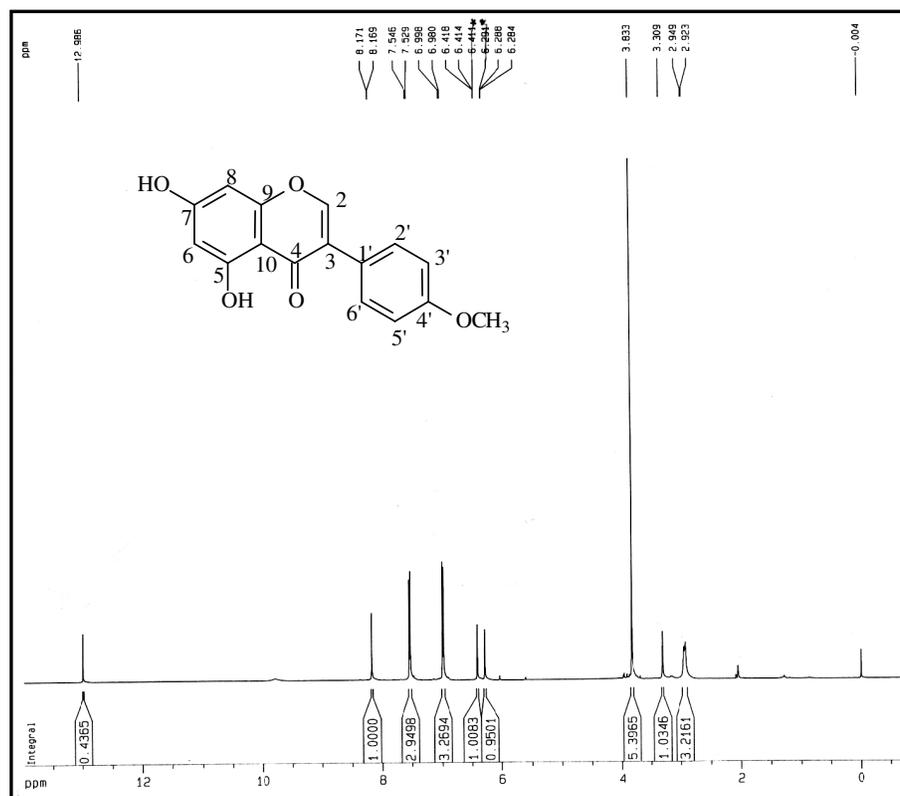
(Biochanina A)

Tabela 13: Comparação entre os dados de RMN ^{13}C BB de ASLE-1 (δ , acetona - d_6 , 125 MHz) com os dados descritos na literatura para a biochanina A (δ , acetona - d_6 , 25 MHz) [PELTER et al, 1978].

Carbono	ASLE-1	Biochanina A
2	154,28	154,46
3	123,75	124,20
4	181,34	181,57
5	163,78	163,94
6	99,72	99,91
7	164,89	165,01
8	94,39	94,54
9	158,92	159,05
10	106,01	106,21
1'	124,10	123,84
2'	130,99	131,09
3'	114,40	114,54
4'	160,57	160,70
5'	114,40	114,20
6'	130,99	130,60
4'-OCH ₃	55,44	55,60

Tabela 14: Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e RMN ^1H para substância ASLE-1.

C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{H} , CD_3OD [NAIR, 1991]
2	154,28	8,17 (s)	8,01 (s)
3	123,75		
4	181,34		
5	163,78		
6	99,72	6,28 (d, 2,0 Hz)	6,25 (d, 1,8 Hz)
7	164,89		
8	94,39	6,41 (d, 2,0 Hz)	6,35 (d, 1,8 Hz)
9	158,92		
10	106,01		
1'	124,10		
2'	130,99	7,54 (d, 8,5 Hz)	7,40 (d, 8,0 Hz)
3'	114,40	6,99 (d, 8,5 Hz)	6,90 (d, 8,0 Hz)
4'	160,57		
5'	114,40	6,99 (d, 8,5 Hz)	6,90 (d, 8,0 Hz)
6'	130,99	7,54 (d, 8,5 Hz)	7,40 (d, 8,0 Hz)
4'- OCH_3	55,44	3,83 (s)	3,75 (s)


Figura 34: Espectro de RMN ^1H de ASLE-1 (acetona- d_6 – 500 MHz)

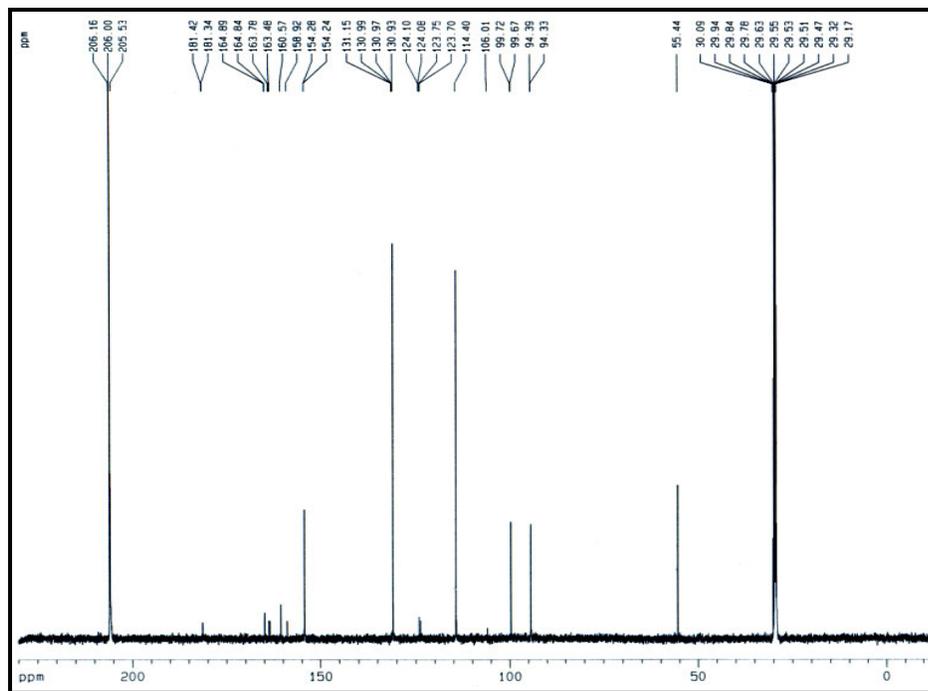


Figura 35: Espectro de RMN ^{13}C de ASLE-1 (acetona- d_6 – 125 MHz)

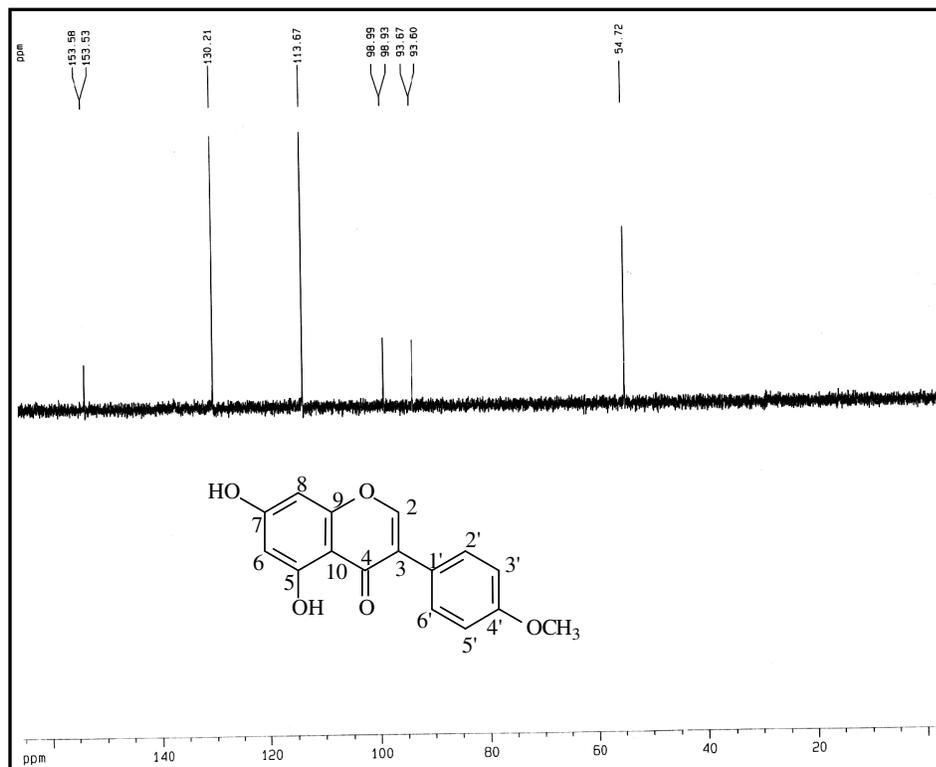


Figura 36: Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ASLE-1 (acetona- d_6 – 125 MHz)

4.5 - Determinação estrutural de ASLE-2

Tratamento cromatográfico da fração CH_2Cl_2 , obtida da partição líquido-líquido do extrato etanólico do lenho de *A. surinamensis*, (item 5.5.1.4, pág. 124), resultou no isolamento do composto denominado de ASLE-2, o qual apresentou-se na forma de um sólido branco, com faixa de fusão 239 - 240 °C.

O espectro de IV (Fig. 49, pág. 81) mostrou uma banda larga centrada em 3186 cm^{-1} , característica de grupo hidroxila, uma absorção intensa em 1622 cm^{-1} de deformação axial de ligação C=O conjugada, uma banda intensa em 1577 cm^{-1} característica de anel aromático, além de bandas em 1243 cm^{-1} e 1026 cm^{-1} referente a deformação axial assimétrica e simétrica de ligação C-O-C.

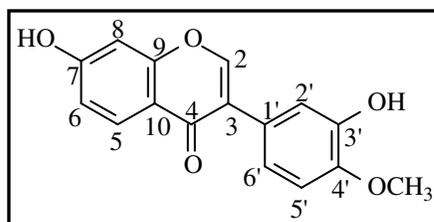
O espectro de RMN ^1H (Fig. 44, pág. 79) de ASLE-2 apresentou quatro dubletos em δ_{H} 8,45; 7,34; 7,21 e 7,05 ppm, um singleto em δ_{H} 8,20 ppm, além de um singleto intenso em δ_{H} 3,78 ppm, característico de um grupo metoxila. Na região de aromático, o espectro também mostrou um par de dubletos em δ_{H} 7,83 e 7,11 ppm, apresentando constante de acoplamento 1,9 Hz e 2,0 Hz, respectivamente, característicos de hidrogênios *meta* posicionados. Os dubletos em δ_{H} 8,45 e 7,34 ppm, apresentaram constante de acoplamento em torno de 8,0 Hz, condizentes com átomos de hidrogênios mantendo-se entre si uma relação *orto*.

O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 46, pág. 80) de ASLE-2 mostrou 16 linhas espectrais. A comparação detalhada entre os espectros de RMN ^{13}C e DEPT 135° (Fig. 48, pág. 81) permitiu identificar sete carbonos metínicos, um metílico e oito carbonos não-hidrogenados, sendo o sinal em δ_{C} 176,1 ppm correspondente a uma carbonila conjugada, enquanto os deslocamentos químicos em δ_{C} 148,5; 149,2; 153,2; 158,9 e 164,5 ppm foram compatíveis com átomos de carbonos aromáticos oxigenados. A estrutura é característica de uma isoflavona, devido a presença do sinal de carbono em δ_{C} 153,2 ppm correlacionando-se com o sinal de hidrogênio em δ_{H} 8,17 (Fig 51, pág. 76) típico de isoflavonas.

O espectro de RMN HSQC (Fig. 51, pág. 76) de ASLE-2, possibilitou atribuir os deslocamentos dos hidrogênios em δ_{H} 8,45 (H5); 8,20 (H2); 7,83 (H2'); 7,34 (H6'); 7,21 (H6); 7,11 (H8) e 7,05 (H5') ppm aos carbonos em δ_{C} 128,7 (C5); 153,2 (C2); 118,3 (C2'); 120,9 (C6'); 116,3 (C6); 103,5 (C8) e 112,8 (C5') ppm respectivamente, bem como a correlação do hidrogênio em δ_{H} 3,78 (H₃C-O) com o carbono em δ_{C} 56,4 ppm (C-OCH₃) (Figura 51, pág. 76).

O espectro HMBC (Fig. 52, pág. 84) foi de fundamental importância para a localização inequívoca do grupo metoxila. O acoplamento a três ligações entre o sinal de hidrogênio em δ_H 3,78 (O-Me), com o carbono em δ_C 149,2 foram suficientes para deduzir que o grupo se encontrava localizado no C4' do anel B da isoflavona.

Com base nos dados descritos acima e comparando com os dados da literatura (Tabela 15, pág. 78) concluiu-se que ASLE-2 trata-se da isoflavona 7,3'-dihidroxi-4'-metoxiisoflavona (Calicosina) p.f.: 243-245 °C [KAMNAING et al, 1999].



ASLE-2

7,3'-Dihidroxi-4'-metoxiisoflavona
(Calicosina)

Tabela 15: Comparação entre os dados de RMN ^{13}C BB de ASLE-2 (δ , piridina – d_5 , 125 MHz) com os dados descritos na literatura para calicosina (δ , DMSO, 75 MHz) [KAMNAING et al, 1999].

Carbono	ASLE-2	Calicosina
2	153,2	153,0
3	125,4	123,3
4	176,1	174,5
5	128,7	127,3
6	116,3	115,1
7	164,5	162,5
8	103,5	102,2
9	158,9	157,3
10	118,5	116,2
1'	126,8	124,7
2'	118,3	116,4
3'	148,5	146,0
4'	149,2	147,5
5'	112,8	111,9
6'	120,9	119,7
4'-OCH ₃	56,4	55,6

Tabela 16: Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C , RMN ^1H e acoplamento heteronuclear de ^{13}C x ^1H (HMBC) para substância ASLE-2.

HMBC					
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{H} , piridina- d_5 [DU et al, 2006]	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
2	153,2	8,20 (s)	8,15 (s)		
3	125,4			H-2	H-2'
4	176,1				H-2 / H-5
5	128,7	8,45 (d, 8,7 Hz)	8,43 (d, 8,6 Hz)		
6	116,3	7,21 (sobreposto)	7,19 (sobreposto)		H-8
7	164,5			H-8	H-5
8	103,5	7,11 (d, 2,0 Hz)	7,08 (d, 2,3 Hz)		
9	158,9			H-8	H-2 / H-5
10	118,5				H-6 / H-8
1'	126,8				H-5' / H-2
2'	118,3	7,83 (d, 1,9 Hz)	7,80 (d, 2,2 Hz)		H-6'
3'	148,5				H-5'
4'	149,2			H-5'	H-2' / OCH ₃
5'	112,8	7,05 (d, 8,3 Hz)	7,03 (d, 8,0 Hz)		
6'	120,9	7,34 (dd, 8,2; 1,9 Hz)	7,32 (dd, 8,3; 2,2 Hz)		H-2'
4'OCH ₃	56,4	3,78 (s)	3,80 (s)		

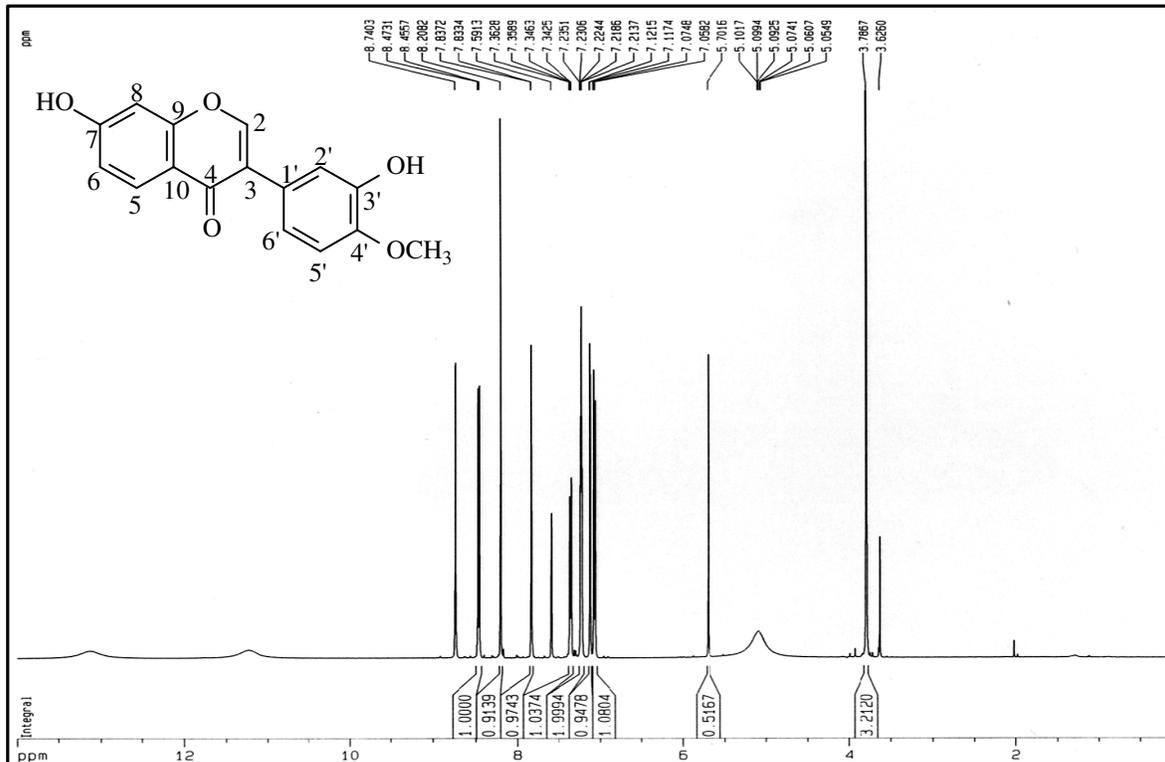


Figura 37: Espectro de RMN ^1H de ASLE-2 (piridina- d_5 – 500 MHz)

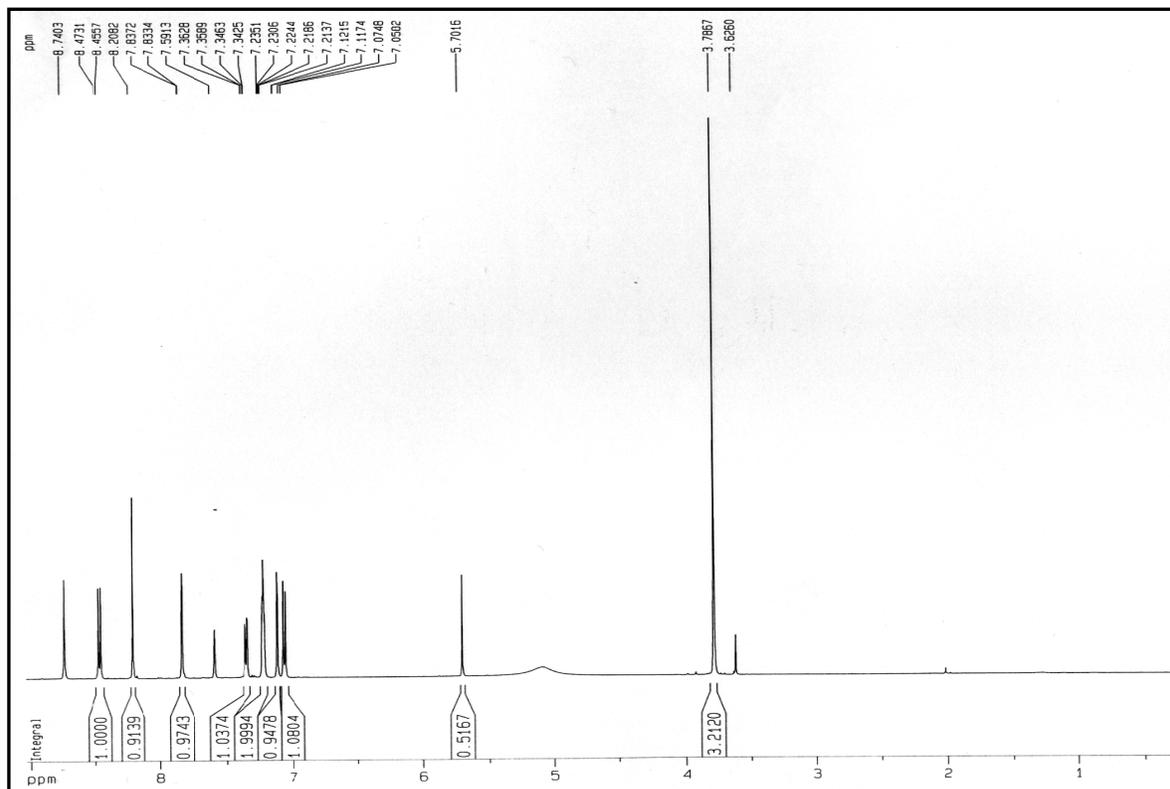


Figura 38: Expansão do espectro de RMN ^1H de ASLE-2 (piridina- d_5 – 500 MHz)

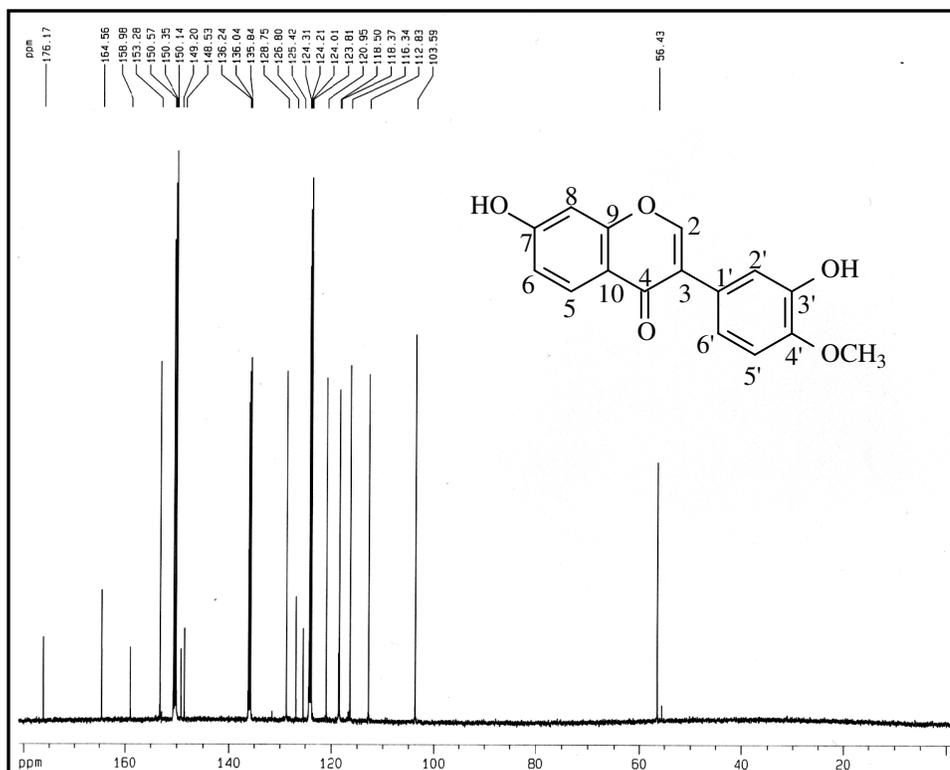


Figura 39: Espectro de RMN ^{13}C de ASLE-2 (piridina- d_5 – 125 MHz)

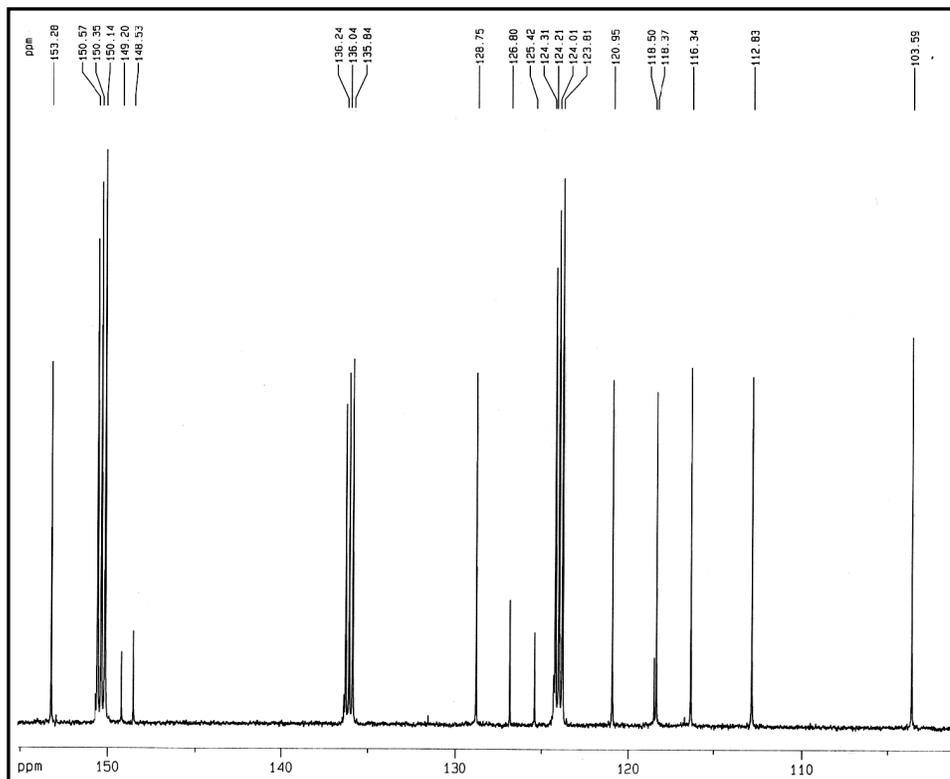


Figura 40: Expansão do espectro de RMN ^{13}C de ASLE-2 (piridina- d_5 – 125 MHz)

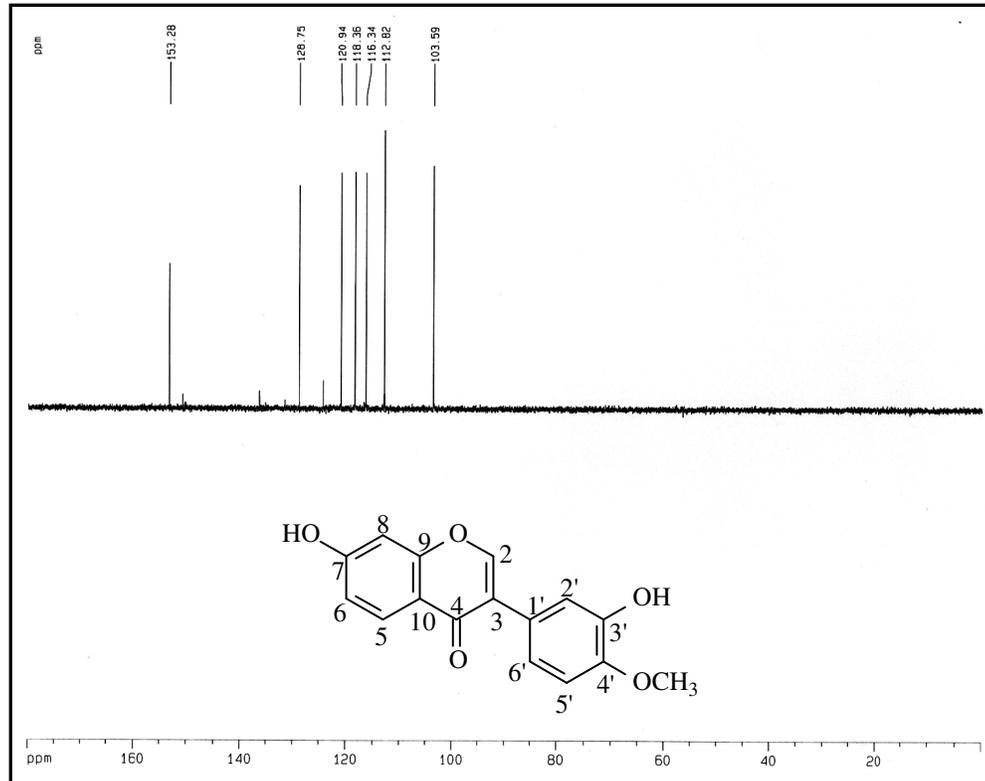


Figura 41: Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ASLE-2 (piridina- d_5 – 125 MHz)

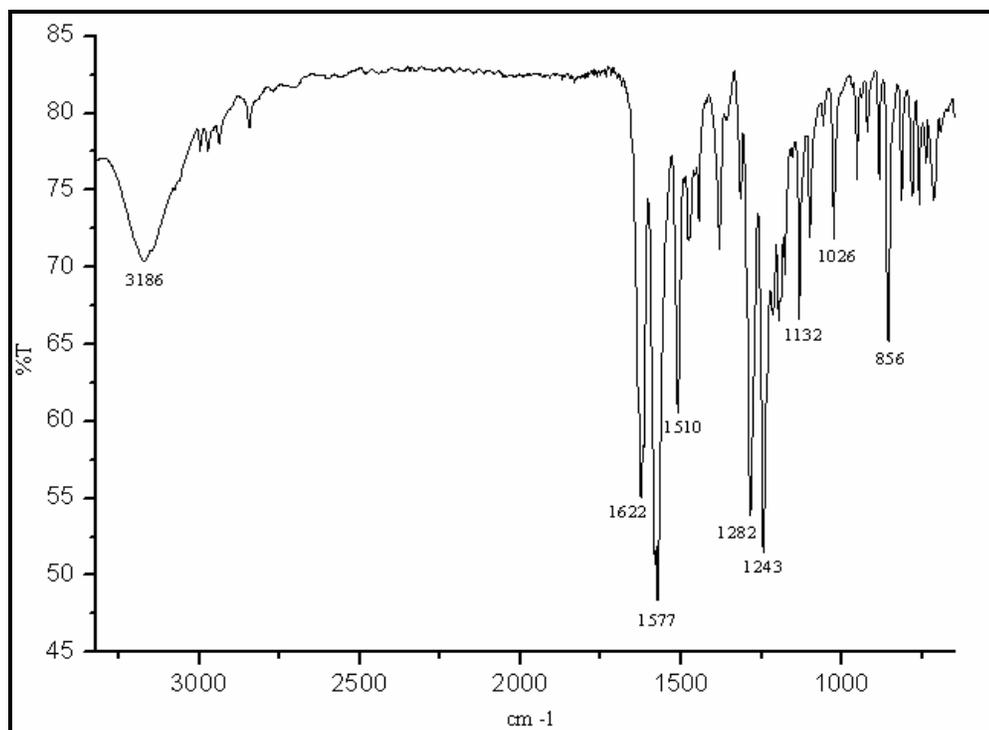


Figura 42: Espectro infravermelho de ASLE-2 (KBr)

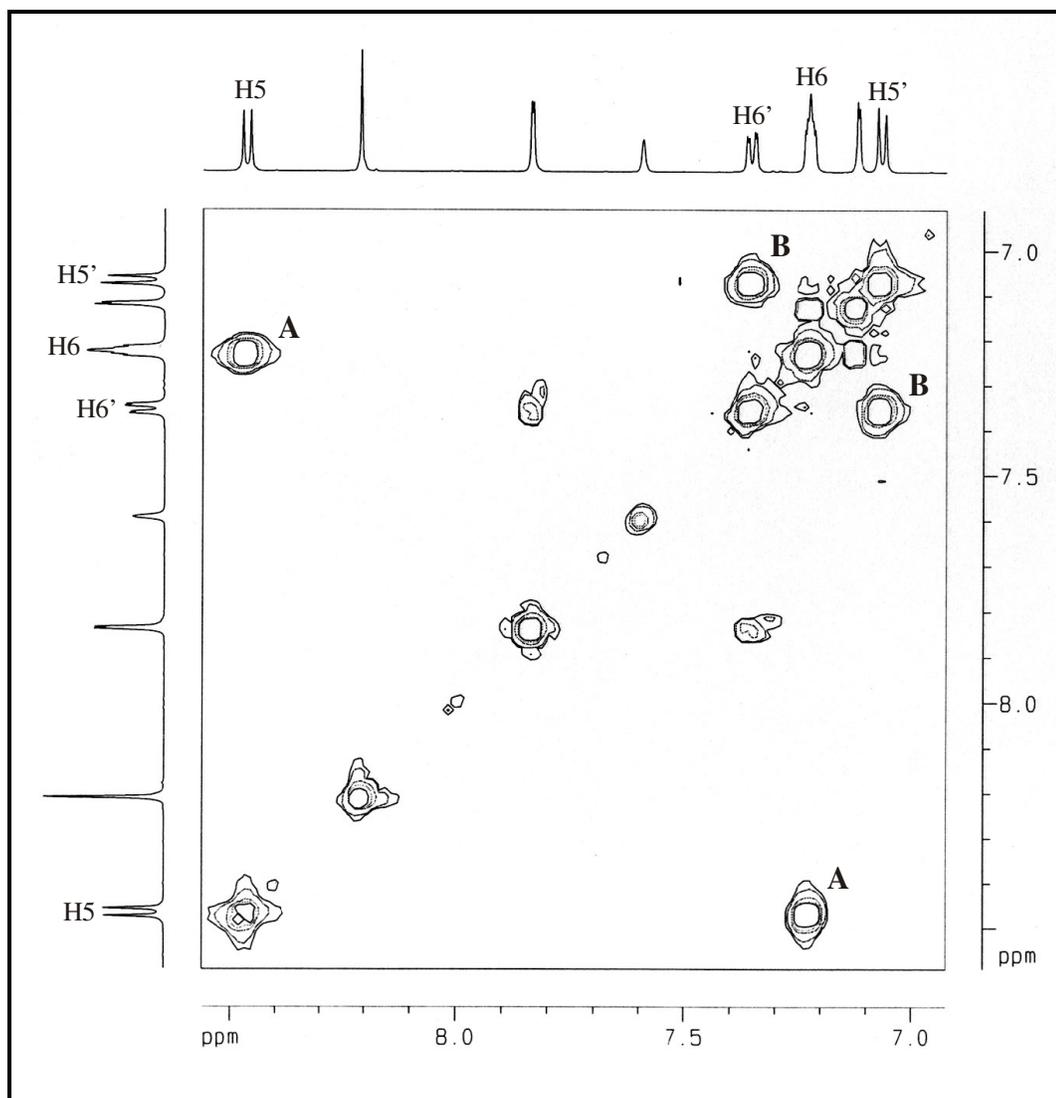
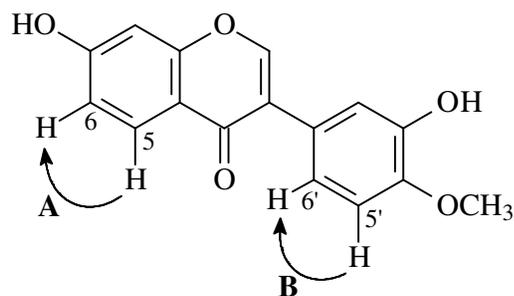


Figura 43: Espectro bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H – COSY (500MHz, piridina – d_5) de ASLE-2.



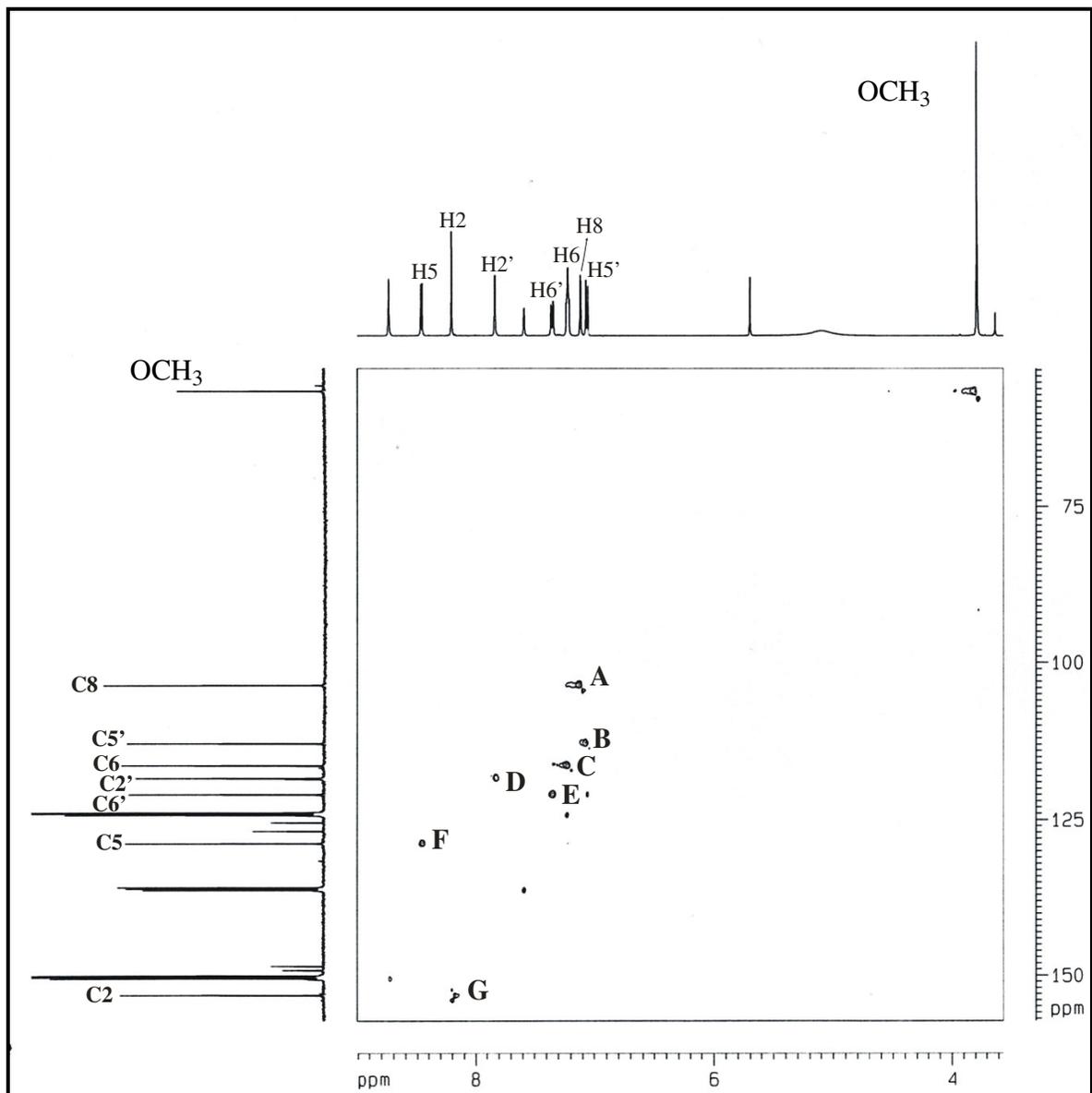
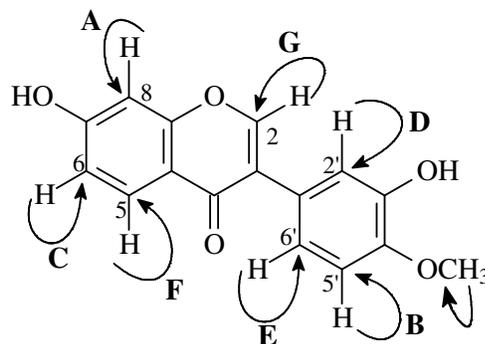


Figura 44: Espectro de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HSQC (500, 125 MHz, piridina – d_5) de ASLE-2.



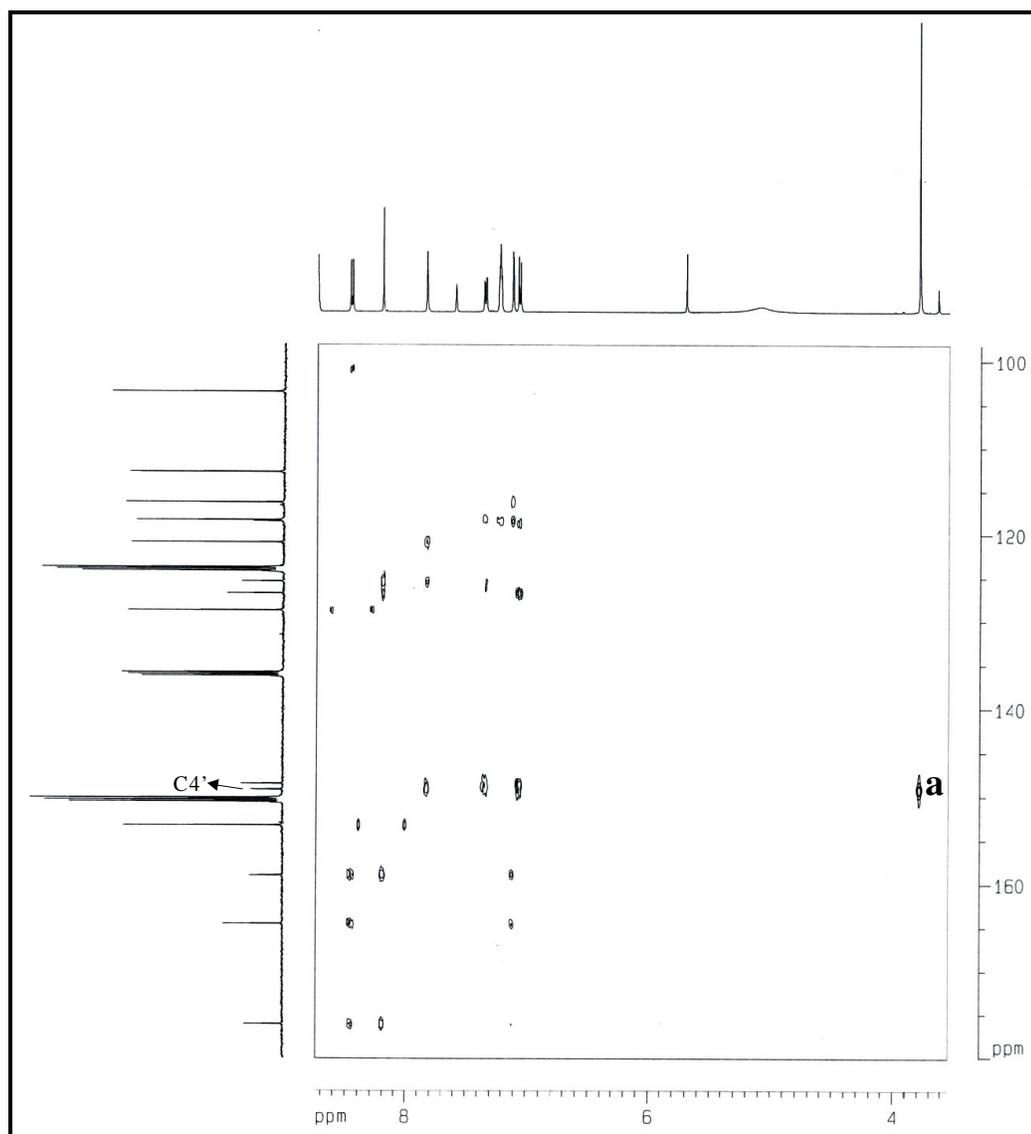
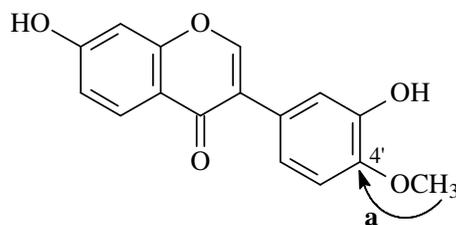


Figura 45: Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC (500, 125 MHz, piridina - d_5) de ASLE-2.



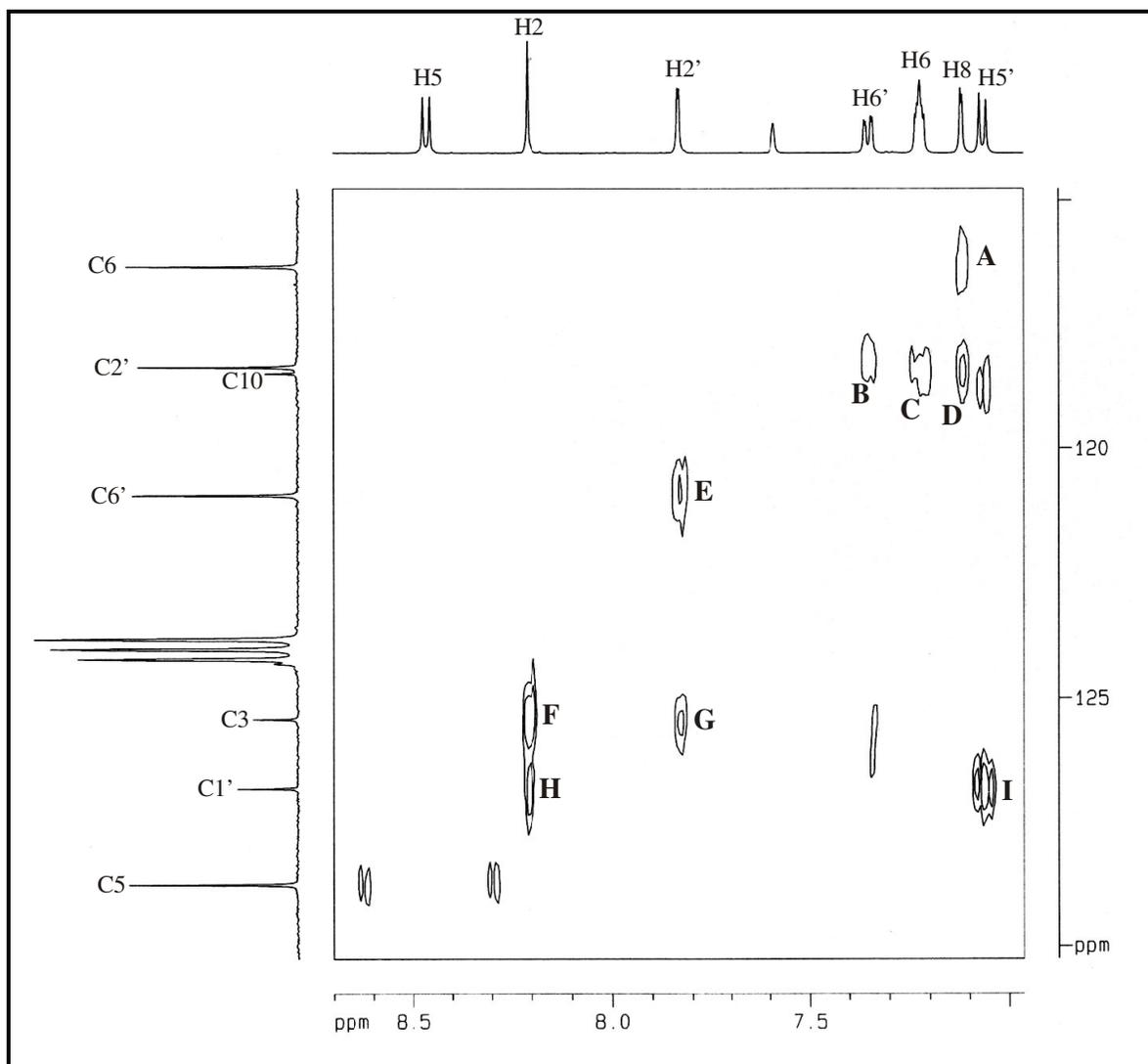
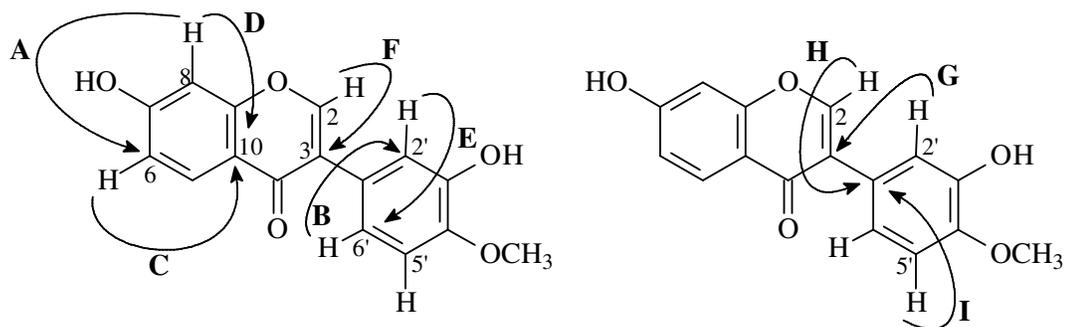


Figura 46: Expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC (500, 125 MHz, piridina – d_5) de ASLE-2.



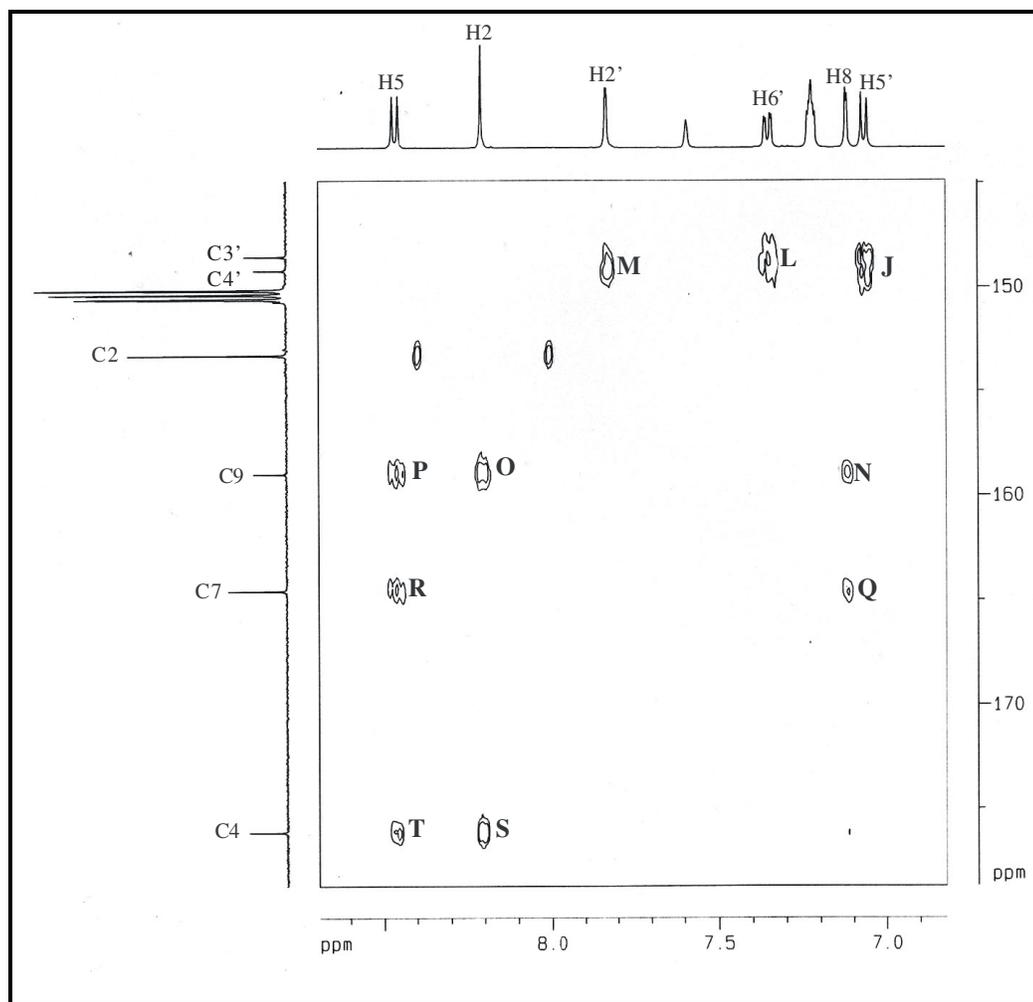
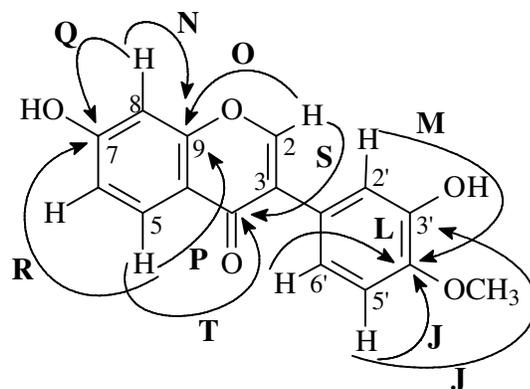


Figura 47: Expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC (500, 125 MHz, piridina – d_5) de ASLE-2.



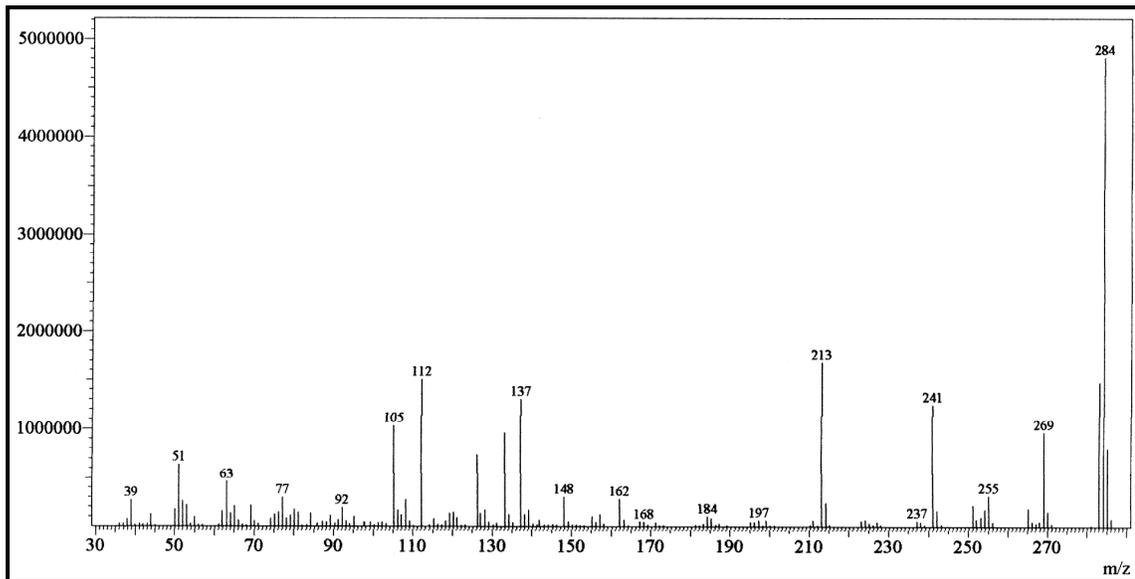
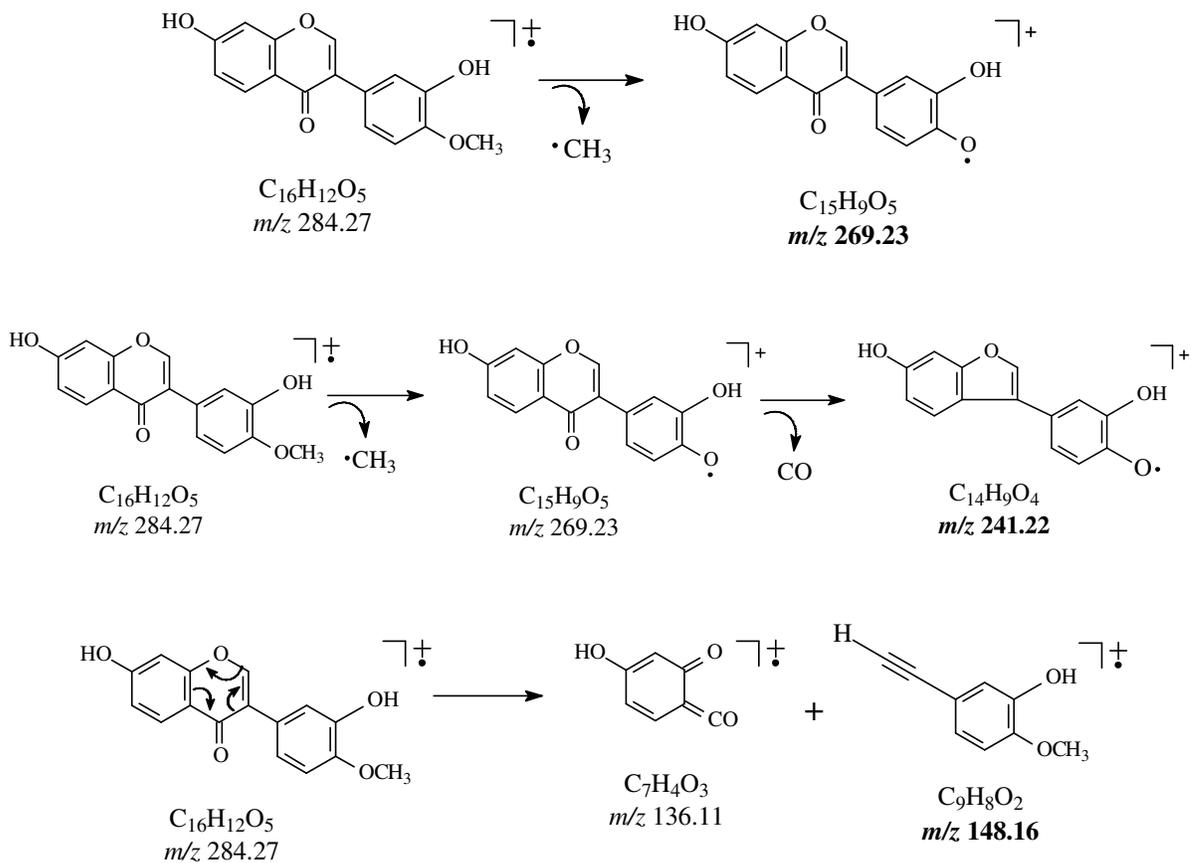


Figura 48: Espectro de massas do composto ASLE-2



4.6 - Determinação estrutural de ASLE-3

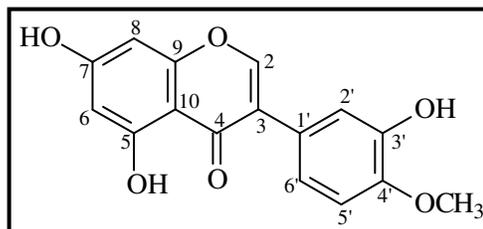
O composto denominado de ASLE-3 foi isolado a partir da fração CH_2Cl_2 , obtida da partição líquido-líquido do extrato etanólico do lenho de *A. surinamensis*, (item 5.5.1.8, pág. 128). ASLE-3 apresentou-se na forma de sólido branco.

O espectro de RMN ^1H (Fig. 56, pág. 90) de ASLE-3 apresentou dubletos em δ_{H} 7,72; 7,28; 7,07, 6,76 e 6,67, um singleto em δ_{H} 8,18 ppm comum a isoflavonas, além de um singleto intenso em δ_{H} 3,78 ppm, característico de um grupo metoxila e um sinal em δ_{H} 13,67 ppm indicativo de hidroxila envolvida em ligação de hidrogênio. Na região de aromático o espectro mostrou um par de dubletos em δ_{H} 6,76 e 6,67 ppm, ambos apresentando constante de acoplamento igual a 2,0 Hz, e um sinal em 7,72 ppm com $J = 2,1$ Hz, característicos de hidrogênios *meta* posicionados. Os dubletos em δ_{H} 7,28 e 7,07 ppm, ambos com constante de acoplamento de 8,2 Hz, foram condizentes com átomos de hidrogênios mantendo-se entre si uma relação *orto*.

O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 58, pág. 91) de ASLE-3 mostrou 16 linhas espectrais. A comparação dos espectros de RMN ^{13}C e DEPT 135° (Fig. 59, pág. 91) permitiu determinar o padrão de hidrogenação referente a cada carbono: seis carbonos metínicos, um metílico e nove carbonos não-hidrogenados, sendo o sinal em δ_{C} 181,5 ppm correspondente a uma carbonila conjugada, enquanto que os deslocamentos químicos em δ_{C} 164,1; 166,3; 159,0; 148,5 e 149,3 ppm foram compatíveis com átomos de carbonos aromáticos oxigenados. O espectro de RMN HSQC (Fig. 61, pág. 76), possibilitou atribuir os deslocamentos dos hidrogênios em δ_{H} 8,18 (H2); 7,72 (H2'); 7,28 (H6'); 7,07 (H5'); 6,76 (H6) e 6,67 (H8) ppm aos carbonos em δ_{C} 154,0 (C2); 118,1 (C2'); 120,8 (C6'); 112,8 (C5'); 100,5 (C6) e 95,0 (C8) ppm respectivamente, bem como a correlação do hidrogênio em δ_{H} 3,78 (H3C-O) com o carbono em δ_{C} 56,3 ppm (H3C-O). O sinal de carbono em δ_{C} 154,0 correlacionado ao sinal de hidrogênio em δ_{H} 8,18 (Fig. 61, pág. 93) mostrou que ASLE-3 também se tratava de uma isoflavona.

A interpretação dos dados acima, bem como comparando com os dados de RMN ^{13}C e ^1H permitiu determinar que ASLE-3 tratava-se de isoflavona conhecida como pratenseína.

Tabela 17: Comparação entre os dados de RMN



^{13}C BB de ASLE-3 (δ , piridina – d_5 , 125 MHz) com os dados descritos na literatura para pratenseína (δ , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, 75 MHz) [AGRAWAL, 1989].

Carbono	ASLE-3	Pratenseína
2	154,0	153,4
3	125,2	123,7
4	181,5	180,4
5	164,1	162,7
6	100,5	98,9
7	166,3	164,5
8	95,01	93,5
9	159,0	157,9
10	106,2	106,4
1'	123,7	122,7
2'	118,1	116,7
3'	148,5	146,3
4'	149,3	147,6
5'	112,8	111,4
6'	120,8	119,9
4'-OCH ₃	56,3	153,4

Tabela 18: Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C , RMN ^1H e acoplamento heteronuclear de $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ (HMBC) para substância ASLE-3.

C	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
2	154,0	8,18 (s)		
3	125,2		H-2	
4	181,5			H-2
5	164,1		H-6	
6	100,5	6,76 (d, 2,0 Hz)		H-8
7	166,3		H-8	
8	95,01	6,67 (d, 2,0 Hz)		H-6
9	159,0		H-8	H-2 / H-6
10	106,2			H-8
1'	123,7		H-2'	H-2
2'	118,1	7,72 (d, 2,1 Hz)		H-6'
3'	148,5			H-5'
4'	149,3		H-5'	H-2' / OCH ₃
5'	112,8	7,07 (d, 8,2 Hz)		
6'	120,8	7,28 (dd, 8,2; 2,1 Hz)		H-2'
4'OCH ₃	56,3			

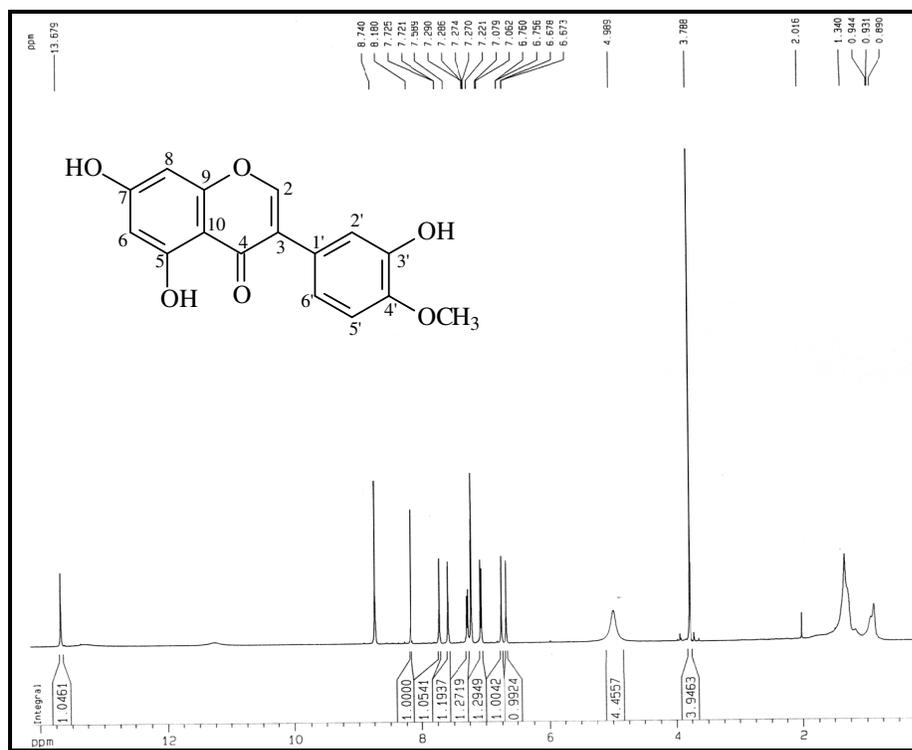


Figura 49: Espectro de RMN ¹H de ASLE - 3 (500 MHz, C₅D₅N)

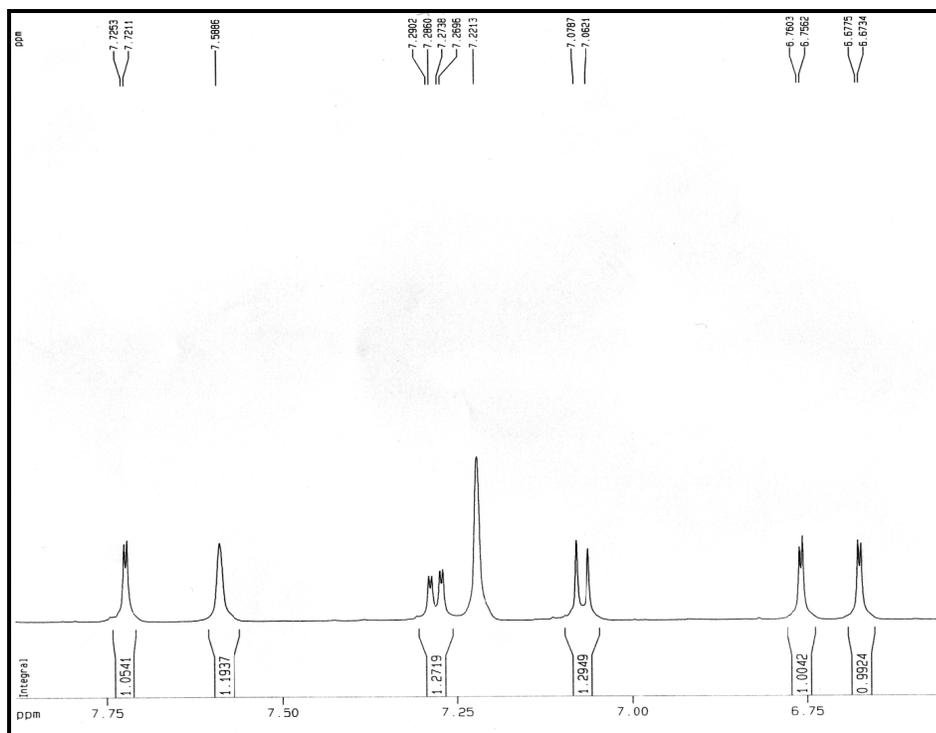


Figura 50: Expansão do espectro de RMN ¹H de ASLE - 3 (500 MHz, C₅D₅N).

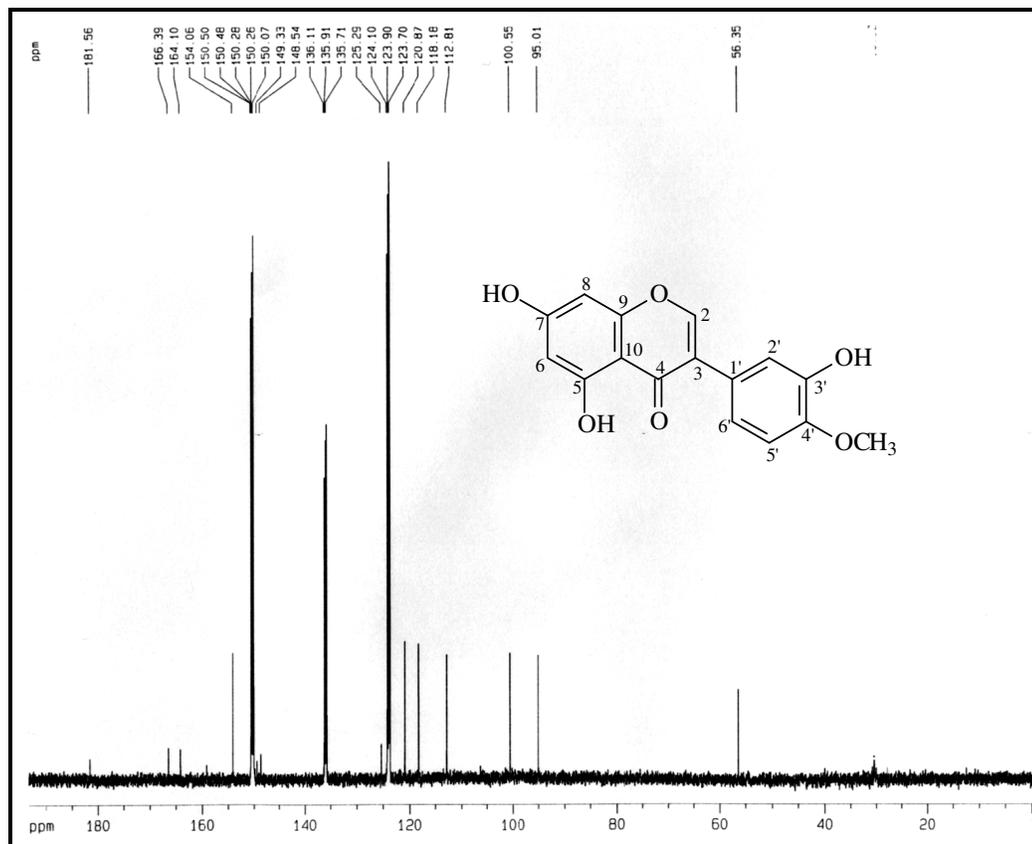


Figura 51: Espectro de RMN ¹³C de ASLE – 3 (125 MHz, C₅D₅N)

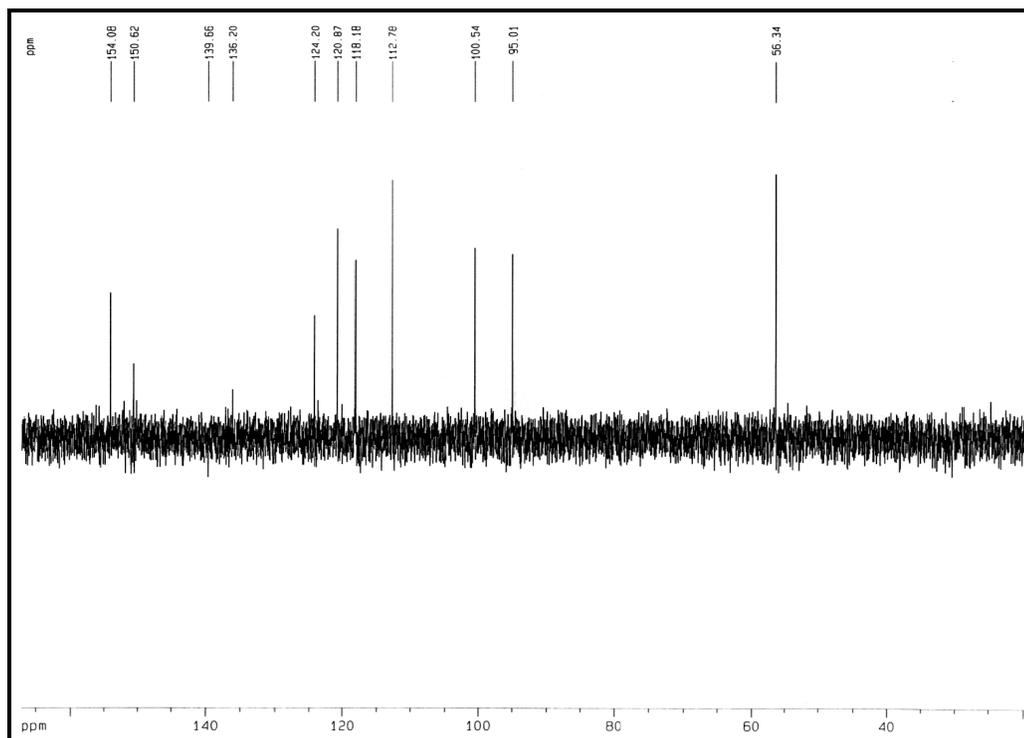


Figura 52: Espectro de RMN ¹³C-DEPT 135° de ASLE – 3 (125 MHz, C₅D₅N)

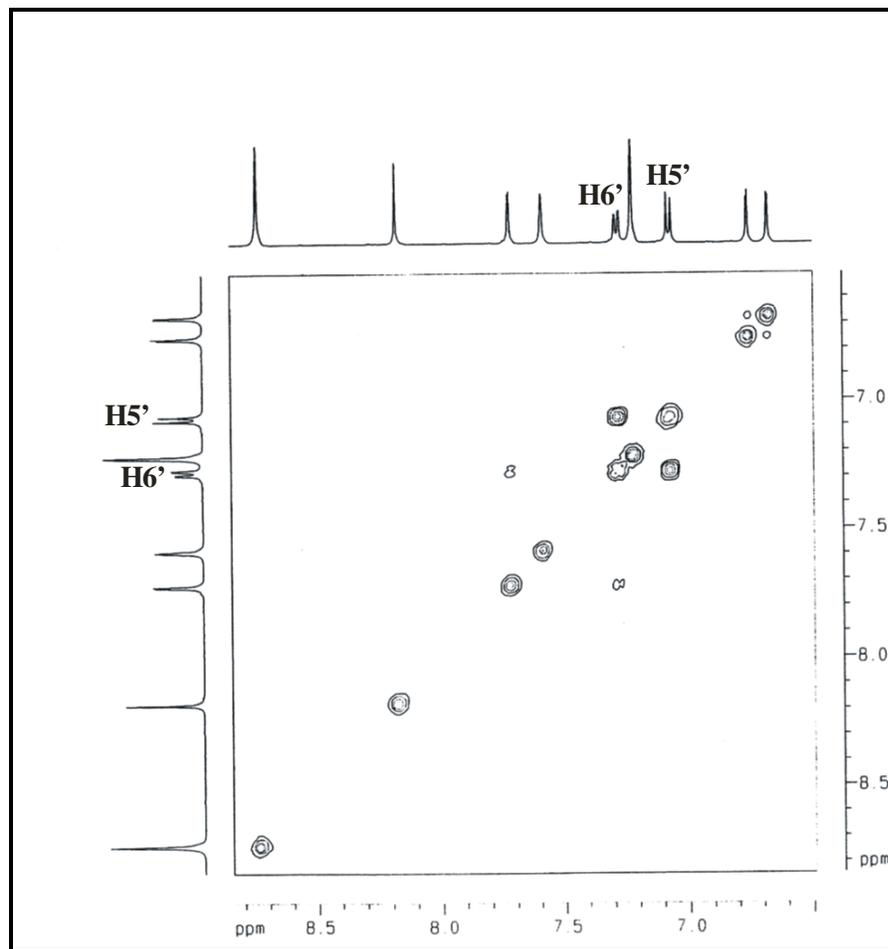
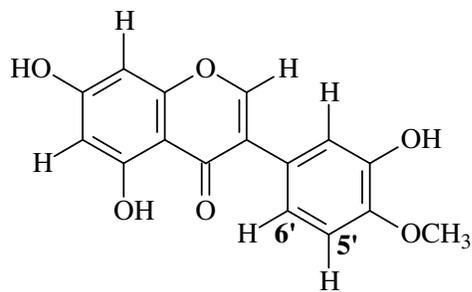


Figura 53: Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H – COSY (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASLE-3



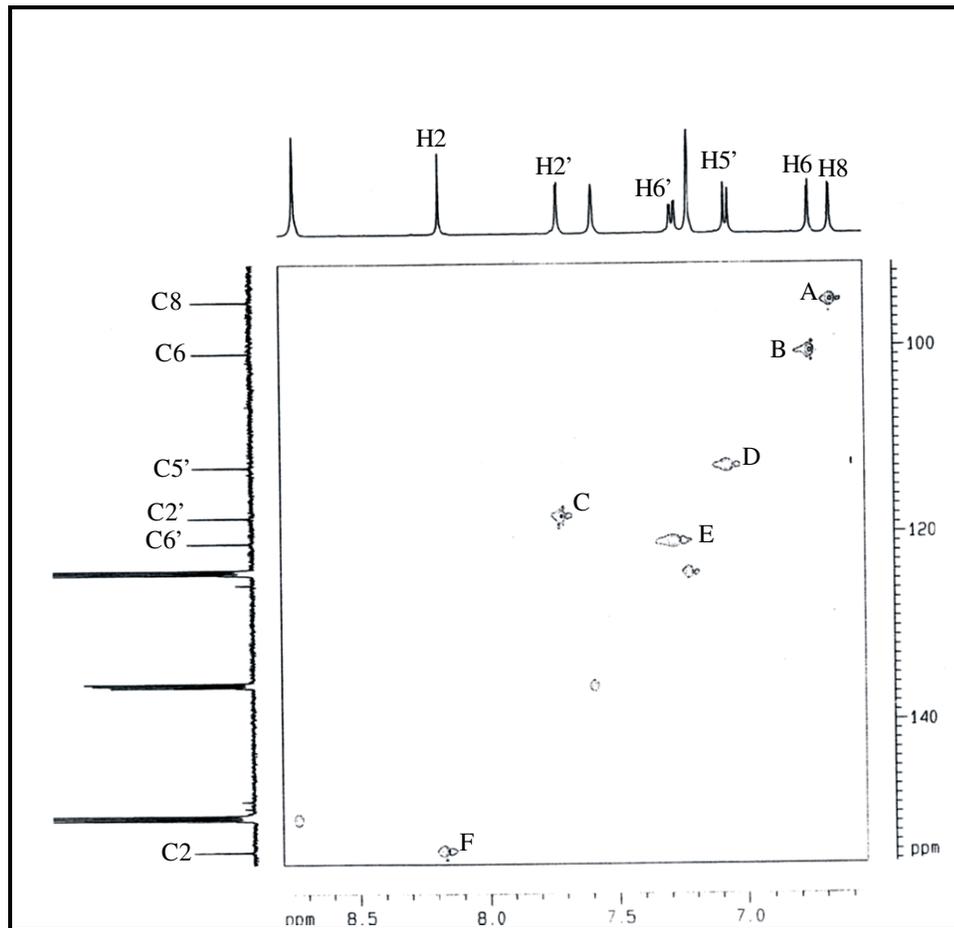
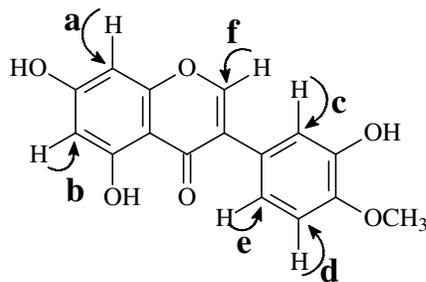


Figura 54: Espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C – HSQC (500 MHz, 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASLE-3



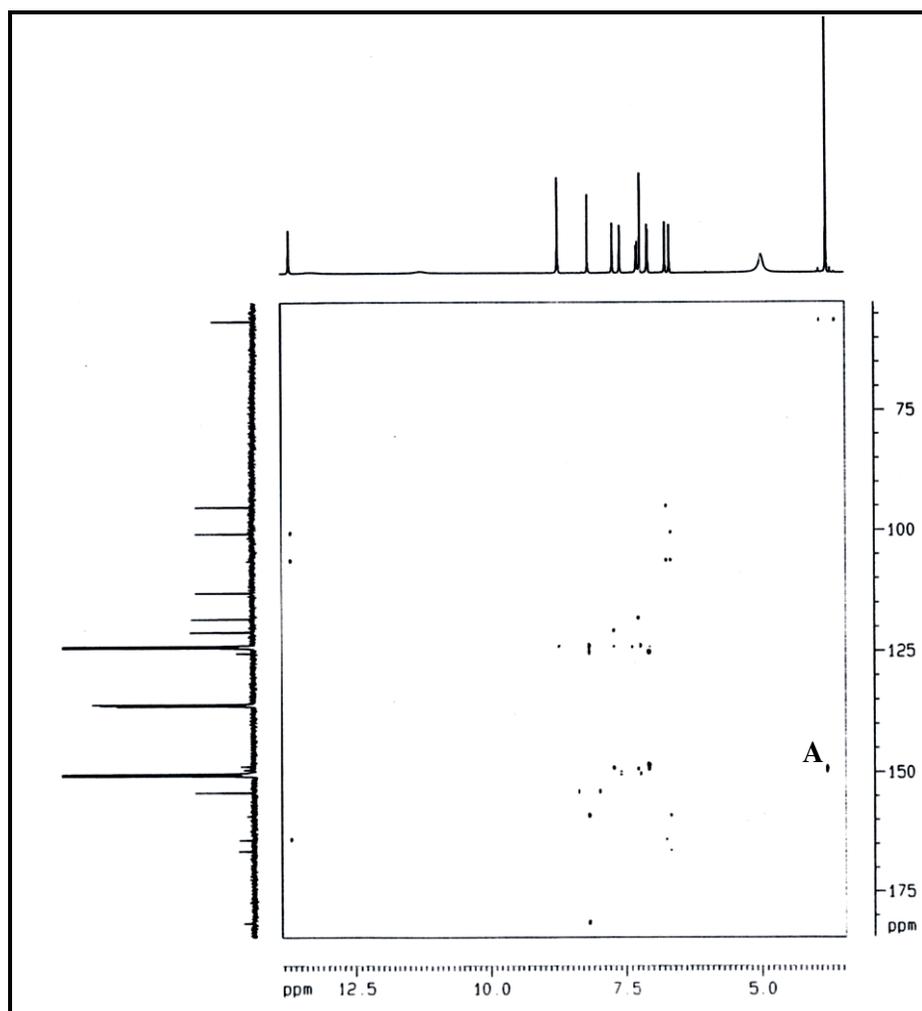
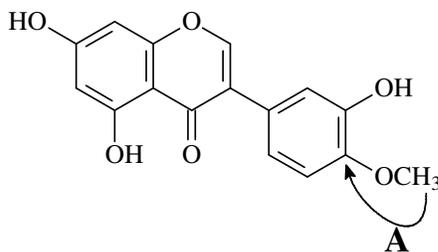


Figura 55: Espectro de correlação heteronuclear ^1H e ^{13}C – HMBC (500 MHz, 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de ASLE-3



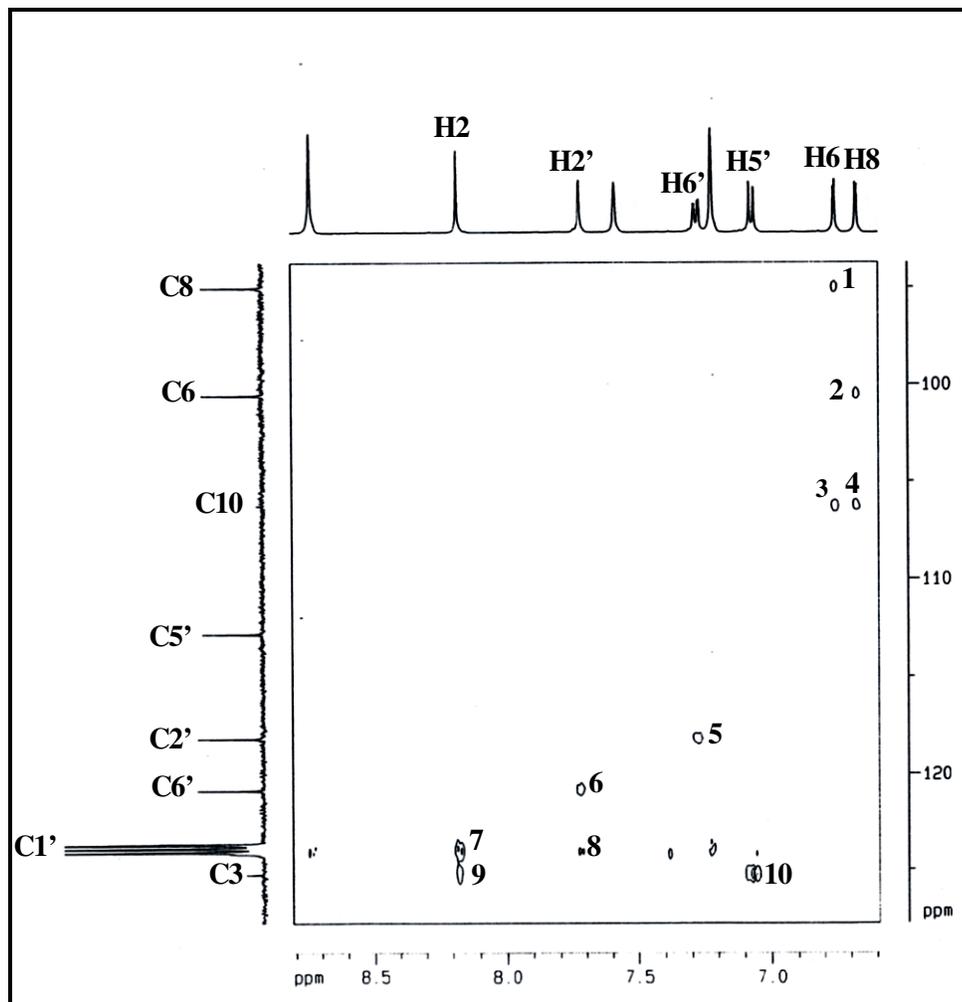
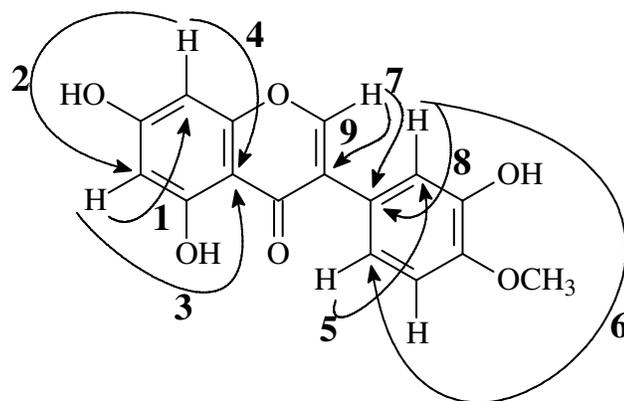


Figura 56: Expansão do espectro de correlação heteronuclear – HMBC (500 MHz, 125 MHz, C₅D₅N) de ASLE-3



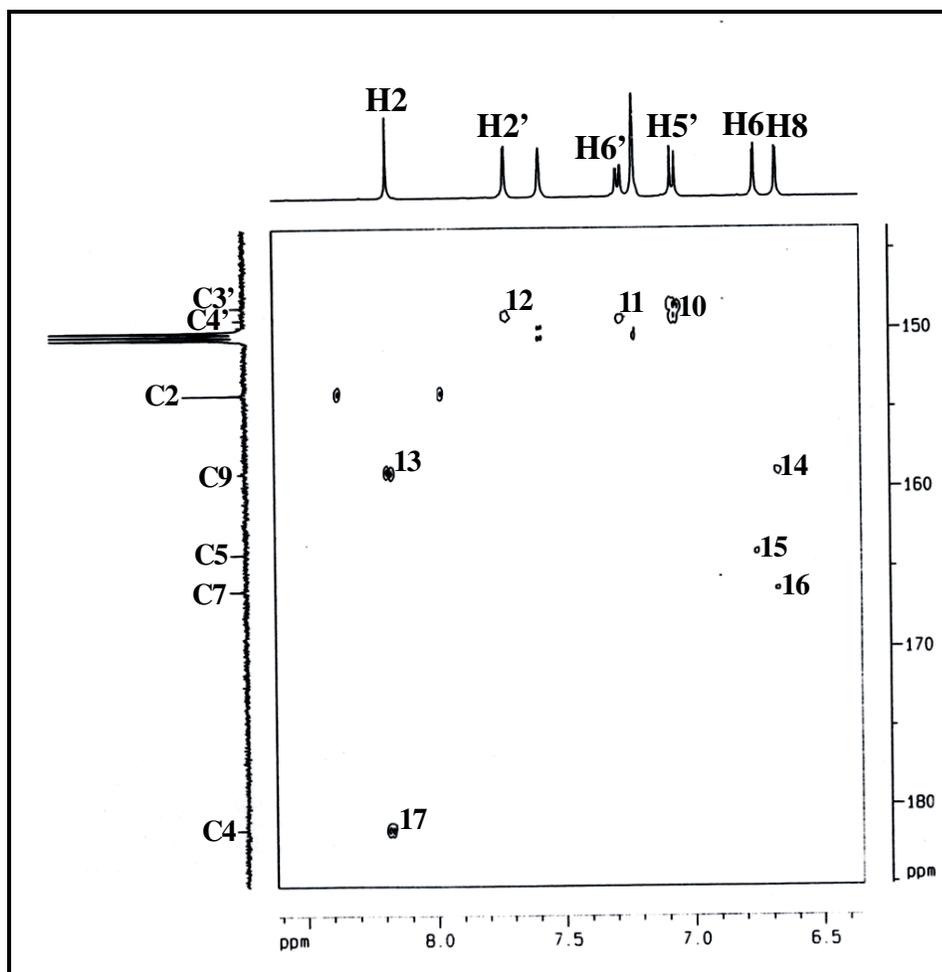
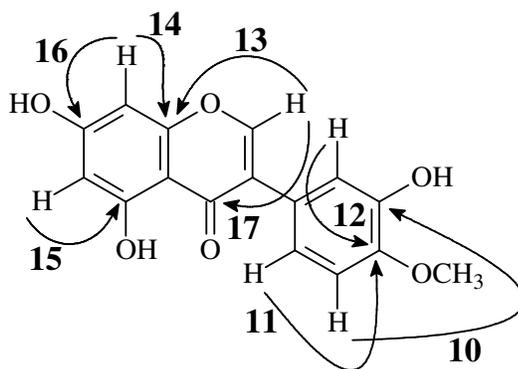


Figura 57: Expansão do espectro de correlação heteronuclear – HMBC (500 MHz, 125 MHz, C_5D_5N) de ASLE-3



4.7 - Determinação estrutural de ASLE-4a/b

O fracionamento cromatográfico da fração CH_2Cl_2 obtido da partição líquido-líquido do extrato etanólico de *A. surinamensis* (item 5.5.1.5, pág. 125), levou ao isolamento de um sólido amorfo branco apresentando faixa de fusão 271-273 °C.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Fig. 70, pág. 101), mostrou uma banda larga em 3417 cm^{-1} , associada a deformação axial de grupo hidroxila (OH), uma absorção em 2923 cm^{-1} atribuída a deformação axial de ligação carbono-hidrogênio (CH), além de absorções em 1074 e 1022 cm^{-1} representativa de deformação axial de álcool e/ou éter (C-O).

Os espectros de RMN ^1H (Fig. 65, pág. 99) e ^{13}C (Fig. 66, pág. 99) revelaram claramente que ASLE-4a/b tratava-se de uma mistura binária esteroidal glicosilada.

No espectro de RMN ^{13}C foram observadas trinta e cinco linhas espectrais majoritárias. A análise dos espectros de RMN ^{13}C – DEPT 135° (Fig. 68, pág.100), revelou a presença de um carbono não-hidrogenado em δ_{C} 141,3 e três carbonos metínicos δ_{C} 122,3; 129,9 e 139,2 ppm. Observou-se também a presença de sete linhas espectrais correspondentes a carbonos com hibridação sp^3 ligados a átomos de oxigênio, sendo seis destas características de uma unidade de glicose (δ_{C} 103,0; 75,7; 79,0; 72,1; 78,8 e 63,3 ppm).

Estes dados em conjunto com aqueles observados no espectro de RMN ^1H , o qual revelou os sinais δ_{H} 5,36; 5,22 e 5,05 ppm relativos a átomos de hidrogênios olefínicos, e ainda sinais em δ_{H} 4,58; 4,30; 4,29; 4,05 e 3,99 para a unidade glicosídica, levaram a conclusão de que ASLE-4a/b era constituída da mistura dos esteróides sitosterol e estigmasterol glicosilados. A Tabela 19, pág. 98, mostra a comparação com dados de RMN ^{13}C de ASLE-4a/b com dados registrados na literatura para a mistura dos esteróides sitosterol e estigmasterol glicosilados com faixa de fusão 267-270 °C [KOJIMA et al, 1990].

ASLE-4a: Δ^5

ASLE-4b: $\Delta^{5,22}$

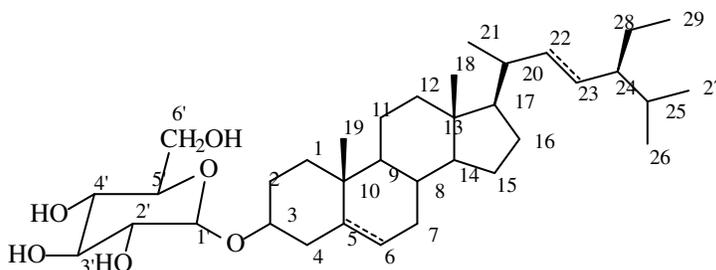
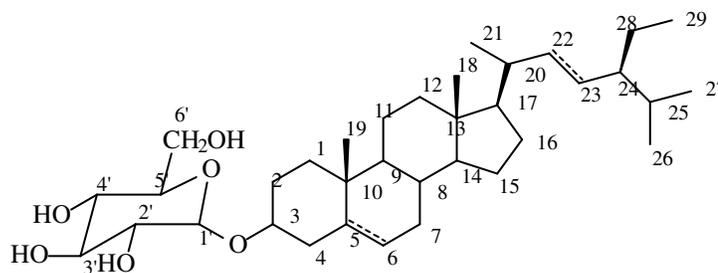


Tabela 19: Comparação entre os dados de RMN ^{13}C -BB de ASLE-4a e ASLE-4b (δ , piridina- d_5 , 125 MHz) com os dados descritos na literatura para a mistura β -sitosterol (**a**) e estigmasterol (**b**) glicosilados (δ , piridina- d_5 , 100 MHz) [KOJIMA et al, 1990].

Carbono	ASLE-4a	ASLE-4b	a	b
1		37,9		37,6
2		30,6		30,3
3		78,5		78,3
4		39,7		39,4
5		141,3		141,0
6		122,3		122,0
7		32,6		32,2
8		32,5		32,1
9		50,8		50,4
10		37,7		37,0
11		21,7		21,4
12	40,4	40,2	40,0	39,9
13	41,1	41,1	42,6	42,4
14	57,2	57,3	57,0	57,1
15	24,9	24,9	24,6	24,7
16	28,9	29,9	28,7	29,4
17	57,2	56,7	56,3	56,2
18	12,4	12,5	12,0	12,3
19		19,6		19,3
20	36,8	40,4	36,5	40,9
21	19,4	23,8	19,1	21,7
22	34,6	139,2	34,3	138,9
23	26,8	129,9	26,4	129,5
24	46,5	51,8	46,1	51,5
25	30,4	32,6	29,5	32,2
26	19,8	21,8	19,5	21,4
27		20,3		20,1
28	24,9	26,8	23,4	25,8
29	12,4	12,9	12,2	12,6
1'		103,0		102,6
2'		75,7		75,4
3'		79,0		78,7
4'		72,1		71,7
5'		78,8		78,5
6'		63,3		62,9

ASLE-4a: Δ^5
ASLE-4b: $\Delta^{5,22}$



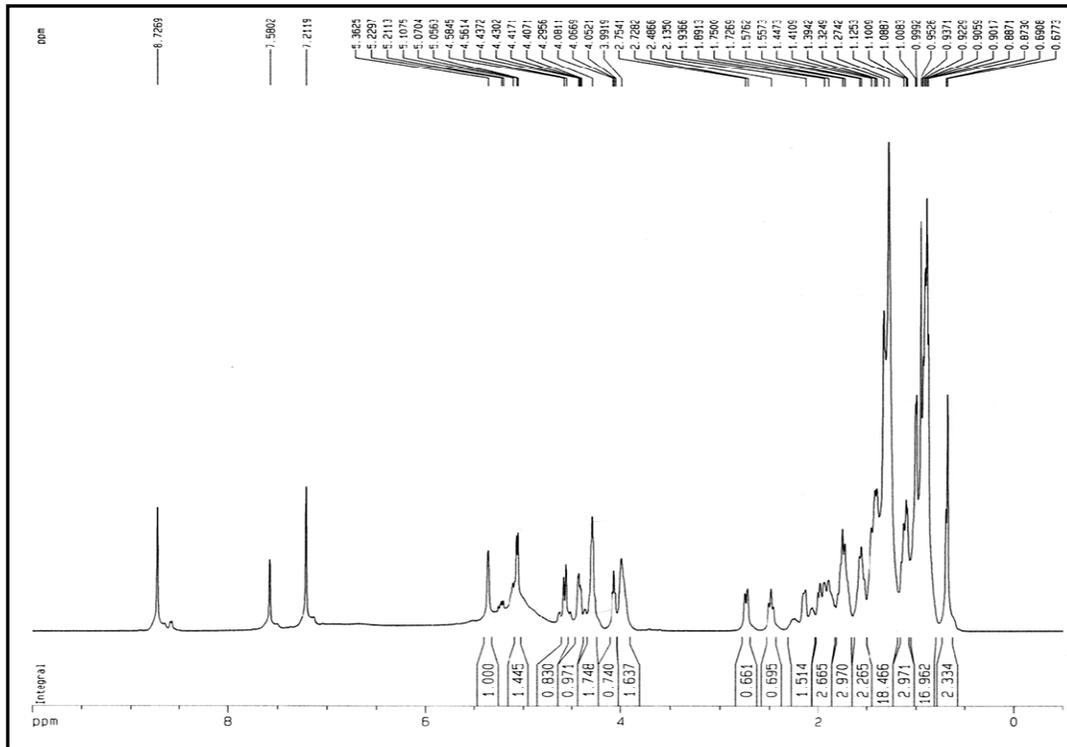


Figura 58: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, piridina- d_5) de ASLE-4a/b

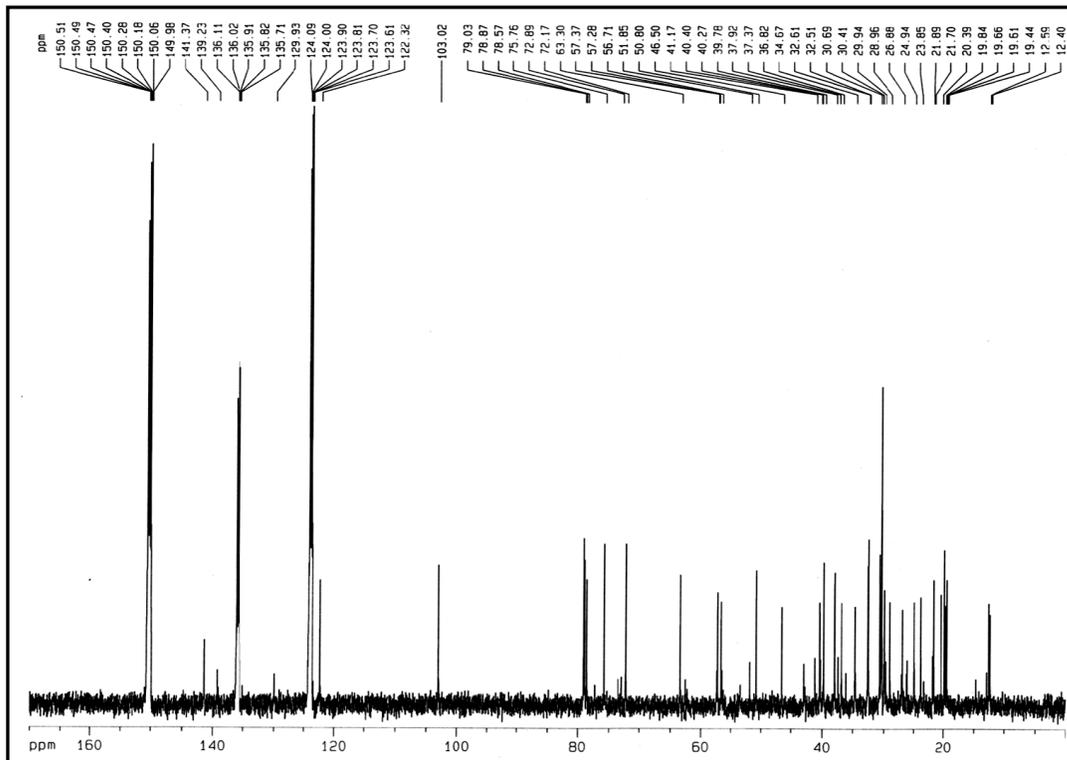


Figura 59: Espectro de RMN ^{13}C BB (125 MHz, piridina- d_5) de ASLE-4a/b

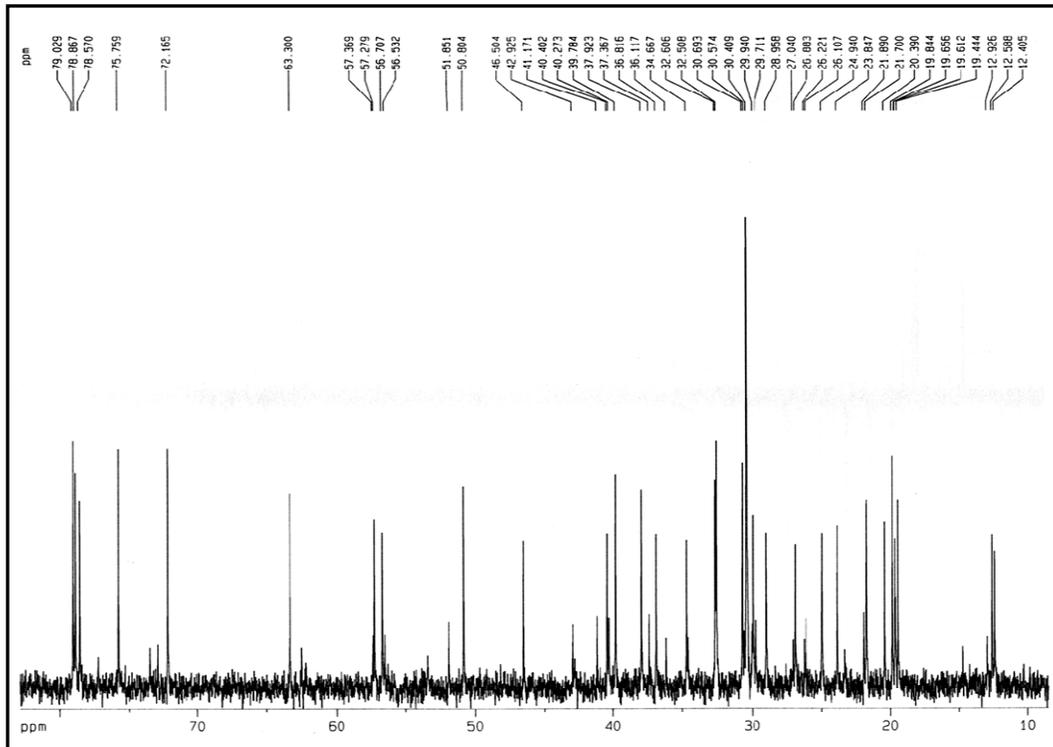


Figura 60: Expansão do espectro de RMN ^{13}C BB (125 MHz, piridina- d_5) de ASLE-4a/b

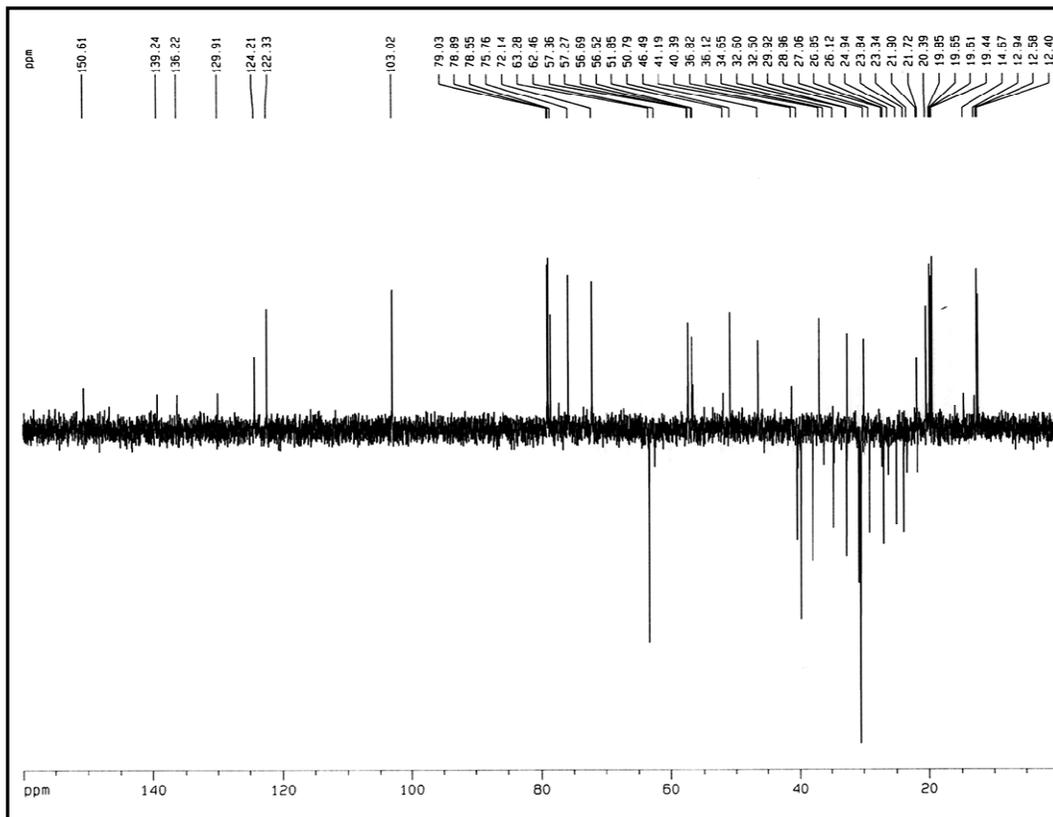


Figura 61: Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125 MHz, piridina- d_5) de ASLE-4a/b

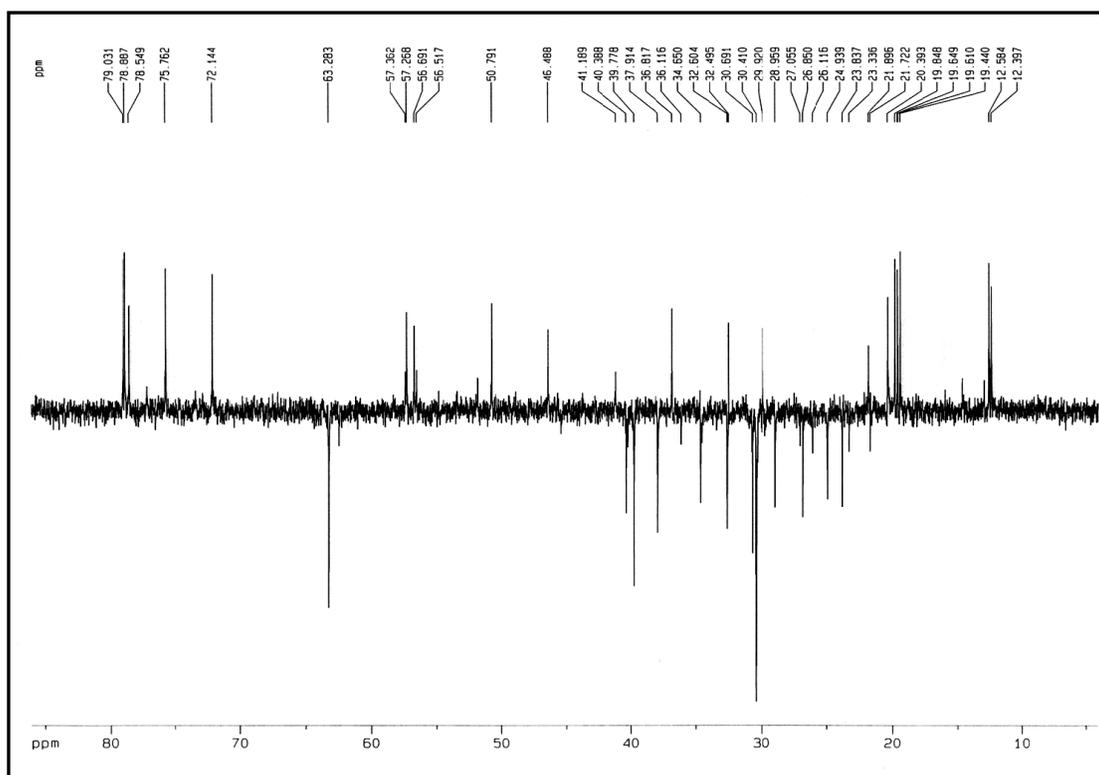


Figura 62: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, piridina- d_5) de ASLE-4a/b

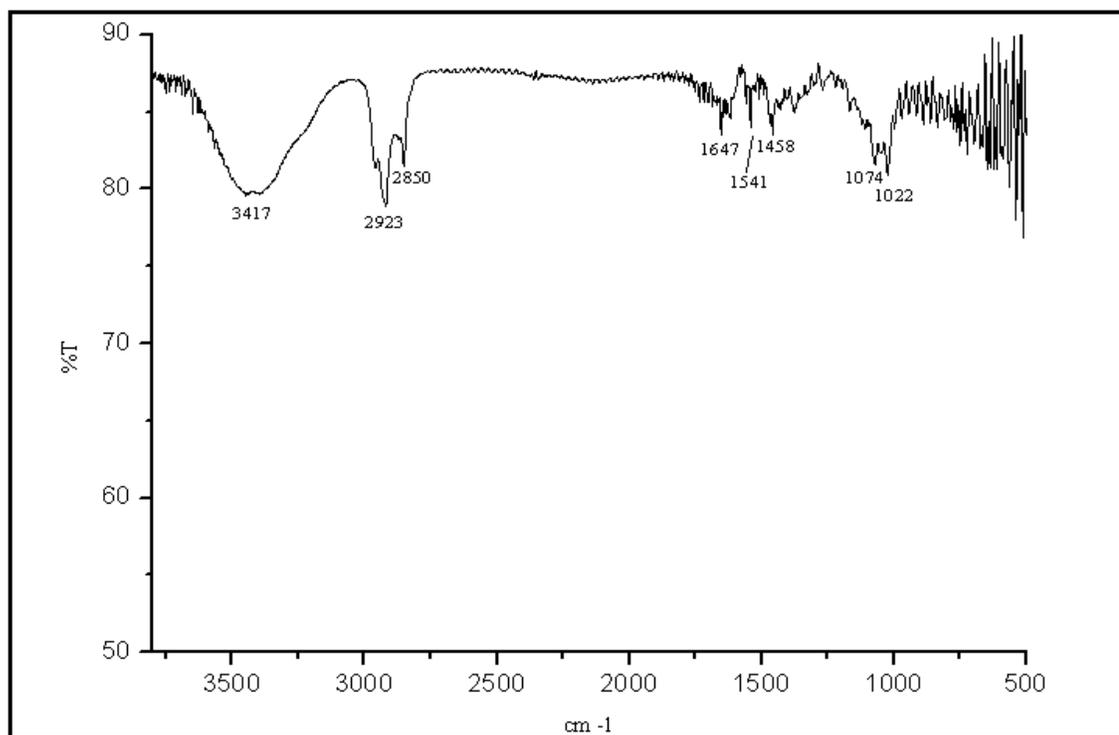


Figura 63: Espectro infravermelho de ASLE-4a/b (KBr)

4.8 - Identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas e frutos de *P. divaricatum*.

O termo óleo essencial pode ser definido como uma mistura líquida de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas [SIMÕES et al, 2000]. Os óleos essenciais podem ser extraídos de várias partes da planta (folhas, flores, raiz, tronco) por diversas técnicas, sendo a destilação a vapor de água e a hidrodestilação, as mais utilizadas.

Os óleos essenciais são misturas complexas que podem conter até 100 ou mais compostos orgânicos. Seus constituintes podem pertencer às mais diversas classes de compostos, porém os terpenos e os fenilpropanóides são as classes de compostos mais comumente encontradas. Os terpenos encontrados com maior frequência nos óleos essenciais são os monoterpenos e sesquiterpenos. Os diterpenos são constituintes minoritários dos óleos essenciais [ERICKSON, 1976]

O estudo dos constituintes químicos voláteis de um espécimen de *P. divaricatum* foi realizado com os óleos obtidos a partir das folhas (FD) e frutos (FRD), os quais foram coletados em agosto de 2006, na localidade de Pico Alto, município de Guaramiranga, Estado do Ceará.

As extrações dos óleos essenciais foram realizadas por hidrodestilação em aparelho doseador tipo Clevenger.

A análise dos constituintes de cada óleo foi realizada utilizando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM) e cromatografia gasosa equipada com detector de ionização de chama (CG-DIC).

A identificação dos componentes voláteis foi realizada por comparação dos espectros de massas dos componentes do óleo, com espectros de massas armazenados em banco de dados (espectroteca), índices de Kovats e confirmados por comparação visual com espectro de massas disponíveis na literatura, considerando rigorosamente o padrão de fragmentação e intensidade dos picos [ADAMS, 2001].

As análises dos óleos essenciais estão sumarizados na Tabela 20 (pág. 103), registrando-se os principais constituintes químicos presentes. Um total de 24 compostos voláteis foram identificados. Do óleo essencial das folhas foram identificados um total de 96,8% dos constituintes, sendo a maior percentagem constituída de monoterpenos (81,1%), com predominância do β -pineno (25,3%), linalool (23,4%) e α -pineno (18,8%). Quanto aos frutos

desta espécie, foi possível identificar 94,3 % dos constituintes presentes, onde os compostos majoritários foram α -pineno (17,6%), β -pineno (18,0%), que são da classe de monoterpenos. Marcante também, foi a presença dos sesquiterpenos (*E*)-cariofileno (11,4%) e (*E*)-muurola-4(14),5-dieno (9,0%). Os cromatogramas (CG-EM e CG-DIC) dos componentes identificados encontra-se apresentados a partir da página 104.

Tabela 20: Constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas e dos frutos de *P. divaricatum*.

Constituintes	I. K. c	Folhas	Frutos
		Porcentagem*	
α -pineno	937	18.8	17.6
β -pineno	977	25.3	18.0
mirceno	991	1.5	2.0
α -felandreno	1004	-	4.6
silvestreno	1029	-	1.1
1,8-cineole	1031	9.6	0.7
linalool	1103	23.4	3.3
Isoborneol	1170	0.2	-
borneol	1172	-	1.1
α -terpineol	1197	2.3	1.2
δ -elemeno	1349	-	1.1
β -elemeno	1402	0.6	2.8
(<i>E</i>)-cariofileno	1430	3.2	11.4
α -humuleno	1460	-	0.9
germacreno D	1481	6.3	0.9
(<i>E</i>)-muurola-4(14),5-dieno	1486	-	9.0
bicyclgermacreno	1500	2.5	6.9
γ -cadineno	1514	-	1.3
δ -cadineno	1522	0.8	2.1
germacreno B	1557	1.3	4.1
globulol	1575	-	2.2
viridiflorol	1580	0.7	2.0
β -eudesmol	1636	0.2	-
α -eudesmol	1639	0.1	-
Monoterpenos		81.1	49.6
Sesquiterpenos		15.7	44.7
Total (%)		96.8	94.3

* Obtidas por CG-DIC

I.K.c Índice de Kovats calculado por regressão linear

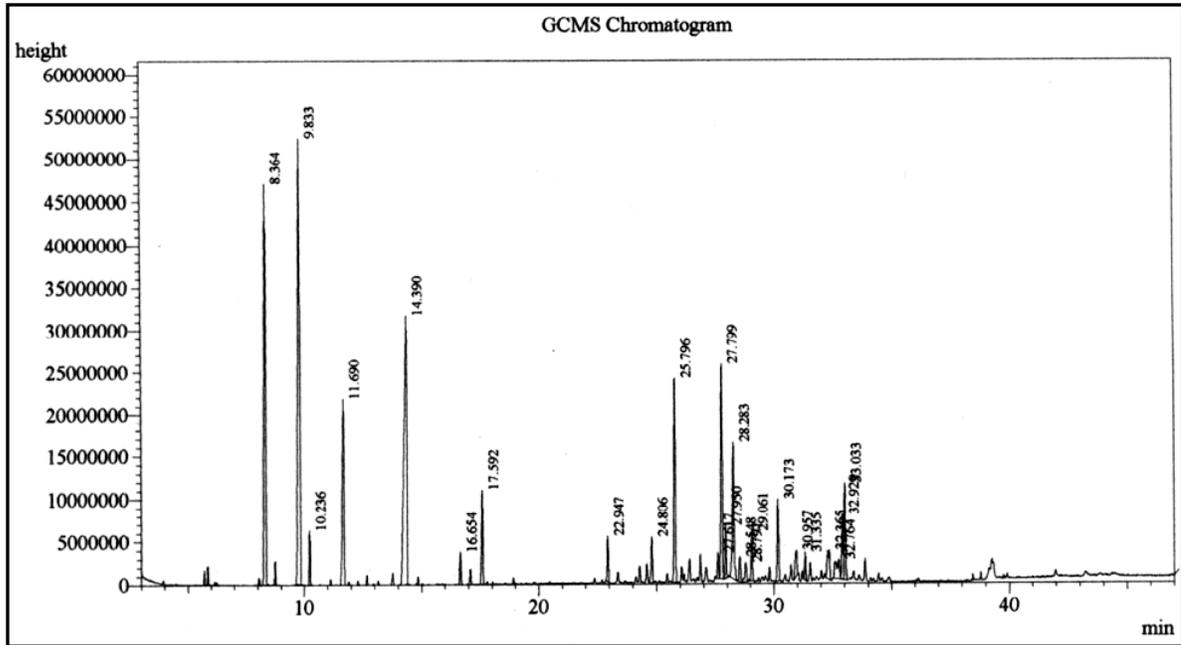


Figura 64: Cromatograma (CG-EM) do óleo essencial das folhas de *P. divaricatum*.

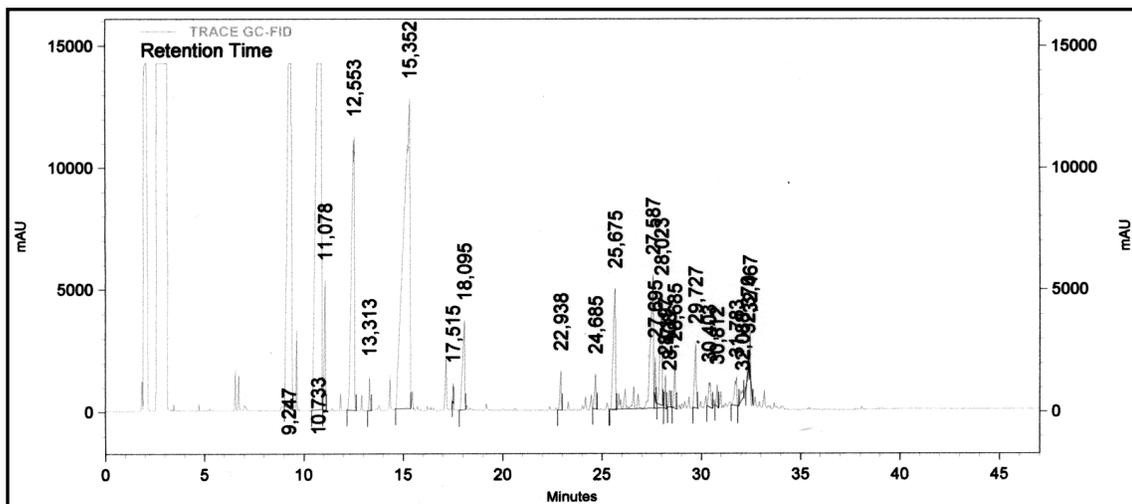


Figura 65: Cromatograma (GC-DIC) do óleo essencial das folhas de *P. divaricatum*.

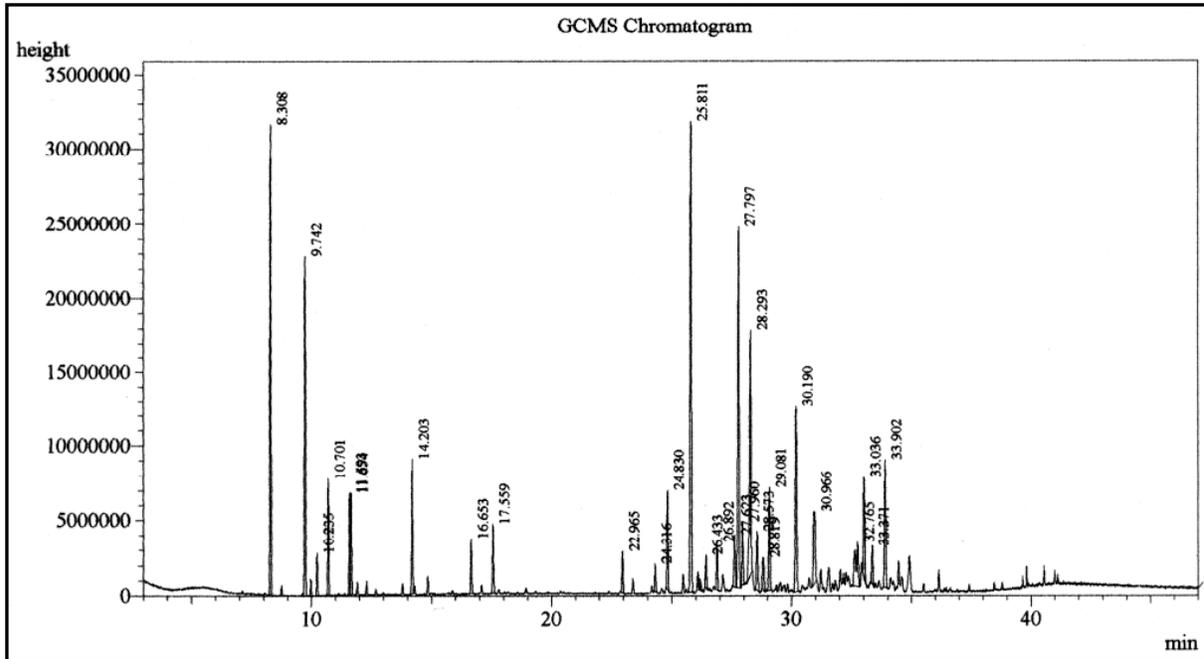


Figura 66: Cromatograma (CG-EM) do óleo essencial dos frutos de *P. divaricatum*

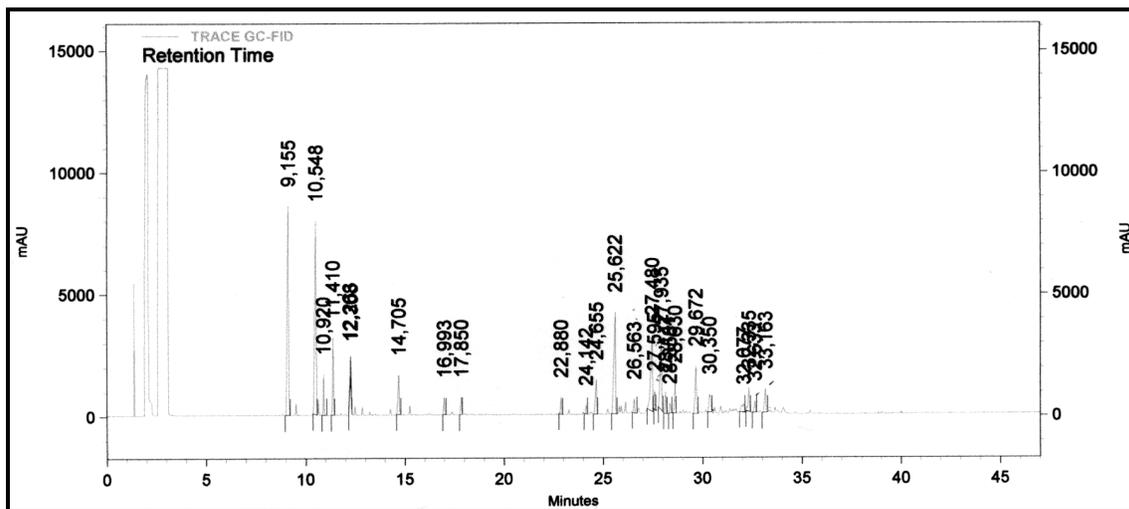


Figura 67: Cromatograma (CG-DIC) do óleo essencial dos frutos de *P. divaricatum*

Line#:1 R.Time:8.308(Scan#:638) MassPeaks:50 BasePeak:93.00(6215316)
RawMode:Averaged 8.300-8.317(637-639) BG Mode:Calc. from Peak

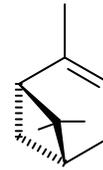
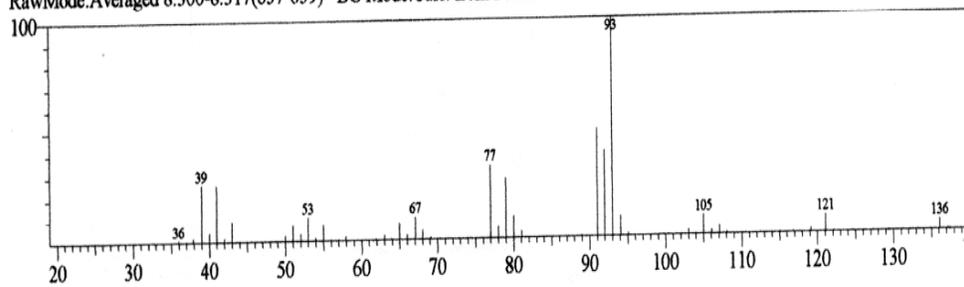


Figura 68: Espectro de massa do α -pineno

Line#:2 R.Time:9.742(Scan#:810) MassPeaks:46 BasePeak:93.00(4381765)
RawMode:Averaged 9.733-9.750(809-811) BG Mode:Calc. from Peak

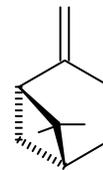
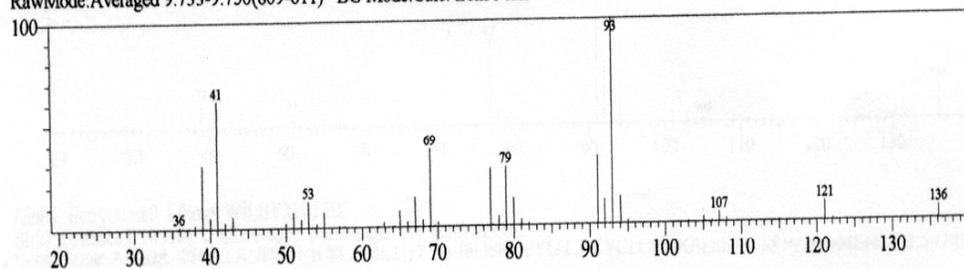


Figura 69: Espectro de massa do β -pineno

Line#:3 R.Time:10.233(Scan#:869) MassPeaks:45 BasePeak:41.00(586449)
RawMode:Averaged 10.225-10.242(868-870) BG Mode:Calc. from Peak

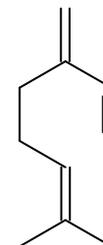
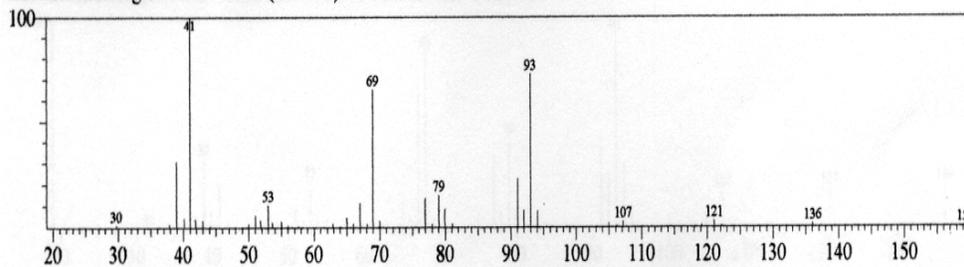


Figura 70: Espectro de massa do mirceno

Line#:4 R.Time:10.700(Scan#:925) MassPeaks:40 BasePeak:93.00(1948531)
RawMode:Averaged 10.692-10.708(924-926) BG Mode:Calc. from Peak

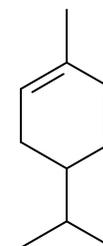
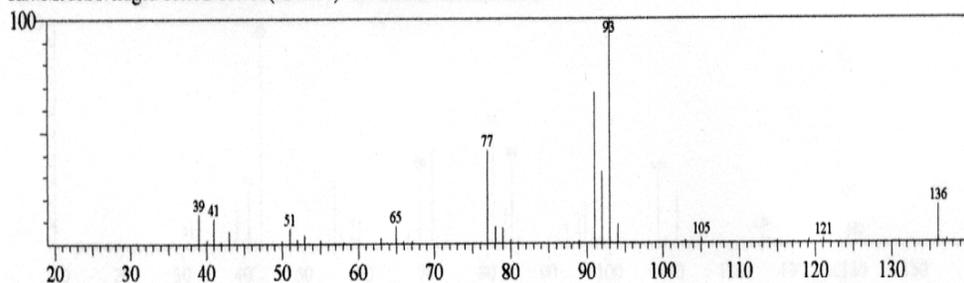


Figura 71: Espectro de massa do α -felandreno

Line#:5 R.Time:11.592(Scan#:1032) MassPeaks:50 BasePeak:93.05(734951)
RawMode:Averaged 11.583-11.600(1031-1033) BG Mode:Calc. from Peak

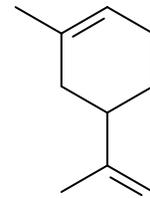
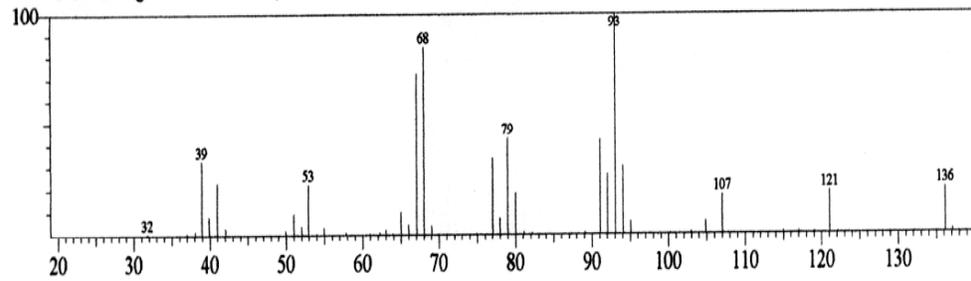


Figura 72: Espectro de massa do silvestreno

Line#:6 R.Time:11.658(Scan#:1040) MassPeaks:52 BasePeak:42.95(792821)
RawMode:Averaged 11.650-11.667(1039-1041) BG Mode:Calc. from Peak

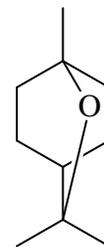
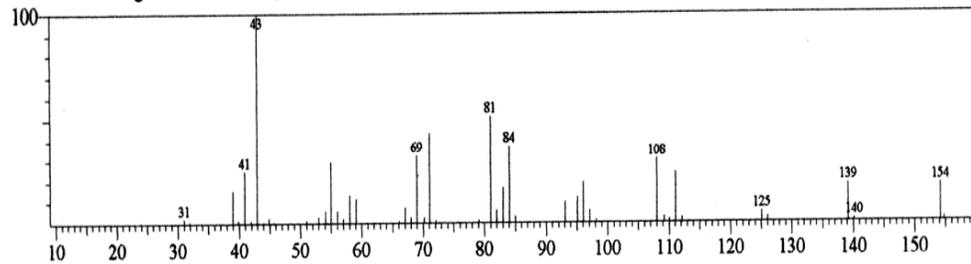


Figura 73: Espectro de massa do 1,8-cineole

Line#:7 R.Time:14.200(Scan#:1345) MassPeaks:64 BasePeak:71.00(1110632)
RawMode:Averaged 14.192-14.208(1344-1346) BG Mode:Calc. from Peak

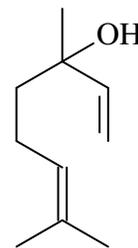
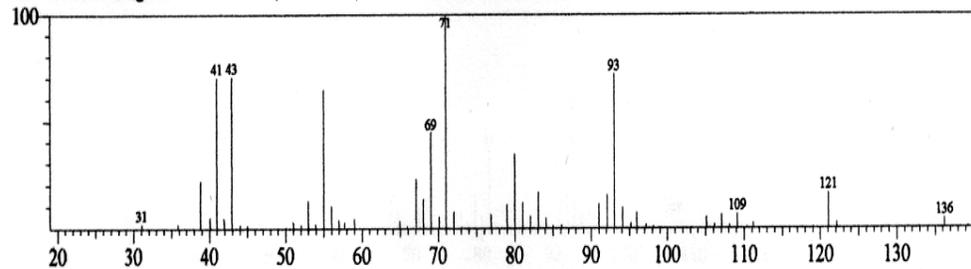


Figura 74: Espectro de massa do linalool

Line#:6 R.Time:16.650(Scan#:1639) MassPeaks:62 BasePeak:95.10(985100)
RawMode:Averaged 16.642-16.658(1638-1640) BG Mode:Calc. from Peak

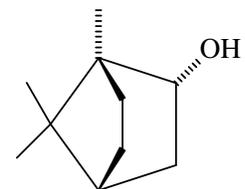
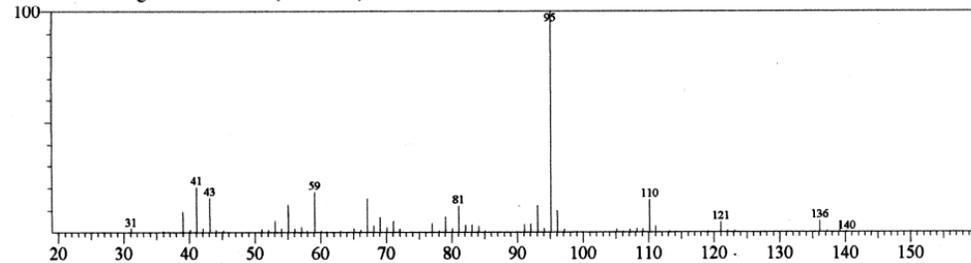


Figura 75: Espectro de massa do isoborneol

Line#:8 R.Time:16.650(Scan#:1639) MassPeaks:54 BasePeak:95.05(1122600)
RawMode:Averaged 16.642-16.658(1638-1640) BG Mode:Calc. from Peak

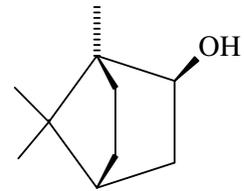
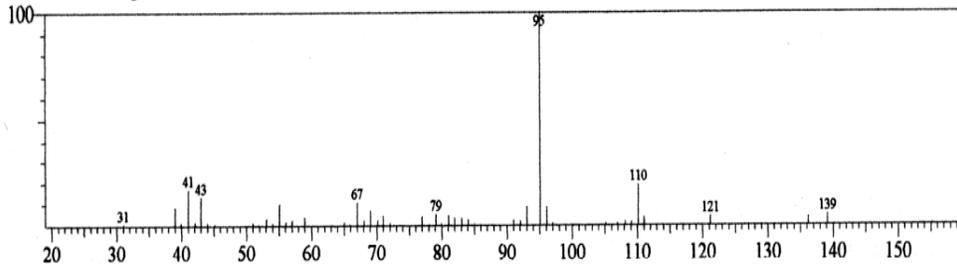


Figura 76: Espectro de massa do borneol

Line#:9 R.Time:17.558(Scan#:1748) MassPeaks:57 BasePeak:59.00(814875)
RawMode:Averaged 17.550-17.567(1747-1749) BG Mode:Calc. from Peak

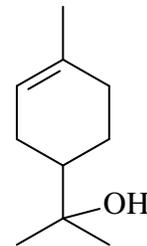
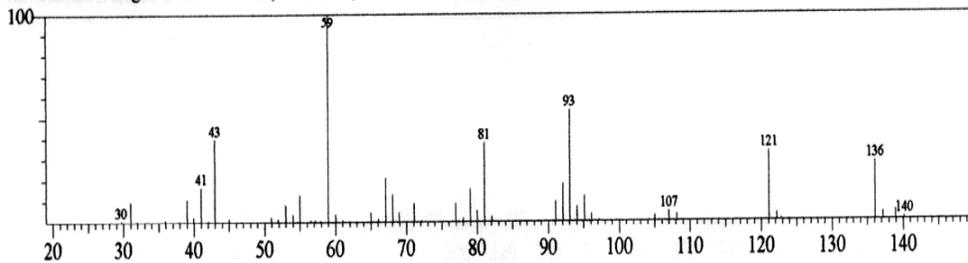


Figura 77: Espectro de massa do α - terpineol

Line#:10 R.Time:22.967(Scan#:2397) MassPeaks:88 BasePeak:93.05(358436)
RawMode:Averaged 22.958-22.975(2396-2398) BG Mode:Calc. from Peak

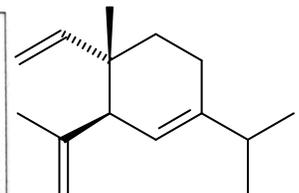
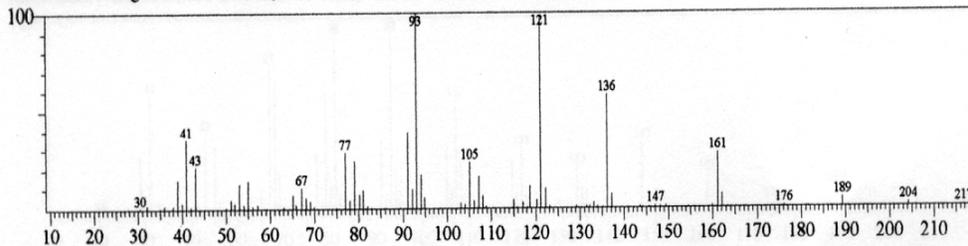


Figura 78: Espectro de massa do δ -elemeno

Line#:12 R.Time:24.833(Scan#:2621) MassPeaks:82 BasePeak:93.05(526258)
RawMode:Averaged 24.825-24.842(2620-2622) BG Mode:Calc. from Peak

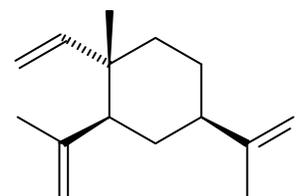
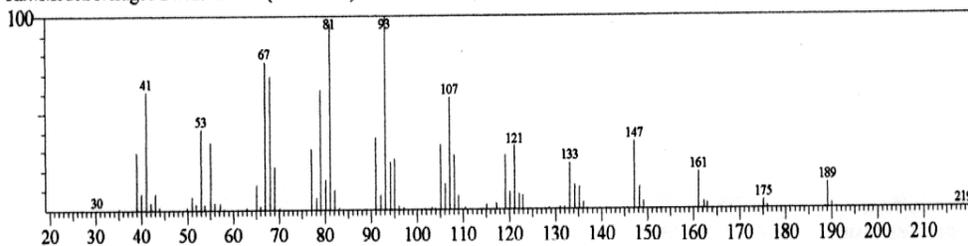


Figura 79: Espectro de massa do β - elemeno

Line#:13 R.Time:25.808(Scan#:2738) MassPeaks:88 BasePeak:41.00(2427944)
RawMode:Averaged 25.800-25.817(2737-2739) BG Mode:Calc. from Peak

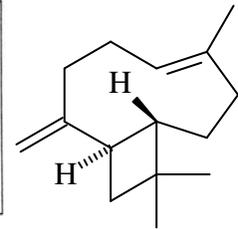
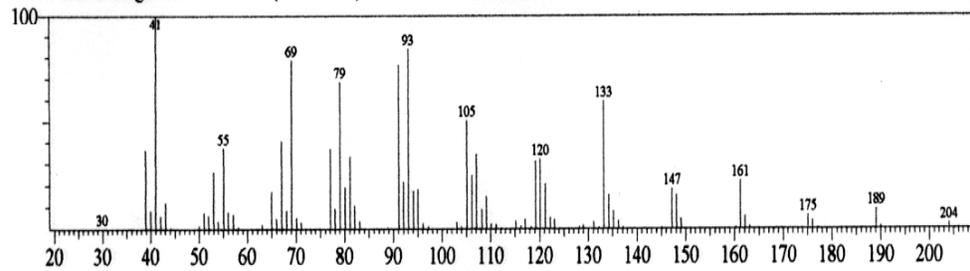


Figura 80: Espectro de massa do (*E*)-cariofileno

Line#:15 R.Time:26.892(Scan#:2868) MassPeaks:70 BasePeak:93.05(602070)
RawMode:Averaged 26.883-26.900(2867-2869) BG Mode:Calc. from Peak

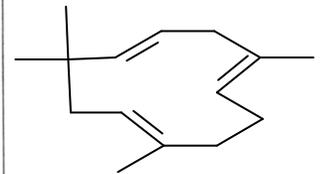
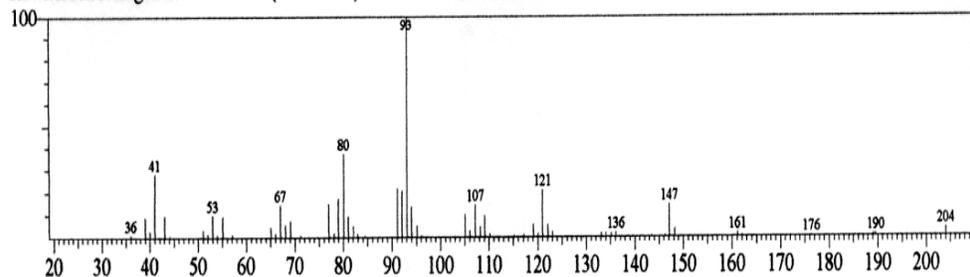


Figura 81: Espectro de massa do α -humuleno

Line#:16 R.Time:27.625(Scan#:2956) MassPeaks:100 BasePeak:161.10(322895)
RawMode:Averaged 27.617-27.633(2955-2957) BG Mode:Calc. from Peak

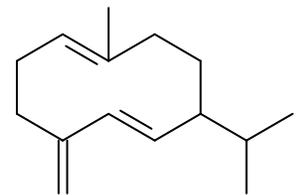
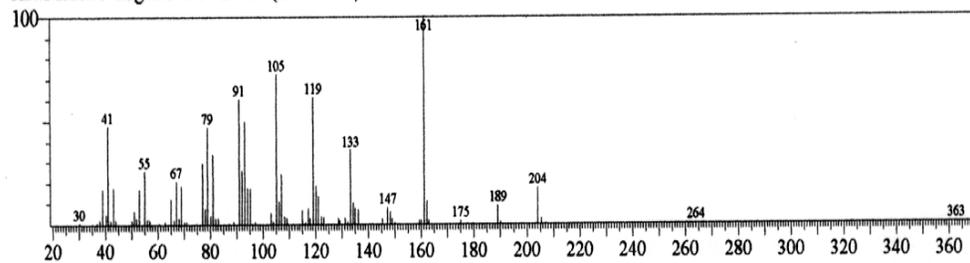


Figura 82: Espectro de massa do germacreno – D

Line#:17 R.Time:27.800(Scan#:2977) MassPeaks:82 BasePeak:161.10(2347114)
RawMode:Averaged 27.792-27.808(2976-2978) BG Mode:Calc. from Peak

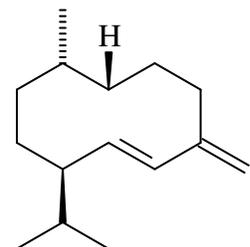
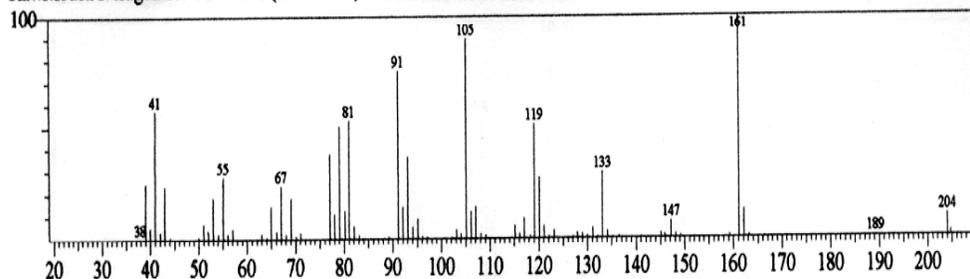


Figura 83: Espectro de massa do (*E*) muurola-4(14)5-dieno

Line#:19 R.Time:28.292(Scan#:3036) MassPeaks:87 BasePeak:121.05(1633516)
RawMode:Averaged 28.283-28.300(3035-3037) BG Mode:Calc. from Peak

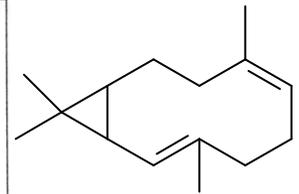
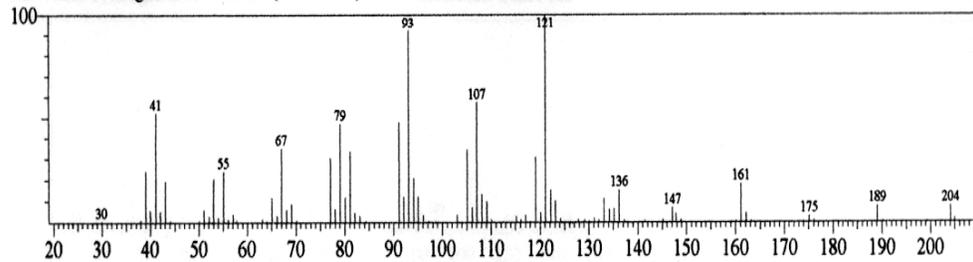


Figura 84: Espectro de massa do bicylogermacreno

Line#:21 R.Time:28.817(Scan#:3099) MassPeaks:132 BasePeak:161.15(212254)
RawMode:Averaged 28.808-28.825(3098-3100) BG Mode:Calc. from Peak

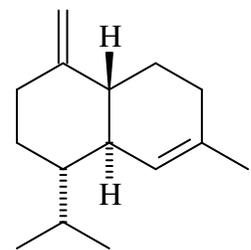
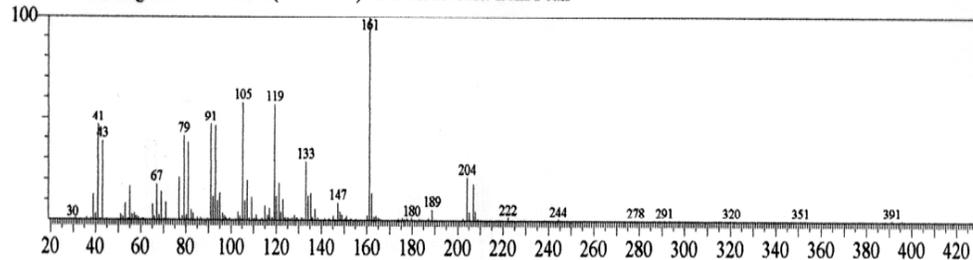


Figura 85: Espectro de massa do γ -cadineno

Line#:22 R.Time:29.083(Scan#:3131) MassPeaks:99 BasePeak:161.15(658559)
RawMode:Averaged 29.075-29.092(3130-3132) BG Mode:Calc. from Peak

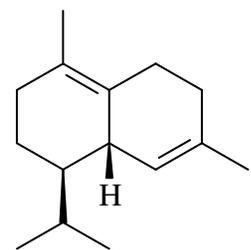
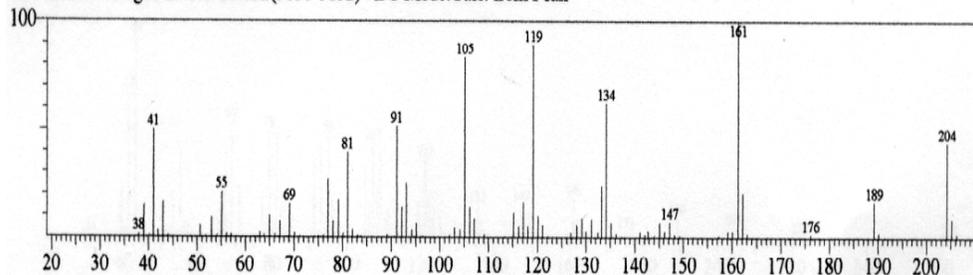


Figura 86: Espectro de massa do δ -cadineno

Line#:23 R.Time:30.192(Scan#:3264) MassPeaks:102 BasePeak:121.15(811248)
RawMode:Averaged 30.183-30.200(3263-3265) BG Mode:Calc. from Peak

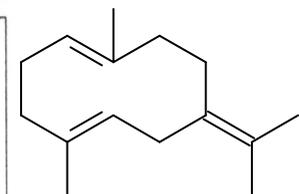
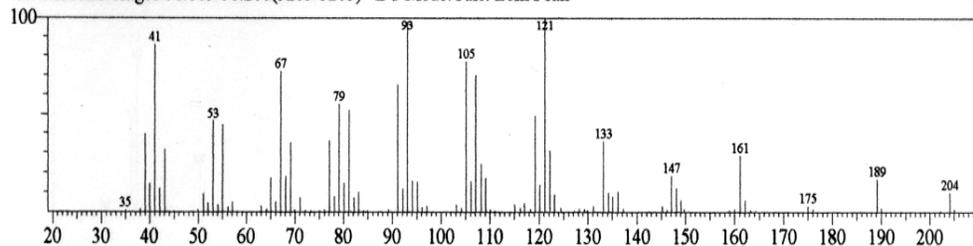


Figura 87: Espectro de massa do germacreno B

Line#:24 R.Time:30.967(Scan#:3357) MassPeaks:121 BasePeak:42.95(377056)
RawMode:Averaged 30.958-30.975(3356-3358) BG Mode:Calc. from Peak

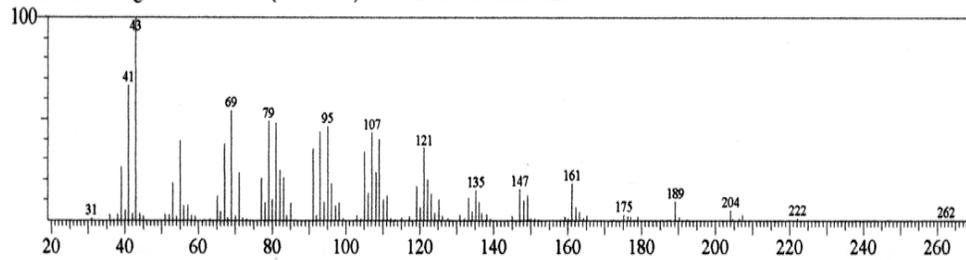
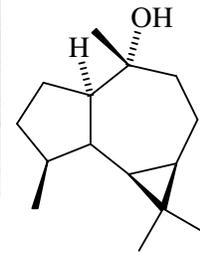


Figura 88: Espectro de massa do globulol



Line#:26 R.Time:33.033(Scan#:3605) MassPeaks:112 BasePeak:43.00(548170)
RawMode:Averaged 33.025-33.042(3604-3606) BG Mode:Calc. from Peak

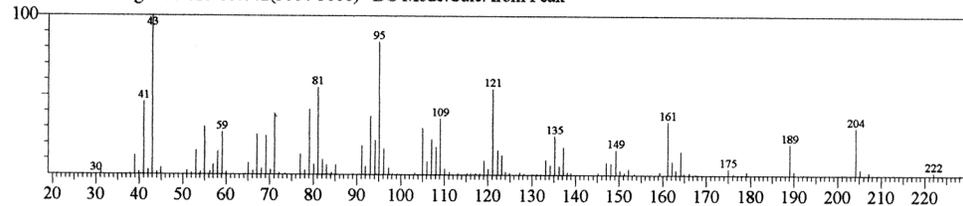
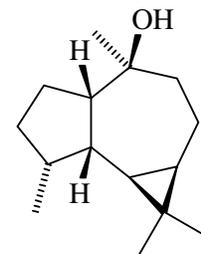


Figura 89: Espectro de massa do viridiflorol



Line#:23 R.Time:32.925(Scan#:3592) MassPeaks:73 BasePeak:59.05(1121825)
RawMode:Averaged 32.917-32.933(3591-3593) BG Mode:Calc. from Peak

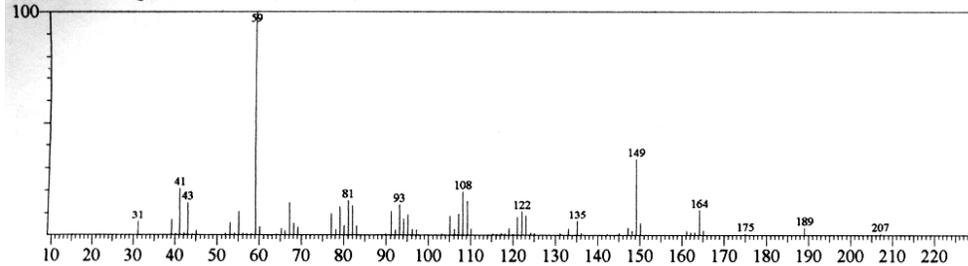
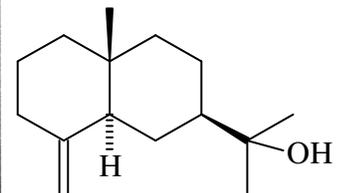


Figura 90: Espectro de massa do β -eudesmol



Line#:24 R.Time:33.033(Scan#:3605) MassPeaks:112 BasePeak:59.05(881817)
RawMode:Averaged 33.025-33.042(3604-3606) BG Mode:Calc. from Peak

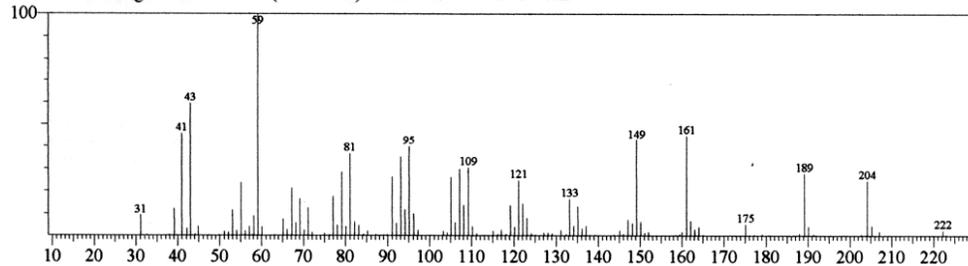
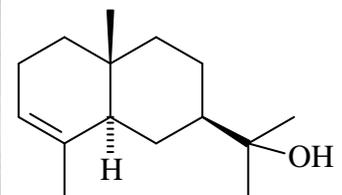


Figura 91: Espectro de massa do α -eudesmol



Capítulo 5

Parte Experimental



5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 MÉTODOS DE ANÁLISE

As cromatografias de adsorção em coluna foram realizadas utilizando-se gel de sílica 60 (63-200 μm) cód. 1095 e sílica 60 para cromatografia “flash” (40-63 μm) da Vetec. O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades de material a serem cromatografados e adsorventes empregados. Para as cromatografias em camada delgada (CCD), utilizou-se gel de sílica Vetec cód. 1095 e cromatofolhas comerciais de gel de sílica 60 F₂₅₄ (μm 2-25) sobre poliéster T-6145 da Merck (com indicador de fluorescência na faixa de 254 μm).

As revelações das substâncias nas cromatoplas analítica foram realizadas através da exposição destas à radiação ultravioleta (UV) em dois comprimentos de onda (254 e 366 μm), emitidos por lâmpadas modelo UVSL-25 da Mineral Light, pela pulverização com solução de vanilina ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$) ácido perclórico (HClO_4) etanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$), seguido de aquecimento ($\approx 100^\circ\text{C}$) por aproximadamente 5 minutos ou ainda por saturação em câmara de iodo.

Os solventes utilizados como eluentes foram: hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol, puros ou em misturas binária de forma a obter um gradiente crescente de polaridade. Os solventes foram previamente destilados ou de qualidade P.A.

5.2 MÉTODOS FÍSICOS DE ANÁLISE

Os espectros apresentados neste trabalho foram registrados em aparelhos pertencentes a Central Analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará e do CENAUREMN (Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear).

5.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro Perkin-Elmer, modelo Spectrum 1000. Para a obtenção dos espectros das substâncias isoladas utilizou-se pastilhas de brometo de potássio (KBr).

5.2.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e carbono-13 (RMN ^{13}C), unidimensionais e bidimensionais foram obtidos junto ao Centro Nordestino de Aplicação e uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN), coordenado pelo Prof. Dr. Edilberto S. Rocha do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. Os espectros foram registrados em espectrômetro Bruker, DRX-500, operando à frequência de 500 MHz para hidrogênio e 125 MHz para carbono-13.

Os solventes utilizados nas dissoluções das substâncias foram clorofórmio (CDCl_3), acetona ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) e piridina ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão e foram referenciados para RMN ^1H pelo pico de hidrogênio pertencente à fração não deuterada do solvente clorofórmio (δ_{H} 7,3), acetona (2,04) e piridina (δ_{H} 8,7; 7,6 e 7,2). As multiplicidades das absorções foram indicadas segundo a convenção: *s* (singleto), *d* (dubleto), *dd* (duplo dubleto) e *m* (multiplete). Para os espectros de RMN ^{13}C , os deslocamentos químicos (δ) foram referenciados pelos picos dos carbonos-13 dos solventes: Clorofórmio (δ 77,0), acetona (δ 29,8 e 206,5) e piridina (δ 123,5; 135,5 e 149,2).

O padrão de hidrogenação dos carbonos foi determinado através da utilização da técnica de RMN ^{13}C - DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*), com ângulo de natação de 135° (CH e CH_3 com amplitudes em oposição aos CH_2) e foi descrito segundo a convenção: C (carbono não-hidrogenado), CH (carbono metínico), CH_2 (carbono metilênico) e CH_3 (carbono metílico). Os carbonos não-hidrogenados foram caracterizados através da subtração dos sinais espectrais observados nos espectros de RMN ^{13}C BB (*Broad Band*) e DEPT 135° .

5.2.3 Espectrometria de massa (EM)

Os espectros de massa foram obtidos em espectrometria de massa Shimadzu, modelo QP-5050 A, acoplado a cromatógrafo de gás líquido, modelo GC-17^a, serie II (CG/EM), provido de coluna capilar apolar DB-1 (30,0m x 0,25mm x 0,25µm), utilizando um gradiente de aumento de temperatura de 4,0 °C/min. de 40 a 180 °C e 20 °C/min. de 180 a 280 °C, sendo a temperatura do injetor de 250 °C e a do detector de 280°C.

5.2.4 Ponto de fusão

O ponto de fusão foi determinado em equipamento de micro determinação METTLER, provido de placa aquecedora modelo FP82HT e unidade de controle FP90. A determinação da faixa de fusão foi realizada a uma velocidade de aquecimento de 2°C/min.

5.2.5 Rotação óptica

A determinação da rotação óptica foi realizada em um Polarímetro 341 da Perkin-Elmer, à temperatura de 25°C.

5.3 MATERIAL VEGETAL

O trabalho de pesquisa realizado teve como objetivo, o estudo químico de duas espécies vegetais:

- *Piper divaricatum* (frutos e folhas) coletado na localidade de Pico Alto, no município de Guaramiranga-CE, em agosto de 2006.
- *Andira surinamensis* (cascas e lenho) coletada no campus do Pici, da Universidade Federal do Ceará, em maio de 2006. A identificação botânica foi realizada pelo professor Edson de Paula Nunes do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará. As exsicatas referentes às plantas encontram-se depositadas no Herbário Prisco Bezerra daquele Departamento, sob números de registros 38219 e 35439, respectivamente.

5.4 ISOLAMENTO DOS CONSTITUENTES QUÍMICOS FIXOS DAS CASCAS DO LENHO DE *ANDIRA SURINAMENSIS*

5.4.1 Elaboração do extrato hexânico

As cascas do lenho (1500g), secas à temperatura ambiente e trituradas mecanicamente foram submetidas à extração com hexano. A solução resultante foi filtrada e em seguida destilada a pressão reduzida, fornecendo 3,14 g de material denominado de ASCH.

5.4.1.1 Fracionamento cromatográfico do extrato ASCH

3,14 g do extrato ASCH foram misturados a 15g de sílica, pulverizados em gral de porcelana e acondicionados sobre 47 g de gel de sílica em coluna de $\Phi = 4\text{cm}$. O Fracionamento cromatográfico por eluições sucessivas com hexano, diclorometano e acetato de etila, resultou nas frações constantes na Tabela 21, a seguir.

Tabela 21: Dados resultantes do fracionamento cromatográfico da fração ASCH.

Eluente	Frações	Pesos(mg)
Hexano	ASCH-h	0000
Hexano/CH ₂ Cl ₂ 1:1	ASCH-hc	1100
CH ₂ Cl ₂	ASCH-c	1150
Acetato de etila	ASCH-ac	400

5.4.1.2 Fracionamento cromatográfico da fração ASCH-hc

A fração ASCH-hc (1,1g), foi misturada com 2 g de sílica, macerados em gral de porcelana e em seguida depositados sobre 10 g de gel de sílica, em coluna de $\Phi = 3\text{ cm}$. Os eluentes utilizados foram hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade. Foram recolhidas 90 frações de 10 mL como mostrado na Tabela 22, pág. 117.

Tabela 22: Dados referente ao tratamento cromatográfico da fração ASCH-hc

Eluente	Concentração(%)	Frações obtidas	Frações reunidas	pesos (mg)
Hexano	100	1-14		
Hexano/CH ₂ Cl ₂	10	15-24		
Hexano/CH ₂ Cl ₂	20	25-40	1-23	383
Hexano/CH ₂ Cl ₂	30	41-50	24-42	120
Hexano/CH ₂ Cl ₂	40	51-61	43-53	155
Hexano/CH ₂ Cl ₂	50	62-67	54-69	175
Hexano/CH ₂ Cl ₂	75	68-73	70-84	60
CH ₂ Cl ₂	100	74-80	85-90	181
Acetato de etila	100	81-85		
Metanol	100	86-90		

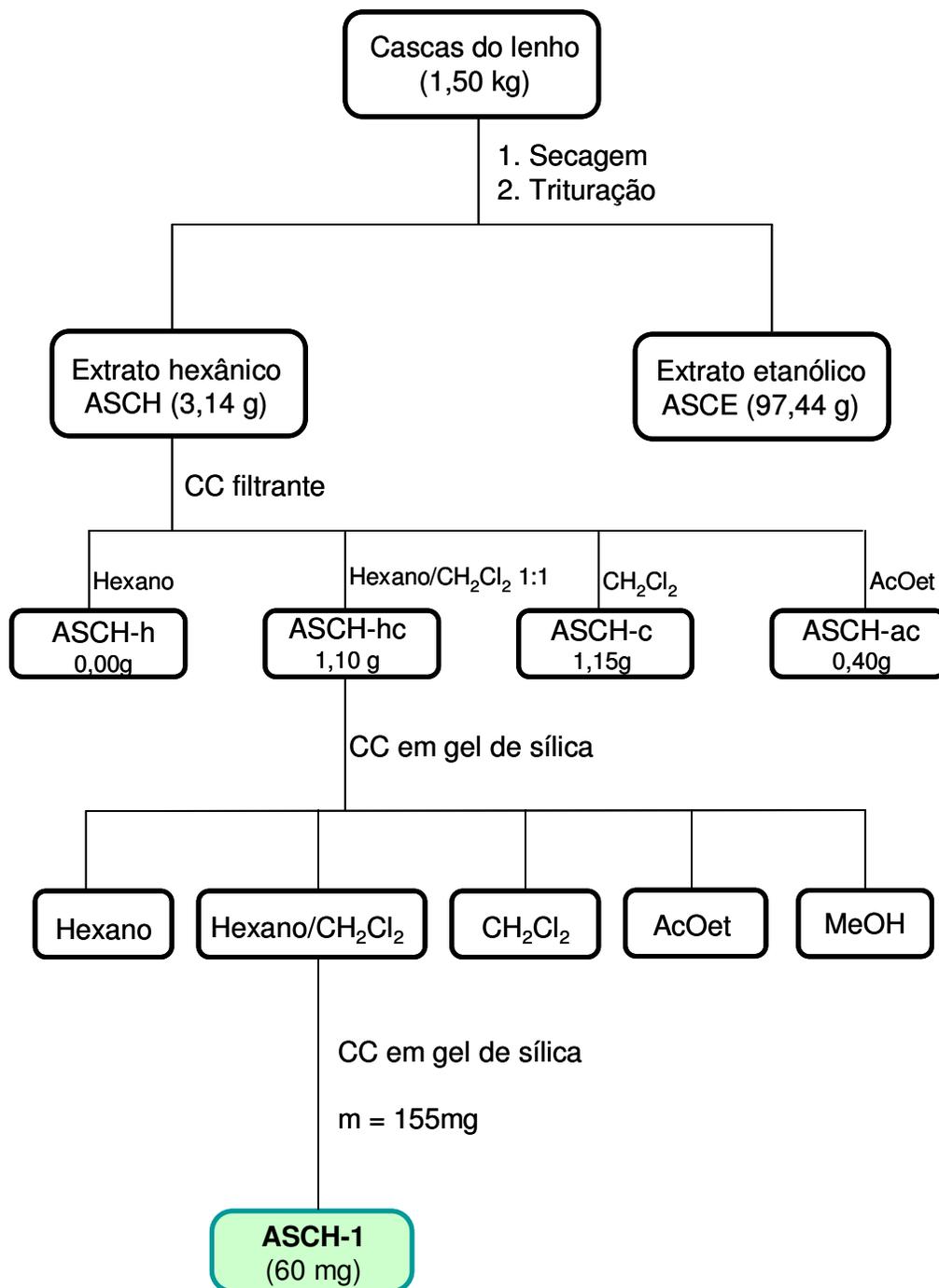
5.4.1.3 Isolamento de ASCH-1

Após análise em CCD das frações obtidas (Tabela 23), observou-se em CCD através de revelação com vanilina, à presença de uma mancha de cor roxa, possibilitando reunir as frações 43 a 53. 155 mg deste material foram misturados a 450 mg de sílica, pulverizados em gral de porcelana e cromatografados sobre 7 g de gel de sílica em coluna de $\Phi = 3$ cm. A eluição foi realizada com os solventes hexano, diclorometano e acetato de etila, puros ou em misturas binárias com escala crescente de polaridade. Foram coletadas 74 frações de 10 mL cada (Tabela 23). Nas frações 45 a 55 notou-se a formação de um sólido amorfo, que após análise em CCD revelou-se puro e foi denominado de ASCH-1 (fluxograma 1, pág. 118). A determinação estrutural de ASCH-1 (60 mg) encontra-se na página 30.

Tabela 23: Dados do fracionamento cromatográfico da fração 43-53 de ASCH-hc

Eluente	Frações obtidas	Frações reunidas	Pesos (mg)
Hexano	1-18		
Hexano/CH ₂ Cl ₂ 10%	19-28		
Hexano/CH ₂ Cl ₂ 20%	29-38	1-45	45
Hexano/CH ₂ Cl ₂ 30%	39-49	45-55	60
Hexano/CH ₂ Cl ₂ 40%	50-60	61-74	21
Hexano/CH ₂ Cl ₂ 1:1	61-65		
Acetato de etila	65-74		

Fluxograma 1: Obtenção do extrato hexânico das cascas do lenho de *A. surinamensis*, e isolamento do composto ASCH-1.



5.4.2 Elaboração do extrato etanólico

Após extração com hexano, as cascas do lenho (1500 g), foram submetidas à extração com etanol. A solução resultante foi filtrada e em seguida destilada a pressão reduzida, fornecendo 97,44 g de material denominado de ASCE.

5.4.2.1 Cromatografia de partição do extrato ASCE

92 g de ASCE foram dissolvidos em 160 mL de metanol em seguida particionada com o solvente hexano, adicionou-se 80 mL de água destilada e prosseguiu-se o particionamento com diclorometano e acetato de etila, resultando nas frações constantes na Tabela 24.

Tabela 24: Dados resultante da cromatografia de partição do extrato ASCE

Eluente (150 mL cada)	Frações	Pesos (g)
Hexano	PASCE-h	1,35
CH ₂ Cl ₂	PASCE-dc	4,00
Acetato de etila	PASCE-ac	22,49
Hidroalcoolica	PASCE-hd	63,00

5.4.2.2 Fracionamento cromatográfico da fração PASCE-h

4 g da fração PASCE-dc foram misturados a 12 g de sílica, pulverizados em gral de porcelana e cromatografados sobre 45 g de gel de sílica em coluna de $\Phi = 6$ cm. A eluição foi realizada com os solventes hexano, hexano/CH₂Cl₂ 1:1, CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/AcOEt 1:1, AcOEt e metanol com escala crescente de polaridade. Os dados encontram-se distribuídos na Tabela 25 a seguir.

Tabela 25: Dados resultante do fracionamento cromatográfico da fração PASCE-h

Eluente	Frações	Pesos (g)
Hexano	PASCE-h1	0,35
hexano/CH ₂ Cl ₂ 1:1	PASCE-h2	0,28
CH ₂ Cl ₂	PASCE-h3	0,40
CH ₂ Cl ₂ /AcOEt 1:1	PASCE-h4	1,50
AcOEt	PASCE-h5	0,28
metanol	PASCE-h6	1,18

5.4.2.3 Fracionamento cromatográfico da fração PASCE-h4 e isolamento do composto ASCE-3.

A fração PASCE-h4 (1,50 g) foi misturada a 2 g de sílica, pulverizada em gral de porcelana e submetida a cromatografia com 26g de gel de sílica em coluna de $\Phi = 4$ cm. A eluição foi realizada com os solventes hexano, CH_2Cl_2 , AcOEt e metanol, puros ou em misturas binárias com escala crescente de polaridade. Foram coletadas 152 frações de 10 mL cada. Estas frações, após comparação em CCD, foram reunidas conforme descrito na Tabela 26 a seguir. Nas frações 27-44 foi observado um precipitado que foi lavado com metanol e filtrado resultando em 60 mg de material que então foi cromatografado em coluna “flash” (item, 5.4.2.4) levando ao isolamento da mistura ASCE-1 e ASCE-2. Nas frações 45-68 formou-se também um precipitado insolúvel em metanol, que após sucessivas adições de metanol seguida de filtração, foi possível obter 60,3 mg do composto denominado ASCE-3.

Tabela 26: Dados do fracionamento cromatográfico da fração PASCE-h4

Eluente	Frações	Frações reunidas	Pesos (g)
CH_2Cl_2	1-37	1-26	0,00
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 10%	38-92	27-44	0,11
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 20%	93-103	45-68	0,20
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 30%	104-113	69-83	0,05
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 40%	114-121	84-128	0,29
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 1:1	122-133	129-140	0,70
AcOEt	134-140	141-152	0,09
metanol	141-152		

5.4.2.4 Isolamento da mistura ASCE-1 e ASCE-2.

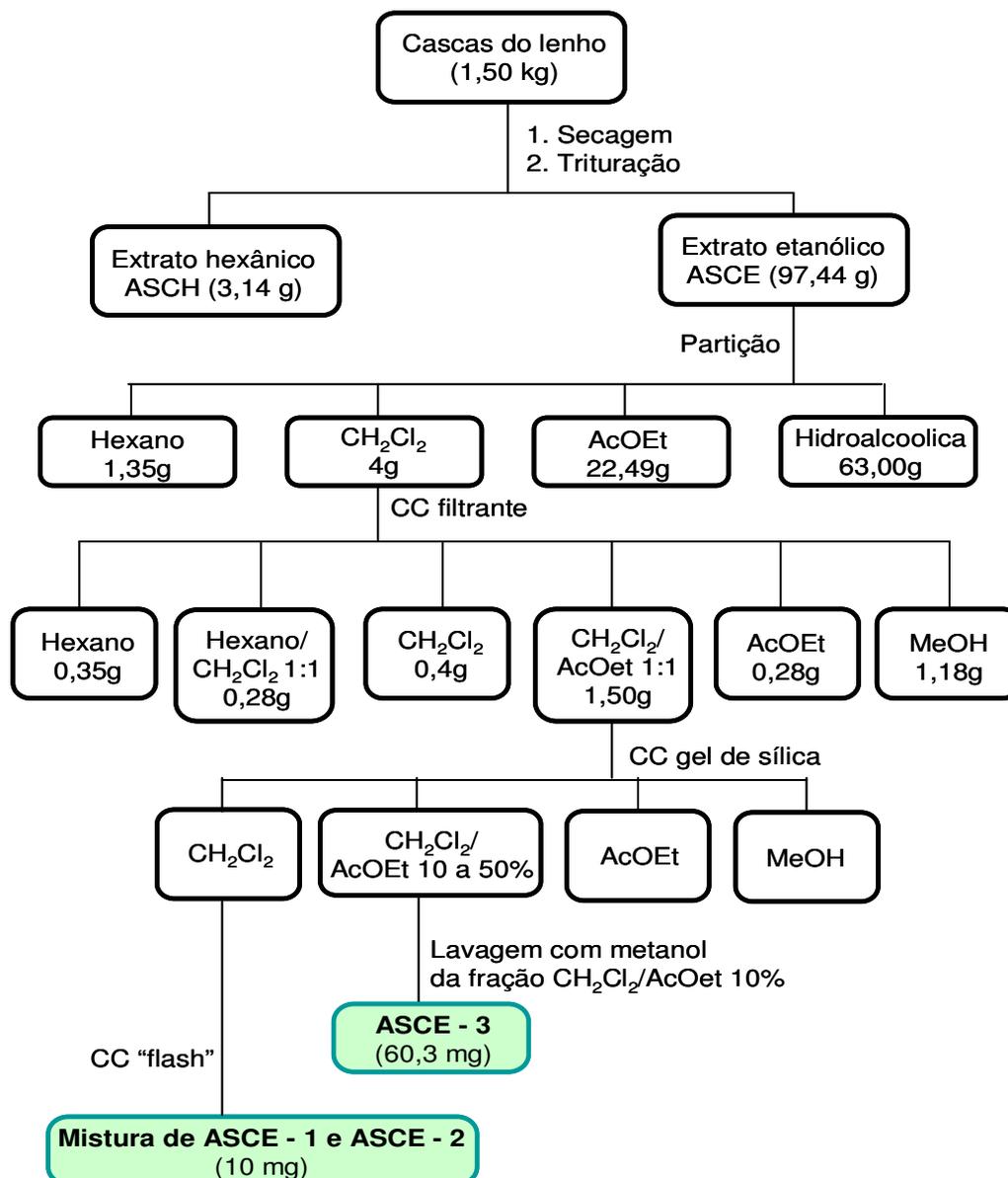
60 mg da fração 27-44 (Tabela 26) foram misturados a 180 mg de sílica “flash”, pulverizados em gral de porcelana e cromatografados em 9 g em gel de sílica “flash” em coluna de $\Phi = 1,5$ cm, utilizando-se como eluente a mistura binária de hexano/acetona 30%. Foram coletadas 26 frações de 10 mL cada, como mostrado na Tabela 27, pág. 121.

Tabela 27: Dados do fracionamento cromatográfico da fração 27-44

Eluente	Frações reunidas	Pesos (g)
	3-5	0,045
Hexano/acetona 30%	6-10	0,010
	10-26	0,002

Nota-se nas frações de 6-10 a formação de sólido amorfo que se apresentou em CCD como um único “spot” amarelo após revelação em câmara de iodo.

Fluxograma 2: Obtenção do extrato etanólico das cascas do lenho de *A. surinamensis*, e isolamento dos compostos ASCE-1, ASCE-2 e ASCE-3.



5.5 ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS FIXOS DO LENHO DE *ANDIRA SURINAMENSIS*

5.5.1 Elaboração do extrato hexânico e etanólico

Lenho (2,0 Kg) seco à temperatura ambiente e triturado mecanicamente foi submetido à extração com hexano. A solução resultante foi filtrada e em seguida destilada a pressão reduzida, fornecendo 2,23 g de extrato. Após extração com solvente hexano, realizou-se a extração com etanol do mesmo material vegetal, que destilado a pressão reduzida obteve-se 25 g de extrato etanólico denominado de ASLE.

5.5.1.1 Cromatografia de partição do extrato ASLE

25 g de ASLE foram dissolvidos em 150 mL de metanol em seguida particionado com solvente hexano, adicionou-se 30 mL de água destilada e prosseguiu-se com o particionamento com CH_2Cl_2 e acetato de etila, resultando nas frações constantes na Tabela 28.

Tabela 28: Dados resultante da cromatografia de partição do extrato ASLE

Eluente	Fração	Pesos (g)
Hexano	ASLE-H	0,40
CH_2Cl_2	ASLE-D	12,80
Acetato de etila	ASLE-A	2,63
Hidroalcólica	ASLE-HA	9,05

5.5.1.2 Fracionamento cromatográfico da fração ASLE-D

A fração ASLE-D (12,80 g,) foi misturada a 25 g de sílica, pulverizada em gral de porcelana e submetida à cromatografia com 55 g de gel de sílica em coluna de $\Phi = 6$ cm. A eluição foi realizada com os solventes hexano, CH_2Cl_2 , AcOet e metanol, puros ou em misturas binárias com escala crescente de polaridade, conforme descrito na Tabela 29 pág. 116.

Tabela 29: Dados resultante da cromatografia em coluna da fração ASLE-D

Eluente	Fração	Pesos (g)
Hexano / CH ₂ Cl ₂ 1:1	ASLE-HC	0,0386
Hexano / CH ₂ Cl ₂ 75%	ASLE-HC1	0,0789
CH ₂ Cl ₂	ASLE-DC	0,0501
CH ₂ Cl ₂ / Acetato de etila 25%	ASLE-DA1	3,9000
CH ₂ Cl ₂ / Acetato de etila 1:1	ASLE-DA2	1,3500
CH ₂ Cl ₂ / Acetato de etila 75%	ASLE-DA3	0,8666
Acetato de etila	ASLE-Ac	0,6804
Metanol	ASLE-M	5,2000

5.5.1.3 Fracionamento cromatográfico da fração ASLE-DA2 e isolamento da substância ASLE-1

A fração ASLE-DA2 (1,35 g, Tabela 29), foi pulverizada em gral sendo adsorvida em 2,5 g de sílica, e em seguida acondicionada sobre uma camada de 32 g de sílica gel, utilizada como fase estacionária em coluna cromatográfica ($\Phi = 3,5$ cm). Utilizou-se como eluentes: diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias. As frações foram eluídas variando-se a proporção entre os eluentes de maneira a obter resultado satisfatório. Foram coletadas 135 frações de 10 mL cada, e analisadas em cromatografia em camada delgada (CCD), notou-se nas frações 27 e 28 (CH₂Cl₂ / Acetato de etila 10%) um único “spot” após revelado em camara de iodo, característico de composto puro apresentando-se na forma de sólido amarelo e denominado de ASLE-1. As demais frações foram reunidas de acordo com a semelhança dos Rf (Tabela 30).

Tabela 30: Dados resultante da cromatografia em coluna da fração ASLE-DA2

Eluente	Frações obtidas	Frações reunidas	Pesos (mg)
CH ₂ Cl ₂	1-24		
CH ₂ Cl ₂ / Acetato de etila 10%	25-41	1-26	0,00
CH ₂ Cl ₂ / Acetato de etila 20%	42-62	27-28	15,9
CH ₂ Cl ₂ / Acetato de etila 30%	63-72	29-31	34,5
CH ₂ Cl ₂ / Acetato de etila 40%	73-82	32-38	66,4
CH ₂ Cl ₂ / Acetato de etila 50%	83-92	39-46	87,4
CH ₂ Cl ₂ / Acetato de etila 60%	93-102	47-96	616,0
CH ₂ Cl ₂ / Acetato de etila 80%	103-112	97-121	23,6
Acetato de etila	113-122	122-135	253,2
Metanol	123-135		

5.5.1.4 Fracionamento cromatográfico da fração 47-96 e isolamento da substância ASLE-2

616 mg da fração 47-96 (Tabela 30, pág. 123) foram misturados a 1,25 g de sílica “flash”, pulverizados em gral de porcelana e cromatografados em 16 g em gel de sílica “flash” em coluna de $\Phi = 2,5$ cm, utilizando-se como eluente a mistura binária de hexano/acetato de etila 1:1. Foram coletadas 93 frações de 10 mL cada, como mostrado na Tabela 31.

Tabela 31: Dados resultante da cromatografia “flash” da fração 47-96.

Eluente	Frações obtidas	Frações reunidas	Pesos (mg)
hexano/acetato de etila 1:1	1-93	1-19	17,7
		20-22	21,2
		23-46	163,9
		47-72	96,9
		73-93	229,3

Nas frações 47-72 (Tabela 31), nota-se formação de precipitado amarelo que através de análise por CCD mostrava misturas de vários compostos, então realizou-se sucessivas lavagens com metanol seguido de filtrações, afim de purificá-lo. Desta forma foi possível obter 29,1 mg de composto puro, previamente analisado por CCD, mostrando único “spot” e denominado de ASLE-2 com solubilidade em piridina.

5.5.1.5 Fracionamento cromatográfico da fração ASLE-Ac (Tabela 29, pág. 123)

A fração ASLE-Ac (680,4 mg) foi misturada a 1,3 g de sílica, pulverizada em gral de porcelana e submetida a cromatografia com 7,0 g de gel de sílica em coluna de $\Phi = 3,5$ cm. A eluição foi realizada com os solventes CH_2Cl_2 , AcOet e metanol, puros ou em misturas binárias com escala crescente de polaridade. Foram coletadas 88 frações de 10 mL cada, e após análise em CCD foram reunidas de acordo com semelhanças de Rf, como mostrado na Tabela a seguir.

Tabela 32: Dados resultante da cromatografia em coluna da fração ASLE-Ac

Eluente	Frações obtidas	Frações reunidas	Pesos (mg)
CH_2Cl_2 / Acetato de etila 50%	1-31		
CH_2Cl_2 / Acetato de etila 60%	32-42	1-8	12,0
CH_2Cl_2 / Acetato de etila 70%	43-52	9-36	179,9
CH_2Cl_2 / Acetato de etila 80%	53-62	37-60	185,7
Acetato de etila	63-79	61-78	70,5
Metanol	80-88	79-88	90,7

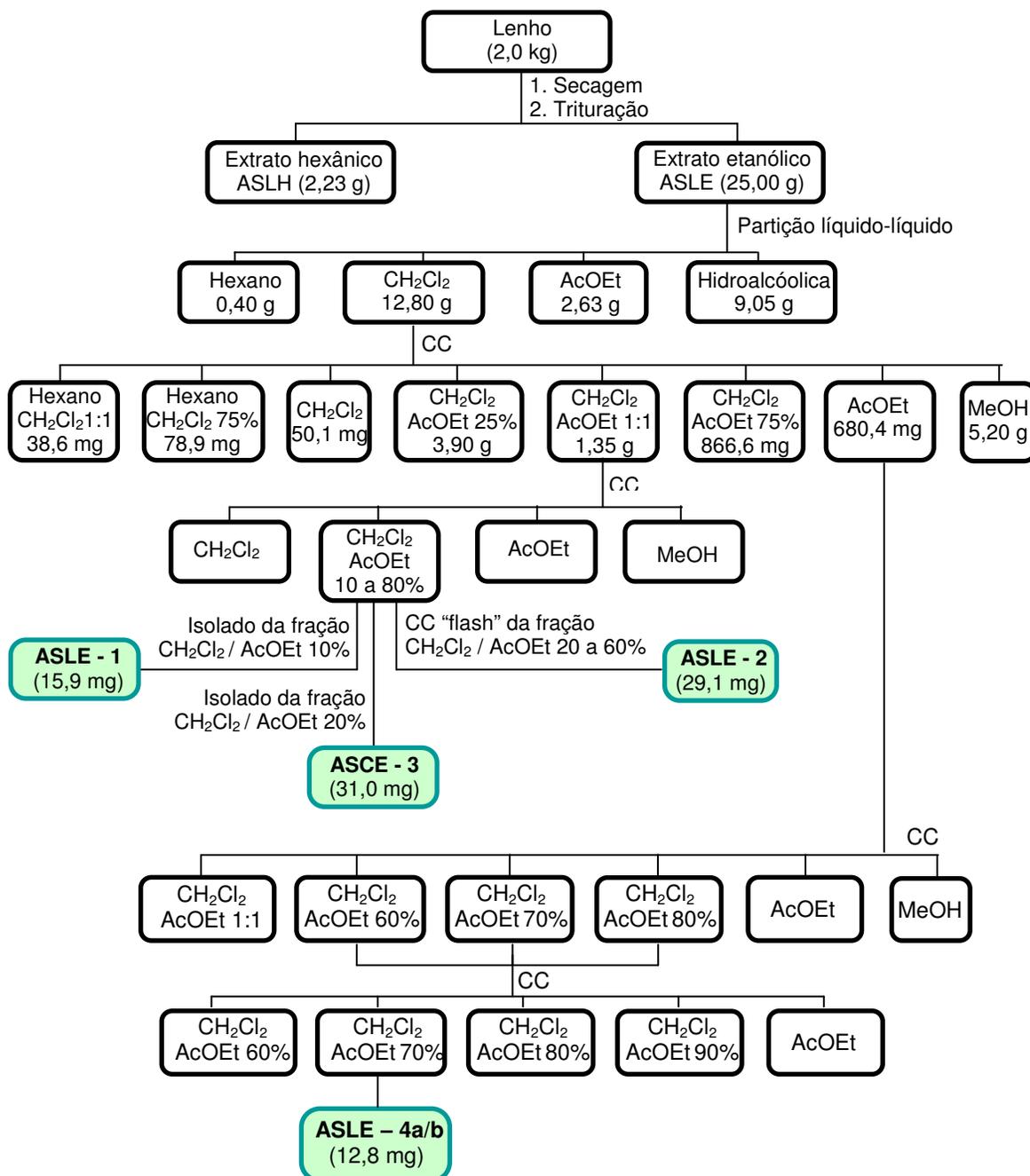
5.5.1.6 Isolamento da substância ASLE-4a/b

O fracionamento cromatográfico de ASLE-Ac forneceu entre outras as frações 37-60 (Tabela 32) que após análise por CCD foi possível reuni-las. Estas frações apresentaram massa de 185,7 mg, que então foram pulverizadas com 450 mg de gel de sílica e em seguida acondicionadas sobre uma camada de 8,5 g de gel de sílica, utilizada como fase estacionária em coluna cromatográfica ($\Phi = 2,5$ cm). Foram coletadas 46 frações com 10 mL cada e após análise em CCD, as frações 12 a 20 (12,8 mg) mostraram “spot” de mesmo Rf e característico de composto puro, este foi denominado de ASLE-4a/b. O tratamento cromatográfico está descrito na Tabela 33.

Tabela 33: Dados resultante da cromatografia em coluna das frações 37-60.

Eluente	Frações obtidas	Frações reunidas	Pesos (mg)
CH_2Cl_2 / Acetato de etila 60%	1-6		
CH_2Cl_2 / Acetato de etila 70%	7-17	1-6	7,1
CH_2Cl_2 / Acetato de etila 80%	18-22	7-11	10,5
CH_2Cl_2 / Acetato de etila 90%	23-32	12-20	12,8
Acetato de etila	33-38	21-36	70,8
Metanol	39-46	37-46	60,5

Fluxograma 3: Obtenção dos extratos hexânico e etanólico do lenho de *A. surinamensis* e isolamento dos compostos ASLE-1, ASLE-2 e ASLE-4a/b.



5.5.1.7 Fracionamento cromatográfico da fração ASLE-DA1

A fração ASLE-DA1 (3,90 g, Tabela 29, pág. 123), foi pulverizada em gral sendo adsorvida em 2,1 g de sílica, e em seguida acondicionada sobre uma camada de 40 g de sílica gel, utilizada como fase estacionária em coluna cromatográfica ($\Phi = 5,0$ cm). Utilizou-se como eluentes: hexano e acetato de etila puros ou em misturas binárias. As frações foram eluídas variando-se a proporção entre os eluentes de maneira a obter resultado satisfatório. Foram coletadas 48 frações de 10 mL cada, e analisadas em cromatografia em camada delgada (CCD). As frações foram reunidas de acordo com a semelhança dos Rf (Tabela 34).

Tabela 34: Dados resultante da cromatografia em coluna da fração ASLE-DA1

Eluente	Frações obtidas	Frações reunidas	Pesos (mg)
Hexano / Acetato de etila 20%	1-5		
Hexano / Acetato de etila 30%	6-21	1-13	358,0
Hexano / Acetato de etila 40%	22-28	14-17	120,2
Hexano / Acetato de etila 50%	29-34	18-19	1200,1
Hexano / Acetato de etila 70%	35-41	20-29	600,0
Acetato de etila	42-48	30-48	1421,3

5.5.1.8 Fracionamento cromatográfico da fração 20-29 (Tabela 34) e isolamento da substância ASLE-3

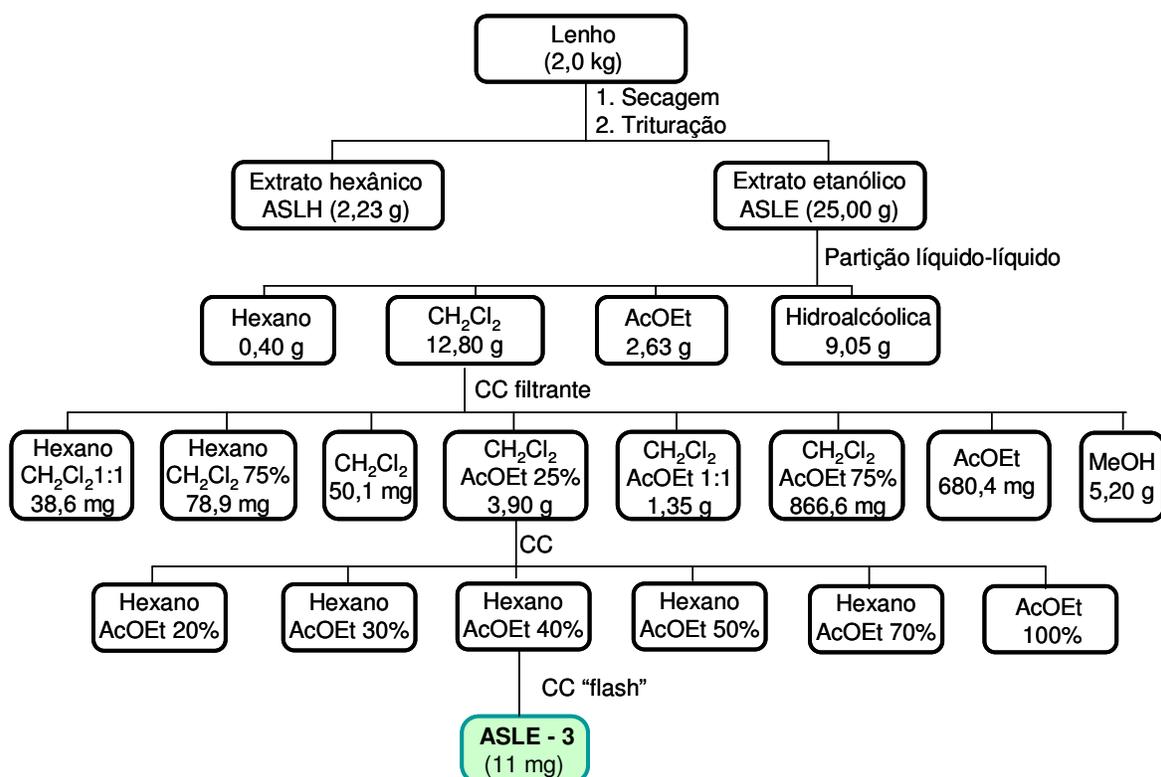
600 mg da fração 20-29 (Tabela 34) foram misturados a 1,30 g de sílica “flash”, pulverizados em gral de porcelana e cromatografados em 35 g em gel de sílica “flash” em coluna de $\Phi = 3,0$ cm, utilizando-se como eluente a mistura binária de hexano/acetato de etila 1:1. Foram coletadas 46 frações de 10 mL cada, como mostrado na Tabela 35.

Tabela 35: Dados resultante da cromatografia “flash” da fração 20-29.

Eluente	Frações obtidas	Frações reunidas	Pesos (mg)
		1-8	91,5
hexano/acetato de etila 1:1	1-46	9-22	359,8
		23-46	141,0

Nas frações 9-22 (Tabela 35), nota-se formação de precipitado branco que através de análise por CCD mostrava misturas de vários compostos, então realizou-se sucessivas lavagens com metanol seguido de filtrações, afim de purificá-lo. Desta forma foi possível obter 11,0 mg de composto puro, previamente analisado por CCD, mostrando único “spot” e denominando de ASLE-3 com solubilidade em piridina.

Fluxograma 4: Obtenção do extrato etanólico do lenho de *A. surinamensis* e isolamento dos compostos ASLE-3.



5.6 ESTUDO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DE *PIPER DIVARICATUM*

O estudo da composição volátil de *P. divaricatum* foi realizado com os óleos essenciais das folhas e frutos desta espécie.

Um sistema de hidrodestilação composto por balão de fundo redondo, manta aquecedora, condensador e doseador tipo Clevenger foram empregados na obtenção dos óleos essenciais (Figura 99).

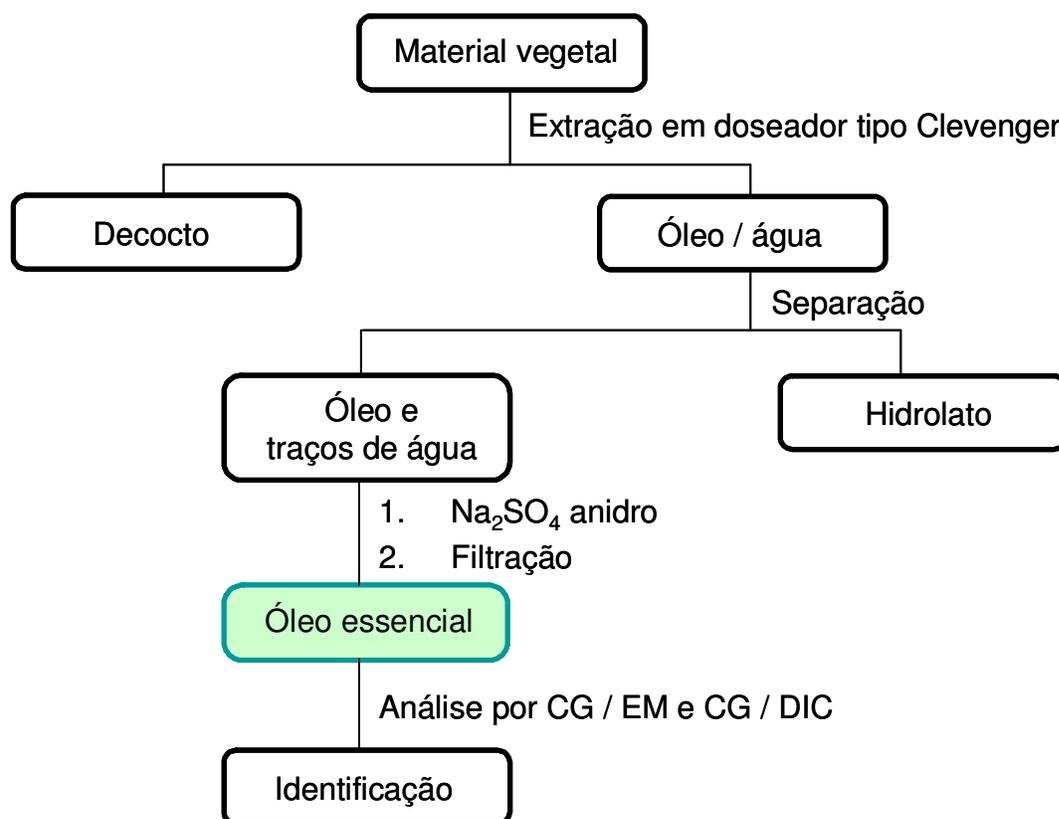


Figura 92: Sistema de hidrodestilação utilizado na obtenção do óleo essencial das folhas e frutos de *P. divaricatum* – 1. Condensador 2. Doseador 3. Balão 4. Manta aquecedora.

5.6.1 Obtenção do óleo essencial das folhas e frutos de *P. divaricatum*

As folhas frescas (1200 g) foram colocadas em um balão de vidro de 5 L e acrescidas de 1,5 L de água destilada. A mistura foi aquecida à destilação por aproximadamente duas horas. O óleo arrastado foi coletado no doseador obtendo-se 2,5 mL do mesmo. Após tratamento com sulfato de sódio anidro obteve-se 1,9167 g (rend. p/p 0,16 %) de óleo essencial (Fluxograma 5). O mesmo procedimento foi utilizado para obtenção do óleo essencial dos frutos da mesma espécie, em que foram colocados 28g de frutos frescos em um balão de 500 mL acrescido 80 mL de água destilada e mantidos sob aquecimento por duas horas obtendo-se 0,3 mL de óleo no doseador, após tratamento do óleo obtido com sulfato de sódio anidro, obteve-se 230 mg (rend. p/p 0,82 %) de óleo essencial. O resultado da identificação e quantificação relativa dos componentes químicos deste óleo encontram-se descrito na Tabela 20, pág. 103.

Fluxograma 5: Metodologia de extração do óleo essencial das folhas e frutos de *P. divaricatum*



Capítulo 6

Conclusão

6. CONCLUSÃO

Como proposto, este trabalho descreve a investigação fitoquímica das cascas e lenho de *A. surinamensis*, bem como a composição química dos óleos essenciais de *P. divaricatum*.

A análise cromatográfica do extrato hexânico das cascas do lenho de *A. surinamensis* levou ao isolamento e caracterização do triterpeno pentacíclico comumente conhecido como lupeol. A partir do extrato etanólico e utilizando técnicas cromatográficas em coluna, foi possível obter a mistura de isoflavonas (biochanina A e prunetina), bem como o isolamento de um dímero inédito na literatura, composto de duas unidades de isoflavonas ligadas por um oxigênio localizado no carbono C7 de ambos, cuja identidade química foi confirmada pela análise de seus espectros de RMN, IV e EM. O estudo fitoquímico prosseguiu com a análise cromatográfica do extrato etanólico do lenho da mesma espécie, resultando no isolamento de quatro compostos, três isoflavonas: biochanina A, calicosina, pratenseína e a mistura de esteróides glicosilados (β -sitosterol e estigmasterol glicosilados).

Paralelamente realizou-se o estudo da constituição química volátil das folhas e frutos frescos de *P. divaricatum*. Um total de 24 compostos foram identificados. Os óleos essenciais das folhas (96,8 %), mostraram maiores percentagens de monoterpenos (81,1 %), com predominância do β -pinene (25,3 %), linalool (23,4 %) e α -pinene (18,8 %). Quanto aos frutos desta espécie, foi possível identificar 94,3 % dos constituintes presentes, com percentagem muito próximas de compostos da classe de monoterpenos (49,6 %) e sesquiterpenos (44,7 %), os compostos majoritários foram α -pineno (17,6 %) e β -pineno (18,0 %) que são da classe de monoterpenos, dos sesquiterpenos β -cariofileno (11,4 %) e (*E*)-muurolo-4(14),5-dieno (9,0 %).

Capítulo 7

Constantes Físicas e Dados Espectroscópicos

7.1 ASCH-1

F.M.: C₃₀H₅₀O

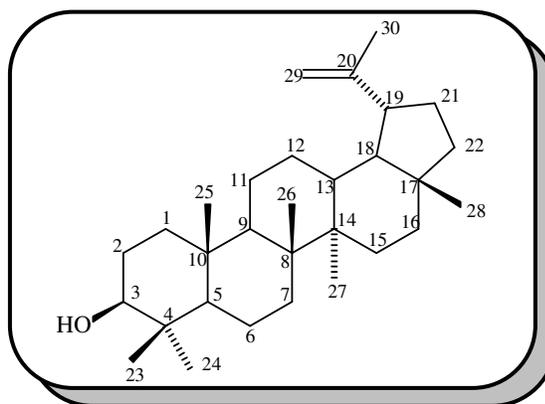
P.M: 426 daltons

f.f.: 172 - 174 °C

Aspecto: sólido amorfo branco

Solubilidade: CHCl₃

[α]_D²⁵ = +11 °



β-Lup-20(29)-en-3-ol
(Lupeol)

Espectroscopia na região do I.V. (KBr, cm⁻¹):

3415, 3231, 2949, 1624, 1465, 1382.

Espectroscopia de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) – δ (multiplicidade, constante de acoplamento em Hz, número de hidrogênio):

δ_H 4,69 (s,1H); δ_H 4,57 (s,1H); δ_H 1,68 (s,3H); δ_H 1,03 (s,3H); 0,97 (s, 3H); δ_H 0,95 (s,3H); δ_H 0,83 (s,3H); δ_H 0,79 (s,3H) e δ_H 0,76 (s,3H).

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) – δ (padrão de hidrogenação, correlação estrutural):

38,9 (CH₂, C1); 27,6 (CH₂, C2); 79,2 (CH, C3); 39,0 (C, C4); 55,5 (CH, C5); 18,5 (CH₂, C6); 34,5 (CH₂, C7); 41,0 (C, C8); 50,6 (CH, C9); 37,4 (C, C10); 21,1 (CH₂, C11); 25,3 (CH₂, C12); 38,3 (CH, C13); 43,0 (C, C14); 27,6 (CH₂, C15); 35,8 (CH₂, C16); 43,2 (C, C17); 48,5 (CH, C18); 48,2 (CH, C19); 151,2 (C, C20); 30,0 (CH₂, C21); 40,2 (CH₂, C22); 28,2 (CH₃, C23); 15,5 (CH₃, C24); 16,3 (CH₃, C25); 16,2 (CH₃, C26); 14,7 (CH₃, C27); 18,2 (CH₃, C28); 109,5 (CH₂, C29) e 19,5 (CH₃, C30).

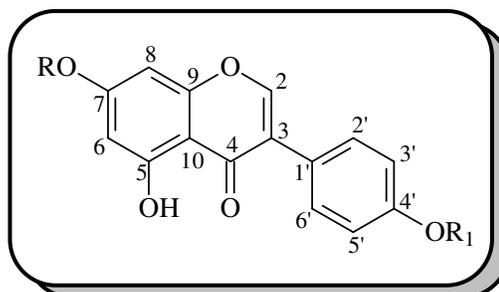
7.2 ASCE-1 e ASCE-2

F.M.: C₁₆H₁₂O₅

P.M: 284 daltons

Aspecto: sólido branco amorfo

Solubilidade: acetona



R = H e R₁ = CH₃ 5,7-Dihidroxi-4'-metoxiisoflavona (Biochanina A)

R = CH₃ e R₁ = H 4',5-Dihidroxi-7-metoxiisoflavona (Prunetina)

Espectroscopia na região do I.V. (KBr, cm⁻¹):

3405, 1655, 1618, 1248, 1049.

Espectroscopia de RMN ¹H (500 MHz, C₃D₆O) – δ (multiplicidade, constante de acoplamento em Hz, número de hidrogênio):

ASCE - 1: δ_H 8,19 (s, 1H); δ_H 7,55 (d, 1H, J = 8,7 Hz); δ_H 7,00 (d, 1H, J = 8,7 Hz); δ_H 6,41 (d, 1H, J = 1,9 Hz); δ_H 6,28 (d, 1H, J = 1,9 Hz) e δ_H 3,83 (s, 3H).

ASCE - 2: δ_H 8,21 (s, 1H); δ_H 7,46 (d, 1H, J = 8,5 Hz); δ_H 6,91 (d, 1H, J = 8,6 Hz); δ_H 6,54 (d, 1H, J = 2,2 Hz); δ_H 6,35 (d, 1H, J = 2,2 Hz) e δ_H 3,92 (s, 3H).

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, C₃D₆O) – δ (padrão de hidrogenação, correlação estrutural):

ASCE - 1: 154,61 (CH, C2); 123,94 (C, C3); 181,69 (C, C4); 164,03 (C, C5); 100,01 (CH, C6); 165,22 (C, C7); 94,69 (CH, C8); 159,18 (C, C9); 106,27 (C, C10); 124,32 (C, C1'); 131,21 (CH, C2'); 114,66 (CH, C3'); 160,82 (C, C4'); 114,66 (CH, C5'); 131,21 (CH, C6') e 55,7 (CH₃).

ASCE - 2: 154,64 (CH, C2); 124,35 (C, C3); 181,90 (C, C4); 163,73 (C, C5); 98,94 (CH, C6); 166,80 (C, C7); 93,05 (CH, C8); 159,07 (C, C9); 106,92 (C, C10); 123,04 (C, C1'); 131,27 (CH, C2'); 116,12 (CH, C3'); 158,63 (C, C4'); 116,12 (CH, C5'); 131,27 (CH, C6') e 56,53 (CH₃).

7.3 ASCE-3

F.M.: C₃₂H₂₀O₈

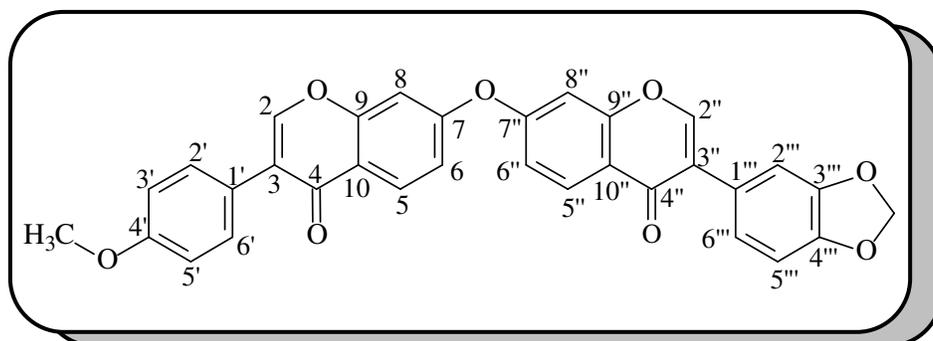
P.M: 532 daltons

f.f.: 269 – 272 °C

Aspecto: sólido

branco

Solubilidade: C₅D₅N



4'-Metoxiisoflavona-(7-O-7'')-3''',4'''-metilenodioxiisoflavona
(Surinamensina)

Espectroscopia na região do I.V. (KBr, cm⁻¹):

1624, 1598, 1454, 1277, 1249, 836, 804, 789.

Espectroscopia de RMN ¹H (500 MHz, C₅D₅N) – δ (multiplicidade, constante de acoplamento em Hz, número de hidrogênio):

δ_H 8,47 (d, J = 9,0 Hz); δ_H 8,45 (d, J = 9,6 Hz); δ_H 8,18 (s); δ_H 8,17 (s); δ_H 7,81 (d, J = 8,5 Hz);
δ_H 7,49 (s); δ_H 7,25 (d, J = 9,0 Hz); δ_H 7,22 (m); δ_H 7,23 (m); δ_H 7,13 (s); δ_H 7,10 (d, J = 8,5 Hz);
δ_H 6,99 (d, J = 7,9Hz); δ_H 5,99 (s) e δ_H 3,71 (s).

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, C₅D₅N) – δ (padrão de hidrogenação, correlação estrutural):

153,2 (CH, C2); 125,1 (C, C3); 176,1 (C, C4); 128,7 (CH, C5); 116,4 (CH, C6); 164,6 (C, C7);
103,6 (CH, C8); 159,0 (C, C9); 118,3 (C, C10); 125,8 (C, C1'); 131,2 (CH, C2'); 114,7 (CH,
C3'); 160,4 (C, C4'); 114,7 (CH, C5'); 131,2 (CH, C6'); 55,7 (OCH₃); 153,4 (CH, C2''); 125,1
(C, C3''); 175,9 (C, C4''); 128,7 (CH, C5''); 116,4 (CH, C6''); 164,6 (C, C7''); 103,6 (CH,
C8''); 159,0 (C, C9''); 118,3 (C, C10''); 127,3 (C, C1'''); 110,9 (CH, C2'''); 148,5 (CH, C3''');
148,3 (C, C4'''); 109,0 (CH, C5'''); 123,3 (CH, C6'''); e 102,3 (OCH₂O).

7.4 ASLE-1

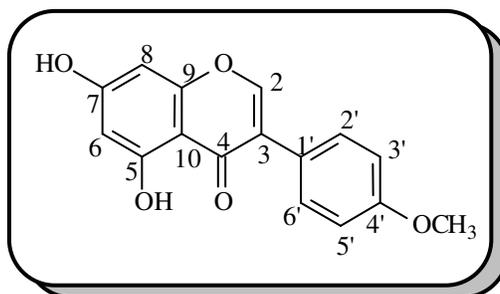
F.M.: C₁₆H₁₂O₅

P.M: 284 daltons

f.f.: 205 – 207 °C

Aspecto: sólido amarelo

Solubilidade: acetona



5,7-Dihidroxi-4'-metoxiisoflavona (Biochanina A)

Espectroscopia de RMN ¹H (500 MHz, C₃D₆O) – δ (multiplicidade, constante de acoplamento em Hz, número de hidrogênio):

δ_H 8,17 (s, 1H); δ_H 7,54 (d, 1H, *J* = 8,5 Hz); δ_H 6,99 (d, 1H, *J* = 8,5 Hz); δ_H 6,41 (d, 1H, *J* = 2,0 Hz); δ_H 6,28 (d, 1H, *J* = 2,0 Hz) e δ_H 3,83 (s, 3H).

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, C₃D₆O) – δ (padrão de hidrogenação, correlação estrutural):

154,28 (CH, C2); 123,75 (C, C3); 181,34 (C, C4); 163,78 (C, C5); 99,72 (CH, C6); 164,89 (C, C7); 94,39 (CH, C8); 158,92 (C, C9); 106,01 (C, C10); 124,10 (C, C1'); 130,99 (CH, C2'); 114,40 (CH, C3'); 160,57 (C, C4'); 114,40 (CH, C5'); 130,99 (CH, C6') e 55,44 (CH₃).

7.5 ASLE-2

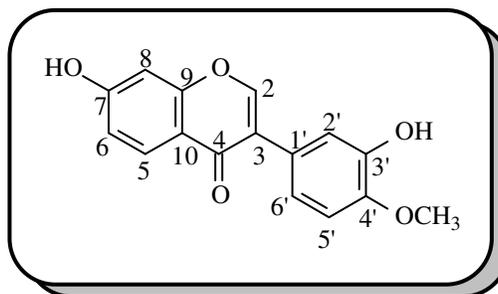
F.M.: C₁₆H₁₂O₅

P.M: 284 daltons

f.f.: 239 - 240 °C

Aspecto: sólido branco

Solubilidade: piridina



7,3'-Dihidroxi-4'-metoxiisoflavona
(Calicosina)

Espectroscopia na região do I.V. (KBr, cm⁻¹):

3186, 1622, 1577, 1510, 1282, 1243, 1132, 1026 e 856

Espectroscopia de RMN ¹H (500 MHz, C₅D₅N) – δ (multiplicidade, constante de acoplamento em Hz, número de hidrogênio):

δ_H 8,45 (d, 1H, J = 8,7 Hz); δ_H 8,20 (s, 1H); δ_H 7,83 (d, 1H, J = 1,9 Hz); δ_H 7,34 (dd, 1H, J = 8,2; 1,9 Hz); δ_H 7,21 (sobrepuesto); δ_H 7,11 (d, 1H, J = 2,0 Hz); δ_H 7,05 (d, 1H, J = 8,3 Hz) e δ_H 3,78 (s, 3H).

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, C₅D₅N) – δ (padrão de hidrogenação, correlação estrutural):

153,2 (CH, C2); 125,4 (C, C3); 176,1 (C, C4); 128,7 (CH, C5); 116,3 (CH, C6); 164,5 (C, C7); 103,5 (CH, C8); 158,9 (C, C9); 118,5 (C, C10); 126,8 (C, C1'); 118,3 (CH, C2'); 148,5 (C, C3'); 149,2 (C, C4'); 112,8 (CH, C5'); 120,9 (CH, C6') e 56,4 (CH₃).

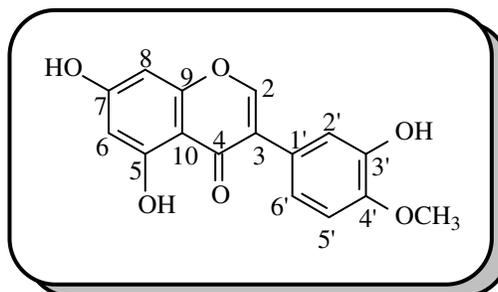
7.6 ASLE-3

F.M.: C₁₆H₁₂O₆

P.M: 300 daltons

Aspecto: sólido branco

Solubilidade: piridina



5,7,3'-

Trihidroxi-4'-metoxiisoflavona
(Pratenseína)

Espectroscopia de RMN ¹H (500 MHz, C₅D₅N) – δ (multiplicidade, constante de acoplamento em Hz, número de hidrogênio):

δ_H 8,18 (s); δ_H 7,72 (d, 1H, *J* = 2,1 Hz); δ_H 7,28 (dd, 1H, *J* = 8,2; 2,1 Hz); δ_H 7,07 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz); δ_H 6,76 (d, 1H, *J* = 2,0 Hz) e δ_H 6,67 (d, 1H, *J* = 2,0 Hz).

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, C₅D₅N) – δ (padrão de hidrogenação, correlação estrutural):

154,0 (CH, C2); 125,2 (C, C3); 181,5 (C, C4); 164,1 (C, C5); 100,5 (CH, C6); 166,3 (C, C7); 95,0 (CH, C8); 159,0 (C, C9); 106,2 (C, C10); 123,7 (C, C1'); 118,1 (CH, C2'); 148,5 (C, C3'); 149,3 (C, C4'); 112,8 (CH, C5'); 120,8 (CH, C6') e 56,3 (CH₃).

7.7 ASLE-4a/b

ASLE-4a

F.M.: C₃₅H₆₀O₆

P.M: 576 daltons

ASLE-4b

F.M.: C₃₅H₅₈O₆

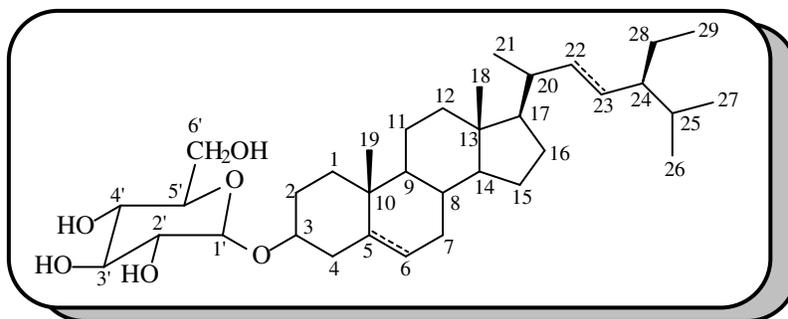
P.M: 574 daltons

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão: 271-273 °C

Solubilidade: Piridina

$[\alpha]_D^{25} = + 35,5^\circ$



ASLE-4a: Δ^5 – β -Sitosterol glicosilado

ASLE-4b: $\Delta^{5,22}$ – Estigmasterol glicosilado

Espectroscopia na região do I.V. (KBr, cm⁻¹):

3417, 2923, 2850, 1647, 1541, 1458, 1074 e 1022

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, C₅D₅N): Tabela 19, pág. 99.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, A. M.; BRIGHENTE, I. C.; AGUIAR, E. M.; REBELO, R. A. Volatile constituents of Piperaceae from Santa Catarina, Brazil - essential oil composition of *Piper cernuum* Vell. and *Peperomia emarginella*, **Journal of Essential Oil Research**, v. 17, n° 3, p. 286-288, 2005.

ABREU, A. M.; SEVEGNANI, L.; MACHICADO, A. R.; ZIMERMANN, D.; REBELO, R. A. *Piper mikanianum* (Kunth) Steudel from Santa Catarina, Brazil: A new source of safrole, **Journal of Essential Oil Research**, v. 14, n° 5, p. 361-363, 2002.

ADAMS, R. P., Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectrometry. Academic Press, San Diego, 2001.

AGARDH, C. A., **Aphorismi botanici**. Lund (Berling), v. 14, p. 199-214, 1824.

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

ALENCAR, R.; ALVES DE LIMA, R.; CORREA, R. G. C.; GOTTLIEB, O. R.; LEO DA SILVA, M.; MARX, M. C.; MAIA, J. G. S.; MAGALHAES, M. T.; ASSUMPCAO, R. M. V. Essential oils of Brazilian plants, **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 44, p. 312-14, 1972.

ANDRADE, R. M. & ALMEIDA, E. X., **Phytochemistry**, v. 47, n° 7, p. 1431-1433, 1998.

ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. B.; SANTOS, A. S.; MAIA, J. G., Essential oils of *Piper gaudichaudianum* Kunth and *P. regnellii* (Miq.) C.DC, **Journal of Essential Oil Research**, v. 10, n° 4, p. 465-467, 1998.

ARMBRUSTER, W.S.. The role of resin in Angiosperm pollination: ecological and chemical considerations, **American Journal of Botany**, v. 71, p. 1149-1160, 1984.

AVELLA, E.; DÍAZ, P. P.; DÍAZ, A. M. P., Constituents from *Piper divaricatum*, **Planta Médica**, v. 60, p. 195, 1994.

BITTRICH, V. & AMARAL, M. C. E., Flower morphology and pollination biology of some *Clusia* species from the Gran Sabana (Venezuela), **Kew Bulletin**, v. 51, p. 681-694, 1996.

BITTRICH, V. & Amaral, M. C. E., Floral biology of some *Clusia* species from Central Amazonia, **Kew Bulletin**, v. 52, p. 617-635, 1997.

BIZERRIL, M.X.A. & RAW, A., Feeding behaviour of bats the dispersal of *Piper arboreum* seeds in Brazil, **Journal of Tropical Ecology**, v. 14, p. 109-114, 1998.

BRAZ, R. F.; GOTTLIEB, O. R.; PINHO, S. L. V.; MONTE, F. J. Q.; DA ROCHA, A. I., **Phytochemistry**, v. 12, p. 1184, 1973.

- CAMARGOS, J. A. A.; CORADIN, V. T. R.; CZARNESKI, C. M.; OLIVEIRA, D.; MEGUERDITCHIAN, I., **Catálogo de árvores do Brasil**. IBAMA-Laboratório de Produtos Florestais, Brasília, 896p., 2001.
- CARVALHO, M.G.; VELANDIA, J.R.; OLIVEIRA, L.F., **Química Nova**, v. 21, p. 740, 1998.
- COCKER, W.; MC MURRY, T. B. H.; STANILAD, P. A., A synthesis of demethylhomoptercarpin, **Journal of the Chemical Society**, p.1034-1037, 1962.
- CYSNE, J. B.; CANUTO, K. M.; PESSOA, O. D. L.; NUNES, E. P.; SILVEIRA, E. R. Leaf essential oils of four Piper species from the state of Ceara - northeast of Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n° 6B, p. 1378-1381, 2005.
- DELLE MONACHE, F.; DELLE MONACHE. G.; PINHEIRO, R. M. AND RADICS, L., **Phytochemistry**, v. 27, p. 2305, 1988.
- DELLE MONACHE, F., **Revista Latino-americana de Química**, v. 22, p. 27, 1991.
- DELLE MONACHE. F.; DELLE MONACHE, G.; CAVALCANTI, J. F. AND PINHEIRO, R. M., **Tetrahedron Letters**, v. 28, p. 563, 1987.
- DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; VIEIRA, J. J., **Química Nova**, v. 26, n° 3, 335-339, 2003.
- DORMAN, H. J.; DEANS, S. G., **J. Appl. Microbiol.** v. 88, p. 308, 2000.
- DU, X.; BAI, Y.; LIANG, H.; WANG, Z.; ZHAO, Y.; ZHANG, Q.; HUANG, L.; **Magn. Reson. Chem.** v. 44, p. 708–712, 2006.
- DUCKE, A., Notas sobre a flora neotrópica II. Bol. Tec. Inst. Agron. Norte, n° 18, 248p., 1949.
- ERICKSON, R. E., **Lloydia**, v. 39, p.8. 1976.
- FACUNDO, V. A.; REZENDE, C. M.; PINTO, A. C. Essential oil of Piper carniconnectivum C.CD. leaves and stems, **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, n° 3, p. 296-297, 2006.
- FERREIRA, G. C.; HOPKINS M. J.; SECCO G., R. S.; Contribuição ao conhecimento morfológico das espécies de leguminosae comercializadas no estado do Pará, como “angelim”, **Acta Amazônica**, v. 34, n° 2, 219-232, 2004.
- FIGUEIREDO, R.A. & SAZIMA, M. Pollination Biology of Piperaceae Species in Southeastern Brazil, **Annals of Botany**, v. 85, p. 455-460, 2000.

FLEMING, T.H. Coexistence of five sympatric Piper (Piperaceae) species in a tropical dry forest, **Ecology**, v. 66, n° 3, p. 688-700, 1985.

FLEMING, T.H. Fecundity, fruiting pattern, and seed dispersal in Piper amalago (Piperaceae), a bat-dispersed tropical shrub, **Ecology**, v. 51, p. 42-46, 1981.

GUIMARÃES, E. F. & GIORDANO, L. C. S. Piperaceae do Nordeste brasileiro I: estado do Ceará, **Rodriguésia**, v. 55, n° 84, p. 21-46, 2004.

GUSTAFSON, K. R.; BLUNT, J. W.; MUNRO, M. H. G.; FULLER, R. W.; MCKEE, T. C.; CARDELLINA, J. H.; MCMAHON, J. B.; CRAGG, G. M. AND BOYD, M. R., **Tetrahedron Letters**, v. 48, 10093, 1992.

HERATH, H. M. B. T., DASSANAYAKE, R. S.; PRIYADARSHANI, A. M. A.; SILVA, S., **Phytochemistry**, v. 47, p. 117-119, 1998.

JARAMILLO, M. A. & MANOS, P. S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus Piper (Piperaceae), **American Journal of Botany**, v. 88, n° 4, p. 706 -716, 2001.

JOLY, A. B., BOTÂNICA: introdução à taxonomia vegetal. 12ª ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1998.

JOLY, A.B., BOTÂNICA: introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: Editora Nacional, 1993.

KAMNAING, P.; FREE, S. N. Y. F.; NKENGFAK, A. E.; FOLEFOCA, G.; FOMUM, Z. T., An isoflavan-quinone and a flavonol from *Millettia laurentii*, **Phytochemistry**, v. 51, p. 829-832, 1999.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H., Sterol Glucosides from *Prunella Vulgaris*, **Phytochemistry**, v. 29, n° 7, p. 2351-2355, 1990.

KRAFT, C.; JENETT-SIEMS, K.; SIEMS, K.; GUPTA, M. P.; BIENZLE, U.; EICH, E., **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, p. 131-135, 2000.

KRAFT, C.; JENETT-SIEMS, K.; SIEMS, K.; SOLIS, P. N.; GUPTA, M. P.; BIENZLE, U.; EICH, E., **Phytochemistry**, v. 58, p. 769, 2001.

KRAFT, C.; JENETT-SIEMS, K.; KÖHLER, I.; SIEMS, K.; ABBIW, D.; BIENZLE, U.; EICH, E., **Journal of Biosciences**, v. 57, p. 785 - 790, 2002.

LE COINTE, P. A Amazônia brasileira III - Árvores e Plantas Úteis (indígenas e aclimadas), Livraria Clássica, Belém, 486p. 1934

LEWIS, G.P.; OWEN, P.E. Legumes of the Ilha de Maracá, **Royal Botanic Gardens, England**, 88p., 1989.

LOCK, O. U.; SANCHEZ, J. C. L.; SANCHEZ, R. P. U.; TEMPESTA, M. S., **Fitoterapia**, v. 62, n° 89, 1991.

LOPES, A.V. & MACHADO, I.C. Floral biology and reproductive ecology of *Clusia nemorosa* (Clusiaceae) in northeastern Brazil, **Plant Systematics and Evolution**, v. 213, p. 71-90, 1998.

LUZ, A. I. R.; SILVA, J. D.; ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; DA SILVA, M. H. L.; MAIA, J. G. S. Volatile constituents of Brazilian Piperaceae. Part 4. Essential oil composition of *Piper dactylostigmum*, *P. plurinervosum* and *P. vitaceum*, **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, n° 1, p. 94-96, 2000.

MACHADO, S. M. F.; MILITAO, J. S. L. T.; FACUNDO, V. A.; RIBEIRO, A.; MORAIS, S. M.; MACHADO, M. I. L., Leaf oils of two Brazilian Piper species: *Piper arboreum* Aublet var. *latifolium* (C.DC) Yuncker and *Piper hispidum* Sw. **Journal of Essential Oil Research**, v. 6, n° 6, p. 643-4, 1994.

MAIA, J. G. S.; ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; SANTOS, A. S.; SILVA, M. H. L.; LUZ, A. I. R.; BASTOS, C. N.; **Flavour Fragr. J.**, v. 13, p. 269, 1998.

MARTIUS, *Flora brasiliensis*, Brasil, p. 530, 1957.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P., ¹³C NMR Spectro of Pentacyclico Tritrepenóids – A compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, n° 6, p. 1517-1575, 1994.

MURTHY, M. S. R.; RAO, E. V.; WARD, R. S., **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 24, p. 225-230, 1986.

MATTOS, N. F., O Gênero *Andira* Lam. (Leguminosae: Papilionoideae) no Brasil. **Acta Amazônica**, v. 9, p. 241- 66, 1979.

MESQUITA, J. M. O.; OLIVEIRA, A. B.; BRAGA, F. C.; LOMBARDI, J. A.; PROENCA, C. A.; SALGUEIRO, L.; CAVALEIRO, C. Essential oil constituents of *Piper vicosanum* Yunker from the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, n° 4, p. 392-395, 2006.

MOREIRA, D. D.; GUIMARÃES, E. F.; KAPLAN, M. A. C.; **Phytochemistry**, v. 48, p. 1075, 1998.

NAGEM, T. J.; SILVA, M. C.; MESQUITA, A. A. L. AND SILVA, R., **Fitoterapia**. v. 64, p.87, 1993.

NAIR, M. G.; SAFIR, M G. R., SIQUEIRA, J. O., **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, n° 2, p. 434-439, 1991.

OHASHI, H.; GOTO, M., IMAMURA, H., **Phytochemistry**, v. 15, p. 354-355, 1976.

OLIVEIRA, J. C. S.; DIAS, O. J. M.; CAMARA, C. A. G.; SCHWARTZ, M. O. E. Volatile constituents of the leaf oils of *Piper aduncum* L. from different regions of pernambuco (Northeast of Brazil). **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, n° 5, p. 557-559, 2006.

PARMAR, V.S., JAIN, S.C., BISHT, K.S., JAIN, R., TANEJA, P., JHA, A., TYAGI, O.D., PRASAD, A.K., WENGEL, J., OLSEN, C.E., BOLL, P.M.,. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, v. 46 n° 4, p. 597-673, 1997.

PATRA, A.; MUKHOPADHYAY, A. K.; MITRA, A. K. **Organic Magnetic Resonance**, v. 17, n° 3, p. 166-168, 1981.

PECKOLT, T. & PECKOLT, G., História das plantas medicinais e úteis do Brazil. Rio de Janeiro, Laemmert, 1369 p, 1888.

PELTER, A.; WARD, R. S.; BASS, R. J., **Journal Chemical Society**, Perkin Trans I, p. 666, 1978.

PENNINGTON, T, LIMA H C., Two new of *Andira* (Leguminosae) from Brazil and the influence of dispersal in determining their distributions. **Kew Bulletin**, v. 50, p. 557-66, 1995.

PHILLIPSON, J. D.; ANDERSON, L. A.; **Journal of Ethnopharmacology**, 25, p. 61, 1998.

PIO CORRÊA, M. Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Vol 1, Ministério da Agricultura - IBDF, Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, 224 p., 1984.

POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H., Advances in Legume Systematics Part 1. **Royal Botanic Gardens, England**, 1981.

POSER, G. L. V.; RORIG, L. R.; HENRIQUES, A. T.; LAMATY, G.; MENUT, C.; BESSIERE, J. M. Aromatic plants from Brazil. III. The chemical composition of *Piper gaudichaudianum* Kunth and *P. mikanianum* (Kunth) Steudel essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v. 6, n° 4, p. 337-40, 1994.

POTZERNHEIM, M. ; BIZZO, H. R.; VIEIRA, R. F., Analysis of essential oils from three species of *Piper* collected in the region of the Distrito Federal (Cerrado) and comparison with oils of plants from the region of Paraty, State of Rio de Janeiro (Atlantic Rain Forest). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n° 2, p. 246-251, 2006.

POTZERNHEIM, M. ; COSTA, A. F.; BIZZO, H. R.; CARVALHO-SILVA, M.; VIEIRA, R. F., Essential oil of *Piper xylosteoides* (Kunth) Steud. from Federal District, Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, n° 5, p. 523-524, 2006.

REINBOTHE, C.; DIETRICH, B.; LUCKNER, M.J.; **Plant. Physiol.**, 137, p. 224, 1990.

RIZZINI, C T., Inibidores de germinação e crescimento em *Andira humilis* Benth. Acad Brasil Ciênc. (suplemento), v. 42, p. 329-67, 1970.

- RODRIGUES, R.M., A flora da Amazônia, Cultural CEJUP, Belém.; 2ª ed, 462p., 1989.
- SALAMA, M., **Revista Colombiana de Ciências Quím. e Farm.** v. 15, p. 99, 1986.
- SALAZAR, J. V. AND HASBUN, C., **Fitoterapia**, v. 57, n° 5, p. 375, 1986.
- SANTOS, P. R. D.; MOREIRA, D. L.; GUIMARAES, E. F.; KAPLAN, M. A. C. Essential oil analysis of 10 Piperaceae species from the Brazilian Atlantic forest. **Phytochemistry**, v. 58, n° 4, p. 547-551, 2001.
- SIDDIQUI, S.; HAFEEZ, F.; BEGUM, S.; SIDDIQUI, B. S., **J. Nat. Prod.** , v. n° 51, 229, 1988.
- SILVA, B. P.; VELOZO, L. S. M.; PARENTE, J. P., Biochanin A triglycoside from *Andira inermis*, **Fitoterapia**, v. 71, n° 6, p. 663-667, 2000.
- SILVA, S. L. DA C.; BORBA, H. R.; DO BONFIM, R. C. B.; DE CARVALHO, M. G.; CAVALCANTI, H. L.; BARBOSA, C.G.; **Parasitol. Latinoam.**, v. 58, p. 23, 2003.
- SILVA, C. V.; ALVES, A. N.; SANTANA, A.; GERALDO, M. C.; LUCIA, S. C. S.; SCHRIPEMA, J.; **Química Nova**, v. 29, n° 6, p. 1184-1186, 2006.
- SILVERSTEIN, R. M.; Webster, F. X.; Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos., 6ª ed. Rio de Janeiro, LTC, 2000.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. Farmacognosia : da planta ao medicamento. Ed. da UFSC, 2ª ed., 387 p., 2000.
- TORQUILHO, H. S.; PINTO, A. C.; GODOY, R. L. O.; GUIMARAES, E. F. Essential oil of *Piper cernum* Vell. var. *cernum* Yuncker from Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, n° 4, p. 443-444, 2000.
- TORQUILHO, H. S.; PINTO, A. C.; GODOY, R. L. O.; GUIMARAES, E. F. Essential oil of *Piper permucronatum* Yuncker (Piperaceae) from Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n° 4, p. 429-430, 1999.
- VITOR, R. F.; MOTA-FIFLIPE, H.; TEIXEIRA, G.; BORGES, C.; RODRIGUES, A. I, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, p. 363-370, 2004.
- YUNCKER, T.G. The Piperaceae of Brazil. **Hoehnea**, v. 2, p. 19-366, 1971.



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

