



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

ADRIANO NUNES CUNHA

ASPECTOS QUÍMICOS DO ESTUDO INTERDISCIPLINAR  
(QUÍMICO, FARMACOLÓGICO, BOTÂNICO E AGRONÔMICO) DE  
*Egletes viscosa* LESS.

FORTALEZA

2003

ADRIANO NUNES CUNHA

ASPECTOS QUÍMICOS DO ESTUDO INTERDISCIPLINAR  
(QUÍMICO, FARMACOLÓGICO, BOTÂNICO E AGRONÔMICO) DE  
*Egletes viscosa* LESS.

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

Orientador: Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira

FORTALEZA

2003

C977a Cunha, Adriano Nunes

Aspectos químicos do estudo interdisciplinar (químico, farmacológico, botânico e agronômico) de Egletes viscosa Less/ Adriano Nunes Cunha. - Fortaleza, 2003.

xxiii, 231f. : il.

Tese (Doutorado) em Química. - Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica  
Orientador: Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira.

1. Egletes Viscosa. 2. Produtos Naturais. 3. Óleos essenciais 4. Determinação Estrutural. I. Título

CDD-547

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

---

/ Adriano Nunes Cunha

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 28/04/2003

EXAMINADORES:

---

Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira (orientador)  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

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

---

Profa. Dra. Maria Goretti de Vasconcelos Silva  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Prof. Dr. Massuo Jorge Kato  
Universidade de São Paulo - USP

---

Prof. Dr. Ângelo da Cunha Pinto  
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

O trabalho apresentado nesta tese foi realizado sob orientação do professor Edilberto Rocha Silveira do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

Aos meus pais José  
Arthur e Marúcia, à minha  
avó Zermah e às minhas  
mulheres Diana, e  
Marcela.

## AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível graças à colaboração, direta ou indireta, de várias pessoas. Por isso, agradecemos:

Ao Prof. Edilberto Rocha Silveira, pela valiosa orientação, incentivo e principalmente pelo exemplo de dedicação e amor à pesquisa de produtos naturais.

Aos Profs. Manoel Andrade Neto e Mary Anne Sousa Lima, por abrirem as portas deste fascinante mundo da pesquisa científica, a um simples monitor de Química Orgânica I, alguns anos atrás.

Aos Profs. Do curso de Pós-Graduação em Química Orgânica, pela contribuição a nossa formação acadêmica.

Aos Engenheiros Agrônomos Antonio Marcos Esmeraldo Bezerra e João Baptista Santiago de Freitas, pelo fornecimento de material vegetal cultivado nas hortas do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará.

Aos botânicos Edson de Paula Nunes e Francisca Simões Cavalcanti, pelas identificações botânicas dos espécimes utilizados neste trabalho.

Aos Prof. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes, Dr. Antônio Fernando Frota Bezerra e Dr. Manoel Odorico de Moraes Filho, coordenadores da Unidade de Farmacologia Clínica da Universidade Federal do Ceará, pelo valioso tempo cedido para a redação deste trabalho.

Ao Instituto Claude Bernard, pelo apoio logístico na impressão deste trabalho.

Aos amigos do curso de Pós-Graduação em Química Orgânica, em especial a Geraldo, Kirley, Daniel, Mônica, Graziele, Davi, Sara, Martins, Regina, Nilce, Conceição e Jair, pela ajuda e incentivo na realização deste trabalho.

Aos amigos da Unidade de Farmacologia Clínica, minha nova casa, onde pretendo mostrar todo o meu potencial como pesquisador.

Aos funcionários do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, pelos diversos serviços prestados.

A CAPES, CNPq, FINEP, PADCT e FUNCAP, pelo suporte financeiro e bolsas concedidas.

Em especial aos meus pais José Arthur Ramos Cunha e Marúcia Nunes Cunha, as Minhas esposa e filha Diana Guerra Cunha e Marcela Guerra Cunha, pelo apoio, carinho e paciência, durante a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS .....</b>	<b>5</b>
2.1	Considerações Botânicas Sobre a Família Asteraceae.....	5
2.2	Considerações Botânicas Sobre a Tribo <i>Astereae</i> .....	5
2.3	Considerações Botânicas Sobre o Gênero <i>Egletes</i> Cass. ....	11
2.4	Considerações Botânicas Sobre a Espécie <i>Egletes viscosa</i> Less. ....	11
<b>3</b>	<b>LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO SOBRE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ASTEREAE PUBLICADOS ENTRE 1992 E 2002.....</b>	<b>13</b>
<b>4</b>	<b>ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Egletes viscosa</i> LESS.....</b>	<b>17</b>
4.1	Óleos Essenciais: Uma Visão Geral.....	17
4.1.1	Componentes Químicos Presentes nos Óleos Essenciais.....	17
4.1.2	Atividades Farmacológicas de Óleos Essenciais .....	18
4.1.3	Atividades Biológicas de Óleos Essenciais.....	18
4.1.4	Métodos de Extração de Óleos Essenciais .....	19
4.1.4.1	Extração por Arraste a Vapor d'Água.....	19
4.1.4.2	Extração por Hidrodestilação ou Coobação .....	19
4.1.4.3	Extração com CO <sub>2</sub> Supercrítico .....	19
4.1.5	Técnicas de Análise dos Constituintes Químicos de Óleos Essenciais.....	20
4.1.5.1	Cromatografia Gasosa (CG).....	20
4.1.5.2	Extração Líquido-líquido.....	21
4.1.6	Técnicas Utilizadas na Identificação dos Constituintes Químicos de Óleos Essenciais .....	21
4.1.6.1	Espectrometria de massa acoplada a cromatografia gasosa (CG/EM).....	22
4.2	Óleo Essencial de <i>Egletes viscosa</i> Less. Comercializada: Descoberta de um Novo Químiotipo .....	23
4.2.1	Tempo de Retenção e o Cálculo dos Índices de Kovats Simulados.....	29
4.3	Identificação de OEM-A1 .....	32
4.4	Determinação Estrutural de OEM-B1 .....	42
4.5	Óleos Essenciais de <i>Egletes viscosa</i> do Ceará .....	56
4.6	Acompanhamento da Composição Química Volátil de <i>Egletes viscosa</i> com a Variação Sazonal.....	60
4.7	Óleo Essencial de <i>Egletes viscosa</i> Less. Cultivada: Confirmação da Existência de Um Novo Químiotipo.....	61
<b>5</b>	<b>DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES NÃO VOLÁTEIS DE <i>Egletes viscosa</i> Less.....</b>	<b>75</b>
5.1	Determinação Estrutural de EVFIC-1 .....	75
5.2	Determinação Estrutural de EVFIC-2 .....	81
5.3	Determinação Estrutural de EVFIC-3 .....	85
5.4	Determinação estrutural de EVFIC-4.....	97
5.5	Determinação Estrutural de EVFIC-5 e EVFIC-6.....	110
5.6	Determinação Estrutural de EVFIC-7 .....	126
5.7	Determinação Estrutural de EVFIC-8 .....	135
5.8	Determinação estrutural de EVFIC-9.....	140
<b>6</b>	<b>SEMI-SÍNTESE DE ALCALÓIDES E COMPOSTOS OXIGENADOS.....</b>	<b>145</b>

6.1	Adição de 1,2-diaminoetano ao acetato da lactona do ácido hautriwaico .....	145
6.1.1	Proposta Mecanística Para Formação de EVFIC-3a.....	147
6.2	Adição De Etilenoglicol ao Acetato da Lactona do Ácido Hautriwaico.....	150
6.2.1	Proposta Mecanística Para Formação de EVFIC-3b.....	155
6.2.1.1	Adição Nucleofílica do Etilenoglicol.....	155
6.2.1.2	Hidrólise do Grupo Acetato .....	157
6.3	Adição de Etanolamina ao acetato da lactona do ácido hautriwaico.....	157
6.3.1	Proposta Mecanística Para Formação de EVFIC-3c.....	160
6.4	Adição de 1,2-diaminoetano ao <i>12-epi</i> -bacchotricuneatina A.....	162
6.4.1	Proposta mecanística para formação de EVFIC-4a.....	166
7	<b>PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	169
7.1	Material Vegetal.....	169
7.2	Métodos Cromatográficos.....	169
7.3	Métodos Espectrométricos .....	170
7.3.1	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN <sup>1</sup> H) e de Carbono-13 (RMN <sup>13</sup> C).....	170
7.3.2	Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV).....	172
7.4	Cromatografia Gás/Líquido Acoplada a Espectrometria de Massa (CGL/EM) ....	172
7.5	Pontos de Fusão.....	173
7.6	Rotação Óptica .....	173
7.7	Índice de Refração.....	173
7.8	Estudo dos Constituintes Voláteis de <i>Egletes viscosa</i> Less.....	173
7.8.1	Obtenção dos Óleos Essenciais de <i>Egletes viscosa</i> Less. (Fluxograma 1) ....	174
7.9	Metodologia de isolamento dos constituintes majoritários de <i>Egletes viscosa</i> Less (Tipo A).....	175
7.9.1	Isolamento de EVFIC-1.....	176
7.9.2	Isolamento de EVFIC-2.....	177
7.9.3	Isolamento de EVFIC-3.....	178
7.10	Isolamento dos constituintes não voláteis de <i>Egletes viscosa</i> Less (Tipo B).....	180
7.10.1	Isolamento de EVFIC-4.....	181
7.10.2	Isolamento de EVFIC-7.....	183
7.10.3	Isolamento de EVFIC-5 e EVFIC-6 .....	185
7.10.4	Isolamento de EVFIC-8.....	187
7.10.5	Isolamento de EVFIC-9.....	189
7.11	Obtenção dos Derivados.....	191
7.11.1	Adição de diaminoetano à EVFIC-3.....	191
7.11.2	Adição de etilenoglicol à EVFIC-3.....	191
7.11.3	Cromatografia de EVFIC-3b.....	192
7.11.4	Adição de etanolamina à EVFIC-3.....	192
7.11.5	Adição de diaminoetano à EVFIC-4 .....	192
8	<b>CONCLUSÃO .....</b>	195
9	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	197

## LISTAS DE ABREVIATURAS

- CCD – Cromatografia de Camada Delgada  
 CG/EM – Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa  
 COSY – CORrelated SpectroscopY  
 DEPT – Distortionless Enhancement by Polarization Transfer  
 EVF1C – Extrato Clorofórmico das Flores de *Egletes viscosa*  
 EVF1C – Extrato Clorofórmico dos Capítulos Florais de *Egletes viscosa* Less  
 HBBD – Hydrogen Broad Band Decoupling  
 HETCOR – HETeronuclear CORrelation  
 HMBC – Heteronuclear Multiple-Bound Correlation  
 HMQC – Heteronuclear Multiple-Quantum Correlation  
 IV – Infravermelho  
 NOESY – Nuclear Overhauser and Exchange SpectroscopY  
 OEM-A – Óleo Essencial de Macela Tipo A  
 OEM-B – Óleo Essencial de Macela Tipo B  
 RMN  $^{13}\text{C}$  – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13  
 RMN  $^1\text{H}$  – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio  
 SW – Sweep Width

## LISTAS DE ESQUEMAS

Esquema 1 .....	148
Esquema 2 .....	155
Esquema 3 .....	155
Esquema 4 .....	157
Esquema 5 .....	160

## LISTAS DE FIGURAS

Figura 1: Fotos de <i>Egletes viscosa</i> Less.....	1
Figura 2: Representação da caatinga no território brasileiro. Adaptado de <a href="http://www.wwf.org.br/bioma">http://www.wwf.org.br/bioma</a> .....	1
Figura 3: Fotos de <i>Egletes viscosa</i> Less. em seu habitat natural.....	2
Figura 4: Fotos de <i>Achyrocline satureoide</i> (Lam.) DC.....	2
Figura 5: Foto de <i>Chrysanthemum parthenium</i> (L.) Bernh.....	3
Figura 6: Formas de comercialização dos capítulos florais de <i>Egletes viscosa</i> Less.....	3
Figura 7:Detalhes das estruturas vegetais de espécimens da tribo <i>Astereae</i> . A – <i>Inulopsis scaposa</i> (Baker) Hoffm.: capítulo com brácteas involucrais e flores radiais, com lígulas estreitas, exsertas do invólucro; B – <i>Conyza sp.</i> : capítulo com invólucro campanulado, trisseriado; C – <i>Baccharis sp.</i> : flor feminina; D - <i>Baccharis intermixta</i> DC.: flor feminina com corola filiforme e ramos longos do estilete; E – <i>Heterothalamus sp.</i> : flor feminina; F – <i>Baccharis intermixta</i> DC.: flor masculina com lobos da corola revolutos e estilete com ramos curtos e estéreis; G – <i>Heterothalamus sp.</i> : flor masculina com papus de cerdas aplanadas; H – detalhes dos ramos dos estiletes de <i>Áster sp.</i> ; I – detalhes dos ramos dos estiletes de <i>Erigeron sp.</i> ; J – aquênios de <i>Asteropsis macrocephala</i> Less.; K – aquênios de <i>Sommerfeltia sp.</i> Adaptado de Barroso, 1991, Págs. 277, 285, 287, 289, 301 e 303..	12
Figura 8: Espectro de RMN $^1\text{H}$ do Óleo Essencial dos Capítulos Florais de <i>E. viscosa</i> Tipo B [ $\delta$ ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ].....	24
Figura 9: Espectro de RMN $^1\text{H}$ do Óleo Essencial dos Capítulos Florais de <i>E. viscosa</i> Tipo A [ $\delta$ ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	25
Figura 10: Cromatograma Gás-Líquido de OEM-A .....	27
Figura 11: Cromatograma Gás-Líquido de OEM-B .....	27
Figura 12: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD de OEM-A1 [ $\delta$ ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	34
Figura 13: Espectro na região do IV de OEM-A1 [ $\text{cm}^{-1}$ ; filme] .....	34
Figura 14: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de OEM-A1 [ $\delta$ ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	35
Figura 15: Espectro de RMN $^1\text{H}$ de EVFIC-A1 [ $\delta$ ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	37
Figura 16: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}-\text{COSY}$ de OEM-A1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	38
Figura 17: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}-\text{HMQC}$ de OEM-A1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	38

Figura 18: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de OEM-A1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	39
Figura 19: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD de OEM-B1 [ $\delta$ ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	42
Figura 20: Espectro na região do IV de OEM-B1 [ $\text{cm}^{-1}$ ; filme] .....	43
Figura 21: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de OEM-B1 [ $\delta$ ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	44
Figura 22: Espectro de RMN $^1\text{H}$ de OEM-B1 com expansão da região entre 2,7 e 1,8 ppm [ $\delta$ ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	46
Figura 23: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY de OEM-B1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	47
Figura 24: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC de OEM-B1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	48
Figura 25: Diagrama de contorno da expansão da região entre 0,5 e 3,2 ppm do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC de OEM-B1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	49
Figura 26: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de OEM-B1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	50
Figura 27: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY de OEM-B1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	52
Figura 28: Diagramas de contorno da expansão da região entre 4,5 a 4,8 ppm do espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY de OEM-B1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	52
Figura 29: Mapa do Estado do Ceará, Indicando os Municípios Onde as Coletas de <i>Egletes viscosa</i> Less Foram Realizadas.....	56
Figura 30: Especimens de <i>Egletes viscosa</i> Less. Coletadas no município de São Gonçalo do Amarante-CE. A = especimens do tipos SG-1, B = especimens do tipos SG-2. ....	59
Figura 31: Macela Tipo-A Cultivada, nos Primeiros Estágios de Desenvolvimento.....	64
Figura 32: Macela Tipo-B Cultivada, nos Primeiros Estágios de Desenvolvimento.....	64
Figura 33: Espectro de massa do sabineno.....	66
Figura 34: Espectro de massa do $\beta$ -pineno .....	66
Figura 35: Espectro de massa do mirceno.....	66
Figura 36: Espectro de massa do limoneno.....	66
Figura 37: Espectro de massa do $\beta$ -felandreno .....	67
Figura 38: Espectro de massa do (Z)- $\beta$ -ocimeno .....	67
Figura 39: Espectro de massa do (E)- $\beta$ -ocimeno .....	67
Figura 40: Espectro de massa do linalol.....	67

Figura 41: Espectro de massa do <i>trans</i> -pinocarveol .....	68
Figura 42: Espectro de massa da pinocarvona .....	68
Figura 43: Espectro de massa da isopinocanfona.....	68
Figura 44: Espectro de massa do terpin-4-ol.....	68
Figura 45: Espectro de massa do mirtenol .....	69
Figura 46: Espectro de massa do <i>trans</i> -carveol .....	69
Figura 47: Espectro de massa do acetato de <i>cis</i> -crisantenila .....	69
Figura 48: Espectro de massa do acetato de <i>cis</i> -verbenila .....	69
Figura 49: Espectro de massa do acetato de <i>trans</i> -verbenila .....	70
Figura 50: Espectro de massa do acetato de <i>trans</i> -pinocarveíla .....	70
Figura 51: Espectro de massa do acetato de <i>cis</i> -isopinocarveíla .....	70
Figura 52: Espectro de massa do acetato de <i>cis</i> -pinocarveíla .....	70
Figura 53: Espectro de massa do acetato de $\alpha$ -terpinila .....	71
Figura 54: Espectro de massa do acetato de diidro- <i>neo</i> -isocarveíla .....	71
Figura 55: Espectro de massa do acetato de <i>trans</i> -mirtanol.....	71
Figura 56: Espectro de massa do acetato de geranila.....	71
Figura 57: Espectro de massa do $\beta$ -cubebeno .....	72
Figura 58: Espectro de massa do <i>trans</i> -cariofileno .....	72
Figura 59: Espectro de massa do $\alpha$ -humuleno .....	72
Figura 60: Espectro de massa do (E)- $\beta$ -farneseno .....	72
Figura 61: Espectro de massa do $\gamma$ -muuroleno .....	73
Figura 62: Espectro de massa do germacreno D .....	73
Figura 63: Espectro de massa do $\gamma$ -cadineno .....	73
Figura 64: Espectro de massa do $\delta$ -cadineno .....	73
Figura 65: Espectro de massa do óxido de cariofileno.....	74
Figura 66: Espectro de massa do $\gamma$ -eudesmol .....	74
Figura 67: Espectro de massa do elemol .....	74
Figura 68: Espectro de massa do $\tau$ -cadinol.....	74
Figura 69: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-1 [ $\delta$ ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	75
Figura 70: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de EVFIC-1 [ $\delta$ ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	76
Figura 71: Espectro de RMN $^1\text{H}$ de EVFIC-1 [ $\delta$ ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	78
Figura 72:Expansão da região entre 7,5 a 5 ppm do espectro de RMN $^1\text{H}$ de EVFIC-1 [ $\delta$ ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	78

Figura 73: Expansão da região entre 2,7 a 1,5 ppm do espectro de RMN $^1\text{H}$ de EVFIC-1 [δ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	79
Figura 74: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-2 [δ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	82
Figura 75: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de EVFIC-2 [δ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	82
Figura 76: Espectro de RMN $^1\text{H}$ de EVFIC-2 [δ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	83
Figura 77: Expansão da região entre 8,0 a 6,0 ppm do espectro de RMN $^1\text{H}$ de EVFIC-2 [δ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	83
Figura 78: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-3 [δ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	86
Figura 79: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de EVFIC-3 [δ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	86
Figura 80: Espectro de RMN $^1\text{H}$ de EVFIC-3 [δ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	88
Figura 81: Expansão da região entre 2,5 a 1 ppm do espectro de RMN $^1\text{H}$ de EVFIC-3 [δ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	88
Figura 82: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY de EVFIC-3 [δ; 500 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	91
Figura 83: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC de EVFIC-3 [δ; 500 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	91
Figura 84: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-3 [δ; 500 MHz x 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	92
Figura 85: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY de EVFIC-3 [δ; 500 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	94
Figura 86: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-4 [δ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	98
Figura 87: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de EVFIC-4 [δ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	98
Figura 88: Espectro na região do IV de EVFIC-4 [ $\text{cm}^{-1}$ , KBr] .....	100
Figura 89: Espectro de RMN $^1\text{H}$ de EVFIC-4 [δ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	101
Figura 90: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC de EVFIC-4 [δ; 500 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	103
Figura 91: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY de EVFIC-4 [δ; 500 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	103
Figura 92: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-4 [δ; 500 MHz x 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	105
Figura 93: Diagrama de contorno das expansões das regiões de 2,8 – 1,0 ppm do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-4 [δ; 500 MHz x 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	106

Figura 94: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	110
Figura 95: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	111
Figura 96: Espectro na região do IV de EVFIC-5 [ $\text{cm}^{-1}$ ; filme].....	112
Figura 97: Espectro de RMN $^1\text{H}$ de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ].....	113
Figura 98: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	114
Figura 99: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 125 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	115
Figura 100: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 125 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	116
Figura 101: Diagramas de contorno das expansões da região entre 1,7 e 0,0 ppm do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ].....	116
Figura 102: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	118
Figura 103: Diagrama de contorno da expansão da região entre 2,1 e 0,7 ppm do espectro do espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	118
Figura 104: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-6.....	121
Figura 105: Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-6 .....	123
Figura 106: Conformações propostas para EVFIC-6 e o barbatol. ....	124
Figura 107: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-7.....	127
Figura 108: expansão da região entre 50-10 ppm do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-7 .....	127
Figura 109: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-7 .....	128
Figura 110: RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-7 .....	129
Figura 111: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY de EVFIC-7 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	130
Figura 112: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HETCOR de EVFIC-7 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	131
Figura 113: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-7 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	132
Figura 114: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-8 [ $\delta$ ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	136
Figura 115: expansão da região entre 33 a 19 ppm do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-8 [ $\delta$ ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	136

Figura 116: Espectro de RMN $^1\text{H}$ de EVFIC-8 [δ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	138
Figura 117: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de EVFIC-8 [δ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	138
Figura 118: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ), de EVFIC-9.....	141
Figura 119: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ), de EVFIC-9.....	141
Figura 120: Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ), de EVFIC-9.....	142
Figura 121: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-3a.....	146
Figura 122: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-3a .....	146
Figura 123: Espectro de RMN $^1\text{H}$ (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-3a .....	147
Figura 124: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-3b [δ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	151
Figura 125: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de EVFIC-3b [δ; 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ].....	152
Figura 126: Espectro de RMN $^1\text{H}$ de EVFIC-3b [δ; 500 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	152
Figura 127: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-3b [δ; 500 MHz x 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	153
Figura 128: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC de EVFIC-3b [δ; 500 MHz x 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	154
Figura 129: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-3c.....	158
Figura 130: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-3c.....	159
Figura 131: Espectro de RMN $^1\text{H}$ (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-3c .....	159
Figura 132: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-4a.....	163
Figura 133: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-4a .....	163
Figura 134: Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-4a .....	164
Figura 135: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-4a [δ; 500 MHz x 125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	165
Figura 136: Diagrama de contorno do espectro $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-4a [δ; 500 MHz x125 MHz; $\text{CDCl}_3$ ] .....	166

#### LISTAS DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1: Método de extração do óleo essencial de <i>Egletes viscosa</i> Less.....	175
Fluxograma 2: Obtenção e cromatografia filtrante do extrato clorofórmico dos capítulos florais de <i>Egletes viscosa</i> Less. para isolamento dos constituintes majoritários. ....	176
Fluxograma 3: Isolamento de EVFIC-1 (2).....	177
Fluxograma 4: Isolamento de EVFIC-2 .....	179

Fluxograma 5: Isolamento de EVFIC-3 .....	180
Fluxograma 6: Obtenção e cromatografia filtrante do extrato clorofórmico dos capítulos florais de <i>Egletes viscosa</i> Less. para isolamento dos constituintes não voláteis. ....	181
Fluxograma 7: Isolamento de EVFIC-4 (42).....	182
Fluxograma 8: Isolamento de EVFIC-7. ....	184
Fluxograma 9: Isolamento de EVFIC-5 (43) e EVFIC-6 (44) .....	186
Fluxograma 10: Isolamento de EVFIC-8 (46) .....	188
Fluxograma 11: Isolamento de EVFIC-9 (47) .....	190

### LISTAS DE QUADROS

Quadro 1: Representação dos acoplamentos observados no espectro de $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de OEM-A1 .....	39
Quadro 2: Proposta mecanística para fragmentação de massa de OEM-A1 .....	41
Quadro 3: Representação dos acoplamentos observados no espectro de $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de OEM-B1 .....	51
Quadro 4: Representação dos acoplamentos observados no espectro de $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY de OEM-B1 .....	53
Quadro 5: Proposta mecanística para fragmentação de massa de OEM-B1 .....	54
Quadro 6: Representação dos acoplamentos observados no espectro de $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-3 .....	93
Quadro 7: Representação dos acoplamentos observados no espectro de $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY de EVFIC-3 .....	94
Quadro 8: Representação dos acoplamentos observados no espectro de $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-4 .....	107
Quadro 9: Representação dos acoplamentos observados no espectro de $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-5 .....	117
Quadro 10: Representação dos acoplamentos observados no espectro de $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY de EVFIC-5 .....	119
Quadro 11: Representação dos acoplamentos observados no espectro de $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY de EVFIC-7 .....	131
Quadro 12: Representação dos acoplamentos observados no espectro de $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-7 .....	133

## LISTAS DE TABELAS

Tabela 1: Gêneros da tribo Astereae, com seus respectivos sinônimos, quando estes existirem.	6
.....	
Tabela 2:Lista das espécies da Tribo Astereae com óleos essenciais relatados na literatura nos últimos 10 anos (1992-2002). ....	14
Tabela 3:Nomes Comerciais das Principais Fases Estacionárias Utilizadas na Separação de Compostos Orgânicos em Cromatografia Gasosa.....	21
Tabela 4: Dados da Extração dos Capítulos Florais de <i>E. viscosa</i> , Comercializada e Coletada em Pentecoste-CE .....	25
Tabela 5: Composição Química Volátil dos Capítulos Florais de <i>E. viscosa</i> Registrados na Literatura (Craveiro, 1992; Lima, 1993), com OEM-A e OEM-B. ....	28
Tabela 6: Compostos selecionados no cromatograma do óleo essencial de <i>Egletes viscossa</i> coletada em Pentecoste-CE, para o cálculo da reta de regressão.....	32
Tabela 7: Constituintes identificados no óleo essencial de <i>Egletes viscossa</i> coletada em Pentecoste-CE. ....	33
Tabela 8: Deslocamentos Químicos de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de OEM-A1 por Padrão de Hidrogenação.....	35
Tabela 9: Correlação Entre os Dados de RMN e a Estrutura de OEM-A1 .....	40
Tabela 10: Deslocamentos Químicos de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de OEM-B1 por Padrão de Hidrogenação.....	44
Tabela 11: Correlação Entre os Dados de RMN e a Estrutura de OEM-B1 .....	55
Tabela 12: Localidades, Datas de Coletas Alíquotas Extraídas e Rendimentos, das Populações de <i>Egletes viscossa</i> do Estado do Ceará. ....	57
Tabela 13: Componentes Identificados nos Óleos Essenciais da Parte Aérea das Populações de <i>Egletes viscossa</i> , Coletada no Ceará. ....	58
Tabela 14: Datas de Coleta e Rendimentos dos Óleos Essenciais da Parte Aérea de <i>Egletes viscossa</i> , Coletada em Água Verde-CE. ....	61
Tabela 15: Componentes Identificados nos Óleos Essenciais da Parte Aérea de <i>Egletes viscossa</i> , Coletada em Água Verde-CE. ....	62
Tabela 16: Alíquotas Extraídas e Rendimentos das Amostras de <i>Egletes viscossa</i> Cultivada..	65
Tabela 17: Composição Química dos Óleos Essenciais de Amostras das Duas Variedades de <i>Egletes viscossa</i> . ....	65

Tabela 18: Comparação dos dados de Deslocamentos Químicos de RMN <sup>13</sup> C do Anel Furânico de EVFIC-1 com Anéis Furânicos de Diterpenos Clerodânicos da Literatura.	77
Tabela 19:Comparação dos Deslocamentos Químicos dos Hidrogênios Furânicos de EVFIC-3 com Hidrogênio Furânicos de Diterpenos Clerodânicos Descritos na Literatura.....	77
Tabela 20: Comparação dos Dados de Deslocamento Químico de RMN <sup>13</sup> C de EVFIC-1 com o ácido centipédico (2).....	80
Tabela 21: Comparação dos dados de RMN <sup>13</sup> C de EVFIC-2 com a ternatina (Lima, 1993) .	84
Tabela 22:Deslocamentos Químicos de RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz) de EVFIC-3, por Padrão de Hidrogenação.....	87
Tabela 23: Comparação dos Dados de Deslocamento Químico de RMN <sup>13</sup> C de EVFIC-3 com o 15,16-epoxi-12-acetoxi-3,13(16),14-clerodatrien-18,19-olídeo (3).....	90
Tabela 24: Correlação Entre os Dados de RMN e a Estrutura de EVFIC-3 .....	95
Tabela 25: Deslocamentos Químicos de RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz) de EVFIC-4 por Padrão de Hidrogenação.....	99
Tabela 26: Comparação dos dados de RMN <sup>13</sup> C e <sup>1</sup> H (500 e 125 MHz, respectivamente; CDCl <sub>3</sub> ) de EVFIC-4 com o 15,16-epoxi-12-acetoxi-3,13(16),14-clerodatrien-18,19-olídeo.....	104
Tabela 27: Correlação Entre os Dados de RMN e a Estrutura de EVFIC-4 .....	108
Tabela 28:Comparação das faixas de fusão, rotação ópticas e dos dados de RMN <sup>13</sup> C de EVFIC-4 com a bacchotricuneatina-A e a 12- <i>epi</i> -bacchotricuneatina-A. ....	109
Tabela 29: Deslocamentos Químicos de RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz) de EVFIC-5 por Padrão de Hidrogenação.....	112
Tabela 30: Correlação Entre os Dados de RMN e a Estrutura de EVFIC-5 .....	120
Tabela 31: Comparação dos dados de RMN <sup>13</sup> C-HBBD de EVFIC-6 com o barbatol.....	122
Tabela 32:Comparação dos dados de RMN <sup>13</sup> C-HBBD, rotação óptica e faixa de fusão de EVFIC-6 com o tarapacol.....	125
Tabela 33: Deslocamentos Químicos de RMN <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz) de EVFIC-7 por Padrão de Hidrogenação.....	128
Tabela 34: Correlação Entre os Dados de RMN e a Estrutura de EVFIC-7 .....	134
Tabela 35:Comparação dos dados de RMN <sup>13</sup> C de EVFIC-8 com a EVFIC-7.....	137
Tabela 36: Comparação dos dados de RMN <sup>13</sup> C de EVFIC-9 com a escopoletina .....	143
Tabela 37: Comparação dos dados de RMN <sup>13</sup> C-HBBD, do acetato da lactona do ácido hautriwaico (3) e de EVFIC-3a. ....	149

Tabela 38: Comparação dos Dados de Deslocamento Químico de RMN $^{13}\text{C}$ com padrão de hidrogenação do acetato da lactona do ácido hautriwaico (3) com o EVFIC-3b.....	156
Tabela 39: Comparação Dos Dados de Deslocamento Químico de RMN $^{13}\text{c}$ com Padrão de Hidrogenação do Acetato da Lactona do Ácido Hautriwaico (3) com o EVFIC-3c.....	161
Tabela 40: Comparação dos Dados de Deslocamento Químico de RMN $^{13}\text{C}$ com padrão de hidrogenação da <i>12-epi</i> -bacchotricicuneatina A (4) com o EVFIC-4a.....	167
Tabela 41: Dados da coluna filtrante de EVFIC .....	175
Tabela 42: Dados da coluna cromatográfica de EVFIC-H/NH <sub>3</sub> .....	176
Tabela 43: Dados da coluna filtrante de EVFIC-C .....	177
Tabela 44: Dados da coluna filtrante de EVFIC <sub>1</sub> .....	181
Tabela 45: Dados da coluna filtrante em sílica de EVFIC <sub>1</sub> -C.....	182
Tabela 46: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M.....	183
Tabela 47: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M(69-91).....	184
Tabela 48: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M(69-91)(13-17).....	185
Tabela 49: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(7-10). .....	186
Tabela 50: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M(7-22).....	187
Tabela 51: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M(7-22)(5-12).....	188
Tabela 52: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M(23-68).....	189
Tabela 53: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M(23-68)(31-45).....	190

## RESUMO

Os capítulos florais de *Egletes viscosa* Less. (macela ou macela-da-terra), são utilizados na medicina popular no tratamento de distúrbios gastrintestinais. Devido a sua grande utilização pela população, estes são facilmente encontrados em ervanários de grande parte do nordeste brasileiro.

O estudo dos constituintes voláteis, de espécimes de *E. viscosa*, possibilitou a caracterização de dois quimiotipos para esta espécie. Um dos quimiotipos é caracterizado pela presença do acetato de *trans*-pinocarveíla como constituinte principal. O outro quimiotipo, apresenta como constituinte principal um monoterpeno acetilado, isômero de posição do acetato de *trans*-pinocarveíla, que está sendo relatado pela primeira vez, e foi denominado como acetato de *cis*-isopinocarveíla. Além destes dois monoterpenos, 34 outros constituintes voláteis, foram identificados.

O extrato clorofórmico dos capítulos florais de *E. viscosa* forneceu, além dos constituintes não voláteis já descritos para esta espécie, mais cinco diterpenos, dos quais quatro são furânicos: 12*epi*-bacchotricicuneatina A, barbatol, tarapacol, e um novo diterpeno monocíclico denominado 15,20-epoxi-9,10-seco-4,9(10),13(20),14-labdatrien-18-ol. Além destes outros diterpeno monocíclico não relatado na literatura, foi isolado, sendo denominado de 9,10-seco-4,9(10),13(14)-labdatrien-15,20-olid-18-ol. Foi possível também observar a presença da 6-metoxi-5-hidroxi-cumarina (escopoletina) neste extrato.

A grande quantidade dos diterpenos bacchotricicuneatina A e acetato da lactona do ácido hautriwaico, possibilitou a formação de três adutos nitrogenados e um oxigenado, obtidos a partir da adição de Michael de aminas e álcoois a estes diterpenos.

As determinações estruturais foram realizadas através de métodos espectrométricos (IV, RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ ), incluindo RMN bidimensional e cromatografia gás-líquido acoplada a espectrometria de massa.

## ABSTRACT

The flower buds of *Egletes viscosa* Less. ("macela" or "macela-da-terra") are used in folk medicine for the treatment of gastric disturbances. Due to the widespread use they can be easily found in herbal stores throughout the Northeast of Brazil. A study of the volatile chemical constitution with different specimens of *E. viscosa* led to the characterization of two chemotypes for this species. One chemotype is characterized by the presence of *trans*-pinocarvyl acetate, as the major constituent while the other presents another acetylated monoterpene designated *trans*-isopinocarvyl acetate. The later is reported for the first time in the literature. Several other volatile constituents were also identified from both oils.

The chloroform extract from the flower buds of *E. viscosa* yielded, besides the already known non-volatile constituents centipedic acid, ternatin, and lactone, reported previously for this species, five other diterpene not yet reported for the species. Four of them are furan derivatives: 12-*epi*-bacchotricuneatin A, barbatol, tarapacol and the new monocyclic diterpene 15,20-epoxy-9,10-seco-4,9(10),13(20),14-labdatriene-18-ol; the other one is a novel  $\gamma$ -lactone monocyclic diterpene 9,10-seco-4,9(10),13(14)-labdatriene-15,20-olid-18-ol. Scopoletin was also isolated.

The large amount of the isolated diterpenes: lactona and 12-*epi*-bacchotricuneatin A allowed the preparation of four, nitrogenated and oxygenated, derivatives by Michael addition of specific amine and alcohols to the diterpenes.

Structure determination was performed by spectroscopic analysis (NMR, IR, MS) including two-dimensional NMR and gas chromatography coupled to mass spectrometry.

# *Introdução*

## 1 INTRODUÇÃO

*Egletes viscosa* Less. (Asteraceae) (Fig. 1, abaixo), é uma espécie típica da caatinga, vegetação que representa cerca de 10 % da flora existente no Brasil (<http://www.wwf.org.br/bioma>), abrangendo quase a totalidade do território do Estado do Ceará, (Fig. 2, abaixo). Esta espécie inicia seu ciclo vegetativo no início do período de seca, quando grande parte da vegetação nordestina definha devido à escassez de água. O seu habitat característico, são os leitos e margens secas de rios, lagoas e açudes (Fig. 3, p. 2), onde se adapta muito bem.



Figura 1: Fotos de *Egletes viscosa* Less.

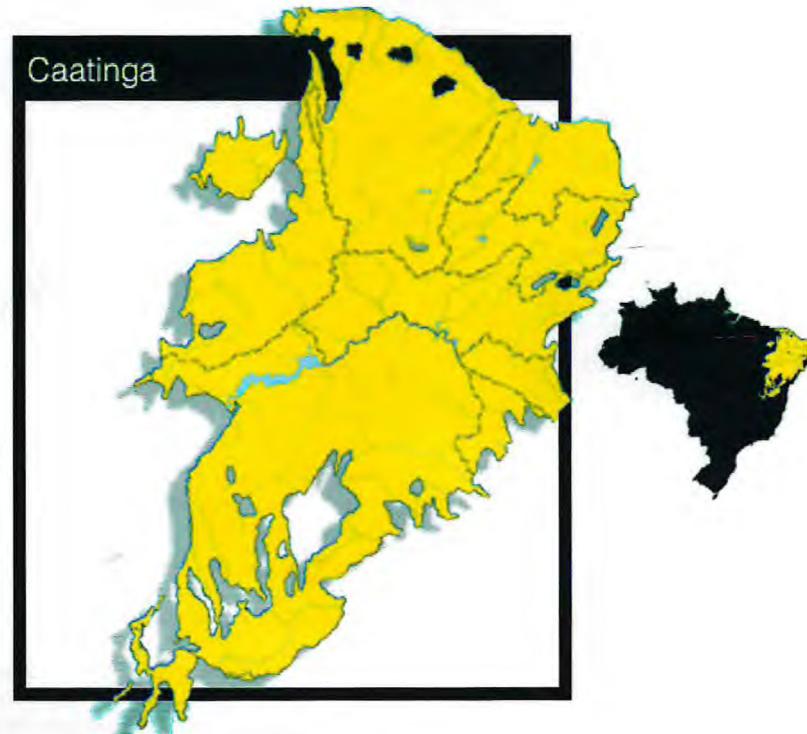


Figura 2: Representação da caatinga no território brasileiro. Adaptado de  
<http://www.wwf.org.br/bioma>.



Figura 3: Fotos de *Egletes viscosa* Less. em seu habitat natural.

Esta espécie é conhecida pela população nordestina como macela ou macela-da-terra (Correia, 1974). Nas regiões sul e sudeste do Brasil, outras duas espécies da família Asteraceae, *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC. (Fig. 4, abaixo), e *Chrysanthemum parthenium* (L.) Bernh. (Fig. 5, p. 3), também recebem a denominação popular de macela (Lorenzi, 2000).



Figura 4: Fotos de *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC.

A medicina popular da região nordeste faz grande uso dos capítulos florais de macela para combater distúrbios digestivos, sendo administrado na forma de chá (Matos, 1991). Devido a larga utilização dos capítulos florais de *E. viscosa*, estes são comercializados em escala apreciável (Fig. 6, p. 3), sendo encontrados em quase todos os ervanários das cidades nordestinas, em estado natural, ou embalados industrialmente e nas grandes redes de comércio alimentício.



Figura 5: Foto de *Chrysanthemum parthenium* (L.) Bernh.

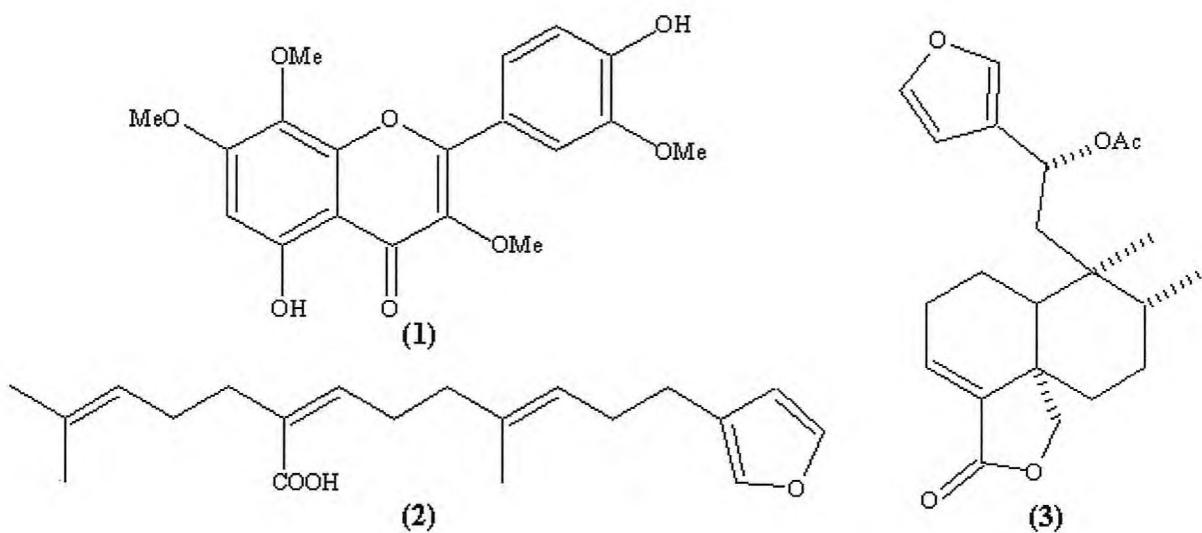


Figura 6: Formas de comercialização dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less.

Visando a comprovação científica do uso etnobotânico medicinais de *E. viscosa*, deu-se início no fim da década de 80, na Universidade Federal do Ceará-UFC, ao estudo químico e farmacológico da referida espécie. Este estudo foi iniciado com a determinação da constituição química volátil dos capítulos florais (Craveiro, 1992), seguido da comprovação das atividades antinociceptiva, anticonvulsivante e antibacteriana para o óleo essencial. O estudo dos constituintes não-voláteis foi relatado por Lima e colaboradores que isolaram um flavonóide, ternatina (1); e dois diterpenos, ácido centipédico (2) e 15,16-epoxi-12-acetoxi-3,13(16),14-clerodatrien-18,19-olídeo (3) (Lima, 1996), do extrato hexânico dos capítulos

florais. Na área farmacológica, o grupo coordenado pelo Prof. Dr. Vietla S. Rao realizou intensos estudos sobre as atividades farmacológicas da ternatina (1). Foram comprovadas as atividades hepatoprotetora (Rao, 1994; Souza, 1998), antianafilática e antiinflamatória (Souza, 1992), antitrombótica (Souza, 1994), antidiarréica e gastroprotetora (Rao, 1997) e até mesmo uma moderada atividade anti-HIV (Lima, 1996; Santos, 1998).

Porém, pôde-se observar que eram necessários estudos mais aprofundados da composição química volátil e não-volátil de *E. viscosa*, das atividades farmacológicas dos óleos essenciais e dos constituintes não-voláteis isolados de *E. viscosa*; bem como a tentativa de domesticação da espécie, para produção em larga escala, motivando a realização deste trabalho.



## *Considerações Botânicas*

## 2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

### 2.1 Considerações Botânicas Sobre a Família Asteraceae

De acordo com a literatura (<http://biodiversity.uno.edu/delta/>), a família Asteraceae ou Compositae, como era denominada, compreende cerca de 13.000 espécies distribuídas em 1576 gêneros. Segundo Graziele M. Barroso (Barroso, 1991), "... são espécies de ampla distribuição, bem representadas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas. São na verdade plantas que tanto podem medrar em localidades ao nível do mar, como atingir os picos das mais altas montanhas, tendo invadido, com sucesso, todos os tipos de habitats, com exceção, talvez, do aquático, visto que poucas espécies são, realmente, aquáticas verdadeiras. São mais abundantes nas regiões áridas do que nas florestas tropicais úmidas. No Brasil, estão representadas por, aproximadamente, 180 gêneros ...".

A família Asteraceae é dividida em 13 tribos: *Vernoniae*, *Eupatoriae*, *Astereae*, *Inuleae*, *Heliantheae*, *Heleniae*, *Anthemideae*, *Senecioneae*, *Calenduleae*, *Arctotideae*, *Cynareae*, *Mustisiaea* e *Cichorieae*. De acordo com Graziele M. Barroso (Barroso, 1991), "Das 13 tribos classificadas para a família, somente duas – *Astereae* e *Senecioneae* – são cosmopolitas ou quase cosmopolitas; *Cichorieae*, *Cynareae* e *Anthemideae* pertencem ao Hemisfério Norte, com principais centros de ocorrência nas regiões mediterrânea e asiática central; *Calenduleae* e *Arctotideae* são africanas; *Vernoniae*, *Eupatoriae*, *Heliantheae*, *Heleniae* e *Mustisiaea* são predominantemente americanas, com poucos tipos originados nas regiões tropicais e subtropicais da África e da Ásia. A tribo *Inuleae* é, em geral, do Velho Mundo, ...".

### 2.2 Considerações Botânicas Sobre a Tribo Astereae.

A tribo *Astereae* apresenta mais de 2.600 espécies distribuídas em 150 gêneros, listados na tabela 1, (p. 6), (<http://www.kew.uk>; <http://www.plantkingdom.com/kingdon/asteraceae/asterea.htm>), com distribuição predominantemente extratropical. No Brasil, a maior dispersão das *Astereae* está localizada no Sul do país, principalmente nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (Barroso, 1991).

Graziele M. Barroso (Barroso, 1991), descreve botanicamente a tribo *Astereae* como: "... ervas anuais ou perenes, subarbustos ou, mais raramente, árvores de pequeno porte a mediano (*Baccharis* ssp). Folhas de limbo inteiro ou dividido (*Egletes viscosa* Less. e

*Sommerfeltia spinulosa* Less.), alternadas ou raramente opostas. Capítulos isolados no ápice dos ramos, dispostos em inflorescência corimbosas, ou ordenados unilateralmente em ramos longos e encurvados, que se reúnem num dibótrio multifloro (*Solidago*). Invólucro com filarias lineares ou lanceoladas, agudas, com ou sem bordo escarioso, dispostas em uma ou mais séries (Fig. 7, p. 12). Flores isomorfas ou heteromorfas, marginais femininas, liguladas, com lígula estreita, longa, sobressaída do invólucro, ou curta, ou tubuloso-filiformes (*Conysa*, *Baccharidastrum* e *Heterothalamus*) (Fig. 7, p. 12). Flores do disco andróginas ou masculinas, com corola tubulosa (Fig. 7, p. 12). Antera de base obtusa. Estilete com ramos lanceolados, de ápice truncado ou triangular, com pêlos coletores no dorso e papilas estigmáticas dispostas em séries marginais (Fig. 7, p. 12). Aquênios, em geral, comprimidos com bordos espessados, lisos, costados ou estriados (Fig. 7, p. 12), ou cilíndricos, com ou sem costelas, ou angulosos, de paredes duras (*Grindelia*). Papus de cerdas finas e persistentes, ou mais ou menos aplanadas e rijas, caducas. Em *Egletes*, o papus é coroniforme de consistência carnosa. Papus duplo é encontrado em *Hysterionica*.”.

Tabela 1: Gêneros da tribo Astereae, com seus respectivos sinônimos, quando estes existirem.

Gênero	Sinônimo
<i>Acamptopappus</i> (A.Gray) A.Gray	
<i>Almutaster</i> A.Love & D.Love	<i>Aster</i> L.
<i>Amellus</i> L.	
<i>Amphiachyris</i> (DC.) Nutt.	
<i>Amphipappus</i> Torr. & A.Gray	
<i>Aphanostephus</i> DC.	
<i>Aphantochaeta</i> A.Gray	<i>Chaetopappa</i> DC.
<i>Apopyros</i> *	
<i>Aster</i> L.	
<i>Astranthium</i> Nutt.	
<i>Aylacophora</i> Cabrera	
<i>Baccharidastrum</i> Cabrera	<i>Baccharis</i> L.
<i>Baccharidiopsis</i> G.M.Barroso	<i>Aster</i> L.
<i>Baccharis</i> L.	
<i>Bellis</i> L.	

<i>Benitoa</i> D.D.Keck	
<i>Bigelowia</i> DC.	
<i>Boltonia</i> L'Her.	
<i>Borkonstia</i> Ignatov	<i>Aster</i> L.
<i>Bourdonia</i> Greene	<i>Chaetopappa</i> DC.
<i>Brachychaeta</i> Torr. & A.Gray	<i>Solidago</i> L.
<i>Brachycome</i> Cass.(SUO)	<i>Brachyscome</i> Cass.
<i>Brachyscome</i> Cass.	
<i>Bradburia</i> Torr. & A.Gray	
<i>Brintonia</i> Greene	<i>Solidago</i> L.
<i>Callistephus</i> Cass.	
<i>Calotis</i> R.Br.	
<i>Centipeda</i> Lour.	
<i>Ceruana</i> Forssk.	
<i>Chaetopappa</i> DC.	
<i>Charieis</i> Cass.	<i>Felicia</i> Cass.
<i>Chiliophyllum</i> Phil.	
<i>Chiliotrichum</i> Cass.	
<i>Chlamydites</i> J.R.Drumm.	<i>Aster</i> L.
<i>Chrysopsis</i> (Nutt.) Elliott	
<i>Chrysothamnus</i> Nutt.	
<i>Chthonocephalus</i> Steetz	
<i>Commidendrum</i> DC.	
<i>Conyza</i> Less.	
<i>Conyzanthus</i> Tamamsch.	<i>Aster</i> L.
<i>Crinitaria</i> *	
<i>Croptilon</i> Raf.	
<i>Cyathocline</i> Cass.	
<i>Dichaetophora</i> A.Gray	
<i>Dichrocephala</i> L'Her. ex DC.	
<i>Diplostephium</i> Kunth	
<i>Doellingeria</i> *	
<i>Eastwoodia</i> Brandegee	

<i>Egletes</i> Cass.	
<i>Engleria</i> O.Hoffm.	
<i>Eremiastrum</i> A.Gray	<i>Monoptilon</i> Torr. & A.Gray
<i>Ericameria</i> Nutt.	
<i>Erigeron</i> L.	
<i>Erodiophyllum</i> F.Muell.	
<i>Eurybiopsis</i> DC.	<i>Minuria</i> DC.
<i>Euthamia</i> (Nutt.) Elliott	
<i>Felicia</i> Cass.	
<i>Galatella</i> (Cass.) Cass.	<i>Aster</i> L.
<i>Geissolepis</i> B.L.Rob.	
<i>Glycideras</i> DC.	<i>Psiadia</i> Jacq.
<i>Grangea</i> Adans	
<i>Grangeopsis</i> Humbert	
<i>Greenella</i> A.Gray	<i>Gutierrezia</i> Lag.
<i>Grindelia</i> Willd.	
<i>Gutierrezia</i> Lag.	
<i>Gymnosperma</i> Less.	
<i>Gymnostephium</i> Less.	
<i>Gyrodoma</i> Wild	
<i>Haplopappus</i> Cass.	
<i>Hazardia</i> Greene	
<i>Henricia</i> Cass.	<i>Psiadia</i> Jacq.
<i>Herrickia</i> Wooton & Standl.	<i>Aster</i> L.
<i>Heterotheca</i> Cass.	
<i>Hysterionica</i> Willd.	
<i>Isocoma</i> Nutt.	
<i>Kalimeris</i> (Cass.) Cass.	
<i>Keysseria</i> Lauterb.	
<i>Kippistia</i> F.Muell.	
<i>Kitamuraea</i> Rauschert(SUS)	<i>Aster</i> L.
<i>Kitamuraster</i> Sojak(SUS)	<i>Aster</i> L.
<i>Laennecia</i> Cass.	

<i>Laestadia</i> Kunth ex Less.	
<i>Lagenifera</i> Cass.(SUO)	<i>Lagenophora</i> Cass.
<i>Lasallea</i> Greene	<i>Aster</i> L.
<i>Lepidophyllum</i> Cass.	
<i>Lessingia</i> Cham.	
<i>Leucelene</i> Greene	<i>Chaetopappa</i> DC.
<i>Leucosyris</i> Greene	<i>Aster</i> L.
<i>Llerasia</i> Triana	
<i>Machaeranthera</i> Nees	
<i>Macronema</i> Nutt.	<i>Ericameria</i> Nutt.
<i>Mairia</i> Nees	
<i>Microtrichia</i> DC.	<i>Grangea</i> Adans.
<i>Minuria</i> DC.	
<i>Miyamayomena</i> Kitam.	<i>Aster</i> L.
<i>Monoptilon</i> Torr. & A.Gray	
<i>Myriactis</i> Less.	
<i>Nardophyllum</i> (Hook. & Arn.) Hook. & Arn.	
<i>Neja</i> *	
<i>Nidorela</i> *	
<i>Oclemena</i> Greene	<i>Aster</i> L.
<i>Ocyroe</i> Phil.	<i>Olivaea</i> Sch.Bip. ex Benth.
<i>Olearia</i> Moench	
<i>Olivaea</i> Sch.Bip. ex Benth.	
<i>Oonopsis</i> (Nutt.) Greene	
<i>Oreochrysum</i> Rydb.	
<i>Oreostemma</i> Greene	<i>Aster</i> L.
<i>Oritrophium</i> (Kunth) Cuatrec.	
<i>Osbertia</i> Greene	
<i>Pachystegia</i> Cheeseman	<i>Olearia</i> Moench
<i>Pentachaeta</i> Nutt.	
<i>Petradoria</i> Greene	
<i>Pityopsis</i> Nutt.	
<i>Plagiocheilus</i> Arn. ex DC.	

- Podocoma* Cass.  
*Prionopsis* Nutt.  
*Psednotrichia* Hiern  
*Psiadia* Jacq.  
*Psila* Phil. *Baccharis* L.  
*Psilactis* A. Gray  
*Pteronia* L.  
*Pyrrocoma* Hook.  
*Rayjacksonia*\*  
*Remya* W.F.Hillebr. ex Benth.  
*Rennera* Merxm.  
*Rhamphogyne* S. Moore  
*Rhynchospermum* Reinw.  
*Rigiopappus* A. Gray  
*Rochonia* DC.  
*Selloa* Kunth  
*Sericocarpus* Nees  
*Sheareria* S. Moore  
*Solenogyne* Cass.  
*Solidago* L.  
*Stenotopsis* Rydb. *Ericameria* Nutt.  
*Stenotus* Nutt.  
*Stephanodoria* Greene  
*Symphyotrichum*\*  
*Thurovia* Rose *Gutierrezia* Lag.  
*Tolbonia* Kuntze *Calotis* R. Br.  
*Tonestus* A. Nelson  
*Townsendia* Hook.  
*Tracyina* S. F. Blake  
*Vanclevea* Greene  
*Virgulaster* Semple *Aster* L.  
*Weberaster* A. Love & D. Love *Aster* L.  
*Xanthisma* DC.

*Xanthocephalum* Willd.

*Xylorrhiza*\*

*Xylothamia* G.L.Nesom, Y.B.Suh, D.R.Morgan & B.B.Simpson

\*Gêneros que não foi possível identificar os autores.

### 2.3 Considerações Botânicas Sobre o Gênero *Egletes* Cass.

O gênero *Egletes* Cass. habita toda a América intertropical e abriga cerca de 25 espécies: *E. arkansana* Nutt., *E. bellidiflora* Less., *E. californica* Kellogg, *E. commixta* Shinners, *E. domingensis* Cass., *E. domingensis* var. *glabrata* DC., *E. floribunda* Poepp. & Endl., *E. florida* Shinners, *E. glabrata* Benth. ex Oerst., *E. humifusa* Less., *E. humilis* Torr. & Gray, *E. liebmanni* Sch. Bip. ex Hemsl, *E. liebmannii* var. *yucatana* Shinners, *E. obovata* Benth. ex Oerst., *E. pringlei* Greenm., *E. prostrata* Kuntze, *E. prostrata* var. *glabrata* Kuntze, *E. ramosissima* A. Gray, *E. repens* Shinners, *E. tenuifolia* Cuatrec., *E. texana* Engelm. ex A. Gray, *E. viscosa* Less., *E. viscosa* forma *bipinnatifida* Shinners, *E. viscosa* var. *dissecta* Shinners e *E. viscosa* var. *sprucei* Baker (<http://www.us.ipni.org:8181/>).

O termo *Egletes* significa estrelado, luzente, por causa dos capítulos com flores do disco amarelas e a do raio brancas, lembrando astro.

Martius, em sua obra, *Flora Brasiliensis*, descreve o gênero *Egletes* Cass. como (Martius, 1882): “Capítulos radiados, flores radiais femininas férteis e as do disco hermafroditas férteis; invólucro campanulado; brácteas lanceoladas agudas, subseriadas receptáculo. Corola com flores marginais lanceoladas ou filiformes, disco regularmente tubuloso, limbo campanulado, dentes 4 – 5, antera base inteira obtusa, ramo do estilete brevemente achatado, apêndices breves. Aquênio subquadrangular e ápice cupulado. Sem pappus. Erva anual decubentes ou suberecta, folhas alternas cesseis, obováis dentadas ou binatifidas, capítulos pequenos penduculatus.”.

### 2.4 Considerações Botânicas Sobre a Espécie *Egletes viscosa* Less.

*Egletes viscosa* Less., ocorre abundantemente no nordeste do Brasil, inclusive no estado do Ceará, onde é facilmente encontrada no sertão. Segundo Pio Correa (Correa, 1974) a espécie *E. viscosa* é descrita como: “*Egletes viscosa* Less. é herbaceae, anual, caule cespitoso toda pilosa glandulosa, folha profunda pinatifida de 2 – 5 cm de comprimento, subspeciolada, dilatada, capítulos solitários, laterais curtos penduculatos ou no ápice dos ramos

quase carimbosos, invólucro largo campanulado, bráctens pilosos, lanceoladas e agudas, corola alva-ligulada, lanceolada aguda, aquênio quadrangular de ápice denteado. Habita toda a América Tropical – é planta amarga estomáquica e antidiarréica.

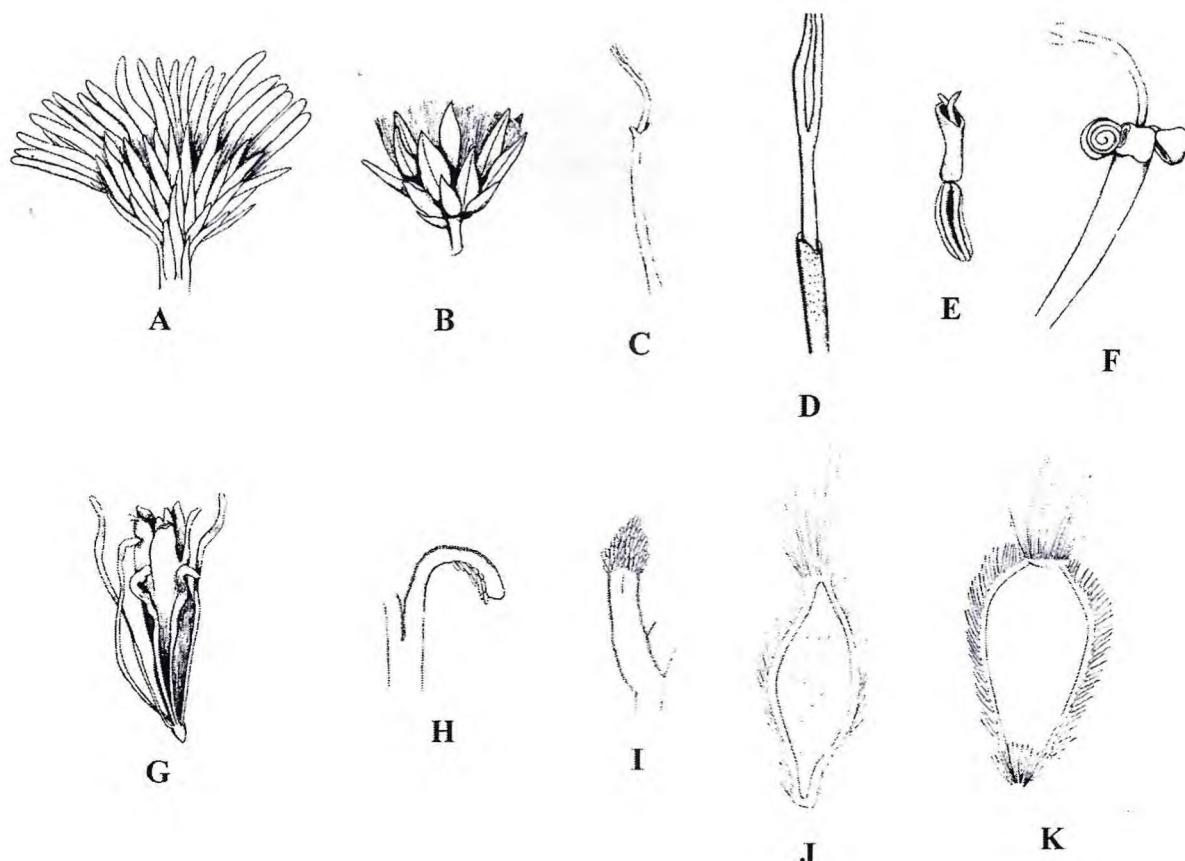


Figura 7:Detalhes das estruturas vegetais de espécimes da tribo *Astereae*. A – *Inulopsis scaposa* (Baker) Hoffm.: capítulo com brácteas involucrais e flores radiais, com lígulas estreitas, exsertas do invólucro; B – *Conyza sp.*: capítulo com invólucro campanulado, trisseriado; C – *Baccharis sp.*: flor feminina; D - *Baccharis intermixta* DC.: flor feminina com corola filiforme e ramos longos do estilete; E – *Heterothalamus sp.*: flor feminina; F – *Baccharis intermixta* DC.: flor masculina com lobos da corola revolutos e estilete com ramos curtos e estéreis; G – *Heterothalamus sp.*: flor masculina com papus de cerdas aplanadas; H – detalhes dos ramos dos estiletes de *Áster sp.*; I – detalhes dos ramos dos estiletes de *Erigeron sp.*; J – aquênios de *Asteropsis macrocephala* Less.; K – aquênios de *Sommerfeltia sp.*

Adaptado de Barroso, 1991, Pág. 277, 285, 287, 289, 301 e 303.

*Levantamento Bibliográfico Sobre  
Óleos Essências de Astereae  
Publicados Entre 1992 E 2002*

### 3 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO SOBRE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ASTEREAE PUBLICADOS ENTRE 1992 E 2002.

Devido a grande importância dada ao estudo do óleo essencial de *Egletes viscosa* Less. nesta tese e a ausência de trabalhos de revisão sobre os estudos relacionados com óleos essenciais de Astereae, tribo do gênero Asteraceae a que pertence a referida espécie, resolveu-se elaborar este levantamento bibliográfico.

Utilizando como fontes principais o *Chemical Abstracts* e o site de busca *Web of Science* (<http://www.periodicos.capes.br>), foi construída a tabela 2 (p. 14), que relaciona o gênero e a espécie de Astereae, bem como a(s) publicação(ões) relacionadas, ocorridas nos últimos dez anos (1992 – 2002).

A partir da realização deste trabalho, pôde-se observar que somente uma pequena parte dos gêneros de Astereae (9,33 % - 14 gêneros), apresentaram algum estudo de seu óleo essencial e uma quantidade ainda menor de espécies (1,92 % - 50 espécies), teve algum estudo desta natureza.

Dentre os gêneros de Astereae estudados nestes dez anos, podem ser destacados: *Baccharis* com 18 espécies estudadas, *Solidago* com 7 espécies e *Conyza* com 5 espécies estudadas. Estas publicações são na grande maioria, relatos sobre a constituição química dos óleos essenciais das espécies.

Apesar do grande volume de estudos relacionados com óleos essenciais de Astereae no período de 1992 – 2002, uma grande parcela das espécies desta tribo ainda carece de estudos nesta área.

Tabela 2:Lista das espécies da Tribo Astereae com óleos essenciais relatados na literatura nos últimos 10 anos (1992-2002).

Gênero	Espécie	Referência
<i>Áster</i>	<i>scaber</i>	(Lee, 1998); (Lee, 1998a); (Chung, 1993)
<i>Baccharis</i>	<i>árticulata</i>	(Zunino, 1998)
<i>Baccharis</i>	<i>caprariaefolia</i>	(Ferracini, 1995)
<i>Baccharis</i>	<i>cordobensis</i>	(Zunino, 2000)
<i>Baccharis</i>	<i>coridifolia</i>	(Bailac, 2001)
<i>Baccharis</i>	<i>crispa</i>	(Zunino, 1997) (Cassel, 2000); (Elder, 1997); (Weyerstahl, 1996);
<i>Baccharis</i>	<i>dracunculifolia</i>	(Ferracini, 1995); (Loayza, 1995); (Loayza, 1993); (Weyerstahl, 1993)
<i>Baccharis</i>	<i>erioclara</i>	(Ferracini, 1995)
<i>Baccharis</i>	<i>latifolia</i>	(Loayza, 1995); (Loayza, 1993)
<i>Baccharis</i>	<i>myriocephala</i>	(Ferracini, 1995)
<i>Baccharis</i>	<i>myrtilloides</i>	(Zunino, 1998)
<i>Baccharis</i>	<i>notosergila</i>	(Cobos, 2001)
<i>Baccharis</i>	<i>platipoda</i>	(Queiroga, 1996); (Ferracini, 1995)
<i>Baccharis</i>	<i>rufescens</i>	(Zunino, 1998)
<i>Baccharis</i>	<i>salicifolia</i>	(Zunino, 1997); (Loayza, 1995); (Loayza, 1993)
<i>Baccharis</i>	<i>spartoides</i>	(van Baren, 2002)
<i>Baccharis</i>	<i>tridentata</i>	(Queiroga, 1996); (Ferracini, 1995)
<i>Baccharis</i>	<i>uncinella</i>	(Frizzo, 2001)
<i>Baccharis</i>	<i>vincaeefolia</i>	(Ferracini, 1995)
<i>Bellis</i>	<i>perennis</i>	(Avato, 1997); (Avato, 1995)
<i>Chrysanthemum</i>	<i>pulchellus</i>	(Tellez, 1998)
<i>Conyza</i>	<i>bonariensis</i>	(Maia, 2002a)
<i>Conyza</i>	<i>bovei</i>	(Metwally, 1996)
<i>Conyza</i>	<i>canadensis</i>	(Lis, 2000)
<i>Conyza</i>	<i>incana</i>	(El-Hawary, 1991)
<i>Conyza</i>	<i>pinnata</i>	(Petri, 1992)
<i>Egletes</i>	<i>viscosa</i>	(Craveiro, 1992) (Lima, 1996) (Souza, 1998)
<i>Erigeron</i>	<i>canadensis</i>	(Miyazawa, 1992)

<i>Grindelia</i>	<i>sp</i>	(Podchainov, 1996)
<i>Grindelia</i>	<i>discoidea</i>	(Newton, 1998)
<i>Grindelia</i>	<i>humilis</i>	(El-Shamy, 2000); (El Shamy, 1997)
<i>Grindelia</i>	<i>robusta</i>	(El-Shamy, 2000); (Schafer, 2000); (kaltenbach, 1993)
<i>Grindelia</i>	<i>squarrosa</i>	(El-Shamy, 2000); (Schafer, 2000); (kaltenbach, 1993)
<i>Heterotheca</i>	<i>latifolia</i>	(Ruffinengo, 2002); (Dellacasa, 1999); (Duschatzky, 1998)
<i>Lepidophyllum</i>	<i>quadrangulare</i>	(Loayza, 1992)
<i>Olearia</i>	<i>phlogopappa</i>	(Dragar, 1996); (Ong, 1995); (Dragar, 1993); (Draga, 1993a)
<i>Olearia</i>	<i>stelluata</i>	(Dragar, 1992)
<i>Psiadia</i>	<i>altissima</i>	(Ramanoelina, 1994)
<i>Psiadia</i>	<i>goyavia</i>	(de Medici, 1992)
<i>Psiadia</i>	<i>lithospermifolia</i>	(Gurib-Fakim, 1995)
<i>Psiadia</i>	<i>viscosa</i>	(Gurib-Fakim, 1995)
<i>Pteronia</i>	<i>incana</i>	(Mangena, 1999)
<i>Solidago</i>	<i>ssp</i>	(Bulow, 2000)
<i>Solidago</i>	<i>canadensis</i>	(Steliopoulos, 2002); (Kishore, 1996)
<i>Solidago</i>	<i>gigantea</i>	(Kalemba, 2001)
<i>Solidago</i>	<i>graminifolia</i>	(Kalemba, 1994)
<i>Solidago</i>	<i>litoralis</i>	(Bertoli, 1999)
<i>Solidago</i>	<i>odora</i>	(Tucker, 1999)
<i>Solidago</i>	<i>virgaurea</i>	(Dobson, 2000); (Kalemba, 1998)

*Óleos Essenciais de  
Egletes viscosa LESS.*

## 4 ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Egletes viscosa* LESS.

### 4.1 Óleos Essenciais: Uma Visão Geral.

Os óleos essenciais são produtos naturais oriundos do metabolismo secundário de plantas e animais. Por longo período, a produção de tais metabólitos pelas plantas era considerada um mero desvio de suas funções vitais. Atualmente sabe-se que os óleos essenciais, por meio de constituintes específicos ou da própria mistura que o caracteriza, são fundamentais para inter-relação dos organismos. A comunicação inseto/planta é feita principalmente através das cores e dos odores, exercendo atividades biológicas como alomônios e/ou cairomônios. Nos insetos as substâncias voláteis são responsáveis pelo seu sistema de defesa e também auxilia a sua reprodução, atuando como atraentes sexuais, recebendo a denominação específica de feromonas (Craveiro, 1986).

No reino vegetal, os óleos essenciais são encontrados principalmente nas plantas superiores. As famílias Astereceae, Apiaceae, Euphorbiaceae, Labiateae, Lamiaceae, Gramineae, Myrtaceae, Pinaceae, Piperaceae e Umbelifeare apresentam várias espécies produtoras de óleos essenciais e são consideradas as famílias mais representativas de plantas odoríferas. Nas plantas, os óleos essenciais podem ser encontrados em todas as estruturas vegetais: folhas, flores, frutos, inflorescência, tronco, ramos e raízes. Dependendo da família botânica, os óleos essenciais podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como pêlos capilares (Lamiaceae), células parenquimais modificadas (Piperaceae), tubos oleoginosos denominados *vittae* (Apiaceae), ou canais lisígenos ou esquizógenos (Pinaceae e Rutaceae) (Robbers, 1997). Na família Asteraceae as estruturas responsáveis em secretar o óleo essencial são bastante variadas (Monteiro, 1995). A sua formação pode ocorrer diretamente no protoplasma celular, pela decomposição da camada de resina da parede celular, ou pela hidrólise de certos glicosídeos (Robbers, 1997).

#### 4.1.1 Componentes Químicos Presentes nos Óleos Essenciais

Com base na biogênese, pode-se dividir os componentes químicos dos óleos essenciais em duas grandes classes: [1] terpenóides, formados através da via do ácido mevalônico, e [2] compostos aromáticos, formados através da via ácido chiquímico-fenil-propanóides.

Sem dúvida os terpenóides voláteis (monoterpenóides, sesquiterpenóides e alguns diterpenóides), são os principais constituintes dos óleos essenciais. Apresentando uma grande diversidade estrutural e funcional (hidrocarbonetos, álcoois, ésteres, éteres, cetona, aldeídos, etc), eles são responsáveis por várias atividades biológicas e farmacológicas.

Os aril propanóides, apresentam-se como a segunda classe de compostos mais representativa nos óleos essenciais. Eles são compostos aromáticos do tipo C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, originados a partir do ácido chiquímico, que é o precursor do ácido cinâmico e ácidos *p*-cumárico. Estes dois últimos compostos citados, por meio de reduções biológicas produzem propenilbenzenos e/ou alilbenzenos; e por oxidações degradativas, geram os aldeídos aromáticos. Geralmente, são compostos polioxigenados.

As cumarinas são os produtos de ciclização dos ácidos cinâmicos e cumáricos. São encontradas também com estruturas polioxigenadas.

#### 4.1.2 Atividades Farmacológicas de Óleos Essenciais

São relatadas na literatura várias atividades farmacológicas para óleos essenciais. Como exemplos, podem ser citadas as seguintes: atividade espasmolítica do óleo essencial de *Achillea ageratum* (Asteraceae) (De La Puerta, 1995), antimalária do óleo de *Muytus communis* (Myrtaceae) (Milhau, 1997), citotóxica do óleo de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae) (Hayes, 1997), antinociceptiva do óleo de *Psidium guajava* (Myrtaceae) (Santos, 1998) e atividades antiinflamatória, analgésica, antipirética, bactericida e antifúngica do óleo de *Ageratum conyzoides* (Asteraceae) (Okunade, 2002).

#### 4.1.3 Atividades Biológicas de Óleos Essenciais

Além das várias atividades farmacológicas descritas no item anterior, os óleos essenciais apresentam diversas atividades biológicas. Atração de agentes polinizadores, atração sexual em alguns insetos, a limitação ou o estímulo da atividade herbívora de animais sobre plantas; são alguns exemplos de atividades biológicas causadas por óleos essenciais. Como exemplos específico pode-se citar: a toxicidade do óleo essencial de *Mentha microphylla* (Labiataeae) para *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) (Papachristos, 2002), a atividade nematicida do óleo de *Mentha spicata* (Lamiaceae) (Walker, 1996), a atividade larvicida do óleo de *Satureia hortensis* (Lamiaceae) (Isman, 2001) e as atividades inseticida e alelopática do óleo de *Ageratum conyzoides* (Asteraceae) (Okunade, 2002).

#### **4.1.4 Métodos de Extração de Óleos Essenciais**

As diversas metodologias existentes para extração de óleos essenciais, são fundamentadas nas propriedades físicas: coeficiente de partição, velocidade de difusão, solubilidade, pressão parcial de vapor e taxa de transferência de calor. Uma técnica eficiente seria a que obtivesse um óleo com composição química a mais próxima possível da composição original da planta viva, apresentando o mesmo aroma da planta de origem, não contendo artefatos oriundos da extração. Visando a qualidade do óleo extraído, várias técnicas de extração foram desenvolvidas: extração por arraste com vapor d'água, hidrodestilação ou coobação, “Headspace”, em forno microondas e CO<sub>2</sub> supercrítico. A seguir são apresentadas algumas técnicas de extração de óleos essenciais comumente usadas.

##### **4.1.4.1 Extração por Arraste a Vapor d'Água**

Esta é considerada a técnica convencional de extração de óleos essenciais, sendo utilizada desde o século passado. A técnica consiste em fazer passar vapor d'água através do material vegetal que está sendo extraído, o qual é acondicionado em um recipiente de vidro ou de material inerte (aço inox). O vapor d'água arrasta o óleo essencial, que é coletado em um tubo de vidro graduado, após ter sido liquefeito junto com a água em um condensador. O óleo essencial é separado da água por diferença de densidade. Os óleos essenciais são geralmente insolúveis e menos densos que a água. A fase aquosa, denominada de hidrolato, pode ser posteriormente extraída com solvente orgânico. A fase orgânica oriunda da extração é constituída principalmente de compostos oxigenados de maior polaridade.

##### **4.1.4.2 Extração por Hidrodestilação ou Coobação**

É uma técnica que também é bastante usada para extração de óleos essenciais. O princípio da técnica, também consiste no arraste do óleo por vapor d'água. Porém nesta técnica o material vegetal é colocado para aquecer junto com a água, em um recipiente inerte que geralmente é um balão de vidro. O óleo neste caso é coletado em uma vidraria especial denominada doseador, que permite o retorno da água ao recipiente de extração. A separação da mistura água/óleo, também se dá por diferença de densidade.

##### **4.1.4.3 Extração com CO<sub>2</sub> Supercrítico**

Em 1823, Cagnaniar e La Tour, descobriram o estado supercrítico do CO<sub>2</sub>. Este estado é atingido quando se tem 34 °C de temperatura e 16 MPa de pressão. Neste estado o

CO<sub>2</sub> é um solvente por excelência. Aliando esta propriedade ao fato do CO<sub>2</sub> ter uma elevada capacidade de solvatação, este composto passou a ser usado na extração de óleos essenciais. Esta técnica possibilita a obtenção de óleos essenciais de melhor qualidade, retendo o aroma original, já que não há reações indesejadas devido a baixa temperatura empregada e a relativa inércia do CO<sub>2</sub>. Os óleos obtidos são livres de solventes, já que o CO<sub>2</sub> é retirado do sistema apenas por modificações na temperatura e na pressão. Utilizando-se esta técnica pode-se obter óleos essenciais com composição química mais próxima da existente no vegetal vivo.

#### 4.1.5 Técnicas de Análise dos Constituintes Químicos de Óleos Essenciais

##### 4.1.5.1 Cromatografia Gasosa (CG)

A cromatografia gasosa (CG) é, sem dúvida, a técnica de separação, mais utilizada no estudo da constituição química de óleos essenciais. Desde que gases foram utilizados pela primeira vez em 1941 como fase móvel de uma cromatografia, os estudos em cromatografia gasosa avançaram á passos largos, sendo relatados na literatura milhares de artigos sobre esta técnica. A cromatografia gasosa possibilitou a separação e ficaz dos constituintes dos óleos essenciais, que como visto no item 4.1.1 (p. 17), é constituído de metabólitos secundários (monoterpenos, sesquiterpenos, aril-propanóides e diterpenos) de baixo peso molecular e baixa polaridade, o que torna suas misturas de difícil separação.

Atualmente são utilizadas colunas capilares com diâmetro interno de 1,1 a 0,4 mm e comprimento variando de 10 a 100 m, composta por uma grande variedade de fases estacionárias, como pode ser visto na tabela 3, Pág 20.

A utilização das colunas capilares permitiu a obtenção de cromatogramas com maior resolução, aumentando a eficiência de separação dos compostos da mistura e consequentemente possibilitando uma melhor identificação dos mesmos.

Vários tipos de detectores foram desenvolvidos para uso em cromatografia gasosa. Porem os mais utilizados são: detector de ionização de chama (FID), detector de captura de elétrons (DCE) e detector de massa. O detector de ionização de chama (FID) é considerado universal para compostos orgânicos, porém o detector de massa é o que fornece o maior subsidio para a identificação dos constituintes de um óleo essencial.

Tabela 3:Nomes Comerciais das Principais Fases Estacionárias Utilizadas na Separação de Compostos Orgânicos em Cromatografia Gasosa.

Tipos de Fases Estacionárias	Nomes Comerciais
Hidrocarbonetos	Esqualano
Ftalatos	Ftalatos de dibutila, di-2-etilhexila e didecila
Polisuccinatos	Polisuccinato de etileno glicol (EGS) e de dietileno glicol (DEGS)
Polimetilsiliconas	OV-1, XE-60, DB-1 E DB-5
Polietilenoglicol	CARBOWAX
Ciclodextrina permetilada	CPCyclodex $\beta$ -236M

#### 4.1.5.2 Extração líquido-líquido

A extração líquido-líquido pode ser aplicada quando os constituintes do óleo essencial possuem coeficiente de partição diferentes em líquidos imiscíveis. A indústria farmacêutica e de perfumaria utilizam bastante esta técnica, já que a partir dela pode-se obter quantidades grandes de compostos puros. Alguns inconvenientes são relatados para esta técnica, principalmente a formação de emulsões. Para resolver este problema, foi desenvolvida uma nova metodologia baseada também na diferença dos coeficientes de partição dos constituintes de óleos essenciais denominada extração com protoplasto (polietileno poroso conhecido comercialmente como PTFE ou TEFLON) (Fleisher, 1990).

#### 4.1.6 Técnicas Utilizadas na Identificação dos Constituintes Químicos de Óleos Essenciais

Algumas metodologias foram desenvolvidas para identificação dos constituintes químicos presentes em óleos essenciais, porém a que sofreu a maior evolução foi a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM), tornando-se o método mais utilizado. O próximo tópico descreverá esta técnica que inclusive foi utilizada para determinação da constituição química dos óleos essenciais estudados neste trabalho.

Além da CG/EM, destacam-se como métodos de determinação a cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

(Herres, 1986) e os sistemas especialistas. Estes últimos são programas computacionais (“software”), que utilizam dados obtidos por métodos espectroscópicos de absorção nas regiões do ultravioleta e infravermelho, ressonância magnética nuclear e spectrometria de massa para determinação estrutural de compostos orgânicos. Como exemplo pode-se citar o PAIRS (“Program for Analysis of Infrared Spectra”), CASE, DARC-EPIOS (Shelley, 1978). Outros dois programas foram desenvolvidos por pesquisadores da Universidade Federal do Ceará, baseado em dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (Silva, 1996; Militão, 1996). Existem também sistemas especialistas mais completos, que utilizam informações de todos os métodos espectrométricos e espectroscópicos possíveis. Como exemplo tem-se o DENDRAL, desenvolvido nos anos 60 (Shelley, 1978).

Alguns programas são específicos para determinação estrutural de produtos naturais, já que além dos métodos espectrométricos e espectroscópicos citados anteriormente, utilizam também dados de biossíntese dos produtos naturais. O programa SISTEMAT, desenvolvido por Emerenciano e colaboradores, pode ser citado como exemplo (Emerenciano, 1990; Gastmans, 1990)

#### 4.1.6.1 Espectrometria de massa acoplada a cromatografia gasosa (CG/EM)

Sem dúvidas, a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM) é o método mais utilizado para identificação dos constituintes químicos presentes em um óleo essencial.

Após a separação na coluna capilar do cromatógrafo, os componentes químicos são automaticamente injetados em um espectrômetro de massa, fornecendo os seus respectivos espectros de massa. A comparação dos espectros de massa com espectros de padrões armazenados em bancos de dados (espectroteca), via computador e por comparação visual com espectros registrados em literatura especializada (Adams, 2001), aliada aos tempos de retenção e aos Índices de Kovats (Kovats, 1965) dos componentes, tornaram mais segura e rápidas suas identificações (Alencar, 1990).

O método de fragmentação por impacto eletrônico (IE), é o mais utilizado para obtenção dos fragmentos moleculares. O principal problema deste método é que devido a elevada energia de ionização, o sinal correspondente ao íon molecular, geralmente não é observado, dificultando a identificação do componente. Para amenizar este problema,

métodos de ionização considerados mais brandos, foram desenvolvidos e aplicados a CG/EM. Como exemplo tem-se a ionização química positiva e negativa (IQ).

#### 4.2 Óleo Essencial de *Egletes viscosa* Less. Comercializada: Descoberta de um Novo Quimiotípo

A literatura registra o acetato de *trans*-pinocarveíla (4) (p. 45), um monoterpeno acetilado com esqueleto tipo  $\beta$ -pinâno, como constituinte majoritário para o óleo essencial de *E. viscosa*, tanto para o óleo essencial dos capítulos florais, obtidos por arraste a vapor d'água (Craveiro, 1992), quanto para o óleo essencial obtido a partir do extrato hexânico dos capítulos florais de *E. viscosa* (Lima, 1993).

Visando a obtenção de maiores quantidades de material para estudo farmacológico, principalmente o flavonóide ternatina (1) (p. 4), e também do óleo essencial que apresenta atividades antinociceptiva, anticonvulsivante e antibacteriana (Souza, 1998) e é objeto de estudo no Departamento de Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, amostras dos capítulos florais foram adquiridos no comércio de Fortaleza-CE (Mercado Central). Após extração do óleo essencial por hidrodestilação e posterior análise por RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 8, p. 24) e comparações com o espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 9, p. 25) do óleo essencial registrado na literatura, observou-se um perfil químico diferente para duas amostras, principalmente com relação ao constituinte principal. Esta diferença nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  é bem evidenciada quando observa-se os sinais referentes aos hidrogênios carbinólico e vinílicos do constituinte principal, registrado na faixa de  $\delta$  4,5 a 5,5 ppm.

A diferença nos perfis químicos dos óleos essenciais dos capítulos florais de *E. viscosa* despertou o interesse para um estudo mais detalhado de suas composições químicas. Desta forma uma amostra dos capítulos florais de *E. viscosa* comercial (800 g) foi submetida a hidrodestilação em aparelho doseador de óleo essencial tipo Cleavenger modificado por Gottlieb (Gottlieb, 1960), segundo técnica descrita no Item 7.8.1 (p. 174), obtendo-se 7,30 g (0,91 %) de um óleo incolor, com  $[\alpha]_D^{20} = -33,84^\circ$  e  $\eta_D^{20} = 1,4769$ , que foi denominado OEM-B. Os dados estão resumidos na Tabela 4, p. 25.

Objetivando diferenciar as amostras, utilizou-se a denominação de macela-A, para *E. viscosa* que já havia registro da constituição do seu óleo essencial na literatura e de macela-

B para a amostra de *E. viscosa* adquirida para extração de seus metabolitos, usados para estudos farmacológicos.

Visando uma análise comparativa, uma amostra dos capítulos florais de *E. viscosa* foi coletada no município de Pentecoste-CE, local de coleta do material registrado na literatura, sendo submetida a hidrodestilação, da mesma forma que a amostra comercializada citada anteriormente. Foi obtido 3,91 g (0,29 %) de um óleo amarelo claro, com  $[\alpha]_D^{20} = -12,06^\circ$  e  $\eta_D^{20} = 1,4807$ , que foi denominado OEM-A. Os dados estão resumidos na Tabela 5, p. 28.

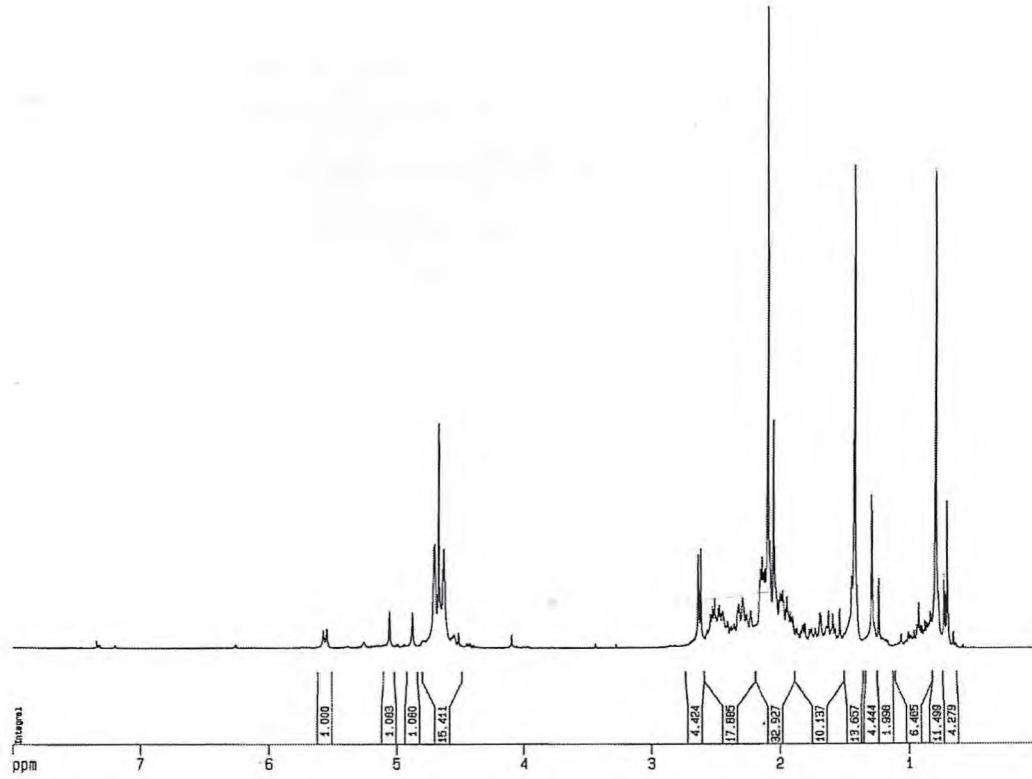


Figura 8: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do Óleo Essencial dos Capítulos Florais de *E. viscosa* Tipo B  
[ $\delta$ ; 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ].

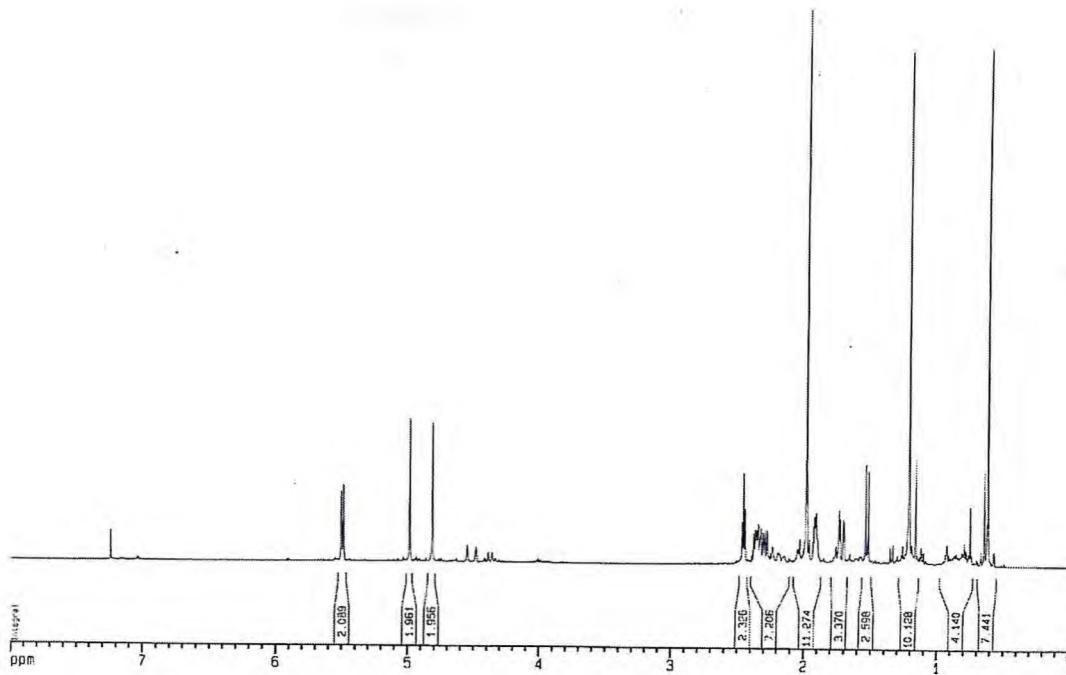


Figura 9: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do Óleo Essencial dos Capítulos Florais de *E. viscosa* Tipo A  
[ $\delta$ ; 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

Tabela 4: Dados da Extração dos Capítulos Florais de *E. viscosa*, Comercializada e Coletada em Pentecoste-CE

Amostra	Peso (g)	Peso do Óleo Obtido (g)	Rendimento (%)	$[\alpha]_D^{20}$	$\eta_D^{20}$	Cor
Comercial	800	7,30	0,91	-33,84°	1,4769	incolor
Pentecoste-CE	1340	3,91	0,29	-12,06°	1,4807	amarelo claro

Os óleos essenciais obtidos foram analisados por cromatografia gás-líquido acoplada a espectrometria de massa (CGL/EM). A identificação de seus constituintes foi efetuada através das determinações dos índices de Kovats simulados, procedimento descrito no Item 4.2.1, p. 29, pesquisa em espectroteca e comparação com dados da literatura (Adams, 2001).

A análise por CGL/EM de OEM-A forneceu o cromatograma mostrado na figura 10, p. 27, onde o constituinte majoritário foi denominado de OEM-A1, foi identificado como sendo o acetato de *trans*-pinocarveíla (**4**), o qual foi confirmado através da análise dos espectros de RMN uni e bidimensionais, massa e IV (Item 4.3, p. 32).

A análise por CGL/EM de OEM-B forneceu o cromatograma mostrado na figura 11, p. 27, onde o constituinte majoritário, denominado de OEM-B1, não pôde ser determinado pelo método acima descrito, por não apresentar fragmentação de massa e índice de Kovats compatíveis com a literatura (Adams, 2001).

A tabela 5 (Pág 27) mostra a composição volátil descrita na literatura para os capítulos florais de *E. viscosa*, bem como os componentes voláteis identificados em OEM-A e OEM-B.

Até este ponto, nos deparamos com três possibilidades para a diferença de composição química que ocorre nas duas amostras de óleo essencial dos capítulos florais de *E. viscosa*:

A primeira, se as condições edafo-climáticas afetariam a composição química dos óleos essenciais, fato que ocorre com espécimes de *Thymus caespititius* (Lamiaceae) (Salgueiro, 1997) e *Thymus piperella* (Lamiaceae) (Boira, 1998);

A segunda, se a variação da composição seria decorrente do estágio de desenvolvimento (idade), no qual a planta se encontrava na época de coleta. Fenômeno encontrado em especimenes de *Santolina rosmarinifolia* L. ssp *rosmarinifolia* (Asteraceae) (Pala-Paúl, 2001), *Pseudotsuga menziesii* (Pinaceae), *Abies concolor* (Pinaceae), *Picea engemannii* (Pinaceae) (Wagner, 1989);

A última hipótese, seria a existência de dois quimiotípos de *E. viscosa*, fato que ocorre em especimenes de *Lippia Alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae) (Mattos, 1996), *Artemisia herba Alba* (Asteraceae) (Feverstein, 1986) e *Cistus monspeliensis* (Cistaceae) (Robles, 2000).

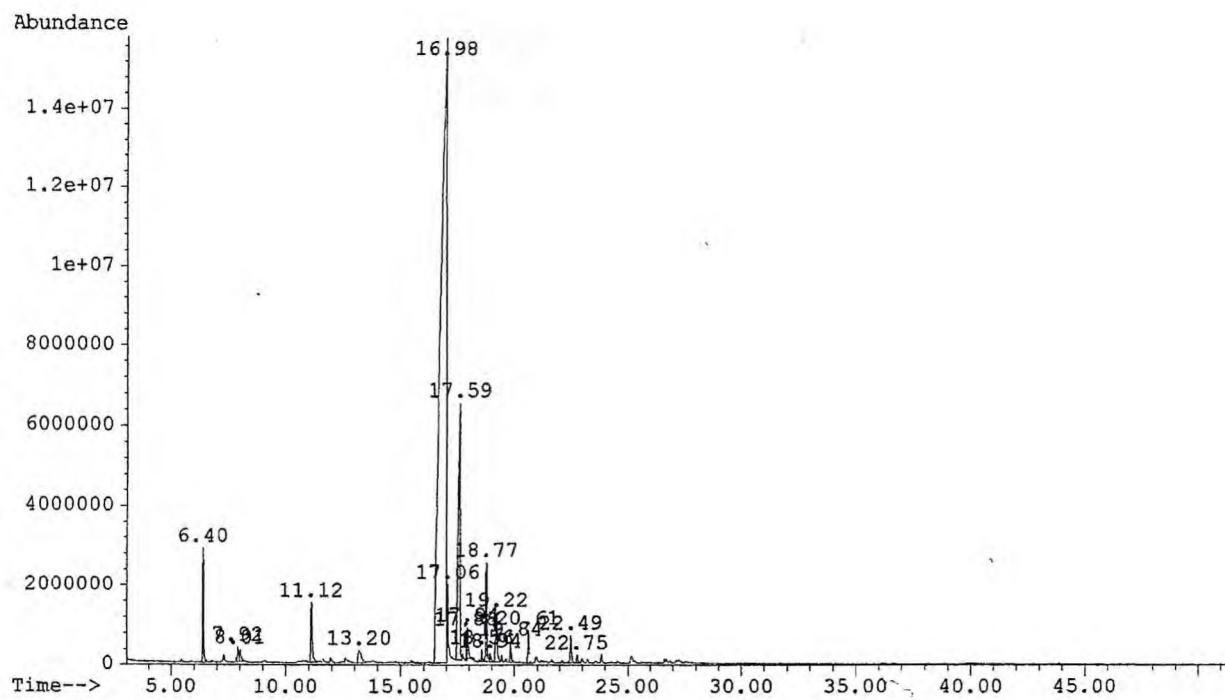


Figura 10: Cromatograma Gás-Líquido de OEM-A

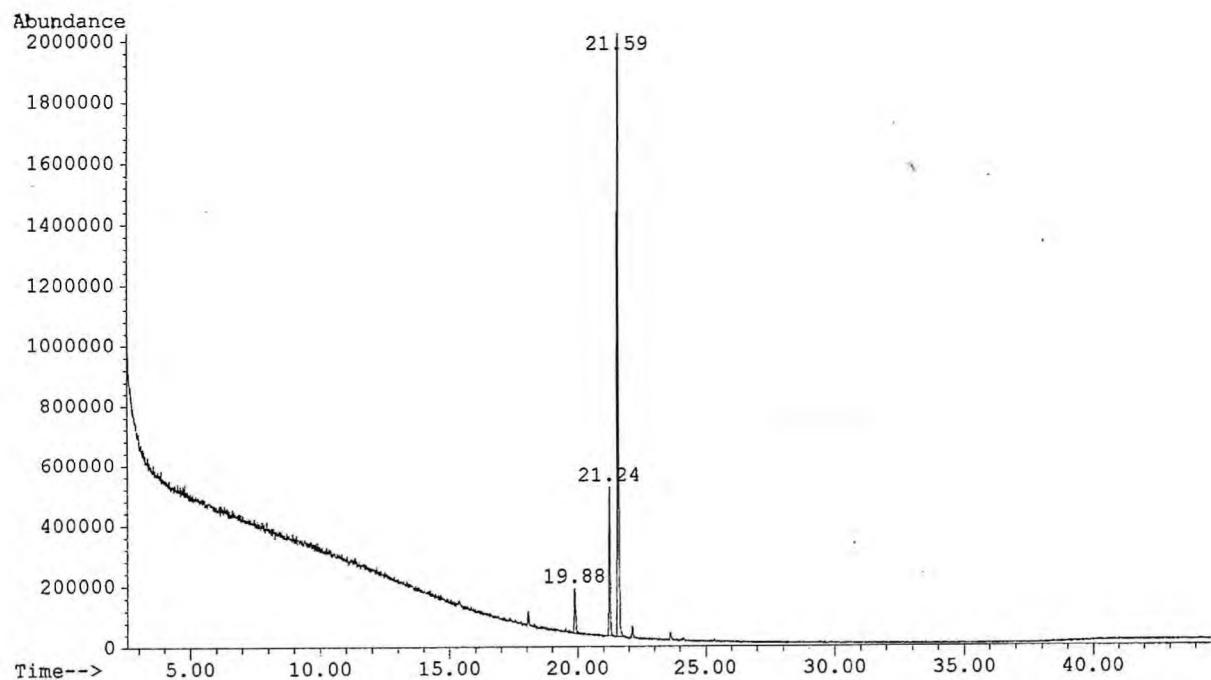


Figura 11: Cromatograma Gás-Líquido de OEM-B

Tabela 5: Composição Química Volátil dos Capítulos Florais de *E. viscosa* Registrados na Literatura (Craveiro, 1992; Lima, 1993), com OEM-A e OEM-B.

Composto	Craveiro, 1992 (%)	Lima, 1993 (%)	OEM-A (%)	OEM-B (%)
5-metilfuranona	---	0,28	---	---
etilideno ciclopentano	---	0,63	---	---
α-tujeno	0,4	---	---	---
α-pineno	2,0	---	---	---
β-pineno (7)	26,8	---	1,86	---
mirceno (8)	0,7	---	---	---
α-terpineno	0,1	---	---	---
limoneno (9)	---	---	0,38	---
β-felendreno (10)	0,1	---	0,31	---
δ-3-careno	2,7	---	---	---
linalol (13)	0,1	---	---	---
<i>trans</i> -pinocarveol (14)	1,1	1,52	1,59	---
pinocarvona (15)	0,5	---	---	---
borneol	0,1	---	---	---
terpin-4-ol (17)	0,2	---	---	---
mirtenol (18)	---	---	0,80	---
acetato de <i>cis</i> -crisantenila (20)	---	---	---	5,22
acetato de <i>trans</i> -sabinila	---	3,25	---	---
acetato de <i>trans</i> -verbenila (22)	---	3,29	---	---
acetato de <i>trans</i> -pinocarveíla (4)	49,0	51,69	76,30	16,85
<b>OEM-B1</b>				
acetato de <i>cis</i> -pinocarveíla (23)	---	---	10,18	---
acetato de <i>trans</i> -carveíla	---	---	20,40	---
acetato de α-terpinila (24)	1,1	0,84	0,56	---
acetato de dihidro-neo-iso-carveíla (25)	---	---	0,66	---
acetato de <i>cis</i> -carveíla	0,3	12,62	---	---
acetato de mirtenila	6,5	---	---	---
acetato de geranila (27)	1,1	0,54	---	---
acetato de <i>trans</i> -mirtanol (26)	---	---	0,24	---
β-cubebeno (28)	---	---	0,45	---
<i>trans</i> -cariofileno (29)	---	---	0,73	---
λ-muuroleno (32)	---	---	0,69	---
germacreno-D (33)	---	---	0,24	---
neo-fitadieno	0,3	---	---	---

#### 4.2.1 Tempo de Retenção e o Cálculo dos Índices de Kovats Simulados

O tempo de retenção é um parâmetro extremamente valioso na identificação dos constituintes de óleos essenciais. Ele exprime o tempo gasto em minutos do momento de injeção da amostra ao instante de detecção do constituinte.

O tempo de retenção cromatográfico é muito mais sensível a pequenas variações de ordem experimental que a fragmentação da substância no espectro de massa em uma voltagem padronizada (70 eV). Sendo assim, para minimizar flutuações de natureza experimental, emprega-se um tempo de retenção relativo (índice de retenção), ao invés do tempo de retenção propriamente dito que é um valor absoluto. O sistema de índice de retenção proposto por Kovats (Kovats, 1965), é o mais adotado na identificação de constituintes de óleos essenciais.

O índice de Kovats é calculado em função do tempo de retenção de uma dada substância, com relação aos tempos de retenção de *n*-alcanos incorporados à amostra sob análise, como padrões internos.

Em condições de temperatura programada, o processo pode ser considerado linear e o índice de Kovats pode ser calculado pela equação abaixo:

$$IK = 100 \cdot n + 100 \cdot x \cdot \left( \frac{T_A - T_1}{T_2 - T_1} \right) \quad (I)$$

onde:

$IK$  = índice de Kovats;

$n$  = número de átomos de carbono que precede a substância;

$T_1$  = tempo de retenção do alcano que precede a substância;

$T_2$  = tempo de retenção do alcano que sucede a substância;

$T_A$  = tempo de retenção da amostra entre  $T_1$  e  $T_2$ ;

$x$  = diferença do número de átomos de carbonos dos alcanos responsáveis por  $T_1$  e  $T_2$ .

Para simplificar a determinação dos índices de Kovats nas amostras de óleos essenciais foi desenvolvido por Alencar e colaboradores (Alencar, 1990), um procedimento de simulação baseado nos seguintes passos:

No cromatograma da mistura que está sendo analisada faz-se a escolha de alguns picos, um mínimo de 3, varrendo todo o cromatograma, se possível, e faz-se a identificação a partir de seu espectro de massa.

Obs.: a identificação dos compostos selecionados pela análise de seus espectros de massa, deve ser inequívoca.

Associa-se o tempo de retenção experimental para cada pico escolhido no cromatograma aos seus índices de Kovats já conhecidos, publicados em literatura especializada, como em “*Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass spectroscopy*” (Adams, 2001); desde que não haja dúvidas sobre o valor compilado pela coluna usada no experimento.

Com os tempos de retenção selecionados registrados no eixo das ordenadas (X) de um sistema de coordenadas cartesianas e os índices de Kovats compilados registrados no eixo das abscissas (Y), verifica-se se o conjunto considerado, ajusta-se a equação da reta:

$$IK = B \cdot RT + A \quad (II)$$

onde:

$IK$  = índice de Kovats;

$B$  = inclinação da reta;

$RT$  = tempo de retenção;

$A$  = valor onde a reta corta o eixo das ordenadas ( $X = 0$ ).

A solução da equação (II) com os dados experimentais raramente origina pontos situados na mesma reta. Usualmente a melhor reta pode ser estimada por regressão linear com o auxílio das equações abaixo (Aguiar, 1988):

$$B = \frac{\sum (IK \cdot RT) - (\sum IK \cdot \sum RT)}{\sum (RT^2) - (\sum RT^2) / N} \quad (\text{III})$$

$$A = \sum IK / N - B \cdot \sum RT / N \quad (\text{IV})$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum IK^2 - A \cdot \sum IK - B \cdot \sum IK \cdot R}{N - 2}} \quad (\text{V})$$

onde:

A, B, IK e RT = mesmo significado indicado acima;

N = número de picos selecionados para análise;

S = erro de distribuição na simulação.

Como exemplo, tomemos o óleo essencial da parte aérea coletada em Pentecoste-CE (PE). A tabela 6 (p. 32) mostra os picos selecionados do cromatograma (Fig. 10, p. 27), do óleo essencial extraído por hidrodestilação, os quais correspondem a compostos que foram identificados inequivocamente pela análise dos seus espectros de massa, cujos índices de Kovats foram compilados da literatura (Adams, 2001). Estes compostos servirão de base para construir a reta de regressão que permitirá simular os índices de Kovats de todos que aparecem no cromatograma.

Com os dados da tabela 6 (p. 32), foi construída a reta de regressão (VI), usada para simular os índices de Kovats de todos os constituintes do óleo apresentado na tabela 7 (p. 33), onde também é feita uma comparação entre os índices simulados de todos os compostos presentes no óleo e os valores experimentais compilados da literatura (Adams, 2001).

$$IK = 30,52 \cdot RT + 784,74 \quad (\text{VI})$$

Este procedimento foi utilizado, sempre que necessário, para determinação dos constituintes dos óleos apresentados neste trabalho.

Tabela 6: Compostos selecionados no cromatograma do óleo essencial de *Egletes viscosa* coletada em Pentecoste-CE, para o cálculo da reta de regressão.

TR (min)	Composto	IK-L
6,40	$\beta$ -pineno	980
8,01	limoneno	1031
16,98	acetato de <i>trans</i> -pinocarveíla	1297
20,61	$\beta$ -cariofileno	1418

TR = tempo de retenção em minutos; IK-L = índice de Kovats da literatura (Adams, 2001).

Tr = tempo de retenção;

IK-L = índice de Kovats da literatura (Adams, 2001);

IK-S = índice de Kovats simulado pela equação de regressão (VI);

$$\text{Erro \%} = \left| \frac{(IK - L) - (IK - S)}{IK - L} \right| \cdot 100$$

#### 4.3 Identificação de OEM-A1

A partir da comparação do I.K. e do espectro de massa, com dados da literatura (Adams, 2001), pôde-se identificar OEM-A1, como sendo o acetato de *trans*-pinocarveíla. A identificação também é apoiada pela análise dos dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  uni e bidimensionais, obtidos do óleo essencial, que são descritos pela primeira vez.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) (Fig. 12, p. 34), da mistura, apresenta 12 sinais principais, onde 3 sinais ( $\delta$  170,7; 150,5 e 114,2), são referentes aos carbonos  $\text{sp}^2$  do acetato de *trans*-pinocarveíla. O sinal em  $\delta$  170,7 é atribuído a carbonila do éster (C-1'), e que apresenta absorção em  $1735,9 \text{ cm}^{-1}$  no espectro de infravermelho (Fig. 13, p. 34), e os outros dois sinais são referentes a dupla ligação terminal (C-2 e C-10, respectivamente). O sinal em  $\delta$  68,7 corresponde ao carbono  $\text{sp}^3$  mono-oxigenado (C-3). Os demais sinais são associados aos carbonos saturados não funcionalizados.

Tabela 7: Constituintes identificados no óleo essencial de *Egletes viscosa* coletada em Pentecoste-CE.

TR	Composto	Teor (%)	IK-L	IK-S	Erro (%)
6,40	$\beta$ -pineno (7)	1,86	980	980	0,00
7,92	$\beta$ -felandreno (10)	0,31	1031	1026	0,49
8,01	limoneno (9)	0,38	1031	1029	0,19
11,12	<i>trans</i> -pinocarveol (14)	1,59	1139	1124	1,32
13,20	mirtenol (18)	0,80	1194	1188	0,50
16,98	acetato de <i>trans</i> -pinocarveíla (4)	76,30	1297	1303	0,46
17,06	acetato de <i>cis</i> -isopinocarveíla (5)	0,74	---	1305	---
17,59	acetato de <i>cis</i> -pinocarveíla (23)	10,18	1309	1322	0,99
17,88	acetato de $\alpha$ -terpinila (24)	0,56	1350	1330	1,48
17,94	acetato de dihidroneoisocarveol (25)	0,66	1356	1332	1,77
18,56	acetato de <i>trans</i> -mirtanol (26)	0,24	1381	1351	2,17
19,84	$\beta$ -cubebeño (28)	0,45	1390	1390	0,00
20,61	<i>trans</i> -cariofileno (29)	0,73	1418	1414	0,28
22,49	$\gamma$ -muuroleno (32)	0,69	1477	1471	0,41
22,75	germacreno-D (33)	0,24	1480	1479	0,07
18,77	não identificado	2,37	---	1358	---
18,94	não identificado	0,25	---	1363	---
19,22	não identificado	1,64	---	1371	---

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (Fig 14, p. 35), são observados 3 sinais referentes a carbonos metínicos ( $\text{CH}$ ), 3 sinais de carbonos metilênicos ( $\text{CH}_2$ ), 3 sinais associados a carbonos metílicos ( $\text{CH}_3$ ), além da falta de 3 sinais quando comparado com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD o que caracteriza a existência de 3 carbonos não hidrogenados, o que está de acordo com a estrutura do acetato de *trans*-pinocarveíla. A tabela 8 (p. 35) apresenta os deslocamentos químicos e o padrão de hidrogenação dos carbonos.

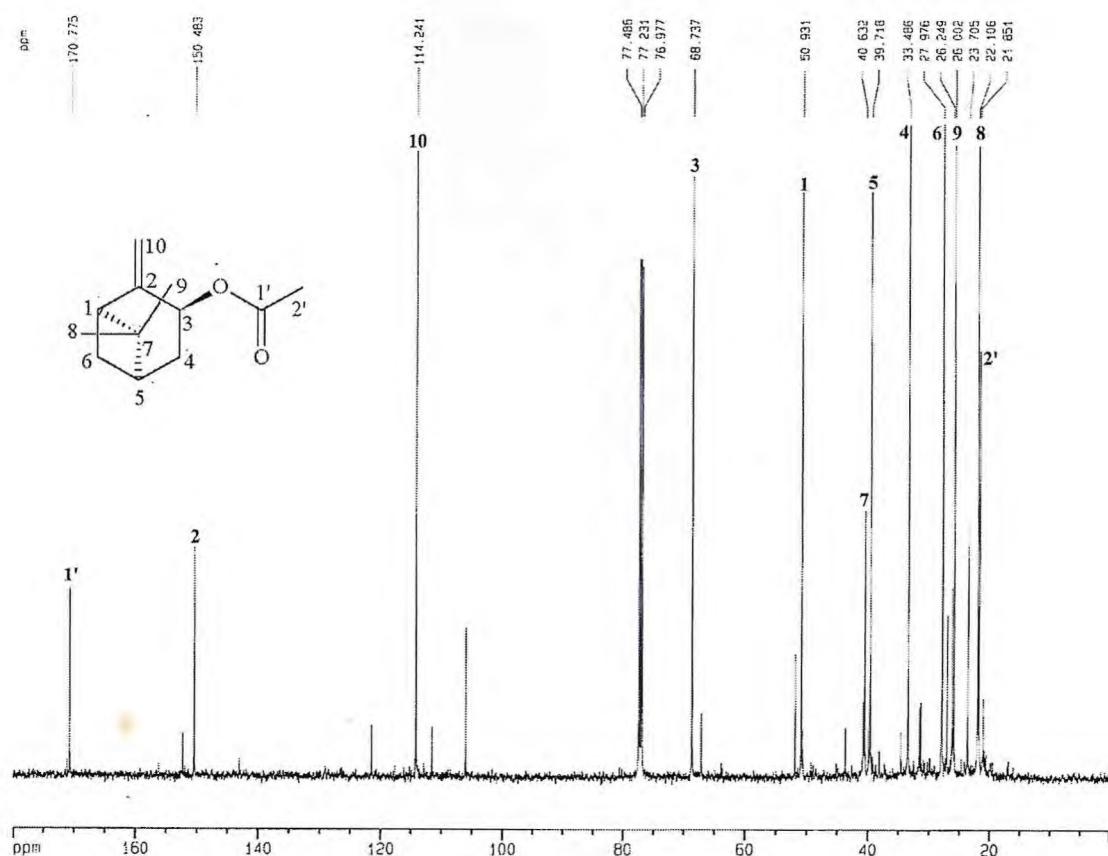


Figura 12: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD de OEM-A1 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

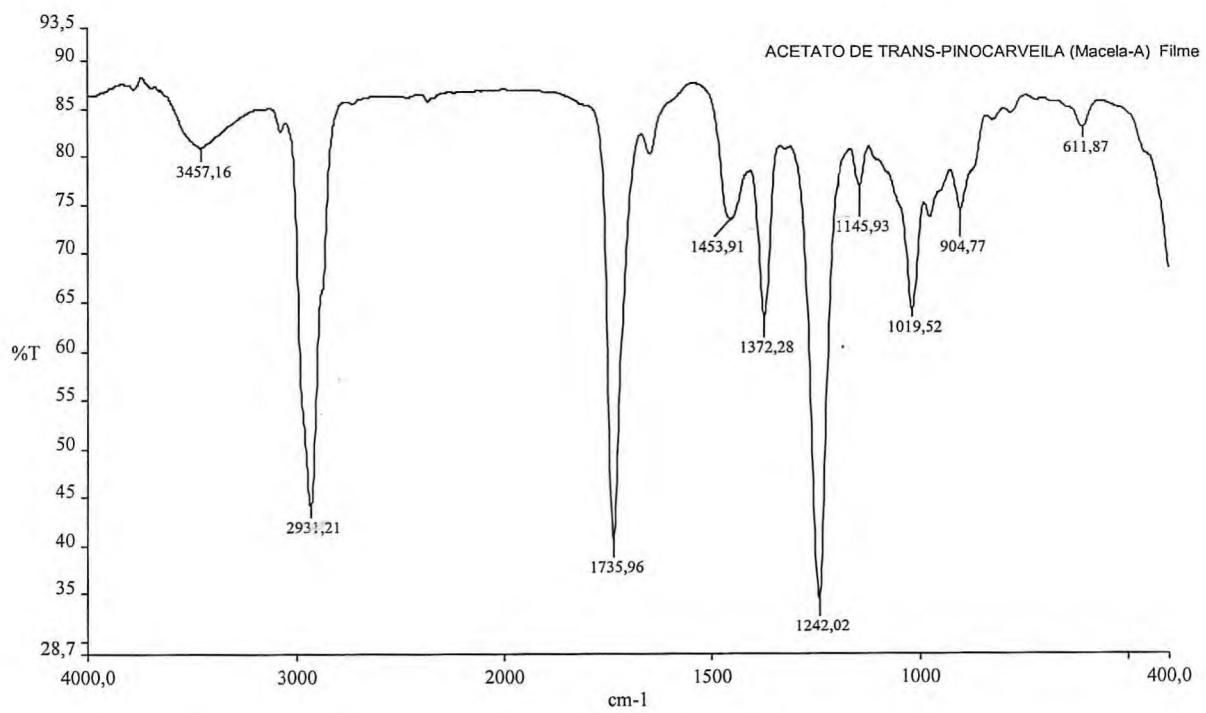


Figura 13: Espectro na região do IV de OEM-A1 [ $\text{cm}^{-1}$ ; filme]

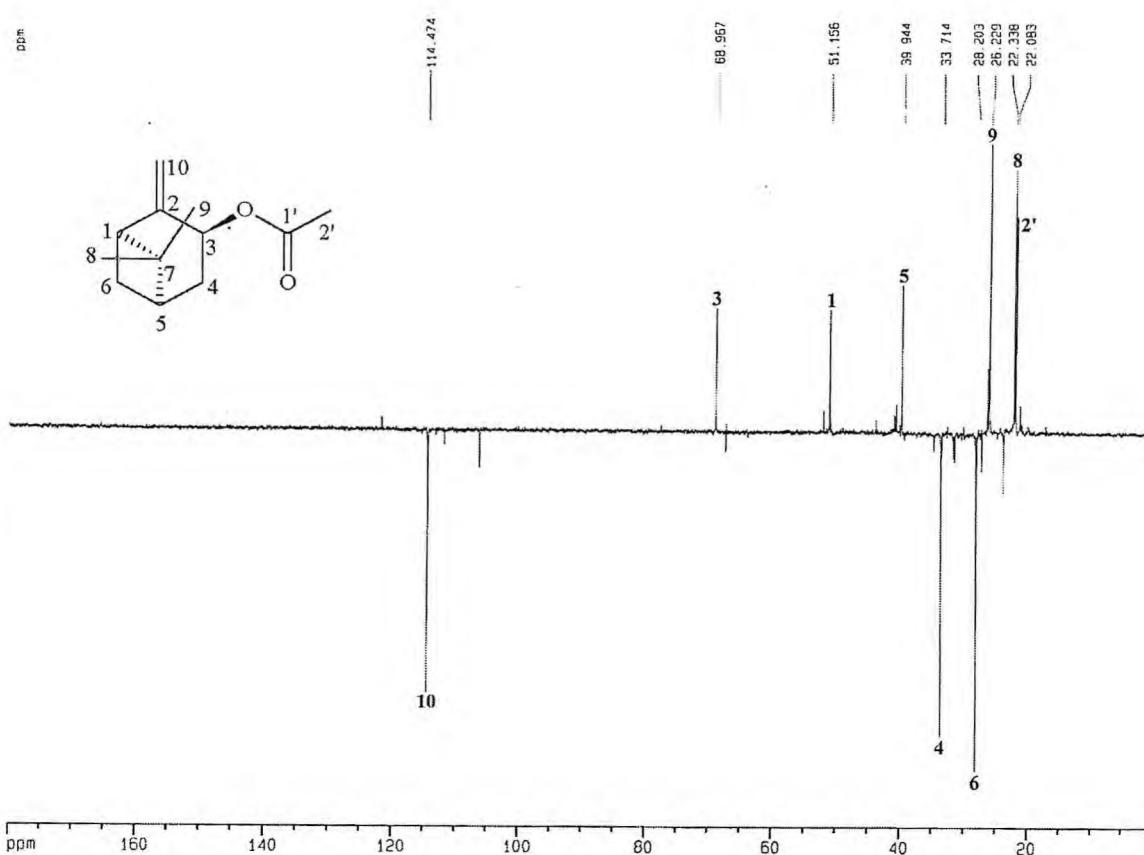


Figura 14: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de OEM-A1 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

Tabela 8: Deslocamentos Químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de OEM-A1 por Padrão de Hidrogenação.

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
170,7	68,7	114,2	26,0
150,5	50,9	33,5	22,1
40,6	39,7	28,0	21,9
3C	3CH	3CH <sub>2</sub>	3CH <sub>3</sub>
			C <sub>12</sub> H <sub>18</sub>
C=O	C—O		C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>

Além das absorções referentes a dupla ligação ( $\delta$  5,05 e 4,88), o espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 15, p. 37), apresenta um sinal bastante desprotegido, centrado em  $\delta$  5,55 (d,  $J = 8,04$  Hz, 1H), o qual pode ser associado ao hidrogênio carbinólico alílico a dupla ligação terminal. Pode-se observar também sinais centrados em  $\delta$  2,52 (t,  $J = 5,41$  Hz); 2,43 (m); 2,38 (m); 1,78 (dd,  $J = 15,13$  e 4,15 Hz); 1,59 (d,  $J = 10$  Hz) e três singletos intensos com integração para 3 hidrogênios referentes as metilas em  $\delta$  2,05; 1,69 e 1,28, sendo que o sinal em  $\delta$  2,05 é associado a metila ligada a carbonila, do grupo acetila. A partir da análise do espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$  a uma ligação, HMQC (detecção no canal do hidrogênio) (Fig. 17, p. 38), pode-se correlacionar os sinais dos hidrogênios com os sinais dos respectivos carbonos. A tabela 9 (p. 40), mostra um resumo destes dados.

O espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H}, ^1\text{H-COSY}$ ) (Fig. 16, p. 38), mostra claramente os acoplamentos entre os hidrogênios em  $\delta$  2,36 e 1,78 ( $J = 15,13$  Hz) e  $\delta$  2,41 e 1,59 ( $J = 10,0$  Hz), com valores para as constantes de acoplamento compatíveis com um sistema geminal. Mostra também os acoplamentos entre os hidrogênios em  $\delta$  5,55 e 2,36 ( $J = 8,04$  Hz);  $\delta$  1,97 e 1,78 ( $J = 4,15$  Hz);  $\delta$  2,52 e 1,59 ( $J =$ não determinado), que podem ser associados a sistemas vicinais de hidrogênios em anel cicloexânico em uma relação axial-axial. Pode ser notado um acoplamento entre os hidrogênios em  $\delta$  2,59 e 2,41 que sugere um sistema de hidrogênios vicinais em anel cicloexânico, porém agora em uma relação axial-equatorial, já que os hidrogênios em  $\delta$  2,41 e 1,59 acoplam geminalmente como foi discutido anteriormente. Foi observado, também, o acoplamento entre os hidrogênios em  $\delta$  2,52 e 1,97 ( $J = 5,41$  Hz), que poderia ser associado há um sistema de hidrogênios vicinais em anel cicloexânico com relação diaxial ou a um acoplamento a longa distância com um arranjo em “W” entre estes hidrogênios. Um resumo destes dados pode ser encontrado na tabela 9 (p. 40).

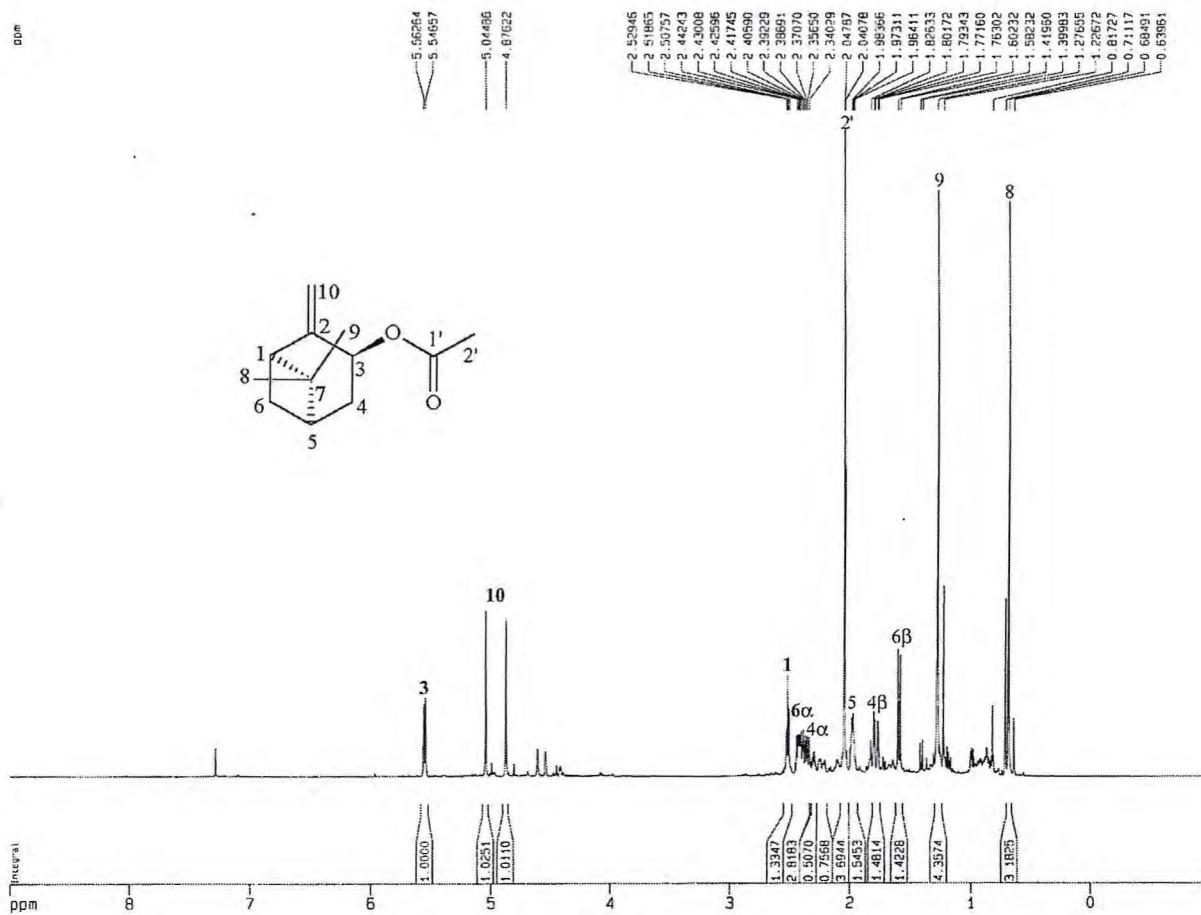


Figura 15: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de EVFIC-A1 [ $\delta$ ; 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

A partir da análise do espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$  à longa distância, HMBC (detecção no canal do hidrogênio) (Fig. 18, p. 39), pode-se observar a correlação dos hidrogênios com os carbonos-13 a duas e três ligações. Estes dados são apresentados na tabela 9,(p. 40) e no quadro 1 (p. 39). Vale a pena observar o acoplamento entre o hidrogênio em  $\delta$  2,52 com o carbono em  $\delta$  39,7 (C-5) ( $^3J_{\text{CH}}$ ) e o acoplamento entre o hidrogênio em  $\delta$  1,97 com o carbono em  $\delta$  50,8 (C-1) ( $^3J_{\text{CH}}$ ), que permite concluir que o acoplamento entre os hidrogênios seria decorrente de um arranjo em “W” e não de um sistema cicloexânico vicinal diaxial, fato discutido anteriormente. Observa-se também um fato atípico; um acoplamento a longa distância entre o hidrogênio em  $\delta$  1,59 e o carbono metínico em  $\delta$  22,1 (C-8); provavelmente a quatro ligações, o que sugere um arranjo em “W” entre este carbono e o referido hidrogênio.

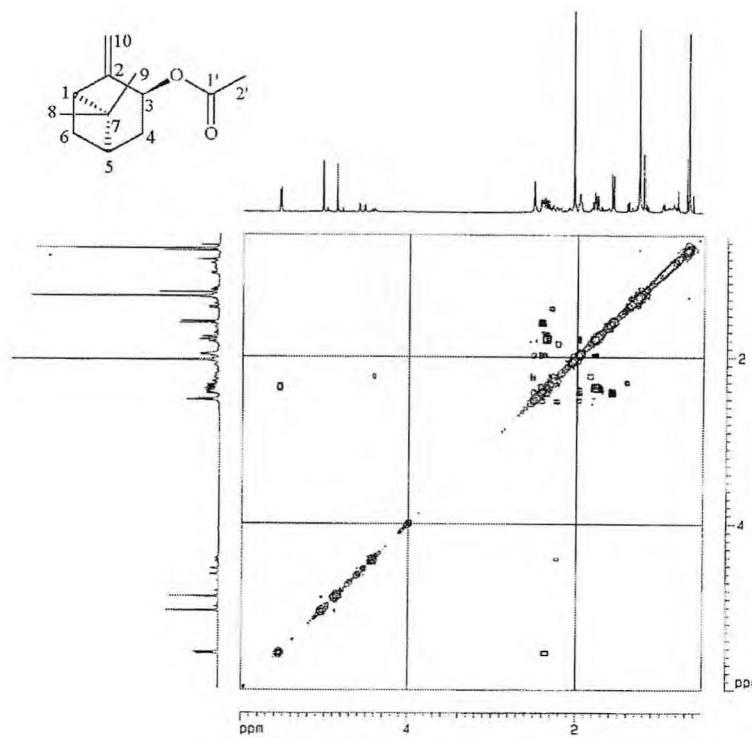


Figura 16: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY de OEM-A1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

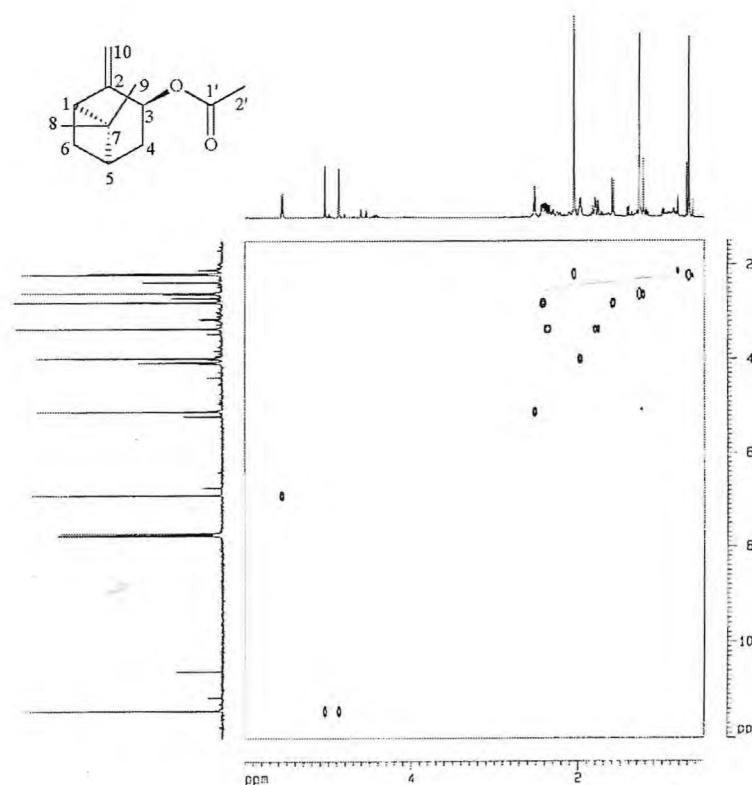


Figura 17: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC de OEM-A1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

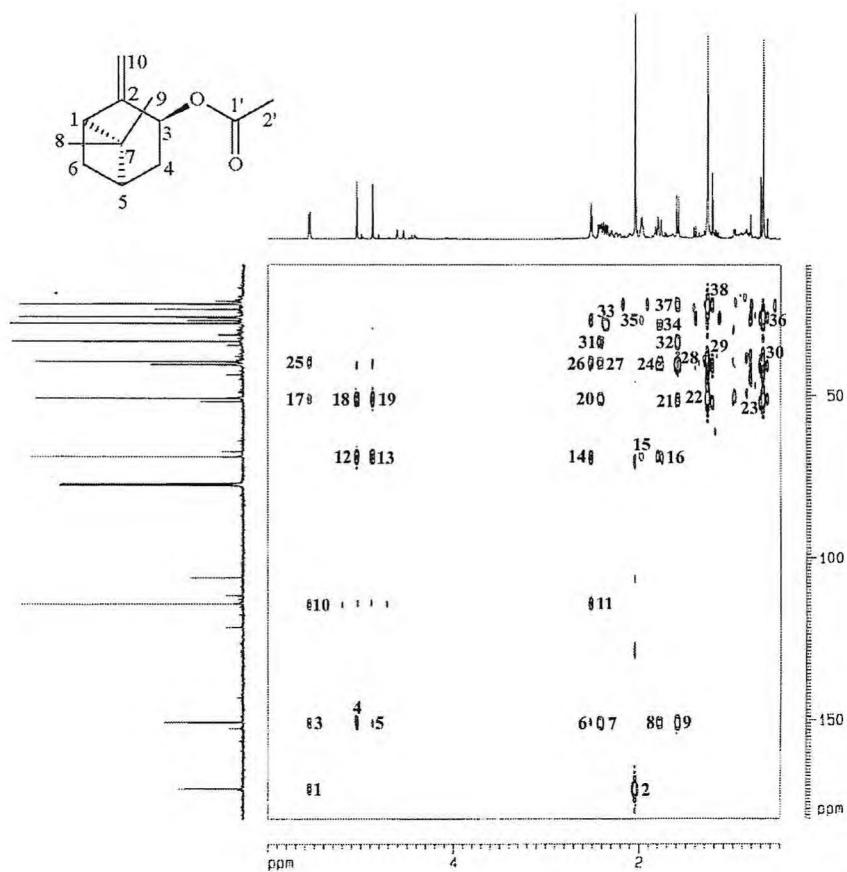
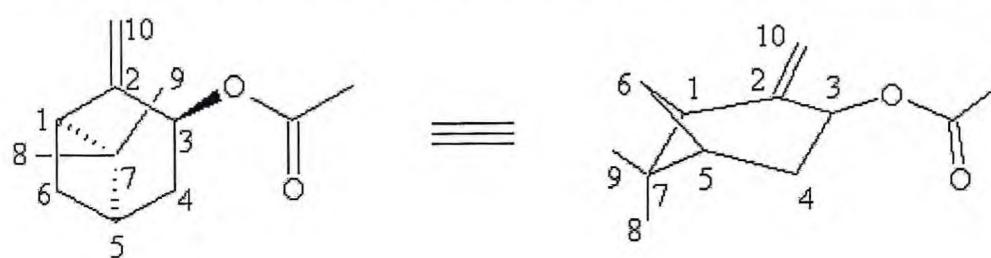
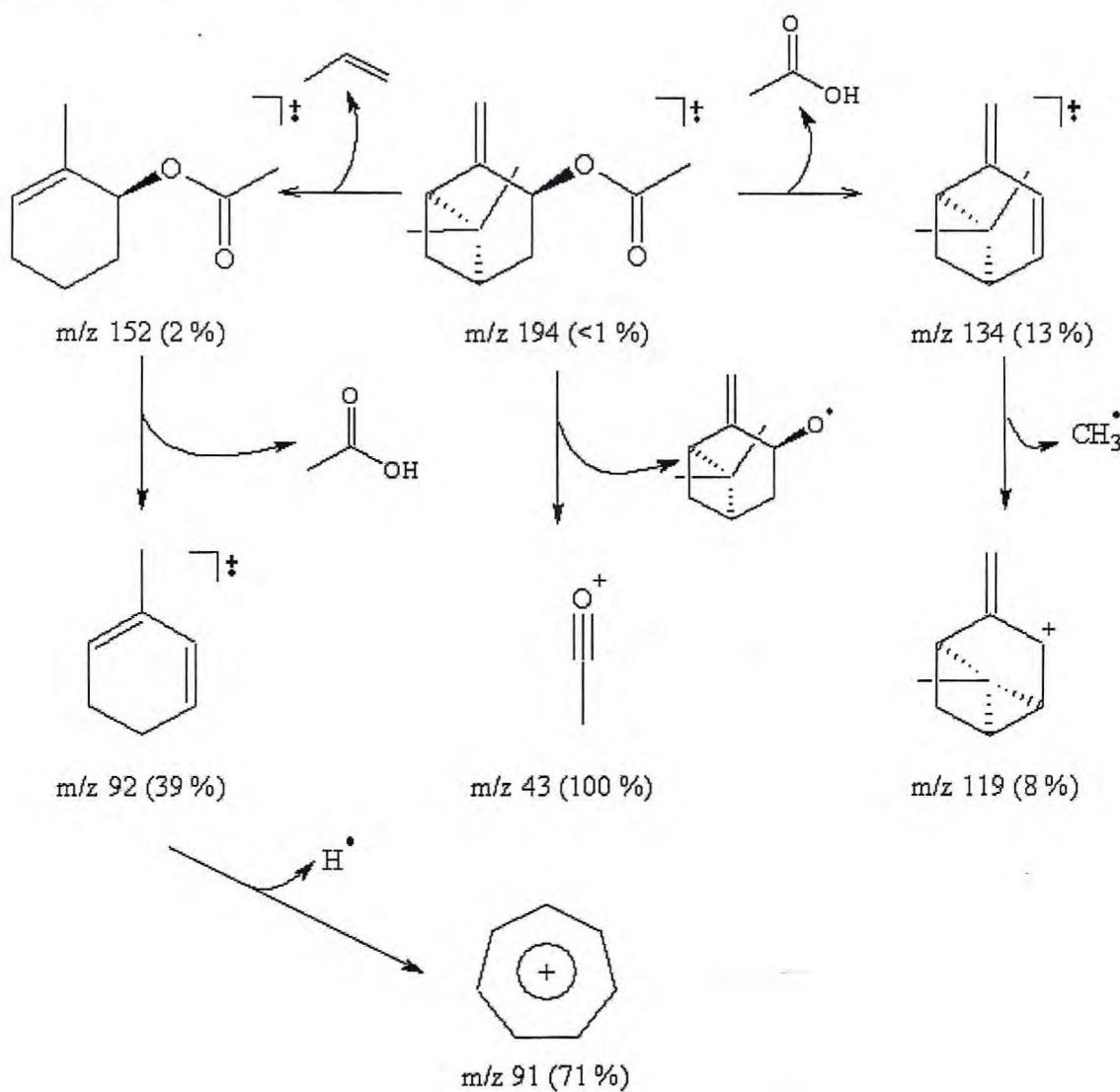


Tabela 9: Correlação Entre os Dados de RMN e a Estrutura de OEM-A1

#C	<sup>13</sup> C-HBBD	HMBC					
		δC	δH	<sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H	<sup>2</sup> J <sub>CH</sub>	<sup>3</sup> J <sub>CH</sub>	<sup>4</sup> J <sub>CH</sub>
1	50,9	2,52		1,97; 1,59	2,41; 1,59	5,55; 5,05; 4,88; 1,28; 0,69	---
2	150,5	---		---	5,55; 5,05; 4,88; 2,52	2,26; 1,78; 1,59	---
3	68,7	5,55		2,36	1,78	5,05; 4,88; 2,52; 1,97	---
4	33,5	2,36		5,55; 1,78	1,59	2,41	---
				2,36; 1,78			
				1,97			
5	39,7	1,97		2,52; 1,78	1,78; 1,59	5,55; 2,52; 1,28; 0,69	---
6	28,0	2,41		1,97; 1,59	---	2,36; 1,78	---
				2,52; 1,59			
				2,41			
7	40,6	---		---	---	1,78	---
8	22,1	0,69		---	---	1,28	1,59
9	26,0	1,28		---	---	1,97; 0,69	---
10	114,2	5,05		---	---	5,55; 2,52	---
				4,88	---		
OCOCH <sub>3</sub>	170,7	---		---	2,05	5,55	---
OCOCH <sub>3</sub>	21,9	2,05		---	---	---	---



A fórmula molecular  $C_{12}H_{18}O_2$  para OEM-A1 é confirmada pelo pico do íon molecular em 194 daltons, no espectro de massa (Fig. 50, p. 70). A análise mecanística da fragmentação de OEM-A1 no espectrômetro de massa (quadro 2, abaixo), está de acordo com a estrutura do acetato de *trans*-pinocarveíla.



Quadro 2: Proposta mecanística para fragmentação de massa de OEM-A1

A comparação com dados de RMN da literatura não foi possível, já que no melhor de nosso conhecimento esta é a primeira vez que os dados de RMN do acetato de *trans*-pinocarveíla são descritos, havendo na literatura somente dados de fragmentação de massa (Adams, 2001).

#### 4.4 Determinação Estrutural de OEM-B1

O óleo essencial dos capítulos florais de *Egletes viscosa* adquiridos no Mercado Central de Fortaleza-CE (OEM-B), apresenta como constituinte majoritário (77,93 %) a substância denominada OEM-B1.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) (Fig. 19, abaixo) de OEM-B, mostrou-se semelhante ao espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD de OEM-A (Fig. 12, p. 34), apresentando também 12 linhas espectrais principais. Como na estrutura do acetato de *trans*-pinocarveíla (OEM-A1, 4), três sinais ( $\delta$  170,6; 149,6 e 108,0), são atribuídos a carbonos insaturados, com hibridização  $\text{sp}^2$ , dentre os quais, o sinal em  $\delta$  170,6 pode ser relacionado a uma carbonila de éster ( $\text{C}-1'$ ), que é confirmada pela absorção em  $1742,6\text{ cm}^{-1}$ , no espectro de infravermelho (Fig. 20, p. 43). Há também, um sinal em  $\delta$  77,5 que é relacionado a um carbono  $\text{sp}^3$  mono-oxigenado ( $\text{C}-6$ ), mais desprotegido do que o carbono carbinólico do acetato de *trans*-pinocarveíla. Os outros oito sinais presentes no espectro são referentes a carbono  $\text{sp}^3$  não funcionalizados, assim como na estrutura do acetato de *trans*-pinocarveíla.

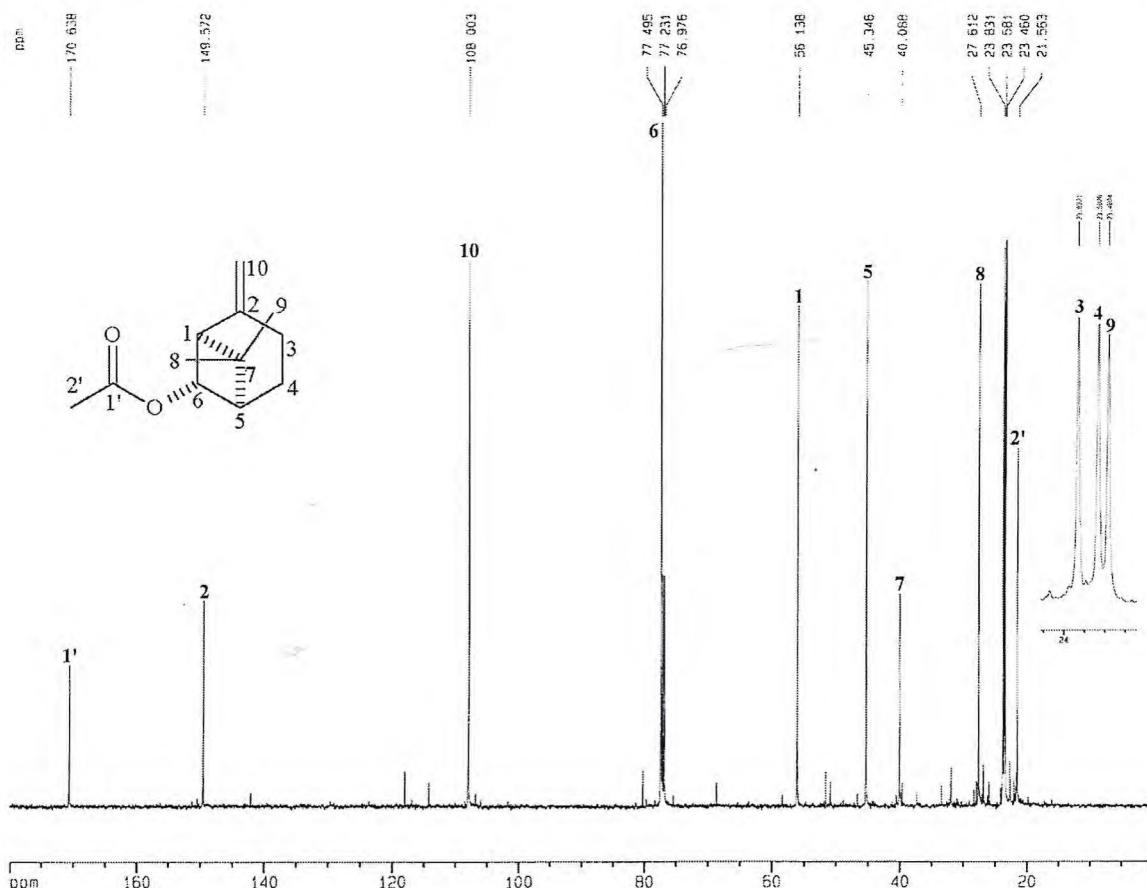


Figura 19: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD de OEM-B1 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

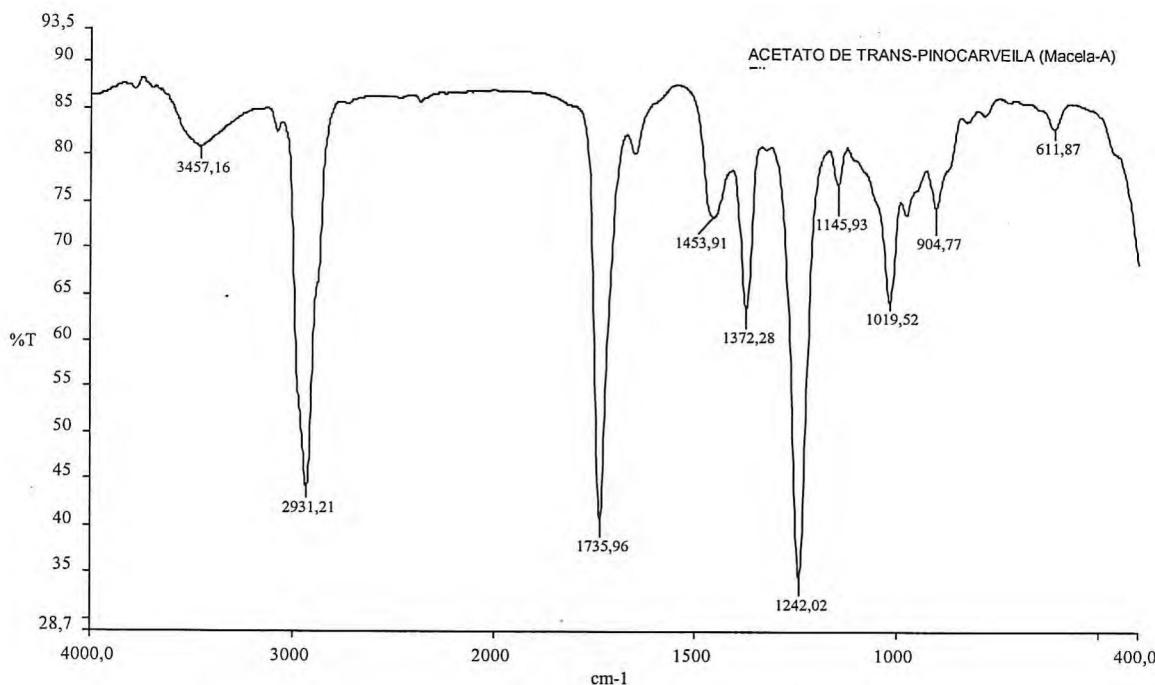


Figura 20: Espectro na região do IV de OEM-B1 [cm<sup>-1</sup>; filme]

A partir da análise do espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135° ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) (Fig. 21, p. 44), pode-se concluir que na estrutura de OEM-B1 existem três carbonos metílicos, três carbonos metilênicos e três carbonos metínicos. A ausência de três sinais quando o espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135° é comparado com o espectro de RMN <sup>13</sup>C-HBBD, leva a conclusão que existem três carbonos não hidrogenados no esqueleto carbônico de OEM-B1. Este padrão de hidrogenação é idêntico ao do acetato de *trans*-pinocarveíla. A tabela 10 (p. 44), mostra os deslocamentos químicos e o padrão de hidrogenação dos carbonos-13.

O espectro de massa de OEM-B1 (Fig. 51, p. 70), mostra o pico do íon molecular em 194 daltons. A associação deste fato com os dados de RMN <sup>13</sup>C discutidos acima sugere a fórmula  $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_2$  para OEM-B1, com índice de deficiência de hidrogênio igual a 4. Vale ressaltar que esta fórmula molecular é idêntica a do acetato de *trans*-pinocarveíla, sugerindo uma possível relação isomérica para estes compostos.

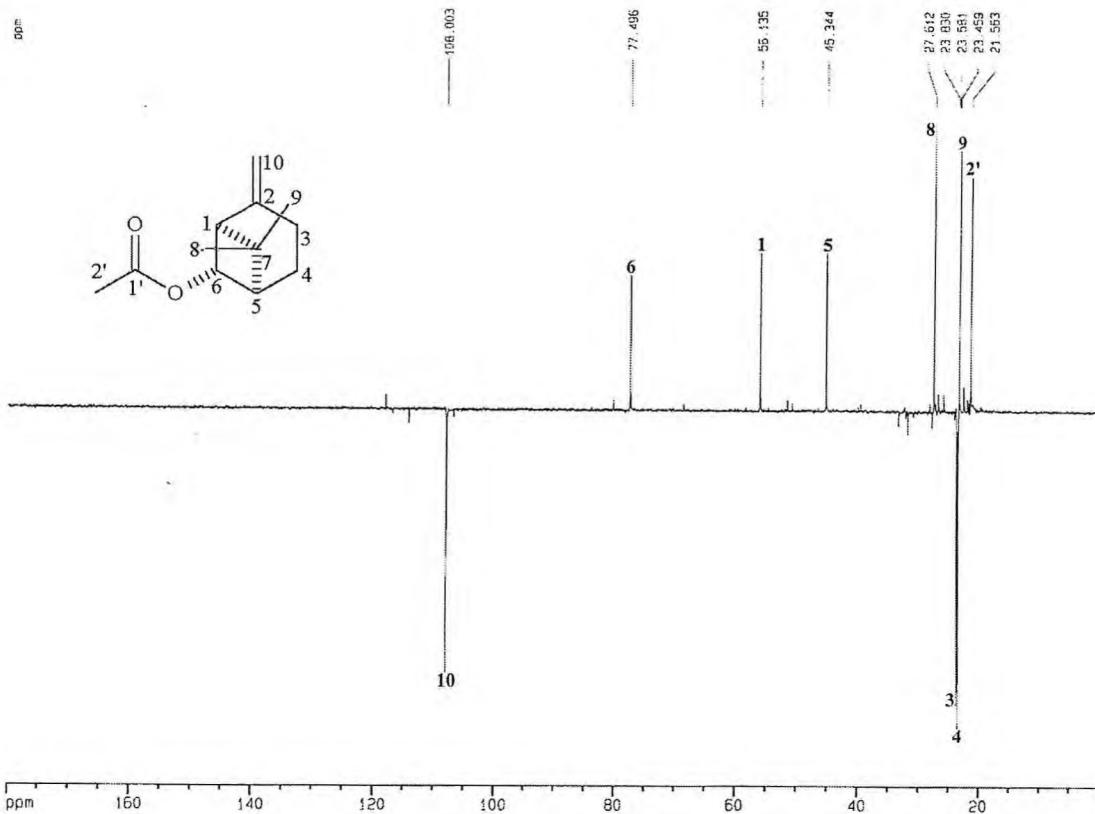


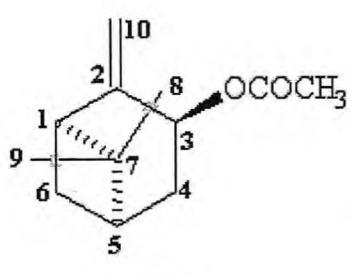
Figura 21: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de OEM-B1 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

Tabela 10: Deslocamentos Químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de OEM-B1 por Padrão de Hidrogenação.

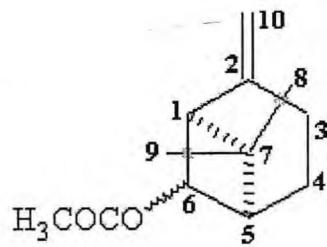
C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
170,6	77,5	108,0	27,6
149,6	56,1	23,8	23,5
40,1	45,4	23,6	21,6
3C	3CH	3CH <sub>2</sub>	3CH <sub>3</sub>
			$\text{C}_{12}\text{H}_{18}$
$\text{C}=\text{O}$	$\text{C}-\text{O}$		$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_2$

A semelhança estrutural entre o acetato de *trans*-pinocarveíla e OEM-B1 também é evidenciada pela comparação e análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 15, p. 37) (acetato de *trans*-pinocarveíla) e Fig. 20, p. 43 (OEM-B1). No espectro de RMN  $^1\text{H}$  de OEM-B1 são observados três singletos intensos em  $\delta$  2,07; 1,39 e 0,75; com integração para três hidrogênios, que são associados a grupos metilas. Os hidrogênios em  $\delta$  2,07; tem deslocamentos químicos característicos de hidrogênios metílicos ligado a carbonila. Neste

ponto pode-se concluir que assim como o acetato de *trans*-pinocarveíla, OEM-B1 apresenta também um grupo acetila em sua estrutura. Há também sinais em  $\delta$  1,90 (m, 1H); 2,01 (m, 1H); 2,10 (m, 1H); 2,24 (m, 1H); 2,47 (m, 1H); 4,60 (s, 1H) e 4,68 (s, 1H), sendo que os dois últimos são referentes à dupla ligação. A maior diferença entre os espectros de RMN  $^1\text{H}$  é notada quando comparamos os sinais em  $\delta$  2,59 (d,  $J = 6,50$  Hz, 1H) e 4,66 (s, 1H), referentes a hidrogênios de OEM-B1, com os sinais em  $\delta$  2,52 (dd,  $J = 5,54$  e  $5,41$  Hz; 1H) e 5,55 (d,  $J = 8,04$  Hz, 1H) do acetato de *trans*-pinocarveíla, respectivamente. O menor deslocamento químico do hidrogênio carbinólico ( $\delta$  4,66), sugere que este não se encontra mais na posição alílica. O fato do sinal se mostrar como um singlet indica que ou o hidrogênio está isolado, sem hidrogênios vicinais, ou em posição equatorial com ângulo diédrico próximo de  $90^\circ$  com os hidrogênios vicinais que, de acordo com a regra de Karplus (Crews, 1998), faz com que o acoplamento escalar não se manifeste, ou seja, muito pequeno entre estes hidrogênios. Já a mudança de multiplicidade de duplo dople para duplo dople do hidrogênio metínico alílico à dupla ligação ( $\delta$  2,59), bem como o aumento de seu deslocamento químico ( $\delta$  2,52 no acetato de *trans*-pinocarveíla, para  $\delta$  2,59 em OEM-B1), pode ser explicado pela troca de um grupo metilênico (C-6 no acetato de *trans*-pinocarveíla), por um grupo metínico contendo um heteroátomo (C-6 em OEM-B1). Neste ponto da discussão pode-se sugerir que o grupo acetila ligado ao carbono 3 do acetato de *trans*-pinocarveíla (**4**) encontra-se no carbono 6 na estrutura de OEM-B1. Desta forma pode-se sugerir a estrutura (**5**) para OEM-B1.



(4)



(5)

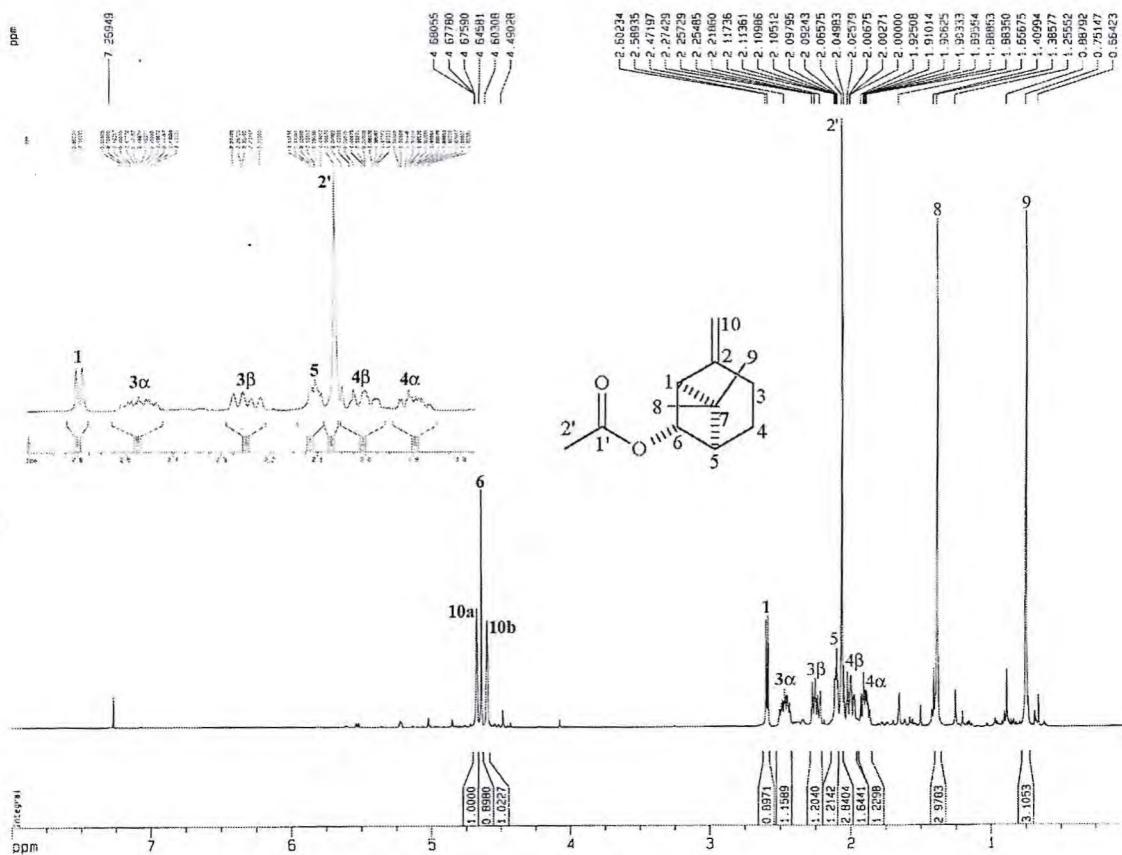


Figura 22: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de OEM-B1 com expansão da região entre 2,7 e 1,8 ppm [ $\delta$ ; 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

O espectro bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (Fig. 23, p. 47), mostra claramente o acoplamento entre os hidrogênios em  $\delta$  2,47 e 2,24 ( $J = 18,5$  Hz) e em  $\delta$  2,01 e 1,90 ( $J = 25,1$  Hz), que por mostrar valores elevados de constante de acoplamento devem apresentar uma relação geminal entre si. Pode ser visto o acoplamento entre os hidrogênios em  $\delta$  2,24 e 1,90 ( $J = 8,4$  Hz), apresentando um valor para constante de acoplamento compatível com um sistema vicinal de hidrogênios cicloexânicos, em arranjo axial-axial. São notados também os acoplamentos entre os hidrogênios em  $\delta$  2,10 e 2,01 ( $J =$  não determinado),  $\delta$  2,24 e 2,01 ( $J = 1,2$  Hz),  $\delta$  2,47 e 1,90 ( $J =$  não determinado), com valores de  $J$  pequenos que podem perfeitamente estar relacionados com sistemas de hidrogênios cicloexânicos vicinais com arranjos do tipo axial-equatorial e equatorial-equatorial. Neste momento pode-se afirmar que na estrutura de OEM-B1 estão presentes dois grupos metilênicos vicinais. Além destes acoplamentos é observado também um acoplamento entre os hidrogênios em  $\delta$  2,59 e 2,10 ( $J = 6,7$  Hz), provavelmente de um acoplamento a longa distância ( $^4J_{\text{HH}}$ ), com um arranjo em “w” entre estes hidrogênios, assim como ocorre com H-1

e H-5 na estrutura do acetato de *trans*-pinocarveíla. Estes dados estão descritos na tabela 11, p. 55.

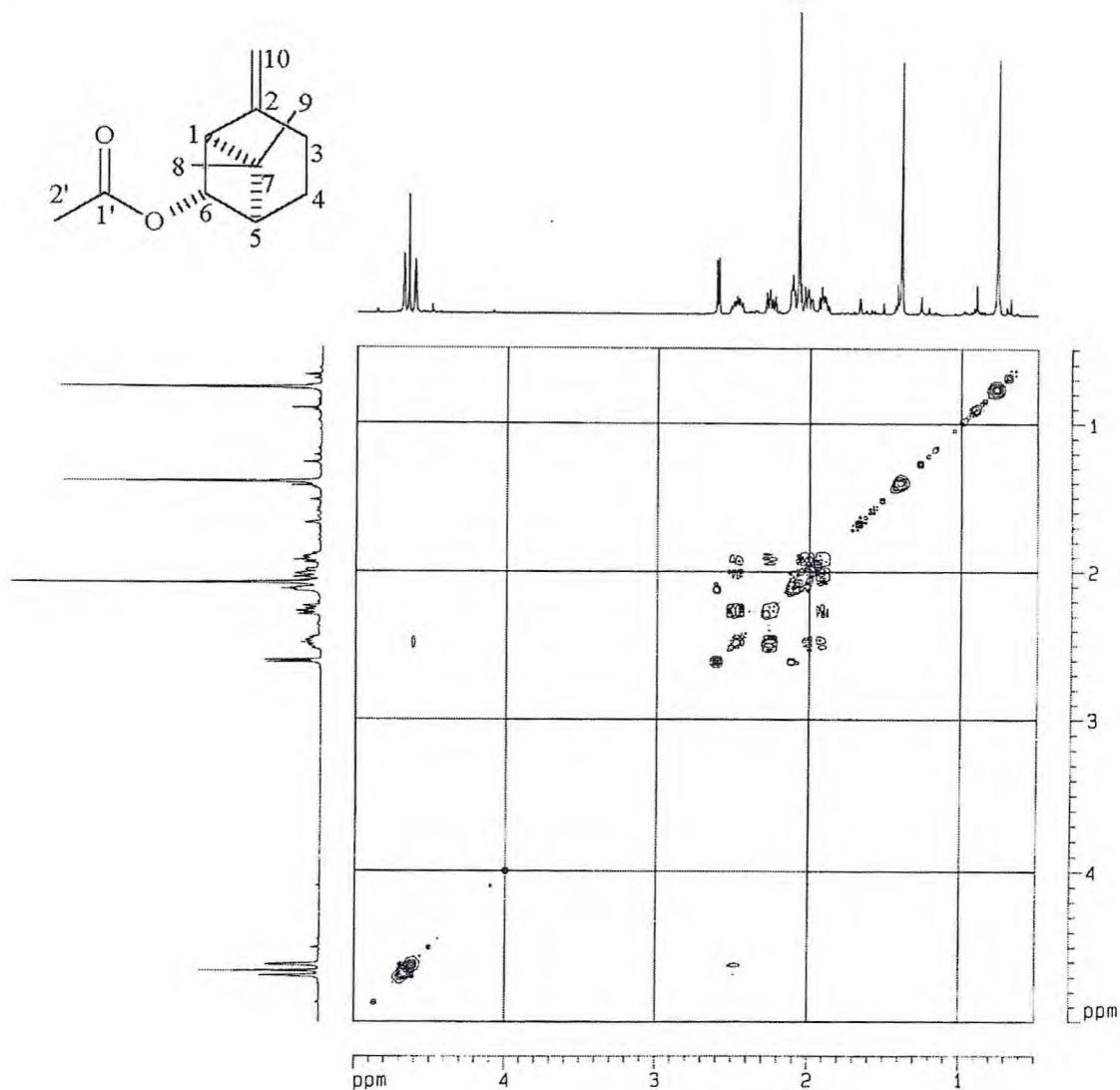


Figura 23: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY de OEM-B1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

Analizando o espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$  (HMQC) (Fig. 24 e 25, p. 48 e 49 respectivamente), pode-se correlacionar o carbono em  $\delta$  23,8 com os hidrogênios em  $\delta$  2,47 e 2,24; bem como o carbono em  $\delta$  23,6 com os hidrogênios em  $\delta$  2,01 e 1,90, confirmando o caráter geminal destes dois grupos de hidrogênios. Este fato associado com a discussão anterior do espectro de COSY, corrobora para a existência de dois grupos metilênicos vicinais em um anel cicloexânico, que confirma a mudança do grupo acetato do carbono 3 para o carbono 6 na estrutura de OEM-B1. A análise deste espectro proporcionou também a correlação de todos os sinais de hidrogênios com os seus respectivos carbonos, bem

como a correlação inequívoca dos hidrogênios com os carbonos em  $\delta$  23,8-23,5; mostrados na figura 25, p. 49. Estes dados são mostrados na tabela 11, p. 55.

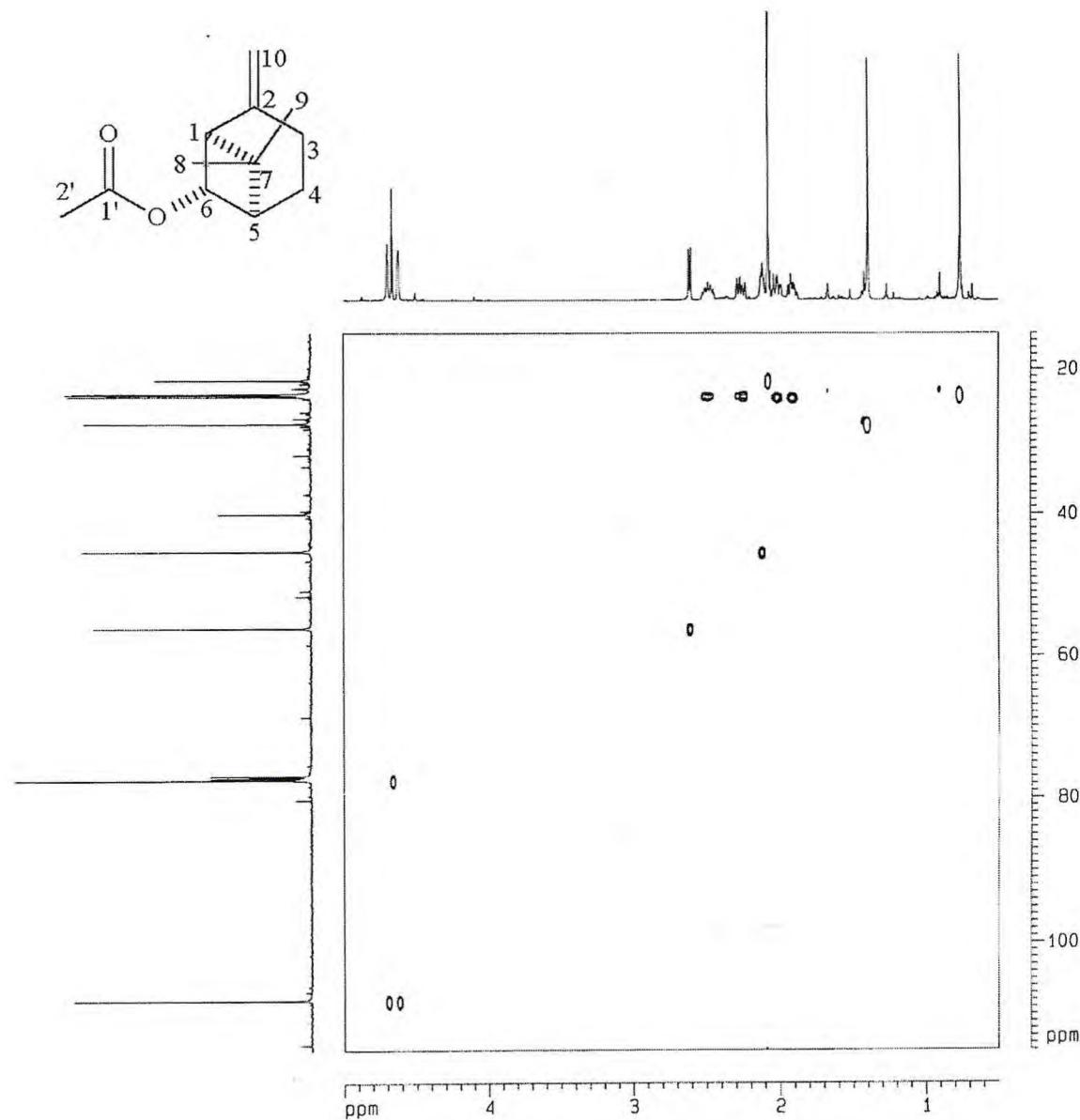


Figura 24: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC de OEM-B1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

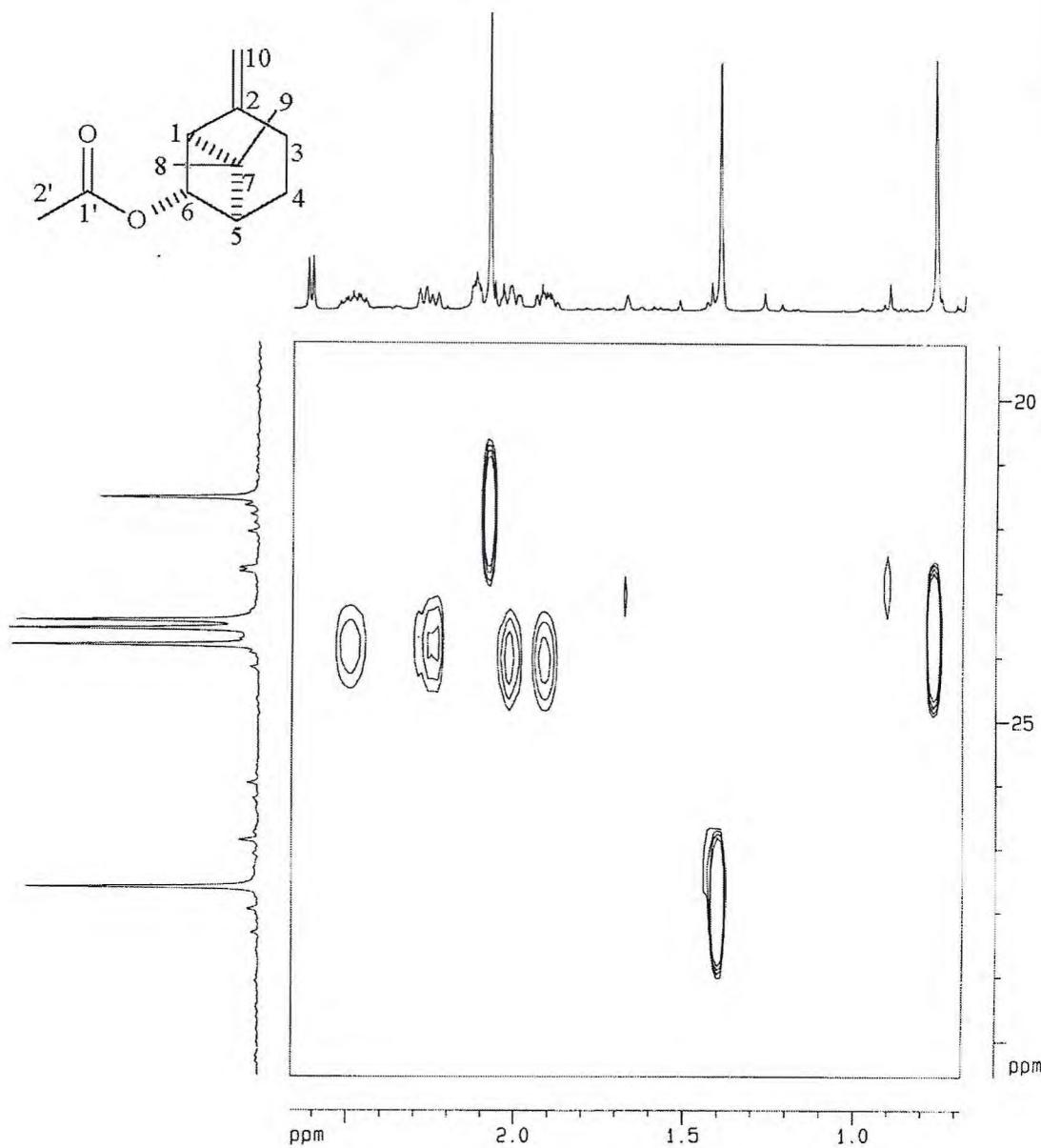


Figura 25: Diagrama de contorno da expansão da região entre 0,5 e 3,2 ppm do espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de OEM-B1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

O acoplamento a longa distância entre o carbono em  $\delta$  40,1 (C-7), com o hidrogênio em  $\delta$  4,66 (H-6) ( $^3J_{\text{CH}}$ ), mostrado no espectro de correlação heteronuclear a longa distância,  $^2J_{\text{CH}}$  e  $^3J_{\text{CH}}$  (HMBC) (Fig. 26, p. 50), reforça a presença do grupo acetato ligado a C-6. Este espectro também mostra o acoplamento entre os carbonos em  $\delta$  56,1 e 45,4 (C-1 e C-5), com o hidrogênio em  $\delta$  2,24 (H-3), mostrando que na posição 3 na estrutura de OEM-B1 é referente há um grupo metilênico. As demais correlações a longa distância existentes entre os hidrogênios e carbonos de OEM-B1 podem ser vistas na tabela 11 (p. 55) e no quadro 3 (p. 51).

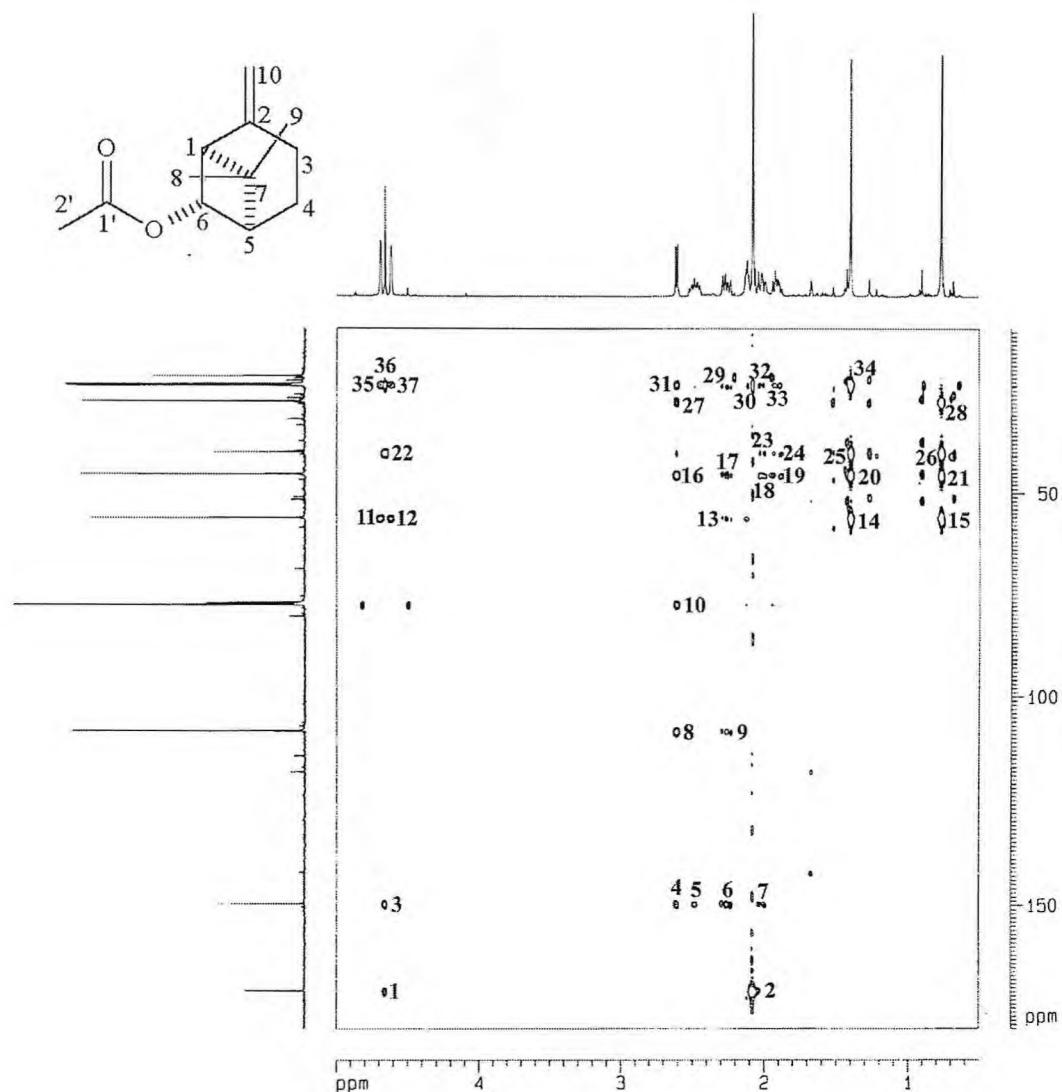
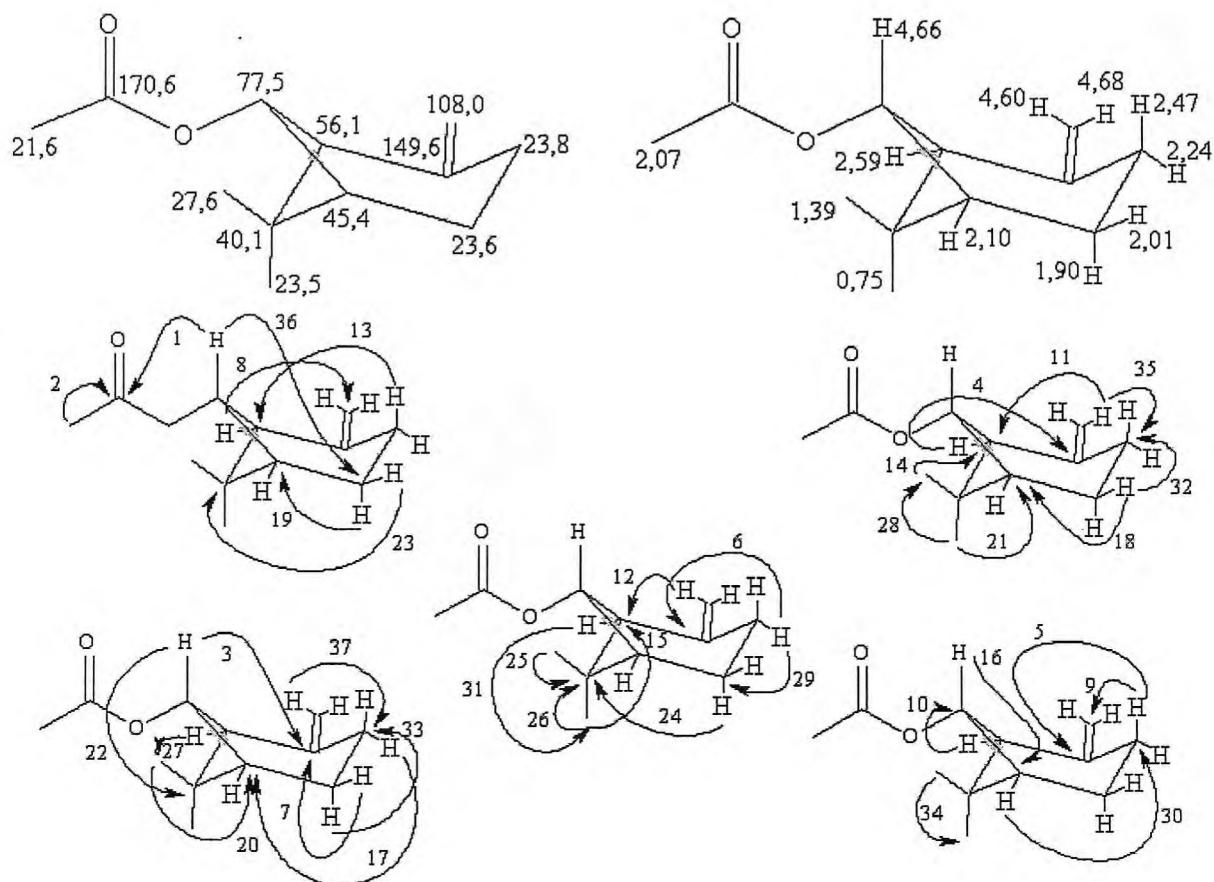


Figura 26: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de OEM-B1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

O espectro de RMN de correlação homonuclear a longa distância  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY (Fig. 27 e 28, p. 52), de OEM-B1, mostra claramente o acoplamento espacial do hidrogênio H-6 ( $\delta$  4,66) e com o hidrogênio H- $3\beta$  ( $\delta$  2,47), definindo a estereoquímica relativa de C-6, com o grupo acetato na posição  $\alpha$  e H-6 na posição  $\beta$ . Este fato sugere uma estereoquímica *cis* entre o grupo acetato e carbono quaternário C-7. Também é visto neste espectro, o acoplamento espacial entre o hidrogênio olefínico em  $\delta$  4,68 e o hidrogênio metilênico H- $3\alpha$  ( $\delta$  2,24), bem como o acoplamento espacial entre o outro hidrogênio olefínico em  $\delta$  4,60 e o hidrogênio metílico H-1 ( $\delta$  2,59), definindo as posições dos hidrogênios ligados a C-10. O

quadro 4 (p. 53), mostra os acoplamentos observados no espetro de  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY de OEM-B1.



Quadro 3: Representação dos acoplamentos observados no espetro de  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de OEM-B1

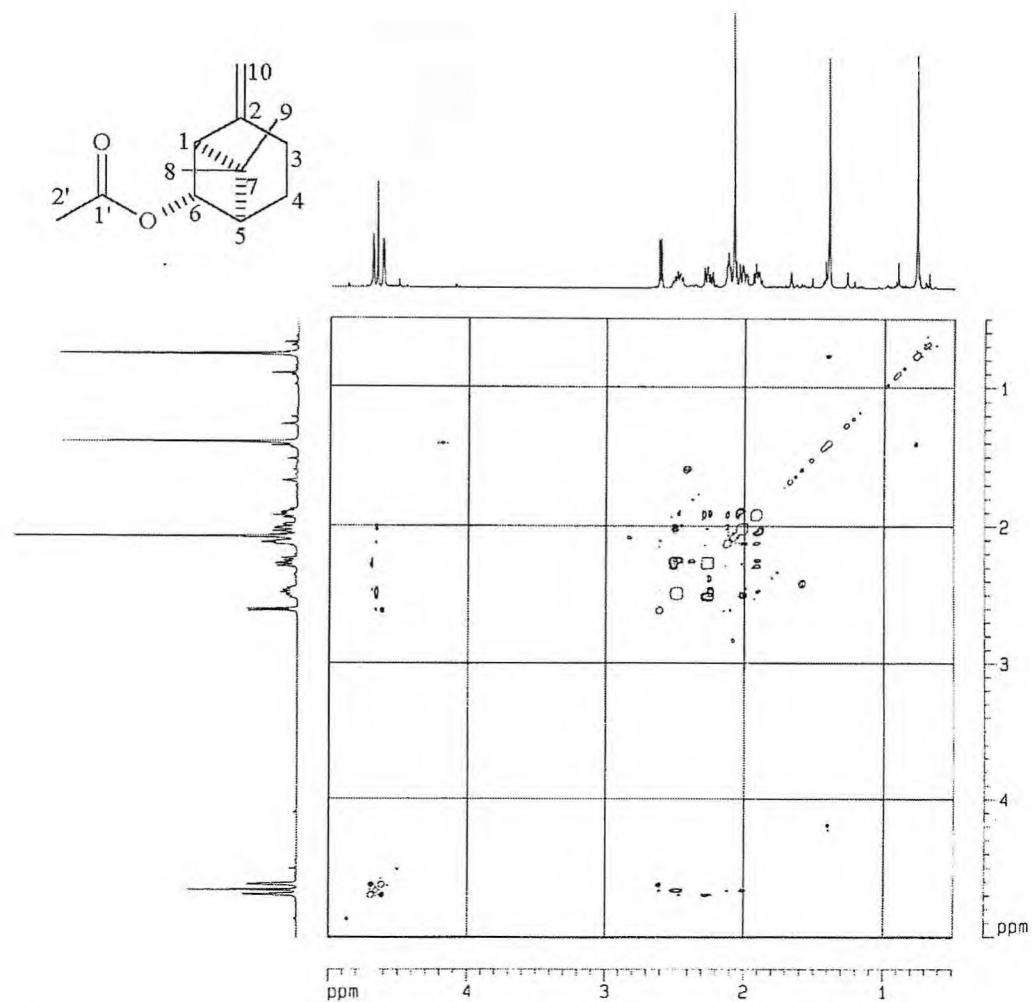


Figura 27: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY de OEM-B1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

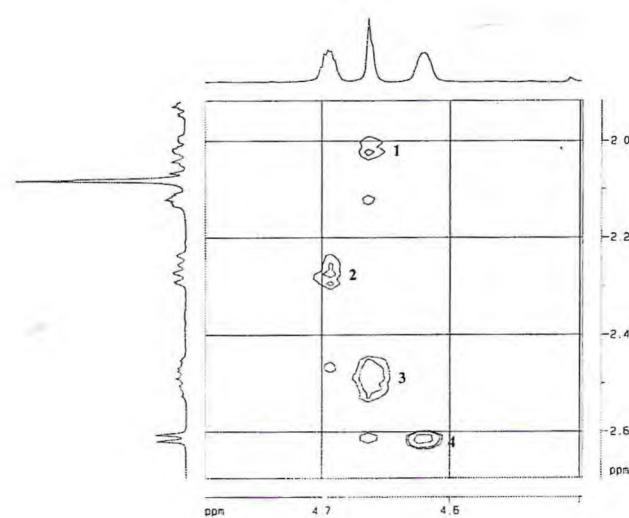
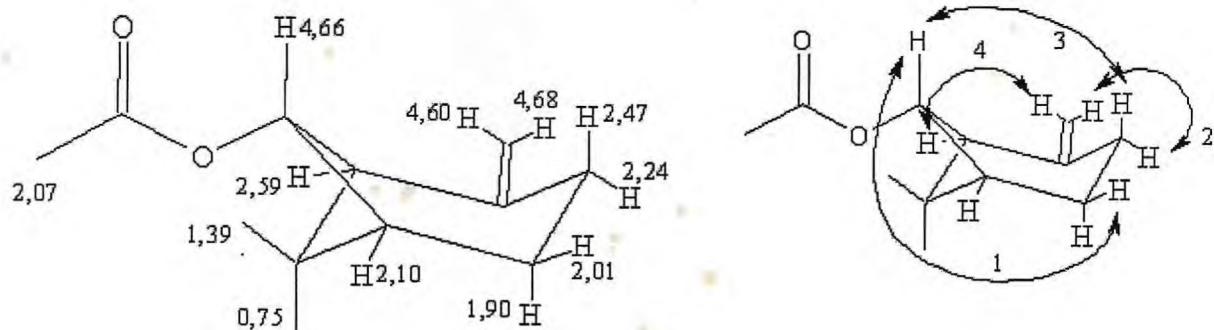
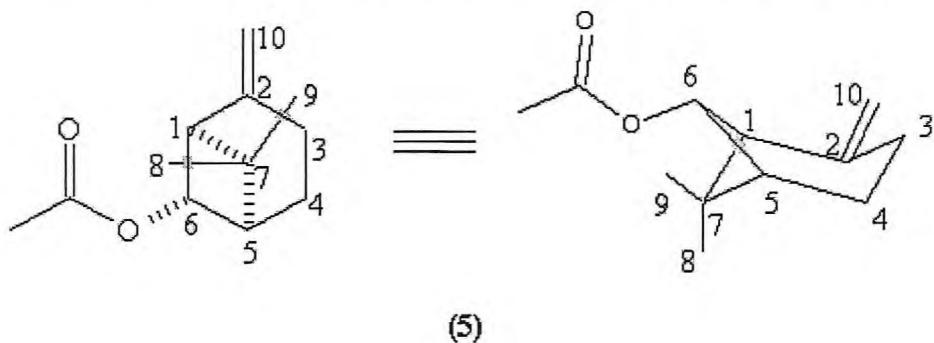


Figura 28: Diagramas de contorno da expansão da região entre 4,5 a 4,8 ppm do espectro  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY de OEM-B1 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]



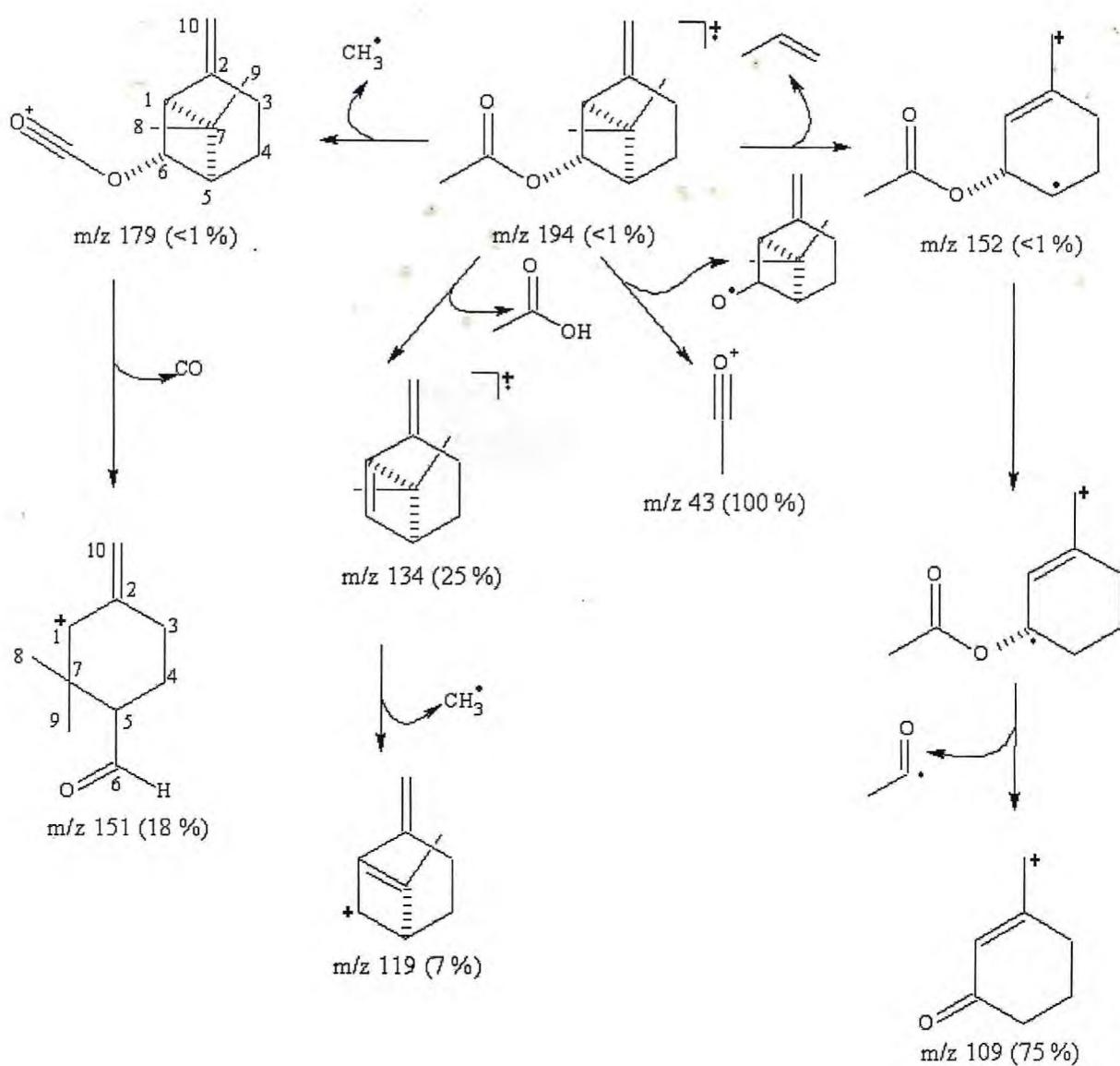
Quadro 4: Representação dos acoplamentos observados no espectro de  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY de OEM-B1

Baseado nesta discussão pode-se associar a estrutura (5) para OEM-B1, confirmando o caráter isomérico entre o acetato de *trans*-pinocarveila (OEM-A1) e OEM-B1.



Esta estrutura também é confirmada pela análise mecanística da fragmentação de OEM-B1 no espectrômetro de massa, mostrada no quadro 5, p. 54.

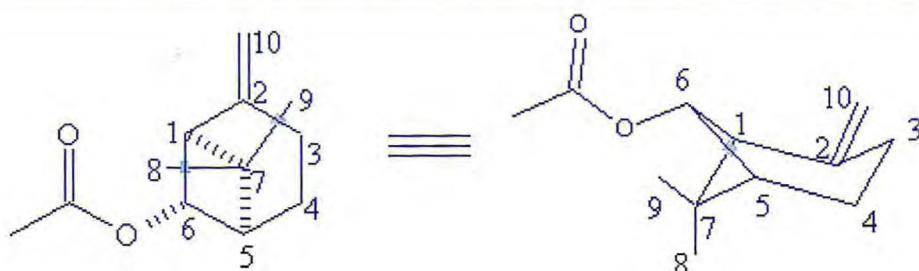
No melhor de nosso conhecimento, OEM-B1 trata-se de um monoterpeno do tipo  $\beta$ -pineno acetilado na posição 6, que está sendo relatado pela primeira vez na literatura, recebendo a denominação de acetato de *cis*-isopinocarveila.



Quadro 5: Proposta mecanística para fragmentação de massa de OEM-B1

Tabela 11: Correlação Entre os Dados de RMN e a Estrutura de OEM-B1

#C	<sup>13</sup> C-HBBD	HMQC		COSY		HMBC	NOESY
		$\delta$ C	$\delta$ H	$^1\text{H}$ , $^1\text{H}$	$^2J_{\text{CH}}$		
1	56,1	2,59		2,10	---	4,68; 4,60; 2,24; 1,39; 0,75	4,60
2	149,6	---		---	2,56; 2,47; 2,24	4,66; 2,01	---
3	23,8	2,47		4,66; 2,24; 1,90	2,01; 1,90	4,68; 4,60; 2,10	---
		2,24		2,47; 2,01; 1,90			4,68
4	23,6	2,01		2,10; 2,24; 1,90	2,24	4,66	4,66
		1,90		2,47; 2,24; 2,01			---
5	45,4	2,10		2,59; 2,01	2,01; 1,90	2,59; 2,24; 1,39; 0,75	---
6	77,5	4,66		2,47	2,56	---	2,01
7	40,1	---		---	1,39; 0,75	4,66; 2,01; 1,90	---
8	27,6	1,39		---	0,75	2,56	---
9	23,5	0,75		---	---	2,56; 1,39	---
10	108,0	4,68		---	---	2,56; 2,24	2,24
		4,60		---			2,59
OCOCH <sub>3</sub>	170,6	---		---	2,07	4,66	---
OCOCH <sub>3</sub>	21,6	2,07		---	---	---	---



#### 4.5 Óleos Essenciais de *Egletes viscosa* do Ceará

Visando o estudo da interferência das condições edafo-climáticas na composição química do óleo essencial da parte aérea de *E. viscosa*, várias amostras foram coletadas em diversas localidades do estado do Ceará (Fig. 29, abaixo).

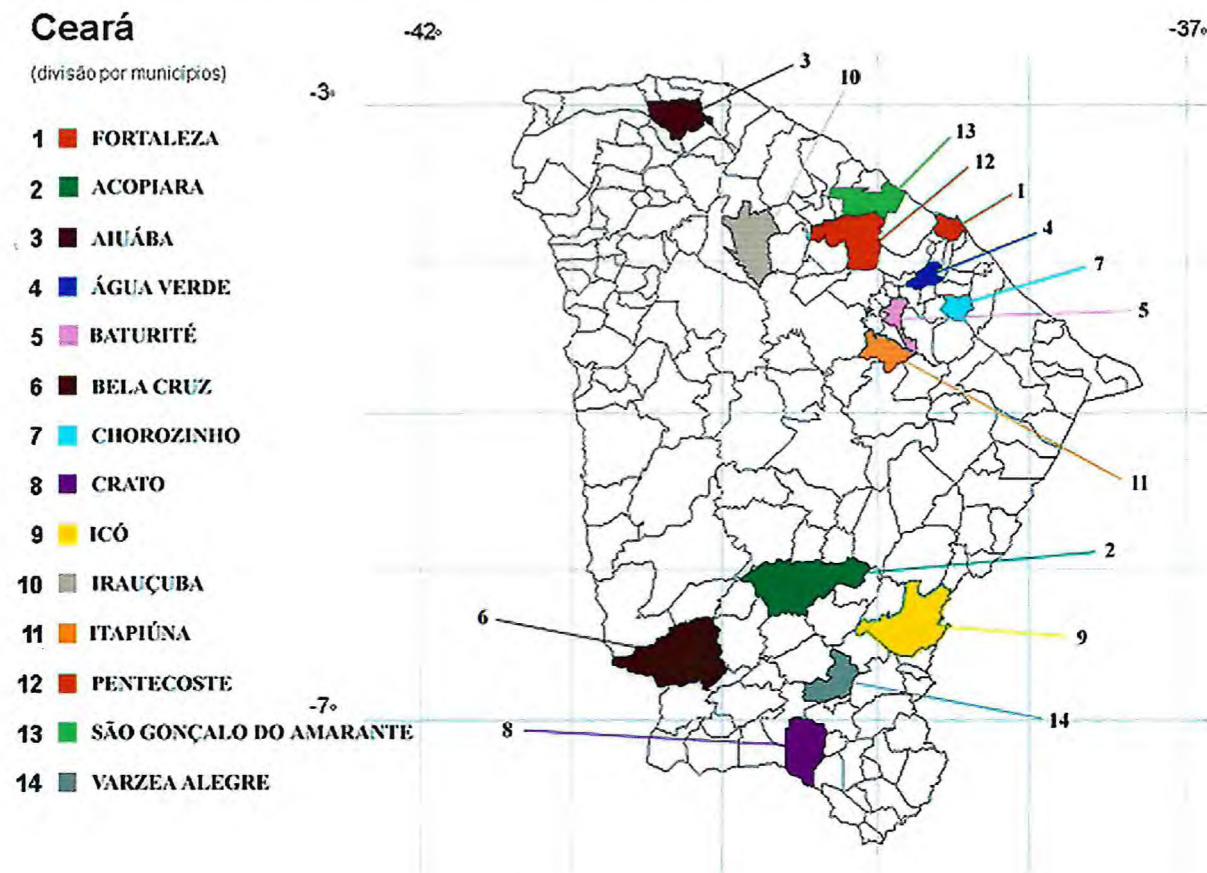


Figura 29: Mapa do Estado do Ceará, Indicando os Municípios Onde as Coletas de *Egletes viscosa* Less Foram Realizadas.

As amostras, foram submetidas a extração por hidrodestilação, segundo técnica descrita no Item 7.8.1 (p. 174), obtendo-se diversas amostras de óleo essencial. Os dados das extrações bem como os locais de coletas e datas do material vegetal, são apresentados na tabela 12 (p. 57).

Tabela 12: Localidades, Datas de Coletas Alíquotas Extraídas e Rendimentos, das Populações de *Egletes viscosa* do Estado do Ceará.

Localidade	Data Coleta	Alíquota (Kg)	Rendimento (%)
Acopiára	15.11.96	1,27	0,10
Aiuába	12.12.96	1,16	0,22
Água Verde	15.12.96	1,95	0,34
Baturité	22.01.97	1,22	0,19
Bela Cruz	02.11.96	1,24	0,25
Chorozinho	12.03.97	1,30	0,18
Crato	16.11.96	1,26	0,10
Icó	15.11.96	1,22	0,10
Irauçuba	01.09.97	1,36	0,07
Itapiúna	05.11.96	1,51	0,10
Pentecoste	02.11.96	1,34	0,29
São Gonçalo do Amarante - 1	13.11.96	1,35	0,07
São Gonçalo do Amarante - 2	13.11.96	1,20	0,18
Várzea Alegre	15.11.96	1,16	0,29

Os óleos essenciais obtidos foram analisados por cromatografia gás-líquido (CGL/EM). A identificação de seus constituintes foi efetuada através das determinações dos índices de Kovats simulados (procedimento descrito no item 4.2.1, p. 29), pesquisa em espectrotéca e comparação com dados da literatura (Adams, 2001). Os resultados são apresentados na tabela 13, (p. 58).

Tabela 13: Componentes Identificados nos Óleos Essenciais da Parte Aérea das Populações de *Egletes viscosa*, Coletada no Ceará.

Componente Identificado	AV	SG-1	SG-2	PE	BC	IT	IC	VA	IR	AC	CR	AI	BA	CH
sabineno (6)	---	---	8,31	---	---	---	3,21	---	---	---	---	---	---	---
$\beta$ -pineno (7)	---	1,29	5,82	1,86	2,60	1,29	1,83	10,06	11,96	4,35	16,46	---	---	1,68
$\beta$ -mirceno (8)	---	---	0,99	---	---	---	---	1,28	---	---	---	---	---	---
limoneno (9)	---	---	2,85	0,38	0,82	---	1,67	3,43	0,88	1,20	2,10	---	---	---
$\beta$ -felandreno (10)	---	---	1,59	0,31	---	---	0,94	2,16	1,01	0,99	1,71	---	---	---
(Z)- $\beta$ -ocimeno (11)	---	---	---	---	---	---	---	0,98	---	1,05	---	---	---	---
(E)- $\beta$ -ocimeno (12)	---	---	---	---	---	---	0,83	1,54	---	1,62	---	---	---	---
linalol (13)	---	---	---	---	---	---	---	0,85	---	---	---	---	---	---
<i>trans</i> -pinocarveol (14)	---	3,19	1,75	1,59	1,76	1,88	2,06	2,01	2,44	2,94	1,78	---	---	---
isopinocanfona (16)	---	---	---	---	---	---	0,79	---	---	---	---	---	---	---
terpineol-4 (17)	---	---	1,08	---	---	---	---	0,90	---	---	---	---	---	---
mirtenol (18)	---	---	---	0,80	---	---	---	---	0,84	---	---	---	---	---
<i>trans</i> -carveol (19)	2,66	---	---	---	3,40	---	---	0,77	---	1,08	---	---	---	3,08
acetato de <i>cis</i> -verbenila (21)	4,81	---	15,71	---	4,94	---	12,05	18,84	---	8,97	13,25	5,60	5,88	6,89
acetato de <i>trans</i> -pinocarveíla (4)	23,15	82,78	19,51	76,30	18,39	78,30	8,91	16,01	66,74	19,96	28,84	15,11	21,30	5,47
acetato de <i>cis</i> -isopinocarveíla (5)	69,38	---	19,05	0,74	58,77	---	---	---	---	---	17,50	73,57	69,89	75,97
acetato de <i>cis</i> -pinocarveíla (23)	---	8,17	6,52	10,18	1,72	7,97	4,06	5,40	7,36	4,07	9,31	---	---	1,80
acetato de $\alpha$ -terpenila (24)	---	---	---	0,66	---	---	0,89	1,34	---	---	1,68	---	---	---
acetato de geranila (27)	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1,51	---	---
acetato de <i>trans</i> -mirtanol (26)	---	---	---	0,24	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
$\beta$ -cubebeno (28)	---	---	0,45	---	1,50	1,00	---	0,98	---	---	---	---	---	---
<i>trans</i> -cariofileno (29)	---	1,38	5,00	0,73	1,79	3,29	4,82	6,61	2,63	7,18	2,39	---	---	1,38
$\alpha$ -humuleno (30)	---	---	---	---	---	---	0,85	---	---	---	---	---	---	---
$\lambda$ -muuroleno (32)	---	---	---	0,69	1,67	2,21	3,53	1,86	1,87	4,58	---	---	---	---
germacreno D (33)	---	---	---	0,24	---	---	---	---	0,76	---	---	---	---	---
$\gamma$ -cadineno (34)	---	---	---	---	---	---	0,95	---	---	---	---	---	---	---
$\delta$ -cadineno (35)	---	---	---	---	---	0,82	---	---	---	---	---	---	---	---
$\alpha$ -óxido de cariofileno (36)	---	---	1,31	---	---	0,92	2,20	1,95	---	0,95	---	---	---	---
$\tau$ -cadinol (39)	---	---	---	---	---	---	1,94	0,81	---	1,98	---	---	---	---
Total Indentificado	100,0	96,81	89,49	95,17	95,86	98,18	52,53	76,80	97,47	61,12	95,02	95,79	97,07	96,27

Siglas das localidades: AC = Acopiára, AI = Aiuába, AV = Água Verde, BA = Baturité, BC = Bela Cruz, CH = Chorozinho, CR = Crato, IC = Icó, IR = Irauçuba, IT = Itapiúna, PE = Pentecoste, SG = São Gonçalo do Amarante e VA = Várzea Alegre.

Analisados, os dados da tabela 13 (p. 58), pode-se dividir as localidades em três grupos de espécimes de *E. viscosa*, produtores de diferentes tipos de óleo essencial. O primeiro grupo é formado pelas localidades de Pentecoste, Irauçuba, Itaiçaba, Icó, Várzea Alegre e Acopiara; apresentando como constituinte majoritário o acetato de *trans*-pinocarveíla (4). O segundo grupo é formado pelas localidades de Água Verde, Bela Cruz, Aiúába, Baturité e Chorozinho; e apresentam como constituinte majoritário a acetato de *cis*-isopinocarveíla (5). O terceiro grupo, apresenta teores aproximados dos constituintes majoritários, acetato de *trans*-pinocarveíla e acetato de *cis*-isopinocarveíla e é representado pela localidade de Crato.

Ao se realizar a coleta do material vegetal no município de São Gonçalo do Amarante, observou-se a presença de duas populações com espécimes apresentando diferenças morfológicas. A primeira população possuía espécimes com folhas maiores e de coloração verde clara (Fig. 30, abaixo), sendo denominada SG-1. A segunda população apresentava espécimes com folhas menores e coloração verde escuro (Fig. 30, abaixo), a qual foi denominada SG-2.

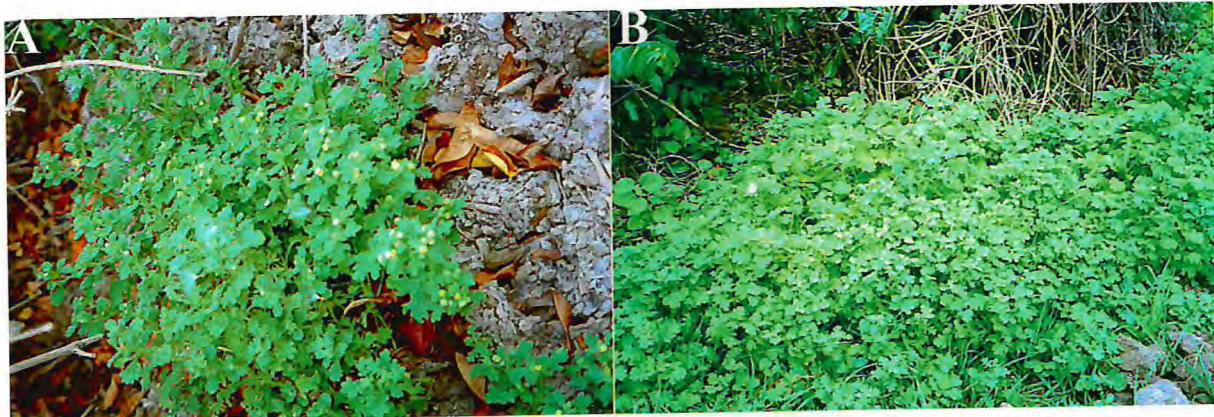


Figura 30:Especimens de *Egletes viscosa* Less. Coletadas no município de São Gonçalo do Amarante-CE. A = espécimes do tipo SG-1, B = espécimes do tipo SG-2.

Após a análise dos constituintes presentes nos óleos essenciais das partes aéreas das populações de *E. viscosa*, SG-1 e SG-2 (tabela 13, p. 58), observou-se que SG-1 pertencia ao primeiro grupo, que possui o acetato de *trans*-pinocarveíla, como constituinte majoritário e que SG-2 pertencia ao terceiro grupo, que possui teores similares para o acetato de *trans*-pinocarveíla e o acetato de *cis*-isopinocarveíla. Desta forma a hipótese que as condições edafo-climáticas, seriam responsáveis pela observação de dois tipos diferentes (item 4.2, p.

23), foi descartada já que tanto SG-1 quanto SG-2, estavam submetidas as mesmas condições de solo e clima.

#### 4.6 Acompanhamento da Composição Química Volátil de *Egletes viscosa* com a Variação Sazonal

Com o intuito de verificar se a diferença qualitativa existente nos óleos essenciais de *E. viscosa*, é decorrente do estágio de desenvolvimento em que a planta se encontra quando é coletada para extração, uma população de *E. viscosa* localizada na localidade de Água Verde, foi escolhida para um estudo da variação sazonal. Tal população foi escolhida por possuir os dois constituintes majoritários, acetato de *trans*-pinocarveíla (4) e acetato de *cis*-isopinocarveíla (5), na composição química do óleo essencial, e também, por localizar-se próximo de Fortaleza (aproximadamente 40 Km), viabilizando este estudo.

As amostras da parte aérea de *E. viscosa* foram coletadas mensalmente, e submetidas a hidrodestilação, técnica descrita no item 7.8.1 (p. 174), obtendo-se 11 amostras de óleos essenciais, que representam todo o ciclo de vida da planta, que dura aproximadamente 5 meses. As datas de coleta e os dados das extrações são apresentados na tabela 14, p. 61.

Os óleos essenciais obtidos foram analisados por cromatografia gás-líquido acoplada a espectrometria de massa (CGL/EM). A identificação de seus constituintes foi efetuada através das determinações de índices de Kovats simulados, procedimento descrito no item 4.2.1 (p. 29), pesquisa em espectroteca e comparação com dados da literatura (Adams, 2001). Os resultados são apresentados na tabela 15 (p. 62).

Neste experimento, foi observado que durante o ciclo de vida da planta o acetato de *trans*-pinocarveíla (4) sofreu um acréscimo em sua produção metabólica de 268,7 %, de 11,20 % em AV-1 para 30,09 % em AV-8. Já o acetato de *cis*-isopinocarveíla (5), teve um acréscimo de produção metabólica bem mais acentuado, tendo uma elevação de 1.034,3 %, com um mínimo de 6,82 % em AV-6 e um máximo de 70,54 % em AV-11, cerca de 4 vezes maior que o acetato de *trans*-pinocarveíla (4). Desta forma, pode-se concluir que a medida em que a planta envelhece a produção metabólica dos dois constituintes principais eleva-se com relação aos demais constituintes do óleo. Porém em nenhum momento do experimento obteve-se óleos essenciais com o padrão de constituição química semelhante ao óleo OEM-A (item 4.2, p. 23). Conseqüentemente a hipótese que a existência de dois óleos essenciais com

composições químicas diferentes para *E. viscosa*, seria decorrente do estágio de desenvolvimento, idade, o qual a planta se encontrava quando fora coletada foi descartada.

Tabela 14: Datas de Coleta e Rendimentos dos Óleos Essenciais da Parte Aérea de *Egletes viscosa*, Coletada em Água Verde-CE.

Coleta	Data de Coleta	Rendimento (%)
AV-1	11.11.96	0,07
AV-2	15.12.96	0,34
AV-3	05.01.97	0,28
AV-4	22.01.97	0,16
AV-5	16.03.97	0,26
AV-6	22.07.97	0,01
AV-7	09.08.97	0,02
AV-8	22.08.97	0,03
AV-9	22.10.97	0,18
AV-10	17.11.97	0,09
AV-11	09.12.97	0,12

#### 4.7 Óleo Essencial de *Egletes viscosa* Less. Cultivada: Confirmação da Existência de Um Novo Químiotipo.

Após o descarte das hipóteses de que a diferença qualitativa existente em óleos essenciais de *E. viscosa* era decorrente das condições edafo-climáticas (item 4.5, p. 56) e/ou do estágio de desenvolvimento da planta no momento de sua coleta (item 4.6, p. 60); restava analisar se tal diferença ocorria devido a existência de dois químiotipos de macela.

Tabela 15: Componentes Identificados nos Óleos Essenciais da Parte Aérea de *Egletes viscosa*, Coletada em Água Verde-CE.

Componete Identificado	AV-1	AV-2	AV-3	AV-4	AV-5	AV-6	AV-7	AV-8	AV-9	AV-10	AV-11
β-pineno (7)	3,01	---	---	---	---	0,47	---	---	6,12	4,24	---
limoneno (9)	1,11	---	---	---	---	---	---	---	0,81	1,04	---
β-felandreno (10)	---	---	---	---	---	---	---	---	0,66	0,78	---
linalol (13)	0,91	---	---	---	---	0,34	0,86	---	---	---	---
<i>trans</i> -pinocarveol (14)	3,62	---	---	1,04	1,46	7,44	7,57	2,57	2,03	3,04	---
pinocarvona (15)	---	---	---	---	---	---	---	0,63	---	---	---
isopinocanfona (16)	---	---	---	---	---	0,34	1,48	0,66	---	---	---
terpin-4-ol (17)	0,82	---	---	---	---	---	---	---	---	0,26	---
mirtenol (18)	---	---	---	---	---	0,47	0,86	---	---	---	---
<i>trans</i> -carveol (19)	0,92	2,66	4,75	3,11	2,34	5,05	6,68	0,69	3,44	5,44	---
acetato de <i>cis</i> -verbenila (21)	13,66	4,81	4,03	5,01	4,62	0,46	2,15	2,13	3,65	3,97	3,86
acetato de <i>trans</i> -pinocarveíla (4)	11,20	23,15	17,79	17,03	23,59	15,18	26,03	30,09	20,07	16,02	17,33
acetato de <i>cis</i> -isopinocarveíla (5)	16,86	69,38	70,22	69,45	50,24	6,82	26,00	20,48	53,21	51,76	70,54
acetato de <i>cis</i> -pinocarveíla (23)	5,45	---	1,52	1,99	1,79	1,16	2,48	2,87	1,29	1,53	1,02
acetato de α-terpinila (24)	---	---	---	---	---	0,35	0,35	---	---	---	---
<i>trans</i> -cariofileno (29)	4,30	---	1,68	---	---	6,50	5,26	---	3,44	3,25	2,92
α-humuleno (30)	---	---	---	---	---	0,58	0,32	---	---	---	---
(E)-β-farneseno (31)	0,71	---	---	---	---	0,40	0,26	2,16	---	---	---
λ-muuroleno (32)	---	---	---	---	---	0,47	0,90	---	0,87	1,12	0,77
elemol (38)	---	---	---	---	---	0,58	0,42	---	---	---	---
óxido de cariofileno (36)	4,84	---	---	1,16	2,10	6,13	1,03	7,46	---	0,41	---
λ-eudesmol (37)	0,73	---	---	---	---	---	0,48	---	---	---	---
τ-cadinol (39)	---	---	---	---	---	1,24	---	---	---	---	---
Total Identificado	68,14	100,00	99,99	98,79	86,14	53,98	83,13	69,74	95,59	92,86	96,44

Para este experimento, foram utilizadas amostras de capítulos florais de *E. viscosa*, dos dois tipos (macela-A e macela-B), cultivadas no setor de Horticultura do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará.

As amostras foram coletadas em intervalos de 30 dias, tendo início após a floração dos espécimes. Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação de alíquotas de peso variado (39,7 – 333,3 g), em aparelho doseador de Cleavenger modificado por Gottlieb (Gottlieb, 1960), segundo técnica descrita no item 7.8.1 (p. 174).

A macela-A forneceu óleos essenciais amarelos claros com rendimento médio de 0,16 %, enquanto que a macela-B forneceu óleos essenciais incolores com rendimento médio de 0,53 %. Os dados das extrações são apresentados na tabela 16 (p. 65).

Os óleos essenciais obtidos foram analisados por cromatografia gás-líquido acoplada a espectrometria de massa (CGL/EM). A identificação de seus constituintes foi efetuada através das determinações dos índices de Kovats simulados, procedimento descrito no item 4.2.1 (p. 29), pesquisa em espectroscopia e comparação com dados da literatura (Adams, 2001).

A composição química dos óleos essenciais são mostrados na tabela 17 (p. 65). A análise destes dados revela que os dois tipos além de produzirem quantidades diferentes de óleos, apresentam uma composição química majoritária bastante estável e característica. O óleo essencial da macela-A é caracterizado por uma alta concentração de *cis* e principalmente *trans*-pinocarveíla, sem a presença dos álcoois correspondentes. Já o óleo essencial da macela-B é caracterizado pela composição majoritária de acetato de *trans*-pinocarveíla (4) e acetato de *cis*-isopinocarveíla (5), principalmente, além da presença dos álcoois não acetilados *trans*-carveol e *trans*-pinocarveol.

O acompanhamento das fases de crescimento do material vegetal revelou que já nos primeiros estágios de crescimento (Figs. 31 e 32, Pág 63), pode-se observar uma diferenciação morfológica entre os diferentes espécimes. Este fato aliado a composição química dos óleos essenciais das amostras de macela-A e macela-B, discutida acima, podem caracterizar e existência de duas variedades para *E. viscosa*. Pode-se associar o acetato de *trans*-pinocarveíla (4) como marcador quimiotaxonômico de uma variedade (macela-A) e o

acetato de *cis*-isopinocarveila (5), como o marcador quimiotaxonômico da outra variedade (macela-B).

Sendo assim a existência de dois óleos essenciais com perfis químicos diferentes para os capítulos florais de *E. viscosa*, detectados nas amostras observadas no item 4.2 (p. 23), são decorrentes da existência de duas variedades para esta espécie, que podem ser encontradas compartilhando o mesmo habitat, como na localidade de São Gonçalo do Amarante (item 4.5, p. 56), ou isoladas como as macelas coletadas em Pentecoste e Irauçuba (macela-A) e a macela coletada em Água Verde (macela-B).



Figura 31: Macela Tipo-A Cultivada, nos Primeiros Estágios de Desenvolvimento.



Figura 32: Macela Tipo-B Cultivada, nos Primeiros Estágios de Desenvolvimento.

Além do acetato de *trans*-pinocarveila (4) e acetato de *cis*-isopinocarvila (5), vários outros constituintes foram identificados nas diversas amostras de óleos essenciais de *Egletes viscosa*: sabineno (6),  $\beta$ -pineno (7), mirceno (8), limoneno (9),  $\beta$ -felandreno (10), (Z)- $\beta$ -ocomeno (11), (E)- $\beta$ -ocimeno (12), linalol (13), *trans*-pinocarveol (14), pinocarvona (15), isopinocanfona (16), terpin-4-ol (17), mirtenol (18), *trans*-carveol (19), acetato de *cis*-crisantenila (20), acetato de *cis*-verbenila (21), acetato de *trans*-verbenila (22), acetato de *cis*-pinocarvila (23), acetato de  $\alpha$ -terpinila (24), acetato de diidro-*neo*-isocarveila (25), *trans*-mirtanol (26), acetato de geranila (27),  $\beta$ -cubebeno (28), *trans*-cariofileno (29),  $\alpha$ -humuleno

(30), (E)- $\beta$ -farneseno (31),  $\gamma$ -muuroleno (32), germacreno D (33),  $\gamma$ -cadineno (34),  $\delta$ -cadineno (35), óxido de cariofileno (36),  $\gamma$ -eudesmol (37), elemol (38),  $\tau$ -cadinol (39).

Tabela 16: Alíquotas Extraídas e Rendimentos das Amostras de *Egletes viscosa* Cultivada.

Amostra (Tipo)	Aliquota (g)	Rendimento (%)
A-1	49,5	0,14
A-2	53,4	0,16
A-3	39,7	0,17
B-1	92,5	0,52
B-2	333,3	0,57
B-3	284,9	0,50

Tabela 17: Composição Química dos Óleos Essenciais de Amostras das Duas Variedades de *Egletes viscosa*.

Constituinte Identificado	A-1	A-2	A-3	B-1	B-2	B-3
<i>trans</i> -pinocarveol (14)	---	---	---	---	---	1,04
<i>trans</i> -carveol (19)	---	---	---	2,66	4,75	3,11
acetato de <i>cis</i> -verbenila (21)	---	---	---	4,81	4,03	5,01
acetato de <i>trans</i> -pinocarveíla (4)	85,57	83,06	84,94	23,15	17,79	17,03
acetato de <i>cis</i> -isopinocarveíla (5)	---	---	1,23	69,38	70,22	69,45
acetato de <i>cis</i> -pinocarveíla (23)	8,88	8,30	8,83	---	1,52	1,99
acetato de $\alpha$ -terpinila (24)	2,08	---	2,01	---	---	---
acetato de geranila (27)	0,93	---	1,21	---	---	---
<i>trans</i> -cariofileno (29)	---	---	---	---	1,68	---
óxido de cariofileno (36)	---	---	---	---	---	1,00
Total Identificado	97,43	91,26	98,22	100,00	99,99	98,63

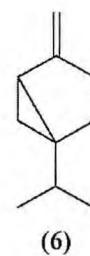
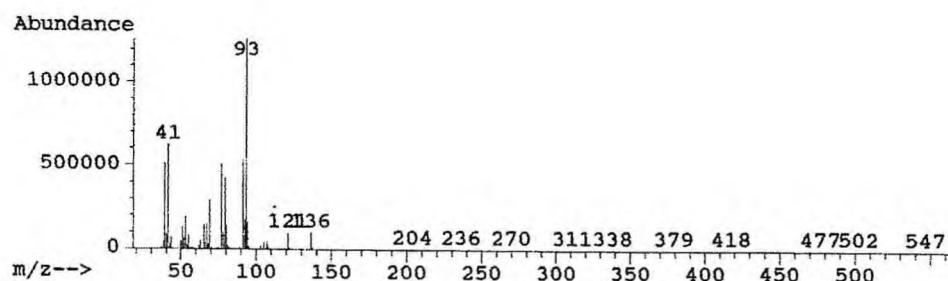


Figura 33: Espectro de massa do sabineno

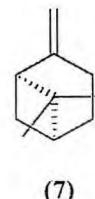
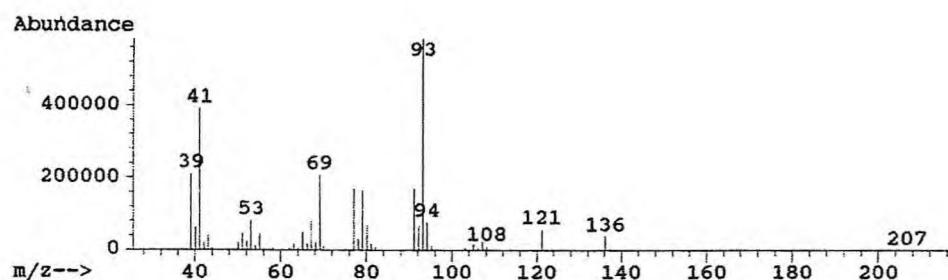


Figura 34: Espectro de massa do  $\beta$ -pineno

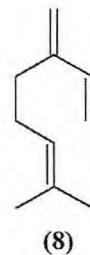
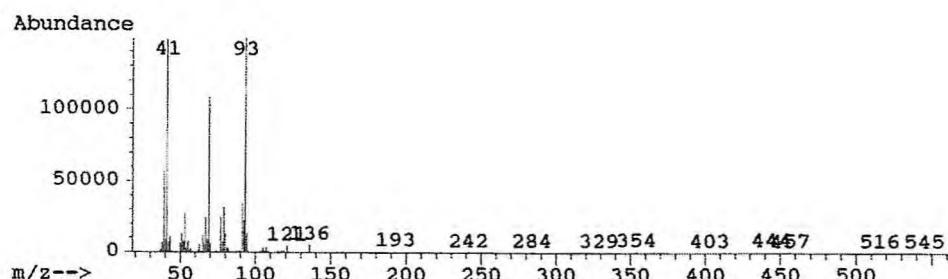


Figura 35: Espectro de massa do mirceno

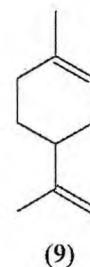
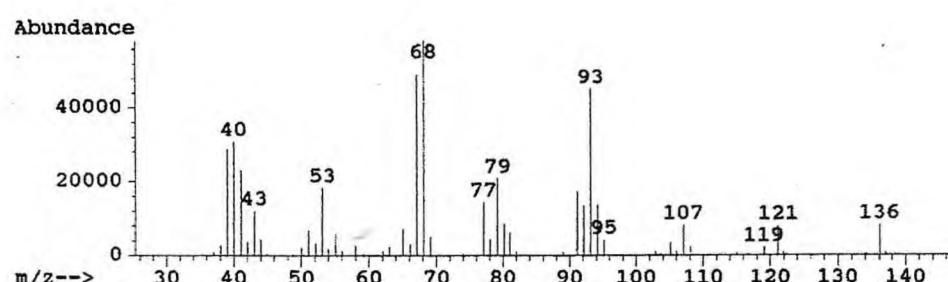


Figura 36: Espectro de massa do limoneno

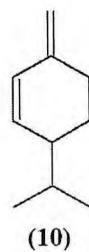
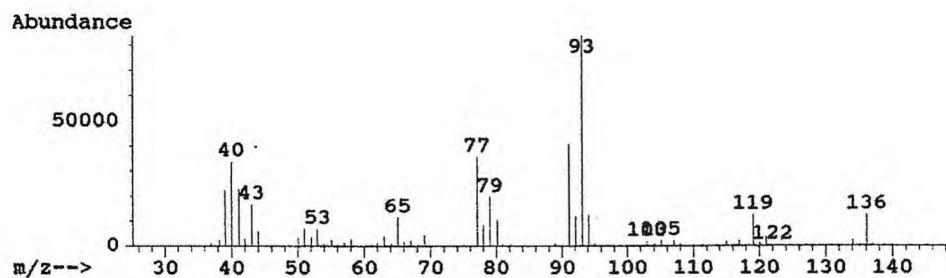


Figura 37: Espectro de massa do  $\beta$ -felandreno

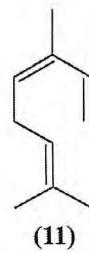
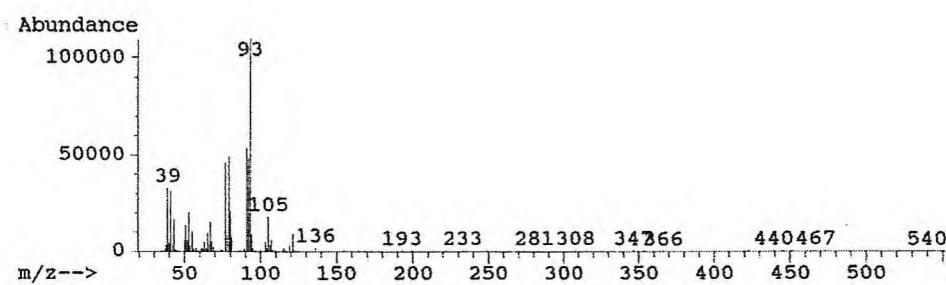


Figura 38: Espectro de massa do (Z)- $\beta$ -ocimeno

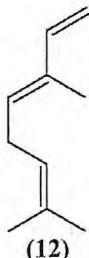
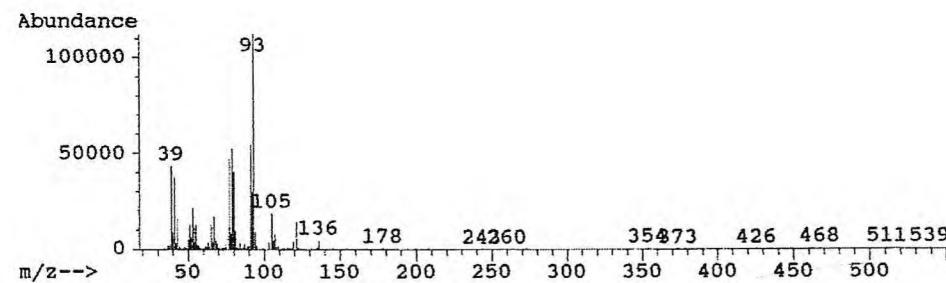


Figura 39: Espectro de massa do (E)- $\beta$ -ocimeno

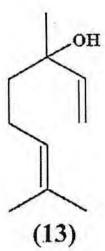
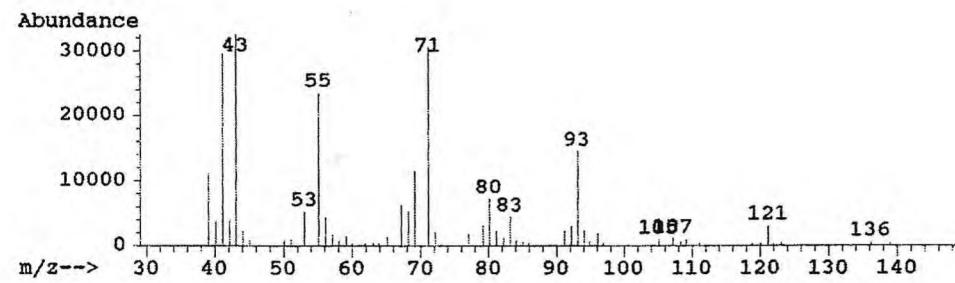


Figura 40: Espectro de massa do linalol

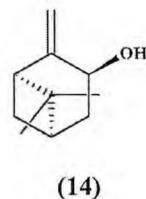
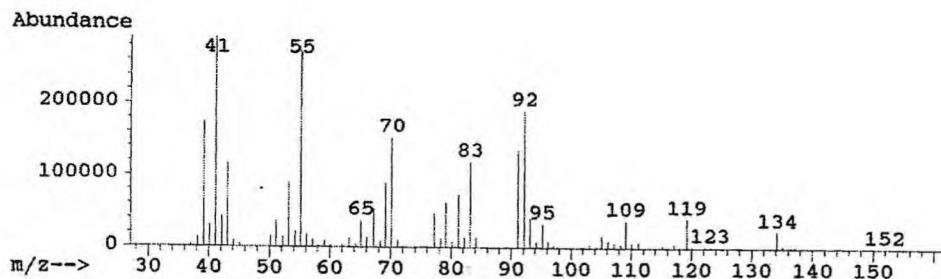


Figura 41: Espectro de massa do *trans*-pinocarveol

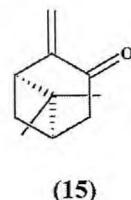
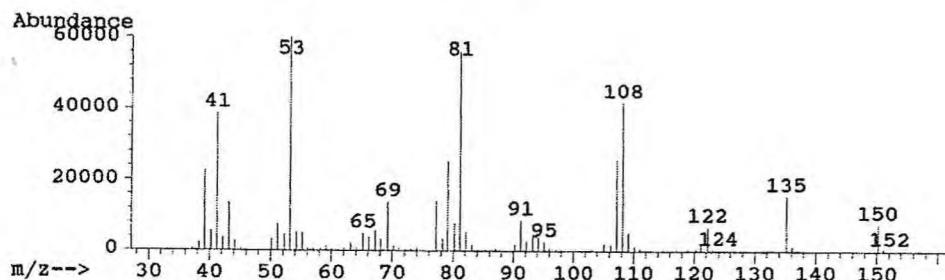


Figura 42: Espectro de massa da pinocarvona

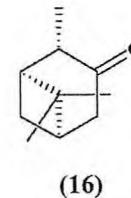
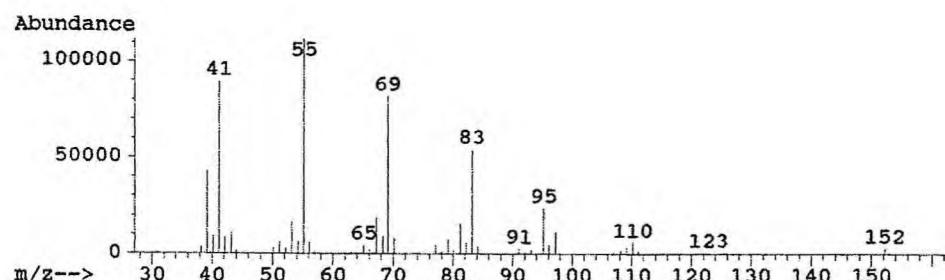


Figura 43: Espectro de massa da isopinocanfona

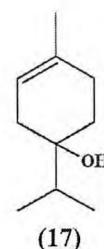
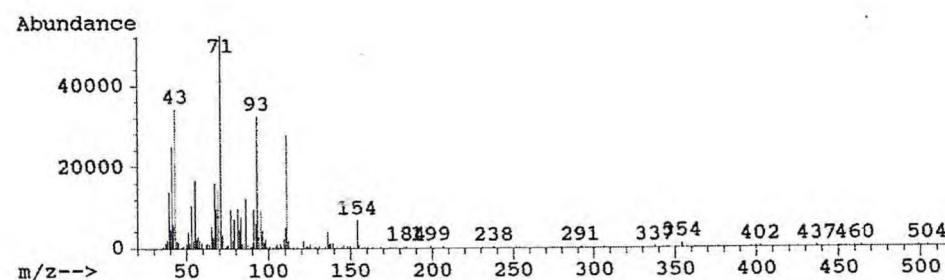


Figura 44: Espectro de massa do terpin-4-ol

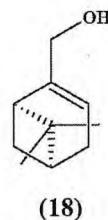
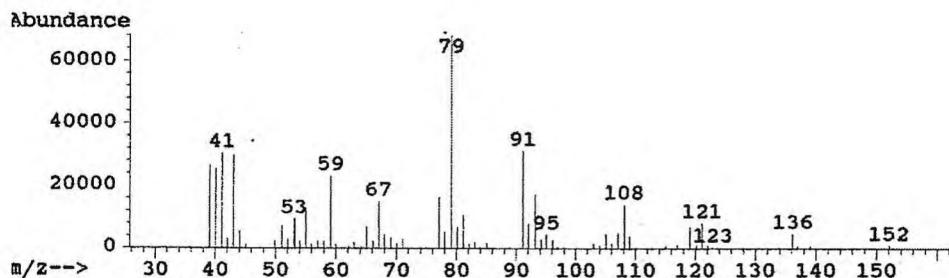


Figura 45: Espectro de massa do mirtenol

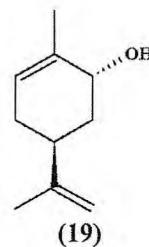
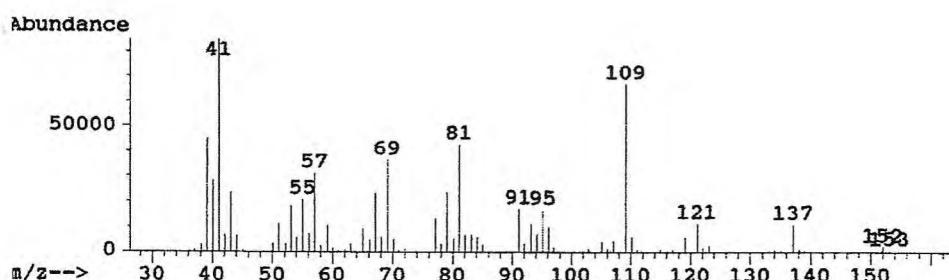


Figura 46: Espectro de massa do *trans*-carveol

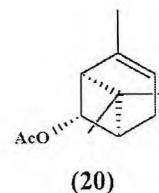
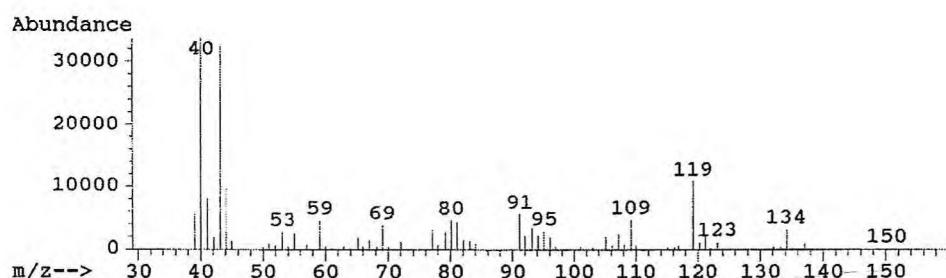


Figura 47: Espectro de massa do acetato de *cis*-crisantenila

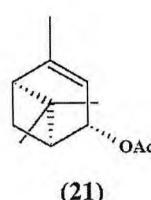
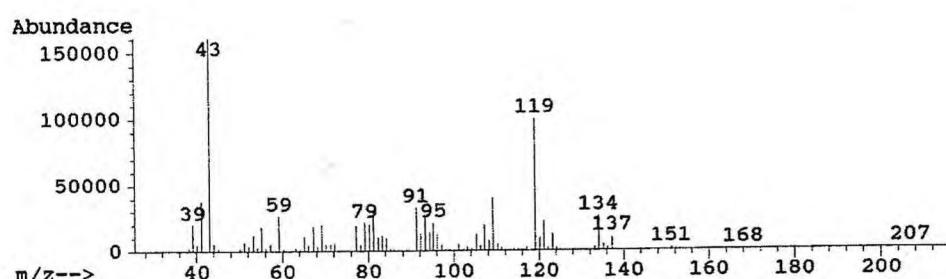


Figura 48: Espectro de massa do acetato de *cis*-verbenila

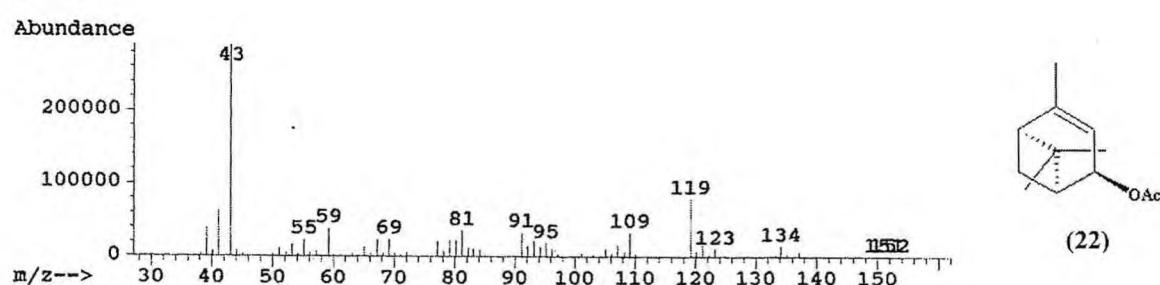


Figura 49: Espectro de massa do acetato de *trans*-verbenila

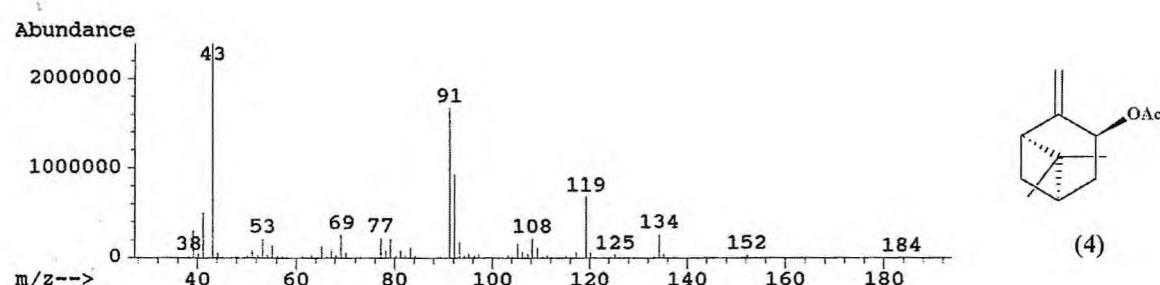


Figura 50: Espectro de massa do acetato de *trans*-pinocarveíla

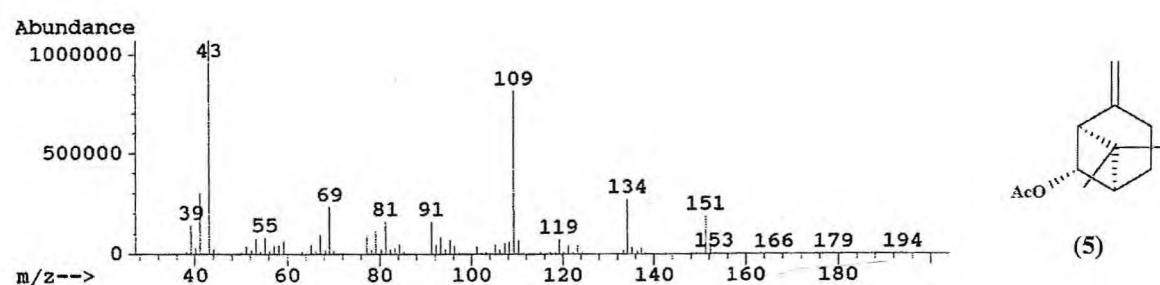


Figura 51: Espectro de massa do acetato de *cis*-isopinocarveíla

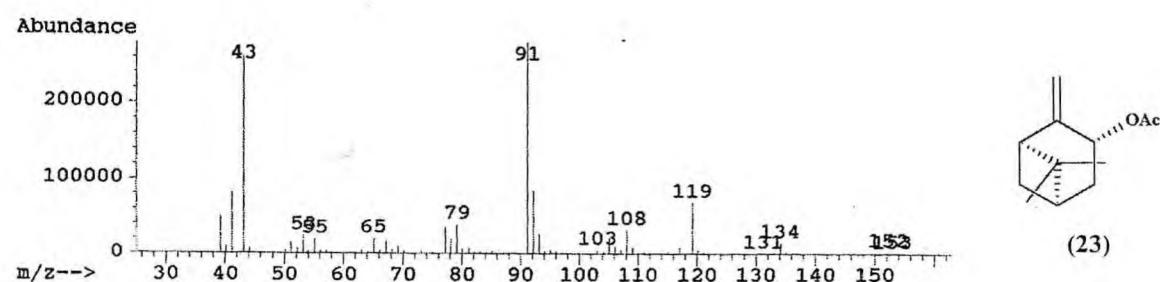


Figura 52: Espectro de massa do acetato de *cis*-pinocarveíla

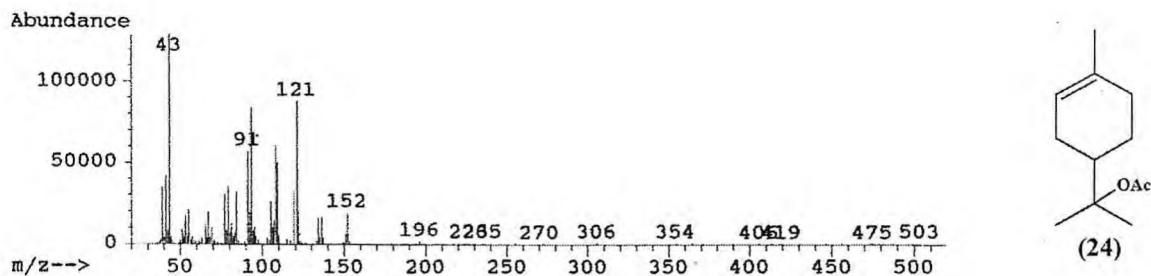


Figura 53: Espectro de massa do acetato de  $\alpha$ -terpinila

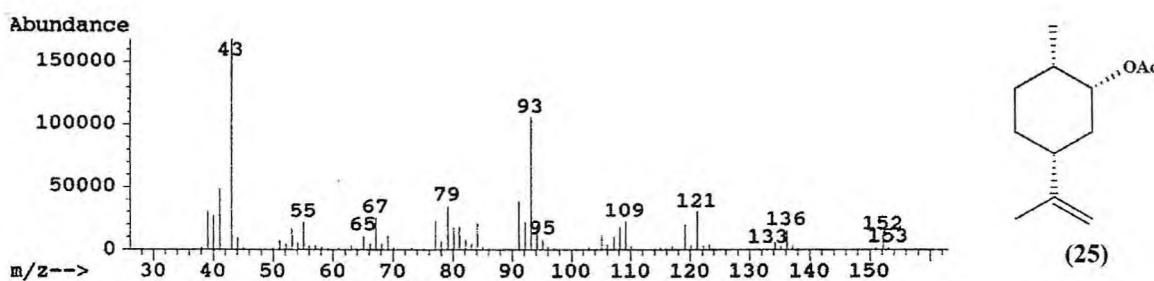


Figura 54: Espectro de massa do acetato de diidro-*neo*-isocarveila

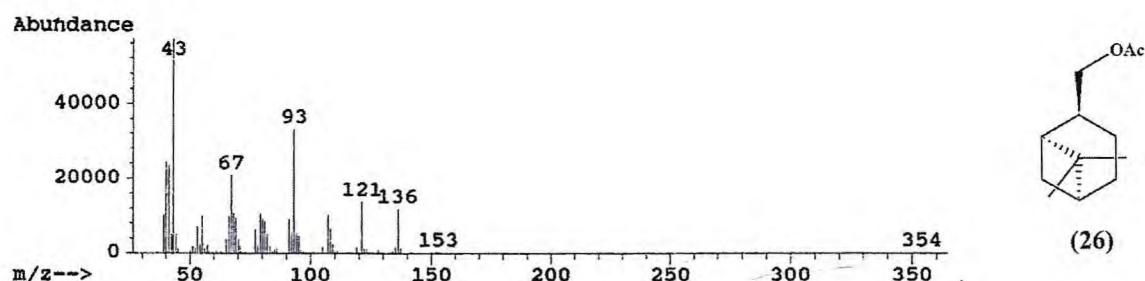


Figura 55: Espectro de massa do acetato de *trans*-mirtanol

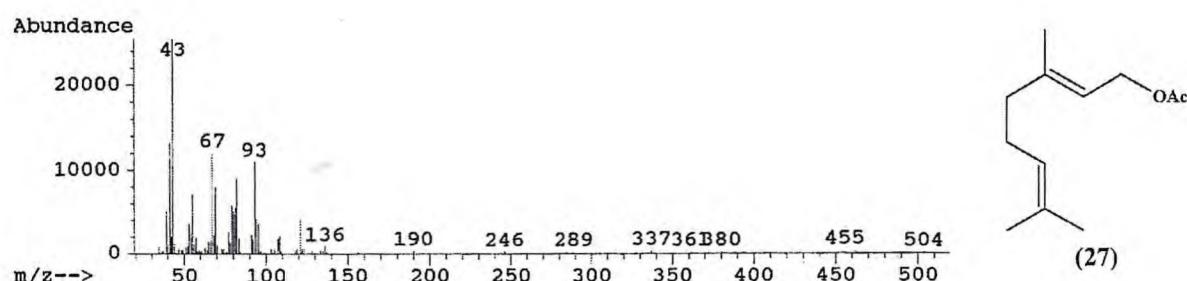


Figura 56: Espectro de massa do acetato de geranila

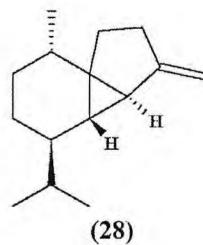
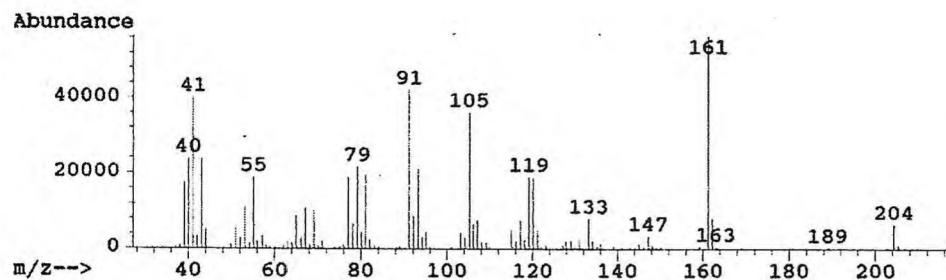


Figura 57: Espectro de massa do  $\beta$ -cubebeno

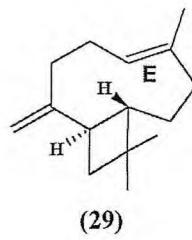
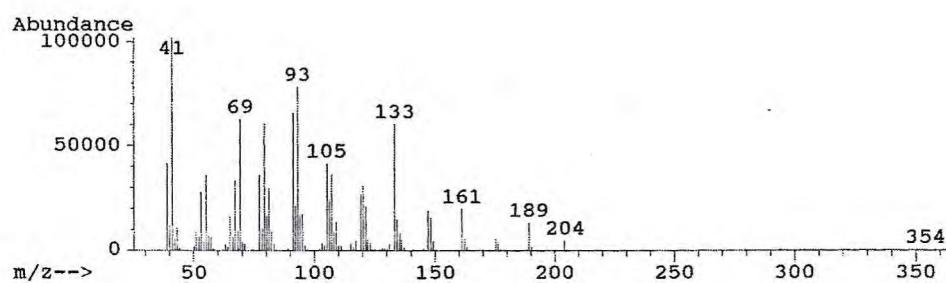


Figura 58: Espectro de massa do *trans*-cariofileno

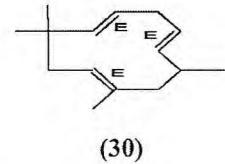
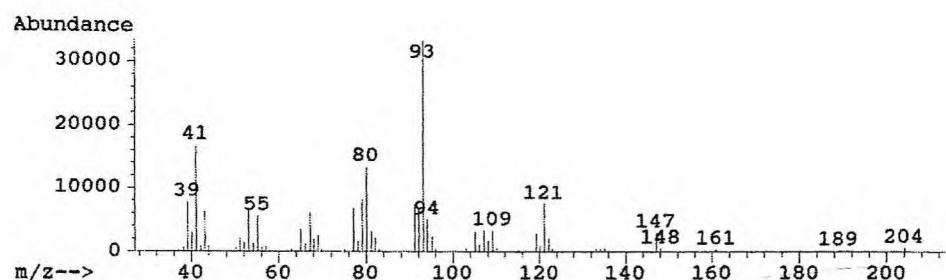


Figura 59: Espectro de massa do  $\alpha$ -humuleno

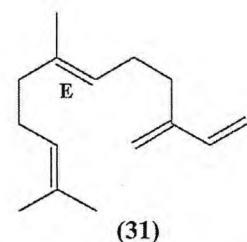
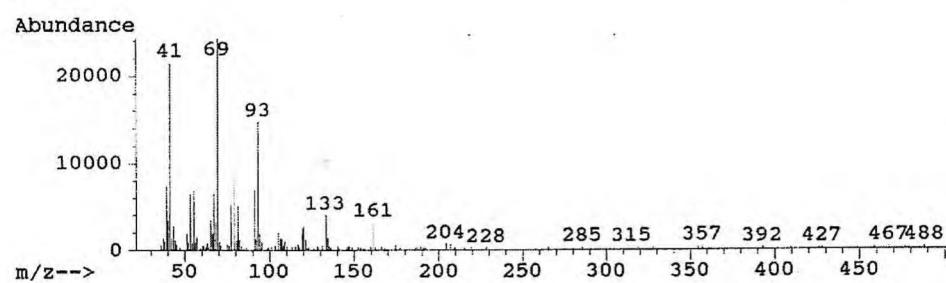


Figura 60: Espectro de massa do (E)- $\beta$ -farneseno

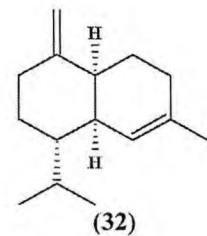
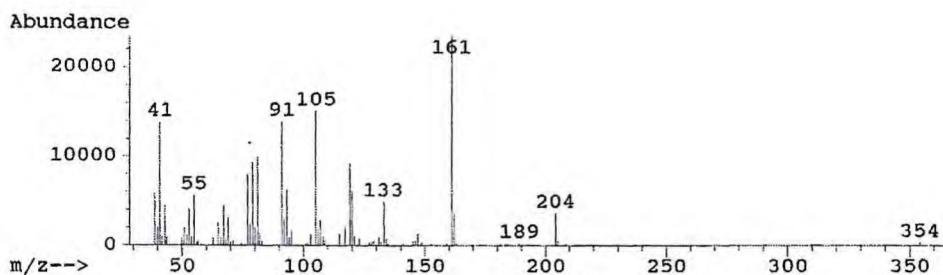


Figura 61: Espectro de massa do  $\gamma$ -muuroleno

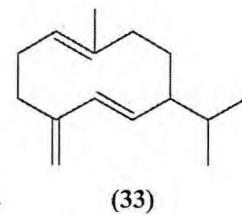
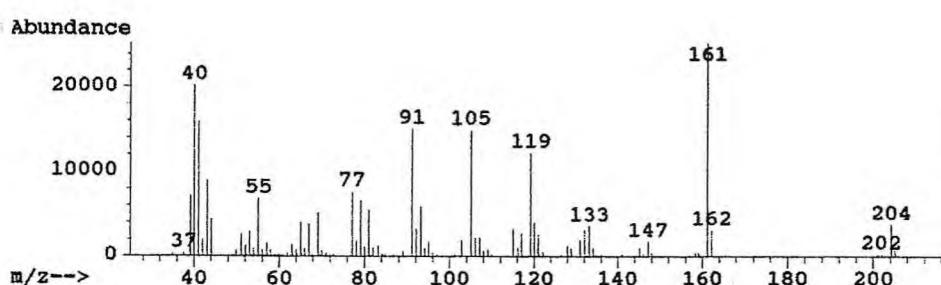


Figura 62: Espectro de massa do germacreno D

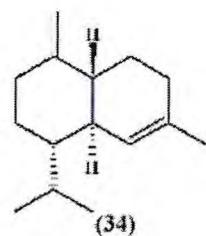
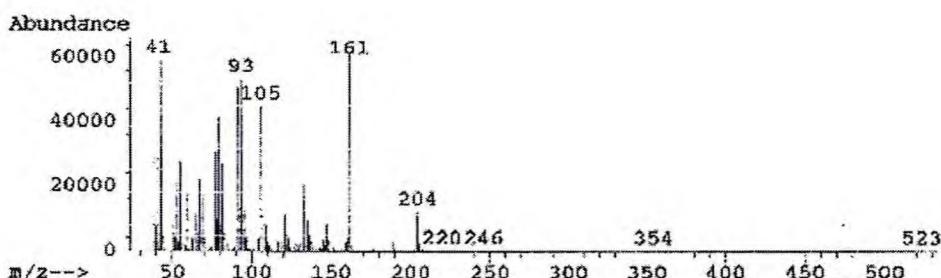


Figura 63: Espectro de massa do  $\gamma$ -cadineno

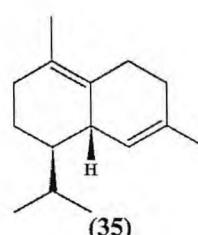
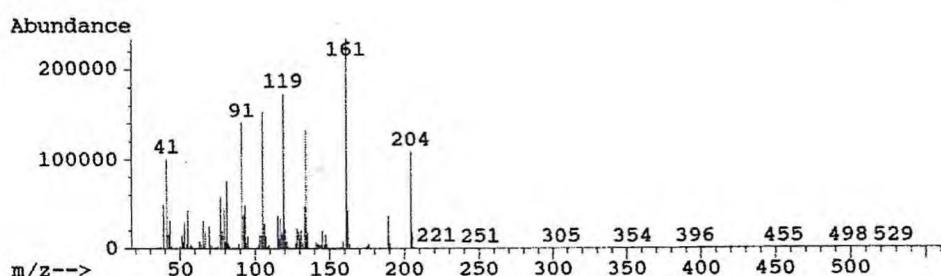


Figura 64: Espectro de massa do  $\delta$ -cadineno

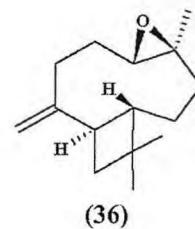
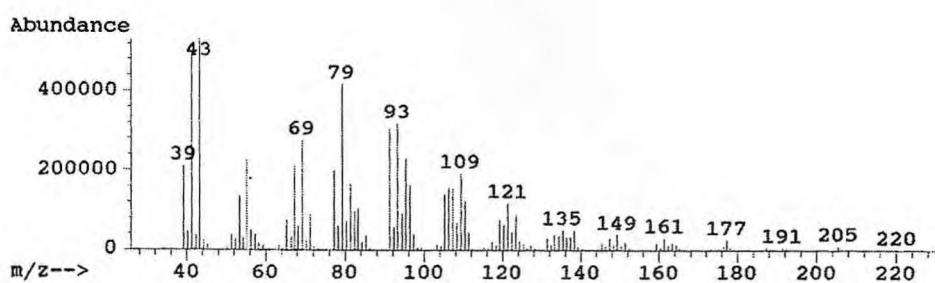


Figura 65: Espectro de massa do óxido de cariofíleno

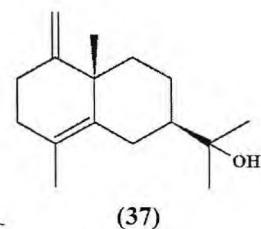
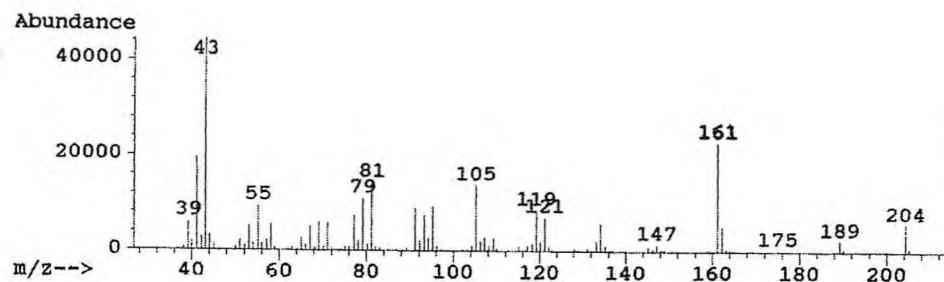


Figura 66: Espectro de massa do  $\gamma$ -eudesmol

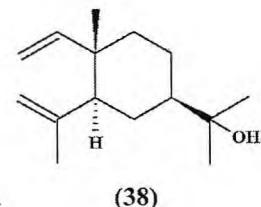
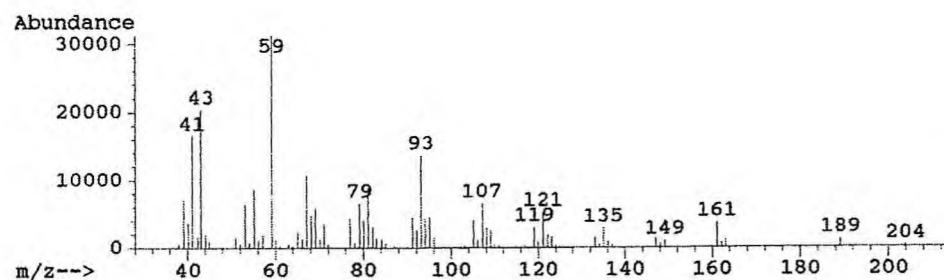


Figura 67: Espectro de massa do elemol

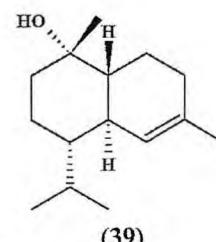
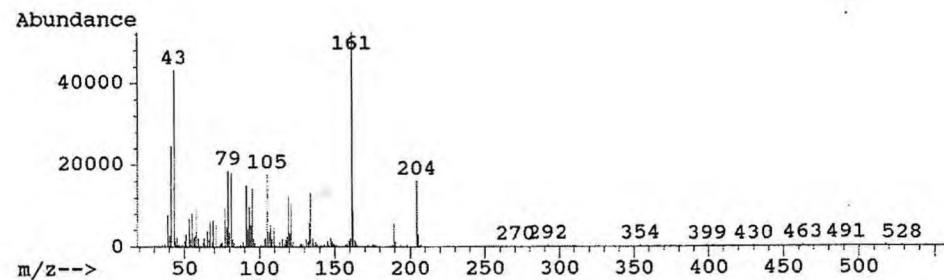


Figura 68: Espectro de massa do  $\tau$ -cadinol

*Determinação Estrutural dos  
Constituintes Não Voláteis de  
Egletes viscosa LESS.*

## 5 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES NÃO VOLÁTEIS DE *Egletes viscosa* Less.

### 5.1 Determinação Estrutural de EVFIC-1

A partir da marcha química básica, realizada na fração hexânica do extrato clorofórmico dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less. (Tipo A), seguido de cromatografia em sílica (item 7.9.1, p. 176), pôde-se isolar a substância com aspecto de um óleo incolor, homogêneo em CCD, que foi denominado EVFIC-1.

São observadas 20 linhas no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 69, abaixo), das quais uma corresponde a uma carbonila ( $\delta$  173,9; C-1'), provavelmente de ácido carboxílico ou de éster. Na região de carbonos  $\text{sp}^2$  ( $\delta$  173,9 – 111,3), podem ser observados 11 sinais incluindo a carbonila, sugerindo a presença de 5 insaturações decorrentes de ligações duplas carbono – carbono. Além dos sinais a cima discutidos, são observados mais 9 linhas ( $\delta$  39,3 – 16,1) na região de carbonos saturados.

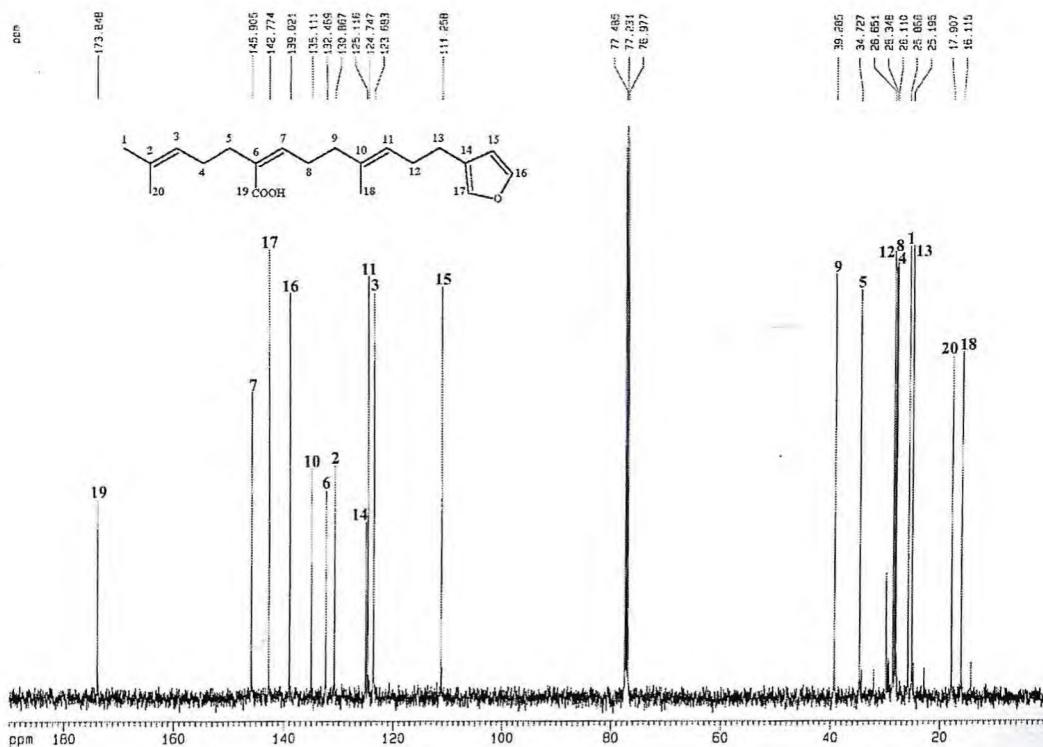


Figura 69: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-1 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 70, abaixo), revelou que dos 11 sinais referentes a carbonos  $\text{sp}^2$ , 6 são de carbonos metínicos (6

145,9(C-7); 142,8(C-17); 139,0(C-16); 124,8(C-11); 123,7(C-3) e 111,3(C-15)) e os 4 demais ( $\delta$  130,9(C-10); 132,5(C-6); 135,1(C-2) e 125,1(C-14)) de carbonos não hidrogenados, além do sinal referente a carbonila. Na região de carbonos saturados, 6 sinais ( $\delta$  39,3(C-9); 34,7(C-5); 28,6(C-12); 28,4(C-8); 28,1(C-4) e 25,2(C-13)), são atribuídos a carbonos metilênicos e 3 sinais ( $\delta$  25,7(C-1); 17,9(C-20) e 16,1(C-18)), são atribuídos a carbonos metílicos. Por consequência não são observados carbonos saturados não hidrogenados na estrutura de EVFIC-1.

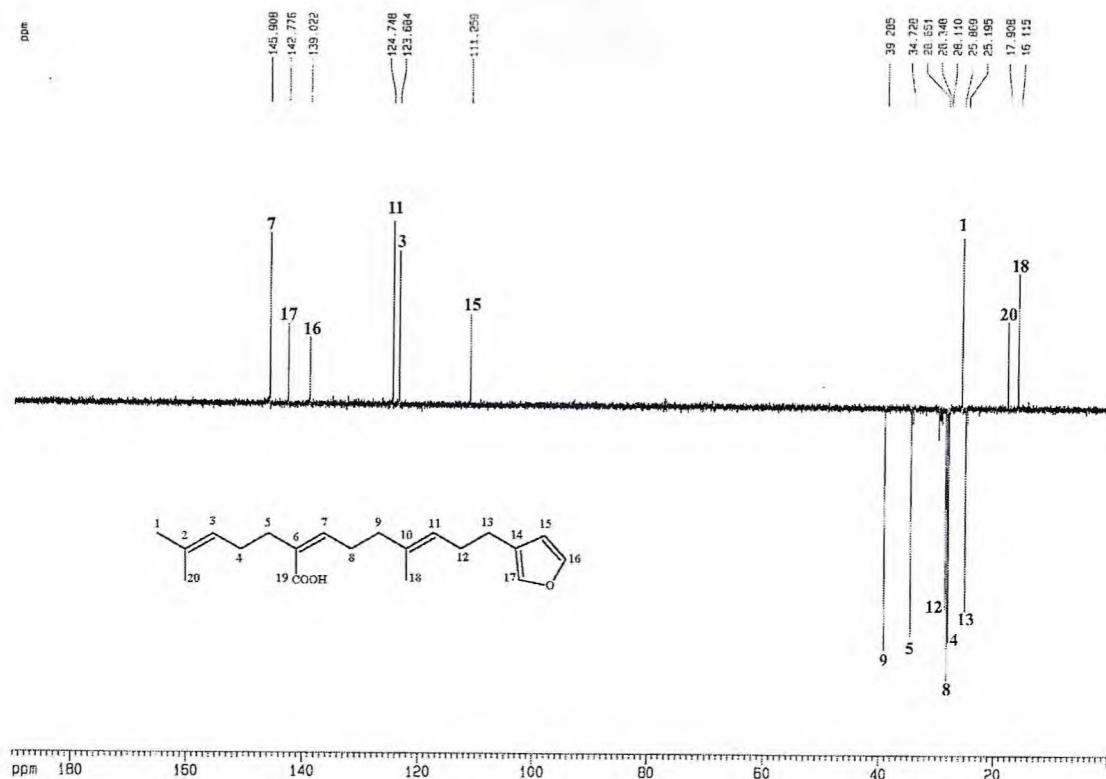


Figura 70: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de EVFIC-1 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figs. 71, 72 e 73, p. 78 e 79), mostra sinais em  $\delta$  7,34 (t,  $J = 1,67$  Hz, 1H); 7,21 (m, 1H) e 6,28 (dd,  $J = 1,78$  Hz e 1,67 Hz, 1H), que aliado com os sinais em  $\delta$  142,8 (CH); 139,0 (CH); 125,1 (C) e 111,3 (CH), mostra a existência de um anel furânico monossubstituído na estrutura de EVFIC-1, como pode ser visto pela comparação com dados da literatura (Silveira, 1989; Esquivel, 1986; Jakupovic, 1986; Blechschmidt, 1992; Tazaki, 1995 e Fernández, 1986), (Tabs 18 e 19, Pág 76). São observados sinais de hidrogênios desprotegidos em  $\delta$  6,02 (t,  $J = 7,26$  Hz, 1H); 5,21 (tm,  $J = 7,03$  Hz e desconhecido, 1H) e 5,11 (tm,  $J = 5,73$  Hz e não determinado, 1H). Há também sinais centrados em  $\delta$  2,63 (q,  $J = 7,34$  Hz, 2H); 2,47 (m, 2H); 2,27 (m, 4H) e 2,13 (m, 4H),

além de dois sinais singletos em  $\delta$  1,69 e 1,61 com integração para 3 e 6 hidrogênios, confirmando a existência de três metilas na estrutura de EVFIC-1.

Tabela 18: Comparação dos dados de Deslocamentos Químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  do Anel Furânico de EVFIC-1 com Anéis Furânicos de Diterpenos Clerodânicos da Literatura.

#C	EVFIC-1	A (Silveira, 1989)	B (Esquiviel, 1986)	C (Jakupovic, 1986)
14	125,1	125,6	125,3	126,8
15	111,2	108,0	108,4	108,4
16	139,0	139,6	139,6	138,9
17	142,8	143,8	143,8	143,5

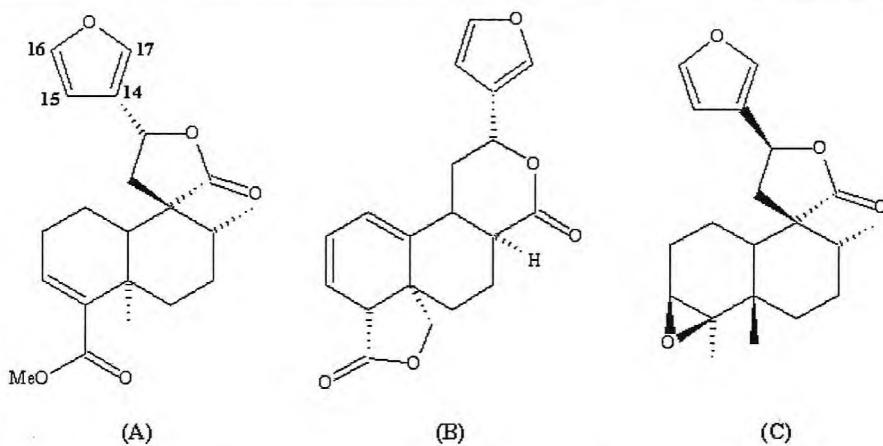


Tabela 19: Comparação dos Deslocamentos Químicos dos Hidrogênios Furânicos de EVFIC-3 com Hidrogênio Furânico de Diterpenos Clerodânicos Descritos na Literatura.

HIDROGÊNIO	$\delta$ H			
	EVFIC-1	D (Blechschmidt, 1992)	E (Tazaki, 1995)	F (Fernández, 1986)
H-14	6,28	6,44	6,41	6,44
H-15	7,21	7,36	7,37	7,38
H-16	7,34	7,49	7,42	7,46



Figura 71: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de EVFIC-1 [ $\delta$ ; 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

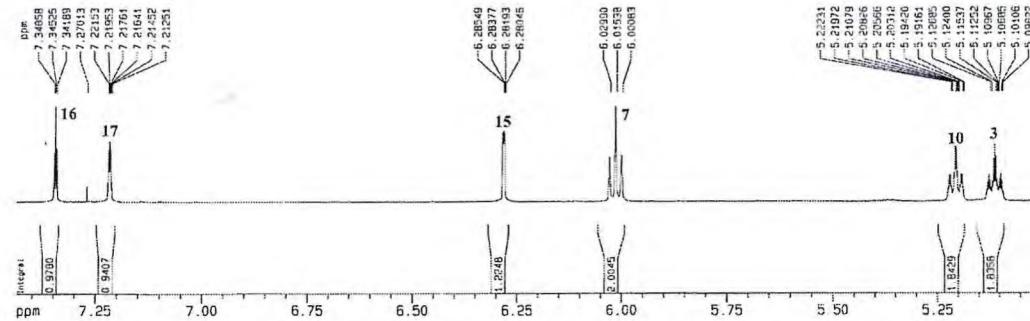


Figura 72: Expansão da região entre 7,5 a 5 ppm do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de EVFLC-1 [ $\delta$ ; 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

Neste momento pode-se atribuir a fórmula  $C_{20}H_{28}O_3$ , com índice de deficiência de hidrogênio igual a 7. Uma lacuna é referente a carbonila, outras 3 são referentes ao anel furânico e mais 3 referentes a dupla ligação carbono – carbono. Desta forma pode-se associar uma estrutura de um diterpeno furânico acíclico para a estrutura de EVFIC-1. A literatura (Lima, 1993), registra o isolamento de um diterpeno com estas características dos capítulos florais de *Egletes viscosa*, denominado de ácido centipédico (**2**). Comparação dos dados de RMN  $^{13}C$  de EVFIC-1 com os dados do ácido centipédico (Tabela 20, Pág 79), revelaram a identidade entre as duas amostras.

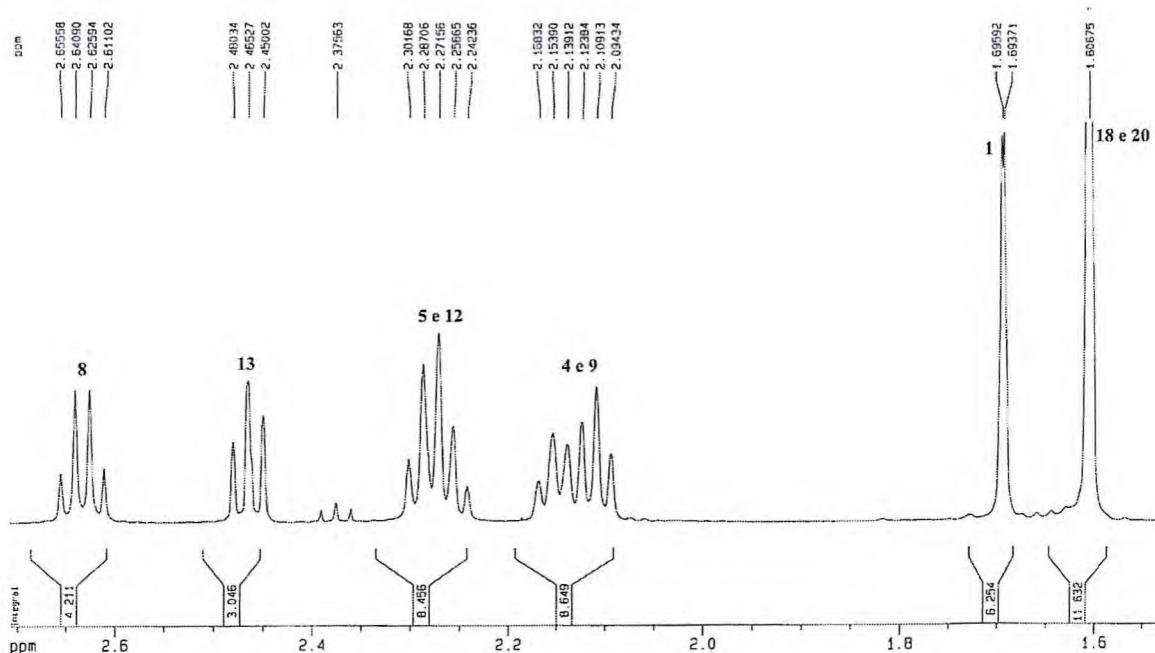


Figura 73: Expansão da região entre 2,7 a 1,5 ppm do espectro de RMN  $^1H$  de EVFIC-1 [ $\delta$ ; 500 MHz;  $CDCl_3$ ]

Tabela 20: Comparação dos Dados de Deslocamento Químico de RMN  $^{13}\text{C}$  de EVFlC-1 com o ácido centipédico (2).

#C	EVFlC-1	Ácido centipédico (2)
	$\delta$ C, 125 MHz $\text{CDCl}_3$	$\delta$ C, 50 MHz $\text{CDCl}_3$ (Lima, 1996)
1	25,9	25,6
2	130,9	130,7
3	123,7	123,5
4	28,1	27,9
5	34,7	34,5
6	132,5	132,2
7	145,9	145,7
8	28,4	28,1
9	39,3	39,0
10	135,1	134,8
11	124,8	124,5
12	28,7	28,4
13	25,2	25,0
14	125,1	124,9
15	111,2	111,0
16	139,0	142,5
17	142,8	138,8
18	16,1	15,9
19	173,9	173,8
20	17,9	17,7

## 5.2 Determinação Estrutural de EVFIC-2

Marcha química básica, realizada na fração clorofórmica do extrato clorofórmico dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less. (Tipo A), item 7.9.2, p.177, originou uma fração rica em um sólido amorfó amarelo, que após recristalização em metanol, forneceu cristais amarelos, solúveis em clorofórmio, que foram denominados EVFIC-2. Cromatografia de camada delgada (CCD), evidenciou a pureza dos cristais, que apresentaram faixa de fusão de 215,9-216,5 °C.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-2 (Fig. 74, Pág 81), apresentou 19 linhas. Um dos sinais ( $\delta$  179,2), pode ser atribuído a uma carbonila. São observados 14 sinais ( $\delta$  158,6 – 95,6), referentes a carbonos  $\text{sp}^2$ , dos quais 6 podem ser atribuídos a carbonos oxigenados ( $\delta$  158,6; 157,5; 156,0; 148,7; 148,6 e 146,6). O número elevado de sinais referentes a carbonos  $\text{sp}^2$ , sugere a presença de anéis aromáticos na estrutura de EVFIC-2. Podem ser vistos também, 4 sinais ( $\delta$  61,8; 60,3; 56,6 e 56,2), característicos de carbonos metílicos de metoxila.

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 75, p. 82), pode-se observar a ausência de sinais referentes a carbonos metilênicos, bem como a existência de 4 carbonos metínicos  $\text{sp}^2$ , caracterizados pelos sinais em  $\delta$  123,1; 115,0; 111,0 e 95,6. Este espectro também reforça a presença das metoxilas, já que os sinais anteriormente atribuídos a elas, são referentes a carbonos tri ou mono-hidrogenados.

A existência das 4 metoxilas na estrutura de EVFIC-2, é confirmada pelos sinais em  $\delta$  3,98 (s, 1H); 3,95 (s, 1H); 3,92 (s, 1H) e 3,88 (s, 1H), presentes no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 76 e 77, p. 83). Este espectro também apresenta sinais referentes a hidrogênios aromáticos, centrados em 7,80 (s, 1H); 7,79 (dd,  $J = 8,67$  e  $2,03$  Hz, 1H); 7,06 (d,  $J = 8,67$  Hz, 1H) e 6,42 (s, 1H). É observado também a existência de um sinal em  $\delta$  12,47 (s, 1H), que pode ser atribuído a um hidrogênio de hidroxila quelada. Analisando este espectro com mais cuidado, pode-se observar a sobreposição dos sinais em  $\delta$  7,80 e 7,79, tornando a multiplicidade deste sinais distorcida.

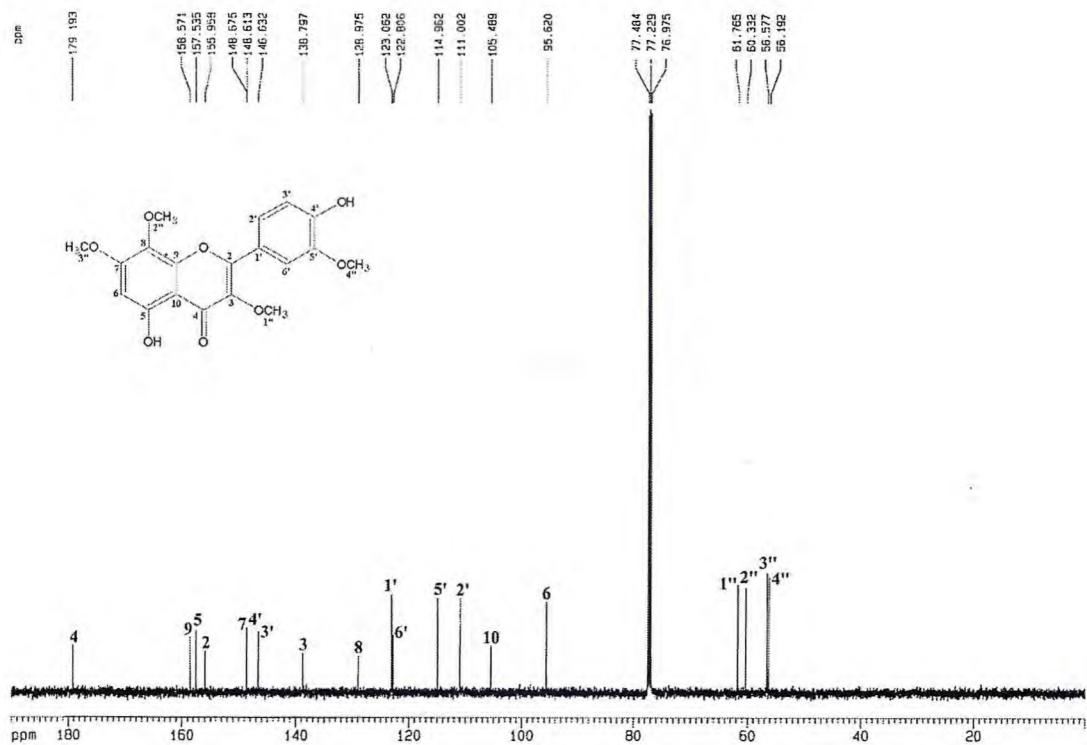


Figura 74: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-2 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

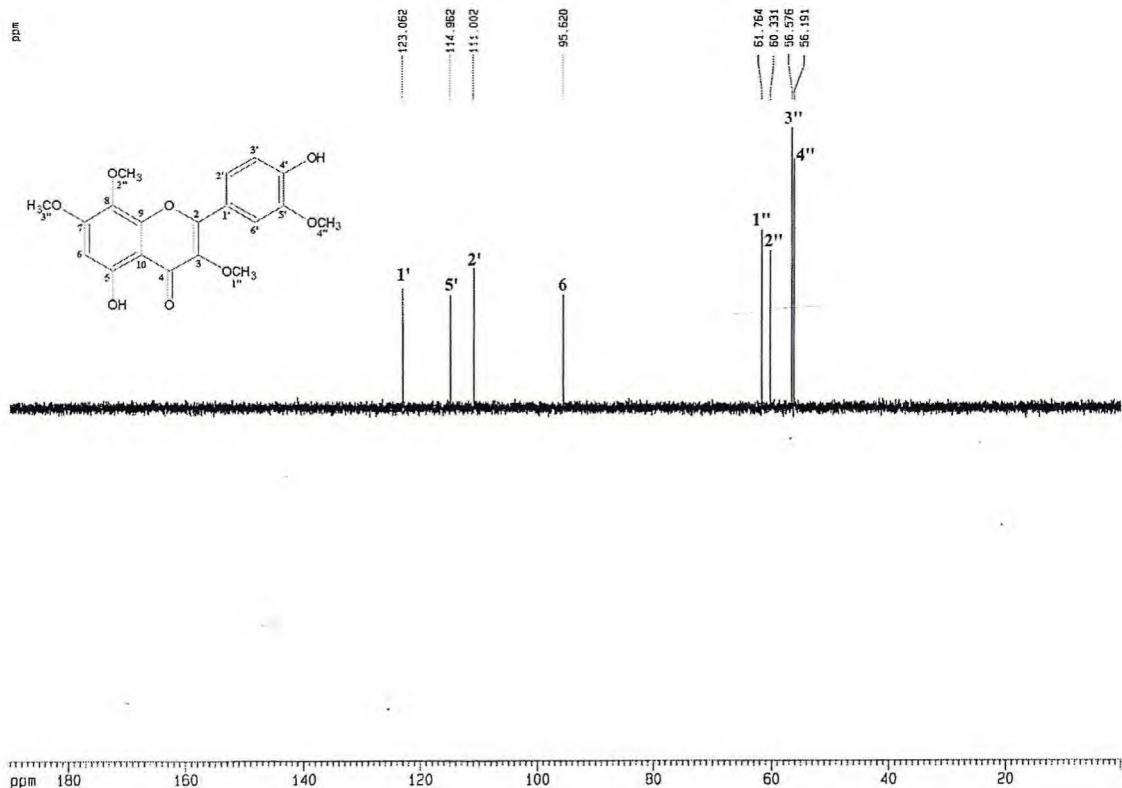


Figura 75: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de EVFIC-2 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

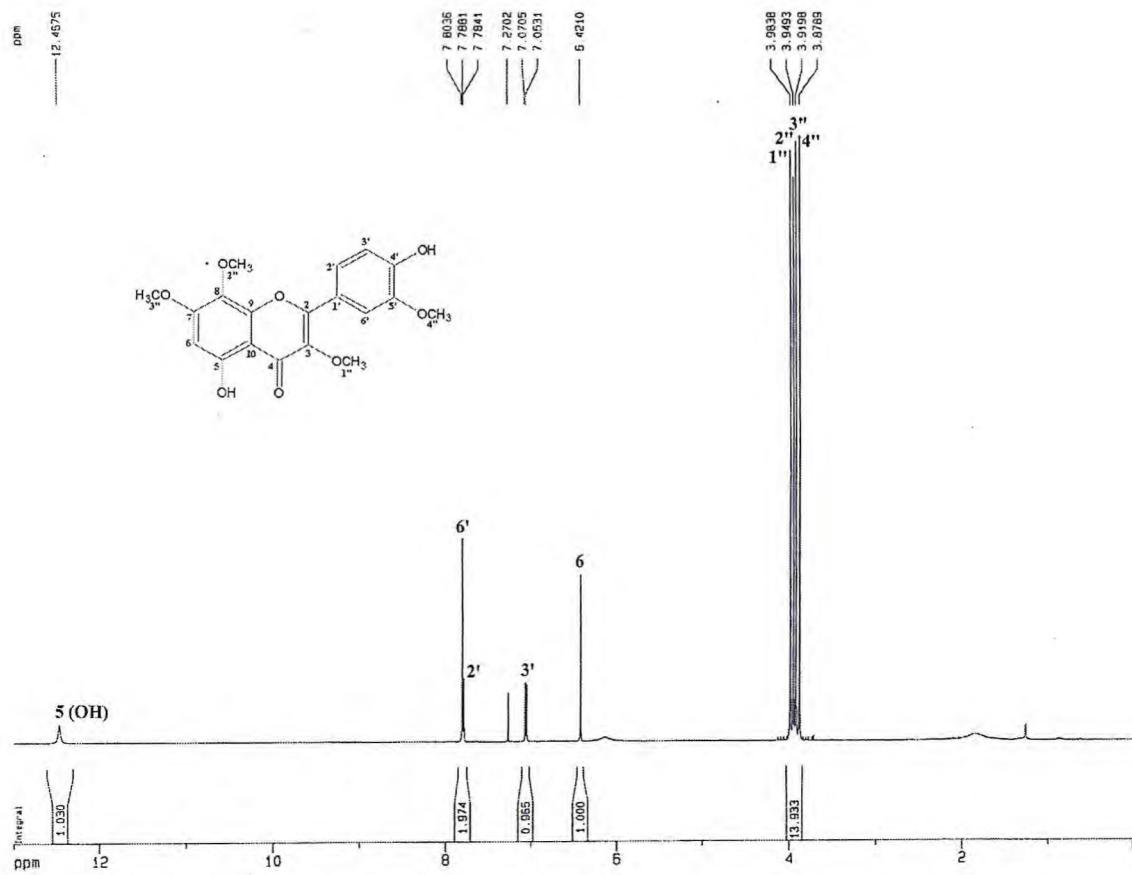


Figura 76: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de EVFIC-2 [ $\delta$ ; 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

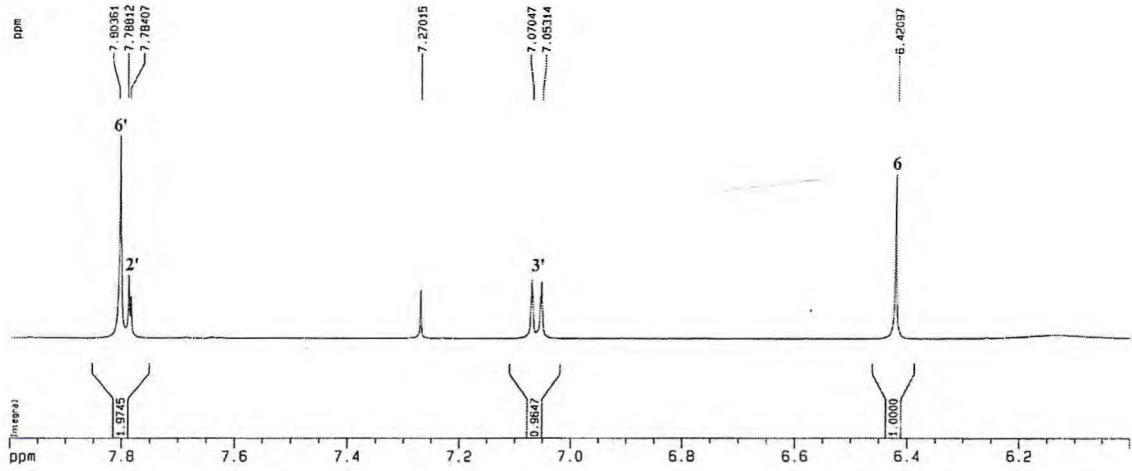


Figura 77: Expansão da região entre 8,0 a 6,0 ppm do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de EVFIC-2 [ $\delta$ ; 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

Os dados acima discutidos acomodam-se perfeitamente na estrutura de um flavonóide hexaoxigenado. A literatura (Lima, 1993), relata o isolamento de um flavonóide com estas características, a ternatina (1), dos capítulos florais de *E. viscosa*. A co-eluição com

amostra autêntica, comparação das faixas de fusão, 215,9-216,5 °C (EVFlC-2) e 216,2-216,8 °C (Lima, 1996), bem como dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de EVFlC-2 com a ternatina (Tabela 21, abaixo), revela a identidade entre as duas substâncias.

Tabela 21: Comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de EVFlC-2 com a ternatina (Lima, 1993)

#C	EVFlC-2	Ternatina (Lima, 1993)
	$\delta$ (ppm), $\text{CDCl}_3$	$\delta$ (ppm), $\text{CDCl}_3$
2	156,0	155,7
3	138,8	138,6
4	179,2	179,0
5	157,5	157,4
6	95,6	95,4
7	148,7	148,4
8	129,0	128,8
9	158,6	158,4
10	105,5	105,3
1'	123,1	122,9
2'	111,0	110,8
3'	146,6	146,4
4'	148,6	148,3
5'	115,0	114,7
6'	122,8	122,7
1''	61,8	61,5
2''	60,3	60,1
3''	56,6	56,3
4''	56,2	55,9

### 5.3 Determinação Estrutural de EVFIC-3

Cromatografia do resíduo obtido da marcha química, realizada na fração clorofórmica do extrato clorofórmico dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less. (EVFIC-C/CR) (item 7.9.3, Pág 176), forneceu, dentre outras, uma fração que se apresentou como um sólido amorfó branco. O sólido mostrou-se homogêneo em CCD, apresentando uma faixa de fusão de 151,7-152,8 °C e  $[\alpha]_{20}^D = -123,9^\circ$  (c 5,0,  $\text{CHCl}_3$ ).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 78, p. 86), mostra 22 linhas espectrais. Duas delas,  $\delta$  170,2 (C-1') e 169,4 (C-18), podem ser atribuídas a carbonos carbonílicos provavelmente pertencentes a função éster. Podem ser observados 6 linhas ( $\delta$  143,6 (C-16); 140,2 (C-15); 138,7 (C-4); 135,8 (C-3); 126,7 (C-13) e 108,9 (C-14)), referentes a carbonos  $\text{sp}^2$ , além dos sinais em  $\delta$  71,9 (C-19) e 65,0 (C-12) que são correlacionados a carbonos  $\text{sp}^3$  ligados a heteroátomos. As demais linhas ( $\delta$  49,2 – 15,9), são associados a carbonos  $\text{sp}^3$ .

O padrão de hidrogenação dos átomos de carbonos pode ser determinado a partir da análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 79. p. 86). Este espectro mostra a existência de 7 carbonos metínicos, 6 carbonos metilénicos e 3 carbonos metílicos. A ausência de 6 linhas espectrais neste espectro, quando comparado com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD, revela a existência de 6 carbonos não hidrogenados na estrutura de EVFIC-3. Os valores de deslocamentos químicos bem como o padrão de hidrogenação dos carbonos-13 de EVFIC-3, podem ser vistos na tabela 22, p. 87.

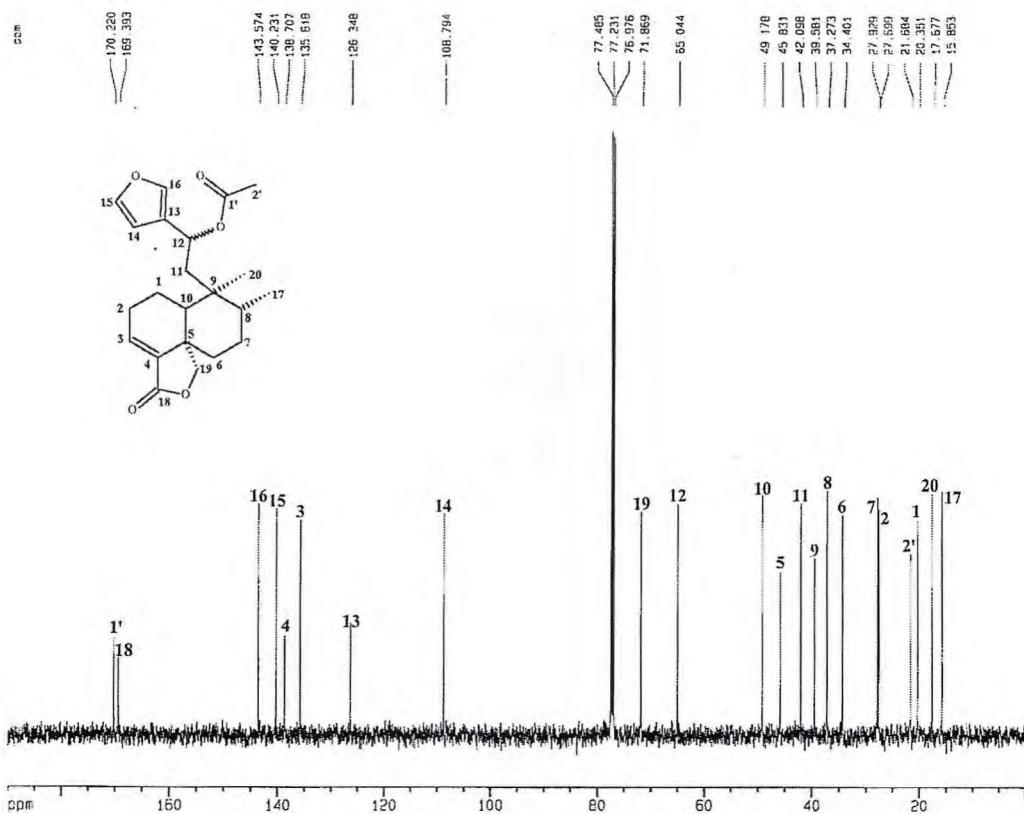


Figura 78: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVF1C-3 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

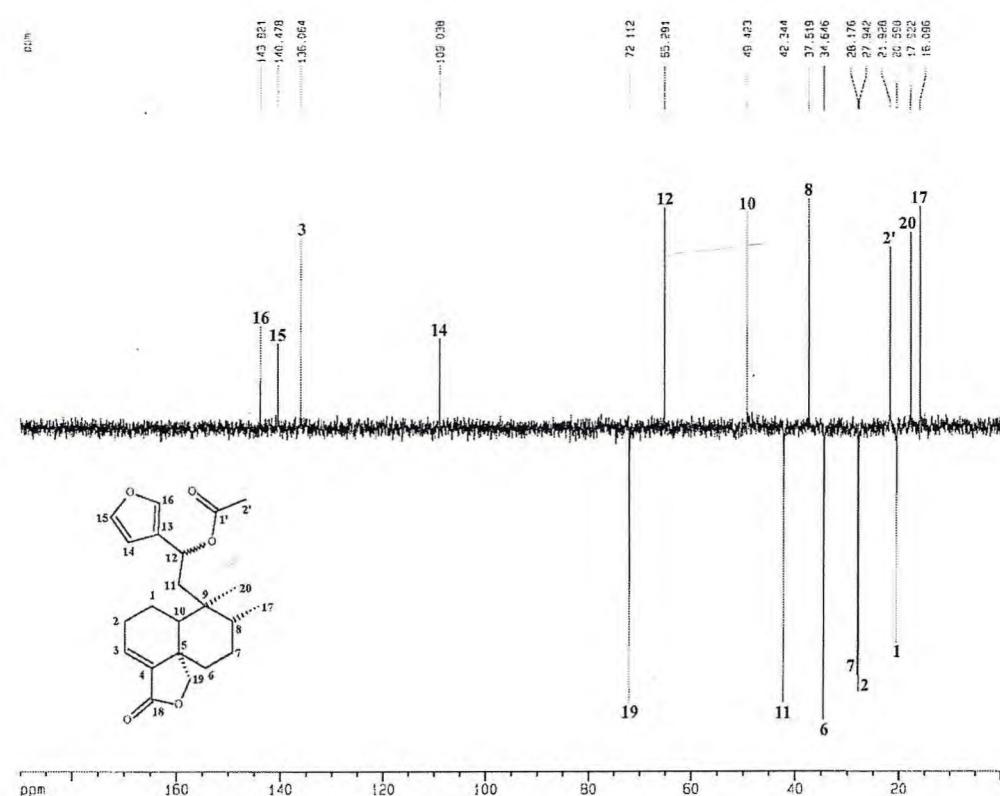


Figura 79: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de EVF1C-3 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

Tabela 22: Deslocamentos Químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de EVFIC-3, por Padrão de Hidrogenação.

C	CH	$\text{CH}_2$	$\text{CH}_3$
170,2	143,6	71,9	21,7
169,4	140,2	42,1	17,7
138,7	135,8	34,4	15,9
126,4	108,8	27,9	
45,8	65,0	27,7	
39,6	49,2	20,4	
	37,3		
$\text{C}_6$	$\text{C}_7\text{H}_7$	$\text{C}_6\text{H}_{12}$	$\text{C}_3\text{H}_{12}$
			$\text{C}_{22}\text{H}_{28}$
2 $\text{C=O}$	$\text{C}-\text{O}-\text{C}$	$\text{C}-\text{O}$	
	$\text{C}-\text{O}$		$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_5$

Os sinais em  $\delta$  143,6 (CH); 140,2 (CH); 126,4 (C) e 108,8 (CH); aliados aos sinais em  $\delta$  7,43 (1H, s); 7,37 (1H, d,  $J = 1,32$  Hz) e 6,41 (1H, d,  $J = 1,32$  Hz), observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-3 (Figs. 80 e 81, p. 88), são atribuídos a um anel furânico monossubstituído como foi discutido na determinação estrutural de EVFIC-1 (ácido centipédico), no item 5.1, p. 75. Os outros dois sinais referentes a carbonos  $\text{sp}^2$  ( $\delta$  135,8 (CH) e 138,7 (C)), são atribuídos a uma dupla ligação, que a partir dos valores de deslocamentos químicos dos carbonos-13, encontra-se possivelmente conjugada com uma das carbonilas (Silveira, 1989).

Também podem ser observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figs. 80 e 81, p. 88), sinais centrados em  $\delta$  6,75 (1H, dd,  $J = 7,39$  e 1,93 Hz) e  $\delta$  5,94 (1H, dd,  $J = 7,68$  e 4,49 Hz). O primeiro é associado a um hidrogênio olefínico  $\beta$  de um sistema carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado. Já para o segundo sinal ( $\delta$  5,94), existem duas possibilidades plausíveis. O sinal seria referente a um hidrogênio olefínico ou pertenceria a um hidrogênio metínico de um grupo acetoxi provavelmente  $\alpha$  ao anel furânico. O sinal em  $\delta$  2,02 (3H, s) desfaz esta dúvida, já que este é referente a uma metila de grupo acetila, apoiando a segunda opção, acima sugerida. Há também neste espectro dois sinais,  $\delta$  4,28 (1H, d  $J = 8,01$  Hz) e  $\delta$  3,91 (1H, dd,  $J = 7,96$  e 1,63 Hz), que são referentes a hidrogênios metilênicos oxigenados.

Além dos sinais acima relacionados, são observados outros em  $\delta$  2,41 (1H, m); 2,17 (2H, m); 2,01 (1H, m); 1,90 (1H, dtl,  $J$  = 13,09 Hz); 1,83 (2H, m); 1,62 (2H, m); 1,45 (1H, m); 1,22 (1H, m) e 1,12 (1H, qd;  $J$  = 12,17 e 3,83 Hz). O espectro também mostra a presença de mais duas metilas, com sinais em  $\delta$  0,76 (3H, d,  $J$  = 6,56 Hz) e  $\delta$  0,60 (3H, s).



Figura 80: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de EVFIC-3 [ $\delta$ ; 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

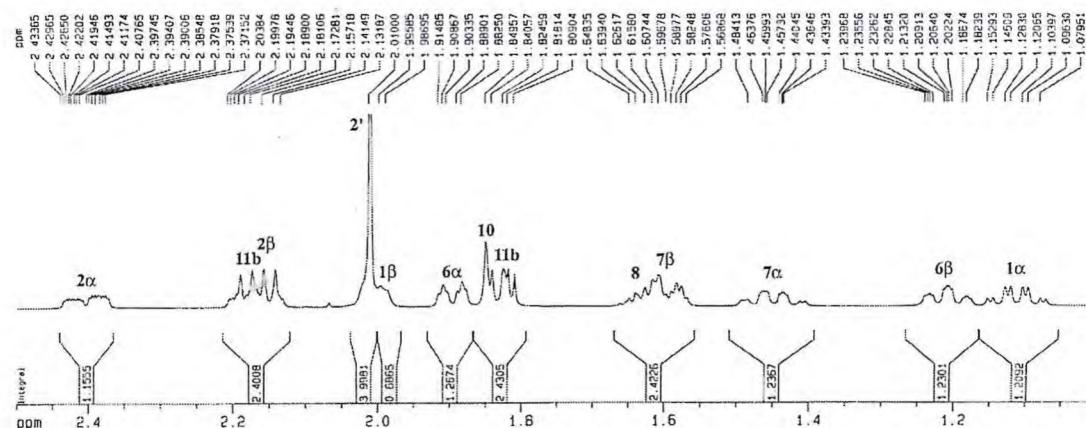


Figura 81: Expansão da região entre 2,5 a 1 ppm do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de EVFLC-3 [ $\delta$ ; 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

Os dados acima discutidos acomodam-se em um esqueleto diterpênico com anel furânicos, acetilado e provavelmente lactonizado. A literatura registra para a espécie *Egletes viscosa* Less., a existência de um diterpeno clerodânicos (Lima, 1996), com as características acima descritas, denominado de lactona do ácido hautriwaico acetilado em C-12. Comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de E-VFLC-3 com os do diterpeno acima citado (tabela 23, p. 90), revela a identidade entre estes dados. Os espectros de RMN bidimensionais  $^1\text{H}, ^1\text{H-COSY}$ ;  $^1\text{H}, ^{13}\text{C-HMQC}$  e  $^1\text{H}, ^{13}\text{C-HMBC}$  (Figs. 82, 83 e 84, p. 91 e 92), cujo dados são descritos na tabela 24 (p. 95) e nos quadro 6 (p. 93), confirmam que EVLC-A trata-se do 15,16-epoxi-12-acetoxi-3,13(16),14-clerodatrien-18,19-olídeo (3), sinonímia para a lactona do ácido hautriwaico acetilado em C-12.

Porém a literatura citada comete equívocos nas atribuições dos deslocamentos químicos de alguns carbonos da estrutura da lactona do ácido hautriwaico acetilado em C-12. Pode-se observar claramente no espectro de RMN  $^1\text{H}, ^{13}\text{C-HMQC}$  (fig 83, Pág 90), a correlação do H-3 ( $\delta$  6,75) com o carbono em  $\delta$  135,8 (C-3) e do H-15 ( $\delta$  7,42) com o carbono em  $\delta$  140,2 (C-15), mostra que os valores descritos na literatura para estes carbonos (Lima, 1996), estão trocados. Além da troca acima citada, a literatura comete outro equívoco com a atribuição de C-4, que é associado a um sinal em  $\delta$  135,6; no espectro de RMN  $^{13}\text{C-APT}$ . O espectro de RMN  $^1\text{H}, ^{13}\text{C-HMBC}$  (Fig 84, Pág 91), mostra o acoplamento a três ligações ( $J_{\text{CH}}^3$ ), dos hidrogênios H's-2 ( $\delta$  2,41 e 2,16), com o sinal em  $\delta$  138,7 (C-4); desta forma o valor correto do deslocamento químicos de C-4 é 138,7 e não 135,6 como está registrado na literatura.

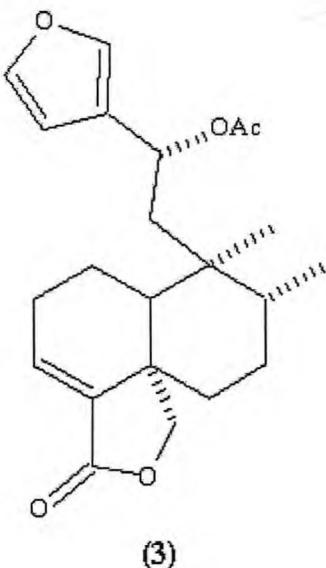


Tabela 23: Comparação dos Dados de Deslocamento Químico de RMN  $^{13}\text{C}$  de EVFlC-3 com o 15,16-epoxi-12-acetoxi-3,13(16),14-clerodatrien-18,19-olídeo (3).

#C	EVFlC-3 $\delta$ C	(3) $\delta$ C (Lima, 1996)
1	20,4	20,2
2	27,7	27,5
3	135,8	140,0
4	138,7	135,6
5	45,8	45,6
6	34,4	34,2
7	27,9	27,7
8	37,3	37,1
9	39,6	39,4
10	49,2	49,0
11	42,1	41,9
12	65,0	64,8
13	126,4	126,2
14	108,8	108,6
15	143,6	139,5
16	140,2	143,3
17	15,9	15,7
18	169,4	169,1
19	71,9	71,7
20	17,7	17,5
<u>COCH<sub>3</sub></u>	170,2	170,0
<u>COCH<sub>3</sub></u>	21,7	21,5

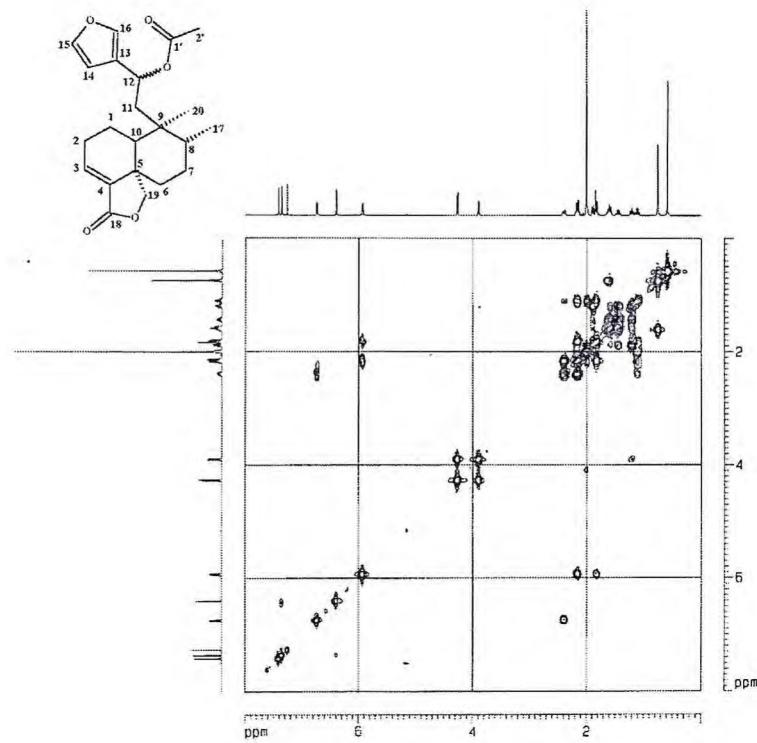


Figura 82: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY de EVF1C-3 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

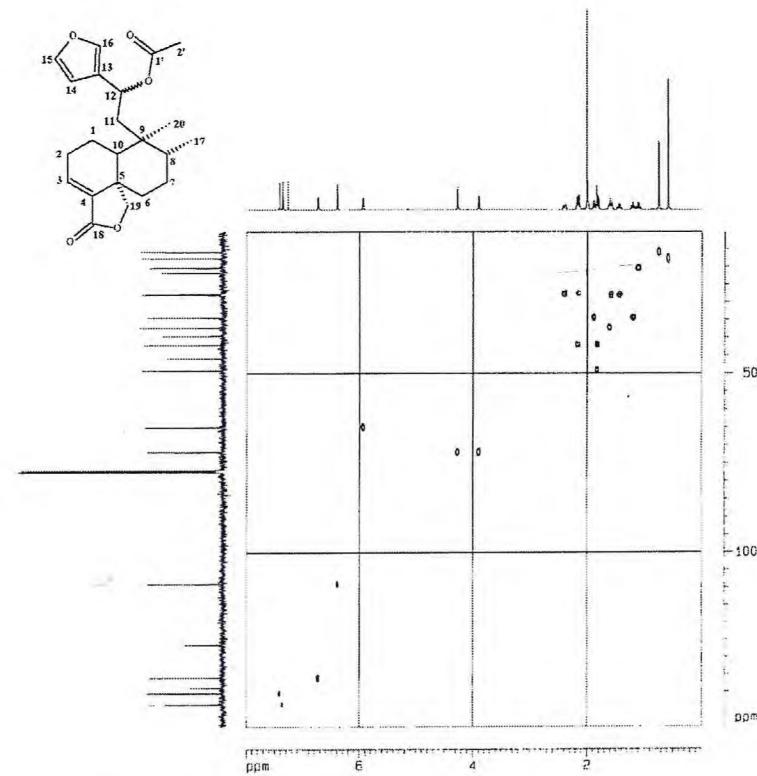


Figura 83: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC de EVF1C-3 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

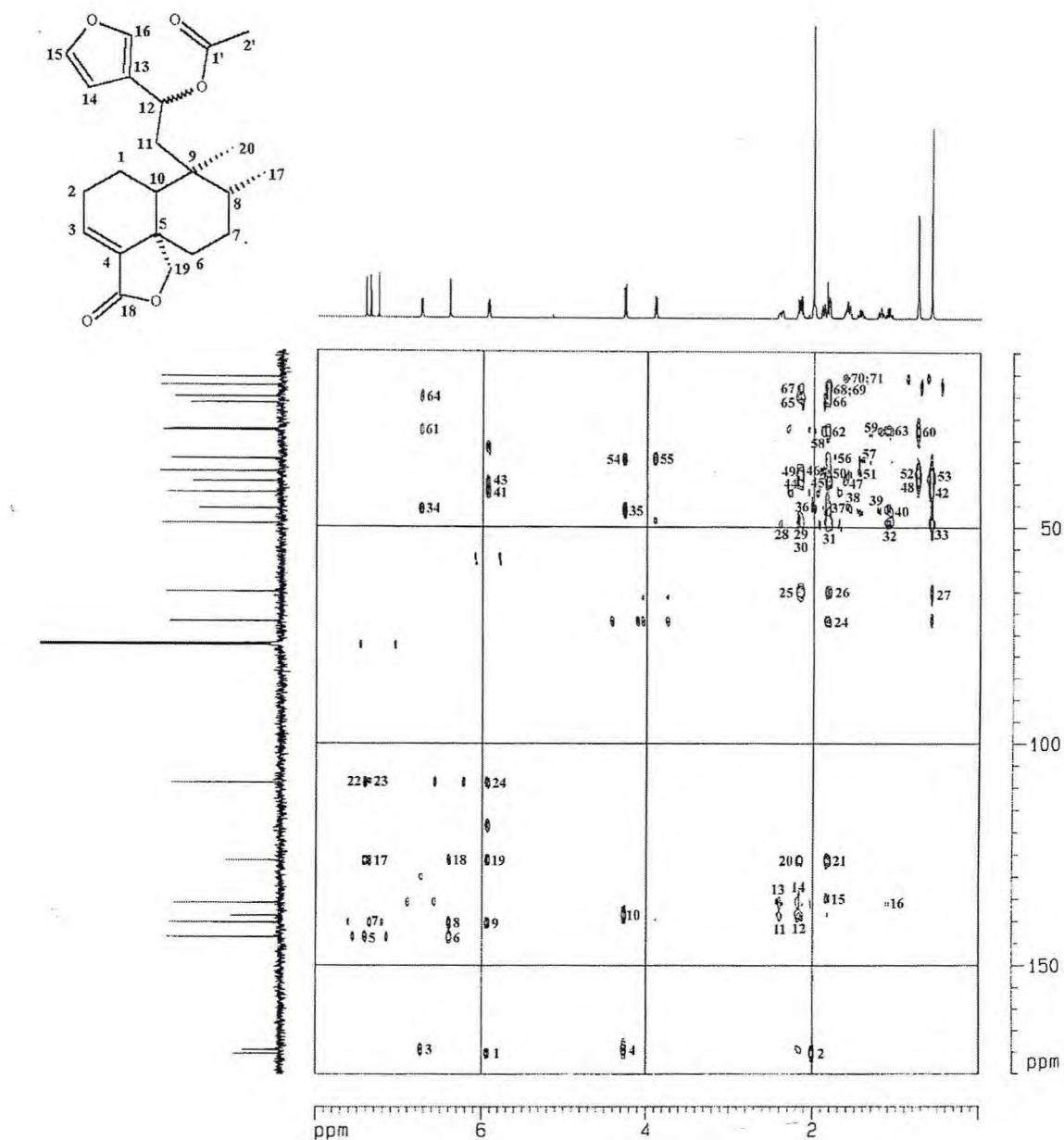
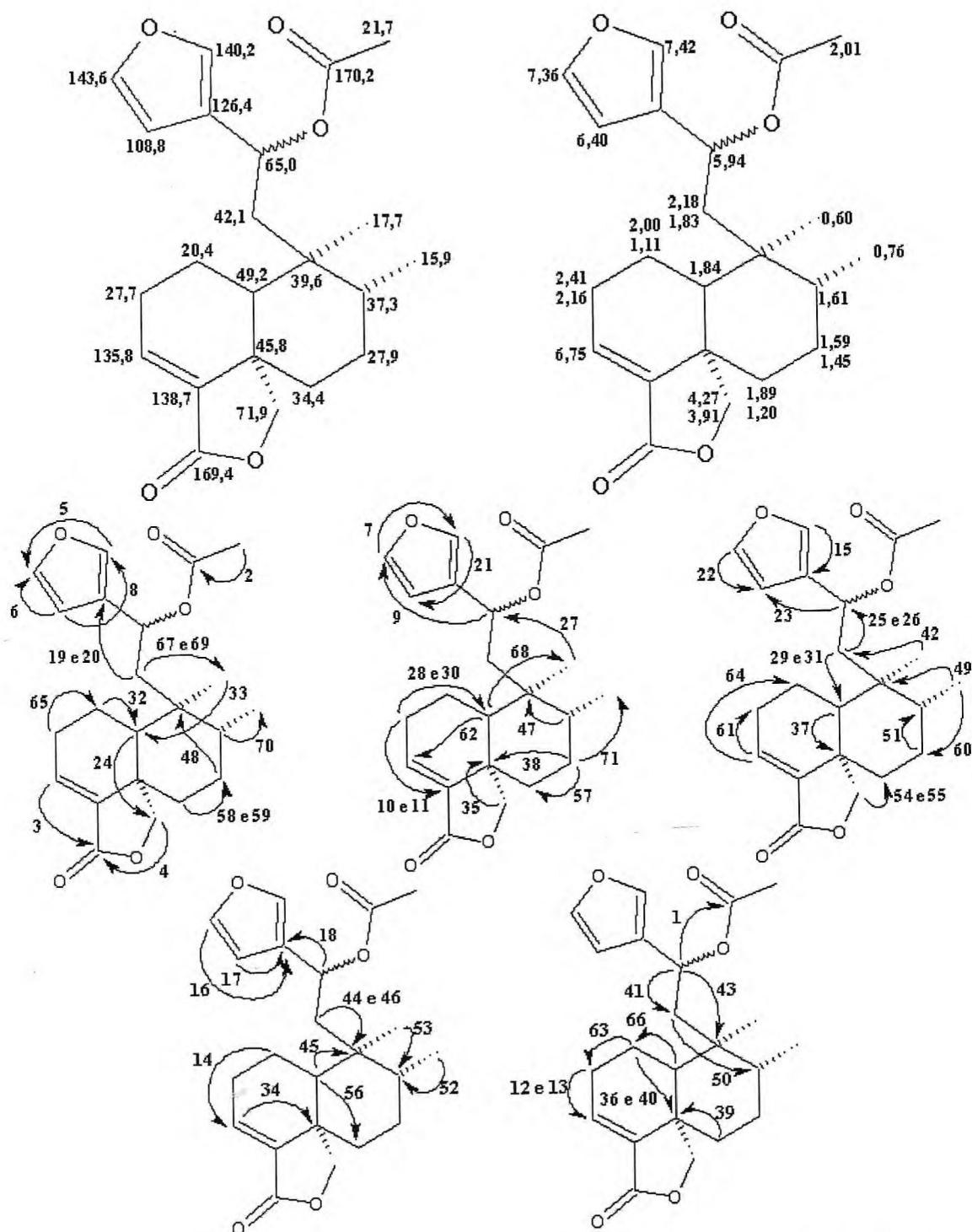


Figura 84: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-3 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

O espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -NOESY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig 85, p. 94), mostra o acoplamento espacial do hidrogênio em  $\delta$  1,83 (H-11a) com os hidrogênios em  $\delta$  1,61(H-8ax) e 1,20 (H-6ax), bem como o acoplamento do hidrogênio em  $\delta$  2,18 (H-11b), com os hidrogênios em  $\delta$  0,60 (H-20). Estes fatos esclarecem a estereoquímica relativa deste centro estereogênico C-11, onde H-11a tem estereoquímica *pro-R* e H-11b é *pro-S*. A esteroquímica relativa do centro estereogênico C-19 é proposta com base no acoplamento do hidrogênio em  $\delta$  4,27 (H-19a), com os hidrogênios em  $\delta$  1,89 (H-6eq) e 1,45

(H-7ax) e no acoplamento do hidrogênio em  $\delta$  3,91 (H-19b), com o hidrogênio em  $\delta$  1,11 (H-1ax). Desta forma H-19a tem configuração *pro-R* e H-19b tem configuração *pro-S*.



Quadro 6: Representação dos acoplamentos observados no espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFlC-3

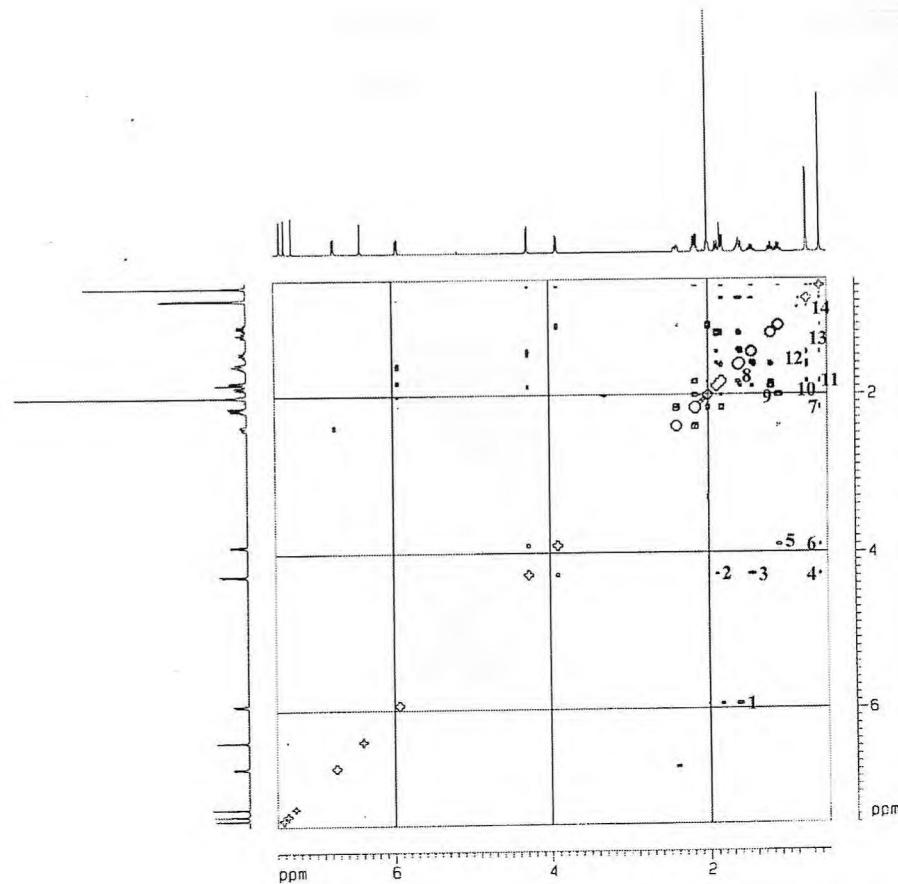
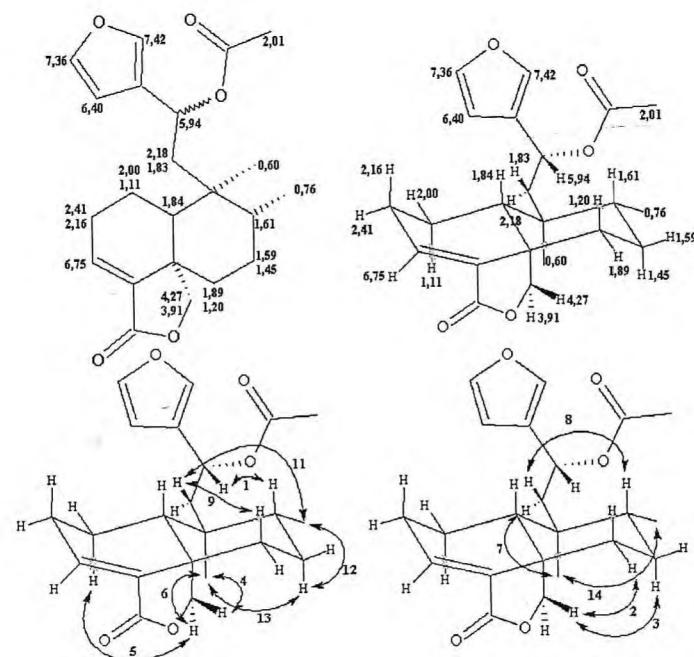


Figura 85: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY de EVFlC-3 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]



Quadro 7: Representação dos acoplamentos observados no espectro de  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY de EVFlC-3

Tabela 24: Correlação Entre os Dados de RMN e a Estrutura de EVFlC-3

#C	<sup>13</sup> C-HBBD	HMQC		COSY		HMBC		NOESY	
		$\delta$ C	$\delta$ H	<sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H	<sup>2</sup> J <sub>CH</sub>	<sup>3</sup> J <sub>CH</sub>	<sup>4</sup> J <sub>CH</sub>	<sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H	
1	20,4	2,00		1,11 1,11 2,41; 2,16; 2,00; 1,84	2,16; 1,84	6,75	---	---	
								3,91	
2	27,7	2,41	6,75; 2,16; 1,11 2,16	6,75; 1,11 2,41; 1,11		1,84	---	---	
								---	
3	135,8	6,75		2,41	2,41; 2,16	1,11	---	---	
								---	
4	138,7	---		---		2,41; 2,16	---	---	
								---	
5	45,8	---		---	4,27; 1,84; 1,20	6,75; 2,00; 1,59; 1,11	---	---	
								---	
6	34,4	1,89	1,45; 1,20 1,20	1,45 1,89; 1,45	1,45	4,27; 3,91; 1,84	---	---	
								1,83	
7	27,9	1,59	1,45 1,45	1,45 1,89; 1,59; 1,20	1,89; 1,20; 0,76	---	---	---	
								4,27; 0,76; 0,60	
8	37,3	1,61		0,76	1,45; 0,76	1,83; 0,60	---	1,45; 0,60	
9	39,6	---		---	2,18; 1,84; 1,83; 1,61	5,94; 1,59; 0,76	---	---	
								---	
10	49,2	1,84		1,11	1,11	2,41; 2,18; 2,16; 1,83; 0,60	---	3,91	
11	42,1	2,18	5,94; 1,83 1,83	5,94 5,94; 2,18		0,60	---	0,60	
								1,61; 0,76	
12	65,0	5,94	2,18; 1,83	2,18; 1,83		---	0,60	1,61	
13	126,4	---	---	7,42; 6,40; 5,94	7,36; 2,18; 1,83	---	---	---	
14	108,8	6,40	7,42	7,36	7,42; 5,94	---	---	---	
15	143,6	7,36	6,40	---	7,36; 6,40; 5,94	---	---	---	
16	140,2	7,42	---	6,40	7,42	---	---	---	
17	15,9	0,76	1,61	1,61	1,59	---	1,83; 0,60		
18	169,4	---	---	---	6,75; 4,27	---	---	---	
19	71,9	4,27	3,91	---	1,84	---	1,89, 0,60		
			3,91	4,27			1,11; 0,60		
20	17,7	0,60	---		2,18; 1,84; 1,83	---	4,27; 3,91; 2,18; 0,76		
CH <sub>3</sub> CO	170,2	---	---	2,01	5,94	---	---	---	
CH <sub>3</sub> CO	21,7	2,01	---	---	---	---	---	---	

O objetivo da reobtenção dos metabólitos não-voláteis até o momento discutidos, foi fornecer material para que os estudos farmacológicos sobre *Egletes viscosa* e seus metabólitos prosseguissem. Em virtude da grande quantidade de material isolado dos três metabólitos, vários estudos farmacológicos foram realizados.

A ternatina (**1**) é o metabólito de *E. viscosa* farmacologicamente mais estudado. Estudos mostraram que ela possui atividade anti-anafilática e anti-inflamatória (Souza, 1992); atividade hepatoprotetora (Rao, 1994; Souza 1998); atividade anti-trombótica (Souza, 1994); atividade gastroprotetora e anti-diarréica (Rao, 1997); atividade contra peroxidação lipídica (Souza, 1997 , 1998a e 1999) e uma moderada atividade anti-HIV (Lima, 1996).

O óleo essencial dos capítulos florais de *E. viscosa* apresentou atividade antinociceptiva, anticonvulsivante e bactericida (Souza, 1998b).

Já os diterpenos, ácido centipédico (**2**) e acetato da lactona do ácido hautriwaico (**3**), apresentaram atividade antinociceptiva e gastroprotetora (Guedes, 2002).

## 5.4 Determinação estrutural de EVFIC-4

Cromatografia da fração clorofórmica do extrato clorofórmico dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less. tipo B (EVFIC<sub>1</sub>-C3) (item 7.10.1, p. 181), forneceu um sólido amorfó branco homogêneo em CCD, apresentando uma faixa de fusão de 169,1-171,4 °C e  $[\alpha]_{20}^D = -104,9^\circ$  (c 1,025; CHCl<sub>3</sub>).

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-HBBD (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Fig. 86, Pág 97) de EVFIC-4, apresenta 20 sinais. Dois deles, em δ 174,0 (C-17) e 168,8 (C-18) são associados a carbonilas, que pelos valores de deslocamento químico, são provavelmente pertencentes à função éster. São notados 6 sinais (δ 143,9; 139,9; 137,6; 136,1; 123,8 e 108,5), na região de carbonos sp<sup>2</sup>. Quatro deles (δ 143,9 (C-15); 139,9 (C-16); 123,8 (C-13) e 108,5 (C-14)), são pertencentes a um anel furânico, como foi discutido na determinação estrutural de EVFIC-1 (item 5.1, Pág 74). Os outros dois (δ 137,6 (C-4) e 136,1(C-3)), pode ser associado a uma dupla ligação, que também como na estrutura de EVFIC-3 (item 5.3, Pág 84) deve está conjugada com a carbonila em δ 168,8 (C-18). Já os sinais em δ 71,0 (C-19) e 69,9 (C-12), são associados a carbonos sp<sup>3</sup> ligados a heteroátomo, provavelmente oxigênio. Os demais 10 sinais encontram-se na região de carbonos sp<sup>3</sup> (δ 51,8 – 19,1).

A partir da análise do espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135° (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Fig. 87, Pág 97), pode-se determinar o padrão de hidrogenação dos carbonos da estrutura de EVFIC-4. São observados 7 sinais de carbonos metínicos, 6 sinais de carbonos metilênicos e somente um sinal de carbono metínico. A ausência de 6 sinais neste espectro quando comparado com o espectro de RMN <sup>13</sup>C-HBBD, indica que no esqueleto carbônico de EVFIC-4 existem 6 carbonos não hidrogenados. A tabela 25 (p. 99), mostra os valores de deslocamentos químicos e o padrão de hidrogenação dos carbonos de EVFIC-4.

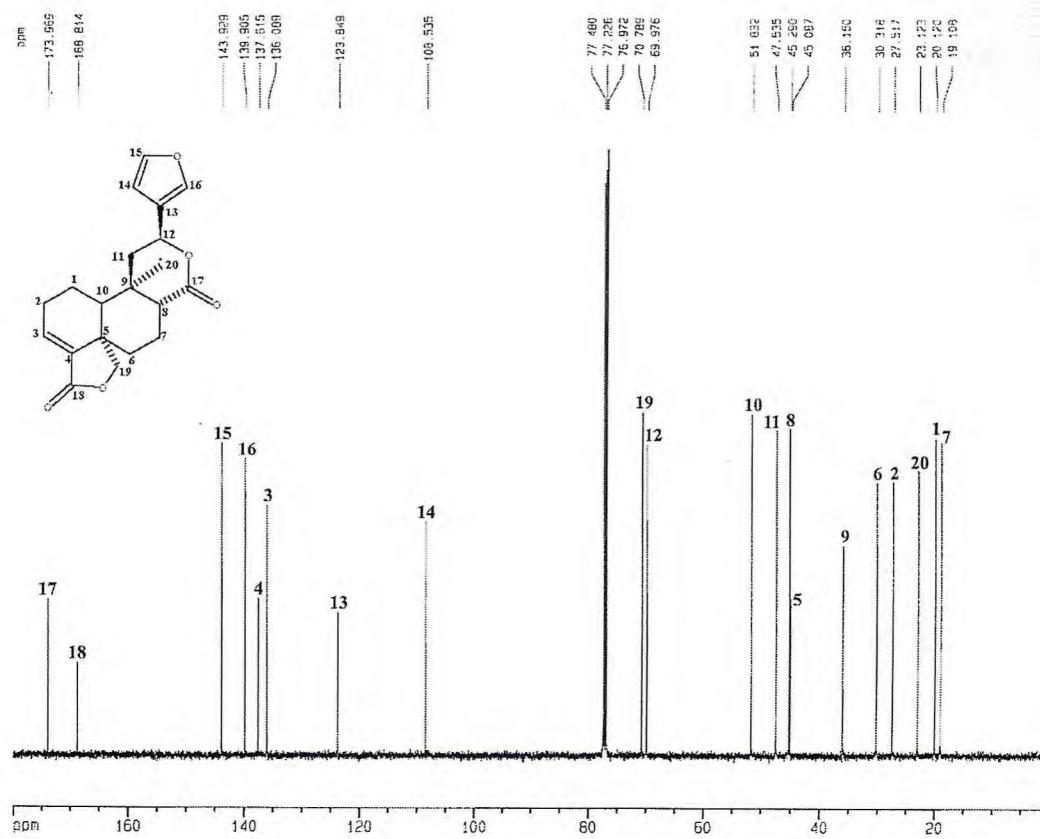


Figura 86: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-4 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

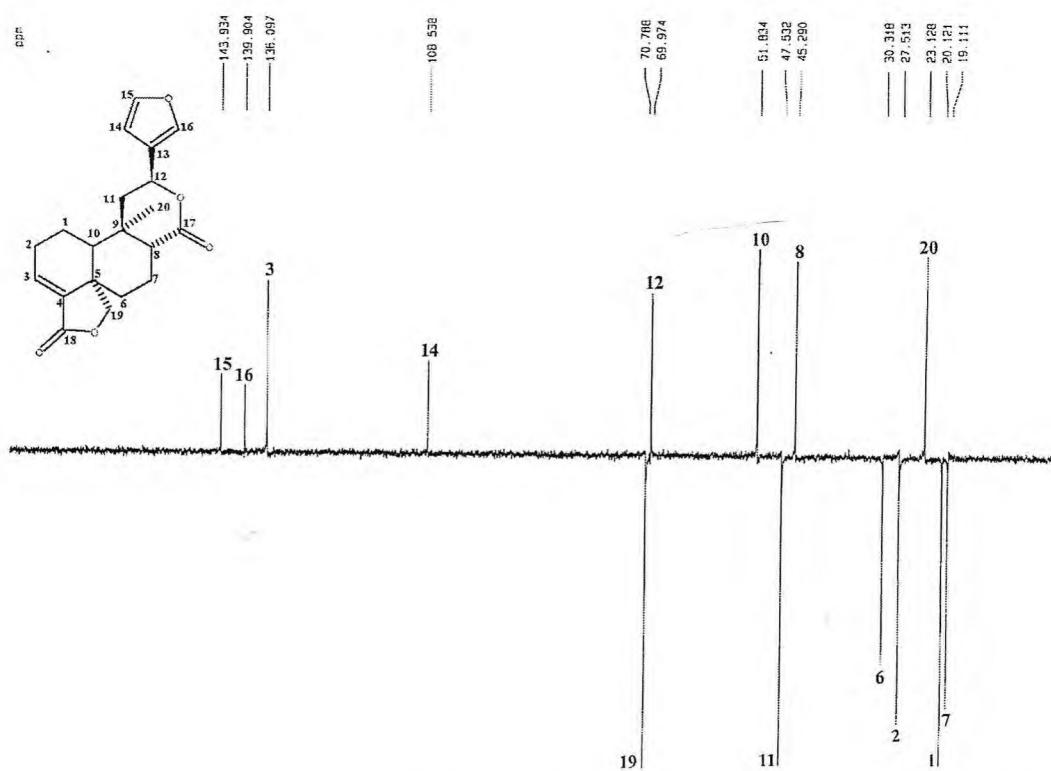


Figura 87: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de EVFIC-4 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

Tabela 25: Deslocamentos Químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de EVFIC-4 por Padrão de Hidrogenação.

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
174,0	143,9	70,8	23,1
168,8	139,9	47,5	
137,6	136,1	30,3	
123,8	108,5	27,5	
45,1	70,0	20,1	
36,2	51,8	19,1	
	45,3		
C <sub>6</sub>	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	C <sub>1</sub> H <sub>3</sub>
			C <sub>20</sub> H <sub>22</sub>
<sub>2</sub> C=O	<sub>3</sub> C—O	C—O	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub>

No espectro de absorção na região do infravermelho de EVFIC-4 (Fig 88, Pág 99), podem ser observadas duas bandas de absorção, intensas e agudas, em 1763 e 1742  $\text{cm}^{-1}$ , características de estiramentos C=O de carbonilas de ésteres. O valor da absorção em 1742  $\text{cm}^{-1}$ , confirma a existência de uma carbonila conjugada com uma dupla ligação, na estrutura de EVFIC-4. As absorções em 1179 e 1137  $\text{cm}^{-1}$ , são associadas a estiramentos de grupo C-C(=O)-O, de lactona confirmando a existência deste heterocíclo na estrutura de EVFIC-4.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 89, Pág 100), de EVFIC-4, mostra sinais desprotegidos centrados em  $\delta$  7,49 (s, 1H); 7,42 (d,  $J = 1,37$  Hz, 1H) e 6,42 (d,  $J = 1,37$  Hz, 1H), referentes a um anel furânico monossubstituído, de acordo com os valores registrados na literatura e mostrados na tabela 19, Pág 76 (item 5.1, Pág 74). São observados mais dois sinais centrados em  $\delta$  6,73 (dd,  $J = 7,40$  e 1,91 Hz, 1H) e 5,30 (d,  $J = 11,41$  Hz, 1H), na região de hidrogênios olefínicos, que devido aos valores das constantes de acoplamento, pertencem a duplas ligações distintas. Porém o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (Fig. 86, Pág 97), mostra que existe somente mais uma dupla ligação, além das pertencentes ao anel furânico, na estrutura de EVFIC-4. Desta forma o sinal em  $\delta$  5,30 pode ser atribuído a um hidrogênio ligado a um carbono carbinólico alílico a dupla ligação, fato que ocorre no 15,16-epoxi-12-acetoxi-3,13(16),14-clerodatrien-18,19-olídeo (EVFIC-3), cujo determinação

estrutural está descrita no item 5.3 (p. 85). Na região de hidrogênios ligados a carbonos carbinólicos, são observados dois sinais centrados em  $\delta$  4,38 (d,  $J = 8,04$  Hz, 1H) e 3,95 (dd,  $J = 8,04$  e 1,88 Hz, 1H), que pelos valores das constantes de acoplamento, encontram-se acoplados em um sistema geminal. Este sistema também é observado na estrutura do 15,16-epoxi-12-acetoxi-3,13(16),14-clerodatrien-18,19-olídeo (EVFIC-3). Na região mais protegida do espectro ( $\delta$  2,60 – 1,00), é observado um singuleto intenso, com integração para três hidrogênios, com deslocamento químico em  $\delta$  1,09; caracterizando a existência de apenas um grupo metila ligado a carbono não hidrogenado na estrutura de EVFIC-4. Além deste singuleto vários outros sinais são observados nesta região do espectro e estão listados na tabela 26, Pág 103.

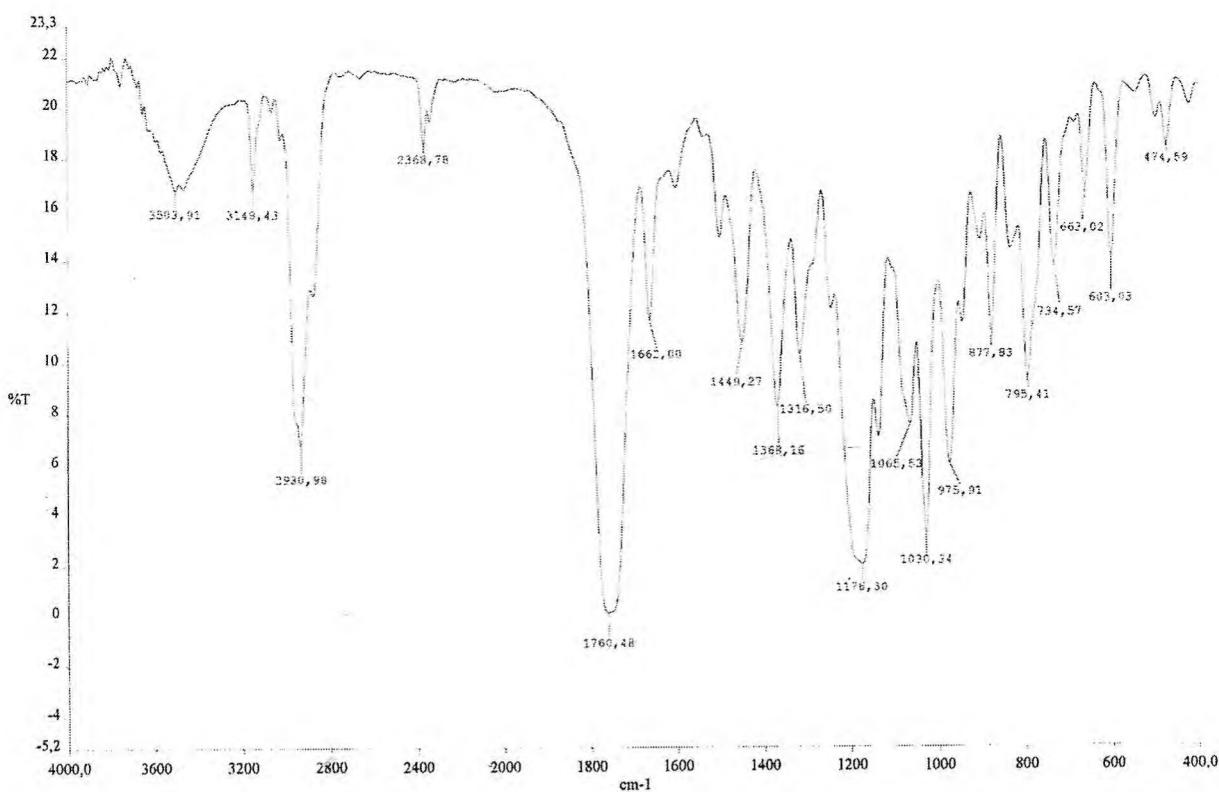


Figura 88: Espectro na região do IV de EVFIC-4 [ $\text{cm}^{-1}$ , KBr]

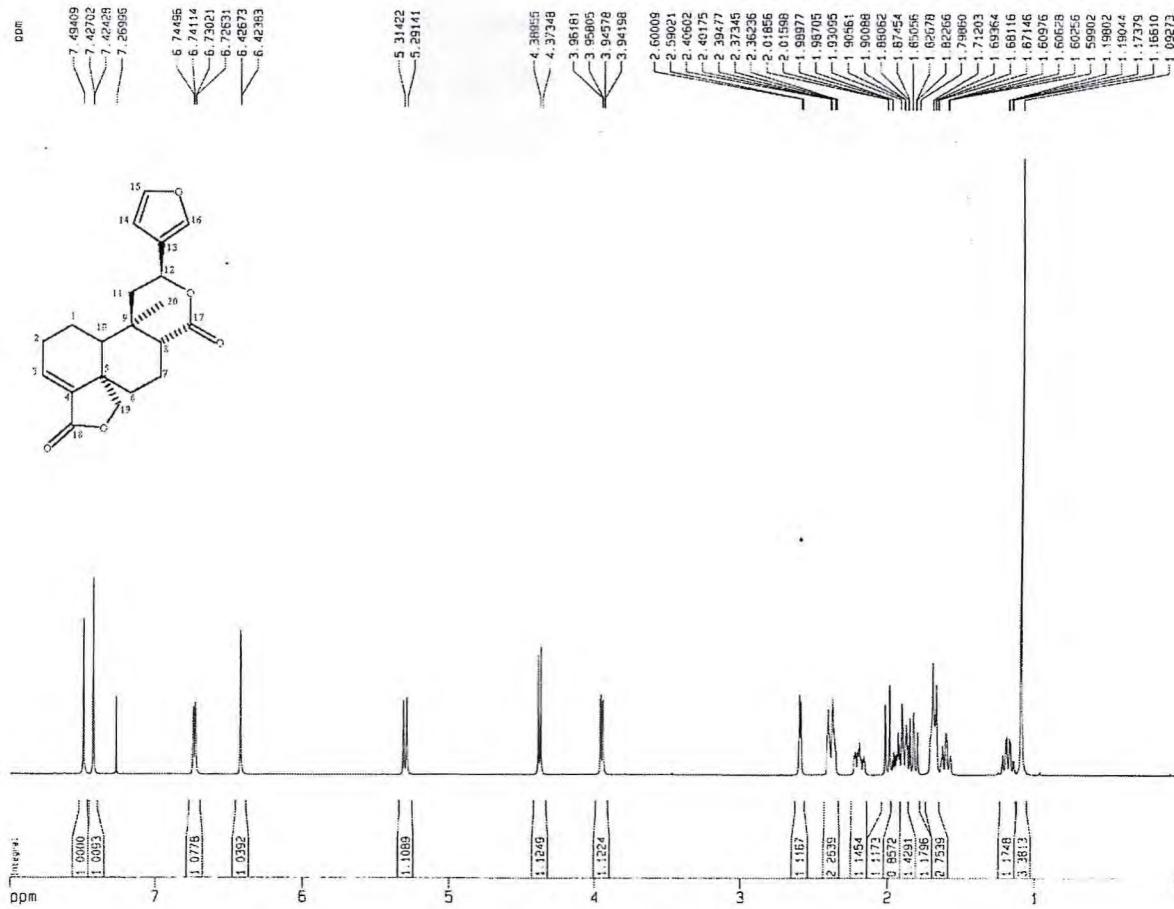
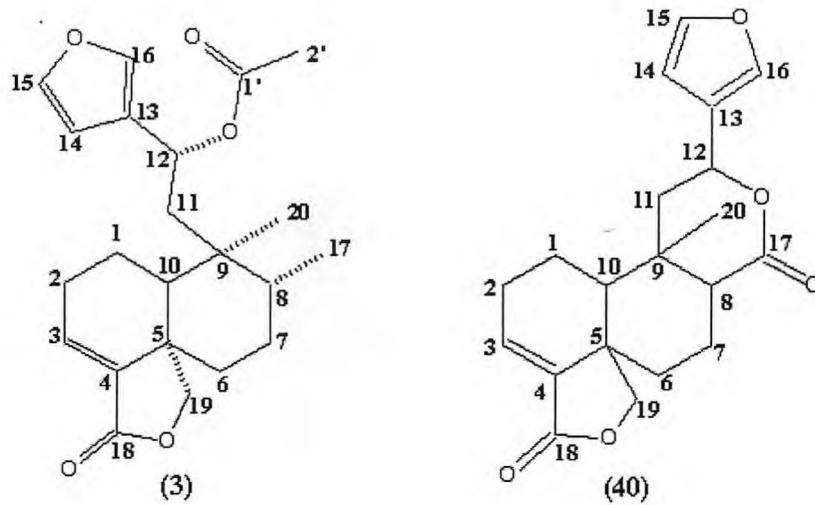


Figura 89: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de EVFIC-4 [ $\delta$ ; 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

Como pode ser visto acima, existem semelhanças entre o espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 80, p. 88) de 15,16-epoxi-12-acetoxi-3,13(16),14-clerodatrien-18,19-olídeo (EVFIC-3) e o espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 89, acima), sugerindo que o esqueleto carbônico de EVFIC-4 é semelhante ao do 15,16-epoxi-12-acetoxi-3,13(16),14-clerodatrien-18,19-olídeo. As principais diferenças observadas entre os espectros são: a ausência do sinal referente a metila do grupo acetoxi, a ausência do sinal da metila 17 e a proteção do sinal de H-12 ( $\delta$  5,94 para 5,30), no espectro de RMN  $^1\text{H}$  de EVFIC-4. Estes fatos podem ser explicados pela lactonização da metila 17, oxidada a ácido carboxílico, com o grupo hidroxila ligado ao carbono 12, que na estrutura do 15,16-epoxi-12-acetoxi-3,13(16),14-clerodatrien-18,19-olídeo, encontra-se acetilado.

A fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_6$ , proposta na tabela 25 (p. 99), para EVFIC-4, corrobora com a existência do anel lactônico, já que para esta fórmula o índice de deficiência de hidrogênio é igual a 10. Três lacunas de insaturação são referentes as duplas ligações,

outras duas são referentes as carbonilas, restando cinco que são associadas ao número de ciclos na estrutura de EVFIC-4, um a mais do que a estrutura do 15,16-epoxi-12-acetoxi-3,13(16),14-clerodatrien-18,19-olídeo (3). Desta forma pode-se sugerir a estrutura (40), para EVFIC-4.



A partir da análise do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC de EVFIC-4 (500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 90, p. 103), pode-se correlacionar os sinais dos hidrogênios com os seus respectivos carbonos. Chama atenção a correlação do hidrogênio em  $\delta$  5,30 com o carbono em  $\delta$  70,0 (C-12); confirmando que este sinal é referente a um hidrogênio ligado a carbono carbinólico. As demais correlações estão descritas na tabela 27, pág. 107.

Após a correlação dos sinais dos hidrogênios com os carbonos de EVFIC-4, pôde-se fazer uma comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  de EVFIC-4 com os dados do 15,16-epoxi-12-acetoxi-3,13(16),14-clerodatrien-18,19-olídeo, que pode ser vista na tabela 23 (p. 90).

No espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-4 (Fig. 91, p. 103), são observados todos os acoplamentos dos hidrogênios geminais esperados para a estrutura proposta para EVFIC-4, bem como os acoplamentos entre os hidrogênios vicinais. A tabela 27 (p. 108), mostra estes acoplamentos.

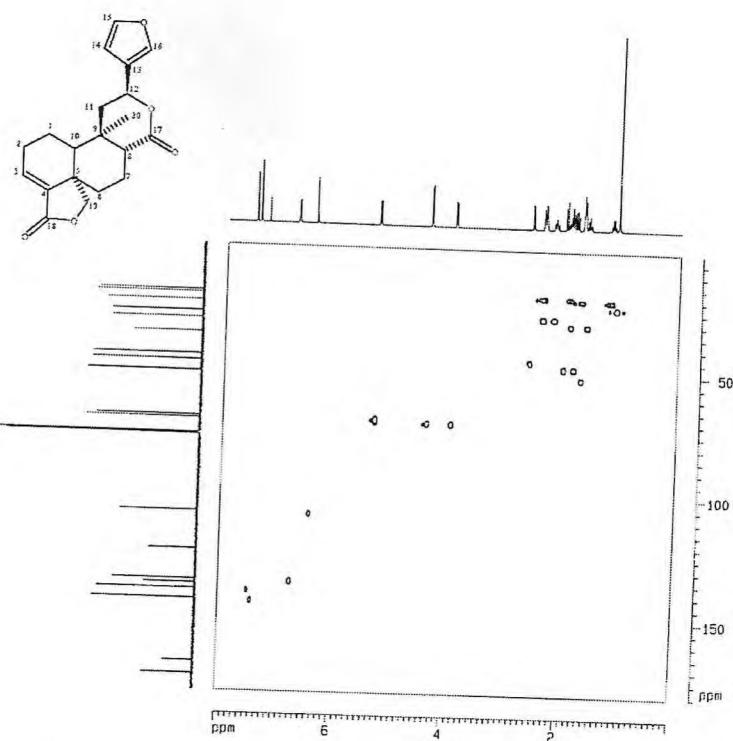


Figura 90: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC de EVFIC-4 [δ; 500 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

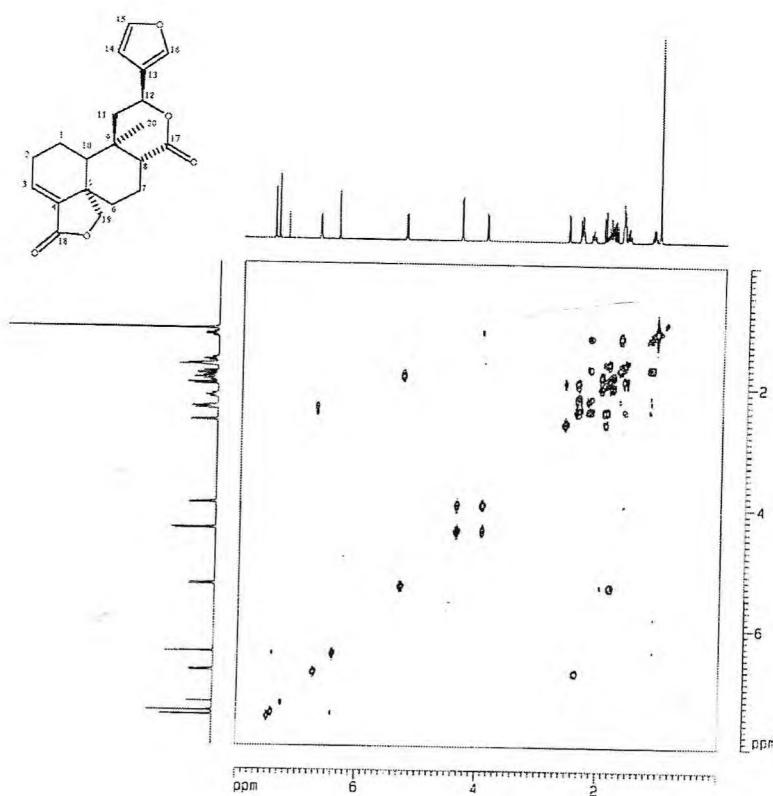


Figura 91: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY de EVFIC-4 [δ; 500 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

Tabela 26: Comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  (500 e 125 MHz, respectivamente;  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFLC-4 com o 15,16-epoxi-12-acetoxi-3,13(16),14-clerodatrien-18,19-olídeo.

#C	EVFLC-4		15,16-epoxi-12-acetoxi-3,13(16),14- -clerodatrien-18,19-olídeo	
	$\delta\text{C}$	$\delta\text{H}$	$\delta\text{C}$	$\delta\text{H}$
1	20,4	2,00 1,11	20,1	1,75 1,18
2	27,7	2,41 2,16	27,5	2,38 2,20
3	135,8	6,75	136,1	6,74
4	138,7	---	137,6	---
5	45,8	---	45,1	---
6	34,4	1,89 1,20	30,3	1,93 1,62
7	27,9	1,59 1,45	19,1	2,38 1,94
8	37,3	1,61	45,3	2,60
9	39,6	---	36,2	---
10	49,2	1,84	51,8	1,74
11	42,1	2,18 1,83	47,5	1,99 1,91
12	65,0	5,94	70,0	5,30
13	126,4	---	123,8	---
14	108,8	6,40	108,5	6,42
15	140,2	7,42	143,9	7,42
16	143,6	7,36	139,9	7,49
17	15,9	0,76	174,0	---
18	169,4	---	168,8	---
19	71,9	4,27 3,91	70,8	4,38 3,95
20	17,7	0,60	23,1	1,09
$\text{CH}_3\text{CO}$	170,2	---	---	---
$\underline{\text{CH}_3\text{CO}}$	21,7	2,01	---	---

A correlação dos sinais dos hidrogênios em  $\delta$  2,60 (H-8), 2,38 e 1,94 (H's-7), com o sinal em  $\delta$  174,0 (C-17),  $J^2_{\text{CH}}$  e  $J^3_{\text{CH}}$  respectivamente, observados no espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a longa distância  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-4 (500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 92 e 93, abaixo e p. 106, respectivamente), também corrobora com a lactonização a corrida entre os carbonos 12 e 17. Além destes acoplamentos, vários outros são observados neste espectro e podem ser vistos no quadro 8 (p. 107), bem como na tabela 27, Pág 107.

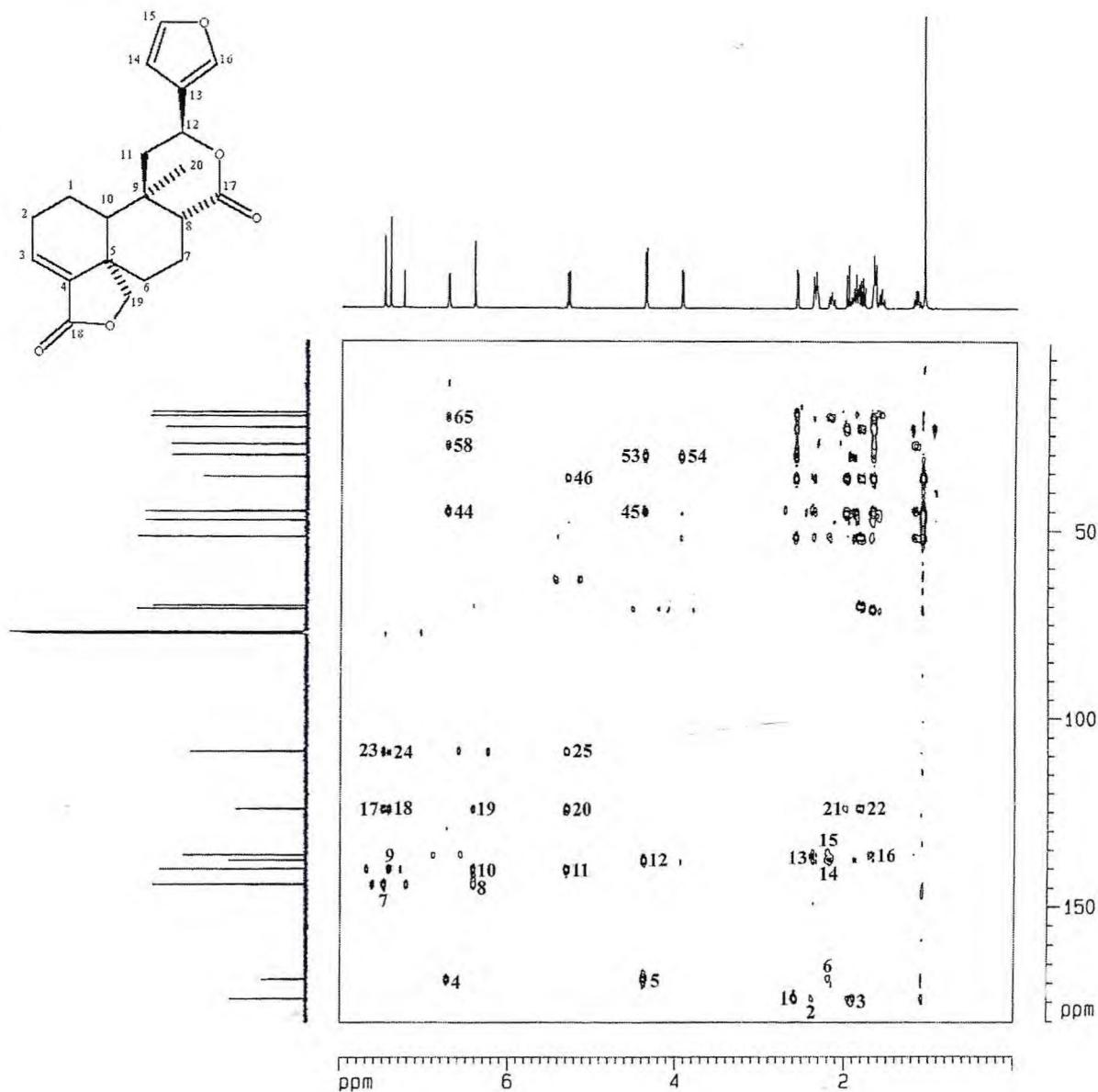


Figura 92: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-4 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

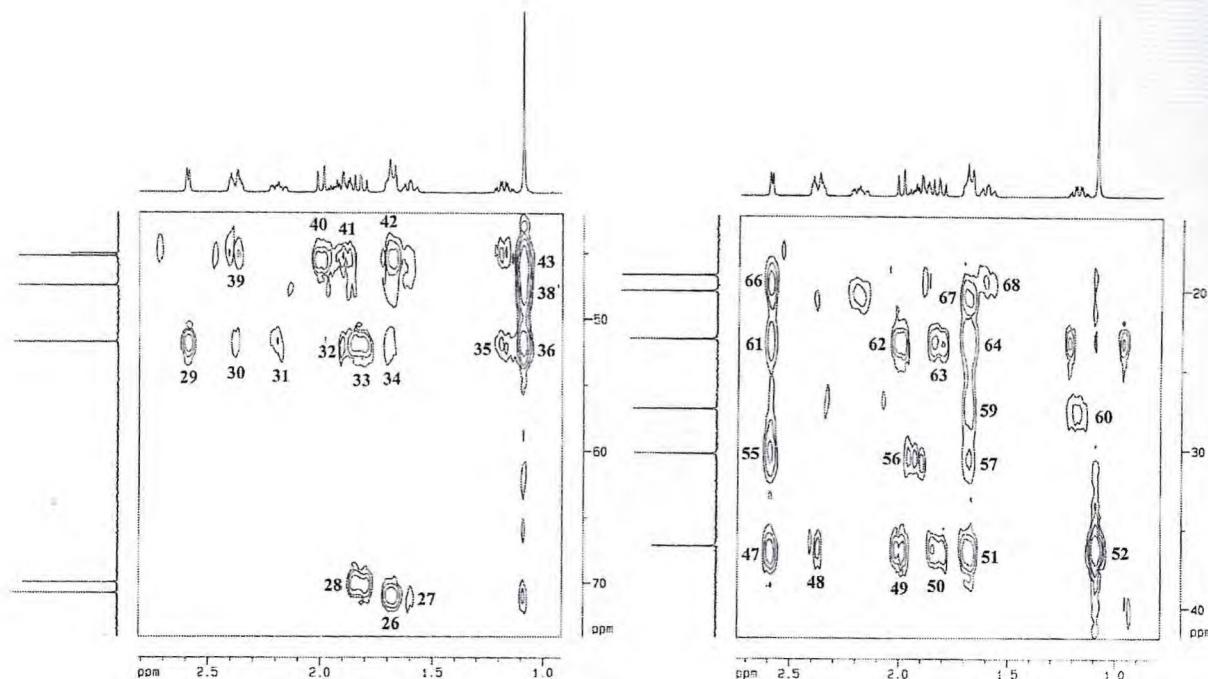
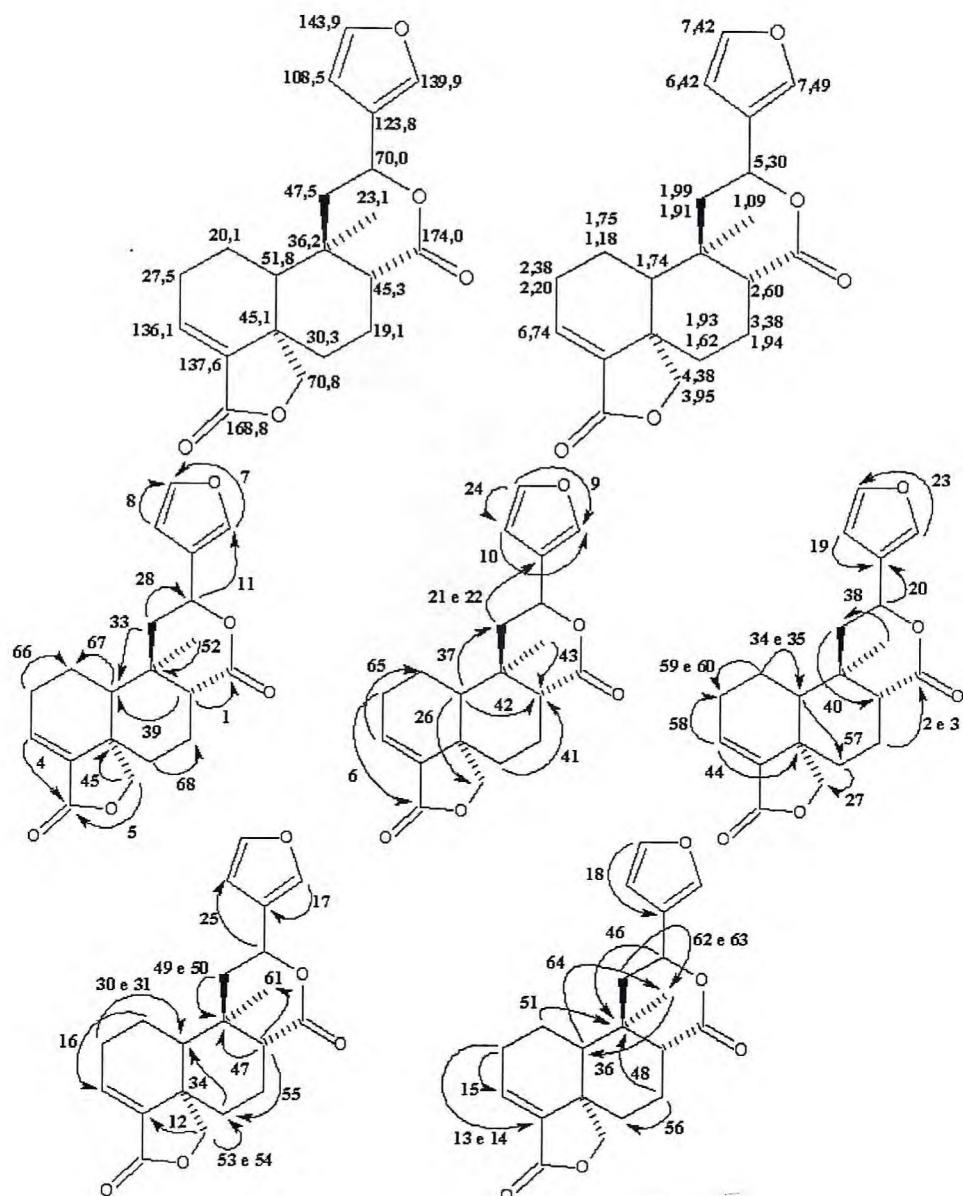


Figura 93: Diagrama de contorno das expansões das regiões de 2,8 – 1,0 ppm do espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-4 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

A literatura registra dois diterpenos com as características estruturais proposta para EVFIC-4, a bacchotricicuneatina-A (41),  $[\alpha]_{20}^D = -121,4^\circ$  (c 0,936  $\text{CHCl}_3$ ). (Wagner, 1978) e o seu epímero a 12-*epi*-bacchotricicuneatina-A (8),  $[\alpha]_{20}^D = -110^\circ$  (c 1,1;  $\text{CHCl}_3$ ). (Simirgiotis, 2000). A comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  destes compostos com EVFIC-4, é mostrado na tabela 28, p. 109. Baseado principalmente nos dados de rotação ótica e de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD, pode-se propor a identidade entre EVFIC-4 e a 12-*epi*-bacchotricicuneatina-A (42).



Quadro 8: Representação dos acoplamentos observados no espectro de  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFlC-4

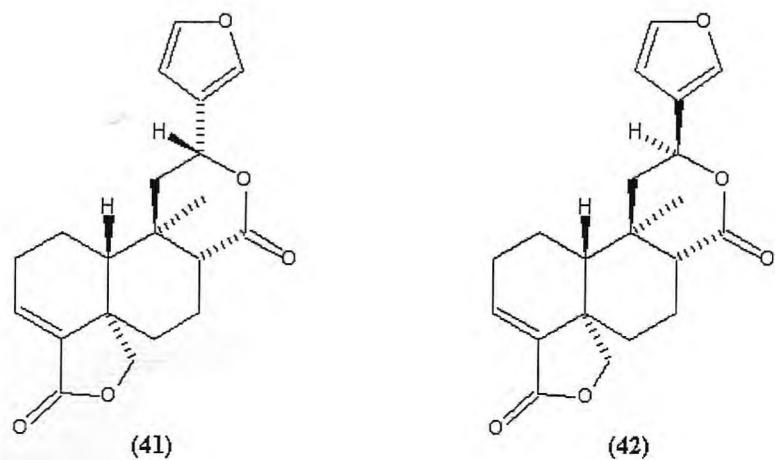


Tabela 27: Correlação Entre os Dados de RMN e a Estrutura de EVFlC-4

#C	<sup>13</sup> C-HBBD	HMQC		COSY		HMBC	
		$\delta$ C	$\delta$ H	$^1\text{H}$ , $^1\text{H}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$		$^3\text{J}_{\text{CH}}$
1	20,1	1,75		2,20; 1,18		2,20; 1,74	
			1,18	2,20; 1,75			6,74
2	27,5	2,38		6,74; 2,20		6,74; 1,18	
			2,20	2,38; 1,75; 1,18			
3	136,1	6,74		2,38		2,20	1,75
4	137,6	---		---		---	4,38; 2,38; 2,20
5	45,1	---		---		4,38	6,74
6	30,3	1,93		1,62		1,94	4,38; 3,95; 2,60; 1,74
			1,62	1,93			
7	19,1	2,38		1,94		1,62	---
			1,94	2,60; 2,38			
8	45,3	2,60		1,94		2,38	1,99; 1,93; 1,74; 1,09
9	36,2	---		---	2,60; 1,99; 1,91; 1,09		5,30; 2,38; 1,75
10	51,8	1,74		---	1,75; 1,18	2,60; 2,38; 2,20; 1,93; 1,91; 1,09	
11	47,5	1,99		1,91		---	1,74; 1,09
			1,91	5,30; 1,99			
12	70,0	5,30		1,91		1,91	---
13	123,8	---		---	7,49; 6,42; 5,30		7,42; 1,99; 1,91
14	108,5	6,42		7,42		7,42	7,49; 5,30
15	143,9	7,42		6,42		6,42	7,49
16	139,9	7,49		---			7,42; 6,42; 5,30
17	174,0	---		---	2,60		2,38; 1,94
18	168,8	---		---			6,74; 4,38
19	70,8	4,38		3,95			1,74; 1,62
			3,95	4,38			
20	23,1	1,09		---		---	2,60; 1,99; 1,91; 1,74

Tabela 28: Comparações das faixas de fusão, rotação ópticas e dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de EVFIC-4 com a bacchotricuneatina-A e a 12-*epi*-bacchotricuneatina-A.

#C	EVFIC-4 ( $\delta\text{C}$ , 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	bacchotricuneatina-A ( $\delta\text{C}$ , 67,9 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (Wagner, 1978)	12- <i>epi</i> -bacchotricuneatina-A ( $\delta\text{C}$ , 127,7 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (Simirgiotis, 2000)
1	20,1	19,4	18,9
2	27,5	27,6	27,3
3	136,1	135,8	135,8
4	137,6	137,9	137,4
5	45,1	45,0	44,2
6	30,3	32,8	33,1
7	19,1	20,0	18,9
8	45,3	53,7	53,1
9	36,2	36,9	36,9
10	51,8	47,4	50,8
11	47,5	43,4	42,5
12	70,0	69,9	71,8
13	123,8	125,0	125,4
14	108,5	108,7	108,3
15	143,9	143,7	143,7
16	139,9	139,7	139,3
17	174,0	173,4	168,4
18	168,8	168,3	171,1
19	70,8	71,0	71,1
20	23,1	19,6	13,4
$[\alpha]_D^{20}$	-104,9° (c 1,025; $\text{CHCl}_3$ )	-121,4° (c 0,936; $\text{CHCl}_3$ )	-110° (c 1,1; $\text{CHCl}_3$ )
Faixa de fusão	169,1 – 171,4 °C	239 – 241 °C	173 – 175 °C

## 5.5 Determinação Estrutural de EVFIC-5 e EVFIC-6

Tratamento cromatográfico da fração metanólica originada no isolamento do 12-*epi*-bacchotricicuneatina A (EVFIC-4), forneceu, dentre outras frações, uma que, após sucessivas cromatografias em gel de sílica, possibilitou o isolamento de EVFIC-5 e EVFIC-6 (item 7.10.3, p. 185), ambos na forma de um sólido amorfó branco, homogêneos em CCD, com faixa de fusão de 118,5 – 120,3 °C e 83,0 – 85,0 °C, respectivamente e  $[\alpha]_{D}^{20} = -14,5^\circ$  (c 0,27 EtOH) e  $[\alpha]_{D}^{20} = +18,5^\circ$  (c 2,25 CHCl<sub>3</sub>), respectivamente.

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-HBBD (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) (Fig. 94, abaixo), exibe 19 sinais. Quatro sinais, δ 77,0 (C14), 76,7 (C-14), 76,1 (C-8) e 63,4 (C-15), podem ser associados a carbonos sp<sup>3</sup> ligados a oxigênio. Os demais sinais na região entre δ 58,1 e 14,8 são referentes a carbonos sp<sup>3</sup> com diversos padrões de hidrogenação.

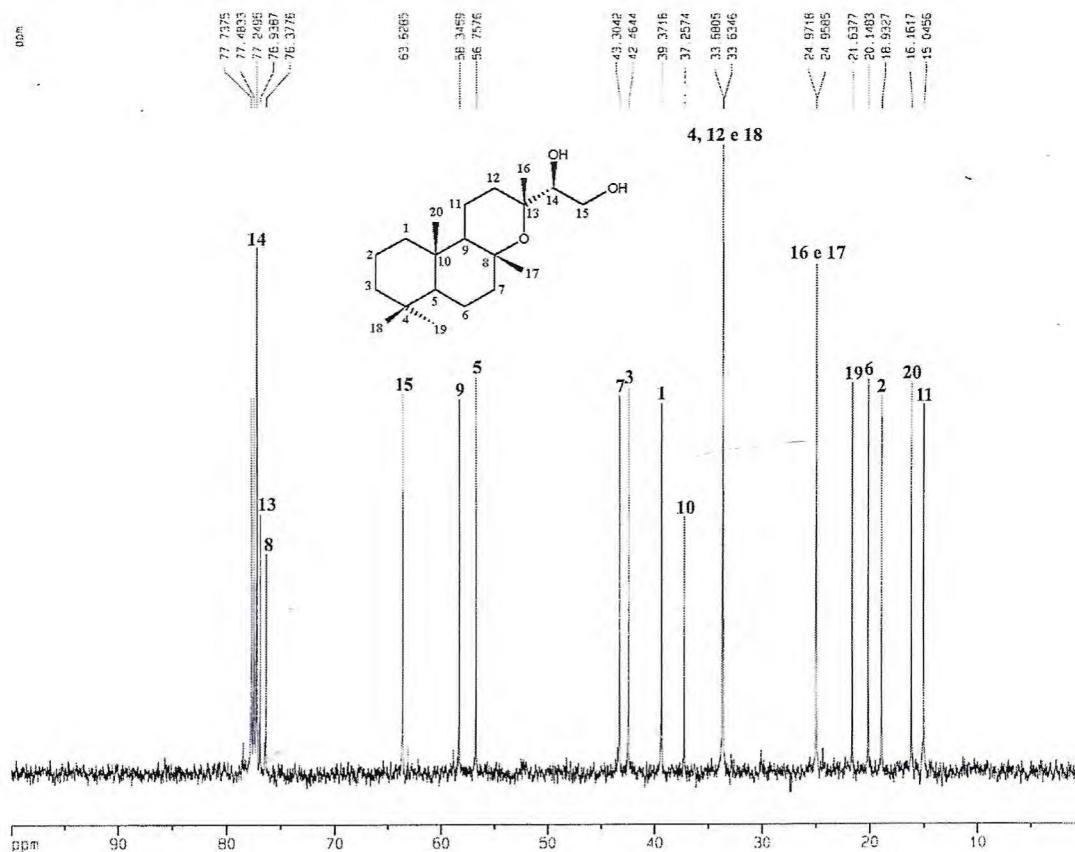


Figura 94: Espectro de RMN <sup>13</sup>C-HBBD de EVFIC-5 [δ; 125 MHz; CDCl<sub>3</sub>]

A partir da análise do espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135° (125MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Fig. 95, p. 111), pode-se concluir que na estrutura de EVFIC-5, existem 3 carbonos metílicos, 8

carbonos metilênicos, sendo um oxigenado ( $\delta$  63,4) e 4 carbonos metínicos, sendo um também oxigenado ( $\delta$  77,0). Quando a comparação entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD e  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° é feita, nota-se a ausência de 4 sinais, podendo-se concluir que há 4 carbonos não hidrogenados no esqueleto carbônico de EVFIC-5. Dentre estes 4 carbonos não hidrogenados, dois deles ( $\delta$  76,7 e 76,1), são oxigenados. A tabela 29 (p. 112), mostra os deslocamentos químicos bem como o padrão de hidrogenação dos carbonos-13 de EVFIC-5.

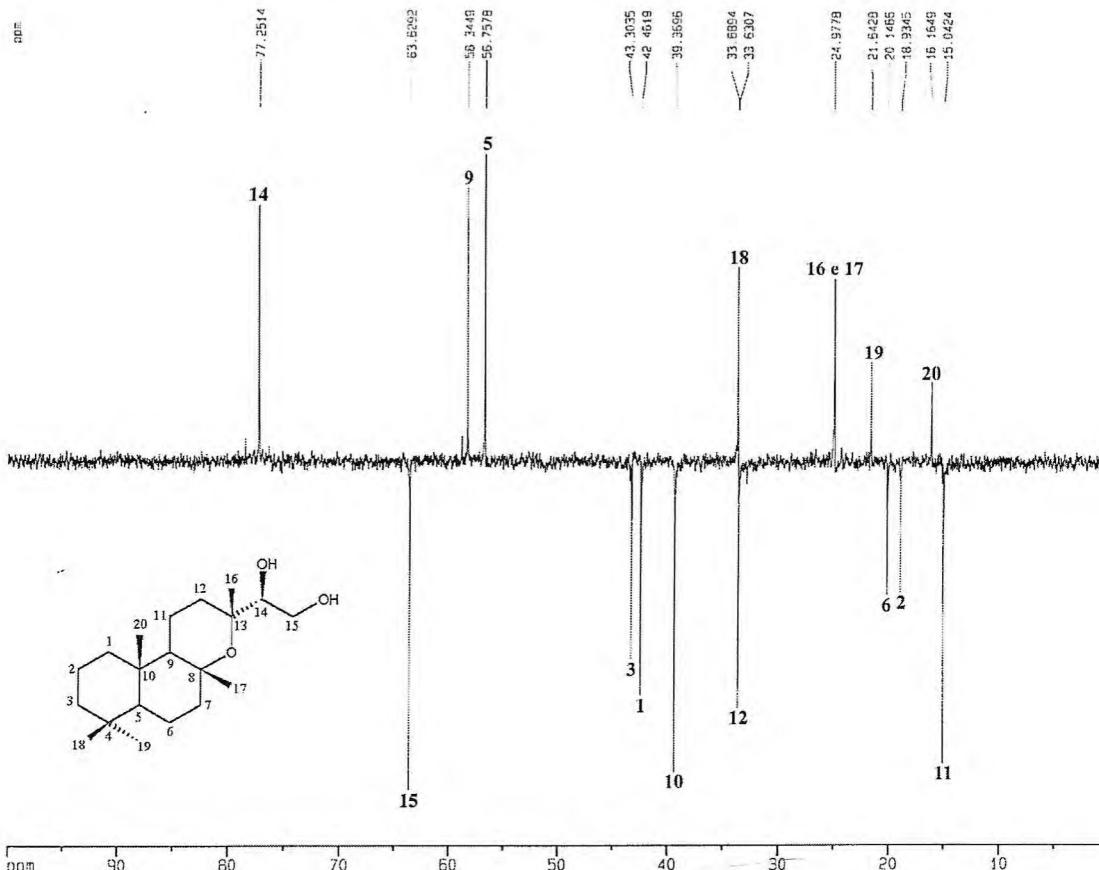


Figura 95: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

No espectro de Infravermelho (Fig. 96, p. 112), são observadas bandas largas em 3469 e 3423  $\text{cm}^{-1}$ , características de deformações axiais de hidroxilas. Há também, absorções fortes em 1116, 1097, 1060 e 1029  $\text{cm}^{-1}$ , que podem ser associadas a vibrações de deformação axial de ligações C-O. Ainda no espectro de IV, podem ser vistas bandas intensas em 2989, 2922, 2871 e 2853  $\text{cm}^{-1}$  referentes a deformações axiais de C-H alifático. A ausência de bandas acima de 3000  $\text{cm}^{-1}$ , reforça a não existência de insaturações na estrutura de EVFIC-5.

Tabela 29: Deslocamentos Químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de EVFlC-5 por Padrão de Hidrogenação.

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
76,7	77,0	63,4	33,4
76,1	58,1	43,1	24,7
37,0	56,5	42,2	24,7
33,4		39,1	21,4
		33,4	15,9
		19,9	
		18,7	
		14,8	
$\text{C}_4$	$\text{C}_3\text{H}_3$	$\text{C}_8\text{H}_{16}$	$\text{C}_5\text{H}_{15}$
$\text{C}-\text{O}-\text{C}$	$\text{C}-\text{O}$	$\text{C}-\text{O}$	$\text{C}_{20}\text{H}_{34}$
			$\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_3$

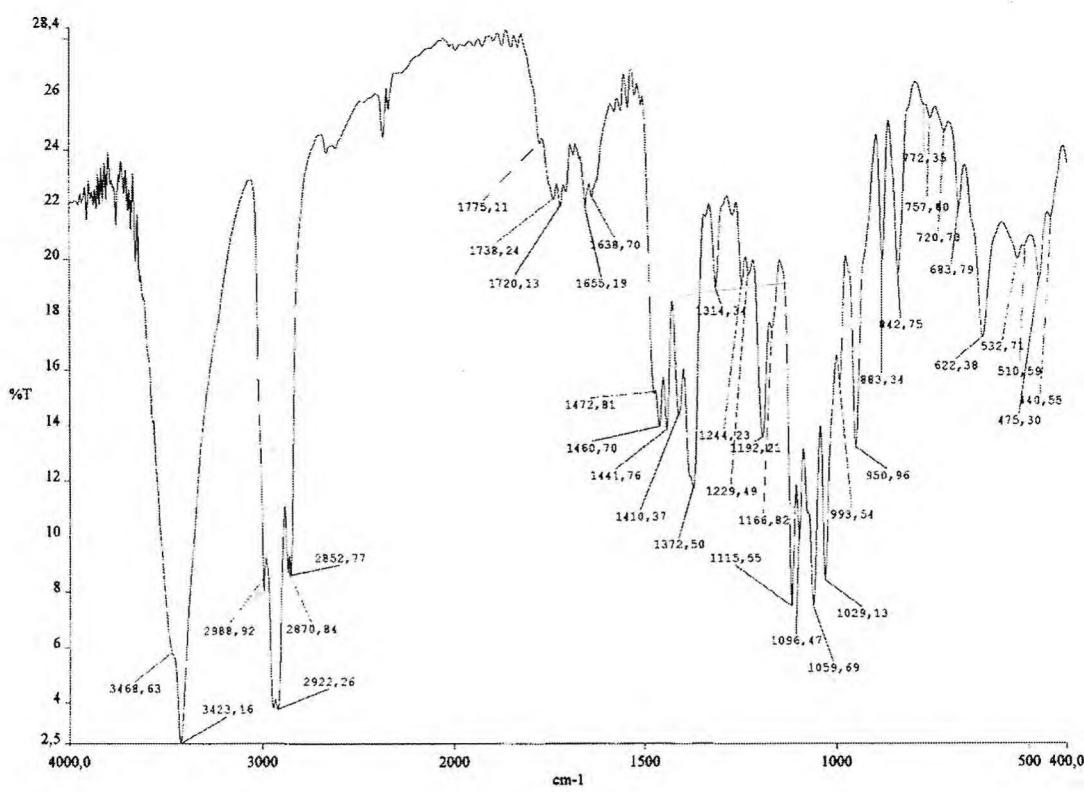
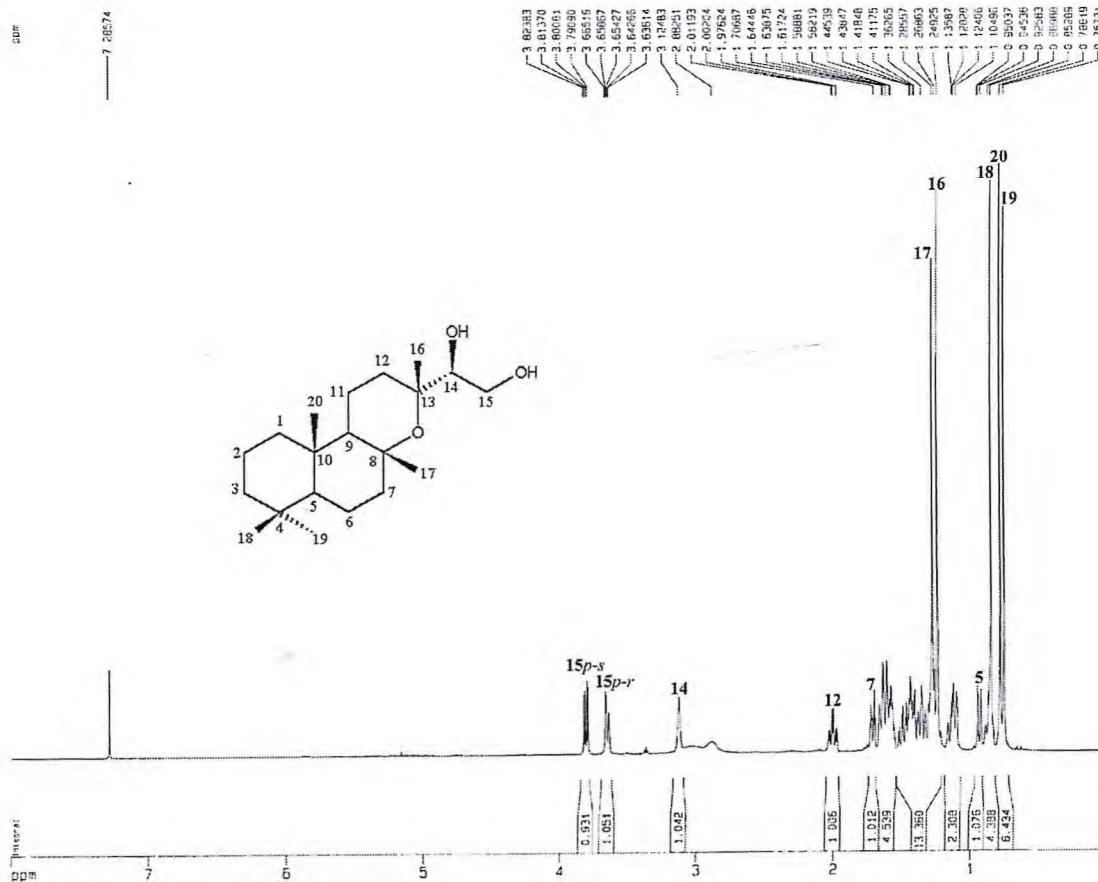


Figura 96: Espectro na região do IV de EVFlC-5 [ $\text{cm}^{-1}$ ; filme]

A partir do que foi discutido acima pode-se propor a fórmula  $C_{20}H_{36}O_3$ , com índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a 3. A ausência de sinais característicos de carbonos  $sp^2$  no espectro de RMN  $^{13}C$ -HBBD (Fig. 94, p. 110), indica que as três insaturações são referentes a 3 ciclos.

O espectro de RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 500 MHz) (Fig. 97, abaixo), mostra claramente cinco singletos intensos em  $\delta$  1,27; 1,23; 0,84; 0,77 e 0,74; referentes a grupos metilas ligados a carbonos não hidrogenados. Os valores de  $\delta$  1,27 e 1,23 sugere que estas metilas estejam adjacentes a carbonos oxigenados, que devido ao efeito induutivo retirador de elétrons torna estes hidrogênios mais desblindados. Mostra também sinais em  $\delta$  3,78 (1H, dd,  $J = 11,40$  e 5,07 Hz),  $\delta$  3,63 (1H, dd,  $J = 11,25$  e 3,26 Hz) e  $\delta$  3,11 (sl), que podem ser associados a hidrogênios carbinólicos. Podem ser notados sinais bastante largos centrados em  $\delta$  3,02 e 2,87, característicos de hidrogênios que sofrem troca química, corroborando com a existência de duas hidroxilas na estrutura de EVFIC-5. Além dos sinais acima discutidos são vistos também vários sinais entre  $\delta$  0,95 e 1,99 com diversas multiplicidades.



No espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (Fig. 98, abaixo), é observado o acoplamento entre os hidrogênios em  $\delta$  3,78 (1H, dd,  $J = 11,40$  e 5,07 Hz) e 3,63 (1H, dd,  $J = 11,40$  e 3,26 Hz) e também destes dois hidrogênios com o hidrogênio em  $\delta$  3,11 (1H, sl). Estes fatos caracterizam um sistema vicinal de hidrogênios carbinólicos isolados, onde há um grupo metilênico oxigenado, caracterizado pela absorção em  $\delta$  63,4 (C-15) no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135°, com fase negativa e também pelo caráter geminal dos hidrogênios em  $\delta$  3,78 e 3,66 ( $J = 11,40$ ) e pela correlação destes dois hidrogênios com o sinal do carbono em  $\delta$  63,4 (C-15) vista no espectro de RMN de correlação heteronuclear a uma ligação  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC (detecção no canal do hidrogênio) (Fig. 99, p. 115); bem como um grupo metínico oxigenado caracterizado a partir do acoplamento do hidrogênio em  $\delta$  3,11 com os hidrogênios em  $\delta$  3,78 e 3,63 ( $J = 5,07$  e 3,26 Hz, respectivamente), com valores de constante de acoplamento compatíveis com um sistema de hidrogênios vicinais. O espectro de RMN  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC mostra também a correlação do outro hidrogênio carbinólico em  $\delta$  3,11 com o carbono em  $\delta$  77,0 (C-14), além das correlações entre os sinais de carbonos e hidrogênios, permitindo a associação de cada hidrogênio com seu respectivo carbono. Estes dados são apresentados na tabela 30, p. 120. A tabela 30 (p. 120), também mostra todos os acoplamentos entre os hidrogênios da estrutura de EVFIC-5, observados no espectro de RMN  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY.

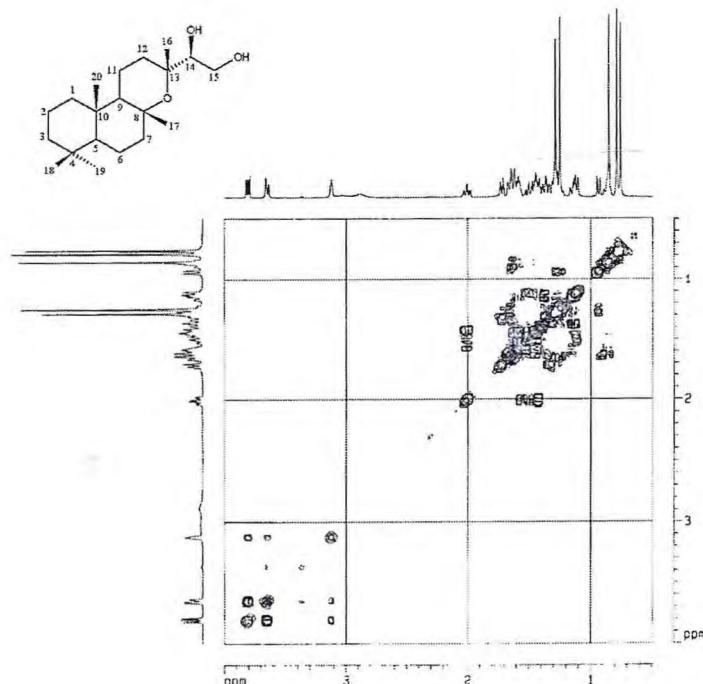


Figura 98: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

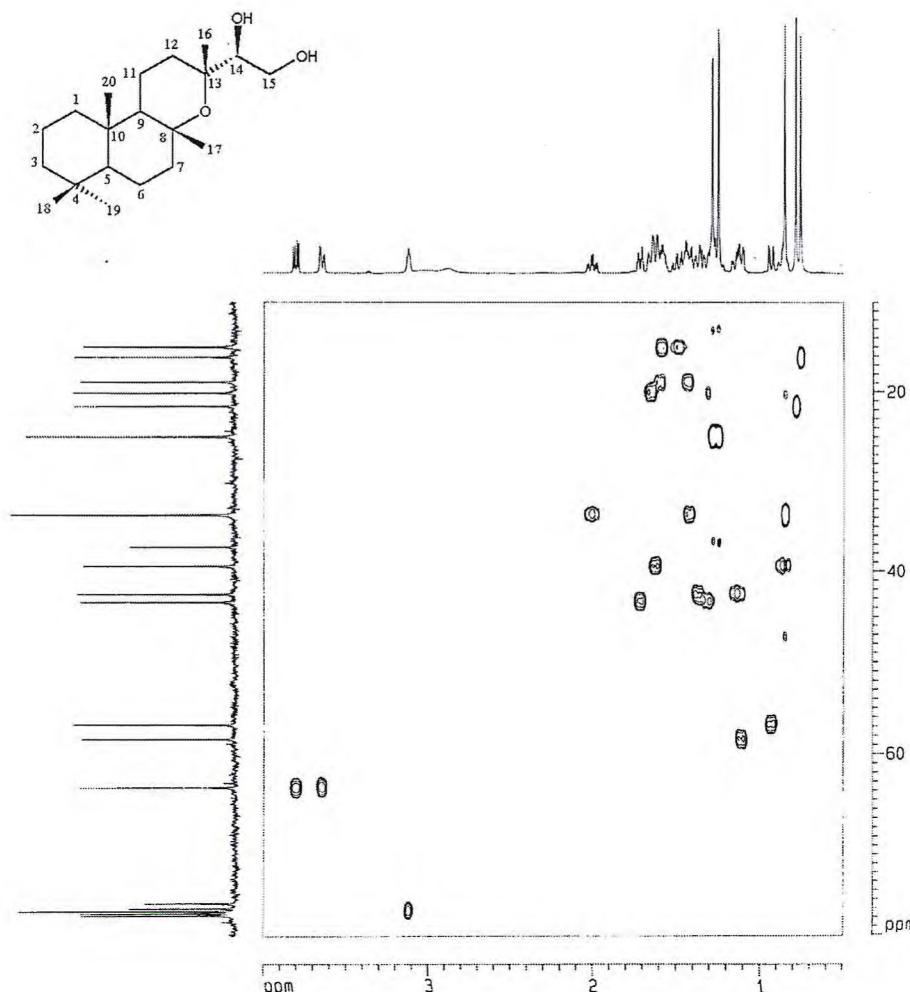


Figura 99: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 125 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

No espectro de RMN de correlação heteronuclear a longa distância  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC (detecção no canal do hidrogênio) (Fig. 100 e 101, p. 116), pode-se observar os acoplamentos à longa distância ( $^2J_{\text{CH}}$  e  $^3J_{\text{CH}}$ ), entre os hidrogênios e carbonos pertencentes a EVFIC-5. Estes dados podem ser vistos no quadro 9 (p. 117) e na tabela 30, p. 120.

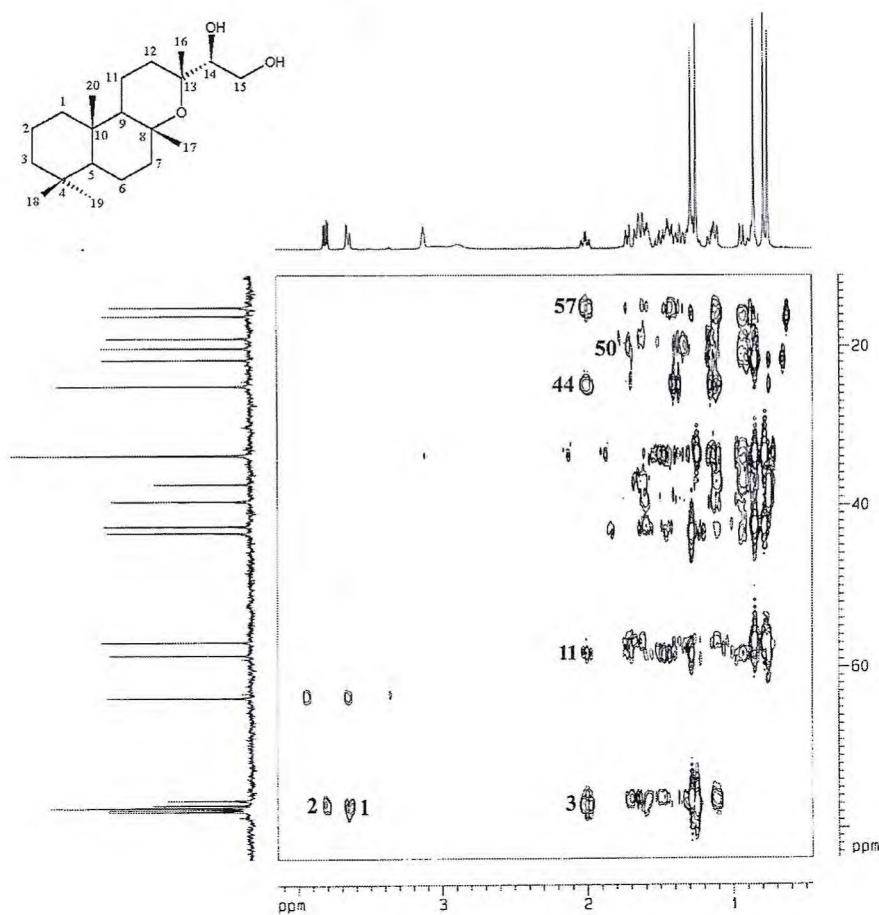


Figura 100: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFLC-5 [ $\delta$ ; 125 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

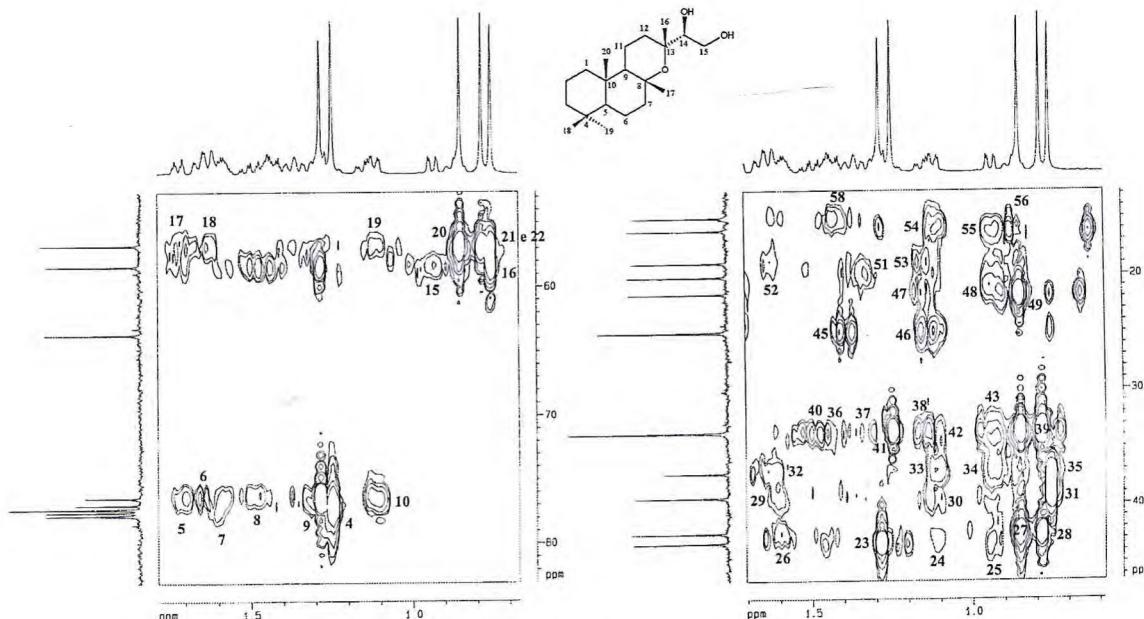
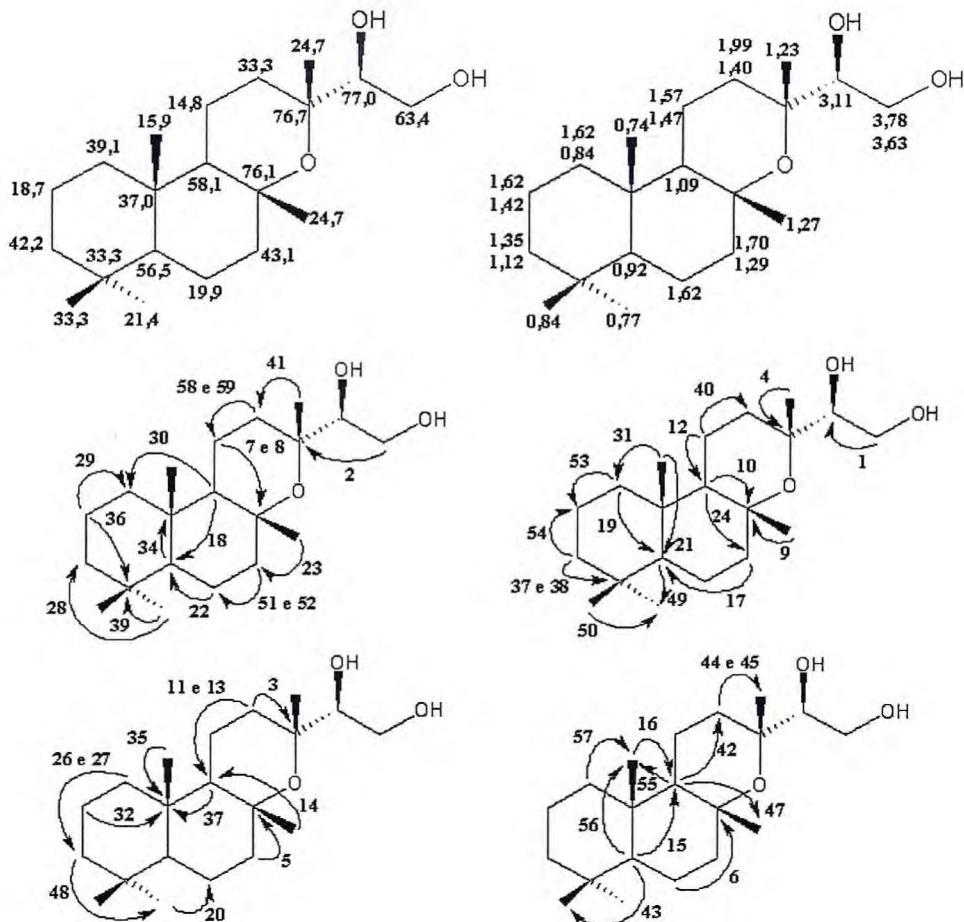


Figura 101: Diagramas de contorno das expansões da região entre 1,7 e 0,0 ppm do espectro  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]



Quadro 9: Representação dos acoplamentos observados no espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFlC-5

A partir da análise do espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY (Figs. 102 e 103, Pág 117), pôde-se correlacionar inequivocamente os sinais de RMN  $^1\text{H}$  dos hidrogênios pertencentes aos anéis cicloexânicos da estrutura de EVFLC-5. Este espectro também permitiu estabelecer a estereoquímica relativa dos grupos metilas ligados aos anéis cicloexânicos. A tabela 30 (p. 120) e o quadro 10 (p. 119), mostram estes dados.

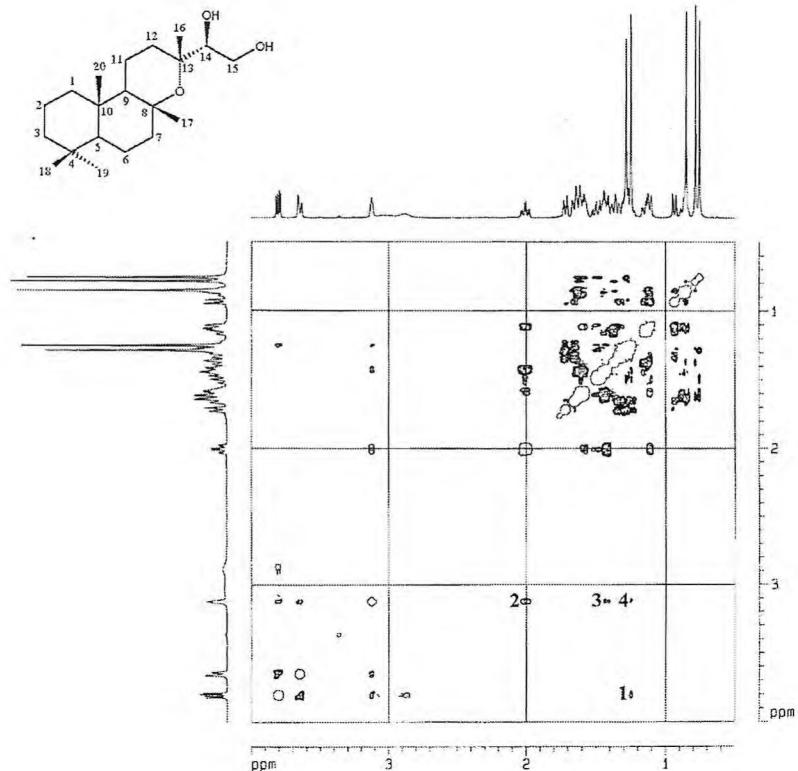


Figura 102: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -NOESY de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

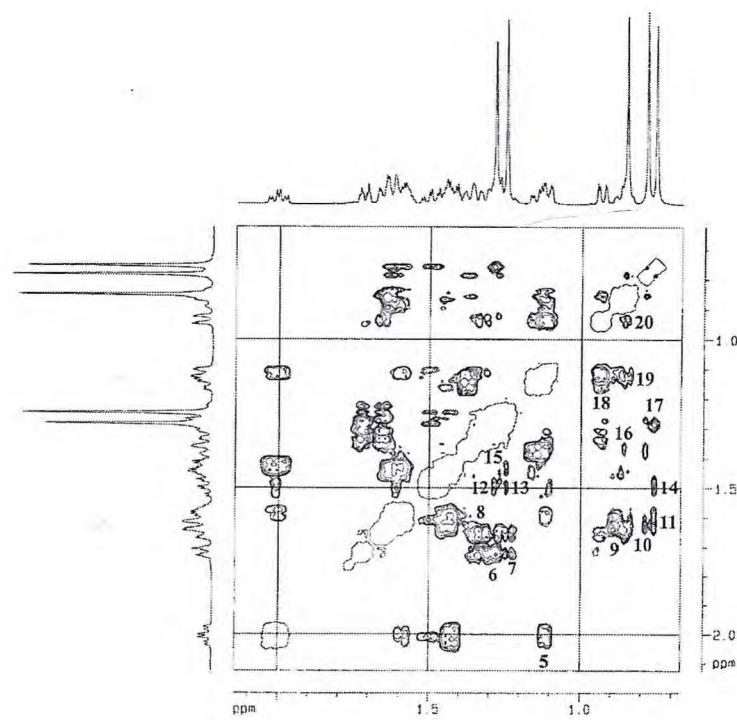
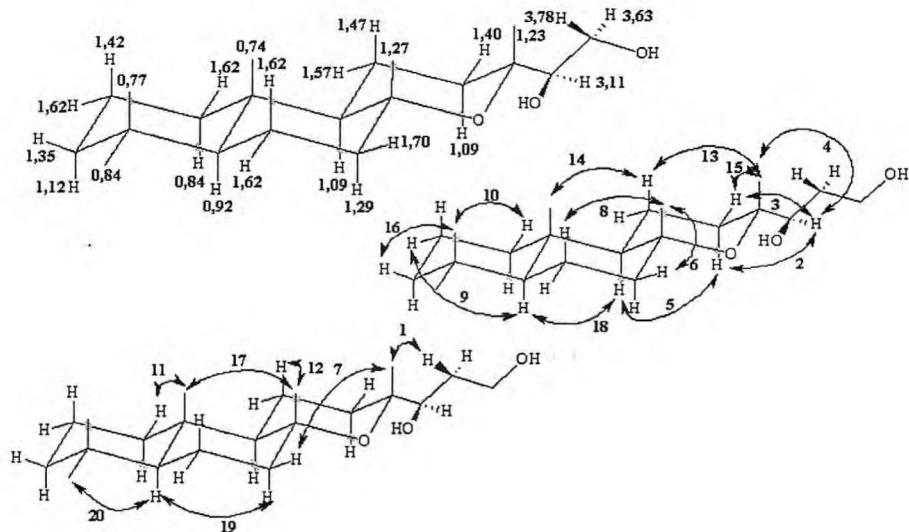


Figura 103: Diagrama de contorno da expansão da região entre 2,1 e 0,7 ppm do espectro do espectro  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -NOESY de EVFIC-5 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]



Quadro 10: Representação dos acoplamentos observados no espetro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY de EVFIC-5

Os dados acima discutidos permitem propor a estrutura (43) de um diterpeno labdânico trioxigenado para EVFIC-5, denominado de barbatol por v. Castenn em 1975 (v. Castenn, 1975), quando foi isolado pela primeira vez. Comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD, rotação óptica e faixa de fusão (Tab. 31, Pág 121), confirmam a identidade entre os dois compostos.

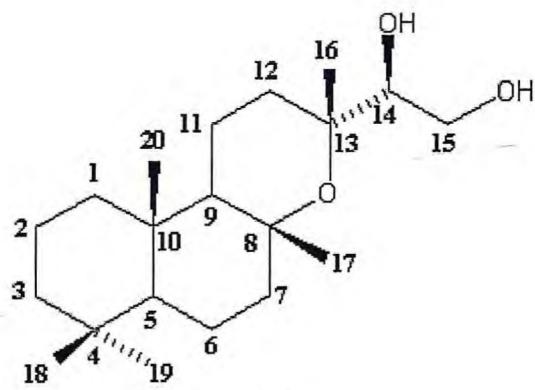


Tabela 30: Correlação Entre os Dados de RMN e a Estrutura de EVFlC-5

	<sup>13</sup> C-HBBD	HMQC	COSY		HMBC		NOESY
#C	$\delta_C$	$\delta_H$	$^1H, ^1H$	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$	$^1H, ^1H$	
1	39,1	1,62	0,84	1,62	1,09; 0,74	0,77	
		0,84	1,62				---
2	18,7	1,62	1,42	1,62; 1,12	---	0,92	
		1,42	1,62				---
3	42,2	1,35	1,12	---	1,62; 0,84; 0,77	---	
		1,12	1,35				---
4	33,3	---	---	1,35; 1,12; 0,77	1,42		---
5	56,5	0,92	1,62	0,62	1,70; 1,09; 0,84; 0,77; 0,74	1,63; 1,39; 1,09; 0,84	
6	19,9	1,62	0,92	1,70; 1,29		1,27	
7	43,1	1,70	1,29	---	1,27; 1,09; 0,92	1,37; 1,23	
		1,29	1,70				0,93
8	76,1	---	---	1,70; 1,27; 1,09	1,62; 1,57; 1,47		---
9	58,1	1,09	1,47	1,47	1,99; 1,40; 1,27; 0,92; 0,74		3,11
10	37,0	---	---	1,09; 0,92; 0,74	1,62		---
11	14,8	1,57	1,99; 1,40	1,99; 1,40	1,37; 1,23; 0,74	---	
		1,47	1,99				
12	33,3	1,99	1,57; 1,47; 1,40	1,47	1,23; 1,09	3,11; 1,09	
		1,40	1,99; 1,57				3,11; 1,23
13	76,7	---	---	1,99; 1,23	3,78		---
14	77,0	3,11	3,78; 3,63	3,63		1,99; 1,40; 1,23	
15	63,4	3,78	3,63	---	1,23	---	
		3,63	3,78; 3,11				
16	24,7	1,23	---	---	1,99; 1,40; 1,12	3,78; 3,11; 1,40	
17	24,7	1,27	---	---	1,09	1,70; 1,47; 0,74; 1,62	
18	33,3	0,84	---	---	0,92		0,92
19	21,4	0,77	---	---	1,12; 0,92; 0,84		1,62; 1,35
20	15,9	0,74	---	---	1,09; 0,92; 0,84	1,62; 1,47; 1,27	

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-6 (Fig. 104, P. abaixo), mostrou-se semelhante ao espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do barbatol (Fig. 94, P. 109). Pode-se ver 20 linhas espectrais com valores parecidos de deslocamento químico dos carbonos que compõe a estrutura do barbatol. A principal diferença é observada nos valores dos carbonos oxigenados. No barbatol observa-se o sinal de C-13, C-14 e C-15 em  $\delta$  76,7; 77,0 e 63,4 respectivamente. Já em EVFIC-6 os sinais destes mesmos carbonos são observados em  $\delta$  74,2; 75,7 e 63,4; respectivamente. A tabela 31 (p. 122), traz a comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de EVFIC-6 com o barbatol.

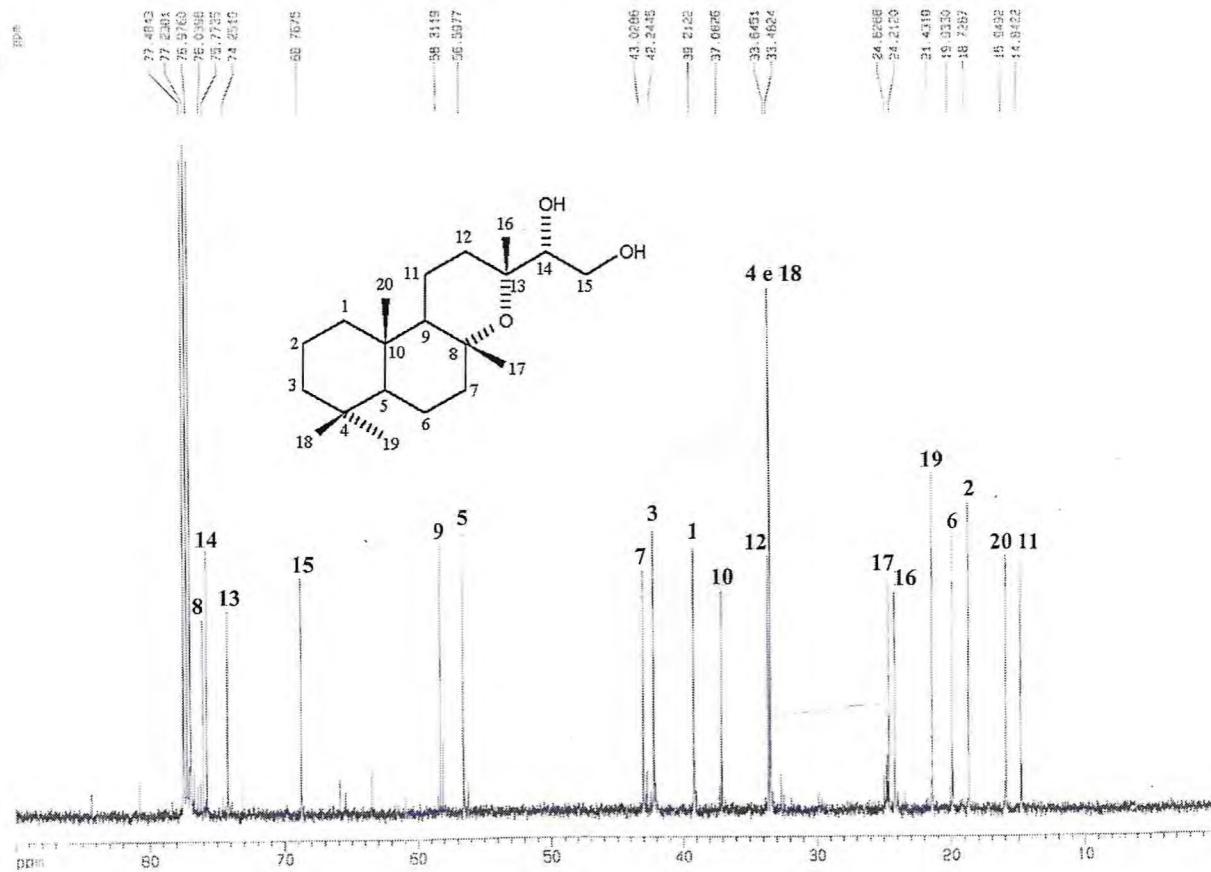


Figura 104: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-6

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-6 (Fig. 105, P. 122), também mostrou-se muito semelhante ao espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do barbatol (Fig. 97, P. 112). Porém diferenças são notadas quando os sinais referentes aos hidrogênios dos carbonos carbonílicos C-14 e C-15 são observados. No espectro do barbatol, os sinais referentes aos hidrogênios H-14 ( $\delta$  3,11 (1H, s) e H's-15,  $\delta$  3,78 (1H, dd,  $J = 11,40$  e  $5,07$  Hz) e  $\delta$  3,63 (1H, dd,  $J = 11,25$  e  $3,26$  Hz), mostram diferenças nos valores de deslocamentos

químicos, nas constantes de acoplamento e principalmente na suas multiplicidades, quando comparados com os sinais atribuídos a H-14 e H's-15 no espectro de EVFIC-6, em  $\delta$  3,72 (1H, dd,  $J = 8,63$  e  $2,89$  Hz),  $\delta$  4,53 (1H, dd,  $J = 11,64$  e  $2,89$  Hz) e  $\delta$  4,45 (1H, dd,  $J = 11,64$  e  $8,63$  Hz), respectivamente. Estes fatos podem ser explicados pela inversão da estereoquímica do carbono carbinólico C-14, que afeta os parâmetros de RMN  $^1\text{H}$ , dos hidrogênios vizinhos ligados ao carbono C-15. A figura 106 (p. 124), mostra as conformações e as projeções de Newman para os carbonos 14 e 15 do barbatol e de EVFIC-6.

Tabela 31: Comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-6 com o barbatol.

#C	EVFIC-6	barbatol
1	39,2	39,1
2	18,7	18,7
3	42,3	42,2
4	33,5	33,3
5	56,6	56,5
6	19,9	19,9
7	43,0	43,1
8	76,0	76,1
9	58,3	58,1
10	37,1	37,0
11	14,8	14,8
12	33,6	33,3
13	74,2	76,7
14	75,7	77,0
15	68,8	63,4
16	24,2	24,7
17	24,6	24,7
18	33,5	33,3
19	21,4	21,4
20	16,0	15,9

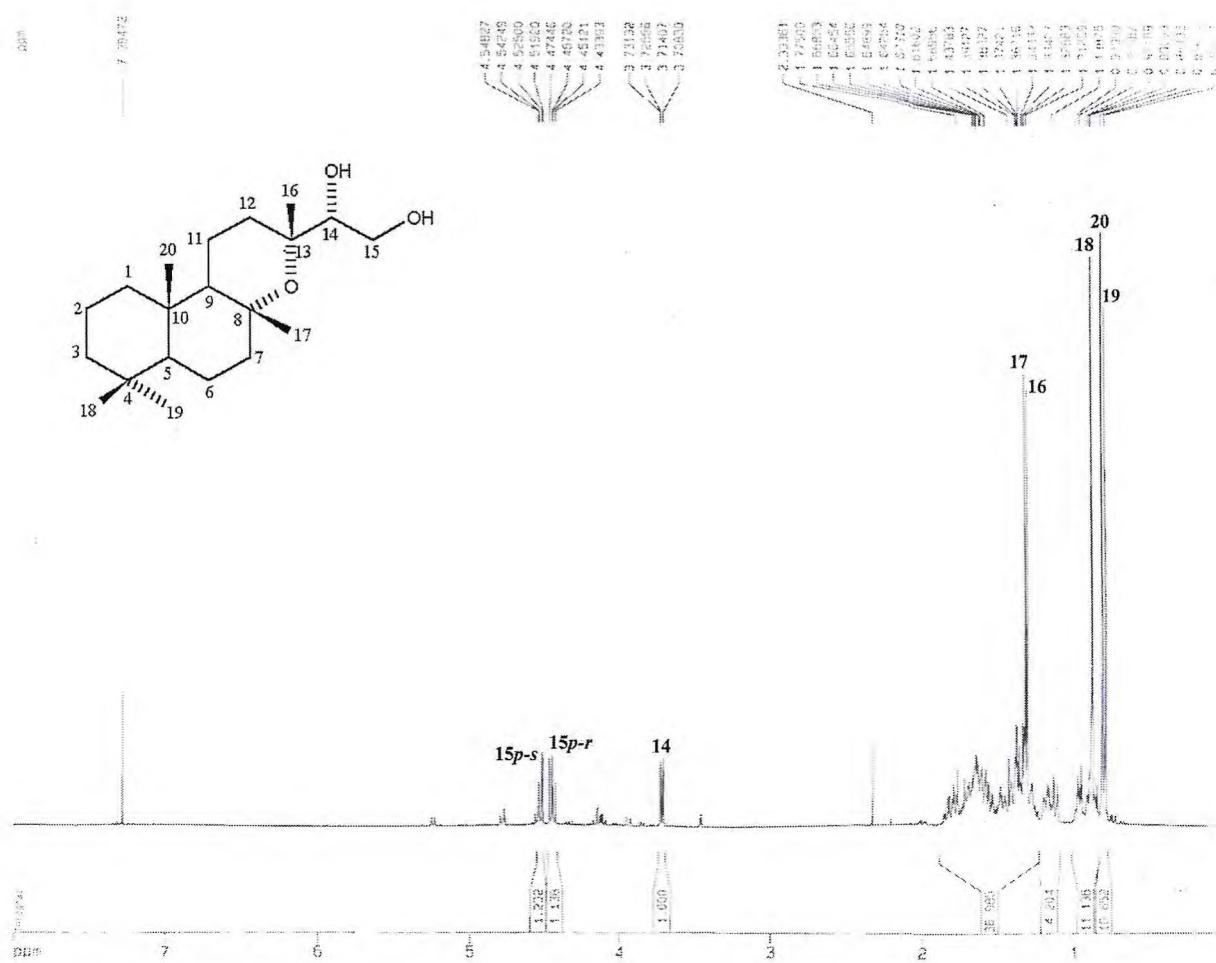


Figura 105: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFlC-6

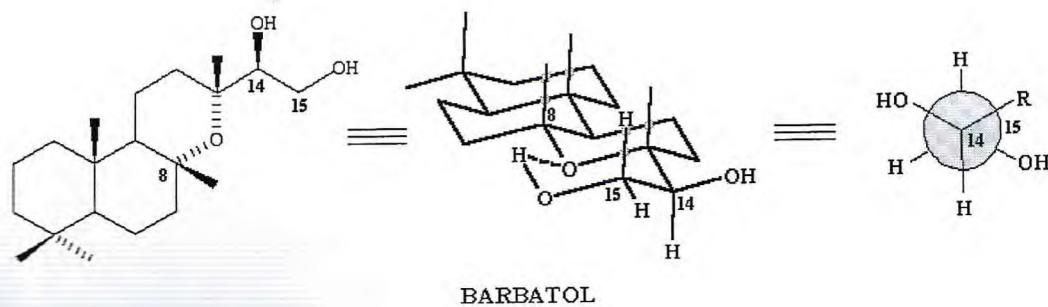
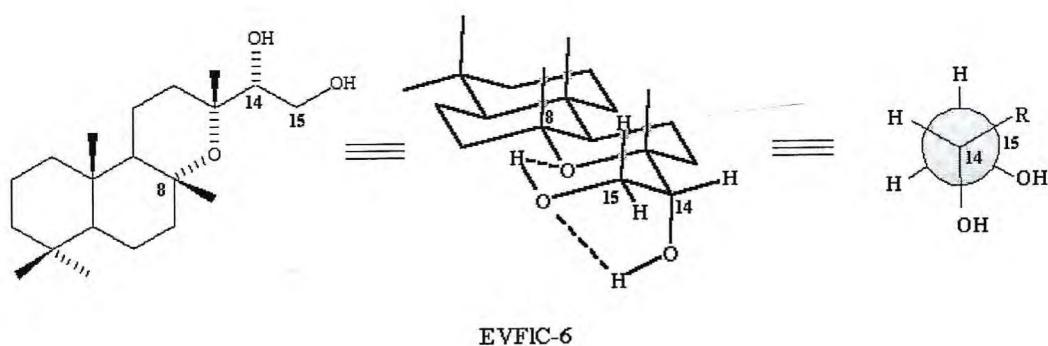


Figura 106: Conformações propostas para EVFIC-6 e o barbatol.

Desta forma a estrutura (44), epímera do barbatol, é proposta para EVFIC-6. Levantamento bibliográfico mostra que esta substância já havia sido isolada por L. Zhou (Zhou, 1995), de *Grindelia tarapacana*, sendo denominada tarapacol. A tabela 32 (p. 125), tráz uma comparação das faixas de fusão, rotação ótica e dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBB.

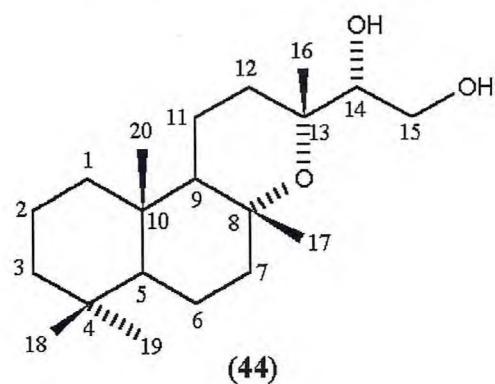


Tabela 3 2: Comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD, rotação óptica e faixa de fusão de EVFLC-6 com o tarapacol.

#C	EVFLC-6	tarapacol
	( $\delta\text{C}$ , 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	( $\delta\text{C}$ , 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (Zhou, 1995)
1	39,2	39,0
2	18,7	18,5
3	42,3	42,8
4	33,5	33,2
5	56,6	53,6
6	19,9	20,6
7	43,0	43,9
8	76,0	75,7
9	58,3	56,6
10	37,1	37,2
11	14,8	14,4
12	33,6	29,3
13	74,2	76,7
14	75,7	75,8
15	68,8	63,6
16	24,2	25,4
17	24,6	25,3
18	33,5	33,3
19	21,4	21,4
20	16,0	15,1
$[\alpha]_{20}^D$	+18,5° (c 2,25; $\text{CHCl}_3$ )	+21° (c 2,23; $\text{CHCl}_3$ )
Faixa de fusão	83,0 – 85,0 °C	77 – 79 °C

## 5.6 Determinação Estrutural de EVFIC-7

Tratamento cromatográfico da fração metanólica originada no isolamento do 12-*epi*-bacchotriccuneatina A (EVFIC-4), forneceu, dentre outras frações, uma que, após cromatografias em gel de sílica, possibilitou o isolamento de EVFIC-7 (item 7.10.3, p. 185), na forma de um óleo viscoso, homogêneo em CCD.

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) (Fig. 107 e 108, p. 127) de EVFIC-7, são observados 20 sinais. Dois deles,  $\delta$  174,1 (C-15) e 170,1 (C-13) podem ser associados a carbonos carbonílicos  $\alpha,\beta$ -insaturados, assim como ocorre na estrutura da lactona do ácido hautriwaico acetilada em C-12 (item 5.3, p. 85), e na estrutura da bacchotriccuneatina (item 5.4, p. 97). Porém quando a região de carbonos  $\text{sp}^2$  é observada, somente cinco sinais são visíveis ( $\delta$  140,8 (C-5); 138,2 (C-9); 122,2 (C-4); 121,9 (C-10) e 115,7 (C-14)). Este fato é indicativo que um dos sinais atribuídos a carbonila,  $\delta$  170,1 (C-13); na verdade trata-se de um carbono  $\text{sp}^2$  olefínico. O elevado valor de absorção do carbono atribuído a este sinal, pode ser explicado por este encontrar-se conjugado a carbonila da lactona, tornando-se parcialmente deficiente em elétrons. A presença de um anel lactônico, é reforçada pela absorção em  $\delta$  66,6 (C-20), que é atribuída ao carbono  $\text{sp}^3$  oxigenado deste grupo. A existência de mais um carbono  $\text{sp}^3$  oxigenado na estrutura de EVFIC-7, é evidenciada pela presença de um sinal em  $\delta$  73,1 (C-18). Os demais sinais, encontram se na região de carbonos  $\text{sp}^3$  saturado ( $\delta$  44,6 – 16,3), apresentando diversos padrões de hidrogenação.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) (Fig. 109, p. 128) de EVFIC-7, mostra a existência de 4 carbonos metínicos, dos quais 3 são  $\text{sp}^2$ , 8 carbonos metilênicos e 3 carbonos metílicos. É observado que os sinais associados a carbonos oxigenados,  $\delta$  73,1 (C-18) e 66,6 (C-20); são de carbonos metilênicos, indicando existência de uma hidroxila terminal na estrutura de EVFIC-7, já que um dos sinais é atribuído ao carbono  $\text{sp}^3$  oxigenado da lactona. A ausência de 5 sinais, quando o este espectro é comparado com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) (Fig. 107, p. 127), indica a existência de 5 carbonos não hidrogenados no esqueleto carbônico de EVFIC-7. Os valores de deslocamentos químicos, bem como o padrão de hidrogenação dos carbonos de EVFIC-7, podem ser vistos na tabela 33 (p. 128).

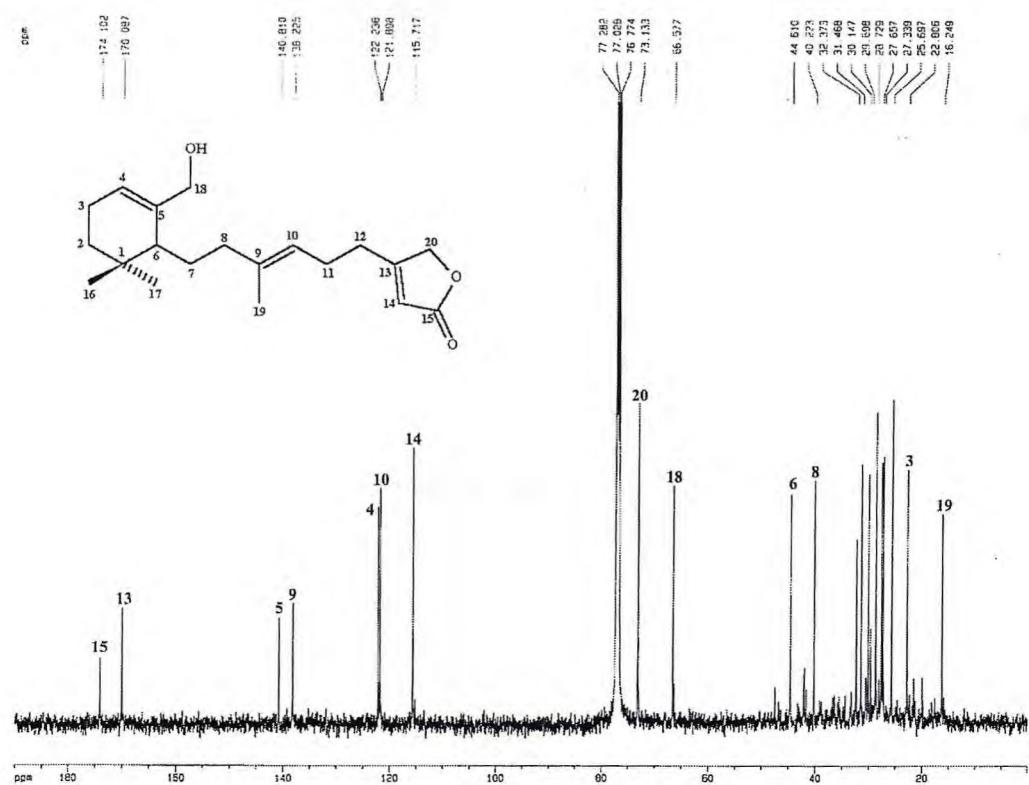


Figura 107: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFlC-7

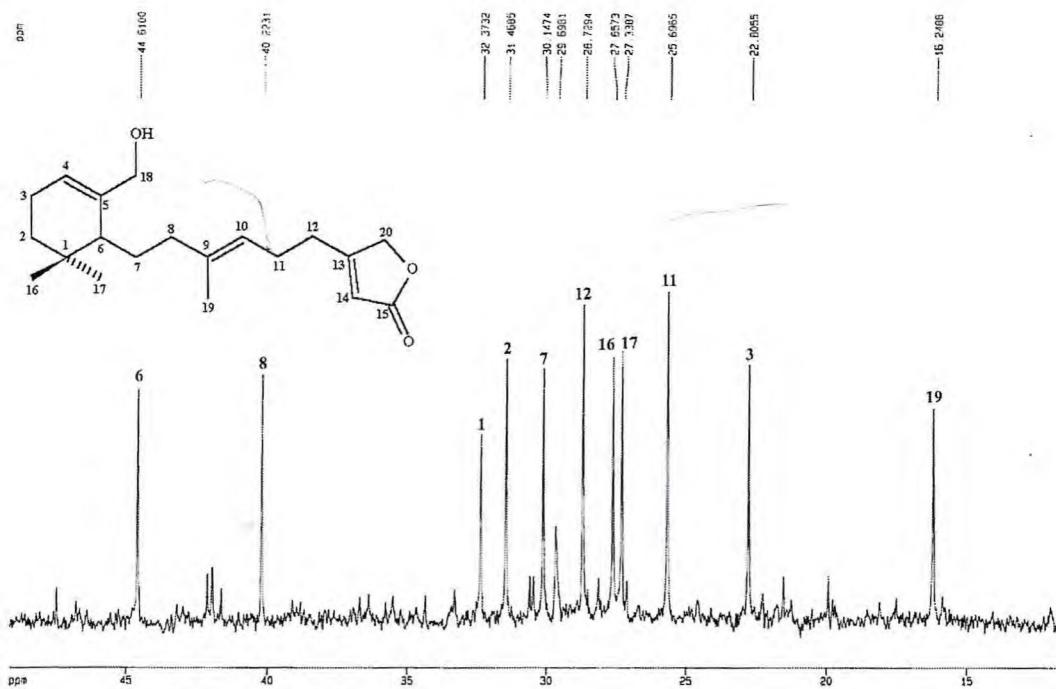


Figura 108: expansão da região entre 50-10 ppm do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFlC-7

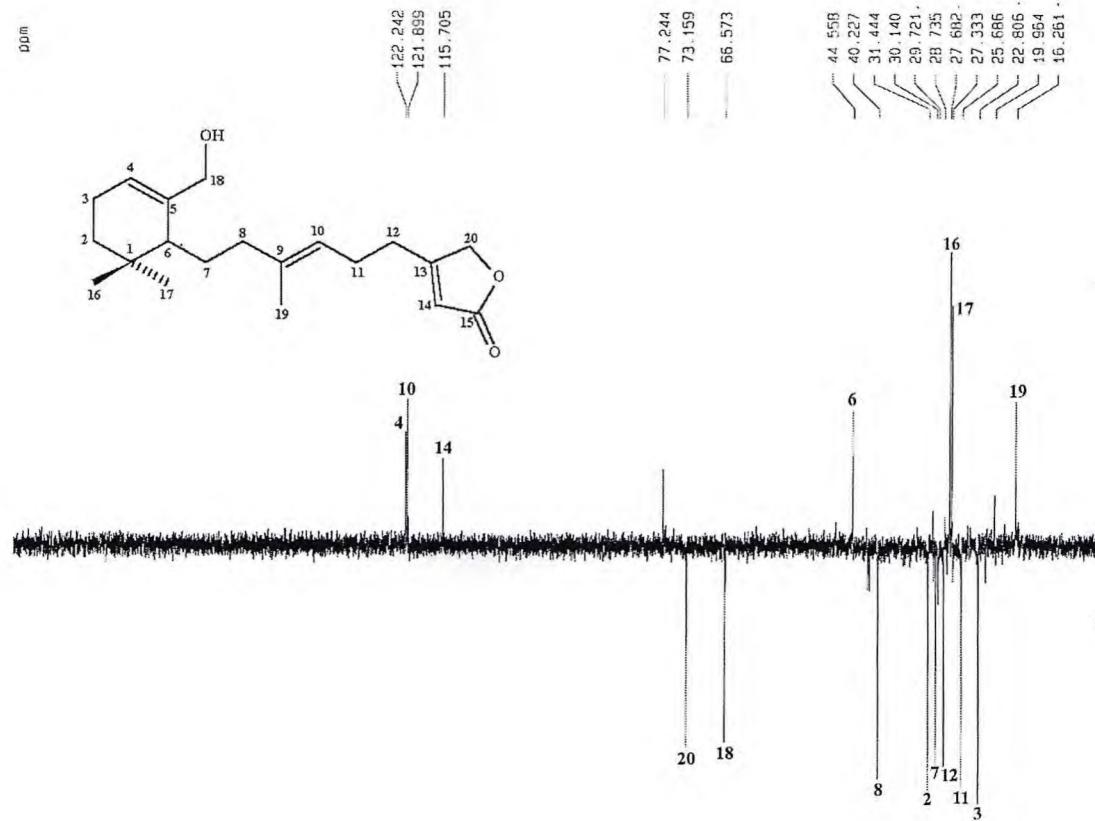


Figura 109: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVF1C-7

Tabela 33: Deslocamentos Químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de EVFIC-7 por Padrão de Hidrogenação.

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
174,1	122,2	73,1	27,6
170,1	121,9	66,6	27,3
140,8	115,7	40,2	16,2
138,2	44,6	31,5	
32,4		30,1	
		28,7	
		25,7	
		22,8	
C <sub>5</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub>	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>9</sub>
			C <sub>20</sub> H <sub>29</sub>
C=O		C—O—C	
		C—OH	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>

A partir dos dados descritos na tabela 33 (p. 128), pode-se propor a fórmula  $C_{20}H_{30}O_3$ , com índice de deficiência de hidrogênio (IDH), igual a 6. O anel lactônico  $\alpha,\beta$ -insaturado contribui com 3 deficiências, outras duas são decorrentes de duplas ligações. Desta forma a estrutura de EVFIC-7, apresenta mais um anel.

O espectro de RMN  $^1H$  (500 MHz,  $CDCl_3$ ), de EVFIC-7 (Fig. 110, abaixo), mostra a existência de 4 sinais na região de hidrogênios olefinicos:  $\delta$  5,82 (1H, d,  $J = 1,44$ ); 5,59 (1H, sl); 5,06 (1H, t,  $J =$ não determinado); 4,70 (1H, d,  $J = 1,46$ ). Porém, o espectro de RMN  $^{13}C$ -DEPT 135° (Fig. 109, p. 128), mostra que somente três carbonos olefinicos são hidrogenados. Desta forma uma das absorções não pertence a carbono  $sp^2$ . O sinal em  $\delta$  3,99 (2H, s), observado neste espectro pode ser associado a hidrogênios de carbono carbinólico. Este espectro também mostra sinais desprotegidos em:  $\delta$  2,43 (2H, t,  $J = 7,26$ ); 2,17 (2H, q,  $J = 7,00$ ) e 2,01 (3H, m). Há também, três singletos intensos em  $\delta$  1,63; 0,93 e 0,77; que podem ser associados a grupos metílicos sendo que um deles ( $\delta$  1,63), deva estar ligado a uma dupla ligação.

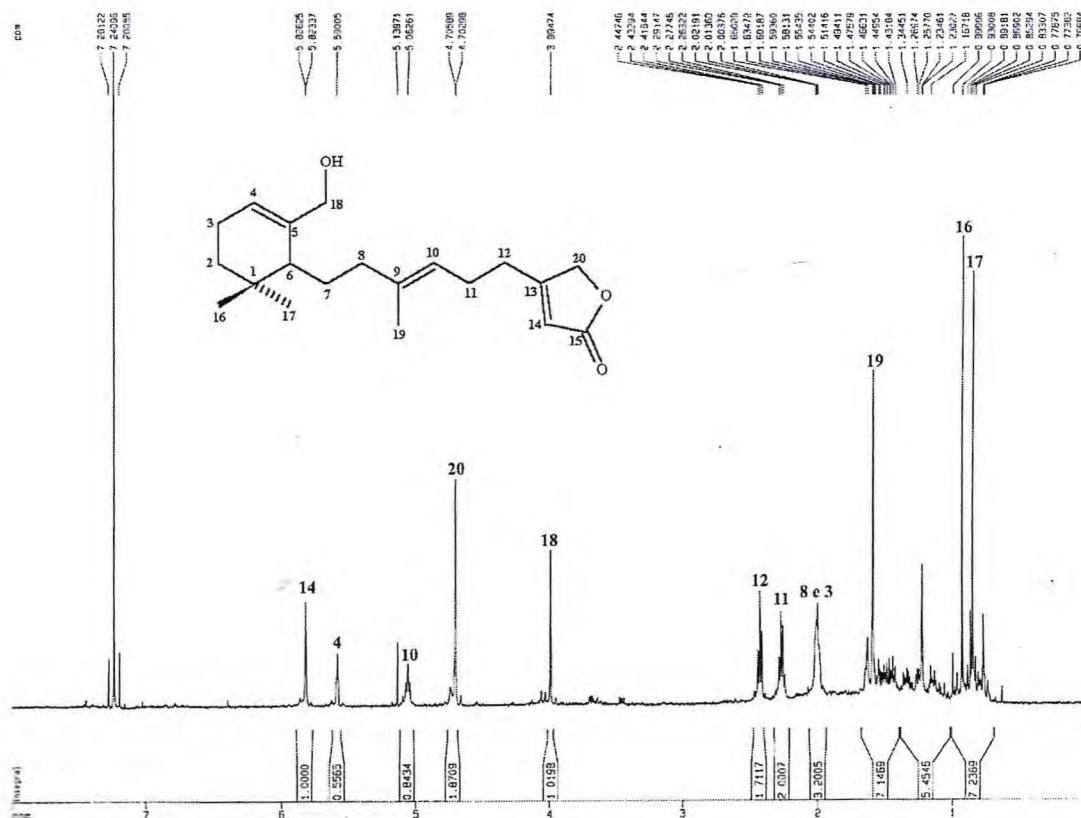


Figura 110: RMN  $^1H$  (500 MHz,  $CDCl_3$ ) de EVFIC-7

O espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (Fig. 111, abaixo), mostra dois sistemas de acoplamentos vicinais. O primeiro composto pelos hidrogênios em  $\delta$  2,43; 2,18 e 5,06; e o segundo composto pelos hidrogênios em  $\delta$  2,01; 1,35; 1,26 e 1,64. É também observado um outro sistema de acoplamento vicinal, composto pelos hidrogênios em  $\delta$  5,60; 2,01; 1,35 e 1,26. Neste espectro, além dos acoplamentos já descritos, são observados acoplamentos fracos entre o hidrogênio em  $\delta$  5,82 com os hidrogênios em  $\delta$  4,20 e 2,43; entre o hidrogênio  $\delta$  4,20 e o hidrogênio 2,43 e entre os hidrogênios em  $\delta$  3,99 e 5,60; correspondendo provavelmente a acoplamentos a longa distância. A tabela 34 (p. 134) e o quadro 11 (p. 131), mostra todos os acoplamentos entre os hidrogênios da estrutura de EVFIC-7, observados no espectro de RMN  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY.

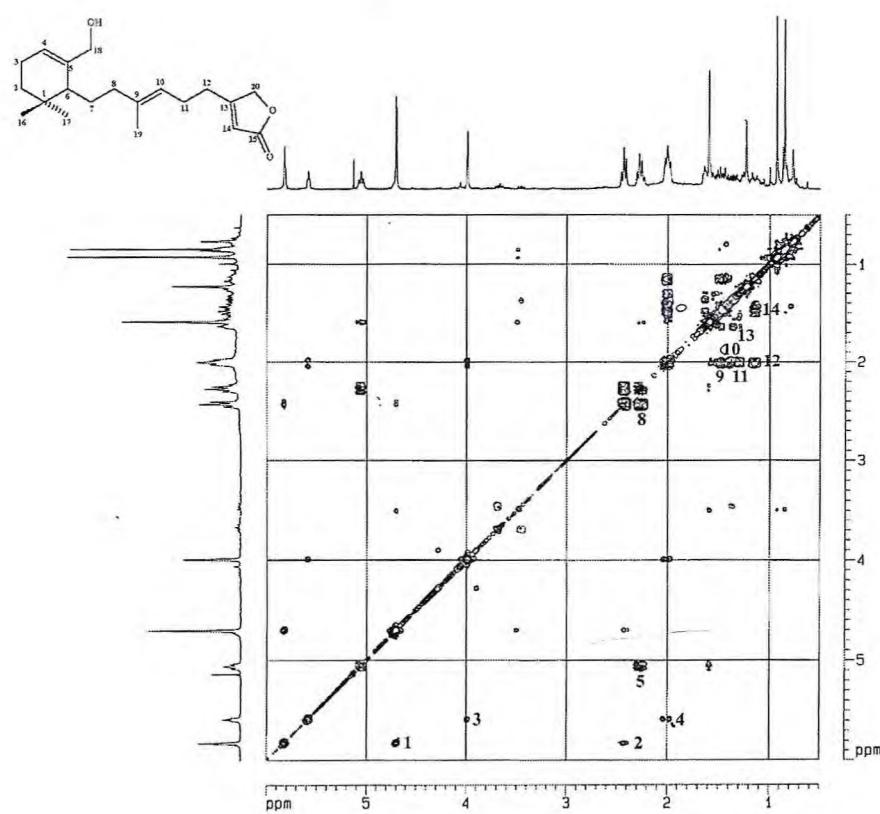
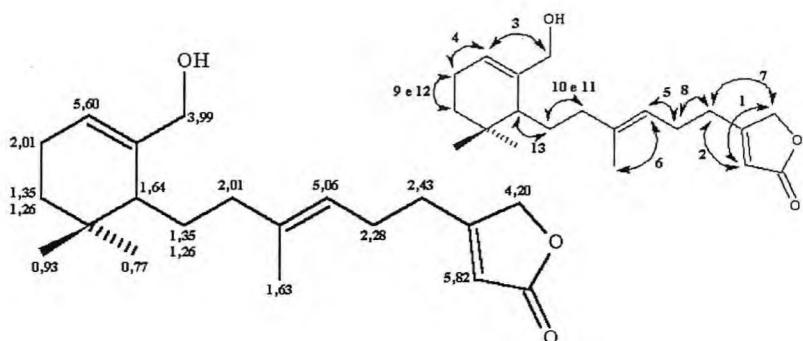


Figura 111: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY de EVFIC-7 [ $\delta$ ; 500 MHz x 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

A partir da análise do espectro de RMN de correlação heteronuclear a uma ligação  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HETCOR (detecção no canal do carbono) (Fig. 112, p. 131), pode-se correlacionar todos os hidrogênios aos respectivos carbonos. É digno notar que a correlação do carbono em  $\delta$  73,1 (C-20) com o hidrogênio em  $\delta$  4,20, mostrando que este sinal no espectro de

hidrogênio, apesar de encontrar-se na região de hidrogênios olefinicos, não pertence a um carbono de dupla ligação, como havia sido especulado anteriormente. O valor de absorção deste hidrogênio pode ser explicado pelo fato de ele se encontrar alílico a uma das duplas ligações. Desta forma pode-se afirmar que o anel lactônico presente na estrutura de EVFIC-7, contém 5 membros. A correlação entre os sinais dos carbonos com seus respectivos hidrogênios podem ser vistos na tabela 34 (p. 134).



Quadro 11: Representação dos acoplamentos observados no espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY de EVFIC-7

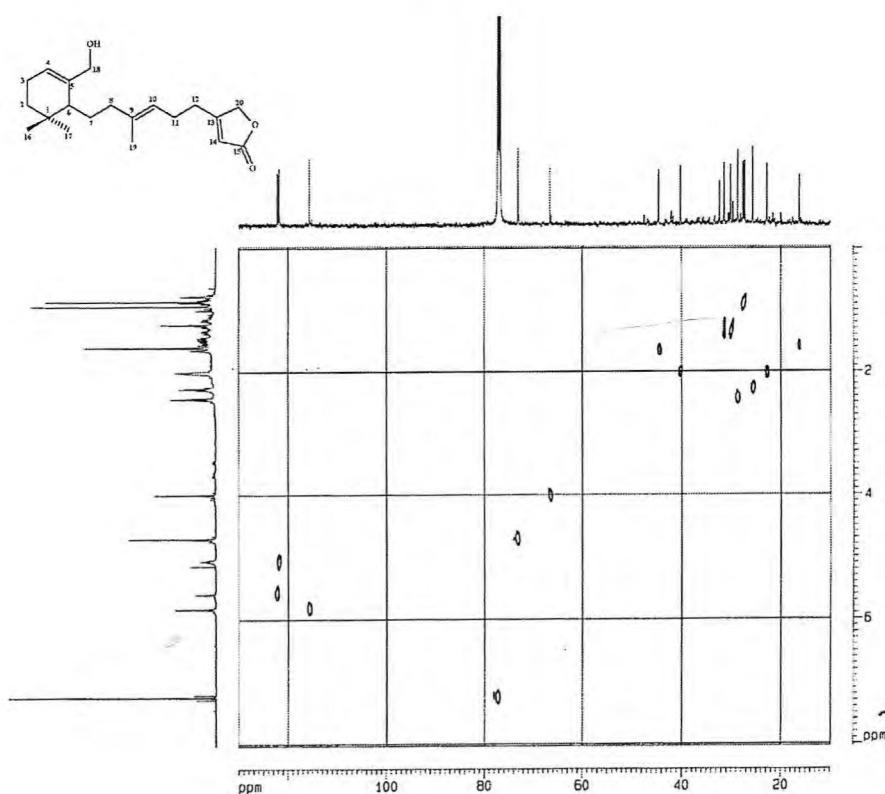


Figura 112: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HETCOR de EVFIC-7 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

Com a análise do espectro de RMN de correlação heteronuclear a longa distância  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC (detecção no canal do hidrogênio) (Fig. 113, abaixo), foi possível observar o acoplamento a duas e a três ligações que ocorre entre os hidrogênios e carbonos, na estrutura de EVFIC-7. A tabela 34 (p. 134) mostra estes acoplamentos. É digno notar que o acoplamento entre os hidrogênios carbinólicos em  $\delta$  3,99 e os carbonos olefínicos em  $\delta$  140,8 (C-5) e 122,2 (C-4); mostrando que o carbono carbinólico é alílico a uma das duplas ligações. Os acoplamentos entre os hidrogênios metílicos em  $\delta$  1,63 com os carbonos em  $\delta$  138,2 (C-9) e 121,9 (C-10); confirmam que existe um grupo metílico ligado a uma dupla ligação. Já os hidrogênios em  $\delta$  4,20; mostram claramente o acoplamento com os carbonos em  $\delta$  170,1 (C-13); 115,7 (C-14) e 174,1 (C-15); mostrando que estes hidrogênios pertencem ao anel lactônico. Com o que foi discutido acima pode-se estabelecer as absorções dos carbonos de cada dupla ligação presente na molécula de EVFIC-7. O quadro 12 (p. 133), mostra a representação das interações a duas e três ligações entre os hidrogênios e carbonos de EVFIC-7.

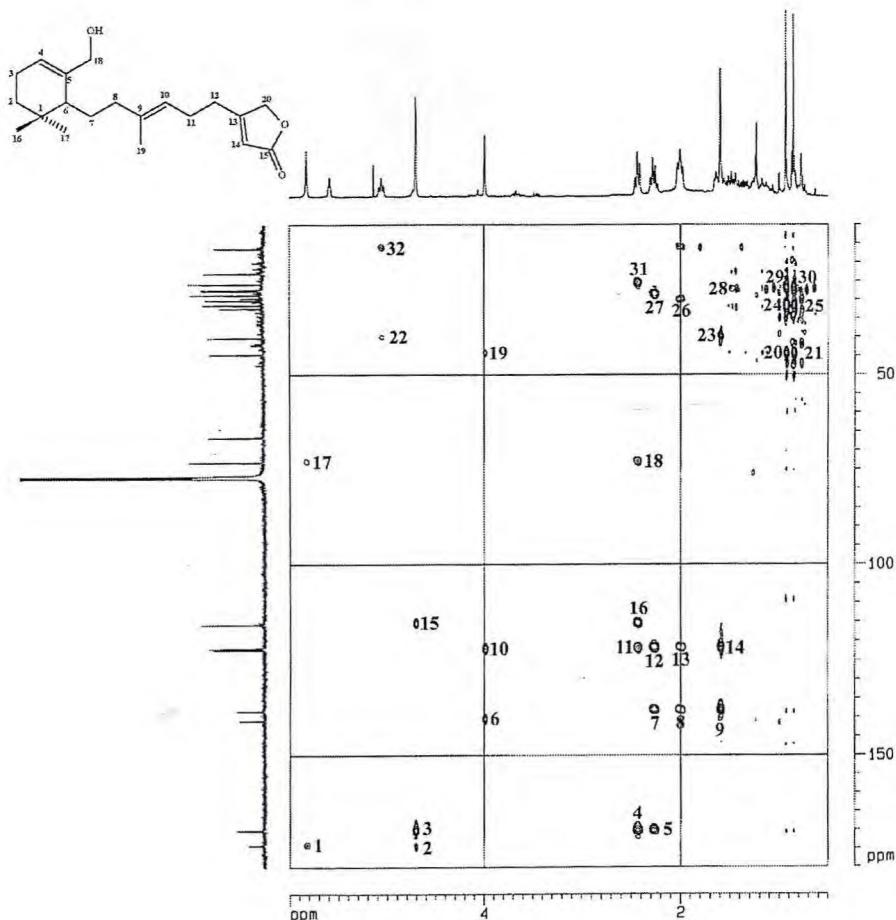
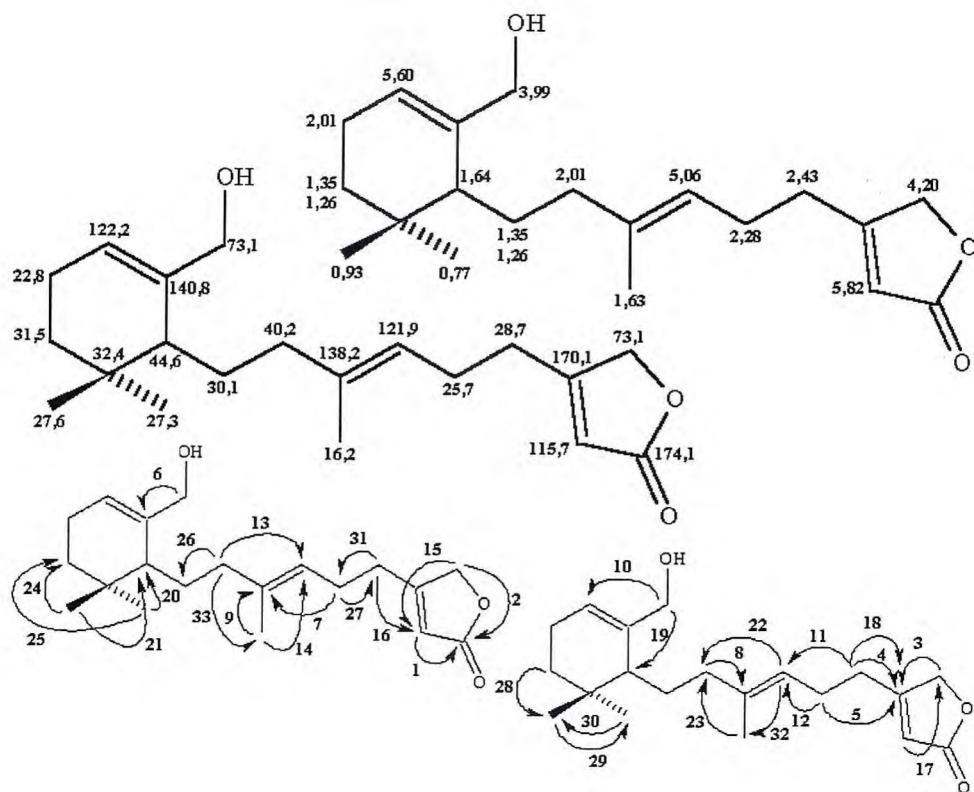


Figura 113: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-7 [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]



Quadro 12: Representação dos acoplamentos observados no espectro de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-HMBC de EVFIC-7

Baseado na discussão acima pode-se propor a estrutura de um diterpeno monocíclico do tipo 10,15-ciclofitano, lactonizado na posição 15,20 e hidroxilado em C-18 (45). Pesquisa na literatura, revela que, no melhor de nosso conhecimento, EVFIC-7, trata-se de um composto inédito, o qual foi denominado de 9,10-seco-4,9(10),13(14)-labdatrien-18-ol, de acordo com as regras do “Dictionary of Natural Products” (Buckingham, 1994).

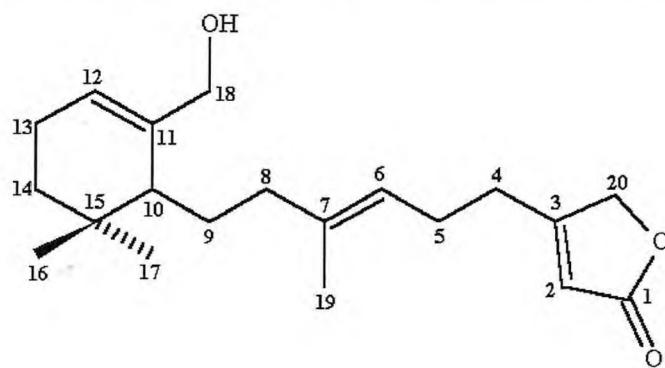


Tabela 34: Correlação Entre os Dados de RMN e a Estrutura de EVFlC-7

#C	<sup>13</sup> C-HBBD	δC	δH	COSY		HMBC
				<sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H	<sup>2</sup> J <sub>CH</sub>	
1	32,4		---	---	---	---
2	31,5		1,37 1,23	2,01; 1,23 2,01; 1,37	---	0,93; 0,77
3	22,8		2,01	5,60; 1,37; 1,23	---	---
4	122,2		5,60	3,99; 2,01	---	3,99
5	140,8		---	---	3,99	---
6	44,6		1,64	---	---	3,99; 0,93; 0,77
7	30,1		1,35 1,26	2,01 2,01	2,01	---
8	40,2		2,01	1,35; 1,26	---	5,06; 1,63
9	138,2		---	---	2,01; 1,63	2,28
10	121,9		5,06	2,28; 1,63	2,28	2,43; 2,01; 1,63
11	25,7		2,28	5,06; 2,43	2,43	---
12	28,7		2,43	5,82; 4,70; 2,28	2,28	---
13	170,1		---	---	4,70; 2,43	2,28
14	115,7		5,82	4,70; 2,43	---	4,70; 2,43
15	174,1		---	---	5,82	4,70
16	27,6		0,93	---	0,77	1,35
17	27,3		0,77	---	0,93	---
18	66,6		3,99	5,60	---	---
19	16,2		1,63	5,06	---	5,06; 2,01
20	73,1		4,70	5,82; 2,43	---	5,82; 2,43

## 5.7 Determinação Estrutural de EVFIC-8

Cromatografia da fração metanólica oriunda do isolamento de 12-*epi*-bacchotriccuneatina A (EVFIC-4), forneceu, dentre outras frações, uma que, após cromatografia em gel de sílica, resultou em uma fração rica em um óleo, que mostrou-se homogêneo em CCD, recebendo a denominação de EVFIC-8. O procedimento completo que resultou no isolamento de EVFIC-8, encontra-se descrito no item 7.10.4 (P. 185).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  HBBD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-8 (Fig. 114 e 115, p. 136), mostrou-se bastante semelhante com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  HBBD (Fig. 107, p. 127), da EVFIC-7. A principal diferença encontra-se nos sinais referentes ao anel  $\gamma$ -lactônico da EVFIC-7. Nota-se a ausência do sinal correspondente a carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada (C-1) e do carbono C-3, conjugado com a carbonila, ambos desprotegidos, no espectro de EVFIC-8. Estes sinais foram substituídos por outros dois em campo mais alto ( $\delta$  138,9 (C-15) e 125,0 (C-13)), na região de carbonos olefinicos. Outra grande diferença é observada na região de carbonos carbinólicos, onde não é observado o sinal em  $\delta$  73,1 (C-20); no espectro de EVFIC-8, referente ao carbono C-20 da EVFIC-7. Este sinal foi substituído por outro mais desprotegido, na região de carbonos olefinicos ( $\delta$  142,6 (C-20)). Estas mudanças caracterizam claramente a transformação do anel  $\gamma$ -lactônico em um anel furânico, na estrutura de EVFIC-8. A tabela 35 (p. 137), tráz a comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-8 com a EVFIC-7.

Esta mudança é confirmada quando o espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-8 (Fig. 116, p. 138), é observado. O surgimento de sinais em  $\delta$  7,32 (H-15); 7,19 (H-20) e 6,25 (H-14); caracterizam o anel furânico, como foi visto na determinação estrutural da lactona do ácido hautriwaico acetilada em C-12 (item 5.3, p. 85) e da 12-*epi*-bacchotriccuneatina A (item 5.4, P. 96). Este espectro também mostra a presença de triglicerídeos na amostra, pela presença do sinal em  $\delta$  1,29 (s), apesar da mesma mostrar-se homogênea em CCD.

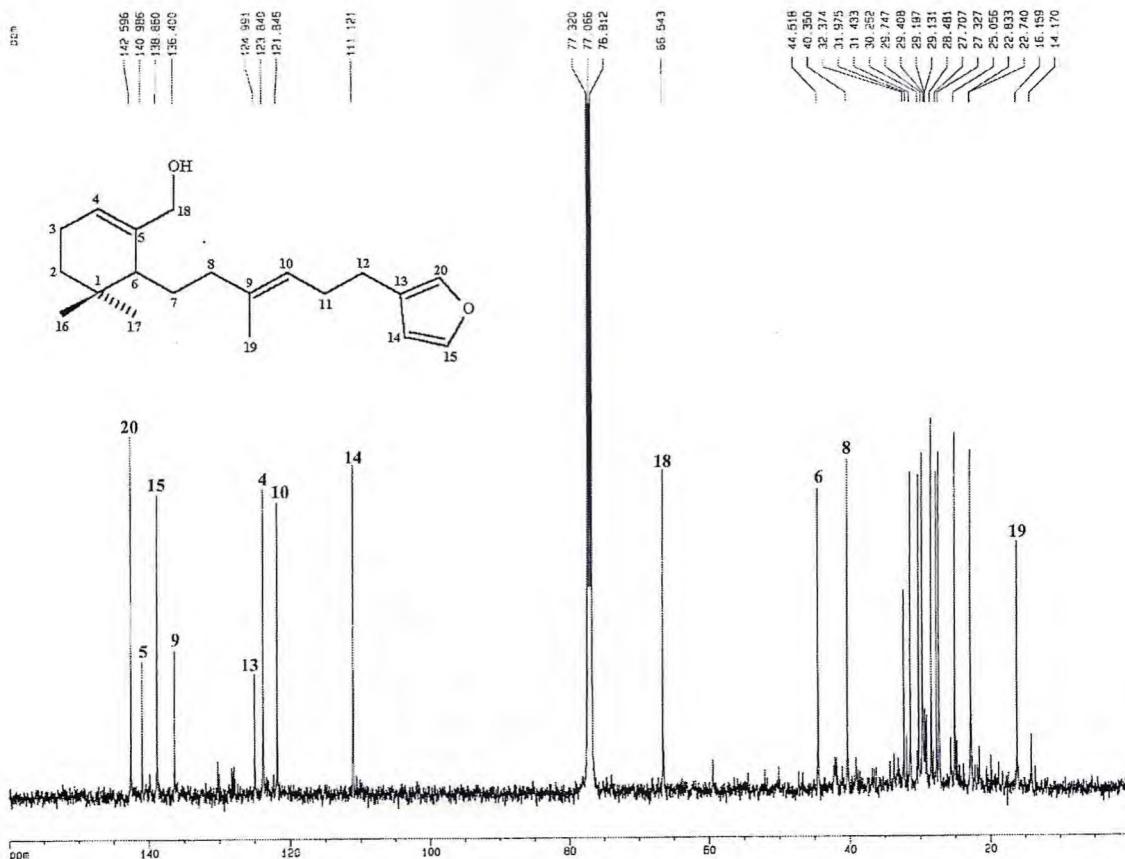


Figura 114: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-8 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

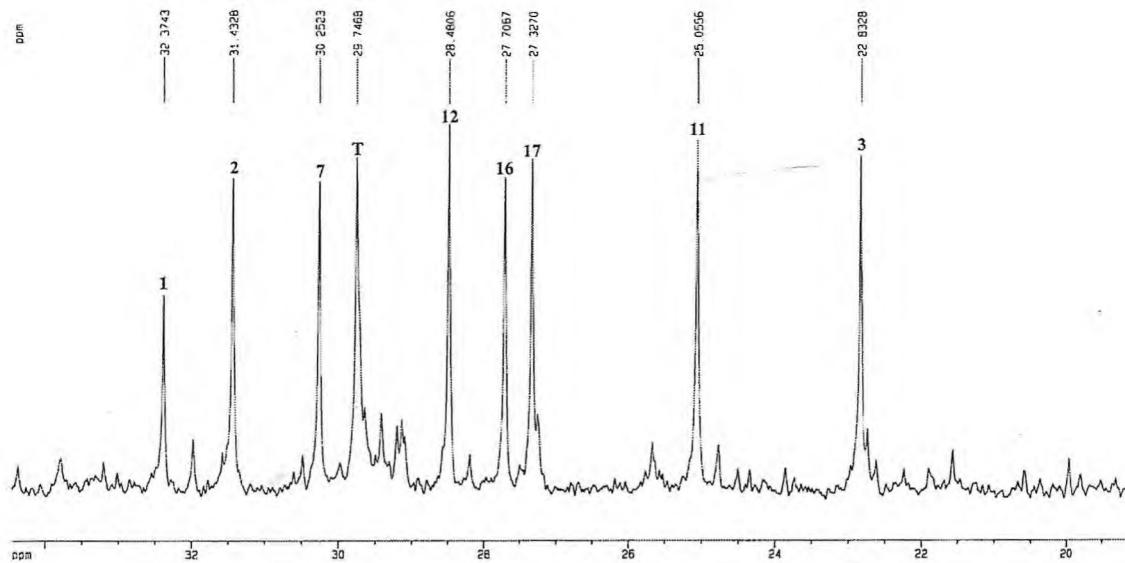


Figura 115: expansão da região entre 33 a 19 ppm do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-8 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

T = triglycerídeos

Tabela 35: Comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de EVFIC-8 com a EVFIC-7.

#C	EVFIC-8 ( $\delta\text{C}$ )	EVFIC-7( $\delta\text{C}$ )
1	32,4	32,4
2	31,5	31,4
3	22,8	22,8
4	122,2	123,9
5	140,8	141,0
6	44,6	44,5
7	30,1	30,3
8	40,2	40,4
9	138,2	136,4
10	121,9	121,9
11	25,7	25,1
12	28,7	28,5
13	170,1	125,0
14	115,7	111,1
15	174,1	138,9
16	27,6	27,7
17	27,3	27,3
18	66,6	66,5
19	16,2	16,2
20	73,1	142,6

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-8 (Fig. 117, p. 138), são observados a existência de mais dois carbonos metínicos na região de carbonos olefínicos, além dos que já eram observados no mesmo espectro da EVFIC-7. É notada também a ausência de um carbono metilênico quando os espectros são comparados, mostrando mais uma vez a redução do anel  $\gamma$ -lactônico presente na estrutura de EVFIC-7 em um anel furânico na estrutura de EVFIC-8.

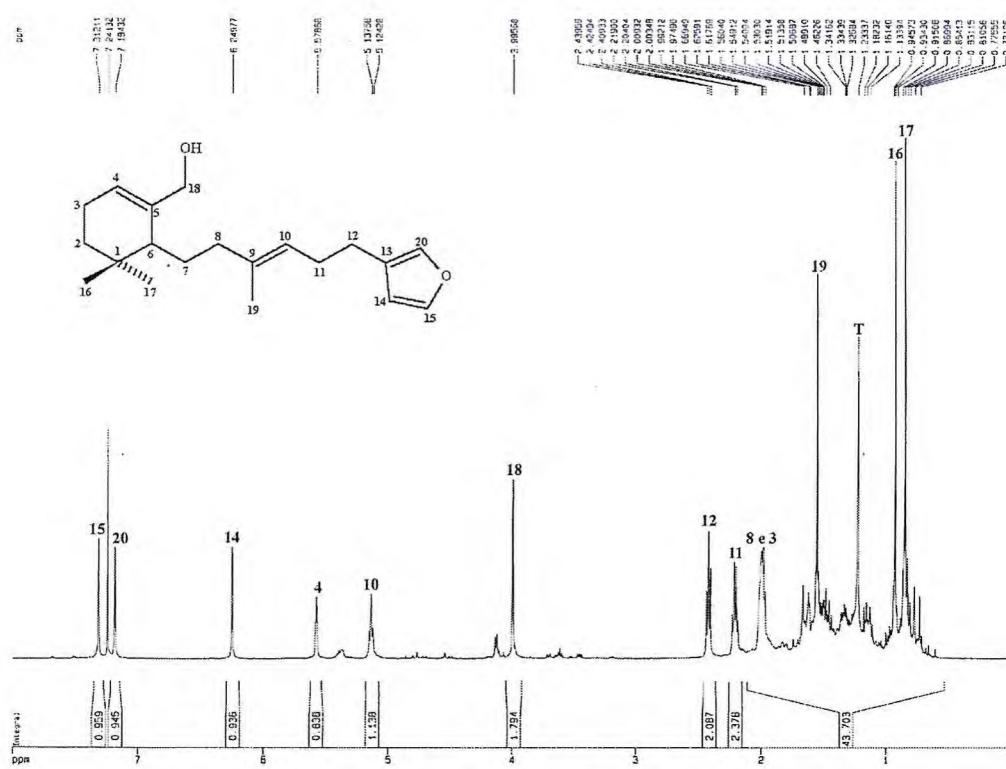


Figura 116: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de EVFlC-8 [ $\delta$ ; 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

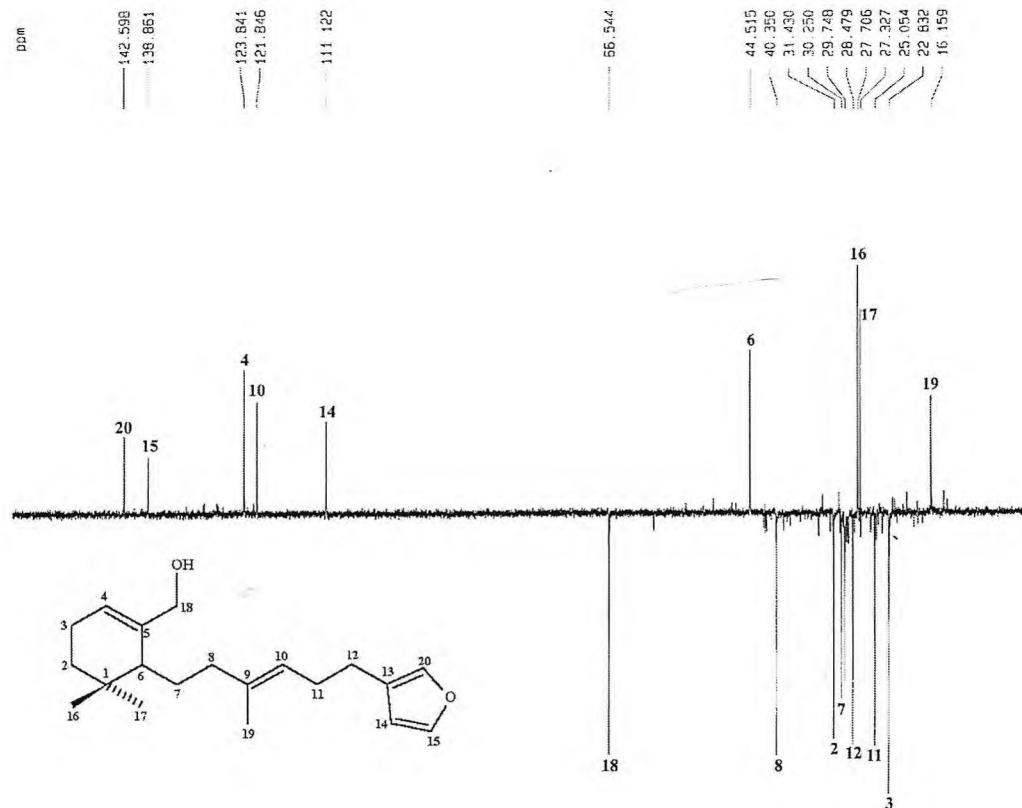
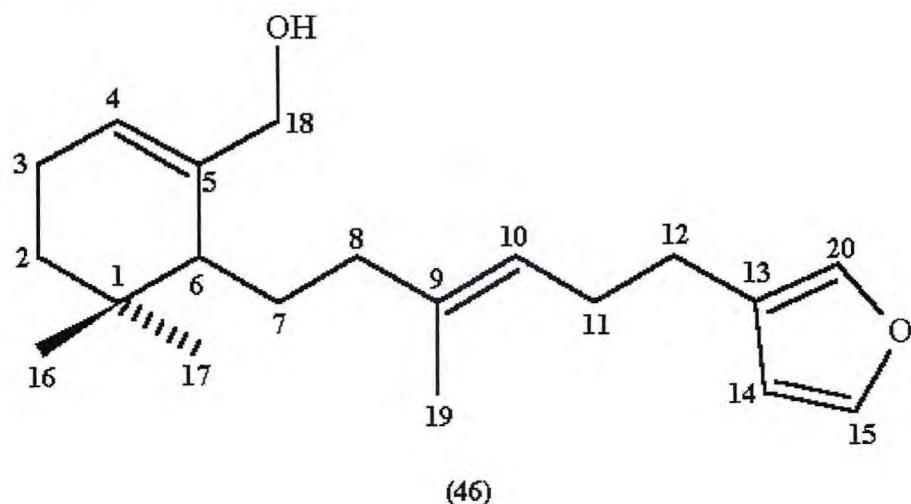


Figura 117: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de EVFlC-8 [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

Com o que foi discutido acima pode-se propor a estrutura de um diterpeno furânico com esqueleto 10,15-ciclofitano (46), que no melhor de nosso conhecimento, está sendo descrito pela primeira vez na literatura e que foi denominado de 15,20-epoxi-9,10-seco-4,9(10),13(20),14-labdatetraen-18-ol, de acordo com as regras do “*Dictionary of Natural Products*” (Buckingham, 1994).



### 5.8 Determinação estrutural de EVFIC-9

Cromatografias sucessivas do resíduo da marcha química de EVFIC, originou dentre outras, uma fração que apresentou um sólido com faixa de fusão de 185-193 °C, que foi denominado EVFIC-9. O item 7.10.5 (p. 189), mostra detalhadamente o isolamento de EVFIC-9.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-9 (Fig. 118, p. 141), mostrou que o sólido cristalino, na verdade tratava-se de uma mistura de substâncias, com um constituinte majoritário. Fato que a larga faixa de fusão já dava indícios. Porém este espectro mostra 10 linhas principais. Uma delas ( $\delta$  161,4 (C-2)); pode ser atribuída a uma carbonila lactônica  $\alpha,\beta$ -insaturada. Outros 8 sinais,  $\delta$  150,3 (C-10); 149,8 (C-7); 144,1 (C-6); 143,3 (C-4); 113,4 (C-3); 111,6 (C-9); 107,6 (C-5) e 103,3 (C-8); são atribuídos a carbonos olefínicos, e que pelo número de carbonos, correspondem a 4 insaturações constituindo um sistema de anel aromático com mais uma dupla ligação. Os fatos acima discutidos sugerem um esqueleto cumarínico para a estrutura de EVFIC-9. Quatro dos oito sinais referentes dos carbonos olefínicos, encontram-se na região de carbonos  $\text{sp}^2$  oxigenado. Porém o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-9 (Fig. 119, p. 141), mostra que o sinal em  $\delta$  143,3 pertence a um carbono metínico, desta forma somente três dos quatro carbonos são realmente oxigenados. Também é observado no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD um sinal em  $\delta$  56,5, característico de grupo metóxilico ligado a anel aromático. O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135°, revela também a presença de mais 3 carbonos metínicos ( $\delta$  113,4; 107,6 e 103,3), além do carbono em  $\delta$  143,3.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 119, p. 141), são observados os sinais característicos do sistema lactônico  $\alpha,\beta$ -insaturado, presente em cumarinas:  $\delta$  7,57 (1H, d,  $J = 9,47$ ) (H-4) e 6,25 (1H, d,  $J = 9,47$ ) (H-3). Além destes sinais são observados dois singletos em  $\delta$  6,90 (1H) (H-5) e 6,83 (1H) (H-8), caracterizando um sistema de hidrogênios para substituídos. Um outro sinal em  $\delta$  6,13 (1H, s), observado neste espectro pode ser atribuído ao hidrogênio de um grupo hidroxila, ligado ao anel aromático.

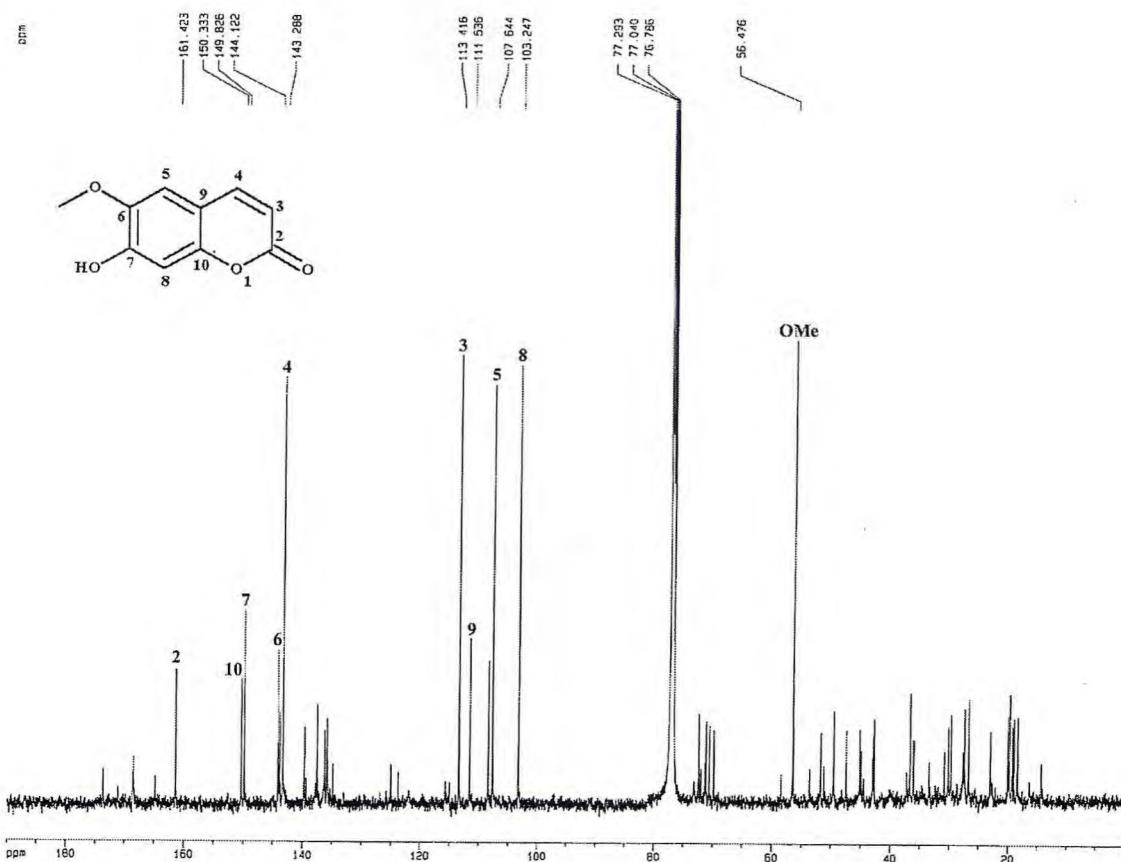


Figura 118: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), de EVFIC-9.

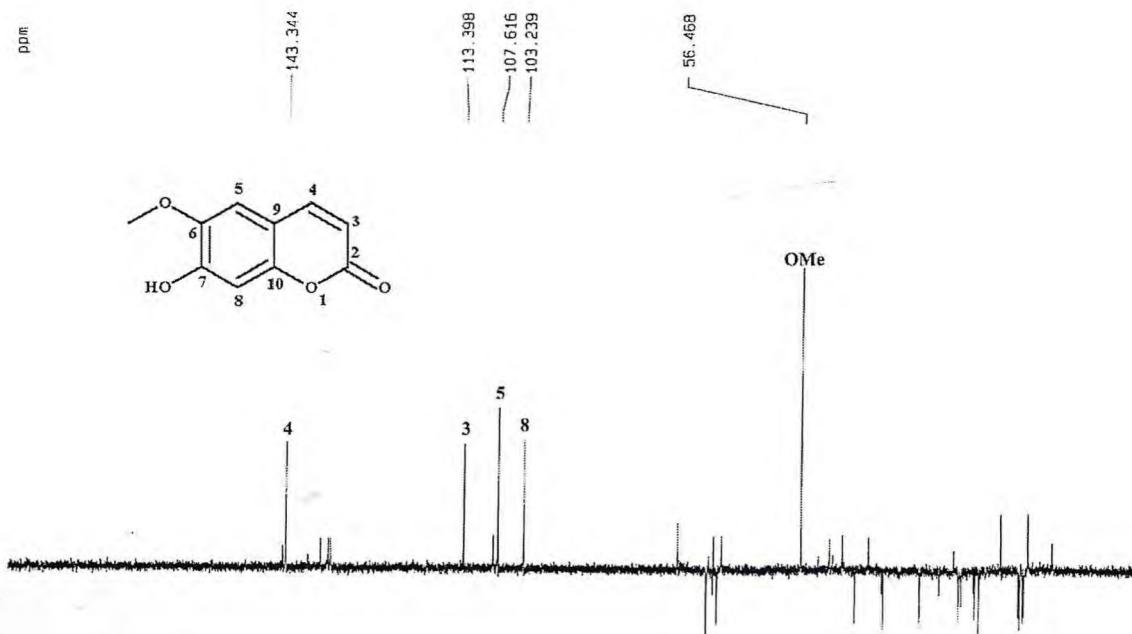


Figura 119: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), de EVFIC-9.

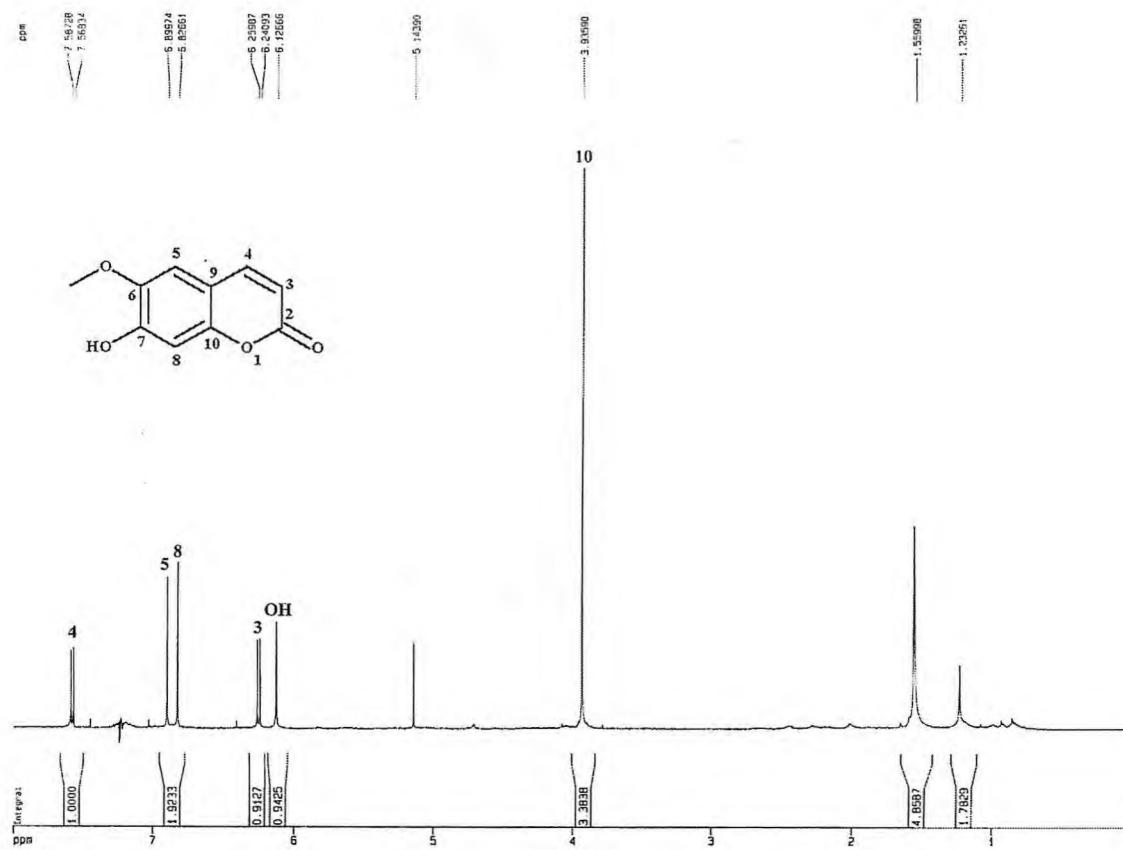
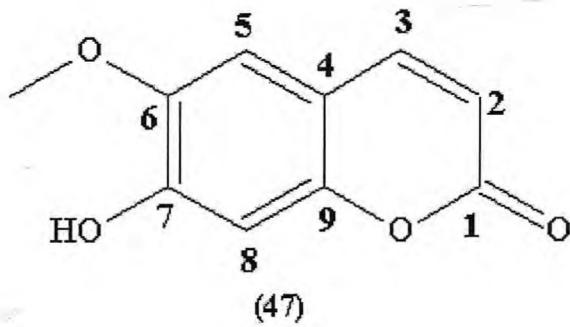


Figura 120: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), de EVFIC-9.

Os dados acima discutidos encaixam-se perfeitamente em um esqueleto cumarínico, substituído nas posições 6 por um grupo metoxila e 7 por um grupo hidroxila, representados pela estrutura da escopoletina (47).



Comparação com os dados RMN  $^{13}\text{C}$  da literatura (Tab. 36, p. 143), mostra a identidade entre EVFIC-9 e a escopoletina.

Tabela 36: Comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de EVFIC-9 com a escopoletina

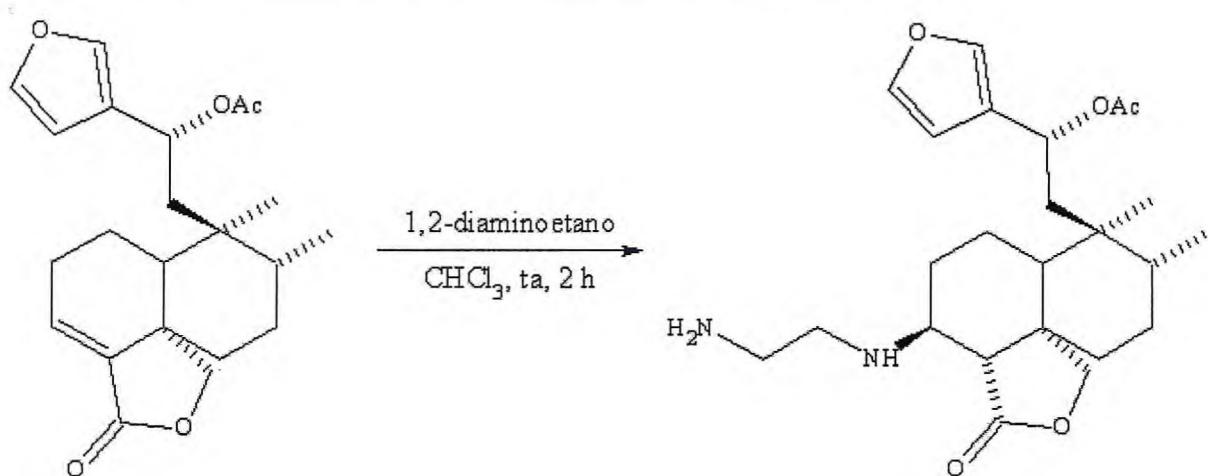
#C	EVFIC-9 ( $\delta\text{C}$ , 125 MHz, $\text{CHCl}_3$ )	Escopoletina ( $\delta\text{C}$ , 75 MHz, $\text{CHCl}_3$ ) (Sibanda, 1989)
2	161,4	160,2
3	113,4	112,5
4	143,2	142,5
5	107,7	107,0
6	143,3	143,2
7	149,8	149,2
8	103,3	102,5
9	111,5	110,5
10	150,3	149,8
OMe	56,5	55,2

*Semi-síntese de Alcalóides e  
Compostos Oxigenados*

## 6 SEMI-SÍNTESE DE ALCALÓIDES E COMPOSTOS OXIGENADOS

Lima, em sua dissertação de mestrado (Lima, 1993), observou a capacidade da ligação dupla conjugada com a carbonila da lactona, existente no acetato da lactona do ácido hautriwaico, funcionar como acceptor de nucleófilos em uma reação do tipo Michael (Bergmann, 1959). Um outro composto, a 12-*epi*-bacchotricicuneatina A, também apresenta o mesmo grupo funcional. Baseado nestes fatos e na grande quantidade dos metabólitos isolados foram preparados derivados nitrogenados e oxigenados destes dois compostos.

### 6.1 Adição de 1,2-diaminoetano ao acetato da lactona do ácido hautriwaico



Como era esperado, houve o desaparecimento no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 121, p. 146), dos sinais referentes aos carbonos olefínicos C-3 ( $\delta$  135,8) e C-4 ( $\delta$  138,7) da lactona do acetato do ácido hautriwaico. Apareceram sinais em  $\delta$  54,8 referentes aos carbonos C-3 e C-4 deste derivado. A desproteção do sinal em  $\delta$  169,8 no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (Fig. 78, p. 86) do composto de partida, para  $\delta$  177,0 no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD do derivado; do sinal referente a carbonila C-18, mostra claramente a perda da conjugação decorrente da adição do 1,2-diaminoetano, à dupla ligação. Os sinais referentes aos carbonos do grupo 1,2-diaminoetano (C-1" e C-2"), são observados em  $\delta$  48,2 e 41,1 respectivamente. A tabela 37 (p. 149), mostra os deslocamentos químicos bem como o padrão de hidrogenação obtido do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 122, p. 146), dos carbonos da lactona do acetato do ácido hautriwaico e de seu derivado, EVFLC-3a.

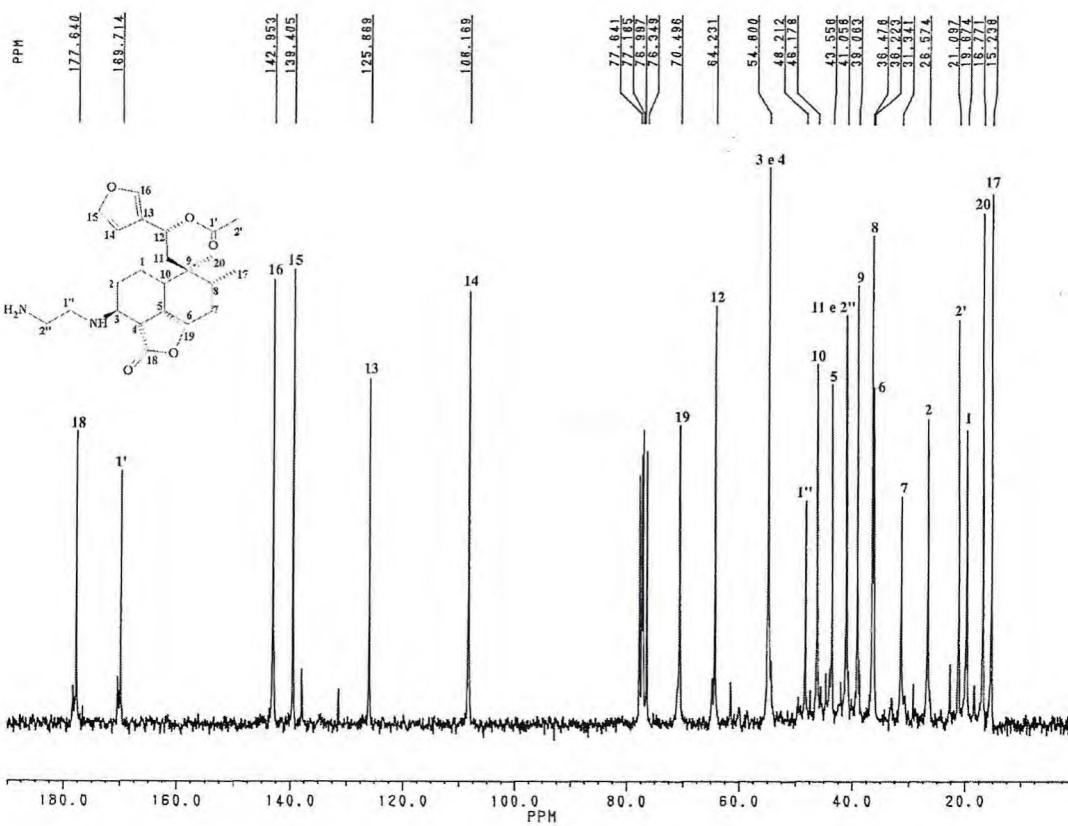


Figura 121: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFlC-3a.

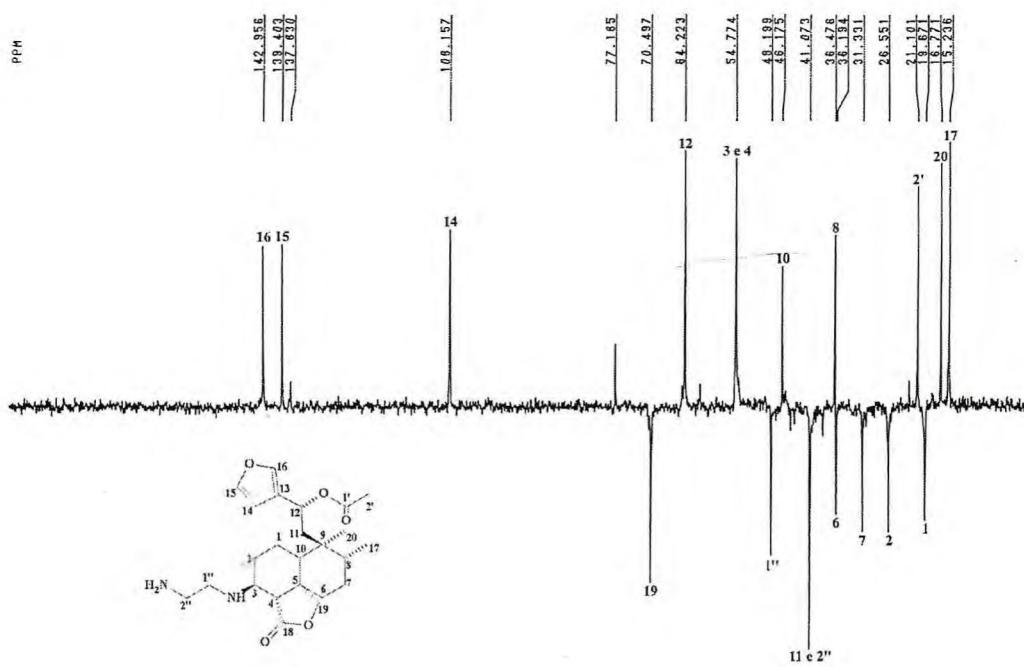


Figura 122: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFlC-3a.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 123, abaixo) do derivado nota-se a ausência do sinal em  $\delta$  6,75 referente ao hidrogênio H-3 olefínico do material de partida. É também observado, que os sinais dos hidrogênios H-19, coaleceram formando um singuleto largo em  $\delta$  4,19. Este fato pode ser explicado pela ausência da dupla ligação em C-3 e C-4, no produto reacional, tornando o deslocamento químico destes hidrogênios bastante próximos. Os sinais referentes aos hidrogênios metilênicos do grupo 1,2-diaminoetano, são observados como um mutiplet centrado em  $\delta$  2,65.

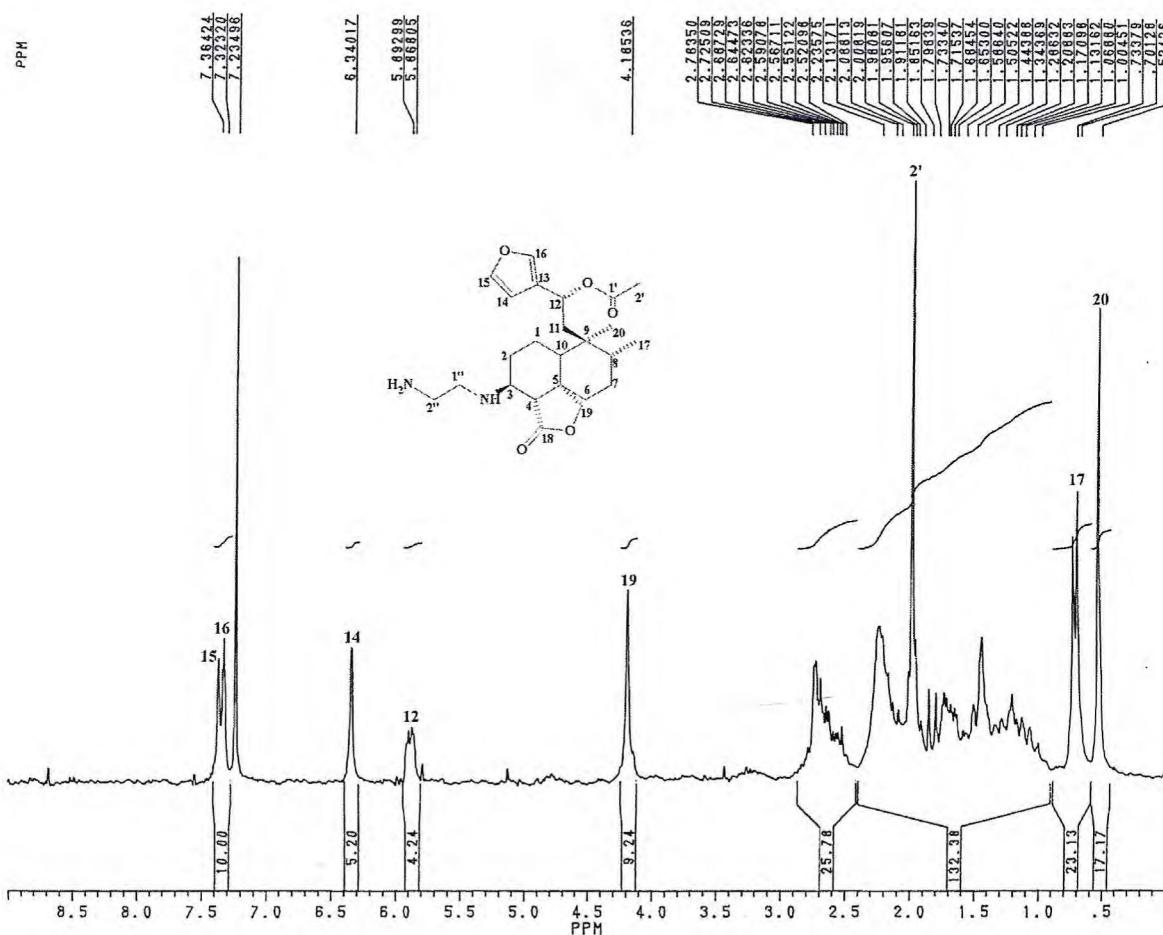


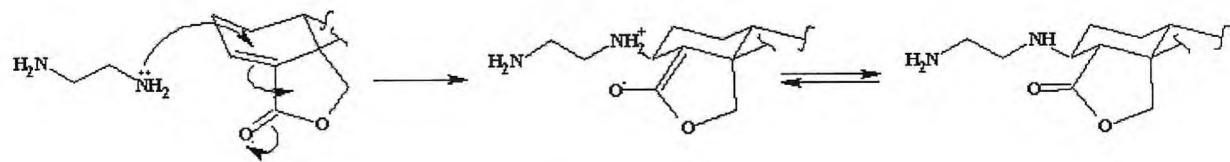
Figura 123: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFLC-3a.

Baseado na discussão acima, a estrutura (48) abaixo, é proposta para EVFlC-3a.

### 6.1.1 Proposta Mecanística Para Formação de EVFlC-3a.

A reação de adição do 1,2-diaminoetano à EVFlC-3a, trata-se de uma adição do tipo Michael. Esta reação caracteriza-se pela adição de um nucleófilo a uma dupla-ligação.

conjugada com uma carbonila, gerando um produto conhecido como aduto de Michael (Esquema 1, abaixo).



Esquema 1

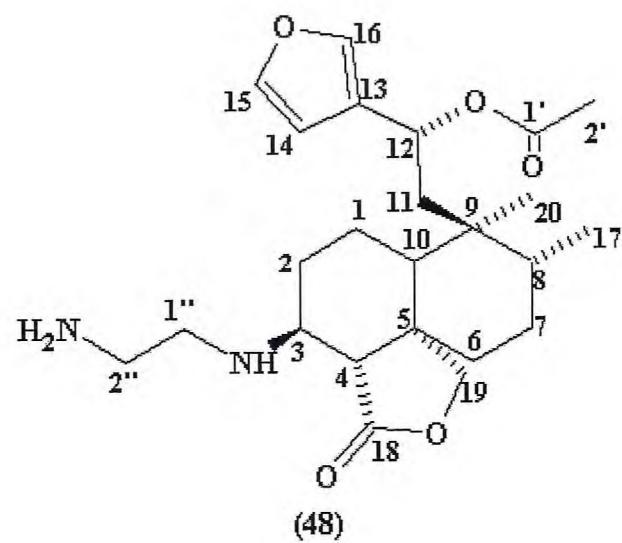
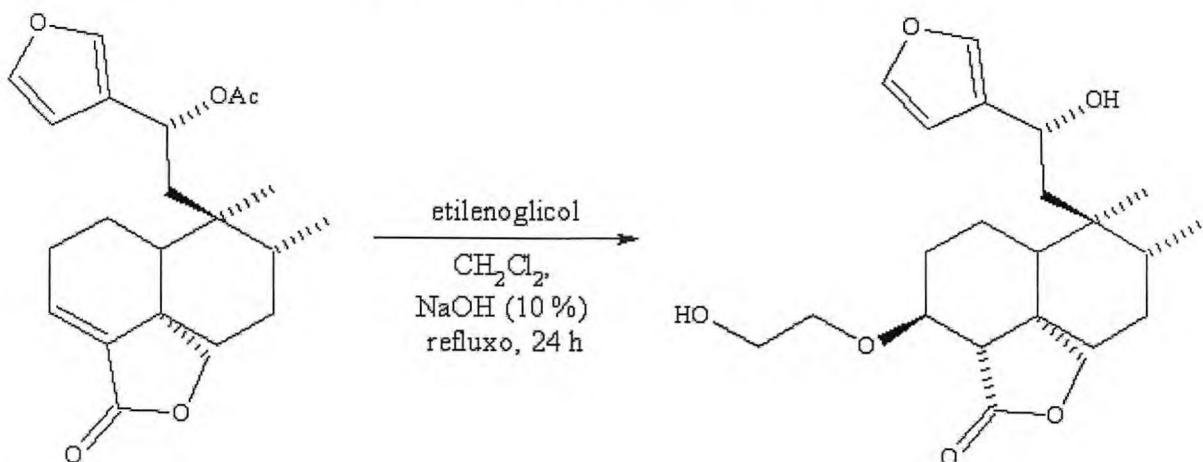


Tabela 37: Comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD, do acetato da lactona do ácido hautriwaico (3) e de EVFlC-3a.

#C	(3)	EVFlC-3a
	$\delta\text{C}$	$\delta\text{C}$
1	20,4 (CH <sub>2</sub> )	19,7 (CH <sub>2</sub> )
2	27,7 (CH <sub>2</sub> )	26,6 (CH <sub>2</sub> )
<b>3</b>	<b>135,8 (CH)</b>	<b>54,8 (CH)</b>
<b>4</b>	<b>138,7 (C)</b>	<b>54,8 (CH)</b>
5	45,8 (C)	43,6 (C)
6	34,4 (CH <sub>2</sub> )	36,2 (CH <sub>2</sub> )
7	27,9 (CH <sub>2</sub> )	31,3 (CH <sub>2</sub> )
8	37,3 (CH)	36,5 (CH)
9	39,6 (C)	39,1 (C)
10	49,2 (CH)	46,1 (CH)
11	42,1 (CH <sub>2</sub> )	41,1 (CH <sub>2</sub> )
12	65,0 (CH)	64,2 (CH)
13	126,4 (C)	125,9 (C)
14	108,8 (CH)	108,2 (CH)
15	140,2 (CH)	139,4 (CH)
16	143,6 (CH)	143,0 (CH)
17	15,9 (CH <sub>3</sub> )	15,2 (CH <sub>3</sub> )
<b>18</b>	<b>169,4 (C)</b>	<b>177,0 (C)</b>
19	71,9 (CH <sub>2</sub> )	70,5 (CH <sub>2</sub> )
20	17,7 (CH <sub>3</sub> )	16,2 (CH <sub>3</sub> )
CH <sub>3</sub> <u>CO</u>	170,2 (C)	169,7 (C)
<u>CH</u> <sub>3</sub> CO	21,7 (CH <sub>3</sub> )	21,1 (CH <sub>3</sub> )
H <sub>2</sub> N <u>CH</u> <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH-	---	<b>48,2 (CH<sub>2</sub>)</b>
H <sub>2</sub> N <u>CH</u> <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH-	---	<b>41,1 (CH<sub>2</sub>)</b>

## 6.2 Adição De Etilenoglicol ao Acetato da Lactona do Ácido Hautriwaico



O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-3b (Fig. 124, Pág 149), quando comparado com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD de acetato da lactona do ácido hautriwaico (Fig. 78, Pág 85), mostrou algumas diferenças. No espectro do derivado há o desaparecimento dos sinais em  $\delta$  170,2 e 21,7; referentes ao grupo acetato, sugerindo que houve a hidrólise deste grupo. O surgimento dos sinais em  $\delta$  70,5 e 61,9; no espectro do derivado, podem ser perfeitamente associados aos carbonos carbinólicos do etilenoglicol. Já o desaparecimento dos sinais referente a dupla ligação em C-3 e C-4 ( $\delta$  138,7 e 135,8; respectivamente), no substrato e o surgimento de sinais em  $\delta$  76,7 (carbono carbinólico) e 55,8 no espectro do produto, sugere a adição deste grupo ao substrato. Outro fato que também corrobora para esta adição, é o deslocamento do sinal referente a carbonila da lactona em C-18, de 169,4 ppm no substrato para 178,2 ppm no produto, mostrando que esta carbonila não se encontra mais conjugada e que houve a adição. Uma comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD bem como o padrão de hidrogenação obtido do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 125, p. 152), do substrato e do produto é mostrada na tabela 38, p. 156.

A hidrólise do grupo acetato no produto reacional é confirmada pelo desaparecimento do sinal na região de 2,00 ppm, no espectro de RMN  $^1\text{H}$  de EVFIC-3b (Fig. 126, p. 152), associado a metila do grupo acetato. O deslocamento para valores mais baixos de deslocamento químico do H-12 (de  $\delta$  5,94 no substrato para 4,88 no produto), também confirma a desacetilação. A adição do etilenoglicol à dupla ligação de (3) é confirmada pela ausência do sinal do hidrogênio olefínico H-3 em  $\delta$  6,75 observado no espectro de RMN  $^1\text{H}$  do substrato (Fig. 80, p. 88) e pelos sinais em  $\delta$  3,52 (1H, m) e 2,15 (1H, m), referentes a H-3 e H-4, respectivamente, observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  de EVFIC-3b. Também justifica

este fato a presença dos sinais em  $\delta$  3,74 (1H, m); 3,65 (2H, s) e 3,42 (1H, m), neste mesmo espectro, que são referentes aos hidrogênios metilênicos carbinólicos do etilenoglicol. Como em EVFIC-3a, houve a coalescência dos sinais referentes aos hidrogênios H-19 ( $\delta$  4,21), decorrente da ausência da dupla ligação entre C-3 e C-4, no produto.

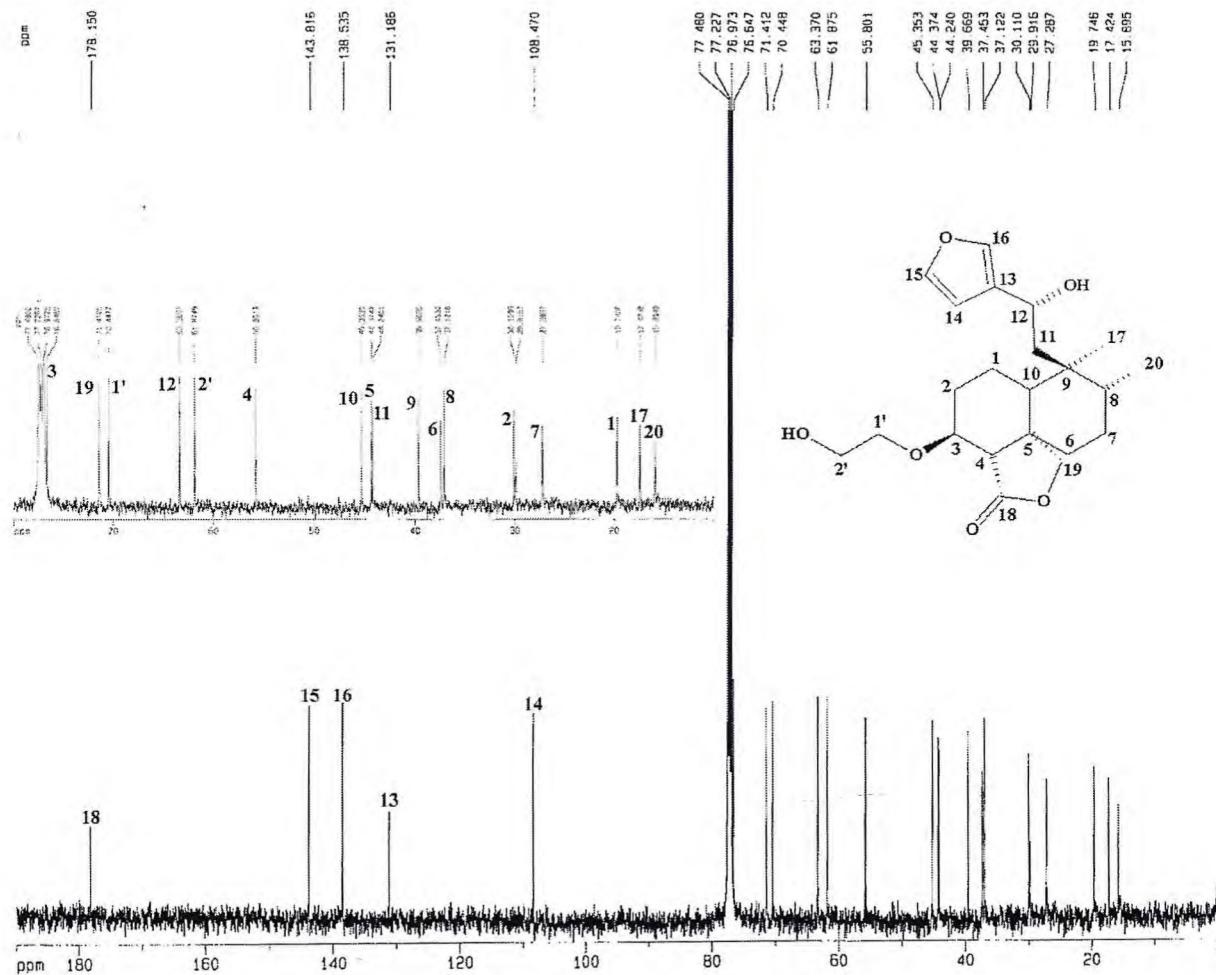


Figura 124: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD de EVFIC-3b [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

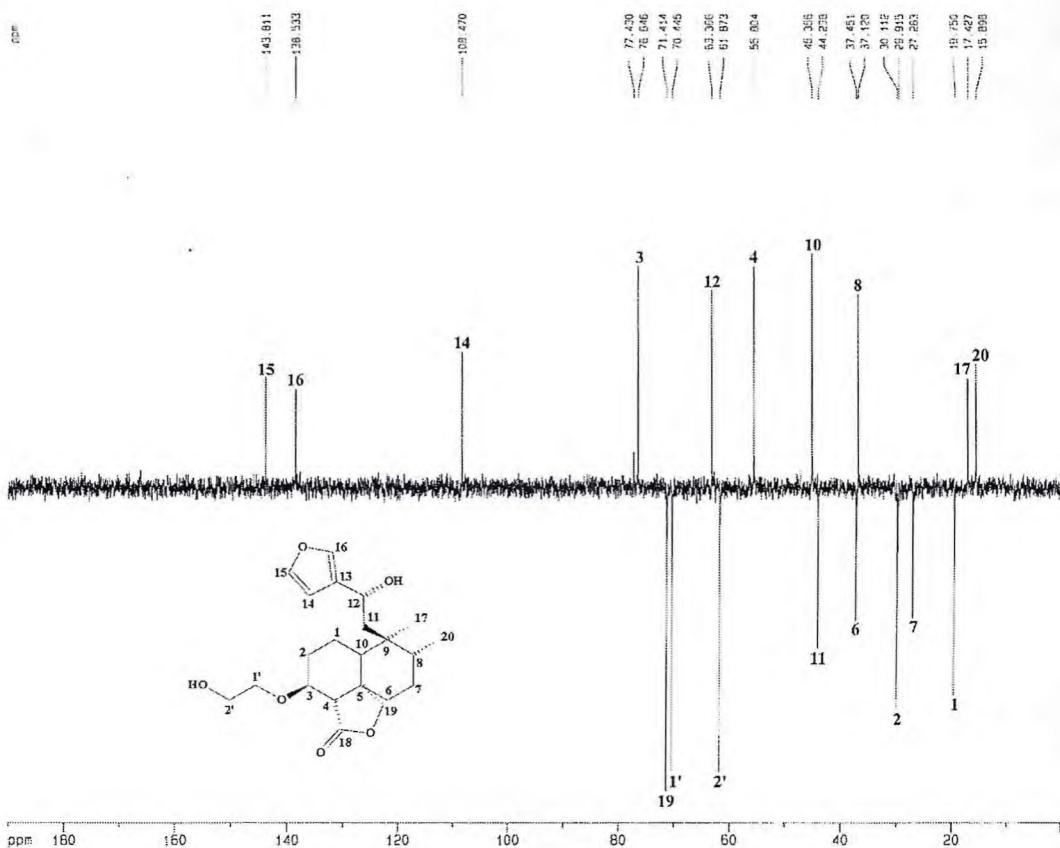


Figura 125: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° de EVFlC-3b [ $\delta$ ; 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

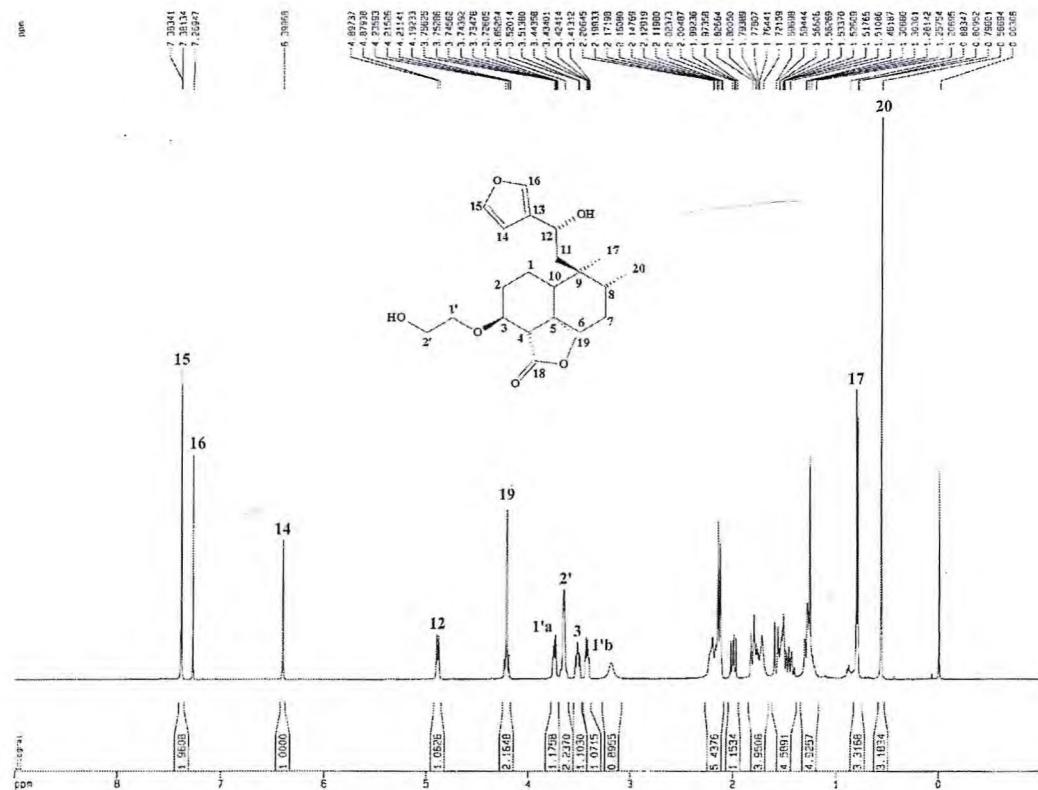


Figura 126: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de EVF1C-3b [ $\delta$ ; 500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

O espectro de RMN bidimensional HMBC (Fig. 127, abaixo), correlação hidrogênio carbono à longa distância ( $^2J_{\text{CH}}$  e  $^3J_{\text{CH}}$ ), mostra a correlação dos hidrogênios carbinólicos do etilenoglicol em  $\delta$  3,74 e 3,42 com C-3 em  $\delta$  76,7; ratificando que adição ocorreu a este carbono da dupla ligação.

A partir da análise do espectro de RMN bidimensional HMQC, correlação hidrogênio carbono a uma ligação (Fig. 128, p. 154), foi possível associar os sinais em  $\delta$  3,74 e 3,42 (H-1') ao sinal em  $\delta$  70,5 (C-1'); o sinal em  $\delta$  3,65 (H-2') com o sinal em  $\delta$  61,9 (C-2') e o sinal em  $\delta$  3,52 (H-3) com o sinal em  $\delta$  76,7 (C-3), pertencentes a molécula de EVFIC-3b.

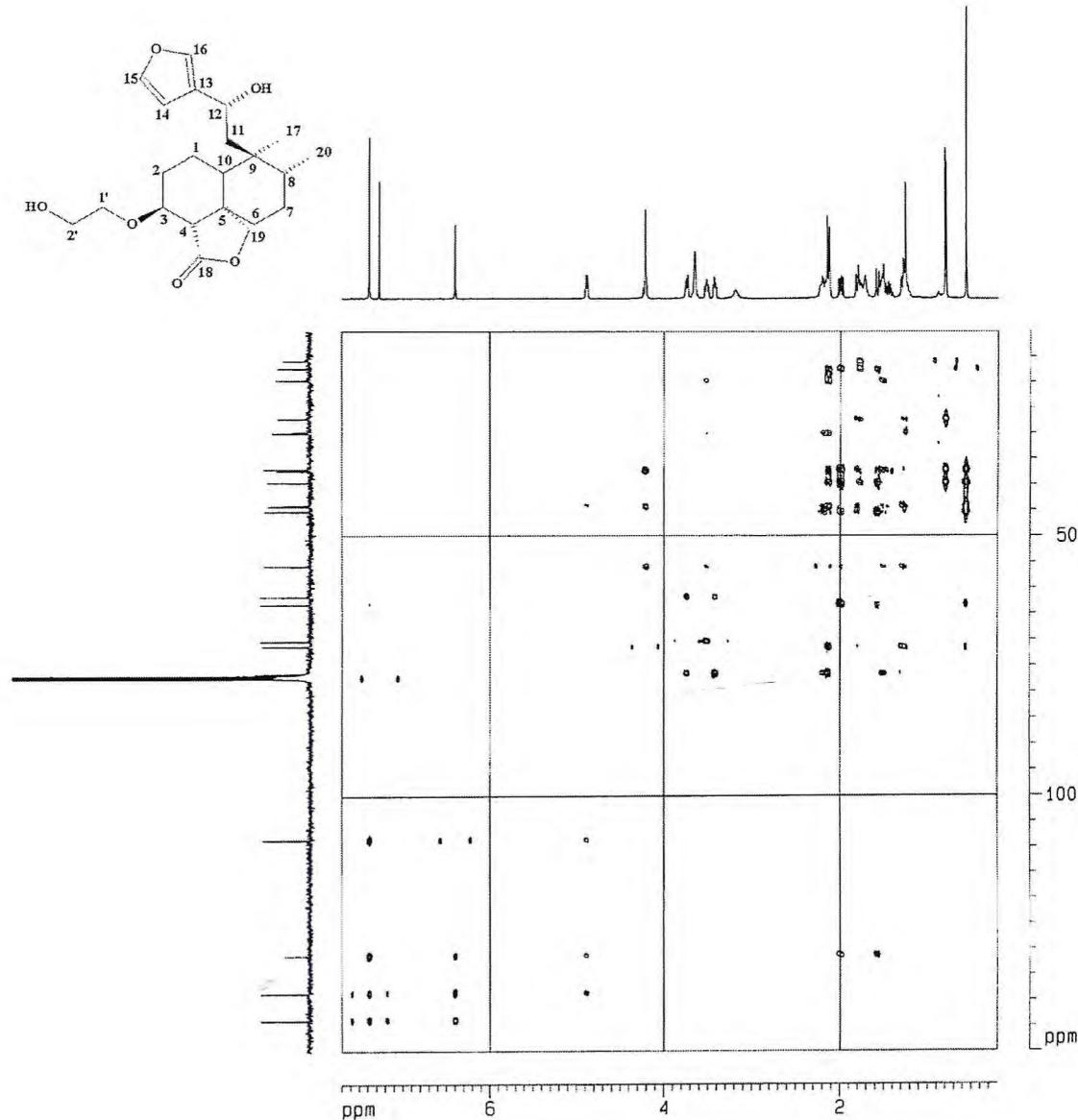


Figura 127: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFIC-3b [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

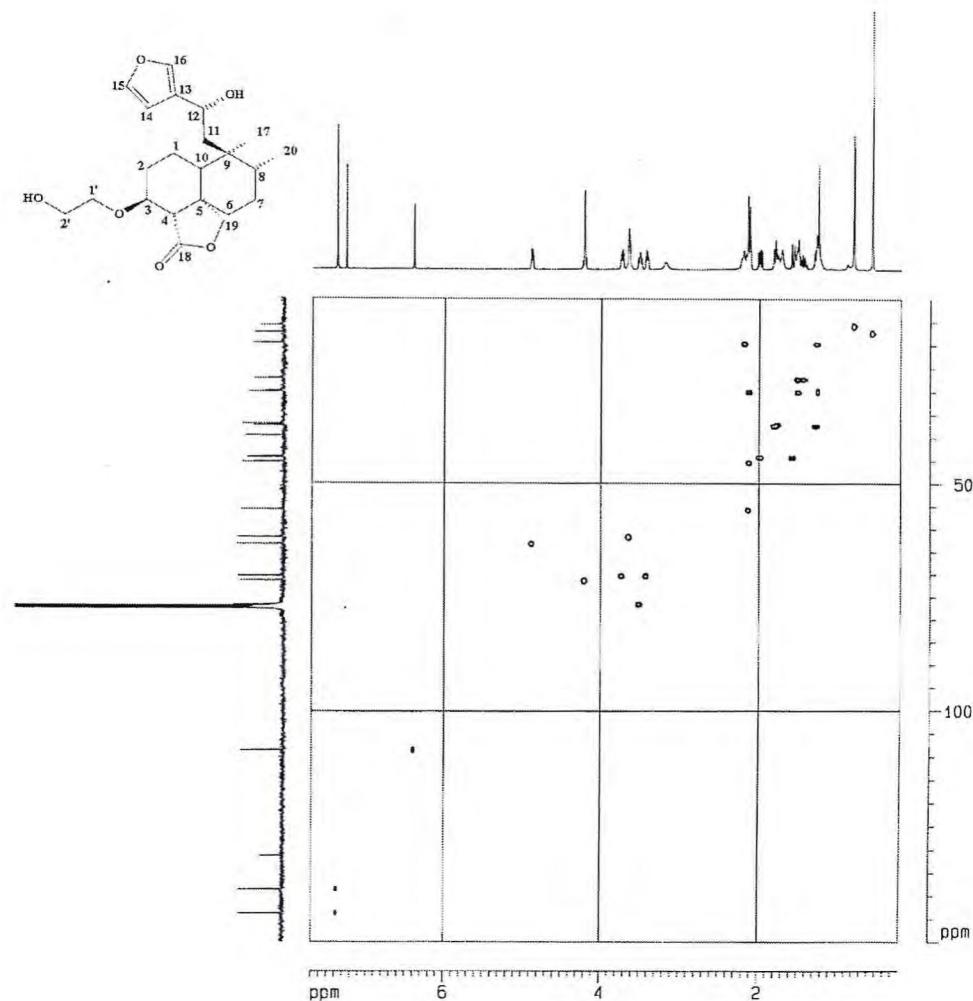
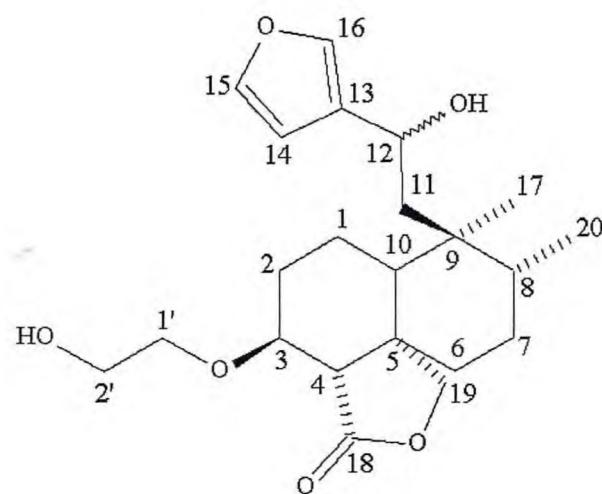


Figura 128: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC de EVFIC-3b [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

Os dados discutidos acima encaixam-se perfeitamente na estrutura abaixo (49).

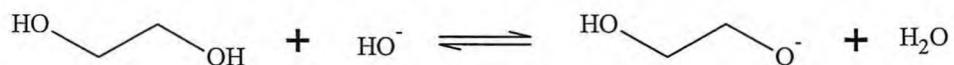


(49)

### 6.2.1 Proposta Mecanística Para Formação de EVFIC-3b.

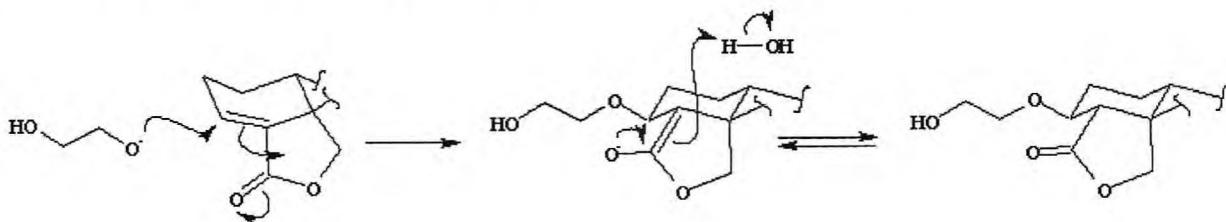
#### 6.2.1.1 Adição Nucleofílica do Etilenoglicol.

A reação de adição do etilenoglicol à EVFIC-3b, trata-se de uma adição de Michael promovida por base. Neste caso a reação é promovida por base para que ocorra a formação de um melhor nucleófilo, ou seja, do alcóxido do etilenoglicol (Esquema 2, abaixo).



Esquema 2

Após a formação do alcóxido (nucleófilo), este ataca o carbono  $\beta$  da dupla ligação através da face  $s_i$ , originando o aduto de Michael , (Esquema 3, abaixo).



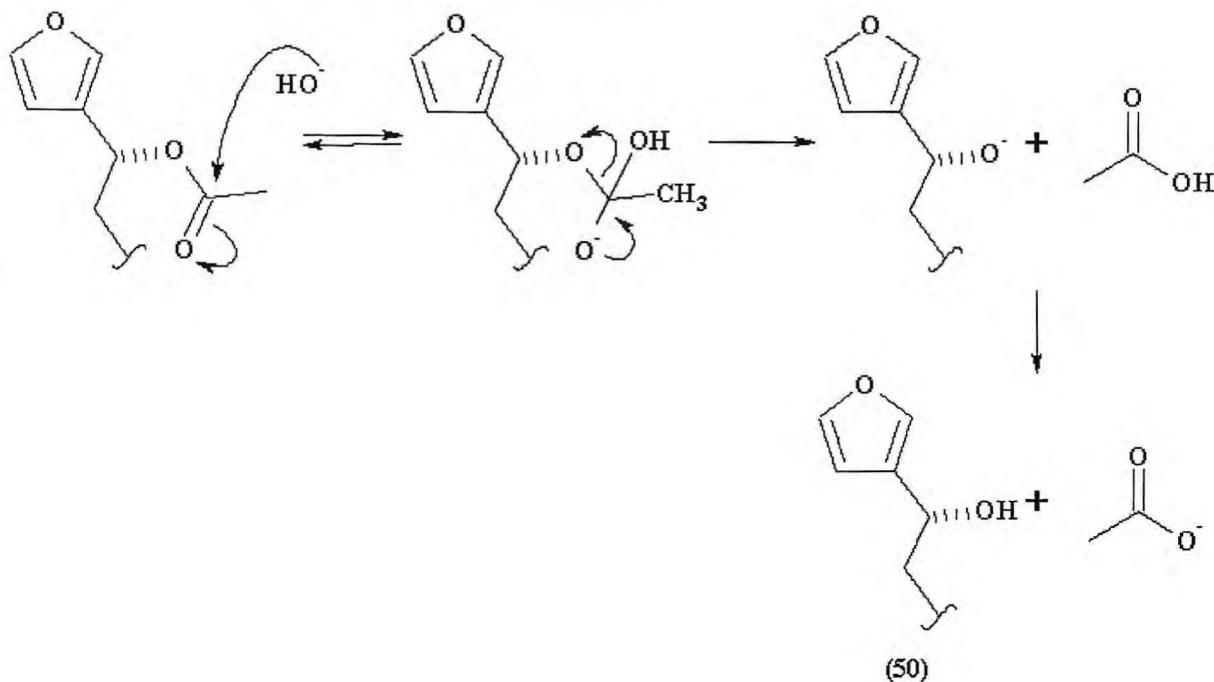
Esquema 3

Tabela 38: Comparação dos Dados de Deslocamento Químico de RMN  $^{13}\text{C}$  com padrão de hidrogenação do acetato da lactona do ácido hautriwaico (**3**) com o EVFlC-3b.

#C	( <b>3</b> )	EVFlC-3b
	$\delta$ C	$\delta$ C
1	20,4 (CH <sub>2</sub> )	19,7 (CH <sub>2</sub> )
2	27,7 (CH <sub>2</sub> )	30,1 (CH <sub>2</sub> )
3	<b>135,8 (CH)</b>	<b>76,7 (CH)</b>
4	<b>138,7 (C)</b>	<b>55,8 (CH)</b>
5	45,8 (C)	44,4 (C)
6	34,4 (CH <sub>2</sub> )	37,5 (CH <sub>2</sub> )
7	27,9 (CH <sub>2</sub> )	27,3 (CH <sub>2</sub> )
8	37,3 (CH)	37,1 (CH)
9	39,6 (C)	39,7 (C)
10	49,2 (CH)	45,3 (CH)
11	42,1 (CH <sub>2</sub> )	44,2 (CH <sub>2</sub> )
12	65,0 (CH)	63,4 (CH)
13	126,4 (C)	131,2 (C)
14	108,8 (CH)	108,5 (CH)
15	140,2 (CH)	143,8 (CH)
16	143,6 (CH)	138,5 (CH)
17	15,9 (CH <sub>3</sub> )	15,9 (CH <sub>3</sub> )
<b>18</b>	<b>169,4 (C)</b>	<b>178,2 (C)</b>
19	71,9 (CH <sub>2</sub> )	71,4 (CH <sub>2</sub> )
20	17,7 (CH <sub>3</sub> )	17,4 (CH <sub>3</sub> )
<u>COCH<sub>3</sub></u>	<b>170,2 (C)</b>	---
<u>COCH<sub>3</sub></u>	<b>21,7 (CH<sub>3</sub>)</b>	---
<u>HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O</u>	---	<b>70,5 (CH<sub>2</sub>)</b>
<u>HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O</u>	---	<b>61,9 (CH<sub>2</sub>)</b>

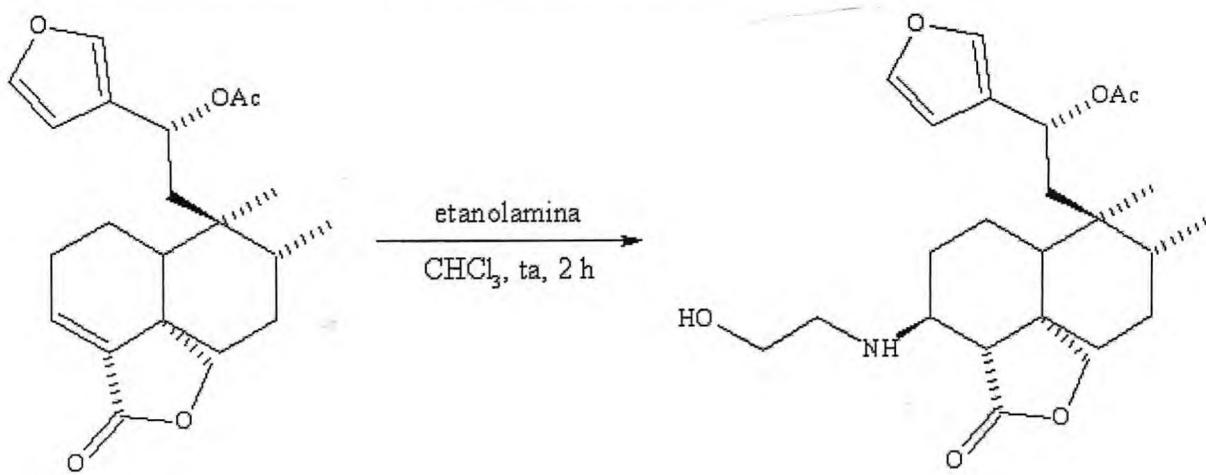
### 6.2.1.2 Hidrólise do Grupo Acetato

A hidrólise do grupo acetato em C-12 na molécula de acetato da lactona do ácido hautriwaico, ocorre através do mecanismo clássico para hidrólise de ésteres catalisado por base (Esquema 4, abaixo), originando o álcool (**50**).



Esquema 4

### 6.3 Adição de Etanolamina ao acetato da lactona do ácido hautriwaico.



Da mesma forma como ocorreu nos derivados EVFIC-3a e EVFIC-3b, os sinais referentes aos carbonos da dupla ligação em C-3 e C-4, no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 78, p. 86) do produto de partida, foram substituídos por sinais em  $\delta$  55,0

sobrepostos no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 129, p. 158) de EVFlC-3c. Observando o valor da absorção referente C-3, em  $\delta$  55,0, pode-se determinar que a etanolamina se ligou a este carbono através do nitrogênio. Caso esta ligação ocorresse através do oxigênio, o valor de deslocamento químico de C-3, seria próximo de 76,7 ppm, valor encontrado para este carbono em EVFlC-3b. Os sinais referentes a C-1" e C-2", da etanolamina, são observados em  $\delta$  48,0 e 61,1 respectivamente. A tabela 39 mostra a comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD da lactona do ácido hautriwaico (3) com EVFlC-3c.

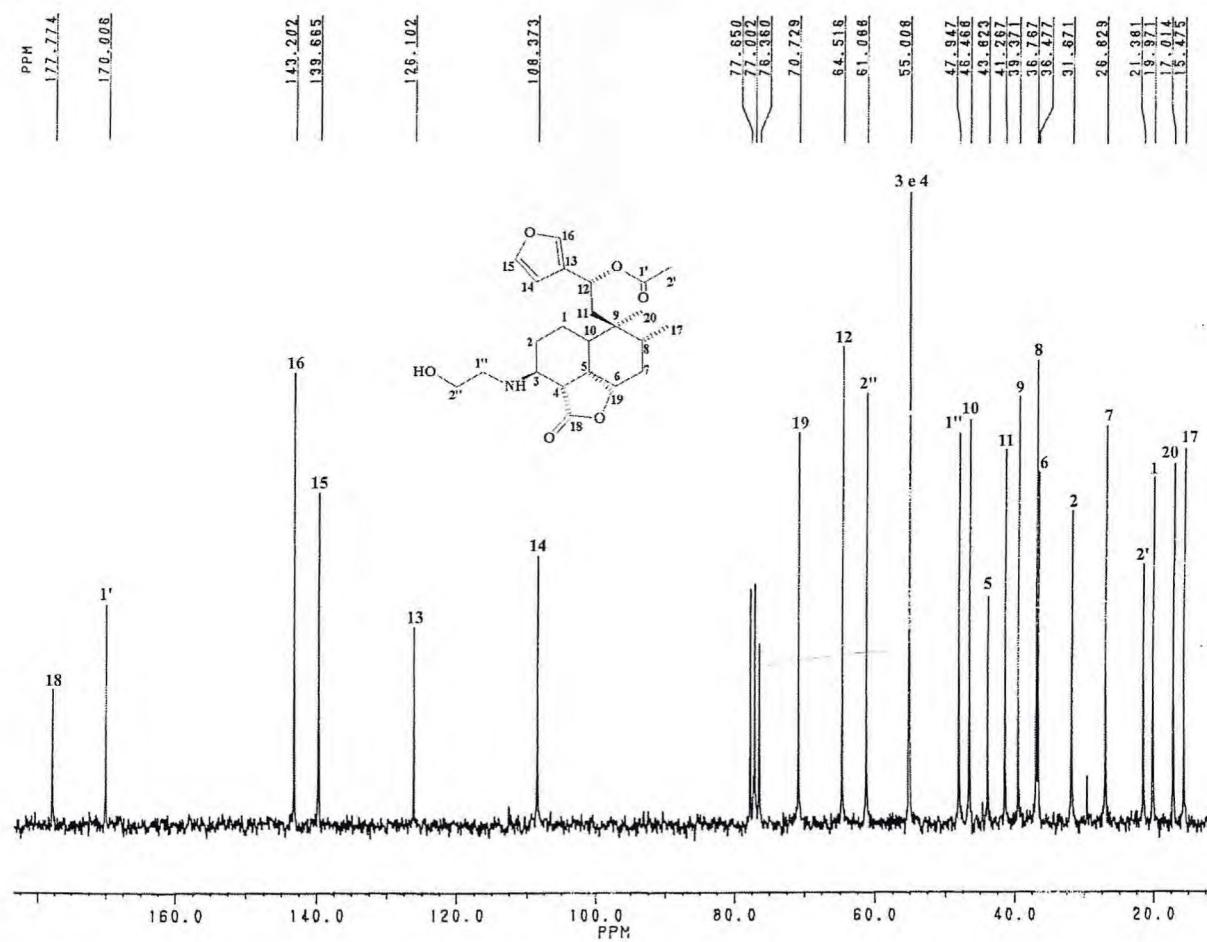
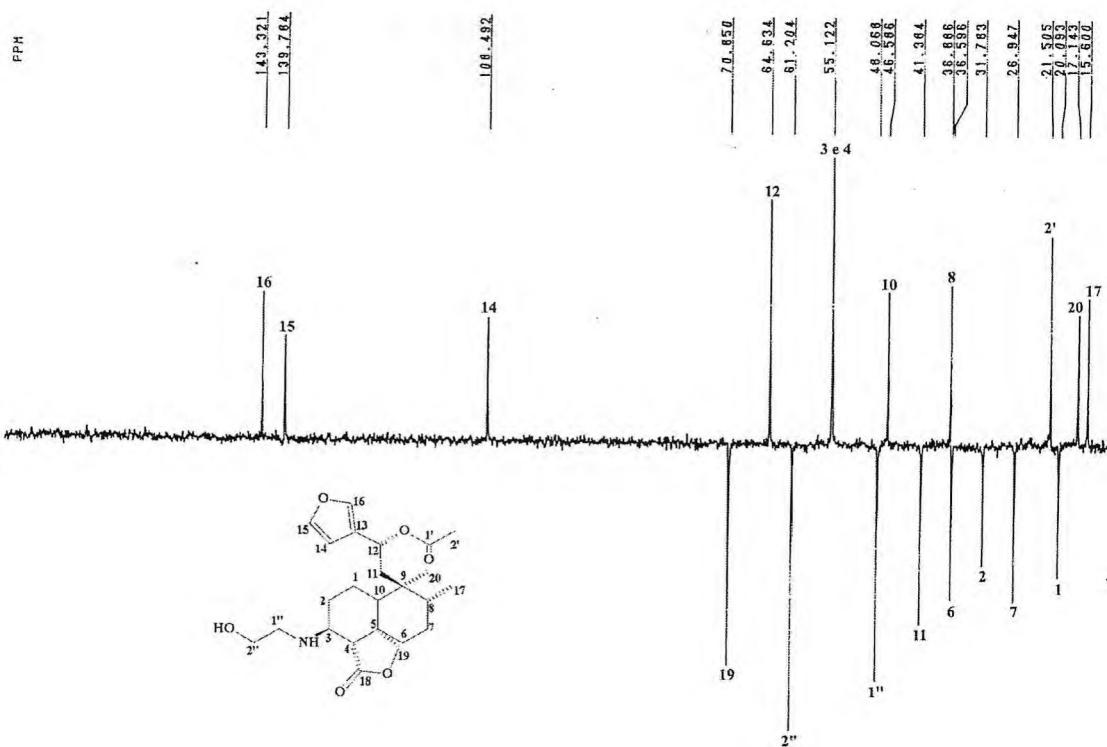
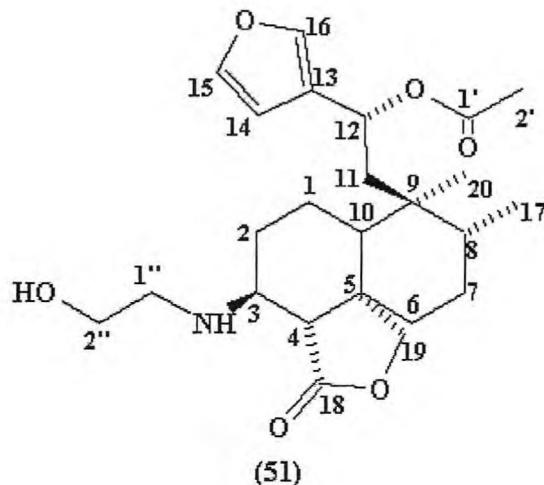


Figura 129: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFlC-3c.



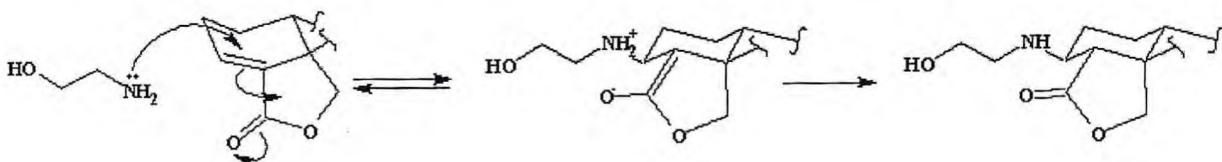
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 131, 157) de EVFIC-3c, mostra além das características discutidas para EVFIC-3a e EVFIC-3b, os sinais referentes aos hidrogênios metilênicos do grupo etanolamina, que são observados em  $\delta$  3,53 ( $\text{H}-2''$ ) e 2,64 ( $\text{H}-1''$ ).

Embasado no que foi discutido acima, a estrutura (51) abaixo, é proposta para EVFIC-3c.



### 6.3.1 Proposta Mecanística Para Formação de EVFIC-3c.

O mecanismo reacional segue o que foi proposto para formação de EVFIC-3a, item 6.1.1 (p. 147). Há o ataque do nitrogênio da etanolamina à dupla ligação conjugada com a carbonila para formação do adulto de Michael (esquema 5, abaixo), fato condizente com o maior poder nucleofílico de um grupo amino em relação a uma hidroxila.

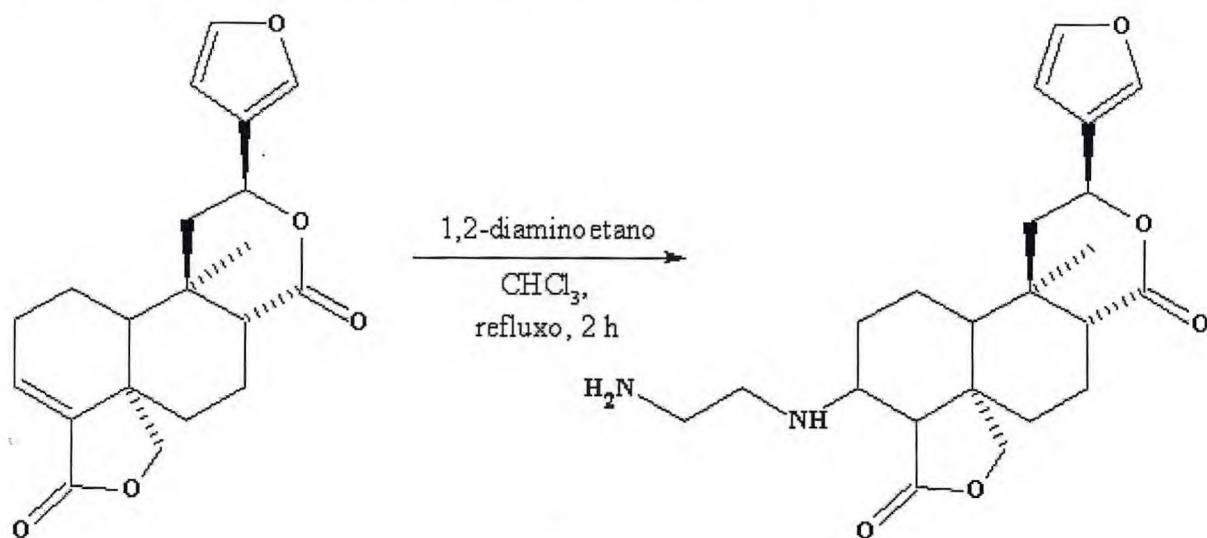


Esquema 5

Tabela 39: Comparação Dos Dados de Deslocamento Químico de RMN  $^{13}\text{C}$  com Padrão de Hidrogenação do Acetato da Lactona do Ácido Hautriwaico (**3**) com o EVFlC-3c.

#C	(3)	EVFlC-3c
	$\delta$ C	$\delta$ C
1	20,4 (CH <sub>2</sub> )	20,0 (CH <sub>2</sub> )
2	27,7 (CH <sub>2</sub> )	31,6 (CH <sub>2</sub> )
<b>3</b>	<b>135,8 (CH)</b>	<b>55,0 (CH)</b>
<b>4</b>	<b>138,7 (C)</b>	<b>55,0 (CH)</b>
5	45,8 (C)	43,8 (C)
6	34,4 (CH <sub>2</sub> )	36,6 (CH <sub>2</sub> )
7	27,9 (CH <sub>2</sub> )	28,8 (CH <sub>2</sub> )
8	37,3 (CH)	36,8 (CH)
9	39,6 (C)	39,4 (C)
10	49,2 (CH)	46,4 (CH)
11	42,1 (CH <sub>2</sub> )	41,3 (CH <sub>2</sub> )
12	65,0 (CH)	64,5 (CH)
13	126,4 (C)	126,1 (C)
14	108,8 (CH)	108,4 (CH)
15	140,2 (CH)	139,7 (CH)
16	143,6 (CH)	143,3 (CH)
17	15,9 (CH <sub>3</sub> )	15,4 (CH <sub>3</sub> )
<b>18</b>	<b>169,4 (C)</b>	<b>117,8 (C)</b>
19	71,9 (CH <sub>2</sub> )	70,9 (CH <sub>2</sub> )
20	17,7 (CH <sub>3</sub> )	17,0 (CH <sub>3</sub> )
<u>COCH<sub>3</sub></u>	170,2 (C)	170,0 (C)
<u>COCH<sub>3</sub></u>	21,7 (CH <sub>3</sub> )	21,1 (CH <sub>3</sub> )
<b>HOCH<sub>2</sub><u>CH<sub>2</sub>NH</u></b>	---	<b>48,1 (CH<sub>2</sub>)</b>
<b>HO<u>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH</u></b>	---	<b>61,2 (CH<sub>2</sub>)</b>

6.4 Adição de 1,2-diaminoetano ao *12-epi*-bacchotricicuneatina A.



A formação do aduto de Michael nitrogenado é confirmada, pela ausência dos sinais em  $\delta$  136,1 (C-3) e 137,6 (C-4), no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 132, p. 163). Os sinais destes carbonos são agora observados em  $\delta$  55,3 (C-3) e 54,3 (C-4). Estes sinais, quando observados no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 133, p. 163), são associados a carbonos metínicos, como era esperado. Outros dois sinais adicionais são observados em  $\delta$  48,8 (C-1') e 41,7 (C-2'), ambos  $\text{CH}_2$  no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135°, que são condizentes com os carbonos metilênicos do 1,2-diaminoetano adicionado a *12-epi*-bacchotricicuneatina A. O deslocamento da carbonila (C-18), de  $\delta$  168,8 para  $\delta$  177,0; no material de partida e no derivado respectivamente, mostra claramente a perda da conjugação entre a carbonila (C-18) e a dupla ligação. A tabela 40 (p. 167), mostra a comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -HBBD da *12-epi*-bacchotricicuneatina A com o seu derivado.

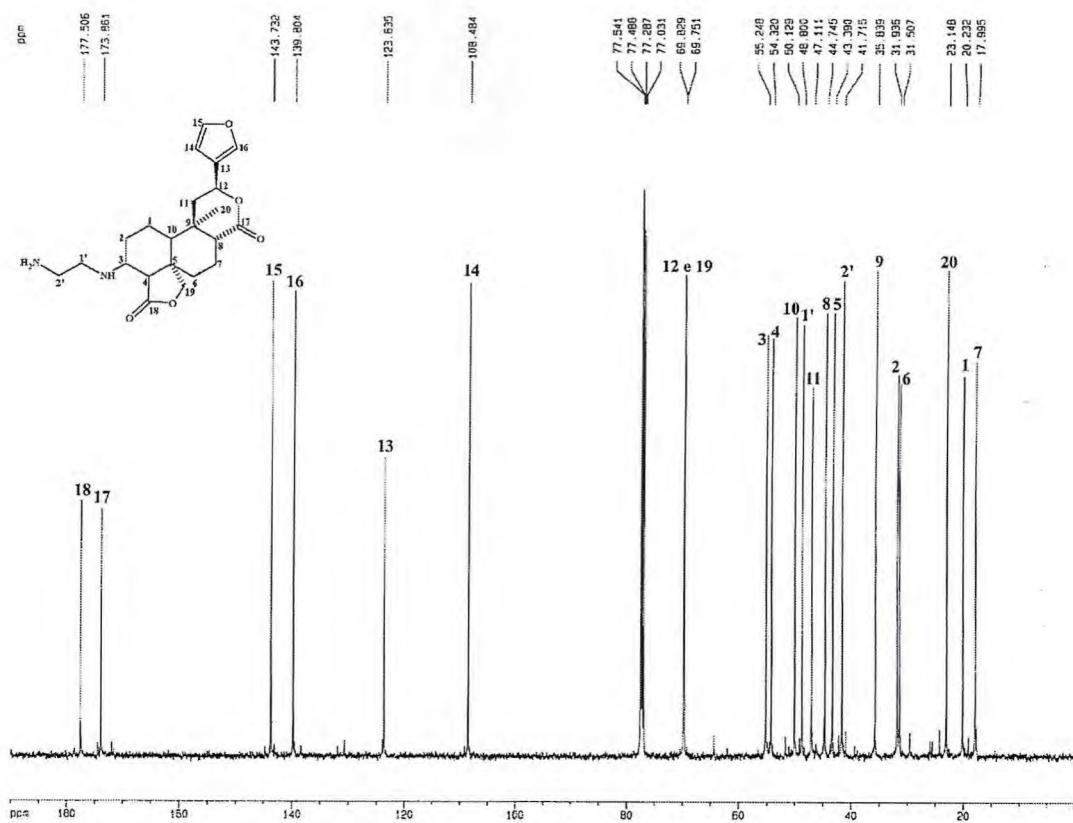


Figura 132: Espectro de RMN <sup>13</sup>C-HBBD (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de EVFIC-4a.

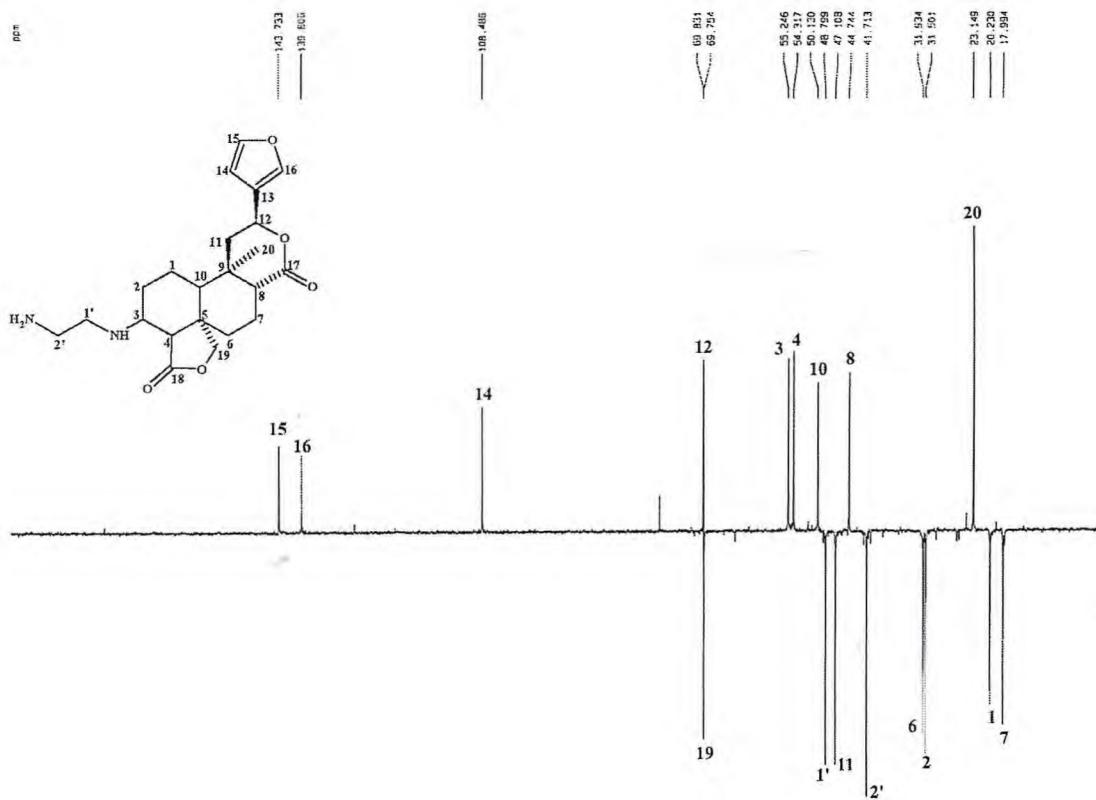


Figura 133: Espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135° (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de EVFIC-4a.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 134, abaixo), são observados sinais múltiplos centrados em  $\delta$  2,62; que correspondem aos hidrogênios metilênicos do grupo 1,2-diaminoetano ( $\text{H-1}'$  e  $\text{H-2}'$ ) e ao hidrogênio  $\text{H-3}$ . Este fato é observado no espectro de correlação heteronuclear a uma ligação com detecção no canal do hidrogênio HMQC (500 MHz X 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 135, p. 165) onde o sinal citado acima mostra correlação com os sinais em  $\delta$  55,3 (C-3), 48,8 (C-1'') e 41,7 (C-2''). No espectro de RMN  $^1\text{H}$  também é observado que os sinais referentes aos hidrogênios  $\text{H-19}$  ( $\delta$  4,18), coaleceram devido a ausência da dupla ligação.

O espectro de correlação heteronuclear a mais de uma ligação com detecção no canal do hidrogênio HMBC (500 MHz X 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 136, p. 166), mostra o acoplamento do sinal em  $\delta$  4,18 ( $\text{H-19}$ ), com o sinal em  $\delta$  177,0 (C-18), evidenciando que o anel lactônico entre os carbonos C-18 e C-19, encontra-se intacto após a reação. Neste espectro é também visto o acoplamento do hidrogênio  $\text{H-1}'$  ( $\delta$  2,63 e 2,49) com o carbono C-3 ( $\delta$  55,3), confirmando a entrada do grupo 1,2-diaminoetano no carbono C-3 de *12-epi*-bacchotricuneatina A.

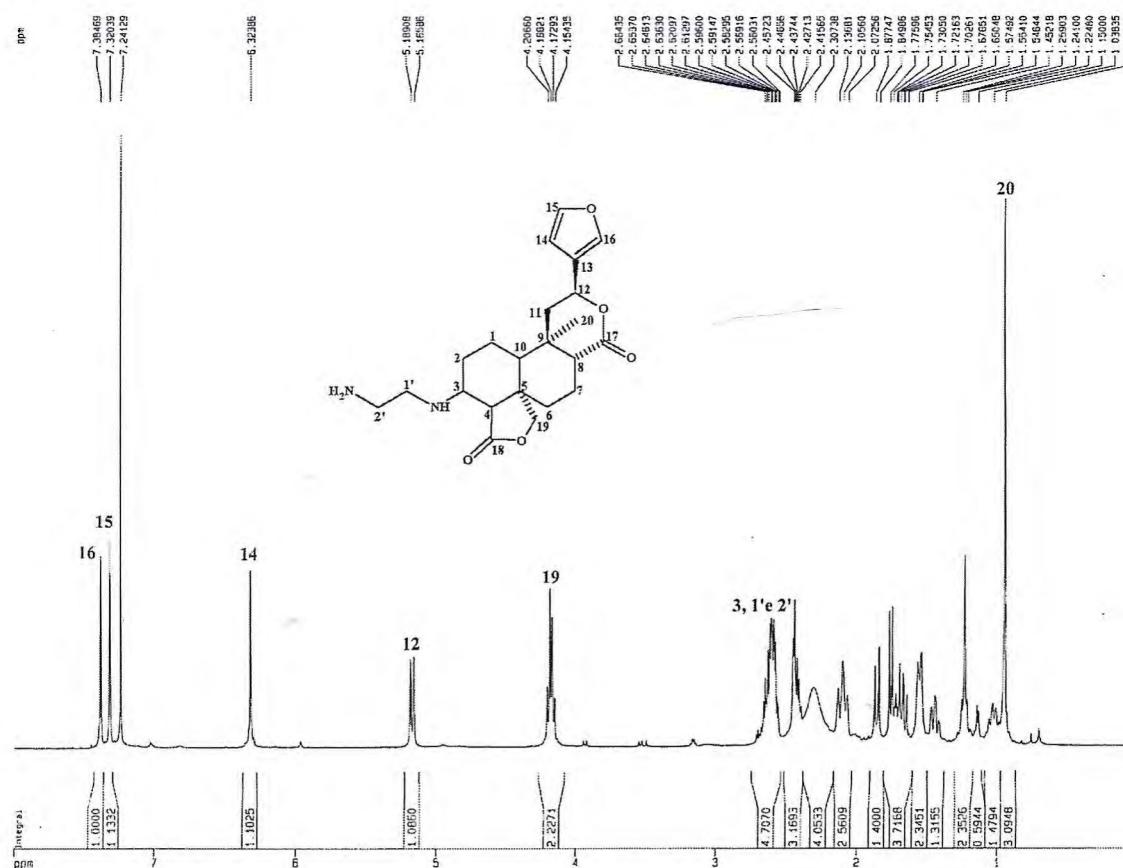


Figura 134: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de EVFIC-4a.

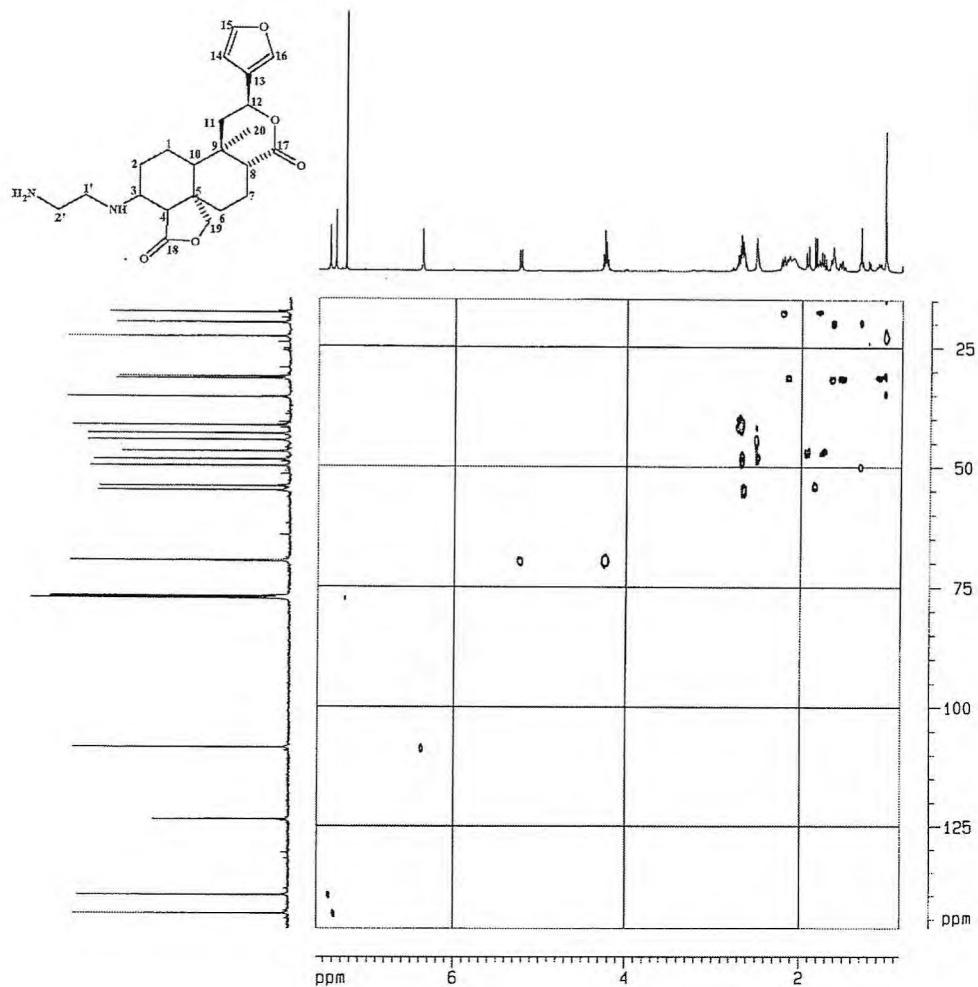
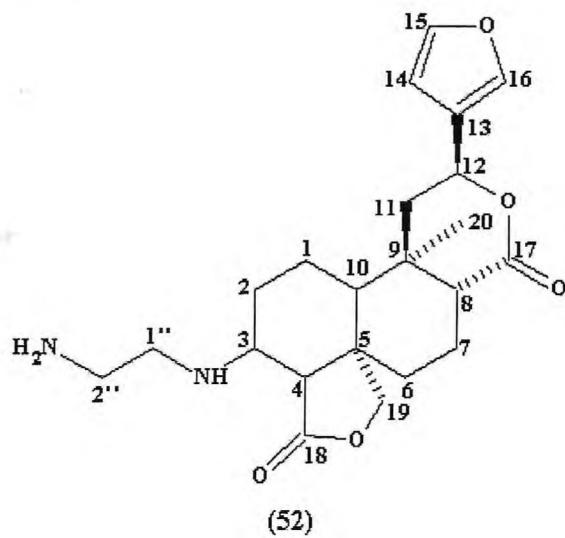


Figura 135: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMQC de EVFIC-4a [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ].

Com o que foi discutido acima, pode-se propor a estrutura (52), para EVFIC-4a.



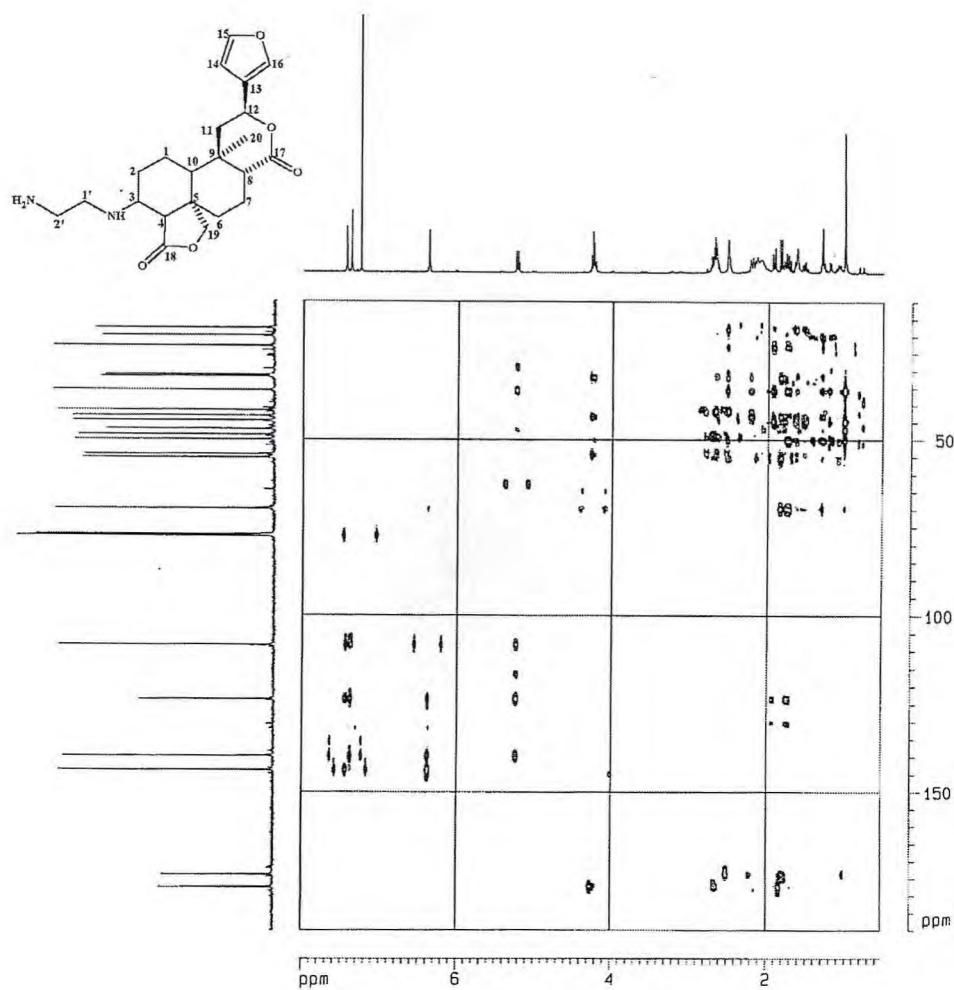


Figura 136: Diagrama de contorno do espectro  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC de EVFlC-4a [ $\delta$ ; 500 MHz x 125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ]

#### 6.4.1 Proposta mecanística para formação de EVFlC-4a.

O mecanismo sugerido para formação de EVFlC-4a, segue o que foi proposto para formação de EVFlC-3a discutido no item 6.3.1, p. 160.

Tabela 40: Comparação dos Dados de Deslocamento Químico de RMN  $^{13}\text{C}$  com padrão de hidrogenação da *12-*epi*-bacchotricicuneatina A* (4) com o EVFlC-4a.

#C	(4)	EVFlC-3c
	$\delta$ C	$\delta$ C
1	20,1 (CH <sub>2</sub> )	20,2 (CH <sub>2</sub> )
2	27,5 (CH <sub>2</sub> )	31,5 (CH <sub>2</sub> )
3	<b>136,1 (CH)</b>	<b>55,3 (CH)</b>
4	<b>137,6 (C)</b>	<b>54,3 (CH)</b>
5	45,1 (C)	43,4 (C)
6	30,3 (CH <sub>2</sub> )	31,5 (CH <sub>2</sub> )
7	19,1 (CH <sub>2</sub> )	18,0 (CH <sub>2</sub> )
8	45,3 (CH)	44,8 (CH)
9	36,2 (C)	35,8 (C)
10	51,8 (CH)	50,1 (CH)
11	47,5 (CH <sub>2</sub> )	47,1 (CH <sub>2</sub> )
12	70,0 (CH)	69,8 (CH)
13	123,8 (C)	123,6 (C)
14	108,5 (CH)	108,5 (CH)
15	143,9 (CH)	143,7 (CH)
16	139,9 (CH)	139,8 (CH)
17	174,0 (C)	173,9 (C)
18	168,0 (C)	177,5 (C)
19	70,8 (CH <sub>2</sub> )	69,8 (CH <sub>2</sub> )
20	23,1 (CH <sub>3</sub> )	23,2 (CH <sub>3</sub> )
H <sub>2</sub> N <u>CH<sub>2</sub></u> CH <sub>2</sub> NH	---	<b>48,8 (CH<sub>2</sub>)</b>
H <sub>2</sub> N <u>CH<sub>2</sub></u> CH <sub>2</sub> NH	---	<b>41,7 (CH<sub>2</sub>)</b>

## *Parte Experimental*

## 7 PARTE EXPERIMENTAL

### 7.1 Material Vegetal

Os capítulos florais de *Egletes viscosa* Less., selecionados para estudo foram adquiridos nos ervanários do Mercado Central de Fortaleza-Ce, onde a referida planta é comercializada. Já as partes aéreas de *E. viscosa*, foram coletadas em diversas localidades do estado do Ceará (Fig. 29, p. 56) pelo Prof. Edilberto Rocha Silveira, do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

Em uma etapa mais avançada do trabalho, os espécimes de *E. viscosa* foram obtidos por germinação de sementes, realizado pelo Engenheiro Agrônomo Antônio Marcos Esmeraldo Bezerra, Doutorando em Agronomia/Fitotecnia pelo Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará e pelo Engenheiro Agrônomo João Baptista Santiago de Freitas, do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará.

A identificação botânica foi realizada pelo Professor Edson de Paula Nunes, do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará. As exsicatas encontram-se depositadas no Herbário Prisco Bezerra, pertencente ao Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará.

### 7.2 Métodos Cromatográficos

As cromatografias de adsorção foram desenvolvidas utilizando-se gel de sílica 60 da Vetec ( $\varnothing$  mm 0,063-0,200) Cod. 1095, para cromatografia em coluna e gel de sílica 60G F 254 V etec Cód. 1134, para cromatografia em camada delgada (CCD). Os comprimentos e diâmetros das colunas variaram de acordo com as alíquotas de amostra a serem cromatografadas e com as quantidades de adsorventes utilizadas.

As cromatografias em camada delgada (CCD) analítica foram realizadas em cromatoplacas de gel de sílica 60 ( $\varnothing$  mm 0,002-0,025) T-6145 sobre poliéster com indicador de fluorescência no comprimento de onda de 254  $\text{nm}$  da Sigma Chemical Co.

As revelações das substâncias nas cromatoplacas analíticas foram realizadas pela pulverização com solução de vanilina ( $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ ) e ácido perclórico ( $\text{CClO}_4$ ) 0,75 M em etanol

P.A., seguido de aquecimento em estufa a 100 °C por aproximadamente 5 minutos e/ou exposição das mesmas a radiação de luz ultravioleta em câmara da marca Vilber Lourmat, equipada com lâmpadas modelo CN-15LM com comprimento de onda de 365 e 312 nm.

Os eluentes utilizados foram: hexano, clorofórmio, diclorometano, acetato de etila, metanol e etanol, puros ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade.

### 7.3 Métodos Espectrométricos

#### 7.3.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN $^1\text{H}$ ) e de Carbono-13 (RMN $^{13}\text{C}$ )

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e de RMN  $^{13}\text{C}$  unidimensionais e bidimensionais foram obtidos em espetrômetros Bruker, modelos AC-200, Avance DPX-300 e Avance DRX-500, pertencentes ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear CENAUREMN da Universidade Federal do Ceará, operando na freqüência do próton a 200 MHz, 300 MHz ou 500 MHz, na freqüência do carbono-13 a 50 MHz, 75 MHz ou 125 MHz, respectivamente.

O solvente utilizado nas dissoluções das amostras de óleos essenciais e substâncias não voláteis (sólidos e líquidos), foi o clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ).

As amostras dissolvidas são acondicionadas em tubos de RMN de 5 mm a 303 K e a pressão atmosférica.

Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) são expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados, no caso dos espectros de próton, pelo sinal dos hidrogênios pertencente a fração residual não deuterada do clorofórmio deuterado ( $\delta$  7,27). Nos espectros de carbono-13, os deslocamentos químicos ( $\delta$ ), foram referenciados pelo sinal central do carbono-13 do clorofórmio deuterado ( $\delta$  77,0).

Para os experimentos realizados no espetrômetro Bruker, modelo Avance DPX-300, utilizou-se sonda inversa multinuclear de 5 mm. Nos experimentos unidimensionais de próton ( $^1\text{H}$ ), foi utilizada uma largura espectral ( $\text{SW}_{\text{H}}$ ) de 24 ppm, com período de relaxação ( $D_1$ ) de 1,0 s e pulso de 90° de 9,0  $\mu\text{s}$  com potência de 6,40 DB. Para os experimentos

unidimensionais de carbono-13 ( $^{13}\text{C}$ ), utilizou-se uma largura espectral ( $\text{SW}_\text{C}$ ) de 230 ppm, com período de relaxação ( $D_1$ ) de 1,0 s e pulso de  $90^\circ$  de 12,0  $\mu\text{s}$  com potência de 0,0 dB.

Já nos experimentos que foram realizados no espectrômetro Bruker, modelo Avance DRX-500, foi utilizada sonda dual de 5 mm, para os experimentos unidimensionais ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ), bidimensionais de correlação homonuclear ( $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY E NOESY) e correlação heteronuclear (HETCOR e COLOC). Uma sonda inversa multinuclear de 5 mm com gradiente no eixo z e unidade de gradiente de 10 A, foi utilizada nos experimentos com detecção inversa ( $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY e NOESY), de correlação heteronuclear (HMQC E HMBC) e com gradiente (GS-COSY, GS-HMQC e GS-HMBC). Para os experimentos unidimensionais de próton, a largura espectral ( $\text{SW}_\text{H}$ ) utilizada foi de 24 ppm, com período de relaxação de 1,0 s e pulso de  $90^\circ$  de 10  $\mu\text{s}$  com potência de -3,0; 2,0 e 6,4 dB, dependendo do experimento. Nos experimentos unidimensionais de carbono-13, foi utilizada largura espectral ( $\text{SW}_\text{C}$ ) de 230 ppm, com período de relaxação de 1,0 s e pulso de  $90^\circ$  de 6,5  $\mu\text{s}$  com potência de 3,0 dB.

As seqüências de pulsos utilizadas para os experimentos unidimensionais e bidimensionais foram as seguintes:

Experimento	Seqüência de pulsos	Observações
Próton	zg30	
	zgpr	Para saturação do sinal do solvente
Carbono-13	zgpg30	
DEPT 135°	dept135	
COSY	cosydfpt	
NOESY	noesytp	
HMQC	invbtp	
GS-HMQC	inv4gstp	
HMBC	inv4lplrnd	
GS-HMBC	inv4gslplrnd	
HETCOR	hxco	
COLOC	coloc	

As multiplicidades das bandas de absorção dos hidrogênios nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  foram indicadas segundo a convenção: s (singleto), sl (singleto largo), d (dupliceto), dl (dupliceto largo), dd (duplo dupliceto), dt (duplo triploto), tl (triploto largo) e m (multipletos).

A técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), com ângulo de nutação de  $135^\circ$ , CH e  $\text{CH}_3$  com amplitudes em oposição aos  $\text{CH}_2$ , foi utilizada na determinação do padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN  $^{13}\text{C}$ , descrito segundo a convenção: C (carbono não hidrogenado), CH (carbono metínico),  $\text{CH}_2$  (carbono metilênico) e  $\text{CH}_3$  (carbono metílico). Os carbonos não hidrogenados foram caracterizados pela subtração do espectro DEPT  $135^\circ$  do espectro HBBD.

### 7.3.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)

Os espectros na região do Infravermelho (IV) foram obtidos em Espectrômetro Perkin Elmer, modelo FT-IR Espectrum 1000, da central analítica do Departamento Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. Foram utilizadas pastilhas de brometo de potássio (KBr) para análise das amostras sólidas e aplicação direta na forma de filme para análise das amostras líquidas.

### 7.4 Cromatografia Gás/Líquido Acoplada a Espectrometria de Massa (CGL/EM)

Os cromatogramas dos óleos essenciais extraídos de *E. viscosa*, bem como os espectros de massa de seus constituintes, foram obtidos no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, em espectrômetro de massa Hewlett-Packard modelo HP-5971 A série II (CGL/EM), equipado com uma coluna capilar de 30 m X 0,25 mm de dimetilpolisiloxano (DB-5), usando um fluxo de hélio a 1 mL/min, com gradiente de temperatura programado de  $4\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  de 35 a  $180\text{ }^\circ\text{C}$  e de  $20\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  de 180 a  $270\text{ }^\circ\text{C}$ , e temperatura do injetor de  $250\text{ }^\circ\text{C}$ .

### 7.5 Pontos de Fusão

Os pontos de fusão foram determinados em equipamento de microdeterminação Mettler, com placa aquecedora modelo FP 82-HT e unidade de controle FP 90, pertencente ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. As determinações foram realizadas com gradiente de aquecimento de 2 °C/min.

### 7.6 Rotação Óptica

As rotações ópticas foram determinadas em um polarímetro Perkin Elmer modelo 341 do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. As medidas foram expressas utilizando a notação  $[\alpha]_D^T$  onde D é a raia D do sódio e T a temperatura que foi realizada a medida em °C. Utilizou-se clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) para dissolução das amostras.

### 7.7 Índice de Refração

Os índices de refração foram determinados em um refratômetro digital de bancada tipo ABBE da marca Quimis, pertencente ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará e foram expressos segundo a notação  $\eta_D^T$  onde D é a raia D do sódio e T a temperatura que foi efetuada a medida em °C.

### 7.8 Estudo dos Constituintes Voláteis de *Egletes viscosa* Less.

O estudo dos constituintes voláteis de *E. viscosa*, foi realizado com os óleos essenciais obtidos da parte aérea, com ou sem capítulos florais, e dos capítulos florais somente.

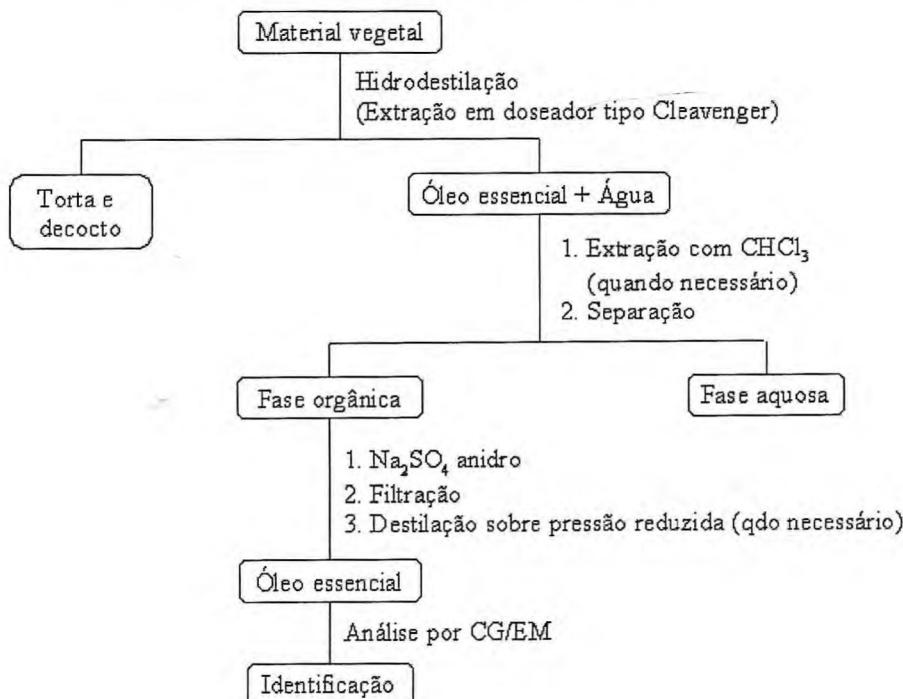
A extração dos óleos essenciais foi feita por hidrodestilação e os óleos foram coletados em aparelho doseador de óleo essencial tipo Cleavenger modificado por Gottlieb (Gottlieb et all., 1960).

A análise dos constituintes químicos presentes nos óleos essenciais foi realizada em cromatógrafo gás-líquido acoplado a espectrômetro de massa (CGL/EM), descrito no item 7.4, p. 172.

A identificação dos constituintes químicos presentes nos óleos essenciais foi efetuada através da determinação dos índices de Kovats simulados (item 4.2.1, p. 29) (Alencar, 1990), pesquisa em espectroscopia e comparação com dados da literatura (Adams, 2001).

### 7.8.1 Obtenção dos Óleos Essenciais de *Egletes viscosa* Less. (Fluxograma 1)

As estruturas vegetais de *E. viscosa*, foram acomodadas em balões cujos volumes variavam de acordo com a quantidade de material a ser extraído, juntamente com quantidade de água destilada suficiente para imergir cerca de 60 % do material. As misturas foram submetidas a hidrodestilação por aproximadamente 2 horas. Após as extrações com vapor d'água, as misturas contidas nos doseadores (óleo essencial + água) foram separadas utilizando-se um funil de separação de 50 mL, do tipo pêra; e partição com clorofórmio P.A., quando necessário (volumes de óleos essenciais menores que 0,5 mL). A fase orgânica foi secada em sulfato de sódio anidro, filtrada e quando necessário concentrada por destilação do solvente sob pressão reduzida, fornecendo os óleos essenciais.



Fluxograma 1: Método de extração do óleo essencial de *Egletes viscosa* Less.

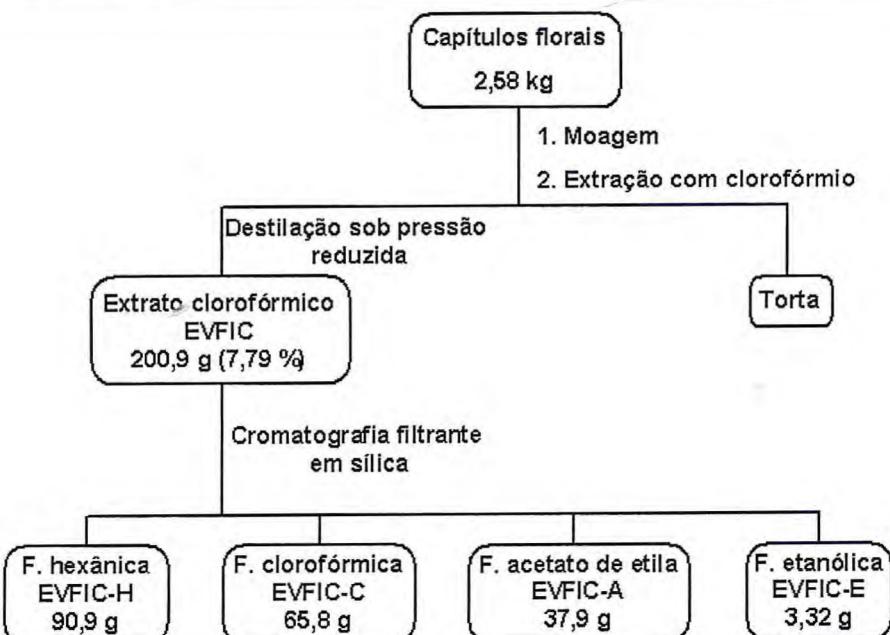
### 7.9 Metodologia de isolamento dos constituintes majoritários de *Egletes viscosa* Less (Tipo A).

2,58 kg de capítulos florais de *E. viscosa*, secos e moídos, adquiridos no Mercado Central, Fortaleza-Ce, foram acondicionados em garrafão de vidro e submetidos a extração com clorofórmio (3 X 3 L). Após a retirada do solvente sob pressão reduzida obteve-se 200,86 g (7,79 %) de um extrato viscoso e escuro denominado EVFIC.

200,9 g de EVFIC foram adsorvidos em 300 g de sílica e pulverizadas em gral de porcelana. A mistura foi acondicionada em funil cilíndrico de 2000 mL ( $\varnothing = 10$  cm), sobre uma camada de 50 g de sílica. Da eluição com hexano, clorofórmio acetato de etila e etanol, foram obtidas as seguintes frações:

Tabela 41: Dados da coluna filtrante de EVFIC

ELUATO	VOLUME ELUATO (L)	ASPECTO	PESO (g)	DENOMINAÇÃO
hexano	2,0	óleo marrom	90,9	EVFIC-H
clorofórmio	2,8	graxa verde	65,8	EVFIC-C
acetato de etila	2,0	graxa marrom	37,9	EVFIC-A
etanol	0,8	graxa marrom	3,32	EVFIC-E



Fluxograma 2: Obtenção e cromatografia filtrante do extrato clorofórmico dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less. para isolamento dos constituintes majoritários.

### 7.9.1 Isolamento de EVFIC-1

10,0 g de EVFIC-H, foram acondicionados em balão de fundo redondo, junto com 50,0 mL de etanol e 100,0 mL de hidróxido de amônio comercial. Esta mistura foi mantida sob agitação por 24 horas. Ao término das 24 horas, foram adicionados 100,0 mL de água destilada à mistura reacional, possibilitando a extração em funil de separação com éter de petróleo (5 X 50 mL). A fase orgânica da extração foi secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi destilado sob pressão reduzida, originando 3,40 g de uma graxa marrom denominada EVFIC-HR. A fase aquosa da extração foi acidificada com HCl concentrado até pH variando entre 2 e 3. Em seguida procedeu-se a extração da solução ácida em funil de separação com diclorometano (5 X 50 mL), desprezando-se a fase aquosa. Novamente a fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e submetida a destilação sob pressão reduzida em aparelho de rotaevaporação, originando 5,96 g de um resíduo oleoso e incolor, que foi denominado de EVFIC-H/NH<sub>3</sub>

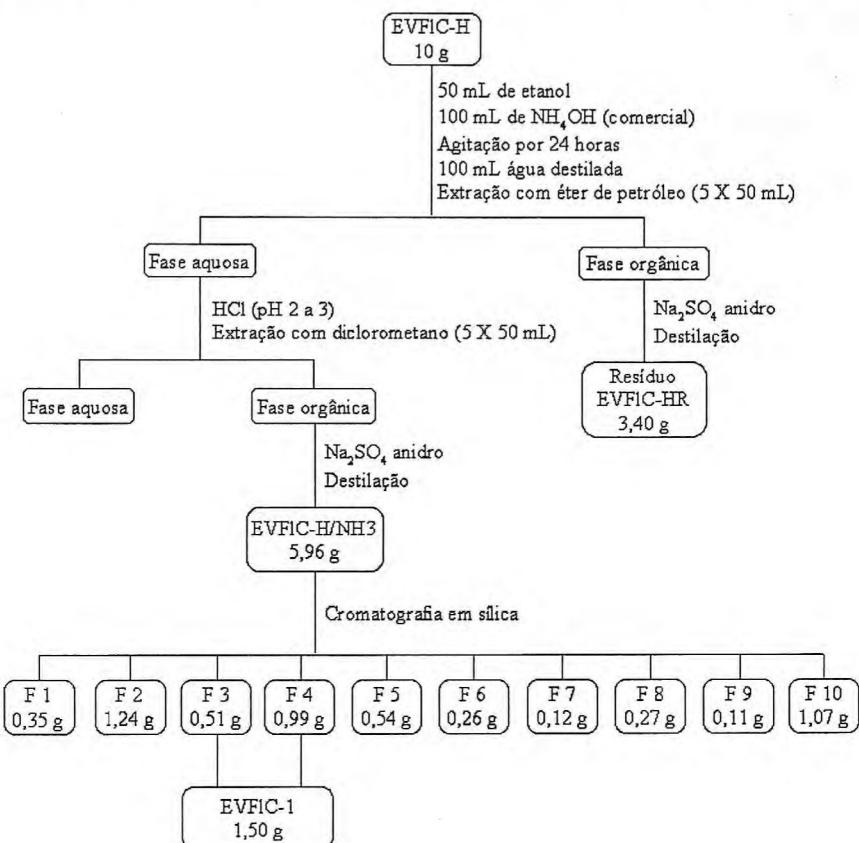
Os 5,96 g de EVFIC-H/NH<sub>3</sub> foram adsorvidos em 12 g de sílica e pulverizadas em gral de porcelana. A mistura foi acondicionada em funil cilíndrico de 250 mL ( $\varnothing = 4$  cm), sobre uma camada de 15 g de sílica. Da eluição com gradiente utilizando os eluentes hexano, clorofórmio acetato de etila e etanol, puros ou em misturas binárias, foram obtidas as seguintes frações:

Tabela 42: Dados da coluna cromatográfica de EVFIC-H/NH<sub>3</sub>

FRAÇÃO	ELUATO	VOLUME ELUATO (mL)	ASPECTO	PESO (g)
1	Hexano	100	óleo amarelo	0,35
2	Hexano / Clorofórmio (3:1)	100	óleo amarelo	1,24
3	Hexano / Clorofórmio (3:1)	100	óleo incolor	0,51
4	Hexano / Clorofórmio (1:1)	100	óleo incolor	0,99
5	Hexano / Clorofórmio (1:1)	50	óleo amarelo	0,54
6	Hexano / Clorofórmio (1:1)	50	óleo marrom	0,26
7	Hexano / Clorofórmio (1:1)	100	óleo marrom	0,12

8	Clorofórmio / acetato de etila (1:1)	100	graxa marrom	0,27
9	Acetato de etila	100	graxa marrom	0,11
10	Metanol	150	graxa marrom	1,07

As frações 3 e 4 (1,50 g), mostraram-se homogêneas em CCD e foram denominadas EVFIC-1, sendo caracterizado como ácido centipédico (item 5.1, Pág 74).



Fluxograma 3: Isolamento de EVFIC-1 (2)

### 7.9.2 Isolamento de EVFIC-2

66,8 g de EVFIC-C foram adsorvidos em 140 g de sílica e pulverizadas em gral de porcelana. A mistura foi acondicionada em funil cilíndrico de 1000 mL ( $\varnothing = 5$  cm), sobre uma camada de 50 g de sílica. Da eluição com hexano, clorofórmio acetato de etila, e etanol, foram obtidas as frações descritas na tabela 43, abaixo.

Tabela 43: Dados da coluna filtrante de EVFIC-C

ELUATO	VOLUME ELUATO (L)	ASPECTO	PESO (g)	DENOMINAÇÃO
hexano	1,2	graxa amarela	5,64	EVFIC-C/H

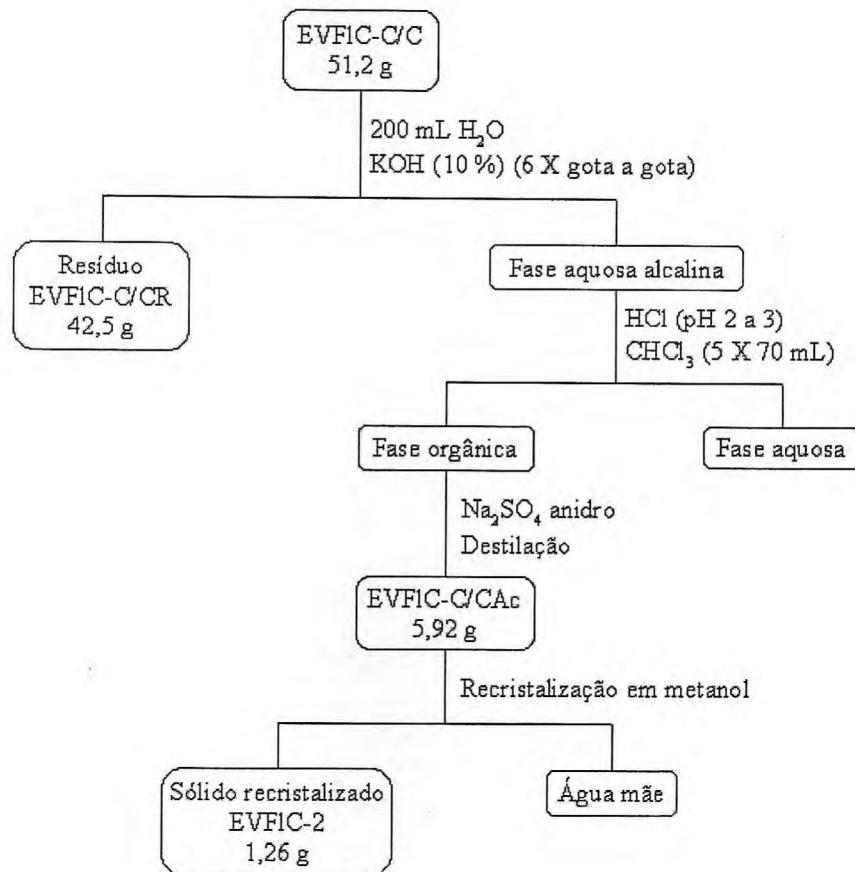
clorofórmio	1,8	graxa verde	51,2	EVFIC-C/C
acetato de etila	2,0	graxa marrom	6,27	EVFIC-C/A
etanol	0,8	graxa marrom	2,30	EVFIC-C/E

EVFIC-C/C (51,2 g), foi colocado em funil de separação, contendo 200 mL de água destilada. À mistura aquosa adicionou-se gota à gota uma solução aquosa de KOH 10 %, com agitação até que a solução sobrenadante assumisse uma cor amarelo clara. Este procedimento foi repetido 6 vezes. As soluções sobrenadantes foram reunidas e acidificadas com HCl concentrado até pH variando entre 3 e 2 e posteriormente extraída com clorofórmio (5 X 70 mL), em funil de separação. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, fornecendo 5,92 g de uma graxa de coloração marrom clara que foi denominado de EVFIC-C/CAc. Recristalização em metanol, forneceu 1,26 g de um sólido amarelo, solúvel em clorofórmio, que mostrou-se homogêneo em CCD, recebendo a denominação de EVFIC-2 sendo caracterizado como ternatina (item 5.2, Pág 80).

A fração orgânica, após a extração de EVFIC-2, foi dissolvida em clorofórmio secada com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, fornecendo 42,5 g de uma graxa de coloração verde escuro que foi denominado de EVFIC-C/CR.

### 7.9.3 Isolamento de EVFIC-3

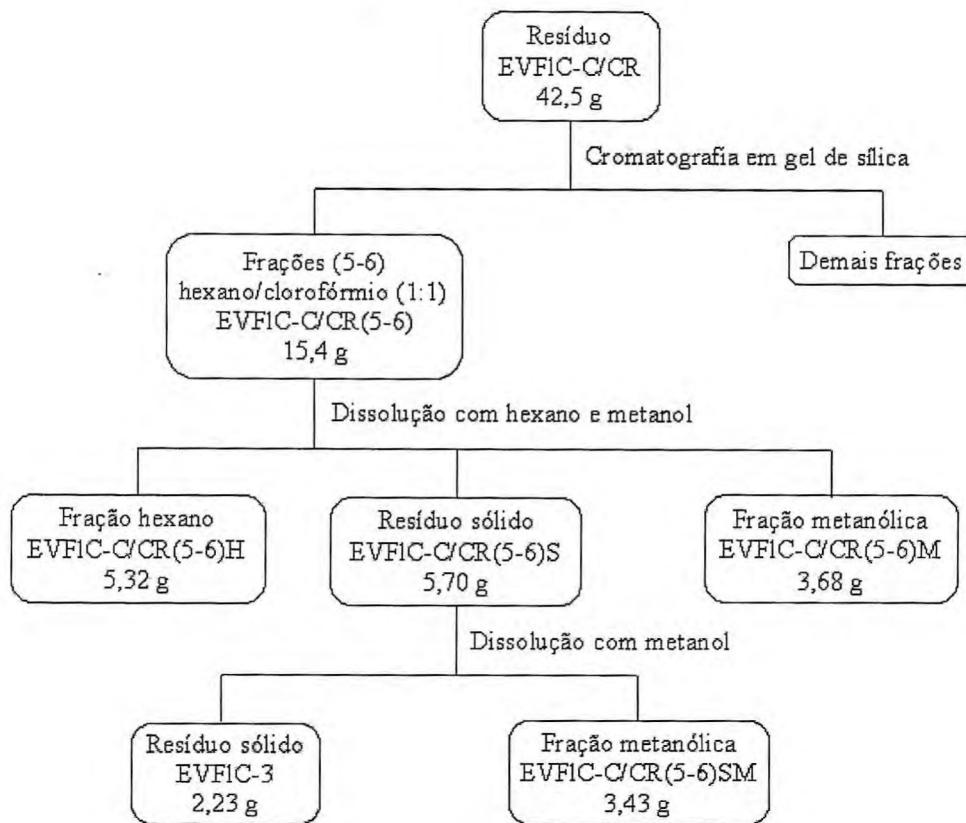
Os 42,5 g do resíduo da marcha química realizada para o isolamento de EVFIC-2 (EVFIC-C/CR), foram adsorvidos em 60,8 g de sílica e pulverizados em grau de porcelana. A mistura foi acondicionada em funil cilíndrico de 1000 mL ( $\varnothing = 8$  cm), sobre uma camada de 82,6 g de sílica úmida com uma solução de hexano/clorofórmio (1:1). A eluição foi realizada utilizando hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, com gradiente crescente de polaridade iniciando com hexano/clorofórmio (1:1). As frações 5 e 6, obtidas da eluição com hexano/clorofórmio (1:1), mostraram-se semelhantes e foram reunidas, sendo denominada de EVFIC-C/CR(5-6) pesando 15,4 g. A medida que o solvente utilizado para reunir as frações evaporava foi observada a formação de um precipitado.



Fluxograma 4: Isolamento de EVFIC-2

Após a total evaporação do solvente da fração EVFIC-C/CR(5-6), adicionou-se hexano, o qual dissolveu somente uma parte da fração, havendo formação de um resíduo insolúvel. Este resíduo foi separado da solução por filtração a vácuo em funil de Büchner. A este resíduo foi adicionado metanol, solubilizando parte dele. Novamente foi utilizada filtração a vácuo em funil de Büchner, para separação do sólido da solução. Ao final deste processo obteve-se três frações: fração hexânica (5,32 g), denominada EVFIC-C/CR(5-6)H; fração metanólica (3,68 g), denominada EVFIC-C/CR(5-6)M e o precipitado (5,70 g), que foi denominado de EVFIC-C/CR(5-6)S.

O sólido EVFIC-C/CR(5-6)S, foi novamente submetido a solubilização em metanol, originando duas frações. A fração metanólica (3,43 g), que recebeu a denominação de EVFIC-C/CR(5-6)SM e o sólido insolúvel (2,23 g), que mostrou-se homogêneo em CCD, sendo denominado de EVFIC-3 sendo caracterizado como o acetato da lactona do ácido hautriwaico (item 5.3, Pág 84).



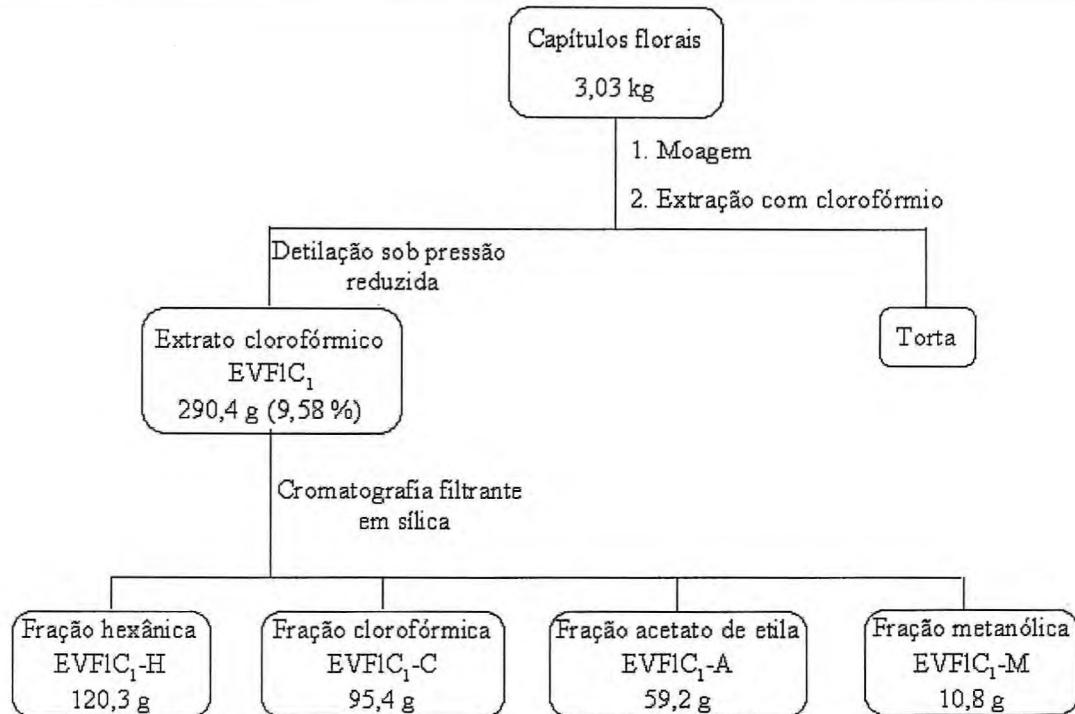
### 7.10 Isolamento dos constituintes não voláteis de *Egletes viscosa* Less (Tipo B).

3,03 kg de capítulos florais de *E. viscosa* (Tipo B), adquiridos no Mercado Central em Fortaleza-Ce, foram moídos e acondicionados em garrafão de vidro. Extração com clorofórmio (3 X 3,5 L), seguida da destilação do solvente sob pressão reduzida originou 290,4 g (9,58 %) de um extrato viscoso e escuro denominado EVFIC<sub>1</sub>.

Os 290,4 g de EVFIC<sub>1</sub> foram adsorvidos em 332,5 g de sílica e pulverizadas em gral de porcelana. A mistura foi acondicionada em funil cônico de 2000 mL, sobre uma camada de 60 g de sílica. Da eluição com hexano, clorofórmio acetato de etila e metanol, foram obtidas as frações dispostas na tabela 44, (Pág 179).

Tabela 44: Dados da coluna filtrante de EVFIC<sub>1</sub>

ELUATO	VOLUME ELUATO (L)	ASPECTO	PESO (g)	DENOMINAÇÃO
hexano	2,0	graxa verde	120,3	EVFIC <sub>1</sub> -H
clorofórmio	2,8	graxa verde	95,4	EVFIC <sub>1</sub> -C
acetato de etila	2,0	graxa marrom	59,2	EVFIC <sub>1</sub> -A
metanol	0,8	graxa marrom	10,8	EVFIC <sub>1</sub> -M

Fluxograma 6: Obtenção e cromatografia filtrante do extrato clorofórmico dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less. para isolamento dos constituintes não voláteis.

### 7.10.1 Isolamento de EVFIC-4

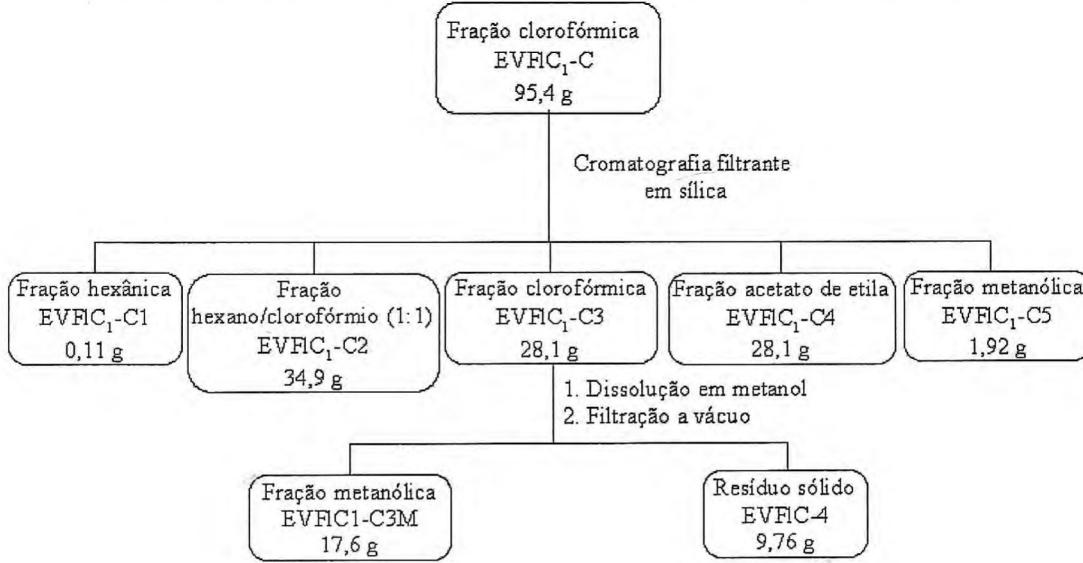
95,4 g da fração clorofórmica do extrato clorofórmico dos capítulos florais de *E. viscossa* (EVFIC<sub>1</sub>-C), obtida no item 7.9.3 (p. 178), foram adsorvidas em 201,8 g de sílica e pulverizados em grau de porcelana. A mistura foi acondicionada em funil cônico de 2000 mL, sobre uma camada de 60 g de sílica. Da eluição com hexano, hexano/clorofórmio (1:1), clorofórmio, acetato de etila e metanol, foram obtidas cinco frações:

Tabela 45: Dados da coluna filtrante em sílica de EVFIC<sub>1</sub>-C

ELUATO	VOLUME ELUATO (L)	ASPECTO	PESO (g)	DENOMINAÇÃO
hexano	2,0	óleo amarelo	0,14	EVFIC <sub>1</sub> -C1
hexano/ clorofórmio (1:1)	2,0	graxa verde	34,9	EVFIC <sub>1</sub> -C2
clorofórmio	1,8	graxa verde	28,1	EVFIC <sub>1</sub> -C3
acetato de etila	1,2	graxa marrom	28,1	EVFIC <sub>1</sub> -C4
metanol	0,6	graxa marrom	1,92	EVFIC <sub>1</sub> -C5

Com base nas observações anteriores, a fração eluida com clorofórmio, EVFIC<sub>1</sub>-C3 (28,1 g), foi submetida a dissolução com metanol, seguido de filtração a vácuo em funil de Büchner originando duas frações: a fração metanólica (17,6 g), denominada EVFIC<sub>1</sub>-C3M e o resíduo sólido (9,8 g), denominado EVFIC<sub>1</sub>-C3S.

Cromatografia em camada delgada de EVFIC<sub>1</sub>-C3S, apresentou somente uma mancha, sugerindo tratar-se de uma substância pura. Desta forma a fração foi rebatizada para EVFIC-4, sendo caracterizado como a 12-*epi*-bacchotricuneatina A (item 5.4, Pág 96).



Fluxograma 7: Isolamento de EVFIC-4 (42)

### 7.10.2 Isolamento de EVFIC-7.

4,0 g de sílica foram utilizadas para adsorver uma alíquota de 2,53 g da fração EVFIC1-C3M. A mistura foi acomodada sobre uma coluna de 60 g de sílica montada com uma solução de éter de petróleo/diclorometano (1:1), acomodada em um funil cilíndrico de 250ml ( $\varnothing = 2,5$  cm). Da eluição com éter de petróleo, diclorometano, acetato de etila e metanol, na ordem crescente de polaridade, foram obtidas as frações mostradas na tabela 46, abaixo.

606 mg da fração EVFIC1-C3M(69-91), foram adsorvidos em 1,5 g de sílica e pulverizados em grau de porcelana. A mistura foi acondicionada em funil de 125 mL ( $\varnothing = 2$  cm), sobre uma camada de 20 g de sílica montada com uma solução de éter de petróleo/clorofórmio (1:1). Da eluição com éter de petróleo, clorofórmio, acetato de etila e metanol, foram obtidas as frações mostradas na tabela 47 (p. 184).

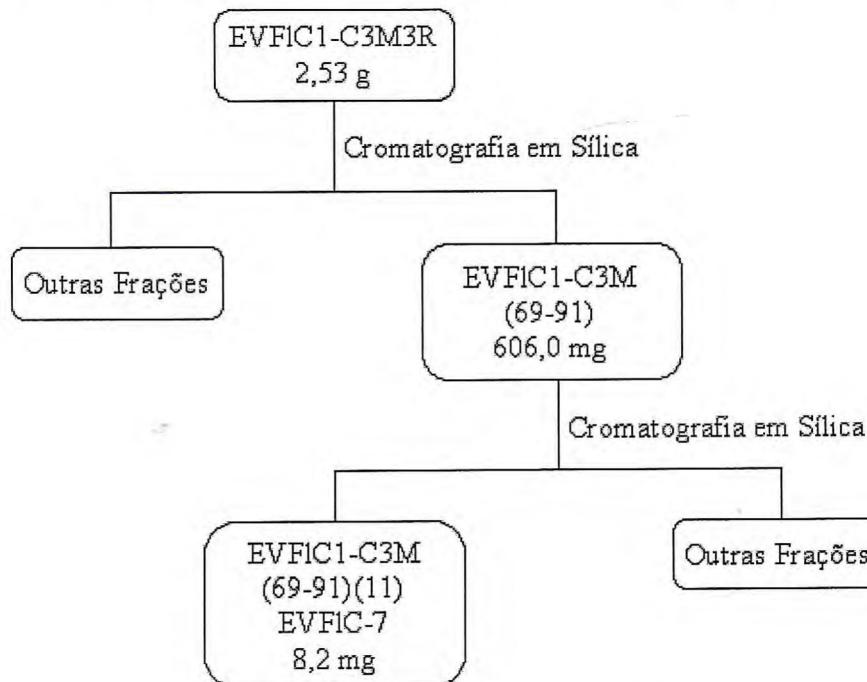
Tabela 46: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M.

ELUATO	VOLUME ELUATO (mL)	PESO (mg)	DENOMINAÇÃO
éter de petróleo/clorofórmio (50 %)	100	21,1	EVFIC1-C3M(1)
éter de petróleo/clorofórmio (70 %)	300	18,5	EVFIC1-C3M(2-4)
diclorometano	100	15,7	EVFIC1-C3M(5)
diclorometano	100	16,4	EVFIC1-C3M(6)
diclorometano/acetato de etila (5 %)	430	129,0	EVFIC1-C3M(7-22)
diclorometano/acetato de etila (10 %)	460	860,1	EVFIC1-C3M(23-68)
diclorometano/acetato de etila (50 %)	220	606,0	EVFIC1-C3M(69-91)
acetato de etila	90	303,2	EVFIC1-C3M(92-95)
acetato de etila	50	300,0	EVFIC1-C3M(96)
acetato de etila	50	123,0	EVFIC1-C3M(97)
metanol	100	83,9	EVFIC1-C3M(98)

Tabela 47: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M(69-91).

ELUATO	VOLUME ELUATO (mL)	PESO (mg)	DENOMINAÇÃO
éter de petróleo/clorofórmio (50 %)	40	2,7	EVFIC1-C3M(69-91)(1-2)
éter de petróleo/clorofórmio (50 %)	30	14,2	EVFIC1-C3M(69-91)(3-5)
éter de petróleo/clorofórmio (50 %)	10	9,8	EVFIC1-C3M(69-91)(6)
éter de petróleo/clorofórmio (50 %)	20	19,3	EVFIC1-C3M(69-91)(7-8)
éter de petróleo/clorofórmio (50 %)	40	35,9	EVFIC1-C3M(69-91)(9-12)
éter de petróleo/clorofórmio (50 %)	10	8,2	EVFIC1-C3M(69-91)(11)
éter de petróleo/clorofórmio (50 %)	50	294,7	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)
éter de petróleo/clorofórmio (70 %)	40	136,5	EVFIC1-C3M(69-91)(18-21)
éter de petróleo/clorofórmio (70 %)	20	9,7	EVFIC1-C3M(69-91)(22-23)
clorofórmio	30	6,6	EVFIC1-C3M(69-91)(24-26)
clorofórmio	30	12,0	EVFIC1-C3M(69-91)(27-29)
clorofórmio/acetato de etila (10 %)	10	0,9	EVFIC1-C3M(69-91)(30)
clorofórmio/acetato de etila (50 %)	30	2,4	EVFIC1-C3M(69-91)(31-33)
acetato de etila	40	0,4	EVFIC1-C3M(69-91)(34)
metanol	50	5,7	EVFIC1-C3M(69-91)(35)

A fração EVFIC1-C3M(69-91)(11) (8,2 mg), apresentou-se como um óleo verde viscoso, homogêneo em CCD; sendo denominada EVFIC-7. Este foi caracterizado como o 9,10-seco-4,9(10),13(14)-labdatrien-15,20-olid-18-ol (item 5.7, Pág 125).



Fluxograma 8: Isolamento de EVFIC-7.

### 7.10.3 Isolamento de EVFIC-5 e EVFIC-6

Os 294,4 mg da fração EVFIC1-C3M(69-91)(13-17), obtida no item 7.10.1 (Tabela 47, p. 184), foram dissolvidos em clorofórmio. A solução foi acondicionada em funil cilíndrico 5mL ( $\varnothing = 1,5$  cm), sobre uma camada de 14,0 g de sílica montada com uma solução de éter de petróleo e clorofórmio (30 %). Da eluição com éter de petróleo, clorofórmio, acetato de etila e metanol, em ordem crescente de polaridade foram obtidas as frações mostradas na tabela 48, abaixo.

Tabela 48: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M(69-91)(13-17).

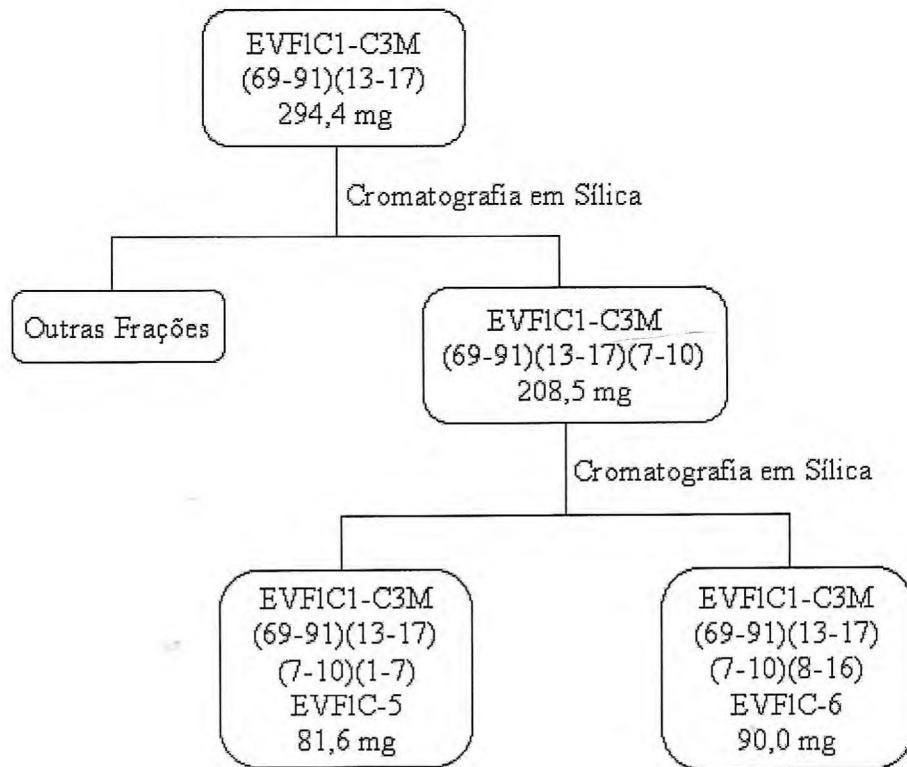
ELUATO	VOLUME ELUATO (mL)	PESO (mg)	DENOMINAÇÃO
éter de petróleo/clorofórmio (30 %)	30	2,5	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(1)
éter de petróleo/clorofórmio (30 %)	10	1,1	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(2)
éter de petróleo/clorofórmio (30 %)	10	5,7	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(3)
éter de petróleo/clorofórmio (30 %)	30	20,9	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(4-6)
éter de petróleo/clorofórmio (50 %)	40	208,5	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(7-10)
éter de petróleo/clorofórmio (50 %)	10	8,2	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(11)
éter de petróleo/clorofórmio (50 %)	40	5,0	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(12-15)
clorofórmio	20	4,0	(16-17)
clorofórmio	20	2,2	(18-19)
acetato de etila	60	2,2	(20-22)
metanol	40	5,0	(23)

Os 208,5 mg de EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(7-10) foram dissolvidas em clorofórmio e adicionadas a 11,0 g de sílica montada com uma solução de éter de petróleo e clorofórmio (20 %) acondicionadas em funil cilíndrico de 50 mL ( $\varnothing = 1,5$  cm). Da eluição com éter de petróleo e clorofórmio ; em uma ordem crescente de polaridade, pôde-se obter as frações descritas na tabela 49 (p. 186).

Tabela 49: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(7-10).

ELUATO	VOLUME ELUATO (mL)	PESO (mg)	DENOMINAÇÃO
éter de petróleo/clorofórmio (20 %)	78	81,6	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(7-10)(1-7)
éter de petróleo/clorofórmio (20 %)	64	90,0	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(7-10)(8-16)
éter de petróleo/clorofórmio (30 %)	16	1,2	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(7-10)(17-18)
éter de petróleo/clorofórmio (30 %)	16	1,1	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(7-10)(19-20)
éter de petróleo/clorofórmio (30 %)	32	0,8	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(7-10)(21-24)
éter de petróleo/clorofórmio (50 %)	16	2,0	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(7-10)(25-26)
éter de petróleo/clorofórmio (30 %)	32	1,6	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(7-10)(27-30)
clorofórmio	60	2,1	EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(7-10)(31-32)

A fração EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(7-10)(1-7) (81,6 mg), mostrou-se homogênea em CCD e recebeu a denominação de EVFIC-5. Outra fração que também se apresentou homogênea em CCD, foi a EVFIC1-C3M(69-91)(13-17)(7-10)(8-16) (90,0 mg), que foi denominada EVFIC-6. EVFIC-5 foi caracterizado como o barbatol, enquanto que EVFIC-6 foi caracterizado como o tarapacol (item 5.5, p. 110).



Fluxograma 9: Isolamento de EVFIC-5 (43) e EVFIC-6 (44)

#### 7.10.4 Isolamento de EVFIC-8

Os 129,0 mg da fração EVFIC1-C3M(7-22), obtida no item 7.10.1 (Tabela 46, p. 183), foram dissolvidos em clorofórmio e adicionadas sobre uma camada de 8,0 g de sílica montada com éter de petróleo, acondicionada em funil cilíndrico ( $\varnothing = 1,5$  cm). Da eluição com éter de petróleo e acetato de etila; em uma ordem crescente de polaridade, pôde-se obter as frações descritas na tabela 50, abaixo.

Tabela 50: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M(7-22).

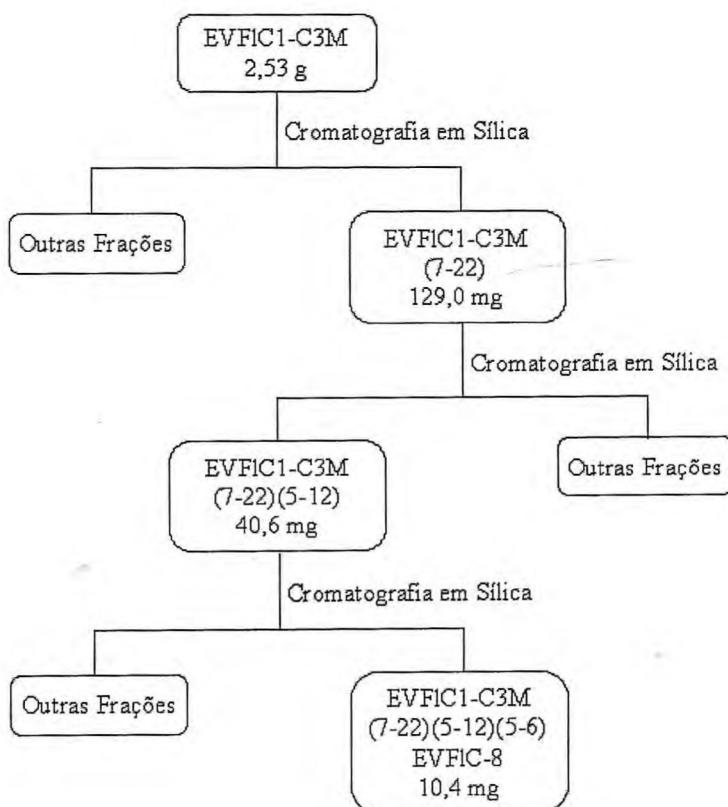
ELUATO	VOLUME ELUATO (mL)	PESO (mg)	DENOMINAÇÃO
éter de petróleo	150	1,2	EVFIC1-C3M(7-22)(1)
éter de petróleo/acetato de etila (1 %)	200	2,6	EVFIC1-C3M(7-22)(2)
éter de petróleo/acetato de etila (2 %)	100	6,7	EVFIC1-C3M(7-22)(3)
éter de petróleo/acetato de etila (3 %)	50	29,2	EVFIC1-C3M(7-22)(4)
éter de petróleo/acetato de etila (3 %)	24	40,6	EVFIC1-C3M(7-22)(5-12)
éter de petróleo/acetato de etila (5 %)	18	10,9	EVFIC1-C3M(7-22)(13-15)
éter de petróleo/acetato de etila (5 %)	36	13,0	EVFIC1-C3M(7-22)(16-21)
éter de petróleo/acetato de etila (10 %)	66	12,6	EVFIC1-C3M(7-22)(22-32)
éter de petróleo/acetato de etila (15 %)	18	0,1	EVFIC1-C3M(7-22)(33-35)
éter de petróleo/acetato de etila (25 %)	30	1,5	EVFIC1-C3M(7-22)(36-38)
éter de petróleo/acetato de etila (50 %)	60	5,9	EVFIC1-C3M(7-22)(39-40)
acetato de etila	50	1,0	EVFIC1-C3M(7-22)(40)

A fração EVFIC1-C3M(7-22)(5-12) (40,6 mg), eluida com éter de petróleo/acetato de etila (3 %), foi dissolvida em clorofórmio e adicionada sobre uma camada de 2,0 g de sílica montada com hexano, acondicionada em funil cilíndrico ( $\varnothing = 1$  cm). Da eluição com hexano e acetato de etila; em uma ordem crescente de polaridade, pôde-se obter as frações descritas na tabela 51 (p. 188).

Tabela 51: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M(7-22)(5-12).

ELUATO	VOLUME ELUATO (mL)	PESO (mg)	DENOMINAÇÃO
hexano	28	1,6	EVFIC1-C3M(7-22)(5-12)(1-2)
hexano/acetato de etila (1 %)	8	0,8	EVFIC1-C3M(7-22)(5-12)(3)
hexano/acetato de etila (1 %)	8	3,0	EVFIC1-C3M(7-22)(5-12)(4)
hexano/acetato de etila (1 %)	16	10,4	EVFIC1-C3M(7-22)(5-12)(5-6)
hexano/acetato de etila (1 %)	16	11,7	EVFIC1-C3M(7-22)(5-12)(7-8)
hexano/acetato de etila (1 %)	8	5,3	EVFIC1-C3M(7-22)(5-12)(9)
hexano/acetato de etila (1 %)	16	2,6	EVFIC1-C3M(7-22)(5-12)(10-11)
hexano/acetato de etila (1 %)	32	0,9	EVFIC1-C3M(7-22)(5-12)(12-15)
hexano/acetato de etila (50 %)	20	2,5	EVFIC1-C3M(7-22)(5-12)(16)
acetato de etila	20	0,6	EVFIC1-C3M(7-22)(5-12)(17)

A fração EVFIC1-C3M(7-22)(5-12)(5-6) (10,4 mg), um óleo esverdeado, mostrou-se homogênea em CCD, sendo denominado EVFIC-8 e posteriormente caracterizado como o 15,20-epoxi-9,10-seco-4,9(10),13(20),14-labdatrien-18-ol.



Fluxograma 10: Isolamento de EVFIC-8 (46)

### 7.10.5 Isolamento de EVFIC-9

A fração EVFIC1-C3M(23-68) (860,1 mg), obtida no item 7.10.1, Pág 175 (tabela 46, Pág 181), foi adsorvida em 1,7 g de sílica, e pulverizada em grau de porcelana. A mistura foi acondicionada em funil de 125 mL ( $\varnothing = 2$  cm), sobre uma camada de 26,0 g de sílica montada com uma solução de éter de petróleo/clorofórmio (25 %). Da eluição com éter de petróleo, clorofórmio, acetato de etila e metanol, em ordem crescente de polaridade, foram obtidas as frações mostradas na tabela 52, abaixo.

Tabela 52: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M(23-68).

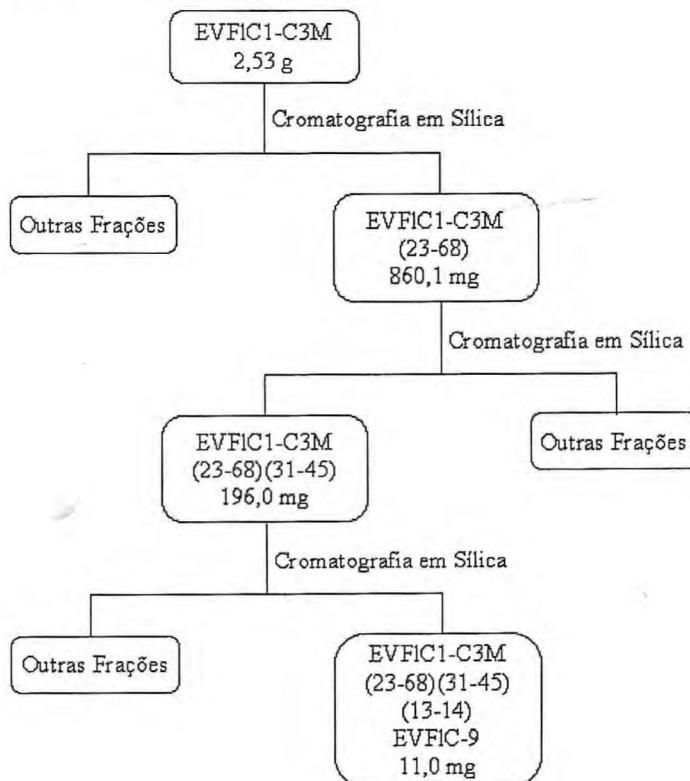
ELUATO	VOLUME ELUATO (mL)	PESO (mg)	DENOMINAÇÃO
éter de petróleo/clorofórmio (25 %)	100	6,4	EVFIC1-C3M(23-68)(1)
éter de petróleo/clorofórmio (25 %)	50	2,6	EVFIC1-C3M(23-68)(2)
éter de petróleo/clorofórmio (25 %)	60	13,2	EVFIC1-C3M(23-68)(3-4)
éter de petróleo/clorofórmio (25 %)	30	33,6	EVFIC1-C3M(23-68)(5-7)
éter de petróleo/clorofórmio (25 %)	20	13,4	EVFIC1-C3M(23-68)(8-9)
éter de petróleo/clorofórmio (25 %)	20	15,1	EVFIC1-C3M(23-68)(10-11)
éter de petróleo/clorofórmio (25 %)	80	119,2	EVFIC1-C3M(23-68)(12-19)
éter de petróleo/clorofórmio (30 %)	50	62,34	EVFIC1-C3M(23-68)(20-24)
éter de petróleo/clorofórmio (50 %)	60	163,8	EVFIC1-C3M(23-68)(25-30)
éter de petróleo/clorofórmio (50 %)	150	196,0	EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)
clorofórmio	50	51,1	EVFIC1-C3M(23-68)(46-50)
clorofórmio	50	13,4	EVFIC1-C3M(23-68)(51-55)
acetato de etila	100	5,7	EVFIC1-C3M(23-68)(56-57)
metanol	50	8,8	EVFIC1-C3M(23-68)(58)

Os 196,0 mg da fração EVFIC1-C3M(23-68)(31-45), foram dissolvidos em clorofórmio e adicionados sobre uma camada de 10,0 g de sílica acondicionados em funil cilíndrico de 50 mL ( $\varnothing = 1,5$  cm) montada com uma solução de éter de petróleo/clorofórmio (10 %). Da eluição com hexano clorofórmio, acetato de etila e metanol; em ordem crescente de polaridade, pôde-se obter as frações descritas na tabela 53 (p. 190).

Tabela 53: Dados da coluna cromatográfica em sílica de EVFIC1-C3M(23-68)(31-45).

ELUATO	VOLUME ELUATO (mL)	PESO (mg)	DENOMINAÇÃO
éter de petróleo/clorofórmio (10 %)	40	2,9	EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)(1)
éter de petróleo/clorofórmio (15 %)	40	3,7	EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)(2)
éter de petróleo/clorofórmio (20 %)	20	22,7	EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)(3)
éter de petróleo/clorofórmio (20 %)	24	46,9	EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)(4-6)
éter de petróleo/clorofórmio (20 %)	8	12,3	EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)(7)
éter de petróleo/clorofórmio (25 %)	40	56,0	EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)(8-12)
éter de petróleo/clorofórmio (25 %)	24	16,6	EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)(13-14)
éter de petróleo/clorofórmio (25 %)	32	15,1	EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)(15-18)
éter de petróleo/clorofórmio (25 %)	60	9,3	EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)(19-21)
éter de petróleo/clorofórmio (40 %)	60	6,3	EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)(22-24)
clorofórmio	80	7,1	EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)(25-28)
acetato de etila	40	1,5	EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)(29)
metanol	40	13,7	EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)(28)

A fração EVFIC1-C3M(23-68)(31-45)(13-14) (16,6 mg), apresentou-se como um sólido, o qual foi denominado EVFIC-9 sendo caracterizado como uma mistura cujo o constituinte principal é a escopoletina.



Fluxograma 11: Isolamento de EVFIC-9 (47)

## 7.11 Obtenção dos Derivados

### 7.11.1 Adição de diaminoetano à EVFIC-3.

500 mg (1,34 mMol), foram dissolvidos em 5 mL de clorofórmio e acondicionados em balão de 50 mL. A solução foram adicionados 3,0 mL (44,95 mMol) de 1,2-diaminoetano, ficando a mistura reacional sob agitação à temperatura ambiente, por duas horas. Análise comparativa por cromatografia de camada delgada sugeriu o final da reação, através do desaparecimento da mancha relativa ao material de partida.

O término da reação foi realizado adicionando-se 30 ml de água destilada à mistura reacional, seguida de extração com clorofórmio (3 X 10 mL). As fases orgânicas foram reunidas secas com sulfato de sódio anidro e evaporadas sob pressão reduzida. O produto da reação foi 504,4 mg (86,7 %), de um sólido alaranjado, que mostrou-se homogêneo em CCD, com faixa de fusão de 182,4 – 185,1 °C, que foi denominado EVFIC-3a.

### 7.11.2 Adição de etilenoglicol à EVFIC-3.

0,5 mL (5,363 mMol) de etilenoglicol foram adicionados a 20,2 mg (0,054 mMol) de EVFIC-3 (acetato da lactona do ácido hautriwaico (3)), dissolvidos em 15 mL de diclorometano em balão de 50 mL com fundo chato. À mistura reacional foram adicionados 4 gotas de uma solução aquosa de NaOH 10 % (m/v) (0,5 mMol). A reação se processou sob agitação e refluxo por um período de 24 horas. Análise comparativa por cromatografia de camada delgada sugeriu o final da reação, através do desaparecimento da mancha relativa ao material de partida.

O término da reação foi realizado adicionando-se 20 mL de água destilada à mistura reacional, seguido de extração em funil de separação de 125 mL tipo pêra, com diclorometano (3 x 10 mL) como fase orgânica. Ao termino da extração, a fase aquosa foi desprezada e as fases orgânicas foram reunidas, secas com sulfato de sódio anidro e submetidas a destilação sob pressão reduzida em aparelho rotaevaporador. O produto reacional apresentou-se como um sólido laranja, não homogêneo em CCD pesando 27,7 mg que foi denominado EVFIC-3b.

### 7.11.3 Cromatografia de EVFlC-3b.

27,7 mg de EVFlC-3b foram adsorvidos em 144 mg de sílica gel e acomodadas sobre uma coluna de 1,47 g de gel de sílica umedecida com uma solução de hexano/clorofórmio (1:1) e acondicionados em funil cilíndrico com 1 cm de diâmetro interno.

A eluição foi realizada de forma isocrática utilizando uma solução de hexano/clorofórmio (1:1), que deu origem a 11 frações de 6,5 mL. Após comparação por CCD as frações (3-11), foram reunidas fornecendo 9,7 mg (41,1 %) de um sólido amorfó branco, com faixa de fusão de 235,4 – 238,6 °C.

### 7.11.4 Adição de etanolamina à EVFlC-3.

502,3 mg (1,35 mMol) do acetato da lactona do ácido hautriwaico, foram dissolvidos em 5,0 mL de clorofórmio e adicionados a 5,0 mL (82,84 mMol) em balão de 50 mL. A mistura reacional ficou sobre refluxo por duas horas. O término da reação foi verificado através de CCD, quando foi observado o desaparecimento da mancha relativa ao material de partida.

A elaboração da reação foi realizada adicionando 30 mL de água destilada seguido de extração com clorofórmio (3 X 15 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secadas com sulfato de sódio e submetidas a evaporação sob pressão reduzida. A reação teve como produto, 572,5 mg (98,1 %) de um óleo alaranjado que foi denominado EVFlC-3c. Cromatografia em camada delgada mostrou que o produto era homogêneo.

### 7.11.5 Adição de diaminoetano à EVFlC-4.

107,6 mg (0,32 mMol), foram dissolvidos em 5 mL de clorofórmio e acondicionados em balão de 50 mL. A solução foram adicionados 1,0 mL (14,98 mMol) de 1,2-diaminoetano, ficando a mistura reacional sob agitação e refluxo, por duas horas. Análise comparativa por cromatografia de camada delgada sugeriu o final da reação, através do desaparecimento da mancha relativa ao material de partida.

A elaboração da reação foi realizada adicionando-se 30 mL de água destilada à mistura reacional, seguida de extração com clorofórmio (3 X 10 mL). As fases orgânicas foram reunidas e secadas com sulfato de sódio anidro e evaporadas sob pressão reduzida. O

produto da reação foi 115,8 mg (91,4 %), de uma resina amarela, que mostrou-se homogêneo em CCD, que foi denominada EVFIC-4a.

## *Conclusão*

## 8 CONCLUSÃO

A análise dos constituintes voláteis de *Egletes viscosa* Less., levou a caracterização de dois quimiotipos para esta espécie. Um dos quimiotipos apresenta o acetato de *trans*-pinocarveíla, um monoterpeno acetilado, como constituinte principal. O outro quimiotipo tem como constituinte principal um monoterpeno denominado acetato de *cis*-isopinocarveíla, isômero de posição do acetato de *trans*-pinocarveíla, que está sendo relatado pela primeira vez. Este estudo considerou variáveis como condições edafo climáticas, variação sazonal, culminando com o cultivo dos dois quimiotipos, visando esclarecer qualquer dúvida sobre a constituição química da fração volátil.

Os constituintes não voláteis já relatados para esta espécie, ácido centipédico, lactona do acetato do ácido hautriwaico e ternatina, foram novamente isolados, utilizando uma nova metodologia que permitiu o isolamento de grandes quantidades com relativa pureza, economia de tempo e diminuição dos custos.

Dando continuidade a exploração fitoquímica desta espécie, foram identificados e isolados do extrato clorofórmico dos capítulos florais, mais seis metabólitos. Cinco destes, foram caracterizados como diterpenos. Três são diterpenos labdânicos, 12-*epi*-bacchotricuneatina A, barbatol e tarapacol. Outros dois, são diterpenos monocíclicos tipo 10,15-ciclofitadieno, o 9,10-seco-4,9(10),13(14)-labdatrien-15,20-olid-18-ol e o 15,20-epoxi-9,10-seco-4,9(10),13(20),14-labdatrien-18-ol, ambos inéditos.

Visando estudos farmacológicos e utilizando a capacidade de adição de nucleófilos via adição de Michael, apresentado por dois constituintes isolados em grandes quantidades, o acetato da lactona do ácido hautriwaico e a 12-*epi*-bacchotricuneatina A, foram preparados derivados nitrogenados e oxigenados destes compostos.

Com base nos resultados até aqui obtidos faz-se necessário à continuação dos estudos fitoquímicos para esta espécie, principalmente na caracterização da constituição química não volátil dos dois quimiotipos relatados neste trabalho.

Os resultados obtidos neste trabalho justificam o esforço dispendido para o conhecimento desta tão importante espécie, além disso criam o desafio da continuação deste estudo.

## *Referências Bibliográficas*

## 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAMS, R. P. Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Carol Stream-USA, Allured Publishing Corporation, 2001.
2. AGUIAR, A. F. A.; XAVIER, A. F. S.; RODRIGUES, J. E. M. Cálculo para ciências médicas e biológicas. São Paulo: Editora Harpa LTDA., 1988.
3. ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A. Kovats indices simulation essential oils analysis. **Quim. Nova**, 13 (4), 282-285, 1990.
4. ARRIAGA-GUINER, F. J.; WOLLENWEBER, E.; SCHÖBER, I.; DOSTAL, P.; BRAUN, S. 2 $\beta$ -hydroxyhautriwaic acid, a clerodane type diterpenoid and other terpenoids from three *Baccharis* species. **Phytochemistry**, 25 (3), 719-721, 1986.
5. AVATO, P.; VITALI, C.; MONGELLI, P.; TAVA, A. Antimicrobial activity of polyacetylenes from *Bellis perennis* and their synthetic derivatives. **Planta Med.**, 63(6), 503-507, 1997.
6. AVATO, P.; TAVA, A. Acetylenes and terpenoids of *Bellis perennis*. **Phytochemistry**, 40(1), 141-147, 1995.
7. BAILAC, P. N.; DELLACASA, A. D.; BERNASCONI, H. O.; PONZI, M. I.; FIRPO, N. H. Essential oil of female plants of *Baccharis coridifolia* De Candole. **J. Essent. Oil Res.**, 13(1), 23-24, 2001.
8. BERGMANN, E. D.; GINSBURG, D.; PAPPO, R. **Org. React.**, 10, 179, 1959.
9. BERTOLINI, A.; CIONI, P. L.; FLAMINI, G.; MORELLI, I.; SPINELLI, G.; TOMEI, P. E. Constituents of the essential oil of *Solidago litoralis*, an endemic plant from Northern Tuscany (Italy). **J. Essent. Oil Res.**, 11(2), 215-216, 1999.
10. BOLRA, H.; BLANQUER, A. Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. **Bioch. Sys. Ecol.**, 26, 811-822, 1998.
11. BUCKINGHAM, J. Dictionary of Natural Products, V. 7, Chapman & Hall, London, 1994, 874p.

12. BULOW, N.; KONIG, W. A. The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: investigations of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements. **Phytochemistry**, 55(2), 141-168, 2000.
13. CASSEL, E.; FRIZZO, C. D.; VANDERLINDE, R.; ATTI-SERAFINI, L.; LORENZO, D.; DELLACASSA, E. Extraction of *Baccharis* oil by Supercritical CO<sub>2</sub>. **Ind. Eng. Chem. Res.**, 39(12), 4803-4805, 2000.
14. CHUNG, T. Y.; EISERICH, J. P.; SHIBAMOTO, T. Volatile compounds isolated from edible Korean chamchwi (*Aster scaber* Thunb.). **J. Agric. Food Chem.**, 41(10), 1693-1697, 1993.
15. COBOS, M. I.; RODRIGUES, J. L.; OLIVA, M. DE LAS M.; DEMO, M.; FAILLACI, S. M.; ZYGADLO, J. A. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Baccharis notosergila*. **Planta Med.**, 67(1), 84-86, 2001.
16. CORREA, P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas, Volume V, Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, 1974.
17. CRAVEIRO, A. A.; ALENCAR, J. W.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L. Essential oil from flower heads of *Egletes viscosa* Less. **J. Essent. Oil Res.**, 4, 639-640, 1992.
18. CRAVEIRO A. A.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; PLUMEL, M. M. Microwave oven extraction of na essential oil. **Flav. & Frag.**, 4, 43-44, 1989.
19. CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L. De aromas, insetos e plantas. **Ciência Hoje**, 4 (23), 54-63, 1986.
20. CREWS, P.; RODRIGUEZ, J.; JASPARS, M. Organic structure analysis. Oxford university press, Oxford, 1998.
21. DE LA PUERTA, R.; HERRERA, M. D. Spasmolytic action of the essential oil of *Achillea ageratum* L. in rats. **Phytother. Res.**, 9(2), 150-152, 1995.
22. DE MEDICI, D.; PIERETTI, S.; SALVATORE, G.; NICOCETTI, M.; ROSANAIVO, P. Chemical analysis of essential oils of Malagasy medicinal plants by gas chromatography and NMR spectroscopy. **Flavour Fragrance J.**, 7(5), 275-281, 1992.

23. DELLACASA, A.; BAILAC, P.; DUSCHATZKY, C.; CARASCULL, A.; PONZI, M. Antimicrobial activity of the essential oil of *Heterotheca latifolia* Buckley (Compositae). **J. Essent. Oil Res.**, 11(2), 262-263, 1999.
24. DOBSON, S. Compounds of natural origin and the evidence based medicine. XII: The European goldenrod (*Solidago virgaurea* L.). **Gyogyszereszet**, 44(6), 370-371, 373-374, 2000.
25. DRAGAR, V. A.; MENARY, R. C. Agronomic aspects of the cultivation of *Olearia phlogopappa* in relation to essential oil quality and yield. **J. Essent. Oil Res.**, 8(5), 521-529, 1996.
26. DRAGAR, V. A.; DRAGAR, C.; MENARY, R. C. Odor and composition of *Olearia phlogopappa* essential oil. **J. Essent. Oil Res.**, 5(4), 359-363, 1993.
27. DRAGAR, C.; DRAGA, V. A.; MENARY, R. C. Identification of the key odorous component of an *Olearia phlogopappa* clone. **J. Essent. Oil Res.**, 5(5), 507-511, 1993a.
28. DRAGAR, V. A.; MENARY, R. C. Seasonal variation in oil yield and composition in *Olearia phlogopappa*. **J. Essent. Oil Res.**, 4(6), 551-562, 1992.
29. DUSCHATZKY, C.; CARRASCULL, A.; BAILAC, P.; PONZI, M.; VAN BAREN, C.; MUSCHIETTI, L.; COUSSIO, J. Composition of the essential oil from flowers and leaves of *Heterotheca latifolia* Buckley (Compositae). **J. Essent. Oil Res.**, 10(1), 101-103, 1998.
30. ELDER, H. V.; RETAMAR, J. A.; APPENDINO, G.; ROMERO, M. C. Principal constituents of essential oil of *Baccharis dracunculifolia* C.D. (Chlca). **Riv. Ital. EPPOS**, (Spec. Num., 15<sup>th</sup> Journess Internationales Huiles Essentielles, 1996), 539-543, 1997.
31. EL-HAWARY, S. S.; MOSSA, J. S.; AL-YAHYA, M. A.; AL- MESHAL, I. A.; HIFNAWY, M. S. Aromatic plants of Saudi Arabia. Part 12. Essential oil of *Conyza incana*. **Int. Pharmacogn.**, 29(3), 188-192, 1991.
32. EL-SHAMY, A. M.; EL-HAWARY, S. S.; EL-SHABRAWI, A. O.; EL- HEFINAWY, H. M. Essential oil composition of three *Grindelia* species. **J. Essent. Oil Res.**, 12(5), 631-634, 2000.

33. EL-SHAMY, A. M.; EL HAWARY, S. S.; EL SHABRAWY, A. O.; GLASL, H. G.; EL HEFNAWY, H. M. Phytochemical and biological investigations of *Grindelia humilis* Hook et Arn. growing in Egypt. **Bull. Fac. Pharm. (Cairo Univ.)**, 35(1), 57-63, 1997.
34. EMERENCIANO, V DE P. Determinação estrutural computadorizada. Princípios, métodos, perspectivas e mitos. **Quim. Nova**, 1(6), 551-559, 1990.
35. ESQUIVEL, B.; CÁRDENAS, J.; RAMAMOORPHY, T. P.; RODRIGUEZ-HAHN, L. Clerodane diterpenoids of *Salvia lineata*. **Phytochemistry**, 25 (10), 2381-2384, 1986.
36. FERNÁNDEZ, P.; RODRÍGUES, B.; VILLEGAS, J.; PERAES, A.; SAVONA, G.; PIOZZI, F.; BRUNO, M. Neo-clerodane diterpenoids from *Teucrium pyrenaicum* and *T. subspinosa*. **Phytochemistry**, 25 (6), 1405-1409, 1986.
37. FERRACINI, V. L.; PARAIBA, L. C.; FILHO, H. F. L.; SILVA, A. G. DA; NASCIMENTO, L. R.; MARSAIOLI, A. J. Essential oils of seven Brasilian *Baccharis* species. **J. Essent. Oil Res.**, 7(4), 355-367, 1995.
38. FEVERSTEIN, I.; MÜLLER, D.; HOBERT, K.; DANIN, A. The constitution of essential oils from *Artemisia herba alba* populations of Israel and Sinai. **Phytochemistry**, 25 (10), 2343-2347, 1986.
39. FLEISHER, A. The protoplast extraction technique in the flavor and fragrance industry. **Perf. & Flavor**, 15, 27-35, 1990.
40. FRIZZO, C. D.; SERAFINI, L. A.; DELLACASSA, E.; LORENZO, D.; MOYNA, P. Essential oil of *Baccharis uncinella* DC. from Southern Brazil. **Flavour Fragrance J.**, 16(4), 286-288, 2001.
41. GASTMANS, J. P.; FURLAN, M.; LOPES, M. N.; BORGES, J. H. G.; EMERENCIANO, V DE P. A inteligência artificial aplicada a química de produtos naturais. O programa SISTEMAT, parte I, bases teóricas. **Quim. Nova**, 13(1), 10-16, 1990.
42. GOTTLIEB, O. R.; MAGALHÃES, M. T. Modified destillation trap. **Chemist Analysis**, 49, 114, 1960.

43. GUEDES, M. M.; CUNHA, A. N.; SILVEIRA, E. R.; RAO, V. S. N. Antinociceptive and gastroprotective effects of diterpenes from the flower buds of *Egletes viscosa*. **Planta Med.**, 68 (11), 1044-1046, 2002.
44. GURIB-FAKIM, A.; BOURREL, C.; KODJA, H.; GOVINDEN, J. Chemical composition of the essential oils of *Psiadia lithospermifolia* (Lam.) Cordem. and *P. viscosa* (Lam.) A. J. Scott of the Asteraceae family. **J. Essent. Oil Res.**, 7(4), 533-535, 1995.
45. HAYES, A. J.; LEACH, D. N.; MARKHAM, J. L.; MARKOVIC. B. In vitro cytotoxicity of Australian tea tree oil using human cell lines. **J. Essent. Oil Res.**, 9, 575-582, 1997.
46. HERRES, W.; RUBECZA K. H.; SCHULTZE, W. S. HRGC-FTIR investigation on volatile terpenes. In progress in essential oil research. New York, Walter Gruyter & Co, 1986.
47. <http://biodiversity.uno.edu/delta/> acessado em 29 de mar. 2002.
48. <http://www.us.ipni.org:8181/> acessado em 18 de ago. 2001.
49. <http://www.wwf.org.br/bioma> acessado em 07 de abr. 2002.
50. ISMAN, M. B.; WAN, A. J.; PASSREITER, C. M. Insecticidal activity of essential oils to the tobacco cutworm, *Spodoptera litura*. **Fitoterapia**, 72, 65-68, 2001.
51. JAKUPOVIC, J.; BANERJEE, S.; BOHLMANN, F.; KING, S. M.; ROBINSON, H., New diterpenes from *Chiliotrichium rosmarinifolium* and *Nardophyllum lanatum*. **Tetrahedron**, 42 (5), 1305-1313, 1986.
52. KALEMBA, D.; MARSCHALL, H.; BRADESI, P. Constituents of the essential oil of *Solidago gigantea* Ait. (giant goldenrod). **Flavour Fragrance J.**, 16(1), 19-26, 2001.
53. KALEMBA, D. Constituents of the essential oil of *Solidago virgaurea* L. **Flavour Fragrance J.**, 13(6), 373-376, 1998.
54. KALEMBA, D.; WEYERSTAHL, P.; MARSCHALL, H. Constituents of the essential oil of *Solidago graminifolia* (L.) Salisb. **Flavour Fragrance J.**, 9(5), 269-274, 1994.

55. KALTENBACH, G.; SCHAEFER, M.; SCHIMMER, O. Volatile constituents of the essential oil of *Grindelia robusta* Nutt. and *Grindelia squarrosa* Dun. **J. Essent. Oil Res.**, 5(1), 107-108, 1993.
56. KISHORE, N.; CHANSOURA, J. P. N.; DUBEY, N. K. Antidermatophytic action of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* and an ointment prepared from it. **Phytother. Res.**, 10(5), 453-455, 1996.
57. KOVATS, E., Adv. Chromatography, 1965, 1, 229 em W. JENNINGS., Gas chromatography with glass capillary columns. 2<sup>sc</sup> ed., New York: Academic Press Inc., 1980.
58. LEE, C. K.; KIN, H.; MOON, K. H.; SHIN, K. H. Screening and isolation of antibiotic resistance inhibitors from herb materials-resistance inhibition of volatile components of Korean aromatic herbs. **Arch Pharmacol. Res.** 21(1), 62-66, 1998.
59. LEE, C. K.; KIM, H.; MOON, K. H.; SHIN, K. H. Screening and isolation of antibiotic resistance inhibitors from herb materials-resistance inhibition of volatile components of Korean aromatic herbs. [Erratum to document cited in CA 128:255046]. **Arch. Pharmacol. Res.**, 21(2), 223, 1998a.
60. LIMA, M. A. S.; SILVEIRA, E. R.; MARQUES, M. S. L.; SANTOS, R. H. A.; GAMBARDELA, M. T. P., Biologically active flavonoids and terpenoids from *Egletes viscosa*. **Phytochemistry**, 41 (1), 217-223, 1996.
61. LIS, A.; GORA, J. Essential oil of *Conysa canadensis* (L.) Cronq. **J. Essent. Oil Res.**, 12(6), 781-783, 2000.
62. LOAYZA, I.; ABUJDER, D.; ARANDA, R.; JAKUPOVIC, J.; COLLIN, G.; DESLAURIERS, H. Essential oils of *Baccharis salicifolia*, *B. latifolia* and *B. dracunculifolia*. **Phytochemistry**, 38(2), 381-389, 1995.
63. LOAYZA, I.; COLLIN, G.; GAGNON, M.; DELLACASSA, E. The essential oils of *Baccharis latifolia*, *B. salicifolia* from Bolivia, and *B. dracunculifolia* from Uruguay. **Riv. Ital. EPPOS**, 4(Spec. Num.), 728-736, 1993.

64. LOAYZA, I.; DESLAURIERS, H.; JEAN, F. I.; COLLIN, G. J. Volatile constituents of the essential oil of *Lepidophyllum quadrangulare* (Meyen) Benth. and Hook. **J. Essent. Oil Res.**, 4(1), 83-85, 1992.
65. LORENZI, H. Plantas daninhas do Brasil, terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3<sup>a</sup> ed., Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, Nova-Odessa, 2000.
66. MAIA, J. G. S.; DA SILVA, M. H. L.; ZOGHBI, M. D. B.; ANDRADE, E. H. A. Composition of the essential oils of *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist. **J. Essent. Oil Res.**, 14(5), 325-326, 2002a.
67. MANGENA, T.; MUJIMA, N. Y. O. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. **Lett. Appl. Microbiol.**, 28(4), 291-296, 1999.
68. MARTIUS, C. F. P. Flora brasiliensis, V. 6, parte III, 18, 1882.
69. MATOS, F. J. A., As ervas cidreiras do Nordeste do Brasil estudo de três quimiotipos de *Lippia Alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae) Parte II – farmacoquímica. **Rev. Bras. Farm.**, 77 (4), 137-141, 1996.
70. MATOS, F. J. A. Farmácias vivas, 3<sup>a</sup> ed., edições UFC, Fortaleza, 1991.
71. METWALLY, M. A. Coumarin derivative from *Conyza bovei*. **Bull. Chim. Farm.**, 135(4), 223-224, 1996.
72. MILHAU, G.; VALENTIN, A.; BENOIT, F.; MALLIÉ, M.; BASTIDE, J.; PÉLISSIER, Y.; BESSIÈRE, J. In vitro antimalarial activity of eight essential oils. **J. Essent. Oil Res.**, 9, 329-333, 1997.
73. MILITÃO, J. S. L. T., “Identificação de triterpenos com auxílio de computador: triterpenos de *Vochysia piramidalis* Mart.”, 1996, 131f, Tese (Doutorado em Química Orgânica), Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-Ce.
74. MIYAZAWA, M.; YAMAMOTO, K.; KAMEOA, H. The essential oil of *Erigeron canadensis* L. **J. Essent. Oil Res.**, 4(3), 227-230, 1992.

75. MONTEIRO, W. R.; CASTRO, M. M.; FAHN, A.; CALDEIRA, W. Observations of the foliar secretory cavities of *Porophyllum lanceolatum* (Asteraceae). **Nord. J. Bot.**, 15 (1), 69-76, 1995.
76. NEWTON, M. N.; ESPINAR, L. A.; ZUNINO, M. P.; MAESTRI, D. M.; ZYGLADO, J. A. Analysis of the essential oil of *Grindelia discoidea*. **Planta Med.**, 64(5), 470-473, 1998.
77. OKUNADE, A. L. *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae). **Fitoterapia**, 73, 1-16, 2002.
78. ONG, E. K.; KNOX, R. B.; SINGH, M. B. Mapping of the antigenic and elergenic epitopes of Lol p VB using gene fragmentation. **Mol. Immunol.**, 32(4), 295-302, 1995.
79. PALÁ-PAÚL, J.; PÉREZ-ALONSO, M. J.; VELASCO-NEGUERUELA, A.; PALÁ-PAÚL, R.; SANZ, J.; CONJERO, F. Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L. ssp. *rosmarinifolia*. **Bioch. Sys. Ecol.**, 29, 663-672, 2001.
80. PAPACHIRSTOS, D. P.; STAMOPOULOS, D. C. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). **J. Stor. Prod. Res.**, 38, 117-128, 2002.
81. PETRI, G.; LENBERKOVICS, E.; GUNDIDZA, M.; LELIK, L.; BIACSI, E. Composition of essential oil from *Conyza pinnata*. **J. Essent. Oil Res.**, 4(1), 77-78, 1992.
82. PODCHAINOV, S. F.; KRUGLOVA, T. A.; KIROVA, L. S.; SHALATILOVA, A. G.; PIKUNOV, D. V.; NESHCHERET, S. S. Moth control agent containing essential oils and zeolitic tuff carrier. **Russ. RU 2,028,055**; 1996.
83. QUEIROGA, C. L.; FERRACINI, V. L.; MARSAIOLI, A. J. Three new oxygenated cadinenes from *Baccharis* species. **Phytochemistry**, 42(4), 1097-1103, 1996.
84. RAMANOELINA, A. R.; RASOARAHONA, R. E.; MASOTTI, V.; VIANO, J.; GAYDOU, E. M.; BIANCHNI, J.-P. Chemical composition of the leaf oil of *Psiadia altissima* (Compositae). **J. Essent. Oil Res.**, 6(6), 565-570, 1994.
85. RAO, V. N. S.; SANTOS, F.A.; SOBREIRA, T. T.; SOUZA, M. F.; MELO, C.L.; SILVEIRA, E. R. Investigations on the gastroprotective and antidiarrhoeal properties of

- ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa*. **Planta Med.**, 63 (2), 146-149, 1997.
86. RAO, V. N. S.; FIGUEIREDO, E. G.; MELO, C. L.; VIANA, G. S.; MENEZES, D. B.; MATOS, M. S.; SILVEIRA, E. R. Protective effect of ternatin, a flavonoid isolated from *Egletes viscosa* Less., in experimental liver-injury. **Pharmacology**, 48 (6), 392-397, 1994.
87. RIVERO-CRUZ, I.; TREJO, J. L.; AGUILAR; M. I.; BYE, R.; MATA, R., Phytotoxic compounds from *Xanthocephalum gymnospermoides* var. *eradiatum*. **Planta Med.**, 66, 734-739, 2000.
88. ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. Farmacologia e farmacobiotecnologia. São Paulo-Brasil, Editorial Premier, 1997.
89. ROBLES, C.; GARZINO, S., Intraespecific variability in the essential oil composition of *Cistus monspeliensis* leaves. **Phytochemistry**, 53, 71-75, 2000.
90. RUFFINENGO, S. R.; EGUARAS, M. J.; CORA, D.; RODRIGUEZ, E.; BEDASCARRASBURE, E.; BAILAC, P. N.; PONZI, M. I. Biological activity of *Heterotheca latifolia* essential oil against *Varroa jacobsoni*. **J. Essent. Oil Res.**, 14(6), 462-464, 2002.
91. SALGUEIRO, L. R.; VILA, R.; TOMI, F.; FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; CANIGUERAL, S.; CASANOVA, J.; DA CUNHA, A. P.; ADZET; T., Variability of essential oils of *Thymus caespititius* from Portugal. **Phytochemistry**, 45 (2), 307-311, 1997.
92. SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N.; SILVEIRA, E. R. Investigation on the antinoceptive effect of *Psidium guajava* leaf essential oil and its major constituents. **Phytother. Res.**, 12, 24-27, 1998.
93. SCHAFER, M.; SCHIMMER, O. Composition of the essential oils from flowers, leaves and stems of *Grindelia robusta* and *G. Squarrosa*. **J. Essent. Oil Res.**, 12(5), 547-552, 2000.
94. SHELLEY, C. A.; HAYS, T. R.; MUNK, M. E.; ROMAN, R. V. An approach to automated partial structure expansion. **Anal. Chim. Acta**, 103, 121-132, 1978.

95. SIBANDA, S.; NDENGU, B.; MULTARI, G.; POMPI, V.; GALEFFI. A coumarin glucosides from *Xeromphis obovata*. **Phytochemistry**, 28 (5), 1550-1552, 1989.
96. SILVA, M. G. V., "Óleos Essenciais: Contribuição ao táxon genérico *Ocimum* e análise por espectrometria de RMN  $^{13}\text{C}$ ", 1996, 201f, Tese (Doutorado em Química Orgânica), Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-Ce.
97. SILVEIRA E. R.; MC CHESNEY, J. D., 12-Hydroxyhardwickic acid and sonderianal, neo-clerodanes from *Croton sonderianus*. **Phytochemistry**, 28 (12), 3411-3414, 1989.
98. SOUZA, M. F.; TOME, A. R.; RAO, V. S. N. Inhibition by the bioflavonoid ternatin of aflatoxi B-1 induced lipid peroxidation in rat liver. **J. Pharm Pharmacol.**, 51 (2), 125-129, 1999.
99. SOUZA, M. F.; RAO, V. S. N.; SILVEIRA, E. R. Prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity bu ternatin, a bioflavonoid from *Egletes viscosa* Less. **Phytother. Res.**, 12 (8), 557-561, 1998.
100. SOUZA, M. F.; RAO, V. S. N.; SILVEIRA, E. R. Inhibition of aflatoxin B-1 induced lipid peroxidation by ternatin, a bioflavonoid from *Egletes viscosa* Less. in rats. **N-S Arch Pharmacol**, 358 (1), P516 Suppl. 2, 1998a.
101. SOUZA, M. F.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N.; SIDRIM, J. J. C.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; SILVEIRA, E. R. Antinociceptive, anticonvulsant and antibacterial effects of the essential oil from flower heads of *Egletes viscosa* L. **Phytother. Res.**, 12(1), 28-31, 1998b.
102. SOUZA, M. F.; RAO, V. S. N.; SILVEIRA, E. R. Inhibition of lipid peroxidation by ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa* Less. **Phytomedicine**, 4 (1), 27-31, 1997.
103. SOUZA, M. F.; CUNHA, G. M. A., FONTENELE, J. B.; RAO, V. N. S.; SILVEIRA, E. R. Antithrombotic activity of ternatin, a tetramethoxy flavone from *Egletes viscosa* Less. **Phytother Res.**, 8 (8), 478-481, 1994.

104. SOUZA, M. F.; RAO, V. S. N.; SILVEIRA, E. R. Antianaphylactic and antiinflammatory effects of ternatin, a flavonoid isolated from *Egletes viscosa* Less. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 25 (10), 1029-1032, 1992.
105. STELIOPOULOS, P.; WUST, M.; ADAM, K. P.; MOSANDL, A. Biosynthesis of the sesquiterpene germacrene D in *Solidago canadensis*: C-13 and H-2 labeling studies. **Phytochemistry**, 60(1), 13-20, 2002.
106. TAZAKI, H.; ZAPP, J.; BECKER, H., Diterpenes from *in vitro* cultures of the liverwort *Jamesoniella automnalis*. **Phytochemistry**, 39 (4), 859-868, 1995.
107. TELLEZ, M. R.; ESTELL, R. E.; FREDDRICKSON, ED. L.; HAVSTAD, K. M. Essential oil of *Chysothamnus pulchellus* (Gray) Greena ssp. *pulchellus*. **J. Essent. Oil Res.**, 10(2), 201-204, 1998.
108. TUCKER, A. O.; MACIERELLO, M. J.; CLACY, K. Sweet goldenrod (*Solidago odora*, Asteraceae): a medicine, tea and state herb. **Econ. Bot.**, 53(3), 281-284, 1999.
109. VAN BAREN, C. M.; LIRA, P. D.; BANDONI, A. L.; FORTUNATO, R.; MIZRAHI, I.; JUAREZ, M. Composition of the essential oil of pichana [*Baccharis spartioides* (Hook. et Arn.) Remy (Compositae)] from different populations of the Patagonia, Argentina. **J. Essent. Oil Res.**, 14(3), 183-186, 2002.
110. WAGNER, M. R.; CLANCY, K. M.; TINUS, R. W., Maturational variation in needle essential oils from *Pseudotsuga menziesii*, *Abies concolor* and *Picea engelmannii*. **Phytochemistry**, 28 (3), 765-770, 1989.
111. WAGNER, H.; SEITZ, R.; LOTTER, H.; HERZ, W. New furanoid *ent*-clerodanes from *Baccharis tricuneata*. **J. Org. Chem.**, 43 (17), 3339-3345, 1978.
112. WAKER, J. T.; MELIN, J. B. *Mentha X piperita*, *Mentha spicata* and effects of their essential oils on *Meloidogyne* in soil. **J. Nematology**, 28 (4s), 629-635, 1996.
113. WEYERSTAHL, P.; CHRISTIANSEN, C.; MARSCHALL, H. Constituents of Brazilian vassoura oil. **Flavour Fragrance J.**, 11(1), 15-23, 1996.

114. WEYERSTAHL, P. Isolation, synthesis and olfactory properties of new compounds from essential oils. **Recent Dev. Flavor. Fragrance Chem., Proc. Int. Haarmann Reimer Symp.**, 3<sup>rd</sup>, 69-86, 1993.
115. ZUNINO, M. P.; LOPEZ, M. L.; FAILLACI, S. M.; LOPEZ, A. G.; ESPINAR, L. A.; ZYGADLO, J. A. Essential oil of *Baccharis cordobensis* Heering. **Flavour Fragrance J.**, 15(3), 151-152, 2000.
116. ZUNINO, M. P.; NEWTON, M. N.; MAESTRI, D. M.; ZYGADLO, J. A. Essential oils of three *Baccharis* species. **Planta Med.**, 64(1), 86-87, 1998.
117. ZUNINO, M. P.; NOVILLO-NEWTON, M.; MAESTRI, D. M.; ZYGADLO, J. A. Composition of the essential oil of *Baccharis crispa* Spreng. And *Baccharis salicifolia* Pers. grow in Cordoba (Argentina). **Flavour Fragrance J.**, 12(6), 405-407, 1997.
118. ZHOU, L.; FUENTES, E. R.; HOFFMANN, J. J.; TIMMERMANN, B. N. Diterpenoids from *Grindelia tarapacana*. **Phytochemistry**, 40 (4), 1201-1207, 1995.