

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

**CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE  
PLANTAS DO NORDESTE DO BRASIL :**

**Avaliação biológica e estudo fitoquímico de *Rolliniopsis leptopetala* (R. E. Fr.)**

***Saff e Zanthoxylum articulatum* Engler**

**Edinilza Maria Anastácio Feitosa**

Fortaleza - 2004

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

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE PLANTAS  
DO NORDESTE DO BRASIL :

Avaliação biológica e estudo fitoquímico de *Rolliniopsis leptopetala* (R. E. Fr.)  
*Saff* e *Zanthoxylum articulatum* Engler

Edinilza Maria Anastácio Feitosa

Tese submetida à Coordenação do curso de Pós-Graduação em Química Orgânica, como  
requisito parcial para obtenção do Título de Doutor.

Fortaleza - Ceará

2004

Este trabalho foi realizado sob a orientação da  
Professora Doutora Ângela Martha Campos Arriaga do Departamento de Química  
Orgânica e Inorgânica do Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará

Esta Tese foi aprovada como parte dos requisitos necessários à 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.

---

Édinilza Maria Anastácio Feitosa

TESE APROVADA EM: 30/10/2004

EXAMINADORES:

---

Profa. Dra. ~~Angela~~ Angela Martha Campos Arriaga (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Profa. Dra. ~~Telma Leda~~ Telma Leda Gomes de Lemos  
Universidade Federal do Ceará - UFC

Profa. Dra. Maria Conceição Ferreira de Oliveira  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Prof. Dr. Raimundo Braz Filho  
Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF

---

Profa. Dra. Mariana Helena Chaves  
Universidade Federal do Piauí - UFPI

***A Deus, pelo dom da vida e a Jesus Cristo pela  
Força e coragem a mim concedidas.***

***Ao meu esposo Sérgio e meus filhos  
Catherine e Christopher***

***A minha mãe Nilza e ao meu pai João Pedro,  
aos meus irmãos e irmãs***

***Aos meus amigos***

## AGRADECIMENTOS

A Deus, Senhor de minha vida e a Jesus que me guia.

A Profa. Dra. Ângela Martha Campos Arriaga , pela orientação deste trabalho, pela amizade, dedicação e confiança.

A Profa. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos pelas correções sugeridas neste trabalho.

Ao corpo docente do curso de Pós-graduação em Química Orgânica , pela cooperação e conhecimentos adquiridos.

Ao Prof. Dr. Raimundo Braz-Filho (UENF-RJ), pela colaboração na elucidação das estruturas dos compostos isolados.

Ao Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira, pela oportunidade concedida em operar os equipamentos de Ressonância Magnética Nuclear e coleta da planta *Rolliniopsis leptopetala*.

Ao Prof. Dr. Manoel Andrade Neto pela coleta da espécie *Zanthoxylum articulatum*.

Ao Prof. Dr. Edson de Paula Nunes pela identificação das espécies.

A minha amiga e Profa. Dra Gilvandete Pinheiro Santiago pelos testes biológicos realizados com as larvas de *Aedes aegypti*.

A Profa. Dra. Maria Teresa Sales Trevisan e sua bolsista Renata Araújo pelo ensaio realizado com a acetilcolinesterase.

Aos colegas Nirla , Grazieli e Daniel, pelo empenho na obtenção dos espectros.

Aos funcionários Mundinha, Lana , Célia e Sr. Paulo.

Aos meus amigos Lúcia, Marinalva, Arnaldo, Jefferson e Jackson, pela amizade.

Aos bolsistas de iniciação científica, Tathilene e Jeyne pela dedicação ao trabalho.

Aos colegas de curso pela agradável convivência e trocas de experiências.

Ao CNPq, CAPES e FUNCAP pela concessão dos recursos financeiros.

## SUMÁRIO

<b>Lista de figuras</b> .....	xiii
<b>Lista de tabelas</b> .....	xvii
<b>Lista de quadros</b> .....	xx
<b>Lista de fluxogramas</b> .....	xx
<b>Lista de abreviaturas e símbolos</b> .....	xxi
<b>Resumo</b> .....	xxiii
<b>Abstract</b> .....	xxv
<b>Introdução</b> .....	1
<b>Capítulo 1 – Considerações sobre as espécies estudadas</b> .....	11
1.1. Considerações sobre a espécie <i>Rolliniopsis leptopetala</i> (R. E. Fr.) Saff.....	11
1.1.1. Considerações gerais.....	11
1.1.2. Considerações farmacológicas.....	11
1.1.3. Considerações botânicas.....	11
1.1.4. Considerações químicas.....	12
1.2. Considerações sobre a espécie <i>Zanthoxylum articulatum</i> Engler.....	14
<b>Capítulo 02 – Levantamento bibliográfico</b> .....	17
2.1. Introdução.....	17
2.2. Alcalóides encontrados em espécies da família Annonaceae.....	17
2.3. Alcalóides no gênero <i>Rollinia</i> .....	58
2.4. Métodos de identificação de alcalóides.....	59
2.4.1. Métodos colorimétricos.....	59
2.4.2. Espectrometria de massa.....	60
2.4.3. Ressonância magnética nuclear.....	60
2.4.3.1. Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ de alcalóides de núcleo oxoaporfínicos.....	60
2.4.3.2. Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ de alcalóides de núcleo oxoaporfínicos.....	63
2.4.3.3. Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ de alcalóides de núcleo protoberberina.....	68
2.4.3.4. Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ de alcalóides de núcleo protoberberina.....	70

2.4.3.5. Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ de alcalóides de núcleo tetrahidroprotoberberina.....	72
2.4.3.6. Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ de alcalóides de núcleo tetrahidroprotoberberina.....	75
2.4.3.7. Considerações sobre o uso de técnicas bidimensionais na elucidação da estrutura de alcalóides protoberberina e tetrahidroprotoberberina.....	79
<b>Capítulo 03 – Determinação estrutural dos constituintes de <i>Rolliniopsis leptopetala</i> e <i>Zanthoxylum articulatum</i>.....</b>	<b>85</b>
3.1. Estudo dos constituintes químicos voláteis de <i>Rolliniopsis leptopetala</i> e <i>Zanthoxylum articulatum</i> .....	85
3.1.1. Introdução.....	85
3.1.2. Constituintes químicos identificados nos óleos essenciais de plantas da família Annonaceae.....	86
3.1.2.1. Óleo essencial de <i>Rolliniopsis leptopetala</i> .....	86
3.1.3. Constituição química do óleo essencial de espécies do gênero <i>Zanthoxylum</i> .....	90
3.1.3.1. Óleo essencial das folhas de <i>Zanthoxylum articulatum</i> .....	90
3.2. Determinação estrutural dos constituintes fixos de <i>R. leptopetala</i> .....	95
3.2.1. Determinação estrutural de RLR-1(liriodenina).....	95
3.2.2. Determinação estrutural de RLR-2 (discretamina).....	106
3.2.3. Determinação estrutural de RLR-3(desidrodiscretamina).....	120
3.2.4. Determinação estrutural de RLR-4(liqueoxantona).....	132
3.2.5. Determinação estrutural de RLCC-1(sitosterol).....	142
3.2.6. Determinação estrutural de RLCC-2 (caureno).....	146
3.2.7. Determinação estrutural de RLCC-3 (ácido caurenoico).....	148
3.3. Determinação estrutural dos constituintes fixos de <i>Z. articulatum</i> .....	158
3.3.1. Determinação estrutural de ZAR-1 (lupeol).....	158
3.3.2. Determinação estrutural de ZAR-2 (sesamina).....	165
3.3.3. Determinação estrutural de ZAR-3 (escoparona).....	173
3.3.4. Determinação estrutural de ZAR-4-A (acetato de hesperidina).....	180
3.4. Determinação estrutural dos derivados.....	195
3.4.1. Determinação estrutural de RLR-1-Cl (3-cloroliriodenina).....	195

3.4.2. Determinação estrutural de RLCC-3-H (ácido cauranóico).....	199
<b>Capítulo 04 – Testes farmacológicos.....</b>	<b>203</b>
4.1. Avaliação da atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase.....	203
4.2. Citotoxicidade frente as larvas de <i>Artêmia salina</i> .....	205
4.3. Citotoxicidade frente as larvas de <i>Aedes aegypti</i> .....	206
<b>Capítulo 05 – Parte experimental.....</b>	<b>211</b>
5.1. Materiais e métodos.....	211
5.1.1. Material vegetal.....	211
5.1.2. Métodos cromatográficos.....	211
5.1.3. Métodos físicos de análise.....	212
5.2. Obtenção dos óleos essenciais das folhas e caule de <i>R. leptopetala</i> e das folhas de <i>Z. articulatum</i> .....	214
5.3.1. Isolamento dos constituintes fixos de <i>R. leptopetala</i> .....	215
5.3.1.1. Estudo da raiz.....	215
5.3.1.2. Estudo da casca do caule.....	220
5.3.2. Isolamento dos constituintes fixos de <i>Z. articulatum</i> .....	222
5.4. Obtenção de derivados.....	224
5.5. Testes biológicos .....	226
<b>Capítulo 06 – Conclusão.....</b>	<b>231</b>
<b>Capítulo 07 – Referências bibliográficas.....</b>	<b>235</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01</b> – Foto representando a excicata de <i>Rolliniopsis leptopetala</i> .....	13
<b>Figura 02</b> – Foto representando a excicata de <i>Zanthoxylum articulatum</i> .....	14
<b>Figura 03</b> – Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>Rolliniopsis leptopetala</i> obtido por CGL/EM.....	87
<b>Figura 04</b> – Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>Rolliniopsis leptopetala</i> obtido por CGL/FID.....	87
<b>Figura 05</b> – Cromatograma do óleo essencial do caule de <i>Rolliniopsis leptopetala</i> obtido por CGL/EM.....	88
<b>Figura 06</b> – Cromatograma do óleo essencial do caule de <i>Rolliniopsis leptopetala</i> obtido por CGL/FID.....	88
<b>Figura 07</b> – Cromatograma do óleo essencial das folhas <i>Zanthoxylum articulatum</i> obtido por CGL/EM.....	91
<b>Figura 08</b> – Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>Zanthoxylum articulatum</i> obtido por CGL/FID.....	91
<b>Figura 09</b> – Expansão do cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>Zanthoxylum articulatum</i> obtido por CGL/FID.....	92
<b>Figura 10</b> – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB de RLR-1 .....	97
<b>Figura 11</b> – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135° de RLR-1.....	97
<b>Figura 12</b> - Espectro de massa de RLR-1 obtido por impacto eletrônico.....	98
<b>Figura 13</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de RLR-1 .....	100
<b>Figura 14</b> - Diagrama de contorno do espectro de RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C – HMQC- <sup>1</sup> J <sub>CH</sub> de RLR-1 .....	101
<b>Figura 15</b> - Diagrama de contorno do espectro de RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C – HMBC- <sup>n</sup> J <sub>CH</sub> , n = 2 e 3 de RLR-1 .....	104
<b>Figura 16</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de RLR-2 .....	107
<b>Figura 17</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB de RLR-2.....	108
<b>Figura 18</b> – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135° de RLR-2.....	108

<b>Figura 19</b> – Diagrama de contorno do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ de RLR-2.....	110
<b>Figura 20</b> – Expansão I do diagrama de contorno do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n = 2 e 3) de RLR-2.....	112
<b>Figura 21</b> – Expansão II do diagrama de contorno do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n = 2 e 3) de RLR-2 .....	113
<b>Figura 22</b> – Expansão III do diagrama de contorno do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n = 2 e 3) de RLR-2 .....	114
<b>Figura 23</b> – Diagrama de contorno do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ de correlação homonuclear a longa distância - NOESY de RLR-2.....	115
<b>Figura 24</b> – Espectro de massa obtido por impacto eletrônico de RLR-2.....	117
<b>Figura 25</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB de RLR-3 .....	121
<b>Figura 26</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT $135^\circ$ de RLR-3 .....	121
<b>Figura 27</b> – Espectro de RMN $^1\text{H}$ de RLR-3 .....	123
<b>Figura 28</b> – Diagrama de contorno do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ de RLR-3 .....	124
<b>Figura 29</b> – Diagrama de contorno do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n = 2 e 3) de RLR-3 .....	125
<b>Figura 30</b> – Expansão I do diagrama de contorno do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n = 2 e 3) de RLR-3 .....	127
<b>Figura 31</b> – Expansão II do diagrama de contorno do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n = 2 e 3) de RLR-3 .....	128
<b>Figura 32</b> – Espectro de RMN $^1\text{H}$ do produto da redução de RLR-3.....	130
<b>Figura 33</b> – Espectro de RMN $^1\text{H}$ de RLR-4 .....	133
<b>Figura 34</b> – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de RLR-4 .....	133
<b>Figura 35</b> – Diagrama de contorno do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ de RLR-4 .....	135
<b>Figura 36</b> - Diagrama de contorno do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC - $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2 e 3) de RLR-4 .....	138
<b>Figura 37</b> – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB de RLCC-1.....	141
<b>Figura 38</b> – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT $135^\circ$ de RLCC-1.....	141

<b>Figura 39</b> - Espectro RMN <sup>1</sup> H de RLCC-1.....	142
<b>Figura 40</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de RLCC-3 .....	147
<b>Figura 41</b> - Espectro de massa de RLCC-3 obtido por CGL/EM.....	147
<b>Figura 42</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB de RLCC-2 .....	150
<b>Figura 43</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135° de RLCC-2 .....	150
<b>Figura 44</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de RLCC-2 .....	151
<b>Figura 45</b> - Diagrama de contorno do espectro de RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C - HMQC - <sup>1</sup> J <sub>CH</sub> de RLCC-2 .....	153
<b>Figura 46</b> - Diagrama de contorno do espectro de RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C - HMBC - <sup>n</sup> J <sub>CH</sub> (n = 2 e 3) de RLCC-2 .....	154
<b>Figura 47</b> - Expansão do diagrama de contorno do espectro de RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C - HMBC - <sup>n</sup> J <sub>CH</sub> (n = 2 e 3) de RLCC-2.....	155
<b>Figura 48</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB de ZAR-1.....	159
<b>Figura 49</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135° de ZAR-1.....	159
<b>Figura 50</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de ZAR-1 .....	160
<b>Figura 51</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB de ZAR-2 .....	164
<b>Figura 52</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135° de ZAR-2 .....	164
<b>Figura 53</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de ZAR-2 .....	167
<b>Figura 54</b> - Diagrama de contorno do espectro de RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C - <sup>1</sup> J <sub>CH</sub> - HMQC de ZAR-2 .....	169
<b>Figura 55</b> - Diagrama de contorno do espectro de RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C - <sup>n</sup> J <sub>CH</sub> (n = 2 e 3) - HMBC de ZAR-2.....	171
<b>Figura 56</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de ZAR-3 .....	174
<b>Figura 57</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB de ZAR-3 .....	175
<b>Figura 58</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135° de ZAR-3 .....	175
<b>Figura 59</b> - Diagrama de contorno do espectro RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C - <sup>1</sup> J <sub>CH</sub> - HMQC de ZAR-3 .....	177
<b>Figura 60</b> - Diagrama de contorno do espectro RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C - <sup>n</sup> J <sub>CH</sub> (n = 2 e 3) - HMBC de ZAR-3 .....	178
<b>Figura 61</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB de ZAR-4-A.....	182
<b>Figura 62</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135° de ZAR-4-A .....	182

<b>Figura 63</b> – Espectro de RMN <sup>1</sup> H de ZAR-4-A .....	183
<b>Figura 64</b> - Diagrama de contorno do espectro RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C – <sup>1</sup> J <sub>CH</sub> –HMQC .....	185
<b>Figura 65</b> – Espectro de massa de ZAR-4 .....	189
<b>Figura 66</b> - Expansão I do diagrama de contorno do espectro RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C – <sup>n</sup> J <sub>CH</sub> (n = 2 e 3) –HMBC de ZAR-4-A.....	190
<b>Figura 67</b> Expansão II do diagrama de contorno do espectro RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C – <sup>n</sup> J <sub>CH</sub> (n = 2 e 3) –HMBC de ZAR-4-A .....	191
<b>Figura 68</b> - Expansão III do diagrama de contorno do espectro RMN <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C – <sup>n</sup> J <sub>CH</sub> (n = 2 e 3) –HMBC de ZAR-4-A .....	192
<b>Figura 69</b> – Espectro de massa de RLR-1-Cl .....	196
<b>Figura 70</b> – Espectro de RMN <sup>1</sup> H de RLR-1-Cl .....	198
<b>Figura 71</b> – Espectro de RMN <sup>1</sup> H de RLCC-2-H .....	200

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01</b> – Resultados obtidos dos testes preliminares de avaliação das atividades antitumoral e inibidora da acetilcolinesterase.....	02
<b>Tabela 02</b> - Importância econômica de algumas Annonáceas.....	03
<b>Tabela 03</b> – Levantamento bibliográfico dos alcalóides isolados de espécies da família Annonaceae.....	48
<b>Tabela 04</b> – Dados de RMN <sup>13</sup> C de alguns alcalóides de núcleo oxoaporfínicos.....	67
<b>Tabela 05</b> – Dados de RMN <sup>13</sup> C de alguns alcalóides de núcleo tetrahidroprotoberberina.....	78
<b>Tabela 06</b> – Constituintes químicos voláteis identificados no óleo essencial das folhas e caule de <i>Rolliniopsis leptopetala</i> .....	89
<b>Tabela 07</b> - Constituintes químicos voláteis identificados no óleo essencial das folhas de <i>Zanthoxylum articulatum</i> .....	93
<b>Tabela 08</b> – Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de RLR-1 obtidos pela comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup> C-BB e DEPT 135°.....	96
<b>Tabela 09</b> – Dados de RMN <sup>1</sup> H e RMN <sup>13</sup> C e correlações heteronuclear <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C - <sup>n</sup> J <sub>CH</sub> , n = 1 (HMQC) e n = 2 e 3 (HMBC) de RLR-1.....	103
<b>Tabela 10</b> – Comparação dos dados de RMN <sup>13</sup> C de RLR-1 com aqueles relatados na literatura para o alcalóide de núcleo oxoaporfínico liriodenina I.....	105
<b>Tabela 11</b> – Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de RLR-2 obtidos pela comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup> C-BB e DEPT 135°.....	109
<b>Tabela 12</b> - Dados espectrais para RLR-2 e acoplamento heteronuclear ( <sup>1</sup> J <sub>CH</sub> , n = 1,2 e 3). .....	116
<b>Tabela 13</b> – Comparação dos dados de RMN <sup>13</sup> C de RLR-2 com aqueles encontrados na literatura para o alcalóide de núcleo tetrahidroprotoberberina, deiscretamina II .....	119
<b>Tabela 14</b> – Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de RLR-3 obtidos pela comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup> C-BB e DEPT 135°.....	122
<b>Tabela 15</b> - Dados espectrais para RLR-3 e acoplamento heteronuclear ( <sup>1</sup> J <sub>CH</sub> , n = 1,2 e 3). .....	131
<b>Tabela 16</b> – Dados obtidos da análise do diagrama de contorno do espectro de	

RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ de RLR-4 .....	134
<b>Tabela 17</b> – Dados espectrais para RLR-4 e acoplamento heteronuclear ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ , n = 1,2 e 3). .....	140
<b>Tabela 18</b> – Comparação dos dados de RMN $^{13}\text{C}$ de RLR-4 com aqueles encontrados na literatura para a liqueoxantona IV .....	141
<b>Tabela 19</b> – Comparação entre os dados de RMN $^{13}\text{C}$ de RLCC-1 e os dados do esteróide sitosterol relatados na literatura .....	145
<b>Tabela 20</b> – Comparação de dados de RMN $^1\text{H}$ de RLCC-2 com dados descritos na literatura para o 16-caureno .....	146
<b>Tabela 21</b> – Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de RLCC-3 obtidos pela comparação dos espectros de RMN $^{13}\text{C}$ -BB e DEPT 135° .....	149
<b>Tabela 22</b> – Dados espectrais para RLCC-3 e acoplamento heteronuclear ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ , n = 1,2 e 3). .....	156
<b>Tabela 23</b> – Comparação entre os dados de RMN $^{13}\text{C}$ de RLCC-3 com os dados relatados na literatura para o ácido caurenóico.....	157
<b>Tabela 24</b> – Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de ZAR-1 obtidos pela comparação dos espectros de RMN $^{13}\text{C}$ -BB e DEPT 135° .....	161
<b>Tabela 25</b> – Deslocamentos químicos relatados na literatura para os carbonos metílicos 24,25,26,27,28,29 e 30 de triterpenos das séries lupano e hopano .....	162
<b>Tabela 26</b> – Comparação entre os dados de RMN $^{13}\text{C}$ de ZAR-1 e aqueles encontrados na literatura para o lupeol (VIII).....	163
<b>Tabela 27</b> – Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de ZAR-2 obtidos pela comparação dos espectros de RMN $^{13}\text{C}$ -BB e DEPT 135° .....	166
<b>Tabela 28</b> – Dados obtidos da análise do diagrama de contorno do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – $^1\text{J}_{\text{CH}}$ - HMQC .....	168
<b>Tabela 29</b> – Comparação dos dados de RMN $^{13}\text{C}$ de ZAR-2 com aqueles encontrados na literatura para a lignana (+)-sesamina IX .....	172
<b>Tabela 30</b> - Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de ZAR-3 obtidos pela comparação dos espectros de RMN $^{13}\text{C}$ -BB e DEPT 135° .....	174
<b>Tabela 31</b> – Dados espectrais para ZAR-3 e acoplamento heteronuclear ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ , n = 1,2 e 3). .....	176
<b>Tabela 32</b> – Comparação dos dados de RMN $^{13}\text{C}$ de ZAR-3 com aqueles encontrados na literatura para a escoparona X .....	179

<b>Tabela 33</b> – Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de ZAR-4-A obtidos pela comparação dos espectros de RMN $^{13}\text{C}$ -BB e DEPT 135° .....	181
<b>Tabela 34</b> – Dados espectrais para ZAR-4-A e acoplamento heteronuclear ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ , n = 1,2 e 3). .....	193
<b>Tabela 35</b> – Comparação dos dados de RMN $^{13}\text{C}$ de ZAR-4-A com aqueles encontrados na literatura para o acetato de hesperidina <b>XI</b> .....	194
<b>Tabela 36</b> – Avaliação da ação inibidora da acetilcolinesterase dos alcalóides <b>I</b> a <b>III</b> , dos compostos <b>IX</b> e <b>XI</b> , do derivado <b>XII</b> e dos extratos metanólico da raiz de <i>R. leptopetala</i> e <i>Z. articulatum</i> .....	205
<b>Tabela 37</b> – avaliação da atividade citotóxica frente às larvas de <i>Artemia salina</i> dos alcalóides <b>I</b> e <b>II</b> e dos óleos essenciais das folhas e talos de <i>R. leptopetala</i> e das folhas de <i>Z. articulatum</i> .....	206
<b>Tabela 38</b> – avaliação da atividade larvicida frente às larvas de <i>Aedes aegypti</i> dos alcalóides <b>I</b> e <b>II</b> e dos óleos essenciais das folhas e talos de <i>R. leptopetala</i> e do óleo essencial das folhas de <i>Z. articulatum</i> .....	207
<b>Tabela 39</b> – Comparação entre as quantidades de RLR-1 e RLR-2 fornecidas pelos extratos clorofórmico da raiz de <i>R. leptopetala</i> obtidos de três métodos diferentes.....	217
<b>Tabela 40</b> – Fracionamento do extrato clorofórmico EMRRL.....	219
<b>Tabela 41</b> – Fracionamento do extrato clorofórmico EMCCRL.....	220
<b>Tabela 42</b> – Fracionamento do extrato EMRZA.....	222

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 01</b> – Compostos isolados de <i>Rolliniopsis leptopetala</i> (R.E.Fr.) Saff. ....	05
<b>Quadro 02</b> – Compostos isolados da raiz de <i>Zanthoxylum articulatum</i> Engler ....	06
<b>Quadro 03</b> – Derivados obtidos de compostos isolados.....	07
<b>Quadro 04</b> - Dados de RMN <sup>1</sup> H de alguns alcalóides de núcleo oxoaporfínicos.....	62
<b>Quadro 05</b> – Dados de RMN <sup>1</sup> H de alguns alcalóides de núcleo protoberberina....	69
<b>Quadro 06</b> – Dados de RMN <sup>13</sup> C de alguns alcalóides de núcleo protoberberina....	71
<b>Quadro 07</b> – Dados de RMN <sup>1</sup> H de alguns alcalóides de núcleo tetrahidroprotoberberina.....	74
<b>Quadro 08</b> – Estruturas dos constituintes majoritários de OEFRL, OECRL e OEFZA.....	94
<b>Quadro 09</b> – Proposta de fragmentação de RLR-1 no espectro de massa.....	99
<b>Quadro 10</b> – Proposta de fragmentação de RLR-2 no espectro de massa.....	118
<b>Quadro 11</b> – Proposta de fragmentação de RLR-1-Cl no espectro de massa.....	197

## LISTA DE FLUXOGRAMAS

<b>Fluxograma 01</b> – Obtenção das frações alcaloídicas.....	216
<b>Fluxograma 02</b> - Isolamento dos constituintes fixos da raiz de <i>Rolliniopsis leptopetala</i> .....	218
<b>Fluxograma 03</b> – Isolamento dos constituintes fixos da casca do caule de <i>Rolliniopsis leptopetala</i> .....	221
<b>Fluxograma 04</b> – Isolamento dos constituintes fixos da raiz de <i>Zanthoxylum articulatum</i> .....	223

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>BB</b>	Broad Band decoupling
<b>CCD</b>	Cromatografia em Camada Delgada
<b>CGL/EM</b>	Cromatografia Gas-Líquido acoplada a Espectrômetro de Massa
<b>COSY</b>	Correlated spectroscopy (RMN bidimensional de correlação homonuclear de hidrogênio ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ ))
<b>DEPT</b>	Distortionless enhancement by polarization transfer (RMN unidimensional de $^{13}\text{C}$ , onde somente os carbonos hidrogenados são detectados.
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dose letal que mata 50% da população da espécie estudada
<b>EMCCRL</b>	Extrato metanólico da casca do caule de <i>R. leptopetala</i>
<b>EMCCRLh</b>	Extrato metanólico da casca do caule de <i>R. leptopetala</i> – fração hexânica
<b>EMCCRLc</b>	Extrato metanólico da casca do caule de <i>R. leptopetala</i> – fração clorofórmica
<b>EMCCRLa</b>	Extrato metanólico da casca do caule de <i>R. leptopetala</i> – fração acetato de etila
<b>EMCCRLm</b>	Extrato metanólico da casca do caule de <i>R. leptopetala</i> – fração metanólica
<b>ECRRLf</b>	Extrato clorofórmico da raiz de <i>R. leptopetala</i> obtido à frio
<b>ECRRLq</b>	Extrato clorofórmico da raiz de <i>R. leptopetala</i> obtido à quente
<b>ECRRLs</b>	Extrato clorofórmico da raiz de <i>R. leptopetala</i> obtido por soxhlet
<b>EHFRL</b>	Extrato hexânico das folhas de <i>R. leptopetala</i>
<b>EMRRL</b>	Extrato metanólico da raiz de <i>R. leptopetala</i>
<b>EMRRLh</b>	Extrato metanólico da raiz de <i>R. leptopetala</i> - fração hexânica
<b>EMRRLc</b>	Extrato metanólico da raiz de <i>R. leptopetala</i> - fração clorofórmica
<b>EMRRLa</b>	Extrato metanólico da raiz de <i>R. leptopetala</i> - fração acetato de etila
<b>EMRRLm</b>	Extrato metanólico da raiz de <i>R. leptopetala</i> - fração metanólica
<b>EMRZA</b>	Extrato metanólico da raiz de <i>Z. articulatum</i>
<b>EMRZAh</b>	Extrato metanólico da raiz de <i>Z. articulatum</i> - fração hexânica
<b>EMRZAhc</b>	Extrato metanólico da raiz de <i>Z. articulatum</i> - fração hexânica/clorofórmica
<b>EMRZAc</b>	Extrato metanólico da raiz de <i>Z. articulatum</i> - fração clorofórmica
<b>EMRZAa</b>	Extrato metanólico da raiz de <i>Z. articulatum</i> - fração acetato de etila

<b>EMRZAm</b>	Extrato metanólico da raiz de <i>Z. articulatum</i> - fração metanólica
<b>FID</b>	Flame ionization detector
<b>HMBC</b>	Heteronuclear correlation spectroscopy (RMN bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ ) a mais de uma ligação, com detecção no canal de hidrogênio, detecção inversa.
<b>HMQC</b>	Heteronuclear multiple quantum coherence (RMN bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ ) a uma ligação, com detecção no canal de hidrogênio, detecção inversa.
<b>I.E.</b>	Impacto eletrônico
<b>I.K.</b>	Índice Kovats
<b>IV</b>	Infra-vermelho
<b>J</b>	Constante de acoplamento
<b>NOESY</b>	Nuclear overhauser effect spectroscopy
<b>p.f.</b>	Ponto de fusão
<b>PM</b>	Peso molecular
<b>ppm</b>	Parte por milhão
<b>RMN<sup>1</sup>H</b>	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
<b>RMN<sup>13</sup>C</b>	Ressonância magnética nuclear de carbono-13

## RESUMO

Este trabalho relata o estudo fitoquímico das espécies *Rolliniopsis leptopetala* (Annonaceae) e *Zanthoxylum articulatum* (Rutaceae), selecionadas para prospecção química através dos ensaios biológicos: avaliação da atividade antitumoral e avaliação da atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase, que se acredita esteja envolvida no processo degenerativo da doença de Alzheimer.

*Rolliniopsis leptopetala*, conhecida popularmente no Nordeste como “ata brava”, é uma planta da família Annonaceae. Estudos anteriores relataram a presença de alcalóides nesta espécie. A análise cromatográfica do extrato clorofórmico da raiz, levou ao isolamento dos alcalóides liriiodenina (I) e discretamina (II). O estudo do extrato metanólico da raiz forneceu, além dos alcalóides já citados, o alcalóide desidrodiscretamina (III) e a liqueoxantona (IV). O extrato metanólico da casca do caule, levou ao isolamento do esteróide sitosterol (V) e dos diterpenos: caureno (VI) e ácido caurenóico (VII). Destes compostos, apenas a discretamina (II) tinha sido relatada para a espécie. Com exceção da liriiodenina (I), os outros constituintes estão sendo relatados pela primeira vez no gênero. Já a liqueoxantona (IV) é a segunda xantona relatada na família Annonaceae. Os dados de RMN<sup>13</sup>C da desidrodiscretamina (III) estão sendo reportados pela primeira vez na literatura. A reação de halogenação de (I), levou à 3-cloroliriiodenina (XII), relatado pela primeira vez na literatura e a reação de hidrogenação de (VII), forneceu o ácido cauranóico (XIII).

O estudo dos constituintes voláteis das folhas, levou a identificação de dezessete constituintes, dos quais o linalool (24,95%), 1,8-cineol (24,52%) e o  $\alpha$ -terpineol (13,94%) foram os majoritários. Do óleo essencial do caule, o espatulenol (63,93%) e o biciplogermacreno (14,44%), mostraram-se como principais constituintes.

*Zanthoxylum articulatum*, conhecida popularmente como “limãozinho” é uma planta pertencente à família Rutaceae. O estudo fitoquímico do extrato metanólico da raiz levou ao isolamento do triterpeno lupeol (VIII), da lignana (+)-sesamina (IX), da cumarina escoparona (X) e do acetato de hesperidina (XI).

O estudo químico dos constituintes voláteis das folhas, levou a identificação de onze constituintes, dos quais o viridiflorol (34,40%) e o espatulenol (9,90%) foram os majoritários. O estudo fitoquímico desta espécie está sendo relatada pela primeira vez na literatura.

Os compostos **I**, **II**, **III**, **IX**, **XI** e **XII** mostraram atividade inibidora da acetilcolinesterase, da mesma forma que os extratos metanólicos da raiz de *R. leptopetala* e *Z. articulatum*. Os alcalóides **I** e **III** mostraram ação larvicida frente as larvas de *Artemia salina*, sendo que **I** também foi ativo frente às larvas do mosquito *Aedes aegypti*. Os óleos essenciais das folhas e caule de *R. leptopetala* e das folhas de *Z. articulatum* também foram avaliados, sendo que o óleo essencial obtido das folhas de *R. leptopetala* mostrou-se o mais ativo.

## ABSTRACT

This work describes the phytochemistry analysis of *Rolliniopsis leptopetala* and *Zanthoxylum articulatum* selected for chemical prospection across pharmacological assays: Evaluation of antitumoral and inhibitory of acetylcholinesterase (Alzheimer) activity.

*Rolliniopsis leptopetala* (Annonaceae) is popularly known as "ata brava". The Chromatographic analysis of the chloroformic extract of roots led to the isolation and characterization of two alkaloids: Liriodenine (I) and discretamine (II). From the metanolic extract of roots were isolated the alkaloids cited, besides of the alkaloids dihydrodiscretamine (III) and lichexanthone (IV). The metanolic extract of bark afforded the steroid sitosterol (V) and two diterpenes: kaurene (VI) and kaurenoic acid (VII). Compounds III, IV, V, VI, VII are been reported for the first time in genus. The NMR <sup>13</sup>C of III are being reported for the first time in the literature. The halogenation reaction of I led to 3-chloro-liriodenine (XII), reported for the first time in the literature. The hydrogenation reaction of VII afforded the kauranoic acid (XIII).

Study of the essential oil from leaves allowed identify seventeen constituents. From these, linalool (24.95 %), 1,8-cineole (24.52 %), and  $\alpha$ -terpineol (13.94 %) were the major constituents. From the essential oil of bark, the major were spathulenol (63.93 %) and bicyclogermacrene (14.44 %).

*Zanthoxylum articulatum*, popularly known as "limãozinho" is a plant of Rutaceae family. The phytochemistry study of metanolic extract of roots led to isolation of the triterpenoid lupeol (VIII), the lignane sesamin (IX), the coumarin scoparone (X) and the flavonoid hesperidin acetate (XI).

Study of the essential oil from leaves led to identification of the eleven constituents with major been viridiflorol (34.40 %) and spathulenol (9.90 %). The phytochemical study is been reported for the first time in the literature.

Compounds I, II, III, IX, XI and XII showed inhibitory activity of acetylcholinesterase. The alkaloids I and II, and the essential oils of leaves and bark of *R. leptopetala* and leaves of *Z. articulatum*, showed larvicidal activity against *Artemia salina* and *Aedes aegypti*.

## **Introdução**

A utilização de plantas e animais como fonte de medicamentos para tratamento de diversas doenças têm sido feita desde a antiguidade e hoje é comum desde, aldeias indígenas, tribos africanas, em nossas comunidades pobres da zona rural e até em centros do primeiro mundo.

Sabe-se que a maioria dos remédios naturais é geralmente menos tóxicos e normalmente apresenta menos efeitos colaterais que os sintetizados, aliado a isso, possuem baixo custo, tornando-os importante quando são usados no tratamento de doenças que acometem as populações mais pobres.

Muitas espécies já estudadas fitoquimicamente, demonstraram possuir substâncias capazes de serem usadas no tratamento de diversas doenças, desde as mais simples, ao câncer e doenças degenerativas, como o mal de Alzheimer (Howes et al., 2003 ; Ingkaninan et al., 2003).

Uma das maneiras de selecionar uma determinada espécie vegetal para estudo pode ser realizada através de simples testes biológicos que visam guiar a prospecção química da planta. As plantas, cujos estudos fitoquímicos são relatados neste trabalho, foram submetidas a avaliação da atividade antitumoral, avaliado "in vivo" através do poder larvicida sobre as larvas de *Artemia salina* e inibição avaliada por CCD da acetilcolinesterase, enzima que, estar envolvida no processo degenerativo da doença de Alzheimer (Rhee et al., 2001). Os resultados destes testes preliminares encontram-se reunidos na Tabela 01 (p. 02). Os extratos metanólicos da raiz e casca do caule de *Rolliniopsis leptopetala* (R.E.Fr.) Saff e o extrato metanólico da raiz de *Zanthoxylum articulatum* Engler apresentaram os resultados mais promissores nestes testes e então foram escolhidos para prospecção química.

**Tabela 01** – Resultados dos testes preliminares de avaliação das atividades antitumoral e inibidora da acetilcolinesterase revelados pelos extratos metanólicos de *Rolliniopsis leptopetala* e *Zanthoxylum articulatum*.

Planta	Atividade antitumoral em ppm	Atividade inibidora da acetilcolinesterase em CCD
<i>Rolliniopsis leptopetala</i>	0,1 (casca do caule) e 25,4 (raiz)	+ +
<i>Zanthoxylum articulatum</i>	38,4	+

+ capaz de inibir a acetilcolinesterase

- incapaz de inibir a acetilcolinesterase

*Rolliniopsis leptopetala* é uma planta pertencente a família Annonaceae, que é uma grande família de árvores e arbustos que compreende cerca de 130 gêneros e mais de 2300 espécies e que ocupam as regiões tropicais e subtropicais da África, Américas e Ásia (Lima et al., 2004). No continente americano pode-se encontrar 38 gêneros e 740 espécie ( Takhtajan, 1969), sendo que na América tropical estas espécies são arbustivas e crescem nos campos ou em lugares abertos.

Várias espécies desta família são encontradas no Nordeste do Brasil e apresentam uma importância econômica considerável, principalmente o gênero *Annona*, pois apresenta frutos comestíveis e algumas são utilizadas na medicina popular, tais como a *Annona squamosa* (ata) e *Annona muricata* (graviola). Na Tabela 02 (p.03) estão descritas resumidamente a importância econômica de algumas anonáceas.

TABELA 02 - Importância econômica de algumas anonáceas.

Importância econômica	Espécie
Comestíveis	<i>Annona muricata</i> – graviola <i>Annona squamosa</i> – ata ou pinha <i>Annona senegalenses</i> – maçã canela
Condimentos	<i>Xylopia aetiopica</i> – pimenta da Etiópia
Perfumaria	<i>Cananga odorata</i> <i>Artabotrys odorantissimus</i>
Medicina tradicional	<i>Annodium manii</i> – antidiarréico <i>Enantia chlorantha</i> – antisséptica <i>Annona squamosa</i> – anti-hemorragica, anti-reumática, cicatrizante.



São comercializados suplementos alimentares a base de *Annona muricata*, que são indicados no tratamento do câncer .

A espécie *Zanthoxylum articulatum* Engler , pertence a família Rutaceae, que por sua vez é constituída de 150 gêneros e 1500 espécies (Joly, 1985) . Assim como na família Annonaceae, muitas espécies de Rutaceae são usadas na medicina popular, como *Z. rhoifolium* que possui ação antimicrobiana, cardiorespiratória e antitumoral (De Moura et al., 1997). Além da atividade antiinflamatória , *Z. naranjillo* está sendo testada como fitoterápico no controle da doença de Chagas (Ambrozim et al., 2004). A ausência de estudos fitoquímicos relacionados a *Zanthoxylum articulatum*, aliada as propriedades farmacológicas relatadas para outras espécies do gênero, corroboram para a seleção desta outra espécie , para a prospecção química.

Assim, este trabalho visa, o isolamento e a identificação de metabólitos secundários de *Rolliniopsis leptopetala* e de *Zanthoxylum articulatum*, principalmente alcalóides. Nosso interesse nesta classe de substâncias, reside no fato da mesma apresentar um grande número destes compostos que possuem atividade antitumoral e também que algumas destas substâncias, hoje são utilizadas no tratamento da doença de Alzheimer ( Ingkaninan, 2000).

De *Rolliniopsis leptopetala*, o óleo das folhas (OEFRL) apresentou uma moderada atividade larvicida frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti*, enquanto o óleo essencial do caule (OECRL) demonstrou uma excelente ação larvicida quando submetido a mesma avaliação .

O óleo essencial obtido de *Zanthoxylum. articulatum* (OEFZA) inibiu com eficiência a enzima acetilcolinesterase, além de possuir uma atividade larvicida moderada frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti*.

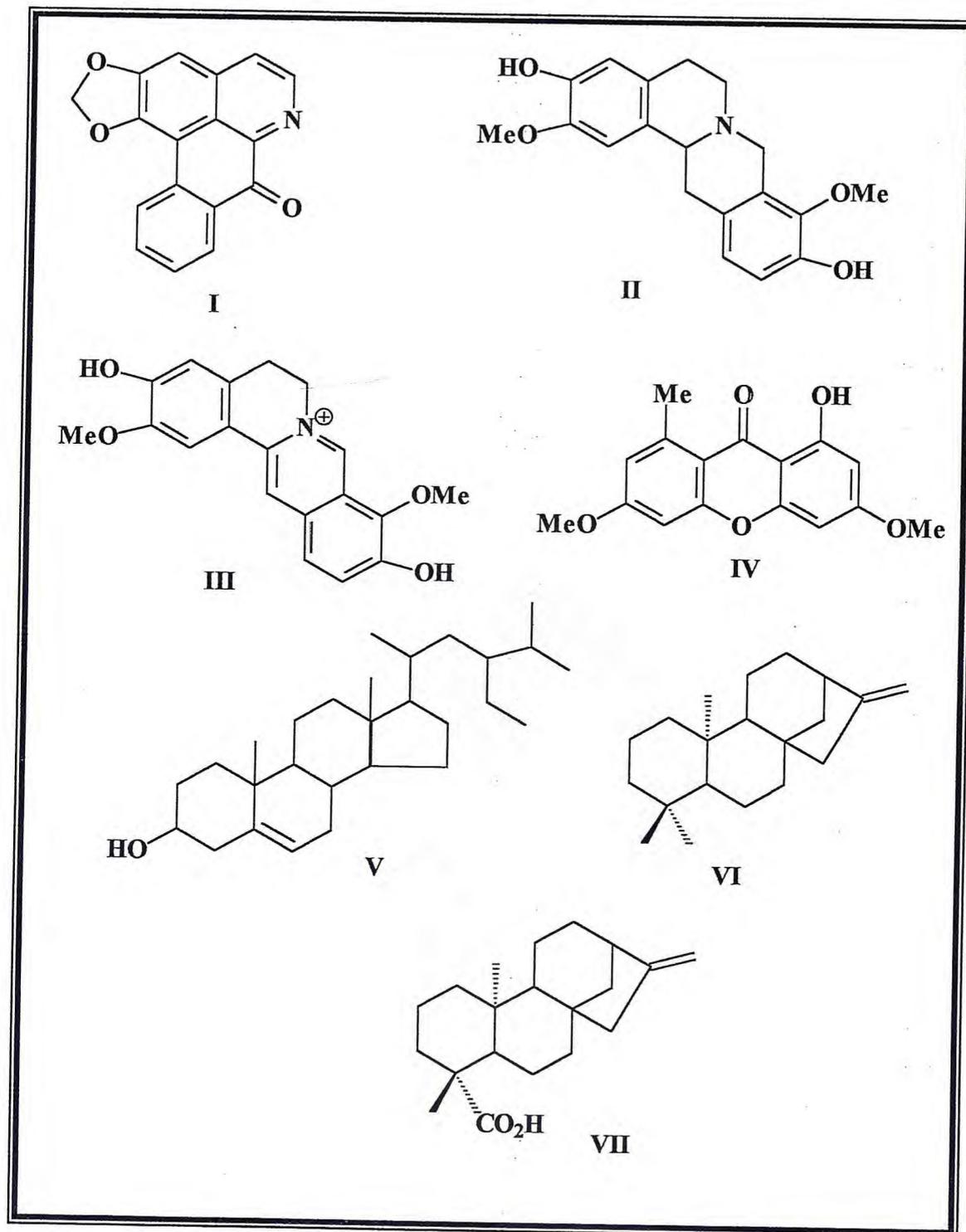
A raiz de *Rolliniopsis leptopetala* forneceu três alcalóides : liriodenina (I) e discretamina (II) e a desidrodiscretamina (III) e a xantona liqueoxantona (IV). Da casca do caule, além dos alcalóides já citados obteve-se também o esteróide sitosterol (V) e dois diterpenos : caureno (VI) e o ácido caurenoico (VII) .

Também foram obtidos o derivado halogenado (XII) à partir do alcalóide (I) através da reação com hipoclorito de sódio em ácido acético, e o ácido cauranóico (XIII) á partir do ácido caurenóico (VII) por reação de hidrogenação . Obteve-se ainda a discretamina (II) pela redução da desidrodiscretamina (III).

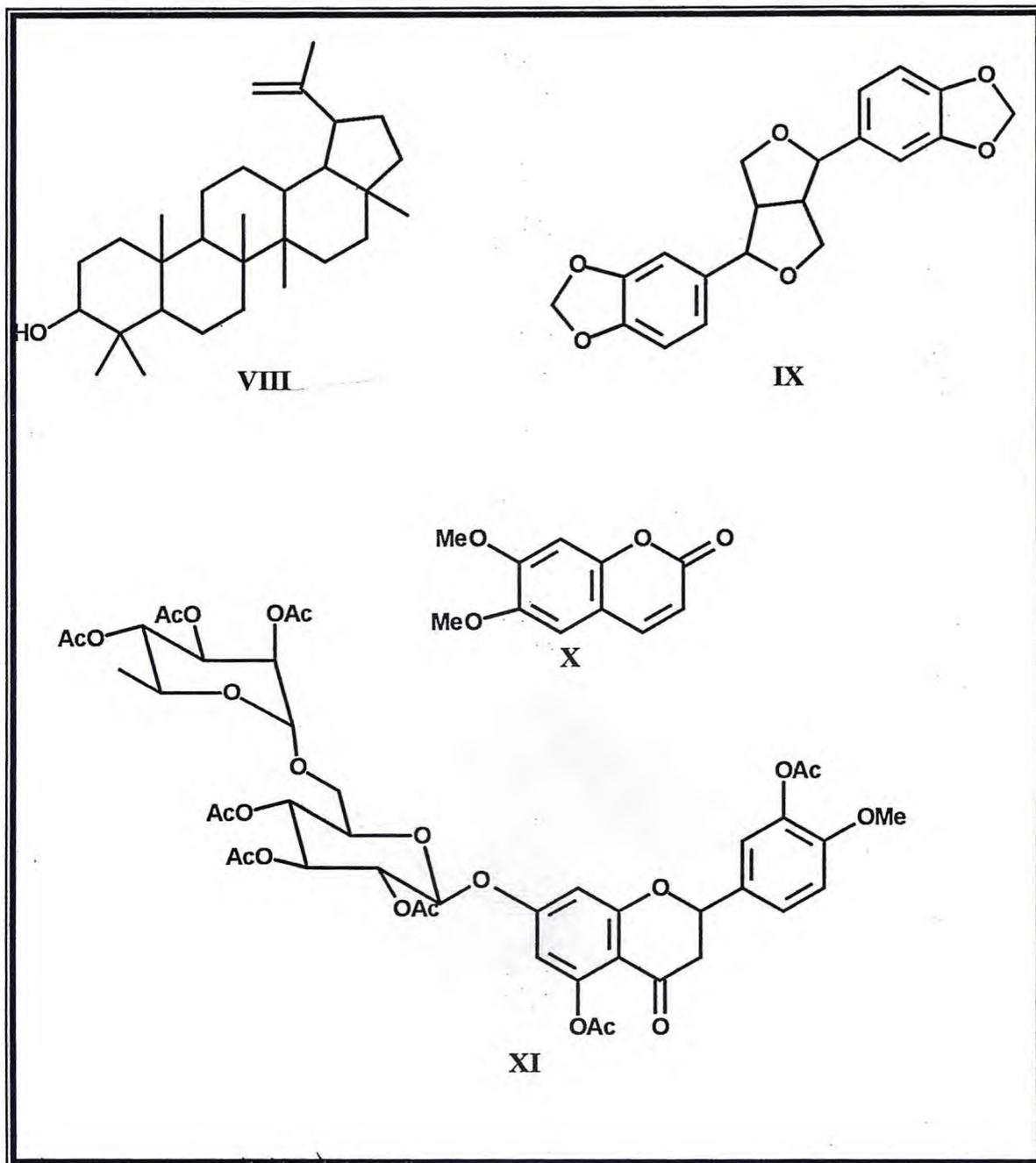
A análise cromatográfica da raiz de *Z. articulatum* levou ao isolamento de quatro compostos : O lupeol (VIII), a lignana sesamina (IX) , a cumarina escoparona (X) e a flavanona acetato de hesperidina (XI) .

As estruturas dos compostos isolados de ambas as espécies encontram nos Quadros 01 (p.05) e 02 (p. 06) e as estruturas dos derivados no Quadros 03 (p.07). Os compostos isolados de *R. leptopetala* e *Z. articulatum* foram submetidos aos mesmos testes realizados com os extratos e os resultados são mostrados no capítulo 04.

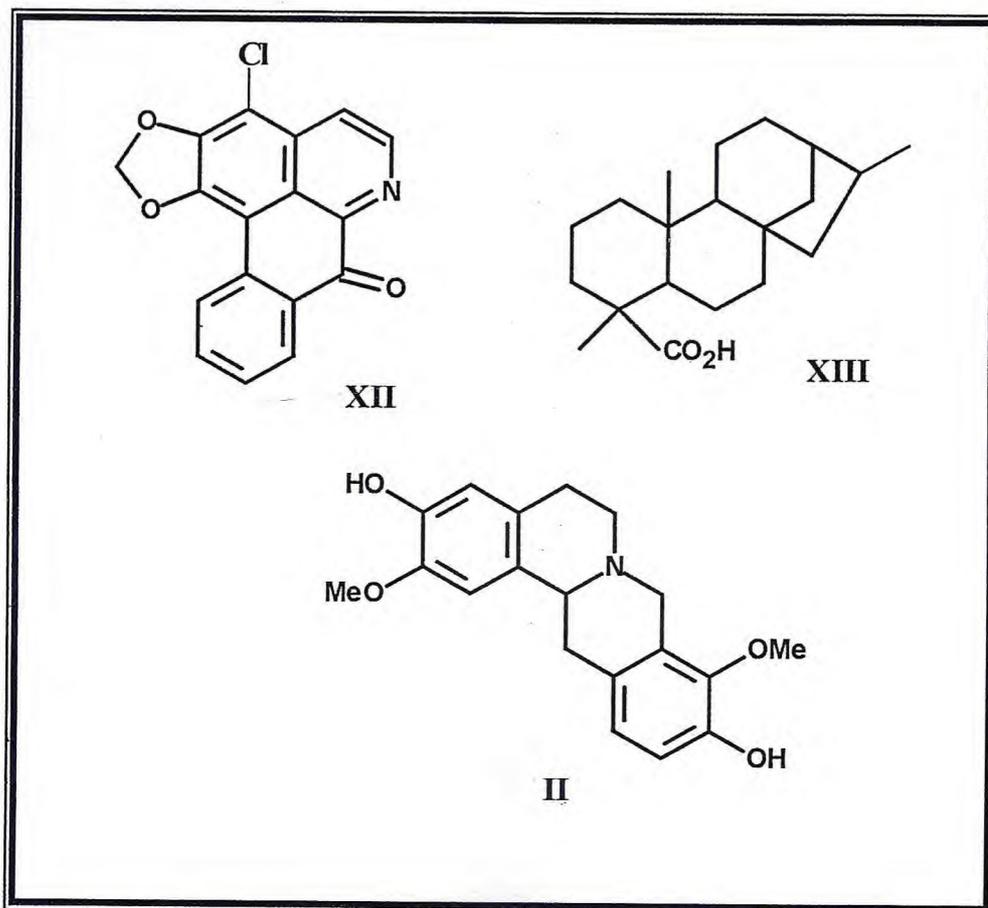
Quadro 01 – Compostos isolados de *Rolliniopsis leptopetala* (R.E.Fr.) Saff.

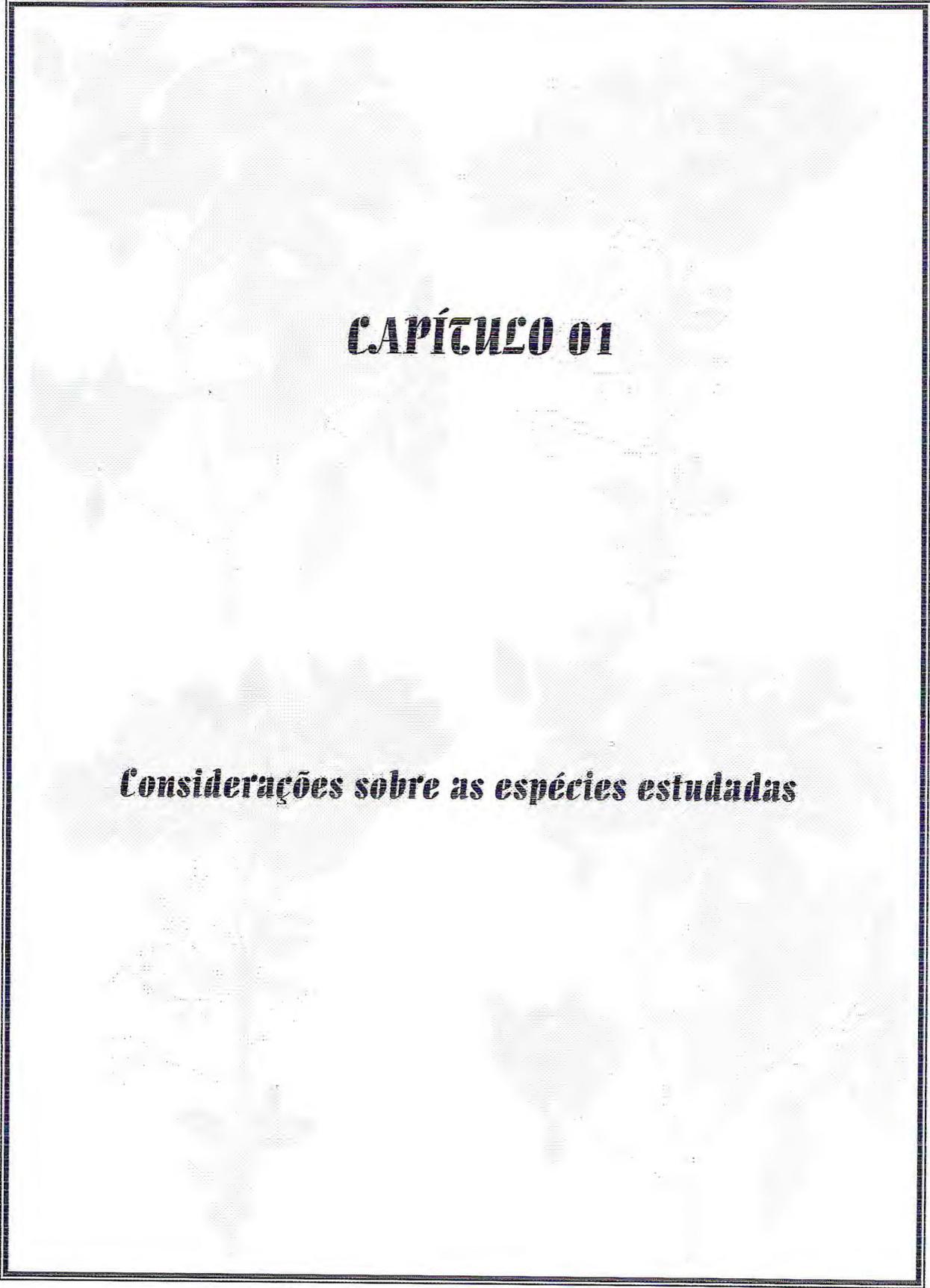


Quadro 02 – Compostos isolados da raiz de *Zanthoxylum articulatum* Engler



Quadro 03 – Derivados obtidos à partir dos compostos isolados





# **CAPÍTULO 01**

## ***Considerações sobre as espécies estudadas***

## 1.1 - Considerações sobre a espécie *Rolliniopsis leptopetala* (R.E.Fr.) Saff.

### 1.1.1 – Considerações gerais

*Rolliniopsis leptopetala* (R.E.Fr.) Saff. é uma planta pertencente a família Annonaceae. Sinonímia de *Rollinia leptopetala* R.E.Fr., *Rollinia discreta* Saff e *Rollinia simiarum* Saff., é conhecida popularmente no Nordeste como banana-de-macaco, araticum, ata-brava, bananinha, bananinha-de-macaco, bananinha-de-quemquem, fruta-de-macaco e pereiro. É encontrada nas regiões tropicais e subtropicais do globo. No Brasil a planta pode ser encontrada principalmente nos estados do Ceará, Bahia, Rio de Janeiro, Pernambuco e Piauí (Maas e Wetra, 1992)

### 1.1.2 – Considerações farmacológicas

De acordo com a Secretaria de Saúde do estado do Paraná, *R. leptopetala* é uma planta considerada tóxica (todas as partes da planta), por produzir oxalato de cálcio.

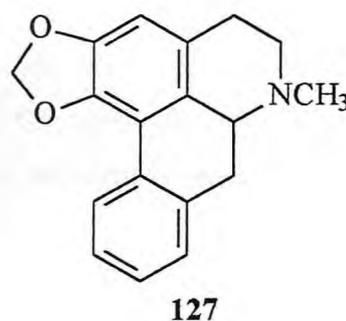
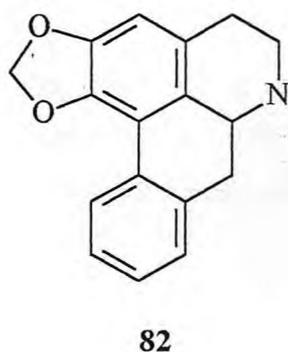
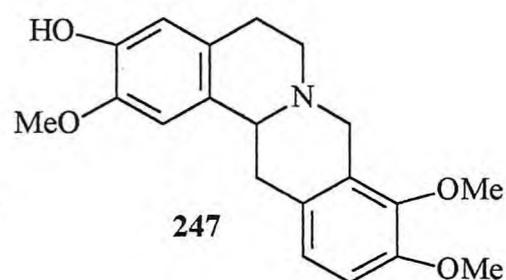
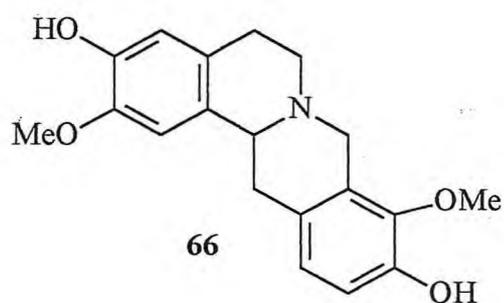
A planta pode causar através de ingestão ou contato forçado, dor ou queimação; eritema e edema (inchaço) dos lábios, língua, palato e faringe; sialorréia, disfagia, asfíxia, cólicas abdominais, náuseas, vômitos e diarreia. Em contato com os olhos pode causar além de uma simples irritação, congestão, edema, fotofobia e lacrimejamento.

### 1.1.3 – Considerações botânicas

*Rolliniopsis leptopetala* é uma arbusto medindo de 1 a 2 m de altura. A época da florescência é de novembro a abril. É a única espécie do gênero que possui flores vermelhas. Estas são pequenas com cerca de 6-9 mm de diâmetro. Os frutos são também pequenos e ovalados possuindo de 15 a 20 mm de comprimento. São amarelos ou vermelho quando estão maduros e marrom ou preto quando estão secos. As folhas possuem a coloração verde-escuro quando frescas. Uma foto da exsicata está mostrada na Figura 01 (p.13).

### 1.1.4 – Considerações químicas

A literatura relata o isolamento de quatro alcalóides de *Rollinia leptopetala* (Sette et al., 2001). A discretamina (66) e tetrahydrojatrorrizina (247) de núcleo tetrahidroprotoberberina e anonaina (82) e roemerina (127), alcalóides do tipo aporfínicos.





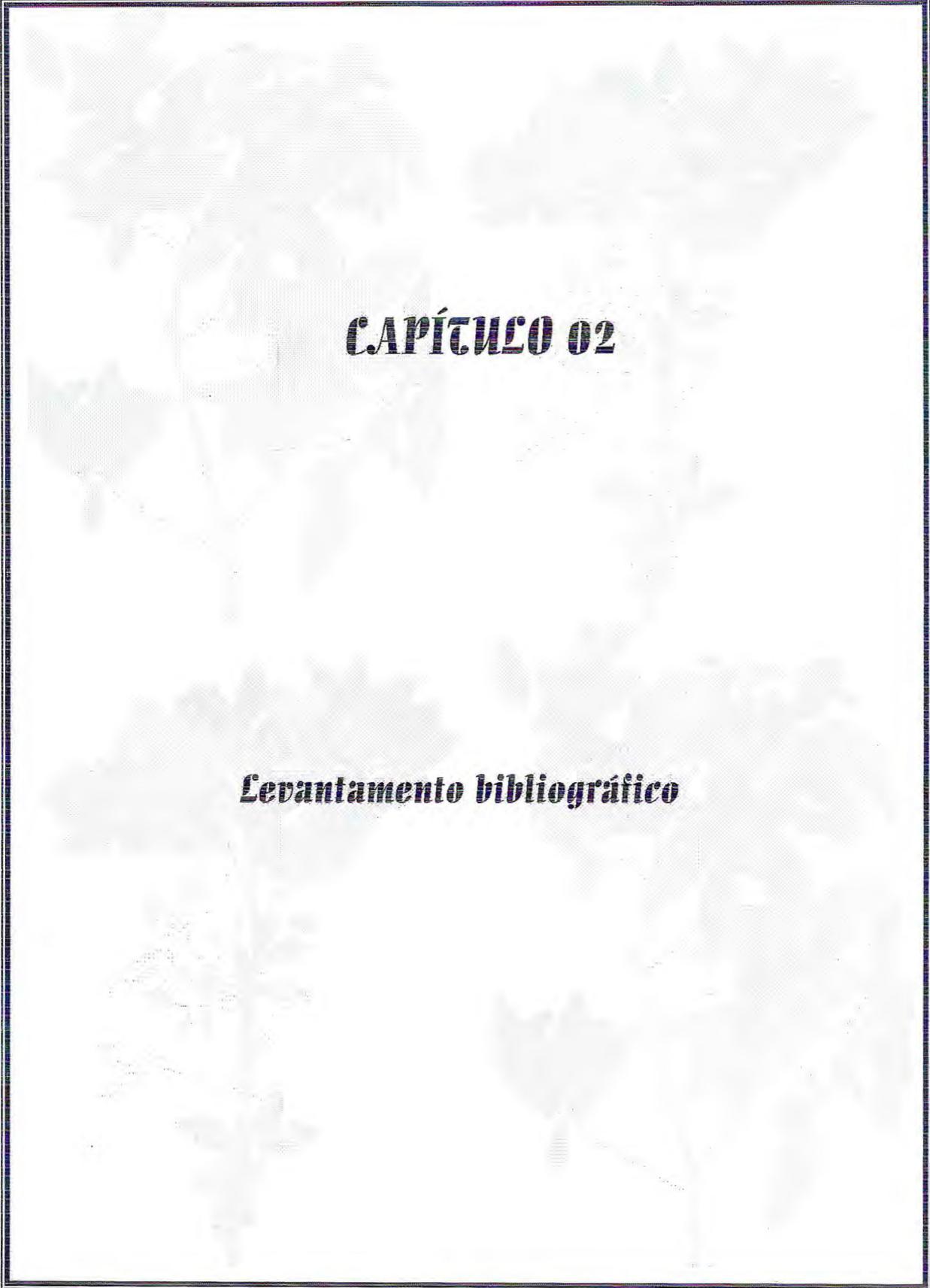
**Figura 01** - Figura representando a exsicata de *Rolliniopsis leptopetala* depositada no Herbário Prisco Bezerra (UFC) sob o registro nº 33496

## 1.2 - Considerações sobre a espécie *Zanthoxylum articulatum* Engler

*Zanthoxylum articulatum* é uma árvore pertencente a família Rutaceae possuindo de 3 a 4 metros de altura. Por causa do seu fruto esférico de quase 1 cm de diâmetro, a planta é conhecida popularmente como limãozinho no Nordeste, assim como outras espécies do gênero. Não existe nenhum relato na literatura sobre estudos químicos ou farmacológicos desta espécie. A foto de sua excicata (29.180) está mostrada na Figura 02 .



**Figura 02** - Figura representando a excicata de *Zanthoxylum articulatum* depositada no Herbário Prisco Bezerra (UFC) sob o registro nº 29180

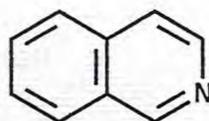


## **CAPÍTULO 02**

### ***Levantamento bibliográfico***

## 2.1 – Introdução

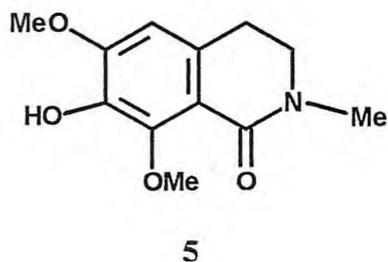
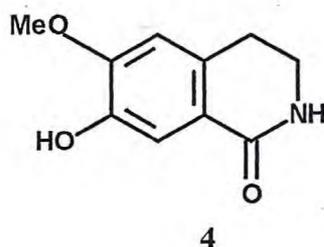
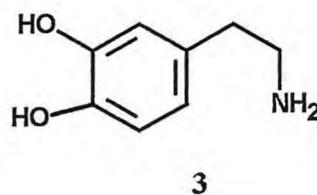
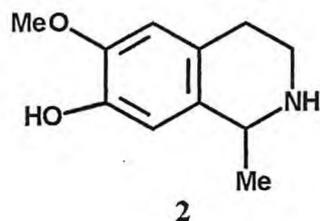
A prospecção química em plantas da família Annonaceae, tem sido intensificada nas últimas décadas. Estes estudos visa principalmente encontrar metabólitos biologicamente ativos e enfocam principalmente acetogeninas, que são compostos que possuem 35 ou 37 átomos de carbono, com uma  $\gamma$ -lactona terminal, geralmente  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturada e cuja cadeia carbônica pode apresentar um ou mais anéis tetrahydrofurânicos. Estes compostos caracterizam fitoquimicamente esta família. Entretanto, as anonáceas são ricas em metabólitos secundários pertencentes a diversas classes de grupos fitoquímicos e Leboeuf (Leboeuf et al., 1982a), classificou os alcalóides como o segundo grupo fitoquímico mais importante desta família, principalmente aqueles que possuem a estrutura derivada da isoquinolina (1).



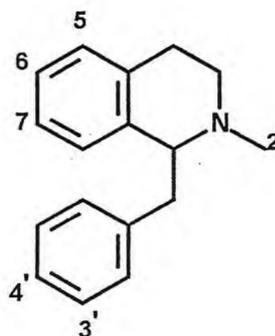
1

## 2.2 – Alcalóides de Annonaceae

A maioria dos alcalóides isolados de anonáceas possuem estruturas derivadas do núcleo isoquinolina. Exemplos de alcalóides com núcleo isoquinolínico simples são o salsolinol (2), uma tetrahydroisoquinolina simples isolada juntamente com seu precursor biogenético a dopamina (3) de *Annona reticulata* (Forgaes et al., 1981), a coridaldina (4) (Jossang et al., 1977) isolada de *Enantia polycarpa* e querianoína (5) (Chen et al., 2001) isolada de *Annona cherimola*.



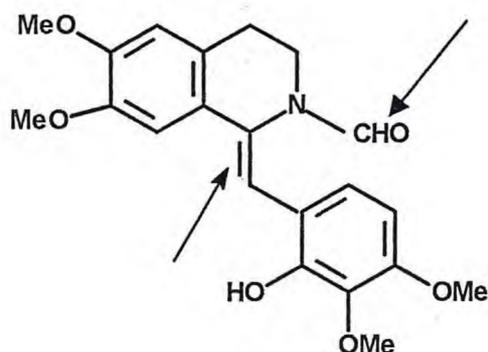
A literatura registra cerca de quatorze alcalóides (6-19) de núcleo benziltetrahydroisoquinolina isolados principalmente dos gêneros *Annona* e *Xylopi*a (Leboeuf et al., 1982a), sendo a reticulina encontrado mais frequentemente. A anomuricina, anomurina (Leboeuf et al., 1981) e anoneliptina (Sandoval et al., 1985) são os únicos que apresentam substituição em C-5.



(núcleo benziltetrahidroisoquinolínico)

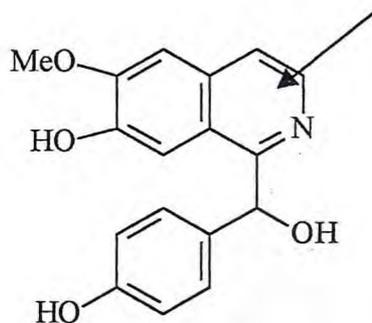
n	composto	2	5	6	7	3'	4'
6	Anomuricina	H	OH	OMe	OMe	H	OMe
7	Anomurina	H	OMe	OMe	OMe	H	OMe
8	Anoneliptina	Me	OMe	OMe	OH	H	OH
9	Armepavine	Me	H	OMe	OMe	H	OH
10	Coclaurina	H	H	OMe	OH	H	OH
11	<i>N</i> -Dimetilcolitina	Me	H	OMe	OH	H	OMe
12	Higenamina	H	H	OH	OH	H	OH
13	Laudanina	Me	H	OMe	OMe	OH	OMe
14	Laudanosina	Me	H	OMe	OMe	OMe	OMe
15	<i>O</i> -metilarmepavina	Me	H	OMe	OMe	H	OMe
16	<i>N</i> -metilcoclaurina	Me	H	OMe	OH	H	OH
17	<i>N</i> -Nor- <i>O</i> -metilarmepavina	H	H	OMe	OMe	H	OMe
18	Reticulina	N-oxi	H	OMe	OMe	H	OMe

A poliocarpina **19** (Jossang et al, 1977), difere dos demais pela ligação dupla conjugada aos anéis e pela presença do grupo formil ligado ao nitrogênio.

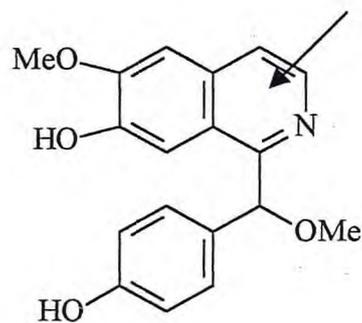


19

A anoquerina A (**20**) e a anoquerina B (**21**) isoladas de *Annona cherimolia* (Chen et al., 2001) apresentam o anel B como anel aromático, além da presença dos grupos OH e OMe, respectivamente no carbono metilênico.

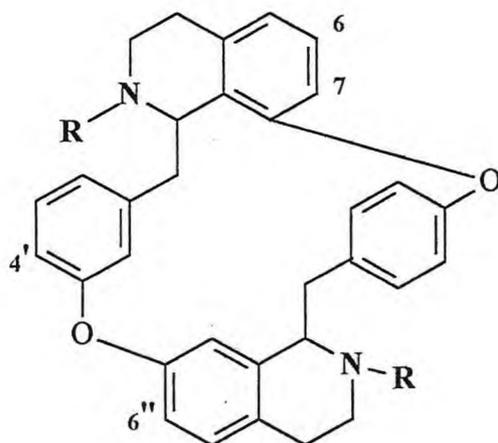


20



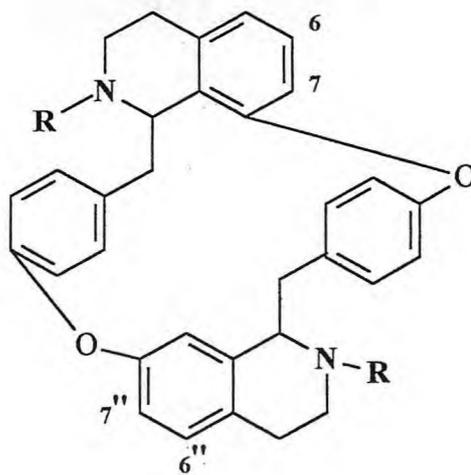
21

Quinze bisalcalóides isoquinolínicos foram isolados de espécies de Annonáceas. Estes alcalóides apresentam estruturas muito variadas. As unidades isoquinolínicas da condrofolina (**22**) (Panichpol et al., 1977), curina (**23**), *O,O*-dimetilcurina (**24**) e 12'-*O*-metilcurina (**25**), cicleanina (**26**), isocondodendrina (**27**), norcicleanina (**28**), limacina (**29**), faeantina (**30**) (Leboeuf et al., 1982a), dauricina *O*-metil éter (**31**) (Johns et al., 1970) são ligadas por pontes de oxigênio. As tabelas a seguir mostram as substituições nos alcalóides diméricos, cujas posições são indicadas.



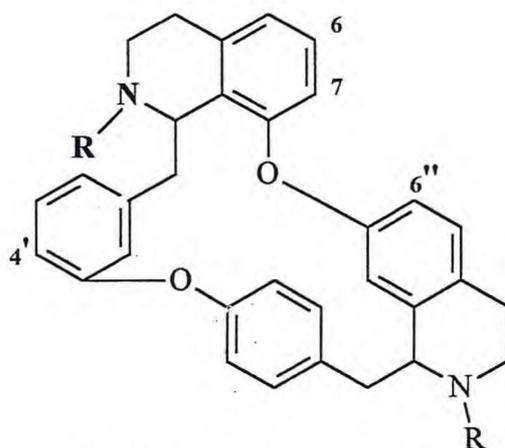
(núcleo bisisoquinólico)

n	Composto	R	4'	6/6''	7
22	Condrolina	Me	OH	OMe	OMe
23	Curina	Me	OH	OMe	OH
24	O,O-dimetilcurina	Me	OMe	OMe	OMe
25	12'-O-metilcurina	Me	OMe	OMe	OH



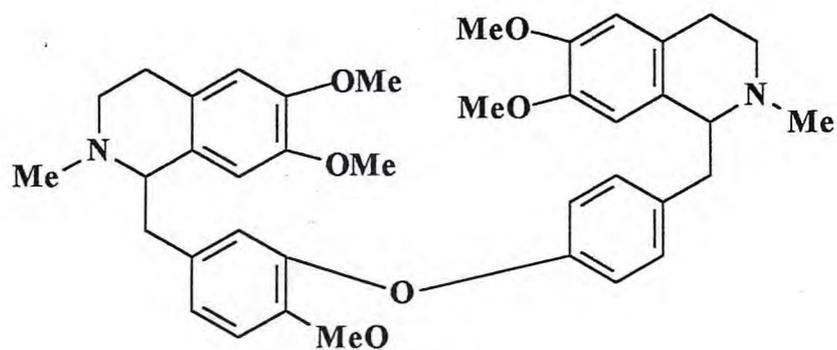
(núcleo bisisoquinólico)

n	composto	R	6/6''	7	7''
26	Cicleanina	Me	OMe	OMe	OMe
27	Isocondodendrina	Me	OMe	OH	OH
28	Norcicleanina	Me	OMe	OMe	OH



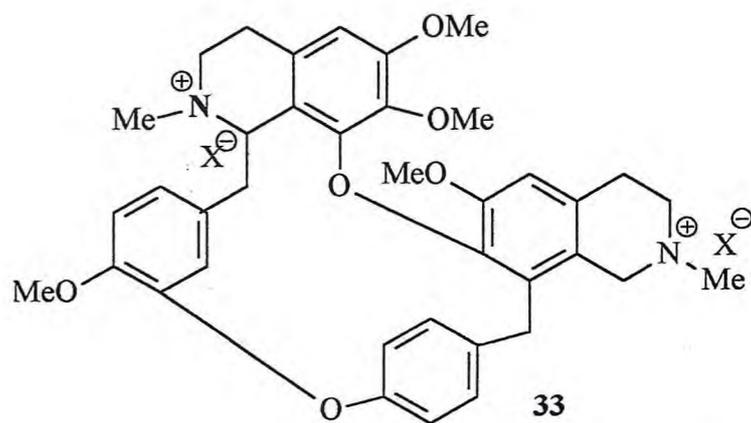
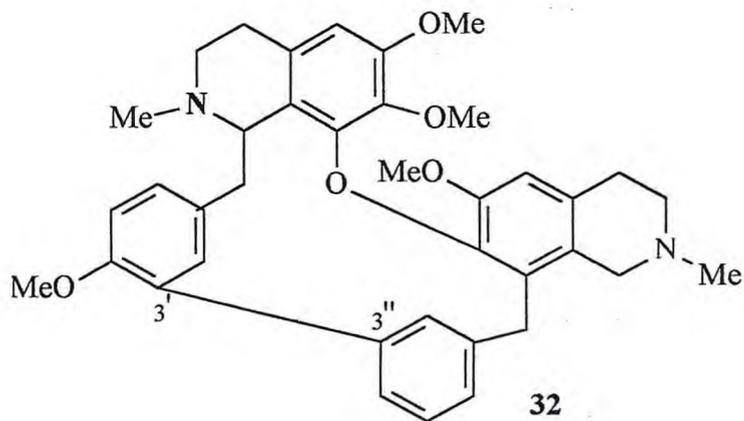
(núcleo bisisoquinolínico)

n	composto	R	6/6''	4''	7''
29	Limacina	Me	OMe	OMe	OH
30	Faeantina	Me	OMe	OMe	OMe



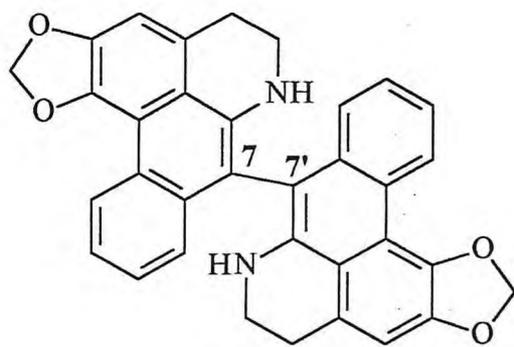
31

A plebicina (32) (Cava et al., 1974) além da ponte de oxigênio, apresenta suas unidades isoquinolínicas ligadas por uma ponte carbono-carbono (3'-3'''). A faeantarina (33) (leboeuf et al., 1982a) é um alcalóide bisisoquinolínico quaternário.

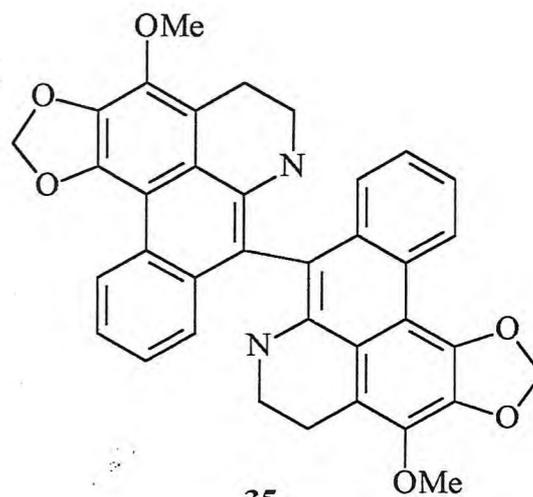


A unonopsina (**34**) foi isolada por Achenbach em 1995 (Achenbach et al, 1995a) e tem suas unidades isoquinolínicas do tipo aporfina ligadas por ponte carbono-carbono (7-7').

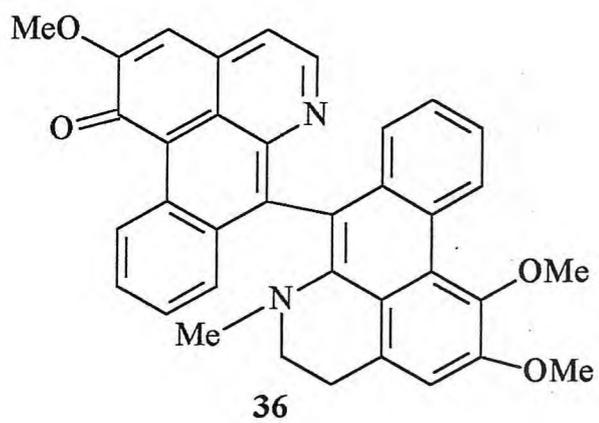
O mesmo tipo de ligação 7-7' é encontrado na artabonatina (**35**) (Hsieh et al, 2001) e na trivalvona (**36**) (Achenbach et al, 1995b).



34

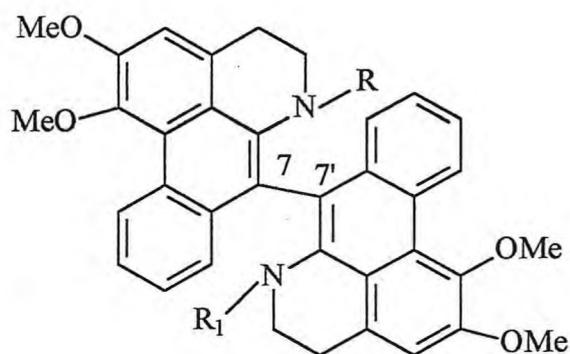


35



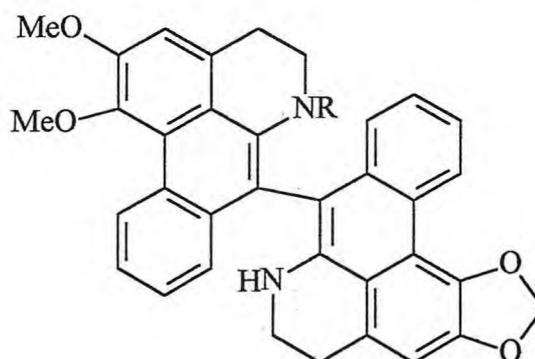
36

O mesmo tipo de esqueleto e ligações 7-7' metoxilados e substituídos nas posições 6 e 6' compõem a *N,N'*-dimetilurabaina (37), *N*-metilurabaina (38), urabaina (39), heteropsina (40) e *N*-metileteropsina (41) também descritas por Achenbach (Achenbach et al., 1995b).



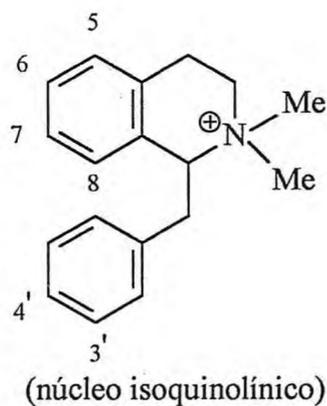
(núcleo bisaporfina)

n	composto	R	R <sub>1</sub>
37	<i>N,N'</i> -dimetilurabaina	Me	Me
38	<i>N</i> -metilurabaina	Me	H
39	Urabaina	H	H



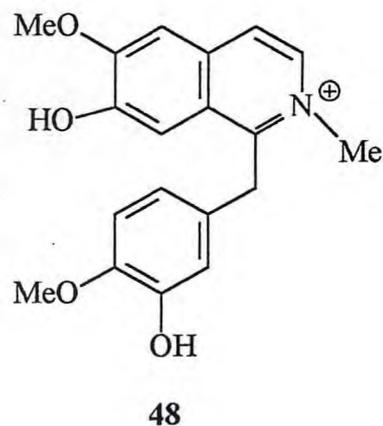
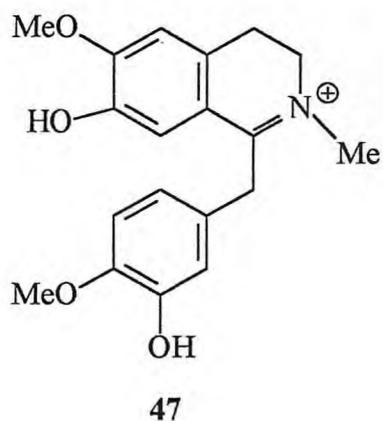
40 R = H  
41 R = Me

Cinco alcaloides isoquinolínicos quartenários (42-46) com substituintes distintos nas posições indicadas foram isolados de *Xylopia parviflora* (Nishiyama et al., 2004).

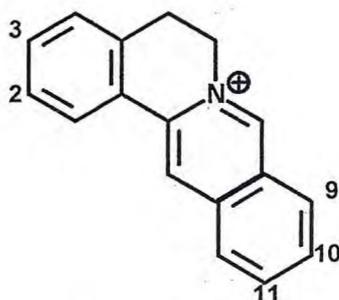


n	composto	5	6	7	8	3'	4'
42	Lotusina	H	OH	OMe	H	H	OH
43	Xilopinidina	H	OH	OMe	H	OH	OMe
44	Tembetarina	H	OMe	OH	H	OH	OMe
45	Oblongina	H	H	OMe	OH	H	OH
46	<i>N,N</i> -Dimetilanomurina	OMe	OMe	OMe	H	H	OMe

A 1,2-desidroreticulina (47) e tetradesidroreticulina (48) (Nishiyama et al., 2004) são exemplos de alcalóides isoquinolínicos *N*-metil quaternários.



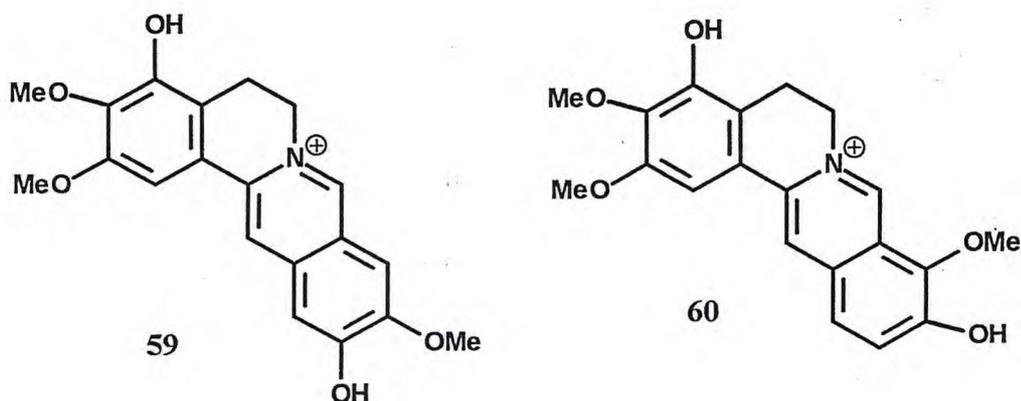
Até a década de 80, os alcalóides do tipo protoberberina, cujo esqueleto básico é mostrado a seguir : berberina (49), columbamina (50), jatrorrizina (56), Palmatina (57) e pseudopalmatina (58), tinham sido isoladas apenas em plantas do gênero *Enantia* (Leboeuf et al., 1982a). A jatrorrizina e a palmatina foram posteriormente encontrados em *Xylopiá parviflora* juntamente com dehidrocoreximina (51) , a dehidrodiscretina (53) e a estefarinina (55) (Nishiyama et al., 2004). A dehidrocoridalmina (52) foi isolada de *Annona Glabra* (Chang et al, 2000b) e a dehidrodiscretamina (54) de *Fissistigma balansae* (Chia et al, 1998) .



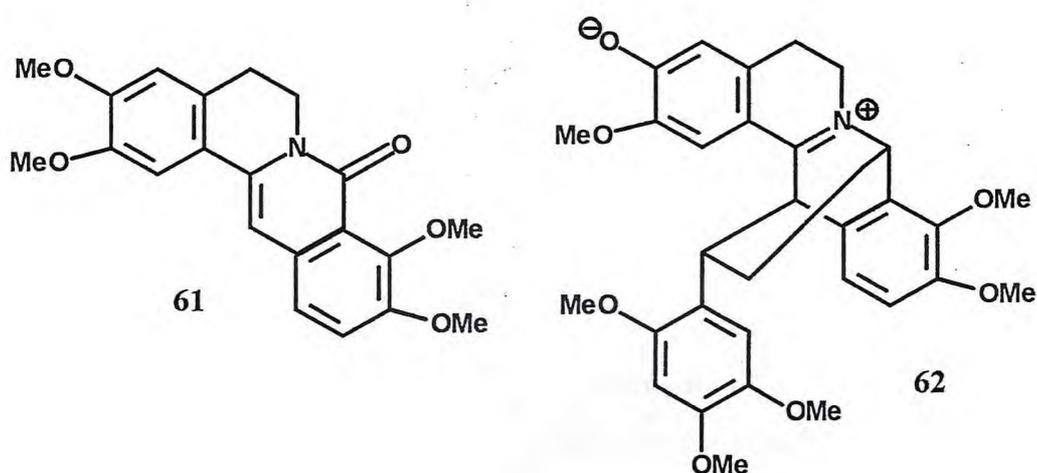
(núcleo protoberberina)

n	composto	2	3	9	10	11
49	Berberina	OCH <sub>2</sub> O		OMe	OMe	H
50	Columbamina	OH	OMe	OMe	OMe	H
51	Desidrocoreximina	OH	OMe	H	OMe	OH
52	Desidrocoridalmina	OMe	OMe	OMe	OH	H
53	Desidrodiscretina	OMe	OH	H	OMe	OMe
54	Desidrodiscretamina	OMe	OH	OMe	OH	H
55	Estefaranina	OH	OMe	OMe	OH	H
56	Jatrorrizina	OMe	OH	OMe	OMe	H
57	Palmatina	OMe	OMe	OMe	OMe	H
58	Pseudopalmatina	OMe	OMe	H	OMe	OMe

A Fissisaina (59) e taipetalina (60) apresentam substituição em C-4.



Com esqueleto muito próximo dos alcalóides protoberberina encontra-se a estaudina (61) e oxipalmatina (62).

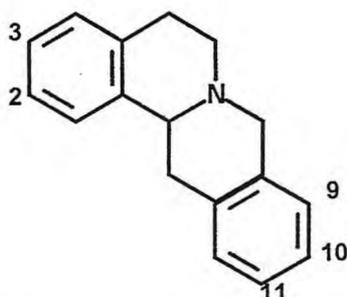


Os alcalóides de núcleo tetrahydroprotoberberina mostrado abaixo, podem ser encontrados em diversos gêneros como *Annona*, *Xylopi*a e *Duguetia*.

A coriximina (63) foi isolada de *Annona muricata* em 1981 por Leboeuf (Leboeuf et al., 1981). A coripalmina (64), 10-metóxi-xilopinina (65) a isocoripalmina (69), isoladas de *Duguetia calycina*, a discretina (67) e tetrahidropalmatina (71) são relatadas por Leboeuf (Leboeuf et al., 1982a).

A discretamina (66) (Lu et al., 1985) e kikemanina (70) isoladas de *Fissistigma balansae* (Chia et al., 1998) eram conhecidas como aequalina e esqueferina respectivamente. A estefolidina (68) foi isolada de *Monanthotaxis cauliflora*

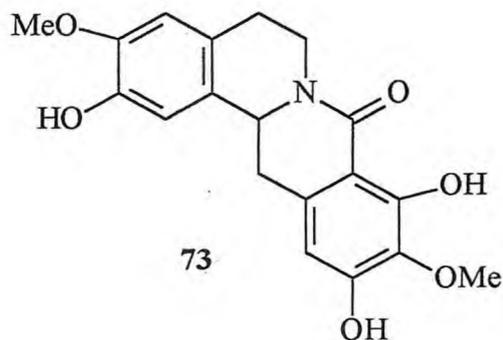
(Waterman et al, 1979) e a xilopina (72) isolada de *Xylopi buxifolia* ( Hocquemiller et al, 1981a).



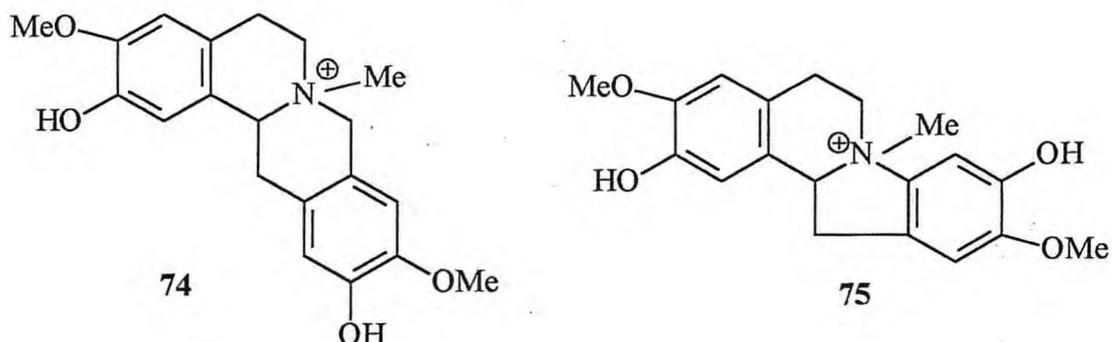
(núcleo tetrahidroprotoberberina)

n	Composto	2	3	9	10	11
63	Coreximina	OH	OMe	H	OMe	OH
64	Coripalmina	OMe	OH	OMe	OMe	H
65	10-Dimetilxilopinina	OMe	OMe	H	OH	OMe
66	Discretamina	OMe	OH	OMe	OH	H
67	Discretina	OMe	OH	H	OMe	OMe
68	Estefolidina	OH	OMe	OMe	OH	H
69	Isocoripalmina	OH	OMe	OMe	OMe	H
70	Kikemanina	OMe	OMe	OMe	OH	H
71	Tetrahidropalmatina	OMe	OMe	OMe	OMe	H
72	Xilopinina	OMe	OMe	H	OMe	OMe

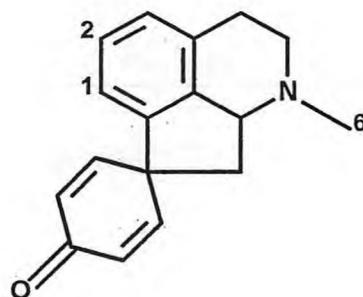
A oxopolialtiaina (73) (Chen et al., 2000a) apresentam o carbono C-7 como um grupo carbonila .



A felodendrina (74) é um exemplo de alcalóide tetrahidroprotoberberina quaternário assim como a litcubina (75) (Nishiyama et al., 2004), sendo que 75 apresenta um dos anéis com apenas 5 membros.



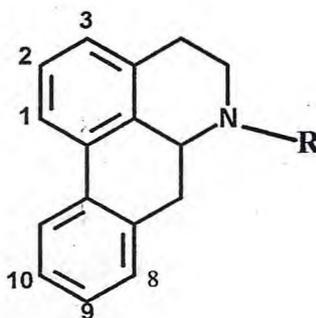
É relatado na literatura apenas cinco alcalóides (76-80) com o núcleo aporfínico mostrado abaixo, isolados de Anonáceas. A estefarina (77) foi isolada de *Annona muricata* e *A. purpurea* (Leboeuf et al, 1981). A (+)-glaziovina (78) e a (-)-*N*-metilcrotisparina (78) são enantiômeros e também foram isolados de *A. purpurea* (Leboeuf et al, 1982a). A promucosina (79) (Chang et al., 2000a) isolada de *A. glabra* possui o átomo de nitrogênio substituído por um grupo éster (carboxilato de metila).



(núcleo proaporfínico)

n	composto	1	2	6
76	Crostiparina	OH	OMe	H
77	Estefarina	OMe	OMe	H
78	Glaziovina e (-)- <i>N</i> -metilcrotisparina	OH	OMe	Me
79	Promucosina	OMe	OMe	CO <sub>2</sub> Me
80	Pronuciferina	OMe	OMe	Me

Cerca de cinquenta e quatro alcalóides do tipo aporfina incluindo noraporfina e aporfina quaternárias foram isolados de Annonáceas e são mostrados a seguir. Eles têm diferentes estruturas e nenhum mostrou-se ser substituído em C-8. Os alcalóides (81 – 92), (95-110), (112 – 127) e (130 –135) são relatados por Leboeuf em seu trabalho sobre a fitoquímica da família Annonaceae (Leboeuf et al, 1982a). De *Annona glabra*, foram isoladas a *N*-formilanonaina (93) e a nordomesticina (111) (Chang et al., 2000a). A *N*-formilnornuceferina (94) foi isolada de *Piptostigma fugax* (Achenbach et al., 1995b). As particularidades são que a romucosina F (128) isolada de *Annona purpurea*, apresenta o carbono C-3 substituído por um átomo de cloro e a romucosina G (129) mostra o átomo de nitrogênio substituído por um grupo éster (metoxicarbonil) (Chang et al., 2000b).



(núcleo aporfínico)

n	composto	1	2	3	R	8	9	10
81	Anolobina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	OH	H	H
82	Anonaina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	H	H	H
83	Artabotrina	OMe	OMe	H	Me	H	OMe	OH
84	Asimilobina	OMe	OH	H	H	H	H	H
85	Buxifolina	OCH <sub>2</sub> O		OMe	H	OMe	H	H
86	Caaverina	OH	OMe	H	H	H	H	H
87	Calicinina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	OMe	H	OH
88	Coridina	OH	OMe	H	Me	H	OMe	OMe
89	Danguielina	OMe	OH	OMe	H	H	OMe	OH
90	<i>O</i> -metilpurpureina	OMe	OMe	OH	Me	OMe	OMe	H
91	Dicentrina	OCH <sub>2</sub> O		H	Me	OMe	OMe	H

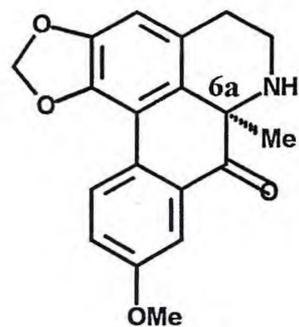
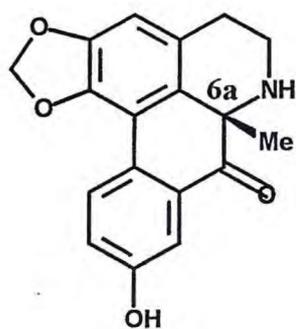
## Alcalóides com núcleo aporfínicos (continuação)

n	composto	1	2	3	R	8	9	10
92	Esparsiflorina	OH	OMe	H	H	H	OH	H
93	<i>N</i> -formilanonaina	OCH <sub>2</sub> O		H	CHO	H	H	H
94	<i>N</i> -formilnornuciferina	OMe	OMe	H	CHO	H	H	H
95	Glaucina	OMe	OMe	H	Me	OMe	OMe	H
96	9-hidroxi-1,2-dimetoxinoraporfina	OMe	OMe	H	H	OH	H	H
97	Isoboldina	OH	OMe	H	Me	OH	OMe	H
98	Isopilina	OH	OMe	OMe	H	H	H	H
99	Laureliptina	OH	OMe	H	H	OH	OMe	H
100	Laurolictsina	OMe	OH	H	H	OH	OMe	H
101	Laurotetanina	OMe	OMe	H	H	OH	OMe	H
102	Lirinidina	OH	OMe	H	Me	H	H	H
103	Magnoflorina	OH	OMe	H	(Me) <sub>2</sub>	H	OMe	OH
104	Menisperina	OMe	OMe	H	(Me) <sub>2</sub>	H	OMe	OH
105	<i>N</i> -Metilactinodafina	OCH <sub>2</sub> O		H	Me	OH	OMe	H
106	<i>N</i> -Metilasimilobina	OMe	OH	H	Me	H	H	H
107	<i>N</i> -Metilcoridina	OH	OMe	H	(Me) <sub>2</sub>	H	OMe	OMe
108	<i>N</i> -Metillaurotetanina	OMe	OMe	H	Me	OH	OMe	H
109	<i>O</i> -Metilpucateina	OCH <sub>2</sub> O		H	Me	H	H	OMe
110	Norcoridina	OH	OMe	H	H	H	OMe	OMe
111	Nordomesticina	OH	OMe	H	H	H	OCH <sub>2</sub> O	
112	Norglaucina	OMe	OMe	H	H	OMe	OMe	H
113	Norisocoridina	OMe	OMe	H	H	H	OMe	OH

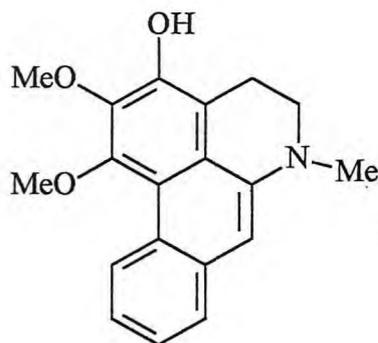
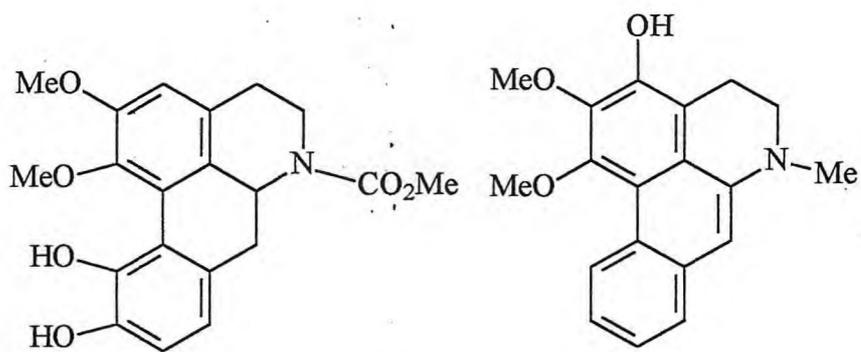
alcalóides de núcleo aporfínicos (continuação)

n	composto	1	2	3	R	7	9	10
114	Norisodomesticina	OMe	OH	H	H	OCH <sub>2</sub> O		H
115	Norlaurelina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	H	OMe	H
116	Nornantenina	OMe	OMe	H	H	OCH <sub>2</sub> O		H
117	Nornuciferina	OMe	OMe	H	H	H	H	H
118	Noroconovina	OMe	OMe	OMe	H	H	OMe	OH
119	Norpredicentrina	OMe	OH	H	H	OMe	OMe	H
120	Norpurpureina	OMe	OMe	OH	H	OMe	OMe	H
121	Norstefalagina	OCH <sub>2</sub> O		OMe	H	H	H	H
122	Nuceferina	OMe	OMe	H	Me	H	H	H
123	Obovanina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	H	H	OH
124	Poligospermina	OMe	OMe	OMe	H	H	OCH <sub>2</sub> O	
125	Purpureina	OMe	OMe	OMe	Me	OMe	OMe	H
126	Puterina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	H	H	OMe
127	Roemerina	OCH <sub>2</sub> O		H	Me	H	H	H
128	Romucosina F	OMe	OMe	Cl	CO <sub>2</sub> Me	H	OMe	OMe
129	Romucosina G	OMe	OMe	OMe	CO <sub>2</sub> Me	H	OMe	OMe
130	Suaveolina	OMe	OMe	H	Me	H	OH	OH
131	Taliporfina	OH	OMe	H	Me	OMe	OMe	H
132	Wilsonirina	OH	OMe	H	H	OMe	OMe	H
133	Xiloguielina	OMe	OH	OMe	H	OCH <sub>2</sub> O		H
134	Xilopina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	OMe	H	H
135	Zenquerina	OH	OMe	H	H	H	OMe	H

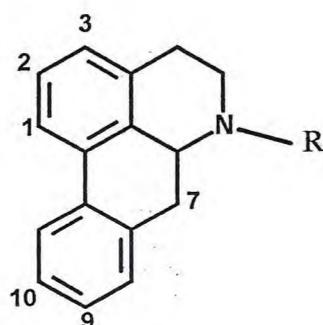
A guatescida (136) e a guatescina (137), são exemplos de alcalóides aporfínicos que apresentam substituição no carbono-6a e apresentam o carbono C-7 como um grupo carbonila (Hocquemiller et al., 1982).



A romucosina H (138) (Chen et al., 2001) apresenta substituição em C-11 e 3-hidróxi-6a,7-dehidronuciferina (139) (Achenbach et al., 1995a) difere dos demais alcalóides aporfínicos, pela ligação dupla entre C-6a e C-7.



Foram isolados vinte alcalóides aporfínicos (140-159) com substituição no carbono-7, geralmente oxigenado (grupo hidroxila ou metoxila). A *N*-óxido de *N*-metilpaquipodantina (145), noroliveridina (146), oliveridina (149), *N*-óxido de oliverolina (150), oliverina (151), oliverolina (153) e paquipodantina (156) foram isoladas de *Polyalthia oliveri* (Hamonnière et al., 1977) e de *Polyalthia suaveolens* obteve-se a guaterina (142), noroliverina (147), polialtina (157) e polisuavina (158) (Cavé et al., 1978).



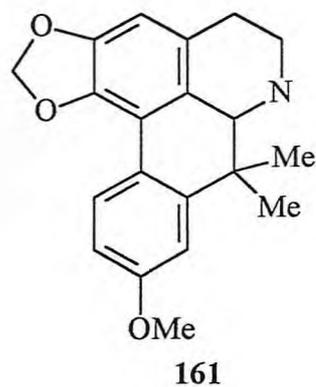
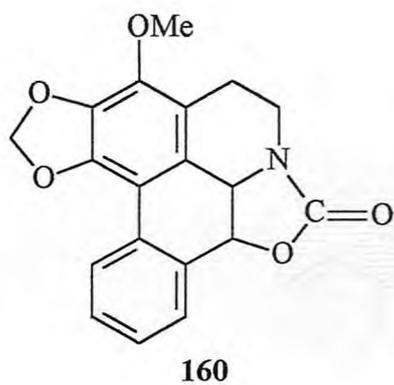
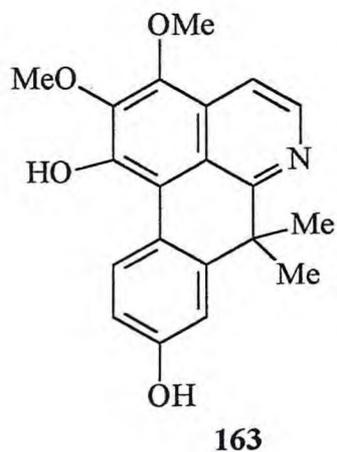
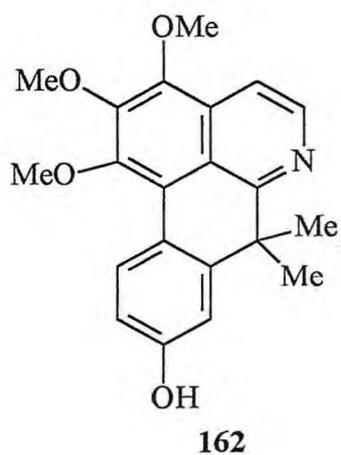
(núcleo aporfínico *N*-substituído)

n	composto	1	2	3	R	7	9	10
140	Anaxagoreina	OMe	OH	H	H	OH $\alpha$	H	H
141	Duguetina	OCH <sub>2</sub> O		H	Me	OH $\beta$	OMe	OMe
142	Guaterina	OCH <sub>2</sub> O		OMe	Me	OH $\beta$	H	H
143	<i>N</i> -óxido-guaterina	OCH <sub>2</sub> O		OMe	<i>N</i> -ox	OH $\beta$	H	H
144	<i>N</i> -Metilpaquipodantina	OCH <sub>2</sub> O		H	Me	OMe $\beta$	H	H

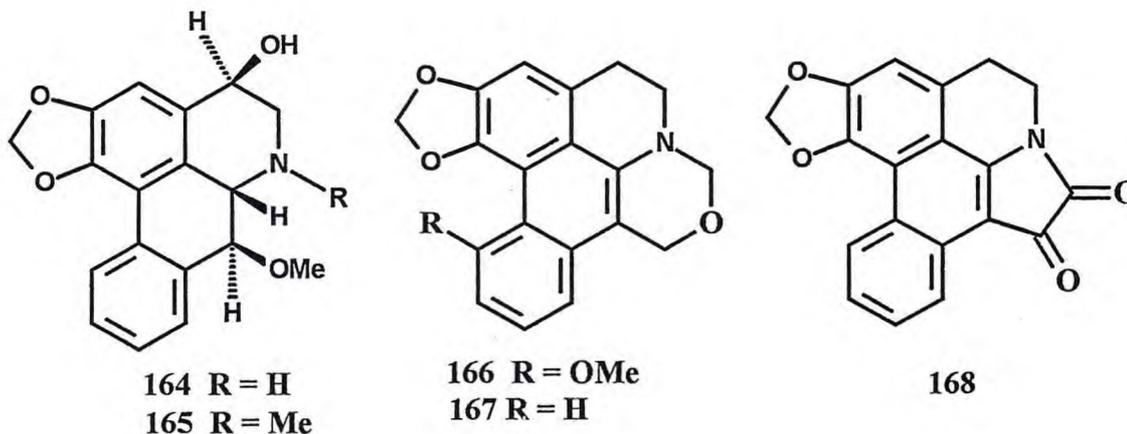
Alcalóides de núcleo aporfínicos *N*-substituído (continuação)

n	composto	1	2	3	R	7	9	10
145	<i>N</i> -óxido de <i>N</i> -Metilpaquipodantina	OCH <sub>2</sub> O		H	<i>N</i> -ox <i>N</i> -Me	OMe $\beta$	H	H
146	Noroliveridina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	OH $\beta$	OMe	H
147	Noroliverina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	OMe $\beta$	OMe	H
148	Noruchinsunina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	OH $\alpha$	H	H
149	Oliveridina	OCH <sub>2</sub> O		H	Me	OH $\beta$	OMe	H
150	<i>N</i> -óxido de oliveridina	OCH <sub>2</sub> O		H	<i>N</i> -ox	OH $\beta$	OMe	H
151	Oliverina	OCH <sub>2</sub> O		H	Me	OMe $\beta$	OMe	H
152	<i>N</i> -óxido de oliverina	OCH <sub>2</sub> O		H	<i>N</i> -ox	OMe $\beta$	OMe	H
153	Oliverolina	OCH <sub>2</sub> O		H	Me	OH $\beta$	H	H
154	<i>N</i> -óxido de oliverolina	OCH <sub>2</sub> O		H	<i>N</i> -ox	OH $\beta$	H	H
155	Paquiconfina	OMe	OH	H	Me	OH $\beta$	H	H
156	Paquipodantina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	OMe $\beta$	H	H
157	Polialtina	OCH <sub>2</sub> O		OMe	Me	OH $\beta$	OMe	H
158	Polisuavina	OCH <sub>2</sub> O		H	Me	OMe $\beta$	OH	H
159	Uchinsunina	OCH <sub>2</sub> O		H	Me	OH $\alpha$	H	H

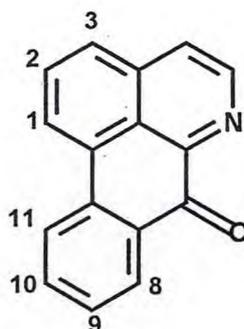
A artabonatina E (160) (Hsieh et al., 2001) é um alcalóide oxazoloaporfínico isolado de *Artabotrys uncinatus*. A guadiscina (161) (Zhang et al., 2002), a melosmidina (162) e a melosmina (163) apresenta dois grupos metilas ligados a C-7 em vez de grupos oxigenados.



A norpaquietaudina (164), paquietaudina (165) são aporfina substituídas em C-4 e C-7 (Leboeuf et al., 1982a). A duguecalina (166), duguenaina (167) e anobrainina (168) (Chang et al., 2000a) também apresentam substituição em C-7.



Foram encontrados dezessete alcalóides do tipo oxoaporfínico (169-185). Destes a liriodenina (173) é o mais comum (Jossang et al., 1977). A oxoestefanina (184) isolada de *Polyalthia insignis* (Lee et al., 1997) é o único que apresenta substituição em C-8. Os compostos 169, 170, 172, 175 e 178 foram isolados de espécies de anonáceas do Sri Lanka (Wijeratne et al., 1996). Estes alcalóides são mostrados a seguir.



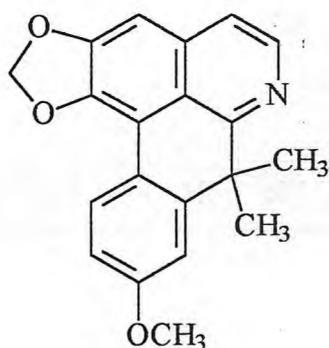
(núcleo oxoaporfínico)

n	composto	1	2	3	8	9	10	11
169	Aterospermidina	OCH <sub>2</sub> O		OMe	H	H	H	H
170	Dicentrinona	OCH <sub>2</sub> O		H	H	OMe	OMe	H
171	Isomoschatolina	OMe	OMe	OH	H	H	H	H

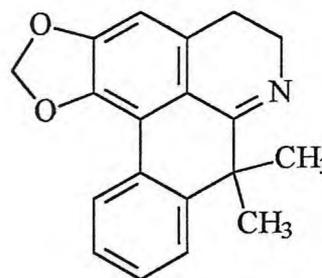
## Alcalóides de núcleo oxoaporfínicos (continuação)

n	composto	1	2	3	8	9	10	11
172	Lanuginosina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	OMe	H	H
173	Liriodenina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	H	H	H
174	Lisicamina	OMe	OMe	H	H	H	H	H
175	<i>O</i> -Metilmoschatolina	OMe	OMe	OMe	H	H	H	H
176	Oxoanolobina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	OH	H	H
177	Oxobuxifolina	OCH <sub>2</sub> O		OMe	H	OMe	H	H
178	Oxocrebanina	OCH <sub>2</sub> O		H	OMe	OMe	H	H
179	Oxoglaucaína	OMe	OMe	H	H	OMe	OMe	H
180	Oxolaurelina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	H	OMe	H
181	Oxopucateína	OCH <sub>2</sub> O		H	H	H	H	OH
182	Oxopurpureína	OMe	OMe	OMe	H	OMe	OMe	H
183	Oxoputerina	OCH <sub>2</sub> O		H	H	H	H	OMe
184	Oxoestefanina	OCH <sub>2</sub> O		H	OMe	H	H	H
185	Subsessilina	OMe	OMe	OMe	H	OH	H	H

A 4,5-didehidroguadiscina (186) e a demetoxiguadiscina (187) (Fechine et al., 2003) são alcalóides cujo carbono C-7 se encontra substituído por dois grupos metilas.



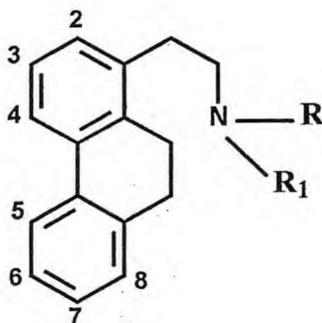
186



187

Quando a aporfina apresenta o anel, que contém o átomo de nitrogênio, aberto, este alcalóide forma um novo grupo denominado de alcalóides do tipo fenantreno como mostrado a seguir. A literatura relata dez membros desta classe (188-197). De *Uvariopsis guineensis* (Leboeuf e Cavé, 1972) foram isoladas a 8-metóxiuvariopsina (192), noruvariopsamina (194), uvariopsamina (195), *N*-óxido de uvariopsamina (196) e

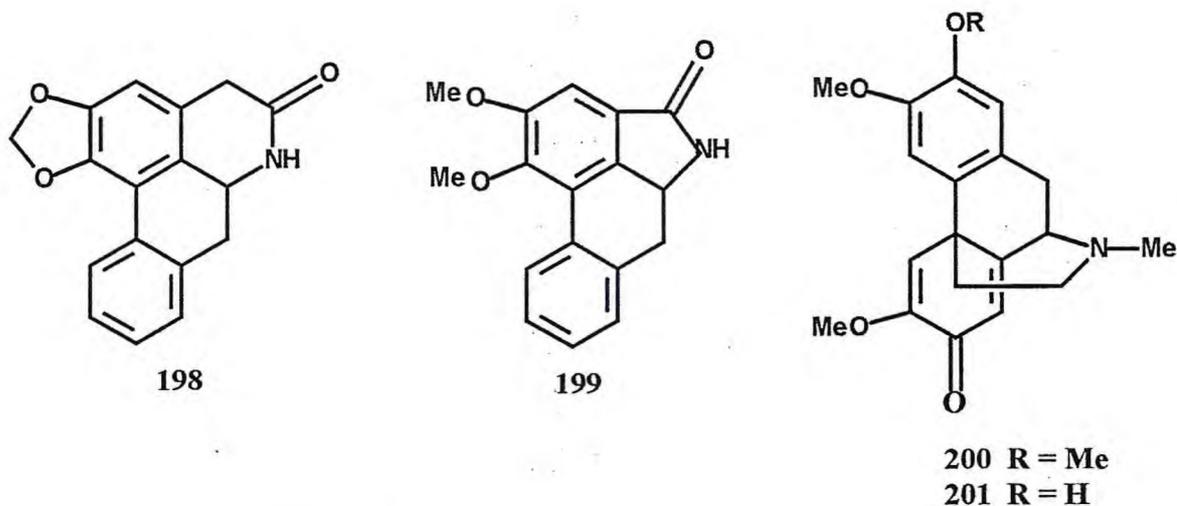
uvariopsina (197). De *Duguetia calycina* foram isolados a aterosperminina (188) e noraterosperminina (193) (Leboeuf et al., 1980).



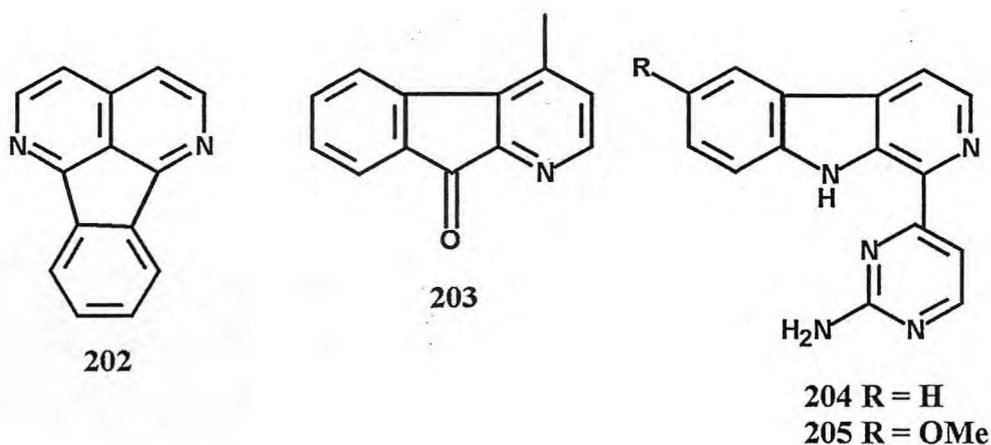
(núcleo tipo fenantreno)

n	composto	R	R <sub>1</sub>	2	3	4	7	8
188	Aterosperminina	Me	Me	H	OMe	OMe	H	H
189	Argentina	Me	Me	H	OH	OMe	H	H
190	Metoxi-aterosperminina	Me	Me	OMe	OMe	OMe	H	H
191	<i>N</i> -óxido de Metoxiaterosperminina	<i>N</i> -oxi		OMe	OMe	OMe	H	H
192	8-Metoxiuvariopsina	Me	Me	H	OCH <sub>2</sub> O		OMe	OMe
193	Noraterosperminina	H	Me	H	OMe	OMe	H	H
194	Noruvariopsamina	H	Me	H	OMe	OMe	OMe	OMe
195	Uvariopsamina	Me	Me	H	OMe	OMe	OMe	OMe
196	<i>N</i> -óxido de Uvariopsamina	<i>N</i> -oxi		H	OMe	OMe	OMe	OMe
197	Uvariopsina	Me	Me	H	OCH <sub>2</sub> O		OMe	H

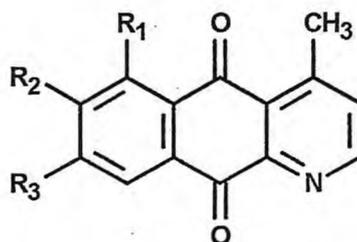
O grupo amida presente na fuseina (198) isolada de *Fusaea longifolia* (Leboeuf et al., 1972) a torna diferente dos outros alcalóides aporfínicos. Este alcalóide é classificado como sendo do tipo miscelâneo. A aristolactama B2 (199) (Dyke e Gellert, 1978), a probovatina (200) e a palidina (201) isolada de *Guatteria goudotiana* (Castedo et al., 1991) também são exemplos deste tipo de alcalóides.



Diversos outros alcalóides com núcleo não-isoquinoleínico foram isolados de plantas Anonáceas : A eupolauridina (202) isolada de *Cleistopholis patens* (Waterman e Muhammad, 1985) e 1-aza-4-metilfluorenona (203) isolada de *Onycho petalum* (De Almeida et al., 1976), anomontina (204) e metoxianomontina (205) isolados de *Annona montana* (Leboeuf et al., 1982 b).



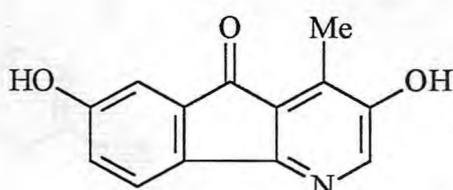
Alcalóides de núcleo azaantraceno (206-210) foram isolados de *Porcelia macrocarpa* (Chaves et al., 2001). Estes alcalóides possuem uma estrutura semelhante a uma antraquinona, sendo que um dos carbonos é substituído por um átomo de nitrogênio.



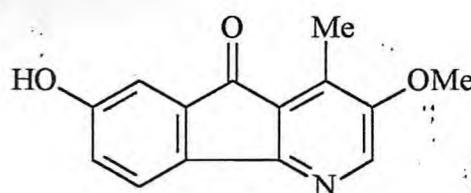
(núcleo azaantraceno)

n	composto	R1	R2	R3
206	Cleistofolina	H	H	H
207	6-metoxicleistofolina	H	OMe	H
208	6,7-dimetoxicleistofolina	H	OMe	OMe
209	5-hidroxi-6-metoxicleistofolina	OH	OMe	H
210	5-hidroxi-6,7-dimetoxicleistofolina	OH	OMe	OMe

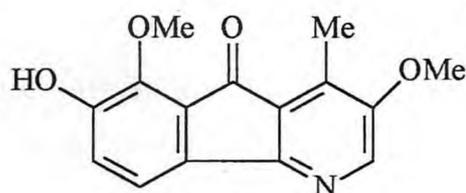
Alcalóides de estruturas análogas como a 2,7-dihidróxioniquina (211), 7-hidróxi-2-metóxoniquina (212) e 7-hidróxi-2,8-dimetóxoniquina (213) (Achenbach et al., 1995b) foram isolados de *Piptostigma fugax*. Eles diferem dos anteriores, no anel central que possui apenas cinco membros e pela ausência de um dos grupos carbonila.



211

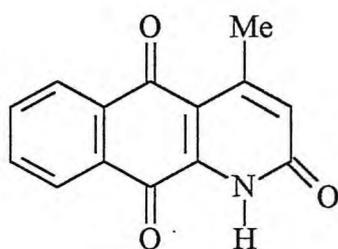


212

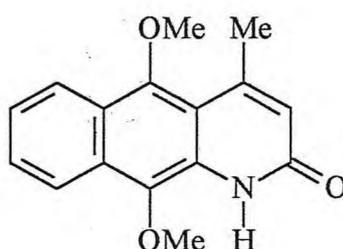


213

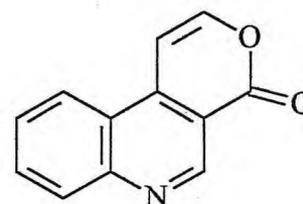
O 1-aza-4-metil-2-oxo-1,2-dihidro-9,10-antracenediona (**214**) (Chang et al., 2000b) e o 1-aza-9,10-dimetóxi-4-metil-2-oxo-1,2-dihidroantraceno (**215**) (Tuchinda et al., 2000) apresentam um grupo carbonila em C-3, mas a querimolina (**216**) isolada por Chen (Chen et al., 1997) de *A. cherimola* mostra uma estrutura semelhante a um núcleo fenantreno.



214

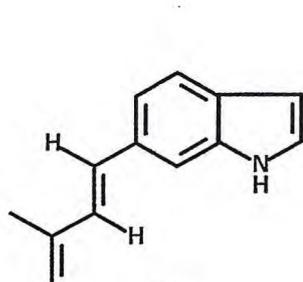


215

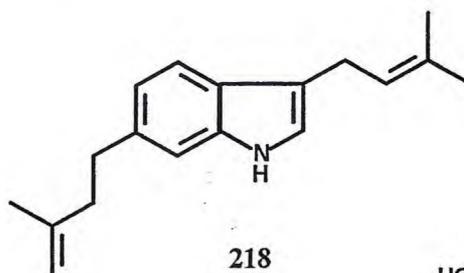


216

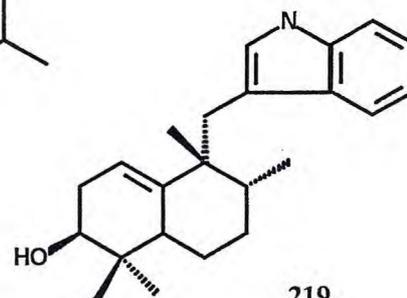
O último grupo de alcalóides que ocorrem em annonáceas são os isoprenilindólicos e os sesquiterpenilindólicos. Neste grupo encontram-se : isoprenilindol (**217**) (Leboeuf et al., 1982a), 3,6-bis( $\gamma,\gamma$ -dimetilalil)-indol (**218**) (Achenbach e Raffelsberger, 1979), polialtenol (**219**) (Hamonnière et al., 1977), isopolialtenol (**220**) e neopolialtenol (**221**) (Hocquemiller et al., 1981b), poliveolina (**222**), poliavolensina (**223**), poliavolensinol (**224**), e poliavolensinona (**225**) (Okorie, 1980).



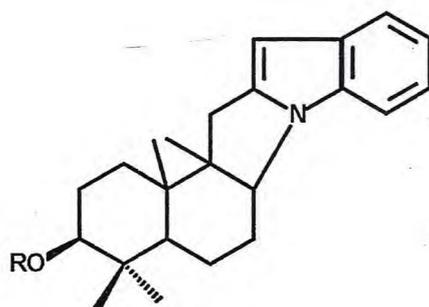
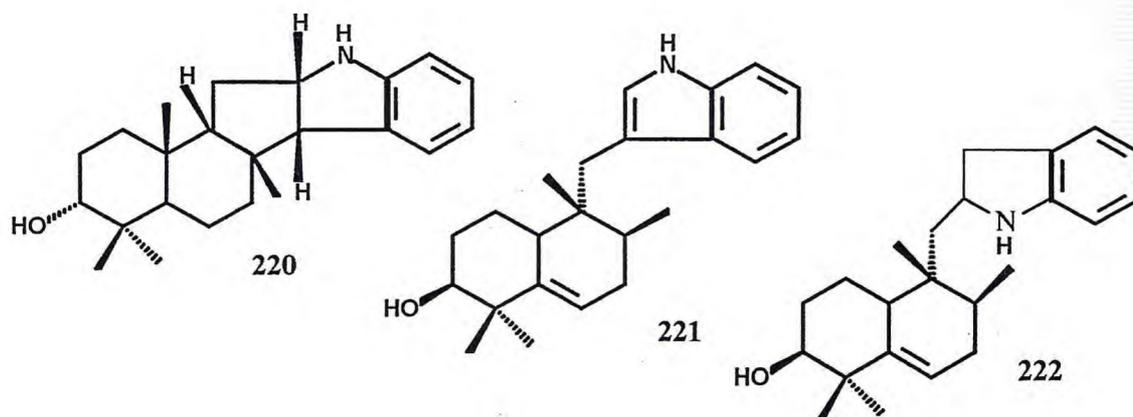
217



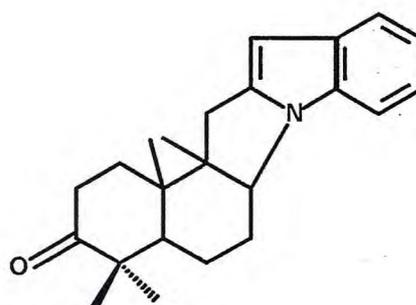
218



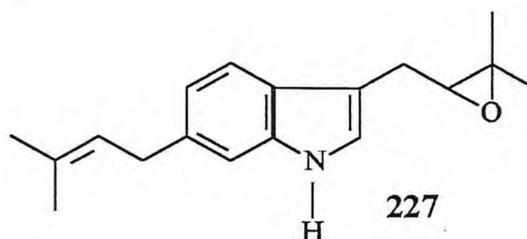
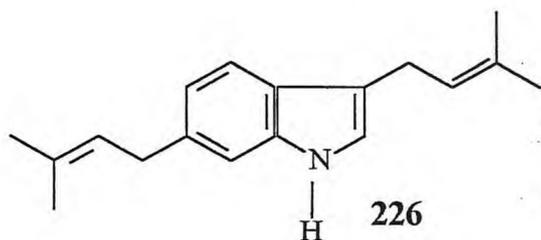
219

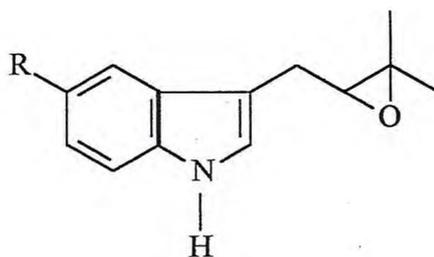


224 R = H



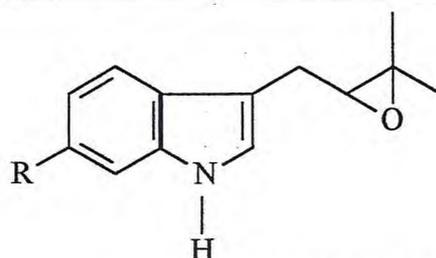
De *Isolona maitlandii* (Achenbach et al., 1995a) foram isolados dezesseis alcalóides do tipo isoprenilindólico (226-237). A 3,6-hexalobina B (227) difere da 3,6-hexalobina A (226), somente pelo epóxido entre os carbono 2 e 3 da cadeia lateral isopentila.





(núcleo isoprenilindólico)

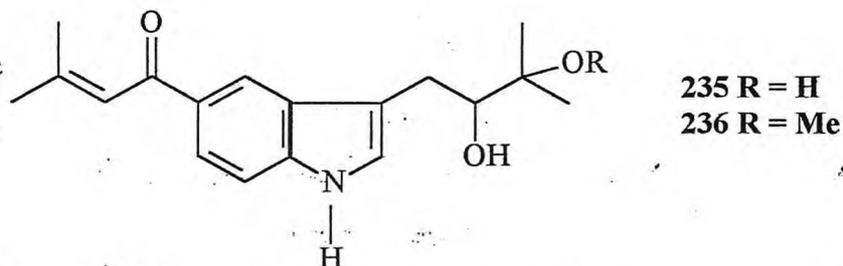
n	composto	R
228	3,5-hexalobina C	(S)-2,3-epóxi-3-metilbutil
229	3,5-Hexalobina D	3-metil-1-oxo-2-butenil
230	3,5-hexalobina E	3-hidróxi-3-metil-1-butenil
231	(R)-5-(-3-metil-1,3-butadienil)-3-(2,3-epóxi-3-metilbutil)indol	3-metil-1,3-butadienil



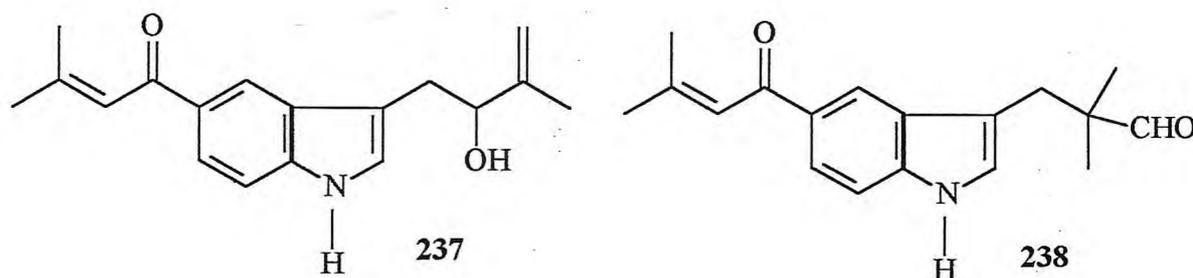
(núcleo isoprenilindólico)

n	composto	R
232	ent-3,5-hexalobina C	(R)-2,3-epóxi-3-metilbutil
233	3,6-E-Hexalobina E	3-metil-1-oxo-2-butenil
234	3,6-Z-Hexalobina E	3-metil-1,3-butadienil

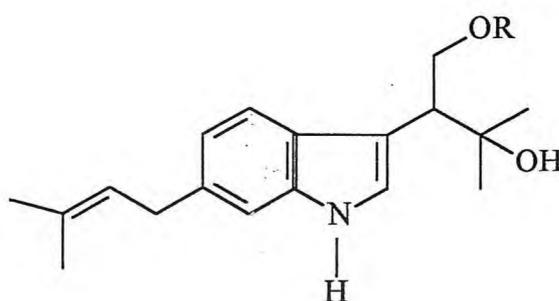
O (R)-3-(-2,3-dihidróxi-3-metilbutil)-5-(3-metil-1-oxo-2-butenil)indol (235) e (R)-3-(-2-hidróxi-3-metil-3-metóxi-butil)-5-(3-metil-1-oxo-2-butenil)indol (236) não apresentam o epóxido, mas dois grupos oxigenados vicinais.



O 3-(2-hidroxi-3-metil-3-butenil)-5-(3-metil-1-oxo-2-butenil)indol (237) apresenta uma dupla terminal no carbono C-3 da cadeia lateral, enquanto 3-(2-formil-2-metilpropil)-5-(3-metil-1-oxo-2-butenil)indol (238) mostra ligado ao carbono C-2 um grupo formila.



Os compostos (239-241) apresentam-se como ésteres dos ácidos palmítico, oleico e linoleico respectivamente.



(núcleo isoprenilindólico)

n	composto	R
239	Éster (R)-3-hidroxi-3-metil-2-[6-(3-metil-2-butenil)indol-3-il]butílico do ácido palmítico	Palmitoil

## Alcalóides de núcleo isoprenilindólico (continuação)

n	composto	R
240	Éster ( <i>R</i> )-3-hidroxi-3-metil-2-[-6-(3-metil-2-butenil)indol-3-il]butílico do ácido oleico	Oleoil
241	Éster ( <i>R</i> )-3-hidroxi-3-metil-2-[-6-(3-metil-2-butenil)indol-3-il]butílico do ácido linoleico	linoleoil

## Levantamento bibliográfico

Tabela 03 – Levantamento bibliográfico dos alcalóides isolados de espécies da família Annonaceae

composto	nome	espécie	ref. bibliográfica
2	salsolinol	<i>Annona reticulata</i>	Forgaes et al., 1981
3	dopamina	"	"
4	coridaldina	<i>Enantia polycarpa</i>	Jossang et al., 1977
5	querianoína	<i>Annona cherimola</i>	Chen et al., 2001
6	anomuricina	<i>Annona muricata</i>	Leboeuf et al., 1981
7	anomurina	"	"
8	anoneleptina	<i>Annona elliptica</i>	Sandoval et al., 1985
9	armepavina	<i>Xylopiya pancheri</i>	Nieto et al., 1976
10	coclaurina	<i>Annona reticulata</i>	Jossang et al., 1977
11	<i>N</i> -dimetilcolitina	<i>Xylopiya pancheri</i>	Nieto et al., 1976
12	higenamina	<i>Annona squamosa</i>	Leboeuf et al., 1981
13	laudanina	<i>Xylopiya pancheri</i>	Nieto et al., 1976
14	laudanósina	<i>Monodora angolensis</i>	Leboeuf et al., 1982a
15	<i>O</i> -metilarmepavina	<i>Annona squamosa</i>	Bhamick et al., 1979
16	<i>N</i> -metilcoclaurina	<i>Xylopiya pancheri</i>	Nieto et al., 1976
17	<i>N</i> -nor- <i>O</i> -metilarmepavina	"	"
18	Reticulina	<i>Xylopiya pancheri</i>	Nieto et al., 1976
19	polícarpina	<i>Enantia polycarpa</i>	Jossang et al., 1977
20	anoquerina A	<i>Annona cherimola</i>	Chen et al., 2001
21	anoquerina B	"	"
22	Condروفolina	<i>Uvaria ovata</i>	Panichpol et al., 1977
23	curina	<i>Isolona pilosa</i>	Hocquemiller et al., 1977
24	<i>O,O</i> -dimetilcurina	<i>Guatteria megalophylla</i>	Galeffi et al., 1975
25	12'- <i>O</i> -metilcurina	"	"
26	cicleanina	<i>Isolona hexaloba</i>	Hocquemiller et al., 1984

Tabela 03 – Levantamento bibliográfico dos alcalóides isolados de espécies da família Annonaceae (continuação)

composto	nome	espécie	ref. bibliográfica
27	isocondodendrina	<i>Isolona hexaloba</i>	Hocquemiller et al., 1977
28	norcileanina	"	Hocquemiller et al., 1984
29	limacina	<i>Phaeanthus aff. Macropodus</i>	Johns et al, 1968
30	faeantina	"	Leboeuf et al., 1982a
31	dauricina <i>O</i> -metil éter	<i>Popovia cv. cyanocarpa</i>	Johns et al, 1970
32	plebicina	<i>Crematosperma polyphlebum</i>	Cava et al., 1974
33	faeantarina	<i>Phaeanthus ebracteolatus</i>	Leboeuf et al., 1982a
34	unonopsina	<i>Isolona maitlandii</i>	Achenbarch et al., 1995
35	artabonatina	<i>Artabotrys urcitanus</i>	Hsieh et al., 2001
36	trivalvona	<i>Piptostigma fugax</i>	Achenbarch et al., 1995b
37	<i>N,N'</i> -dimetilurabaina	"	"
38	<i>N</i> -metilurabaina	"	"
39	urabaina	"	"
40	heteropsina	"	"
41	<i>N</i> -metileteropsina	"	"
42	lotusina	<i>Xylopia parviflora</i>	Nishiyama et al., 2004
43	xilopinidina	"	"
44	tembetarina	"	"
45	oblongina	"	"
46	<i>N,N</i> -dimetilanomurina	"	"
47	1,2-desidroreticulina	"	"
48	tetradésidroreticulina	"	"
49	berberina	<i>Enantia poliocarpa</i>	Farnsworth et al., 1974

Tabela 03 – Levantamento bibliográfico dos alcalóides isolados de espécies da família Annonaceae (continuação)

composto	nome	espécie	ref. bibliográfica
50	columbamina	<i>Fissistigma balancae</i>	Chia et al., 1998
51	desidrocoreximina	<i>Xylopiya parviflora</i>	Nishiyama et al., 2004
52	desidrocoridalmina	<i>Annona glabra</i>	Chang et al., 2000a
53	desidrodiscretina	<i>Xylopiya parviflora</i>	Nishiyama et al., 2004
54	desidrodiscretamina	<i>Fissistigma balansaie</i>	Chia et al., 1998
55	estefaranina	<i>Xylopiya parviflora</i>	Nishiyama et al., 2004
56	jatrorrizina	“	“
57	palmatina	“	“
58	pseudopamaltina	<i>Enantia polycarpa</i>	Jossang et al., 1977
59	fissisaina	<i>Fissistigma balancae</i>	Chia et al., 1998
60	taipetalina	“	“
61	estaudina	<i>Pachypodanthium staudtii</i>	Cavé et al., 1980
62	oxipalmatina	<i>Enantia polycarpa</i>	Jossang et al., 1977
63	coreximina	<i>Annona muricata</i>	Leboeuf et al., 1981
64	coripalmina	<i>Pachypodanthium confine</i>	Brochmann-Hanssen et al., 1977
65	10-dimetilxilopinina	<i>Duguetia calycina</i>	Leboeuf et al., 1982a
66	Discretamina	<i>Schefferomitra cauliflora</i>	Lu et al., 1985
67	discretina	<i>Xylopiya discreta</i>	Leboeuf et al., 1982a
68	estefolidina	<i>Monanthotaxis cauliflora</i>	Waterman et al., 1979
69	isocoripalmina	<i>Pachypodanthium confine</i>	Bevalot et al., 1977
70	kikemanina	<i>Schefferomitra cauliflora</i>	Brochmann-Hanssen et al., 1977
71	tetrahidropalmatina	<i>Pachypodanthium confine</i>	Bevalot et al., 1977
72	xilopinina	<i>Xylopiya buxifolia</i>	Hocquemiller et al., 1981a
73	oxopolialtiaina	<i>Annona cherimola</i>	Chen et al., 2000a

**Tabela 03 – Levantamento bibliográfico dos alcalóides isolados de espécies da família Annonaceae (continuação)**

composto	nome	espécie	ref. bibliográfica
74	folodendrina	<i>Xylopi</i> <i>parviflora</i>	Nishiyama et al., 2004
75	litcubina	“	“
76	crostiparina	<i>Monodora angolensis</i>	Leboeuf et al., 1982a
77	Estefarina	<i>Annona muricata</i>	Leboeuf et al., 1981
78	glaziovina e <i>N</i> -metilcrotisparina	<i>Annona purpurea</i>	Leboeuf et al., 1982a
79	Promucosina	<i>Annona glabra</i>	Chang et al., 2000a
80	Pronuciferina	<i>Isolona pilosa</i>	Hocquemiller et al., 1977
81	anolobina	<i>Annona glabra</i>	Waterman e Pootakahm, 1979
82	Anonaina	<i>Annona squamosa</i>	Bhakuni et al., 1972
83	Artabotrina	<i>Artabotrys suaveolens</i>	Leboeuf et al., 1982a
84	Asimilobina	<i>Monanthes cauliflora</i>	Waterman e Pootakahm, 1979
85	Buxifolina	<i>Xylopi buxifolia</i>	Hocquemiller et al., 1981a
86	Caaverina	<i>Isolona pilosa</i>	Hocquemiller et al., 1977
87	Calicinina	<i>Duguetia calycina</i>	Roblot et al., 1981
88	Coridina	<i>Annona squamosa</i>	Bhakuni et al., 1972
89	Danguielina	<i>Xylopi danguyella</i>	Hocquemiller et al., 198a
90	<i>O</i> -demetilpurpureina	<i>Annona purpurea</i>	Sonnet et al., 1971
91	Dicentrina	<i>Duguetia sp.</i>	Casagrande et al., 1970
92	Esparsiflorina	<i>Monodora angolensis</i>	Leboeuf et al., 1982a
93	<i>N</i> -formilanonaina	<i>Annona glabra</i>	Chang et al., 2000a
94	<i>N</i> -formilnornuciferina	<i>Piptostigma fugax</i>	Achenbach et al., 1995b
95	Glaucina	<i>Annona squamosa</i>	Bhakuni et al., 1972
96	9-hidróxi-1,2-dimetóxinoraporfina	<i>Monanthes cauliflora</i>	Waterman e Pootakahm, 1979
97	Isoboldina	<i>Enantia polycarpa</i>	Jossang et al., 1977
98	Isopilina	“	“
99	laureliptina	<i>Monanthes cauliflora</i>	Waterman e Pootakahm, 1979

Tabela 03 – Levantamento bibliográfico dos alcalóides isolados de espécies da família Annonaceae (continuação)

Composto	nome	Espécie	ref. bibliográfica
100	Laurolitsina	<i>Xylopiapapuana</i>	Johns et al., 1968
101	Laurotetanina	<i>Xylopiadanguyella</i>	Hocquemiller et al., 1981a
102	Lirinidina	<i>Isolona zenkeri</i>	Hocquemiller et al., 1984
103	Magnoflorina	<i>Enantia polycarpa</i>	Jossang et al., 1977
104	Menisperina	“	“
105	N-metillactinodafina	<i>Annona glabra</i>	Yang et al., 1971
106	N-metilasimilobina	<i>Xylopiabuxifolia</i>	Hocquemiller et al., 198a
107	N-metilcoridina	<i>Polyalthia oliveri</i>	Hamonnière et al., 1977
108	N-metillaurotetanina	<i>Enantia polycarpa</i>	Jossang et al., 1977
109	O-metilpucateina	<i>Duguetia calycina</i>	Leboeuf et al., 1982a
110	Norcoridina	<i>Annona squamosa</i>	Bhakuni et al., 1972
111	Nordomesticina	<i>Annona glabra</i>	Chang et al., 2000a
112	Norglaucina	<i>Pseuduvaria cv. dolichonema</i>	Johns et al., 1968
113	Norisocoridina	<i>Annona squamosa</i>	Bhakuni et al., 1972
114	Norisodomesticina	<i>Xylopiadanguyella</i>	Hocquemiller et al., 1981a
115	Norlaurelina	<i>Guateria elata</i>	Hsu et al., 1977a
116	Nornantenina	<i>Xylopiadanguyella</i>	Hocquemiller et al., 1981a
117	Nornuciferina	<i>Enantia polycarpa</i>	Jossang et al., 1977
118	Noroconovina	<i>Polyalthia oligosperma</i>	Leboeuf et al., 1982
119	Norpredicentrina	<i>Pseuduvaria cv. dolichonema</i>	Johns et al., 1968
120	Norpurpureina	<i>Annona purpurea</i>	Sonnet et al., 1971
121	Norstefalagina	<i>Xylopiabuxifolia</i>	Hocquemiller et al., 1981
122	Nuceferina	<i>Monanthotaxis cauliflora</i>	Waterman e Pootakahm, 1979
123	Obovanina	<i>Duguetia calycina</i>	Leboeuf et al., 1982a

**Tabela 03** – Levantamento bibliográfico dos alcalóides isolados de espécies da família Annonaceae (continuação)

composto	nome	espécie	ref. bibliográfica
124	Poligospermina	<i>Polyalthia oligosperma</i>	Leboeuf et al., 1982a
125	Purpureina	<i>Annona purpurea</i>	“
126	Puterina	<i>Duguetia calycina</i>	“
127	Roemerina	<i>Annona squamosa</i>	Bhakuni et al., 1972
128	Romucosina F	<i>Annona purpurea</i>	Chang et al., 2000b
129	Remucosina G	“	“
130	Suaveolina	<i>Artabotrys suaveolens</i>	Schlittler et al., 1952
131	Taliporfina	<i>Uvaria chamae</i>	“
132	Wilsonirina	<i>Popowia cv. cyanocarpa</i>	Johns et al., 1970
133	Xiloguielina	<i>Xylopiia danguyella</i>	Hocquemiller et al., 198a
134	Xilopina	<i>Annona squamosa</i>	Bhaumick et al., 1979
135	Zenquerina	<i>Isolona pilosa</i>	Hocquemiller et al., 1977
136	Guatescidina	<i>Guatteria scandens</i>	Hocquemiller et al., 1982
137	Guatescina	“	“
138	Romucosina H	<i>Annona cherimola</i>	Chen et al., 2001
139	3-hidróxi-6a , 7-desidronuciferina	<i>Isolona maitlandii</i>	Achenbach et al., 1995a
140	Anaxagoreina	<i>Anaxagora dolichocarpa</i>	Hocquemiller et al., 1981b
141	Duguetina	<i>Duguetia sp.</i>	Casagrande e Ferrari, 1970
142	Guaterina	<i>Polyalthia suaveolens</i>	Cavé et al., 1978
143	N-óxidoguaterina	<i>Pachypodanthium confine</i>	Bevalot et al., 1977
144	N-metilpaquipodantina	<i>Pachypodanthium staudtii</i>	Leboeuf et al., 1982aa
145	N-óxido de N-metilpaquipodantina	<i>Polyalthia oliviere</i>	Hamonnière et al., 1977
146	Noroliveridina	“	“
147	Noroliverina	<i>Polyalthia suaveolens</i>	Cavé et al., 1978
148	Noruchisunina	<i>Annona cherimolia</i>	Bevalot et al., 1977
149	Oliveridina	<i>Polyalthia oliviere</i>	Hamonnière et al., 1977

**Tabela 03 – Levantamento bibliográfico dos alcalóides isolados de espécies da família Annonaceae (continuação)**

composto	Nome	especie	ref. bibliográfica
150	<i>N</i> -óxido de oliveridina	<i>Enantia pilosa</i>	Nieto e Cavé, 1976
151	oliverina	<i>Polyalthia oliviere</i>	Hamonnière et al., 1977
152	<i>N</i> -óxido de oliverina	<i>Enantia pilosa</i>	Nieto e Cavé, 1976
153	Oliverolina	<i>Polyalthia oliviere</i>	Hamonnière et al., 1977
154	<i>N</i> -óxido de oliverolina	"	"
155	Paquiconfina	<i>Pachypodanthium confine</i>	Bevalot et al., 1977
156	Paquipodantina	<i>Polyalthia oliviere</i>	Hamonnière et al., 1977
157	Polialtina	<i>Polyalthia suaveolens</i>	Cavé et al., 1978
158	Polisuavina	"	"
159	Uchinsunina	<i>Cananga odorata</i>	Leboeuf et al., 1982a
160	Artabonatina E	<i>Artabotrys uncinatus</i>	Hsieh et al., 2001
161	Guadiscina	<i>Guatteria multivenia</i>	Zhang et al., 2002
162	Melosmidina	<i>Guatteria melosma</i>	Leboeuf et al., 1982a
163	Melosmina	"	"
164	Norpaquiestaudina	<i>Pachypodanthium staudtii</i>	"
165	Paquistaudina	"	"
166	Duguecalina	<i>Duguetia calycina</i>	Roblot et al., 1981
167	Duguenaina	"	"
168	Anobrainina	<i>Annona glabra</i>	Chang et al., 2000a
169	Aterospermidina	<i>Enantia polycarpa</i>	Jossang et al., 1977
170	Dicentrinona	<i>Xylopiya championii</i>	Wijeratne et al., 1996
171	Isomoschatolina	<i>Uvaria mocoli</i>	Fleischer et al., 1998
172	Lanuginosina	<i>Annona squamosa</i>	BhaumiK et al., 1979
173	Liriodenina	<i>Enantia polycarpa</i>	Jossang et al., 1977
174	Lisicamina	<i>Enantia chlorantha</i>	Cavé et al., 1978
175	<i>O</i> -metilmoschatolina	<i>Duguetia eximia</i>	Gottlieb et al., 1978

Tabela 03 – Levantamento bibliográfico dos alcalóides isolados de espécies da família Annonaceae (continuação)

composto	Nome	Especie	ref. bibliográfica
176	Oxoanolobina	<i>Guateria melosma</i>	Phoebe et al., 1980
177	Oxobuxifolina	<i>Artabotrys zeylanicus</i>	Wijeratne et al., 1996
178	Oxocrebanina	“	“
179	Oxoglauцина	<i>Annona purpurea</i>	Leboeuf et al., 1982a
180	Oxolaurelina	<i>Guatteria elata</i>	“
181	Oxopucateina	<i>Duguetia eximia</i>	Gottlieb et al., 1978
182	Oxopurpureina	<i>Annona purpurea</i>	Leboeuf et al., 1982a
183	Oxoputerina	<i>Duguetia eximia</i>	Gottlieb et al., 1978
184	Oxoestefanina	<i>Polyalthia suaveolens</i>	Cavé et al., 1978
185	Subsessilina	<i>Guatteria subsessilis</i>	Skiles e Cava, 1979
186	4,5-didesidrogua-discina	<i>Hornschuchi obliqua</i>	Fechine et al., 2003
187	Demetóxi-gua-discina	“	“
188	Aterosperminina	<i>Annona muricata</i>	Leboeuf et al., 1981
189	Argentinina	<i>Annona montana</i>	Leboeuf et al., 1982b
190	Metóxiaterosperminina	<i>Meiocarpidium lepidotum</i>	“
191	N-óxido de metilaterosperminina	“	“
192	8-metóxi-uvariopsina	<i>Uvariopsis guineensis</i>	Leboeuf e Cavé, 1972
193	Noraterosperminina	<i>Duguetia calycina</i>	Leboeuf et al., 1980
194	Noruvariopsina	<i>Uvariopsis guineensis</i>	Leboeuf e Cavé, 1972
195	Uvariopsamina	“	“
196	N-óxido de uvariopsamina	“	“
197	Uvariopsina	“	“
198	Fuseina	<i>Fusea longifolia</i>	Leboeuf et al., 1982a
199	Aristolactama B2	<i>Schefferomitra subaequalis</i>	Dyke e Gellert, 1978
200	Probovatina	<i>Duguetia obovata</i>	Castedo et al., 1991
201	Palidina	<i>Desmos tiebaghiensis</i>	“

Tabela 03 – Levantamento bibliográfico dos alcalóides isolados de espécies da família Annonaceae (continuação)

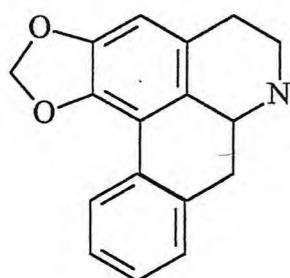
composto	Nome	espécie	ref. Bibliográfica
202	Eupolauridina	<i>Cananga odorata</i>	Leboeuf e Cavé, 1976
203	1-aza-4-metilfluorenona	<i>Onychopetalum amazonicum</i>	De Almeida et al., 1976
204	Anomontina	<i>Annona montana</i>	Leboeuf et al., 1982b
205	Metóxianomontina	“	“
206	Cleistofolina	<i>Porcelia macrocarpa</i>	Chaves et al., 2001
207	6-metóxicleistofolina	“	“
208	6,7-dimetóxicleistofolina	“	“
209	5-hidróxi-6-metóxicleistofolina	“	“
210	5-hidróxi-6,7-dimetóxicleistofolina	“	“
211	2,7-dihidróxioniquina	<i>Piptostigma fugax</i>	Achenbach et al., 1995b
212	7-hidróxi-2-metóxioniquina	“	“
213	7-hidróxi-2,8-dimetóxioniquina	“	“
214	1-aza-4-metil-2-oxo-1,2-dihidro-9,10-antracenediona	<i>Annona glabra</i>	Chang et al., 2000b
215	1-aza-9,10-dimetóxi-4-metil-2-oxo-1,2-antraceno	<i>Polyalthia suberosa</i>	Tuchinda et al, 2000
216	Querimolina	<i>Annona cherimola</i>	Chen et al., 1997
217	Isoprenilindol	<i>Monodora tenuifolia</i>	Nwaji et al., 1972
218	3,6-bis(γ,γ-dimetilalil)-indol	<i>Uvaria elliotiana</i>	Achenbach e Raffelsberger, 1979
219	Polialtenol	<i>Polyalthia oliviere</i>	Hamonnière et al., 1977
220	Isopolialtenol	<i>Polyalthia suaveolens</i>	Hocquemiller et al., 1981b
221	Neopolialtenol	”	“
222	Poliveolina	“	“
223	Poliavolensina	“	Okorie, 1980
224	Poliavolensinol	“	
225	Poliavolensinona	“	
226	3,6-hexalobina	<i>Isolona maitlandii</i>	Achenbach et al., 1995a
227	3,6-hexalobina B	“	“

Tabela 04 – Levantamento bibliográfico bibliográfico dos alcalóides isolados de espécies da família Annonaceae (continuação)

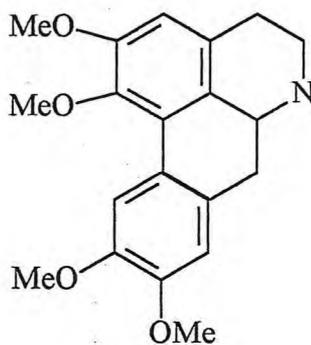
composto	nome	espécie	ref. bibliográfica
228	3,5-hexalobina C	<i>Isolona maitlandii</i>	Achenbach et al., 1995
229	3,5-hexalobina D	“	“
230	3,5-hexalobina E	“	“
231	(R)-5-(3-metil-1,3-butadienil)-3-(2,3-epóxi-3-metilbutil)indol	“	“
232	Em-3,5-hexalobina C	“	“
233	3,6- <i>E</i> -hexalobina E	“	“
234	3,6- <i>Z</i> -hexalobina E	“	“
235	(R)-3-(2,3-diidroxi-3-metilbutil)-5-(3-metil-1-oxo-2-butenil)indol	“	“
236	(R)-3-(2-hidroxi-3-metil-3-metóxibutil)-5-(3-metil-1-oxo-2-butenil)indol	“	“
237	3-(2-hidroxi-3-metil-3-butenil)-5-(3-metil-1-oxo-2-butenil)indol	“	“
238	3-(2-formil-2-metilpropil)-5-(3-metil-1-oxo-2-butenil)indol	“	“
239	Éster (R)-3-hidroxi-3-metil-2-[-6-(3-metil-2-butenil)indol-3-il]butílico do ácido palmítico	“	“
240	Éster (R)-3-hidroxi-3-metil-2-[-6-(3-metil-2-butenil)indol-3-il]butílico do ácido oleico	“	“
241	Éster (R)-3-hidroxi-3-metil-2-[-6-(3-metil-2-butenil)indol-3-il]butílico do ácido linoleico	“	“

**2.3 – Alcalóides do gênero *Rollinia***

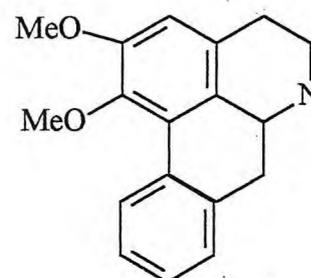
A literatura química revela o isolamento de quatorze alcalóides em espécies do gênero *Rollinia*. A maioria pertence a classe dos alcalóides aporfínico. Estes alcalóides também foram isolados em outras plantas da família Annonaceae : Anonaina (82), glaucina (95), nornuciferina (117), roemerina (127) e liriodenina (173) foram isoladas de *Rollinia ulei* (Miski et al., 1995).



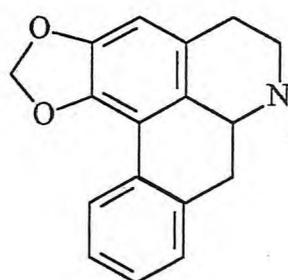
82



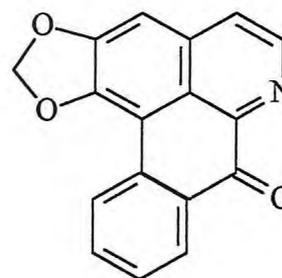
95



117

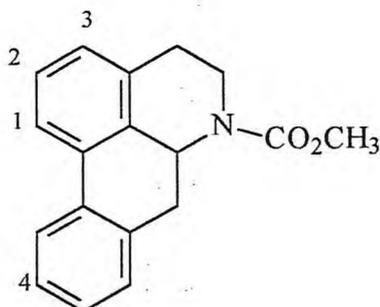


127



173

De *Rollinia mucosa* (Kuo et al., 2001), foram isolados cinco alcalóides do tipo *N*-metoxicarbonil: romucosina A (242), romucosina B (243), romucosina C (244), romucosina D (245) e *N*-metóxil-carbonilnornuciferina (246).



n	composto	1	2	3	10
242	Romucosina A	OMe	OH	H	H
243	Romucosina B	OMe	OH	Cl	H
244	Romucosina C	OMe	OMe	H	OH
245	Romucosina D	OMe	OMe	H	OMe
246	<i>N</i> -metóxil-carbonilnornuciferina	OMe	OMe	H	H

Os alcalóides isolados de *Rollinia leptopetala* (Sette et al., 2001) já foram descritos no capítulo 01.

## 2.4 – Métodos de identificação de alcalóides

### 2.4.1 Métodos colorimétricos

A presença de alcalóides em extratos de plantas pode ser indicada pela realização do teste de Dragendorff (Matos, 1997). Quando à uma solução contendo alcalóides, é adicionado o reagente de Dragendorff, ocorre precipitação dos compostos alcaloídicos. O reagente de Dragendorff é preparado pela combinação de uma solução aquosa ácida de carbonato de bismuto com iodeto de potássio. A mesma solução pode ser utilizada como revelador de compostos alcaloídicos quando eluídos em cromatoplaca. O alcalóide adquire uma cor entre o laranja e o vermelho, quando a cromatoplaca é borrifada com o reagente de Dragendorff.

Outros reagentes de precipitação como o reagente de Hager (solução aquosa de ácido pícrico) e o reagente de Meyer (combinação da solução aquosa de cloreto de mercúrio e solução aquosa de iodeto de potássio) também são muito utilizados.

### 2.4.2 Espectrometria de Massa

Os alcalóides possuem uma grande variedade estrutural e geralmente, eles apresentam o pico de íon molecular como um sinal intenso, cujo valor é um número *ímpar* se o alcalóide apresenta número *ímpar* de átomos de nitrogênio em sua estrutura. Uma exceção ocorre quando este alcalóide é uma base quaternária (cátion) e o ânion é um íon haleto. Neste caso o íon do pico molecular possui como valor um número *par*. O mesmo ocorre quando em sua estrutura, o alcalóide apresenta um número *par* de átomos de nitrogênios ou o alcalóide é *N*-substituído.

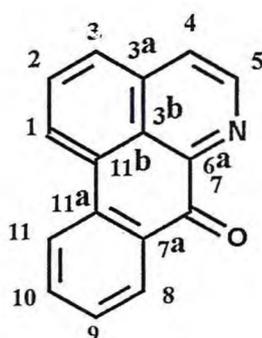
### 2.4.3 Ressonância Magnética Nuclear

As estruturas dos alcalóides podem ser elucidadas, utilizando-se técnicas de ressonância magnética nuclear que inclui RMN<sup>1</sup>H e RMN<sup>13</sup>C, além do experimento DEPT nos ângulos de mutarrotação de 45, 90 e 135°. Técnicas bidimensionais como COSY, HMQC, HMBC e NOESY, também são fundamentais para a elucidação estrutural destes compostos.

A seguir são relatadas algumas conclusões sobre o estudo dos dados de RMN de hidrogênio e carbono-13 das classes de alcalóides isoladas de *Rolliniopsis leptopetala*.

#### 2.4.3.1 Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H de alcalóides de núcleo oxoaporfínicos

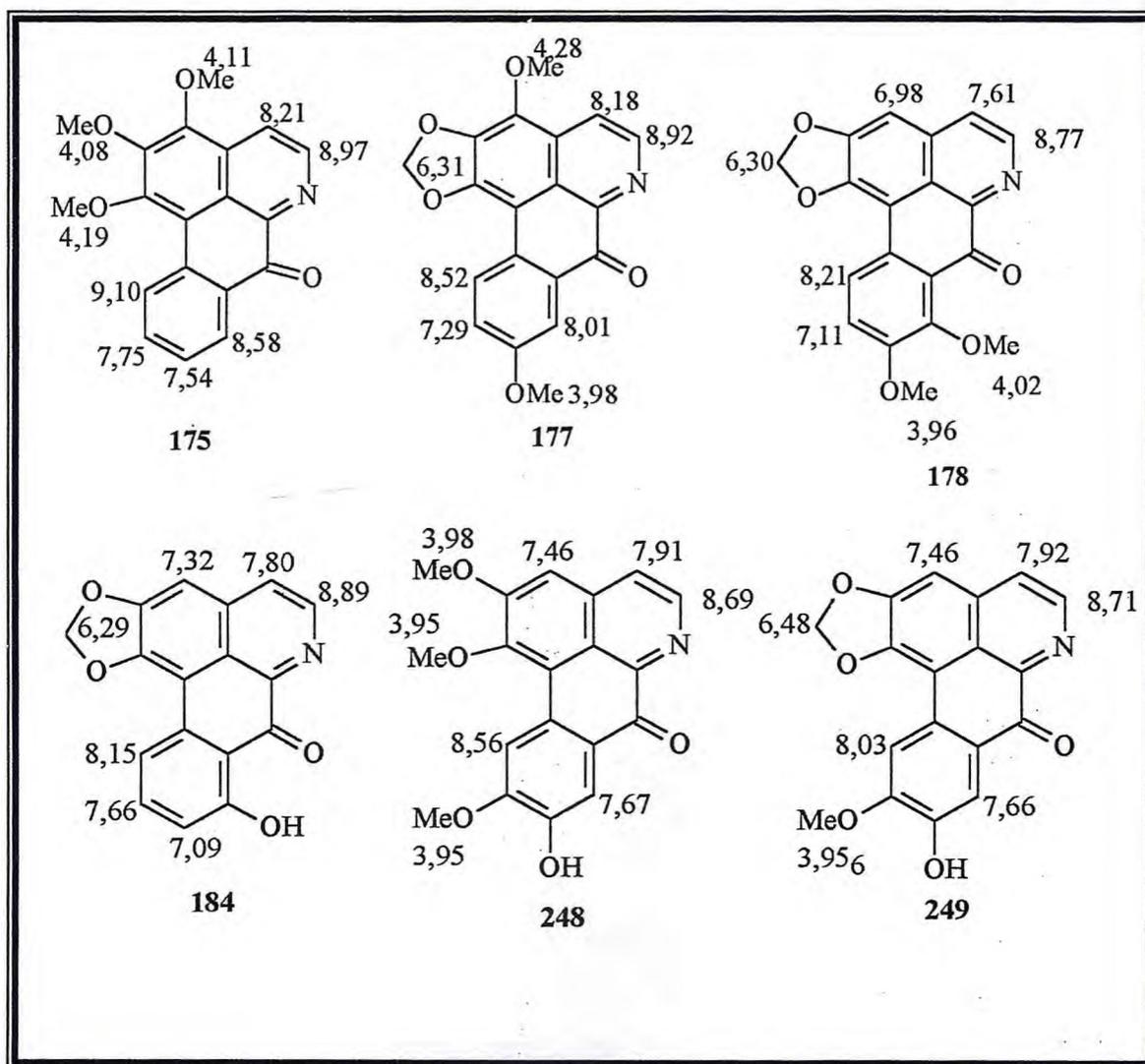
Os alcalóides de núcleo oxoaporfínicos, são alcalóides tetracíclicos que possuem a estrutura mostrada abaixo. São caracterizados por um grupo carbonila no carbono C-7.



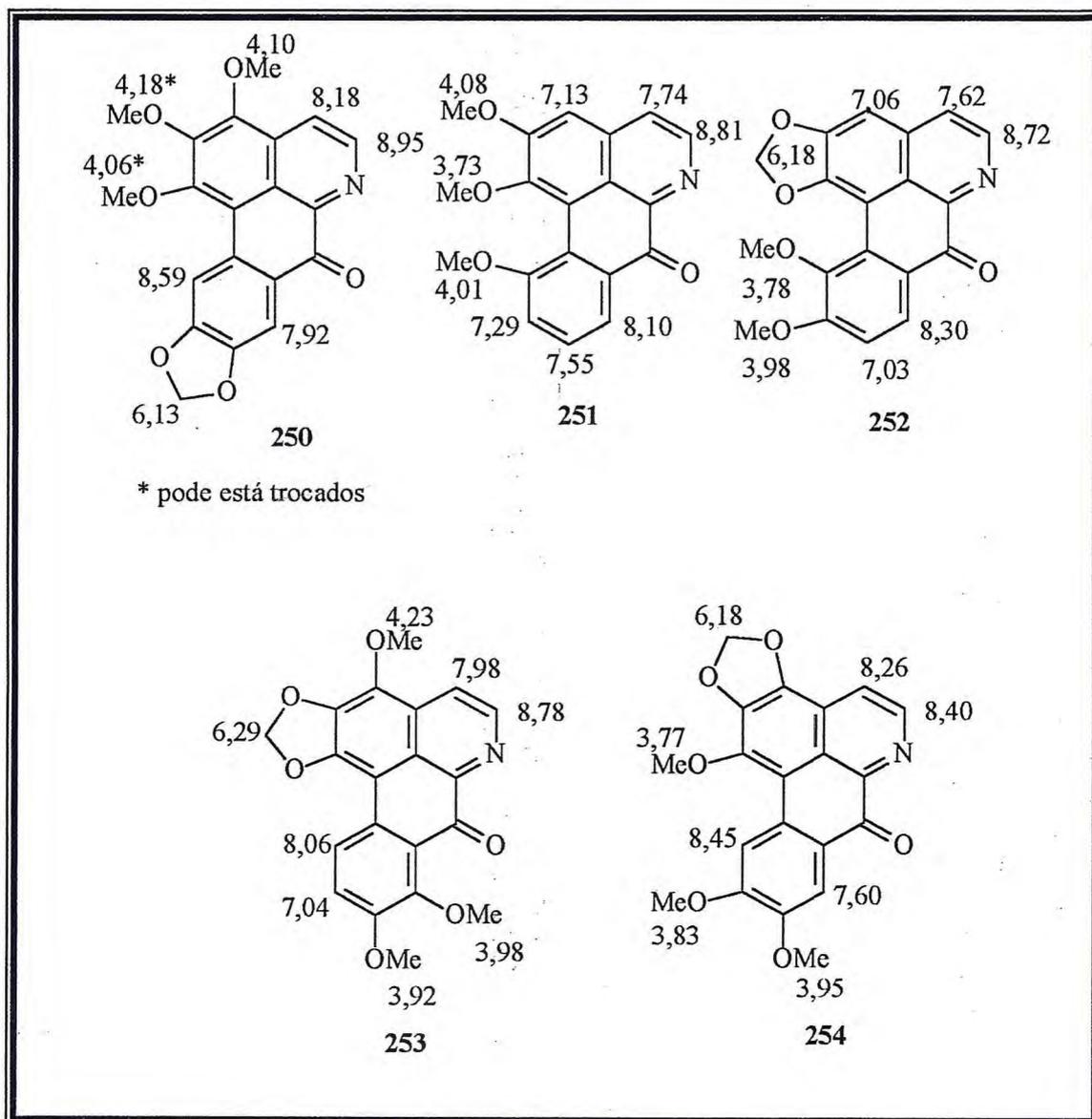
Estes alcalóides podem ser encontrados em outras espécies de Annonáceas e podem possuir diversos substituintes, como os grupos hidroxilas e metoxilas, além do grupo dioxometileno.

A *O*-metilmoschatolina (175) e oxobuxifolina (176) (Wijeratne et al., 1996), oxoestefanosina (184) (Pharadai et al, 1985) , aterolina (248) e maquiglina (249) (Talapata et al., 1982), oxofoebina (250) (Castro et al., 1986), 1,2,11-trimetóioxoaporfina (251) (Saa et al., 1985), (Pharadai et al, 1985), oxo-*O*-metilbubocapnina (252) , kuafumina (253) e oxocrebanina (178) (Wu et al., 1987) e 7-oxobaicalina (254) (Maekh et al., 1986), são alguns exemplos. A constante de acoplamento entre os hidrogênios 4 e 5 é geralmente entre 5,0 a 5,5 Hz e os deslocamentos químicos ficam em torno de  $\delta$  7,7 para H-4 e  $\delta$  8,7 para H-5. Quando há substituição (grupos oxigenados) em C-3, ocorre uma desproteção em H-4 e seu deslocamento químico, pode chegar a  $\delta$  8,2, como visto no composto (150) . O sinal referente ao grupo metileno dioxo, quando presente, como nos compostos (178) e (249), aparece por volta de  $\delta$  6,3. O valor de deslocamento químico para os prótons metoxílicos pode chegar a  $\delta$  4,2 quando o grupo está estericamente impedido, como observado em (250) e (253), caso contrário, o sinal pode ser visto na faixa de  $\delta$  3,75 a 3,98. O Quadro 04 mostra dados de RMN<sup>1</sup>H de alguns alcalóides oxoaporfínicos.

Quadro 04 – Dados de RMN<sup>1</sup>H de alcalóides de núcleo oxoaporfínicos

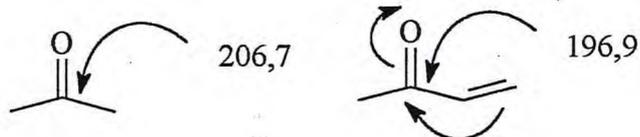


Quadro 04 (continuação)

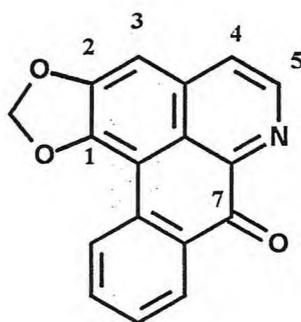


### 2.4.3.2 Ressonância Magnética Nuclear de <sup>13</sup>C de alcalóides de núcleo oxoaporfínicos

O sinal de carbono de grupo carbonila em C-7 aparece em torno de  $\delta$  180. Esta proteção do carbono carbonílico se deve a deslocalização de elétrons por ressonância entre os anéis benzênicos ou ligações duplas e o grupo carbonila, de forma que C-7 seja menos deficiente em elétrons que uma cetona alifática.



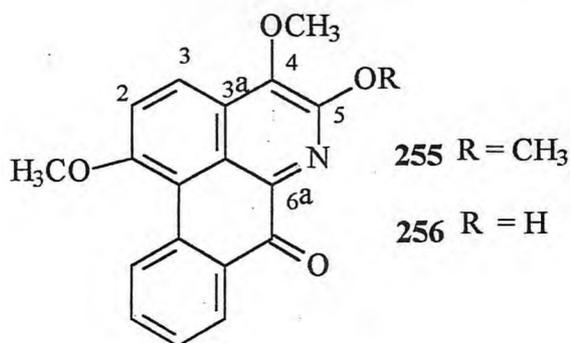
A literatura relata o isolamento de vinte e cinco alcalóides do tipo oxaporfínico. Destes, quatorze já foram isolados de Annonáceas e o alcalóide liriodenina (173) é comumente o mais encontrado, principalmente nos gêneros *Annona* e *Xilopia*.



173

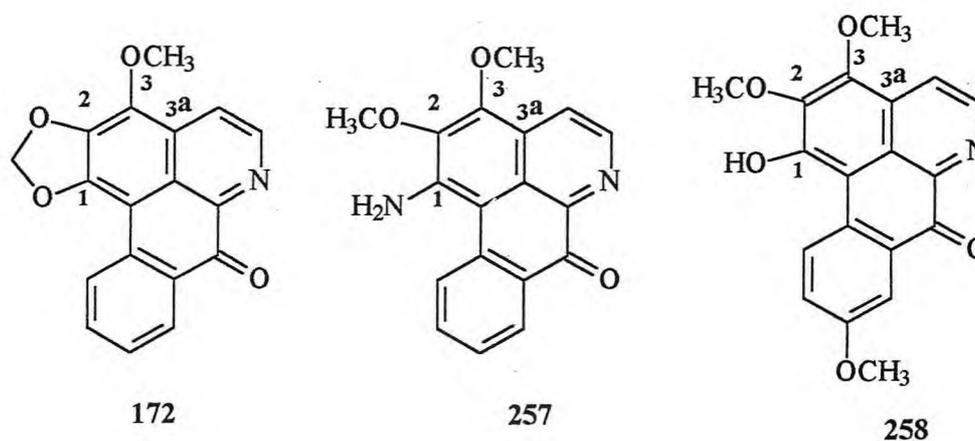
A presença do grupo metilenodióxido entre C-1 e C-2 pode ser evidenciado por um sinal característico em torno  $\delta$  103,0. Os carbonos 4 e 5, quando não substituídos, o que ocorre na maioria dos alcalóides oxaporfínicos, aparecem em torno  $\delta$  123,0 e 145,0 respectivamente. Em compostos como a artabonatina C, (255), e artabonatina D, (256), estes carbonos encontram-se oxigenados, sendo que o C-4 ( $\delta$  140,9) mostra-se mais protegido que C-5 ( $\delta$  169,0), já que o último encontra-se ligado a dois átomos fortemente eletronegativos.

Os compostos (255) e (256) foram os primeiros alcalóides de núcleo oxaporfínicos relatados que não apresentam substituição em C-2 (Hsieh et al., 2001).

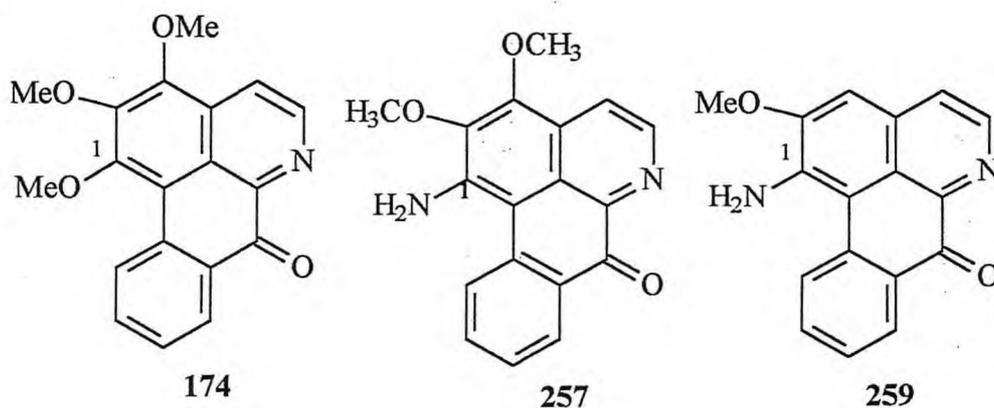


A proximidade de um grupo oxigenado em C-4 causa, uma relativa proteção em C-3a nos compostos (255) e (256) devido a efeitos mesomérico que aumenta a densidade eletrônica sobre este carbono, como mostrado na tabela 03. Os grupos em C-4 e C-5 também influenciam no deslocamento químico de C-6a, causando uma diferença de aproximadamente 20 ppm para mais, quando se compara o deslocamento químico do mesmo carbono na liriodenina (173). Os deslocamentos químicos dos carbonos do anel não substituído são sofrem alterações apreciáveis.

Os carbonos 1 e 2 oxigenados apresentam sinais de deslocamento químico entre  $\delta$  150,0 e 160,0. No entanto a presença de um grupo metoxila ou hidroxila em C-3 causa uma proteção adicional em C-1 de aproximadamente 10 ppm, podendo o sinal de C-1 aparecer em torno de  $\delta$  140,0. O efeito protetor do grupo oxigenado em C-3 também tem muita influência no deslocamento químico de C-2 e C-3a visto que este mostra sinal de RMN<sup>13</sup>C em  $\delta$  130,0. É o caso dos alcalóides lanuginosina (172) teladiazolina (257) e sinofranina (258) (Xu et al., 2004).



Assim como a teladiazolina (257), a telazolina (259) apresenta um grupo amino ligado a C-1. O deslocamento químico de C-1 em (259) mostra uma diferença de aproximadamente 10 ppm para campo mais alto, em relação ao mesmo C-1 quando este se encontra ligado a grupos oxigenados, o que pode ser visto quando se comparam (259) e a lisicamina (174).



Grupos oxigenados em C-8 , podem causar uma ligeira proteção ao carbono carbonílico (C-7), cujo deslocamento químico fica em torno de  $\delta$  178, o que sugere uma maior densidade eletrônica neste carbono , causada por ressonância. Isto pode ser visto na oxoestefanina (184) (Jossang et al., 1984). Os dados de carbono-13 para os alcalóides citados encontram-se descritos na Tabela 04 .

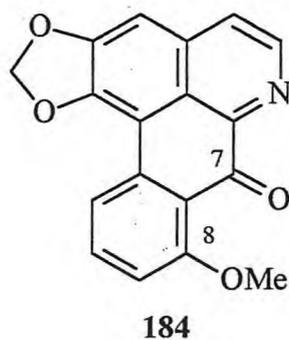
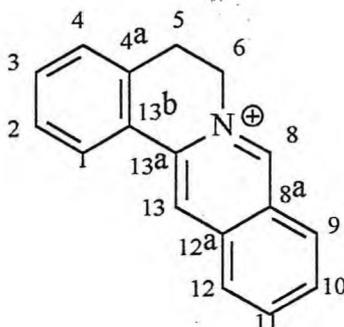


Tabela 04 – Dados de RMN<sup>13</sup>C de alcalóides de núcleo oxoaporfínicos

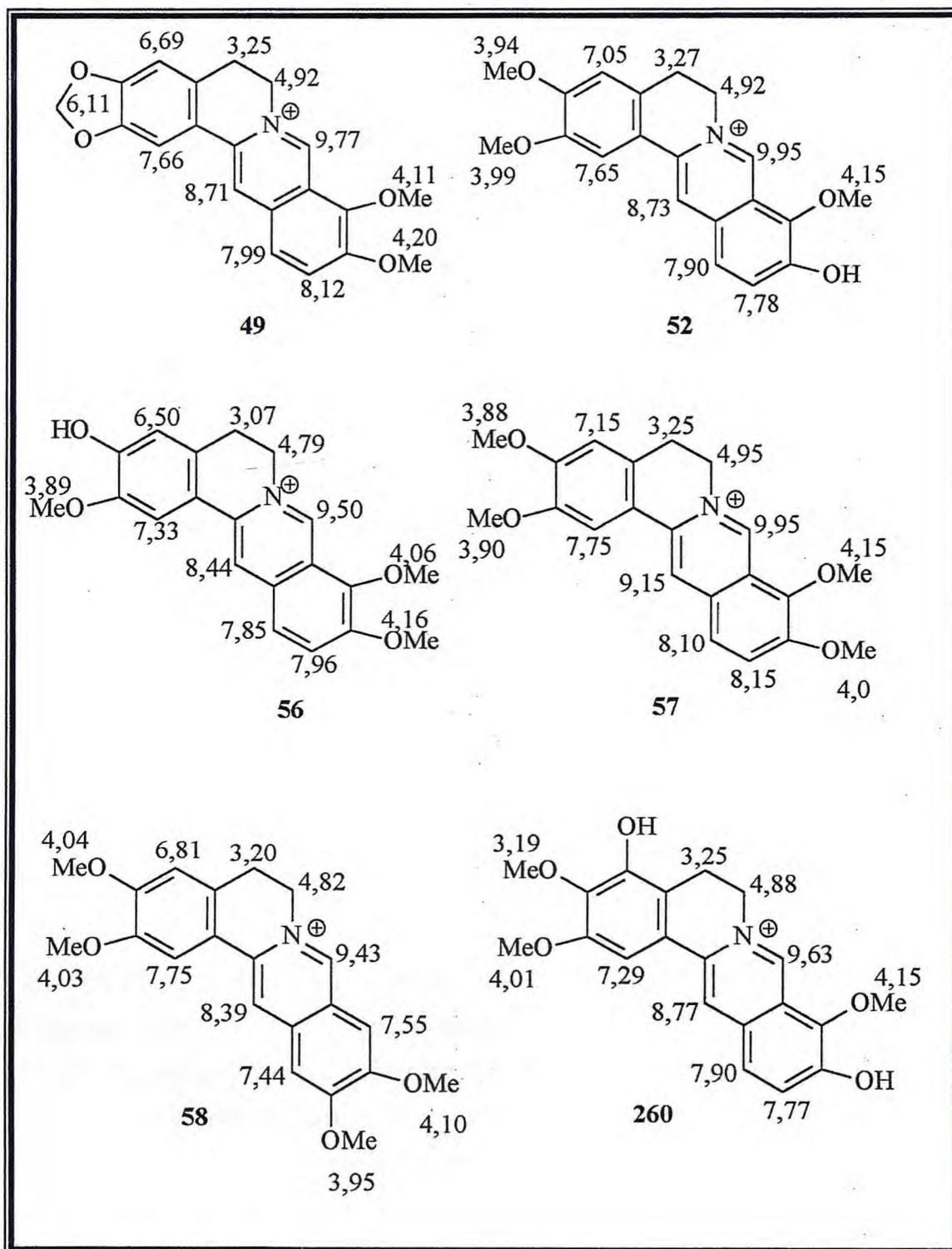
C	172	173	174	184	255	256	257	258	259
1	157,8	148,6	140,6	163,0	130,2	130,8	143,3	140,6	139,8
2	152,2	152,3	154,6	166,1	135,5	135,3	143,2	154,6	152,4
3	159,0	103,5	160,9	105,7	111,5	110,2	146,3	160,9	104,1
3a	123,0	145,1	130,3	145,5	111,7	119,3	129,0	130,3	123,0
3b	118,0	123,5	117,4	136,8	131,0	132,3	123,6	117,4	122,8
4	122,7	124,9	122,7	128,2	140,9	136,8	118,6	122,7	123,4
5	143,6	144,6	143,6	142,2	169,0	164,8	143,1	143,6	143,4
6a	143,7	136,3	143,7	161,5	162,0	149,4	144,0	143,7	143,8
7	181,6	182,8	181,6	177,9	180,5	179,0	182,4	181,6	182,5
7a	127,4	131,3	127,4	118,0	134,3	131,8	131,9	127,4	132,4
8	127,1	128,8	128,2	154,9	127,4	123,8	129,5	107,1	129,5
9	128,1	128,9	128,9	115,4	128,8	125,9	126,4	160,9	126,8
10	132,5	134,4	132,3	135,1	134,6	133,9	133,6	116,0	133,5
11	128,9	127,7	127,8	123,6	128,3	128,3	124,3	127,0	124,8
11a	134,0	133,2	133,8	137,8	134,8	136,6	136,1	131,9	136,0
11b	108,0	108,1	108,9	124,3	115,3	100,2	104,1	106,0	107,0
-CH <sub>2</sub> -	103,2	103,0	-	107,4	-	-	-	-	-
OMe-1	-	-	57,2	-	47,0	47,1	-	-	-
OMe-2	-	-	57,8	-	-	-	60,8	61,6	56,3
OMe-3	58,5	-	61,0	-	-	-	61,4	61,7	-
OMe-4	-	-	-	-	59,7	59,7	-	-	-
OMe-5	-	-	-	-	60,5	-	-	-	-
OMe-8	-	-	-	57,5	-	-	-	-	-
OMe-9	-	-	-	-	-	-	-	55,8	-

### 2.4.3.3 - Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ de alcalóides de núcleo protoberberina

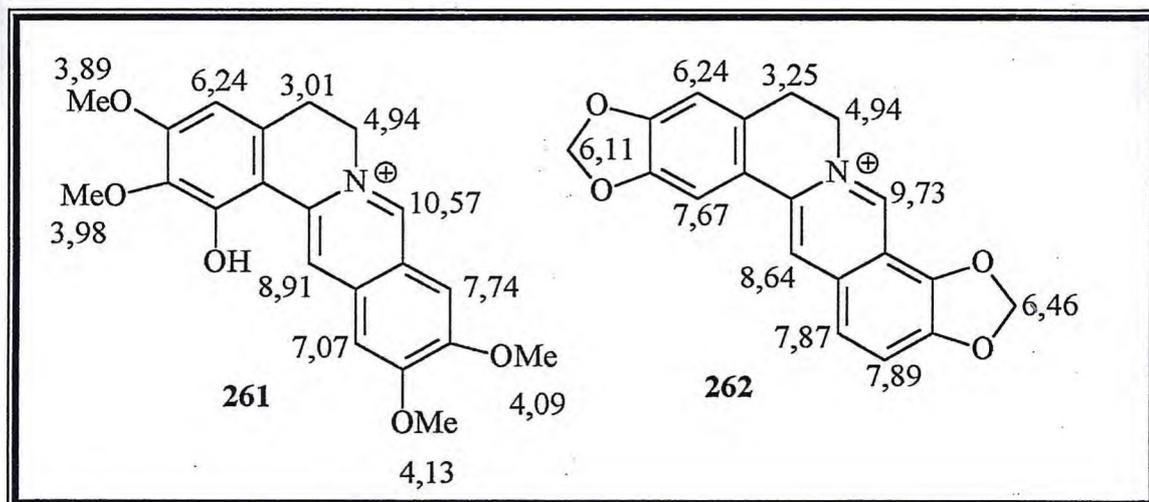
Os alcalóides protoberberina são alcalóides quaternários que possuem a estrutura básica mostrada abaixo:



Estes alcalóides são caracterizados por um sinal no espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  em torno de  $\delta$  9,0 atribuído a H-8. Esta desproteção se deve ao fato de H-8 estar ligado a um carbono que possui uma carga parcial positiva muito grande devido ao efeito indutivo causado pelo átomo de nitrogênio ao qual está ligado. Alguns valores de deslocamento de H-8 podem chegar até próximo de 10 ppm, como visto na berberina (49), jatrorrizina (56) e coptisina (262) (Kim et al., 2000), desidrocoridalmina (52) (Chang et al., 2000), na palmatina (57) (Wafo et al., 1999), na pseudo-palmatina (58) (Suau et al., 1991) e na fisisaina (260) (Chia et al., 1998). Na estefabina (261) (Patra et al., 1987), o sinal de H-8 aparece por volta de  $\delta$  10,57. Os hidrogênios H-5<sub>eq</sub>, H-5<sub>ax</sub> possuem o mesmo deslocamento químico já que a estrutura é rígida. O mesmo ocorre com H-6<sub>eq</sub>, H-6<sub>ax</sub>. Estes deslocamentos aparecem por volta de  $\delta$  3,0 para H-5 e  $\delta$  4,5 para H-6. Os últimos são mais desprotegidos devido a proximidade com o átomo de nitrogênio. O H-13 também é bem desprotegido. Seu sinal geralmente pode ser visto na faixa de  $\delta$  8,5 a 9,2. No Quadro 05 são mostrados dados de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de alguns alcalóides protoberberina.

Quadro 05 – Dados de RMN<sup>1</sup>H de alguns alcalóides de núcleo protoberberina

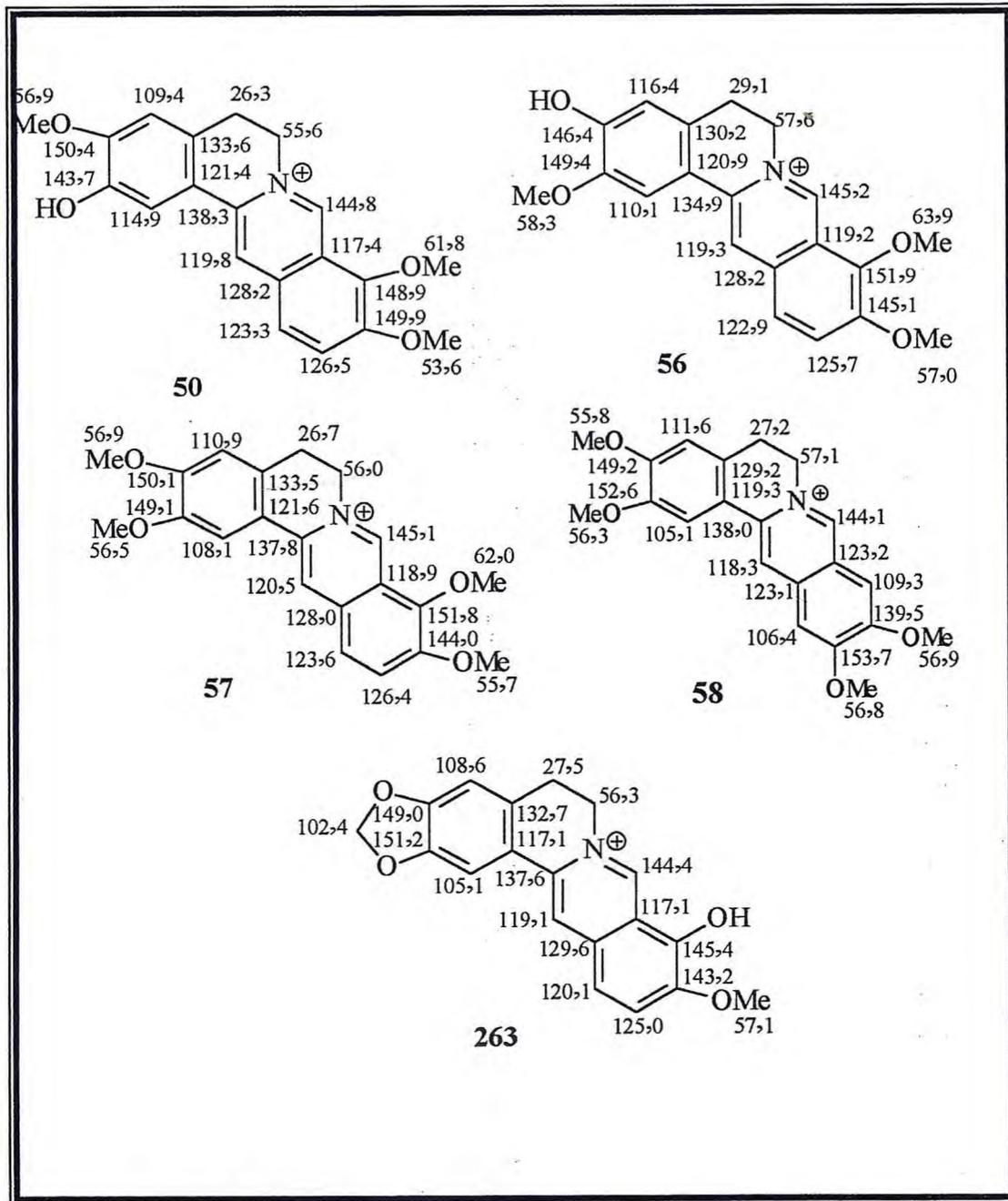
Quadro 05 (continuação)



#### 2.4.3.4 Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ de alcalóides protoberberina

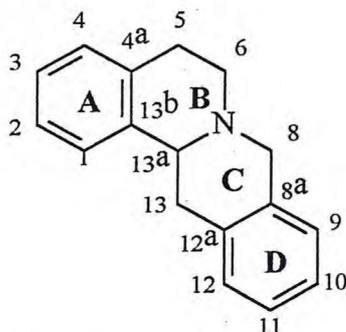
O fato de C-8 fazer parte de um sistema tipo imino ( $\text{C} = \text{N}^+$ ), torna este carbono muito desprotegido e seu sinal aparece na faixa de  $\delta$  144,0 a 146,0. C-13 absorve na região de carbono olefínico ( $\delta$  110 – 130); enquanto C-13a absorve em torno  $\delta$  136 devido sua proximidade com o nitrogênio. Os carbonos metilênicos alifáticos C-5 e C-6 são vistos como sinais de absorção em torno de  $\delta$  27 para C-5 e  $\delta$  55 para C-6.

Geralmente os carbonos 2 e 3 apresentam grupos metoxila, hidroxila ou metileno dioxo como substituintes. Na palmatina (57) (Rasoanaivo et al., 1991), estes carbonos absorvem em  $\delta$  149,1 e 150,1 respectivamente. Valores na faixa de  $\delta$  145 e 150 foram observados para os carbonos 9 e 10, quando estes se encontram substituídos pelos grupos anteriormente citados. Observou-se que quando um grupo metoxila encontra-se ligado ao carbono 9, o carbono metoxílico é mais desprotegido que o mesmo tipo de carbono localizado em outras posições. Atribui-se isto, a impedimento estérico sofrido por este grupo, tanto por parte do carbono 8 como por outro grupo metoxila por ventura localizado em C-10, o que é bastante comum. Nos alcalóides analisados, notou-se que C-8a apresenta-se mais protegido que C-12a, geralmente em torno de  $\delta$  118,0. Na Quadro 06 são mostrados os deslocamentos químicos de alguns alcalóides protoberberina como a columbamina (50), jatrorrizina (56), palmatina (57) (Rasoanaivo et al., 1991), a pseudo-palmatina (58) e a berberrubina (263) (Suau et al., 1991).

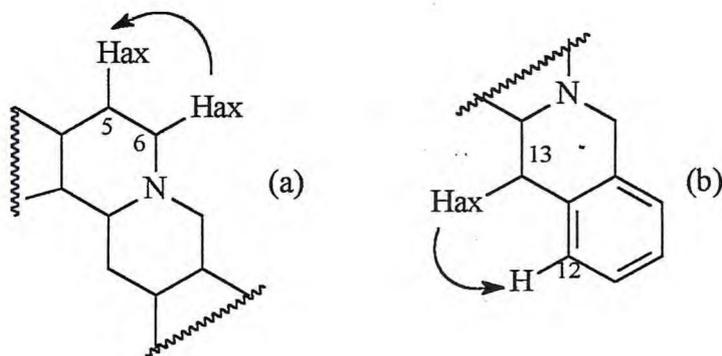
Quadro 06 – Dados de RMN<sup>13</sup>C de alguns alcalóides protoberberina

### 2.3.3.5 - Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ de alcalóides tetrahidroprotoberberina

Os alcalóides tetrahidroprotoberberina são alcalóides que possuem ao esqueleto básico mostrado abaixo:



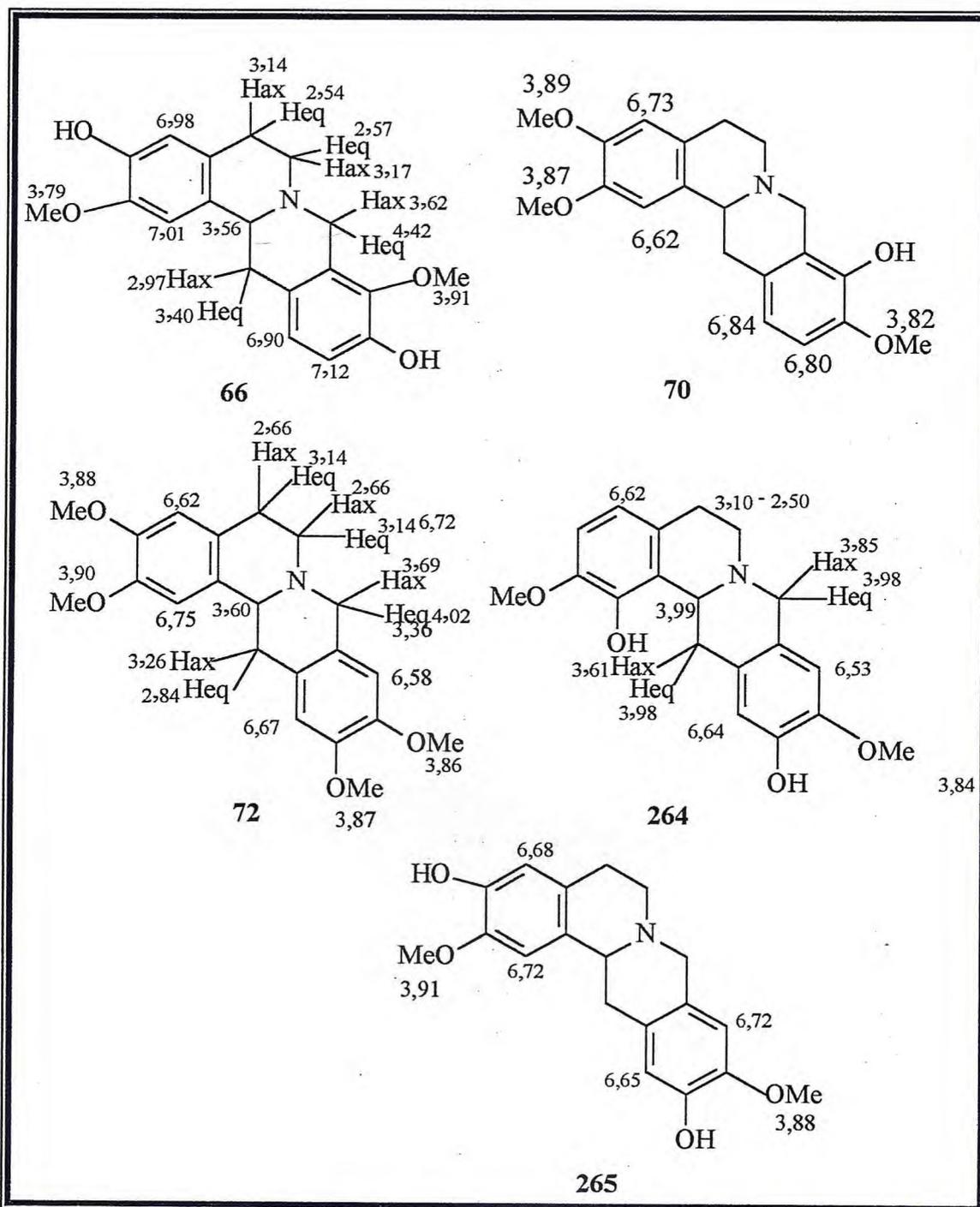
Nestes alcalóides como a estrutura não é rígida, os hidrogênios H-5eq e H-5ax, assim como H-6eq e H-6ax absorvem em diferentes regiões do espectro. Geralmente seus sinais são multipletos devido a acoplamentos geminais e vicinais, na faixa de  $\delta$  2,0 a 3,5. Como H-8eq e H-8ax estão isolados, apenas o acoplamento geminal é observado, e os sinais destes hidrogênios aparecem como dubletos com constante de acoplamento em torno de 12 Hz, sendo que H-8ax tem seu deslocamento químico em torno de  $\delta$  4,0. H-13ax é bem desprotegido em torno de  $\delta$  3,60. Os deslocamentos de H-13eq e H-13ax são muito semelhantes aos deslocamentos químicos de H-5eq e H-5ax. A análise do espectro obtido pelo experimento NOESY pode diferenciá-los, pelas correlações que devem ser observadas entre os hidrogênios dos grupos metilênicos 5 e 6 (a) e acoplamento de H-13ax ou H-13eq com H-12 (b).



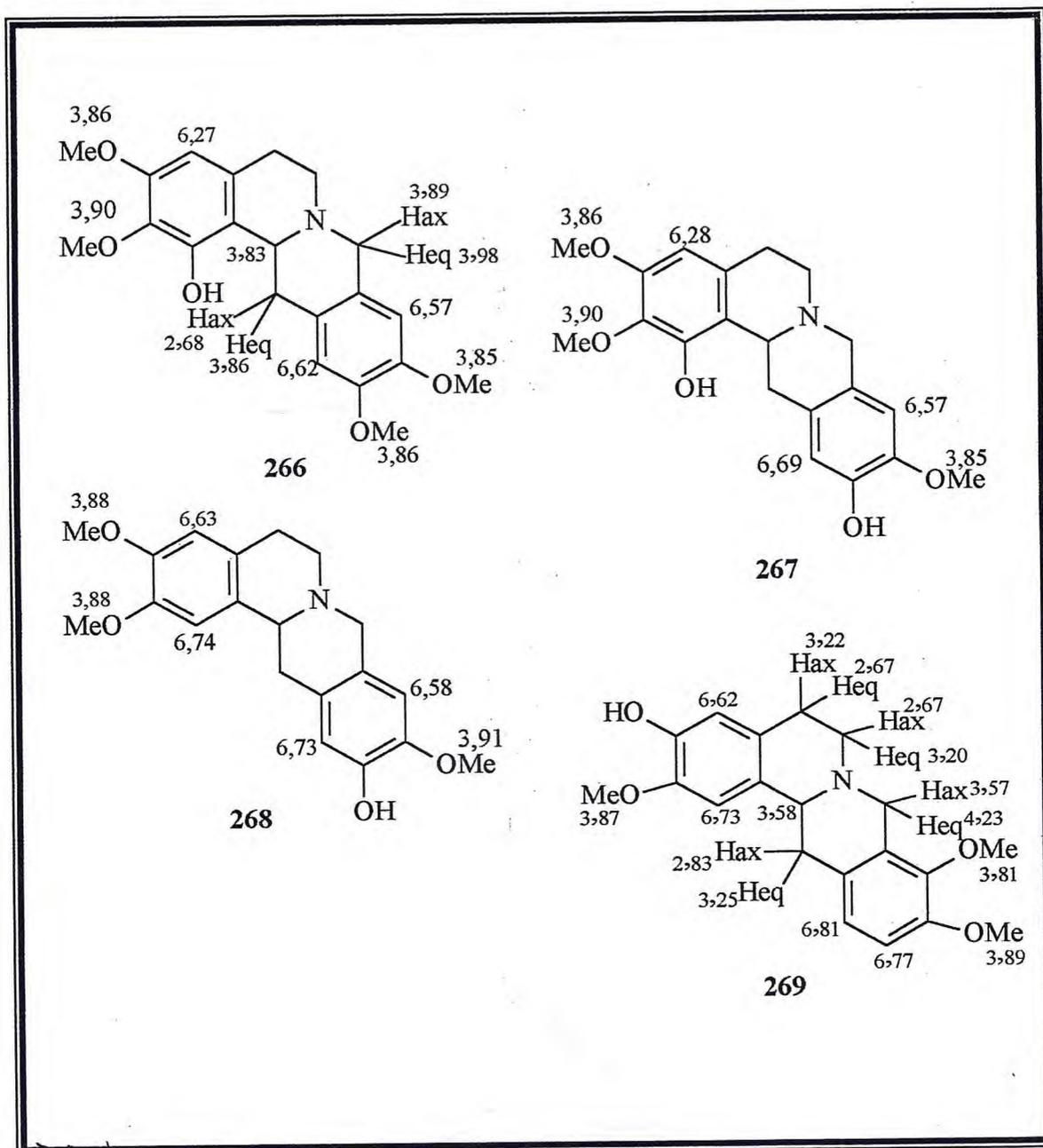
A discretamina (66) e a tetrahidrojatrorrizina (269) (Sette et al., 2000), a kikemanina (70) (Brochmann-Hanssen et al., 1977), caseamina (264) (Suau et al.,

1988), Isocoreximina (265) (Tsai et al., 1998), xilopinina (72), tetrahydroestefabina (266), estafabinamina (267) e coritenquina (268) (Patra et al., 1987) são alguns exemplos. No Quadro 07 são apresentados dados de RMN<sup>1</sup>H de alguns alcalóides do tipo tetrahidroprotoberberina.

Quadro 07 – Dados de RMN<sup>1</sup>H de alguns alcalóides tetrahidroprotoberberina



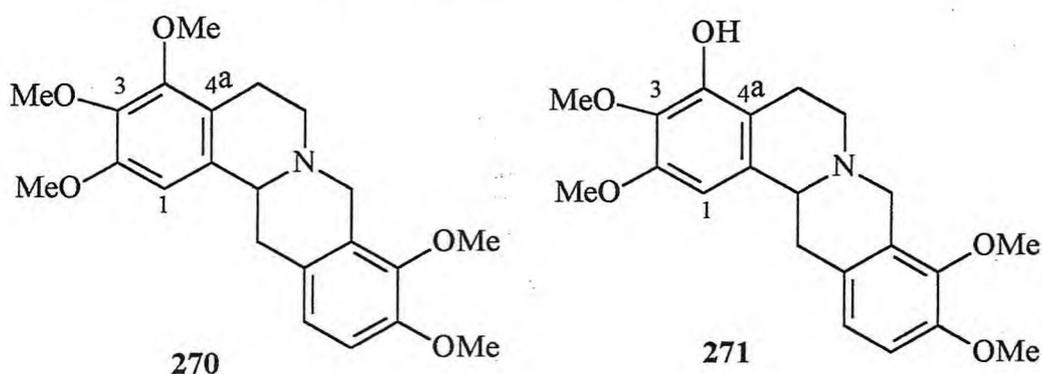
Quadro 07 (continuação)



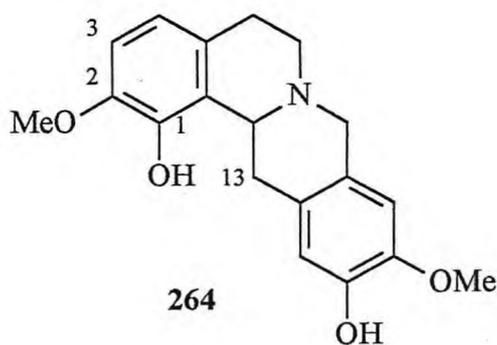
### 2.3.3.4 - Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ de alcalóides tetrahidroprotoberberina

Com exceção dos carbonos 8 e 13 e 13a, os deslocamentos químicos dos outros carbonos são semelhantes aos deslocamentos químicos dos carbonos dos alcalóides do tipo protoberberina. C-8 como carbono  $sp^3$  absorve em torno de  $\delta$  54,0, valor praticamente igual ao deslocamento químico de C-6. No entanto, devido ao fato de está mais impedido estericamente, C-8 é levemente mais desprotegido por aproximadamente  $\delta$  3,0.

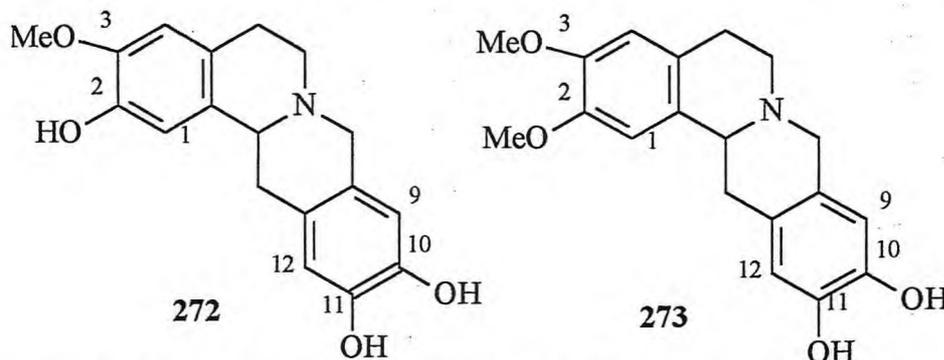
Alcalóides com substituição no carbono 4, como *O*-metiltaicanina (270) e taicanina (271), causa uma proteção aos carbonos 1, 3 e 4a. No entanto os valores de deslocamentos químicos para C-13b, mostraram-se maiores que valores de absorção do mesmo carbono em alcalóides que não apresentam esta substituição.



C-13 é um pouco mais desprotegido que C-5, pois está mais impedido estericamente, e absorve na faixa de  $\delta$  34,0 – 36,0. Uma exceção é a caseamina (264), onde este valor chega a  $\delta$  31,5. Este composto é um dos raros alcalóides de núcleo tetrahidroprotoberberina que não apresenta substituição no carbono 3, cujo sinal é visto em torno de  $\delta$  110,0.



Do mesmo modo que a caseamina (264), a pessoina (272) e a espinosina (273) apresentam substituição nos carbonos 10 e 11. Este padrão de substituição parece induzir uma proteção no carbono 12, que mostrou absorção em torno de  $\delta$  114,0. Este mesmo carbono, absorve na faixa de  $\delta$  123,0 a 124,0 em alcalóides 9,10 substituídos.



Observou-se ainda que carbonos de grupo metoxila ligado a C-9, tendem a ser mais desprotegidos que os mesmos carbonos, quando ligados a C-2 ou C-10. Atribui estes valores de absorção ao impedimento estérico sofrido por este grupo. O mesmo ocorre quando o alcalóide apresenta substituição em C-4. O carbono metoxílico ligado ao carbono 3, mostra-se mais desprotegido que OMe-2 e OMe-4. Para estes carbonos, o deslocamento químico fica em torno de  $\delta$  60,0, enquanto a absorção na faixa de  $\delta$  55,0 a 56,0 é registrado para carbonos de outros grupos metoxílicos.

Na Tabela 05 estão registrados dados de RMN<sup>13</sup>C de alguns alcalóides de núcleo tetrahidroprotoberberina como discretamina (66) e a tetrahidrojatrorrizina (269) (Sette et al., 2001), a tetrahidropalmatina (71), a *O*-metiltaicanina (270) e taicanina (271) isoladas de *Parabaena sagittata* (Ruangrungsi, 1986), a caseamina (264) isolada de *Ceratocarpus heterocarpus* (Suau et al., 1988), a pessoina (272) e espinosina (273) isoladas de *Annona spinescens* (Queiroz et al., 1996), tetrahidroberberina (274) e tetrahydrocoptisina (275) isoladas de *Corydalis bulbosa* (Miyazawa et al., 1998).

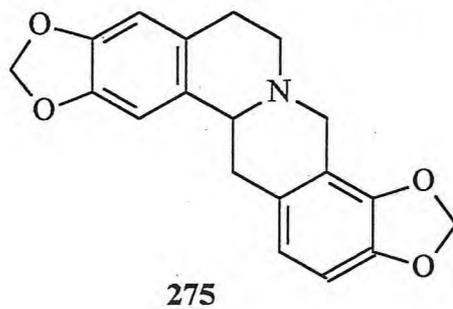
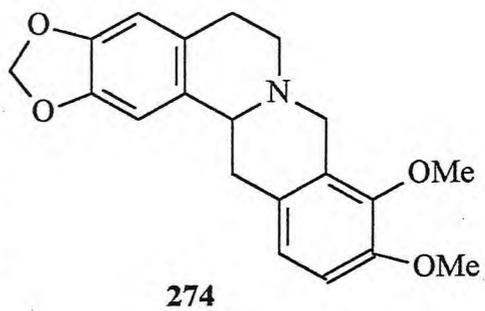
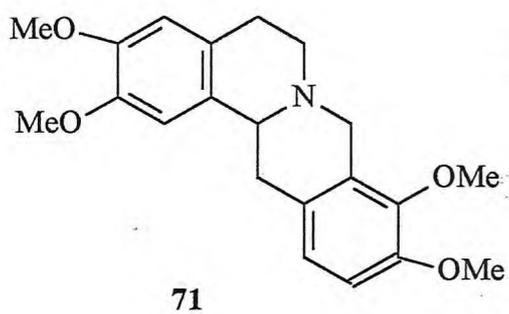
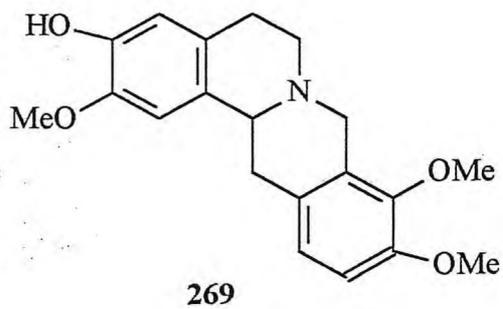
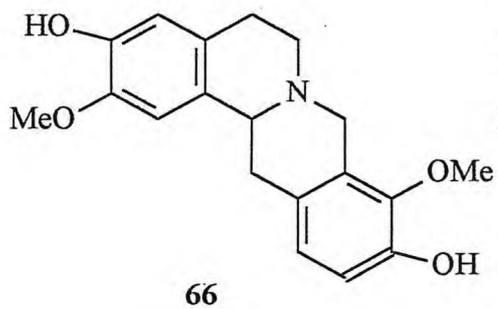
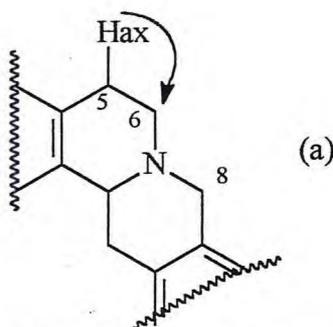


Tabela 05 – Dados de RMN<sup>13</sup>C de alguns alcalóides tetrahidroprotoberberina

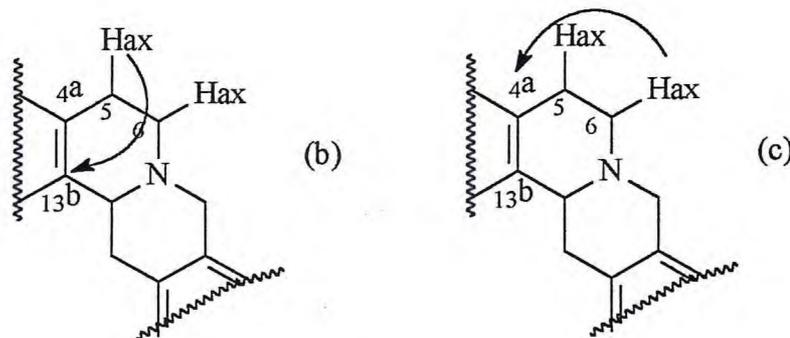
C	66	71	264	269	270	271	272	273	274	275
1	110,1	108,9	143,0	109,0	104,6	100,6	111,3	108,8	105,5	105,5
2	147,3	147,6	146,0	147,9	150,8	150,4	144,0	147,2	145,9	144,9
3	146,5	147,6	110,3	146,8	140,5	133,7	145,0	147,7	146,1	146,0
4	116,2	111,5	118,8	114,5	151,8	146,3	110,5	111,1	108,3	108,4
4a	127,8	129,9	128,8	126,8	121,4	114,8	124,7	125,7	127,7	127,7
5	29,2	29,1	29,5	29,5	23,6	23,1	17,7	27,8	29,5	29,5
6	51,9	51,5	47,9	51,8	51,2	50,9	51,0	50,9	51,6	51,2
8	54,6	54,0	57,8	54,1	54,0	54,1	57,4	57,4	53,9	52,9
8a	126,8	126,9	127,2	127,0	127,7	127,7	124,3	124,1	127,8	116,8
9	144,7	150,3	110,3	143,8	150,3	150,2	111,7	112,2	150,2	146,2
10	148,8	145,2	145,3	146,8	145,1	145,0	143,0	142,9	145,0	143,2
11	115,9	111,1	144,8	111,7	111,7	111,0	143,3	143,3	111,0	106,7
12	124,5	123,7	115,3	125,1	123,8	123,7	114,9	114,6	123,8	121,0
12a	129,2	128,7	125,8	128,6	128,7	128,6	124,6	124,6	128,6	128,5
13	36,4	36,4	31,5	36,4	36,4	36,2	34,8	34,9	36,4	36,6
13a	59,9	59,3	55,7	59,6	59,5	59,5	59,2	59,4	59,6	59,7
13b	129,9	127,8	124,8	129,9	133,6	133,7	129,2	128,4	130,8	130,7
OCH <sub>2</sub> O-2,3	-	-	-	-	-	-	-	-	100,7	100,7
OCH <sub>2</sub> O-9,10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	101,0
OMe-2	56,1	55,8	55,9	56,1	55,9	55,9	-	55,7	-	-
OMe-3	59,6	55,8	-	-	60,6	60,6	55,0	55,7	-	-
OMe-4	-	-	-	-	60,9	-	-	-	-	-
OMe-9	-	60,1	-	59,7	60,2	60,2	-	-	60,1	-
OMe-10	-	56,1	56,2	56,4	56,2	55,9	-	-	55,8	-

### 2.3.3.5. Considerações sobre o uso de técnicas bidimensionais na elucidação da estrutura de alcalóide protoberberina e tetrahidroprótoberberina.

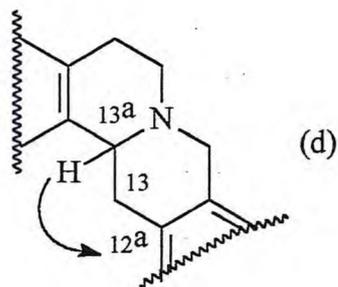
Os valores de deslocamento químico para os carbonos 6 e 8 de alcalóides de núcleo tetrahidroprotoberberina são muitos próximos. Um forma de distinguir estes carbonos faz-se através do experimento de  $\text{RMN}^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{HMBC} - {}^n\text{J}_{\text{CH}} - n = 2 \text{ e } 3$ . Neste experimento pode-se observar sinais de correlação entre H-5ax ou H-5eq e o carbono 6 (a). A correlação com o carbono 8, não seria observada.



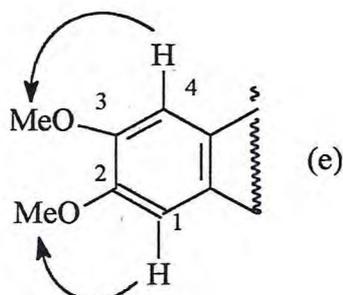
A mesma técnica pode ser utilizada para diferenciar os carbonos  $sp^2$  não hidrogenados 4a e 13b, por acoplamento observado entre H-5ax ou H-5eq com C-13b (b) e os hidrogênios H-6ax ou H-6eq com o carbono 4a (c).



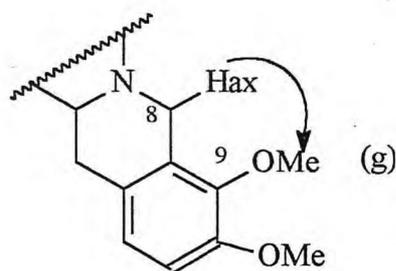
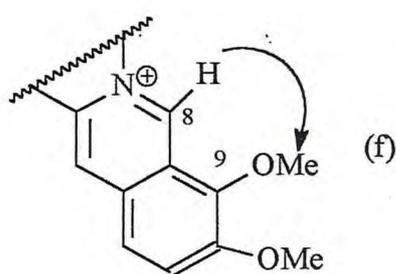
A atribuição da absorção de C-12a é dada com base no sinal de acoplamento de H-13a e este carbono (d). Por exclusão obteria-se o valor de deslocamento químico de C-8a.



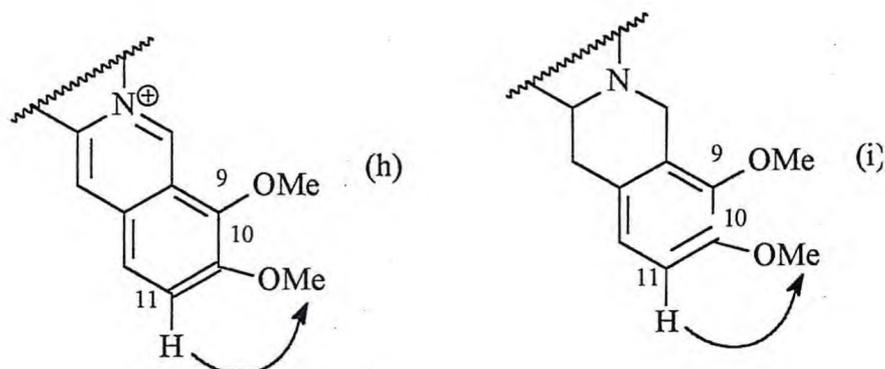
A posição de grupos metoxila na estrutura de alcalóides tetrahidroprotoberberina, pode ser atribuída não só pelo padrão de hidrogenação visto no espectro  $\text{RMN}^1\text{H}$ , mas também, pelo experimento de  $\text{RMN}^1\text{H} \times ^1\text{H} - \text{NOESY}$ , que mostra correlações espaciais entre hidrogênios próximos. Desta forma é possível indicar a posição de um grupo metoxila no carbono 2 pela correlação de H-1 e os hidrogênios desse grupo (e). A mesma análise pode ser usada para confirmar a posição de um grupo metoxila em C-3.



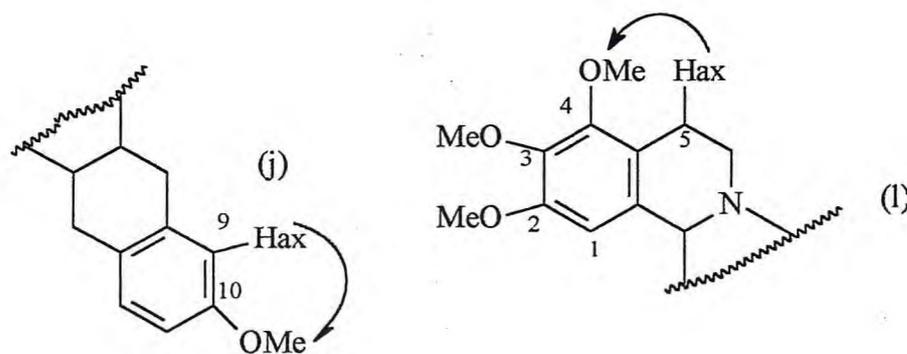
Se um grupo metoxila ocupa a posição 9, pode-se observar um sinal de acoplamento entre os hidrogênios metoxílicos e H-8 (núcleo protoberberina) (f) e H-8ax ou H 8eq (núcleo tetrahidroprotoberberina) (g).



Um sinal de correlação entre H-11 e o grupo OMe-10 (h) e (i) visto no diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  - NOESY, confirma a posição deste grupo.



No caso da caseamina (264), a posição do grupo metoxila no carbono 10 pode ser confirmada por sinal de correlação entre este os hidrogênios deste grupo metoxila e H-9 (j). A posição de um grupo metoxila em C-4, como na *O*-metiltaicanina (270), pode ser confirmada pelo acoplamento observado entre H-5ax ou H-5eq e os hidrogênios do referido grupo (l).



As técnicas HMBC e NOESY são acompanhadas pelo experimento de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMQC -  $^1J_{\text{CH}}$  que correlaciona cada carbono a seus respectivos hidrogênios. O uso destas técnicas é essencial para a elucidação de forma inambigua, da estrutura química dos compostos orgânicos.

## **CAPÍTULO 03**

### ***Determinação estrutural***

### 3 – Determinação estrutural

#### 3.1 – Determinação da constituição química dos óleos essenciais de *Rolliniopsis leptopetala* e *Zanthoxylum articulatum*

##### 3.1.1 – Introdução

O termo óleo essencial pode ser definido como uma mistura líquida de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas (Simões, 2000), que podem ser extraídos de várias partes da planta (folhas, flores, raiz, tronco) por diversas técnicas, sendo a destilação por arraste com vapor de água, a mais utilizada.

Os constituintes químicos destes óleos possuem uma grande variedade estrutural desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois terpênicos simples a fenóis, aldeídos, cetonas, éteres, ésteres, óxidos, ácidos carboxílicos, lactonas e cumarinas. Estes compostos se encontram em diferentes concentrações na mistura, sendo que, geralmente um deles é o constituinte majoritário (Costa, 2001).

O estudo dos óleos essenciais de *R. leptopetala* foi realizado com um espécime coletado na serra de Ibiapaba no Ceará em fevereiro de 2004 e o óleo essencial de *Z. articulatum* foi obtido à partir de um espécime coletado no município de Jacobina – Ba em fevereiro de 2002.

Foram obtidos os óleos das folhas (OEFRL), do caule (OECRL) de *R. leptopetala* e das folhas de *Z. articulatum* por hidrodestilação em aparelho doseador do tipo Cleanveger, modificado por Gottlieb (Gottlieb e Magalhães, 1960).

A análise da composição química de cada óleo essencial foi realizada utilizando-se cromatografia gás-líquido acoplada a espectrometria de massa (CGL/EM). Os constituintes químicos dos óleos foram identificados através da comparação de seus respectivos espectros de massa com espectros de massa encontrados em banco de dados (espectroteca) (Alencar, et al., 1990), combinada com os índices de Kovats e por comparação visual de seus espectros com espectros registrados na literatura (Adams, 1989).

A quantificação destes constituintes foi obtida, utilizando-se de cromatógrafo gás-líquido acoplado a detector FID. Os resultados dessa quantificação foram descritos em termos percentuais relativos e foram condizentes com as alturas dos picos observados nos cromatogramas obtidos através do experimento CGL/EM.

### 3.1.2 – Constituintes químicos identificados nos óleos essenciais de plantas da família Annonaceae.

O óleo essencial de outras espécies de Annonaceae também são relatados na literatura, como *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Ch. (Keila et al., 2003) que é rico em  $\beta$ -pineno, sabineno, 1,8-cineole e linalol e *Annona squamosa*, cujo o óleo essencial da raiz é constituído principalmente de  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -pineno e  $\alpha$ -humuleno (Arriaga et al., 1996). As atividades analgésica e bactericida são relatadas para o óleo essencial de *Milena tormentosa* e *microbiana* para o de *Polyalthia longifolia* (Leboeuf et al., 1982a). O óleo essencial de *Xylopia pachypodanthium confine* e *Hexalobus cuspidiflorus* demonstraram possuir atividade antimalárica (Boyron et al, 2003).

#### 3.1.2.1 – Óleo essencial de *Rolliniopsis leptopetala*

A análise em CGL/EM do óleo essencial das folhas (0,29 %) de *R. leptopetala* (OEFRL) permitiu identificar dezessete constituintes voláteis (80,53%) referentes aos picos mais intensos do cromatograma (Figura 03, p. 87) sendo dez monoterpenos, dos quais quatro são oxigenados, compreendendo cerca de 47,74 % e sete sesquiterpenos. O 1,8-cineole (16,53 %), linalool (18,65%),  $\alpha$ -terpineol (10,42%) e biciclogermacreno (7,56%) foram os constituintes majoritários.

Na análise do cromatograma (Figura 05, p. 88) do óleo essencial do caule (0,05 %) de *R. leptopetala* (OECRL) foram identificados apenas seis constituintes, sendo todos sesquiterpenos e quatro oxigenados (76,23%) perfazendo um total de 99,98 %. Os constituintes que se encontraram em maior concentração foram o espatulenol (63,93 %), biciclogermacreno (14,44 %) e o *trans*-cariofileno (9,31 %).

Observou-se que o experimento CGL/FID (Figuras 04 e 06, p. 87 e 88) detectou os mesmos constituintes observados nos cromatogramas obtidos por CGL/EM de OEFRL e OECRL, com poucas diferenças percentuais. A quantificação foi realizada, correlacionando-se os picos observados nos cromatogramas fornecido pelo experimento CGL/EM com aqueles obtidos por CGL/FID por mera inspeção, possibilitando verificar os percentuais relativos destes constituintes através da análise das áreas dos picos fornecidos pela técnica FID.

Os resultados destes experimentos encontram-se descritos na Tabela 06 (p. 89) e as estruturas dos principais constituintes encontram-se no Quadro 08 (p.94). OEFRL e OECRL foram testados frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti*. Os resultados do bioensaio mostraram uma atividade larvicida fraca ( $DL_{50}$  104,71 ppm) para o óleo essencial das folhas. Entretanto, o óleo essencial do caule demonstrou uma atividade larvicida promissora ( $DL_{50}$  34,67 ppm).

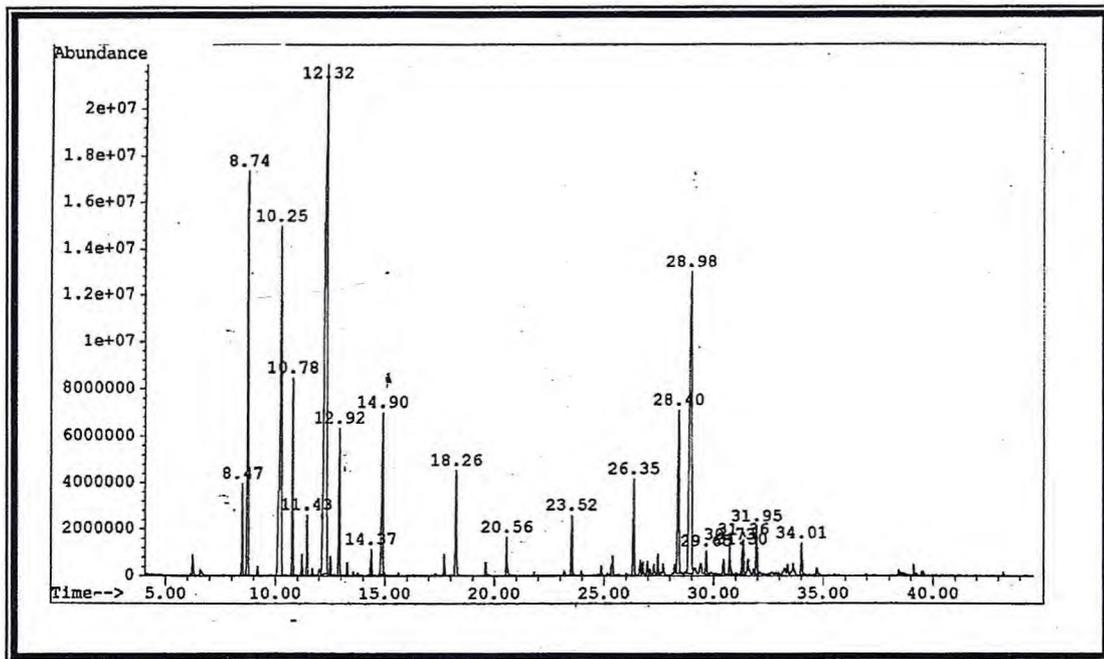


Figura 03 – Cromatograma de íons totais do óleo essencial das folhas de *Roliniopsis leptopetala* obtido experimento CGL/EM

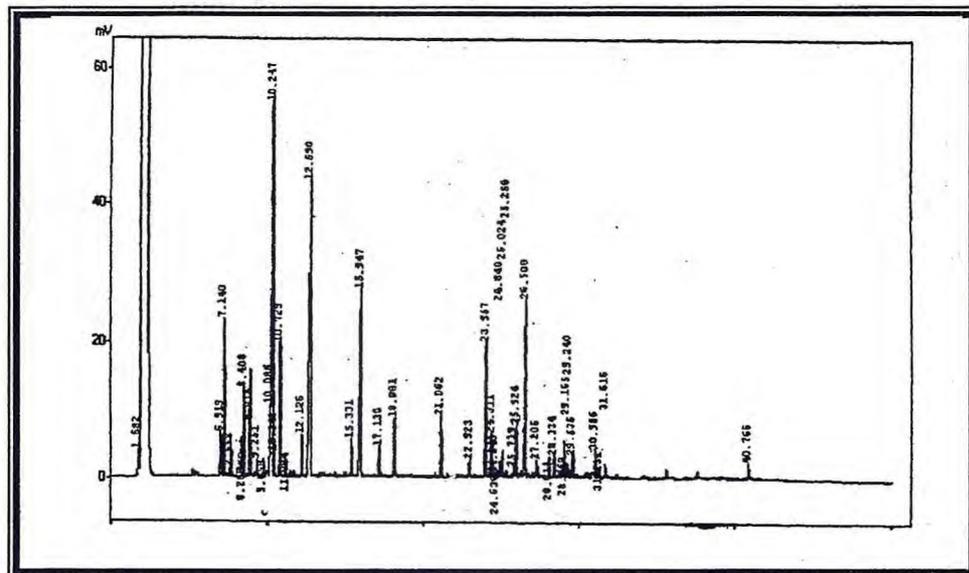


Figura 04 – Cromatograma óleo essencial das folhas de *Roliniopsis leptopetala* obtido no experimento CGL/FID

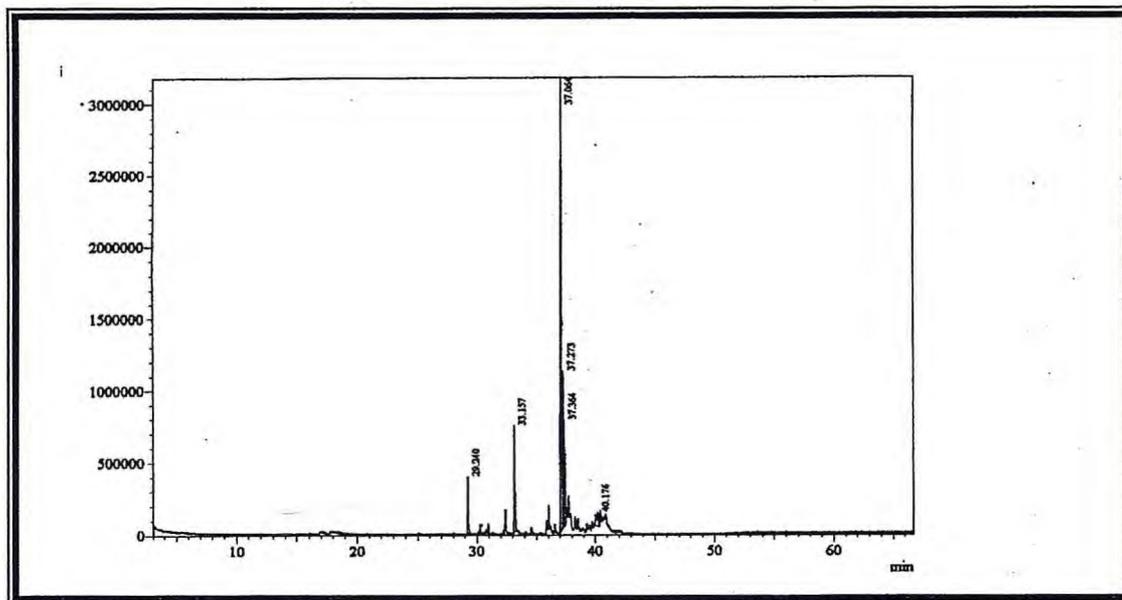


Figura 05 – Cromatograma de ions totais do óleo essencial do caule de *Rolliniopsis leptopetala* obtido pelo experimento CGL/EM

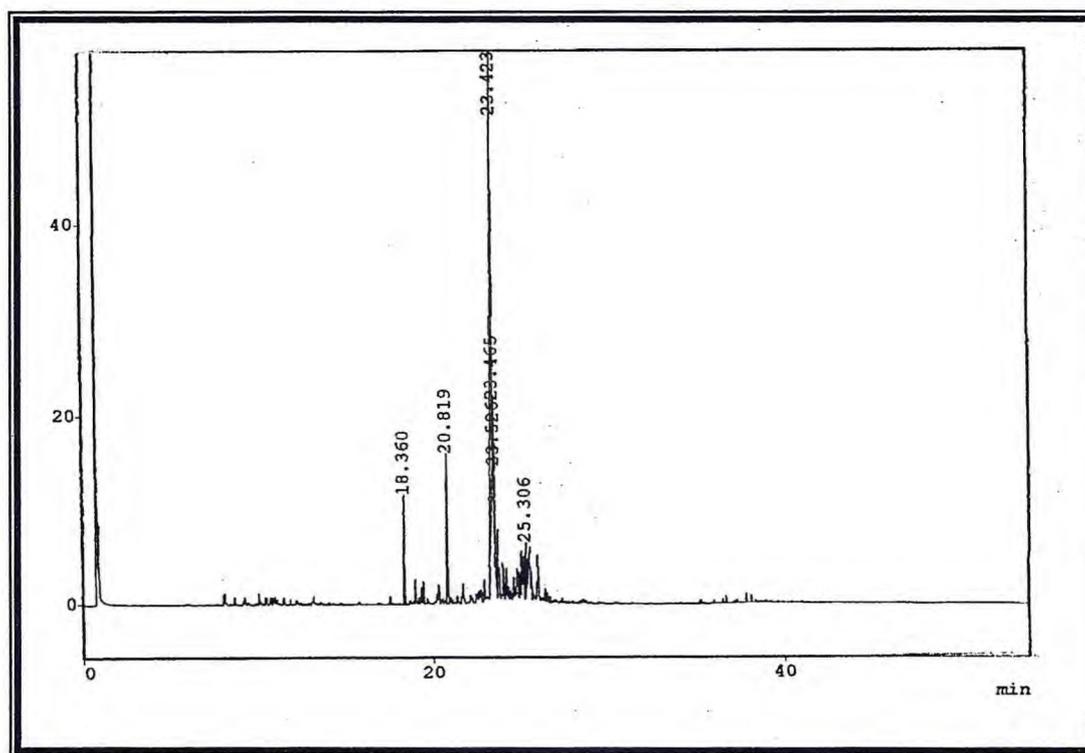


Figura 06 – Cromatograma do óleo essencial do caule de *Rolliniopsis leptopetala* obtido pelo experimento CGL/FID

Tabela 06 - Constituintes químicos voláteis identificados no óleo essencial das folhas e caule de *Rolliniopsis leptopetala*.

Constituinte	I.K.*	% OEFRL	% OECRL
$\alpha$ -Tujeno	930	1,38	-
$\alpha$ -Pineno	939	4,85	-
$\beta$ -Pineno	979	2,60	-
Mirceno	991	3,00	-
1,8-cineole	1031	<b>16,53</b>	-
$\beta$ -Ocimeno	1037	3,40	-
$\alpha$ -Terpinoleno	1089	1,11	-
Linalool	1097	<b>18,65</b>	-
$\alpha$ -Terpineol	1189	<b>10,42</b>	-
Geraniol	1253	2,14	-
<i>E</i> -Cariofileno	1419	4,98	<b>9,31</b>
Biciclogermacreno	1500	<b>7,56</b>	<b>14,44</b>
$\delta$ -Cadineno	1523	0,51	-
Germacreno B	1561	1,60	-
Espatulenol	1578	1,12	<b>63,93</b>
Óxido de Cariofileno	1583	-	2,98
Globulol	1585	-	5,20
Guaiol	1601	0,68	-
epi- $\alpha$ -Muurolol	1642	-	4,12
Total		<b>80,53</b>	<b>99,98</b>

- Índice de Kovats da literatura ( Adams, 1989)
- OEFRL – óleo essencial das folhas de *Roliniopsis leptopetala*
- OECRL – óleo essencial do caule de *Roliniopsis leptopetala*

### 3.1.3 – Constituição química do óleo essencial de espécies do gênero *Zanthoxylum*.

Uma pesquisa na literatura revelou que a composição química de óleos de várias espécies do gênero *Zanthoxylum* foram investigadas. Nas dezesseis espécies estudadas, os constituintes encontrados com maior frequência foram  $\alpha$ -pineno, mirceno,  $\alpha$  e  $\beta$ -felandreno, linalol, 4-terpineol, limoneno,  $\alpha$ -terpineol e geraniol (Facundo, 1999). Estes óleos apresentaram atividade antimicrobiana (Tatsadjieu, et al., 2003). No Brasil algumas espécies também foram estudadas como a *Z. rugosum* e *Z. syncarpum* (Facundo, et al., 1999<sup>b,c</sup>) sendo o *E*-nerolidol, epi- $\alpha$ -bisabolol os constituintes majoritários identificados para *Z. rugosum* e  $\beta$ -elemeno e o germacreno D para *Z. syncarpum*.

#### 3.1.3.1 – óleo essencial das folhas de *Zanthoxylum articulatum*

O óleo essencial das folhas de *Z. articulatum* foi analisado por cromatografia gas-líquido acoplada a espectrômetro de massa (CGL/EM) que forneceu o cromatograma mostrado na Figura 07 (p. 91).

Foram identificados onze constituintes, sendo dois monoterpenos e nove sesquiterpenos, dos quais cinco mostraram ser oxigenados (67,40%) perfazendo um total de 86,44 %. O sesquiterpeno oxigenado viridiflorol (34,40%) foi o constituinte majoritário, acompanhado do espetulenol (9,90%) e do elemol (9,70%).

O experimento CGL/FID detectou os mesmos constituintes observados no cromatograma obtido por CGL/EM com poucas diferenças percentuais. A correlação realizada entre os picos observados nos cromatogramas fornecido pelo experimento CGL/EM com aqueles obtidos por CGL/FID (Figura 08, p. 91) e sua expansão (Figura 09, p. 92) por mera inspeção, possibilitou verificar os percentuais relativos destes constituintes através da análise das áreas dos picos fornecidos pela técnica FID.

Os resultados destes experimentos foram reunidos na Tabela 07 (p. 93) a estruturas dos constituintes majoritários no Quadro 09 (p. 94).

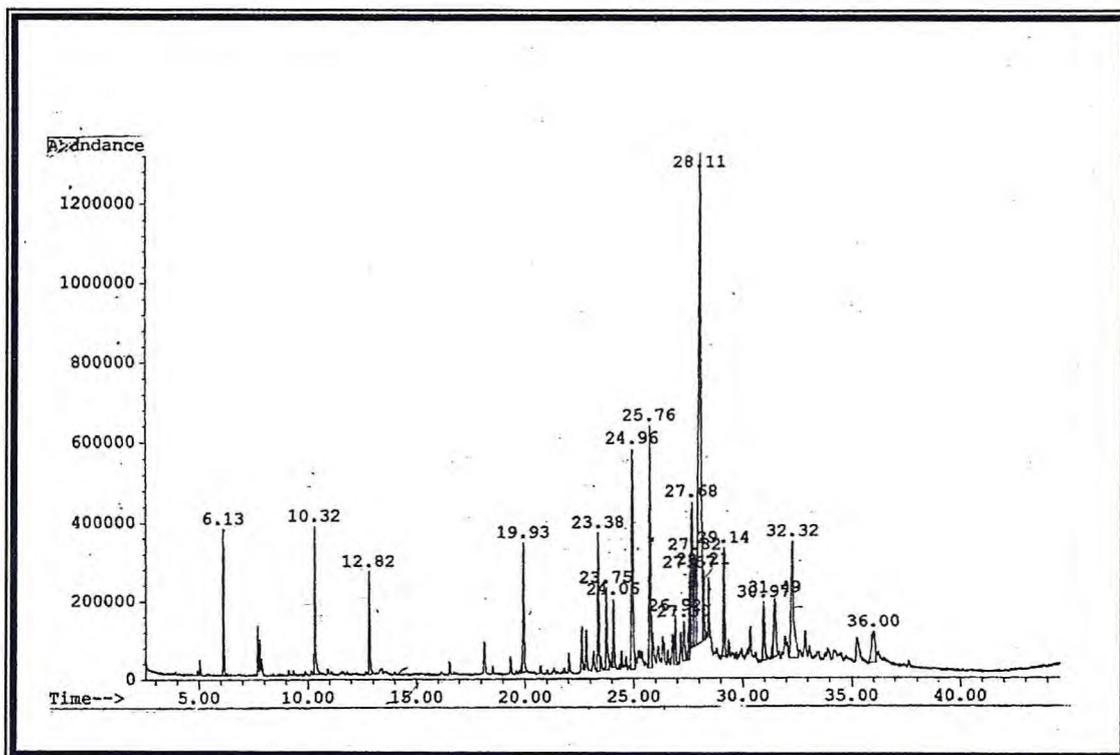


Figura 07 – Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Zanthoxylum articulatum* obtido por CGL/EM

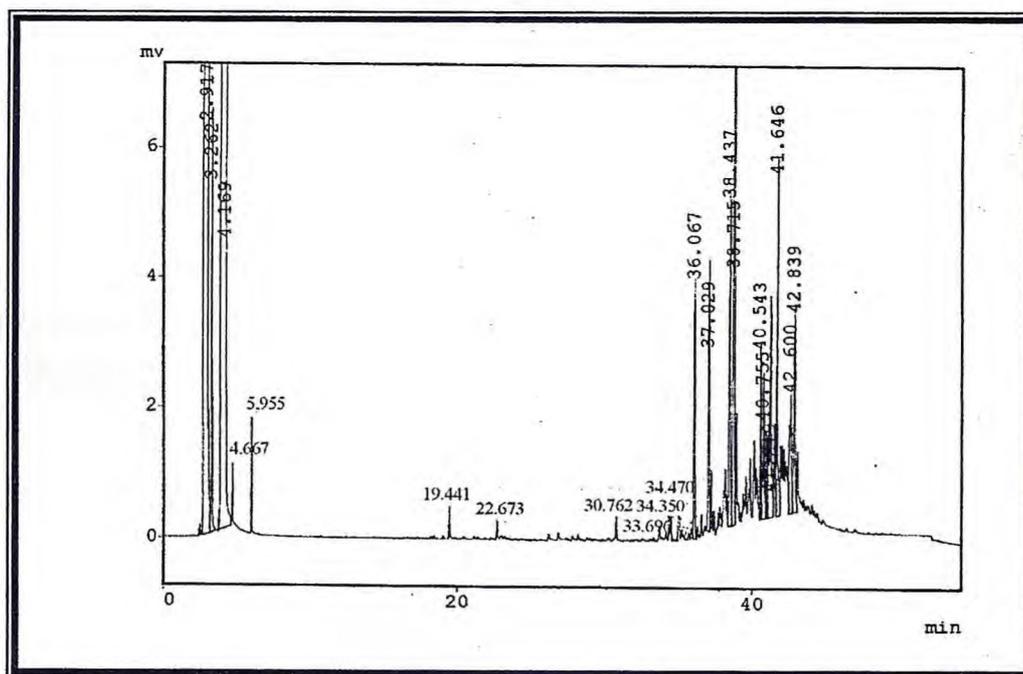


Figura 08 – Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Zanthoxylum articulatum* obtido por CGL/FID

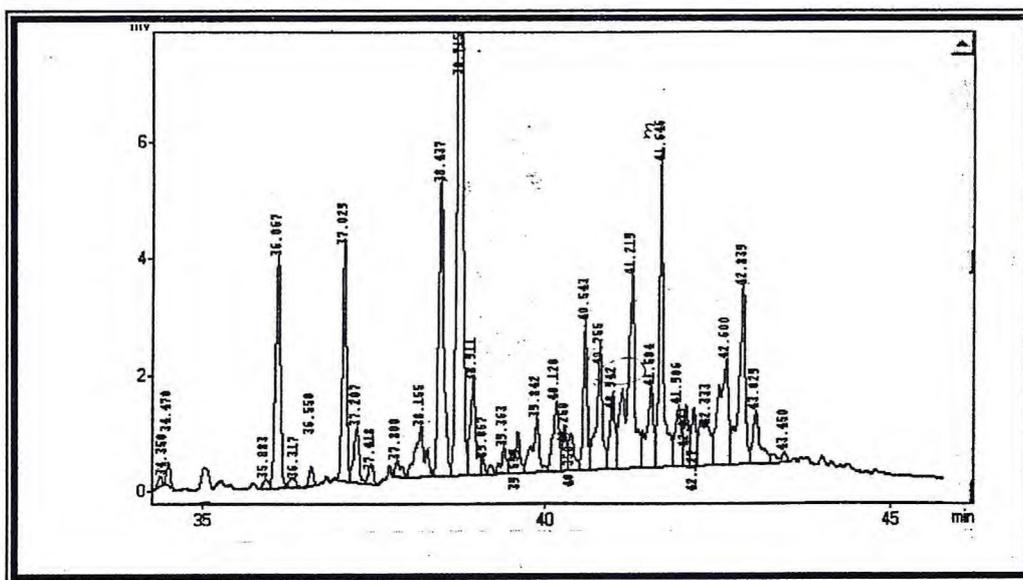


Figura 09 – Expansão do cromatograma do óleo essencial das folhas de *Zanthoxylum articulatum* obtido por CGL/FID

A literatura (Villa et al., 2002) descreve três tipos diferentes de óleos obtidos de folhas das espécies do gênero *Zanthoxylum*:

- I. óleos ricos em monoterpenos (limoneno,  $\alpha$ -pineno, mirceno, sabineno, geranial, neral,  $\beta$ -felandreno, (*E*)- $\beta$ -ocimeno e 1,8-cineole).
- II. Óleos ricos em sesquiterpenos (  $\beta$ -cariofileno, germacreno-B, óxido de cariofileno, epi- $\alpha$ -bisabolol, (*E*)-nerolidol, (*E*)- $\beta$ -farneseno e  $\beta$ -copaeno).
- III. Óleos ricos em compostos alifáticos como as 2-alcanonas.

Os resultados obtidos, sugerem que o óleo essencial de *Z. articulatum* pertence ao segundo grupo de óleos pois foi caracterizado pela alta concentração de sesquiterpenos oxigenados.

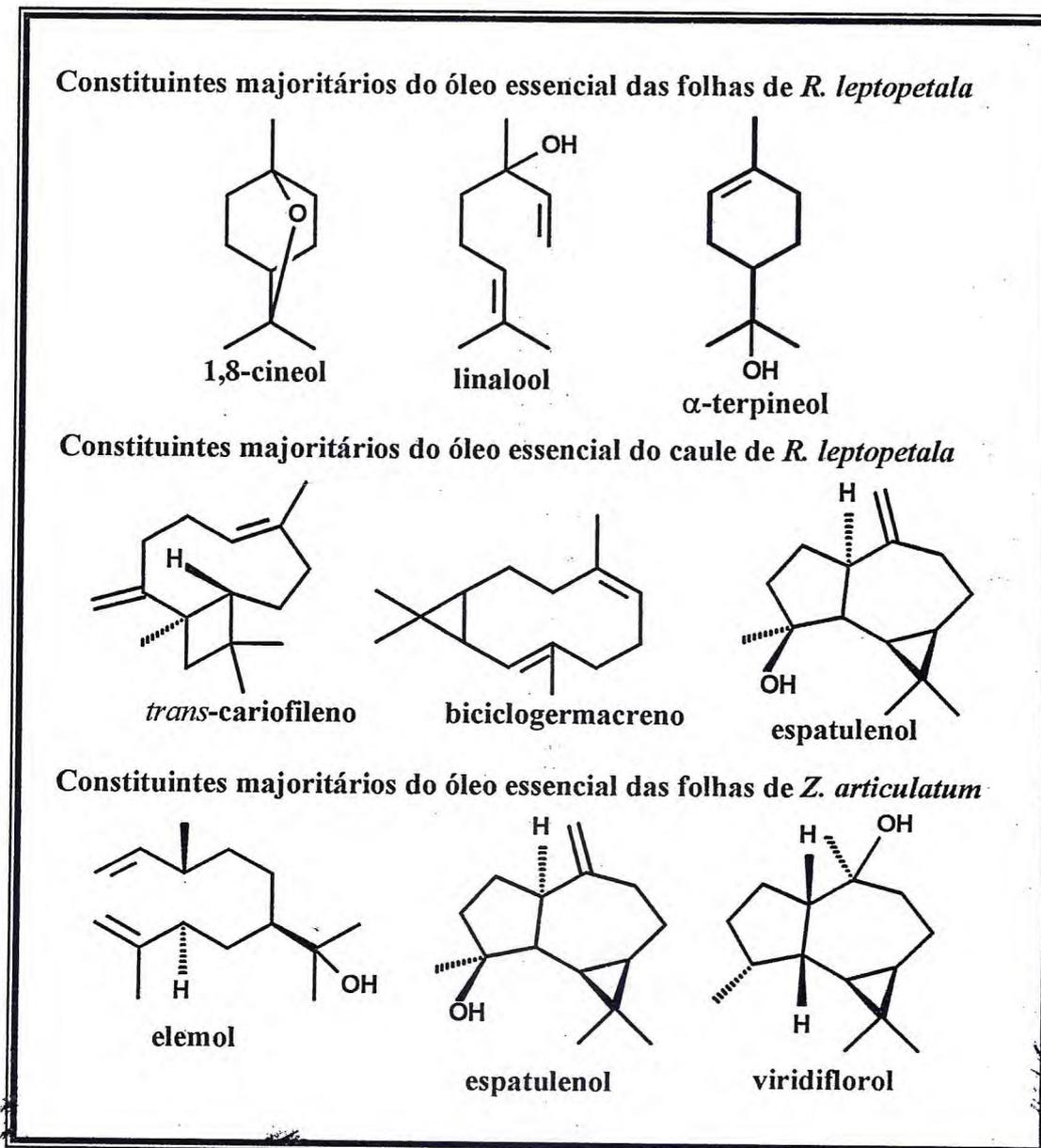
O óleo essencial das folhas de *Z. articulatum* foi testado contra as larvas do mosquito *Aedes aegypti*. Os resultados do bioensaio mostraram que este óleo apresenta uma atividade larvicida moderada ( $DL_{50}$  77,62 ppm). Onayade (Onayade et al., 1999) descreve a atividade larvicida do sesquiterpeno viridiflorol, maior constituinte na composição do óleo essencial das folhas de *Z. articulatum*, que poderia também ser o responsável pela atividade observada para o óleo de *Z. articulatum*.

Tabela 07 – Constituintes químicos voláteis, identificados no óleo essencial das folhas de *Zanthoxylum articulatum*.

Constituinte	IK*	%
Sabineno	924	3.08
Linalool	1048	5.00
(-)- $\beta$ -Elemeno	1333	4.20
(-)- $\alpha$ -Muuroleno	1435	4.60
$\gamma$ -Cadineno	1446	3.20
<b>Elemol</b>	1481	<b>9.70</b>
<b>Espatulenol</b>	1505	<b>9.90</b>
(+)-Aromadendreno	1540	2.00
epi- $\alpha$ -Muurolol	1562	<b>6.50</b>
<b>Veridiflorol</b>	1575	<b>34.40</b>
“Junifer camphor”	1605	3.90
Total		<b>86.44</b>

\* índice de Kovats registrados na literatura (Adams, 1989)

Quadro 08 – Estruturas dos constituintes majoritários de OEFRL, OECRL e OEFZA



### 3.2 - Determinação estrutural dos constituintes fixos de *Rolliniopsis leptopetala*

#### 3.2.1 – RLR-1

As frações alcaloídicas ECRRLq, ECRRLs1 e ECRRLf1 foram submetidos à cromatografia separadamente (5.3.1.1.1, p.217) e forneceram um sólido cristalino de coloração amarela denominada de RLR-1. O mesmo mostrou-se solúvel em metanol e apresentou ponto de fusão na faixa de 245,0 a 248,4°C. O composto assumiu uma coloração marrom-alaranjado intensa quando pulverizado com o reagente de Dragendorff, o que sugeriu tratar-se de um alcalóide.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (Fig. 10, p.97) de RLR-1, mostrou 17 sinais, contendo deslocamento químico compatíveis com : nove carbonos  $sp^2$  não hidrogenados, sete carbonos  $sp^2$  metínicos e um carbono metilênico do tipo  $sp^3$ . Estes dados foram obtidos pela comparação feita entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (Fig. 11, p.97). A Tabela 08 (p.96) descreve o deslocamento químico de cada tipo de carbono, bem como, seu padrão de hidrogenação.

Tabela 08 – Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de RLR-1 obtidos pela comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e DEPT 135°

C	CH	CH <sub>2</sub>
182,4*	143,9	103,3
152,9	134,4	
149,4	128,5	
144,4	128,1	
136,7	127,6	
133,3	125,3	
130,9	103,7	
123,5		
107,1		
C=O	(=CH) <sub>7</sub>	OCH <sub>2</sub> O
(C) <sub>8</sub>		
C <sub>9</sub> O	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub>	OCH <sub>2</sub> O
C <sub>17</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub>		

\*Os valores de deslocamento químico estão descritos com apenas uma casa decimal para se ajustar as normas de publicação.

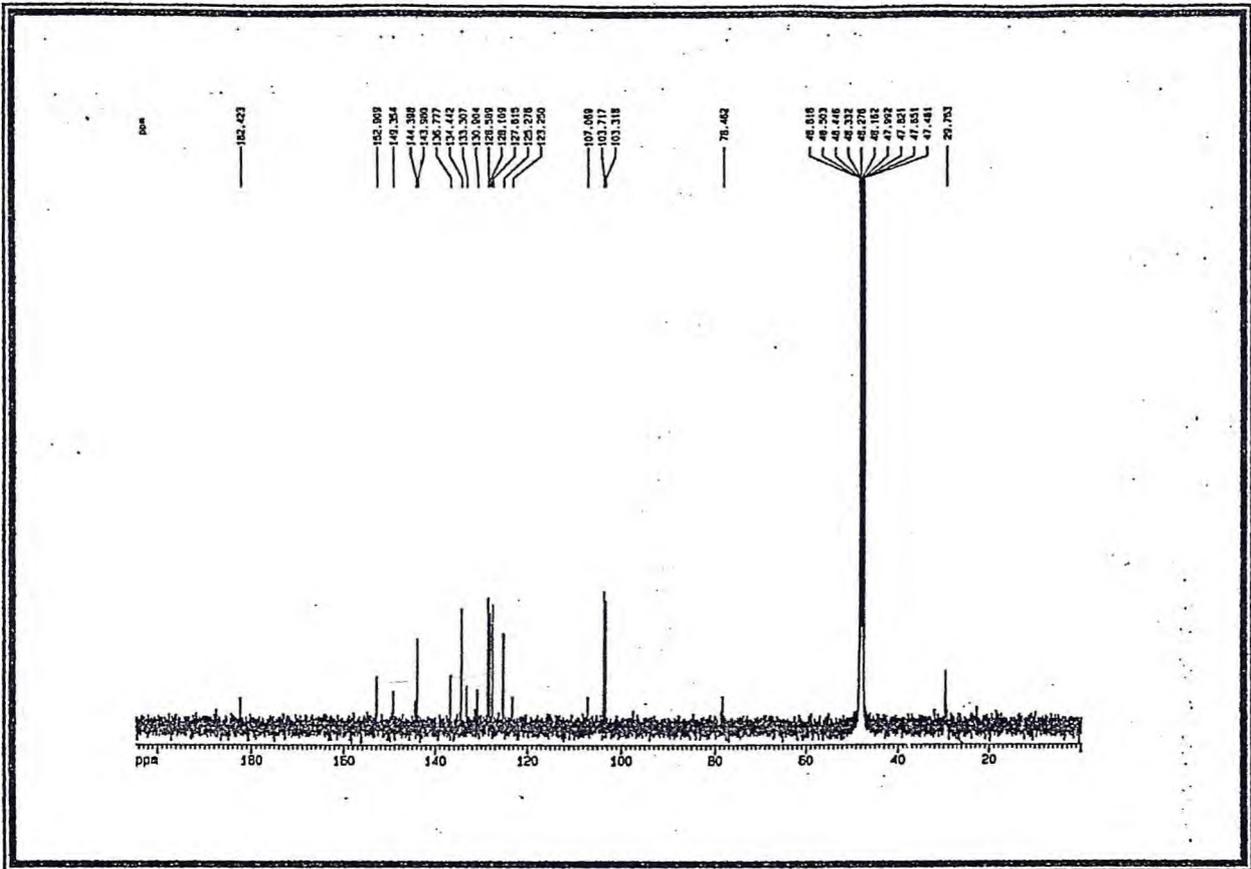


Figura 10 –Espectro RMN<sup>13</sup>C-BB de RLR-1 (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

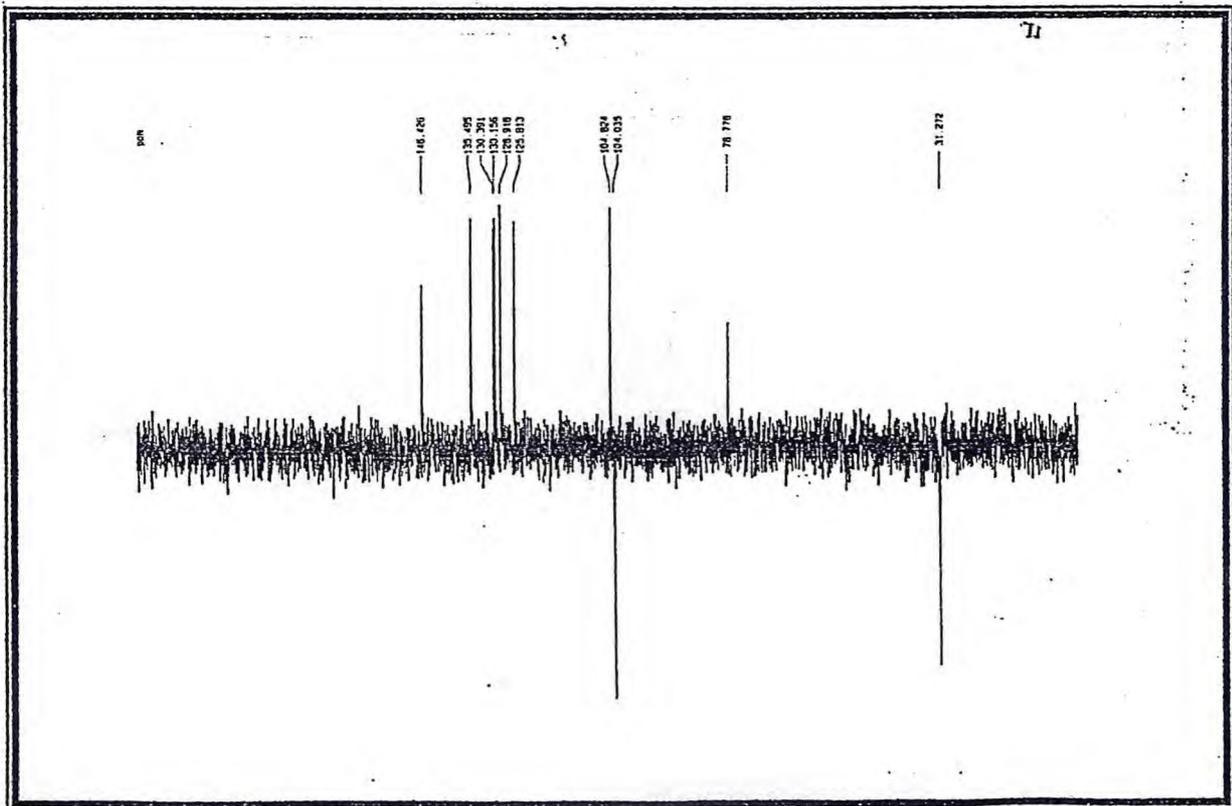


Figura 11 –Espectro RMN<sup>13</sup>C-DEPT 135° de RLR-1 (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

De acordo com a teoria do deslocamento químico (Silverstain, 1996), o carbono metilênico em  $\delta$  103,3 corresponde a um grupo metileno dióxido (-O-CH<sub>2</sub>-O-). O sinal observado em  $\delta$  182,4 pode ser atribuído a um carbono de grupo carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada. Os outros sinais foram correlacionados a carbono do tipo  $sp^2$  aromáticos ou olefínicos.

O espectro de massa de alta resolução obtido por impacto eletrônico (Fig. 12) revelou um pico de íon molecular em  $m/z$  275,06502 (calculado 275,058243), que indicou a presença de um átomo de nitrogênio compatível a fórmula molecular C<sub>17</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>N.

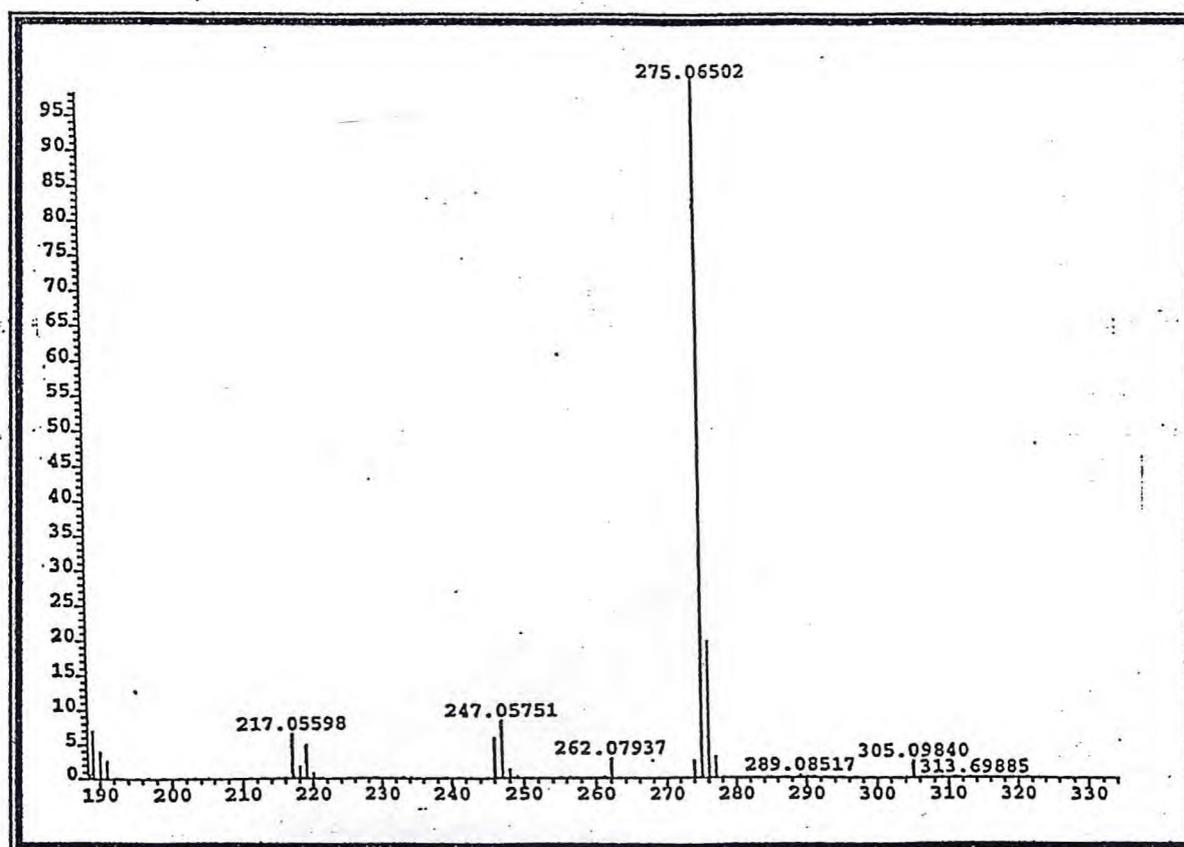
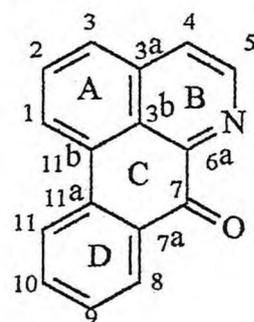


Figura 12 - Espectro de massa de RLR-1 obtido por impacto eletrônico

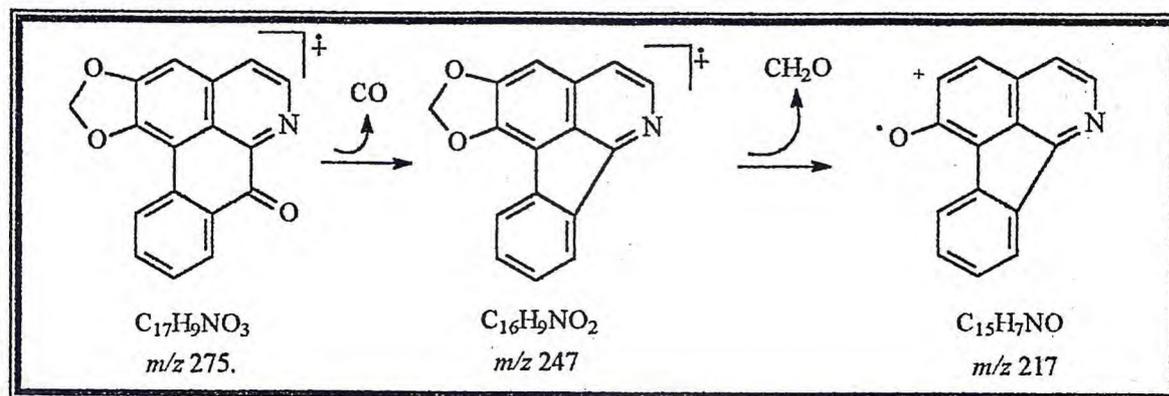
A fórmula molecular de C<sub>17</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>N fornece um número de deficiência de hidrogênio de 28 unidades, indicando 14 insaturações. Pesquisa na literatura (Leboeuf, et al., 1982) de modelos estruturais de diversos alcalóides isolados de Annonáceas mostraram que os dados até aqui vistos para RLR-1 eram compatíveis com a estrutura da classe de alcalóides oxoaporfínicos como indicado na estrutura (a.1).



(a.1)

No espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) (Fig. 13, p.99), foram vistos dois sinais de prótons aromáticos em  $\delta$  8,68 (1H, d,  $J=5,2$  Hz) e  $\delta$  7,89 (1H, d,  $J=5,2$  Hz) indicando um sistema do tipo AB (Silverstein et al., 1991) muito comum para os hidrogênios H-4 e H-5 desta classe de alcalóides como foi discutido no Capítulo 02 (p. 56) e quatro sinais de prótons a  $\delta$  8,55 (1H, dd,  $J=8,1$  e 0,6 Hz), 8,38 (1H, dd,  $J=8,1$  e 0,6 Hz), 7,75 (1H, td,  $J=8,1$  e 1,1 Hz) e 7,57 (1H, td,  $J=8,2$  e 1,1 Hz) compatíveis apenas para o anel D. Observou-se ainda um sinal em  $\delta$  7,25 (1H, s) que foi atribuído a H-3, propondo-se também que o grupo metilenodióxido, cujo sinal de RMN<sup>1</sup>H aparece em  $\delta$  7,25 (2H, s), estaria ligado aos carbonos 1 e 2 no anel A. Substituições nestes carbonos também são muito comum em alcalóides do tipo oxoaporfínicos. Essa estrutura foi confirmada pelos picos de íon molecular em  $m/z$  217 e 247 vistos no espectro de massa (Fig. 12, p.98). Uma proposta de fragmentação para RLR-1 encontra-se descrita no Quadro 09.

Quadro 09 – Proposta de fragmentação de RLR-1 no espectro de massa



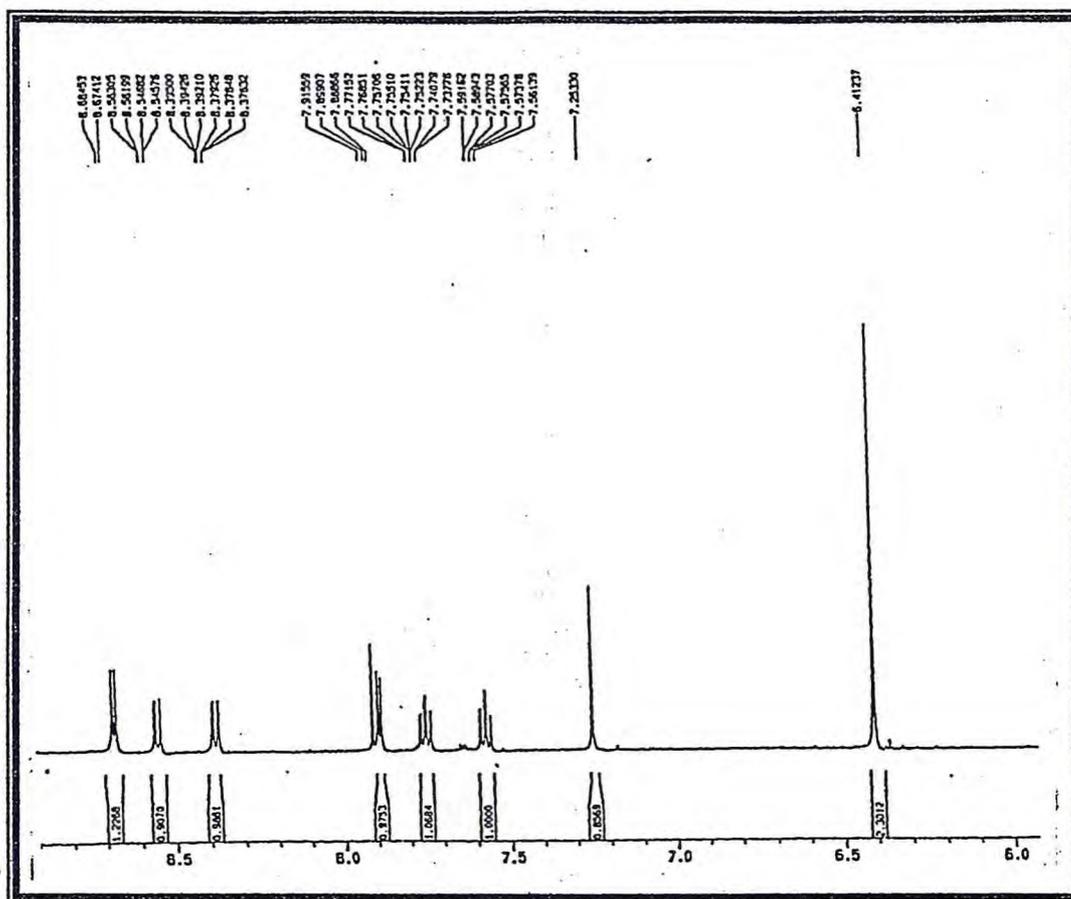


Figura 13- Espectro de RMN<sup>1</sup>H de RLR-1 (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz)

A atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos de RLR-1 foi realizada com base na análise dos dados obtidos nos diagramas de contorno dos espectros de RMN <sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C -HMQC- <sup>1</sup>J<sub>CH</sub> (Fig. 14, p. 101), e RMN <sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C - HMBC - <sup>2</sup>J<sub>CH</sub> e <sup>3</sup>J<sub>CH</sub> (Fig. 15, p. 104). Estes dados foram reunidos na Tabela 09 (p.103).

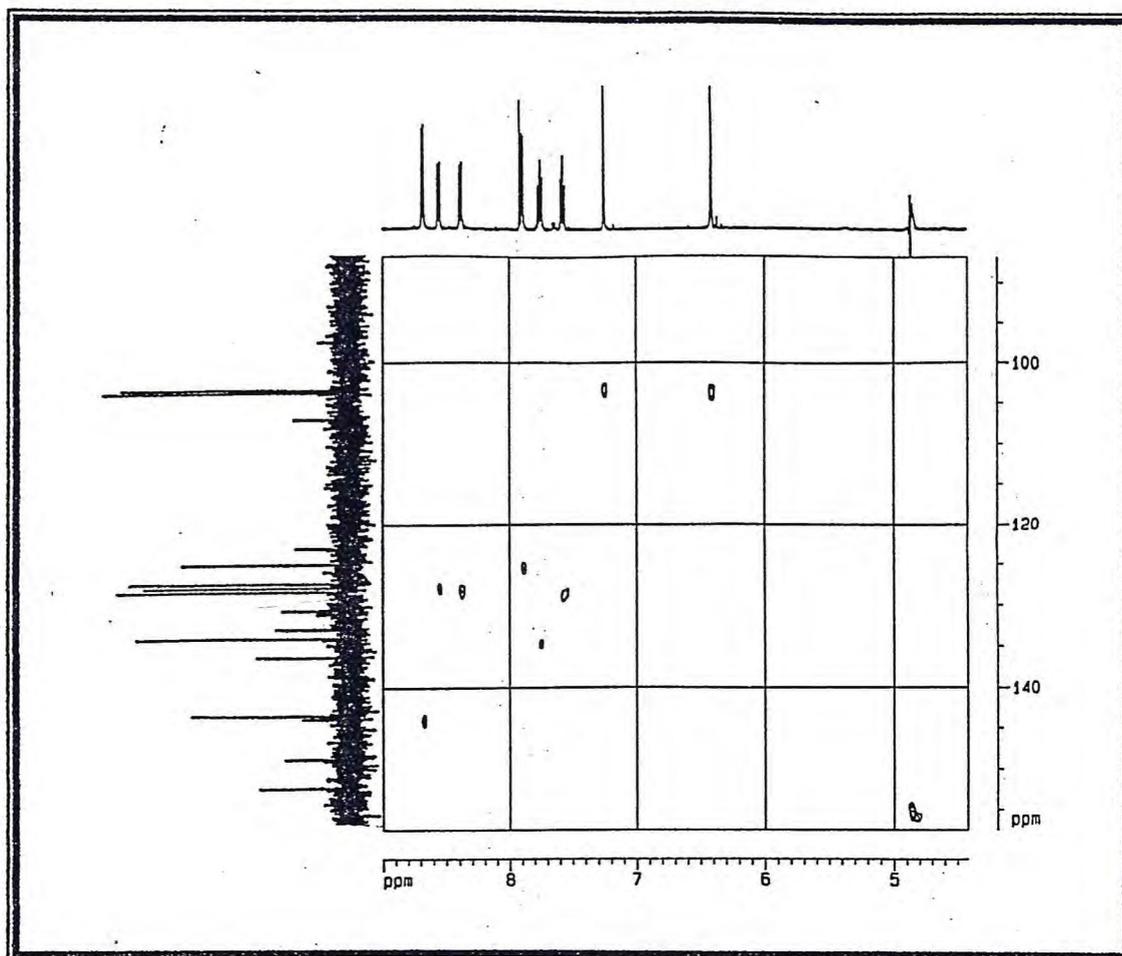


Figura 14- Diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMQC-  $^1J_{\text{CH}}$  de RLR-1 ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 x 125 MHz)

A análise do diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC-  $^nJ_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) de RLR-1 permitiu indicar os átomos de carbono da estrutura em questão. Assim os deslocamentos químicos dos carbonos não hidrogenados C-3a, C-3b e C-6a foram evidenciados pelas correlações a três ligações entre H-5 ( $\delta$  8,68) e C-3a ( $\delta$  136,8) [1] e H-5 e C-6a ( $\delta$  144,4) [2], estrutura (a.2). A ligação de C-6a ao nitrogênio, torna este carbono mais desprotegido que C-3a, tornando inequívoca a atribuição de suas absorções. Tanto H-3 como H-4 mostraram acoplamento  $^3J_{\text{CH}}$  com C-3b ( $\delta$  123,3) [3] e [4] respectivamente, estrutura (a.3). O deslocamento químico apresentado na literatura (Zhang et al, 2002) para C-11b foi de  $\delta$  108,0, valor compatível com a absorção em  $\delta$  107,1 observada nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB de

RLR-1 . A atribuição das absorções dos carbonos 11a ( $\delta$  133,3) e 7a ( $\delta$  130,9) também foram baseadas nos dados da Tabela 04 (p. 70).

Tabela 04 – Dados de RMN<sup>13</sup>C de alguns alcalóides de núcleo oxoaporfínico

C	RLR-1	172	173	174	184	257	258	259
3a	136,7	123,0	145,1*	130,3	145,5	129,0	130,3	123,0
6a	144,4	143,7	136,3*	143,7	161,5	144,0	143,7	143,8
7a	130,9	127,4	131,3	127,4	118,0	131,9	127,4	132,4
11	127,6	128,9	127,7	127,8	123,6	124,3	127,0	124,8
11a	133,3	134,0	133,2	133,8	137,8	136,1	131,9	136,0

\* valores invertidos

Um acoplamento observado entre o sinal atribuído a C-7a e H-9 ( $\delta$  7,57) [ 5], estrutura (a.4) corroborou as atribuições dadas, bem como tornou possível a associação dos demais valores de deslocamento químico a seus respectivos carbonos.

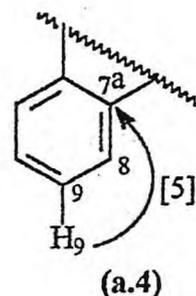
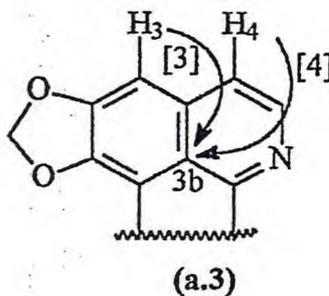
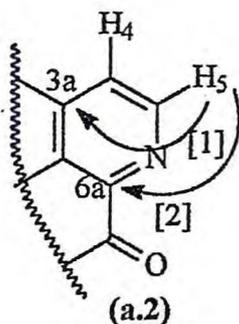


Tabela 09 – Dados de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  e correlações heteronuclear  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ ,  $n = 1$  (HMQC) e  $n = 2$  e  $3$  (HMBC) de RLR-1

	$^1\text{H} - ^{13}\text{C} - {}^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H} - ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	${}^2\text{J}_{\text{CH}}$	${}^3\text{J}_{\text{CH}}$
<b>C</b>				
1	149,4	-	H-3	OCH <sub>2</sub> O
2	152,9	-		H-3; OCH <sub>2</sub> O
3a	136,7	-		H-5
3b	123,3	-		H-3; H-4
6a	144,4	-		H-5
7	182,4	-		
7a	130,9	-		H-9; H-11
11a	133,3	-		
11b	107,1	-		
<b>CH</b>				
3	103,3	7,25 (s)		H-4
4	125,3	7,89 (d, $J = 5,2$ )	H-5	H-3
5	143,9	8,68 (d, $J = 5,2$ )	H-4	
8	128,1	8,38 (dd, $J = 8,1$ e $0,5$ )	H-9	
9	128,6	7,57 (td)	H-8	
10	134,4	7,75 (td)		H-8
11	127,6	8,55 (dd, $J = 8,1$ e $0,5$ )		H-9
<b>CH<sub>2</sub></b>				
OCH <sub>2</sub> O	103,7	6,41 (s)		

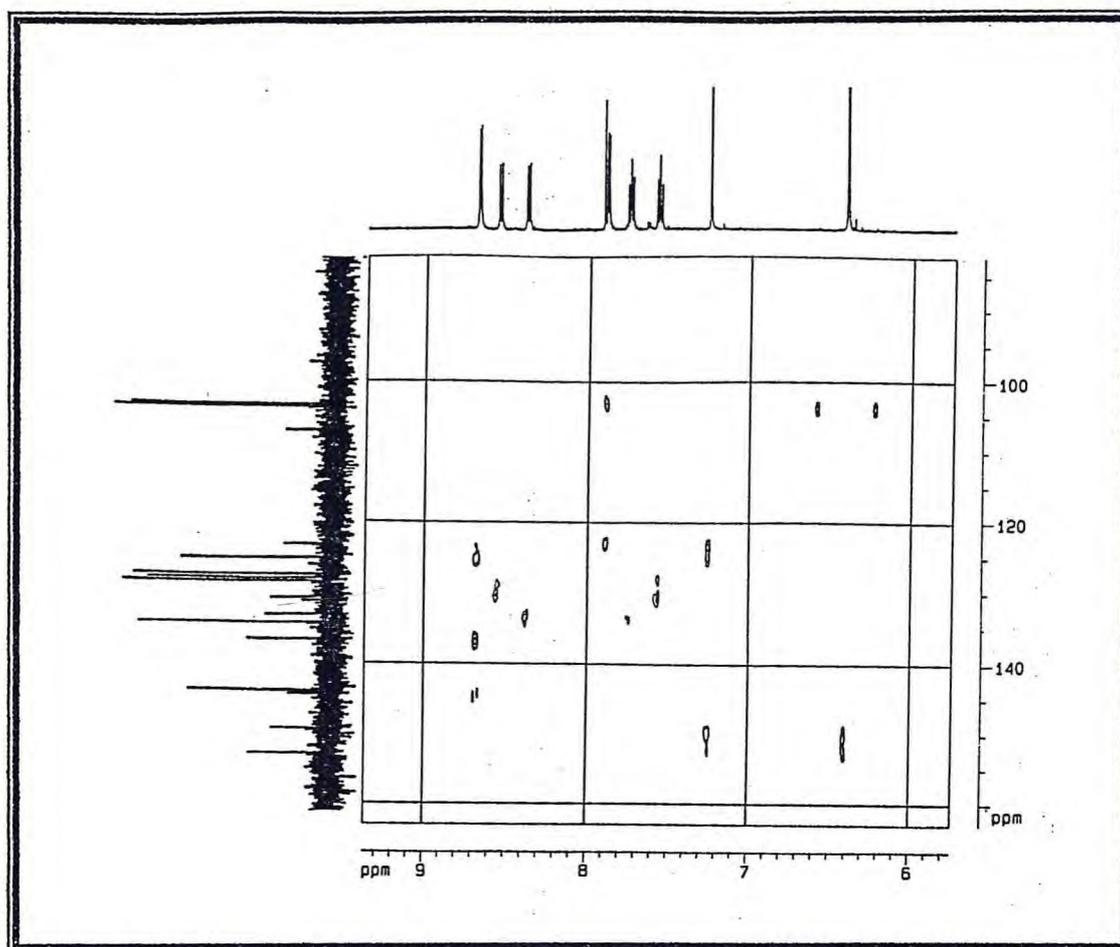
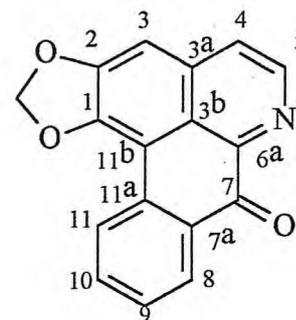


Figura 15- Diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMBC- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ,  $n = 2$  e  $3$  de RLR-1 ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $500 \times 125$  MHz)

A estrutura sugerida para RLR-1 foi confirmada através da comparação de seus dados de RMN  $^{13}\text{C}$  com dados relatados para o alcalóide oxoaporfínico conhecido como liriodenina (Tabela 10, p. 105). Apesar da liriodenina (I) (Zhang et al., 2002) ser um alcalóide comumente isolado de plantas da família Annonaceae (Leboeuf, et al., 1982a), e de *Rollinia ulei* (Miski et al., 1995), sua obtenção à partir da raiz de *R. leptopetala* é relatada pela primeira vez.

**Tabela 10** – Comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de RLR-1 ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 MHz) com aqueles relatados na literatura (Zhang et al., 2002) para o alcalóide de núcleo oxoaporfínico liriodenina (**I**) ( $\text{CDCl}_3$  e  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 MHz)

C	RLR-1	I
1	149,4	148,6
2	152,9	152,3
3	103,0	103,5
3a	136,7	145,1*
3b	123,3	123,5
4	125,3	124,9
5	143,9	144,6
6a	144,4	136,3*
7	182,4	182,8
7a	130,9	131,1
8	128,1	128,8
9	128,9	128,9
10	134,4	134,4
11	127,6	127,7
11a	133,3	133,2
11b	107,1	108,1
$\text{OCH}_2\text{O}$	103,7	103,3

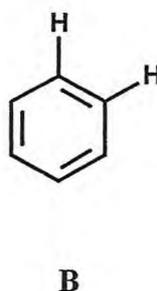
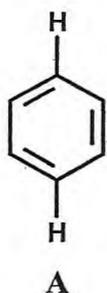
**I**

\* Através dos dados obtidos para RLR-1, foi possível corrigir os valores de deslocamento químico para C-3a e C-6a, registrados na literatura de forma invertida.

## 3.2.2 - RLR-2

Tanto a raiz como a casca do caule de *Rolliniopsis leptopétala* forneceram após o processo de extração de alcalóides (5.3.1.1.1, p. 217) , um sólido amorfo de cor marron-claro solúvel em piridina e ponto de fusão 231,6-233,4°C, denominado de RLR-2 . Análise em CCD mostrou que RLR-2 reage com o reagente de Dragendorff, o que sugeriu tratar-se de um alcalóide.

O seu espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) (Fig. 16, p. 107) , mostrou sinais centrados em  $\delta$  7,18 (1H, d,  $J=8,5$  Hz), 7,08 (1H, s), 7,06 (1H, s) e 6,98 (1H, d,  $J=8,5$  Hz) o que indicou a presença de dois anéis aromáticos : Um anel **A** com os hidrogênios em posição *para* devido a ausência de acoplamento e outro anel **B** com acoplamento *orto* entre seus hidrogênios.



Na faixa de hidrogênios alifáticos, encontrou-se onze sinais, sendo que os sinais centrados em  $\delta$  4.47 (1H, d,  $J= 15,5$  Hz) e 3.67 (1H, d,  $J= 15,5$  Hz) indicaram um grupo metileno , cujo valor de deslocamento químico aliado às informações já citadas permitiram propor que este grupo estava isolado e próximo a átomo bastante eletronegativo; observou-se ainda sinais de absorção de hidrogênios de grupo metoxila em  $\delta$  3,96 (3H, s) e 3,84 (3H, s) .

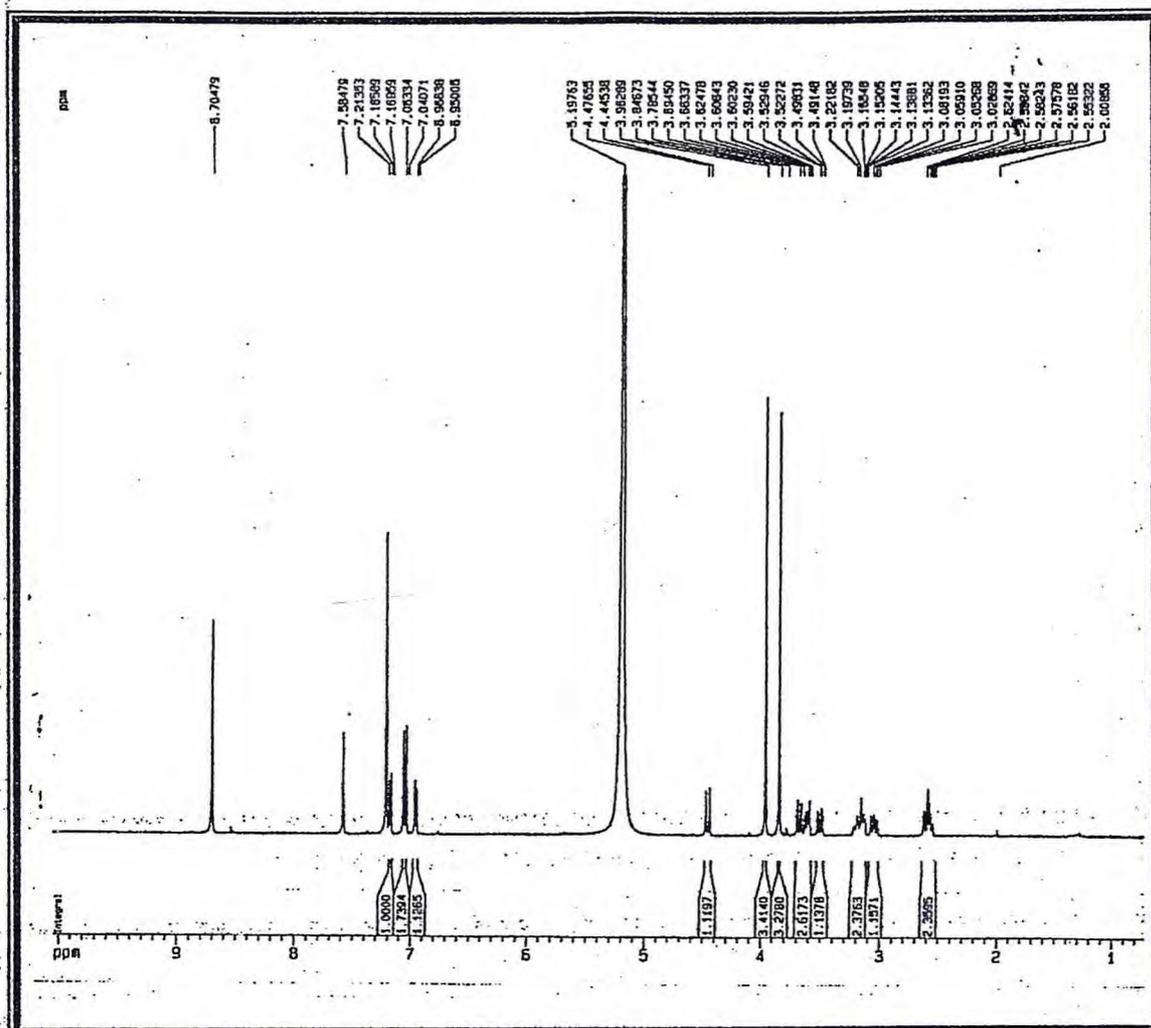


Figura 16 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H de RLR-2 (500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)

A comparação dos espectros de RMN<sup>13</sup>C-BB (Fig. 17, p. 108) e RMN<sup>13</sup>C-DEPT 135° (Fig. 18, p. 108) obtidos a 125 MHz em C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, tornou possível definir o padrão de hidrogenação de cada carbono de RLR-2. Aliada a teoria de deslocamento químico, verificou-se a presença de oito carbonos não hidrogenados do tipo  $sp^2$  (C), cinco carbonos metínicos (CH), sendo um do tipo  $sp^3$  e quatro  $sp^2$ , quatro carbonos metilênicos  $sp^3$  (CH<sub>2</sub>) e dois carbonos metílicos  $sp^3$  (CH<sub>3</sub>) (grupos metoxilas). O resultado foi reunido na Tabela 11 (p. 109).

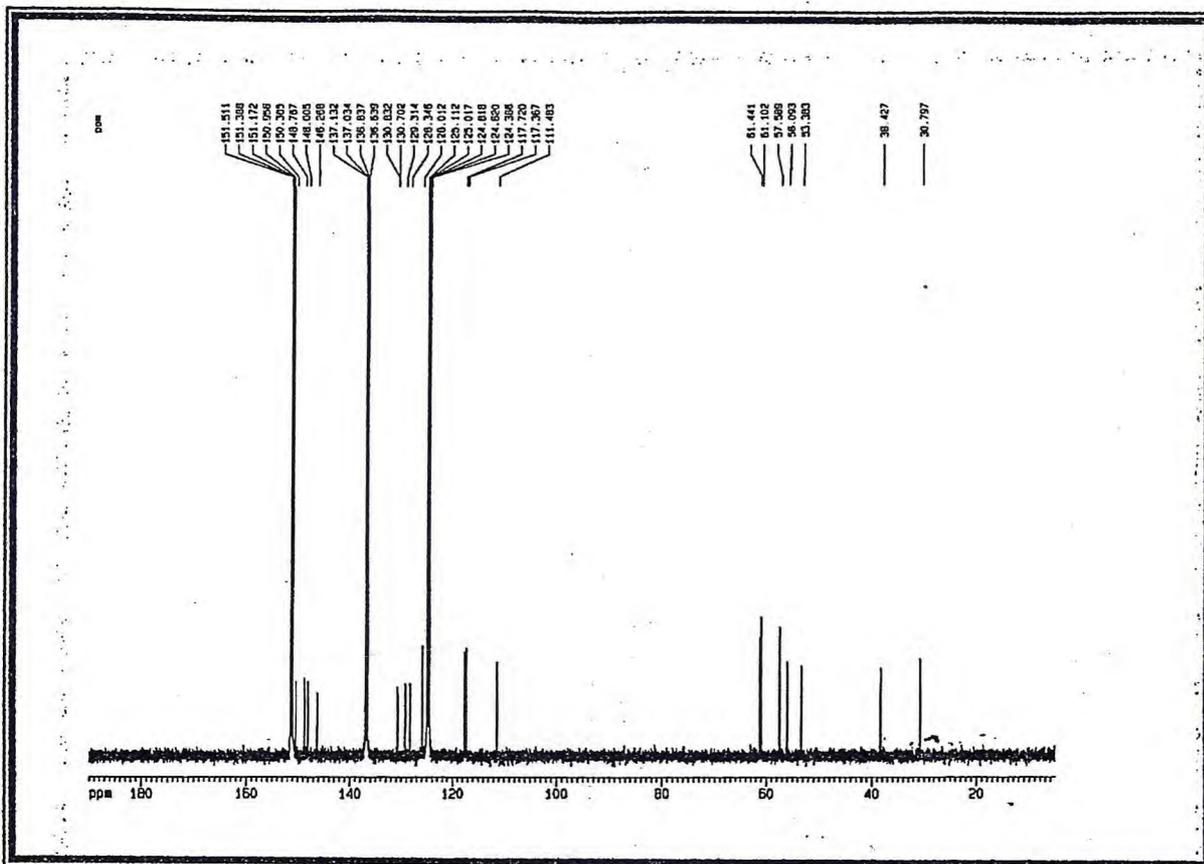


Figura 17 –Espectro RMN<sup>13</sup>C-BB de RLR-2 (125 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)

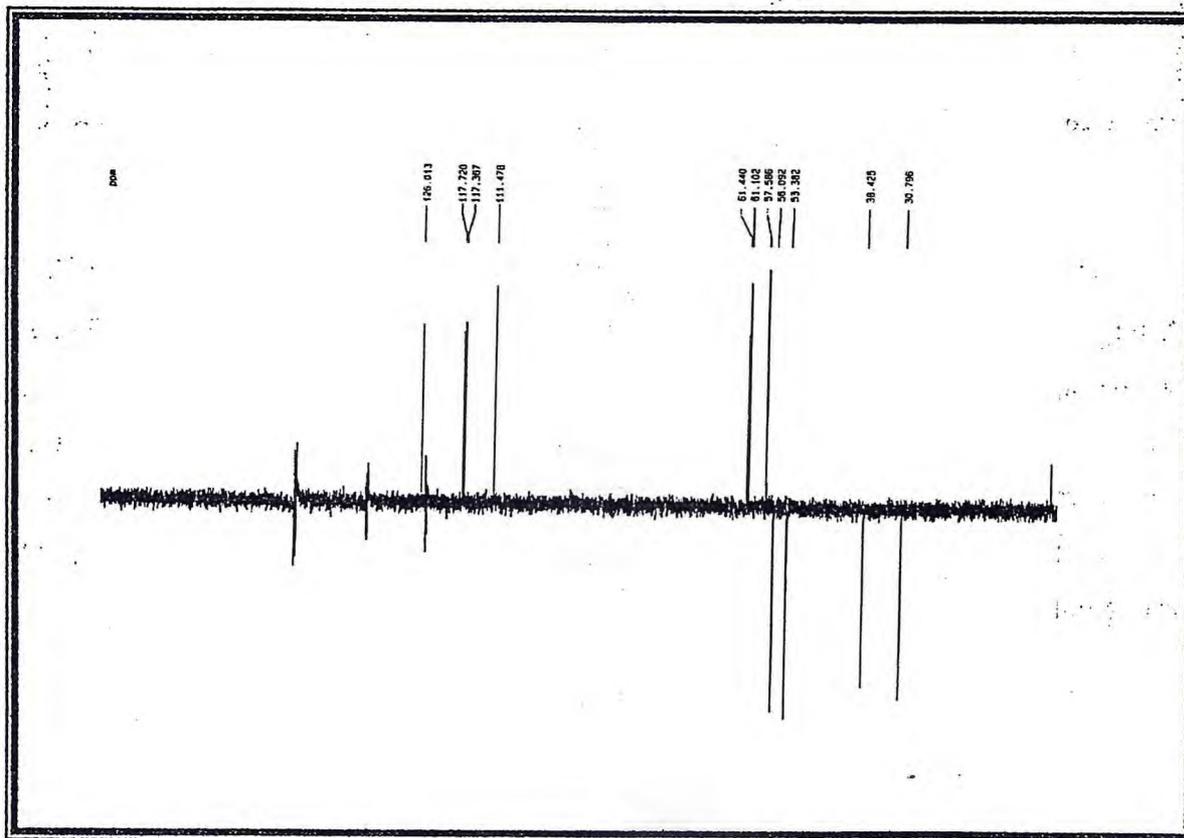


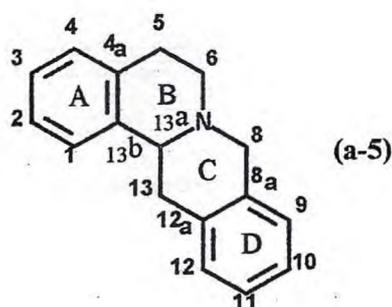
Figura 18 –Espectro RMN<sup>13</sup>C-DEPT 135° de RLR-2 (125 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)

Tabela 11 – Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de RLR-2 obtidos pela comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e DEPT 135° (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )

C	CH	$\text{CH}_2$	$\text{CH}_3$
149,7	124,9	54,9	59,7 (OMe)
147,6	116,6	52,3	56,4 (OMe)
146,9	116,2	37,3	
145,1	110,3	29,7	
129,7	60,3		
129,6			
128,2			
127,2			
$(=\text{C})_8$	$(=\text{CH})_4$ (CH)	$4\text{CH}_2$	$2 \text{OCH}_3$

A Tabela 11 nos permitiu propor uma fórmula molecular parcial para RLR-2 como sendo  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{O}_2$ .

A presença dos dois anéis aromáticos já mencionados anteriormente na análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  e dos quatro grupos metilênicos observados no espectro RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° sugeriram que RLR-2 teria a estrutura de um alcalóide de núcleo tetrahidroprotoberberina, estrutura básica com  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}$  após a subtração dos dois grupos metoxilas (a-5), já isolado de espécies da família Annonaceae e do *Rollinia leptopetala* (Sette et al., 2000a).



A atribuição dos deslocamentos químicos de todos os carbonos foi possível com a análise dos diagramas de contorno dos espectros de correlação heteronuclear de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMQC -  $^1\text{J}_{\text{CH}}$  (Fig. 19) onde foi possível associar cada carbono a seus respectivos hidrogênios, principalmente dos não hidrogenados, através das expansões do diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMBC- $^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) (Fig. 20 a 22).

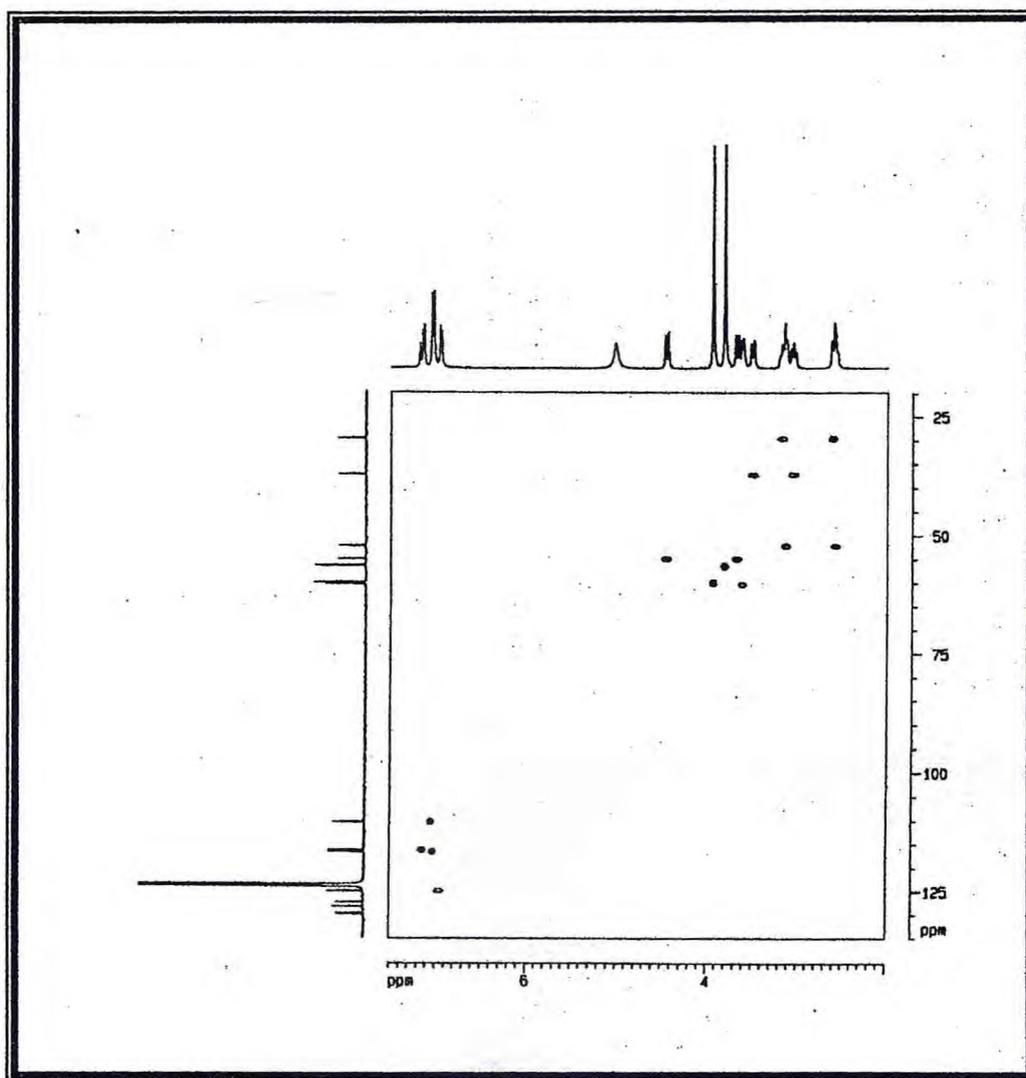
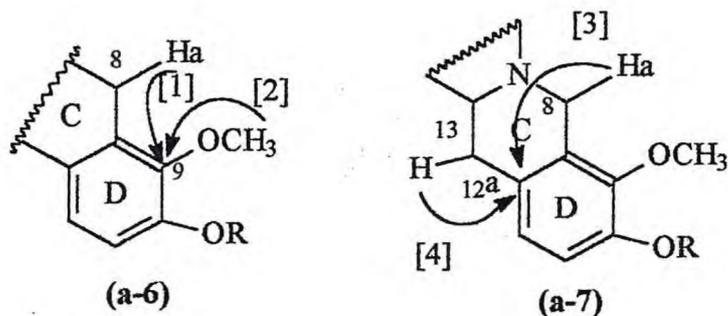


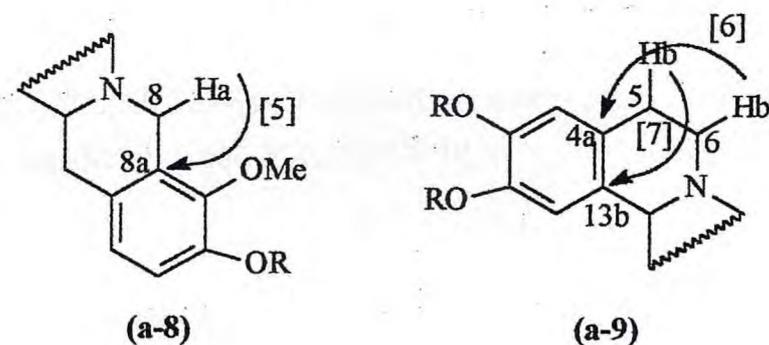
Figura 19 – Diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMQC- $^1\text{J}_{\text{CH}}$  de RLR-2 ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 x 125 MHz)

A localização do grupo metoxila estericamente impedido ( $\delta$  59,7) no átomo de carbono C-9, foi definida pelo acoplamento  $^3\text{J}_{\text{CH}}$ , entre H-8a ( $\delta$  4,46) e C-9 ( $\delta$  145,1) [1] e entre os hidrogênios metílicos em  $\delta$  3,94 e o mesmo carbono (estrutura a-6) visto

em maior clareza na expansão I (Fig. 20, p.112). Com o grupo metoxila localizado em C-9, definiu-se o padrão de substituição dos anéis A e D. Então o anel A também seria substituído. Atribui-se a absorção em  $\delta$  129,6 para C-12a pelas correlações a três ligações observadas entre H-8a [3] e H-13a [4] e esse carbono (estrutura a-7).



Uma correlação a duas ligações foi vista entre H-8a e C-8a ( $\delta$  127,2) [5]. Os deslocamentos químicos dos carbonos não hidrogenados C-4a e C-13b foram definidos pelo acoplamento observado entre C-4a e H-6b ( $\delta$  2,57) [6] e C-13b e H-5b ( $\delta$  2,60) [7]. As absorções de C-5 e C-6 foram definidas com base na teoria de deslocamento químico. O carbono C-6 é menos protegido que C-5 por está ligado a um átomo fortemente eletronegativo, sendo portanto atribuídos os valores de  $\delta$  29,7 para C-5 e  $\delta$  52,3 para C-6.



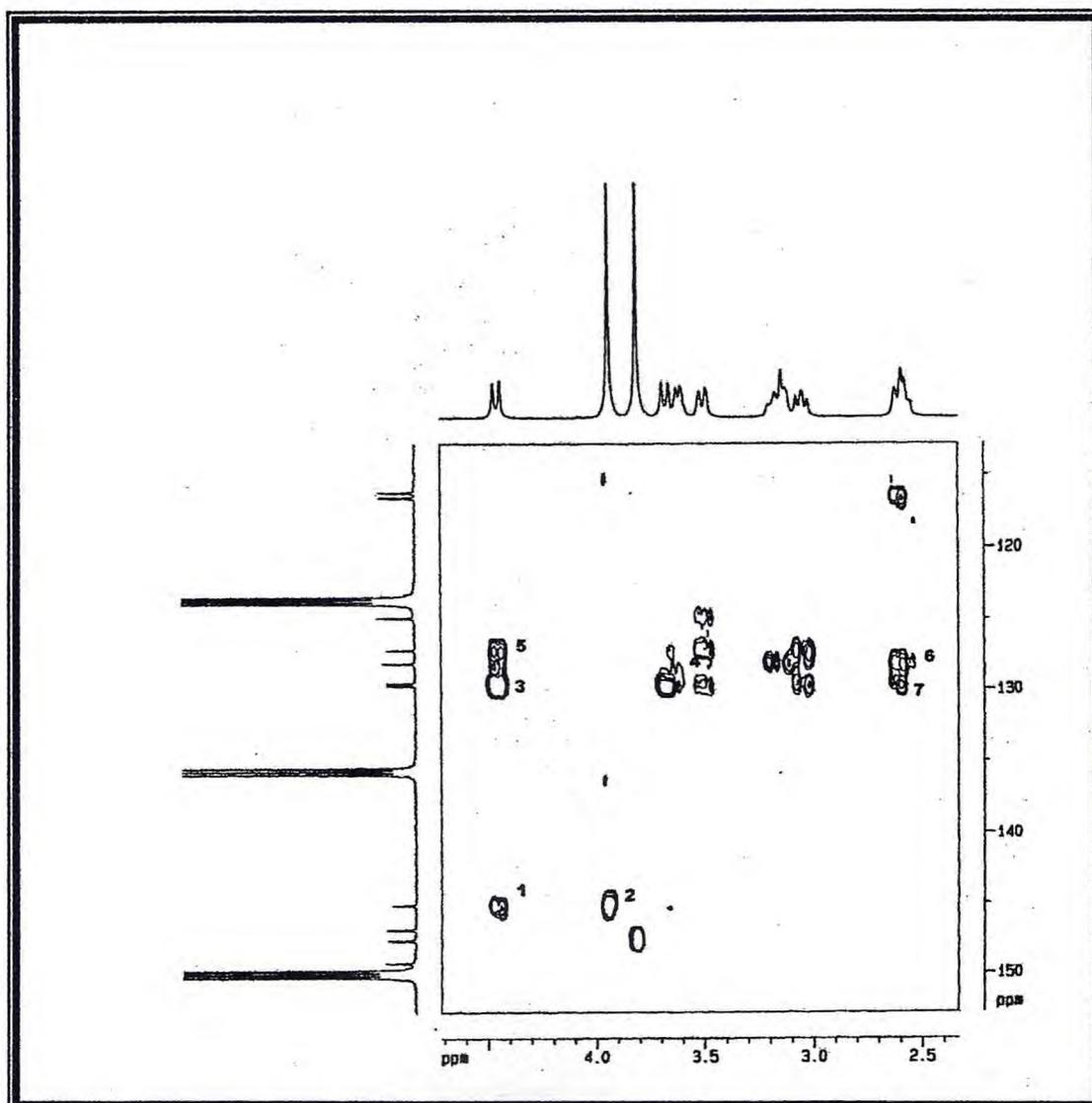


Figura 20 – Expansão I do diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC- $^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) de RLR-2 ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 x 125 MHz)

Os deslocamentos químicos de CH-11 e CH-12 foram definidos pelo acoplamento  $^3\text{J}_{\text{CH}}$  visto entre H-11 ( $\delta$  7,17) e C-9 [8] (expansão II, Fig. 21, p. 113). O H-12 ( $\delta$  6,95) mostrou correlação com o carbono não hidrogenado C-10 representado pelo sinal em  $\delta$  149,7 [9] e um acoplamento entre H-11 e C-10 [10] também foi observado (estrutura a-10).

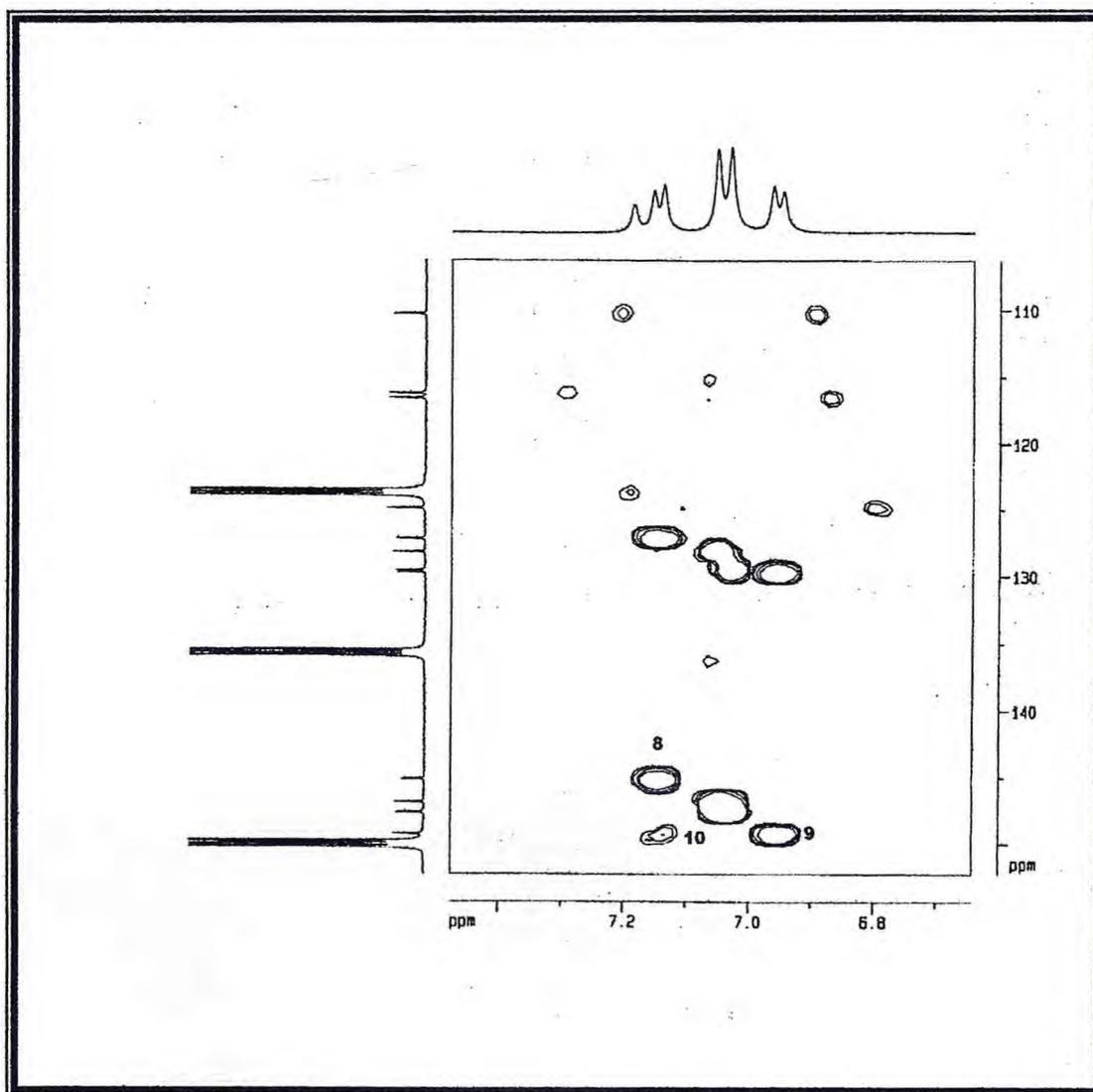
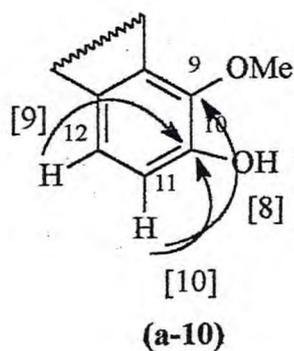


Figura 21 – Expansão II do diagrama de contorno do espectro de RMN <sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C – HMBC- <sup>n</sup>J<sub>CH</sub> (n = 2 e 3) de RLR-2 (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 500 x 125 MHz)

Pela análise da expansão III (Fig. 22) pôde-se fazer uma atribuição correta dos carbonos metínicos C-1 ( $\delta$  110,3) e C-4 ( $\delta$  116,6). Observou-se uma correlação entre H-4 e C-5 [11] e outra correlação entre H-1 e C-13b [12] (estrutura a-11).

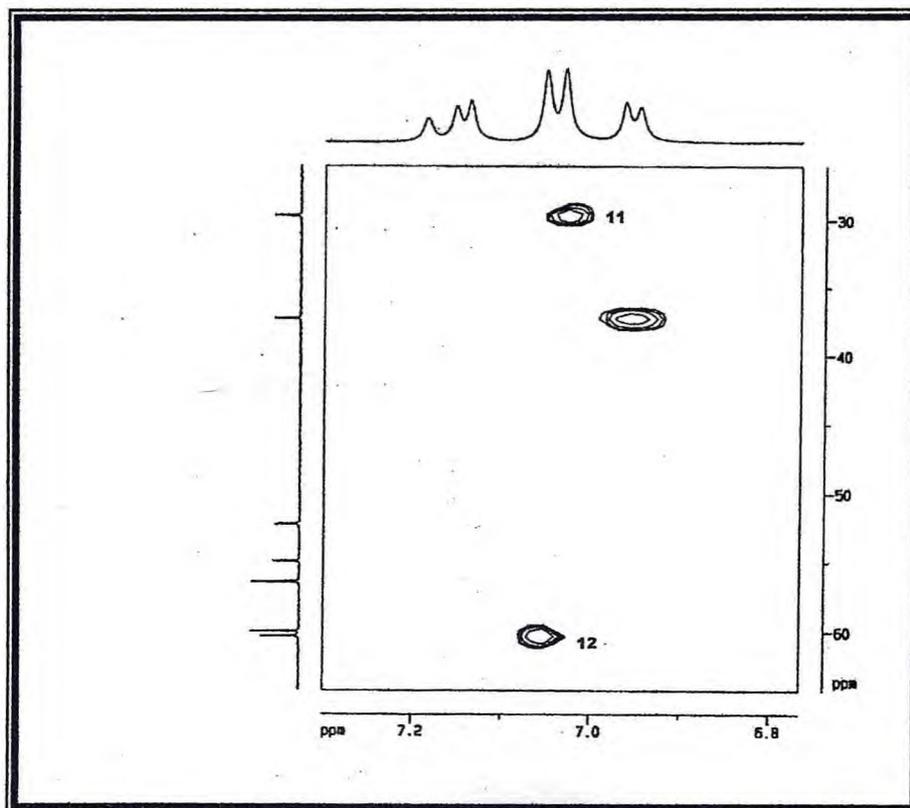
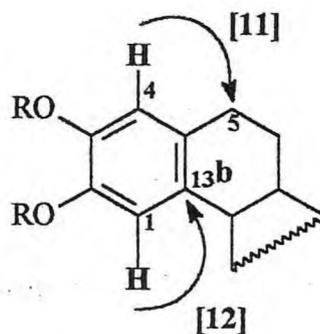


Figura 22 – Expansão III do diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC-  $^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) de RLR-2 ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 x 125 MHz)



(a-11)

A posição do outro grupo metoxila foi fornecida pela análise do diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  de correlação dipolar NOESY (Fig. 23,p. 115).

Foi possível observar interação espacial entre H-1 e H-13b [13] e H-1 com os hidrogênios metílicos do grupo metoxila [14], definindo a posição do grupo metoxila em C-2 (estrutura a-12).

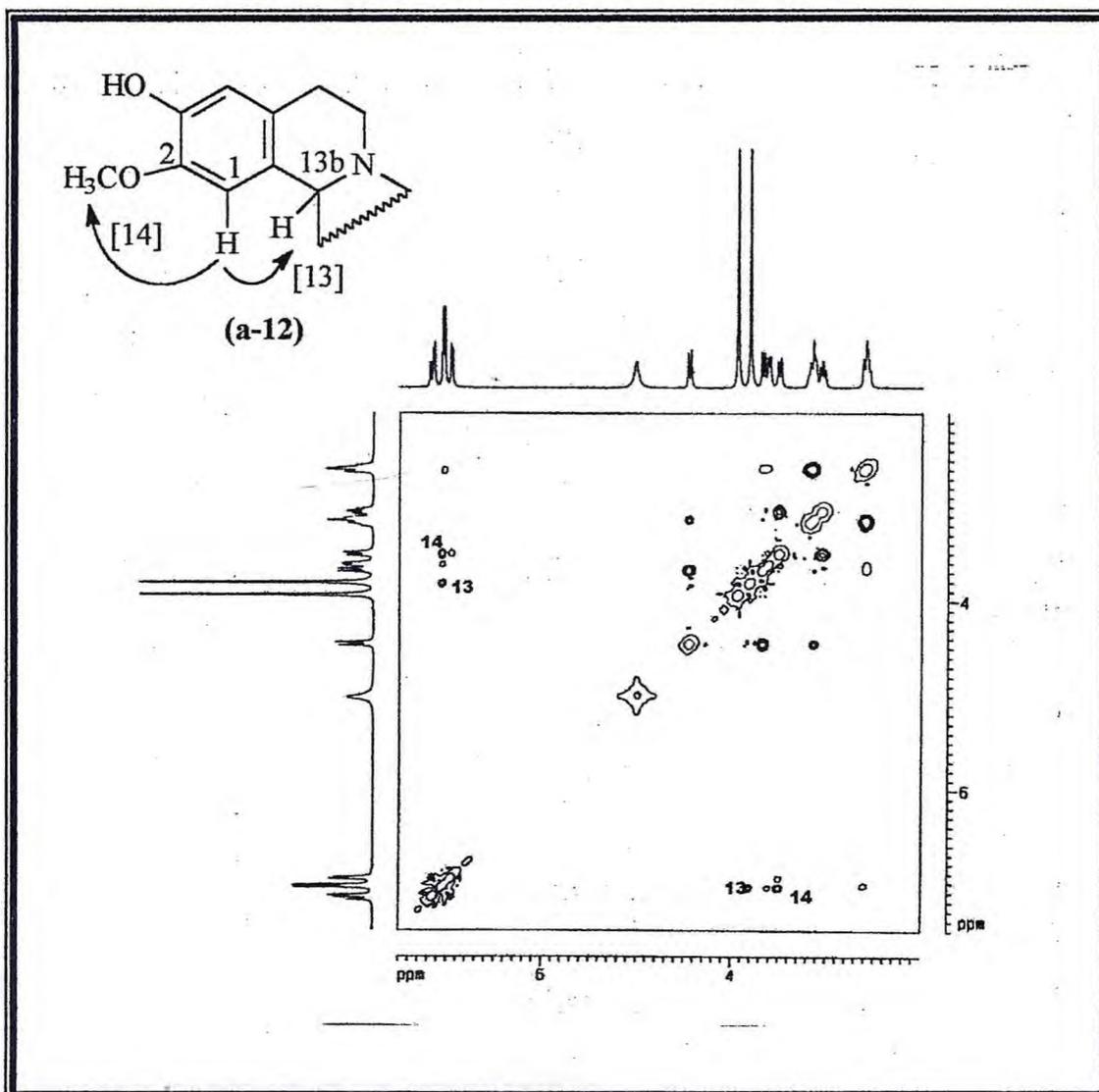


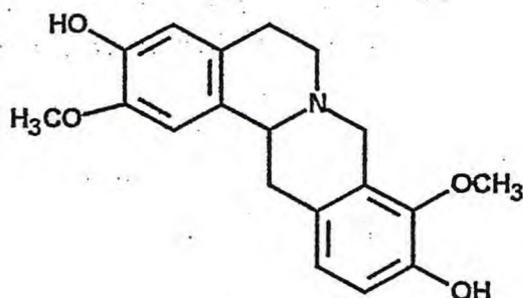
Figura 23 –Espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  de correlação dipolar NOESY ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz)

Na Tabela 12 (p. 116) estão resumidos dados de RMN de RLR-2 obtidos através de espectros 1D e 2D, contendo os  $\delta_{\text{C}}$  e  $\delta_{\text{H}}$  atribuídos inequivocamente.

Tabela 12 - Dados espectrais para RLR-2 e acoplamento heteronuclear ( $^1J_{CH}$ ,  $n = 1, 2$  e 3). Deslocamentos químicos em  $\delta$  e  $J$  em Hz. Dados obtidos em  $C_5D_5N$ .

	$^1H - ^{13}C - ^1J_{CH}$		$^1H - ^{13}C$	
	$\delta_H$	$\delta_C$	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
<b>C</b>				
2	147,6	-	-	MeO-2, H-4
3	146,9	-	-	H-1
4a	128,2	-	H-5b	H-1
8a	127,2	-	2H-8	H-12
9	145,1	-	-	H-8, MeO-9, H-11
10	149,7	-	H-11	H-12
12a	129,6	-	2H-13	H-11
13b	129,7	-	-	H-4
<b>CH</b>				
1	110,3	7,05 (s)	-	-
4	116,6	7,03 (s)	-	-
11	116,2	7,17 (d, $J = 8,1$ )	-	-
12	124,9	6,95 (d, $J = 8,1$ )	-	-
13a	60,3	3,61 (dl, $J = 8,9$ )	-	H-1, H-8a
<b>CH<sub>2</sub></b>				
5	29,7	3,18 e 2,60 (m)	-	H-4
6	52,3	3,13 e 2,57 (m)	-	-
8	54,9	4,46 (d, $J = 15,5$ ) 3,67 (d, $J = 15,5$ )	-	-
13	37,3	3,50 (d, $J = 15$ ) 3,05 (m)	-	H-12
<b>CH<sub>3</sub></b>				
OMe-2	56,4	3,81 (s)	-	-
OMe-9	59,7	3,94 (s)	-	-

A comparação dos deslocamentos químicos de RLR-2 com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  relatados na literatura (Sette et al., 2000a), Tabela 13 (p. 119) justificou a identificação como a discretamina (II).



II

A proposta estrutural para RLR-2 foi ainda corroborada pelo espectro de massa (Fig. 24), onde observou-se o pico do íon molecular (M) em  $m/z$  327 (estrutura a.13), compatível a fórmula molecular  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ .

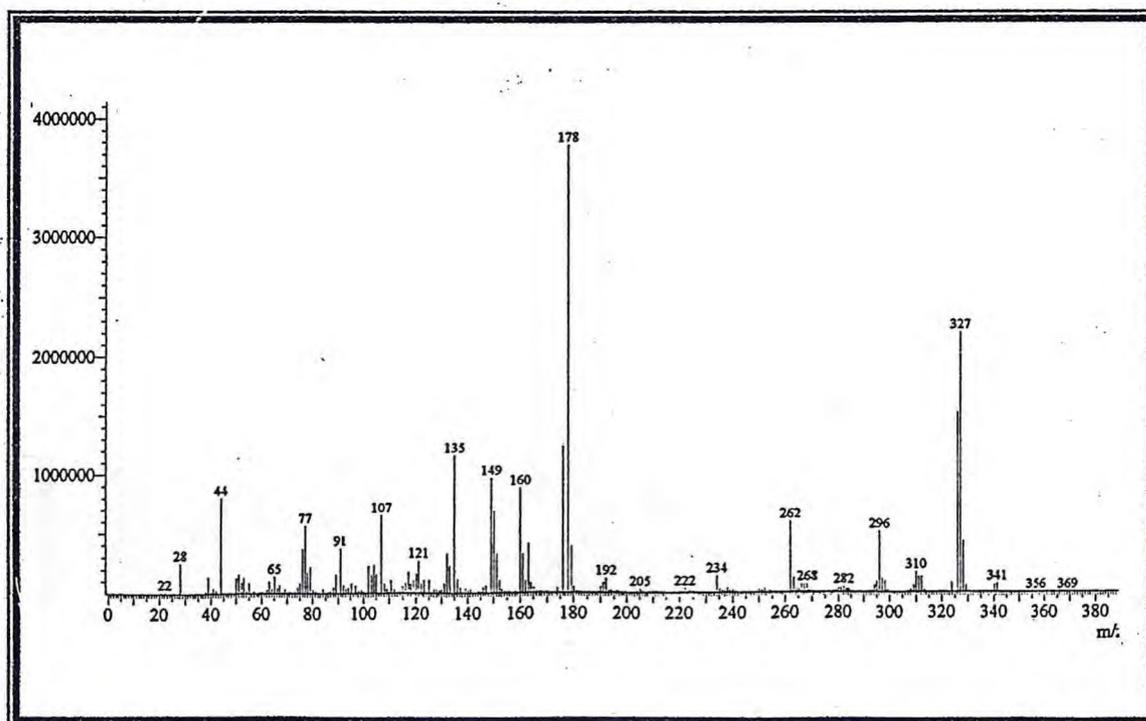
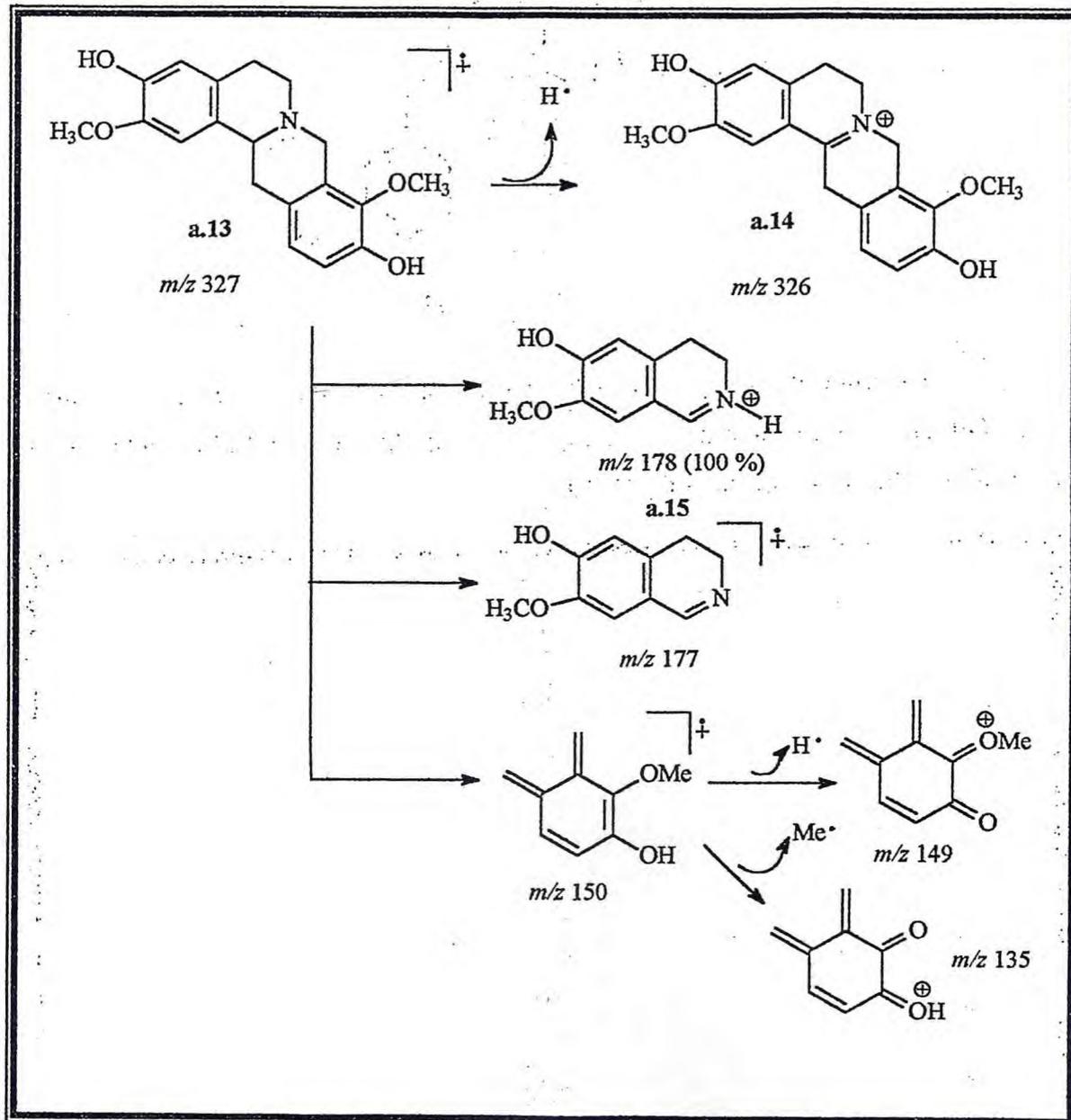


Figura 24 – Espectro de massa de RLR-2 obtido por impacto eletrônico

Um pico em  $m/z$  326 (M-1) (estrutura a.14) é característico de perda de hidrogênio  $\alpha$  em aminas cíclicas. O pico base visto em  $m/z$  178, foi associado a abertura de anel causada por quebras nas ligações próximas ao nitrogênio com formação

de imina (estrutura a.15). No Quadro 10 é apresentada uma proposta de fragmentação para RLR-2.

Quadro 10 – Proposta de fragmentação de RLR-2 no espectro de massa



**Tabela 13** – Comparação dos dados de RMN<sup>13</sup>C de RLR-2 com aqueles encontrados na literatura para o alcalóide de núcleo tetrahidroprotoberberina, deiscetamina **II** (Sette et al., 200a).

C	RLR-2	II
1	110,3	110,1
2	147,6	147,3
3	146,9	146,5
4	116,6	116,2
4a	128,2	127,8
5	29,7	29,2
6	52,3	51,9
8	54,9	54,6
8a	127,2	126,8
9	145,1	144,7
10	149,7	148,8
11	116,2	115,9
12	124,9	124,5
12a	129,6	129,2
13	37,3	36,4
13a	60,3	59,9
13b	129,7	129,9
OMe-2	56,4	56,1
OMe-9	59,7	59,6

### 3.2.3 – RLR-3

A fração EMRRL-a (5.3.1.1.2, p. 219) forneceu um sólido amorfo de coloração laranja denominado de RLR-3. Este composto mostrou-se solúvel em metanol e observou-se que o mesmo se decompõe por volta de 240°C, o que tornou difícil a obtenção de seu ponto de fusão. RLR-3 ainda apresentou uma coloração vermelha-alaranjada em teste para alcalóides com solução de Dragendorff, o que nos fez sugerir uma estrutura alcaloídica para o composto.

O espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB de RLR-3 (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) (Fig. 25, p.121) mostrou um total de dezenove sinais, dos quais com base na teoria de deslocamento químico foram atribuídos a dez carbonos *sp*<sup>2</sup> não hidrogenado, cinco a carbonos metínicos *sp*<sup>2</sup>, dois a carbonos metilênicos *sp*<sup>3</sup> e dois a carbonos metílicos *sp*<sup>3</sup>, sendo que as absorções destes carbonos em δ 61,4 e 56,2 foram compatíveis com absorções de carbonos de grupo metoxila. Este padrão de hidrogenação foi obtido pela comparação realizada entre os espectros de RMN<sup>13</sup>C-BB e de RMN<sup>13</sup>C-DEPT 135° (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) (Fig. 26, p.121) e os resultados encontram-se descritos na Tabela 14 (p.122).

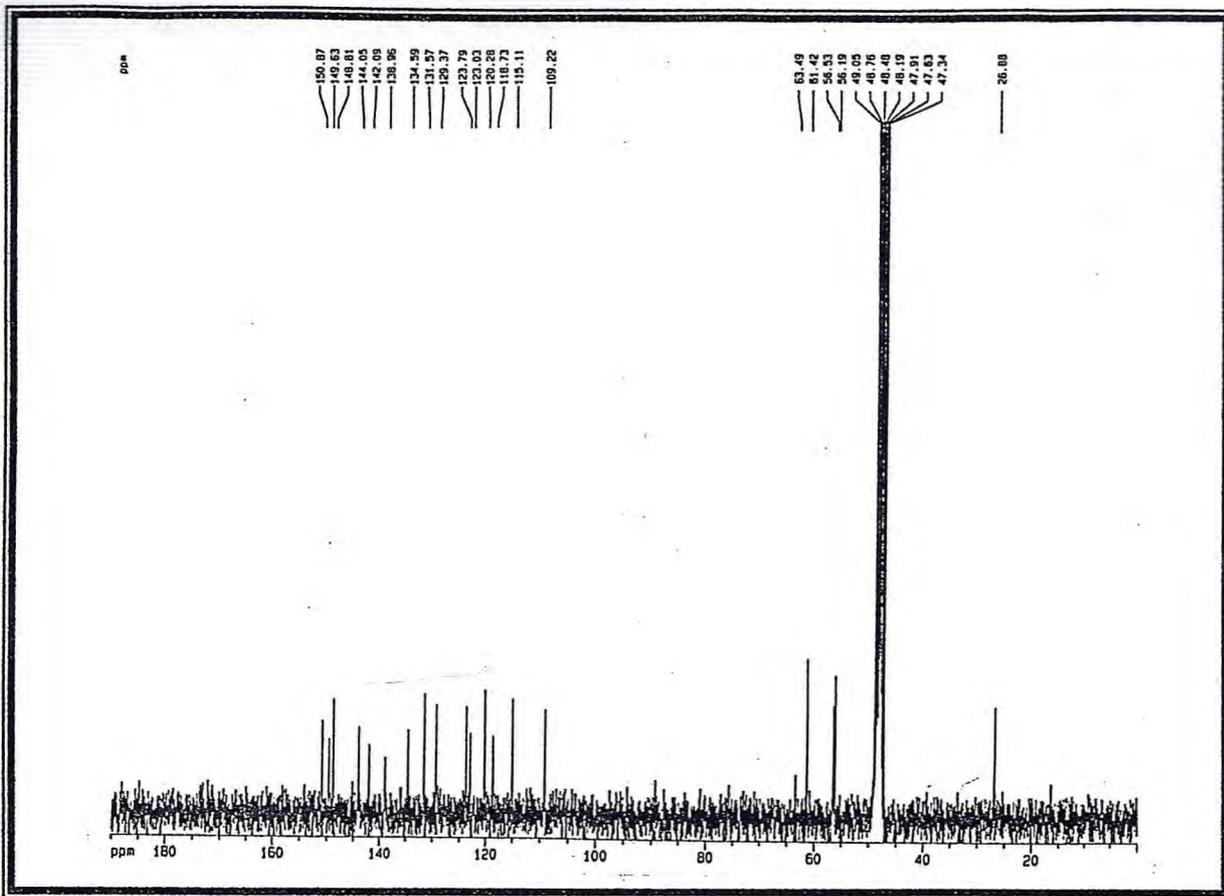


Figura 25 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB de RLR-3 (CD<sub>3</sub>OD, 75 MHz)

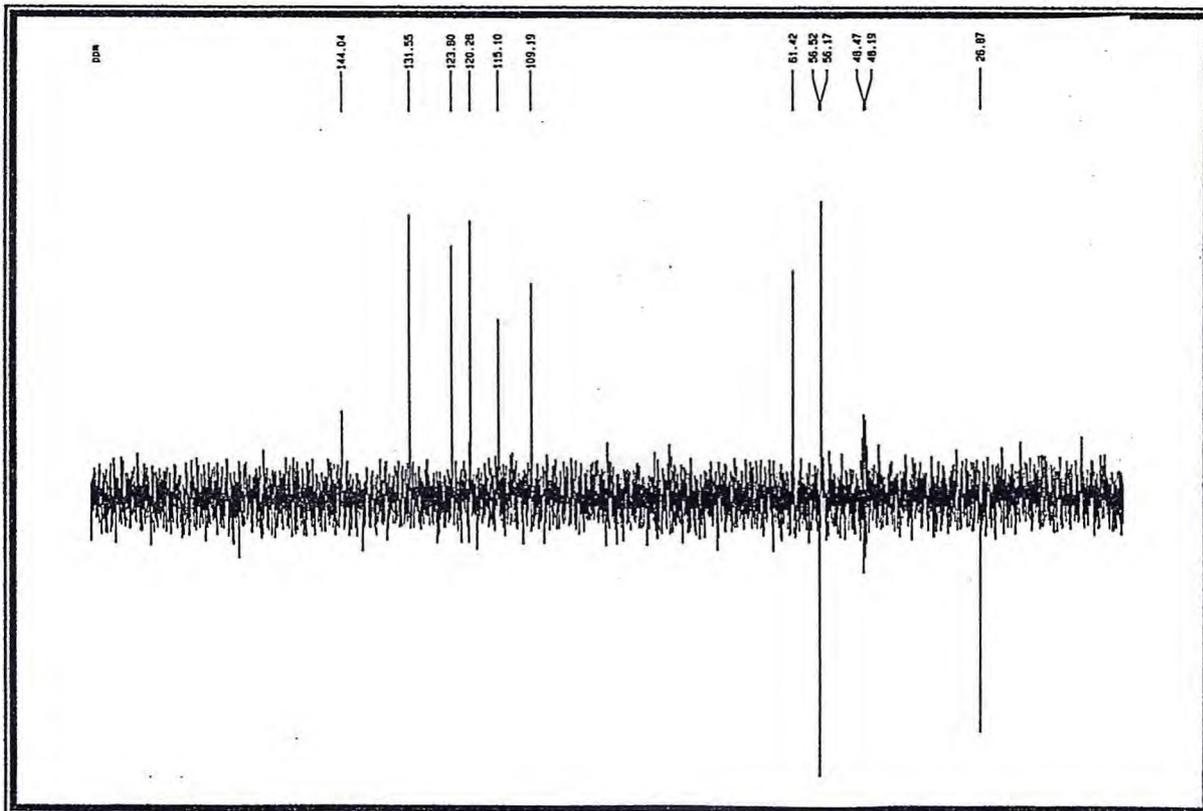
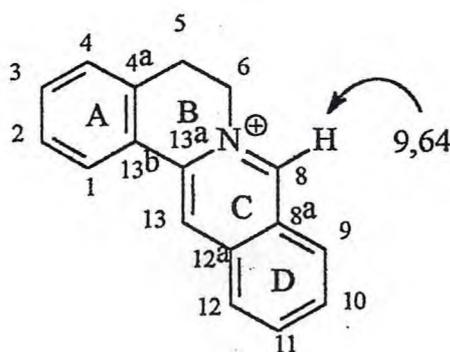


Figura 26 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C-DEPT 135° de RLR-3 (CD<sub>3</sub>OD, 75 MHz)

Tabela 14 – Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação dos átomos de carbono de RLR-3 obtidos pela comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup>C-BB e DEPT 135° (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
150,8	131,6	56,5	61,4
149,6	123,8	26,8	56,2
148,8	120,3		
144,1	115,1		
142,1	109,2		
138,9			
134,6			
129,4			
123,0			
118,7			
<b>10C</b>	<b>2CH</b>	<b>2CH<sub>2</sub></b>	<b>2CH<sub>3</sub></b>

No espectro de RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) (Fig.27, p.123) foi possível observar um sinal de hidrogênio em δ 9,64 (H-8) que é característico de alcalóides do tipo protoberberina, uma classe também isolada de anonáceas cuja estrutura é mostrada abaixo (estrutura a.17).



a.17

Esta estrutura foi compatível com os dois grupos metilênicos vistos no espectro de RMN<sup>13</sup>C-DEPT 135° e os quinze sinais de carbono na região de aromáticos.

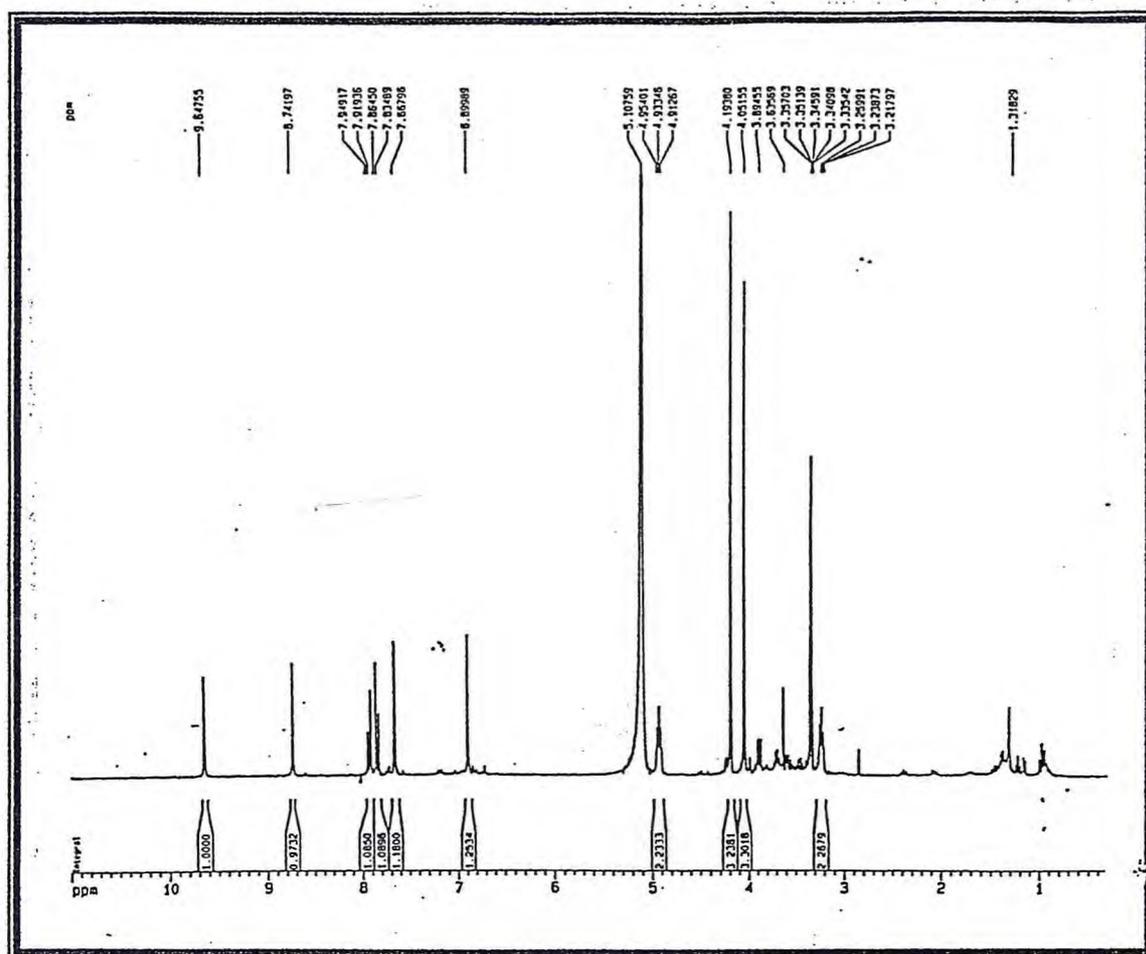


Figura 27 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H de RLR-3 (CD<sub>3</sub>OD, 300 MHz)

A análise do espectro de RMN<sup>1</sup>H, confirmou a presença de dois anéis aromáticos pelas absorções em  $\delta$  7,92 (d,  $J = 8,9$  Hz) e 7,84 (d,  $J = 8,9$  Hz) representando um dos anéis e pelos singletos observados em  $\delta$  8,74; 7,66 e 6,89, representando os hidrogênios H-1, H-4 e H-13.

A posição dos dois grupos metoxilas foi definida pela análise dos diagramas de contorno dos espectros de correlação heteronuclear de RMN <sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C – HMQC – <sup>1</sup>J<sub>CH</sub> (Fig. 28, p. 124) e do diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear de RMN <sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C – HMBC- <sup>n</sup>J<sub>CH</sub> (n = 2 e 3) (Fig. 29, p.125) e suas expansões I e II (Fig. 30 e 31).

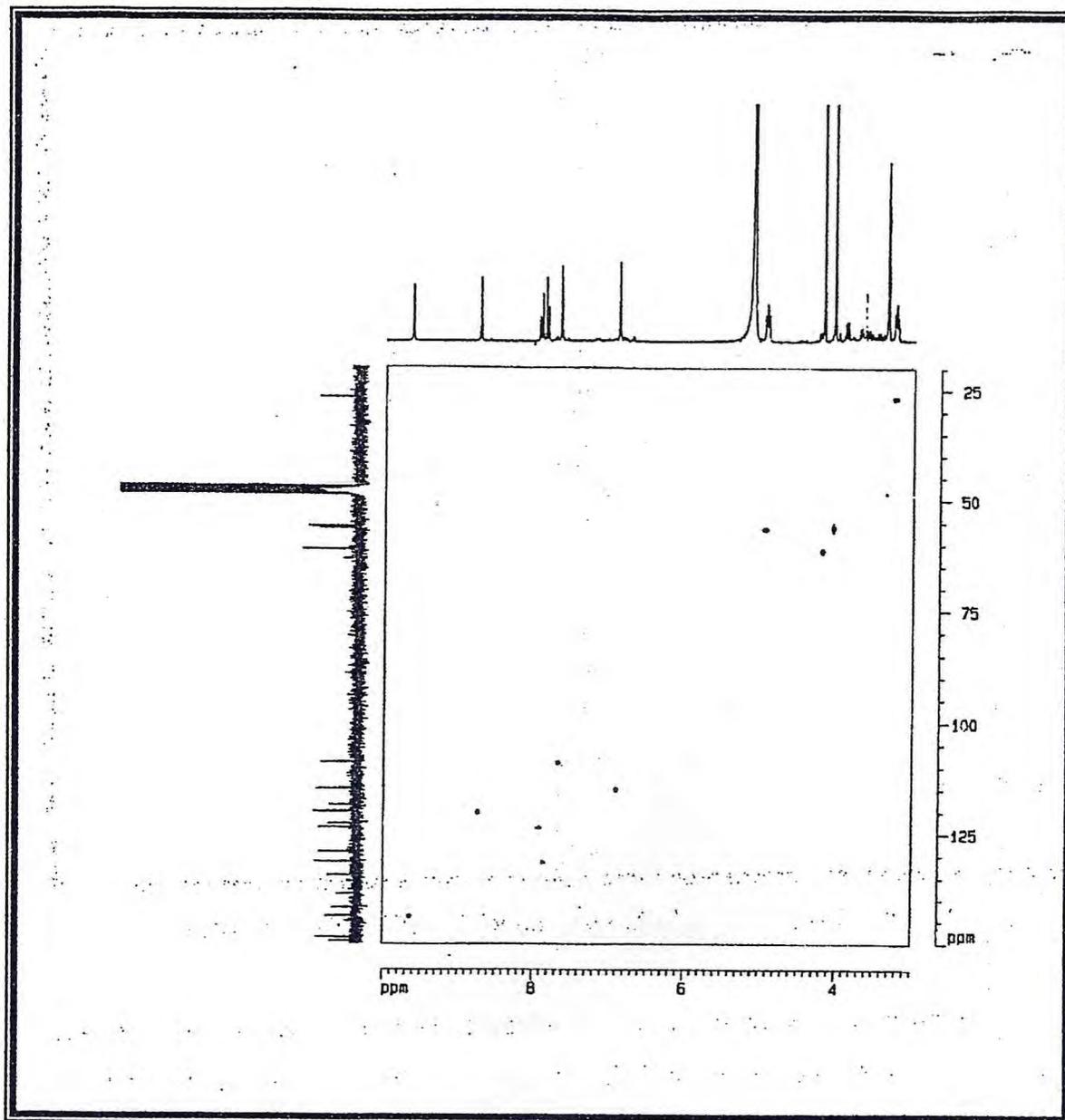


Figura 28 – Diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMQC-  $^1J_{\text{CH}}$  de RLR-3 ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300 x 75 MHz)

O diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMBC-  $^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) (Fig. 29) mostrou um acoplamento a três ligações entre C-5 ( $\delta$  26,8) e um hidrogênio aromático, cujo sinal foi visto em  $\delta$  6,89 [1], que atribuiu-se a H-4 (estrutura a.18). Este singlete em C-4, indicou para o anel A uma substituição *para* de forma que o acoplamento *orto* de hidrogênios observado no espectro de RMN  $^1\text{H}$  foi atribuído aos hidrogênios do anel D.

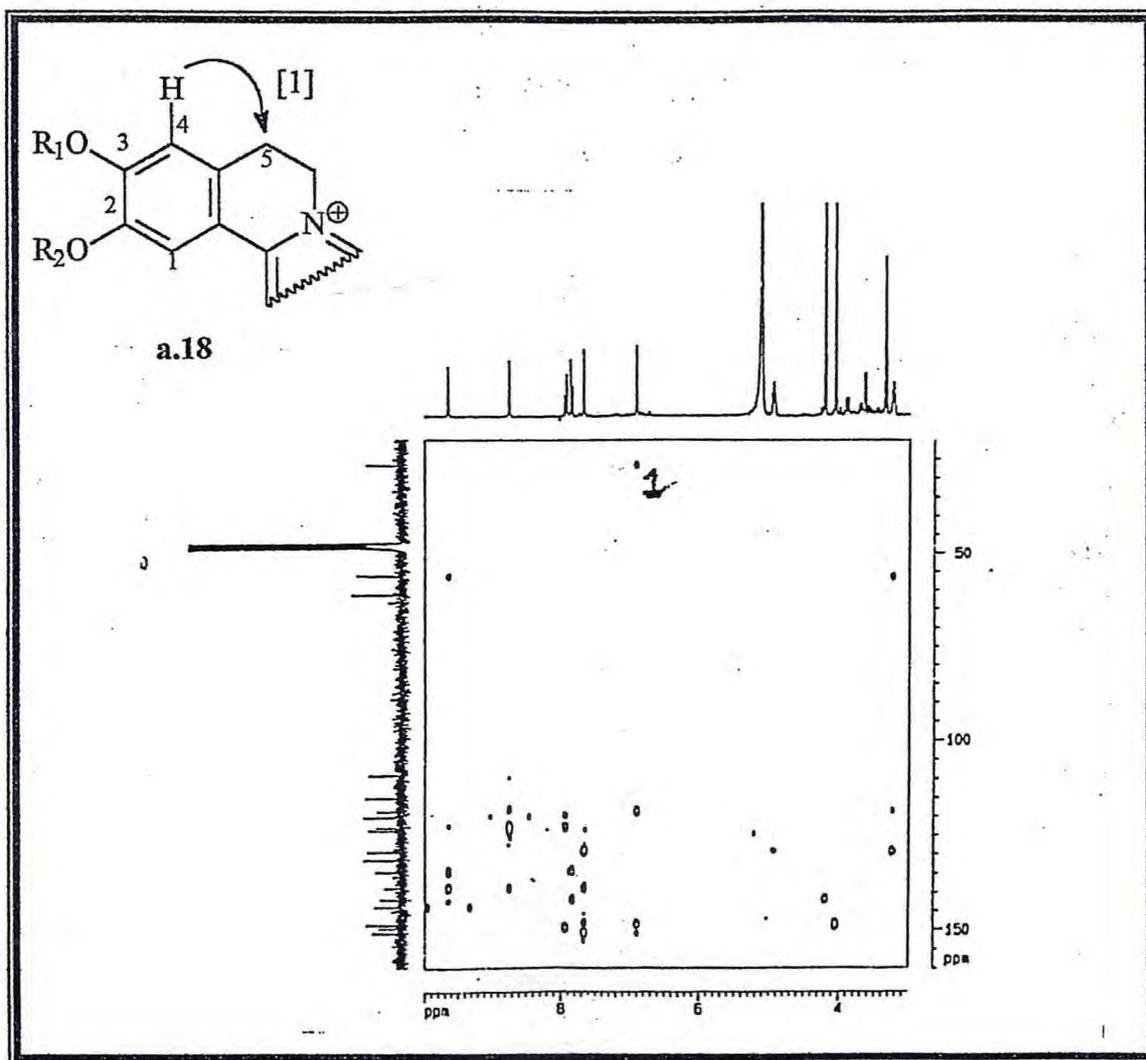
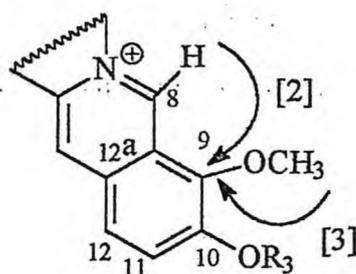


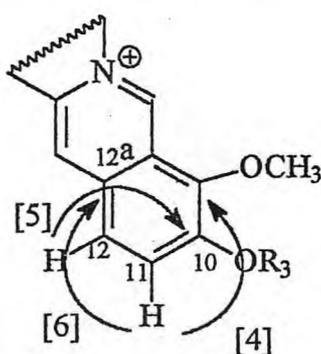
Figura 29 – Diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMBC-  $^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) de RLR-3 ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $300 \times 75$  MHz)

A posição de um dos grupos metoxilas foi determinada pela correlação a três ligações observada entre H-8 e C-9 ( $\delta$  142,1) [2] (expansão I, Fig. 30, p. 127) e pela correlação deste carbono com os hidrogênios metílicos representados pelo sinal em  $\delta$  4,19 [3] (expansão II, Fig. 31, p. 128), mostrados na estrutura a.19.



a.19

A atribuição dos deslocamentos químicos de C-11 ( $\delta$  131,6) e C-12 ( $\delta$  123,8) se deu pelo acoplamento a três ligações observado entre H-11 ( $\delta$  7,84) e C-9 [4]. H-12 ainda mostrou correlação a três ligações com C-10 ( $\delta$  149,6) [5]. A associação do deslocamento químico de  $\delta$  134,6 com C-12a, foi fornecida pela correlação  $^3J_{CH}$  vista entre H-11 e este carbono [6] (expansão I, fig. 30, p. 123) (estrutura a.20).



a.20

A determinação da absorção de C-13a ( $\delta$  138,9) foi possível devido aos acoplamentos observados entre H-1 ( $\delta$  7,66) com C-13a [7] e deste carbono com H-8 [8] e com H-13 ( $\delta$  8,74) [9], como mostrado na estrutura a.21. Foi atribuída uma absorção de  $\delta$  129,4 para C-4a devido aos acoplamentos  $^2J_{CH}$  e  $^3J_{CH}$  vistos respectivamente entre H-5 [10] e H-6 [11] com este carbono (estrutura a.22).

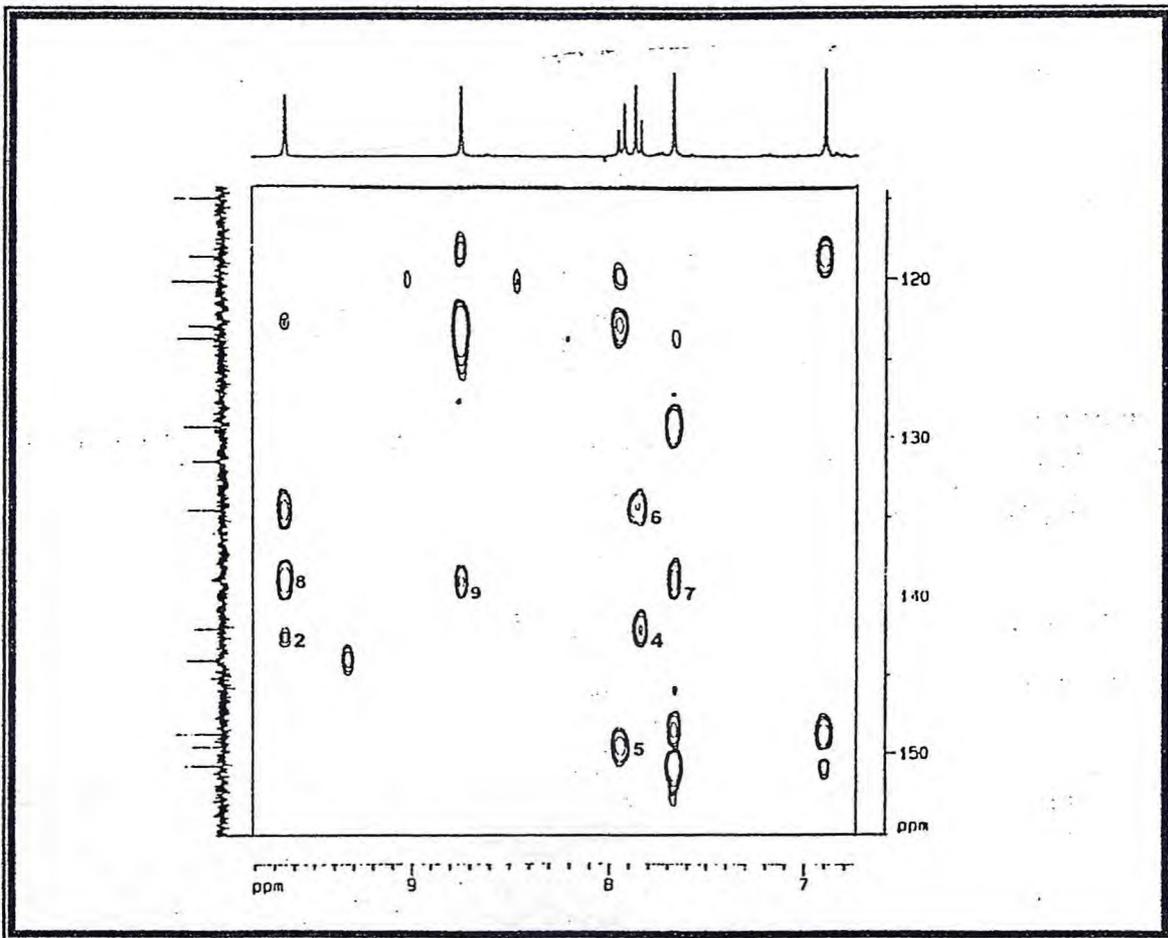
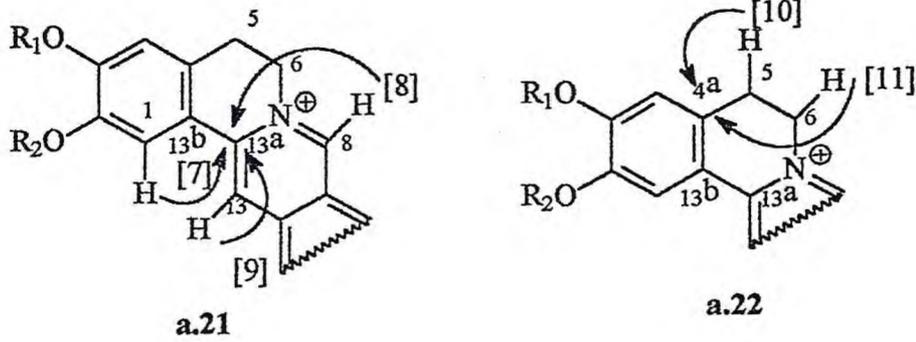


Figura 30 – Expansão I do diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1H \times ^{13}C$  – HMBC- $^nJ_{CH}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) de RLR-3 ( $CD_3OD$ ,  $300 \times 75$  MHz)

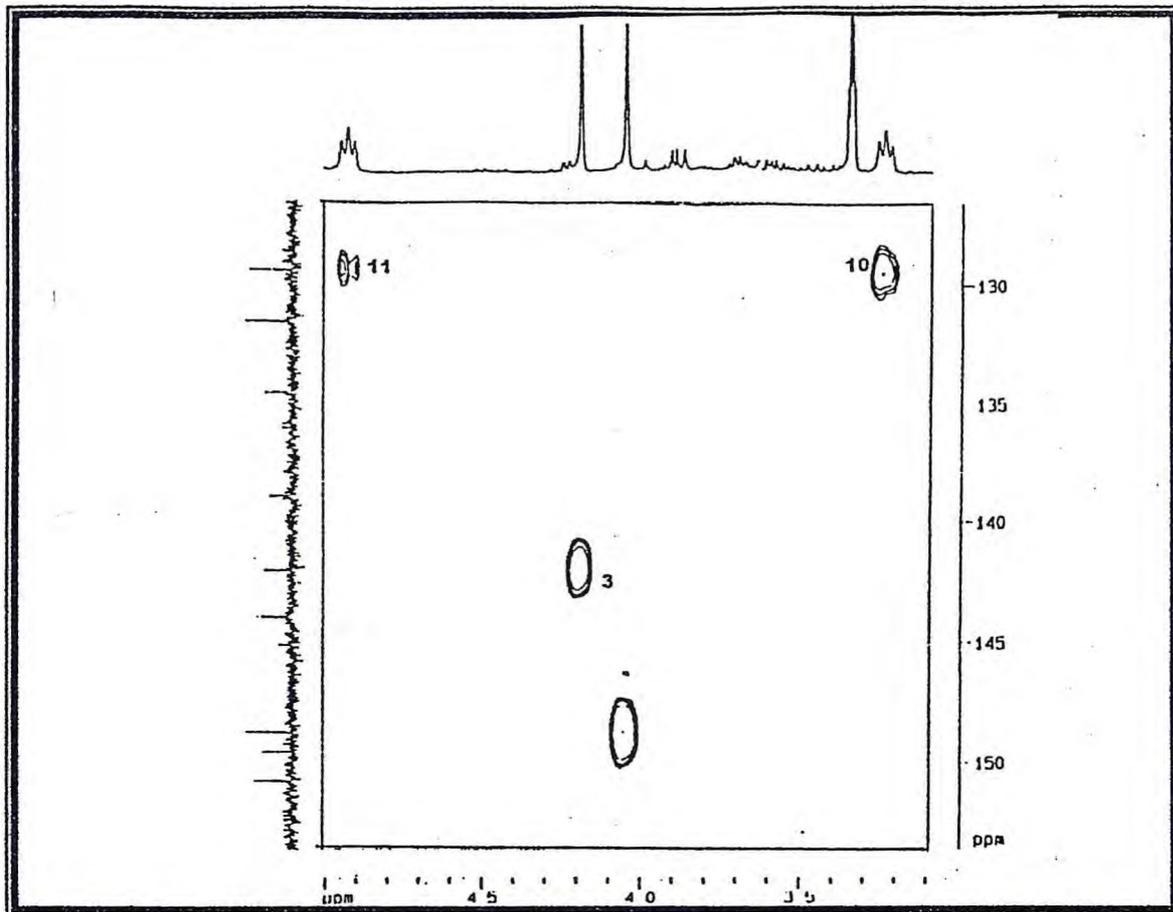
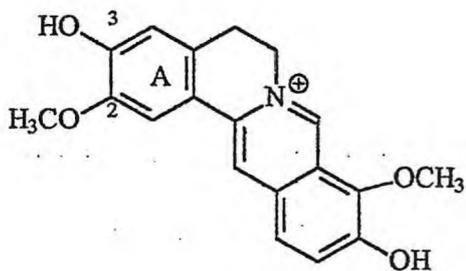
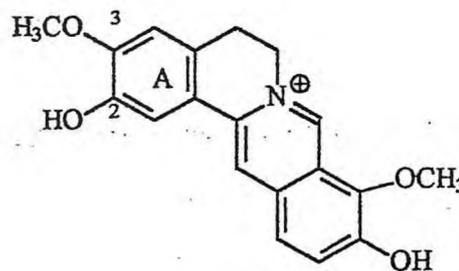


Figura 31 – Expansão II do diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC- $^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) de RLR-3 ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $300 \times 75$  MHz)

Com estes dados pôde-se propor duas estruturas para RLR-3 : RLR-3a e RLR-3b , que variam apenas na posição dos grupos hidroxila e metoxila no anel A .

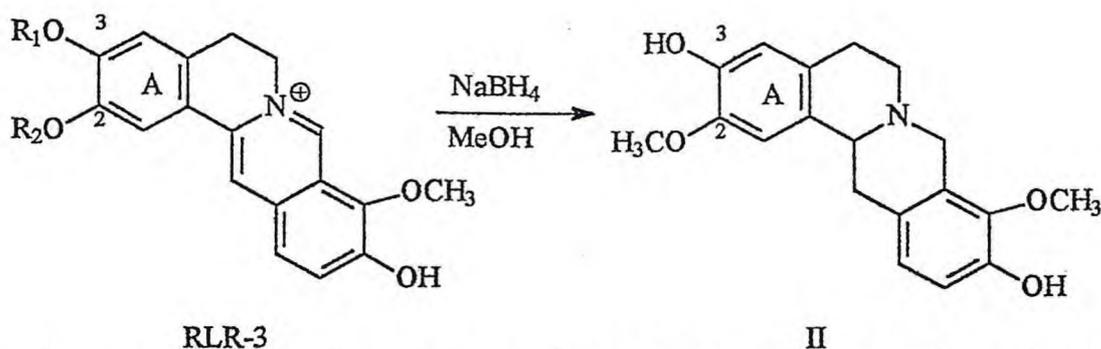


RLR-3a



RLR-3b

Com o intuito de estabelecer a estrutura correta, realizou-se uma reação de redução com borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ) em metanol, conforme esquema abaixo (5.4, p.227).



O espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  ( 500 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) (Fig. 32, p.130) do produto da reação foi idêntico ao espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  da discretamina II. O desaparecimento do sinal referente a H-8 , um singlete em  $\delta$  9,64, e o aparecimento dos dubletos centrados em  $\delta$  4,45 e 3,67 , indicaram hidrogenação da ligação dupla  $\text{N} = \text{C}_8$  . O mesmo pôde ser observado para ligação dupla  $\text{C}_{13} = \text{C}_{13a}$ , com a ausência do sinal atribuído a H-13 ( $\delta$  8,74, s). Os tripletos observados para H-5 ( $\delta$  3,23, 2H, t) e H-6 ( $\delta$  4,93, 2H, t) observados no espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de RLR-3 ( 300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) , também não foram vistos no espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  do produto da reação (Fig. 32) , mas observou-se sinais na faixa de  $\delta$  3,16 a 2,55 que foram atribuídos aos grupos metilênicos 5 e 6. Desta forma RLR-3 foi definido como sendo o alcalóide desidrodiscretamina (III) . Na Tabela 15 (p. 131) estão descritos os deslocamentos químicos atribuídos aos carbonos da desidrodiscretamina (III) bem como um resumo de todas as correlações heteronucleares observadas.

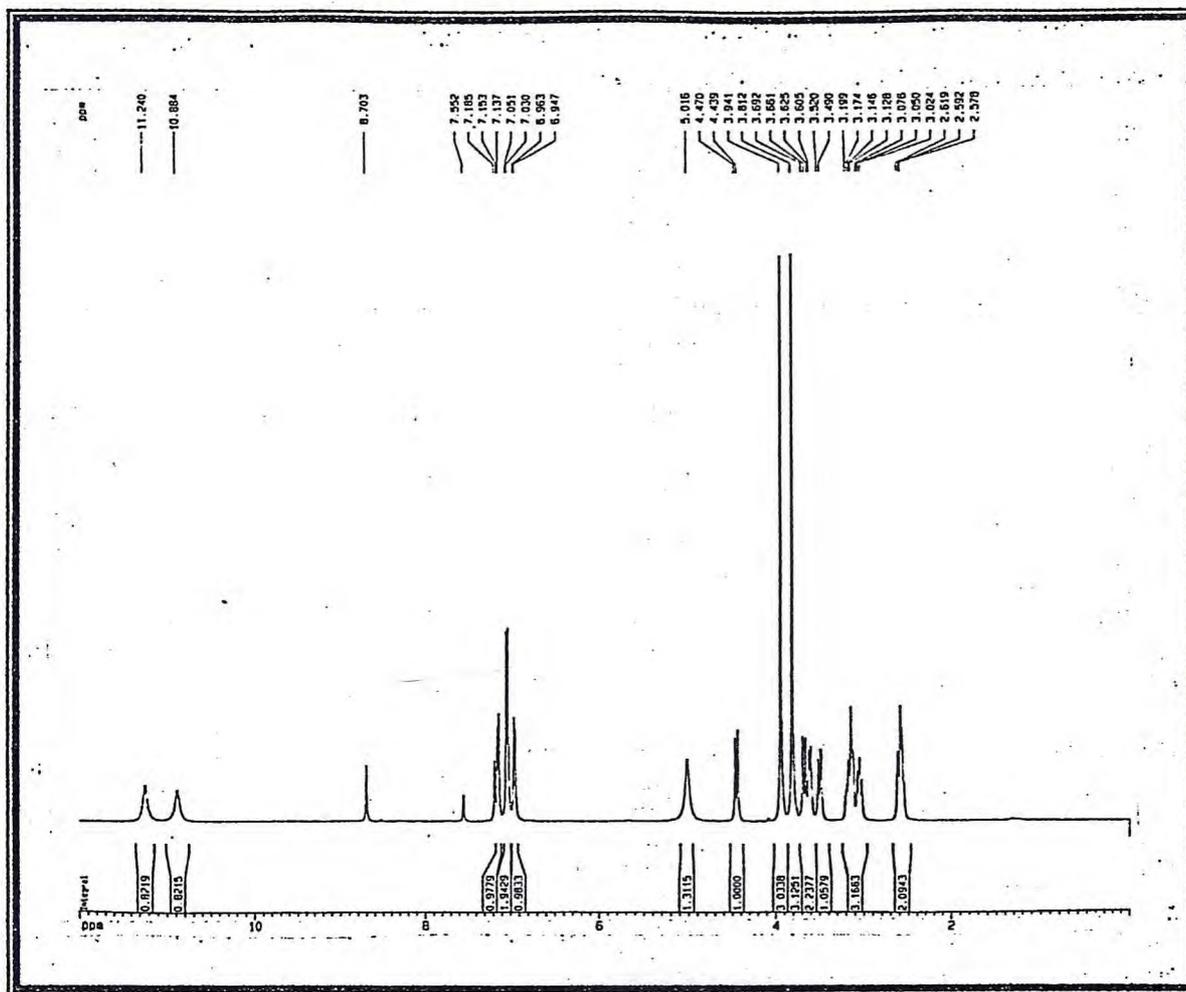
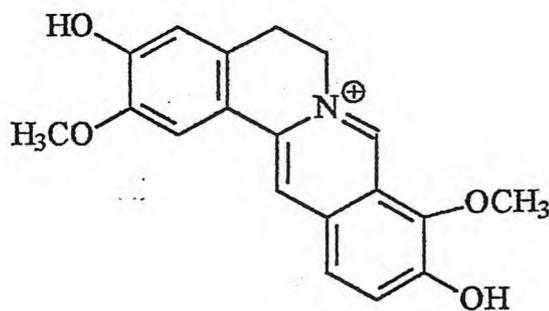


Figura 32 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) do produto da redução de RLR-3

A desidrodiscretamina (III) já foi isolado de anonáceas, no entanto seu isolamento à partir de plantas do gênero *Rollinia* e seus dados de RMN<sup>13</sup>C, estão sendo relatados na literatura pela primeira vez.



III

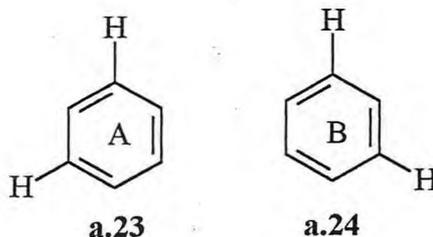
Tabela 15 - Dados espectrais para RLR-3 e acoplamento heteronuclear ( $^1J_{CH}$ ,  $n = 1, 2$  e  $3$ ). Deslocamentos químicos em  $\delta$  e  $J$  em Hz. Dados obtidos em  $CD_3OD$ .

	$^1H - ^{13}C - ^1J_{CH}$		$^1H - ^{13}C$	
	$\delta_H$	$\delta_C$	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
<b>C</b>				
2	148,8		H-1	MeO-2, H-4
3	150,8		H-4	H-1
4a	129,4		2H-5	2H-6, H-1
8a	123,0		H-8	H-12
9	142,1			H-8, MeO-9, H-11
10	149,6			H-12
12a	134,6			H-8, H-11
13a	138,9		H-13	H-1, H-8
13b	118,7			H-4, H-13
<b>CH</b>				
1	109,2	7,66 (s)		
4	115,1	6,89 (s)		
8	144,1	9,64 (s)		
11	131,6	7,84 (d, $J = 8,9$ )		
12	123,8	7,92 (d, $J = 8,9$ )		H-13
13	120,3	8,74 (s)		H-12
<b>CH<sub>2</sub></b>				
5	26,8	3,23 (t)		H-4
6	56,5	4,93 (t)	H-5	H-8
<b>CH<sub>3</sub></b>				
OMe-2	56,2	4,05 (s)		
OMe-9	61,4	4,19 (s)		

## 2.2.4 – RLR-4

Da fração clorofórmica (5.3.1.1.2, p.219) do extrato metanólico da raiz de *R. leptopetala*, após fracionamento cromatográfico, obteve-se um sólido cristalino amarelo-claro denominado de RLR-4. Este sólido apresentou ponto de fusão na faixa de 185,6 - 187,2°C e mostrou-se solúvel em clorofórmio.

Seu espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz. CDCl<sub>3</sub>) (Fig. 33, p.133) mostrou um sinal em  $\delta$  13,39 atribuído a hidrogênio de grupo hidroxila fenólica quelada. Absorções características de hidrogênios pertencentes a grupos metoxila em  $\delta$  3,91 e 3,89 também foram evidenciados, assim como um sinal para hidrogênico de grupo metila ligado a carbono  $sp^2$  de sistema aromático em  $\delta$  2,87. Quatro dubletos na faixa de  $\delta$  6,70 a 6,32 foram relacionados a hidrogênios aromáticos, cuja constante de acoplamento (2,3 e 2,5 Hz), permitiu propor que os mesmos estariam relacionados com hidrogênios acoplados em *meta* sugerindo a existência de dois anéis aromáticos (estruturas a.23 e a.24).



A presença destes dois anéis foi confirmado pelo espectro de RMN<sup>13</sup>-BB (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Fig. 34, p. 133), por onze sinais na faixa de  $\delta$  165,0 a 92,3 , sendo que sinal em  $\delta$  163,9 pode ser relacionado a dois átomos de carbonos.

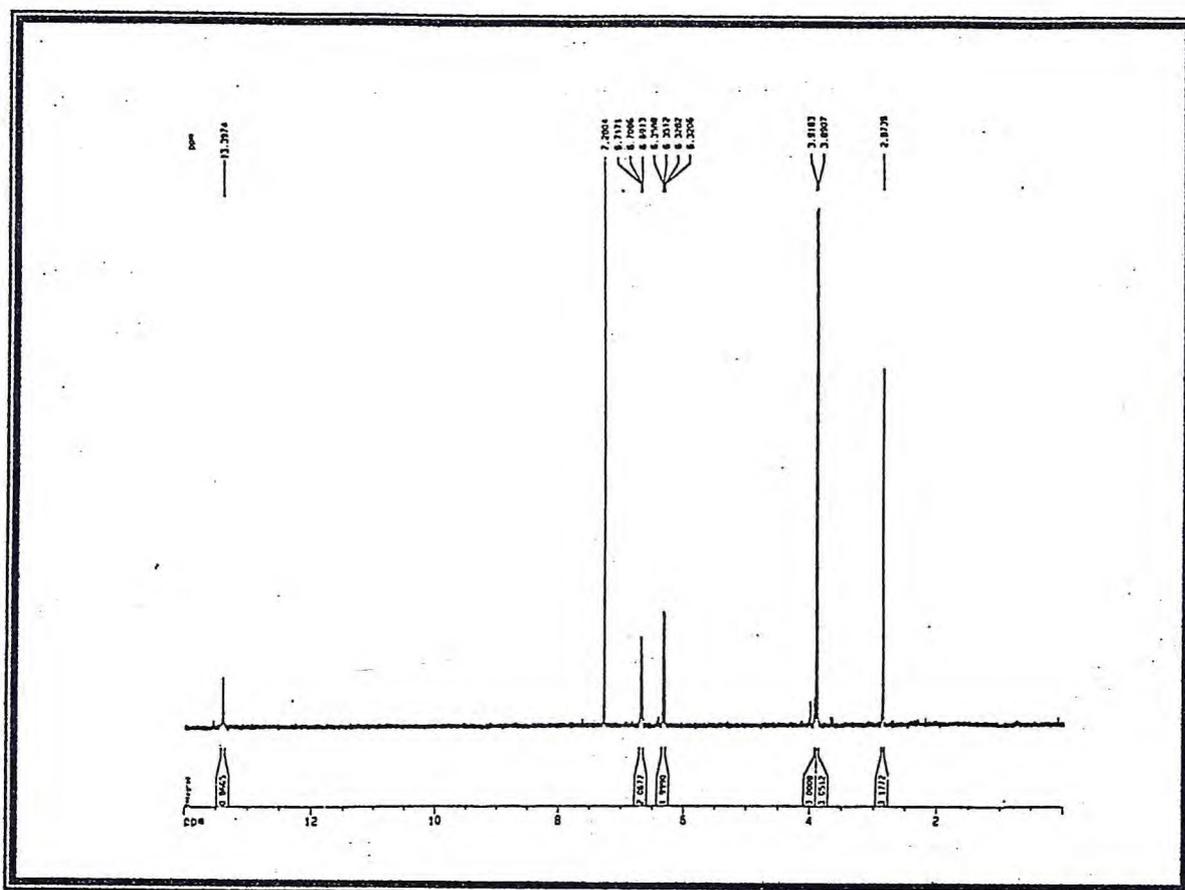


Figura 33 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H de RLR-4 (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)

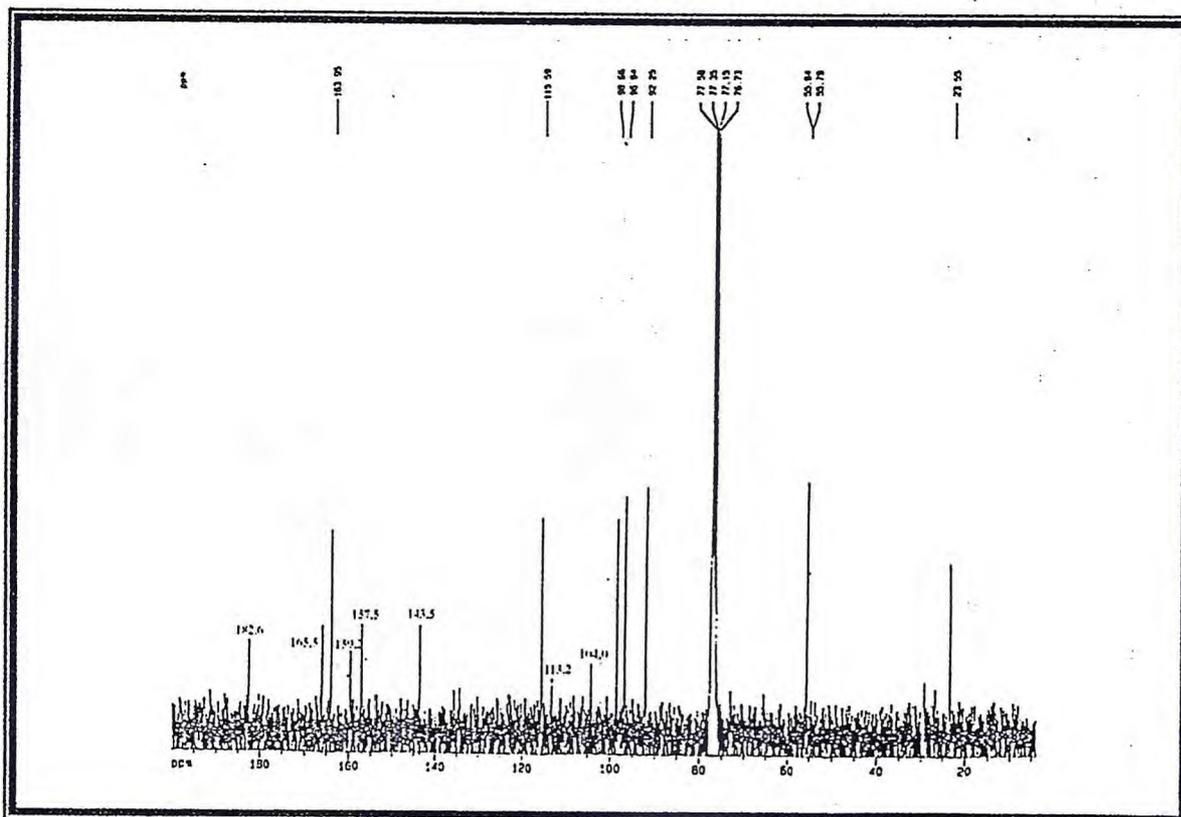


Figura 34 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB de RLR-4 (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)

Além dos sinais característicos de carbonos aromáticos, o espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB apresentou ainda um sinal para carbono de grupo carbonila em  $\delta$  182,6, dois sinais que puderam ser atribuídos a carbonos metoxílicos em  $\delta$  55,8 e 55,7 e um sinal para o carbono metílico ligado a anel aromático em  $\delta$  23,5. O padrão de hidrogenação de cada carbono foi obtido através da análise do diagrama de contorno do espectro de RMN <sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C – HMQC- <sup>1</sup>J<sub>CH</sub> de RLR-4 (Fig. 35, p.135). Pôde-se observar que RLR-4 possui quatro grupos metínicos e três grupos metilas e os dados permitiram construir a Tabela 16. Por exclusão, RLR-4 apresenta nove carbonos não hidrogenados, dos quais seis tiveram seus deslocamentos químicos compatíveis com carbonos sp<sup>2</sup> oxigenados.

**Tabela 16** – Dados obtidos da análise do diagrama de contorno do espectro de RMN <sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C – HMQC- <sup>1</sup>J<sub>CH</sub> de RLR-4 (500 x 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta_c$	$\delta_H$
CH	
115,6	6,69 (1 H, <i>d</i> , <i>J</i> =2,5 Hz)
98,7	6,70 (1 H, <i>d</i> , <i>J</i> =2,5 Hz)
96,9	6,32 (1 H, <i>d</i> , <i>J</i> =2,3 Hz)
92,3	6,35 (1 H, <i>d</i> , <i>J</i> =2,3 Hz)
CH <sub>3</sub>	
*55,8	3,91 (3 H)
*55,7	3,89 (3 H)
23,6	2,87 (3 H)

\* Os valores podem está trocados

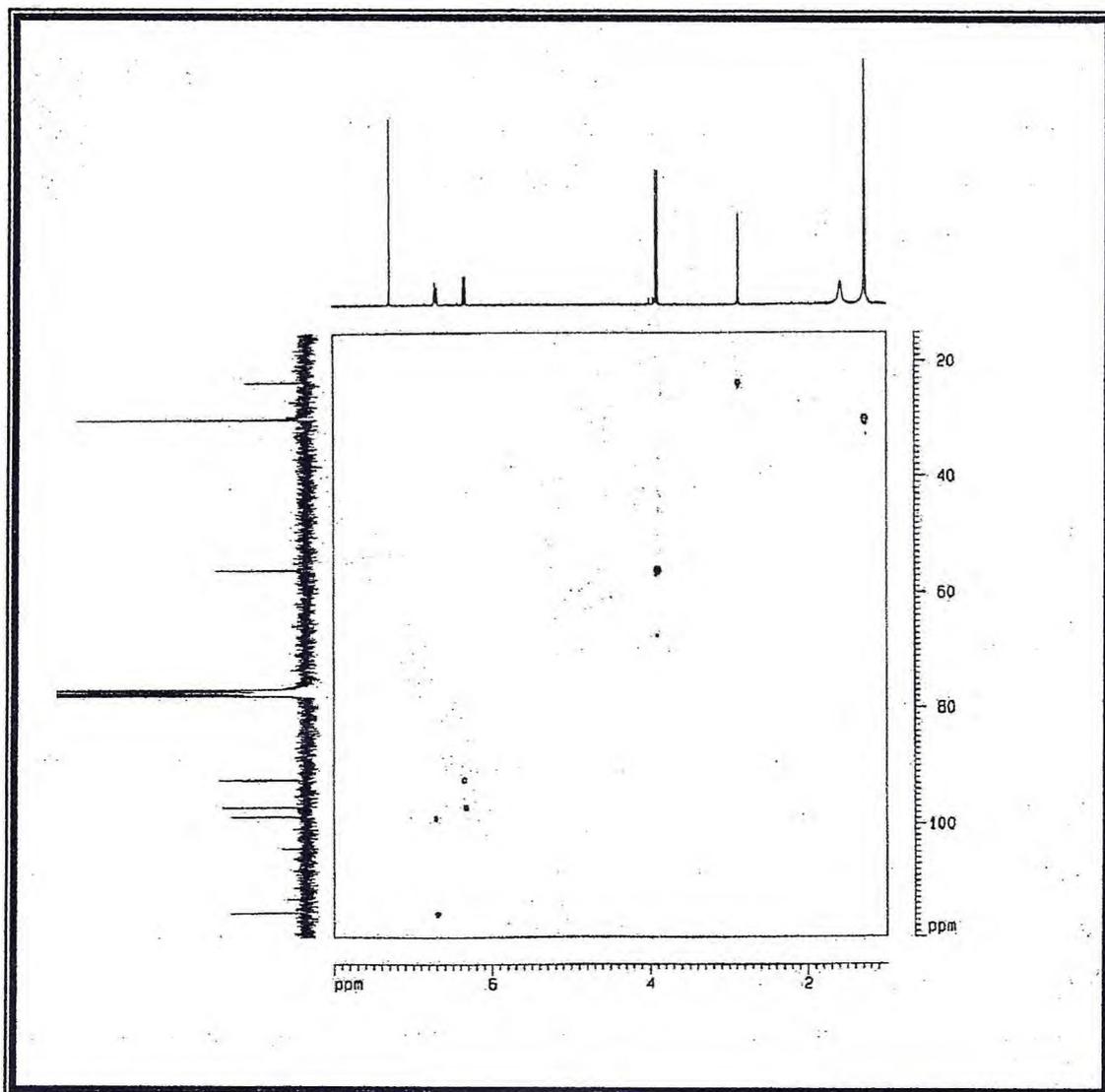
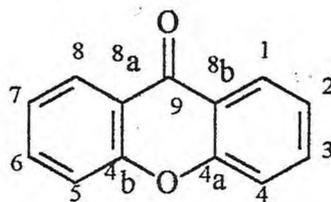


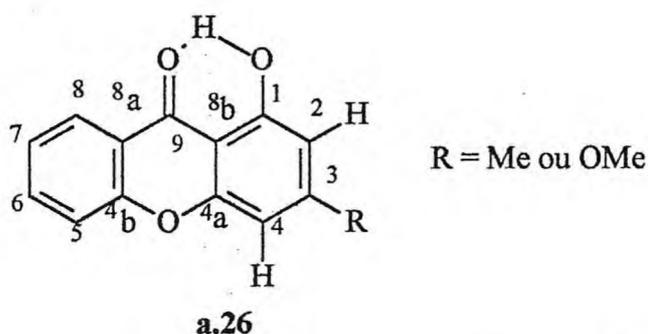
Figura 35 – Diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMQC-  $^1\text{J}_{\text{CH}}$  de RLR-4 ( $\text{CDCl}_3$ , 500 x 125 MHz)

A presença dos dois anéis aromáticos e do grupo carbonila, além do fato de RLR-4 apresentar apenas treze carbonos em seu esqueleto básico, sendo que destes carbonos cinco são  $sp^2$  oxigenados de sistema aromático nos fez propor que RLR-4 possuía um esqueleto xantônico, como mostrado na estrutura a.25.



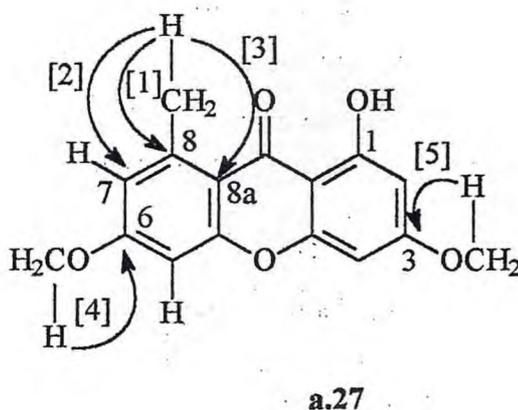
a.25

O sinal observado em  $\delta$  13,39 no espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  foi compatível com hidrogênio de grupo hidroxila fenólica quelada, em C-1 ou C-8, pois nestas posições é possível ocorrer a formação de ponte de hidrogênio entre o grupo carbonila e o grupo hidroxila, de forma que este hidrogênio estando parcialmente ligados a dois oxigênios, adquira uma carga parcial positiva muito grande e em consequência, seja bastante desprotegido (estrutura a.26).

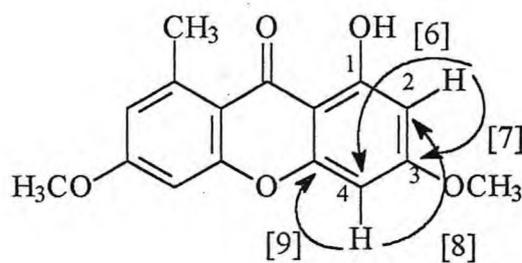


Os hidrogênios do grupo metila em  $\delta$  2,87 mostrou no diagrama de contorno do espectro de  $\text{RMN}^1\text{H} \times ^{13}\text{C-HMBC} - ^n\text{J}_{\text{CH}} (n = 2 \text{ e } 3)$  (Fig. 36, p. 138) três correlações: a duas ligações com o carbono em  $\delta$  143,0 [1] não oxigenado (C-8); a três com o carbono metínico em  $\delta$  115,7 [2] atribuído a CH-7; e a três ligações com o carbono representado pelo sinal em  $\delta$  113,8 (C-8a) [3]. Estes dados permitiram localizar o grupo metila em C-8. Consequentemente, os grupos metoxilas estariam em anéis diferentes, ligados aos carbonos C-3 e C-6.

O diagrama permitiu também observar as correlações a três ligações entre os hidrogênios em  $\delta$  3,91 e 3,89 com os carbonos em  $\delta$  163,2 [4] e 165,0 [5] respectivamente (estrutura a.27):



Ainda na análise do diagrama observou-se que o hidrogênio em  $\delta$  6,32 (d,  $J = 2,3$  Hz) se correlacionava com os carbonos em  $\delta$  92,3 [6]  $^3J_{CH}$  e 163,9 [7]  $^2J_{CH}$  que sugere-se ser C-3, enquanto que o hidrogênio em  $\delta$  6,35 (d,  $J = 2,3$  Hz) mostrou correlação com os carbonos em  $\delta$  96,9 [8]  $^3J_{CH}$  e 157,5 [9]  $^2J_{CH}$ . Propôs-se que este hidrogênio seria H-4 e que o carbono em  $\delta$  157,5, C-4a (estrutura **a.28**)



**a.28**

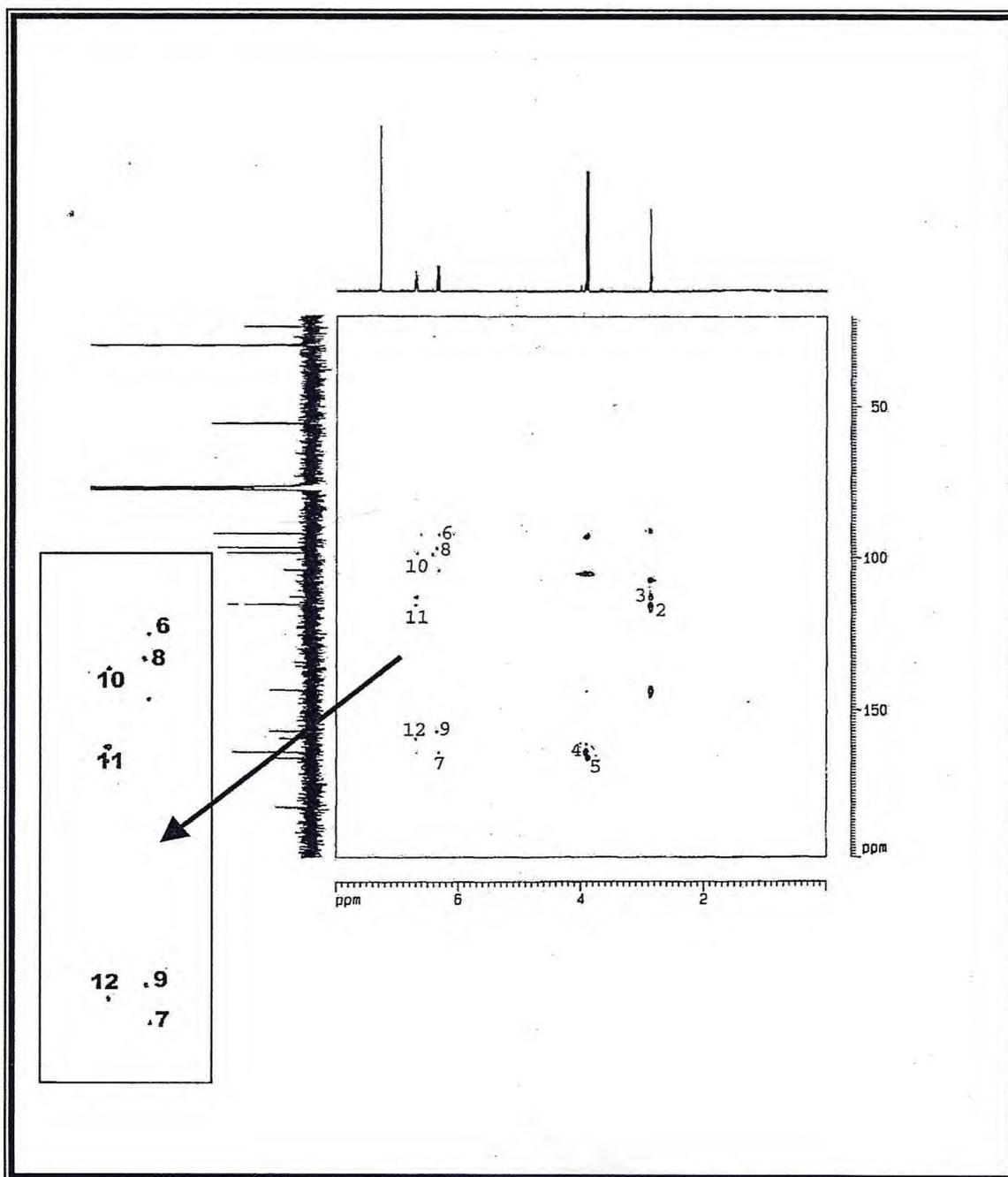
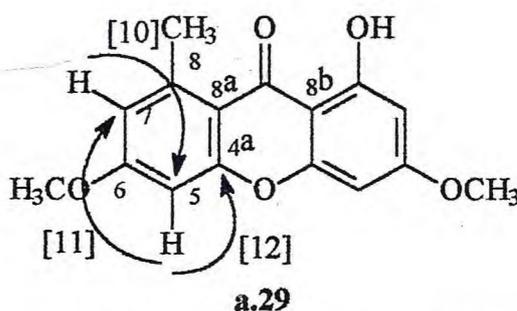


Figura 36- Diagrama de contorno do espectro de RMN<sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C-HMBC - <sup>n</sup>J<sub>CH</sub> (n=2 e 3) de RLR-4 (500 x 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

A correlação entre o hidrogênio em  $\delta$  6,69 com os carbonos em  $\delta$  98,7 (C-5) [10]  $^3J_{CH}$  foi observada. Já o hidrogênio, H-5 ( $\delta$  6,70) mostrou correlações tanto com C-7[11]  $^3J_{CH}$  quanto com um carbono em  $\delta$  159,2 [12]  $^2J_{CH}$ , cujo valor foi atribuído para C-4b. Por exclusão, pôde-se atribuir o sinal em  $\delta$  163,9 para C-1 e o sinal em  $\delta$  113,2 para C-8b. Para este último foi imputado o menor valor de  $\delta$  pelo mesmo encontrar-se *orto* e *para* a três carbonos oxigenados (estrutura a.29). Todos estes dados foram reunidos na tabela 17 (p.140).



Comparação com dados da literatura (Rojas et al., 2000), através da comparação dos dados de carbono-13 de RLR-3 com os registrados para liqueoxantona (Tabela 18, p.141), corroboraram a proposta que a xantona isolada da raiz de *R. leptopetala* é a liqueoxantona IV. A liqueoxantona foi isolada pela primeira vez (Asahina et al., 1954) de um líquem (*Parmelia formosana*) encontrada na ilha de Formosa e nas regiões centrais do Japão. Acreditava-se que a liqueoxantona, como o próprio nome diz, era produzida apenas por líquens, mas há relatos na literatura do isolamento da liqueoxantona em plantas superiores (Pettit et al., 2003). Tendo sido isolada também de espécies do *Zanthoxylum* (Nissanka et al., 2001). Em nosso trabalho, a planta *R. leptopetala* foi coletada em dois locais diferentes (serra de Ibiapaba e município do Crato). As duas amostras da planta forneceram isoladamente pequenas quantidades de liqueoxantona, sugerindo que a mesma é produzida na planta e não por contaminação de líquens. A presença de xantonas em espécies da família Annonaceae é relatada somente em *Uvaria Kirkii* (Tammani et al., 1977), sendo portanto a presença de xantona no gênero *Rollinia* é relatada aqui pela primeira vez (Feitosa et al., 2004).

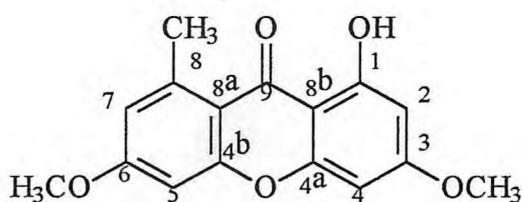
**Tabela 17** – Dados de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  e correlações heteronuclear  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$ ,  $n = 1$  (HMQC) e  $n = 2$  e  $3$  (HMBC) de RLR-4

	$^1\text{H} - ^{13}\text{C} - {}^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H} - ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	${}^2\text{J}_{\text{CH}}$	${}^3\text{J}_{\text{CH}}$
<b>C</b>				
<b>1</b>	163,9	-		
<b>3</b>	163,9	-	H-2	OMe-3
<b>4a</b>	157,5	-	H-4	
<b>4b</b>	159,2	-		
<b>6</b>	165,0	-		OMe-6
<b>8</b>	143,5	-	Me-8	
<b>8a</b>	113,2	-		Me-8, H-4, H-7
<b>8b</b>	103,0	-		H-2
<b>9</b>	182,6	-		
<b>CH</b>				
<b>2</b>	96,9	6,32 (d, $J = 2,3$ )		H-4
<b>4</b>	92,3	6,35 (d, $J = 2,3$ )		H-2
<b>5</b>	98,6	6,70 (d, $J = 2,5$ )		H-7
<b>7</b>	115,6	6,69 (d, $J = 2,5$ )		Me-8, H-5
<b>CH<sub>2</sub></b>				
<b>OMe-3</b>	55,8	3,91 (s)		
<b>OMe-6</b>	55,7	3,89 (s)		
<b>Me-8</b>	23,9	2,87 (s)		

**Tabela 18** – Comparação dos dados de RMN<sup>13</sup>C de RLR-4 com aqueles encontrados na literatura (Rojas et al., 2000) para a liqueoxantona **IV**

C	RLR-3	IV
1	163,9	163,8
2	96,9	96,8
3	165,0	157,0*
4	92,3	92,1
4a	157,5	159,4
4b	159,2	159,4
5	98,6	98,5
6	163,9	165,8
7	115,6	115,4
8	143,5	143,5
8a	113,2	113,0
8b	103,0	104,2
9	182,6	182,4
OMe-3	55,8	55,7
OMe-6	55,7	55,7
Me-8	23,9	23,4

\* Pelos dados de RMN obtidos para RLR-4, sugere-se que valor de deslocamento químico registrado na literatura, esteja incorreto.



**IV**

### 3.2.5 - RLCC-1

A análise cromatográfica da fração obtida com clorofórmio (EMCCRL-c, 5.3.1.2, p.221) do extrato metanólico da casca do caule forneceu um sólido cristalino (RLCC-1) de coloração branca, solúvel em clorofórmio e com ponto de fusão na faixa de 132,8° a 135,4°C. A comparação em CCD de RLCC-1 e o padrão do esteróide sitosterol revelou que os mesmos apresentavam o mesmo *rf*.

Procedeu-se então a comparação de seus dados de RMN <sup>13</sup>C de RLCC-1 com dados encontrados na literatura (Chaurasia, 1987; Aragão et al., 1990) para o esteróide. Estes dados estão reunidos na Tabela 19 (p.145). O espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) (Fig. 37, p.143) de RLCC-1 apresentou vinte e nove linhas espectrais, onde se destacam os sinais em  $\delta$  141,2 e 122,1 respectivamente de um carbono *sp*<sup>2</sup> não hidrogenado e de um carbono de grupo CH, indicando a ligação dupla entre C-5 e C-6 na estrutura do sitosterol e o sinal em  $\delta$  72,2 de um carbono carbinólico (C-3). O padrão de hidrogenação que permitiu a correlação de cada sinal no espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB com os quatro tipos de carbonos (C, CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>) foi obtido pela comparação visual entre este espectro e o de RMN<sup>13</sup>C-DEPT 135° (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) (Fig. 38, p.143). A estrutura do esteróide foi ainda confirmada pela presença de seis carbonos de grupos metilas na faixa de  $\delta$  19,8 a 19,1. As mesmas puderam ser facilmente observadas no espectro de RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) (Fig. 39, p.144) pelos sinais entre  $\delta$  1,03 e 0,81. O hidrogênio ligado a carbono carbinólico foi observado pelo multipletto centrado em  $\delta$  3,54.

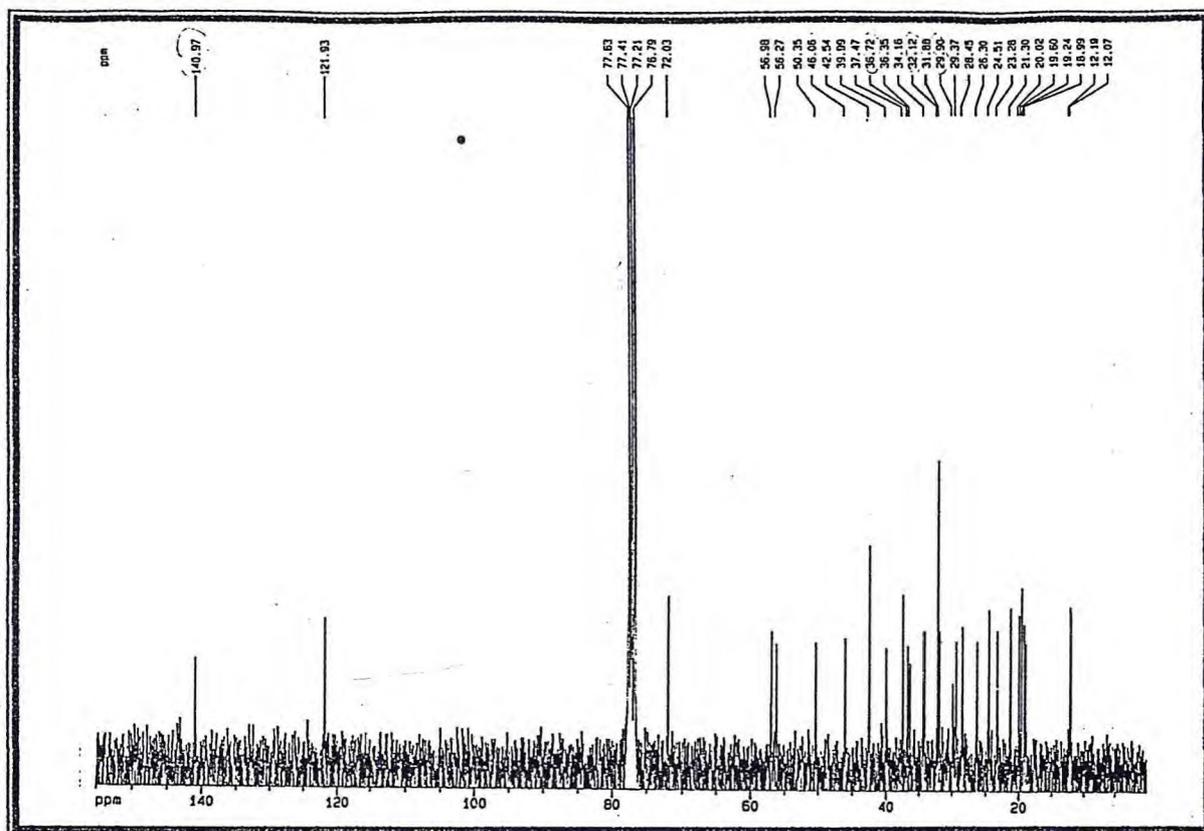


Figura 37 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB de RLCC-1 (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)

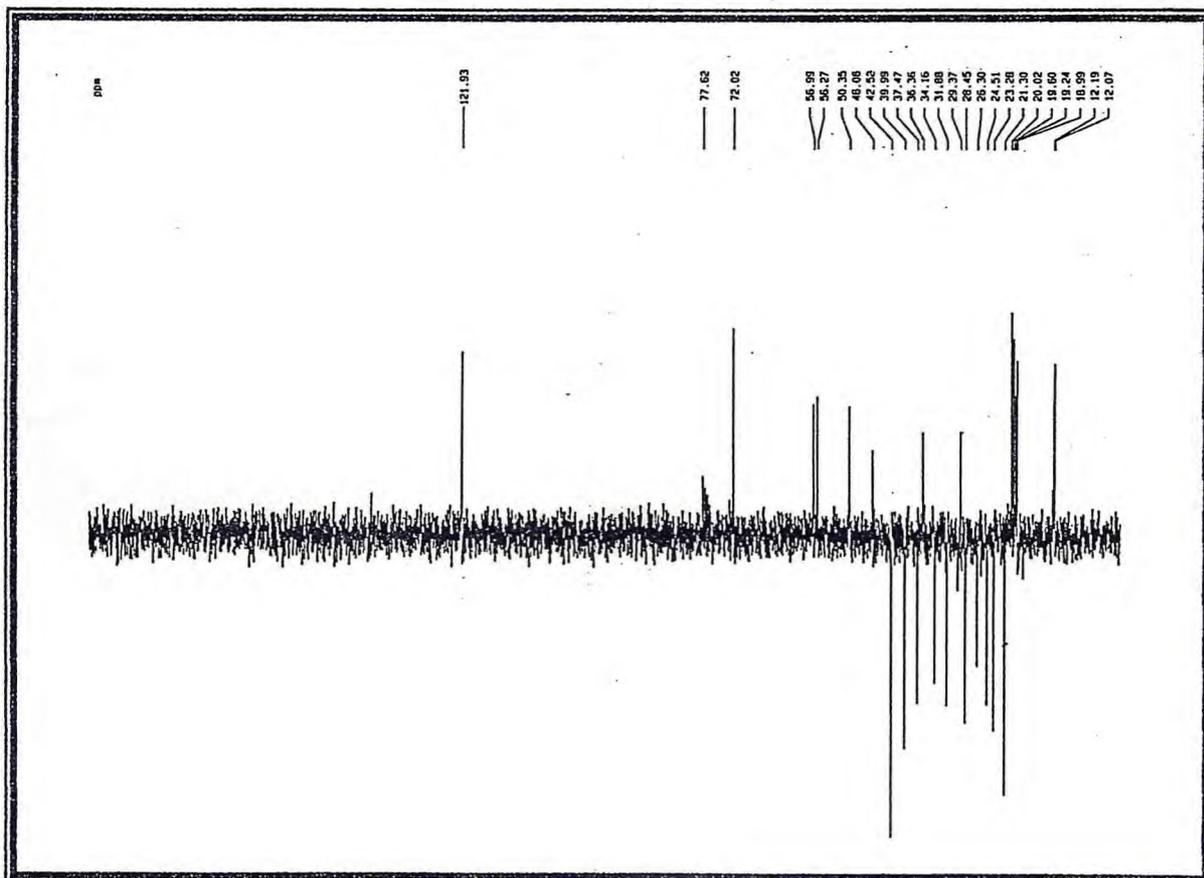


Figura 38 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C-DEPT 135° de RLCC-1 (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)

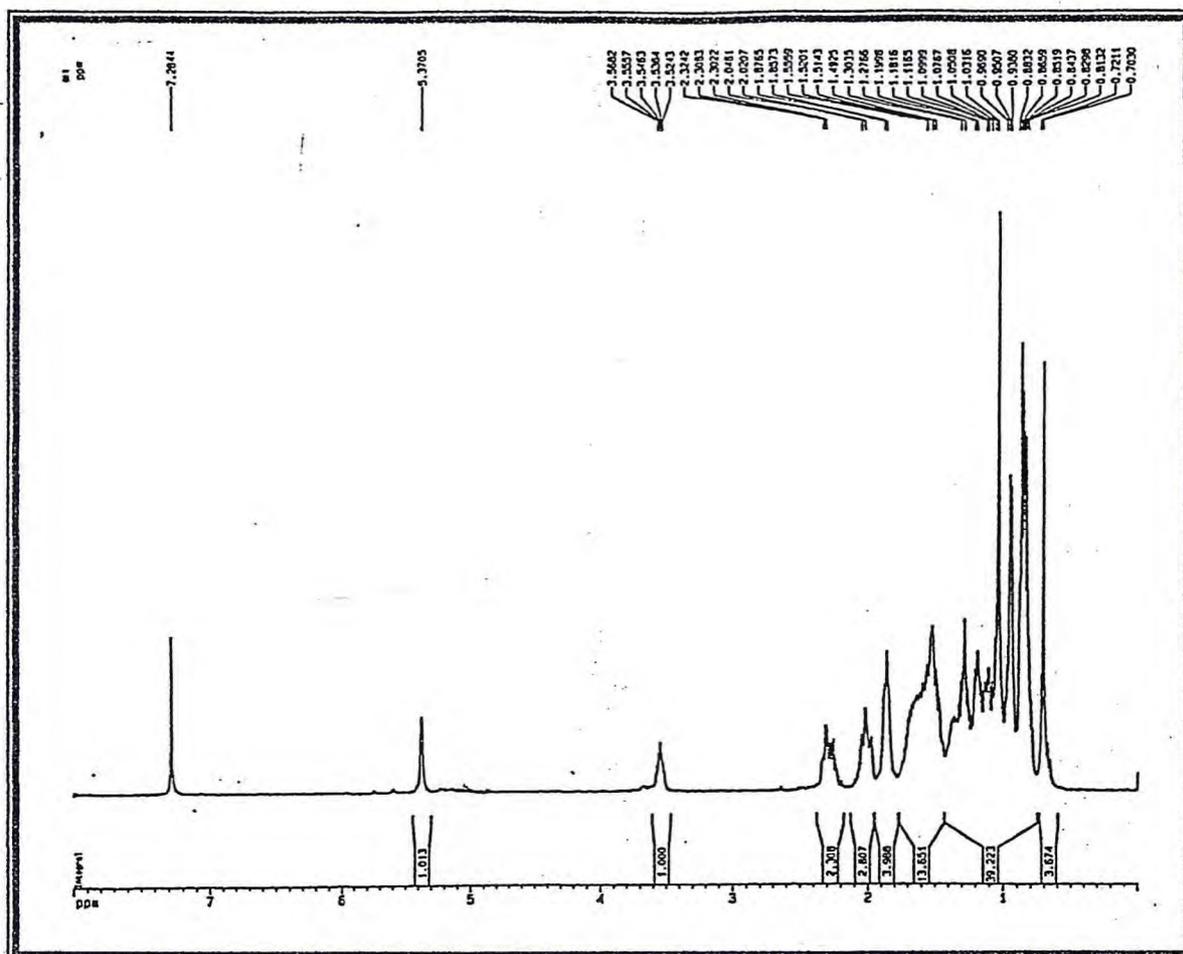


Figura 39 - Espectro RMN<sup>1</sup>H de RLCC-1 (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)

Não foi encontrado nenhum registro de esteróide no gênero *Rolliniopsis* ou *Rollinia*. Desta forma, o sitosterol V está sendo relatado pela primeira vez com um dos constituintes químicos deste gênero.

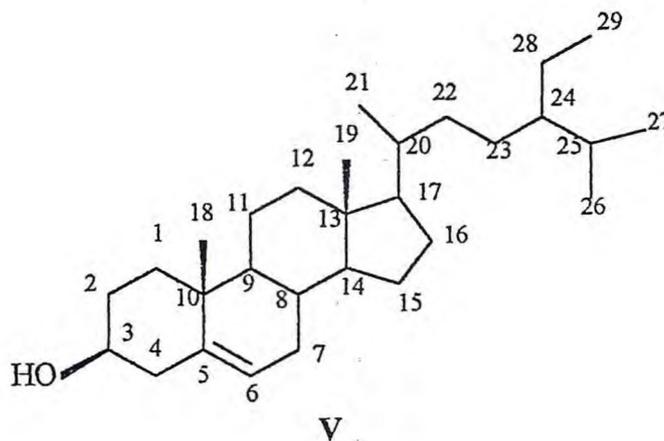


Tabela 19 – Comparação entre os dados de RMN<sup>13</sup>C de RLCC-1 e os dados do esteróide sitosterol relatados na literatura (Chaurasia , 1987; Aragão et al., 1990)

C	RLCC-1	sitosterol
1	37,5	37,2
2	31,9	31,6
3	72,0	71,8
4	42,5	42,3
5	140,9	140,7
6	121,9	121,7
7	31,9	31,9
8	29,9	31,9
9	50,4	50,1
10	36,7	36,5
11	21,3	21,1
12	39,9	39,8
13	42,5	42,3
14	56,3	56,7
15	24,5	24,3
16	28,4	28,2
17	56,0	56,0
18	12,1	11,8
19	19,6	19,4
20	36,1	36,1
21	19,2	19,0
22	34,2	33,9
23	26,3	26,1
24	46,1	45,8
25	29,4	29,2
26	18,9	18,7
27	20,0	19,8
28	23,3	22,0
29	12,2	11,9

## 3.2.6 – RLCC-2

Ainda da fração EMCCRL-c (5.3.1.2, p.221), obteve-se um composto pastoso de coloração branca, que assumia a forma de cristais à baixas temperaturas. Este composto denominado de RLCC-3, apresentou ponto de fusão na faixa de 48,5 a 49,0 °C e solubilidade em clorofórmio.

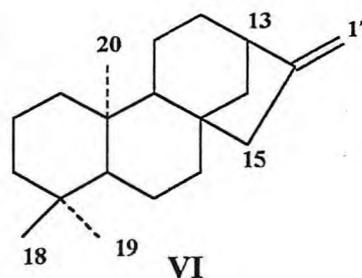
Seu espectro de RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) (Fig. 40, p.147), quando comparado com o espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig. 44, p.151) de RLCC-3, revelou que a única diferença entre os dois compostos era a presença de um grupo metila a mais, observado pelo sinal de absorção de hidrogênios metílicos em  $\delta$  1,27. A comparação dos dados de RMN<sup>1</sup>H de RLCC-2 com dados registrados na literatura (Hogg e Knox, 1987) para os prótons H-13, H-15, H-17 (Tabela 20) foram compatíveis com a estrutura do diterpeno 16-caureno (VI). O espectro de massa de RLCC-2 (fig. 41, p.147) obtido por cromatografia gasosa acoplado a espectrômetro de massa foi comparado diretamente com o espectro de massa do caureno registrado na literatura (Adams, 1992), o que corroborou a estrutura de RLCC-2.

Tabela 20 – Comparação de dados de RMN<sup>1</sup>H de RLCC-3 com dados descritos na literatura para o 16-caureno (Hogg e Knox, 1987)

composto	H-13	H-15	H-17
16-caureno	2,62 sl	2,05 sl	4,73 sl
RLCC-3	2,65 sl	2,07 m	4,81 4,76

sl - sinal largo

m -multiplete



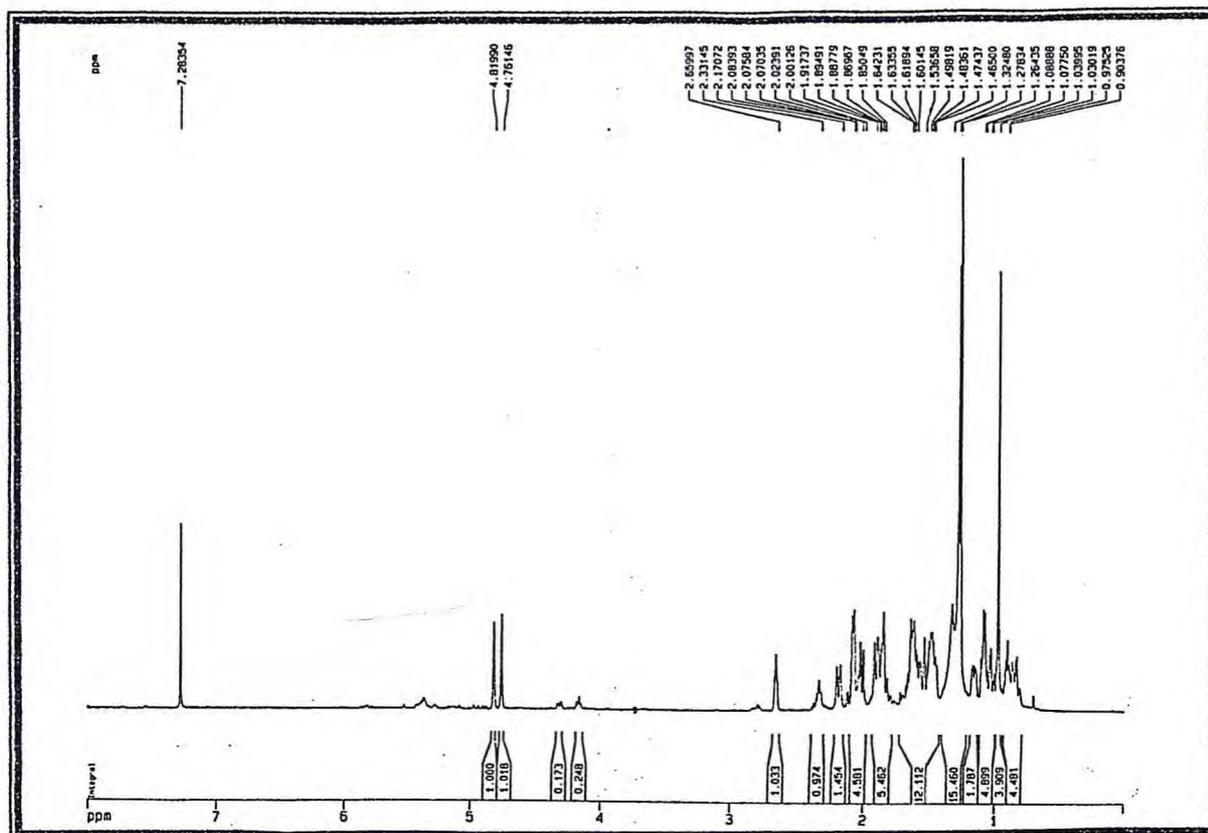


Figura 40- Espectro de RMN<sup>1</sup>H de RLCC-2 (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)

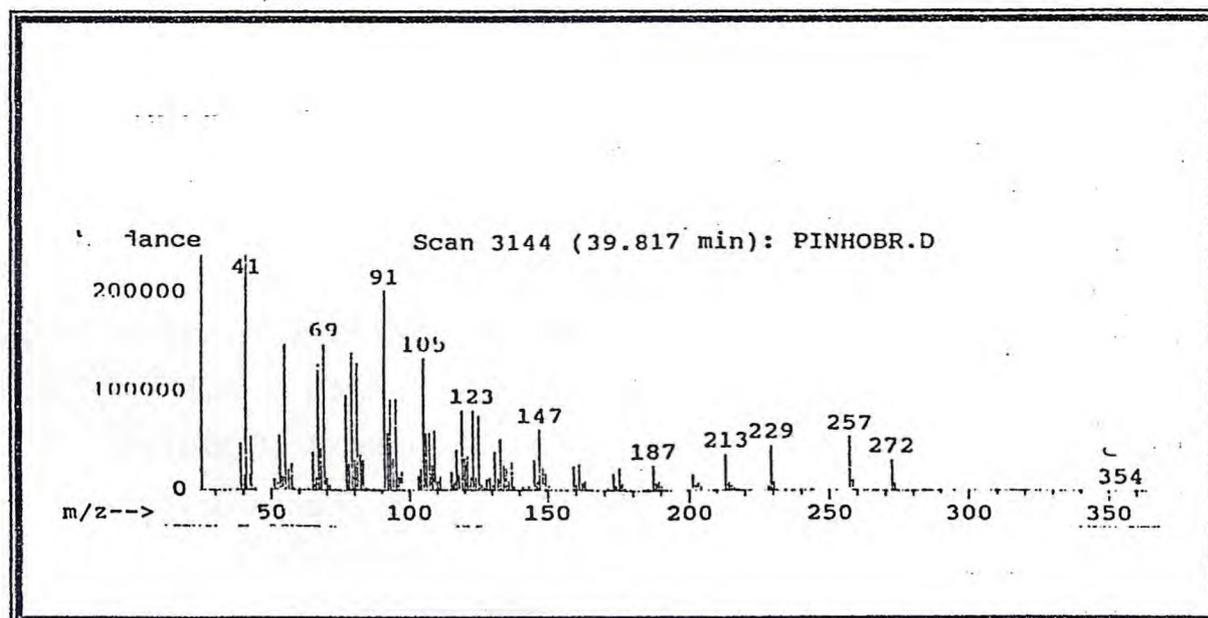
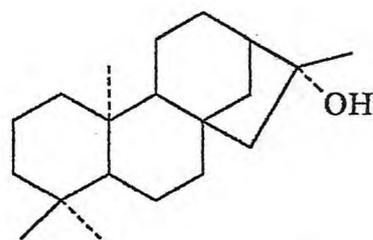


Figura 41 - Espectro de massa de RLCC-2 obtido por CGL/EM

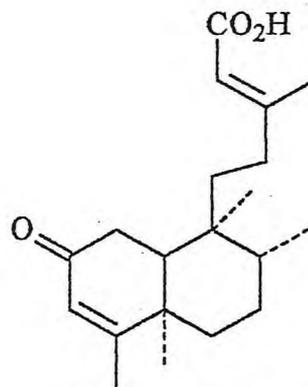
### 3.2.7 - RLCC-3

Da fração clorofórmica do extrato metanólico da casca do caule (EMCCRL-c, 5.3.1.2, p.223) foi obtido um sólido amorfo de coloração branca denominado de RLCC-2. O sólido apresentou ponto de fusão na faixa de 153,9 a 154,8°C e solubilidade em clorofórmio.

O espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) (Fig. 42, p. 150) mostrou vinte linhas espectrais, o que sugeriu uma estrutura de um diterpeno para RLCC-2. Em espécies da família Annonaceae, foram isolados duas classe de diterpenos : os diterpenos do tipo caurano (estrutura a.30) ( Adesogan et al., 1976) e os diterpenos do tipo clerodano (estrutura a.31) (Kijjoa et al., 1993).

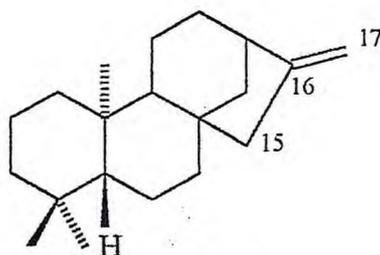


diterpeno do tipo caurano (a.30)



diterpeno do tipo clerodano (a.31)

A comparação dos espectros de RMN<sup>13</sup>C-BB e o espectro de RMN<sup>13</sup>C usando o experimento DEPT obtido no ângulo de mutação de 135° (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) (Fig. 43, p. 150), mostrou que RLCC-2 apresenta cinco carbonos não hidrogenados, três carbonos metínicos, dez carbonos metilênicos e dois carbonos metílicos (Tabela 21, p. 143). O sinal em  $\delta$  183,9 indicou a presença de um carbono de grupo carboxila (COOH) e os sinais em  $\delta$  155,9 e 103,0 são compatíveis com carbonos de uma dupla ligação exocíclica, o que é confirmado pelos singletos observados em  $\delta$  4,77 e 4,71 no espectro de RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) (Fig. 44, p. 151). A dupla ligação exocíclica é muito comum em diterpenos do tipo caurano (estrutura a.30), entre os carbonos 16 e 17 o que nos fez sugerir este tipo esqueleto básico (estrutura a.33) para RLCC-2.



a.32

Esta estrutura também é coerente com o índice de deficiência de hidrogênio igual a 6, obtido pela análise da Tabela 21.

Tabela 21 – Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de RLCC-2 obtidos pela comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
183,9	57,7	103,0	29,0
155,9	55,1	48,9	15,6
44,3	43,8	41,3	
43,7		40,7	
39,6		39,7	
		37,8	
		33,2	
		21,8	
		19,1	
		18,5	
(COOH)	(CH) <sub>3</sub>	(=CH <sub>2</sub> )	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
(=C)		(CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub>	
(C) <sub>3</sub>			
C <sub>5</sub> HO <sub>2</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub>	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>
C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>			

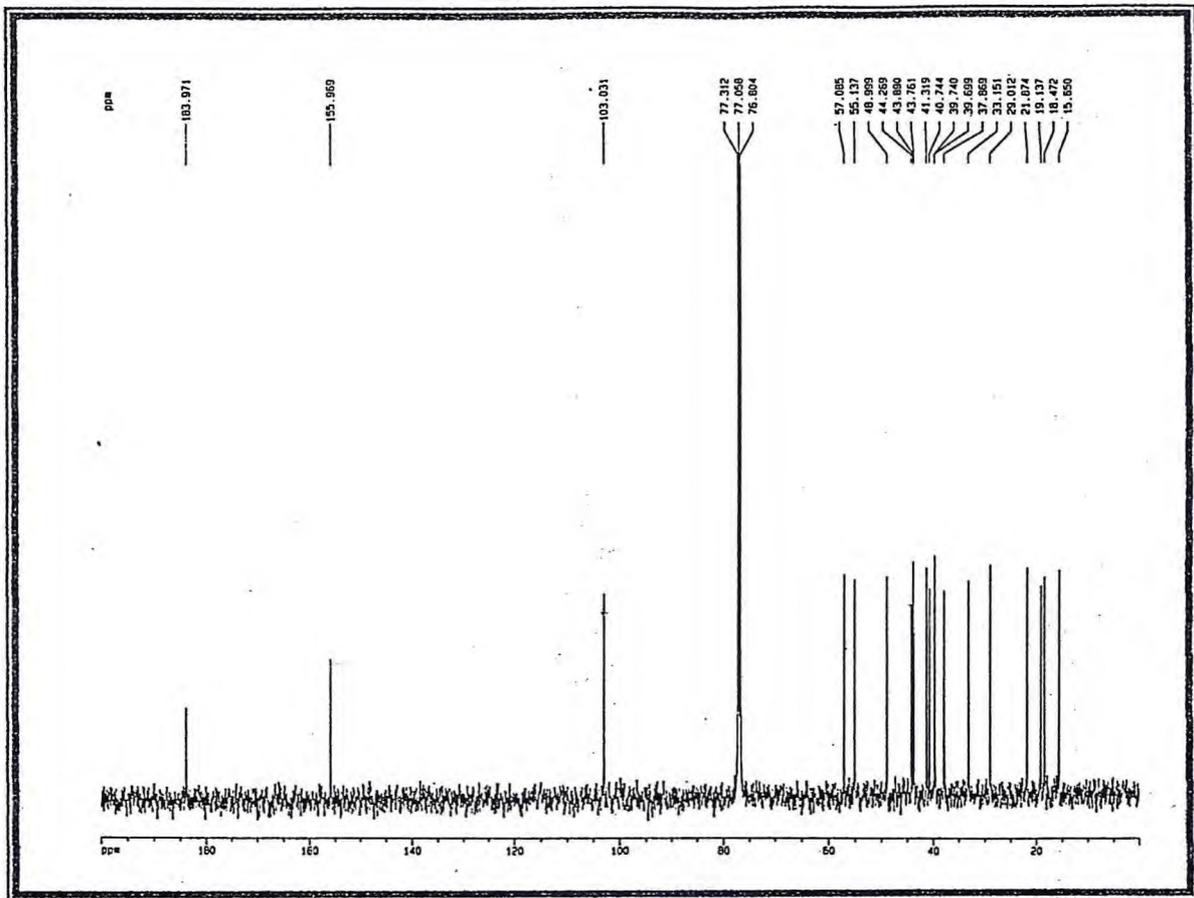


Figura 42 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C de RLCC-3 (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)

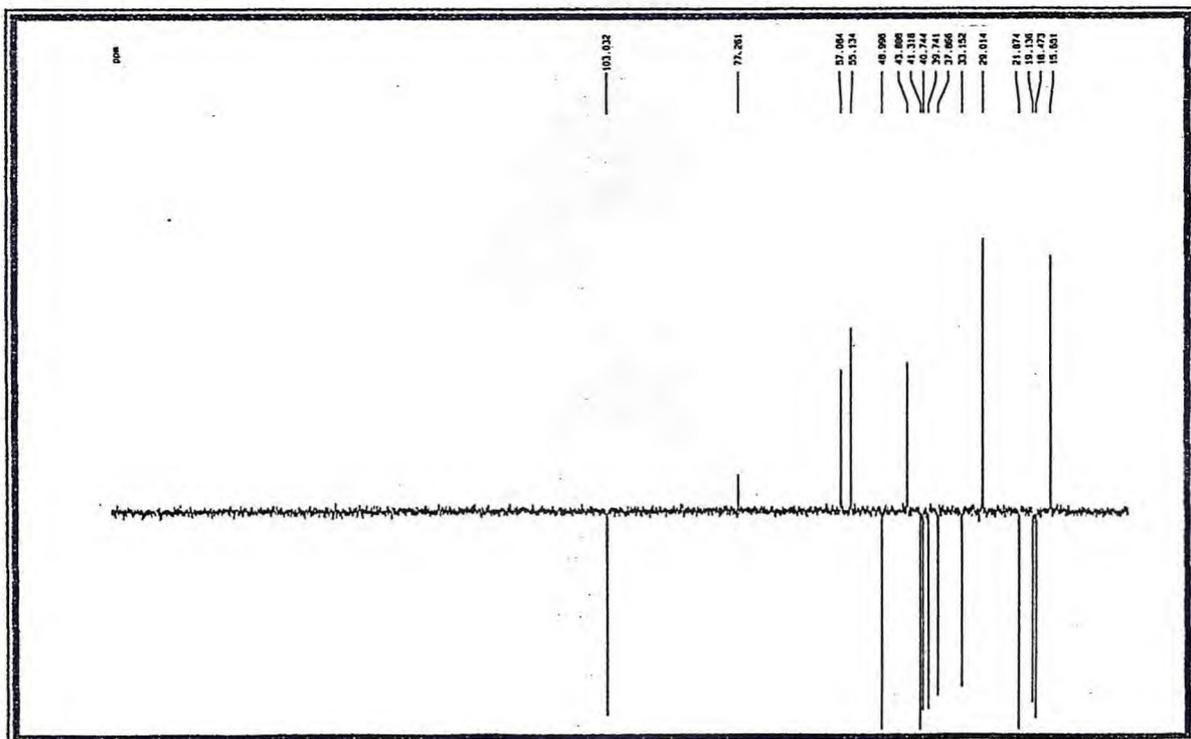


Figura 43 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C de RLCC-3 (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)

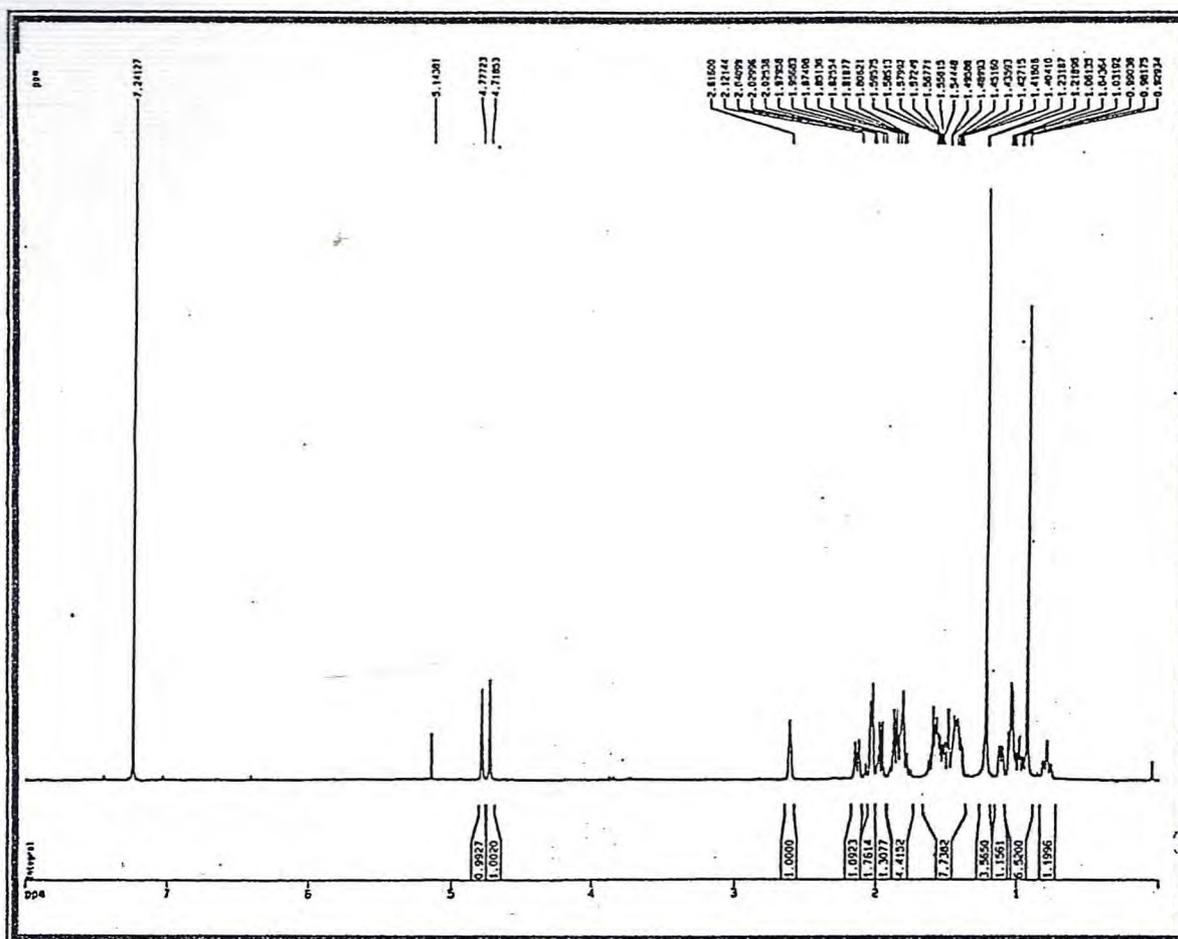
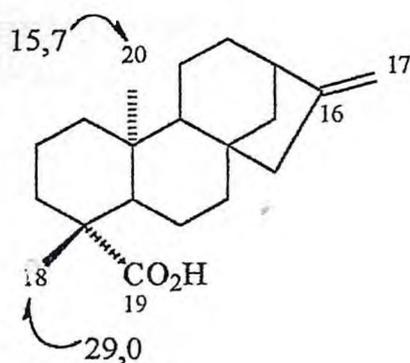
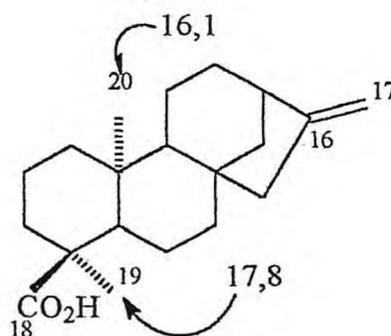


Figura 44 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H de RLCC-3 (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)

Como o espectro RMN<sup>1</sup>H (Fig. 44) apresentou apenas dois sinais para hidrogênio de grupos metílicos em  $\delta$  1,21 e 0,92, sugeriu-se que um dos carbonos metílicos da estrutura **a.32** fosse o grupo carboxila. Comparação com dados da literatura (Ahmad e Ur-Rahman, 1994) mostrou que este carbono é geralmente C-18 ou C-19. Comparando-se ainda os deslocamentos dos carbonos metílicos de RLCC-3 com dados de RMN<sup>13</sup>C destes mesmos carbonos registrados na literatura, verificou-se que os valores de  $\delta$  29,0 e 15,6 são compatíveis com um grupo carboxila em C-19 $\alpha$  (Hasan et al., 1982) (estrutura **a.33**) e não com C-18 $\beta$ , cujo os sinais de absorção dos carbonos dos grupos metilas aparecem em  $\delta$  17,8 e 16,1 (estrutura **a.34**).

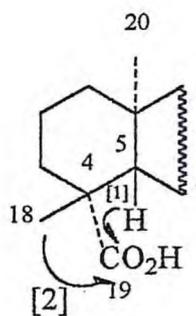


a.33

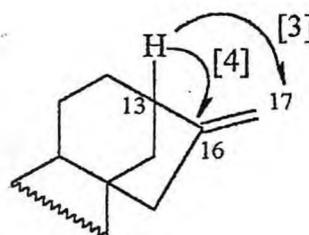


a.34

O diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{HMQC} - ^1\text{J}_{\text{CH}}$  (Fig. 45, p. 153) permitiu associar as absorções dos hidrogênio com seus respectivos carbonos. Esta associação e auxílio do diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{HMBC} - ^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) (Fig. 46, p.154) ajudaram a confirmar a estrutura de RLCC-2 e atribuir os deslocamentos químicos de todos os carbonos. Foram observadas correlações  $^3\text{J}_{\text{CH}}$  entre H-5 ( $\delta$  1,02) e C-19 [1] e H-18 ( $\delta$  1,21) e C-19 [2] na expansão do diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{HMBC} - ^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) (Fig. 47, p. 155) que confirmou a posição do grupo carboxila ligado a C-4 (estrutura a.35). Nesta expansão foi possível verificar o deslocamento químico de C-13 ( $\delta$  43,8) pelo acoplamento  $^2\text{J}_{\text{CH}}$  visto entre H-13 ( $\delta$  2,61) e C-16 [3] e o acoplamento  $^3\text{J}_{\text{CH}}$  com C-17 [4] (estrutura a.36). Desta forma pôde-se distinguir com clareza os três carbonos metínicos: C-5, C-9 e C-13. Todas as correlações  $^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 1, 2$  e  $3$ ) foram reunidas na Tabela 22 (p. 156).



a.35



a.36

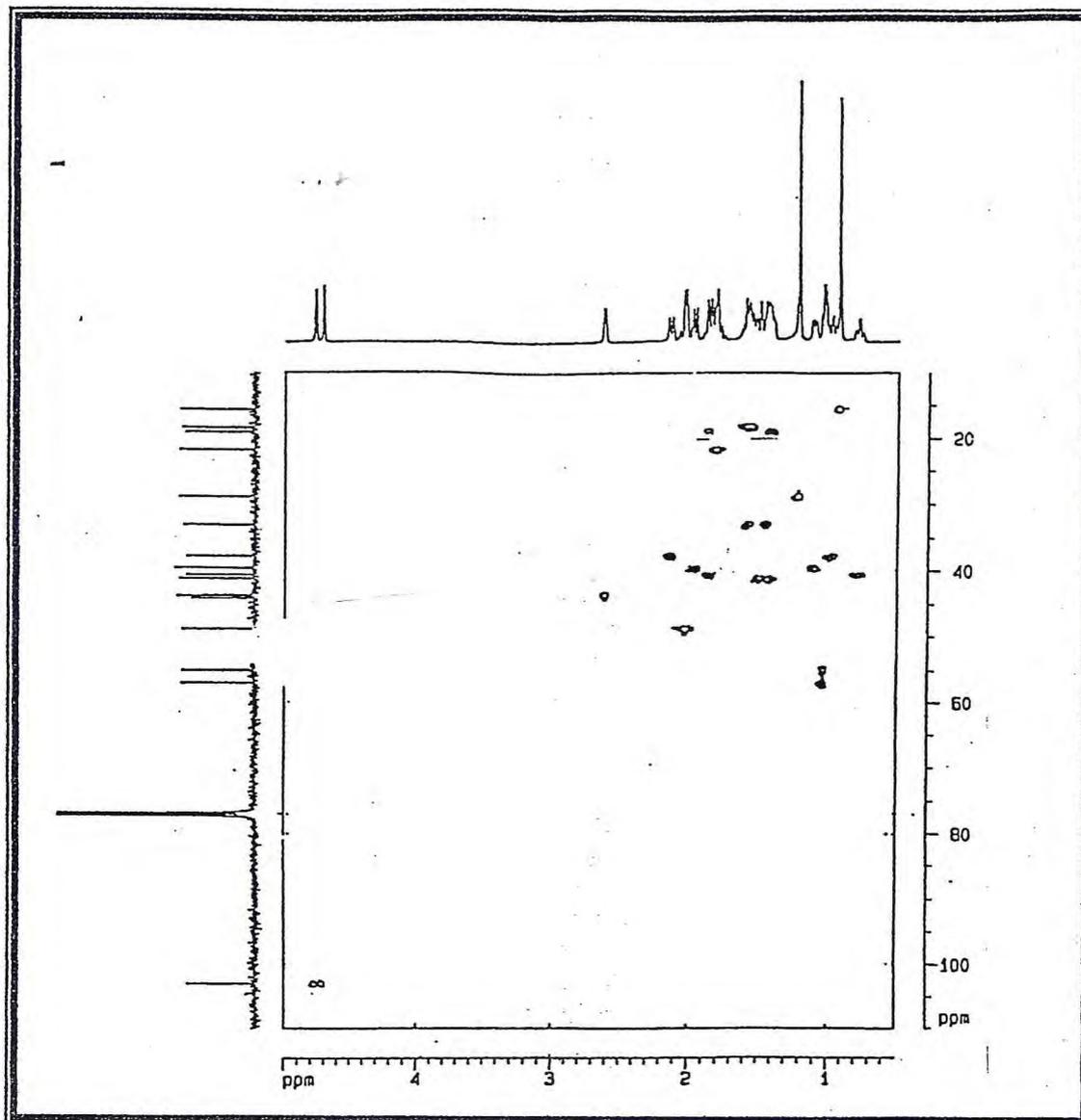


Figura 45 – Diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMQC –  $^1J_{\text{CH}}$  de RLCC-1 ( $\text{CDCl}_3$ , 500 x 125 MHz)

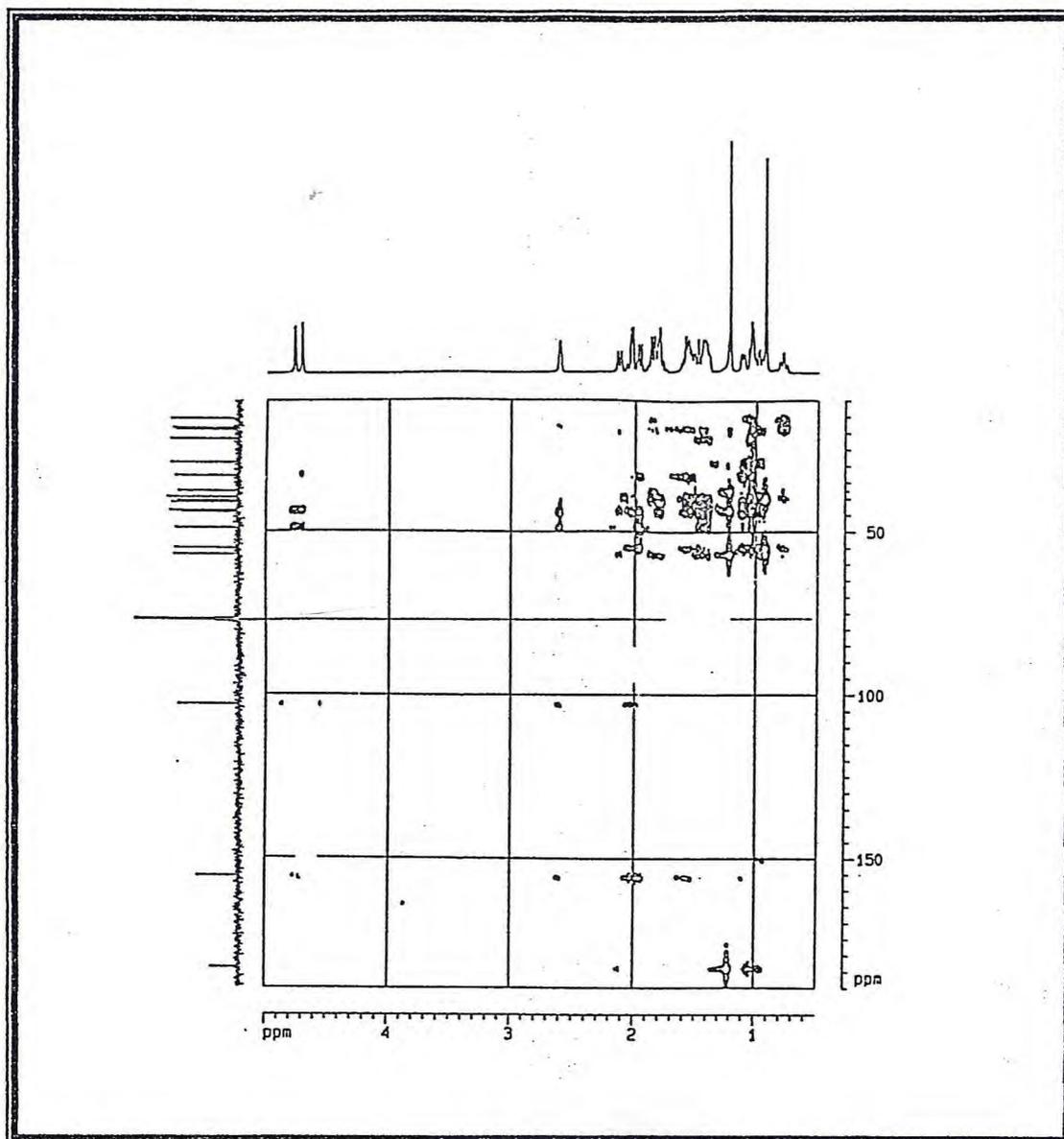


Figura 46 – Diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – HMBC –  $^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) de RLCC-1 ( $\text{CDCl}_3$ ,  $500 \times 125$  MHz)

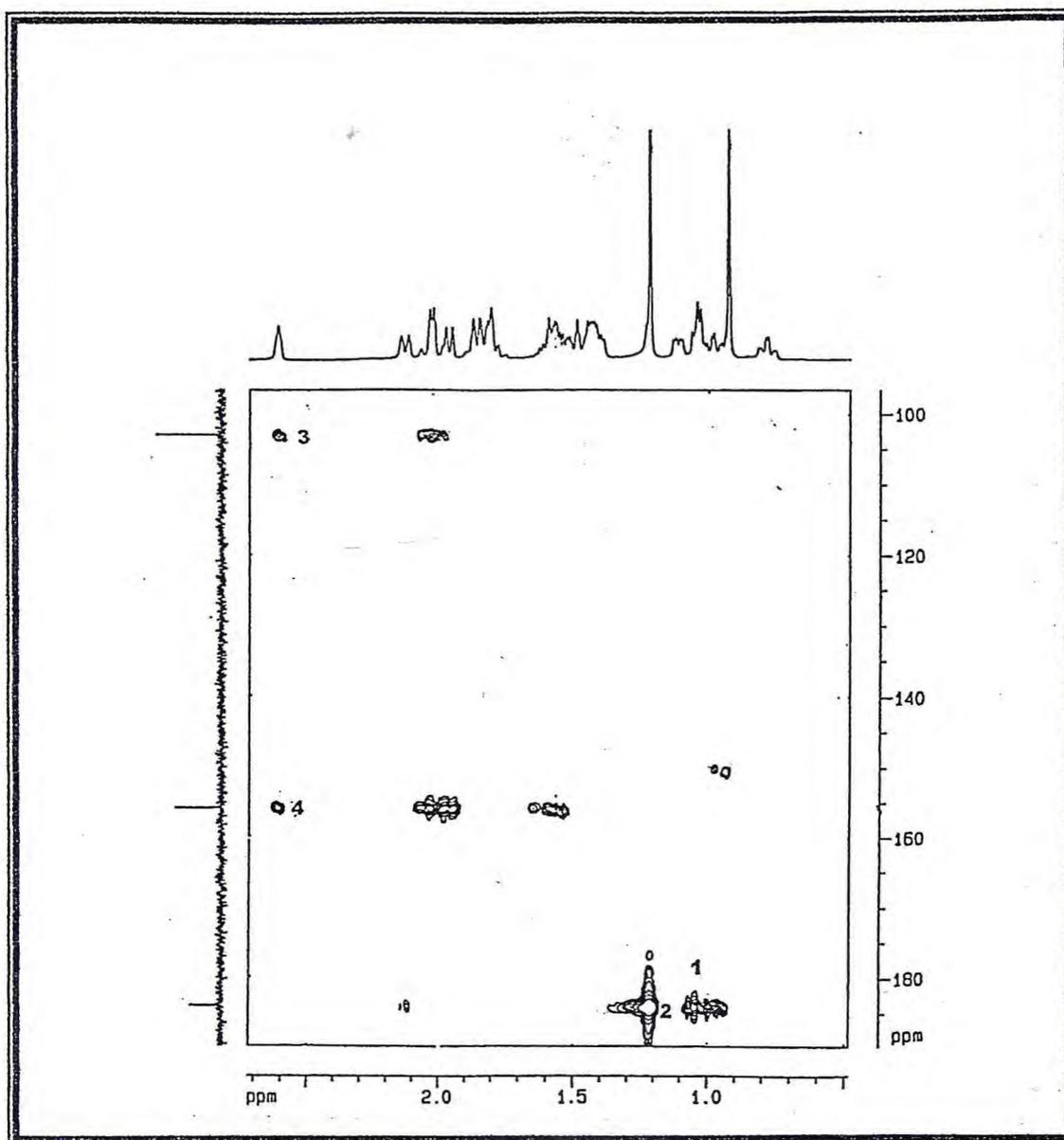


Figura 47 – Expansão do diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - HMBC  
 $-\text{}^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) de RLCC-1 ( $\text{CDCl}_3$ ,  $500 \times 125$  MHz)

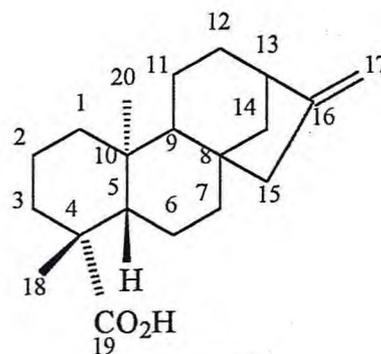
Tabela 22– Dados espectrais para RLCC-2 e acoplamento heteronuclear ( $^1J_{CH}$ ,  $n = 1, 2$  e 3). Deslocamentos químicos em  $\delta$  e  $J$  em Hz. Dados obtidos em  $CDCl_3$ .

	$^1H - ^{13}C - ^1J_{CH}$		$^1H - ^{13}C$	
	$\delta_C$	$\delta_H$	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
<b>C</b>				
4	44,3			H-3 $\alpha$
8	43,7			H-13
10	39,6			
16	155,9		H-13, H-15 $\alpha$	H-12
19	183,9			H-19, H-3 $\alpha$
<b>CH</b>				
5	57,1	1,02		H-3 $\alpha$ , H-20
9	55,1	1,01		H-15 $\beta$
13	43,8	2,61		
<b>CH<sub>2</sub></b>				
1	40,7	1,88 (m; 0,78)		H-20
2	19,1	1,88; 1,39	H-1 $\alpha$	C
3	37,8	2,13, 0,99		
6	21,3	1,81, 1,80	H-5	
7	41,7	1,49; 1,42		
11	18,5	1,55; 1,52		H-13
12	33,2	1,59; 1,44		H-14
14	39,8	1,98; 1,12		
15	48,9	2,02; 2,01		
17	103,0	4,77; 4,71		H-13, H-15 $\alpha$
<b>CH<sub>3</sub></b>				
18	29,0	1,21		
20	15,6	0,92		

A comparação dos dados de RMN<sup>13</sup>C de RLCC-2 com dados da literatura (Hasan et al., 1982) mostrados na Tabela 23, confirmou sua estrutura como sendo a do diterpeno, ácido caurenóico (VII) relatado pela primeira vez no gênero *Rolliniopsis*.

**Tabela 23** – Comparação entre os dados de RMN<sup>13</sup>C de RLCC-2 com os dados relatados na literatura (Hasan et al., 1982) para o ácido caurenóico.

C	RLCC-2	VI
1	40,7	40,9
2	19,1	19,2
3	37,8	38,0
4	44,3	44,0
5	57,1	57,3
6	21,8	22,0
7	41,3	41,5
8	43,7	44,4
9	55,1	55,4
10	39,6	39,8
11	18,5	18,5
12	33,2	33,2
13	43,8	44,0
14	39,8	39,8
15	48,9	49,0
16	155,9	156,0
17	103,0	103,3
18	29,0	29,0
19	183,9	185,4
20	15,6	15,7



VII

### 3.3 – Constituintes químicos da raiz *Zanthoxylum articulatum*

#### 3.3.1 – ZAR-1

Da fração EMRZA-hc (5.3.2, p.223) obtida da raiz de *Z. articulatum* obteve-se após purificação com metanol à frio, um sólido branco amorfo com ponto de fusão de 209,3 – 210,7°C, solúvel em clorofórmio, denominado de ZAR-1.

ZAR-1 apresentou trinta sinais no seu espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) (Fig. 48, p.159), sugerindo tratar-se de um triterpeno. Os sinais em  $\delta$  151,4 e 109,7 são característicos de carbonos de uma dupla terminal e o sinal em  $\delta$  79,4, um carbono *sp*<sup>3</sup> oxigenado. A comparação com o espectro de RMN<sup>13</sup>C-DEPT 135° (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) (Fig. 49, p.159) mostrou que ZAR-1 apresenta seis carbonos não hidrogenados, seis carbonos metínicos, onze carbonos metilênicos e sete carbonos metílicos (Tabela 24, p. 161). A presença de sete grupos metilas foi evidenciada pelos setes sinais observados no espectro de RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) (Fig. 50, p.160) em  $\delta$  1,70 (3H, s), 1,05 (3H, s), 0,98 (3H, s), 0,96 (3H, s), 0,85 (3H, s), 0,80 (3H, s), e 0,78 (3H, s). Os hidrogênios geminais da dupla ligação a mostram-se como dubletos em  $\delta$  4,71 (*J* = 2,4 Hz) e 4,58 (*J* = 2,4 Hz). Observou-se um sinal para hidrogênio ligado a carbono oxigenado como um duplo dubleto em  $\delta$  3,20 (*J* = 10,7 e 8,9 Hz).

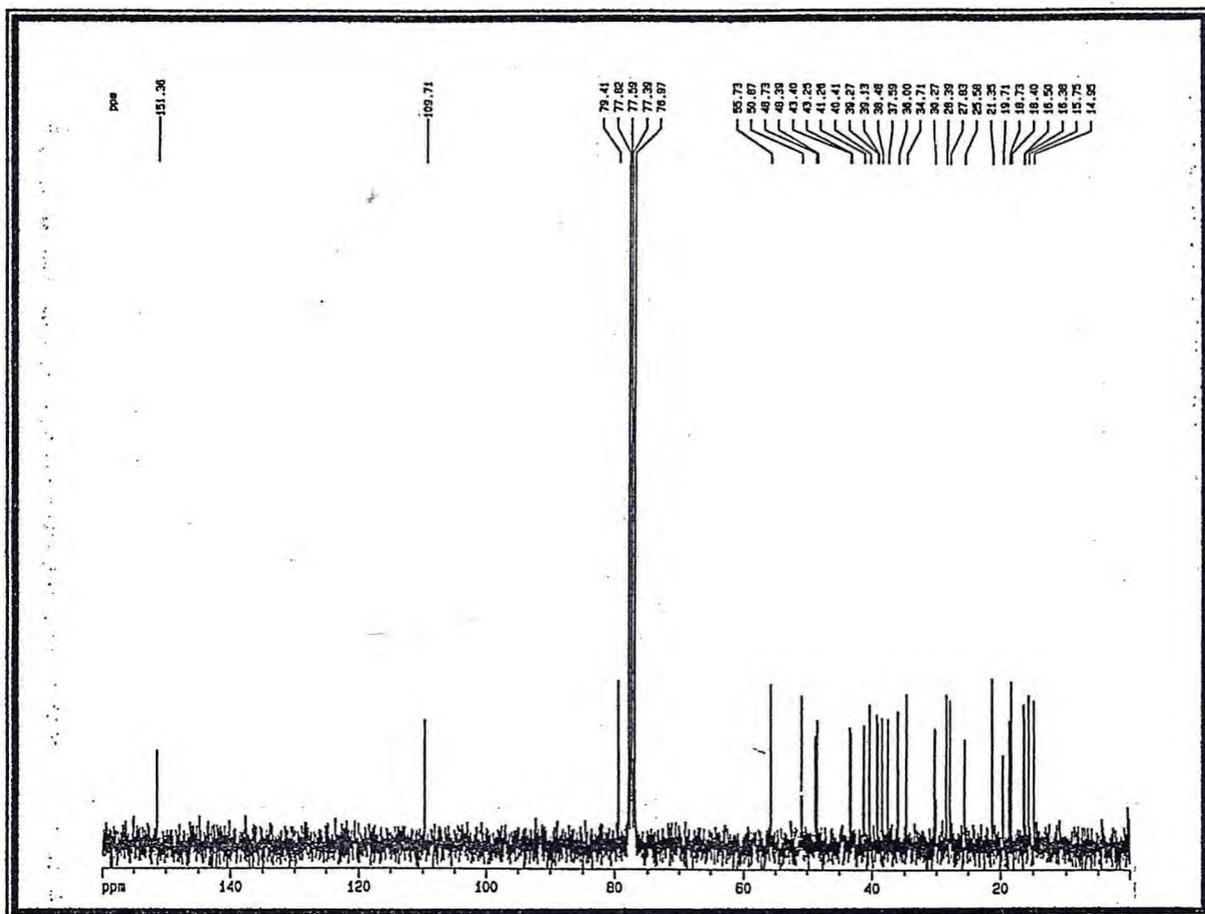


Figura 48 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB de ZAR-1 (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz)

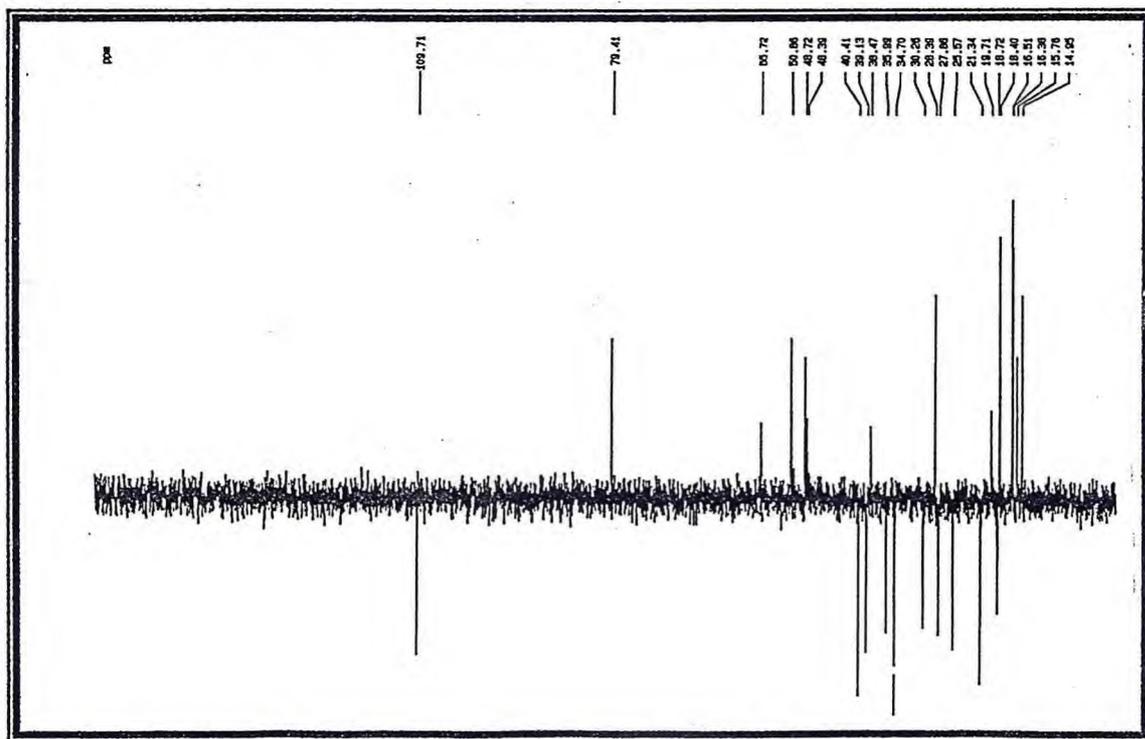


Figura 49 - Espectro de RMN<sup>13</sup>C-DEPT 135° de ZAR-1 (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz)

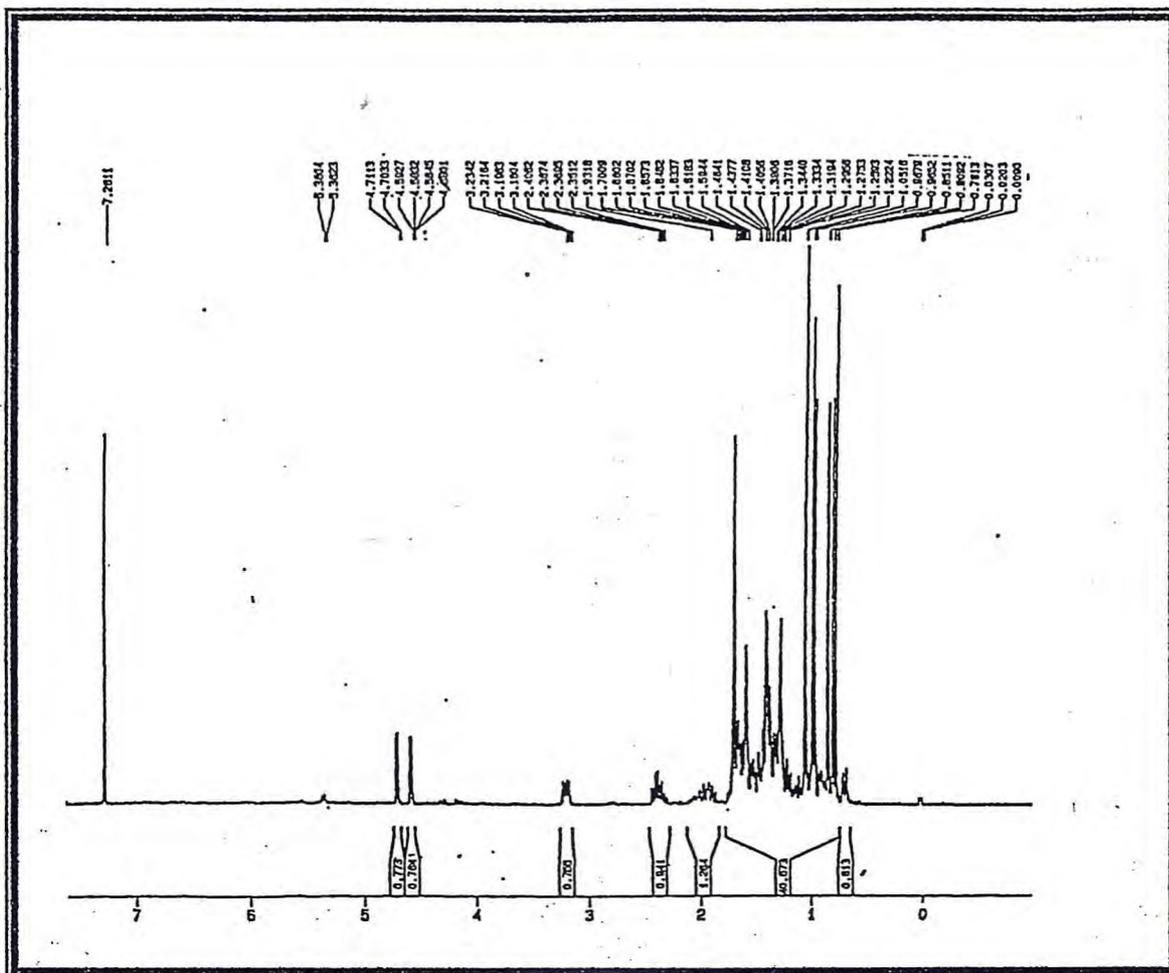
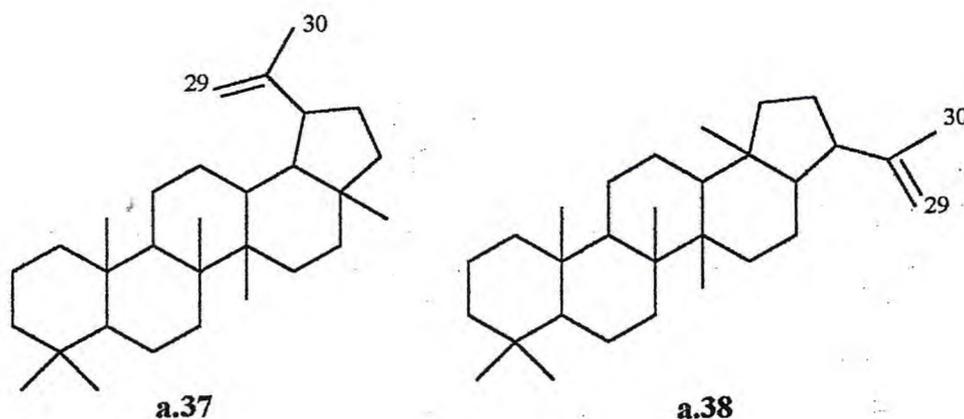


Figura 50 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H de ZAR-1 (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)

**Tabela 24** – Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de ZAR-1 obtidos pela comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e DEPT 135° (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
151,4	79,4	109,7	28,1
43,3	55,7	40,0	19,7
41,3	50,8	38,7	18,7
40,4	48,7	37,6	16,5
38,5	48,4	35,6	16,4
36,0	39,3	34,7	15,7
		30,0	14,9
		28,4	
		27,8	
		25,6	
		21,4	
		18,4	
6C	6CH	11CH <sub>2</sub>	7CH <sub>3</sub>

Propôs-se a fórmula molecular  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$  para ZAR-1. Esta forneceu um índice de deficiência de hidrogênio igual a seis, compatível com um triterpeno pentacíclico com uma dupla exocíclica. Dois esqueletos pentacíclicos puderam ser apresentados para ZAR-1: estruturas **a.37** (esqueleto lupano) ou **a.38** (esqueleto hopano) (Ahmad e Rahman, 1994).



A distinção entre as duas estruturas foi obtida pela comparação entre os deslocamentos químicos dos grupos metilas, principalmente C-30, de triterpenos destas duas séries (Tabela 25). Na série hopano este carbono absorve em torno de  $\delta$  25,0, enquanto na série lupano esta absorção não ultrapassa os  $\delta$  20,0.

**Tabela 25** – Deslocamentos químicos relatados na literatura para os carbonos metílicos 24,25,26,27,28,29 e 30 de triterpenos das séries lupano (Reynolds et al., 1986) e hopano (Shiojima et al., 1983).

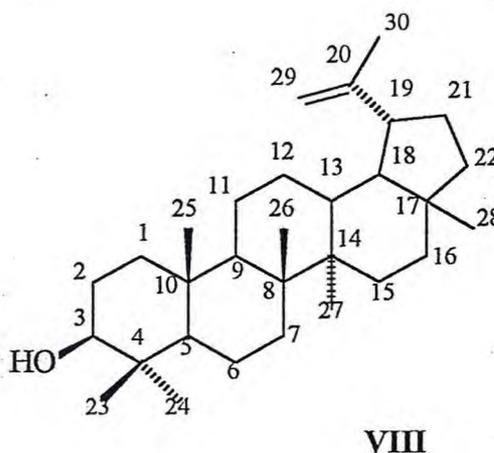
série	$\delta_C$						
	23	24	25	26	27	28	30
<b>lupano</b>	27,9	15,3	16,1	15,9	14,5	17,9	19,2
<b>hopano</b>	33,4	21,6	15,9	16,7	16,8	16,1	25,0

Os valores de deslocamentos químicos dos carbonos metílicos de ZAR-1 foram compatíveis com os valores de deslocamentos químicos encontrados para diterpenos da série lupano, de forma que a estrutura **a.38** foi excluída. A absorção em  $\delta$  79,4 observada no espectro de RMN<sup>13</sup>C (Fig. 48) sugeriu que C-3 seria um carbono carbinólico, cuja a presença é bastante comum em triterpenos.

A caracterização da estrutura de ZAR-1 foi obtida pela comparação de seus dados de RMN<sup>13</sup>C com os dados registrados na literatura (Patra, et al., 1981) para o triterpeno lupeol (VIII), que apresenta uma estrutura condizente com os dados obtidos para ZAR-1 (Tabela 26).

**Tabela 26** – Comparação entre os dados de RMN<sup>13</sup>C de ZAR-1 e aqueles encontrados na literatura (Patra et al., 1981) para o lupeol (VIII)

C	ZAR-1	VIII
1	38,7	38,7
2	27,8	27,4
3	79,4	78,8
4	38,5	38,8
5	55,7	55,2
6	18,4	18,3
7	34,7	34,2
8	40,4	40,8
9	50,8	50,4
10	36,0	37,1
11	21,4	20,9
12	25,6	25,1
13	39,3	38,0
14	41,3	42,8
15	27,8	27,4
16	35,4	35,5
17	43,3	42,9
18	48,7	48,2
19	48,4	47,9
20	151,4	150,6
21	30,3	29,8
22	40,0	39,9
23	28,0	28,0
24	15,7	15,4
25	16,5	16,1
26	16,4	15,9
27	14,9	14,5
28	18,7	18,0
29	109,7	109,2
30	19,7	19,3



## 3.3.2 – ZAR-2

A fração EMRZA-c (5.3.2, p.223) após análise cromatográfica, forneceu um sólido cristalino de coloração verde-claro, solúvel em clorofórmio e com ponto de fusão na faixa de 118,4-120,6°C .

O espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) (Fig. 51) totalmente desacoplado apresentou dez linhas espectrais. A comparação deste com o espectro de RMN<sup>13</sup>C-DEPT 135° (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) (Fig. 52 , p.165) mostrou sinais para três carbonos não hidrogenados, cinco grupos metínicos e dois grupo metilênicos (Tabela 27, p.166).

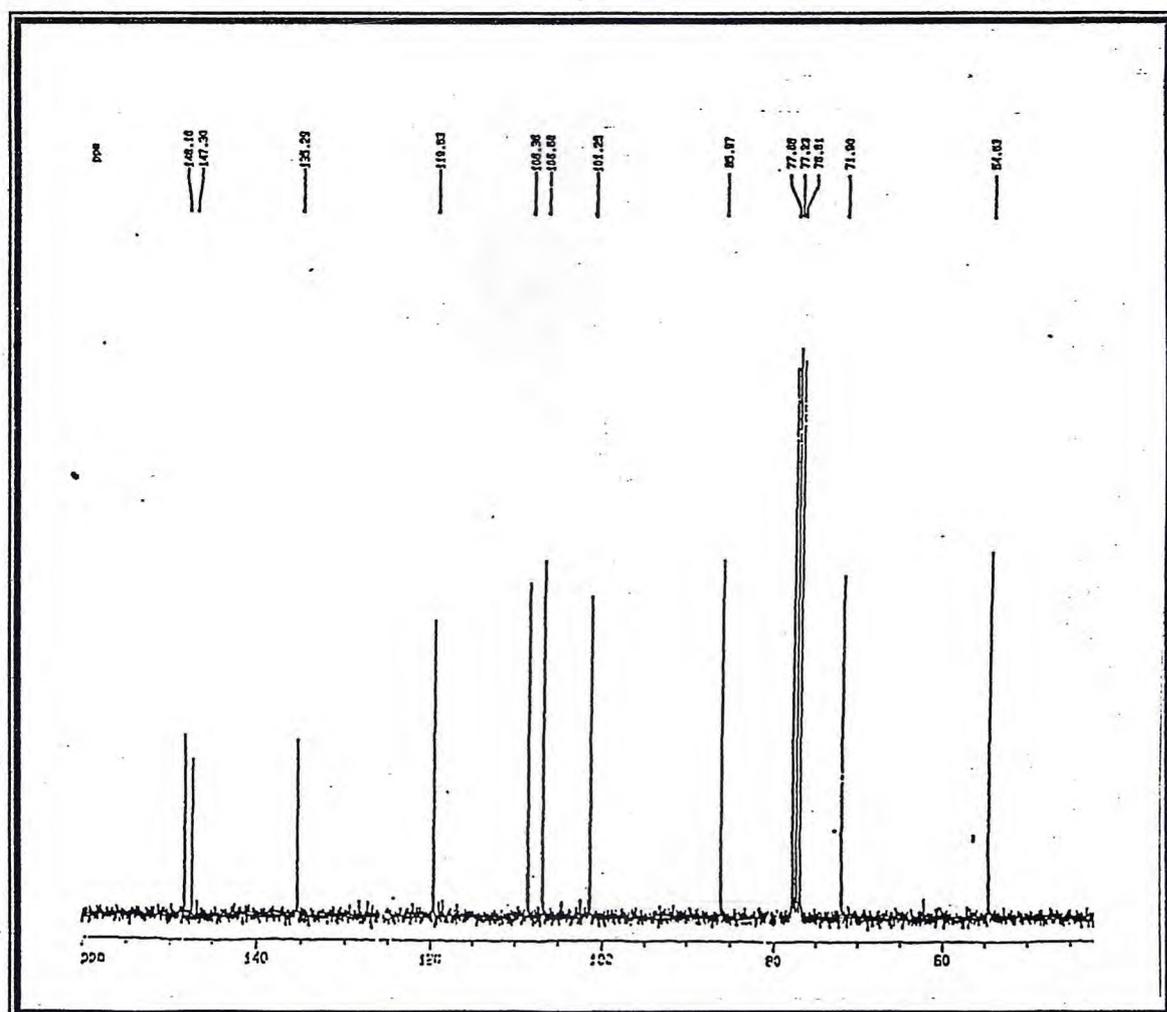


Figura 51 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB de ZAR-2 (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz)

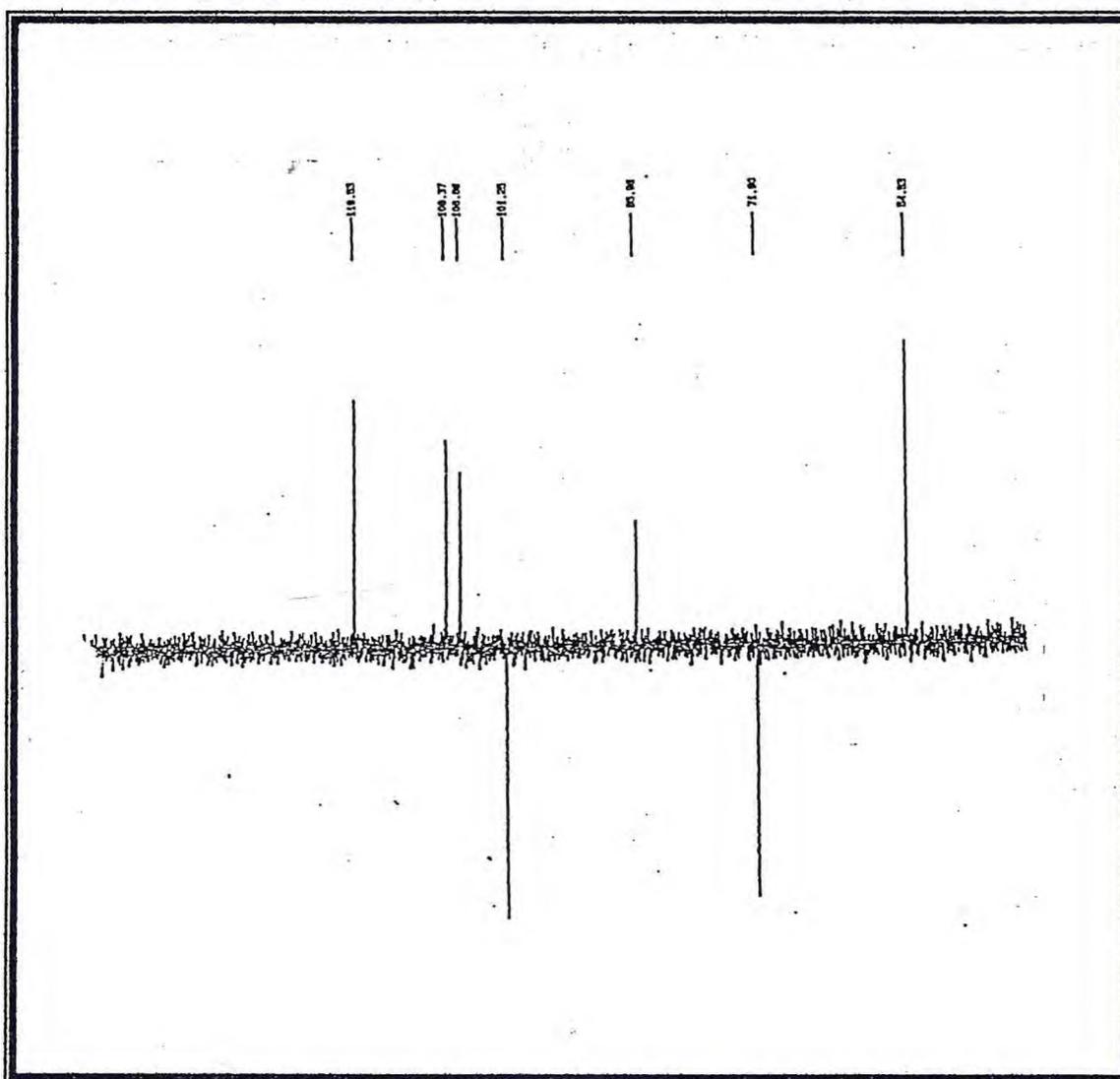


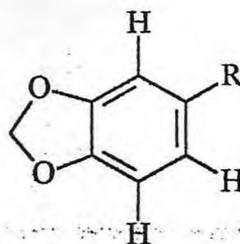
Figura 52 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C-DEPT 135° de ZAR-2 (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz)

O sinal observado em  $\delta$  101,3 foi atribuído a carbono de grupo metilenodióxido (-O-CH<sub>2</sub>-O-). Os sinais entre  $\delta$  148,2 e 106,7 foram referenciados a carbonos pertencentes a anel aromático. Os sinais de carbono  $sp^2$  em  $\delta$  148,2 e 147,3 sugerem que o grupo metilênico dióxido está ligado ao anel por estes carbonos. A presença de carbonos  $sp^3$  oxigenados pode ser vista pelo sinais em  $\delta$  85,9 (CH) e  $\delta$  71,9 (CH<sub>2</sub>).

Tabela 27 – Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de ZAR-2 obtidos pela comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

C	CH	$\text{CH}_2$
148,2	119,5	101,3
147,3	108,4	71,9
135,3	106,7	
	85,9	
	54,5	
3C	5CH	2CH

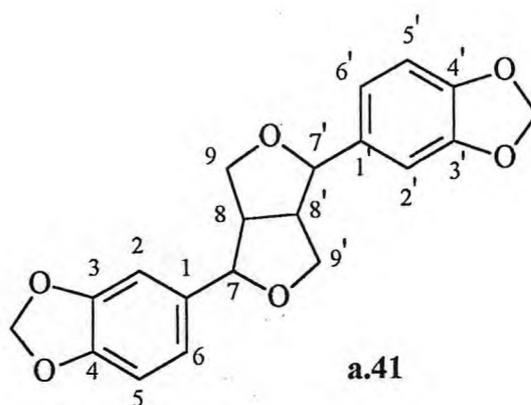
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) (Fig. 53, p.167) mostrou três sinais na região de aromáticos, cuja as constantes de acoplamento são compatíveis com substituição 1,2,4 : Um singlete em  $\delta$  6,85 e dois dubletos em  $\delta$  6,81 (1H, d,  $J = 10,2$  Hz) e 6,78 (1H, d,  $J = 10,2$  Hz) coalescidos de forma a parecer um triplete distorcido típico de um sistema do tipo AB (estrutura a.39).



a.39



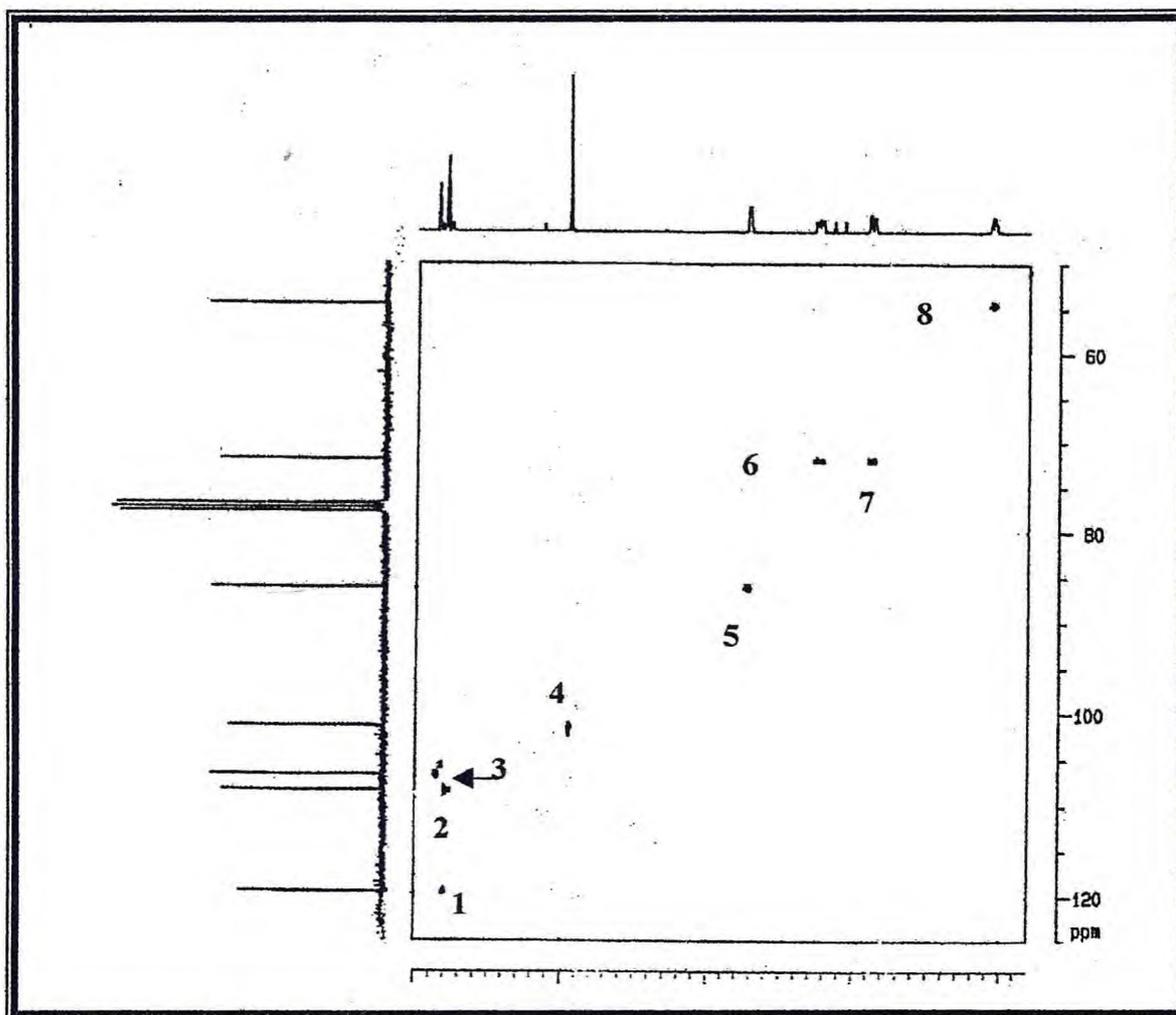
Compostos que possuem o sistema  $C_6C_3$  com ausência de grupo carbonila são conhecidos na literatura como lignanas. Substâncias pertencentes a esta classe são muito comum em espécies do gênero *Zanthoxylum* (Facundo, 1999a), de forma que se sugeriu a estrutura de uma lignana para ZAR-2. Assim cada sinal observado no espectro de  $RMN^{13}C$ -BB (Fig. 51) foi atribuído a dois átomos de carbono de uma molécula simétrica representada pela estrutura a.41.



A confirmação desta estrutura foi obtida através da análise dos diagramas de contorno dos espectros de  $RMN^1H \times ^{13}C - ^1J_{CH}$ -HMQC (Fig. 54, p. 169); correlações mostradas na Tabela 28, e de  $RMN^1H \times ^{13}C - ^nJ_{CH}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) - HMBC (Fig. 58, p. 171).

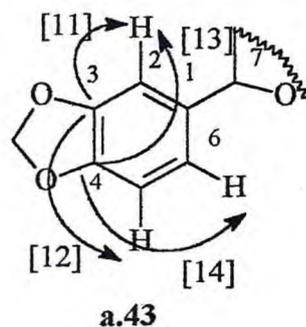
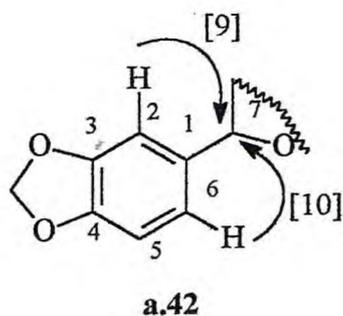
**Tabela 28** – Dados obtidos da análise do diagrama de contorno do espectro de  $RMN^1H \times ^{13}C - ^1J_{CH}$ -HMQC (Fig. 54, p. 169) ( $CDCl_3$ , 300 x 75 MHz)

$\delta_C$	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_H$
119,5	6,81 (1H, <i>d</i> , $J = 10,2$ Hz) [1]	85,9	4,76 (1 H, <i>d</i> , $J = 4,1$ Hz) [5]
108,4	6,78 (1H, <i>d</i> , $J = 10,2$ Hz) [2]	71,9	4,23 (1H, <i>dd</i> , $J = 6,7$ e $9,0$ Hz) [6]
106,6	6,85 (1H, <i>s</i> ) [3]		3,87 (1H, <i>dd</i> , $J = 3,3$ e $9,0$ Hz) [7]
101,3	5,95 (2H, <i>s</i> ) [4]	54,3	3,05 (1H, <i>m</i> ) [8]

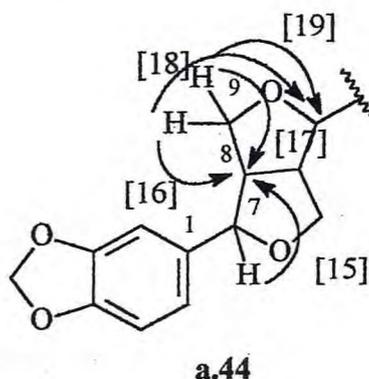


**Figura 54** – Diagrama de contorno do espectro de  $\text{RMN}^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^1\text{J}_{\text{CH}} - \text{HMQC}$   
( $\text{CDCl}_3$ , 300 x 75 MHz)

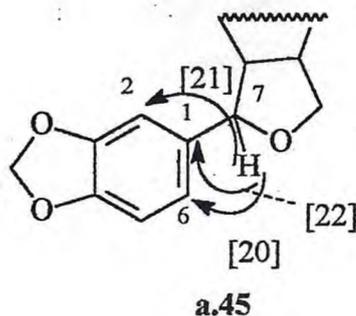
No diagrama de contorno do espectro HMBC verificou-se sinais de correlação a longa distância ( $^3\text{J}_{\text{CH}}$ ) entre o carbono metínico C-7/7' ( $\delta$  85,5) e os hidrogênios aromáticos H-2/2' [9] e H-6/6' [10](estrutura **a.42**), bem como a correlação entre o carbono, cujo o sinal apareceu em  $\delta$  148,2 também com H-2/2' ( $\delta$  6,85) [11] e com H-5/5' ( $\delta$  6,78) [12], sugerindo-se ser C-3, enquanto que C-4 ( $\delta$  147,3) mostrou correlação a três ligações com H-2/2' [13] e com H-6/6' ( $\delta$  6,81) [14](estrutura **a.43**).



Foram ainda observados acoplamento  $^2J_{CH}$  entre H-7/7' e o carbono metínico C-8/C-8' em  $\delta$  54,3 [15] que sugeriu-se ser C-8. Este carbono mostrou correlações  $^2J_{CH}$  com os hidrogênios metilênicos H-9a [16] e H-9b [17]. Acoplamento a três ligações entre estes hidrogênios e C-7/7' [18] e [19] também foram observados (estrutura a.44).



O diagrama de contorno do espectro HMBC ainda mostrou correlações a três ligações entre H-7/7' e C-2 [21] e C-6 [20]. A atribuição da absorção de C-1 foi fornecida pela correlação  $^2J_{CH}$  observada entre este carbono ( $\delta$  134,9) e H-7/7' [22] (estrutura a.45).



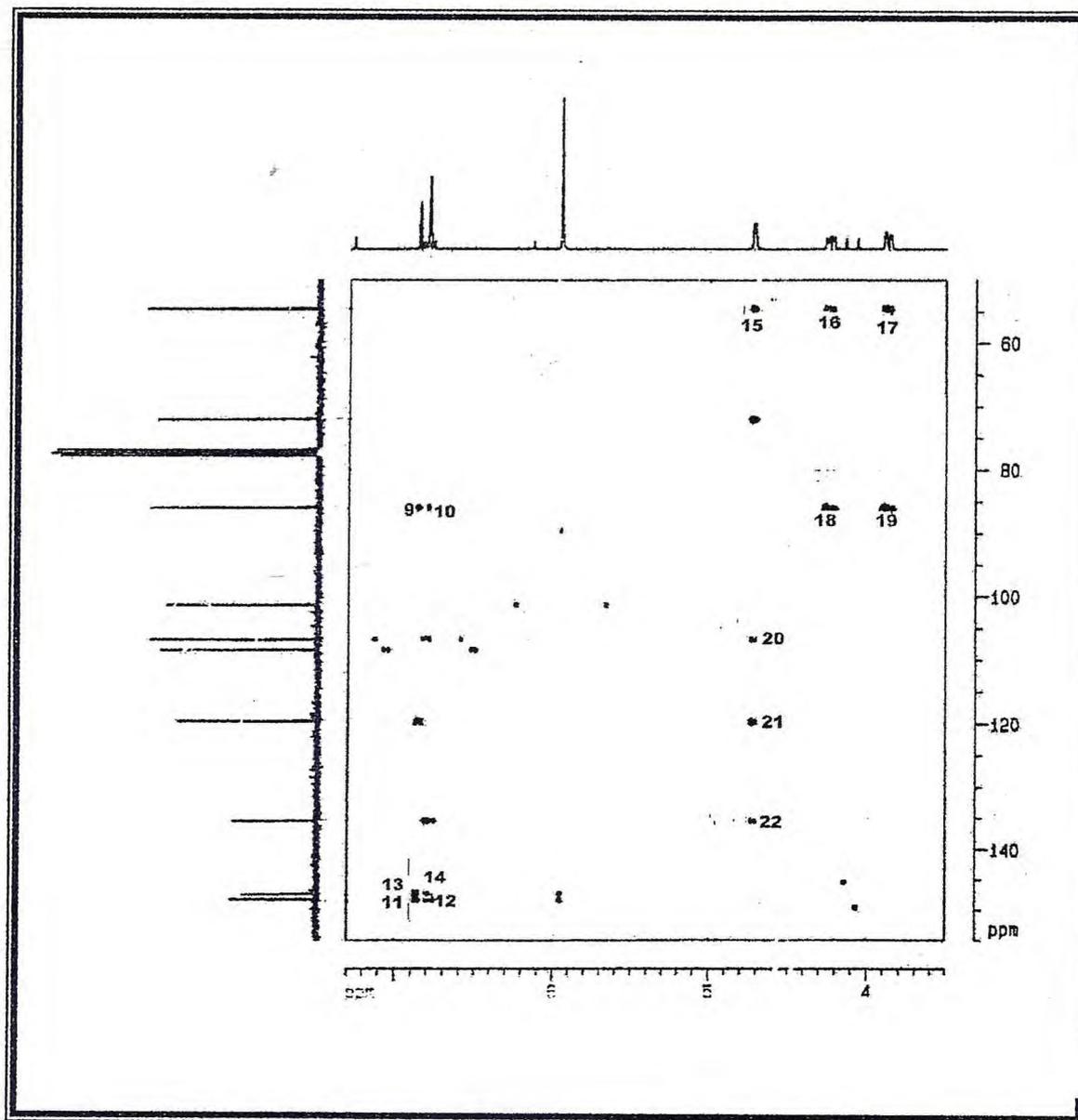
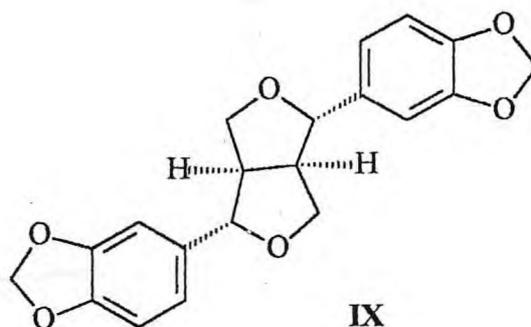


Figura 55 – Diagrama de contorno do espectro de  $\text{RMN}^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) - HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ,  $300 \times 75$  MHz).

A proposta estrutural para ZAR-2 corresponde à estrutura da lignana sesamina, também isolada de *Zanthoxylum petiolare* (Arruda et al., 1994). Os dados de RMN<sup>13</sup>C de ZAR-2, foram comparados com dados registrados na literatura (Jayasinghe et al., 1993) para (+)-sesamina (IX) (tabela 29). A rotação ótica encontrada para ZAR-2 foi  $[\alpha] = +75,5$ , corroborando para a identificação de ZAR-2 como a (+)-sesamina.



**Tabela 29** – Comparação dos dados de RMN<sup>13</sup>C de ZAR-2 com aqueles encontrados na literatura para a (+)-sesamina (IX) (Jayasinghe et al., 1993) (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

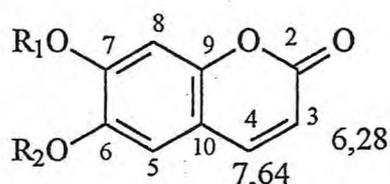
C	ZAR-2	IX
1/1'	135,3	135,0
2/2'	106,7	106,5
3/3'	148,2	135,0*
4/4'	147,3	147,1
5/5'	108,4	108,2
6/6'	119,5	119,4
7/7'	85,9	85,6
8/8'	54,5	54,3
9/9'	71,9	71,7
OCH <sub>2</sub> O	101,3	101,1

\* Os dados de RMN<sup>13</sup>C encontrados para ZAR-2, sugerem que o valor de deslocamento químico publicado para C-3/C-3' está incorreto

## 3.3.3 - ZAR-3

A fração clorofórmica do extrato metanólico da raiz de *Z. articulatum* (EMRZA-c, 5.3.2, p.223) , forneceu um sólido cristalino amarelo-claro, com ponto de fusão na faixa de 136,5 a 138,7°C que foi denominado de ZAR-3 , solúvel em clorofórmio.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) (Fig. 56, p.174) mostrou seis sinais. Os sinais em  $\delta$  3,95 (3H, s) e 3,93 (3H, s) foram atribuídos a hidrogênios de grupo metoxila. Os dubletos em  $\delta$  7,64 e 6,28 ( $J = 5,4$  Hz) , foram atribuído a hidrogênios de dupla ligação de cumarinas (Falcão, 2003), o que foi sustentado pela presença de sinais característicos de hidrogênios aromáticos observados em  $\delta$  6,87 (1H, s) e 6,82 (1H, s), os quais como sinais simples apontam para um sistema *para* substituído (estrutura a.46).



a.46

Esta proposta de estrutura foi corroborada pelos onze sinais observados no espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) (Fig.57, p.175) . O sinal visto em  $\delta$  161,5 foi atribuído a carbono de grupo carbonila da lactona na estrutura a.46. A comparação com o espectro de RMN<sup>13</sup>C-DEPT 135° (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) (Fig.58, p.175) permitiu identificar cinco carbonos não hidrogenados, quatro carbonos metínicos e dois grupos metílicos que foram associados a grupos metoxílicos Tabela 30 (p. 174).

Tabela 30- Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de ZAR-3 obtidos pela comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup>C-BB e DEPT 135° (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

C	CH	CH <sub>3</sub>
161,5	143,5	56,5 (OMe)
152,9	113,5	56,4 (OMe)
150,1	108,1	
146,4	100,1	
111,5		
5 C	4 CH	2 CH <sub>3</sub>

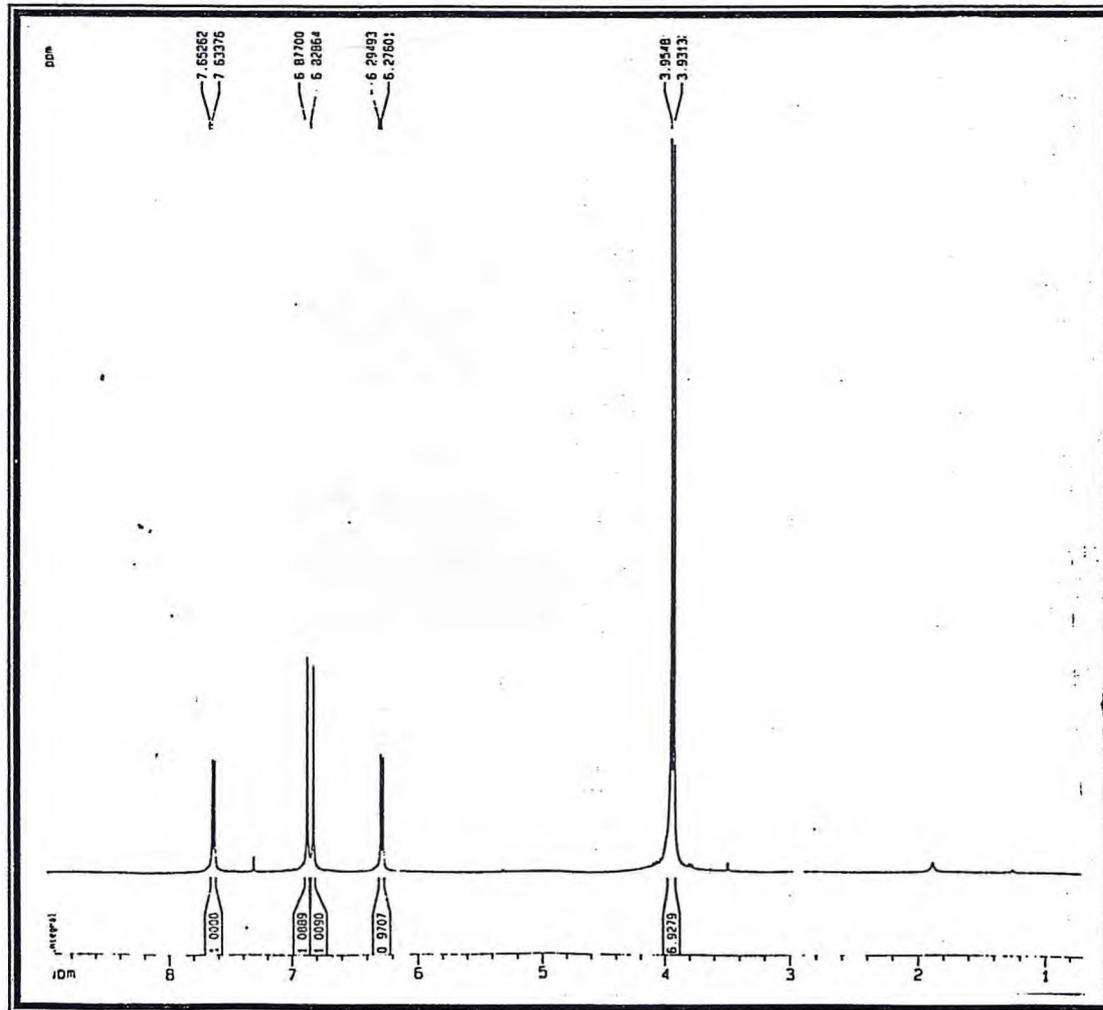


Figura 56 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H de ZAR-3 (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)

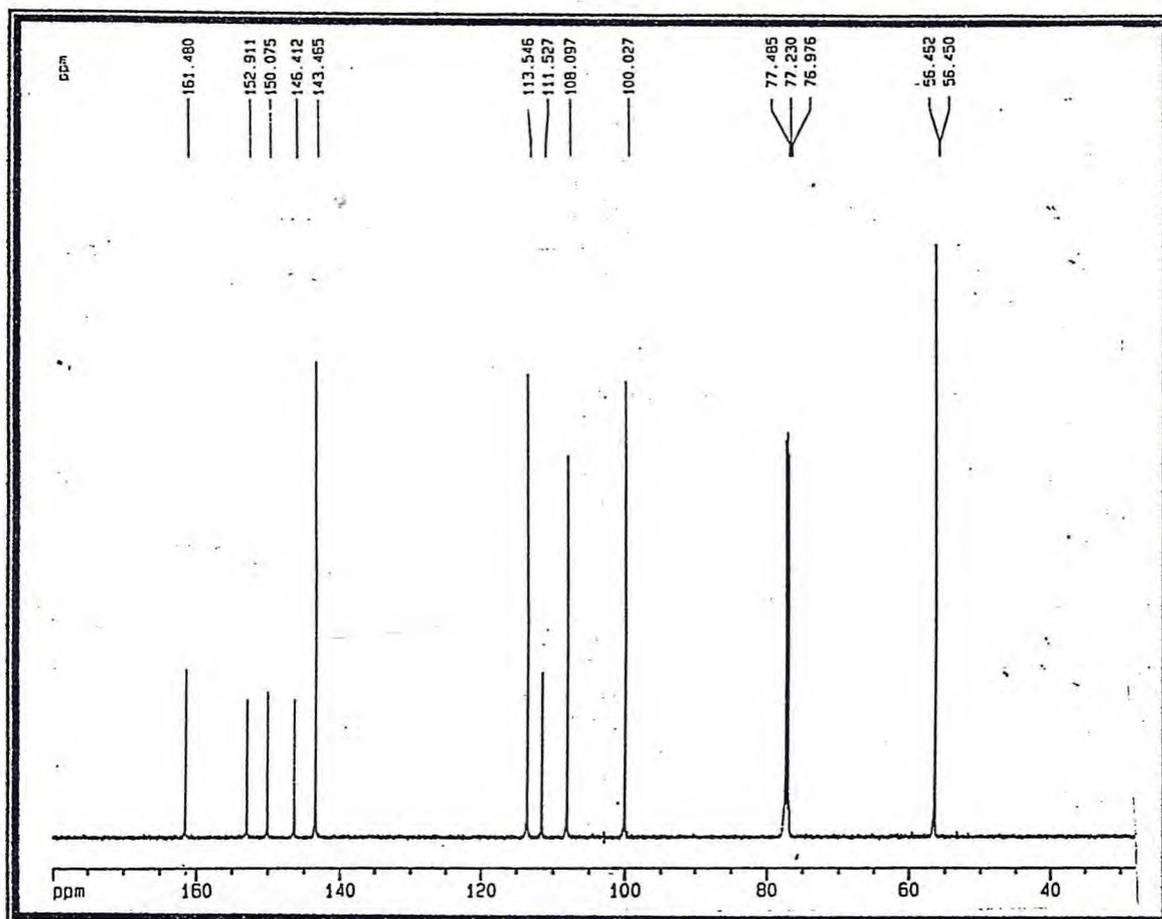


Figura 57 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C – BB de ZAR-3 (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

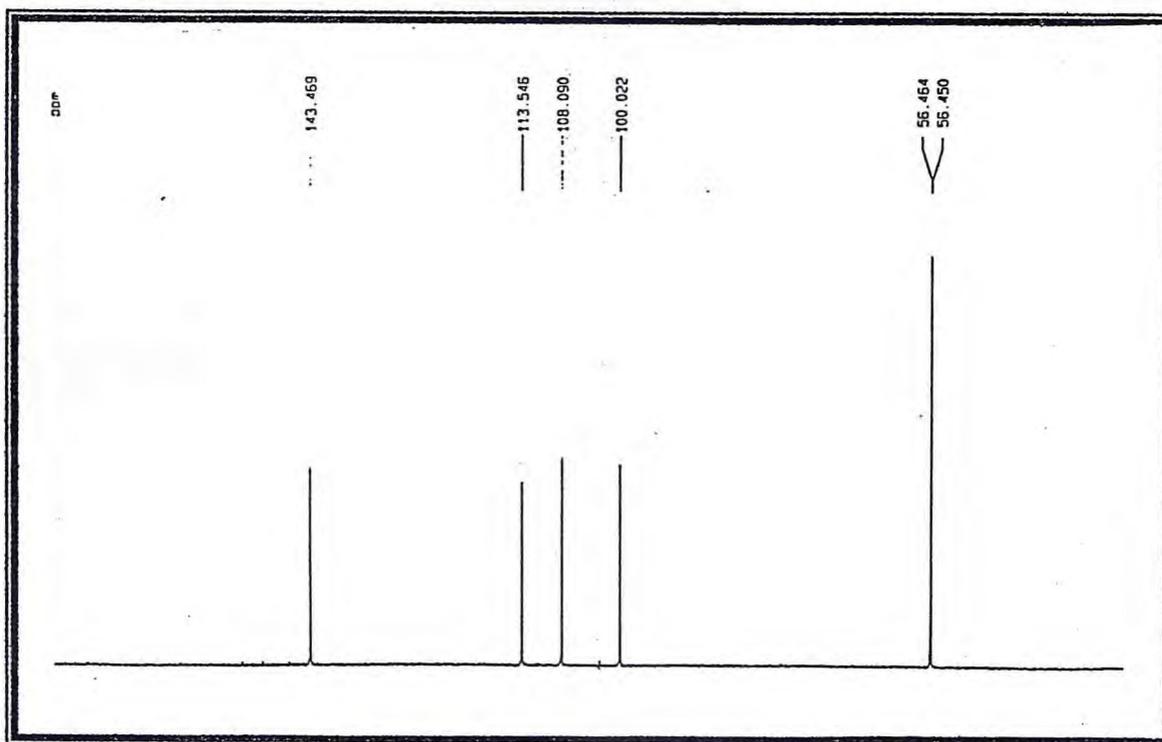


Figura 58 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C – DEPT 135° de ZAR-3 (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

Os carbonos representados pelos sinais observados em  $\delta$  143,5 e 113,5 foram correlacionados com sinais de átomos de hidrogênio em  $\delta$  7,64 (H-4) [1] e 6,28 (H-3) [2] da ligação olefínica (estrutura a.47), através da análise do diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^1\text{J}_{\text{CH}} - \text{HMQC}$  (Fig. 59, p.177).

A atribuição do deslocamento químico de C-5 ( $\delta$  108,1) foi realizada através do acoplamento  $^3\text{J}_{\text{CH}}$  entre este carbono e H-4 [3] observado no diagrama de contorno do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) - HMBC (Fig. 60, p.178), permitindo por exclusão associar a absorção em  $\delta$  100,1 com C-8 (estrutura a.48). Observou-se também correlações entre os hidrogênios metoxílicos ( $\delta_{\text{H}}$  3,95 e 3,93) com os carbonos em  $\delta$  152,9 [4] 146,4 [5] respectivamente. Desta maneira pôde-se atribuir a absorção de  $\delta$  150,1 a C-9 que acopla com H-4. Um resumo de todas as correlações observadas no espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{J}_{\text{CH}}$ , e nas expansões do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ ,  $^n\text{J}_{\text{CH}}$ , com  $n = 2$  e  $3$  foram reunidos na Tabela 31.

**Tabela 31** – Dados espectrais para ZAR-4 e acoplamento heteronuclear ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ,  $n = 1, 2$  e  $3$ ). Deslocamentos químicos em  $\delta$  e  $J$  em Hz. Dados obtidos em  $\text{CDCl}_3$ .

C	$^1\text{H} - ^{13}\text{C} - \text{HMQC} - ^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H} - ^{13}\text{C} - \text{HMQC} - ^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
<b>C</b>				
2	161,5	-	H-3	H-4
6	146,4	-	H-5	H-8, OMe-6
7	152,9	-	H-8	H-5, OMe-7
9	150,1	-	H-8	H-5, H-4
10	111,5	-		
<b>CH</b>				
3	113,5	6,28 (d, $J = 9,4$ Hz)	-	-
4	143,5	7,64 (d, $J = 9,4$ Hz)	-	H-5
5	108,1	6,87	-	H-4
8	100,0	6,82	-	-
<b>CH<sub>3</sub></b>				
MeO-6	56,5	3,95	-	-
MeO-7	56,4	3,93	-	-

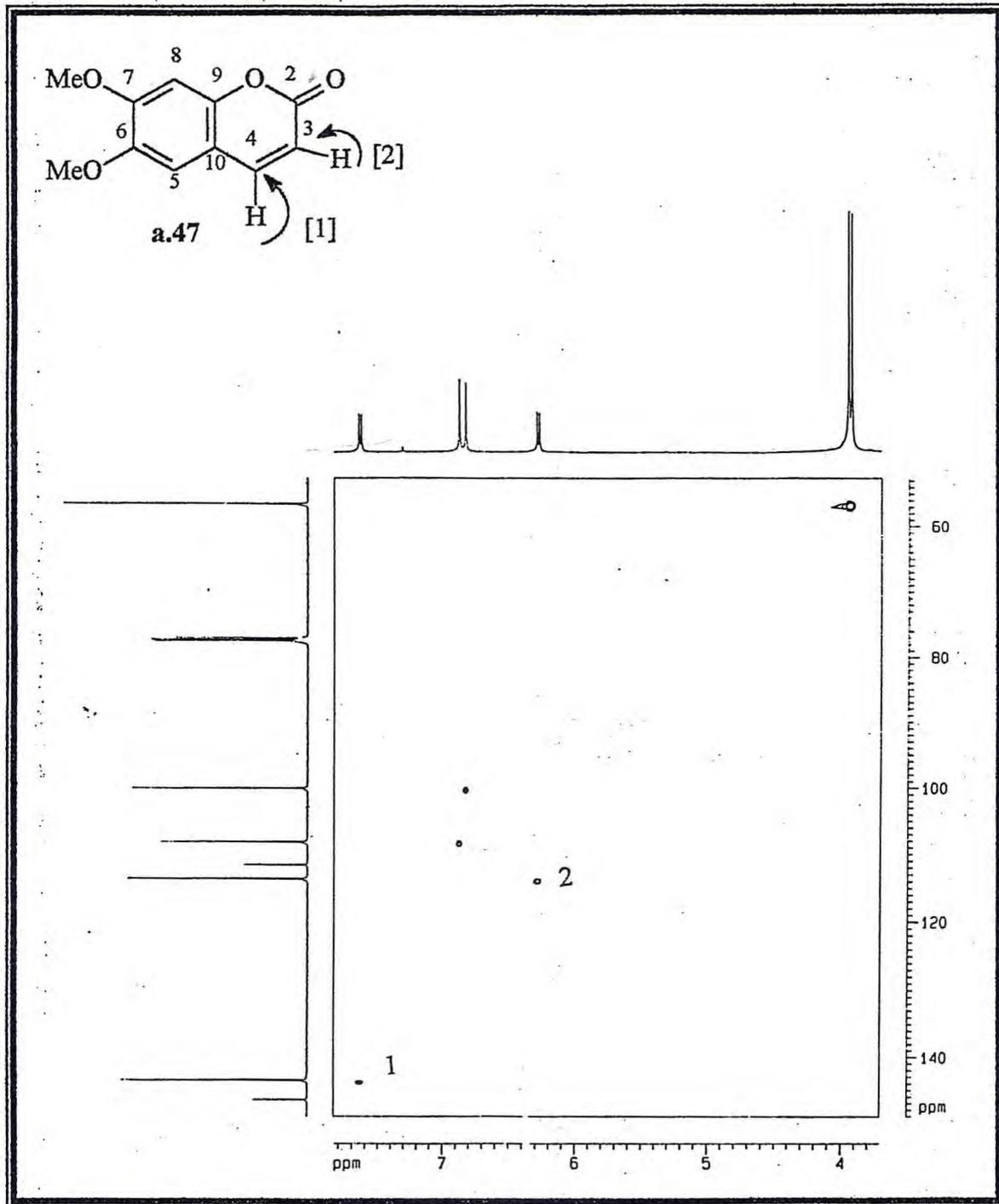


Figura 59 - Diagrama de contorno do espectro RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^1J_{\text{CH}} - \text{HMQC}$  de ZAR-3 ( $\text{CDCl}_3$ , 500 x 125 MHz)

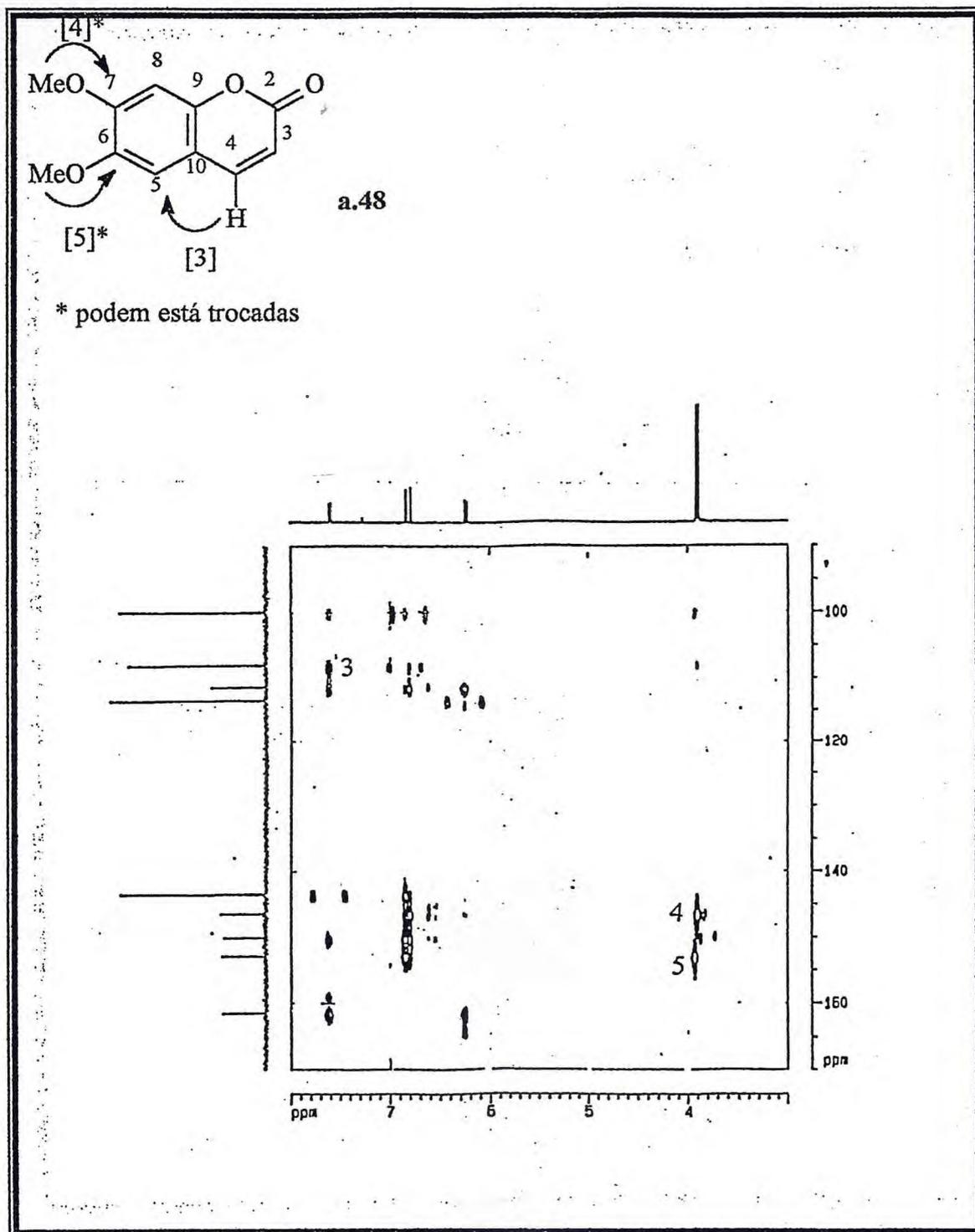
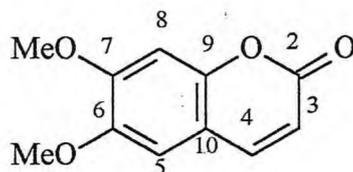


Figura 60- Diagrama de contorno do espectro RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) - HMBC de ZAR-3 ( $\text{CDCl}_3$ ,  $500 \times 125$  MHz)

Estas informações, aliada a comparação dos dados de RMN<sup>13</sup>C de ZAR-4 com dados registrados na literatura (Falcão, 2003) para 6,7-dimetóxicumarina (Tabela 32), permitiram identificar ZAR-3 como sendo a escoparona (**X**).

**X**

**Tabela 32** – Comparação dos dados de RMN<sup>13</sup>C de ZAR-3 com aqueles encontrados na literatura para a escoparona (**X**) (Falcão, 2003).

C	ZAR-3	X
2	161,5	161,4
3	113,5	113,6
4	143,5	143,3
5	108,1	108,6
6	146,4	146,4
7	152,9	152,9
8	100,0	100,0
9	150,1	150,0
10	111,5	111,5
OMe-6	56,5	56,4
OMe-7	56,4	56,4

### 3.3.4 - ZAR-4-A

Um sólido branco amorfo foi obtido a partir da fração acetato de etila do extrato metanólico da raiz de *Z. articulatum* (EMRZA-a, 5.3.2, p.224) que foi denominado de ZAR-4 e mostrou-se insolúvel em clorofórmio, metanol, acetona, água, DMSO e piridina. Realizou-se então uma reação de acetilação com anidrido acético e piridina. O produto da reação, ZAR-4-A, mostrou-se solúvel em clorofórmio e apresentou ponto de fusão na faixa de 189,7 a 191,8°C.

O espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) (Fig.61, p.182) deste composto mostrou quarenta e dois sinais. Os sinais na faixa de  $\delta$  170,6 a 169,3, característicos de carbono de grupo carbonila de ester e os sinais na faixa de  $\delta$  21,4 a 21,0, de carbono de grupo metila ligado a carbonila, indicam a presença de oito grupos acetila (CH<sub>3</sub>C=O). Como os sinais na faixa de  $\delta$  79,0 a 64,1 indicam carbonos alifáticos oxigenados, sugeriu-se que ZAR-4-A teria em sua estrutura duas unidades de açúcar, nas quais os grupos hidroxilas estariam acetilados.

A comparação entre os espectros de RMN<sup>13</sup>C-BB e o espectro de RMN<sup>13</sup>C-DEPT135° (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) (Fig.61, p.182), forneceu o padrão de hidrogenação de cada carbono. Estes dados foram reunidos na Tabela 33 (p. 181).

Tabela 33 – Deslocamentos químicos e padrão de hidrogenação de ZAR-3 obtidos pela comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
189,2	125,4	66,5	56,4
170,6	121,6	45,0	21,5 (2)
170,5	112,8		21,2 (2)
170,3	106,3		21,1 (2)
170,2	102,5		21,0 (2)
169,8	98,5		17,7
169,7	97,9		
169,6	79,1		
169,3	73,6		
164,2	72,7		
162,3	71,3		
152,3	71,2		
151,9	69,7		
140,3	69,4		
131,1	68,9		
109,9	67,6		
16C	16CH	2CH <sub>2</sub>	10CH <sub>3</sub>
(C=O)	(=CH) <sub>5</sub>	(OCH <sub>2</sub> )	(OCH <sub>3</sub> )
(AcO) <sub>8</sub>	(O-CH-O) <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> )	(CH <sub>3</sub> ) <sub>9</sub>
(=C) <sub>7</sub>	(CH-O) <sub>7</sub>		
	(-CH) <sub>2</sub>		
$\text{C}_{44}\text{H}_{55}\text{O}_{22}$			

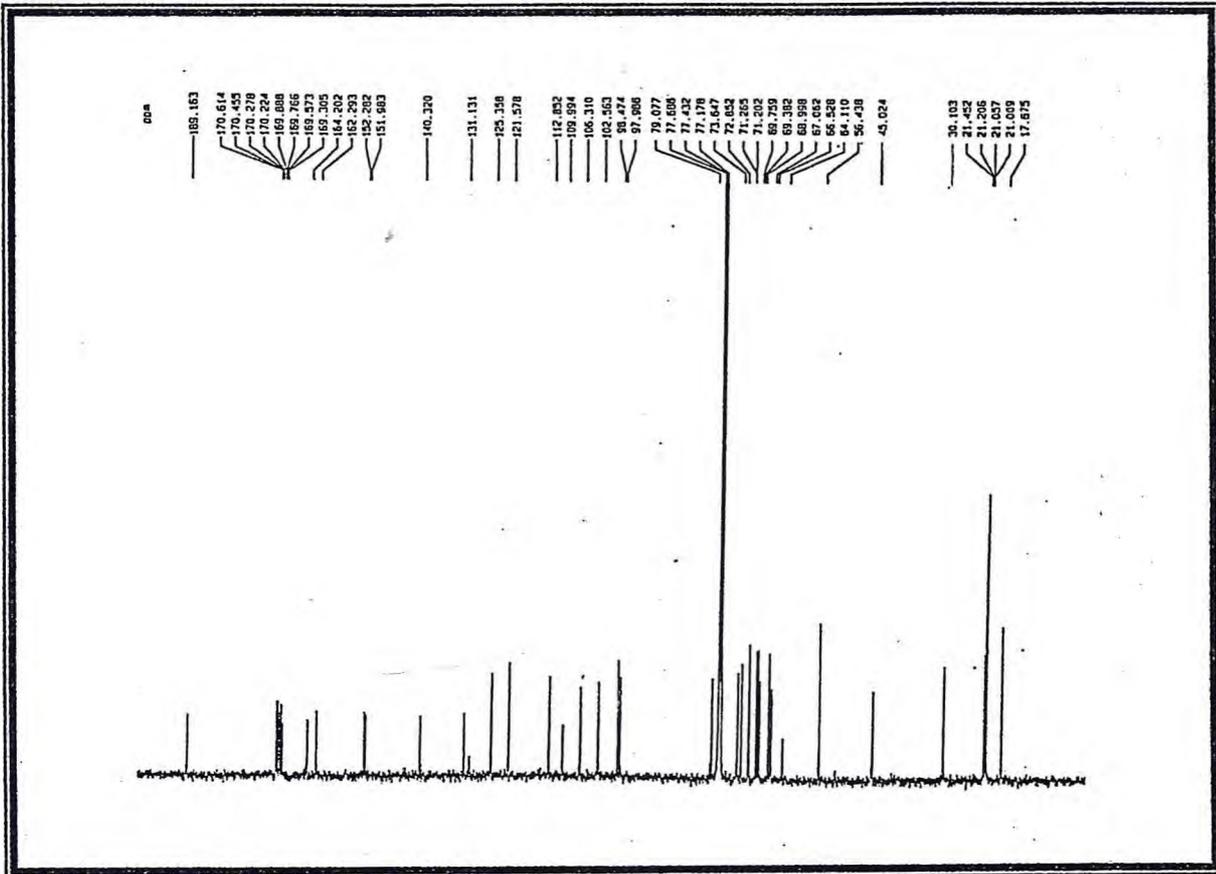


Figura 61 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C – BB de ZAR-4-A (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

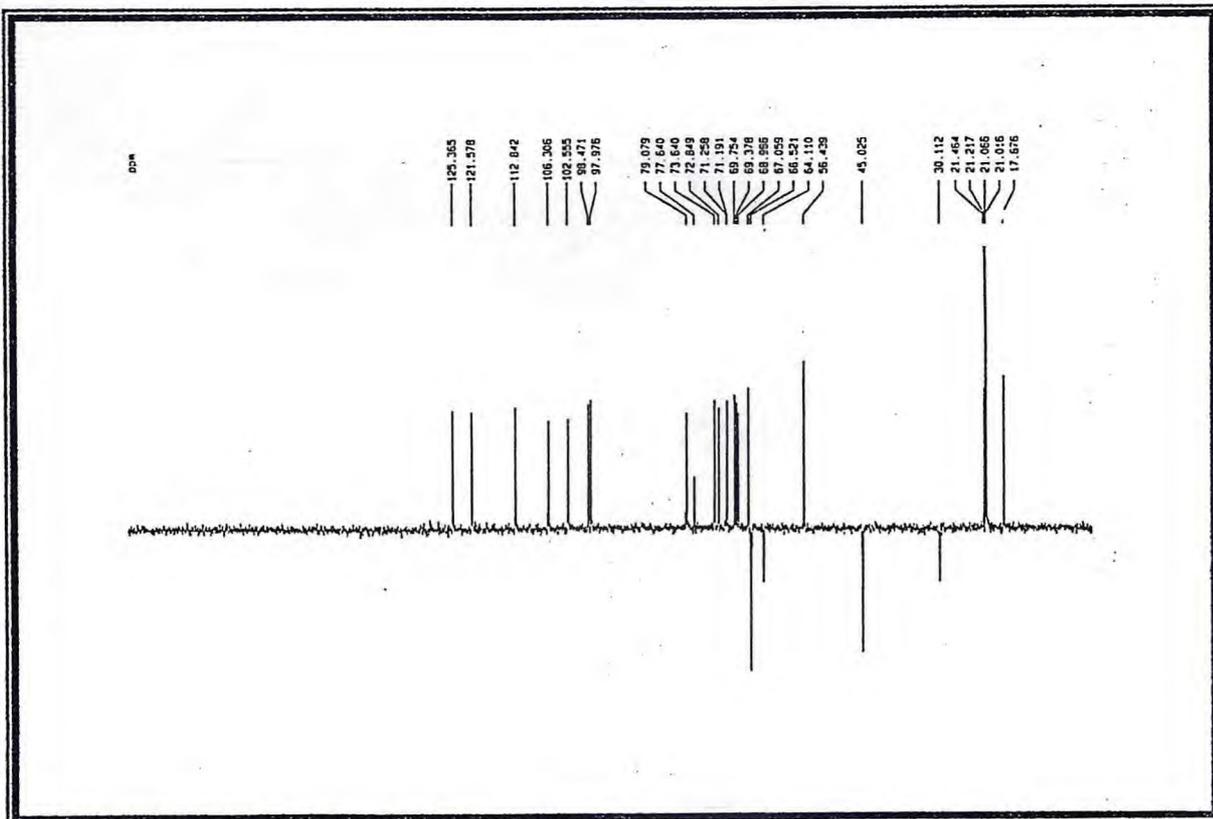


Figura 62 – Espectro de RMN<sup>13</sup>C – DEPT 135° de ZAR-4-A (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) (Fig. 63) mostrou dois dubletos referentes a hidrogênios aromáticos em δ 6,49 (1H, d, J = 1,9 Hz) e 6,33 (1H, d, J = 1,9 Hz), cujo valor de J indica acoplamento *meta*, dois dubletos em δ 7,28 (1H, d) e 7,02 (1H, d, J = 8,4 Hz, com acoplamento em *orto*) e outro (δ 7,18, sl) com acoplamento *meta*, como decorrência de interação de um dos hidrogênios citados anteriormente. Estes dados indicou que ZAR-4-A apresentava em sua estrutura dois anéis aromáticos, o que foi confirmado por doze sinais observados na região característica de sistemas aromáticos no espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB. O sinal para carbono de grupo carbonila em δ 189,9 sugeriu uma estrutura flavonoidica para ZAR-4-A. A ausência de hidrogênio olefínico afasta a possibilidade estrutural de uma flavona e os sinais em δ<sub>H</sub> 5,46 (dd, J = 13,1 e 2,4 Hz, H-2) e 3,01 (dd, J = 16,8 e 13,1 Hz, H-3ax) e 2,78 (dd, J = 16,8 e 2,4 Hz, H-3eq) sugeriram tratar-se de uma flavanona.

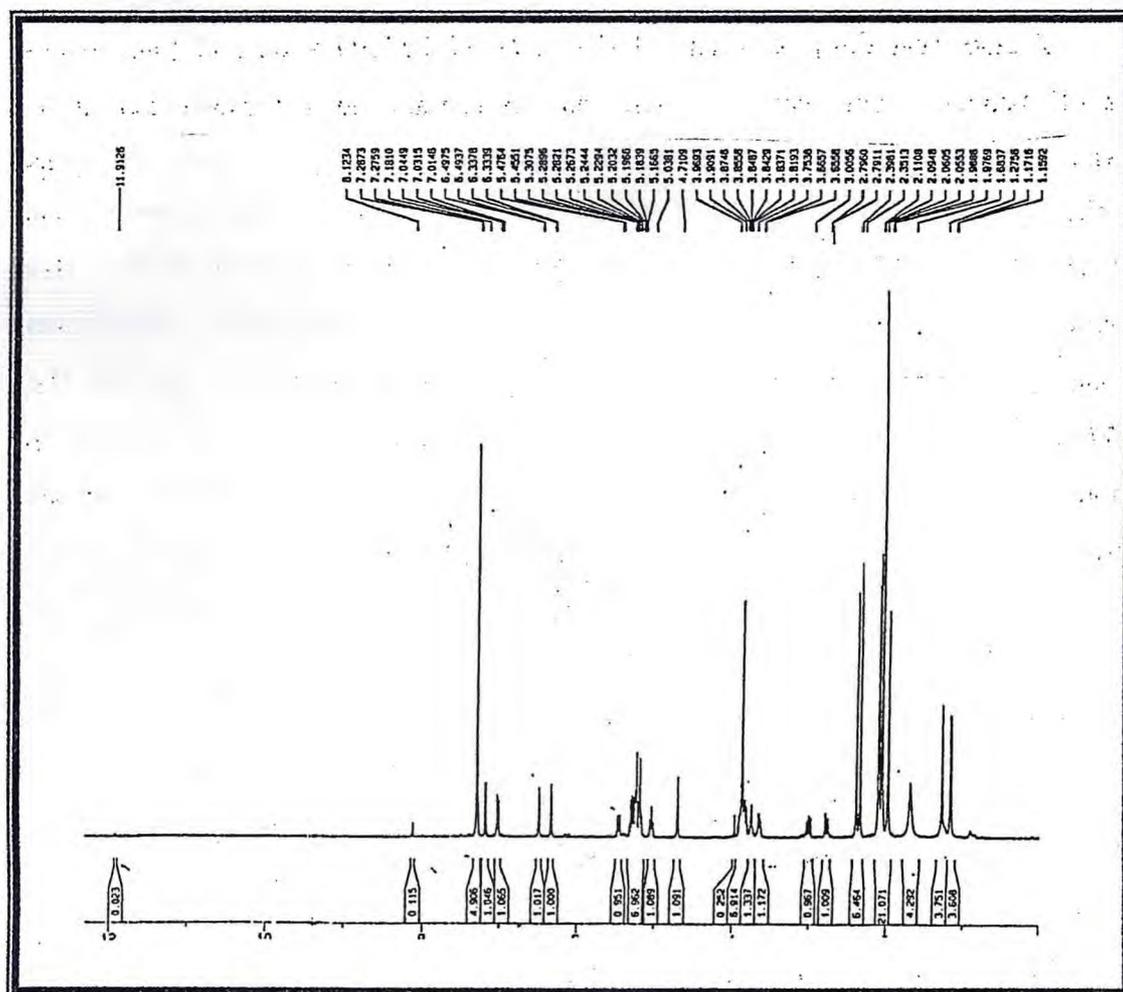
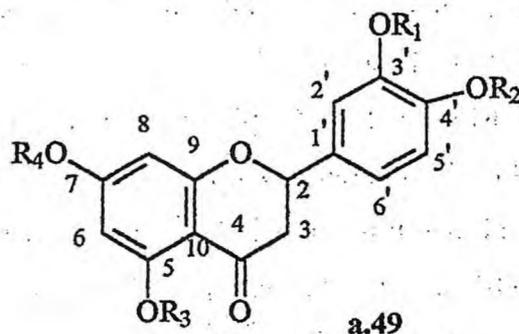
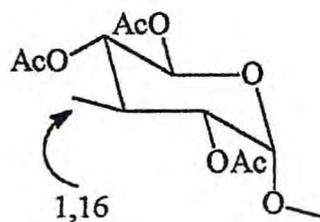
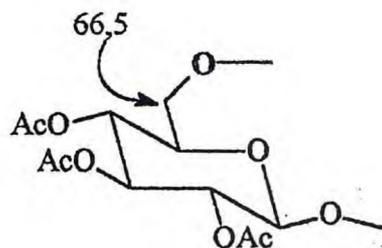


Figura 63 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H de ZAR-4-A (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)

Para se obter o padrão de acoplamento dos hidrogênios aromáticos vistos no espectro de RMN<sup>1</sup>H de ZAR-4-A, propôs-se que os hidrogênios na faixa de  $\delta$  7,27 a 7,02 ocupariam as posições 2',5' e 6' e os outros dois estariam ligados aos carbonos C-6 e C-8, visto que a maioria dos flavanóides descritos na literatura (Agrawal, 1990) são oxigenados nas posições C-7 e C-5 (estrutura a.49).



A associação dos prótons em  $\delta$  3,82 (dd,  $J = 11,4$  e  $2,9$  Hz) e  $\delta$  3,65 (dd,  $J = 11,4$  e  $2,9$  Hz) com o carbono em  $\delta$  66,5 observada no diagrama de contorno do espectro de RMN <sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C - <sup>1</sup>J<sub>CH</sub> - HMQC (Fig. 64, p.185) [1], indicou a presença do grupo metileno de uma unidade de glicose (Ficarra et al., 2002) (estrutura a.50); a presença de um grupo metila em  $\delta$  1,16 (3H, d,  $J = 6,2$  Hz) observado no espectro de RMN<sup>1</sup>H e confirmado pelo sinal de absorção em  $\delta$  17,7 apontou a raminose (Li et al., 2000) como a outra unidade de sacarídio (estrutura a.51). Os sinais observados em  $\delta$  5,19 (1H, d) e 4,71 (1H, sl) foram associados através do experimento HMQC, com sinais de carbonos anoméricos em  $\delta$  97,9 [2] e 98 [3], componentes das unidades de glicose e da raminose respectivamente.



As posições das duas moléculas de açúcar e de outros substituintes no anel foram atribuídas através da análise dos expansões do diagrama de contorno do espectro de RMN <sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C - <sup>n</sup>J<sub>CH</sub>, ( $n = 2$  e  $3$ ) - HMBC (Figs. 66 a 68, p. 190 a 192).

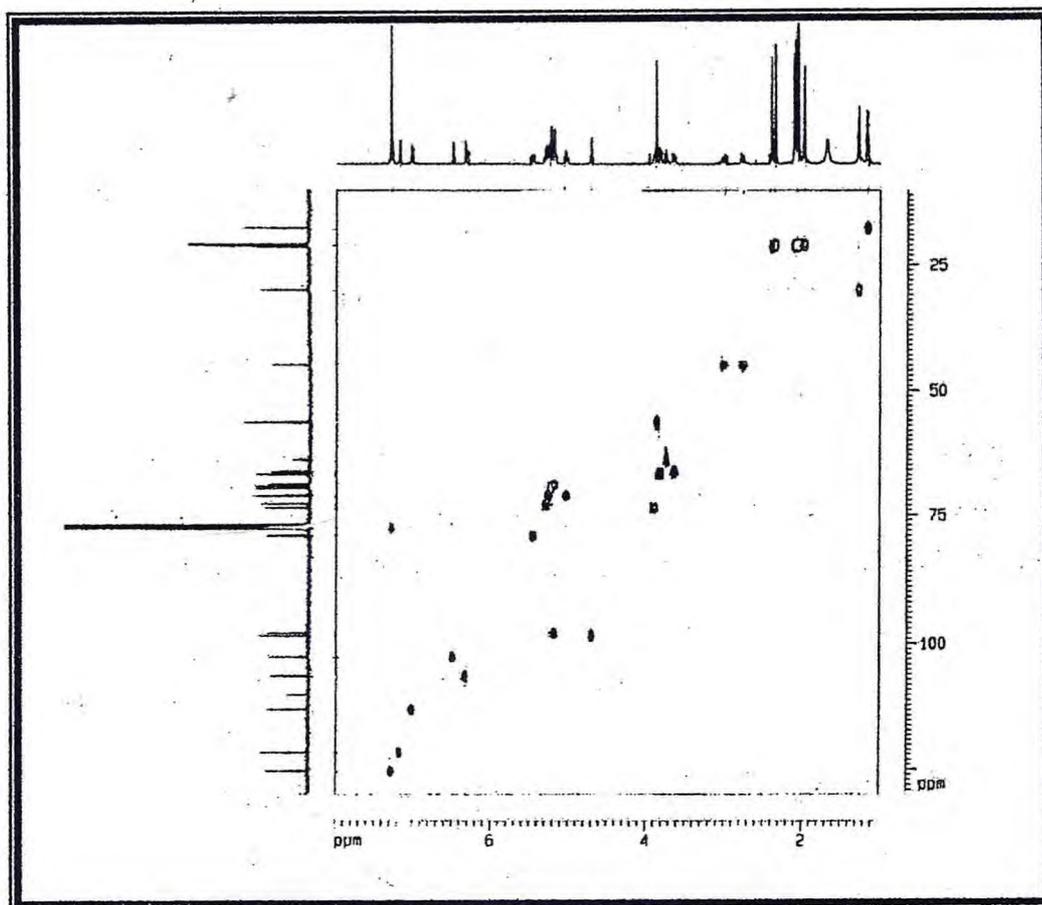
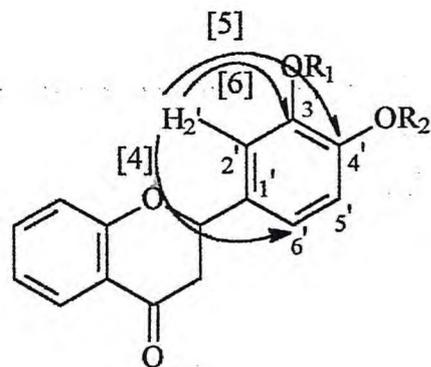
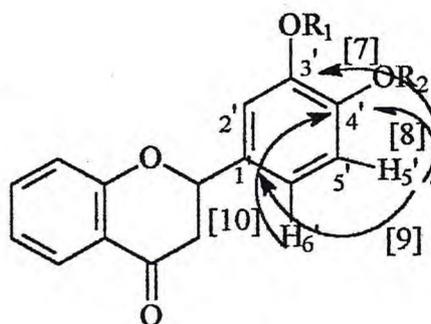


Figura 64- Diagrama de contorno do espectro RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^1J_{\text{CH}}$ -HMQC  
( $\text{CDCl}_3$ , 500 x 125 MHz)

A expansão I (Fig. 66, p. 190) do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^nJ_{\text{CH}}$ , ( $n = 2$  e  $3$ ) - HMBC mostrou a correlação  $^3J_{\text{CH}}$  entre H-2' ( $\delta$  7,18,  $J=1,9$ ) com C-6' ( $\delta$  125,4) [4] e C-4' ( $\delta$  152,3) [5] e  $^2J_{\text{CH}}$  C-3' ( $\delta$  140,3)[6] (estrutura a.52). H-5' também mostrou correlação  $^3J_{\text{CH}}$  com C-3' [7] e  $^2J_{\text{CH}}$  C-4' [8], além de uma correlação em  $^3J_{\text{CH}}$  com C-1' ( $\delta$  131,1) [9]. Acoplamento a três ligações entre H-6' e C-4' [10] também foi observada (estrutura a.53).

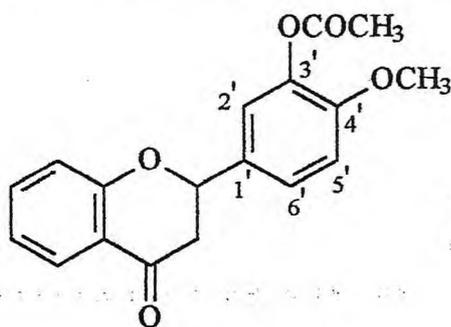


a.52

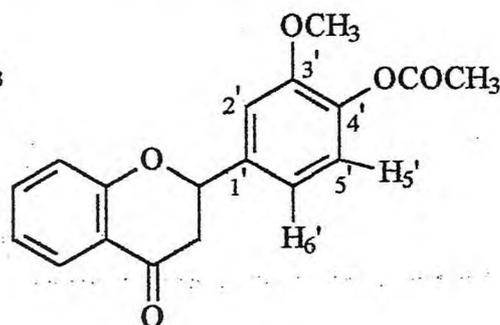


a.53

Estas correlações, além do fato que os hidrogênios do grupo metoxila mostraram uma correlação com C-4' [18] visto na expansão II (Fig. 67, p. 191), sugeriram duas possíveis estruturas parciais a.54 e a.55 para ZAR-4-A.



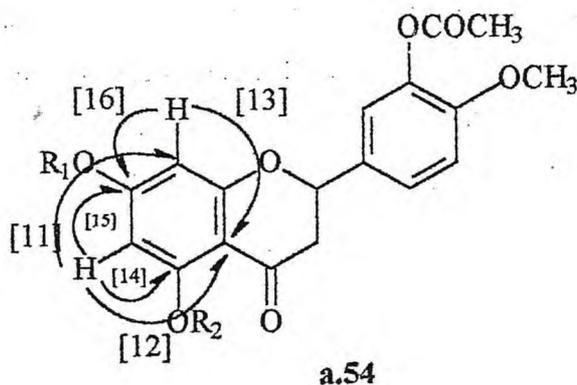
a.54



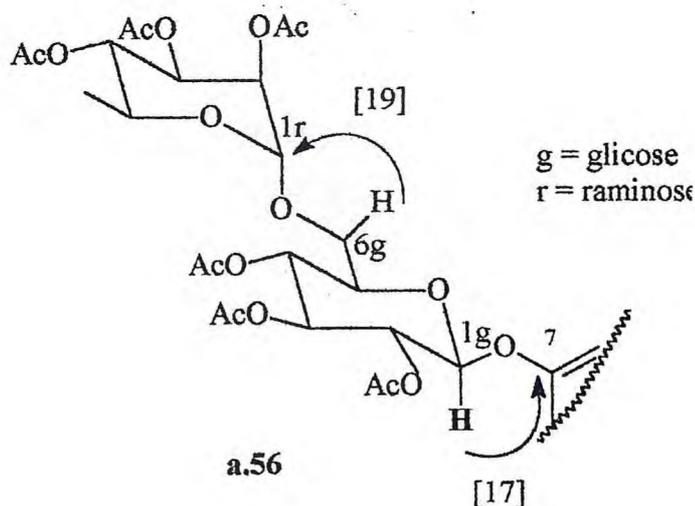
a.55

Notou-se que na estrutura a.55 não é possível observar o acoplamento  $^3J_{CH}$  entre H-6' e carbono diretamente ligado ao grupo metoxila, vista no HMBC, de maneira que esta foi descartada e pôde-se atribuir com segurança a posição do grupo metoxila em C-4'.

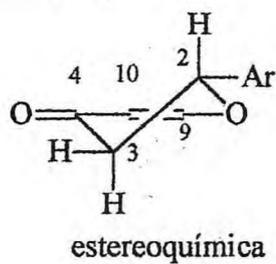
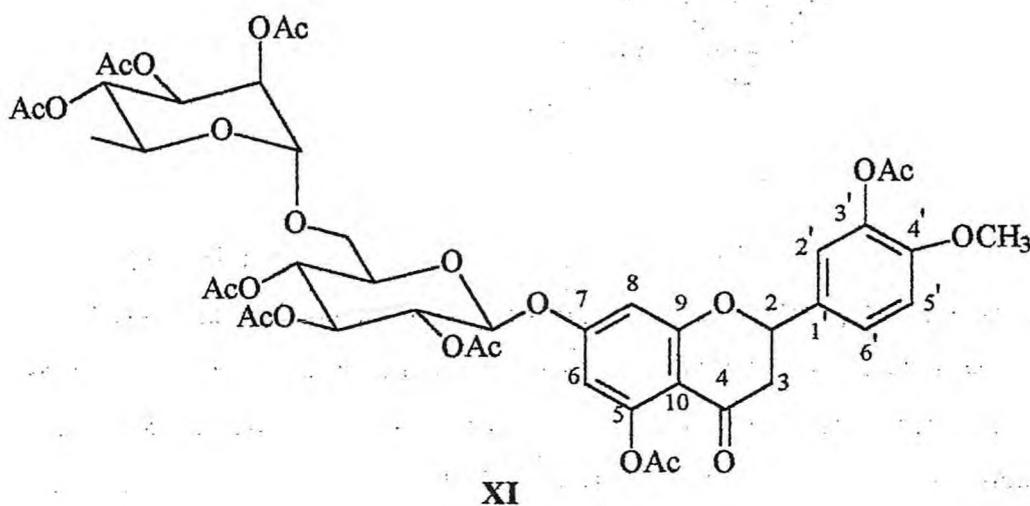
O diagrama da Figura 67 (p. 191) mostrou ainda acoplamentos  $^3J_{CH}$  entre H-6 ( $\delta$  6,32,  $J = 1,9$ ) com o C-8 ( $\delta$  102,5) [11] e com o carbono cujo sinal foi visto em  $\delta$  109,9 [12], que foi designado como C-10, visto que H-8 ( $\delta$  6,49) também acopla com este carbono [13]. H-6 ainda acopla a duas ligações com os carbonos que absorvem em  $\delta$  151,9 [14] e 162,3 [15] que poderiam ser C-5 ou C-7. A distinção entre os dois carbonos foi fornecida pela acoplamento de H-8 com o carbono em  $\delta$  162,3 [16] visto na expansão I do espectro de RMN  $^1H \times ^{13}C - ^nJ_{CH}$ , ( $n = 2$  e  $3$ ) - HMBC (estrutura a.54). Assim atribuiu-se estas absorções a C-5 e C-7 respectivamente.



O acoplamento entre o hidrogênio anomérico da glicose ( $\delta$  5,19) e C-7 [17] visto na expansão II (Fig. 67, p.191) confirmou a posição da glicose em C-7. Já a posição da raminose na estrutura foi indicada pela correlação existente entre um dos hidrogênios metilênicos da glicose (H-6<sub>g</sub>,  $\delta$  3,65) com o carbono anomérico da raminose [19] (estrutura a.56) visto na expansão III do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^n\text{J}_{\text{CH}}$ , ( $n = 2$  e  $3$ ) – HMBC (Fig. 68, p. 192) de forma que pôde-se atribuir a C-5, um outro grupo *O*-acetil. Um resumo de todas as correlações observadas no espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{J}_{\text{CH}}$ , e nas expansões do espectro de RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ ,  $^n\text{J}_{\text{CH}}$ , com  $n = 2$  e  $3$  foram reunidos na Tabela 34 (p. 193).



Todos estes dados conduziram a proposição da estrutura do acetato de hesperidina **XI** para ZAR-4-A, que foi confirmado pela comparação de dados de RMN<sup>13</sup>C desta flavanona (Ferreira et al., 2000) com os dados de RMN<sup>13</sup>C obtidos para ZAR-4-A. Esta comparação está descrita na tabela 35 (p.194).



A análise do espectro de massa de ZAR-4 (Fig. 65), antes da reação de acetilação, mostrou um pico em  $m/z$  302 (estrutura a.57) e um pico em  $m/z$  150 (estrutura a.58) compatível com aglicona não acetilada. A presença de um grupo acetil na aglicona foi excluída pela ausência de picos em  $m/z$  345 e  $m/z$  193, sugerindo que os todos os grupos acetilas na estrutura XI de ZAR-4-A são proveniente da reação de acetilação.

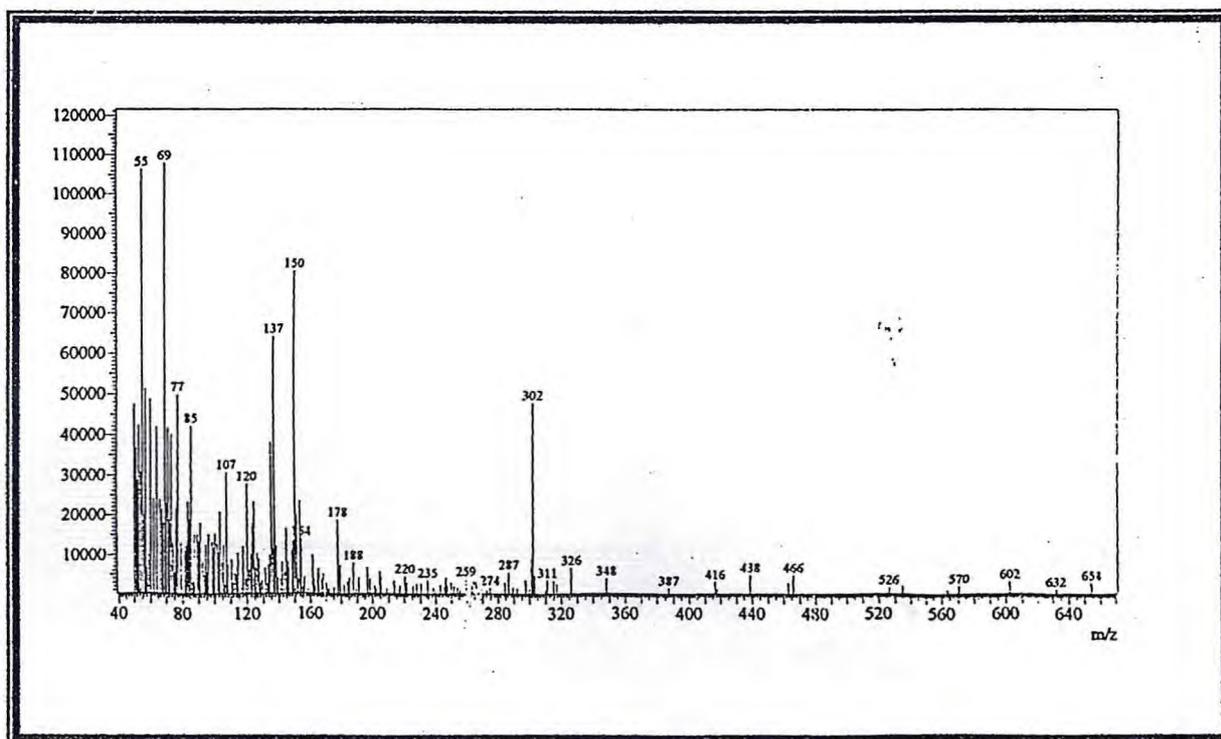
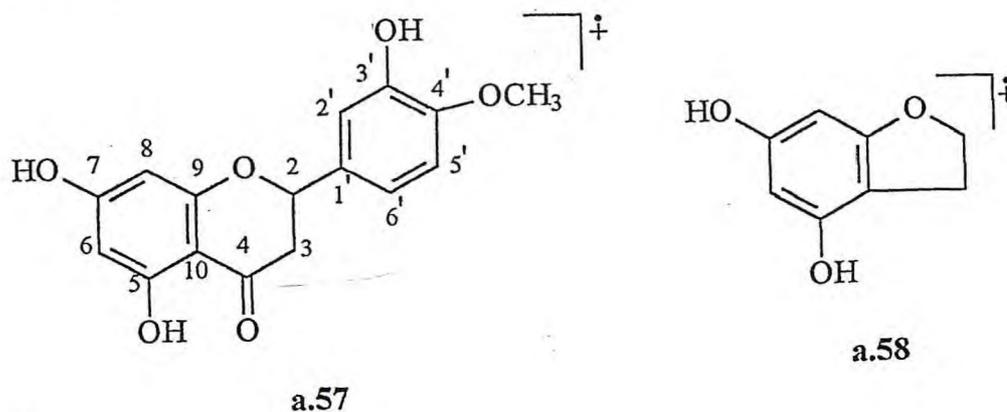


Figura 65 – Espectro de massa obtido por impacto eletrônico de ZAR-4

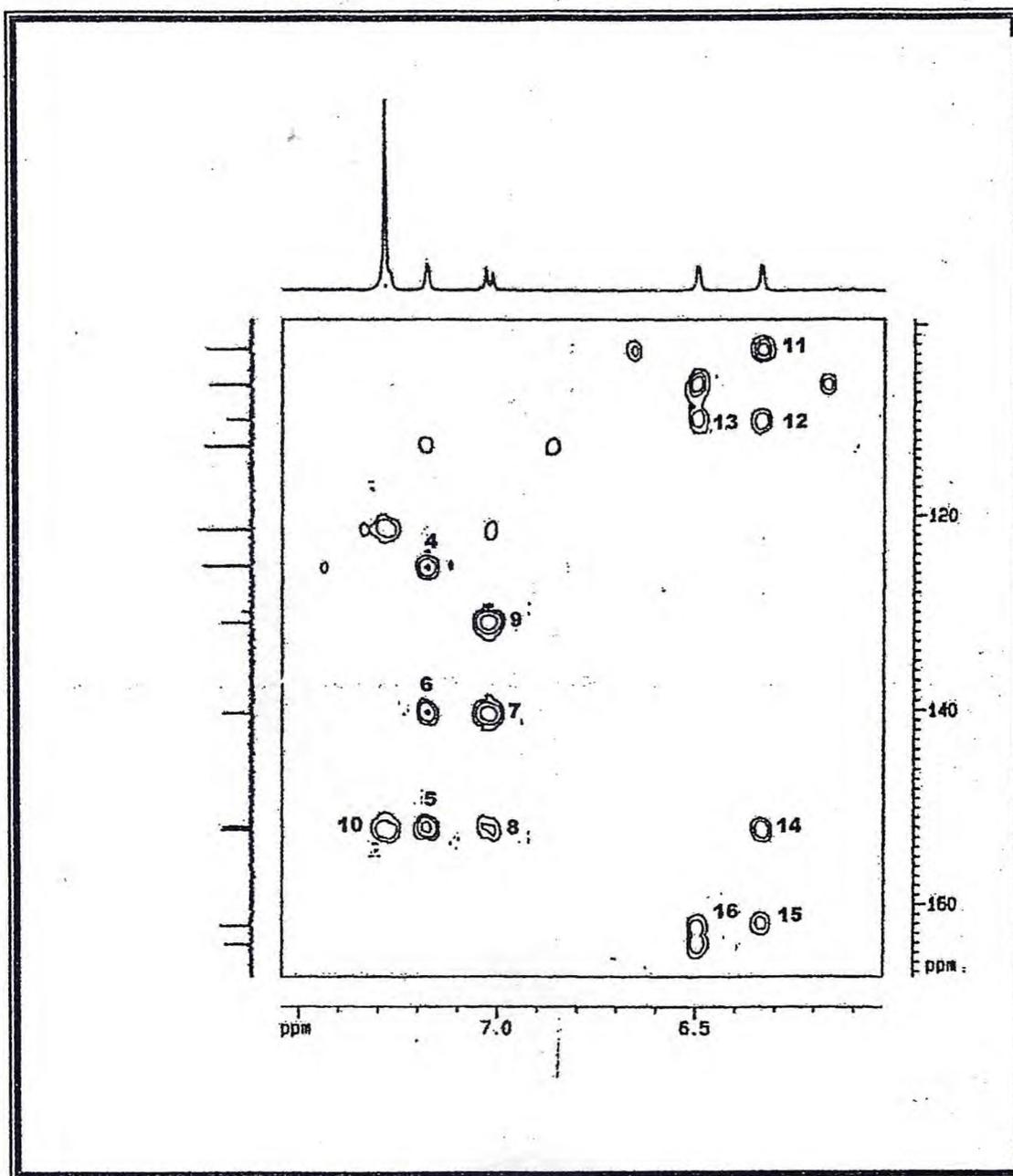


Figura 66- Expansão I do diagrama de contorno do espectro RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) -HMBC de ZAR-3-A ( $\text{CDCl}_3$ ,  $500 \times 125$  MHz)

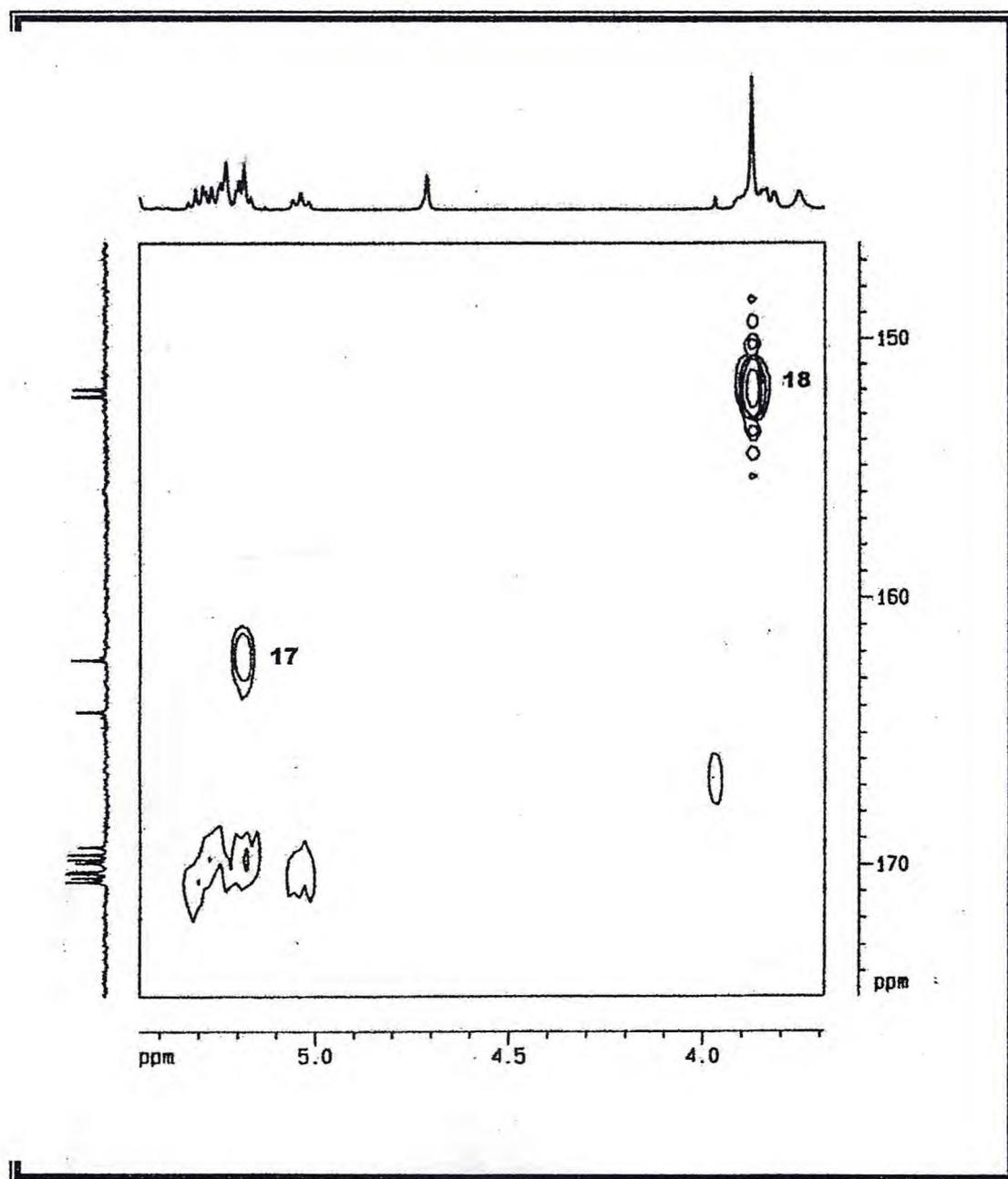


Figura 67 - Expansão II do diagrama de contorno do espectro RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n = 2$  e  $3$ ) -HMBC de ZAR-4-A ( $\text{CDCl}_3$ ,  $500 \times 125$  MHz)

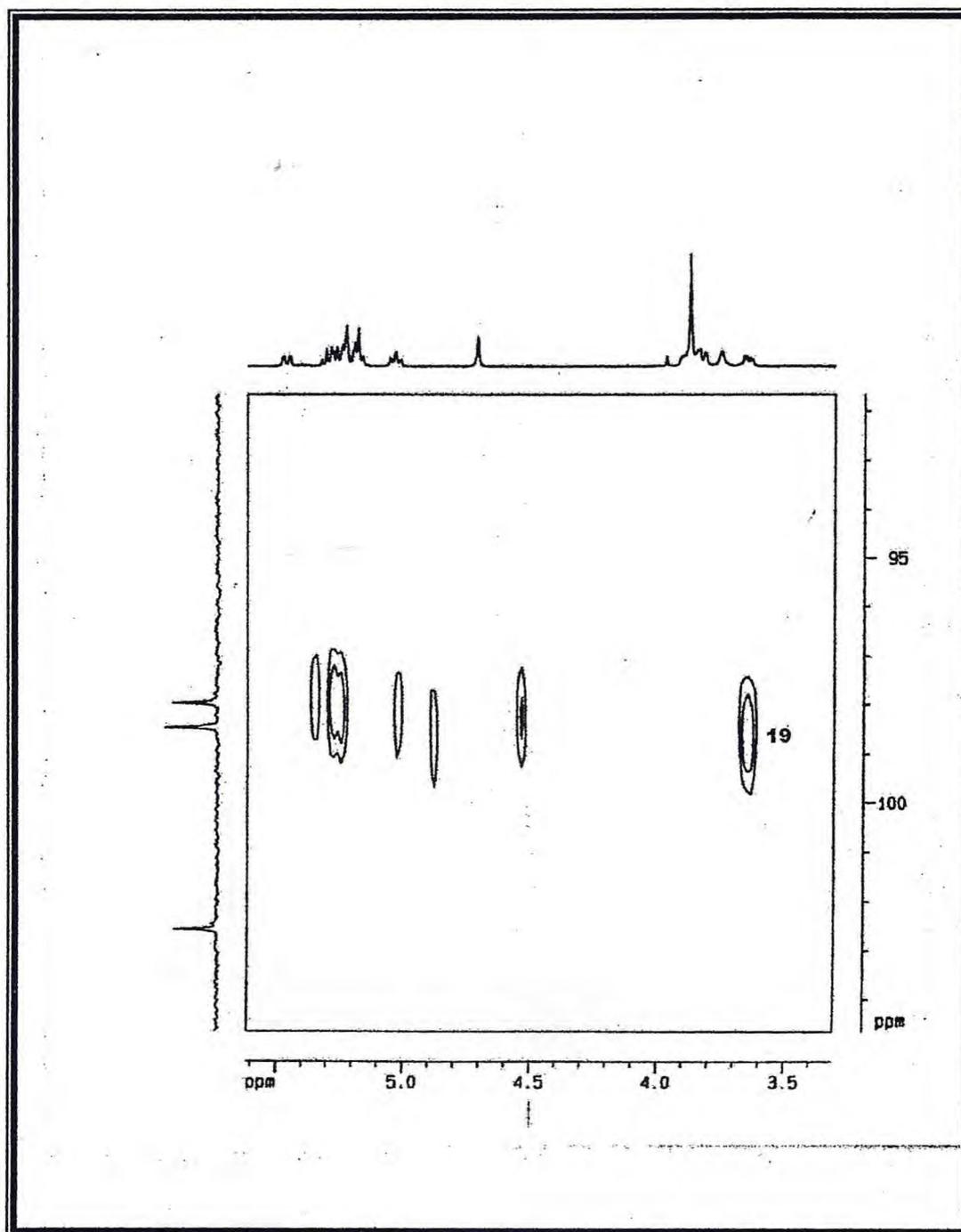


Figura 68- Expansão III do diagrama de contorno do espectro RMN  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - {}^n\text{J}_{\text{CH}}$   
( $n = 2$  e  $3$ ) -HMBC de ZAR-4-A ( $\text{CDCl}_3$ ,  $500 \times 125$  MHz)

Tabela 34 – Dados espectrais para ZAR-4-A e acoplamento heteronuclear ( $^1J_{CH}$ ,  $n = 1, 2$  e  $3$ ). Deslocamentos químicos em  $\delta$  e  $J$  em Hz. Dados obtidos em  $CDCl_3$ .

	$^1H-^{13}C$ -HMOC- $^1J_{CH}$		$^1H-^{13}C$ -HMOC- $^nJ_{CH}$	
	$\delta_C$	$\delta_H$	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
C				
4	189,2	-	2H-3	-
5	151,9	-	H-6	-
7	162,3	-	H-6, H-8	H-1g
9	164,2	-	H-8	-
10	109,9	-	-	H-6, H-8
1'	131,1	-	-	H-5'
3'	140,3	-	H-2'	H-5'
4'	152,3	-	H-5'	H-2', H-6', MeO-4'
AcO	170,6	-	-	-
AcO	170,5	-	-	-
AcO	170,3	-	-	-
AcO	170,2	-	-	-
AcO	169,9	-	-	-
AcO	169,7	-	-	-
AcO	169,6	-	-	-
AcO	169,3	-	-	-
CH				
2	79,1	5,46 (dd, $J = 13,1$ e $2,4$ )	H-3ax	-
6	106,3	6,33 (d, $J = 1,9$ )	-	H-8
8	102,5	6,49 (d, $J = 1,9$ )	-	H-6
2'	121,6	7,18 (d)	-	H-6'
5'	112,8	7,02 (d, $J = 8,4$ )	-	-
6'	125,4	7,28	-	H-2'
1g	97,9	5,19 (d)	H-2g	H-3g
2g	71,3	5,26	-	-
3g	72,6	5,31 (t, $J = 9,0$ )	H-2g, H-4G	H-1g
4g	69,7	5,23 (t, $J = 9,0$ )	H-3g	H-2g
5g	73,6	3,91	H-6g	-
1r	98,5	4,71 (sl)	-	H-6g
2r	69,4	5,23 (sl)	-	-
3r	68,9	5,19	H-4r	H-1r
4r	71,2	5,04 (t, $J = 10,0$ )	H-5r	3H-6r
5r	67,1	3,84	3H-6r	H-1g
CH <sub>2</sub>				
3	45,0	3,01 (dd, $J = 16,8$ e $13,1$ ) 2,78 (dd, $J = 16,8$ e $2,4$ )	-	-
6g	66,5	3,82 (dd, $J = 11,4$ e $2,9$ ) 3,65 (dd, $J = 11,4$ e $4,9$ )	-	-
CH <sub>3</sub>				
MeO-4'	56,4	3,85 (s)	-	-
6r	17,7	1,16 (d, $J = 6,2$ )	-	-
AcO-5'	21,5	2,40 (s)	-	-
AcO	21,2	2,10 (s)	-	-
AcO	21,2	2,09 (s)	-	-
AcO	21,1	2,06 (s)	-	-
AcO	21,1	2,05 (s)	-	-
AcO-3'	21,0	2,35 (s)	-	-
AcO	21,0	2,05 (s)	-	-
AcO	21,0	1,98 (s)	-	-

Tabela 35 – Comparação dos dados de RMN<sup>13</sup>C de ZAR-4-A com aqueles encontrados na literatura para o acetato de hesperidina XI (Ferreira et al., 2000).

C	ZAR-3-A	XI	C	ZAR-3-A	XI
2	79,1	79,0	3r	68,9	68,9
3	45,0	45,3	4r	71,2	71,0
4	189,2	189,0	5r	67,0	67,0
5	151,9	150,9	6r	17,7	17,6
6	106,3	105,7	AcO-5	21,5	21,5
7	162,3	162,1	AcO-3'	21,0	21,0
8	102,5	101,9	AcO	21,2	21,2
9	164,2	163,2	AcO	21,2	21,3
10	109,9	109,9	AcO	21,1	21,1
1'	131,1	131,2	AcO	21,1	21,1
2'	121,6	121,2	AcO	21,0	21,0
3'	140,3	139,8	AcO	21,0	21,0
4'	152,3	150,3	AcO-5	170,6	170,4
5'	112,8	112,8	AcO-3'	170,5	170,3
6'	125,4	125,3	AcO	170,3	170,3
MeO-4'	56,4	55,8	AcO	170,2	170,0
1g	97,9	97,8	AcO	169,9	169,8
2g	71,3	71,2	AcO	169,8	169,8
3g	72,6	72,3	AcO	169,6	169,7
4g	69,7	69,8	AcO	169,3	169,5
5g	73,6	73,2			
6g	66,5	66,5			
1r	98,5	98,0			
2r	69,4	69,4			

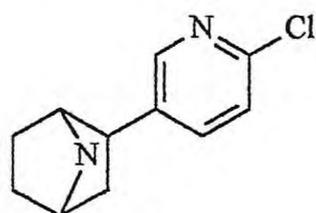
g – glicose

r - raminose

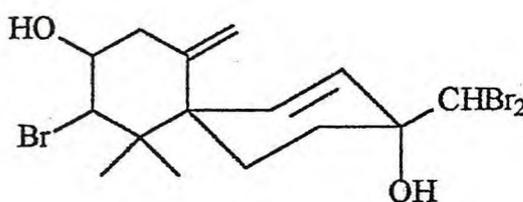
### 3.4 – Determinação estrutural dos derivados

#### 3.4.1– RLR-1-Cl

Muitos compostos halogenados obtidos de forma natural, ou sintetizados, apresentam diversas propriedades farmacológicas. Podemos citar a epibatidina (276), um alcalóide halogenado natural, que mostrou uma potencial ação colinérgica, podendo ser usado no tratamento de desordens mentais e neurológicas como as doenças de Alzheimer e Parkinson (Imming et al, 2001). A o sesquiterpeno mailiohidrina (277) apresentou atividade citotóxica contra células tumorais humanas NCI 60 (Francisco e Erickson, 2001).



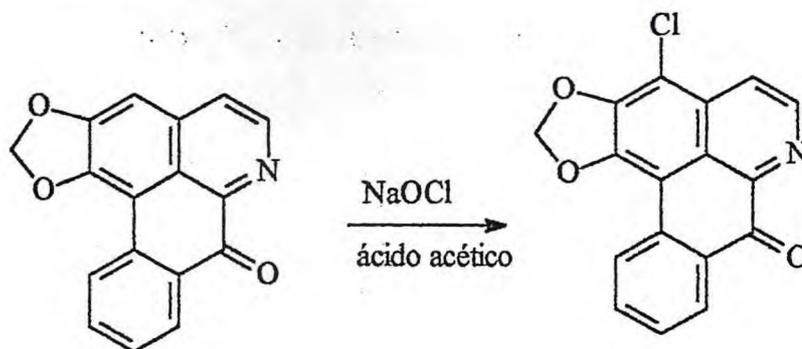
276



277

Estas observações nos levaram a halogenar a lirioidenina (RLR-1) obtida e avaliá-la biologicamente juntamente com seu derivado, a sua relação estrutura atividade.

O derivado halogenado da lirioidenina (XII) foi preparado por reação de cloração com hipoclorito de sódio em ácido acético glacial (item 5.4, p. 226), conforme o esquema reacional abaixo.



RLR-1

RLR-1-Cl

O produto da reação denominado de RLR-1-Cl (XII) mostrou-se solúvel em clorofórmio e metanol.

Analisando-se o espectro de massa (Fig. 69), observou-se os picos do íon molecular contendo  $^{35}\text{Cl}$  em  $m/z$  309 e do íon molecular contendo o  $^{37}\text{Cl}$  ( $M + 2$ ) mantendo a relação de intensidade de 1: 1/3 (de abundância natural) e indicando a substituição de apenas um átomo de cloro. O Quadro 11 (p.197) mostra uma proposta de Fragmentação de RLR-1-Cl no espectro de massa.

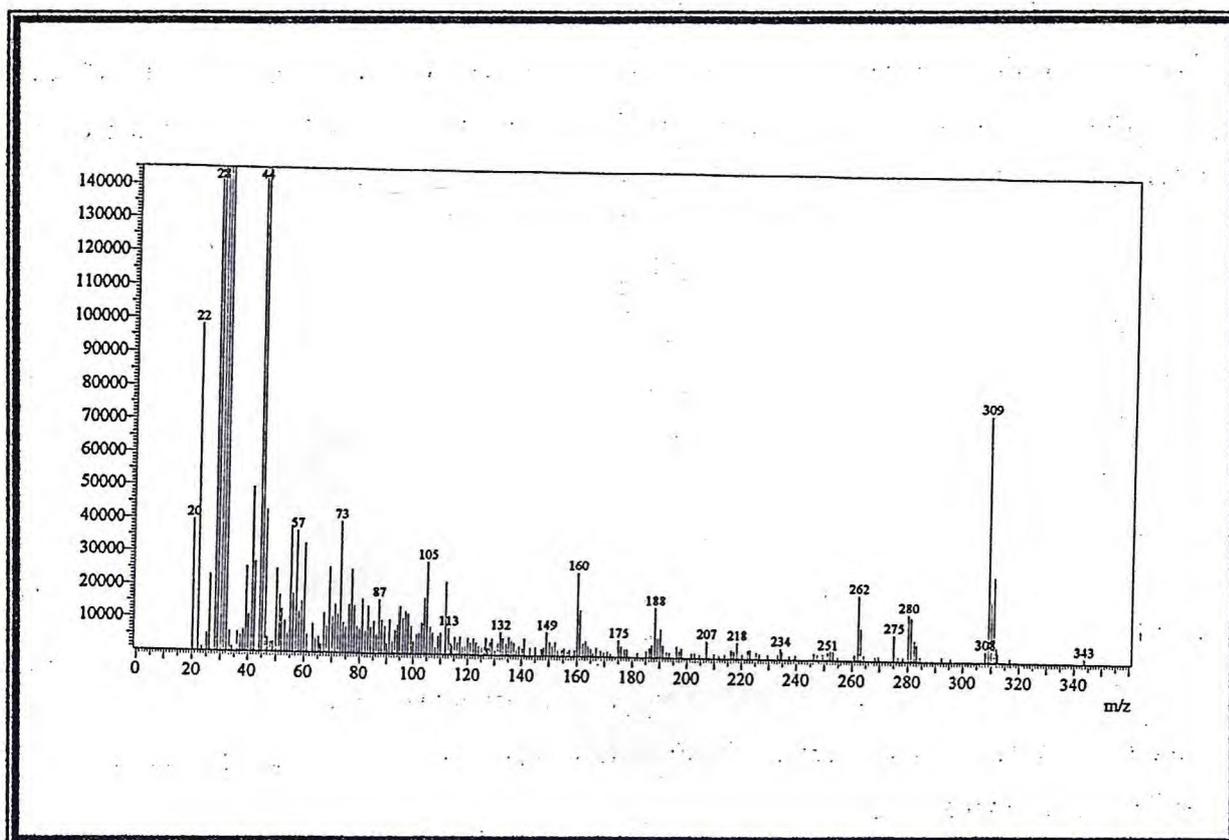
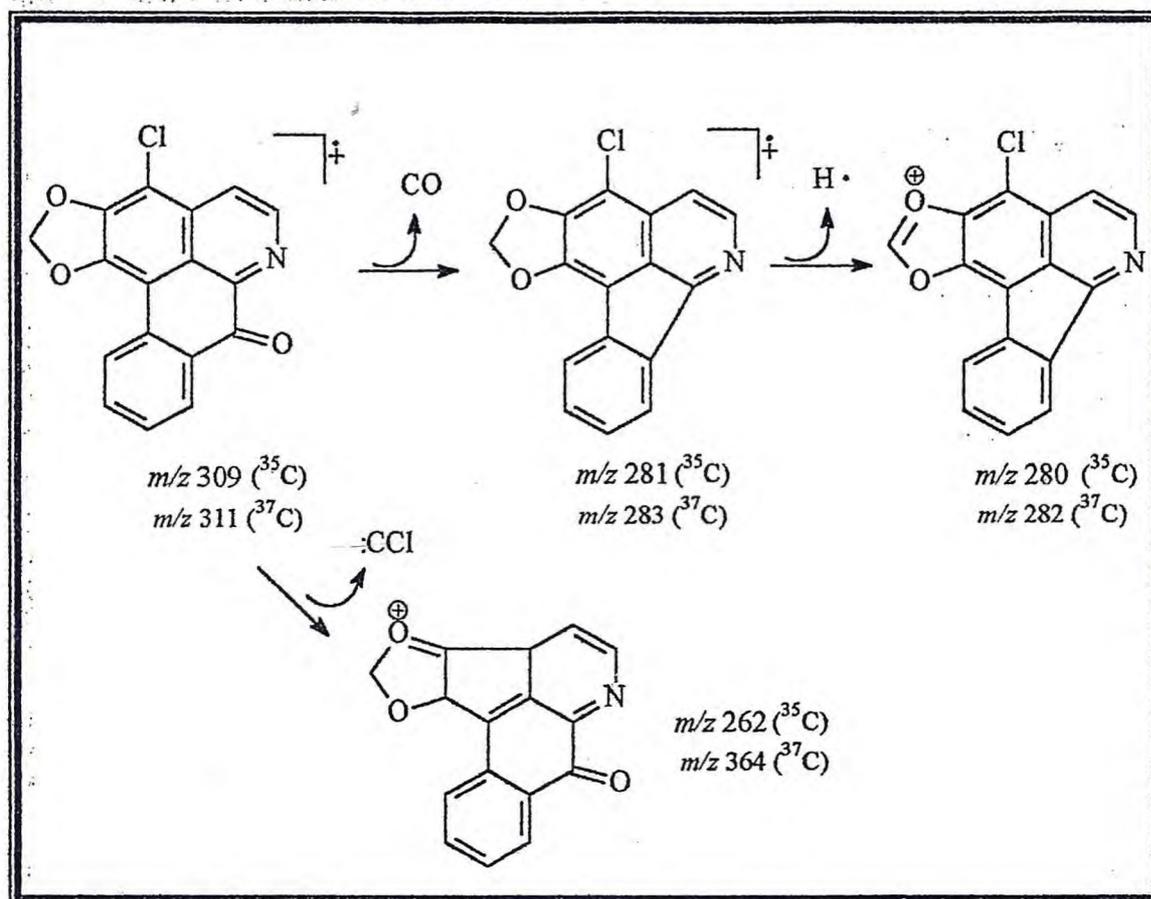


Figura 69— Espectro de massa de RLR-1-Cl

Quadro 11 – Proposta de fragmentação de RLR-1-Cl no espectro de massa



No espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) (Fig. 70) observou-se a ausência do sinal referente a H-3. Sugeriu-se esta posição (C-3) para o átomo de cloro, já que a mesma está *orto* a grupo ativante OR que por mesomeria aumentaria a densidade eletrônica sobre esse carbono, ditando a regioquímica da reação, de forma que um eletrófilo ( $\text{Cl}^\oplus$ ) se ligaria nesta posição.

A estrutura de RLR-1-Cl foi definida como a 3-cloroliriodenina XII.

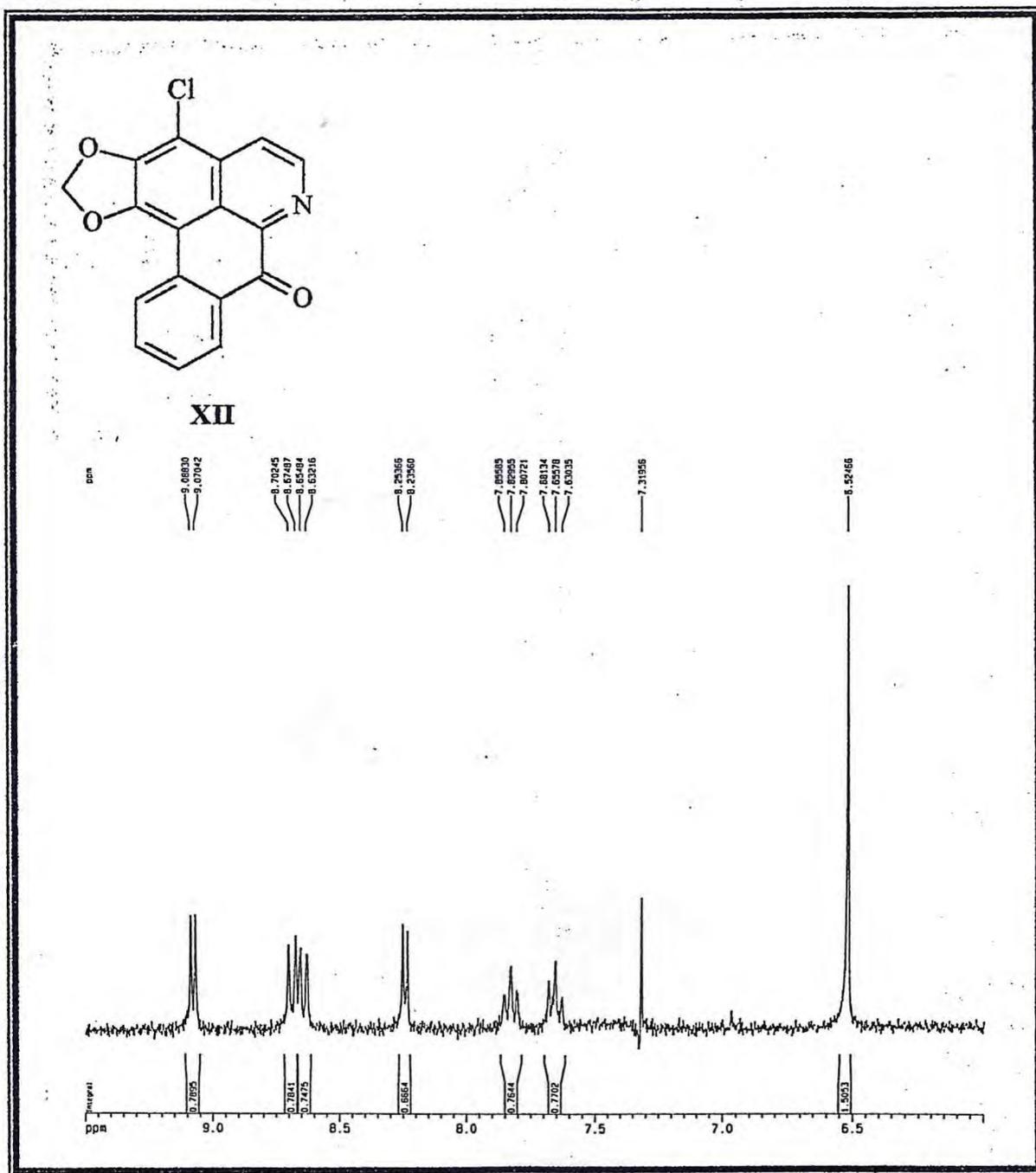
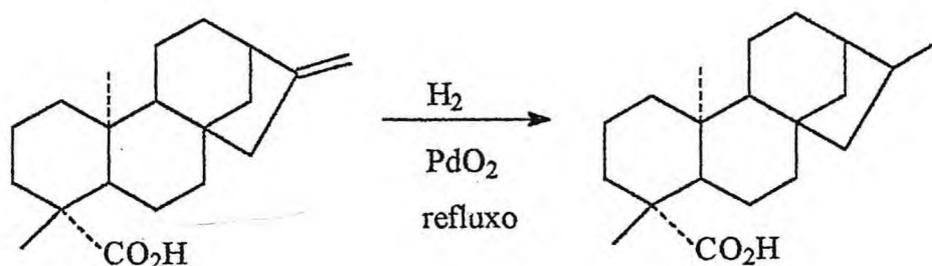


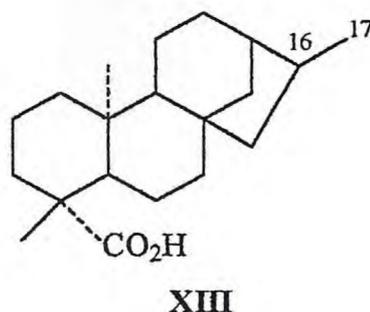
Figura 70 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H de RLR-1-Cl (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)

## 3.4.2 – RLCC-3-H

O ácido caurenóico (RLCC-3) possui uma dupla ligação exocíclica bastante reativa, assim o composto pode sofrer facilmente reações características de alcenos. Uma das reações mais clássicas de alcenos é a hidrogenação catalítica. O ácido caurenóico foi hidrogenado com  $H_2$  e óxido de paládio ( $PdO_2$ ) como catalisador a  $50\text{ }^\circ\text{C}$  e pressão ambiente, conforme o esquema reacional abaixo (5.4. p. 227).



O produto da reação, uma mistura racêmica do ácido cauranóico (XIII), já que a reação pode ocorrer em ambos os lados da dupla ligação, foi caracterizado através da análise de seu espectro de  $RMN^1H$  ( $CDCl_3$ , 300 MHz) (Fig. 71, p.200). Observou-se o desaparecimento dos sinais referentes aos hidrogênios olefínicos em  $\delta$  4,77 e 4,71 vistos no espectro de  $RMN^1H$  de RLCC-3 (Fig. 44, p. 151) em contra partida ao surgimento de um dubleto em  $\delta$  1,0 atribuído aos hidrogênios do grupo metila C-17 que acoplam com H-16.



XIII

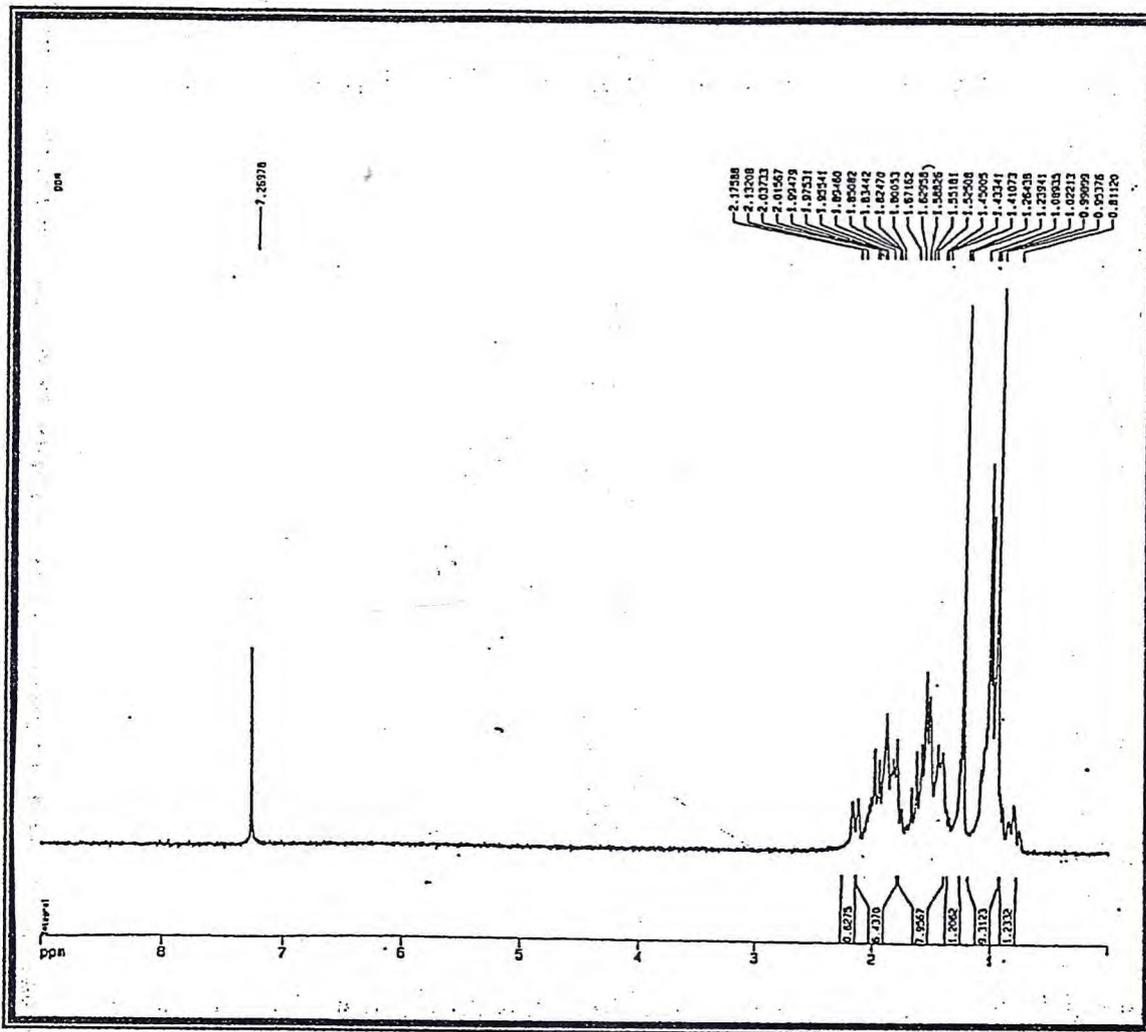


Figura 71 – Espectro de RMN<sup>1</sup>H de RLCC-3-H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)

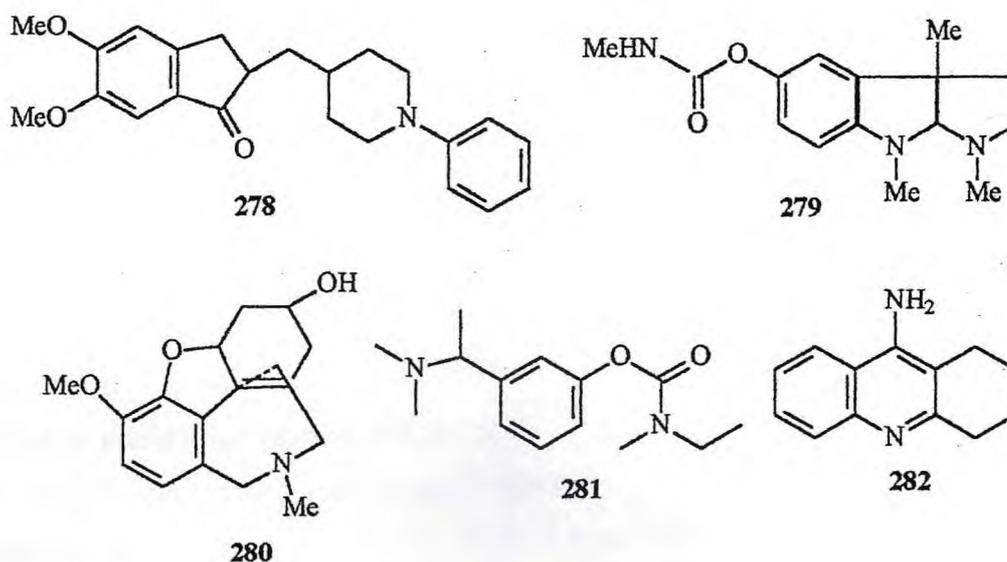
# **CAPÍTULO 04**

***Ensaio biológicos***

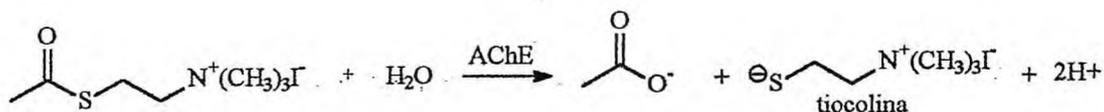
## 4. Testes biológicos

### 4.1 – Avaliação da atividade inibitória da acetilcolinesterase

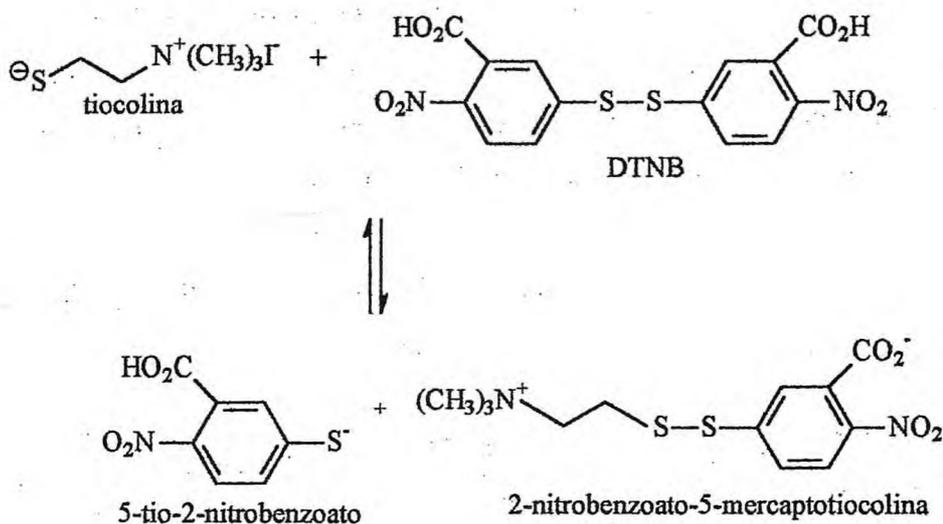
A mal de Alzheimer é doença neurodegenerativa, que afeta a memória, o raciocínio e a comunicação. Estima-se que cerca de 25 milhões de pessoas no mundo sofram do mal de Alzheimer. As causas da doença ainda não são totalmente conhecidas, mas sabe-se que um dos fatores de risco para o seu aparecimento está associado à diminuição da concentração de diversos neurotransmissores cerebrais como a acetilcolina. Apesar de ainda não existir uma abordagem terapêutica 100% eficaz, uma destas abordagens que consiste no tratamento colinérgico da através de inibidores diretos da enzima acetilcolinesterase (AChE), responsável pela hidrólise da acetilcolina, tem demonstrado bons resultados (Dooley e Lamb, 2000). Alguns destes inibidores são compostos alcaloídicos como o donezepil (278), fisostigmina (279), galantamina (280), rivastigmina (281) e tacrina (282).



Os extratos das plantas relatadas neste trabalho bem como as substâncias isoladas e sintetizadas foram utilizadas para ensaios de avaliação da atividade inibidora na acetilcolinesterase “in vitro”. O experimento foi baseado no teste desenvolvido por Ellman (Ellman et al., 1961) adaptado para cromatografia em camada delgada por Rhee (Rhee et al., 2001). Este método colorimétrico foi utilizado de forma qualitativa. O princípio do método de Ellman é a medida da razão da produção da tiocolina quando o substrato acetilcolina é hidrolisado pela enzima acetilcolinesterase.



A reação da tiocolina com o reagente de Ellman (ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico) [DTNB], produz um ânion de coloração amarela o 5-tio-2-nitrobenzoato visualizada em CCD.



Quando uma substância inibe a ação da acetilcolinesterase, a acetilcolina não é hidrolisada, portanto as reações anteriores não ocorrem, de forma que em volta do "spot" forma-se um alo de coloração branca.

Foram isolados três alcalóides da espécie *Rolliniopsis leptopetala* e obtido um derivado halogenado. Avaliou-se a ação inibidora destas quatro substâncias e assim como o extrato metanólico da raiz do qual foram isoladas, mostram inibir a enzima acetilcolinesterase da mesma forma que a cafeína utilizada como padrão. O resultado está descrito na Tabela 36 (p.206). De *Zanthoxylum articulatum*, foram testadas a lignana e a flavonona glicosilada isoladas da raiz, as quais não demonstraram ser capaz de inibir a enzima.

**Tabela 36** – Avaliação da ação inibidora da acetilcolinesterase dos alcalóides I a III , dos compostos IX e XI , do derivado XII e dos extratos metanólico da raiz de *R. leptopetala* e *Z. articulatum*.

Amostra	Resultado
EMRRL	+
Liriodenina (I)	+
Discretamina (II)	+
Desidrodiscretamina (III)	+
EMRZA	+
Sesamina (IX)	-
Acetato de hesperidina (XI)	-
3-Cloroliriodenina (XII)	+

+ possui ação inibitória

- não possui ação inibitória

#### 4.2 – Citotoxicidade frente às larvas de *Artemia salina*

O ensaio de toxicidade frente às larvas do camarão de água salgada (*Artemia salina*) tem sido usado como um método geral , para detectar vários tipos de bioatividade, como atividade antitumoral. Em geral substâncias que levam a morte a larva do camarão têm demonstrados em testes posteriores , eficiência em destruir células tumorais (McLaughlin, 1991).

A metodologia consiste em colocar as larvas de *Artemia salina* em contato com as substâncias em diferentes concentrações (500, 100, 50, 10 e 1 ppm) por 24 horas acompanhado por um teste em branco. Foram testados os alcalóides isolados (I e II) e derivado halogenado (XII), além do óleo das folhas de *R. leptopetala* e *Z. articulatum*. Os resultados em forma de DL<sub>50</sub> estão descritos na Tabela 37 (p. 207).

O óleo obtido à partir dos talos de *R. leptopetala* mostrou uma atividade larvicida mais eficiente que o óleo obtido das folhas desta espécie. O óleo das folhas de *Z. articulatum* e o alcalóide discretamina (III) não demonstraram ação larvicida significativa (significativa até 100 ppm). A presença do átomo de cloro na estrutura da liriodenina (XII) parece aumentar ação larvicida do alcalóide I. Dos compostos testados a desidrodiscretamina mostrou-se o mais eficiente , sugerindo uma possível atividade antitumoral para este composto.

Tabela 37 – avaliação da atividade citotóxica frente às larvas de *Artemia salina* dos alcalóides I e II e dos óleos essenciais das folhas e talos de *R. leptopetala* e das folhas de *Z. articulatum*.

Amostra	DL <sub>50</sub> (ppm)
OEFRL	137,5
OETRL	58,4
OEFZA	87,2
Liriodenina (I)	70,2
Discretamina (II)	152,8
Desidrodiscretamina (III)	8,5
3-Cloroliriodenina (XII)	47,5

#### 4.3. Atividade larvicida frente às larvas de *Aedes aegypti*

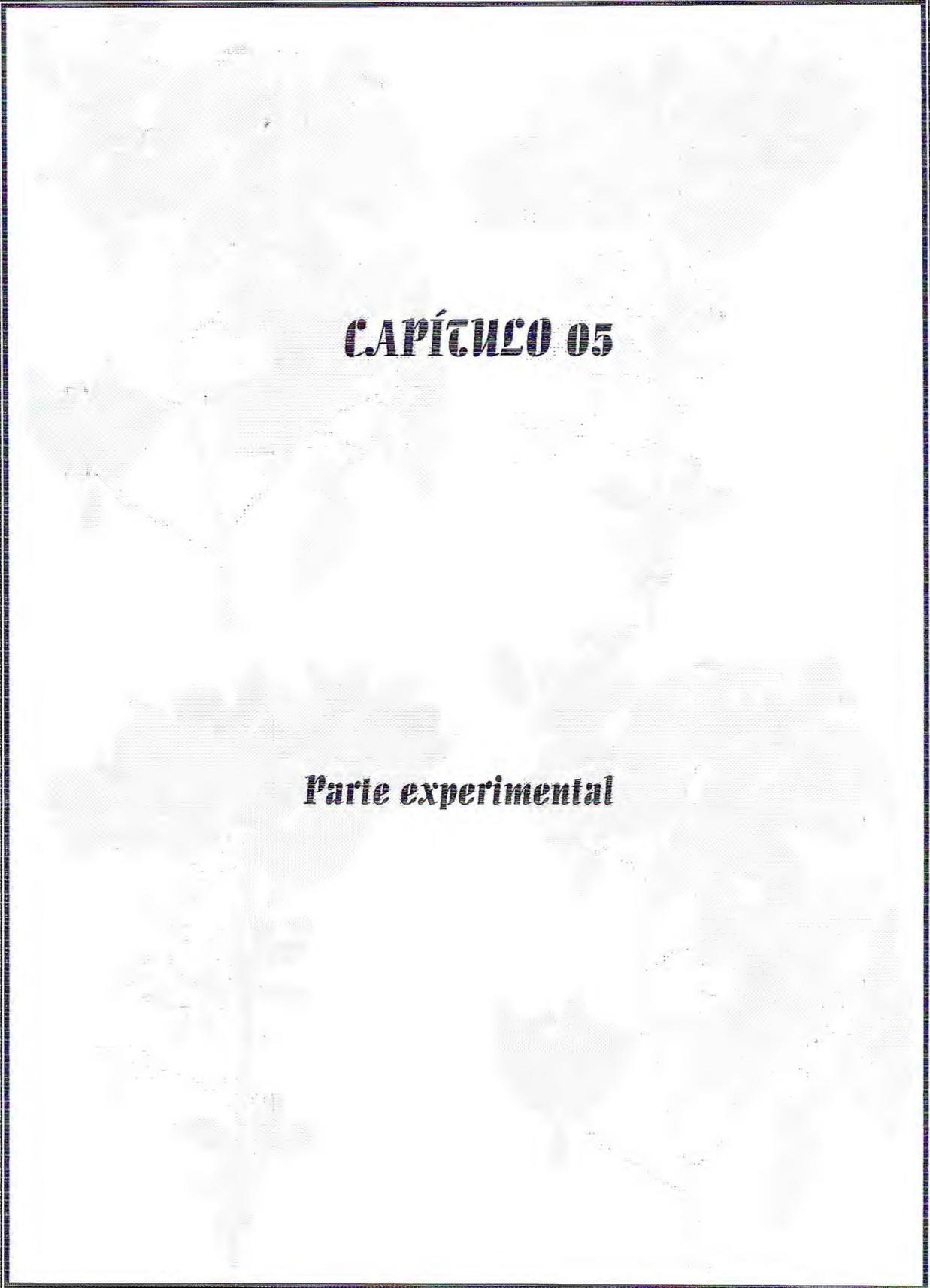
O mosquito *Aedes aegypti* é o principal vetor de transmissão da febre amarela urbana, da dengue e dengue hemorrágica, as quais são edêmicas do sul da Ásia, Américas do Sul e Central e Oeste da África (Ciccio et al, 2000) e causam entre 50 e 100 milhões de mortes todos os anos (Huber et al, 2004). Uma maneira de diminuir a incidência destas doenças, é a erradicação do *Aedes aegypti*. O recrescimento de suas larvas devido ao grande número de lugares que atuam como criatórios, o aumento da resistência dos mosquitos aos inseticidas comerciais e a indisponibilidade de vacinas de prevenção são problemas que têm levado a necessidade de desenvolvimento de novas estratégias no sentido de controle das larvas do mosquito. No Brasil, a dengue e a dengue hemorrágica têm aumentado significativamente nos últimos anos e têm sido a causa de sérios problemas para a saúde pública (Oliveira et al., 2002). Portanto, muito esforço tem sido focalizado na exploração de compostos químicos bioativos de plantas, que possam atuar no controle do mosquito vetor.

Assim como no teste da *Artemia salina*, a atividade larvicida é avaliada pela mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* causada por uma substância em diversas concentrações (250, 100, 50, 10 e 1 ppm) e descrita em termos de DL<sub>50</sub>. A ação larvicida é medida também em termos de DL<sub>50</sub>. É considerado possuir boa atividade, aquela substância cuja DL<sub>50</sub> chega até 50 ppm, de 50 a 150, atividade moderada e acima de 150 ppm, o composto não é considerado ativo. Foram testados os óleos essenciais das folhas e talos de *R. leptopetala*, além dos alcalóides I e II e o óleo

essencial das folhas de *Z. articulatum*. Das amostras testadas, o óleo essencial dos talos de *R. leptopetala* apresentou um boa atividade e o alcalóide liriodenina I cujo valor de DL<sub>50</sub> ( 0,14 ppm) mostrou uma grande atividade, indicando a possibilidade do uso deste composto, como um larvicida natural. Os resultados estão mostrados na Tabela 38.

**Tabela 38** – avaliação da atividade larvicida frente às larvas de *Aedes aegypti* dos alcalóides I e II e dos óleos essenciais das folhas e talos de *R. leptopetala* e do óleo essencial das folhas de *Z. articulatum*.

Amostra	DL <sub>50</sub> (ppm)
Liriodenina (I)	0,14
Discretamina (II)	104,7
OEFZA	77,4
OEFRL	104,4
OETRL	34,6



# **CAPÍTULO 05**

***Parte experimental***

## **5. Parte experimental**

### **5.1 Materiais e métodos**

#### **5.1.1 – Material vegetal**

##### ***Rolliniopsis leptopetala* (R. E. Fries) Saff.**

O lenho, a raiz e as folhas de *Rolliniopsis leptopetala* (R. E. Fries) Saff. (ata brava), utilizadas para estudo, foram coletadas nos municípios do Crato e Ibiapina, Ceará, pelo Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC. O Professor Doutor Edson Nunes do Departamento de Biologia da UFC realizou a identificação dos espécimes coletadas, cuja excicata representando a coleta (nº 33496) encontra-se também depositada no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia da UFC.

##### ***Zanthoxylum articulatum* Engler**

O lenho e as folhas de *Zanthoxylum articulatum* Engler (Limaozinho), utilizadas no estudo, foram coletadas no município de Jacobina, estado da Bahia pelo Prof. Dr. Manoel Andrade Neto do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (UFC). A identificação foi realizada pelo Prof. Edson Nunes do Departamento de Biologia da UFC. A excicata representando a coleta (nº 29180) encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia desta universidade.

#### **5.1.2 Métodos cromatográficos**

##### **Colunas cromatográficas**

Na cromatografia de adsorção em coluna, foi utilizado gel de sílica 60 da VETEC ( $\varnothing$  63-200  $\mu$ m). O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades de material e de gel de sílica a serem utilizadas. Realizou-se

ainda cromatografia por exclusão utilizando Sephadex LH-20. A purificação de algumas amostras foi realizada em cartucho com fase fixa de sílica C-18 e Celite. Utilizou-se como eluentes os solventes : hexano ( $C_6H_{14}$ ), diclorometano ( $CH_2Cl_2$ ), clorofórmio ( $CHCl_3$ ), acetato de etila ( $CH_3CO_2C_2H_5$ ), acetona ( $CH_3COCH_3$ ) e metanol ( $CH_3OH$ ) puros ou combinados de forma a obter um gradiente de concentração em ordem crescente de polaridade.

### **Cromatografia em camada delgada (CCD)**

Para a cromatografia em camada delgada (CCD) foram utilizadas sílica 60G F254 depositadas em suporte de vidro em dois tamanhos de cromatoplasas: 5 x 10 cm ( utilizadas para comparar frações obtidas de outros processos cromatográficos ou para comparar amostras e frações com padrões de amostras puras) e 20 x 20 cm ( utilizadas para separar, isolar , purificar substâncias), previamente ativadas pelo aquecimento em estufa à 100° C e cromatoplasas de sílica em suporte de polietileno da Sigma.

Os solventes utilizados como eluentes foram misturas de : hexano : diclorometano ou clorofórmio, diclorometano, clorofórmio, diclorometano : metanol e clorofórmio : metanol, em diversas concentrações.

A revelação das substâncias nas cromatoplasas foi realizada através da exposição destas à radiação ultravioleta (UV) em dois comprimentos de onda (365 e 312 nm) obtidos por lâmpada modelo UVSL-25 da Mineral Ligth, imersão em atmosfera de iodo, pulverização com solução de vanilina ( $C_8H_8O_3$ ) e ácido perclórico ( $HClO_4$ ) em etanol ( $C_2H_6O$ ), seguido pelo aquecimento em estufa à 100°C por aproximadamente 5 (cinco) minutos e pela pulverização com o reagente de Dragendorf.

### **5.1.3 Métodos físicos de análise**

#### **Espectroscopia na região do infravermelho (IV)**

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará em espectrômetro Perkin-Elmer, modelo FT-IR Spectrum 1000. Utilizou-se pastilhas de brometo de potássio (KBr) para análise das amostras sólidas.

### Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN<sup>1</sup>H) e ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN<sup>13</sup>C) unidimensionais e bidimensionais foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelos Avance DPX 300 e Avance DRX 500 do Centro Nordeste de Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, operando na frequência de Hidrogênio à 300 e 500MHz e na frequência do carbono à 75 e 125 MHz.

Para dissolução das amostras, utilizou-se como solventes: clorofórmio deuterado (CDCl<sub>3</sub>), metanol deuterado (CD<sub>3</sub>OD), piridina deuterada (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) e acetona deuterada (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>).

Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em parte por milhão (ppm) e foram referenciados para RMN<sup>1</sup>H pelos picos dos hidrogênios pertencentes a fração não deuterada dos seguintes solventes: Clorofórmio ( $\delta$  7,27), metanol ( $\delta$  4,78; 3,30) e piridina ( $\delta$  7,19; 7,55; 8,71) e pelos sinais de RMN<sup>13</sup>C: clorofórmio ( $\delta$  77,2), metanol ( $\delta$  49,0) e piridina ( $\delta$  124,4; 136,3; 150,5).

A multiplicidade dos sinais em RMN<sup>1</sup>H foi indicada segundo a convenção: s (singleto), d (dupletto), t (tripletto), q (quarteto), dd (duplodoubleto) e m (multipletto).

O padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN<sup>13</sup>C foi determinado através da utilização da técnica "Distortionless enhancement by polarization transfer" (DEPT), no ângulo de 135° com os grupos CH e CH<sub>3</sub> com amplitudes em oposição aos CH<sub>2</sub> e descritos segundo a convenção: C (carbono não hidrogenado); CH (carbono metínico); CH<sub>2</sub> (carbono metilênico) e CH<sub>3</sub> (carbono metílico). Os carbonos não hidrogenados foram caracterizados pela subtração dos sinais espectrais observados nos espectros DEPT 135° em comparação com BB (Broad Band).

### Espectros de massa e cromatografia gasosa (EM, CG)

Os espectros de massa dos óleos essenciais das folhas e talos de *Rolliniopsis leptopetala* e o óleo essencial das folhas de *Zanthoxylum articulatum*, foram obtidos no Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC) da Universidade Federal do Ceará em espectrômetro de massa Hewlett-Packard, modelo HP-5971A, acoplado a

cromatógrafo gás-líquido, modelo HP-5890A , série II (CGL/EM), provido de coluna capilar de metil-fenil silicone com 25,0 m de comprimento, 0,20 mm de diâmetro interno e 0.30 mm de diâmetro externo, utilizando um gradiente de temperatura de 50 a 180°C , com velocidade de 4°C/min e de 180 a 280°C com velocidade de 20°C/min, sendo a temperatura do injetor de 250°C e a quantificação dos constituintes foi realizado no Departamento de Química Analítica e Físico-Química utilizando cromatógrafo a gás Shimadzu GC-17A com detector FID, usando coluna capilar de dimetilpolisiloxano DB-5 (30m x 0.25mm), a velocidade de fluxo do gás foi de 1 mL/min e 30 psi de pressão; o programa de temperatura de 35-180 °C em 4 °C/min, e a velocidade de aquecimento de 17 °C/min a 280°C ; temperatura do injetor, 250°C.

O espectro de massa de substâncias sólidas foram obtidos em espectrômetro de massa VG Auto Spec da Fisions Instruments, modelo M, operando em impacto eletrônico a 70 eV do Instituto de Química da Universidade Estadual de campinas (UNICAMP).

#### **Ponto de fusão (p.f.)**

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho de microdeterminação Mettler provido de placa aquecedora modelo FP-52 e unidade de controle FP-5b. As determinações foram realizadas a uma velocidade de aquecimento de 2°C/minuto.

#### **Rotação ótica**

A determinação da rotação ótica foi realizada em aparelho Perkin-Elmer (Polarimeter 341).

### **5.2 Obtenção dos óleos essenciais das folhas e talos de *R. leptopetala* e do óleo essencial das folhas de *Z. articulatum* .**

#### **Obtenção dos óleos essenciais de *Rolliniopsis leptopetala***

As folhas frescas (500 g) e os talos (250 g), de *R. leptopetala* foram submetidas à extração por arraste com vapor de água, utilizando-se aparelho tipo Cleavenger modificado por Gottlieb (Gottlieb e Magalhães, 1960) obtendo-se após tratamento com

sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), respectivamente 1,6 mL (1,49 g, 0,29 %) e 0,5 mL (0,12g, 0,05%) Os óleos obtidos, foram analisados em cromatógrafo a gás-líquido acoplado a espectrômetro de massa (CGL/EM) e CGL/FID .

### **Obtenção do óleo essencial das folhas de *Zanthoxylum articulatum***

As folhas frescas de *Z. articulatum* (1Kg) quando submetidas à extração utilizando o mesmo método descrito para o óleo de *R. leptopetala*, forneceu 5 mL de óleo , correspondendo a 3,875g (0.39%). O óleo obtido foi analisado em cromatógrafo gás-líquido acoplado a espectrômetro de massa (CGL/EM) e também pelo sistema CGL/FID.

## **5.3. Isolamento dos constituintes fixos**

### **5.3.1. Estudo cromatográfico de *Rolliniopsis leptopetala***

#### **5.3.1.1 Estudo da raiz**

##### **5.3.1.1.1 Obtenção das frações alcalóidicas (Fluxograma 01)**

**Obtenção do extrato diclorometano da raiz de *R. leptopetala* com diclorometano à quente.**

A raiz de *R. leptopetala* (500 g) foi lavada com solução aquosa de hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) a 20% por 1 (uma) hora para retirada de compostos de natureza ácida. O material vegetal foi separado da solução e seco à temperatura ambiente por 24 (vinte e quatro) horas. A raiz seca foi extraída com diclorometano à 40°C (3 x 1 L). Após evaporação do solvente em aparelho evaporador rotativo à pressão reduzida, obteve-se 1,87 g de extrato clorofórmico , denominado de ECRRLq .

##### **Obtenção do extrato diclorometano da raiz de *R. leptopetala* usando soxhlet**

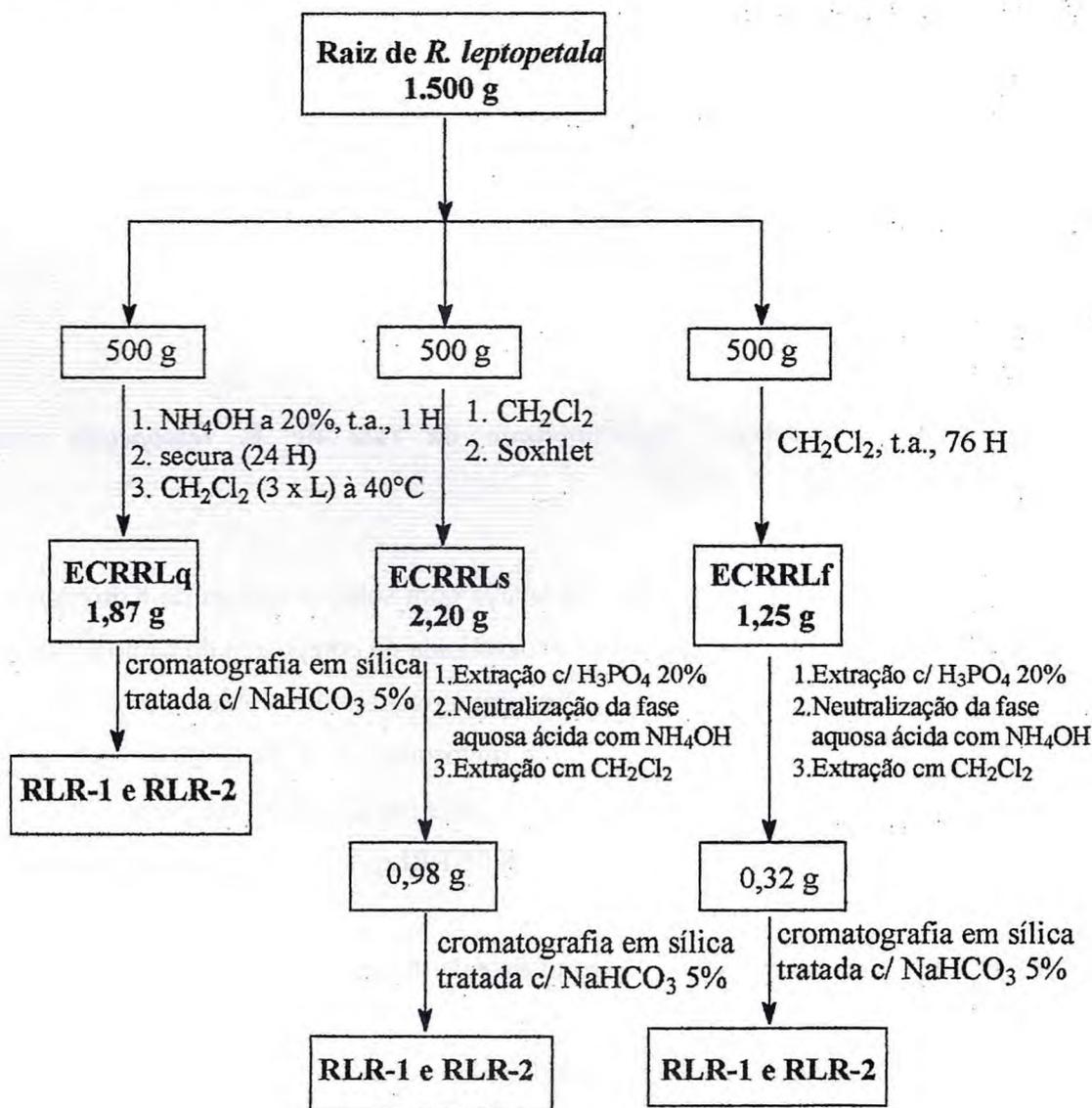
Obteve-se também um extrato clorofórmico da raiz (500 g) por extração em sistema de soxhlet , utilizando 3 litros de solvente, resultando em 2,20 g de extrato

denominado de ECRRLs . O extrato obtido foi extraído com solução aquosa de ácido fosfórico a 20 % ( 3 x 300 mL). A solução aquosa ácida foi então neutralizada com NH<sub>4</sub>OH e extraída com diclorometano ( 3 x 300 mL). Após evaporado o solvente obteve-se 0,9855 g de extrato codificado como ECRRLs1.

**Obtenção do extrato diclorometano à frio da raiz de *R. leptopetala***

A raiz de *R. leptopetala* também foi submetida à extração à frio (500 g) com 3 litros de solvente, obtendo-se 1,25 g de extrato codificado por ECRRLf. O extrato foi submetido ao mesmo tratamento utilizado com ECRRLs e obteve-se no final 0,3240 g de extrato denominado de ECRRLf1.

**Fluxograma 01 – Obtenção das frações alcaloídicas**



### Obtenção de RLR-1 e RLR-2

Os extratos ECRRLq, ECRRLs1 e ECRRLf1 foram submetidos à cromatografia de adsorção em sílica gel (120,0, 60,0 e 25,0 g respectivamente) que foi previamente tratada com solução de bicarbonato de sódio a 5 %. Usou-se como eluentes a mistura diclorometano / metanol (0, 5,10,15,30,50,100 %). Das frações obtidas com diclorometano/metanol 5% obteve-se um sólido cristalino de coloração amarelo escuro, impuro quando analisado por CCD, que foi recromatografado utilizando-se sephadex eluído com diclorometano/metanol 20%. O sólido cristalino amarelo obtido foi codificado como RLR-1. O mesmo mostrou-se solúvel em metanol, e apresentou ponto de fusão na faixa de 245,3 a 248,0°C. Análise espectrométrica de RLR-1, mostrou tratar-se do alcalóide liriodenina.

Das frações obtidas com diclorometano/metanol 30 % e após lavagem com hexano e metanol à frio, obteve-se um sólido amorfo de coloração marrom-claro solúvel em piridina, denominado de RLR-2, cujo o ponto de fusão ficou na faixa de 223,7 a 226,2°C. A análise espectrométrica revelou que RLR-2 tratava-se do alcalóide discretamina.

A Tabela 39 mostra uma comparação entre as quantidades de RLR-1 e RLR-2 fornecidas pelos extratos ECRRLq, ECRRLs1 e ECRRLf1. O extrato ECRRLq foi o que forneceu uma maior quantidade dos dois alcalóides.

**Tabela 39** – Comparação entre as quantidades de RLR-1 e RLR-2 fornecidas pelos extratos clorofórmico da raiz de *R. leptopelata* obtidos de três métodos diferentes.

EXTRATO	QUANTIDADE OBTIDA	
	RLR-1	RLR-2
ECRRLq	78,0 mg	98,0 mg
ECRRLs1	32,0 mg	23,8 mg
ECRRLf1	12,5 mg	18,7 mg

5.3.1.1.2 Obtenção do extrato metanólico da raiz de *R. leptopetala*  
(Fluxograma 02)

500 g da raiz de *R. leptopetala* foram submetidas à extração por metanol à frio (3 L) por 72 (setenta e duas) horas. Após evaporação do solvente obteve-se 18,5 g de extrato denominado de EMRRL.

Fracionamento cromatográfico de EMRRL

EMRRL (15,0 g) foi submetido à cromatografia em sílica gel (90,0 g), utilizando como eluentes: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. Os resultados encontram-se descritos na Tabela 40.

Fluxograma 02 – Isolamento dos constituintes fixos da raiz de *Rolliniopsis leptopetala*

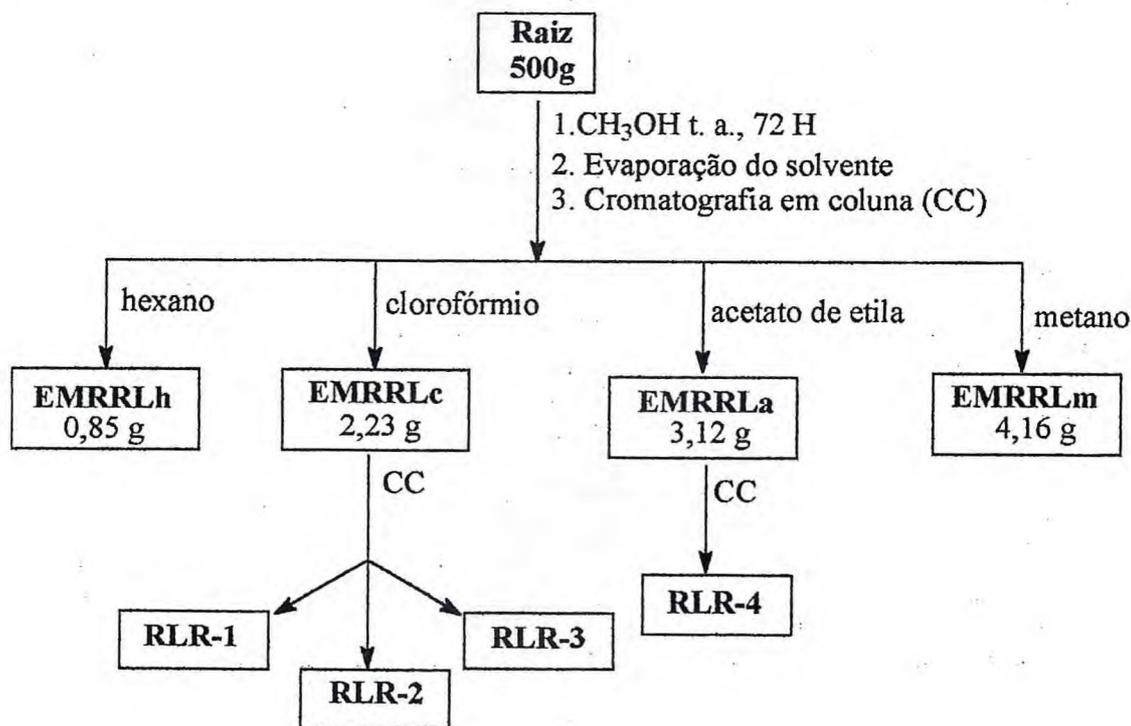


Tabela 40 – Fracionamento do extrato clorofórmico EMRRL

SOLVENTE	FRAÇÃO	PESO (g)
Hexano	EMRRLh	0,8532
Clorofórmio	EMRRLc	2,2351
Acetato de etila	EMRRLa	3,1215
Metanol	EMRRLm	4,1627
TOTAL		10,3725

#### Obtenção de RLR-1 , RLR-2 e RLR-4

A fração EMRRL-c (1,5 g) foi cromatografada em sílica-gel (50 g) utilizando como eluentes mistura de diclorometano/metanol, sendo que a porcentagem de metanol foi de 0, 2, 5, 10 e 30 %. As frações obtidas com diclorometano forneceram um sólido amarelo-claro cristalino (15,8 mg) , solúvel em clorofórmio e com ponto de fusão na faixa de 145,6 a 147,2°C , denominado de RLR-4 que após análise descobriu-se tratar da liqueoxantona .

Das frações eluídas com diclorometano/metanol 5 % obteve-se novamente RLR-1(12,7 mg) e das frações eluídas com diclorometano/metanol 30 % obteve-se RLR-2 (10,8 mg).

#### Obtenção de RLR-3

A fração EMRRL-a (2,5 g) foi adsorvida e cromatografada em sílica-gel (90 g) utilizando como eluentes mistura de diclorometano/metanol, na porcentagem de metanol de 0, 2, 5, 10 e 30 %. As frações obtidas com diclorometano/metanol 10% forneceram um sólido amorfo laranja (25,8 mg) , solúvel em metanol e com ponto de fusão acima de 300° com decomposição após 240°C, denominado de RLR-3. Através da análise espectrométrica , identificou-se RLR-3 como sendo o alcalóide desidrodiscretamina.

### 5.3.1.2 Estudo da casca do caule (Fluxograma 03)

#### Obtenção do extrato metanólico da casca do caule de *R. leptopetala*

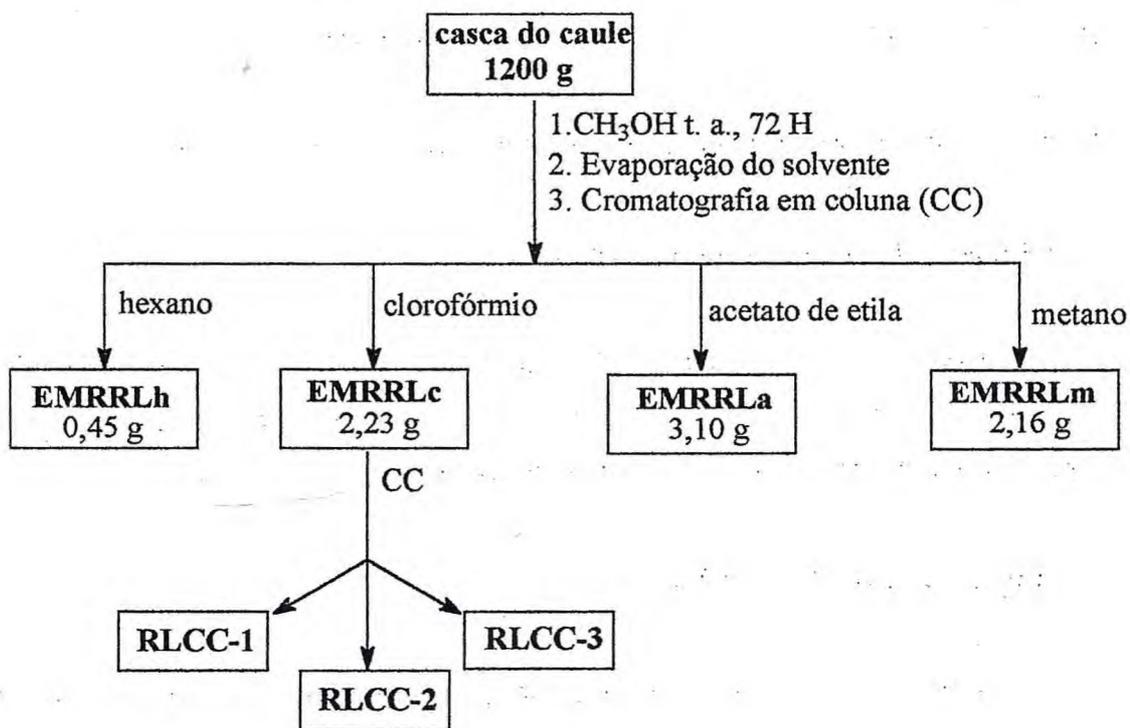
Cerca de 600 g da casca do caule de *R. leptopetala* foram submetidas à extração por metanol à frio (3 L) por 72 (setenta e duas) horas. Após evaporação do solvente obteve-se 12,8 g de extrato denominado de EMCCRL.

#### Fracionamento cromatográfico de EMCCRL

EMCCRL (10,0 g) foi submetido à cromatografia sobre gel de sílica (60,0 g), utilizando como eluentes: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. Os resultados encontram-se descritos na Tabela 41.

Tabela 41 – Fracionamento do extrato clorofórmico EMCCRL

SOLVENTE	FRAÇÃO	PESO (g)
Hexano	EMCCRLh	0,45
Clorofórmio	EMCCRLc	2,23
Acetato de etila	EMCCRLa	3,10
Metanol	EMCCRLm	2,16

**Fluxograma 03 – Isolamento dos constituintes fixos da casca do caule de *Rolliniopsis leptopetala*****Obtenção de RLCC-1, RLCC-2 e RLCC-3**

A análise cromatográfica de EMCCRL-c (1,0 g) sobre 60 g de sílica-gel, utilizando como eluentes hexano/clorofórmio (0, 5, 50 e 100 %) e clorofórmio/metanol (0, 2 e 5 %), forneceu nas frações obtidas com hexano/clorofórmio (50 %) e após lavagem com metanol à frio, um sólido cristalino de coloração branca, solúvel em clorofórmio e com ponto de fusão na faixa de 117,8° a 119,4°C, denominado de RLCC-1 (28,4 mg) que foi identificado como sendo o sitosterol.

As frações eluídas com clorofórmio foram reunidas (cerca de 128 mg) e recromatografada, usando como eluente hexano/clorofórmio (5, 30, 50 e 100 %) e clorofórmio/ acetato 5 %. Das frações eluídas com clorofórmio, depois de lavagem com metanol à frio, obteve-se 5,0 mg de um sólido amorfo de coloração branca denominado de RLCC-2. O sólido apresenta ponto de fusão na faixa de 48,5 a 49,0°C e solubilidade também em clorofórmio. O composto foi identificado como sendo o *di*terpeno caureno.

As frações obtidas com clorofórmio/acetato 5 % , forneceram após recristalização com metanol, 82 mg de um sólido cristalino de coloração branca denominado de RLCC-3 com ponto de fusão na faixa de 176,9 a 179,8°C e solubilidade em clorofórmio identificado como sendo diterpeno ácido caurenóico.

### 5.3.2 Estudo cromatográfico de *Zantoxylum articulatum* (Fluxograma 04)

#### Obtenção do extrato metanólico da raiz

Cerca de 1.850,0 g da raiz de *Z. articulatum*, foram trituradas e submetidas à extração com 3 litros de metanol à frio por 48 horas. Após evaporação do solvente obteve-se 35g de extrato , o qual foi codificado como EMRZA.

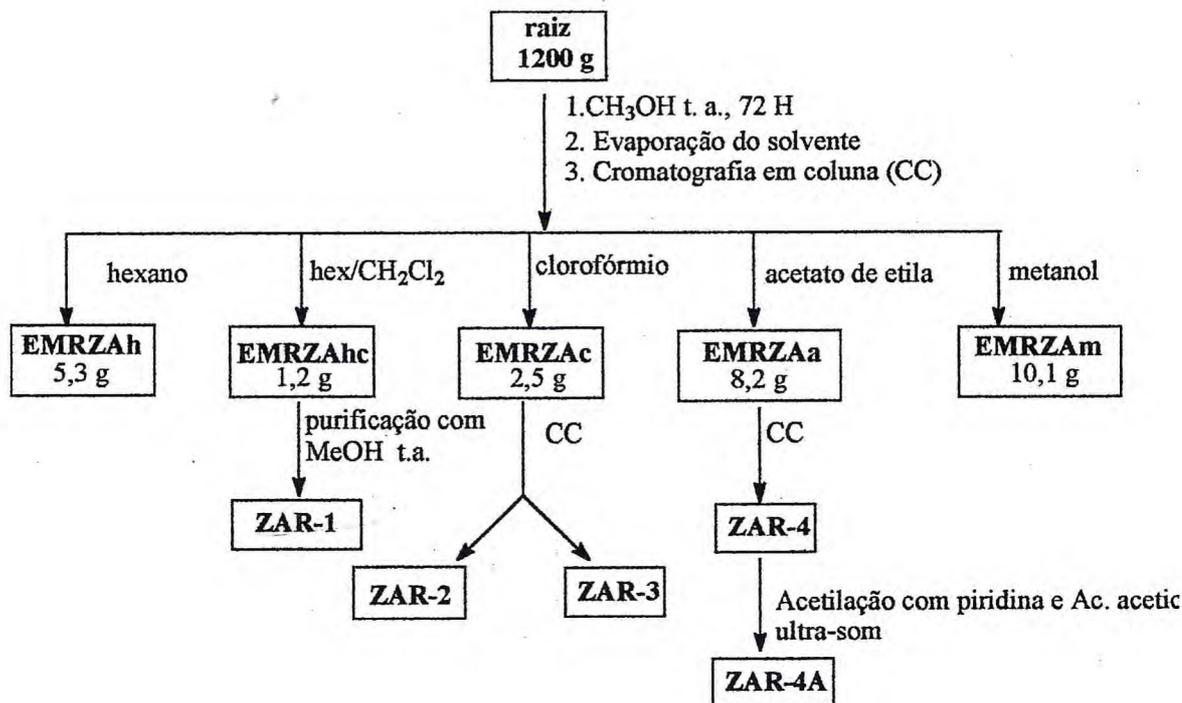
#### Fracionamento de EMRZA

30 g de EMRZA foram cromatografadas sobre sílica-gel (50 g), obtendo-se 5 frações de acordo com o eluente utilizado (Tabela 42).

Tabela 42 – Fracionamento do extrato EMRZA

Eluente	Fração	Peso (g)
Hexano	EMRZA-h	5,3
Hexano/diclorometano 1:1	EMRZA-hc	1,2
Diclorometano	EMRZA-c	2,5
Acetato de etila	EMRZA-a	8,2
metanol	EMRZA-m	10,1

**Fluxograma 04** – Isolamento dos constituintes fixos da raiz de *Zanthoxylum articulatum*



#### Obtenção de ZAR-1

A fração obtida com mistura binária denominada de EMRZA-hc, apresentou-se como um sólido bicolor branco e amarelo. Esta fração foi lavada com metanol à frio e depois de recristalizada com hexano e metanol, obteve-se 363,8 mg de sólido branco amorfo denominado de ZAR-1. Este mostrou-se solúvel em clorofórmio e apresentou ponto de fusão na faixa de 209,3 a 210,7°C. ZAR-1 foi identificado como o triterpeno lupeol após análise espectrométrica.

#### Obtenção de ZAR-2 e ZAR-3

EMRZA-c (2,0 g) foi submetida a cromatografia em sílica-gel (60 g) sob sistema isocrático de eluente [hexano/acetato de etila (9:1)]. Obteve-se 151 frações, das quais as frações 19-24 após comparação em CCD foram reunidas e lavadas com metanol à frio, obtendo-se 87,3 mg de um sólido cristalino verde-claro, denominado de ZAR-2, solúvel em clorofórmio, p.f. na faixa de 118,4-120,6°C e rotação ótica de  $[\alpha] = + 75,5^\circ$  medida

em clorofórmio. Análise espectrométrica e comparação com dados da literatura , identificaram ZAR-2 como sendo a lignana (+)-sesamina.

As frações 50 a 63 após reunidas e purificadas por lavagem com metanol à frio, forneceu 22,0 mg de um sólido cristalino amarelo-claro que foi denominado de ZAR-3. O mesmo apresentou-se solúvel em clorofórmio e ponto de fusão na faixa de 136,5 a 138,7°C. Análise espectrométrica e comparação com dados da literatura , permitiram identificar ZAR-3 como sendo a cumarina , escoparona.

#### **Obtenção de ZAR-4 e ZAR-4-A**

Cerca de 2,0 g de EMRZA-a foram analisados por cromatografia em sílica-gel (60,0g) usando como eluentes : hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol e suas misturas binárias em ordem crescente de polaridade. As frações 51-63 obtidas com acetato de etila foram reunidas e lavadas com metanol à frio e forneceram 20,7 mg de um sólido amorfo branco, insolúvel em clorofórmio, acetona , metanol, piridina e DMSO. O sólido codificado como ZAR-4 apresentou ponto de fusão na faixa de 285,8-288,3°C. A acetilação de ZAR-4 (15 mg) foi feita dissolvendo-se o composto em piridina à quente (1,5 mL) e adicionando-se anidrido acético (3 mL). A mistura reacional , foi submetida a exposição de ondas ultra-sônicas por 2 horas. Após este período, à mistura reacional foi adicionado éter etílico (20 mL) e solução aquosa de sulfato de cobre a 20% (3 x 30 mL). Após separação de fases , a fase orgânica foi lavada com água e seca com sulfato de sódio anidro. Após evaporação do solvente obteve-se 11,5 mg (76,6 %) de um sólido amorfo de coloração branca denominado de ZAR-4-A, solúvel em clorofórmio e com ponto de fusão entre 198,6 a 199,3°C. Após análise espectrométrica , ZAR-4-A foi identificado como a flavonona glicosilada , acetato de hesperidina.

#### **5.4 Obtenção de derivados**

##### **Reação de halogenação de RLR-1 e obtenção de RLR-1-Cl**

Cerca de 20 mg de RLR-1 foi dissolvida em 2 mL de ácido acético glacial . Adicionou-se à mistura, 2 mL de solução de hipoclorito de sódio e a mistura foi mantida em sistema de ultra-som por duas horas. Ao término da reação , a mesma foi submetida

à extração com clorofórmio (3 x 20 mL). A fase orgânica depois de seca e evaporada rendeu 11 mg que foi submetida à filtração em Sephadex, usando como fase móvel uma mistura de clorofórmio/ metanol 30 % e depois metanol. Coletou-se frações de 5 mL e nas frações 56-84, obteve-se o produto da reação denominado de RLR-1-Cl (5,5 mg, 27,5%) solúvel em clorofórmio e com ponto de fusão acima de 300°C.

#### **Reação de hidrogenação de RLCC-3 e obtenção de RLCC-3-H**

30 mg de RLCC-3 (ácido caurenóico) foram dissolvidos em 10 mL de diclorometano. À solução foram adicionadas 5 mg de óxido de platina e sob agitação magnética, à 50°C e 1 atm, introduziu-se H<sub>2</sub>. A reação foi acompanhada por CCD até que toda a amostra fosse reduzida. Ao final da reação, o catalizador foi removido por filtração com papel de filtro e após evaporação do solvente, obteve-se 29 mg de um sólido cristalino branco denominado de RLCC-3-H, solúvel em clorofórmio e com ponto de fusão na faixa de 200,7 a 203,2°C.

#### **Reação de hidrogenação de RLR-3 e obtenção de RLR-2**

Em um balão de 50 mL foram adicionados 10 mg de RLR-3 dissolvidos em 20 mL de metanol. À mistura foi adicionada 5 mg de borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) e manteve-se a mistura sob refluxo por duas horas. A mistura reacional foi extraída com clorofórmio e água (60 : 40). A fase orgânica após tratamento com sulfato de sódio anidro e evaporação do solvente foi filtrada sob sílica gel previamente tratada com solução de NaHCO<sub>3</sub> a 5 %, com clorofórmio/metanol (0, 5 e 10 %) , fornecendo em suas frações eluídas com clorofórmio/ metanol 10 %, 4,3 mg de sólido amorfo de coloração marrom-claro que foi identificado por RMN <sup>1</sup>H, como sendo o alcalóide discretamina (RLR-2).

## 5.5 Ensaio biológicos

### Citotoxicidade frente as larvas de *Artemia salina*

O teste foi realizado no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (UFC) de acordo com a metodologia proposta por McLaughlin (McLaughlin, 1991).

Os ovos de *Artemia salina* foram eclodidos em água do mar a 12 ppm e coletadas para os bioensaios, após 48 horas.

As amostras foram diluídas em água do mar (12 ppm) e 0,3 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) concentrado. Preparou-se amostras em duplicatas nas concentrações de 250, 100, 50, 10, 1 e 0,1 ppm. Adiciono-se 10 larvas em cada frasco e contou-se as larvas sobreviventes após 24 horas. O ensaio foi acompanhado de um teste em branco, onde as larvas foram adicionadas a um frasco contendo apenas água e DMSO.

### Atividade larvicida frente as larvas de *Aedes aegypti*

Os testes de atividade larvicida foram realizados no Laboratório de Entomologia do Núcleo de Endemias da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará sob a orientação da Prof<sup>a</sup> Dra. Gilvandete Pinheiro Santiago. Alíquotas dos óleos essenciais, extratos metanólicos da raiz e casca do caule e dos alcalóide isolados (10; 5; 2; 1 mg e diluições) foram, inicialmente, dissolvidas em 0,3 mL de dimetilsulfóxido e transferidas para um béquer com capacidade para 50 mL. Em seguida, foram adicionadas 50 larvas (estágio III) juntamente com 19,7 mL de água. Após 24 horas, foi contado o número de larvas mortas. A partir destes dados foram calculados os valores de DL<sub>50</sub>. Os bioensaios foram feitos em duplicata, utilizaram como controle água e dimetilsulfóxido na mesma concentração anteriormente descritas .

### Inibição da enzima acetilcolinesterase

O ensaio biológico foi baseado no método de ensaio enzimático desenvolvido por Ellman (Ellman et al., 1961) e realizado sob a orientação da Prof. Dra. Maria Teresa

Trevisan no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

Preparou-se a solução tampão 50 mM Tris/HCl (pH 8,0) , dissolvendo-se 6,075g de hidrócloro de tris[hidroximetil]aminometano em 700 mL de água destilada e adicionando-se 3 mL de HCl concentrado até pH 8 com posterior adição de água até 1 litro. 50 mL da solução tampão foi utilizada para dissolver 19,818 mg do ácido 5,5'-Ditiobis-[2-nitrobenzóico] (DTNB ou reagente de Ellman), para se obter uma solução de 1 mM de DTNB. A enzima acetilcolinesterase (AChE) liofilizada foi dissolvida na solução tampão para se obter uma concentração de 3 U/mL. O substrato, Iodeto de acetiltiocolina (ATCI) foi dissolvido (14,459 mg) em água milipore e o padrão cafeína e a mostra foram dissolvidas em diclorometano ou metanol de acordo com suas solubilidades na concentração de 5 mg/mL.

As amostras e o padrão foram aplicados em cromatoplaça de sílica e após evaporação do solvente , a cromatoplaça foi pulverizada com o substrato (ATCI) e o reagente de Ellman. Aguardou-se a secagem e borrifou-se a enzima . O aparecimento de halos brancos após 10 minutos em torno dos "spot" das amostras indicou a inibição da enzima que é responsável pela hidrólise do substrato.

## **CAPÍTULO 06**

**Conclusão**

Apesar das espécies estudadas neste trabalho não possuírem ainda uso na medicina popular : *Rolliniopsis leptopetala* (Annonaceae) e *Zanthoxylum articulatum* (Rutaceae) , as famílias as quais pertencem, produzem metabólitos cuja as atividades biológica e farmacológica são de grande interesse na medicina, como a ação antitumoral. Além disto esta espécies foram selecionadas nos teste de avaliação da atividade citotóxica frente às larvas de *Artemia salina* e na avaliação da atividade inibidora da enzima acetilcolinasterase , que acredita-se esteja envolvida no processo degenerativo da doença de Alzheimer.

No estudo fitoquímico da raiz de *Rolliniopsis leptopetala*, isolou-se três alcalóides : liriodenina (I), discretamina (II) e dehidrodiscretamina (III) e a liqueoxantona (IV) . Obteve-se ainda um derivado halogenado de (I), a 3-cloro-liriodenina (XII). Um trabalho relatando o isolamento de xanthonas na família Annonaceae, foi submetido a apreciação na revista *Biochemical Systematics and Ecology*.

A casca do caule forneceu além dos alcalóides (I) e (II) , o esteróide sitosterol (V) e os diterpenos : caureno (VI) e o ácido caurenóico (VII) . Preparou-se ainda o ácido cauranóico (XIII) à partir de (VII) . Realizou-se o estudo fitoquímico dos óleos essenciais das folhas e talos, dos quais foram identificados como constituintes principais : o linalool das folhas e o espatulenol dos talos. Este último óleo apresentou uma boa atividade larvicida frente às larvas do *Aedes aegypti* (DL<sub>50</sub> = 34,6 ppm), fato que gerou um outro trabalho submetido a publicação na revista *Flavours and Frangance*.

O estudo fitoquímico da raiz de *Zanthoxylum articulatum* forneceu quatro substâncias : lupeol (VIII), a lignana (+)-sesamina (IX) , 6,7-dimetóxicumarina (X) e a flavanona acetato de hesperidina (XI).

O sesquiterpeno oxigenado viridiflorol foi o constituinte majoritário identificado no estudo do óleo essencial das folhas. Este óleo apresentou uma atividade larvicida moderada frente às larvas do *Aedes aegypti* e também foi capaz de inibir a enzima acetilcolinesterase. Estes resultados foram reunidos em um trabalho submetido a publicação na revista *Flavours and Frangance*.

O avaliação da atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase dos três alcalóides (I - III), da lignana (X) e da flavanona (XI), demonstraram, que da mesma maneira como as drogas já usadas comercialmente como inibidores da enzima, os alcalóides são mais ativos que os outros compostos.

O alcalóide liriodenina (I), também demonstrou uma excelente atividade larvicida ( $DL_{50} = 0,14$  ppm) frente às larvas do *Aedes aegypti* sugerindo uma possível utilização como larvicida natural.

Os resultados aqui descritos permitem afirmar que *R. leptopetala* e *Z. articulatum* são fontes promissoras de compostos com atividade biológica e farmacológica.

## **CAPÍTULO 07**

### ***Referências bibliográficas***

## Referências bibliográficas

Adams, R. P. *Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectrometry*. Academic Press, San Diego, 1989.

Agrawal, P. R. *Carbon-13 NMR of flavonoids*. Elsevier, 1990

Achenbach, H.; Raffelsberger, B. 3,6-bis(dimethylallyl)-indole from *Uvaria elliotiana* *Tetrahedron letters*, 2571-2574, 1979.

<sup>a</sup>Achenbach H.; Lowel, M. Constituents of *Isolona maitlandii*. *Phytochemistry*, **40**, 967-973, 1995.

<sup>b</sup>Achenbach H.; Schwinn A. Aporphinoid alkaloid and terpenoids from *Piptostigma fugax*. *Phytochemistry*, **38**, 1037-1048, 1995.

Adesogan, E. K.; Durodola, J. I. Antitumor and antibiotic principles of *Ammona senegalensis* *Phytochemistry*, **15**, 1311-1312, 1976.

Ahmad, V. U.; Rahman, A.-U. Handbook of natural products data: Diterpenes. v. 1. Elsevier, Amsterdam, 1994.

Alencar, J.W.; Craveiro, A. A.; Matos, F. J. A.; Machado, M. I. L. *Kovats indices simulation in essential oil analysis*. *Quim. Nova*, **13**, 282-283, 1990.

Ambrozim, A. R. P.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; da Silva, M. F. g.; Albuquerque, S. Trypanocidal activity of Meliaceae and Rutaceae plant extracts. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **99**, 227-231, 2004.

Aragão, P. C. A.; Toledo, J. B.; Morais, A.A.; Braz-Filho, R. Substâncias naturais isolada de *Stigmaphyllon tomentosum* e *Byrsonima variabilis*. *Quim. Nova*, **13**, 254-259, 1990.

- Arruda, M. S. P.; Fernandes, J. B.; Vieira, P. C.; da Silva, F. G. F.; Piranis, J. R. Protolimonoid and lignans from *Zanthoxylum petiolare*. *Phytochemistry*, **36**, 1303-1306, 1994.
- Asahina, Y.; Shibata, S. *Chemistry of lichen substances*, p. 165. Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo, 1954.
- Bevalot, F.; Leboeuf, M.; Bouquet, A.; Cavé, A. Alkaloids of Annonaceae – alkaloids from stem-bark and root-bark of *Pachypodanthium confine* Engl. Et Diels. *Annal. Pharmaceut. Franc.* **35**, 65-72, 1977
- Bevalot, F.; Leboeuf, M.; Cavé, A. Pachypodanthine, a new aporphine alkaloid from *Pachypodanthium staudtii* Engl. And diels, Annonaceae. *J. Nat. Prod.* **43**, 103-111, 1980.
- Bhakuni, D. S.; Tewari, S.; Shar, M.M. Aporphine alkaloids of *Annona squamosa*. *Phytochemistry*, **12**, 1819-1822, 1972
- Bhaumik, P. K.; Mukherjee, B.; Juneau, J.P.; Bhacca, N.S.; Mukherjee, R. Alkaloids from leaves of *Annona squamosa*. *Phytochemistry*, **18**, 1584, 1979.
- Boyron, F. F.; Ngonane, V.; Zollo, P. H. A.; Menut, C.; Bessiere, J. M.; Gut, J.; Rosenthal, P. J. Composition and anti-plasmodial activities of essential oils from some Cameroonian medicinal plants. *Phytochemistry*, **64**, 1269-1275, 2003.
- Braz, R.; Gabriel, S. J.; Gomes, C.M.R.; Gottlieb, O. R.; Bichara, M.D.G.A.; Maia, J. G. S. Oxoaporphine alkaloids from *Fusea longifolia* and *Siparuna guianensis*. *Phytochemistry*, **15**, 1187, 1976.
- Brochmann-Hanssen, E.; Chiahg, H. Protoberberine alkaloids. Structure of aequaline, coramine, discretinine and schefferine. *J. Org. Chem.*, **42**, 3588, 1977.
- Casagrande, C.; Ferrari, G. Studies in aporphine alkaloids. I. Alkaloids of a brazilian *Duguetia*. *Farmaco*, **25**, 442-443, 1970.

Castedo, L.; Granja, J. A.; de Lena, A. R.; Villaverde, M. C. Alkaloids from *Guatteria goudotiana*. *Phytochemistry*, **30**, 2781-2783, 1991.

Castro O.; López, J.; Stermitz, F. R. New aporphine alkaloids from *Phoebe valeriana*. *J. Nat. Prod.*, **49**, 1036, 1986

Cava, M. P.; Wakisaka, K.; Noguchi, I.; Edie, D. L.; Darocha, A. I. Phlebicine, a new biphenylbisbenzylisoquinoline alkaloid from *Crematosperma polyphlebum*. *J. Org. Chem.* **39**, 3588, 1974.

Cavé A.; Guinaudeau, H.; Leboeuf, M.; Ramahatra, A.; Razafindrazaka, J. Alkaloids of Annonaceae. 18. Alkaloids from trunk-barks of "*Polyalthia suaveolens* Engl. et Diels. *Planta Med.* **33**, 243-250, 1978.

Cavé, A.; Kunesch, N.; Leboeuf, M.; Bevalot, T. F.; Chiaroni, A.; Riche, C. Alkaloids of Annonaceae. 25. Staudine, new isoquinoleic alkaloid from *Pachypodanthium staudtii* Engl. And Diels. *J. Nat. Prod.* **43**, 103-111, 1980

Chang, F.-R.; Wei, J.-L.; Teng, C.-M.; Wu, Y.-C. Two new 7-dehydroaporphine alkaloids and antiplatelet action aporphines from the leaves of *Annona purpurea*. *Phytochemistry*, **49**, 2015-2018, 1998.

Chang, F.-R.; Wei, J.-L.; Teng, C.-M.; Wu, Y.-C. Two new 7-dehydroaporphine alkaloids and antiplatelet action aporphines from the leaves of *Annona purpurea*. *Phytochemistry*, **49**, 2015-2018, 1998.

Chang, F.-R.; Chen, C.-Y.; Hsieh, T.-J.; Cho, C.-P.; Wu, Y.-C. Chemical constituents from *Annona glabra* III. *J. Chin. Chem. Soc.*, **47**, 913-920, 2000.

Chen, C.-Y.; Chang, F.-R.; Wu, Y.-C. Cherimoline, a novel alkaloid from stems of *Annona cherimola*, *Tetrahedron Lett.*, **38**, 6247-6248, 1997.

Chen 2000

- Chen, C.-Y.; Chang, F.-R.; Pan, W.-B.; Wu, Y.-C. Four alkaloids from *Annona cherimola*, *Phytochemistry*, **56**, 753-757, 2001.
- Chaves, M. H.; Santos, L. A.; Lago, J. H. G.; Roque, N. F. Alkaloids from *Porcelia macrocarpa*. *J. Nat. Prod.* **64**, 240-242, 2001.
- Chia, Y.-C.; Chang, F.-R.; Li, C.-M.; Wu, Y.-C. Protoberberine alkaloids from *Fissistigma balansae*. *Phytochemistry*, **48**, 367-369, 1998.
- Chaurasia, N.; Wichti, M. Sterols and steryl glycosides from *Urtica dioica*. *J. Nat. Prod.* **50**, 881, 1987.
- Ciccía, G.; Coussio, J.; Monguelli, E. Insecticidal activity against *Aedes aegypti* larvae of some medicinal South American plants, *J. Ethnopharm.*, **72**, 185-189, 2000.
- Cortes, D.; Ramahatra, A.; Cavé, A.; Bayma, J. C.; Dadoum, H. Alkaloids from Annonaceae. 58. Alkaloids from the bark of *Guatteria schoburgkiana*. *J. Nat. Prod.*, **48**, 254-256, 1985.
- Costa, S. M. O. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste do Brasil – *Lippia sidoides*. Tese de Doutorado, UFC, Fortaleza, 2001.
- De Almeida, M. E. L.; Braz, R. Fo.; Von Bulow, M. V.; Gottlieb, O. R.; Maia, J. G. S. Onychine, an alkaloid from *Onychopetalum amazonicum*. *Phytochemistry*, **15**, 1186, 1976.
- De Moura, N. F.; Ribeiro, H. B.; Machado, E. C. S.; Ethur, E. M.; Zanatta, N.; Morel, A. F. Benzophenanthridine alkaloids from *Zanthoxylum rhoifolium*. *Phytochemistry*, **46**, 1443-1446, 1997.
- Dooley, M. E, Lamb, H. M., *Drugs & Aging*. v. 16, n. 3, 2000.
- Dyke, S. F.; Gellert, E. The structure of alkaloid from *Schefferomitra subaequalis*. *Phytochemistry*, **17**, 599, 1978.

Ellman, G. L.; Courtney, D.; Andres, V.; Featherstone, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, **7**, 88-95, 1961.

<sup>a</sup>Facundo, V. A. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do gênero *Zanthoxylum* do estado do Ceará. Tese de doutorado, UFC, Fortaleza, 1999.

<sup>b</sup>Facundo, V. A.; de Moraes, S. M.; Machado, M. I. L.; Matos, F. J. A.; da Frota, L. C. M. Essential oil of the roots and leaves of *Zanthoxylum rugosum* St. Hill. *J. Essent. Oil Res.*, **11**, 33-34, 1999.

<sup>c</sup>Facundo, V. A.; de Moraes, S. M.; Machado, M. I. L.; Matos, F. J. A.; da Frota, L. C. M. Essential oil of *Zanthoxylum syncarpum* Tull leaves. *J. Essent. Oil Res.*, **11**, 426-428, 1999.

Falcão, M. J. C. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste. *Platymiscium floribundum* Vog. (Leguminosae). Tese de Doutorado. UFC. Fortaleza, 2003

Farnsworth, N. R.; Blomster, R. N.; Quimby, M. W.; Schermerhorn, J. W. *The Lynns Index, Monograph*. v. VIII. 60, 1974.

Fechine, I. M.; Tavares, J. F.; da Silva, M. S.; Barbosa-Filho, J. M.; Agra, M. F.; da Cunha, E. V.L. Two new alkaloids from *Hornschuchia obliqua*. *Fitoterapia*, **74**, 29-33, 2003.

Fleischer, T. C.; Waigh, R. D.; Waterman, P. G., A novel retrodihydrochalcone from the stem bark of *Uvaria mocoli*. *Phytochemistry*, **47**, 1387-1391, 1998

Ferreira, D. T.; Alvares, P. S. M.; Houghton, P. J.; Braz-Filho, R. Constituintes químicos das raízes de *Pyrostrgia venusta* e considerações sobre a sua importância medicinal. *Quím. Nova*, **23**, 42-46, 2000.

Ficarra, R.; Tommasinisrameri, D.; Calabro, M. L.; Di Bella, M. R.; Rustichelli, C.; Gamberini, M. C.; Ficarra, P. Study of flavonoids  $\beta$ -cyclodextrins inclusion complexes by NMR, FT-IR, DSC, X-ray investigation. *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.* **29**, 1005-1014, 2002.

Forgaes, P.; Desconclois, J. F.; Provost, J.; Tiberghien, R.; Touché, A. Um novel heteroside nitré extrait d'*Annona squamosa*, *Phytochemistry*, **20**, 1251-1252, 1981

Francisco, M. E. Y.; Rrickson, K. L. Ma'iliohydrin, a cytotoxic chamigrene dibromohydrin from a Philippine *Laurencia* species. *J. Nat. Prod.* **64**, 790-791, 2001.

Galeffi, C.; Marinibettolo, G. B.; Vecchi, D. (R, R) (-,-)-12'-O-Methylcurine and (R, R) (-,-)-O,O-Dimethylcurine; 2 new natural alkaloids from *Guatteria megalophylla* Diels. *Gazz. Chim. Ital.*, **108**, 1207-1213, 1975

Gottlieb, O. R.; Magalhães, M. T., *Chemist. Analyst.*, **49**, 114, 1960.

Gottlieb, O. T.; Magalhães, A. F.; Magalhães, E. G.; Maia, J.G.S.; Marsaioli, A. J. Oxoaporphine alkaloids from *Duguetia eximia*. *Phytochemistry*, **17**, 837-838, 1978

Hamonnière, M.; Leboeuf, M.; Cavé, A. Alkaloids aporphiniques et composés terpéniques du *Polyalthia oliveri*. *Phytochemistry*, **16**, 1029, 1977.

Hasan, C. M.; Healey, T. M.; Waterman, P. G. Kolovane and kaurene diterpenes from the stem bark of *Xylopiya aethiopica*. *Phytochemistry*, **21**, 1365-1368, 1982.

Hocquemiller, R.; Cabalion, P.; Bouquet, A.; Cavé, A. Alkaloid from Annonaceae - Isopilone, a new aporphine alkaloid from *Isolona pilosa* Diels. *C. R. H. S. Acad. Sci. Serie C*, **285**, 447-450, 1977.

Hocquemiller, R.; Cavé, A.; Raharisololalao, A. Alkaloids of Annonaceae.30. Alkaloids of *Xylopiya buxifolia* and *Xylopiya danguyella*. *J. Nat. Prod.* **44**, 551-556, 1981.

Hocquemiller, R.; Dubois, G.; Leboeuf, M.; Cavé, A.; Kunesh, N.; Riche, C.; Chiaroni, A. La polyveoline, nouvel indolosesquiterpene isole du *Polyalthia suaveolins*, Annonacees *Tetrahedron Lett.*, **22**, 5057, 1981.

Hocquemiller, R.; Rasamizafy, S.; Cavé, A. Guattescine et guattescidine, nouveaux alcaloides aporphiniques de *Guatteria scandens*, Annonacees (1), *Tetrahedron*, **38**, 911-915, 1982.

Hocquemiller, R.; Cabalion, P.; Fournet, A.; Cavé, A. Alkaloid from Annonaceae. 49. alkaloids from *Isolona hexaloba*, *Isolona zenheri* and *Isolona pilosa*. *Planta Med.* **1**, 23-25, 1984.

Hogg, R. W.; Knox, J. R. Synthesis of ent-kaurene from a naturally occurring precursor. *Aust. J. Chem.*, **40**, 469-474, 1987.

Howes, M.-J.R.; Houghton, P.-J. Plants used in chinese and indian traditional medicine for improvement of memory and cognitive function. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **75**, 513-527, 2003.

Hsieh, T. -J.; Chang, F. -K.; Chia, Y. -C.; Chen, C. -Y.; Lin, H. -C.; Chiu, H. -F.; Wu, Y. -C. The alkaloids of *Artabotrys urcitanus*. *J. Nat. Prod.*, **64**, 1157-1161, 2001

<sup>a</sup>Hsu, C. C.; Dobberstein, R. H.; Cordell, G. A.; Farnsworth, N. R. Isolation of lauterine and oxoputerine, 2 new oxoaporphine alkaloids from *Guatteria elata*. *Llodia*, **40**, 152-156, 1977.

<sup>b</sup>Hsu, C. C., Dobberstein, R. H., Cordell, G. A., Farnsworth, N. R. Structure elucidation of norlaureline and puterine, new noraporphine alkaloids from *Guatteria elata*. *Llodia*, **40**, 505-507, 1977.

Huber, K.; Loan, L. L.; Chantha, N.; Failloux, A.B. Human transportation influences *Aedes aegypti* gene flow in Southeast Asia. *Acta Trop.* **90**, 23-29, 2004.

Ingkaninan, K. *Nevel procedures for lead finding in plant extracts*. PhD thesis, Leiden, 2000.

Ingkaninan, K.; Temkitthawan, P.; Chuenchom, K.; Yugaem, T.; Thongnoi, W. Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. *J. Ethnopharmacol.* **89**, 261-264, 2003.

Ishii, H.; Murakami, Y.; Furuse, T.; Takada, H.; Ikeda, N. Fischer indolization and its related compounds.9. *Synthesis* of naturally occurring 6-(3-methylbuta-1,3-dienyl)indole via advanced Fischer indolization of a 2-methoxyphenylhydrazone derivative. *Tetrahedron Lett.*, 355-358, 1973.

Jayasinghe, L.; Kumarihamy, M.; Jayarathna, K. H. R. N.; Udishani, N. W. M. G.; Bandara, B. M. R.; Hara, N.; Fujimoto, Y. Antifungal constituents of the stem bark of *Bridelia retusa*. *Phytochemistry*, **28**, 1992-1993, 1989.

Jonhs, S. R.; Lamberton, J. A.; Li, C. S.; Sioumis, A. A. A. New alkaloids from a *Popowia* species (Annonaceae). *Aust. J. Chem.*, **21**, 1183-1185, 1968

Jonhs, S. R.; Lamberton, J. A.; Li, C. S.; Sioumis, A. A. Alkaloids of a *Phaeanthus* species from new guinea. Isolation of phaeanthine and limacine *Aust. J. Chem.*, **23**, 363-364, 1970

Joly, A. B. *Introdução à Taxonomia Vegetal*. Companhia Editora Nacional, 7ª Edição, São Paulo, 1985.

Jossang, A.; Leboeuf, M.; Cavé, A. Polycarpine, a new isoquinoline alkaloid from *Enantia polycarpa* Engl. And Diels, Annonaceae. *Planta Med.* **32**, 289-292, 1977.

Jossang, A.; Leboeuf, M.; Cavé, A., Sévenet, T., Padmawinata, K., Alcaloides des Annonaceae, L<sup>1</sup>: Alcaloids de *Polyalthia cauliflora*. *J. Nat. Prod.* **47**, 504, 1984.

Kijjoa, A., Pinto, M.M.M., Pinho, P.M.M., Herz, W. Clerodanes from *Polyalthia vitidis*. *Phytochemistry*, **34**, 457-460, 1993.

Kim, J. P.; Jung, M. Y.; Kim, J.-P.; Kim, S. Y. Antiphotooxidative activity of protoberberines derived from *Coptis japonica* Makino in the chlorophyll-sensitized photooxidation of oil. *J. Agric. Food. Chem.* **48**, 1058-1063, 2000.

Kuo, R.-Y.; Chang, F.-R.; Chen, C.-Y.; Teng, C.-M.; Yen, H.-F.; Wu, Y.-C. Antiplatelet activity of *N*-methoxycarbonyl aporphines from *Rollinia mucosa*. *Phytochemistry*, **57**, 421-425, 2001.

Leboeuf, M.; Cavé, A. Alcaloïdes des écorces de l'*Uvariopsis guineensis*. *Phytochemistry*, **11**, 2833, 1972.

Leboeuf, M.; Cavé, A. Alkaloids from Annonaceae. 14. Identification of canagnine and eupolauridine, new alkaloid with naphthyridine nucleus. *Lloydia*, **39**, 459-460, 1976.

Leboeuf, M.; Streith, J.; Cavé, A. Alkaloids of Annonaceae- Alkaloids of barks of *Cananga odorata* Hook F. and Thomson. *Ann. Pharm. Fr.*, **33**, 43-47, 1975.

Leboeuf, M.; Legueut, C.; Cavé, A.; Desconclois, J. F.; Forgaes, P. Anomurine and anomuricine, 2 new isoquinoline alkaloids of *Annona muricata*. *Planta Med.*, **39**, 204, 1980.

Leboeuf, M.; Legueut, C.; Cavé, A.; Desconclois, J. F.; Forgaes, P.; Jacquemin, H. Alkaloids of Annonaceae. 29. alkaloids of *Annona muricata*. *Planta Med.*, **42**, 37, 1981.

<sup>a</sup>Leboeuf, M.; Cavé, A.; Bhaumik, P.K.; Mukherjee, B.; Mukherjee, R. The phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry*, **21**, 2783-2813, 1982.

<sup>b</sup>Leboeuf, M.; Cavé, A.; Forgaes, A.; Provost, J.; Chiaroni, A.; Riche, C. Alkaloids of the Annonaceae. 33. Annomontine and methoxy annomontine, 2 new pyrimidine-beta-carboline-type alkaloids from *Annona montana* J. *Chem. Soc. Perkin Trans.1*, 1205-1208, 1982.

- Lee, K.-H.; Chuah, C.-H.; Goh, S.-H. Seco-benziltetrahydroisoquinolines from *Polyalthia insignis* (Annonaceae). *Tetrahedron Lett.*, **38**, 1253-1256, 1997.
- Li, Y.-A. Jiang, S.-H.; Gao, W.-Y.; Zhu, D.-J. Phenyl propanoid glycosides from *Scophulania nonypoensis*. *Phytochemistry*, **54**, 923-925, 2000.
- Lima, M. A.; Barbosa-Filho, J. M.; Merlic, C. A.; Doroh, B. C.; Maia, J. G. S.; Silva, M. S.; da-Cunha, E. V. L. Alkaloids and volatile constituents from *Guatteria poeppigiana*. *Biochem. Syst. Ecol.*, **32**, 347-349, 2004
- Lu, S.-T.; Wu, Y.-C.; Leou, S.-P., Alkaloids of Formosan *Fissistigma* and *Goniothalamus* species. *Phytochemistry*, **24**, 1829-1834, 1985. 1985
- Maas, P. J. M.; Wetra L. Y. T. *Flora Neotropica – Monograph 57*. Organization for flora Neotropica, the New York Botanic Garden, New York, 1992.
- Maekh, S. M.; Boico, E. V.; Starchenko, V. M.; Yunusov, S. Y. 7-oxobaicalin as a new alkaloid from *Talistrum baicalense*. *Khim. Prir. Soedi*. 251-254, 1986
- Matos, F. J. A. *Introdução à fitoquímica experimental*. Edições UFC. 2ª ed., Fortaleza, 1997.
- McLaughlin, J. M. *Methods in Plant Biochemistry*, Academic Press., vol. 6, 1ª Edth, San diego, 1991.
- Miski, M.; Shen, X.; Cooper, R.; Gillum, A. M.; Fischer, D. K.; Miller, R. W.; Higgins, T. J. Aporphine alkaloids, CD45 protein tyrosine phosphatase inhibitors, from *Rollinia Ulei*. *Bioorganic & Medic. Chem. Lett.* **5**, 1519-1522, 1995.
- Miyazawa, M.; Yoshio, K.; Ishikawa, Y.; Kameoka, H. Insecticidal alkaloids from *Corydalis bulbosa* against *Propophila melanogaster*. *J. Agric. Food. Chem.*, **46**, 1914-1919, 1998

<sup>a</sup>Nieto M.; Sevenet, T.; Leboeuf, M.; Cavé, A. Alkaloids of Annonaceae. Alkaloids of *Xylopia pancheri*. *Planta Med.*, **30**, 48-58, 1976.

<sup>b</sup>Nieto, M.; Cavé, A. Annonaceae alkaloids – Components of stem bark and root bark of *Enantia pilosa*. *Lloydia*, **39**, 350-356, 1976.

Nishiyama, Y.; Moriyasu, M.; Ichimaru, M.; Iwasa, K.; Kato, A.; Mathenge, S. G.; Mutiso, P. B. C.; Juma, F. D. Quaternary Isoquinoline alkaloids from *Xylopia parviflora*. *Phytochemistry*, **65**, 939-944, 2004.

Nissanka, A. P. K.; Karunaratne, V.; Bandara, B. M. R.; Kumar, V.; Nakanishi, T.; Nishi, M.; Inada, A.; Tillekeratne, L. M. V.; Wijesundara, D. S. A.; Gunatilaka, A. A. L. Antimicrobial alkaloids from *Zanthoxylum tetraspermum* and *caudatum*. *Phytochemistry*, **56**, 857-861, 2001.

Nwaji, M. N.; Onyiriuka, S. O.; Taylor, D. A. H. 6-(3-methylbuta-1,3-dienyl)indole from *Monodora tenuifolia*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 327-333, 1972.

Okorie, D. A. A new class of indolosesquiterpene alkaloids from *Polyathia suaveolens*. *Tetrahedron*, **36**, 2005-2006, 1980.

Oliveira, M. F.; Lemos T. L. G.; Mattos M. C.; Segundo T. A.; Santiago G. M. P.; Braz Filho R. New enamine derivatives of lapachol and biological activity. *Ann. Acad. Braz. Sc.* **74**, 211 – 221, 2002.

Onayade, O. A.; Adebajo, A. C.; Looman, A. Effect of cold storage na the composition of the essential oils of *Eugenia uniflora* Leaves. *Niger. J. Nat. Prod. Med.*, **3**, 79-82, 1999.

Panichpol, K.; Waigh, R. D.; Waterman, P.G. Chondrofoline from *Uvaria ovata*. *Phytochemistry*, **16**, 621-622, 1977.

Patra, A., Montgomery, C. T., Freyer, A. J., Guinaudeau, H., Shamma, M., Tantisewie, B., Pharadai, K. The protoberberine alkaloids of *Stephania suberosa*. *Phytochemistry*, **26**, 547-549, 1987.

Imming, P.; Klaperski, P.; Stubbi, M. T.; Seitz, G.; Gündisch, D. Synthesis and evaluation of halogenated cytisine derivatives and of bioisosteric thiocytisine as potent and selective nAChR ligands. *Eur. J. Med. Chem.* **36**, 375-388, 2001.

Pettit, G. R.; Meng, Y.; Herald, D. L.; Grahan, K. A. N.; Pettit, R. K.; Doubek, D. L. Isolation and structure of ruprechstyryl from *Ruprechtia tangarana*. *J. Nat. Prod.* **66**, 1065-1069, 2003.

Pharadai, K.; Pharadai, T.; Tantisewie, B.; Guinaudeau, H.; Freyer, A. J.; Shanma, M. (-)-O-acetylsukhodiamine and oxostephanosine - 2 - new aporphinoids from *Stephania venosa*. *J. Nat. Prod.* **48**, 658, 1985.

Phoebe, C. H.; Schiff, P. L.; Knapp, J. E.; Slatkin, D. J., Oxoanolobine, a new oxoaporphine alkaloid from *Guatteria melosma*. *Heterocycles*, **14**, 1977-1978, 1980.

Queiroz, E. F.; Roblot, F.; Cavé, A. pessonine and Spinosine, two catecholic berbines from *Annona spinescens*. *J. Nat. Prod.*, **59**, 438-440, 1996

Rasoanaivo, P. H.; Ratsimamanga-Urverg, S.; Rakoto-Ratsimamanga A.; Raharisololalao, A. Constituants chimiques de trois espèces de *Burasaia* (Menispermaceae) endémiques de Madagascar. *Biochem. System. Ecol.* **19**, 433-437, 1991.

Reynolds, W. F.; McLeon, S.; Poplawski, J.; Enriquez, R.G.; Escobar, L. I. Total assignment of  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  spectra of three isomeric triterpenoids derivatives by 2D NMR: an investigation of the potential utility of  $^1\text{H}$  chemical shifts in structural investigation of complex natural products. *Tetrahedron*, **42**, 3419-3428, 1986

Rhee, I. K.; Van de Meet, M.; Ingkaninan, K.; Verpoorte, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. *J. Chromatography A*, **915**, 217-223, 2001.

Roblot, F.; Hocquemiller, R.; Cavé, A. Duguecalyne and duguenaine, new aporphinic alkaloids from *Duguetia calycina* (Annonaceae). *C. R. Acad. Sci. Ser. II*. **293**, 373-376, 1981.

Rojas, I. S.; Lotina-Hennsen, B.; Mata, R. Effect of lichen metabolites on thylakoid electron transport and photophosphorylation in isolated spinach chloroplasts. *J. Nat. Prod.*, **63**, 1396-1399, 2000.

Rosanaivo P.H.; Ratsimamanga-Urverg, S.; Rakoto-Ratsimamanga, A.; Raharisololalao, A. Constituents chimiques de trois especes de *Burasaia* (Menispermacees) endemiques de Madagascar. *Biochem. Syst. Ecol.*, **19**, 433-437, 1991.

Ruangrungsi, N. Constituents of *Parabaena sagittata*. Two new tetrahydroprotoberberine alkaloids. *J. Nat. Prod.* **49**, 253-258, 1986.

Saa, C.; Guitiari, L.; Castedo, L.; Saa, J. M. The intermolecular benzyne cyclo-addition approach to dehydronoraporphines and oxoaporphines – total synthesis of PO-3. *Tetrahedron Lett.*, **26**, 4559-4560, 1985.

Sandoval, D.; Preiss, A.; Schreiber, K.; Ripperger, H. Annonelliptine, an alkaloid from *Annona elliptica*. *Phytochemistry*, **24**, 375-376, 1985.

Schlittler, E.; Huber, H. U. Die Konstitution des alkaloids artabotrin (iso-corydin). *Helv. Chim. Acta*, **35**, 111-113, 1952.

<sup>a</sup>Sette, I. M. F.; da-Cunha E. V. L.; Barbosa-Filho, J. M.; da-Silva, M. S. Tetrahydroprotoberberine and aporphine alkaloids from *Rollinia leptopetala*. *Pharmaceutical Biology*, **38**, 318-320, 2000.

<sup>b</sup>Sette, I. M. F.; da Cunha, E. V. L.; Barbosa-Filho, J. M.; Agra, M. A.; Silva, M. S. The first tetrahydroprotoberberine alkaloid from the genus *Rollinia*. *Biochem. Syst. Ecol.* **28**, 393-394, 2000.

Shiojima, K.; Arai, Y.; Ageta, H. Seasonal fluctuation of triterpenoid constituents from dried leaflets of *Dryopteris crassirhizoma*. *Phytochemistry*, **29**, 1079-1083, 1983.

Sidibé, L. K. B.; Figueredo, G.; Chalchat, J. -C. Chemical composition of the essential oil of *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A. Ch. From Mali. *J. Essen. Oil Res.* **15**, 267-269, 2003.

Silverstain, R. M.; Bassier, G. C.; Morrill, T. C., *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*, 5ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1996.

Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P.R. *Farmacognosia : da planta ao medicamento*. Ed. da UFSC, 2ª ed., p.387, 2000.

Skiles, J. W.; Cava, M. P. Subsessiline : Structure revision and synthesis. *J. Org. Chem.* **44**, 409-412, 1979.

Sonnet P. E.; Jacobson, M. Tumor inhibitors.2.Cytotoxic alkaloids from *Annona purpurea*. *J. Pharm. Sci.* **60**, 1254-1257, 1971.

Suau, R., Valpuesta., Silva, M. V., Pedrosa, A. (-)-caseamine from *Ceratocarpus heterocarpus* : structure and total synthesis. *Phytochemistry*, **27**, 1920-1922, 1988.

Suau, R.; Silva, M. V.; Valpuesta, M. A novel oxidation stage in the chemistry of Protoberberine alkaloids. Synthesis of 7,8-dehydroberberines. *Tetrahedron*, **47**, 5841-5846, 1991.

Suau, R.; Silva, M. V.; Valpuesta M. Quaternary protoberberine alkaloids from *Ceratocarpus heterocarpus*. *Phytochemistry*, **34**, 559-561, 1993.

- Takhtajan, A. *Flowering Plants, Origin and Dispersal*. Oliver & Boyd, Ediburgh, 1969.
- Talapatra, B.; Gawami, S.; Ghash, A.; Talapatra, S. K. *J. Indian Chem. Soc.*, **59**, 1364, 1982
- Tammani, B.; Torrance, S. J.; Fabela, F. V.; Wiedhopf, R. M.; Cole, J. R. Preliminary investigation of *Croton californicus* var. *Tenuis* and *Uvaria Kirkii* : A xanthone and a benzyldihydrochalcone. *Phytochemistry*, **10**, 2040, 1977.
- Tatsadjieu, L. N.; Ngang, J. J. E.; Ngassoum, M. B.; Etoa, F.-X. Antibacterial and antifungal activity of *Xilopia aethiopica*, *Monodora myristica*, *Zanthoxylum xanthoxyloides* and *Zanthoxylum liprieurii* from Cameroon. *Fitoterapia*, **74**, 469-472, 2003.
- Tsai, I.-L.; Wun, M.-F.; Teng, C.-M.; Ishikawa, J.; Chen, I.-S. Anti-platelet aggregation constituents from *Formosan toddolia asiatica*. *Phytochemistry*, **48**, 1377-1382, 1998.
- Tuchinda, P.; Pohmakotr, M.; Munyoo, B.; Reutrakul, V.; Santisuk, T. An azaanthracene alkaloid from *Polyalthia suberosa*. *Phytochemistry*, **53**, 1079-1082, 2000.
- Vila, R.; Iglesias, J.; Canigüeral, S. R. Vila, J. Iglesias, S. Cañigüeral and J. F. Ciccío, Composition of the essential oil from leaves of *Zanthoxylum procerum* from Costa Rica. *J. Essent. Oil Res.*, **14**, 44-46, 2002.
- Xu, C.; Zhang, Y.; Tan, R. X. A new oxoaporphine alkaloid from *Sinofranchetia chinensis*. *Fitoterapia*, 2004, **75**, 239-241.
- Yang, T. H.; Chen, C. M.; Kuan, S. S. Studies on alkaloids of *Ammona glabra* L.. 1. Isolation of (-)-*N*-methylactinodaphnine. *J. Chin. Chem. Soc.* **18**, 133-134, 1971.
- Wafo, P.; Nyasse, B.; Fontaine, C. A 7,8-dihydro-8-hydroxypalmatine from *Enantia chlorantha*. *Phytochemistry*, **50**, 279-281, 1999.

Waterman, P.G.; Pootakahm, K. Chemical studies on the Annonaceae.6. Alkaloids of the stem and fruit of *Monanthes cauliflora*. *Planta Med.*, **35**, 247, 1979.

Waterman, P.G.; Muhammad, I. Sesquiterpenes and alkaloids from *Cleistopholis patens*. *Phytochemistry*, **24**, 523-527, 1985.

Wijeratne, F. M. K.; Hatanaka, Y.; Kikuchi, T.; Tezuka, Y.; Gunatilaka, A. A. L. A dioxoaporphine and other alkaloids of two annonaceous plants of Sri Lanka: *Phytochemistry*, **42**, 1703-1706, 1996.

Wu, Y. C.; Lu, S. T.; Wu, T. S.; Lee, K. H. Kuafumine, a novel cytotoxic oxoaporphine alkaloid from *Fissistigma glaucescens*. *Heterocycles*, **26**, 9, 1987.

Zhang, Z., ElSohly, H. N., Jacob, M. R., Pasco, D. S., Walker, L. A., Clark, A. M. New sesquiterpenoids from the root of *Guatteria multivenia*. *J. Nat. Prod.* **65**, 856-859, 2002.