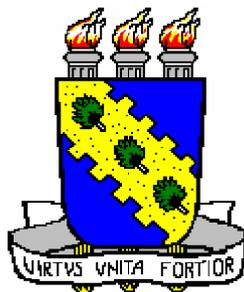


UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA



**CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE  
PLANTAS DO NORDESTE DO BRASIL**  
***Lippia affinis gracillis* H. B. K.**

MARIA DA CONCEIÇÃO LOBO LIMA

FORTALEZA - CEARÁ  
2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA

**CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE  
PLANTAS DO NORDESTE DO BRASIL**  
*Lippia affinis gracillis* H. B. K.

MARIA DA CONCEIÇÃO LOBO LIMA

Tese submetida à coordenação do Curso de Pós-Graduação  
em Química Orgânica e Inorgânica como requisito parcial para a obtenção do  
título de doutor

Trabalho realizado sob a orientação da Profa. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica do Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará e Coorientação da Profa. Dra. Otília D. Loiola Pessoa da Universidade Federal do Ceará e do Prof. Dr. Raimundo Braz Filho da Universidade Estadual do Norte Fluminense.

FORTALEZA - CEARÁ

2006

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Ana Cristina Azevedo U. Melo CRB-3/572

L699c Lima, Maria da Conceição Lobo

Contribuição ao conhecimento químico de plantas do nordeste do Brasil  
*Lippia affins gracillis* H.B. K. / Maria da Conceição Lobo Lima.

180 f., il. color., enc.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

Área de Concentração : Produtos Naturais

Orientadora: Profa. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos

Co-Orientadora: Profa. Dra. Otília D. Loiola Pessoa

Co-Orientador : Prof. Dr. Raimundo Braz Filho

1. *Lippia affins gracillis* 2. Produto natural I.Lemos, Telma Leda Gomes de (orient.) II. Pessoa, Otília D. Loiola (co-orient.) III. Braz Filho, Raimundo (co-orient.) IV. Universidade Federal do Ceará – Pós-Graduação em Química Orgânica V. Título

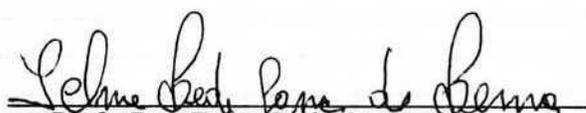
CDD 547

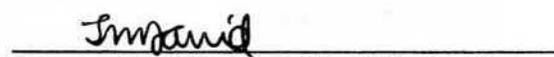
Esta Tese foi apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.

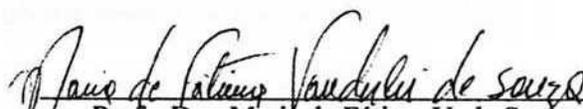
---

Maria da Conceição Lobo Lima

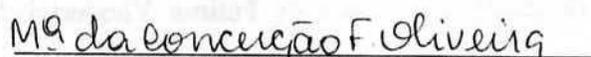
Tese aprovada em: 11 / 12 / 2006

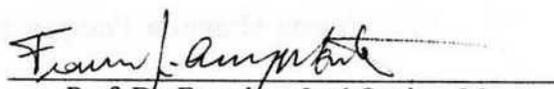
  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos  
Orientadora

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Jorge Mauricio David  
Membro Convidado - UFBA

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Maria de Fátima V. de Souza  
Membro Convidado - UFPb

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Nilce Viana G. P. de S. Brasil  
Membro do Curso

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Maria da Conceição F. de Oliveira  
Coordenadora do Curso

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Francisco José Queiroz Monte  
Membro do Curso

A Deus.

Aos meus pais, Antônio e Zuíla (*in memoriam*), aos meus irmãos, João, Adriana, Estela, Júnior, Andréia e Mércia, aos meus sobrinhos Élvia, Hugo, Zuilinha, Felipe, Tales, Eduardo, Gabriel, Ana Luiza e Gabriela.

## AGRADECIMENTOS

À professora Telma Leda Gomes de Lemos pela generosidade, amizade, dedicação, compreensão, confiança, pela orientação na elaboração deste trabalho e principalmente exemplo de vida.

Aos professores do DQOI da UFC e ao professor Raimundo Braz Filho da UENF que, através de seus conhecimentos, enriqueceram este trabalho.

Aos funcionários da Pós-Graduação principalmente Sr. Paulo, Sr. Miguel (*in memorian*), Mundinha, Lana e Célia pela colaboração e por tornarem o laboratório um local bastante agradável para se trabalhar.

Ao CENAUREMN e seus respectivos operadores pela obtenção dos espectros.

Aos meus amigos e colegas de trabalho da UECE-CECITEC em especial ao diretor Prof. Santos e ao coordenador do curso de Química Prof. Ernani Magalhães

Aos meus alunos que muito me apoiaram em especial Vitor, Rita, Ivanilson, Jesser, Edvaldo, Ida, Batista e Edvaldo Fofó.

Aos amigos que fiz durante a realização deste trabalho e que fizeram parte deste momento de alegria: Davina, Leopoldina, Jane Eire, Renata Paiva, Rose Jane, Rosa, Geraldo, Paulo, Sônia, Andreza, Luciana, Aluísio, Alana, Irineu, Ayla, Rosa, Deda, Cristiane, João Samy, João Henrique, João Carlos, Alexandre Praxedes, Rude, Délcio, Mozarina, Ticiane e os Leos.

Aos amigos Aldo (Baixinho), Cláudio, Glauber, Hécio e Augusto pelo “ombro” e incentivo em todos os momentos desta caminhada.

Às minhas amigas Adriana, Cândida, Dárdina, Maria da Paz e Shirley que muito ajudaram nos momentos difíceis.

À FUNCAP pela bolsa de estudo, FINEP, CAPES e CNPq pelo suporte financeiro.

# SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xvi
LISTA DE FLUXOGRAMAS.....	xviii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xix
RESUMO.....	xxii
ABSTRACT.....	xxiii
<b>CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO 2 - CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS</b>	
2.1 Aspectos Botânicos da Família Verbenaceae.....	4
2.2 Aspectos Botânicos do Gênero <i>Lippia</i> .....	5
2.3 Aspectos Botânicos da Espécie <i>Lippia affinis gracillis</i> .....	6
<b>CAPÍTULO 3 - LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO</b>	
3.1 Furanonaftoquinonas obtidas de produtos naturais registradas na literatura.....	8
<b>CAPÍTULO 4 - CONSTITUINTES VOLÁTEIS DE <i>LIPPIA AFFINIS GRACILLIS</i></b>	
4.1. Identificação dos constituintes dos óleos essenciais.....	22
4.1.1 Extração dos óleos essenciais.....	22
4.1.2 Análise e identificação dos constituintes dos óleos essenciais.....	22
4.1.3 Espectros de massas dos constituintes do óleo essencial das folhas de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	25

4.1.4 Espectros de massas dos constituintes do óleo essencial dos talos de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	30
4.2 Modificações estruturais do carvacrol.....	33
4.2.1 Metilação do carvacrol.....	33
4.2.2 Acetilação do carvacrol.....	33
4.3 Ensaio biológicos.....	42
4.3.1 Atividade larvívica ( <i>Aedes aegypti</i> ) do óleo essencial das folhas <i>Lippia aff. gracillis</i> , carvacrol, carvacrol metilado e carvacrol acetilado.....	42
4.3.2 Atividade moluscívica ( <i>Biomphalaria glabrata</i> ) do óleo essencial das folhas <i>Lippia aff. gracillis</i> , carvacrol, e os derivados metilado e acetilado do carvacrol....	43
4.3.3 Atividade antioxidante do óleo essencial das folhas e talos de <i>Lippia aff. gracillis</i> , carvacrol, e dos derivados metilado e acetilado do carvacrol, pelo método de seqüestro do radical DPPH.....	43
4.3.4 Atividade antimicrobiana do óleo das folhas de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	45

## **CAPÍTULO 5 - DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES ISOLADOS DE *LIPPIA AFFINIS GRACILLIS***

5.1 Determinação Estrutural LARH-01(Lapachenol)..	46
5.2 Determinação Estrutural LARH-02 (Friedelinona).....	51
5.3 Determinação Estrutural LARH-03 (Acetato de 3-epifriedelanil).....	56
5.4 Determinação Estrutural LARH-04 (Mistura do $\beta$ -sitosterol e estigmasterol)...	61
5.5 Determinação Estrutural LARH-05 (Ac. 3-acetiloleanólico).....	63
5.6 Determinação Estrutural LARH-06 (Lantandeno A).....	68
5.7 Determinação Estrutural LARE-01 (ácido tetraeicosanóico).....	75
5.8 Determinação Estrutural LARE-02 (Tecomaquinona).....	78
5.9 Determinação Estrutural LARE-03 (Microfilaquinona).....	83
5.10 Determinação Estrutural LARE-04 (Mistura dos glicosídeos $\beta$ -sitosterol e estigmasterol).....	88
5.11 Determinação Estrutural LARE-05 (5-hidroxinafto[2,3b]furan-4,9-quinona)...	92

5.12	Determinação Estrutural LAFE-01 (Quercetina).....	101
5.13	Determinação Estrutural LAFE-02 (Hispidulina).....	105
5.14	Determinação Estrutural LAFE-03 (3-metilquercetina).....	111

## CAPÍTULO 6 - PARTE EXPERIMENTAL

6.1	Obtenção do material botânico.....	116
6.2	Métodos cromatográficos.....	116
6.2.1	Cromatografia líquida gravitacional em coluna aberta (CC).....	116
6.2.2	Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	116
6.2.3	Cromatografia Líquida em Coluna sob Pressão (Flash).....	117
6.2.4	Cromatografia por Exclusão Molecular (Shephadex).....	117
6.3	Métodos físicos de análises.....	117
6.3.1	Ponto de fusão (pf).....	118
6.3.2	Espectroscopia de massa (EM).....	118
6.3.3	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).....	118
6.3.4	Espectroscopia na região do infravermelho (IV).....	119
6.3.5	Rotação ótica ( $\alpha$ ).....	119
6.4	Obtenção do óleo essencial de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	119
6.4.1	Extração do óleo essencial de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	119
6.5	Obtenção de derivados do carvacrol.....	120
6.5.1	Metilação do carvacrol.....	120
6.5.2	Acetilação do carvacrol.....	120
6.6	Metodologia dos ensaios biológicos.....	121
6.6.1	Atividade larvicida ( <i>Aedes aegypti</i> ) do óleo essencial das folhas de <i>Lippia aff. gracillis</i> , carvacrol e seus derivados.....	121
6.6.2	Atividade moluscicida do óleo essencial das folhas de <i>Lippia affinis gracillis</i> , carvacrol e seus derivados.....	121
6.6.3	Atividade antioxidante do óleo essencial das folhas e talos de <i>Lippia aff. gracillis</i> , carvacrol e seus derivados: método de seqüestro do radical DPPH.....	122
6.6.4	Atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de <i>Lippia aff. gracilli</i> .....	122

6.7 Estudo dos constituintes fixos de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	124
6.7.1 Obtenção do extrato hexânico das raízes.....	124
6.7.2 Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico das raízes (LARH).....	124
6.7.2.1 Fracionamento cromatográfico da fração hexânica (LARH-Fh).....	124
6.7.2.2 Fracionamento cromatográfico da fração cloroformio (LARH-Fcl).....	125
6.7.3 Obtenção do extrato etanólico das raízes (LARE).....	126
6.7.4 Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das raízes.....	127
6.7.4.1 Fracionamento cromatográfico da fração diclorometano (LARE-Fdc).....	127
6.7.5 Obtenção do extrato etanólico das folhas (LAFE).....	128
6.7.6 Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das folhas.....	129
6.7.6.1 Fracionamento cromatográfico da fração clorofómica (LAFE-Fcl).....	129
6.7.6.2 Fracionamento cromatográfico da fração acetato de etila (LAFE-FAcOEt).....	130
<b>CAPÍTULO 7 - CONCLUSÃO</b> .....	<b>133</b>
<b>CAPÍTULO 8 - CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS</b> .....	<b>134</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>148</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Fig. 1</b> - Metabólitos secundários isolados de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	2
<b>Fig. 2</b> - Flores e frutos de espécies da família Verbenaceae .....	5
<b>Fig. 3</b> - Detalhe das folhas e flores de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	7
<b>Fig. 4</b> - Detalhe dos talos e do arbusto de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	7
<b>Fig. 5</b> - Esqueleto básico das subclasses 1,2 e 1,4 naftoquinonas, antraquinonas, furano naftoquinonas.....	9
<b>Fig. 6</b> - Oxidação e redução de hidroxiquinonas .....	9
<b>Fig. 7</b> - Esqueleto básico de furanonaftoquinonas .....	9
<b>Fig. 8</b> - Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	24
<b>Fig. 9</b> - Cromatograma do óleo essencial dos talos de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	24
<b>Fig. 10</b> - Espectro de massas do $\alpha$ -tujeno (49).....	25
<b>Fig. 11</b> - Espectro de massas do $\beta$ -mirceno (50).....	25
<b>Fig. 12</b> - Espectro de massas do $\alpha$ -terpineno (51).....	25
<b>Fig. 13</b> - Espectro de massas do <i>p</i> -cimeno (52).....	26
<b>Fig. 14</b> - Espectro de massas do 1,8-cineol (53).....	26
<b>Fig. 15</b> - Espectro de massas do $\gamma$ -terpineno (54).....	26
<b>Fig. 16</b> - Espectro de massas do linalool (55).....	27
<b>Fig. 17</b> - Espectro de massas do metil timol (56).....	27
<b>Fig. 18</b> - Espectro de massas do timol (57).....	27
<b>Fig. 19</b> - Espectro de massas do carvacrol (58).....	28
<b>Fig. 20</b> - Espectro de massas do <i>trans</i> -cariofileno (59).....	28
<b>Fig. 21</b> - Espectro de massas do (+)-aromadendreno (60).....	28
<b>Fig. 22</b> - Espectro de massas do 3-metoxi carvacrol (61).....	29
<b>Fig. 23</b> - Espectro de massas do biciclogermacreno (62).....	29
<b>Fig. 24</b> - Espectro de massas do espatulenol (63).....	29
<b>Fig. 25</b> - Espectro de massas do <i>o</i> -cimeno (64).....	30
<b>Fig. 26</b> - Espectro de massas da cânfora (65).....	30
<b>Fig. 27</b> - Espectro de massa do $\alpha$ -copaeno (66).....	30
<b>Fig. 28</b> - Espectro de massa do $\alpha$ -humuleno (67).....	31

<b>Fig. 29</b> - Espectro de massa do $\delta$ -cardineno (68).....	31
<b>Fig. 30</b> - Espectro de massa do (-)-espatulenol (69).....	31
<b>Fig. 31</b> - Espectro de massa do globulol (70).....	32
<b>Fig. 32</b> - Espectro de massa do viridiflorol (71).....	32
<b>Fig. 33</b> - Metilação do carvacrol.....	33
<b>Fig. 34</b> - Acetilação do carvacrol.....	34
<b>Fig. 35</b> - Cromatograma do carvacrol.....	34
<b>Fig. 36</b> - Cromatograma do carvacrol metilado.....	35
<b>Fig. 37</b> - Cromatograma do carvacrol acetilado.....	35
<b>Fig. 38</b> - Espectro de massas do carvacrol metilado.....	36
<b>Fig. 39</b> - Espectro de massas do carvacrol acetilado.....	36
<b>Fig. 40</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do carvacrol.....	38
<b>Fig. 41</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do carvacrol.....	38
<b>Fig. 42</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do carvacrol metilado.....	39
<b>Fig. 43</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do carvacrol metilado.....	39
<b>Fig. 44</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do carvacrol acetilado.....	40
<b>Fig. 45</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do carvacrol acetilado.....	40
<b>Fig. 46</b> - Espectros de infravermelho do carvacrol, dos derivados metilado e acetilado.....	41
<b>Fig. 47</b> - Espectro de Infravermelho de LARH-01.....	49
<b>Fig. 48</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-01.....	49
<b>Fig. 49</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-01.....	50
<b>Fig. 50</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-01.....	50
<b>Fig. 51</b> - Espectro de Infravermelho de LARH-02.....	54
<b>Fig. 52</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-02.....	54
<b>Fig. 53</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-02.....	55
<b>Fig. 54</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-02.....	55
<b>Fig. 55</b> - Espectro de Infravermelho de LARH-03.....	59
<b>Fig. 56</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-03.....	59
<b>Fig. 57</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-03.....	60
<b>Fig. 58</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-03.....	60

<b>Fig. 59</b> - Espectro de Infravermelho de LARH-04.....	62
<b>Fig. 60</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-04.....	62
<b>Fig. 61</b> - Espectro de Infravermelho de LARH-05.....	66
<b>Fig. 62</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-05.....	66
<b>Fig. 63</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-05.....	67
<b>Fig. 64</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-05.....	67
<b>Fig. 65</b> - Espectro de Infravermelho de LARH-06.....	72
<b>Fig. 66</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-06.....	72
<b>Fig. 67</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-06.....	73
<b>Fig. 68</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-06.....	73
<b>Fig. 69</b> - Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HMQC, 500 e 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-06.....	74
<b>Fig. 70</b> - Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HMQC, 500 e 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-06.....	74
<b>Fig. 71</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-01.....	76
<b>Fig. 72</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-01.....	76
<b>Fig. 73</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-01.....	77
<b>Fig. 74</b> - Espectro de massas ( $\text{CHCl}_3$ ) de LARE-01.....	77
<b>Fig. 75</b> - Espectro de Infravermelho de LARE-02.....	81
<b>Fig. 76</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-02.....	81
<b>Fig. 77</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-02.....	82
<b>Fig. 78</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-02.....	82
<b>Fig. 79</b> - Espectro de Infravermelho de LARE-03.....	86
<b>Fig. 80</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-03.....	86
<b>Fig. 81</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-03.....	87
<b>Fig. 82</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-03.....	87
<b>Fig. 83</b> - Espectro de Infravermelho de LARE-04.....	90
<b>Fig. 84</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de LARE-04.....	90
<b>Fig. 85</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de LARE-04.....	91
<b>Fig. 86</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de LARE-04.....	91
<b>Fig. 87</b> - Espectro de Infravermelho de LARE-05.....	95

<b>Fig. 88</b> - Cromatograma e espectro de massas (LCMS - CHCl <sub>3</sub> ) de LARE-05.....	95
<b>Fig. 89</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LARE-05.....	96
<b>Fig. 90</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H expansão (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LARE-05.....	96
<b>Fig. 91</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LARE-05.....	97
<b>Fig. 92</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C – DEPT 135 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LARE-05.....	97
<b>Fig. 93</b> - Espectro bidimensional homonuclear ( <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H) (COSYGS, 500 e 500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LARE-05.....	98
<b>Fig. 94</b> - Espectro bidimensional heteronuclear ( <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C) a uma ligação (HSQCGS, 500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LARE-05.....	98
<b>Fig. 95</b> - Espectro bidimensional heteronuclear ( <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C) a duas, três e quatro ligações (HMBCGS, 500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LARE-05.....	99
<b>Fig. 96</b> - Espectro bidimensional heteronuclear ( <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C) expansão a duas e três ligações (HMBCGS, 500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LARE-05.....	99
<b>Fig. 97</b> - Espectro bidimensional heteronuclear ( <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C) expansão a duas e três ligações (HMBCGS, 500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LARE-05.....	100
<b>Fig. 98</b> - Espectro de Infravermelho de LAFE-01.....	103
<b>Fig. 99</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de LAFE-01.....	103
<b>Fig. 100</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de LAFE-01.....	104
<b>Fig. 101</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C – DEPT 135 (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de LAFE-01..	104
<b>Fig. 102</b> - Espectro de Infravermelho de LAFE-02.....	107
<b>Fig. 103</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, DMSO) de LAFE-02.....	107
<b>Fig. 104</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (125 MHz, DMSO) de LAFE-02.....	108
<b>Fig. 105</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C – DEPT 135 (125 MHz, DMSO) de LAFE-02...	108
<b>Fig. 106</b> - Espectro bidimensional heteronuclear ( <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C) a uma ligação (HSQCGS, 500 e 125 MHz, DMSO) de LAFE-02.....	109
<b>Fig. 107</b> - Espectro bidimensional heteronuclear ( <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C) a duas e três ligações (HMBCGS, 500 e 125 MHz, DMSO) de LAFE-02.....	109
<b>Fig. 108</b> - Espectro bidimensional heteronuclear ( <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C) a duas e três ligações (HMBCGS, 500 e 125 MHz, DMSO) de LAFE-02.....	110
<b>Fig. 109</b> - Espectro bidimensional heteronuclear ( <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C) a duas e três ligações (HMBCGS, 500 e 125 MHz, DMSO) de LAFE-02.....	110

<b>Fig. 110</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, DMSO) de LAFE-03.....	113
<b>Fig. 111</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, DMSO) de LAFE-03.....	113
<b>Fig. 112</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, DMSO) de LAFE-03...	114
<b>Fig. 113</b> - Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HSQCGS, 500 e 125 MHz, DMSO) de LAFE-03.....	114
<b>Fig. 114</b> - Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ ) a duas e três ligações (HMBCGS, 500 e 125 MHz, DMSO) de LAFE-03.....	115

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Famílias, gêneros e espécies de plantas que foram encontradas furanonaftoquinonas.....	10
<b>Tabela 2</b> - Levantamento bibliográfico de furanonaftoquinonas.....	11
<b>Tabela 3</b> - Constituintes voláteis das folhas e talos de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	23
<b>Tabela 4</b> - Dados de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz/ CDCl <sub>3</sub> ) e RMN <sup>13</sup> C-BB (125 MHz/ CDCl <sub>3</sub> ) do carvacrol, carvacrol metilado e carvacrol acetilado.....	37
<b>Tabela 5</b> - Atividade larvicida contra as larvas de <i>Aedes aegypti</i> .....	42
<b>Tabela 6</b> - Atividade moluscicida contra <i>Biomphalaria glabrata</i> .....	43
<b>Tabela 7</b> - Atividade antioxidante pelo método de seqüestro do radical DPPH.....	44
<b>Tabela 8</b> - Atividade antimicrobiana do óleo das folhas de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	45
<b>Tabela 9</b> - Concentração inibição mínima do óleo das folhas de <i>Lippia aff. gracillis</i> (CIM, µg/ml).....	45
<b>Tabela 10</b> - Dados de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C-BB de LARH-01.....	48
<b>Tabela 11</b> - Deslocamento químico de RMN <sup>13</sup> C-DEPT de LARH-02.....	52
<b>Tabela 12</b> - Dados de RMN <sup>13</sup> C-BB de LARH-02.....	53
<b>Tabela 13</b> - Deslocamento químico de RMN <sup>13</sup> C-DEPT de LARH-03.....	57
<b>Tabela 14</b> - Dados de RMN <sup>13</sup> C-BB de LARH-03.....	58
<b>Tabela 15</b> - Deslocamento químico de RMN <sup>13</sup> C-DEPT de LARH-05.....	64
<b>Tabela 16</b> - Dados de RMN <sup>13</sup> C-BB 75 de LARH-05.....	65
<b>Tabela 17</b> - Deslocamento químico de RMN <sup>13</sup> C-DEPT de LARH-06.....	70
<b>Tabela 18</b> - Dados de RMN <sup>13</sup> C-BB de LARH-06.....	71
<b>Tabela 19</b> - Dados de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C-BB de LARE-02.....	80
<b>Tabela 20</b> - Dados de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C-BB de LARE-03.....	85
<b>Tabela 21</b> - Dados de RMN <sup>13</sup> C-BB de LARE-04.....	89
<b>Tabela 22</b> - Dados de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C-BB de LARE-05.....	94
<b>Tabela 23</b> - Dados de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C-BB de LAFE-01.....	102
<b>Tabela 24</b> - Dados de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C-BB de LAFE-02.....	106
<b>Tabela 25</b> - Dados de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C-BB, HSQCGS e HMBCGS.....	112

<b>Tabela 26</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da fração LARH-Fh.....	125
<b>Tabela 27</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da fração LARH-Fcl.....	126
<b>Tabela 28</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da fração LARE-Fdc.....	127
<b>Tabela 29</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da fração LAFE-Fcl.....	129
<b>Tabela 30</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da fração LAFE-Fcl.....	130

## LISTA DE FLUXOGRAMAS

<b>Fluxograma 1</b> - Parte experimental dos óleos de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	123
<b>Fluxograma 2</b> - Parte experimental dos constituintes não voláteis de <i>Lippia aff. gracillis</i> .....	132

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>BB</b>	Broad Band decoupling
<b>BHT</b>	Butylated Hidroxy Toluene
<b>CC</b>	Coluna Cromatográfica
<b>CCD</b>	Cromatografia em Camada Delgada
<b>CG</b>	Cromatografia Gasosa
<b>CGL</b>	Cromatografia Gás-Líquido
<b>CIM</b>	Concentração Inibitória Mínima
<b>CL<sub>50</sub></b>	Concentração Letal que mata 50% da população
<b>COSY</b>	COrrrelation SpectroscopY
<b>COSYGS</b>	COrrrelation SpectroscopY Gradient Shield
<i>d</i>	dubleto
<b>DEPT</b>	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
<b>DPPH</b>	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
<i>dd</i>	duplo dubleto
<i>ddd</i>	duplo dubleto dubleto
<b>DMSO</b>	Dimetil sulfoxido
<b>EM</b>	Espectroscopia de Massa
<i>hep</i>	hepteto
<b>HMBC</b>	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
<b>HMBCGS</b>	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity Gradient Shield
<b>HMQC</b>	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
<b>HMQCGS</b>	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence Gradient Shield
<b>IK</b>	Índice de Kovats
<b>IV</b>	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de Acoplamento
<b>LAFE</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato etanólico das Folhas

<b>LAFE - fcl</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato etanólico das Folhas - fração clorofórmio
<b>LAFE - fac</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Hexânico das Folhas - fração acetato de etila
<b>LAFE - fh</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Hexânico das Folhas - fração hexano
<b>LAFE - fme</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Hexânico das Folhas - fração metanol
<b>LAFE - 01</b>	Quercetina
<b>LAFE - 02</b>	Hispidulina
<b>LAFE - 03</b>	3-Metilquercetina
<b>LARE</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Etanólico das Raízes
<b>LARE - fdc</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Etanólico das Raízes - fração diclorometano
<b>LARE - fac</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Etanólico das Raízes - fração acetato de etila
<b>LARE - fh</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Etanólico das Raízes - fração hexano
<b>LARE - fme</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Etanólico das Raízes - fração metanol
<b>LARE - 01</b>	Ácido tetraeicosánoico
<b>LARE - 02</b>	Tecomaquinona
<b>LARE - 03</b>	Microfilaquinona
<b>LARE - 04</b>	Glicosídeo da mistura $\beta$ -sitosterol e estigmasterol
<b>LARE - 05</b>	5-hidroxinafto[2,3b]furan-4,9-quinona
<b>LARH</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Hexânico das Raízes
<b>LARH - fcl</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Hexânico das Raízes - fração clorofórmio
<b>LARH - fac</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Hexânico das

	Raízes - fração acetato de etila
<b>LARH - fet</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Hexânico das Raízes - fração éter de petróleo
<b>LARH - fh</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Hexânico das Raízes - fração hexano
<b>LARH - fme</b>	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Hexânico das Raízes - fração metanol
<b>LARH - 01</b>	Lapachenol
<b>LARH - 02</b>	Friedelinona
<b>LARH - 03</b>	Acetato de 3-epifriedelinila
<b>LARH - 04</b>	Mistura $\beta$ -sitosterol e estigmasterol
<b>LARH - 05</b>	Acetato do ácido oleanólico
<b>LARH - 06</b>	Lantandeno-A
<b>LCMS</b>	Liquid Chromatography Mass Spectrometry
<b><i>m</i></b>	multiplete
<b>p.f.</b>	Ponto de fusão
<b>ppm</b>	Partes por milhão
<b>RMN <sup>13</sup>C</b>	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
<b>RMN <sup>1</sup>H</b>	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
<b><i>s</i></b>	singleto
<b><i>t</i></b>	tripleto
<b>[<math>\alpha</math>]</b>	Rotação específica
<b><math>\delta</math></b>	Deslocamento químico

## RESUMO

Este trabalho descreve a investigação fitoquímica das raízes, folhas e talos de *Lippia affinis gracillis* H.B.K. (Verbenaceae), popularmente conhecida no Nordeste do Brasil como “alecrim de vaqueiro”. A análise cromatográfica dos extratos hexânico e etanólico das raízes e folhas de *Lippia aff. gracillis* permitiu o isolamento e caracterização do lapachenol (**1**), dos triterpenos friedelinona (**2**), acetato de epifriedelanil (**3**), ácido 3-acetil oleanólico (**6**) e lantandeno-A (**7**), das mistura dos esteróides  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol (**4**) e seus glicosídeos (**5**), do ácido graxo ácido tetraeicosanóico (**8**), das quinonas tecomaquinona (**9**), microfila quinona (**10**) e 5-hidroxinafto[2,3b]furan-4,9-quinona (**11**), dos flavonóides quercetina (**12**), hispidulina (**13**) e da 3-metilquercetina (**14**). O estudo da composição química dos óleos essenciais das folhas e talos de *Lippia aff. gracillis* por CGL/EM, apresentou pouca similaridade, sendo os constituintes majoritários das folhas o carvacrol (54,4%) (**59**) e o *p*-cimeno (10,7%) (**53**), enquanto que nos talos foram o carvacrol (30,2%) (**59**) e o biciclogermacreno (16,7%) (**63**). Com os óleos das folhas e talos, o carvacrol e seus derivados metilado e acetilado foram realizados teste para determinação das atividades: Larvicida (*Aedes aegypti*), moluscicida (*Biomphalaria glabrata*), antimicrobiana e antioxidante. Na determinação estrutural dos metabólitos secundários isolados, utilizou-se de técnicas espectroscópicas como infravermelho e ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono-13, incluindo técnicas bidimensionais (COSY, HMQC e HMBC), e ainda comparação com dados espectroscópicos de compostos autênticos descritos na literatura.

## ABSTRACT

This work describes the phytochemical studies of the roots, leaves and stalks of *Lippia affinis gracillis* (Verbenaceae), popularly known in the Brazilian northeast as “alecrim de vaqueiro”. Chromatographic analysis of hexanic and ethanol extracts of the roots and leaves of *Lippia aff. gracillis* allowed the isolation and characterization of lapachenol (**1**), of triterpenes friedelinone (**2**), epifriedelanyl acetate (**3**), oleanóic acid 3-acethyl (**6**) and lantandene-A (**7**), of the mixture steroids  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol (**4**) and their glycosides (**5**), of the fatty acid tetraeicosanoic (**8**), of the quinone tecomaquinone (**9**), microphyllaquinone (**10**) and 5-hydroxynaphtho[2,3b]furan-4,9-quinone (**11**) and flavonoids quercetine (**12**), hispiduline (**13**) and 3-methylquercetine (**14**). The chemical composition of essential oils *Lippia aff. gracillis* was identified by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GCL/MS) study from the leaves and stalks presented similarity small, were major constituents from the leaves the carvacrol (54,4%) (**59**) of the *p*-cymene (10,7%) (**53**), while that in the stalks were the carvacrol (30,2%) (**59**) and biciclogermacrene (16,7%) (**63**). With the essential oils from the leaves and stalks, the carvacrol and derivative methyled and acethyled from the carvacrol had been made the larvicidal activitys (*Aedes aegypti*), molluscicide (*Biomphalaria glabrata*), antibacterial and antioxidant. Structures determinations of all compounds had been established on the basis of spectroscopic techniques such as IR, 1D and 2D NMR (COSY, HMQC, HMBC), as well by comparison with the published data for structurally related compounds.

## 1. INTRODUÇÃO

Durante séculos as plantas foram utilizadas como única fonte de agentes terapêuticos, para os seres humanos. Hoje mesmo com todo avanço tecnológico, as plantas continuam sendo bastante utilizadas na medicina popular e como alvos de estudos científicos para descobertas de novas drogas ou de “inspiração” para o desenvolvimento de novos fármacos sintéticos.

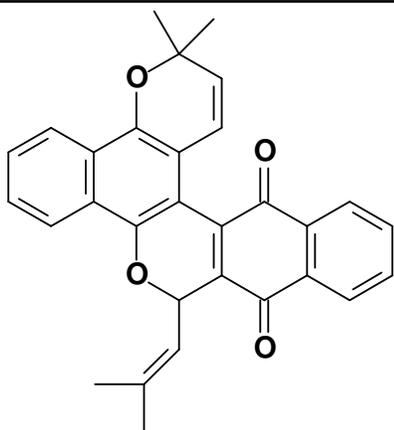
O gênero *Lippia* (Verbenaceae) reúne aproximadamente 200 espécies, que são na sua maioria aromáticas, cujos maiores centros de dispersão se encontram em países das Américas do Sul e Central e em territórios da África Tropical. Várias espécies de *Lippia* são de importância etnofarmacológica, sendo utilizadas principalmente no tratamento de doenças da pele, respiratórias e gastrintestinais (PASCUAL et al., 2001).

Este trabalho descreve o estudo fitoquímico das raízes, talos e folhas da espécie *Lippia affinis gracillis*, conhecida popularmente como “alecrim de vaqueiro”, que teve como principais alvos de estudo: a extração, identificação e ensaios biológicos dos constituintes voláteis de suas folhas e talos e extração, isolamento e determinação estrutural dos metabólitos secundários de suas raízes e folhas (Figura 1).

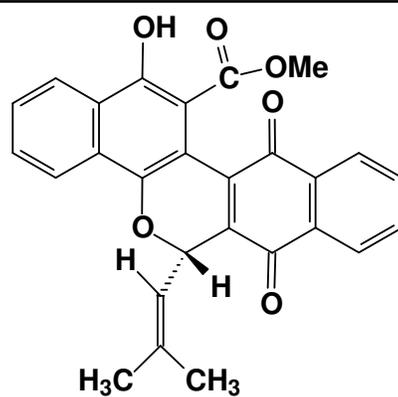
Durante o desenvolvimento deste trabalho foram utilizadas cromatografias de adsorção em coluna (CC), cromatografias de camada delgada (CCD), cromatografias de exclusão (Sephadex-LH20) e técnicas espectroscópicas como: infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H) e de carbono (RMN <sup>13</sup>C) uni e bidimensional (HMQC, HMBC e COSY), além de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM).

Este trabalho está dividido em 8 capítulos: 1º - Introdução, 2º - Considerações Botânicas, 3º - Levantamento Bibliográfico, 4º - Óleos Essenciais, 5º - Determinação Estrutural, 6º - Parte Experimental, 7º - Conclusão e 8º - Constantes Físicas seguido das Referências Bibliográficas.

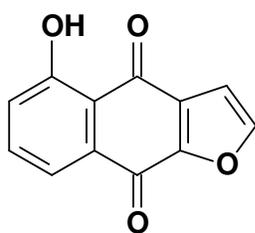




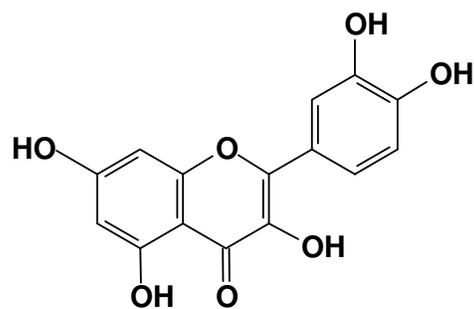
(9)



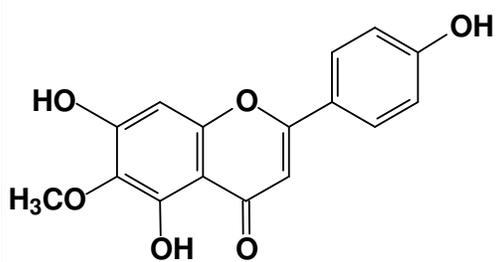
(10)



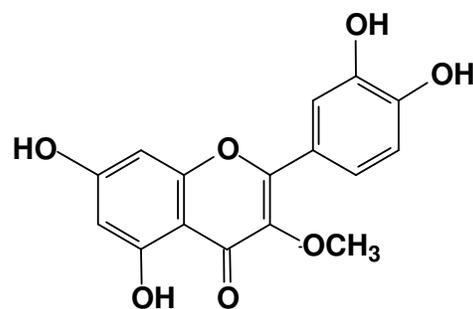
(11)



(12)



(13)



(14)

## 2. CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

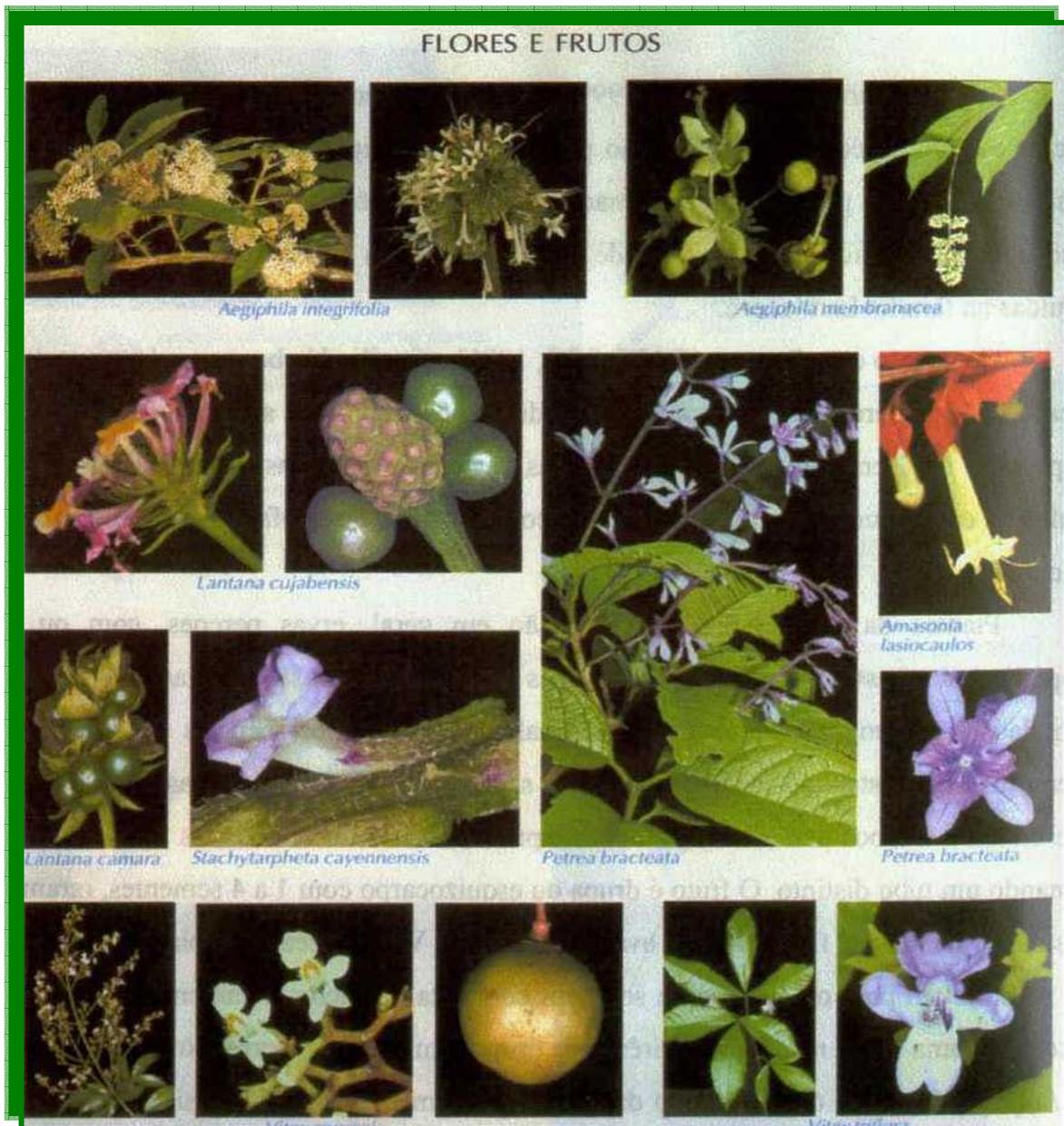
### 2.1 Aspectos Botânicos da Família Verbenaceae

A família Verbenaceae é amplamente distribuída pelos trópicos, principalmente em terras baixas, apresenta aproximadamente 91 gêneros e 1900 espécies. No Brasil são encontrados 16 gêneros e 140 espécies, distribuídos pelos cerrados e caatingas (RIBEIRO et al., 1999).

Algumas espécies são utilizadas como plantas ornamentais, como por exemplo: *Pétrea* (viuvinha), *Lantana* (chumbinho), *Amosonia*. Outras são utilizadas como plantas medicinais, na forma de infusão, pela população como exemplo *Lippia alba* (erva-cidreira), *Stachytarpheta cayennensis* (jervão) e outras (RIBEIRO et al., 1999).

Segundo Barroso e Ribeiro (BARROSO, 1991) (RIBEIRO et al., 1999) as plantas da família Verbenaceae (Fig. 2, p 5), são em geral, ervas perenes, com ou sem xilopódio, subarbustos, arbustos, árvores, raras lianas. As folhas são opostas ou subopostas, verticiladas, geralmente simples, às vezes palmadas. As inflorescências são cimosas ou racemosas, congestas ou laxas. As flores apresentam formas variadas com o cálice apresentando cinco lobos persistentes, a corola apresentando quatro ou cinco lobos, às vezes bilabiada, formando um tubo distinto. O fruto é drupa ou esquizocarpo com 1 a 4 sementes, raramente cápsula bivalvada. Na fase jovem, o ovário de todas as Verbenaceae tem placentas parietais, que se projetam para o centro onde se unem completamente ou incompletamente, formando neste caso, uma fenda mediana no pirênio da drupa. Em alguns gêneros como *Lippia* e *Lantana*, o aglomerado das papilas estigmáticas fica em posição lateral, mais ou menos decorrente. A polinização das Verbenaceae é feita por insetos e aves e a dispersão por animais e, em alguns casos pelo vento.

**Figura 2:** Flores e frutos de espécies da família Verbenaceae (RIBEIRO et al., 1999)



## 2.2 Aspectos Botânicos do Gênero *Lippia*

O gênero *Lippia* reúne aproximadamente 200 espécies, na maioria arbustos aromáticos, cujos maiores centros de dispersão encontra-se em países das Américas do Sul e Central como também em territórios da África Tropical. No território brasileiro ele ocorre principalmente no cerrado e carrascos, onde se destaca no período de floração pelo aspecto chamativo e por seu aroma forte e geralmente agradável (PASCUAL et al., 2001).

Segundo Schauer (SCHAUER, 1847) as espécies deste gênero apresentam as seguintes características:

Apresenta-se quanto ao porte, desde ervas erectas, procumbentes ou reptantes, até subarbustos perenes ou anuais. Muito frequentemente glândulas punctiforme segregadoras de óleo aromático se dispõem com maior ou menor densidade sobre a superfície das folhas, independentemente da presença de pêlos. As folhas são opostas ou verticiladas, simples com margem crenada ou serrada. Suas flores têm corola alva até rubescente, são pequenas ou até muito exíguas e estão reunidas em inflorescências, ora em capítulos hemisféricos ou subangulosos ou tetrágonos, ora em espigas laxas ou racemos flácidos, com brácteas imbricadas, variáveis na sua forma, tamanho e textura. O fruto é uma cápsula biloca, envolvida total ou parcialmente pelo cálice aderente, bivalvo ou íntegro podendo também apresentar nua, sendo geralmente muito pequena.

### 2.3 Aspectos Botânicos da Espécie *Lippia affinis gracillis*

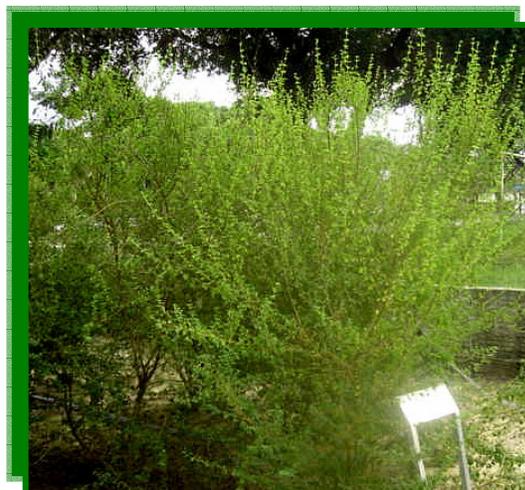
*Lippia aff. gracillis* H. B. K., é um subarbusto lenhoso, caducifólio, pouco comum na flora nordestina. Ocorre com frequência, de forma silvestre, no interior do Estado da Bahia na região de Jacobina e Rui Barbosa. Alcança cerca de 1 m de altura, muito ramificada, de folhas pequenas (1 a 2 cm) e aromáticas de bordas finamente crenado, com cheiro forte e sabor picante. As flores têm corola alva até rubescente, são pequenas ou até muito exíguas e estão reunidas em inflorescências (Fig. 3, p. 7). Suas folhas secas são comercializadas em feiras e mercados do interior da Bahia, sendo conhecidas popularmente como “alecrim de vaqueiro” (Fig. 4, p. 7). Esta espécie é utilizada na medicina popular para vários propósitos principalmente como anti-séptico, antimicrobiano, doenças de garganta entre outras (MATOS, 2000).

A espécie *Lippia aff. gracillis* foi coletada em agosto de 2002 no Horto de Plantas Medicinais da UFC Prof. Francisco J. de Abreu Matos. A Identificação foi realizada pelo Royal Botanic Gardens Herbarium, em Kew Reino Unido, cuja exsicata possui identificação de número #EAC23427.

**Figura 3:** Detalhe das folhas e flores de *Lippia aff. gracillis*



**Figura 4:** Detalhe dos talos e do arbusto de *Lippia aff. gracillis*



### 3 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

#### 3.1 FURANONAFTOQUINONAS OBTIDAS DE PRODUTOS NATURAIS REGISTRADAS NA LITERATURA

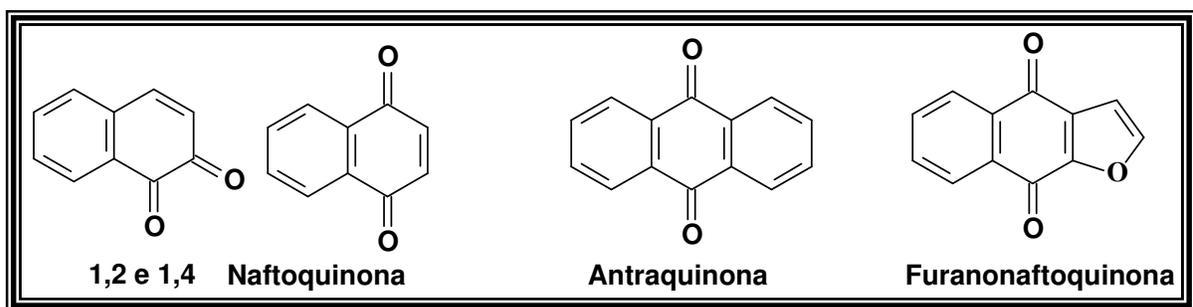
Estudos fotoquímicos realizados com espécies do gênero *Lippia* apresentam uma diversidade de classes de metabólitos secundários, como flavonóides, terpenóides, esteróides, iridóides e seus glicosídeos, quinonas entre outros (COSTA, 2001).

As quinonas apresentam subclasses de acordo com os anéis condensados à sua unidade básica, como exemplos 1,2 e 1,4 naftoquinonas, antraquinonas, furanonaftoquinonas (Fig. 5, p. 9), sendo esta última, a subclasse escolhida para fazer parte do levantamento bibliográfico deste trabalho.

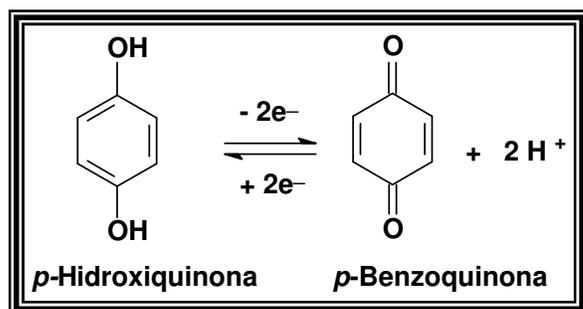
As quinonas são dicetonas conjugadas, que geralmente apresentam coloração intensa e que podem ser obtidas por oxidação de hidroxiquinona, formando como unidade básica a benzoquinona (SOLOMONS, 2006), mostrada na Figura 6. O esqueleto básico de furanonaftoquinonas apresenta um anel furânico condensados as naftoquinonas 1,2 ou 1,4, com numeração oficial mostrada na Figura 7.

Devido as suas relevantes atividades biológicas como antifúngica, antibacteriana, antiinflamatória e principalmente a atividade anticâncer (WAGER et al., 1989), as furanonaftoquinonas foram e continuam sendo alvos de várias sínteses e semi-sínteses, tendo como protótipos as furanonaftoquinonas obtidas de produtos naturais. Os resultados dos testes antitumoral, com as furanonaftoquinonas naturais ou sintéticas, são tão promissores, que na literatura são reportadas várias patentes (IKEGAWA et al., 1988).

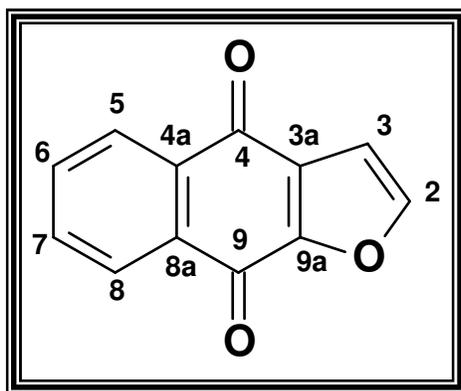
**Figura 5:** Esqueleto básico das subclasses 1,2 e 1,4 naftoquinonas, antraquinonas, furanonaftoquinonas



**Figura 6:** Esquema oxidação e redução da *p*-hidroxiquinona e *p*-benzoquinona



**Figura 7:** Esqueleto básico de furanonaftoquinonas com numeração oficial



De acordo com levantamento bibliográfico foram reportados 33 furanonaftoquinonas, sendo distribuídas nos seguintes gêneros: *Crataegus* 02,

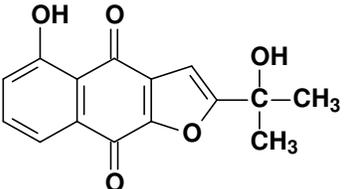
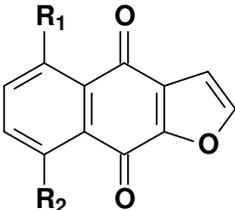
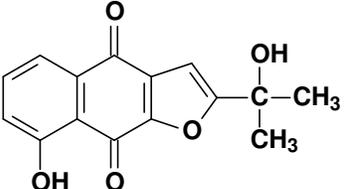
*Lantana* 12, *Lippia* 02, *Newbouldia* 05, *Radernachera* 06 e *Tabebuia* 22 pertencentes às famílias Rosaceae, Verbenaceae e Bignoniaceae (Tabela 1).

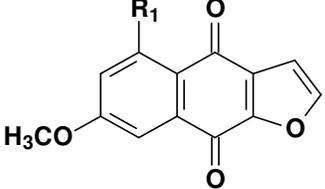
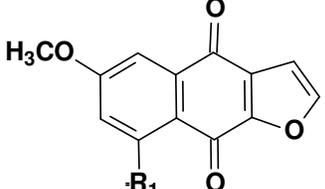
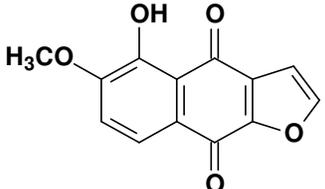
O resultado do levantamento bibliográfico realizado no intervalo 1910 até 2006 no *Chemical Abstract* e na internet (<http://www.webofscience.br> e <http://www.sciencedirect.com>) está resumido na Tabela 2, que mostra as estruturas das furanonaftoquinonas isoladas de plantas, as nomenclaturas, dados de RMN <sup>1</sup>H, nome científico das espécies estudadas e as referências.

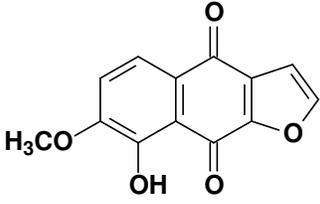
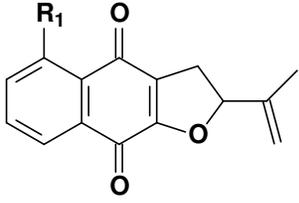
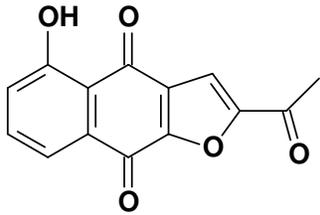
**Tabela 1:** Famílias, gêneros e espécies de plantas que foram encontradas furanonaftoquinonas

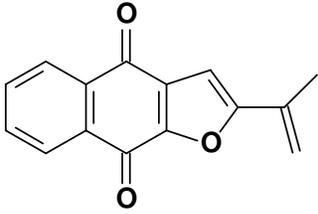
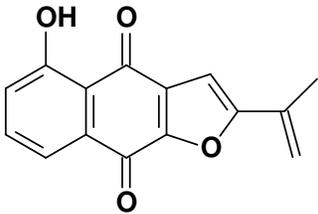
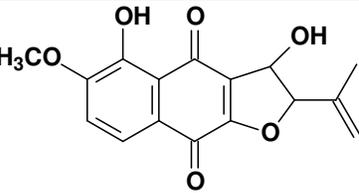
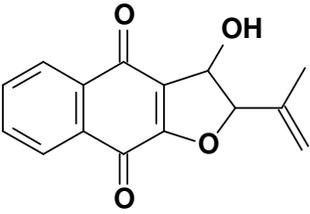
<b>FAMÍLIAS</b>	<b>GÊNEROS</b>	<b>ESPÉCIES</b>	<b>No</b>
Rosaceae	<i>Crataegus</i>	<i>C. pinnatifida</i>	<b>02</b>
Verbenaceae	<i>Lantana</i>	<i>L. achyranthifolia</i>	<b>03</b>
Verbenaceae	<i>Lantana</i>	<i>L. camara</i>	<b>09</b>
Verbenaceae	<i>Lippia</i>	<i>L. microphylla</i>	<b>02</b>
Bignoniaceae	<i>Newbouldia</i>	<i>N. laevis</i>	<b>05</b>
Bignoniaceae	<i>Radernachera</i>	<i>R. sinica</i>	<b>06</b>
Bignoniaceae	<i>Tabebuia</i>	<i>T. avellanadae</i>	<b>08</b>
Bignoniaceae	<i>Tabebuia</i>	<i>T. cassinoides</i>	<b>04</b>
Bignoniaceae	<i>Tabebuia</i>	<i>T. incana</i>	<b>04</b>
Bignoniaceae	<i>Tabebuia</i>	<i>T. ochracea</i>	<b>06</b>
<b>03</b>	<b>06</b>	<b>10</b>	<b>-</b>

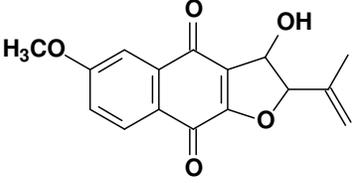
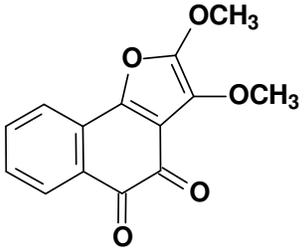
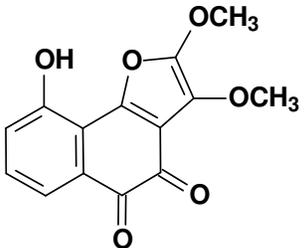
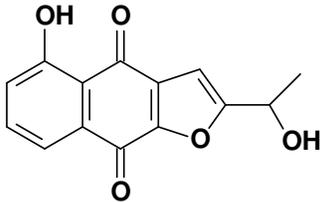
**Tabela 2:** Estruturas, nomenclaturas, dados de RMN <sup>1</sup>H de furanonaftoquinonas registradas na literatura

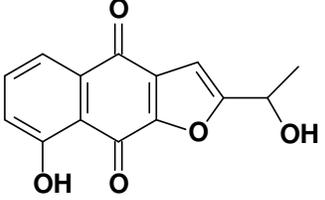
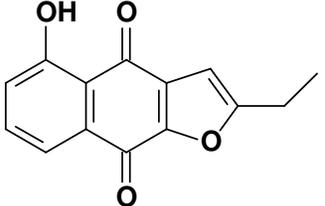
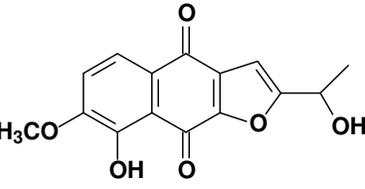
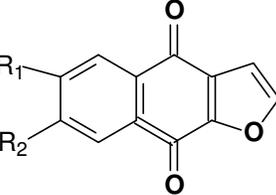
ESTRUTURAS	RMN <sup>1</sup> H (δ ppm, J Hz)	ESPÉCIES	REFERÊNCIAS
 <p>(15) 5-hidroxi-2-hidroxiisopropil nafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(360 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(15): δ = 1,68 (s, 2CH<sub>3</sub>), 6,79 (s, H-3), 7,24 (dd, J = 8,4; 1,2; H-6), 7,59 (dd, J = 8,4; 7,5; H-7), 7,69 (dd, J = 7,5; 1,2; H-8), 12,15 (s, OH).</p>	<p><i>Lantana achyranthifolia</i></p>	<p>ABEYGUNAWARD ENA et al., 1990.</p> <p>GHISALBERTI et al., 2000</p>
 <p>(16) R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = H (17) R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH</p> <p>(16) 5-hidroxi-nafto[2,3-b]furan-4,9-quinona (17) 8-hidroxi-nafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(360 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(16): δ = 6,98 (d, J = 1,7 H-3), 7,27 (dd, J = 8,4; 1,2; H-6), 7,62 (dd, J = 8,4; 6,4; H-7), 7,76 (dd, J = 6,4; 1,2; H-8), 7,77 (d, J = 1,7; H-2), 12,18 (s, OH).</p> <p>(17): δ = 7,00 (d, J = 2,0 H-3), 7,26 (dd, J = 8,4; 1,2; H-7), 7,60 (dd, J = 8,4; 7,4; H-6), 7,74 (d, J = 7,4; H-5), 7,79 (d, J = 2,0; H-2), 12,01 (s, OH).</p>	<p><i>Lantana achyranthifolia</i></p> <p><i>Lantana camara</i></p>	<p>ABEYGUNAWARD ENA et al., 1990.</p> <p>DOMINGUEZ et al., 1983</p> <p>GHISALBERTI et al., 2000</p>
 <p>(18) 8-hidroxi-2-(2'-hidrox isopropil)nafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(360 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(18): δ = 1,68 (s, 2CH<sub>3</sub>), 6,81 (s, H-3), 7,24 (dd, J = 8,4; 1,2; H-7), 7,58 (dd, J = 8,4; 7,5; H-6), 7,69 (dd, J = 7,5; 1,2; H-5), 12,02 (s, OH).</p>	<p><i>Lantana camara</i></p>	<p>ABEYGUNAWARD ENA et al., 1990.</p> <p>GHISALBERTI et al., 2000</p>

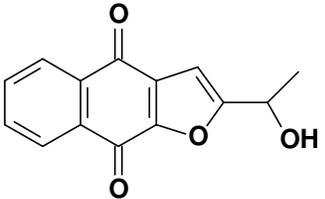
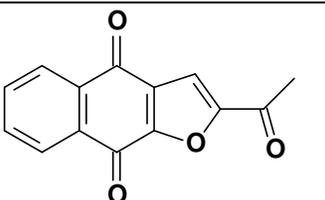
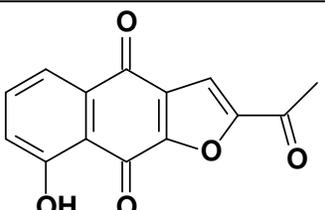
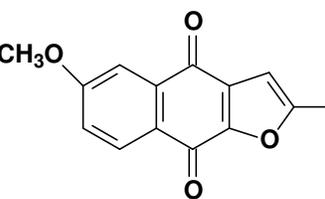
 <p>(19) R<sub>1</sub> = H (20) R<sub>1</sub> = OH</p> <p>(19) 7-metoxinafto[2,3-b]furan-4,9-quinona (20) 5-hidroxi-7-metoxinafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(360 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(19): δ = 3,96 (s, OCH<sub>3</sub>), 6,97 (d, J = 1,9; H-3), 7,18 (dd, J = 8,6; 2,7; H-6), 7,66 (d, J = 2,7; H-8), 7,74 (d, J = 1,9; H-2), 8,12 (d, J = 8,6; H-5). (20): δ = 3,91 (s, OCH<sub>3</sub>), 6,63 (d, J = 2,6; H-6), 6,69 (d, J = 1,8; H-3), 7,33 (d, J = 2,6; H-8), 7,75 (d, J = 1,8; H-2), 12,41 (s, OH).</p>	<p><i>Lantana camara</i></p>	<p>ABEYGUNAWARD ENA et al., 1990. GHISALBERTI et al., 2000</p>
 <p>(21) R<sub>1</sub> = H (22) R<sub>1</sub> = OH</p> <p>(21) 6-metoxinafto[2,3-b]furan-4,9-quinona (22) 8-hidroxi-6-metoxinafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(360 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(21): δ = 3,96 (s, OCH<sub>3</sub>), 6,96 (d, J = 1,9; H-3), 7,17 (dd, J = 8,6; 2,7; H-7), 7,63 (d, J = 2,7; H-5), 7,72 (d, J = 1,9; H-2), 8,15 (d, J = 8,6; H-8). (22): δ = 3,96 (s, OCH<sub>3</sub>), 6,63 (d, J = 2,6; H-6), 6,96 (d, J = 1,8; H-3), 7,31 (d, J = 2,6; H-5), 7,74 (d, J = 1,8; H-2), 12,21 (s, OH).</p>	<p><i>Lantana camara</i></p>	<p>ABEYGUNAWARD ENA et al., 1990. GHISALBERTI et al., 2000</p>
 <p>(23)</p> <p>5-hidroxi-6-metoxinafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(360 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(23): δ = 4,00 (s, OCH<sub>3</sub>), 6,97 (d, J = 1,8; H-3), 7,06 (d, J = 8,4; H-7), 7,74 (d, J = 1,8; H-2), 7,79 (d, J = 8,4; H-8), 12,68 (s, OH).</p>	<p><i>Lantana camara</i></p>	<p>ABEYGUNAWARD ENA et al., 1990. GHISALBERTI et al., 2000</p>

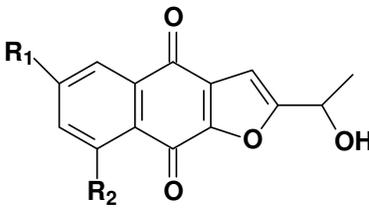
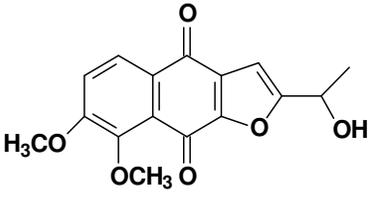
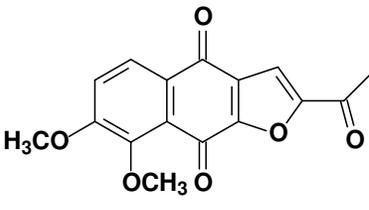
 <p>(24)</p> <p>8-hidroxi-7-metoxinafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(360 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(24): <math>\delta</math> = 3,99 (s, OCH<sub>3</sub>), 6,99 (d, <math>J</math> = 1,8; H-3), 7,07 (d, <math>J</math> = 8,4; H-6), 7,76 (d, <math>J</math> = 8,4; H-5), 7,77 (d, <math>J</math> = 1,8; H-2), 12,47 (s, OH).</p>	<p><i>Lantana camara</i></p>	<p>ABEYGUNAWARD ENA et al., 1990.</p> <p>GHISALBERTI et al., 2000</p>
 <p>(25) R<sub>1</sub> = H</p> <p>(26) R<sub>1</sub> = OH</p> <p>(25) (-)-2,3-dihidro-2-(1'-metil etenil)nafto[2,3-b]-4,9-quinona</p> <p>(26) (-)-2,3-dihidro-5-hidroxi-2-(1'-metiletetil)nafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(60 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(25): <math>\delta</math> = 1,83 (s, CH<sub>3</sub>), 2,98 (dd, <math>J</math> = 9,5; 13,5; H-3) 3,40 (dd, <math>J</math> = 10,5; 13,5; H-3), 5,02 (s, H-2'), 5,16 (s, H-2'), 5,44 (dd, <math>J</math> = 9,5; 10,5; H-2), 7,55 - 8,22 (m, 4H-Ar).</p> <p>(360 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(26): <math>\delta</math> = 1,81 (s, CH<sub>3</sub>), 3,03 (dd, <math>J</math> = 17,4; 8,7; H-3) 3,35 (dd, <math>J</math> = 17,4; 11,0; H-3) 5,02 (m, H-12), 5,14 (s, H-12), 5,45 (dd, <math>J</math> = 11,0; 8,7; H-2), 7,25 (dd, <math>J</math> = 8,0; 0,8; H-6), 7,54 (dd, <math>J</math> = 8,0; 7,3; H-7), 7,64 (dd, <math>J</math> = 7,3; 0,8 H-8) 12,24 (s, OH).</p>	<p><i>Newbouldia laevis</i></p> <p><i>Tabebuia avellanedae</i></p> <p><i>Radermacher a sinica</i></p>	<p>GORMANN et al., 2003</p> <p>WAGNER et al., 1989</p> <p>INOUE et al., 1981</p>
 <p>(27)</p> <p>2-acetil-5-hidroxi-nafto[2,3-b]-4,9-quinona</p>	<p>(360 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(27): <math>\delta</math> = 2,67 (s, CH<sub>3</sub>), 7,60 (s, H-3), 7,33 (dd, <math>J</math> = 8,7; 1,0; H-6), 7,67 (dd, <math>J</math> = 8,2; 7,7; H-7), 7,82 (dd, <math>J</math> = 7,5; 1,0 H-8) 12,13 (s, OH).</p>	<p><i>Newbouldia laevis</i></p> <p><i>Tabebuia avellanedae</i></p> <p><i>Tabebuia avellanedae</i></p>	<p>GORMANN et al., 2003</p> <p>UEDA et al., 1993</p> <p>WAGNER et al., 1989</p>

 <p>(28) 2-(1'-metiletenil)nafto[2,3-b]-4,9-quinona</p>	<p>(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(28): <math>\delta</math> = 2,14 (s, CH<sub>3</sub>), 5,36 (s, H-12) 5,95 (s, H-12), 6,82 (s, H-3), 7,26 (dd, <math>J</math> = 8,2; 0,9; H-6), 7,61 (dd, <math>J</math> = 7,5; 0,9; H-7), 7,76 (dd, <math>J</math> = 7,5; 0,9; H-8) 12,18 (s, OH).</p>	<p><i>Newbouldia laevis</i></p> <p><i>Radermacher a sinica</i></p>	<p>GORMANN et al., 2003</p> <p>INOUE et al. 1981</p>
 <p>(29) 5-hidroxi-2-(1'-metiletenil)nafto[2,3-b]-4,9-quinona</p>	<p>(360 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(29): <math>\delta</math> = 1,65 (d, CH<sub>3</sub>), 5,05 (m, H-10), 2,03 (s, H-10), 6,84 (d, <math>J</math> = 0,7; H-3), 7,26 (dd, <math>J</math> = 8,3; 1,2; H-6), 7,60 (dd, <math>J</math> = 8,3; 7,7; H-7), 7,75 (dd, <math>J</math> = 7,5; 1,2; H-8), 12,17 (s, OH).</p>	<p><i>Newbouldia laevis</i></p>	<p>GORMANN et al., 2003</p>
 <p>(30) 2-(1'-metiletenil)-3,5-dihidroxi-6-metoxidehidronafto[2,3-b]-4,9-quinona</p>	<p>(60 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(30): <math>\delta</math> = 1,80 (s, CH<sub>3</sub> - 1'), 3,98 (s, OCH<sub>3</sub>), 5,03 (s, H-2'), 5,08-5,28 (m, H-2), 5,38 (d, <math>J</math> = 4,0; H-3), 6,97 (d, <math>J</math> = 8,5; H-7), 7,62 (d, <math>J</math> = 8,5; H-8), 12,72 (s, OH).</p>	<p><i>Radermacher a sinica</i></p>	<p>INOUE et al., 1981</p>
 <p>(31) 2-(1'-metiletenil)-3-hidroxi dehidronafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(60 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(31): <math>\delta</math> = 1,80 (s, CH<sub>3</sub> - 1'), 3,20 -3,55 (s, OH), 5,03 (s, H-2'), 5,17 (s, H-2'), 5,19(d, <math>J</math> = 4,5; H-2), 5,42 (d, <math>J</math> = 4,5; H-3), 6,97 (d, <math>J</math> = 8,5; H-7), 7,64-7,88 e 7,93- 8,20 (m, 4H - Ar).</p>	<p><i>Radermacher a sinica</i></p>	<p>INOUE et al., 1981</p>

 <p>(32) 2-(1'-metiletenil)-3-hidroxi-6-metoxidehidronafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(60 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(32): <math>\delta</math> = 1,79 (s, CH<sub>3</sub> - 1'), 3,03 (s, OH), 3,92 (s, OCH<sub>3</sub>), 4,92-5,19 (m, 2H-2' e H-2), 5,39 (d, <math>J</math> = 4,5; H-3), 7,22 (dd, <math>J</math> = 8,5; 3,0, H-7), 7,50 (d, <math>J</math> = 3,0, H-5), 8,04 (d, <math>J</math> = 8,5; H-8).</p>	<p><i>Radermacher a sinica</i></p>	<p>INOUE et al., 1981</p>
 <p>(33) 11,12-dimetoksi-3,4-furan-1,2-naftoquinona</p>	<p>(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(33): <math>\delta</math> = 4,02 (s, 12'-OCH<sub>3</sub>), 4,12 (s, 11'-OCH<sub>3</sub>), 7,45 (dd, <math>J</math> = 7,5; 7,5; H-7), 7,53 (dd, <math>J</math> = 7,5; 7,5; H-6), 7,63 (d, <math>J</math> = 7,5; H-5), 8,13 (d, <math>J</math> = 7,5; H-8)</p>	<p><i>Crataegus pinnatifida</i></p>	<p>MIN et al., 2004</p>
 <p>(34) 11,12-dimetoksi-5-hidroxi-3,4-furan-1,2-naftoquinona</p>	<p>(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(34): <math>\delta</math> = 4,01 (s, 12'-OCH<sub>3</sub>), 4,06 (s, 11'-OCH<sub>3</sub>), 5,67 (s, OH), 7,00 (dd, <math>J</math> = 7,9; 1,0; H-6), 7,26 (dd, <math>J</math> = 7,9; 7,9; H-7), 7,61 (dd, <math>J</math> = 7,5; 1,0; H-8)</p>	<p><i>Crataegus pinnatifida</i></p>	<p>MIN et al., 2004</p>
 <p>(35) (-)-5-hidroxi-2-(1'-hidroxiutil) nafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(35): <math>\delta</math> = 1,65 (d, <math>J</math> = 7,0; CH<sub>3</sub>), 2,58 (s, OH-1'), 5,13 (q, H-1'), 6,85 (s, H-3), 7,25 (dd, <math>J</math> = 8,0; 2,0, H-6), 7,61 (t, <math>J</math> = 8,0, H-7), 7,76 (dd, <math>J</math> = 8,0; 2,0, H-8), 12,18 (s, OH).</p>	<p><i>Tabebuia incana</i> <i>Tabebuia avellanadae</i> <i>Tabebuia avellanadae</i> <i>Tabebuia cassinoides</i></p>	<p>OLIVEIRA et al., 1993 UEDA et al., 1993 WAGNER et al., 1989 RAO et al., 1982</p>

 <p>(36) (-)-8-hidroxi-2-(1'-hidroxietil) nafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(360 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(36): <math>\delta = 1,65</math> (d, <math>J = 6,5</math>; CH<sub>3</sub>), 2,03 (s, OH-1'), 5,05 (m, H-1'), 6,86 (d, <math>J = 0,7</math>; H-3), 7,26 (dd, <math>J = 8,3</math>; 1,2, H-7), 7,59 (dd, <math>J = 8,1</math>; 7,7, H-6), 7,72 (dd, <math>J = 7,2</math>; 1,3, H-5), 12,02 (s, OH).</p>	<p><i>Tabebuia incana</i></p> <p><i>Tabebuia avellanedae</i></p> <p><i>Tabebuia cassinoides</i></p>	<p>OLIVEIRA et al., 1993</p> <p>WAGNER et al., 1989</p> <p>RAO et al., 1982</p>
 <p>(37) 2-etil-5-hidroxi-nafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(60 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(37): <math>\delta = 1,37</math> (t, <math>J = 7,0</math>; CH<sub>3</sub>), 2,87 (q, <math>J = 7,0</math>; 2H-1'), 6,60 (s, H-3), 7,25 (dd, <math>J = 8,0</math>; 2,0, H-6), 7,56 (t, <math>J = 8,0</math>, H-7), 7,75 (dd, <math>J = 8,0</math>; 2,0, H-8), 12,20 (s, OH).</p>	<p><i>Tabebuia incana</i></p>	<p>OLIVEIRA et al., 1993</p>
 <p>(38) (+)-8-hidroxi-2-(1'-hidroxietil)-7-metoxinafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(80 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(38): <math>\delta = 1,64</math> (d, <math>J = 6,5</math>; CH<sub>3</sub>), 3,99 (s, OCH<sub>3</sub>), 4,99 (q, <math>J = 6,5</math>, H-1'), 6,83 (s, H-3), 7,05 (d, <math>J = 8,5</math>; H-7), 7,71 (d, <math>J = 8,5</math>; H-5), 12,47 (s, OH).</p>	<p><i>Tabebuia incana</i></p>	<p>OLIVEIRA et al., 1993</p>
 <p>(39) R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = H (40) R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub></p> <p>(39) 6-metoxinafto[2,3-b]furan-4,9-quinona (40) 7-metoxinafto[2,3-b]</p>	<p>(500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)</p> <p>(39): <math>\delta = 3,99</math> (s, OCH<sub>3</sub>), 7,00 (d, <math>J = 1,5</math>; H-3), 7,22 (dd, <math>J = 8,7</math>; 2,5; H-7), 7,69 (d, <math>J = 2,5</math>; H-5), 7,77 (d, <math>J = 1,5</math>; H-2), 8,15 (d, <math>J = 8,7</math>; H-8).</p> <p>(40): <math>\delta = 3,99</math> (s, OCH<sub>3</sub>), 6,99 (d, <math>J = 1,5</math>; H-3), 7,20 (dd, <math>J = 8,7</math>; 2,5; H-</p>	<p><i>Lippia microphylla</i></p>	<p>SANTOS et al., 2003</p>

furan-4,9-quinona	6), 7,66 (d, $J = 2,5$ ; H-8), 7,75 (d, $J = 1,5$ ; H-2), 8,18 (d, $J = 8,7$ ; H-5).	<i>Lippia microphylla</i>	SANTOS et al., 2003
 <p>(41) (+)-2-(1'-hidroxietil)nafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	(41): $\delta = 1,68$ (d, $J = 7,0$ ; CH <sub>3</sub> ), 4,99 (q, $J = 7,0$ H-1'), 6,87 (s, H-3), 7,70 (m, H-6, H-7), 8,20 (m, H-5, H-8).	<i>Tabebuia avellanedae</i> <i>Tabebuia ochracea</i> <i>Tabebuia cassinoides</i>	WAGNER et al., 1989 ZANI et al., 1991 RAO et al., 1982
 <p>(42) 2-acetilnafto[2,3-b]-4,9-quinona</p>	(42): $\delta = 2,32$ (s, CH <sub>3</sub> ) 5,18 (s, H-3), 7,45 (m, H-6, H-7), 7,80 (m, H-5, H-8).	<i>Tabebuia avellanedae</i> <i>Tabebuia cassinoides</i>	WAGNER et al., 1989 RAO et al., 1982 SAIZARBITORIA et al. 1997
 <p>(43) 2-acetil-8-hidroxinafto[2,3-b]furan - 4,9-quinona</p>	(360 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (43): $\delta = 2,67$ (s, CH <sub>3</sub> ) 7,60 (s, H-3), 7,33 (dd, $J = 8,5$ ; 1,1; H-7), 7,67 (dd, $J = 8,4$ ; 7,6; H-6), 7,79 (dd, $J = 7,5$ ; 1,2; H-5), 11,95 (s, OH).	<i>Tabebuia avellanedae</i>	WAGNER et al., 1989
 <p>(44)</p>	(400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (44): $\delta = 2,67$ (s, CH <sub>3</sub> ), 3,99 (s, OCH <sub>3</sub> ), 7,21 (dd, $J = 3,9$ ; H-7), 7,59 (s, H-3), 7,67 (d, $J = 3,0$ ; H-5), 8,20 (d, $J = 9$ ; H-8).	<i>Tabebuia ochracea</i>	ZANI et al., 1991

<p>2-acetil-6-metoxinafto [2,3-b]furan-4,9-quinona</p>			
 <p>(45) <math>R_1 = OCH_3, R_2 = H</math> (46) <math>R_1 = H, R_2 = OCH_3</math></p> <p>(45) 2-(1'-hidroxietyl) -6-metoxinafto[2,3-b]furan-4,9-quinona (46) 2-(1'-hidroxietyl)-8-metoxinafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(400 MHz, <math>CDCl_3</math>)</p> <p>(45): <math>\delta = 1,50 - 1,63</math> (s, OH-1'), 1,65 (d, <math>J = 7,0</math>; <math>CH_3</math>), 3,95 (s, <math>OCH_3</math>), 5,17 (q, H-1'), 6,80 (s, H-3), 7,17 (dd, <math>J = 3,9</math>; H-7), 7,61 (d, <math>J = 3,0</math>; H-5), 8,13 (d, <math>J = 9</math>; H-8).</p> <p>(250 MHz, <math>CDCl_3</math>)</p> <p>(46): <math>\delta = 1,66</math> (d, <math>J = 6,5</math>; <math>CH_3</math>), 2,22 – 2,38 (s, OH-1') 4,02 (s, <math>OCH_3</math>), 5,02 (q, H-1'), 6,78 (s, H-3), 7,29 (d, <math>J = 8,5</math>; H-7), 7,68 (dd, <math>J = 8,5</math>; H-6), 7,82 (d, <math>J = 8,5</math>; H-5).</p>	<p><i>Tabebuia ochracea</i></p> <p><i>Tabebuia ochracea</i></p>	<p>ZANI et al, 1991</p> <p>ZANI et al, 1991</p>
 <p>(47)</p> <p>2-(1'-hidroxietyl)-7,8-dimetoksi nafto[2,3-b]furan-4,9-quinona</p>	<p>(400 MHz, <math>CDCl_3</math>)</p> <p>(47): <math>\delta = 1,62</math> (d, <math>J = 7,0</math>; <math>CH_3</math>), 2,33 – 2,50 (s, OH-1') 3,92 (s, <math>OCH_3</math>), 3,98 (s, <math>OCH_3</math>), 5,02 (q, H-1'), 6,77 (s, H-3), 7,15 (d, <math>J = 9,0</math>; H-5), 8,00 (d, <math>J = 9</math>; H-6).</p>	<p><i>Tabebuia ochracea</i></p>	<p>ZANI et al, 1991</p>
 <p>(48)</p> <p>2-acetil-7,8-dimetoxinafto</p>	<p>(400 MHz, <math>CDCl_3</math>)</p> <p>(48): <math>\delta = 2,61</math> (s, <math>CH_3</math>), 3,97 (s, <math>OCH_3</math>), 4,00 (s, <math>OCH_3</math>), 7,20 (d, <math>J = 9,0</math>; H-5), 7,57 (s, H-3), 7,67 (d, <math>J = 3,0</math>; H-5), 8,08 (d, <math>J = 9</math>; H-6).</p>	<p><i>Tabebuia ochracea</i></p>	<p>ZANI et al, 1991</p>

[2,3-b]furan-4,9-quinona			
--------------------------	--	--	--

## **4.1. CONSTITUINTES VOLÁTEIS DE *LIPPIA AFFINIS GRACILLIS***

### **4.1.1. Extração dos óleos essenciais**

Os óleos essenciais das folhas e dos talos de *Lippia aff. gracillis*, foram extraídos por hidrodestilação, em aparelho doseador do tipo Clevenger (Itens 6.4.1 p. 119).

### **4.1.2. Análise e identificação dos constituintes dos óleos essenciais**

Os constituintes voláteis das folhas e dos talos foram analisados por CG-EM (cromatografia gás-líquido acoplada a espectrometria de massas) e a identificação realizada por pesquisas em biblioteca de padrões, comparação dos índices de Kovats e por comparação de espectros de massas registrados na literatura (Adams, 2001). Os percentuais de cada constituinte além do índice de Kovats experimental estão relacionados na Tabela 3, p. 23.

As amostras dos óleos das folhas e talos apresentaram pouca similaridade, sendo os constituintes majoritários das folhas o carvacrol (54,4%) e o *p*-cimeno (10,7%) (Matos et al, 2000), enquanto que nos talos foram o carvacrol (30,2%) e o biciclogermacreno (16,7%). O rendimento quantitativo de óleo obtido das folhas (4,5 g/Kg) foi bastante superior, aproximadamente de 20 vezes maior, em relação quantidade de óleo extraído dos talos (0,24 g/Kg).

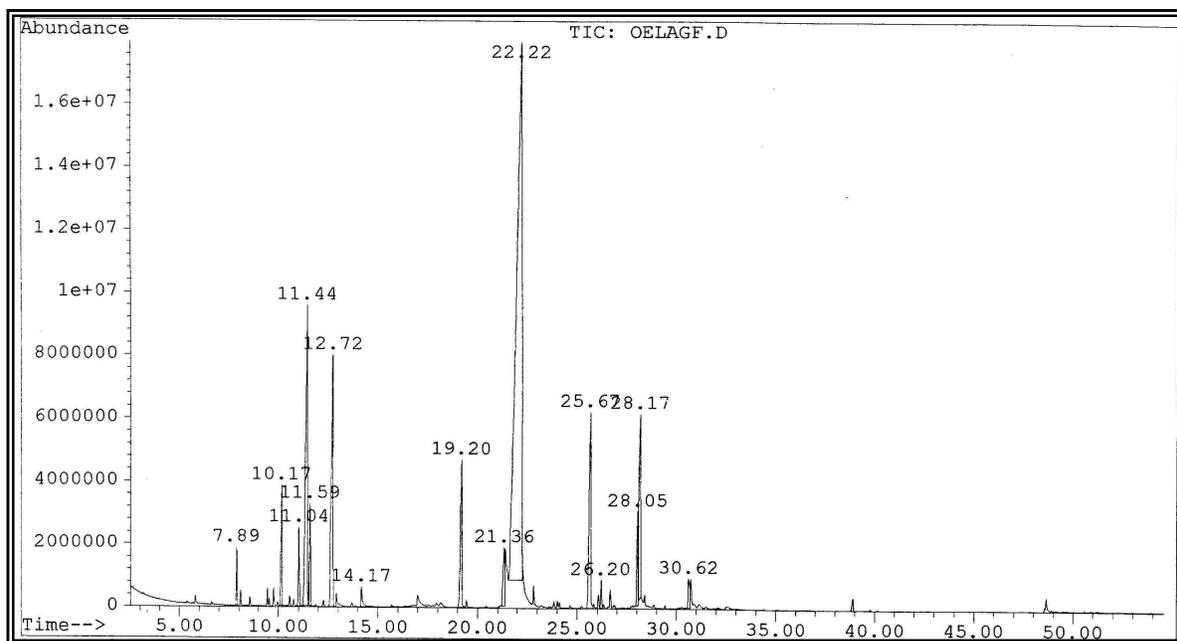
Os cromatogramas obtidos dos óleos essenciais das folhas e dos talos estão mostrados, respectivamente, nas Figuras 8 e 9, p. 24. Os espectros de massas dos constituintes identificados das folhas e talos são apresentados nas Figuras 10 a 32, p. 25 a 32 .

**Tabela 3:** Constituintes voláteis das folhas e talos de *Lippia aff. gracillis*

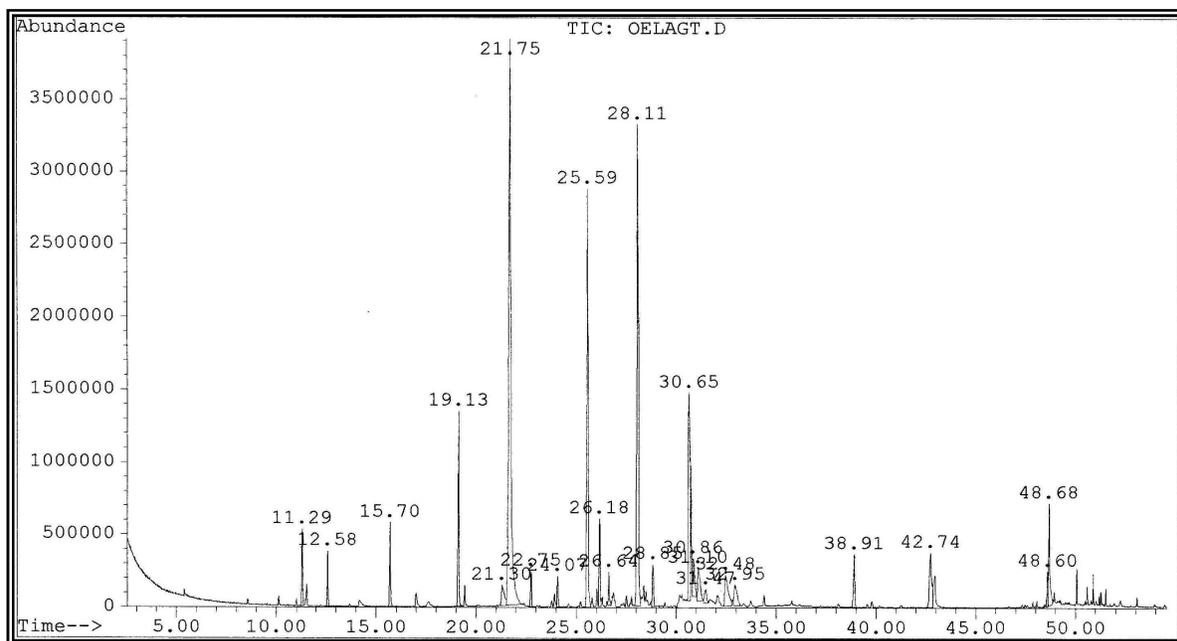
<b>Substâncias</b>	<b>IK*</b>	<b>Teor Folhas (%)</b>	<b>Teor Talos (%)</b>
$\alpha$ -tujeno	931	0,8	-
$\beta$ -mirceno	991	2,1	-
$\alpha$ -terpineno	1018	1,6	-
<i>p</i> -cimeno	1026	10,7	-
<i>o</i> -cimeno	1027	-	1,4
1,8-cineol	1033	1,6	-
$\gamma$ -terpineno	1060	8,0	1,1
linalool	1098	0,5	-
cânfora	1146	-	1,9
metil timol	1233	3,9	4,6
timol	1293	1,8	-
carvacrol	1299	54,4	30,2
$\alpha$ -copaeno	1377	-	0,7
<i>trans</i> -cariofileno	1419	6,1	12,8
(+)-aromadendreno	1441	0,6	2,1
$\alpha$ -humuleno	1455	-	0,8
3-metoxi carvacrol	1481	1,9	-
biciclogermacreno	1500	5,1	16,7
$\delta$ -cadineno	1523	-	1,1
(-)-espatulenol	1578	-	8,3
globulol	1585	-	1,7
viridiflorol	1593	-	1,9
espatulenol	1609	0,9	2,4
Total dos teores	-	100	87,7
Rendimento da extração	-	0,5	0,02

IK\* Índice de Kovats experimental

**Figura 8:** Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Lippia aff. gracillis*



**Figura 9:** Cromatograma do óleo essencial dos talos de *Lippia aff. gracillis*



### 4.1.3. Espectros de massas dos constituintes do óleo essencial das folhas de *Lippia aff. gracillis*.

Figura 10: Espectro de massas do  $\alpha$ -tujeno (49)

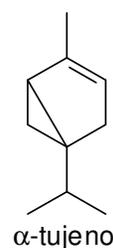
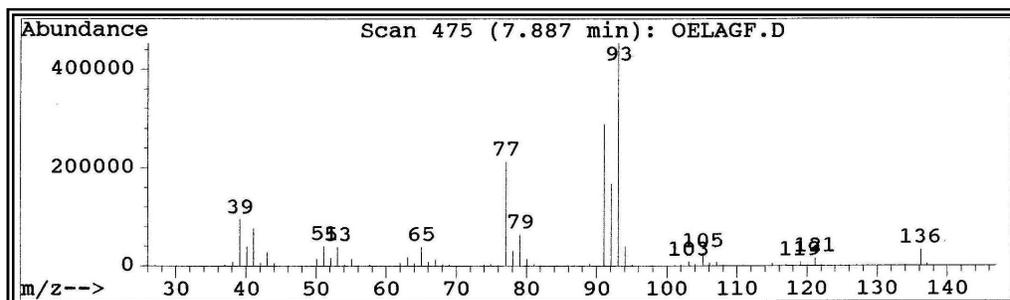


Figura 11: Espectro de massas do  $\beta$ -mirceno (50)

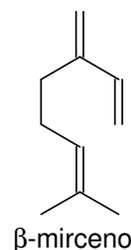
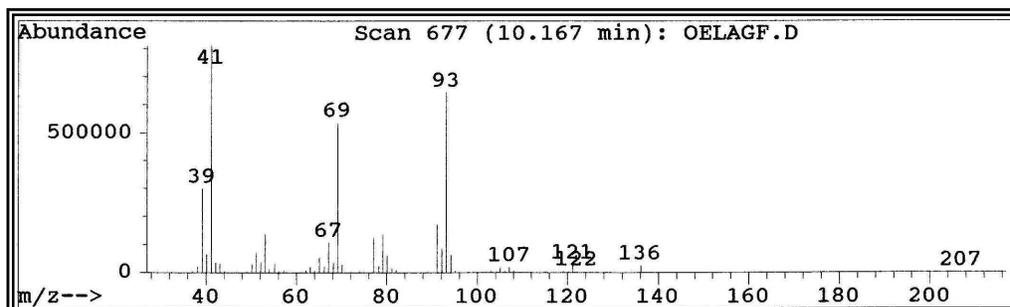
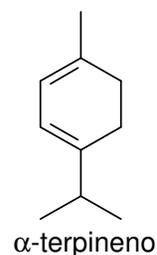
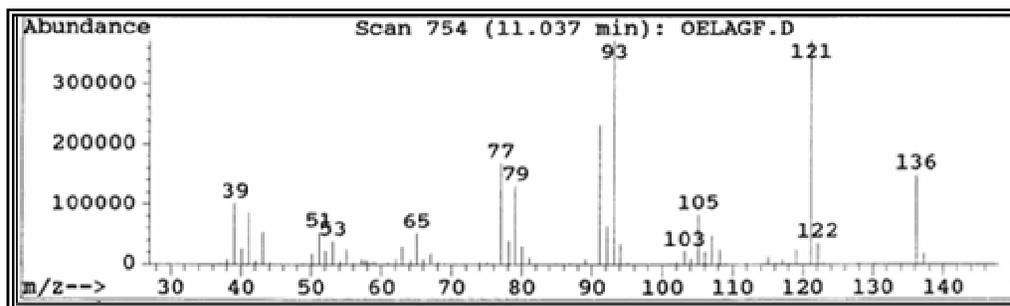
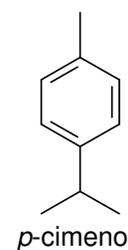
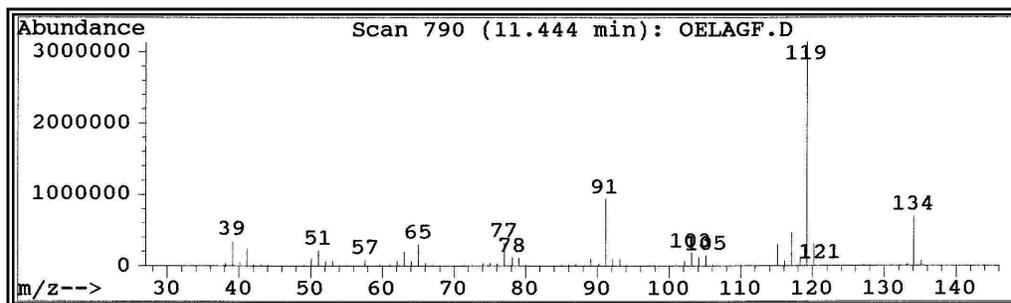


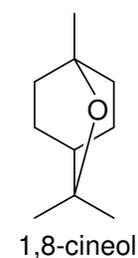
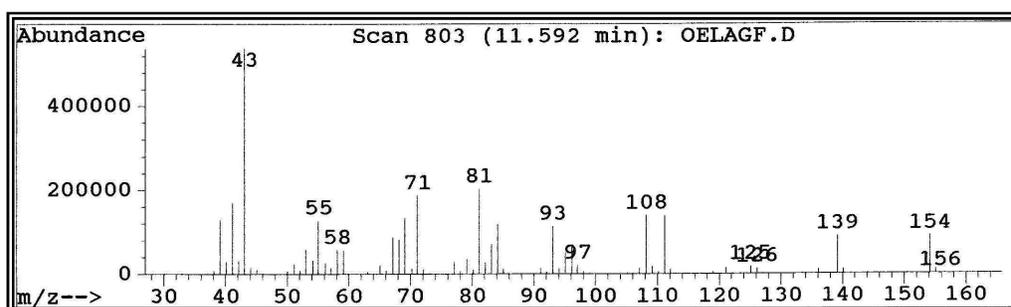
Figura 12: Espectro de massas do  $\alpha$ -terpineno (51)



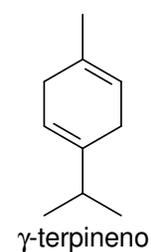
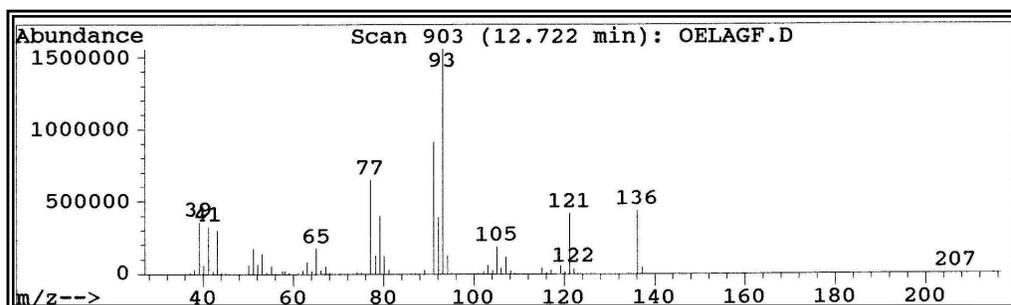
**Figura 13:** Espectro de massas do *p*-cimeno (52)



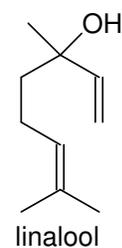
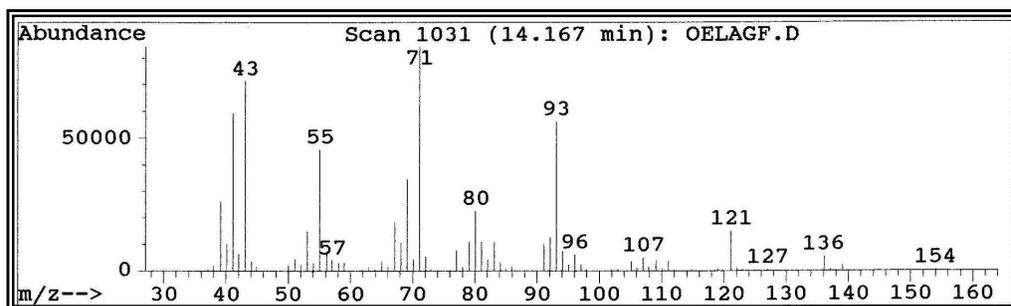
**Figura 14:** Espectro de massas do 1,8-cineol (53)



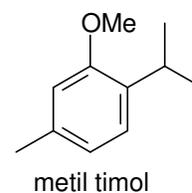
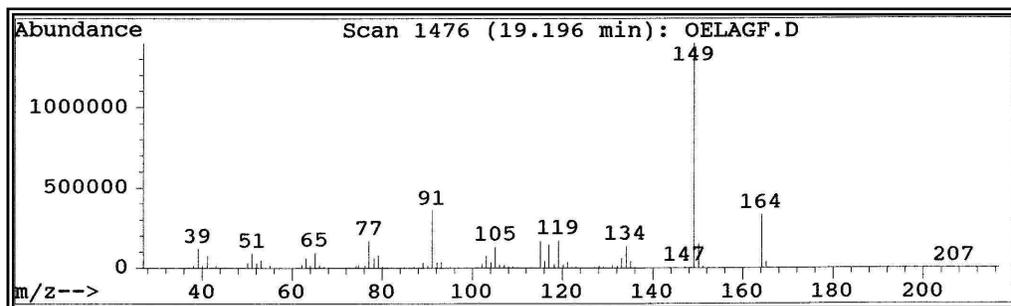
**Figura 15:** Espectro de massas do  $\gamma$ -terpineno (54)



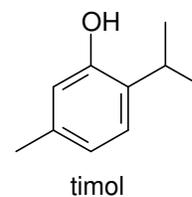
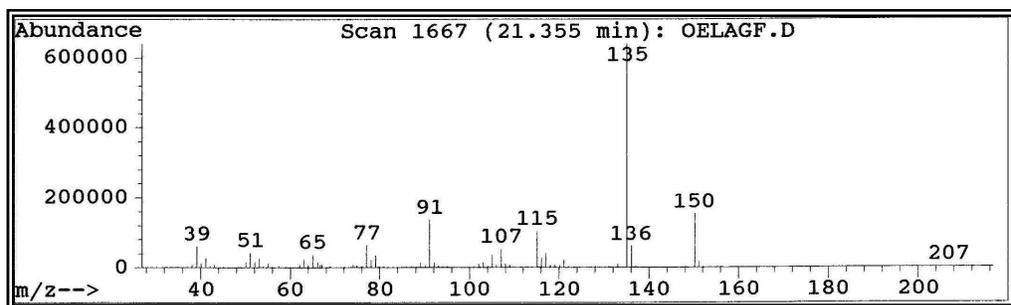
**Figura 16:** Espectro de massas do linalool (55)



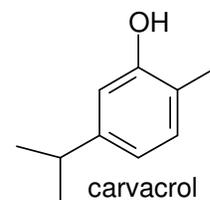
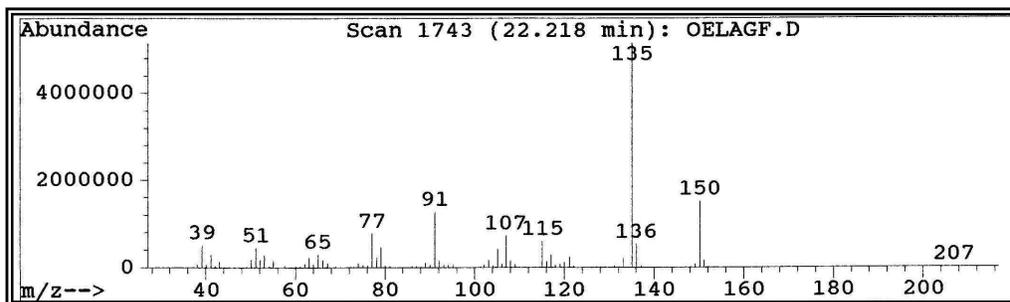
**Figura 17:** Espectro de massas do metil timol (56)



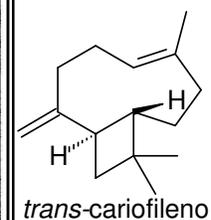
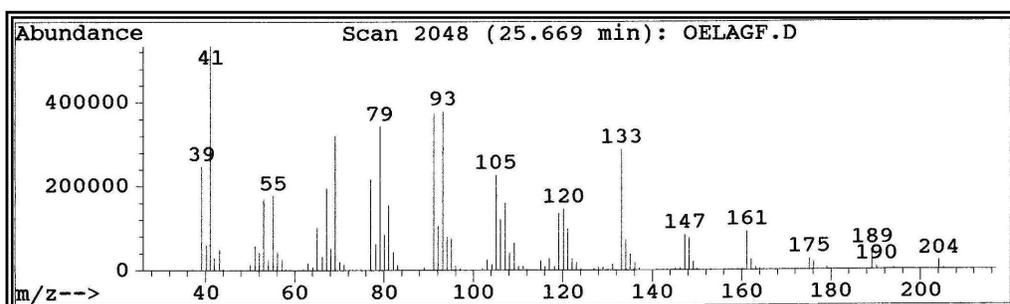
**Figura 18:** Espectro de massas do timol (57)



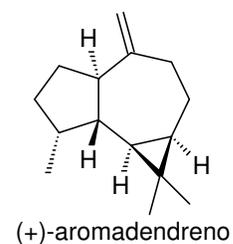
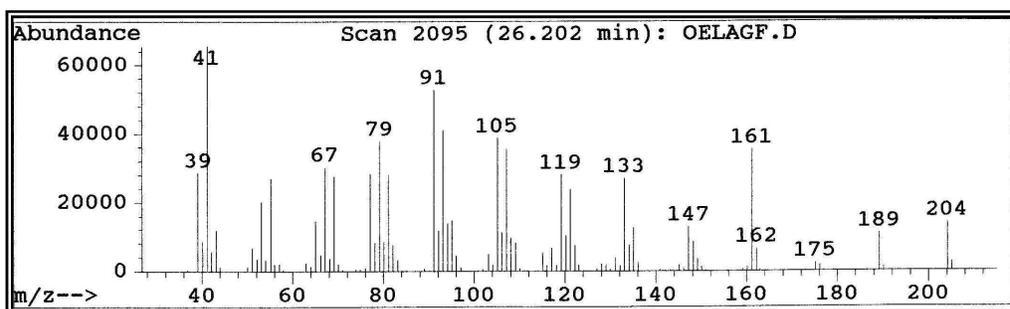
**Figura 19:** Espectro de massas do carvacrol (58)



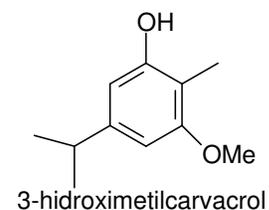
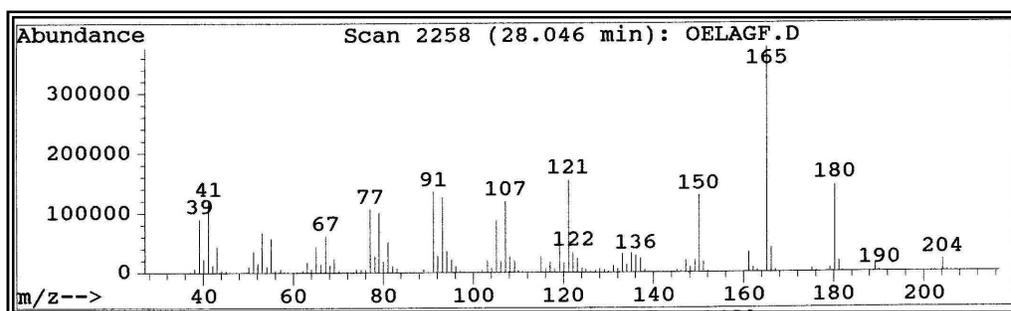
**Figura 20:** Espectro de massas do *trans*-cariofileno (59)



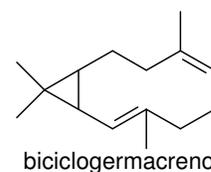
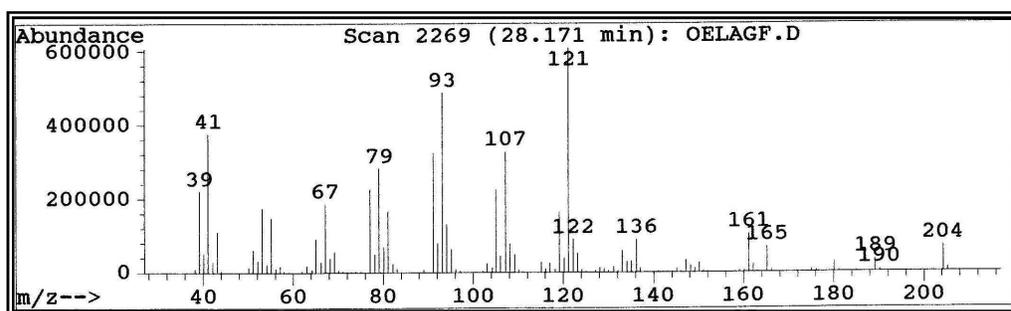
**Figura 21:** Espectro de massas do (+)-aromadendreno (60)



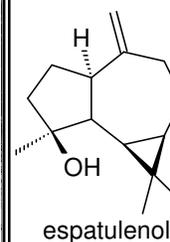
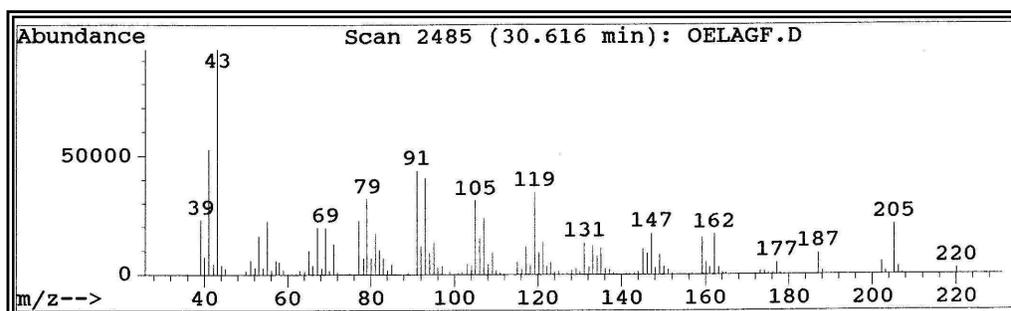
**Figura 22:** Espectro de massas do 3-metoxi carvacrol (61)



**Figura 23:** Espectro de massas do biclogermacreno (62)



**Figura 24:** Espectro de massas do espatulenol (63)



#### 4.1.4. Espectros de massas dos constituintes do óleo essencial dos talos de *Lippia aff. gracillis*.

Figura 25: Espectro de massas do *o*-cimeno (64)

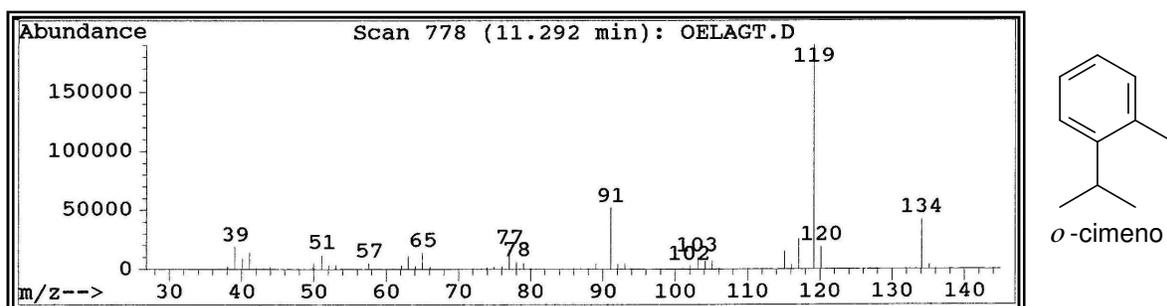


Figura 26: Espectro de massas da cânfora (65)

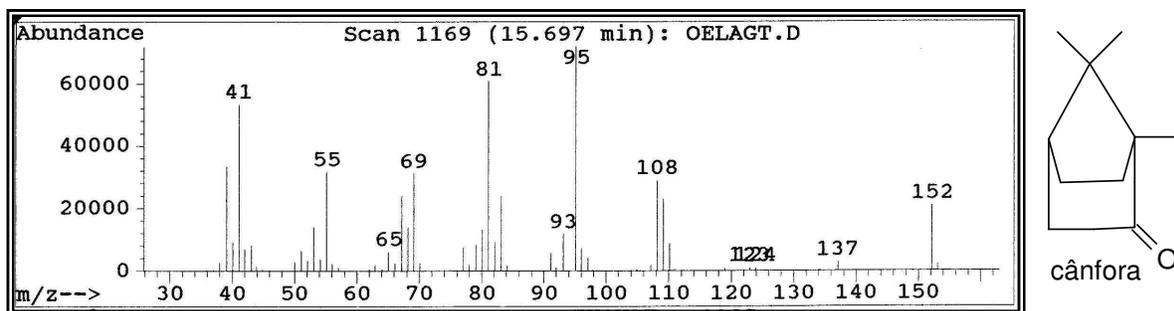
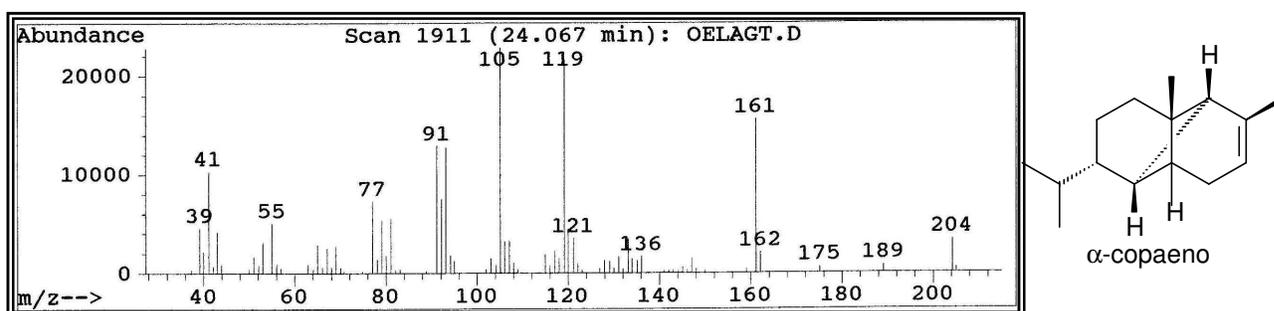
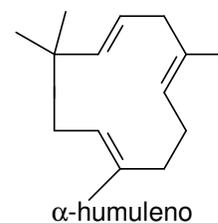
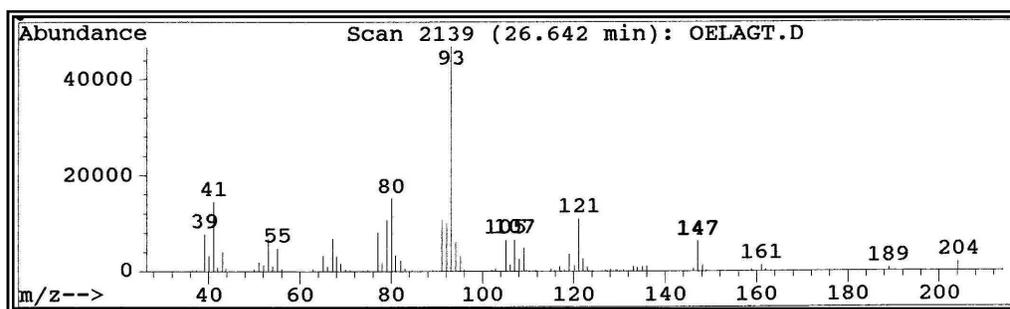


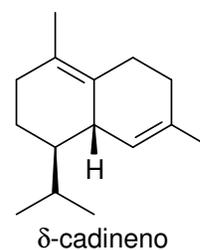
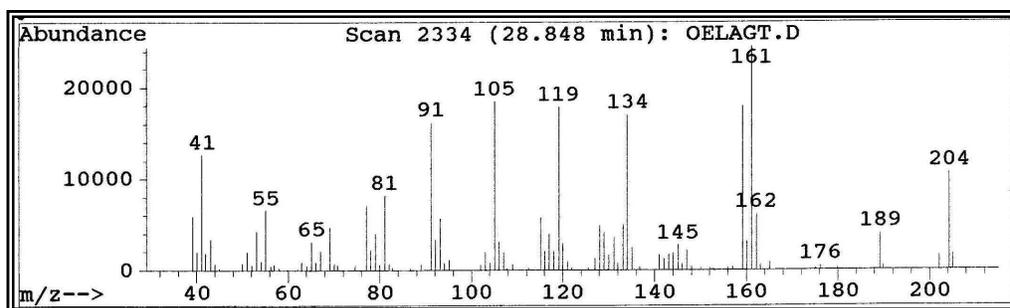
Figura 27: Espectro de massa do  $\alpha$ -copaeno (66)



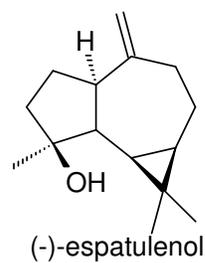
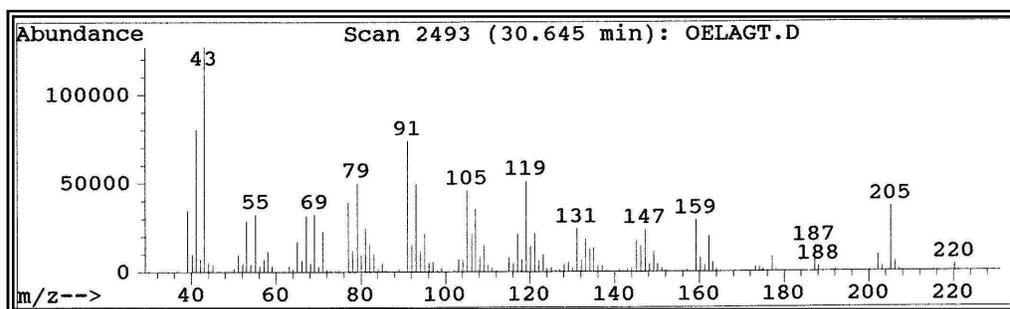
**Figura 28:** Espectro de massa do  $\alpha$ -humuleno (67)



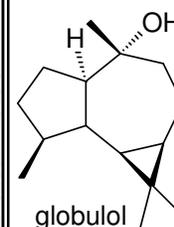
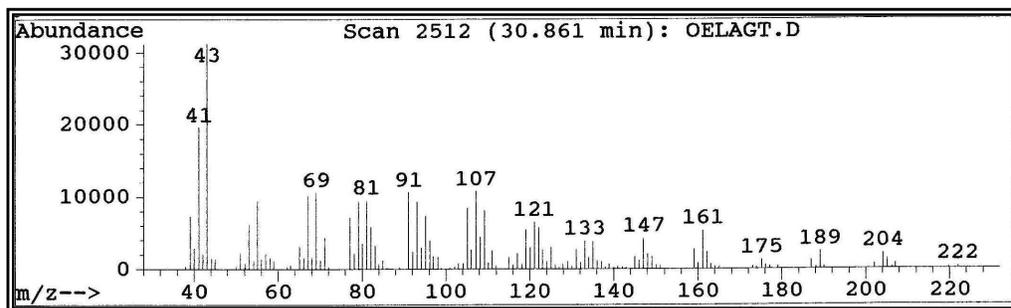
**Figura 29:** Espectro de massa do  $\delta$ -cadineno (68)



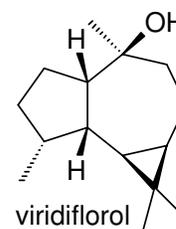
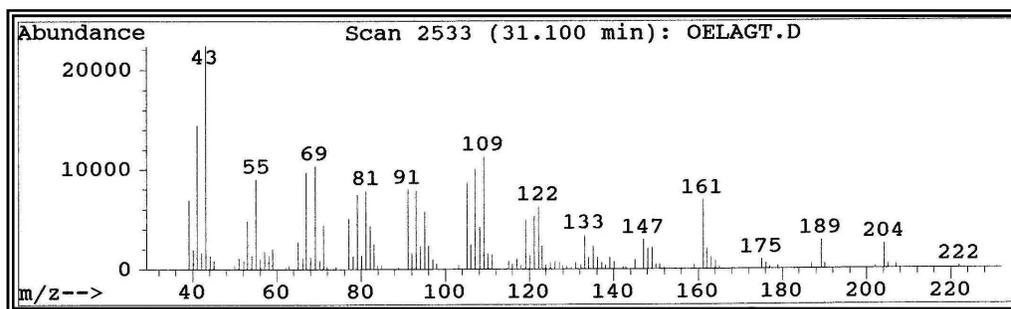
**Figura 30:** Espectro de massa do (-)-espatulenol (69)



**Figura 31:** Espectro de massa do globulol (70)



**Figura 32:** Espectro de massa do viridiflorol (71)



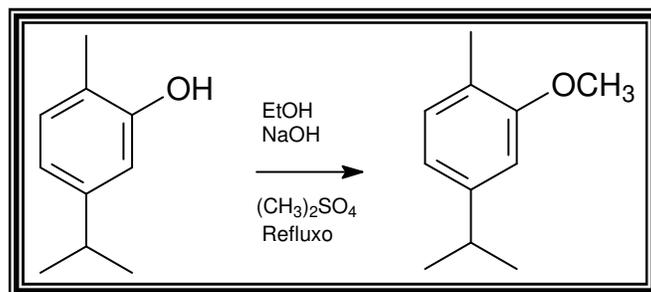
## 4.2 MODIFICAÇÕES ESTRUTURAIS DO CARVACROL

As análises dos cromatogramas e dados dos espectros de massas revelaram o carvacrol, como constituinte majoritário dos óleos essenciais das folhas (54,4%) e dos talos (30,2%) de *Lippia aff. gracillis*, justificando assim, as modificações na estrutura do carvacrol puro, para posteriores testes biológicos.

### 4.2.1 Metilação do carvacrol

A metilação do grupo hidroxila (-OH) do carvacrol foi feita utilizando como agente metilante sulfato de dimetila (Itens 6.5.1, p. 120), modificando o grupamento fenólico para a função éter, com rendimento de 92% (Fig. 33). A confirmação da obtenção do derivado do carvacrol foi realizada por comparação dos dados espectroscópicos de CG-EM, IV, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (Fig. 35 a 46) do derivado, com os dados espectroscópicos do carvacrol.

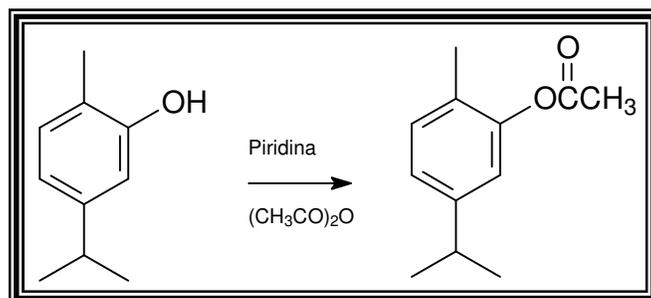
**Figura 33:** Metilação do carvacrol



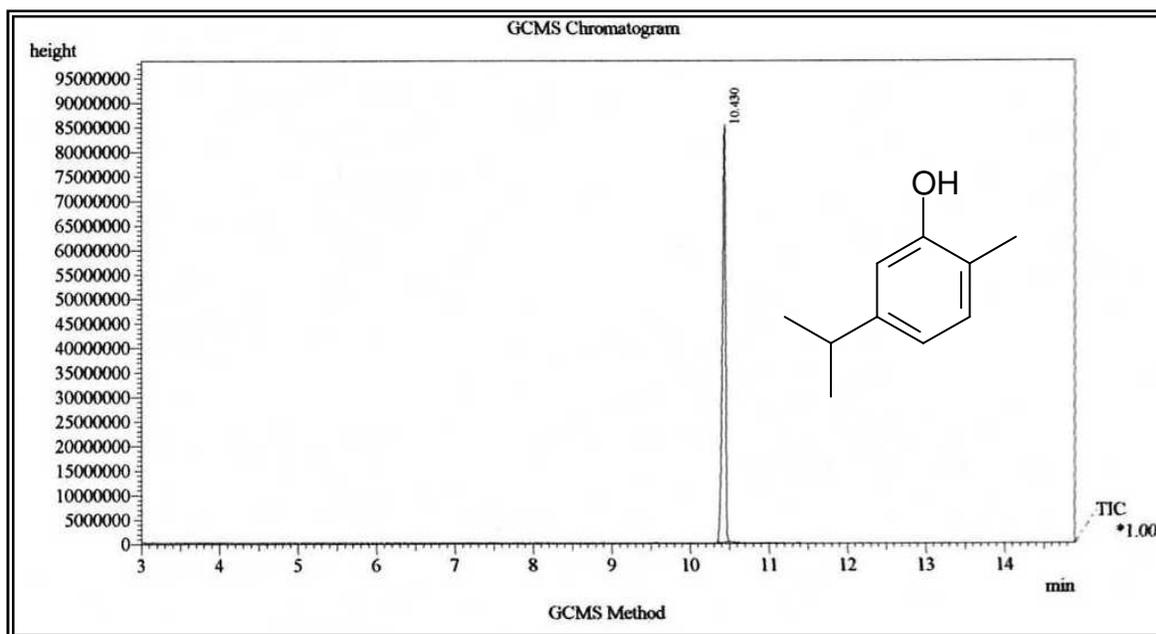
### 4.2.2 Acetilação do carvacrol

O carvacrol foi acetilado utilizando a mistura (2:1) de anidrido acético e piridina (Itens 6.5.2, p. 120) formando o respectivo éster, com rendimento de 96% (Fig. 34) e a confirmação da obtenção do derivado do carvacrol foi realizada por comparação dos dados espectroscópicos de CG-EM, IV, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (Fig. 35 a 46) do derivado, com os dados espectroscópicos do carvacrol.

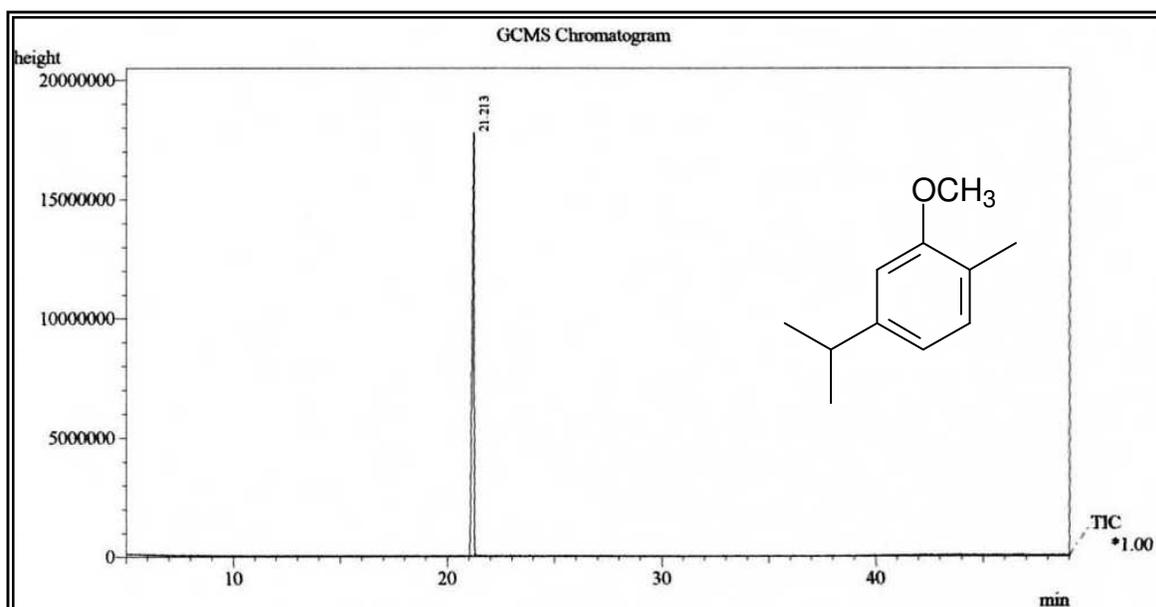
**Figura 34:** Acetilação do carvacrol



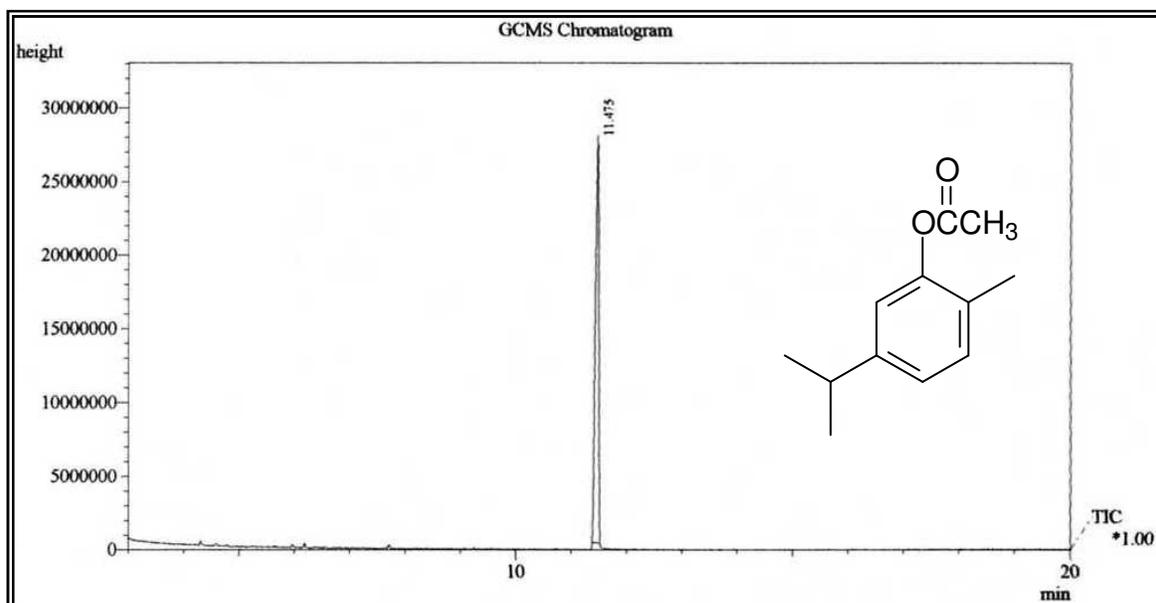
**Figura 35:** Cromatograma do carvacrol



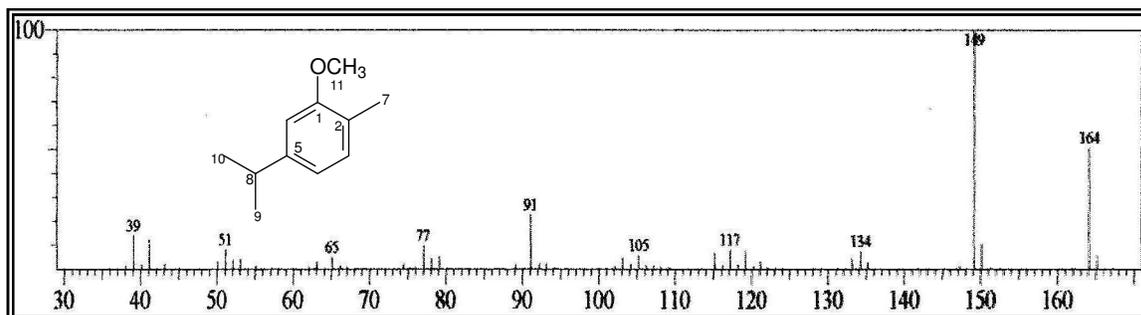
**Figura 36:** Cromatograma do carvacrol metilado



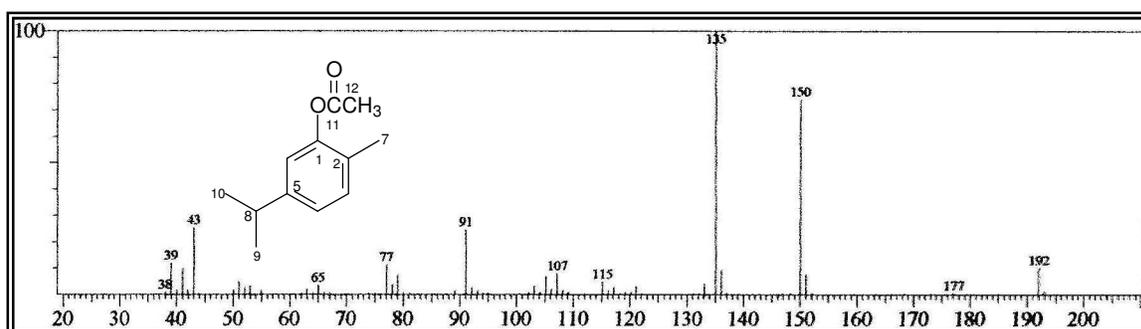
**Figura 37:** Cromatograma do carvacrol acetilado



**Figura 38:** Espectro de massas do carvacrol metilado



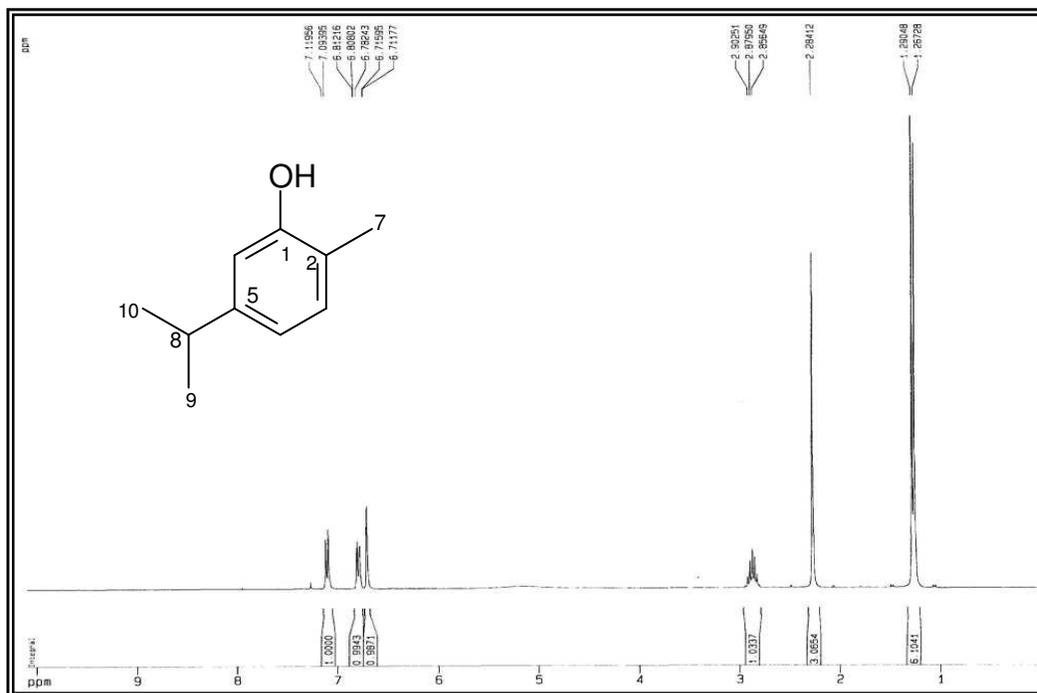
**Figura 39:** Espectro de massas do carvacrol acetilado



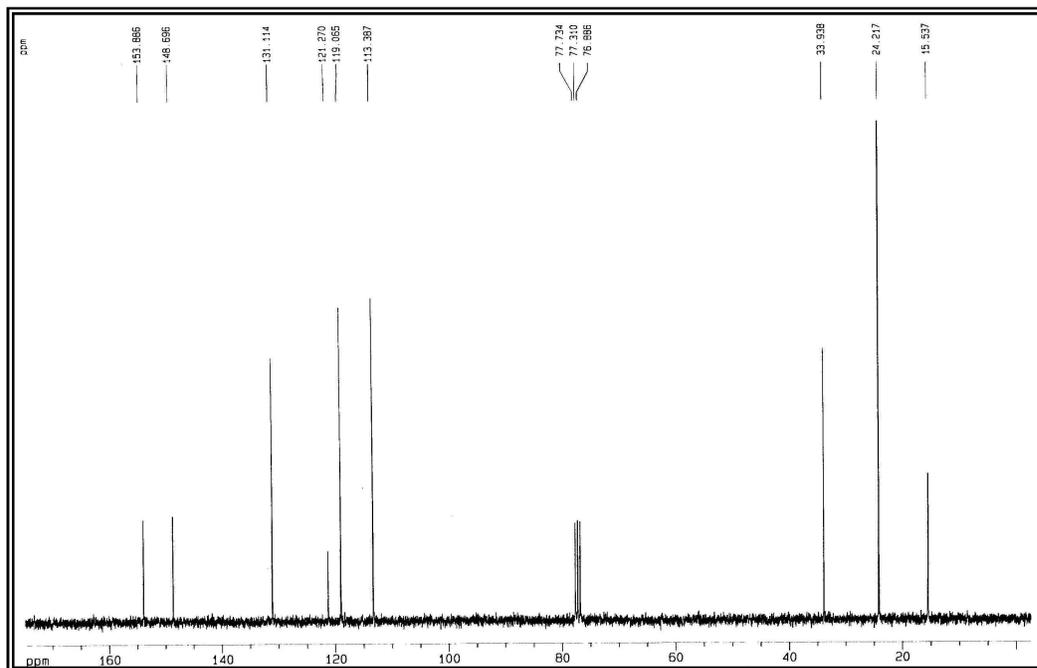
**Tabela 4:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz/  $\text{CDCl}_3$ ) e RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz/  $\text{CDCl}_3$ ) do carvacrol, carvacrol metilado e carvacrol acetilado

C	Carvacrol		Carvacrol metilado		Carvacrol acetilado	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
$(\delta \text{ ppm e } J \text{ Hz})$		$(\delta \text{ ppm e } J \text{ Hz})$		$(\delta \text{ ppm e } J \text{ Hz})$		
1	-	153,9	-	157,9	-	149,6
2	-	121,3	-	124,1	-	127,3
3	7,1 (d 7,7)	131,1	7,1 (d 7,5)	130,1	7,2 (d 7,8)	131,0
4	6,8 (dd 7,7; 2,2)	119,1	6,8 (dd 7,5; 1,3)	118,2	7,0 (dd 7,8; 1,3)	124,3
5	-	148,7	-	148,1	-	148,3
6	6,7 (d 2,2)	113,1	6,8 (d 1,3)	108,6	6,9 (d 1,3)	120,0
7	2,3 (s)	15,5	2,3 (s)	16,0	2,3 (s)	15,9
8	2,9 (sep)	33,9	3,0 (sep)	34,4	2,9 (sep)	33,8
9	1,3 (d 7,0)	24,2	1,4 (d 6,9)	24,3	1,3 (d 7,0)	24,1
10	1,3 (d 7,0)	24,2	1,3 (d 6,9)	24,3	1,3 (d 7,0)	24,1
11	-	-	3,9 (s)	55,3	-	169,4
12	-	-	-	-	2,2 (s)	21,0

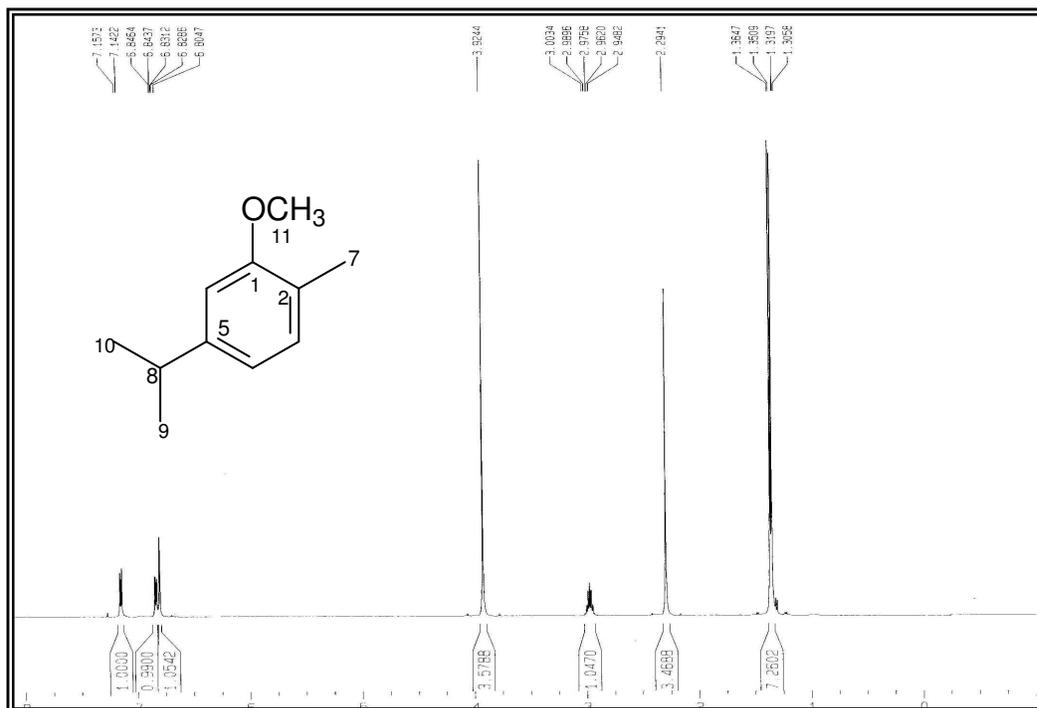
**Figura 40:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do carvacrol



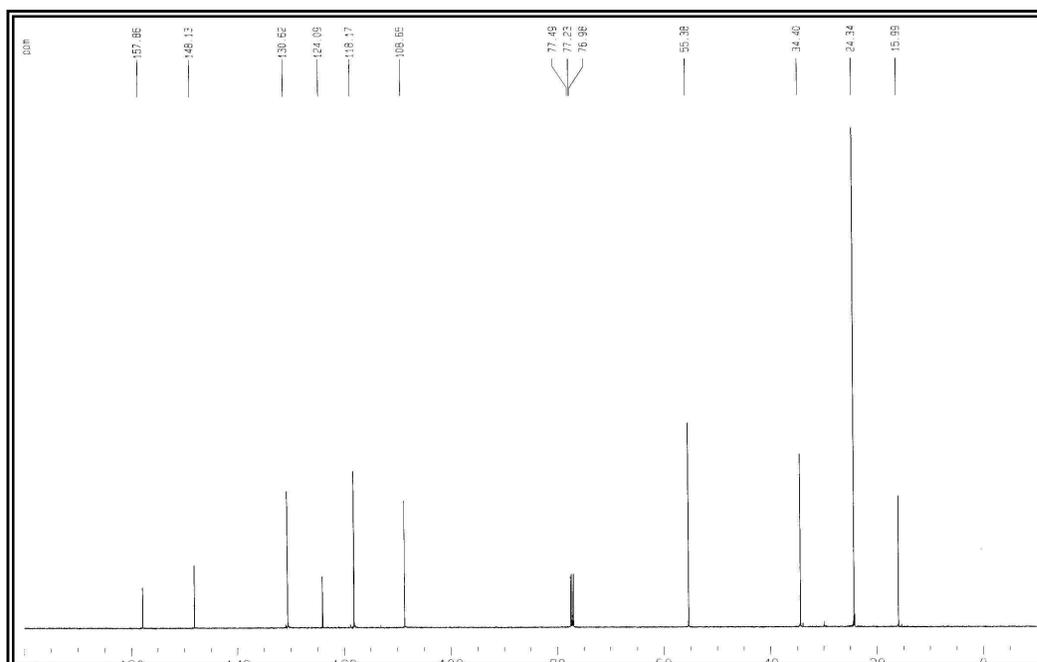
**Figura 41:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do carvacrol



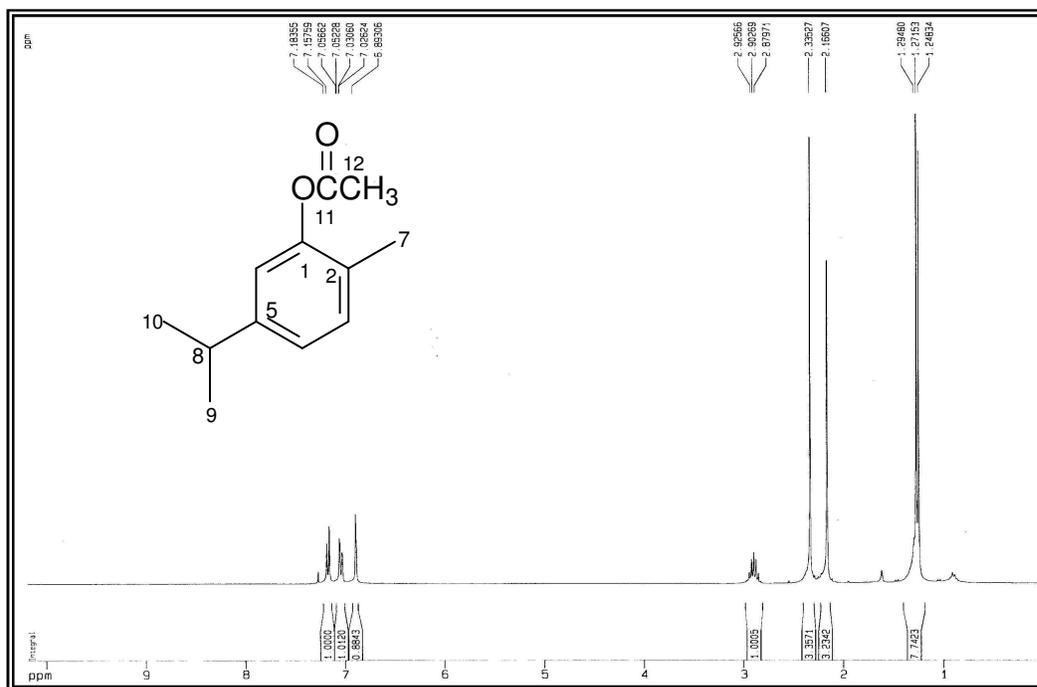
**Figura 42:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do carvacrol metilado



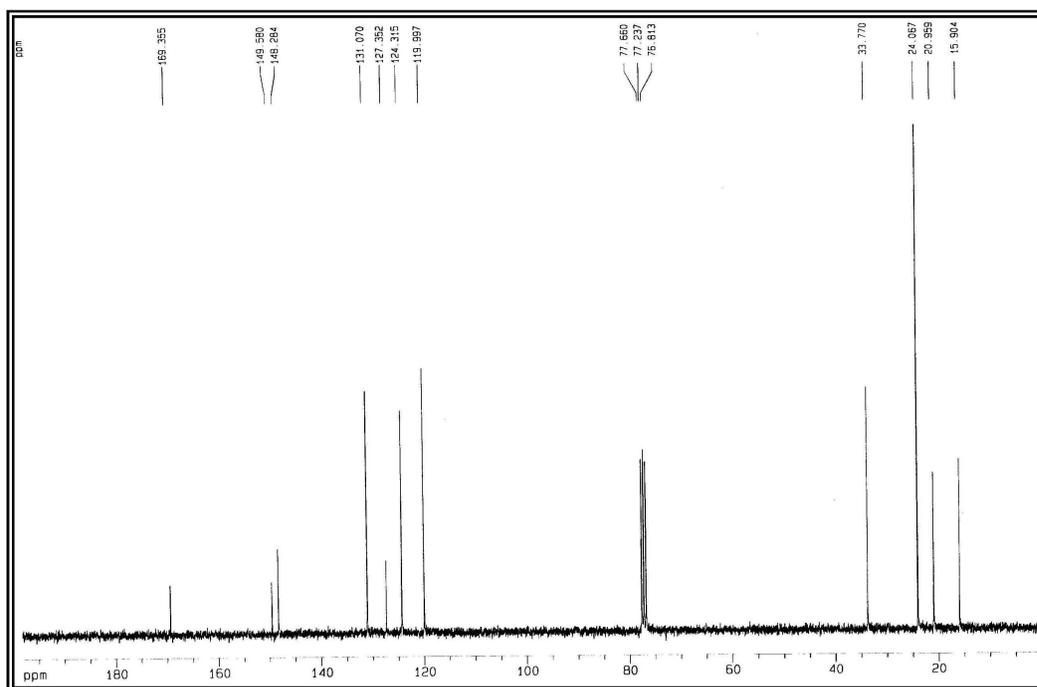
**Figura 43:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do carvacrol metilado



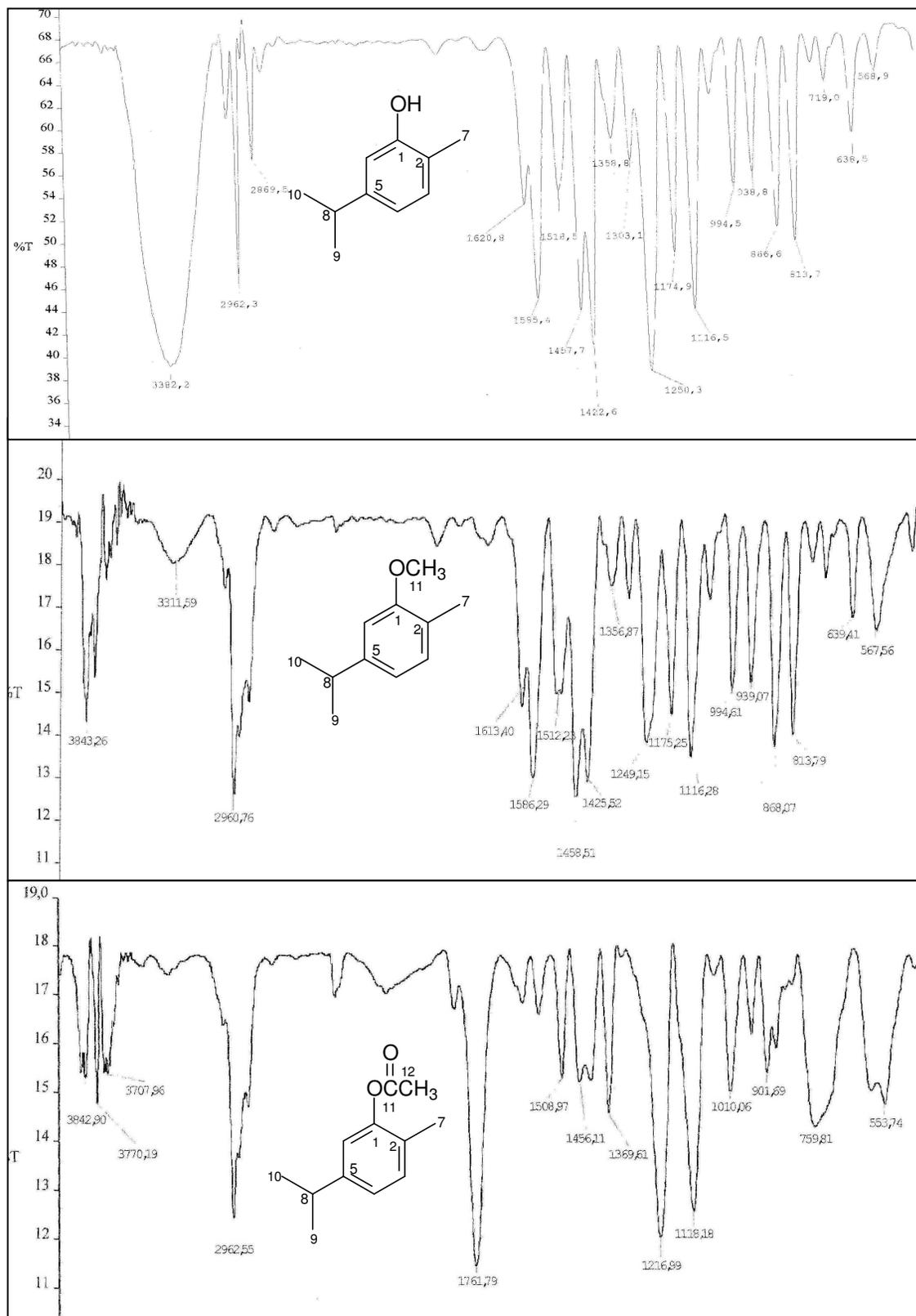
**Figura 44:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do carvacrol acetilado



**Figura 45:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do carvacrol acetilado



**Figura 46:** Espectros de infravermelho (Pastilhas de NaCl) do carvacrol, dos derivados metilado e acetilado, respectivamente.



## 4.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS

As espécies do gênero *Lippia* têm sido objetos de vários estudos fitoquímicos e farmacológicos (VALE et al., 1999), em virtude do seu grande uso na medicina popular e das atividades farmacológicas já comprovadas como analgésica, antiinflamatória, antiviral, antipirética, larvicida, moluscicida, bactericida entre outras (PASCUAL et al., 2001). Plantas do gênero *Lippia* são aromáticas e geralmente produzem uma quantidade considerável de óleo essencial, sendo ideal para realização de ensaios biológicos (CRAVEIRO et al., 1981). Dada abundância de óleo extraído das folhas e dos talos de *Lippia aff. gracillis*, foram utilizados para realização de bioensaios tanto os óleos, como o constituinte majoritário destes óleos (carvacrol) e os dois derivados metilado e acetilado do carvacrol.

### 4.4.1 Atividade larvicida (*Aedes aegypti*) do óleo essencial das folhas *Lippia aff. gracillis*, carvacrol, carvacrol metilado e carvacrol acetilado

Atualmente no Brasil a dengue consiste em um dos principais problemas de saúde pública, sendo o mosquito *Aedes aegypti* o transmissor (CICCIA et al., 2000). Os testes foram realizados com as larvas do mosquito no terceiro estágio, utilizando o óleo essencial das folhas, o carvacrol e seus derivados metilado e acetilado. Os ensaios foram realizados pela Professora Gilvandete Maria P. Santiago do Curso de Farmácia-UFC, no Laboratório de Entomologia da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), pelo método descrito na parte experimental (Item 6.6.1, p 121). Os resultados foram significativos (SANTIAGO, et al., 2006) e estão resumidos na Tabela 5 a seguir.

**Tabela 5:** Resultado da CL<sub>50</sub> frente às larvas de *Aedes aegypti*

MATERIAL TESTADO	CL <sub>50</sub> (ppm)
Óleo essencial das folhas	56,20 ± 0,40
Carvacrol	58,88 ± 0,44
Carvacrol metilado	114,82 ± 0,75
Carvacrol acetilado	131,82 ± 0,73

#### 4.3.2 Atividade moluscicida (*Biomphalaria glabrata*) do óleo essencial das folhas *Lippia aff. gracillis*, carvacrol, e os derivados metilado e acetilado do carvacrol

A propagação da esquistossomose, uma doença parasitária que afeta mais de 200 milhões de pessoas nos países de terceiro mundo, pode ser reduzida ou até eliminada através do controle do molusco, o hospedeiro do *Schistosomo mansor*, com a utilização de plantas ou extratos que podem servir como controladores do molusco (MOTT, 1987).

A atividade moluscicida foi realizada na Universidade Federal de Alagoas pela equipe do Professor Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana do Departamento de Química-UFAL, no Laboratório Moluscicida-UFAL, cuja descrição do método se encontra na parte experimental (Item 6.6.2, p 121). Os resultados preliminares estão resumidos na Tabela 6 a seguir.

**Tabela 6:** Resultados preliminares da atividade moluscicida

<b>MATERIAL TESTADO</b>	<b>CONCENTRAÇÃO (ppm)</b>	<b>MORTALIDADE (%)</b>
Óleo essencial das folhas	30	90
Carvacrol	30	70
Carvacrol metilado	30	40
Carvacrol acetilado	30	20

#### 4.3.3 Atividade antioxidante do óleo essencial das folhas e talos de *Lippia aff. gracillis*, carvacrol, e dos derivados metilado e acetilado do carvacrol, pelo método de seqüestro do radical DPPH

A utilização de plantas do gênero *Lippia* na medicina popular na forma de chás das folhas e talos, despertou o interesse em realizar a atividade antioxidante (FALEIRO et al., 2005) pelo método de seqüestro do radical DPPH, usando como

padrão positivo antioxidante as substâncias Trolox e BHT (ANSARI et al., 2005). Os testes antioxidantes foram realizados pela equipe da Professora Telma Leda G. de Lemos do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica-UFC. A metodologia utilizada foi descrita na parte experimental (Item 6.6.3, p 122) e os resultados estão na Tabela 7 a seguir.

**Tabela 7:** Atividade antioxidante pelo método de seqüestro do radical DPPH usando como padrão positivo antioxidante as substâncias Trolox e BHT

AMOSTRAS	CONCENTRAÇÃO ( $mg.mL^{-1}$ )					
	1,0		0,5		0,25	
	ATIVIDADE	%	ATIVIDADE	%	ATIVIDADE	%
<b>Controle</b>	0,295	-	0,295	-	0,295	-
<b>Trolox</b>	0,019	<b>93,5</b>	0,022	<b>92,7</b>	0,031	<b>89,6</b>
<b>BHT</b>	0,077	<b>73,9</b>	0,085	<b>71,3</b>	0,089	<b>70,0</b>
<b>Óleo essencial das Folhas</b>	0,081	<b>72,6</b>	0,089	<b>69,8</b>	0,093	<b>68,5</b>
<b>Óleo essencial dos Talos</b>	0,076	<b>74,2</b>	0,24	<b>18,6</b>	0,248	<b>15,9</b>
<b>Carvacrol</b>	0,140	<b>52,5</b>	0,155	<b>47,4</b>	0,161	<b>45,4</b>

\* O carvacrol metilado e acetilado não apresentaram atividade

#### 4.3.4 Atividade antimicrobiana do óleo das folhas de *Lippia aff. gracillis*

A atividade antimicrobiana foi avaliada por bioensaios *in vitro*, realizados no Departamento de Patologia e Medicina Legal-UFC (Item 6.6.4, p 122), com bactérias isoladas de ambientes hospitalar, o óleo essencial apresentou significativa atividade frente a todos os microorganismos testados exceto a *P. aeruginosa* (Tabela 8) (PESSOA et al., 2005). As concentrações inibitórias mínimas (CIM) foram determinadas utilizando as bactérias *S. aureus* e *E. coli*), cujos resultados estão sumarizados na Tabela 9.

**Tabela 8:** Atividade antimicrobiana do óleo das folhas de *Lippia aff. gracillis*

BACTÉRIAS	ZONA DE INIBIÇÃO <sup>a</sup>		PADRÕES	
	(mm)		<i>Amicacina</i>	<i>Oxacilina</i>
	24h	48h	(30µg)	(1 µg)
<i>Salmonella sp</i>	40	30	17	n/t
<i>Salmonella paratyphi</i>	35	30	17	n/t
<i>Serratia marcescens</i>	35	35	18	n/t
<i>Morganella morganii</i>	33	33	17	n/t
<i>Proteus mirabilis</i>	34	34	18	n/t
<i>Klebsiela pneumoniae</i>	40	38	17	n/t
<i>Escherichia coli</i>	36	32	17	n/t
<i>Staphylococcus aureus</i>	28	28	n/t	18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	s/a	s/a	18	n/t

<sup>a</sup> 5µl de óleo essencial puro; s/a = sem atividade; n/t = não foi testado

**Tabela 9:** Concentração de inibição mínima do óleo das folhas de *Lippia aff. gracillis* (CIM, µg/ml)

<b>BACTERIAS</b>	<b>PADRÕES</b>	<b>10</b>	<b>5</b>	<b>2,5</b>	<b>1,25</b>
	<b>Diâmetro da zona de inibição (mm)</b>				
<i>S. aureus</i>	18	26	25	s/a	s/a
<i>E. coli</i>	17	11	10	s/a	s/a

## 5. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES ISOLADOS DE *Lippia affinis gracillis*

### 5.1 Determinação Estrutural LARH-01

O extrato hexânico das raízes de *Lippia aff. gracillis* foi submetido a diferentes procedimentos cromatográfico (Item 6.7.2.1, p. 124), que resultaram no isolamento da substância denominada LARH-01, obtida na forma de filme amarelo, solúvel em clorofórmio.

A análise do espectro de absorção na região de infravermelho (IV) de LARH-01 (Fig. 47, p. 49) mostrou uma banda em  $3425\text{ cm}^{-1}$ , correspondente a vibrações de estiramento C-H de carbonos do tipo  $sp^2$  ( $\nu_{=CH}$ ). Uma banda em  $2974\text{ cm}^{-1}$  de C-H de carbonos do tipo  $sp^3$  ( $\nu_{C-H}$ ), além de bandas em  $1597$  e  $1458\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{C=C}$ ) e deformações em  $842$  e  $767\text{ cm}^{-1}$  ( $\delta_{\phi-H}$ ) indicam assim a presença de anel aromático. As bandas de absorção em  $1209$  e  $1119\text{ cm}^{-1}$  foram atribuídas a deformação axial assimétrica de grupos C-O-C (SILVERSTEIN, 1991).

O espectro de RMN  $^1H$  (Fig. 48, p 49) revelou um sinal intenso em  $\delta_H$  1,51 ppm (s), que de acordo com a integração referia-se a seis hidrogênios de dois grupos metílicos. Também foi observado sinal em  $\delta_H$  3,92 ppm (s) de grupamento metoxila ligado a sistema aromático, os sinais em  $\delta_H$  5,65 ppm (1H, d  $J=9,6$  Hz) e  $\delta_H$  6,42 ppm (1H, d  $J=9,6$  Hz) que de acordo com os deslocamentos químicos e as constantes de acoplamento, permitiram que relacionasse com hidrogênios olefínicos cis. O espectro mostrou ainda sinais em  $\delta_H$  6,53 ppm (1H, s),  $\delta_H$  7,46 ppm (2H, m) e em  $\delta_H$  8,16 e 8,18 ppm (2H, sl) correspondentes a absorções de hidrogênios aromáticos.

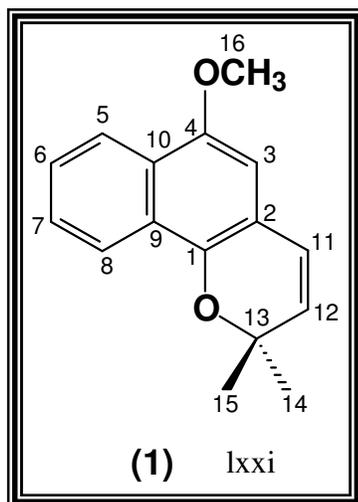
O espectro de RMN  $^{13}C$ -BB (Broad Band) mostrou quatorze linhas espectrais (Fig. 49, p. 50). O sinal intenso em  $\delta_C$  27,8 ppm indica sobreposição de

sinais correspondentes a dois grupamentos metílicos, já observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$ . O sinal em  $\delta_{\text{C}}$  56,0 ppm é característico da presença de grupo metoxila e as absorções em  $\delta_{\text{C}}$  130,1, 123,2, 76,2 e 27,8 ppm são compatíveis com o esqueleto cromeno (CHALMERS et al., 1977), já indicado quando a amostra foi submetida a luz ultravioleta (UV) em placa cromatográfica, onde apresentou uma variação da cor de amarelo para azul. O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  apresentou ainda sinais referentes aos carbonos aromáticos em  $\delta_{\text{C}}$  102,8; 115,0; 121,9; 122,0; 125,6; 126,1; 126,3 ppm e os de dois carbonos aromáticos oxigenados  $\delta_{\text{C}}$  142,2 e 149,5 ppm estão mostrados na Tabela 10, p. 48.

A comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (BB) com o RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135 (Distortioless Enhancement by Polarization Transfer  $\theta = 135$ ), com sinais de  $\text{CH}_2$  em fase oposta a CH e  $\text{CH}_3$  (Fig. 50, p. 50), mostrou a presença de três grupos metílicos ( $\text{CH}_3$ ), sete metínicos (CH) e seis carbonos não hidrogenados.

De acordo com os dados apresentados para LARH-01 foi proposta a fórmula molecular  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_2$ , com índice deficiência de hidrogênio igual a nove, sendo associado sete para dois anéis aromáticos condensados e os demais ao grupo cromeno.

Com os dados espectrais obtidos de LARH-01 foi possível propor a estrutura de um naftoquinol denominado de lapachenol (**1**), já isolado de plantas do gênero *Lippia* (MACAMBIRA et al., 1986) e também presente em outros gêneros (GONZALEZ et al., 1976).

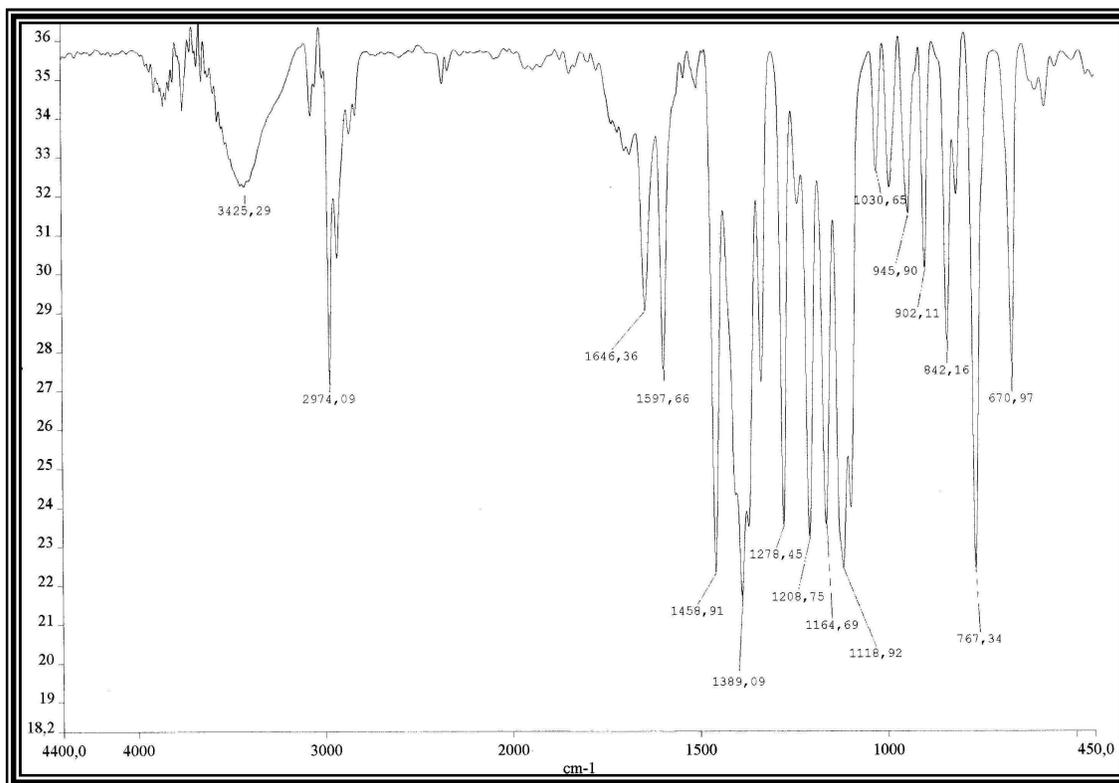


**Tabela 10:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-01 (**1**) e do lapachenol (Costa, 2001)

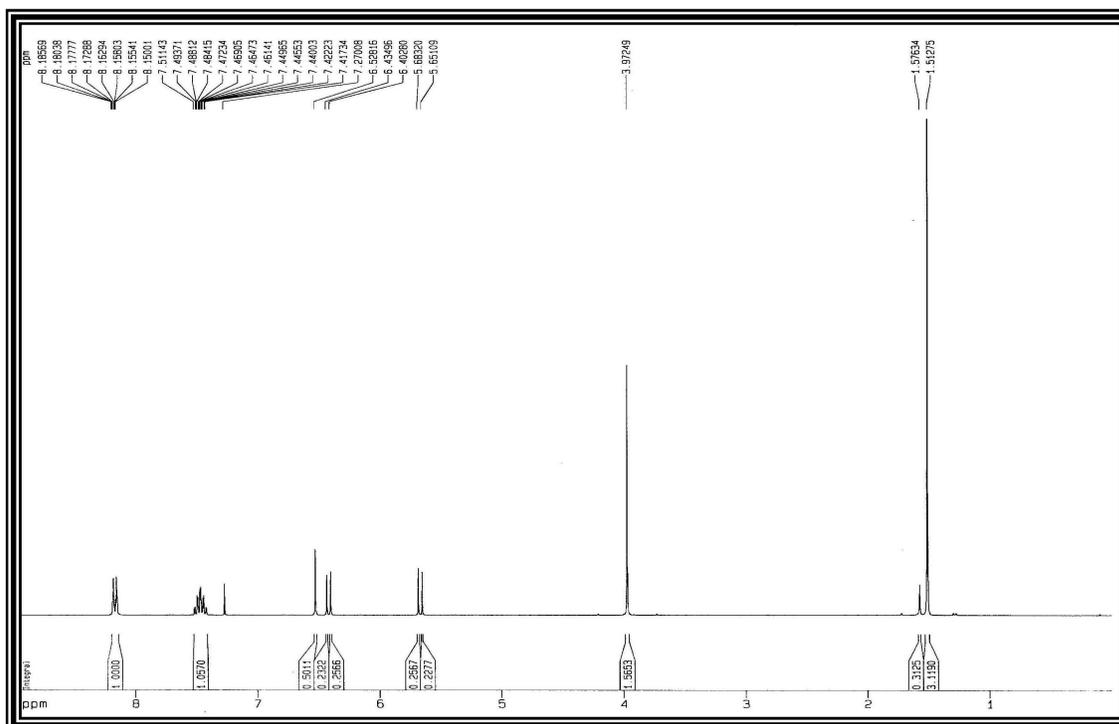
<b>C</b>	<b>LARH-01</b>		<i>LAPACHENOL</i>
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
<b>1</b>	-	142,1	141,9
<b>2</b>	-	115,0	114,8
<b>3</b>	6,53 (s)	102,8	102,6
<b>4</b>	-	149,5	149,3
<b>5</b>	8,18 (d, $J=1,5$ )	121,9	121,9
<b>6</b>	7,48 (m)	125,6	125,5
<b>7</b>	7,46 (m)	126,1	125,9
<b>8</b>	8,16 (d, $J=1,5$ )	122,0	121,7
<b>9</b>	-	126,1	125,9
<b>10</b>	-	126,3	126,1
<b>11</b>	6.42 (d, $J=9,6$ )	123,2	123,1
<b>12</b>	5,53 (d, $J=9,6$ )	130,1	130,0
<b>13</b>	-	76,4	76,2
<b>14</b>	1,51 (s)	27,8	27,6
<b>15</b>	1,51 (s)	27,8	27,6
<b>16</b>	3,97 (s)	56,0	55,8

Deslocamento químico ( $\delta$ ) em ppm e constante de acoplamento ( $J$ ) em Hz

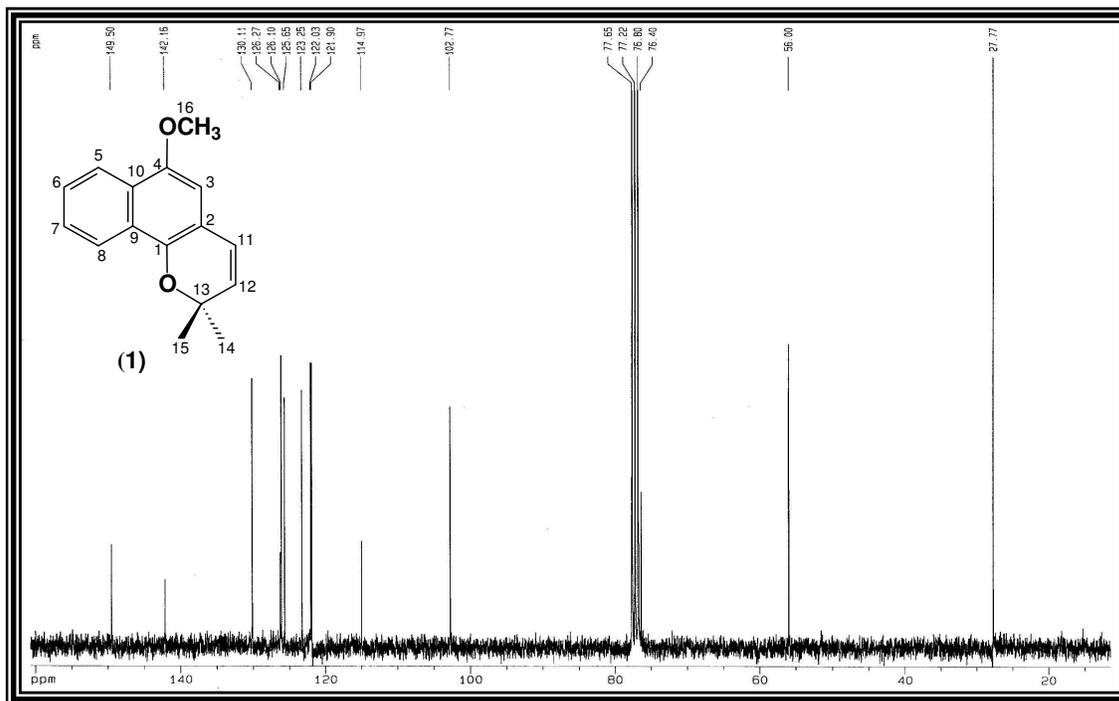
**Figura 47:** Espectro de Infravermelho (Pastilha de NaCl) de LARH-01



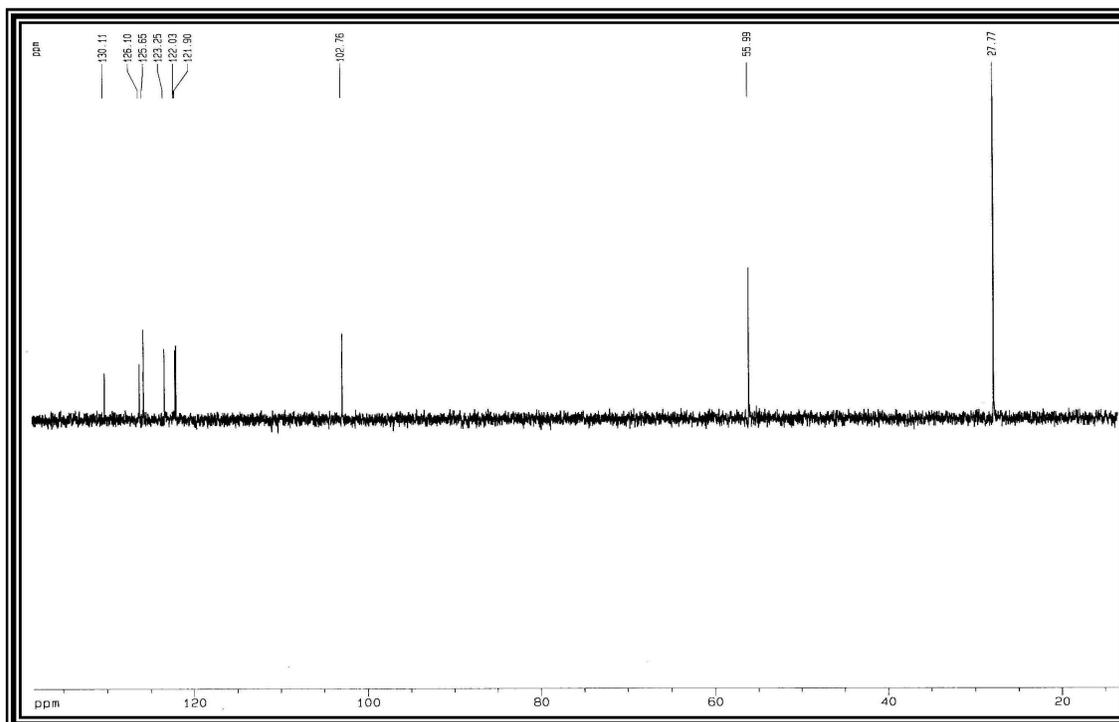
**Figura 48:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de LARH-01



**Figura 49:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-01



**Figura 50:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-01



## 5.2 Determinação Estrutural LARH-02

O extrato hexânico das raízes de *Lippia aff. gracillis* foi submetido a diferentes procedimentos cromatográfico (Item 6.7.2.1, p. 125), que resultaram no isolamento da substância denominada LARH-02, obtida na forma de cristais brancos amorfos, solúvel em clorofórmio e com p.f. 265 - 267 °C.

O espectro de absorção na região de infravermelho (IV) de LARH-02 (Fig. 51, p. 54), mostrou uma banda intensa em 2929 cm<sup>-1</sup> de C-H de carbonos do tipo sp<sup>3</sup> (ν<sub>CH</sub>), uma banda em 1715 cm<sup>-1</sup> (ν<sub>C=O</sub>) e deformações em 1459 e 1388 cm<sup>-1</sup> (δ<sub>C-H</sub>) (SILVERSTEIN, 1991).

A análise do espectro de RMN <sup>1</sup>H (Fig. 52, p 54) revelou oito singletos intensos na região entre δ<sub>H</sub> 0,73 a 1.27 ppm, bem característicos de hidrogênios de grupos metílicos (CH<sub>3</sub>) de estruturas triterpênicas. Foram observados, outros sinais em forma de multipletos na região de δ<sub>H</sub> 1,34 a 2,39 ppm correspondentes a absorções de hidrogênios metilênicos (CH<sub>2</sub>).

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB mostrou trinta linhas espectrais (Fig. 53, p. 55), onde a comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup>C (BB) com o RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135, (Fig. 54, p. 55), mostrou a presença de oito grupos metílicos (CH<sub>3</sub>), onze grupos metilênicos (CH<sub>2</sub>), quatro metínicos (CH) e sete carbonos não hidrogenados, sendo um atribuído a uma carbonila de cetona em δ<sub>C</sub> 213,3 ppm (Tabela 11, p. 52).

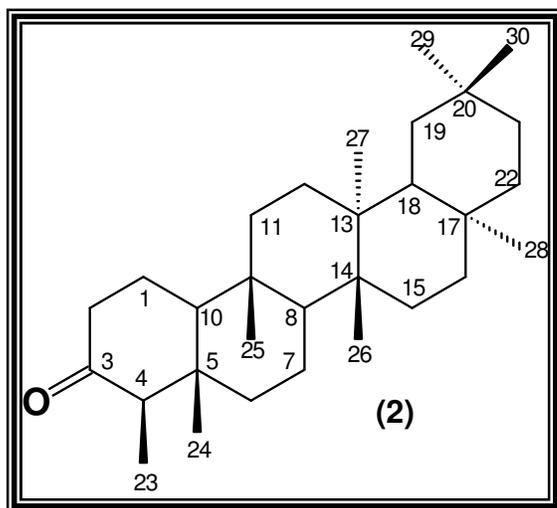
Em concordância com dados espectrais obtidos de LARH-02, juntamente com comparações de dados da literatura (Tabela 12, p. 53) (AHMAD, 1994), foi possível propor a estrutura de um triterpeno pentacíclico do grupo friedelano, conhecida como friedelinona (**2**), embora de ocorrência comum no reino vegetal, estar sendo relatada pela primeira vez no gênero *Lippia*.

**Tabela 11:** Deslocamento químico de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-02

<b>C</b>	<b>CH</b>	<b>CH<sub>2</sub></b>	<b>CH<sub>3</sub></b>	<b>TOTAL</b>
213,3	59,7	41,7	35,2	
42,3	58,4	41,5	32,3	
39,9	53,3	39,5	32,0	
38,5	43,0	36,2	20,5	
37,7		35,8	18,9	
30,2		35,5	18,1	
28,3		33,0	14,9	
		32,6	7,1	
		30,7		
		22,5		
		18,4		
<b>C<sub>7</sub>O<sup>a</sup></b>	<b>C<sub>4</sub>H<sub>4</sub></b>	<b>C<sub>11</sub>H<sub>22</sub></b>	<b>C<sub>8</sub>H<sub>24</sub></b>	<b>C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O</b>

a

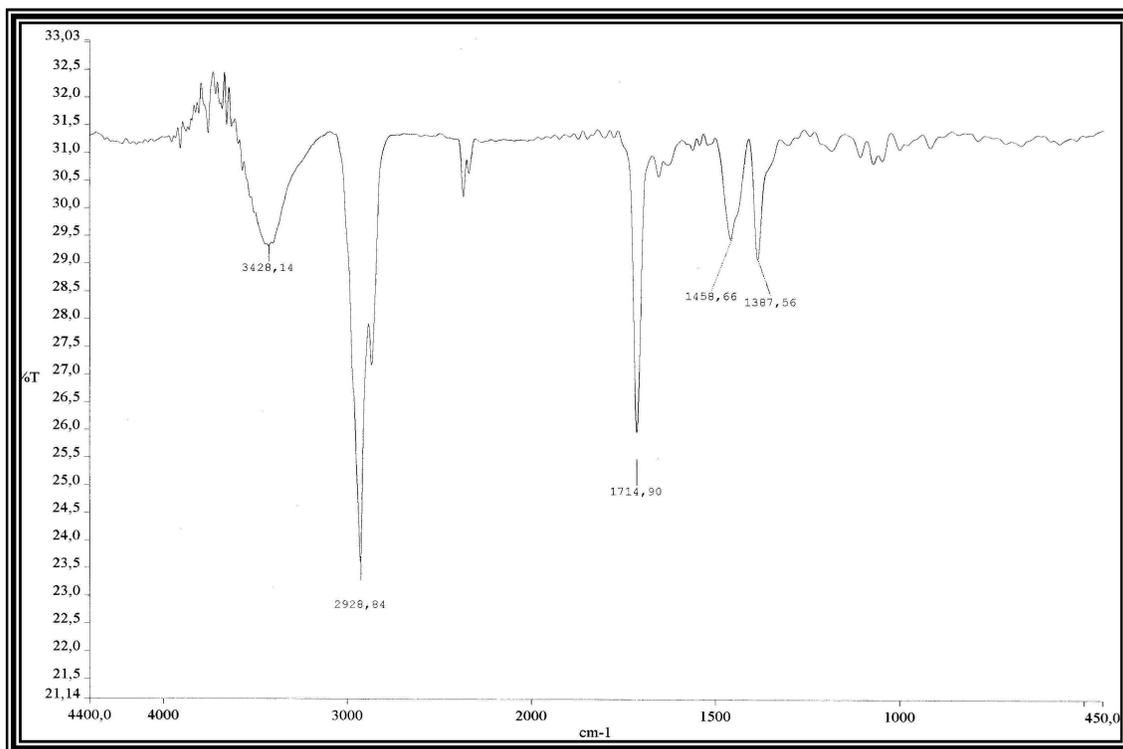
Oxigênio de grupo carbonílico de cetona



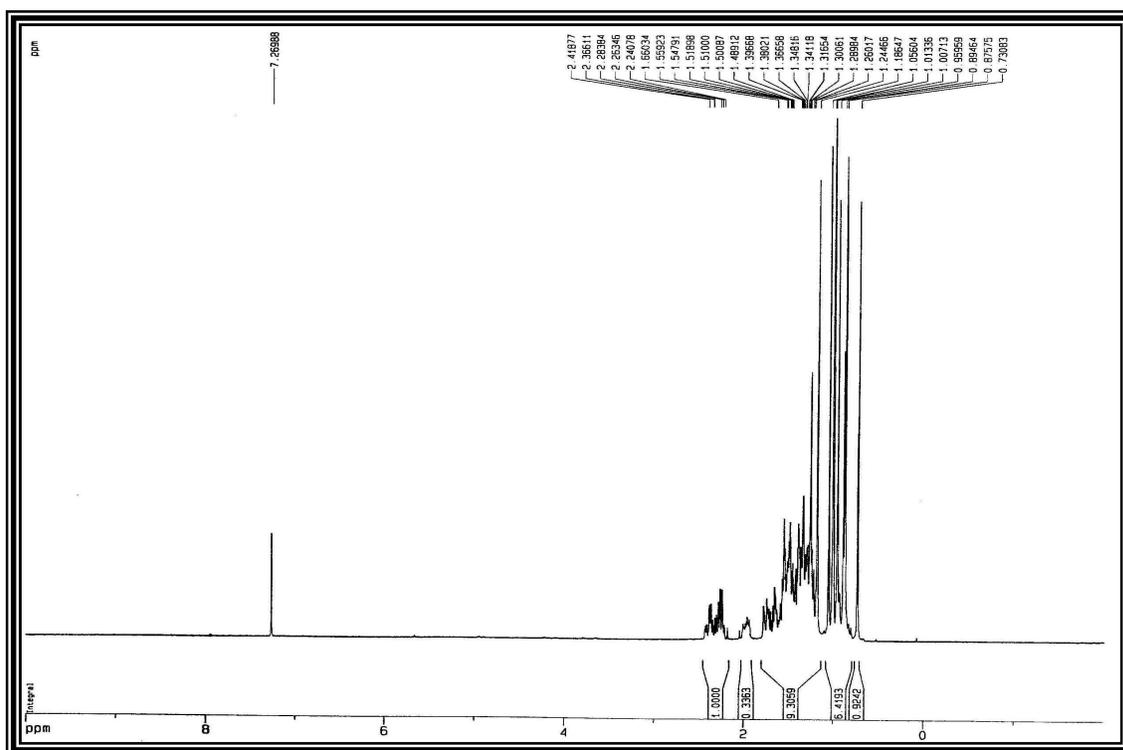
**Tabela 12:** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-02 comparados com valores de  $\delta_{\text{C}}$  registrados na literatura para a friedelinona (AHMAD, 1994).

C	LARH-02	FRIEDELINON
	$\delta_{\text{C}}$ ppm	A $\delta_{\text{C}}$ ppm
1	22,5	22,1
2	41,7	41,4
3	213,3	213,0
4	58,4	58,0
5	42,3	42,0
6	41,5	41,1
7	18,4	18,0
8	53,3	52,9
9	37,7	37,3
10	59,7	59,3
11	35,8	35,5
12	30,7	30,3
13	39,9	39,5
14	38,5	38,1
15	32,6	32,3
16	36,2	35,9
17	30,2	29,8
18	43,0	42,6
19	35,5	35,2
20	28,3	28,0
21	33,0	32,6
22	39,5	39,1
23	7,1	6,7
24	14,9	14,5
25	18,1	17,8
26	20,5	20,1
27	18,9	18,5
28	32,3	32,0
29	35,2	34,9
30	32,0	31,7

**Figura 51:** Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) de LARH-02



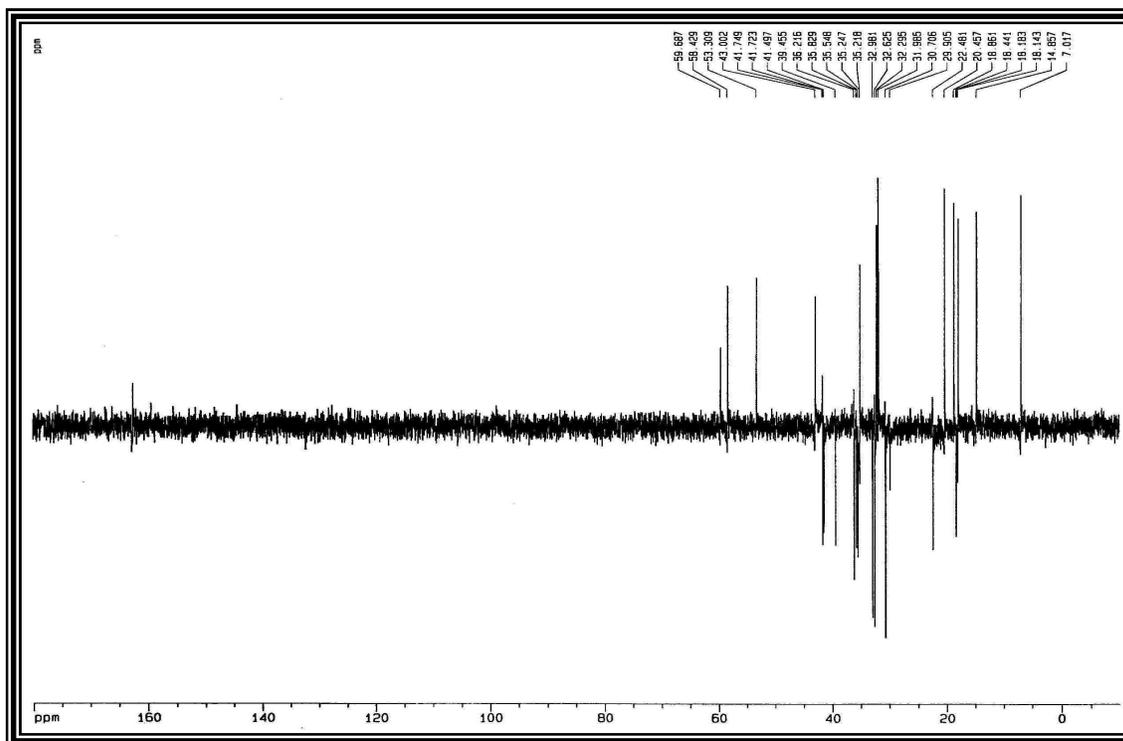
**Figura 52:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de LARH-02



**Figura 53:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-02



**Figura 54:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-02



### 5.3 Determinação Estrutural LARH-03

O extrato hexânico das raízes de *Lippia aff. gracillis* foi submetido a diferentes procedimentos cromatográfico (Item 6.7.2.2, p. 125), que resultaram no isolamento da substância denominada LARH-03, obtida na forma de cristais brancos amorfos, solúvel em clorofórmio e com p.f. 261 - 263 °C.

A análise do espectro de infravermelho (IV) de LARH-03 (Fig. 55, p. 59), mostrou uma banda intensa em 2930 cm<sup>-1</sup> referentes a estiramentos de C-H de carbonos do tipo sp<sup>3</sup> (ν<sub>CH</sub>), além banda em 1718 cm<sup>-1</sup> (ν<sub>C=O</sub>) indicando carbonila de éster e deformações de estiramentos C-H em 1463 e 1388 cm<sup>-1</sup> (SILVERSTEIN, 1991).

O espectro de RMN <sup>1</sup>H (Fig. 56, p 59) revelou oito singletos intensos na região entre δ<sub>H</sub> 0,81 a 1,28 ppm, bem característicos de hidrogênios metílicos (CH<sub>3</sub>) da classe de estruturas triterpênicas, outros sinais em forma de multipletos na região de δ<sub>H</sub> 1,31 a 1,89 ppm correspondentes a absorções de hidrogênios metilênicos (CH<sub>2</sub>). Um singlete em δ<sub>H</sub> 2,05 ppm referente a hidrogênios de metila ligada a um grupo carbonílico e um multiplete em δ<sub>H</sub> 4,90 ppm, cuja integração mostra apenas um próton bem desprotegido, atribuído a hidrogênio ligado a carbono oxigenado, sugerindo que no C-3 de LARH-03 encontra-se ligado a um grupo acetato.

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB mostrou trinta e duas linhas espectrais (Fig. 57, p. 60), a comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup>C (BB) com o RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135, com sinais de CH<sub>2</sub> em fase oposta a CH e CH<sub>3</sub> (Fig. 58, p. 60), mostrou a presença de nove grupos metílicos (CH<sub>3</sub>), onze grupos metilênicos (CH<sub>2</sub>), cinco metínicos (CH), sendo um oxigenado δ<sub>C</sub> 74,8 ppm, e sete carbonos não hidrogenados, dos quais um carbono carbonílico em δ<sub>C</sub> 171,1 ppm (Tabela 13, p. 57).

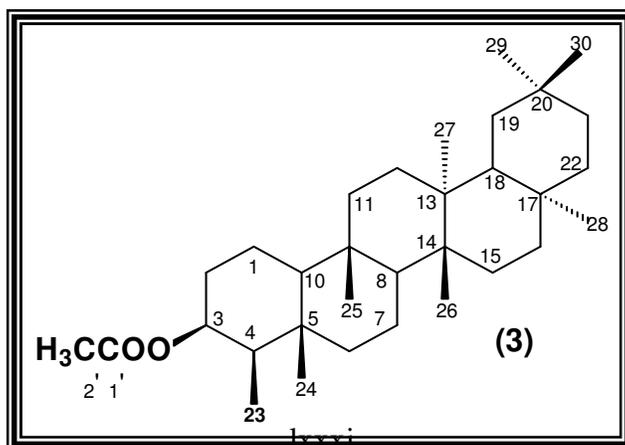
Após análise dos dados espectrais obtidos de LARH-03, foi possível propor a estrutura de um triterpeno semelhante a friedelinona, contendo um grupo acetato em C-3 e identificado como sendo o acetato de 3-epifriedelanila (**3**) sendo reportada pela primeira vez neste gênero, cujos dados estão de acordo com os da literatura (Tabela 14, p. 58) (AHMAD,1994).

**Tabela 13:** Deslocamento químico de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-03

<b>C</b>	<b>CH</b>	<b>CH<sub>2</sub></b>	<b>CH<sub>3</sub></b>	<b>TOTAL</b>
171,1	74,8	41,9	35,2	
39,9	61,2	39,5	32,3	
38,6	53,4	36,3	32,0	
38,1	48,3	35,8	21,6	
37,3	43,0	35,6	20,3	
30,2		33,0	18,6	
28,4		32,5	18,4	
		32,4	16,0	
		30,8	11,5	
		17,9		
		16,5		
<b>C<sub>7</sub>O<sup>a</sup></b>	<b>C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>O<sup>b</sup></b>	<b>C<sub>11</sub>H<sub>22</sub></b>	<b>C<sub>9</sub>H<sub>27</sub></b>	<b>C<sub>32</sub>H<sub>54</sub>O<sub>2</sub></b>

<sup>a</sup> Oxigênios de grupos carbonílicos de éster

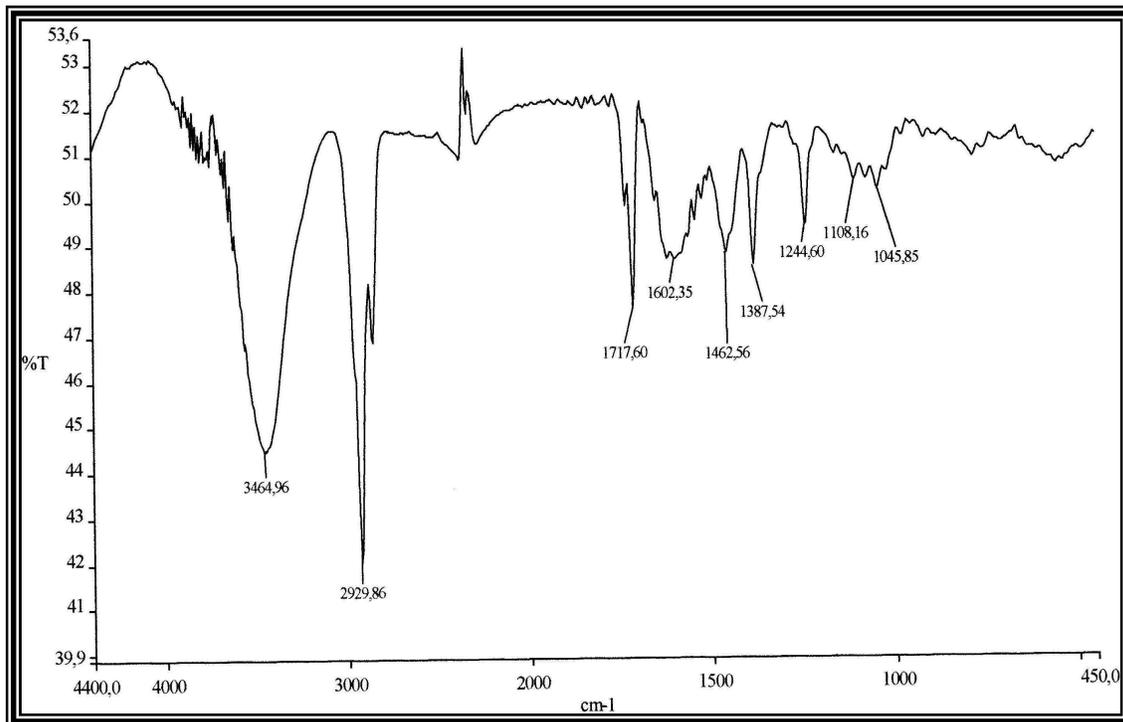
<sup>b</sup> Oxigênio do grupamento éster



**Tabela 14:** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-03 comparados com valores de  $\delta_{\text{C}}$  da literatura para o acetato de 3-epifriedelanila (AHMAD,1994).

C	LARH-03	ACETATO DE 3-
	$\delta_{\text{C}}$ ppm	EPIFRIEDELANILA $\delta_{\text{C}}$ ppm
1	16,5	16,3
2	41,9	41,4
3	74,8	74,6
4	48,3	48,0
5	38,1	37,9
6	32,5	32,1
7	17,9	17,7
8	53,4	53,1
9	37,3	37,1
10	61,2	60,9
11	35,6	35,3
12	30,8	30,6
13	38,6	38,3
14	39,9	39,6
15	32,4	32,2
16	36,3	36,0
17	30,2	30,0
18	43,0	42,8
19	35,8	35,5
20	28,4	28,2
21	33,0	32,8
22	39,5	39,3
23	11,5	11,3
24	16,0	15,8
25	18,4	18,2
26	18,6	18,6
27	20,3	20,1
28	32,3	32,1
29	35,2	35,0
30	32,0	31,8
1'	171,1	170,9
2'	21,6	21,4

**Figura 55:** Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) de LARH-03



**Figura 56:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de LARH-03

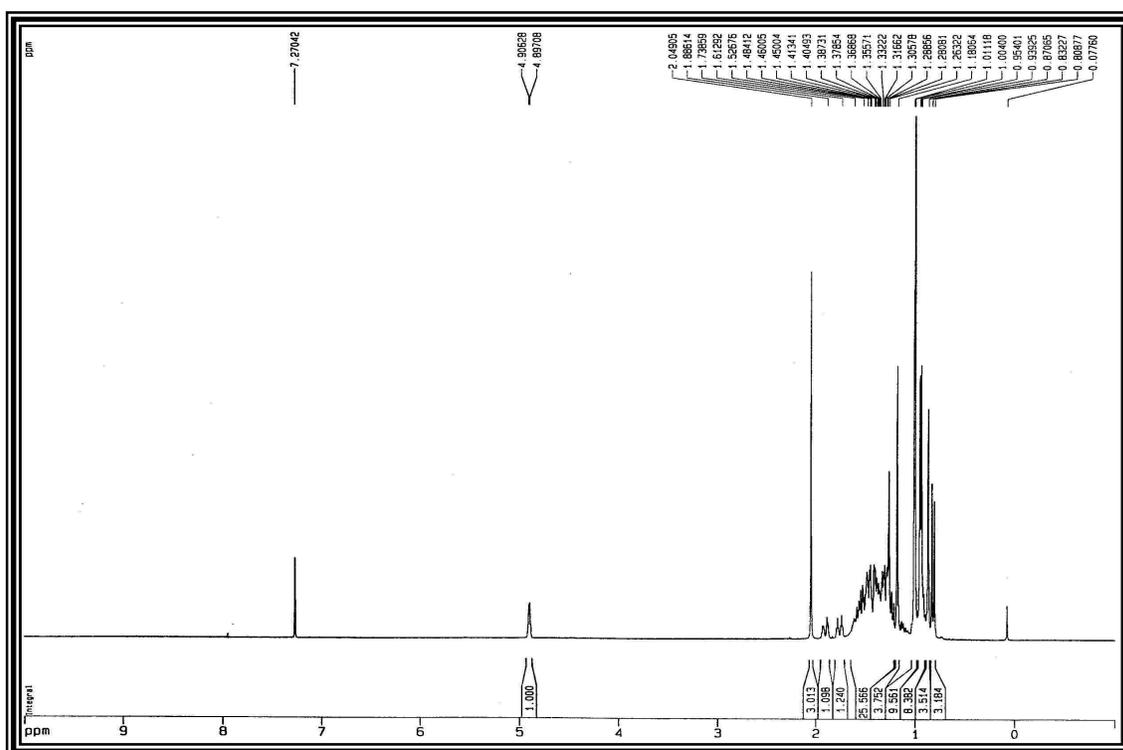


Figura 57: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-03

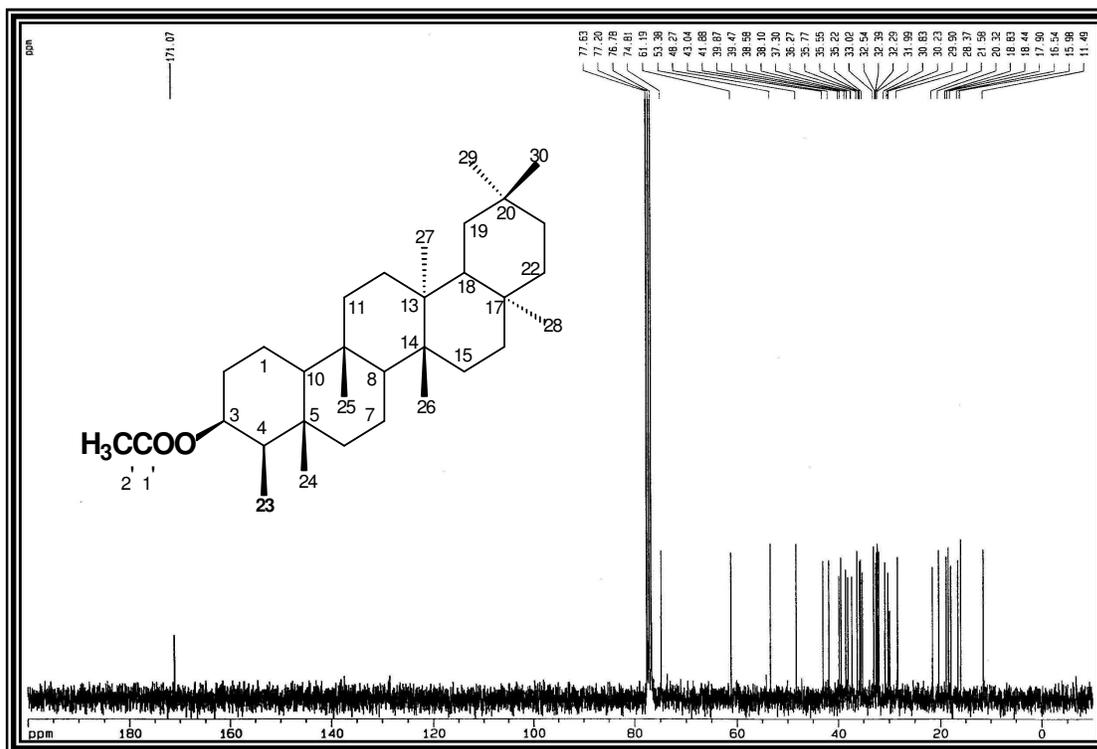
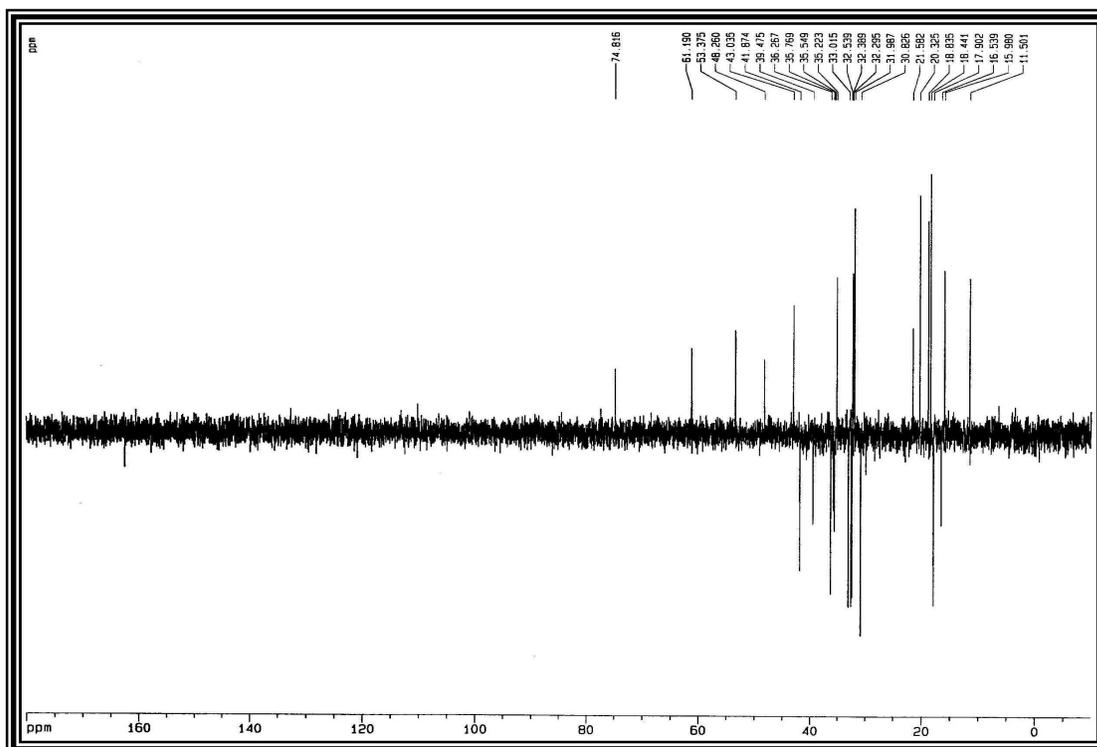


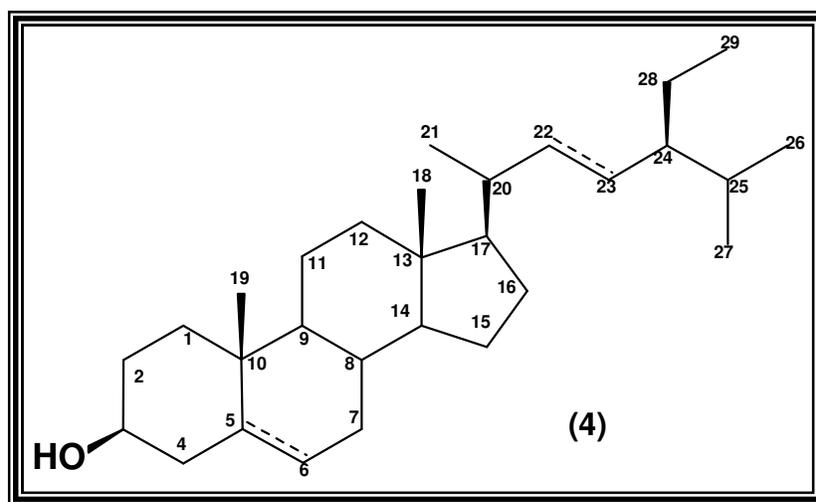
Figura 58: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-03



#### 5.4 Determinação Estrutural LARH-04

O extrato hexânico das raízes de *Lippia aff. gracillis* foi submetido a diferentes procedimentos cromatográfico (Item 6.7.2.2, p. 126), que resultaram no isolamento da substância denominada LARH-04, obtida na forma de cristais agulhas incolores, solúvel em clorofórmio e com p.f. 162 - 165 °C.

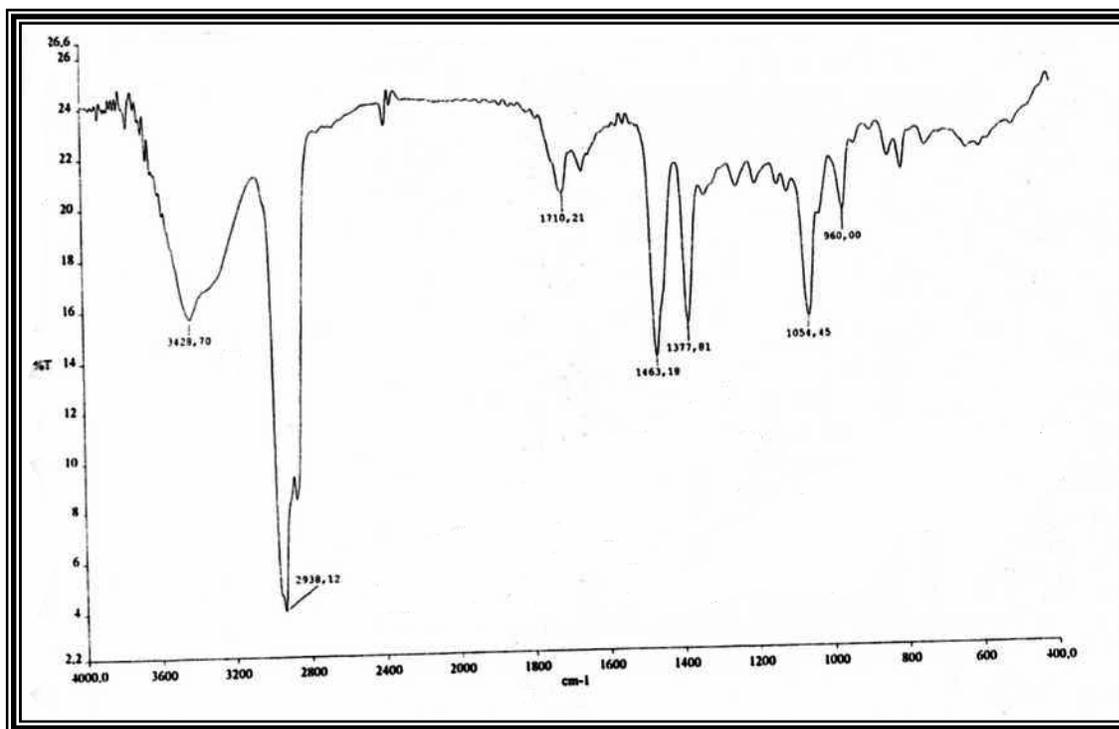
A análise comparativa com padrão em CCD, espectro de absorção na região do IV e espectro de RMN <sup>1</sup>H (Fig. 59 e 60, p. 62), permitiram a identificação da substância denominada LARH-04, como a mistura de β-sitosterol e estigmasterol (**4**), sendo a mistura bastante comum no estudo fitoquímico, sua determinação estrutural não será detalhada.



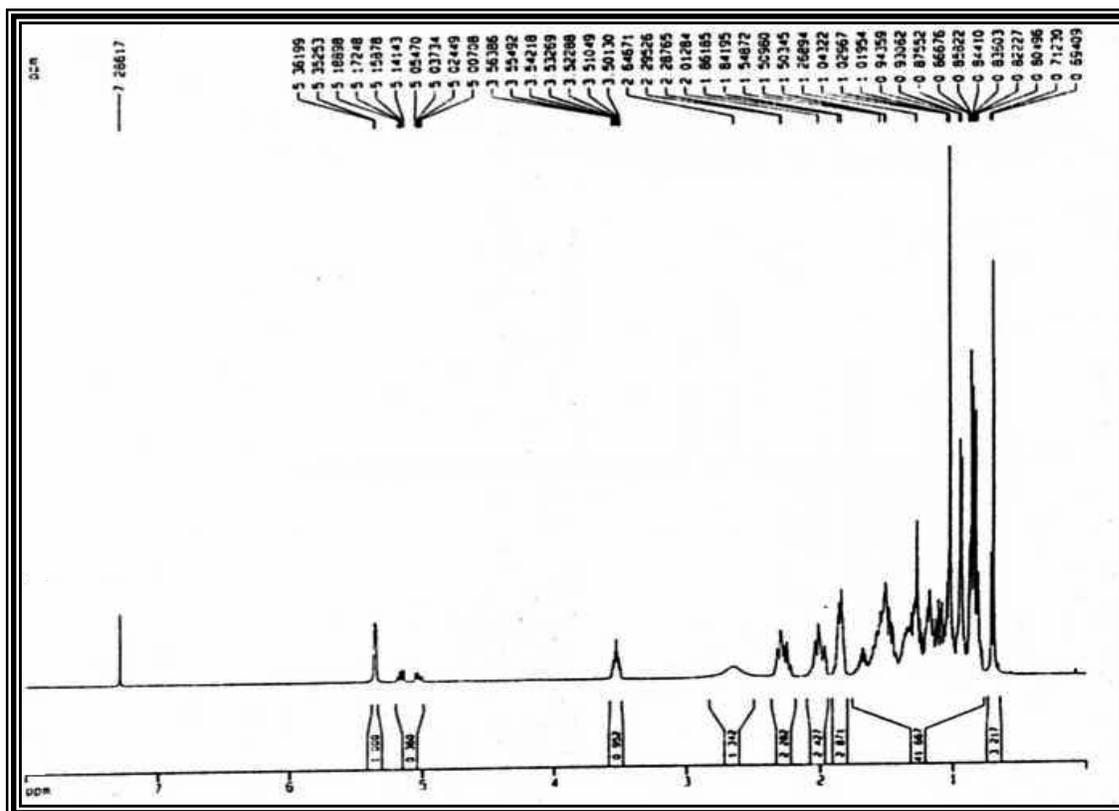
$\Delta^5$  -  $\beta$ -sitosterol (majoritário)

$\Delta^{5,22}$  - estigmasterol

**Figura 59:** Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) de LARH-04



**Figura 60:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de LARH-04



## 5.5 Determinação Estrutural LARH-05

O tratamento cromatográfico do extrato hexânico das raízes de *Lippia aff. gracillis* (Item 6.7.2.2, p. 126), resultou no isolamento do composto denominado LARH-05, uma substância na forma de cristais amorfos de cor branca, solúvel em clorofórmio e com p.f. 256 - 258 °C.

O espectro de absorção na região de infravermelho (IV) de LARH-05 (Fig. 61, p. 66), mostrou uma banda intensa em 3480 cm<sup>-1</sup> ( $\delta_{\text{O-H}}$ ) de 2930 cm<sup>-1</sup> de C-H de carbonos do tipo sp<sup>3</sup> ( $\nu_{\text{CH}}$ ), duas bandas em 1709 e 1637 cm<sup>-1</sup> indicando a presença de grupos carbonílicos diferentes ( $\nu_{\text{C=O}}$ ) e deformações em 1458 e 1386 cm<sup>-1</sup> ( $\delta_{\text{C-H}}$ ) (SILVERSTEIN, 1991).

O espectro de RMN <sup>1</sup>H (Fig. 62, p 66) revelou sete singletos intensos na região entre  $\delta_{\text{H}}$  0,77 a 1.11 ppm, característicos de hidrogênios metílicos (CH<sub>3</sub>) de estruturas triterpênicas, outros sinais em forma de multipletos na região de  $\delta_{\text{H}}$  1,15 a 2,10 ppm correspondentes a absorções de hidrogênios metilênicos (CH<sub>2</sub>), um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  2,19 ppm referente a hidrogênios de metila ligada a carbonila de éster característico do grupo acetato e dois tripletos em  $\delta_{\text{H}}$  4,51 e 5,30 ppm, cujas integrações mostram apenas um próton em cada sinal bem desprotegido. A absorção em  $\delta_{\text{H}}$  4,51 foi atribuída a hidrogênio ligado a carbono oxigenado, em quanto que o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  5,30 sugere hidrogênio olefínicos.

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB mostrou trinta e duas linhas espectrais (Fig. 63 p. 67), a comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup>C (BB) com o RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135 (Fig. 64, p. 67), mostrou a presença de oito grupos metílicos (CH<sub>3</sub>), dez grupos metilênicos (CH<sub>2</sub>), cinco metínicos (CH), sendo um oxigenado em  $\delta_{\text{C}}$  81,2 ppm, um de olefina em  $\delta_{\text{C}}$  122,8 ppm e nove carbonos não hidrogenados, dos quais, um caracteriza carbono sp<sup>2</sup> em  $\delta_{\text{C}}$  143,8 ppm e dois carbonos carbonílicos em

$\delta_C$  171,3 e 183,4 ppm, referentes a carbonilas de éster e ácido, respectivamente (Tabela 15, p. 64).

Os dados espectrais obtidos de LARH-05, e comparação com dados da literatura (Tabela 16, p. 65) (AHMAD,1994), foi possível propor a estrutura de triterpeno do grupo oleanano, identificado como acetato do ácido oleanólico (**5**).

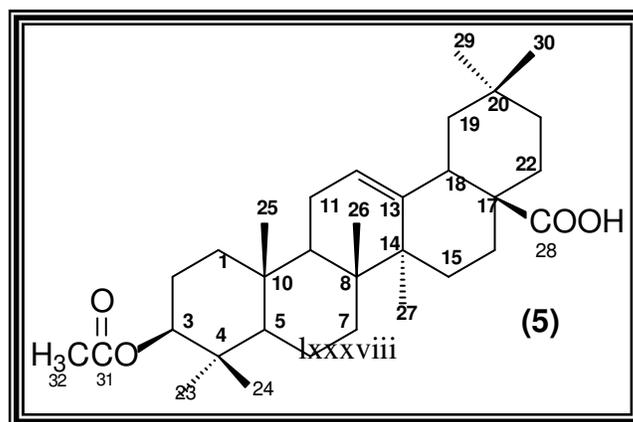
**Tabela 15:** Deslocamento químico de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-05

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	TOTAL
183,4	122,8	46,1	33,3	
171,3	81,2	38,3	27,9	
143,8	55,5	34,0	26,1	
46,8	47,8	32,8	21,6	
41,8	41,2	32,7	17,4	
39,5		28,3	16,9	
37,9		23,8	15,6	
37,2		23,6		
30,9		23,1		
		18,4		
$\text{C}_9\text{O}_3^{\text{a}}$	$\text{C}_5\text{H}_5\text{O}^{\text{b}}$	$\text{C}_{10}\text{H}_{20}$	$\text{C}_8\text{H}_{24}$	$\text{C}_{32}\text{H}_{49}\text{O}_4 + \text{H}^{\text{c}} = \text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_4$

<sup>a</sup> Oxigênios de grupos carbonílicos de éster e ácido carboxílico

<sup>b</sup> Oxigênio do grupamento éster

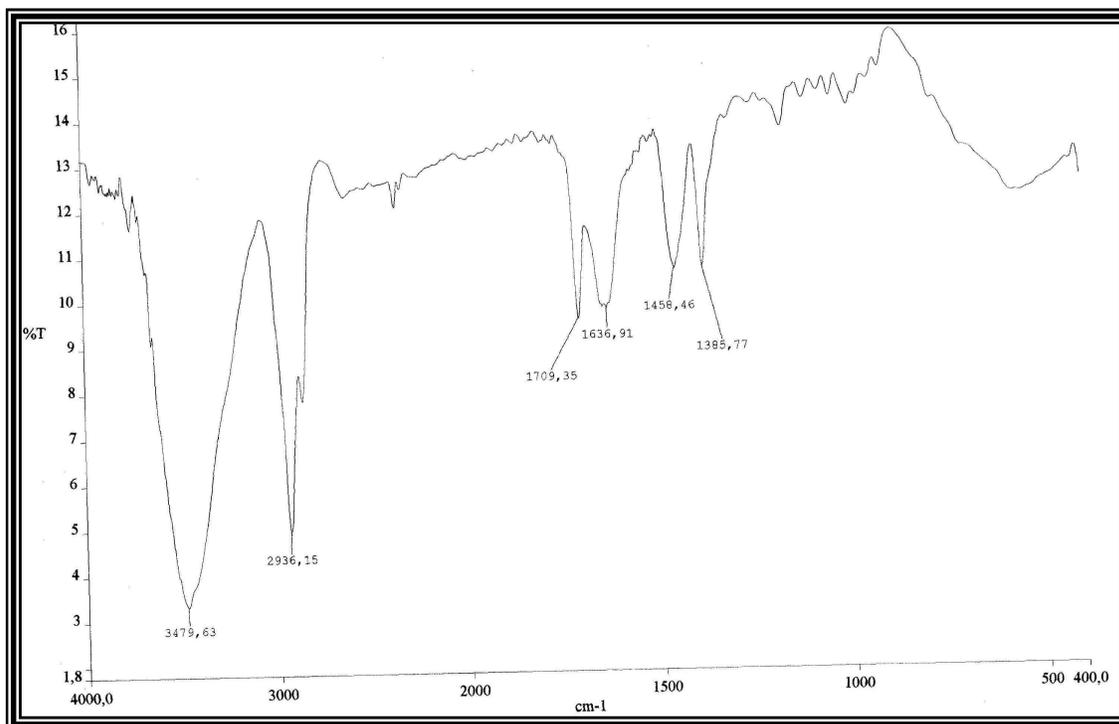
<sup>c</sup> Hidrogênio da hidroxila do ácido carboxílico



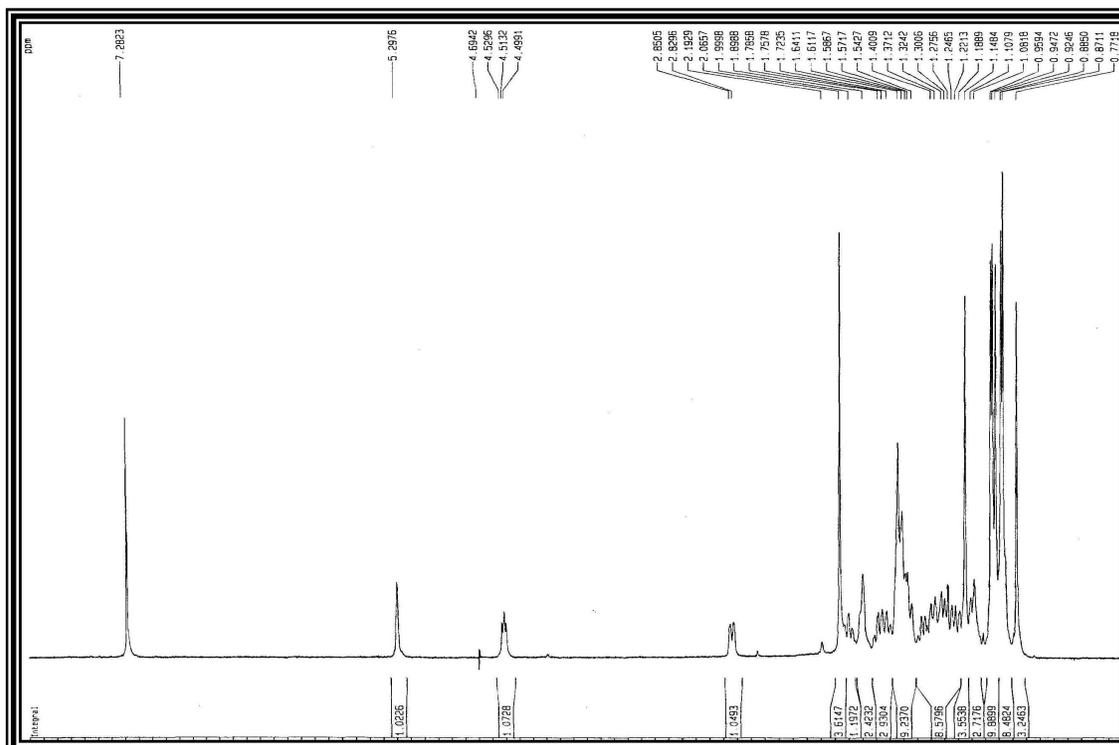
**Tabela 16:** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB 75 (MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-05 comparados com valores de  $\delta_{\text{C}}$  da literatura para o acetato do ac. oleanólico (AHMAD,1994).

C	LARH-04	ACETATO	AC.
	$\delta_{\text{C}}$ ppm	OLEANÓLICO	
		$\delta_{\text{C}}$ ppm	
1	38,3	38,0	
2	28,3	28,5	
3	81,2	80,8	
4	37,9	37,7	
5	55,5	55,2	
6	18,4	18,1	
7	17,4	17,7	
8	39,5	39,2	
9	47,8	47,6	
10	37,2	36,9	
11	23,1	22,8	
12	122,8	122,5	
13	143,8	143,5	
14	41,8	41,5	
15	27,9	27,6	
16	23,8	23,5	
17	46,7	46,5	
18	41,2	40,8	
19	46,1	45,4	
20	30,9	30,7	
21	34,0	33,7	
22	32,7	32,4	
23	28,3	28,0	
24	15,6	15,8	
25	17,4	17,2	
26	16,9	16,6	
27	26,1	25,9	
28	183,4	184,2	
29	33,3	33,6	
30	23,8	23,5	
31	171,3	170,9	
32	21,5	21,3	

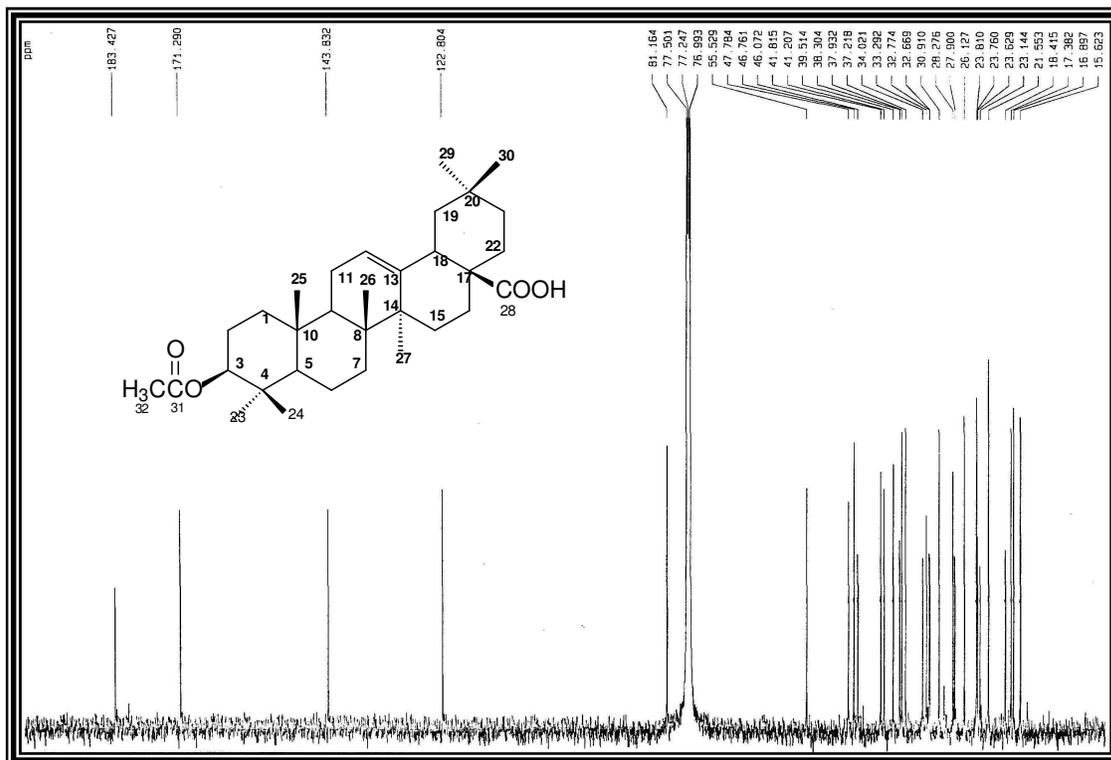
**Figura 61:** Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) de LARH-05



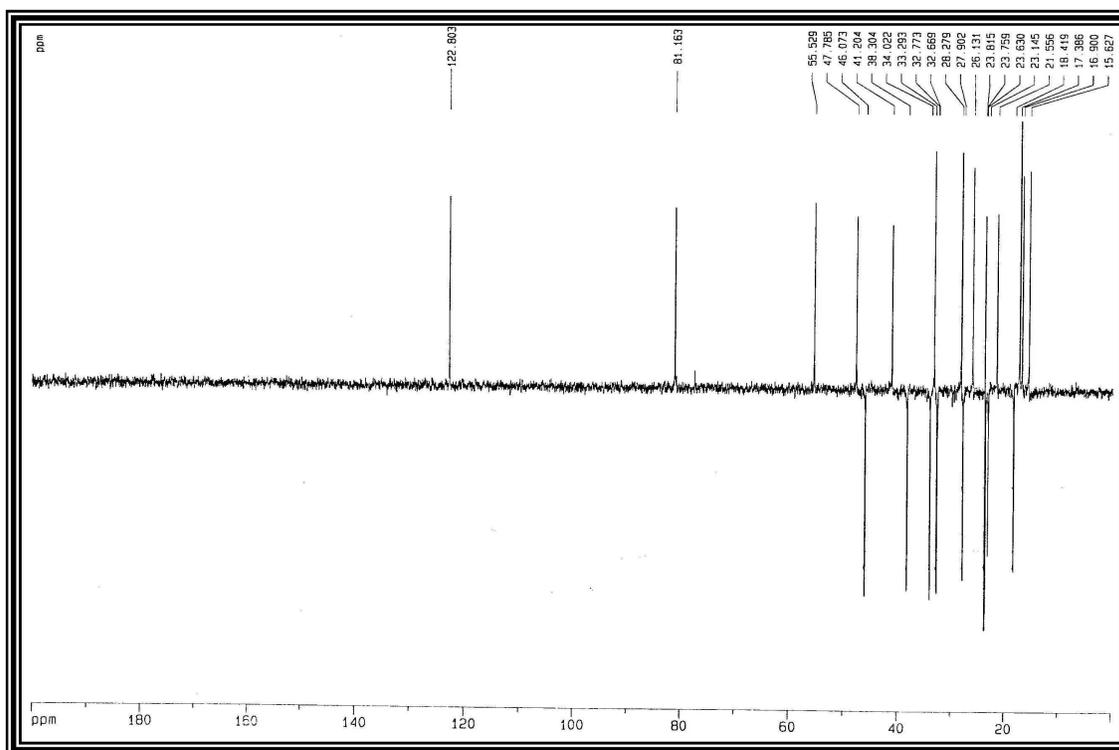
**Figura 62:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-05



**Figura 63:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-05



**Figura 64:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-05



## 5.6 Determinação Estrutural LARH-06

O tratamento cromatográfico do extrato hexânico das raízes de *Lippia aff. gracillis* (Item 6.7.2.2, p. 126), resultou no isolamento do metabólito secundário denominado LARH-06, uma substância na forma de cristais amorfos de cor branca, solúvel em clorofórmio e com p.f. 282 - 285 °C.

O espectro de absorção na região de infravermelho (IV) de LARH-06 (Fig. 65, p. 72), mostrou uma banda intensa em 3481 cm<sup>-1</sup> ( $\delta_{\text{O-H}}$ ) e 2930 cm<sup>-1</sup> de C-H de carbonos do tipo sp<sup>3</sup> ( $\nu_{\text{CH}}$ ), três bandas em 1705, 1654 e 1630 cm<sup>-1</sup> indicando a presença de grupos carbonílicos diferentes ( $\nu_{\text{C=O}}$ ), e deformações em 1459 e 1387 cm<sup>-1</sup> ( $\delta_{\text{C-H}}$ ) (SILVERSTEIN, 1991).

O espectro de RMN <sup>1</sup>H (Fig. 66, p 72) mostrou sete singletos intensos na região entre  $\delta_{\text{H}}$  0,83 a 1.18 ppm, característicos de hidrogênios metílicos (CH<sub>3</sub>) de estruturas de triterpenos pentacíclicos, um singleto em  $\delta_{\text{H}}$  1,77 ppm e o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  1,97 ppm na forma de dubleto, ambos com integração de três hidrogênios, podem indicar metilas numa região mais desprotegida que as demais e dois sinais em  $\delta_{\text{H}}$  5,38 e 5,99 ppm, um singleto largo e outro quarteto respectivamente, cujas integrações mostram apenas um próton em cada sinal bem desprotegido, característicos de hidrogênios ligados a carbono sp<sup>2</sup>, indicando a presença de uma cadeia lateral, com uma ligação dupla trissubstituída. Sinais na região de  $\delta_{\text{H}}$  1,26 a 3,09 ppm correspondentes a absorções de hidrogênios metilênicos (CH<sub>2</sub>), um singleto largo  $\delta_{\text{H}}$  5,09 ppm referente a hidrogênio ligada a carbono oxigenado.

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB mostrou trinta e quatro linhas espectrais (Fig. 67, p. 73), a comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup>C (BB) com o RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135 (Fig. 68, p. 73), mostrou a presença de nove grupos metílicos (CH<sub>3</sub>), nove grupos metilênicos (CH<sub>2</sub>), cinco metínicos (CH), sendo um oxigenado em  $\delta_{\text{C}}$  76,1

ppm e um de olefina em  $\delta_C$  122,8 ppm e onze carbonos não hidrogenados, sendo um de olefina em  $\delta_C$  127,8 ppm e três carbonílicos em  $\delta_C$  166,5; 179,7 e 217,7 ppm (Tabela 17). A absorção em  $\delta_C$  166,5 foi atribuída a uma carbonila de éster, em  $\delta_C$  179,7 a uma carbonila de ácido carboxílico com valores semelhantes aos observados para o ácido oleanólico e ácido ursólico, enquanto que a presença de uma absorção  $\delta_C$  217,7 evidenciou a presença de uma carbonila de cetona, que foi localizada no C-3 do esqueleto triterpênico.

Com os dados espectrais obtidos foi possível propor a estrutura de triterpeno do grupo oleanano, contendo um grupo ceto na posição C-3, uma carboxila em C-28 e um grupo éster ligado ao C-22. O tamanho da cadeia carbônica do grupo éster foi definida, pela presença de sinais adicionais presentes no espectro de RMN  $^{13}C$  e correlações heteronuclear de HMQC e HMBC (Fig. 69 e 70, p. 74), que mostraram dois grupos metilas ligados a carbonos  $sp^2$ , além de uma absorção em  $\delta_C$  127,8 de dupla trissubstituída, definindo a cadeia como sendo de um grupo sec-butenil, ligado ao grupo éster.

Desta forma com os dados espectrais obtidos e ainda por comparação de valores da literatura (Tabela 18) (AHMAD, 1994), foi possível propor para LARH-06 a estrutura do triterpeno denominado de lantandeno-A (**6**), já isolada do gênero *Lippia*.

**Tabela 17:** Deslocamento químico de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-06

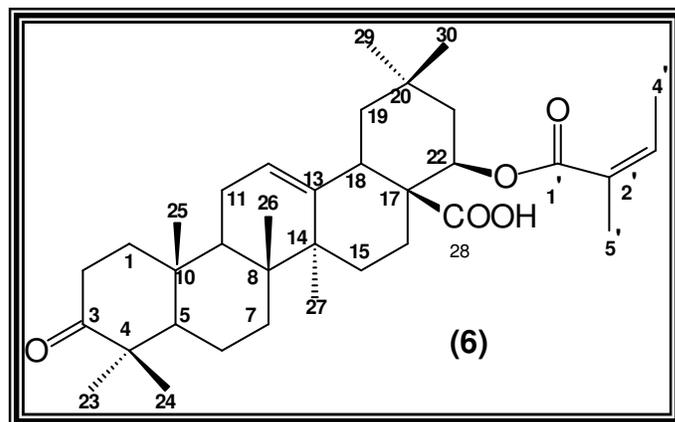
C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	TOTAL
217,7	139,7	46,2	33,9	
179,7	122,8	39,3	26,7	
166,5	76,1	37,9	26,4	
143,3	55,5	34,3	26,0	
127,8	47,1	32,4	21,7	
50,8	38,7	27,8	20,7	
47,6		24,4	17,1	
42,2		23,7	15,3	
39,4		19,7	15,3	
37,0				
30,2				
$\text{C}_{11}\text{O}_4^{\text{a}}$	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}^{\text{b}}$	$\text{C}_9\text{H}_{18}$	$\text{C}_9\text{H}_{27}$	$\text{C}_{35}\text{H}_{51}\text{O}_5 + \text{H}^{\text{c}} = \text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{O}_5$

a

Oxigênios de grupos carbonílicos de cetona, éster e ácido carboxílico

<sup>b</sup> Oxigênio do grupamento éster

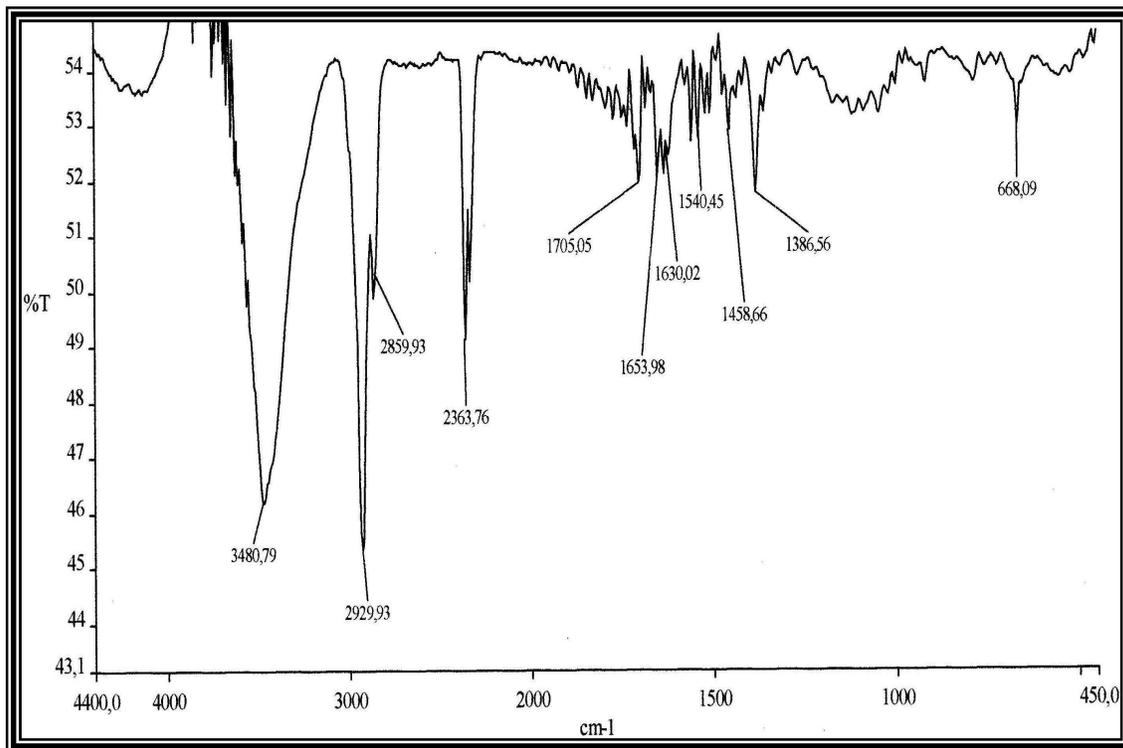
<sup>c</sup> Hidrogênio da hidroxila do ácido carboxílico



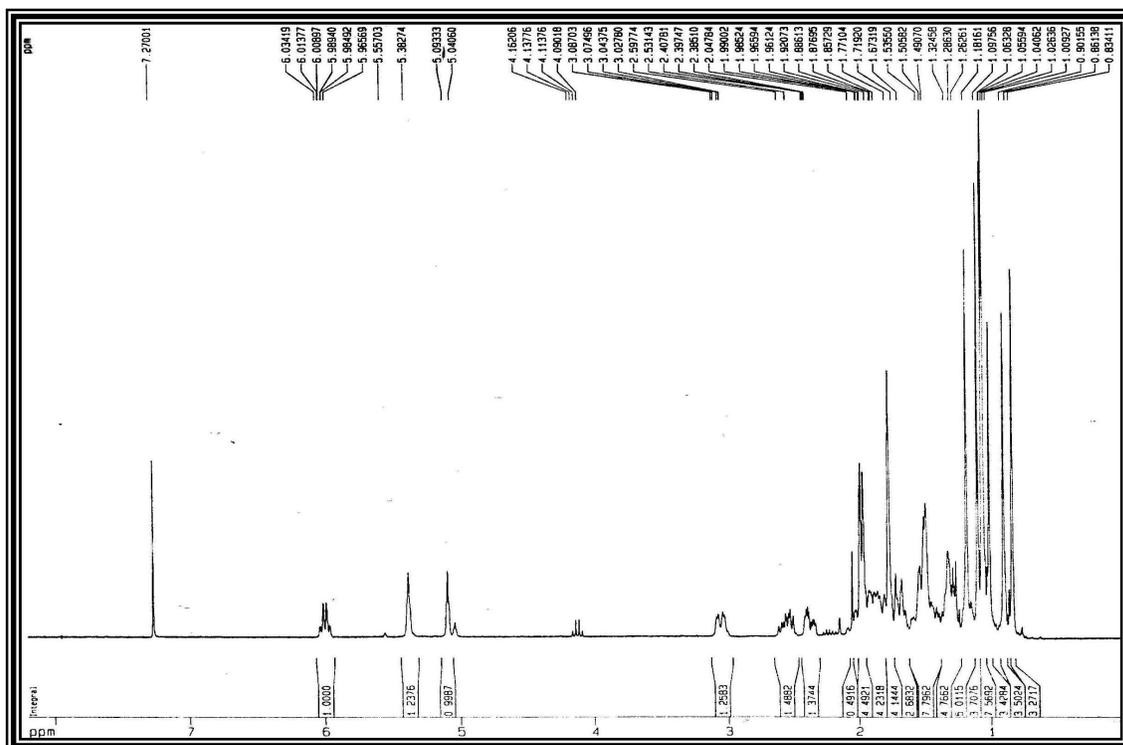
**Tabela 18:** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-06 comparados com valores de  $\delta_{\text{C}}$  da literatura para o lantandeno-A (AHMAD,1994).

C	HMQC	HMBC $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$		$\delta_{\text{C}}$ ppm	LANTADE NO-A $\delta_{\text{C}}$ ppm
	$\delta_{\text{H}}$ ppm $\delta_{\text{C}}$ ppm	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$		
1	-	-	-	39,3	39,2
2	-	-	-	34,3	34,2
3	-	-	H-23; H-24	217,7	217,5
4	-	-	-	47,6	47,5
5	-	-	-	55,5	55,4
6	-	-	-	19,7	19,6
7	-	-	-	32,4	32,3
8	-	-	-	39,4	39,0
9	-	-	-	47,1	47,0
10	-	-	-	37,0	36,8
11	-	-	-	23,7	24,2
12	5,38 (sl)	-	-	122,8	122,4
13	-	-	H-27	143,3	143,3
14	-	-	-	42,2	42,1
15	-	-	-	27,8	27,8
16	-	-	-	24,4	23,6
17	-	-	-	50,8	50,9
18	-	-	-	38,7	39,3
19	-	-	-	46,2	45,9
20	-	-	-	30,2	30,1
21	-	-	-	37,9	38,0
22	5,09 (sl)	-	-	76,1	76,0
23	1,10 (s)	-	-	26,7	26,5
24	1,05 (s)	-	-	20,7	21,5
25	-	-	-	15,3	15,1
26	-	-	-	17,1	16,7
27	1,18 (s)	-	-	26,0	25,8
28	-	-	-	179,7	174,5
29	-	-	-	33,9	33,8
30	-	-	-	26,4	26,2
1'	-	-	H-22; H-5'	166,5	-
2'	-	H-5'	H-4'	127,8	-
3'	5,99 (q)	H-4'	H-5'	139,7	-
4'	1,97 (d)	-	-	15,8	-
5'	1,77 (s)	-	-	21,7	-

**Figura 65:** Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) de LARH-06

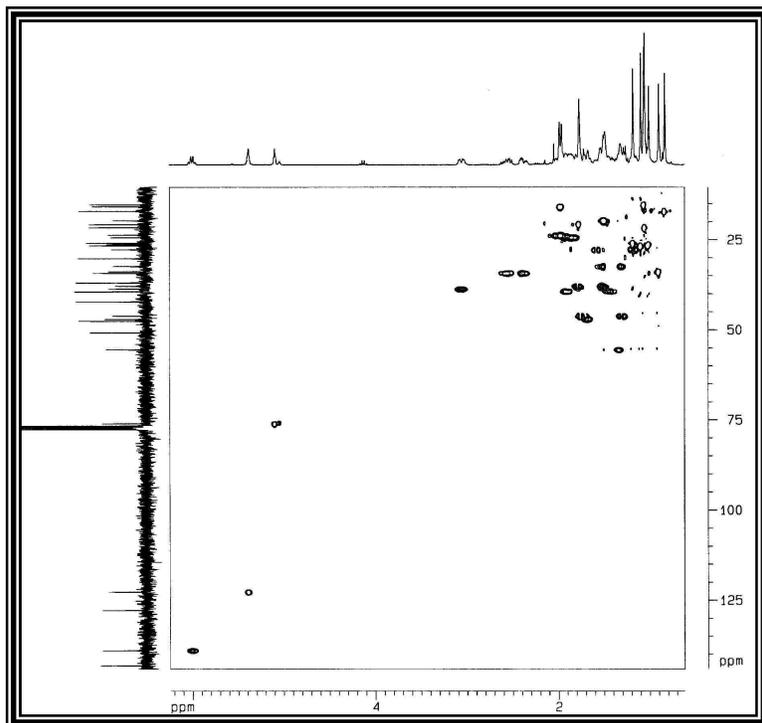


**Figura 66:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de LARH-06

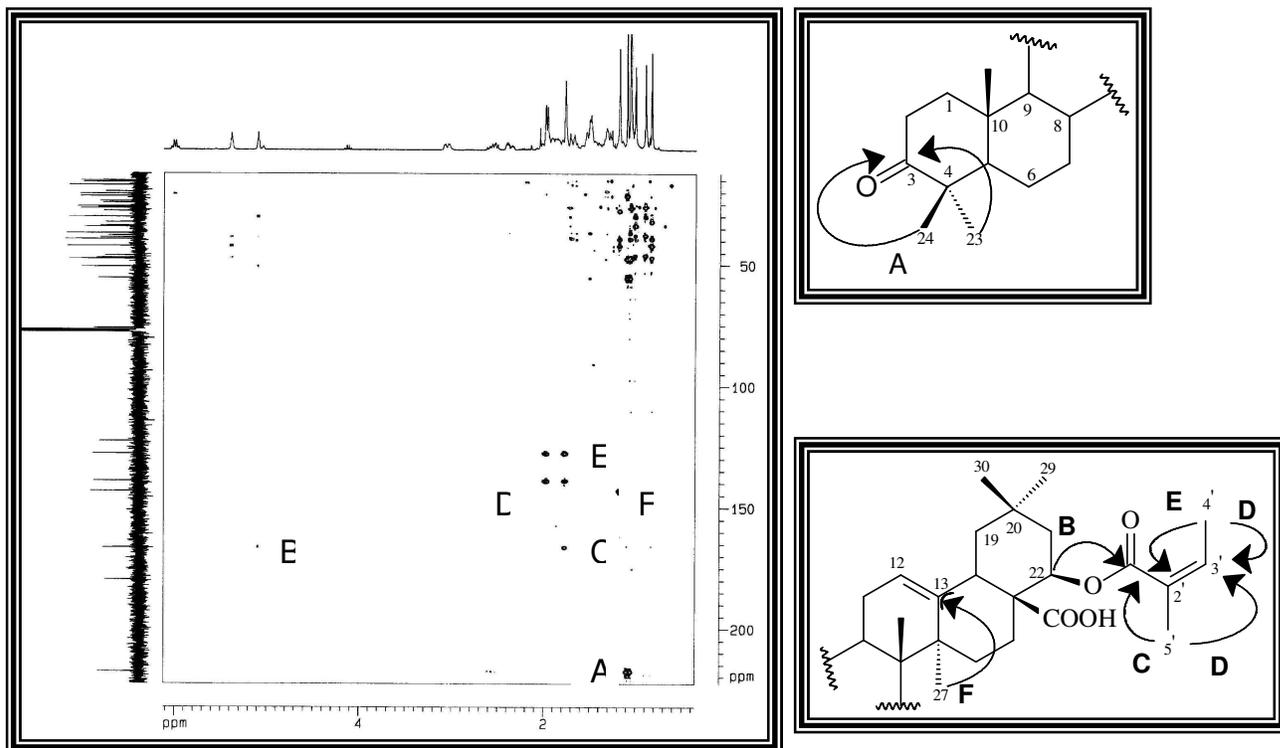




**Figura 69:** Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HMQC, 300 e 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-06



**Figura 70:** Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HMBC, 300 e 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARH-06



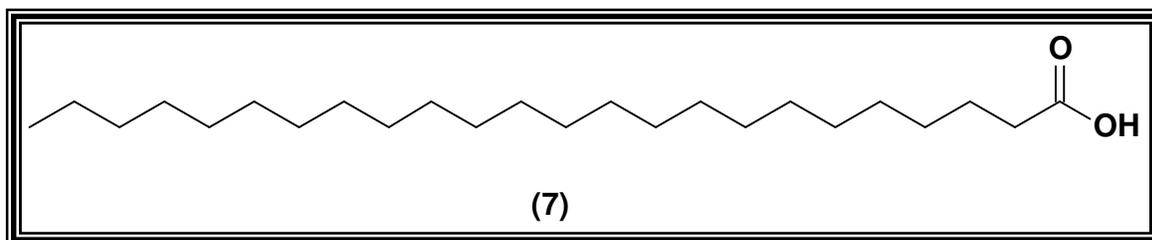
## 5.7 Determinação Estrutural LARE-01

O tratamento cromatográfico do extrato etanólico das raízes de *Lippia aff. gracillis* (Item 6.7.4.1, p. 128), resultou no isolamento do composto denominado LARE-01 uma substância na forma de sólido amorfo branco, solúvel em clorofórmio.

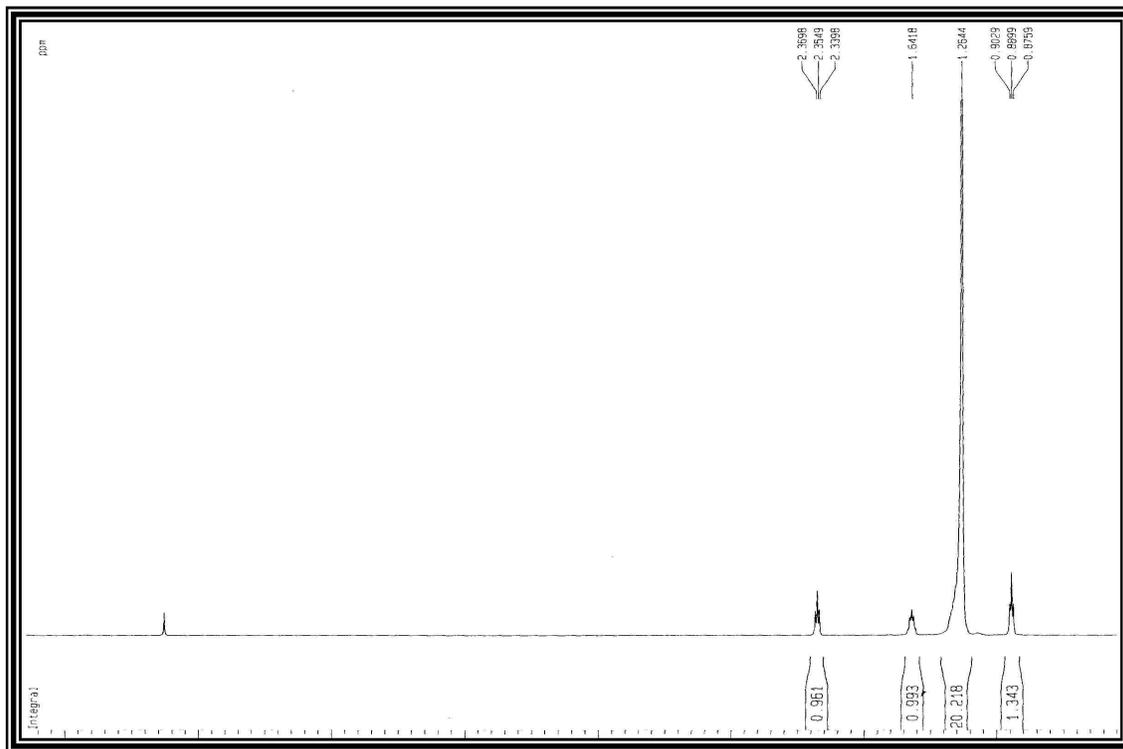
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 71, p 76) mostrou quatro sinais na região de  $\delta_{\text{H}}$  0,88 a 2,36; sendo um tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  0,89 ppm com integração para três prótons, um singlete bastante intenso em  $\delta_{\text{H}}$  1,26 ppm, que poderia indicar prótons de grupos metilênicos, um multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  1,64 ppm e um tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  2,35 ppm.

A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (Fig. 72, p. 76) em comparação com espectro o RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135, (Fig. 73, p. 77), mostrou a presença de um grupo metílico ( $\text{CH}_3$ ), vários sinais na região de  $\delta_{\text{C}}$  22,2 a 34,1 ppm, dentre estes, um bastante intenso em  $\delta_{\text{C}}$  29,9 ppm, característico de grupos metilênicos ( $\text{CH}_2$ ), confirmando assim os dados de RMN  $^1\text{H}$  e um sinal em  $\delta_{\text{C}}$  179,5 ppm de carbonila de ácido carboxílico, caracterizando um ácido graxo de cadeia longa.

A elucidação da estrutura de LARE-01 só foi possível com os dados complementares de CG-EM (Fig. 74, p. 77), que através íon molecular  $m/z$  368, foi determinada a fórmula molecular  $\text{C}_{24}\text{H}_{48}\text{O}_2$  do ácido graxo de cadeia longa denominado de ácido tetraeicosanóico (7).



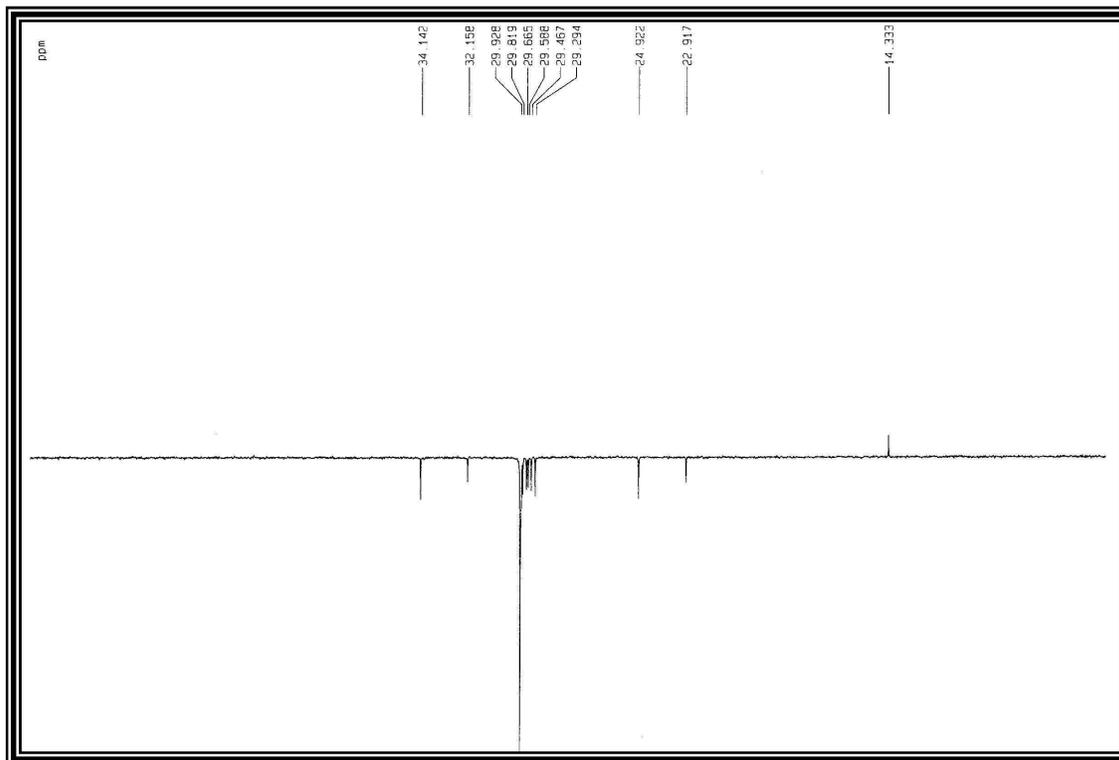
**Figura 71:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-01



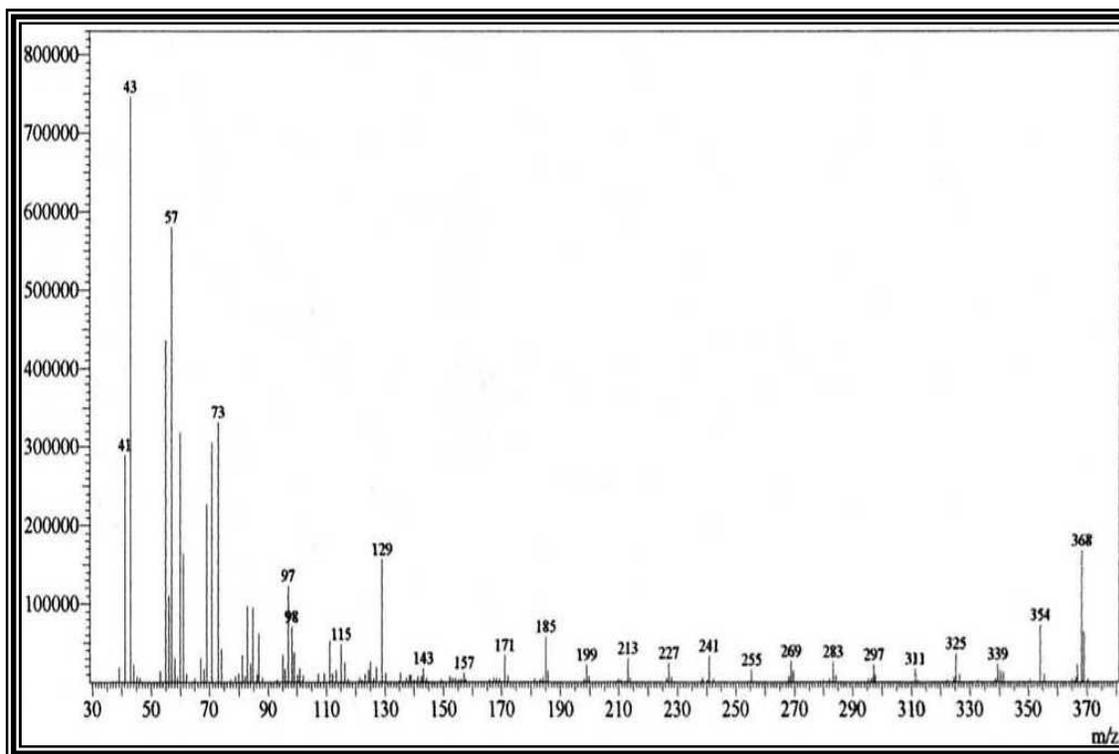
**Figura 72:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-01



**Figura 73:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-01



**Figura 74:** Espectro de massas ( $\text{CHCl}_3$ ) de LARE-01



## 5.8 Determinação Estrutural LARE-02

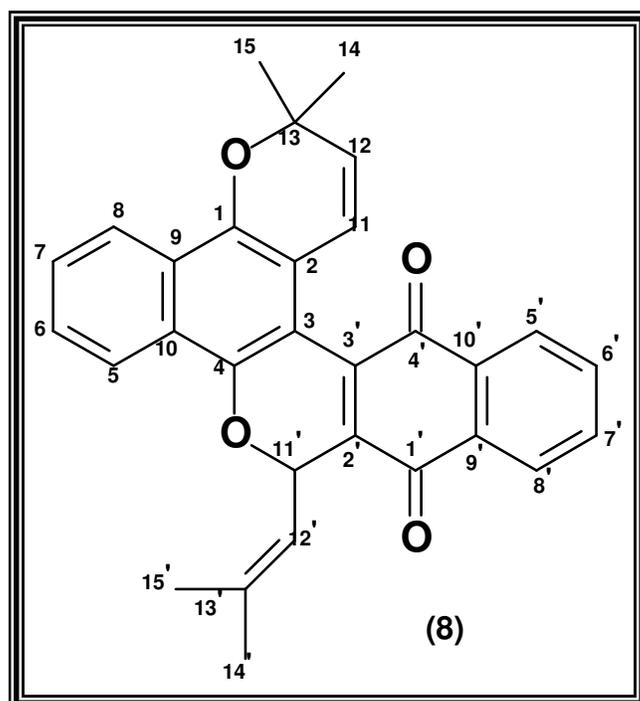
O extrato etanólico das raízes de *Lippia aff. gracillis* foi submetido a diferentes procedimentos cromatográfico (Item 6.7.4.1, p. 128), que resultaram no isolamento da substância denominada LARE-02, obtida na forma de um sólido amorfo verde, solúvel em clorofórmio e com p.f. 187 - 189 °C.

O espectro de absorção na região de infravermelho (IV) de LARE-02 (Fig. 75, p. 81), mostrou bandas em 2967 cm<sup>-1</sup> de C-H de carbonos do tipo sp<sup>3</sup> (ν<sub>CH</sub>), uma banda intensa em 1672 cm<sup>-1</sup> compatível com deformação axial de carbonila α, β-insaturada (ν<sub>C=O</sub>), deformações em 1595 e 1550 cm<sup>-1</sup> características de dupla ligação carbono-carbono de sistema aromático (ν<sub>C=C</sub>) e 1294 e 1247 cm<sup>-1</sup> estiramentos de ligações C-O (SILVERSTEIN, 1991).

A análise do espectro de RMN <sup>1</sup>H (Fig. 76, p. 81) mostrou quatro singletos intensos na região entre δ<sub>H</sub> 1,58 a 2,05 ppm, característicos de hidrogênios metílicos (CH<sub>3</sub>), quatro dubletos com integração para um hidrogênio cada em δ<sub>H</sub> 5,46 e 6,43 ppm com constante de acoplamento (*J* = 9,3 Hz) e em δ<sub>H</sub> 5,59 e 6,16 ppm com constante de acoplamento (*J* = 9,7 Hz) sendo estes dois últimos um indicativo de hidrogênios vicinais de carbonos do tipo sp<sup>2</sup>, e vários sinais compreendidos na região de δ<sub>H</sub> 7,48 a 8,23 ppm indicando sistemas aromáticos.

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB mostrou trinta linhas espectrais (Fig. 77, p. 82), a comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup>C (BB) com o RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135, (Fig. 78, p. 82), evidenciou a presença de quatro grupos metílicos (CH<sub>3</sub>), doze metínicos (CH), sendo um sp<sup>3</sup> oxigenado em δ<sub>C</sub> 68,1 ppm e os demais sp<sup>2</sup> e quatorze carbonos não hidrogenados, sendo um sp<sup>3</sup> oxigenado em δ<sub>C</sub> 76,0 ppm e quatro sp<sup>2</sup> oxigenados em δ<sub>C</sub> 142,1; 148,2 182,4 e 183,6 ppm sendo os dois últimos característicos de carbonilas de cetonas. Sinais na região de carbonos aromáticos confirmam dados de IV e RMN <sup>1</sup>H.

Baseando-se em dados físicos obtidos para LARE-02 e sua intensa coloração verde, juntamente com as correlações dos dados espectrais de IV, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e ainda, comparação com dados da literatura apresentados na Tabela 19, foi possível propor a estrutura de uma naftoquinona já isolada do gênero *Lippia* (COSTA et al., 2001), denominada de tecomaquinona (**8**).



**Tabela 19:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) e  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-02 comparados com valores de  $\delta_{\text{C}}$  da literatura para a tecomaquinona (COSTA et al., 2001).

<b>C</b>	<b>RMN <math>^1\text{H}</math> e <math>^{13}\text{C}</math> de LARE-02</b>		<i>TECOMAQUINONA</i>
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
<b>1</b>	-	143,8	143,6
<b>2</b>	-	112,9	112,8
<b>3</b>	-	111,4	111,3
<b>4</b>	-	148,2	148,0
<b>5</b>	8,17 (d, $J = 8,3$ )	123,3	123,1
<b>6</b>	7,48 (m)	126,6	126,4
<b>7</b>	7,56 (m)	128,2	128,1
<b>8</b>	8,20 (d, $J = 8,3$ )	122,5	122,3
<b>9</b>	-	127,9	127,7
<b>10</b>	-	126,1	125,8
<b>11</b>	6,16 (d, $J = 9,7$ )	124,1	123,9
<b>12</b>	5,59 (d, $J = 9,7$ )	125,4	125,2
<b>13</b>	-	76,0	75,8
<b>14</b>	1,61 (s)	25,6	25,5
<b>15</b>	1,65 (s)	28,9	28,7
<b>1'</b>	-	183,6	183,5
<b>2'</b>	-	135,8	135,8
<b>3'</b>	-	136,7	136,6
<b>4'</b>	-	182,4	182,3
<b>5'</b>	8,14 (m)	126,9	126,7
<b>6'</b>	7,74 – 7,77 (m)	133,4	133,5
<b>7'</b>	7,74 – 7,77 (m)	133,4	133,5
<b>8'</b>	8,11 (m)	126,0	125,9
<b>9'</b>	-	133,8	133,3
<b>10'</b>	-	132,2	132,1
<b>11'</b>	6,43 (d, $J = 9,3$ )	68,1	67,9
<b>12'</b>	5,46 (d, $J = 9,3$ )	117,8	117,7
<b>13'</b>	-	142,1	141,9
<b>14'</b>	1,58 (s)	26,2	26,0
<b>15'</b>	2,05 (s)	19,1	18,9

Deslocamento químico ( $\delta$ ) em ppm e constante de acoplamento ( $J$ ) em Hz

Figura 75: Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) de LARE-02

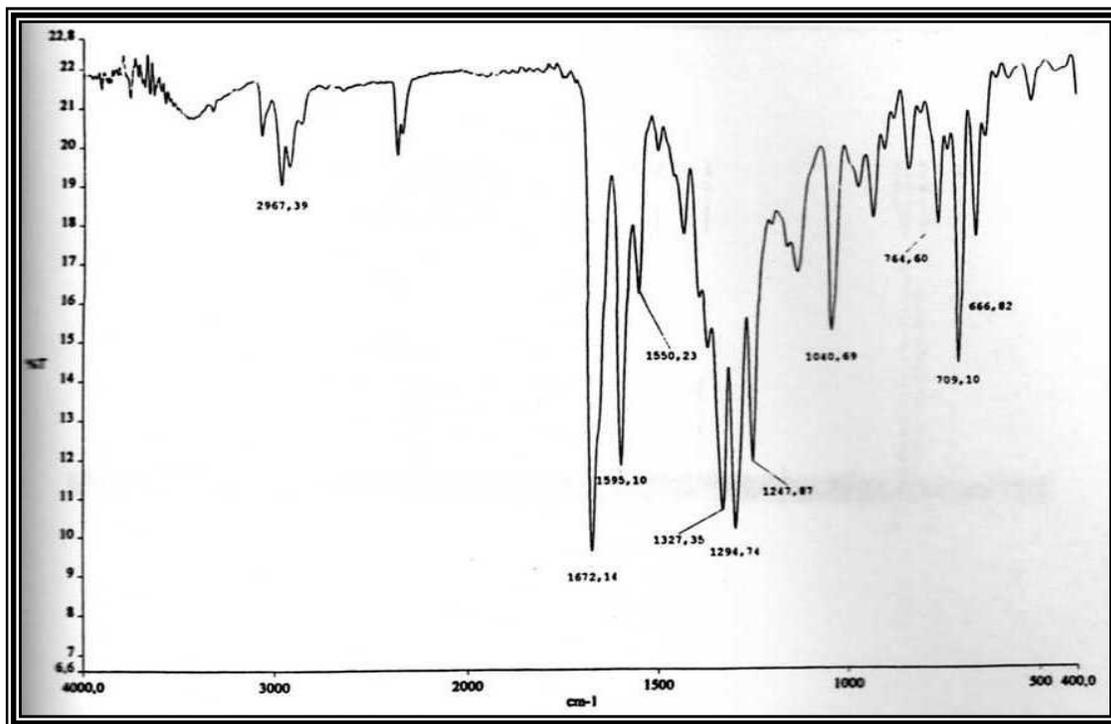


Figura 76: Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de LARE,-02

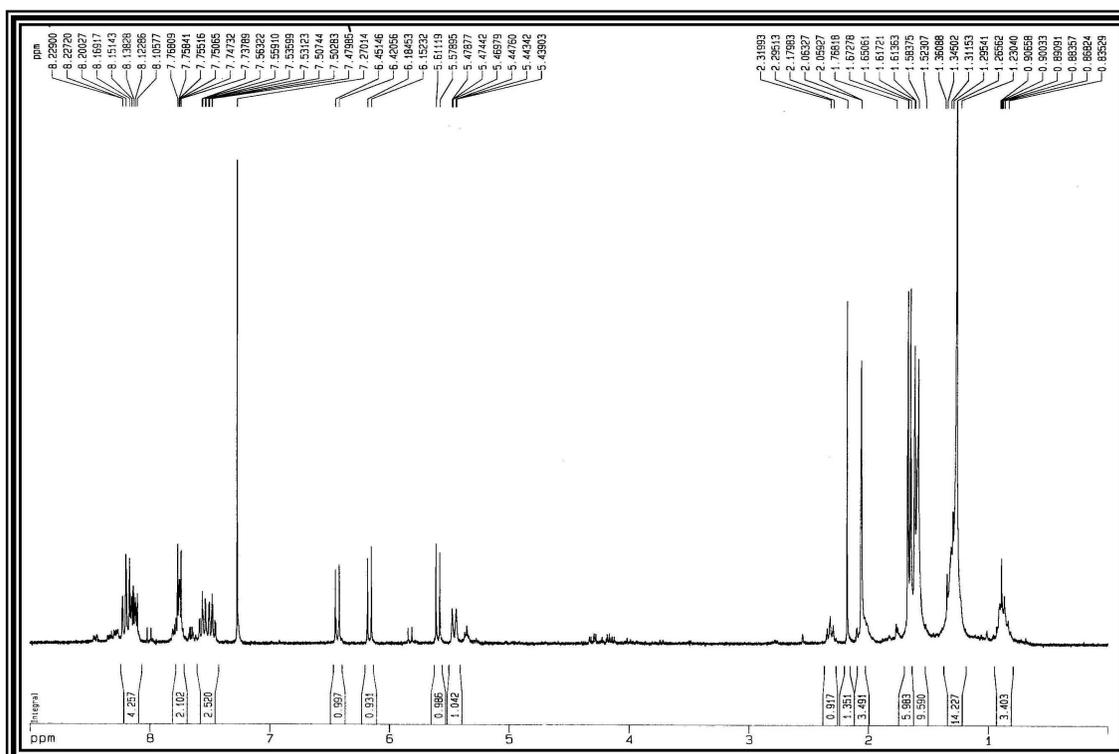


Figura 77: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-02

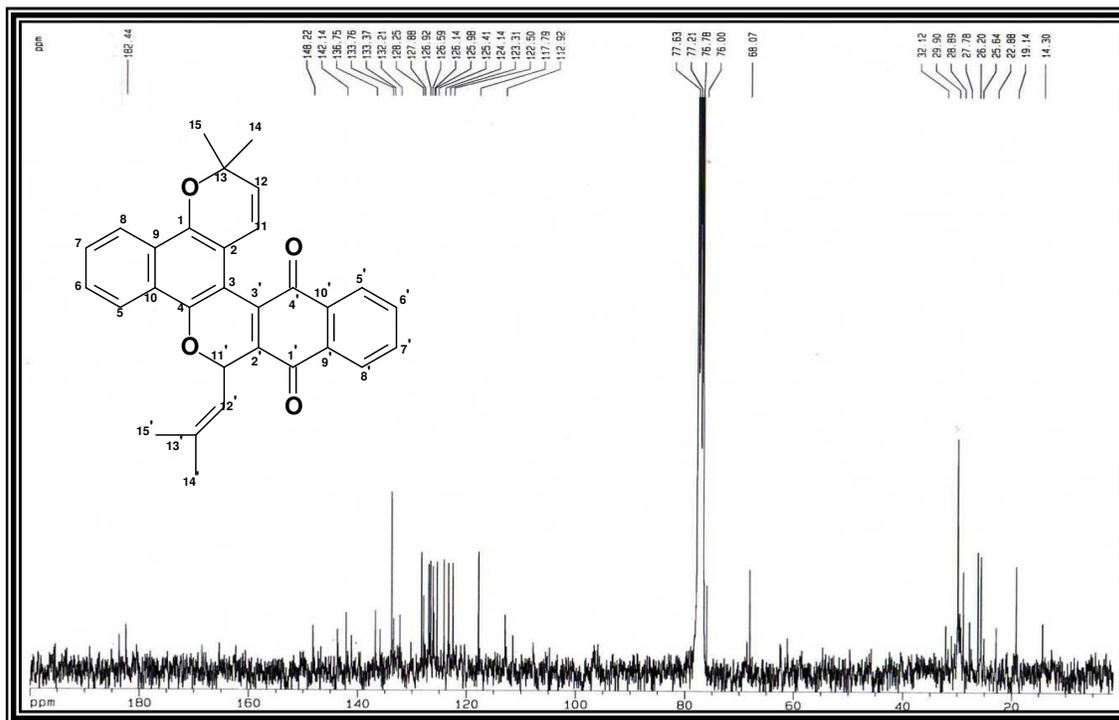
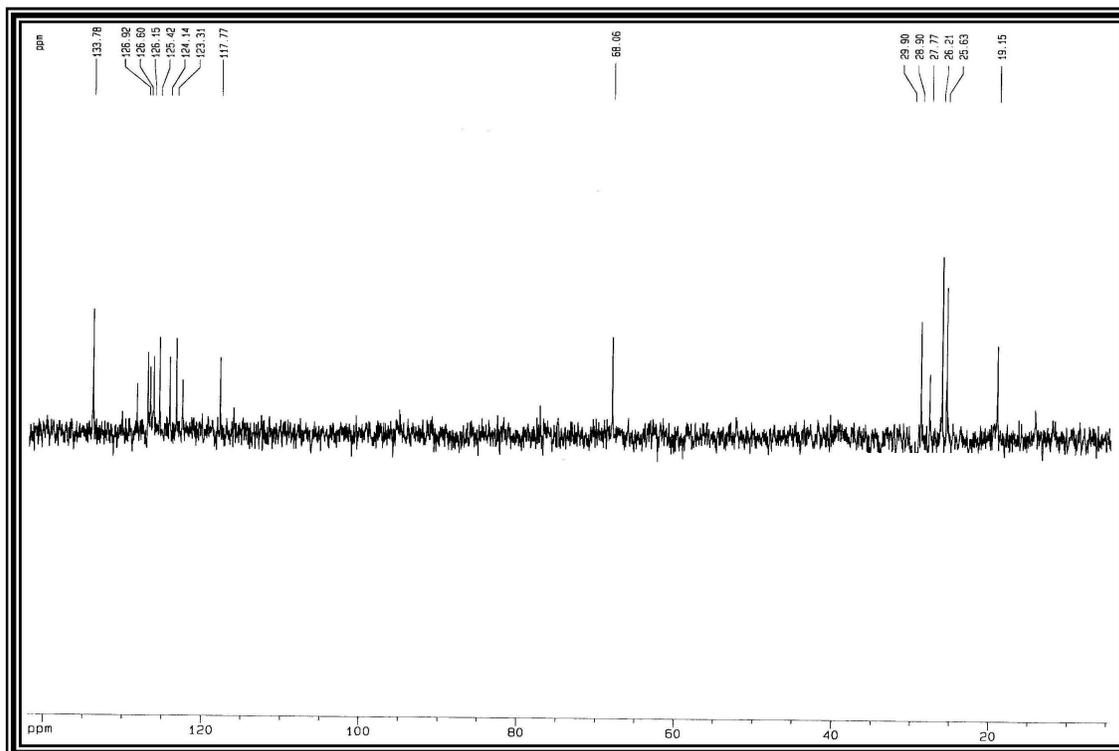


Figura 78: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-02



## 5.9 Determinação Estrutural LARE-03

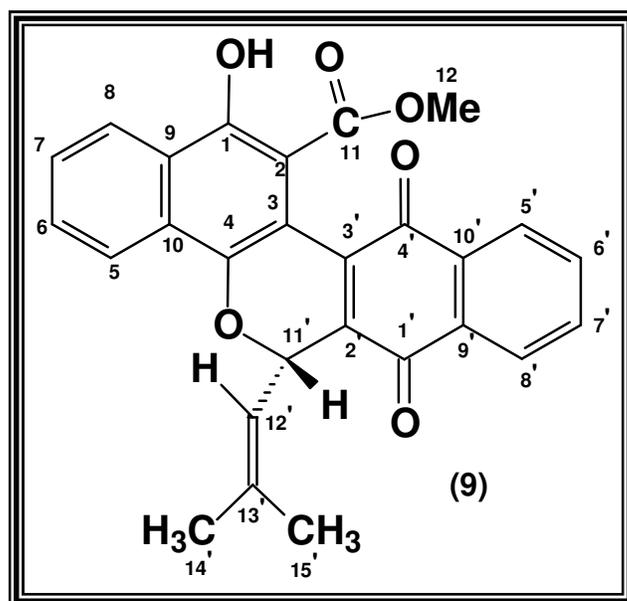
O tratamento cromatográfico do extrato etanólico das raízes de *Lippia aff. gracillis* (Item 6.7.4.1, p. 128), resultou no isolamento do metabólito secundário denominado LARE-03, uma substância na forma de cristais de cor púrpura, solúvel em clorofórmio e com p.f. 197 - 199 °C

A análise do espectro de absorção na região de infravermelho (IV) de LARE-03 (Fig. 79, p. 86), mostrou absorção em 3650 cm<sup>-1</sup> ( $\delta_{\text{O-H}}$ ) indicando a presença de hidroxila, uma banda intensa em 1662 cm<sup>-1</sup> compatível com deformação axial de carbonila conjugada ( $\nu_{\text{C=O}}$ ), e deformações angulares em 1435 e 769 cm<sup>-1</sup> características de dupla ligação carbono-carbono de sistema aromático ( $\nu_{\text{C=C}}$ ) (SILVERSTEIN, 1991).

O espectro de RMN <sup>1</sup>H (Fig. 80, p. 86) revelou três singletos intensos na região em  $\delta_{\text{H}}$  1,67; 2,08 e 3,70 ppm, característicos de hidrogênios metílicos (CH<sub>3</sub>), dois dubletos com integração para um hidrogênio cada em  $\delta_{\text{H}}$  5,58 e 6,48 ppm com constante de acoplamento ( $J = 9,2$  Hz) indicando acoplamento de prótons vicinal, vários sinais na região de  $\delta_{\text{H}}$  7,64 a 8,42 ppm indicando sistemas aromáticos, destacando os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  8,23 e 8,42 ppm com constante de acoplamento ( $J = 9,2$  Hz) e um singleto largo em  $\delta_{\text{H}}$  11,3 ppm característico de hidrogênio de grupo hidroxila (Tabela 20, p. 85).

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB mostrou vinte sete linhas espectrais (Fig. 81 p. 87), a comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup>C (BB) com o RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135, (Fig. 82, p. 87), mostrou a presença de três grupos metílicos (CH<sub>3</sub>) apresentando um oxigenado (metoxila) em  $\delta_{\text{C}}$  52,0 ppm, dez metínicos (CH), sendo um sp<sup>3</sup> oxigenado em  $\delta_{\text{C}}$  68,0 ppm e os demais sp<sup>2</sup> e quatorze carbonos não hidrogenados destes, quatro sp<sup>2</sup> oxigenados em  $\delta_{\text{C}}$  154,7; 171,2 182,4 e 184,7 ppm sendo os dois últimos característicos de carbonilas de cetonas.

Correlações dos dados espectrais de LARE-03, comparação com dados da literatura (SANTOS et al., 2001) mostrados na Tabela 20 e ainda, sua intensa coloração violeta e dados físicos obtidos desta substância, foi possível propor a estrutura de uma naftoquinona já isolada do gênero *Lippia* denominada de microfilaquinona (**9**).

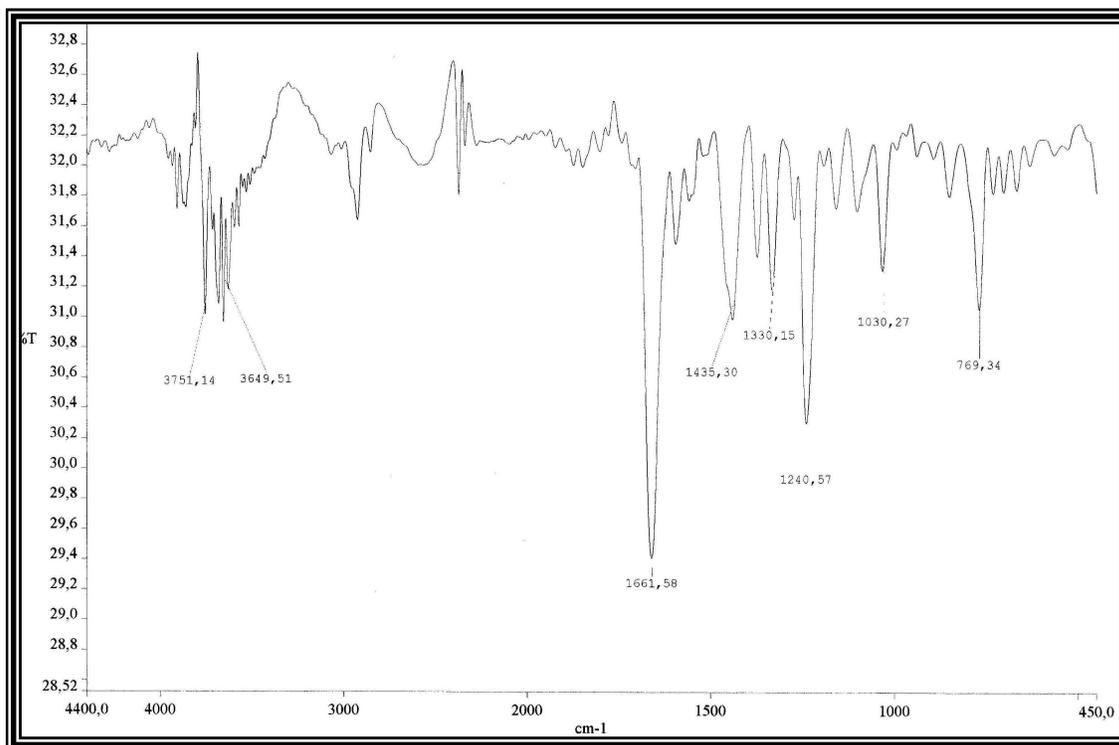


**Tabela 20:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) e  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-03 comparados com valores de  $\delta_{\text{C}}$  da literatura para a microfilquinona (SANTOS et al., 2001).

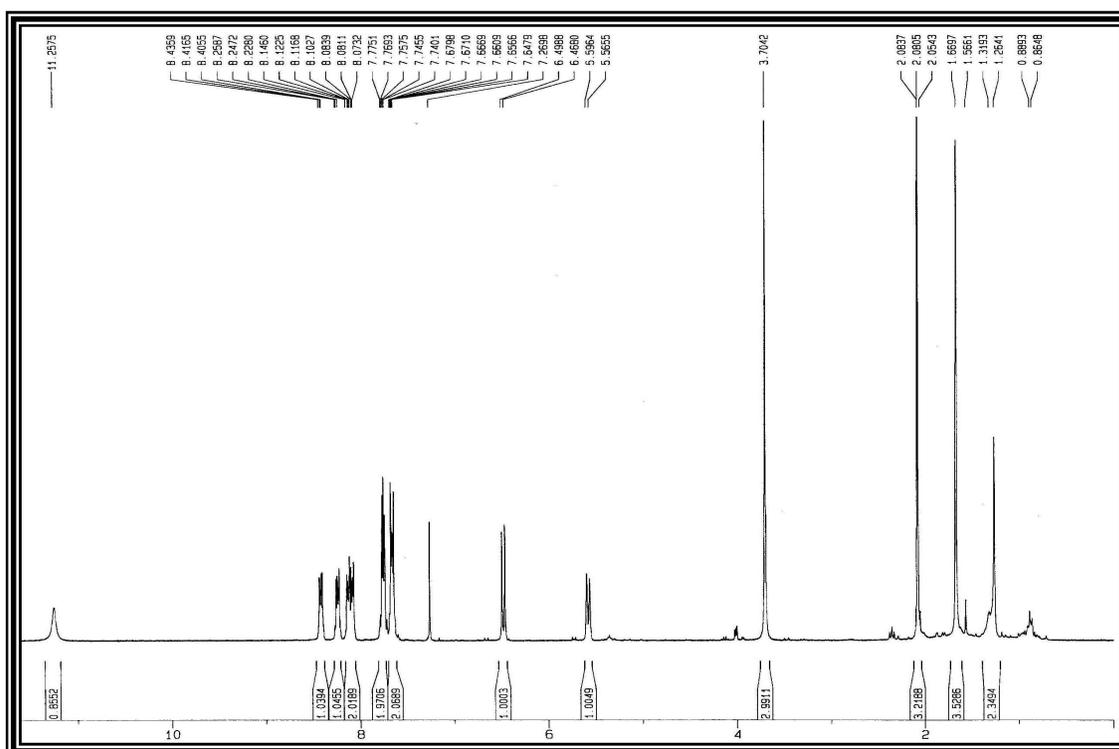
<b>C</b>	<b>RMN <math>^1\text{H}</math> e <math>^{13}\text{C}</math> de LARE-03</b>		<i>MICROFILAQUINONA</i>
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
<b>1</b>	-	154,8	154,8
<b>2</b>	-	104,9	104,4
<b>3</b>	-	109,5	109,8
<b>4</b>	-	147,6	147,8
<b>5</b>	8,23 (d, $J = 9,2$ )	123,3	123,5
<b>6</b>	7,66 (m)	129,6	129,8
<b>7</b>	7,66 (m)	128,8	129,0
<b>8</b>	8,42 (d, $J = 9,2$ )	124,5	124,7
<b>9</b>	-	127,5	127,7
<b>10</b>	-	128,4	128,6
<b>11</b>	-	171,1	171,2
<b>12</b>	3,70 (s)	52,0	52,2
<b>1'</b>	-	182,4	182,5
<b>2'</b>	-	133,1	133,4
<b>3'</b>	-	137,2	137,4
<b>4'</b>	-	184,7	184,8
<b>5'</b>	8,10 (m)	126,6	126,8
<b>6'</b>	7,77 (m)	133,9	134,0
<b>7'</b>	7,77 (m)	134,0	134,1
<b>8'</b>	8,15 (m)	126,3	126,5
<b>9'</b>	-	132,4	132,6
<b>10'</b>	-	133,3	133,5
<b>11'</b>	6,48 (d, $J = 9,2$ )	68,0	68,3
<b>12'</b>	5,58 (d, $J = 9,2$ )	117,7	117,9
<b>13'</b>	-	142,6	142,8
<b>14'</b>	1,67 (s)	26,2	26,4
<b>15'</b>	2,08 (s)	19,1	19,3
<b>OH</b>	11,26 (sl)	-	-

Deslocamento químico ( $\delta$ ) em ppm e constante de acoplamento ( $J$ ) em Hz

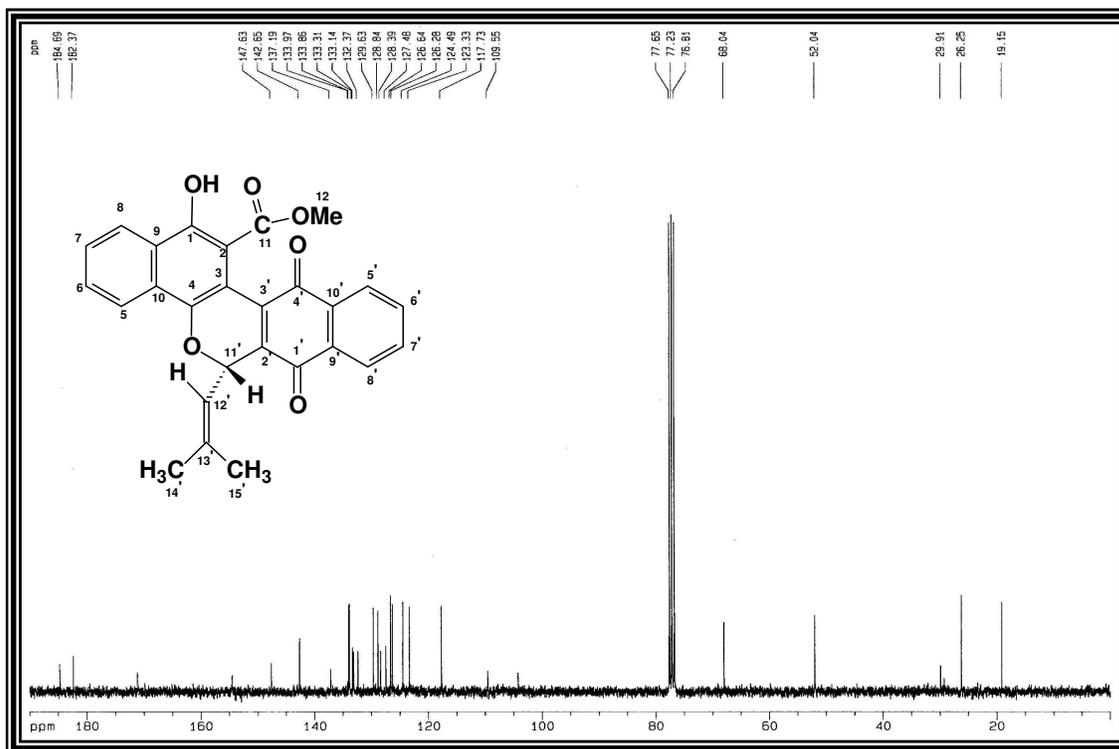
**Figura 79:** Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) de LARE-03



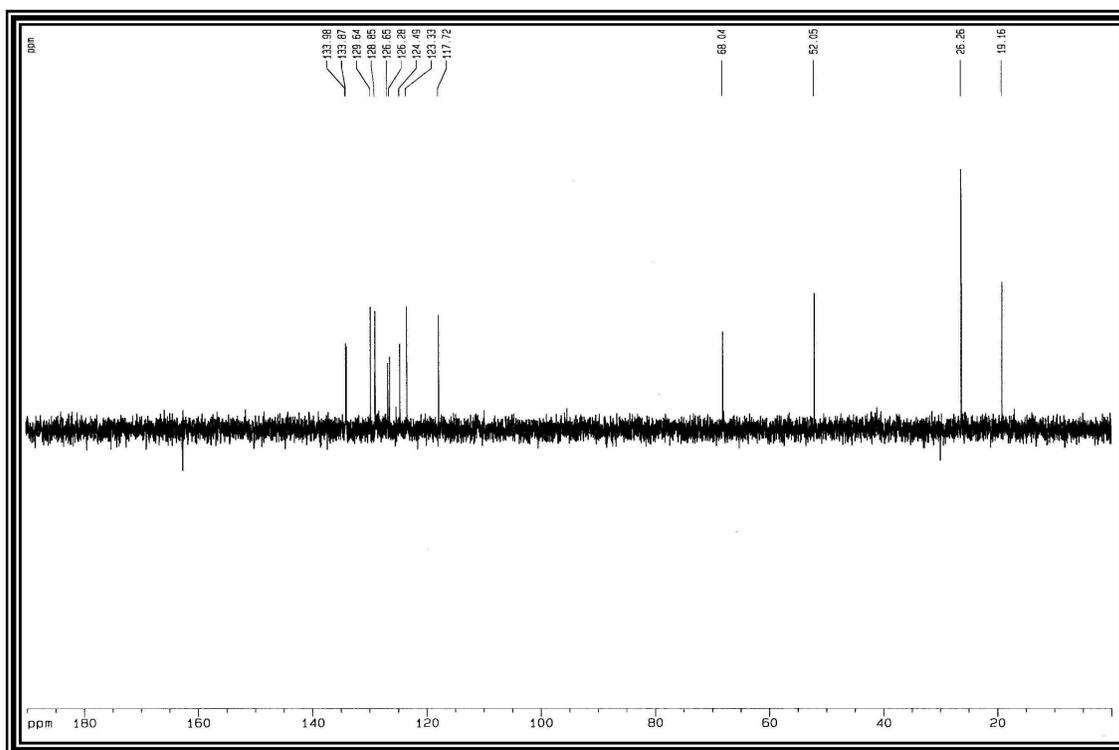
**Figura 80:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de LARE-03



**Figura 81:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-03



**Figura 82:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-03



## 5.10 Determinação Estrutural LARE-04

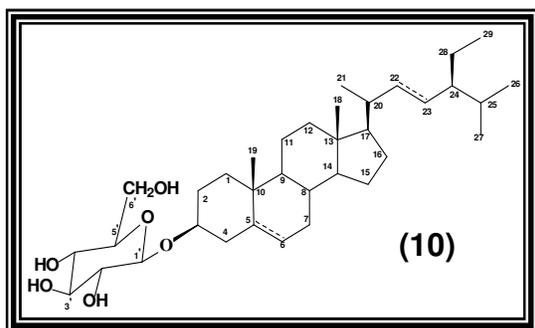
O extrato etanólico das raízes de *Lippia aff. gracillis* foi submetido a diferentes procedimentos cromatográfico (Item 6.7.4.1, p. 128), que resultaram no isolamento da substância denominada LARE-04, obtida na forma de um sólido branco amorfo, solúvel em piridina e com p.f. 290 - 292 °C.

A análise do espectro de absorção na região do IV de LARE-04 (Fig. 83, p. 90), mostrou uma banda larga em 3468 cm<sup>-1</sup>, característica de estiramento O-H, absorções em 2934, 1460 e 1375 cm<sup>-1</sup> provenientes de vibrações de deformação axial e angular de C-H simétrica e assimétrica de grupamentos CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>, respectivamente. Também foram observadas bandas intensas em 1071 e 1024 cm<sup>-1</sup>, relacionadas à deformação axial de ligação C-O, característico de éteres e/ou álcoois (SILVERSTEIN, 1991).

O espectro de RMN<sup>13</sup>C-BB (Fig. 85, p. 91) revelou um conjunto de sinais concentrados principalmente na faixa de 13,3 a 79,9 ppm, característicos de triterpenos ou esteróides. A presença de sinais referentes a carbonos com hibridação sp<sup>2</sup> em δ<sub>C</sub> 123,2; 130,8; 139,9 e 142,2 ppm, sendo os três primeiros de acordo com o espectro DEPT 135 (Fig. 86, p. 91), referentes a carbonos metínicos, portanto consistentes com os deslocamentos químicos da mistura dos fitoesteróides glicosilados β-sitosterol [Δ<sup>5</sup> δ<sub>C</sub> 142,2 ppm (C-5) - 123,2 ppm (CH-6)] e estigmasterol [Δ<sup>5,22</sup> δ<sub>C</sub> 142,2 ppm (C-5) 123,2 ppm (CH-6) e 139,9 ppm (CH-22) - 130,8 ppm (CH-23)], freqüentemente isolados juntos. Os sinais adicionais em δ<sub>C</sub> 103,9; 79,8; 79,4; 76,7; 73,0 e 64,2 ppm; quando comparados com aqueles descritos na literatura (Tabela 21, p. 89), são compatíveis com os deslocamentos químicos da unidade de açúcar, identificada como glicose.

Estas informações juntamente com os dados RMN <sup>1</sup>H (Fig. 84, p. 90) permitiram definir a estrutura de LARE-04, como sendo uma mistura binária dos

fitoesteróides  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol glicosilados, sendo o componente majoritário o composto 3 $\beta$ -O- $\beta$ -D-glicopiranosilsterol (**10**).



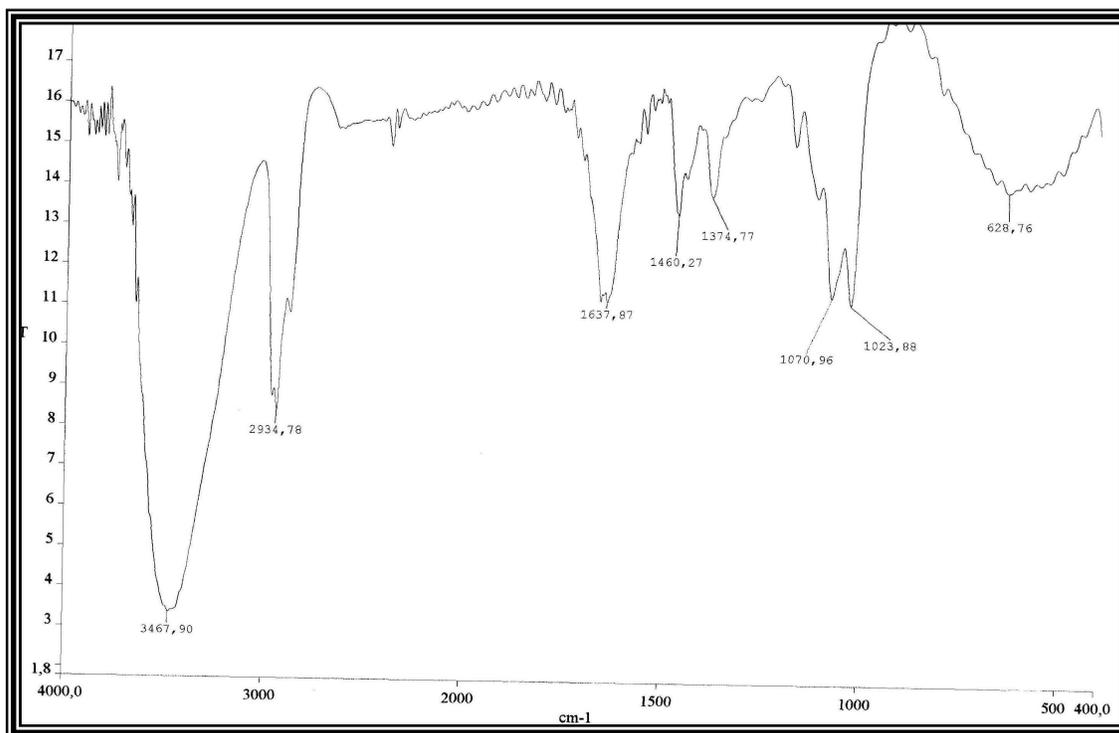
$\Delta^5$  -  $\beta$ -sitosterol glicosilado (majoritário)

$\Delta^{5,22}$  - estigmasterol glicosilado

**Tabela 21:** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de LARE-04 comparados com valores de  $\delta_{\text{C}}$  da literatura para o  $3\beta\text{-O-}\beta\text{-D-glicopiranosilsterol}$  (MACARI et al., 1990).

C	LARE -04	$3\beta\text{-O-}\beta\text{-D-glicopiranosilsterol}$
	$\delta_{\text{C}}$ ppm	$\delta_{\text{C}}$ ppm
1	38,8	37,2
2	30,8	29,5
3	79,9	80,0
4	41,3	38,9
5	142,2	140,3
6	123,2	122,0
7	33,5	31,8
8	33,4	31,8
9	51,7	50,2
10	38,3	36,5
11	22,6	20,9
12	40,7	39,7
13	43,7	42,3
14	58,2	56,7
15	25,8	24,2
16	29,9	28,1
17	57,6	56,1
18	13,5	11,9
19	20,8	19,2
20	37,7	36,0
21	20,3	18,7
22	35,5	34,0
23	27,7	26,1
24	47,4	45,8
25	29,9	29,1
26	21,3	19,7
27	20,5	18,9
28	24,7	23,0
29	13,3	11,0
1'	103,9	99,6
2'	79,4	71,7
3'	79,8	73,0
4'	73,0	68,7
5'	76,7	71,5
6'	64,2	61,9

**Figura 83:** Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) de LARE-04



**Figura 84:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de LARE-04

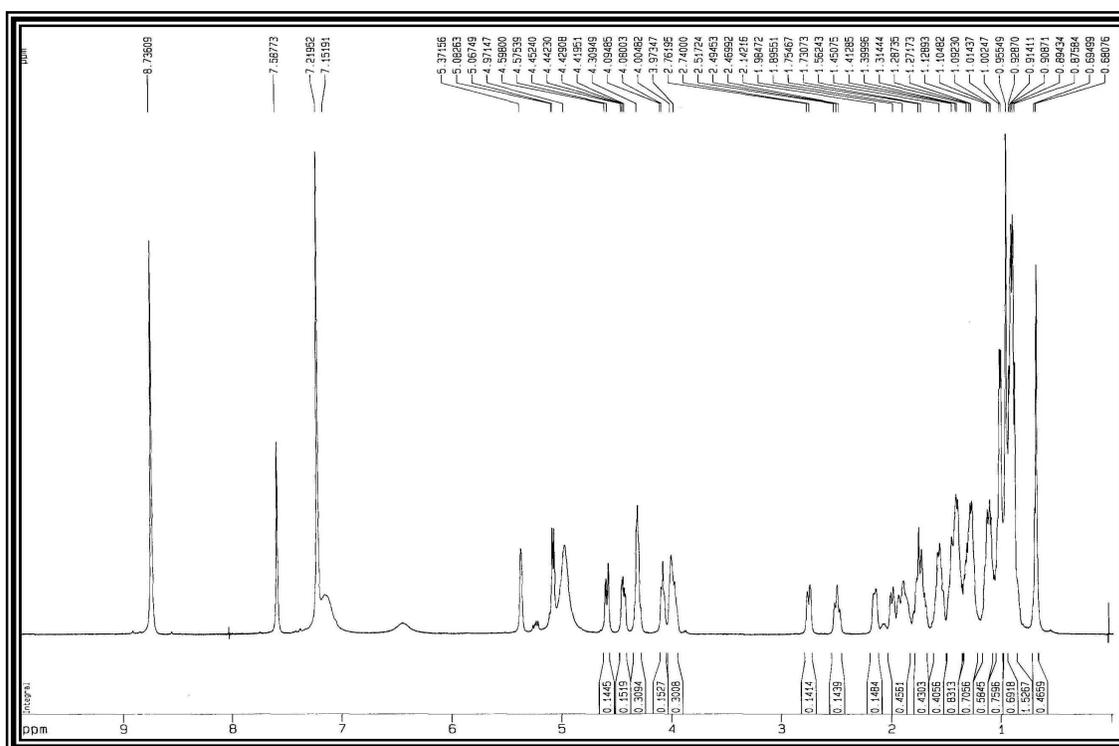


Figura 85: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de LARE-04

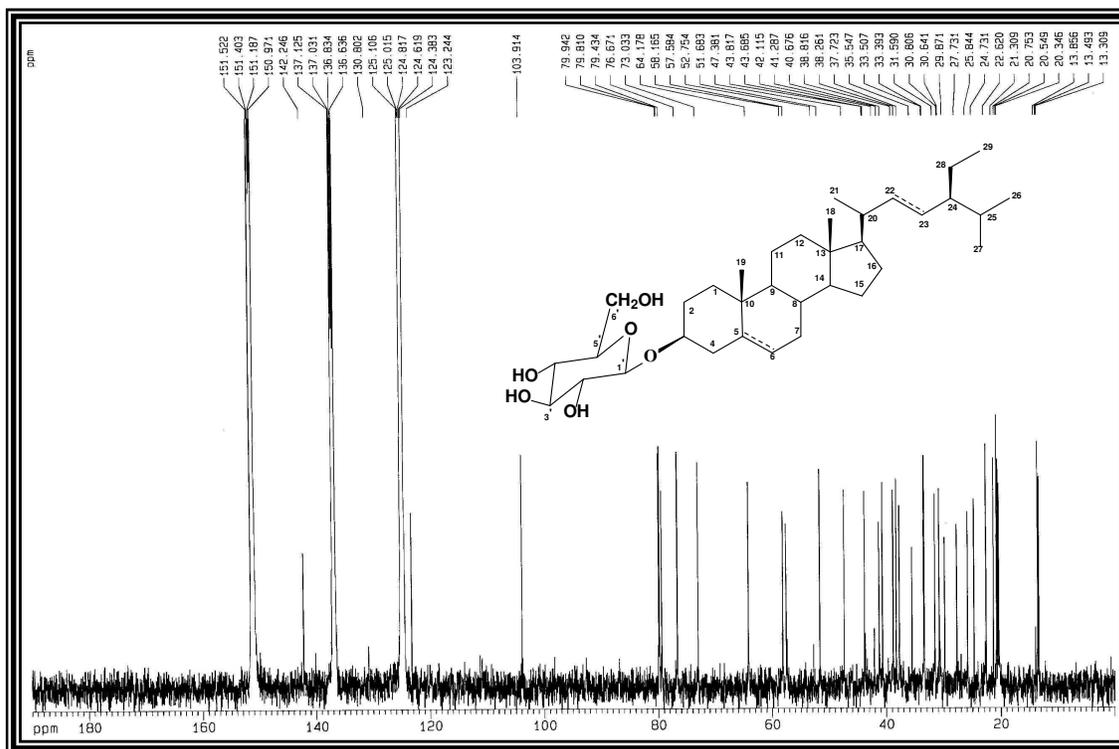
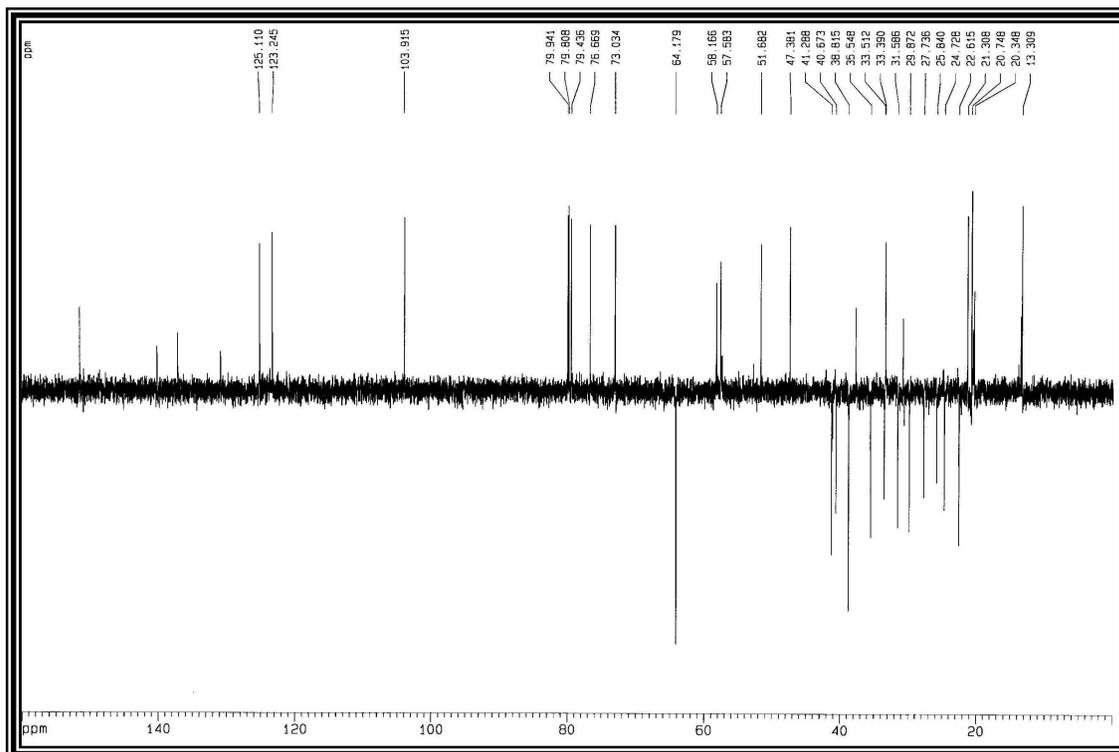


Figura 86: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de LARE-04



## 5.11 Determinação Estrutural LARE-05

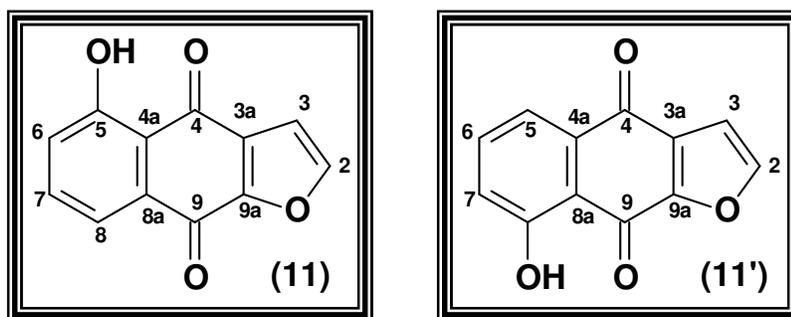
O extrato etanólico das raízes de *Lippia aff. gracillis* foi submetido a diferentes procedimentos cromatográfico (Item 6.7.4.1, p. 128), que resultaram no isolamento da substância denominada LARE-05, obtida na forma de um sólido branco amorfo, solúvel em piridina e com p.f. 186 - 189 °C.

O espectro de absorção na região de infravermelho (IV) de LARE-05 (Fig. 87, p. 95), mostrou absorção em 3130 cm<sup>-1</sup> ( $\delta_{\text{O-H}}$ ) indicando a presença de hidroxila, uma banda intensa em 1671 e 1634 cm<sup>-1</sup> compatível com deformação axial de carbonilas conjugadas ( $\nu_{\text{C=O}}$ ), deformações angulares em 1443 e 768 cm<sup>-1</sup> características de dupla ligação carbono-carbono de sistema aromático ( $\nu_{\text{C=C}}$ ) e na faixa de 1154-1028 cm<sup>-1</sup> deformação axial de carbono ligado a oxigênio ( $\nu_{\text{C-O}}$ ) (SILVERSTEIN, 1991).

A análise do espectro de RMN <sup>1</sup>H (Fig. 89, p. 96) mostrou sinais na região de sistemas aromáticos entre  $\delta_{\text{H}}$  7,00 e 7,79 ppm, após expansão desta região (Fig. 90, p. 96) foi observado dois dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,79 e 7,00 ppm com constante de acoplamento ( $J = 1,7$  Hz) indicando acoplamento vicinal de prótons de carbonos sp<sup>2</sup>. Dois dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,28 e 7,78 ppm e um tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  7,63 ppm, com constante de acoplamento ( $J = 8,0$  Hz), característicos de hidrogênios aromáticos nas posições *orto* e um singleto largo em  $\delta_{\text{H}}$  12,2 ppm característico de hidrogênio de hidroxila quelada (Tab. 22, p. 95).

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB mostrou doze linhas espectrais todos na região de carbonos aromáticos (Fig. 91, p. 97) e a comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup>C (BB) com o RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135 (Fig. 92, p. 97), mostrou cinco carbonos sp<sup>2</sup> metínicos (CH) em  $\delta_{\text{C}}$  108,5; 120,3; 125,5; 136,5 e 149,1 ppm e nove carbonos não hidrogenados todos sp<sup>2</sup> sendo, cinco oxigenados em  $\delta_{\text{C}}$  108,5; 153,1; 162,7; 173,1 e 186,7 ppm, dos quais, os dois últimos são característicos de carbonilas de cetonas, típicas de anéis quinônicos.

O espectro bidimensional homonuclear COSYGS (Fig. 93, p. 98) corroborou os padrões de acoplamentos de prótons observados no RMN  $^1\text{H}$  e o espectro bidimensional heteronuclear HSQCGS (Fig. 94, p. 98) confirmou a correlação dos prótons com os respectivos carbonos a uma ligação. A análise do espectro bidimensional heteronuclear HMBCGS (Fig. 95 a 97, p. 99 e 100) com correlações  $^2J_{CH}$  e  $^3J_{CH}$ , (Tab. 22, p. 95). A correlação a três ligações  $^3J_{CH}$ , do carbono carbonílico (C-4) com o hidrogênio (H-3) (Fig. 97, p. 100) e também a correlação  $^2J_{CH}$  entre o hidrogênio da hidroxila com o carbono carbonílico (C-4), através da ligação de hidrogênio, (Fig. 93, p. 99), foram imprescindíveis para a localização da hidroxila no carbono cinco, sendo possível diferenciar do isômero, cuja hidroxila encontra-se no carbono oito.



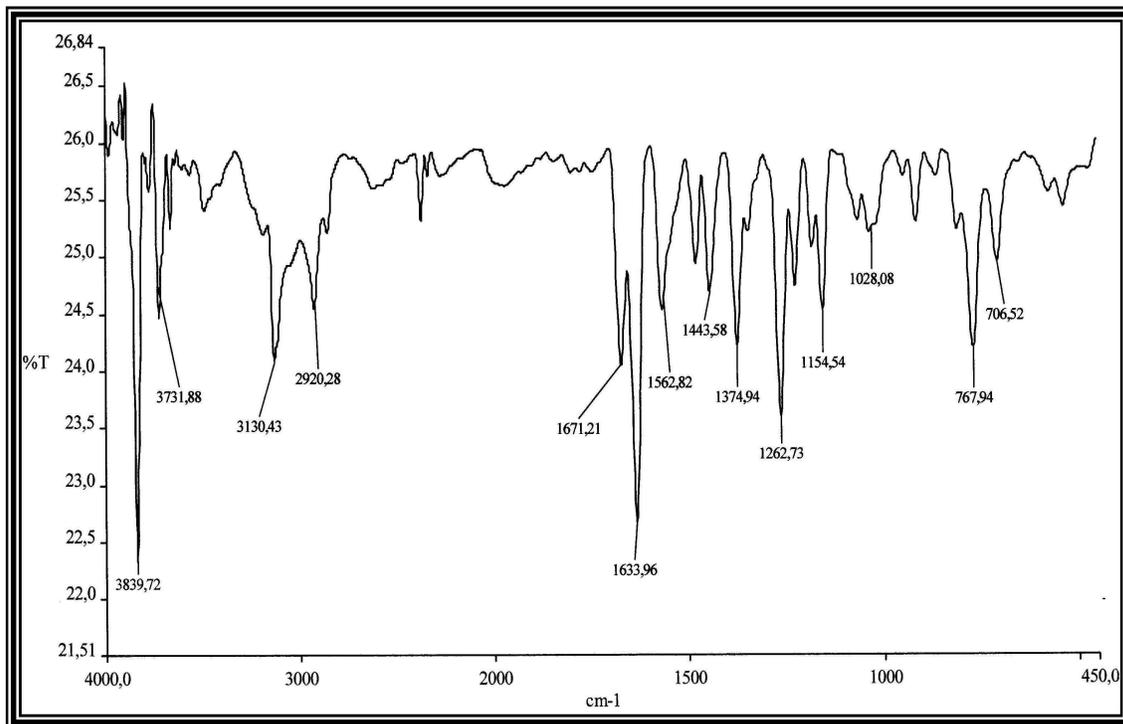
A confirmação da massa molar foi realizada através do espectro massas (LC-EM) cuja  $m/z = 214$  (Fig. 88, p. 95).

De acordo com levantamento bibliográfico no Chemical Abstract, só foram relatados até então, dados RMN  $^1\text{H}$  das estruturas (11) e (11'). Desta forma, após análise detalhada e inequívoca dos dados espectrais uni e bidimensionais de LARE-05 e juntamente com dados de RMN  $^1\text{H}$  da literatura (ABEYGUNAWARDENA et al., 1990), que estão resumidos na Tabela 22, p. 94, foi possível propor a estrutura de uma furanonaftoquinona (11) inédita no gênero *Lippia*.

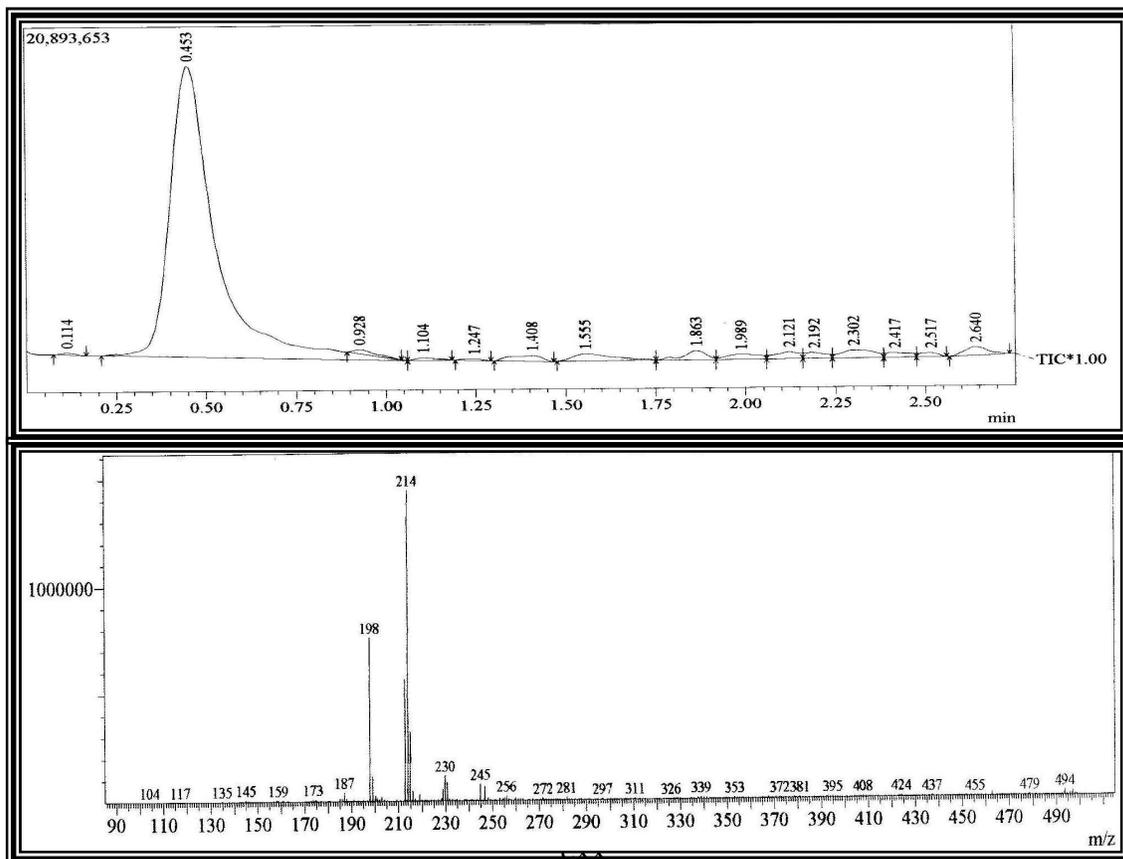
**Tabela 22:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) e  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-05 comparados com valores de  $\delta_{\text{H}}$  da literatura para a 5-hidroxi-nafto[2,3-b]furan-4,9-quinona (ABEYGUNAWARDENA et al., 1990).

<b>C</b>	$^1\text{H e }^{13}\text{C}$ - HSQCGS		$^1\text{H e }^{13}\text{C}$ HMBCGS		<i>Abeygunawardena</i> $\delta_{\text{H}}$
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
<b>2</b>	7,79 (d, $J = 1,7$ )	149,0	H-3	-	7,77 (d, $J = 1,7$ )
<b>3</b>	7,00 (d, $J = 1,7$ )	108,5	H-2	-	6,98 (d, $J = 1,7$ )
<b>4</b>	-	186,7	$^2J_{\text{CH}}$ HO-5	H-3	-
<b>5</b>	-	162,7	HO-5; H-6	H-7	-
<b>6</b>	7,28 (d, $J = 8,0$ )	125,5	H-7	H-8	7,27 (dd, $J = 8,4; 1,2$ )
<b>7</b>	7,63 (t, $J = 8,0$ )	136,5	H-6; H-8	-	7,62 (dd, $J = 8,4; 6,4$ )
<b>8</b>	7,78 (d, $J = 8,0$ )	120,3	-	H-6	7,76 (dd, $J = 6,4; 1,2$ )
<b>9</b>	-	173,1	-	H-8	-
<b>3a</b>	-	130,5	-	H-2	-
<b>4a</b>	-	115,6	-	HO-5; H-6; H-8	-
<b>8a</b>	-	132,9	-	H-7	-
<b>9a</b>	-	153,1	-	H-2; H-3	-
<b>HO-5</b>	12,20 (s)	-	-	-	12,18 (s)

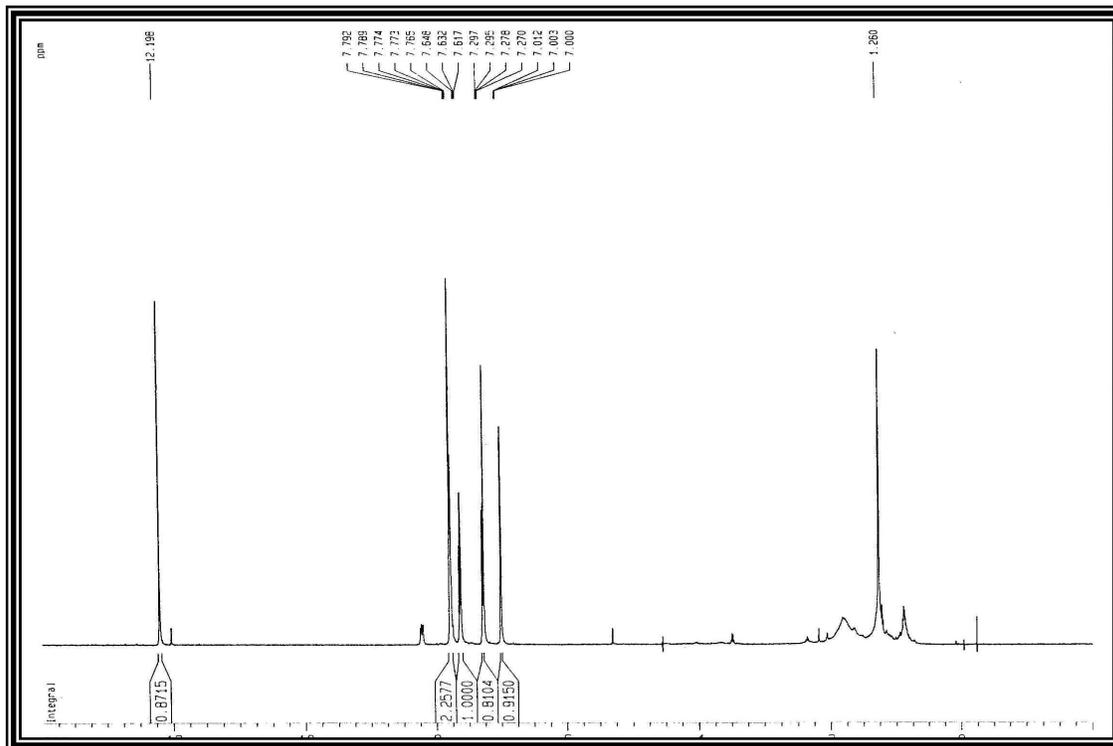
**Figura 87:** Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) de LARE-05



**Figura 88:** Cromatograma e espectro de massas (LCMS - CHCl<sub>3</sub>) de LARE-05



**Figura 89:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-05



**Figura 90:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  expansão (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-05

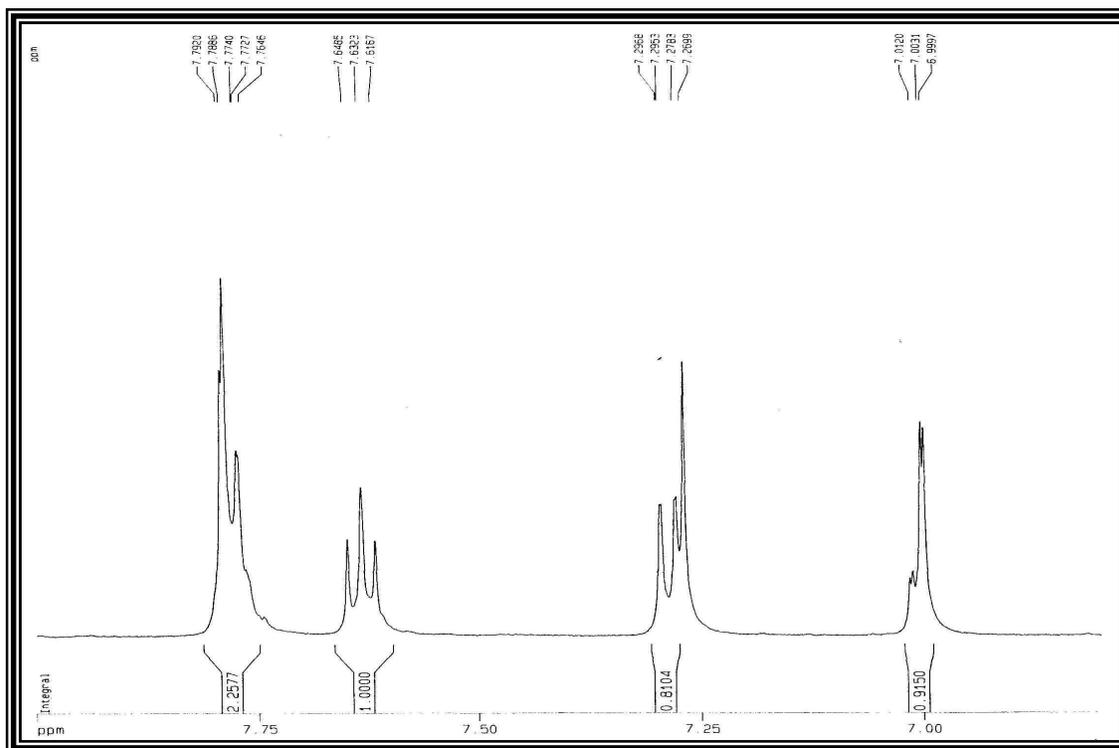


Figura 91: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-05

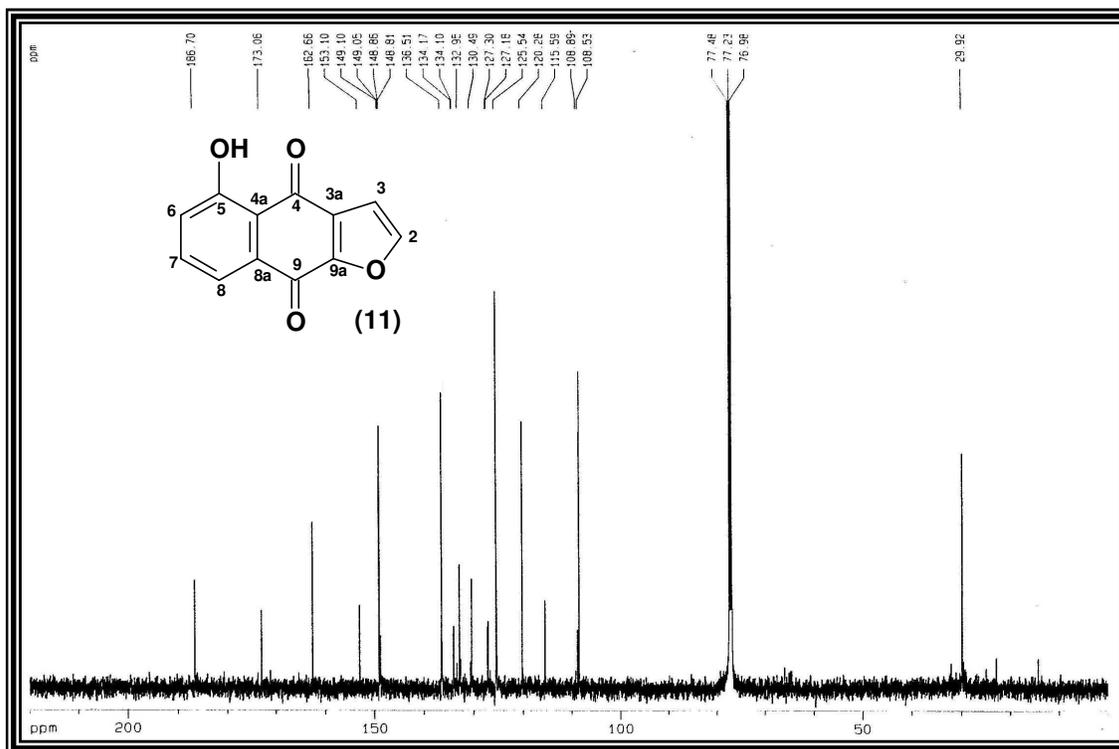
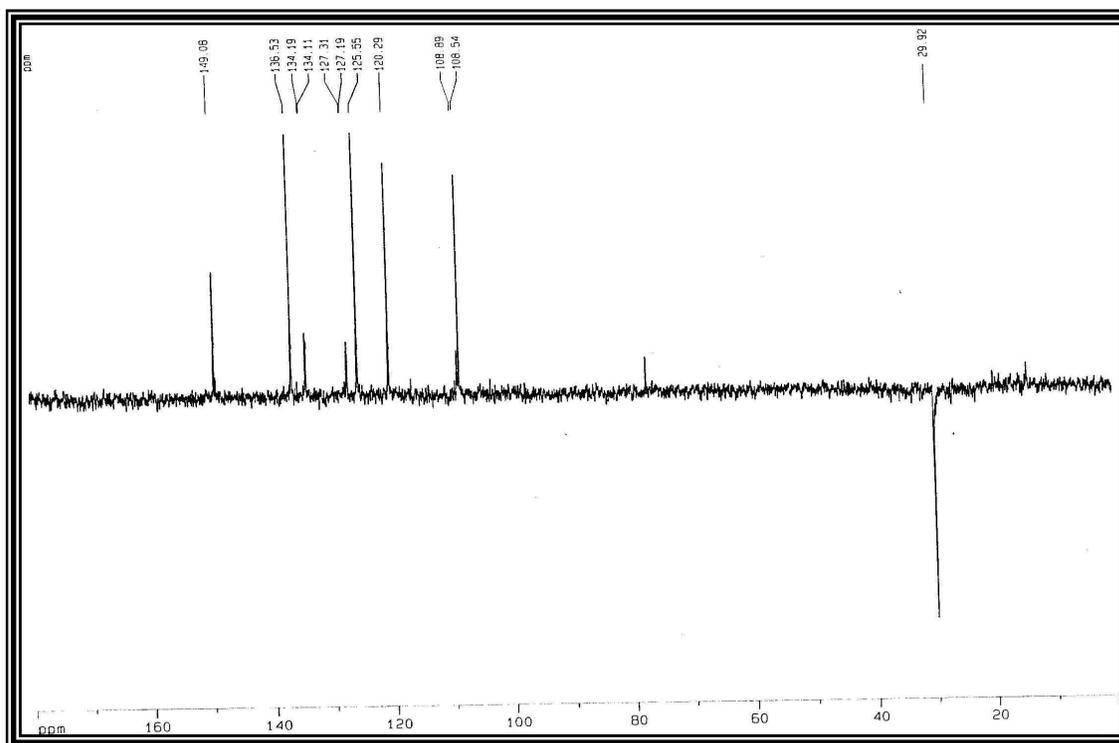
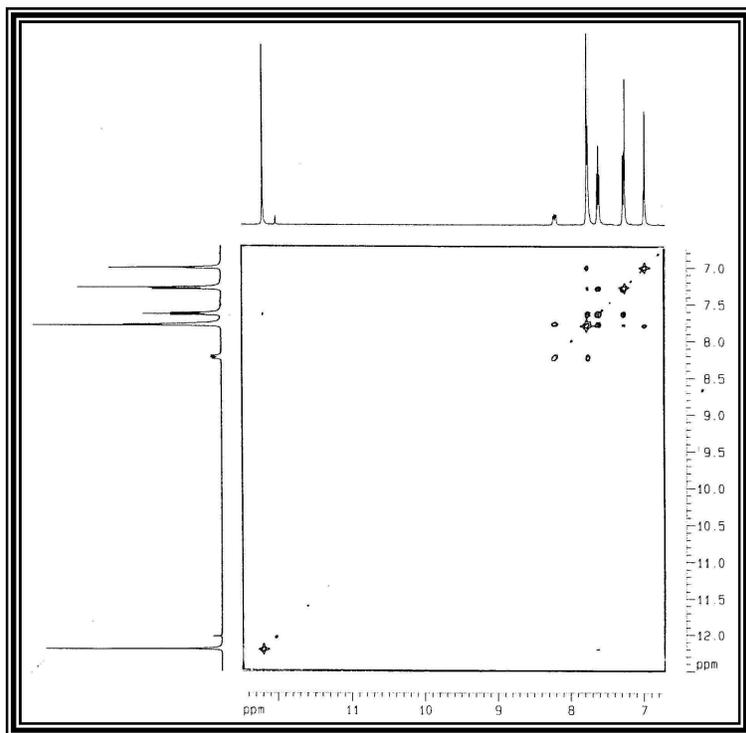


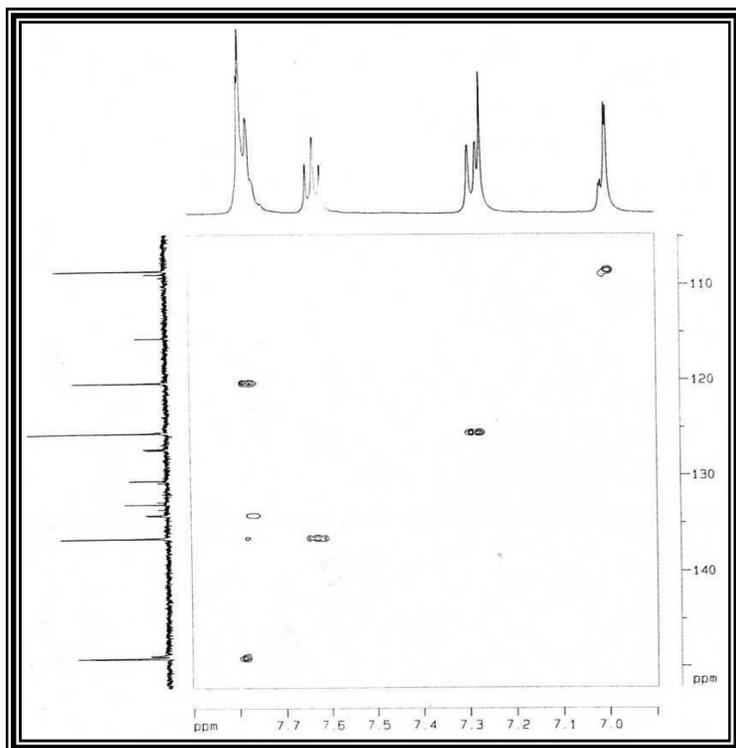
Figura 92: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-05



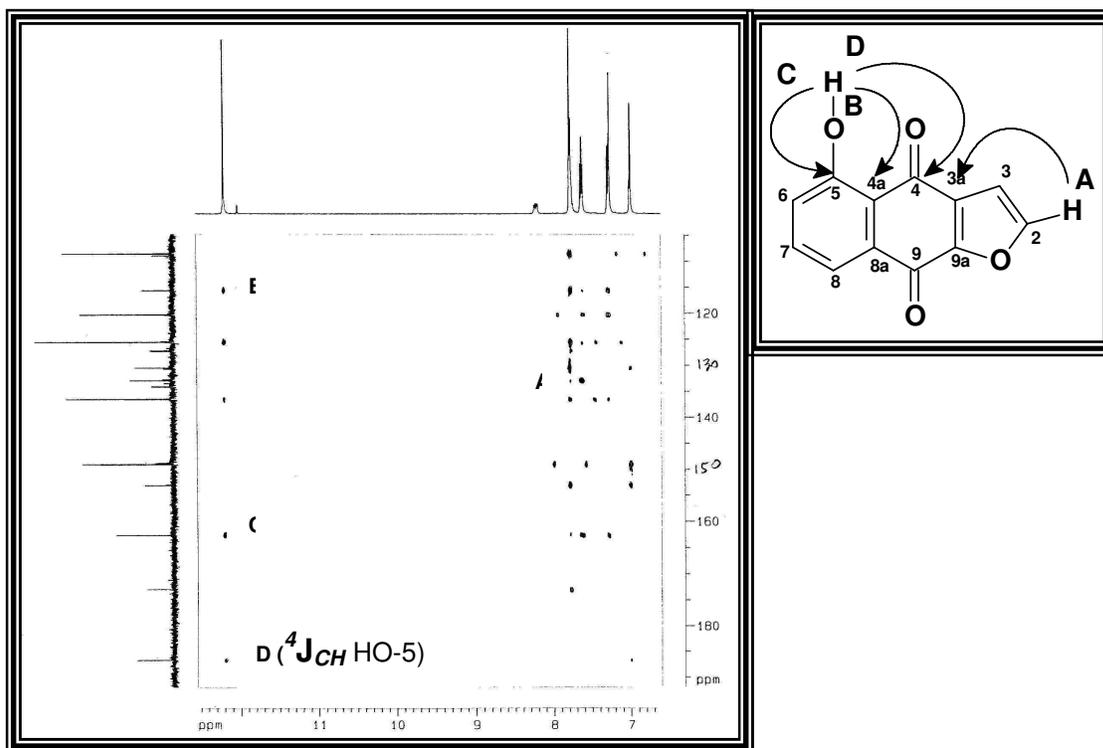
**Figura 93:** Espectro bidimensional homonuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ ) (COSYGS, 500 e 500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-05



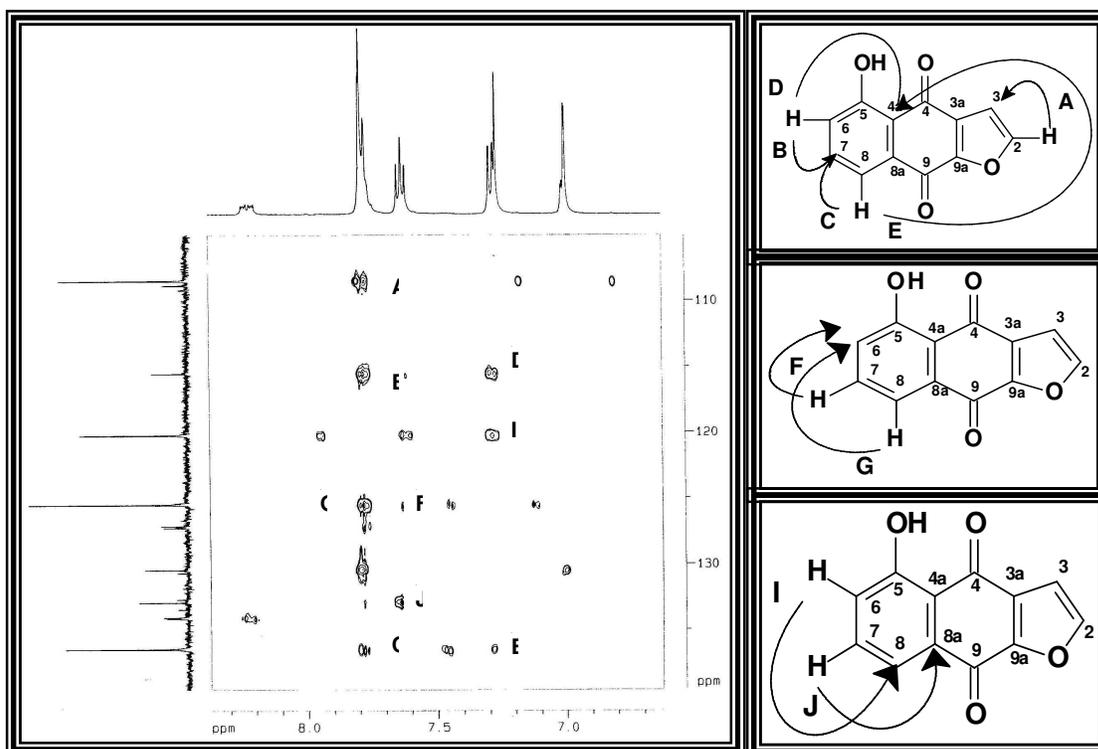
**Figura 94:** Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HSQCGS, 500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-05



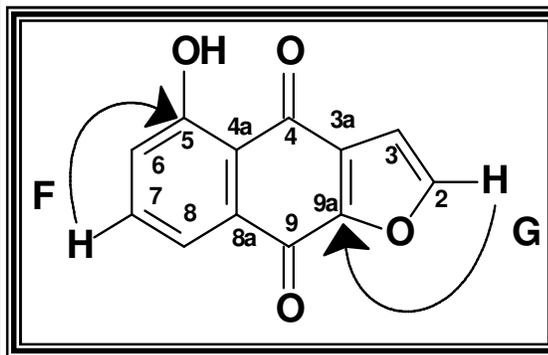
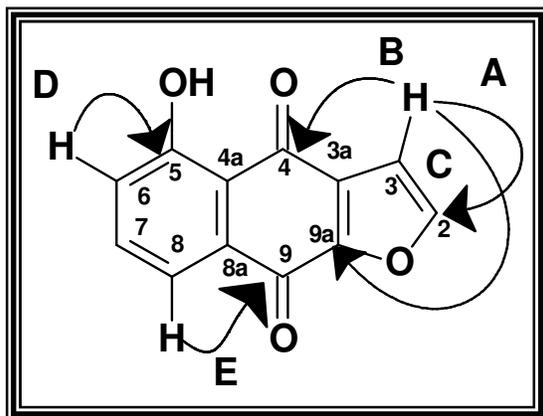
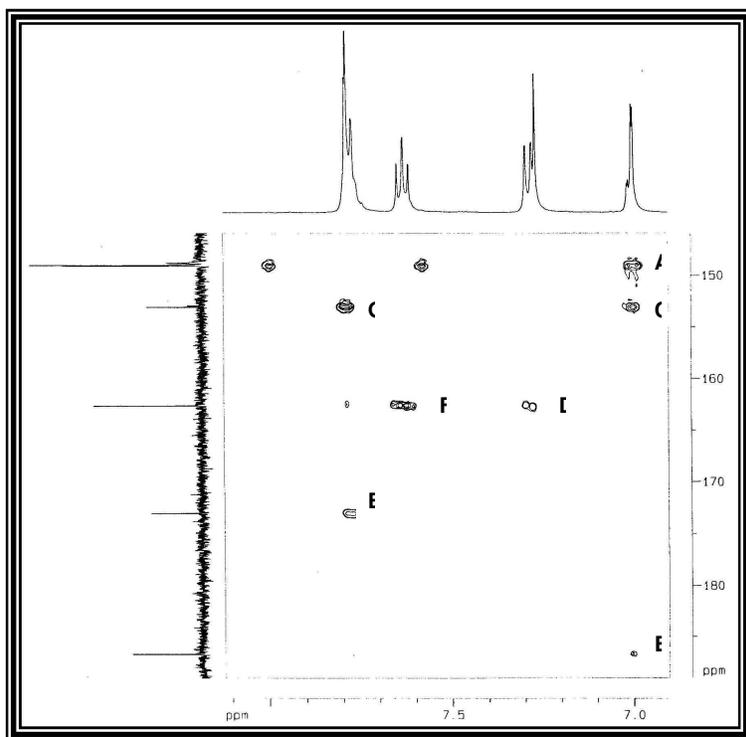
**Figura 95:** Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a duas e três ligações (HMBCGS, 500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-05



**Figura 96:** Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) expansão a duas e três ligações (HMBCGS, 500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-05



**Figura 97:** Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) expansão a duas e três ligações (HMBCGS, 500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LARE-05



## 5.11 Determinação Estrutural LAFE-01

O tratamento cromatográfico do extrato etanólico das folhas de *Lippia aff. gracillis* (Item 6.7.6.1, p. 130), resultou no isolamento do metabólito secundário denominado LAFE-01 uma substância na forma de sólido amorfo de cor amarela, solúvel em metanol e com p.f. 275 - 277 °C.

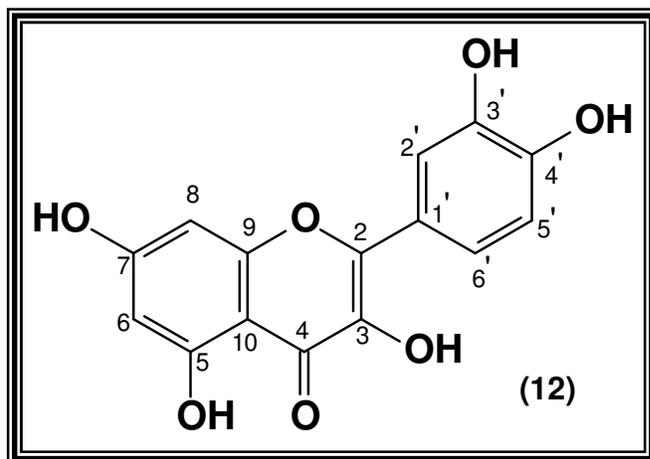
O espectro de absorção na região de infravermelho (IV) de LAFE-01 (Fig. 98, p. 103), feito em pastilha de KBr, mostrou banda intensa em 3417 cm<sup>-1</sup> ( $\delta_{\text{O-H}}$ ) indicando a presença de hidroxila, absorção em 1663 cm<sup>-1</sup> compatível com deformação axial de carbonila conjugada ( $\nu_{\text{C=O}}$ ), em 1457 cm<sup>-1</sup> deformações axiais de dupla ligação de sistema aromático ( $\nu_{\text{C=C}}$ ) e 825 cm<sup>-1</sup> deformações angulares fora do plano de C-H (SILVERSTEIN, 1991).

O espectro de RMN <sup>1</sup>H (Fig. 99, p. 103) revelou vários sinais na região de  $\delta_{\text{H}}$  6,18 a 7,74 ppm indicando sistemas aromáticos, destacando os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  6,18 e 6,39; 7,63 e 7,74 ppm com constantes de acoplamento ( $J = 2,0$  Hz) indicando acoplamentos *meta*, característico de anel A de flavonóides, com substituintes oxigenados nos carbonos 5 e 7 e  $\delta_{\text{H}}$  6,88 e 7,63 ppm com constantes de acoplamento ( $J = 8,5$  Hz) característicos de acoplamentos *orto* (Tabela 23).

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB mostrou quinze linhas espectrais todos na região de carbonos aromáticos (Fig. 100, p. 104), a comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup>C (BB) com o RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135 (Fig. 101, p. 104), mostrou cinco carbonos metínicos (CH) e dez carbonos não hidrogenados destes, oito sp<sup>2</sup> oxigenados em  $\delta_{\text{C}}$  136,2; 145,2; 147,0; 147,8; 157,2; 161,5; 164,6 e 176,3 ppm sendo o último característico de carbonila de cetona conjugada.

Com os dados obtidos foi possível propor para LAFE-01 a estrutura de um flavonóide contendo cinco grupos hidroxilas ligados aos anéis aromáticos nas posições 3, 5, 7, 3' e 4', que em concordância com dados da literatura (Tabela 23),

foi possível propor a estrutura de um flavonóide já isolada em varias fontes vegetais inclusive no gênero *Lippia* (COSTA , 2001), denominada de quercetina (12).

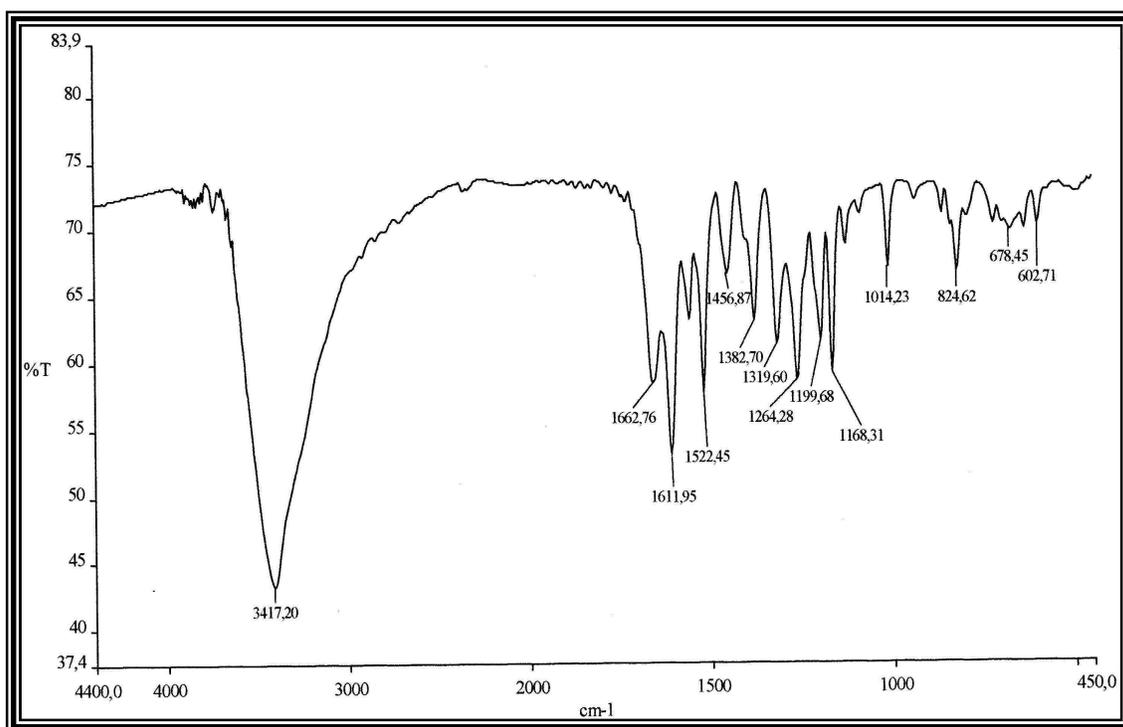


**Tabela 23:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) e  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LAFE-01 comparados com valores de  $\delta_{\text{C}}$  da literatura para a quercetina (AGRAWAL, 1989).

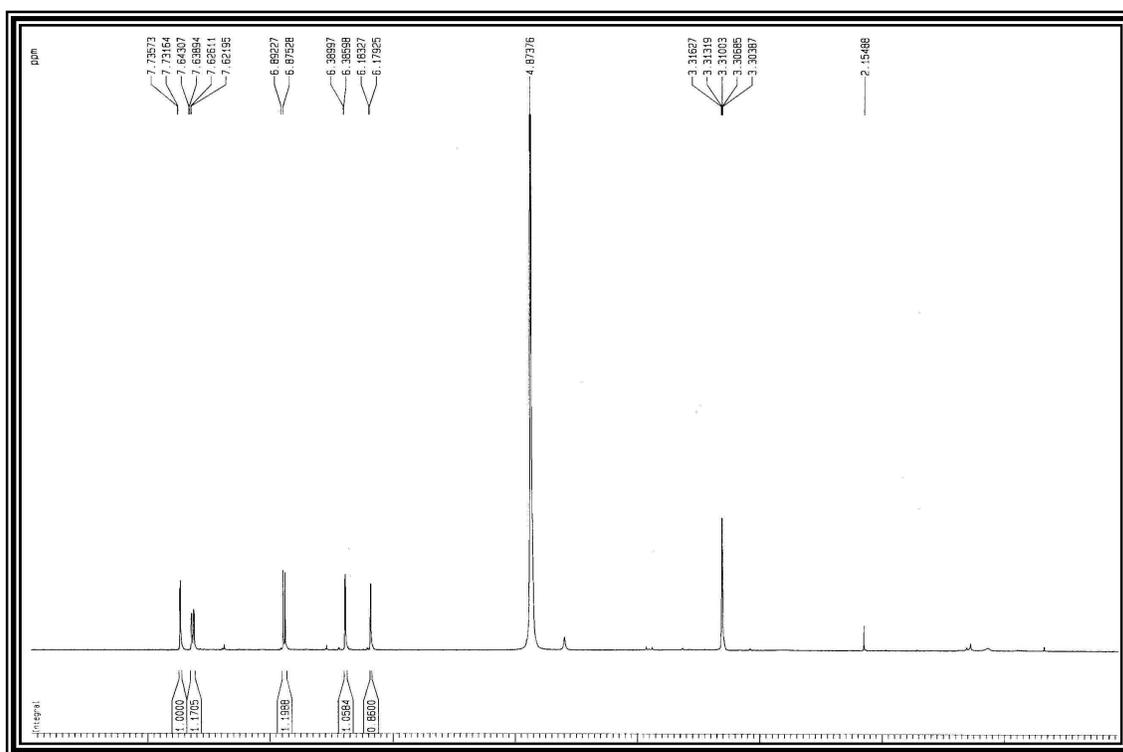
<b>C</b>	<b>RMN <math>^1\text{H}</math> e <math>^{13}\text{C}</math> de LAFE-01</b>		<b>QUERCETINA</b>
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
<b>2</b>	-	147,0	146,9
<b>3</b>	-	136,2	135,8
<b>4</b>	-	176,3	175,9
<b>5</b>	-	161,5	160,8
<b>6</b>	6,18 (d, $J = 2,0$ )	98,2	98,3
<b>7</b>	-	164,6	164,0
<b>8</b>	6,39 (d, $J = 2,0$ )	93,4	93,5
<b>9</b>	-	157,2	156,2
<b>10</b>	-	103,5	103,1
<b>1'</b>	-	123,1	122,1
<b>2'</b>	7,74 (d, $J = 2,0$ )	115,0	115,2
<b>3'</b>	-	145,2	145,1
<b>4'</b>	-	147,8	147,7
<b>5'</b>	6,88 (d, $J = 8,5$ )	115,2	115,7
<b>6'</b>	7,63 (d, $J = 2,0$ e $8,5$ )	120,7	120,1

Deslocamento químico ( $\delta$ ) em ppm e constante de acoplamento ( $J$ ) em Hz

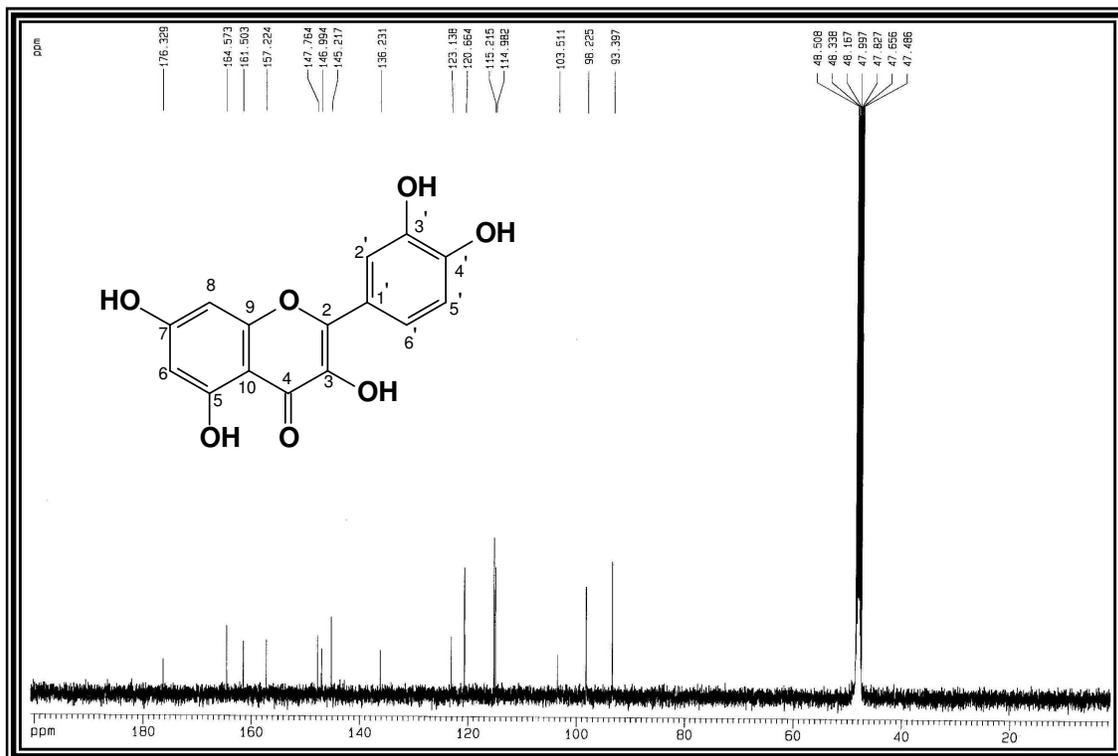
**Figura 98:** Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) de LAFE-01



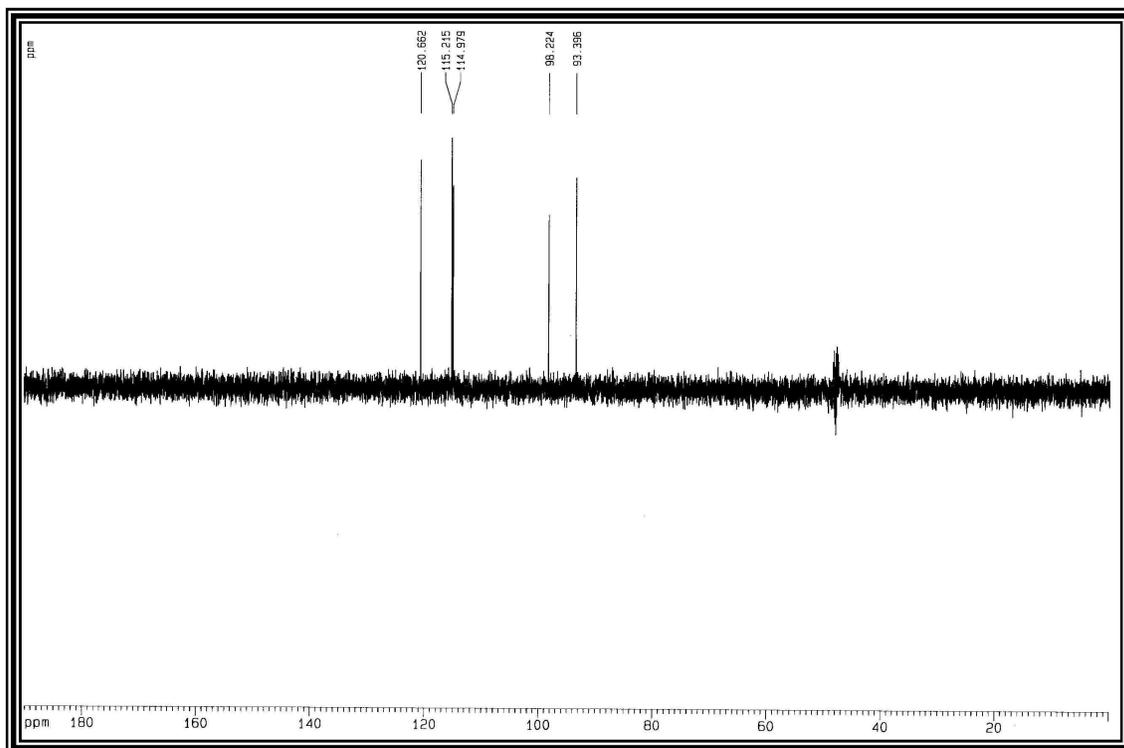
**Figura 99:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de LAFE-01



**Figura 100:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de LAFE-01



**Figura 101:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de LAFE-01



## 5.12 Determinação Estrutural LAFE-02

O extrato etanólico das folhas de *Lippia aff. gracillis* foi submetido a diferentes procedimentos cromatográfico (Item 6.7.6.2, p. 131), que resultaram no isolamento da substância denominada LAFE-02, obtida na forma de um sólido amarelo amorfo, solúvel em DMSO e com p.f. 291 - 292 °C.

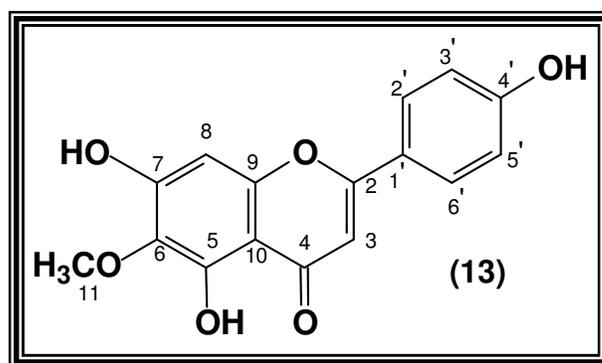
O espectro de absorção na região de infravermelho (IV) de LAFE-02 (Fig. 102, p. 107), feito em pastilha de KBr, mostrou banda intensa em 3429 cm<sup>-1</sup> ( $\delta_{\text{O-H}}$ ) indicando a presença de hidroxila. Absorção em 1692 cm<sup>-1</sup> compatível com deformação axial de carbonila conjugada ( $\nu_{\text{C=O}}$ ), e ainda deformações axiais em 1374 e 765 cm<sup>-1</sup>, características de dupla ligação carbono-carbono de sistema aromático ( $\nu_{\text{C=C}}$ ) (SILVERSTEIN, 1991).

O espectro de RMN <sup>1</sup>H (Fig. 103, p. 107) revelou um singlete intenso em  $\delta_{\text{H}}$  3,75 ppm com integração para três hidrogênios característicos de metoxila ligada a anel aromático e sinais na região de  $\delta_{\text{H}}$  6,59 a 7,91 ppm indicando sistemas aromáticos. Os dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,92 e 7,91 ppm com constantes de acoplamento ( $J = 8,2$  Hz), com integração de dois hidrogênios cada, são indicativos de hidrogênios com acoplamentos do tipo *orto* em um sistema aromático 1,4-dissubstituído (AA'BB') (Tabela 24).

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB mostrou quatorze linhas espectrais (Fig. 104, p. 108), a comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup>C (BB) com o RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135 (Fig. 105, p. 108), mostrou um carbono metílico (CH<sub>3</sub>) ligado a oxigênio em  $\delta_{\text{C}}$  59,9 ppm, seis carbonos metínicos (CH), sendo que os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  116,0 e 128,4 ppm, bastante intensos, indicando possivelmente dois carbonos (CH) para cada sinal e nove carbonos não hidrogenados, destes sete sp<sup>2</sup> oxigenados em  $\delta_{\text{C}}$  131,4; 152,4; 152,7; 157,3; 161,2; 163,8 e 182,1 ppm sendo o último característico de carbonila de cetona  $\alpha,\beta$ -instaurada. Os dados obtidos após análise de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, são compatíveis com esqueletos

flavonoídicos, contendo três hidroxilas e uma metoxila. Os espectros bidimensionais heteronuclear HSQCGS (Fig. 106, p. 109) confirmou a correlação dos prótons com os respectivos carbonos a uma ligação e HMBCGS (Fig. 107 a 109, p. 109 e 110) a duas e três ligações, possibilitando as atribuições inequívocas de flavonóide oxigenado nas posições 5, 6, 7 e 4'.

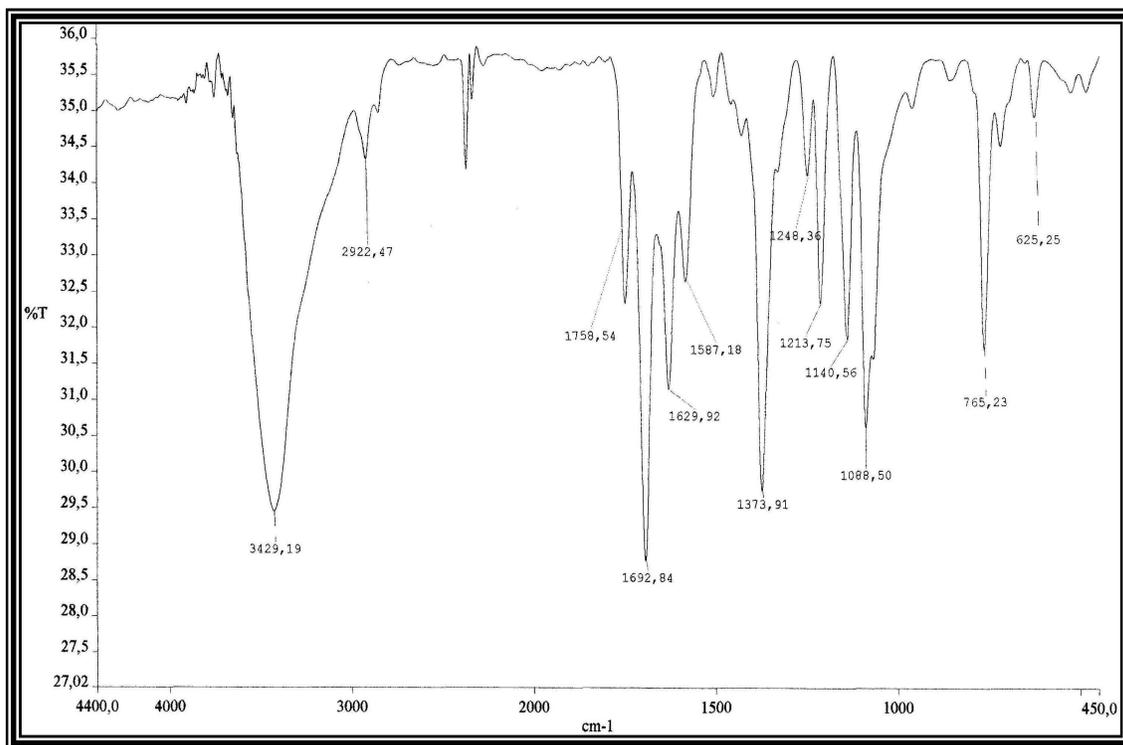
Com os dados espectrais de LAFE-02 e dados da literatura (HASE et al., 1995), foi possível propor a estrutura de um flavonóide denominado de hispidulina **(13)** (Tabela 24).



**Tabela 24:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO) e  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, DMSO) de LAFE-02 comparados com valores de  $\delta_{\text{C}}$  da literatura para a hispidulina (HASE et al., 1995).

<b>C</b>	$^1\text{H e }^{13}\text{C}$ - HSQCGS		$^1\text{H e }^{13}\text{C}$ HMBCGS		<i>HISPIDULINA</i>
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}$
<b>2</b>	-	163,8	H-3	H-2'; H-6'	164,1
<b>3</b>	6,76 (s)	102,4	-	-	102,6
<b>4</b>	-	182,1	H-3	-	182,3
<b>5</b>	-	152,7	-	-	152,9
<b>6</b>	-	131,4	-	H-8; H-11	131,6
<b>7</b>	-	157,3	H-8	-	157,6
<b>8</b>	6,59 (s)	94,2	-	-	94,5
<b>9</b>	-	152,4	H-8	-	152,7
<b>10</b>	-	104,0	-	H-3; H-8	104,3
<b>11</b>	3,75 (s)	59,9	-	-	60,7
<b>1'</b>	-	121,2	-	H-3; H-3'	121,5
<b>2'</b>	7,91 (d, $J = 8,2$ )	128,4	-	-	128,7
<b>3'</b>	6,92 (d, $J = 8,2$ )	115,9	-	-	116,3
<b>4'</b>	-	161,2	H-3; H-5	H-2'; H-6'	161,4
<b>5'</b>	6,92 (d, $J = 8,2$ )	115,9	-	-	116,3
<b>6'</b>	7,91 (d, $J = 8,2$ )	128,4	-	-	128,7

**Figura 102:** Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) de LAFE-02



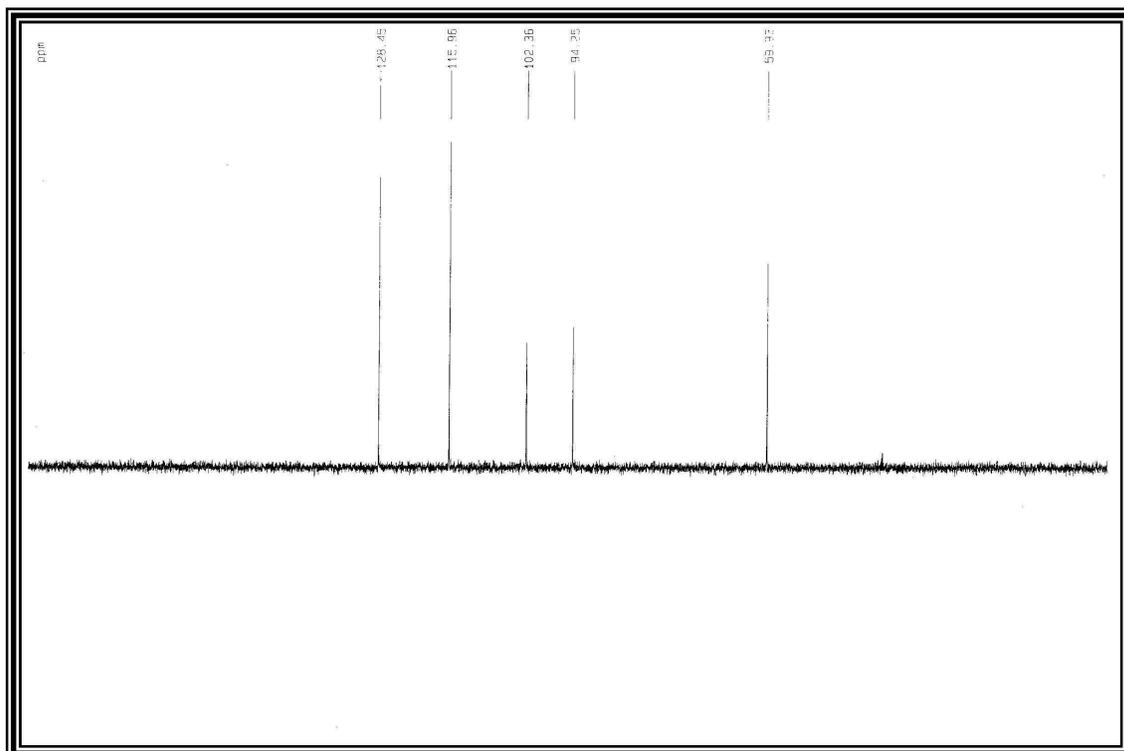
**Figura 103:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO) de LAFE-02



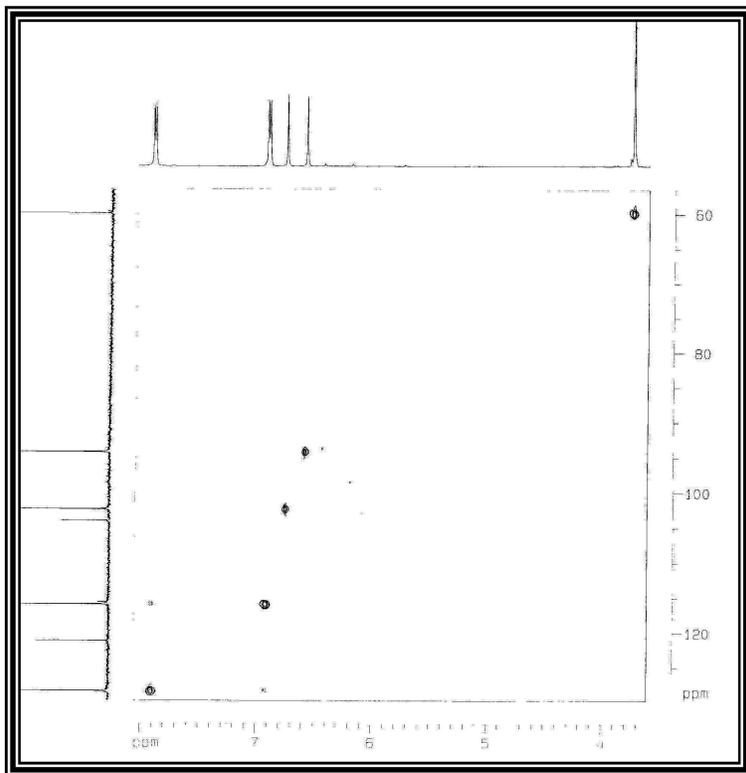
**Figura 104:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, DMSO) de LAFE-02



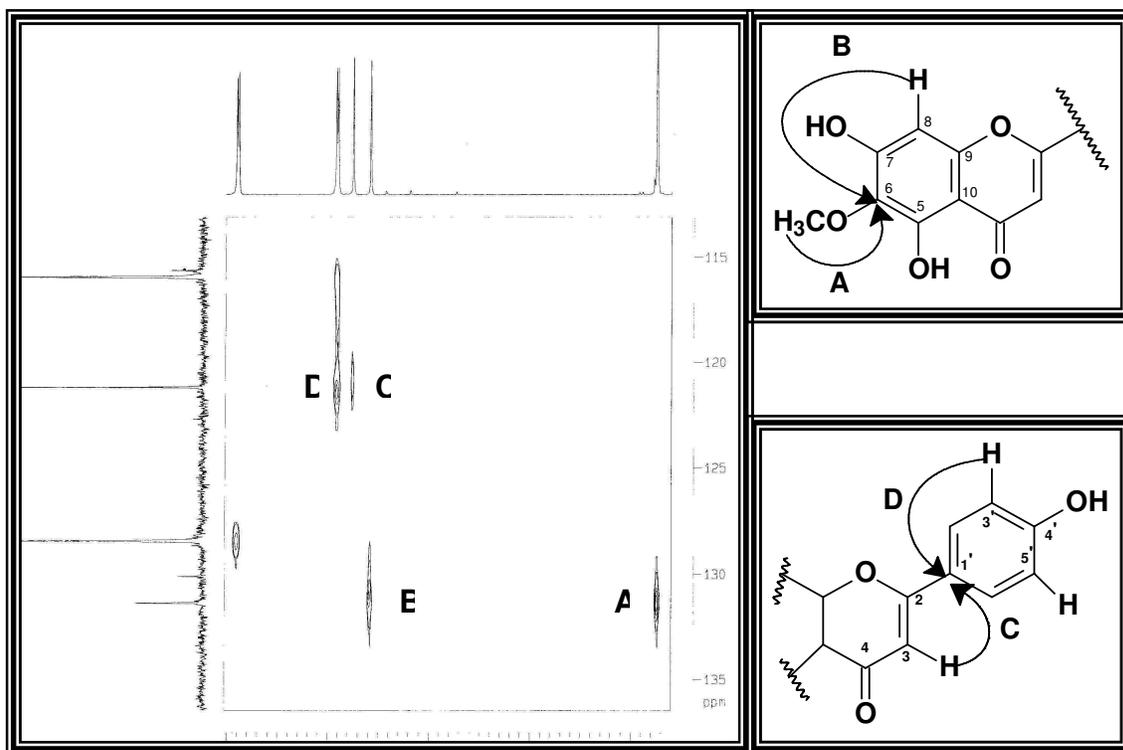
**Figura 105:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz, DMSO) de LAFE-02



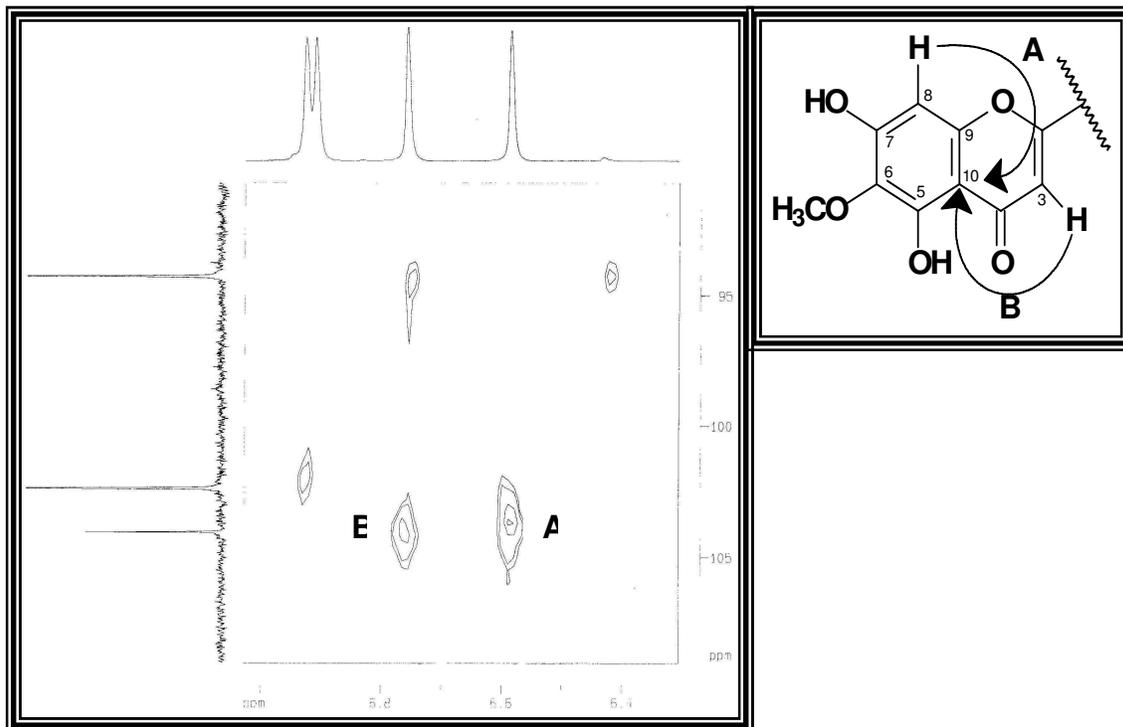
**Figura 106:** Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HSQCGS, 500 e 125 MHz, DMSO) de LAFE-02



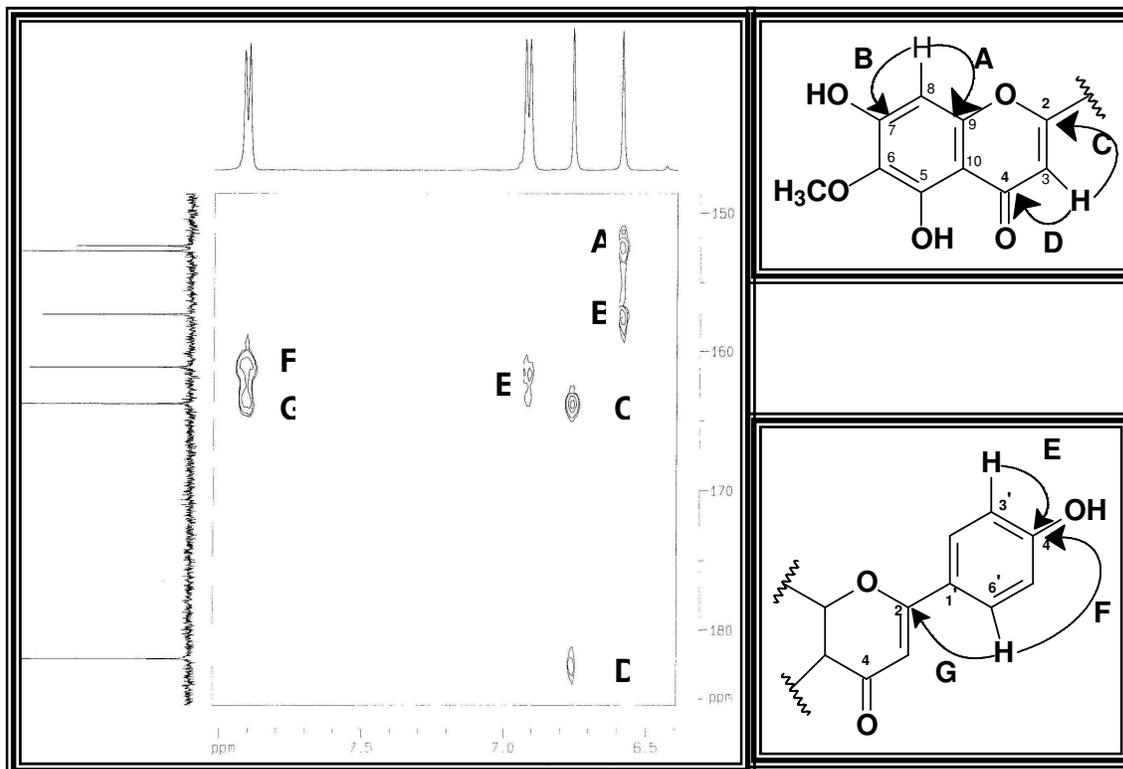
**Figura 107:** Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a duas e três ligações (HMBCGS, 500 e 125 MHz, DMSO) de LAFE-02



**Figura 108:** Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a duas e três ligações (HMBCGS, 500 e 125 MHz, DMSO) de LAFE-02



**Figura 109:** Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a duas e três ligações (HMBCGS, 500 e 125 MHz, DMSO) de LAFE-02



### 5.13 Determinação Estrutural LAFE-03

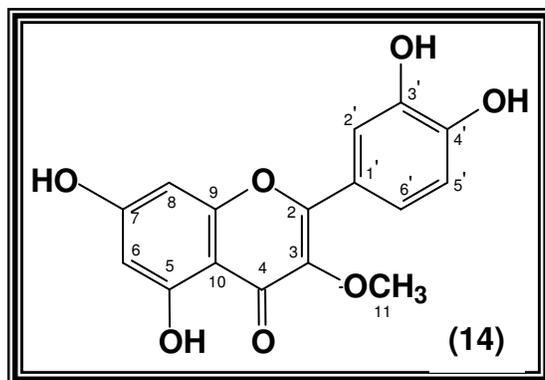
O tratamento cromatográfico do extrato etanólico das folhas de *Lippia aff. gracillis* (Item 6.7.6.2, p. 131), resultou no isolamento da mistura denominada LAFE-03 na forma de sólido amorfo amarelo, solúvel em DMSO e com p.f. 271 - 277 °C.

A análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , indicou uma mistura de diferentes substâncias aromáticas, sendo estes sinais característicos da classe de metabólitos secundários denominada de flavonóides. Após comparação com os dados espectrais dos flavonóides isolados anteriormente, pôde-se concluir, que se tratava de uma mistura do flavonóide quercetina (**12**) e um outro ainda não isolado (**14**). Os dados espectrais que serão discutidos a seguir estarão relacionados somente com o flavonóide (**14**).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 110, p 113) revelou um singleto intenso em  $\delta_{\text{H}}$  3,74 ppm, característico de metoxila ligada a um sistema conjugado, sinais na região de  $\delta_{\text{H}}$  6,15 a 7,63 ppm indicando sistemas aromáticos, os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  6,15 e 6,37 ppm com constantes de acoplamento ( $J = 1,9$  Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  7,49 e 7,63 ppm ( $J = 2,2$  Hz), indicam acoplamento de hidrogênios *meta*. Os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  6,84 e 7,41 ppm ( $J = 8,5$  Hz) aponta para acoplamentos do tipo *orto* e um singleto em  $\delta_{\text{H}}$  12,44 ppm, indicando hidrogênio de hidroxila quelada (Tabela 25, p. 112).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (Fig. 111, p. 113), em comparação com o RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135 (Fig. 112, p. 114), mostrou um carbono metílico ( $\text{CH}_3$ ) ligado a oxigênio em  $\delta_{\text{C}}$  59,7 ppm, cinco carbonos metínicos ( $\text{CH}$ ) e dez carbonos não hidrogenados em  $\delta_{\text{C}}$  103,0; 122,0; 137,7; 145,1; 147,7; 155,5; 156,1; 160,7; 163,9 e 175,9 ppm destes, oito  $\text{sp}^2$  oxigenados sendo o último característico de carbonila de cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada.

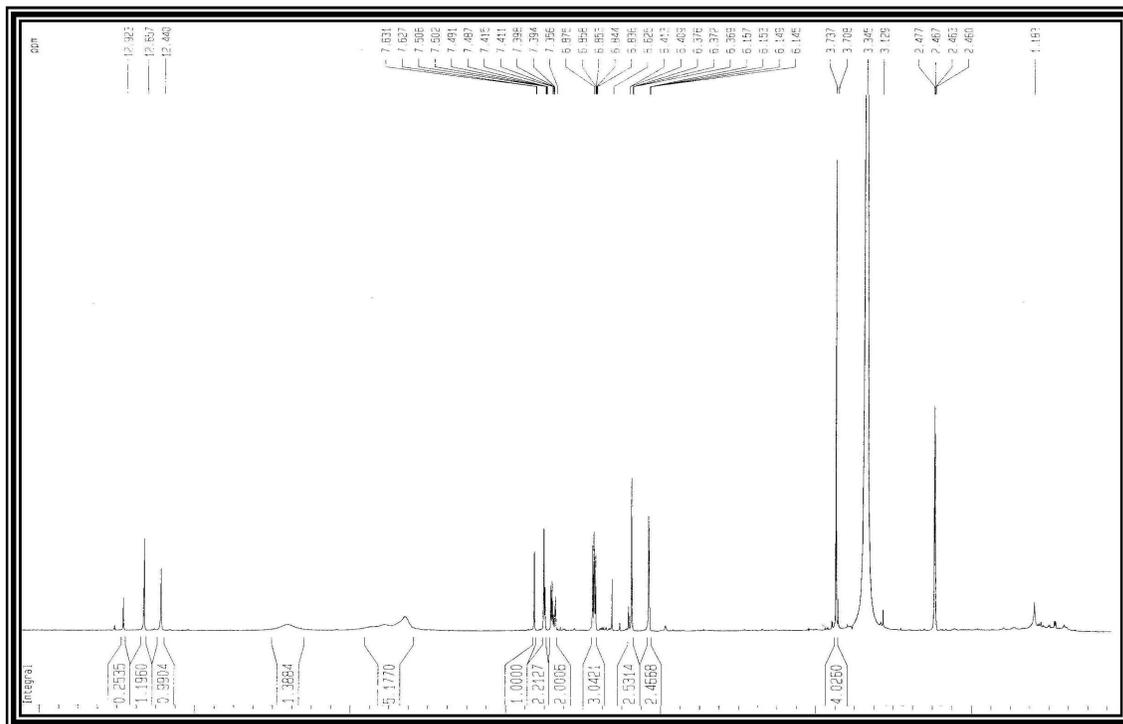
Os espectros bidimensionais heteronuclear HSQCGS (Fig. 113, p. 114) confirmou a correlação dos prótons com os respectivos carbonos a uma ligação e HMBCGS (Fig. 114, p. 115) a duas e três ligações. Correlações dos dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de LAFE-03 comparados com dados da literatura (Tabela 25), foi possível propor a mistura de flavonóides, na proporção de 46% e 54% respectivamente, da 3-metilquercetina (**14**) e da quercetina (**12**).



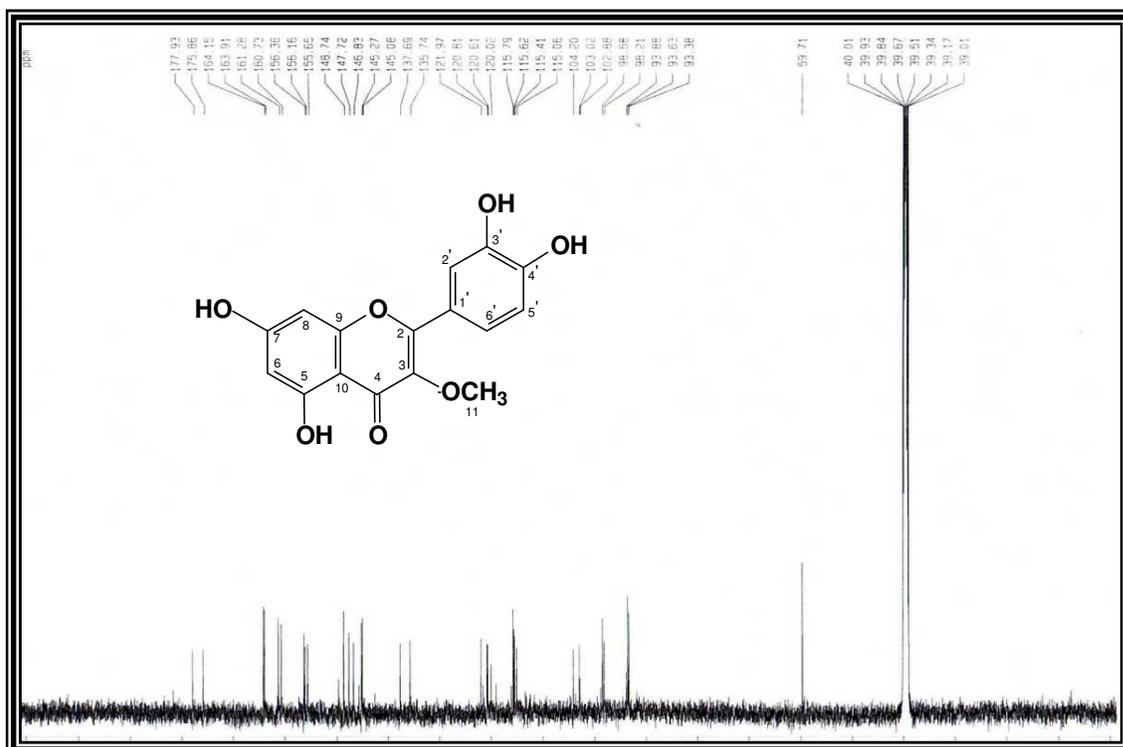
**Tabela 25:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO),  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, DMSO) HSQCGS e HMBCGS de 3-metilquercetina, comparados com valores de  $\delta_{\text{C}}$  da literatura para a quercetina (AGRAWAL, 1989).

<b>C</b>	$^1\text{H e }^{13}\text{C}$ - HSQCGS		$^1\text{H e }^{13}\text{C}$ HMBCGS		<i>QUERCETINA</i>
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}$
<b>2</b>	-	155,6	-	H-6'	146,9
<b>3</b>	-	137,7	-	-	135,8
<b>4</b>	-	175,9	-	-	175,9
<b>5</b>	-	160,7	H-6	-	160,8
<b>6</b>	6,15 (d, $J = 1,9$ )	98,2	-	H-8	98,3
<b>7</b>	-	163,9	H-6; H-8	-	164,0
<b>8</b>	6,37 (d, $J = 1,9$ )	93,4	-	H-6	93,5
<b>9</b>	-	156,1	-	-	156,2
<b>10</b>	-	103,0	-	H-6; H-8	103,1
<b>11</b>	3,74 (s)	59,7	-	-	-
<b>1'</b>	-	122,0	-	H-5'	122,1
<b>2'</b>	7,63 (d, $J = 2,2$ )	115,1	-	H-6'	115,2
<b>3'</b>	-	145,1	-	H-5'	145,1
<b>4'</b>	-	147,7	-	H-2'	147,7
<b>5'</b>	6,84 (d, $J = 8,5$ )	115,6	-	-	115,7
<b>6'</b>	7,49 (dd, $J = 2,2; 8,5$ )	120,0	-	H-2'	120,1
<b>HO-5</b>	12,44 (s)	-	-	-	-

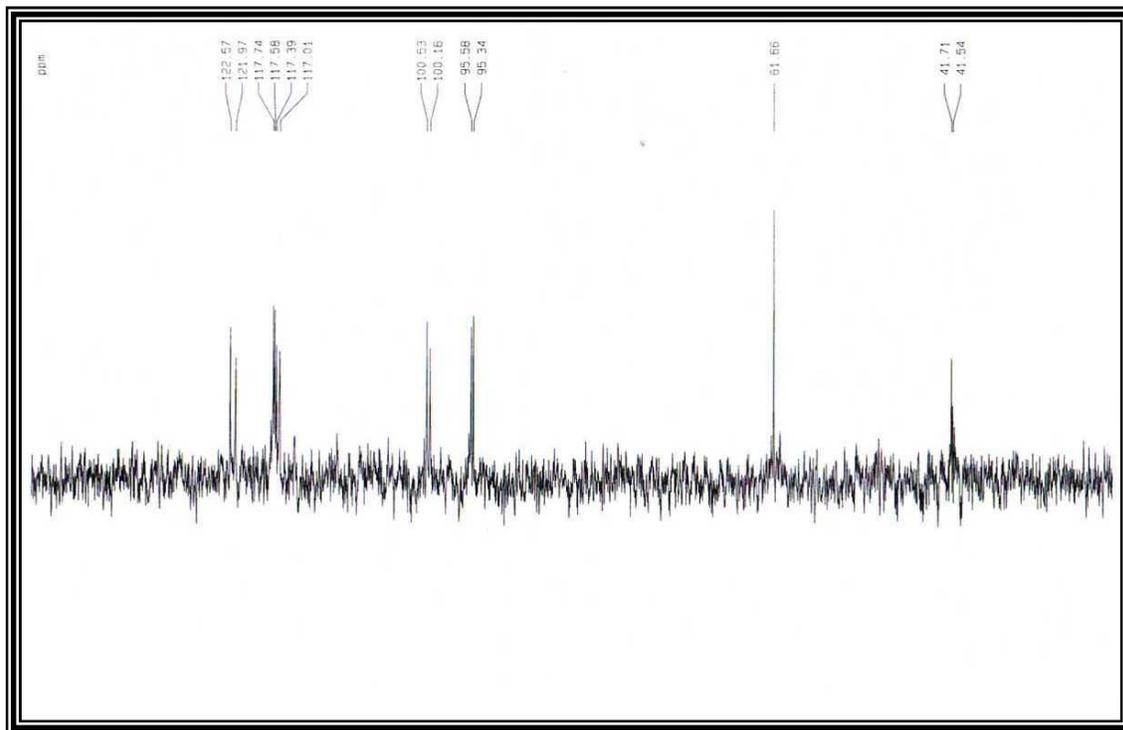
**Figura 110:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO) de LAFE-03



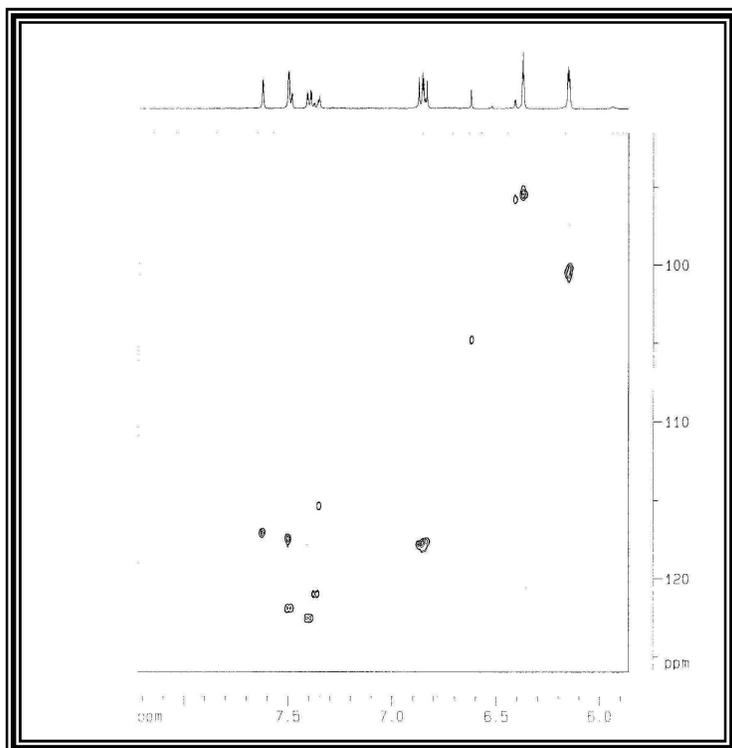
**Figura 111:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, DMSO) de LAFE-03



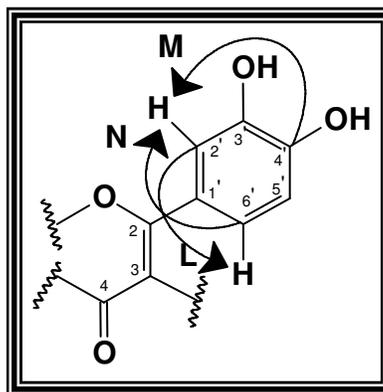
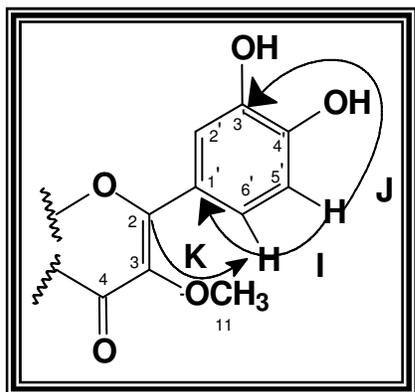
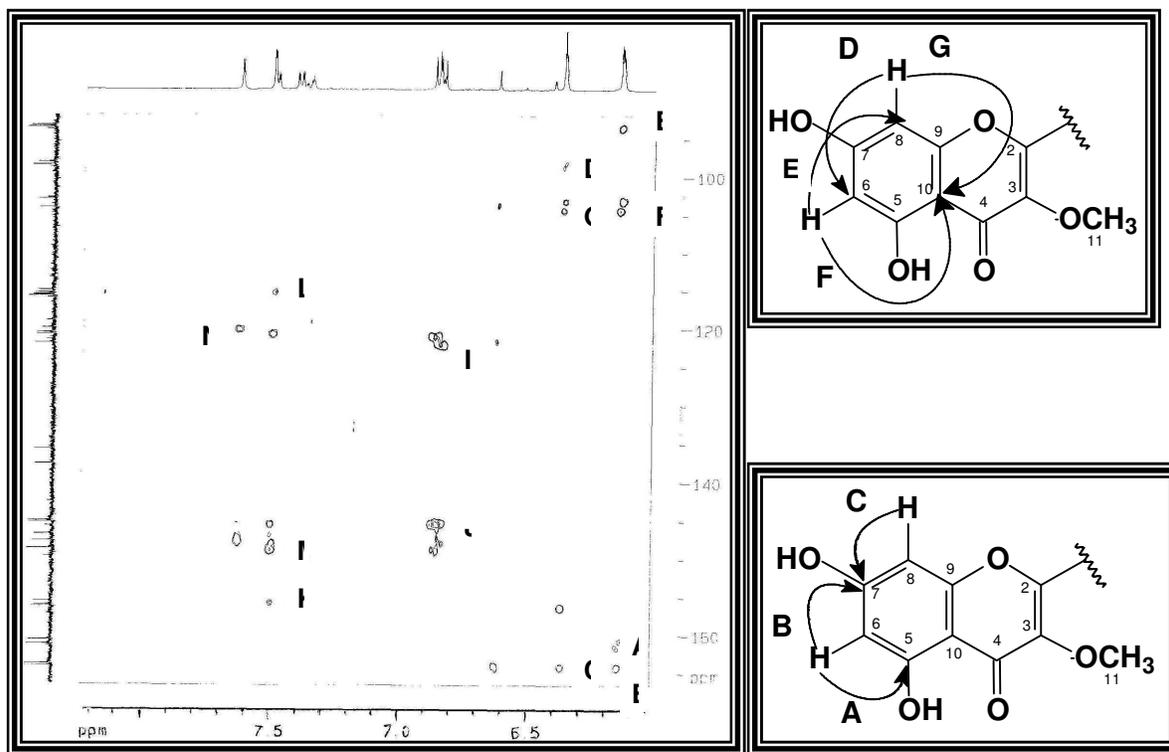
**Figura 112:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz, DMSO) de LAFE-03



**Figura 113:** Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HSQCGS, 500 e 125 MHz, DMSO) de LAFE-03



**Figura 114:** Espectro bidimensional heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a duas e três ligações (HMBCGS, 500 e 125 MHz, DMSO) de LAFE-03



## **6. PARTE EXPERIMENTAL**

### **6.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO**

*Lippia affinis gracillis* foi coletada no Horto de Plantas Medicinais “Prof. Francisco J. de Abreu Matos” da Universidade Federal do Ceará (UFC), em agosto de 2002 e identificada pelo Royal Botanic Gardens Herbarium, em Kew Reino Unido, cuja exsicata tem número #EAC23427.

Foram coletados para obtenção de óleo essencial os talos e folhas e para preparação de extratos as raízes e folhas.

### **6.2 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS**

#### **6.2.1 Cromatografia Líquida em Coluna Aberta (CC)**

As cromatografias de adsorção em coluna foram feitas utilizando gel de sílica 60 da Merck ( $\varnothing$   $\mu\text{m}$  63-200) Art. 7734. O tamanho das colunas (comprimento e diâmetro) variou de acordo com a quantidade de amostra a ser submetida à cromatografia e adsorvente empregado.

#### **6.2.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)**

Nas cromatografias em camada delgada (CCD), utilizou-se gel de sílica S da Carlo Erba cod. 45335 e cromatoplaças de gel de sílica, T-6770, 60 A°,  $\varnothing$  2-25  $\mu\text{m}$  (com indicador de fluorescência na faixa de 254  $\eta\text{m}$ ) sobre poliéster, da Sigma Chemical Company.

As revelações das substâncias nas cromatoplaças analíticas foram realizadas, através da exposição destas, a irradiação ultravioleta (UV) nos comprimentos de onda 254 e 366  $\eta\text{m}$ , emitidos por lâmpada modelo UVSL-25 da

Mineral Ligth e/ou pela borrifação com solução de vanilina ( $C_8H_8O_3$ ) 5g/100 mL da solução de ácido perclórico ( $HClO_4$ ) 0,75 M/100 mL de EtOH ( $C_2H_6O$ ), seguida de aquecimento em estufa ( $\approx 150$  °C), por aproximadamente 3 minutos, ou ainda pela exposição a vapores de iodo.

### **6.2.3 Cromatografia Líquida em Coluna sob Pressão (Flash)**

Para cromatografias de adsorção em coluna flash utilizou sílica gel 60 (0,040 – 0,063 mm; 230 – 400 mesh) da MERCK. O diâmetro e o comprimento das colunas variaram de acordo com as quantidades de amostras a serem cromatografadas e adsorventes empregados. Utilizou-se para fazer a eluição sob pressão, um sistema adaptado com bomba compressora modelo ST da NS - Indústria de Aparelhos Médicos LTDA.

### **6.2.4 Cromatografia por Exclusão Molecular (Shephadex)**

Foi utilizada na cromatografia por exclusão molecular gel de dextrana Shephadex LH-20 da PHARMACIA e metanol como eluente. O tamanho da coluna foi variado, de acordo com a quantidade da amostra.

## **6.3 MÉTODOS FÍSICOS DE ANÁLISES**

Os dados espectrais deste trabalho foram obtidos nos equipamentos da Central Analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

### **6.3.1 Ponto de fusão (pf)**

Os pontos de fusão foram obtidos em equipamento de microdeterminação digital da METTLER TOLEDO, provido de uma estação de aquecimento FP82HT e uma central de processamento FP90. As determinações foram realizadas a uma

velocidade de aquecimento de 2 °C/min.

### **6.3.2 Espectrometria de massa (EM)**

Os espectros de massas dos óleos essenciais e seus derivados foram obtidos em espectrômetro de massa Hewlett-Packard, modelo HP-5971 A, acoplado a cromatógrafo gás-líquido, modelo HP-5890 A, série II (CGL/EM), provido de coluna capilar de metil-fenil silicone com 25,0 m de comprimento, 0,20 mm de diâmetro externo, utilizando um gradiente de aumento de temperatura de 4 °C/min de 50 a 180°C e 20°C/min de 180 a 280°C, sendo a temperatura do injetor de 250°C.

### **6.3.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)**

Os espectros de ressonância magnética nuclear de Próton (RMN <sup>1</sup>H) e carbono-13 (RMN <sup>13</sup>C), uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetro Bruker, modelos DRX-300 e DPX-500, operando na frequência de 300 e 500 MHz para próton e para carbono-13 75 e 125 MHz, respectivamente.

Os solventes deuterados utilizados na dissolução das amostras e obtenção dos espectros foram: clorofórmio (CDCl<sub>3</sub>), acetona [(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO], metanol (CD<sub>3</sub>OD), e piridina (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N). As multiplicidades das absorções foram indicadas segundo a convenção: s (singlete), d (dubleto), dd (duplo dubleto), t (tripleto), ddd (duplo dubleto dubleto) hep (hepteto) e m (multiplete).

O padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN <sup>13</sup>C foi determinado através da utilização da técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), com ângulo de nutação de 135°, CH e CH<sub>3</sub> com amplitude em oposição ao CH<sub>2</sub>. Os carbonos não-hidrogenados foram caracterizados pela subtração dos sinais do espectro BB (Broad Band) e DEPT e segundo convenção, a terminologia

metílico, metilênico e metínico, foi aplicada para os grupos CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub> e CH, respectivamente.

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

O aparelho utilizado para a obtenção dos espectros de absorção na região do infravermelho, foi o espectrômetro Perkin-Elmer, modelo 1000-FT. Os espectros foram feitos em pastilhas de brometo de potássio (KBr) e na forma de filmes em pastilhas de NaCl.

#### **6.3.5 Rotação ótica ( $\alpha$ )**

A determinação da rotação ótica foi realizada em um Polarímetro 341da Perkin-Elmer, à temperatura de 25°C, usando a concentração de 1 mg da amostra para 2 mL de solvente.

### **6.4 OBTENÇÃO DO OLEO ESSENCIAL DE *Lippia aff. gracillis***

#### **6.4.1 Extração do Óleo Essencial de *Lippia aff. gracillis***

Adicionou-se a um balão de destilação de 5 L, 1021 g de folhas frescas e aproximadamente 2,5 L de água destilada. O sistema foi mantido em ebulição por 3 horas, em aparelho doseador tipo Cleavenger modificado por Gottlieb (GOTTLIEB E MAGALHÃES, 1960). O óleo obtido foi seco com sulfato de sódio anidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), filtrado e pesado, obtendo uma massa de 4,84 g com um rendimento de 0,5%. O mesmo procedimento foi realizado com os talos, utilizando 452 g de talos frescos e obtendo uma massa de óleo de 0,048 g com rendimento de 0,02%. Os óleos foram armazenados em fracos de vidro, vedados e mantidos refrigerados para posteriores análises e testes.

A análise da composição química dos óleos foi realizada em cromatógrafo gás-líquido, acoplado a espectrômetro de massas. A identificação foi feita por pesquisa em banco de espectros de padrões e também por comparação com espectros da literatura (ALENCAR et al, 1990; ADAMS, 2001). Os cromatogramas, os espectros de massas e os constituintes de cada óleo estão descritos no capítulo 4, p. 24 a 32.

## **6.5 OBTENÇÃO DE DERIVADOS DO CARVACROL**

### **6.5.1 Metilação do Carvacrol**

Em um balão de fundo redondo, equipado com agitador magnético e condensador de refluxo, foram dissolvidos 500 mg do carvacrol ( $C_{10}H_{14}O$ ) em 5 mL de etanol ( $C_2H_6O$ ). Adicionou-se a mistura reacional 1 mL de hidróxido de sódio (NaOH) a 40% e 1 mL de sulfato de dimetila  $[(CH_3)_2SO_4]$ . A reação foi mantida em refluxo durante 6 horas. Por fim a mistura foi tratada com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl), extraída com éter etílico ( $C_4H_{10}O$ ), seca com sulfato de sódio ( $Na_2SO_4$ ), filtrada e posteriormente concentrada em rotaevaporador, obtendo 461 mg do produto (92% de rendimento). A determinação estrutural foi realizada por CG-EM, RMN  $^1H$ , RMN  $^{13}C$  e IV (Capítulo 4, p. 34 a 41).

### **6.5.2 Acetilação do Carvacrol**

Em um balão de fundo redondo a temperatura ambiente  $27^\circ C$ , sob agitação magnético dissolveu-se 500 mg de carvacrol puro ( $C_{10}H_{14}O$ ), em 1 mL de piridina ( $C_5H_5N$ ) e 2 mL de anidrido acético ( $C_4H_{10}O_3$ ). Após 6 horas a mistura foi tratada com uma solução de sulfato de cobre a 10% ( $CuSO_4$ ) e o material obtido, extraído com clorofórmio, seco com sulfato de sódio, filtrado e posteriormente concentrado em rotaevaporador. Em seguida foi feita uma coluna cromatográfica para purificação, usando hexano como eluente. O produto formado encontrava-se na fração 2, cuja massa 478 mg com rendimento de 96%. A determinação estrutural

foi realizada por CG-EM, RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C e IV e os espectros estão no capítulo 4, p. 34 a 41.

## **6.6 METODOLOGIA DOS ENSAIOS BIOLÓGICOS**

### **6.6.1 Atividade Larvicida (*Aedes aegypti*) do Óleo Essencial das Folhas de *Lippia aff. gracillis*, Carvacrol e seus Derivados**

Em água isenta de cloro foram eclodidos os ovos de *A. aegypti* à temperatura ambiente. Os ovos maduros, em condições normais, eclodem quando submersos em meio líquido e apresentam quatro estágios larvários, que neste bioensaio utilizou larvar de estágio 3.

O óleo essencial das folhas de *Lippia aff. gracillis*, o carvacrol, constituinte majoritário deste óleo, e os derivados metilado e acetilado do carvacrol foram testados à temperatura ambiente e em diferentes concentrações (12 µg.mL<sup>-1</sup> a 500 µg.mL<sup>-1</sup>). Em um béquer de 50 mL as amostras foram dissolvidas em 0,3 mL de DMSO e a cada solução foram adicionadas 50 larvas de estágio 3, completando o volume para 20 mL com água. Após 24 horas as larvas mortas foram contadas e foi calculado o percentual letal e posteriormente a CL<sub>50</sub>. Os testes foram realizados em triplicata e foi feito o teste em branco utilizando DMSO e água (OLIVEIRA et al., 2002). Os resultados estão no capítulo 4 (Tabela 5, p 42).

### **6.6.2 Atividade Moluscicida Preliminares do Óleo Essencial das Folhas de *Lippia aff. gracillis*, Carvacrol e seus Derivados**

As amostras foram dissolvidas em uma solução aquosa de DMSO 1% para obter uma concentração de 30 ppm de cada amostra, que em seguida, alíquota de 125 mL destas soluções foram transferidas para copos, em seguida adicionados 5 caramujos *B. glabrata* devidamente escolhidos e medidos e os copos vedados com telas. O controle utilizou uma solução de 3 ppm de niclosamida em DMSO

1%. Após 24 horas foi realizada a verificação dos exemplares mortos e os sobreviventes foram lavados com água isenta de cloro, colocados em copos com água isenta de cloro e alimentados com talos de alface (MOTT, 1987). O procedimento anterior foi repetido a cada 24 horas, por no máximo 4 dias. Este bioensaio foi feito em triplicata e os resultados estão na Tabela 6, p. 43.

### **6.6.3 Atividade Antioxidante do Óleo Essencial das Folhas e Talos de *Lippia aff. gracillis*, Carvacrol e seus Derivados: Método de Seqüestro do Radical DPPH**

A metodologia utilizada no teste de atividade antioxidante é o de seqüestro de radicais livres, semelhantes à descrita por Hegazi e Hady. Onde o radical utilizado foi DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) na concentração de 60 mmols. Numa cubeta de 3 mL foi colocado 1000 µL de DPPH e em seguida adicionou 1000 µL de EtOH, para assim realizar a leitura pelo UV, cuja comprimento de onda utilizado foi de 520 nm, obtendo a leitura da absorbância "X".

Foram preparadas três concentrações de cada amostra (1,0; 0,5 e 0,25 mg.mL<sup>-1</sup>), onde foram colocadas 1000 µL das amostras e adicionado 1000 µL do DPPH na cubeta e levadas para o UV, para realizar a leitura "Y". O declínio da concentração é registrado como declínio na absorbância em  $\lambda_{\text{máx}}$  520 nm por um período de 30 minutos. A absorbância corresponde a 100% de seqüestro de radical, que é determinada com o teste realizado com os controladores positivos Trolox e BHT, que causam o seqüestro completo dos radicais livres. A porcentagem de seqüestro é calculada como:  $100[(X/Y) - 1]$  onde:

X = absorbância com DPPH

Y = absorbância com DPPH mais absorbância da substância teste

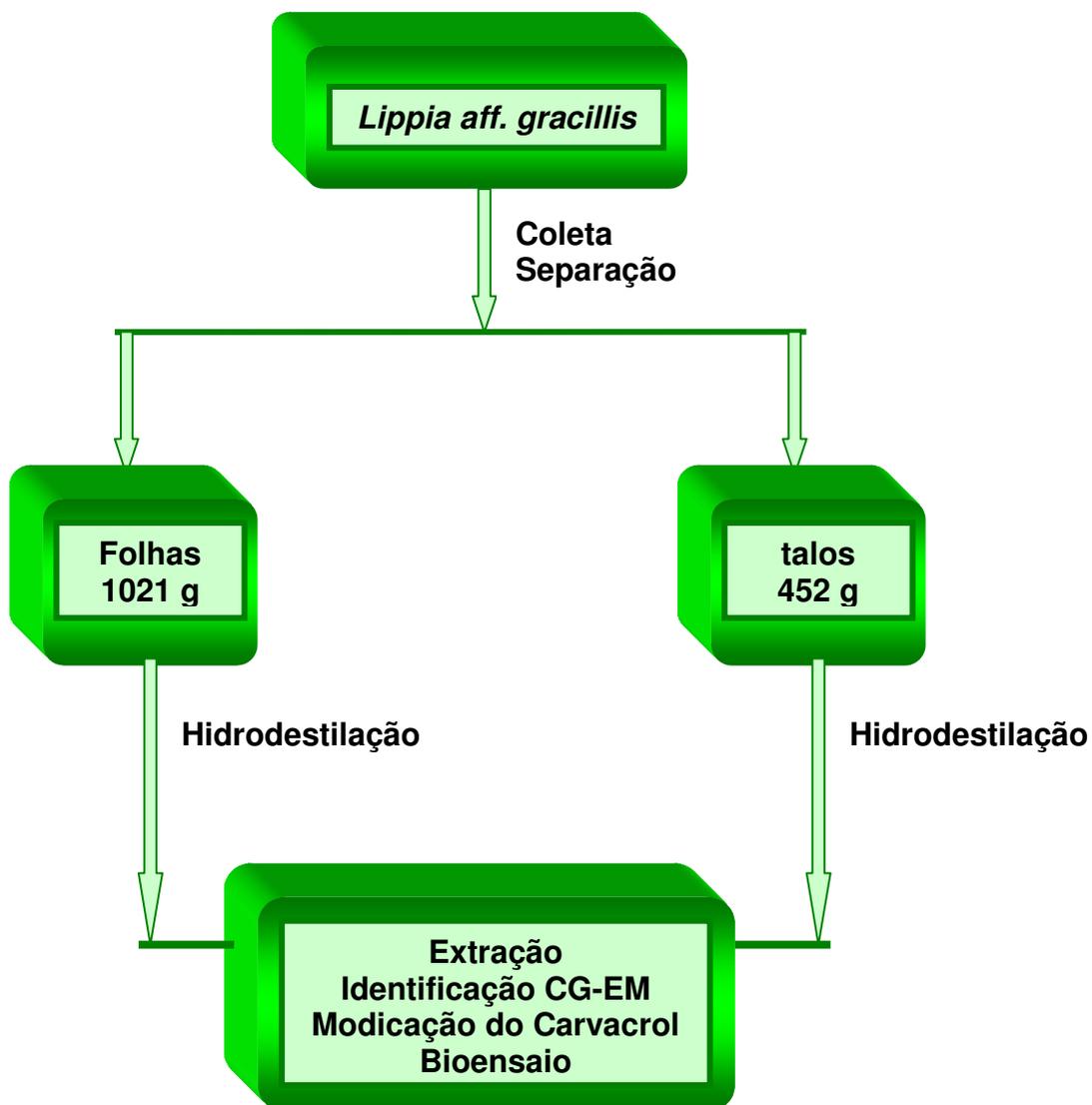
Os resultados estão sumarizados na Tabela 7, p.44.

#### **6.6.4 Atividade Antimicrobiana do Óleo Essencial das Folhas de *Lippia aff. gracillis***

Os testes de atividade antimicrobiana foram realizados *in vitro* no Departamento de Patologia e Medicina Legal – UFC, com os microorganismos isolados de ambiente hospitalar mencionados na Tabela 8 e 9, p. 45. Utilizou-se a princípio o óleo puro e para fazer a concentração inibitória mínima (CIM) utilizou as concentrações de 10, 5, 2,5 e 1,25 µg/mL do óleo em clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>). Os resultados dos ensaios estão mostrados no capítulo 4, p. 45. (PESSOA et al, 2005).

Os procedimentos experimentais utilizados para desenvolver as atividades realizadas com os óleos essenciais de *Lippia aff. gracillis* estão resumidos no fluxograma a seguir.

**Fluxograma 1:** Parte experimental dos óleos de *Lippia aff. gracillis*



## **6.7 OBTENÇÃO DOS CONSTITUINTES FIXOS DE *Lippia aff. gracillis***

### **6.7.1 Elaboração do Extrato Hexânico das Raízes**

As raízes de *Lippia aff. gracillis* (1350 g), secas à temperatura ambiente e trituradas, foram submetidas à extração exaustiva em hexano, a temperatura ambiente. A solução resultante da extração foi filtrada e destilada sob pressão reduzida em evaporador rotatório, fornecendo 7,2 g de material viscoso e rendimento de 0,5%, que foi denominado LARH (Fluxograma 2, p. 132).

### **6.7.2 Fracionamento Cromatográfico do Extrato Hexânico das Raízes (LARH)**

A fração LARH (7,2 g) foi misturada a 12 g de gel de sílica, macerado em gral de porcelana e acondicionado sobre 30 g de gel de sílica, em coluna de 500 mL. Os eluentes utilizados foram, éter de petróleo, hexano, cloroformio (CHCl<sub>3</sub>), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), puros e obedecendo a ordem crescente de polaridade. Após evaporação do solvente, foram obtidas as seguintes frações: éter de petróleo (1,2 g; LARH-Fet), hexano (2,9 g; LARH-Fh), CHCl<sub>3</sub> (1,4 g; LARH-fcl), AcOEt (0,8 g; LARH -fac) e MeOH (0,5 g; LARH-fme).

#### **6.7.2.1 Fracionamento Cromatográfico da Fração Hexânica (LARH-Fh)**

Foram misturados 2,9 g da fração LARH-Fh a 5 g de gel de sílica, macerados em gral de porcelana e colocados sobre 20 g de gel de sílica, em coluna de 250 mL. Os eluentes utilizados foram, éter de petróleo, hexano, AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram recolhidas 35 frações de 25 mL (Tabela 26, p. 125). Nas frações 8 a 16, obtidas por eluição com hexano/AcOEt 80/20%, notou-se a presença de filme amarelo. Estas frações, após comparação por cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas e concentradas sob pressão reduzida. Este material, após secagem resultou em 20 mg de um filme amarelo, denominado LARH-01 Nas

frações 22 a 27, obtidas por eluição com hexano/AcOEt 40/60%, foi observado a presença de um sólido branco. A adição de hexano induziu a precipitação deste sólido, o qual foi filtrado e lavado com éter de petróleo. Este material, após secagem resultou em 5 mg de um sólido amorfo de cor branca, denominado LARH-02. A determinação estrutural destes metabólitos secundários encontra-se descrita nas páginas 46 - 50 e 51 – 55 respectivamente.

**Tabela 26:** Dados do fracionamento cromatográfico da fração LARH-Fh

<i>ELUENTE</i>	<i>CONCENTRAÇÃO</i> %	<i>FRAÇÃO</i>
Éter de petróleo	100	1-2
Hexano	100	3-6
Hexano/AcOEt	80-20	7-16
Hexano/AcOEt	60-40	17-21
Hexano/AcOEt	40-60	22-27
AcOEt	100	28-34
MeOH	100	35

#### 6.7.2.2 Fracionamento Cromatográfico da Fração Cloroformio (LARH-Fcl)

Foram misturados 1,4 g da fração LARH-fcl a 3 g de gel de sílica, macerados em gral de porcelana e colocados sobre 15 g de gel de sílica, em coluna de 125 mL. Os eluentes utilizados foram, hexano, AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram recolhidas 32 frações de 25 mL (Tabela 27, p. 126). Nas frações 5 a 8, obtidas por eluição com hexano/AcOEt 80/20%, notou-se a presença de cristais brancos. Estas frações, após comparação por cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas e concentradas sob pressão reduzida. Este material, após secagem resultou em 8 mg de um composto sólido de cor branca, denominado LARH-03. Nas frações 9 a

12, obtidas por eluição com hexano/AcOEt 60/40%, notou-se a presença de um sólido branco. Estas frações, após comparação por cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas, concentradas sob pressão reduzida e após secagem resultou em 5 mg de cristais incolores, denominado LARH-04. Nas frações 23 a 26, obtidas por eluição com hexano/AcOEt 20/80%, observou-se a presença também de um sólido branco. Estas frações, após comparação por cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas e concentradas sob pressão reduzida. Este material, após secagem resultou em 7 mg de um sólido branco, denominado LARH-05. Ainda nesta mesma fração foi feita uma coluna “flash” com 25 mg de material e 20 g de sílica gel 60, utilizando Hexano/AcOEt 20/80% como único eluente, onde após análise de CCD e secagem resultou em 5 mg de um sólido branco denominado LARH-06. As determinações estruturais destes metabólitos secundários estão descritas nas páginas 46 a 74.

**Tabela 27:** Dados do fracionamento cromatográfico da fração LARH-Fcl

<b>ELUENTE</b>	<b>CONCENTRAÇÃO %</b>	<b>FRAÇÃO</b>
Hexano	100	1-3
Hexano/AcOEt	80-20	4-8
Hexano/AcOEt	60-40	9-13
Hexano/AcOEt	40-60	14-21
Hexano/AcOEt	20-80	22-29
AcOEt	100	30-31
MeOH	100	32

### 6.7.3 Elaboração do Extrato Etanólico das Raízes (LARE)

As raízes de *Lippia aff. gracillis* ( 1350 g), secas à temperatura ambiente e trituradas, foram extraídas exaustivamente em hexano e em seguida foram extraídas com etanol, a temperatura ambiente. A solução resultante da extração

foi filtrada e destilada sob pressão reduzida em evaporador rotatório, fornecendo 18 g de material viscoso e rendimento de 1,3%, denominado LARE (Fluxograma 2, p. 132).

#### 6.7.4 Fracionamento Cromatográfico do Extrato Etanólico das Raízes

A fração LARE (18 g) foi misturada a 15 g de gel de sílica, macerado em gral de porcelana e acondicionado sobre 60 g de gel de sílica, em coluna de 1000 mL. Os eluentes utilizados foram, hexano, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, AcOEt e MeOH, puros e obedecendo a ordem crescente de polaridade. Após evaporação do solvente, foram obtidas as seguintes frações: hexano (1,1 g; LARE-Fh), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (9,5 g; LARE-fdc), AcOEt (4,1 g ; LARE -fac) e MeOH (2.5 g; LARE-fme).

##### 6.7.4.1 Fracionamento Cromatográfico da Fração Diclorometano (LARE-Fdc)

Foram misturados 9,5 g da fração LARE-fdc a 10 g de gel de sílica, macerados em gral de porcelana e colocados sobre 35 g de gel de sílica, em coluna de 500 mL. Os eluentes utilizados foram, hexano, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram recolhidas 45 frações de 25 mL (Tabela 28, p. 127).

**Tabela 28: Dados do fracionamento cromatográfico da fração LARE-Fdc**

<i>ELUENTE</i>	<i>CONCENTRAÇÃO %</i>	<i>FRAÇÃO</i>
Hexano	100	1-5
Hexano/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	50-50	6-16
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	100	17-28
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /AcOEt	80-20	29-35
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /AcOEt	20-80	36-40
AcOEt	100	41-43
MeOH	100	44-45

As frações 1 a 5, obtidas por eluição com hexano 100%, após comparação por cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas e concentradas sob pressão reduzida. Este material, após secagem resultou em 30 mg de um sólido amorfo branco, que foi submetido a uma nova coluna cromatográfica do tipo “flash” com gel de sílica 60, usando como único eluente hexano/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 90/10%, obtendo 42 frações de 2 mL após comparação por cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas e concentradas sob pressão reduzida as frações 20 a 29. Este material, após secagem resultou em 11 mg de um sólido branco amorfo, que foi denominado de LARE-01

As frações 15 a 28, obtidas por eluição com hexano/diclorometano 1:1 e diclorometano 100%, após comparação por cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas e concentradas sob pressão reduzida. Este material, após secagem foi reunido e resultou em 180 mg, que foi submetido a cromatografia “flash” com gel de sílica 60, utilizando como único eluente a mistura de hexano/AcOEt 98/2%, obtendo 72 frações de 2 mL. Nas frações 12 a 20, que por comparação de cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas e concentradas sob pressão reduzida. Este material, após secagem resultou em 5 mg de um sólido amorfo verde, denominado LARE-02. Nas frações 23 a 38, desta mesma coluna flash, após comparação por cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas e concentradas sob pressão reduzida. Este material, após secagem resultou em 16 mg de um sólido amorfo de cor púrpura, denominado LARE-03.

A fração AcOEt 100% após sucessivas colunas cromatográficas, resultou no isolamento de 20 mg de um sólido branco amorfo denominado de LARE-04. Assim como a fração MeOH 100%, que após varias cromatografias, incluindo cromatografia por exclusão (shephadex), possibilitou o isolamento de 8 mg de um sólido amarelo denominado de LARE-05. As determinações estruturais destes metabólitos secundários estão descritas nas páginas 75 a 100.

### **6.7.5 Elaboração do Extrato Etanólico das Folhas (LAFE)**

As folhas frescas de *Lippia aff. gracilllis* ( 2800 g) foram extraídas exaustivamente em etanol, a temperatura ambiente. A solução resultante da extração foi filtrada e destilada sob pressão reduzida em evaporador rotatório, fornecendo 79 g de material viscoso e rendimento de 2,8%, denominado LAFE (Fluxograma 2, p. 132).

### **6.7.6 Fracionamento Cromatográfico do Extrato Etanólico das Folhas**

A fração LAFE (79 g) foi misturada a 18 g de gel de sílica, macerado em gral de porcelana e acondicionado sobre 150 g de gel de sílica, em funil separação de 1000 mL. Os eluentes utilizados foram, hexano,  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt, Acetona e MeOH, puros e obedecendo a ordem crescente de polaridade. Após evaporação do solvente, foram obtidas as seguintes frações: hexano (4,8 g; LAFE-Fh),  $\text{CHCl}_3$  (6,5 g; LAFE-fcl), AcOEt (5,9 g ; LAFE -fac), acetona (10,3 g ; LAFE -fac) e MeOH (49,2 g; LARE-fme).

#### **6.7.6.1 Fracionamento Cromatográfico da Fração Clorofômica (LAFE-Fcl)**

Foram misturados 6,5 g da fração LAFE-fcl foram misturados a 9,5 g de gel de sílica, macerados em gral de porcelana e colocados sobre 36 g de gel de sílica, em coluna de 500 mL. Os eluentes utilizados foram, hexano,  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram recolhidas 57 frações de 25 mL (Tabela 29, p. 129).

**Tabela 29:** Dados do fracionamento cromatográfico da fração LAFE-Fcl

<i><b>ELUENTE</b></i>	<i><b>CONCENTRAÇÃO %</b></i>	<i><b>FRAÇÃO</b></i>
Hexano	100	1-7
Hexano/CHCl <sub>3</sub>	50-50	7-19
CHCl <sub>3</sub>	100	20-32
CHCl <sub>3</sub> /AcOEt	80-20	33-39
CHCl <sub>3</sub> /AcOEt	50-50	40-46
CHCl <sub>3</sub> /AcOEt	20-80	47-50
AcOEt	100	51-54
MeOH	100	55-57

As frações de 20 a 32, obtidas por eluição com clorofórmio 100%, após comparação por cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas e concentradas sob pressão reduzida. Este material, após secagem resultou em 280 mg que foram reunidas e submetidas a cromatografia “flash” com gel de sílica 60, utilizando como único eluente a mistura de hexano/AcOEt 98/2%, obtendo 95 frações de 2 mL. Utilizando cromatografia em camada delgada (CCD), observou que as substâncias pigmentadas de cor verde (LARE-02) e púrpura (LARE-03) isolada anteriormente, além de serem encontradas nas raízes também eram encontradas nas folhas. Nas frações de 45 a 52, que por comparação de cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas e concentradas sob pressão reduzida. Este material, após secagem resultou em 4 mg de um sólido amorfo amarelo, denominado LAFE-01.

#### **6.7.6.2 Fracionamento Cromatográfico da Fração Acetato de Etila (LAFE-fAcOEt)**

Foram misturados 6 g da fração LAFE-fAcOEt foram misturados a 7,5 g de gel de sílica, macerados em gral de porcelana e colocados sobre 30 g de gel de sílica, em coluna de 500 mL. Os eluentes utilizados foram, CHCl<sub>3</sub>, AcOEt e

MeOH, puros ou em misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram recolhidas 56 frações de 25 mL (Tabela 30, p. 130).

**Tabela 30:** Dados do fracionamento cromatográfico da fração LAFE-Fcl

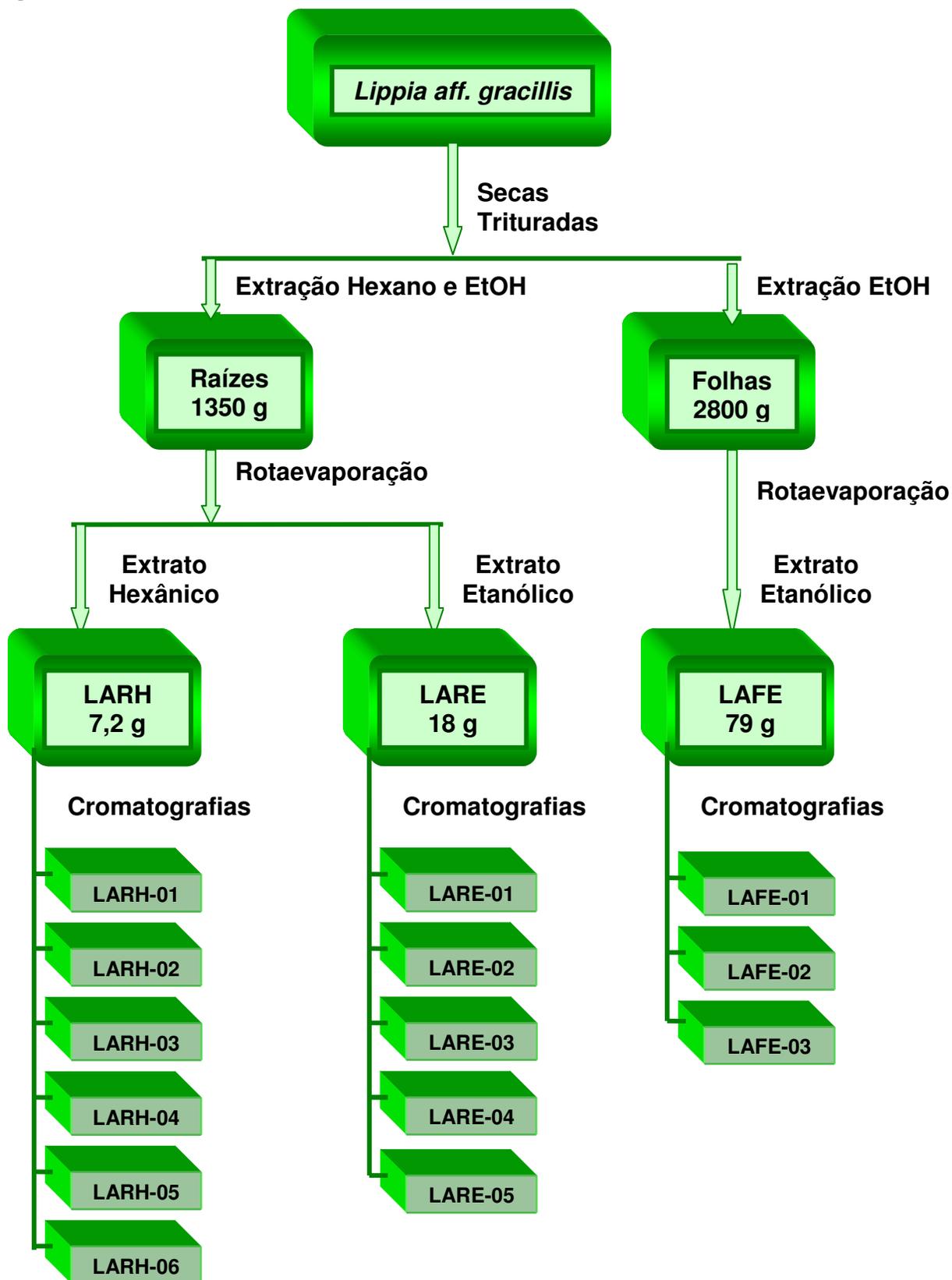
<i>ELUENTE</i>	<i>CONCENTRAÇÃO %</i>	<i>FRAÇÃO</i>
CHCl <sub>3</sub>	100	1-5
CHCl <sub>3</sub> /AcOEt	50-50	6-14
AcOEt	100	15-25
AcOEt/ MeOH	80-20	26-31
AcOEt/ MeOH	50-50	32-39
AcOEt/ MeOH	20-80	40-47
MeOH	100	48-56

As frações de 28 a 30, obtidas por eluição com AcOEt/MeOH 80/20%, após comparação por cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas e concentradas sob pressão reduzida. Este material, após secagem resultou em 12 mg de sólido branco, que utilizando cromatografia em camada delgada (CCD), observou que a substancia isolada anteriormente (LARE-04) nas raízes também era encontrada nas folhas.

As frações de 42 a 46, obtidas por eluição com AcOEt/MeOH 20/80%, após comparação por cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas e concentradas sob pressão reduzida. Este material, após secagem resultou em 5 mg de sólido amarelo, que utilizando cromatografia em camada delgada (CCD), observou que a substância isolada anteriormente (LARE-05) nas raízes também era encontrada nas folhas. As frações 48 a 58 foram reunidas e concentradas sob pressão reduzida. Este material, após secagem obteve-se 25 mg, que foi recromatografada, obtendo assim, 6 mg de um sólido amarelo denominado de LAFE-02 e 5 mg de um outro sólido amarelo denominado de LAFE-03. As

determinações estruturais destes metabólitos secundários estão descritas nas páginas 101 a 115.

**Fluxograma 2:** Parte experimental dos constituintes não voláteis de *Lippia aff. gracillis*



## 7. CONCLUSÕES

Como proposto, este trabalho descreveu a investigação fitoquímica das raízes, folhas e talos da espécie botanicamente identificada como *Lippia affinis gracillis* H.B.K. (Verbenaceae), popularmente designada no Nordeste do Brasil como “alecrim de vaqueiro”.

O estudo fitoquímico das raízes e folhas de *Lippia aff. gracillis* revelou a presença de constituintes químicos que são frequentemente isolados do gênero *Lippia* como lapachenol (1), as misturas dos esteróides  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol (4) e seus glicosídeos (5), os triterpenos acetato do ácido oleanólico (6) e lantandeno-A (7), o ácido tetraeicosanóico (8), as quinonas tecomaquinona (9) e microfilaquinona (10) e os flavonóides quercetina (12) e hispidulina (13). Sendo ainda isolados os triterpenos friedelinona (2) e acetato de 3-epifriedelanila (3), a furanonaftoquinona 5-hidroxi-nafto[2,3b]furan-4,9-quinona (11) e o flavonóide 3-metilquercetina (14), conhecidos na literatura, porém isolados pela primeira vez no gênero *Lippia*.

O estudo dos óleos essenciais das folhas e talos apresentou rendimento e composição química distintos. O rendimento quantitativo do óleo das folhas (4,5 g/Kg) foi de aproximadamente 20 vezes maior que o óleo dos talos (0,24 g /Kg). O carvacrol (59) foi o constituinte majoritário, tanto das folhas como dos talos, sendo que nas folhas, o seu teor (54,4%) é superior aos teores dos demais constituintes juntos (45,6%), enquanto que nos talos o carvacrol apresentou teor de (30,2%). O carvacrol foi ainda modificado, através de reações químicas, obtendo os derivados metilado e acetilado, para avaliação de bioatividades. A avaliação das atividades larvicida (*Aedes aegypti*), moluscicida (*Biomphalaria glabrata*), antioxidante e antimicrobiana, foi realizada com os óleos das folhas e talos, o carvacrol e seus derivados metilado e acetilado. Os resultados das amostras dos óleos e do carvacrol foram significativos em todos bioensaios, já os derivados metilado e acetilado apresentaram redução destas atividades, também em todos bioensaios, mostrando assim uma relação do grupo fenólico com as atividades biológicas.

## 8. Constantes Físicas e Dados Espectroscópicos das Substâncias Isoladas e Derivados de *Lippia aff. gracillis*

### 8.1 LARH-01

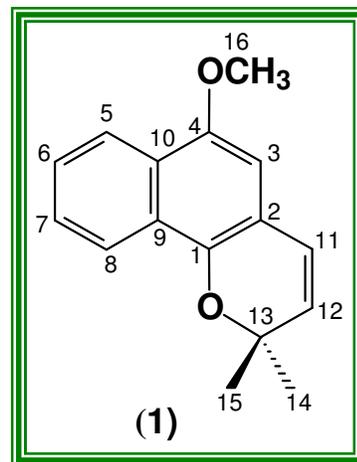
**F.M.:** C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>

**P. M.:** 240 u

**p. f.:** 57,7 - 59,2 °C

**Aspecto:** Filme amarelo

**Solubilidade:** Clorofórmio



**LAPACHENOL**

**Dados espectroscópicos na região de IV (Pastilha de NaCl, cm<sup>-1</sup>):** 3389, 2929, 1611, 1516, 1458, 1269, 1057, 818 e 779.

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm) e Constante de acoplamento (J Hz):** 6,53 (s, H-3), 8,18 (sl, H-5), 7,48 (m, H-6), 7,46 (m, H-7), 8,16 (sl, H-8), 6,42 (d, J =9,6, H-11), 5,53 (d, J =9,6, H-12), 1,51 (s, H-14 e 15) e 3,97 (s, H-16).

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm):** 142,1 (C, C-1), 115,0 (C, C-2), 102,8 (CH, C-3), 149,5 (C, C-4), 121,9 (CH, C-5), 125,6 (CH, C-6), 126,1 (CH, C-7), 122,0 (CH, C-8), 126,1 (C, C-9), 126,3 (C, C-10), 123,2 (CH, C-11), 130,1 (CH, C-12), 76,4 (C, C-13), 27,8 (CH<sub>3</sub>, C-14), 27,8 (CH<sub>3</sub>, C-15) e 56,0 (CH<sub>3</sub>, C-16).

## 8.2 LARH-02

**F.M.:** C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O

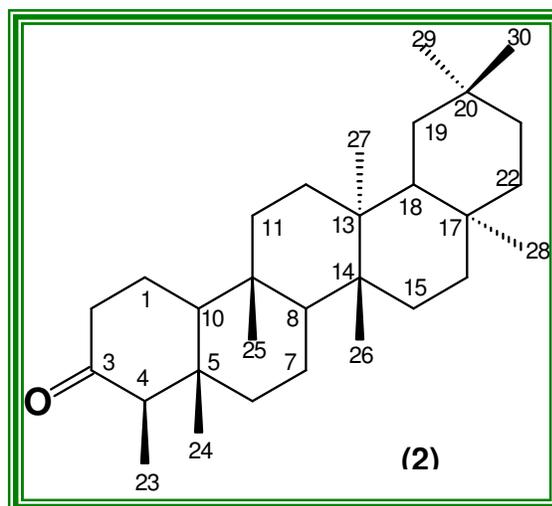
**P. M.:** 426 u

**p. f.:** 265 - 267 °C

**[α]<sub>D</sub>** = - 25 °

**Aspecto:** Sólido amorfo branco

**Solubilidade:** Clorofórmio



**FRIEDELINONA**

**Dados espectroscópicos na região de IV (Pastilha de KBr, cm<sup>-1</sup>):**

2929, 1715, 1459 e 1388.

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm) e Constante de acoplamento (J Hz):**

0,73 a 1,27 (s) e 1,34 a 2,39 (m).

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm):**

22,5 (CH<sub>2</sub>, C-1), 41,7 (CH<sub>2</sub>, C-2), 213,3 (C, C-3), 58,4 (CH, C-4), 42,3 (C, C-5), 41,5 (CH<sub>2</sub>, C-6), 18,4 (CH<sub>2</sub>, C-7), 53,3 (CH, C-8), 37,7 (C, C-9), 59,7 (CH, C-10), 35,8 (CH<sub>2</sub>, C-11), 30,7 (CH<sub>2</sub>, C-12), 39,9 (C, C-13), 38,5 (C, C-14), 32,6 (CH<sub>2</sub>, C-15), 36,2 (CH<sub>2</sub>, C-16), 30,2 (C, C-17), 43,0 (CH, C-18), 35,5 (CH<sub>2</sub>, C-19), 28,3 (C, C-20), 33,0 (CH<sub>2</sub>, C-21), 39,5 (CH<sub>2</sub>, C-22), 7,1 (CH<sub>3</sub>, C-23), 14,9 (CH<sub>3</sub>, C-24), 18,1 (CH<sub>3</sub>, C-25), 20,5 (CH<sub>3</sub>, C-26), 18,9 (CH<sub>3</sub>, C-27), 32,3 (CH<sub>3</sub>, C-28), 35,2 (CH<sub>3</sub>, C-29) e 32,0 (CH<sub>3</sub>, C-30).

### 8.3 LARH-03

**F.M.:** C<sub>32</sub>H<sub>54</sub>O<sub>2</sub>

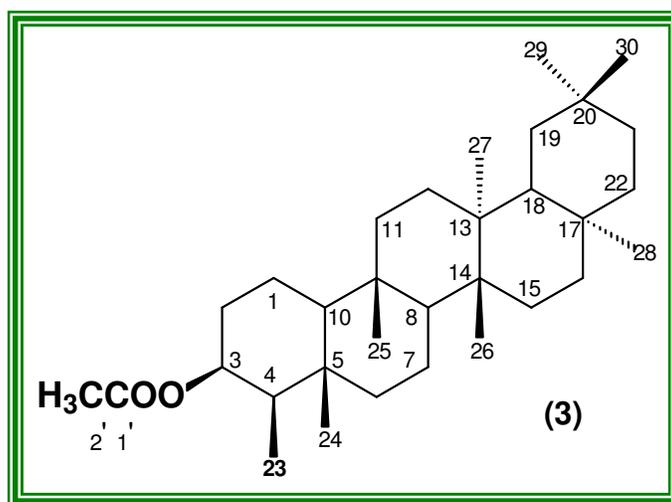
**P. M.:** 470 u

**p. f.:** 261 - 263 °C

**[α]<sub>D</sub>** = + 33 °

**Aspecto:** Sólido amorfo branco

**Solubilidade:** Clorofórmio



### ACETATO DE 3-EPIFRIEDELANIL

**Dados espectroscópicos na região de IV (Pastilha de KBr, cm<sup>-1</sup>):**

2930, 1718, 1463 e 1388.

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm) e Constante de acoplamento (J Hz):**

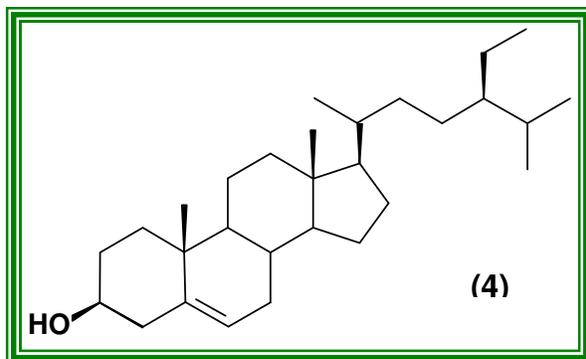
0,81 a 1,28 (s), 1,31 a 1,89 (m); 2,05 (s) e 4,90 (m).

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm):**

16,5 (CH<sub>2</sub>, C-1), 41,9 (CH<sub>2</sub>, C-2), 74,8 (CH, C-3), 48,3 (CH, C-4), 38,1 (C, C-5), 32,5 (CH<sub>2</sub>, C-6), 17,9 (CH<sub>2</sub>, C-7), 53,4 (CH, C-8), 37,3 (C, C-9), 61,2 (CH, C-10), 35,6 (CH<sub>2</sub>, C-11), 30,8 (CH<sub>2</sub>, C-12), 38,6 (C, C-13), 39,5 (C, C-14), 32,4 (CH<sub>2</sub>, C-15), 36,3 (CH<sub>2</sub>, C-16), 30,2 (C, C-17), 43,0 (CH, C-18), 35,8 (CH<sub>2</sub>, C-19), 28,4 (C, C-20), 33,0 (CH<sub>2</sub>, C-21), 39,5 (CH<sub>2</sub>, C-22), 11,5 (CH<sub>3</sub>, C-23), 16,0 (CH<sub>3</sub>, C-24) 18,4 (CH<sub>3</sub>, C-25), 18,6 (CH<sub>3</sub>, C-26), 20,3 (CH<sub>3</sub>, C-27), 32,3 (CH<sub>3</sub>, C-28), 35,2 (CH<sub>3</sub>, C-29), 32,0 (CH<sub>3</sub>, C-30), 171,1 (C, C-1') e 21,6 (CH<sub>3</sub>, C-2').

#### 8.4 LARH-04

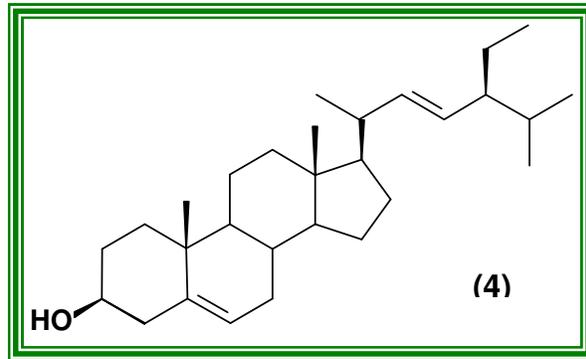
#### MISTURA DO $\beta$ -SITOSTEROL E ESTIGMASTEROL



$\beta$ -SITOSTEROL

F.M.:  $C_{29}H_{50}O$

P. M.: 414 u



ESTIGMASTEROL

F.M.:  $C_{29}H_{48}O$

P. M.: 414 u

p. f.: 162 - 165 °C

**Aspecto:** Cristais agulhas incolores

**Solubilidade:** Clorofórmio

**Dados espectroscópicos na região de IV (Pastilha de KBr,  $cm^{-1}$ ):**

3428, 2938, 1463, 1377, 1054, 960.

**Dados espectroscópicos de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ) – Deslocamento químico ( $\delta$  ppm) e Constante de acoplamento (J Hz):**

0,81 a 1,28 (s), 1,31 a 1,89 (m); 2,05 (s) e 4,90 (m).

### 8.5 LARE-04

**F.M.:** C<sub>35</sub>H<sub>60</sub>O<sub>6</sub>

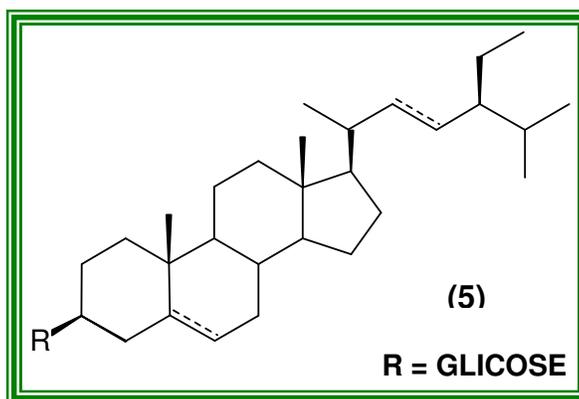
**P.M.:** 576 u

**p.f.:** 289 – 291°C

**Aspecto:** sólido amorfo branco

**Solubilidade:** Piridina

**[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +65,5°**



(glicosídeo da mistura de β-sitosterol e estigmasterol)

**3β-O-β-D-glicopiranositosterol**

**Espectroscopia na região do I.V. (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3413, 2935, 2862, 1656, 1461, 1371, 1165, 1067, 1024.

**Espectroscopia de RMN <sup>13</sup>C (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) - δ (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) :** 37,7 (CH<sub>2</sub>, C-1); 30,4 (CH<sub>2</sub>, C-2); 78,8 (CH, C-3); 39,5 (CH<sub>2</sub>, C-4); 141,1 (C, C-5); 122,1 (CH, C-6); 32,4 (CH<sub>2</sub>, C-7); 32,2 (CH, C-8); 50,4 (CH, C-9); 37,1 (C, C-10); 20,2 (CH<sub>2</sub>, C-11); 39,5 (CH<sub>2</sub>, C-12); 42,7 (C, C-13); 57,0 (CH, C-14); 24,7 (CH<sub>2</sub>, C-15); 29,7 (CH<sub>2</sub>, C-16); 56,4 (CH, C-17); 12,7 (CH<sub>3</sub>, C-18); 19,4 (CH<sub>3</sub>, C-19); 36,6 (CH, C-20); 19,2 (CH<sub>3</sub>, C-21); 34,4 (CH<sub>2</sub>, C-22); 26,6 (CH<sub>2</sub>, C-23); 46,2 (CH, C-24); 29,7 (CH, C-25); 19,6 (CH<sub>3</sub>, C-26); 19,4 (CH<sub>3</sub>, C-27); 23,6 (CH<sub>2</sub>, C-28); 12,2 (CH<sub>3</sub>, C-29); 102,8 (CH, C-1'); 78,3 (CH, C-2'); 78,6 (CH, C-3'); 71,9 (CH, C-4'); 75,6 (CH, C-5'); 63,0 (CH<sub>2</sub>, C-6').

## 8.6 LARH-05

**F.M.:** C<sub>32</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub>

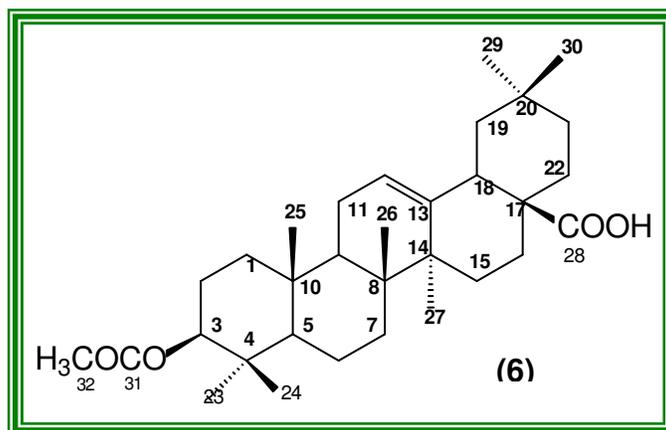
**P. M.:** 498 u

**p. f.:** 256 - 258 °C

**[α]<sub>D</sub>** = + 74,2 °

**Aspecto:** Sólido amorfo branco

**Solubilidade:** Clorofórmio



### ACETATO DO ÁCIDO OLEANÓLICO

**Dados espectroscópicos na região de IV (Pastilha de KBr, cm<sup>-1</sup>):**

3480, 2930, 1709, 1458 e 1386.

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm) e Constante de acoplamento (J Hz):**

0,77 a 1,11 (s), 1,15 a 2,10 (m); 2,19 (s), 4,51 (t) e 5,30 (t).

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm):**

38,3 (CH<sub>2</sub>, C-1), 28,3 (CH<sub>2</sub>, C-2), 81,2 (CH, C-3), 37,9 (C, C-4), 55,5 (CH, C-5), 18,4 (CH<sub>2</sub>, C-6), 17,4 (CH<sub>2</sub>, C-7), 39,5 (C, C-8), 47,8 (CH, C-9), 37,2 (C, C-10), 23,1 (CH<sub>2</sub>, C-11), 122,8 (CH, C-12), 143,8 (C, C-13), 41,8 (C, C-14), 27,9 (CH<sub>2</sub>, C-15), 23,8 (CH<sub>2</sub>, C-16), 46,7 (C, C-17), 41,2 (CH, C-18), 46,1 (CH<sub>2</sub>, C-19), 30,9 (C, C-20), 34,0 (CH<sub>2</sub>, C-21), 32,7 (CH<sub>2</sub>, C-22), 28,3 (CH<sub>3</sub>, C-23), 15,6 (CH<sub>3</sub>, C-24) 17,4 (CH<sub>3</sub>, C-25), 16,9 (CH<sub>3</sub>, C-26), 26,1 (CH<sub>3</sub>, C-27), 183,4 (C, C-28), 33,3 (CH<sub>3</sub>, C-29), 23,8 (CH<sub>3</sub>, C-30), 171,3 (C, C-31) e 21,5 (CH<sub>3</sub>, C-32).

## 8.7 LARH-06

F.M.: C<sub>35</sub>H<sub>52</sub>O<sub>5</sub>

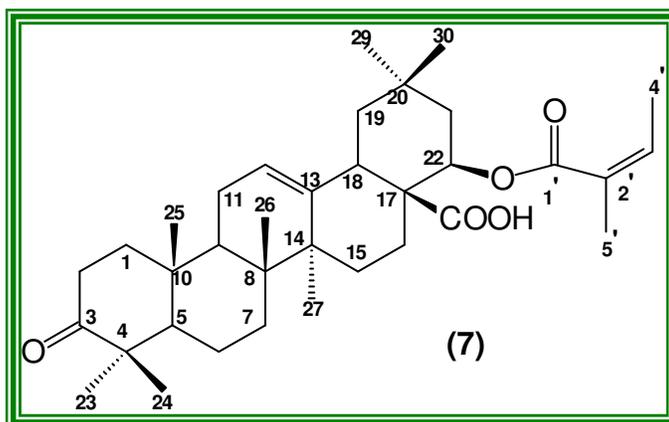
P. M.: 552 u

p. f.: 282 - 285 °C

[α]<sub>D</sub> = + 89 °

Aspecto: Sólido amorfo branco

Solubilidade: Clorofórmio



### LANTANDENO-A

Dados espectroscópicos na região de IV (Pastilha de KBr, cm<sup>-1</sup>):

3481, 2930, 1705, 1654, 1459 e 1387.

Dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm) e Constante de acoplamento (J Hz):

0,83 a 1,18 (s), 1,77 (s), 1,26 a 3,09 (m); 2,19 (s), 5,09 (sl), 5,38 (s) e 5,99 (m).

Dados espectroscópicos de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm):

39,3 (CH<sub>2</sub>, C-1), 34,3 (CH<sub>2</sub>, C-2), 217,7 (C, C-3), 47,6 (C, C-4), 55,5 (CH, C-5), 19,7 (CH<sub>2</sub>, C-6), 32,4 (CH<sub>2</sub>, C-7), 38,4 (C, C-8), 47,1 (CH, C-9), 37,0 (C, C-10), 23,7 (CH<sub>2</sub>, C-11), 122,8 (CH, C-12), 143,3 (C, C-13), 42,2 (C, C-14), 27,8 (CH<sub>2</sub>, C-15), 24,4 (CH<sub>2</sub>, C-16), 50,8 (C, C-17), 38,7 (CH, C-18), 46,2 (CH<sub>2</sub>, C-19), 30,2 (C, C-20), 37,9 (CH<sub>2</sub>, C-21), 76,2 (CH, C-22), 26,7 (CH<sub>3</sub>, C-23), 20,7 (CH<sub>3</sub>, C-24) 15,3 (CH<sub>3</sub>, C-25), 17,1 (CH<sub>3</sub>, C-26), 26,0 (CH<sub>3</sub>, C-27), 179,7 (C, C-28), 33,9 (CH<sub>3</sub>, C-29), 26,4 (CH<sub>3</sub>, C-30), 166,5 (C, C-1'), 127,8 (C, C-2'), 139,7 (CH, C-3'), 21,7 (CH<sub>3</sub>, C-4') e 15,3 (CH<sub>3</sub>, C-5').

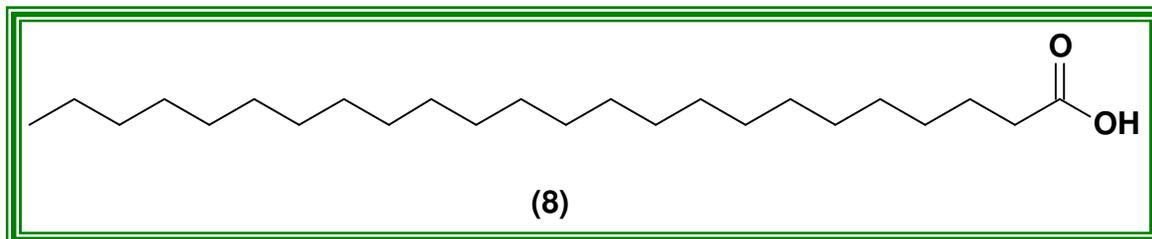
## 8.8 LARE-01

**F.M.:** C<sub>24</sub>H<sub>46</sub>O<sub>2</sub>

**P. M.:** 368 u

**Aspecto:** Sólido amorfo branco

**Solubilidade:** Clorofórmio



### ÁCIDO TETRAEICOSANÓICO

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm) e Constante de acoplamento (J Hz):**

0,89 (t), 1,26 (s), 1,64 (m) e 2,35 (t).

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm):**

22,2 a 34,1 e 179,5.

**Dados espectrométricos de CG-MS:**

Pico base m/z = 43 e íon molecular m/z = 368

## 8.9 LARE-02

**F.M.:** C<sub>30</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>

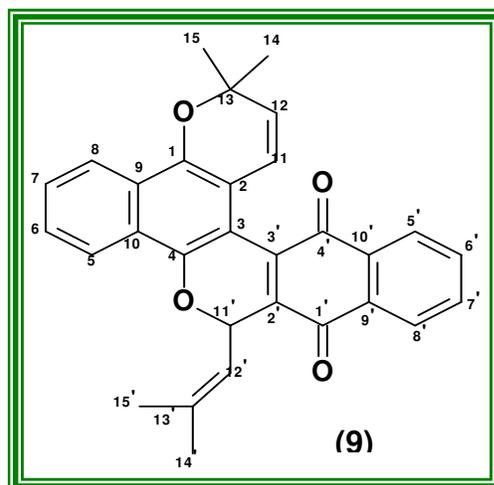
**P. M.:** 448 u

**p. f.:** 187 - 189 °C

**[α]<sub>D</sub>** = - 27,7 °

**Aspecto:** Sólido amorfo verde

**Solubilidade:** Clorofórmio



**TECOMAQUINONA**

**Dados espectroscópicos na região de IV (Pastilha de KBr, cm<sup>-1</sup>):**

2967, 1672, 1595 e 1550.

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm) e Constante de acoplamento (J Hz):**

8,17 (d, *J* = 8,3; H-5), 7,48 (m, H-6), 7,56 (m, H-7), 8,20 (d, *J* = 8,3; H-8), 6,16 (d, *J* = 9,6; H-11), 5,71 (d, *J* = 9,6; H-12), 1,61 (s, H-14), 1,65 (s, H-15), 8,14 (m, H-5'), 7,74 – 7,77 (m, H-6'), 7,74 – 7,77 (m, H-7'), 8,11 (m, H-8'), 6,43 (d, *J* = 9,3; H-11'), 5,46 (d, *J* = 9,6; H-12'), 1,58 (s, H-14') e 2,05 (s, H-15').

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm):**

143,8 (C-1), 112,9 (C-2), 111,4 (C-3), 148,2 (C-4), 123,3 (CH-5), 126,6 (CH-6), 128,2 (CH-7), 122,5 (CH-8), 127,9 (C-9), 126,1 (C-10), 124,1 (CH-11), 125,4 (CH-12), 76,0 (C-13), 25,6 (CH<sub>3</sub> -14), 28,9 (CH<sub>3</sub> -15), 183,6 (C-1'), 135,8 (C-2'), 136,7 (C-3'), 182,4 (C-4'), 126,9 (CH-5'), 133,4 (CH-6'), 133,4 (CH-7'), 126,0 (CH-8'), 133,8 (C-9'), 132,2 (C-10'), 68,1(CH-11'), 117,8 (CH-12'), 142,1 (C-13'), 26,2 (CH<sub>3</sub> -14') e 19,1(CH<sub>3</sub> -15').

## 8.10 LARE-03

**F.M.:** C<sub>27</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>

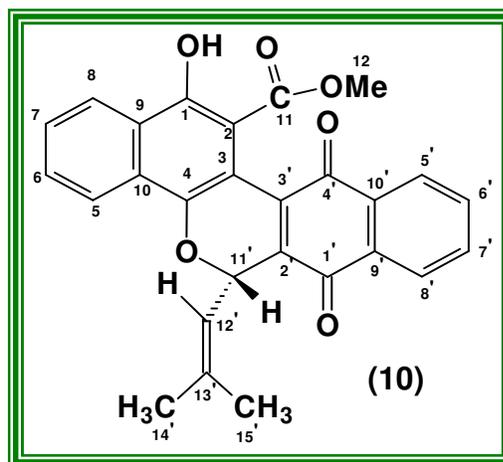
**P. M.:** 440 u

**p. f.:** 197 - 199 °C

**[α]<sub>D</sub>** = -131 °

**Aspecto:** Cristal de cor púrpura

**Solubilidade:** Clorofórmio



**MICROFILAQUINONA**

**Dados espectroscópicos na região de IV (Pastilha de KBr, cm<sup>-1</sup>):**

3650, 1662, 1435 e 769.

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm) e Constante de acoplamento (J Hz):**

8,23 (d, *J* = 9,2, H-5), 7,66 (m, H-6), 7,66 (m, H-7), 8,42 (d, *J* = 9,2; H-8), 3,70 (s, H-12), 8,10 (m, H-5'), 7,77 (m, H-6'), 7,77 (m, H-7'), 8,15 (m, H-8'), 6,48 (d, *J* = 9,2; H-11'), 5,58 (d, *J* = 9,2; 12'), 1,67 (s, H-14'), 2,08 (s, H-15') e 11,26 (sl, H-OH).

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm):**

154,8 (C-1), 104,9 (C-2), 109,5 (C-3), 147,6 (C-4), 123,3 (CH-5), 129,6 (CH-6), 128,8 (CH-7), 124,5 (CH-8), 127,5 (C-9), 128,4 (C-10), 171,1 (C-11), 52,0 (CH<sub>3</sub> - 12), 182,4 (C-1'), 133,1 (C-2'), 137,2 (C-3'), 184,7 (C-4'), 126,6 (CH-5'), 133,9 (CH-6'), 134,0 (CH-7'), 126,3 (CH-8'), 132,4 (C-9'), 133,3 (C-10'), 68,0 (CH-11'), 117,7 (CH-12'), 142,6 (C-13'), 26,2 (CH<sub>3</sub> -14') e 19,1 (CH<sub>3</sub> -15').

### 8.11 LARE-05

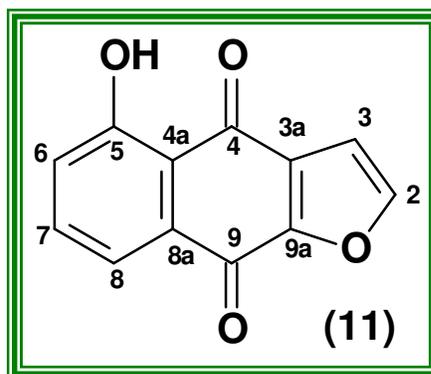
**F.M.:** C<sub>12</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>

**P. M.:** 214 u

**p. f.:** 186 - 189 °C

**Aspecto:** Sólido amorfo amarelo

**Solubilidade:** Clorofórmio



### 5-HIDROXINAFTO[2,3b]FURAN-4,9-QUINONA

**Dados espectroscópicos na região de IV (Pastilha de KBr, cm<sup>-1</sup>):**

3130, 1671, 1634, 1443, 1154, 1028 e 768.

**Dados espectroscópicos de LCMS (CHCl<sub>3</sub>):**

Pico do íon molecular m/z = 214

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm) e Constante de acoplamento (J Hz):**

7,79 (d, J = 1,7; H-2), 7,00 (d, J = 1,7; H-3), 7,28 (d, J = 8,0; H-6), 7,63 (t, J = 8,0; H-7), 7,78 (d, J = 8,0; H-8) e 12,20 (s. H-OH).

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm):**

149,0 (CH-2), 108,5 (CH-3), 186,7 (C-4), 162,7 (C-5), 125,5 (CH-6), 136,5 (CH-7), 120,3 (CH-8), 173,1 (C-9), 130,5 (C-3a), 115,6 (C-4a), 132,9 (C-8a) e 153,1 (C-9a).

### 8.12 LAFE-01

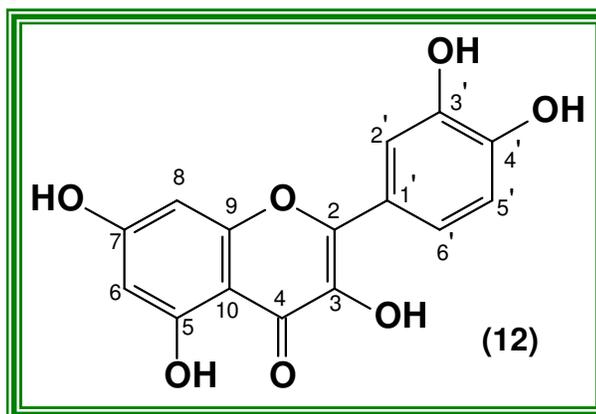
**F.M.:** C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>

**P. M.:** 302 u

**p. f.:** 275 - 277 °C

**Aspecto:** Sólido amorfo amarelo

**Solubilidade:** Metanol



**QUERCETINA**

**Dados espectroscópicos na região de IV (Pastilha de KBr, cm<sup>-1</sup>):**

3417, 1663, 1612, 1457, 1264, 1168, 1044 e 825.

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm) e Constante de acoplamento (J Hz):**

6,18 (d, J = 2,0; H-6), 6,39 (d, J = 2,0; H-8), 7,74 (d, J = 2,0; H-2'), 6,88 (d, J = 8,5; H-5') e 7,63 (d, J = 2,0 e 8,5; H-6').

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm):**

147,0 (C-2), 136,2 (C-3), 176,3 (C-4), 161,5 (C-5), 98,2 (CH-6), 164,6 (C-7), 93,4 (CH-8), 157,2 (C-9), 103,5 (C-10), 123,1 (C-1'), 115,0 (CH-2'), 145,2 (C-3'), 147,8 (C-4'), 115,2 (CH-5') e 120,7 (CH-6').

### 8.13 LAFE-02

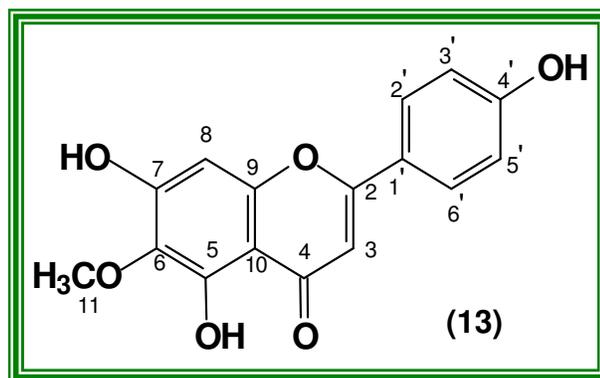
**F.M.:** C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>

**P. M.:** 300 u

**p. f.:** 291 - 292 °C

**Aspecto:** Sólido amorfo amarelo

**Solubilidade:** DMSO



### HISPIDULINA

**Dados espectroscópicos na região de IV (Pastilha de KBr, cm<sup>-1</sup>):**

3429, 1693, 1629, 1374, 1214, 1141, 1088 e 765.

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm) e Constante de acoplamento (J Hz):**

6,76 (s, H-3), 6,59 (s, H-8), 3,75 (s, H-11), 7,91 (d, J = 8,2; H-2'), 6,91 (d, J = 8,2; H-3'), 6,91 (d, J = 8,2; H-5') e 7,91 (d, J = 8,2; H-6').

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm):**

163,8 (C-2), 102,4 (CH-3), 182,1 (C-4), 152,7 (C-5), 131,4 (C-6), 157,3 (C-7), 94,2 (CH-8), 152,4 (C-9), 104,0 (C-10), 59,9 (CH<sub>3</sub> -11), 121,2 (C-1'), 128,4 (CH-2'), 115,9 (CH-3'), 161,2 (C-4'), 115,9 (CH-5') e 128,4 (CH-6').

### 8.14 LAFE-03

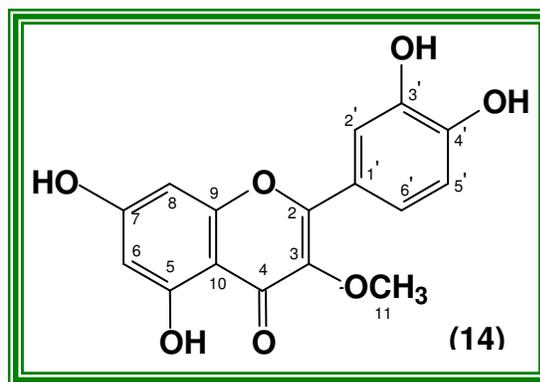
**F.M.:** C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>

**P. M.:** 316 u

**p. f.:** 271 - 277 °C

**Aspecto:** Sólido amorfo amarelo

**Solubilidade:** DMSO



### 3-METILQUERCETINA

**Dados espectroscópicos na região de IV (Pastilha de KBr, cm<sup>-1</sup>):**

3429, 1693, 1629, 1374, 1214, 1141, 1088 e 765.

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm) e Constante de acoplamento (J Hz):**

6,15 (d, *J* = 1,9; H-6), 6,37 (d, *J* = 1,9; H-8), 3,74 (s, H-11), 6,63 (d, *J* = 2,2; H-2'), 6,84 (d, *J* = 8,5; H-5'), 7,41 (dd, *J* = 2,2; 8,5; H-6') e 12,44 (s, H-OH).

**Dados espectroscópicos de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) – Deslocamento químico (δ ppm):**

155,6 (C-2), 137,7 (C-3), 175,9 (C-4), 160,7 (C-5), 98,2 (CH-6), 163,9 (C-7), 93,4 (CH-8), 156,1 (C-9), 103,0 (C-10), 59,7 (CH<sub>3</sub> -11), 122,0 (C-1'), 115,1 (CH-2'), 145,1 (C-3'), 147,7 (C-4'), 115,6 (CH-5') e 120,0 (CH-6').

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEYGUNAWARDENA, C.; KUMAR, V.; MARSHALL, D. S.; THOMSON, R. H.; WICKRAMARATNE, D. B. M., *Phytochemistry*, **1991**, v 30, p 941.

ADAMS, R. P., Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, **2001**.

AGRAWAL, P. K. Carbon-13 NMR of Flavonoids, Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam Netherlands **1989**.

AHMAD, V. U. e RAHMAD, A., Handbook of Natural Products Data Pentacyclic Yriterpenoids, Elsevier, **1994**, v. 2.

ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A., Kovats Índices Simulation in Essencial Oil Analysis, *Quim. Nova*, **1990**, v 13 (4), p 282.

ANSARI, N. M.; HOULIHAN, L.; HUSSAIN, B.; PIERONI, A., *Phytother. Res.*, **2005**, v 19, p 907.

BARROSO, G. M. In: Sistematica de Angiospermas do Brasil. Visosa: Imp. Univ., UFV, **1991**, v 3, p 90.

CHALMERS, A. A.; RALL, G. L. H.; OBERHOLZER, E., *Tetrahedron*, **1977**, v 33, p 383.

CICCIA, G.; COUSSIO, J.; MONGELLI, E., *J. Ethnopharmacol.*, **2000**, v 72, p 185.

COSTA, S. M. O., Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste do Brasil - *Lippia sidoides Cham.*- Tese de Doutorado, UFC, **2001**.

COSTA, S. M. O.; LEMOS, T. L. G.; PESSOA, O. D. L.; MONTENEGRO, R. C. e BRAZ-FILHO, R., *J. Nat. Prod.*, **2001**, v 64, p 792.

CRAVEIRO, A. A.; ALENCAR, J. W.; MATOS, F. J. A.; ANDRADE, C. H. S.; MACHADO, M. I. L., *J. Nat. Prod.*, **1981**, v 42, p 598.

DOMINGUEZ, X. A.; FRANCO, R.; CANO, G.; lo GARCIA F, M. C.; DOMINGUEZ S. Jr., X.A.; de la PEÑA M., L., *México Planta Medica.*, **1983**, v 49(1), p 63.

FALEIRO, L.; MIGUEL, G.; GOMES, S.; COSTA, L.; VENÂNCIO, F.; TEXEIRA, A.; FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G., *J. Agric. Food Chem.*, **2005**, v 53, p 8162.

GHISALBERTI, E. L., *Fitoterapia*, **2000**, v 71(5), p 367.

GONZALEZ, A. G.; BARROSO, J. T.; CARDONA, R. J.; MEDINA, J. M.; RODRIGUES LUIS, F., *Anales. Quim.*, **1976**, v 73, p 538.

GORMANN, R.; KALOGA, M.; LI, X. C.; FERREIRA, D.; BERGENTHAL, D.; KOLODZIEJ, H., *Phytochemistry*, **2003**, v 64, p 587.

GOTTLIEB, O. R.; MAGALHÃES, M. T., Modified Distillation trap. *Chemist. Analyst.*, **1960**, v 49, p 114.

HASE, T.; OHTANI, K.; KASAI, R.; YAMASAKI, K., *Phytochemistry*, **1995**, v 40, p 287.

IKEGAWA, T.; IKEGAWA, N.; TSUKADA, M., *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, **1988**.

INOUE, K.; CHEN, C. C.; INOUE, H.; KURIYAMA, K., *J. Chem. Society. Perkin I*, **1981**, v 11, p 2764.

MACAMBIRA, L. M. A.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; CRAVEIRO, A. A.; BRAZ FILHO, R., *J. Nat. Prod.*, **1986**, v 49 (2), p 310.

MACARI, P. A. T.; EMERENCIANO, V. P.; FERREIRA, Z. M. G. S., Identificação dos triterpenos de *Miconia albicans* Triana através de análise por microcomputador, *Quim. Nova*, **1990**, v. 13, n. 4, p. 260-262.

MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; SILVA, M. G. V.; CRAVEIRO, A. A.; ALENCAR, J. W. *J. Essent. Oil Res*, **2000**, v 12, p 295.

MATOS, F. J. A.; Plantas Medicinais: Guia de Seleção e Emprego de Plantas Usadas em Fitoterapia no Nordeste do Brasil, 2<sup>a</sup> Edição, UFC: Imprensa Universitária, **2000**.

MIN, B. S.; HUONG, H. T. T.; KIM, J. H.; JUN, H. J.; NA, M. K.; NAM, N. H.; LEE, H. K.; BAE, K.; KANG, S. S., *Planta Medica*, **2004**, v 70(12), p 1166.

MOTT, K. E. In: Plant Molluscicides, John Wiley, Chichester, **1987**.

OLIVEIRA, M. C. F.; LEMOS, T. L. G.; MATTOS, M. C.; SEGUNDO, T. A.; SANTIAGO, G. M. P.; FILHO, R. B., *Ana. Acad. Bras. Ciên.*, **2002**, v 74, p 211.

OLIVEIRA, A. B.; RASLAN, D. S.; OLIVEIRA, G. G.; MAIA, J. G. S., *Phytochemistry*, **1993**, v 34, p 1409.

PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; SÁNCHEZ, M. D E VILLAR, A., *J. Ethnopharmacol.*, **2001**, v 76, p 201.

PESSOA, O. D. L.; CARVALHO, C. B. M.; SILVESTRE, J. O. V. L.; LIMA, M. C. L.; MATOS, F. J. A.; LEMOS, T. L. G., *Fitoterapia*, **2005**, v 76, p 712.

RAO, M. M.; KINGSTON, D. G. I., *J. Nat. Prod.*, **1982**, v 45 (5), p 600.

RIBEIRO, J. E. L. da S.; HOPKINS, M. J. G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C. A.; COSTA, M. A. da S.; BRITO, J. M.; SOUZA, M. A. D.; MARTINS, L. H. P.; LOHMANN, L. G.; ASSUNÇÃO, P. A. C. L.; PEREIRA, E. C.; SILVA, C. F.; MESQUITA, M. R.; PROCOPIO, L. C. In: *Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação de Plantas Vasculares da uma Floresta de Terra-firme na Amazônia Central*: INPA, **1999**.

SAIZARBITORIA, T. C.; ANDERSON, J. E.; ALFONSO, D.; McLAUTHEE, J. L., *Acta Científica Venezolana*, **1997**, v 48(1), p 42.

SANTIAGO, G. M P.; LEMOS, T. L. G.; PESSOA, O. D. L.; ARRIAGA, A. M. C.; MATOS, F. J. A.; LIMA, M. A. S.; SANTOS, H. S.; LIMA, M. C. L.; BARBOSA, F. G.; LUCIANO, J. H. S.; SILVEIRA, E. R.; MENEZES, G. H. A., *Natural Product Commun.*, **2006**, v 7(1), p 573.

SANTOS, H. S.; COSTA, S. M. O.; PESSOA, O. D. L.; MORAES, M. O.; PESSOA, C.; FORTIER, S.; SILVEIRA, E. R.; LEMOS, T. L. G., *Z. Naturforsch*, **2003**, v 58 c, p 517.

SCHAUER, C. S., *Verbenaceae In Flora Brasiliensis*, **1847**, v 9, p 110.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. Spectrometric Identification of Organic Compounds. 5<sup>th</sup> ed. Singapore: John Wiley & Sons, Inc, **1991**.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B., Química Orgânica, 8<sup>a</sup> ed., LTC editora, **2006**.

UEDA, S.; UMEMURA, T.; DOHGUCHI, K.; MATSUZAKI, T.; TOKUDA, H.; NISHINO, H., *Phytochemistry*, **1994**, v 36, p 323.

VALE, T. G.; MATOS, F. J. A.; LIMA, T. C. M.; VIANA, G. S. B. *J. Ethnopharmacol.*, **1999**, v 67, p 127.

WAGNER, H.; KREHER, B.; LOTTER, H., *Helv. Chim. Acta*, **1989**, v 72, p 659.

ZANI, C. L.; OLIVEIRA, A. B., OLIVEIRA, G. G., *Phytochemistry*, **1991**, v 30, p 2379.