



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS  
E SINTÉTICOS BIOATIVOS**

**CAROLINE DUARTE SIQUEIRA**

**CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Salzmannia nitida* DC.  
(RUBIACEAE)**

**João Pessoa – PB  
2012**

**CAROLINE DUARTE SIQUEIRA**

**CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Salzmannia nitida* DC.  
(RUBIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Farmacoquímica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva**

**COORIENTADOR: Prof. Dr. Josean Fechine Tavares**

**João Pessoa – PB**

**2012**

S618c Siqueira, Caroline Duarte.

Constituintes químicos de Salzmanina nitida DC.  
(RUBIACEAE) / Caroline Duarte Siqueira. - João Pessoa,  
2012.

139 f. : il.

Orientação: Marcelo Sobral da Silva.

Coorientação: Josean Fachine Tavares.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Produtos naturais. 2. Compostos fenólicos. 3.  
Constituintes químicos - Salzmanina nitida. I. Silva,  
Marcelo Sobral da. II. Tavares, Josean Fachine. III.  
Título.

UFPB/BC



# PgPNSB

Pós Graduação em Produtos Naturais  
e Sintéticos Bioativos

Ata da 268ª (ducentésima sexagésima oitava) Dissertação de Mestrado da aluna do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos **CAROLINE DUARTE SIQUEIRA**, candidata ao Título de "Mestre" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de Farmacoquímica.

Às oito horas (08:00h) do dia dezesseis de fevereiro do ano dois mil e doze (16.02.2012), no Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar a aluna **Caroline Duarte Siqueira**, candidata ao Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de Farmacoquímica. Foram componentes da Banca Examinadora os professores **Jorge Maurício David**, Ph.D em Química Orgânica, **José Maria Barbosa Filho**, Ph.D em Química e **Marcelo Sobral da Silva**, Ph.D em Química. Sendo o primeiro, integrante do Corpo Docente da Universidade Federal da Bahia e os demais, integrantes do Corpo Docente desta Universidade Dando início aos trabalhos, o Presidente da Banca, professor **Marcelo Sobral da Silva**, após declarar os objetivos da reunião, apresentou à candidata **Caroline Duarte Siqueira**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "**Constituintes Químicos de *Salzmannia nítida* DC. (Rubiaceae)**". Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de quarenta minutos, a candidata foi argüida pelos Examinadores na forma Regimental. Ato Contínuo passou a comissão em caráter secreto a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito **APROVADO**. Em face da aprovação, declarou o Presidente achar-se a examinada **Caroline Duarte Siqueira** legalmente habilitada a receber o Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na Área de Farmacoquímica, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que a mesma faz jus. Nada mais havendo a tratar, eu, **Tânia Maria Alves de Araújo**, na qualidade de Secretária, lavrei a presente Ata que submeto a aprovação da Comissão Examinadora.

Tânia Maria Alves de Araújo (Secretária)

Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva (Orientador)

Prof. Dr. Jorge Maurício David (Examinador)

Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho (Examinador)





**AOS VERDADEIROS RESPONSÁVEIS  
PELO MEU SUCESSO: IVANDELSON E EGILDA**

## AGRADECIMENTOS

Com gratidão deixo aqui consignados sinceros agradecimentos a todos que estiveram comigo e me apoiaram no decorrer desse trabalho, de modo especial:

A Deus, por renovar minha fé a cada dia e fazer-me perseverar mesmo quando os obstáculos pareciam intransponíveis;

A toda minha família: Avós, tios e primos;

A minha Mãe **Egilda Guedes Duarte Siqueira** pelo exemplo de mulher e mãe indispensáveis a minha formação;

Ao meu Pai **Ivanelson Siqueira Santos** por todo apoio e crença na minha capacidade;

Aos meus irmãos **Carine Duarte Siqueira** e **Caio Vinícius Duarte Siqueira** pelo amor e orgulho demonstrados ao longo da minha caminhada;

Aos meus primos **Sandro Márcio** e **Sérvulo Mercier** pelo incentivo e verdadeira irmandade;

Ao meu namorado **Fágner Araruna**, primeiramente pelo incentivo inicial a minha vida acadêmica. Por todo amor, confiança e suporte;

Ao meu Orientador **Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva**, meu “pai científico” e grande exemplo de homem guerreiro, com qualidades imensuráveis;

Ao meu Coorientador **Prof. Dr. Josean Fchine**, o qual transcende o título por ser muito mais que professor e incentivador, um amigo querido;

Aos professores Doutores **José Maria Barbosa Filho** e **Jorge Maurício David** pela participação da banca examinadora, os quais deram grandes contribuições para o enriquecimento desse trabalho;

Aos técnicos **Vicente, Alexandro e Sócrates**, não apenas pelo auxílio nas análises, mas também pela amizade;

A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos;

A minha turma de mestrado, em especial a **Everton Queiroz**, que me acompanhou desde a graduação; **Rafaela Soares**, pela empatia e amizade desde os primeiros dias de aula; **Sara Alves** e **Hellane Fabrícia** pelo companheirismo e ótimos momentos;

Aos amigos que conquistei durante esses anos: **Isis, Vivianne, Stêno, Camila Camila “carioca”, Carminha, Andreza, Heloisa, Anne, Paula Ferreira, Paula Salgado, Ana Silvia, Denise, Manso, Marianne, Lázaro, Roosevelt, Tiago e todos os outros**, que sempre estiveram comigo;

A CAPES pelo apoio financeiro

A todos que de forma direta e indireta contribuíram para a realização deste trabalho...

**... meus sinceros agradecimentos!**

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE QUADROS	
LISTA DE FLUXOGRAMA	
LISTA DE TABELAS	
RESUMO	
ABSTRACT	
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>22</b>
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>25</b>
2.1 Considerações sobre a Família Rubiaceae <i>Juss.</i>	25
2.2 <i>Salzmannia nitida</i> DC.	30
2.3 Metabolismo Secundário	33
2.3.1 Terpenoides	34
2.3.1.1 Diterpenos	35
2.3.1.1.1 Atividades biológicas dos terpenos	38
2.3.2 Compostos Fenólicos	39
2.3.2.1 Ácidos Cafeoil-quínicos	30
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>41</b>
3.1 Objetivos gerais	41
3.2 Objetivos específicos	41
<b>4 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS</b>	<b>42</b>
4.1 Equipamentos e técnicas gerais	42
4.1.1 Técnicas de separação, monitoramento e purificação cromatográfica	42
4.1.1.1 Métodos Cromatográficos	42
4.1.1.2 Impregnação de Sílica Gel com Nitrato de Prata	43
4.1.2 Equipamentos e técnicas para identificação e elucidação estrutural	43
4.1.2.1 Ponto de fusão	43
4.1.2.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Infravermelho (IV)	43
4.2 Estudo Fitoquímico da espécie <i>Salzmannia nitida</i> DC.	44

4.2.1 Obtenção do Extrato metanólico bruto (EMB) das raízes de <i>Salzmannia nitida</i> DC.	44
4.2.2 Particionamento do EMB de <i>Salzmannia nitida</i> DC.	44
4.2.3 Fracionamento da fase hexânica	45
4.2.4 Fracionamento da fase diclorometano	48
4.2.5 Fracionamento da fase acetato	50
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>52</b>
5.1 Determinação estrutural de SAL-1	53
5.2 Determinação estrutural de SAL-2	60
5.3 Determinação estrutural de SAL-3	67
5.4 Determinação estrutural de SAL-4	74
5.5 Determinação estrutural de SAL-5	97
5.6 Determinação estrutural de SAL-6	116
<b>6 CONCLUSÃO</b>	<b>128</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>129</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E FÓRMULAS

<b>ACG</b>	Ácido Clorogênico
<b>ACQ</b>	Ácido Cafeoilquínico
<b>AcOEt</b>	Acetato de Etila
<b>APT</b>	Attached Proton Test
<b>CC</b>	Cromatografia em Coluna
<b>CCDA</b>	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
<b>CCDP</b>	Cromatografia em Camada Delgada Preparativa
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	Clorofórmio deuterado
<b>CD<sub>3</sub>OD</b>	Metanol Deuterado
<b>CLMP</b>	Cromatografia Líquida de Média Pressão
<b><i>d</i></b>	Dubleto
<b><i>dd</i></b>	Duplodubleto
<b>DMAPP</b>	Dimetilalil difosfato
<b>EMB</b>	Extrato Metanólico Bruto
<b>ESI</b>	Electrospray Ionization
<b>GGPP</b>	Geranilgeranil difosfato
<b>gCOSY</b>	Correlation Spectroscopy
<b>gNOESY-1D</b>	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
<b>Hex</b>	Hexano
<b>HMBC</b>	Heteronuclear Multiple Bond Correlation



<b>HMQC</b>	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
<b>HSQC</b>	Heteronuclear Single Quantum Coherence
<b>IPP</b>	Isopentinilalil Difosfato
<b>IV</b>	Infravermelho
<b><i>J</i></b>	Constante de acoplamento
<b>LTF</b>	Laboratório de Tecnologia Farmacêutica
<b><i>m</i></b>	Multiplete
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<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-1
<b><i>s</i></b>	Singleto
<b>δ</b>	Deslocamento químico

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b>	Número de espécies de algumas das principais famílias do reino vegetal.....	25
<b>FIGURA 2.</b>	Distribuição geográfica da família Rubiaceae no mundo, representada em verde.....	26
<b>FIGURA 3.</b>	<i>Salzmannia nitida</i> DC.....	30
<b>FIGURA 4.</b>	Precusores das unidades isoprênicas: IPP (Isopentinilalil Difosfato) e DMAPP (Dimetilalil Difosfato).....	34
<b>FIGURA 5.</b>	Ciclização do GGPP e formação dos esqueletos labdanos e <i>ent</i> -labdanos.....	36
<b>FIGURA 6.</b>	Possibilidades de ciclização e formação de vários esqueletos policíclicos.....	37
<b>FIGURA 7.</b>	Estruturas dos Ácidos Quínico (1), Ácido Caféico (2) e Ácido Cafeoil-quínico (3).....	39
<b>FIGURA 8.</b>	Estruturas dos ácidos 1,5; 3,4; 3,5 e 4,5 Dicafeoil-quínicos, potentes inibidores <i>in vitro</i> da enzima HIV invertase.....	40
<b>FIGURA 9a.</b>	Fase 1 do fracionamento da fase diclorometano de <i>Salzmannia nitida</i> DC., por Cromatografia Líquida de Média Pressão.....	48
<b>FIGURA 9b.</b>	Fase 2 do fracionamento da fase diclorometano de <i>Salzmannia nitida</i> DC., por Cromatografia Líquida de Média Pressão.....	49
<b>FIGURA 10.</b>	Substâncias isoladas das raízes de <i>Salzmannia nitida</i> DC.....	52
<b>FIGURA 11.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C de SAL-1 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	56
<b>FIGURA 12.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C de SAL-1 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (14-42 pm).....	57
<b>FIGURA 13.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C de SAL-1 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (45-55ppm).....	57
<b>FIGURA 14.</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H de SAL-1 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	58
<b>FIGURA 15.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H de SAL-1 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (0,4-2,9 ppm).....	59
<b>FIGURA 16.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C de SAL-2 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	63
<b>FIGURA 17.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C de SAL-2 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (70-150 ppm).....	64

<b>FIGURA 18.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C de SAL-2 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (10-55 ppm).....	64
<b>FIGURA 19.</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H de SAL-2 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	65
<b>FIGURA 20.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H de SAL-2 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (2,5-7,0 ppm).....	66
<b>FIGURA 21.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H de SAL-2 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (0,5-1,7 ppm) .....	66
<b>FIGURA 22.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C de SAL-3 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	70
<b>FIGURA 23.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C de SAL-3 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (110-160 ppm).....	71
<b>FIGURA 24.</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H de SAL-3 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	72
<b>FIGURA 25.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H de SAL-3 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (10-55 ppm).....	73
<b>FIGURA 26.</b>	Espectro de IV de SAL-4, obtido em pastilha de KBr.....	81
<b>FIGURA 27.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C de SAL-4 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	82
<b>FIGURA 28.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C de SAL-4 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (55-150 ppm).....	83
<b>FIGURA 29.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C de SAL-4 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (10-45 ppm).....	83
<b>FIGURA 30.</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H de SAL-4 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	84
<b>FIGURA 31.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H de SAL-4 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (3,0-6,0 ppm).....	85
<b>FIGURA 32.</b>	. Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H de SAL-4 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (1,0-2,2 ppm).....	85
<b>FIGURA 33.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H de SAL-4 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (0,5-1,2 ppm).....	86
<b>FIGURA 34.</b>	Espectro de correlação gHMQC de SAL-4 (500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	87
<b>FIGURA 35.</b>	Expansão do espectro de correlação gHMQC de SAL-4 (500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (54-68/ 1,0-4,0 ppm) .....	88
<b>FIGURA 36.</b>	Expansão do espectro de correlação gHMQC de SAL-4 (500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (15-45/ 0-2,8 ppm).....	88

<b>FIGURA 37.</b>	Expansão do espectro de correlação gHMQC de SAL-4 (500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (35-44/ 0-2,4 ppm).....	89
<b>FIGURA 38.</b>	Expansão do espectro de correlação gHMQC de SAL-4 (500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (16-34/ 0-2,2 ppm).....	89
<b>FIGURA 39.</b>	Espectro de correlação gHMBC de SAL-4 (500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	90
<b>FIGURA 40.</b>	Expansão do espectro de correlação gHMBC de SAL-4 (500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) ( 15-45/ 0-2,2ppm).....	91
<b>FIGURA 41.</b>	Expansão do espectro de correlação gHMBC de SAL-4 (500 e 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (56-78/ 0-1,5 ppm).....	91
<b>FIGURA 42.</b>	Espectro de correlação gCOSY de SAL-4 (500MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	92
<b>FIGURA 43.</b>	Expansão do espectro de correlação gCOSY de SAL-4 (500MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (0-7,0 ppm).....	93
<b>FIGURA 44.</b>	Expansão do espectro de correlação gCOSY de SAL-4 (500MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (3,3-3,8 ppm).....	93
<b>FIGURA 45.</b>	Expansão do espectro de correlação gCOSY de SAL-4 (500MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (0,4-2,6 ppm).....	94
<b>FIGURA 46.</b>	Expansão do espectro de correlação g-COSY de SAL-4 (500MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (4,8-6,2 ppm).....	94
<b>FIGURA 47.</b>	Espectro de correlação gNOESY de SAL-4 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> )....	95
<b>FIGURA 48.</b>	Expansão do espectro de correlação g-NOESY de SAL-4 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (1,0-6,0 ppm).....	96
<b>FIGURA 49.</b>	Expansão do espectro de correlação g-NOESY de SAL-4 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (0,5-2,4 ppm).....	96
<b>FIGURA 50.</b>	Espectro de RMN <sup>13</sup> C de SAL-5 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	103
<b>FIGURA 51.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C de SAL-5 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (45-220 ppm).....	104
<b>FIGURA 52.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C de SAL-5 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) (16-44 ppm).....	104
<b>FIGURA 53.</b>	Espectro de RMN H <sup>1</sup> de SAL-5 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	105
<b>FIGURA 54.</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H de SAL-5 (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 1,0-2,6 ppm).....	106

<b>FIGURA 55.</b>	Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de SAL-5 (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (0,7-1,3 ppm).....	106
<b>FIGURA 56.</b>	Espectro de correlação gHMQC de SAL-5 (500 e 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	107
<b>FIGURA 57.</b>	Expansão do espectro de correlação gHMQC de SAL-5 (500 e 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (15-60/ 0,5-2,7).....	108
<b>FIGURA 58.</b>	Expansão do espectro de correlação gHMQC de SAL-5 (500 e 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (150-220/ 0,5-2,9 ppm).....	108
<b>FIGURA 59.</b>	Espectro de correlação gHMBC de SAL-5 (500 - 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	109
<b>FIGURA 60.</b>	Expansão do espectro de correlação gHMBC de SAL-5 (500 e 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (30-150/ 4,5-6,3 ppm).....	110
<b>FIGURA 61.</b>	Expansão do espectro de correlação gHMBC de SAL-5 (500 e 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (150-220/ 0,6-2,9 ppm).....	110
<b>FIGURA 62.</b>	Expansão do espectro de correlação gHMBC de SAL-5 (500 e 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (10-80/ 0,5-2,5 ppm).....	111
<b>FIGURA 63.</b>	Espectro de correlação gCOSY de SAL-5 (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	112
<b>FIGURA 64.</b>	Expansão do espectro de correlação gCOSY de SAL-5 (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (4,5-6,6/ 4,7-6,1 ppm).....	113
<b>FIGURA 65.</b>	Expansão do espectro de correlação gCOSY de SAL-5 (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (0,4-2,8/ 0,6-2,6 ppm).....	113
<b>FIGURA 66.</b>	Espectro de correlação gNOESY (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de SAL-5.....	114
<b>FIGURA 67.</b>	Expansão do espectro de correlação gNOESY de SAL-5 (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	115
<b>FIGURA 68.</b>	Espectro de IV de SAL-6, obtido em pastilhas de KBr.....	121
<b>FIGURA 69.</b>	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de SAL-6 (125 MHz, $\text{CH}_3\text{OD}$ ).....	122
<b>FIGURA 70.</b>	Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de SAL-6 (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (110-170 ppm).....	123
<b>FIGURA 71.</b>	Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de SAL-6 (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (145-149 ppm).....	123
<b>FIGURA 72.</b>	Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de SAL-6(125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (120-128 ppm).....	124

<b>FIGURA 73.</b>	Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de SAL-6 (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (114-110,5 ppm).....	124
<b>FIGURA 74.</b>	Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de SAL-6 (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (30-80 ppm).....	125
<b>FIGURA 75.</b>	Espectro de RMN $^1\text{H}$ de SAL-6 (500 MHz, $\text{CH}_3\text{OD}$ ).....	126
<b>FIGURA 76.</b>	Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de SAL-6 (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (6,0-7,5 ppm).....	127
<b>FIGURA 77.</b>	Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de SAL-6 (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (1,5-5,5 ppm).....	127



## LISTA DE QUADROS

<b>QUADRO 1a.</b>	Substâncias isoladas das raízes de <i>Salzmannia nitida</i> DC. (ALVES, 1997) .....	31
<b>QUADRO 1b.</b>	Substâncias isoladas das folhas de <i>Salzmannia nitida</i> DC. (ALVES, 1997).....	32
<b>QUADRO 2.</b>	Substâncias representantes de algumas classes de diterpenos e suas respectivas atividades biológicas.....	38

## LISTA DE FLUXOGRAMAS

<b>FLUXOGRAMA 1.</b>	Via biossintética dos terpenos.....	35
<b>FLUXOGRAMA 2.</b>	Obtenção e particionamento do EMB das raízes de <i>Salzmannia nitida</i> DC.....	45
<b>FLUXOGRAMA 3.</b>	Fracionamento cromatográfico da fase hexânica de <i>Salzmannia. nitida</i> DC.....	47
<b>FLUXOGRAMA 4.</b>	Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano de <i>Salzmannia nitida</i> DC.....	50
<b>FLUXOGRAMA 5.</b>	Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano de <i>Salzmannia nitida</i> DC.....	51

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1.</b>	Levantamento dos Constituintes químicos isolados na família Rubiaceae nos últimos 5 anos .....	28
<b>TABELA 2.</b>	Enquadramento taxonômico de <i>Salzmannia nitida</i> DC. (PEREIRA; BARBOSA, 2004).....	30
<b>TABELA 3.</b>	Fracionamento do extrato hexânico de <i>Salzmannia nitida</i> DC. (Coluna 1).....	46
<b>TABELA 4.</b>	Dados comparativos de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do <i>ent</i> -cauran-16-eno e SAL-1.....	54
<b>TABELA 5.</b>	Dados de RMN $^1\text{H}$ (200 MHz) e $^{13}\text{C}$ (50 MHz) de SAL-1, obtidos em $\text{CDCl}_3$ .....	55
<b>TABELA 6.</b>	Dados comparativos de RMN $^{13}\text{C}$ dos isômeros T-murolol, T-cadinol, $\alpha$ -cadinol e de SAL-2.....	61
<b>TABELA 7.</b>	Dados de RMN $^1\text{H}$ (200 MHz) e $^{13}\text{C}$ (50 MHz) de SAL-2, obtidos em $\text{CDCl}_3$ .....	67
<b>TABELA 8.</b>	Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) do Paeonol, obtidos em $\text{CDCl}_3$ .....	68
<b>TABELA 9.</b>	Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) de SAL-3, obtidos em $\text{CDCl}_3$ .....	69
<b>TABELA 10.</b>	Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) de SAL-3 e correlações obtidas em HMQC, HMBC, COSY e NOESY, registrados em $\text{CDCl}_3$ .....	80
<b>TABELA 11.</b>	Dados comparativos de RMN $^{13}\text{C}$ (500 MHz) do 13-epi-3-oxomanoil óxido, <i>ent</i> -13-epi-3-oxomanoil óxido e SAL-5, obtidos em $\text{CDCl}_3$ .....	99
<b>TABELA 12.</b>	Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) de SAL-5 e correlações obtidas em HMQC, HMBC, COSY e NOESY, registrados em $\text{CDCl}_3$ .....	102
<b>TABELA 13.</b>	Dados comparativos de RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de diferentes derivados do ácido cafeoil-quínico e SAL-6. ....	119
<b>TABELA 14.</b>	Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) de SAL-6, obtidos em $\text{CDCl}_3$ .....	120

**Chemical constituents of *Salzmannia nitida* DC. (Rubiaceae).** Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, PgPNSB/CCS/UFPB (2012).

## RESUMO

A espécie *Salzmannia nitida* DC., única representante do gênero monotípico *Salzmannia*, pertencente à família Rubiaceae é encontrada nas restingas do Nordeste e conhecida popularmente como “catucá-vermelho”. Neste trabalho será descrito o isolamento e elucidação estrutural de terpenos e compostos fenólicos das raízes de *S. nitida*. Para isso, o material vegetal, após secagem e pulverização, foi submetido a processos de extração, partição, entre outras técnicas cromatografias para isolamento dos constituintes químicos. A estrutura química das substâncias isoladas foram determinadas por análise dos dados no Infravermelho (IV), e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  uni e bidimensionais e comparações com os dados descritos na literatura. Da fase hexânica foram obtidos três terpenoides:  $\alpha$ -cadinol, *ent*-13-*epi*-19-hidroxi manoil óxido, relatados pela primeira vez na família Rubiaceae, além de *ent*-cauran-16-ene; e um composto fenólico, 2-hidroxi-5-metoxi-acetofenona, relatados pela primeira vez no gênero. Da fase diclorometano foi também isolado o *ent*-3-oxo-manoil óxido, relatado pela primeira vez na família; e da fase acetato, o Ácido 3,4-*O*-Dicafeoil-quínico, relatado pela primeira vez no gênero. Desta forma, os resultados obtidos contribuirão para a ampliação do conhecimento quimiotaxonômico da família Rubiaceae, em especial da espécie *Salzmannia nitida* DC.

**Palavras-chave:** *Salzmannia nitida*, terpenos, compostos fenólicos

**Chemical constituents of *Salzmannia nitida* DC. (Rubiaceae).** Master Thesis, Natural and Synthetic Bioactive Products Graduate Program, PgPNSB/CCS/UFPB (2012).

## ABSTRACT

*Salzmannia nitida* DC., is a unic specie wich is representative of the *Salzmannia* monotypic genera, belonging to the Rubiaceae family, and it is found in Northeast Brazil and popularly known as “catucá-vermelho”. This work describes the isolation and structural elucidation of terpenes and phenolic compounds from the roots of *S. nitida*. Thus, the plant material, after being dried and powdered, was submitted to extraction, partition and chromatographic techniques for isolation of the chemical constituents. Their structures of the isolates were determined by spectroscopic methods such as Infrared (IR),  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR (uni and bidimensional), and literature data comparison. From the hexane extract three terpenoids were obtained:  $\alpha$ -cadinol, *ent*-13-*epi*-19-hydroxy-manoil oxide, which are reported for the first time in Rubiaceae family; and *ent*-cauran-16-ene; a phenolic compound: 2-hydroxy-5-methoxy-acetophenone, both new to the genera. From the dichloromethane extract was also isolated *ent*-3-oxo-manoil oxide, reported for the first time in the family, and the ethyl-acetate extract is isolated 3,4-*O*-dicaffeoylquinic acid, reported for the first time in the genera. Thus, the obtained results have contributed to expand the chemotaxonomic knowledge of the Rubiaceae family, especially the *Salzmannia nitida* DC specie.

**Keywords:** *Salzmannia nitida*, terpenes, phenolic compound.

## 1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais possuem uma longa e bem sucedida história no processo de desenvolvimento de fármacos. Plantas, insetos, microorganismos e organismos marinhos produzem diversos metabolitos, porém, o reino vegetal é o que contribui de forma mais significativa para o fornecimento destes micronutrientes, que por serem utilizados para a sua adaptação ao meio e sobrevivência podem exibir amplo espectro de atividades biológicas (PUPO, 2006).

Enquanto buscava sua sobrevivência, o homem foi descobrindo as propriedades tóxicas e curativas das plantas e este conhecimento, acumulado ao longo da evolução, culminou com o desenvolvimento de fármacos de grande importância na terapêutica atual, tais como ácido salicílico, atropina, quinina, pilocarpina, taxol, morfina, digoxina, entre outros (ALVES, 2001). Dessa forma, há um crescente interesse no estudo dos metabólitos secundários de origem vegetal como fonte de desenvolvimento de novos fármacos.

A utilização de plantas medicinais é tão antiga quanto a civilização humana (ALMASSY-JUNIOR, 2010) e encontra-se em contínua expansão mundial; estima-se que, aproximadamente 60% dos medicamentos indicados na terapêutica foram desenvolvidos direta ou indiretamente a base de plantas, contra 30% de produtos totalmente sintéticos (NEWMAN; CRAGG, 2008). Adicionalmente, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), 85% da população mundial utilizam plantas medicinais terapêuticamente (OLIVEIRA, 2006), 5% a mais do divulgado na década de 90 pela mesma instituição (AKERELE, 1993).

Com uma extensão de mais de 8,5 milhões de Km<sup>2</sup>, o espaço geográfico brasileiro apresenta a maior diversidade biológica do mundo de clima, fisiografia, solo e vegetação, apresentando cerca de 60 mil espécies de plantas descritas (aproximadamente 20% do total mundial), uma proporção consideravelmente alta para um único país, e talvez o patrimônio genético mais rico do mundo neste grupo (ARAÚJO, 2007). A riqueza da flora brasileira é reflexo da variedade das suas zonas biogeográficas, tais como: Floresta Amazônica, Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga, Pantanal e Pampa (BRASIL, 2006), apresentando inúmeras espécies medicinais importantes fontes de princípios ativos (GUARRERA, 2005), o que desperta o interesse de comunidades científicas nacionais e internacionais no tocante ao estudo, conservação e utilização racional destes recursos (MOTOMYIA, 2004).



Dos 20% de espécies vegetais descritas para o Brasil, estima-se que apenas 8% foram investigadas sob ponto de vista fitoquímico, e um número ainda menor, quanto às atividades biológicas, principalmente relacionadas ao interesse terapêutico (DI STASI, 1995; DE SOUZA, FELFILI, 2006). Em contraste, a rica biodiversidade do Brasil é acompanhada por uma grande aceitação do uso de plantas medicinais e conhecimentos tradicionais associados (RODRIGUES, 2008), sendo essas plantas utilizadas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas (VEIGA-JUNIOR, 2005). O estudo fitoquímico e farmacológico dos produtos de origem vegetal, além de constituir um campo inesgotável de novos conhecimentos científicos e geradores de riquezas, pode contribuir notavelmente para o aprimoramento da medicina tradicional, protegendo, dessa forma, os usuários do uso indiscriminado (PEDROSA, 2008).

A região Nordeste do Brasil abriga em seu ecossistema uma grande biodiversidade, com um habitat específico para plantas medicinais e aromáticas não encontradas em outras regiões do globo (BEZERRA, 2008). Em relação à diversidade e número de espécies, a família Rubiaceae constitui uma das mais representativas no Estado da Paraíba, com aproximadamente 22% do total de espécies do Nordeste (PEREIRA, 2006). Destaca-se pela grande variedade de metabólitos secundários produzidos, sendo os terpenoides bastante comuns e representativos na família (SANTOS, 2004).

Os terpenoides compreendem o maior grupo de produtos naturais conhecidos, sendo uma classe com enorme diversidade estrutural (DEWICK, 2009) e várias atividades biológicas atribuídas, tais como antitumoral, citotóxica (PITA, 2010), antiinflamatória (VICIEDO, 2008), quimioterapêutica (CAVALCANTE, 2010), entre outras. Dessa forma, constituem metabólitos importantes no processo de desenvolvimento de novos fármacos no panorama da prospecção fitoquímica atual.

A contribuição brasileira no cenário da pesquisa relacionada a produtos naturais mostra-se significativa. Existem aproximadamente 554 grupos de pesquisa em Produtos Naturais no Brasil, distribuídos por diversas universidades no País, especializados em química e farmacologia (PLATAFORMA LATTES, 2010). Há 34 anos, o Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais Sintéticos e Bioativos da Universidade Federal da Paraíba - UFPB, contribui com a pesquisa científica brasileira nas áreas de botânica, farmacoquímica, farmacologia e toxicologia de

produtos naturais e sintéticos bioativos, visando engrandecer o conhecimento acerca das espécies vegetais e processos derivados.

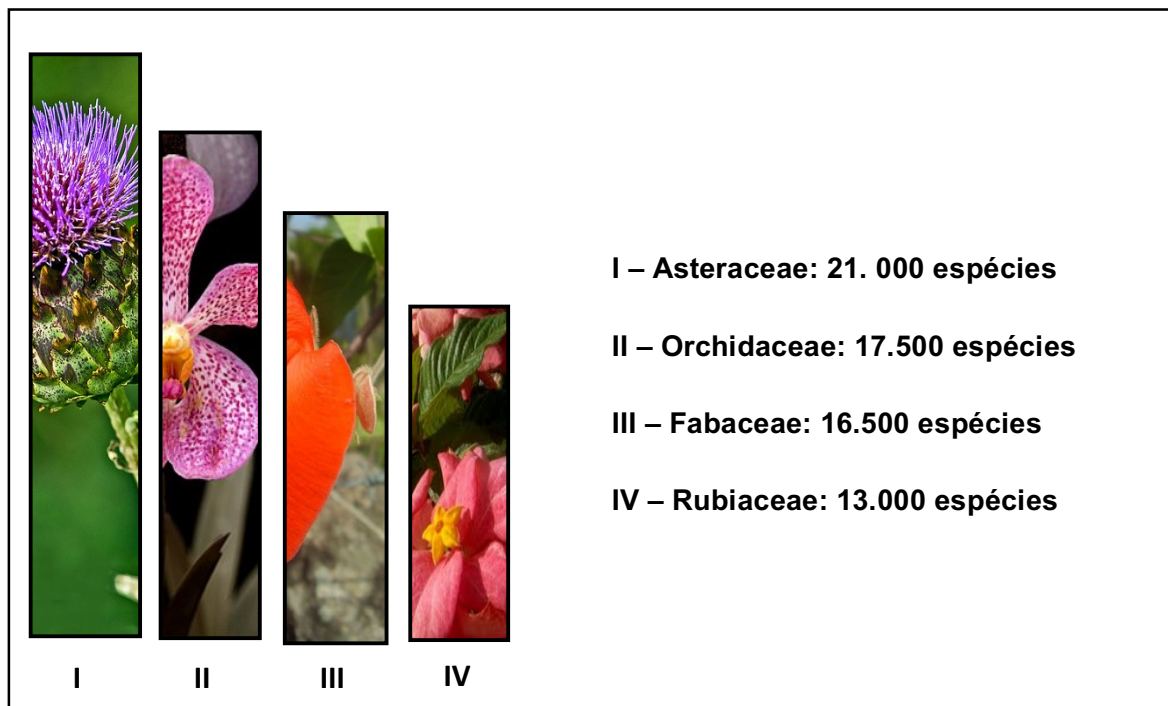
Como nova contribuição aos trabalhos desenvolvidos no Programa, bem como visando contribuir com o maior conhecimento da família Rubiaceae, o presente estudo apresenta um análise fitoquímica das raízes de *Salzmannia nitida* DC., espécie pertencente a esta família, objetivando isolar, identificar e elucidar seus constituintes químicos, o que poderá conduzir à descoberta de novas fontes de substâncias naturais ativas, levando em consideração que os estudos com esta planta são escassos.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Considerações sobre a família Rubiaceae Juss.

A família Rubiaceae Juss. pertence à ordem Gentianales e é uma das maiores famílias dentre as Angiospermas, compreendendo o quarto lugar de todo o reino vegetal com cerca de 550 gêneros e 9.000 espécies (LIMA, 2010), sendo superada apenas pela Asteraceae, Orchidaceae e Fabaceae (fig. 1, pág. 25).

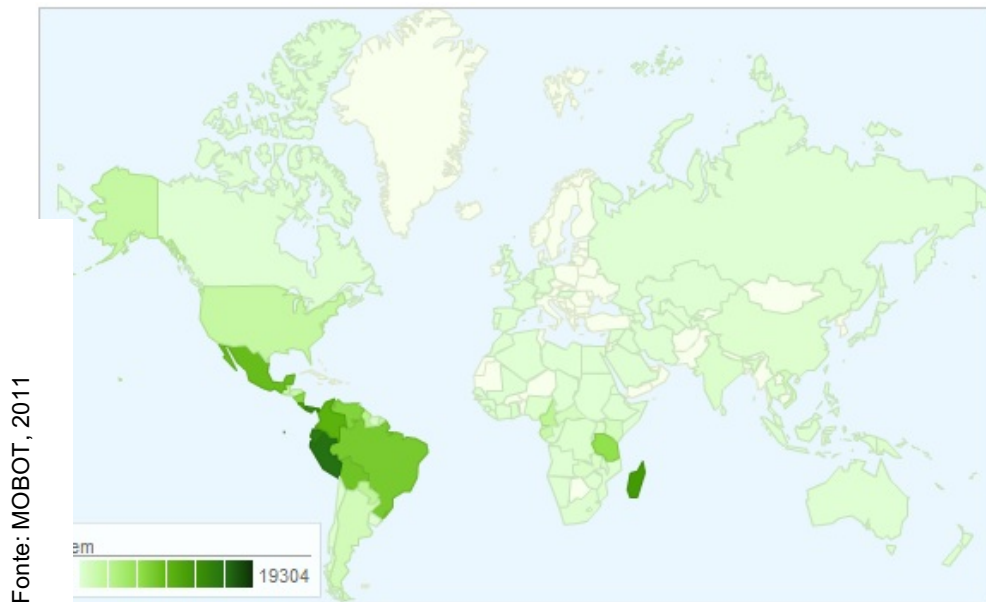
Constitui-se essencialmente de espécies lenhosas, entretanto, observa-se a ocorrência de alguns representantes herbáceos e arbustivos (BOLZANI, 2001). Distribui-se geograficamente por regiões tropicais e subtropicais, chegando a atingir regiões temperadas e frias da Europa e Norte do Canadá. A América do Sul supera em números de espécies todas as regiões do mundo, possuindo cerca de 30% do total de Rubiáceas (JUDD, 2008) (fig. 2, pág. 26).



**Figura 1.** Número de espécies de algumas das principais famílias do reino vegetal.

O Brasil possui aproximadamente 120 gêneros e 2.000 espécies, sendo dessa forma, considerada uma das mais importantes famílias da flora (LIMA, 2010). Distribui-se por diversas formações vegetais no país, tendo sua maior ocorrência registrada na Mata Atlântica (PEREIRA; BARBOSA, 2006). O Nordeste possui 66 gêneros e 309 espécies (BARBOSA, 2006); a Paraíba, apresenta cerca de 37

gêneros e 70 espécies (PEREIRA, 2002) dentre os quais, 20 gêneros e 31 espécies foram registrados no principal remanescente de Mata Atlântica no Norte do Estado: O Jardim Botânico Benjamim Maranhão, no município de João Pessoa, popularmente conhecido como Mata do Buraquinho.



**Figura 2.** Distribuição geográfica da família Rubiaceae no mundo, representada em verde.

Desde a sua descrição original, a família Rubiaceae Juss tem passado por algumas mudanças quanto à delimitação taxonômica, devido a sua expressiva diversidade morfológica (ROVA, 2002). Essas mudanças concentram-se, mais frequentemente, na delimitação das categorias infra-familiares, como subfamílias e tribos. No entanto, estudos filogenéticos mais recentes sugere a ocorrência de apenas três subfamílias: Rubiodeae (18 tribos), Cinchonoideae (9 tribos) e Ixoroideae (15 tribos), afirmando ainda a existência da Coptosapelteae que deverá ser separada em outra subfamília, já que não se encaixa em nenhum dos grupos anteriores (BREMER, 2009).

A família reúne um considerável número de espécies com importância principalmente ornamental (*Mussaenda* spp., *Gardenia* spp., *Ixora* spp.), medicinal (*Cinchona pubescens* Vahl, - tratamento da malária) e alimentícia (*Coffea arabica* L. e *Denita americana* L.) (MENDOZA, 2004; COELHO, 2006; OLIVEIRA, 2009). Algumas espécies, como *Palicourea marcgravii* A.St.-Hil., denominada popularmente

“erva-de-rato-verdadeira”, destacam-se pela toxicidade (OLIVEIRA; GODOY; COSTA, 2003).

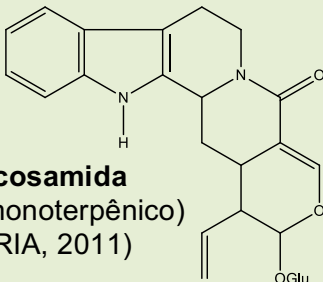
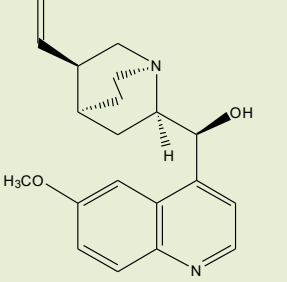
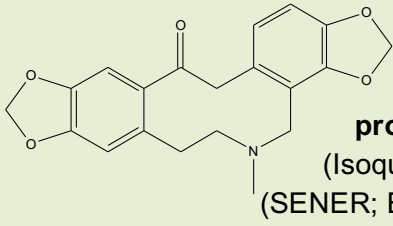
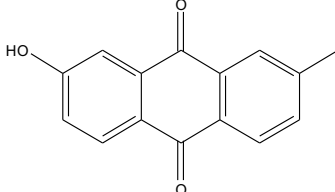
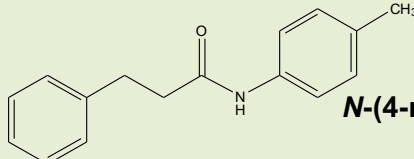
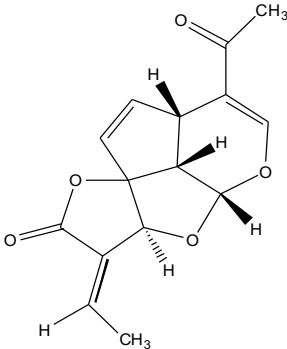
Muitos outros representantes possuem estreita relação com a fauna. Frutos carnosos de espécies da tribo Gardenieae são consumidos por muitas espécies de mamíferos, que atuam como dispersores de sementes (HOTTZ, 2007). Diversas espécies de pássaros consomem frutos de *Alibertia sessilis* K. Schum., *Coussarea hydrangeaefolia* Benth. & Hook.f., *Guettarda viburnoides* Cham. & Schltldl. e *Rudgea viburnoides* Benth., dentre outras (LORENZI, 1998).

No tocante ao ponto de vista etnomedicinal e farmacológico, diversas propriedades têm sido evidenciadas para algumas espécies de Rubiaceae: *Chiococca alba* (L.) Hitchc, usada popularmente como diurética, purgativa, anti-asmática, anti-reumática, antiinflamatória, antiviral, antiofídica (BOLZANI, 2001); *Coffea arabica* L., grande importância pelas comprovadas e conhecidas propriedades medicinais, tendo como principal componente a cafeína (metilxantina) com potentes propriedades farmacológicas (estimulante do sistema nervoso central, vasoconstritora, broncodilatadora e diurética), sendo utilizada por exemplo, para o tratamento de enxaquecas (SIMÕES, 2001); *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes, cujos alcalóides emetina e cafaelina, conferem atividade emética, anti-helmíntica e expectorante (ASSIS; GIULIETTI, 1999; ROSSI, 2005), *Galianthe brasiliensis* (Spreng) E.L., utilizada na medicina popular como emética, além de ser relatada atividade antiproliferativa, provavelmente relacionada ao ácido ursólico presente na espécie (MOURA, 2006); *Uncaria sinensis* (Oliv.) Haval, usada na medicina tradicional chinesa no tratamento de distúrbios nervosos e febre; *Uncaria callophyla* Korth indicada na Tailândia para hipertensão arterial; *Uncaria tomentosa* (Willd.) D.C., empregada na medicina popular peruana como fitoterápico no tratamento do câncer, artrite, asma, úlcera gástrica, inflamações e hemorragias; *Uncaria glabata*, empregada na Sumatra na medicina tradicional contra intoxicação alimentar (CARBONEZI, 2004), entre outras.

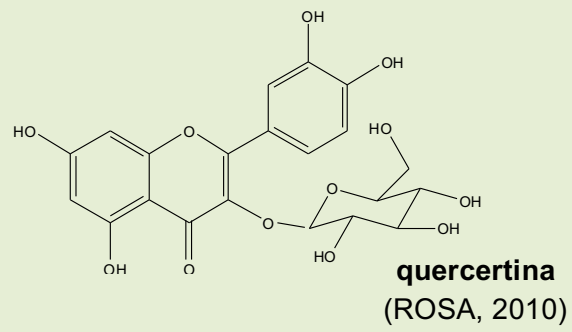
Investigações fitoquímicas com espécies da família Rubiaceae revelaram a presença de alcaloides dos tipos quinolínicos, indoloterpênicos (FARIA, 2010), isoquinolínicos, piridínicos e piperidínicos (SENER; ERGUN, 2008), antraquinonas (ROSA, 2007; AHMAD, 2006), iridoides (OLIVEIRA, 2011; MOURA, 2006), flavonoides (ROSA, 2010; PINTO, 2008), derivados fenólicos (TOMAZ, 2008), terpenoides (PEREIRA, 2011), cumarinas (OLIVEIRA, 2011), taninos, saponinas

triterpênicas (HARMESKI, 2005), lignoides (ARAÚJO, 2011; SILVA, 2006), cucurbitacinas (OLMEDO, 2007), feofitinas (TOMAZ, 2008), amidas (BANDYOPADHYAY, 2007), entre outros (Tabela 1, pág. 28 e 29).

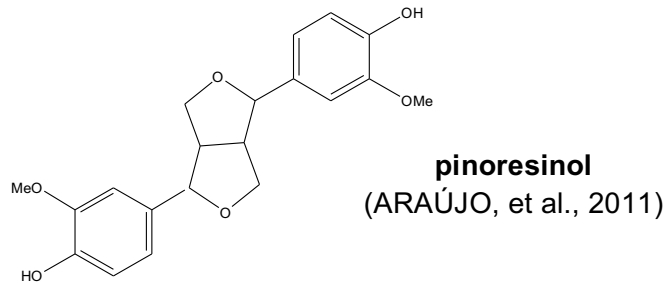
**Tabela 1.** Levantamento dos Constituintes químicos isolados na família Rubiaceae nos últimos 5 anos.

Classes de produtos naturais	Substâncias isoladas	
ALCALOIDE	 <p><b>vincosamida</b> (Indolomonoterpênico) (FARIA, 2011)</p>	 <p><b>quinidina</b> (Quinolínico) (POLLITO; TOMAZELLO, 2010)</p>
	 <p><b>protopina</b> (Isoquinolínico) (SENER; ERGUN, 2008)</p>	
	ANTRAQUINONA	 <p><b>7-hidroxi-tectoquinona</b> (ROSA, 2007)</p>
AMIDA	 <p><b>N-(4-metilfenil) benzenopropanamida</b> (BANDYOPADHYAY, 2007)</p>	
IRIDOIDE	 <p><b>1-plumericina</b> (VIEIRA; OLIVEIRA, 2011)</p>	

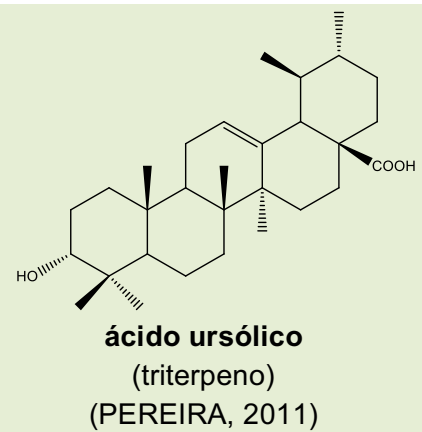
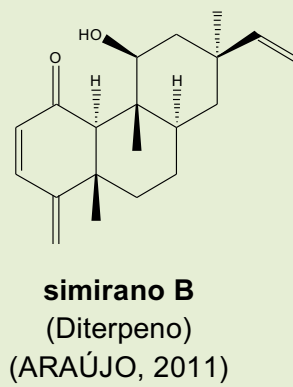
**FLAVONOIDE**



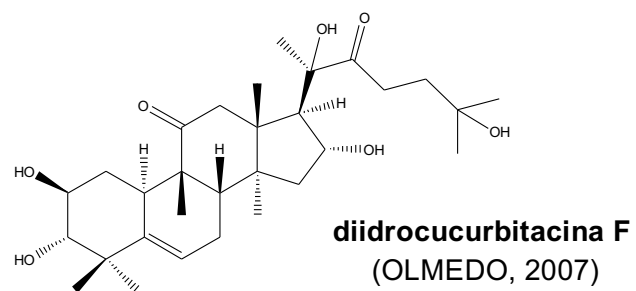
**LIGNOIDE**



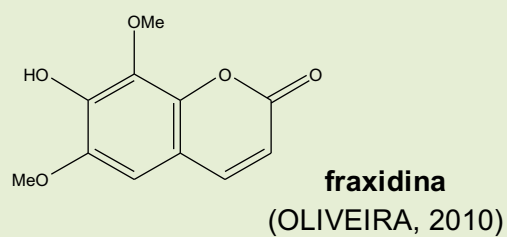
**TERPENOIDES**



**CUCURBITACINA**



**CUMARINA**



Tendo em vista a variedade de constituintes químicos apresentados pela família Rubiaceae, bem como suas potencialidades terapêuticas, o conhecimento aprofundado desta família abre perspectivas para a química, farmacologia e quimiotaixonomia.

## 2.2 *Salzmannia nitida* DC.

*Salzmannia nitida* DC., conhecida popularmente como “Catucá vermelho” é uma planta monotípica comumente encontrada nas restingas do Nordeste do Brasil (fig. 3, pág. 30). Sua classificação taxonômica encontra-se na tabela 2 (pág. 30).



**Figura 3.** *Salzmannia nitida* DC.

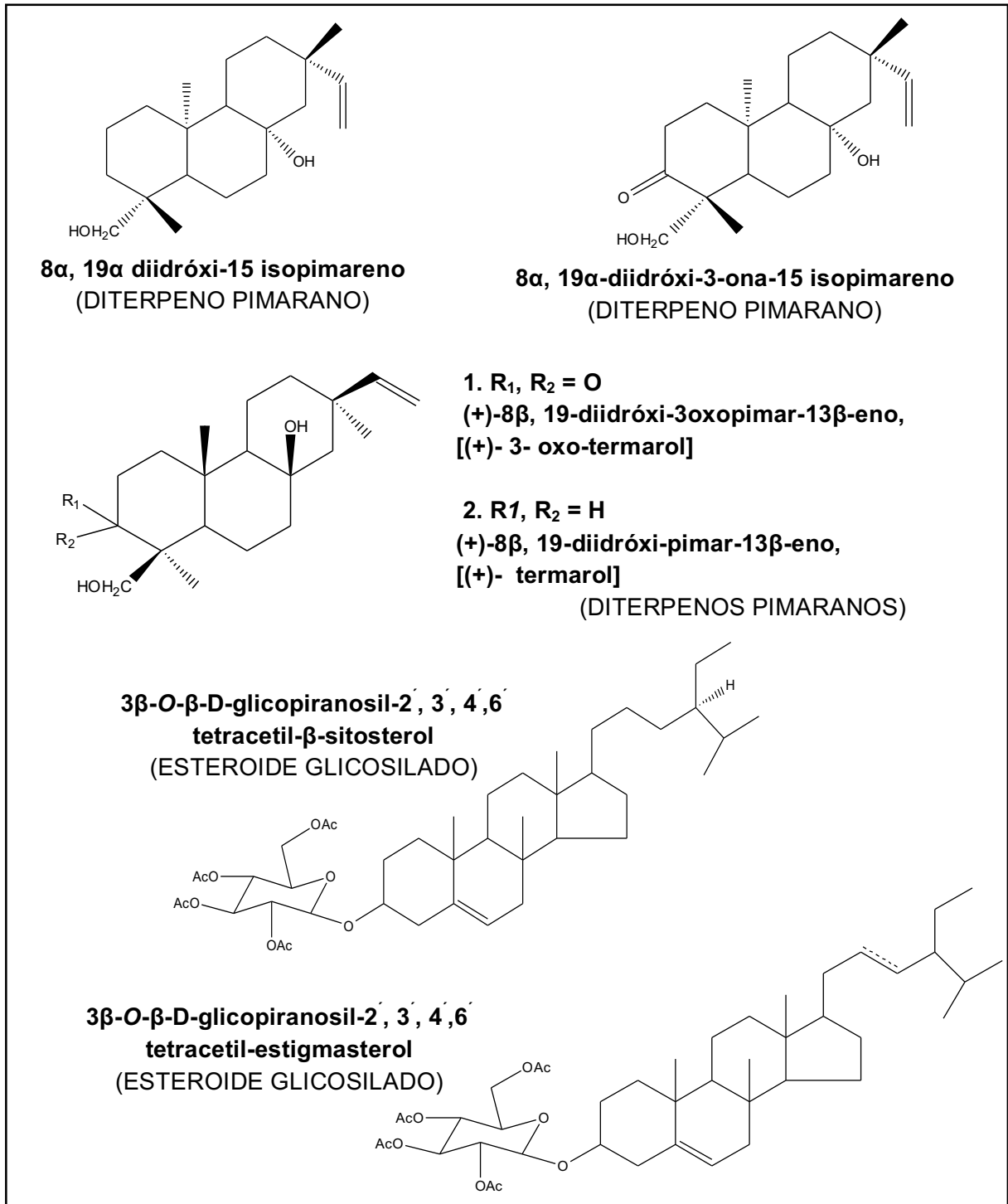
**Tabela 2.** Enquadramento taxonômico de *Salzmannia nitida* DC. (PEREIRA; BARBOSA, 2004).

<b>Reino</b>	Plantae
<b>Filo</b>	Angiospermae
<b>Classe</b>	Magnoliophyta
<b>Ordem</b>	Gentianales
<b>Família</b>	Rubiaceae
<b>Subfamília</b>	Antirheoideae
<b>Tribo</b>	Chiococceae
<b>Gênero</b>	<i>Salzmannia</i>
<b>Espécie</b>	<i>Salzmannia nitida</i> DC.

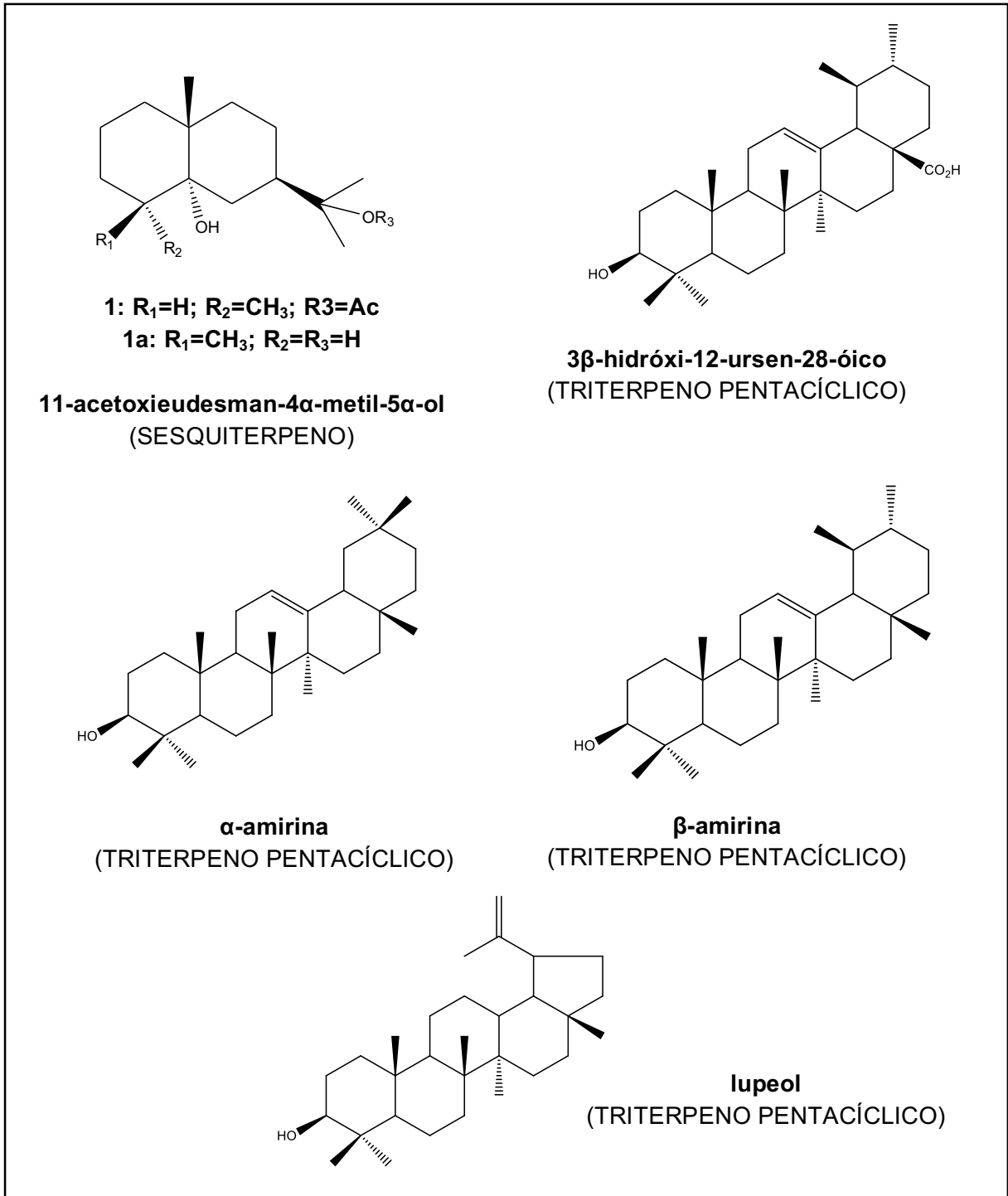
Apenas um estudo fitoquímico preliminar foi realizado com a espécie *Salzmannia nitida* DC. por Alves (1997), no qual foi relatado o isolamento de



diterpenos com esqueleto pimarano e mistura de esteróides ( $\beta$ -sitosterol estigmasterol glicosilados) do extrato etanólico bruto das raízes (quadro 1a, pág. 31); e triterpenos, dentre eles, o ácido ursólico e mistura de  $\alpha$ -amirina,  $\beta$ -amirina e lupeol do extrato etanólico bruto das folhas (quadro 1b, pág. 32).



**Quadro 1a.** Substâncias isoladas das raízes e derivados de *Salzmattia nitida* DC. (ALVES, 1997).



**Quadro 1b.** Substâncias isoladas das folhas de *Salzmannia nitida* DC. (ALVES, 1997).

### 2.3 Metabolismo secundário

Uma das características dos seres vivos é a presença de atividade metabólica, que consiste no conjunto de reações químicas que ocorre no interior das células. O metabolismo vegetal gera produtos denominados metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são os protídeos, lipídeos, glicídeos e nucleotídeos, que possuem funções vitais no organismo. Os metabólitos secundários são derivados dos metabólitos primários e possuem ação biológica que garante vantagens adaptativas e estão restritos a determinados grupos vegetais (PERES, 2008; TAIZ & ZEIGER, 2004; CARDOSO, 2001).

Anteriormente, os metabólitos secundários eram vistos como produtos sem função fisiológica, sendo resultado do catabolismo, possuindo pequena importância no metabolismo e crescimento da planta (RICHARD, 1994). No entanto, houve uma mudança nessa visão após a investigação mais aprofundada, o que possibilitou a descoberta de diversas funções relacionadas ao desenvolvimento fisiológico e seu papel como mediadores das interações entre as plantas e outros organismos (SIMÕES, 2003). Atualmente, sabe-se que, além de muito diversificados, possuem interessantes propriedades biológicas e comercialmente importantes para os setores alimentício, agrônomo, de perfumaria e principalmente farmacêutico, que visa principalmente obtenção de grande número de substâncias farmacologicamente ativas.

A surpreendente variedade de metabólitos secundários vegetais desperta o interesse de pesquisadores de vários campos da ciência que visam neles uma promissora fonte de moléculas potencialmente úteis ao homem (SANTOS, 2002).

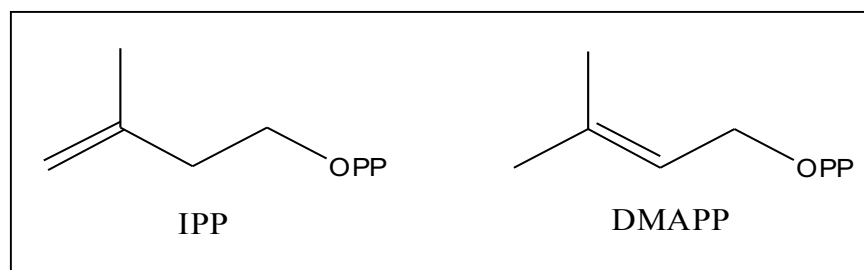
A biossíntese de metabólitos secundários é realizada por rotas metabólicas específicas do organismo, ocorrendo estreita relação entre estas rotas e as responsáveis pela síntese de metabólitos primários, as quais são interconectadas, sendo as vias que sintetizam metabólitos primários fornecedoras de moléculas que são utilizadas como precursoras nas principais rotas de síntese de metabólitos secundários (CASTRO, 2004).

Há quatro principais precursores dos metabólitos secundários: ácido chiquímico (precursor de vários compostos aromáticos), acetato (precursor de ácidos graxos, compostos fenólicos, isoprenos, prostaglandinas, entre outros), aminoácidos (biossíntese de alcaloides) e mevalonato (terpenoides).

### 2.3.1 Terpenoides

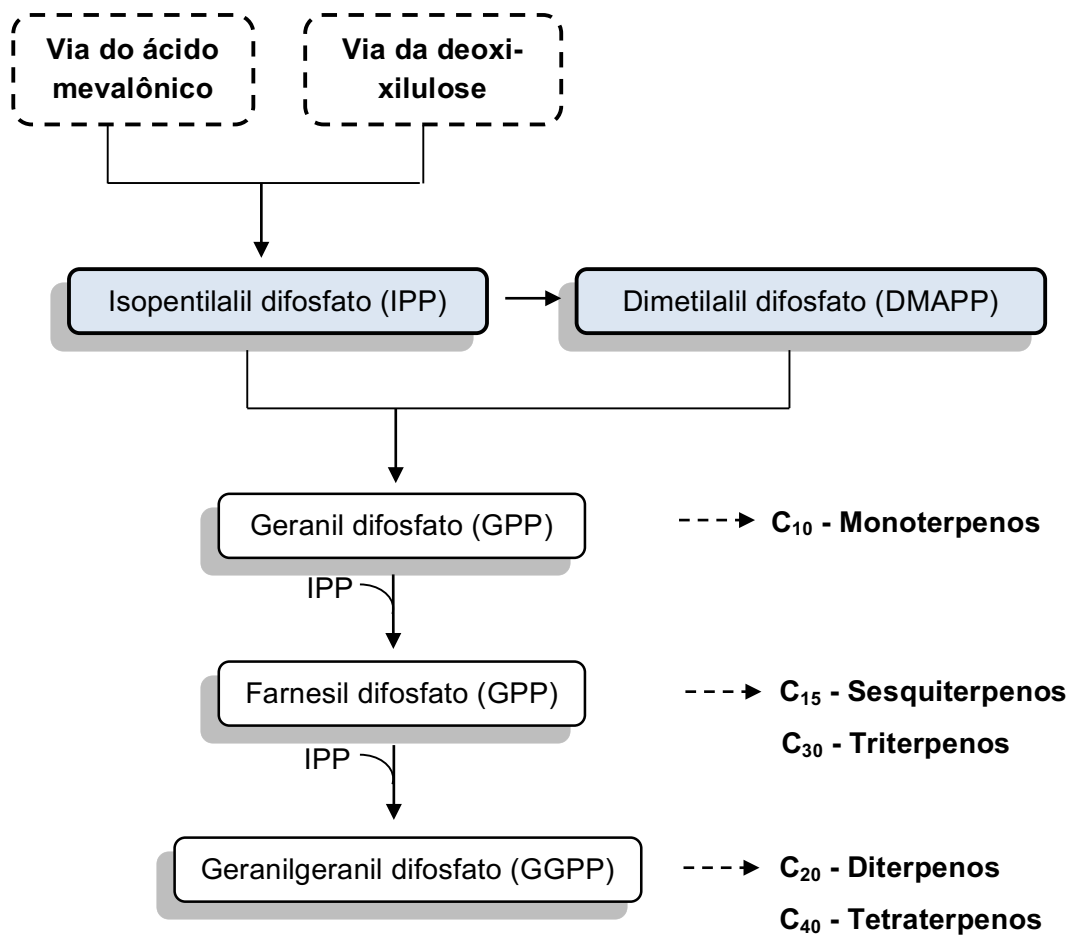
Os terpenoides compreendem o maior grupo de produtos naturais conhecidos, sendo uma classe com grande diversidade estrutural (DEWICK, 2009). Estes compostos têm como base as unidades isoprênicas C<sub>5</sub> e são sintetizados por reações de condensação (cabeça-cauda). A variação do número de repetições de unidades de isoprenos, e as reações de ciclização e rearranjos são responsáveis pela incrível diversidade de estruturas observadas na natureza para estes compostos (WANG, 2005), bem como sua classificação que varia em: hemiterpenos (C<sub>5</sub>), monoterpenos (C<sub>10</sub>), sesquiterpenos (C<sub>15</sub>), diterpenos (C<sub>20</sub>), sesterterpenos (C<sub>25</sub>), triterpenos (C<sub>30</sub>) e tetraterpenos (C<sub>40</sub>), de acordo com o número de unidades isoprênicas em seu esqueleto carbônico (WANG, 2005; DEWICK, 2009).

As unidades C<sub>5</sub> ou isoprênicas que formam os terpenoides originam-se da condensação do isopentilalil difosfato (IPP) e dimetilalil difosfato (DMAPP) (fig. 4, pág. 34), que por sua vez podem ser formados a partir de duas rotas. Durante várias décadas acreditou-se que estas unidades biologicamente ativas eram formadas apenas pela via do ácido mevalônico, através do metabolismo do acetato. No entanto, através de estudos recentes com marcação isotópica de átomos que conduziram a padrões diferentes dos preconizados pela via clássica, uma rota alternativa foi demonstrada: a via da desoxi-xilulose, na qual a união de unidades isoprênicas se dá pela junção do D-gliceraldeído 3-fosfato e piruvato. Efetivamente, tem-se vindo a demonstrar que uma vasta variedade de monoterpenos e diterpenos é predominantemente biossintetizada pela via da desoxi-xilulose, ao passo que os esteroides, por sua vez, são formados preferencialmente pela via do ácido mevalônico (EISENREICH, 2004).



**Figura 4.** Precursores das unidades isoprênicas: IPP (isopentilalil difosfato) e DMAPP (dimetilalil difosfato).

Em ambas as vias, as unidades de isopreno biologicamente ativas (IPP e DMAPP) combinam-se com seus respectivos precursores originando a vasta diversidade de isoprenoides existentes na natureza (AHARONI, 2006) (fluxograma 1, pág. 35).

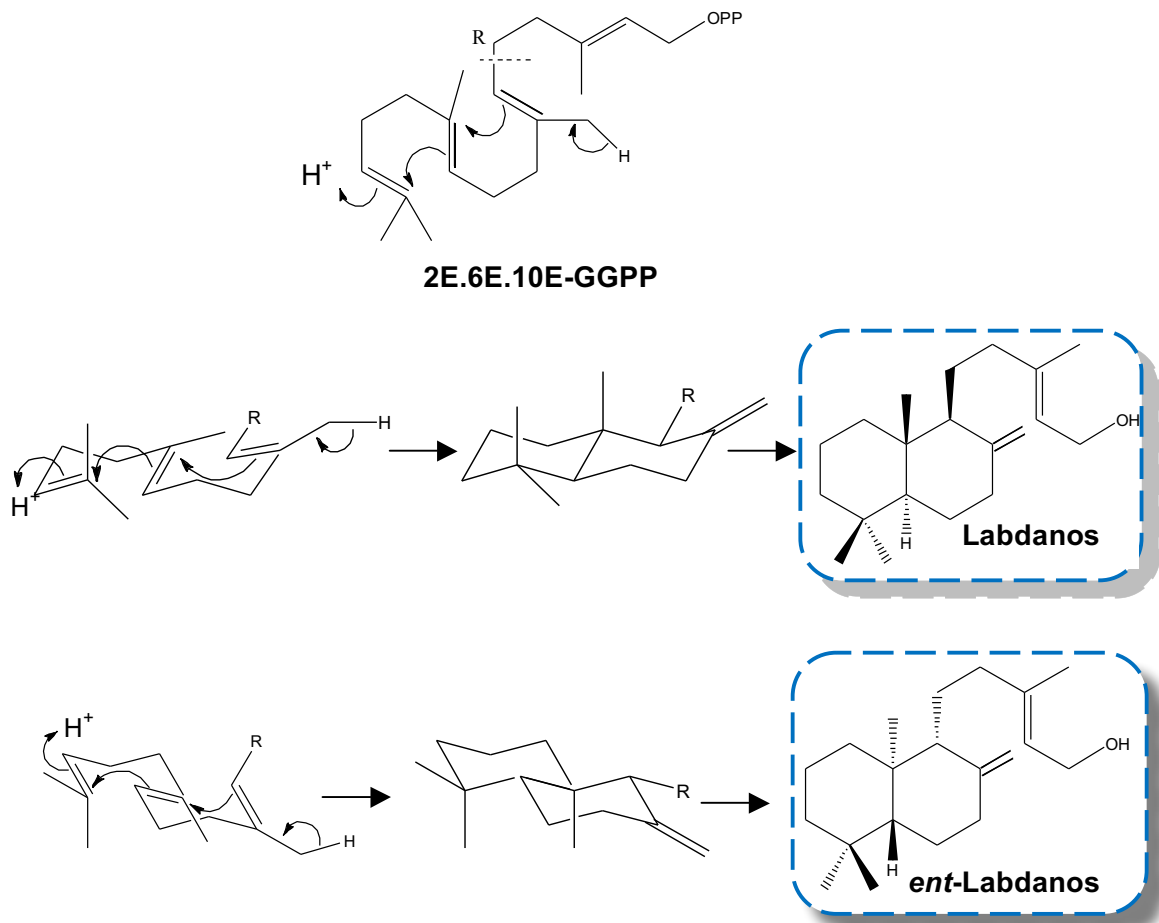


**Fluxograma 1.** Via biossintética dos terpenos.

### 2.3.1.1 Diterpenos

Os diterpenos são compostos isoprenoides naturais derivados do geranylgeranyl difosfato (GGPP). O GGPP pode ciclizar de duas formas: a primeira envolve a biossíntese de diterpenos macrocíclicos e policíclicos (BRUNETON, 1993;

DEWICK, 2002); a segunda (ciclização principal) conduz a formação de compostos bicíclicos, que origina dois enantiômeros, dependendo da configuração dos carbonos 5, 9 e 10: série normal na qual a fusão dos anéis A/B é semelhante aos esteroides e a série *ent* se a mesma fusão ocorre de forma inversa (fig. 5, pág. 36; BRUNETON, 1993).



**Figura 5.** Ciclização do GGPP e formação dos esqueletos labdanos e *ent*-labdanos.

Ciclizações subsequentes decorrentes da saída do grupo pirofosfato e outros rearranjos no esqueleto inicial dão origem a vasta variedade de diterpenos, tais como clerordanos, pimaranos, isopimaranos, atisanos, cauranos, beiranos e giberelinas (fig. 6, pág. 37; BRUNETON, 1993).

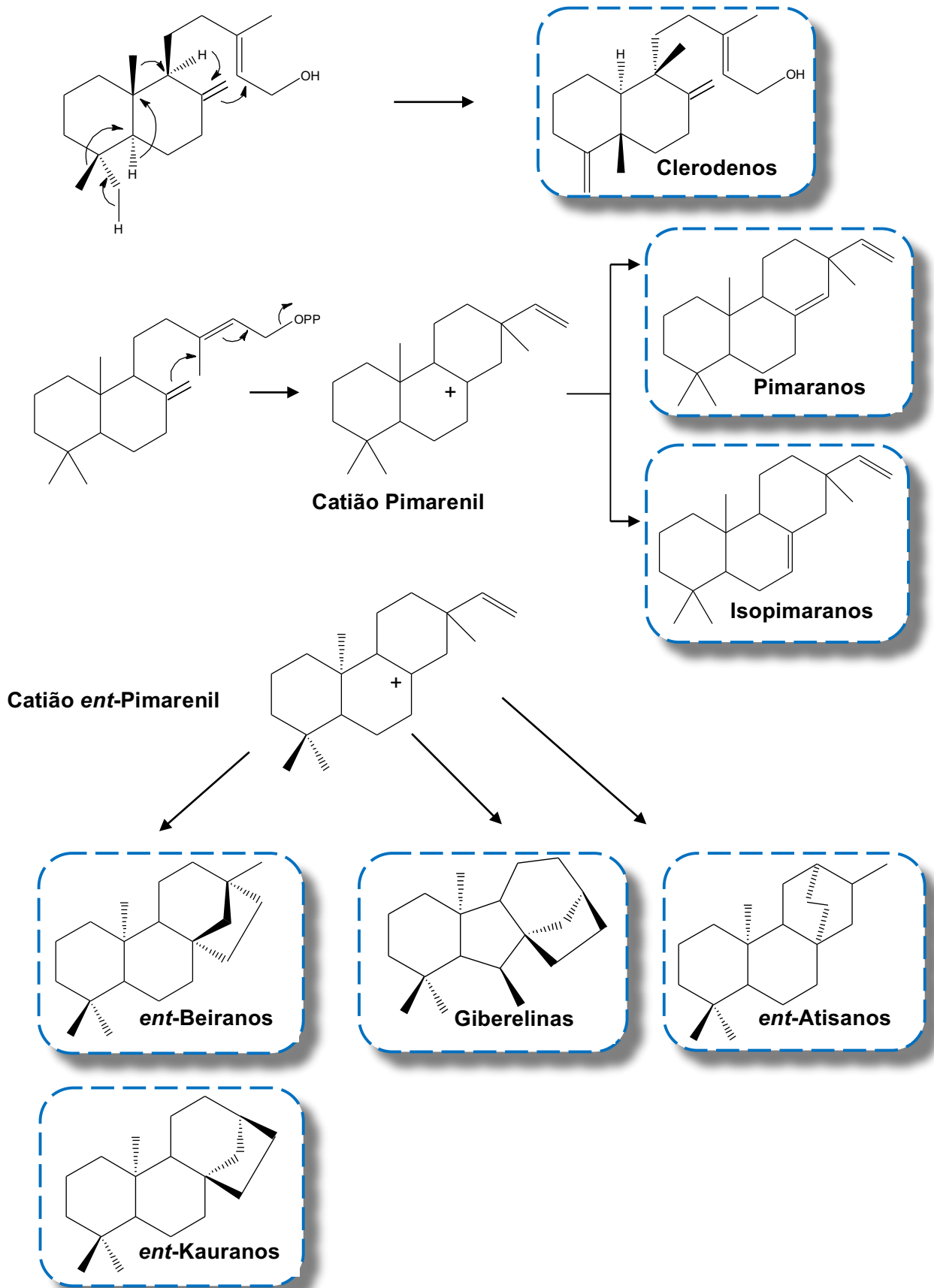
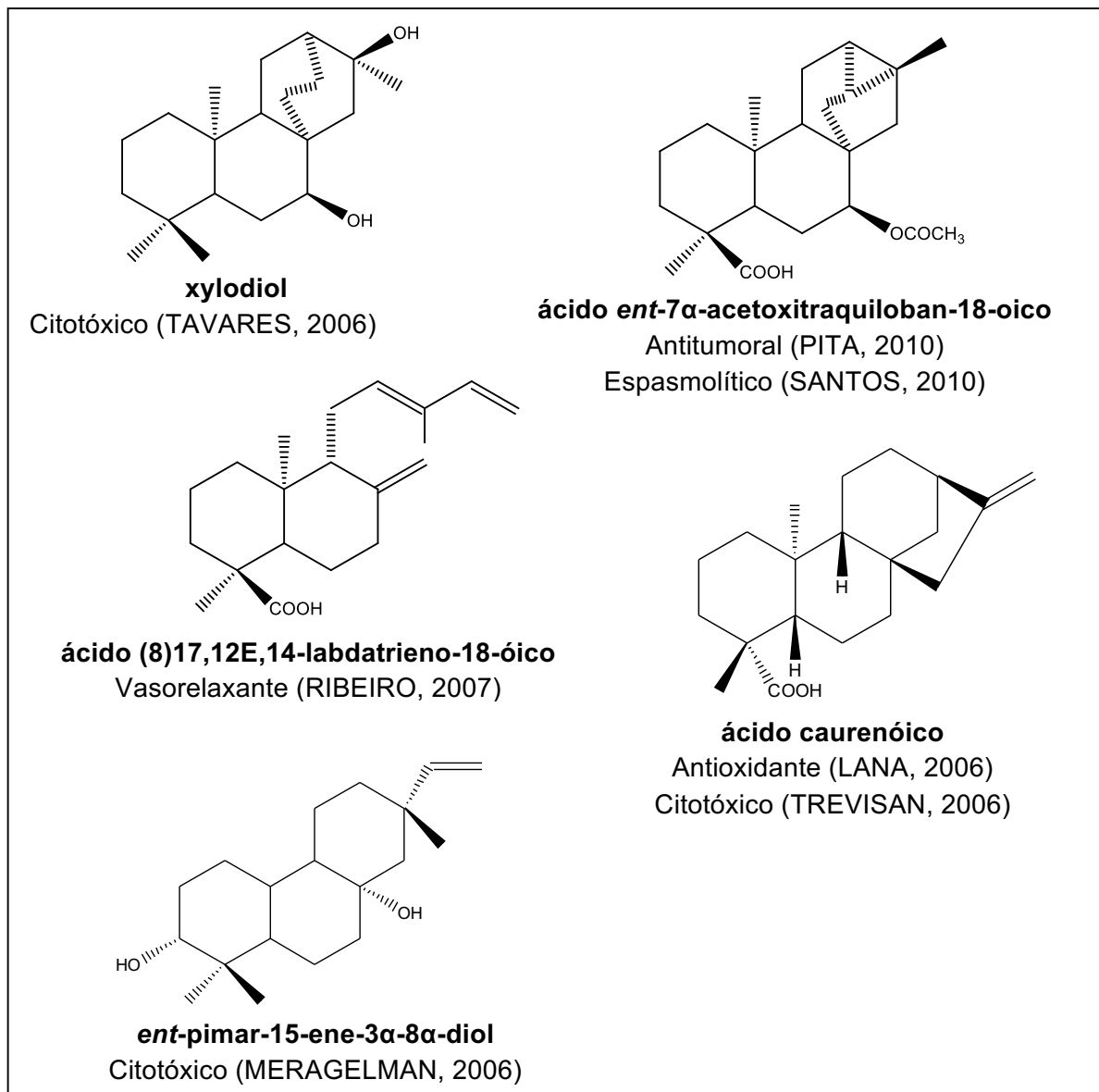


Figura 6. Possibilidades de ciclização e formação de vários esqueletos policíclicos

### 2.3.1.1.1 Atividades biológicas dos terpenos

Várias atividades biológicas são atribuídas aos diterpenos, tais como: antiparasitária (GILMAN, 2003), fitotóxica (TAKAHASHI, 2008), hormonal, antioxidante (LANA, 2006), citotóxica (TREVISAN, 2006; BOAVENTURA, 2008), antiviral, antimicrobiana, diurética, antiespasmódica, hipotensora (BOAVENTURA, 2008), antitumoral (BOAVENTURA, 2008; PITA, 2010), inseticida (MACÍAS, 2000), entre outras. Algumas estão representadas no abaixo (quadro 2, pág 38).



**Quadro 2.** Substâncias representantes de algumas classes de diterpenos e suas respectivas atividades biológicas.



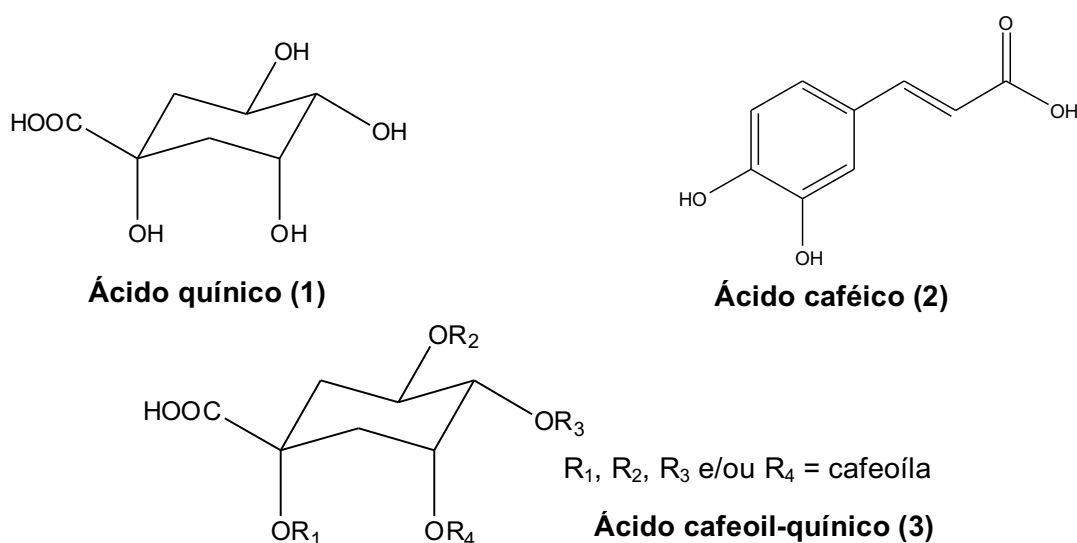
### 2.3.2 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, que os confere o poder antioxidante, incluindo seus grupos funcionais. Esses compostos podem ser naturais ou sintéticos. Quando presentes em vegetais podem estar em formas livres ou complexadas a açúcares e proteínas. Possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais. Existem cerca de cinco mil fenóis, dentre eles, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis.

Atualmente, o interesse nos compostos fenólicos tem aumentado devido às habilidades antioxidantes e de seqüestrar os radicais livres prejudiciais à saúde humana (GARCÍA, 2001).

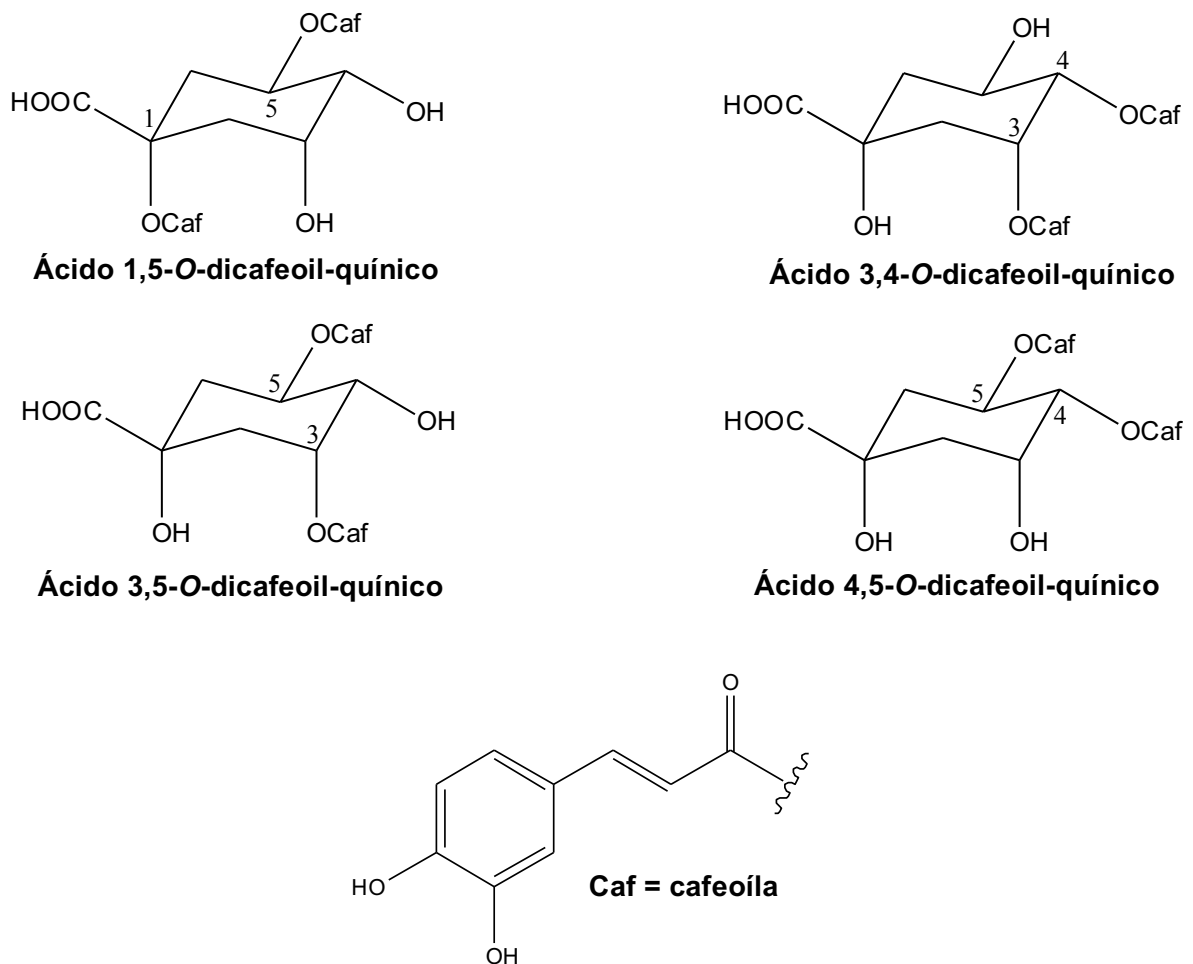
#### 2.3.2.1 Ácidos cafeoil-quínicos

Os ácidos Cafeoil-quínicos, também conhecidos como ácidos clorogênicos (ACG) são compostos fenólicos que apresentam em sua estrutura a porção catecol. São metabólitos secundários encontrados principalmente em café, batata, fruta e vegetais (MELO; BRUNI; FERREIRA, 2006; DUBEY, 2007). Originam-se a partir da esterificação do ácido quínico com o ácido caféico (fig. 7, pág. 39).



**Figura 7.** Estruturas dos ácidos quínico (1), caféico (2) e cafeoilquínico (3).

Os ácidos cafeoil-quínicos possuem diversas propriedades biológicas, dentre elas: antibacteriana, antimutagênica, antitumoral, antioxidante e antiviral (SEFKOL; KELLING; SCHILDE, 2001). Uma das principais propriedades desses compostos é a inibição *in vitro* da enzima HIV invertase (KIM, 2000). Adicionalmente, Robinson e colaboradores (1996) verificaram que derivados com duas unidades cafeóila na estrutura apresentam maior atividade, destacando-se os derivados 1,5-O-dicafeoil-quínico, 3,4-O-dicafeoil-quínico, 3,5-O-dicafeoil-quínico e 4,5-O-dicafeoil-quínico, como sendo mais promissores (fig. 8, pág. 40).



**Figura 8.** Estruturas dos ácidos 1,5; 3,4; 3,5 e 4,5 dicafeoil-quínicos, potentes inibidores *in vitro* da enzima HIV invertase.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Geral

Contribuir com o estudo fitoquímico de plantas do Nordeste, sobretudo da espécie *Salzmannia nitida* DC., mediante isolamento e identificação dos seus constituintes químicos.

#### 3.2 Específicos

- Isolar metabólitos secundários dos extratos das raízes de *Salzmannia nitida* DC.;
- Identificar as substâncias isoladas através de Métodos Espectroscópicos, tais como infravermelho e ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  uni e bidimensionais;
- Contribuir com o estudo quimiotaxonômico da espécie em estudo;
- Obter extratos e substâncias ativas para posterior avaliação da atividade biológica.

## 4 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

### 4.1 Equipamentos e técnicas gerais

#### 4.1.1 Técnicas de separação, monitoramento e purificação cromatográfica

##### 4.1.1.1 Métodos cromatográficos

O extrato total, as respectivas fases e frações foram purificadas por cromatografia em coluna (CC) e Cromatografia líquida de média pressão (CLMP). Na Cromatografia em coluna, utilizou-se como fases estacionárias: Sílica-gel 60 (70 – 230 mesh-ASTM, Merck), Sílica-gel 60 tipo flash (230 – 400 mesh-ASTM, Merck) e Sephadex LH-20 (Merck), e na Cromatografia de Média Pressão, sílica gel 60 (70 – 230 mesh-ASTM, Merck), tendo como suporte para ambas as técnicas, colunas de vidro cilíndricas cujas dimensões variaram de acordo com a quantidade da amostra a ser cromatografada. Como fases móveis foram usados solventes em ordens crescentes de polaridade: hexano, diclorometano, acetato e metanol, bem como misturas binárias dos mesmos, dependendo das características da amostra e da polaridade pretendida.

A Cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) e Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foram realizadas em placas preparadas manualmente no laboratório, mediante dissolução de 60g sílica-gel em 130 mL de água destilada para placas preparativas e 50 g de sílica-gel em 100 mL de água destilada para placas analíticas, sendo posteriormente distribuídas sobre as placas com ajuda de um espalhador mecânico do tipo “*quick fit*”, de acordo com a técnica descrita por Matos (1997). Após secagem ao ar e ativação em estufa (120 °C por 1 hora), a eluição foi realizada por diversos solventes de acordo com as características das amostras em análise. A visualização das substâncias aplicadas nas cromatoplasmas analíticas foi feita por exposição das mesmas à lâmpada de irradiação ultravioleta em aparelho (TE-540, Tecnal) com dois comprimentos de onda (254 e 366 nm) e pela impregnação das placas em cubas de vidro saturadas por vapores de iodo.

Os critérios de pureza adotados foram o aparecimento de mancha única na cromatoplasma, ponto de fusão e a análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  das substâncias isoladas.

#### 4.1.1.2 Impregnação de sílica gel com nitrato de prata

Para purificação das frações com polaridades mais baixas, utilizou-se CC impregnada com Nitrato de Prata ( $\text{AgNO}_3$ ), na proporção de 0,5 mg de  $\text{AgNO}_3$  para 5 g de sílica gel (70 – 230 mesh-ASTM, Merck), sendo este último pesado em ambiente protegido da luz. O  $\text{AgNO}_3$  foi diluído em água destilada e posteriormente vertido no recipiente contendo a sílica. O recipiente contendo a sílica gel já impregnada com  $\text{AgNO}_3$  foi protegido da luz com papel de alumínio, deixando em sua parte superior pequenos orifícios para saída do vapor d'água e em seguida, mantido em estufa por 3 dias a 75 °C para ativação.

Em ambiente sem iluminação direta, uma coluna foi empacotada com a sílica gel impregnada com nitrato de prata através da suspensão em hexano, sendo a amostra posteriormente adicionada na forma de farofa. Como fases móveis, foram utilizados os solventes: hexano, acetato e misturas binárias de ambos em ordem crescente de polaridade, com aumento lento e gradativo.

### 4.1.2 Equipamentos e técnicas para identificação e elucidação estrutural

#### 4.1.2.1. Ponto de fusão

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho digital para ponto de fusão (Macroquímica, MQAPF-302), com bloco de prata em microscópio óptico do tipo “Kofler” (Reichert, R3279), com temperatura que varia de 0 a 350 °C, e não estão corrigidos.

#### 4.1.2.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear e Infravermelho

Para obtenção dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear uni e bidimensionais utilizou-se espectrofotômetro MERCURY-VARIAN, operando a 200 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 50 MHz ( $^{13}\text{C}$ ); e VARIAN-NMR-SYSTEM operando a 500 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ ). Os solventes usados para a dissolução da amostra foram clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) e metanol deuterado ( $\text{MeOD}$ ). Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ), expressos em partes por milhão (ppm), foram referenciados para RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  pelos picos característicos dos hidrogênios pertencentes às frações não deuteradas do  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta_{\text{H}} = 7.24$  ppm e  $\delta_{\text{C}} = 77.0$  ppm, respectivamente) e do  $\text{MeOH}$  ( $\delta_{\text{H}} = 3,30$  ppm e  $\delta_{\text{C}} = 49,1$  ppm, respectivamente). As constantes de acoplamento ( $J$ ) foram

expressas em Hz e as multiplicidades dos sinais em RMN de  $^1\text{H}$  foram indicadas segundo a convenção: *s* (singleto), *d* (dubleto), *dd* (duplodubleto) e *m* (multiplete).

Os espectros na região de Infravermelho (IV) foram registrados em espectrofotômetro Bomem (série 100 MB), na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , com transformada de Fourier, utilizando de 1 a 3 mg de amostra em pastilhas de Brometo de Potássio (KBr).

#### **4.2 Estudo fitoquímico da espécie *Salzmannia nitida* DC.**

A espécie *Salzmannia nitida* DC. foi coletada na cidade de Santa Rita-PB, em julho de 2008 e posteriormente identificada pela Prof<sup>ª</sup>. Maria de Fátima Agra do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba (LTF/UFPB). Uma exsicata da espécie encontra-se disponível no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (CCEN/UFPB), sob número 3630.

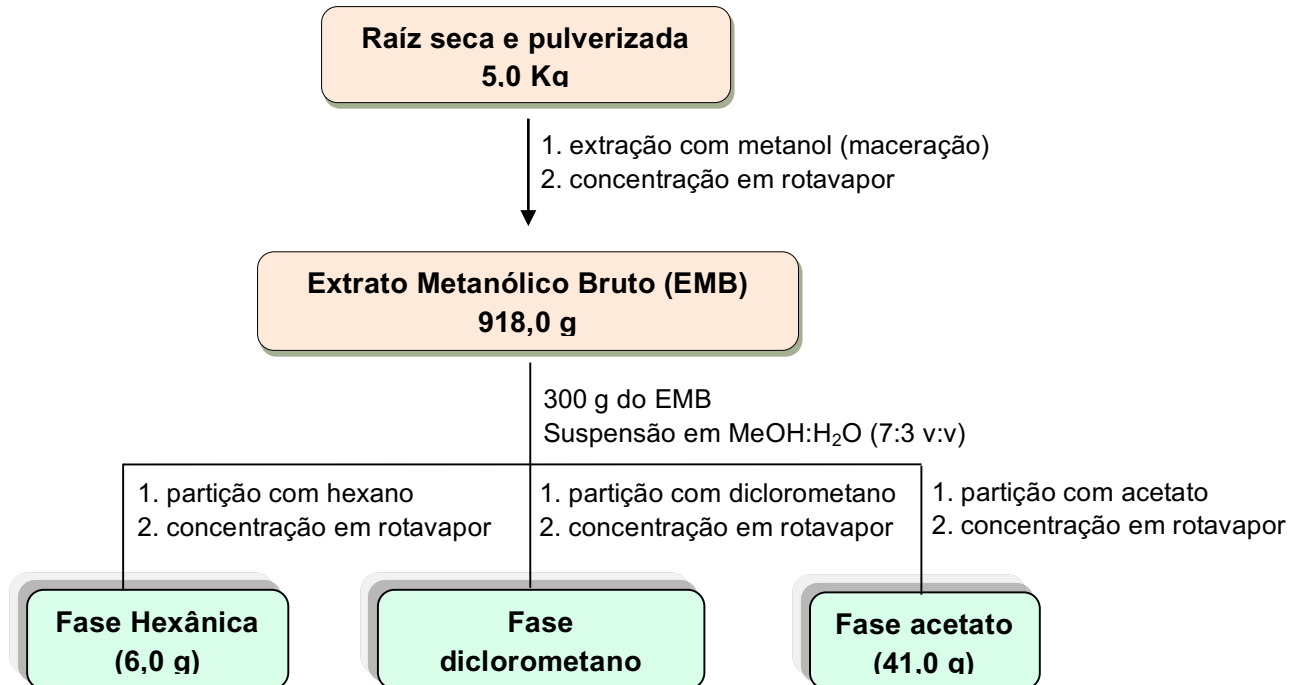
##### **4.2.1 Obtenção do Extrato Metanólico Bruto (EMB) das raízes de *Salzmannia nitida* DC.**

As raízes foram desidratadas em estufa de ar circulante a uma temperatura média de 50 °C durante cinco dias, e posteriormente submetida a processos de pulverização em moinho mecânico do tipo Harley. O pó obtido (5,0 Kg) foi submetido à extração exaustiva a temperatura ambiente, do tipo maceração com metanol (95%), e renovação de solvente em intervalos de 72 horas (quatro vezes). A solução extrativa foi filtrada e concentrada em rotavapor (Buchi) a uma temperatura não superior a 35 °C, obtendo-se o extrato metanólico bruto (EMB), com rendimento de 918 g (18,4% do peso total da planta).

##### **4.2.2 Particionamento do EMB de *Salzmannia nitida* DC.**

Parte do EMB foi suspensa em uma solução de metanol/água (7:3 v/v) sob agitação mecânica, obtendo-se uma solução hidroalcoólica, a qual foi submetida a extração líquido/líquido em ampola de separação, sob agitação manual de forma exaustiva e sucessiva. Foram utilizados seguidamente os solventes hexano, diclorometano e acetato de etila, que foram evaporados em evaporador rotativo sob pressão reduzida, à temperatura não superior a 35 °C, fornecendo as respectivas

fases. Após a evaporação do solvente, o rendimento das fases foram: hexânica – 6,0 g, diclorometano – 25,0 g e acetato – 41,0 g (fluxograma 2, página 45).



**Fluxograma 2.** Obtenção e particionamento do EMB das raízes de *Salzmanna nitida* DC.

#### 4.2.3 Fracionamento da fase hexânica

A fase hexânica (6,0 g) foi fracionada por cromatografia em coluna (coluna 1), utilizando-se 180 gramas de sílica-gel (70 – 230 mesh-ASTM, Merck) como fase estacionária. Como fases móveis, foram usados hexano, acetato de etila e metanol puros ou em misturas binárias e em ordem crescente de polaridade, obtendo-se o total de 100 frações (coletadas a cada 200 mL e concentradas em rotavapor) (tabela 3, pág 46). Todas as frações foram monitoradas por CCDA e reunidas de acordo com seus perfis cromatográficos.

**Tabela 3.** Fracionamento do extrato hexânico de *Salzmannia nitida* DC. (Coluna 1).

<b>Fração</b>	<b>Eluente (v:v)</b>	<b>Reunião</b>
<b>A (01-09)</b>	Hex:AcOEt (95:05)	01 a 02 03 a 06
<b>B (10-14)</b>	Hex:AcOEt (90:10)	07 a 14
<b>C (15-24)</b>	Hex:AcOEt (85:15)	15 a 18 19 a 31
<b>D (25-41)</b>	Hex:AcOEt (80:20)	32 a 36 37 a 39
<b>E (42-59)</b>	Hex:AcOEt (75:15)	40 a 47 48 a 62
<b>F (60-70)</b>	Hex:AcOEt (70:30)	63 a 70
<b>G (71-78)</b>	Hex:AcOEt (65:35)	71 a 80
<b>H (79-84)</b>	Hex:AcOEt (60:40)	81 a 86
<b>I (85-90)</b>	Hex:AcOEt (50:50)	87 a 90
<b>J (91-100)</b>	Hex:AcOEt (30:70)	91 a 100

Após sucessivas recristalizações com acetona, as frações 19 a 31 deram origem a um precipitado amorfo amarelado que foi posteriormente recromatografado em CC tipo filtração, obtendo-se 30 frações (coluna 1.1). A fração 04 apresentou-se como um sólido branco amorfo, sendo codificada como SAL-1 (14,4 mg) (Hex:AcOet – 85:15), e as frações 17-20 apresentaram-se como um óleo amarelo, sendo codificada como SAL-2 (24,2 mg) (Hex:AcOet – 90:10).

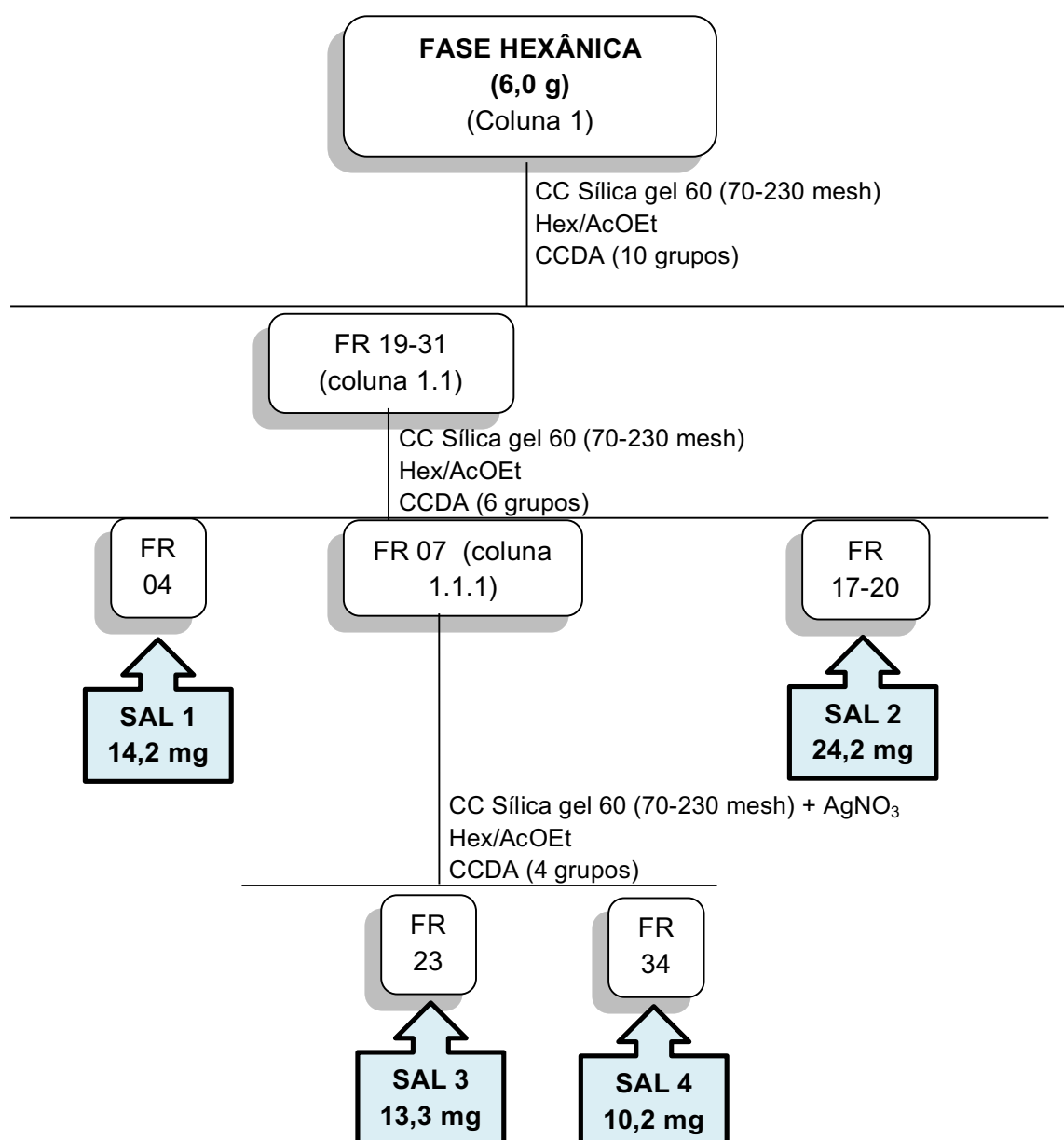
A fração 07 da mesma coluna (coluna 1.1) foi recromatografada em CC impregnada com nitrato de prata, obtendo-se 40 frações. A fração 23 apresentou-se como um óleo verde e foi codificada como SAL-3 (13,3 mg) (Hex:AcOet – 98:02), e a fração 34 apresentou-se como sólido branco cristalino e foi codificada como SAL-4 (10,2 mg) (Hex:AcOet – 97:03).

O fracionamento cromatográfico da fase hexânica está demonstrado no fluxograma 3 (pág. 47).

Para todos os processos cromatográficos utilizou-se sílica gel 60 (70 – 230 mesh-ASTM, Merck) como fase estacionária, tendo como suporte colunas de



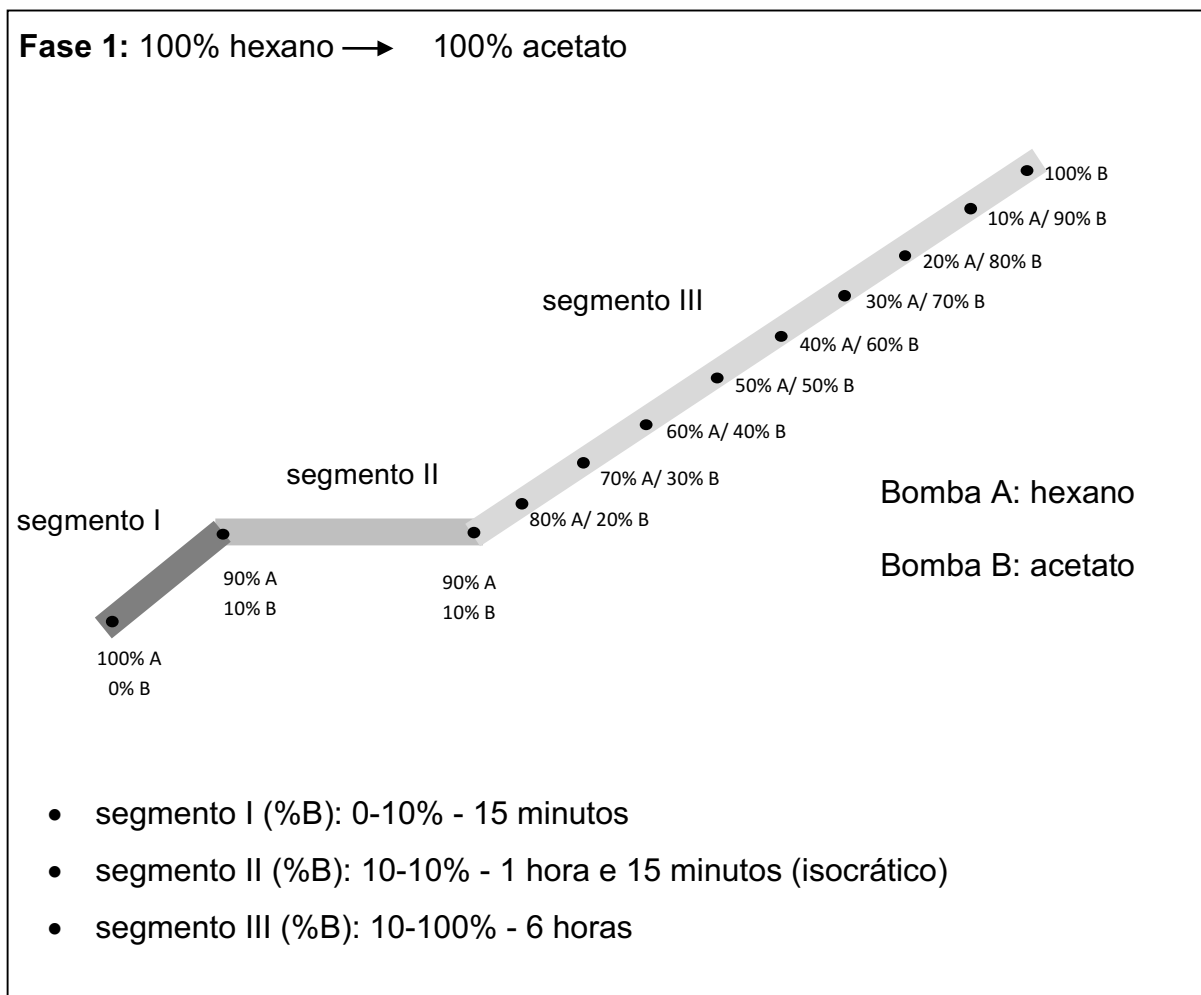
cilíndricas de vidro de dimensões que variaram de acordo com a quantidade da amostra, e como fases móveis os solventes hexano, acetato e metanol puros e em combinações binárias de acordo com a polaridade pretendida. Para CC impregnadas com nitrato de prata, foram utilizados apenas os solventes hexano e AcOEt, puros ou em misturas binárias, com aumento lento e gradual da polaridade. Ao fim do processo, as amostras apresentaram um maior grau de pureza, sendo tal resultado evidenciado pelos espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .



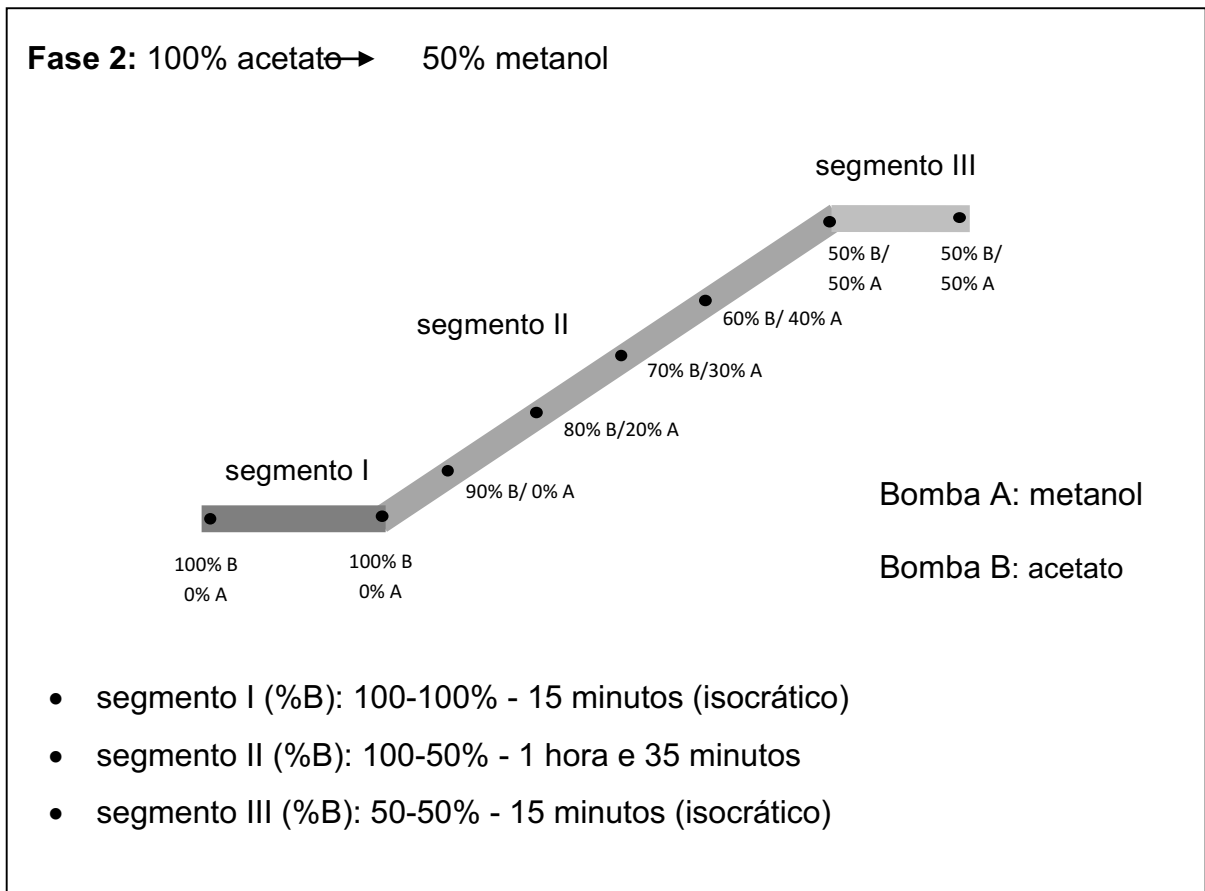
**Fluxograma 3.** Fracionamento cromatográfico da fase hexânica de *Salzmattia nitida* DC.

#### 4.2.4 Fracionamento da fase diclorometano

A fase diclorometano (5,0 g) foi submetida à Cromatografia Líquida de Média Pressão (CLMP) (Coluna 2) em equipamento de sistema binário Buchi flash equipado com dois módulos de bomba (C-601 e C-605) e módulo controlado (C-615), utilizando coluna de vidro preenchida com sílica gel 60 (70-230 mesh, Merck) de fase normal, submetida a um fluxo de 30 mL/min. O processo foi dividido em duas fases com três segmentos cada e foram utilizados como eluentes: hexano, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade (fig. 9a, pág 48; fig. 9b, pág. 49).

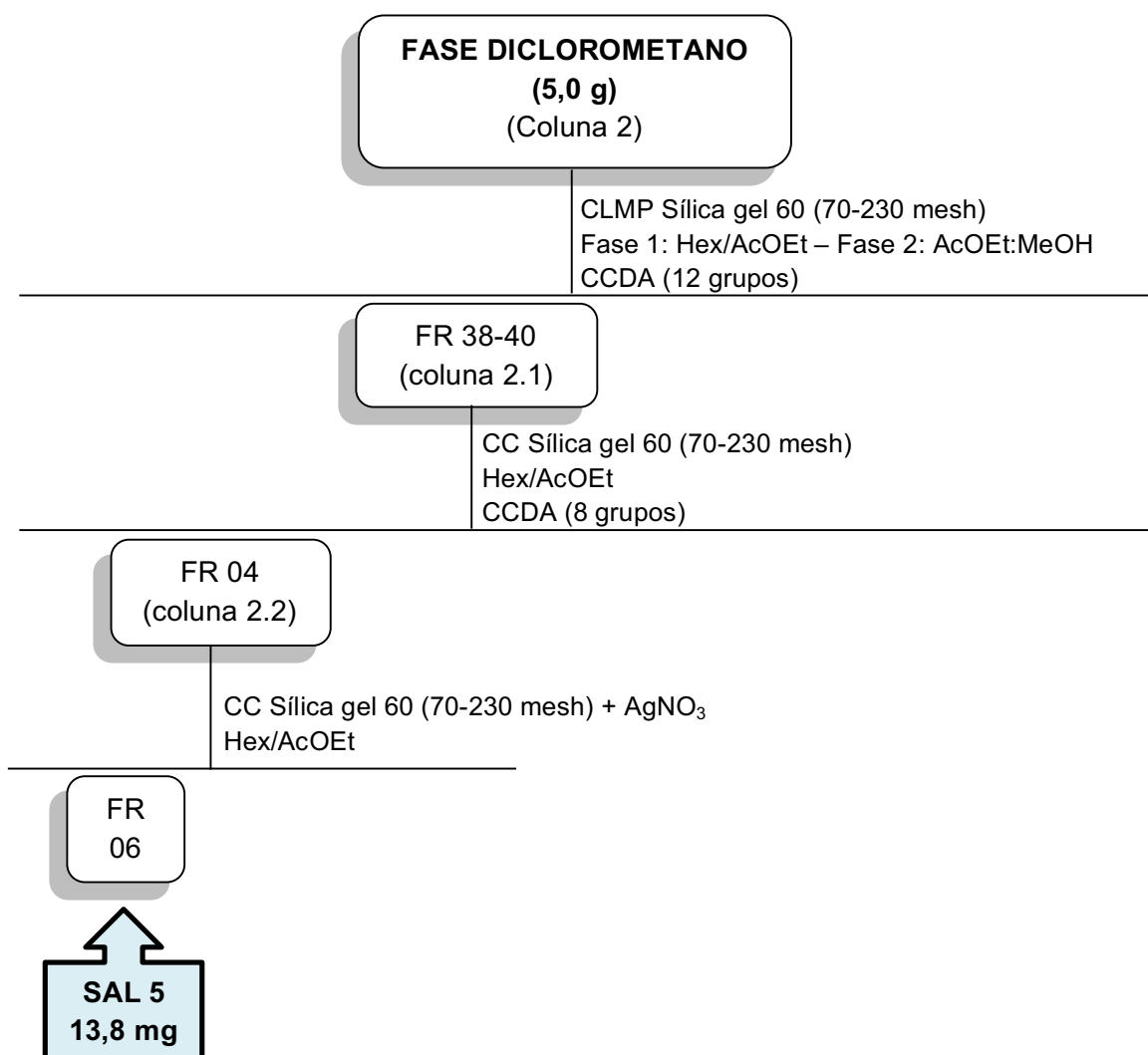


**Figura 9a.** Fase 1 do fracionamento da fase diclorometano de *Salzmannia nitida* DC., por Cromatografia Líquida de Média Pressão.



**Figura 9b.** Fase 2 do fracionamento da fase diclorometano de *Salzmannia nitida* DC., por Cromatografia Líquida de Média Pressão.

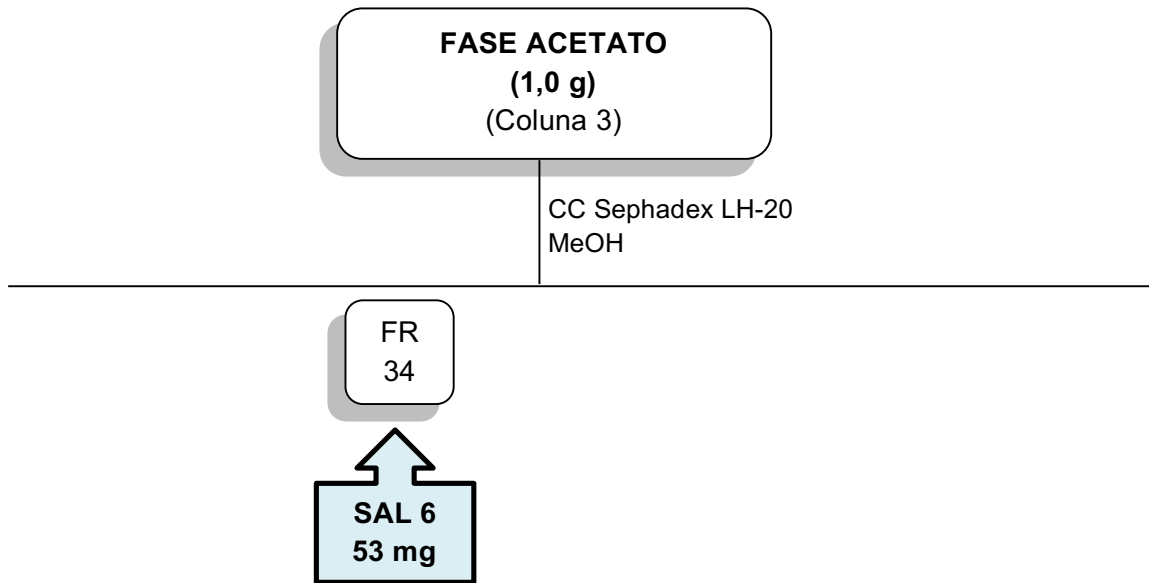
O processo de fracionamento (fluxograma 4, pág. 50) resultou em 585 tubos de ensaio, concentrados 5 a 5 em rotavapor sob vácuo, quando o comprimento de onda apresentava-se constante, obtendo-se 117 frações que foram monitoradas por CCDA e reunidas de acordo com os perfis cromatográficos. As frações 38- 40 foram submetidas novamente a CC (coluna 2.1), obtendo-se, ao fim do processo, o total de 20 frações. A fração 04 foi cromatografada em CC impregnada com nitrato de prata (coluna 2.2), obtendo-se 30 frações. A fração 06 apresentou-se ao final do processo, como um sólido branco cristalino, sendo codificada como SAL-5 (13,8 mg) (Hex:AcOet – 97:03).



**Fluxograma 4.** Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano de *Salzmannia nitida* DC.

#### 4.2.5 Fracionamento da fase acetato de etila

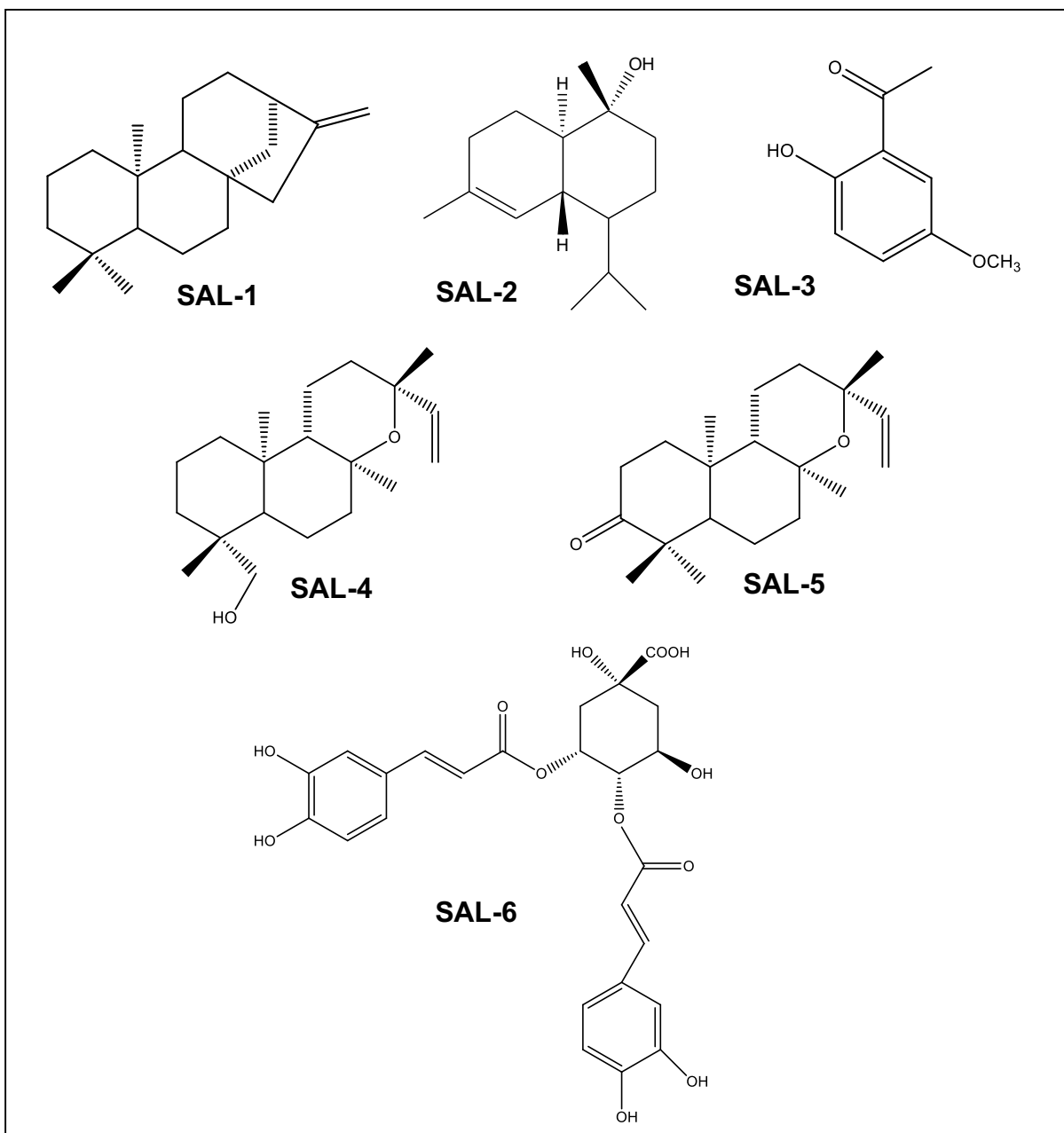
A fase acetato (1,0 g) foi fracionada por cromatografia em coluna (Coluna 3), utilizando-se aproximadamente 50,0 g de Sephadex LH-20 como fase estacionária, e como fase móvel apenas metanol, resultando em 42 frações. A fração 34 apresentou-se como um sólido amorfo e foi codificado como SAL-6 (53,0 mg) (AcOet:MeOH – 80:20) (fluxograma 5, pág 51).



**Fluxograma 5.** Fracionamento cromatográfico da fase acetato de *Salzmannia nitida* DC.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

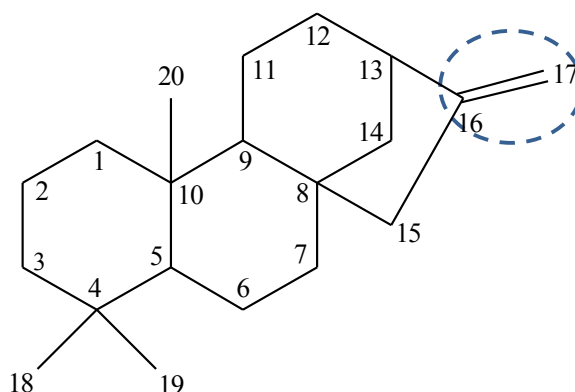
O estudo fitoquímico das raízes de *Salzmannia nitida* DC. resultou no isolamento e identificação de seis substâncias: diterpeno *ent*-cauran-16-ene (**SAL-1**), sesquiterpeno  $\alpha$ -cadinol (**SAL-2**), composto fenólico 2-hidróxi-5 metóxi acetofenona (**SAL-3**), outros dois diterpenos derivados do óxido de manoil: *ent*-13-*epi*-19-hidroxi manoil óxido (**SAL-4**) e *ent*-13-*epi*-3-oxo manoil óxido (**SAL-5**) e outro composto fenólico: ácido 3,4-*O*- dicafeoil-quínico (**SAL-6**) (fig. 10, pág. 52).



**Figura 10.** Substâncias isoladas das raízes de *Salzmannia nitida* DC.

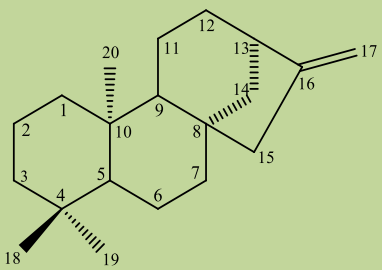
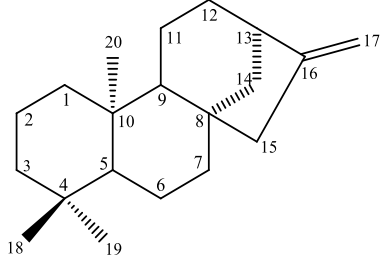
### 5.1 Determinação estrutural de SAL-1

A substância codificada como **SAL-1** foi isolada na forma de um óleo transparente e solúvel em clorofórmio. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (fig. 11, pág. 56), bem como suas expansões (fig. 12 e 13, pág. 57) observou-se a presença de 20 sinais correspondentes a 20 átomos de carbono. Destes, 4 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 3 a carbonos metínicos, 10 a carbonos metilênicos e 3 a carbonos metílicos. Os sinais de carbonos metínicos em  $\delta_c$  56,0 ppm, 56,2 ppm e 44,0 ppm comparados com a literatura (PACHECO, 2009) sugeriram um esqueleto carbônico para diterpenos tetracíclico do tipo caurano. O deslocamento químico em  $\delta_c$  102,7 ppm, juntamente com a absorção em  $\delta_c$  156,1 ppm inferiu presença de uma dupla terminal em C-16.



No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (fig. 14, pág. 58), bem como sua expansão (fig. 15, pág. 59) observou-se um envelope de sinais na região de  $\delta_H$  0,72-2,1 ppm com multiplicidades resolvidas e não resolvidas. Constatou-se a presença de 3 singletos em  $\delta_H$  0,75 ppm, 0,95 ppm e 1,00 ppm, correspondentes a três metilas. O sinal em  $\delta_H$  2,61 ppm foi atribuído a H-13 de esqueleto do tipo caurano. Os dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de **SAL-1** foram comparados com a literatura e estão compilados na tabela 4 (pág. 54) (PACHECO, 2009). Os demais dados estão compilados na tabela 5 (pág. 55).

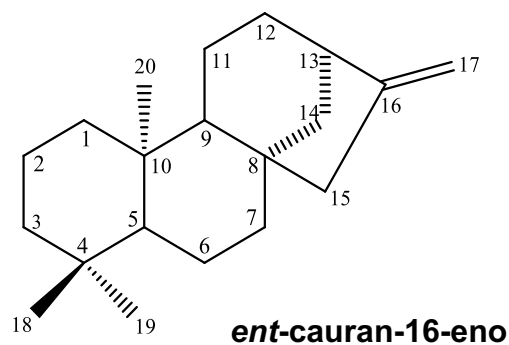
**Tabela 4.** Dados comparativos de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do *ent*-cauran-16-eno e SAL-1.

	 <p><b>SAL-1</b></p>	 <p><b><i>ent</i>-cauran-16-eno</b> (PACHECO, 2009)</p>
<b>C</b>	<b><math>\delta_c</math></b>	<b><math>\delta_c</math></b>
1	42,0	41,3
2	18,6	18,7
3	41,2	42,0
4	33,2	33,3
5	56,2	56,1
6	20,2	20,3
7	40,4	40,4
8	44,2	44,2
9	56,0	56,1
10	39,3	39,3
11	18,1	18,1
12	31,9	33,3
13	44,0	44,2
14	39,8	39,9
15	49,1	49,2
16	156,1	156,0
17	102,7	102,8
18	33,6	33,7
19	21,6	21,7
20	14,1	14,6



Dessa forma, por comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de **SAL-1** com a literatura, possibilitou identificá-la como sendo *ent*-cauran-16-eno, isolada pela primeira vez no gênero.

**Tabela 5.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (50 MHz) de SAL-1, obtidos em  $\text{CDCl}_3$ .



<b>C</b>	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$ (PACHECO, 2009)
<b>C</b>		
4	33,2	33,3
8	44,2	44,2
10	39,3	39,3
16	156,1	156,0
<b>CH</b>		
5	56,2	56,1
9	56,0	56,1
13	44,0	44,2
<b>CH<sub>2</sub></b>		
1	42,0	41,3
2	18,6	18,7
3	41,2	42,0
6	20,2	20,3
7	40,4	40,4
11	18,1	18,1
12	39,1	33,3
14	39,8	39,9
15	49,1	49,2
17	102,7	102,8
<b>CH<sub>3</sub></b>		
18	33,6	33,7
19	21,6	21,7
20	14,1	14,6

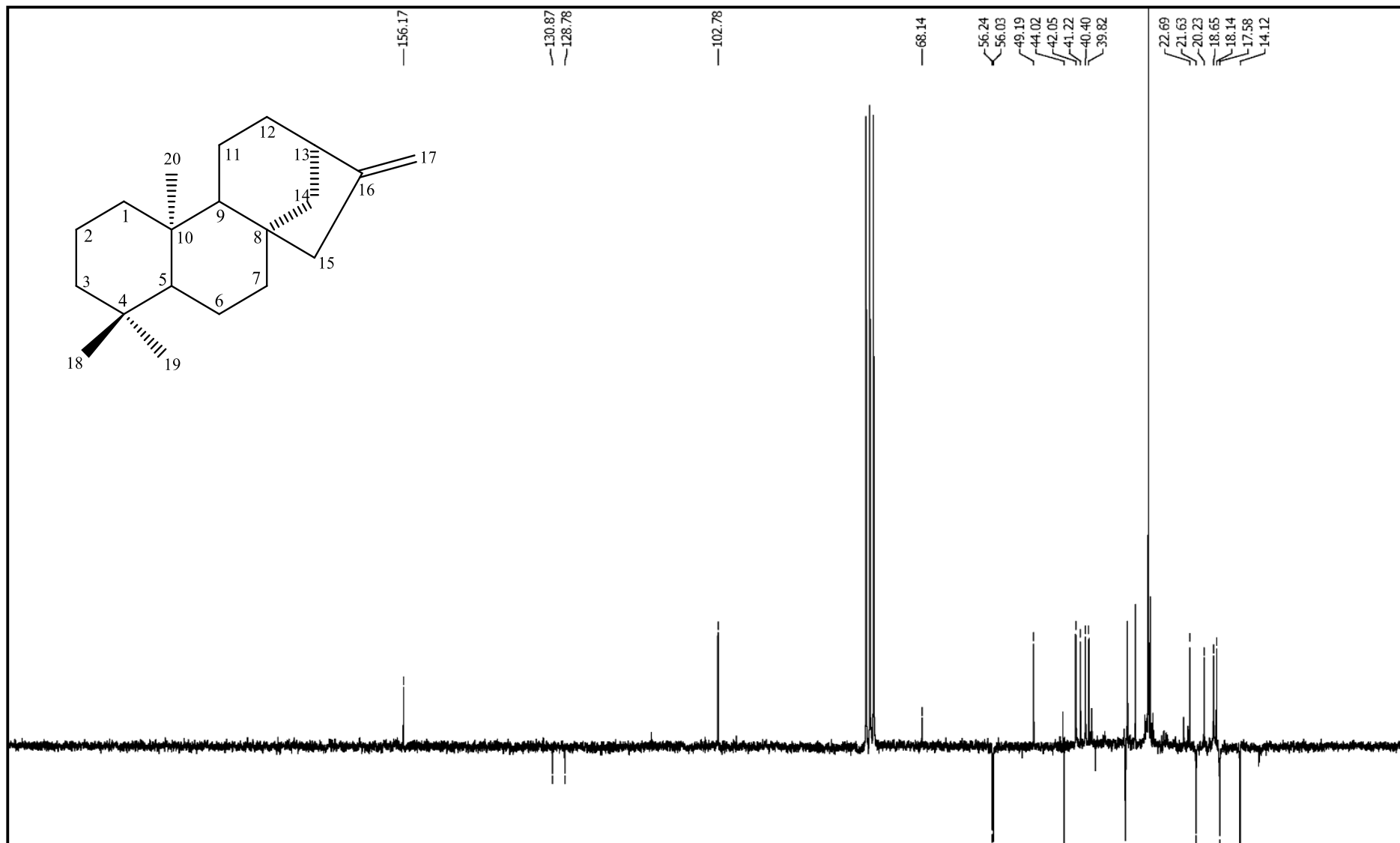


Figura 11. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-1 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

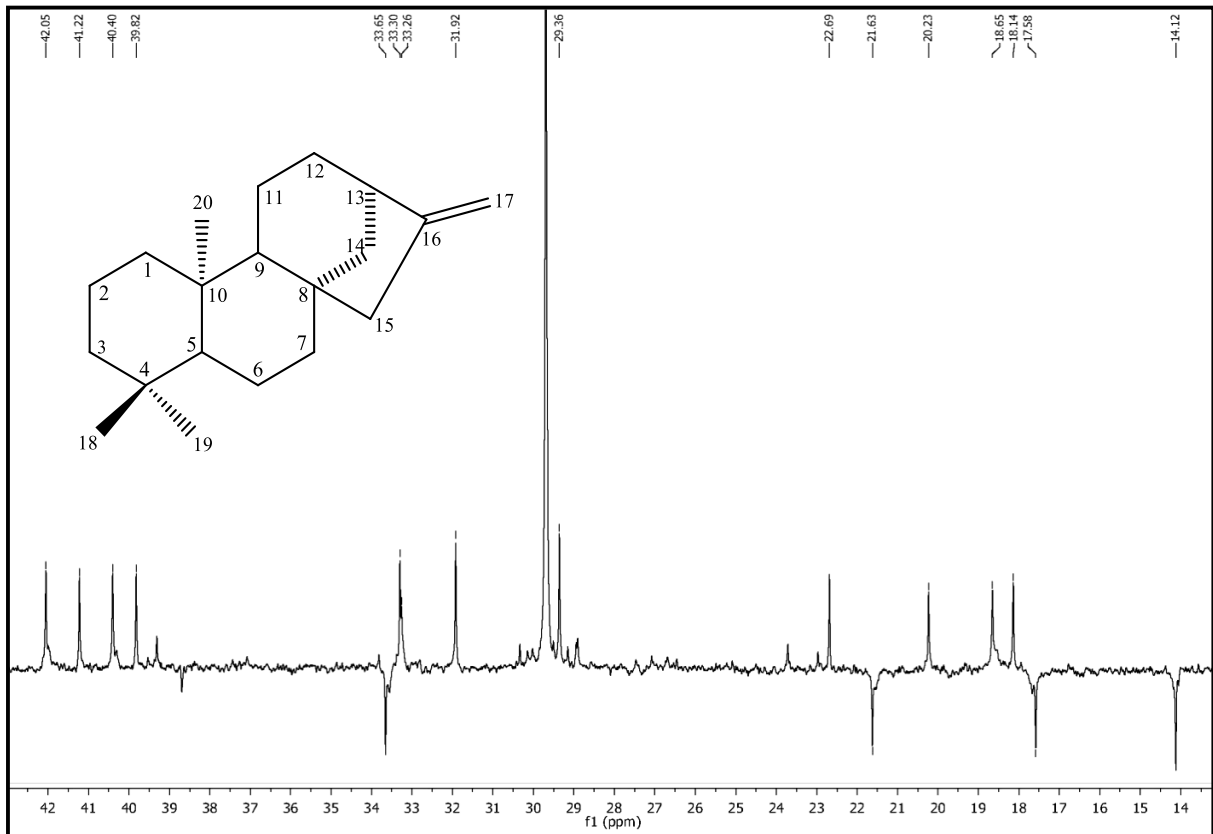


Figura 12. Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-1 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (14-42 ppm).

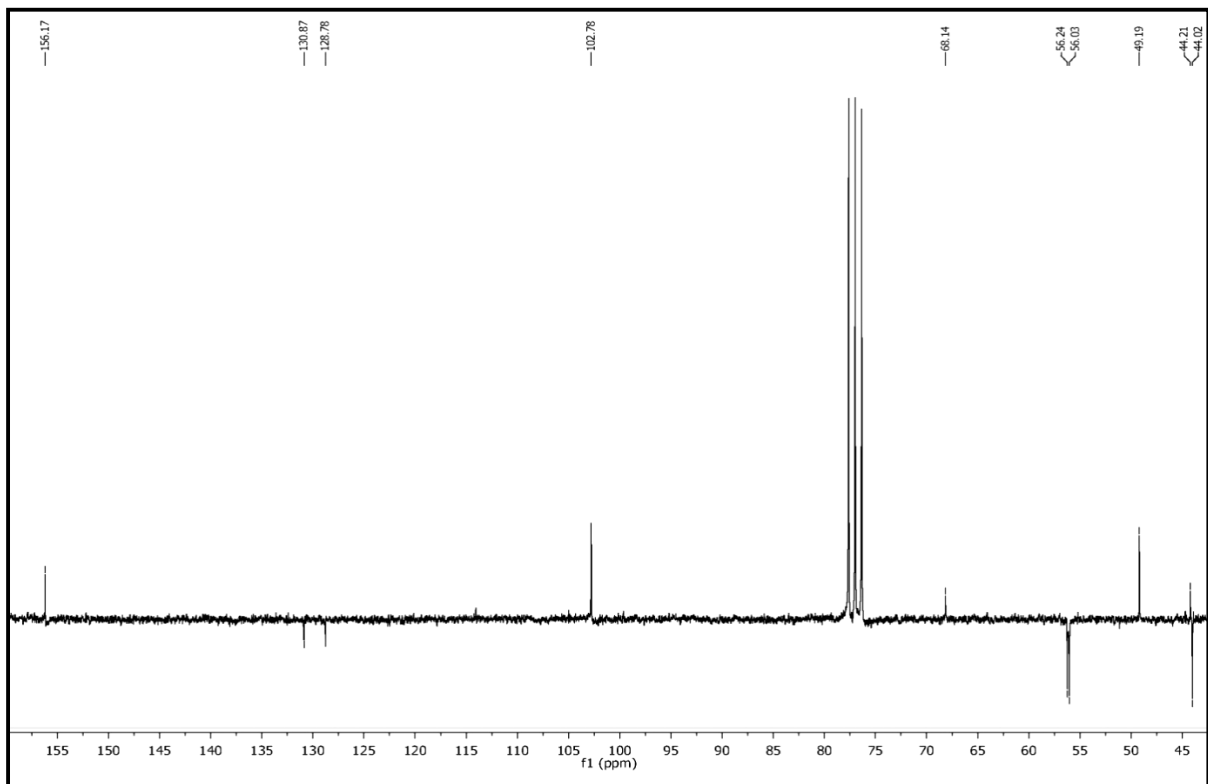


Figura 13. Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-1 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (45-155 ppm).

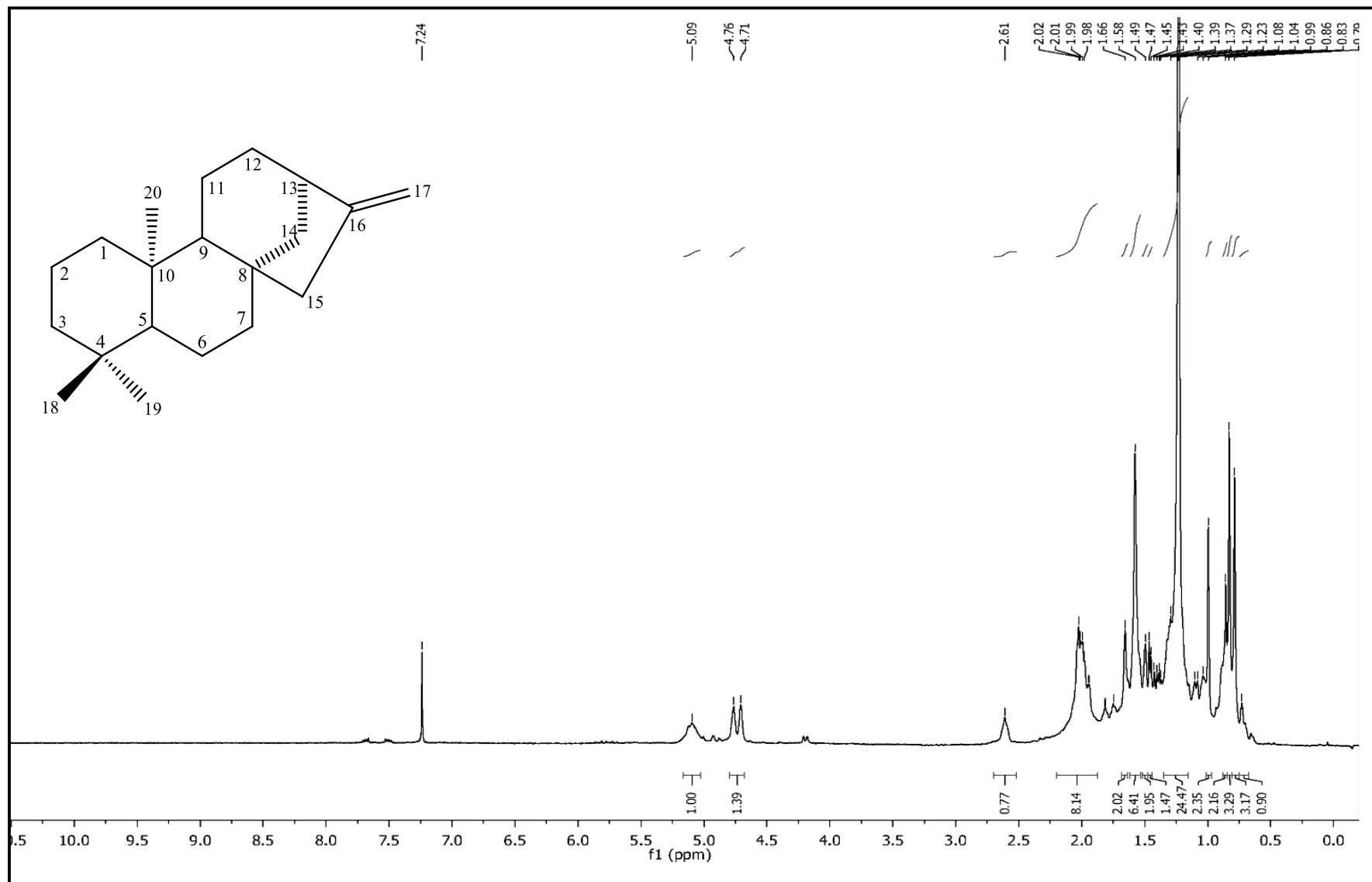
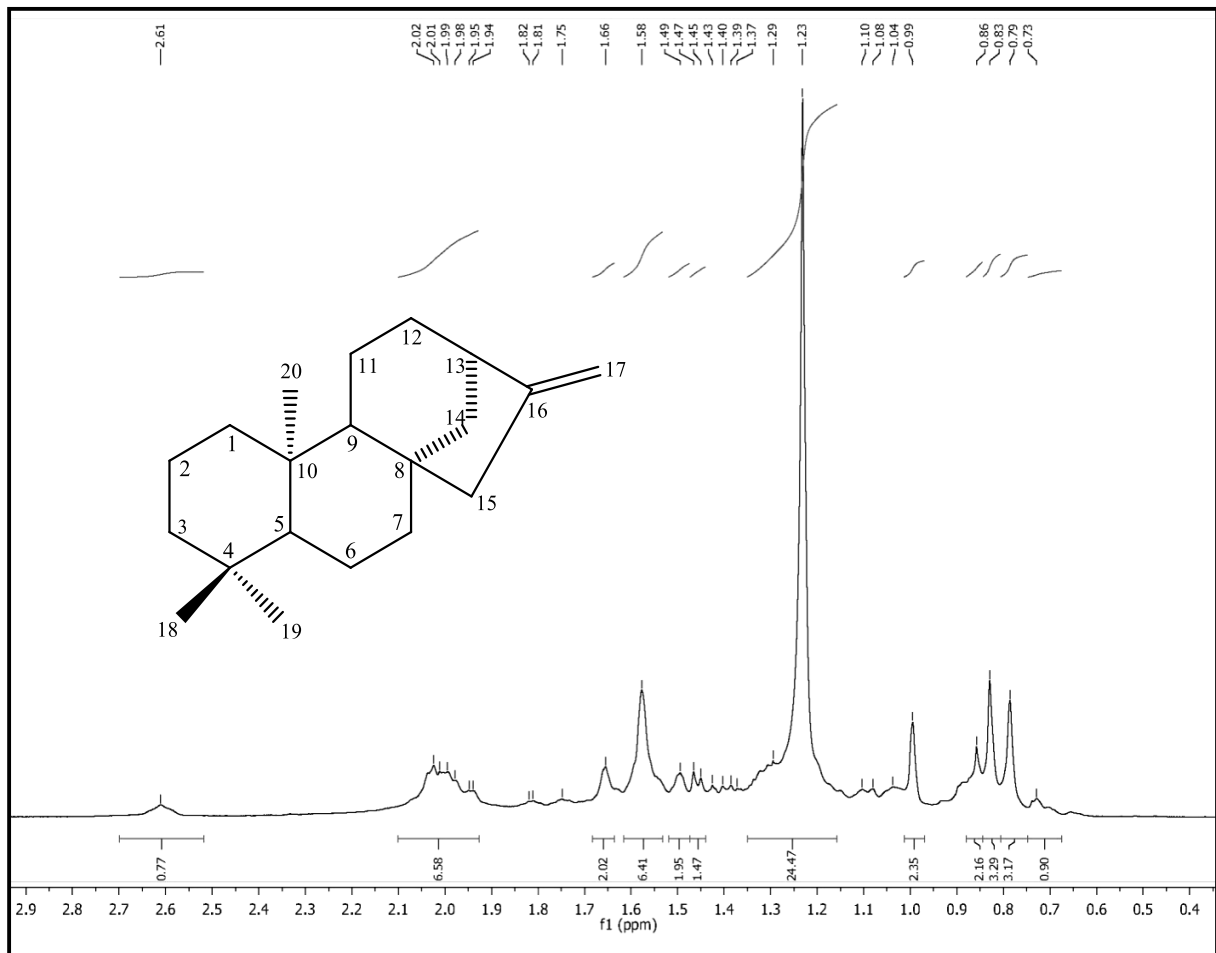


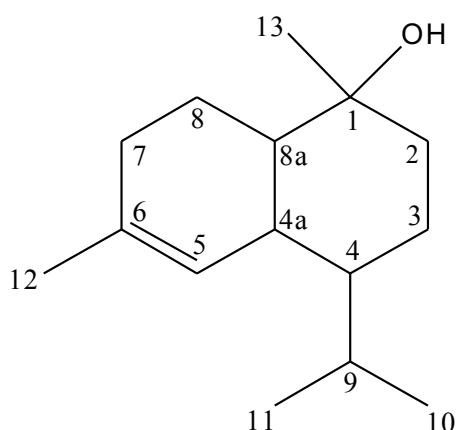
Figura 14. Espectro de RMN <sup>1</sup>H de SAL-1 (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



**Figura 15.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-1 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (0,4-2,9 ppm).

## 5.2 Determinação estrutural de SAL-2

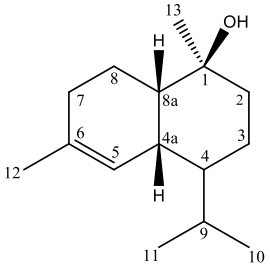
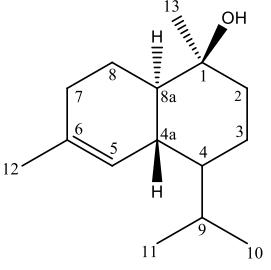
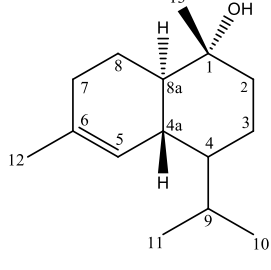
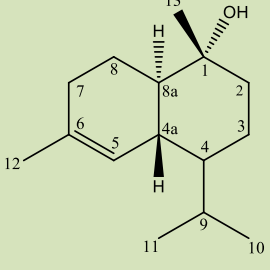
A substância codificada como **SAL-2** foi isolada na forma de um óleo amarelo e solúvel em clorofórmio. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$  (fig. 16, pág. 63), bem como suas expansões (fig. 17 e 18, pág. 64) observou-se a presença de 15 sinais correspondentes a 15 átomos de carbono. Destes, 2 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 5 a carbonos metínicos, 4 a carbonos metilênicos e 4 a carbonos metílicos. Os sinais de carbonos metilênicos em  $\delta_c$  41,8, 22,5, 30,8 e 21,8 ppm, bem como do carbono metínico em  $\delta_c$  25,8 ppm comparados com dados da literatura (WU, 2007) sugerem um esqueleto carbônico para sesquiterpeno do tipo cadinol. Deslocamentos químicos do carbono metínico em  $\delta_c$  122,0 ppm e do carbono não hidrogenado em  $\delta_c$  134,0 ppm, confirmam a presença da dupla ligação do esqueleto cadinol entre os carbonos CH-5 e CH-6.



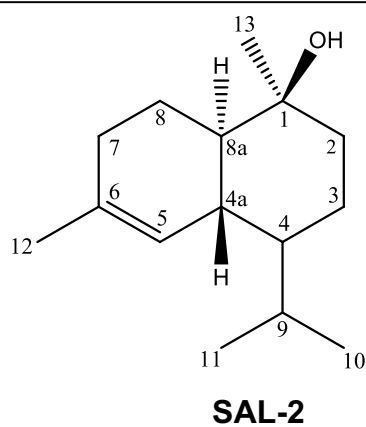
No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (fig. 19, pág. 65) observou-se um envelope de sinais na região de  $\delta_H$  0,71 a 1,95 ppm com multiplicidades resolvidas e não resolvidas. Expansões deste espectro (fig. 20 e 21, pág. 66) evidenciaram a presença de quatro sinais em 0,74 ppm (*d*,  $J = 7,2$  Hz), 0,89 ppm (*d*,  $J = 7,0$  Hz), 1,64 ppm e 1,07 ppm, atribuídos a 4 metilas, bem como um singlete em  $\delta_H$  5,47 ppm, relativo a hidrogênio olefínico. As demais multiplicidades estão compiladas na tabela 7 (pág. 62).

A literatura relata a existência de três isômeros do cadinol: T-murolol, T-cadinol e  $\alpha$ -cadinol, que apresentam deslocamentos químicos diferentes para os carbonos C-1, C-4a e C-8a, de acordo com a mudança na estereoquímica. (CHALCHAT, 1985; FRANÇA, 2003) (tabela 6, pág. 61). Dessa forma, os dados de **SAL-2** foram comparados com a literatura e estão compilados na tabela 6 (pág. 61).

**Tabela 6.** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  dos isômeros T-murolol, T-cadinol,  $\alpha$ -cadinol e de SAL-2.

ISÔMEROS				SAL-2
				
<b>(-) T-Murolol</b> (CHALCHAT, 1985)	<b>(+) T-Cadinol</b> (CHALCHAT, 1985)	<b>(-) <math>\alpha</math>-Cadinol</b> (FRANÇA, 2003)	<b>SAL-2</b>	
<b>C</b>	<b><math>\delta_c</math></b>	<b><math>\delta_c</math></b>	<b><math>\delta_c</math></b>	<b><math>\delta_c</math></b>
<b>1</b>	71,7	70,0	72,3	72,5
<b>2</b>	35,0	40,8	41,9	41,8
<b>3</b>	23,8	23,9	22,5	22,5
<b>4</b>	34,8	37,9	39,7	39,7
<b>4a</b>	44,4	47,1	46,5	46,5
<b>5</b>	125,8	123,4	122,2	122,0
<b>6</b>	133,3	133,8	134,7	134,0
<b>7</b>	31,6	31,2	30,8	30,8
<b>8</b>	21,9	22,9	21,7	21,8
<b>8a</b>	46,3	48,3	49,7	49,5
<b>9</b>	29,6	28,7	25,8	25,8
<b>10</b>	15,7	15,4	14,9	15,9
<b>11</b>	21,2	21,6	21,4	21,5
<b>12</b>	27,1	26,5	23,7	23,7
<b>13</b>	19,8	20,1	20,5	20,5

A partir dos dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  obtidos para **SAL-2** em comparação com a literatura (FRANÇA, 2003), foi possível identificá-la como sendo  $\alpha$ -cadinol, isolada pela primeira vez na família Rubiaceae.

**Tabela 7.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (50 MHz) de SAL-2, obtidos em  $\text{CDCl}_3$ .

<b>C</b>	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$ (FRANÇA, 2003)
<b>C</b>			
1	72,5	-	72,3
6	134,0	-	134,7
<b>CH</b>			39,7
4	39,7	1,58 ( <i>m</i> )	39,7
4a	46,5	0,92 ( <i>m</i> )	46,5
5	122,0	5,47 ( <i>s</i> )	122,2
8a	49,5	1,10 ( <i>m</i> )	49,7
9	25,8	2,10 ( <i>m</i> )	25,8
<b>CH<sub>2</sub></b>			
2	42,8	1,67 ( <i>m</i> )	41,9
3	22,5	1,85 ( <i>m</i> )	22,5
7	30,8	1,88 ( <i>m</i> )	30,8
8	21,8	1,40 ( <i>m</i> )	21,7
<b>CH<sub>3</sub></b>			
10	15,9	0,74 ( <i>d</i> , $J = 7,0$ Hz)	14,9
11	21,5	0,89 ( <i>d</i> , $J = 6,5$ Hz)	21,4
12	23,7	1,64 ( <i>s</i> )	23,7
13	20,5	1,07 ( <i>s</i> )	20,5



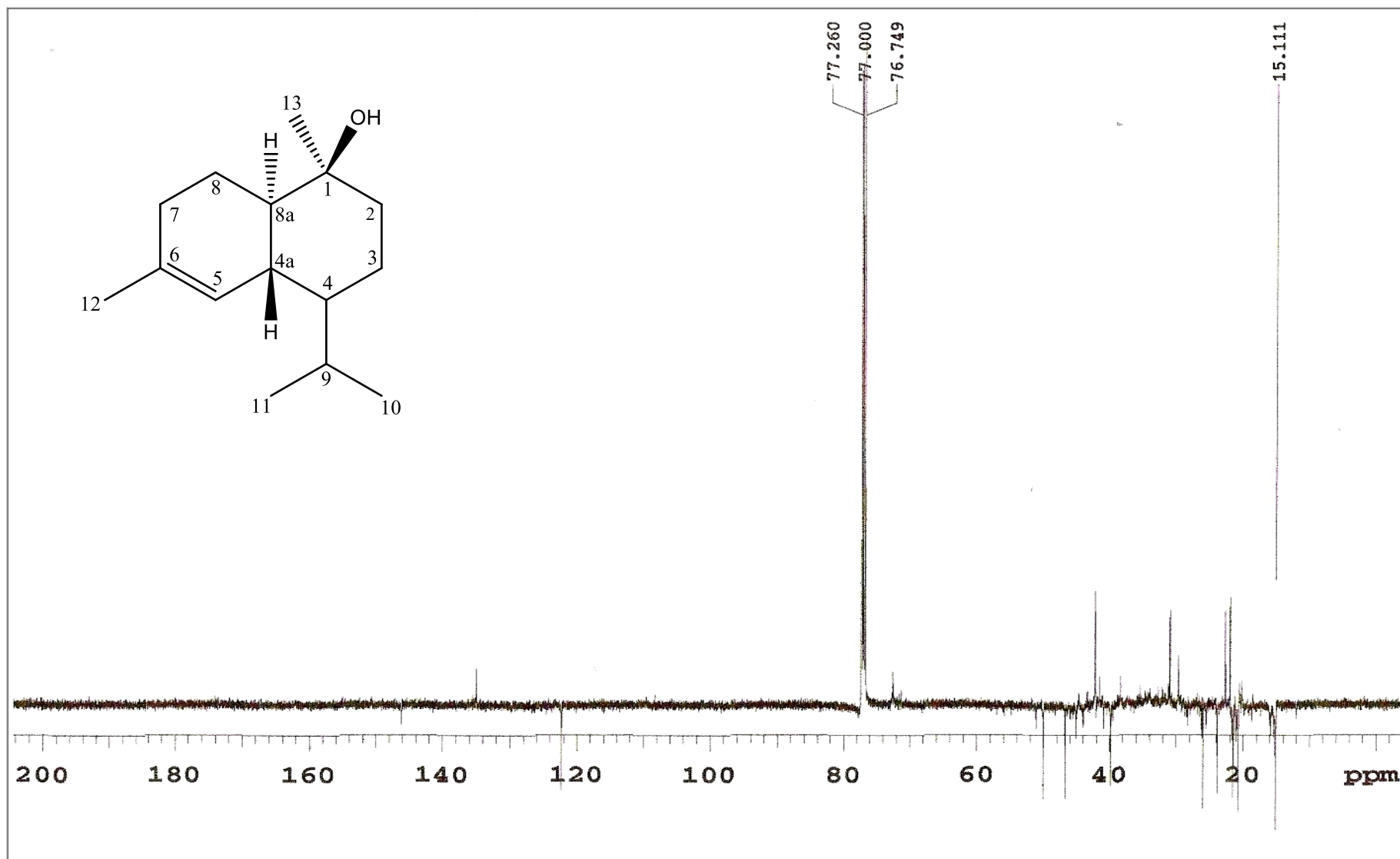
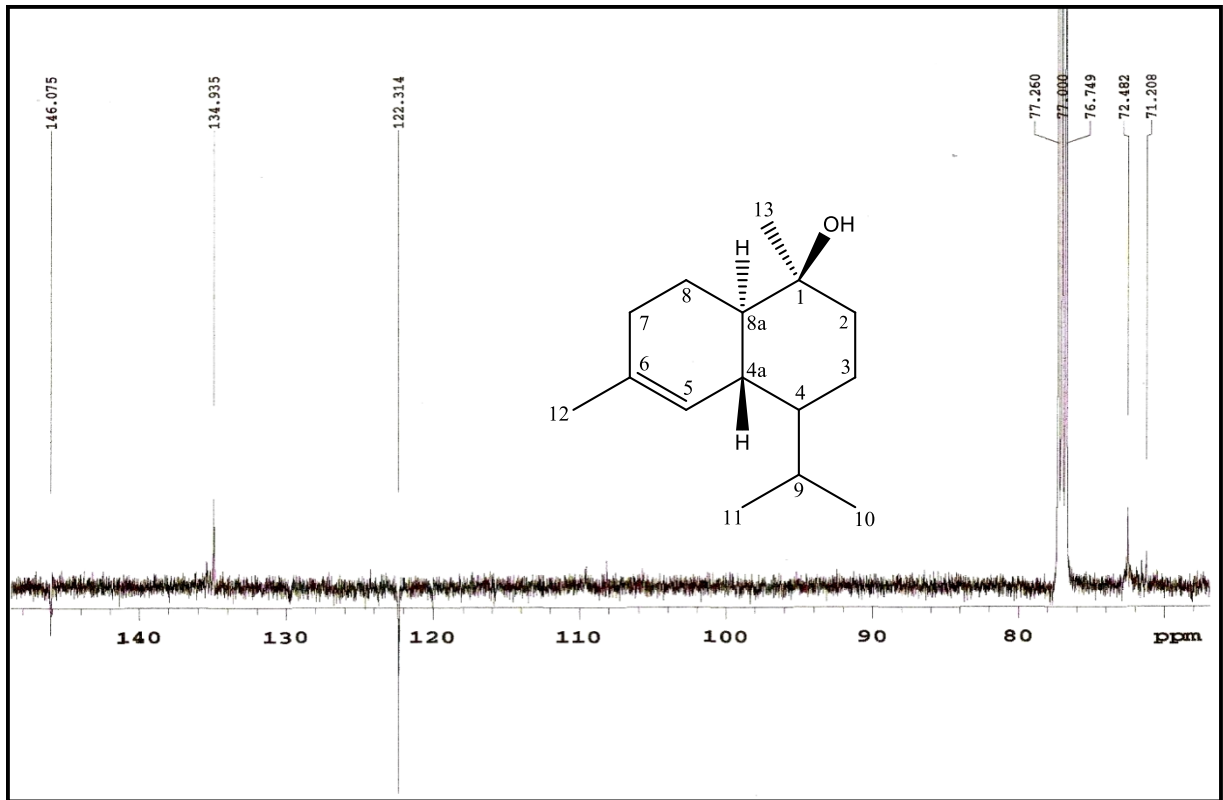
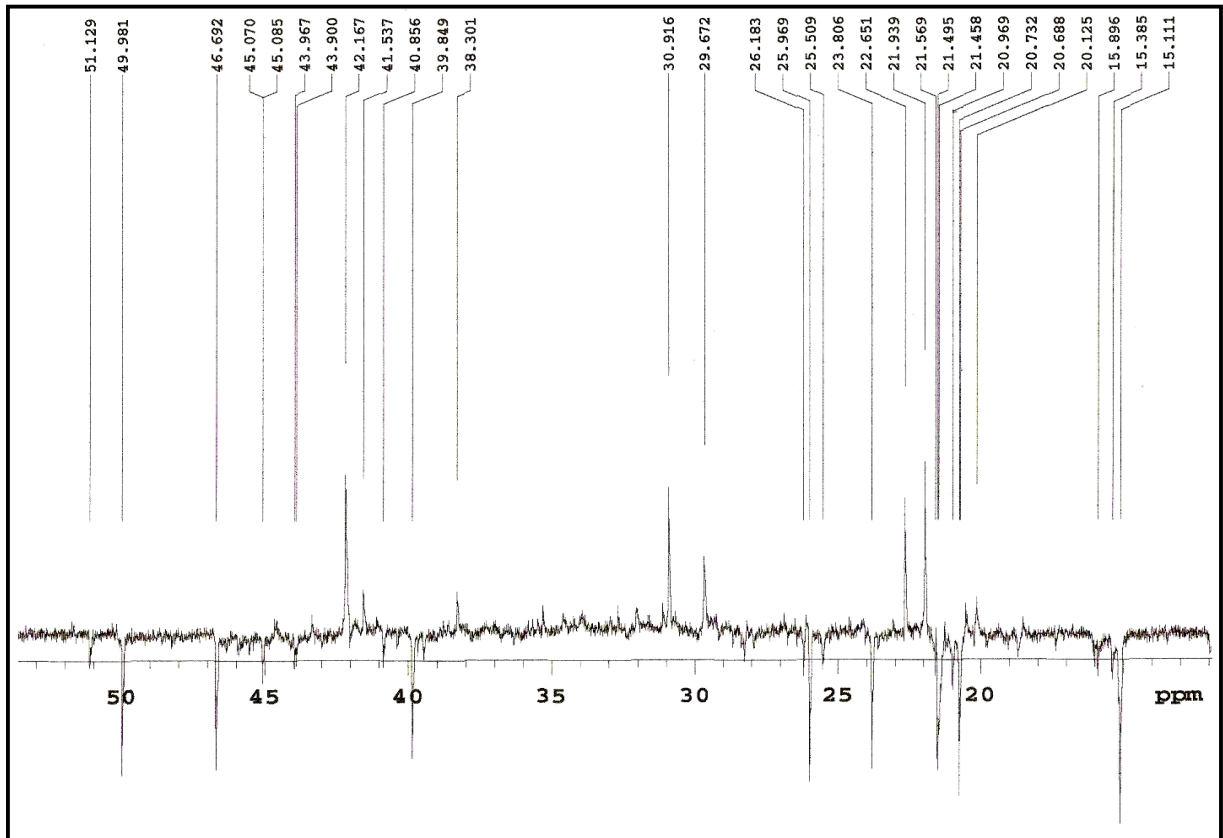


Figura 16. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-2 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 17.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-2 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (70-150 ppm).



**Figura 18.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-2 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (10-55 ppm).

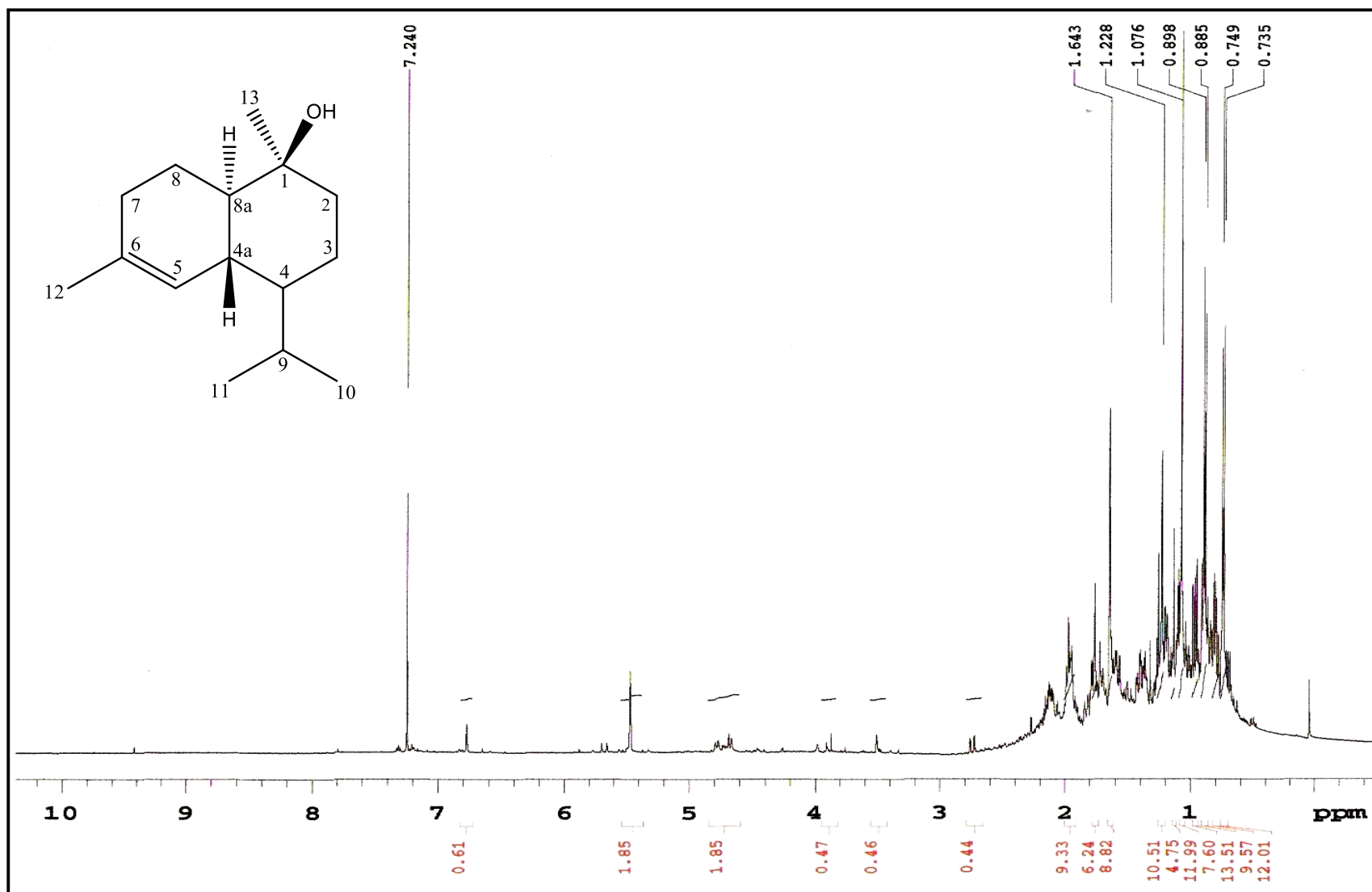
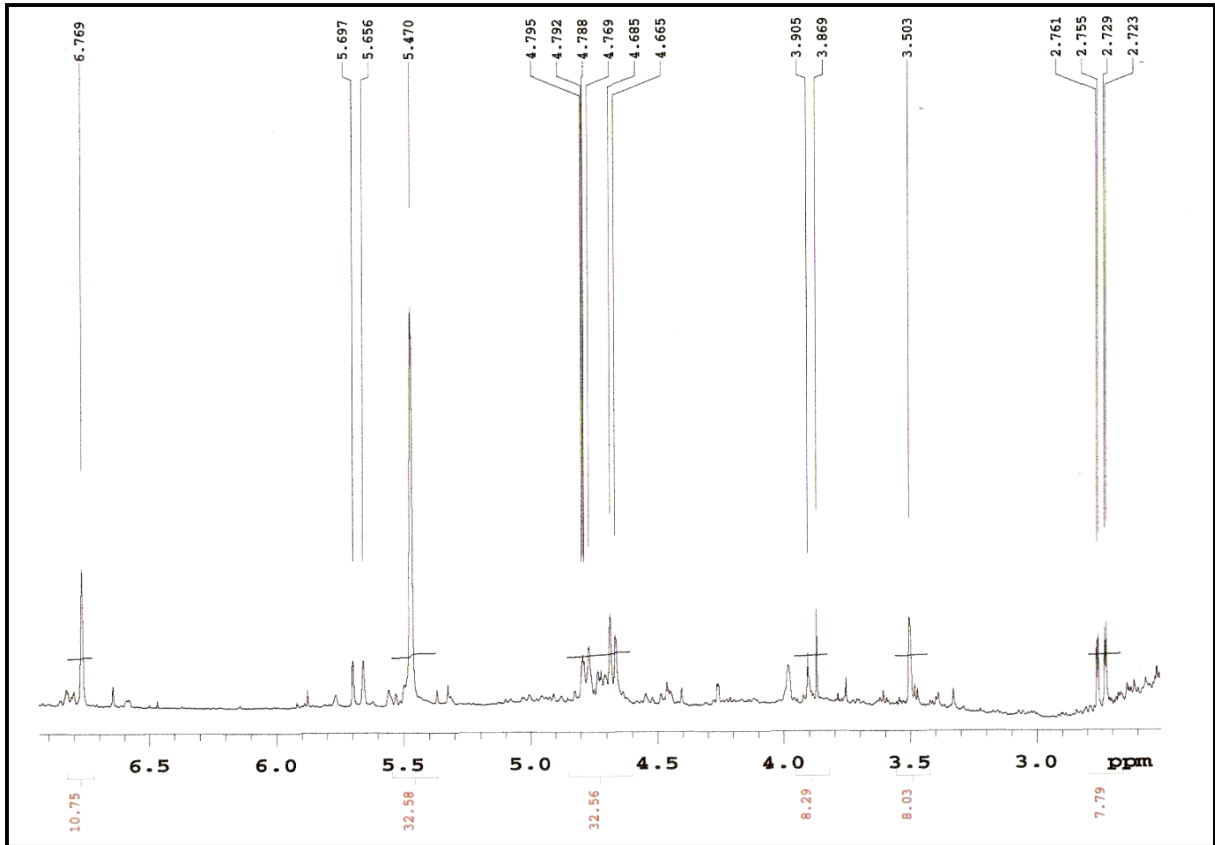
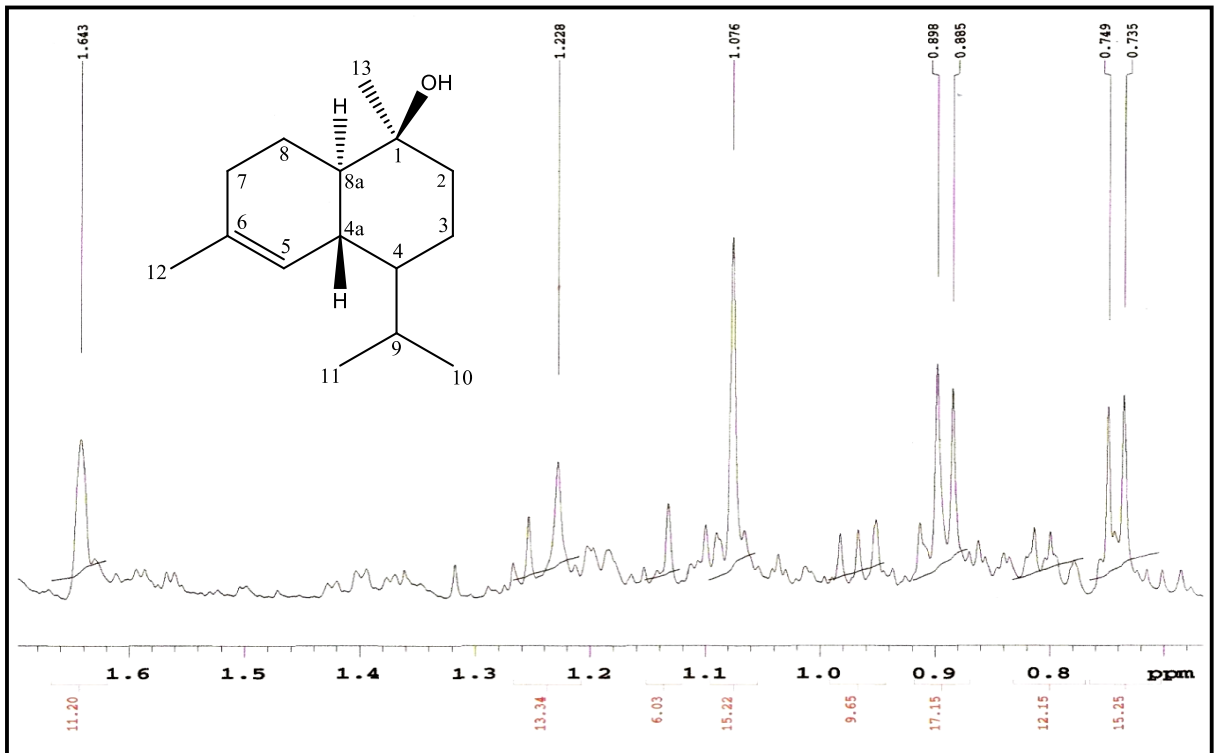


Figura 19. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-2 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



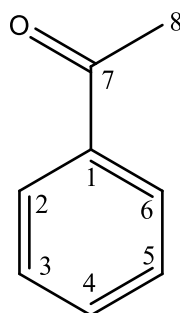
**Figura 20.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-2 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (2,5-7,0 ppm).



**Figura 21.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-2 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (0,5-1,7 ppm).

### 5.3 Determinação estrutural de SAL-3

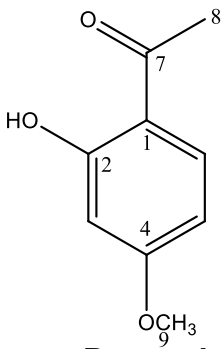
A substância codificada como SAL-3 foi isolada na forma de um óleo verde, solúvel em clorofórmio. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (fig. 22, pág. 70), bem como sua expansão (fig. 23, pág. 71) observou-se a presença de 9 sinais correspondentes a 9 átomos de carbono. Destes, 4 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 3 a carbonos metínicos, 1 a carbono metílico e 1 a carbono metoxílico. Os deslocamentos químicos dos carbonos não hidrogenados em  $\delta_c$  119,4 e 204,0 ppm, dos carbonos metínicos em  $\delta_c$  124,3 e 113,5 ppm, bem como do carbono metoxílico em  $\delta_c$  56,1 ppm sugerem um esqueleto carbônico de composto fenólico do tipo acetofenona.



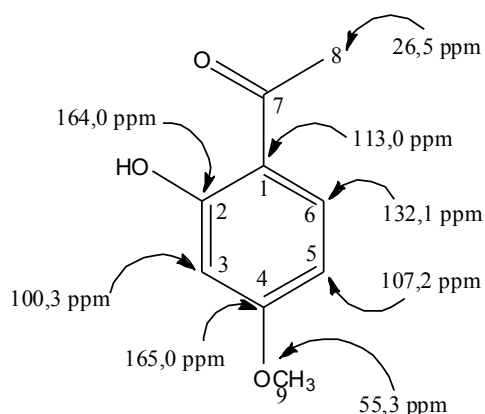
No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (fig. 24, pág. 72), bem como sua expansão (fig. 25, pág. 73) observou-se a presença de 3 singletos:  $\delta_H$  2,60 ppm, referente a metila sobre dupla,  $\delta_H$  3,78 ppm, referente hidrogênio metoxílico e  $\delta_H$  11,82 referente a hidroxila em ponte. Absorção em  $\delta_H$  6,90 ppm (*d*,  $J = 8,8$  Hz) referente-se a hidrogênio acoplado em orto,  $\delta_H$  7,07 ppm (*d*,  $J = 2,8$  Hz) a hidrogênio acoplado em meta e absorção em  $\delta_H$  7,13 ppm (*dd*,  $J_1 = 2,8$  e  $J_2 = 8,6$  Hz) refere-se a hidrogênio acoplado em orto e meta, caracterizando sistema AMX (tabela 9, pág. 69).

Yasuda e colaboradores (1999) descreveram dados semelhantes para um derivado da acetofenona isolado de *Paeonia suffruticosa* Andrews (Paeoniaceae): 2-hidroxi-4-metóxi acetofenona, comumente denominado de Paeonol, cujos dados estão compilados na tabela 8 (pág. 68).

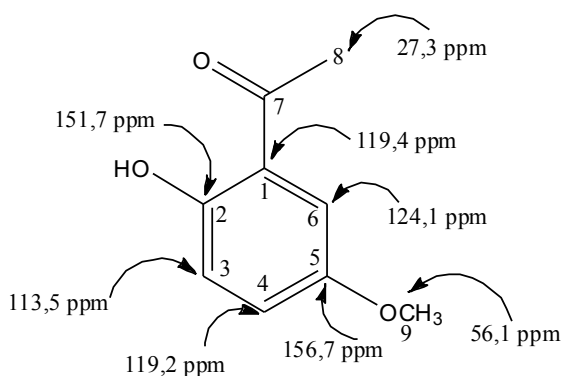
**Tabela 8.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) do Paeonol, obtidos em  $\text{CDCl}_3$

	C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	
 <p><b>Paeonol</b></p>	1	113,0	----	
	2	164,0	----	
	4	165,0	----	
	7	203,0	----	
	<b>CH</b>	3	100,3	6,47 ( <i>d</i> , $J = 2,56$ Hz)
		5	107,2	6,53 ( <i>dd</i> , $J_1 = 2,5$ e $J_2 = 8,9$ Hz)
	6	132,1	7,85 ( <i>d</i> , $J = 8,90$ Hz)	
<b>CH<sub>3</sub></b>	8	26,5	2,56 (s)	
<b>OCH<sub>3</sub></b>	9	55,3	3,82 (s)	

Observa-se que o deslocamento químico do carbono CH-3 em  $\delta_{\text{C}}$  100,3 ppm, orto a duas funções oxigenadas está ausente em **SAL-3**:



**2-hidróxi-4-metóxi-acetofenona**  
(Paeonol)

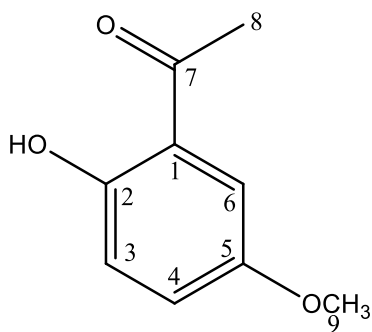


**2-hidróxi-5-metóxi-acetofenona**

Portanto, para atender os dados acima mencionados, e comparados os dados de RMN  $^{13}\text{C}$  obtidos para **SAL-3** com a literatura (YASSUDA, 1999), foi possível identificá-la como sendo 2-hidróxi-5-metóxi-acetofenona.

A substância foi isolada pela primeira vez na família, sendo caracterizada apenas por CG-MS no óleo essencial de espécies de *Boswellia* (Burseraceae) (MOTHANA, 2011).

**Tabela 9.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de SAL-3, obtidos em  $\text{CDCl}_3$ .



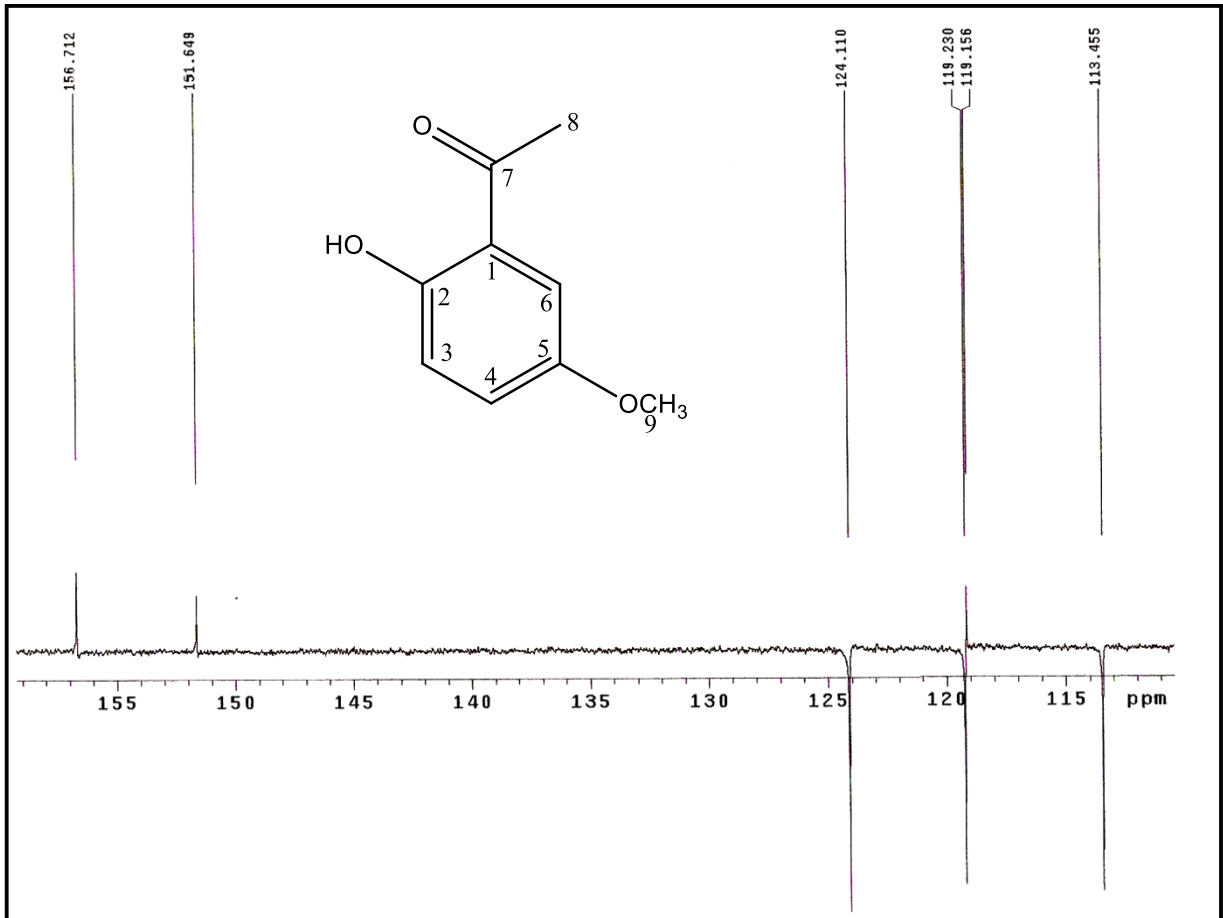
**2-hidróxi-5-metóxi-acetofenona**

<b>C</b>	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$ (YASSUDA et al, 1999)
<b>C</b>			
1	119,4	----	113,0
2	151,7	----	164,0
5	156,7	----	107,2
7	204,0	----	203,0
<b>CH</b>			
3	113,5	6,90 ( <i>d</i> , $J = 8,6$ Hz)	100,3
4	119,2	7,13 ( <i>dd</i> , $J_1 = 2,8$ e $J_2 = 8,6$ )	165,0
6	124,3	7,07 ( <i>d</i> , $J = 2,8$ Hz)	132,1
<b>CH<sub>3</sub></b>			
8	27,3	2,60 ( <i>s</i> )	26,5
<b>OCH<sub>3</sub></b>			
9	56,1	3,78 ( <i>s</i> )	55,3



Figura 22. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-3 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).





**Figura 23.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-3 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (110-160 ppm).

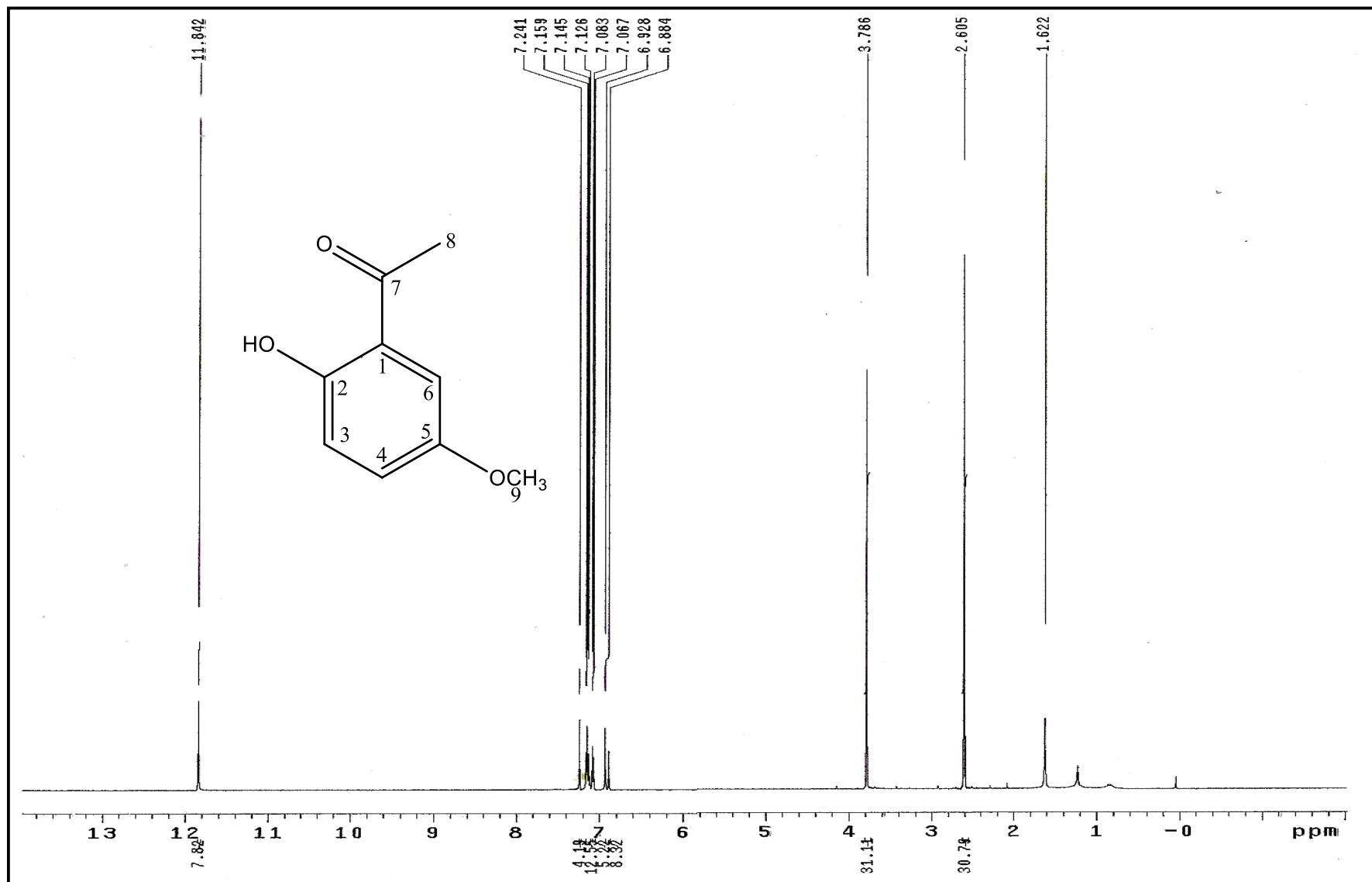
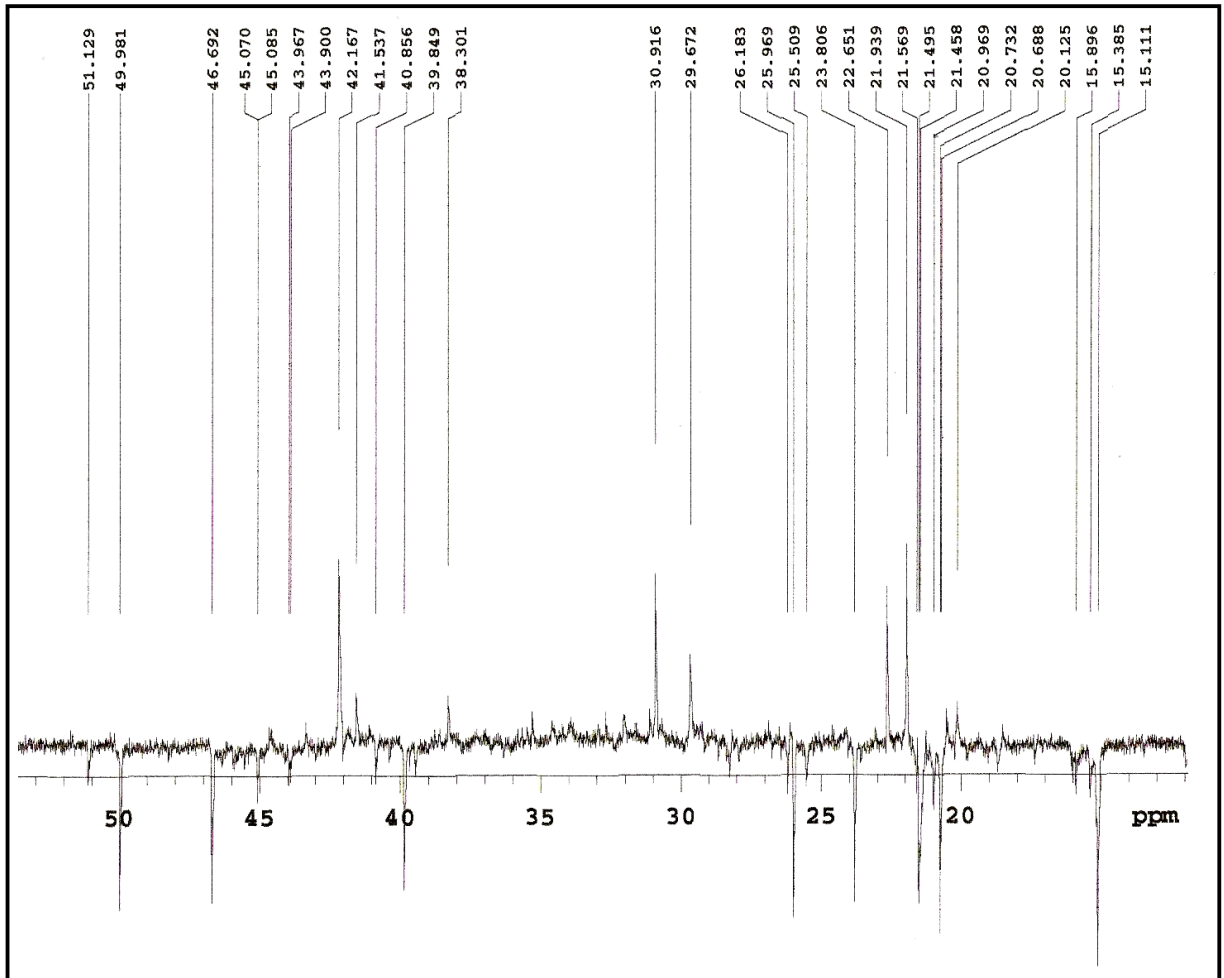
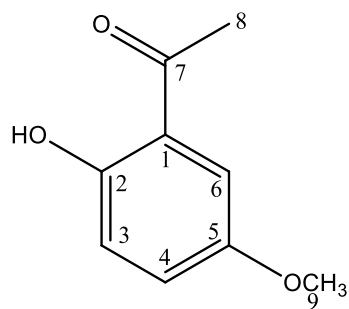


Figura 24. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-3 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



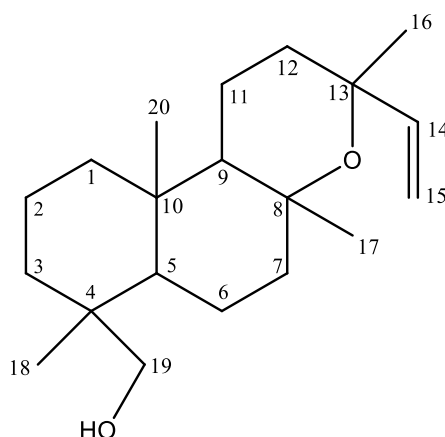
**Figura 25.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-3 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (10-55 ppm).



#### 5.4 Determinação estrutural de SAL-4

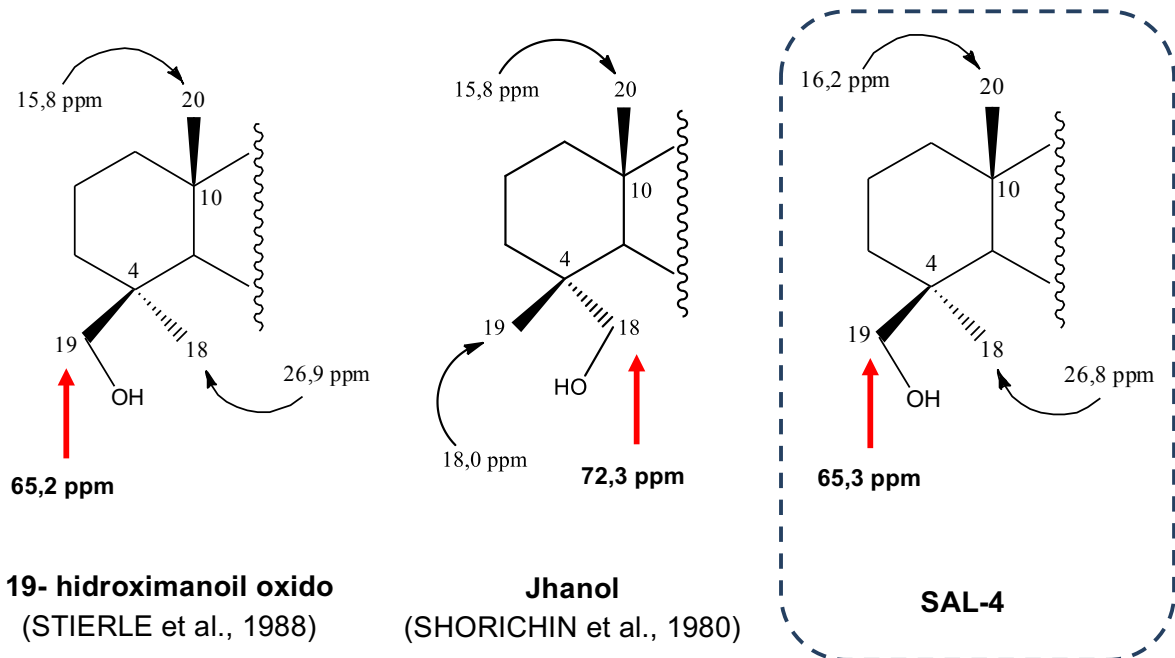
A substância codificada como **SAL-4** foi isolada na forma de um sólido branco cristalino, solúvel em clorofórmio e apresentou ponto de fusão 85-87°C. O espectro de IV obtido em pastilhas de KBr mostrou absorção em  $3417\text{ cm}^{-1}$ , característico de grupo estiramento O-H, sendo reforçado pelo estiramento C-O em  $1095\text{ cm}^{-1}$ . (fig. 26, pág. 81).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (fig. 27, pág. 82), bem como suas expansões (fig. 28 e 29, pág. 83) observou-se a presença de 20 sinais correspondentes a 20 átomos de carbono. Destes, 4 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 3 a carbonos metínicos, 9 a carbonos metilênicos e 4 a carbonos metílicos. Os deslocamentos químicos em  $\delta_{\text{C}}$  55,7 ppm, 74,8 ppm, 58,6 ppm e 73,2 ppm comparados com dados da literatura (ANJANEYULU; RAO, 2000) sugeriram os sinais referentes aos carbonos CH-5, CH-9, CH-8 e C-13 de diterpenos labdanos derivados do óxido de manoil. Os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  32,7 ppm, 23,7 ppm, 26,8 ppm e 16,2 ppm correspondem às metilas deste esqueleto e o deslocamento em  $\delta_{\text{C}}$  65,2 ppm sugeriu oxidação em C-19, inferindo a presença de uma hidroxila referente a álcool primário.

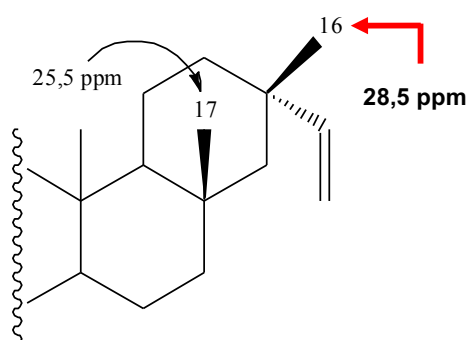


A estereoquímica relativa do centro quiral C-4 pôde ser determinada por comparação com a literatura através do valor do deslocamento químico do carbono hidroxilado ( $\text{CH}_2\text{OH}$ -19). Quando este apresenta configuração *cis* com a metila  $\text{CH}_3$ -20, seu deslocamento é de  $\delta_{\text{C}}$  65,2 ppm, aproximadamente. Em contrapartida, quando o carbono hidroxilado guarda configuração *trans* com a mesma metila, o deslocamento aumenta cerca de 6 ppm, absorvendo em torno  $\delta_{\text{C}}$  72,3 ppm

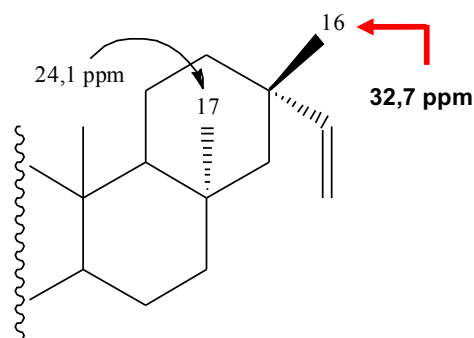
(STIERLE, 1988; SHOLICHIN, 1980). Dessa forma, com base na absorção do carbono 19 de SAL-4 em  $\delta_C$  65,3 ppm foi possível inferir a presença do carbono 19 hidroxilado ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ) em configuração *cis* à metila  $\text{CH}_3\text{-20}$ .



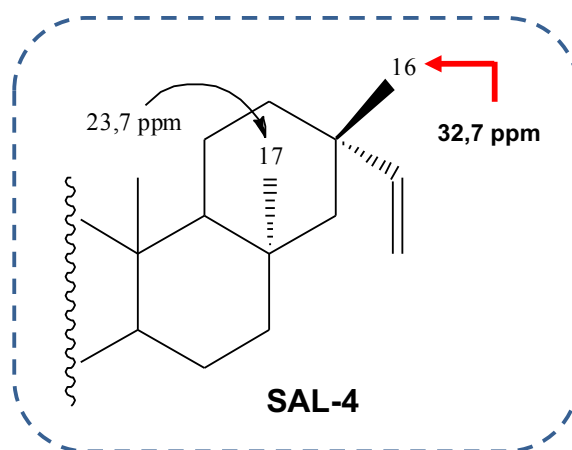
De acordo com a literatura (SEZI, 1985; STIERLE, 1988; SHORICHIN, 1980), em diterpenos derivados do óxido de manoil, as metilas  $\text{CH}_3\text{-16}$  e  $\text{CH}_3\text{-17}$  guardam uma relação estereoquímica. Quando estão em configuração *cis* entre si, a metila  $\text{CH}_3\text{-16}$  absorve em  $\delta_C$  32,7 ppm aproximadamente, e quando estão em configuração *trans*, o deslocamento da mesma metila diminui, absorvendo em torno de  $\delta_C$  28,2 ppm. Sendo assim, a partir do deslocamento de  $\text{CH}_3\text{-16}$  de SAL-4 em  $\delta_C$  32,7 ppm exatamente, foi possível deduzir que as metilas  $\text{CH}_3\text{-16}$  e  $\text{CH}_3\text{-17}$  apresentavam configuração *trans* entre si.



**19- hidroximanoil oxido**  
(STIERLE et al., 1988)



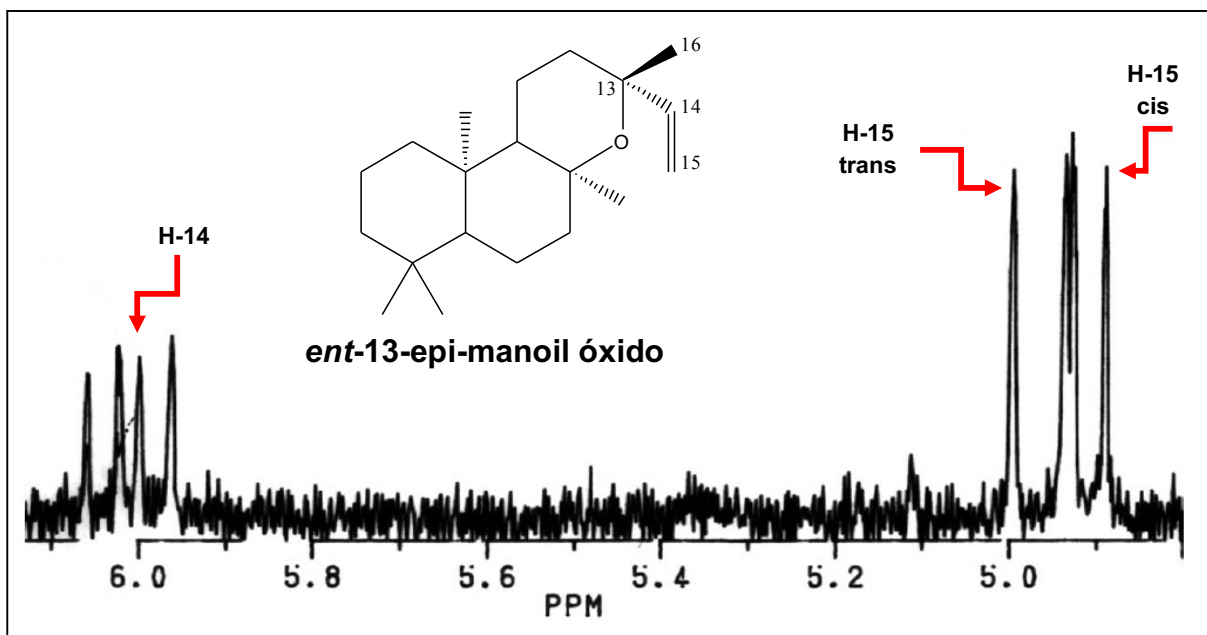
**Ribenol**  
(FAZIO et al., 1994)



No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (fig. 30, pág. 84), bem como suas expansões (fig. 31 e 32, pág 85; fig. 33, pág. 86) observou-se um envelope de sinais na região de  $\delta_{\text{H}}$  0,70 a 1,76 ppm com multiplicidades resolvidas e não resolvidas. Constatou-se a presença de quatro singletos em  $\delta_{\text{H}}$  1,18 ppm, 1,11 ppm, 0,94 ppm e 0,70 ppm correspondentes a quatro metilas. Verificou-se ainda um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  3,42 ppm (*d*,  $J = 11$  Hz) e 3,65 ppm (*d*,  $J = 10,5$  Hz) atribuídos a H-19, além de sinais em  $\delta_{\text{H}}$  5,99 ppm (*dd*,  $J_1 = 11,0$  Hz e  $J_2 = 18,0$  Hz) atribuído a H-14, e  $\delta_{\text{H}}$  4,90 ppm (*dd*,  $J = 11,0$  Hz, 1,00 Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  4,96 ppm (*d*,  $J = 18,0$  Hz) atribuídos a H-15. As demais multiplicidades estão compiladas na tabela 10 (pág. 80).

A partir dos dados de RMN de  $^1\text{H}$  de H-14 e H-15 foi possível definir a estereoquímica relativa do centro quiral C-13. Segundo Demetzos e colaboradores (2002) os prótons H-14, H-15 *cis* e H-15 *trans* do *ent*-13-epi-manoil óxido aparecem como duplo dubletos com deslocamentos químicos em  $\delta_{\text{H}}$  6,00 ppm, 4,90 ppm e

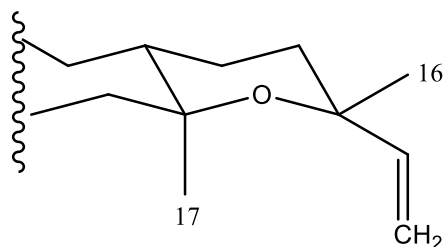
4,95 ppm, respectivamente, tendo como constantes de acoplamento  $J_1 = 11,1\text{Hz}$  e  $J_2 = 18,0\text{ Hz}$ .



(DEMETZOS et al., 2002).

Dessa forma, a partir dos deslocamentos dos prótons H-14 ( $\delta_{\text{H}}$  5,99 ppm) e H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  4,90 ppm e 4,96 ppm) de SAL-4, bem como suas constantes de acoplamentos ( $J_1 = 11,0\text{ Hz}$  e  $J_2 = 18,0\text{ Hz}$ ) foi possível inferir que o centro quiral C-13 de SAL-4 apresentava a mesma estereoquímica que o *ent*-13-epi-manoil óxido.

Apresentando a metila  $\text{CH}_3$ -16 configuração axial e baseado no deslocamento da mesma no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -APT em  $\delta_{\text{C}}$  32,7 ppm referente à configuração *trans* com a metila  $\text{CH}_3$ -17, foi possível inferir que esta metila figurava-se na forma equatorial na molécula.



No espectro de correlação  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – gHMQC (500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (fig. 34, pág. 87), bem como suas expansões (fig. 35 e 36, pág. 88; fig. 37 e 38, pág. 89), pôde-se verificar correlações diretas entre os prótons em  $\delta_{\text{H}}$  1,11 ppm e 1,18 ppm

com os carbonos em  $\delta_C$  57,1 ppm e 58,6 ppm (C-5 e C-9, respectivamente) e dos prótons em  $\delta_H$  5,96 ppm e 6,0 ppm com o carbono em  $\delta_C$  147,6 ppm (C-14). Deslocamentos químicos em  $\delta_H$  1,11 ppm, 1,18 ppm, 0,94 ppm e 0,70 ppm mostraram correlação com  $\delta_C$  32,7 ppm, 23,7 ppm, 26,8 ppm e 16,2 ppm (referentes a CH<sub>3</sub>-16, CH<sub>3</sub>-17, CH<sub>3</sub>-18 e CH<sub>3</sub>-20, respectivamente). As demais correlações estão compiladas na tabela 10 (pág 80).

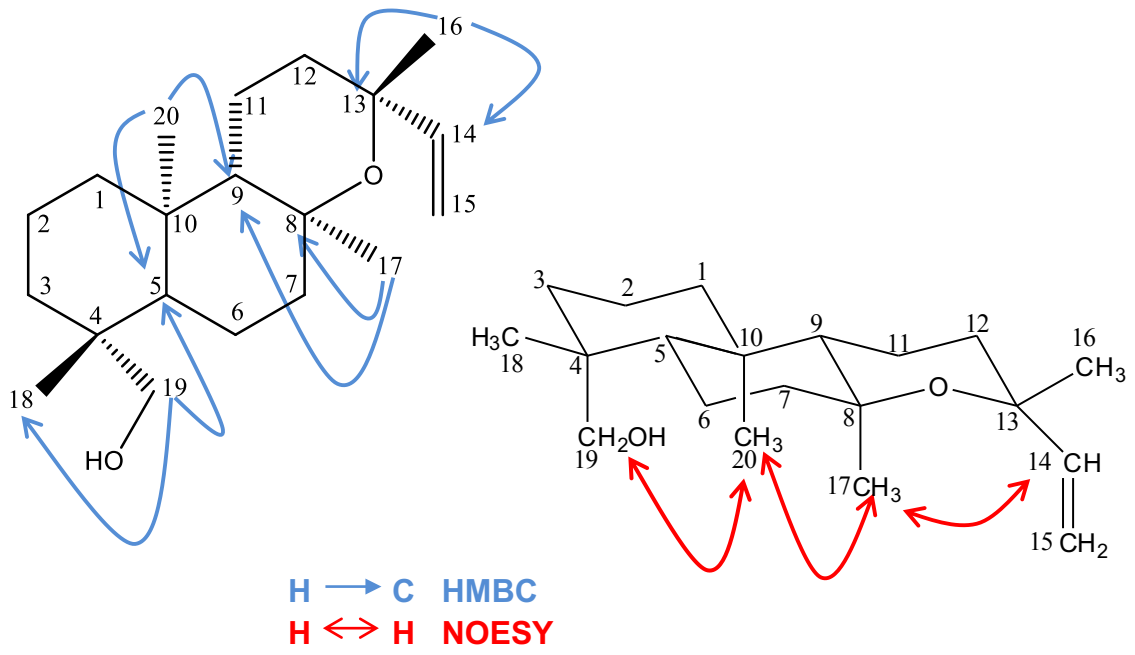
A partir do espectro de correlação  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – gHMBC (500 e 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (fig. 39, pág 90) e suas expansões (fig. 40 e 41, pág. 91), foi possível observar correlação do próton em  $\delta_H$  0,70 ppm (CH<sub>3</sub>-20), com os carbonos em  $\delta_C$  57,1 ppm e 58,6 ppm, atribuídos a CH-5 e CH-9, respectivamente. Os prótons em  $\delta_H$  3,42 ppm e 3,65 ppm, (CH<sub>2</sub>OH-19), mostraram correlação com os carbonos em  $\delta_C$  57,1 ppm e 65,3 ppm, atribuídos a C-5 e CH<sub>3</sub>-18, respectivamente. O próton em  $\delta_H$  1,18 ppm (CH<sub>3</sub>-17) apresentou correlação com carbonos em  $\delta_C$  75,8 ppm e 58,6 ppm, atribuídos a C-8 e CH-9, respectivamente, e próton em  $\delta_H$  1,11 ppm (CH<sub>3</sub>-16) exibiu correlação com carbono em  $\delta_C$  73,3 ppm, atribuído a C-13 e com o carbono em  $\delta_C$  147,6 ppm, atribuído a CH-14.

No espectro de correlação  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – gCOSY (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (fig. 42, pág 92), bem como suas expansões (fig. 43 e 44, pág. 93; fig. 45 e 46, pág. 94) observou-se a correlação dos prótons em  $\delta_H$  5,99 ppm (H-14) e 4,89 ppm e 4,93 ppm (H-15), confirmando o sistema vinílico. Observou-se também correlação entre os prótons  $\delta_H$  3,42 ppm e 3,65 ppm, confirmando CH<sub>2</sub>OH-19.

No espectro de correlação  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  – gNOESY (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (fig. 47, pág. 95), bem como suas expansões (fig. 48 e 49, pág. 96) foi possível verificar correlação do sinal em  $\delta_H$  1,18 ppm com o sinal em  $\delta_H$  0,70 ppm, correspondentes aos hidrogênios H-17 e H-20, respectivamente. Dessa forma, foi possível inferir que as metilas CH<sub>3</sub>-17 e CH<sub>3</sub>-20 apresentavam configuração *cis* entre si.

Como a metila CH<sub>3</sub>-20 e o carbono hidroxilado CH<sub>2</sub>OH-19 apresentaram configuração *cis* pelo valor do deslocamento deste carbono em  $\delta_C$  65,3 ppm no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , como dito anteriormente, a molécula pôde ser definida como *ent*-13-*epi*-19-hidroxi manoil óxido.





**Tabela 10.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de SAL-3 e correlações obtidas em HMQC, HMBC, COSY e NOESY, registrados em  $\text{CDCl}_3$ .

	HMQC		HMBC	COSY	NOESY	(a)
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$				
<b>C</b>						
4	38,5	-	-			38,7
8	75,8	-	-			76,1
10	36,7	-	-			36,8
13	73,3	-	-			73,4
<b>CH</b>						
5	57,1	1,11 ( <i>m</i> )	C-19, C-20			57,2
9	58,6	1,18 ( <i>m</i> )	C-17, C-20			58,7
14	147,6	5,99 ( <i>dd</i> , $J_1 = 11,0$ Hz; $J_2 = 18,0$ Hz)	-	2 H-15		147,7
<b>CH<sub>2</sub></b>						
1	39,4	0,94; 1,64 ( <i>m</i> )	C-20			39,5
2	18,2	1,43; 1,53 ( <i>m</i> )	-			18,3
3	35,8	0,94; 0,70 ( <i>m</i> )	C-18			35,9
6	20,1	1,30; 1,70 ( <i>m</i> )	-			20,3
7	43,4	1,32; 1,75 ( <i>m</i> )	C-17			43,5
11	16,0	0,70; 1,43 ( <i>m</i> )	-			16,1
12	34,8	1,43; 2,20 ( <i>m</i> )	C-16	H-11, H-12		34,9
15	109,5	4,89 ( $J = 18,0$ Hz); 4,93 ( $J_1 = 11,0$ Hz; $J_2 = 1,0$ Hz)	-			109,7
19	65,3	3,42 ( <i>d</i> , $J = 11,0$ Hz); 3,65 ( <i>d</i> , $J = 10,5$ Hz)	C-18	H-19	H-20	65,4
<b>CH<sub>3</sub></b>						
16	32,7	1,11 ( <i>s</i> )	C-14, C-12, C-13			32,8
17	23,7	1,18 ( <i>s</i> )	C-8, C-7, C-9		H-20, H-14	23,9
18	26,8	0,94 ( <i>s</i> )	C-3, C-4, C-5, C-19			27,0
20	16,2	0,70 ( <i>s</i> )	C-1, C-5, C-9, C-10			16,3

(a) FRAGA et al., 1989

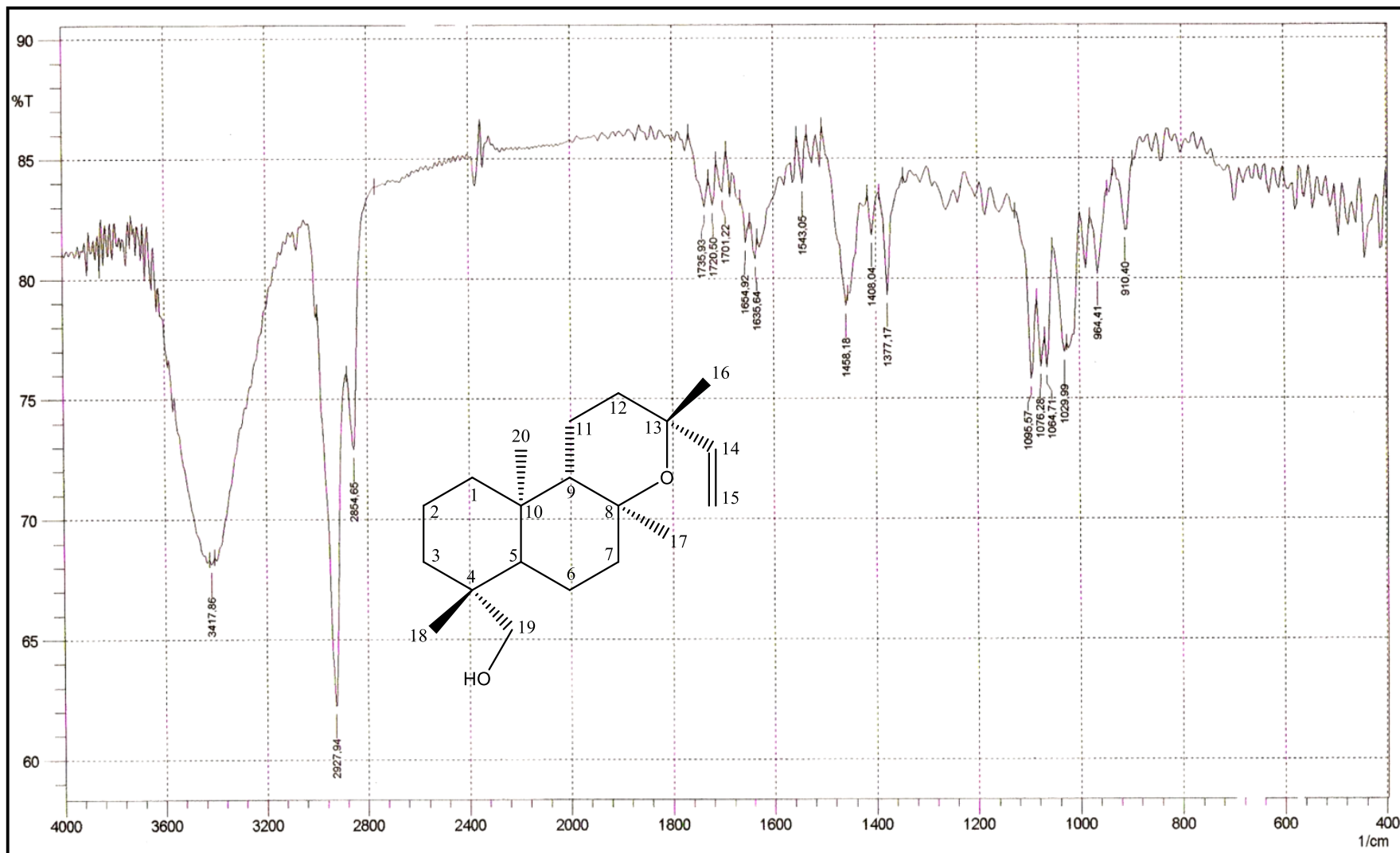


Figura 26. Espectro de IV de SAL-4, obtido em pastilha de KBr.

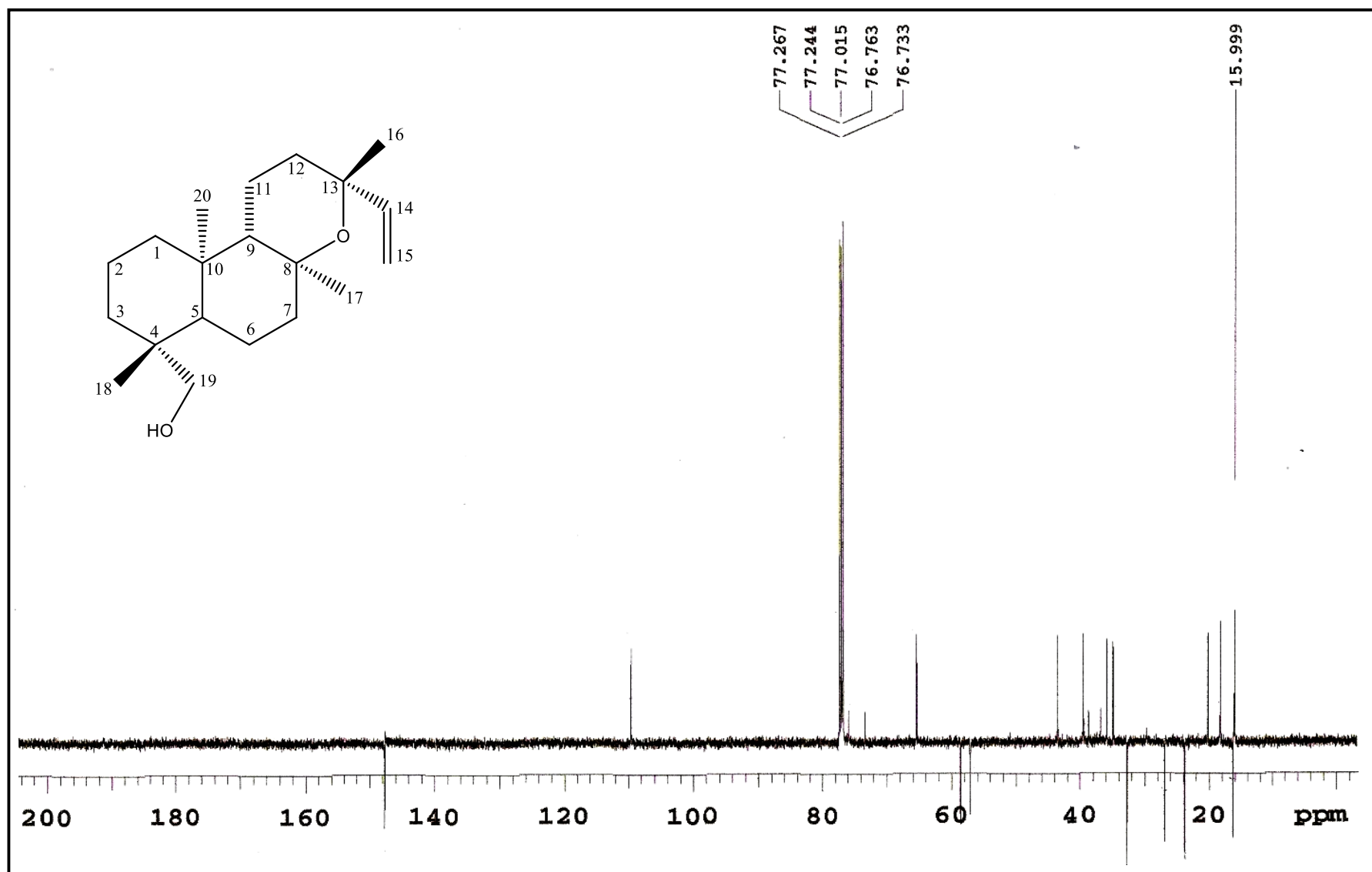


Figura 27. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-4 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

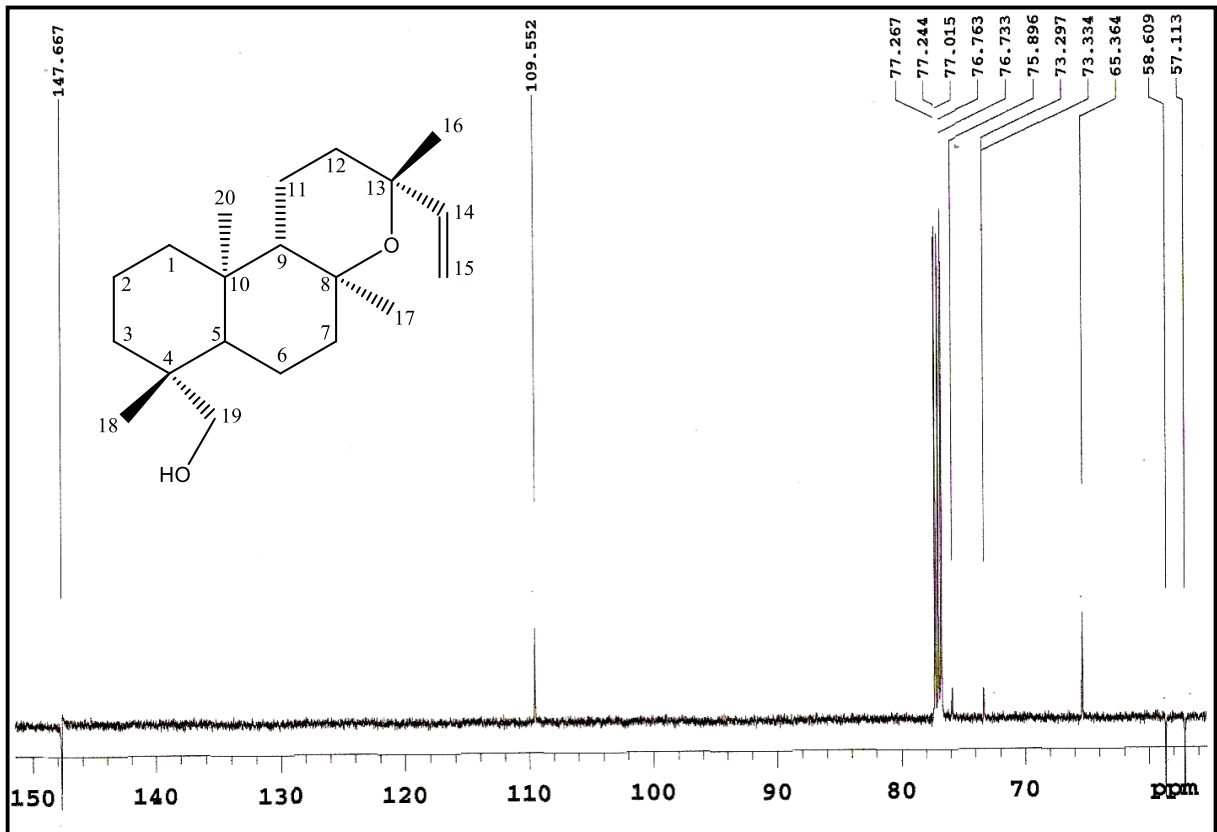


Figura 28. Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-4 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (55-150 ppm).

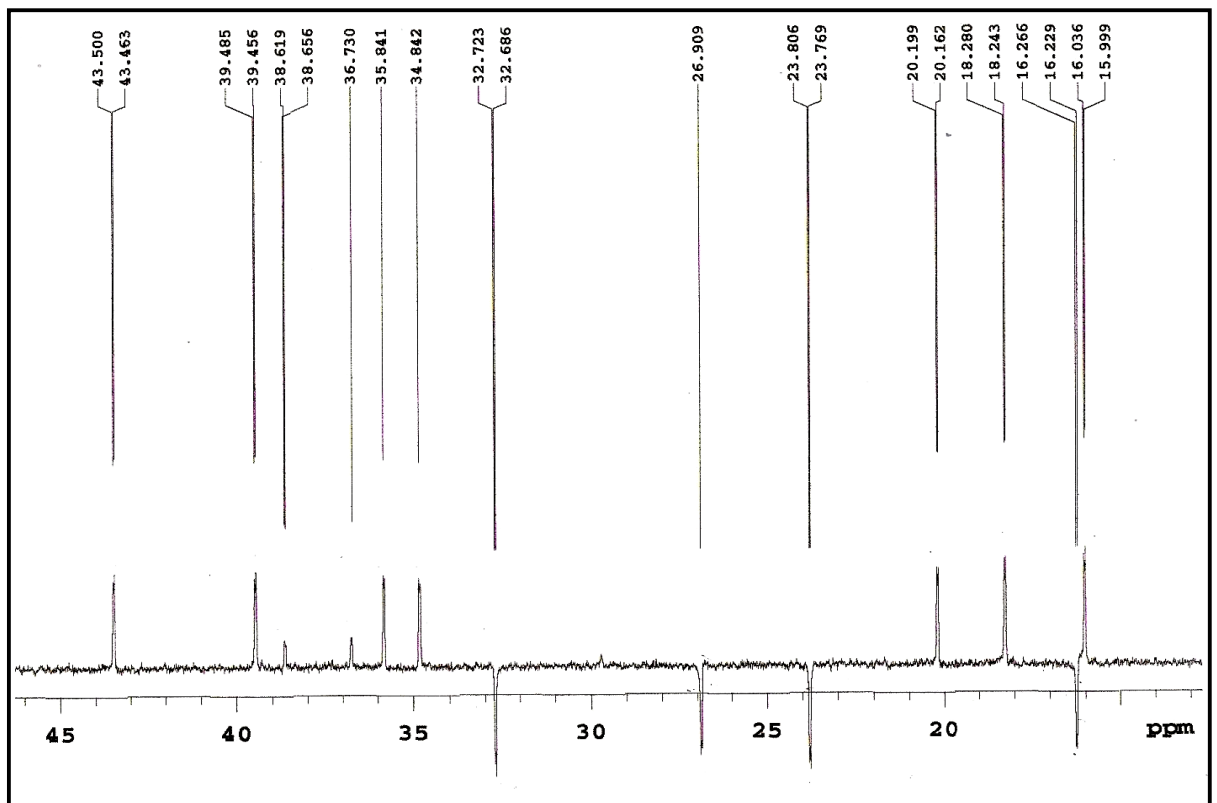


Figura 29. Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-4 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (10-45 ppm).

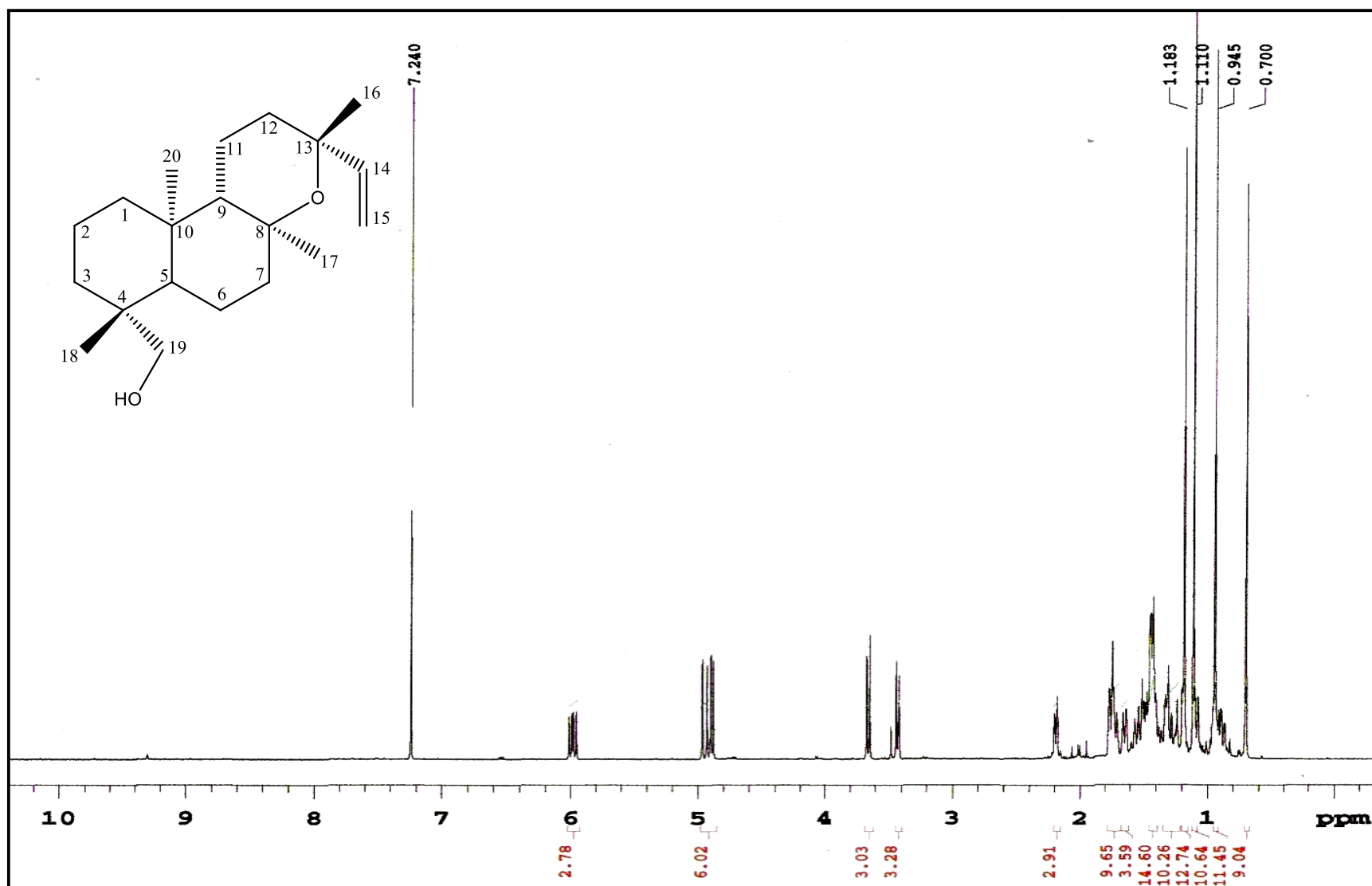
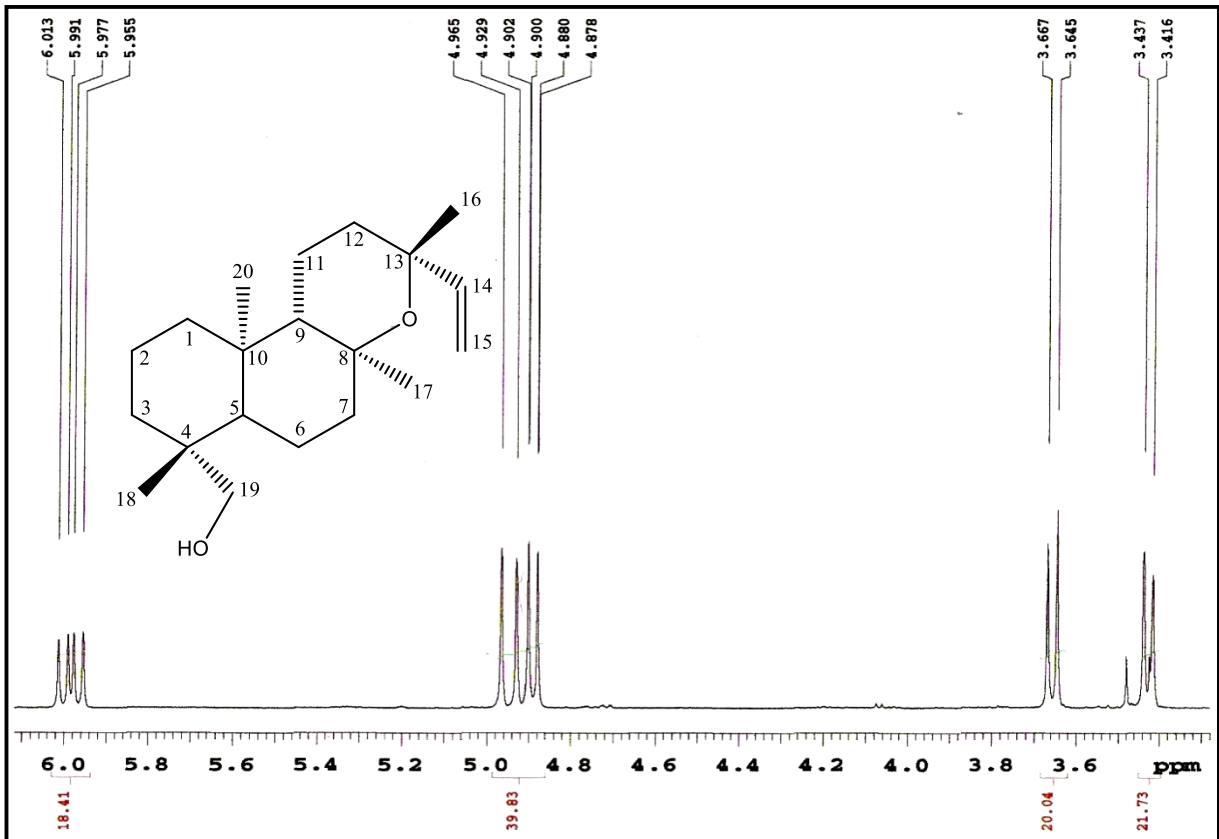
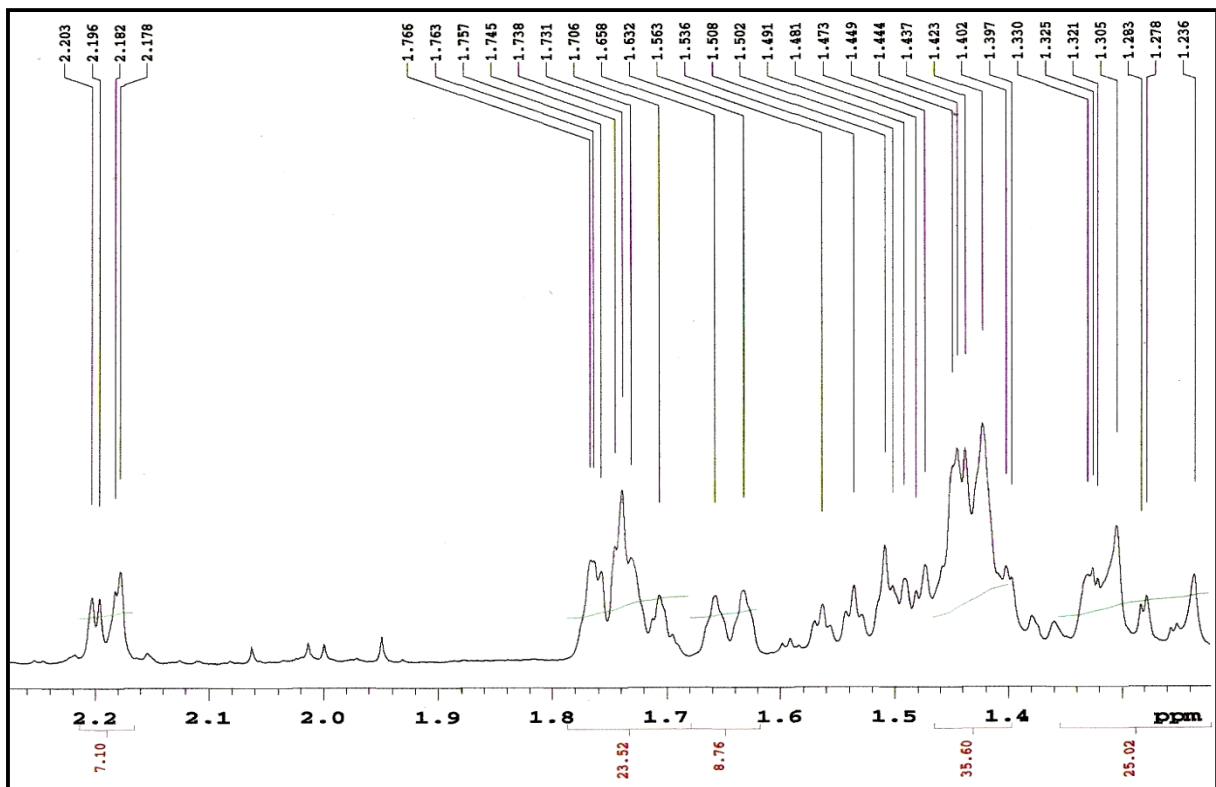


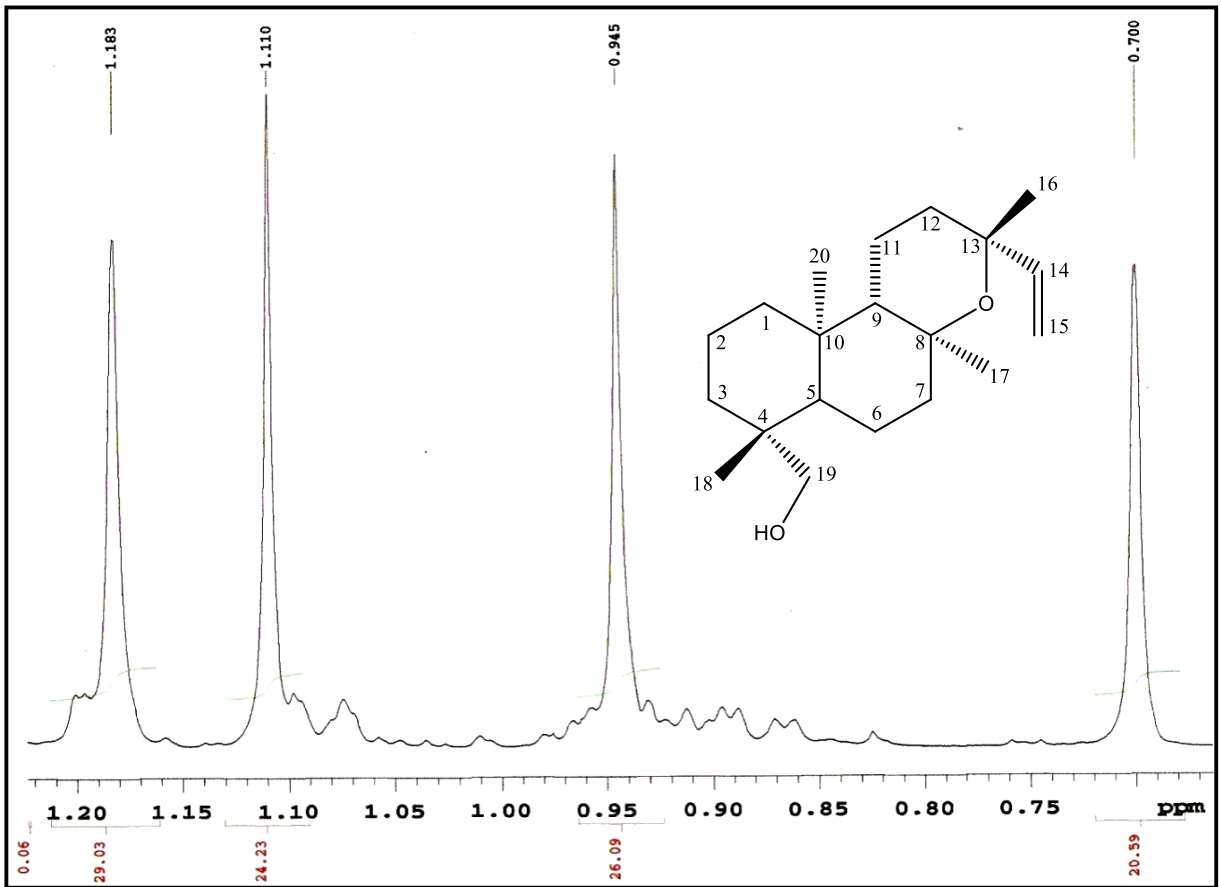
Figura 30. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-4 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 31.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-4 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (3,0-6,0 ppm).



**Figura 32.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-4 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (1,0-2,2 ppm).



**Figura 33.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-4 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (0,5-1,2 ppm).



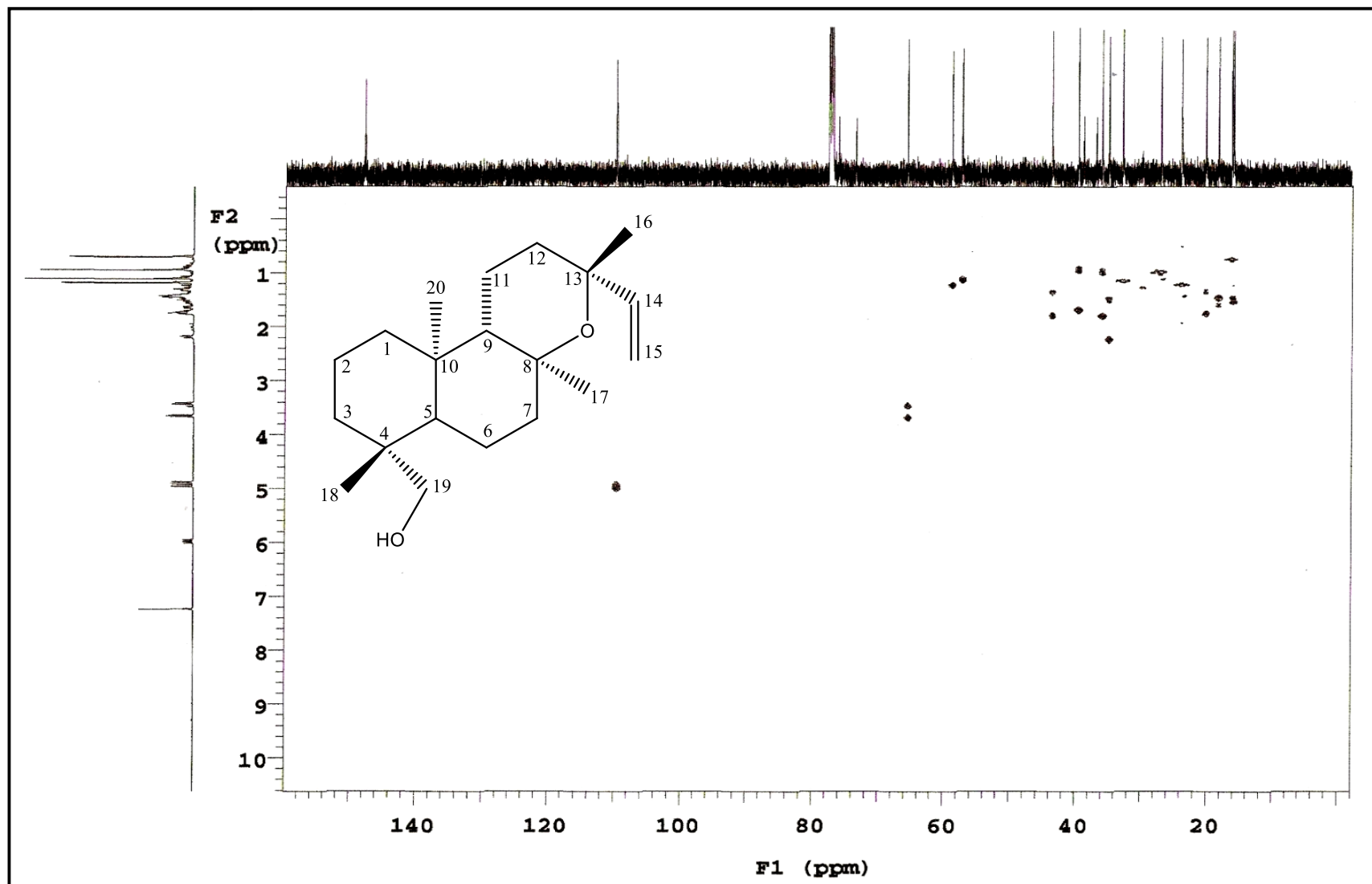
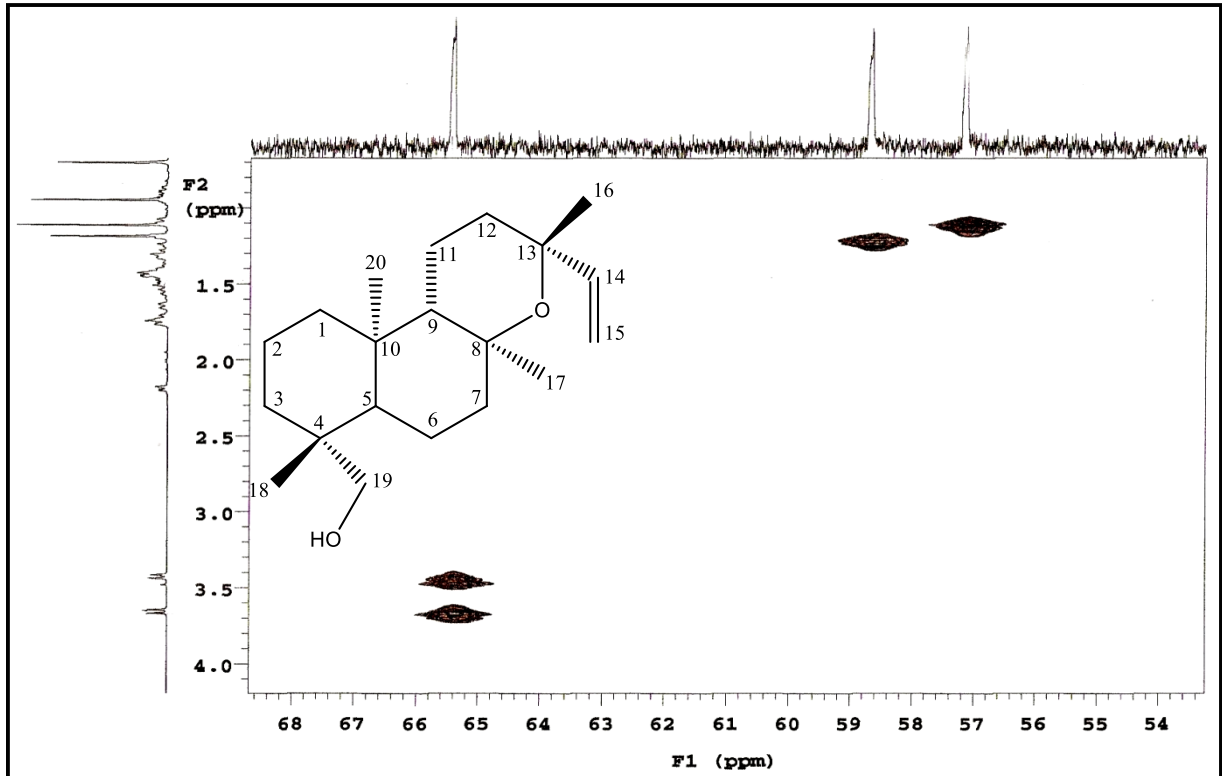
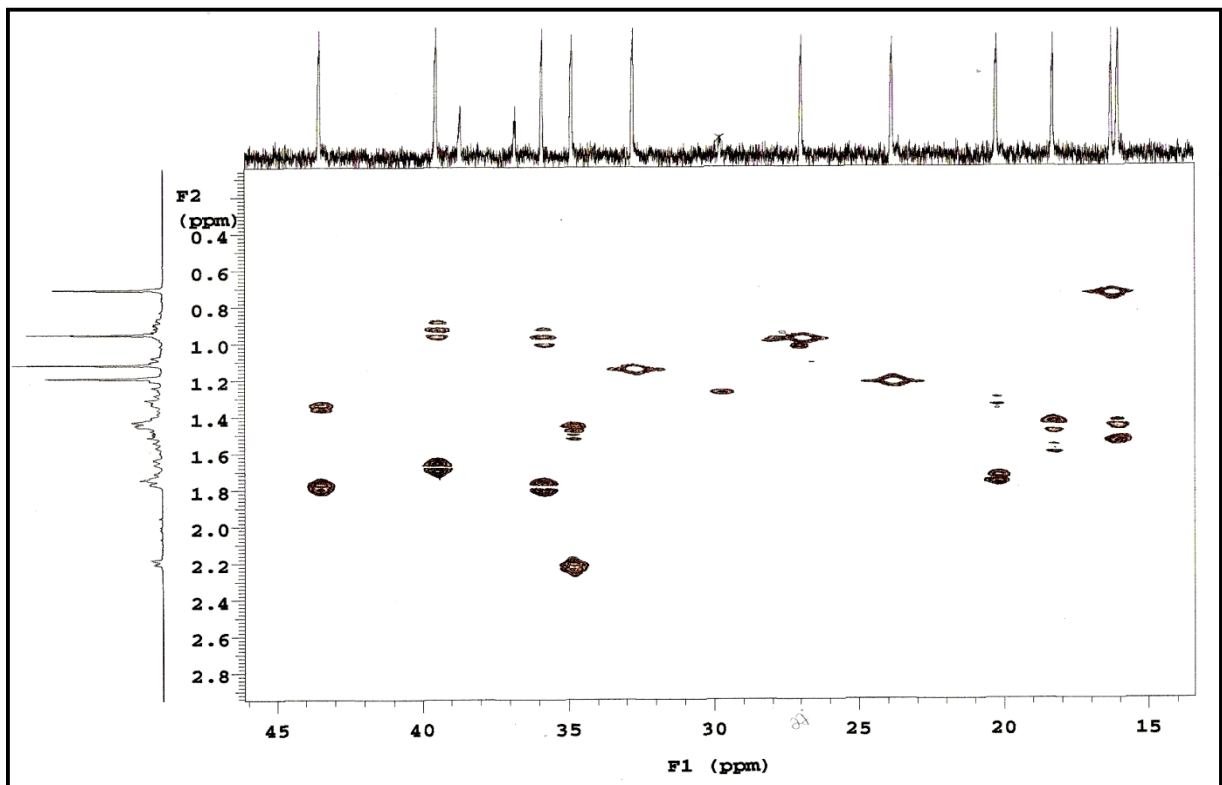


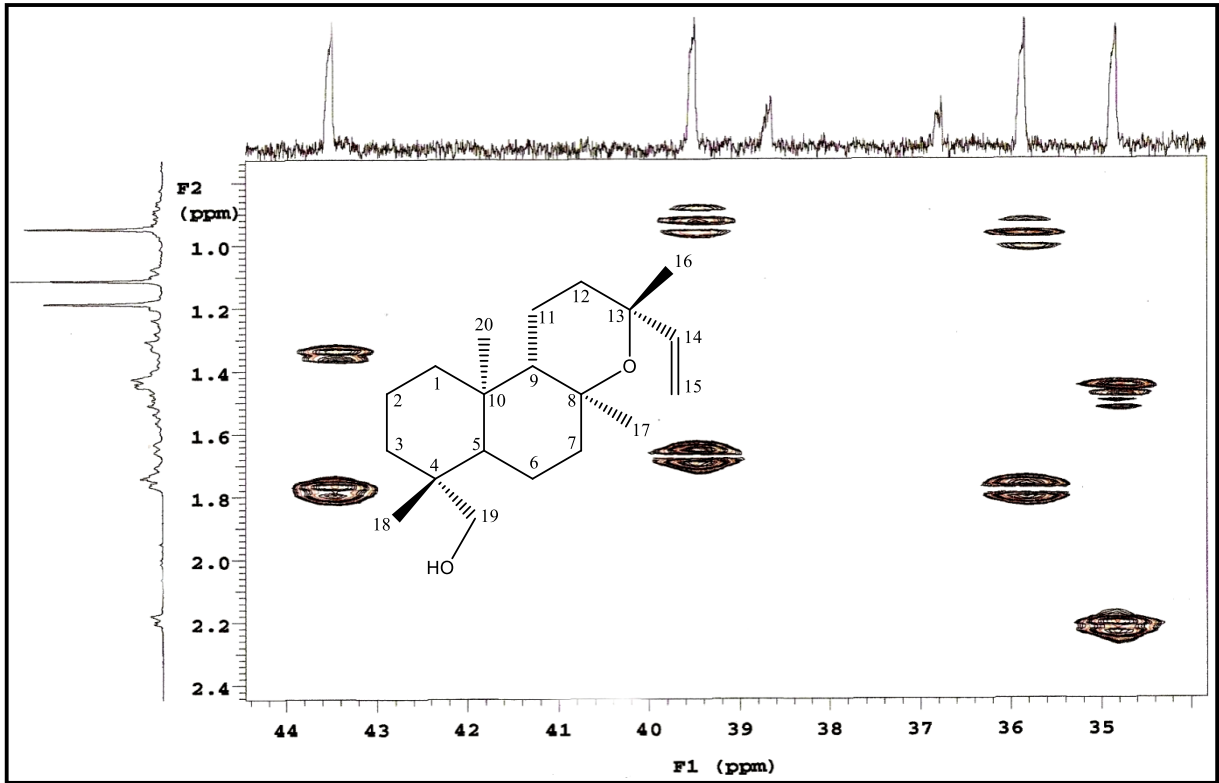
Figura 34. Espectro de correlação gHMBC de SAL-4 (500 e 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



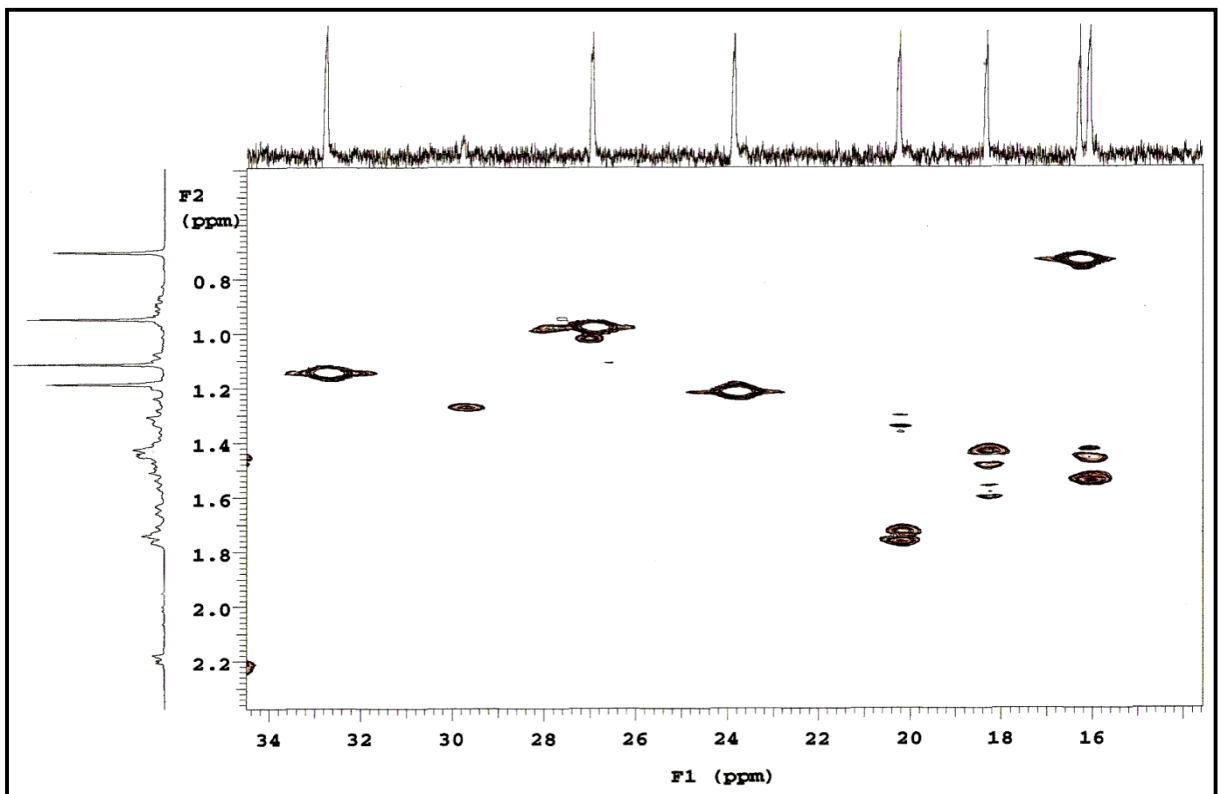
**Figura 35.** Expansão do espectro de correlação gHMQC de SAL-4 (500 e 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (54-68/ 1,0-4,0 ppm).



**Figura 36.** Expansão do espectro de correlação gHMQC de SAL-4 (500 e 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (15-45/ 0-2,8 ppm).



**Figura 37.** Expansão do espectro de correlação gHMQC de SAL-4 (500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (35-44/ 0-2,4 ppm).



**Figura 38.** Expansão do espectro de correlação gHMQC de SAL-4 (500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (16-34/ 0-2,2 ppm).

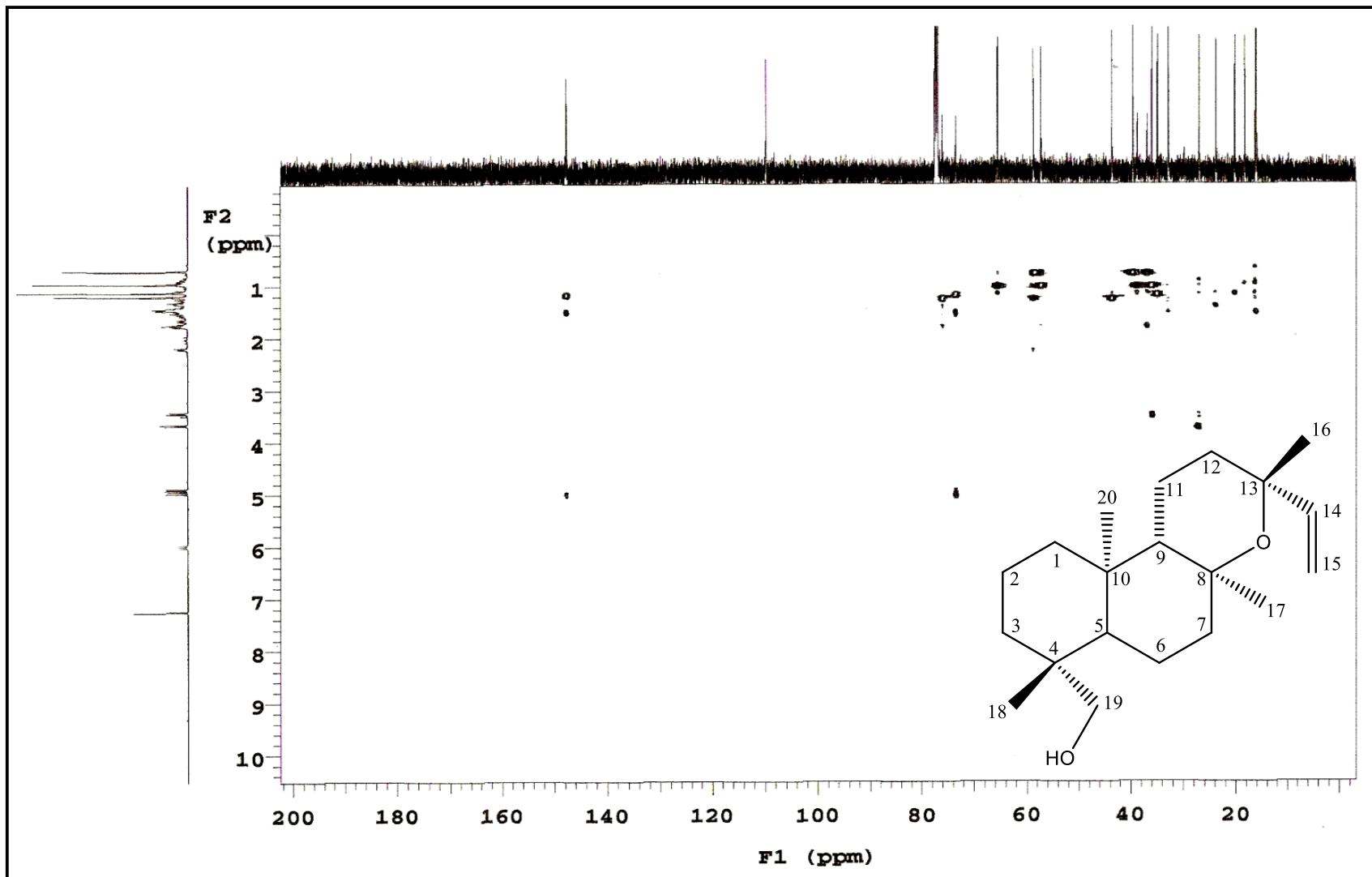
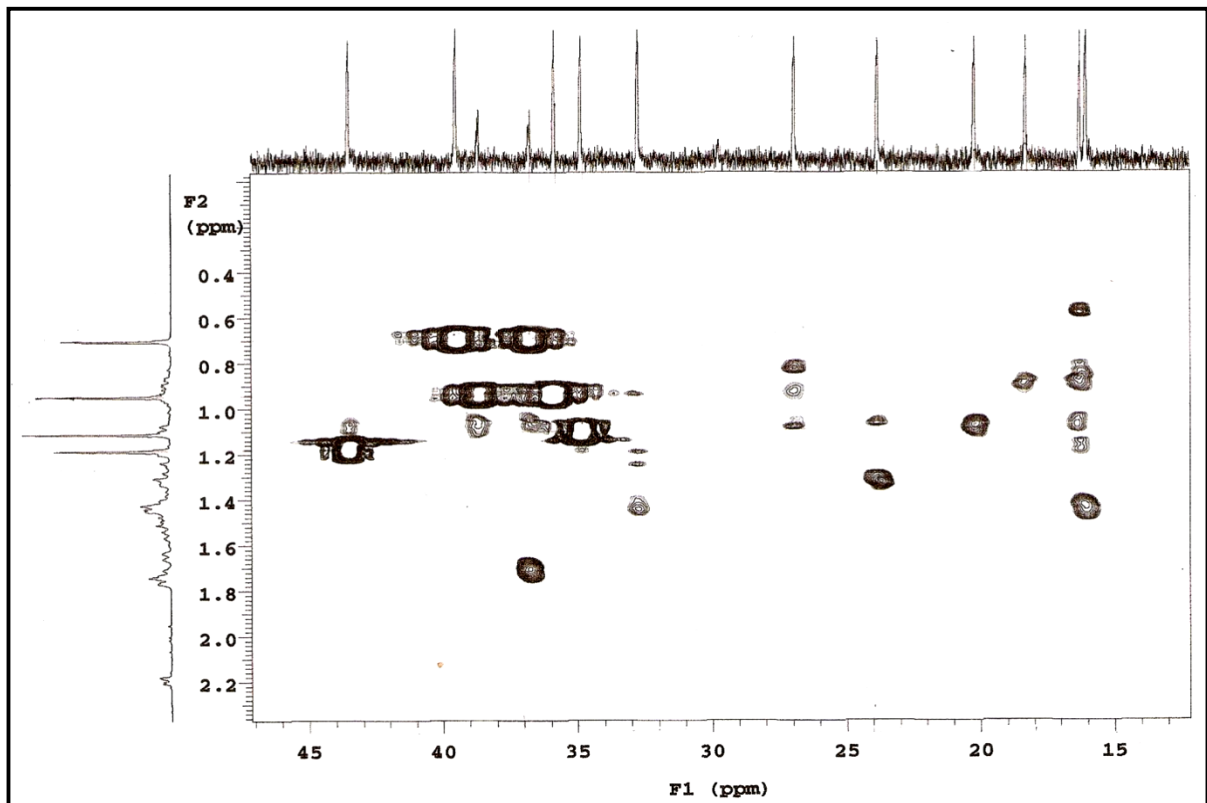
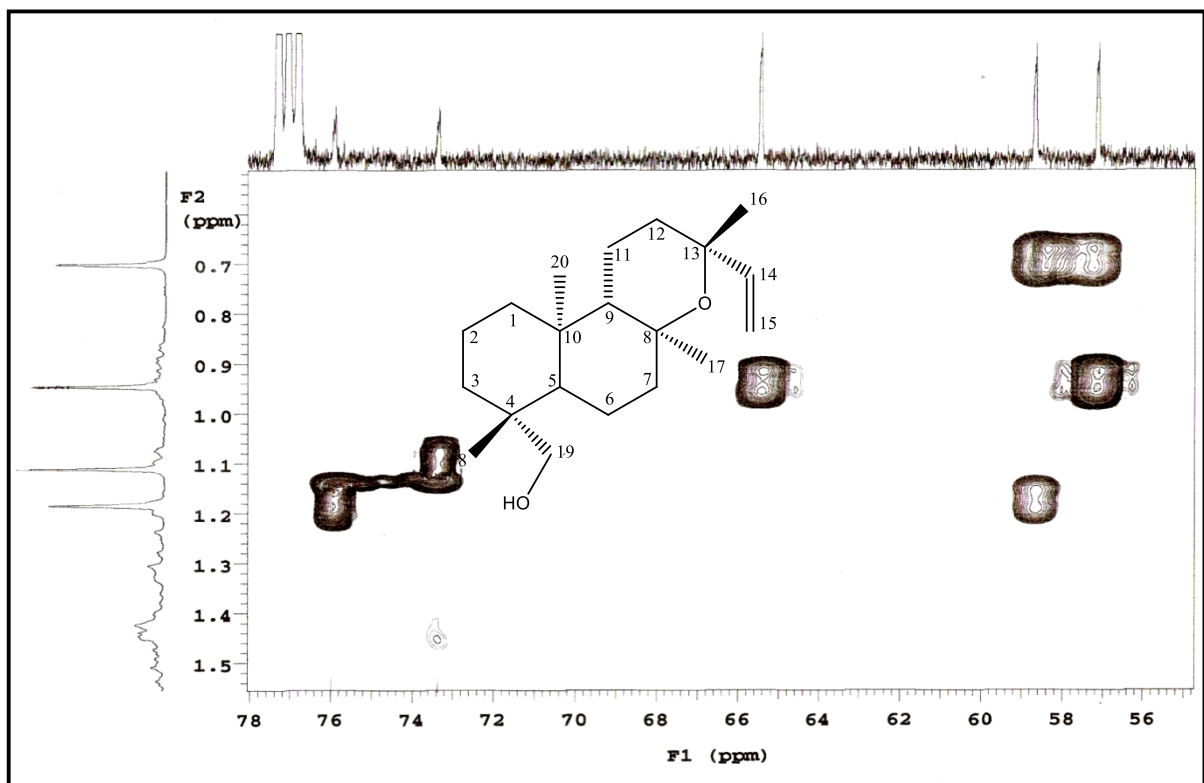


Figura 39. Espectro de correlação gHMBC de SAL-4 (500 e 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



**Figura 40.** Expansão do espectro de correlação gHMBC de SAL-4 (500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ( 15-45/ 0-2,2ppm).



**Figura 41.** Expansão do espectro de correlação gHMBC de SAL-4 (500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (56-78/ 0-1,5 ppm).

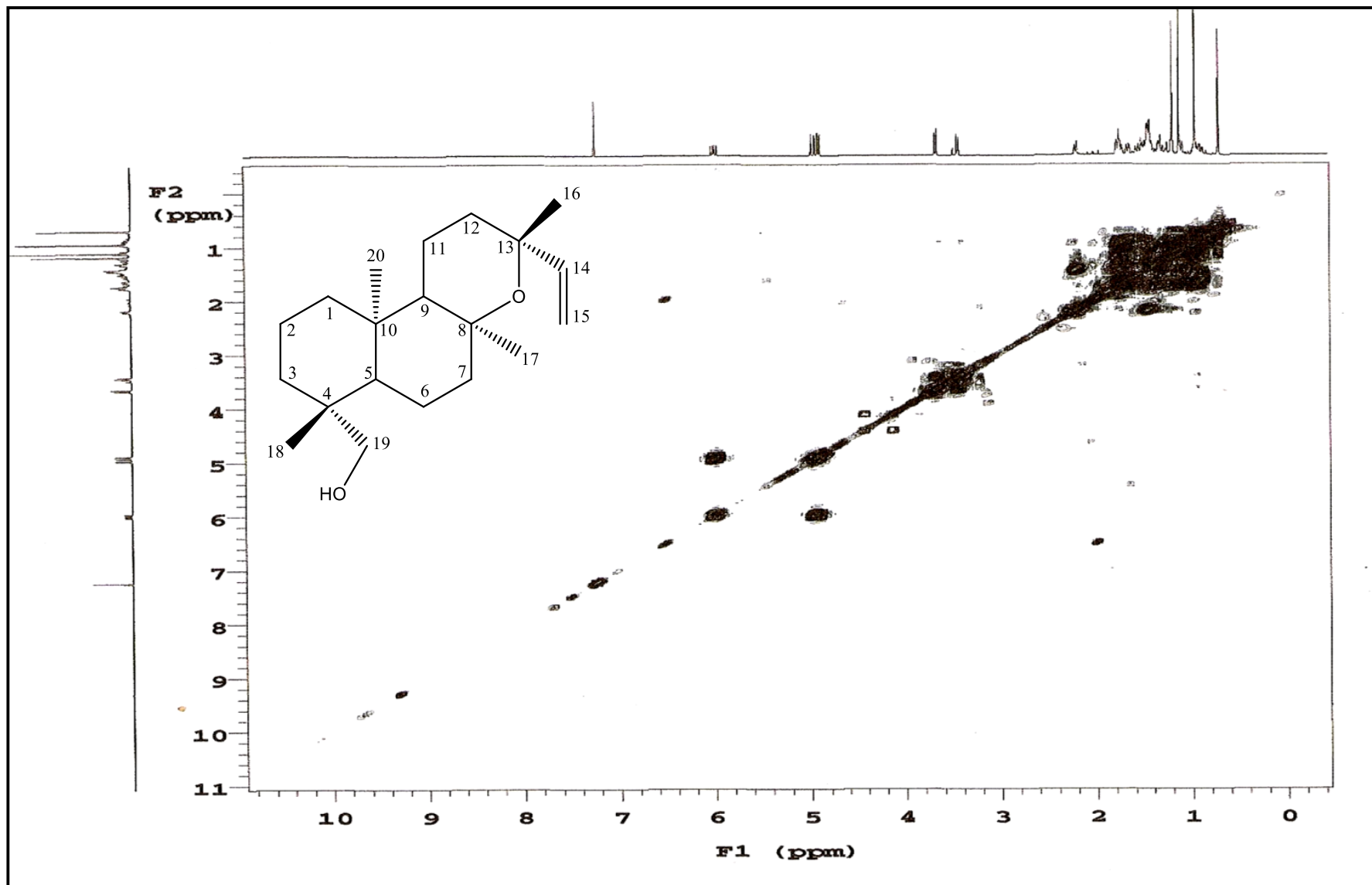
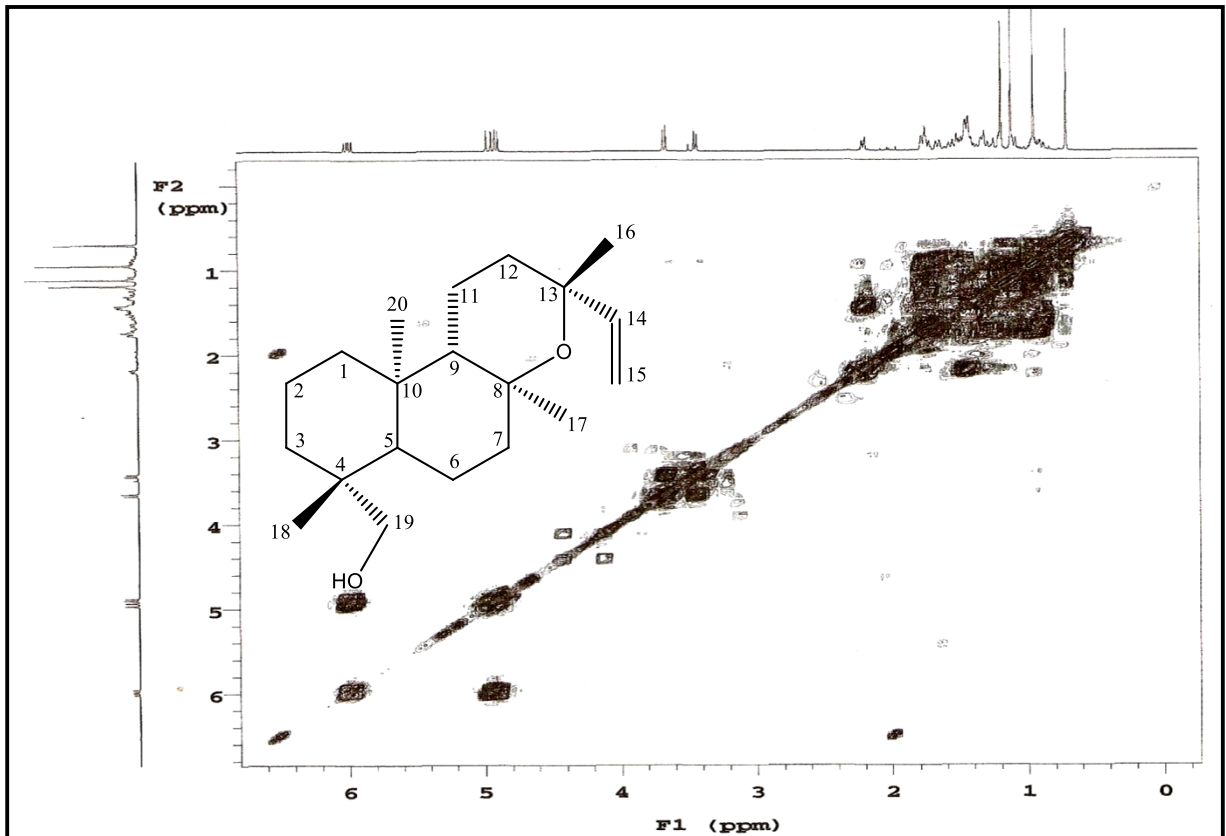
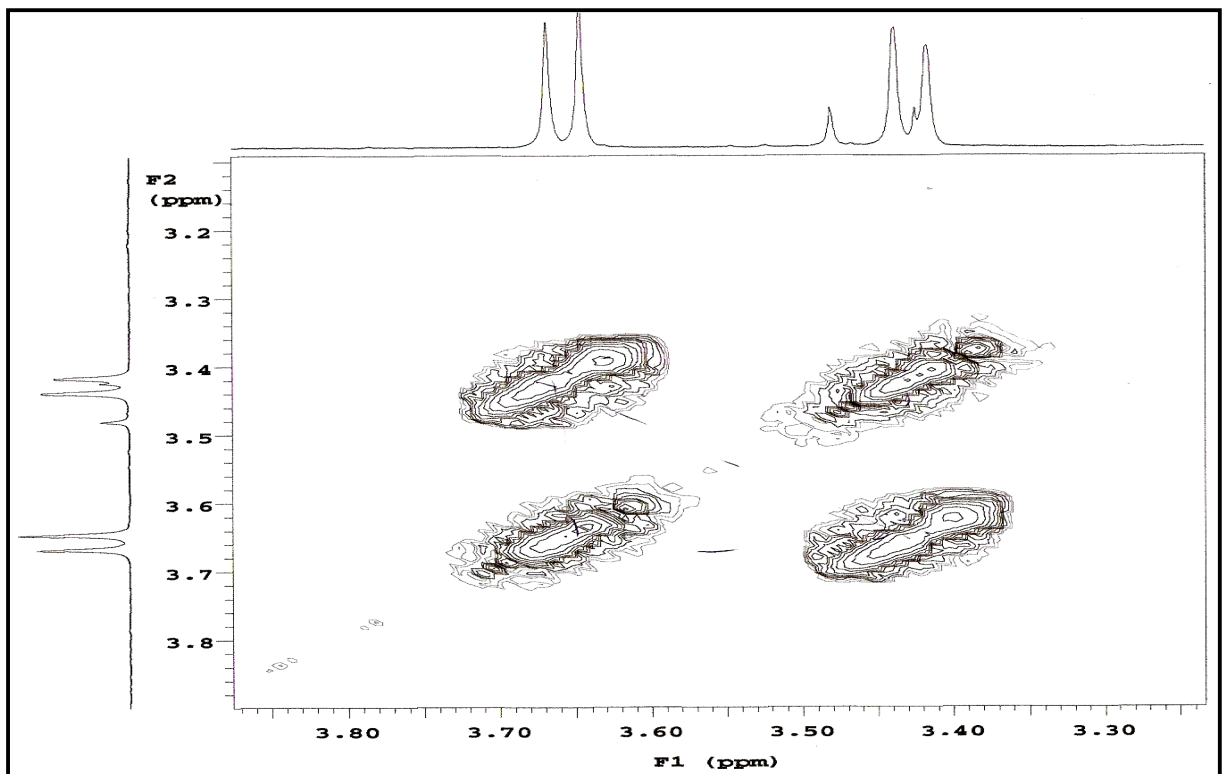


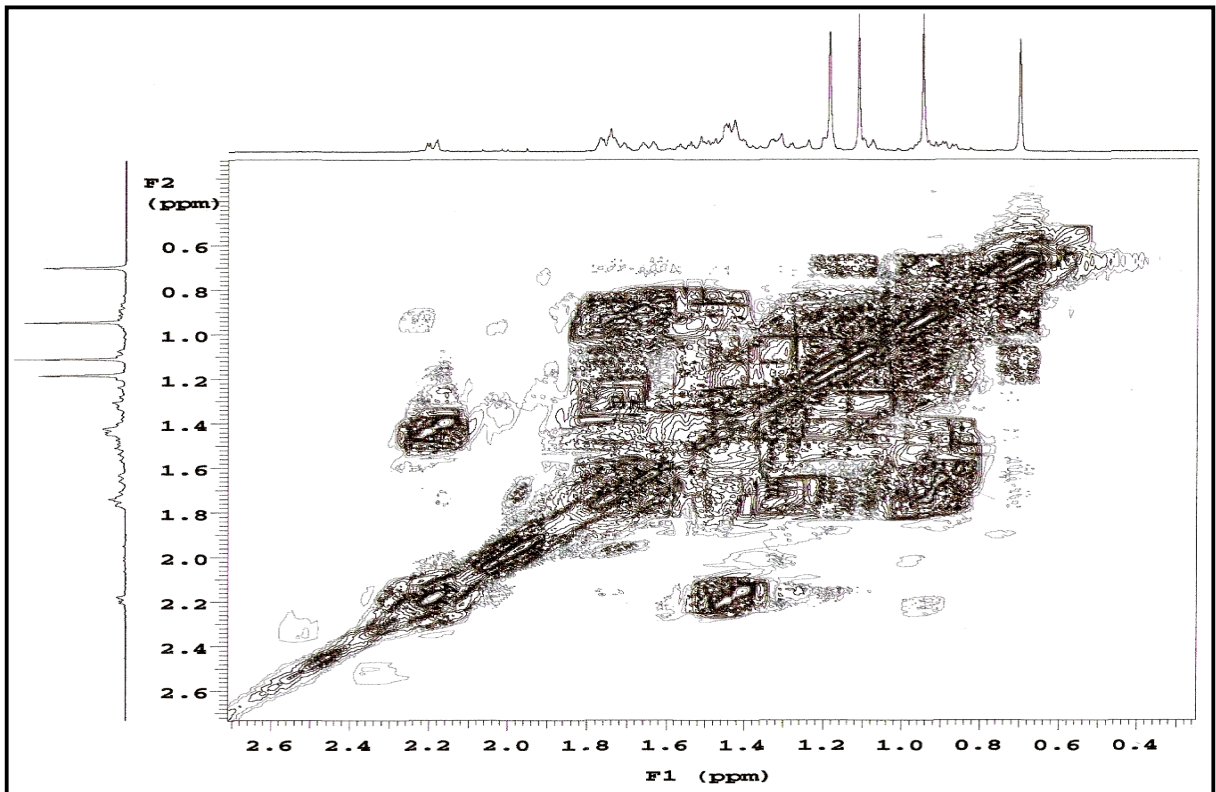
Figura 42. Espectro de correlação gCOSY de SAL-4 (500MHz, CDCl<sub>3</sub>).



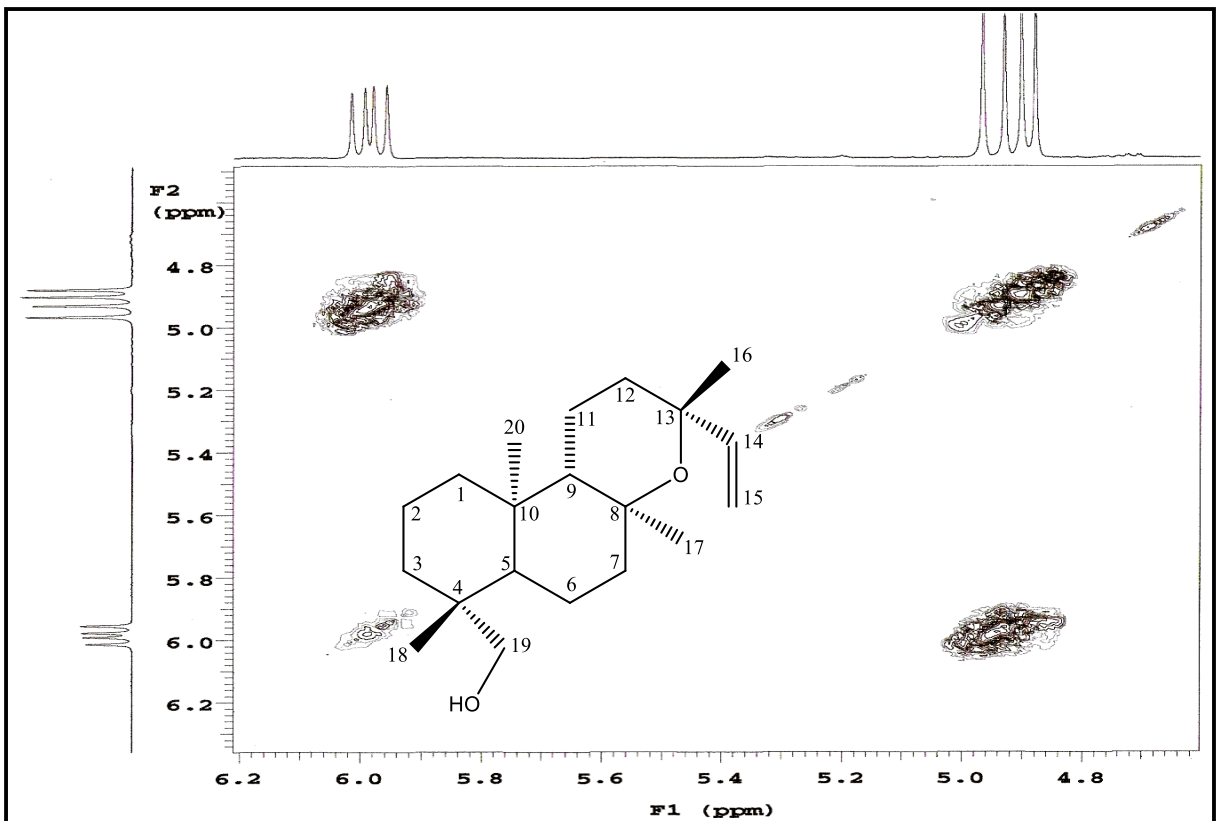
**Figura 43.** Expansão do espectro de correlação gCOSY de SAL-4 (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) (0-7,0 ppm).



**Figura 44.** Expansão do espectro de correlação gCOSY de SAL-4 (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) (3,3-3,8 ppm).



**Figura 45.** Expansão do espectro de correlação gCOSY de SAL-4 (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (0,4-2,6 ppm).



**Figura 46.** Expansão do espectro de correlação g-COSY de SAL-4 (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (4,8-6,2 ppm).



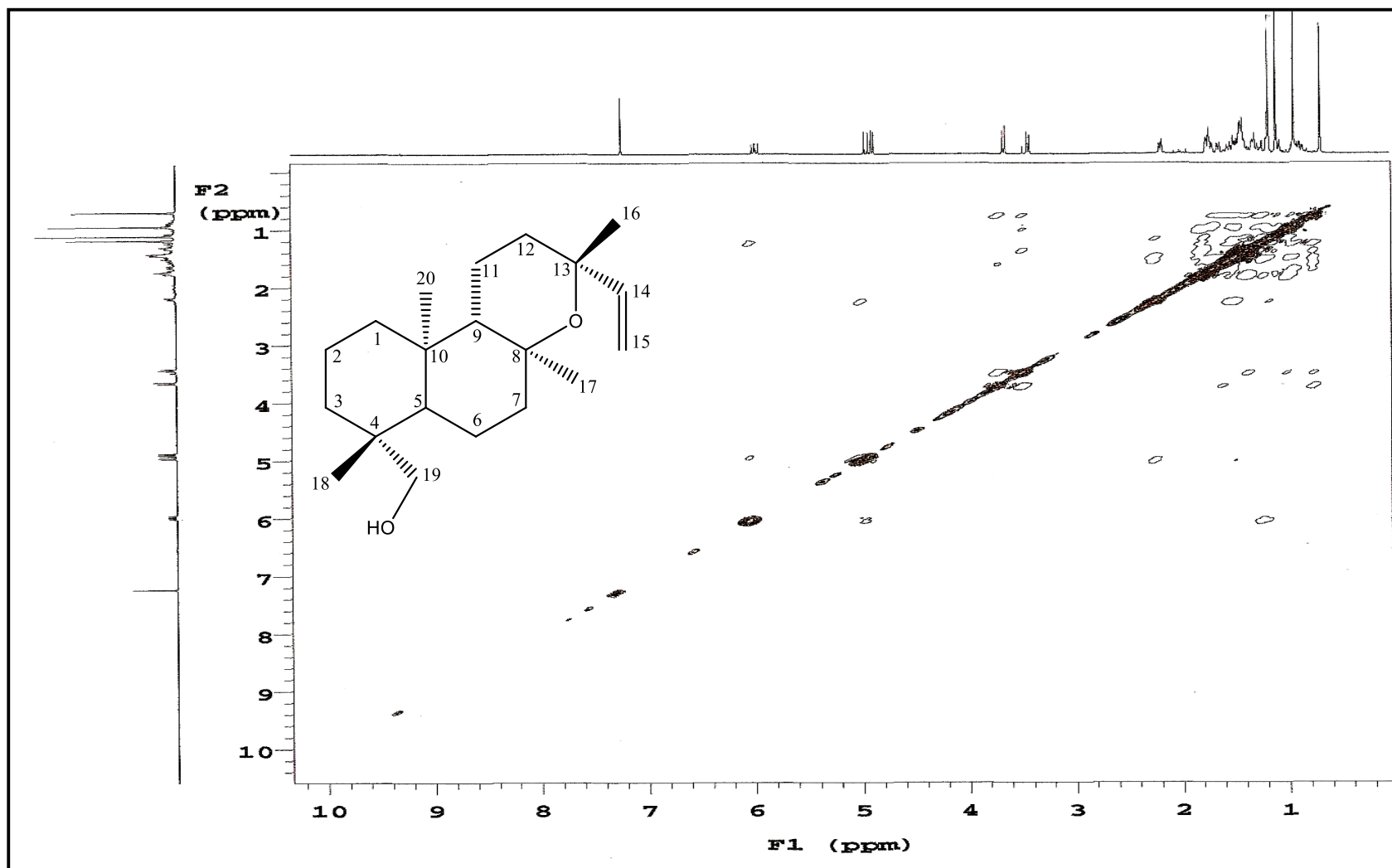
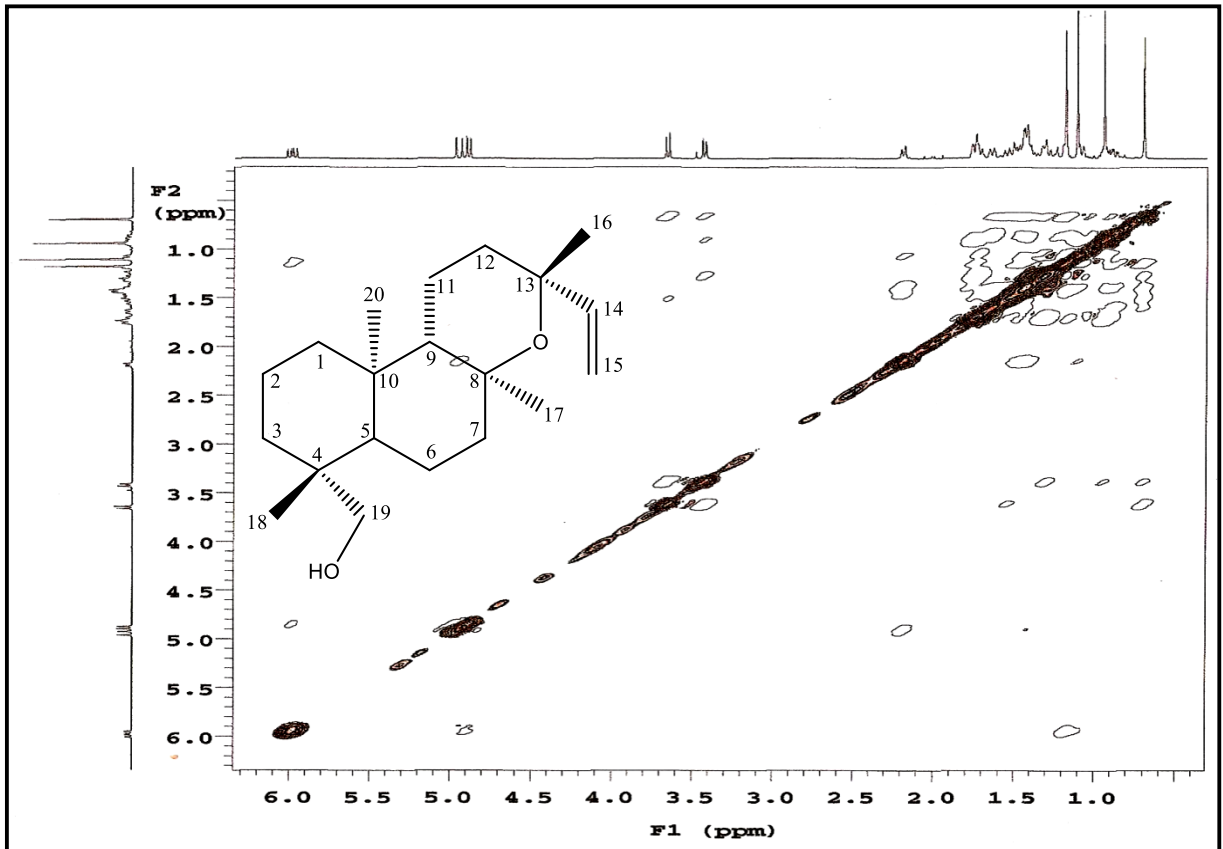
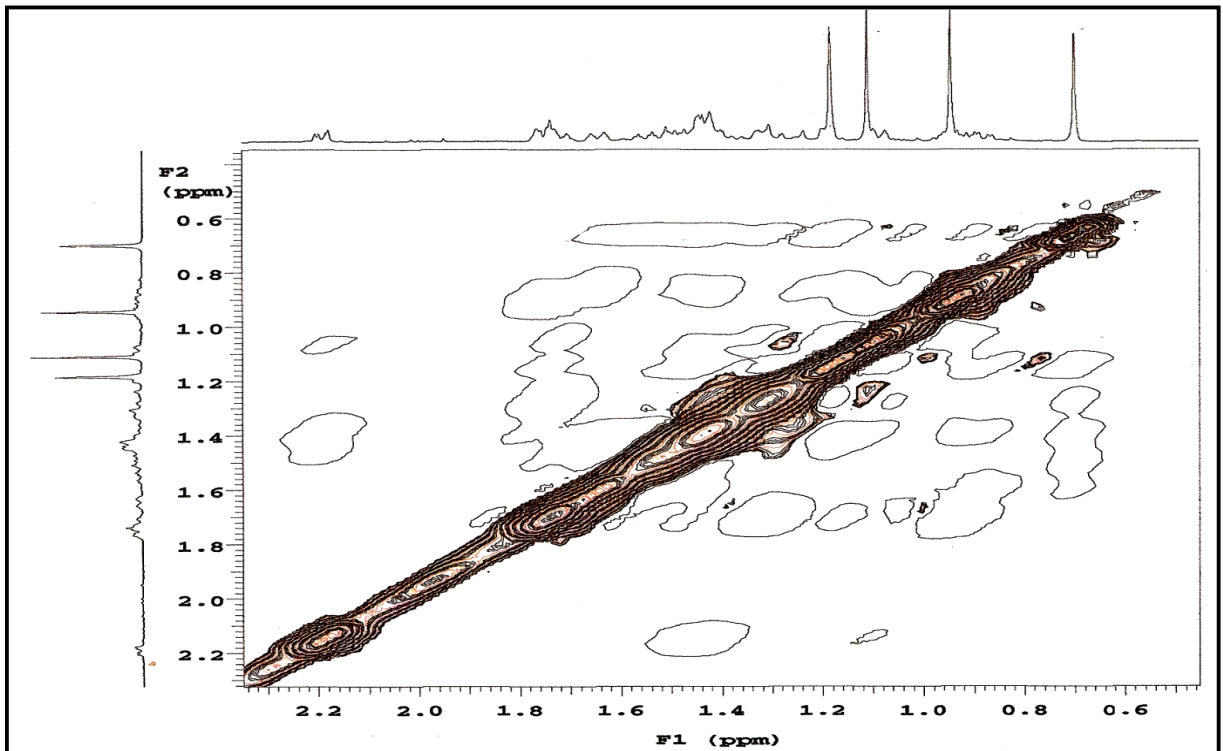


Figura 47. Espectro de correlação gNOESY de SAL-4 (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



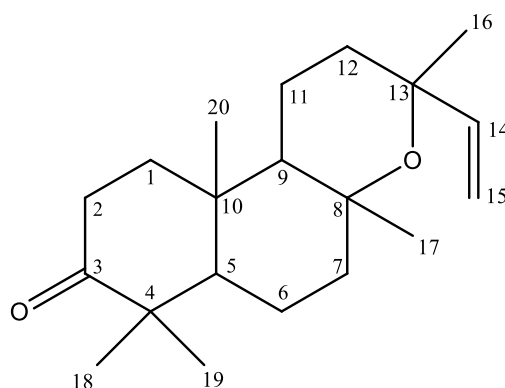
**Figura 48.** Expansão do espectro de correlação g-NOESY de SAL-4 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (1,0-6,0 ppm).



**Figura 49.** Expansão do espectro de correlação g-NOESY de SAL-4 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (0,5-2,4 ppm).

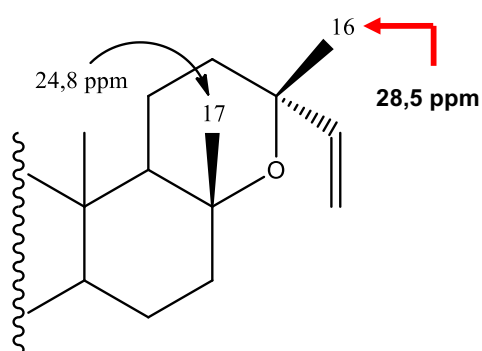
### 5.5 Determinação estrutural de SAL-5

A substância codificada como SAL-5 foi isolada na forma de um sólido branco cristalino, solúvel em clorofórmio e apresentou ponto de fusão 118-120 °C. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (fig. 50, pág. 103), bem como suas expansões (fig. 51 e 52, pág. 104), foi possível observar a presença de 19 sinais correspondentes a 20 átomos de carbono. Destes, 5 foram atribuídos a carbonos não hydrogenados, 3 a carbonos metínicos, 7 a carbonos metilênicos e 5 a carbonos metílicos. Os deslocamentos químicos em  $\delta_{\text{C}}$  54,6 ppm, 75,5 ppm, 57,6 ppm e 73,6 ppm comparados com dados da literatura (ANJANEYULU; RAO, 2000) e com SAL-4 sugeriram sinais referentes aos carbonos CH-5, CH-8, CH-9 e C-13 de diterpenos labdanos derivados do óxido de manoil. Os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  32,6 ppm, 23,3 ppm, 26,6 ppm, 20,8 ppm e 15,4 ppm correspondem às metilas deste esqueleto e o deslocamento em  $\delta_{\text{C}}$  217,3 ppm sugeriu oxidação em C-3, inferindo a presença de grupamento carbonila.

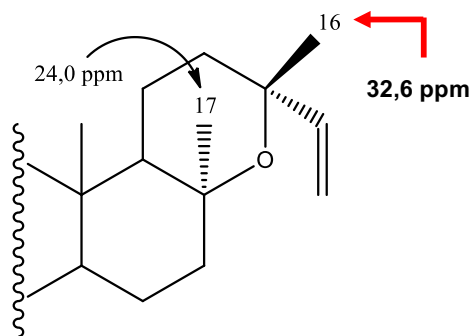


A partir do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (fig. 53, pág. 105) e suas expansões (fig. 54 e 55, pág. 106) foi possível observar um envelope de sinais na região de  $\delta_{\text{H}}$  0,80-1,59 ppm com multiplicidades resolvidas e não resolvidas. Constatou-se a presença de 5 singletos em  $\delta_{\text{H}}$  1,22 ppm, 1,23 ppm, 1,06 ppm, 0,99 ppm e 0,81 ppm, correspondente a 5 metilas. Observou-se ainda sinais em  $\delta_{\text{H}}$  6,00 ppm (*dd*,  $J_1 = 11,0$ ;  $J_2 = 18,0$  Hz), e 4,90 ppm (*d*,  $J = 11,0$  Hz) e 5,0 ppm (*d*,  $J = 18,0$  Hz), atribuídos a H-14 e H-15, respectivamente; sinais em  $\delta_{\text{H}}$  1,42 (*d*,  $J = 8,5$  Hz) e 1,78 ppm (*dd*,  $J_1 = 3,0$  e  $J_2 = 8,5$  Hz), atribuídos a H-7, e sinais em 2,22 ppm (*dd*,  $J_1 = 2,5$ ;  $J_2 = 9,5$  Hz). As demais multiplicidades estão compiladas na tabela 12 (pág. 100).

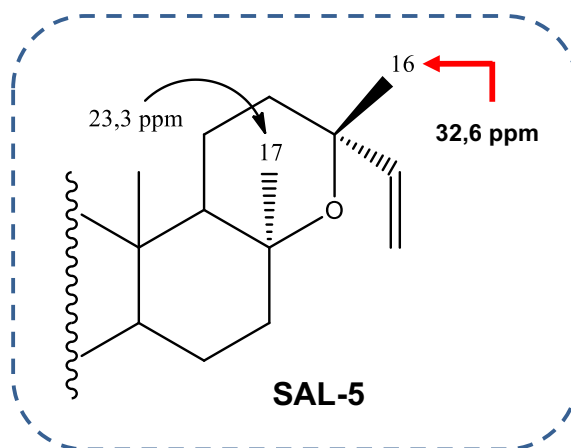
Como dito anteriormente, em diterpenos derivados do óxido de manóila, as metilas  $\text{CH}_3$ 16 e  $\text{CH}_3$ 17 guardam uma relação estereoquímica. A absorção do carbono 16 de SAL-5 em  $\delta_C$  28,5 ppm, indica que estas metilas estão em configuração *cis* entre si.



**3-oxomanoil óxido**  
(ALMQVIST et al., 1975)

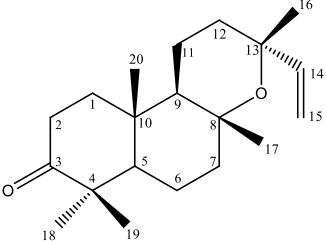
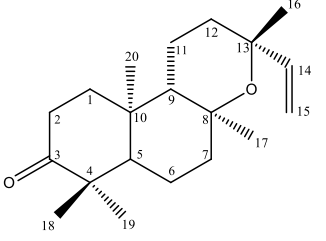
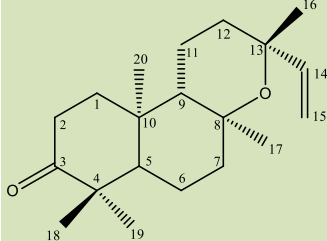


**Ribenol**  
(GARCÍAS-GRANADOS et al., 1985)



A partir da comparação dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **SAL-5** com dados da literatura referentes ao 3-oxomanoil óxido e *ent*-3-oxomanoil óxido (ALMQVIST, 1975; GARCÍA-GRANADOS, 1994) (tabela 11, pág. 99), foi possível inferir a estereoquímica relativa de **SAL-5**.

**Tabela 11.** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  (500 MHz) do 13-epi-3-oxomanoil óxido, *ent*-13-epi-3-oxomanoil óxido e SAL-5, obtidos em  $\text{CDCl}_3$ .

 <b>3-oxomanoil óxido</b> (ALMQVIST, 1975)		 <b><i>ent</i>-13-epi-3-oxomanoil óxido</b> (GARCIA-GRANADOS, 1994)		 <b>SAL-5</b>	
<b>C</b>	$\delta_{\text{C}}$	<b>C</b>	$\delta_{\text{C}}$	<b>C</b>	$\delta_{\text{C}}$
1	37,8	1	38,2	1	38,2
2	33,8	2	33,8	2	33,8
3	217,3	3	217,2	3	217,3
4	47,3	4	47,2	4	47,2
5	54,9	5	54,6	5	54,6
6	20,8	6	20,7	6	20,7
7	42,2	7	42,1	7	42,2
8	74,4	8	75,5	8	75,5
9	54,9	9	57,6	9	57,6
10	36,5	10	36,4	10	36,4
11	15,6	11	16,3	11	16,3
12	35,7	12	34,8	12	34,8
13	73,4	13	73,6	13	73,6
14	147,9	14	147,3	14	147,4
15	110,3	15	109,7	15	109,7
16	28,5	16	32,6	16	32,6
17	24,8	17	23,3	17	23,3
18	26,6	18	26,6	18	26,6
19	20,8	19	20,8	19	20,8
20	15,0	20	15,5	20	15,4

No espectro de correlação  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  – gHMQC (500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (fig. 56, pág. 107), bem como suas expansões (fig. 57 e 58, pág. 108), pôde-se verificar correlações diretas entre os prótons em  $\delta_{\text{H}}$  1,52 ppm e 1,25 ppm, com os carbonos

em  $\delta_C$  54,6 e 57,6 ppm atribuídos a C-5 e C-9, respectivamente, e próton em  $\delta_H$  6,00 ppm com o carbono em  $\delta_C$  147,4 ppm atribuídos a C-14.

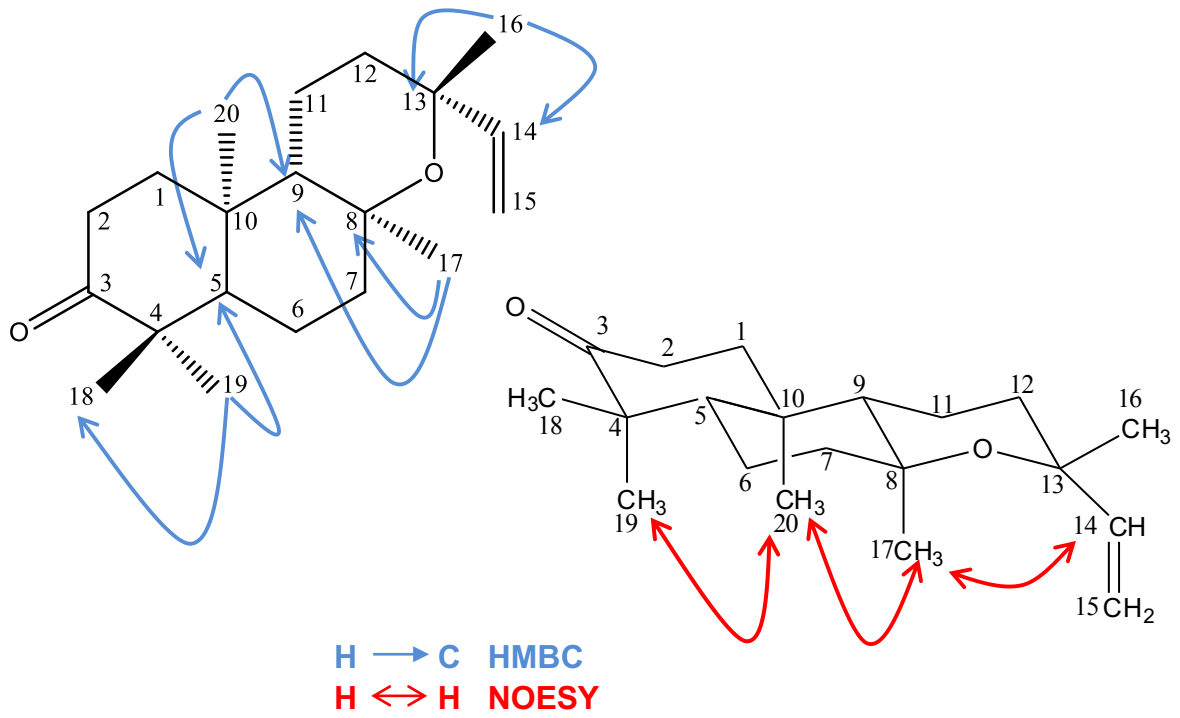
Deslocamentos químicos em  $\delta_H$  1,12, 1,23, 1,06, 0,99 e 0,81 mostraram correlação com  $\delta_C$  32,6 ppm, 23,3 ppm, 26,6 ppm, 20,8 ppm e 15,4 ppm (referentes a CH<sub>3</sub>-16, CH<sub>3</sub>-17, CH<sub>3</sub>-18, CH<sub>3</sub>-19 e CH<sub>3</sub>-20, respectivamente). As demais correlações estão compiladas na tabela 12 (pág. 100).

A partir do espectro de correlação  $^1H \times ^{13}C$  – gHMBC (500 e 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (fig. 59, pág. 109) e suas expansões (fig. 60 e 61, pág. 110; fig. 62, pág. 111), foi possível observar correlação do próton em  $\delta_H$  0,81 ppm (CH<sub>3</sub>-20) com os carbonos em  $\delta_C$  38,2 ppm, 54,6 ppm, 57,6 ppm e 36,4 ppm atribuídos a CH<sub>2</sub>-1, CH-5, CH-9 e C-10, respectivamente. O próton em  $\delta_H$  0,99 ppm (CH<sub>3</sub>-19) com os carbonos em  $\delta_C$  217,3 ppm, 47,2 ppm, 54,6 ppm e 26,6 ppm atribuídos a C-3, C-4, CH-5 e CH<sub>3</sub>-18. O próton em  $\delta_H$  1,23 ppm (CH<sub>3</sub>-17), mostrou correlação com os carbonos em  $\delta_C$  42,2 ppm, 75,5 ppm e 57,6 ppm, atribuídos a CH<sub>2</sub>-7, C-8 e CH-9, respectivamente, e próton em  $\delta_H$  1,12 (CH<sub>3</sub>-16) exibiu correlação com carbonos em  $\delta_C$  34,8 ppm, 73,6 ppm e 147,4 ppm, atribuídos a CH<sub>2</sub>-12, C-13 e CH-14, respectivamente.

No espectro de correlação  $^1H \times ^1H$  – gCOSY (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (fig. 63, pág. 112), bem como suas expansões (fig. 64 e 65, pág. 113) observou-se a correlação dos prótons em  $\delta_H$  6,00 ppm (H-14) e 4,90 e 5,00 (H-15), confirmando o sistema vinílico.

A partir do espectro de correlação  $^1H \times ^1H$  – gNOESY (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (fig. 66, pág. 114), bem como sua expansão (fig. 67, pág. 115), foi possível determinar correlação do sinal em  $\delta_H$  1,23 ppm com o sinal em  $\delta_H$  0,81 ppm correspondentes aos hidrogênios H-17 e H-20, respectivamente, estando, dessa forma, em configuração *cis* entre si.

A partir da comparação dos dados de RMN  $^1H$  e  $^{13}C$  de **SAL-5** com dados da literatura, bem como suas respectivas correlações, foi possível inferir que a mesma apresentava-se sob forma *ent*, e como as metilas CH<sub>3</sub>-16 e CH<sub>3</sub>-17 apresentavam-se *trans* entre si, a molécula pôde ser definida como *ent*-13-epi-3-oxomanoil óxido, isolada pela primeira vez na família Rubiaceae.



**Tabela 12.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de SAL-5 e correlações obtidas em HMQC, HMBC, COSY e NOESY, registrados em  $\text{CDCl}_3$ .

	HMQC		HMBC	COSY	NOESY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$	(b)
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$				$\delta_{\text{C}}$
<b>C</b>						
3	217,3	-	-			217,2
4	47,2	-	-			47,2
8	75,5	-	-			75,5
10	36,4	-	-			36,4
13	73,6	-	-			73,6
<b>CH</b>						
5	54,6	1,52 ( <i>m</i> )	C-18, C-19, C-20			54,6
9	57,6	1,25 ( <i>m</i> )	C-17, C-20			57,7
14	147,4	6,0 ( <i>dd</i> , $J_1 = 11,0$ Hz e $J_2 = 18,0$ Hz)	C-16	2 H-15		147,3
<b>CH<sub>2</sub></b>						
1	38,2	1,45 ( <i>m</i> )	C-20	H-2		38,2
2	33,8	2,47 ( <i>m</i> )	-			33,8
6	20,7	1,57 ( <i>m</i> )	-			20,7
7	42,2	1,42 ( <i>d</i> , $J = 8,5$ ); 1,78 ( <i>dd</i> , $J_1 = 3,0$ Hz e $J_2 = 8,5$ Hz)	C-17	H-7		42,1
11	16,3	1,48 ( <i>m</i> )	-	H-12		16,4
12	34,8	2,22 ( <i>dd</i> , $J_1 = 2,5$ Hz e $J_2 = 9,5$ Hz)	-	H-11		34,8
15	109,7	4,90 ( <i>d</i> , $J = 11,0$ Hz); 5,0 ( <i>d</i> , $J = 18,0$ Hz)	C-13, C-15			109,7
<b>CH<sub>3</sub></b>						
16	32,6	1,12 ( <i>s</i> )	C-13, C-14			32,6
17	23,3	1,23 ( <i>s</i> )	C-8			23,3
18	26,6	1,06 ( <i>s</i> )	C-3, C-4			26,6
19	20,8	0,99 ( <i>s</i> )	C-3, C-4			20,8
20	15,4	0,81 ( <i>s</i> )	C-10		H-20	15,5

(b) GARCIA-GRANADO et al, 1994.



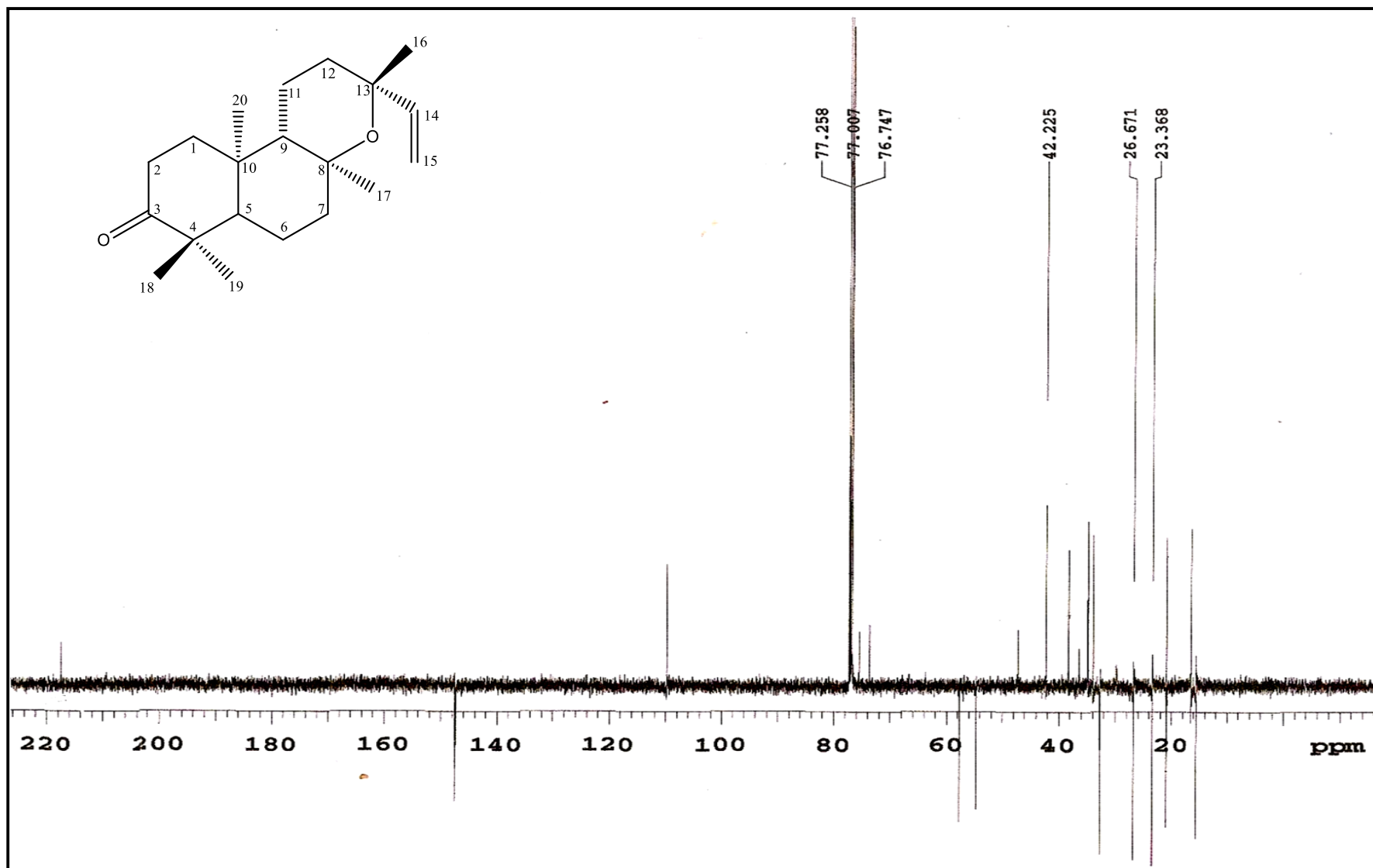
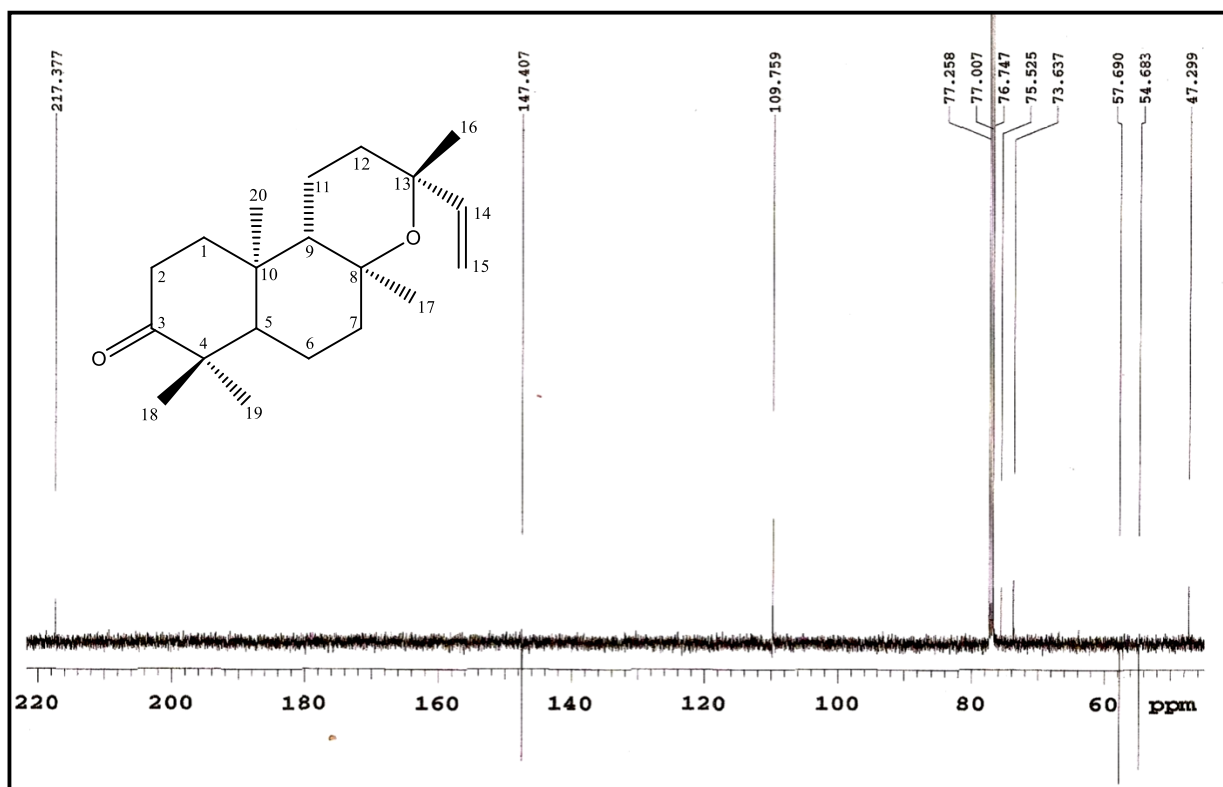
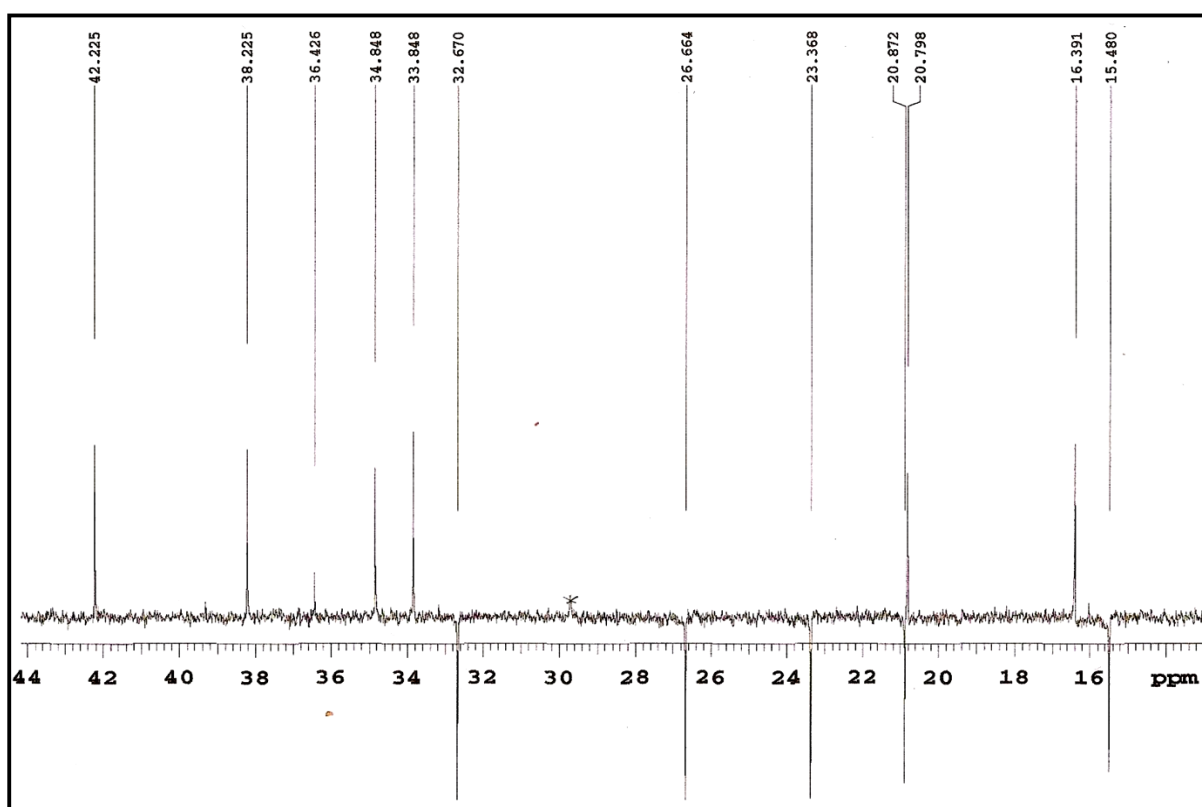


Figura 50. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-5 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 51.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-5 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (45-220 ppm).



**Figura 52.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-5 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (16-44 ppm).

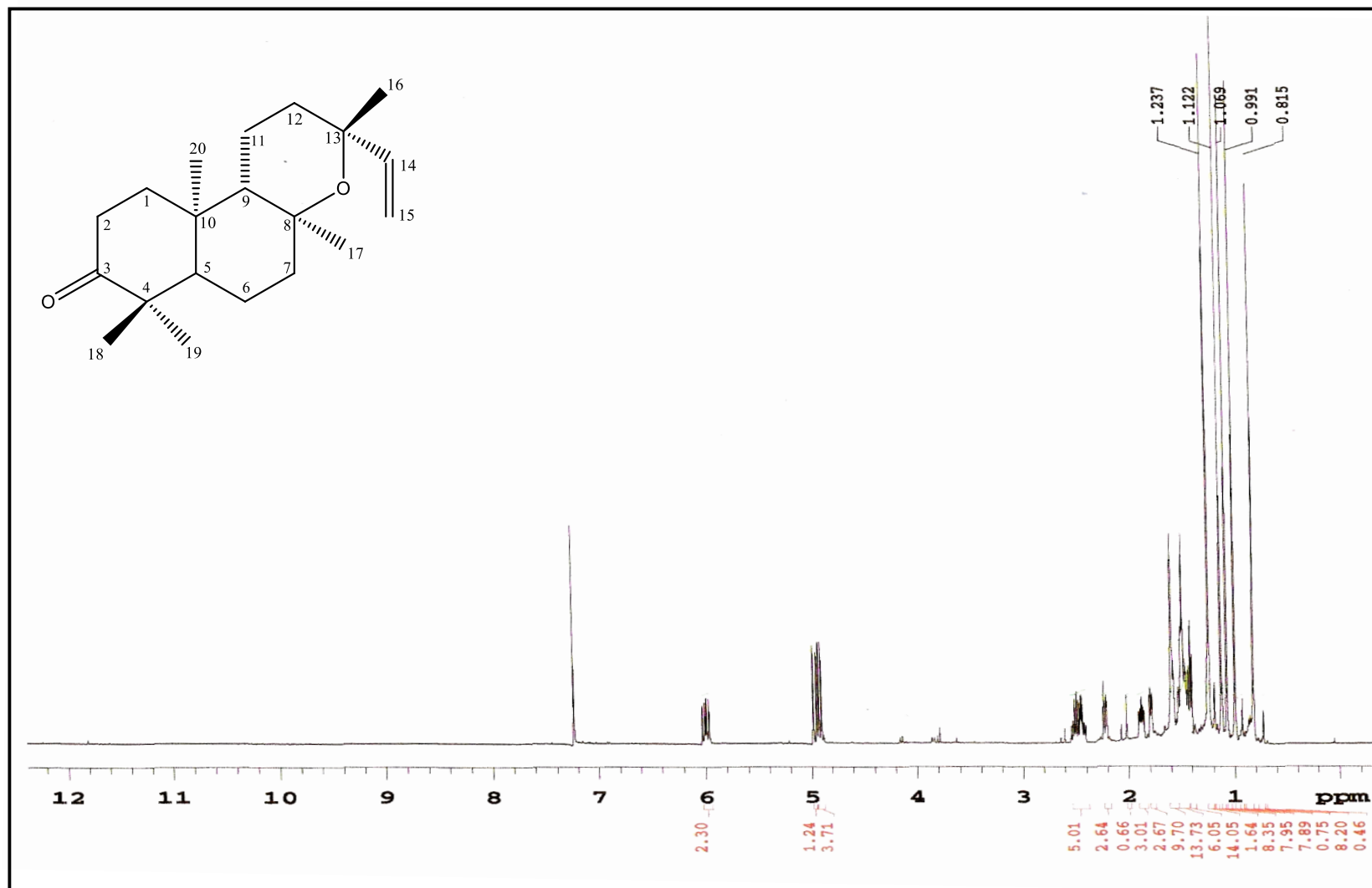


Figura 53. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-5 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

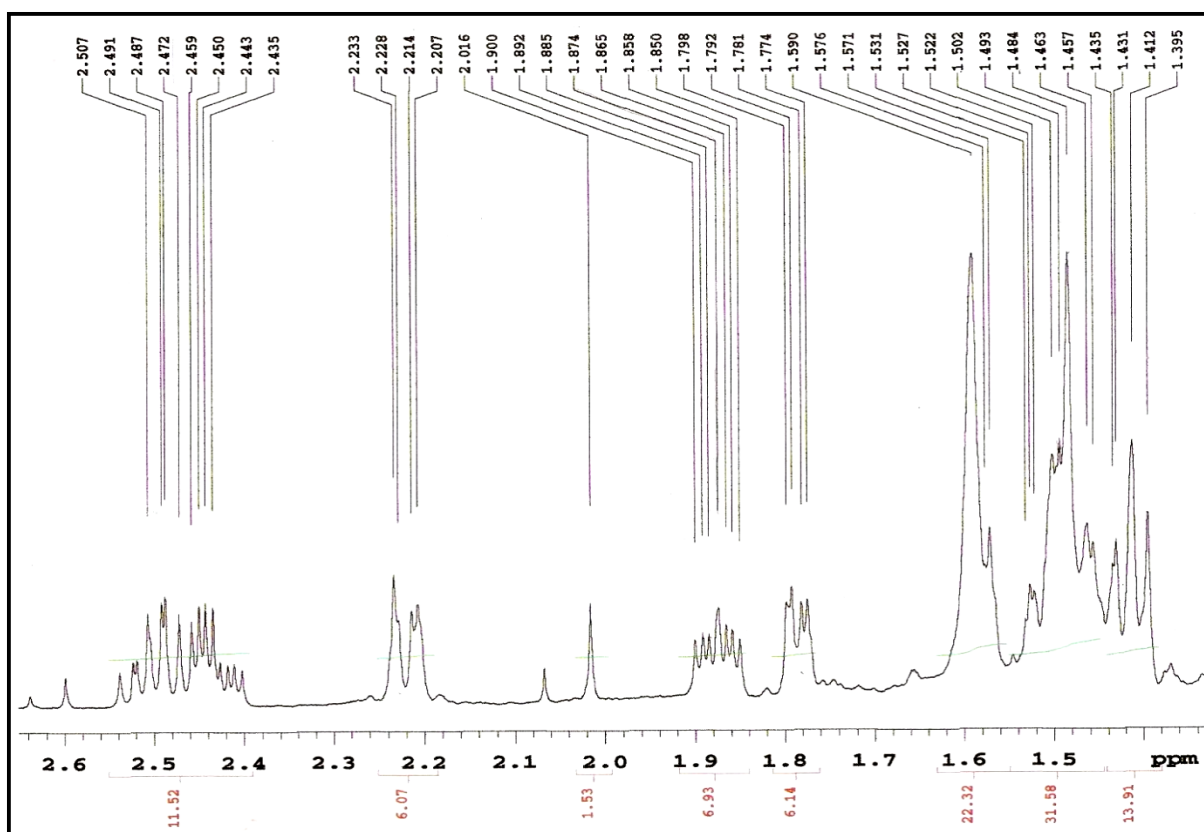


Figura 54. Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-5 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 1,0-2,6 ppm).

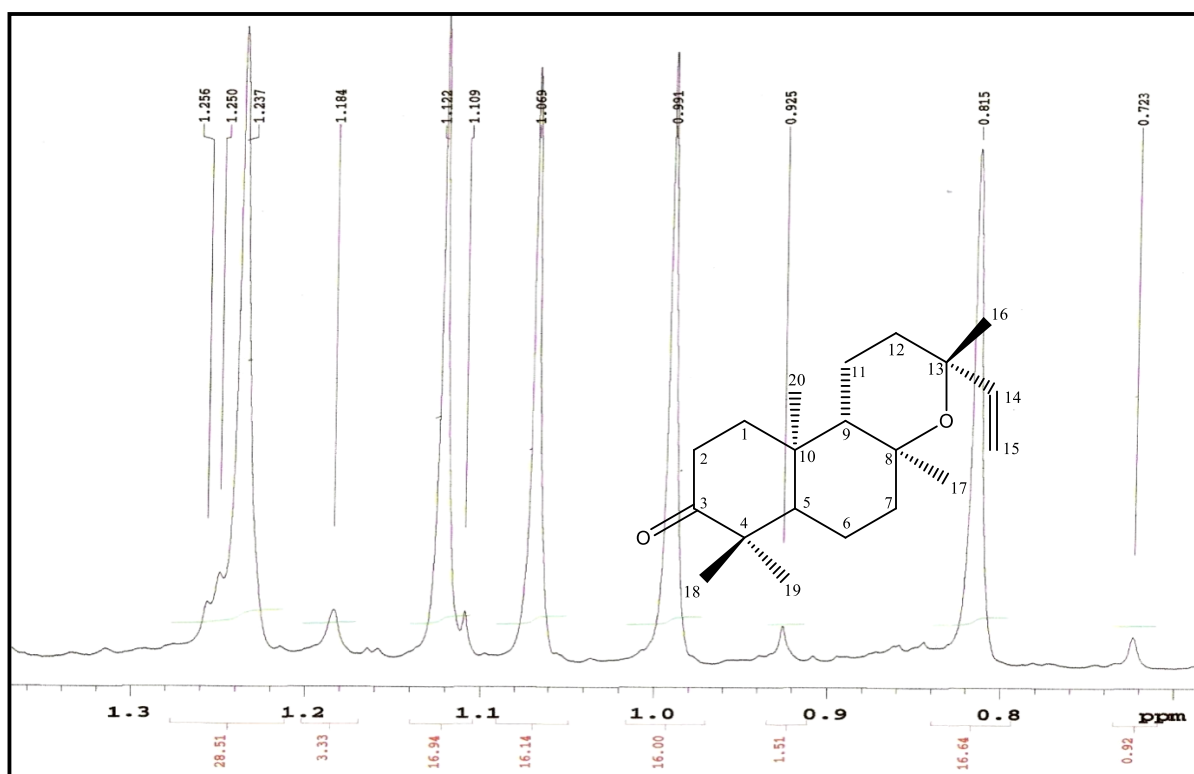


Figura 55. Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-5 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (0,7-1,3 ppm).

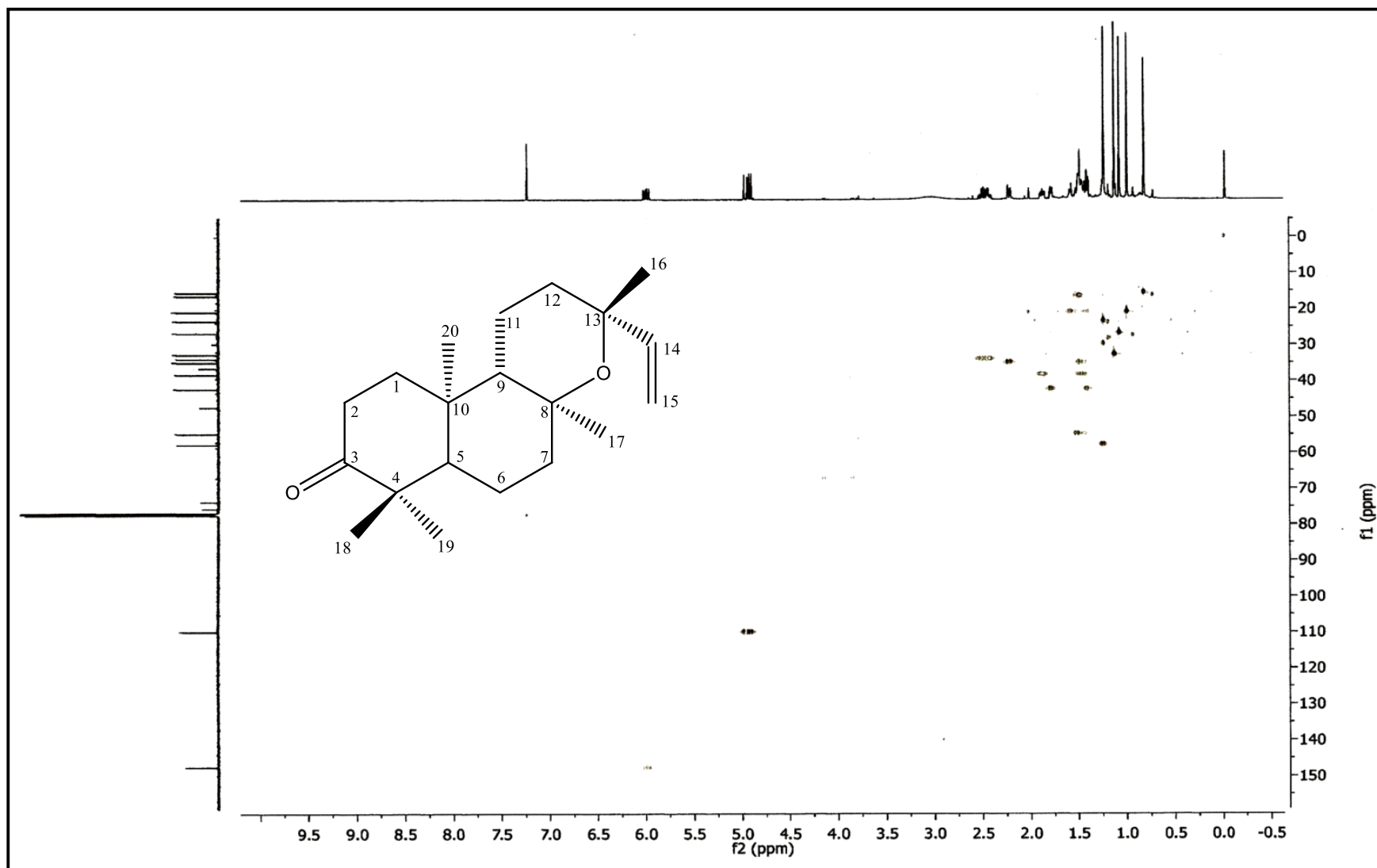
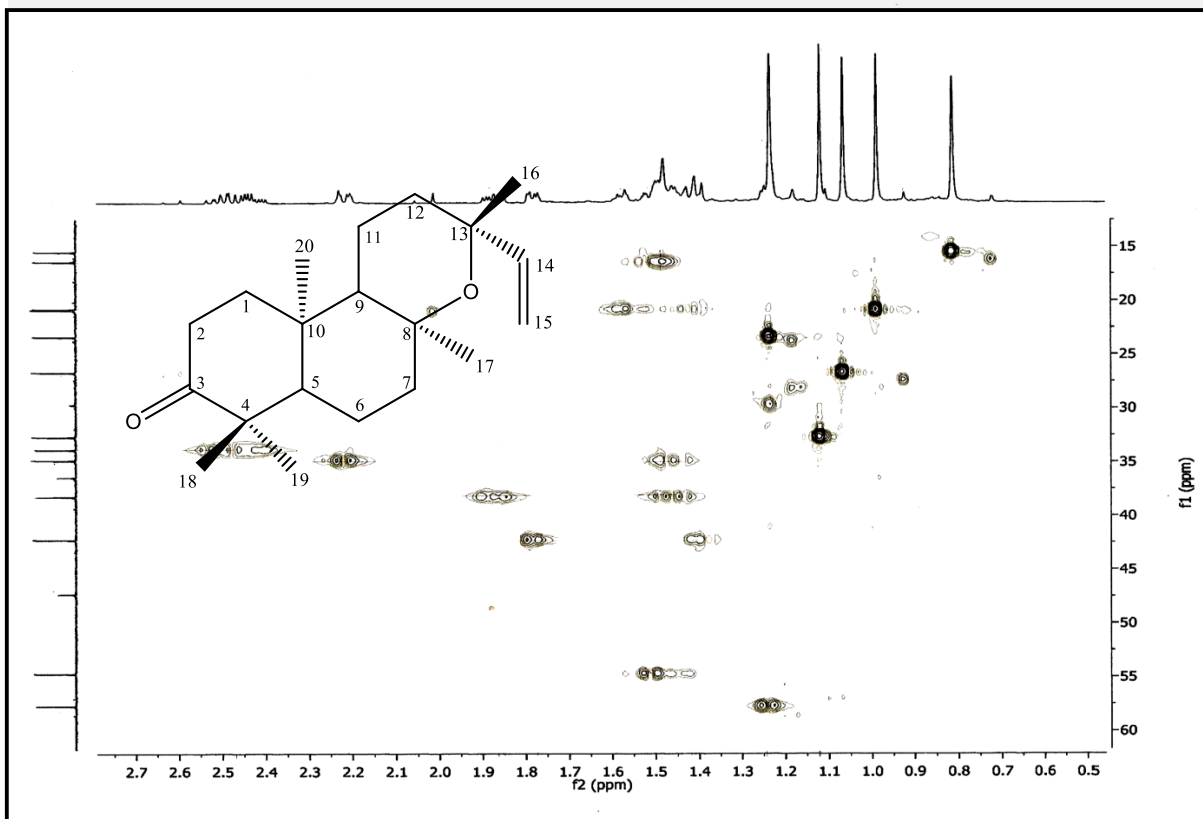
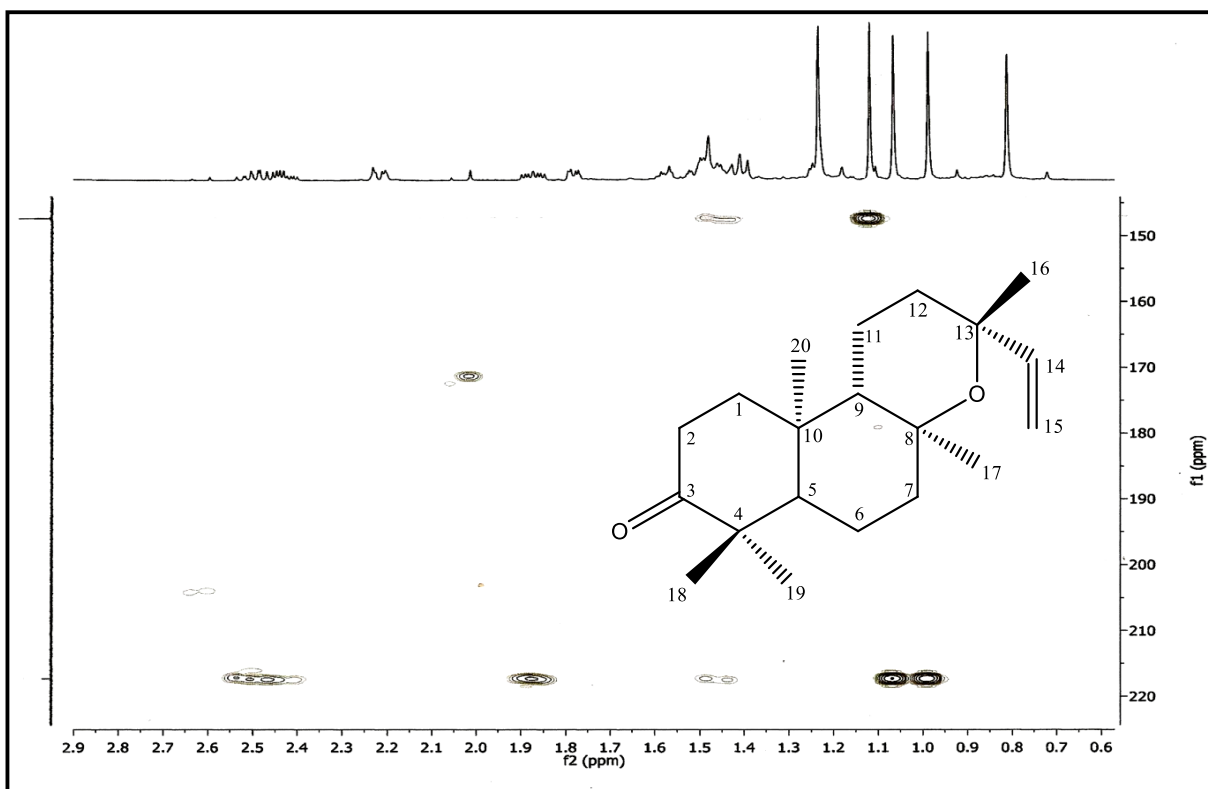


Figura 56. Espectro de correlação gHMBC de SAL-5 (500 e 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



**Figura 57.** Expansão do espectro de correlação gHMBC de SAL-5 (500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (15-60/ 0,5-2,7 ppm).



**Figura 58.** Expansão do espectro de correlação gHMBC de SAL-5 (500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (150-220/ 0,5-2,9 ppm).

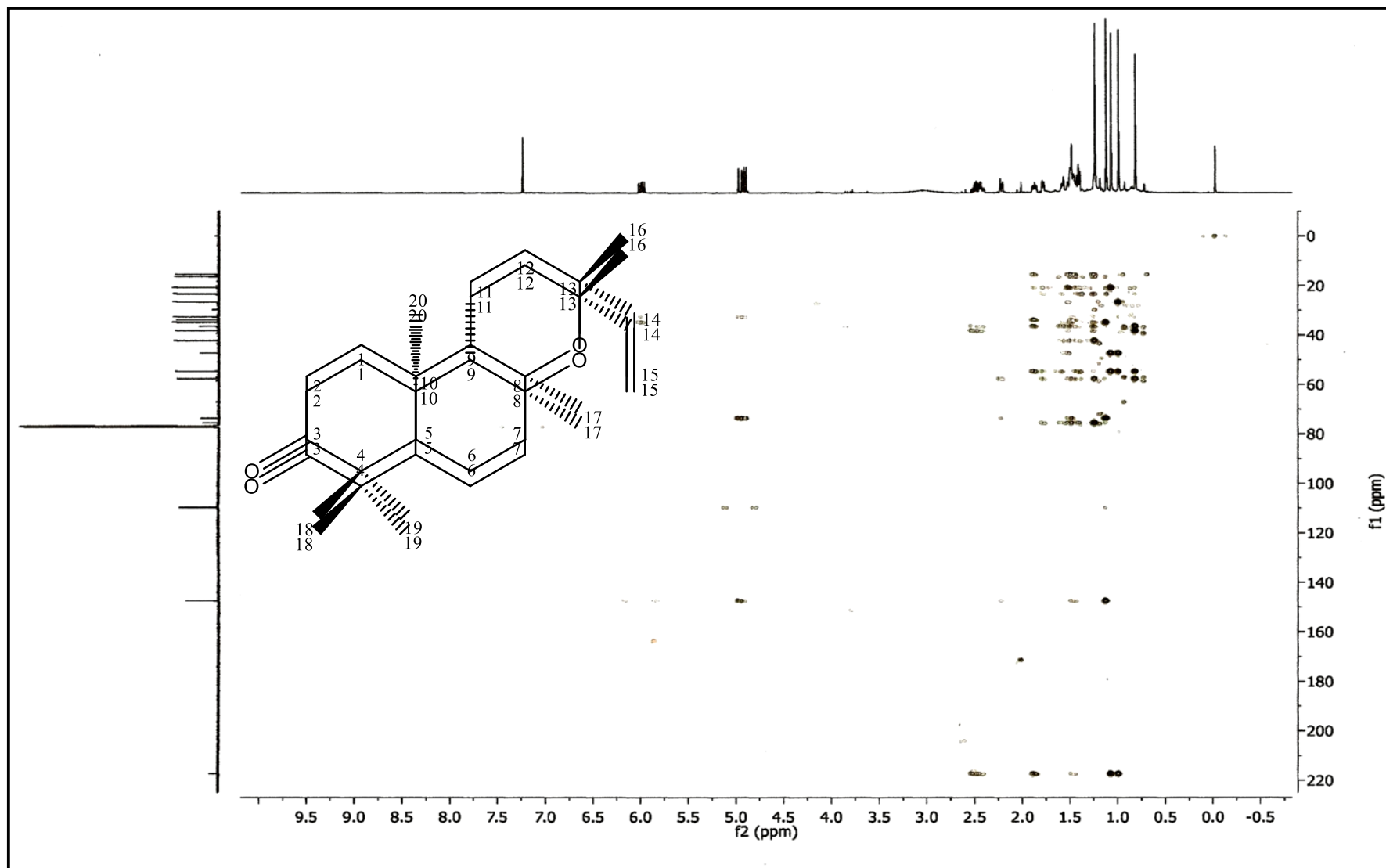
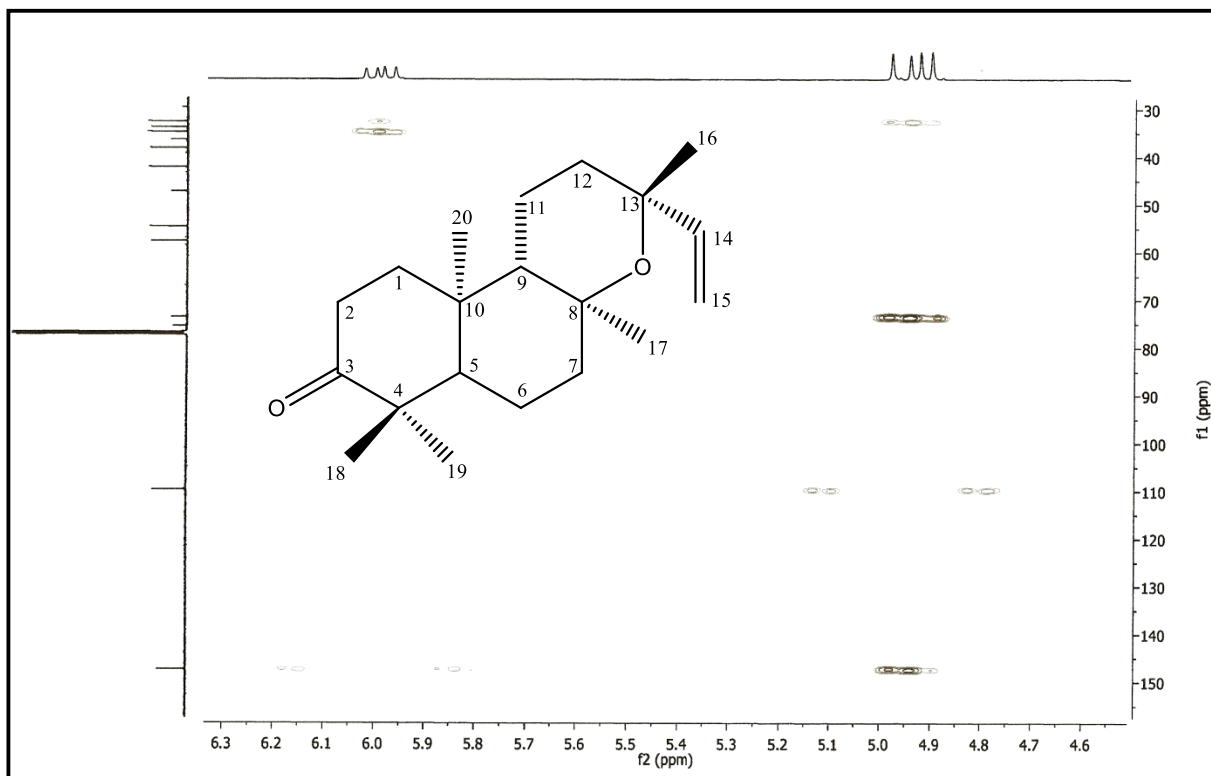
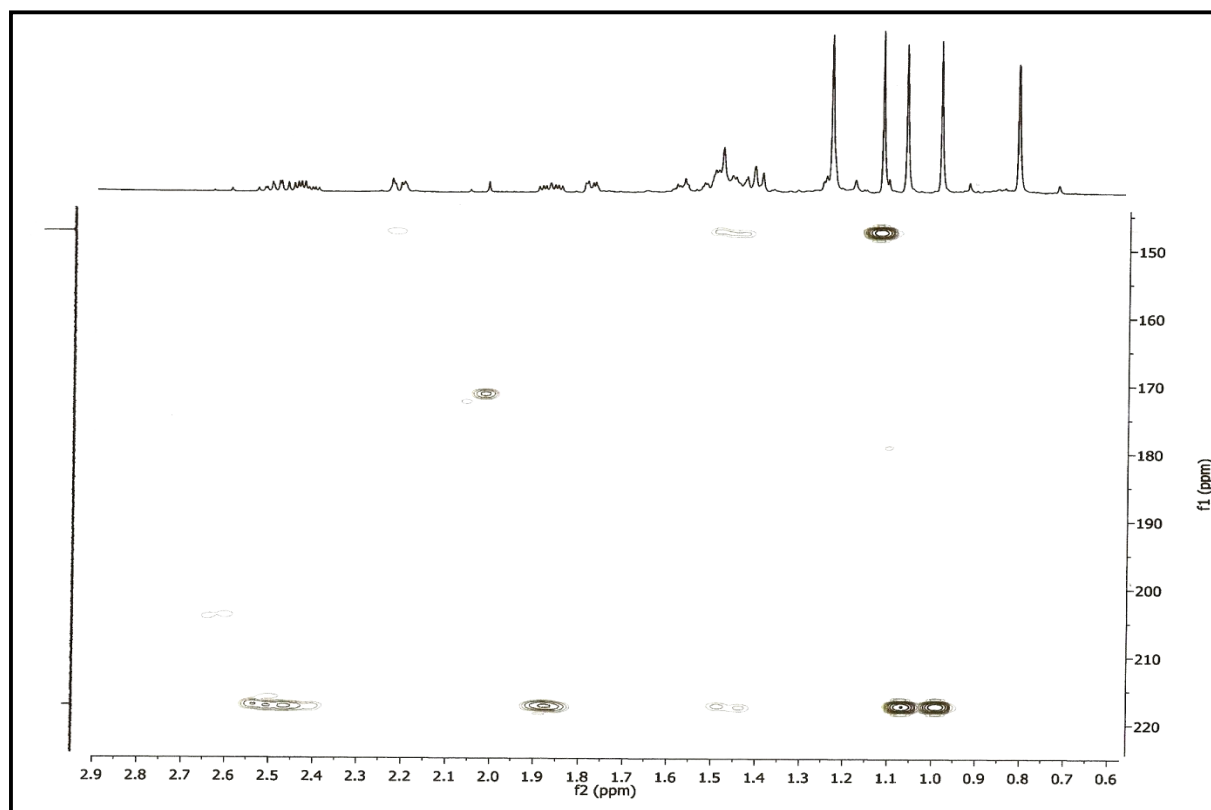


Figura 59. Espectro de correlação gHMBC de SAL-5 (500 e 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

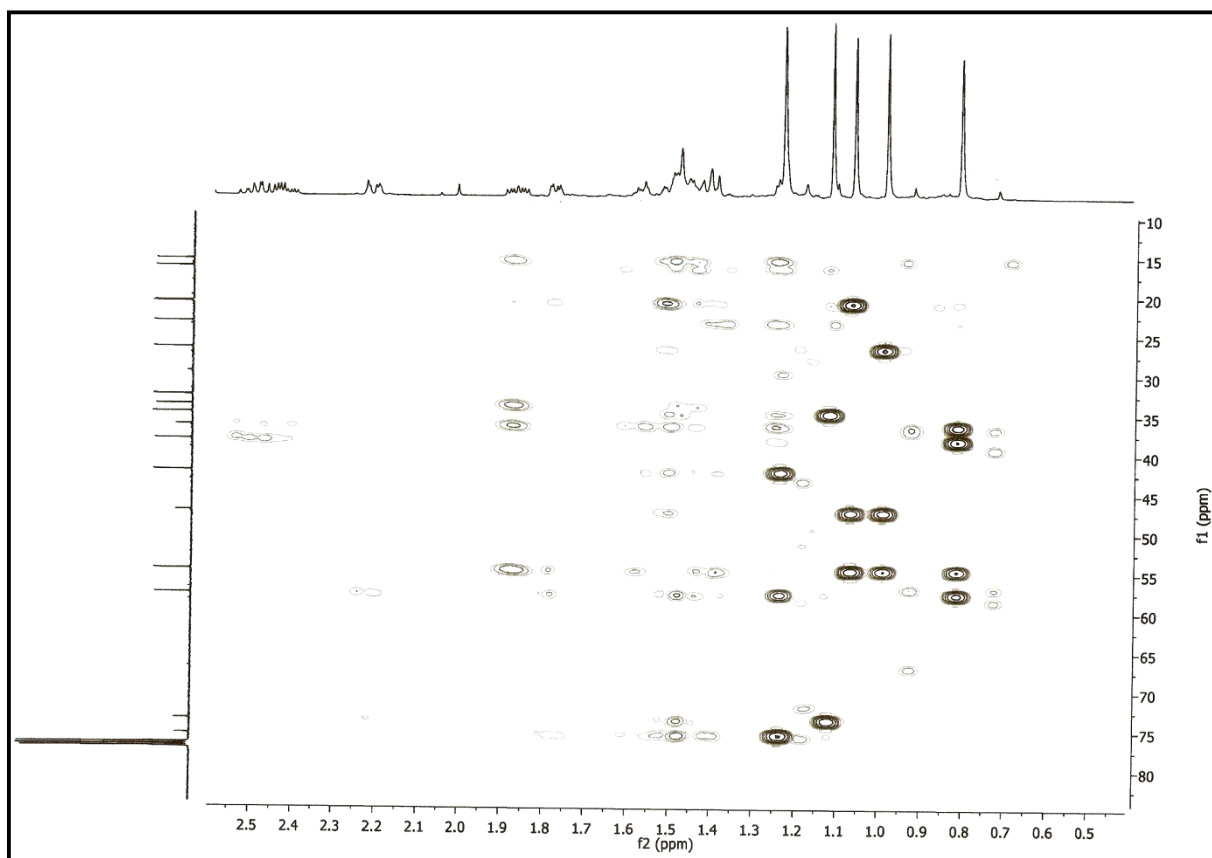


**Figura 60.** Expansão do espectro de correlação gHMBC de SAL-5 (500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (30-150/ 4,5-6,3 ppm).

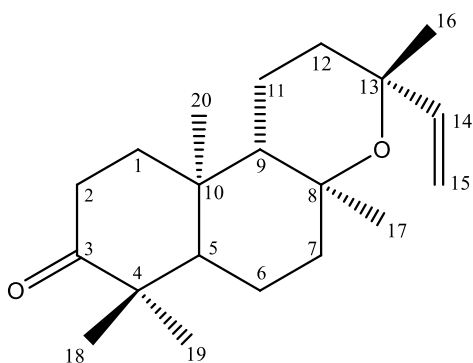


**Figura 61.** Expansão do espectro de correlação gHMBC de SAL-5 (500 - 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (150-220/ 0,6-2,9 ppm).





**Figura 62.** Expansão do espectro de correlação gHMBC de SAL-5 (500 e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (10-80/ 0,5-2,5 ppm).



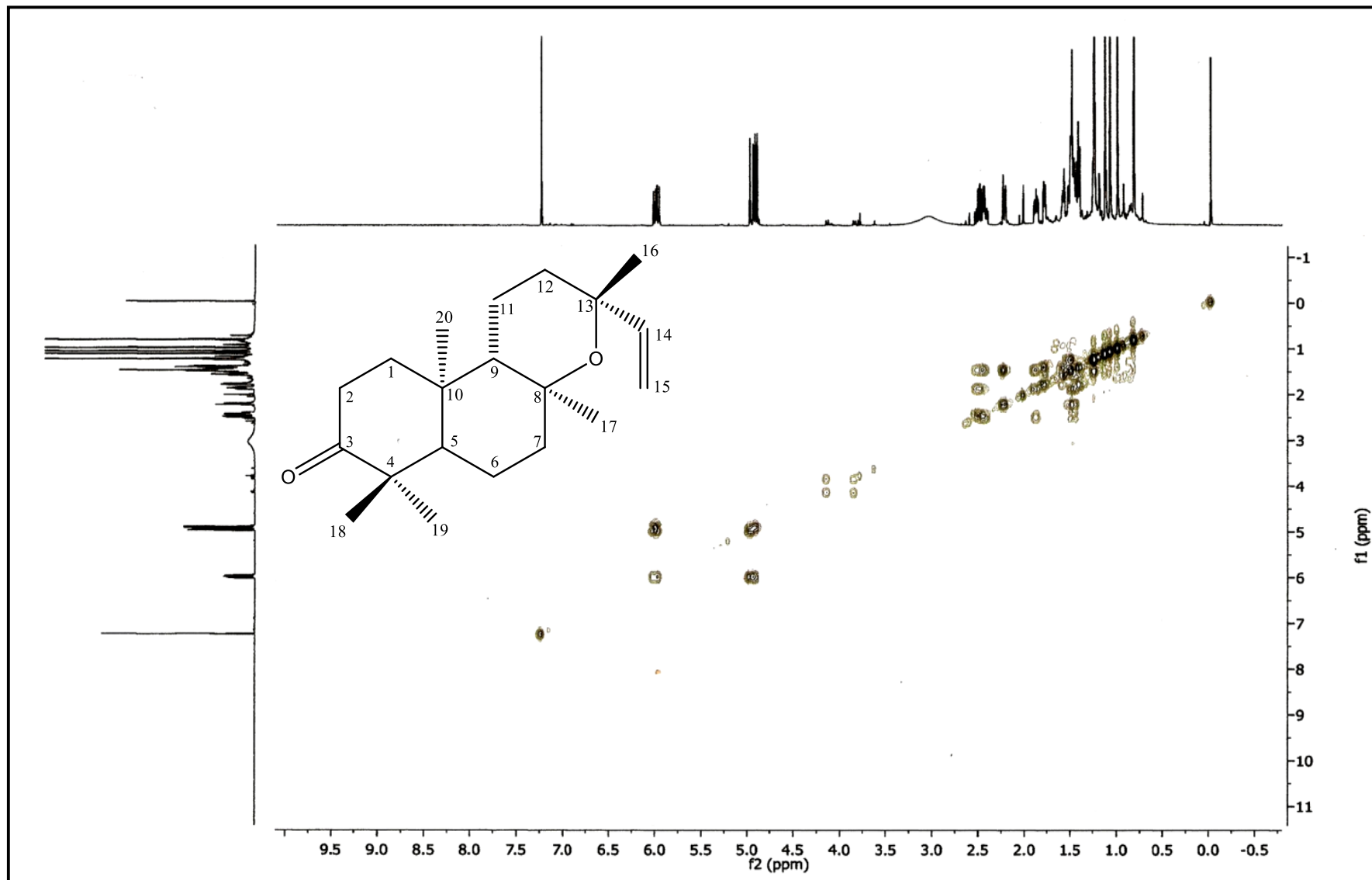


Figura 63. Espectro de correlação gCOSY de SAL-5 (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



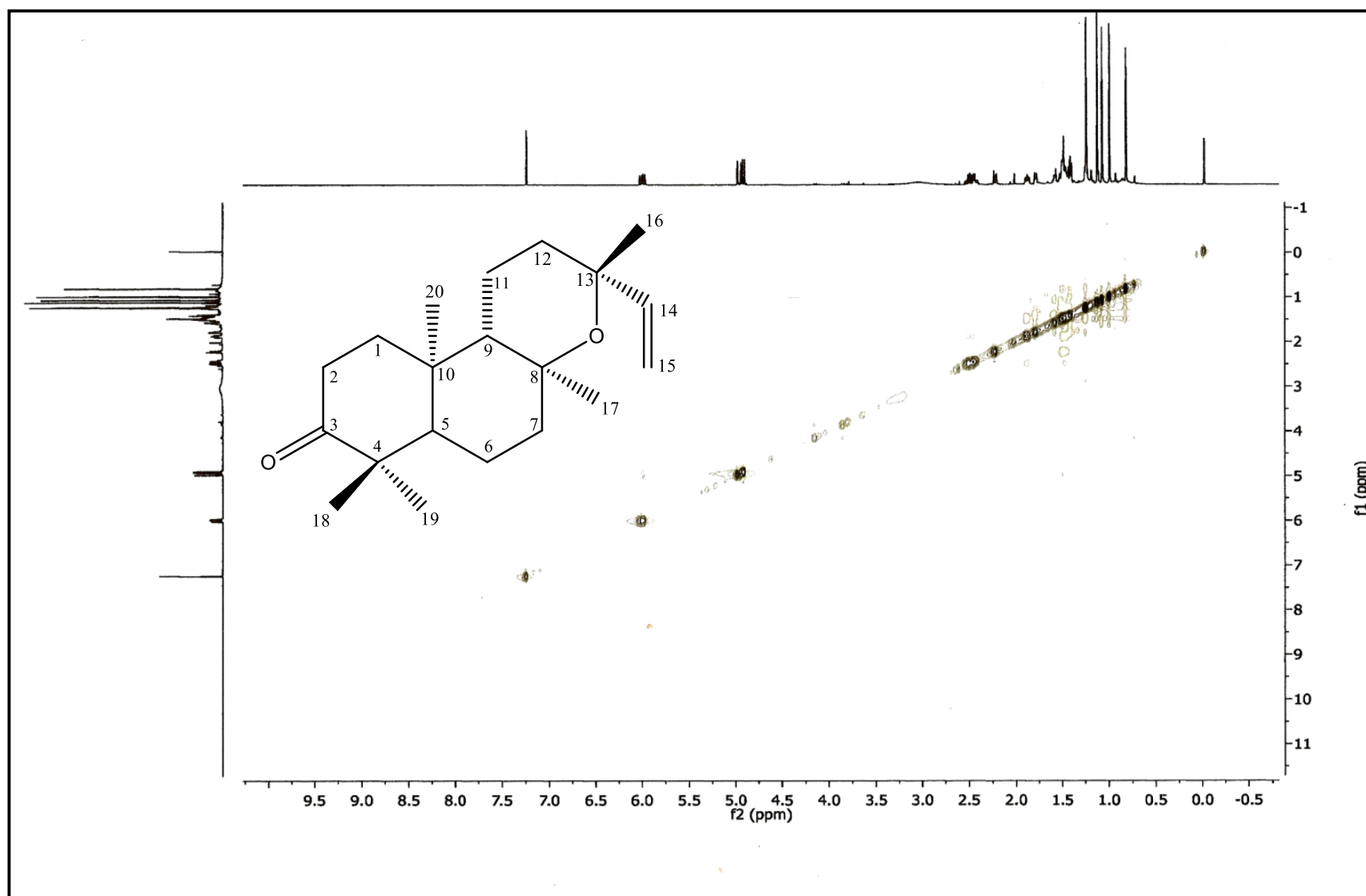
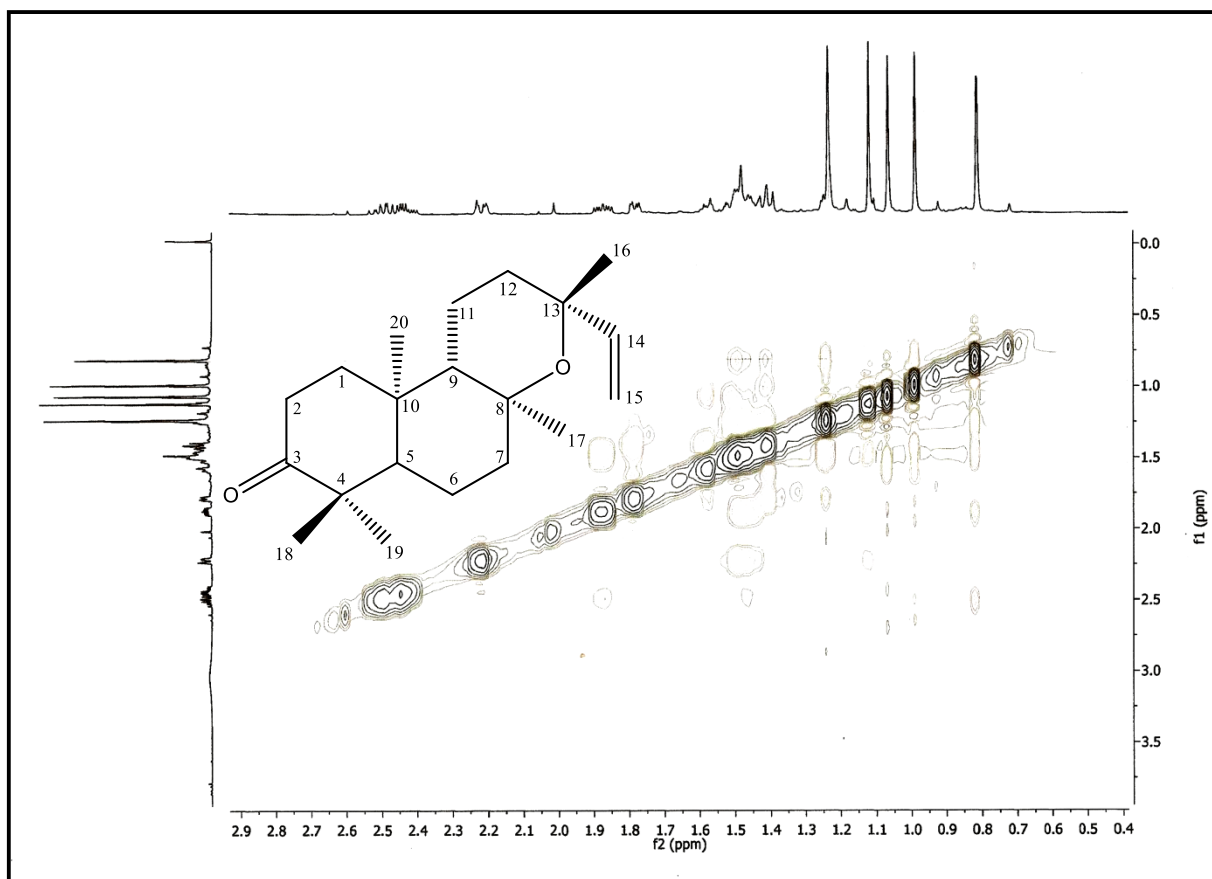


Figura 66. Espectro de correlação gNOESY de SAL-5 (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



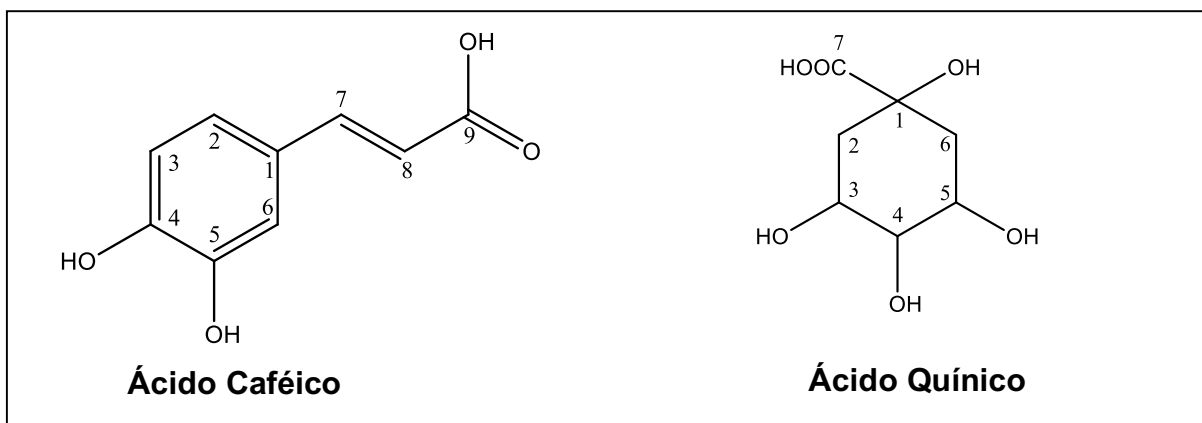
**Figura 67.** Expansão do espectro de correlação gNOESY de SAL-5 (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

## 5.6 Determinação estrutural de SAL-6

A substância codificada como **SAL-6** foi isolada na forma de um sólido avermelhado, solúvel em metanol. O espectro de infravermelho obtido em pastilhas de KBr mostrou absorções em  $3394\text{ cm}^{-1}$ , característico de grupo hidroxila;  $1658\text{ cm}^{-1}$  e  $1600\text{ cm}^{-1}$ , característicos de carbonila de éster conjugada e carbonila ligada a hidroxila, respectivamente (fig. 68, pág. 121).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (fig. 69, pág. 122), bem como suas expansões (fig. 70 e 71, pág. 123; fig. 72 e 73, pág. 124; fig. 74, pág. 125) mostraram a presença de 26 sinais correspondentes a 25 átomos de carbonos. Destes, 6 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 8 atribuídos a carbonos metínicos e 2 a carbonos metilênicos.

Os duplos sinais de carbono em  $\delta_{\text{C}}$  123,0 ppm (2x), 115,1 ppm (2x), 127,6/127,7 ppm, 147,4/147,5 ppm e 168,6/169,1 ppm, comparados com dados da literatura (TAVARES; FERREIRA, 2006) são compatíveis com deslocamentos químicos de unidades cafeoíla; e os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  76,6 ppm, 38,7 ppm, 70,2 ppm e 69,3 ppm são compatíveis com absorções de carbonos de unidade quinato de metila.

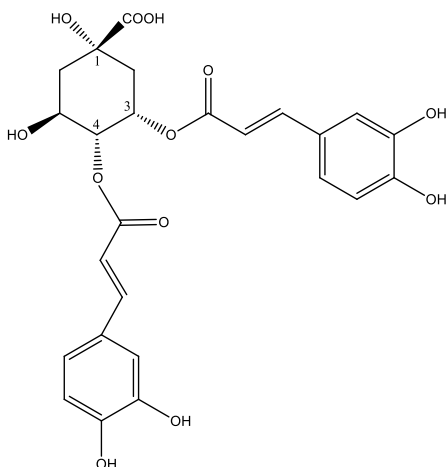


TAVARES; FERREIRA, 2006).

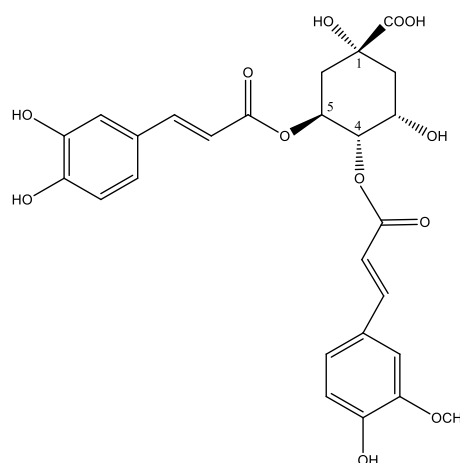
O grupo de sinais observados em  $\delta_{\text{C}}$  146,7 ppm (2x), e 149,6 ppm (2x) são característicos de carbonos aromáticos e oxigenados e sinais em  $\delta_{\text{C}}$  75,8 ppm, 69,3 ppm e 76,6 ppm são compatíveis com carbonos oxigenados alifáticos. Absorção em  $\delta_{\text{C}}$  176,8 ppm infere a presença de carbonila ligada a hidroxila e o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  168,6

ppm aponta outra carbonila, porém mais protegida, indicando estar ligada a um grupo protetor ou conjugada a uma dupla ligação.

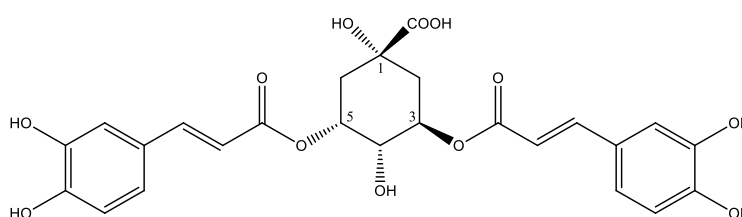
No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, MeOD) (fig. 75, pág 126), bem como suas expansões (fig. 76 e 77, pág. 127) observou-se sinais para quarto doublets em  $\delta_{\text{H}}$  7,57 ppm (*d*;  $J = 16,0$  Hz), 7,49 ppm (*d*,  $J = 16,0$  Hz), 6,25 ppm (*d*,  $J = 16,0$  Hz) e 6,17 ppm (*d*,  $J = 16,0$  Hz), característicos de hidrogênios olefínicos em configuração *trans*. Observou-se também sinais em  $\delta_{\text{H}}$  7,00 ppm (*d*,  $J = 2,0$  Hz)/ 6,78 ppm (*d*,  $J = 2,0$  Hz), 6,72 ppm (*d*,  $J = 8,5$  Hz)/ 6,73 ppm (*d*,  $J = 8,0$  Hz) e 6,78 ppm (*m*), o que corrobora com dois sistemas ABX, indicando a presença de dois anéis aromáticos 1,3,4 trissubstituídos. Nesse mesmo aspecto, observou-se ainda um multiplete entre  $\delta_{\text{H}}$  2,0-2,4 ppm atribuídos aos hidrogênios em carbono  $\text{sp}^3$  do ácido quínico. As demais multiplicidades estão compiladas na tabela 14 (pág. 120). Constatou-se ainda o efeito de desproteção em dois prótons oximetínicos que absorveram em  $\delta_{\text{H}}$  5,02 ppm e 5,63 ppm indicando que as unidades cafeoilas estavam esterificando o ácido quínico. Portanto, as possibilidades das esterificações estarem ocorrendo na hidroxila do ácido ou na hidroxila em C-1, foram descartadas. Dessa forma, três possibilidades estruturais para **SAL-6** foram sugeridas:



**Ácido 3,4-O-dicafeoilquínico**

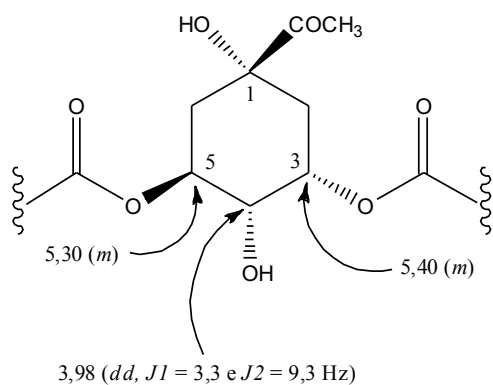


**Ácido 4,5-O-dicafeoilquínico**

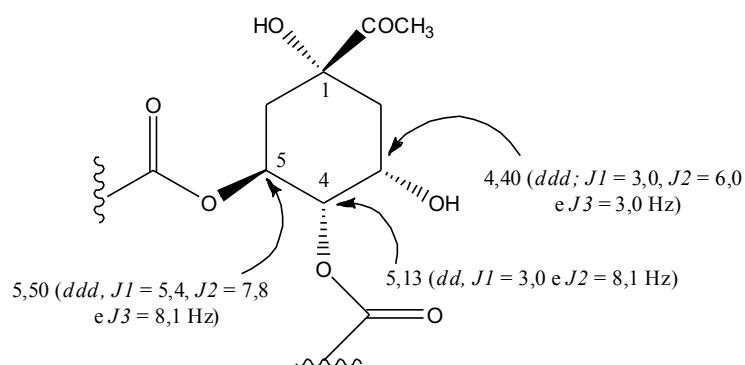


**Ácido 3,5-O-dicafeoilquínico**

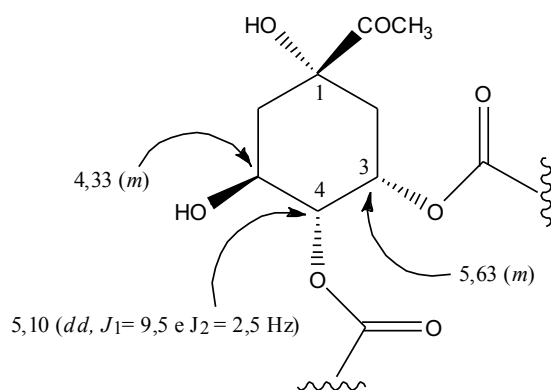
Sendo assim, os dados de RMN  $^1\text{H}$  das três propostas foram comparados com os dados obtidos para **SAL-6**:



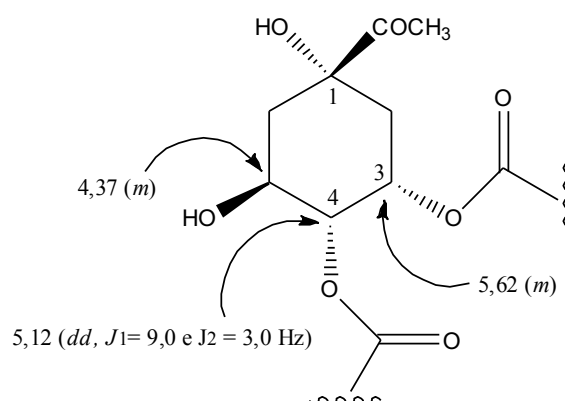
**Ácido 3,5-O-cafeoilquínico**  
(MEIRA; DAVID, 2008)



**Ácido 4,5-O-cafeoilquínico**  
(MEIRA; DAVID, 2008)



**Ácido 3,4-O-cafeoilquínico**  
(TATEFUJI, et al., 1996)



**SAL-6**

Foi possível inferir, dessa forma, que **SAL-6** tratava-se do Ácido 3,4-O-cafeoilquínico. Para maior confirmação, os dados de RMN  $^{13}\text{C}$  das três propostas também foram comparados com os dados obtidos para **SAL-6** e estão compilados na tabela 13 (pág. 119).

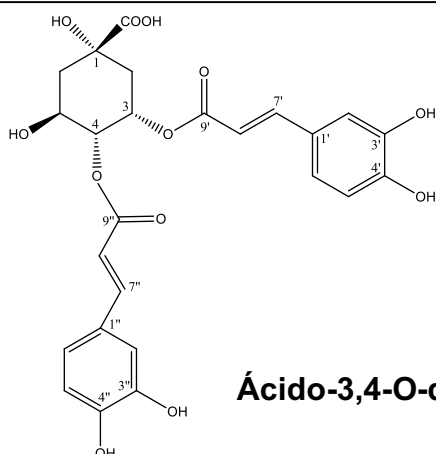


**Tabela 13.** Dados comparativos de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de diferentes derivados do ácido cafeoil-quinico e SAL-6.

<p><b>Ácido 3,5-O-cafeoilquinico</b> (MEIRA; DAVID, 2008)</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>C</th> <th><math>\delta_c</math></th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1</td><td>74,6</td></tr> <tr><td>2</td><td>38,4</td></tr> <tr><td>3</td><td>71,9</td></tr> <tr><td>4</td><td>69,1</td></tr> <tr><td>5</td><td>72,2</td></tr> <tr><td>6</td><td>35,6</td></tr> <tr><td>1' e 1''</td><td>127,5 e 127,8</td></tr> <tr><td>2' e 2''</td><td>115,1 e 115,1</td></tr> <tr><td>3' e 3''</td><td>146,6 e 146,7</td></tr> <tr><td>4' e 4''</td><td>149,7 e 149,7</td></tr> <tr><td>5' e 5''</td><td>116,4 e 116,5</td></tr> <tr><td>6' e 6''</td><td>123,1 e 123,1</td></tr> <tr><td>7' e 7''</td><td>147,1 e 147,4</td></tr> <tr><td>8' e 8''</td><td>114,8 e 115,4</td></tr> <tr><td>9' e 9''</td><td>167,9 e 168,7</td></tr> </tbody> </table>	C	$\delta_c$	1	74,6	2	38,4	3	71,9	4	69,1	5	72,2	6	35,6	1' e 1''	127,5 e 127,8	2' e 2''	115,1 e 115,1	3' e 3''	146,6 e 146,7	4' e 4''	149,7 e 149,7	5' e 5''	116,4 e 116,5	6' e 6''	123,1 e 123,1	7' e 7''	147,1 e 147,4	8' e 8''	114,8 e 115,4	9' e 9''	167,9 e 168,7	<p><b>Ácido 4,5-O-cafeoilquinico</b> (MEIRA; DAVID, 2008)</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>C</th> <th><math>\delta_c</math></th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1</td><td>75,7</td></tr> <tr><td>2</td><td>38,3</td></tr> <tr><td>3</td><td>68,6</td></tr> <tr><td>4</td><td>74,8</td></tr> <tr><td>5</td><td>69,0</td></tr> <tr><td>6</td><td>38,3</td></tr> <tr><td>1' e 1''</td><td>127,5 e 127,6</td></tr> <tr><td>2' e 2''</td><td>111,6 e 115,1</td></tr> <tr><td>3' e 3''</td><td>146,8 e 149,3</td></tr> <tr><td>4' e 4''</td><td>149,8 e 150,6</td></tr> <tr><td>5' e 5''</td><td>116,4 e 116,5</td></tr> <tr><td>6' e 6''</td><td>123,1 e 124,2</td></tr> <tr><td>7' e 7''</td><td>146,6 e 146,7</td></tr> <tr><td>8' e 8''</td><td>114,5 e 115,1</td></tr> <tr><td>9' e 9''</td><td>167,9 e 168,4</td></tr> </tbody> </table>	C	$\delta_c$	1	75,7	2	38,3	3	68,6	4	74,8	5	69,0	6	38,3	1' e 1''	127,5 e 127,6	2' e 2''	111,6 e 115,1	3' e 3''	146,8 e 149,3	4' e 4''	149,8 e 150,6	5' e 5''	116,4 e 116,5	6' e 6''	123,1 e 124,2	7' e 7''	146,6 e 146,7	8' e 8''	114,5 e 115,1	9' e 9''	167,9 e 168,4
C	$\delta_c$																																																																		
1	74,6																																																																		
2	38,4																																																																		
3	71,9																																																																		
4	69,1																																																																		
5	72,2																																																																		
6	35,6																																																																		
1' e 1''	127,5 e 127,8																																																																		
2' e 2''	115,1 e 115,1																																																																		
3' e 3''	146,6 e 146,7																																																																		
4' e 4''	149,7 e 149,7																																																																		
5' e 5''	116,4 e 116,5																																																																		
6' e 6''	123,1 e 123,1																																																																		
7' e 7''	147,1 e 147,4																																																																		
8' e 8''	114,8 e 115,4																																																																		
9' e 9''	167,9 e 168,7																																																																		
C	$\delta_c$																																																																		
1	75,7																																																																		
2	38,3																																																																		
3	68,6																																																																		
4	74,8																																																																		
5	69,0																																																																		
6	38,3																																																																		
1' e 1''	127,5 e 127,6																																																																		
2' e 2''	111,6 e 115,1																																																																		
3' e 3''	146,8 e 149,3																																																																		
4' e 4''	149,8 e 150,6																																																																		
5' e 5''	116,4 e 116,5																																																																		
6' e 6''	123,1 e 124,2																																																																		
7' e 7''	146,6 e 146,7																																																																		
8' e 8''	114,5 e 115,1																																																																		
9' e 9''	167,9 e 168,4																																																																		
<p><b>Ácido 3,4-O-cafeoilquinico</b> (TATEFUJI, et al., 1996)</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>C</th> <th><math>\delta_c</math></th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1</td><td>75,8</td></tr> <tr><td>2</td><td>39,4</td></tr> <tr><td>3</td><td>69,4</td></tr> <tr><td>4</td><td>76,1</td></tr> <tr><td>5</td><td>69,0</td></tr> <tr><td>6</td><td>38,4</td></tr> <tr><td>1' e 1''</td><td>127,7 e 127,8</td></tr> <tr><td>2' e 2''</td><td>115,2 e 115,3</td></tr> <tr><td>3' e 3''</td><td>146,8 e 146,8</td></tr> <tr><td>4' e 4''</td><td>149,7 e 149,7</td></tr> <tr><td>5' e 5''</td><td>116,5 e 116,5</td></tr> <tr><td>6' e 6''</td><td>123,2 e 123,2</td></tr> <tr><td>7' e 7''</td><td>147,6 e 147,8</td></tr> <tr><td>8' e 8''</td><td>114,7 e 114,8</td></tr> <tr><td>9' e 9''</td><td>168,3 e 168,6</td></tr> </tbody> </table>	C	$\delta_c$	1	75,8	2	39,4	3	69,4	4	76,1	5	69,0	6	38,4	1' e 1''	127,7 e 127,8	2' e 2''	115,2 e 115,3	3' e 3''	146,8 e 146,8	4' e 4''	149,7 e 149,7	5' e 5''	116,5 e 116,5	6' e 6''	123,2 e 123,2	7' e 7''	147,6 e 147,8	8' e 8''	114,7 e 114,8	9' e 9''	168,3 e 168,6	<p><b>SAL-4</b></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>C</th> <th><math>\delta_c</math></th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1</td><td>75,8</td></tr> <tr><td>2</td><td>40,3</td></tr> <tr><td>3</td><td>69,3</td></tr> <tr><td>4</td><td>76,6</td></tr> <tr><td>5</td><td>70,2</td></tr> <tr><td>6</td><td>38,7</td></tr> <tr><td>1' e 1''</td><td>127,6 e 127,7</td></tr> <tr><td>2' e 2''</td><td>115,1 e 115,1</td></tr> <tr><td>3' e 3''</td><td>146,7 e 146,7</td></tr> <tr><td>4' e 4''</td><td>149,6 e 149,6</td></tr> <tr><td>5' e 5''</td><td>116,4 e 116,4</td></tr> <tr><td>6' e 6''</td><td>123,0 e 123,0</td></tr> <tr><td>7' e 7''</td><td>147,4 e 147,5</td></tr> <tr><td>8' e 8''</td><td>114,8 e 115,1</td></tr> <tr><td>9' e 9''</td><td>168,6 e 169,1</td></tr> </tbody> </table>	C	$\delta_c$	1	75,8	2	40,3	3	69,3	4	76,6	5	70,2	6	38,7	1' e 1''	127,6 e 127,7	2' e 2''	115,1 e 115,1	3' e 3''	146,7 e 146,7	4' e 4''	149,6 e 149,6	5' e 5''	116,4 e 116,4	6' e 6''	123,0 e 123,0	7' e 7''	147,4 e 147,5	8' e 8''	114,8 e 115,1	9' e 9''	168,6 e 169,1
C	$\delta_c$																																																																		
1	75,8																																																																		
2	39,4																																																																		
3	69,4																																																																		
4	76,1																																																																		
5	69,0																																																																		
6	38,4																																																																		
1' e 1''	127,7 e 127,8																																																																		
2' e 2''	115,2 e 115,3																																																																		
3' e 3''	146,8 e 146,8																																																																		
4' e 4''	149,7 e 149,7																																																																		
5' e 5''	116,5 e 116,5																																																																		
6' e 6''	123,2 e 123,2																																																																		
7' e 7''	147,6 e 147,8																																																																		
8' e 8''	114,7 e 114,8																																																																		
9' e 9''	168,3 e 168,6																																																																		
C	$\delta_c$																																																																		
1	75,8																																																																		
2	40,3																																																																		
3	69,3																																																																		
4	76,6																																																																		
5	70,2																																																																		
6	38,7																																																																		
1' e 1''	127,6 e 127,7																																																																		
2' e 2''	115,1 e 115,1																																																																		
3' e 3''	146,7 e 146,7																																																																		
4' e 4''	149,6 e 149,6																																																																		
5' e 5''	116,4 e 116,4																																																																		
6' e 6''	123,0 e 123,0																																																																		
7' e 7''	147,4 e 147,5																																																																		
8' e 8''	114,8 e 115,1																																																																		
9' e 9''	168,6 e 169,1																																																																		

A partir dos dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  obtidos para **SAL-6**, comparados com dados da literatura (TATEFUJI, 1996; MEIRA; DAVID, 2008), foi possível identificá-la como sendo Ácido 3,4-O-dicafeoil-quinico, isolado pela primeira vez no gênero.

**Tabela 14.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de SAL-6, obtidos em  $\text{CDCl}_3$ .



C	$\delta_{\text{C}}$		$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$ (TATEFUJI, et al., 1996)
<b>C</b>				
1	75,8	-		75,8
7				
1'/1''	127,6/127,7	-		127,7/127,8
3'/3''	146,7/146,7	-		146,8/146,8
4'/4''	149,6/149,6	-		149,7/149,7
9'/9''	168,0/169,1			168,3/168,6
<b>CH</b>				
3	69,3	5,63 ( <i>m</i> )		69,4
4	76,6	5,10 ( <i>dd</i> , $J_1 = 9,5$ e $J_2 = 2,5$ Hz)		76,1
5	70,2	4,33 ( <i>m</i> )		69,0
2'/2''	115,1/115,1	7,00 ( <i>d</i> , $J = 2,0$ Hz)/ 6,98 ( <i>d</i> , $J = 2,0$ Hz)		115,2/115,3
5'/5''	116,4/116,4	6,72 ( <i>d</i> , $J = 8,5$ Hz)/6,73 ( <i>d</i> , $J = 8,0$ Hz)		116,5/116,5
6'/6''	123,0/123,0	6,78 ( <i>m</i> )		123,2/123,2
7'/7''	147,4/147,5	7,49 ( <i>d</i> , $J = 16,0$ Hz)/ 7,57 ( <i>d</i> , $J = 16,0$ Hz)		147,6/147,6
8'/8''	114,8/115,1	6,17 ( <i>d</i> , $J = 16,0$ Hz)/ 6,25 ( <i>d</i> , $J = 16,0$ Hz)		114,7/114,8
<b>CH<sub>2</sub></b>				
2	40,3	2,0-2,4 ( <i>m</i> )		39,2
6	38,7	2,0-2,4 ( <i>m</i> )		38,4

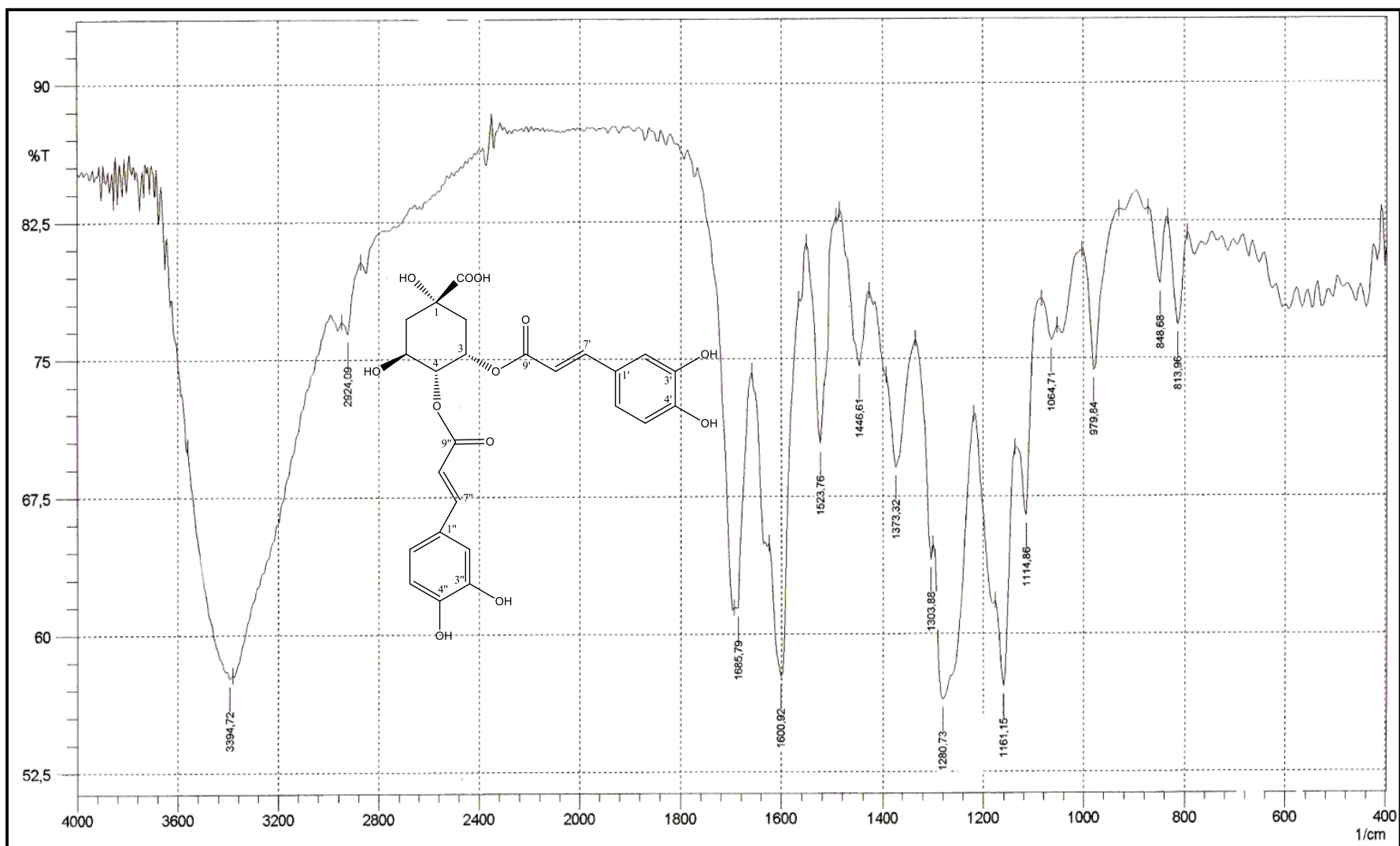


Figura 68. Espectro de IV de SAL-6, obtido em pastilhas de KBr

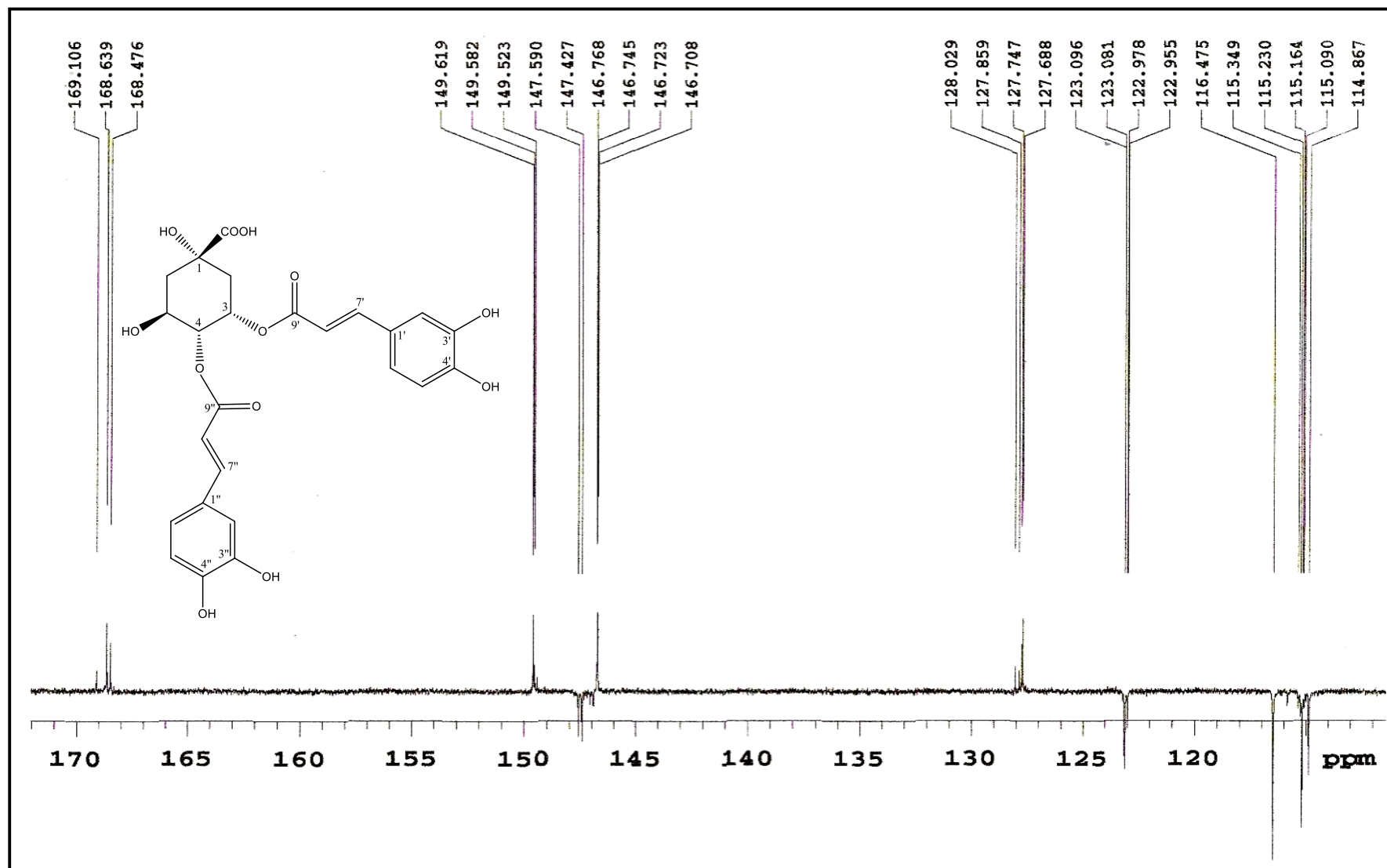


Figura 69. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-6 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

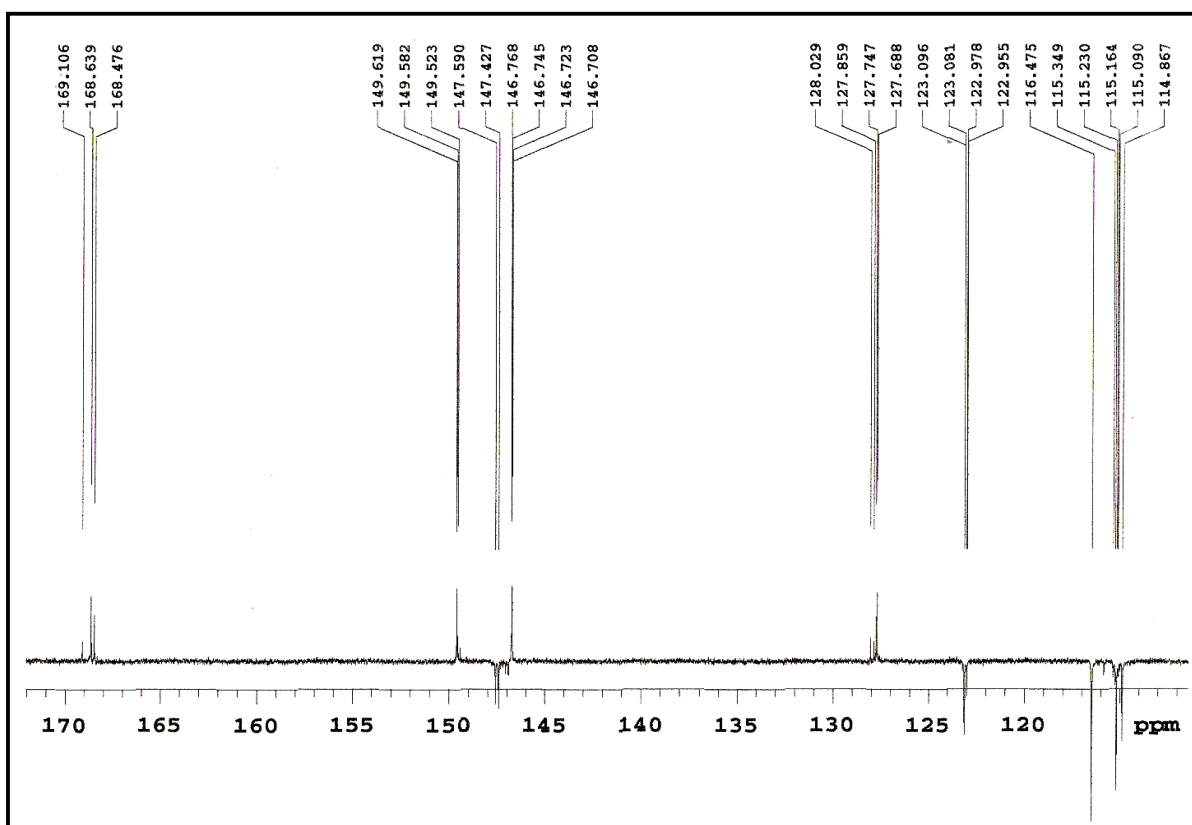


Figura 70. Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-6 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (110-170 ppm).

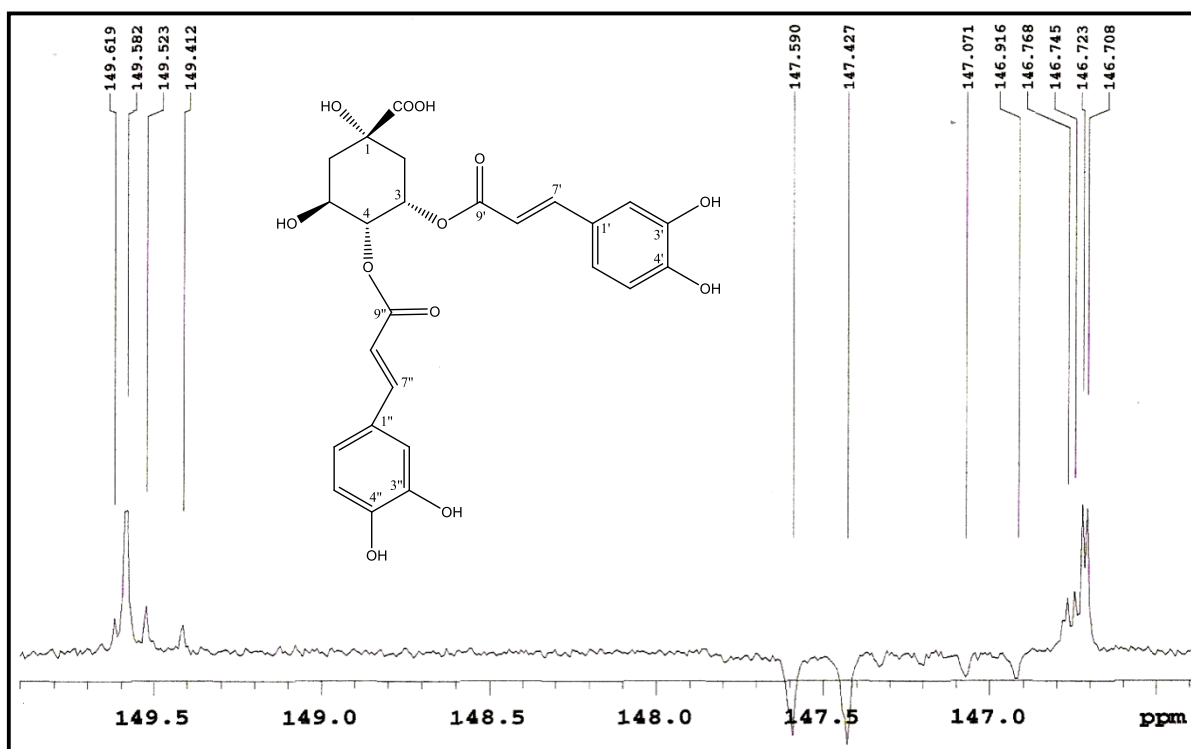
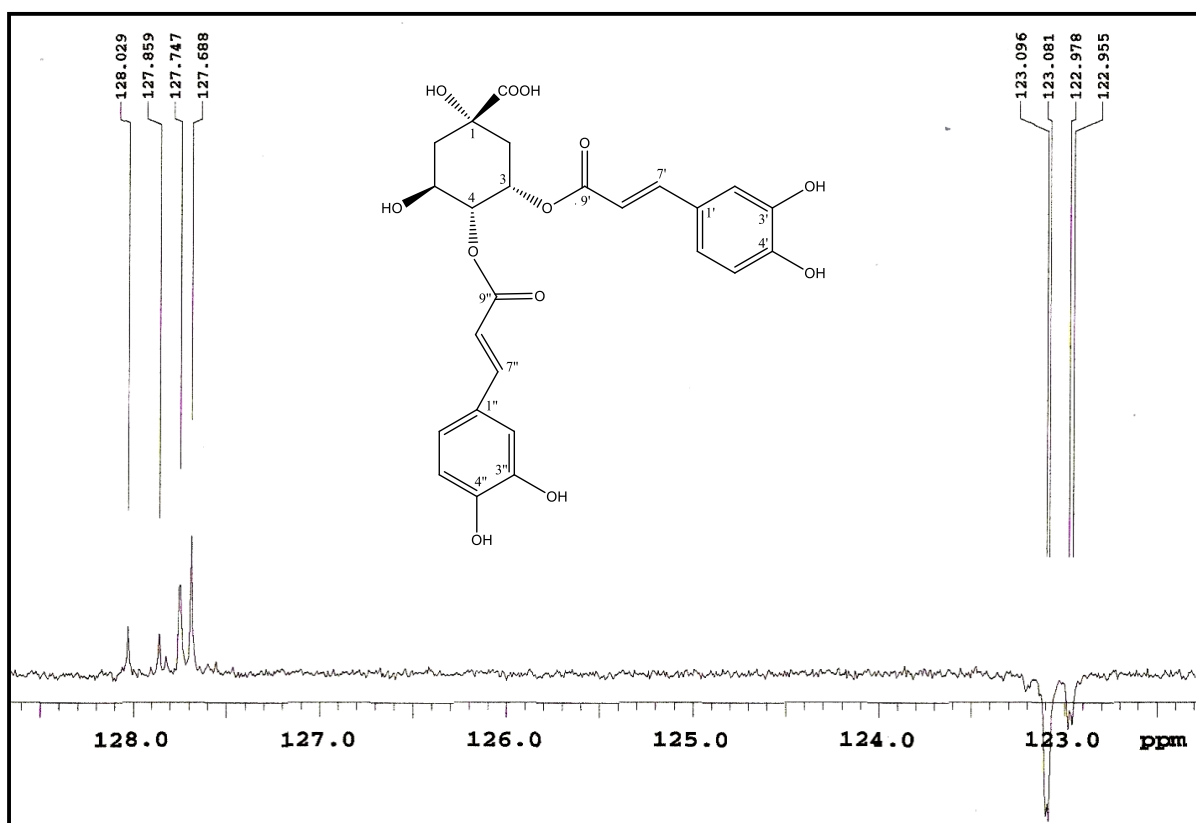
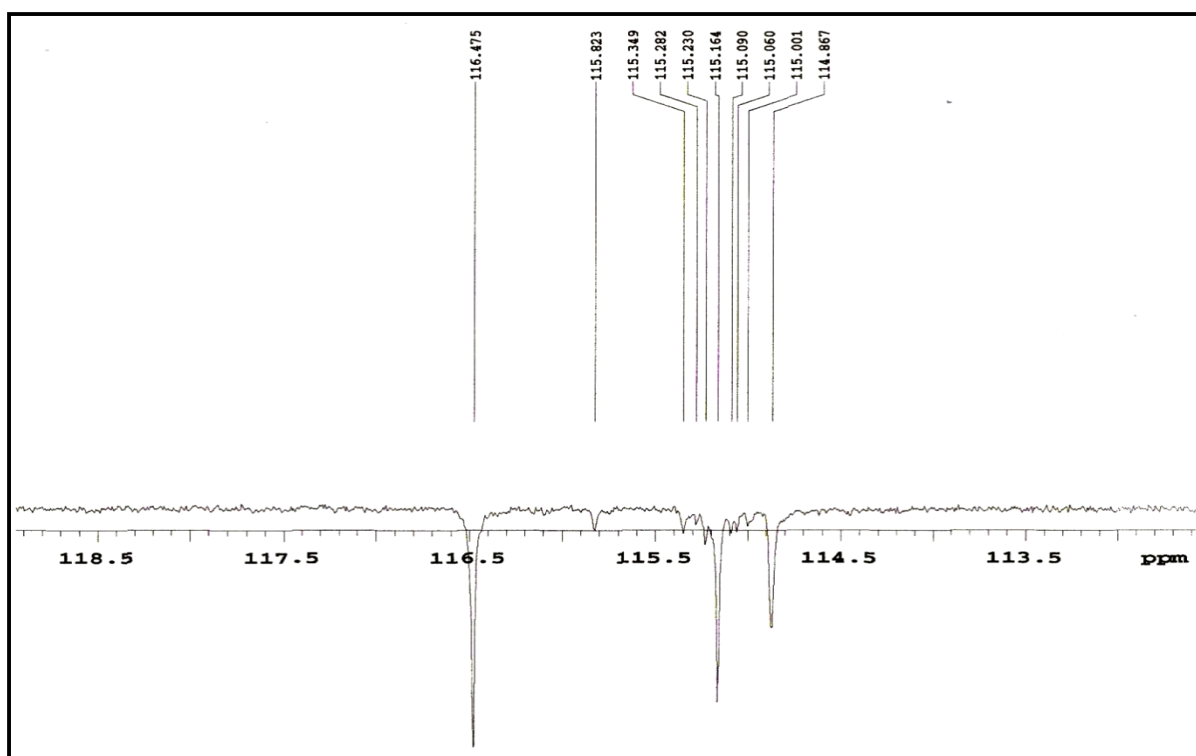


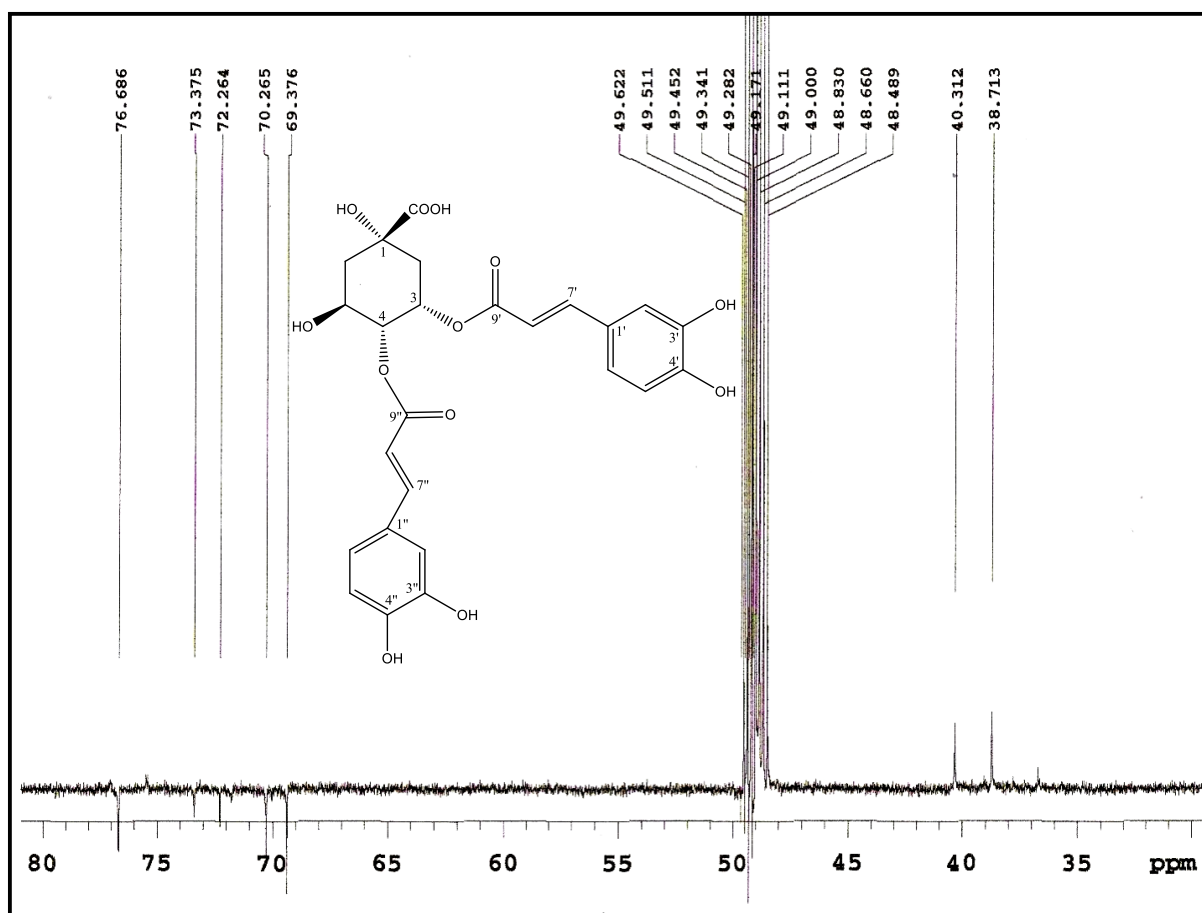
Figura 71. Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-6 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (145-149 ppm).



**Figura 72.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-6 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (120-128 ppm).



**Figura 73.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-6 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (114-110,5 ppm).



**Figura 74.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de SAL-6 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (30-80 ppm).

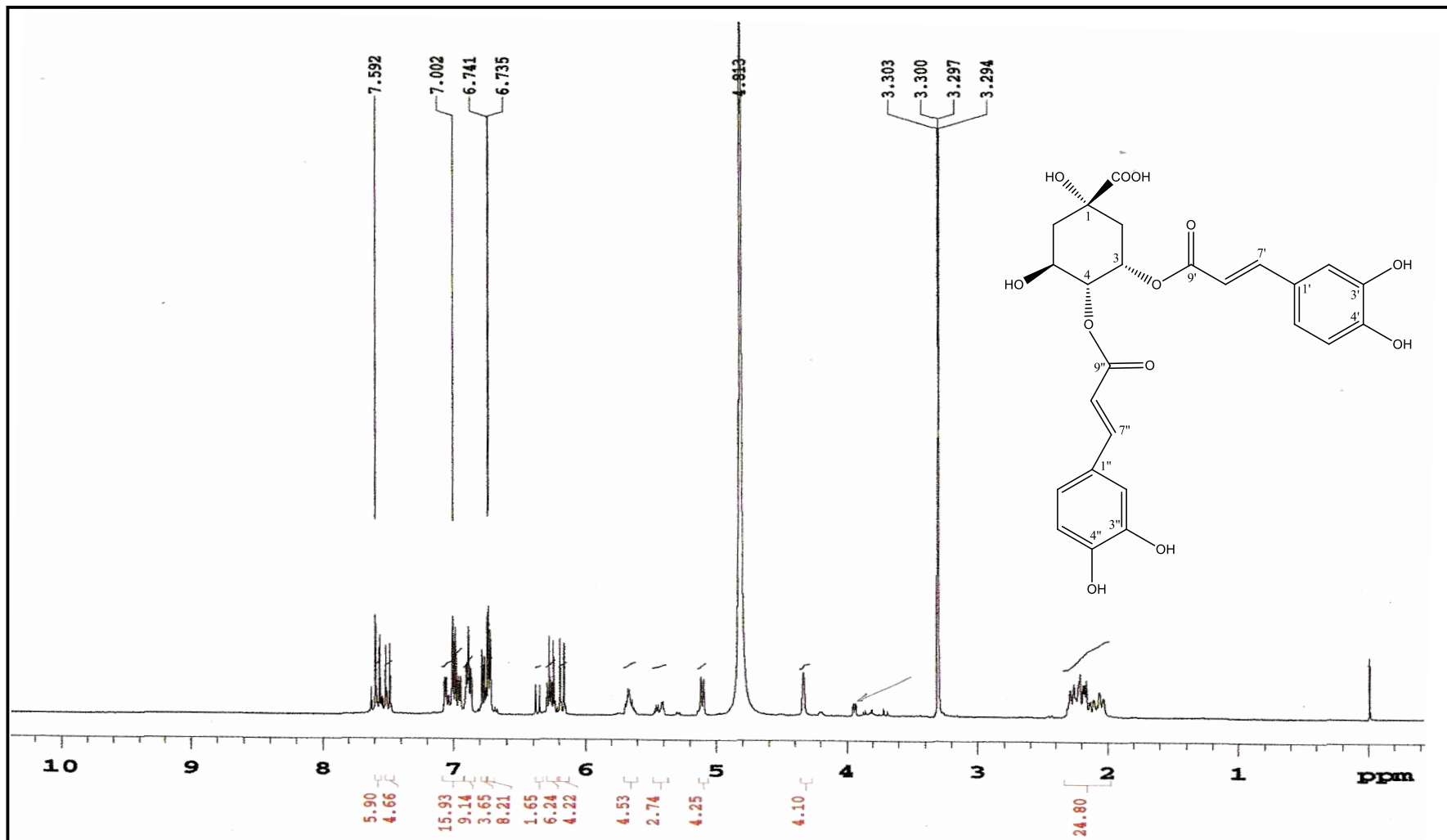
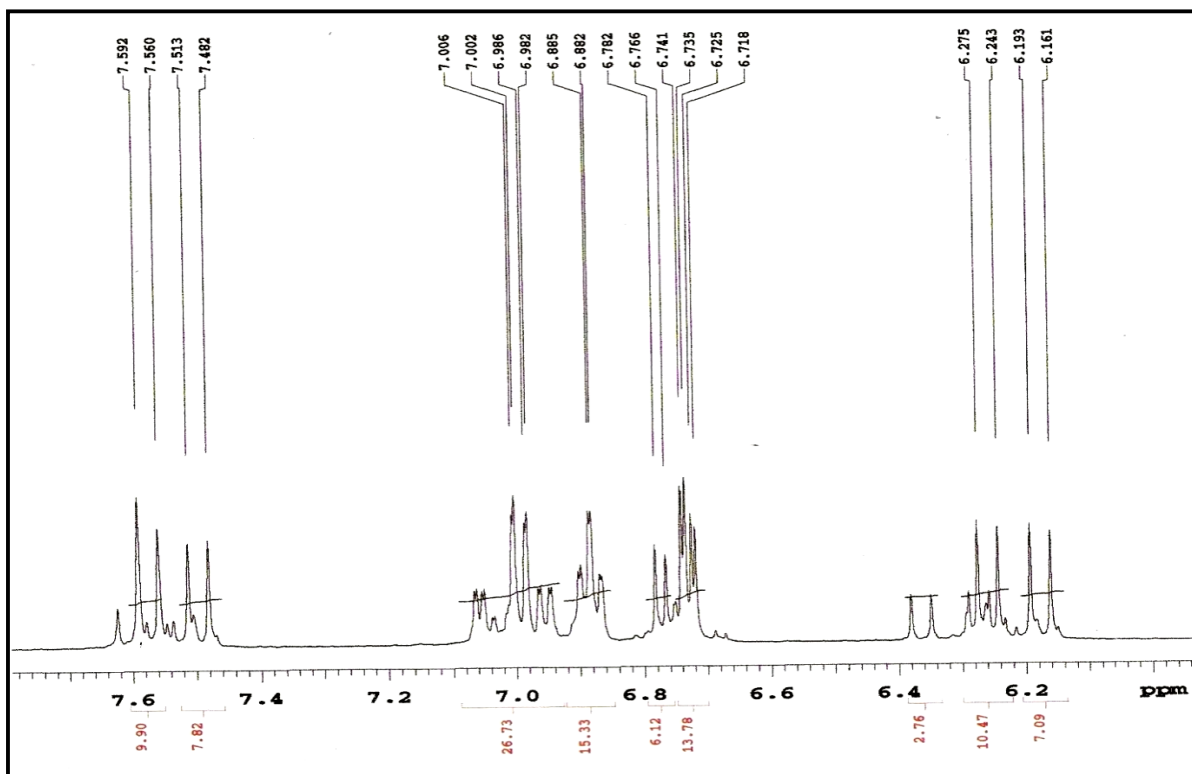
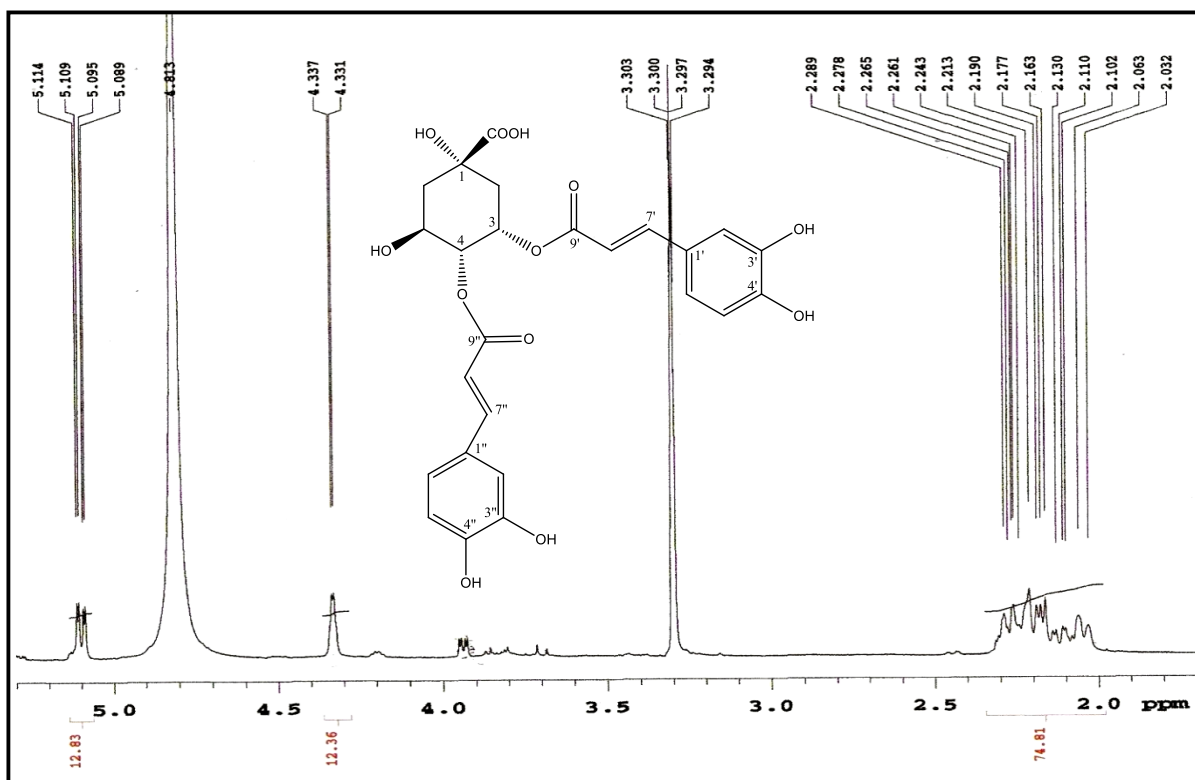


Figura 75. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-6 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).





**Figura 76.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-6 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (6,0-7,5 ppm).



**Figura 77.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de SAL-6 (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (1,5-5,5 ppm).

## 5 CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico das raízes de *Salzmannia nitida* DC. (Rubiaceae) levou ao isolamento de seis substâncias. Através de técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio e carbono treze (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ), bem como técnicas bidimensionais (HMQC, HMBC, COSY e NOESY-1D), foi possível identificar:

- Quatro terpenoides, sendo um sesquiterpeno ( $\alpha$ -cadinol); dois diterpenos derivados do óxido de manoíla (*ent*-13-*epi*-19-hidroxi manoil óxido e *ent*-3-oxomanoil óxido) e um diterpeno caurano (*ent*-cauran-16-ene), sendo os três primeiros isolados pela primeira vez na família e o último isolado pela primeira vez no gênero.
- Dois compostos fenólicos, sendo uma acetofenona (2-hidróxi-5-metoxi-acetofenona), isolado pela primeira vez na família, e um derivado do ácido clorogênico (ácido 3,4-*O*-dicafeoil quínico), isolado pela primeira vez no gênero.

O isolamento dessas substâncias, além de contribuir significativamente para a quimiotaxonomia da família Rubiaceae, especialmente da espécie *Salzmannia nitida* DC., cujos estudos fitoquímicos são escassos, embasa novas pesquisas, como os de atividade biológica. Sendo assim, pretende-se dar continuidade ao estudo químico, utilizando as partes aéreas, bem como, realizar estudos de atividade farmacológica que possam comprovar o uso deste vegetal na medicina popular e verificar a possibilidade de aproveitamento desta espécie pelo setor farmacêutico.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, R.; SHAARI, K.; LAJIS, N. H.; HAMZAH, A. S.; ISMAIL, N. H.; KITAJIMA, M. Anthraquinones from *Hedyotis capitellata*. **Phytochemistry**, v. 66, p. 1141-1147, 2005.
- AKERELE, O. Summary of WHO Guidelines for the Assessment of Herbal Medicines. **Herbal Gram**, v. 28, p.13-16, 1993.
- ALMASSY-JUNIOR, A. A.; SILVA, A.F.; FONSECA, M. C. M. Conhecimento tradicional do uso medicinal das plantas. **Informe Agropecuário**, v. 31, p. 20-26, 2010.
- ALMQVIST, S. O.; ENZELL, C. R.; WEHRLI, F. W. Carbon-13 NMR Studies of Labdane Diterpenoids. **Acta Chemica Scandinava**, v. 29, p. 695-702, 1975.
- ALVES, J. S. **Terpenoides de *Salzmannia nitida* DC. (Rubiaceae) e investigação da ação espasmolítica do ácido ursólico, um triterpeno de caráter anfifílico.** Dissertação de Mestrado - Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 1997.
- ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos temáticos de Química Nova na Escola**, v. 3, p. 10-15, 2001.
- ARAÚJO, E. L.; CASTRO, C. C.; ALBUQUERQUE, U.P. Dynamics of Brazilian Caatinga – a review concerning the plants, environment and people. **Functional Ecosystems and Communities**, v. 1, p. 15-28, 2007.
- ARAÚJO, M. F.; VIEIRA, I. J. C.; BRAZ-FILHO, R.; CARVALHO, G. **Simiranos A e B, dois novos diterpenos e outros constituintes de *Simira eliezeriana* (Rubiaceae).** Trabalho apresentado na SBQ, 2011.
- ASSIS, M. C.; GIULIETTI, A. M. Diferenciação morfológica e anatômica em populações de "ipecacuanha" - *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, n. 2, p. 205-216, 1999.
- BANDYOPADHYAY, D.; NAYAK, A.; BASAK, B.; BANERJI, A.; BANERJI, J.; CHATTERJEE, A.; PRANGE, T.; NEUMAN, A. *N*-(4-methylphenyl)

benzenepropanamide – the first isolated amide from the genus *Paederia*. **Natural Product Communications**, v. 2, n. 7, p. 753-754, 2007.

BARBOSA, M. R. V.; SOTHERS, C.; MAYO, S.; GAMARRA-ROJAS, C. F. L.; MESQUITA, C. A. **Checklist das Plantas do Nordeste Brasileiro: Angiospermas e Gymnospermas**. Ministério da Ciência e Tecnologia. p. 135 – 140, 2006.

BEZERRA, D. A. C. **Estudo Fitoquímico e Bromatológico e Microbiológico de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke**. Dissertação de mestrado – Universidade Federal de Patos, 2008.

BOAVENTURA, M. A. D.; PEREIRA, R. G.; FREITAS, L. B. O.; REIS, L. A.; VIEIRA, H. S. Preparation and phytotoxicity of novel kaurane diterpene amides with potential use as herbicides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 2985-2988, 2008.

BOLZANI, V.S.; YONG, M.C.M.; FURLAN, M.; CAVALHEIRO, A.J.; ARAÚJO, A.R.; SILVA, D.H.S. & LOPES, M.N. Secondary Metabolites from Brazilian Rubiaceae Plant Species: Chemotaxonomical and biological significance. **Recent Research Development in Phytochemistry**, v. 5, p. 19-31, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria nº. 971, de 3 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 4 maio. 2006.

BRUNETON, J. **Pharmacognosie: Phytochimie Plantes Médicinales. Technique et Documentation**. 2 ed. França: Technique et Documentation, 1993.

CARBONEZI, C. A.; HAMERSKI, L.; FLAUSINO JÚNIOR, O. A.; FURLAN, M.; BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M. Determinação por RMN das configurações relativas e conformações de alcalóides oxindólicos isolados de *Uncaria guianensis*. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 878-881, 2004.

CARDOSO, M. G., SHAN, A. Y. K. V., PINTO, J. E. B. P., FILHO, N. D.; BERTOLUCCI, S.K.V. **Metabólitos secundários vegetais: visão geral química e**

**medicinal.** Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais metabolites secundários.** 2.ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2004.

CAVALCANTI, B. C.; FERREIRA, J. R. O.; MOURA, D. J.; ROSA, R. M.; FURTADO, G. V.; BURBANO, R. R.; SILVEIRA, E.R. LIMA, M. A. S.; CAMARA, C.A.G.; SAFFI, J.; HENRIQUES, J. A. P.; RAO, V. S. N.; LOTUFO, L. V. C.; MORAES, M. O.; PESSOA, C. Structure–mutagenicity relationship of kaurenoic acid from *Xylopiá sericeae* (Annonaceae). **Mutation Research**, v. 701, p. 153-163, 2010.

CHALCHAT, J. C.; GARRY, R. P.; MICHET, A. Sesquiterpenes of the essential oil of *Pimus sylvestris*. **Planta Médica**, v. 51, n. 3, p. 285-288, 1985.

COELHO, V. P. M.; AGRA, M. F.; BARBOSA, M. R. V. Estudo farmacobotânico das folhas de *Tocoyena formosa* (Cham. & Schltdl.) K.Schum. (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 170-177, 2006.

DE SOUZA, C.D.; FELFILI, J.M. Uso de Plantas Mediciniais na Região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta botânica brasileira**, v. 20, p.135-142, 2006.

DEMETZOS, C.; KOLOCOURIS, A.; ANASTASAKI, T. A Simple and Rapid Method for the Differentiation of C-13 Manoyl Oxide Epimers in Biologically Important Samples Using GC–MS Analysis Supported with NMR Spectroscopy and Computational Chemistry Results. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 12, p. 3605-3609, 2002.

DEWICK, P. The biosynthesis of C<sub>5</sub> C<sub>25</sub> terpenoid compounds. **Natural Products Reporters**, v.19, p. 181- 222, 2002.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products. A biosynthetic approach.** 3 ed. Englan: John Wiley & Sons, 2009.

DI STASI, L.C. **Plantas medicinais: Arte e ciência.** São Paulo: Unesp, p.108-119, 1995.

DUBEY, S.; HWANG, D. J.; HUYNH-BA. Development of integrase inhibitors for treatment of AIDS: An overview. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, p. 1159-1168, 2007.

EISENREICH, W.; BACHER, A.; ARIGONI, D.; ROHDICH, F. Biosynthesis of isoprenoids via the non mevalonate pathway. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 61, p. 1401-1426, 2004.

FARIA, E.O.; RIBEIRO, L.C.; OLIVEIRA, CM.A.; DA SILVA, C.C.; SCHUQUEL, I.T.A.; KATO, L. **Novos alcalóides de Psychotria prunifolia (Kunth) Steyerm (Rubiaceae)**. Trabalho apresentado na SBQ, 2011.

FAZIO, C. S.; PASSANNANTI, M. P.; PATERNOSTRO, N. A. Diterpenoids from *Stachys mucronata*. **Planta Medica**, v. 60, p. 499-504, 1994.

FRAGA, B. M.; GONZÁLEZ, P.; GUILHERMO, R.; HERNÁNDEZ, M. G.; ROVIROSA, J. The microbial transformation of some ent-13-epi-manoyl oxide diterpenes by *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 7, p. 1851-1854, 1989.

FRANÇA, V. C. *Estudo Fitoquímico de duas espécies de Aristolochiaceae: Aristolochia birostris Duchtr. e Aristolochia papillaris Mast*. Tese de Doutorado - Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2003.

GARCÍA, M.; PÉREZ-ARQUILLUE, C.; JUAN, T.; JUAN, M.I.; HERRERA, A. Note: Pollen analysis and antibacterial activity of Spanish honeys. **Food Science Technology International**, v.7, n.2, p.155-158, 2001.

GARCÍA-GRANADOS, A.; MARTÍNÉZ, A.; MOLINA, A.; ONORATO, M. E.; RICO, M. BURUAGA, A. S.; BURUAGA, J. M. S. Diterpenoids from *Sideritis varoi* subspecies *cuatrecasasii*: <sup>13</sup>C NMR of ent-13-epi-manoyl oxides functionalized at C-12. **Phytochemistry**. v. 24, n. 8, p. 1789-1792, 1985.

GARCÍA-GRANADOS, A.; JIMÉNEZ, M. B.; MARTÍNÉZ, A.; PARRA, A.; RIVAS, F.; ARIAS, J. M. Chemical-Microbiological synthesis of ent-13-epi-manoyl oxides with biological activities. **Phytochemistry**, v. 37, n. 3, p. 741-747, 1994.

GUARRERA, M. P. Tradicional phytotherapy in central Italia. **Fitoterapia**, v. 76, p. 1-25, 2005.

HAMERSKI, L.; CAVALHEIRO, A. J.; CARBONEZI, C. A.; YOUNG, M. C. M.; BOLZANI, V. S. Saponinas triterpênicas de *Tocoyena brasiliensis* Mart. (Rubiaceae). **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 601-604, 2005.

HOTTZ, D.; PEREIRA-MOURA, M. V. L.; GOMES, M. Rubiaceae Juss. da Marambaia, Rio de Janeiro: Ixoroideae, *Gardenieae*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 642-644, 2007.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STENVENS, P. F. Plant systematics : a phylogenetic approach. **Sinauer Associates Inc. Publishers, Sunderland**, 465 p, 2008.

KIM, S. N.; LEE, J. Y.; KIM, H. J.; SCHIN, C. G.; PARK, H.; LEE, Y. S. Synthesis and HIV-1 integrase inhibitory activities of Caffeoylglucosides. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 10, p. 1879-1882, 2000.

LANA, E. J. L.; CARAZZA, F.; TAKAHASHI, J. A. Antibacterial evaluation of some new 2-aryl-3,5-dimethoxy-1,4-benzoquinone derivatives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2053-2056, 2006.

LIMA, L. F.; LIMA, P. B.; ALMEIDA-JÚNIOR, E. B.; ZICKEL, C. S. Morfologia de frutos, sementes e plântulas de *Guettarda platypoda* DC. (Rubiaceae). **Biota Neotropical**, v. 10, n.1, p. 155-160, 2010.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 2 ed. Nova Odessa: Plantarum, 368p, 1998.

MACÍAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J. M. G. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 2512-2521, 2000.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2 ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.

MELO, E. B.; BRUNI, A. T.; FERREIRA, M. M. C. Inibidores da HIV-integrase: Potencial abordagem farmacológica para tratamento da AIDS. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 555-562, 2006.

MENDOZA, H.; RAMÍREZ, B. R.; JIMENÉZ, L. C. **Rubiaceae de Colombia Guía Ilustrada de Géneros. Bogotá, Colombia**. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 2004.

MERAGELMAN, T. L.; RENTERIA, B. S.; SILVA, G. L.; SOTOMAYOR, C.; GIL, R. R. Modified seco-iridoid from *Acicarpha tribuloides* and inhibition of nitric oxide production in LPS-activated macrophages. **Phytochemistry**, v. 67, p.1534-1538, 2006.

MOTHANA, R. A. A.; HASSON, S. S.; SCHULTZE, W.; MOWITZ, A.; LINDEQUIST, U. Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of three endemic Soqotraen *Boswellia* species. **Food Chemistry**. v. 121, p. 1149-1154, 2011.

MOTOMIYA, A. V. A.; POLEZZI, R. C. S.; WILSON, C. F.; GOMES, L. S. M. D.; BATISTA, S. **Levantamento e Cultivo das Espécies de Plantas Medicinais Utilizadas em Cassilândia, MS**. Anais do 2º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária. Belo Horizonte, 2004.

MOURA, V. M.; SANTOS, D. P.; SANTIN, S. M. O.; CARVALHO, J. E.; FOGLIO, M. A. Constituintes químicos de *Galianthe brasiliensis* (Rubiaceae). **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 452-455, 2006.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as sources of news drugs over the last 25 years. **Journal of Natural Products**, v. 70. p. 461-477, 2008.

OLIVEIRA, R. B; GODOY, S. A. P.; COSTA, F. B. **Plantas tóxicas: conhecimentos básicos e prevenção de acidentes**. Ribeirão Preto: Holos, 64p, 2003.

OLIVEIRA, A. P.; FURTADO, F. F.; SILVA, M. S.; TAVARES, J. F.; MAFRA, R. A.; ARAÚJO, D. A. M.; CRUZ, J. S.; MEDEIROS, I. A. Calcium channel blockade as a target for the cardiovascular effects induced by the 8 (17),12E, 14-labdatrien-18- oic acid (labdane-302). **Vascular Pharmacology**, v. 44, p. 338-344, 2006.



OLIVEIRA, P. L. **Contribuição ao estudo de espécies da família Rubiaceae: Fitoquímica da espécie *Amaioua guianensis* Aub. Goiânia**. Dissertação de mestrado - Universidade Federal de Goiás, 2009.

OLIVEIRA, P. L.; OLIVEIRA, C. M. A.; KATO, L.; SABINO, J. R.; VIEIRA, T. F.; MORAES, A. P. **Constituintes Químicos das raízes de *Amaioua guianensis* (Rubiaceae)**. Trabalho apresentado na SBQ, 2011.

OLMEDO, D.; RODRIGUEZ, N.; VASQUEZ, Y.; SOLIS, P. N.; LOPEZ-PEREZ, J. L.; FELICIANO, A. S.; GUPTA, M. P. A new coumarin from the fruits of *Coutarea hexandra*. **Natural Product Research**, v. 21, n. 7, p. 625-631, 2007.

PACHECO, A. G. **Estudo Fitoquímico de *Aristolochia esperanzae* Kuntze (Aristolochiaceae)**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

PEDROSA, N, E. V. **FITOTERAPIA: O benefício das plantas no cuidado**. Dissertação de Mestrado - Centro Universitário de Anápolis-UniEvangélica. Goiás, 2008.

PEREIRA, M.S.; BARBOSA, M.R.V. A família Rubiaceae na Reserva Biológica Guaribas, Paraíba, Brasil. Subfamílias *Antirheoideae*, *Cinchonoideae* e *Ixoroideae*. **Acta Botânica**, v.18, n. 2, p. 305-318, 2004.

PEREIRA, M. S.; BARBOSA, M. R. V. A família Rubiaceae na Reserva Biológica Guaribas, Paraíba, Brasil. Subfamília Rubioideae. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 2, p. 455-470, 2006.

PEREIRA, L. R. A. B. **Contribuição ao estudo Fitoquímico de *Richardia grandiflora* (Cham. &Schldl.) Steud. (Rubiaceae)**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2011.

PERES, L. E. P. Metabolismo Secundário. Disponível no site: <<http://www.ciagri.usp.br/~lazaropp>>. Acesso em: 15 nov. 2011.

PINTO, D. S.; TOMAZ, A. C. A.; TAVARES, J. F.; TENÓRIO-SOUZA, F. H.; DIAS, C. S.; BRAZ-FILHO, R.; DA-CUNHA, E. V. L. Secondary metabolites isolated from

*Richardia brasiliensis* Gomes (Rubiaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 3, p. 367-372, 2008.

PITA, J. C. L. R. **Avaliação da atividade antitumoral e toxicidade do trachylobano-360 de *Xilopia langsdorffiana* St. Hil. & Tul. (Annonaceae)**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2010.

PINTO, M. E. F. **Constituintes Químicos de *Nanuzia plicata* (Mart.) L.B.Sm. & Ayensu (Velloziaceae)**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2003.

PLATAFORMA LATTES. Disponível em: [lattes.cnpq.br](http://lattes.cnpq.br). Acesso em: 13 de Nov. 2011.

POLLITO, P. A. Z.; TOMAZELLO FILHO, M. Levantamento e caracterização de duas espécies do gênero *uncaria* Schreb. **Ecologia Aplicada**, v. 9, p. 19-30, 2010.

PUPO, M. T.; GUIMARÃES, D. O.; FURTADO, N. A. J. C.; BORGES, W. S. Microbial natural products: a promising source of bioactive compounds. **Kerala: Research Signpost**, p 51-78. 2006.

RIBEIRO, L. A. A.; TAVARES, J. F.; ANDRADE, N. C.; SILVA, M. S.; SILVA, B. A. D. O Ácido (8)17,12E,14-labdatrieno-18-óico (labdano302), diterpeno tipo labdano isolado de *Xylopiia langsdorffi ana* St. Hil. & Tul. (Annonaceae) relaxa a traquéia isolada de cobaia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17. p. 197-203, 2007.

RICHARD, N.; BENNETT, E. ROGER, M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. **New Phytologist**, v. 127, p. 617-633, 1994.

RODRIGUES, A.G.R. **Plantas Medicinais e Fitoterapia na Saúde Pública. II Congresso de Fitoterápicos do Mercosul**. VI Reunião da Sociedade Latinoamericana de Fitoquímica. Belo Horizonte, 2008.

ROSA, E. A.; Silva, C. C.; TANAKA, C. M. A.; Oliveira, C. M. A.; Kato, L.; Ferreira, H.D. **Antraquinona de *Palicourea rigida***. 29<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Anais eletrônicos, 2007.

ROSA, E. A., SILVA, B. C., SILVA, F. M., TANAKA, C. M. A.; PERALTA, R. M.; OLIVEIRA, C. M. A.; KATO, L.; FERREIRA, H. D.; SILVA, C. C. Flavonoides e atividade antioxidante em *Palicourea rigida* Kunth, Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 484-488, 2010.

ROVA, J. H. E.; DELPRETE, P. G.; ANDERSSON, L.; ALBERT, V. A. A *trnl-f* cpdn a sequence study of the Condamineae-Rondeletieae-Sipaneeae complex with implications on the phylogeny of the Rubiaceae. **American Journal of Botany**, v. 89, n.1, p. 145–159, 2002.

RUMBERO-SANCHEZ, A., VAZQUEZ, P. Quinic Acid esters from *Isertia haenkeana*. **Phytochemistry**, v. 30, p. 311-313, 1991.

SANTOS, R. I. Metabolismo Básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMAN, G., MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A. PETROVICK, P. R. **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 4 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade, p.333-365, 2002.

SANTOS, F.A.; SILVA, R.M.; CAMPOS, A.R.; ARAÚJO, R.P.; LIMA JÚNIOR, R.C.P.; RAO, V.S.N. 1,8-cineole (eucalyptol), a monoterpene oxide attenuates the colonic damage in rats on acute TNBS-colitis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 579-584, 2004.

SANTOS, R. F. **Participação do cálcio citosólico sobre a ação espasmolítica do ácido *ent-7 $\alpha$ -acetoxitraquiloban-18-óico* e de seu derivado hidroxilado em óleo isolado de cobaia**. Tese de Doutorado - Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2010.

SENER, B. ERGUN, F. Isolation and structural studies on the alkaloids of *Galium aparine* L. **Fac. Pharm. Gazi**, v. 5, p. 33-40, 2008.

SEFKOL, M.; KELLING, A.; SCHILDE, U. First efficient sintesys of 1-, 4-, and -5 Caffeoylquinic acid. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 22, p. 2735-2742, 2001.

SHOLICHIN, M.; YAMASAKI, R.; MYIAMA, R.; YAHARA, S.; TANAKA, O. Labdane-type diterpenes from *Stevia rebaudiana*. **Phytochemistry**, v. 19, n. 2, p. 326-327, 1980.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. da Universidade. 833 p., 2001.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A. L.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5 ed. Rio Grande do Sul: Editora da UFSC, 2003.

SILVA, D. A.; SILVA, T. M. S.; LINS, A. C. S.; COSTA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N.; SOUZA, M. F. V. Constituintes químicos e atividade antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1250-1254, 2006.

STIERLE, D. B.; STIERLE, A. A.; LARSEN, R. D. Terpenoid and flavone constituents of *Polemonium viscosum*. **Phytochemistry**, v. 27. n. 2, p. 517-522, 1988.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; trad. SANTAREM et al. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TAKAHASHI, Y.; KOIKE, M.; HONDA, H.; ITO, Y.; SAKAGUCHI, H.; SUZUKI, H.; NISHIYAMA, N. Development of the short time exposure (STE) test: An in vitro eye irritation test using SIRC cells. **Toxicology In Vitro**, v. 22, p. 760–770, 2008.

TOMAZ, A. C. A.; NOGUEIRA, R. B. S. S.; PINTO, D. S.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V.; DA-CUNHA, E. V. L. Chemical constituents from *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltld.) Steud. (Rubiaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 1, p. 47-52, 2008.

TREVISAN, M. T. S.; BEZERRA, M. Z. B.; SANTIAGO, G. M. P.; FEITOSA, C. M.; VERPOORTE, R.; BRAZ-FOLHO, R. Atividades larvicida e anticolinesterásica de plantas do gênero *Kalanchoe*. **Química Nova**, v. 29, p. 415- 418, 2006.

WANG, G.; TANG, W.; BIDIGARI, R. R.. Terpenoids as therapeutic drugs and pharmaceutical agents. **Natural Products: drug discovery and therapeutic medicine**, v. 49, p. 197-227, 2005.

WU, S. J.; FOTSO, S.; LI, F.; QIN, S.; LAATSH, H. Amorphane Sesquiterpenes from a Marine *Streptomyces* sp. **Journal of Natural Products**, v. 70, p. 304-306, 2007.

VICIEDO, R.D.; HORTELANO, S.; GIRÓN, N.; MASSÓ, J.M.; RODRIGUEZ, B.; VILLAR, A.; HERAS, B. Modulation of inflammatory responses by diterpene acids from *Helianthus annuus* L. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 369, p. 761-766, 2008.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**. v. 28, n.3, p. 519-528. 2005.

YASSUDA, T.; KON, R.; NAKAZAWA, T.; OHSAWA, K. Metabolism of Paeonol in rats. **Journal of Natural Products**. v. 62, p. 1142-1144, 1999.