

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA “PROF. DELBY
FERNANDES DE MEDEIROS”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS
BIOATIVOS

RAFAEL RODRIGO DE AZEVEDO RAMIREZ

ABORDAGEM FITOQUÍMICA DE UMA ESPÉCIE DA FAMÍLIA
FLACOURTIACEAE – *Casearia arborea* (Rich.) Urb.

JOÃO PESSOA – PB

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

RAFAEL RODRIGO DE AZEVEDO RAMIREZ

ABORDAGEM FITOQUÍMICA DE UMA ESPÉCIE DA FAMÍLIA

FLACOURTIACEAE - *Casearia arborea* (Rich.) Urb.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

Área de concentração: Farmacoquímica

ORIENTADORA: Profa. Dra. MARIA DE FÁTIMA VANDERLEI DE SOUZA

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. DAVI ANTAS E SILVA

João Pessoa – PB

2008

R173a Ramirez, Rafael Rodrigo de Azevedo.

Abordagem fitoquímica de uma espécie da família
Flacourtiaceae – *Casearia arborea* (Rich.) Urb./Rafael Rodrigo de
Azevedo Ramirez.-João Pessoa, 2008.

147p.

Orientadora: Maria de Fátima Vanderlei de Souza

Co-orientador: Davi Antas e Silva

Dissertação (mestrado) – UFPB/LTF

1. Produtos Naturais. 2. Flacourtiaceae. 3. *Casearia arborea*.
4. Métodos Espectroscópicos. 5. Farmacoquímica.

UFPB/BC

CDU: 547.9 (043)

RAFAEL RODRIGO DE AZEVEDO RAMIREZ

ABORDAGEM FITOQUÍMICA DE UMA ESPÉCIE DA FAMÍLIA

FLACOURTIACEAE - *Casearia arborea* (Rich.) Urb.

Aprovada em: 12/03/2008.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Vanusia Cavalcanti França Pires/UEPB
PhD em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - UFPB
(Examinador externo)

Prof. Dr. Josean Fechine Tavares/UFPB
PhD em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - UFPB
(Examinador interno)

Profa. Dra. Maria de Fátima Vanderlei de Souza/UFPB
PhD em Química Orgânica - USP
(Orientadora)

“Os milagres não acontecem em contradição com a natureza, mas só em contradição com o que sabemos dela.”

Autor desconhecido

AGRADECIMENTOS

Primeiramente e acima de tudo, agradeço a Deus, não apenas pelo dom da vida, mas por ser minha fonte inesgotável de coragem e perseverança, sempre presente por toda minha vida.

À minha mãe, Dona Nilsa, por toda sua dedicação, incentivo, confiança, apoio e amor em todos os momentos.

À minha irmã Andréa Alena, seu marido Givanildo Feitosa e seus filhos Alex e Bruno pelo acolhimento e apoio, sem os quais tenho a certeza, não seria possível a realização dessa fase em minha vida.

À minha orientadora Prof^ª. Dr^ª Maria de Fátima Vanderlei de Souza pela confiança, dedicação, seriedade, paciência e conhecimentos compartilhados, assim como por ser um exemplo de disciplina e honestidade para a profissão e como cidadã.

À minha amiga, namorada, companheira e cúmplice Raquel Alves Ferman por todo apoio e dedicação e por sempre me acompanhar e apoiar em minhas decisões, empreitadas, quedas e vitórias.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Davi Antas e Silva pelo enriquecimento deste trabalho e amizade.

A todos os meus ex-professores, por terem contribuído para minha formação acadêmica.

À banca examinadora pela contribuição e enriquecimento do trabalho.

A Josean Fachine e Fernando Medeiros pela coleta do material botânico.

Aos meus grandes amigos Franco, Thaikovsky, Roosevelt, Anna Cláudia, Marcelo, Ataíde, Wemerson e Marcela sempre prestativos e solidários.

Aos demais colegas de equipe Marcílio, Marianne, Misael, Tiago, Otemberg, Yanna, Jéssica e Marina pela dedicação e ajuda no desenvolvimento do trabalho.

Aos demais colegas de turma e de laboratório em especial a Egberto, Gabriela, Viviane, Danielle, Adriana, Camila e Narlize que batalharam comigo para a realização de um sonho.

Aos técnicos Raimundo Nonato, Vicente Carlos, Glória, Sócrates, Alessandro e Wellington, por não medirem esforços para proporcionar o bom andamento dos trabalhos experimentais.

Ao CENAUREM/UFC pela obtenção dos espectros.

A todas as pessoas que ajudaram de alguma outra forma para realização deste trabalho.

À minha família por toda confiança e incentivo.

A todos, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS E SÍMBOLOS	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE QUADROS	
LISTA DE ESQUEMAS	
LISTA DE TABELAS	
RESUMO	
ABSTRACT	
1 INTRODUÇÃO -----	22
1.1 Considerações sobre a família Flacourtiaceae -----	24
1.1.1 Aspectos etnobotânicos e etnofarmacológicos da família Flacourtiaceae -----	24
1.1.2 Aspectos quimiotaxonômicos da família Flacourtiaceae -----	26
1.2 Considerações sobre o gênero <i>Casearia</i> -----	27
1.3 Considerações sobre a espécie <i>Casearia arborea</i> (Rich.) Urb. -----	29
2 OBJETIVOS -----	38
2.1 Objetivo Geral -----	39
2.2 Objetivos Específicos -----	39
3 EXPERIMENTAL -----	40
3.1 Levantamento bibliográfico -----	41
3.2 Coleta do material vegetal -----	41
3.3 Processamento do material vegetal -----	41
3.4 Triagem fitoquímica -----	41
3.5 Cromatografia líquida sob pressão reduzida do extrato etanólico bruto -----	42

3.6 Isolamento e purificação dos constituintes químicos das frações Hexânica, Hexano-AcOEt (9:1) e Hexano-AcOEt (1:1) do extrato etanólico bruto do caule de <i>Casearia arborea</i> (Rich.) Urb. -----	42
3.6.1 Procedimentos cromatográficos -----	42
3.6.2 Processamento cromatográfico da fração Hexânica -----	43
3.6.3 Processamento cromatográfico da fração Hex-AcOEt (9:1) -----	43
3.6.4 Processamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (1:1) -----	44
3.7 Caracterização estrutural dos constituintes químicos -----	45
3.7.1 Infravermelho -----	45
3.7.2 Ressonância magnética nuclear -----	45
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	54
4.1 Substâncias isoladas de <i>Casearia arborea</i> (Rich.) Urb. -----	55
4.2 Caracterização estrutural de FI-1 -----	56
4.3 Caracterização estrutural de FI-2 -----	62
4.4 Caracterização estrutural de FI-3 -----	76
4.5 Caracterização estrutural de FI-4 -----	97
4.6 Caracterização estrutural de FI-5 -----	117
5 CONCLUSÕES -----	139
REFERÊNCIAS -----	141

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

AcOEt: Acetato de etila

ADN: Ácido Desoxirribonucléico

AM: Amazonas

APT: Attached Proton Test

BA: Bahia

BB: Broad Band

CC: Cromatografia em Coluna

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CDCl_3 : Clorofórmio deuterado

CD_3OD : Metanol deuterado

CE: Ceará

CENAUREM: Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear

CH_2Cl_2 : Diclorometano

CHCl_3 : Clorofórmio

COSY: Correlation Spectroscopy

d: Dupleto

dd: Duplo dupleto

DEPT-135: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

EtOH: Etanol

ES: Espírito Santo

FeCl_3 : Cloreto férrico

g: Grama

GO: Goiás

HMBC: Heteronuclear Multi Bond Correlation

HMQC: Heteronuclear Multi Quantum Correlation

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Correlation

Hz: Hertz

IV: Infravermelho

J: Constante de acoplamento

KBr: Brometo de Potássio

LTF: Laboratório de Tecnologia Farmacêutica

MeOH: Metanol

MHz: Megahertz

MG: Minas Gerais

mg: Miligrama

mL: Mililitro

mm: Milimetro

NAPRALERT: Natural Products ALERT

nm: Nanômetro

NOESY: Nuclear Overhauser Spectroscopy

PA: Pará

pág.: Página

PE: Pernambuco

ppm: Partes por milhão

ppt: Precipitado

q: quarteto

Rf: Fator de retenção

RJ: Rio de Janeiro

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN ^{13}C : Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

RO: Rondônia

RR: Roraima

s: Singleto

sl: Singleto largo

SP: São Paulo

ssb: Sobrenadante

t: Tripleto

UFC: Universidade Federal do Ceará

UFPB: Universidade Federal da Paraíba

δ : Deslocamento químico em ppm

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição de espécies de Flacourtiaceae no mundo -----	24
Figura 2 - Caracteres morfológicos mais evidentes em espécies de <i>Casearia</i> -----	27
Figura 3 - Caracteres morfológicos mais evidentes na espécie <i>Casearia arborea</i> (Rich.)Urb-----	31
Figura 4 – Constituintes químicos isolados de <i>Casearia arborea</i> (Rich.) Urb.....	55
Figura 5 - Espectro de RMN ¹ H (δ , CDCl ₃ , 200 MHz) de FI-1 -----	59
Figura 6 - Espectro de RMN ¹³ C-APT (δ , CDCl ₃ , 50 MHz) de FI-1 -----	60
Figura 7 - Expansão do espectro de ¹³ C-APT na região entre 11,00 a 43,00(δ , CDCl ₃ , 50 MHz) de FI-1 -----	61
Figura 8 - Expansão do espectro de ¹³ C-APT na região entre δ 42,00 a δ 144,00(δ , CDCl ₃ , 50 MHz) de FI-1 -----	61
Figura 9 - Espectro de RMN ¹ H (δ , CDCl ₃ , 200 MHz) de FI-2 -----	67
Figura 10 - Expansão do espectro de RMN ¹ H na região entre 0,60 a 2,00(δ , CDCl ₃ , 200 MHz) de FI-2 -----	68
Figura 11 - Expansão do espectro de RMN ¹ H na região entre 2,00 a 6,00, (δ , CDCl ₃ , 200 MHz) de FI-2 -----	68
Figura 12 - Espectro de RMN ¹³ C-APT (δ , CDCl ₃ , 50 MHz) de FI-2 -----	69
Figura 13 - Expansão do espectro de RMN ¹³ C-APT na região entre 10,00 a 40,000 (δ , CDCl ₃ , 50 MHz) de FI-2 -----	70
Figura 14 - Expansão do espectro de RMN ¹³ C-APT na região entre 42,00 a 200,00 (δ , CDCl ₃ , 50 MHz) de FI-2 -----	71
Figura 15 - Proposta estrutural para FI-2 -----	63
Figura 16 - Espectro de RMN ¹ H x ¹³ C-HMQC (δ , CDCl ₃ , 200 MHz) de FI-2 -----	72
Figura 17 - Expansão do espectro de RMN ¹ H x ¹³ C-HMQC na região entre 0,50 a 3,00 x 10,00 a 60,00 (δ , CDCl ₃ , 200 MHz) de FI-2 -----	73
Figura 18 - Espectro de RMN ¹ H x ¹³ C-HMBC (δ , CDCl ₃ , 200 MHz) de FI-2 -----	74
Figura 19 - Expansão do espectro de RMN ¹ H x ¹³ C-HMBC na região entre 2,00 a 6,00 x 23,00 a 40,00 (δ , CDCl ₃ , 200 MHz) de FI-2 -----	75

Figura 20 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 1,70 a 2,70 x 170,00 a 200,00 (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de FI-2 -----	75
Figura 21 - Espectro no IV (KBr cm^{-1}) de FI-3 -----	83
Figura 22 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3 -----	84
Figura 23 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 0,50 a 2,25 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3 -----	85
Figura 24 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 5,00 a δ 6,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3 -----	85
Figura 25 - Propostas estruturais para FI-3 -----	77
Figura 26 - Espectro de RMN ^{13}C -BB (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de FI-3 -----	86
Figura 27 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB na região entre 11,00 e 26,00 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de FI-3 -----	87
Figura 28 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT-135 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de FI-3 -----	88
Figura 29 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT-135 na região entre 15,00 e 38,00(δ , CDCl_3 , 125 MHz) de FI-3 -----	88
Figura 30 - Proposta estrutural para FI-3 -----	79
Figura 31 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3 -----	89
Figura 32 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC na região entre 1,00 a 2,00 x 25,00 a 50,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3 -----	90
Figura 33 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC na região entre 0,60 a 1,70 x 14,00 a 22,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3 -----	90
Figura 34 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de F3 -----	91
Figura 35 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY na região entre 5,70 a 6,00 x 4,90 a 5,40 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3 -----	92
Figura 36 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3 -----	93
Figura 37 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 5,00 a 6,00 x 110,00 a 150,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3 -----	94
Figura 38 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 1,20 a 2,20 x 108,00 a 125,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3 -----	94
Figura 39 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região de 5,00 a 6,00 x 10,00 a 50,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3 -----	95

Figura 40 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3 -----	95
Figura 41 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY na região de 0,00 a 2,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3 -----	96
Figura 42 - Interação NOE para FI-3 -----	80
Figura 43 - Espectro no IV (KBr cm^{-1}) da mistura FI-4 -----	104
Figura 44 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4 -----	105
Figura 45 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 0,50 e 2,50 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4 -----	106
Figura 46 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 4,00 a 6,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4 -----	106
Figura 47 - Espectro de RMN ^{13}C -BB (δ , CDCl_3 , 125 MHz) da mistura FI-4 -----	107
Figura 48 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB na região entre 11,00 a 26,00 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) da mistura FI-4 -----	108
Figura 49 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT-135 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) da mistura FI-4 -----	108
Figura 50 - Propostas estruturais para FI-4a e FI-4b -----	99
Figura 51 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4 -----	109
Figura 52 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4 -----	110
Figura 53 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC na região entre 0,70 a 2,50 x 10,00 a 50,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4 -----	111
Figura 54 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4 -----	112
Figura 55 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 1,00 a 3,00 x 115,00 a 150,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4 -----	113
Figura 56 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 1,90 a 2,40 x 20,00 a 35,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4 -----	114
Figura 57 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 4,00 a 5,30 x 140,00 a 177,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4 -----	114

Figura 58 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4 -----	115
Figura 59 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY na região entre 0,50 a 2,50 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4 -----	116
Figura 60 - Espectro no IV (KBr cm^{-1}) de FI-5 -----	123
Figura 61 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	124
Figura 62 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 1,70 a 2,34 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	125
Figura 63 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 4,90 a 5,90 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	125
Figura 64 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 0,60 a 1,54 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	126
Figura 65 - Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de FI-5 -----	127
Figura 66 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT na região entre 14,0 a 32,0 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de FI-5 -----	128
Figura 67 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT na região entre 30,00 a 75,00 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de FI-5 -----	128
Figura 68 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT na região entre 110,0 a 204,0 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de FI-5 -----	129
Figura 69 - Proposta estrutural para FI-5 -----	118
Figura 70 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	130
Figura 71 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC na região entre 0,60 a 2,80 x 15,00 a 50,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	131
Figura 72 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC na região entre 5,00 a 6,20 x 110,00 a 150,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	131
Figura 73 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	132
Figura 74 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY na região entre 0,90 a 2,40 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	133
Figura 75 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY na região entre 5,00 a 6,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	133
Figura 76 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	134

Figura 77 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 0,60 a 1,30 x 26,00 a 46,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	135
Figura 78 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 0,80 a 2,60 x 70,00 a 200,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	135
Figura 79 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 4,60 a 6,60 x 70,00 a 150,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	136
Figura 80 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	137
Figura 81 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY na região entre 0,60 a 2,40 x 0,60 a 2,60 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5 -----	138
Figura 82 - Interação NOE para FI-5 -----	120

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Flacourtiaceae, suas atividades biológicas e/ou farmacológicas relatadas na literatura---	32
Quadro 2 - Alguns constituintes isolados de espécies de Flacourtiaceae, citados no Quadro 1 (pág. 27) -----	35
Quadro 3 - Representação cromatográfica da fração Hexânica do extrato etanólico bruto do caule de <i>Casearia arborea</i> (Rich.) Urb. (coluna 1) -----	50
Quadro 4 - Representação cromatográfica da fração Hexano-AcOEt (9:1) do extrato etanólico bruto do caule de <i>Casearia arborea</i> (Rich.) Urb. (coluna 2) -----	50
Quadro 5 - Representação cromatográfica da sub-fração 30 da fração Hexano-AcOEt (9:1) do extrato etanólico bruto do caule de <i>Casearia arborea</i> (Rich.) Urb. (coluna 2A)-----	51
Quadro 6 - Representação cromatográfica da sub-fração 38/58 da fração Hexano-AcOEt (9:1) do extrato etanólico bruto do caule de <i>Casearia arborea</i> (Rich.) Urb. (coluna 2A.1) -----	51
Quadro 7 - Representação cromatográfica da sub-fração 40/42 da fração Hexano-AcOEt (9:1) do extrato etanólico bruto do caule de <i>Casearia arborea</i> (Rich.) Urb. (coluna 2B)-----	52
Quadro 8 - Representação cromatográfica da fração Hexano-AcOEt (1:1) do extrato etanólico bruto do caule de <i>Casearia arborea</i> (Rich.) Urb. (coluna 3) -----	53

LISTA DE ESQUEMAS

- Esquema 1 - Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. ----- 46
- Esquema 2 - Fracionamento cromatográfico da fração hexânica do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. ----- 47
- Esquema 3 - Fracionamento cromatográfico da fração hexano-AcOEt (9:1) do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb.----- 48
- Esquema 4 - Fracionamento cromatográfico da fração hexano-AcOEt (1:1) do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb.----- 49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados comparativos de RMN ¹³ C da substância FI-1 (δ , CDCl ₃ , 50 MHz) com modelo Mo-1(δ , C ₅ D ₅ N, 100 MHz) (KOJIMA et al., 1990)-----	58
Tabela 2 - Dados comparativos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C da substância FI-2 (δ , CDCl ₃ , 50 MHz) com os modelos Mo-1 e Mo-2 (PREVITERA et al., 1990) -----	65
Tabela 3 - Dados de RMN ¹ H e ¹³ C uni e bidimensionais (δ , CDCl ₃ , 500 e 125 MHz, respectivamente) de FI-2 -----	66
Tabela 4 - Dados comparativos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C da substância FI-3 (δ , CDCl ₃ , 500 e 125 MHz, Hz) com modelos Mo-1 e Mo-2 (LOPES et al., 1999; NAGASHIMA et al., 2001), respectivamente-----	81
Tabela 5 - Dados de RMN ¹ H e ¹³ C uni e bidimensionais (δ , CDCl ₃ , 500 e 125 MHz, Hz, respectivamente) de FI-3 -----	82
Tabela 6 - Dados comparativos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C da substância FI-4a (δ , CDCl ₃ , 125 MHz, Hz) com modelos Mo-1 (NAGASHIMA et al., 2001) e FI-3 ----	101
Tabela 7 - Dados comparativos de RMN ¹³ C da substância FI-4b (δ , CDCl ₃ , 125 MHz) com modelos Mo-1 e Mo-2 (δ , CDCl ₃ , 50 e 150 MHz) (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000)-----	102
Tabela 8 - Dados de RMN ¹ H e ¹³ C uni e bidimensionais (δ , CDCl ₃ , 500 e 125 MHz) de FI-4a e FI-4b -----	103
Tabela 9 - Dados comparativos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C da substância FI-5 (δ , CDCl ₃ , 500 e 125 MHz, Hz, respectivamente) com FI-4a (δ , CDCl ₃ , 50 e 150 Mhz, Hz) e modelo Mo-1 (UMEYAMA et al., 1996)-----	121
Tabela 10 - Dados de RMN ¹ H e ¹³ C uni e bidimensionais (δ , CDCl ₃ , 500 e 125, Hz, respectivamente) de FI-5 -----	122

RESUMO

As espécies da família Flacourtiaceae se caracterizam por suas diversas atividades farmacológicas e/ou biológicas, com inúmeros relatos da sua quimiotaxonomia diversificada na literatura. O gênero *Casearia* tem sido evidenciado por sua vasta utilização pelo homem, assim como pela ocorrência de várias substâncias de interesse farmacológico. Diante dessas informações viu-se a importância da realização deste estudo visando a contribuir para a quimiotaxonomia da família. O estudo fitoquímico realizado com as frações hexânica, Hexano-AcOEt (9:1) e Hexano-AcOEt (1:1) do extrato etanólico do caule de *Casearia arborea* (Rich) Urb. levou ao isolamento de cinco substâncias, sendo elas: dois esteróides Estigmast-5-en-3- β -ol (**FI-1**) e Estigmast-4-en-3-ona (**FI-2**), dois diterpenos *ent*-13-hidróxi-*trans*-cleroda-3,14-dieno (**FI-3**) e *ent*-13-hidróxi-2-oxo-*trans*-cleroda-3,14-dieno (**FI-5**) e uma mistura de duas substâncias, o diterpeno *trans*-13-hidróxi-*trans*-cleroda-3,14-dieno (**FI-4a=FI-3**) e o éster Hexadecanoato de etila (**FI-4b**). A identificação estrutural destas substâncias foi realizada através dos métodos espectroscópicos IV e RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (COSY, HSQC, HMQC, HMBC e NOESY), como também por comparações realizadas com modelos da literatura.

Palavras-chaves: Flacourtiaceae, *Casearia arborea*, Métodos espectroscópicos

ABSTRACT

The species of the family Flacourtiaceae are characterized by their various pharmacological and/or biological activities, with numerous reports of its diverse chemotaxonomy in the literature. The genus *Casearia* has been evidenced by its large use by humans as well as by the occurrence of several pharmacological substances of interest. Based on this information, we decided to perform this study in order to contribute to the chemotaxonomy of this family. The phytochemical study was conducted with the hexane, hexane-ethyl acetate (9:1) and hexane-ethyl acetate (1:1) fractions of the ethanol extract of the stems of *Casearia arborea* (Rich) Urb. and led to the isolation of five substances, which are: two steroids Stigmast-5- β -ene-3-ol (**FI-1**) and Stigmast-4-ene-3-one (**FI-2**), two diterpenes *ent*-13-hydroxy-*trans*-3,14-clerodadiene-3 (**FI-3**) and *ent*-13-hydroxy-2-oxo-*trans*-13,14-clerodadiene (**FI-5**) and a mixture of *ent*-13-hydroxy-*trans*-3,14-clerodadiene (**FI-4a=FI-3**) and an ester Ethyl hexadecanoate (**FI-4b**). The structural identification of these substances was performed by means of spectroscopic methods like IR and ^1H and ^{13}C NMR with the add of two dimensional techniques (COSY, HSQC, HMQC, HMBC and NOESY), as well as by comparisons made with models of literature.

Keywords: Flacourtiaceae, *Casearia arborea*, Spectroscopic methods

1 INTRODUÇÃO

O uso terapêutico das plantas medicinais na saúde humana constitui-se como uma prática milenar, historicamente construída na sabedoria do senso comum. O homem primitivo sempre buscou na natureza as soluções para os diversos males que o assolava, sendo que ainda hoje esta prática aparece como o principal recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos, principalmente nos países em desenvolvimento. (ALVIM et al., 2006; VIEGA JUNIOR. et al., 2005).

Após longos anos de uso empírico, os primeiros estudos científicos de plantas medicinais datam do século XIX, quando foram isoladas algumas substâncias de plantas que se firmaram como princípios ativos eficazes e de grande importância para a medicina, a exemplo da cânfora, quinina, morfina, estricnina e cocaína (HAMBURGER & HOSTETTMANN, 1991).

Nos últimos quarenta anos, graças aos progressos alcançados com os métodos cromatográficos e espectroscópicos, os conhecimentos sobre as plantas medicinais foram consideravelmente aumentados, com um elevado número de novos constituintes isolados e identificados. Vários estudos farmacológicos comprovando a ação dessas substâncias, além de trabalhos referentes aos mecanismos que envolvem a bioformação desses constituintes no vegetal, foram comunicados em reuniões científicas e os resultados publicados em revistas especializadas, fomentando-se estes conhecimentos sobre plantas medicinais a nível internacional (DA CUNHA, 2003).

A descoberta de novos compostos é motivada pela busca de substâncias mais ativas e menos tóxicas, que possam ser utilizadas no tratamento de diversas patologias, ou em substituição àquelas já existentes. Dentro da perspectiva de se estudar plantas medicinais, o Brasil se encontra em posição privilegiada, sendo o país com a maior diversidade vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas, de um total estimado entre 350.000 e 550.000 (SIMÕES et al., 2003). Observa-se, no Brasil, um crescimento marcante

nas pesquisas interdisciplinares que geram conhecimentos sobre atividades biológicas de produtos naturais oriundos de espécies nativas brasileiras (OLIVEIRA & BRAGA, 2003).

A importância que as plantas representam para toda humanidade e a imensa diversidade vegetal do nosso país, despertaram no Prof. Delby Fernandes de Medeiros a necessidade de qualificar recursos humanos nesta área, criando assim em 1978, no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, hoje “Laboratório de Tecnologia Farmacêutica Prof. Delby Fernandes de Medeiros”, o mestrado em Química e Farmacologia de Produtos Naturais, posteriormente o nosso Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, que muito tem contribuído para o conhecimento científico da nossa flora no que se refere às áreas de Química, Farmacologia e Farmacognosia.

1.1 Considerações sobre a família Flacourtiaceae

1.1.1 Aspectos etnobotânicos e etnofarmacológicos da família Flacourtiaceae

A família Flacourtiaceae compreende 86 gêneros, com cerca de 1300 espécies, as quais são encontradas especialmente nas zonas tropicais e subtropicais do globo terrestre (cerca de 800 espécies). Estas espécies ocorrem também, com menor representatividade, nas zonas temperadas e cerca de 275 espécies são encontradas nos neotrópicos. No Brasil foram identificados, até o momento, 19 gêneros e aproximadamente 90 espécies, distribuídas pelos diferentes ecossistemas, com grande capacidade de adaptação ao meio ambiente (MARQUETE, 2001; TININIS et al., 2006).



Figura 1 - Distribuição de espécies de Flacourtiaceae no mundo (destacado em vermelho)

Fonte: www.arbolesornamentales.com

Estudos recentes na filogenia das flacourtiaceas, baseados em seqüências de ácido desoxirribonucléico (ADN), têm mostrado que esta é uma família polifilética, sendo reconhecida por dois principais clados, um com afinidade para a Salicaceae e outro para Achariaceae (MOSADDIK et al., 2006). Suas espécies se apresentam como árvores, arbustos ou subarbustos lenhosos, com folhas persistentes, às vezes decíduas, alternas, inteiras, simples, peninérveas, geralmente denteadas, lâminas lanceoladas, oblongo-lanceoladas ou lanceolado-ovadas. Seus pecíolos se apresentam delgados a espessados, e possuem 2 estípulas foliáceas, caducas ou persistentes. Suas inflorescências podem ser axilares, fasciculadas ou em espigas. Espécies desta família apresentam flores actinomorfas, monoclamídeas a diclamídeas, hermafroditas ou unissexuadas, com pedicelos muitas vezes articulados e sépalas persistentes. Seus frutos podem se apresentar na forma capsular ou bacáceo (MARQUETE, 2001).

A família Flacourtiaceae se caracteriza também por suas diversas atividades farmacológicas e/ou biológicas, com inúmeros relatos na literatura. Um estudo sobre os constituintes químicos e suas bioatividades foi realizado na China com 12 dos seus gêneros, que apresentaram diversos constituintes químicos. Estes compostos ou os extratos de espécies destes gêneros mostraram atividade antibacteriana, antiviral, antitumoral, hipolipidêmica e hipoglicêmica (CHAI et al., 2006).

Entre os gêneros da referida família, *Laetia* apresenta muitas espécies que despertam o interesse da comunidade científica, como por exemplo, a *Laetia procera* que apresentou atividades antiplasmodial e antileishmanial em estudos realizados por Jullian et al. em 2005. Extratos da fase diclorometano do caule de *Laetia corymbulosa* foram avaliados quanto à sua atividade antimicobacteriana verificando-se uma inibição de 51% no crescimento do *Mycobacterium tuberculosis* (GRAHAM et al., 2003).

A utilização de espécies do gênero *Homalium* pela medicina folclórica também tem sido investigada na busca da comprovação científica do seu emprego na terapêutica. Ishikawa et al. (2004) isolaram derivados salicínicos da casca de raízes de *Homalium cochinchinensis* que através das estudos farmacológicos mostraram suas atividades antivirais. O extrato etanólico de raízes de *Homalium letestui* apresentou atividade antiplasmodial (OKOKON et al., 2006) enquanto que o extrato aquoso das partes aéreas de *Homalium racemosum* apresentou atividade letal em células afetadas pelo câncer de mama (SUFFREDINI et al., 2007).

Estudos farmacológicos realizados com *Carpotroche brasiliensis* revelaram que esta espécie além de atuar como antibacteriana (ARAÚJO, 2005), auxilia também no tratamento da hanseníase (LIMA et al., 2006).

1.1.2 Aspectos quimiotaxonômicos da família Flacourtiaceae

A quimiotaxonomia da família Flacourtiaceae mostrou-se diversificada, podendo-se destacar algumas classes de produtos naturais como: lignanas, terpenóides, cumarinas, alcalóides, saponinas e flavonóides, onde inúmeras substâncias isoladas apresentam significativa atividade farmacológica segundo várias literaturas (RIBEIRO et al., 2000). O Quadro 1 (pág. 32) elenca alguns constituintes químicos isolados de espécies de Flacourtiaceae, suas atividades farmacológicas e/ou biológicas, ressaltando assim a importância quimiotaxonômica desta família. As estruturas das substâncias mostradas no Quadro 1 (pág. 32) são exibidas no Quadro 2 (pág.35).

1.2 Considerações sobre o gênero *Casearia*

O gênero *Casearia* pertence à ordem Violales, Sub-ordem Flacourtiaceae, família Flacourtiaceae (TININIS et al., 2006). Possui mais de 160 espécies descritas, sendo que destas, 70 são encontradas no continente americano, desde o México e Antilhas até a América do Sul, das quais 37 estão distribuídas pelo Brasil (YAMASHITA, 2006). As espécies do gênero *Casearia* se apresentam como arbustos ou árvores tendo suas folhas elípticas com pontos translúcidos e estrias. Suas flores têm fascículos axilares, com 5 sépalas e sem pétalas, possuem entre 7 a 10 estames, estando suas sementes envoltas por um arilo carnososo (HYDE & WURSTEN, 2008).

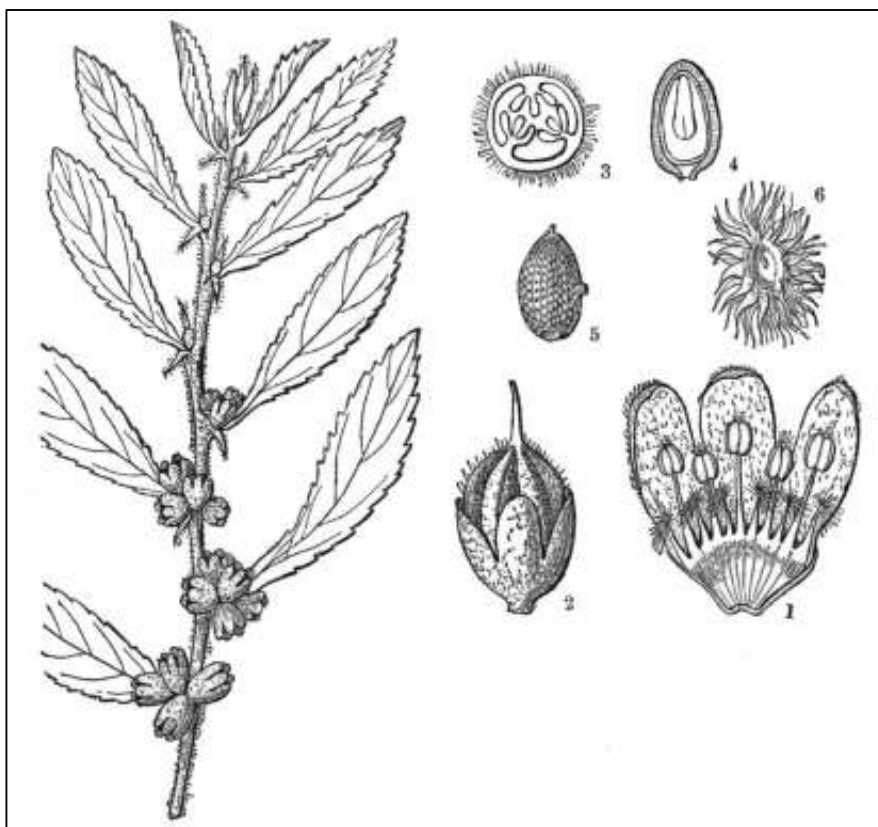


Figura 2 - Caracteres morfológicos mais evidentes em espécies de *Casearia* (1-parte de um cálix em corte aberto; 2-o pistilo; 3-corte longitudinal do ovário; 4-corte longitudinal da semente; 5-semente; 6-arilo, removido da semente).

Fonte: WATSON & DALLWITZ, 2008.

A quimiotaxonomia do gênero *Casearia* tem se mostrado rica em diferentes classes de compostos, muitos descritos pela primeira vez na literatura, como os vários diterpenos do tipo clerodano, e outros já bem conhecidos. Chang et al. (2003) isolaram e identificaram, de espécies do gênero *Casearia*, esteróides, um éter benzoquinólico, uma lignana, uma antraquinona e vários diterpenos, além do ácido vanílico. Há também relatos anteriores de cumarinas produzidas por este gênero (SHEN et al., 2004a), além de glicosídeos fenólicos (MOSADDIK et al., 2006) e glicosídeos cianogênicos (SPENCER & SEIGLER, 1985). Este gênero tem se caracterizado pela ocorrência de várias substâncias de interesse farmacológico, como saponinas e alcalóides (POSSOLO & FERREIRA, 1949), vários diterpenos de diferentes tipos: dolabellano (CHANG et al., 2003), kolovano e norkolovano (CHEN & WIEMER, 1991) e de forma bem característica os clerodânicos, com vários relatos de sua ocorrência em *Casearias* (KANOKMEDHAKUL et al., 2007).

Algumas espécies de casearias são bem conhecidas pelo homem devido aos seus vários usos. Estudos farmacológicos também foram realizados, dando ênfase aos seus usos pela medicina popular, na tentativa de elucidar os mecanismos de ação responsáveis pelas propriedades curativas das várias espécies deste gênero, como exemplos pode-se citar a *C. sylvestris*, também conhecida pelos nomes populares de guaçatunga e cafezeiro-do-mato. Esta espécie é uma das mais amplamente utilizadas na forma de infusões e estudos de sua composição química e atividade farmacológica foram realizados por Yamashita (2006). Borges et al. (2001) comprovaram que seu extrato aquoso é eficaz na neutralização da atividade hemorrágica de venenos de diversas espécies de serpentes. As casearinas, diterpeno do tipo clerodano, isoladas das folhas de *C. sylvestris* apresentaram atividade antitumoral em estudos realizados por Itokawa et al. (1990). Outros compostos com atividade antifúngica (OBERLIES et al., 2002) e antioxidante foram também isolados desta espécie (MOSADDIK et al., 2004).

Hunter et al. (1997) em seus estudos com *C. guianensis* isolaram compostos que demonstraram atividades imunossupressoras, úteis em tratamentos nos casos de rejeição em transplantes. As caseamembrinas, diterpenos do tipo clerodano, isoladas de *C. membranacea* demonstraram atividades citotóxicas em células cancerígenas da próstata, nos estudos realizados por Huang et al. (2004). A neutralização de venenos ofídicos também tem sido relatada por Izidoro et al. (2003) em seus estudos com extratos aquosos de *C. mariquitensis*.

Folhas e cascas de árvores de *C. obliqua* são popularmente utilizadas como diurético, sudorífero, antiofídico, no combate às dermatoses e à doença de hanseníase. As cascas dos troncos e as folhas de *C. decandra* são utilizadas como antitérmico e no combate às úlceras gastroduodenais (PLANTAS BRASILEIRAS, 2002).

Diante do exposto, tanto no que diz respeito à composição química quanto à utilização medicinal, com estudos farmacológicos e usos na medicina tradicional, se torna evidente a importância quimiotaxonômica desse gênero e sua família, bem como a importância no aprofundamento dos estudos fitoquímicos e farmacológicos de suas espécies. O Quadro 1 (pág. 32) elenca algumas substâncias isoladas de espécies de *Casearia* e suas atividades biológicas e/ou farmacológicas.

1.3 Considerações sobre a espécie *Casearia arborea* (Rich.) Urb.

Casearia arborea, conhecida popularmente como “pau de pico”, “imbuí amarelo” ou “canela”, é encontrada nas regiões tropicais, desde o norte da América Central até a América do Sul. No Brasil esta espécie está distribuída pelas regiões Norte (AM, RR, RO e PA), Nordeste (CE, PE e BA), Centro-Oeste (MG e GO) e Sudeste (MG, ES, RJ e SP) (MARQUETE, 2005).

Casearia arborea é uma árvore de tronco vigoroso e não ramificado, cujos indivíduos são mais frequentes no interior da floresta e apresentam uma copa bem formada,

que pode atingir até 14 m de altura. Suas folhas são alternas, bordos serrados com cerdas curtas, pecioladas e com nervuras ocultas pelo indumento. Uma das características diagnósticas do gênero é a presença de traços e pontuações translúcidas que em *C. arborea* se apresentam esparsas e dispersas em toda a superfície. Suas inflorescências são do tipo pedunculadas, densas tomentosas e suas flores pediceladas, pequenas, de cor alva a esverdeada. Possui fruto imaturo, ovóide, vinoso-esverdeado com sementes oblongas parcialmente cobertas por um arilo franjado de cor amarela (MARQUETE, 2005). A figura 3 nos mostra os caracteres morfológicos mais evidentes nessa espécie. Sua madeira é utilizada comercialmente como lenha, em construções rurais e também em trabalhos de marcenaria (ALVINO et al., 2005; MARQUETE, 2005).

Quanto à quimiotaxonomia de *Casearia arborea*, apenas um estudo sobre o isolamento e caracterização de seus constituintes químicos bem como suas atividades farmacológicas, foi relatado na literatura. Em estudos realizados por Boyd et al (2000) foram isolados e identificados cinco novos diterpenos clerodânicos com atividade citotóxica, corroborando os relatos encontrados na literatura sobre os constituintes químicos e suas atividades bem características desse gênero.

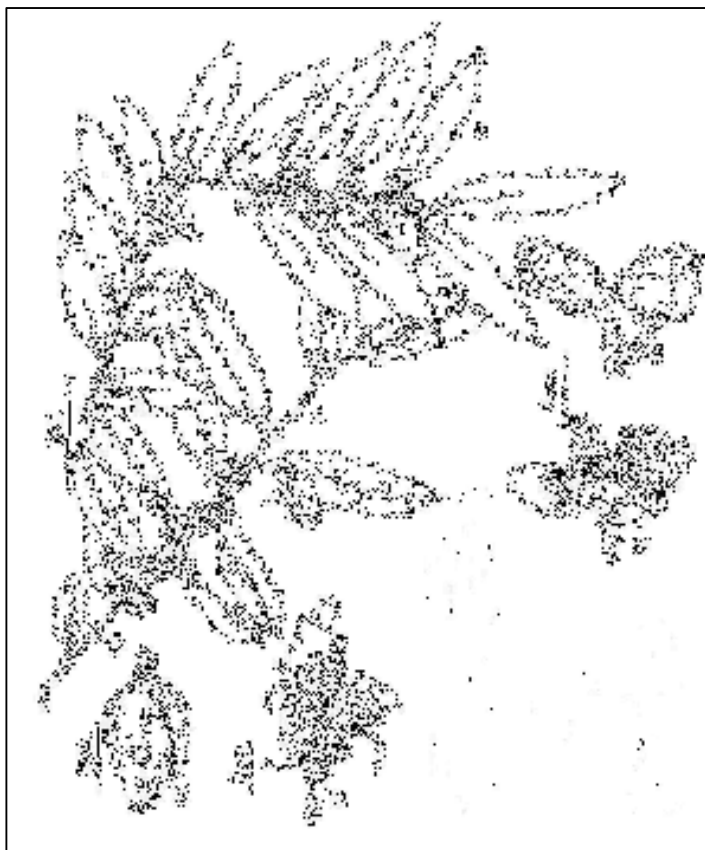


Figura 3 - Caracteres morfológicos mais evidentes em *C. arborea*: A) Ramo com inflorescência em botão e flores; B) Ramo com flores e frutos; C) Botões florais; D) Detalhe da flor aberta; E) Fruto; F) Semente e arilo franjado.

Fonte: MARQUETE, 2005.

Quadro 1 - Alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Flacourtiaceae, suas atividades biológicas e/ou farmacológicas relatadas na literatura

Classe	Exemplo	Fonte	Referência	Atividade Farmacológica
Ácidos graxos	Ácido 13-(2-ciclopent-1-il)-6-tridecanóico (Ácido górlico) (1)	<i>Hydnocarpus anthelminthica</i>	SHUKLA & SPENER, 1985	Atividades antiinflamatória e antinociceptiva (LIMA et al., 2005)
	e Ácido 2-ciclopenteno-1-undecanóico (Ácido hydnocárpico) (2)	<i>Carpotroche brasiliensis</i>	LIMA et al., 2005	Atividade inseticida (SINI et al., 2005)
Terpenóides	Germacreno D (3)	<i>Casearia sylvestris</i>	TININIS et al., 2006	Cicatrizante por ativação de fibroblastos
	e β – Selineno (4)			Antibacteriano e antifúngico (PÉREZ, 2005) Antibacteriano e antifúngico (PÉREZ, 2005)
	18, 19- diacetóxi-18,19-epóxi-6-hidróxi-2-(2-metilbutanoilóxi)-cleroda-3,12,14-trieno (Caseamembrol A) (5)	<i>Laetia procera</i>	JULLIAN et al., 2005	Atividade citotóxica em células do câncer de próstata humana (SHEN et al., 2004b) Atividade antiplasmodial e antileishmanial (JULLIAN et al., 2005)
	18, 19- diacetoxi-18,19-epóxi-6-hidróxi-2-etóxi-cleroda-3,12,14-trieno (Corymbotin D) (6)	<i>Casearia corymbosa</i>	CHEN & WIEMER, 1991	Não relatado na literatura
Dolabell-2Z,7E,11E-trien-1-ona Casearimene A (7)	<i>Casearia membranacea</i>	CHANG et al., 2003	Não relatado na literatura	

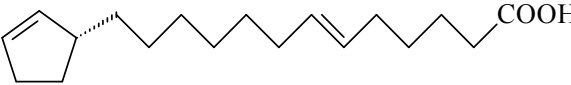
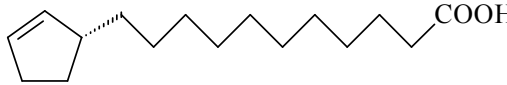
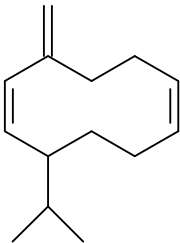
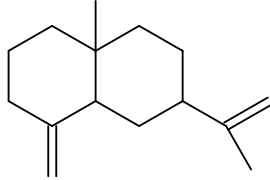
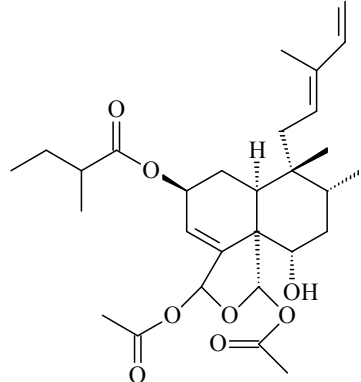
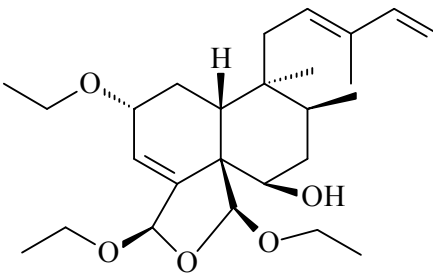
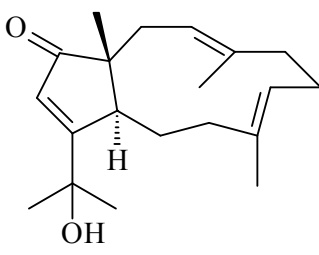
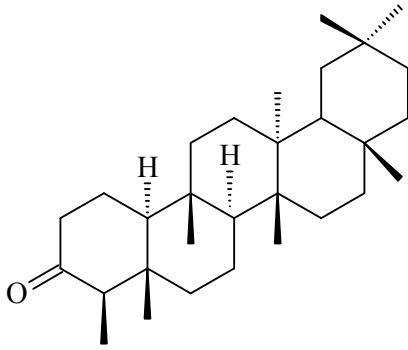
Continuação: Alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Flacourtiaceae, suas atividades biológicas e/ou farmacológicas relatadas na literatura

Terpenóides	3-ona-fridelan (Fridelina) (8) e	<i>Lindackeria paraensis</i>	RIBEIRO et al., 2000	Efeito vasodilatador (JIAO et al., 2007) e antiespermatogênica (VIEIRA-FILHO et al., 2002)
	3-hidróxi-fridelan (Fridelinol) (9)			Ação antiespermatogênica (VIEIRA-FILHO et al., 2002)
Esteróides	Estigmasta-5-en-3 β -ol (β – Sitosterol) (10) e	<i>Casearia membranacea</i>	CHANG et al., 2003	Antiúlcera (LING & JONES, 1995) Gastroprotetora (NAVARRETE et al., 2002)
	Estigmasta-5-en-3 β ,7 β -diol, (7 β -hidróxi-sitosterol) (11)			Causa apoptose em células de cólon humanas cancerígenas (ROUSSI et al., 2006)
Flavonóides	3,5,7,4',5'-pentahidróxi-flavonol (Catequina) (12) e	<i>Casearia clarkei</i>	SHAARI & WATERMAN, 1994	Atividade anticancerígena (KUZUHARA et al., 2008)
	3-epi-5,7,4',5'-pentahidróxi-flavonol (epicatequina) (13)			Atividade antioxidante (DAVID et al., 2002)
	5-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona (14) e			RIBEIRO et al., 2000
5,4'-dihidroxi-7-metoxiflavona (15)				

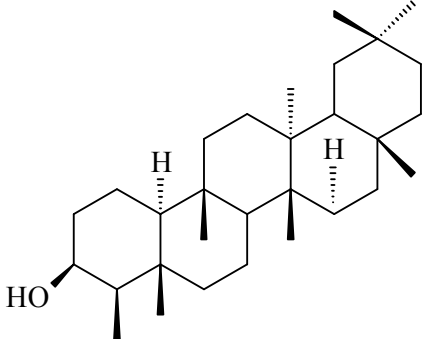
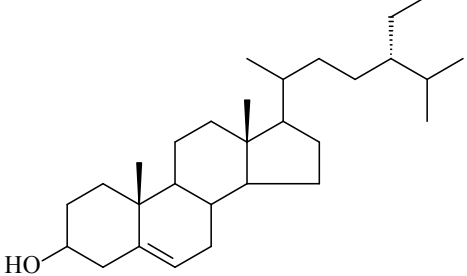
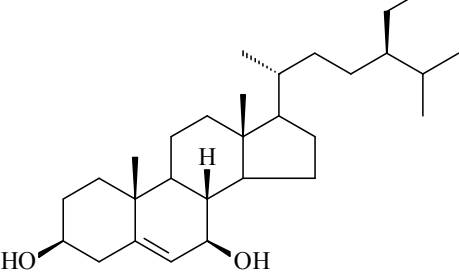
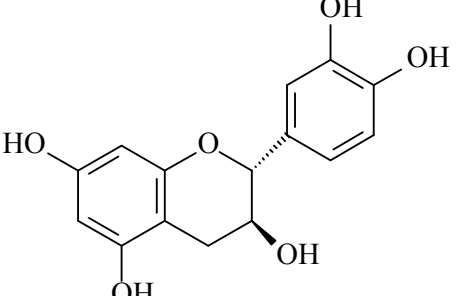
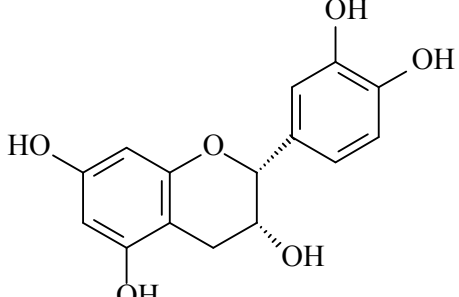
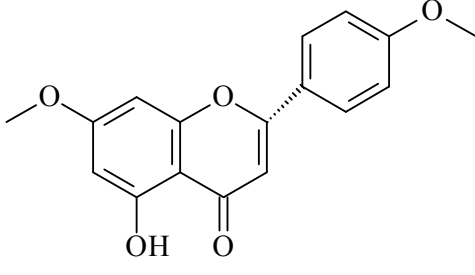
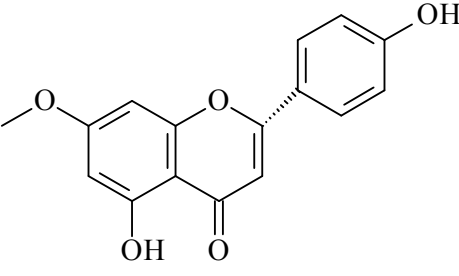
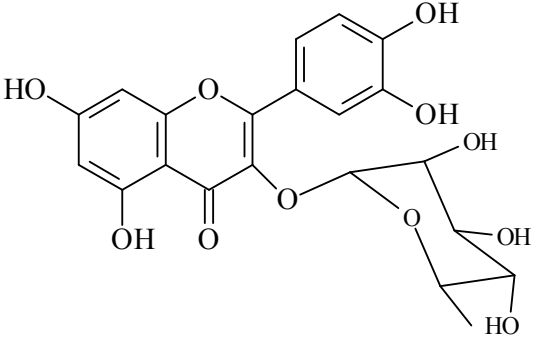
Continuação: Alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Flacourtiaceae, suas atividades biológicas e/ou farmacológicas relatadas na literatura

Glicosídeos favonoídicos	<p>Quercetina 3-O-raminosídeo (16)</p> <p>e</p> <p>Quercetina 3-O-xilosil(1→2) raminosídeo (17)</p>	<i>Erythrospermum monticolum</i>	RECIO et al., 1995	Atividade antiinflamatória (RECIO et al., 1995)
Alcalóide	<p>6-(1α, 5aβ, 8aβ, 9-pentahidroxi-7β-isopropil-2β, 5β, 8β-trimetilperidro-8bα, 9-epoxi-5,8-etanociclopenta[1, 2-b]indenil) pirrole-2-carboxilato (Ryanodina) (18)</p>	<i>Ryania speciosa</i>	ROGERS et al., 1946	<p>Efeito vasoconstrictor (PROCITA et al., 1968)</p> <p>Atividade inseticida (LEHMBERG & CASIDA, 1994)</p>
Lignanas	<p>2β-hidroxi-4'-demetildesoxipodophyllotoxina (19)</p> <p>e</p> <p>4'-demetil desoxipodophyllotoxina (20)</p>	<i>Casearia clarkei</i>	SHAARI & WATERMAN, 1994	<p>Ação contra o papiloma vírus-HPV (LOBE et al., 1998)</p> <p>Tratamento de verrugas genitais (BAKER, 1990)</p>

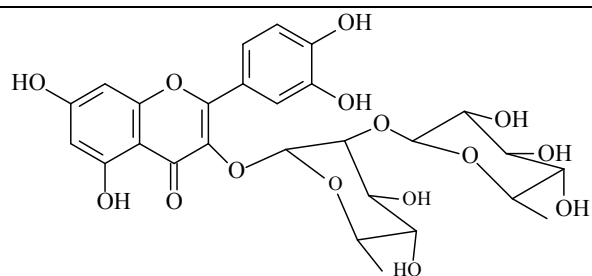
Quadro 2 - Alguns constituintes químicos isolados de espécies de Flacourtiaceae, citados no Quadro 1 (pág. 32)

 <p>Ácido gárlico (1)</p>	 <p>Ácido hydnocárpico (2)</p>
 <p>Germacreno D (3)</p>	 <p>β-selineno (4)</p>
 <p>Caseamembrol A (5)</p>	 <p>Corymbotin D (6)</p>
 <p>Casearimene A (7)</p>	 <p>Fridelina (8)</p>

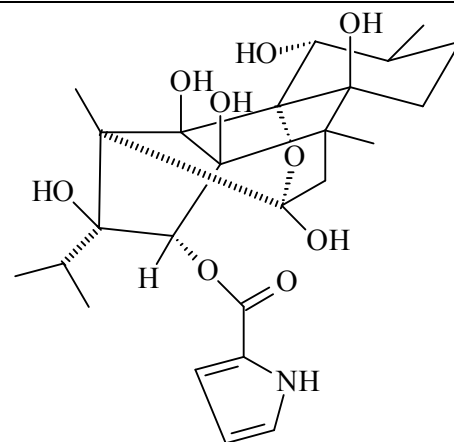
Continuação: Alguns constituintes químicos isolados de espécies de Flacourtiaceae, citados no Quadro 1 (pág. 32)

 <p>Fridelinol (9)</p>	 <p>β-sitosterol (10)</p>
 <p>7β-hidróxi-sitosterol (11)</p>	 <p>Catequina (12)</p>
 <p>Epicatequina (13)</p>	 <p>5-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona (14)</p>
 <p>5,4'-dihidroxi-7-metoxiflavona (15)</p>	 <p>Quercetina 3-O-raminosídeo (16)</p>

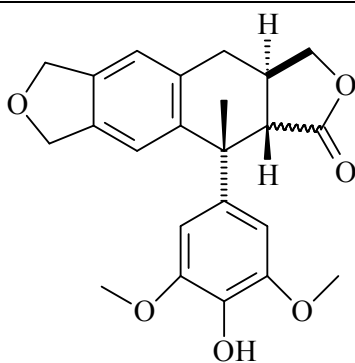
Continuação: Alguns constituintes químicos isolados de espécies de Flacourtiaceae, citados no Quadro 1 (pág. 32)



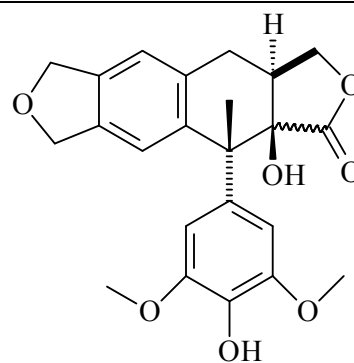
Quercetina 3-O-xilosil(1→2) raminosideo (17)



Ryanodina (18)



2β-hidroxi-4'-demetildesoxipodophyllotoxina (19)



4'-demetil desoxipodophyllotoxina (20)

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Contribuir para o estudo quimiotaxonômico da família Flacourtiaceae, tendo em vista o seu potencial etnofarmacológico.

2.2 Objetivos específicos

- Isolar e caracterizar estruturalmente os constituintes químicos de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. através de métodos cromatográficos e espectroscópicos, respectivamente;

- Contribuir para o conhecimento fitoquímico de espécies vegetais pertencentes à nossa flora;

- Disponibilizar frações e substâncias isoladas e caracterizadas estruturalmente para realização de testes farmacológicos.

3 EXPERIMENTAL

3.1 Levantamento bibliográfico

O levantamento bibliográfico de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. foi realizado, em todo decorrer do trabalho, no Chemical Abstracts, Biological Abstracts, NAPRALERT, pesquisas na Internet e em anais de eventos nacionais e internacionais.

3.2 Coleta do material vegetal

O caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. foi coletado no município de Porto Grande/AP, em novembro de 2006. A identificação do gênero foi realizada pela botânica Rosângela do Socorro Ferreira Rodrigues Sarquis do Instituto de Pesquisa Científica e Tecnológicas do Estado do Amapá-IEPA. Uma exsicata do material se encontra arquivada no herbário deste instituto.

3.3 Processamento do material botânico

O material botânico fresco (3000 g) foi desidratado em estufa à temperatura de 40°C durante 96 horas, sendo em seguida triturado para obtenção do pó (1000 g) que foi, então, macerado em etanol (EtOH) a 95 % por 72 horas, sendo tal processo repetido até extração exaustiva dos constituintes químicos. A solução etanólica foi concentrada em rotaevaporador a 40° C, fornecendo 150 g do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. (Esquema 1, pág. 46).

3.4 Triagem fitoquímica

A detecção da presença de determinados grupos de metabólitos, para um melhor direcionamento da pesquisa, foi realizada através de uma triagem fitoquímica. Frações do extrato etanólico bruto foram testadas com os reagentes de Bouchardat, Mayer, Dragendorff e ácido sílico tungústico, mostrando resultado negativo para a possível presença de alcalóides.

Os testes também foram negativos para taninos mediante reação com gelatina 0,5% e FeCl₃. Os testes Lieberman-Bouchardat e fita de magnésio demonstraram a presença de terpenóides, esteróides e flavonóides, respectivamente (MATOS, 1997).

3.5 Cromatografia líquida sob pressão reduzida do extrato etanólico bruto

O extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. (150 g) foi submetido a uma filtração sob pressão reduzida, utilizando como fase estacionária sílica gel 60 (Merck) 7734 (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh), tendo como suporte um funil de buchner com placa porosa adaptado com um papel de filtro. Como fase móvel foram utilizados Hexano, AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade (Esquema 1, pág. 41). As frações foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida. Das frações AcOEt-MeOH (9:1) e (7:3) obteve-se um precipitado (ppt) e um sobrenadante (ssb) cada (Esquema 1, pág. 46).

3.6 Isolamento e purificação dos constituintes químicos das frações Hexânica, Hexano-AcOEt (9:1) e Hexano-AcOEt (1:1) do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb.

O isolamento, purificação e análise comparativa dos constituintes químicos, ou destes com seus padrões, foram realizados através de técnicas cromatográficas.

3.6.1 Procedimentos cromatográficos

As cromatografias em coluna foram desenvolvidas utilizando-se como fase estacionária sílica gel 60 (Merck) 7734 (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh) e sílica gel 60 (Macherey-Nagel, partículas com 0,04-0,063 mm / 230-400 mesh ASTM), tendo como suportes colunas de vidro cilíndricas com dimensões variando de acordo com a quantidade de

amostra a ser cromatografada. Como fase móvel foram utilizados os solventes comerciais hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade, redistilados no setor de destilação do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica. A Cromatografia em Camada Delgada Analítica foi empregada para a análise e reunião das frações obtidas por cromatografia em coluna. As placas cromatográficas utilizadas para CCDA foram preparadas em placas de vidro com dimensões de 5x20, 10x20 e 20x20 cm, a fase estacionária ou fixa foi preparada seguindo técnica descrita por Matos (1997). As substâncias em análise foram evidenciadas pelo uso de radiação ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm e também por impregnação das placas em cubas de vidro saturadas por vapores de iodo.

3.6.2 Processamento cromatográfico da fração Hexânica

A fração Hexânica (1,90 g) foi submetida a cromatografia em coluna utilizando como adsorvente sílica gel 60 (partículas com 0,063-0,2 mm) e como eluentes hexano e acetato de etila puros ou em misturas binárias, com gradiente crescente de polaridade (Esquema 2, pág. 47). Desta coluna foram coletadas 46 frações de 50 mL cada, concentradas em evaporador rotativo, analisados por CCDA e reunidas de acordo com seus fatores de retenção (R_f 's) (Quadro 3, pág. 50). A fração 21/27 apresentou-se na forma de um óleo amarelo (0,807 g) sendo codificada como **F1-4**.

3.6.3 Processamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (9:1)

A fração Hexano-AcOEt (9:1) (3,52 g), foi submetida a cromatografia em coluna (coluna 2) com sílica gel 60 (partículas com 0,063-0,2 mm) empregando o mesmo sistema de solventes usado para o fracionamento da fração hexânica como eluentes, obtendo-se 123 frações que foram analisadas e reunidas seguindo procedimento anterior (Esquema 3, pág. 48;

Quadro 4, pág. 50). A fração 47/50 forneceu um sobrenadante e 0,101 g de um precipitado em forma de pó branco amorfo, que mostrou-se puro por CCDA em vários sistemas de solventes, sendo, portanto, codificado como **FI-1**. A fração 30 (0,756 g), obtida da fração Hexano-AcOEt (9:1) (Esquema 3, pág. 48, Quadro 4, pág. 50), foi recromatografada em coluna com sílica gel 60 (partículas com 0,04-0,063 mm) utilizando como eluentes hexano e acetato de etila puros e em misturas, coletando-se 71 frações, que foram analisadas e reunidas por CCDA (Esquema 3, pág. 48; Quadro 5, pág. 51), das quais a subfração 38/58 (0,225 g) foi recromatografada em coluna, adotando-se a metodologia anterior. Deste processo cromatográfico obteve-se 31 frações, destas, a fração 3/10 (Esquema 3, pág. 48; Quadro 6, pág. 51) se apresentou na forma de um óleo amarelo e puro, quando analisado por CCDA em vários sistemas de solventes, recebendo, portanto, o código **FI-3** (0,113 g). Ainda da coluna 2, os 0,323 g da fração 40/42 (Esquema 3, pág. 48) foram submetidos a cromatografia em coluna com sílica gel 60 (partículas com 0,063-0,2 mm) usando como eluentes hexano, diclorometano (CH_2Cl_2) e metanol com gradiente crescente de polaridade. Esta coluna forneceu 99 frações, das quais 0,072 g da subfração 46/62 apresentou seu espectro de RMN ^1H semelhante a substância **FI-1**. Uma análise comparativa por CCDA mostrou que esta fração apresentava R_f diferente de **FI-1**, o que levou a codificá-la como **FI-2**.

3.6.4 Processamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (1:1)

A partir de 3,20 g da fração Hexano-AcOEt (1:1) submetidos a cromatografia em coluna com sílica gel 60 (partículas com 0,063-0,2 mm) empregando hexano, acetato de etila e metanol como eluentes, em ordem crescente de polaridade, foram obtidas 303 frações de 50 mL cada (Esquema 4, pág. 49) que foram concentrados em rotaevaporador, analisados e reunidas por CCDA, de acordo com seus fatores de retenção (R_f 's) (Quadro 8, pág. 53). A

fração 71/74 forneceu 0,037 g de uma substância em forma de cristais verde-escuros, codificada como **FI-5**. (Esquema 4, pág. 49; Quadro 8, pág. 53).

3.7 Caracterização estrutural dos constituintes químicos

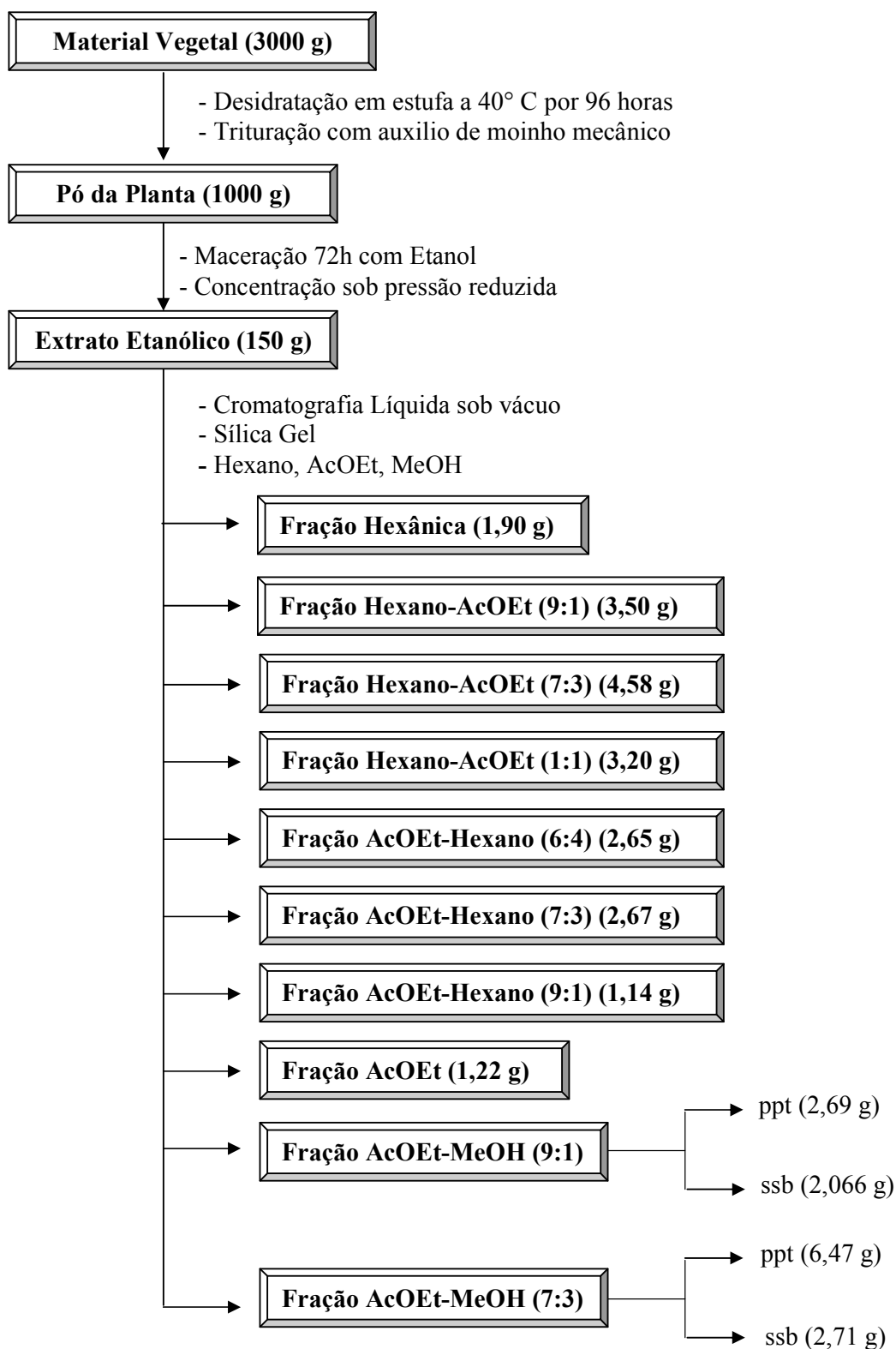
A análise dos espectros obtidos através dos métodos espectroscópicos de Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono 13, utilizando técnicas uni e bidimensionais (COSY, HSQC, HMQC, HMBC e NOESY), além de comparações com modelos da literatura, permitiram caracterizar estruturalmente os constituintes químicos isolados de *Casearia arborea* (Rich.) Urb.

3.7.1 Infravermelho

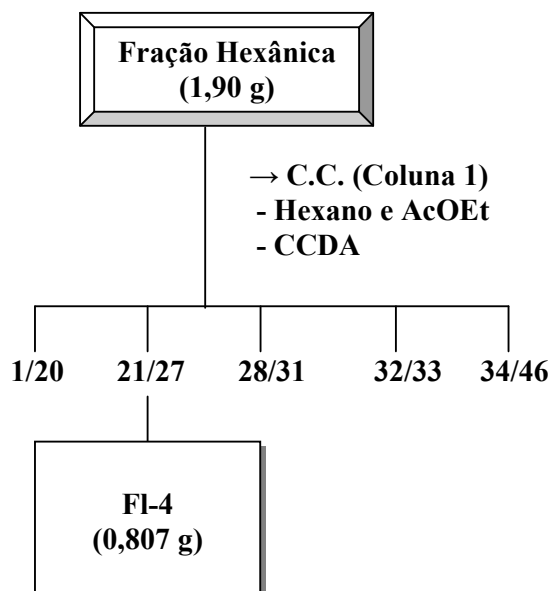
Os dados espectrais das substâncias na região do infravermelho foram obtidos em aparelho Perkin-Elmer, FT-IR-1750 (Fourier Transform – Infra Red) e Shimadzu – IR prestige 21 do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros”-UFPB, utilizando-se de 1,00 a 3,00 mg de amostra em pastilhas de KBr, com frequência medida em cm^{-1} .

3.7.2 Ressonância Magnética Nuclear

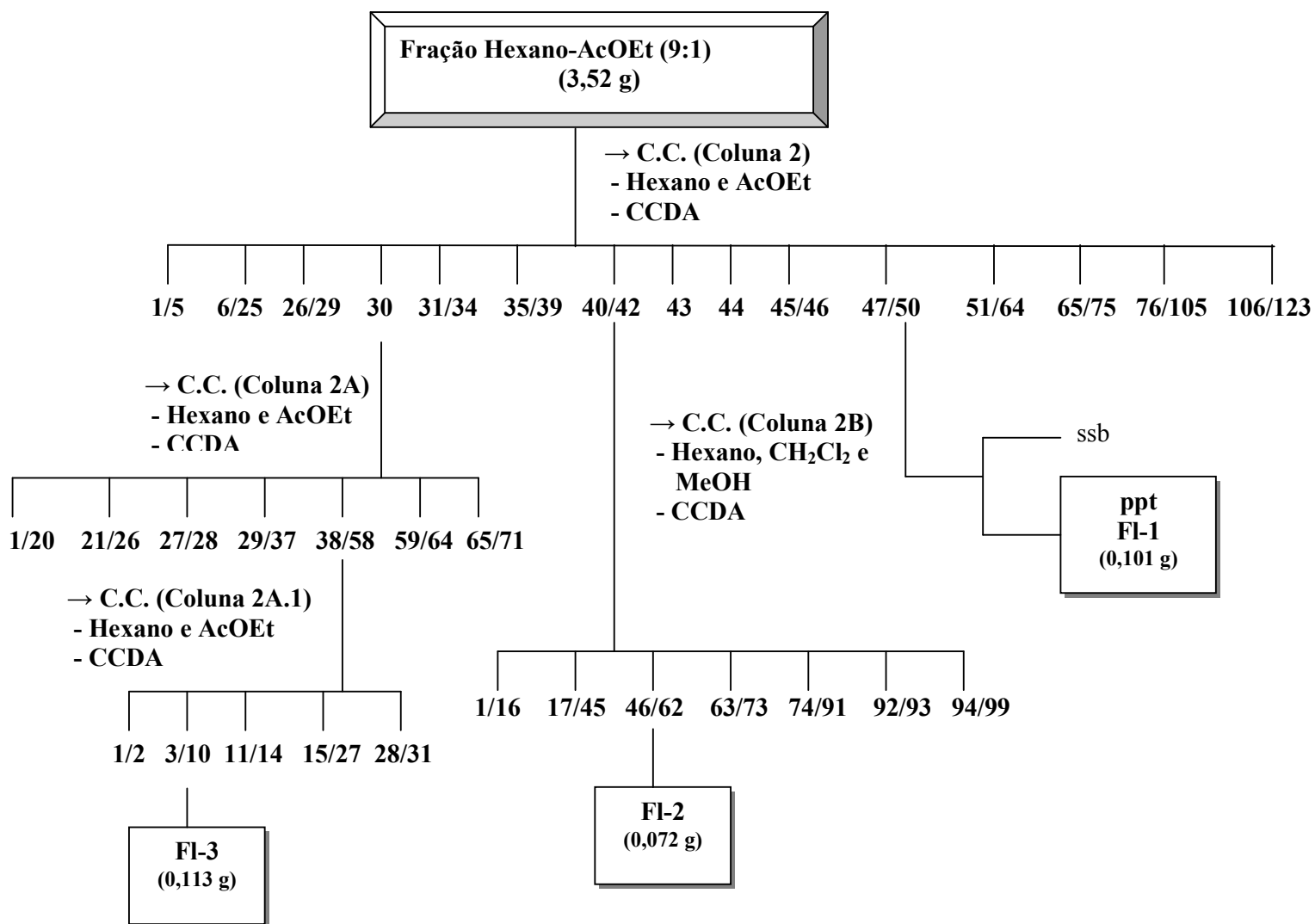
Utilizou-se espectrômetros BRUKER-AC (CENAUREM/UFC) a 500 (^1H) e 125 (^{13}C), VARIAN-NMR SYSTEM a 500 (^1H) e 125 (^{13}C) e VARIAN-MERCURY a 200 (^1H) e 50 MHz (^{13}C) (LTF/UFPB), otimizados para técnicas uni e bidimensionais, utilizando-se quantidades variáveis de amostras. O solvente empregado para solubilizar as substâncias foi CDCl_3 , cujos picos característicos em RMN ^1H e ^{13}C serviram como padrão interno durante a obtenção dos espectros.



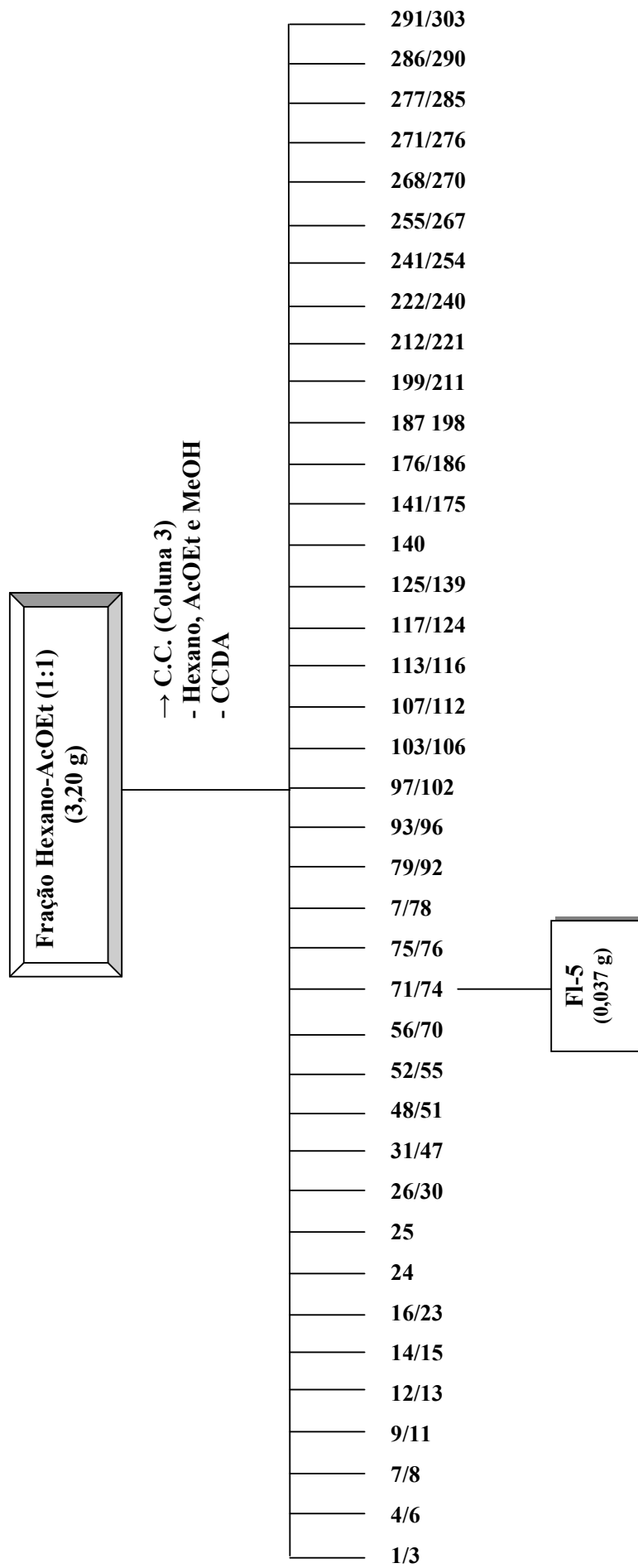
Esquema 1 - Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb.



Esquema 2 - Fracionamento cromatográfico da fração Hexânica do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb.



Esquema 3 - Fracionamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (9:1) do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb.



Esquema 4 - Fracionamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (1:1) do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb.

Quadro 3 - Representação cromatográfica da fração Hexânica do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. (coluna 1)

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano	1-16	1/20
Hexano-AcOEt (98:02)	17-24	21/27 (F1-4)
Hexano-AcOEt (95:05)	25-30	28/31
Hexano-AcOEt (90:10)	31-34	32/33ppt
Hexano-AcOEt (80:20)	35-41	32/33ssb
Hexano-AcOEt (70:30)	42-44	34/45
Hexano-AcOEt (60:40)	45	

Quadro 4 - Representação cromatográfica da fração Hexano-AcOEt (9:1) do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. (coluna 2)

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano	1-27	1/5
Hexano-AcOEt (98:02)	28-36	6/25
Hexano-AcOEt (95:05)	37-40	26/29
Hexano-AcOEt (90:10)	41-87	30
Hexano-AcOEt (85:15)	88-104	31/34
Hexano-AcOEt (80:20)	105-110	35/39
Hexano-AcOEt (70:30)	111-115	40/42
Hexano-AcOEt (60:40)	116-117	43
Hexano-AcOEt (1:1)	118-120	44
Hexano-AcOEt (40:60)	121	45/46
Hexano-AcOEt (20:80)	122	47/50 ppt (F1-1)
AcOEt	123	47/50 ssb
		51/64
		65/75
		76/105
		106/123

Quadro 5 - Representação cromatográfica da sub-fração **30** (Esquema 3, pág. 45) da fração Hexano-AcOEt (9:1) do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. (coluna 2A)

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano	1-11	1/20
Hexano-AcOEt (99:01)	12-32	21/26
Hexano-AcOEt (98:02)	33-36	27/28
Hexano-AcOEt (97:03)	37-57	29/37
Hexano-AcOEt (95:05)	58-61	38/58
Hexano-AcOEt (90:10)	62-71	59/64 65/71

Quadro 6 - Representação cromatográfica da sub-fração **38/58** (Esquema 3, pág. 45) da fração Hexano-AcOEt (9:1) do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. (coluna 2A.1)

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano	-	
Hexano-AcOEt (99,9:0,1)	-	1/2
Hexano-AcOEt (99,8:0,2)	-	3/10 (F1-3)
Hexano-AcOEt (99,7:0,3)	-	11/14
Hexano-AcOEt (99,6:0,4)	-	15/27
Hexano-AcOEt (99,5:0,5)	-	28/31
Hexano-AcOEt (99,4:0,6)	01-06	
Hexano-AcOEt (99,3:0,7)	07-09	
Hexano-AcOEt (99,2:0,8)	10-13	
Hexano-AcOEt (99:01)	14-18	
Hexano-AcOEt (98,7:1,3)	19-20	
Hexano-AcOEt (98,4:1,6)	21-26	
Hexano-AcOEt (98:02)	27-28	
Hexano-AcOEt (95:05)	29-31	

Quadro 7 - Representação cromatográfica da sub-fração **40/42** (Esquema 3, pág. 45) da fração Hexano-AcOEt (9:1) do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. (coluna 2B)

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano	01-10	
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (99:01)	11-13	1/16
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (98:02)	14-16	17/45
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (97:03)	17-19	46/62 (FI-2)
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (94:06)	20-27	63/73
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (92:08)	28-33	74/91
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (90:10)	34-37	92/93
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (88:12)	38-41	94/99
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (85:15)	42-47	
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (82:18)	48-53	
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (80:20)	54-58	
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (70:30)	59-62	
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (1:1)	63-71	
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (30:70)	72-74	
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (20:80)	75-77	
Hexano-CH ₂ Cl ₂ (10:90)	78-80	
CH ₂ Cl ₂	81-88	
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (95:05)	89-99	

Quadro 8 - Representação cromatográfica da fração Hexano-AcOEt (1:1) do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. (coluna 3)

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano	-	01/03
Hexano-AcOEt (98:02)	-	04/06
Hexano-AcOEt (95:05)	01-46	07/08
Hexano-AcOEt (90:10)	47-72	09/11
Hexano-AcOEt (85:15)	73-94	12/13
Hexano-AcOEt (80:20)	95-112	14/15
Hexano-AcOEt (70:30)	113-172	16/23
Hexano-AcOEt (60:40)	173-205	24
Hexano-AcOEt (1:1)	206-226	25
Hexano-AcOEt (45:65)	227-242	26/30
Hexano-AcOEt (40:60)	243-251	31/47
Hexano-AcOEt (30:70)	252-257	48/51
Hexano-AcOEt (20:80)	258-280	52/55
Hexano-AcOEt (10:90)	281-293	56/70
AcOEt-MeOH (90:10)	294-303	71/74 (Fl-5)
		75/76
		77/78
		79/92
		93/96
		97/102
		103/106
		107/112
		113/116
		117/124
		125/139
		140
		141/175
		176/186
		187/198
		199/211
		212/221
		222/240
		241/254
		256/267
		268/270
		271/276
		277/285
		286/290
		291/303

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Substâncias isoladas de *Casearia arborea* (Rich.) Urb.

O estudo fitoquímico das frações Hexânica, Hexano-AcOEt (9:1) e Hexano-AcOEt (1:1) do extrato etanólico bruto do caule de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. resultou no isolamento de cinco constituintes químicos. Da fração Hexânica, foi isolada a substância codificada como **FI-4** (0,807 g), da fração Hexano-AcOEt (9:1), foram isoladas as substâncias codificadas como **FI-1** (0,101 g), **FI-2** (0,072 g) e **FI-3** (0,113 g), enquanto a fração Hexano-AcOEt (1:1) forneceu a substância **FI-5** (0,037 g) (Figura 4).

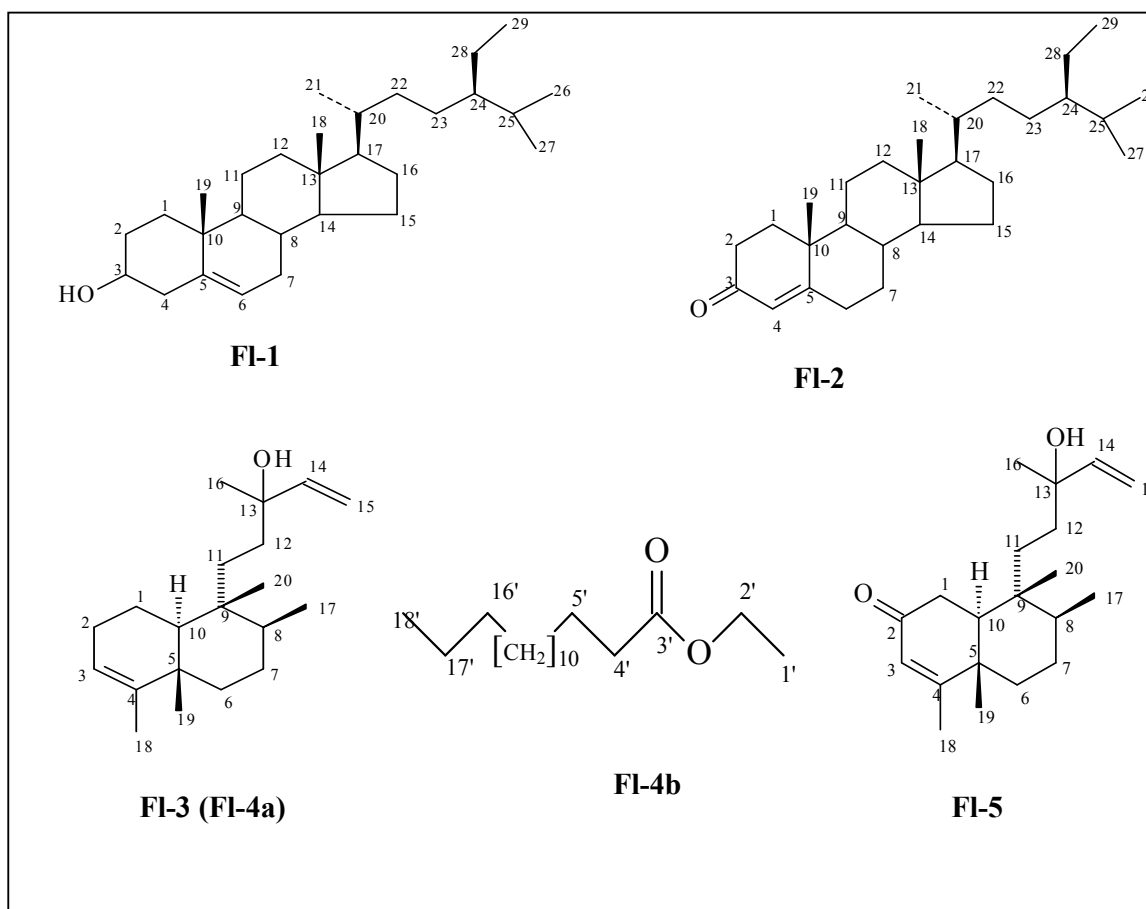


Figura 4 – Constituintes químicos isolados de *Casearia arborea* (Rich.) Urb.

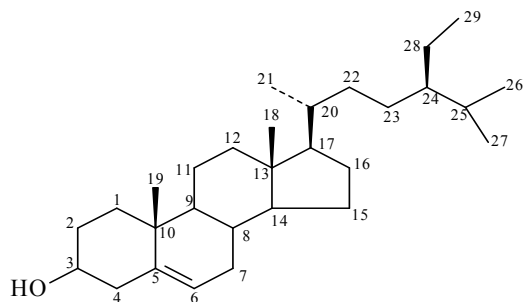
4.2 Caracterização estrutural de FI-1

O espectro de RMN ^1H (Figura 5, pág. 59) da substância codificada como **FI-1** mostrou absorções simples e múltiplas na região entre δ_{H} 0,64 e δ_{H} 2,33 características de hidrogênios metínicos, metilênicos e metílicos ligados a carbono sp^3 , sugerindo que **FI-1** poderia ser triterpeno ou esteróide. A presença de um multipeto em δ_{H} 3,48 condizente com hidrogênio oximetínico da posição 3 de núcleo esteroidal ou triterpênico, fortaleceu a sugestão anterior (KOJIMA et al., 1990). Este espectro corroborou a sugestão de que **FI-1** tratava-se de um esteróide ao mostrar um dubleto em δ_{H} 5,31 característico de hidrogênio olefínico na posição 6 de fitoesteróides (MALIK et al., 1992). A feição do espectro de RMN ^1H (Figura 5, pág. 59), a interpretação dos dados espectrais e comparações com dados da literatura (KOJIMA et al., 1990) possibilitaram sugerir que **FI-1** possui um núcleo esteroidal .

O espectro de RMN ^{13}C utilizando a técnica APT (Figura 6, pág. 60) e suas expansões (Figuras 7 e 8, págs. 61) mostraram 29 sinais, o que levou a propor que **FI-1** possuía um núcleo esteroidal, visto que este núcleo possui de 27 a 29 átomos de carbono, enquanto o núcleo triterpênico possui 30 átomos de carbono (BRUNETON, 2001). As absorções entre δ_{C} 11,81 e δ_{C} 19,40 (Figura 7, pág. 61) correspondentes a sinais para seis metilas, (Tabela 1, pág. 58) corroboraram a proposta de núcleo esteroidal para **FI-1**. Uma absorção em δ_{C} 71,80 exibiu sinal condizente com o carbono oximetínico (C-3) do núcleo esteroidal. Outros dois sinais referentes a carbonos sp^2 que fortalecem a proposta desse núcleo para **FI-1** foram as absorções em δ_{C} 121,63 e δ_{C} 140,70 característicos dos carbonos C-6, monohidrogenado, e C-5, não hidrogenado, dos núcleos esteroidais com dupla ligação nos carbono C-5 e C-6 (KOJIMA et al., 1990).

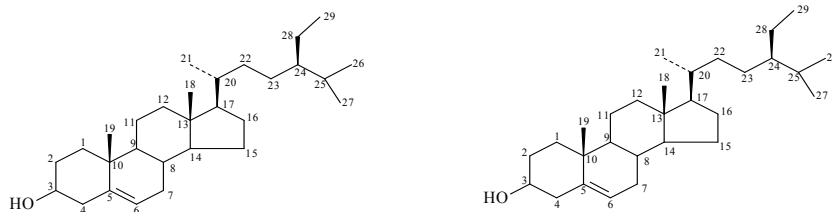
Comparações realizadas entre os dados espectrais de RMN ^{13}C de **FI-1** com modelo (Mo-1) da literatura (KOJIMA et al., 1990) (Tabela 1, pág. 58) tornaram possível identificar o composto como sendo o **β -sitosterol**, cuja presença é bem característica em plantas

superiores, como por exemplo em espécies do gênero *Casearia* (CHANG et al., 2003), sendo porém, descrito pela primeira vez na espécie *Casearia arborea* (Rich.) Urb.



Fl-1
Estigmast-5-en-3 β -ol (β – Sitosterol)

Tabela 1 - Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância **FI-1** (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com modelo Mo-1 (δ , CDCl_3 , 100 MHz) (KOJIMA et al., 1990)



Carbonos	Mo-1 (β -sitosterol)	FI-1
C	δ_{C}	δ_{C}
5	140,72	140,72
10	36,50	36,50
13	42,30	42,29
CH		
3	71,80	71,80
6	121,70	121,73
8	31,90	31,89
9	50,10	50,11
14	56,80	56,78
17	56,00	56,02
20	36,10	36,12
24	45,80	45,80
25	29,10	29,13
CH ₂		
1	37,20	37,39
2	31,60	31,63
4	42,30	42,28
7	31,90	31,90
11	21,10	21,08
12	39,80	39,78
15	24,30	24,27
16	28,20	28,21
22	33,90	33,91
23	26,00	26,02
28	23,00	23,02
CH ₃		
18	11,90	11,86
19	19,40	19,38
21	18,80	18,78
26	19,80	19,81
27	19,00	19,01
29	12,00	11,98

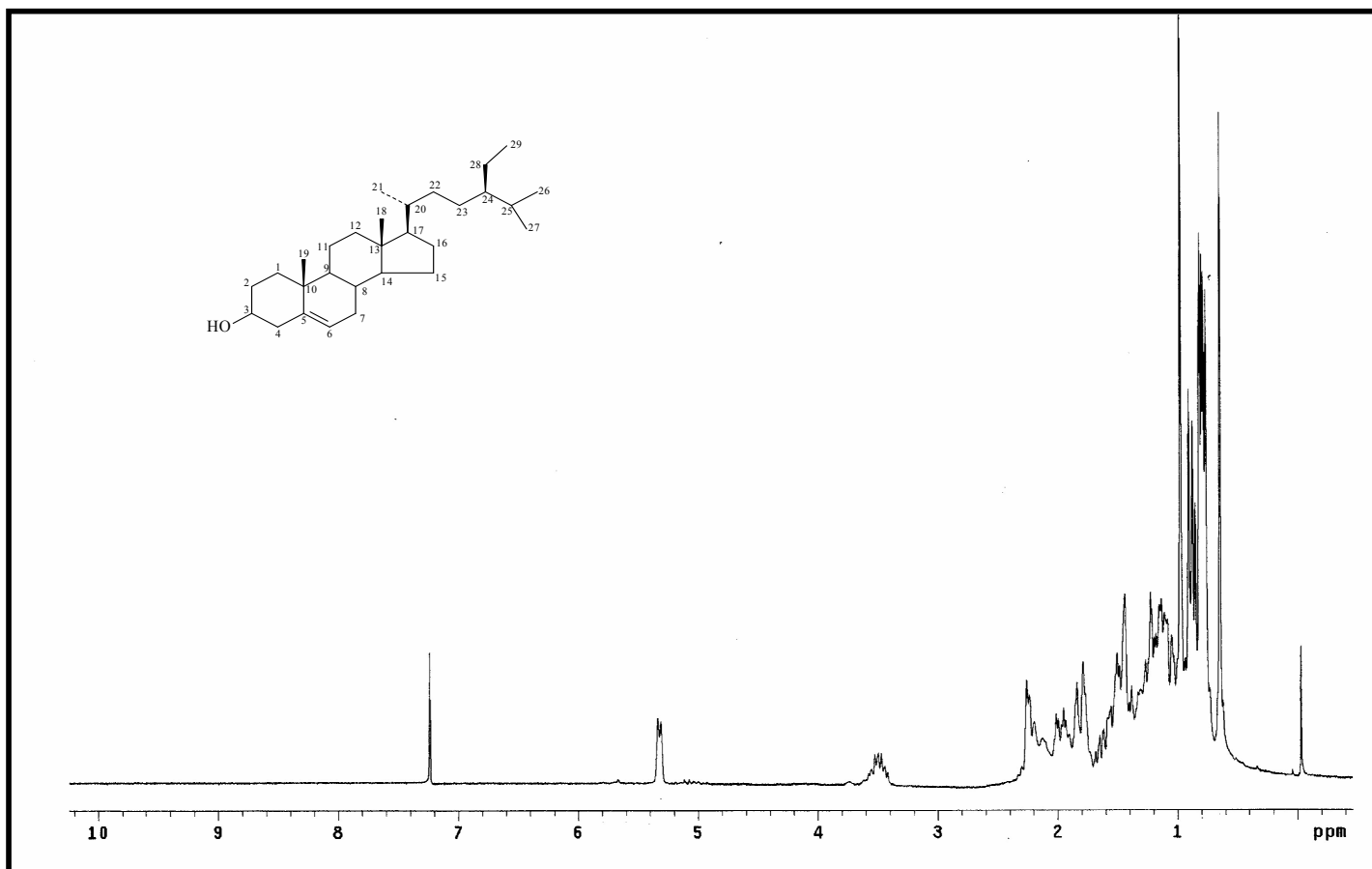


Figura 5 - Espectro de RMN¹H (δ, CDCl₃, 200 MHz) de FI-1

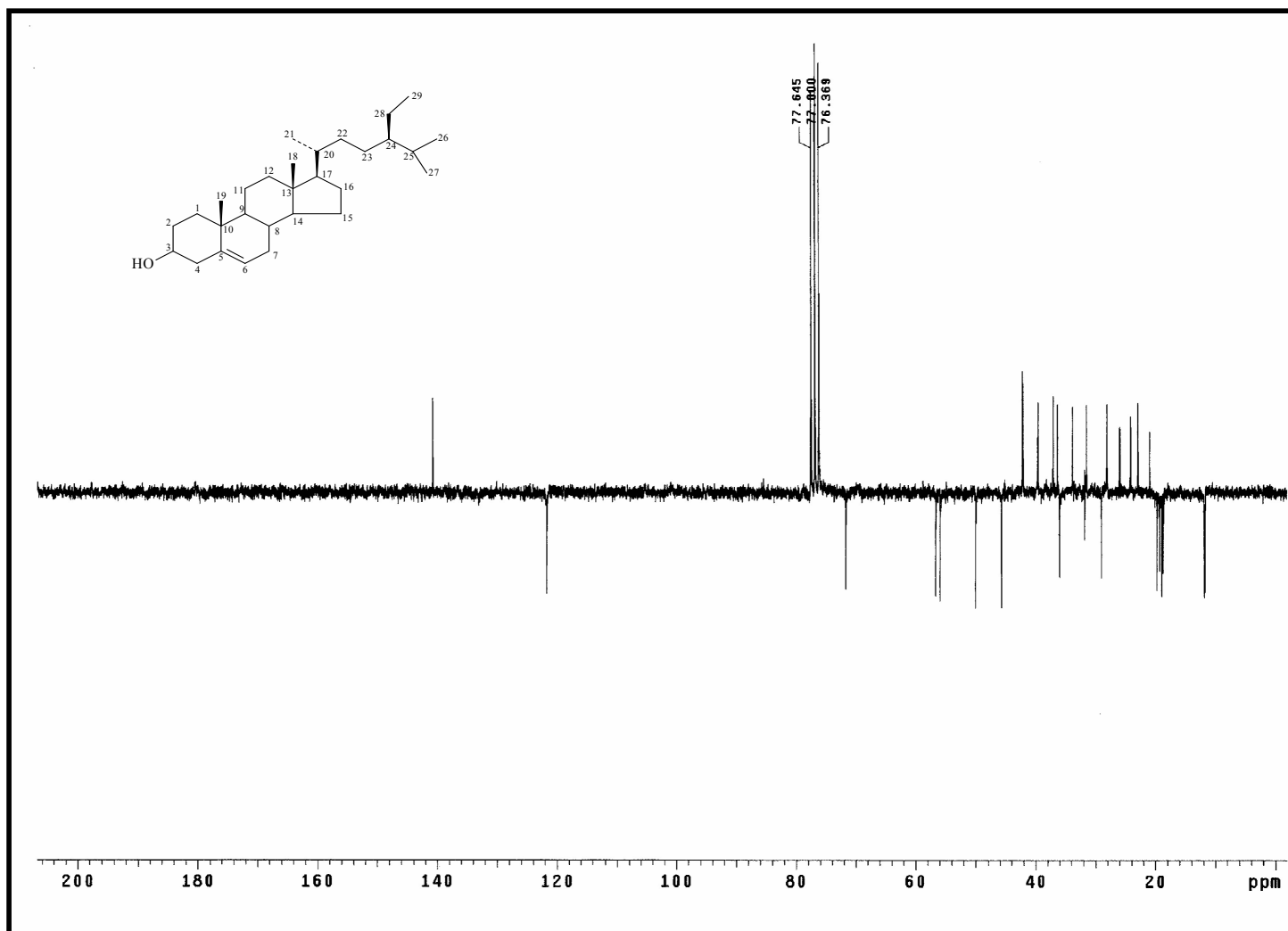


Figura 6 - Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de FI-1

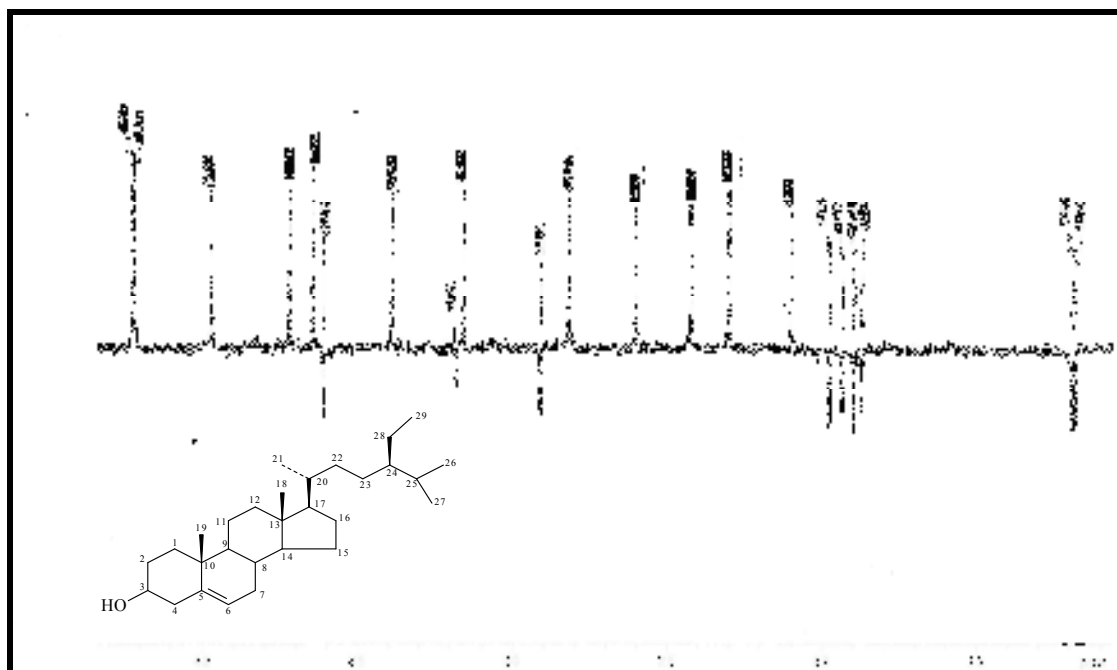


Figura 7 - Expansão do espectro de ^{13}C -APT na região entre 11,00 a 43,00 ppm (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **FI-1**

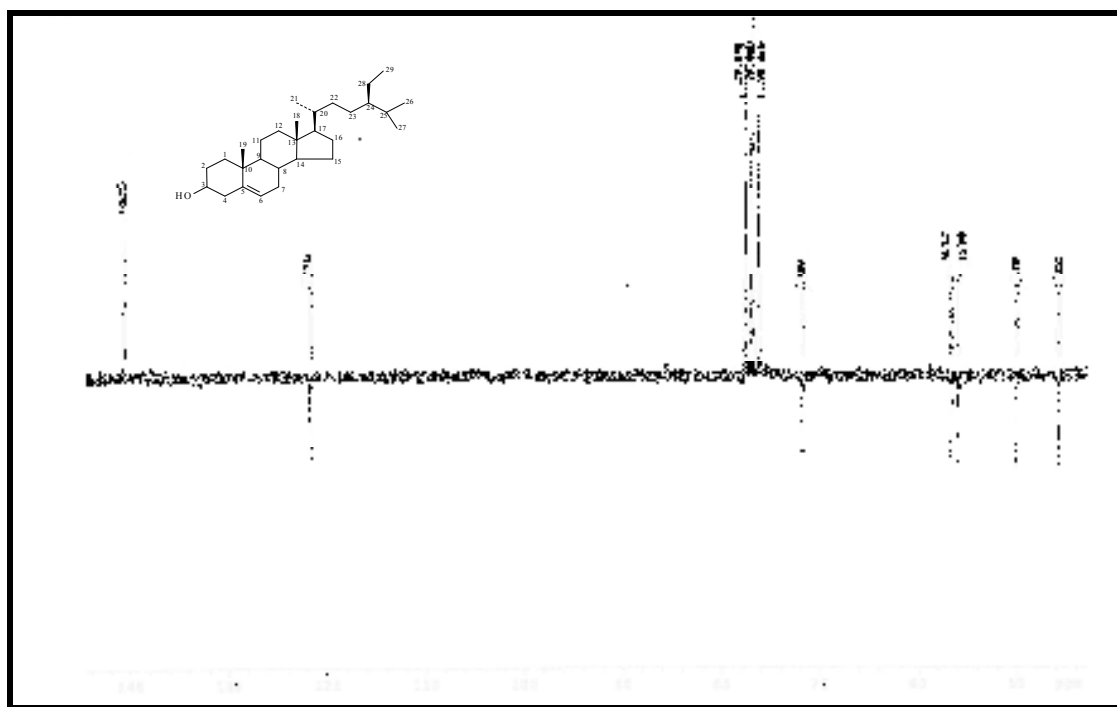


Figura 8 - Expansão do espectro de ^{13}C -APT na região entre δ 45,00 a δ 144,00 (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **FI-1**

4.3 Caracterização estrutural de FI-2

O espectro de RMN ^1H (Figura 9, pág. 67) da substância codificada como **FI-2** e suas expansões (Figuras 10 e 11, pág. 68) mostraram-se bem semelhantes ao espectro de **FI-1** (Figura 5, pág. 59), com absorções simples e múltiplas na região entre δ_{H} 0,66 e δ_{H} 2,33 características de hidrogênios metínicos, metilênicos e metílicos ligados a carbono sp^3 de núcleos triterpênico ou esteroidal (KOJIMA et al., 1990), todavia, a ausência de um multiplete característico de hidrogênio oximetínico da posição 3 destes núcleos, propõe que esta posição está substituída (KOJIMA et al., 1990). Um singlete largo em δ_{H} 5,69 no espectro em análise, com integração para um hidrogênio, mostrou-se desprotegido, quando comparado com H-6 (δ_{H} 5,31) da substância **FI-1**, o que levou a sugerir que esta absorção deveria ser atribuída ao hidrogênio H-4 dos fitoesteróides com carbonos sp^2 nas posições C-4 e C-5 (PREVITERA et al., 1990). A feição do espectro de RMN ^1H de **FI-2** e suas expansões (Figuras 9 a 11, págs. 67 e 68) quando comparada com o espectro de RMN ^1H de **FI-1** (Figura 5, pág. 59), além de comparações com dados da literatura (Tabela 2, pág. 65) permitiram propor que **FI-2** possui uma carbonila na posição C-3 e dupla ligação entre os carbonos C-4 e C-5.

O espectro de RMN ^{13}C utilizando a técnica APT (Figura 12, pág. 69) e suas expansões (Figuras 13 e 14, págs. 70 e 71) mostraram absorções para seis grupos metila de núcleo esteroidal entre δ_{C} 11,89 e δ_{C} 19,75, fortalecendo a sugestão de que **FI-2** trata-se de um esteróide. A proposta feita anteriormente, de que a posição C-3 de **FI-2** encontra-se substituída e que, esta substituição pode tratar-se de uma carbonila, além, da possibilidade de uma dupla ligação entre os carbonos C-4 e C-5 foi fortalecida pelo espectro de RMN ^{13}C (Figura 14, pág. 71), através de um conjunto de absorções em δ_{C} 198,84, δ_{C} 123,61 e δ_{C} 171,94 condizentes com a presença de uma carbonila α , β insaturada referentes aos carbonos C-3, C-4 e C-5, respectivamente (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000).

Através de comparações realizadas entre os dados espectrais de RMN ^{13}C (Figura 12, pág. 69) de **FI-2** com **FI-1** e modelo da literatura Mo-1 (PREVITERA et al, 1990) (Tabela 2, pág. 65) pôde-se sugerir, para substância em análise, a estrutura abaixo:

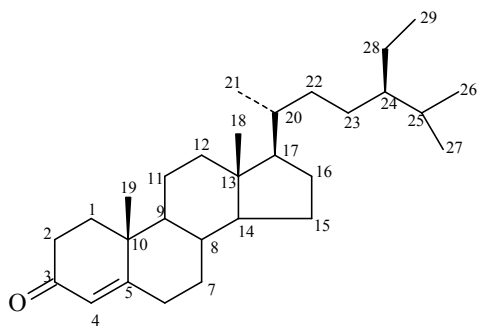
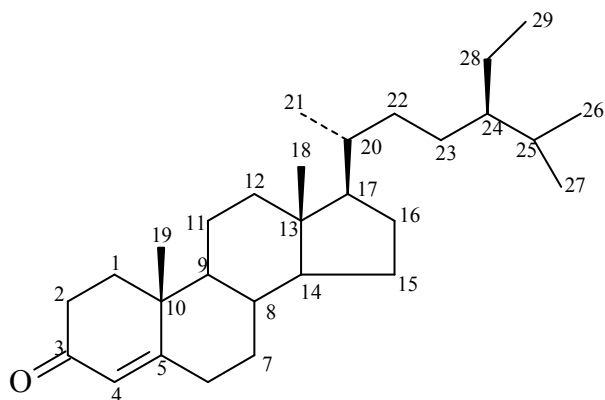


Figura 15 - Proposta estrutural para **FI-2**

A proposta feita pela análise do espectro de RMN ^1H (Figura 8, pág. 61), de que **FI-2** possuía um carbono olefínico na posição C-4, foi fortalecida pelos espectros de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (Figuras 16 e 17. págs. 72 e 73), que mostraram uma correlação direta entre δ_{H} 5,69 (d) e δ_{C} 123,61, inerente aos hidrogênio H-4 e carbono olefínico C-4, respectivamente. Este espectro ainda mostrou uma correlação direta entre o hidrogênio H-2 e o carbono C-2 (δ_{H} 2,32 / δ_{C} 33,85), além das correlações entre os hidrogênios metílicos e seus respectivos carbonos nas posições 18, 19, 21, 26, 27 e 29 (Tabela 3, pág. 66).

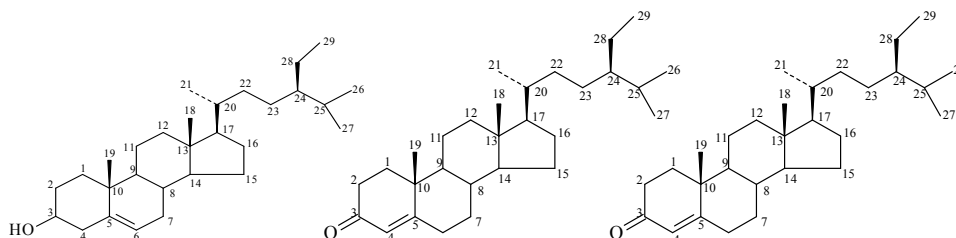
Os espectros de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC e suas expansões (Figuras 18 a 20, pág. 74 e 75) mostraram correlações a duas ligações dos hidrogênios H-2 (δ_{H} 2,32) com a carbonila do C-3 (δ 198,84) e com o C-1 (δ 35,57), respectivamente (Tabela 4, pág. 60). Estas correlações juntamente com uma correlação a três ligações do hidrogênio olefínico H-4 (δ_{H} 5,69) com os carbonos das posições C-2 (δ_{C} 33,85), C-6 (δ_{C} 32,89) e C-10 (δ_{C} 38,59) (Tabela 3, pág. 66) permitiram confirmar a posição do carbono carbonílico em C-3 e da dupla ligação entre C-4 e C-5, para **FI-2**.

Comparações dos dados espectrais de **FI-2** com **FI-1** e modelo da literatura (Tabela 2, pág. 65) e correlações observadas nos espectros bidimensionais (Tabela 3, pág. 66) permitiram confirmar que a substância codificada como **FI-2** tratava-se do Estigmast-4-*en*-3-ona, um esteróide isolado anteriormente de *Casearia membranacea* por Chang et al. (2003) que está sendo descrito pela primeira vez na espécie *Casearia arborea* (Rich.) Urb.

**FI-2**

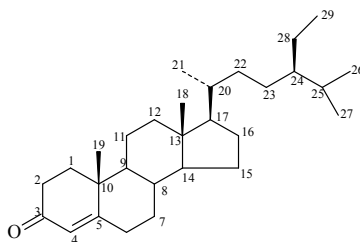
Estigmast-4-*en*-3-ona (4-*en*-estigmastona)

Tabela 2 - Dados comparativos de RMN ^1H e RMN ^{13}C da substância **FI-2** (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, Hz) com os modelos **FI-1** (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) e **Mo-1** (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) (PREVITERA et al, 1990).



C	FI-1 (β -sitosterol)		Mo-1		FI-2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	37,39	-	35,68	-	35,57
2	-	31,63	-	33,85	2,32 (m)	33,85
3	3,53 (m)	71,80	-	198,92	-	198,84
4	-	42,28	5,74 (d, $J=2,20$)	123,64	5,69 (d)	123,61
5	-	140,72	-	171,01	-	171,94
6	5,35 (m)	121,73	-	32,86	-	32,89
7	-	31,90	-	32,07	-	31,96
8	-	31,89	-	35,73	-	36,03
9	-	51,11	-	53,84	-	53,72
10	-	36,50	-	38,58	-	38,53
11	-	21,08	-	21,03	-	20,93
12	-	39,78	-	39,48	-	39,53
13	-	42,29	-	42,35	-	42,29
14	-	56,78	-	55,94	-	55,90
15	-	24,27	-	24,12	-	24,11
16	-	28,21	-	28,10	-	28,12
17	-	50,02	-	56,08	-	55,78
18	0,69 (s)	11,86	0,72 (s)	11,98	0,66 (m)	11,89
19	1,01 (s)	19,38	1,19 (s)	17,38	1,13 (s)	17,28
20	-	36,12	-	36,10	-	36,09
21	0,92 (d, $J=6,40$)	18,78	0,93(d, $J=6,60$)	18,72	0,92 (m)	18,62
22	-	33,91	-	34,01	-	33,78
23	-	26,02	-	25,99	-	25,93
24	-	45,80	-	45,80	-	45,71
25	-	29,13	-	29,11	-	29,04
26	0,83 (d, $J=6,80$)	19,81	0,84 (d, $J=6,80$)	19,81	0,88 (d)	18,94
27	0,81 (d, $J=6,90$)	19,01	0,82 (d, $J=6,80$)	19,18	0,78 (s)	19,75
28	-	23,02	-	23,10	-	22,96
29	0,85 (t, $J=7,80$)	11,98	0,85 (t, $J=7,20$)	11,14	0,80 (m)	11,89

Tabela 3 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz respectivamente) de **Fl-2**



C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC	
	δ_{H}	δ_{C}	J^2	J^3
1	-	35,51	-	-
2	2,32 (m)	33,85	C-3, C-1	-
3	-	198,84	-	-
4	5,69 (d)	123,61	-	C-2, C-6 e C-10
5	-	171,94	-	-
6	-	32,89	-	-
7	-	31,96	-	-
8	-	36,03	-	-
9	-	53,72	-	-
10	-	38,53	-	-
11	-	20,93	-	-
12	-	39,53	-	-
13	-	42,29	-	-
14	-	55,90	-	-
15	-	24,11	-	-
16	-	28,12	-	-
17	-	55,78	-	-
18	0,66 (sl)	11,89	-	-
19	1,13 (s)	17,28	-	-
20	-	36,09	-	-
21	0,92 (m)	18,62	-	-
22	-	33,78	-	-
23	-	25,93	-	-
24	-	45,71	-	-
25	-	29,04	-	-
26	0,88 (d)	18,94	-	-
27	0,78 (s)	19,75	-	-
28	-	22,96	-	-
29	0,80 (m)	11,89	-	-

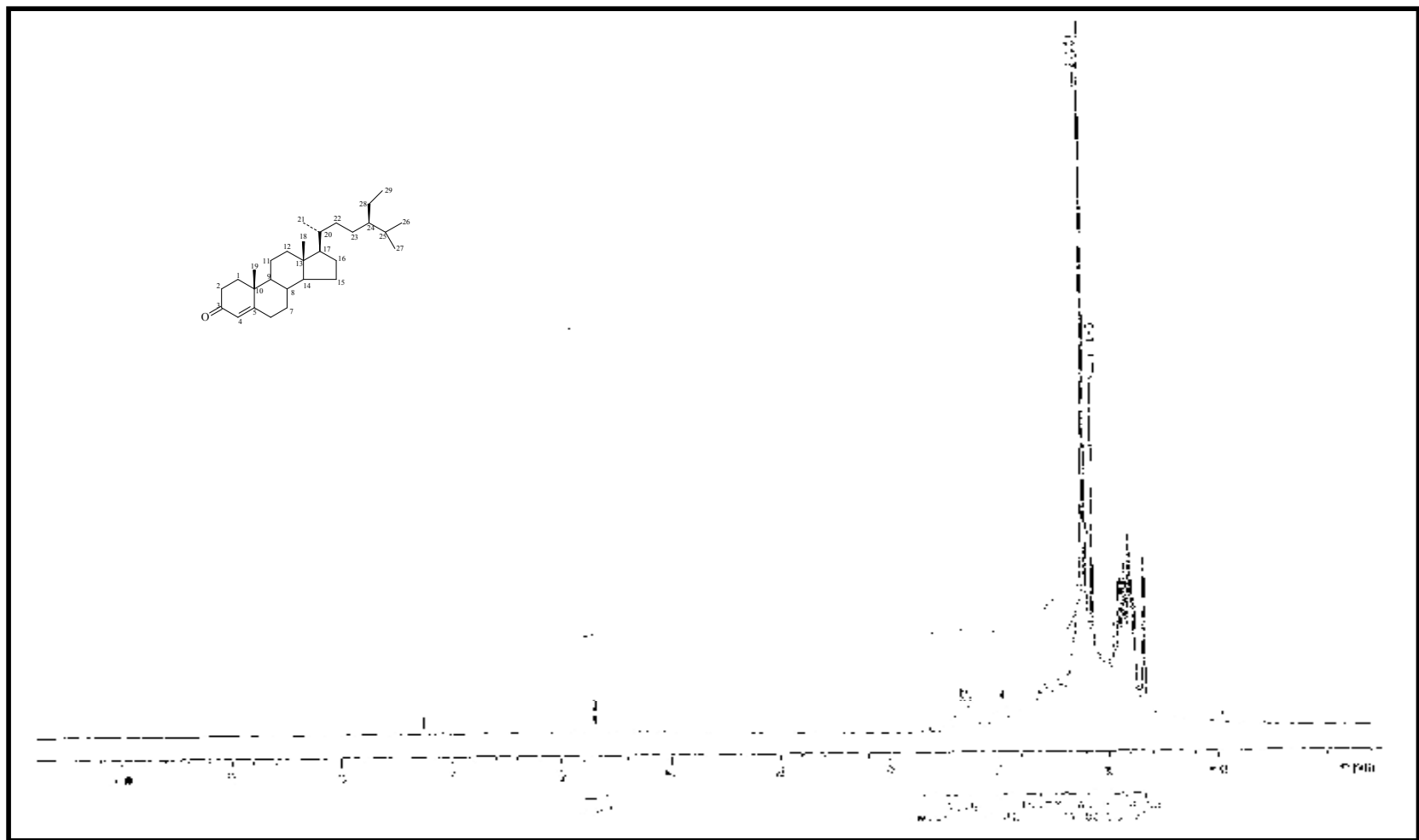


Figura 9 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de FI-2

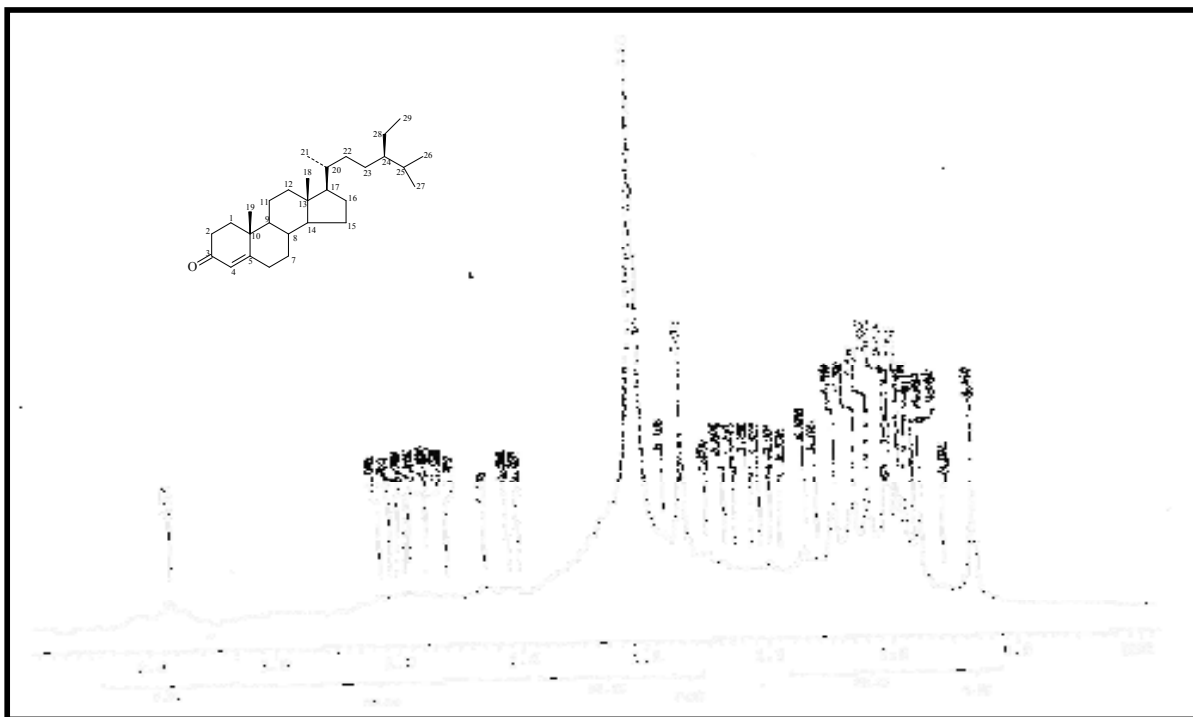


Figura 10 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 0,00 a 2,53 (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de FI-2

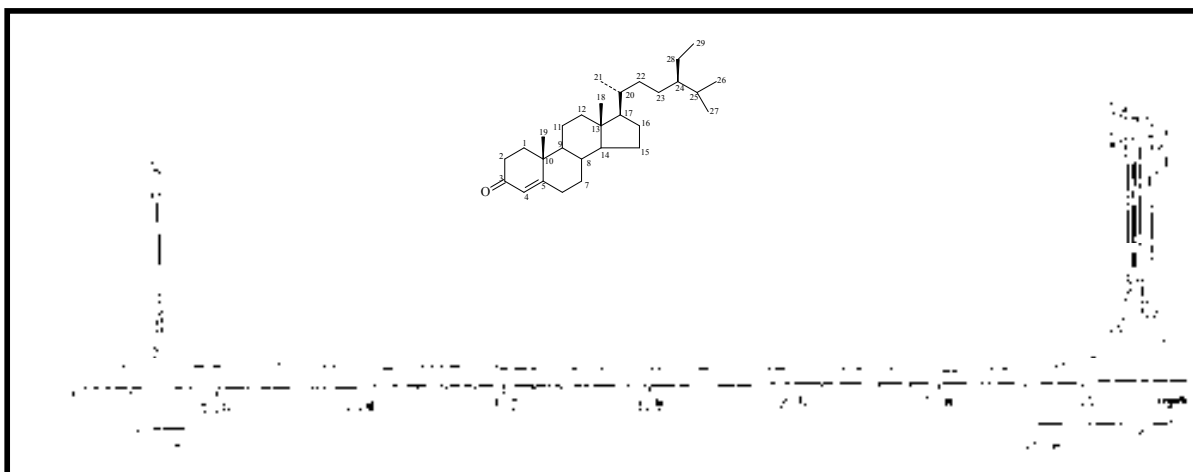


Figura 11 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 2,00 a 6,00 (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de FI-2

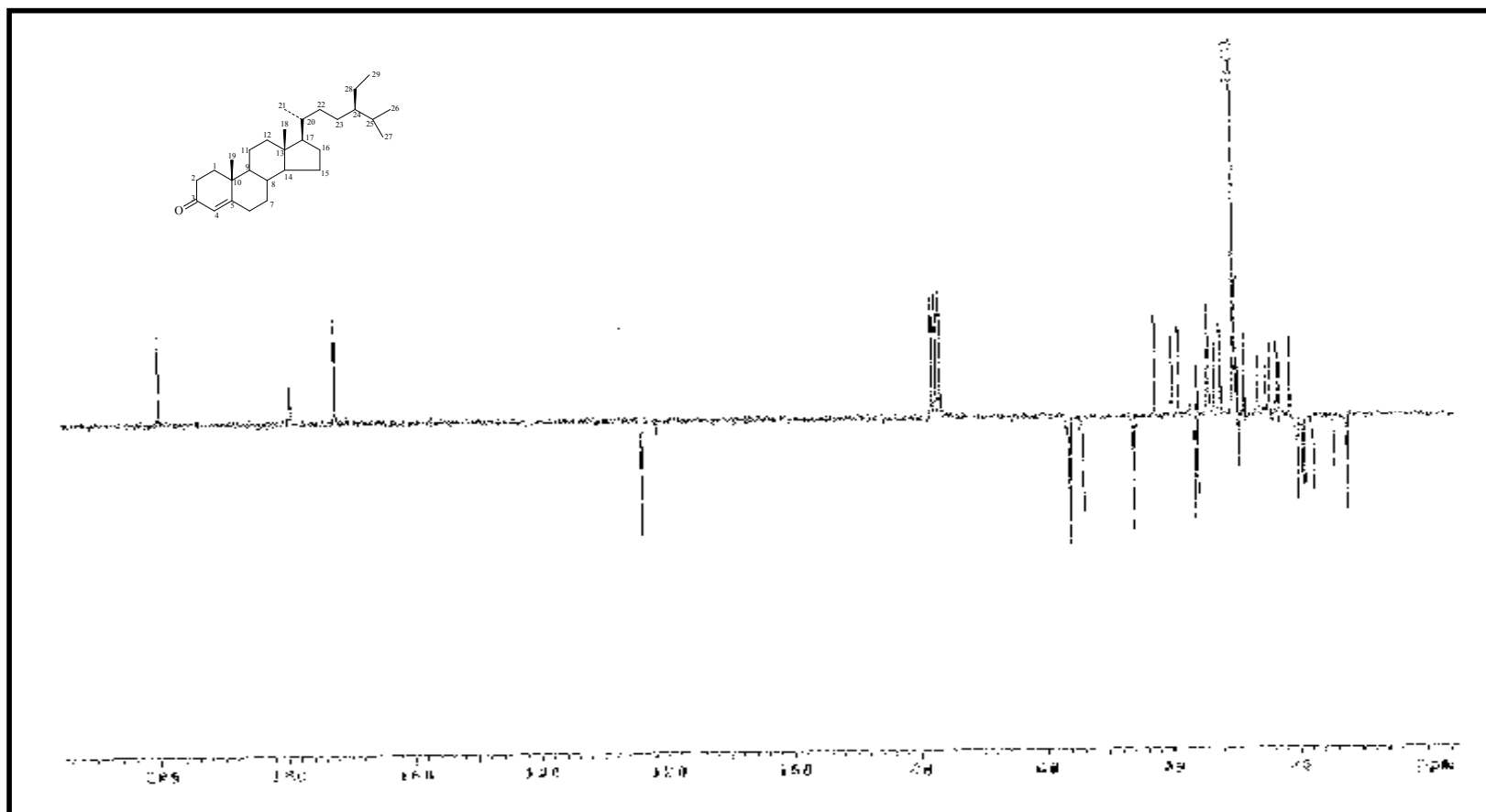


Figura 12 - Espectro de RMN ¹³C-APT (δ, CDCl₃, 50 MHz) de FI-2

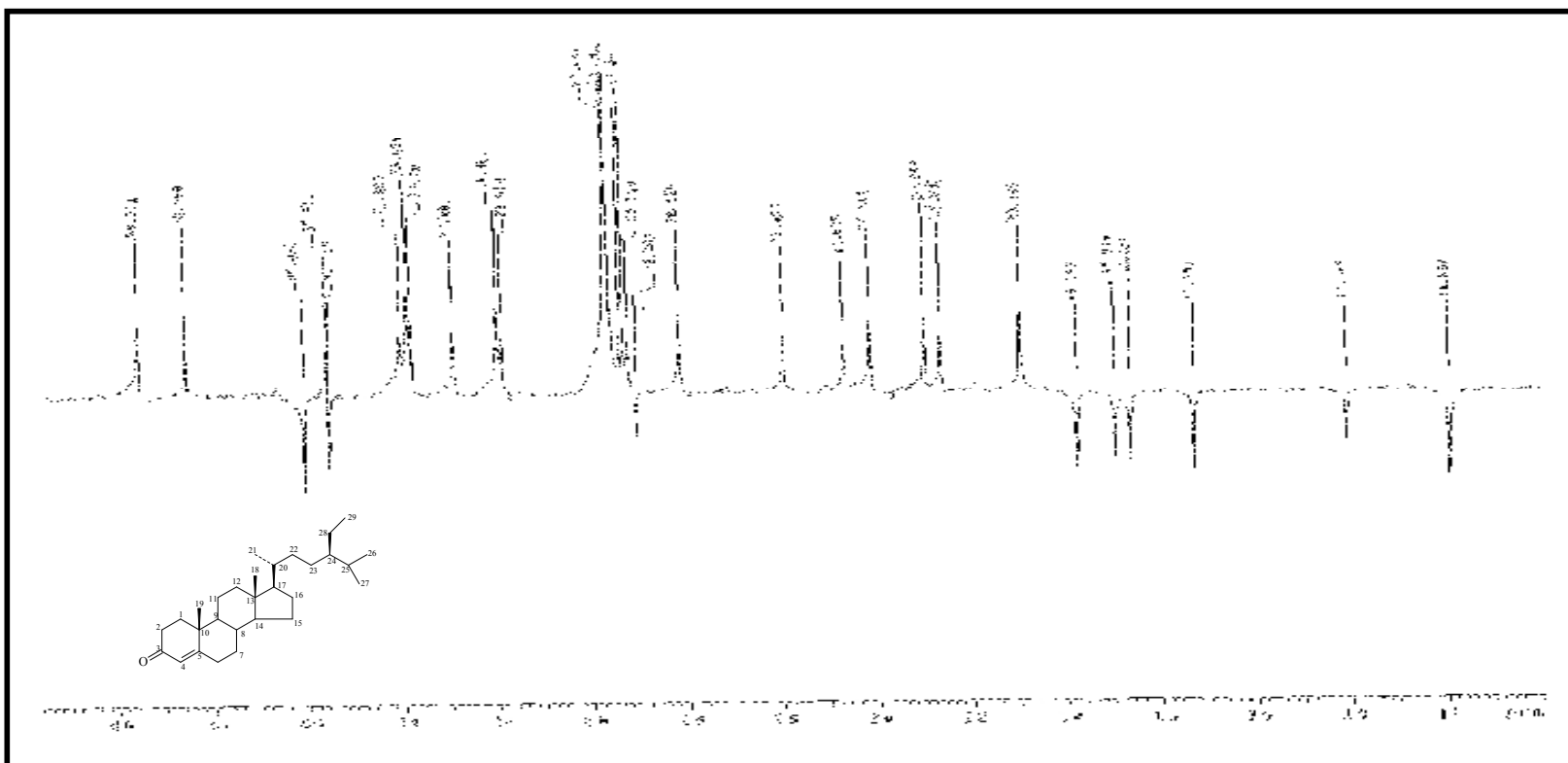


Figura 13 - Expansão do espectro de RMN ¹³C-APT na região entre 10,00 a 40,00 (δ, CDCl₃, 50 MHz) de FI-2

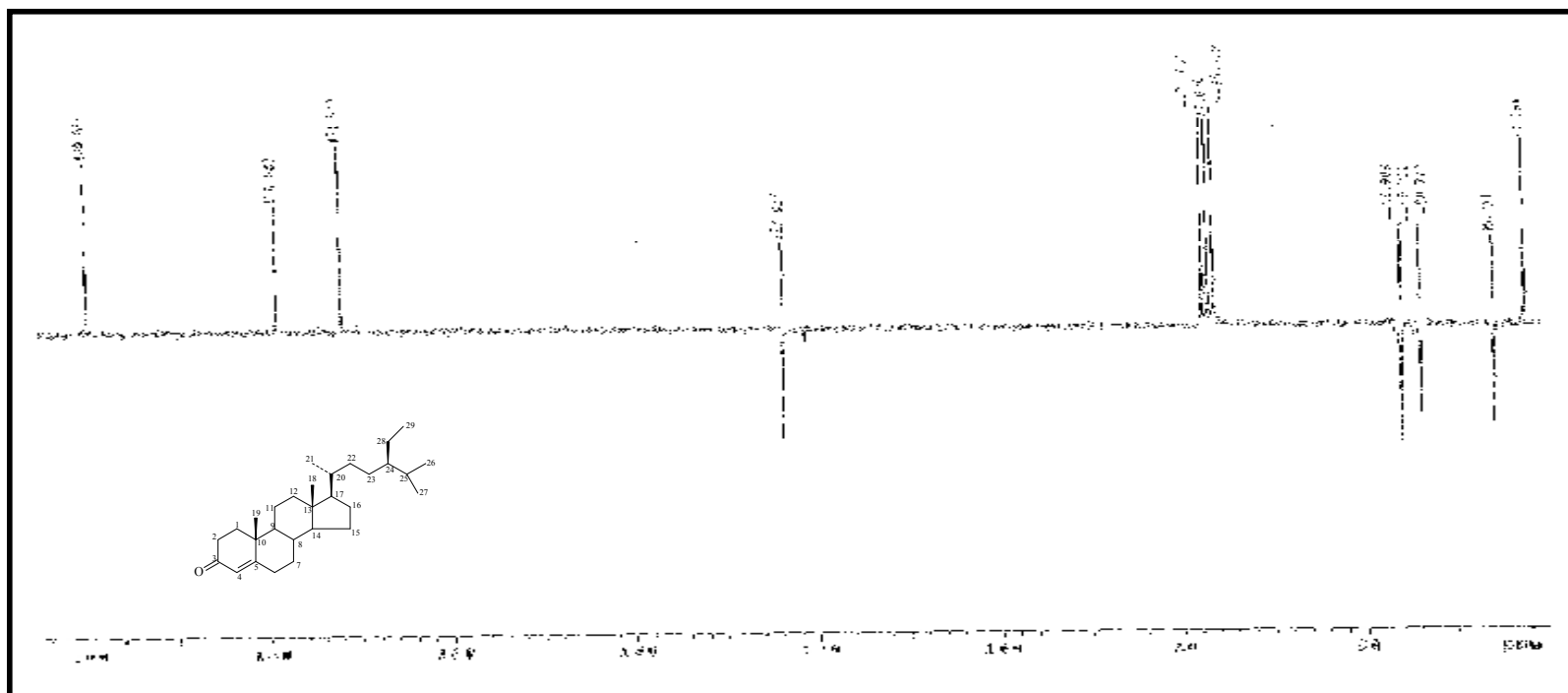


Figura 14 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT na região entre 42,00 a 200,00 (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de FI-2

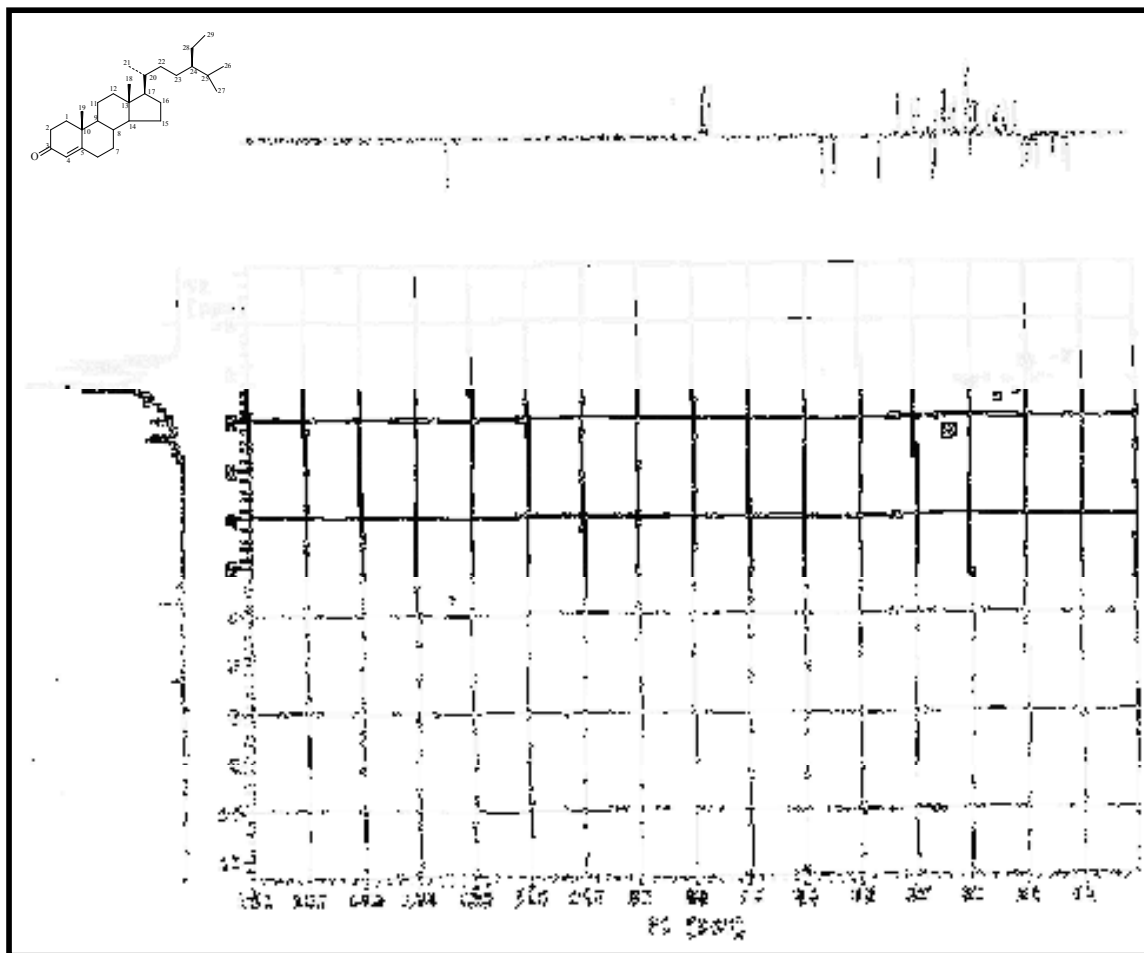


Figura 16 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de FI-2

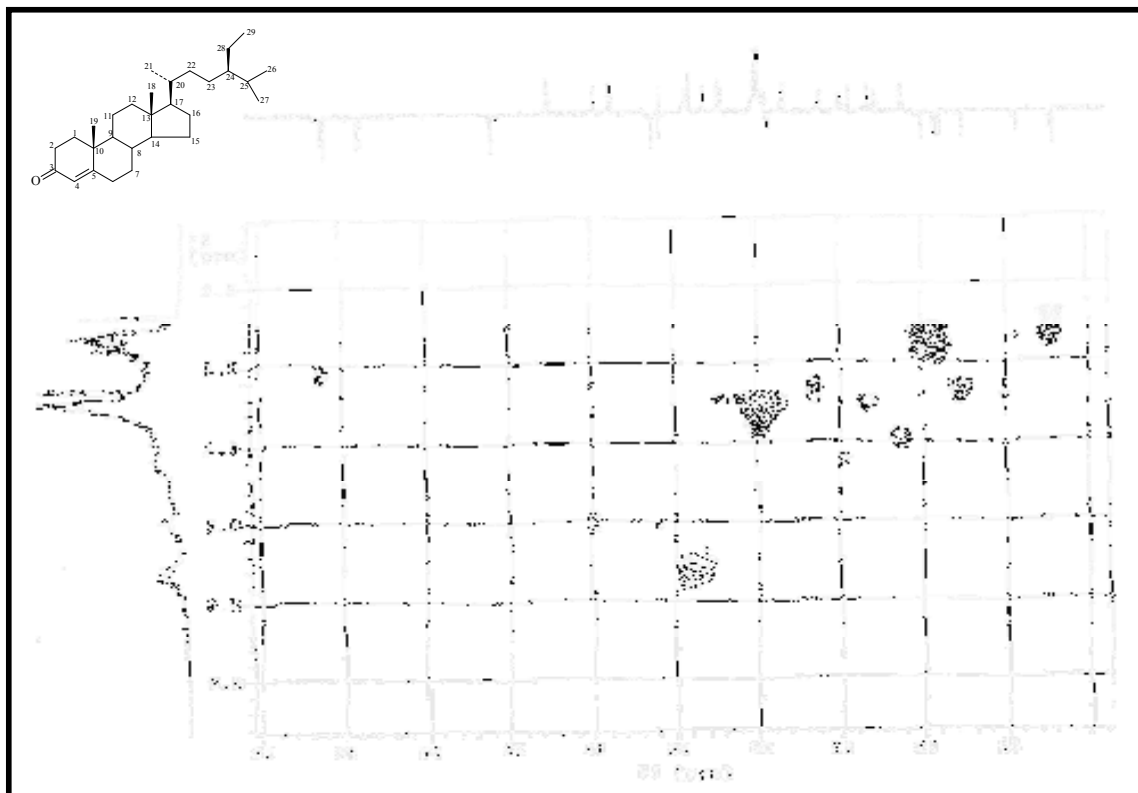


Figura 17 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC na região entre 0,50 a 3,00 x 10,00 a 60,00(δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **FI-2**

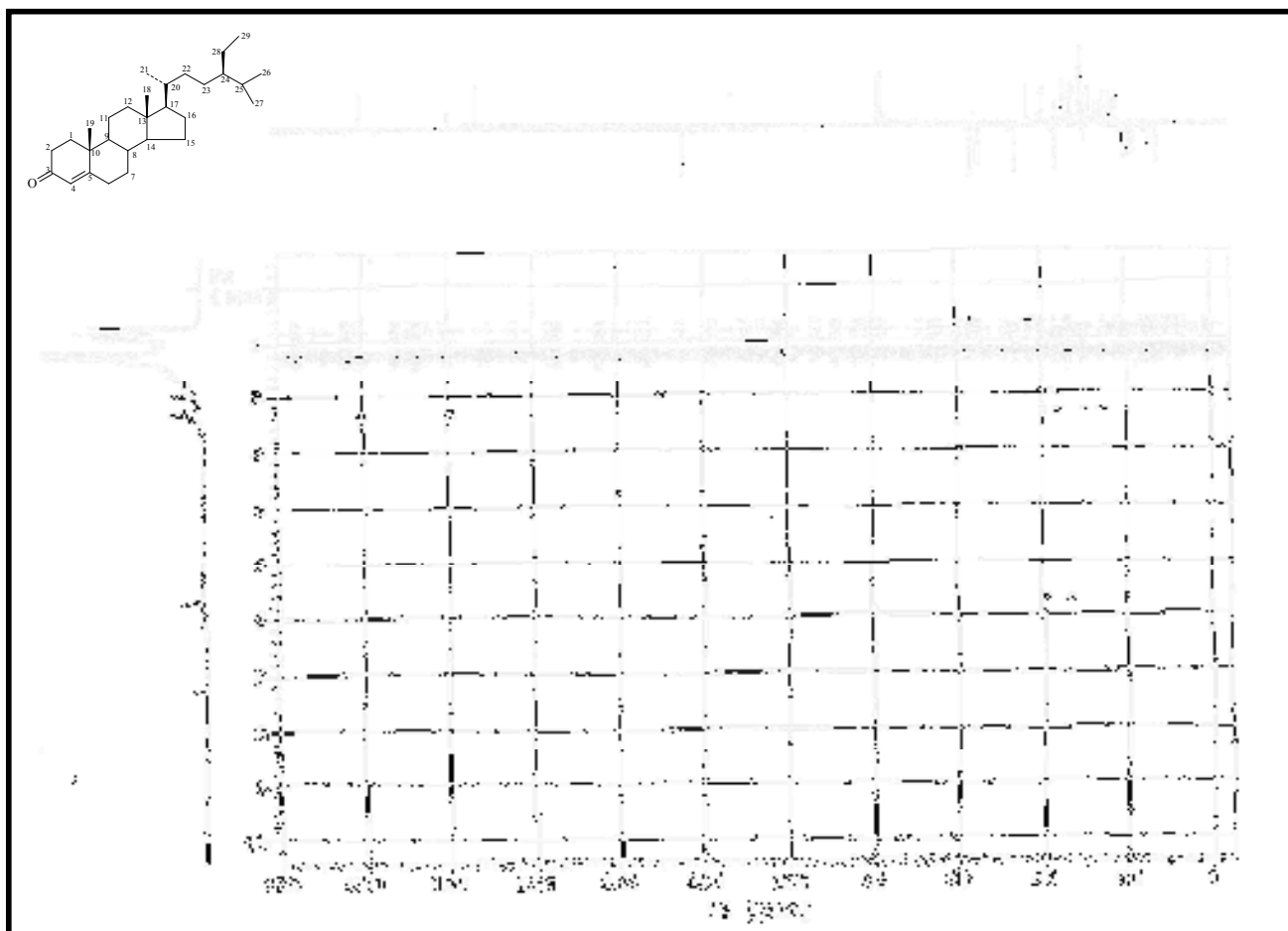


Figura 18 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de FI-2

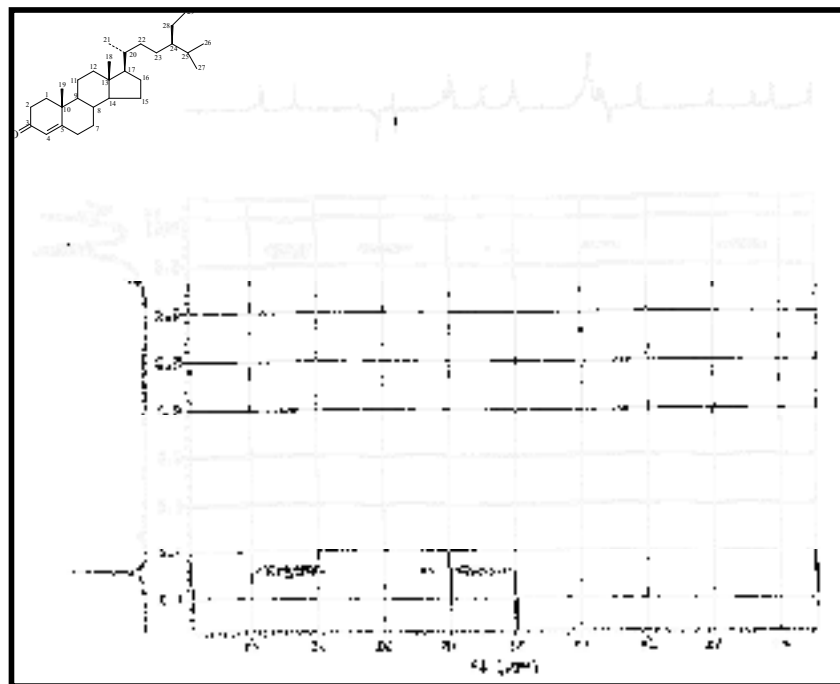


Figura 19 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 2,00 a 6,00 x 23,00 a 40,00 (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **FI-2**

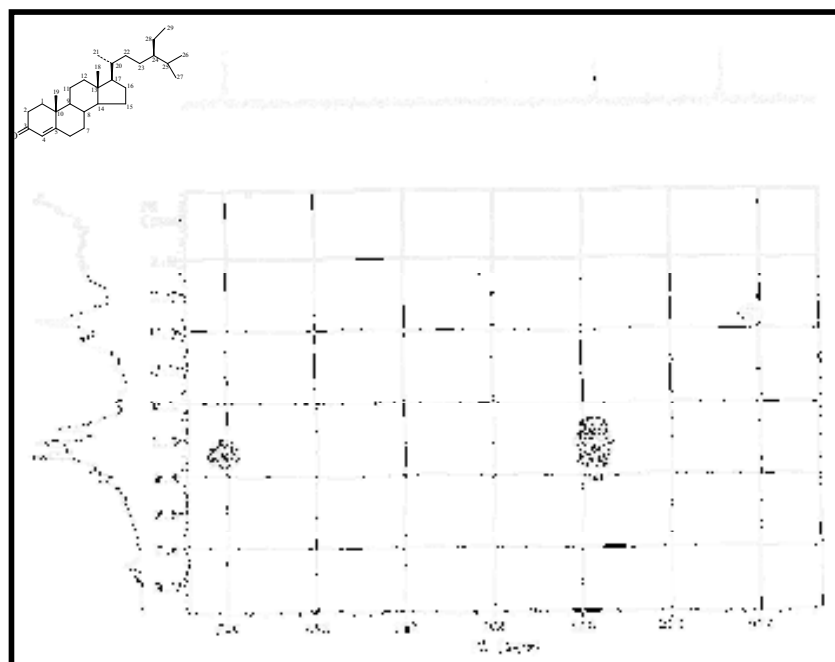


Figura 20 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 1,07 a 2,70 x 170,00 a 200,00 (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **FI-2**

4.4 Caracterização estrutural de FI-3

A substância codificada como **FI-3** mostrou no seu espectro de IV, (Figura 21, pág.83) uma absorção em 3427 cm^{-1} , característica de deformação axial de OH, sugerindo que a molécula possui hidroxila em sua estrutura. Esta sugestão foi fortalecida pela banda em 1383 cm^{-1} referente a deformação angular no plano de C-O de grupo hidroxila (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000). Este espectro ainda possibilitou sugerir que **FI-3** possui um grupo vinil. Tal sugestão baseou-se na absorção em 3087 cm^{-1} atribuída a deformação axial de C-H de carbono sp^2 , além de bandas adicionais em 1712 e 1639 cm^{-1} , condizentes com deformação axial de C=C além de uma banda forte em 919 cm^{-1} , que caracteriza uma deformação angular de C-H de grupo vinil (PAVIA et al., 1996). Sinais em 2922 cm^{-1} são atribuídos à deformação axial de C-H de grupos metílicos, metilênicos e metínicos. A ausência de absorções na faixa de $1600-1450\text{ cm}^{-1}$ elimina a presença de grupo C=C de aromático para a molécula, o que mostra que o OH é alcoólico e não fenólico (PAVIA et al., 1996).

O espectro de RMN ^1H de **FI-3** (Figuras 22 e 23, págs. 84 e 85), mostrou várias absorções na região compreendida entre $\delta_{\text{H}} 0,72$ e $\delta_{\text{H}} 2,06$, denotativos de grupos metílicos, metilênicos e metínicos de carbonos sp^3 , permitindo sugerir que a substância em análise trata-se de um terpenóide. A Figura 22 (pág. 84) mostrou cinco sinais bem definidos, sendo três singletos em $\delta_{\text{H}} 1,28$, $\delta_{\text{H}} 0,99$ e $\delta_{\text{H}} 0,73$ e dois dubletos em $\delta_{\text{H}} 1,58$ e $\delta_{\text{H}} 0,79$ referentes a metilas. Uma análise comparativa dos dados de RMN ^1H de **FI-3** com a literatura levou a sugerir que esta substância poderia tratar-se de um diterpeno do tipo *trans*-clerodano, núcleo este bastante comum em *Casearia* (KANOKMEDHAKUL et al., 2007). Esta sugestão baseou-se em comparações com os modelos Mo-1 (LOPES et al., 1999) e Mo-2 (NAGASHIMA, et al., 2001) (Tabela 5, pág. 75). Este espectro ainda mostrou quatro absorções referentes a hidrogênios olefínicos atribuídos à dupla ligação trissubstituída ($\delta_{\text{H}} 5,18$) e três hidrogênios vinílicos em $\delta_{\text{H}} 5,89$ (dd, $J=17,30$ e $10,85$ Hz), $\delta_{\text{H}} 5,06$ (d, $J=10,75$ e

1,10 Hz) e δ_H 5,20 (dd, $J=17,30$ e 1,10 Hz) com acoplamentos *trans*, *cis* e geminal (NAGASHIMA et al., 2001; BECKER et al., 2004) (Tabela 4, pág. 81)

A análise destes dados e comparações com os modelos Mo-1 e Mo-2 (Tabela 4, pág. 81) levaram a propor duas possíveis estruturas para **FI-3**:

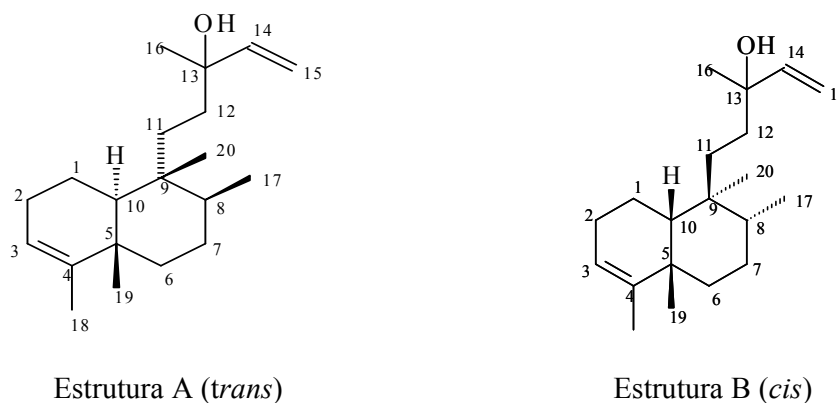


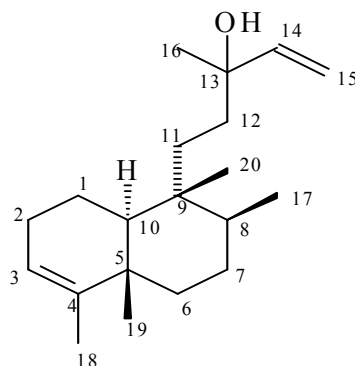
Figura 25 - Propostas estruturais para **FI-3**

Os espectros de RMN ^{13}C de **FI-3**, utilizando a técnica BB (Figuras 26 e 27, págs. 86 e 87) mostraram absorções para 20 átomos de carbono, fortalecendo a proposta de estrutura de um diterpeno para a substância em análise. O espectro de RMN ^{13}C utilizando a técnica DEPT-135 e sua expansão (Figuras 28 e 29, pág. 88) mostraram absorções para cinco grupos metilas (sinais visíveis entre δ_C 27,96 e δ_C 16,13), o que corroborou a proposta do esqueleto clerodano para a molécula. Este espectro ainda mostrou sinais referentes a 16 átomos de carbono, o que torna evidente a existência de quatro carbonos não hidrogenados para **FI-3**. A existência de um carbono não hidrogenado em δ_C 73,60 no espectro de RMN ^{13}C (Figura 27, pág. 87), caracterizando carbono oxigenado que possui como substituinte uma hidroxila (NAGASHIMA et al., 2001) corroborou a presença deste grupo sugerida pelas informações do espectro de IV (Figura 21, pág. 83). Estes espectros em consonância, ainda mostraram a existência de quatro carbonos olefinicos, sendo dois monohidrogenados (C-3 e C-14), um vinílico (C-15) e um não hidrogenado (C-4), fortalecendo, portanto, as propostas feitas pelos

espectros de IV (Figura 21, pág. 83) e RMN ^1H (Figura 23, pág. 85) que aventam as possibilidades de grupos vinil e também dupla ligação trissubstituída na molécula de **FI-3**.

Os sinais presentes nos espectros de RMN ^1H (Figura 23, pág. 85) e RMN ^{13}C (Figura 27, pág. 87), suas feições e seus respectivos deslocamentos, assim como relatos da literatura (KANOKMEDHAKUL et al., 2007) permitiram fortalecer o sugerido pelos espectros de RMN ^1H (Figura 23, pág. 85) e Tabela 4 (pág. 81) de que **FI-3** possui um núcleo diterpênico do tipo clerodano, todavia este núcleo desperta dois aspectos problemáticos, quanto à sua estereoquímica, que precisam ser esclarecidos para que se possa então elucidar sua estrutura: o primeiro diz respeito à estereoquímica da molécula na junção dos anéis A e B. Esta pode ser diferenciada entre *cis* e *trans*, através dos valores de deslocamento químico do C-19. Nos anéis em *cis* os valores do carbono C-19 aparecem desprotegidos, absorvendo próximo a δ_{C} 33,10, em relação aos valores em *trans*, onde o carbono da metila 19 aparece protegido absorvendo em aproximadamente δ_{C} 20,00 (NAGASHIMA et al., 2001; BECKER et al., 2004). O segundo aspecto se refere a série do diterpeno. Becker et al. (2004) citam que os diterpenos pertencem à série *normal* ou a série *ent*. Quando a metila C-20 se encontra em orientação alfa (α) (equatorial), em relação aos anéis A e B, a absorção dos seus hidrogênios é deslocada para campo baixo (δ_{H} 1,08) pertencendo, portanto, à série *normal*. Por outro lado quando a metila C-20 se encontra em orientação beta (β) (axial) estes hidrogênios absorvem em campo alto (δ_{H} 0,84), e o diterpeno pertence à série *ent*. Esta informação foi importante para se propor que **FI-3** pertence a série *ent*, visto que os hidrogênios da metila C-20 absorvem em δ_{H} 0,73.

A análise dos dados de IV, RMN ^1H , RMN ^{13}C e comparações com modelos da literatura (Tabela 4, pág. 81) sugeriram que **FI-3** apresenta o esqueleto abaixo, proposto anteriormente como estrutura A:



➤ **Figura 30** - Proposta estrutural para **FI-3**

O espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC (Figuras 31 a 33. págs. 89 e 90) mostrou correlações diretas para H-3/C-3; H-14/C-14; H-15a/C-15; H-15b/C-15, inerentes aos hidrogênios e seus carbonos olefinicos, respectivamente, além das correlações entre os hidrogênios e os carbonos metílicos (Tabela 5, pág. 82).

O espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (Figuras 34 e 35, pág. 91 e 92) mostrou acoplamento entre os hidrogênios H-2/H-3 ($\delta_{\text{H}} 2,04 \text{ m}$ e $\delta_{\text{H}} 5,18$), H-14/H-15a e H-14/H-15b ($\delta_{\text{H}} 5,89 / \delta_{\text{H}} 5,06$ e $\delta_{\text{H}} 5,89 / \delta_{\text{H}} 5,20$), respectivamente.

Os espectros de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC e suas expansões (Figuras 36 a 39, pág. 93 a 95) exibiram uma correlação a três ligações (J^3), entre o hidrogênio da metila 18 e o carbono 3 ($\delta_{\text{H}} 1,58 / \delta_{\text{C}} 120,60$). Nestes espectros pôde ser observado uma correlação a duas ligações (J^2) do H-3 e H-18 com o carbono olefinico C-4 ($\delta_{\text{H}} 5,18 / \delta_{\text{C}} 144,74$ e $\delta_{\text{H}} 1,58 / \delta_{\text{C}} 144,74$ respectivamente), e a três ligações dos H-19 com o referido carbono ($\delta_{\text{H}} 0,99 / \delta_{\text{C}} 144,74$). Estes espectros também mostraram ainda um acoplamento a duas ligações (J^2) entre os hidrogênios H-15 com o C-14 ($\delta_{\text{H}} 5,06 / \delta_{\text{C}} 145,33\delta$ e $\delta_{\text{H}} 5,20 / \delta_{\text{C}} 145,33$) e uma correlação a três ligações dos H-16 com o C-14 ($\delta_{\text{H}} 1,28 / \delta_{\text{C}} 145,29$). A junção destes dados (Tabela 5, pág. 82) e comparações com modelos da literatura (Tabela 4, pág. 81) permitiram definir a posição da dupla trissubstituída entre C-3 e C-4 e a localização do grupo vinil entre os carbonos 14 e 15.

Através da análise do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY e sua expansão (Figuras 40 e 41, págs. 95 e 96) que mostrou acoplamentos espaciais entre os hidrogênios das metilas 17 (δ_{H} 0,79, d) e 19 (δ_{H} 0,99) com os hidrogênios da metila C-20 (δ_{H} 0,73), respectivamente, foi possível confirmar a estereoquímica da molécula **F1-3**, mostrando que estas metilas estão em configuração β , acoplando entre si e corroborando, portanto, a proposta anterior que classificou **F1-3** como um diterpeno pertencente à série *ent*. A figura abaixo ilustra estas correlações.

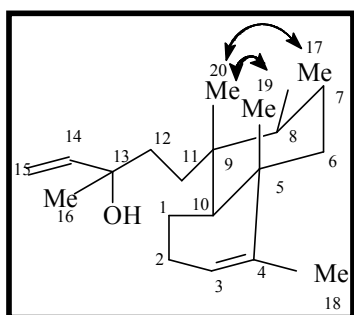
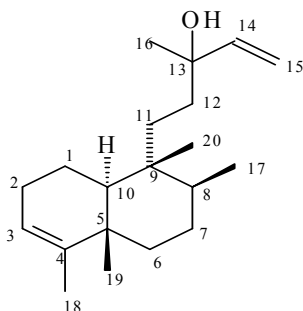


Figura 42 - Interação NOE para **F1-3**

A união da análise espectral do IV com os dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C uni e bidimensionais e comparações com os dados da literatura (Tabelas 4 e 5, pág. 81 e 82) ratificaram a estrutura *ent*-13-hidróxi-*trans*-cleroda-3,14-dieno (BECKER et al., 2004) também conhecido como (-)-kolavelool para **F1-3**, diterpeno encontrado em outras espécies, como por exemplo *Aristolochia chamissonis* (LOPES et al., 1999), todavia, aqui relatado pela primeira vez na família Flacourtiaceae.

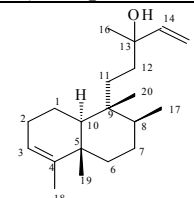
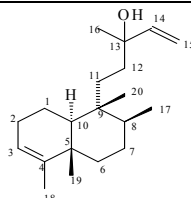
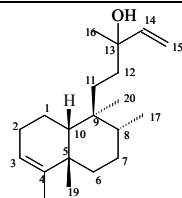


F1-3

ent-13-hidróxi-*trans*-cleroda-3,14-dieno

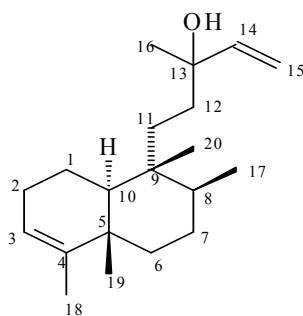
Tabela 4 - Dados comparativos de RMN¹H e RMN¹³C da substância **FI-3** (δ , CDCl₃, 500 e 125 MHz, Hz) com modelo Mo-1 (δ , CDCl₃, 600 e 150 MHz, Hz) (NAGASHIMA et al., 2001) e Mo-2 (δ , CDCl₃, 200 e 50 MHz, Hz) (LOPES et al., 1999), respectivamente.

Carbonos



	Mo-1 (<i>cis-ent</i>-kolavelool)		Mo-2 (-)-kolavelool)		FI-3	
C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
4	-	139,90	-	144,50	-	144,74
5	-	36,90	-	38,10	-	38,35
9	-	39,90	-	38,30	-	38,53
13	-	73,50	-	73,40	-	73,60
CH						
3	5,27 (s)	123,20	5,16 (s)	120,40	5,18 (s)	120,60
8	-	37,30	-	36,10	-	36,36
10	-	44,60	-	46,3	-	46,52
14	5,91 (dd, $J=10,7$ e $1,10$)	145,30	5,84 (dd, $J=17,20$ e $10,80$)	145,10	5,89 (dd, $J= 17,30$ e $10,80$)	145,29
CH₂						
1	-	17,70	-	18,20	-	18,43
2	-	24,10	-	27,40	-	27,05
6	-	37,80	-	36,80	-	37,04
7	-	28,8	-	26,80	-	27,66
11	-	31,60	-	31,80	-	32,02
12	-	35,20	-	35,30	-	35,49
15	5,07 (dd, $J=10,70$ e $1,10$) 5,21 (dd, $J=17,30$ e $1,10$)	111,80	5,07 (dd, $J=17,20$ e $1,50$) 4,99 (dd, $J=10,80$ e $1,50$)	111,80	5,06 (dd, $J= 10,80$ e $1,10$) 5,20 (dd, $J= 17,30$ e $1,10$)	112,01
CH₃						
16	1,30 (s)	27,70	1,24 (s)	27,70	1,28 (s)	28,00
17	0,75 (d, $J=6,9$)	15,90	0,75 (d, $J=1,5$)	15,9	0,79 (d, $J=6,05$)	16,12
18	1,67 (q like, $J=1,90$)	19,80	1,54 (d, $J=m1,50$)	18,00	1,58 (d, $J=1,35$)	18,18
19	1,03 (s)	33,10	0,95 (s)	19,80	0,99 (s)	20,13
20	0,81 (s)	17,40	0,68 (s)	18,40	0,73 (s)	18,67

Tabela 5 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz, Hz, respectivamente) de **Fl-3**



Fl-3	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY
	δ_{H}	δ_{C}	J^2	J^3		
C						
1	1,43 (s)	18,43	-	-	-	-
2	2,01 (m)	27,05	-	-	H-3	-
3	5,18 (s)	120,60	C-4	-	H-2	-
4	-	144,74	-	-	-	-
5	-	38,35	-	-	-	-
6	1,69 (m)	37,04	-	-	-	-
7	1,39 (m)	27,65	-	-	-	-
8	1,44 (m)	36,36	-	-	-	-
9	-	38,53	-	-	-	-
10	1,32 (m)	46,52	-	-	-	-
11	1,29 (m)	32,02	-	-	-	-
12	1,34 (m)	35,49	-	-	-	-
13	-	73,60	-	-	-	-
14	5,89 (dd)	145,29	-	-	2H, H-15	-
15	5,06 (dd)	112,01	-	-	H-14	-
	5,20 (dd)		C-14	-	H-14	-
16	1,28 (s)	28,00	-	C-14	-	-
17	0,79 (d)	16,12	-	-	-	H-20
18	1,58 (d)	18,18	C-4	C-3	-	-
19	0,99 (s)	20,13	-	C-4	-	H-20
20	0,73 (s)	18,67	-	-	-	H-17, H-19

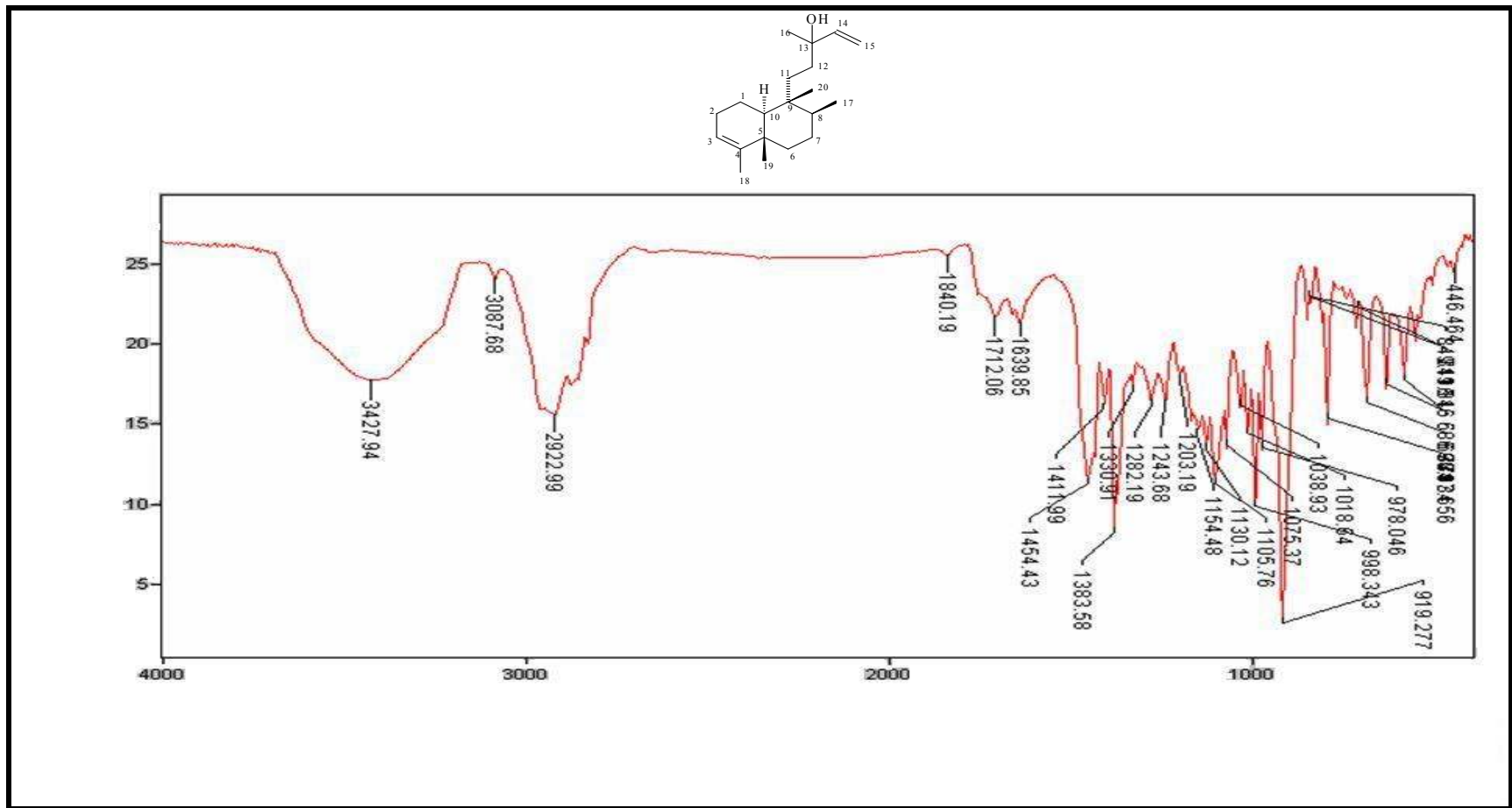


Figura 21 - Espectro no IV (KBr cm⁻¹) de FI-3

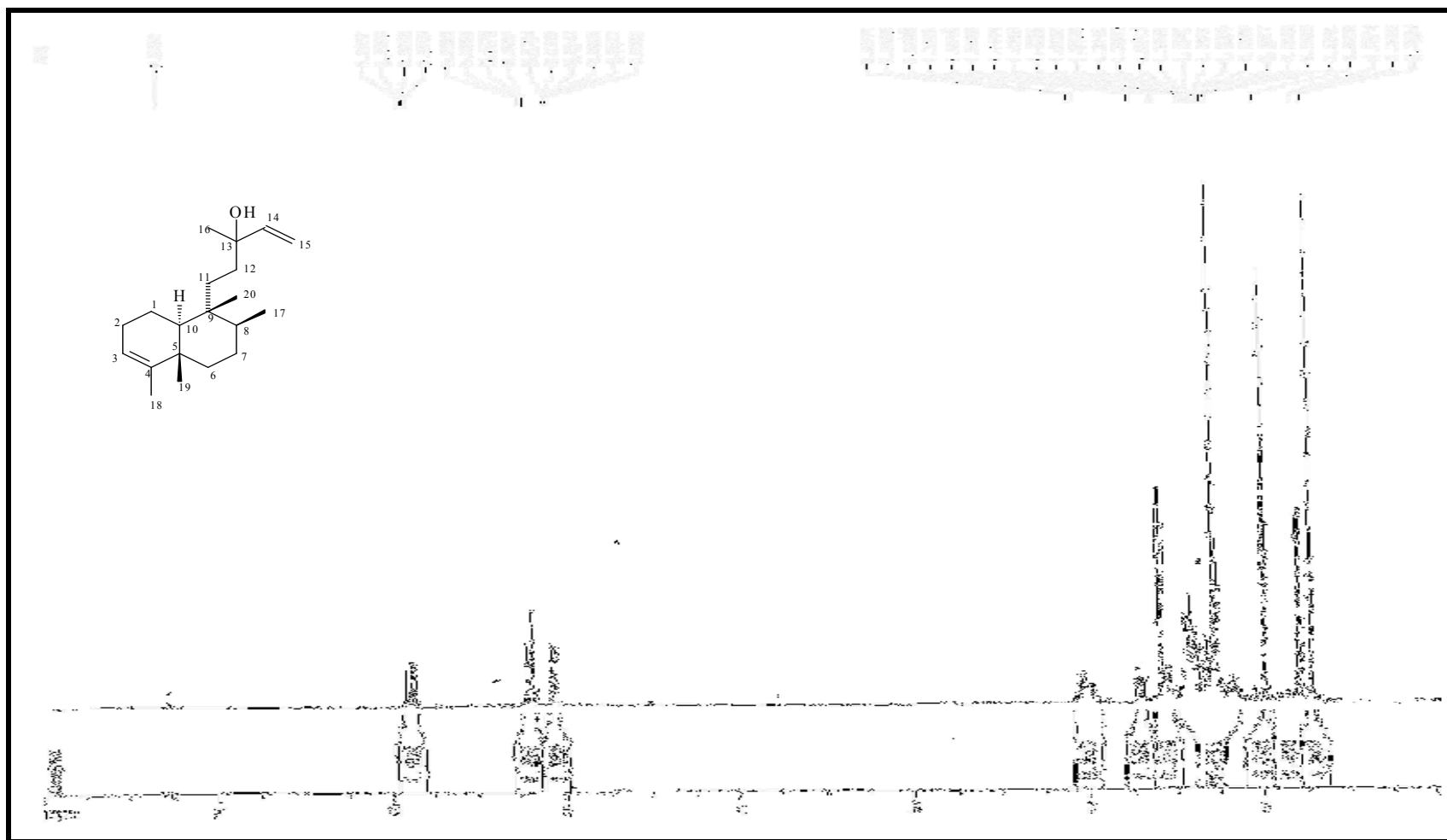


Figura 22 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3

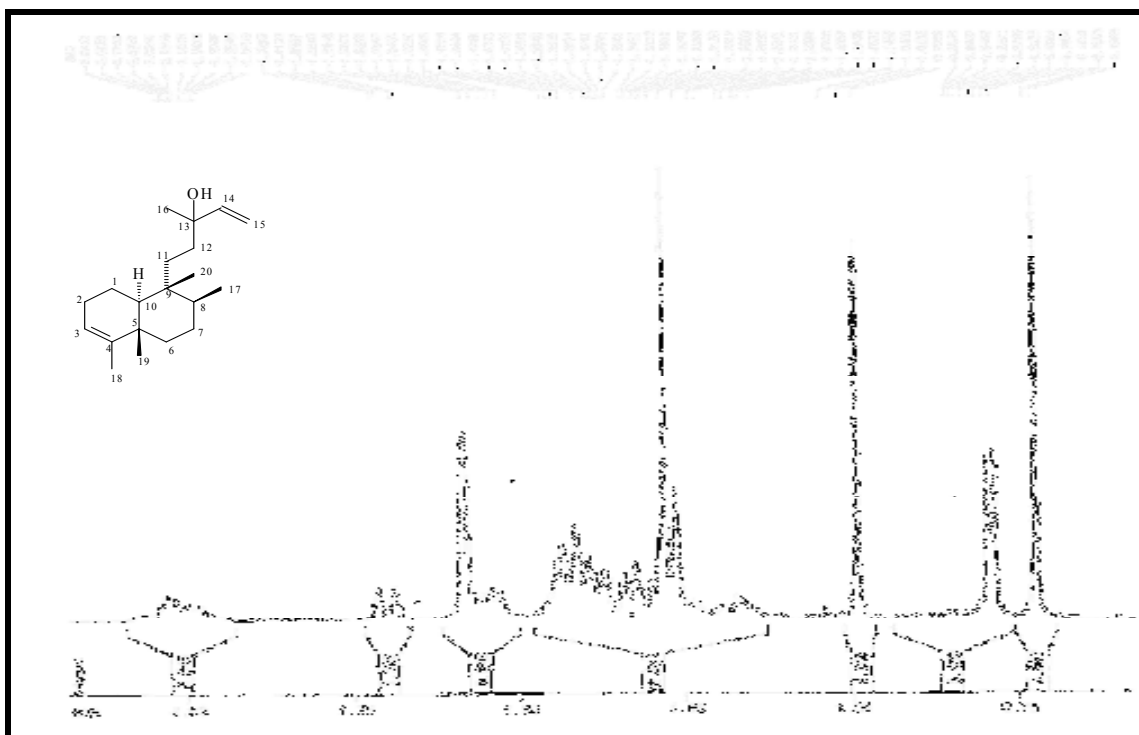


Figura 23 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 0,50 a 2,25 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3

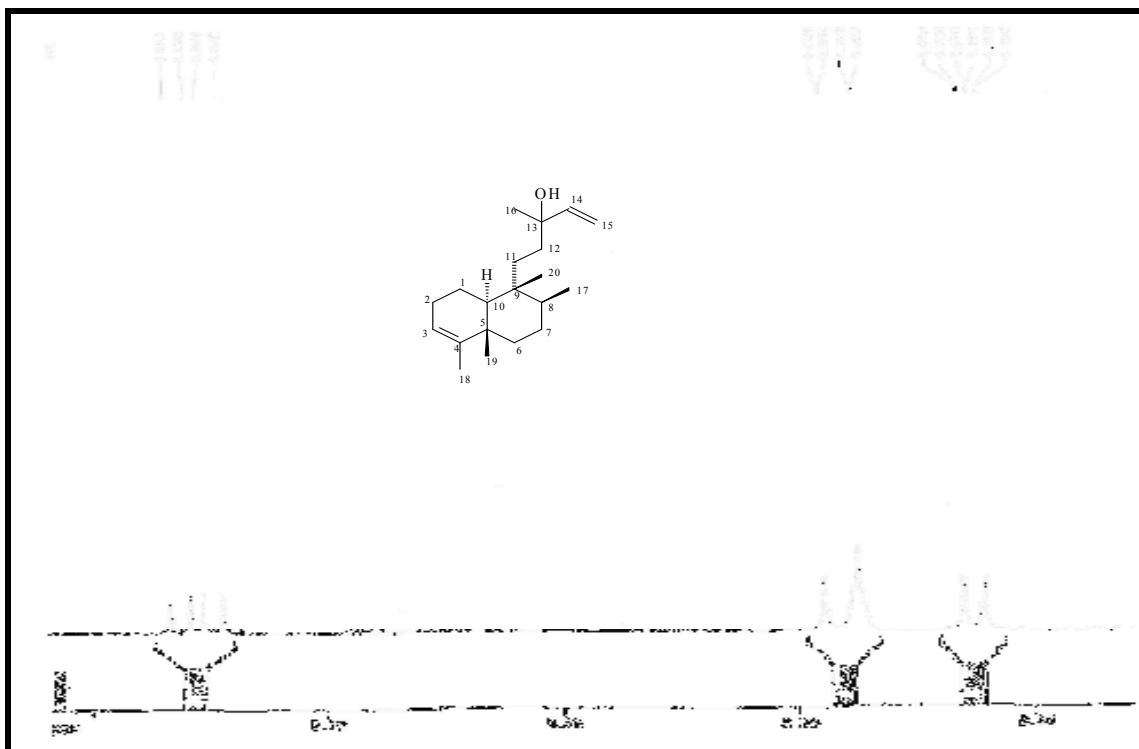


Figura 24 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 5,00 a 6,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3

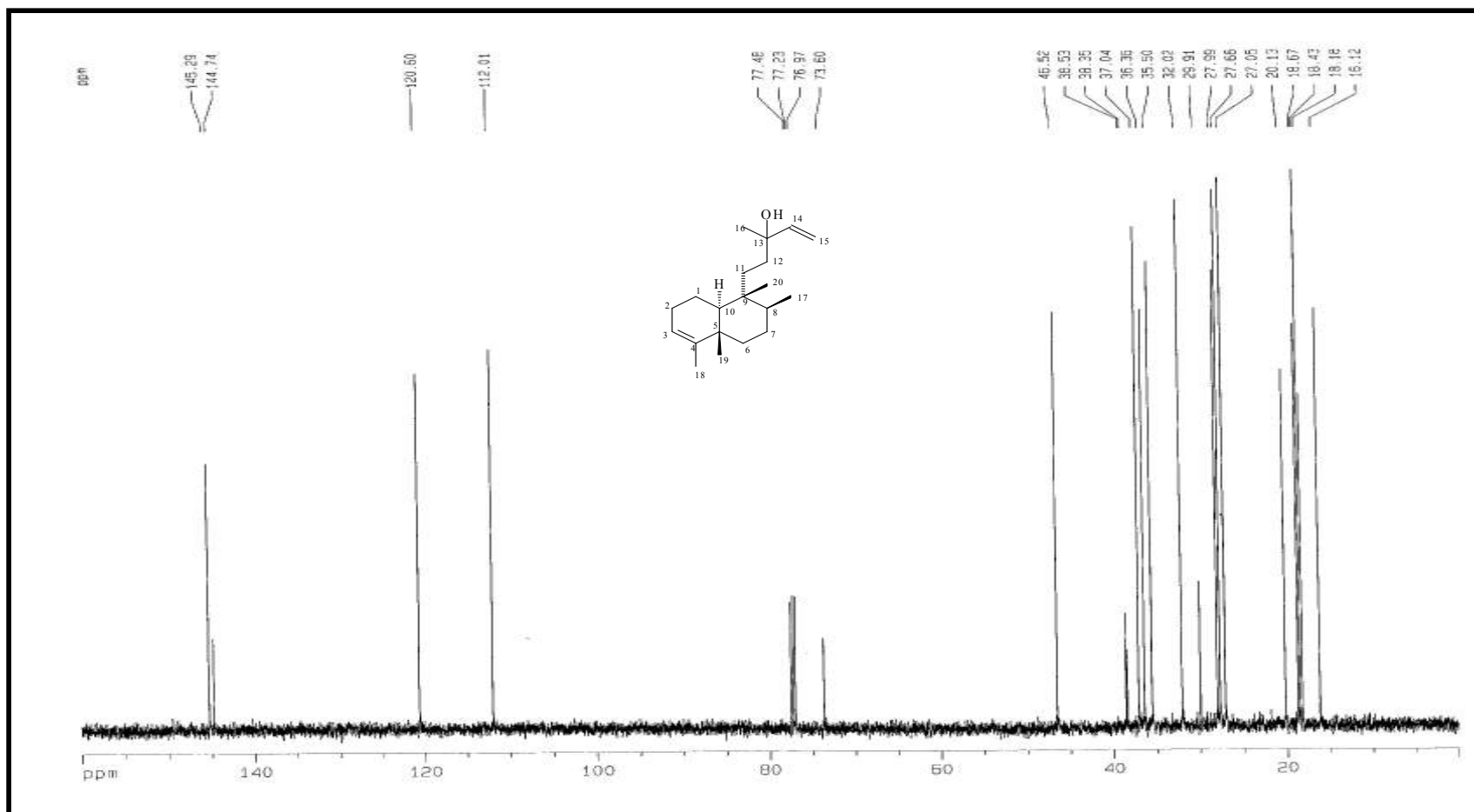


Figura 26 - Espectro de RMN ^{13}C -BB (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de FI-3

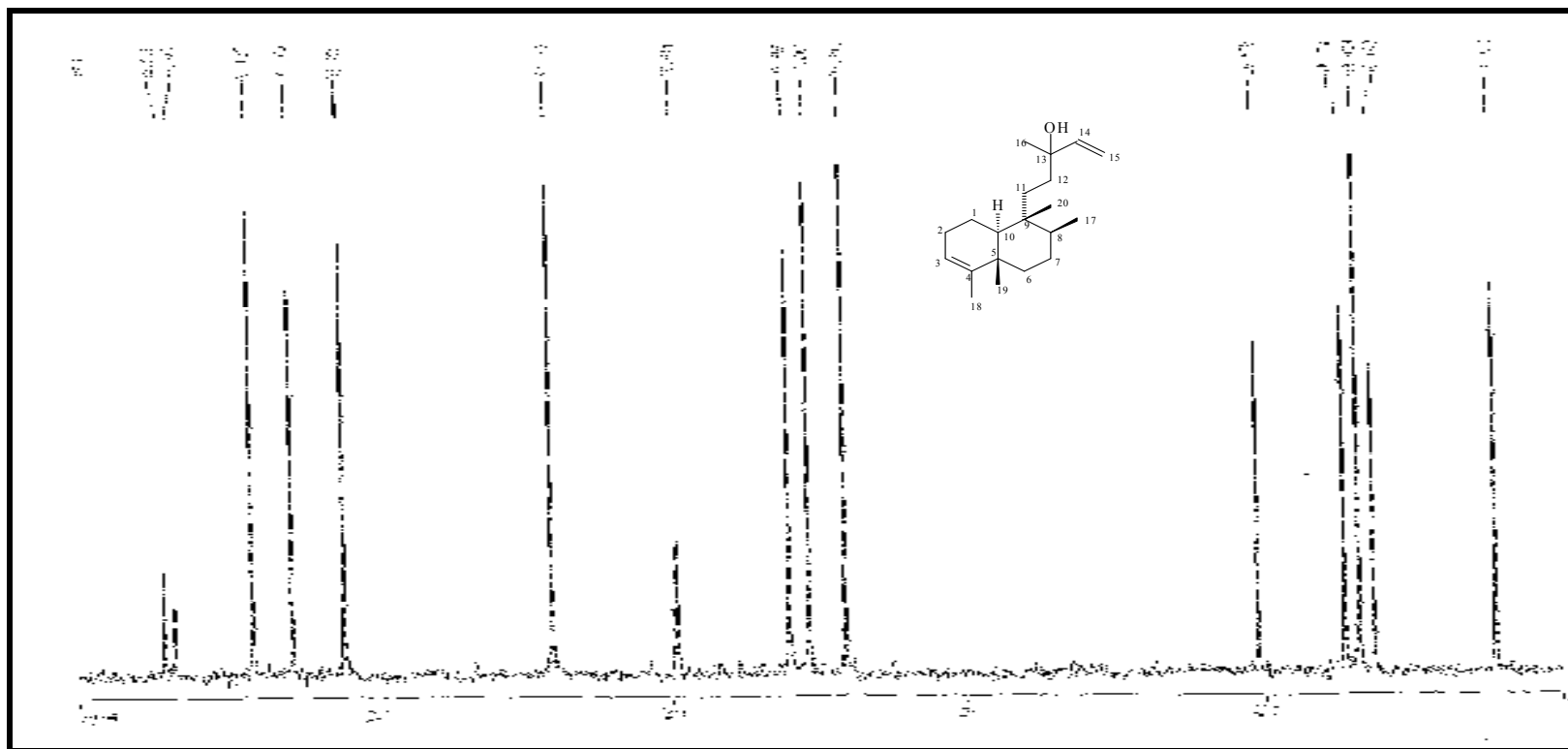


Figura 27 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB na região entre 11,00 e 26,00 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de **FI-3**

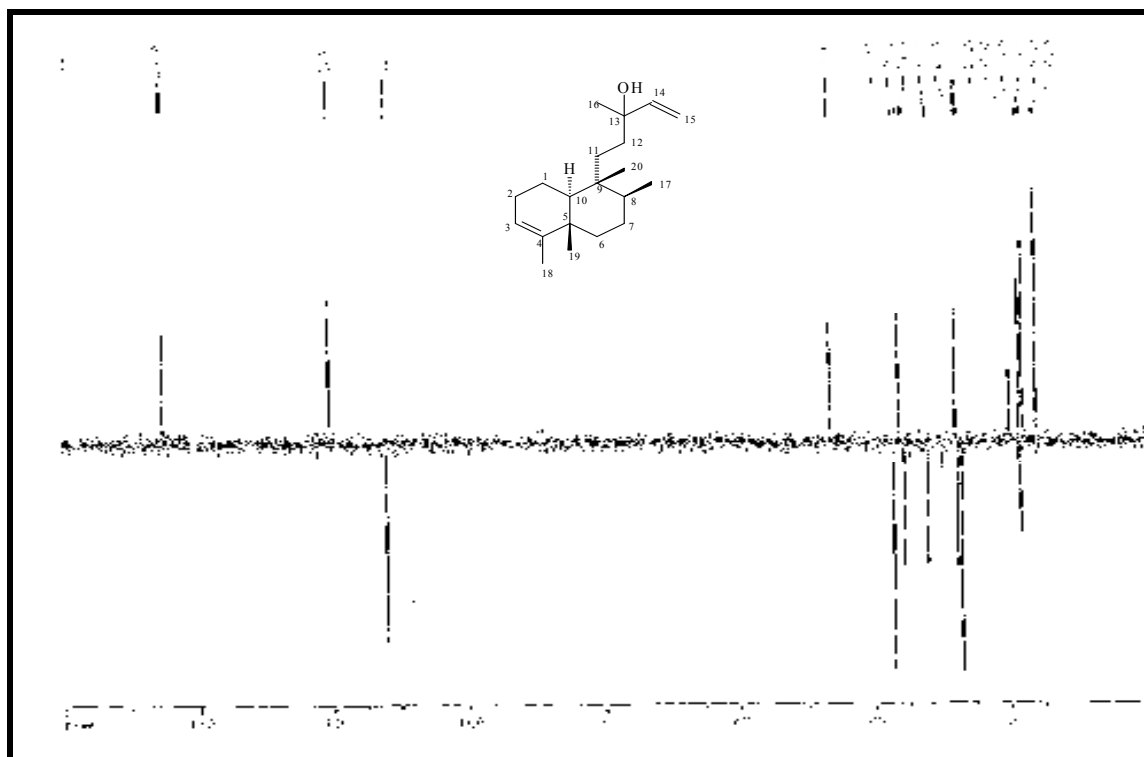


Figura 28- Espectro de RMN ^{13}C -DEPT-135 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de **FI-3**

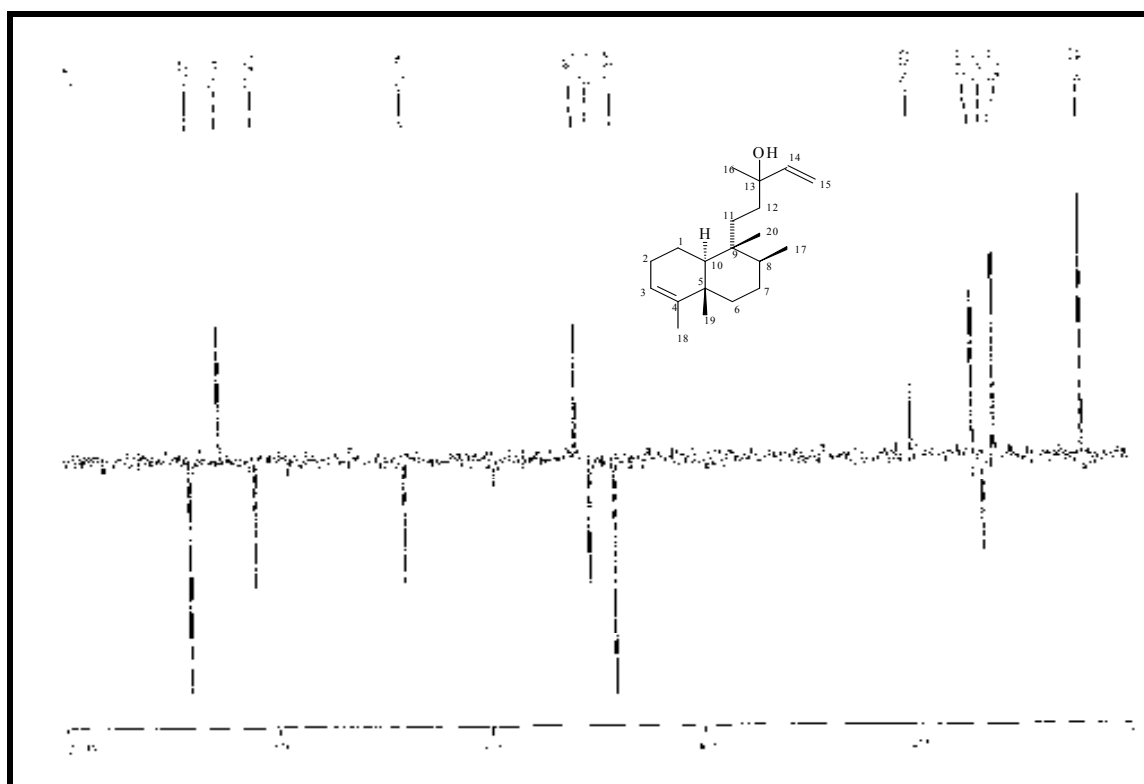


Figura 29 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT-135 na região entre 15,00 e δ 38,00 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de **FI-3**

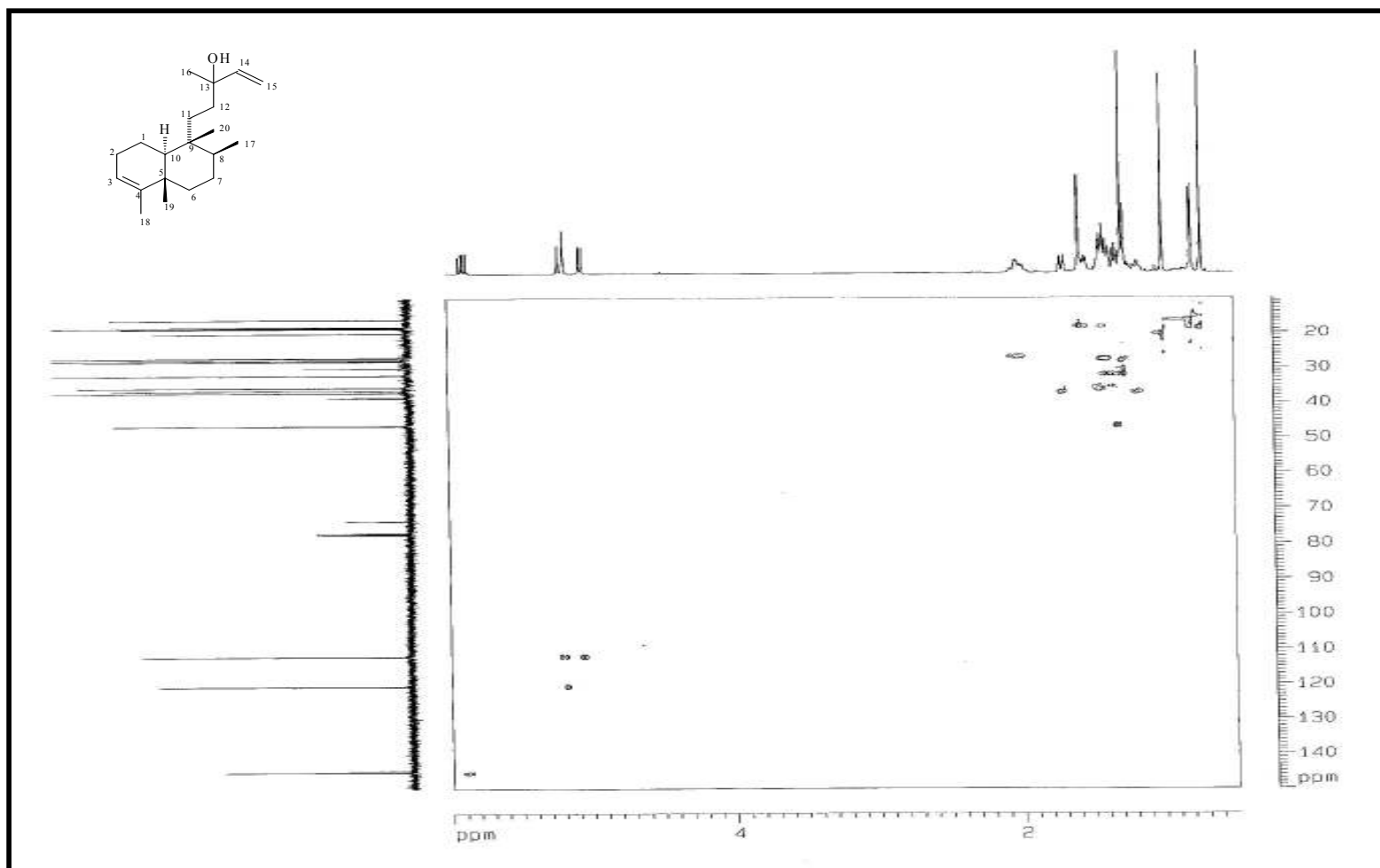


Figura 31 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3

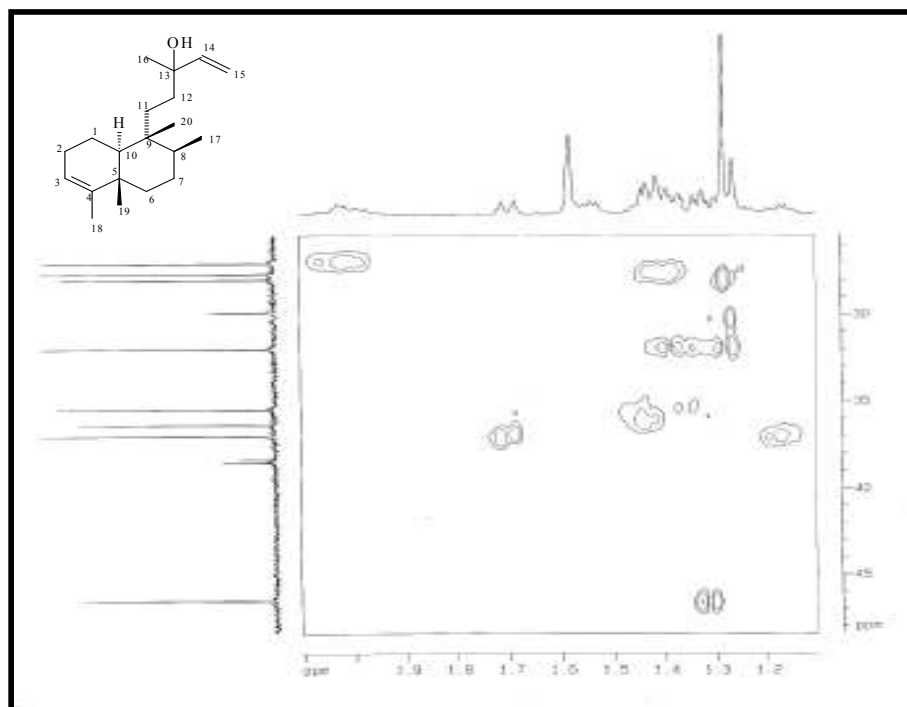


Figura 32 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC na região entre 1,00 a 2,00 x 25,00 a 50,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-3**

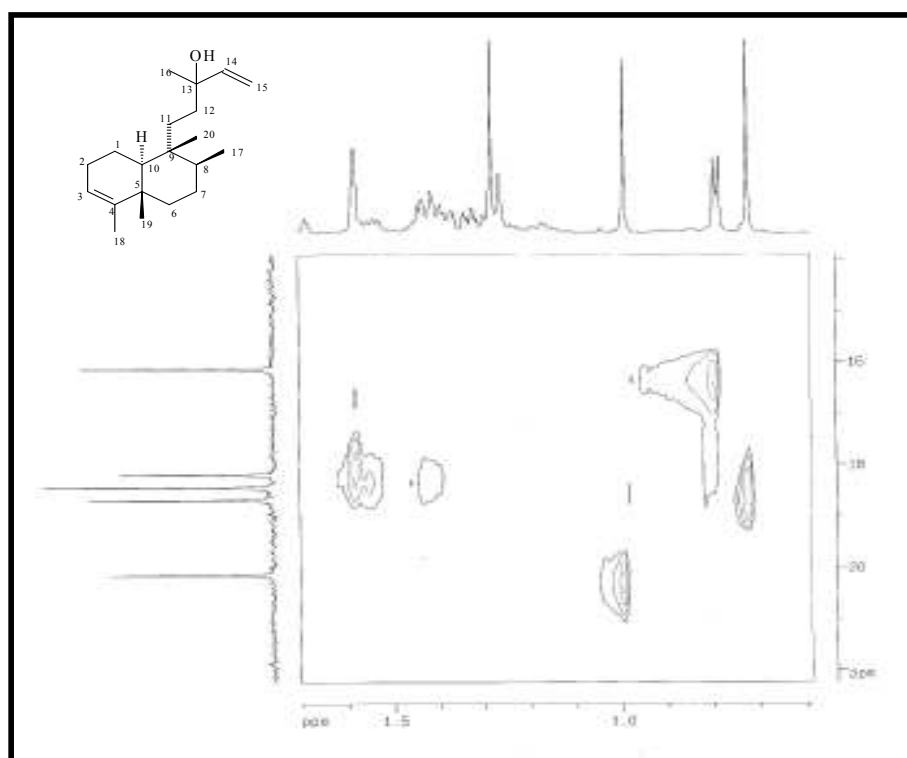


Figura 33 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC na região entre 0,60 a 1,70 x 14,00 a 22,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-3**

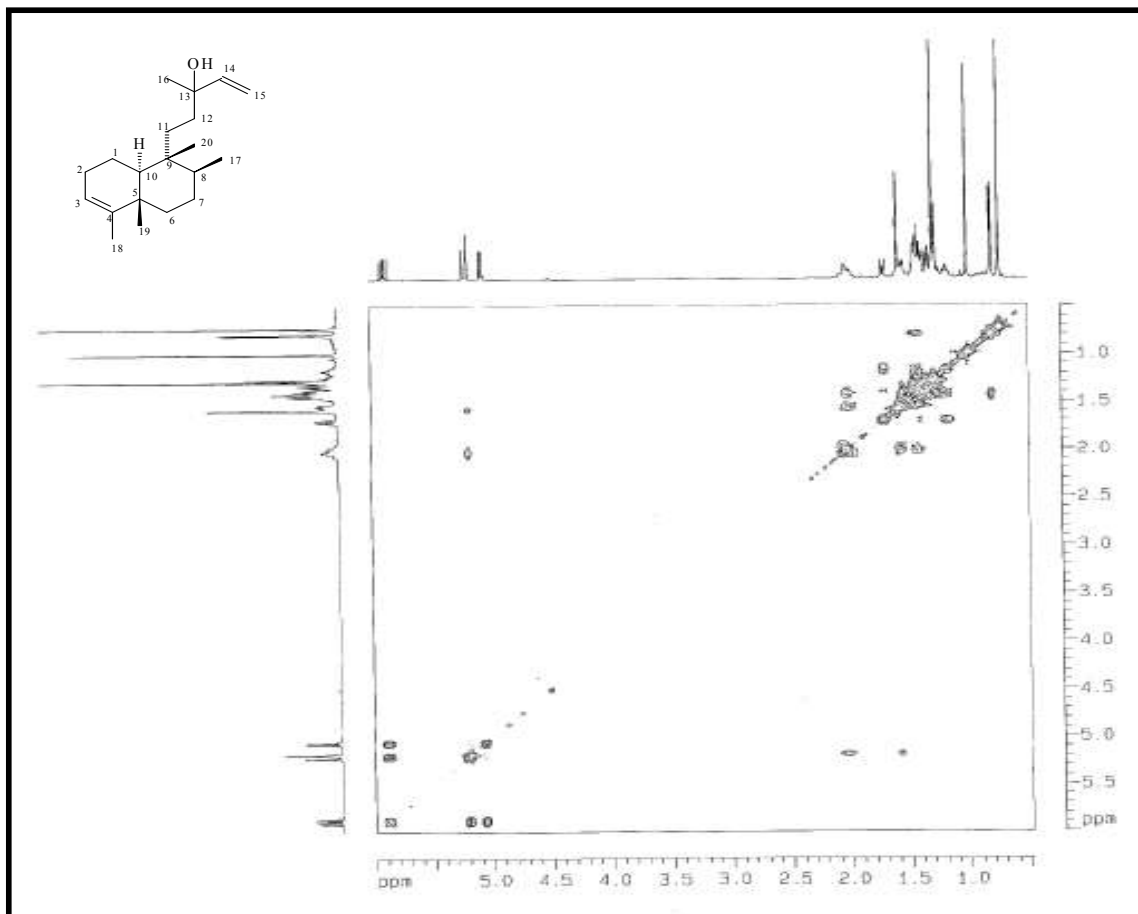


Figura 34 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **F1-3**

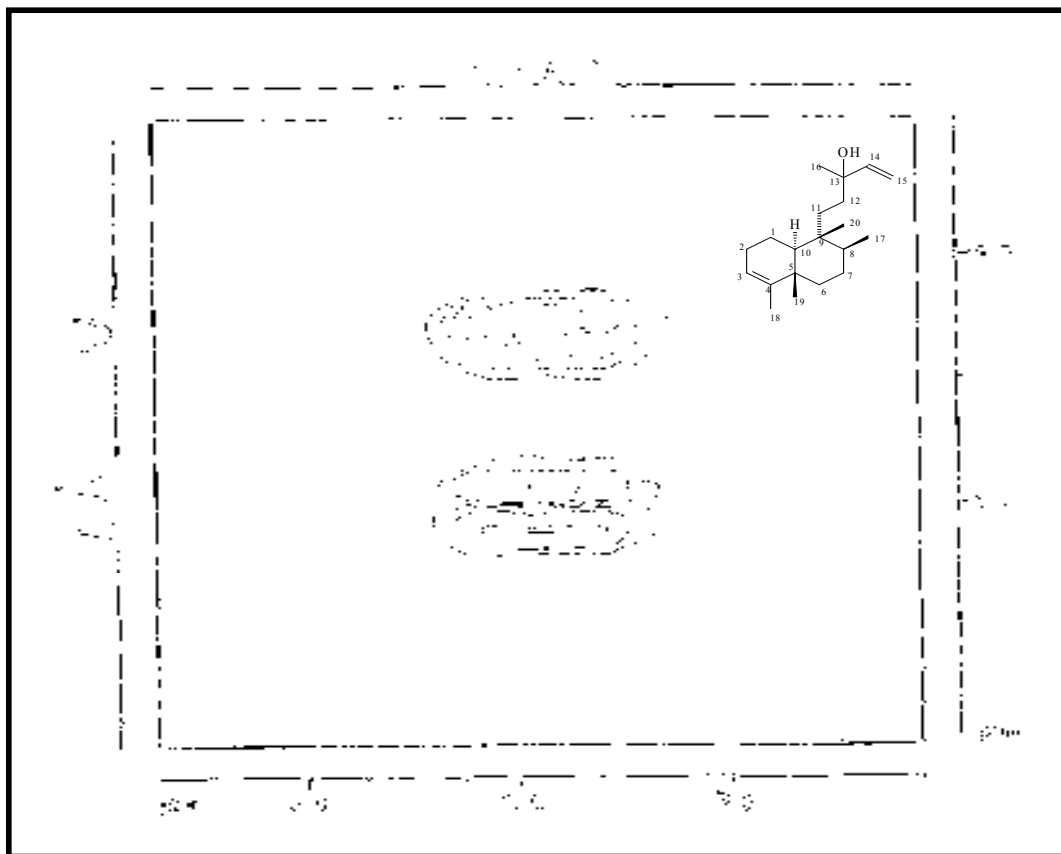


Figura 35 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY na região entre 3,40 a 5,70 x 4,90 a 5,40 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-3**

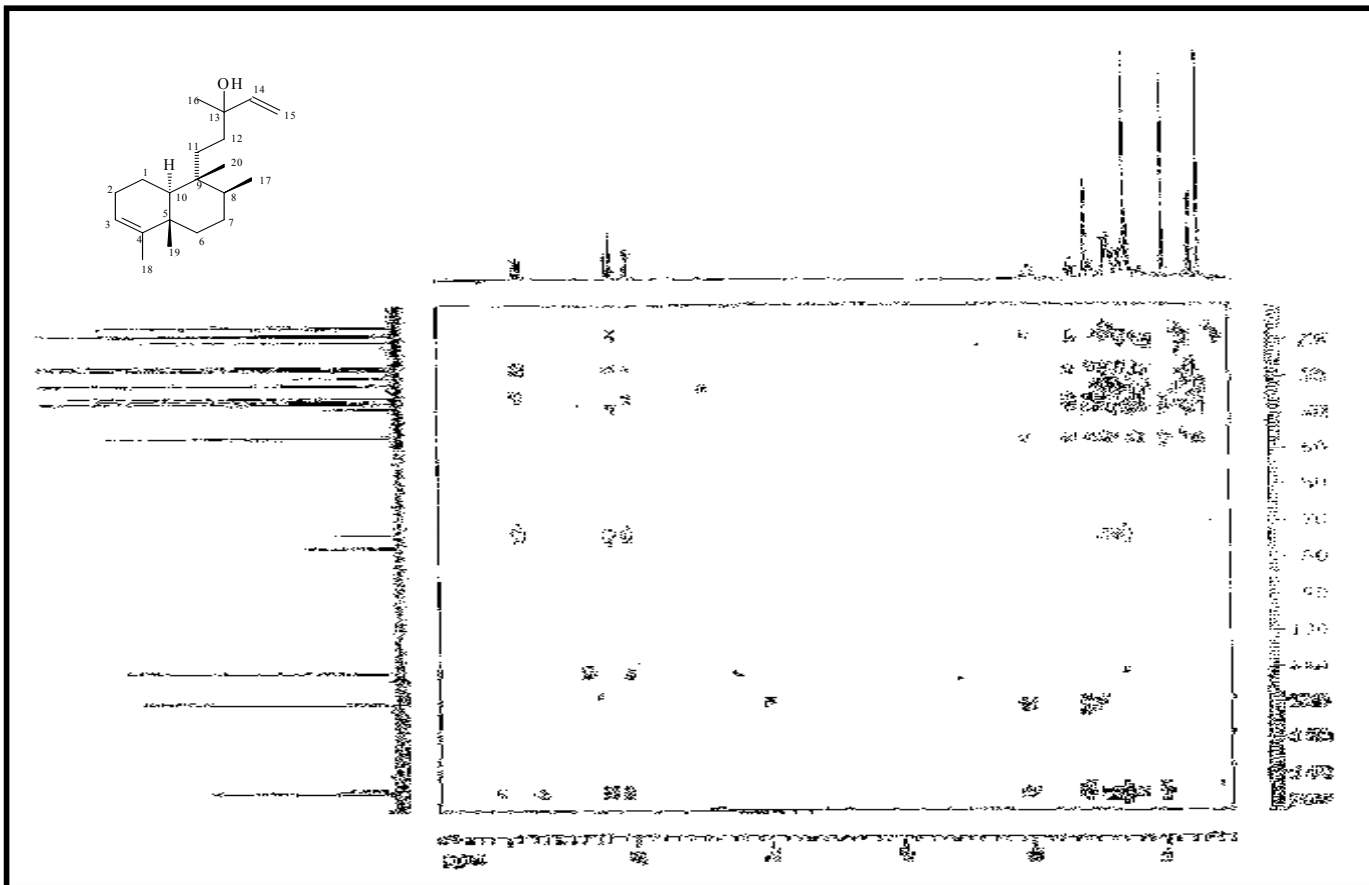


Figura 36 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-3



Figura 37- Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 5,00 a 6,00 x 110,00 a 150,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-3**

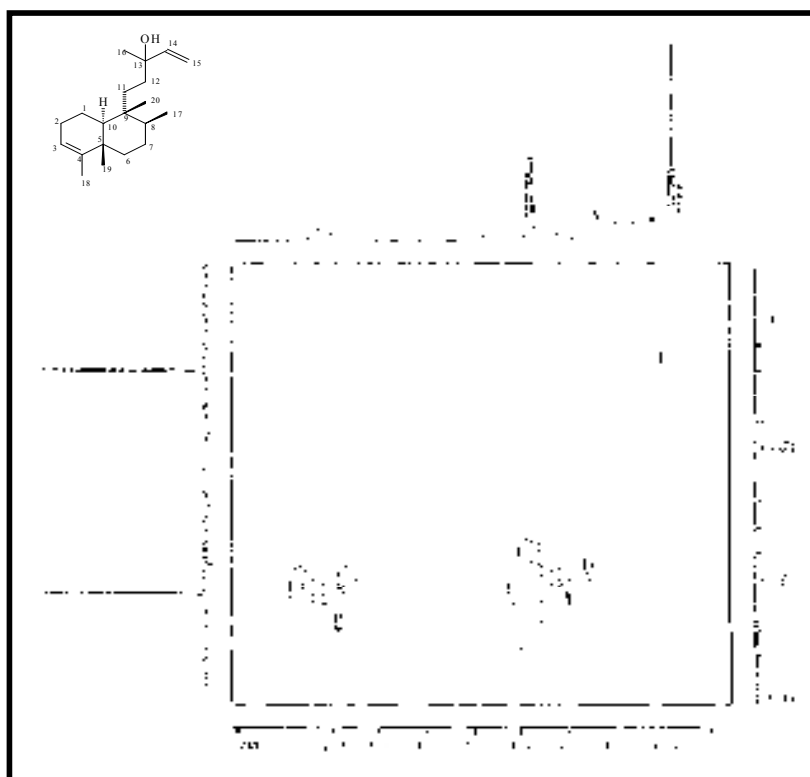


Figura 38 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 1,20 a 2,20 x 108,00 a 125,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-3**

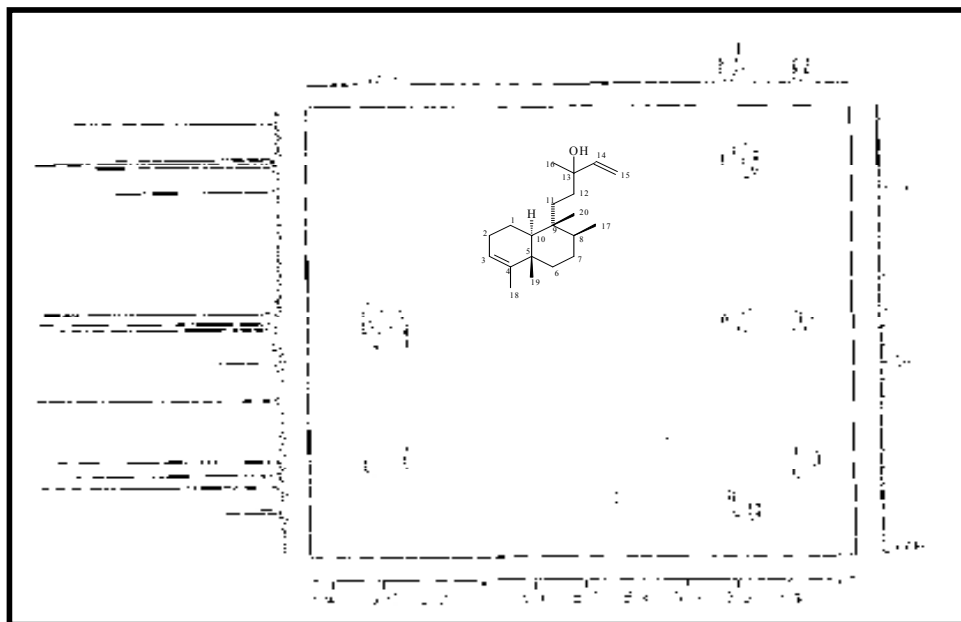


Figura 39 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 5,00 a 6,00 x 10,00 a 50,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-3**

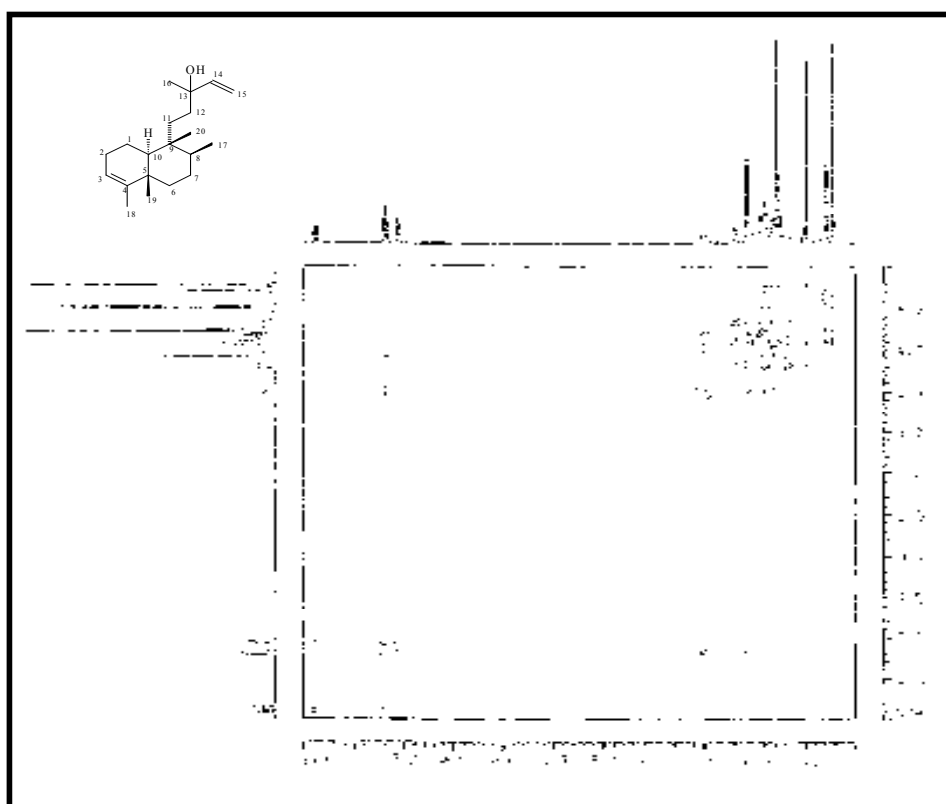


Figura 40 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-3**

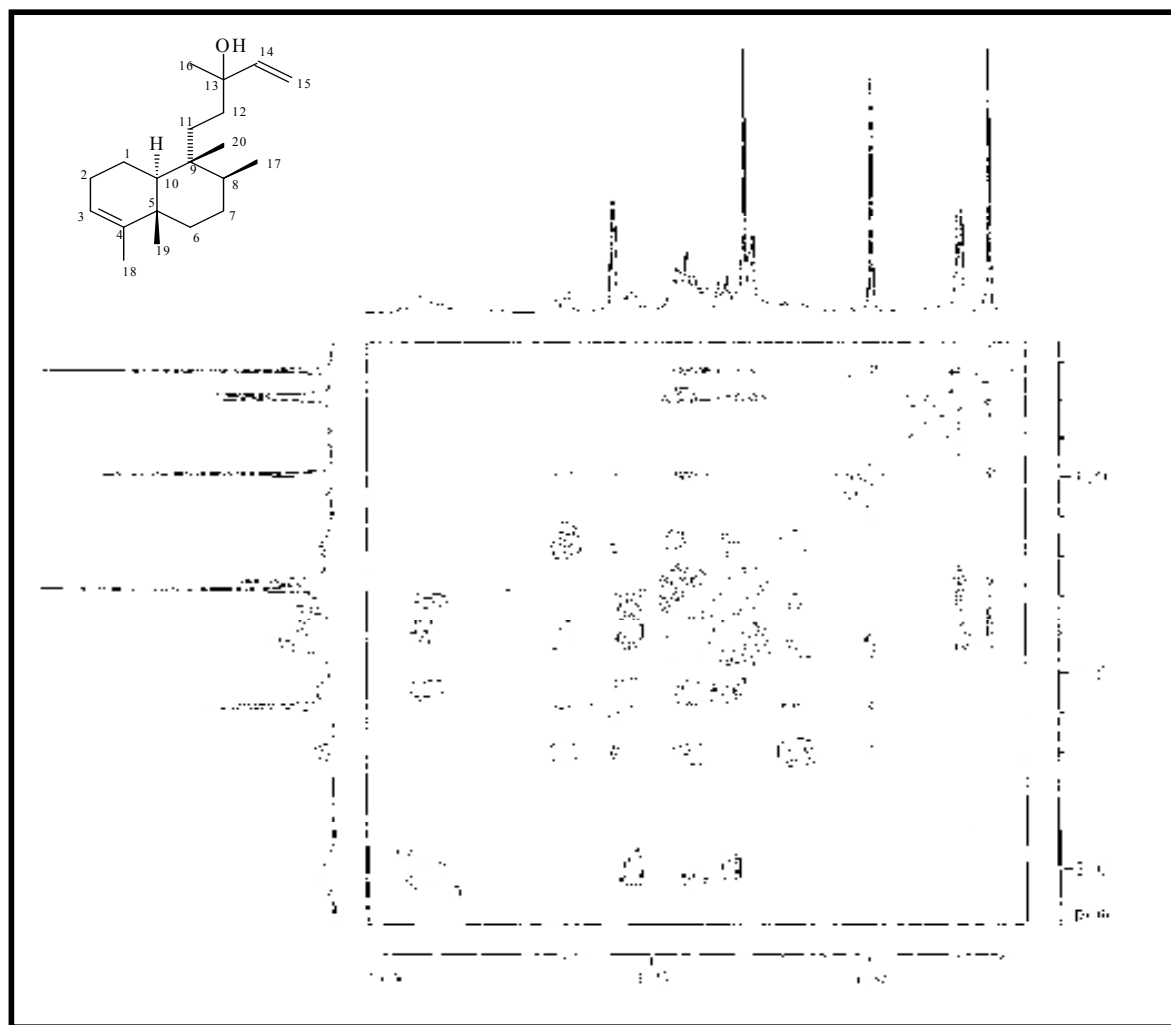


Figura 41 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY na região entre 0,00 a 2,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **F1-3**

4.5 Caracterização estrutural de FI-4

O espectro no IV (Figura 43, pág. 104) de **FI-4** mostrou absorções idênticas àquelas observadas para **FI-3** (Figura 21, pág. 83), o que levou a sugerir que se tratava da mesma substância, todavia uma absorção intensa em 1738 cm^{-1} denotativa de $\nu\text{C=O}$ propôs que **FI-4** possui um grupo éster. Esta proposta foi fortalecida pelas absorções de deformação axial entre 1243 e 1037 cm^{-1} condizentes com $\nu\text{C-O}$ do grupo em foco (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000; PAVIA et al., 1996). A análise comparativa entre os espectros de IV de **FI-3** (Figura 21, pág. 83) e **FI-4** (Figura 43, pág. 104) aventou a possibilidade da molécula de **FI-4** ser acrescida por um grupo éster, grupo este ausente em **FI-3**.

A análise do espectro de RMN ^1H (Figura 44, pág. 105) da substância em análise mostrou-se semelhante ao mesmo espectro de **FI-3** (Figura 22, pág. 84), o que fortaleceu a proposta de que **FI-4** trata-se de um diterpeno (Tabela 7, pág. 102). Este espectro de RMN ^1H (Figura 44, pág. 105) e suas expansões (Figuras 45 e 46, pág. 106) corroboraram a sugestão feita pelo espectro de IV (Figura 43, pág. 104) de que **FI-4** possui um grupo éster. Esta corroboração foi possível devido aos sinais em $\delta_{\text{H}} 4,13$ referente a um quarteto ($J=7,20\text{ Hz}$) e outro condizente com um tripleto em $\delta_{\text{H}} 1,39$ ($J=7,15\text{ Hz}$) atribuídos a hidrogênios de CH_2 e CH_3 , respectivamente, de um radical $-\text{COO}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000). Um tripleto em $\delta_{\text{H}} 2,29$ ($J=7,55\text{ Hz}$) indicativo de grupo metileno α a carbonila de éster, juntamente com os sinais referentes aos quarteto e tripleto, anteriores, fortaleceram a proposta feita pelo IV, da possibilidade de **FI-4** possuir grupo éster em sua estrutura, podendo também este grupo pertencer a uma outra substância em mistura com **FI-4**, uma vez que a região entre $\delta_{\text{H}} 1,24$ e $\delta_{\text{H}} 2,02$, em **FI-4** (Figura 44, pág. 105) apresenta-se com mais sinais, referentes a hidrogênios metilênicos quando comparado com espectro de RMN ^1H da substância **FI-3** (Figura 22, pág. 84).

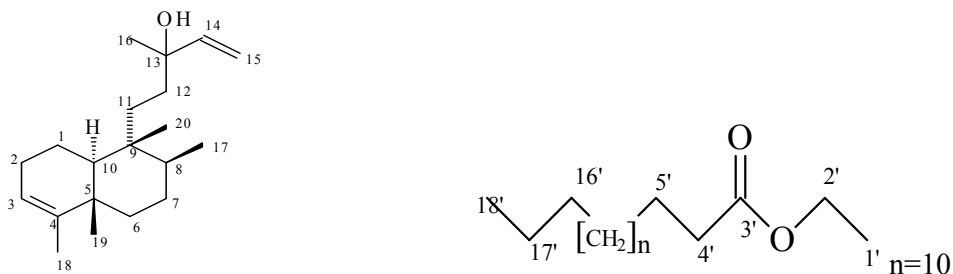
A possibilidade da existência de uma mistura de dois componentes para **FI-4** pode ser deduzida através das integrações dos sinais em δ_H 4,13 (2H, q, $J=7,20$ Hz) referente ao CH_2 do éster etílico e δ_H 5,89 atribuído ao H-14 (1H, dd, $J=17,30$ e $10,70$ Hz) do diterpeno, permitindo sugerir que **FI-4** é composto por 43,1% do diterpeno (**FI-3=FI-4a**) e 56,9% de um éster (**FI-4b**) (Tabelas 7 e 8, pág. 102 e 103, respectivamente).

O espectro de RMN ^{13}C de **FI-4** utilizando a técnica BB (Figura 47, pág. 107) e suas expansões (Figuras 48 e 49, pág. 108) mostraram sinais para 36 átomos de carbonos, o que levou a deduzir que 20 destes átomos referem-se ao diterpeno **FI-4a (FI-3)** enquanto os outros 16 átomos formam o éster (**FI-4b**), propostos pelos espectros de IV e RMN 1H . Este espectro em consonância com o espectro de RMN ^{13}C da substância em análise, obtido utilizando-se a técnica DEPT-135 (Figura 49, pág. 108), mostraram sinais para sete metilas, que absorveram entre δ_C 28,00 e δ_C 14,33, fortalecendo assim a possibilidade da substância **FI-4** ser composta por um diterpeno (5 CH_3) e um éster (2 CH_3).

Através de uma análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C de **FI-3** (Figura 26, pág. 86) com **FI-4** (Figura 47, pág. 107) pôde-se observar um aumento significativo de absorções na região entre δ_C 18,46 e δ_C 46,57 de **FI-4**, o que justifica a proposta de que a substância em análise trata-se da mistura das substâncias **FI-4a=FI-3** e **FI-4b**. A presença de uma absorção em δ_C 174,00 referente a carbonila de éster; δ_C 60,37 característico a CH_2 de grupo etóxi e δ_C 34,64 atribuído a CH_2 α a carbonila, além das sugestões dos espectros de IV (Figura 43, pág. 104) e RMN 1H (Figura 44, pág. 105) e comparações com modelos da literatura (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000) permitiram propor que **FI-4b** é um éster de cadeia aberta (Tabela 7, pág. 102).

Uma análise comparativa dos espectros de IV (Figura 43, pág. 104) e RMN 1H (Figura 44, pág. 105) e RMN ^{13}C utilizando as técnicas BB e DEPT-135 (Figuras 47 a 49, págs. 107 e 108) de **FI-4** com os mesmos espectros de **FI-3** (Figuras 21 a 29, págs. 83 a 88) levou a

sugerir que **FI-4a** (**FI-3**) refere-se ao *ent*-13-hidróxi-*trans*-cleroda-3,14-dieno (*trans-ent*-kolavelool) e **FI-4b** trata-se do Hexadecanoato de etila (palmitato de etila) (Figura 51).



ent-13-hidróxi-*trans*-cleroda-3,14-dieno (**FI-4a=FI-3**)

Hexadecanoato de etila (**FI-4b**)

Figura 51 - Propostas estruturais para **FI-4a** e **FI-4b**

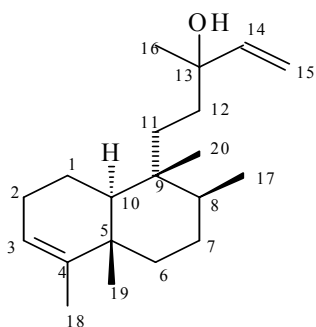
O espectro de correlação homonuclear (Figura 51, pág. 109) ao exibir acoplamento entre os hidrogênios H-3/H-2 (δ_H 5,18/ δ_H 2,04 [m]), H-14/H-15a (δ_H 5,89/ δ_H 5,06) e H-14/H-15b (δ_H 5,89/ δ_H 5,20), fortaleceu as propostas para a localização das duplas ligações C-3/C-4 e C-14/C-15, na estrutura **FI-4a**. O espectro de **FI-4** (Figura 51, pág. 109) ainda mostrou, além das correlações existentes em **FI-3**, acoplamento entre os hidrogênios δ_H 4,13 (q, $J=7,20$ Hz) e δ_H 1,39 (t, $J=7,15$ Hz) referentes ao grupo etóxi da substância **FI-4b**. Um outro acoplamento referente aos hidrogênios de **FI-4b** pode ser observado entre δ_H 2,29 (t, $J=7,55$ Hz) e δ_H 1,62 (m), ratificando, portanto, os grupos metilênicos α e β a carbonila, respectivamente, em **FI-4b** (Tabela 8, pág. 103)

O fortalecimento da proposta de que **FI-4** trata-se de uma mistura do diterpeno e um éster é corroborada pelas correlações diretas, exibidas pelo espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC (Figuras 52 e 53, págs. 110 e 111) entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos, que se encontram elencadas na Tabela 8 (pág. 103).

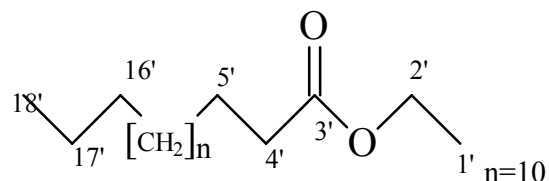
A análise dos espectros de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC e suas expansões (Figuras 54 a 57, págs. 112 a 114) além de exibirem correlações a duas e três ligações (J^2 e J^3) semelhantes

àquelas para **FI-3** (Tabela 5, pág. 82), mostrou também para a molécula de **FI-4b** (Figura 54, pág. 112) uma correlação a duas ligações entre os hidrogênios do carbono metilênico C-2' com o carbono da metila C-1' (Figura 54, pág. 112) (δ_H 4,13 (q) / δ_C 14,33) e também com o carbono carbonílico C-3' (δ_H 4,13 (q) / δ_C 174,00), confirmando assim a presença do grupo etóxila sugerido anteriormente. Neste espectro ainda se observou um acoplamento J^2 entre os hidrogênios do carbono α com o carbono β a carbonila (δ_H 2,29/ δ_C 25,23), como também com o próprio carbono carbonílico (δ_H 2,29 (t) / δ_C 174,00), além de um acoplamento J^3 destes mesmos hidrogênios com o carbono γ a carbonila, δ_H 2,29 (t) / δ_C 32,26 (um dos vários carbonos metilênicos da cadeia alifática do éster). Deste modo a união dos dados comparativos entre modelos na literatura (Tabela 7, pág. 102) com o dados fornecidos pelos espectros bidimensionais (tabela 8, pág. 103) permitiram confirmar que **FI-4b** tratava-se do hexadecanoato de etila (Figura 50, pág. 99):

Após análise dos espectros de IV, RMN 1H e RMN ^{13}C uni e bidimensionais e comparações com modelos da literatura (tabelas 6, 7 e 8, págs. 101 a 103), foi possível definir **FI-4** como sendo uma mistura formada por **FI-4a (FI-3)** (*trans-ent*-kolavelool) e **FI-4b** (Hexadecanoato de etila) ambos isolados pela primeira vez em Flacourtiaceae.



ent-13-hidroxi-*trans*-cleroda-3,14-dieno (**FI-4a=FI-3**)

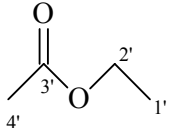
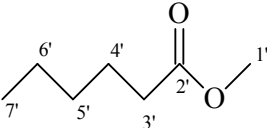
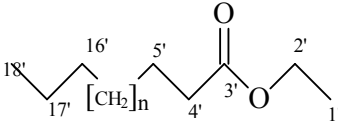


Hexadecanoato de etila (**FI-4b**)

Tabela 6 - Dados comparativos de RMN ^1H e RMN ^{13}C da substância **Fl-4a** (δ , CDCl_3 , 125 MHz, Hz) com modelo Mo-1 (NAGASHIMA et al., 2001) e **Fl-3**.

Carbonos						
	Mo-1 (<i>cis-ent</i>-kolavelool)		Fl-3		Fl-4a (Fl-3)	
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
4	-	139,90	-	144,74	-	144,79
5	-	36,90	-	38,35	-	37,08
9	-	39,90	-	38,53	-	38,58
13	-	73,50	-	73,60	-	73,60
CH						
3	5,27 (s)	123,20	5,18 (s)	120,60	5,18	120,63
8	-	37,30	-	36,36	-	18,70
10	-	44,60	-	46,52	-	46,57
14	5,91 (dd, $J=10,70$ e $1,10$)	145,30	5,89 (dd, $J=17,30$ e $10,75$)	145,29	5,89 (dd, $J=17,40$ e $10,80$)	145,33
CH₂						
1	-	17,70	-	18,43	-	18,47
2	-	24,10	-	27,05	-	27,09
6	-	37,80	-	37,04	-	36,41
7	-	28,80	-	27,66	-	27,69
11	-	31,60	-	32,02	-	32,06
12	-	35,20	-	35,49	-	36,41
15a	5,07 (dd, $J=10,70$ e $1,10$)	111,80	5,06 (dd, $J=10,80$ e $1,10$)	112,01	5,06 (d, $J=17,30$)	112,03
15b	5,21 (dd, $J=17,30$ e $1,10$)		5,20 (dd, $J=17,30$ e $10,80$)		5,20 (d, $J=17,30$ e $10,80$)	-
CH₃						
16	1,30 (s)	27,70	1,24 (s)	27,99	1,28 (s)	28,04
17	0,75 (d, $J=6,90$)	15,90	0,79 (d, $J=6,05$)	16,12	0,79 (d, $J=5,65$)	16,15
18	1,67 (q like)	19,80	1,58 (d, $J=1,35$)	18,18	1,58 (s)	18,21
19	1,03 (s)	33,10	0,99 (s)	20,13	0,99 (s)	20,16
20	0,81 (s)	17,40	0,73 (s)	18,64	0,72 (s)	18,71

Tabela 7 - Dados comparativos de RMN¹³C da substância **Fl-4b** (δ , CDCl₃, 125 MHz) com modelos Mo-1 e Mo-2 (δ , CDCl₃, 50 e 150 MHz), (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000)

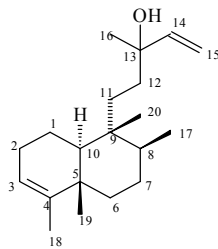
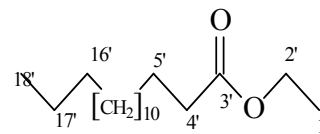
Carbonos				
				
	Mo-1 (acetato de etila)	Mo-2 (hexadecanoato de metila)	Fl-4b	
C	δ_C	δ_C	δ_H	δ_C
1'	13,8	51,1	1,39 (t, $J= 7,15$ Hz)	14,33
2'	60,0	172,1	4,13 (q, $J= 7,20$ Hz)	60,37
3'	170,3	33,9	-	174,0
4'	20,0	25,5	2,29 (t, $J= 7,55$ Hz)	34,64
5'	-	32,2	1,62 (m)	25,23
6'	-	23,4	**	*
7' a 15'	-	14,3	**	*
16'	-	-	-	32,26
17'	-	-	1,29 (m)	22,93
18'	-	-	0,89 (t, $J= 6,45$ Hz)	14,48

n=10

* todos são valores típicos na região de 29,0 ppm

** vários sinais sobrepostos na região de 1,29 ppm

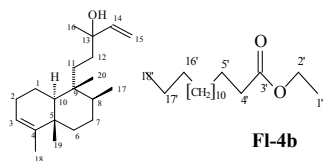
Tabela 8 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz respectivamente) de **Fl-4a** e **Fl-4b**

**Fl-3****Fl-4b**

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY
	δ_{H}	δ_{C}	J^2	J^3		
1	-	18,47	-	-	-	-
2	-	27,09	-	-	H-3	-
3	5,18	120,63	C-4	-	H-2	-
4	-	144,79	-	-	-	-
5	-	37,08	-	-	-	-
6	-	36,41	-	-	-	-
7	-	27,70	-	-	-	-
8	-	18,70	-	-	-	-
9	-	38,58	-	-	-	-
10	-	46,57	-	-	-	-
11	-	32,06	-	-	-	-
12	-	36,41	-	-	-	-
13	-	73,60	-	-	-	-
14	5,89 (dd)	145,33	-	-	H-15a e H15b	-
15a	5,06 (d)	112,03	C-14	-	H-14	-
15b	5,20 (d)	-	C-14	-	H-14	-
16	1,28 (s)	28,04	C-14	C-14	-	-
17	0,79 (d)	15,15	-	-	-	C-20
18	1,58 (s)	18,21	C-4	C-3	-	-
19	0,99 (s)	20,16	-	C-4	-	C-20
20	0,72 (s)	18,71	-	-	-	C-17, C19
Fl-4b						
1'	1,39 (t, $J=7,15$ Hz)	14,33	C-1', C-3'	-	H-2'	-
2'	4,13 (q, $J=7,20$ Hz)	60,37	-	-	H-1'	-
3'	-	174,0	C-3', C-5'	-	-	-
4'	2,29 (t, $J=7,55$ Hz)	34,64	-	-	H-5'	-
5'	1,62 (m)	25,23	-	-	H-4'	-
6' a 15'	**	*	-	-	-	-
16'	-	32,26	-	-	-	-
17'	1,29 (m)	22,93	-	-	-	-
18'	0,89 (t, $J=6,45$ Hz)	14,48	-	-	-	-

* todos são valores típicos na região de 29,0 ppm

** vários sinais sobrepostos na região de 1,29 ppm



FI-3

FI-4b

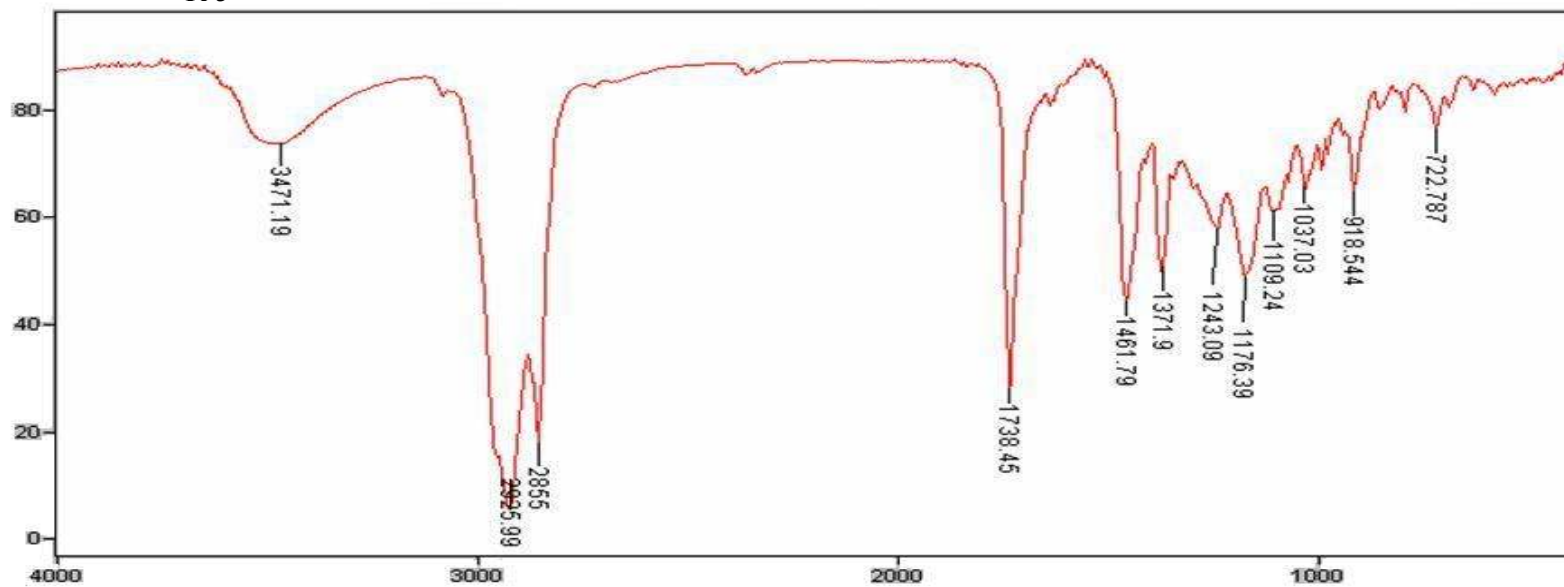


Figura 43 - Espectro no IV (KBr cm⁻¹) da mistura FI-4

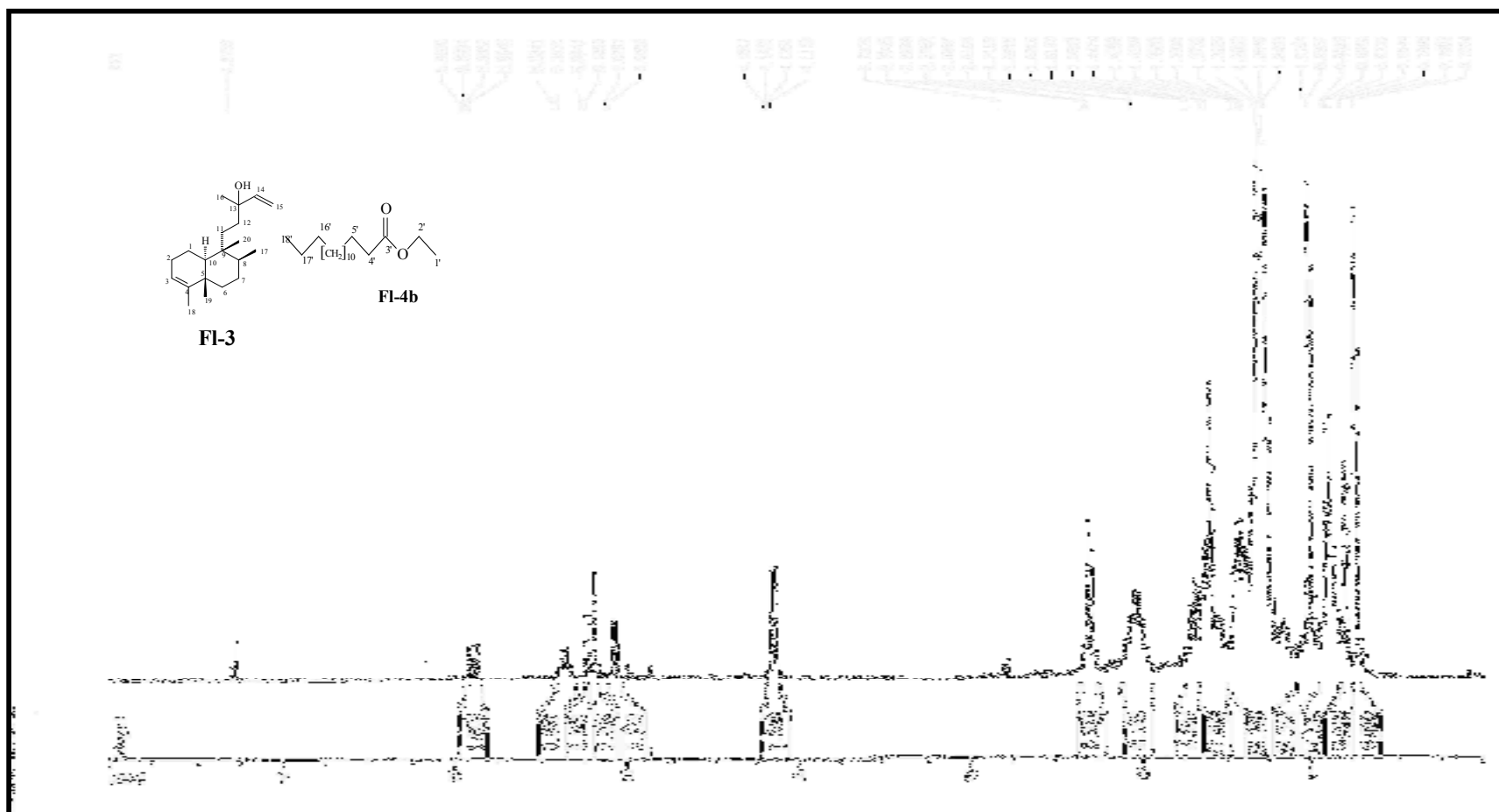


Figura 44 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl₃, 500 MHz) da mistura FI-4

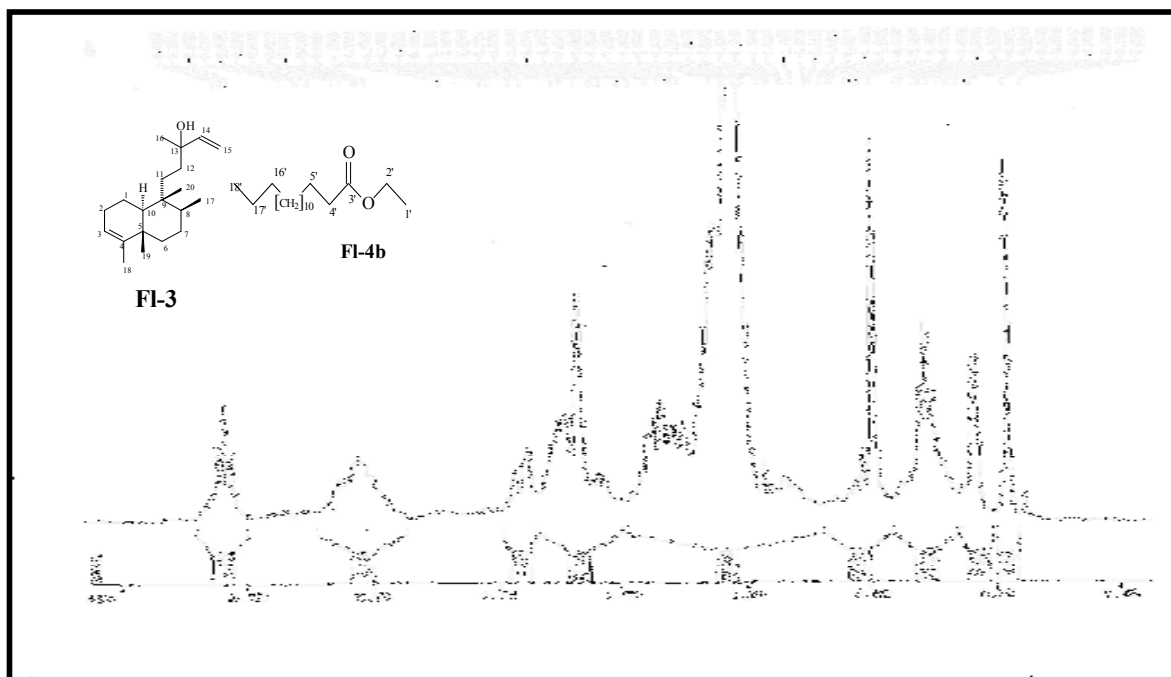


Figura 45 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 0,50 e 2,50 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4

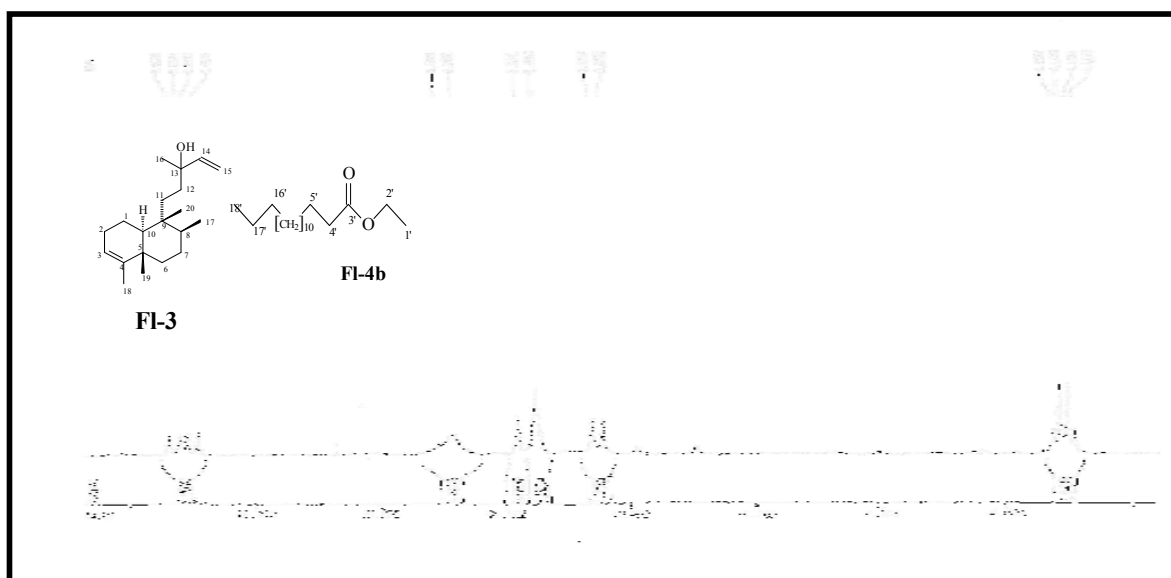


Figura 46 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 4,0 e 6,0 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4

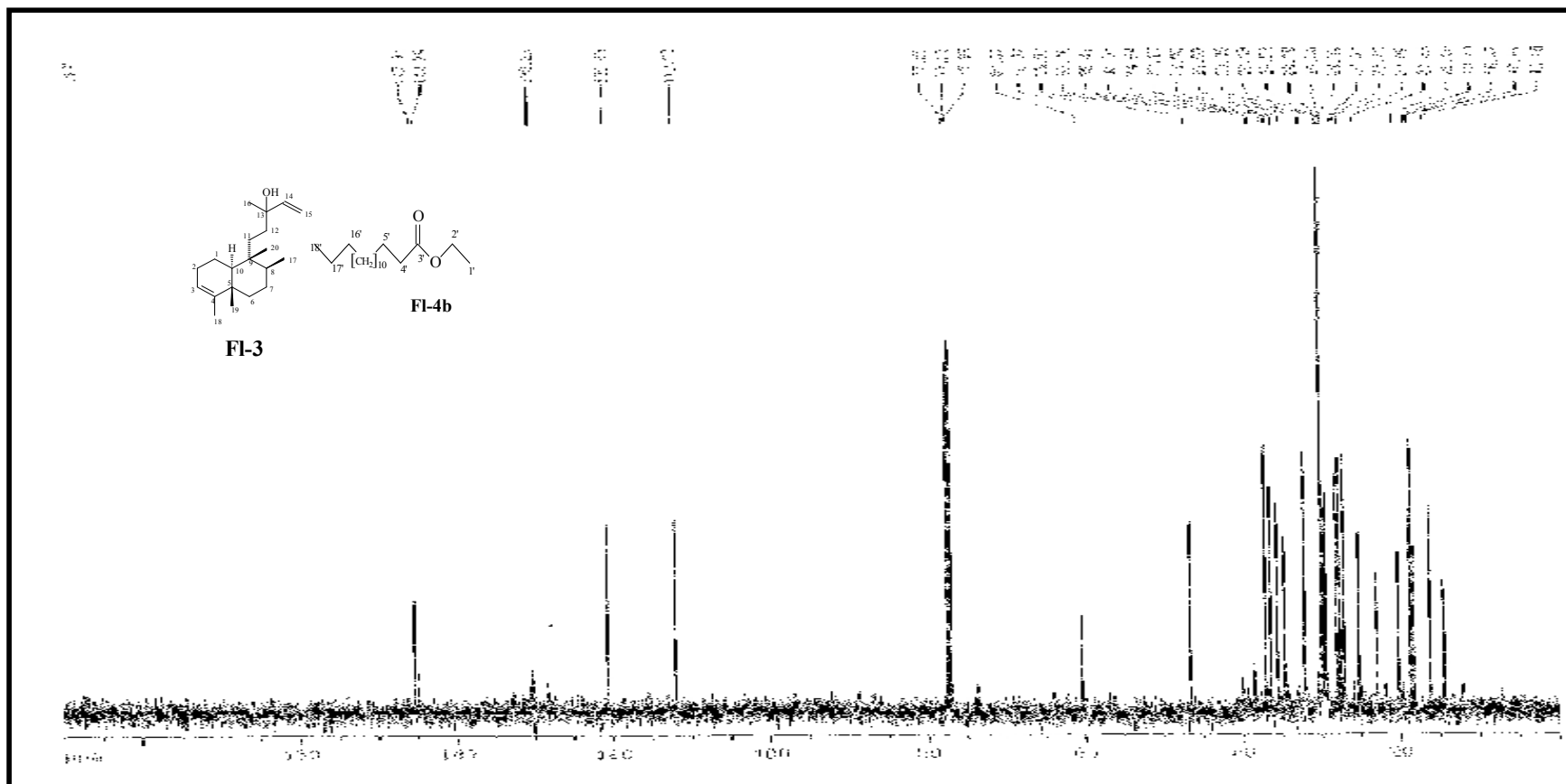


Figura 47 - Espectro de RMN ^{13}C -BB (δ , CDCl_3 , 125 MHz) da mistura FI-4

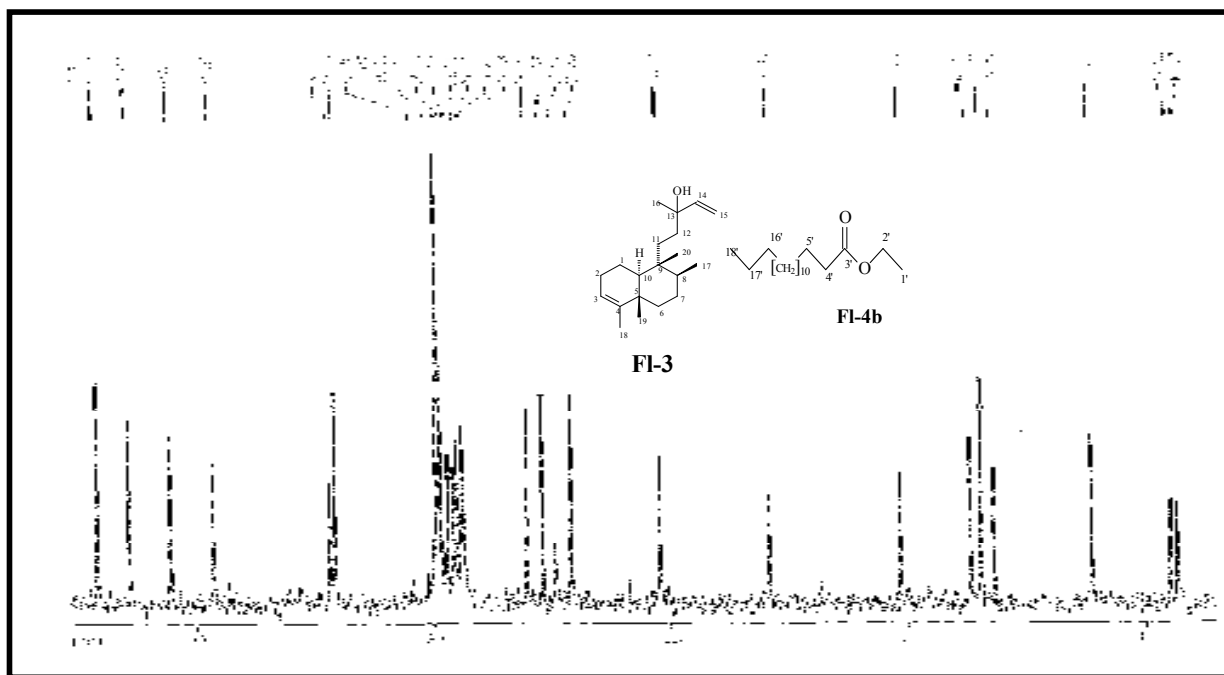


Figura 48 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB na região entre 11,0 e 26,0 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) da mistura FI-4

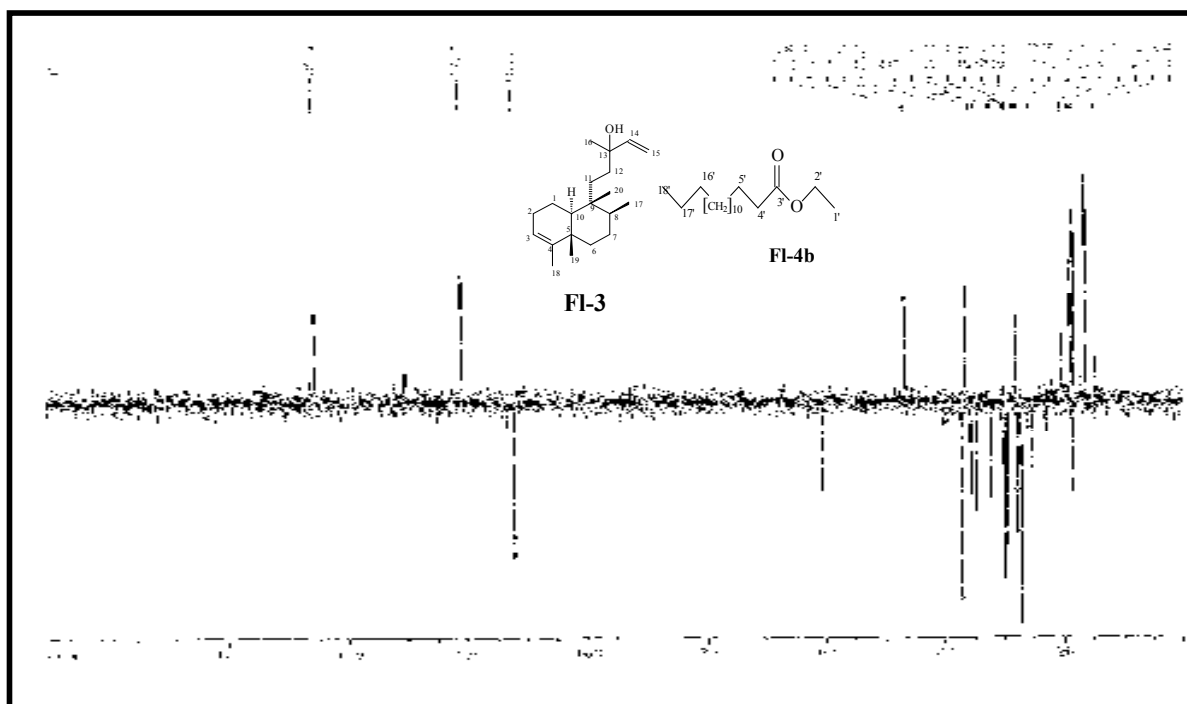


Figura 49 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT-135 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) da mistura FI-4

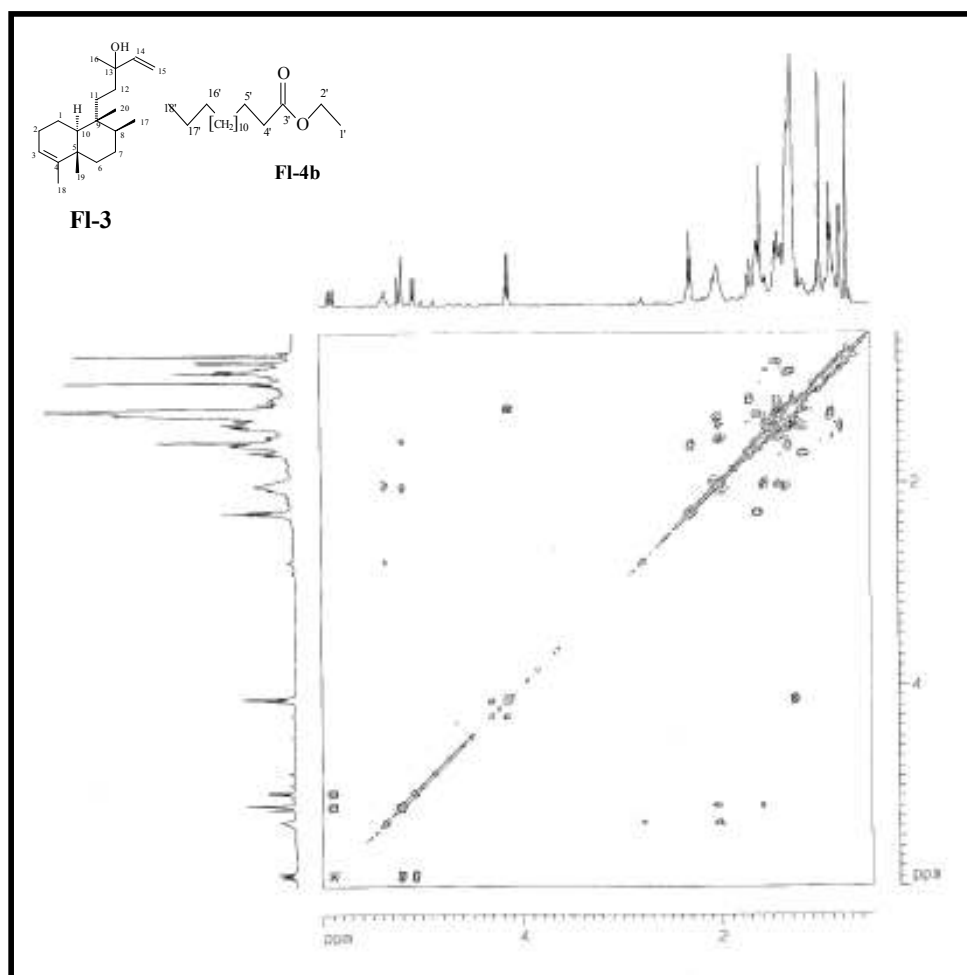


Figura 51 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura **FI-4**

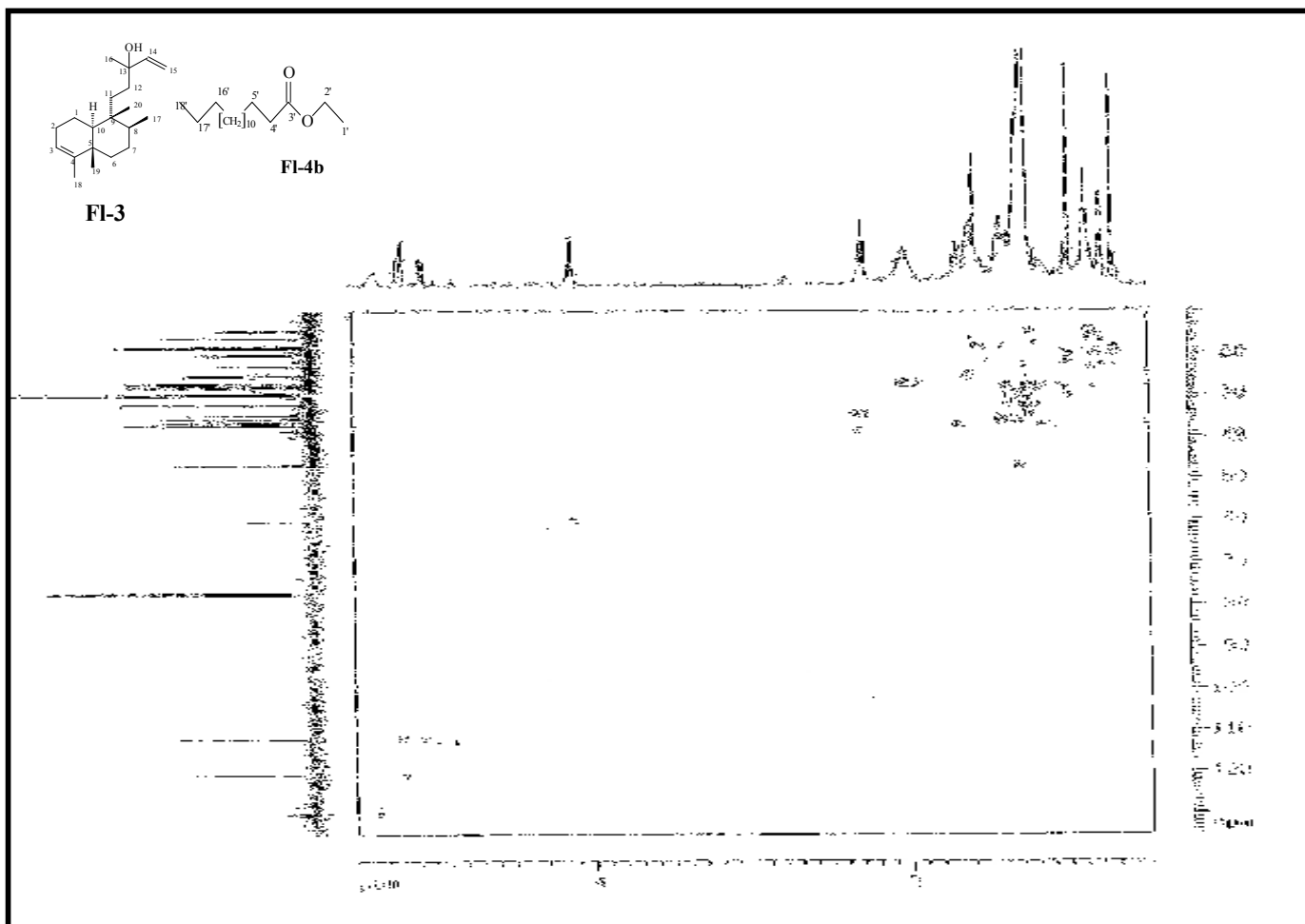


Figura 52 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura FI-4

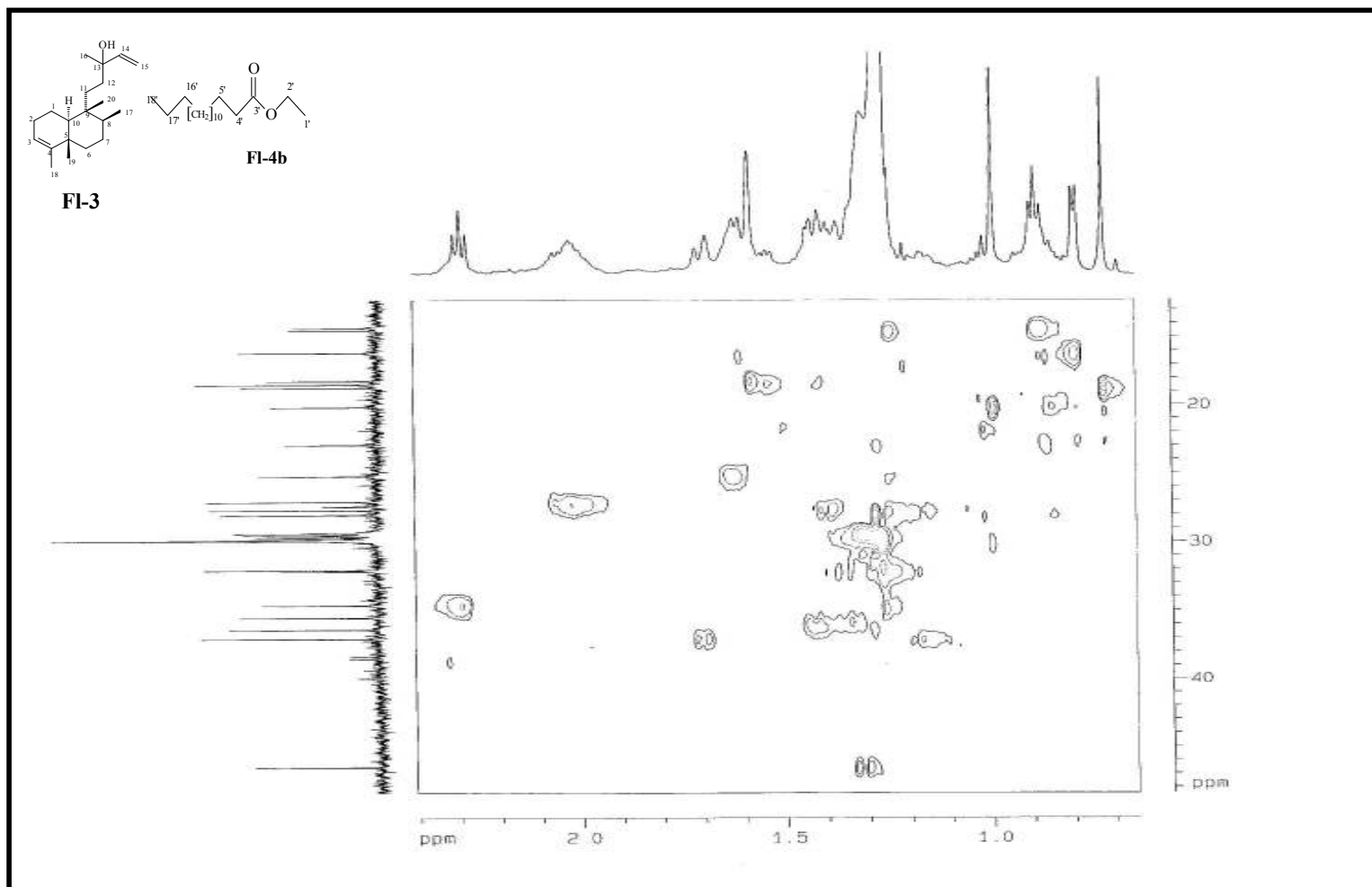


Figura 53 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC na região entre 0,70 a 2,50 x 10,00 a 50,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura **FI-4**

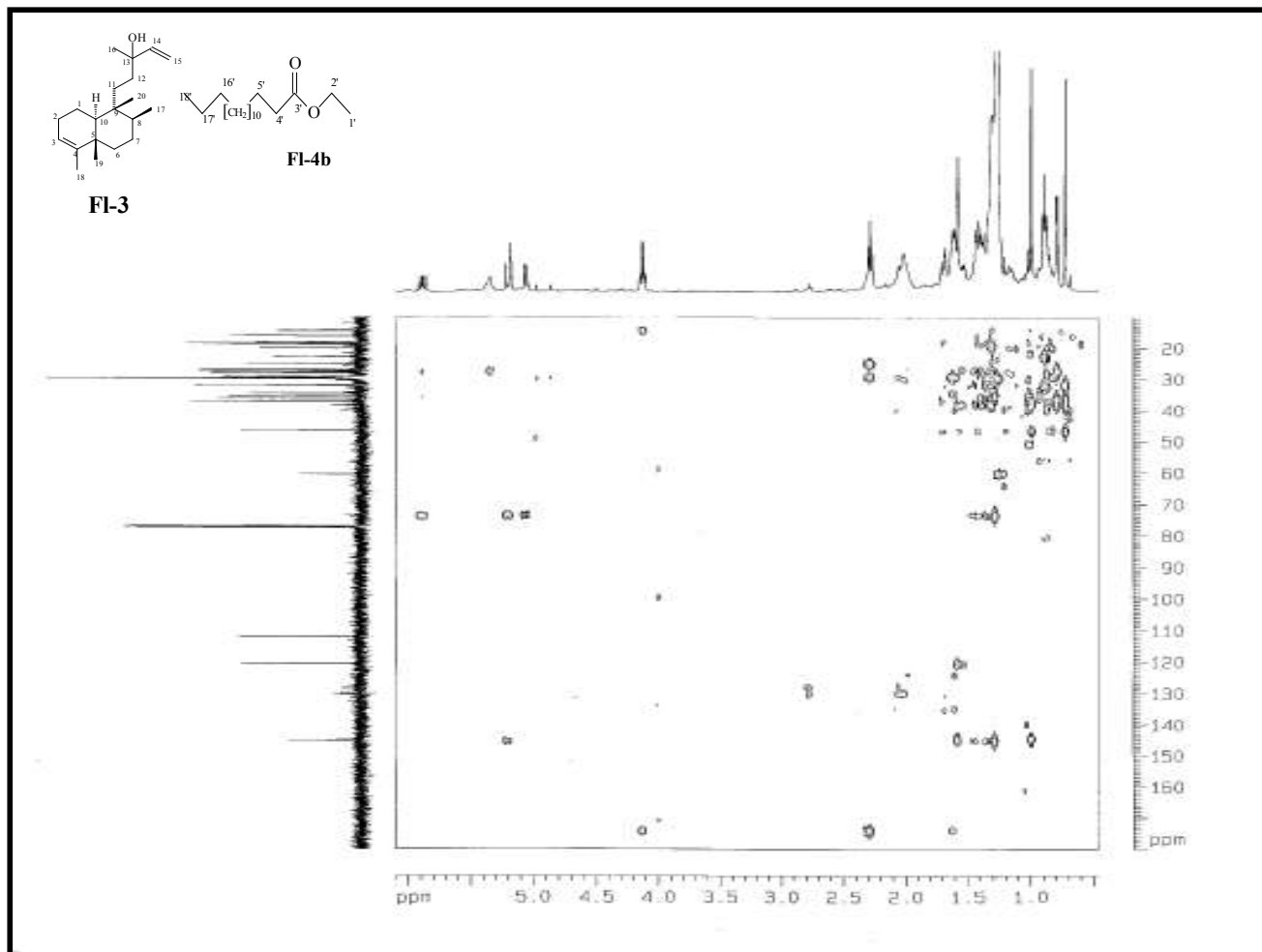


Figura 54 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura **FI-4**

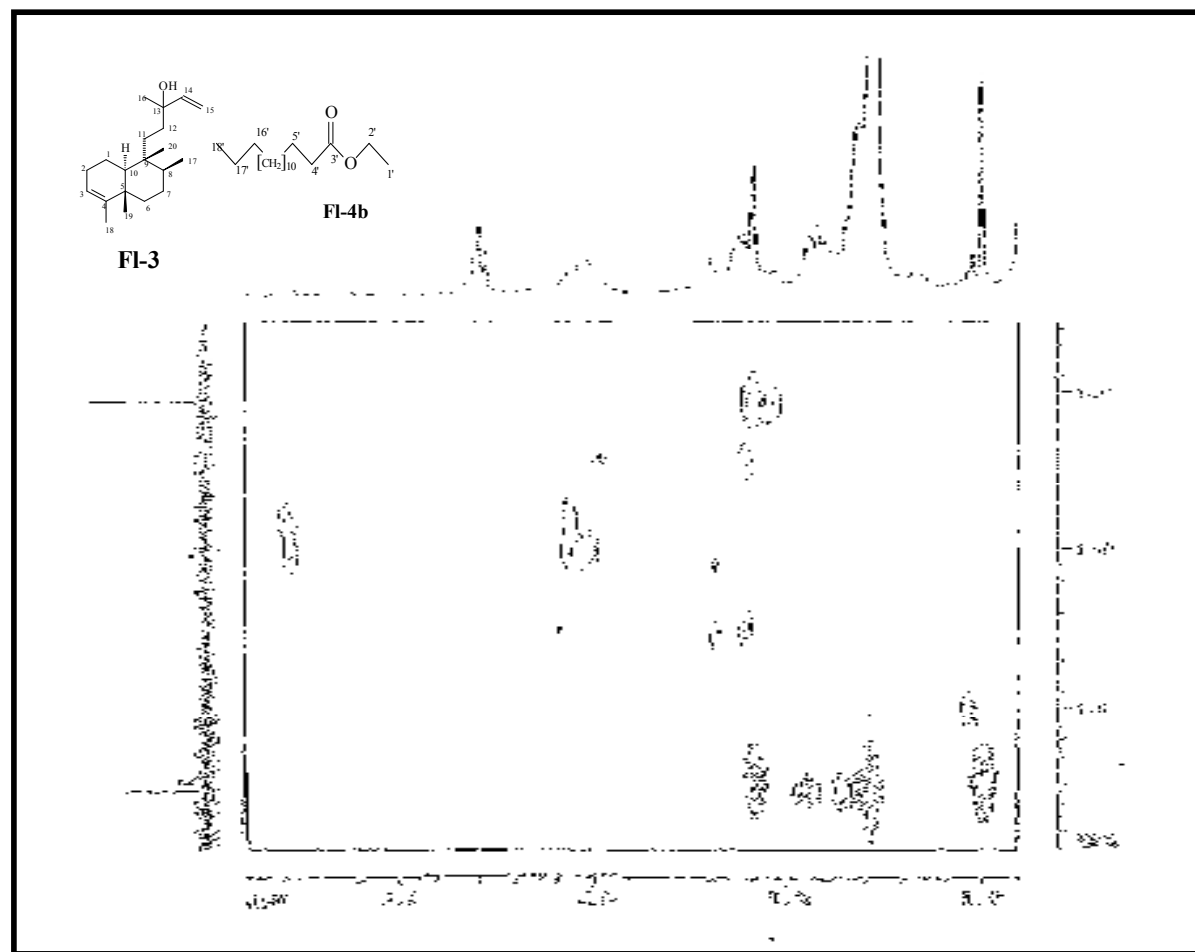


Figura 55 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 1,00 a 3,00 x 115,00 a 150,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura **FI-4**

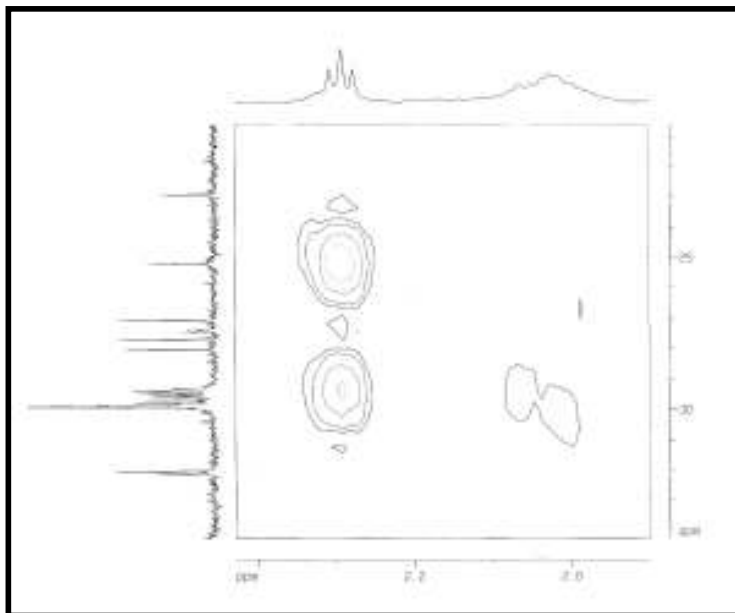


Figura 56 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 1,90 a 2,40 x 20,00 a 35,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura **FI-4**

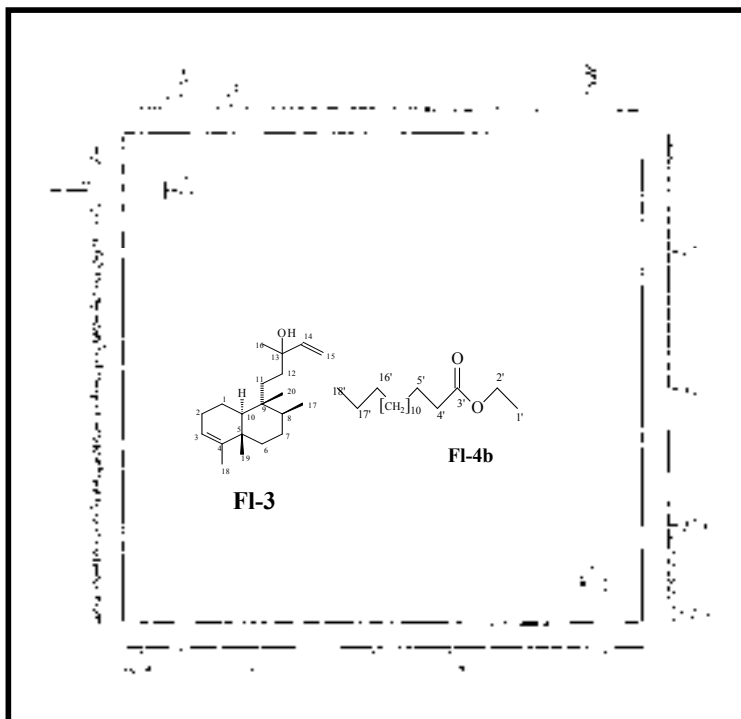


Figura 57 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 4,00 a 5,30 x 140,00 a 177,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura **FI-4**

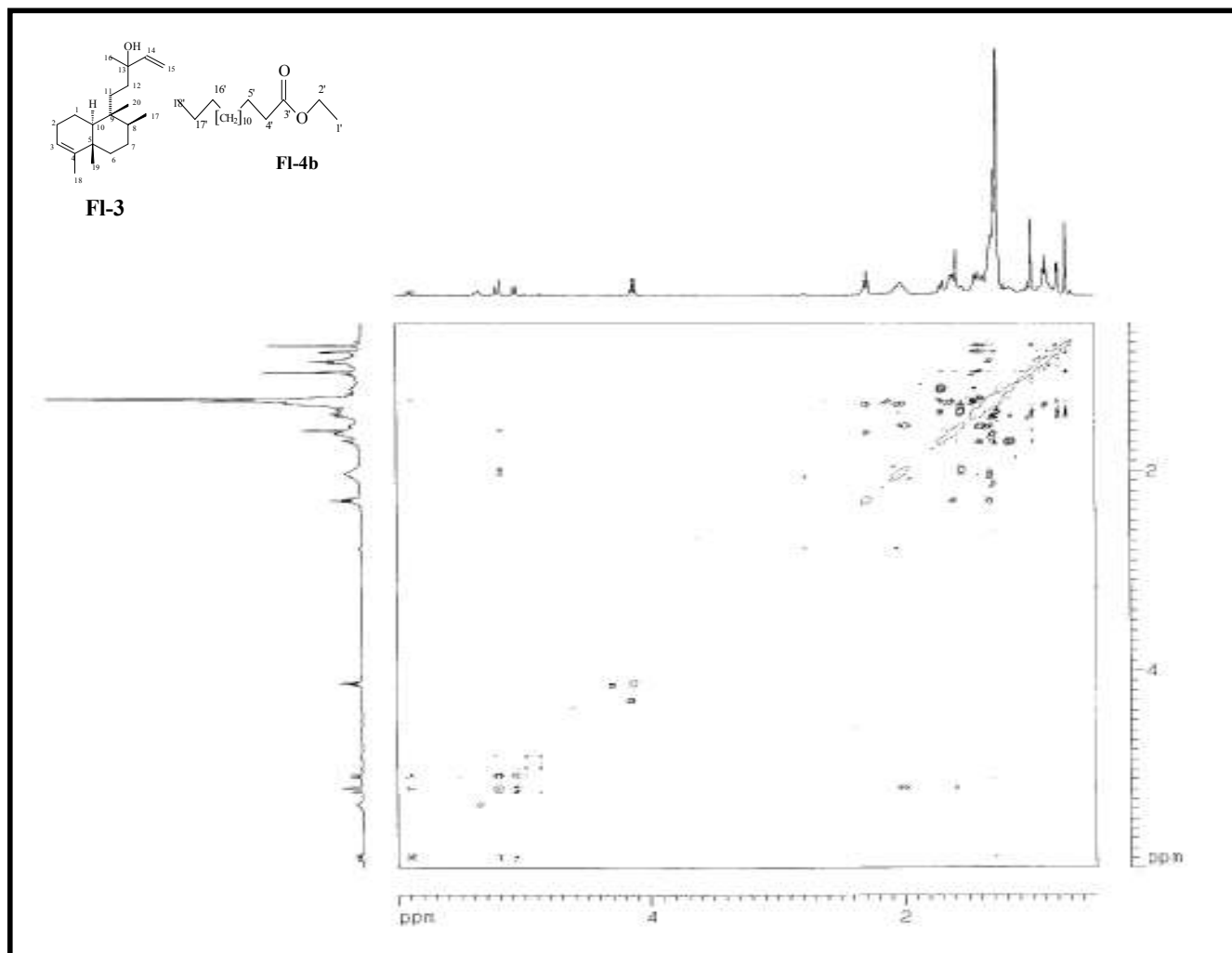


Figura 58 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -NOESY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura **FI-4**

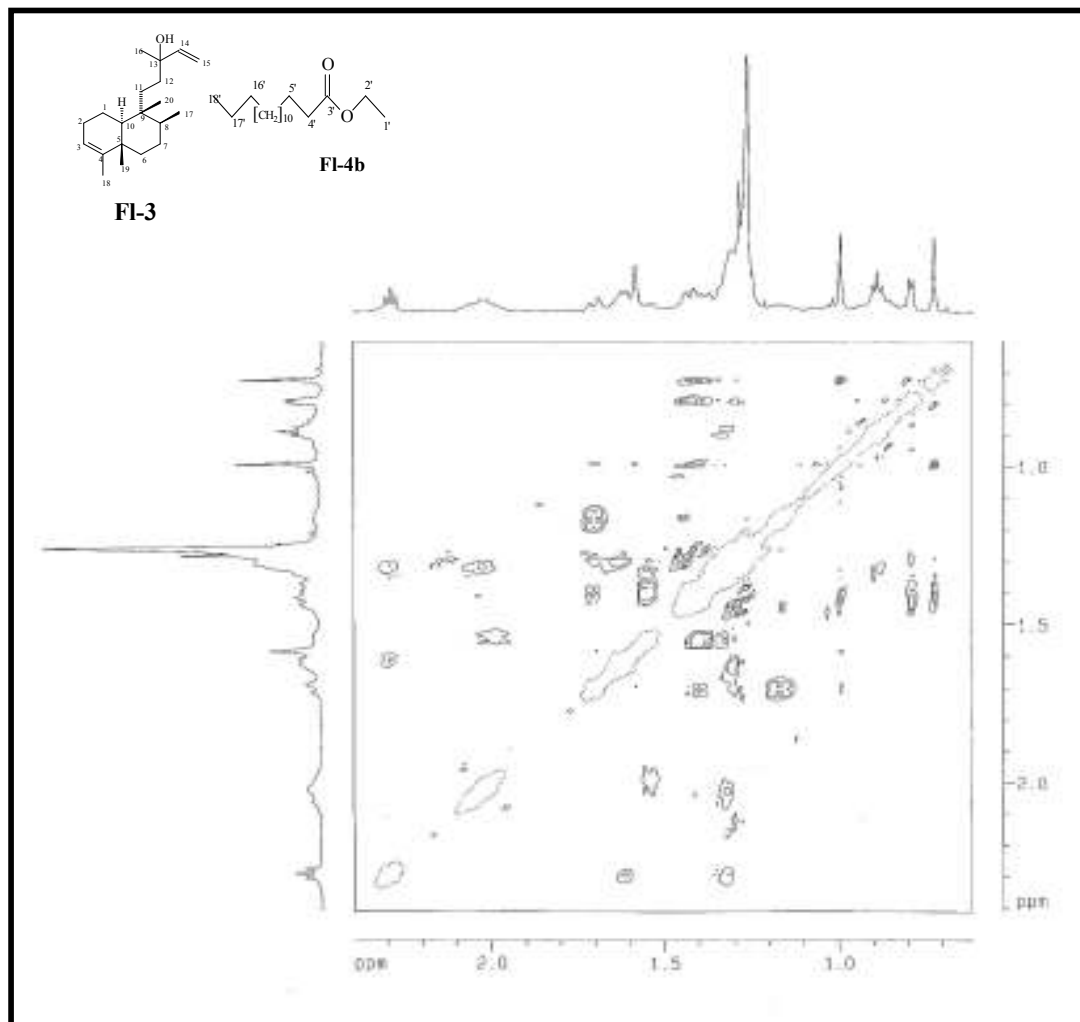


Figura 59 - Expansão do espectro de RMN ^1H x ^1H -NOESY na região entre 0,50 a 2,50 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da mistura **FI-4**

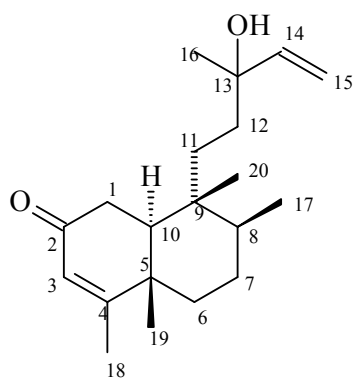
4.6 Caracterização estrutural de FI-5

O espectro de IV da substância **FI-5** (Figura 60, pág. 123) mostrou bandas de deformações moleculares que se assemelham, em sua maioria, àquelas observadas para a substância codificada como **FI-3** (Figura 21, pág. 83), todavia, sua diferença significativa consistiu na presença de uma banda intensa em $1654,92\text{ cm}^{-1}$, cuja frequência é característica para deformação axial de grupo carbonila α , β insaturado (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000), sugestiva, portanto, da presença deste grupo na molécula de **FI-5**.

Os espectros de RMN ^1H de **FI-5** e suas expansões (Figuras 61 a 64, págs. 124 a 125) mostraram feições bastante semelhantes aqueles da substância **FI-3** (Figura 22, pág. 84), o que permitiu sugerir um esqueleto do tipo clerodano para a substância em análise. Três singletos e dois dubletos (3H) foram evidenciados em $\delta_{\text{H}} 1,24$, $\delta_{\text{H}} 1,06$, $\delta_{\text{H}} 0,76$ e $\delta_{\text{H}} 1,83$ ($J= 1,50$ Hz) e $\delta_{\text{H}} 0,79$ ($J= 6,00$ Hz), respectivamente, referentes a cinco metilas, sendo uma delas olefínicas ($\delta_{\text{H}} 1,83$) (NAGASHIMA et al., 2001), lembrando, portanto, a mesma feição das substâncias **FI-3** e **FI-4a** onde a metila C-18 encontra-se no C-4. Sinais referentes a hidrogênios olefínicos também se fizeram presentes, estando três deles ($\delta_{\text{H}} 5,82$, dd, $J=17,30$ e $10,50$ Hz); $\delta_{\text{H}} 5,14$ (dd, $J=17,30$ e $1,00$ Hz) e $\delta_{\text{H}} 5,02$ (dd, $J=10,50$ e $1,00$ Hz) acoplando *trans*, *cis* e geminalmente. O outro sinal olefínico da substância em análise se encontra mais desprotegido ($\delta_{\text{H}} 5,67$, d, $J=1,50$ Hz), o que sugeriu uma modificação no ambiente químico do hidrogênio da posição C-3 de **FI-5**, quando comparado com este hidrogênio nas estruturas **FI-3** (Tabela 4, pág. 81) e **FI-4a** (Tabela 6, pág. 101). Esta modificação no ambiente químico do H-3 de **FI-5**, levou a propor que o grupo carbonila sugerido pelo espectro de IV (Figura 60, pág. 123) deve estar localizado no carbono C-2, uma vez que o C-4 é do tipo sp^2 e possui como substituinte a metila C-18 (Tabela 9, pág. 121).

Os espectros de RMN ^{13}C de **FI-5**, utilizando a técnica APT (Figuras 65 a 68, págs. 127 a 129) também se mostraram semelhantes aos de **FI-3** (Figura 26, pág. 86) e **FI-4a**

(Figura 47, pág. 107) no que tange aos carbonos do ciclo B e da parte terminal da molécula em discussão (Tabela 4, pág. 81 e Tabela 9, pág. 121), respectivamente, entretanto os picos correspondentes aos carbonos do anel A mostraram diferenças de até mais de 15 ppm, o que fortalece a sugestão feita anteriormente, da presença de um grupo carbonila α, β insaturada no carbono 2. O fortalecimento desta sugestão deveu-se ao fato da semelhança entre a absorção do C-1 da substância em análise com o modelo Mo-1 e a diferença entre o referido carbono em **FI-5** (δ_C 34,76) e **FI-4a** (δ_C 18,45) (Tabela 9, pág. 121). Picos em δ_C 200,49, δ_C 125,45 e δ_C 172,62, semelhantes aos do composto **FI-2** (δ_C 198,84 C-2; δ_C 123,61 C-3 e δ_C 171,94 C-4) e comparações com dados da literatura (Tabela 9, pág. 121) corroboraram as sugestões anteriores para a presença de carbonila α, β insaturada na posição C-2 da substância em definição estrutural. O sinal da metila 19 também foi evidenciado, caracterizando uma configuração *trans* entre os anéis A e B (NAGASHIMA et al., 2001; BECKER et al., 2004) Tabela 10, pág. 117). A partir destes dados e comparação com a literatura, foi possível propor a estrutura abaixo para a substância codificada como **FI-5**:



➤ **Figura 69** - Proposta estrutural para **FI-5**

Os espectros de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (Figuras 70 a 72, págs. 130 e 131) mostraram correlações diretas em δ_H 5,67 d / δ_C 125,45; δ_H 5,82 (dd) / δ_C 144,79; δ_H 5,14 (dd) / δ_C 112,02 e δ_H 5,02 (dd) / δ_C 112,02, inerentes aos hidrogênios e carbonos olefinicos das

posições C-3, C-14 e C-15, respectivamente. Observou-se também acoplamentos dos hidrogênios metílicos com os seus respectivos carbonos (Tabela 10, pág. 122).

Os espectros de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (Figuras 73 a 75, págs. 132 e 133) revelaram acoplamento entre os hidrogênios 14/15a e 14/15b (δ_{H} 5,82 dd / δ_{H} 5,02 dd e δ_{H} 5,82, dd / δ_{H} 5,12 dd respectivamente), fortalecendo os acoplamentos *trans*, *cis* e geminados, citados anteriormente. Este espectro mostrou ainda acoplamento entre o H-3 (δ_{H} 5,67) e os hidrogênios da metila C-18 (δ_{H} 1,83), o que fortalece as propostas anteriores para H-3 olefínico α a carbonila e C-18 ligado a carbono sp^2 , β a carbonila (Tabela 9, pág. 121 e Tabela 10, pág. 122).

A análise dos espectros de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC e suas expansões (Figuras 76 a 79, págs. 134 a 136) permitiu estabelecer uma correlação a duas e três ligações entre os hidrogênios olefínicos nas posições 14 e 15 com o carbono C-13 (δ_{H} 5,82 / δ_{C} 73,07, δ_{Ha} 5,02 e δ_{Hb} 5,14 / δ_{C} 73,07, respectivamente), além de uma correlação J^2 entre o hidrogênio na posição 15b com o carbono C-14 (δ_{H} 5,14 / δ_{C} 144,79) e correlações a duas e três ligações entre o hidrogênio da posição 14 com os carbonos das posições C-13 e C-16 (δ_{H} 5,14 / δ_{C} 73,07 e δ_{H} 5,14 / δ_{C} 27,83, respectivamente), justificando, portanto, as posições sugeridas e os deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos C-14 e C-15. Os hidrogênios da posição 1 se correlacionam a duas ligações com o carbono carbonílico na posição C-2 (δ_{H} 2,30 / δ_{C} 200,49) e o hidrogênio da posição 10 apresenta correlação a três ligações com este mesmo carbono (δ_{H} 1,75 / δ_{C} 200,49). Ainda se observa nestes espectros uma correlação J^2 entre os hidrogênios olefínicos das posições 3 com o carbono também olefínico da posição C-4 (δ_{H} 5,67 / δ_{C} 172,62), além de correlações a três ligações entre os hidrogênios das posições 18 com o carbono C-3 (δ_{H} 1,83 / δ_{C} 125,45) e do hidrogênio da posição 3 com o carbono metílico da posição C-18 (δ_{H} 5,67 / δ_{C} 18,87), ratificando, portanto a localização de um grupo cetona α , β insaturado no carbono 2 da molécula de **FI-5** (Tabela 10, pág. 122).

Os espectros de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (Figuras 80 e 81, págs. 137 e 138) confirmaram a orientação β das metilas 19 e 20 (δ_{H} 1,06 s e δ_{H} 0,76 s) através de seus acoplamentos espaciais, certificando assim que o composto pertence à série *ent* e possui a estrutura abaixo.

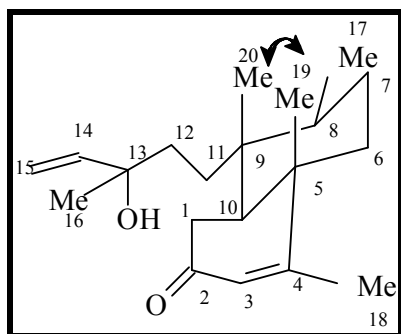
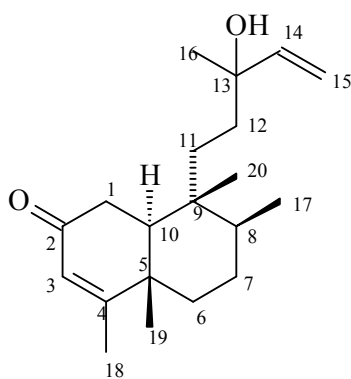


Figura 82 - Interação NOE para **FI-5**

Diante de todos os dados expostos (Tabelas 9 e 10, págs. 121 e 122), a substância **FI-5** pôde ser identificada como: 13-hidróxi- 2-oxo-*trans-ent*-cleroda-3,14-dieno, outro diterpeno clerodânico isolado anteriormente em plantas e esponjas (LOPES, et al, 1999 e UMEYAMA et al, 1996, respectivamente), porém isolado pela primeira vez na família Flacourtiaceae.

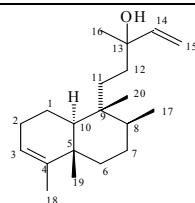


FI-5

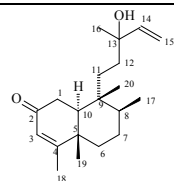
ent-13-hidróxi-2-oxo-*trans*-cleroda-3,14-dieno

Tabela 9 - Dados comparativos de RMN¹H e RMN¹³C da substância **FI-5** (δ , CDCl₃, 500 e 125 MHz, Hz) com **FI-4a** (δ , CDCl₃, 500 e 125 MHz) modelo Mo-1 (UMEYAMA et al., 1996)

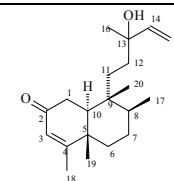
Carbonos



FI-4a (=FI-3)



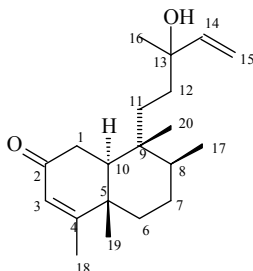
Mo-1 (trans-ent-Kolavelona)



FI-5

C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
1	-	18,47	-	34,80	-	34,83
2	-	27,09	-	200,60	-	200,49
3	5,18 (s)	120,63	5,71 (s)	125,50	5, 67 (d, $J=1,50$)	125,45
4	-	144,79	-	172,60	-	172,62
5	-	37,08	-	39,80	-	39,81
6	-	36,41	-	35,60	-	35,58
7	-	27,69	-	26,90	-	26,85
8	-	18,70	-	35,90	-	35,90
9	-	38,58	-	38,30	-	38,34
10	-	46,57	-	45,60	-	45,64
11	-	32,06	-	31,20	-	31,21
12	-	36,41	-	34,80	-	34,78
13	-	73,60	-	73,10	-	73,07
14	5,89 (dd, $J=17,40$ e $10,80$)	145,33	5,85 (dd, $J=16,60$ e $10,30$)	144,90	5,82 (dd, $J=17,30$ e $10,50$)	144,79
15a	5,06 (d, $J=17,30$)	112,03	5,06 (dd, $J=10,30$ e $1,50$)	112,00	5,02 (dd, $J=10,50$ e $1,00$)	112,02
15b	5,20 (d, $J=17,30$ e $10,80$)	-	5,20 (dd, $J=16,60$ e $1,50$)	-	5,14 (dd, $J=17,30$ e $1,00$)	-
16	1,28 (s)	28,04	1,26 (s)	27,80	1,24 (s)	27,83
17	0,79 (d, $J=5,65$)	16,15	0,81 (d, $J=5,90$)	15,70	0,79 (d, $J=6,05$)	15,63
18	1,58 (s)	18,21	1,88 (d, $J=1,50$)	18,90	1,83 (d, $J=1,50$)	18,87
19	0,99 (s)	20,16	1,10 (s)	18,30	1,06 (s)	18,31
20	0,72 (s)	18,71	0,80 (s)	18,00	0,76 (s)	17,94

Tabela 10 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz, Hz, respectivamente) de **Fl-5**



Fl-5	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$
	HMQC		HMBC			NOESY
C	δ_{H}	δ_{C}	J^2	J^3		
1	2,30 (s)	34,83	-	C-2	-	-
2	-	200,49	-	-	-	-
3	5, 67 (d, $J=1,50$)	125,45	-	C-2	C-18	-
4	-	172,62	-	-	-	-
5	-	39,81	-	-	-	-
6	1,30 (m)	35,58	-	-	-	-
7	1,46 (m)	26,85	-	-	-	-
8	1,44 (m)	35,90	-	-	-	-
9	-	38,34	-	-	-	-
10	1,75 (t)	45,64	-	-	-	-
11	1,24 (m)	31,21	-	-	-	-
12	1,26 (m)	34,78	-	-	-	-
	1,35 (m)					
13	-	73,07	-	-	-	-
14	5,82 (dd, $J=17,30$ e $10,50$)	144,79	-	C-16	H-15a e H-15 b	-
15a	5,02 (dd, $J=10,50$ e $1,00$)	112,02	C-14	-	H-14	-
15b	5,14 (dd, $J=17,30$ e $1,00$)	-	C-14	-	H-14	-
16	1,24 (s)	27,83	-	C-14	-	-
17	0,79 (d, $J=6,05$)	15,63	-	-	-	-
18	1,83 (d, $J=1,50$)	18,87	-	-	-	-
19	1,06 (s)	18,31	-	-	-	H-20
20	0,76 (s)	17,94	-	-	-	H-19

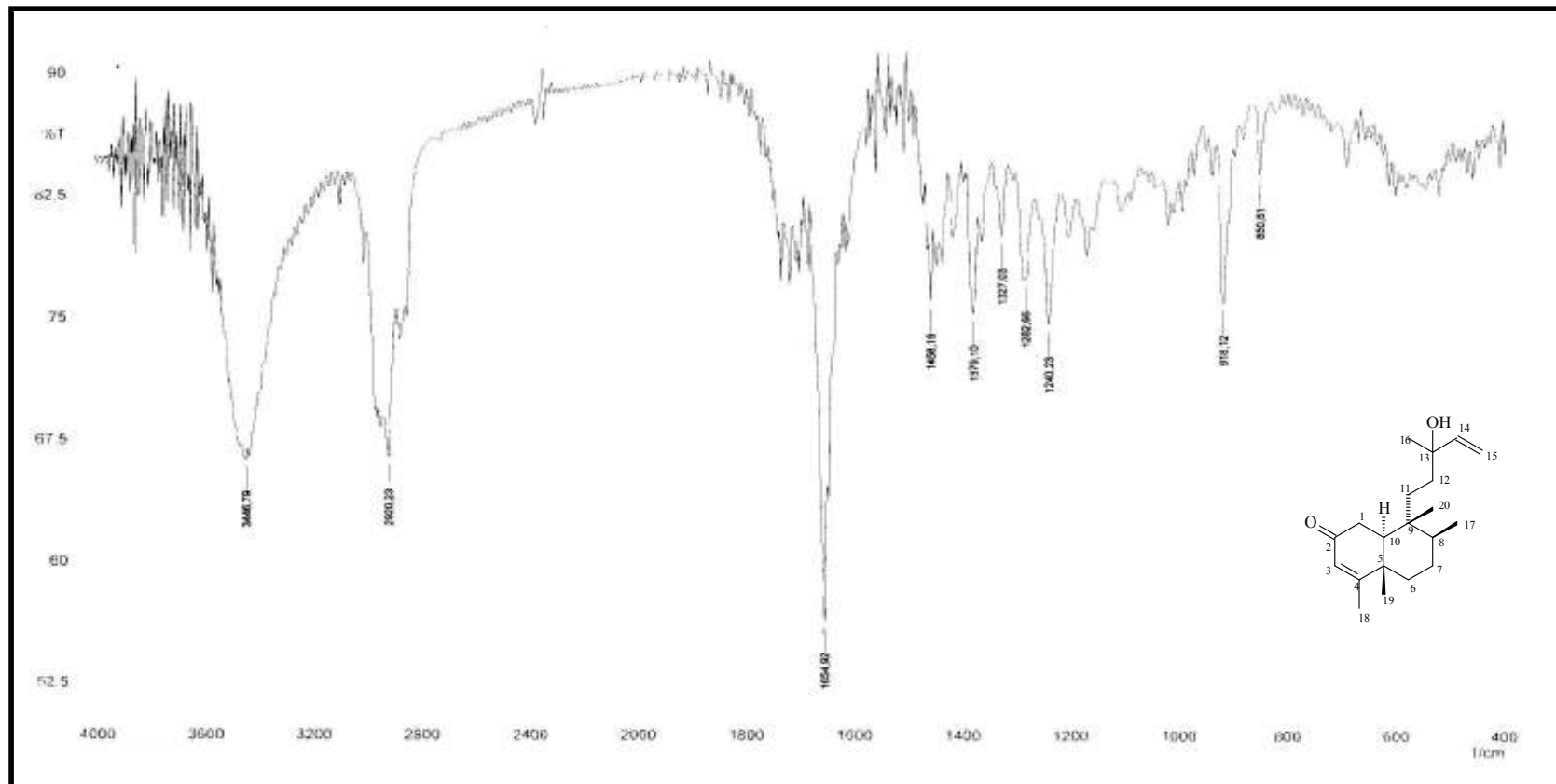


Figura 60 - Espectro no IV (KBr cm^{-1}) de FI-5

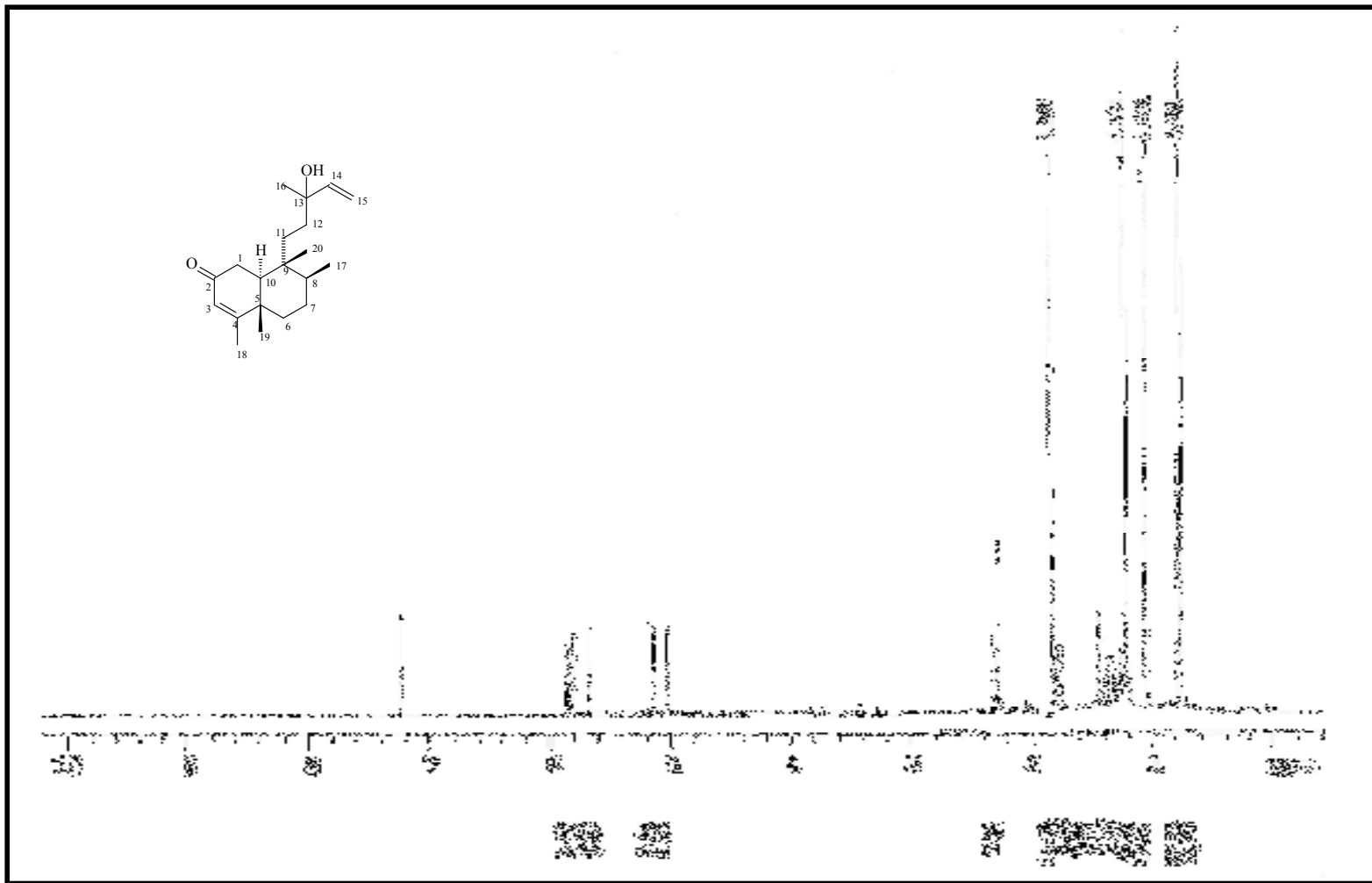


Figura 61 - Espectro de RMN ¹H (δ, CDCl₃, 500 MHz) de FI-5

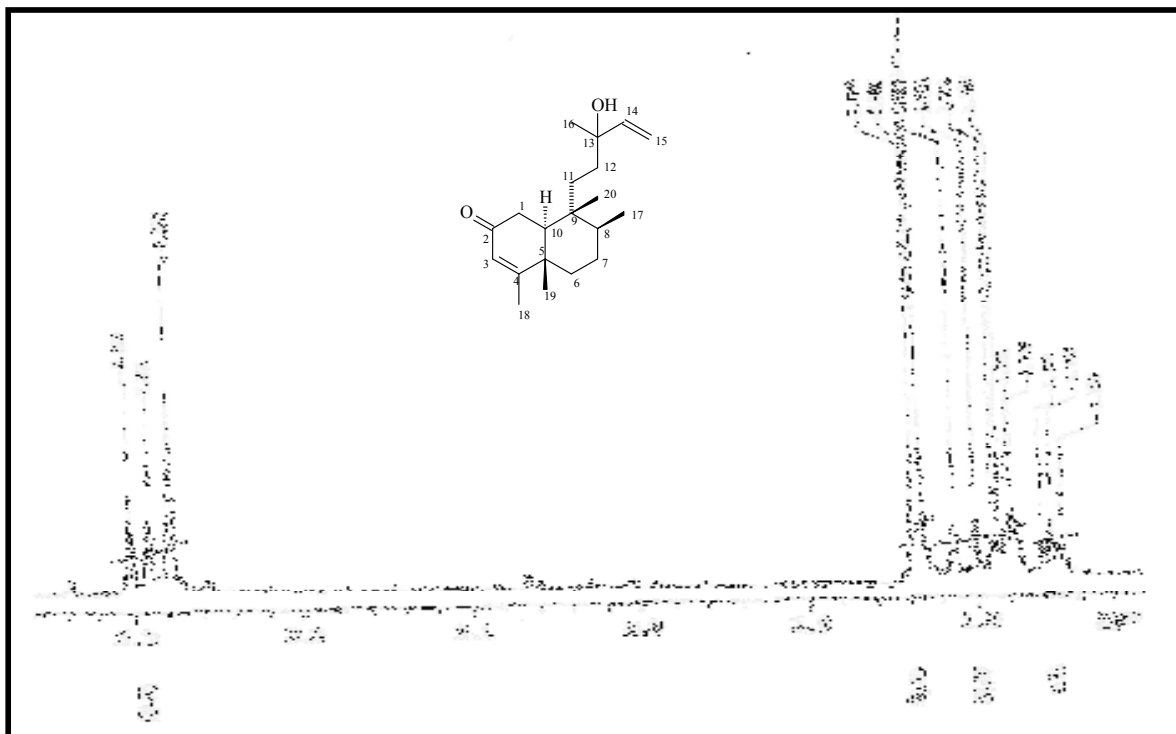


Figura 62 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 1,70 a 2,34 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5

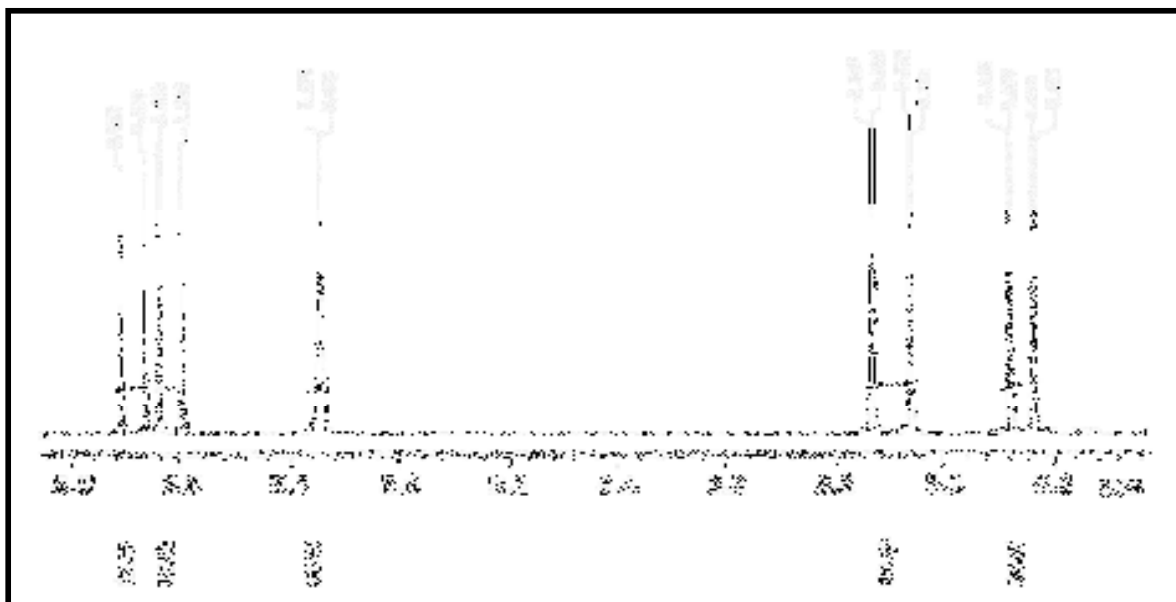


Figura 63 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre 4,90 a 5,90 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de FI-5

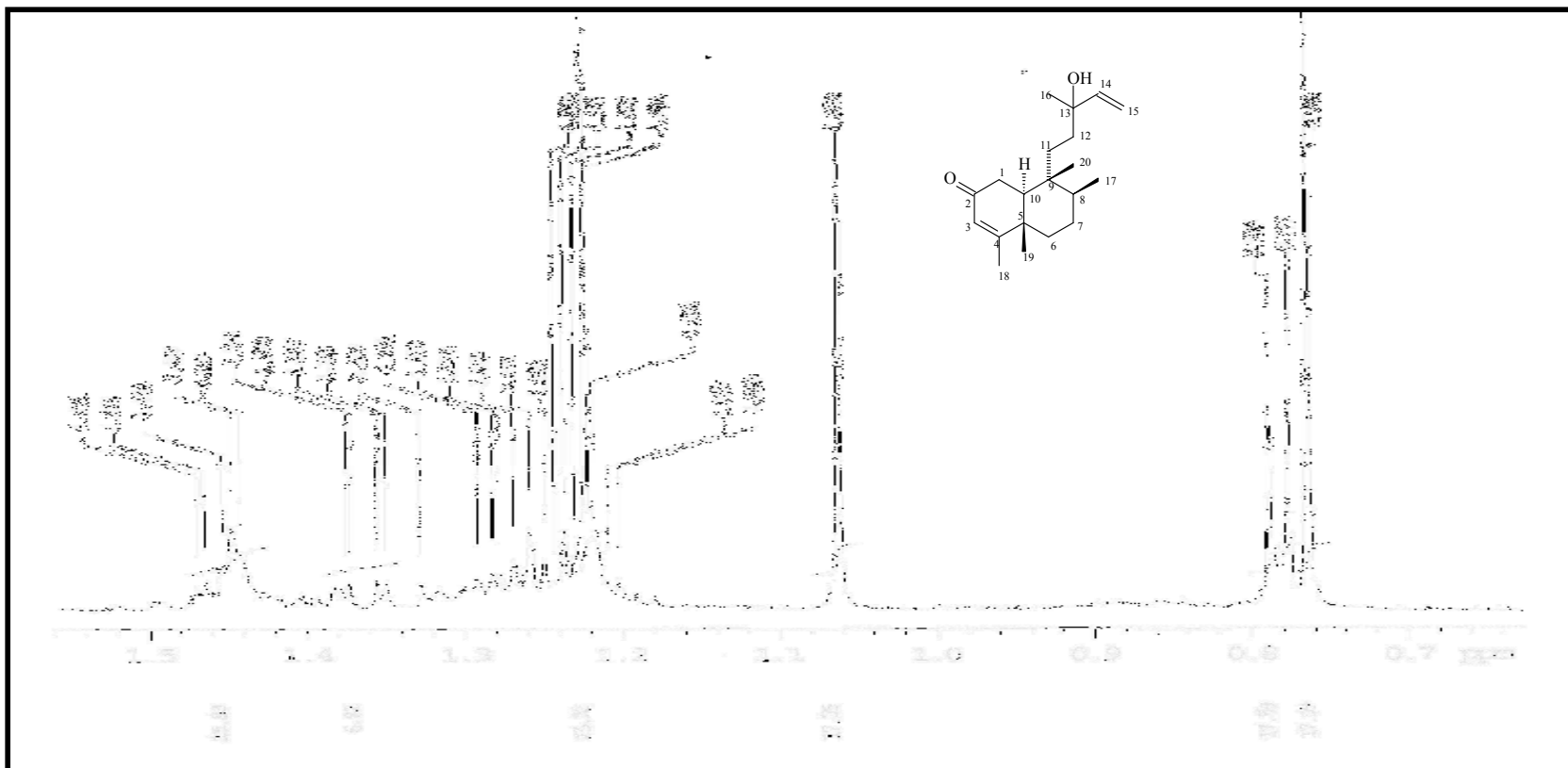


Figura 64 - Expansão do espectro de RMN ^1H na região de 0,60 a 1,54 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-5**

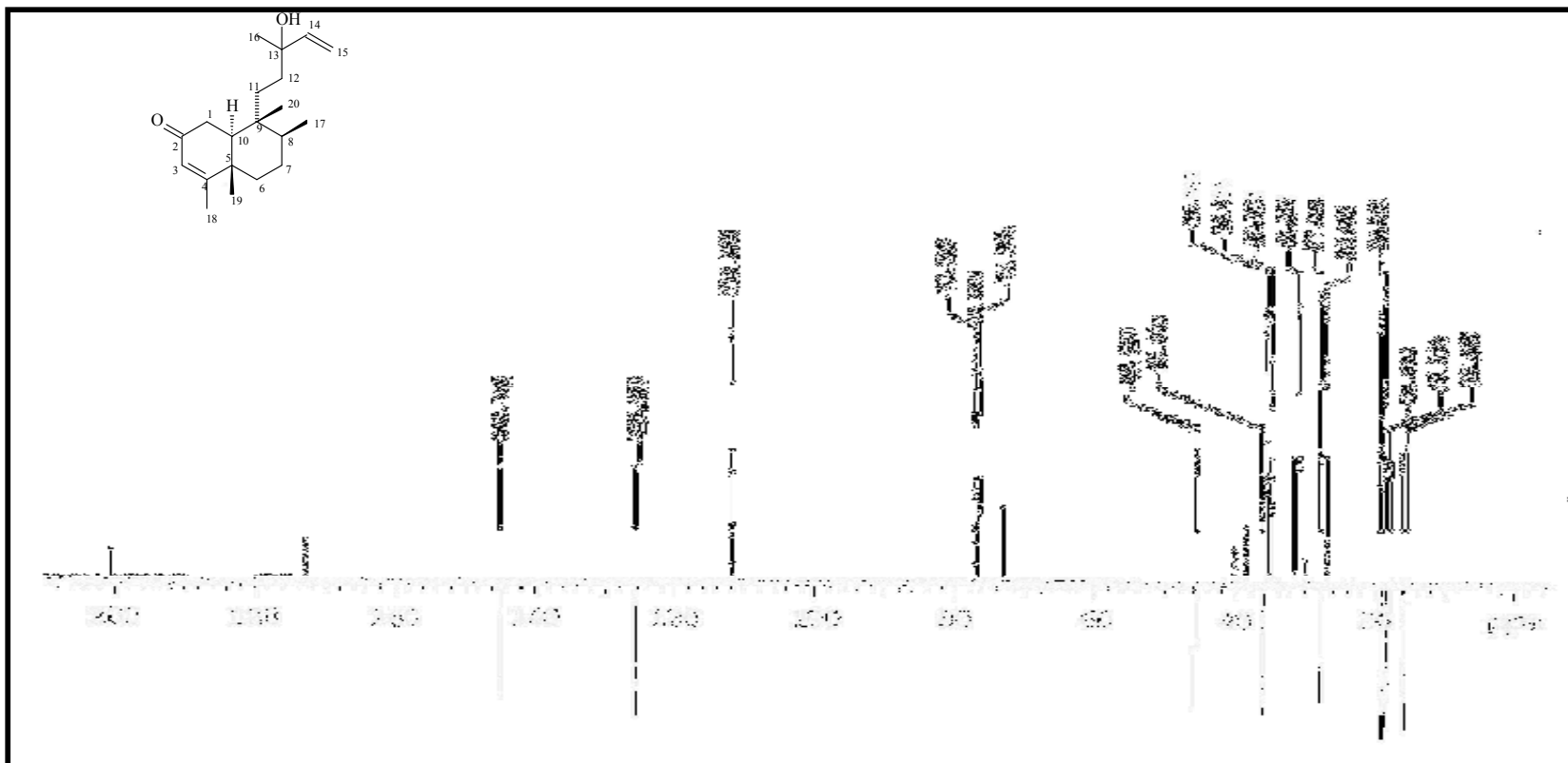


Figura 65 - Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de FI-5

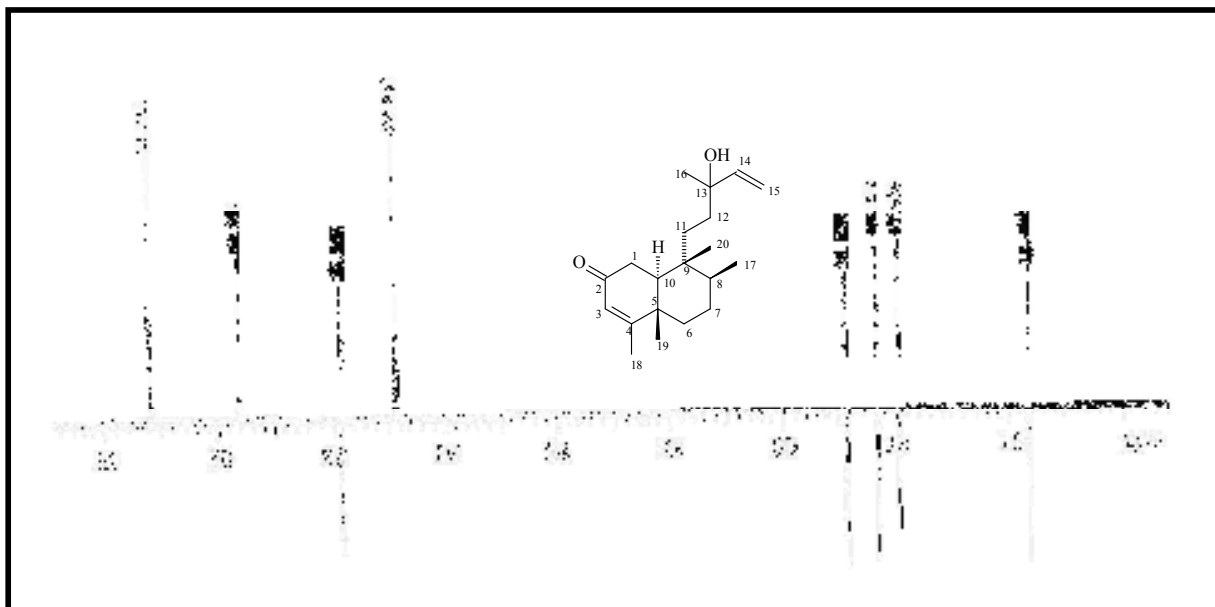


Figura 66 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT na região entre 14,00 a 32,00 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de **FI-5**

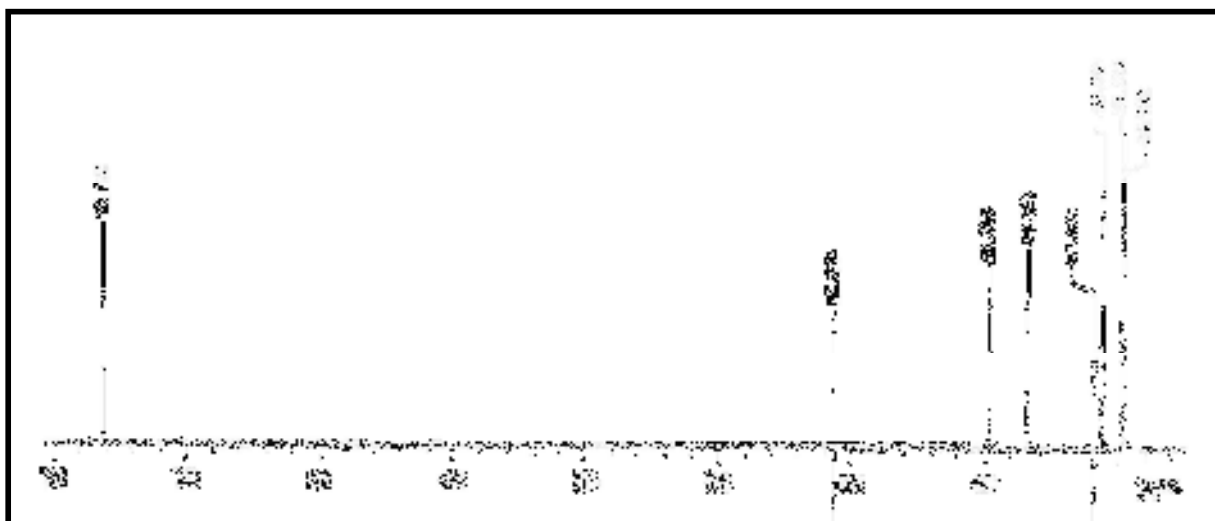


Figura 67 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT na região entre 30,00 a 75,00 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de **FI-5**

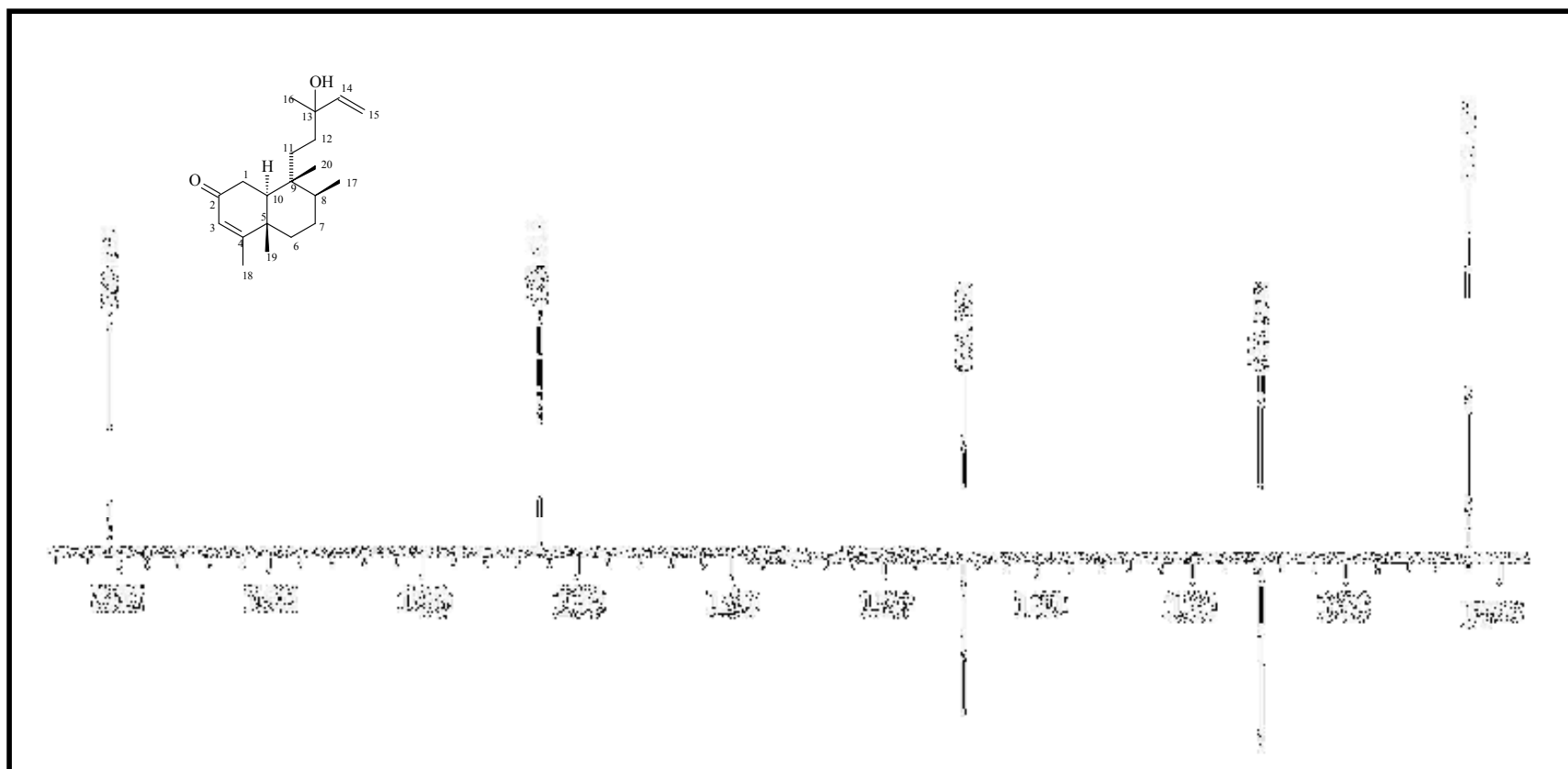


Figura 68 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT na região entre 110,00 a 204,00 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de **FI-5**

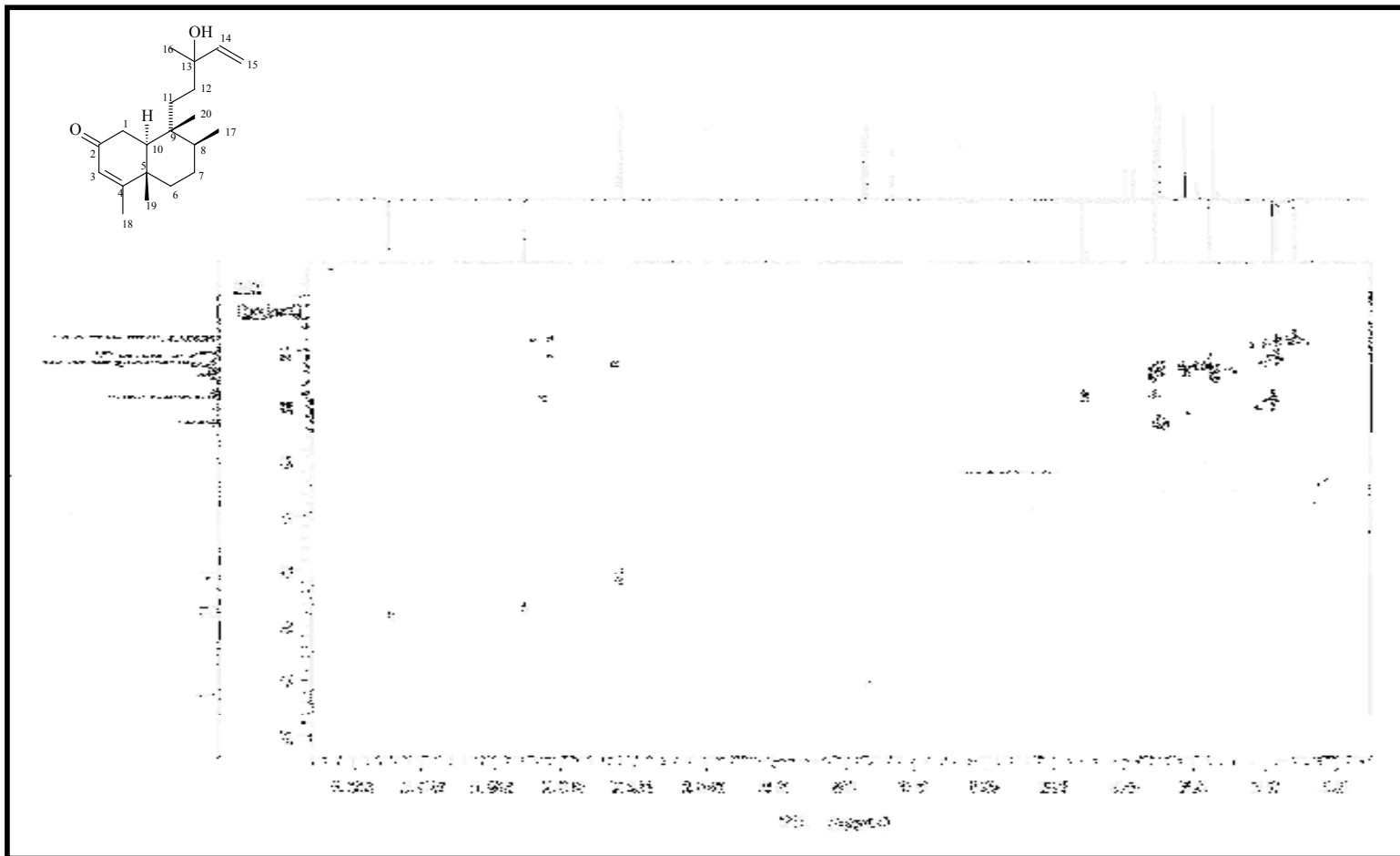


Figura 70 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMPC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-5**

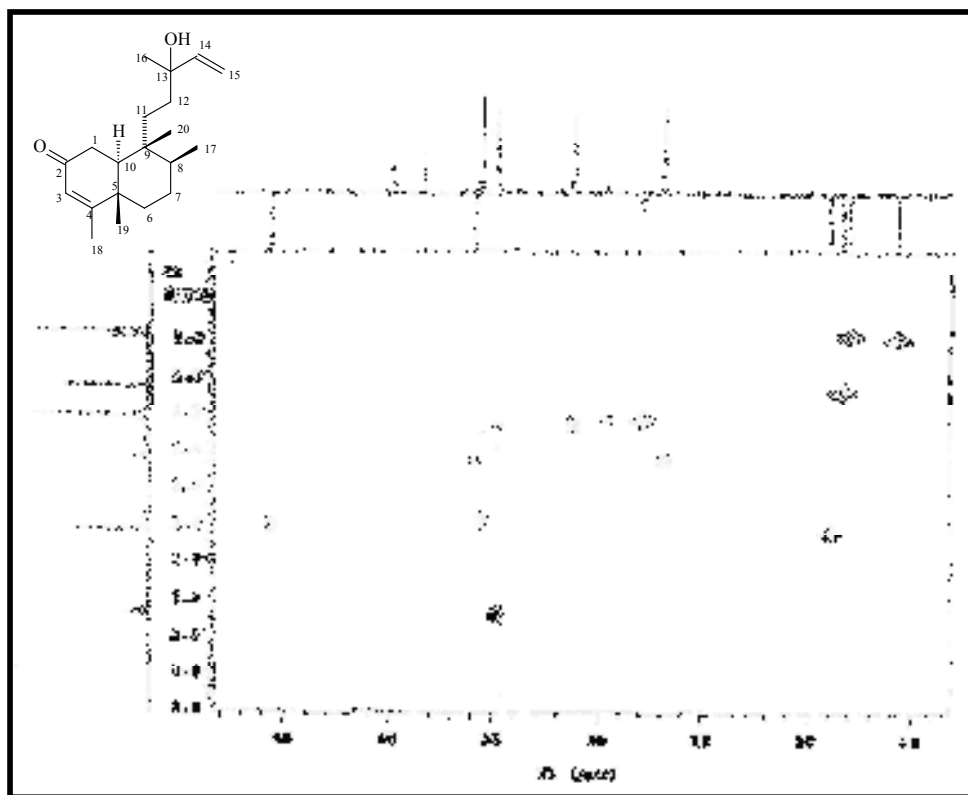


Figura 71 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC na região entre 0,60 a 2,80 x 1,50 a 5,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-5**

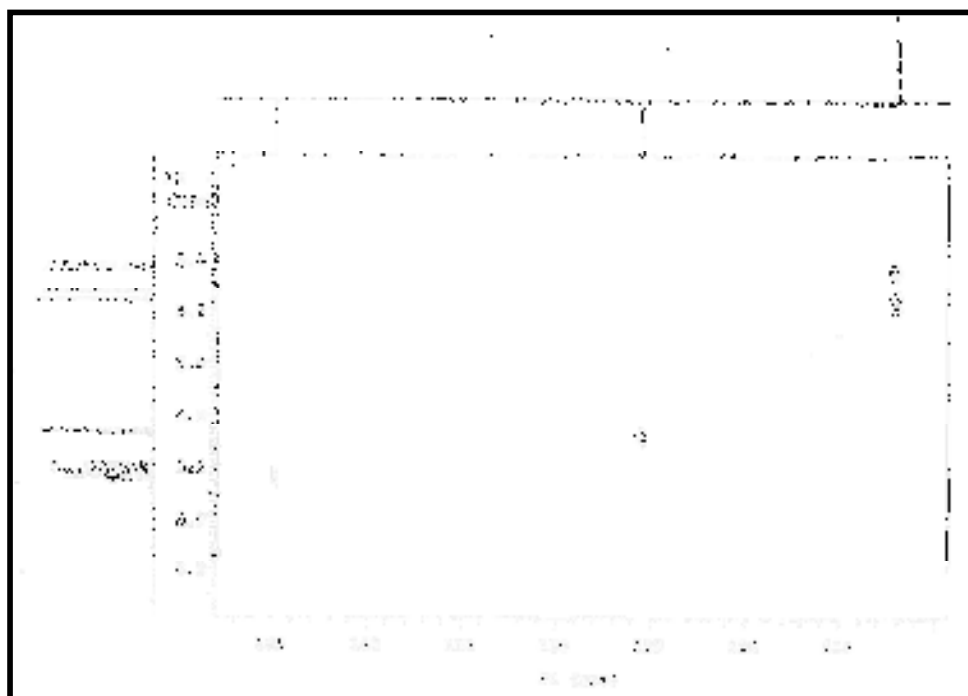


Figura 72 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC na região entre 5,00 a 6,20 x 11,00 a 15,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-5**

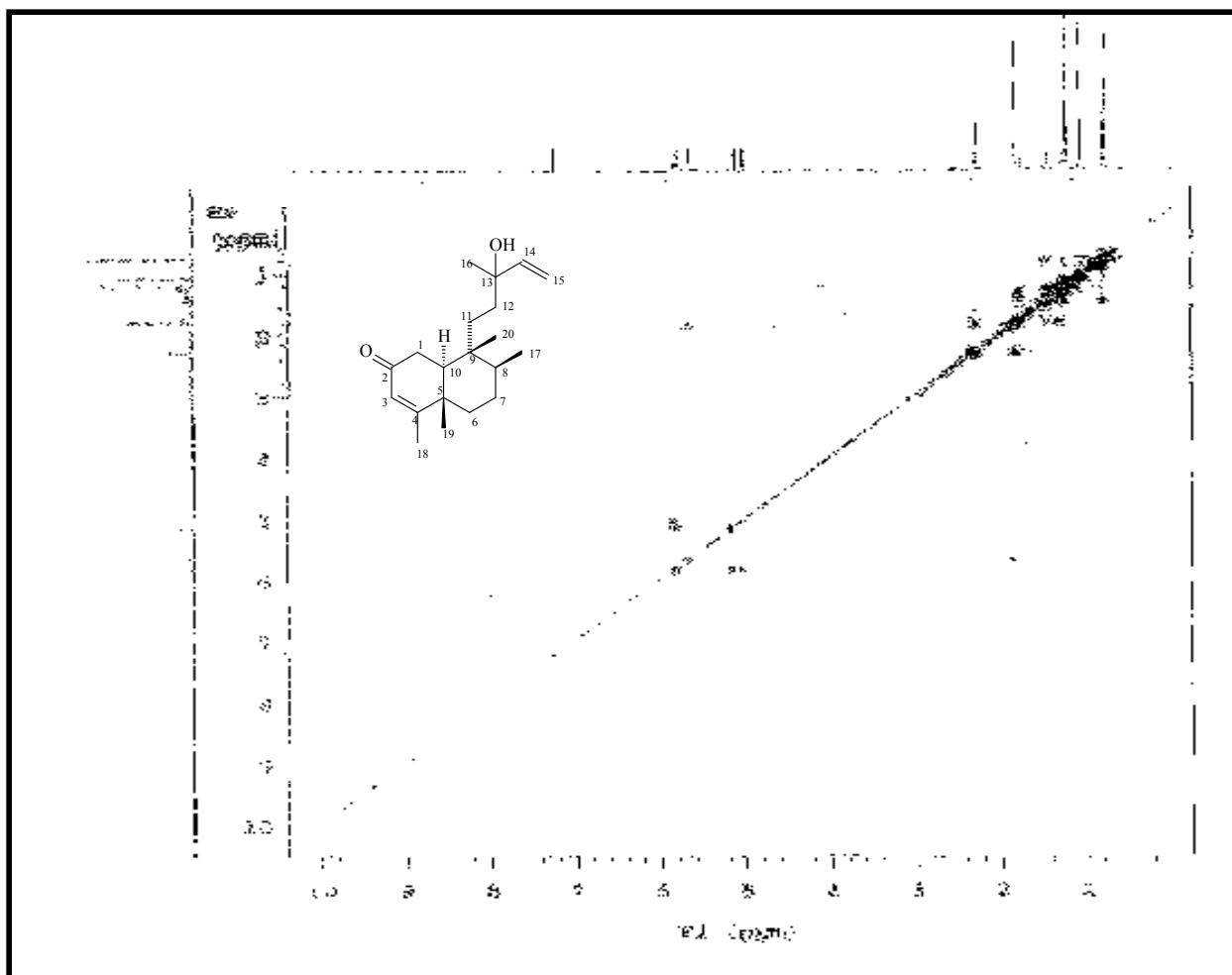


Figura 73 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de F1-5

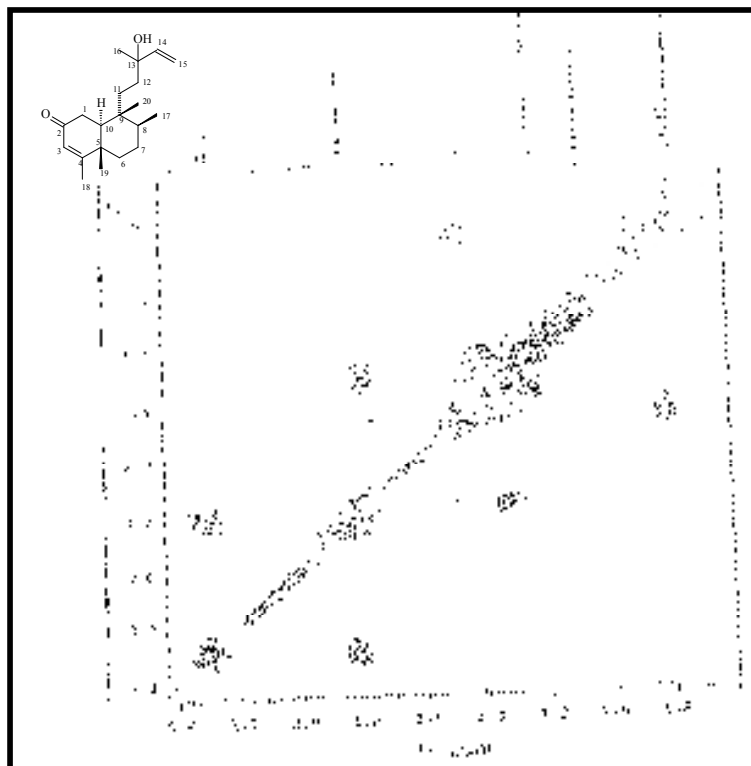


Figura 74 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY na região entre 0,90 a 2,40 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-5**

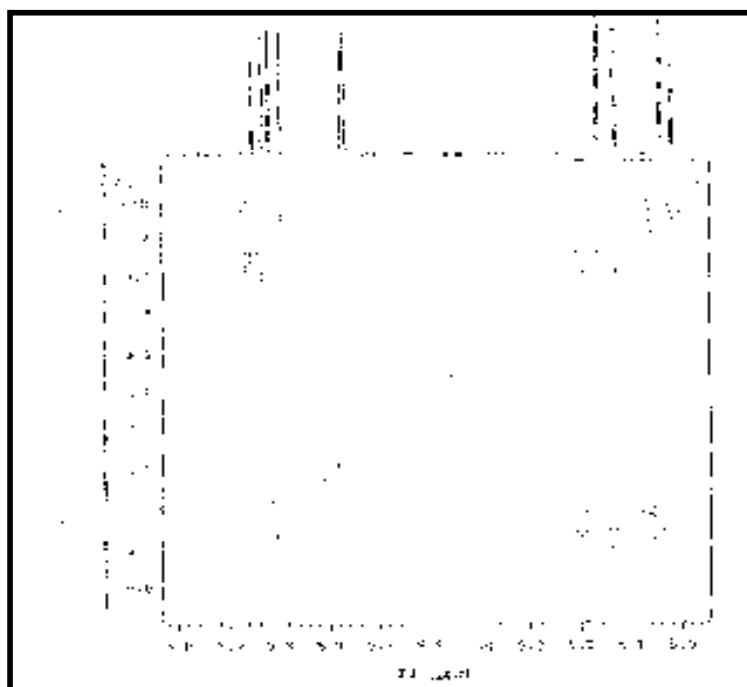


Figura 75 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY na região entre 5,00 a 6,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-5**

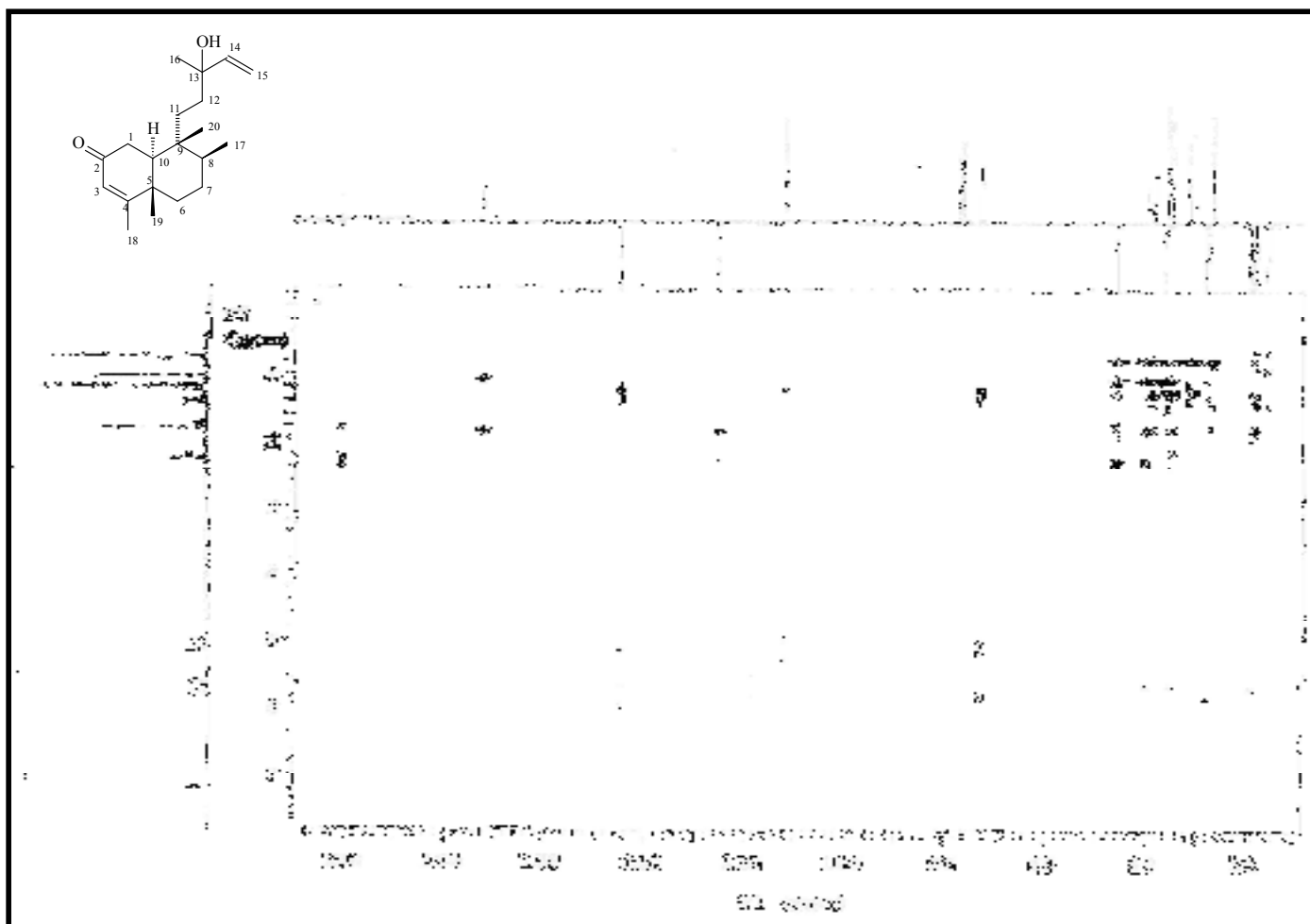


Figura 76 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-5**

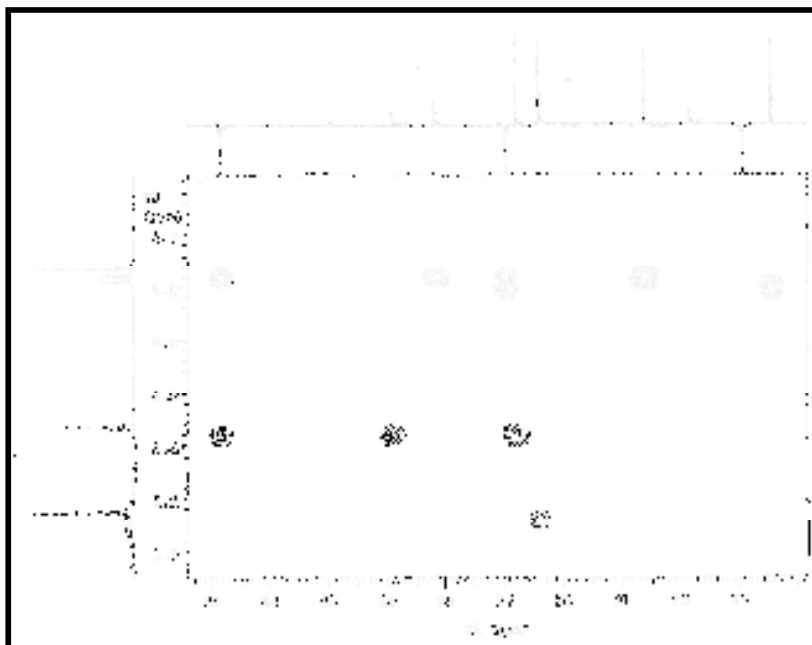


Figura 77 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -HMBC na região entre 0,60 a 1,30 x 26,00 a 46,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-5**

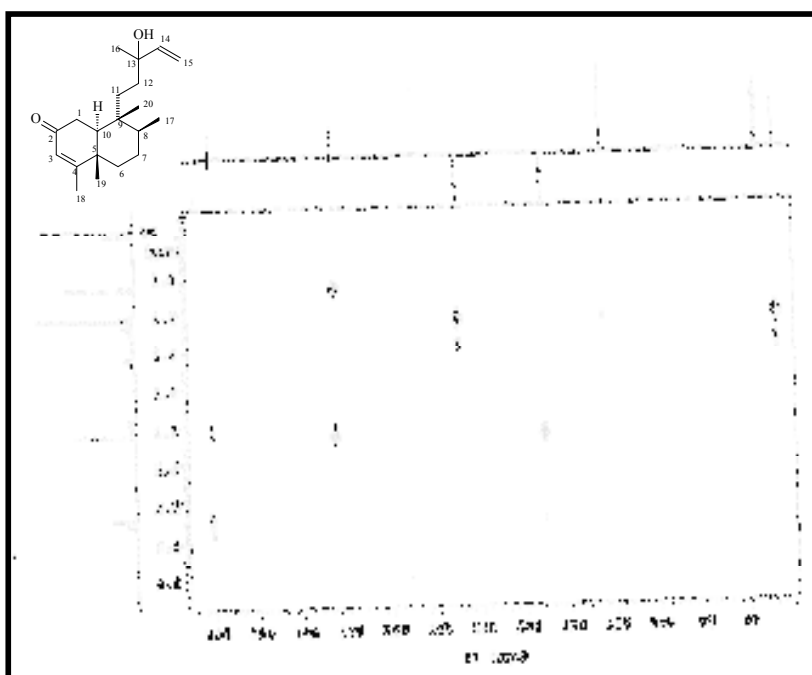


Figura 78 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -HMBC na região entre 0,80 a 2,60 x 70,00 a 200,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-5**

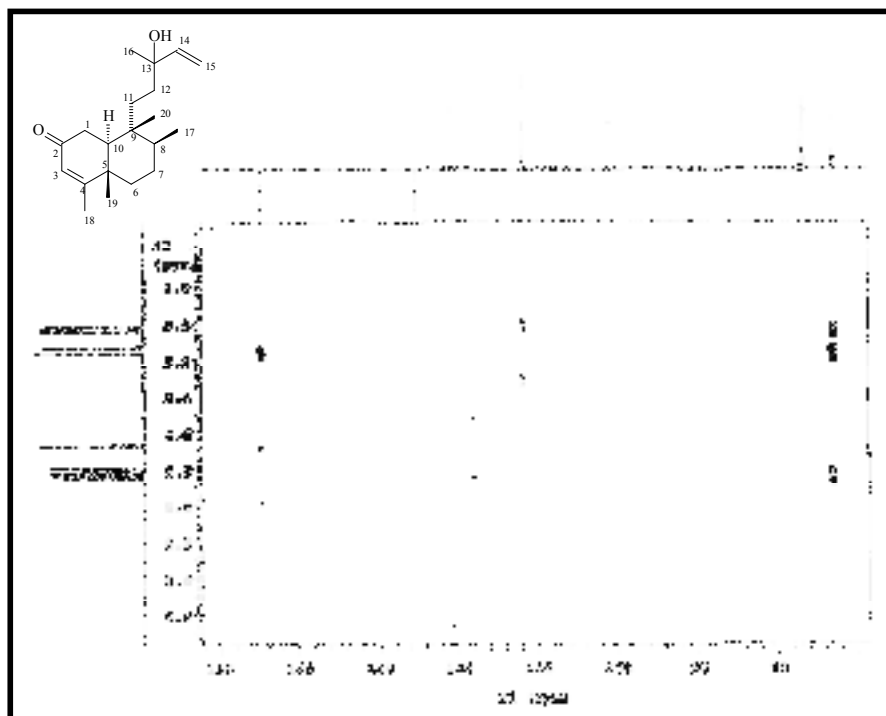


Figura 79 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC na região entre 4,60 a 6,60 x 70,00 a 150,00 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-5**

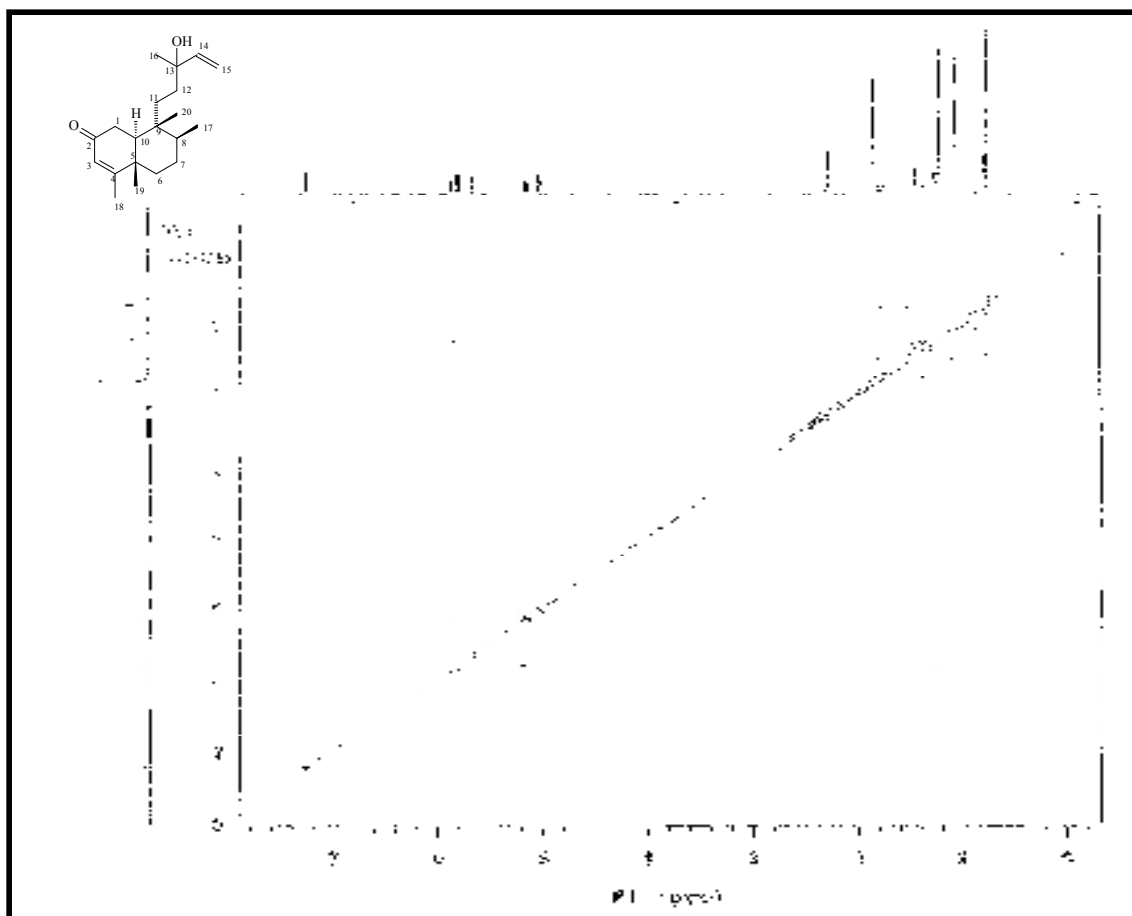


Figura 80 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-5**

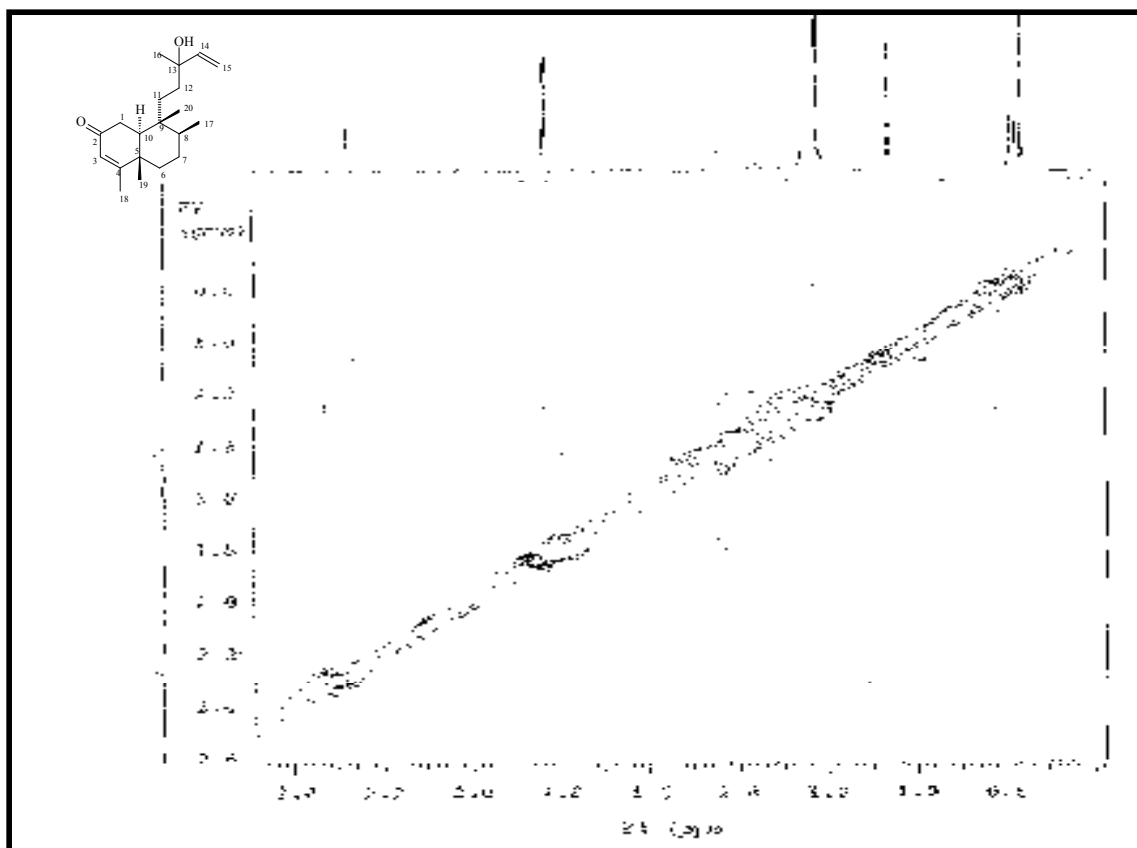


Figura 81 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY na região entre 0,60 a 2,40 x 0,60 a 2,60 (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **FI-5**

5 CONCLUSÕES

- A abordagem fitoquímica de *Casearia arborea* (Rich) Urb. (Flacourtiaceae), realizada através de métodos cromatográficos usuais e técnicas espectroscópicas de IV, RMN ¹H e ¹³C uni e bidimensionais em conjunto com os dados da literatura, possibilitou contribuir para o conhecimento quimiotaxonômico desta família, uma vez que foram isoladas e identificadas cinco substâncias, sendo elas: dois esteróides Estigmast-5-en-3 β-ol (**FI-1**) e Estigmast-4-en-3-ona (**FI-2**), dois diterpenos *ent*-13-hidróxi-*trans*-cleroda-3,14-dieno (**FI-3**) e *ent*-13-hidróxi-2-oxo-*trans*-cleroda-3,14-dieno (**FI-5**) e uma mistura do diterpeno *ent*-13-hidróxi-*trans*-cleroda-3,14-dieno (**FI-4a=FI-3**) e do éster hexadecanoato de etila (**FI-4b**);

- As substâncias *ent*-13-hidróxi-*trans*-cleroda-3,14-dieno (**FI-3**), *ent*-13-hidróxi-2-oxo-*trans*-cleroda-3,14-dieno (**FI-5**) e a mistura de *ent*-13-hidróxi-*trans*-cleroda-3,14-dieno (**FI-4a**) com o hexadecanoato de etila (**FI-4b**) estão sendo descritas pela primeira vez na família Flacourtiaceae;

- Este trabalho possibilitou o isolamento pioneiro das substâncias Estigmast-5-en-3 β-ol (**FI-1**) e Estigmast-4-en-3-ona (**FI-4**) em *Casearia arborea* (Rich.) Urb.;

- Baseando-se nas várias atividades farmacológicas, relatadas pela literatura, das classes das substâncias isoladas e identificadas de *Casearia arborea* (Rich.) Urb. (Quadro 1, pág. 32), se faz necessário a disponibilização destas para as equipes da Farmacologia, possibilitando assim a definição de sua (s) atividade (s) farmacológica (s).

REFERÊNCIAS

ALVIM, N. A. T.; FERREIRA, M. A.; CABRAL, I. E.; ALMEIDA-FILHO, A. J. O uso de plantas medicinais como recurso terapêutico: das influências da formação profissional à implicações éticas e legais da sua aplicabilidade como extensão da prática de cuidar realizada pela enfermeira. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**. v. 14, n. 3, 2006.

ALVINO, F. O.; SILVA, M. F. F.; RAYOL, B. P. Potencial de uso das espécies arbóreas de uma floresta secundária, na Zona Bragantina, Pará, Brasil. **Acta Amazônica**. v. 35, n. 4, p. 413-420, 2005.

ARAÚJO, M. G. Atividade antiinflamatória e antinociceptiva. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v. 80, n. 2, p. 199-202, 2005.

ARBOLESORNAMENTALES.COM. Disponível em:
<www.arbolesornamentales.com/Flacourtiaceae.htm> Acesso em: 14/01/2008.

BAKER, D. A.; DOUGLAS, J. M.; MICHA, J. P.; BEUTNER, K. R.; PATSNER, B. Topical podofilox for the treatment of condylomata acuminata in women. **Obstetrics and Gynecology**. v. 76, n. 4, p. 656-659, 1990.

BECKER, H.; BLÄS, B.; ZAPP, J. *ent*-Clerodane diterpenes and other constituents from the liverwort *Adelanthus lindenbergianus* (Lehm.) Mitt. **Phytochemistry**. v. 65, p. 127-137, 2004.

BORGES, A. H.; SOARES, A. M.; RODRIGUES, V. M.; OLIVEIRA, F.; FRANSCHESCHI, A. M.; RUCAVADO, A.; GIGLIO, J. R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M. I. Neutralization of proteases from *Bothrops* snake venoms by the aqueous extracts from *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae). **Toxicon**. v. 39, p. 1863-1869, 2001.

BOYD, M. R.; MCCALL, K. L.; HERBERT, K.; HERALD, D.; PETTIT, G.; JOHNSON, T.; SHOEMAKER, R. H. BEUTLER, J. A. Novel Cytotoxic Diterpenes from *Casearia arborea*. **Journal of Natural Products**. v. 63, p. 657-661, 2000.

BRUNETON, J. **Farmacognosia Fitoquímica Plantas Medicinales**. 2º ed. p. 653-664, Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, Espana, 2001.

CHAI, X. Y.; LU, Y. N.; REN, H. Y. ; TU, P. F. Advances in studies on chemical constituents and bioactivities of plants from flacourtiaceae. **China Journal of Chinese Materia Medica**. v. 31, n. 4, p. 269-279, 2006.

CHANG, K. C.; DUH, C. Y.; CHEN, I. S.; TSAI, I. L. A cytotoxic butenolide, two new dolabellane diterpenoids, a chroman and a benzoquinol derivate Formosan *Casearia membranacea*. **Planta Médica**. v. 69 n. 7, p. 667-672, 2003.

CHEN, T. B. & WIEMER, F. Corymbotins A-I: highly oxidized kolovane derivatives from *Casearia corymbosa*. **Journal of Natural Products**. v. 54, n. 6, p. 1612-1618, 1991.

DA CUNHA, A. P. M. A. **Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia**. 1 ed. Fundação Calouste Gulbenkian, 2003. in CAVALCANTE, J. M. S. **Substâncias esteroidais e fenólicas de *Sidastrum paniculatum* (L.) Fryxell (MALVACEAE)**. Dissertação defendida e aprovada

no Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros”/UFPB – 2006.

DAVID, J. P.; SANTOS, E. O.; MIRANDA, M. S.; BARREIROS, A. L. B. S.; SANTOS, I. D. Atividade antioxidante da epicatequina-(2 β →7,4 β →8)-epicatequina isolada de *Dioclea lasiophylla*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 12, p. 05-06, 2002.

GRAHAM, J. G.; PENDLAND, S. L.; PRAUSE, J. L.; DANZINGER, L. H.; SCHUNKE, J. V.; CABIESES, F.; FARNSWORTH, N. R. Antimycobacterial evaluation of Peruvian plants. **Phytomedicine**. 10, P. 528–535, 2003.

HAMBURGER, M. & HOSTETTMANN, K.; Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry**, v. 30, p. 3864-3874, 1991.

HUANG, D. M.; SHERB, Y. C.; WU, C.; HUANG, Y. T.; KUNG, F. L.; TENG, C. M.; GUH, J. H. Investigation of extrinsic and intrinsic apoptosis pathways of new clerodane diterpenoids in human prostate cancer PC-3 cells. **European Journal of Pharmacology**. v. 503, p. 17-24, 2004.

HUNTER, M. S.; CORLEY, D. G.; CARRON, C. P.; ROWOLD, E.; KILPATRICK, B. F.; DURLEY, R. C. Four new clerodane diterpenes from the leaves of *Casearia guianensis* which inhibit the interaction of leukocyte function Antigen 1 with intercellular adhesion Molecule 1. **Journal of Natural Products**. v. 60, p. 894-899, 1997.

HYDE, M.A. & WURSTEN, B. *Casearia*. **Flora of Zimbabwe**. Disponível em:
<http://www.zimbabweflora.co.zw/speciesdata/genus.php?genus_id=983> Acesso em:
11/01/2008.

ISHIKAWA, T.; NISHIGAYA, K.; TAKAMI, K.; UCHIKOSHI, H.; CHEN, I. S.; TSAI, I. L. Isolation of salicin derivatives from *Homalium cochinchinensis* and their Antiviral Activities. **Journal of Natural Products**. v.67, p. 659-663, 2004.

ITOKAWA, H.; TOTSUKA, N.; TAKEYA, K.; IITAKA, Y.; SCHENKEL, E. P.; MOTIDOME, M. New antitumor principles, casearins A-F, from *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae). **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**. v. 38, n. 12, p. 3384-3388, 1990.

IZIDORO, L. F. M.; RODRIGUES, V. M.; RODRIGUES, R.S.; FERRO, E. V.; HAMAGUCHI, A.; GIGLIO, J.R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M. I. Neutralization of some hematological and hemostatic alterations induced by neuwiedase, a metalloproteinase isolated from *Bothrops neuwiedi pauloensis* snake venom, by the aqueous extract from *Casearia mariquitensis* (Flacourtiaceae). **Bioquímie**. v. 85, n. 7, p. 669-675, 2003.

JIAO, J.; ZHANG, Y.; DINGDING, L.; XIAOQIN, W. ZHANG, Y. Antihyperlipidemic and antihypertensive effect of a triterpenoid-rich extract from bamboo shavings and vasodilator effect of friedelin on phenylephrine-induced vasoconstriction in thoracic aortas of rats. **Phytotherapy Research**. v. 21, n. 12, p. 1135-1141, 2007.

JULLIAN, V.; BONDUELLE, C.; VALENTIN, A.; ACEBEY, L. ; DUIGOU, A. G. ; PREVOST, M. F. ; SAUVALIN, M. New clerodane diterpenoids from *Laetia procera*

(Poepp.) Eichler (Flacourtiaceae), with antiplasmodial and antileishmanial activities. **Bioorganic & Medicinal Chemistry letters**. v. 15, n. 22, p. 5065-5070, 2005.

KANOKMEDHAKUL, S.; KANOKMEDHAKUL, K.; BUAYAIRAKSA, M. Cytotoxic clerodane diterpenoids from fruits of *Casearia grewiifolia*. **Journal of Natural Products**, 2007.

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

KUZUHARA, T.; SUGANUMA, M.; FUJIKI, H. Green tea catechin as a chemical chaperone in cancer prevention. **Cancer Letters**. v. 261, n. 1, p. 12-20, 2008.

LEHMBERG, E. & CASIDA, J. E. Similarity of insect and mammalian ryanodine binding sites. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. v. 48, n. 2, p. 145-152, 1994.

LIMA, M. R. F.; LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; ANDRADE, M. C. C.; SANTANA, A. E. G.; GENET, J. P. MARQUEZ, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU, N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. V. 105, p. 137-147, 2006.

LIMA, J.A.; OLIVEIRA, A. S.; MIRANDA, A. L. P.; REZENDE, C. M.; PINTO, A. C. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of na acid fraction of the seeds of *Carpotroche brasiliensis* (Raddi) (Flacourtiaceae). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 38, n. 7, p. 1095-1103, 2005.

LING, W. H. & JONES, P. J. H. Dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects. **Life Sciences**, v. 57, p. 195-206, 1995.

LOBE, D. C.; KREIDER, J. W.; PHELPS, W. C. Therapeutic evaluation of compounds en the SCID-RA papillomavirus model. **Antiviral Research**. v. 40, n. 1-2, p. 57-71, 1998.

LOPES, M.X.; BOMM, M.D.; SCHPECTOR, J.Z. Rearranged (4→ 2)-*abeo*-clerodane and clerodane diterpenes from *Aristolochia chamissonis*. **Phytochemistry**. v. 50, p. 455-461, 1999.

MALIK, A.; AHMED, W.; AHMAD, Z.. Stigmasteryl galactoside from *Rhynchosia minima*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 11, p. 4038-4039, 1992.

MARQUETE, R. Reserva ecológica do IBGE (Brasília-DF): Flacourtiaceae. **Rodriguésia**, v. 52, n. 80, p. 5-16, 2001.

MARQUETE, R. **O gênero *Casearia* Jacq. No estado do Rio de Janeiro (Brasil) – Flacourtiaceae**. Dissertação defendida e aprovada no Programa de Pós-graduação em Botânica. Escola Nacional de Botânica Tropical do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico Rio de Janeiro, 2005.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. Capítulo 7, p. 124 e 126-127, 2ª edição. p. 107-108. Editora UFC, Fortaleza, 1997.

MOSADDIK, M. A.; BANBURY, L.; FOSTER, P.; BOOTH, R.; MARKHAM, J.; LEACH, D.; WATERMAN, P. G. Screening of some Australian Flacourtiaceae species for in vitro antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activity. **Phytomedicine**. v. 11, n. 25, p. 461-466, 2004.

MOSADDIK, M. A.; FOSTER, P.; BOOTH, R.; WATERMAN, P. G. Phenolic glycosides from some Australian species of Flacourtiaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p. 166-168, 2006.

NAGASHIMA, F.; SUZUKI, M.; TAKAOKA, S.; ASAKAWA, Y. Sesqui- and diterpenoids from the Japanese Liverwort *Jungermannia infusca*. **Journal of Natural Products**. v. 64, p. 1309-1317, 2001.

NAVARRETE, A.; TREJO-MIRANDA, J. L.; REYES-TREJO, L. Principles of root bark of *Hippocratea excelsa* (Hippocrateaceae) with gastroprotective activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 383-388, 2002. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com> Acesso em: 27 de janeiro de 2002.

OBERLIES, N. H.; BURGUESS, J.; NAVARRO, H. A.; PINOS, R. E.; FAIRCHILD, C. R.; PETERSON, R. W.; SOERJATO, D. D.; FARNSWORTH, N. R.; KINGHORN, A. D.; WANI, M. C.; WALL, M. E. Novel bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. **Journal of Natural Products**. v. 65, n. 2, p. 95-99, 2002.

OKOKON, J. E.; ITA, B.; UDOKPOH, A. E. Antiplasmodial activity of *Homalium letestui*. **Phytotherapy Research**. v. 20, n. 11, p. 949-951, 2006.

OLIVEIRA, A. B. & BRAGA, F. C. Produtos naturais bioativos de plantas brasileiras e sua contribuição para o desenvolvimento da química medicinal. **Arquivos Brasileiros de Fitomedicina Científica**, v. 1, p. 49, 2003.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to Spectroscopy – A guide for Students of Organic Chemistry**. 2nd, Saunders Golden Publishing, New York, 1996.

PÉREZ, P. R. **Vademécum de Fitoterapia**. Leon, Espanha, dezembro de 2005. Disponível em: <<http://users.servicios.retecal.es/pdelrio/VF.pdf>>. Acesso em: 18 de fevereiro de 2008.

PLANTAS BRASILEIRAS, 2002.

Banco de dados – plantas medicinais do Brasil, disponível em: <<http://www.brazilian-plants.com/br/database.cfm>> Acesso em: 18/12/2007.

POSSOLO, H. & FERREIRA, C. Saponins and other interesting compounds in the family Flacourtiaceae, I. *Casearia silvestris*, “guassatonga” of Brazil. **Anais da Faculdade de Farmácia e Odontologia**. v. 7, p. 377-385, 1949.

PREVITERA, L.; DELLA-GRECA, M. D.; MONACO, P. Stigmasterols from *Typha latifolia*. **Journal of Natural Products**. v. 53, n. 6, p. 1430-1435, 1990.

PROCITA, L.; STIBLER, B. J.; MAROIS, R. L. Effect of ryanodine on peripheral vascular resistance in the anesthetized cat. Evidence for a centrally induced vasoconstriction. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 159, n. 2, p. 335-344, 1968.

RECIO, M. C.; GINER, R. M.; MÁÑEZ, S.; TALENS, A.; CUBELLS, L.; GUEHO, J.; JULIAN, H. R.; RIOS, J. L. Anti-inflammatory activity of flavonol glycosides from *Erythrospermum monticolum* depending on single or repeated local TPA administration. **Planta Medica**. v. 61, n. 6, p. 502-504, 1995.

RIBEIRO, E. P.; CONSERVA, L. M.; GUILHON, G. M. Flavonas e triterpenos pentacíclicos das folhas de *Lindackeria paraensis* (Flacourtiaceae). **Sociedade Brasileira de Química**. Anais 30º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2000.

ROGERS, E. F.; F. R. KONIUSZY; SHAVE, J. R.; FOLKERS, K. Ryanodine, A new alkaloid from *Ryania Speciosa* Vahl. **Contribution From the Research Laboratories of Merck & Co., Inc.** v. 70, p. 3086, 1946.

ROUSSI, S.; GOSSE, F.; AOUDE-WERNER, D.; ZHANG, X.; GEOFFROY, P.; MIESH, M.; MARCHIONI, E.; RAUL, F. Perturbation of polyamine metabolism and its relation to cell death in human colon cancer cells treated by 7 β -hydroxycholesterol and 7 β -hydroxysitosterol. **International Journal of Oncology**. v. 29, n. 6, p. 1549-1554, 2006.

SHAARI, K. & WATERMAN, P. G. Podophyllotoxin-type lignans as major constituents of the stems and leaves of *Casearia clarkei*. **Journal of Natural Products**. v. 57, n. 6, p. 720-724, 1994.

SHEN, Y. C.; WANG, C. H.; CHENG, Y. B.; WANG, L. T.; GUH, J. H.; CHIEN, C. T.; KHALIL, A. T. New cytotoxic clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia membranacea*. **Journal of Natural Products**. v. 67, p. 316-321, 2004a.

SHEN, Y. C.; WANG, L. T.; WANG, C. H.; KHALIL, A. T.; GUH, J. H. Two new cytotoxic clerodane diterpenoids from *Casearia membranacea*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**. v. 52, n. 1, p. 108-110, 2004b.

SHUKLA, V. K. S. & SPENER, F. High-performance liquid chromatography of triglycerides of Flacourtiaceae seed oils containing cyclopentenyl fatty acids (chaulmoogric oils). **Journal of Chromatography**. v. 348, n. 2, p. 441-446, 1985.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 6ª ed. LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., Rio de Janeiro, 2000.

SIMÕES, C. M. O.; SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. Capítulo I, p. 14, 5ª ed. Rev. Ampl. Ed. da UFRGS/ Ed. da UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, 2003.

SINI, H.; MOHANAN, P. V.; DEVI, K. S. Studies on the insecticidal activity, cytogenicity and metabolism of fatty acid rich fraction of *Hydnocarpus laurifolia*. **Toxicological and Environmental Chemistry**. v. 87, n. 1, p. 91-98, 2005.

SPENCER, K. C. & SEIGLER, D. S. Cyanogenic glycosides and the systematics of the Flacourtiaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 13, n. 4, p.421-431, 1985.

SUFFREDINI, I. B. ; PACIENCIA, M. L. B. ; FRANA, S. A. ; VARELLA, A. D.; YOUNES, R. N. *In vitro* breast cancer cell lathality of Brazilian plant extracts. **Pharmazie**. v. 62, n. 10, p. 798-800, 2007.

UMEYAMA, A.; SHOJI, N.; TERANAKA, M.; ARIHARA, S. Four novel diterpenoids, including Nakamurol A with a unique Thelepogane skeleton, from the Marine Sponge *Agelas nakamurai*. **Journal of Natural Products**. v. 59, p. 448-450, 1996.

VIEGA JR., V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, vol.28, nº 3, p.519-528, 2005.

VIEIRA-FILHO, S. A.; DUARTE, L. P.; SILVA, G. D. F.; MAZARO, R.; DI STASI, C. Constituintes químicos e atividade antiespermatogênica em folhas de *Austroplenckia populnea* (Celastraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 12, p. 124-125, 2002.

WATSON, L. & DALLWITZ, M. J. The Families of Flowering Plants. Disponível em: <<http://delta-intkey.com/angio/images/flaco330.gif>> Acesso em: 14/01/2008.

TININIS, A. G.; ASSONUMA, M. M.; TELASCREA, M.; TEREZ, C. C.; SILVA, M. R. S. R. M.; FAVORETO, R.; CAVALHEIRO, A. J. Composição e variabilidade química de óleo essencial de *C. silvestris*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 4, p. 132-136, 2006.

YAMASHITA, C. I. **Estudos sobre os constituintes inorgânicos presentes em diferentes espécies da planta medicinal do gênero *Casearia* coletadas em regiões distintas da mata atlântica, SP.** Dissertação defendida e aprovada no Mestrado em Ciências na área de Tecnologia Nuclear – Aplicações/USP-2006.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)