



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

ANNA CLÁUDIA DE ANDRADE TOMAZ

ABORDAGEM FITOQUÍMICA DE *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud.
(RUBIACEAE)

JOÃO PESSOA – PB
2008

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

ANNA CLÁUDIA DE ANDRADE TOMAZ

**ABORDAGEM FITOQUÍMICA DE *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud.
(RUBIACEAE)**

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

ORIENTADOR: Prof. Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha

CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr.^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza

**JOÃO PESSOA – PB
2008**

ANNA CLÁUDIA DE ANDRADE TOMAZ

ABORDAGEM FITOQUÍMICA DE *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud.

(RUBIACEAE)

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Ivana Maria Fechine Sette
PhD em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - UEPB
(Examinador externo)

Prof^ª. Dr^ª. Bárbara Viviana de Oliveira Santos
PhD em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - UFPB
(Examinador interno)

Prof. Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha
PhD em Ciências Farmacêuticas - UFPB
(Orientador)

Aos meus amados pais, *Antonio Tomaz dos Santos* e *Maria Edna de Andrade Tomaz*, pelos princípios de respeito e honestidade ensinados, pela dedicação em favor de nossa educação e por todo o amor com que constituíram nossa família, base fundamental da minha formação. A eles, dedico.

AGRADECIMENTOS

Palavras são demasiado insuficientes para expressá-los. Mas, eles vêm do coração...

A Deus, fonte inesgotável de fortaleza e alento, que me ilumina e guia rumo ao plano que Ele tem para mim, pois tudo pertence a Ele, toda honra, toda glória, e a vitória alcançada em minha vida.

Aos meus pais, Antonio e Edna, e as minhas irmãs, Hoana, Marianna e Thaís, pelo verdadeiro sentido de família partilhado, pelo amor, carinho, paciência, conselho, auxílio, apoio e incentivo que vêm me proporcionando em todos os momentos da minha vida.

Ao meu namorado, Lúcio Júnior, por todo o amor, ajuda, compreensão, apoio e incentivo que sempre dedicou a mim durante toda a trajetória que temos compartilhado, e aos seus familiares pelo importante apoio.

A todos os meus familiares que, mesmo ausentes ou distantes, desejaram o meu êxito.

Ao Prof. Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha e à Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza, pela disponibilidade com que aceitaram me orientar, pelos ensinamentos valiosos transmitidos, pela confiança em mim depositada, pela compreensão, paciência, incentivo e amizade nesta caminhada acadêmica.

Aos Professores da Pós-graduação, cujos preciosos ensinamentos profissionais e para a vida não serão esquecidos, especialmente à Prof^a. Dr^a. Bagnólia Araújo pelo incentivo dado quando da minha chegada ao LTF e pelo acolhimento em seu laboratório.

Ao Coordenador da Pós-graduação Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho pelo apoio e auxílio.

À Prof^a. Dr^a. Maria Auxiliadora Lins da Cunha pelo apoio e incentivo quando da minha decisão em tentar fazer o mestrado.

À Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Agra pela identificação botânica da espécie estudada.

À banca examinadora pela disponibilidade em contribuir com este trabalho.

Ao CENAUREM na pessoa do Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira pela realização dos espectros da feofitina A.

A todos os funcionários do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica pelos diversos serviços prestados, especialmente Ataíde Matias, Glória, Raimundo Nonato, Sócrates Golzio, Tânia Alves e Vicente Carlos pela amizade e por não medirem esforços para proporcionar o bom andamento de nossos trabalhos.

A todos que fizeram e fazem parte da equipe da Prof^a. Fátima Vanderlei pelo acolhimento e enriquecedora convivência científica e de amizade: Davi, Fernanda, Jéssica, Marcílio, Marianne, Marina, Misael, Otemberg, Rafael, Roosevelt, Tiago, Wemerson e Yanna.

À aluna de iniciação científica Raquel Bezerra pela amizade, dedicação e grande auxílio no desenvolvimento deste trabalho.

A Daniele Idalino que guiou os meus primeiros passos no caminho científico, pela amizade que construímos com carinho e apoio sempre.

Às amigas de tempos imemoriais Adriana, Danielle e Vanine por todos os momentos e sentimentos que temos compartilhado há muitos anos, pois “sonho que se sonha junto é realidade”.

A todos os meus amigos que, mesmo na distância, acompanharam minha trajetória e sabem o quanto significam para mim.

A todos os alunos da turma do mestrado 2006, especialmente aos amigos Adriana, Aline, Camila, Danielle, Gabriela, Marcela, Narlize, Rafael, Roosevelt, Sócrates, Steno, Vanine e Vivianne.

Aos demais alunos pelo companheirismo e agradável convívio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

A todos os cidadãos brasileiros que, mediante o pagamento dos seus impostos, financiaram o desenvolvimento desta pesquisa.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

AcOEt: Acetato de etila

APT: Attached Proton Test

BB: Broad Band

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CCEN: Centro de Ciências Exatas e da Natureza

CDCl₃: Clorofórmio deuterado

CD₃OD: Metanol deuterado

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

CHCl₃: Clorofórmio

cm: Centímetro

COSY: Correlation Spectroscopy

C₃D₆O: Acetona deuterada

C₅D₅N: Piridina deuterada

d: Dubleto

DCF: Departamento de Ciências Farmacêuticas

dd: Duplo dubleto

ddd: Duplo duplo dubleto

DEPT-135: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

dl: Dubleto largo

dm: Decímetro

dq: Duplo quarteto

dt: Triplo dubleto

EEB: Extrato Etanólico Bruto

EtOH: Etanol

FeCl₃: Cloreto férrico

FT-IR: Fourier Transform-Infrared

g: Grama

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Correlation

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Correlation

Hz: Hertz

IV: Infravermelho

J: Constante de acoplamento

KBr: Brometo de potássio

LTF: Laboratório de Tecnologia Farmacêutica

m: Meta

m: Multipleteo

MeOH: Metanol

MHz: Megahertz

mg: Miligrama

mL: Mililitro

mm: Milímetro

NAPRALERT: Natural Products Alert

nm: Nanômetro

NOESY: Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy

o: Orto

OMS: Organização Mundial da Saúde

p: Para

ppm: Partes por milhão

p.: Página

q: Quarteto

Rf: Fator de Retenção

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

s: Singleto

t: Tripleto

tl: Tripleto largo

UFC: Universidade Federal do Ceará

UFPB: Universidade Federal da Paraíba

UV: Ultravioleta

δ: Deslocamento químico em ppm

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE ESQUEMAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO.....	21
2 OBJETIVOS.....	25
2.1 Objetivo Geral.....	25
2.2 Objetivos Específicos.....	25
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	27
3.1 Aspectos gerais da família Rubiaceae.....	27
3.2 Considerações sobre o gênero <i>Richardia</i>	31
3.3 Considerações sobre a espécie <i>Richardia grandiflora</i> (Cham. & Schltdl.) Steud. (Rubiaceae).....	32
3.4 Considerações sobre as classes de constituintes químicos isolados de <i>Richardia grandiflora</i> e seus aspectos biossintéticos.....	35
3.4.1 Esteróides.....	35
3.4.1.1 Considerações gerais.....	35
3.4.1.2 Aspectos biossintéticos dos esteróides.....	35
3.4.2 Feofitinas.....	40
3.4.3 Compostos fenólicos.....	42
3.4.3.1 Considerações gerais.....	42
4 EXPERIMENTAL.....	44
4.1 Levantamento bibliográfico.....	44
4.2 Coleta do material botânico.....	44
4.3 Processamento da planta.....	44
4.4 Screening fitoquímico.....	45
4.5 Obtenção do extrato etanólico bruto.....	45
4.6 Cromatografia líquida sob pressão reduzida do extrato etanólico bruto.....	45

4.7 Isolamento e purificação dos constituintes químicos das frações Hexano-AcOEt (7:3), Hexano-AcOEt (1:1) e AcOEt-Hexano (9:1) do extrato etanólico bruto de <i>Richardia grandiflora</i>	46
4.7.1 Procedimentos cromatográficos.....	46
4.7.1.1 Processamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (7:3).....	47
4.7.1.2 Processamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (1:1).....	48
4.7.1.3 Processamento cromatográfico da fração AcOEt-Hexano (9:1).....	48
4.8 Caracterização estrutural dos constituintes químicos.....	49
4.8.1 Infravermelho.....	49
4.8.2 Ressonância magnética nuclear.....	49
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
5.1 Substâncias isoladas de <i>Richardia grandiflora</i>	58
5.2 Caracterização estrutural de Rg-1.....	58
5.3 Caracterização estrutural de Rg-2.....	67
5.4 Caracterização estrutural de Rg-3.....	97
5.5 Caracterização estrutural de Rg-4.....	112
5.6 Citações na literatura acerca dos aspectos farmacológicos dos constituintes químicos isolados de <i>Richardia grandiflora</i>	124
6 CONCLUSÕES.....	126
REFERÊNCIAS.....	128

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição mundial do gênero <i>Richardia</i>	31
Figura 2 – Espécie <i>Richardia grandiflora</i>	32
Figura 3 – Espécie <i>Richardia grandiflora</i>	33
Figura 4 – Distribuição da espécie <i>Richardia grandiflora</i>	33
Figura 5 – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (1ª etapa) (DEWICK, 1997).....	37
Figura 6 – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (2ª etapa) (DEWICK, 1997).....	38
Figura 7 – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (3ª etapa) (DEWICK, 1997).....	39
Figura 8 – Formação dos feoforbídeos.....	40
Figura 9 – Diferença estrutural entre as clorofilas A e B.....	41
Figura 10 – Formação dos derivados do ácido benzóico.....	42
Figura 11 – Espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200MHz) de Rg-1.....	62
Figura 12 – Expansão do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200MHz) de Rg-1.....	63
Figura 13 – Expansão do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200MHz) de Rg-1.....	63
Figura 14 – Espectro de RMN ¹³ C-APT (δ, CDCl ₃ , 50MHz) de Rg-1.....	64
Figura 15 – Expansão do espectro de RMN ¹³ C-APT (δ, CDCl ₃ , 50MHz) de Rg-1.....	65
Figura 16 – Expansão do espectro de RMN ¹³ C-APT (δ, CDCl ₃ , 50MHz) de Rg-1.....	65
Figura 17 – Expansão do espectro de RMN ¹³ C-APT (δ, CDCl ₃ , 50MHz) de Rg-1.....	66
Figura 18 – Espectro de IV (KBr, cm ⁻¹) de Rg-2.....	74
Figura 19 – Espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500 MHz) de Rg-2.....	75
Figura 20 – Expansão 1 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500 MHz) de Rg-2.....	76
Figura 21 – Expansão 2 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500 MHz) de Rg-2.....	77
Figura 22 – Espectro de RMN ¹³ C-BB (δ, CDCl ₃ , 125 MHz) de Rg-2.....	78
Figura 23 – Espectro de RMN ¹³ C-DEPT-135 (δ, CDCl ₃ , 125 MHz) de Rg-2.....	79
Figura 24 – Expansão 1 do espectro de RMN ¹³ C-DEPT-135 (δ, CDCl ₃ , 125 MHz) de Rg-2.....	80
Figura 25 – Expansão 2 do espectro de RMN ¹³ C-DEPT-135 (δ, CDCl ₃ , 125 MHz) de Rg-2.....	81
Figura 26 – Expansão 3 do espectro de RMN ¹³ C-DEPT-135 (δ, CDCl ₃ , 125 MHz) de Rg-2.....	82

Figura 27 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2.....	83
Figura 28 – Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2.....	84
Figura 29 – Expansão 2 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2.....	85
Figura 30 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2.....	86
Figura 31 – Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2.....	87
Figura 32 – Expansão 2 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2.....	88
Figura 33 – Expansão 3 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2.....	89
Figura 34 – Expansão 4 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2.....	90
Figura 35 – Expansão 5 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2.....	91
Figura 36 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2.....	92
Figura 37 – Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2.....	93
Figura 38 – Expansão 2 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2.....	94
Figura 39 – Expansão 3 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2.....	95
Figura 40 – Expansão 4 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2.....	96
Figura 41 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3.....	102
Figura 42 – Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3.....	103
Figura 43 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 50MHz) de Rg-3.....	104
Figura 44 – Proposta estrutural para a substância Rg-3.....	97
Figura 45 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3.....	105
Figura 46 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3.....	106
Figura 47 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3.....	107

Figura 48 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3.....	108
Figura 49 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3.....	109
Figura 50 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3.....	110
Figura 51 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3.....	111
Figura 52 – Acoplamento observado no espectro NOESY para Rg-3 (Figura 50, p. 110).....	98
Figura 53 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Rg-4.....	115
Figura 54 – Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Rg-4.....	116
Figura 55 - Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Rg-4.....	117
Figura 56 – Espectro de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Rg-4.....	118
Figura 57 – Expansão do espectro de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Rg-4....	119
Figura 58 – Espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Rg-4.....	120
Figura 59 – Expansão do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Rg-4.	121
Figura 60 – Comparação dos dados de RMN ^{13}C de Rg-4 com os do ácido benzóico (SILVERSTEIN; BASSLER, 1994).....	113
Figura 61 – Espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Rg-4.....	122
Figura 62 – Expansão do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) Rg-4.....	123

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Fontes bibliográficas de algumas classes de metabólitos secundários isolados de espécies pertencentes à família Rubiaceae.....	29
Quadro 2 – Fracionamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (7:3) do extrato etanólico bruto de <i>Richardia grandiflora</i>	54
Quadro 3 – Fracionamento cromatográfico da subfração 104/149 da fração Hexano-AcOEt (7:3) do extrato etanólico bruto de <i>Richardia grandiflora</i>	55
Quadro 4 – Fracionamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (1:1) do extrato etanólico bruto de <i>Richardia grandiflora</i>	55
Quadro 5 – Fracionamento cromatográfico da subfração 103/104 da fração Hexano-AcOEt (1:1) do extrato etanólico bruto de <i>Richardia grandiflora</i>	56
Quadro 6 – Fracionamento cromatográfico da fração AcOEt-Hexano (9:1) do extrato etanólico bruto de <i>Richardia grandiflora</i>	56

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Obtenção e cromatografia líquida sob pressão reduzida do extrato etanólico bruto de <i>Richardia grandiflora</i>	50
Esquema 2 – Fracionamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (7:3) do extrato etanólico bruto de <i>Richardia grandiflora</i>	51
Esquema 3 – Fracionamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (1:1) do extrato etanólico bruto de <i>Richardia grandiflora</i>	52
Esquema 4 – Fracionamento cromatográfico da fração AcOEt-Hexano (9:1) do extrato etanólico bruto de <i>Richardia grandiflora</i>	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) da substância Rg-1a/Rg-1b.....	60
Tabela 2 – Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Rg-1a/Rg-1b (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com modelos Mo-1 e Mo-2 (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz), (KOJIMA et al., 1990).....	61
Tabela 3 – Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Rg-2 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz, respectivamente) com os modelos Mo-1 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz; MATSUO et al., 1996) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 300 e 75 MHz; SCHWIKKARD et al., 1998).....	71
Tabela 4 – Dados comparativos de RMN ^{13}C da cadeia de fitol de Rg-2 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) com o modelo Mo-3 (δ , CDCl_3 , 75 MHz; MELOS et al., 2007).....	72
Tabela 5 – Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz, respectivamente) de Rg-2 (sem o fitol).....	73
Tabela 6 – Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Rg-3 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz respectivamente) com os modelos Mo-1 (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 e 125 MHz; SILVA, 2002) e Mo-2 (δ , CD_3OD , 125 MHz; SILVEIRA; PESSOA, 2005).....	100
Tabela 7 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz respectivamente) de Rg-3.....	101
Tabela 8 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) de Rg-4.....	114

RESUMO

Dentre as diversas formas de terapia para a prevenção e cura de doenças, as plantas foram, indubitavelmente, as mais amplamente utilizadas desde o início da humanidade. O Brasil tem grande diversidade de plantas com potenciais medicinais, ainda não pesquisados, e que são promissoras fontes de inovações terapêuticas e farmacológicas. A família Rubiaceae, considerada a maior da ordem Gentianales, possui cerca de 637 gêneros e 10.700 espécies. A espécie *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud., conhecida popularmente como ervaço, poaia ou ipeca-mirim, tem indicações etnofarmacológicas para uso contra hemorróidas e como vermífugo na forma de decocto. Visando a contribuir com o estudo quimiotaxonômico da família Rubiaceae e tendo em vista a ausência de dados na literatura acerca da constituição química da espécie *Richardia grandiflora*, esta foi submetida a um estudo fitoquímico para o isolamento de seus constituintes químicos, através dos métodos cromatográficos usuais, e posterior identificação estrutural dos mesmos, utilizando-se os métodos espectroscópicos de IV e RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, além de comparações com modelos da literatura. Deste estudo pioneiro com *R. grandiflora* foram isolados e identificados cinco constituintes: uma mistura dos esteróides β -sitosterol e estigmasterol, o ácido *o*-hidroxi-benzóico, o ácido *m*-metoxi-*p*-hidroxi-benzóico e a feofitina A, todos inéditos no gênero *Richardia*.

PALAVRAS-CHAVE: Rubiaceae; *Richardia grandiflora*, constituintes químicos.

ABSTRACT

Amongst the different forms of therapy to prevent and cure illnesses, plants have been, undoubtedly, the most utilized ones since the beginning of mankind. Brazil has a great diversity on plants that possess non-researched medicinal potential and are promising sources of therapeutic and pharmacological innovations. The Rubiaceae family is considered the biggest one of the order Gentianales, presenting around 637 genera and 10,700 species. The species *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud., known popularly as “ervanço”, “poaia” or “ipeca-mirim”, has ethnopharmacological indications to use as decoction against hemorrhoids and as vermifuge. Aiming at contributing to the chemotaxonomic study of the the family Rubiaceae and considering the absence of data in literature about the chemical constitution of the species *Richardia grandiflora*, the latter was submitted to a phytochemical study to isolate its chemical constituents, through usual chromatographic methods, and after identifying them by means of spectroscopic methods such as IR and ^1H and ^{13}C NMR, with the add of two-dimensional techniques, besides comparison with literature data. Five constituents were isolated through this first phytochemical study with *R. grandiflora*: a mixture of the steroids β -sitosterol and stigmasterol, *o*-hydroxy-benzoic acid, *m*-methoxy-*p*-hydroxy-benzoic acid and phaeophytin A, all of them isolated for the first time from the genus *Richardia*.

KEY WORDS: Rubiaceae; *Richardia grandiflora*, chemical constituents.

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Considerando as diversas formas de terapia para a prevenção e cura de doenças, as plantas foram, indubitavelmente, as mais amplamente utilizadas desde o início da humanidade (CUNHA; ROQUE, 2005; VILEGAS; CARDOSO, 2007). A história do desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental é rica em exemplos da utilização de recursos naturais na medicina, no controle de pragas e em mecanismos de defesa, merecendo destaque as civilizações Indiana, Egípcia, Greco-romana e Chinesa (VIEGAS-JUNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

As plantas foram inicialmente usadas na sua forma natural, na preparação de chás, unguentos, emplastos e outros. Mais tarde, especialmente no início do século XIX, serviram como fonte para obtenção de matéria-prima para a síntese de fármacos. Mais recentemente, as plantas emergiram como peças-chave para o descobrimento de protótipos que servem como base racional para o desenvolvimento de medicamentos (VILEGAS; CARDOSO, 2007).

No início da década de 90, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 60-85% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados da saúde (VEIGA-JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

O Brasil possui vantagens e oportunidades no sentido de desenvolver a terapêutica que utiliza as plantas medicinais e suas diferentes formas farmacêuticas. Dentre aquelas, pode-se enumerar a maior biodiversidade do planeta, uma rica diversidade tanto ética como cultural, a tradição do uso de plantas medicinais associada ao conhecimento tradicional reproduzido por gerações, além de possuir tecnologia para validar cientificamente todo este conhecimento (RODRIGUES, 2005). O Brasil tem grande diversidade de plantas com potenciais medicinais, ainda não pesquisados, e que são promissoras fontes de inovações terapêuticas e farmacológicas para as mais diversas áreas da saúde humana. A importância medicinal,

econômica e ecológica de espécies nativas brasileiras, bem como o risco de sua extinção pela ação predatória do homem, têm motivado os estudos destas plantas, visando a sua preservação e aproveitamento racional (SOUZA et al., 2003).

A química medicinal utilizando diferentes estratégias metodológicas complementares é tradicional e reconhecidamente usada no planejamento de fármacos. Em suas inúmeras atribuições, ela engloba o planejamento racional de novas substâncias bioativas, envolvendo a síntese ou a modificação molecular de substâncias; o isolamento de princípios ativos naturais (plantas, animais, minerais); a identificação ou elucidação da estrutura; a descrição das moléculas desde a sua constituição atômica (passando por relações entre a estrutura e propriedades) até suas características estruturais quando da(s) interação(ões) com os diferentes sistemas biológicos; a compreensão em nível molecular de processos bioquímicos, farmacológicos, toxicológicos e farmacocinéticos (AMARAL; MONTANARI, 2002).

A química de produtos naturais, especialmente a fitoquímica, objetiva o isolamento, através de métodos cromatográficos, e o conhecimento estrutural dos metabólitos secundários, responsáveis pelos efeitos biológicos das plantas, através de técnicas espectroscópicas (SOUZA; SILVA, 2006). Possui, portanto, importante papel não apenas como embasamento científico de uma medicina alternativa, mas também como fonte de novos fármacos.

É de grande relevância o estudo das várias famílias de plantas de nossa flora, rica e diversificada, dando continuidade aos trabalhos científicos já iniciados e na busca de investigar novas potencialidades terapêuticas, através de estudos fitoquímicos, realizando o monitoramento através ensaios biológicos e microbiológicos, desenvolvendo e otimizando o processo de produção de fitofármacos, a fim de se obter extratos, frações e substâncias isoladas para uso em formulações e realizar pesquisas para validação de medicamentos de origem vegetal.

Desde o ano de 1978, o Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) “Prof. Delby

Fernandes de Medeiros” da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) desenvolve estudos utilizando espécies vegetais da flora brasileira visando a engrandecer o conhecimento químico e farmacológico das mesmas. Portanto, a espécie *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud., pertencente à família Rubiaceae, foi alvo do nosso interesse científico com o objetivo de conhecer seus princípios ativos, através de um estudo fitoquímico pioneiro criterioso de sua composição química, a qual é a base essencial para o direcionamento de estudos farmacológicos, considerando-se que não existem, na literatura científica, quaisquer dados químicos ou farmacológicos relacionados com esta planta.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar o estudo fitoquímico pioneiro da espécie *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud. contribuindo, portanto, para o conhecimento quimiotaxonômico da família Rubiaceae.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Isolamento de constituintes químicos de *Richardia grandiflora* através do uso de métodos cromatográficos adequados.
- ✓ Caracterização estrutural dos constituintes isolados utilizando-se para este fim técnicas espectroscópicas convencionais, tais como IV e RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais.
- ✓ Disponibilizar os extratos, frações, substâncias isoladas e caracterizadas estruturalmente para a realização de testes farmacológicos.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Aspectos gerais da família Rubiaceae

A família Rubiaceae é considerada a maior da ordem Gentianales (COELHO; AGRA; BARBOSA, 2006), apresentando cerca de 637 gêneros e 10.700 espécies (MONGRAND et al., 2005). É composta por plantas de hábito variado, é cosmopolita, suas espécies estão classificadas em quatro subfamílias (Cinchonoideae, Ixoroideae, Antirheoideae e Rubioideae) e 44 tribos, essencialmente tropicais (ROBBRECHT, 1988). Segundo Mabberley (1997), ela ocupa o quarto lugar em diversidade entre as Angiospermas, perdendo apenas para as Asteraceae, Orchidaceae e Fabaceae. Diversos gêneros são endêmicos da região neotropical, que apresenta cerca de 4.555 espécies (ANDERSSON, 1992). Para o Brasil são estimados cerca de 96 gêneros (BARROSO et al., 1986); para a região Nordeste, Barbosa (1996) compilou 66 gêneros e 277 espécies.

As plantas representantes desta família apresentam-se como árvores, arbustos, subarbustos, ervas ou plantas volúveis. Ramos lisos ou estriados, cilíndricos ou comprimidos lateralmente, glabros ou pilosos. Estípulas interpeciolares inteiras, bipartidas, bifidas ou fimbriadas, persistentes ou caducas, glabras ou pilosas. Folhas sésseis ou pecioladas, simples, opostas, opostas-cruzadas ou verticiladas, lanceoladas, oblongo-lanceoladas, oblongas, ovadas ou obovadas, glabras ou pilosas. Inflorescências sésseis ou pedunculadas, racemosas ou cimosas, terminais ou axilares, brácteas presentes ou ausentes. Flores andróginas ou unissexuais, sésseis ou pediceladas. Cálice subulado, campanulado, truncado ou subtruncado, 2-6 laciniado, persistente ou decíduo, glabro ou piloso. Corola tubulosa, infundibuliforme, hipocrateriforme ou campanulada, tetra-hexâmera, branca, amarela, roxa, azul, rosada ou esverdeada, glabra ou pilosa. Estames 4-6, exsertos ou inclusos, alternos aos lobos da corola;

filetes glabros ou pilosos; anteras oblongas ou lineares, dorsifixas ou basifixas, glabras ou pilosas. Ovário ínfero, bi-multilocular, um a muitos óvulos por lóculo. Estilete em geral exserto, inteiro, capitado, bífido ou bilobado. Frutos deiscentes ou indeiscentes, capsulares, esquizocárpicos, drupáceos ou bacáceos, brancos, vermelhos, amarelos, alaranjados, roxos, azuis, negros, castanhos, esverdeados ou castanhos, glabros ou pilosos (PEREIRA; BARBOSA, 2004).

Rubiaceae possui espécies de grande importância econômica, que são exploradas como alimentícias (*Coffea arabica* L. e *Genipa americana* L.), ornamentais (*Ixora* spp., *Mussaenda* spp., *Gardenia* spp. etc.), e também na indústria farmacêutica, como por exemplo *Cinchona pubescens* Vahl, produtora de quinina, empregada no tratamento da malária. Além disso, várias espécies são referidas popularmente como medicinais e/ou tóxicas, dentre as quais destacam-se: *Coutarea hexandra* (Jacq.) K.Schum. e diversas espécies dos gêneros *Borreria*, *Cinchona*, *Richardia*, como medicinais; *Palicourea* e *Psychotria*, popularmente conhecidas como “mata-ratos”, que são consideradas venenosas (COELHO; AGRA; BARBOSA, 2006).

No que diz respeito ao estudo com relação às características fitoquímicas das plantas, deve-se considerar a existência de dois grupos distintos de metabólitos, que são importantes para o seu desenvolvimento: os metabólitos primários e os metabólitos secundários (NIERO et al., 2003). Os primários são indispensáveis para o vegetal, sendo utilizados principalmente como matéria-prima industrial e incluem: carboidratos, ácidos graxos, lipídios, aminoácidos e proteínas. Os secundários, por sua vez, são originados por rotas sintéticas diversas, sendo sua produção restrita a determinados grupos de organismos, e são identificados como alcalóides, flavonóides, terpenóides, cumarinas, lignóides, taninos, dentre outros.

A família Rubiaceae apresenta uma ampla variedade de metabólitos secundários isolados de espécies dos seus mais diversos gêneros. O Quadro 1 mostra esses dados.

Quadro 1 – Fontes bibliográficas de algumas classes de metabólitos secundários isolados de espécies pertencentes à família Rubiaceae.

Metabólitos Secundários	Referências
Alcalóides	HENRIQUES et al., 2004; HE et al., 2005; SIMÕES-PIRES et al., 2006; XUAN et al., 2006; GUERRERO-ANALCO et al., 2007; KITAJIMA et al., 2007
Amidas	BANDYOPADHYAY et al., 2007
Antraquinonas	AHMAD et al., 2005; KAMIYA et al., 2005; PAWLUS et al., 2005; GUVENALP et al., 2006b; SANG, HO, 2006; SIDDIQUI et al., 2006; SIDDIQUI et al., 2007a; SIDDIQUI et al., 2007b
Cucurbitacinas	GUERRERO-ANALCO et al., 2005; GUERRERO-ANALCO et al., 2007; OLMEDO et al., 2007
Cumarinas	BENEVIDES; YOUNG; BOLZANI, 2004; LUCIANO et al., 2004; AHMAD et al., 2005; GUERRERO-ANALCO et al., 2005; GUERRERO-ANALCO et al., 2007; OLMEDO et al., 2007; SIDDIQUI et al., 2007b
Esteróides	SU et al., 2003; SANTOS et al., 2004; SU et al., 2005; GUVENALP et al., 2006a; MOURA et al., 2006
Flavonóides	WANG et al., 1999; KRAFT et al., 2003; BENEVIDES; YOUNG; BOLZANI, 2004; LUCIANO et al., 2004; TUCHINDA et al., 2004; DEMIREZER et al., 2006; GUVENALP et al., 2006a; NAZARI et al., 2006; DJOUDI et al., 2007; NOIARSA et al., 2007; ZIN et al., 2007
Glicosídeos aromáticos	KAEWKRUD et al., 2007
Iridóides	HAMERSKI et al., 2003; DINDA et al., 2005; KAMIYA et al., 2005; KIM et al., 2005; SU et al., 2005; DEMIREZER et al., 2006; DINDA et al., 2006; GUVENALP et al., 2006a; GUVENALP et al., 2006b; MOURA et al., 2006; SAMOYLENKO et al., 2006; DJOUDI et al., 2007; JUMA; MAJINDA, 2007; KAEWKRUD et al., 2007; NOIARSA et al., 2007
Lignanas	KAMIYA et al., 2004; SU et al., 2005; SALMOUN et al., 2007
Terpenos	KRAFT et al., 2003; SU et al., 2003; SUKSAMRARN; TANACHATCHAIRATANA; KANOKMEDHAKUL, 2003; LUCIANO et al., 2004; BENEVIDES; YOUNG; BOLZANI, 2004; MUKHERJEE et al., 2004; TUCHINDA et al., 2004; DINDA et al., 2005; DEMIREZER et al., 2006; GUVENALP et al., 2006a; GUVENALP et al., 2006b; SALMOUN et al., 2007

O estudo químico dos vegetais é realizado mais precisamente quando o perfil químico do gênero ou família é conhecido. Portanto, além dos aspectos morfológicos e anatômicos, é

muito importante a determinação da composição química das plantas. Desta forma, tendo em vista a variedade de constituintes químicos apresentados pela família Rubiaceae e na importância destes na pesquisa de potencialidades terapêuticas, é de extrema relevância a contribuição à quimiotaxonomia da referida família, através de uma investigação fitoquímica pioneira da espécie *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltld.) Steud., objeto deste estudo, haja vista que a quimiotaxonomia consiste no campo da ciência que utiliza as características químicas, especialmente os metabólitos secundários (alcalóides, terpenóides, flavonóides, lignóides, dentre outros) de um grupo de organismos para determinar sua classificação hierárquica entre os seres vivos.

3.2 Considerações sobre o gênero *Richardia*

Richardia é um gênero que possui cerca de 15 espécies, pertencente à família Rubiaceae, subfamília Rubioideae, tribo Spermacoceae, que tem distribuição mundial, destacando-se do sul da América do Norte até o centro da América do Sul (Figura 1) (LEWIS; OLIVER, 1974). As plantas deste gênero são anuais ou perenes e apresentam inflorescências terminais com algumas ou numerosas flores suportadas por duas a quatro folhas involucrais, com partes florais geralmente trímeras ou hexâmeras e tetrâmeras, com cálice decíduo e circunséssil, e com frutos de 2 a 6 mericarpos decíduos de um eixo basal imperceptivelmente não-dividido (LEWIS; OLIVER, 1974).

Espécies deste gênero são relatadas como “daninhas” (HAUSER; PARHAM, 1969; MONQUERO, 2003; MONQUERO; CHRISTOFFOLETI, 2003; RONCHI et al., 2003; PEDRINHO-JÚNIOR; BIANCO; PITELLI, 2004; SAN MARTIN MATHEIS, 2004; MONQUERO, 2005; MONQUERO; CURY; CHRISTOFFOLETI, 2005) e reconhecê-las é importante no sentido de utilizá-las de forma a beneficiar o planejamento agrícola.



Figura 1 – Distribuição mundial do gênero *Richardia*.
(Adaptado de LEWIS; OLIVER, 1974)

3.3 Considerações sobre a espécie *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud. (Rubiaceae)

A espécie *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud. (Figuras 2 e 3) é uma planta anual, possui raízes adventícias formadas principalmente nos nós; caules de 7 dm de comprimento, procumbentes e prostradas, densamente hirsutos, com pêlos comumente com 2 mm de comprimento. As folhas são linear-lanceoladas e sésseis, tipicamente com 1,5-4,5 cm de comprimento, 2-8 mm de largura, raramente estritamente elípticas e pecioladas, hirsutas a comumente estrigosas em ambas superfícies; bainha estipular com 2-3 mm de largura, as setas com 2,5-8 mm de comprimento. Capítulos multifloros com longos lobos do cálice prevalecentes; 4 brácteas foliáceas, ovais, ápice acuminado, hirsuto. Cálice 5-8 mm de comprimento, hirsuto a escabroso, os 6 lobos linear-lanceolados, 4-7 mm de comprimento, margens ciliadas; corola tipicamente rosada, lavanda ou lilás, ocasionalmente branca com lobos lilás, raramente laranja rosado, funicular, 12-20 mm de comprimento, os lobos de 2,5-5 mm de comprimento, freqüentemente com tufo de pêlos apicais; estigma clavado, trilobulado; ovário tricarpelar. 3 mericarpos, com 3 mm de comprimento, excrescências arredondadas (LEWIS; OLIVER, 1974).



Figura 2 – Espécie *Richardia grandiflora*.
(Foto de Raquel B. de S. de S. Nogueira, 2007)



Figura 3 – Espécie *Richardia grandiflora*.
(Foto de Raquel B. de S. de S. Nogueira, 2007)

Richardia grandiflora é nativa dos países Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Uruguai. No Brasil, ocorre desde o Estado do Maranhão até o Rio Grande do Sul (Figura 4) (LEWIS; OLIVER, 1974).



Figura 4 – Distribuição da espécie *Richardia grandiflora* (★).
(Adaptado de LEWIS; OLIVER, 1974)

Segundo Agra et al. (2007), a espécie *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud., conhecida popularmente como ervaço, poaia ou ipeca-mirim, tem indicações etnofarmacológicas para uso contra hemorróidas e como vermífugo na forma de decocto.

Não há dados na literatura sobre a constituição química ou atividade farmacológica da espécie em questão. Porém, em screening fitoquímico preliminar, Edeoga et al. (2005) verificaram a presença de alcalóides, taninos, saponinas, esteróides, terpenóides, flavonóides e glicosídeos cardiotônicos na espécie *Richardia brasiliensis* Gomes e relataram ainda que esta é utilizada na medicina popular para o cura de eczema, tratamento de queimaduras e cura ativa para a malária avícola. Os extratos aquoso e etanólico desta espécie apresentaram atividade antifúngica observada por Adekunle (2000).

Paralelamente a este estudo, a espécie *Richardia brasiliensis* Gomes foi também investigada sob o ponto de vista fitoquímico, resultando no isolamento de metabólitos secundários pertencentes às seguintes classes: flavonóides (PINTO et al., 2007a; PINTO et al., 2007b), cumarinas (TENÓRIO-SOUZA et al., 2007; PINTO et al., 2007c), ácidos fenólicos (TENÓRIO-SOUZA et al., 2007) e terpenóides (PINTO et al., 2007c).

Desta forma, é de grande importância a contribuição à quimiotaxonomia da família Rubiaceae mediante uma abordagem fitoquímica pioneira da espécie *Richardia grandiflora*, visando a enriquecê-la com dados para o seu perfil químico.

O presente estudo possibilitou o isolamento e caracterização estrutural de constituintes químicos pertencentes às seguintes classes: esteróides, feofitinas e ácidos fenólicos (DACUNHA et al., 2007; TOMAZ et al., no prelo).

3.4 Considerações sobre as classes de constituintes químicos isolados de *Richardia grandiflora* e seus aspectos biossintéticos

3.4.1 Esteróides

3.4.1.1 Considerações gerais

Os esteróides constituem uma classe de compostos naturais com ampla distribuição na natureza, que apresentam em sua estrutura química um núcleo ciclopentanoperidrofenantreno. A diversidade das atividades biológicas desses metabólitos compreende o desenvolvimento e o controle do sistema reprodutor humano, indução da reprodução sexual em fungos aquáticos, entre outras. Além disso, têm uma gama de aplicações terapêuticas: podem funcionar como cardiotônicos, precursores de vitamina D, anticoncepcionais orais, agentes antiinflamatórios e agentes anabolizantes (ROBBERS, 1997).

3.4.1.2 Aspectos biossintéticos dos esteróides

Os esteróides são derivados da via do ácido mevalônico, a partir da combinação de unidades de isopreno ativo. Na primeira etapa (Figura 5, p. 37), duas unidades de acetil-CoA combinam-se através de uma condensação de Claisen formando acetoacetil-CoA. A incorporação de uma terceira unidade de acetil-CoA via uma adição aldólica estereoespecífica fornece o éster β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA) que é reduzido a ácido (3R)-mevalônico (MVA), num processo que depende de NADPH. Nos passos seguintes, o ácido mevalônico é fosforilado em seqüência e produz 5-fosfato de mevalonato, que é então descarboxilado, formando isopentenil pirofosfato (IPP), ou isopreno ativo, a unidade de

construção C₅ da biossíntese dos esteróides e triterpenos. A isomerização do pirofosfato de isopentenila e sua conversão em 3,3-dimetilalil pirofosfato (DMAPP), com a subsequente condensação cabeça-cauda destas unidades C₅ (DMAPP + IPP), sob a influência da preniltransferase, origina o pirofosfato de geranila (GPP). Este por sua vez, pode sofrer adição seqüencial de pirofosfato de isopentenila (IPP) por conjugação entre as extremidades superior e inferior (cabeça-cauda), produzindo-se pirofosfato de farnesila (FPP) e pirofosfato de geranilgeranila (GGPP) (Figura 5, p. 37). A dimerização entre as extremidades cabeça-cauda do pirofosfato de farnesila (FPP) forma o esqualeno (2^a etapa), precursor dos esteróides (Figura 6, p. 38). A ciclização do esqualeno (3^a etapa) origina os triterpenos (C₃₀), como por exemplo, o lanosterol, que leva à formação dos esteróides (C₂₇), ou seja, triterpenos modificados contendo o anel tetracíclico do sistema lanosterol após a perda dos grupos metilas das posições C-4 e C-14. [(Figura 7, p. 39) (ROBBERS, 1997; DEWICK, 1997)].

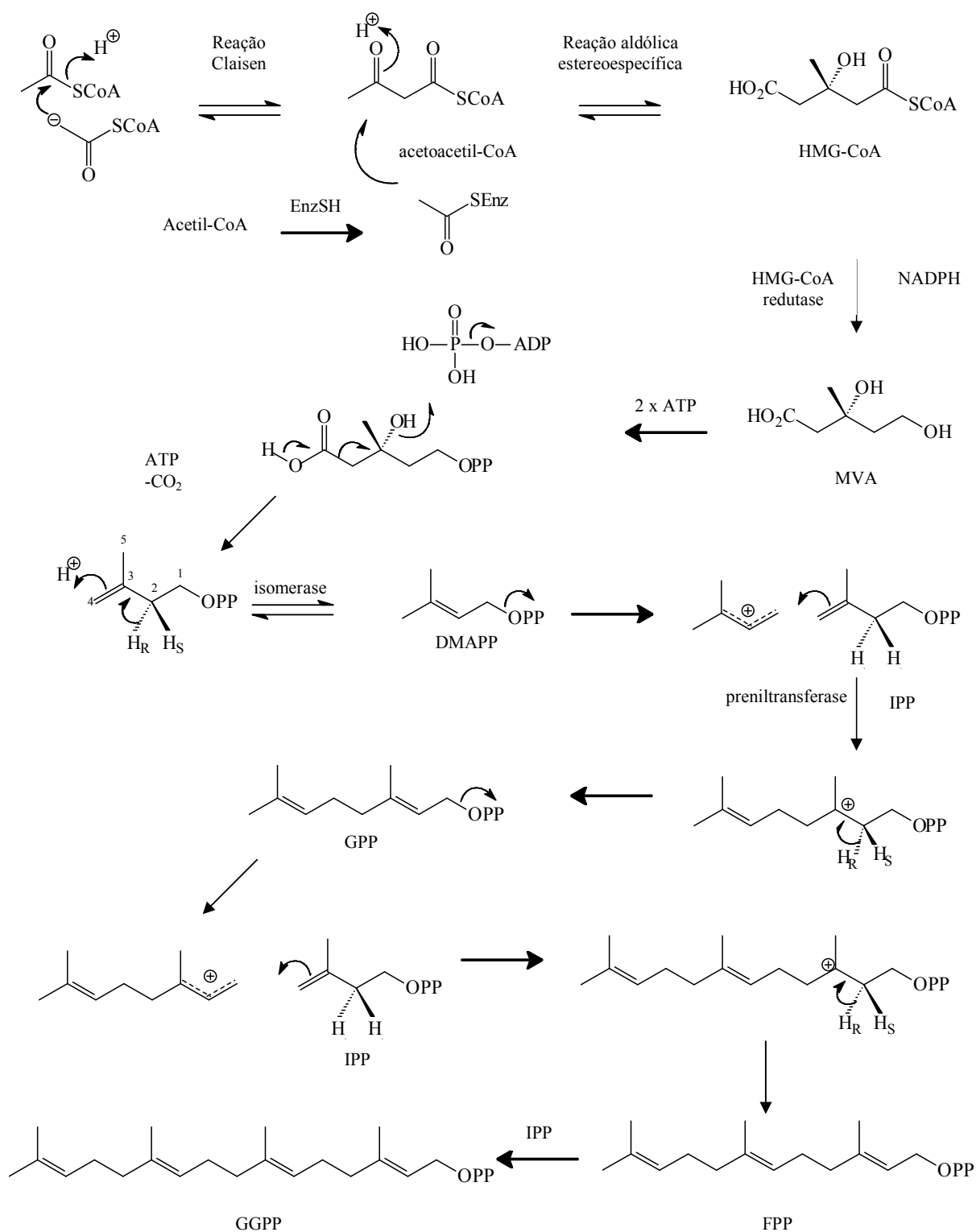


Figura 5 – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (1ª etapa)
(DEWICK, 1997)

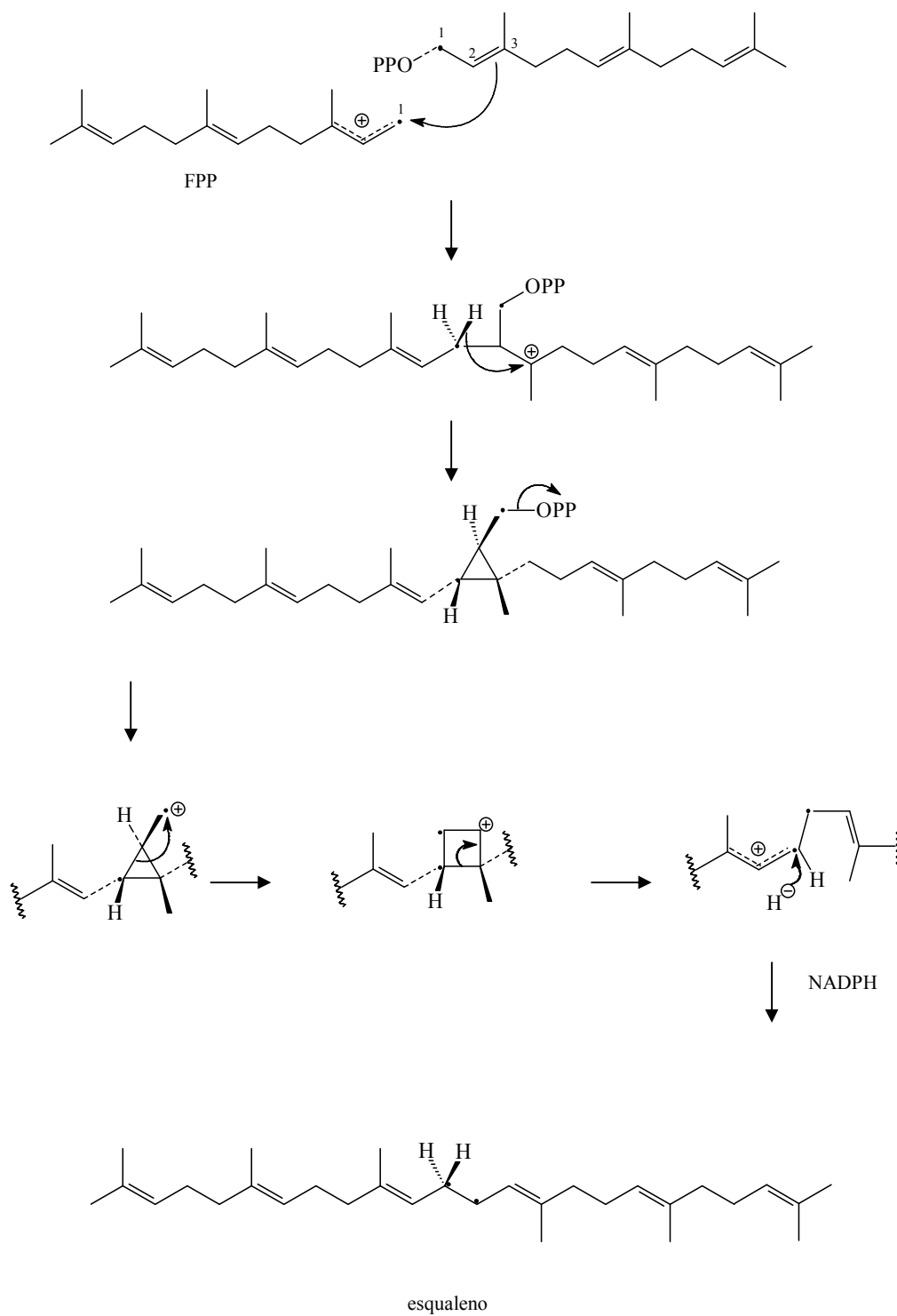


Figura 6 – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (2ª etapa) (DEWICK, 1997)

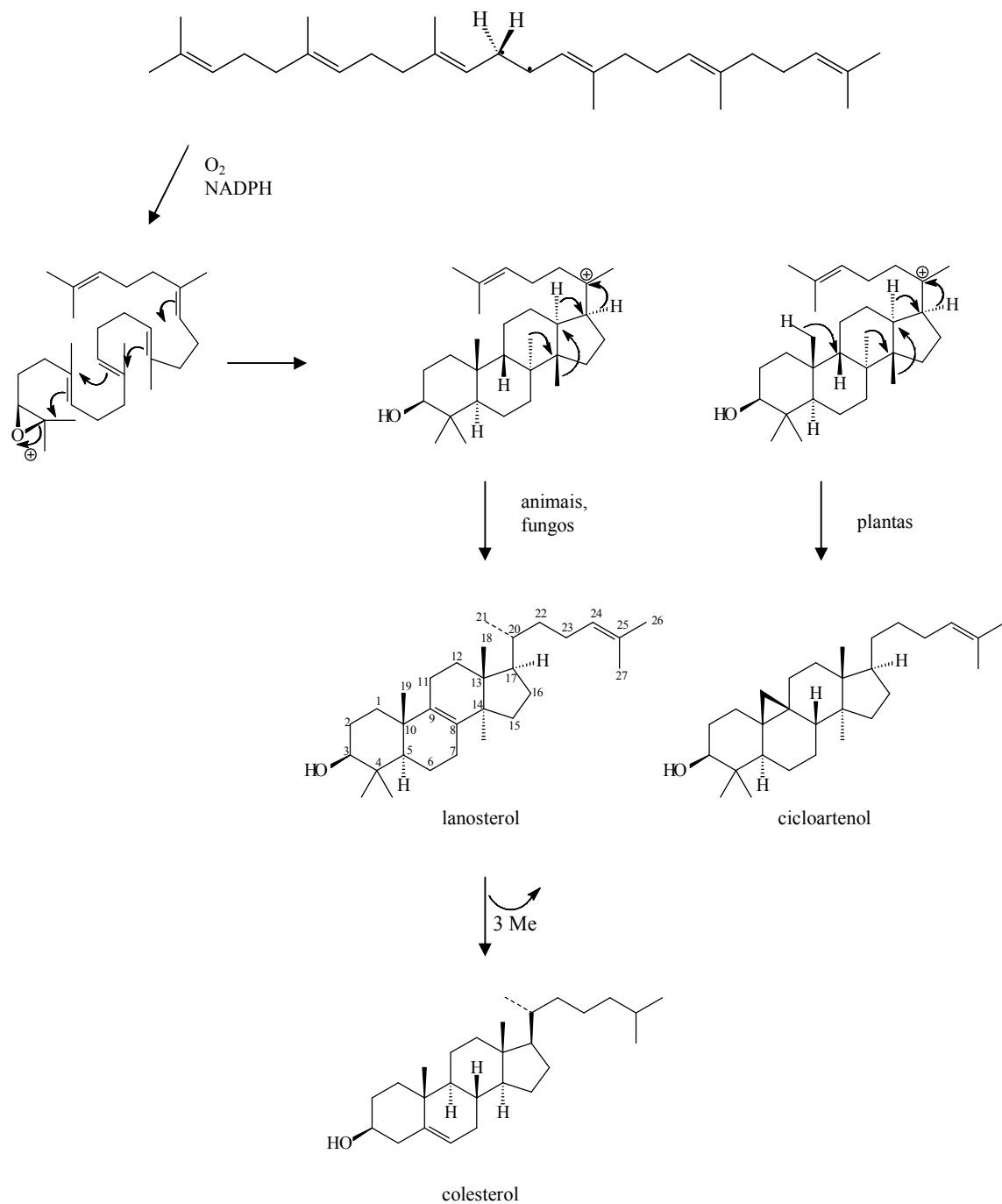


Figura 7 – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (3ª etapa)
(DEWICK, 1997)

3.4.2 Feofitinas

São substâncias contendo um sistema tetrapirrólico do tipo porfirínico. Originam-se biossinteticamente da clorofila A que sofre a perda de magnésio em meio ácido dando origem às feofitinas (sendo este fenômeno conhecido como feofitinação), as quais, por sua vez, são hidrolisadas na porção éster (remoção da cadeia fitol) por ação da enzima clorofilase, produzindo os feoforbídeos A e o fitol (SOARES, 2006; GREGORY, 1978; BARKER, 1977), conforme pode ser observado na Figura 8.

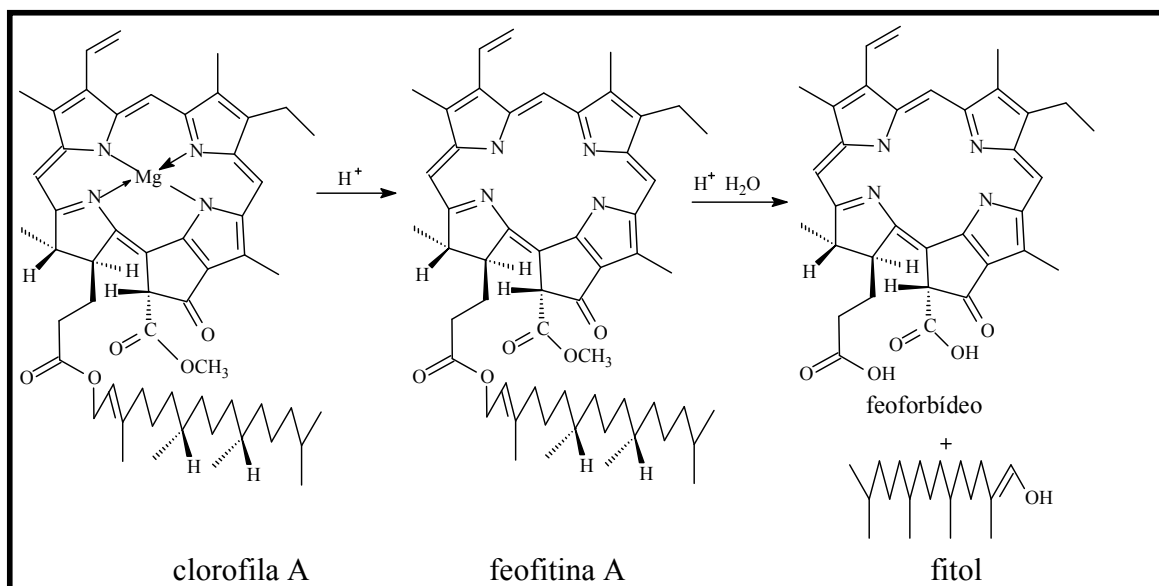


Figura 8 – Formação dos feoforbídeos

A diferença entre as clorofilas A e B está na posição 7¹, onde a clorofila A o grupo substituinte é $-CH_3$, enquanto na clorofila B o substituinte é $-CHO$, conforme Figura 9 (p. 41). Essa mesma designação é utilizada para feofitinas (UNIPR-IT, 2006). Estas possuem cor verde oliva, os feoforbídeos têm cor verde acastanhado e sofrem possivelmente transformações oxidativas que dão origem a produtos incolores de degradação. As clorofilas e

as feofitinas são lipossolúveis, em decorrência de sua porção fitol, enquanto os feoforbídeos (sem o fitol) são hidrofílicos (MARTINS; SILVA, 2002).

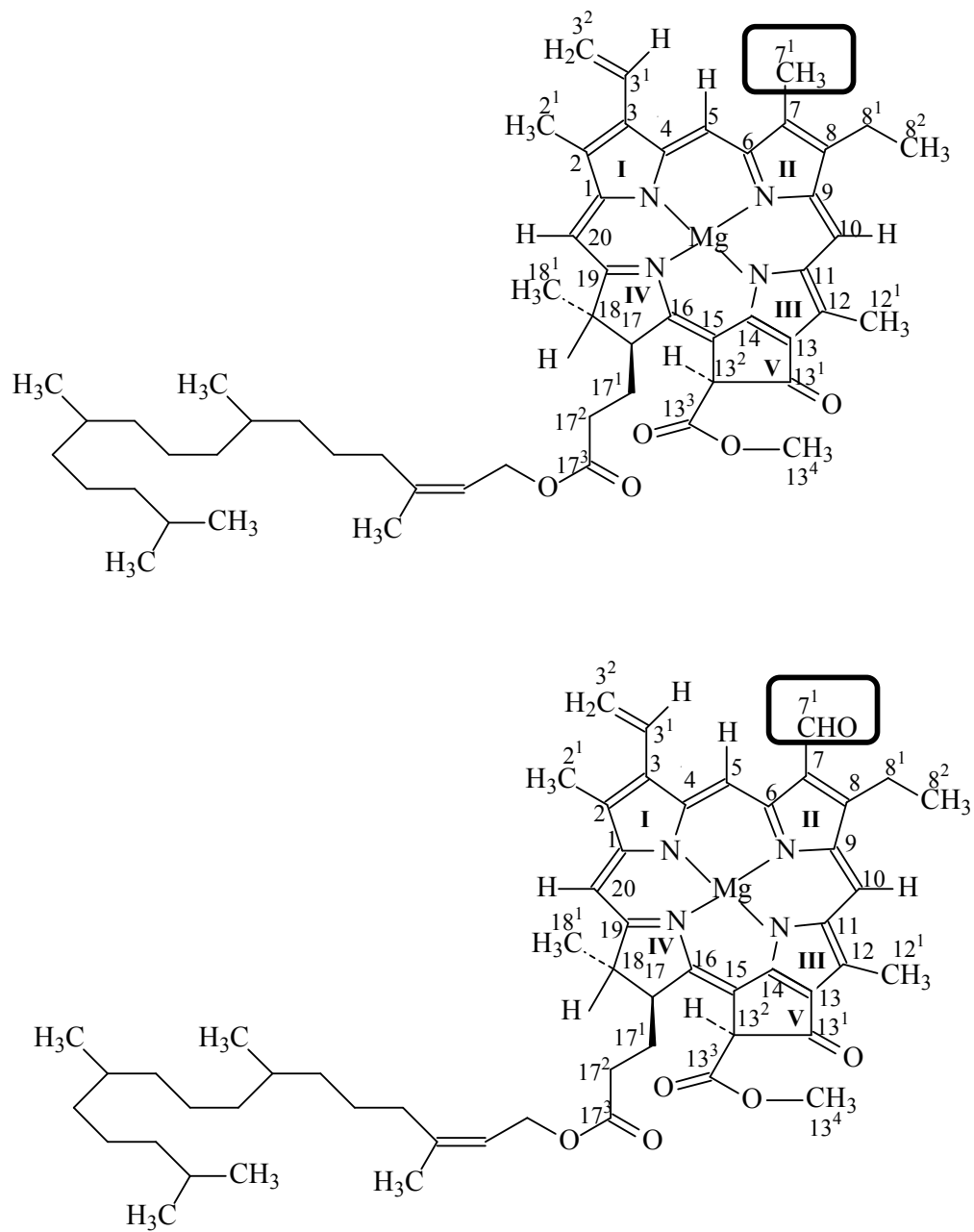


Figura 9 – Diferença estrutural entre as clorofilas A e B

3.4.3 Compostos fenólicos

3.4.3.1 Considerações gerais

Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização. Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas. A presença dos compostos fenólicos em plantas tem sido muito estudada por estes apresentarem atividades farmacológicas e também por inibirem a oxidação lipídica e a proliferação de fungos, além de participarem de processos responsáveis pela cor, adstringência e aroma em vários alimentos (SOARES, 2002).

Dentre os compostos fenólicos isolados de *Richardia grandiflora*, destacam-se os derivados do ácido benzóico. O ácido benzóico e seus derivados provêm da oxidação dos ácidos cinâmicos (Figura 10) (GEISSMAN, 1969).

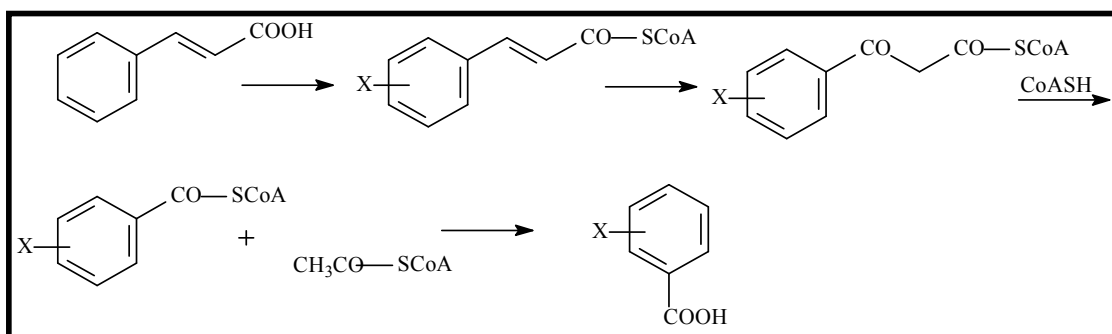


Figura 10 – Formação dos derivados do ácido benzóico

EXPERIMENTAL

4 EXPERIMENTAL

4.1 Levantamento bibliográfico

O levantamento bibliográfico foi realizado em todo o decorrer do estudo na Biblioteca Central/UFPB (Campus I – João Pessoa, PB), utilizando-se como ferramentas para tanto os bancos de dados Chemical Abstracts, Biological Abstracts, NAPRALERT (Natural Products Alert) e Web of Science, bem como pesquisas na Internet e em anais de eventos nacionais e internacionais, não sendo encontrado nenhum registro significativo na fitoquímica da espécie em estudo.

4.2 Coleta do material botânico

O material botânico, *Richardia grandiflora* (planta total), foi coletado no Aeroclube da Paraíba, município de João Pessoa - PB, em julho de 2006. Sua identificação botânica foi realizada pela Prof^a Dr^a Maria de Fátima Agra do Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais LTF/DCF/UFPB, sendo uma exsicata depositada no Herbário Professor Lauro Pires Xavier do Centro de Ciências Exatas e da Natureza (CCEN/UFPB) sob o código M. F. Agra et al. 2953 (JPB).

4.3 Processamento da planta

O material botânico fresco (10.000 g) foi desidratado em estufa com ar circulante a 40°C durante 72 horas; após isto, foi triturado em moinho mecânico fornecendo 3.164 g do pó da planta (Esquema 1, p. 50).

4.4 Screening fitoquímico

Marchas sistemáticas para detecção da presença de determinados grupos de metabólitos foram realizadas para um melhor direcionamento do trabalho. Frações do pó da planta foram testadas com os reagentes de Bouchardat, Mayer, Dragendorff e ácido sílico tunguístico, mostrando resultado negativo para a possível presença de alcalóides. Os testes também foram negativos para taninos mediante reação com gelatina 0,5% e FeCl_3 .

Testes de espuma, Lieberman-Bouchardat e fita de magnésio demonstraram a presença de saponinas, esteróides e flavonóides, respectivamente.

4.5 Obtenção do extrato etanólico bruto

O pó da planta (3.164 g) foi submetido à maceração durante 72 horas a temperatura ambiente com etanol (EtOH) a 95%, sendo este processo repetido até extração exaustiva dos seus constituintes químicos. Em seguida, a solução etanólica foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo-se 400 g do extrato etanólico bruto (EEB) (Esquema 1, p. 50).

4.6 Cromatografia líquida sob pressão reduzida do extrato etanólico bruto

Uma alíquota de 100 g do EEB foi submetida 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 Büchner com placa porosa acoplado com um papel de filtro. Como fase móvel foram empregados os seguintes sistemas de solventes, obtendo-se as respectivas frações: Hexano, Hexano-AcOEt (9:1), Hexano-AcOEt (7:3),

Hexano-AcOEt (1:1), AcOEt-Hexano (6:4), AcOEt-Hexano (7:3), AcOEt-Hexano (9:1), Acetato de etila (AcOEt), AcOEt-MeOH (9:1) e AcOEt:MeOH (7:3). As frações foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida (Esquema 1, p. 50).

4.7 Isolamento e purificação dos constituintes químicos das frações Hexano-AcOEt (7:3), Hexano-AcOEt (1:1) e AcOEt-Hexano (9:1) do extrato etanólico bruto de *Richardia grandiflora*

O isolamento, purificação e análise dos constituintes químicos foram realizados através de técnicas cromatográficas.

4.7.1 Procedimentos cromatográficos

Para as cromatografias em coluna utilizou-se como fase estacionária sílica gel 60 (Merck) 7734 (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh) e/ou Sephadex LH-20 (Merck), tendo como suporte colunas de vidro cilíndricas com dimensões variando de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada. Solventes comerciais redestilados no LTF foram utilizados como fase móvel. A cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foi empregada para a análise e reunião das frações obtidas por cromatografia em coluna. Foram utilizadas placas de vidro com dimensões de 5x20, 10x20 e 20x20 cm, preparadas com uma suspensão de sílica gel PF₂₅₄ 7749 (Merck) em água, seguindo técnica descrita por Matos (1997). As cromatoplasas obtidas foram secas ao ar livre e ativadas em estufa a 110 °C durante duas horas.

As substâncias em análise foram evidenciadas pelo uso de radiação ultravioleta (UV) sob os comprimentos de onda de 254 e 366 nm por meio de aparelho Mineralight, modelo

UVGL-58, como também pela impregnação das placas em cubas de vidro saturadas por vapores de iodo.

O critério de pureza adotado foi a visualização, através do UV, de uma única mancha após eluição das placas analíticas em, no mínimo, três sistemas de eluentes, além da observação de seus espectros.

4.7.1.1 Processamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (7:3)

A fração Hexano-AcOEt (7:3) (1,238 g) foi submetida à cromatografia em coluna utilizando-se como adsorvente sílica gel 60 e como eluentes hexano, acetato de etila e metanol puros ou em misturas binárias com gradiente crescente de polaridade (Esquema 2, p. 51). Desta coluna foram coletadas 278 frações de 50 mL cada, concentradas em evaporador rotativo, analisadas através de CCDA e reunidas de acordo com seus fatores de retenção (R_f 's) (Quadro 2, p. 54). A subfração 32/76, após recristalização em hexano, forneceu um sobrenadante e um precipitado (23 mg) o qual mostrou-se sob a forma de cristais em agulhas e, quando analisado em CCDA em vários sistemas de solventes, revelou-se puro, sendo, portanto, codificado como **Rg-1**. A subfração 104/149 (118 mg) foi novamente submetida à cromatografia seguindo a metodologia anterior (Esquema 2, p. 51), coletando-se 137 subfrações de 50 mL as quais foram concentradas em evaporador rotativo, analisadas através de CCDA e reunidas de acordo com seus R_f 's (Quadro 3, p. 55). A subfração 87/120 (60 mg) mostrou-se como um sólido amorfo de coloração verde-escura, codificado como **Rg-2**.

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

A fração Hexano-AcOEt (1:1) (1,895 g) foi submetida à cromatografia em coluna utilizando-se como adsorvente sílica gel 60 e como eluentes clorofórmio, acetato de etila e metanol puros ou em misturas binárias com gradiente crescente de polaridade (Esquema 3, p. 52). Deste processo cromatográfico foram obtidas 128 frações de 50 mL cada, concentradas em evaporador rotativo, analisadas através de CCDA e reunidas de acordo com seus Rf's (Quadro 4, p. 55). A subfração 103/104 (182 mg) foi novamente submetida à cromatografia em coluna utilizando-se como adsorvente sílica gel 60 e como eluentes hexano, acetato de etila e metanol puros ou em misturas binárias com gradiente crescente de polaridade (Esquema 3, p. 52), coletando-se 78 subfrações de 50 mL as quais foram concentradas em evaporador rotativo, analisadas através de CCDA e reunidas de acordo com seus Rf's (Quadro 5, p. 56). A subfração 35/39, após recristalização em hexano, mostrou-se sob a forma de cristais, fornecendo 4 mg da substância codificada como **Rg-3**.

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

A fração AcOEt-Hexano (9:1) (0,569 g) por cromatografia em coluna com Sephadex LH-20 utilizando-se como eluentes clorofórmio e metanol (1:1), forneceu 32 frações de 15 mL cada (Esquema 4, p. 53) que foram analisadas com CCDA e reunidas de acordo com seus respectivos Rf's (Quadro 6, p. 56). A subfração 15/26, após recristalização em clorofórmio, forneceu um sobrenadante e um precipitado (4 mg) o qual mostrou-se sob a forma de cristais, quando analisado em CCDA em vários sistemas de solventes, revelou-se puro, recebendo, então, o código **Rg-4**.

4.8 Caracterização estrutural dos constituintes químicos

A caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados de *Richardia grandiflora* foi realizada através da análise dos espectros obtidos através dos métodos espectroscópicos de Infravermelho (IV) e de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e Carbono 13 (RMN ^{13}C), utilizando técnicas uni e bidimensionais (COSY, HMQC, HSQC, HMBC e NOESY), além de comparações com modelos da literatura.

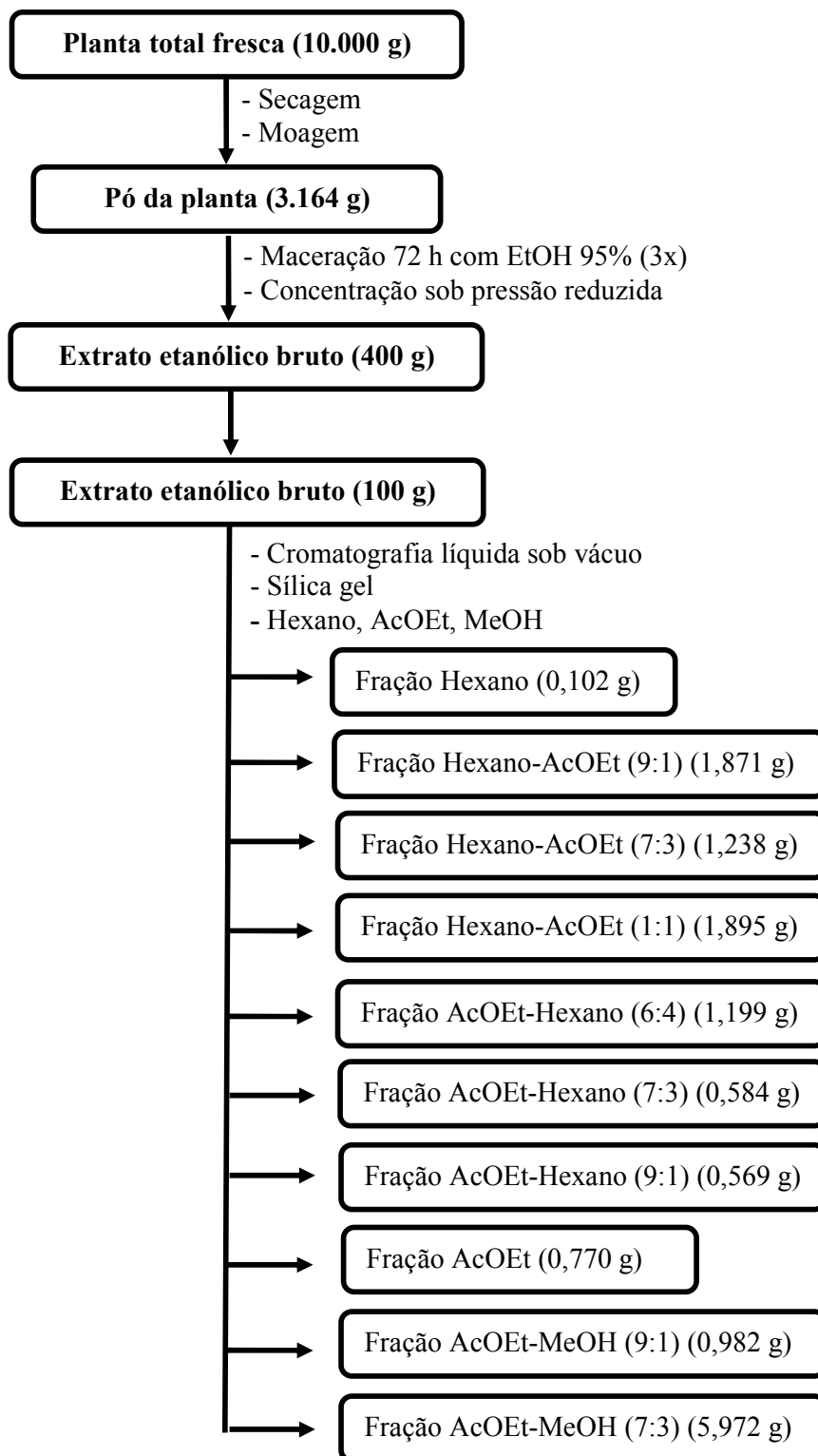
4.8.1 Infravermelho

Os dados espectrais na região do infravermelho foram obtidos em aparelho Perkin-Elmer, FT-IR-1750 do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica-UFPB, utilizando-se de 1 a 3 mg de amostra em pastilhas de KBr, registrada como em cm^{-1} .

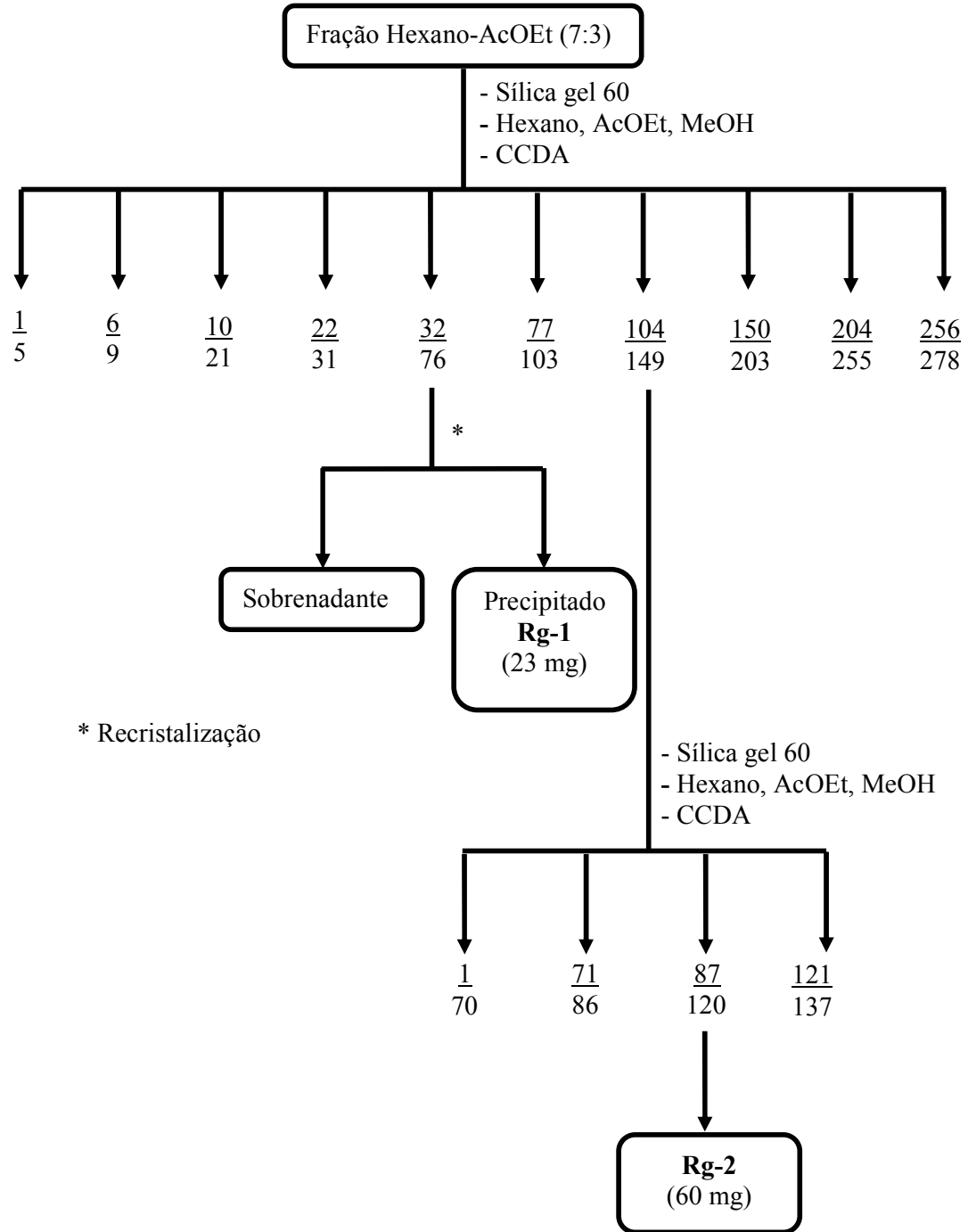
4.8.2 Ressonância magnética nuclear

Foram utilizados os espectrômetros Mercury-Varian a 200 (^1H) e 50 MHz (^{13}C) do LTF/UFPB e Bruker-AC500 a 500 (^1H) e 125 MHz (^{13}C) do CENAUREM/UFC, otimizados para técnicas uni e bidimensionais, utilizando-se quantidades variáveis de amostras. O solvente empregado foi clorofórmio deuterado (CDCl_3), registrado tendo como referências os picos característicos do mesmo em RMN de ^{13}C (δ 77,0 ppm) e do solvente não-deuterado em RMN ^1H (δ 7,24 ppm).

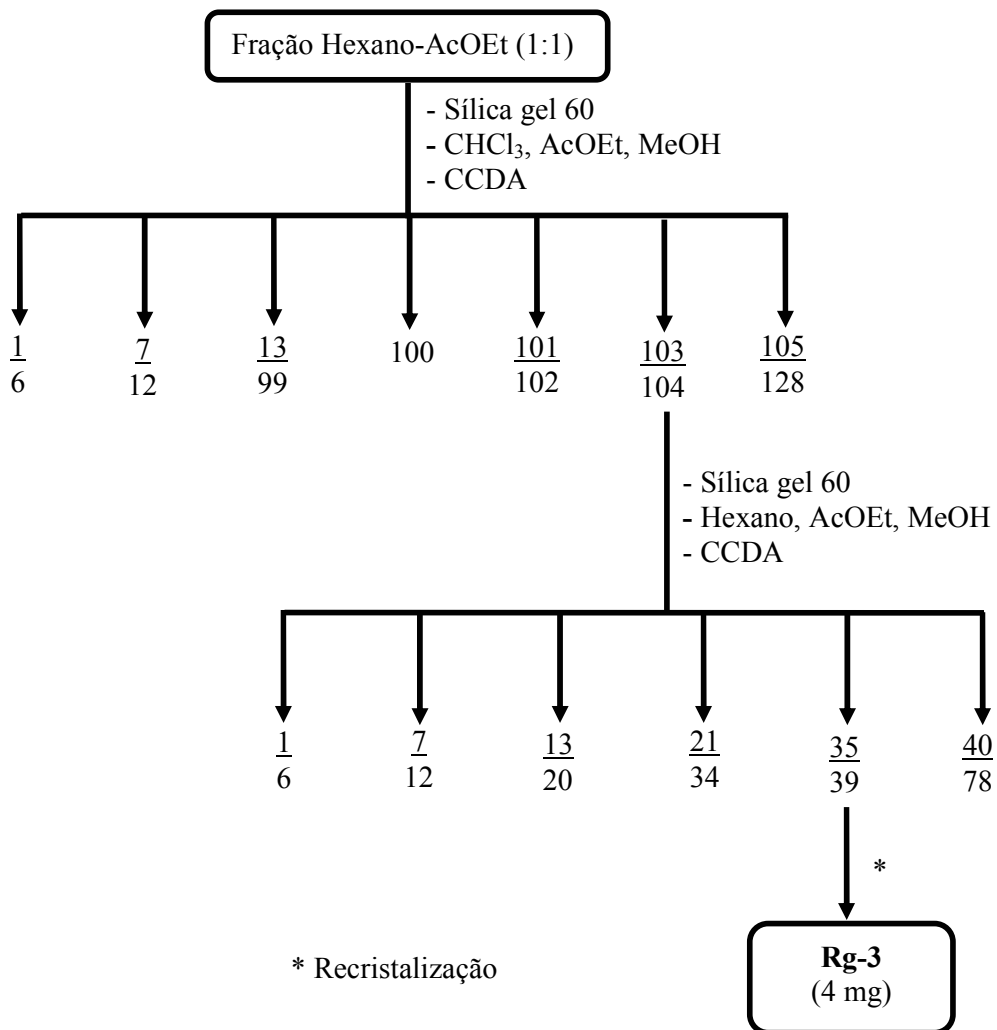
Esquema 1 – Obtenção e cromatografia líquida sob pressão reduzida do extrato etanólico bruto de *Richardia grandiflora*.



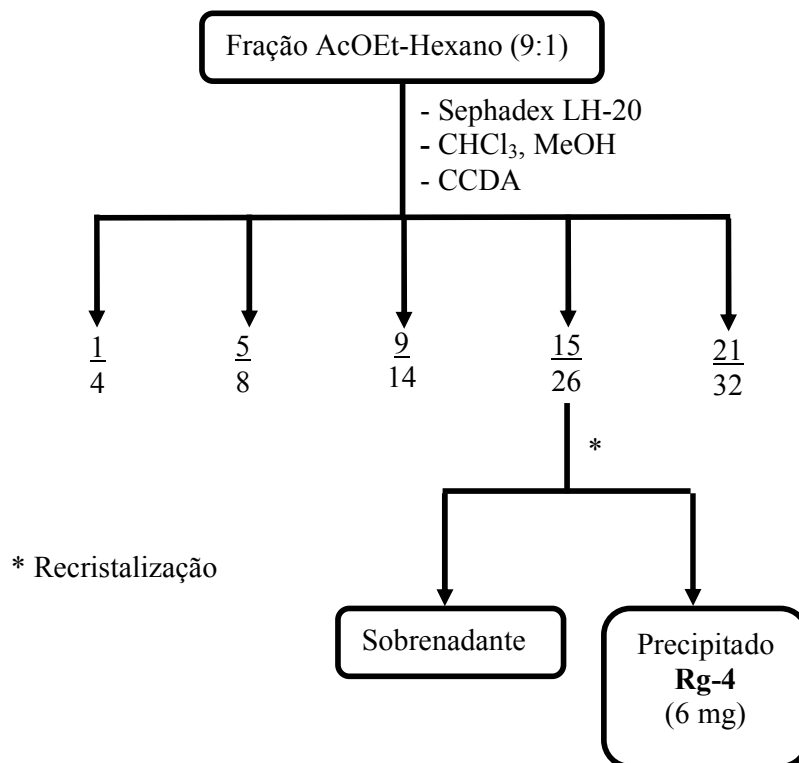
Esquema 2 – Fracionamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (7:3) do extrato etanólico bruto de *Richardia grandiflora*



Esquema 3 – Fracionamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (1:1) do extrato etanólico bruto de *Richardia grandiflora*



Esquema 4 – Fracionamento cromatográfico da fração AcOEt-Hexano (9:1) do extrato etanólico bruto de *Richardia grandiflora*



Quadro 2 – Fracionamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (7:3) do extrato etanólico bruto de *Richardia grandiflora*

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano	1-15	1/5
Hexano: AcOEt (98:02)	16-64	6/9
Hexano: AcOEt (95:05)	65-118	10/21
Hexano: AcOEt (92:08)	119-154	22/31
Hexano: AcOEt (90:10)	155-183	32/76
Hexano: AcOEt (85:15)	184-198	77/103
Hexano: AcOEt (80:20)	199-207	104/149
Hexano: AcOEt (70:30)	208-218	150/203
Hexano: AcOEt (60:40)	219-226	204/255
Hexano: AcOEt (1:1)	227-233	256/278
AcOEt: Hexano (60:40)	234-240	
AcOEt: Hexano (70:30)	241-245	
AcOEt: Hexano (80:20)	246-248	
AcOEt: Hexano (90:10)	249-252	
AcOEt	253-256	
AcOEt: MeOH (98:02)	257-261	
AcOEt: MeOH (95:05)	262-265	
AcOEt: MeOH (90:10)	266-271	
AcOEt: MeOH (80:20)	272-275	
AcOEt: MeOH (70:30)	276-278	

Quadro 3 – Fracionamento cromatográfico da subfração 104/149 da fração Hexano-AcOEt (7:3) do extrato etanólico bruto de *Richardia grandiflora*

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano: AcOEt (97:03)	1-52	1/70
Hexano: AcOEt (96:04)	53-60	71/86
Hexano: AcOEt (95:05)	61-93	87/120
Hexano: AcOEt (94:06)	94-100	121/137
Hexano: AcOEt (93:07)	101-115	
Hexano: AcOEt (92:08)	116-124	
Hexano: AcOEt (91:09)	125-128	
Hexano: AcOEt (90:10)	129-140	
Hexano: AcOEt (89:11)	141-144	
Hexano: AcOEt (88:12)	145-149	
Hexano: AcOEt (85:15)	150-161	
Hexano: AcOEt (70:30)	162-166	
Hexano: AcOEt (1:1)	167-170	
AcOEt	171-173	
AcOEt:MeOH (90:10)	174-176	
AcOEt:MeOH (80:20)	177-179	

Quadro 4 – Fracionamento cromatográfico da fração Hexano-AcOEt (1:1) do extrato etanólico bruto de *Richardia grandiflora*

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
CHCl ₃	1-99	1/6
CHCl ₃ : AcOEt (60:40)	100-106	7/12
CHCl ₃ : AcOEt (1:1)	107-109	13/99
AcOEt: CHCl ₃ (60:40)	110-111	100
AcOEt: CHCl ₃ (70:30)	112-113	101/102
AcOEt: CHCl ₃ (80:20)	114-115	103/104
AcOEt: CHCl ₃ (90:10)	116-117	105/128
AcOEt	118-119	
AcOEt: MeOH (95:05)	120-121	
AcOEt: MeOH (90:10)	122-124	
AcOEt: MeOH (80:20)	125-126	
AcOEt: MeOH (70:30)	127-128	

Quadro 5 – Fracionamento cromatográfico da subfração 103/104 da fração Hexano-AcOEt (1:1) do extrato etanólico bruto de *Richardia grandiflora*

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano: AcOEt (60:40)	1-13	1/6
Hexano: AcOEt (1:1)	14-38	7/12
AcOEt: Hexano (60:40)	39-43	13/20
AcOEt: Hexano (70:30)	44-47	21/34
AcOEt: Hexano (80:20)	48-53	35/39
AcOEt: Hexano (90:10)	54-58	40/78
AcOEt	59-63	
AcOEt: MeOH (90:10)	64-68	
AcOEt: MeOH (80:20)	69-74	
AcOEt: MeOH (70:30)	75-78	

Quadro 6 – Fracionamento cromatográfico da fração AcOEt-Hexano (9:1) do extrato etanólico bruto de *Richardia grandiflora*

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
CHCl ₃ :MeOH (1:1)	1-32	1-4 5-8 9-14 15-26 21/32

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Substâncias isoladas de *Richardia grandiflora*

O estudo fitoquímico das frações Hexano-AcOEt (7:3), Hexano-AcOEt (1:1) e AcOEt-MeOH (9:1) do extrato etanólico bruto da espécie *Richardia grandiflora* resultou no isolamento de quatro substâncias codificadas com as iniciais da planta (Rg) seguidas da numeração de 1 a 4 de acordo com a ordem em que foram isoladas. Da fração Hexano-AcOEt (7:3), foram isoladas as substâncias codificadas como Rg-1 e Rg-2, da fração Hexano-AcOEt (1:1) isolou-se a substância codificada como Rg-3 e a fração AcOEt-Hexano (9:1) forneceu a substância Rg-4.

5.2 Caracterização estrutural de Rg-1

O espectro de RMN ^1H (Figura 11, p. 62) de Rg-1 e suas expansões (Figuras 12 e 13, p. 63) mostraram absorções simples e múltiplas na região compreendida entre δ_{H} 0,64 e δ_{H} 2,00 que são características de hidrogênios metílicos, metilênicos e metílicos de carbono sp^3 presentes em estruturas como triterpenos e esteróides. Através do multipletto em δ_{H} 3,48 (Figura 13, p. 63) pôde-se inferir a presença de um hidrogênio oximetínico da posição 3 de núcleo esteroidal e/ou triterpênico (KOJIMA, 1990). O espectro revelou ainda um dubleto em δ_{H} 5,31 característico de hidrogênio olefínico na posição 6 de fitoesteróides (AHMED; AHMAD; MALIK, 1992). As referidas observações possibilitaram sugerir que Rg-1 possui o núcleo esteroidal (Tabela 1, p. 60).

A análise do espectro de RMN ^{13}C (Figura 14, p. 64) e suas expansões (Figuras 15 a 17; p. 65 e 66) demonstrou a presença de metilas esteroidais ou triterpênicas devido ao

conjunto de absorções entre δ_C 11,80 e δ 21,18, características destes grupos, reforçando, portanto, a proposta de núcleo esteroidal, dada pelo espectro de RMN 1H . O número de absorções presentes no espectro de RMN ^{13}C e seus respectivos deslocamentos químicos (Tabela 1, p. 60) permitiram propor que Rg-1 seria composta por duas substâncias distintas que passaram a ser codificadas, então, como Rg-1a e Rg-1b. Os sinais para carbono sp^2 metínico em δ_C 121,63 (2C) e carbono não-hidrogenado em δ_C 140,70 (2C) condizentes com a dupla ligação nas posições 5 e 6 tanto para o β -sitosterol como para o estigmasterol, juntamente com as absorções em δ_C 129,20 e δ 138,28 pertinentes aos carbonos olefinicos (C-22 e C-23) do estigmasterol (KOJIMA, 1990) (Tabela 2, p. 61) fortaleceram a proposta de que Rg-1 tratava-se de uma mistura de esteróides.

Os dados espectrais de RMN 1H e ^{13}C de Rg-1a e Rg-1b juntamente com comparações realizadas entre estes últimos com modelo da literatura (KOJIMA, 1990) (Tabela 2, p. 61) tornaram exequível identificar as substâncias como sendo o β -sitosterol (Rg-1a) e o estigmasterol (Rg-1b), cujas presenças são observadas em várias espécies vegetais sendo, no entanto, descritas pela primeira vez no gênero *Richardia*.

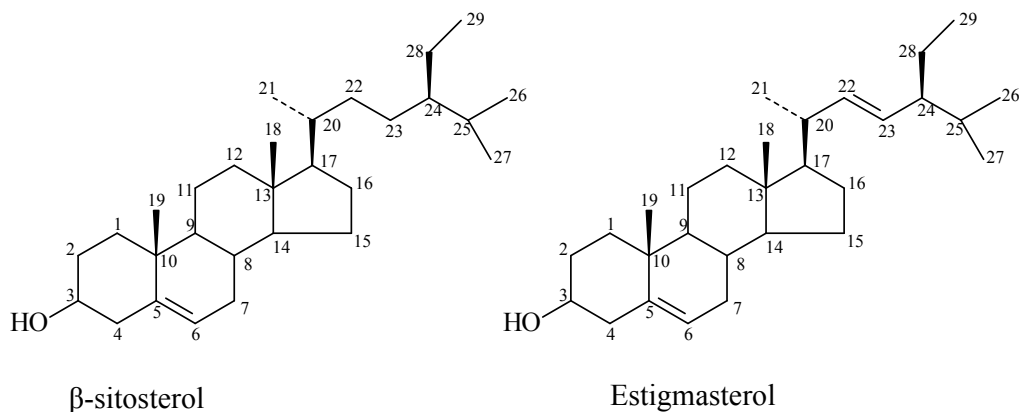
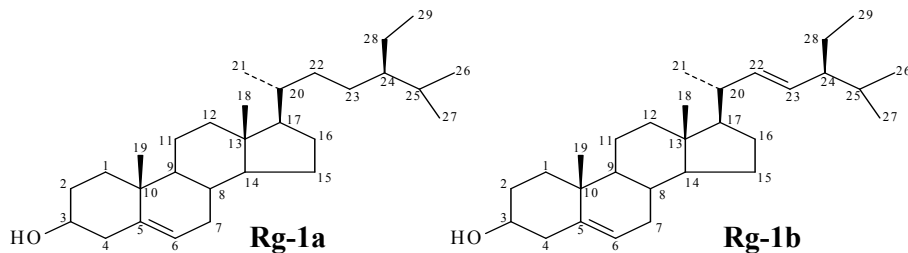


Tabela 1 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) da substância Rg-1a/Rg-1b



	Rg-1a			Rg-1b	
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	
5	140,66	-	140,66	-	
10	36,43	-	36,43	-	
13	42,24	-	42,24	-	
<hr/>					
CH					
3	71,71	3,48(m)	71,71	3,48(m)	
6	121,65	5,31(d)	121,65	5,31(d)	
8	31,82	-	31,82	-	
9	50,06	-	50,06	-	
14	56,69	-	56,80	-	
17	55,98	-	55,87	-	
20	36,09	-	40,48	-	
22	-	-	138,28	-	
23	-	-	129,20	-	
24	45,74	-	51,19	-	
25	29,05	-	29,05	-	
<hr/>					
CH ₂					
1	37,19	-	37,19	-	
2	31,45	-	31,45	-	
4	42,13	-	42,10	-	
7	31,89	-	31,89	-	
11	21,02	-	21,02	-	
12	39,70	-	39,62	-	
15	24,25	-	24,31	-	
16	28,20	-	28,89	-	
22	33,98	-	-	-	
23	25,98	-	-	-	
28	22,98	-	25,37	-	
<hr/>					
CH ₃					
18	11,80	0,64(s)	11,92	0,66(s)	
19	19,35	0,97(s)	19,35	0,97(s)	
21	18,73	-	21,18	-	
26	19,78	0,88(d)	21,06	0,88(d)	
27	18,97	0,79(d)	18,93	0,79(d)	
29	11,99	0,84(t)	12,22	0,84(t)	

Tabela 2 – Dados comparativos de RMN ^{13}C da substância Rg-1a/Rg-1b (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com modelos Mo-1 e Mo-2 (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz), (KOJIMA et al., 1990)

	Rg-1a	Mo-1 (Sitosterol)	Rg-1b	Mo-2 (Estigmasterol)
C	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
5	140,66	140,70	140,66	140,70
10	36,43	36,50	36,43	36,50
13	42,24	42,30	42,24	42,30
CH				
3	71,71	71,80	71,71	71,80
6	121,65	121,70	121,65	121,70
8	31,82	31,90	31,82	31,90
9	50,06	50,10	50,06	50,10
14	56,69	56,80	56,80	56,80
17	55,98	56,00	55,87	55,90
20	36,09	36,10	40,48	40,50
22	-	-	138,28	138,30
23	-	-	129,20	129,20
24	45,74	45,80	51,19	51,20
25	29,05	29,10	31,82	*
CH₂				
1	37,19	37,20	37,19	37,20
2	31,45	31,60	31,45	31,60
4	42,13	42,30	42,10	42,30
7	31,89	31,90	31,89	31,90
11	21,02	21,10	21,02	21,10
12	39,70	39,80	39,62	39,70
15	24,25	24,30	24,31	24,40
16	28,20	28,20	28,89	28,90
22	33,98	33,90	-	-
23	25,98	26,00	-	-
28	22,98	23,00	25,37	*
CH₃				
18	11,80	11,90	11,92	12,00
19	19,35	19,40	19,35	19,40
21	18,73	18,80	21,18	21,20
26	19,78	19,80	21,06	*
27	18,97	19,00	18,93	*
29	11,99	12,00	12,22	*

* Ausência de dados na referência

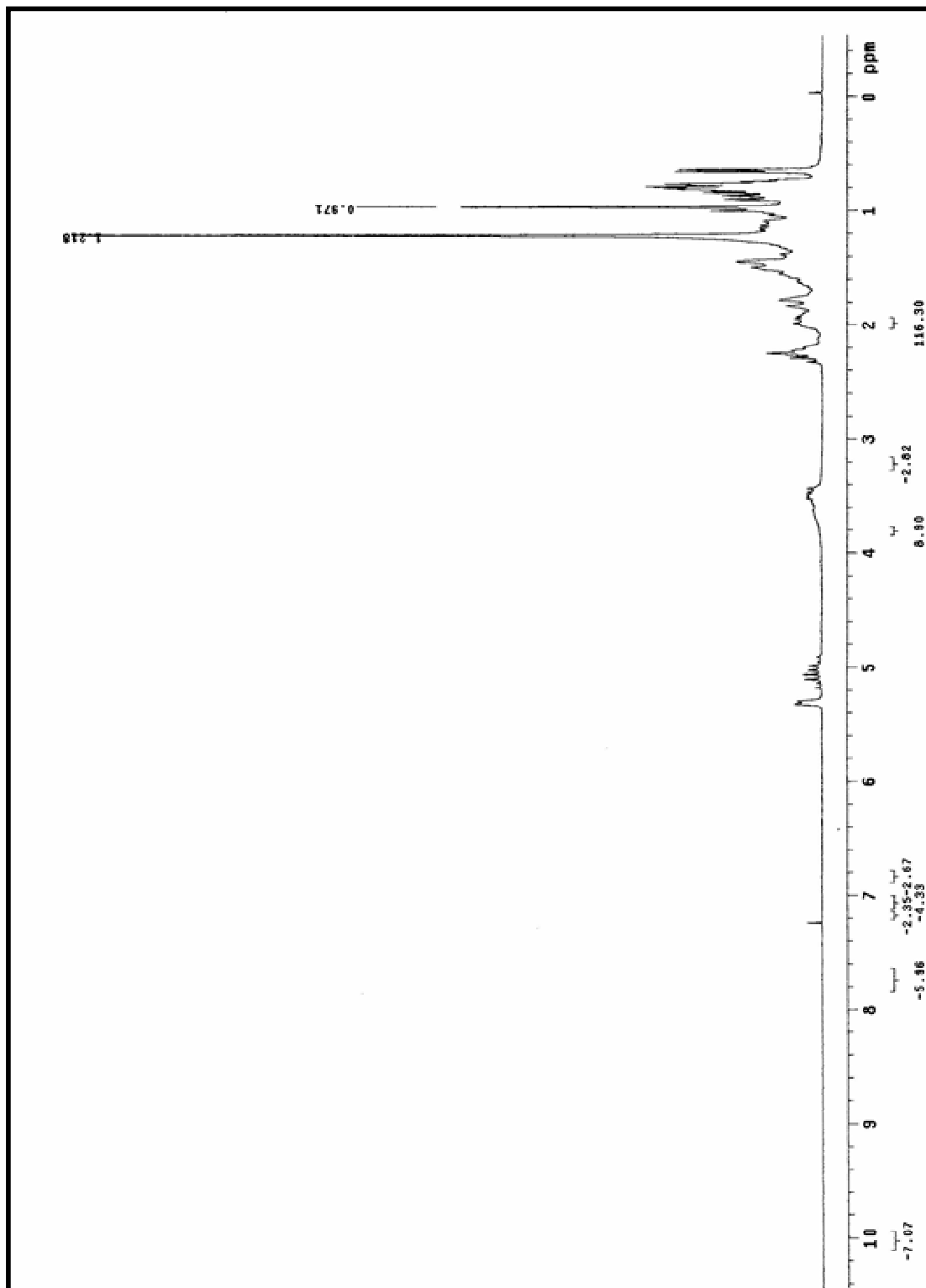


Figura 11 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-1

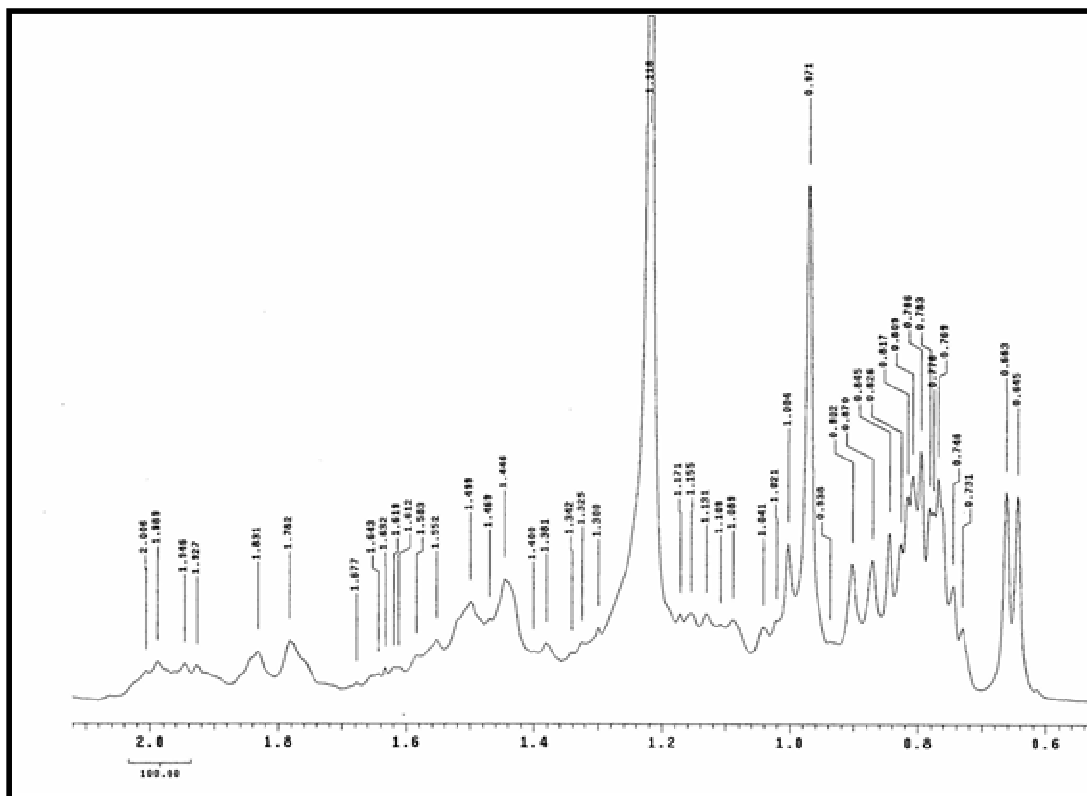


Figura 12 – Expansão do espectro de RMN ¹H (δ, CDCl₃, 200MHz) de Rg-1

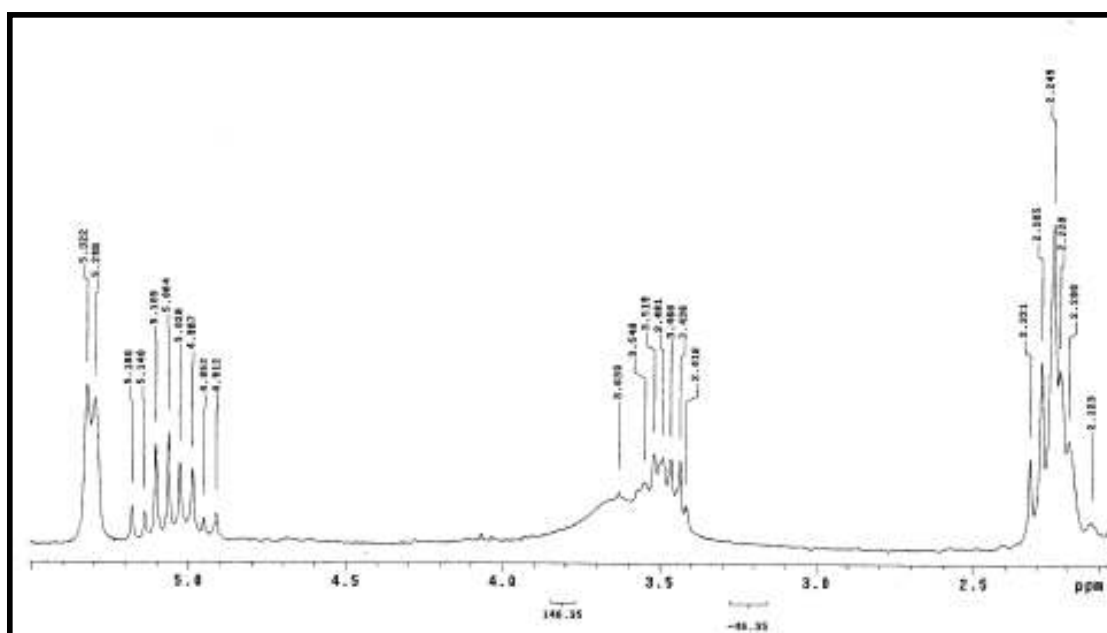


Figura 13 – Expansão do espectro de RMN ¹H (δ, CDCl₃, 200MHz) de Rg-1

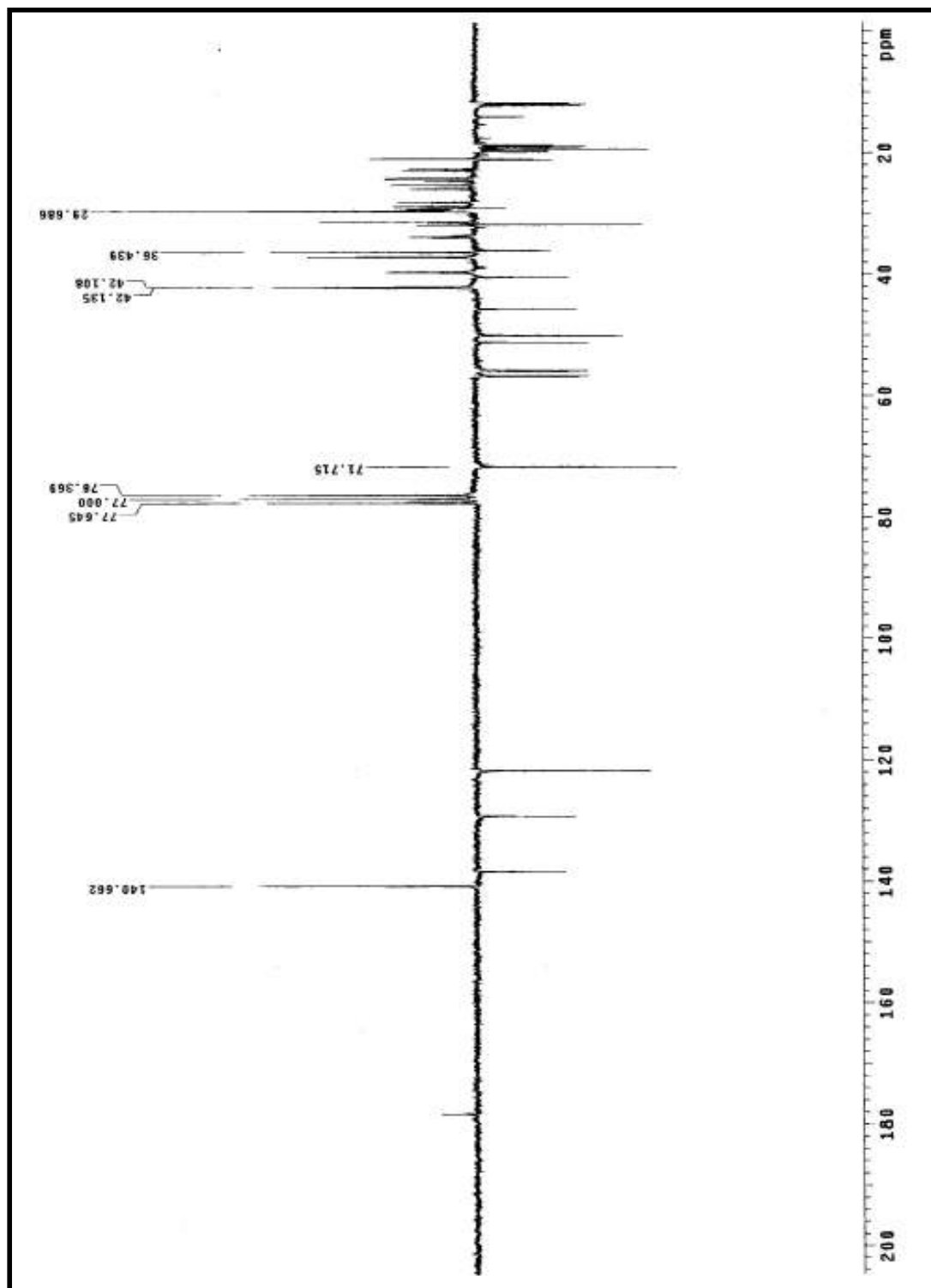


Figura 14 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 50MHz) de Rg-1

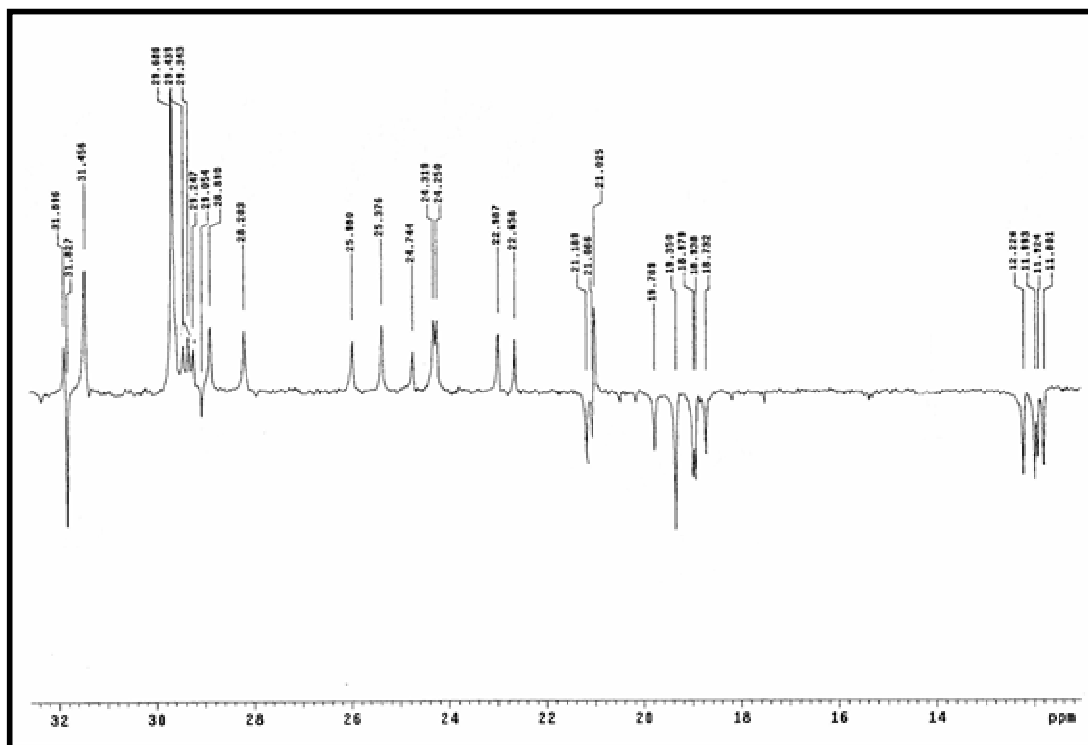


Figura 15 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 50MHz) de Rg-1

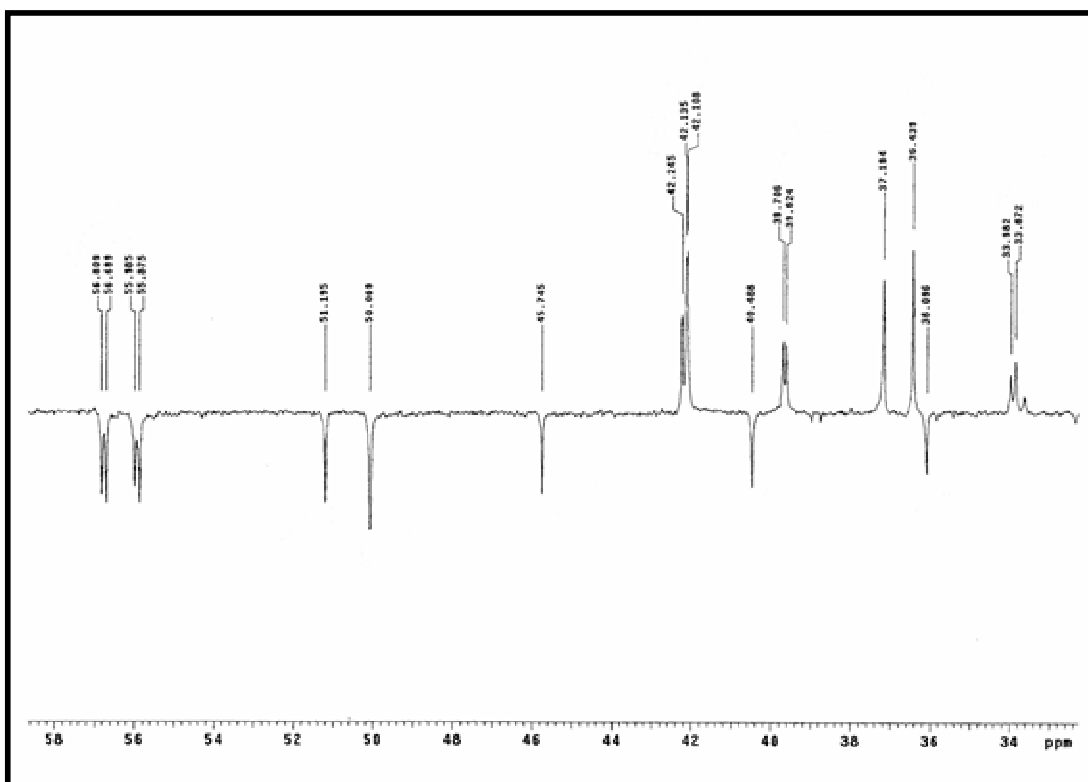


Figura 16 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 50MHz) de Rg-1

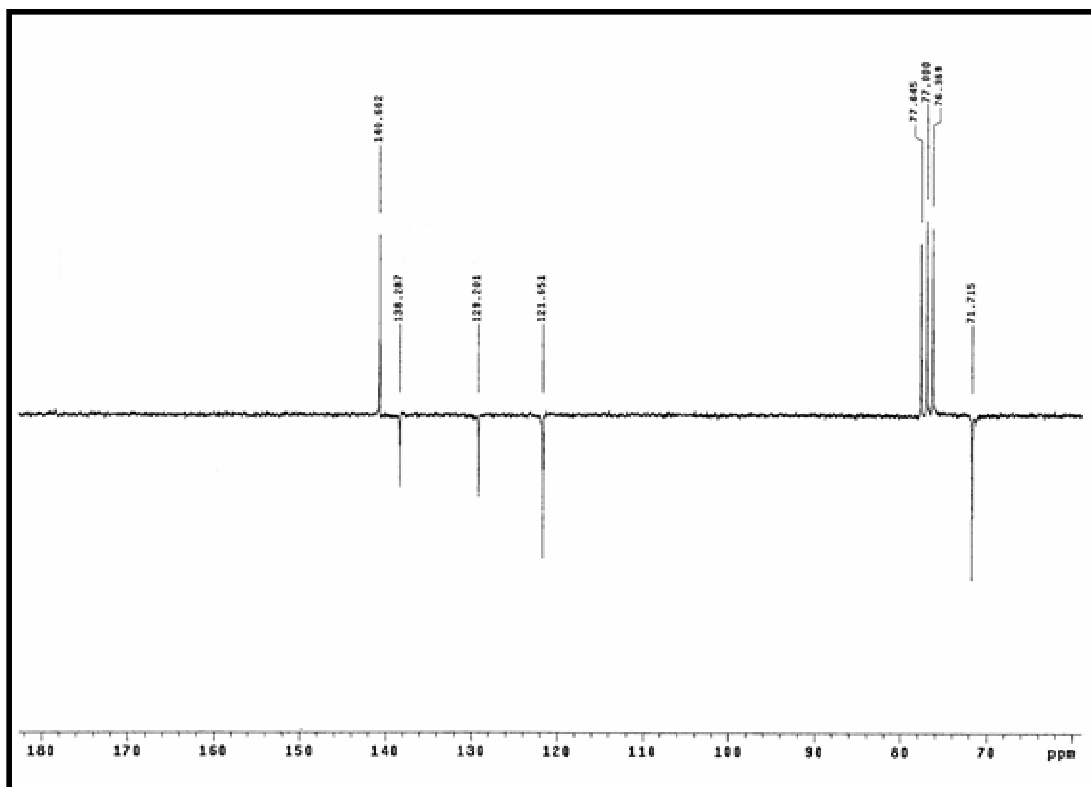


Figura 17 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 50MHz) de Rg-1

5.3 Caracterização estrutural de Rg-2

O espectro de IV (Fig. 18, p. 74) da substância Rg-2 mostrou bandas características de estiramento de C-H alifático em 2967, 2908 e 2859 cm^{-1} , bem como bandas em 3433 e 3397 cm^{-1} , as quais sugeriram tratar-se de deformação axial de N-H de amins ou de O-H. Uma outra banda, observada em 1344 cm^{-1} , fortaleceu a sugestão da presença de grupo amina, por tratar-se de deformação axial de ligação C-N conjugada. Esta observação, aliada à presença de uma banda em 1612 cm^{-1} , condizente com a absorção de ligação dupla em sistemas conjugados, está de acordo com estruturas contendo núcleo porfirínico. Em 1731 e 1695 cm^{-1} observaram-se duas bandas de absorção que remetem à deformação axial de grupo carbonílico não conjugado e conjugado, respectivamente (SILVERSTEIN; BASSLER, 1994).

Os espectros de RMN ^1H (Figuras 19 a 21, p. 75-77, Tabelas 3 e 5, p. 71 e 73) de Rg-2 revelaram absorções referentes a três metilas olefinicas em δ_{H} 3,19, δ_{H} 3,39 e δ_{H} 3,69, um grupo de hidrogênios vinílicos em δ_{H} 7,95 (dd, $J=17,85$ e $11,48$ Hz), δ_{H} 6,27 (d, $J=17,95$), δ_{H} 6,18 (d, $J=11,10$) e três hidrogênios olefinicos em δ_{H} 9,35, δ_{H} 9,51 e δ_{H} 8,60, condizentes com absorções dos hidrogênios 5, 10 e 20 do núcleo porfirínico das feofitinas (MATSUO et al., 1996; DUAN et al., 2002; SILVA et al. 2006). Adicionalmente, observou-se um conjunto de deslocamentos químicos para hidrogênios metoxílicos em δ_{H} 3,91 (s) e etílicos em δ_{H} 3,63 (m) e δ_{H} 1,66 (m).

A análise dos espectros de RMN ^{13}C -BB e DEPT-135 (Figuras 22 a 26, p. 78-82, Tabelas 3 a 5, p. 71-73) revelou picos para 55 átomos de carbono, tendo-se observado 19 quaternários, 11 metínicos, entre os quais um vinílico em δ_{C} 129,19, 14 metilênicos, com destaque também para um carbono vinílico em δ_{C} 123,11 e 11 metílicos, dentre estes últimos um valor em δ_{C} 53,07, típico de metoxila de éster.

A feofitina A é substituída com uma cadeia de fitol (Tabela 3, p. 71) no C-17³ (SCHWIKKARD et al., 1998). O envelope de sinais observado na região alifática do espectro de RMN ¹H (Figura 19, p. 75) sugeriu a presença do fitol na molécula quando comparado com os dados do 17³-etóxi-feoforbídeo A (SILVA et al., 2006) o qual não possui o fitol.

O espectro de correlação bidimensional homonuclear COSY (Figuras 27 a 29, p. 83-85) confirmou a presença dos grupos vinílico e etílico, antes proposta pelo espectro unidimensional, ao mostrar acoplamento entre as absorções em δ_H 7,95 (H-3¹) e δ_H 6,27 (H-3²-trans), δ_H 6,18 (H-3²-cis), referentes aos hidrogênios vinílicos, e entre δ_H 3,63 (H-8¹) e δ_H 1,66 (CH₃-8²), atribuídos aos grupos etila.

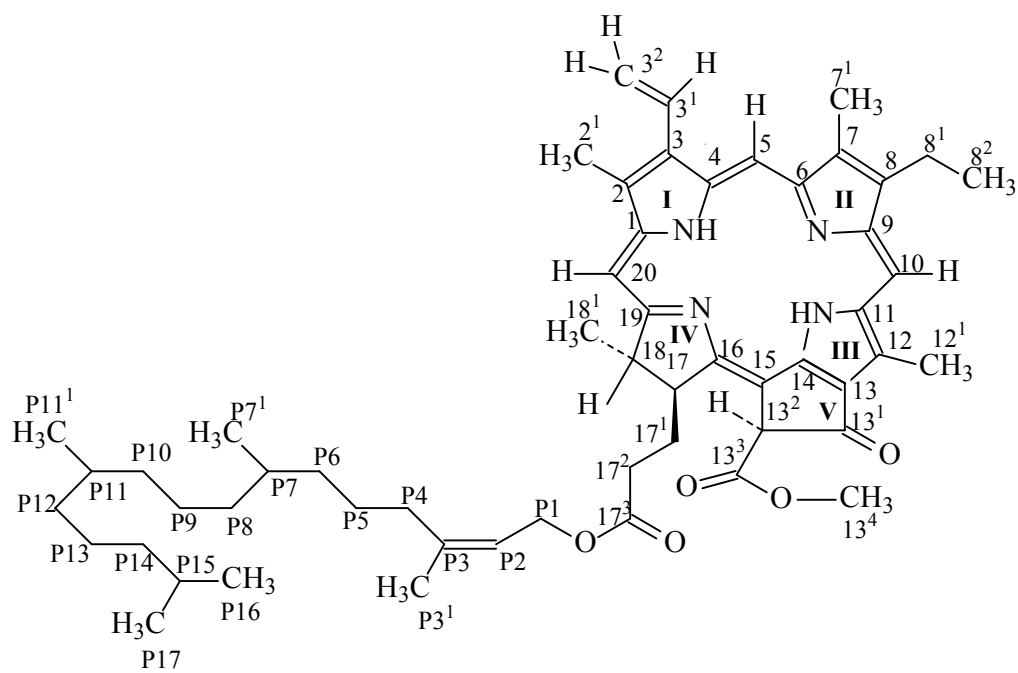
Os espectros de correlação bidimensional heteronuclear a duas (²J_{CH}) e a três ligações (³J_{CH}) HMBC (Figuras 30 a 35, p. 86-91, Tabela 5, p. 72) mostrou correlação a ³J_{CH} entre as absorções em δ_H 6,27 e 6,18 (2H-3²) com δ_C 136,82 (C-3), entre a absorção em δ_H 7,95 (H-3¹) com δ_C 136,51 (C-4) e ainda entre a metila 8² (δ_H 1,66) com o carbono 8 (δ_C 145,25), favorecendo a atribuição das posições 3 e 8 para os grupos vinílico e etílico, respectivamente. As atribuições referentes aos hidrogênios e grupos metila olefínicos foram feitas também através do HMBC pelas correlações seguintes: CH₃-2¹ (δ_H 3,39) com δ_C 131,10 (C-2) a ²J_{CH} e com δ_C 142,34 (C-1) e δ_C 136,82 (C-3) a ³J_{CH}; CH₃-7¹ (δ_H 3,19) com δ_C 136,14 (C-7) a ²J_{CH} e com os carbonos C-6 (δ_C 155,55) e C-8 (δ_C 145,25) a ³J_{CH}; CH₃-12¹ (3,69) (²J) com δ_C 129,03 (C-12) e (³J) com δ_C 138,14 (C-11) e δ_C 129,14 (C-13); δ_H 9,51 (H-10) (²J) com δ_C 138,14 (C-11); δ_H 9,35 (H-5) (²J) com δ_C 136,51 (C-4); δ_H 8,60 (H-20) (²J) com δ_C 131,10 (C-2).

Estas interações permitiram estabelecer, com o auxílio do espectro de correlação heteronuclear direta HSQC (Figuras 36 a 40, p. 92-96, Tabela 5, p. 73), os deslocamentos químicos dos carbonos e hidrogênios 5, 10 e 20 dos anéis de porfirina, das metilas olefínicas 2¹, 7¹ e 12¹, bem como a atribuição parcial dos carbonos dos anéis I, II, III e IV, sendo as

demais feitas por comparação com a literatura (MATSUO et al., 1996; SCHWIKKARD et al., 1998; DUAN et al., 2002; SILVA et al. 2006). As atribuições dos carbonos 13^1 e 13^2 do anel V foram feitas através das correlações entre δ_H 6,30 (H- 13^2) a duas ligações com δ_C 189,81 (C- 13^1), δ_C 169,77 (C- 13^3) e δ_C 105,10 (C-15) e a três ligações com δ_C 149,59 (C-14), além da análise do HSQC.

Um dado interessante que deve ser destacado diz respeito ao valor do deslocamento químico revelado pelo espectro de RMN ^{13}C para o carbono quaternário na posição 13^3 (δ_C 169,77), já que o mesmo não está de acordo com os dados da literatura. Matsuo et al. (1996) e Schwikkard et al. (1998) relatam que este valor é δ_C 173,0. No entanto, nossa atribuição é inequívoca uma vez que o espectro HMBC mostrou correlações a $^2J_{CH}$ entre o C- 13^3 (δ_C 169,77) com o H- 13^2 (δ_H 6,30) (Figura 32, p. 88) e a $^3J_{CH}$ com os hidrogênios metoxílicos na posição 13^4 (δ_H 3,91) (Figura 33, p. 89), fortalecendo nossos dados (Tabela 3, p. 71).

Os demais assinalamentos de carbonos e hidrogênios foram determinados com base em comparação com dados da literatura (MATSUO et al., 1996; SCHWIKKARD et al., 1998, Tabela 3, p. 71; MELOS et al., 2007, Tabela 4, p. 72), permitindo identificar a substância Rg-2 como sendo a feofitina A, anteriormente isolada das folhas de *Tapura fischeri* (SCHWIKKARD et al., 1998) e *Saussurea medusa* (DUAN et al., 2002), porém descrita pela primeira vez no gênero *Richardia*.



Feofitina A (Rg-2)

Tabela 3 – Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Rg-2 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz, respectivamente) com os modelos Mo-1 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz; MATSUO et al., 1996) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 300 e 75 MHz; SCHWIKKARD et al., 1998)

C	Mo-1		Mo-2		Rg-2	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	142,90		142,90		142,34	
2	131,80		131,80		131,10	
2 ¹	12,10	3,39 (s)	12,10	3,39 (s)	12,26	3,39 (s)
3	136,50		136,50		136,82	
3 ¹	129,00	7,98 (dd)	129,00	7,98 (dd, $J=15,19$ Hz, 11,39 Hz) 6,28 (trans) (dd, $J=15,19$ Hz, 2,29 Hz) e 6,17 (cis) (dd, $J=11,39$ Hz, 2,28 Hz)	129,19	7,95 (dd, $J=17,85$ Hz, 11,48 Hz)
3 ²	122,80	6,28 (trans) (dd) e 6,17 (cis) (dd)	122,80		123,11	6,27 (trans) (d, $J=17,95$ Hz) e 6,18 (cis) (d, $J=11,10$ Hz)
4	136,20		136,20		136,51	
5	97,50	9,36 (s)	97,30	9,36 (s)	97,66	9,35 (s)
6	155,50		155,50		155,55	
7	136,10		136,10		136,14	
7 ¹	11,20	3,21 (s)	11,20	3,21 (s)	11,35	3,19 (s)
8	145,20		145,20		145,25	
8 ¹	19,70	3,66 (q)	19,70	3,66 (q)	19,60	3,63 (m)
8 ²	16,30	1,68 (t)	16,30	1,68 (t)	17,52	1,66 (m)
9	151,00		151,00		150,92	
10	104,40	9,50 (s)	104,40	9,50 (s)	104,59	9,51 (s)
11	137,90		137,90		138,14	
12	129,10		129,10		129,03	
12 ¹	12,20	3,88 (s)	12,20	3,68 (s)	12,32	3,69 (s)
13	129,00		129,00		129,14	
13 ¹	189,60		189,60		189,81	
13 ²	64,70	6,26 (s)	64,70	6,26 (s)	64,90	6,30 (s)
13 ³	173,00		173,00		169,77	
13 ⁴	53,00	3,68 (s)	53,00	3,88 (s)	53,07	3,91 (s)
14	150,00		150,00		149,59	
15	105,20		105,20		105,10	
16	161,30		161,30		161,19	
17	51,10	4,21 (ddd)	51,10	4,20 (m)	51,42	4,15 (m)
17 ¹	29,80		29,80		29,89	
17 ²	31,20		31,20		31,42	
17 ³	173,00		172,00		173,18	
18	50,10	4,46 (dq)	50,10	4,45 (m)	50,36	4,34 (m)
18 ¹	22,70	1,80 (d)	22,70	1,80 (d)	23,28	1,84 (d)
19	172,20		170,00		172,63	
20	93,10	8,55 (s)	93,10	8,55 (s)	93,72	8,60 (s)

Tabela 4 – Dados comparativos de RMN ^{13}C da cadeia de fitol de Rg-2 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) com o modelo Mo-3 (δ , CDCl_3 , 75 MHz; MELOS et al., 2007)

	Mo-3	Rg-2
C	δ_{C}	δ_{C}
P1	59,40	61,69
P2	123,10	117,93
P3	140,10	143,02
P4	39,80	39,98
P5	25,10	25,17
P6	36,60	37,57
P7	32,70	32,93
P8	37,20	37,50
P9	24,50	24,60
P10	37,30	36,82
P11	32,60	32,79
P12	37,30	37,44
P13	24,70	24,95
P14	39,30	39,53
P15	27,90	28,14
P16	22,70	22,89
P17	22,60	22,80
P11 ¹	19,70	19,84
P7 ¹	19,70	19,90
P3 ¹	16,10	16,48

Tabela 5 – Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz, respectivamente) de Rg-2 (sem o fitol)

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY
	δ_{C}	δ_{H}	2J	3J	
1	142,34				
2	131,10				
3	136,82				
4	136,51				
6	155,55				
7	136,14				
8	145,25				
9	150,92				
11	138,14				
12	129,03				
13	129,14				
13 ¹	189,81				
13 ³	169,77				
14	149,59				
15	105,10				
16	161,19				
17 ³	173,18				
19	172,63				
CH					
3 ¹	129,19	7,95 (dd, $J=17,85$ Hz, 11,48 Hz)		C-4	H-3 ²
5	97,66	9,35 (s)	C-4		
10	104,59	9,51 (s)	C-11		
13 ²	64,90	6,30 (s)	C-13 ¹ ; C-13 ³ ; C-15	C-14	
17	51,42	4,15 (m)			
18	50,36	4,34 (m)			
20	93,72	8,60 (s)		C-2	
CH ₂					
3 ²	123,11	6,27 (trans) (d, $J=17,95$ Hz) e 6,18 (cis) (d, $J=11,10$ Hz)		C-3	
8 ¹	19,60	3,63 (m)	C-8; C-8 ²	C-7	H-8 ²
17 ¹	29,89				
17 ²	31,42				
CH ₃					
2 ¹	12,26	3,39 (s)	C-2	C-1; C-3	
7 ¹	11,35	3,19 (s)	C-7	C-6; C-8	
8 ²	17,52	1,66 (m)			
12 ¹	12,32	3,69 (s)	C-12	C-11; C-13	
13 ⁴ (OMe)	53,07	3,91 (s)		C-13 ³	
18 ¹	23,28	1,84 (d)			

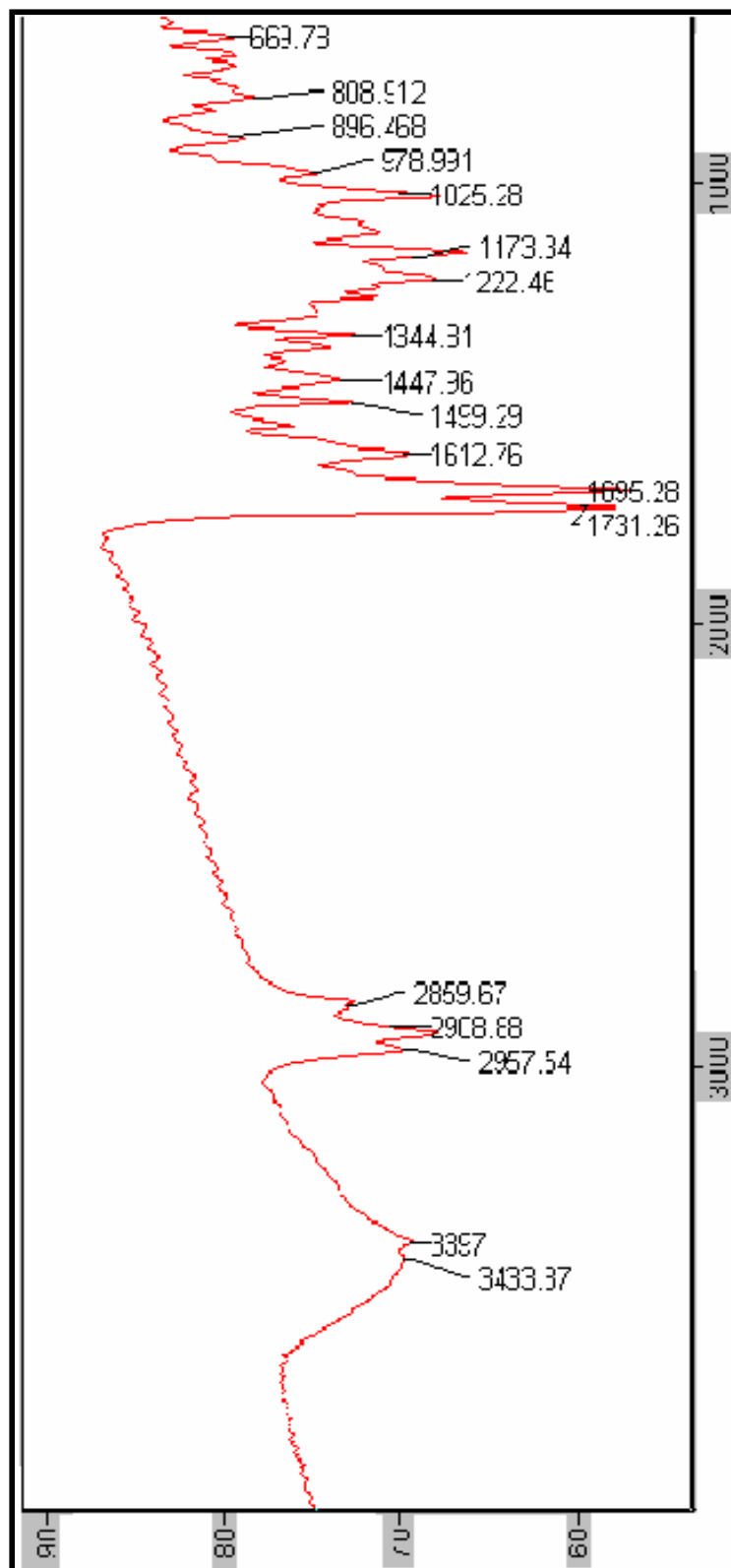


Figura 18 – Espectro de IV (KBr, cm^{-1}) de Rg-2

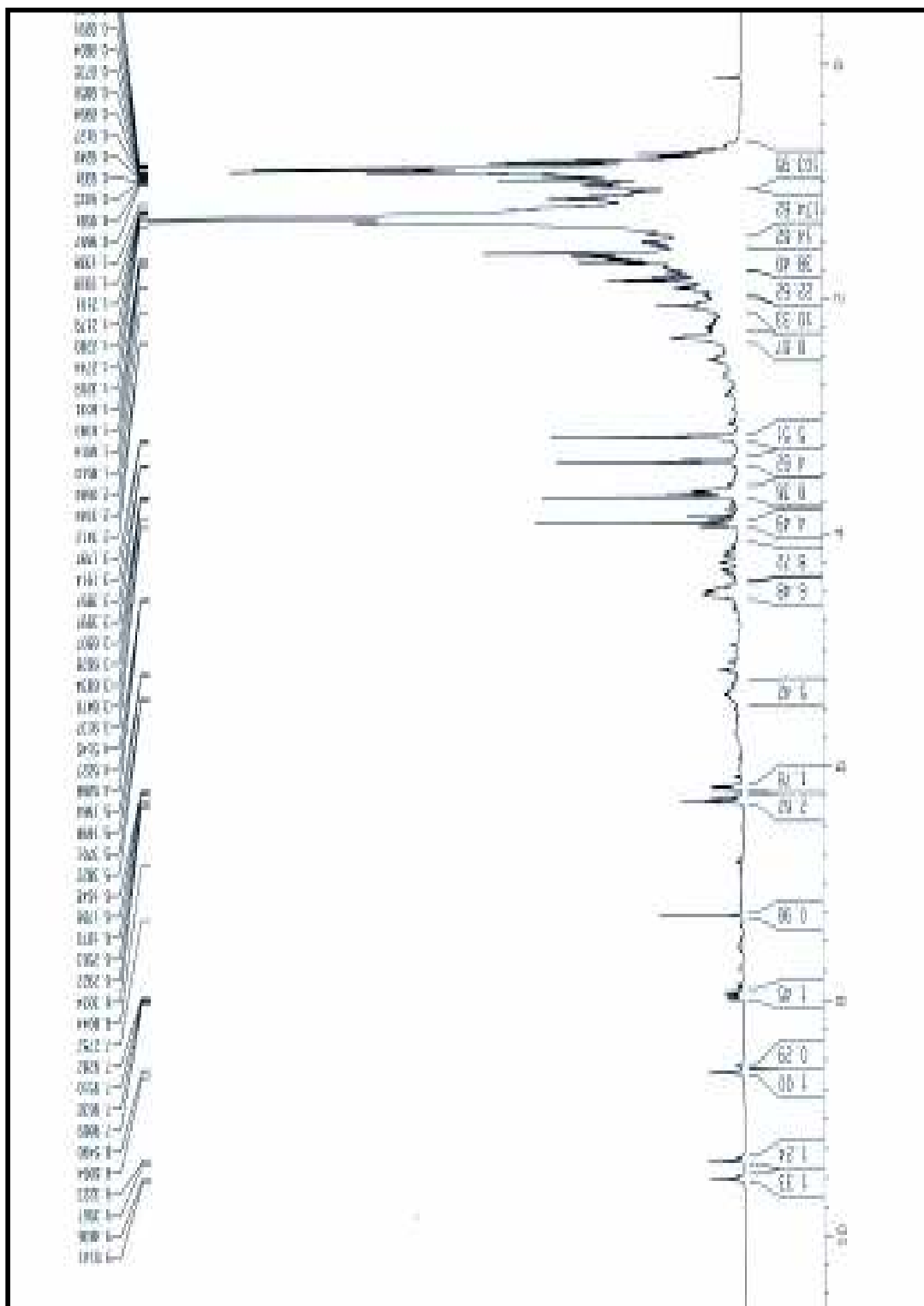


Figura 19– Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

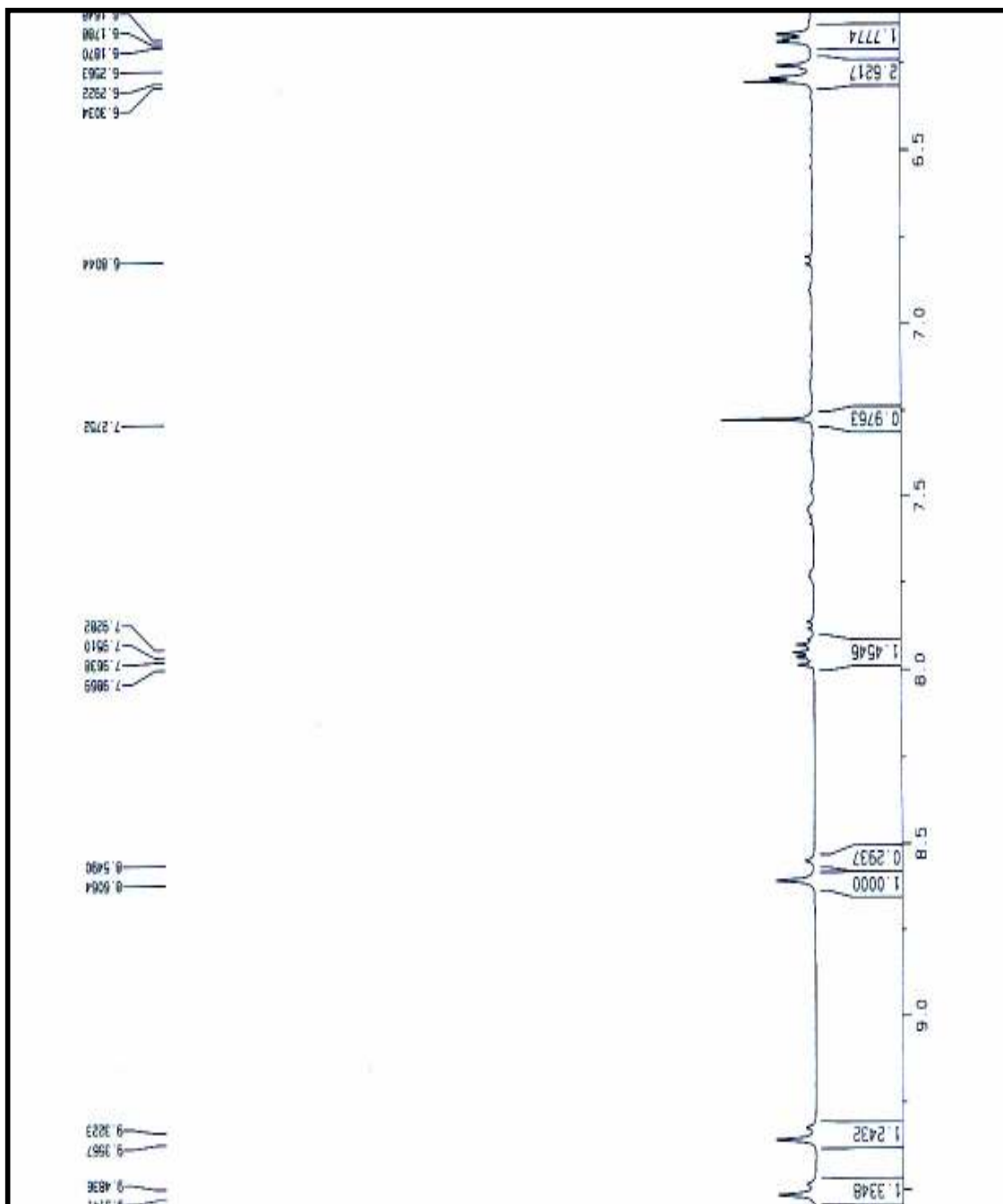


Figura 20 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

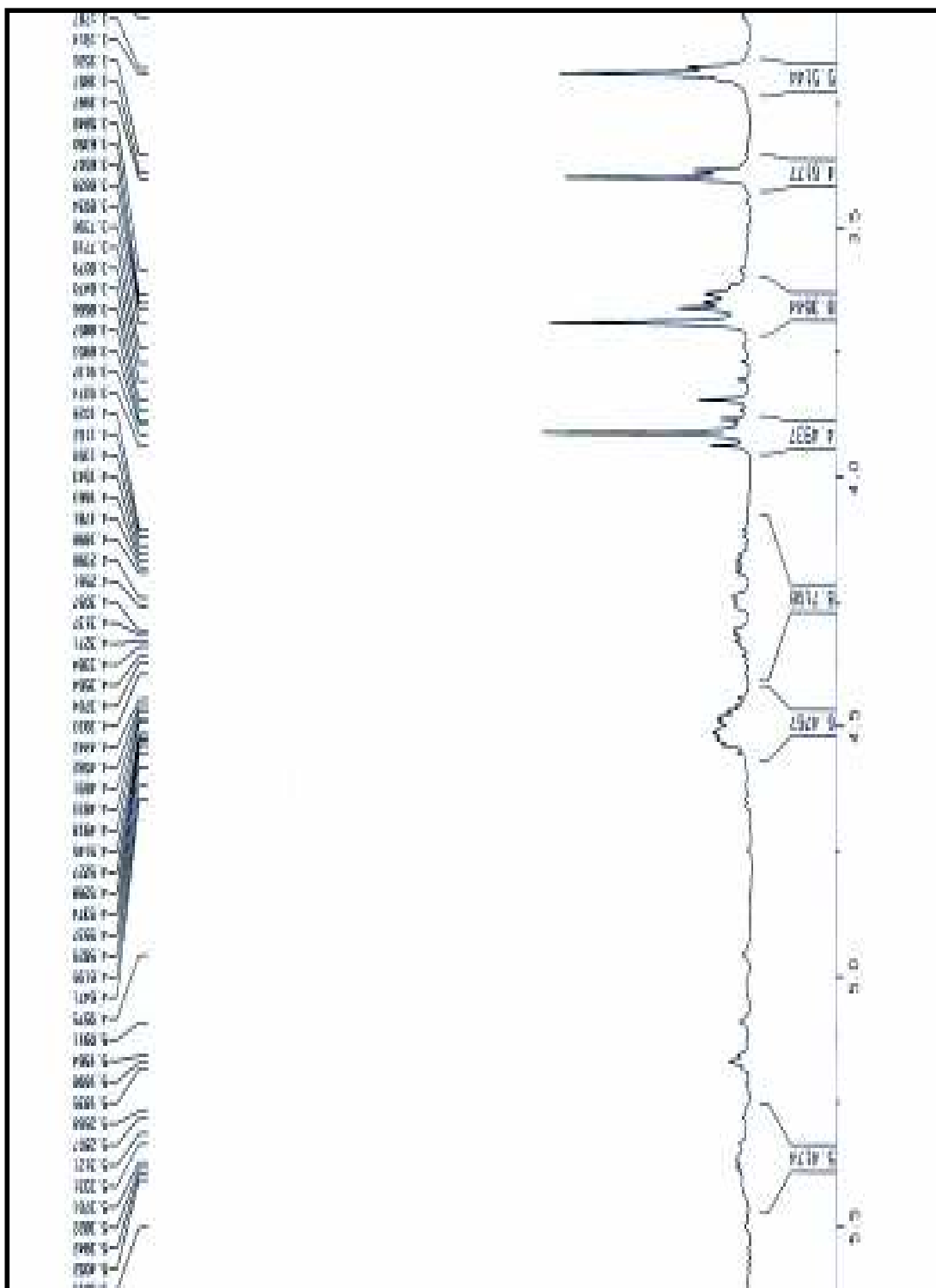


Figura 21 – Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

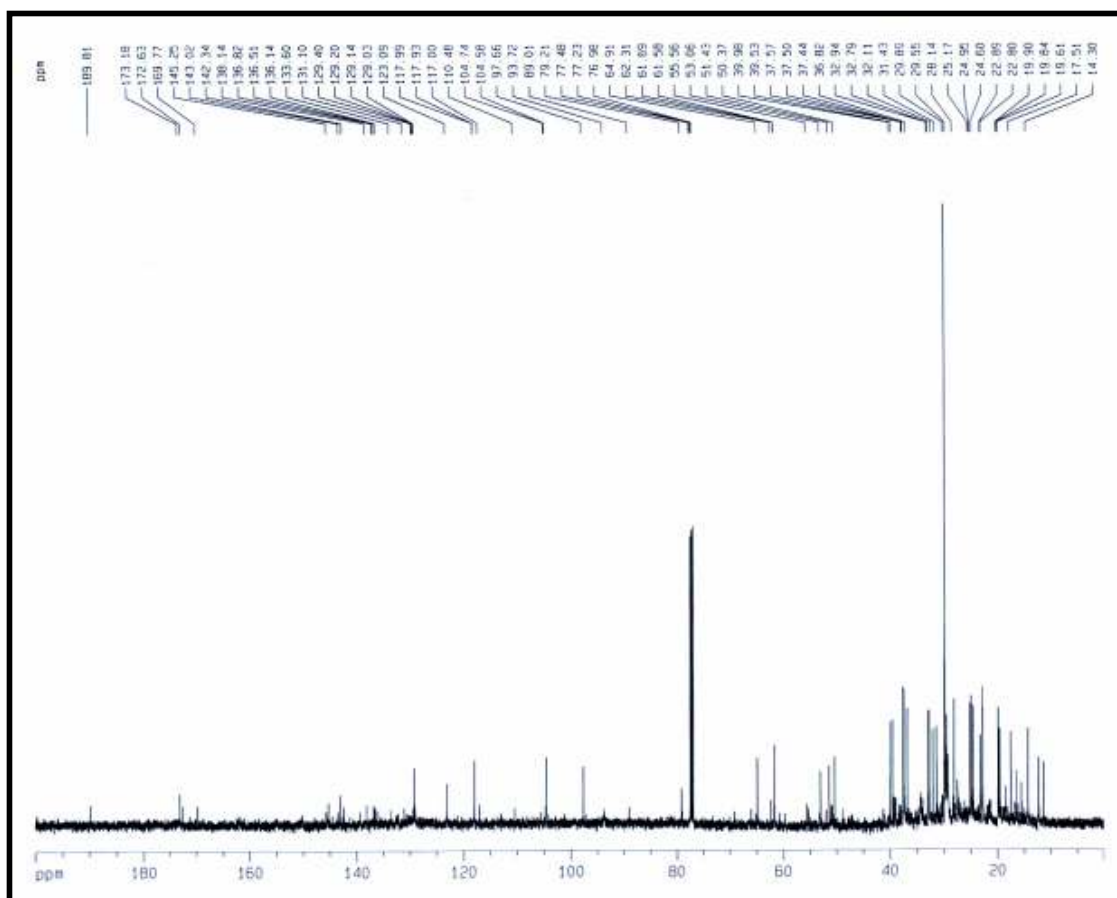


Figura 22 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Rg-2

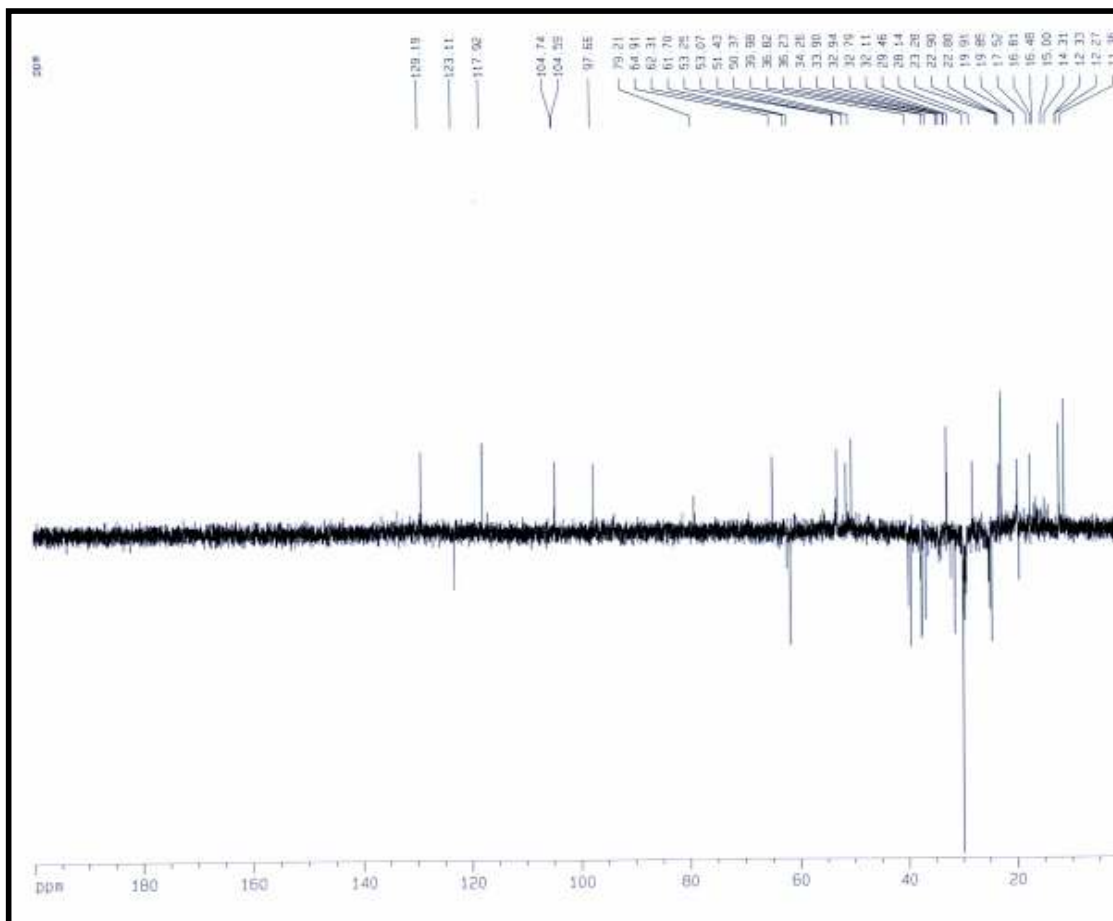


Figura 23 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT-135 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Rg-2

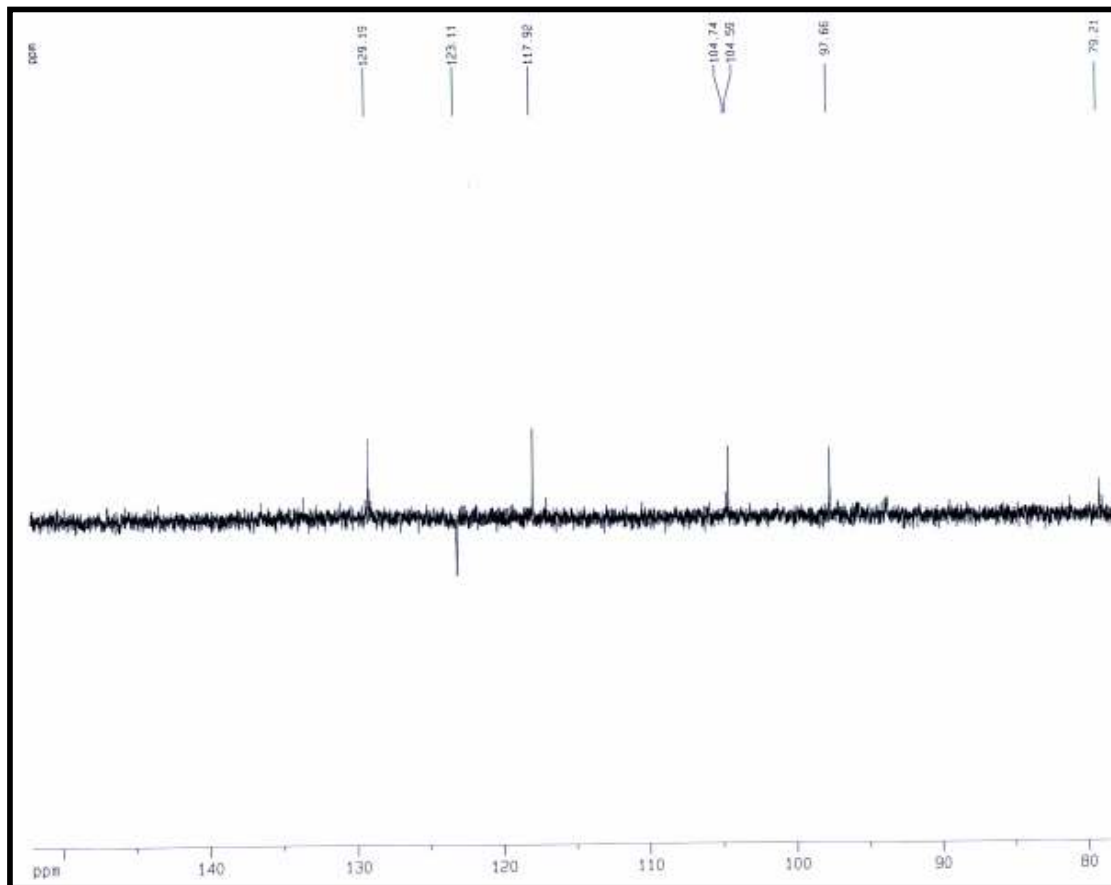


Figura 24 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C -DEPT-135 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Rg-2

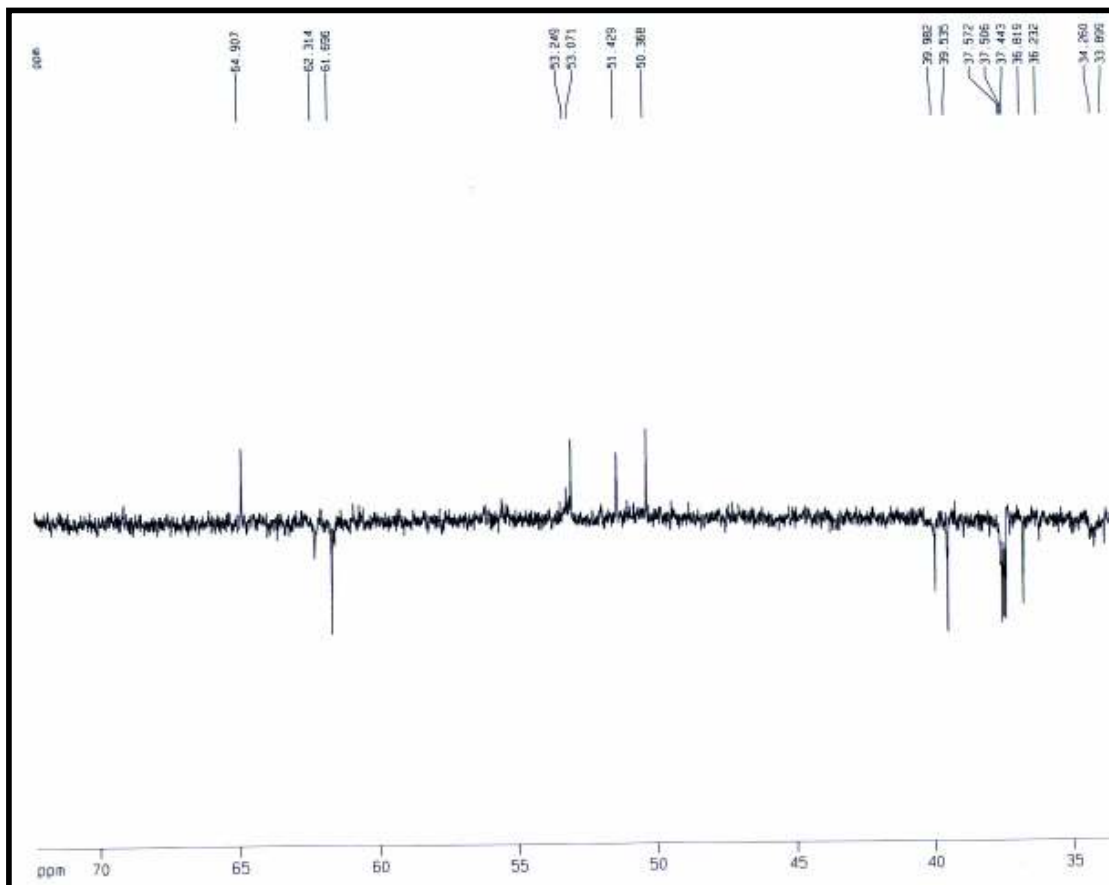


Figura 25 – Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C -DEPT-135 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Rg-2

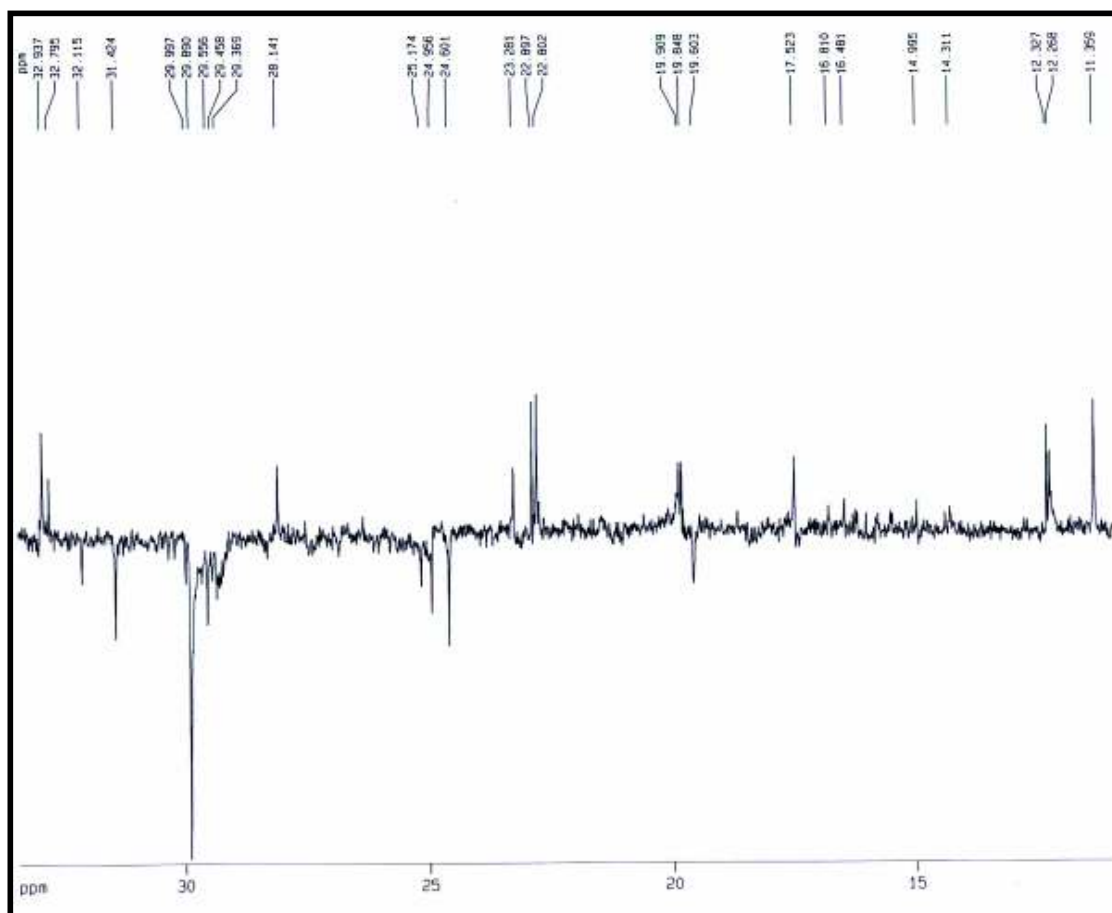


Figura 26 – Expansão 3 do espectro de RMN ^{13}C -DEPT-135 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Rg-2

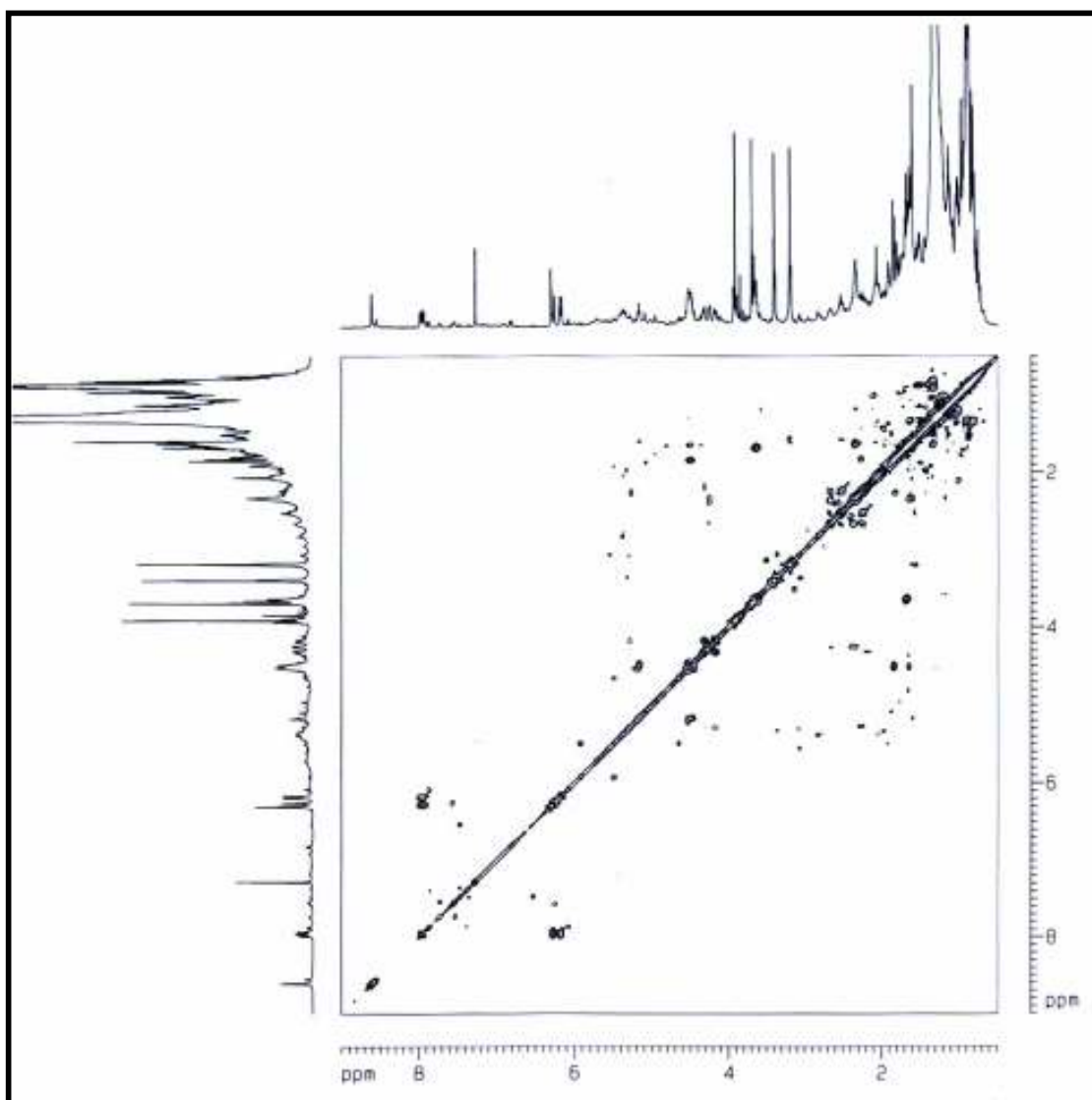


Figura 27 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

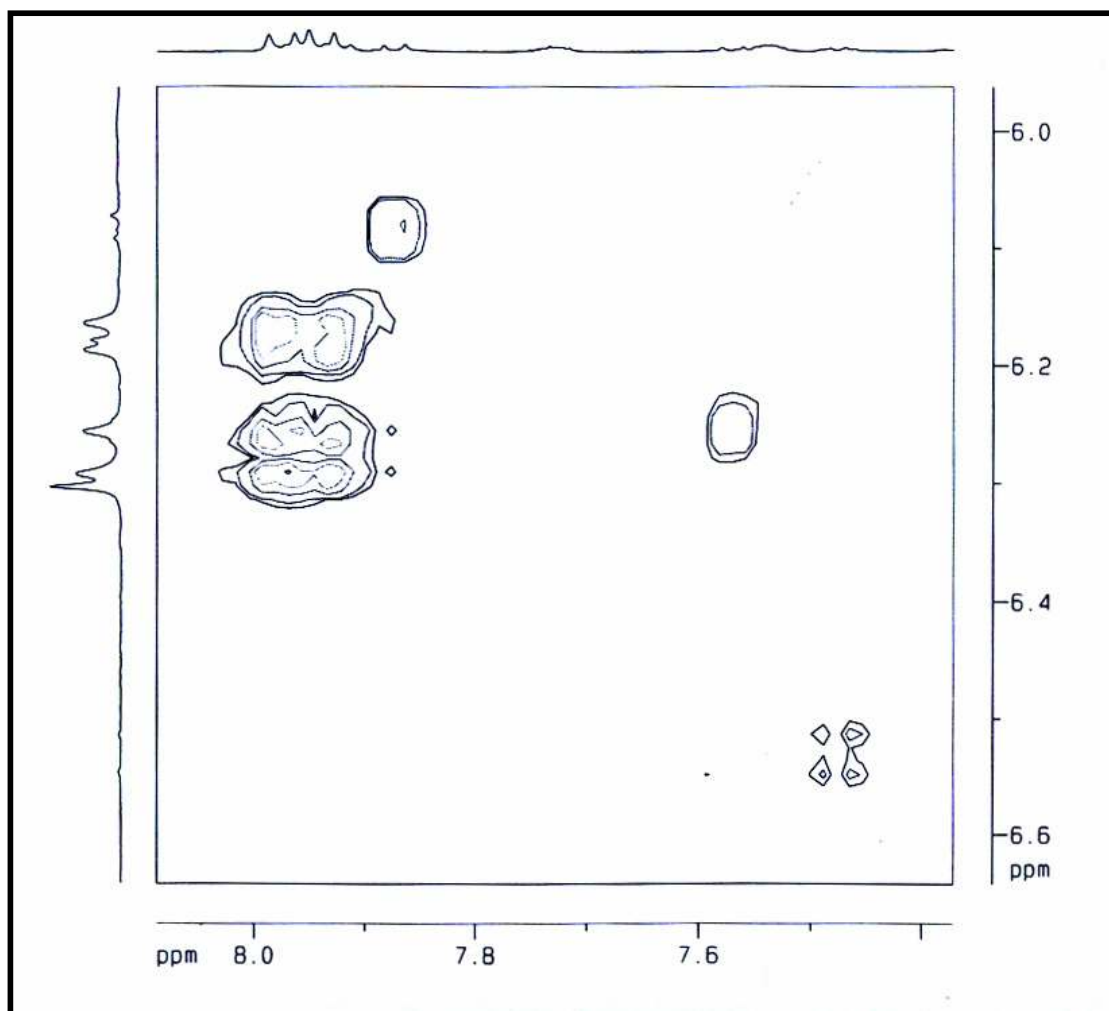


Figura 28 – Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

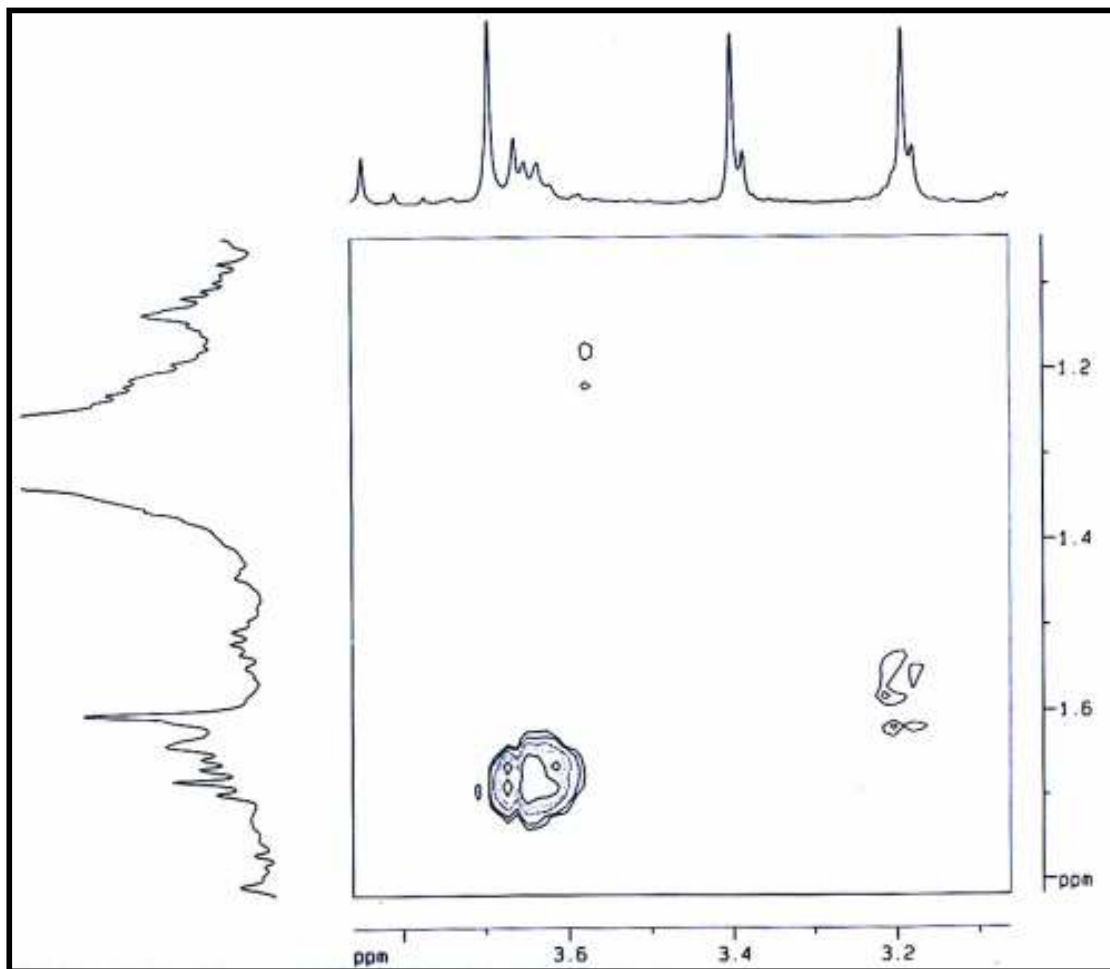


Figura 29 – Expansão 2 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

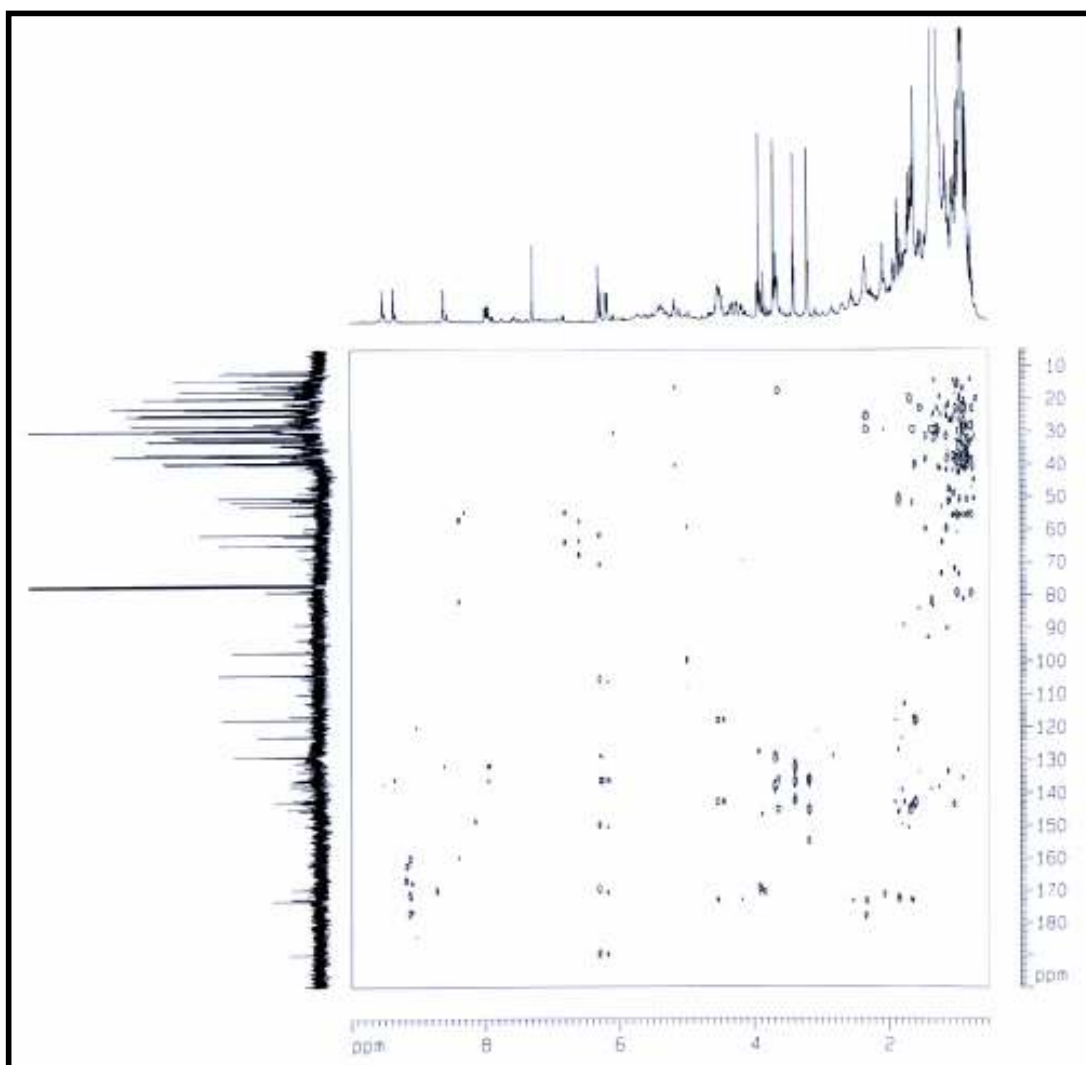


Figura 30 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

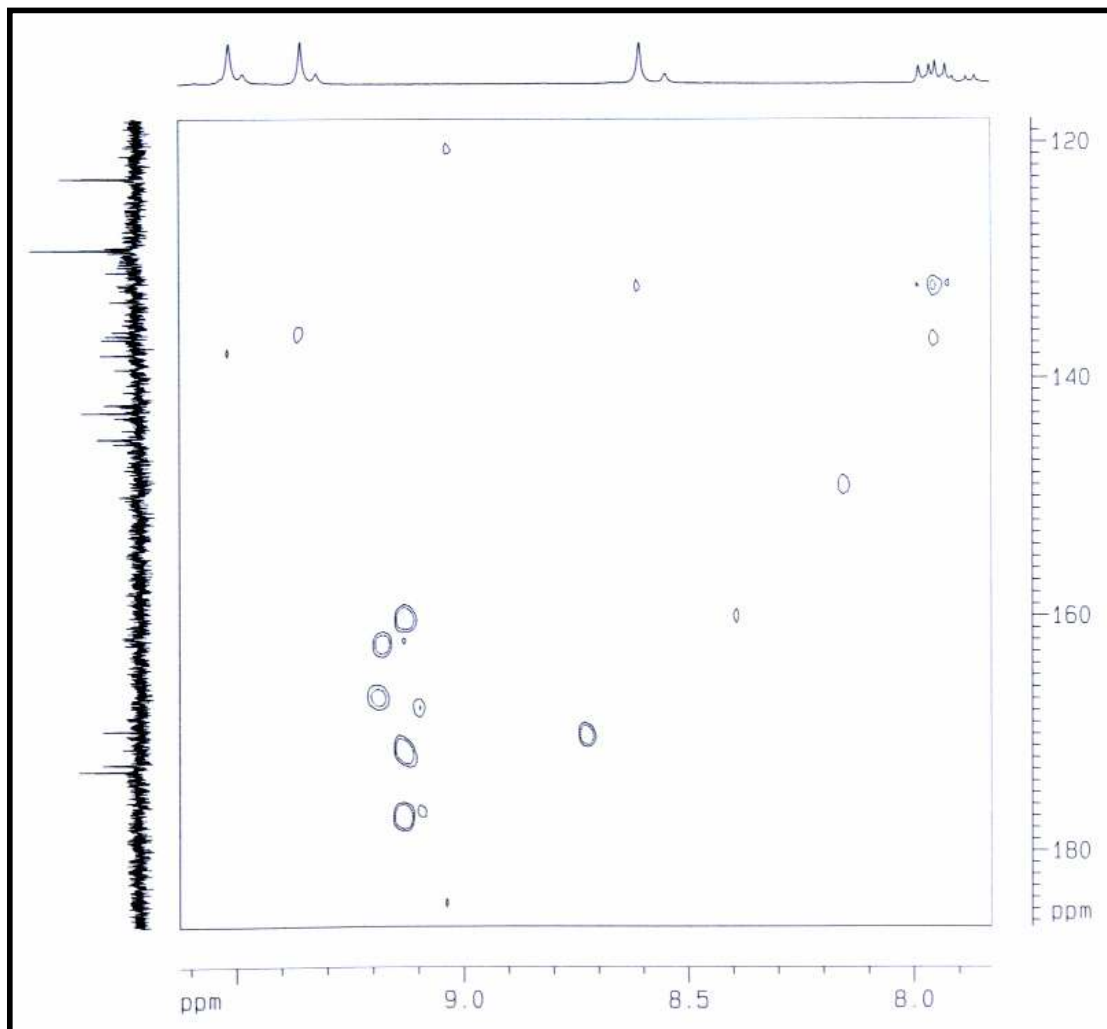


Figura 31 – Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

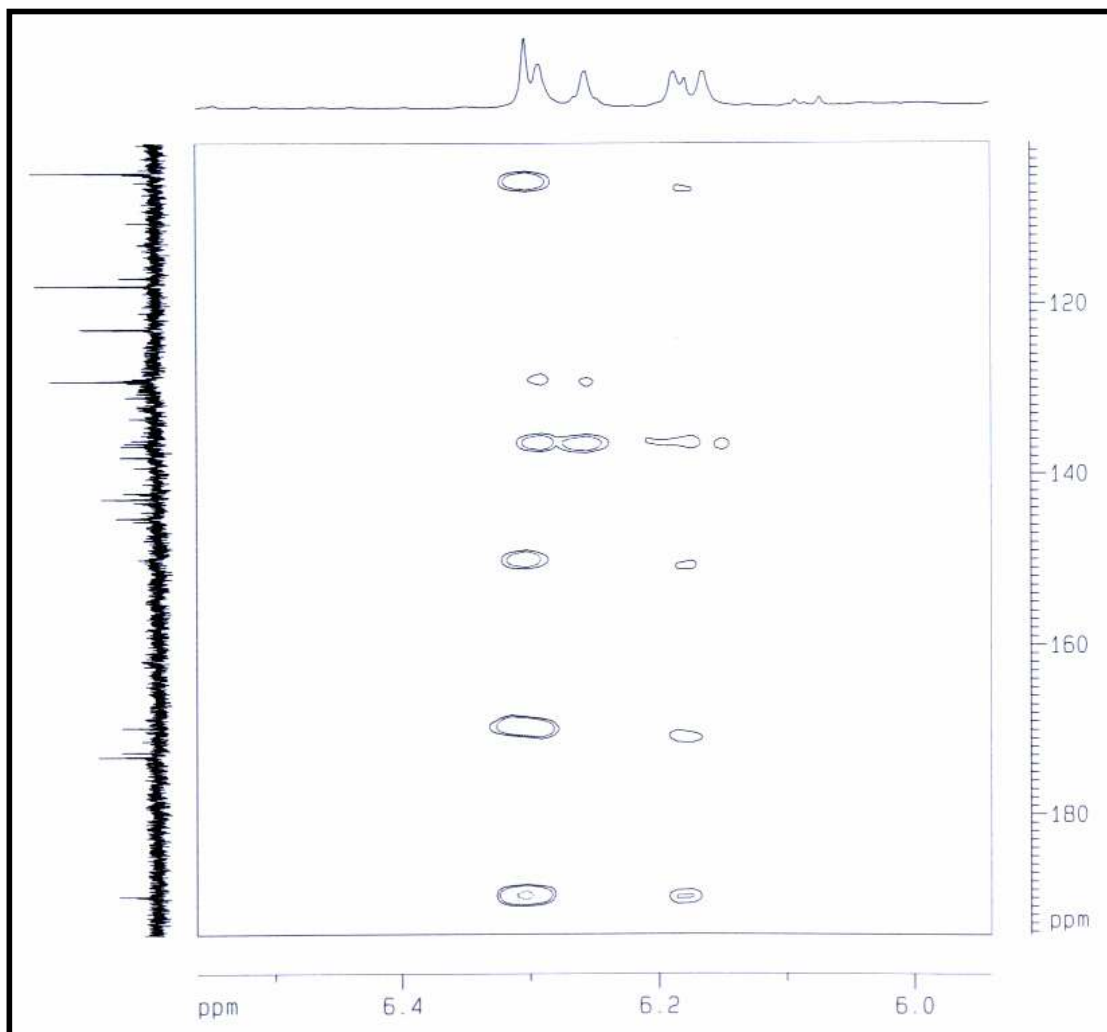


Figura 32 – Expansão 2 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

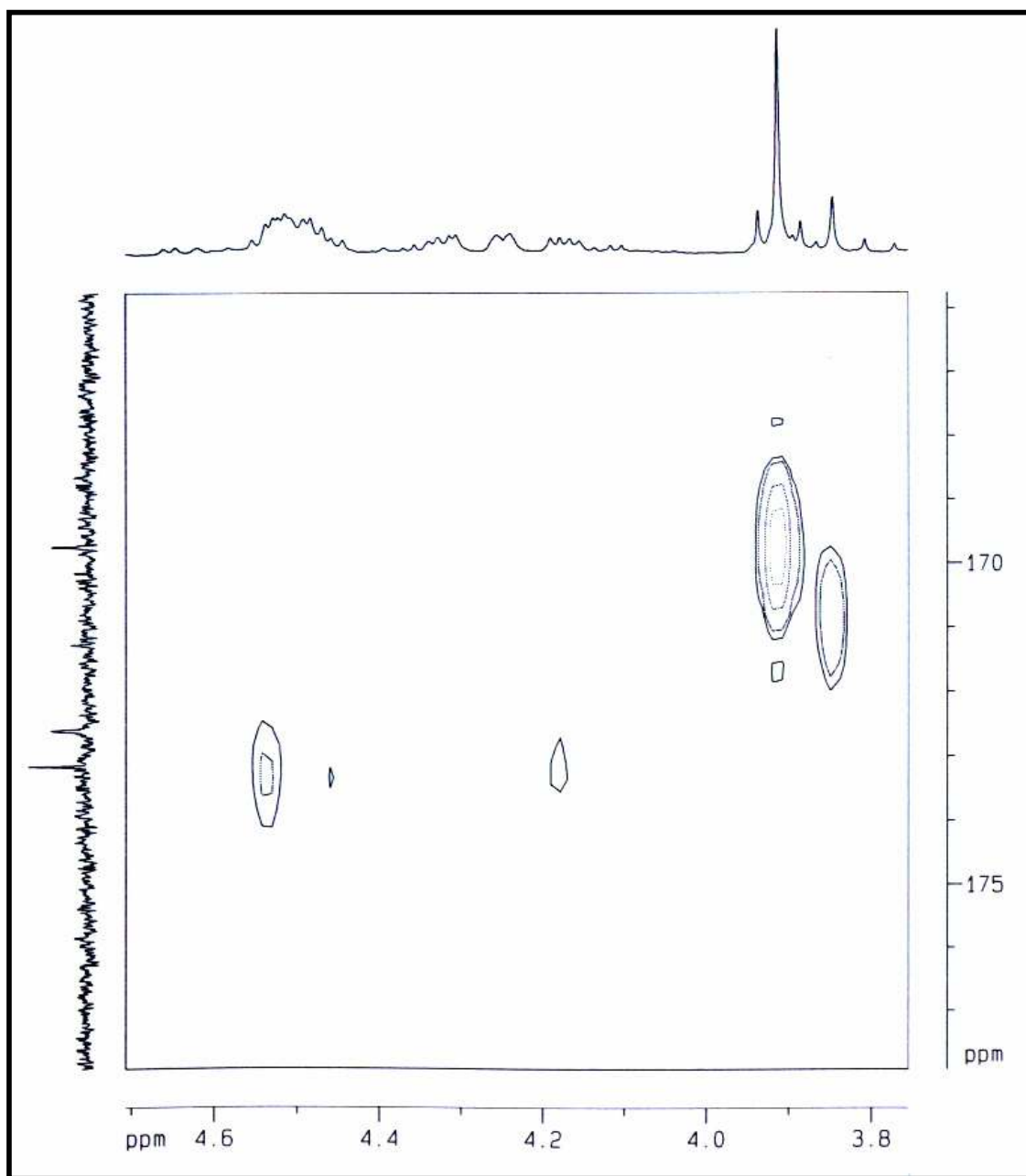


Figura 33 – Expansão 3 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

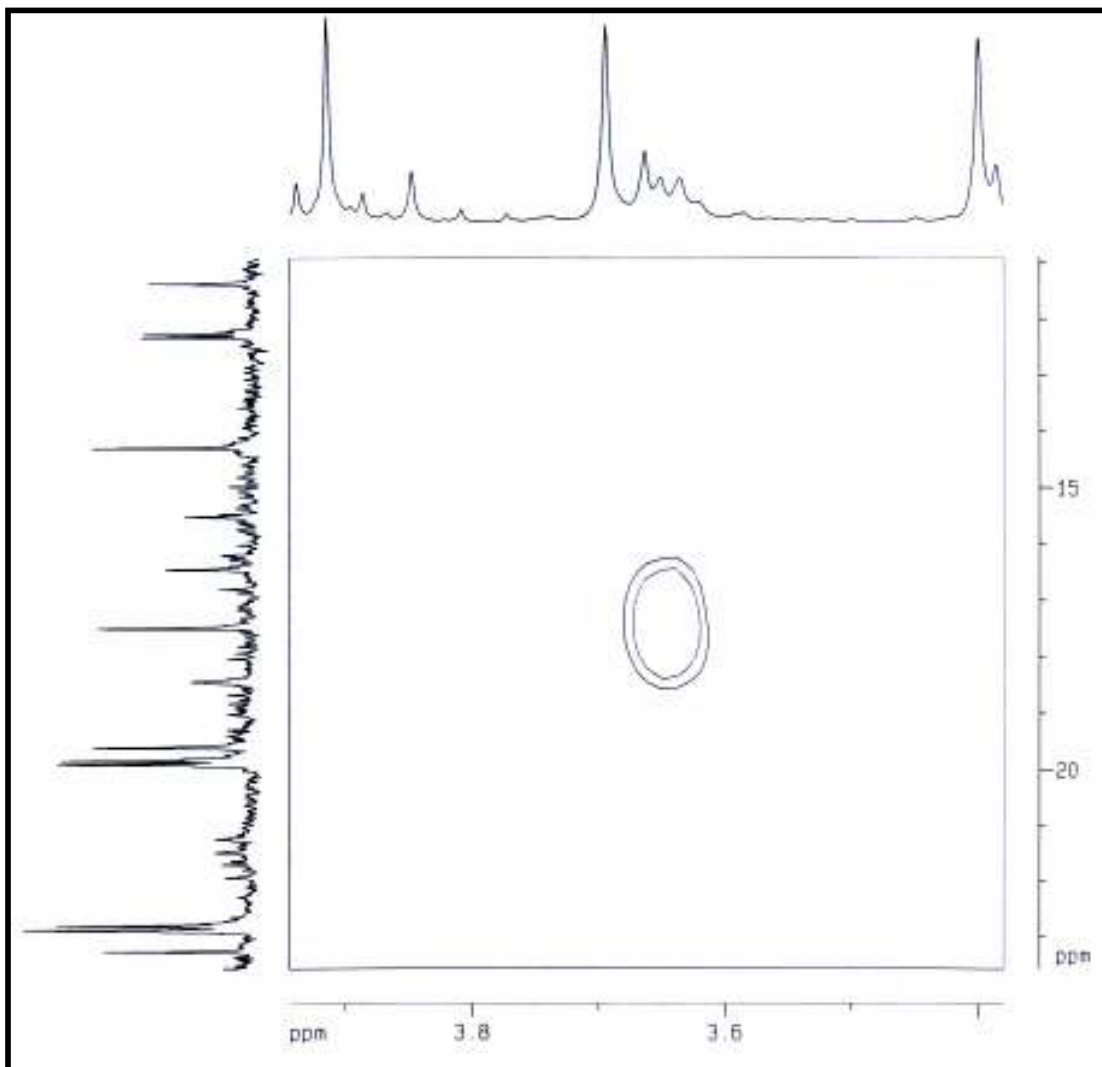


Figura 34 – Expansão 4 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

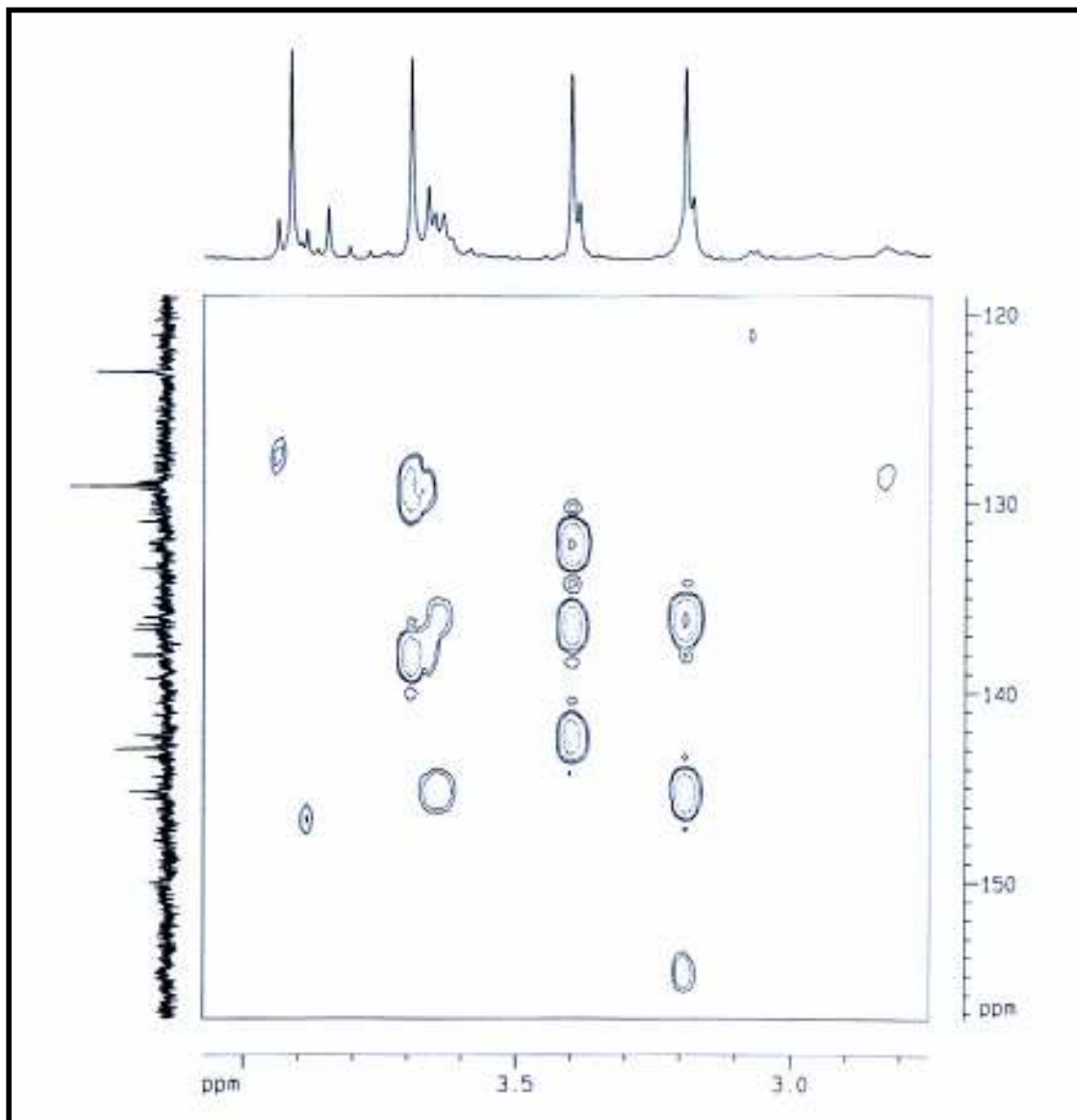


Figura 35 – Expansão 5 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

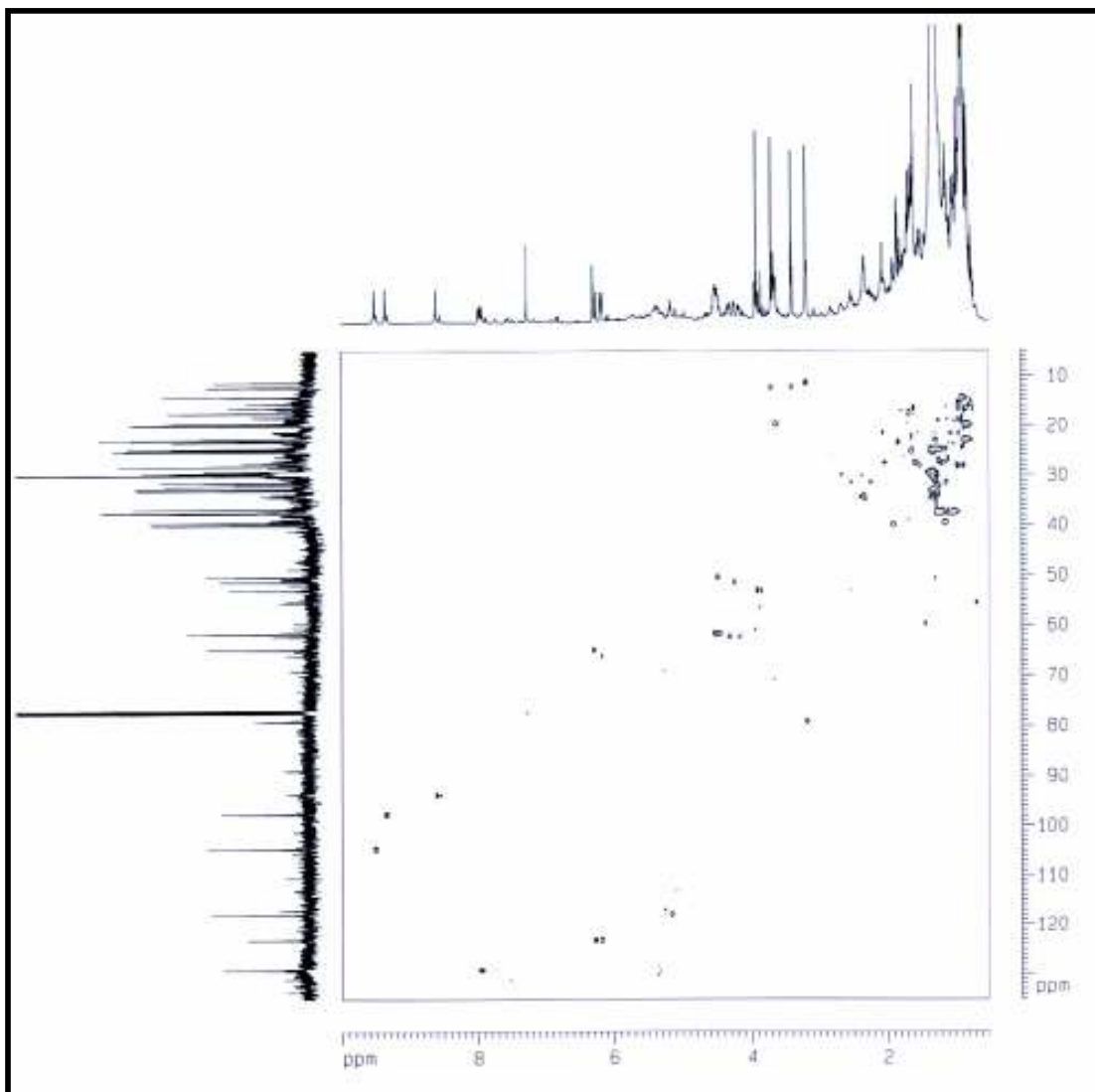


Figura 36 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

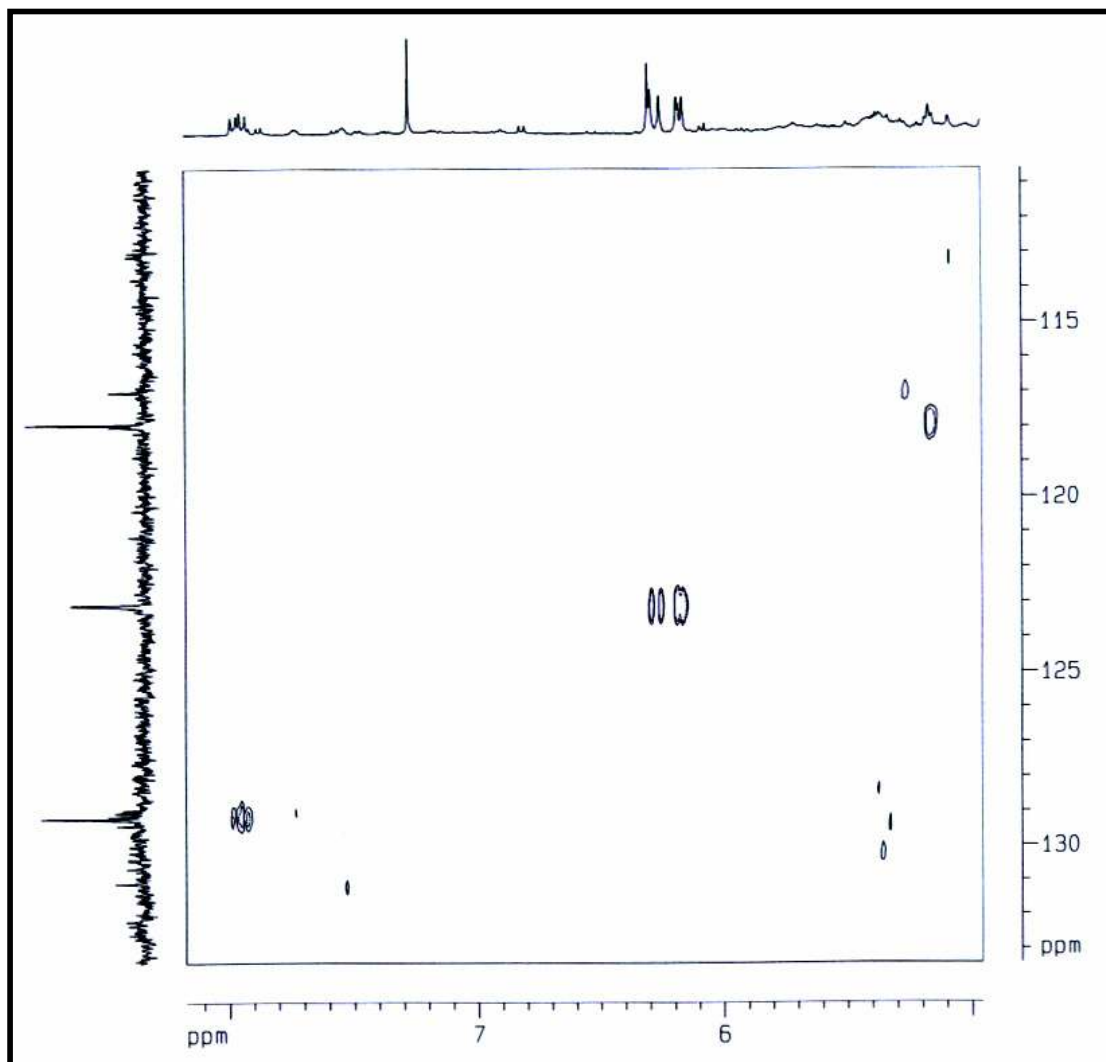


Figura 37 – Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

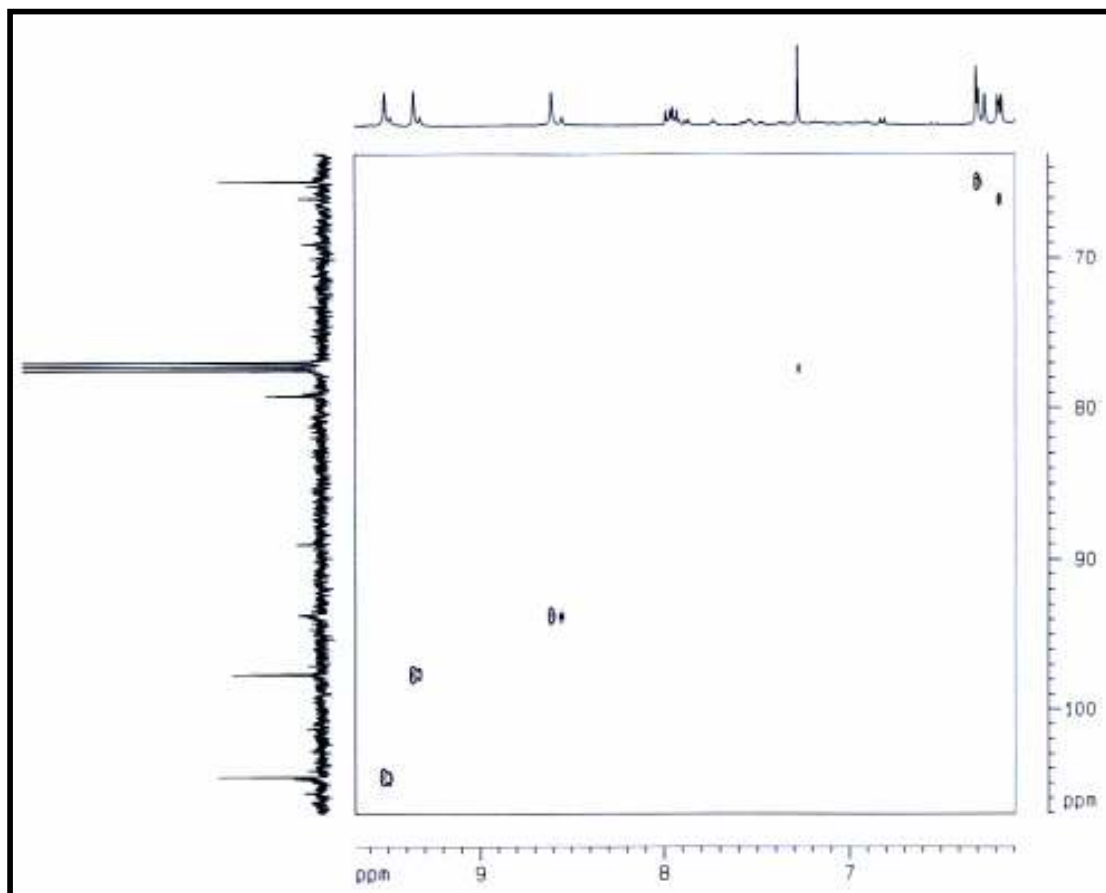


Figura 38 – Expansão 2 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

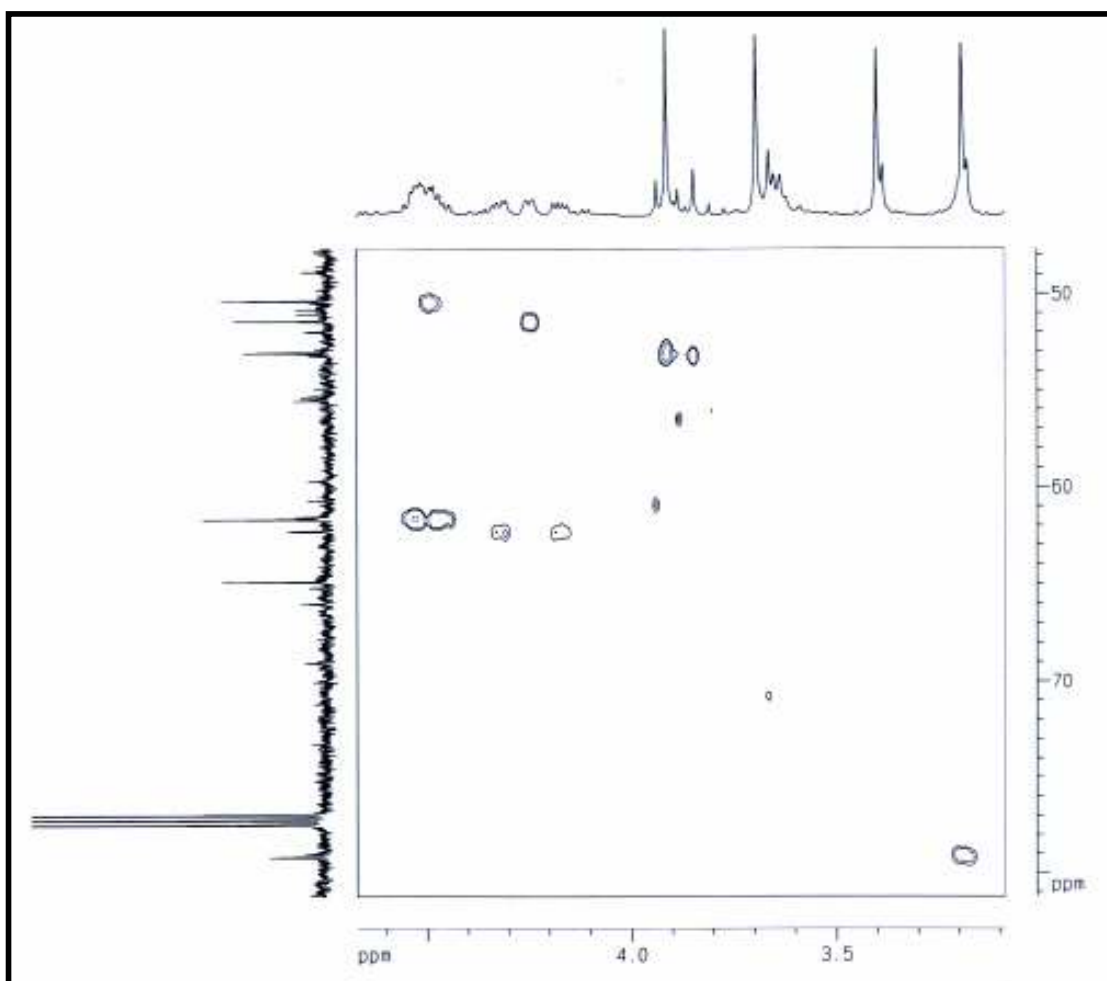


Figura 39 – Expansão 3 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

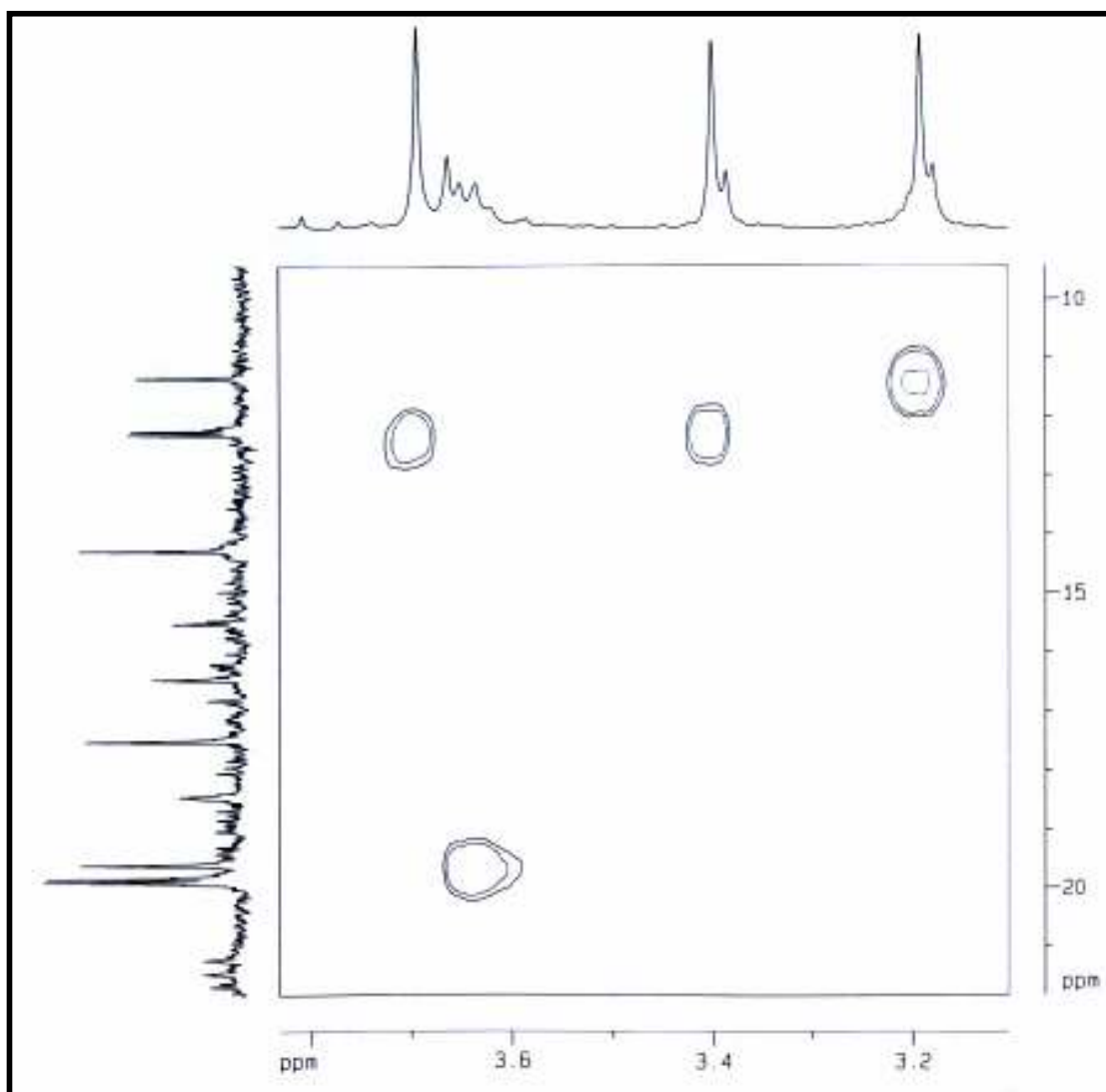


Figura 40 – Expansão 4 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Rg-2

5.4 Caracterização estrutural de Rg-3

A análise do espectro de RMN ^1H da substância codificada como Rg-3 (Figura 41, p. 102) e sua expansão (Figura 42, p. 103) revelou a presença de um núcleo aromático com três substituintes (sistema ABX) ao exibir os seguintes sinais: um duplo dubleto em δ_{H} 7,72 que acopla orto ($J=8,30\text{Hz}$) e meta ($J=1,60\text{Hz}$), um dubleto em δ_{H} 6,95 integrando para um hidrogênio em acoplamento orto com $J=8,60\text{Hz}$ e outro sinal em δ 7,57, também dubleto, acoplando meta (1H, $J=1,60\text{Hz}$). O singlete observado em δ_{H} 3,95 com integração para três hidrogênios sugeriu a presença de um grupo metoxila em Rg-3 (Tabela 6, p. 100).

O espectro de RMN ^{13}C – APT (Figura 43, p. 104) mostrou sinais para oito carbonos, sendo que, dentre eles, seis mostram-se como carbonos de núcleo aromático, dos quais, três são metínicos e três não hidrogenados (Figura 43, p. 104), corroborando, desta forma, com a proposta feita pelo espectro de RMN ^1H de que Rg-3 possuiria um núcleo aromático com sistema ABX (trissubstituído). Um sinal em δ_{C} 171,50, característico de carbonila de ácido conjugada (SILVERSTEIN; BASSLER, 1994), foi exibido pelo espectro em questão, fato que justifica a presença de um carbono sp^2 não hidrogenado em δ_{C} 121,82 (C-1), que possui como substituinte um grupo ácido. Os outros dois carbonos sp^2 não hidrogenados foram observados em δ_{C} 146,18 e δ_{C} 150,76, e provavelmente possuem como substituintes um grupo metoxila (δ_{C} 56,10) e um grupo hidroxila, respectivamente.

Comparações com modelos da literatura (SILVA, 2002; SILVEIRA; PESSOA, 2005) permitiram propor (Tabela 6, p. 100) que Rg-3 possuiria a seguinte estrutura:

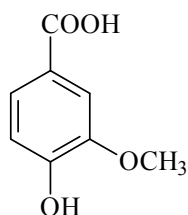


Figura 44 – Proposta estrutural para a substância Rg-3

O espectro de correlação homonuclear COSY (Figura 45, p. 105) e sua expansão (Figura 46, p. 106) mostraram acoplamento entre os hidrogênios H-5 (δ_H 6,95, d) e H-6 (δ_H 7,72, dd), corroborando com o acoplamento orto ($J=8,50\text{Hz}$) entre eles (Tabela 7, p. 101) e com substituição em para, uma vez que H-5 não se mostra como duplo dubleto.

As correlações diretas entre os hidrogênios e carbonos (H-2/C-2, H-5/C-5 e H-6/C-6) puderam ser definidas mediante a análise do espectro de HMQC (Figura 47, p. 107; Tabela 7, p. 101), ratificando, portanto, a proposta feita anteriormente (p. 97) quanto à presença de três carbonos não-substituídos na estrutura de Rg-3.

O espectro bidimensional HMBC (Figura 48, p. 108) e suas expansões (Figuras 49 e 50, p. 109 e 110) fortaleceram a proposta estrutural para Rg-3 ao mostrar correlação a $^3J_{CH}$ três ligações do H-2 (δ_H 7,57, d) com o C-4 (δ_C 150,76), C-6 (δ_C 125,16) e com C=O (δ_C 171,05). Pôde-se observar uma correlação a $^3J_{CH}$ dos hidrogênios metoxílicos (δ_H 3,94, s) com o C-3 (δ_C 146,16) (Figura 50, p. 110). Estes espectros corroboram com a proposta de um anel substituído nas posições meta e para, ratificando a proposta de um sistema ABX, feita a partir da análise do espectro de RMN ^1H de Rg-3.

A Figura 52 (abaixo) ilustra a localização da metoxila no carbono 3 como substituinte meta, a qual pôde ser ratificada pela análise do espectro NOESY (Figura 51, p. 111; Tabela 7, p. 101) que revelou um acoplamento espacial entre os hidrogênios da metoxila e o hidrogênio 2 (δ_H 3,94/ δ_H 7,57).

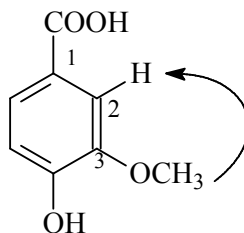
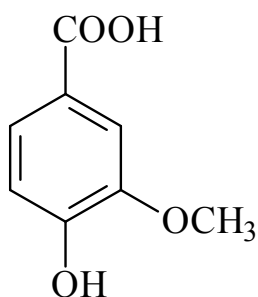


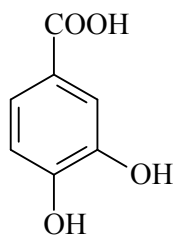
Figura 52 – Acoplamento observado no espectro NOESY para Rg-3

Os dados espectrais uni e bidimensionais obtidos (Tabela 7, p. 101) e as comparações realizadas com modelos da literatura (Tabela 6, p. 100) tornaram exequível constatar que os dados de Rg-3 retificam a literatura (SILVEIRA; PESSOA, 2005) com relação aos valores atribuídos para os deslocamentos químicos dos carbonos 2 (δ_C 125,40) e 6 (δ_C 114,00) que devem estar invertidos (Tabela 6, p. 100); e, portanto, permitiram propor que a substância codificada como Rg-3 trata-se do ácido *m*-metoxi-*p*-hidroxi-benzóico, conhecido como ácido vanílico e amplamente distribuído no Reino Vegetal, isolado anteriormente por exemplo das espécies *Amburana cearensis* (SILVEIRA; PESSOA, 2005) e *Bakeridesia pickelli* (COSTA et al., 2007), todavia, isolado e identificado pela primeira vez no gênero *Richardia*.

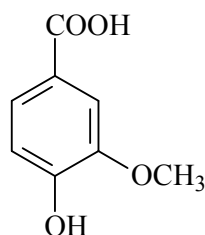


Ácido *m*-metoxi-*p*-hidroxi-benzóico

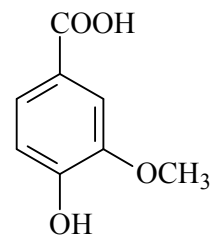
Tabela 6 – Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Rg-3 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz respectivamente) com os modelos Mo-1 (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 e 125 MHz; SILVA, 2002) e Mo-2 (δ , CD_3OD , 125 MHz; SILVEIRA; PESSOA, 2005)



Mo-1 (Ácido protocatecuico)

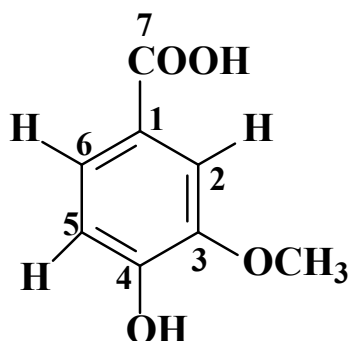


Mo-2 (Ácido vanílico)



Rg-3

C	Mo-1		Mo-2		Rg-3	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{H}	
1	121,82	-	123,20	121,18	-	
2	116,12	7,52 (d, $J=2,0\text{Hz}$)	125,40	112,04	7,57 (d, $J=1,6\text{Hz}$)	
3	144,24	-	148,80	146,16	-	
4	149,37	-	152,80	150,76	-	
5	114,35	6,89 (d, $J=8,50\text{Hz}$)	116,00	114,18	6,95 (d, $J=8,6\text{Hz}$)	
6	122,25	7,47 (dd, $J=8,50$ e $2,0\text{Hz}$)	114,00	125,16	7,72 (dd, $J=8,3$ e $1,6\text{Hz}$)	
7	166,23	-	170,20	171,05	-	
OCH_3		-	56,60	56,10	3,94 (s)	

Tabela 7 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz respectivamente) de Rg-3

C	δ_c	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$		$^1\text{H} \times ^1\text{H}$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$
		HMQC	2J	HMBC	COSY	NOESY
		δ_H		3J		
1	121,18	-	-	-	-	-
2	112,04	7,57 (d, $J=1,60\text{Hz}$)	-	C-4, C-6, C-7	-	OCH ₃
3	146,16	-	-	-	-	-
4	150,76	-	-	-	-	-
5	114,18	6,95 (d, $J=8,60\text{Hz}$)	C-4	C-1, C-3	H-6	-
6	125,16	7,72 (dd, $J=8,30$ e $1,60\text{Hz}$)	-	C-7	H-5	-
7	171,05	-	-	-	-	-
OCH ₃	56,10	3,94 (s)	-	C-3	-	H-2

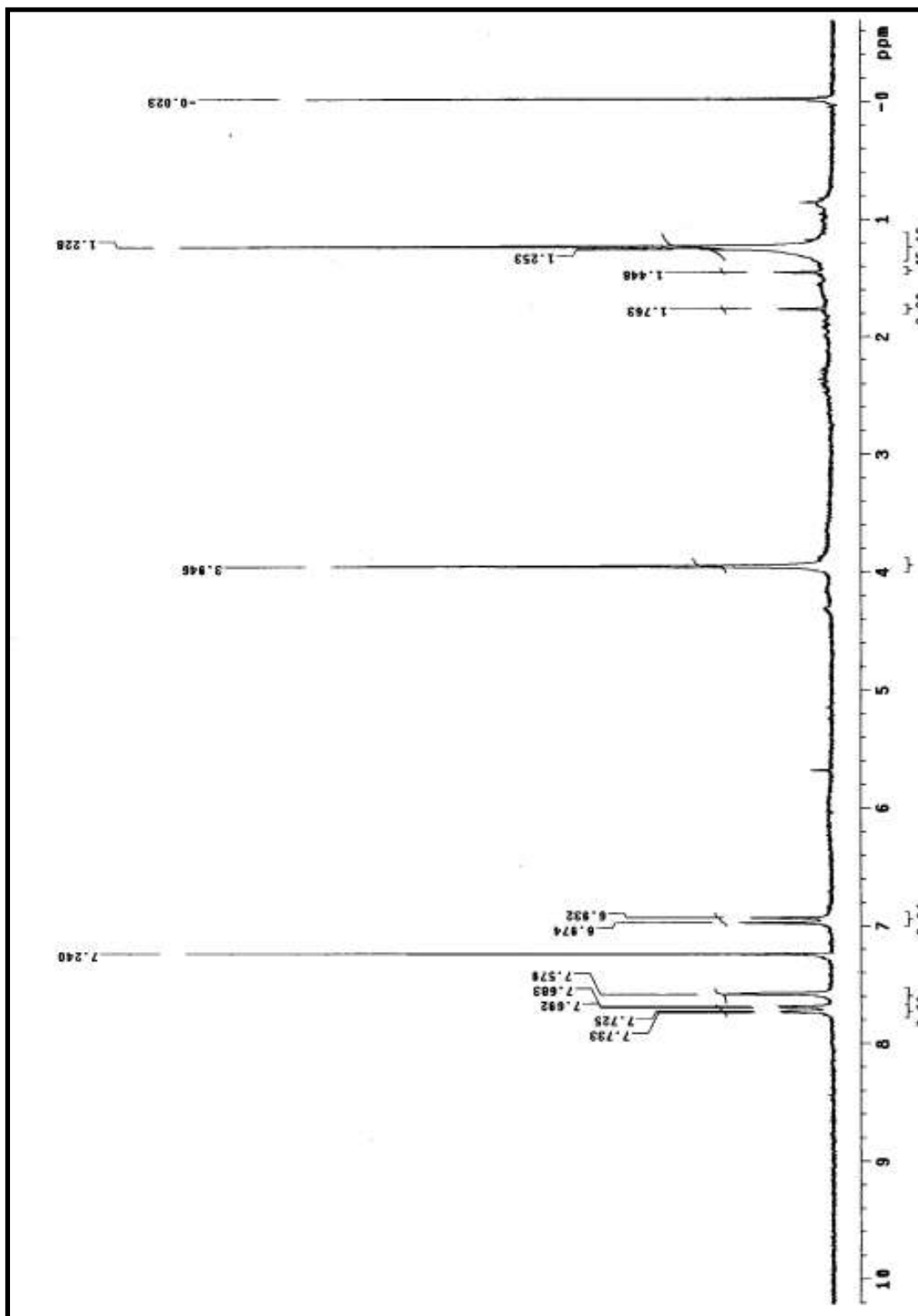


Figura 41 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3

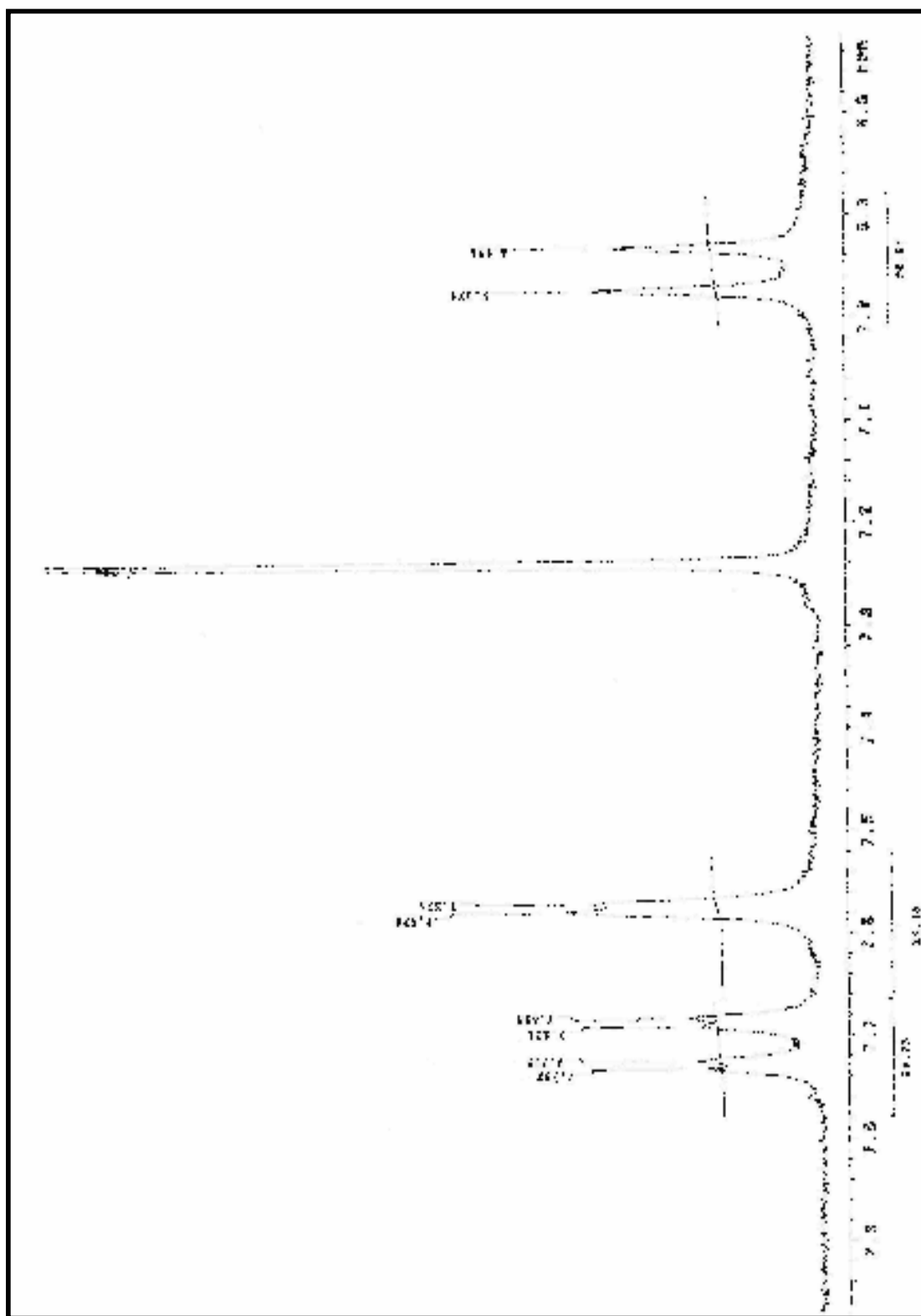


Figura 42 – Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3

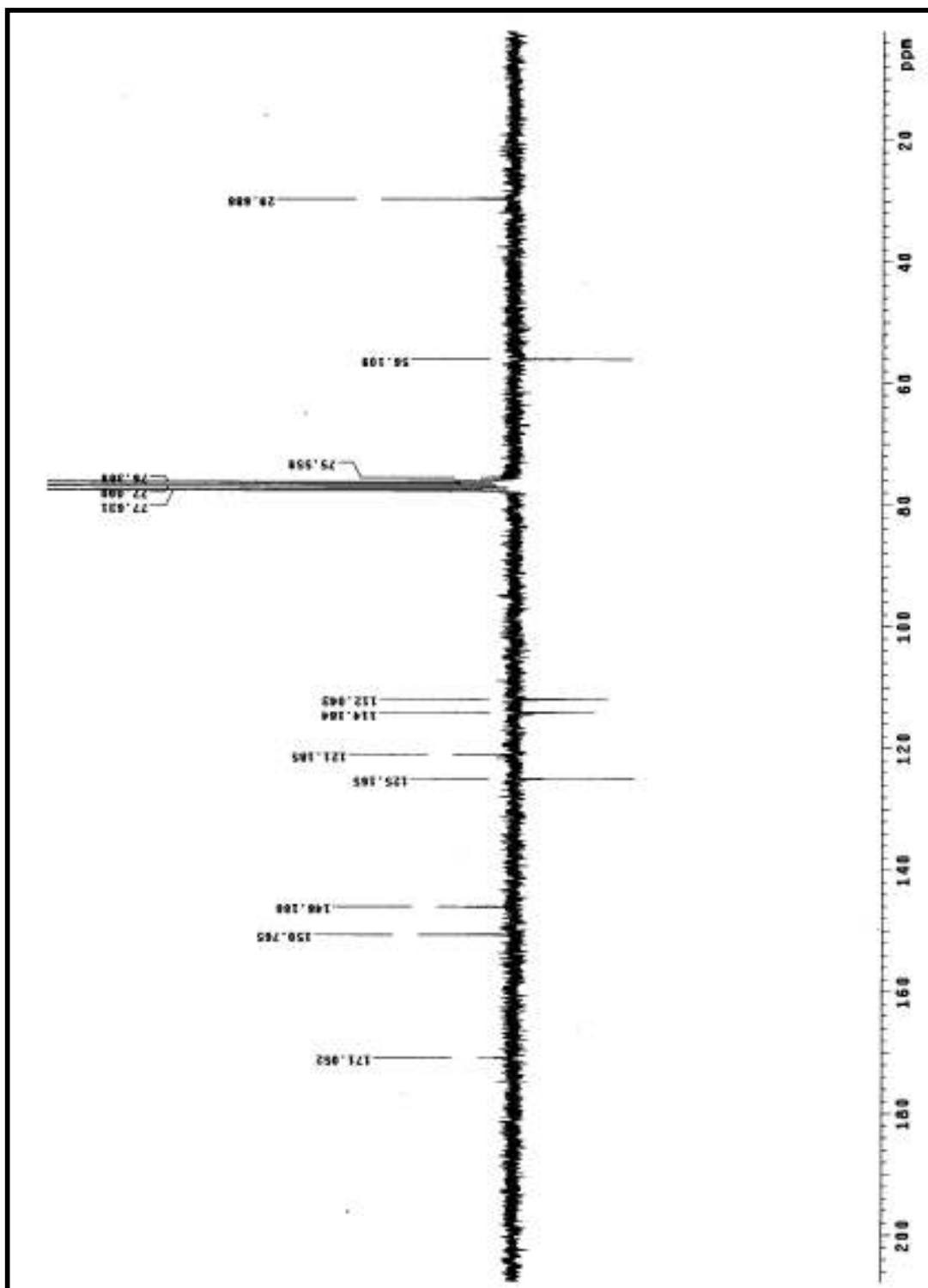


Figura 43 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 50MHz) de Rg-3

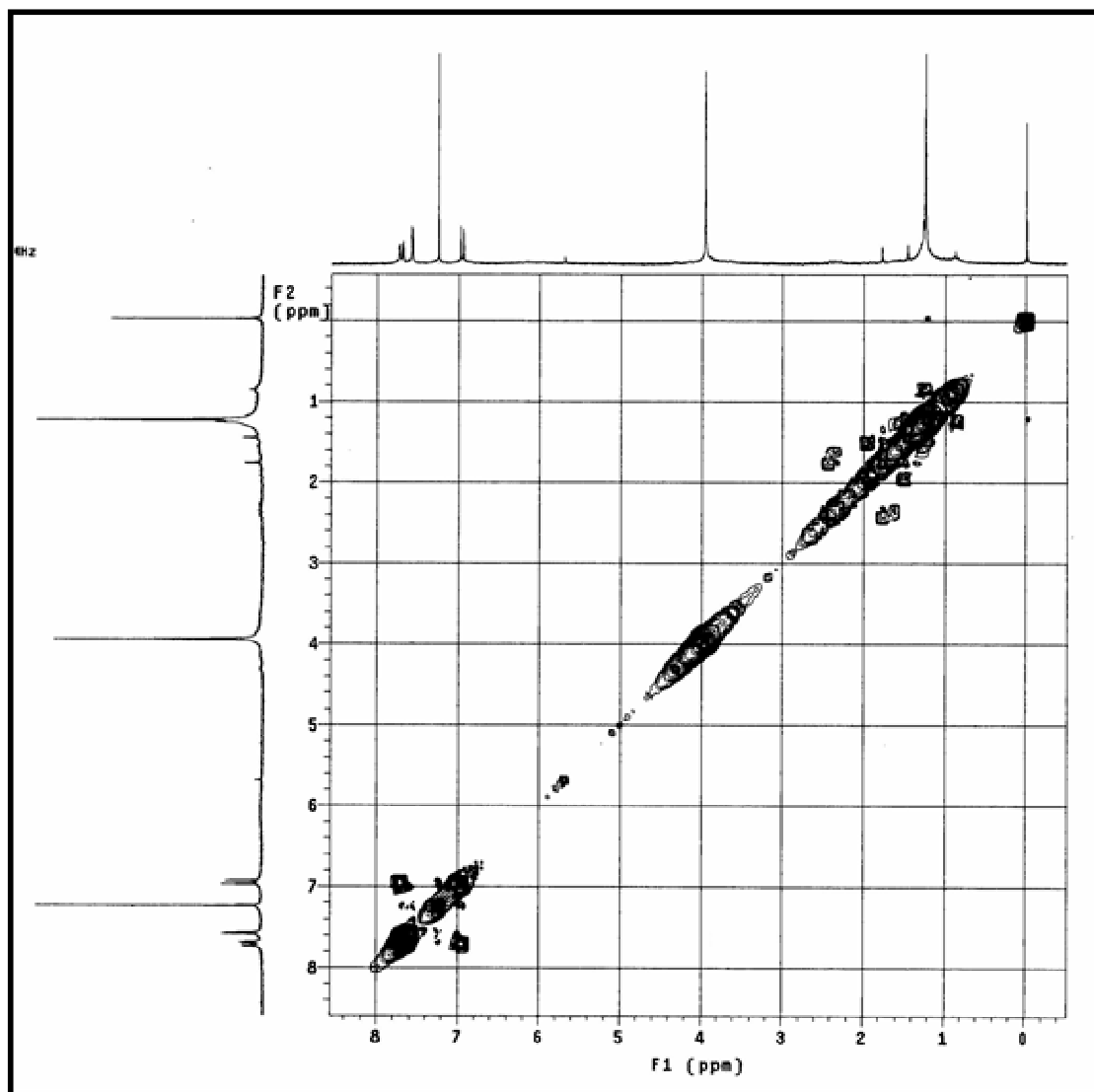


Figura 45 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3

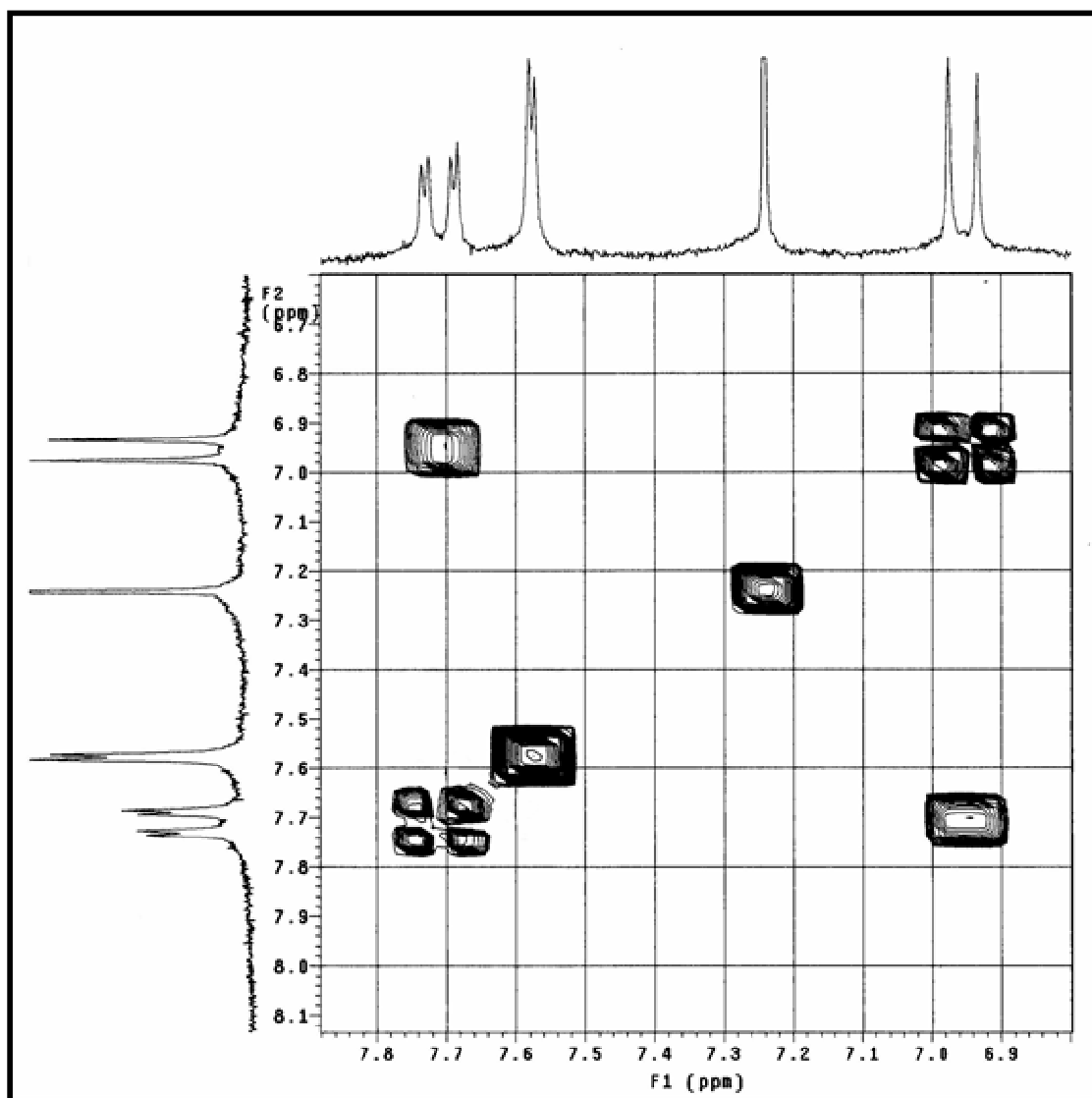


Figura 46 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3

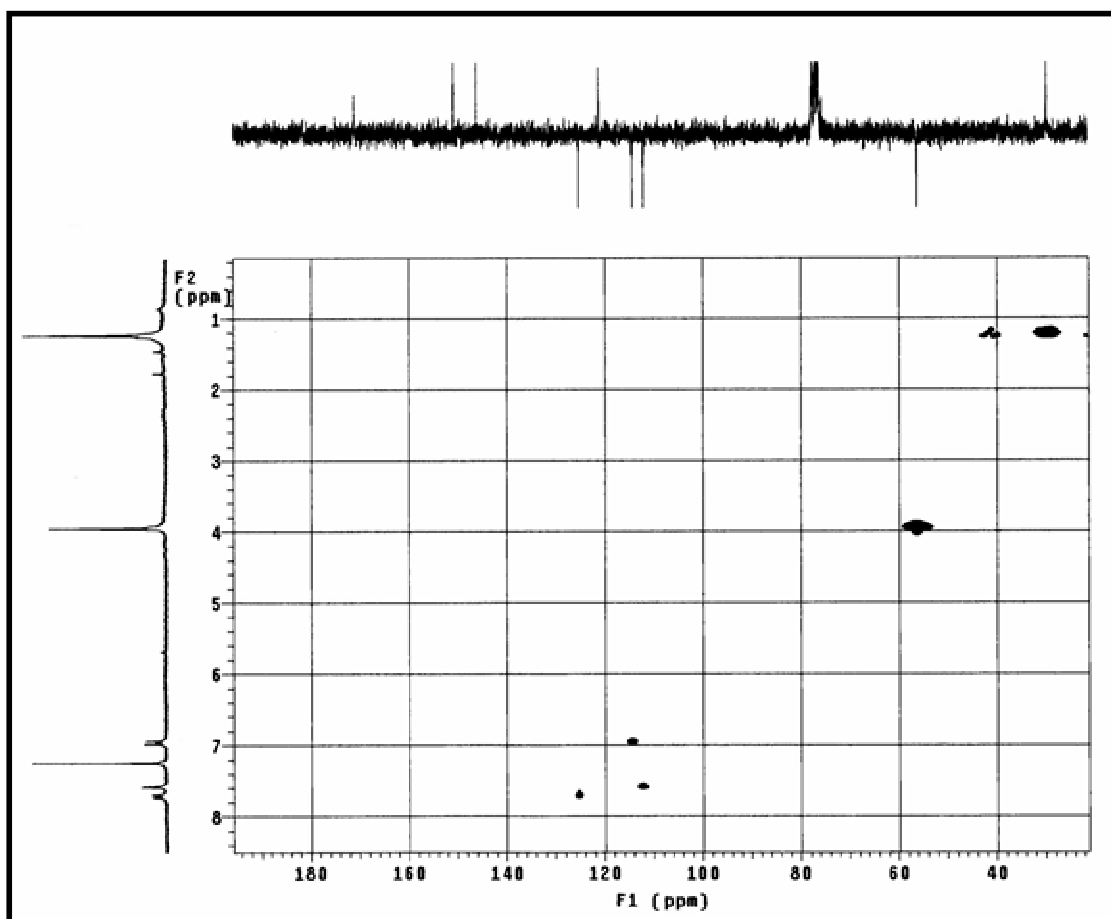


Figura 47 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3

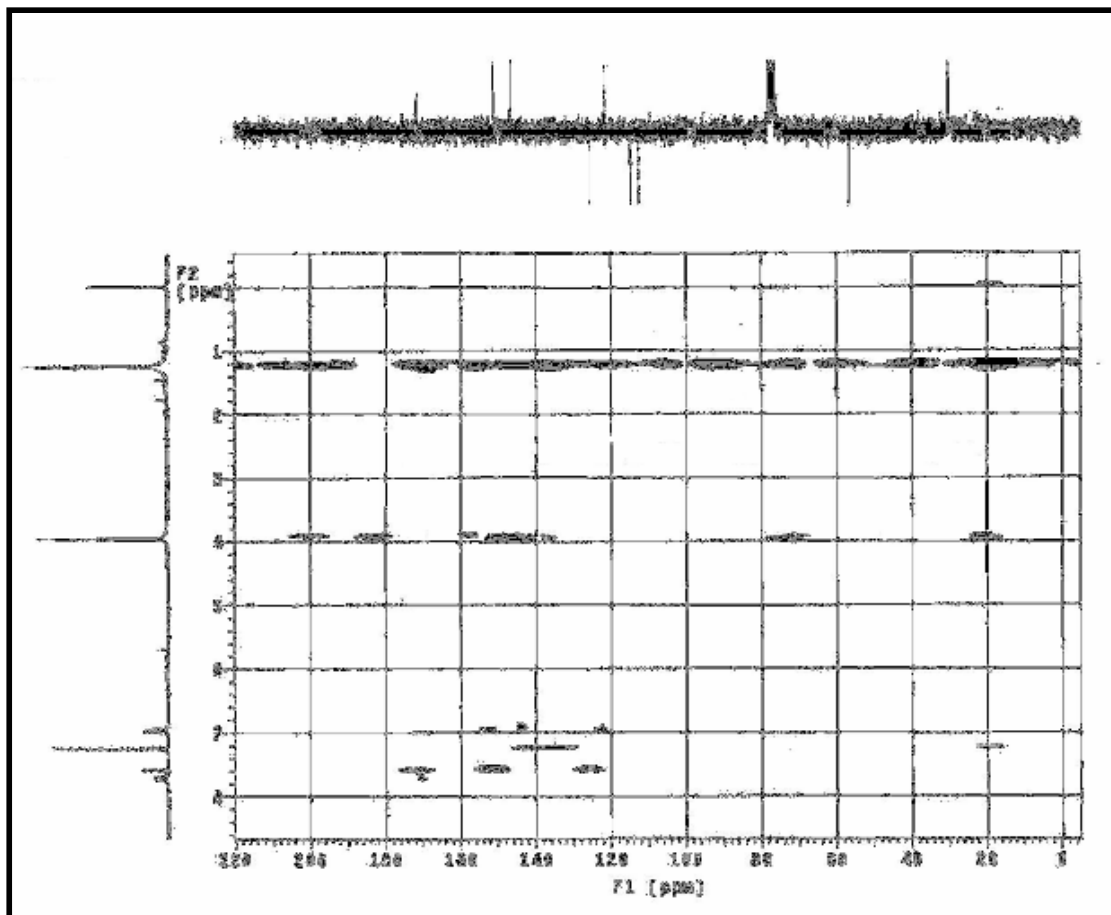


Figura 48 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3

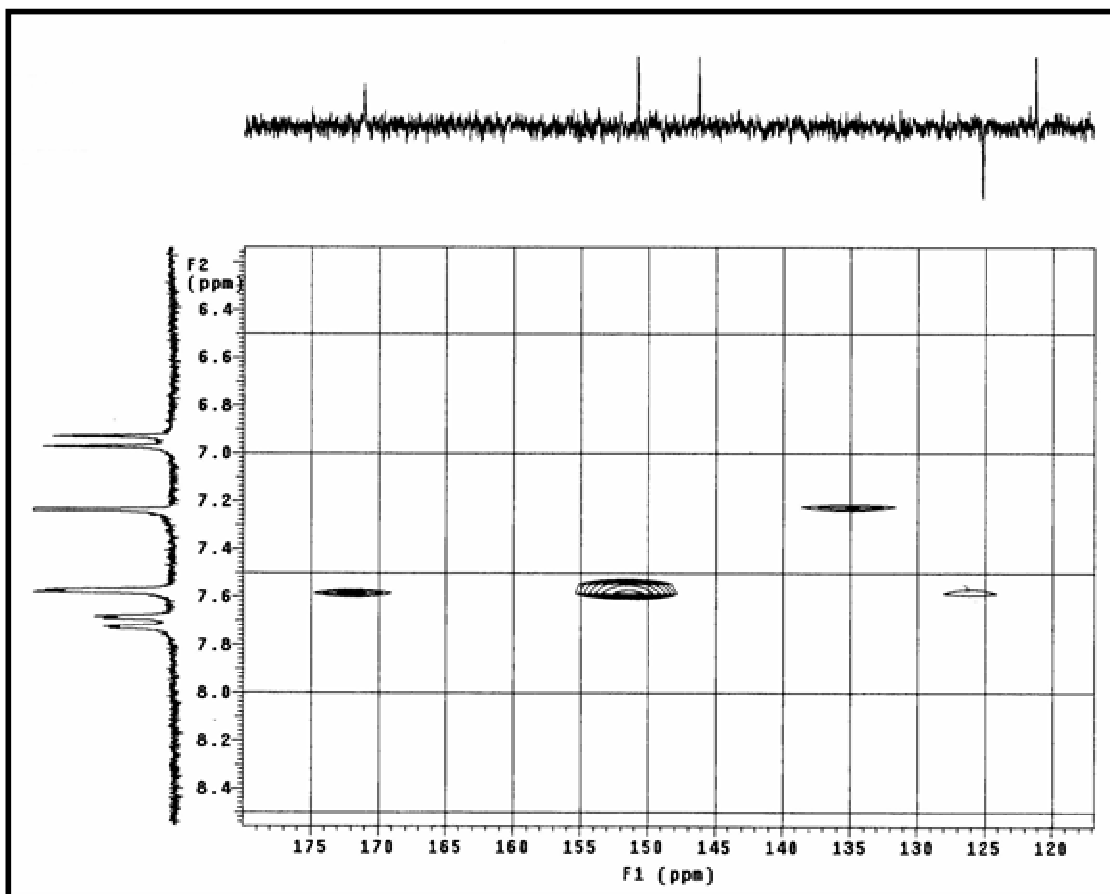


Figura 49 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3

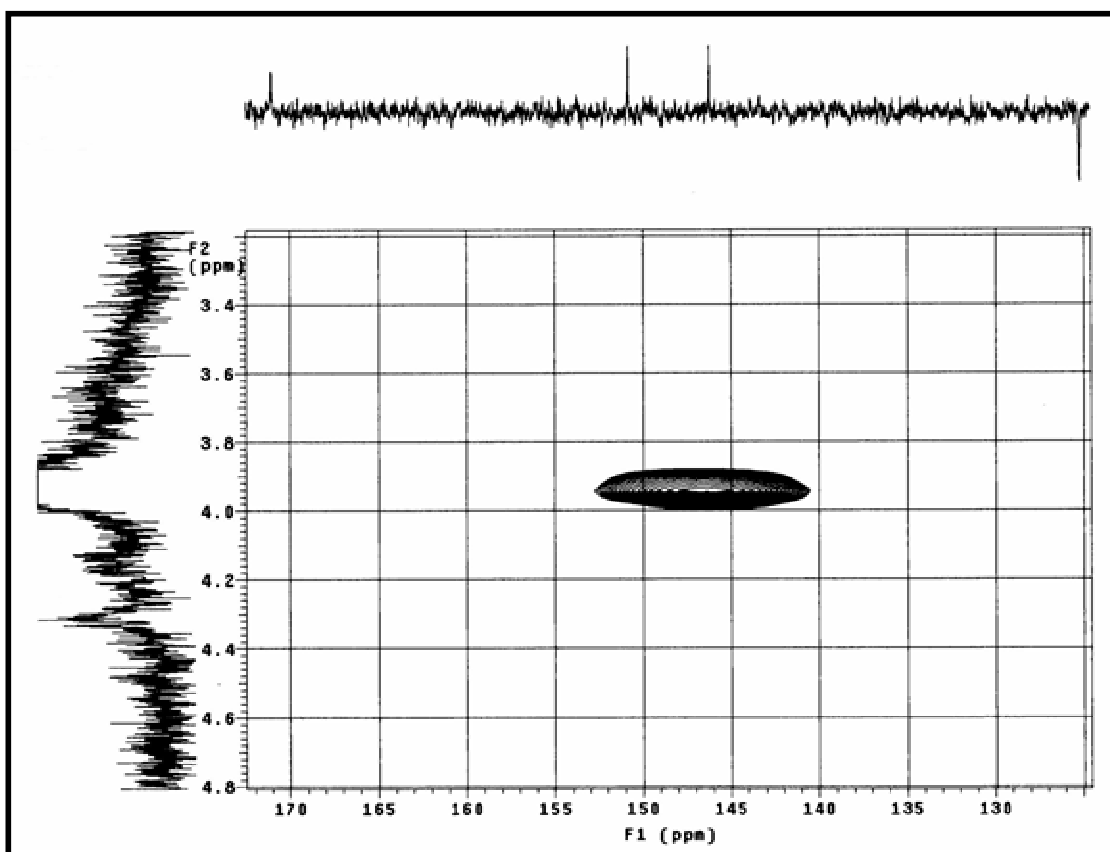


Figura 50 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3

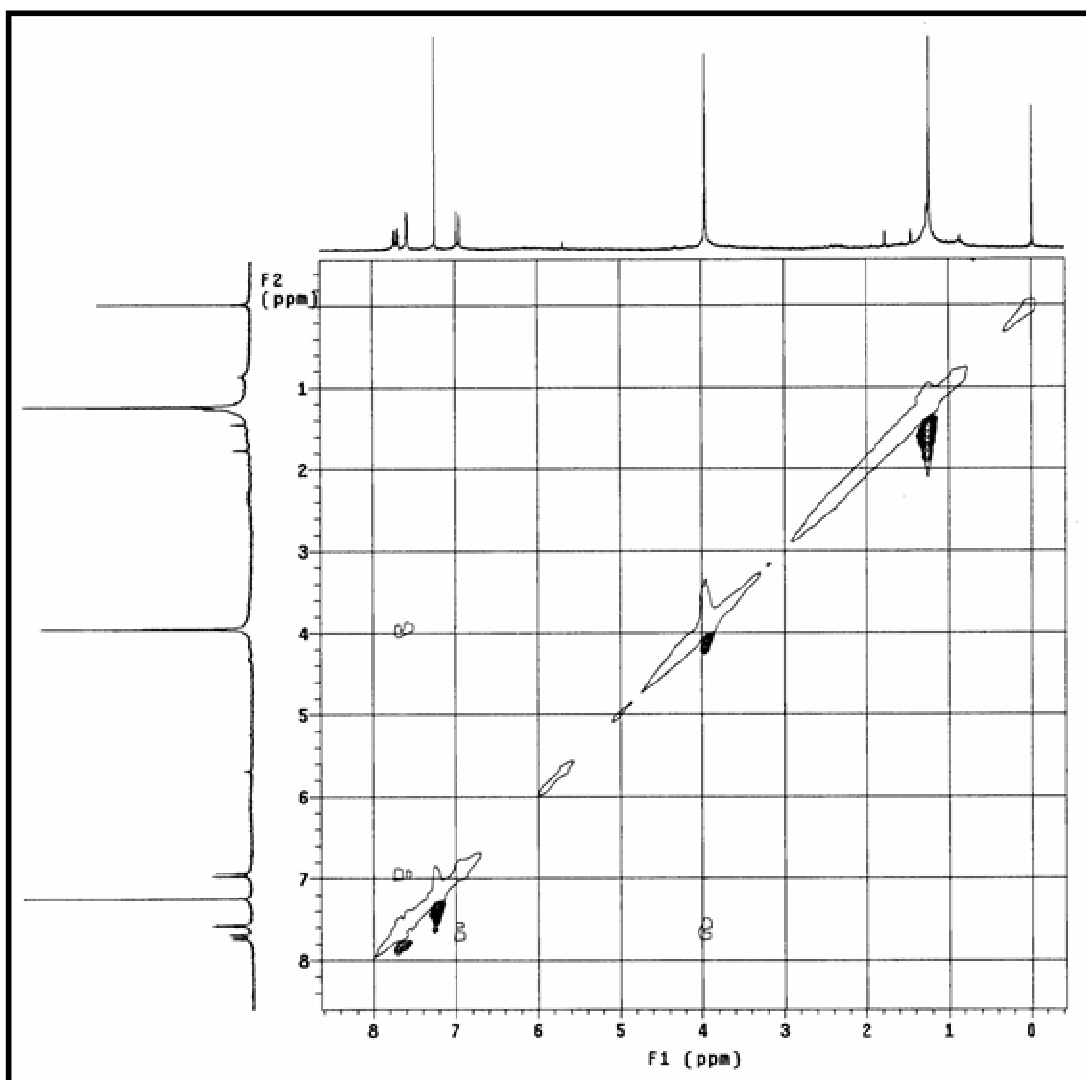


Figura 51 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 200MHz) de Rg-3

5.5 Caracterização estrutural de Rg-4

O espectro de RMN ^1H e sua expansão (Figuras 53 e 54, p. 115 e 116, Tabela 8, p. 114) da substância Rg-4 mostraram absorções na região de hidrogênios aromáticos, sendo evidenciados um duplo dubleto em δ_{H} 7,90 e um dubleto largo em δ_{H} 6,98, um triplo dubleto em δ_{H} 7,49 e um tripleto largo em δ_{H} 6,90.

No espectro de RMN ^{13}C -APT (Figura 55, p. 117, Tabela 8, p. 114) foram registradas absorções para sete carbonos, sugerindo tratar-se de uma substância com anel aromático, possivelmente com dois substituintes, pelo fato de exibir uma absorção em δ_{C} 174,29 semelhante ao deslocamento químico de carbonila de ácidos aromáticos (SILVERSTEIN; BASSLER, 1994), bem como uma outra em δ_{C} 162,14, cujo valor para campo baixo, quando comparados com carbonos aromáticos não substituídos, sugeriu um grupo substituinte oxigenado. Além destas absorções, observou-se ainda outro valor referente a carbono não hidrogenado e quatro carbonos metínicos, o que reforça a sugestão de dois substituintes no anel.

A análise do espectro de correlação homonuclear COSY (Figura 56, p. 118) e sua expansão (Figura 57, p. 119) tornou exequível determinar o acoplamento entre o tripleto largo em δ_{H} 6,90 com as multiplicidades referentes ao duplo dubleto em δ_{H} 7,90 e o triplo dubleto em δ_{H} 7,49, bem como deste último com a absorção em δ_{H} 6,98 (dubleto largo). O espectro de HMQC e sua expansão (Figuras 58 e 59, p. 120 e 121, Tabela 8, p. 114) estabeleceram as correlações diretas destes hidrogênios com seus respectivos carbonos metínicos. Estas interações permitiram sugerir que a substância Rg-4 tratava-se de um anel aromático orto-dissubstituído, contendo um grupo carbonila, conforme sugerido pelo espectro de RMN ^{13}C -APT (Figura 55, p. 117, Tabela 8, p. 114). A outra substituição seria um grupo hidroxila, tendo em vista a ausência de absorções referentes a hidrogênios e carbonos para metoxilas

e/ou outros substituintes nos espectros de RMN unidimensionais (Figuras 53 a 55, p. 115-117). Esta informação foi corroborada pela comparação abaixo (Figura 60), onde os carbonos 1 e 3 em Rg-4 encontram-se em campo alto em relação ao ácido benzóico devido à proteção orto exercida pelo grupo hidroxila.

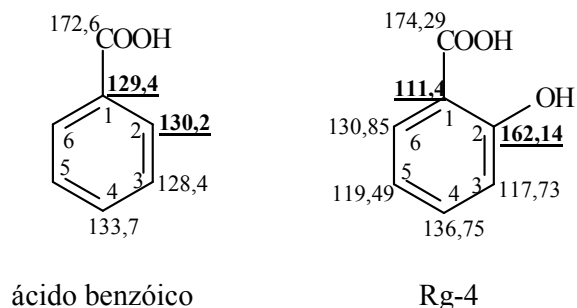
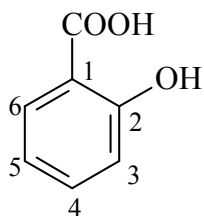


Figura 60 – Comparação dos dados de RMN ^{13}C de Rg-4 com os do ácido benzóico (SILVERSTEIN; BASSLER, 1994)

O espectro de HMBC e sua expansão (Figuras 61 e 62, p. 122 e 123, Tabela 8, p. 114) ratificaram as observações feitas pelos espectros anteriores, permitindo verificar as correlações a $^3J_{CH}$ entre H-3 (δ_{H} 6,98, dl) com C-1 (δ_{C} 111,14) e C-5 (δ_{C} 119,49), H-4 (δ_{H} 7,49, dt) com C-2 (δ_{C} 162,14) e C-6 (δ_{C} 130,85), H-5 (δ_{H} 6,90, tl) com C-1 (δ_{C} 111,14) e C-3 (δ_{C} 117,73) e entre H-6 (δ_{H} 7,90, dd) com C-2 (δ_{C} 162,14), C-4 (δ_{C} 136,75) e C=O (δ_{C} 174,29). Desta forma, Rg-4 foi identificada como sendo o ácido orto-hidroxi-benzóico (ácido salicílico), substância com ampla distribuição na natureza, já isolada também na espécie *Sida galheirensis* (SILVA et al., 2006), sendo aqui descrito pela primeira vez no gênero *Richardia*.

Tabela 8 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) de Rg-4

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC	
	δ_{H}	δ_{C}	2J	3J
1		111,49		
2		162,14		
3	6,98 (dl, $J=7,95$ Hz)	117,73		C-1; C-5
4	7,49 (dt, $J=7,95$ e 1,50 Hz)	136,75		C-2; C-6
5	6,90 (tl, $J=7,90$ Hz)	119,49		C-1; C-3
6	7,90 (dd, $J=7,90$ e 1,50 Hz)	130,85		C-2; C-4; C=O
COOH		174,29		

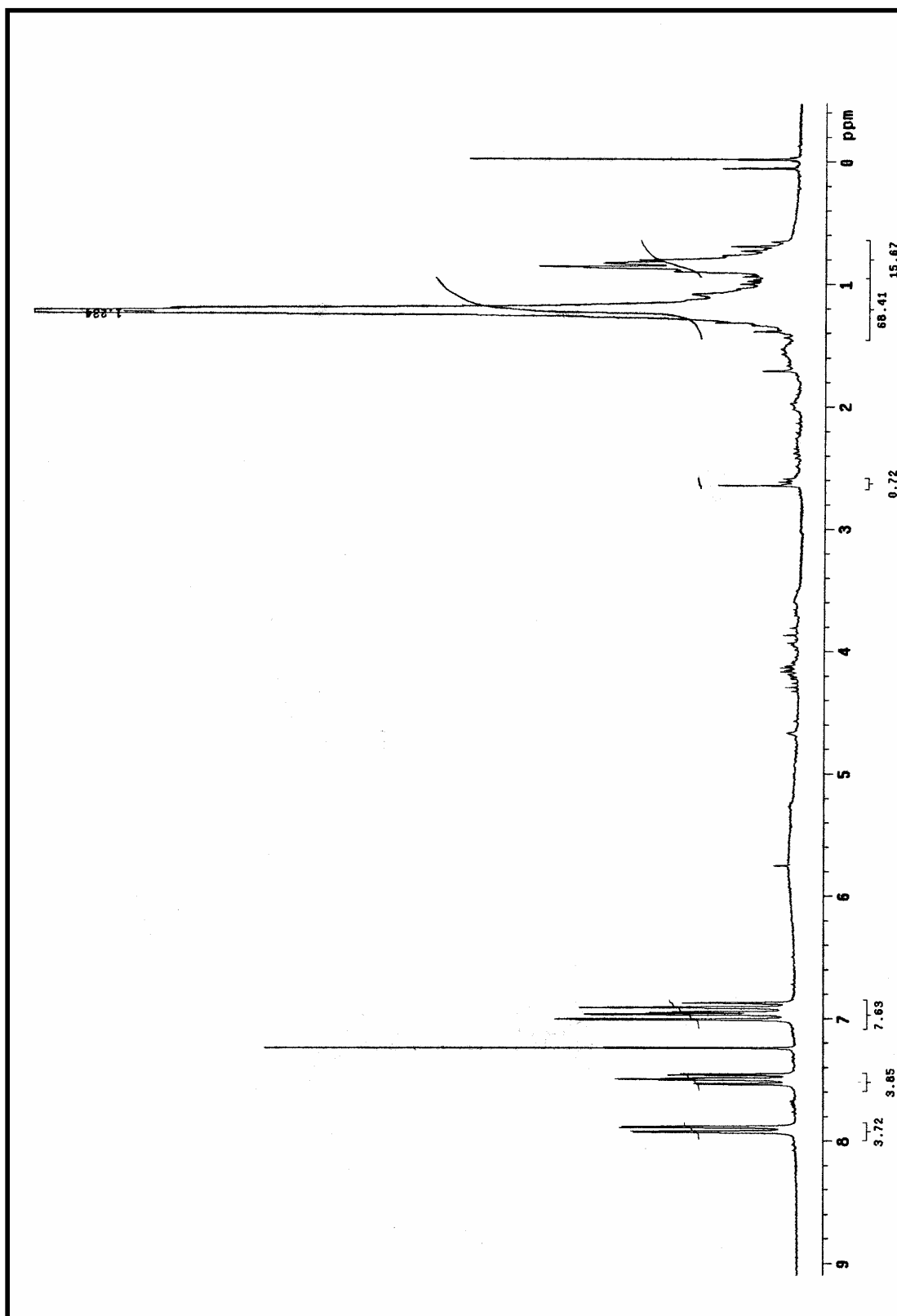


Figura 53 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Rg-4

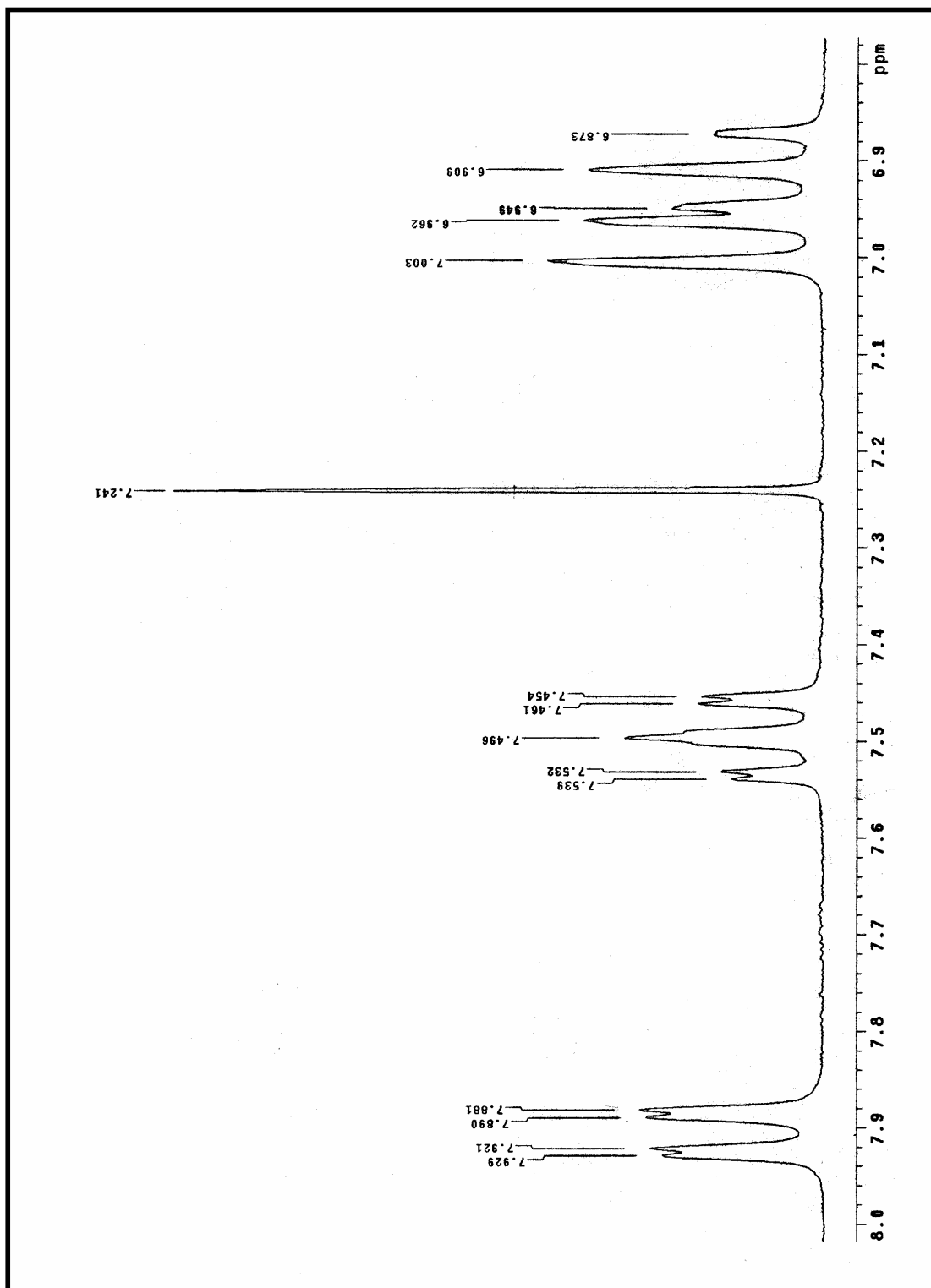


Figura 54 – Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Rg-4

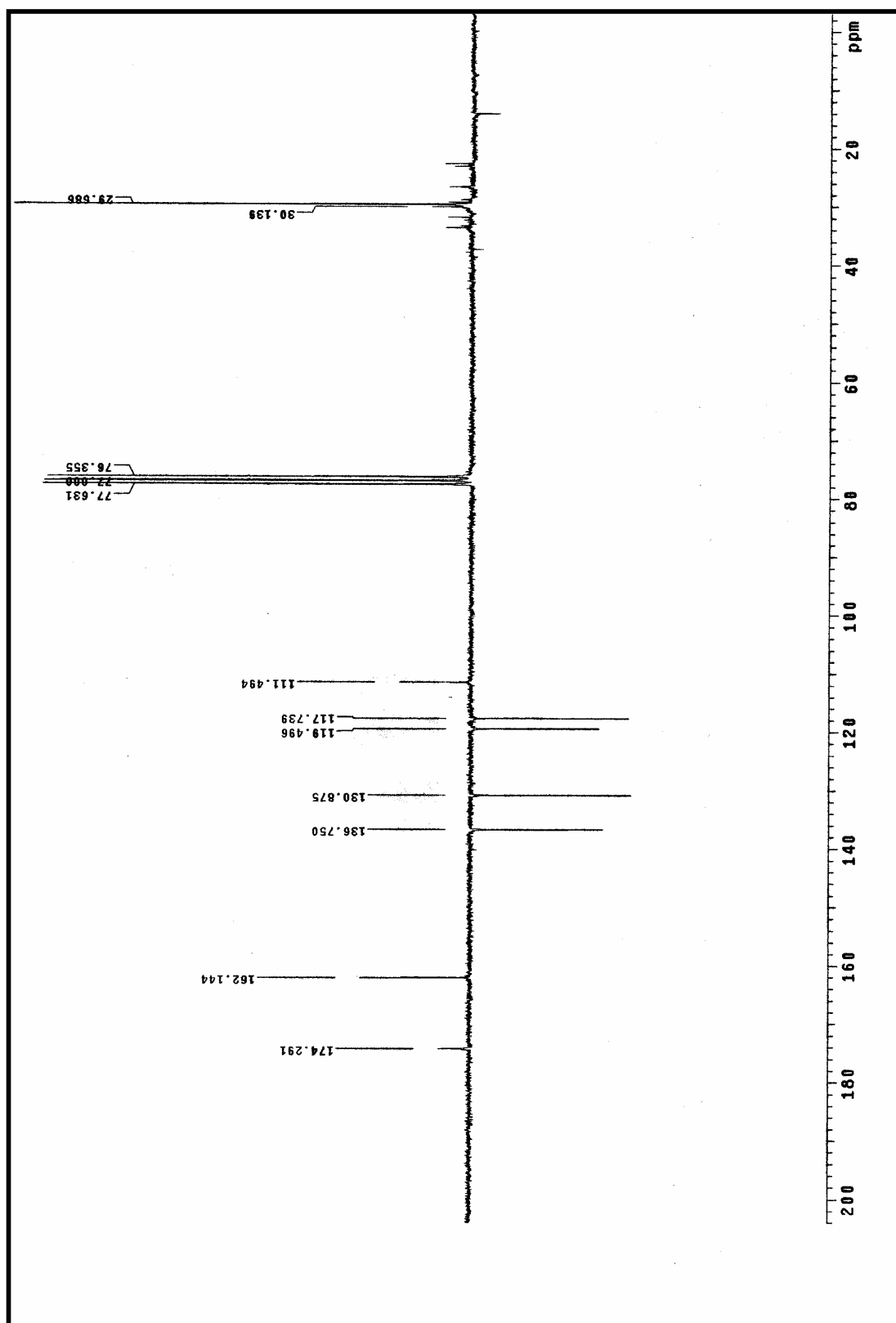


Figura 55 - Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Rg-4

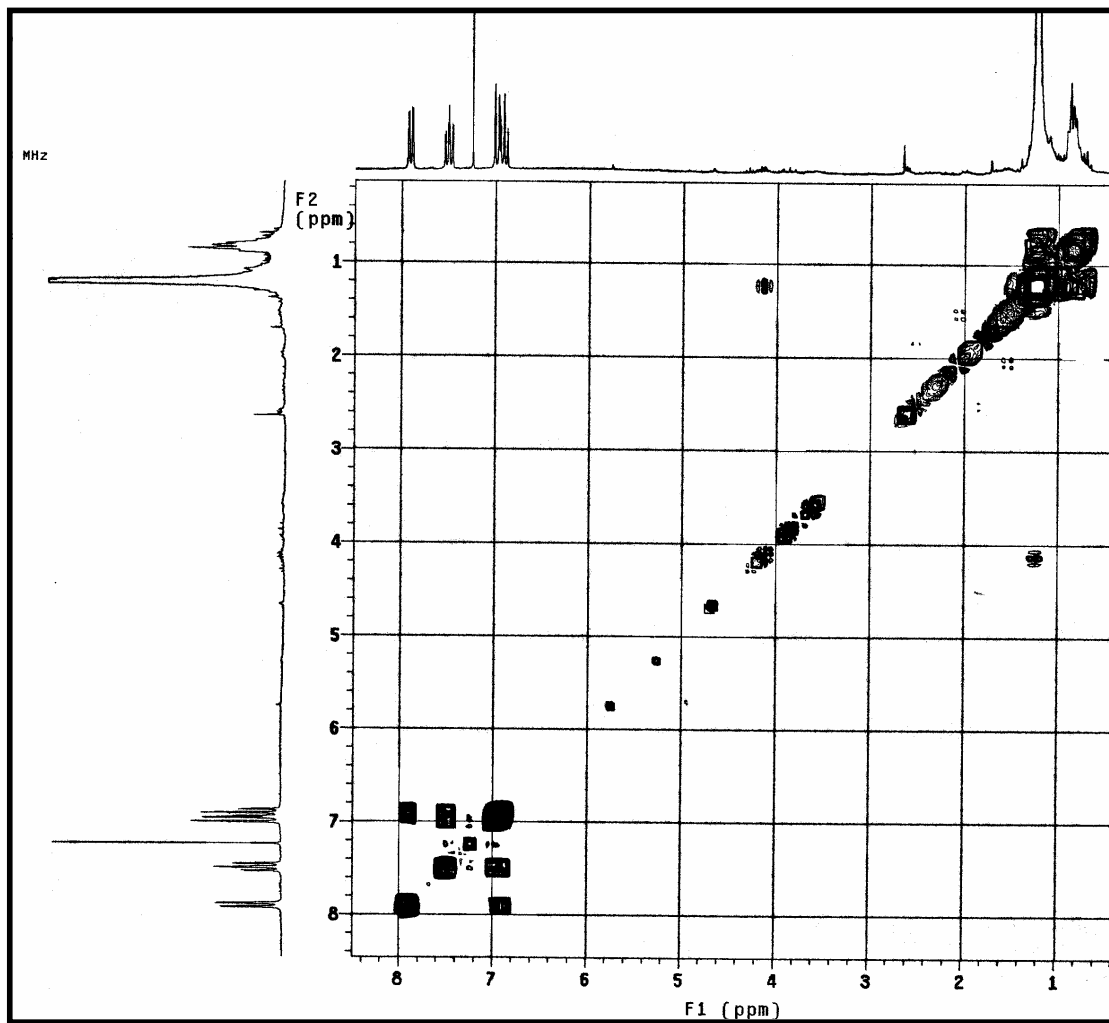


Figura 56 – Espectro de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Rg-4

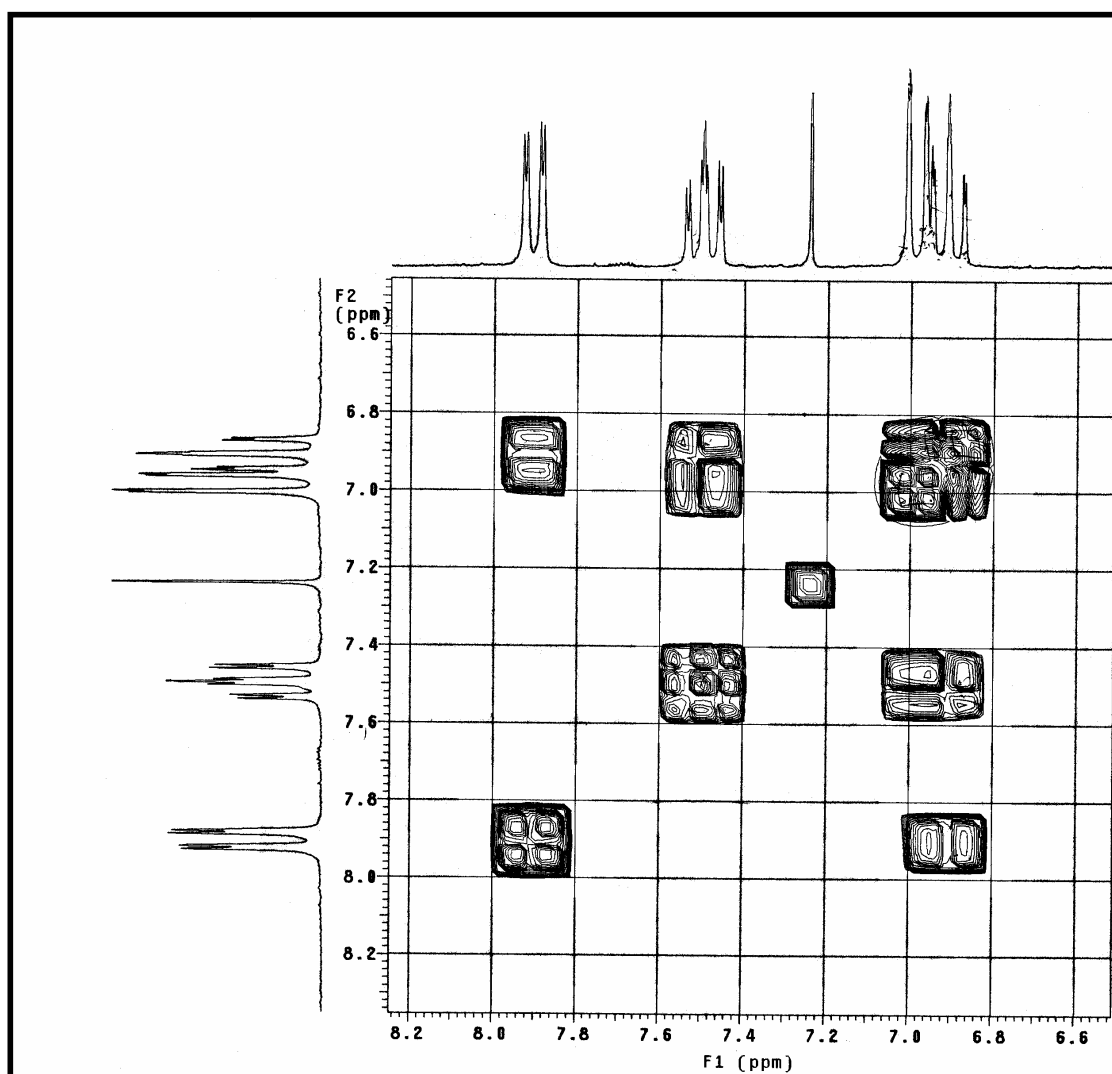


Figura 57 – Expansão do espectro de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Rg-4

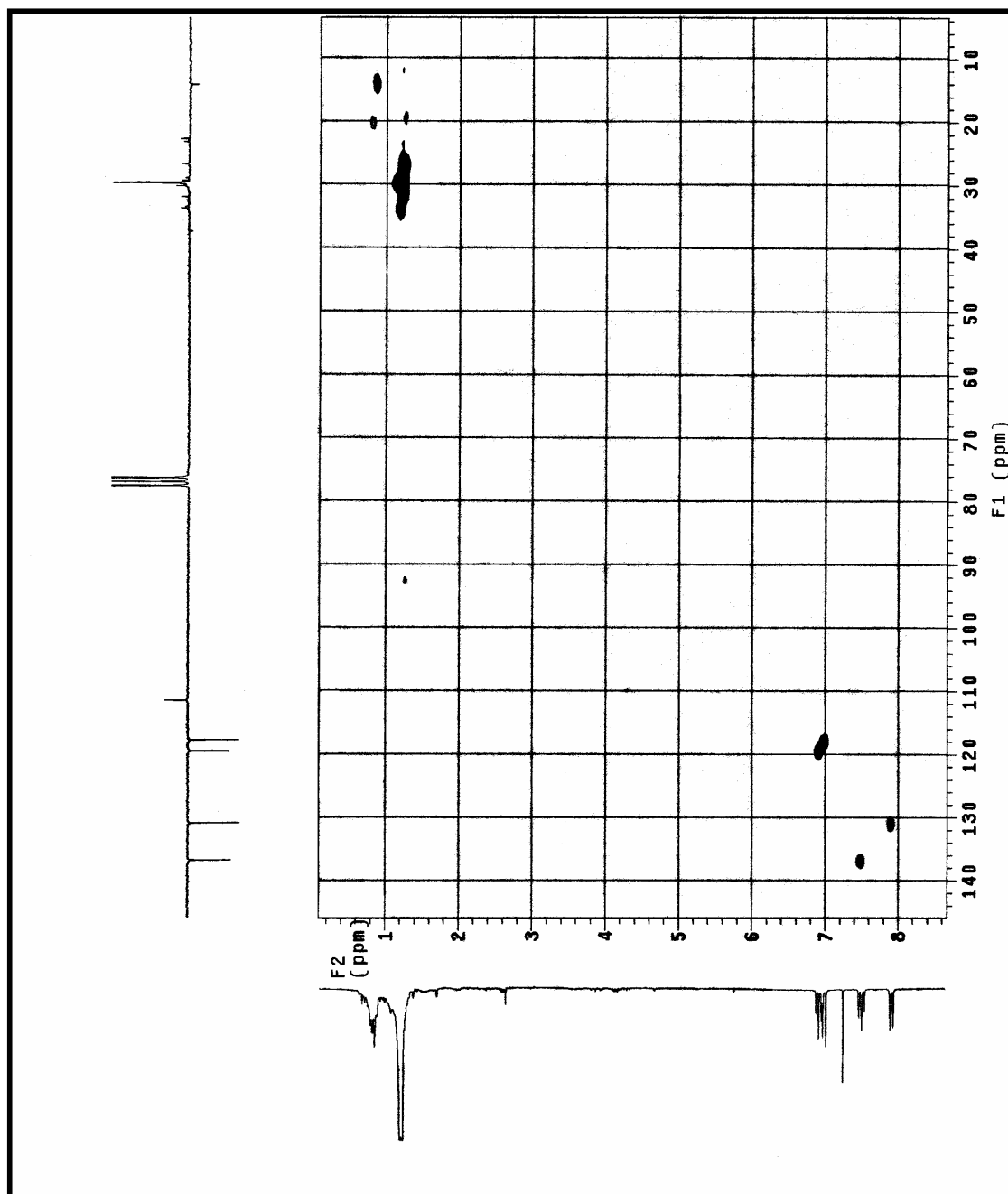


Figura 58 – Espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Rg-4

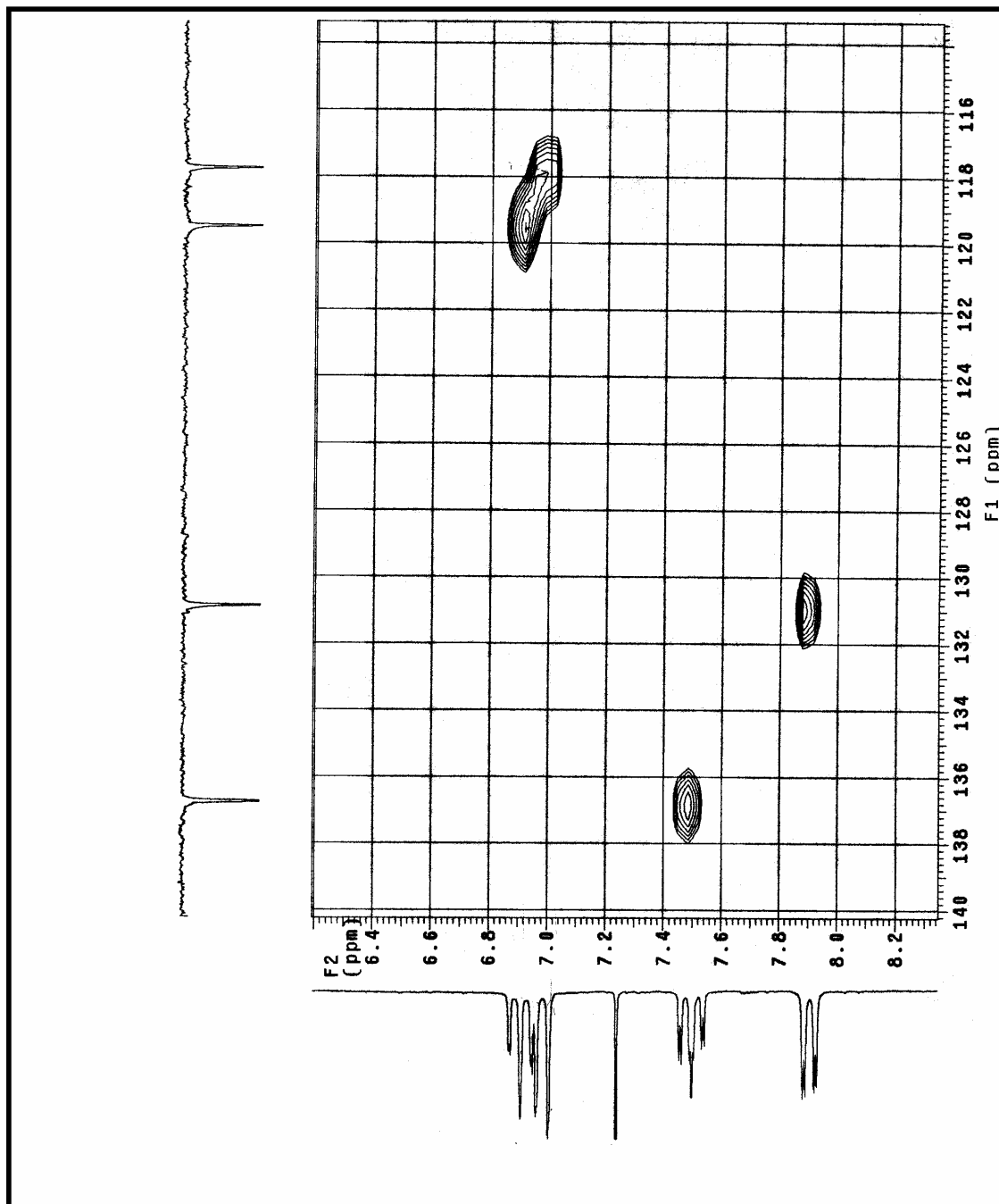


Figura 59 – Expansão do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Rg-4

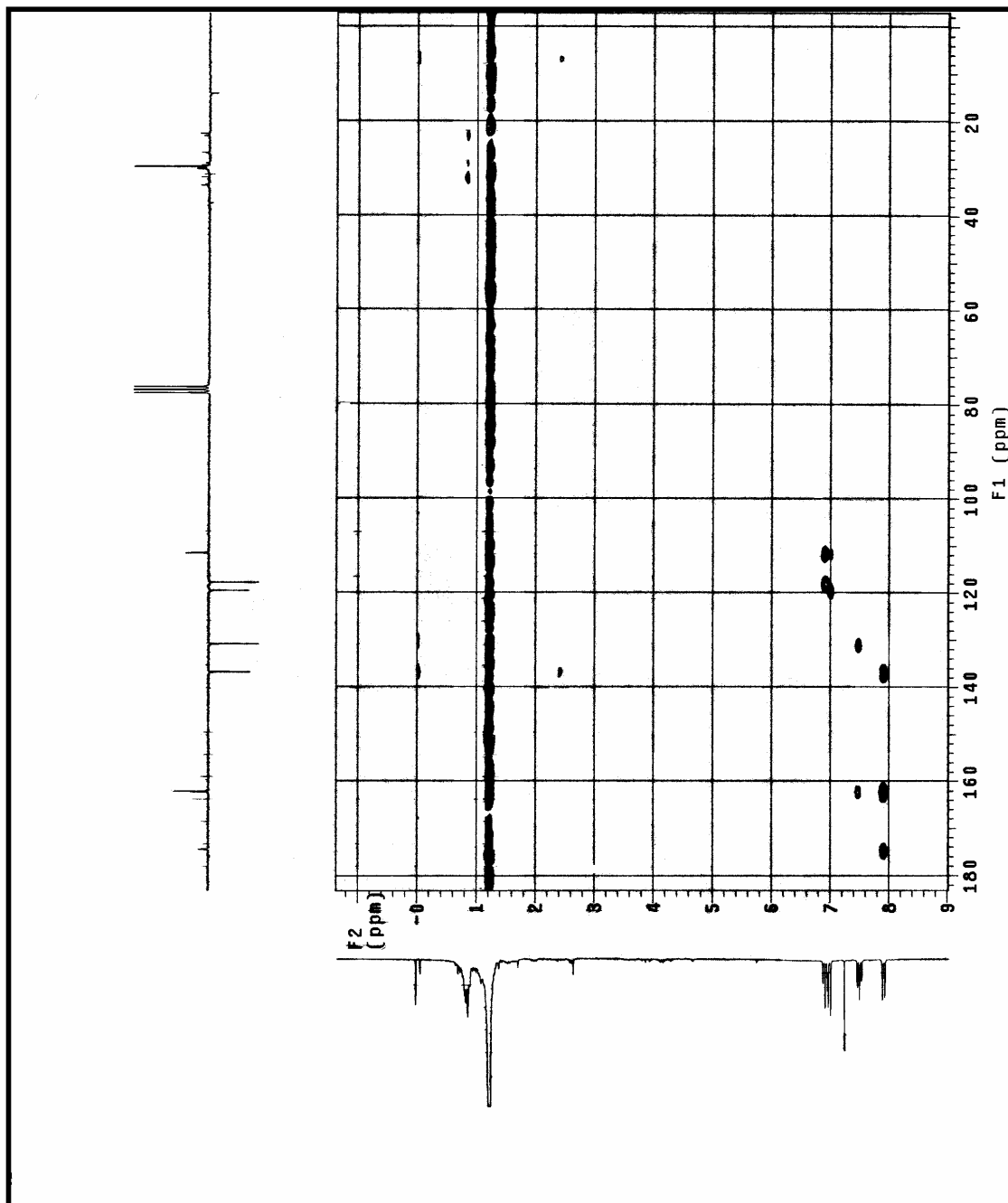


Figura 61 – Espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Rg-4

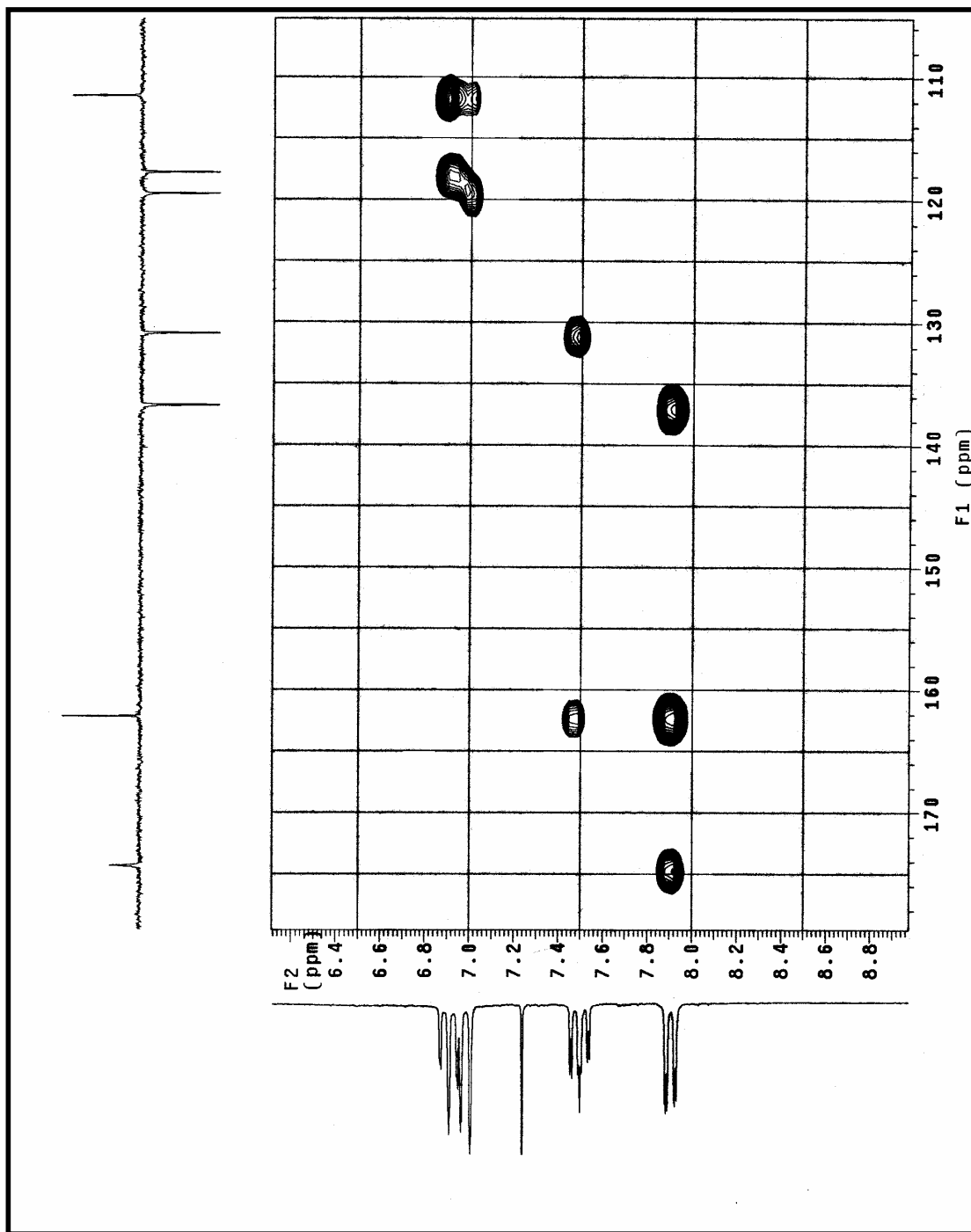


Figura 62 – Expansão do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) Rg-4

5.6 Citações na literatura acerca dos aspectos farmacológicos dos constituintes químicos isolados de *Richardia grandiflora*

Os constituintes químicos isolados de *Richardia grandiflora* apresentam importantes atividades farmacológicas que têm sido relatadas na literatura.

O esteróide β -sitosterol apresentou atividades antiúlceras (LING; JONES, 1995), gastroprotetora (NAVARRETE; TREJO-MIRANDA; REYES-TREJO, 2002), hipoglicêmica (LINDO, 1999 citado por MCANUFF et al., 2005), anticancerígena (AWAD; BURR; FINK, 2005) e anti-ofídica (GALOTTA; BOAVENTURA, 2005). Já o esteróide estigmasterol revelou atividades antiinflamatória (PEREIRA et al., 2006), anticancerígena (AWAD; BURR; FINK, 2005), além de anti-hepatotóxica, hipocolesterolêmica e sedativa (AGRICULTURAL RESEARCH SERVICES, 2007).

A feofitina A apresentou boa ação fotodinâmica frente à levedura *Candida albicans* (SOARES, 2006).

Dentre os ácidos fenólicos, o ácido *m*-metoxi-*p*-hidroxi-benzóico revelou atividades antioxidante (TRANTIS et al., 2005) e antibacteriana (NAZ et al., 2005), enquanto o ácido-*o*-hidroxi-benzóico mostrou atividades analgésica e antiartrítica (MADAUS, 1976), além de antibacteriana, antiinflamatória, antioxidante, antipirética e antisséptica (HUANG, 1993).

Portanto, tendo em vista o grande potencial farmacológico dos constituintes descritos neste trabalho, tanto eles como extratos e fases da espécie *Richardia grandiflora* serão disponibilizados para estudos farmacológicos.

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

- ✓ Através de métodos cromatográficos usuais e técnicas espectroscópicas de IV e RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais em conjunto com os dados da literatura foi possível isolar e identificar cinco constituintes químicos de *Richardia grandiflora*: uma mistura dos esteróides β -sitosterol e estigmasterol, a feofitina A, o ácido *m*-metoxi-*p*-hidroxi-benzóico e o ácido *o*-hidroxi-benzóico.

- ✓ Todos os constituintes químicos são descritos pela primeira vez no gênero *Richardia*, contribuindo assim, para o enriquecimento quimiotaxonômico da família Rubiaceae.

- ✓ Em virtude do potencial farmacológico apresentado pelos constituintes descritos neste trabalho, de acordo com a literatura, tanto eles como extratos e fases da espécie *Richardia grandiflora* serão disponibilizadas para estudos farmacológicos.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ADEKUNLE, A. A. Antifungal property of the crude extracts of *Rrachystegia eurycoma* and *Richardia brasiliensis*. **Nigerian Journal of Natural Products and Medicine**, v. 4, p. 70-72, 2000.

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

AGRICULTURAL RESEARCH SERVICES. **Phytochemical and Ethnobotanical databases**. Disponível em: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/chemical.pl?STIGMASTEROL> Acesso em 25 de janeiro de 2008.

AHMAD, R.; SHAARI, K.; LAJIS, N. H.; HAMZAH, A. S.; ISMAIL, N. H.; KITAJIMA, M. Anthraquinones from *Hedyotis capitellata*. **Phytochemistry**, v. 66, p. 1141-1147, 2005.

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

AMARAL, A.T.; MONTANARI, C. A. Química medicinal: 25 anos de planejamento racional de fármacos. **Química Nova**, v. 25, Supl. 1, p. 39-44, 2002.

ANDERSSON, L. A provisional checklist of neotropical Rubiaceae. **Scripta Botanica Belgica**, v. 1, p. 1-199, 1992.

AWAD, A. B.; BURR, A. T.; FINK, C. S. Effect of resveratrol and β -sitosterol in combination on reactive oxygen species and prostaglandin release by PC-3 cells. **Prostaglandins, Leucotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 72, p. 219-226, 2005.

BANDYOPADHYAY, D.; NAYAK, A.; BASAK, B.; BANERJI, A.; BANERJI, J.; CHATTERJEE, A.; PRANGE, T.; NEUMAN, A. N-(4-methylphenyl) benzenepropanamide - the first isolated amide from the genus *Paederia*. **Natural Product Communications**, v. 2, n. 7, p. 753-754, 2007.

BARBOSA, M. R. V. **Estudo florístico e fitossociológico da Mata do Buraquinho, remanescentes de mata atlântica em João Pessoa, PB**. 1996. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

BARKER, R. **Organic Chemistry of Biological Compounds**. New Jersey: FMB, 1977.

BARROSO, G. M.; GUIMARÃES, E. F.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; PEIXOTO, A. L.; LIMA, H. C. **Rubiaceae**. In: Sistemática de angiospermas do Brasil, v. 3., Universidade Feral de Viçosa: Viçosa, p. 189-229, 1986.

BENEVIDES, P. J. C.; YOUNG, M. C. M.; BOLZANI, V. D. Biological activities of constituents from *Psychotria spectabilis*. **Pharmaceutical Biology**, v. 42, n. 8, p. 565-569, dec. 2004.

- COELHO, V. P. M.; AGRA, M. F.; BARBOSA, M. R. V. Estudo farmacobotânico das folhas de *Tocoyena formosa* (Cham. & Schldl.) K.Schum. (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 170-177, 2006.
- COSTA, D. A.; SILVA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MEDEIROS, M. A. N.; SILVA, J. T.; SILVA, B. A.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V. Chemical constituents from *Bakeridesia pickelli* (H. Monteiro) (Malvaceae) and the relaxant activity of kaempferol-3-O- β -D-(6''-E-p-coumaroyl) glucopyranoside on guinea-pig ileum, **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 901-903, 2007.
- CUNHA, A. P.; ROQUE, O. R. **Obtenção de moléculas com actividade farmacológica a partir de material vegetal e sua transformação em medicamento**. In: CUNHA, A. P. Farmacognosia e fitoquímica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2005.
- DA-CUNHA, E. V. L.; SOUZA, M. F. V.; TOMAZ, A. C. A.; NOGUEIRA, R. B. S. S. Isolation and identification of chemical constituents from *Richardia grandiflora* (Cham. & Schldl.) Steud (Rubiaceae). In: 1st BCPN Brazilian Conference on Natural Products, **Anais...**, São Pedro-SP, 2007.
- DEMIREZER, L. O.; GURBUZ, F.; GUVENALP, Z.; STROCH, K.; ZEECK, A. Iridoids, flavonoids and monoterpene glycosides from *Galium verum* subsp verum. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 30, n. 4, p. 525-534, 2006.
- DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. John Wiley & Sons Ltd., New York, 1997.
- DINDA, B.; DEBNATH, S.; MAJUMDER, S.; ARIMA, S.; SATO, N.; HARIGAYA, Y. Chemical constituents of *Mussaenda incana*. **Indian Journal of Chemistry**, v. 44, n. 11, p. 2362-2366, nov. 2005
- DINDA, B.; DEBNATH, S.; MAJUMDER, S.; ARIMA, S.; SATO, N.; HARIGAYA, Y. A new bis-iridoid glucoside from *Mussaenda incana*. **Chinese Chemical Letters**, v. 17, n. 10, p. 1331-1334, oct. 2006.
- DJOUDI, R.; BERTRAND, C.; FIASSON, K.; FIASSON, J.; COMTE, G.; FENET, B.; RABESA, Z. A. Polyphenolics and iridoid glycosides from *Tarenna madagascariensis*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p. 314-316, 2007.
- DUAN, H.; TAKAISHI, Y.; MOMOTA, H.; OHMOTO, Y.; TAKI, T. Immunosuppressive constituents from *Saussurea medusa*. **Phytochemistry**, v. 59, p. 85-90, 2002.
- EDEOGA, H. O.; OKWU, D. E.; MBAEBIE, B. O. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, n. 7, p. 685-688, 2005.
- GALOTTA, A. L. Q. A.; BOAVENTURA, M. A. D. Constituintes químicos da raiz e do talo da folha do açaí (Euterpe precatoria Mont., Arecaceae). **Química Nova**, v. 28, n. 4, Jul/Aug., 2005.
- GEISSMAN, T. A.; CROUT, D. H. G. **Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism**. San Francisco: Freeman Cooper, 1969.

- GREGORY, R. P. F. **Biochemistry of Photosynthesis**. 2. ed. London: John Wiley & Sons LTD, 1978.
- GUERRERO-ANALCO, J. A.; HERSCH-MARTÍNEZ, P.; PEDRAZA-CHAVERRI, J.; NAVARRETE, A.; MATA, R. Antihyperglycemic effect of constituents from *Hintonia standleyana* in streptozotocin-induced diabetic rats. **Planta Medica**, v. 71, n. 12, p. 1099-1105, dec. 2005.
- GUERRERO-ANALCO, J.; MEDINA-CAMPOS, O.; BRINDIS, F.; BYE, R.; PEDRAZA-CHAVERRI, J.; NAVARRETE, A.; MATA, R. Antidiabetic properties of selected Mexican copalchis of the Rubiaceae family. **Phytochemistry**, v. 68, p. 2087–2095, 2007.
- GUVENALP, Z.; KILIC, N.; KAZAZ, C.; KAYA, Y.; DEMIREZER, L. O. Chemical constituents of *Galium tortumense*. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 30, n. 4, p. 515-523, 2006a.
- GUVENALP, Z.; KAZAZ, C.; KAYA, Y.; DEMIREZER, L. O. Phytochemical investigation on *Galium humifusum* growing in Turkey. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 34, p. 894-896, 2006b.
- HAMERSKI, L.; FURLAN, M.; SILVA, D. H. S.; CAVALHEIRO, A. J.; EBERLIN, M. N.; TOMAZELA, D. M.; BOLZANI, V. D. Iridoid glucosides from *Randia spinosa* (Rubiaceae). **Phytochemistry**, v. 63, n. 4, p. 397-400, jun. 2003.
- HAUSER, E. W.; PARHAM, S. A. Effects of annual weeds and cultivation on the yield of peanuts. **Weed Research**, v. 9, n. 3, p. 192–197, 1969.
- HE, Z. D.; MA, C. Y.; ZHANG, H. J.; TAN, G. T.; TAMEZ, P.; SYDARA, K.; BOUAMANIVONG, S.; SOUTHAVONG, B.; SOEJARTO, D. D.; PEZZUTO, J. M.; FONG, H. H. S. Antimalarial constituents from *Nauclea orientalis* (L.) L. **Chemical & Biodiversity**, v. 2, n. 10, p. 1378-1386, 2005.
- HENRIQUES, A. T.; LOPES, S. O.; PARANHOS, J. T.; GREGIANINI, T. S.; POSER, G. L. V.; FETT-NETO, A. G.; SCHRIPSEMA, J. *N*, β -D-Glucopyranosyl vincosamide, a light regulated indole alkaloid from the shoots of *Psychotria leiocarpa*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 449–454, 2004.
- HUANG, K. C. **The pharmacology of Chinese herbs**. Boca Raton, CRC Press, Fl.. 1993, 388 p.
- JUMA, B. F.; MAJINDA, R. R. T. Constituents of *Gardenia volkensii*: their brine shrimp lethality and DPPH radical scavenging properties. **Natural Product Research**, v. 21, n. 2, p. 121-125, feb. 2007.
- KAEWKRUD, W.; MATSUNAMI, K.; OTSUKA, H.; RUCHIRAWAT, S.; KANCHANAPOOM, T. Chemical constituents of the Thai medicinal plant, *Dioecrescis erythroclada* (Kurz) Tirveng. **Journal of Natural Medicine**, v. 61, n. 4, p. 476-477, oct. 2007.

- KAMIYA, K.; TANAKA, Y.; ENDANG, H.; UMAR, M. SATAKE, T. Chemical Constituents of *Morinda citrifolia* Fruits Inhibit Copper-Induced Low-Density Lipoprotein Oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 5843-5848, 2004.
- KAMIYA, K. TANAKA, Y.; ENDANG, H.; UMAR, M.; SATAKE, T. New anthraquinone and iridoid from the fruits of *Morinda citrifolia*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 53, n. 12, p. 1597-1599, 2005.
- KIM, D. H.; LEE, H. J.; OH, Y. J.; KIM, M. J.; KIM, S. H.; JEONG, T. S.; BAEK, N. I. Iridoid glycosides isolated from *Oldenlandia diffusa* inhibit LDL-oxidation. **Archives of Pharmacal Research**, v. 28, n. 10, p. 1156-1160, oct. 2005.
- KITAJIMA, M.; NAKAYAMA, T.; KOGURE, N.; WONGSERIPATANA, S.; TAKAYAMA, H. New heteroyohimbine-type oxindole alkaloid from the leaves of Thai *Mitragyna hirsute*. **Journal of Natural Medicine**, v. 61, n. 2, p. 192-195, 2007.
- KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H.; Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.
- KRAFT, C.; JENETT-SIEMS, K.; SIEMS, K.; JAKUPOVIC, J.; MAVI, S.; BIENZLE, U.; EICH, E. In vitro antiplasmodial evaluation of medicinal plants from Zimbabwe. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 2, p. 123-128, feb. 2003.
- LEWIS, W. H.; OLIVER, R. L. Revision of *Richardia* (Rubiaceae). **Brittonia**, v. 26, p. 271-301, 1974.
- 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.
- LUCIANO, J. H. S.; LIMA, M. A. S.; SOUZA, E. B.; SILVEIRA, E. R. Chemical constituents of *Alibertia myrciifolia* Spruce ex K. Schum. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, p. 1227-1229, 2004.
- MABBERLEY, D. J. **The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants**. Cambridge University Press, Cambridge, 1997.
- MADAUS, G. **Lehrbuch der biologischen hitfmittel**. Georg Olms Verlag, Hildesheim. Madaus. v. 1-3, 1976, 2862 p.
- MARTINS, R. C.; SILVA, C. L. M. Modelling colour and chlorophyll losses of frozen green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **International Journal of Refrigeration**, v. 25, p. 966, 2002.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997, 141 p.
- MATSUO, A.; ONO, K.; HAMASAKI, K.; NOZAKI, H. Phaeophytins from a cell suspension culture of the liverwort *Plagiochila ovalifolia*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 2, p. 427-430, 1996.

MCANUFF, M. A.; HARDING, W. W.; OMORUYI, F. O.; JACOBS, H.; MORRISON, E. Y.; ASEMOTA, H. N. Hypoglycemic effects of steroidal saponins isolated from Jamaican bitter yam, *Dioscorea polygonoids*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 1667-1672, 2005.

MELOS, J. L. R.; SILVA, L. B.; PERES, M. T. L. P.; MAPELI, A. M.; FACCENDA, O.; ANJOS, H. H.; TORRES, T. G.; TIVIROLI, S. C.; BATISTA, A. L.; ALMEIDA, F. G. N.; FLAUZINO, N. S.; TIBANA, L. A.; HESS, S. C.; HONDA, N. K. Constituintes químicos e avaliação do potencial alelopático de *Adiantum tetraphyllum* HUMB. & BONPL. EX. WILLD (PTERIDACEAE). **Química Nova**, v. 30, n. 2, p.292-297, 2007.

MONGRAND, S.; BADO, A.; PATOUILLE, B.; LACOMBLEZ, C.; CHAVENT, M.; BESSOULE, J. Chemotaxonomy of the Rubiaceae family based on leaf fatty acid composition. **Phytochemistry**, v. 66, p. 549-559, 2005.

MONQUERO, P. A. **Dinâmica populacional e mecanismos de tolerância de espécies de plantas daninhas ao herbicida glyphosate**. 2003. 99 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

MONQUERO, P. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Dinâmica do banco de sementes em áreas com aplicação freqüente do herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 21, n. 1, p. 63-69, 2003.

MONQUERO, P. A. Plantas transgênicas resistentes aos herbicidas: situação e perspectivas. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, p. 517-531, 2005.

MONQUERO, P. A.; CURY, J. C.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Controle pelo glyphosate e caracterização geral da superfície foliar de *Commelina benghalensis*, *Ipomoea hederifolia*, *Richardia brasiliensis* e *Galinsoga parviflora*. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 23, n. 1, p. 123-132, 2005.

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

MUKHERJEE, K. S.; MUKHOPADHYAY, B.; MONDAL, S.; GORAI, D.; BRAHMACHARI, G. Triterpenoid constituents of *Borreria articularis*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 51, n. 1, p. 229-231, feb. 2004.

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.

NAZ, S.; AHMAD, S.; RASOOL, S. A.; SAYEED, S. A.; SIDDIQI, R. Antibacterial activity-directed isolation of compounds from *Onosma hispidum*. **Microbiological Research**, p. 1-6, 2005.

NAZARI, A. S.; DIAS, S. A.; COSTA, W. F.; BERSANI-AMADO, C. A.; VIDOTTI, G. J.; SOUZA, M. C.; SARRAGIOTTO, M. H. Anti-inflammatory and antioxidant activities of

Randia hebecarpa and major constituents. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, n. 1, p. 7-9, jan-feb. 2006.

NIERO, R.; MALHEIROS, A.; BITTENCOURT, C. M. S.; BIAVATTI, M. W.; LEITE, S. N.; CECHINEL-FILHO, V. **Aspectos químicos e biológicos de plantas medicinais e considerações sobre fitoterápicos**. In: CECHINEL-FILHO, V.; BRESOLIN, T. M. B. Ciências químico-farmacêuticas: Contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos. Itajaí: Univali, 2003. 293 p.

NOIARSA, P.; YU, Q.; MATSUNAMI, K.; OTSUKA, H.; RUCHIRAWAT, S.; KANCHANAPOOM, T. (Z)-3-Hexenyl diglycosides from *Spermacoce laevis* Roxb. **Journal of Natural Medicine**, v. 61, n. 4, p. 406-409, oct. 2007.

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

PAWLUS, A. D.; SU, A.; KELLER, W. J.; KINGHORN, A. D. An Anthraquinone with Potent Quinone Reductase-Inducing Activity and Other Constituents of the Fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 12, p. 1720 -1722, 2005.

PEDRINHO-JÚNIOR, A. F. F.; BIANCO, S.; PITELLI, R. A. Acúmulo de massa seca e macronutrientes por plantas de *Glycine max* E *Richardia brasiliensis*. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 22, n. 1, p. 53-61, 2004.

PEREIRA, M. M.; SOUZA-JÚNIOR, S. N.; ALCÂNTARA, A. F. C.; PILÓ-VELOSO, D.; ALVES, R. B.; MACHADO, P. O.; AZEVEDO, A. O.; MOREIRA, F. H.; CASTRO, M. S. A.; RASLAN, D. S. Constituintes químicos e estudo biológico de *Aspidosperma nitidum* (Apocynaceae), **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 8, n.3, p.1-8, 2006.

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

PINTO, D. S.; TAVARES, J. F.; SILVA, M. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; DIAS, C. S.; CUNHA, E. V. L. Flavonóide glicosilado isolado de *Richardia brasiliensis* Gomes (Rubiaceae). In: VI Simpósio Brasileiro de Farmacognosia, Jornal Brasileiro de Fitomedicina, v. 5, **Anais...**, Belém-PA, 2007a.

PINTO, D. S.; TENÓRIO-SOUZA, F. H.; SENA-FILHO, J. G.; TAVARES, J. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; DIAS, C. S.; CUNHA, E. V. L. Phytochemical study of *Richardia brasiliensis* Gomes (Rubiaceae). In: 1st Brazilian Conference on Natural Products (1st BCNP), **Anais...**, São Pedro-SP, 2007b.

PINTO, D. S.; TENÓRIO-SOUZA, F. H.; TAVARES, J. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; DIAS, C. S.; CUNHA, E. V. L. Constituintes químicos isolados da fase clorofórmica de *Richardia brasiliensis* Gomes (Rubiaceae).. In: I Simpósio de Plantas Medicinais do Vale do São Francisco, **Anais...**, Petrolina-PE, 2007c.

- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiotecnologia**. Editorial Premier, 1997.
- ROBBRECHT, E.. Tropical woody Rubiaceae. **Opera Botanica Bélgica**, v. 1, p. 1-271, 1988.
- RODRIGUES, A. G. **Prefácio**. In: AMARAL, A. C. F.; SIMÕES, E. V.; FERREIRA, J. I. P. (Coordenadores). Coletânea científica de plantas de uso medicinal. 1. ed. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2005, 220 p.
- RONCHI, C. P.; TERRA, A. A.; SILVA, A. A.; FERREIRA, L. R. Acúmulo de nutrientes pelo cafeeiro sob interferência de plantas daninhas. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 21, n. 2, p. 219-227, 2003.
- SALMOUN, M.; BRAEKMAN, J. C.; RANARIVELO, Y.; RASAMOELISENDRA, R.; RALAMBOMANANA, D.; DEWELLE, J.; DARRO, F.; KISS, R. New calamenene sesquiterpenes from *Tarenna madagascariensis*. **Natural Product Research**, v. 21, n. 2, p. 111-120, feb. 2007.
- SAMOYLENKO, V.; ZHAO, J.; DUNBAR, D. C.; KHAN, I. A.; RUSHING, J. W.; MUHAMMAD, I. New Constituents from Noni (*Morinda citrifolia*) Fruit Juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 6398-6402, 2006.
- SAN MARTIN MATHEIS, H. A. **Efeitos de diferentes coberturas mortas obtidas a partir do manejo mecânico com roçadeira lateral na dinâmica populacional de plantas daninhas em citros**. 2004. 68 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- SANG, S. M.; HO, C. T. Chemical components of noni (*Morinda citrifolia* L.) root. **Acs Symposium Series**, v. 925, p. 185-194, 2006.
- SANTOS, A. R.; BARROS, M. P.; SANTIN, S. M. D.; SARRAGIOTTO, M. H.; SOUZA, M. C.; EBERLIN, M. N.; MEURER, E. C. Polar constituents of the leaves of *Machaonia brasiliensis* (Rubiaceae). **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 525-527, jul-ago. 2004.
- SCHWIKKARD, S. L.; MULHOLLAND, D. A.; HUTCHINGS, A. Phaeophytins from *Tapura fisheri*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 8, p. 2391-2394, 1998.
- SIDDIQUI, B. S.; SATTAR, F. A.; BEGUM, S.; GULZAR, T.; AHMAD, F. New anthraquinones from the stem of *Morinda citrifolia* Linn. **Natural Products Research**, v. 20, n. 12, p. 1136-1144, oct. 2006.
- SIDDIQUI, B. S.; SATTAR, F. A.; BEGUM, S.; GULZAR, T.; AHMAD, F. Chemical constituents from the stems of *Morinda citrifolia* Linn. **Archives of Pharmacal Research**, v. 30, n. 7, p. 793-798, jul. 2007a.
- SIDDIQUI, B. S.; SATTAR, F. A.; AHMAD, F.; BEGUM, S. Isolation and structural elucidation of chemical constituents from the fruits of *Morinda citrifolia* Linn. **Archives of Pharmacal Research**, v. 30, n. 8, p. 919-923, aug. 2007b.

- SILVA, D. A.; SILVA, T. M. S.; LINS, A. C. S.; COSTA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N.; SOUZA, M. F. V. Constituintes químicos e atividade antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1250-1254, 2006.
- SILVA, T. M. S. **Estudo Químico de Espécies de *Solanum***. 2002. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L. **Constituintes Micromoleculares de Plantas do Nordeste com Potencial Farmacológico**. 1. ed. Fortaleza: Expressão gráfica e editora, p. 137-143, 2005.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 5. ed. Guanabara Koogan, 1994.
- SIMÕES-PIRES, C. A.; FARIAS, F. M.; MARSTON, A.; QUEIROZ, E. F.; CHAVES, C. G.; HENRIQUES, A. T.; HOSTETTMANN, K. Indole monoterpene with antichemotactic activity from *Psychotria myriantha*: Chemotaxonomic significance. **Natural Product Communications**, v. 1, n. 12, p. 1101-1106, 2006.
- SOARES, R. R. S. **Estudo de propriedades da Clorofila a e da Feofitina a visando a Terapia Fotodinâmica**. 2006. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Maringá, Paraná.
- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, jan. 2002.
- SOUZA, L. A.; MOURÃO, K. S. M.; MOSCHETA, I. S.; ROSA, S. M. Morfologia e anatomia da flor de *Pilocarpus pennatifolius* Lem. (Rutaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p. 175-184, 2003.
- SOUZA, M. F. V.; SILVA, D. A. **Extração, Isolamento e Reações de Caracterização de Constituintes Químicos**. In: Psicofarmacologia: fundamentos práticos/ organizado por Reinaldo Nóbrega de Almeida. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 77.
- SU, B.; KANG, Y.; PINOS, R. E.; SANTARSIERO, B. D.; MESECAR, A. D.; SOEJART, D. D.; FONG, H. H. S.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Isolation and absolute stereochemistry of coussaric acid, a new bioactive triterpenoid from the stems of *Coussarea brevicaulis*. **Phytochemistry**, v. 64, p. 293-302, 2003.
- SU, B.; PAWLUS, A. D.; JUNG, H.; KELLER, W. J.; MCLAUGHLIN, J. L.; KINGHORN, A. D. Chemical Constituents of the Fruits of *Morinda citrifolia* (Noni) and Their Antioxidant Activity. **Journal of Natural Products**, v. 68, p. 592-595, 2005.
- SUKSAMRARN, A.; TANACHATCHAIRATANA, T.; KANOKMEDHAKUL, S. Antiplasmodial triterpenes from twigs of *Gardenia saxatilis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, p. 275-277, 2003.
- TENÓRIO-SOUZA, F. H.; PINTO, D. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; DIAS, C. S.; CUNHA, E. V. L. Compostos Fenólicos Isolados de *Richardia brasiliensis* Gomes. In: II Nature an Unexploited Source of Bioactive Compounds, **Anais...**, João Pessoa-PB, 2007.

TOMAZ, A. C. A.; NOGUEIRA, R. B. S. S.; PINTO, D. S.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V.; DA-CUNHA, E. V. L. Chemical constituents from *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud. (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia (no prelo)**.

TRIANANTIS, T.; STELAKIS, A.; DIMOTIKALI, D.; PAPADOPOULOS, K. Investigations on the antioxidant activity of fruit and vegetable aqueous extracts on superoxide radical anion using chemiluminescence techniques. **Analytica Chimica Acta**, v. 536, p. 101-105, 2005.

TUCHINDA, T.; SAI, A.; POHMAKOTR, M.; YOOSOOK, C.; KASISIT, J.; NAPASWAT, C.; SANTISUK, T.; REUTRAKUL, V. Anti-HIV-1 cycloartanes from leaves and twigs of *Gardenia thailandica*. **Planta Medica**, v. 70, n. 4, p. 366-370, apr. 2004.

UNIPR-IT. Polarita' di una sostanza. **Didattica**, Itália. 2006.

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

VIEGAS-JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

VILEGAS, W.; CARDOSO, C. A. L. **Controle químico de qualidade de fitoterápicos e plantas medicinais**. In: YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia. 1. ed. Itajaí: UNIVALI, 2007. 303 p.

WANG, M.; KIKUZAKI, H.; CSISZAR, K. BOYD, C. D.; MAUNAKEA, A.; FONG, S. F. T.; GHAI, G.; ROSEN, R. T.; NAKATANI, N.; HO, C. Novel Trisaccharide Fatty Acid Ester Identified from the Fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 12, p. 4880 -4882, 1999.

XUAN, W. D.; CHEN, H. S.; DU, J. L.; LIANG, S.; LI, T. Z.; CAI, D. G. Two new indole alkaloids from *Nauclea officinalis*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 8, n. 8, p. 719-722, dec. 2006.

ZIN, Z. M.; HAMID, A. A.; OSMAN, A.; SAARI, N.; MISRAN, A. Isolation and identification of antioxidative compound from fruit of Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). **International Journal of Food Properties**, v. 10, n. 2, p. 363-373, 2007.

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](#)