



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ALELOPÁTICA
DE *Myrcia guianensis***

REINALDO ARAÚJO DOS SANTOS

Belém-PA
2005

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ALELOPÁTICA
DE *Myrcia guianensis***

Aluno: Reinaldo Araújo dos Santos *

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Química. Desenvolvida sob a orientação do Prof. Dr. Lourivaldo da Silva Santos.

*Bolsista da  **CAPES**

**Belém-PA
2005**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ALELOPÁTICA
DE *Myrcia guianensis***

Reinaldo Araújo dos Santos

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química
como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Química.
Submetida à banca examinadora constituída pelos professores:

Profº. Dr. Lourivaldo da Silva Santos
Orientador
DQ – CCEN - UFPA

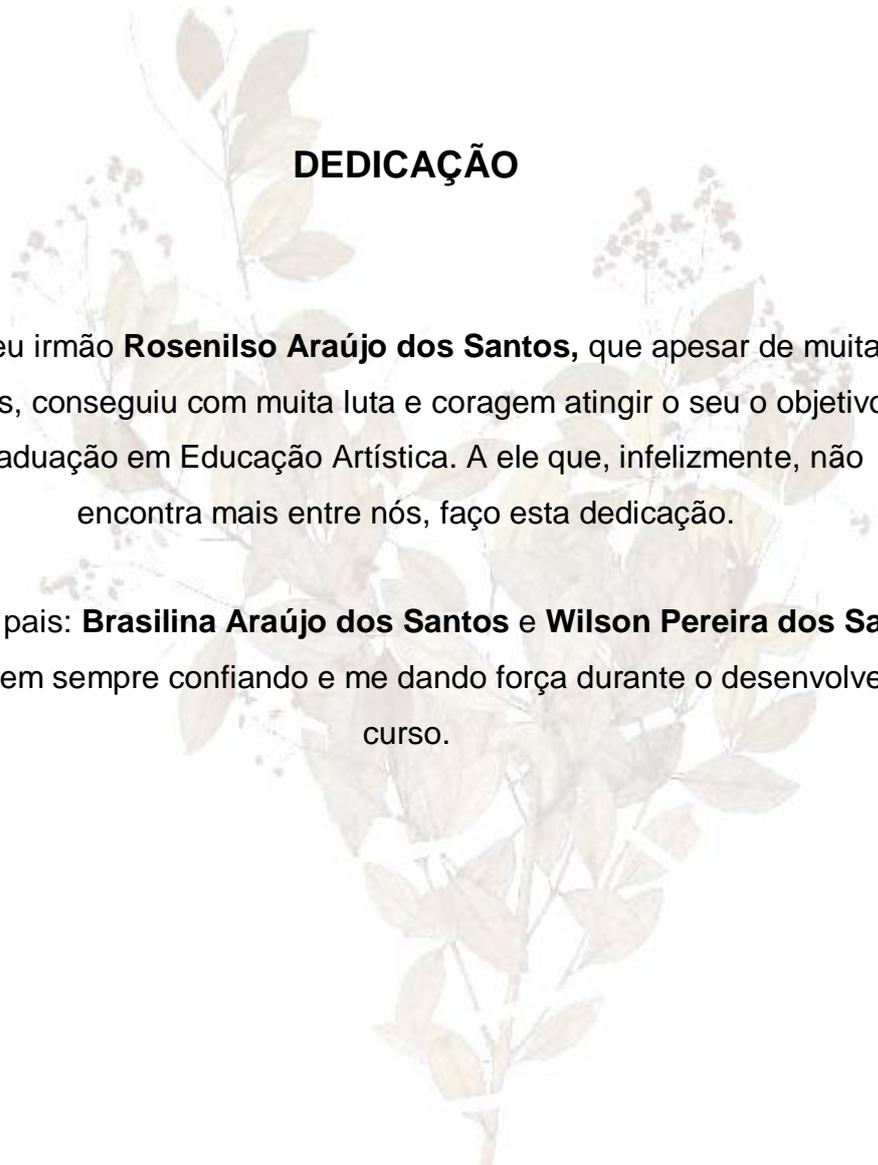
Profª. Dra. Giselle Maria Skelding Pinheiro Guilhon
DQ – CCEN - UFPA

Profº. Dr. Alberdan Silva Santos
DQ – CCEN – UFPA

Jugado em:----/---/---

conceito:-----

**Belém – Pará
2005**



DEDICAÇÃO

Ao meu irmão **Rosenilso Araújo dos Santos**, que apesar de muitas dificuldades, conseguiu com muita luta e coragem atingir o seu objetivo, que foi a graduação em Educação Artística. A ele que, infelizmente, não se encontra mais entre nós, faço esta dedicação.

Aos meus pais: **Brasilina Araújo dos Santos** e **Wilson Pereira dos Santos**, por estarem sempre confiando e me dando força durante o desenvolver do curso.

AGRADECIMENTOS

A **Deus** que me dá força e luz em todos os meus caminhos .

A **Universidade Federal do Pará.**

A **CAPES**, pela ajuda financeira.

Ao **Prof. Dr. Lourivaldo da Silva Santos**, pela orientação competente e treinamento que tornaram possível a realização deste trabalho.

Aos Amigos de Laboratório: **Josiane C. L. dos Santos, Isabel Ferreira, Vivianne Freitas, Nelson Gonçalves, Marcelo Lobato, Milton, Sávio, Isabel Tavares e Paulo Adinamar**, pela força e ajuda que me deram durante o desenrolar do curso.

Aos funcionários do Departamento de Química, pelo auxílio durante os trabalhos no Laboratório.

As demais pessoas que contribuíram de maneira direta ou indireta para a execução deste trabalho.



**“O importante é colocar a fé
à altura daquilo que a gente
quer.”**

Autor desconhecido

**“Belém velha, Belém da cidade
velha, do bonde Bagé, do Largo
da Sé, do Círio de Nazaré. Será
que ainda é?”**

Leandro Tocantins

SUMÁRIO

ÍNDICE DAS FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

TRABALHOS APRESENTADOS

RESUMO

1 – INTRODUÇÃO	14
1.1 - OBJETIVO	17
2 – A FAMÍLIA MYRTACEAE	18
3 – O GÊNERO <i>MYRCIA</i>	22
4 – O GRUPO PEDRA-UME-CAÁ	23
5 – PARTE FITOQUÍMICA	32
5.1 – ESTRUTURAS DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS OBTIDAS DE <i>Myrcia guianensis</i>	32
5.2 – INSTRUMENTAL UTILIZADO	35
5.3 – COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL PARA ESTUDO	36
5.4 – PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS	36
5.5 – OBTENÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL	38
5.6 – PARTICIONAMENTO DOS EXTRATOS BRUTOS HEXÂNICO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICO	38
5.7 – FRACIONAMENTOS CROMATOGRÁFICOS	42
5.7.1 – Fracionamento cromatográfico da partição diclorometânica do extrato bruto hexânico	42
5.7.1.1 – Obtenção das substâncias S ₁ , S ₂ , S ₃ , S ₄ e S ₅	45
5.7.2 – Fracionamento cromatográfico da partição acetato de etila do extrato bruto acetato de etila	46
5.7.2.1 – Fracionamento cromatográfico da fração Hex/AcOEt 50% da CCVU filtrante	47
5.7.2.2 – Fracionamento cromatográfico da fração AcOEt da CCVU filtrante	49
5.7.2.2.1 – FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO 7 DA CCVU AcOEt	50
5.7.2.3 – Obtenção das substâncias S ₆ , S ₇ , S ₈	51

5.7.3 – Fracionamento cromatográfico da partição hexânica do extrato bruto hidroalcoólico	52
5.7.3.1 – Obtenção das substâncias S ₉ , S ₁₀ , S ₁₁ , S ₁₂ e S ₁₃ ...	54
5.8 – RESULTADOS E DISCUSSÃO DA PARTE FITOQUÍMICA	55
5.8.1 – Identificação das substâncias	55
5.8.1.1 – Substâncias S ₁ e S ₂	55
5.8.1.2 – Substância S ₃	59
5.8.1.3 – Substâncias S ₄ e S ₅	61
5.8.1.4 – Substâncias S ₆ e S ₇	63
5.8.1.5 – Substância S ₈	65
5.8.1.6 – Substâncias S ₉ , S ₁₀ e S ₁₁ , S ₁₂ e S ₁₃	66
5.8.2 – Propostas biossintéticas das substâncias identificadas	
.....	68
5.8.2.1 – Terpenóides	68
5.8.2.2 – Ácidos fenólicos	73
6 – PARTE BIOLÓGICA	76
6.1 – ALELOPATIA	76
6.2 – BIOENSAIOS ALELOPÁTICOS	79
6.2.1 – Bioensaios alelopáticos dos extratos brutos e das partições	80
6.2.1.1 – Bioensaios sobre a germinação das sementes	80
6.2.1.2 – Bioensaios sobre o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo	81
6.2.2 – Bioensaios alelopáticos do óleo essencial	81
6.2.2.1 – Bioensaios sobre a germinação das sementes	81
6.2.2.2 – Bioensaios sobre o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo	82
6.2.3 – Bioensaios alelopáticos das substâncias S₇ e S₈	83
6.2.3.1 – Bioensaios sobre a germinação das sementes	83
6.2.3.2 – Bioensaios sobre o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo	83
6.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS BIOENSAIOS	85
6.3.1 – Avaliação da atividade alelopática dos extratos brutos ..	85

6.3.2 – Avaliação da atividade alelopática das partições do extrato bruto acetato de etila	86
6.3.2.1 – Efeitos sobre a germinação das sementes	86
6.3.2.2 – Efeitos sobre o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo	87
6.3.3 – Avaliação da atividade alelopática do óleo essencial	89
6.3.3.1 – Efeitos sobre a germinação das sementes	89
6.3.3.2 – Efeitos sobre desenvolvimento da radícula e do hipocótilo	90
6.3.4 – Avaliação da atividade alelopática de S₇ e S₈	91
6.3.4.1 – Efeitos de S ₇ sobre a germinação das sementes ...	91
6.3.4.2 – Efeitos de S ₇ sobre o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo	92
6.3.4.3 – Efeitos de S ₈ sobre a germinação das sementes ...	94
6.3.4.4 – Efeitos de S ₈ sobre o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo	95
7 – CONCLUSÃO	97
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98

ÍNDICE DAS FIGURAS

Figura 1 – Flavonóis glicosilados e acetofenonas isolados de <i>Myrcia multiflora</i>	25
Figura 2 – Flavanonas glicosilada isoladas de <i>Myrcia multiflora</i>	26
Figura 3 – Substâncias químicas produzidas por <i>Myrcia salicifolia</i>	30
Figura 4 – Flavonas isoladas de <i>Myrcia guianensis</i>	31
Figura 5 – Rota biossintética proposta para a formação de S ₄	69
Figura 6 – Rota biossintética proposta para a formação de S ₁ , S ₃ e S ₅	71
Figura 7 – Rota biossintética proposta para a formação de S ₆ , S ₇ e S ₈	74
Figura 8 – Rota biossintética proposta para a formação de S ₂	75
Figura 9 – Efeitos alelopáticos dos extratos brutos das folhas de <i>Myrcia guianensis</i> sobre a germinação das sementes das plantas receptoras	85
Figura 10 – Efeitos alelopáticos das partições do extrato bruto AcOEt sobre a germinação das sementes das plantas receptoras	86
Figura 11 – Efeitos alelopáticos das partições do extrato bruto AcOEt sobre o desenvolvimento da radícula das plantas receptoras	88
Figura 12 – Efeitos alelopáticos das partições do extrato bruto AcOEt sobre o desenvolvimento do hipocótilo das plantas receptoras	88
Figura 13 – Efeitos alelopáticos do óleo essencial na germinação das sementes da espécie receptoras	89
Figura 14 – Efeitos alelopáticos do óleo essencial no desenvolvimento da radícula das plantas receptoras	90
Figura 15 – Efeitos alelopáticos do óleo essencial no desenvolvimento do hipocótilo das planta receptoras	91
Figura 16 – Efeitos alelopáticos de S ₇ na germinação das sementes das plantas receptoras	92
Figura 17 – Efeito alelopático de S ₇ no desenvolvimento da radícula das plantas receptoras	93
Figura 18 – Efeito alelopático de S ₇ no desenvolvimento do hipocótilo das plantas receptoras	93

Figura 19 – Efeitos alelopáticos de S ₈ na germinação das sementes das plantas receptoras	94
Figura 20 – Efeito alelopático de S ₈ no desenvolvimento da radícula das plantas receptoras	95
Figura 21 – Efeito alelopático de S ₈ no desenvolvimento do hipocótilo das plantas receptoras	96
Figura 22 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de S ₁ e S ₂	104
Figura 23 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de S ₁ e S ₂	105
Figura 24 – Espectro de RMN ¹³ C DEPT (75 MHz, CDCl ₃) de S ₁ e S ₂	106
Figura 25 – Espectro de COSY ¹ H x ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de S ₁ e S ₂	107
Figura 26 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de S ₃	108
Figura 27 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de S ₃	109
Figura 28 – Espectro de RMN ¹³ C DEPT (75 MHz, CDCl ₃) de S ₃	110
Figura 29 – Espectro de COSY ¹ H x ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de S ₃	111
Figura 30 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de S ₄ e S ₅	112
Figura 31 – Expansão do espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de S ₄ e S ₅	113
Figura 32 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de S ₄ e S ₅	114
Figura 33 – Espectro de RMN de ¹³ C DEPT (75 MHz, CDCl ₃) de S ₄ e S ₅	115
Figura 34 – Espectro de COSY ¹ H x ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de S ₄ e S ₅	116
Figura 35 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, Acetona) de S ₆ e S ₇	117
Figura 36 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CD ₃ OD) de S ₆ e S ₇	118
Figura 37 – Espectro de RMN ¹³ C DEPT (75 MHz, CD ₃ OD) de S ₆ e S ₇	119
Figura 38 – Espectro de COSY ¹ H x ¹ H (300 MHz, CD ₃ OD) de S ₆ e S ₇	120
Figura 39 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, Acetona) de S ₇	121
Figura 40 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CD ₃ OD) de S ₇	122
Figura 41 – Espectro de RMN ¹³ C DEPT (75 MHz, CD ₃ OD) de S ₇	123
Figura 42 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, Acetona) de S ₆ e S ₇	124
Figura 43 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CD ₃ OD) de S ₈	125
Figura 44 – Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, CD ₃ OD) de S ₈	126
Figura 45 – Espectro de RMN ¹³ C DEPT (75 MHz, CD ₃ OD) de S ₈	127
Figura 46 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de S ₉ , S ₁₀ , S ₁₁ , S ₁₂ e S ₁₃	128

Figura 47 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de S_9 , S_{10} , S_{11} , S_{12} e S_{13}	129
Figura 48 – Cromatograma de S_9 , S_{10} , S_{11} , S_{12} e S_{13}	130
Figura 49 – Espectro de Massas de S_9	131
Figura 50 – Espectro de Massas de S_{10}	132
Figura 51 – Espectro de Massas de S_{11}	133
Figura 52 – Espectro de Massas de S_{12}	134
Figura 53 – Espectro de Massas de S_{13}	135
Figura 54 – Espectro de COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3) de S_9 , S_{10} , S_{11} , S_{12} e S_{13}	136

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

AcOEt	acetato de etila
ADP	adenosina difosfato
ATP	adenosina trifosfato
CCDC	cromatografia de camada delgada comparativa
CCDP	cromatografia de camada delgada preparativa
CCVU	cromatografia de coluna via úmida
CG/ES	cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$	H, H Correlated Spectroscopy
<i>dd</i>	duplo duplete
<i>dl</i>	duplete largo
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DAHP	ácido 3-deóxi-D-arabino-heptulosônico-7-fosfato
DMAPP	Dimetilalil difosfato
E.B.	extrato bruto
EtOH	etanol
FPP	farnesil difosfato
GPP	geranil difosfato
Hex	hexano
HOP	ácido fosfórico
Hz	Hertz
IPP	isopentenil difosfato
<i>J</i>	constante de acoplamento
<i>m</i>	múltiplo
MeOH	metanol
MHz	Megahertz
NAD ⁺	nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidada
NADP ⁺	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidada
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
OMS	Organização Mundial da Saúde
p.	página

PPdifosfato
ppmparte por milhão
RMN ¹³CRessonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN ¹HRessonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1
SAMS-adenosilmetionina
ttripleto
 δ deslocamento químico

TRABALHOS APRESENTADOS

- 1 – Santos, R.A., Ferreira, I.C.S., Freitas, V.C.M., Souza Filho, A.P.S., Alves S.M., Guilhon, G.M.S.P., Muller, A.H., Arruda, M.S.P., Arruda A.C., Santos, L.S., Efeitos Alelopáticos de *Myrcia guianensis* Sobre Plantas Invasoras de Pastagens. 8º. Encontro dos Profissionais da Química da Amazônia, Conselho Regional de Química, 2003.
- 2 – Santos, R.A., Ferreira, I.C.S., Freitas, V.C.M., Figueira, B.A.M., Guilhon, G.M.S.P., Souza Filho, A.P.S., Alves, S.M., Santos, L.S., Estudo do Potencial Alelopático de *Myrcia guianensis*. 27.^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química e XXVI Congresso Latinoamericano de Química, SBQ, 2004.
- 3 – Santos, R.A., Ferreira, I.C.S., Freitas, V.C.M., Souza Filho, A.P.S., Guilhon, G.M.S.P., Muller, A.H., Arruda, M.S.P., Santos, L.S., Atividade Alelopática do Óleo Essencial de *Myrcia guianensis*. XLIV Congresso Brasileiro de Química, ABQ, 2004.
- 4 – Santos, R.A., Souza, S.C., Ferreira, I.C.S., Freitas, V.C.M., Guilhon, G.M.S.P., Muller, A.H., Arruda, M.S.P., Arruda, A.C., Santos, A., Santos, L.S., Estudo Fitoquímico das Folhas de *Myrcia guaianensis*. 28.^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005.

RESUMO

Myrcia guianensis (Mirtaceae), uma planta nativa da Amazônia, foi objeto de estudo fitoquímico e alelopático. Essa espécie pertence ao grupo popularmente conhecido como “pedra-ume-caá”, onde também, estão incluídas as espécies: *Myrcia multiflora*, *Myrcia uniflora*, *Myrcia salicifolia*, *Myrcia speciosa* e *Myrcia spherocarpa*. São conhecidas como “insulina vegetal”, com relatos de possuírem propriedades medicinais. Foram realizados na espécie *Myrcia guianensis* estudos fitoquímicos e investigação da existência de propriedades alelopáticas frente a duas plantas invasoras de pastagens: *Mimosa pudica* (malícia) e *Senna obtusifolia* (mata-pasta). Os E. B.: hexânico, acetato de etila e hidroalcoólico (8:2) das folhas de *Myrcia guianensis* foram submetidos à partições com hexano, diclorometano e acetato de etila. Também foi realizada a extração de óleo essencial das folhas da referida espécie. Métodos cromatográficos foram aplicados nas partições dos respectivos extratos, sendo que da partição diclorometânica do E.B. hexânico foram obtidas as substâncias estigmast-4-en-3-ona, ácido 2-hidróxi-6-(8Z-pentadeceno)-benzóico (ácido gíngico), β -sitosterol, α -amirina e 6 β -hidróxi-estgmast-4-en-3-ona; da partição AcOEt do E.B. AcOEt foram obtidas as substâncias galato de metila, ácido 3,4-diidróxibenzóico (ácido protocatecuico) e ácido gálico; da partição hexânica do E.B. hidroalcoólico obteve-se uma mistura de ésteres graxos e o β -sitosterol. As substâncias foram identificadas com base na análise espectral de RMN ^1H , RMN ^{13}C , DEPT, COSY e EM, além de comparação com dados encontrados na literatura. Os bioensaios alelopáticos evidenciaram que a maior atividade estava no E.B AcOEt e nas suas partições, mostraram efeitos inibitórios e estimulatórios nos testes com óleo essencial e baixa atividade presente nas substâncias ácido protocatecuico e ácido gálico.

1 – INTRODUÇÃO

Na busca de alívio para suas dores e enfermidades, o homem foi impelido, através dos séculos, a analisar os fenômenos da natureza e a buscar soluções que o ajudassem a minorar seus sofrimentos, encontrando no reino vegetal uma saída, o qual é uma das fontes mais antigas de medicamentos.

Desde a aurora dos tempos, a humanidade tem se valido de plantas com fins medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças (VEIGA JUNIOR et al., 2005). Segundo os autores ao longo do tempo, têm sido registrados variados procedimentos clínicos tradicionais utilizando plantas medicinais, e que, apesar da grande evolução da medicina alopática, existem obstáculos básicos na sua utilização pelas populações, que vão desde o acesso aos centros hospitalares à obtenção de exames e medicamentos.

Segundo FARNSWORTH (1985), perito da OMS, citado por BRAGANÇA, 1996, a flora da maioria dos países em desenvolvimento permanece em grande parte inexplorada do ponto de vista de sua utilização prática. VEIGA JUNIOR et al., 2005, cita que nestes países, bem como nos mais desenvolvidos, os apelos da mídia para o consumo de produtos à base de fontes naturais aumentam a cada dia. A história mostra que um grande número de compostos ativos pode ser extraído de plantas e o fato de serem utilizados pela população já indica, razoavelmente, que elas merecem um estudo científico.

Estima-se que existam cerca de 250 mil a 750 mil espécies de vegetais superiores, das quais muitas ainda não foram objeto de uma descrição

científica (BRAGANÇA, 1996). Segundo VEIGA JUNIOR et al., 2005, no Brasil, as plantas medicinais da flora nativa são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou comerciantes. Ao longo do tempo, as plantas tidas com propriedades biológicas, são muito utilizadas pela população brasileira que procura nas plantas medicinais outras alternativas para a cura de suas enfermidades. Estima-se que 60% dos brasileiros recorrem a estas plantas, principalmente por falta de recursos (VAITSMAN, 1995).

Temos em nosso território pelo menos 120.000 espécies vegetais, onde 2.000 estão descritas como portadoras de propriedades biológicas. Embora devam conter propriedades terapêuticas, o país gasta entre 2 a 3 bilhões de dólares por ano, na importação das matérias-primas de 90% dos remédios sintéticos que a população consome (OLIVEIRA et al., 1992). Assim, num país como o nosso, onde a flora é tão rica, utilizando-a como fonte de matéria-prima na produção de medicamentos, constituiria uma grande vantagem econômica (PEIGEN, 1981).

A descoberta, no território brasileiro, de plantas raras e com variadas propriedades biológicas, desperta o interesse de inúmeros pesquisadores estrangeiros, que isolam e extraem os princípios ativos no exterior e registram suas patentes. “Depois, o Brasil paga *royalties* para ter aquele produto” (FERNANDES, 1993).

Nos mais diversos países do mundo, muitas plantas são utilizadas, nas mais variadas áreas, devido as suas propriedade. De várias destas plantas, pertencentes a diversas famílias, foram isolados e purificados princípios ativos das mais diversas classes de compostos químicos, tais como

polissacarídeos, proteínas, flavonóides, esteróides, terpenóides, alcalóides e outras (IVORRA et al., 1989).

É muito importante ter o conhecimento químico de um vegetal considerado medicinal ou com outras propriedades biológicas, pois podem conter substâncias tóxicas, que podem causar reações que desconhecemos. As plantas são sistemas biológicos que se compara a um laboratório, onde são sintetizadas substâncias que podem ter ação benéfica ou maléfica ao organismo humano e o conhecimento de seus componentes químicos é fundamental, tanto para químicos quanto para farmacólogos.

Estudos mostram que uma das propriedades biológicas que certas plantas possuem é de interferir direta ou indiretamente no desempenho de outros vegetais vizinhos, através da produção de substâncias químicas, liberadas para o meio ambiente, fenômeno este denominado de *alelopatia*.

Várias espécies do gênero *Myrcia* DC., da família das Myrtaceae, também conhecidas como “pedra-ume-caá”, consideradas como insulina vegetal (ALMEIDA, 1993), têm ampla utilização como antidiabéticas. Entre estas variedades, está a *Myrcia guianensis* uma planta medicinal da Amazônia, encontrada, quase que exclusivamente, nos arredores do município de Santarém – PA, que, segundo ALMEIDA, 1993, as folhas em decocção constituem um excelente remédio para diabetes.

Neste trabalho descrevemos o estudo fitoquímico da *Myrcia guianensis* e a investigação da existência de propriedades alelopáticas na espécie.

1.1 – OBJETIVO

O objetivo principal deste trabalho foi o isolamento e a identificação das substâncias químicas presentes nas folhas da *Myrcia guaianensis* e a avaliação da atividade alelopática frente a plantas invasoras de pastagens, na busca de um herbicida natural.

2 – A FAMÍLIA MYRTACEAE

A Família Myrtaceae é composta por cerca de 133 gêneros e aproximadamente 3.900 espécies, as quais distribuem-se, em sua maioria, nas regiões tropicais e subtropicais da Austrália e América do Sul (CARLOS PARRA, 2002). No Brasil, estima-se que ocorram aproximadamente 1.000 espécies (DUARTE, 2003). Segundo CRONQUIST, 1981, citado por LIMBERGER et al., 2004, as espécies são divididas em duas subfamílias, Myrtoideae e Leptospermoideae, sendo que, no Brasil, todos os representantes nativos pertencem à subfamília Myrtoideae, a qual é constituída de apenas uma tribo, Myrteae, que se divide em três subtribos, Eugeniinae, Myrciinae e Myrtinae.

Em todos os ecossistemas brasileiros, as Myrtaceae se destacam como sendo uma das famílias mais importantes e diversificadas (CARDOSO & SAJO, 2004), formada por um grande número de plantas lenhosas que vão desde arbustos até grandes árvores. Possuem folhas persistentes, simples, geralmente opostas, providas de glândulas aromáticas, muitas vezes de consistência coriácea. Flores regulares, bissexuais. Cálice (verticilo floral externo) constituído, geralmente, por 4 a 5 lóbulos livres. Frutos, na maior parte, carnosos ou em cápsulas, podendo conter de duas a várias sementes. Possuem grande importância econômica ao incluir-se plantas de grande interesse e utilidade, por seus frutos comestíveis, obtenção de óleos e madeiras especiais, e também são utilizadas como plantas ornamentais.

Na família Myrtaceae, encontram-se alguns gêneros como: **Agonis** (DC.) Sweet – arbustos de folhas alternadas, freqüentemente agrupadas em

direção ao extremo dos ramos. Flores muito pequenas. Cálice com 5 lóbulos. Corola com 5 pétalas brancas, orbiculares. Androceu com 10-20 estames, às vezes, mais. Fruto em formato de cápsula. Compreendendo 11 espécies do oeste da Austrália; **Angophora** Cav. – arbustos ou árvores, geralmente Glauco, pubescente ou hispido. Folhas opostas ou alternadas, coriáceas. Flores umbeliformes. Cálice com 5 lóbulos dentados. Corola com 5 pétalas unidas na base. Androceu com numerosos estames dispostos em várias séries. Cápsula lenhosa em volta e unida ao caule. Compreende 8 espécies do leste da Austrália; **Callistemon** R. Br. – arbustos com folhas redondas ou lineares. Flores dispostas em densas espigas longas e cilíndricas. Cálice com 5 nódulos embricados, mais ou menos escarioso. Corola com 5 pétalas orbiculares. Androceu com numerosos estames dispostos em várias séries. Fruto encerrado no caule lenhoso. Compreende 25 espécies da Austrália; **Eucalyptus** L'Her. – árvores e arbustos mais ou menos resinosos. Com folhas juvenis alternadas ou opostas e perfoliadas. Folhas adultas alternadas e miúdas. Florescência umbeliforme. Cálice longo, truncado. Fruto em formato de cápsula lenhosa, contendo numerosas sementes de pequeno tamanho. Compreende, cerca de 500 espécies nativas da Austrália, com alguns representantes na Malásia e Filipinas. As principais utilidades dos eucaliptos estão em seu rápido crescimento, resistência e elasticidade. Também deles se obtém essências e resinas como taninos; **Eugenia** L. – árvores e arbustos com folhas simples e brilhantes. Flores em pencas, dispostas em pares, rara vezes solitárias. Cálice com 4 sépalas livres persistentes no fruto. Corola com 4 pétalas brancas. Androceu com numerosos estames. Fruto carnoso contendo de 1 a 2 sementes. Compreende, cerca, de 1.000 espécies distribuídas,

principalmente, na América do Sul, com alguns representantes na Ásia, África e ilhas do pacífico. Algumas espécies possuem frutos comestíveis; **Feijoa** O. Berg. – arbustos com folhas opostas, simples. Flores em cachos de poucas unidades ou solitárias. Cálice com 4 sépalas. Corola com 4 pétalas. Androceu com numerosos estames. Frutos carnosos. Compreende duas espécies nativas do Brasil; **Lophomyrtus** Burret – arbustos de folhas simples, coriáceas. Flores solitárias, axilares, largamente pedunculadas. Cálice com 4 sépalas. Corola com 4 pétalas brancas. Androceu com numerosos estames. Frutos carnosos com diversas sementes. Compreende duas espécies da Nova Zelândia; **Luma** A. Gray – arbustos com folhas opostas e flores solitárias ou em conjunto de 3 flores. Cálice com 4 sépalas. Corola com 4 pétalas e androceu com numerosos estames sobressaindo das pétalas. Frutos carnosos. Compreende 4 espécies da Argentina e Chile. **Melaleuca** L. – árvores e arbustos com cascas, que geralmente, se desprende em capas. Folhas alternadas, poucas vezes opostas, côncavas ou semi-redondas, raras vezes delgadas e com margens recurvadas. Flores rodeadas por uma bráctea, dispostas em espigas, com o eixo da espiga crescendo continuamente imitando folhas. Cálice com 5 lóbulos. Corola com 5 pétalas orbiculares. Androceu com numerosos estames muitos mais largos que as pétalas. Cápsula encerrada no cálice. Compreende 150 espécies nativas da Austrália, com algumas espécies na Nova Guiné e Malásia; **Metrosideros** Banks ex Gaertn. – arbustos, árvores ou trepadeiras, aromáticos, com folhas simples opostas, com glândulas. Flores no cume axilares ou terminais. Cálice com 5 lóbulos, raras vezes 4, ligeiramente imbricados. Corola com 5 pétalas, raras vezes 4. Androceu com numerosos estames livres, dispostos em uma ou várias séries. Frutos em cápsula

coriácea, rodeada por um cálice persistente. Compreende umas 50 espécies nativas da África do Sul, Malásia, Austrália e ilhas do pacífico; **Myrciaria** O. Berg. – árvores ou arbustos com folhas opostas, simples. Flores em cachos ou aglomeradas axilares ou laterais ou sobre o caule. Cálice tubular com 4 lóbulos livres e imbricados encerrados nas pétalas. Corola com 4 pétalas. Androceu com numerosos estames. Fruto carnosos. Compreende umas 40 espécies espalhadas pela América tropical; **Psidium** L. – arbustos ou árvores de folhas opostas e simples. Flores solitárias no cume ou axilares ou terminais. Cálice com um tubo prolongado por cima do ovário, com 4 a 5 lóbulos. Corola com 4-5 pétalas brancas. Androceu com numerosos estames dispostos em várias séries. Fruto carnosos. Compreende umas 100 espécies nativas da América tropical; **Syncarpia** Ten. – árvores com folhas opostas. Flores densas, solitárias sobre pedúnculos axilares ou terminais. Cálice em forma de tubo, com 4 a 5 lóbulos. Corola com 4-5 pétalas. Androceu com numerosos estames dispostos em uma ou duas séries. Cápsula em volta pelo tubo do cálice. Compreende 5 espécies da Austrália. **Syzygium** Gaertn. – árvores e arbustos, aromáticos, com folhas opostas, com glândulas puntiformes. Flores solitárias ou em grupos de 3. Cálice com 4 a 5 lóbulos. Corola com 4 a 5 pétalas. Androceu com numerosos estames dispostos em várias séries ou unidos nas faces. Fruto carnosos. Compreende, cerca de 500 espécies nativas da América tropical; **Tristania** R. Br. – árvores e arbustos com folhas alternadas ou irregularmente verticiladas (inseridas no mesmo nó) nos finais dos ramos, raras vezes opostas. Flores pequenas, amarelas ou brancas. Cálice em tubo com 5 lóbulos. Corola com 5 pétalas muito imbricados. Androceu com muitos

estames, mais ou menos unidos nas faces. Cápsula envolta pelo cálice. Compreende uma espécie nativa da Austrália.

3 – O GÊNERO *MYRCIA*

O gênero *Myrcia* DC., pertencente à subtribo Myrciinae é um dos maiores gêneros americanos de Myrtaceae, com mais de 300 espécies distribuídas do México até o Sul do Brasil (LIMBERGER et al., 2004).

Algumas espécies de *Myrcia* são muito utilizadas na medicina popular, destacando-se a *Myrcia multiflora* (Lam.) DC., utilizada como hipoglicemiante na forma de infuso ou decocto (LIMBERGER et al. 2004). Tribos indígenas e comunidades tradicionais usaram várias espécies do gênero como adstringente, contra diabetes e diarreia, como diurético, para estancar hemorragias, contra a hipertensão e úlceras da boca (GUARÉ CRUZ et al. 2004). Estudos farmacológicos demonstraram atividade de extratos de folhas de *Myrcia fallax* (Rich.) DC. frente a células cancerígenas tipo KB (LIMBERGER et al.,2004).

Outras espécies do gênero que se tem informações de estudos botânicos são:

Myrcia pubipetala Miq – folhas ovais com ápice acuminado, base arredondada, coriácea, com nervação pubescente, fortemente saliente na face inferior, pontuações translúcidas facilmente visíveis. O tamanho das folhas é bastante variável (DUARTE, 2003);

Myrcia aff. *freyreissiana* (O. Berg) Kiaerski – segundo DUARTE (2003), pode ser identificada por apresentar uma descamação escura nos ramos. As folhas

são ovais a elípticas, com ápice acuminado, base arredondada com epecíolo curto. Tronco avermelhado. A terminação "aff." justifica-se pelo fato que estes materiais apresentam pecíolo menor e folhas menos coriáceas do que a *Myrcia freyreissiana*;

Myrcia tenuivenosa Kiaerski – o mesmo autor cita que esta espécie se caracteriza por apresentar tricomas ferrugíneos na porção terminal dos ramos e folhas lanceoladas e elípticolanceoladas, com nervuras numerosas e pouco salientes na face inferior, além de pontuações facilmente visíveis.

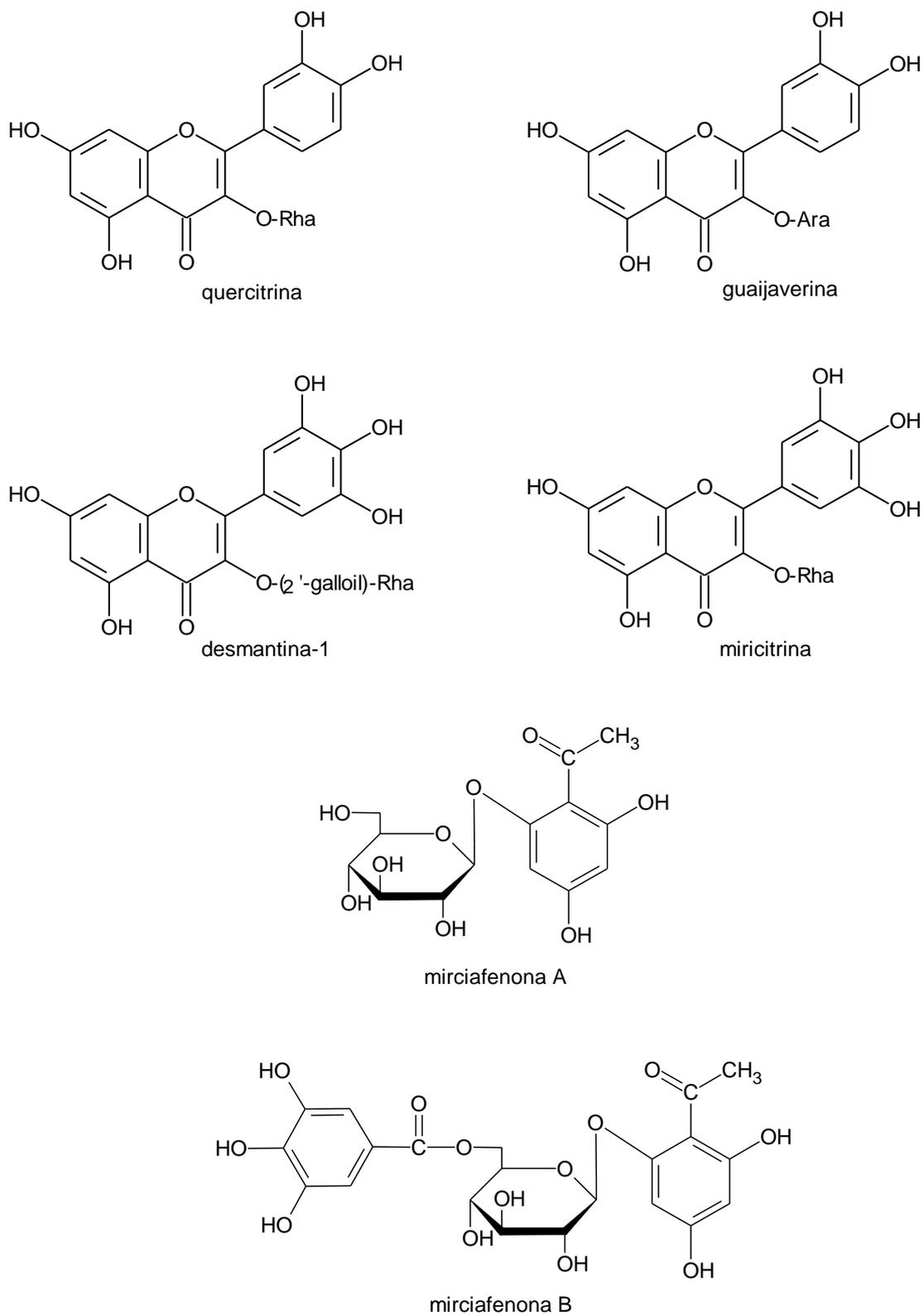
4 – O GRUPO PEDRA-UME-CAÁ

Existe um grupo de espécies do gênero *Myrcia* conhecidas popularmente pelo nome de “pedra-ume-caá”; entre estas podemos encontrar: *Myrcia uniflora* DC., *Myrcia multiflora* (Lam.) DC, *Myrcia guianensis* (Aubl.) DC., *Myrcia salicifolia* DC., *Myrcia speciosa* (Amsh.) McVaugh e *Myrcia sphaerocarpa* DC., todas conhecidas, também, como “insulina vegetal” (LIMBERGER et Al., 2004). São plantas arbustivas, bastante ramificadas que crescem em regiões mais secas da Amazônia e em outras partes de Brasil.

Estudos fitoquímicos e ensaios farmacológicos recentes, em alguns grupos de pedra-ume-caá, revelaram a existência de atividade biológica de várias substâncias isoladas e também em testes feitos com extratos brutos e infusões. Estas estão entre as 65 plantas medicinais selecionadas pelo Programa de Pesquisa de Plantas medicinais – PPPM – para estudo pela CEME (SANT’ANA & ASSAD, 2004).

Neste grupo destacam-se:

Myrcia multiflora (Lam.) DC. – Bioensaios de extrato metanólico das folhas mostraram uma potente inibição da atividade das enzimas aldose redutase (YOSHIKAWA et al., 1998; MATSUDA et al., 2001). Esta é uma enzima que catalisa a redução da glicose ao sorbitol, este não difunde pela membrana da célula e sua acumulação intracelular foi implicada nas complicações do diabetes (MATSUDA et al., 2002). Estudos fitoquímicos realizados por MATSUDA et al., 2002, com o extrato citado acima, revelaram a presença de novos flavonóides biologicamente ativos e de alguns benzenóides que agem como inibidores de aldose redutase. Foram isolados os flavonóis glicosilados quercitrina, guaijaverina, desmantina-1 e miricitrina; as flavanonas glicosiladas mirciacitrinas I, II, III, IV e V; e, também, as acetofenonas denominadas de mirciafenonas A e B. As Figuras 1 e 2 ilustram as estruturas destas substâncias (YOSHIKAWA et al., 1998; YOSHIKAWA et al., 2002).



Ara: α -L-arabinopiranosil; Rha: α -L-rhamnopiranosil.

Figura 1 – Flavonóis glicosilados e acetofenonas isolados de *Myrcia multiflora*.

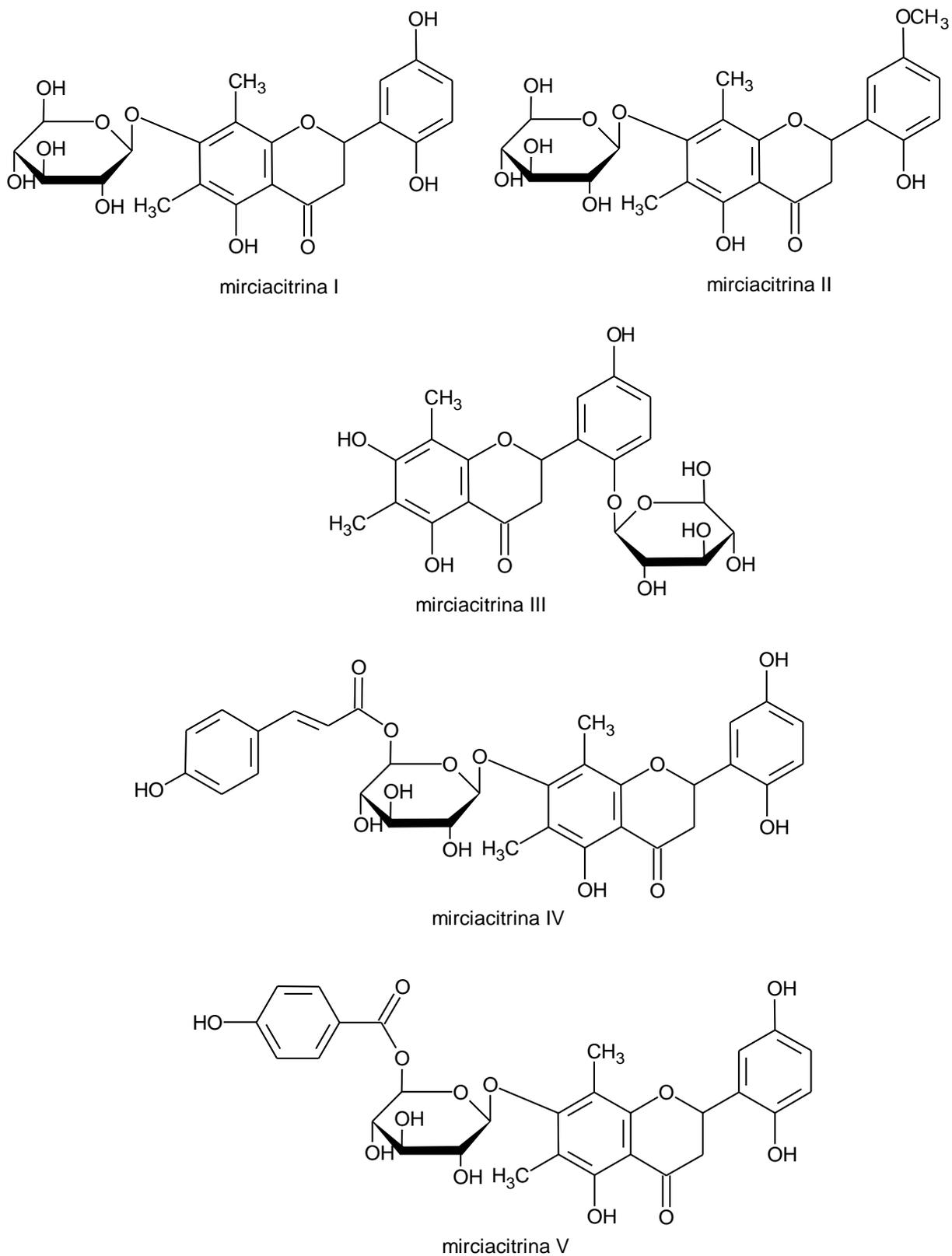


Figura 2 – flavanonas glicosiladas aisladas de *Myrcia multiflora*.

Myrcia uniflora – BRAGANÇA (1996) relata ensaios clínicos duplo-cegos, na Escola Paulista de Medicina, com a referida espécie, com a colaboração do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal do Pará, administrando-a a voluntários diabéticos e normais. As folhas foram trituradas e acondicionadas em pacotes de 1 g e preparados por infusão (chá). Na primeira etapa – ensaio agudo – foi administrado o chá (1 g) e foram obtidas amostras de sangue durante 4 horas. A metade dos diabéticos recebeu o chá preparado com 1 g das folhas, enquanto a outra metade tomava um chá placebo. O sangue foi colido após jejum e desjejum para dosagem de glicose, insulina e testes laboratoriais de rotina. Numa segunda etapa – a de avaliação de efeito crônico –, a planta foi administrada juntamente com as principais refeições durante 8 semanas, sendo determinada a glicemia e insulinemia a cada duas semanas. Participaram 10 indivíduos normais e 18 pacientes diabéticos. Os autores observaram uma redução dos níveis de insulinemia no grupo diabético após a administração da planta, e sugerem que a mesma decorra da diminuição da absorção de alimentos ou do aumento da sensibilidade do receptor à insulina. Os níveis de fosfatase alcalina mostraram-se elevados nos indivíduos normais após a *M. uniflora* e o placebo, mas não foram vistos no grupo de pacientes diabéticos. Os efeitos provocados antes e após o uso da planta foram analisados pelo método de Wilcoxon, enquanto os resultados dos grupos normais e diabéticos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na glicemia e insulinemia, entre os grupos normais e diabéticos que receberam a *M. uniflora*, quando comparados entre si e com o placebo. Embora os experimentos não

confirmem o efeito hipoglicemiante, a *M. uniflora*, segundo o autor, continua sendo uma das mais usadas pela população.

Também merece destaque a *M. salicifolia* que produz várias substâncias químicas (Quadro 1) com propriedades biológicas, pois, algumas, como visto anteriormente, já foram isoladas de *Myrcia multiflora*. O Quadro 2 apresenta várias atividades biológicas de extratos da *M. salicifolia*, onde pode ser observado que os resultados dependem do extrato utilizado e do tipo da atividade testada. A figura 3 ilustra as estruturas moleculares das substâncias produzidas por essa espécie, algumas estão nas páginas 25 e 26.

Quadro 1 – Compostos químicos presentes na *Myrcia salicifolia*.

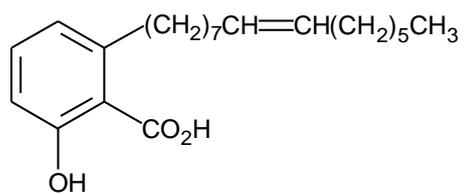
Composto	Classe química	Parte da planta	Origem da planta
β -amirina	Triterpeno	Folhas	Brasil
Catequina	Flavonóide	Folhas	Brasil
Desmanthina	Flavonol	Folhas	Brasil
Ácido gálico	Benzenóide	Folhas	Brasil
Ácido gíngico	Benzenóide	Folhas	Brasil
Guaijaverina	Flavonol	Folhas	Brasil
Mirciacitrina I – V	Flavanonas	Folhas	Brasil
Mirciafenona A e B	Benzenóides	Folhas	Brasil
Miricitrina	Flavonol	Folhas	Brasil
Quercitrin	Flavonol	Folhas	Brasil

Fonte: Raintree Nutrition, Inc. Carson City, NV 89701. All Rights Reserved. www.rain-tree.com

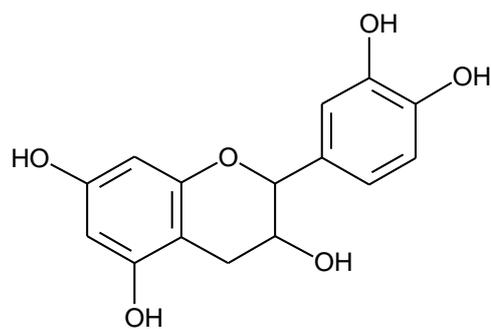
Quadro 2 – Atividade biológica de Extratos de *Myrcia salicifolia*.

Parte da planta	Atividade testada	Tipo do extrato	Modelo do teste	Resultado
Folhas	Atividade antiperglicêmico	Infusão	Humano adulto (oral)	Inativo
Folhas	Atividade antiperglicêmico	Ext. MeoH	Intragastrico (rato)	Ativo
Folhas	Efeito sobre a insulina	Ext. H ₂ O (quente)	Rato (oral)	Inativo
Folhas	Inibição na absorção da glicose	Ext. H ₂ O (quente)	Rato (oral)	Ativo
Folhas	Inibição na absorção da glicose	Não relatado	Não relatado	Ativo
Folhas	Inibição da aldose redutase	Ext. MeoH	Não relatado	Ativo
Folhas	Inibição da maltase	Ext. MeoH	Não relatado	Ativo
Folhas	Inibição da sacarose	Ext. MeoH	Não relatado	Ativo
Folhas	Agente antiobesidade	Ext. H ₂ O (quente)	Rato (oral)	Inativo

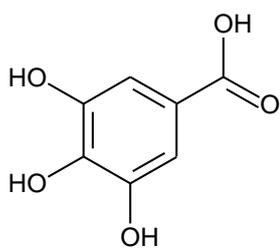
Fonte: Raintree Nutrition, Inc. Carson City, NV 89701. All Rights Reserved. www.rain-tree.com



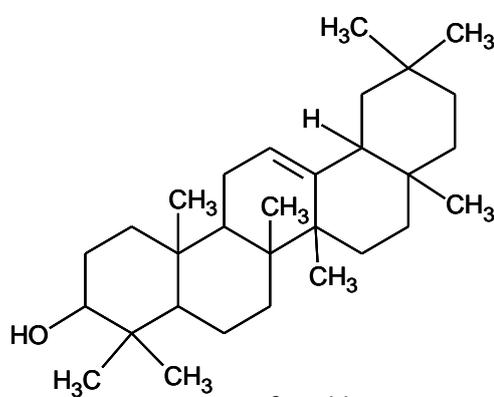
Ácido gingóico



catequina



ácido gálico

 β -amirina**Figura 3** – Substâncias químicas produzidas por *Myrcia salicifolia*

Myrcia guianensis – Estudos fitoquímicos recentes revelaram a ocorrência de flavonas na espécie. Foram isoladas do extrato etanólico as flavonas 6,8-dimetil-5,4'-diidróxi-7,3'-dimetoxiflavona e 6,8-dimetil-5,4'-diidróxi-7-metoxiflavona (FEHLBERG et al., 2005), cujas estruturas encontram-se na Figura 4. Segundo os autores a ocorrência de flavonas C-metiladas está restrita à família Myrtaceae e é vista como um caráter primitivo da espécie.

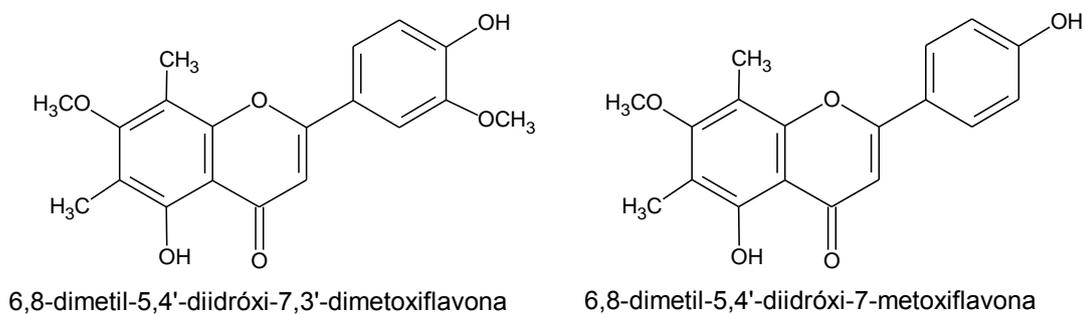
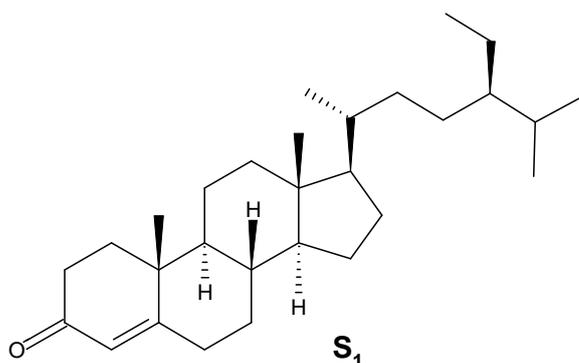


Figura 4 - Flavonas isoladas de *Myrcia guianensis*.

5 – PARTE FITOQUÍMICA EXPERIMENTAL

5.1 – ESTRUTURAS DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS OBTIDAS DE *Myrcia guianensis*



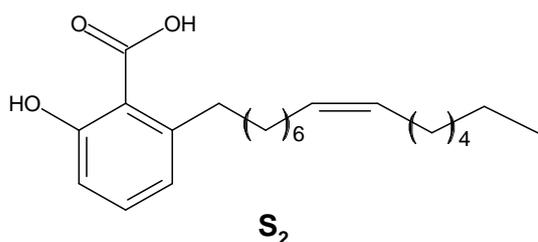
Estigmast-4-en-3-ona

RMN ¹H (Figura 22 , p. 104)

RMN ¹³C (Figura 23, p. 105)

DEPT (Figura 24, p. 106)

COSY (Figura 25, p. 107)



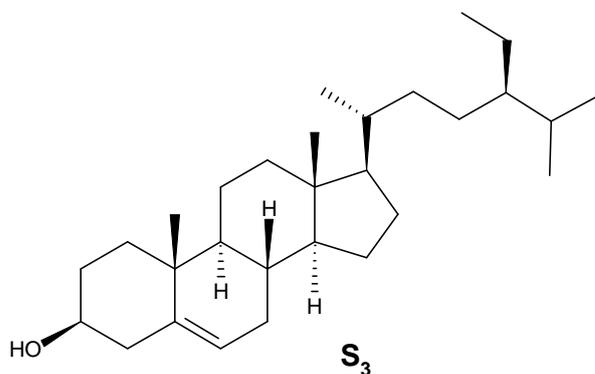
ácido 2-hidroxi-6-(8Z-pentadeceno)-benzóico (ácido gingóico)

RMN ¹H (Figura 22, p. 104)

RMN ¹³C (Figura 23, p. 105)

DEPT (Figura 24, p. 106)

COSY (Figura 25, p. 107)



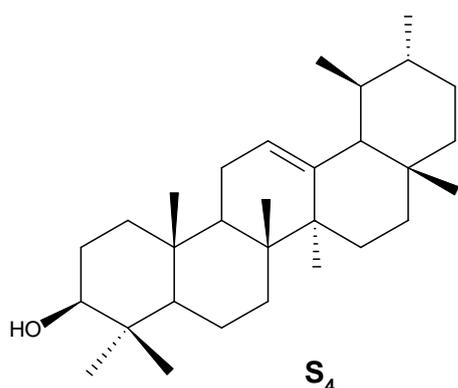
β-sitosterol

RMN ¹H (Figura 26, p. 108)

RMN ¹³C (Figura 27, p. 109)

DEPT (Figura 28 , p. 110)

COSY (Figura 29, p. 111)



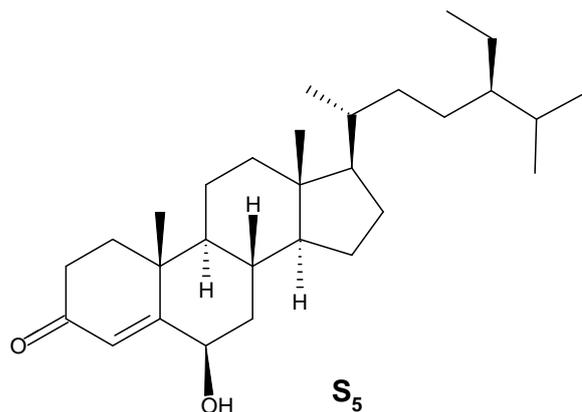
α-amirina

RMN ¹H (Figura 30, p. 112)

RMN ¹³C (Figura 32, p. 114)

DEPT (Figura 33, p. 115)

COSY (Figura 34, p. 116)



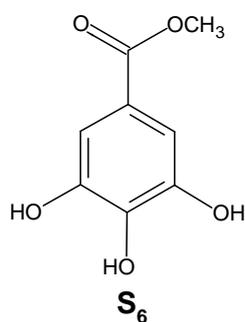
6β-hidroxi-estgmast-4-en-3-ona

RMN ¹H (Figura 30, p. 112)

RMN ¹³C (Figura 32, p. 114)

DEPT (Figura 33, p. 115)

COSY (Figura 34, p. 116)



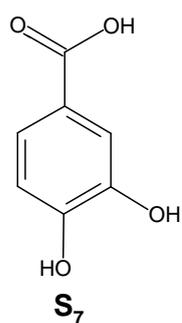
galato de metila

RMN ¹H (Figura 35, p. 117)

RMN ¹³C (Figura 36, p. 118)

DEPT (Figura 37, p. 119)

COSY (Figura 38, p. 120)



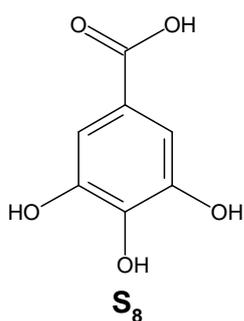
ácido 3,4-dihidróxi-benzóico
(ácido protocatecuico)

RMN ¹H (Figuras 35 e 39, p.
117 e 121)

RMN ¹³C Figuras 36 e 40, p.
118 e 122)

DEPT (Figuras 37 e 41, p. 119
e 123)

COSY (figura 38, p. 120)

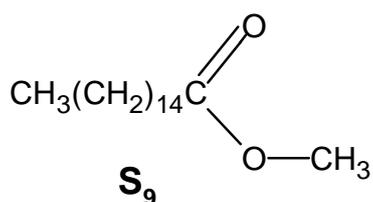


ácido gálico.

RMN ¹H (Figura 42, p. 124)

RMN ¹³C (Figura 43, p. 125)

DEPT (Figura 44, p. 126)



palmitato de metila

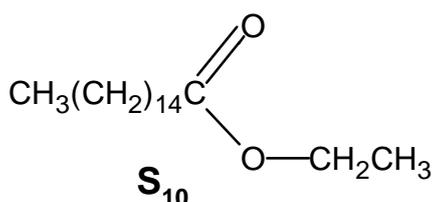
RMN ¹H (Figura 45, p. 127)

RMN ¹³C (Figura 46, p. 128)

Cromatograma (Figura 47, p. 129)

EM (figura 48, p. 130)

COSY (figura 53, p. 135)



palmitato de etila

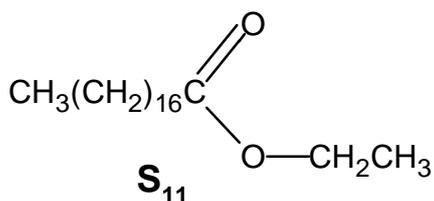
RMN ¹H (figura 45, p. 127)

RMN ¹³C (figura 46, p. 128)

Cromatograma (Figura 47, p. 129)

EM (figura 49, p. 131)

COSY (figura 53, p. 135)



estearato de etila

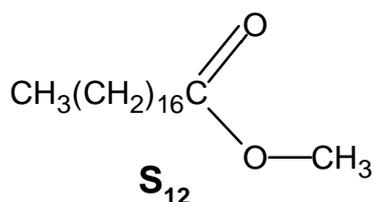
RMN ¹H (figura 45, p. 127)

RMN ¹³C (figura 46, p. 128)

Cromatograma (Figura 47, p. 129)

EM (figura 50, p. 132)

COSY (figura 53, p. 135)



estearato de metila

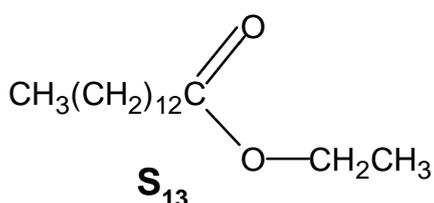
RMN ¹H (figura 45, p. 127)

RMN ¹³C (figura 46, p. 128)

Cromatograma (Figura 47, p. 129)

EM (figura 51, p. 133)

COSY (figura 53, p. 135)



miristato de etila

RMN ¹H (figura 45, p. 127)

RMN ¹³C (figura 46, p. 128)

Cromatograma (Figura 47, p. 129)

EM (figura 52, p. 134)

COSY (figura 53, p. 135)

5.2 – INSTRUMENTAL UTILIZADO

- Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear:

VARIAN modelo MERCURY - 300 (300MHz),

- Câmara de Análise de Fluorescência por Luz Ultravioleta:

Cabine tipo SPECTROLINE modelo CM – 10 com luz tipo SPECTROLINE

modelo ENF – 269C.

- Balança Analítica:

SARTORIUS modelo BP210S.

- Evaporadores Rotativos:

BÜCHI modelo 461

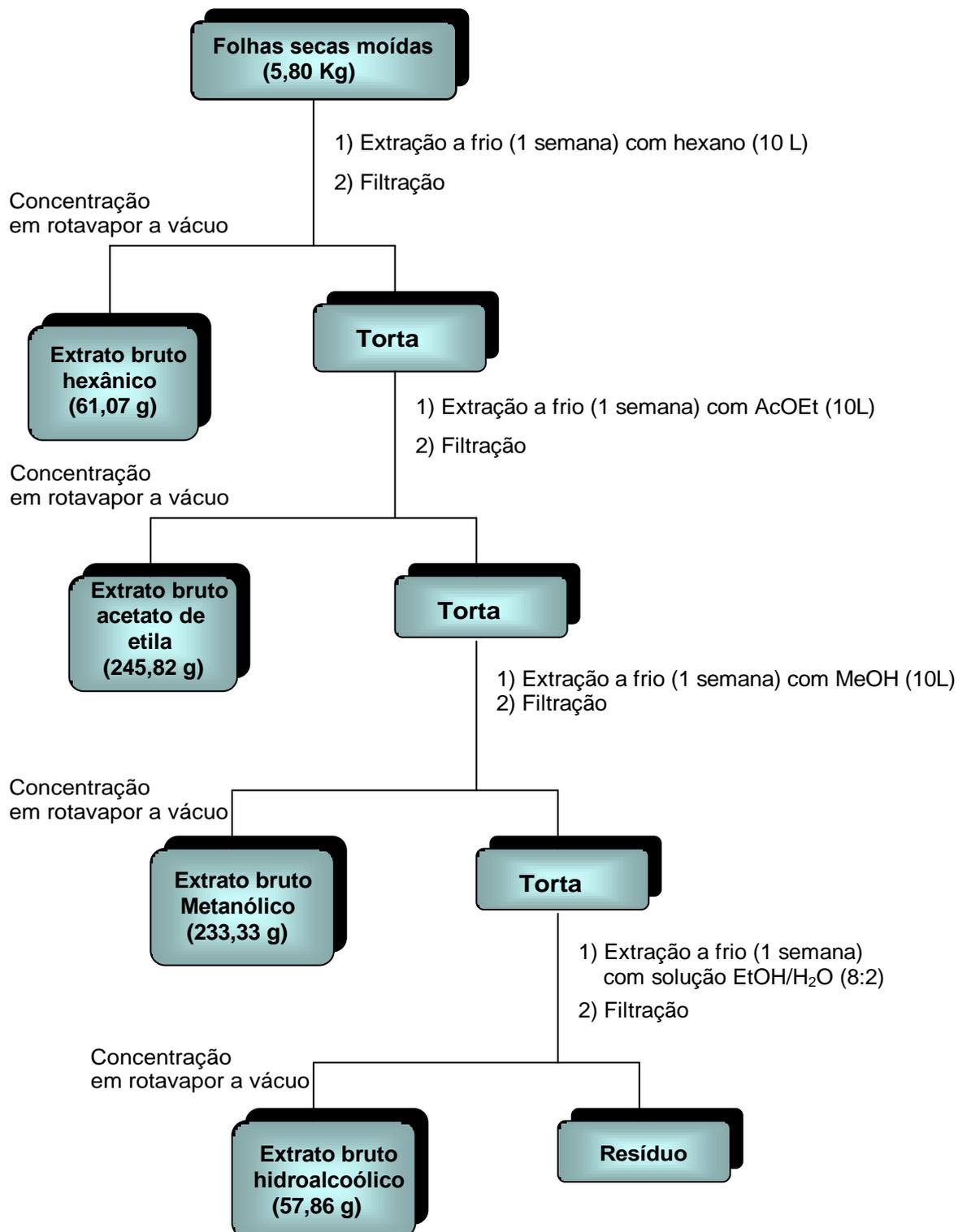
QUIMIS modelo Q – 344-2

5.3 – COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL PARA ESTUDO

A coleta foi realizada em áreas próximas a cidade de Santarém-PA, por mateiros com larga experiência, e a identificação efetuada por botânicos da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) – Amazônia Oriental, onde uma exsicata (n.º 2475), encontra-se catalogada.

5.4 – PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS

O material botânico (folhas) foi seco em temperatura ambiente, e posteriormente triturado em moinho de facas. A partir de 5,80 Kg deste material foram preparados extratos brutos por percolação em solventes orgânicos a frio na seqüência: hexano, acetato de etila, metanol e solução hidroalcoólica (EtOH:H₂O 20%), e em seguida, havendo filtração e concentração a vácuo. Estas etapas de obtenção dos extratos brutos encontram-se representadas no Fluxograma 1.

Fluxograma 1 - Obtenção dos extratos brutos de *Myrcia guianensis*.

5.5 – OBTENÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL

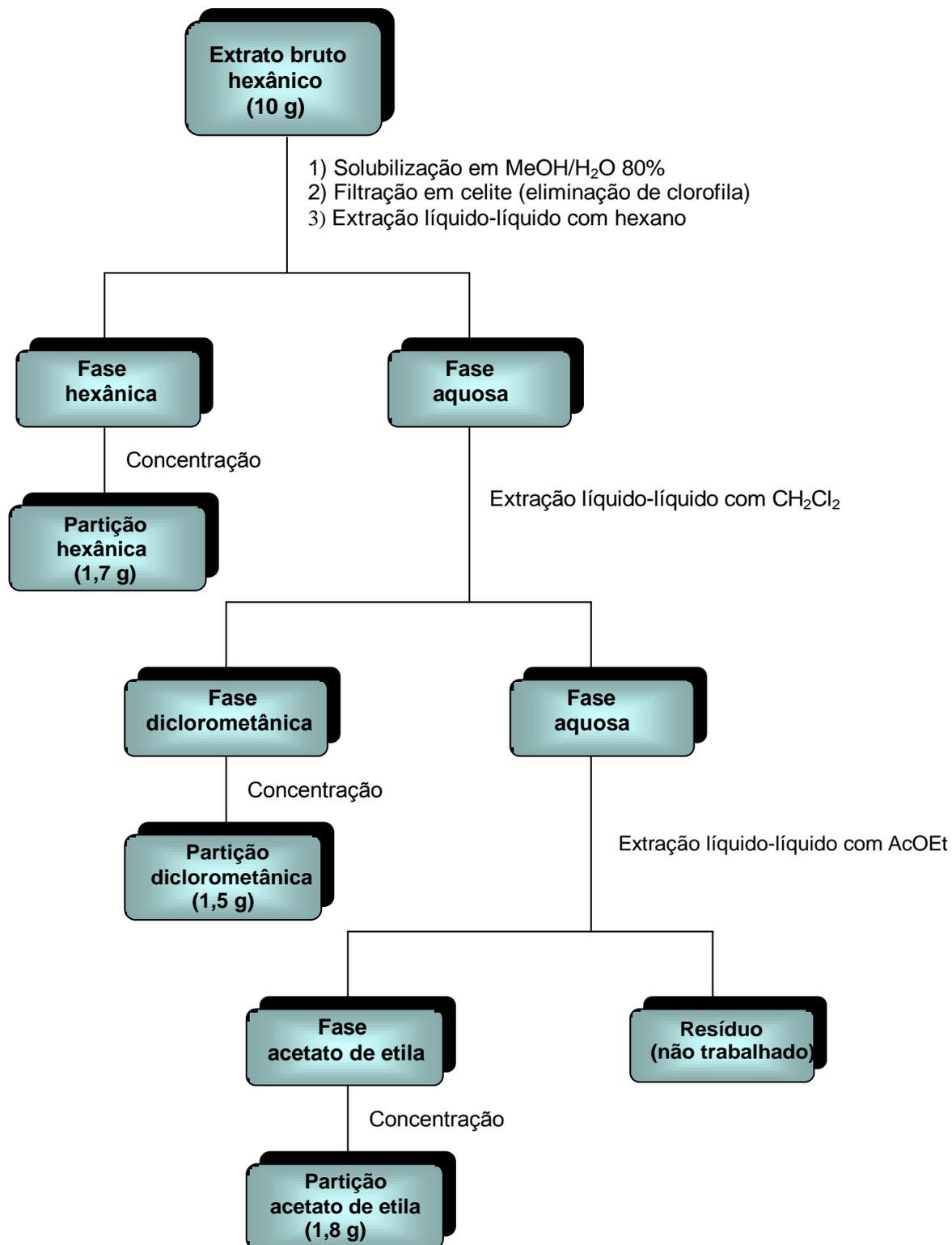
O óleo essencial foi obtido a partir de 1,5 Kg de folhas frescas de *Myrcia guianensis*, utilizando-se o método hidrodestilação em extrator contínuo do tipo Clevenger modificado. Foi obtido 1,611 g de óleo, tendo um rendimento de 0,11%.

5.6 – PARTICIONAMENTO DOS EXTRATOS BRUTOS HEXÂNICO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICO

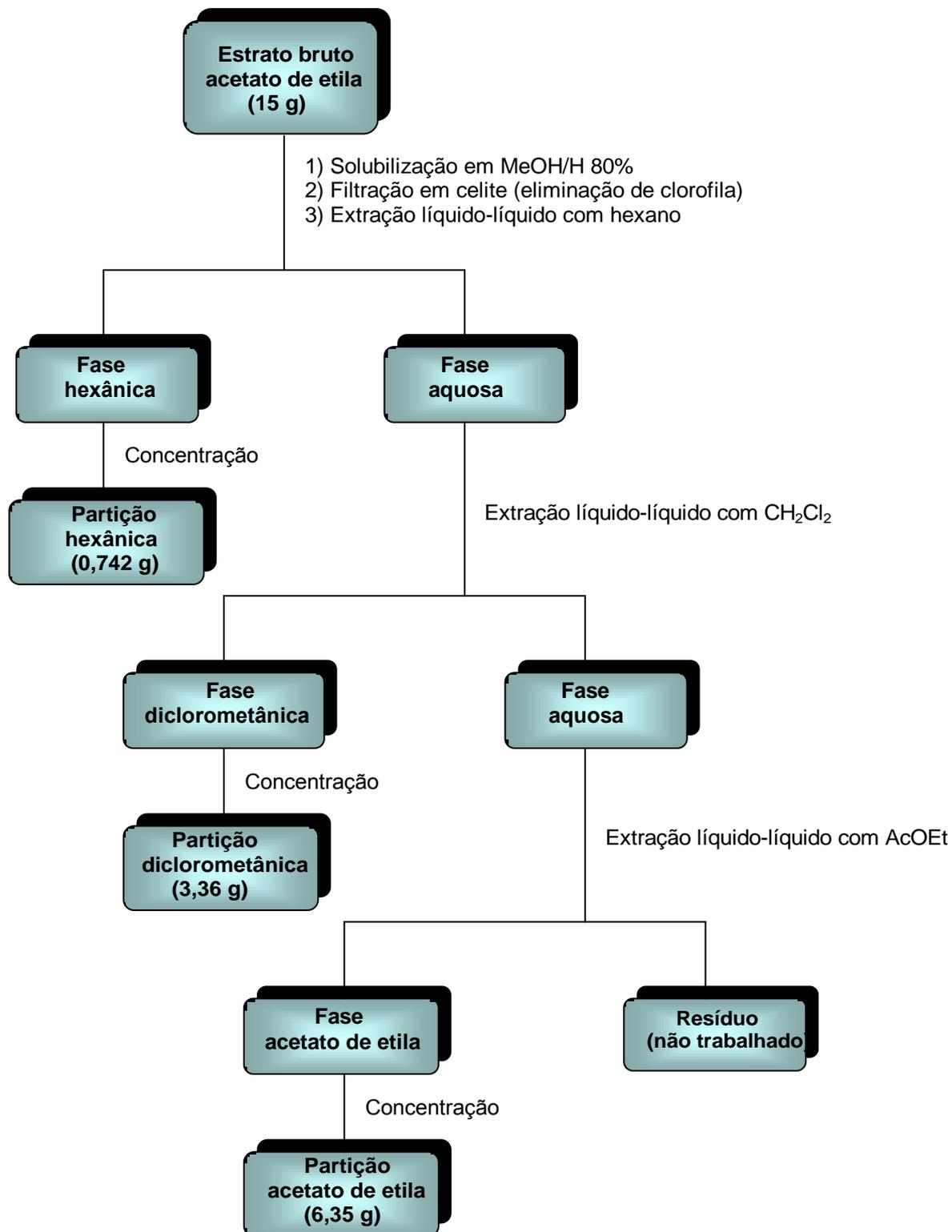
Estes extratos passaram por um método de partição seqüencial (extração líquido-líquido) com os solventes: hexano, diclorometano e acetato de etila, obedecendo à ordem crescente de polaridade.

Os extratos brutos hidroalcoólico (56 g), Acetato de etila (15 g) e hexânico (10 g) foram solubilizados em metanol e em seguida adicionou-se água destilada em uma proporção de 2:8.

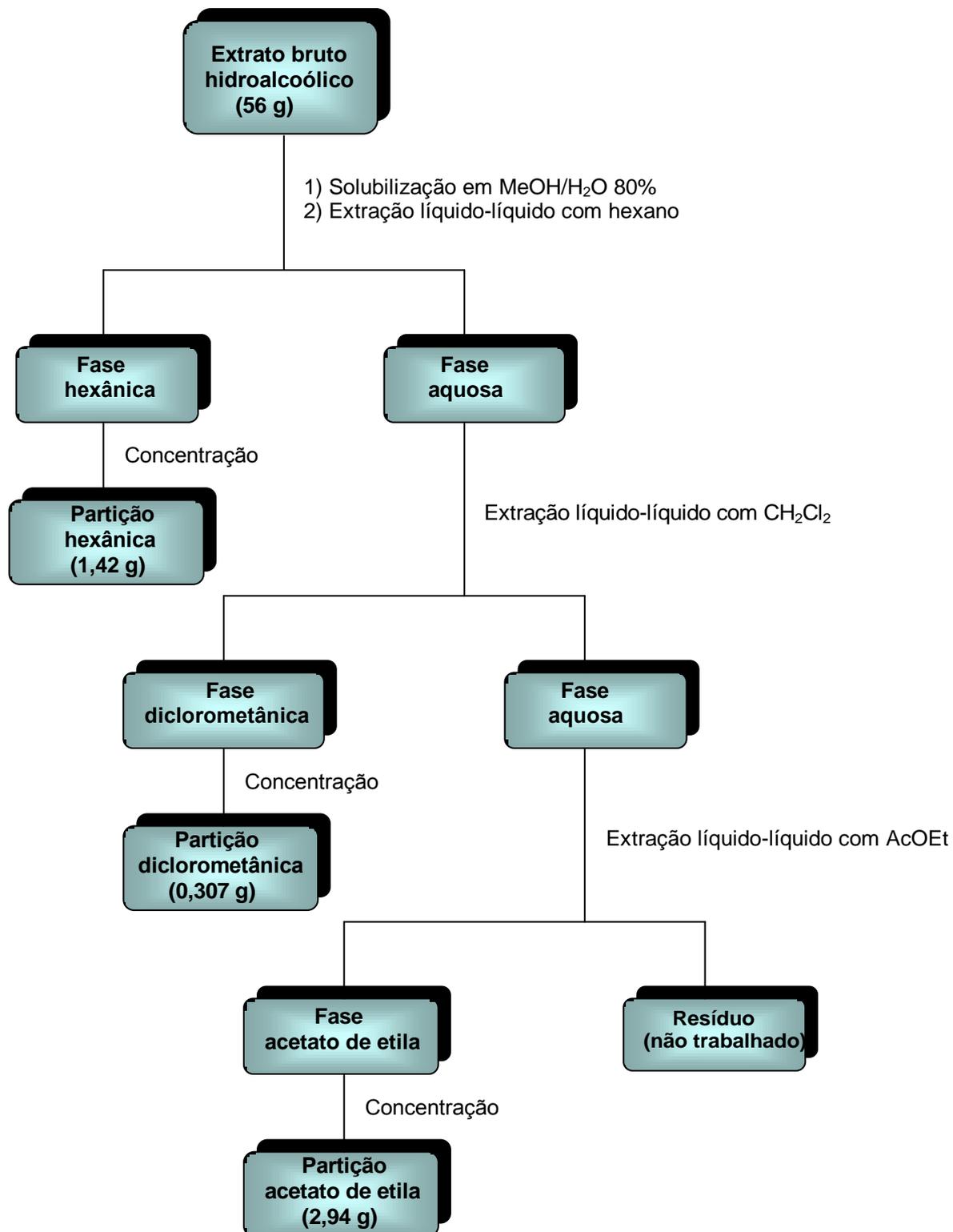
As soluções dos extratos brutos hexânica e acetato de etila passaram por uma filtração em celite para a eliminação de clorofila, antes do método de partição (Fluxogramas 2 e 3). O extrato bruto hidroalcoólico também foi submetido à partição (Fluxograma 4).

Fluxograma 2 – Método de eliminação de clorofila e partição do extrato bruto hexânico.

Fluxograma 3 – Método de eliminação de clorofila e partição do extrato bruto acetato de etila.



Fluxograma 4 – Método de partição do extrato bruto hidroalcoólico.



É observado no fluxograma 4 um baixo rendimento nas partições, isto pode ser explicado pelo fato do extrato bruto ser constituído, em grande parte, de substâncias de alta polaridade e que, estes tenham permanecido na fase aquosa (resíduo) durante o método de separação, já que os solventes utilizados são de baixa e média polaridade.

5.7 – FRACIONAMENTOS CROMATOGRÁFICOS

As partições obtidas dos extratos brutos passaram pelo método de fracionamento cromatográfico (CCVU), utilizando sistemas de solventes (hexano, acetato de etila e metanol) com polaridade crescente. As alíquotas (100 mL cada) foram analisadas por CCDC em sílica-gel e reveladas com solução de sulfato cérico. Estes procedimentos serão descritos com mais detalhes a seguir.

5.7.1 – Fracionamento cromatográfico da partição diclorometânica do extrato bruto hexânico

O fracionamento desta partição (1 g) foi realizado em CCVU empacotada com sílica-gel, utilizando sistemas de solventes Hexano/AcOEt e AcOEt/MeOH em seqüência com polaridade crescente como eluente. Na Tabela 1 estão incluídos os dados deste método.

Tabela 1 – Alíquotas obtidas da coluna cromatográfica da partição CH₂Cl₂ do E.B. hexânico.

Sistemas	Alíquotas
Hexano 100%	01 – 03
Hex/AcOEt 5%	04 – 07
Hex/AcOEt 10%	08 – 10
Hex/AcOEt 15%	11 – 13
Hex/AcOEt 20%	14 – 16
Hex/AcOEt 25%	17 – 20
Hex/AcOEt 30%	21 – 24
Hex/AcOEt 35%	25 – 28
Hex/AcOEt 40%	29 – 33
Hex/AcOEt 45%	34 – 37
Hex/AcOEt 50%	38 – 43
Hex/AcOEt 55%	44 – 47
Hex/AcOEt 60%	48 – 52
Hex/AcOEt 65%	53 – 56
Hex/AcOEt 70%	57 – 60
Hex/AcOEt 75%	61 – 64
Hex/AcOEt 80%	65 – 68
Hex/AcOEt 85%	69 – 70
AcOEt 100%	71 – 74
AcOEt/MeOH 10%	75 – 78
AcOEt/MeOH 20%	79 – 82
AcOEt/MeOH 30%	83 – 86
AcOEt/MeOH 40%	87 – 89
AcOEt/MeOH 50%	90 – 92
AcOEt/MeOH 60%	93 – 98
AcOEt/MeOH 65%	99 – 103
AcOEt/MeOH 70%	104 – 106
AcOEt/MeOH 75%	107 – 110
AcOEt/MeOH 80%	111 – 113
AcOEt/MeOH 85%	114 – 116
AcOEt/MeOH 90%	117 – 119
MeOH 100%	120

Após Monitoramento em CCDC, foram feitas reuniões, em 71 frações, das alíquotas semelhantes, cujos dados estão descritos na Tabela 2.

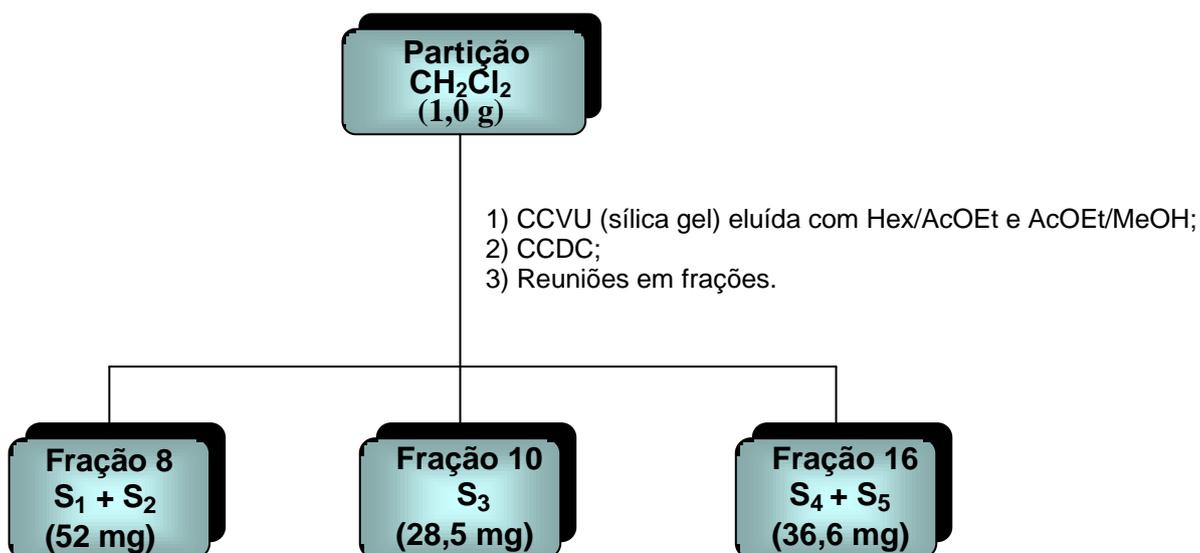
Tabela 2 – Frações obtidas das reuniões das alíquotas da coluna cromatográfica da partição CH_2Cl_2 do E.B. hexânico.

Alíquotas	Frações	Alíquotas	Frações
1	1	62 – 64	38
2	2	65	39
3	3	66	40
4	4	67 – 68	41
5	5	69 – 70	42
6	6	71	43
7	7	72 – 74	44
8	8	75 – 78	45
9	9	79 – 83	46
10	10	84	47
11	11	85 – 87	48
12	12	88 – 89	49
13	13	90	50
14	14	91	51
15	15	92	52
16	16	94	53
17 – 20	17	95	54
21 – 22	18	96	55
23 – 25	19	98 – 100	56
24 – 28	20	101	57
29	21	102	58
30	22	103	59
31 – 33	23	104	60
34	24	105 – 106	61
35 – 38	25	107	62
39 – 40	26	108	63
41 – 43	27	109 – 111	64
44 – 45	28	112	65
46 – 47	29	113 – 114	66
48	30	115	67
49 – 51	31	116	68
52	32	117	69
53	33	118 – 119	70
54	34	120	71
55 – 56	35		
57 – 60	36		
61	37		

5.7.1.1 – Obtenção das substâncias S₁, S₂, S₃, S₄ e S₅

A partição diclorometânica (1,0 g) do extrato bruto hexânico foi submetida à CCVU fornecendo 71 frações (Tabela 2). Obteve-se da fração 8 uma mistura das substâncias S₁ e S₂. Da fração 10 a substância S₃ e da fração 16 as substâncias S₄ e S₅, também em mistura. o Fluxograma 5 ilustra os procedimentos utilizados e a origem de obtenção.

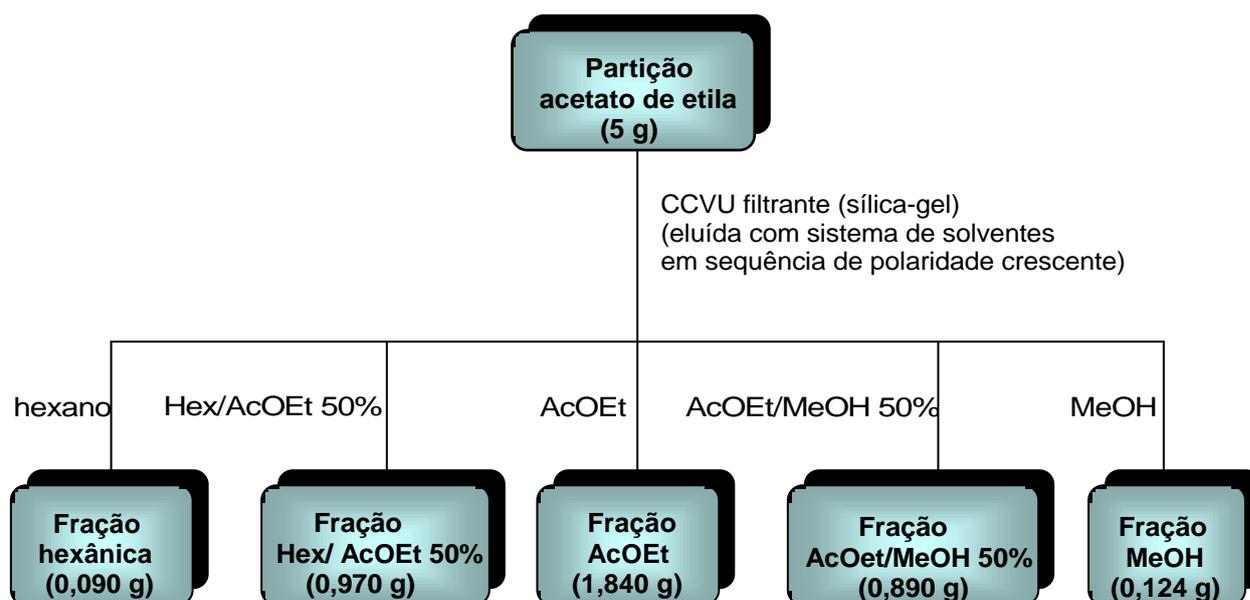
Fluxograma 5 – Substâncias obtidas da partição CH₂Cl₂ do E.B. hexânico.



5.7.2 – Fracionamento cromatográfico da partição acetato de etila do extrato bruto acetato de etila

Foi realizada na partição AcOEt, procedente do particionamento do extrato bruto AcOEt, uma CCVU filtrante, utilizando-se como eluente os sistemas de solventes: hexano, Hex/AcOEt 50%, AcOEt, AcOEt/MeOH 50% e MeOH em seqüência de polaridade crescente. O desenvolvimento do método encontra-se representado no Fluxograma 6.

Fluxograma 6 – Desenvolvimento da CCVU filtrante da partição AcOEt do extrato bruto AcOEt.



5.7.2.1 – Fracionamento cromatográfico da fração Hex/AcOEt 50% da CCVU filtrante

A fração Hex/AcOEt 50% (970 mg), resultante do fracionamento cromatográfico da partição AcOEt, foi submetida à CCVU, utilizando-se como adsorvente sílica-gel e como fase móvel, os sistemas de solventes Hex/AcOEt e AcOEt/MeOH com polaridade crescente. O desenvolvimento encontra-se descrito na Tabela 3.

Tabela 3 – Alíquotas obtidas da coluna cromatográfica da fração Hex/AcOEt 50% da CCVU filtrante.

Sistemas	Alíquotas
Hexano 100%	01 – 03
Hex/AcOEt 5%	04 – 06
Hex/AcOEt 10%	07 – 08
Hex/AcOEt 15%	09 – 11
Hex/AcOEt 20%	12 – 15
Hex/AcOEt 25%	16 – 18
Hex/AcOEt 30%	19 – 21
Hex/AcOEt 35%	22 – 25
Hex/AcOEt 40%	26 – 28
Hex/AcOEt 45%	29 – 32
Hex/AcOEt 50%	33 – 35
Hex/AcOEt 60%	36 – 38
Hex/AcOEt 70%	39 – 40
Hex/AcOEt 80%	41 – 43
AcOEt 100%	44 – 45
AcOEt/MeOH 50%	46 – 49
MeOH 100%	50 – 54

As alíquotas foram analisadas em CCDC e as semelhantes foram reunidas em 29 frações que estão representadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Frações obtidas das reuniões das alíquotas da coluna cromatográfica Hex/AcOEt 50% da CCVU filtrante.

Alíquotas	Frações
1 – 3	1
4 – 6	2
7	3
8	4
9	5
10	6
11 – 12	7
13	8
14	9
15	10
16	11
17	12
18	13
19	14
20 – 22	15
23	16
24 – 26	17
27 – 28	18
29	19
30	20
31 – 33	21
34 – 35	22
36 – 38	23
39	24
40 – 43	25
44 – 45	26
46 – 47	27
48 – 49	28
50 – 54	29

5.7.2.2 – Fracionamento cromatográfico da fração AcOEt da CCVU filtrante

A fração AcOEt (1,84 g), resultante do fracionamento cromatográfico da partição AcOEt do extrato bruto AcOEt, foi também submetida à CCVU, utilizando-se como fase estacionária sílica-gel e como fase móvel os sistemas de solventes Hex/AcOEt e AcOEt/MeOH com polaridade crescente. O desenvolvimento encontra-se representado na Tabela 5.

Tabela 5 – Desenvolvimento da coluna cromatográfica da fração AcOEt da CCVU filtrante.

Sistemas	Alíquotas
Hexano 100%	01 – 03
Hex/AcOEt 30%	04 – 06
Hex/AcOEt 40%	07 – 08
Hex/AcOEt 50%	09 – 10
Hex/AcOEt 60%	11 – 14
Hex/AcOEt 80%	15 – 16
AcOEt 100%	17 – 21
AcOEt/MeOH 10%	22 – 25
AcOEt/MeOH 30%	26 – 28
AcOEt/MeOH 50%	29 – 31
AcOEt/MeOH 70%	32 – 34
MeOH 100%	35 – 37

As alíquotas foram reunidas em 16 frações (Tabela 6), após terem sido analisadas em CCDC e reveladas em solução de sulfato cérico.

Tabela 6 – Frações obtidas das reuniões das alíquotas da coluna Cromatográfica da fração AcOEt da CCVU filtrante.

Alíquotas	Frações
01 – 03	1
04 – 06	2
07 – 08	3
09	4
10	5
11	6
12	7
13 – 14	8
15 – 16	9
17 – 21	10
22	11
23 – 25	12
26 – 28	13
29 – 31	14
32 – 34	15
35 – 37	16

5.7.2.2.1 – FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO 7 DA CCVU DA FRAÇÃO AcOEt

A fração 7 (146,8 mg) foi submetida à CCVU em sílica-gel, fornecendo 6 frações. Este desenvolvimento encontra-se representado na Tabela 7.

Tabela 7 – Desenvolvimento da coluna cromatográfica da fração 7 da CCVU AcOEt.

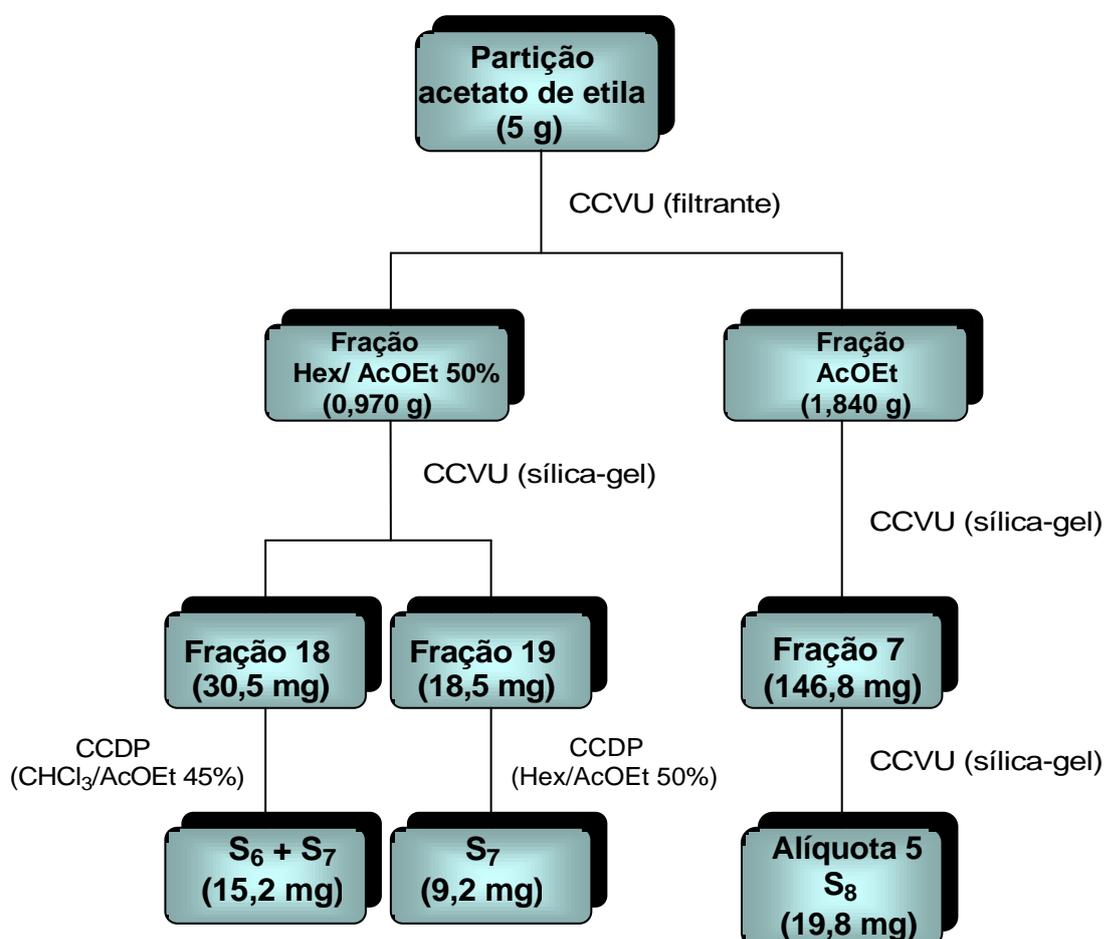
Sistemas	Alíquotas
Hex/AcOEt 40%	01
Hex/AcOEt 60%	02
Hex/AcOEt 80%	04
AcOEt 100%	05
MeOH 100%	06

5.7.2.3 – Obtenção das substâncias S₆, S₇ e S₈

As frações Hex/AcOEt 50% (970 mg) e AcOEt (1,840 g), procedente da coluna cromatográfica filtrante, foram submetidas à CCVU, fornecendo 29 e 16 frações, respectivamente, (Tabelas 4 e 6).

As frações 18 (30,5 mg) e 19 (18,5 mg) (Tabela 4) forneceram as substâncias S₆ e S₇. A substância S₈ foi obtida da fração 7 (146,8 mg) (Tabela 6) através de uma CCVU que forneceu a alíquota 5 (19,5 mg) (Tabela 7) que foi a própria substância. O Fluxograma 7 ilustra os procedimentos e métodos de obtenções.

Fluxograma 7 – Substâncias obtidas da partição AcOEt do E.B. AcOEt.



5.7.3 – Fracionamento cromatográfico da partição hexânica do extrato bruto hidroalcoólico

Nesta partição foi realizada uma CCVU empacotada com sílica-gel, utilizando como eluente sistemas de solventes hexano/AcOEt em seqüências de polaridades crescentes. Foram obtidas 226 alíquotas durante o processo cromatográfico e os dados estão descritos na Tabela 8.

Tabela 8 – Alíquotas obtidas da coluna cromatográfica da partição hexânica do E.B. hidroalcoólico

Sistemas	Alíquotas
Hexano 100 %	01 – 08
Hex/AcOet 1%	09 – 15
Hex/ AcOet 2%	16 – 23
Hex/ AcOet 3%	24 – 29
Hex/ AcOet 4%	30 – 36
Hex/ AcOet 5%	37 – 43
Hex/ AcOet 6%	44 – 50
Hex/ AcOet 7%	51 – 57
Hex/ AcOet 8%	58 – 63
Hex/ AcOet 9%	64 – 69
Hex/ AcOet 10%	70 – 75
Hex/ AcOet 11%	76 – 81
Hex/ AcOet 12%	82 – 87
Hex/ AcOet 13%	88 – 93
Hex/ AcOet 14%	94 – 99
Hex/ AcOet 15%	100 – 105
Hex/ AcOet 16%	106 – 145
Hex/ AcOet 20%	146 – 159
Hex/ AcOet 50%	160 – 188
Hex/ AcOet 55%	189 – 197
Hex/ AcOet 60%	198 – 207
Hex/ AcOet 65%	208 – 210
Hex/ AcOet 70%	211 – 226

De acordo com Rf's observados na CCDC, as alíquotas semelhantes foram reunidas em 74 frações. As reuniões dessas alíquotas são mostradas na Tabela 9.

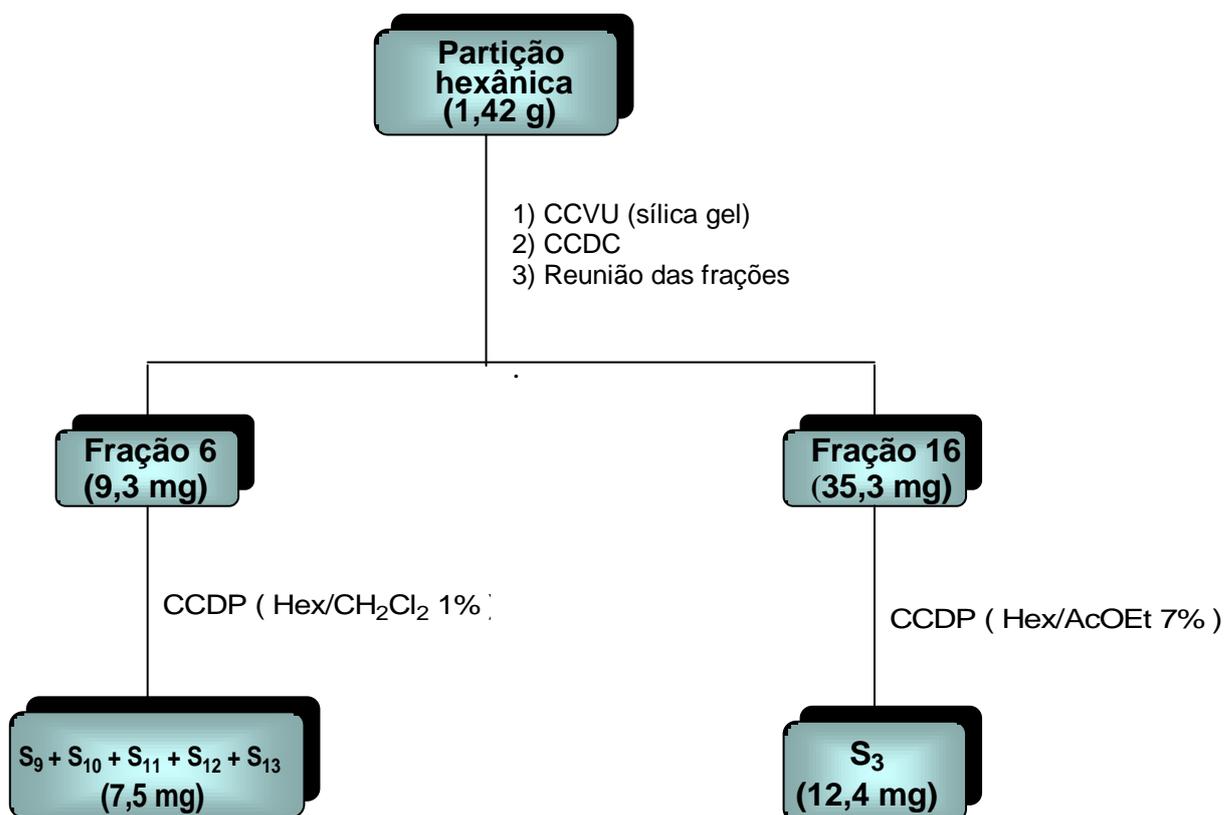
Tabela 9 – Frações obtidas das reuniões das alíquotas da coluna cromatográfica da partição hexânica.

Alíquotas	Frações	Alíquotas	Frações
01	1	77	38
02 – 03	2	78 – 81	39
04 – 06	3	82	40
07 – 08	4	83	41
09 – 11	5	84	42
12	6	85 – 87	43
13	7	88 – 91	44
14 – 15	8	92 – 93	45
16	9	94 – 95	46
17	10	96 – 97	47
18	11	98 – 99	48
19	12	100 – 105	49
20	13	106	50
21	14	107	51
22 – 23	15	108	52
24 – 26	16	109	53
27 – 29	17	110	54
30 – 32	18	111	55
33	19	112 – 113	56
34 – 35	20	114 – 119	57
36	21	120 – 124	58
37 – 40	22	125 – 129	59
41	23	130 – 133	60
42	24	134 – 145	61
43	25	146 – 152	62
44 – 50	26	153 – 159	63
51 – 52	27	160 – 164	64
53 – 56	28	165	65
57	29	166 – 170	66
58 – 63	30	171 – 175	67
64	31	176 – 183	68
65 – 68	32	184 – 188	69
70 – 71	33	189 – 193	70
72 – 73	34	194 – 207	71
74	35	208 – 216	72
75	36	217 – 222	73
76	37	223 – 226	74

5.7.3.1 – Obtenção das substâncias S₉, S₁₀, S₁₁, S₁₂ e S₁₃

Na partição hexânica (1,42 g) do extrato bruto hidroalcoólico foi realizada uma CCVU, produzindo 74 frações (Tabela 9). As substâncias S₉, S₁₀, S₁₁, S₁₂ e S₁₃ foram obtidas em mistura a partir da fração 6 (9,3 mg). A substância S₃, também foi obtida desta partição, a partir da fração 16 (35,3 mg). Os procedimentos do método podem ser observados no Fluxograma 8.

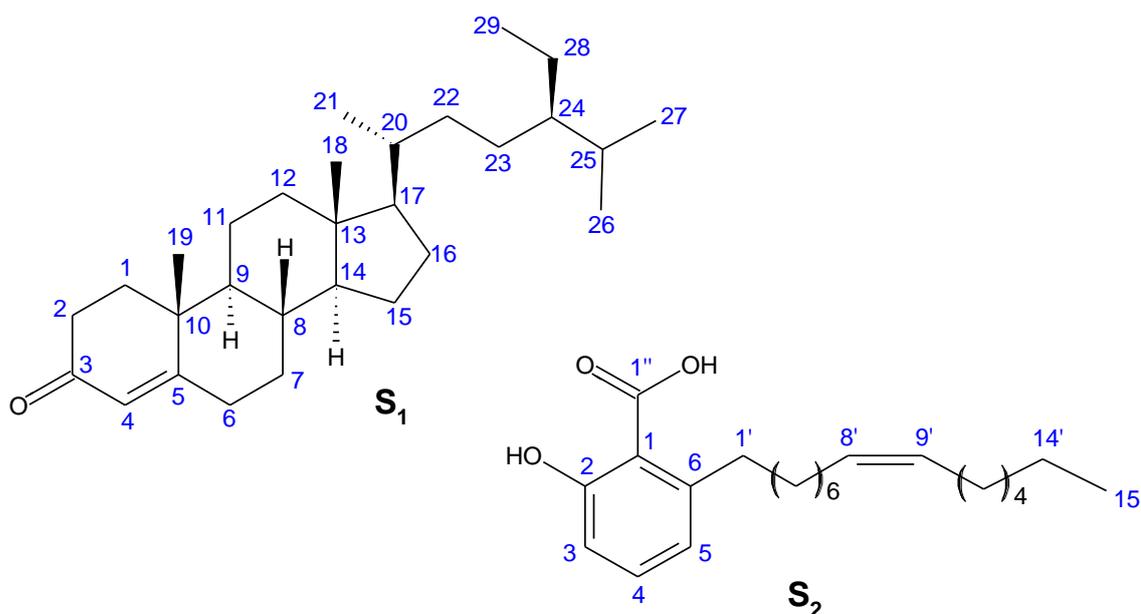
Fluxograma 8 – Método de obtenção das substâncias S₉, S₁₀, S₁₁, S₁₂ e S₁₃.



5.8 – RESULTADOS E DISCUSSÃO DA PARTE FITOQUÍMICA

5.8.1 – identificação das substâncias

5.8.1.1 – Substâncias S₁ e S₂



O espectro de RMN ¹H (Figura 22, página 104), apresenta um conjunto de sinais na região de δ 0,70-2,56, característico de esqueleto esteroidal. Mostrou, também, sinais na região de aromáticos, o que indica uma mistura de substâncias. Um singlete em δ 5,74 é atribuído ao hidrogênio H-4 de S₁. O tripleto centrado δ 5,34 (4,8 Hz) é característico de hidrogênios olefínicos, que pode ser atribuído aos hidrogênios H-8' e H-9' da substância S₂. São observados, também, para S₂: um tripleto em δ 7,11 ($J = 7,6$ Hz) relativo ao hidrogênio H-4; um duplo-duplet em δ 6,64 ($J = 7,6$ e 2,4 Hz) correspondente ao hidrogênio H-5; um duplet largo em δ 6,71 ($J = 7,6$) relacionado ao hidrogênio H-3.

O espectro de RMN ^{13}C (Figura 23, página 105) apresenta para a substância S_1 sinais em: δ 124,0 referente a C-4, δ 172,4 relativo a C-5 e δ 200,1 atribuído a C-3. Em relação a S_2 são observados os principais sinais em: δ 129,20 atribuído aos carbonos C-8' e c-9' e em, aproximadamente, δ 174,0 relacionado ao carbono da carbonila (C-1'').

O conjunto desses dados, juntamente com os dados dos espectros de DEPT (Figura 24, página 106), COSY (Figura 25, página 107), e em comparação com as informações de RMN ^{13}C da literatura (Tabela 12), levou a identificar S_1 como o esteróide Estigmast-4-en-3-ona. Os dados de RMN ^1H e os dados RMN ^{13}C em comparação com os da literatura (Tabela 13), juntamente com as informações dos espectros de DEPT (Figura 24, página 106) e COSY (Figura 25, página 107), propôs que a provável estrutura da substância S_2 é do ácido 2-hidróxi-6-(8Z-pentadeceno)-benzóico (ácido gingóico). Esta substância química já foi isolada da espécie *Knema laurina* (GOZALEZ et al., 1996).

Tabela 12 - Dados de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de S_1 .

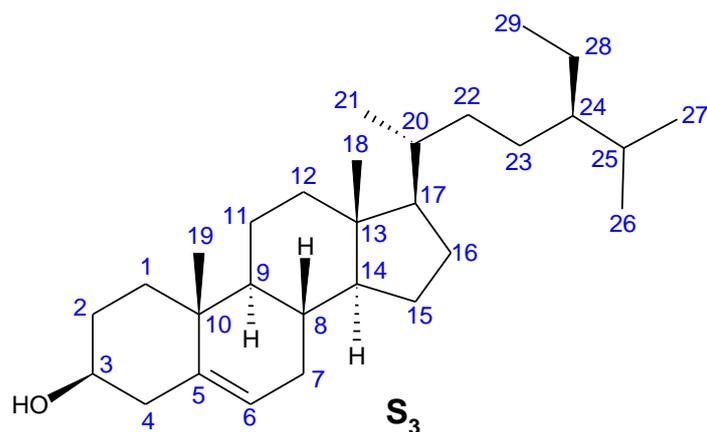
C	$\delta_{\text{C}} \text{S}_1$ (ppm)	$\delta_{\text{C}} \text{S}_1$ (ppm)- Literatura (Greca et al., 1990)
1	35,8	35,7
2	33,8	33,9
3	200,1	198,9
4	124,0	123,6
5	172,4	171,0
6	32,9	32,9
7	32,2	32,1
8	35,8	35,7
9	53,8	53,8
10	38,6	38,6
11	21,0	21,0
12	39,6	39,4
13	42,3	42,3
14	55,8	55,9
15	24,1	24,1
16	28,1	28,1
17	56,0	56,1
18	11,9	12,0
19	17,3	17,4
20	36,0	36,1
21	18,6	18,7
22	35,6	34,0
23	26,0	26,0
24	45,8	45,8
25	29,1	29,1
26	19,8	19,8
27	19,1	19,2
28	25,0	23,1
29	11,9	11,1

Tabela 13 – Dados espectrais de RMN ^1H (200MHz, CDCl_3) e RMN ^{13}C (50,3MHz, CDCl_3) de S_2 .

H	$\delta_{\text{H}} \text{S}_2$ (ppm)	$\delta_{\text{H}} \text{S}_2$ (ppm) Literatura Gonzalez et al., (1996)	C	$\delta_{\text{C}} \text{S}_2$ (ppm)	$\delta_{\text{C}} \text{S}_2$ (ppm) Literatura Gonzalez et al., 1996)
----------	--------------------------------------	---	----------	---	--

3	6,71	6,87	1	112,0 (s)	110,5 (s)
	(<i>dl</i> ; 7,5)	(<i>dd</i> ; 8 e 1 Hz)	2	161,9 (s)	163,5 (s)
4	7,10	7,06	3	115,3 (<i>d</i>)	115,8 (<i>d</i>)
	(<i>t</i> ; 7,5 Hz)	(<i>t</i> ; 8 Hz)	4	130,0 (<i>d</i>)	135,3 (<i>d</i>)
			5	121,0 (<i>d</i>)	122,7 (<i>d</i>)
5	6,64	6,75	6	144,7 (s)	147,6 (s)
	(<i>dd</i> ; 7,5 e 2,4 Hz)	(<i>dd</i> ; 8 e 1 Hz)	1'	37, 2 (<i>t</i>)	36,5 (<i>t</i>)
1'	2,53	2,98	2'	32,0 (<i>t</i>)	32,0 (<i>t</i>)
	(<i>t</i> ; 7,2 Hz)	(<i>t</i> ; 7,5 Hz)	8' e 9'	129,2 (<i>d</i>)	129,8 (<i>d</i>)
8' e 9'	5,34	5,35	15'	14,0 (<i>q</i>)	14,1 (<i>q</i>)
	<i>t</i> (4,8 Hz)	<i>t</i> (5,0 Hz)	1''	174,0 (s)	175,4 (s)

5.8.1.2 – Substância S₃

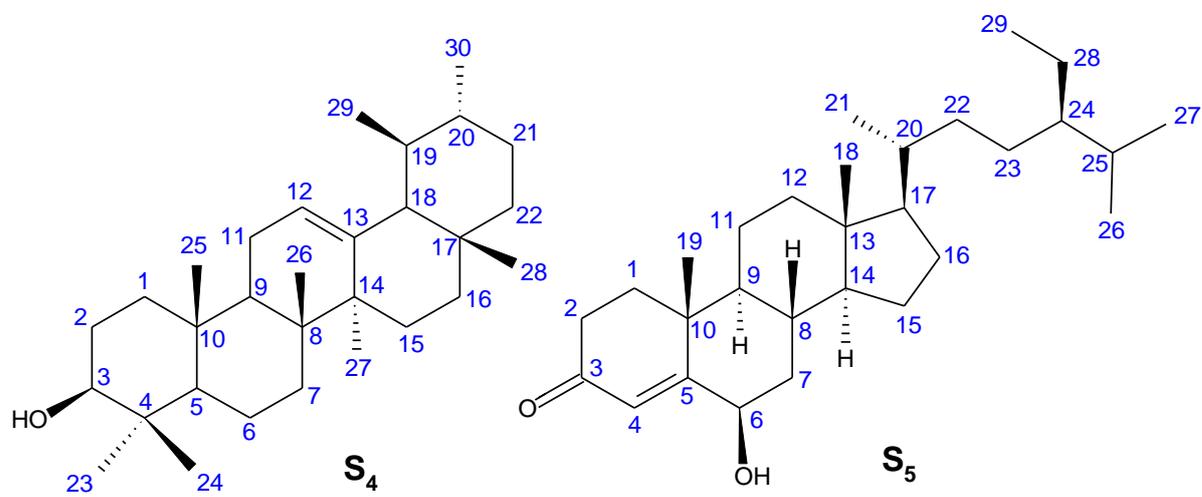


C	$\delta_C S_3$ (ppm)	$\delta_C S_3$ (ppm) - Literatura (Nes et al., 1992, Ahmad, et al, 1992)
---	----------------------	--

No espectro de RMN 1H de S_3 (figura 26, página 108) observa-se na região de δ 0,67 - 2, 40 a presença de vários sinais referentes a hidrogênios de grupos metílicos, metilênicos e metínicos. O multiplete centrado em δ 3,52 é referente ao hidrogênio H-3 e o sinal largo em δ 5,35 é referente ao hidrogênio H-6. Estes sinais são características de esteróides com grupo hidroxílico ligado ao C-3 e insaturação entre C-5 e C-6. Esse conjunto de sinais mostra que se trata do esteróide β -sitosterol (S_3). Sua presença é confirmada pela análise dos dados de RMN ^{13}C (Figura 27, página 109) em comparação com dados da literatura (Tabela 14). Podem ser, também, observados os carbonos protonados no espectro DEPT (Figura 28, página 110) e suas correlações COSY (Figura 29, página 111).

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

Tabela 14 - Dados de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de S_3 .

5.8.1.3 – Substâncias S₄ e S₅

No espectro de RMN ^1H (Figura30, página 112) observa-se na região de δ 0,60 - 2,40 a presença de vários sinais referentes a hidrogênios de grupos metílicos, metilênicos e metínicos. Em δ 3,22 é observado um duplo-duplete ($J = 10,5$ Hz e 5,1 Hz) e em δ 5,25 um trípleto ($J = 2,7$ Hz). Esses sinais podem ser atribuídos aos hidrogênios H-3 e H-12, respectivamente, de S_4 . Também são observados neste espectro um singlete em δ 5,81 e um

C	$\delta_{\text{C}} S_4$ (ppm)	$\delta_{\text{C}} S_4$ (ppm) - Literatura (Mahato, Kundu, 1994).	$\delta_{\text{C}} S_5$ (ppm)	$\delta_{\text{C}} S_5$ (ppm) - Literatura (Greca et al., 1990)
----------	----------------------------------	---	----------------------------------	---

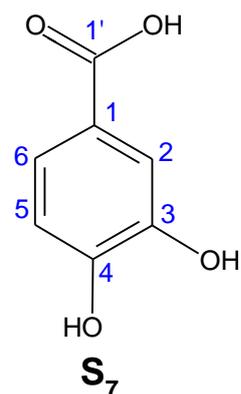
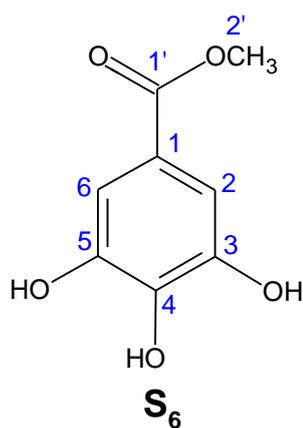
trípleto em δ 4,34 ($J = 2,7$ Hz) referentes, respectivamente, aos hidrogênios H-4 e H-6 de S_5 . Pode-se, também, observar a expansão deste espectro na Figura 31, página 113. Quanto ao espectro de RMN ^{13}C (Figura32, página 114), observam-se sinais em: δ 79,06 referente ao C-3; δ 125,8 e δ 137,9 relativos aos carbonos olefínicos C-12 e C-13 de S_4 . Os sinais em: δ 126,3 e δ 168,5 são relacionados a C-4 e C-5, respectivamente, δ 73,2 foi atribuído a C-6 e δ 200,5 a C-3 de S_5 .

Através da análise desses espectros em conjunto com dados de RMN ^{13}C da literatura (Tabela15), e dos espectros de DEPT (Figura 33, página 115) e COSY (Figura 34, página 116) chegou-se a conclusão de que se trata de uma mistura do triterpeno α -amirina (S_4) com o esteróide 6 β -hidroxi-estgmast-4-en-3-ona (S_5). A orientação da hidroxila no carbono 6 de S_5 pode ser justificada pela constante de acoplamento, já analisada anteriormente, e comparação dos deslocamentos dos sinais de carbono ^{13}C com o da literatura (Tabela 15) que coincidem.

1	38,7	38,7	37,1	37,1
2	27,2	27,2	34,2	34,2
3	79,0	78,3	200,1	200,1
4	38,7	38,7	126,3	126,3
5	55,3	55,2	168,5	168,5
6	18,3	18,3	73,2	73,2
7	32,9	32,9	38,6	38,6
8	40,0	40,0	29,7	29,7
9	47,7	47,7	53,6	53,6
10	36,9	36,9	38,0	38,0
11	23,4	23,3	21,0	21,0
12	125,8	124,3	39,6	39,6
13	137,9	139,3	42,5	42,5
14	42,1	42,0	55,9	55,9
15	28,7	28,7	24,1	24,1
16	26,6	26,6	28,1	28,1
17	33,7	33,7	56,1	56,1
18	59,1	58,9	12,0	12,0
19	39,0	39,6	19,5	19,5
20	39,0	39,6	36,1	36,1
21	31,3	31,2	18,7	18,7
22	41,5	41,5	33,9	33,9
23	28,1	28,1	26,1	26,1
24	15,6	15,6	45,8	45,8
25	15,6	15,6	29,1	29,1
26	16,9	16,8	19,8	19,8
27	23,0	23,3	19,0	19,0
28	28,1	28,1	23,1	23,1
29	17,5	17,4	12,0	12,0
30	21,4	21,3	-	-

Tabela 15 – Dados espectrais de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para S_4 e S_5 .

5.8.1.4 – Substâncias S_6 e S_7



No espectro de RMN ^1H (Figura 35, página 117) observa-se: um sinal em δ 3,81 que,0 foi atribuído ao $-\text{OCH}_3$ do grupo éster ligado ao anel aromático e um sinal em δ 7,03, com integração para dois hidrogênios, que é referente aos hidrogênios do anel aromático. Estas informações estão de acordo com os dados da substância galato de metila (BIANCO & SANTOS, 2003).

São verificados, também, no mesmo espectro, sinais na região de aromáticos: um duplo-duplete em δ 6,79 ($J = 8,5$ Hz e 1,0 Hz), um duplo-duplete em δ 7,41 ($J = 8,5$ Hz e 2,1 Hz) e outro duplete em δ 7,43 ($J = 2,1$ Hz) atribuídos, respectivamente, aos hidrogênios H-5, H-6 e H-2 da substância S_7 .

No espectro de RMN ^{13}C (Figura 36, página 118), são observados sinais que, em comparação à literatura, foram atribuídos às referidas substâncias (Tabela 16).

Esses conjuntos de dados, juntamente com os dados de carbonos protonados no espectro DEPT (Figura 37, página 119) e das correlações homonuclear no espectro COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (Figura 38, página 120) propõe que S_6 é o galato de metila e S_7 o ácido 3,4-dihidroxi-benzóico e que estão em mistura na amostra.

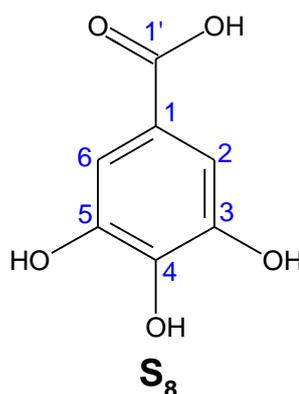
Obteve-se uma amostra mais pura da substância S_7 , onde pode ser observado nos espectros de RMN: de ^1H (Figura 39, página 121), de ^{13}C (Figura 40, página 122) e de DEPT (figura 41, página 123), onde os sinais característicos já foram discutidos acima. O espectro de RMN ^1H dessa substância foi obtido em Acetona, enquanto o espectro de RMN ^1H da mistura

de S₆ e S₇ foi realizado em metanol, assim sendo, é apresentado um espectro de RMN ¹H (Figura 42, página 124) da mistura em acetona, para a devida análise e comparações.

Tabela 16 – Dados espectrais de RMN ¹³C (CD₃OD, 75 MHz) para S₆ e S₇.

C	δ _c S ₆ (ppm)	δ _c S ₆ (ppm) – Literatura (Nunez Selles et al, 2002)	δ _c S ₇ (ppm)	δ _c S ₇ (ppm) – Literatura (Nunez Selles et al, 2002)
1	121,4	122,4	129,9	129,7
2	110,0	110,3	117,8	117,7
3	146,5	146,9	146,0	146,8
4	139,8	139,5	151,4	151,7
5	146,5	146,9	115,7	115,8
6	110,0	110,3	123,7	123,1
1'	169,0	169,5	170,2	169,7
2'	52,2	52,5	-	-

5.8.1.5 – Substância S₈



O espectro de RMN ^1H (Figura 43, página 125) mostra apenas um intenso singlete em δ 7,05 que pode ser atribuído a dois prótons simétricos (H-2 e H-6) do anel aromático. No espectro de RMN ^{13}C (Figura 44, página 126) é observado um sinal em δ 110,3 relativo aos carbonos simétricos C-2 e C-6. É observado, também, um sinal em δ 146,4 referente aos outros dois carbonos simétricos C-3 e C-5 e um outro sinal em δ 170,4 característico de carbono carbonílico. O conjunto desses sinais em comparação ao da literatura (Tabela 17) e a identificação dos carbonos protonados através do espectro de DEPT (Figura 45, página 127), sugere que S_8 seja o ácido gálico.

Tabela 17 - Dados espectrais de RMN ^{13}C (150,9 MHz, CD_3OD) para S_8 .

5.8.1.6 – Substâncias S_9 , S_{10} , S_{11} , S_{12} e S_{13}

C	δ_c S_8 (ppm)	δ_c S_6 (ppm) – Literatura (Andersen et al, 2003)
1	121,9	121,2
2	110,3	110,5
3	146,4	146,4
4	139,6	140,0
5	146,4	146,4
6	110,3	110,5
7	170,4	168,0

O espectro de RMN ^1H (Figura 46, página 128) apresenta um intenso singleto largo em δ 1,25 referente a hidrogênios de diversos metilenos encadeados, um tripleto δ 0,87 ($J = 6,9$ Hz), típico de hidrogênios de grupo metila terminal, um multipletto centrado em δ 2,29 correspondente a hidrogênios de metilenos ligados à carbonilas. O espectro apresenta ainda um singleto em δ 3,66 característico dos hidrogênios da metoxila de S_9 e S_{12} , um quarteto em δ 4,13 ($J = 7,1$ Hz), característico do metileno do grupo etoxila de S_{10} , S_{11} e S_{13} e, o sinal referente aos hidrogênios da metila do mesmo grupo das referidas substâncias, encontra-se encoberto em δ 1,25 pelo singleto largo, sendo confirmado pelo espectro COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (Figura 54, página 136) que indica as correlações homonucleares, sendo observado que o sinal quarteto correlaciona-se com sinais naquela região.

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 47, página 129) são observados sinais compreendidos entre δ 22,7 e δ 34,2 relativos a grupos CH_2 encadeados, um sinal em δ 14,1 correspondente a grupos CH_3 terminais, o sinal em δ 51,4 refere-se aos hidrogênios da metoxila de S_9 e S_{12} , o sinal em δ 60,1 corresponde ao CH_2 do grupo etoxila referente a S_{10} , S_{11} e S_{13} , sinais em δ 173,1; δ 173,9 e δ 174,3, típicos de carbonos carbonílicos de ésteres graxos.

A análises desses dados e do cromatograma (Figura 48, página 130) sugerem a existência de uma mistura de ésteres graxos.

A confirmação das substâncias presentes na mistura foi possível pelo CG/EM, onde mostrou o pico do íon molecular de S_9 em M^+ 270 (figura 49, página 131), indicando que esta seria o palmitato de metila.

Para S_{10} , o pico do íon molecular M^+ 284 (figura 50, página 132), levou identificação desta como sendo o palmitato de etila.

O espectro de massas de S_{11} , mostra o pico do íon molecular a M^+ 312 (figura 51, página 133) que está de acordo com a Massa Molecular do estearato de etila.

Para S_{12} , o pico do íon molecular M^+ 298 (figura 52, página 134), levou identificação desta como sendo o estearato de metila.

Para S_{13} , o pico do íon molecular M^+ 256 (figura 53, página 135), levou identificação desta como sendo o miristato de etila.

5.8.2 – propostas biossintéticas das substâncias identificadas

5.8.2.1 – Terpenóides

Os terpenóides ou isoprenóides formam uma grande variedade de família de produtos naturais derivados de unidades isoprênicas (C_5), unidos numa combinação linear cabeça-calda. Possuem estruturas típicas com esqueletos representados por $(C_5)_n$, sendo classificados em hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), sesterpenos (C_{25}), triterpenos (C_{30}) e tetraterpenos (C_{40}). O isopreno é produzido naturalmente, mas não é, diretamente, envolvido na formação destes compostos (DEWICK, 1997), sendo que, as unidades isoprênicas bioquimicamente ativas são identificadas como os ésteres difosfatos: dimetilalil difosfato (DMAPP) e isopentenil difosfato (IPP).

As associações cabeça-cauda das unidades isoprênicas originam os precursores: geraniol (C_{10}), farnesol (C_{15}), geranilgeraniol (C_{20}), esqualeno (C_{30}) e fitoeno (C_{40}).

Os triterpenos não são formados pelo processo de adição IPP para o crescimento da cadeia, mas duas moléculas de farnesil-PP são unidas cauda-cauda para produzir o esqualeno que é o precursor dos triterpenos.

O equaleno, também, é o precursor dos esteróides que são triterpenos modificados, formados por um sistema tetracíclico. Os esteróides podem ser obtidos tanto de origem animal como de origem vegetal, são importantes reguladores biológicos. Entre estas importantes substâncias químicas encontram-se os hormônios masculinos e femininos.

A rota biossintética proposta para a substância S₄ está representado na figura 5 (páginas 69-70) e para as substâncias S₁, S₃ e S₅ está na figura 6 (páginas 71-72) (MANN, 1987 e DEWICK, 1997).

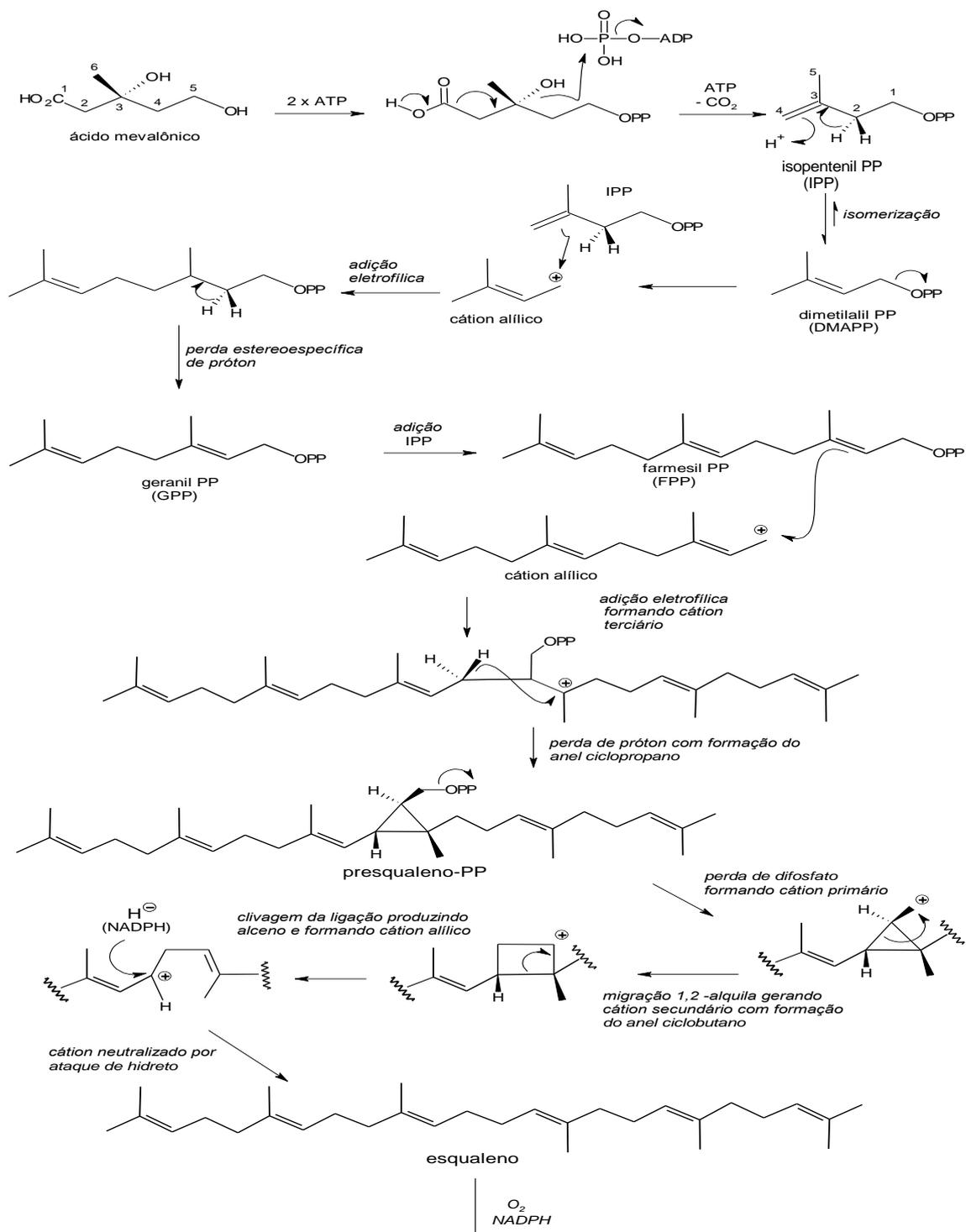


Figura 5 – Rota biossintética proposta para a formação de S₄

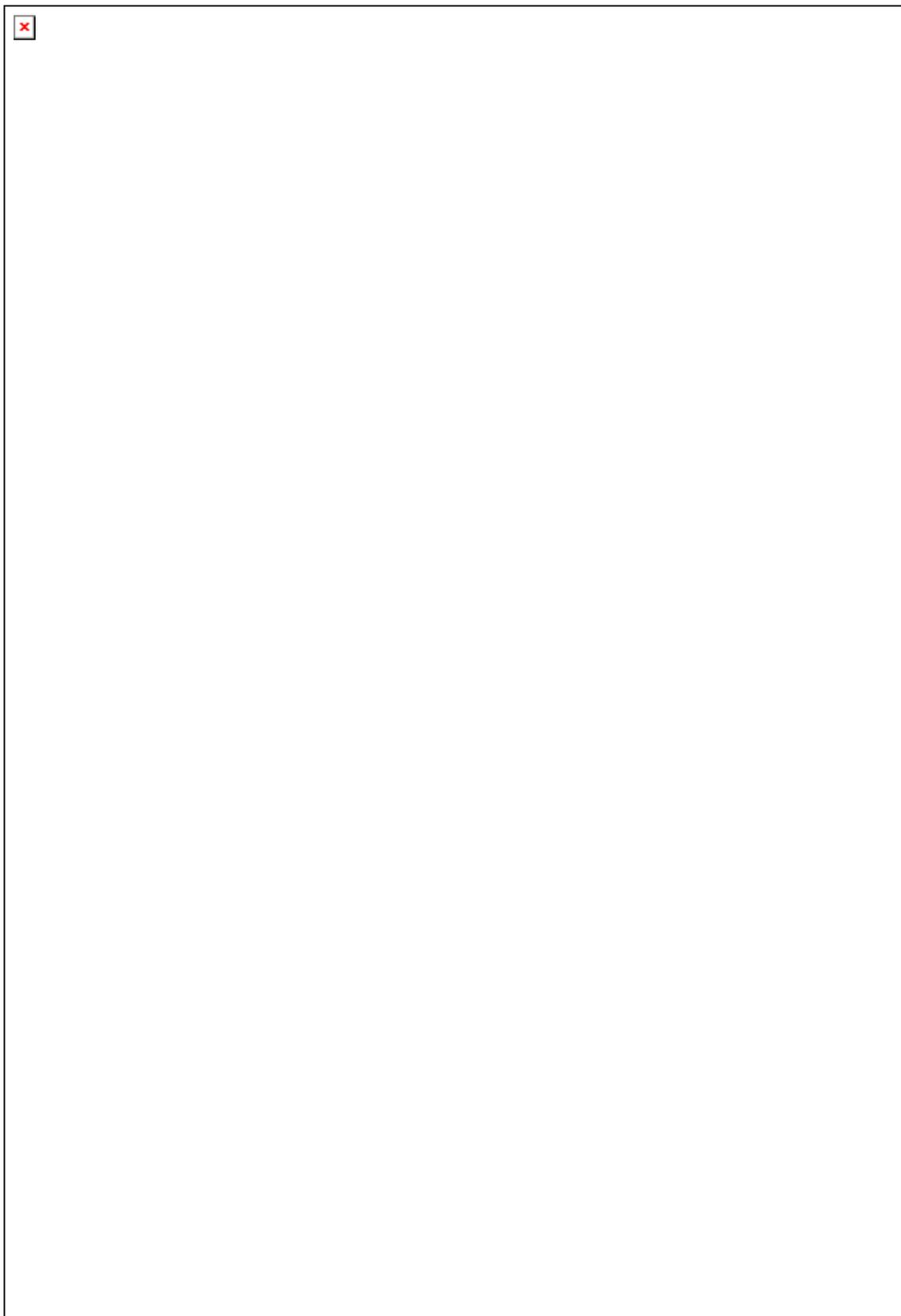
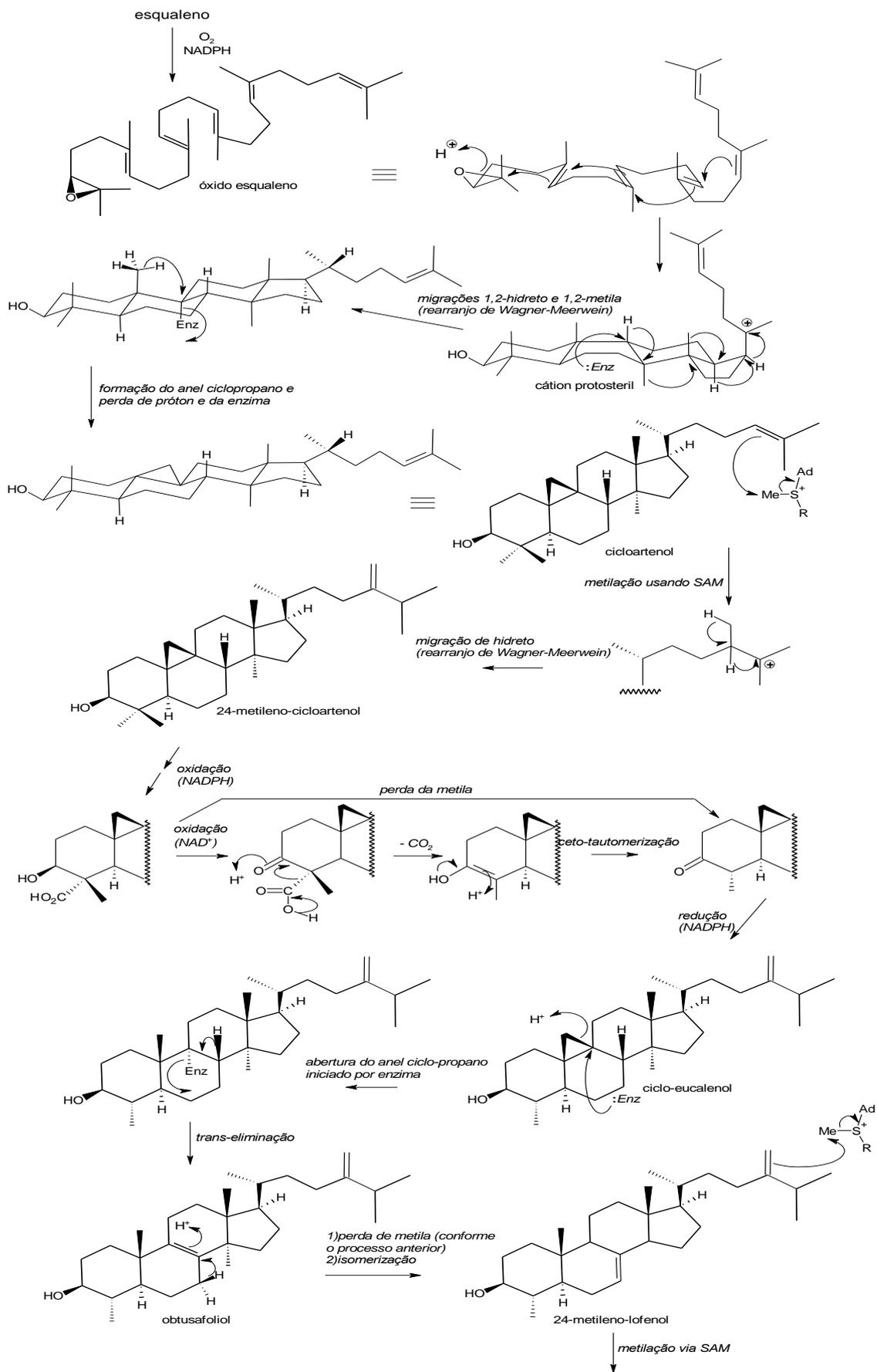


Figura 5 – Rota biossintética proposta para a formação de S_4 (continuação) (MANN, 1987 e DEWICK, 1997).



Continua na p. 72

Figura 6 – Rota biossintética proposta para S₁, S₃ e S₅.

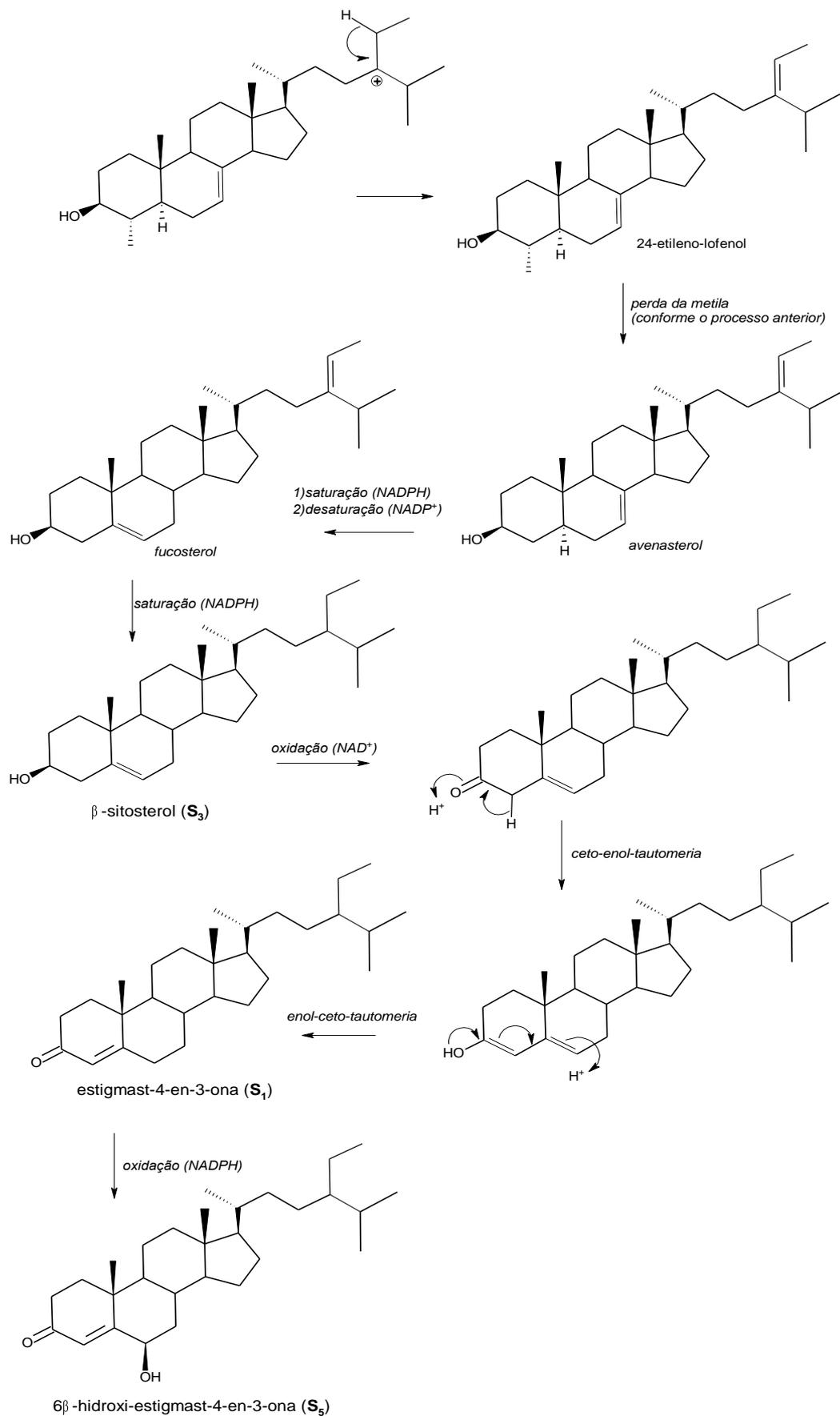


Figura 6 – Rota biossintética proposta para S_1 , S_3 e S_5 (continuação) (MANN, 1987 e DEWICK, 1997).

5.8.2.2 - ácidos fenólicos

Ácidos fenólicos constituem um grande grupo de substâncias orgânicas de ocorrência natural com vários relatos de atividades farmacológicas (BRANDSTETEROVÁ & ZIACOVÁ-CANIOVÁ, 2002), que segundo este autor, eles não só possuem propriedades antioxidantes, mas também antiviróticas e antibacterianas e, geralmente, a atividade antioxidante dos fenólicos está associada aos grupos hidroxílicos nas moléculas.

Os ácidos fenólicos caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo propriedades antioxidantes tanto para os alimentos como para o organismo, sendo, por isso, indicados para o tratamento e prevenção do câncer, doenças cardiovasculares e outras doenças (KERRY & ABBEY, 1997; BRAVO, 1998; CROFT, 1998; FERGUSON & HARRIS, 1999).

Este grupo de substâncias químicas já foi assunto de vários estudos alelopáticos (SIQUEIRA et al., 1991, INDERJIT, 1996) e estudos recentes sugeriram que ácidos fenólicos de adubo de legumes podem controlar o desenvolvimento de ervas daninhas (OHNO, 2001).

Os ácidos fenólicos são divididos em três grupos. O primeiro é composto pelos ácidos benzóicos, que possuem sete átomos de carbono (C_6-C_1) e são os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza. O segundo é formado pelos ácidos cinâmicos, que possuem nove átomos de carbono (C_6-C_3). As cumarinas são derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido *o*-cumárico.

Alguns ácidos fenólicos podem ser formados diretamente via “caminho” chiquimato, mas rotas alternativas, como a acetato, podem acontecer (DEWICK, 1997). Para as substâncias S₆, S₇ e S₈ foi proposto a rota biossintética chiquimato (Figura 7, página 74), enquanto que para S₂ a rota acetato (Figura 8, página 75) (MANN, 1987 e DEWICK, 1997).

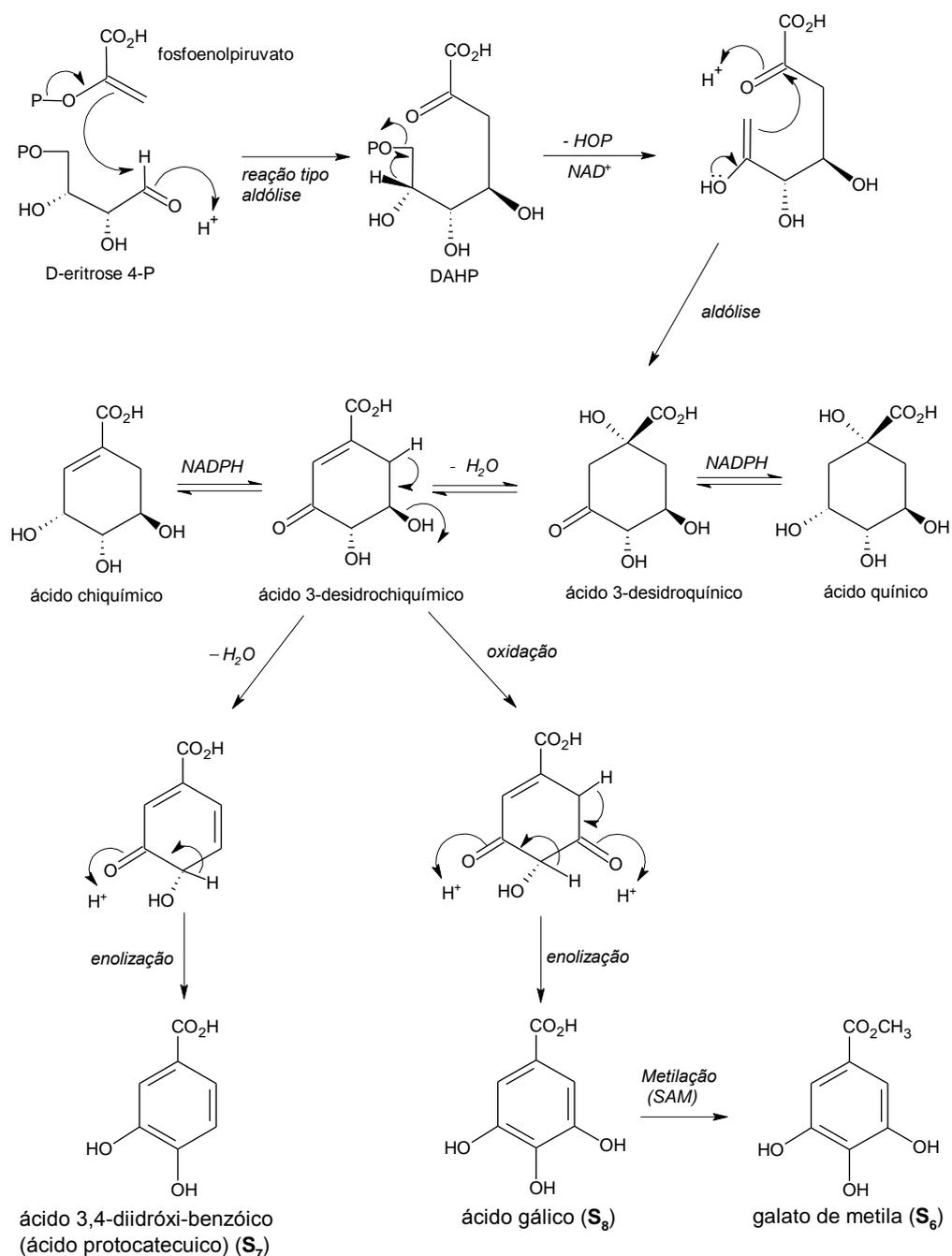


Figura 7 – Rota biossintética proposta para S₆, S₇ e S₈ (MANN, 1987 e DEWICK, 1997).

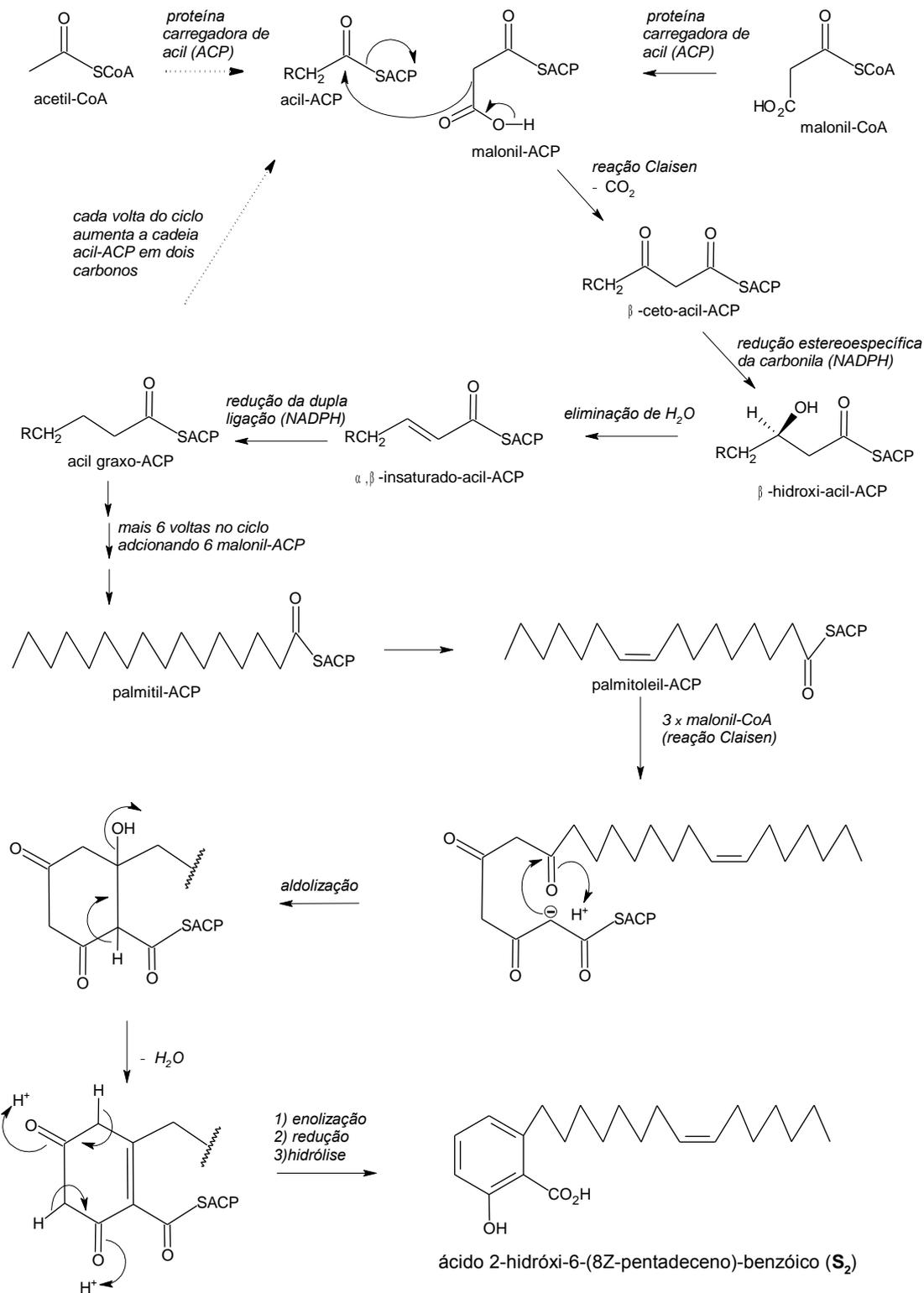


Figura 8 - Rota biossint\u00e9tica proposta para a forma\u00e7\u00e3o de S_2 (MANN, 1987 e DEWICK, 1997).

6 – PARTE BIOLÓGICA

6.1 – ALELOPATIA

A propriedade de algumas plantas em inibir o desenvolvimento de outras plantas já era observada há muito tempo. Era evidenciado que em áreas de certos vegetais não proliferavam outras espécies. Esta propriedade foi denominada de *alelopatia* por Molish, 1937 (RICE, 1987). A origem da palavra vem do latim, onde “Allelon” = mútuo e “Phatos” = prejuízos. Num termo mais abrangente, refere-se a efeitos diretos ou indiretos de compostos (aleloquímicos) que, ao serem liberados pelas plantas ou pelos seus resíduos, podem favorecer ou prejudicar o desenvolvimento de outros vegetais (RIZVI et al., 1992). Esta propriedade estende-se, tanto em plantas superiores, como também, em algas, fungos e vários microorganismos (RICE, 1984).

Antecedendo esses conceitos, era observado que a vegetação sob árvores de *Juglans nigra* era muito esparsa, comparada com aquelas sob muitas outras árvores comumente usadas para fazer sombra, e que a cultura não crescia sob ou muito perto dela (STICKNEY & HOY, 1881). Eles observaram que a principal razão para a vegetação não prosperar sob as árvores era o gotejamento de venenos a partir das mesmas. É assegurado que existe um certo conflito entre as plantas de repolho e a parreira, que uma morre onde outra cresce e que o manjeriço (*Ocimum*) e a arruda (*Ruta graveolens*) nunca crescem juntas (RICE, 1984).

SCHREINER & REED (1907) mostraram que as raízes de plântulas de trigo e aveia e outras plantas exsudavam material para o solo e que

compostos tóxicos, produzidos por vegetais pode, posteriormente, ser extraído do solo.

As propriedades alelopáticas, segundo RIZVI & RIZVI, 1992, se estenderam para interações planta-inseto e animal-planta superior. LOVETT & RYNUNTYU, 1992, relatam que muitas substâncias químicas sintetizadas por plantas que afetam outras, também influenciam outros organismos, indicando uma visão mais ampla para o termo alelopatia, incluindo aspectos de defesa das plantas. Comumente, a alelopatia é interespecífica, mas, se a espécie doadora e a receptora forem as mesmas ela torna-se intraespecífica, e o termo empregado é autotóxico. Assim, autotoxicidade ocorre quando uma planta libera substância química no meio que inibe a germinação e o crescimento da mesma espécie (MILLER, 1996).

Há várias maneiras das substâncias químicas (aleloquímicos) serem liberadas para o meio ambiente, que podem ser por: **volatilização** – que é um processo comum nas plantas aromáticas, embora nem todas as plantas aromáticas estejam envolvidas em mecanismo de alelopatia (SOUZA FILHO & ALVES 2002). Neste processo estão as substâncias voláteis como os terpenóides (MULLER & MULLER, 1964) e que segundo MULLER et al. (1964), tais compostos simplesmente volatilizam da superfície das folhas e flutuam no solo onde são adsorvidos pelas partículas do solo, sementes ou plântulas; **Exsudação radicular** – é a maneira pela qual as substâncias produzidas pelas plantas são liberadas para o solo pelas raízes vivas das plantas, sendo que o papel dos exsudados radiculares sobre a interação planta-planta e planta-microorganismo não está, ainda, entendida em toda sua extensão (SOUZA FILHO & ALVES, 2002); **Lixiviação** – é a remoção de substâncias químicas de

plantas vivas ou mortas, através da ação das chuvas orvalho e neblina. Segundo STEINSIEK et al., (1982), lixiviados de palha de trigo inibem a germinação das sementes de *Ipomoea hederacea*, *Abutilon theophrastis*, *Sesbania exaltata*, *Senna obtusifolia* e *Echinichloa crusgalii* em diferentes intensidades; **Decomposição de resíduos** – liberação dos constituintes químicos dos organismos através do processo de decomposição. Neste processo está envolvida a participação dos microorganismos presentes no solo, os quais agem sobre polímeros presentes nos tecidos, levando à liberação de compostos tóxicos (SOUZA FILHO & ALVES, 2002). CHOU & LIN (1976) desenvolveram um estudo onde empregaram extratos preparados a partir de uma mistura de palha com raízes de arroz em decomposição, mostrando uma significativa inibição. No entanto, os efeitos tóxicos decresceram gradualmente com o aumento do tempo de decomposição.

Existem diferentes tipos de alterações que se processam entre vários componentes de uma cadeia vegetal, às quais MULLER (1966) propôs o termo **interferência** para classificá-las. SZCZEPANSKI (1977) subdividiu esse termo em três grupos: **alelomediação** – interferência indireta, que altera o ambiente físico ou biológico, que afeta os seres vivos; **alelospolia** – definida como a interferência causada por diferentes fatores do ecossistema que, retiram do meio, elementos como água, nutrientes, luz, baixando o seu teor a níveis que prejudicam o desenvolvimento normal dos demais; **alelopatia** – alteração provocada pela liberação de substâncias, que afetam determinado indivíduo do meio. Pelo fato da adição de um elemento ao meio este grupo difere de alelospolia que está envolvida na remoção de um componente.

6.2 – BIOENSAIOS ALELOPÁTICOS

Tradicionalmente, o controle de plantas daninhas, especialmente em áreas de pastagens cultivadas, tem sido realizado pelo uso do fogo e da roçagem, e, mais recentemente, pelo emprego de produtos químicos (herbicidas). O uso do fogo e da roçagem, isoladamente ou em conjunto, têm se mostrado pouco efetivo, em médio e longo prazo, levando os produtores a repeti-los sistematicamente, o que eleva o custo de manutenção das culturas e gera insatisfações de ordem social. Já o uso de herbicida, embora controle um número considerável de espécies invasoras, tem levantado questões de ordem ambiental pela contaminação dos recursos naturais, além da contaminação dos alimentos que compõem a dieta dos animais silvestres e a do próprio homem. Portanto, a busca de herbicidas naturais, é de fundamental importância, visando minimizar o impacto ambiental causado por essas atividades.

Esses fatos motivaram o presente estudo alelopático que foram realizados com os extratos brutos das folhas de *Myrcia guianensis*, com as partições do extrato bruto AcOEt, com substâncias isoladas e com o óleo essencial extraído das folhas da mesma espécie para determinar seus potenciais alelopáticos frente a duas plantas invasoras, comuns, em áreas de pastagens na região amazônica: *Mimosa pudica* L. (malícia) e *Senna obtusifolia* (L.) Irwing & Barneby (mata-pasto). Foram analisados os efeitos alelopáticos sobre diferentes parâmetros: percentual de germinação das sementes e desenvolvimento da radícula e do hipocótilo das plantas pré-germinadas.

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Agroindústria da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) – Amazônia Oriental, sob a Coordenação do Dr. Antonio Pedro da S. Souza Filho.

6.2.1 – Bioensaios alelopáticos dos extratos brutos e partições do extrato bruto acetato de etila

6.2.1.1 – Bioensaios sobre a germinação das sementes

Foram preparadas, a partir dos extratos brutos hexânico, acetato de etila e metanólico, soluções, utilizando como veículo de dispersão AcOEt e MeOH, na concentração de 1% (m/v) e 3 mL de cada, aplicadas sobre discos de papel de filtro no interior de placas de petri (duas placas para cada extrato). Após a evaporação do solvente, foram distribuídas, uniformemente, cerca de 10 sementes das plantas invasoras: malícia e mata-pasto nas placas de petri (uma espécie em cada placa).

A germinação das sementes foi realizada em câmara de germinação à temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas, tendo um acompanhamento de quatro dias para verificação do aparecimento da radícula (germinação fisiológica). Foi, também, realizado o teste em branco ou tratamento testemunha (água destilada), para a base de cálculo de percentual de inibição de germinação das sementes. Como o extrato bruto acetato de etila apresentou maior atividade, suas partições também passaram pelo mesmo bioensaio, empregando o mesmo método descrito acima.

6.2.1.2 – Bioensaios sobre o desenvolvimento da radícula e hipocótilo

Foram preparadas soluções, utilizando como veículo de dispersão Hexano, AcOEt e MeOH, das partições hexânica, diclorometânica e acetato de etila, procedente do extrato bruto AcOEt, todas na concentração de 1% m/v e, 3 mL de cada, foram aplicadas sobre filtros de papel localizados no interior de placas de petri, duas placas para cada solução. Cada placa de petri recebeu 2 sementes pré-germinadas, com três dias de germinação, uma espécie em cada placa. Os bioensaios alelopáticos, sobre o desenvolvimento das plantas (radícula e hipocótilo), foram realizados em condições de 25 °C de temperatura e fotoperíodo de 24 horas. Ao final de um período de 10 dias de crescimento, mediu-se o comprimento da radícula e do hipocótilo para determinar a variação de desenvolvimento. Foi utilizado o tratamento testemunha (água destilada) para a base de cálculo do percentual de inibição.

6.2.2 – Bioensaios alelopáticos do óleo essencial

6.2.2.1 – Bioensaios sobre a germinação das sementes

Utilizou-se uma solução em éter etílico de, aproximadamente, 1 ppm do óleo essencial para os testes alelopáticos. 3 mL da solução foi aplicada sobre discos de papel de filtro no interior de quatro placas de petri (duas placas para cada espécie de plantas daninhas). Em cada placa foram distribuídas 10 sementes das plantas invasoras. As germinações foram realizadas em câmara de germinação à temperatura de 25 °C, com um fotoperíodo de 12 horas, tendo

um acompanhamento de quatro dias para verificação do aparecimento da radícula. A cada dia de monitoramento eram contadas e eliminadas as sementes germinadas e no final do período verificou-se o total dessas sementes em cada placa e calculou-se a média aritmética das sementes germinadas de cada espécie, onde, juntamente com a média das sementes germinadas no tratamento testemunha, calculou-se o percentual de inibição do óleo essencial na germinação das sementes das plantas.

6.2.2.2 - Bioensaios sobre o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo

Soluções do óleo essencial, utilizando éter etílico como veículo de dispersão, nas concentrações de 5, 10, 15 e 20 *ppm*, foram aplicadas sobre filtros de papel no interior de placas de petri, duas placas para cada concentração, para os bioensaios alelopáticos sobre o desenvolvimento da radícula e hipocótilo das sementes das plantas invasoras de pastagens. Os bioensaios foram realizados em condições de 25 °C de temperatura e fotoperíodo de 24 horas. Cada placa de petri recebeu 2 sementes pré-germinadas (uma espécie em cada placa). Após um período de 7 dias, mediu-se o comprimento da radícula e do hipocótilo para determinar a variação de desenvolvimento, juntamente com o tratamento testemunha (água destilada).

6.2.3 – Bioensaios alelopáticos das substâncias S₇ e S₈

6.2.3.1 – Bioensaios sobre a germinação das sementes

Para este bioensaio foram utilizadas soluções de 15, 30, 45 e 60 *ppm*, em MeOH, das substâncias S₇ e S₈. 3 mL de cada solução foi aplicada sobre discos de papel de filtro no interior de quatro placas de petri (duas placas para cada espécie de plantas daninhas). Foram distribuídas 10 sementes de cada planta invasora nas placas correspondente a determinada espécie. As germinações foram realizadas em câmara de germinação à temperatura de 25 °C, com um fotoperíodo de 12 horas. A cada dia de monitoramento eram contadas e eliminadas as sementes germinadas e no final de 4 dias, totalizou-se essas sementes em cada placa e calculou-se a média aritmética das sementes germinadas de cada espécie, que após, juntamente com a média das sementes germinadas no tratamento testemunha, calculou-se o percentual de inibição de cada substância na germinação das sementes das plantas.

6.2.3.2 - Bioensaios sobre o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo

Soluções, em MeOH, das substâncias S₇ e S₈, nas concentrações de 15, 30, 45 e 60 *ppm*, cada uma dessas foi ministrada sobre filtros de papel no interior de placas de petri, duas placa para cada concentração, para os bioensaios sobre o desenvolvimento da radícula e hipocótilo das sementes das espécies invasoras de pastagens. 2 sementes pré-germinadas de cada espécie foram adicionadas em cada placa de petri, contendo as substâncias nas

referidas concentrações. Após 7 dias de, mediu-se o comprimento da radícula e do hipocótilo determinando a variação de desenvolvimento, utilizando como base de cálculo o tratamento testemunha (água destilada). Os bioensaios foram realizados em condições de 25 °C de temperatura e fotoperíodo de 24 horas

6.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS BIOENSAIOS

6.3.1 – Avaliação da atividade alelopática dos extratos brutos

Os extratos brutos AcOEt e MeOH apresentaram, na concentração de 1% m/v, potentes atividades alelopáticas nas germinações das sementes da espécie malícia, 100% e 82% de inibição, respectivamente. Entretanto, para a espécie mata-pasto, o extrato bruto AcOEt apresentou, apenas, 20% de atividade inibitória e o extrato bruto metanólico não evidenciou atividade. O extrato bruto hexânico teve percentuais de inibição menores, comparados com os anteriores, sendo de 29% para a malícia e 5% para o mata-pasto. Estes dados são mostrados na Figura 9.

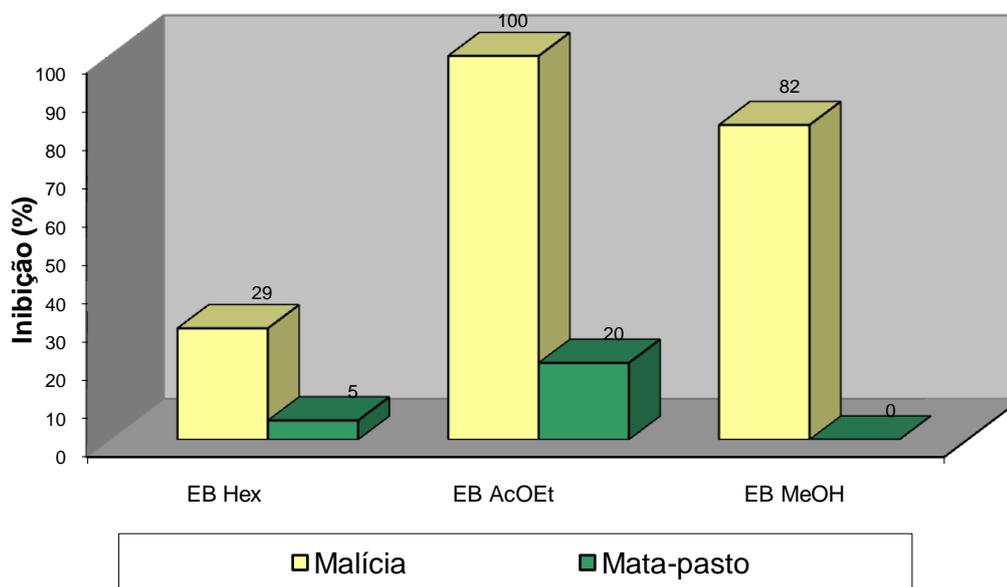


Figura 9 – Efeitos alelopáticos dos Extratos brutos das folhas de *Myrcia guianensis* sobre a germinação das sementes das plantas receptoras. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada) e soluções utilizadas na concentração de 1% (m/v).

6.3.2 – Avaliação da atividade alelopática das partições do extrato bruto acetato de etila

6.3.2.1 – Efeitos sobre a germinação das sementes

Os efeitos alelopáticos mostrados pelas partições, na concentração de 1% m/v, sobre as germinações das sementes das plantas foram bastante intensos. As três partições testadas apresentaram uma inibição de 100% nas sementes da espécie malícia. Na espécie mata-pasto, apenas a partição hexânica apresentou uma inibição média de 21%, enquanto que, as outras partições apresentaram inibição de 100% nas germinações das sementes. A Figura 10 ilustra esses resultados.

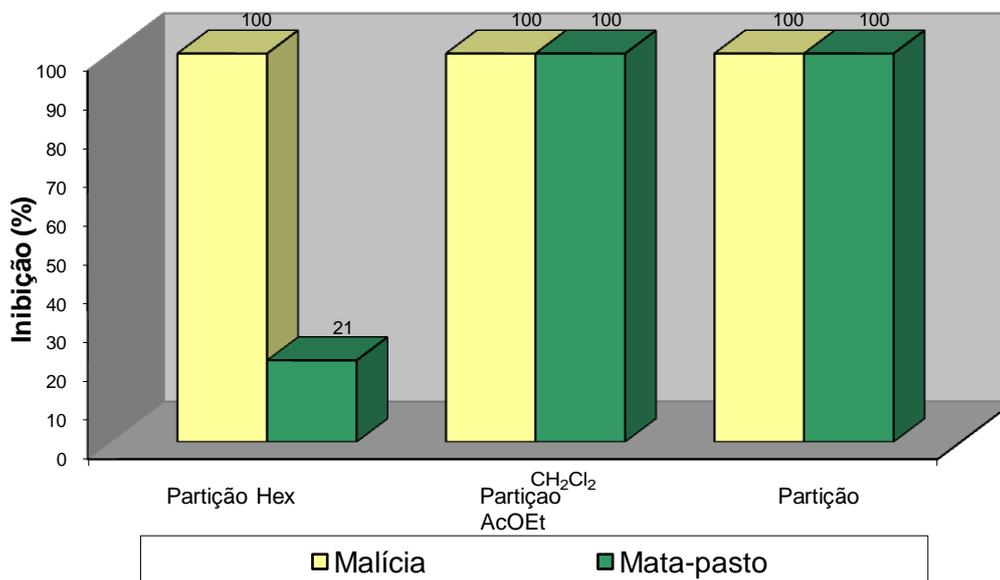


Figura 10 – Efeitos alelopáticos das partições do extrato bruto AcOEt sobre a germinação das sementes das plantas receptoras. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada) e soluções utilizadas na concentração de 1% (m/v).

6.3.2.2 – Efeitos sobre o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo

As inibições, provocadas pelas partições, na concentração de 1% m/v, foram de magnitude expressiva sobre o desenvolvimento desses dois parâmetros da espécie malícia, com destaque para a partição hexânica que provocou uma inibição de 80,6% para radícula (Figura 11) e 80,6% para o hipocótilo (Figura 12). As partições CH_2Cl_2 e AcOEt apresentaram, também, significativa inibição no desenvolvimento da espécie malícia (Figuras 11 e 12), sendo de, 54,8 e 64,5% na radícula, 77,4 e 72,6% no hipocótilo, respectivamente.

Das espécies receptoras o mata-pasto foi a que teve o desenvolvimento da radícula (Figura 11) e do hipocótilo (Figura 12) em níveis inferiores ao da malícia, mesmo assim, tendo uma inibição de 14,0% para a radícula e 42,8% para o hipocótilo, provocada pelas partições AcOEt e CH_2Cl_2 , respectivamente.

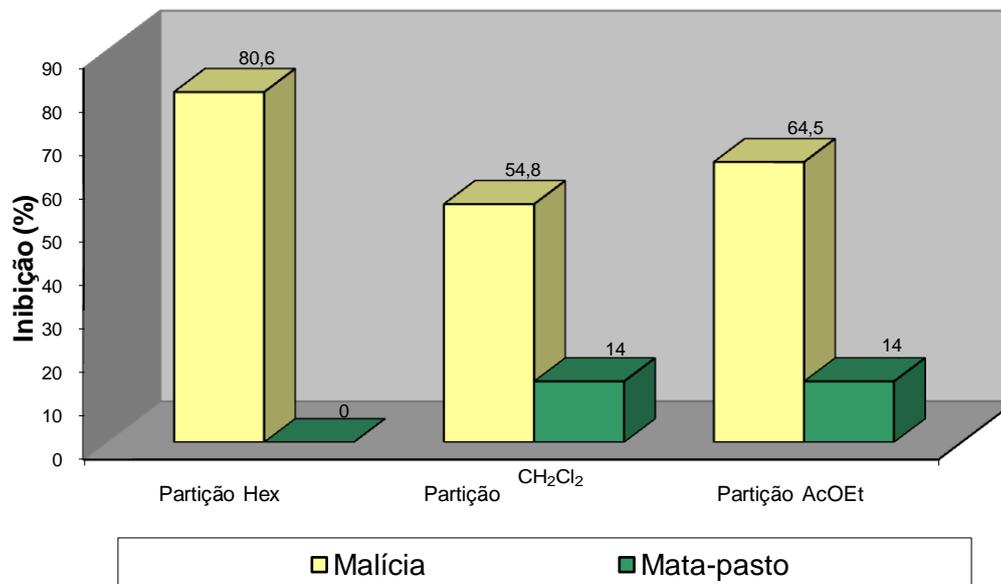


Figura 11 – Efeitos alelopáticos das partições do extrato bruto AcOEt sobre o desenvolvimento da radícula das plantas receptoras. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada) e soluções utilizadas na concentração de 1% (m/v).

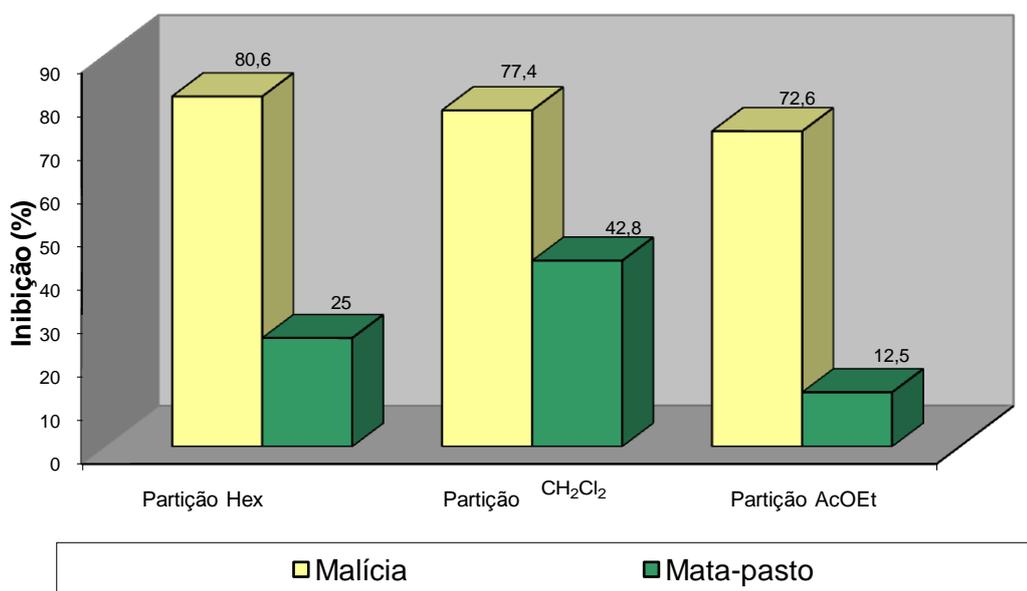


Figura 12 – Efeitos alelopáticos das partições do extrato bruto AcOEt sobre o desenvolvimento do hipocótilo das plantas receptoras. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada) e soluções utilizadas na concentração de 1% (m/v).

6.3.3 – Avaliação da atividade alelopática do óleo essencial

6.3.3.1 – Efeitos sobre a germinação das sementes

Os efeitos alelopáticos do óleo essencial, na concentração de 1 ppm, na germinação das sementes variaram em função da planta receptora. Individualmente, as espécies receptoras evidenciaram diferentes graus de sensibilidade aos efeitos potencialmente alelopáticos do óleo essencial. A malícia foi a espécie que, cuja germinação das sementes foi inibida em 71%, enquanto que, o mata-pasto, notadamente, sofreu um efeito de estimulação de 60% na germinação de suas sementes. Esses dados podem ser evidenciados na Figura 13.

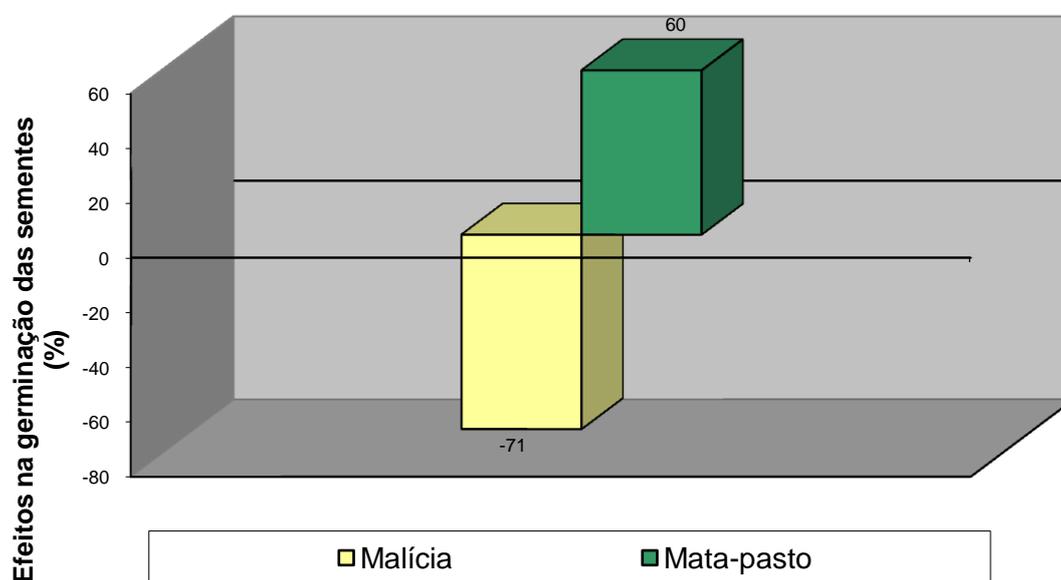


Figura 13 – Efeitos alelopáticos do óleo essencial na germinação das sementes da espécie receptoras. Dados expressos em percentual de efeito em relação ao tratamento testemunha (água destilada) e solução utilizada na concentração de 1 ppm.

6.3.3.2 – Efeitos no desenvolvimento da radícula e do hipocótilo

Os efeitos inibitórios no desenvolvimento da radícula e do hipocótilo variaram em função da concentração e da planta receptora. Esses dois parâmetros analisados tiveram diferentes graus de sensibilidade aos efeitos alelopáticos do óleo essencial, onde a concentração determinou uma maior ou menor atividade alelopática. É observado que esta atividade é diretamente proporcional à concentração da solução utilizada (Figuras 14 e 15), onde observamos que, na concentração de 20 ppm, houve maior inibição no desenvolvimento da radícula e do hipocótilo, que foi de 25% e 23%, respectivamente, para a malícia e de 35% e 21%, respectivamente, para o mata-pasto (Figuras 14 e 15).

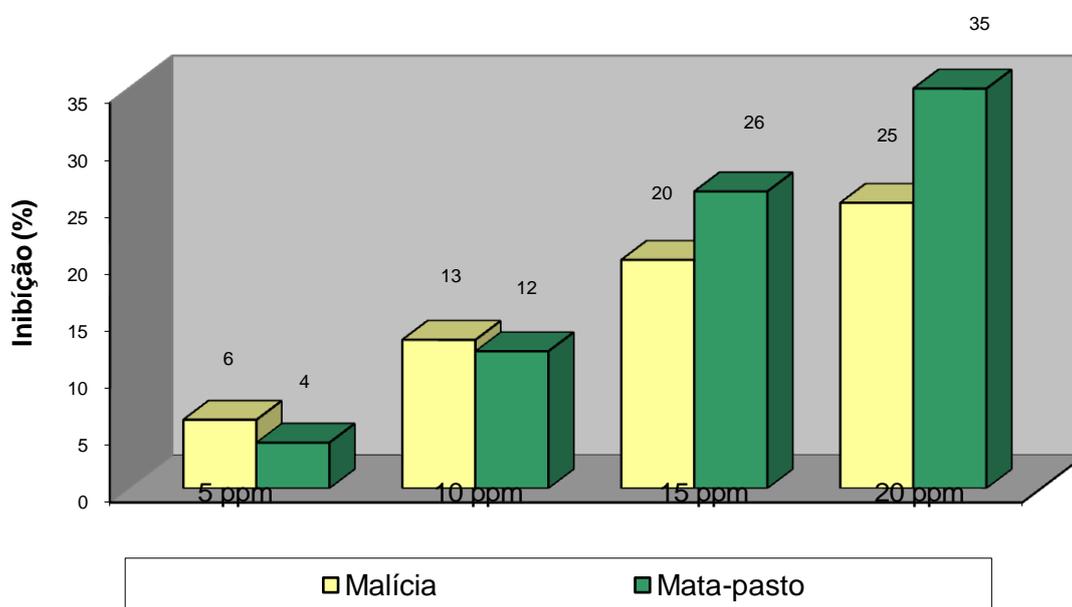


Figura 14 – Efeitos alelopáticos do óleo essencial no desenvolvimento da radícula das plantas receptoras. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada).

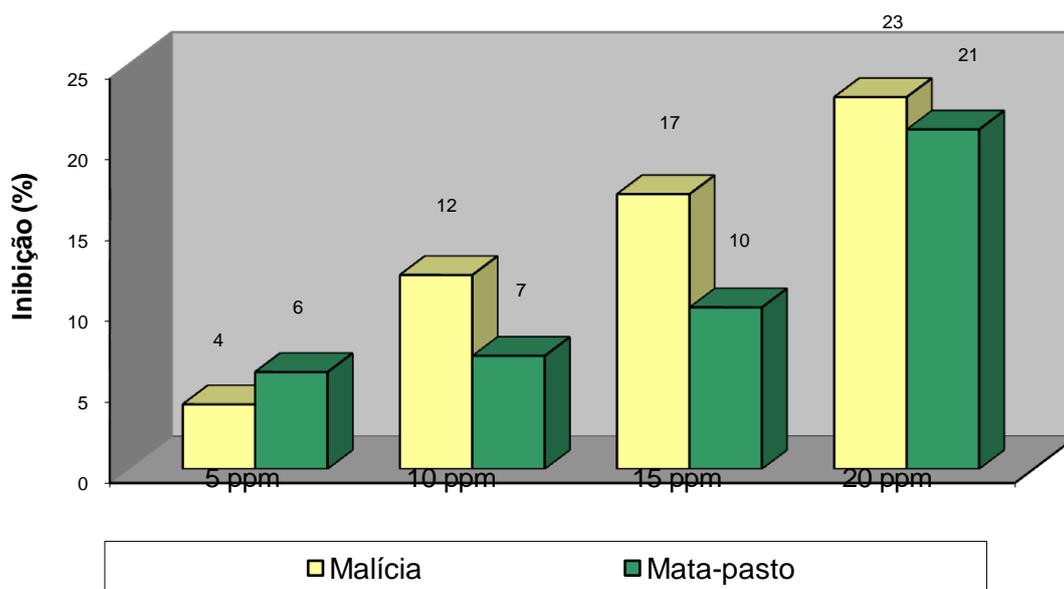


Figura 15 – Efeitos alelopáticos do óleo essencial no desenvolvimento do hipocótilo das plantas receptoras. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada).

6.3.4 – Avaliação da atividade alelopática de S₇ e S₈

6.3.4.1 – Efeitos de S₇ sobre a germinação das sementes

Esses efeitos variaram em função da espécie receptora e da concentração da solução testada, onde que, na concentração de 60 ppm, foi a que apresentou uma maior inibição média de 10,0% e 11,0% nas germinações das sementes das espécies malícia e mata-pasto, respectivamente, enquanto que nas concentrações de 15 e 30 ppm não houve inibição. Estes dados podem ser consultados no gráfico da Figura 16.

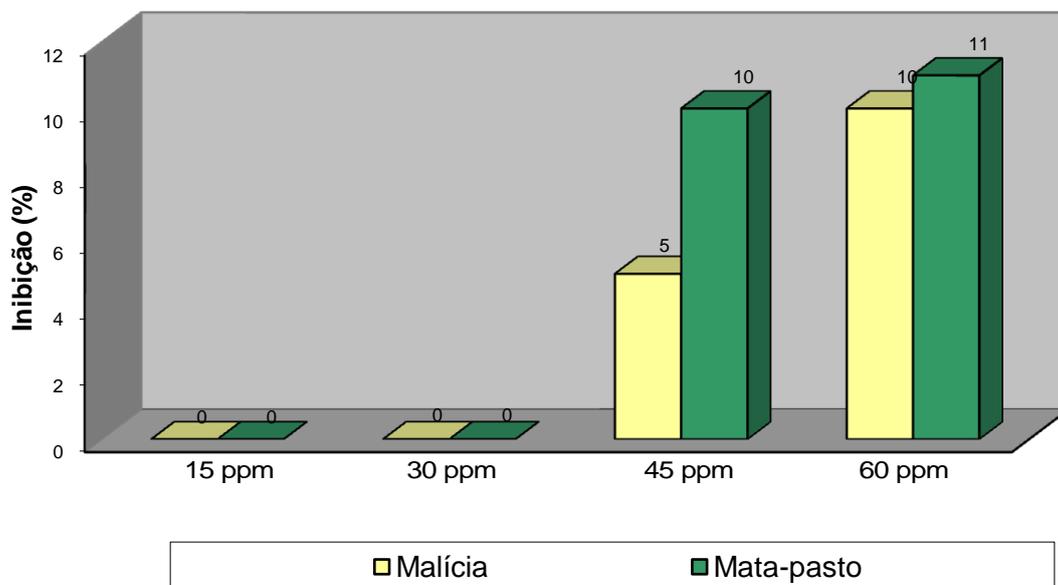


Figura 16 – Efeitos alelopáticos de S_7 na germinação das sementes das plantas receptoras. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada).

6.3.4.2 – Efeitos de S_7 sobre o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo

O efeito alelopático de S_7 nestes dois parâmetros das ervas daninhas variou em função da concentração das soluções utilizadas, onde a inibição foi diretamente proporcional, sendo que foi de 14% e 16%, na concentração de 60 ppm, para o desenvolvimento da radícula da malícia e do mata-pasto, respectivamente (Figura 17). A inibição no desenvolvimento do hipocótilo, na mesma concentração, foi de 15% e 13% para a malícia e mata-pasto, respectivamente (Figura 18), enquanto que, concentrações menores apresentaram pequenas inibições, conforme observado nas Figuras 17 e 18.

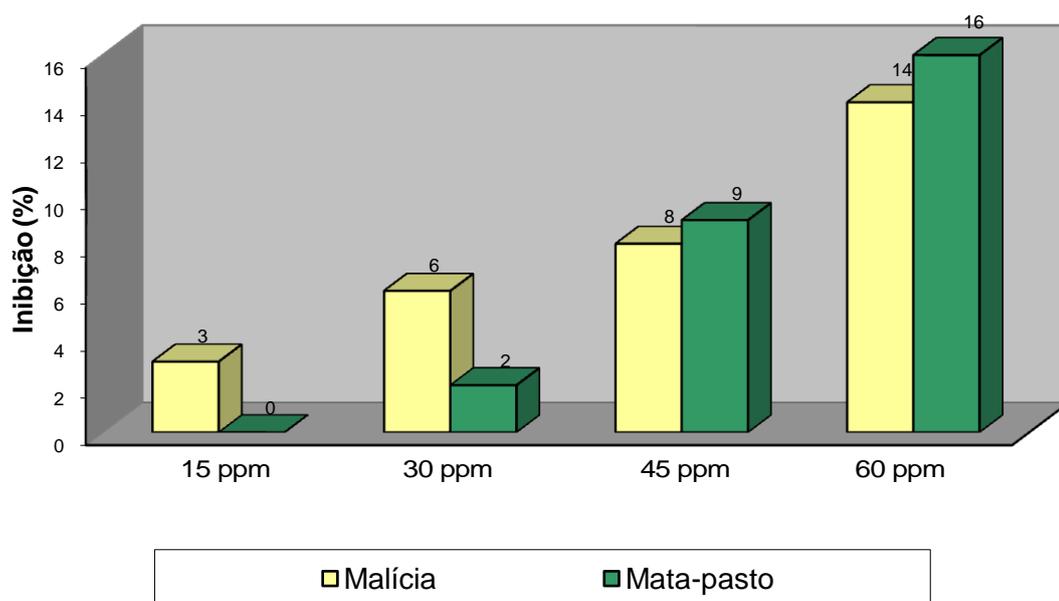


Figura 17 – Efeito alelopático de S_7 no desenvolvimento da radícula das plantas receptoras. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada).

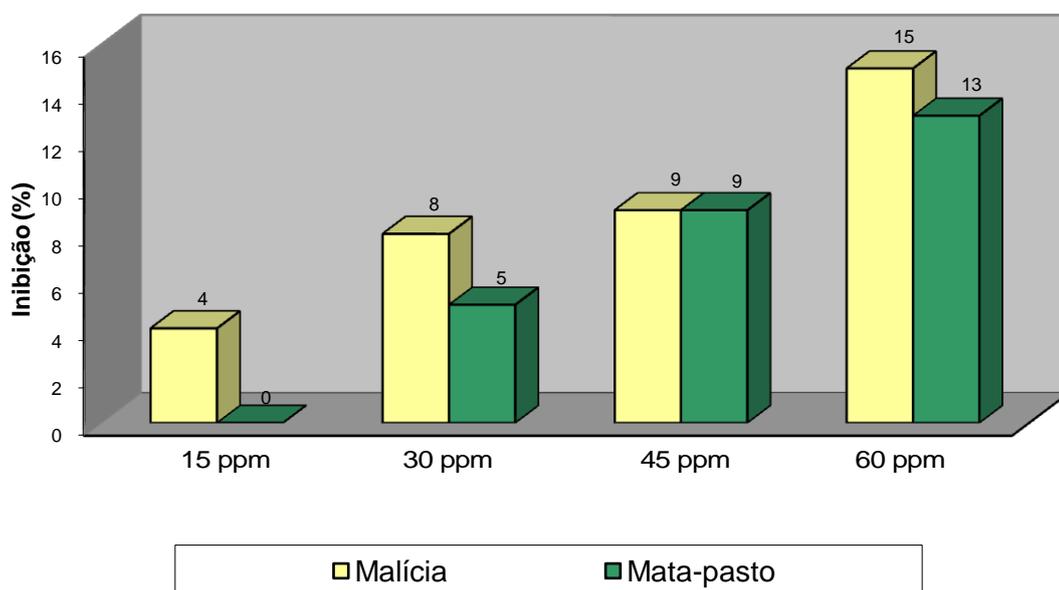


Figura 18 – Efeito alelopático de S_7 no desenvolvimento do hipocótilo das plantas receptoras. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada).

6.3.4.3 – Efeitos de S₈ na germinação das sementes

Esta substância teve baixo efeito alelopático na germinação das sementes das espécies testadas que, segundo o gráfico da Figura 19, na concentração de 60 ppm, houve uma inibição de 6,0% e 5,0%, neste parâmetro, das espécies malícia e mata-pasto, respectivamente. Em concentrações inferiores o efeito foi irrelevante (Figura 19).

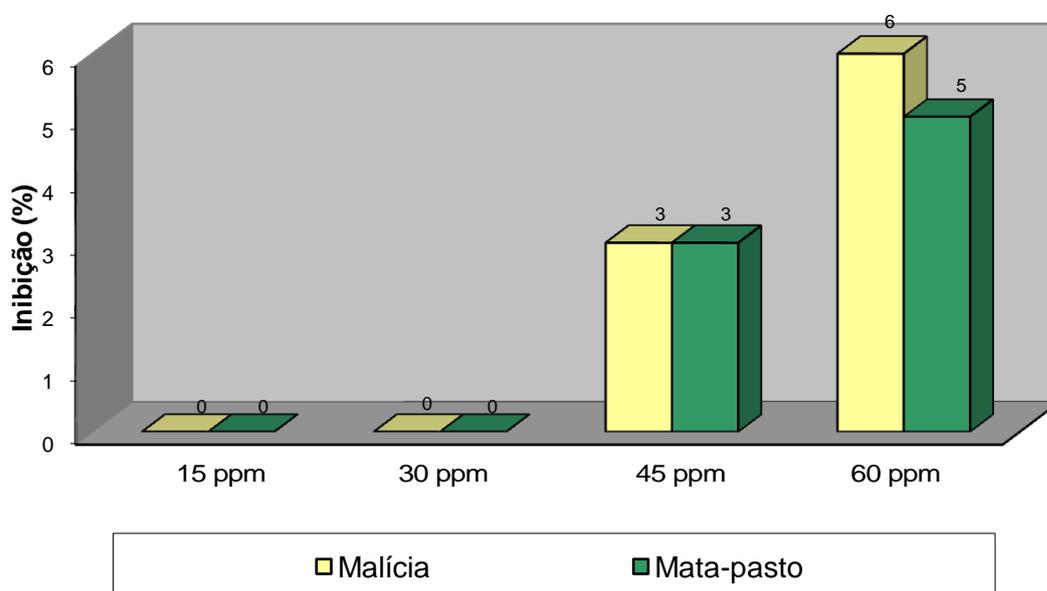


Figura 19 – Efeitos alelopáticos de S₈ na germinação das sementes das plantas receptoras. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada).

6.3.4.4 – Efeitos de S_8 no desenvolvimento da radícula e do hipocótilo

A concentração das soluções, foi novamente o fator que determinou o grau de inibição nos parâmetros analisados, onde que em 60 ppm, a inibição média no desenvolvimento da radícula da malícia e mata-pasto foi de 11,0% e 14,0%, respectivamente (Figura 20), enquanto que em 45 ppm, houve uma inibição de 10% na radícula do mata-pasto e de 8,0% na malícia. Na Figura 21 é observado que o grau de inibição no desenvolvimento do hipocótilo ficou abaixo àqueles apresentados na radícula, que teve na concentração de 60 ppm um efeito inibitório de 8%, tanto para a malícia como para o mata-pasto e em concentrações inferiores, baixa inibição.

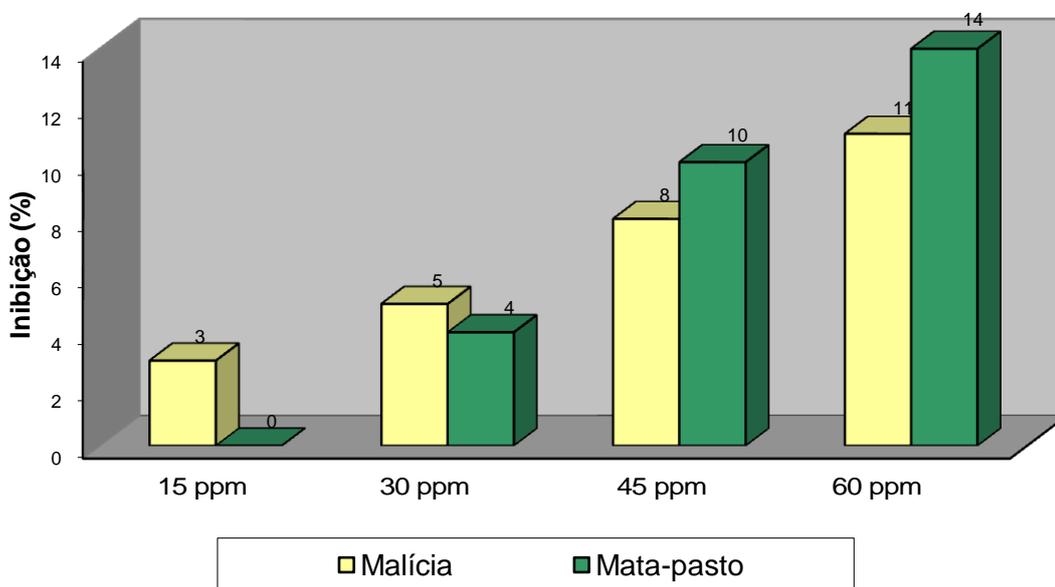


Figura 20– Efeito alelopático de S_8 no desenvolvimento da radícula das plantas receptoras. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada).

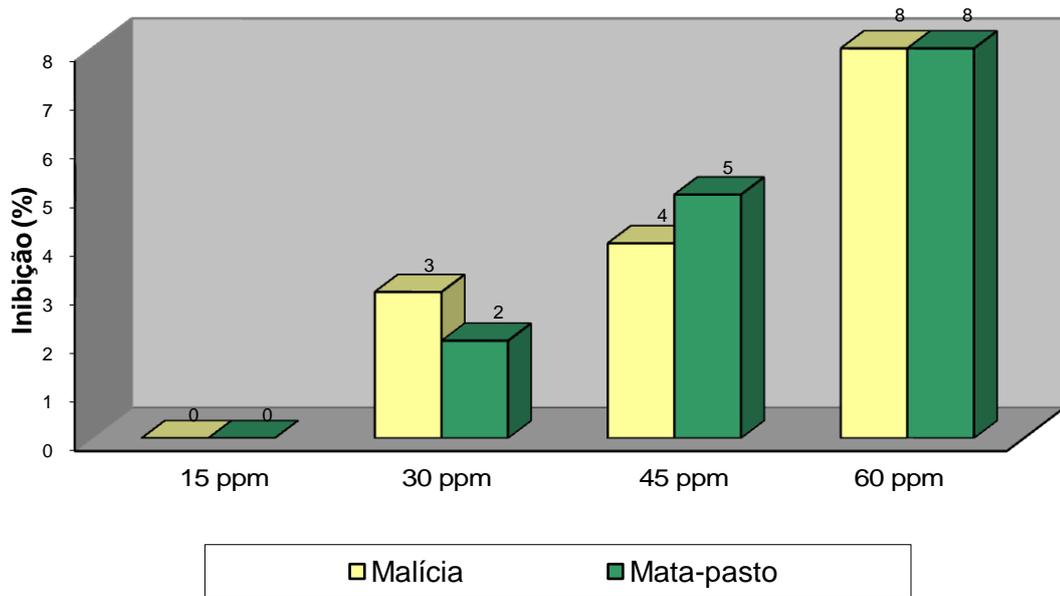


Figura 21 – Efeito alelopático de S_8 no desenvolvimento do hipocótilo das plantas receptoras. Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha (água destilada).

7 - CONCLUSÃO

Foram identificadas 11 substâncias químicas: os esteróides: estigmast-4-en-3-ona, 6 β -hidroxi-estigmas-4-en-3-ona, e o β -sitosterol; o triterpeno α -amirina; os ácidos fenólicos: gíngico, protocatecuico, gálico e o éster galato de metila; os éteres graxos: palmitato de etila, palmitato de metila, o estearato de etila, o estearato de metila e o miristato de etila.

O extrato bruto acetato de etila foi o mais ativo e suas partições apresentaram elevada inibição na germinação das sementes das espécies receptoras. No desenvolvimento da radícula e hipocótilo, a espécie malícia, foi a planta mais sensível aos efeitos inibitórios das partições.

O óleo essencial apresentou efeitos adversos na germinação das sementes, sendo que houve uma inibição na espécie malícia e uma estimulação no mata-pasto (esta estimulação pode, provavelmente, ter ocorrido, devido o óleo essencial ser constituído, geralmente, de terpenóides, substâncias que possuem a mesma rota biossintética dos esteróides e, assim, é possível que os mesmos atuem como indutores na germinação de plantas). No desenvolvimento da radícula e do hipocótilo os efeitos foram considerados baixos, sendo que a maior inibição, 35%, foi na radícula do mata-pasto, na concentração de 20 ppm.

Os efeitos alelopáticos das substâncias químicas foram considerados de baixa magnitude, nas concentrações testadas. Assim sendo, pode ser que, a alta atividade alelopática do extrato bruto AcOEt, não esteja nestas substâncias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmad, Z., Ahmed, W., Malik, A., Stigmasterya Galactose from *Rhyncosia mínima*. *Phytochemistry*, v.31, n.11, p.805-811, 1992.
- Almeida, E.R., Plantas Mediciniais Brasileiras: conhecimento popular e científico. Hemus Editora Ltda, São Paulo-SP, 1993.
- Andersen, O.M., Reiersen, B., Keremire, B.T., Byamukama, R., Anthocyanins Acylated with Galic Acid From Chenile Plant, *Acalypha hispida*. *Phytochemistry*, v.64, p.867-871, 2003.
- Bianco, E.M., Santos, C.A.M., Substâncias isoladas das folhas de *Bauhinia microstachya* (Caesalpiniaceae). *Revista Brasileira da Farmacognosia*, v.13, n.2, p.97, jul.-dez. 2003
- Bragança, L.A.R., Plantas Mediciniais Antidiabéticas: uma abordagem multidisciplinar. Editora da Universidade Federal Fluminense. Niterói-RJ, 1996.
- Brandsteterová, E., Ziacová-Caniová, A., Phenolic Acids in Natural Plants: analysis by HPLC. *Encyclopedia of Chromatography*, Taylor & Francis Groups, LLC, p.1-9, 2002.
- Bravo, L., Poliphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. *Nutrition Reviewes*, Nova Iorque, v.56, n.11, p.317-333, 1998.
- Cardoso, C.M.V., Sajo, M.G.,. Vascularização foliar e a identificação de espécies de *Eugenia* L.(Myrtaceae) da bacia hidrográfica do Rio Tibagi, PR. *Revista Brasil. Bot.*, v.27, n.1, p.47-54, jan.-mar. 2004
- Carlos Parra, O., Dos Nuevas Especies de Myrtaceae de Colômbia. *Caldasia*, v.24, n.1, p.95-102, 2002.

- Chou, C.H., Lin, H.J., Autointoxication Mechanism of Corn and Rye Residue in Soil. *Journal of Chemical Ecology*, v.2, p.369-384, 1976.
- Croft, K.D., The chemistry and Biological Effects of Flavonoids and Phenolic Acids. *Annals of the New York Academy of Science*, Nova Iorque, v.854, p.435-442, 1998.
- Dewick, P.M., Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, Inglaterra, 1997.
- Duarte, A. R.; Espécies de Myrtaceae de uma parcela permanente de floresta ombrófila densa baixo Montana no parque estadual Carlos Botelho, município de Sete Barras-SP. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 2003.
- Fehlberg, I., Guedes, M.L.S., Guaré Cruz, F., C-Metilflavonas Isoladas de *Myrcia guaianensis*. Trabalho apresentado na 28^a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, 2005.
- Ferguson, L.R., Harris, P.J., Protection against Câncer by Wheat Brant: role of dietary fibre and phytochemicals. *European Journal of Cancer Prevention*, v.8, n.1, p.17-25, 1999.
- Fernandes, M., Ervas substituem os remédios caros. *Jornal do Brasil*, Rio de Janeiro, 15 agosto, 1993, Cidade, p.26, c.1-6.
- Greca, M.D., Monaco, P., Previtiera, L., Stigmasterols From *Tilpha latifolia*. *Journal of Natural Products*, v.53, n.6, p.1430, 1990.
- Gonzalez, M.J.T.G., Oliveira, C.J.C., Fernandes J.O., Kijjoa, A., Herz, W., Further Alkyl and Alkenylphenols of *Knema laurina* and *Knema austrosiamensis*: location of the double bond in the alkenyl side chains. *Phytochemistry*, v.43, n.6, p.1333-1337, 1996.

- Guaré Cruz, F., Cerqueira, M.D., Souza-Neta, L., Passos, M.G.V.M., Lima, E.O., Roque, N.F., Martins, D., Guedes, M.L.S., Seasonal Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils From *Myrcia multiflora* DC. (Myrtaceae). Pharma.unime.it/foodchem/iseo2004/p.92.pdf
- Inderjit, Plant Phenolics in Allelopathy. *Botanical Review.*, v.62, p.186-202, 1996.
- Ivorra, M.D. et al.; A review of natural products and plants a potential antidiabetic drugs. *Journal of Ethnopharmacology*, n.27, p.243-275, 1989.
- Kerry, N.L., Abbey, M., Red Wine and Fractionated Phenolic Compounds Prepared From Red Wine Inhibit Low Density Lipoprotein oxidation *in vitro*. *Atherosclerosis*, Limerick, v.135, n.1, p.93-102, 1997.
- Limberger, R.P., Sobral, M., Henriques, A.T., Óleos Voláteis de Espécies de *Myrcia* Nativas do Rio Grande do Sul. *Quimica Nova*, v.27, n.6, p.916-919, 2004.
- Lovett, J.V., Rynuntyu, M., Allelopathy: Broadening the Context. In: Rizvi, S.J.H., Rizvi, V. (Ed.). *Allelopathy: Basic and Applied Aspectos*. Londres: *Chapman & Hall*, p.11-19, 1992.
- Mann, J., *Secondary Metabolism*. 2 ed., Clarendon Press, Oxford, 1987.
- Mahato, S.B., Kundu, A.P., ¹³C-NMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids: A compilation and Some Salient Features. *Phytochemistry*, v.37, n.6, p.1517-1575, 1994.
- Matsuda, H., Morikawa, T., Ueda, H., Yoshikawa, M., Aldose Redutase and New Triterpene and Its Oligoglycoside, Centellasapogenol A and Centellasaponina, From *Centela asiatica* (gotu kola), *Heterocycles* v.55, p.1499-1504, 2001.

- Matsuda, H., Morikawa, T., Yoshikawa, M., Antidiabetogenic Constituents From Several Natural Medicines. *Pure and Applied Chemistry*, v.74, n.7, p.1301–1308, 2002.
- Miller, D.A., Allelopathy in Forage Crop Systems. *Agronomy Journal*, v.88, n.6, p.854-859, 1996.
- Muller, W.H., Muller, C. H., Haines, B.L., Volatile Growth Inhibitors Produced by Shrubs. *Science*, v.143, p.471-473, 1964.
- Muller, W.H., Muller, C.H., Volatile Growth Inhibitors Produced by *Salvia* Species. *Bulletin of Torrey Botanical Club*, v.91, p.327-330, 1964.
- Muller, C.H., The Role of Chemical Inhibition (Allelopathy) in Vegetation Composition. *Bulletin of torrey Botanical Club*, v.39, n.4, p.322-351,1966.
- Nes, W.D., Norton, R.A., Benson, M., Carbon-13 Studies on Sitosterol Biosynthesized from [¹³C]Mevalonaes. *Phytochemistry*, v.31, n.3, p.805-811, 1992.
- Nunez Selles, A., Velez Castro, H., Agüero, J., Gozalez-Gonzalez, J., Naddeo, F., De Simone, F., Rastrelli, L., Isolation and Quantitative Analysis of Phenolic Antioxidants, Free Sugar, and, Polyols From Mango (*Mangifera indica* L.) Sten Bark Aqueous Decoccion Used in Cuba as a Nutritional Supplement. *Journal of Agricultural an Food Chemistry*, v.50, p.762-766, 2002.
- Ohno, T., Oxidation of Phenolic Acid Derivatives by Soil and Its Relevance to Allelopathic. *Journal Environmental Quality*, 30:1631-1635, 2001.
- Oliveira, M., Adeodato, S., Modernel, R., O Brasil descobre as plantas. *Globo Ciência*, São Paulo, v.2, n.13, p.32-39, ago. 1992.

- Peigen, X. Some experience on the utilization of medicinal plants in China. *Fitoterapia*, v.2, p.65-73, 1981.
- Rice, E.L., Allelopathy. Nova Iorque: *Academic Press*.1984, 422p.
- Rice, E.L., Allelopathy: an overview. In: Waller, G.R., Allelochemical, Role Agriculture and Forestry. Washington, D.C.: *American Chemical Society*, p.7-22, 1987. (ACS. Symposium Series, 330).
- Rizvi, S.J.H., Haque, H., Sing, V.K., Rizvi, V., Discipline Called Allelopathy. In: Rizvi, S.J.H., Rizvi, V. (Ed.) Allelopathy. Nova Iorque: *Chapman & Hall*, p.443-472, 1992.
- Rizvi, S.J.H., Rizvi, V., Exploitation of Allelochemicals in Improving Crop Productivity. In: Rizvi, S.J.H., Rizvi V., (Ed.). Allelopathy. Nova Iorque: *Chapman & Hall*, p.443-472, 1992.
- Sant' Ana, P.J.P., Assad, A.L.D., Programa de Pesquisa em Produtos Naturais: a experiência da CEME. *Química Nova*, v.27, n.3, p.508-512, 2004.
- Schreiner, O., Reed, H.S., The Production of Deleterious by Roots. *Bulletin of Torrey Botanical Club*, v.34, p.279-303, 1907.
- Siqueira, J.O., Nair, M.G., Hammerschmidt, R., Safir, G.R., Significance of Phenolic Compounds in Plant-Soil-Microbial Systems. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v.10, p.63-121, 1991.
- Souza Filho, A.P.S., Alves, S.M., Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais. EMBRAPA Amazônia Oriental, Belém-PA, 2002.
- Steinsiek, J.W., Oliver, L., Collins, F.C., Allelopathic Potential of Wheat (*Triticum aestivum*) Straw on Selected Weed Species. *Weed Science*, v.30, p.495-497, 1982.

- Stickney, J.S., Hoy, P.R., Toxic Action of Black Walnut. *Transactions of the Wisconsin State Horticultural Science*, v.11, p.166-167, 1881.
- Szczepanski, A.J., Allelopathy as a Mean of Biological of Control of Water Weeds. *Aquatic Botany*, v.3, p.193-197, 1977.
- Vaitsman, H., Perigo: remédios. *O Globo*, Rio de Janeiro, 20 ago. 1995. *Jornal da Família*, p.1-2.
- Veiga Junior, V.F., Pinto, A.C., Maciel, M. A.M., Plantas Mediciniais: cura segura?. *Química Nova*, v.28, n.3, p.519-528, 2005.
- Yoshikawa, M., Shimada, H., Nishida, N., Li, Y., Toguchida, I., Yamahara, J., Matsuda H., Antidiabetic Principles of Natural Medicines. II: Aldore redutase and α -Glucosidase Inhibitors From Brazilian Natural Medicines, The Leaves of *Myrcia multiflora* DC. (Myrtaceae): Struture of Myrciacitrins I and II and Myrciphenones A and B. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* v.46, n.1, p.113-119, 1998.
- Yoshikawa, M., Matsuda, H., Nishida, N., Antidiabetic Principles of Natural Medicines. V.1) Aldose Reductase Inhibitors from *Myrcia multiflora* DC. (2): Structures of Myrciacitrins III, IV, and V. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* v.50, n.3, p.429-431, 2002.

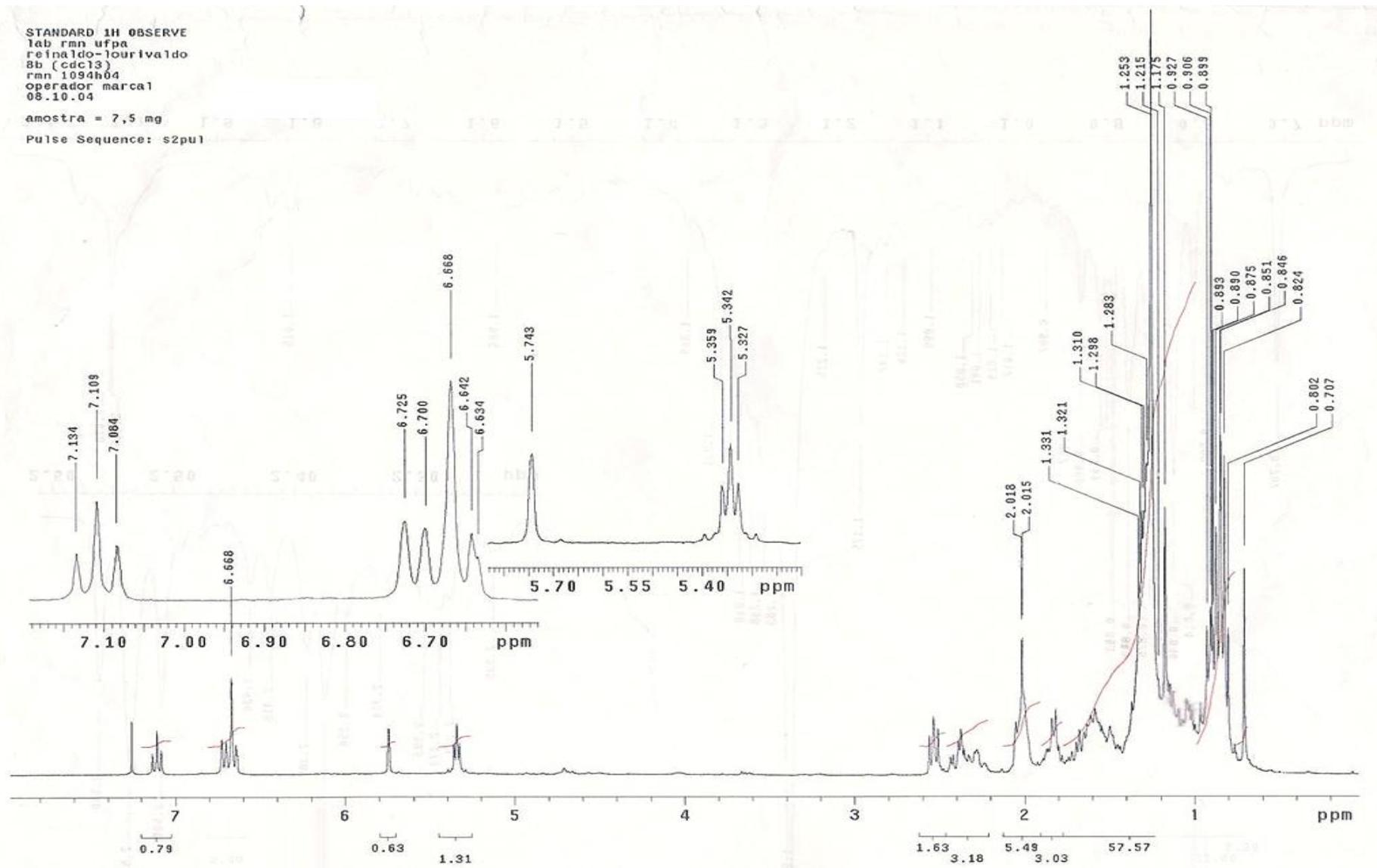


Figura 22 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de S_1 e S_2 .

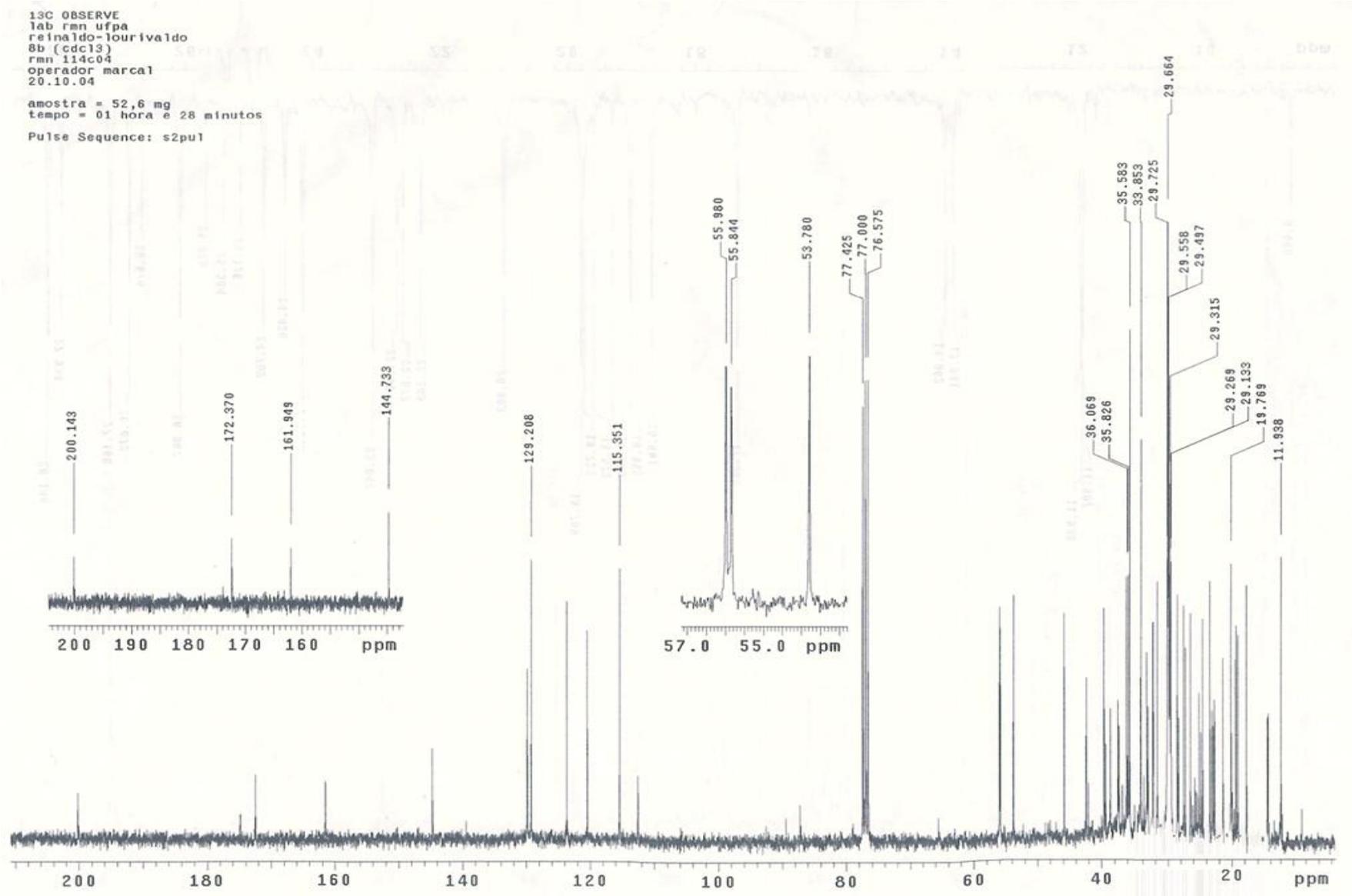


Figura 23 – Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) de S₁ e S₂.

13C OBSERVE
lab rmn ufpa
reinaldo-louriv
8b (cdc13)
rmn 114dept04
operador marcal
20.10.04

amostra = 52,6 g
tempo = 01 hora e 30 minutos
Pulse Sequence: dept

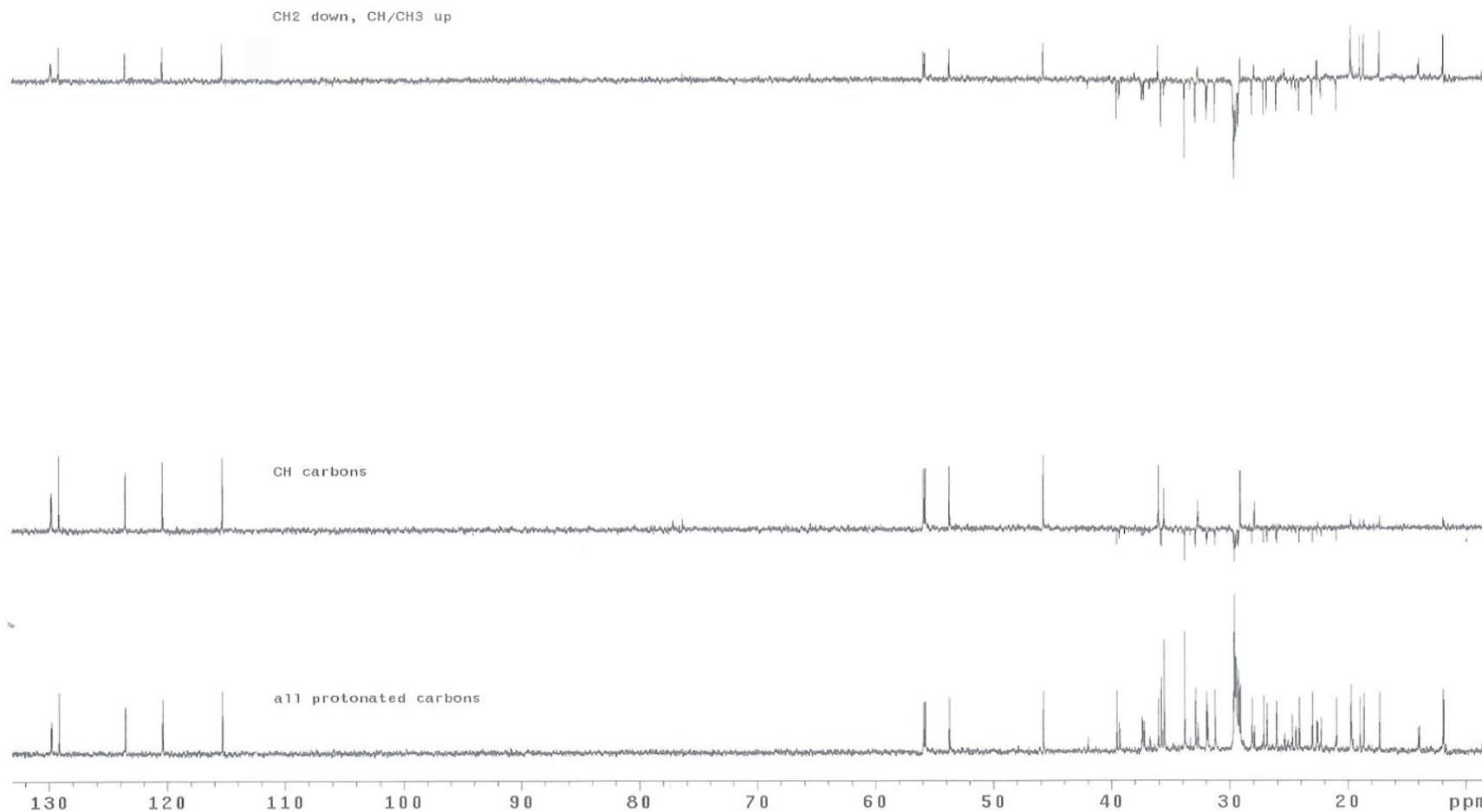


Figura 24 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT (75 MHz, CDCl_3) de S_1 e S_2 .

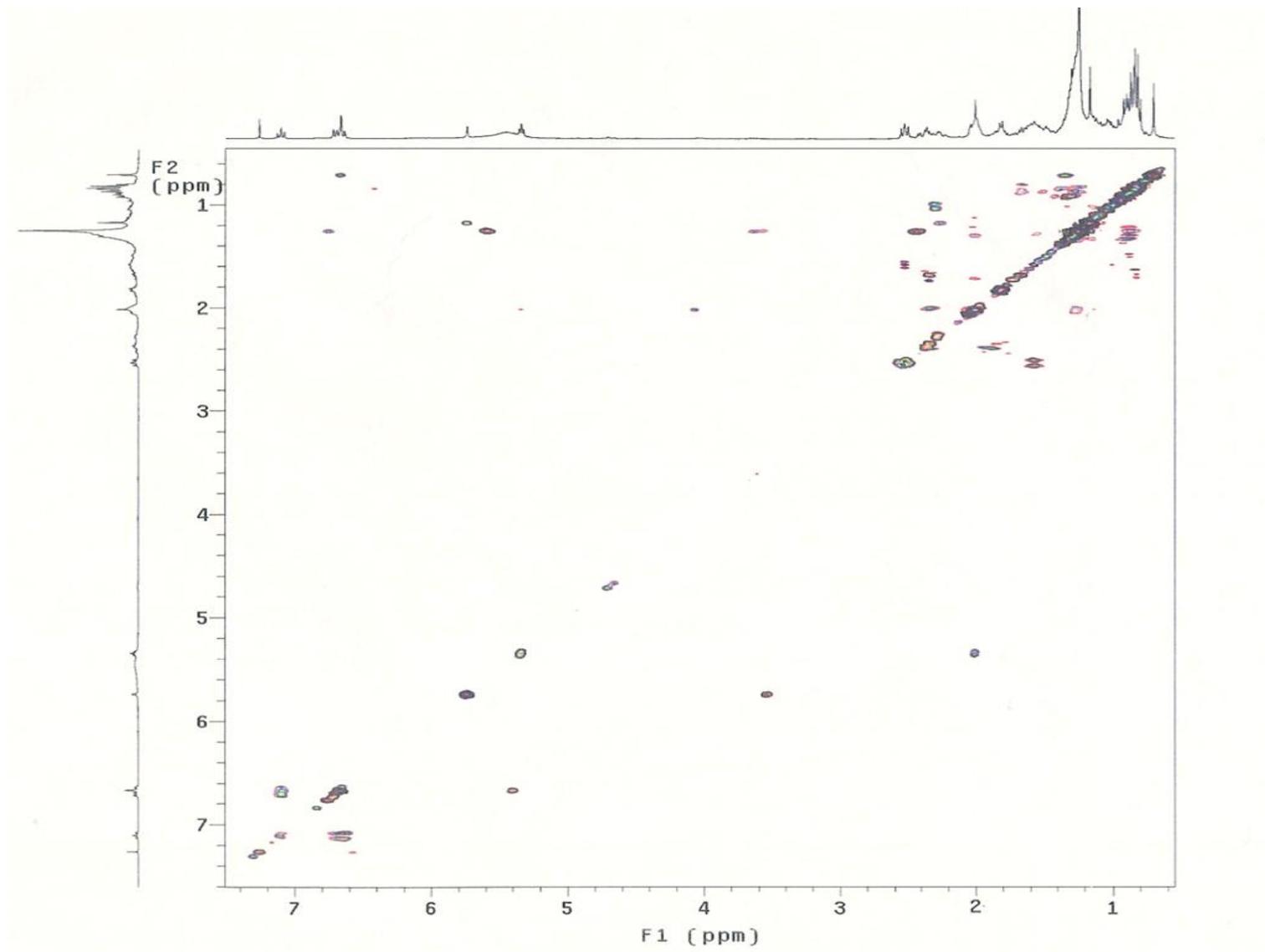


Figura 25 – Espectro de COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3) de S_1 e S_2 .

LAB RMN UFPA
REINALDO-LOURIVALDO
P1M1 (CDCL3)
RMN 787H00
OPERADOR MARCAL
05.12.00

AMOSTRA= 12,4 MG

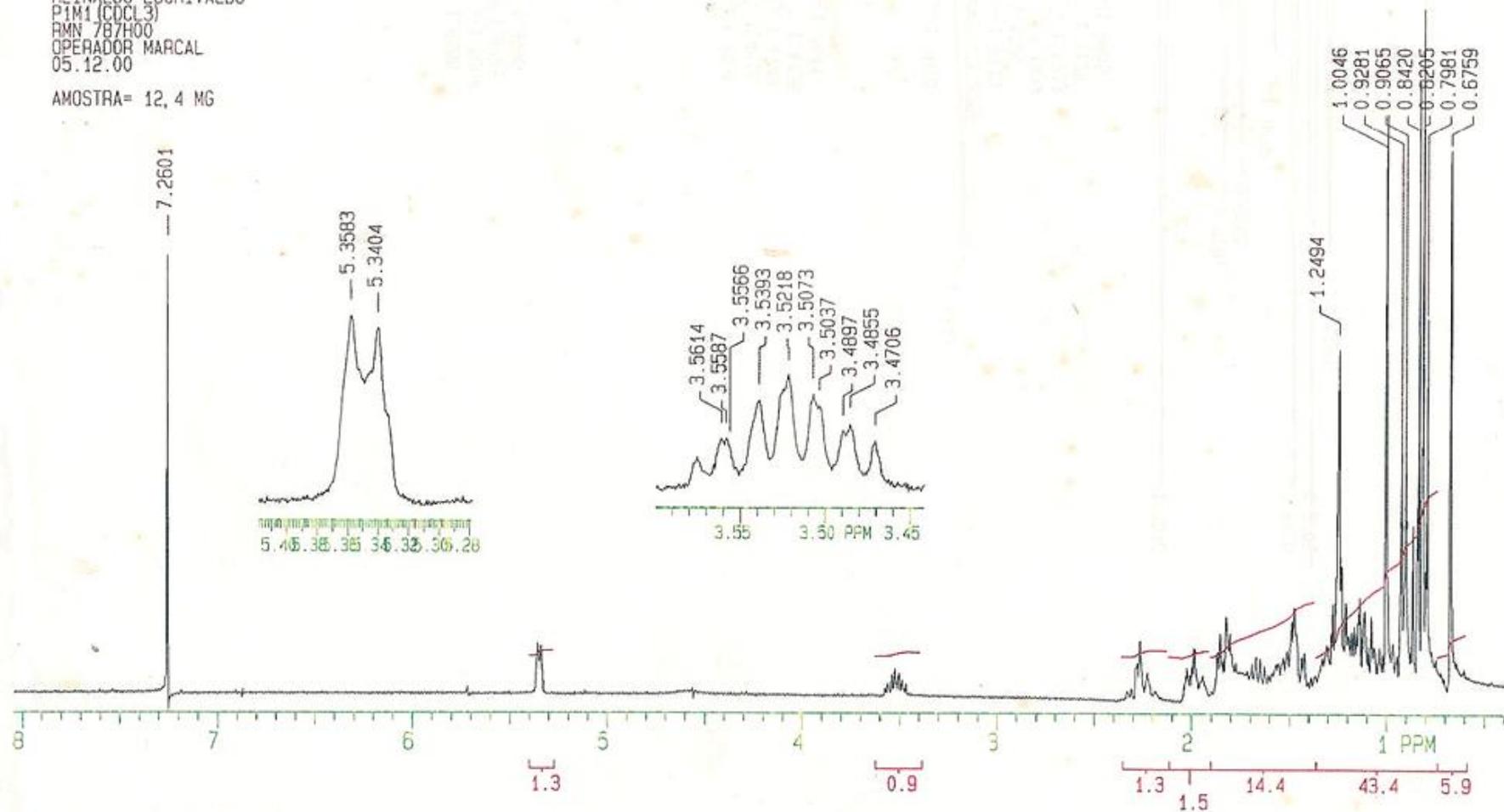


Figura 26 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de S_3 .

LAB RMN UFPA
REINALDO-LOURIVALDO
P1M1 (CDCl₃)
RMN 523DEPT01
OPERADOR MARCAL
05.06.01

AMOSTRA= 12,0 MG

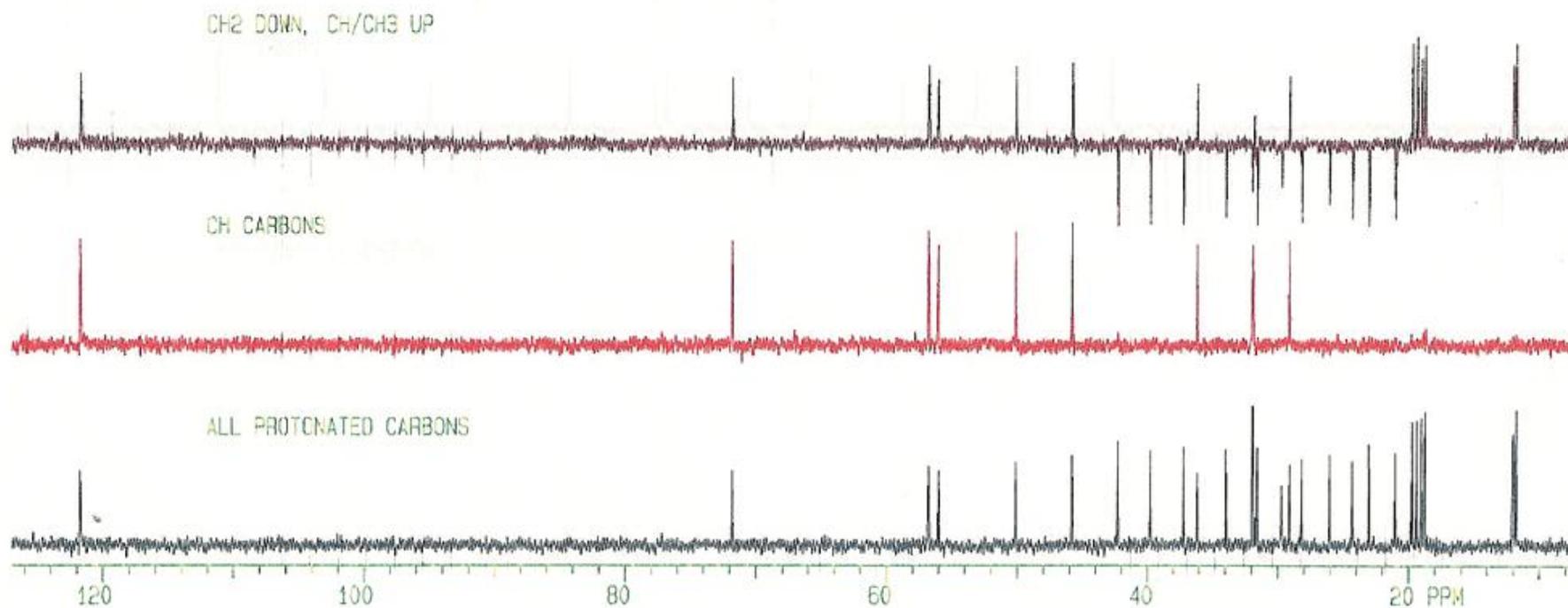


Figura 28 – Espectro de RMN ¹³C DEPT (75 MHz, CDCl₃) de S₃.

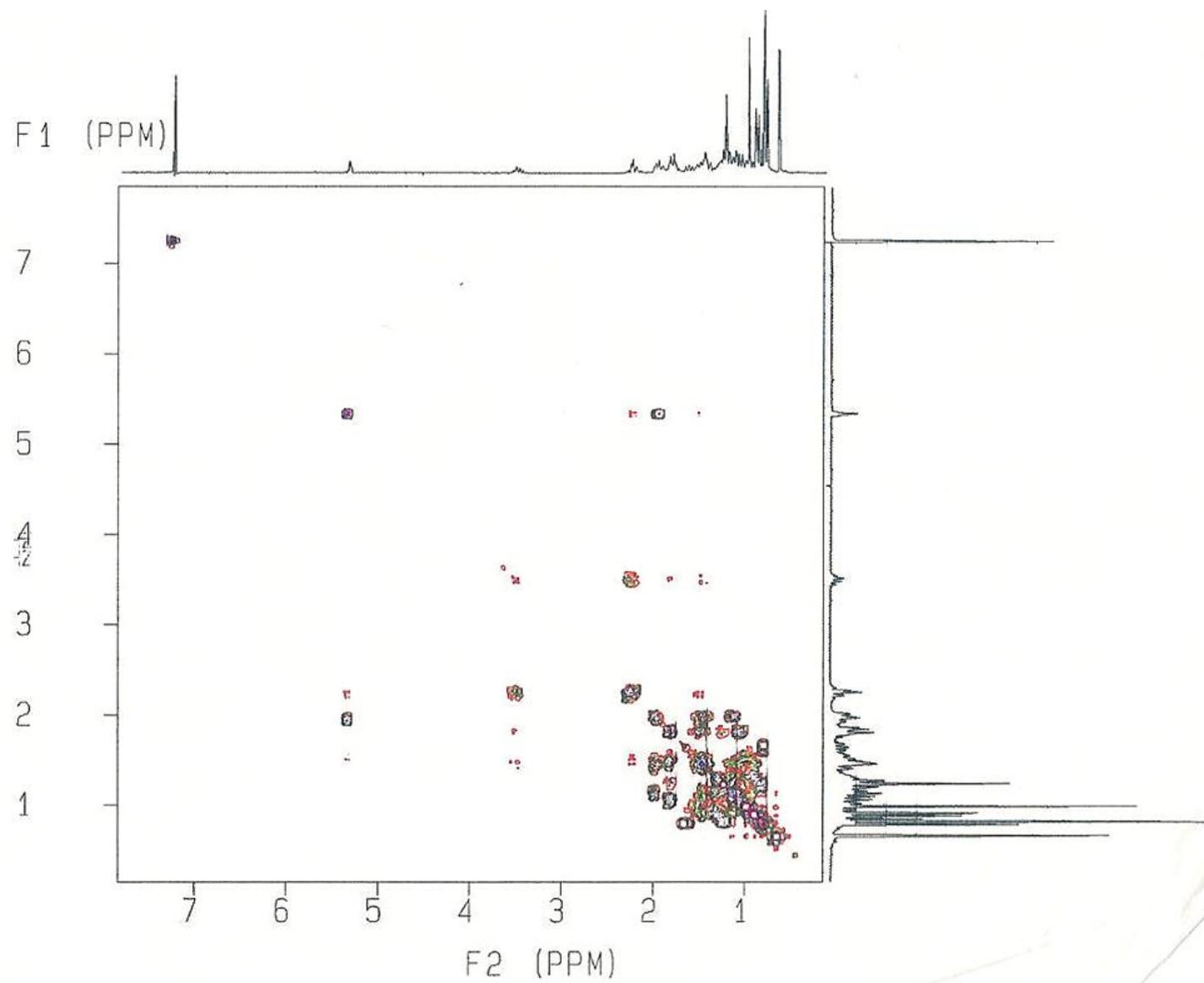


Figura 29 – Espectro de COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3) de S_3 .

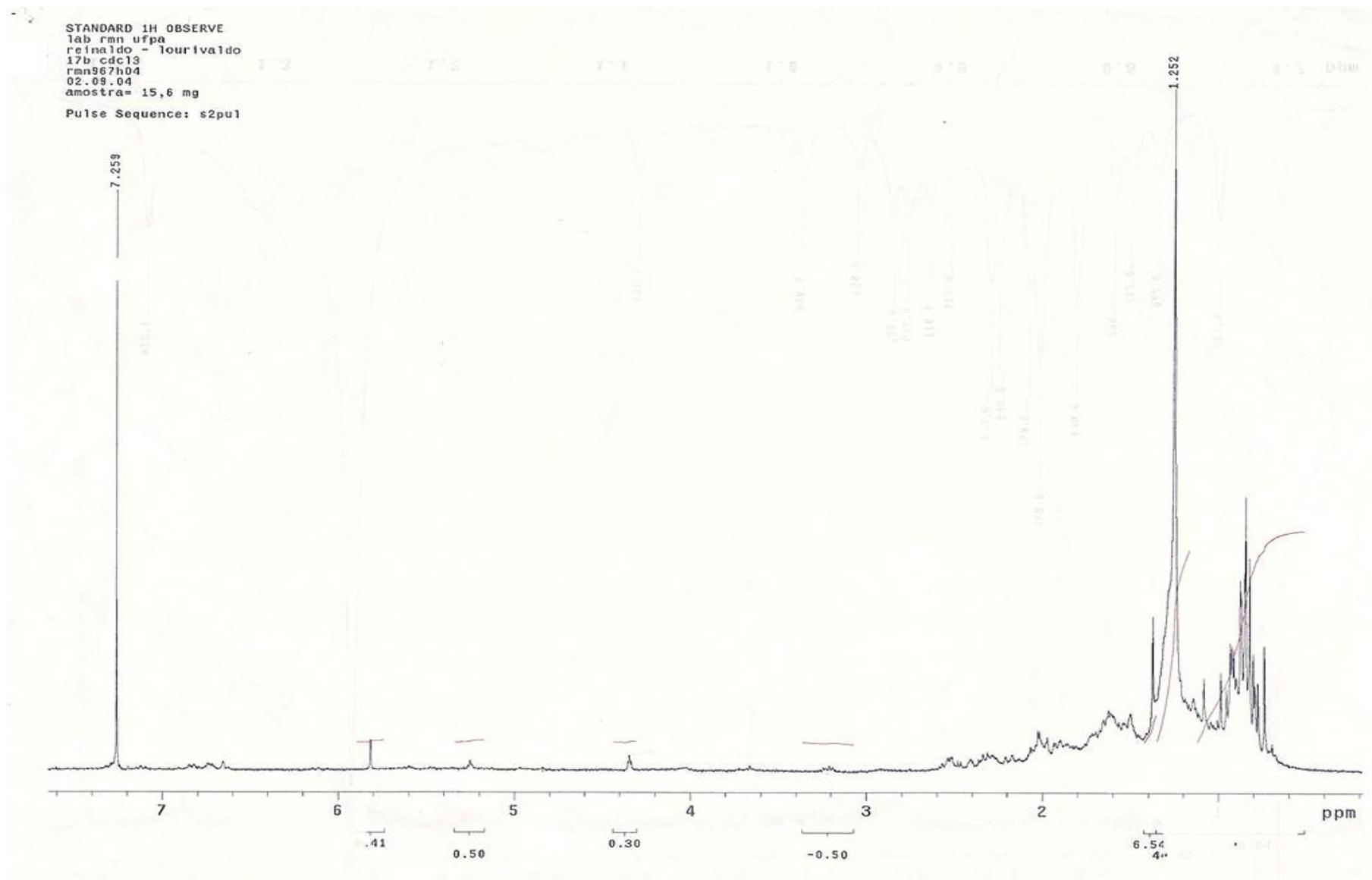


Figura 30 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de S_4 e S_5 .

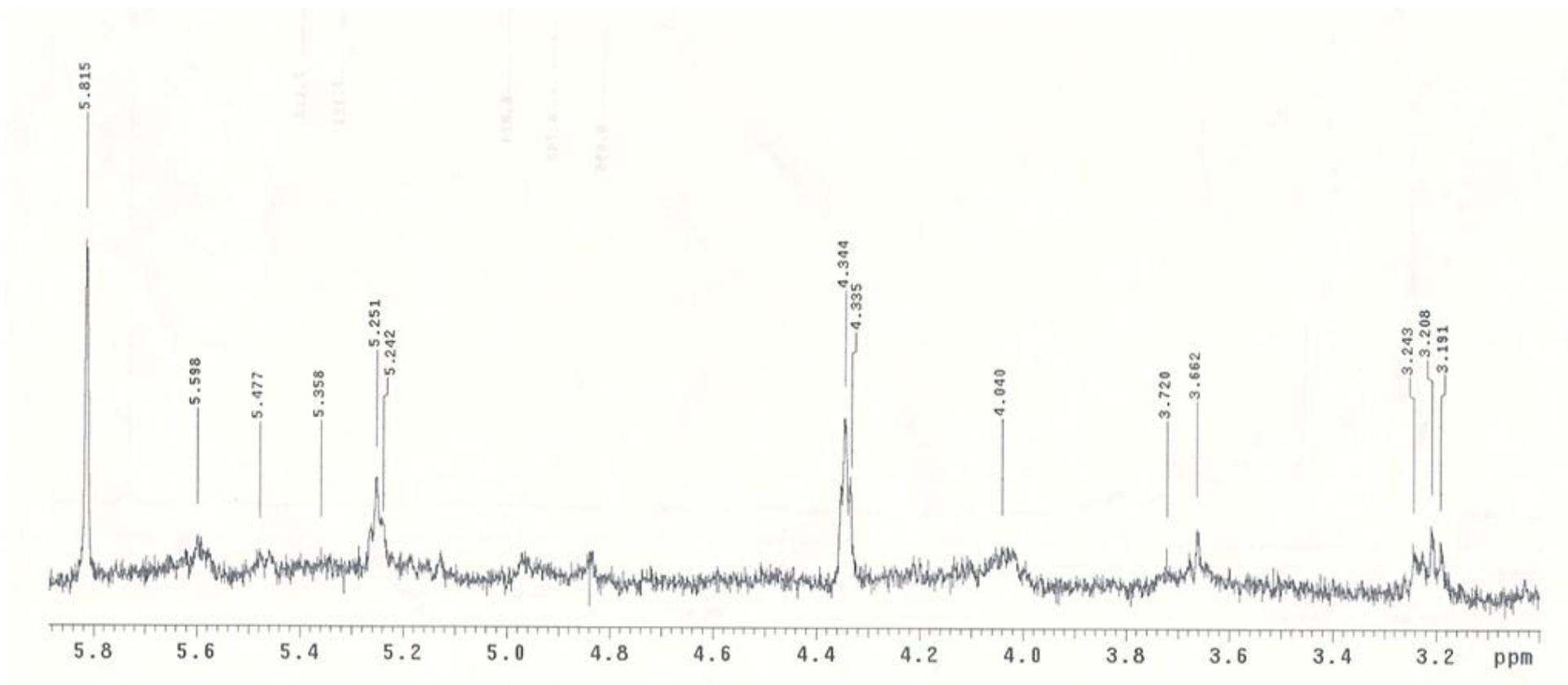


Figura 31 – Expansão do espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de S_4 e S_5 .

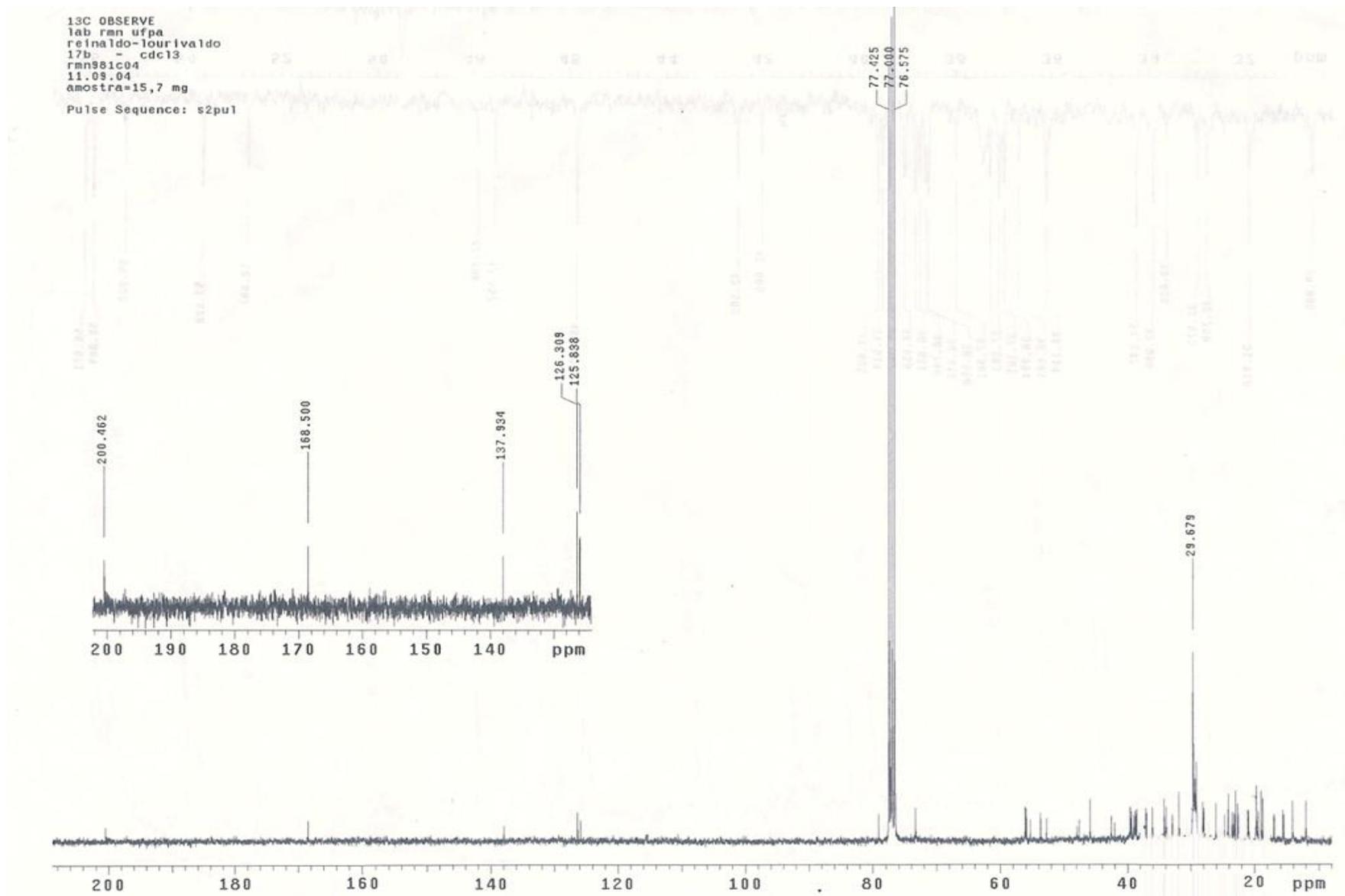


Figura 32 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de S_4 e S_5 .

13C OBSERVE
lab rmn ufpa
reinaldo-louriv.
17b - cdcl3
rmn81dept04
11.09.04
amostra=15,7 mg
Pulse Sequence: *zgpg30*

CH2 down, CH/CH3 up

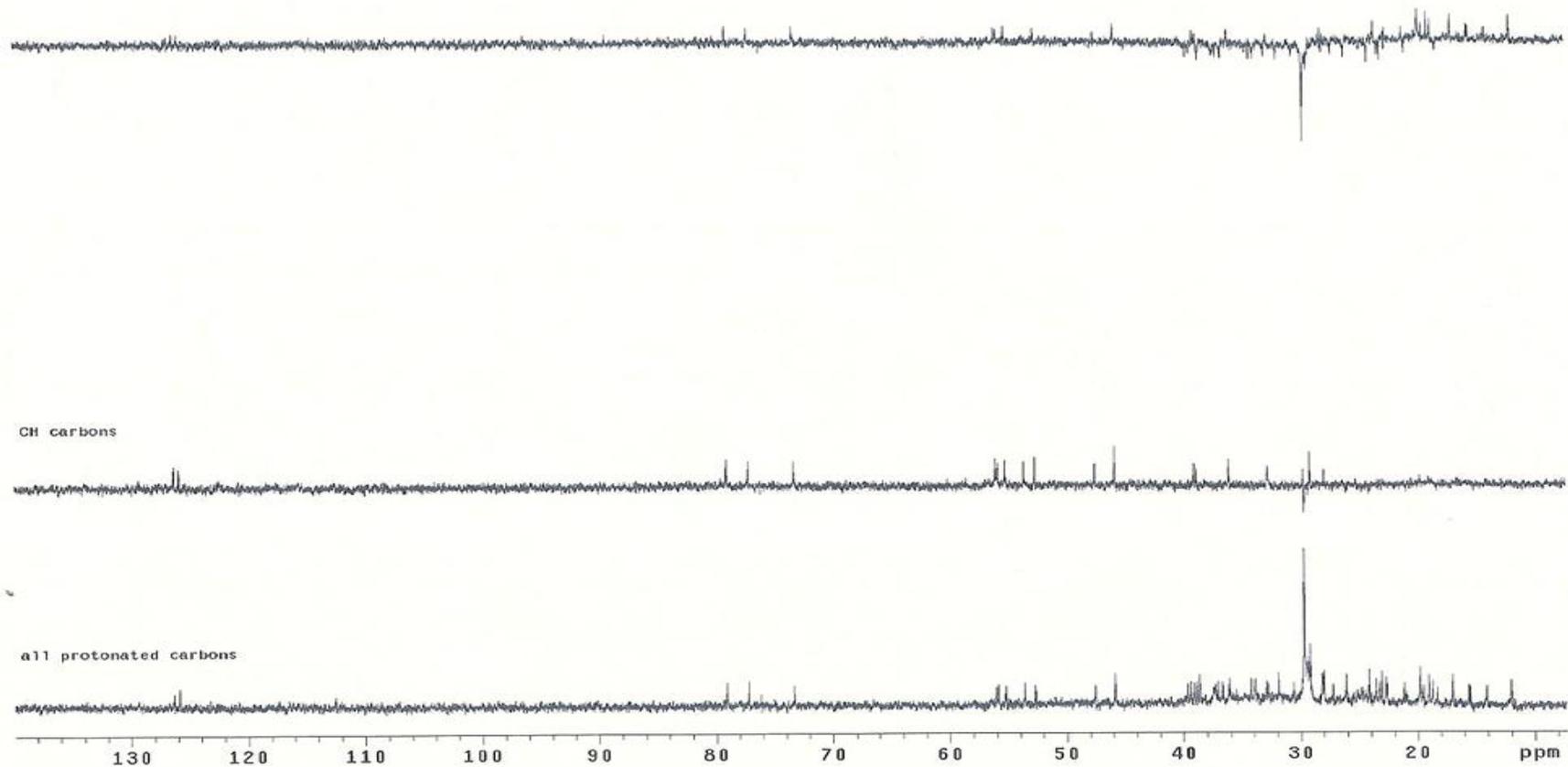


Figura 33 – Espectro de RMN ¹³C DEPT (75 MHz, CDCl₃) de S₄ e S₅.

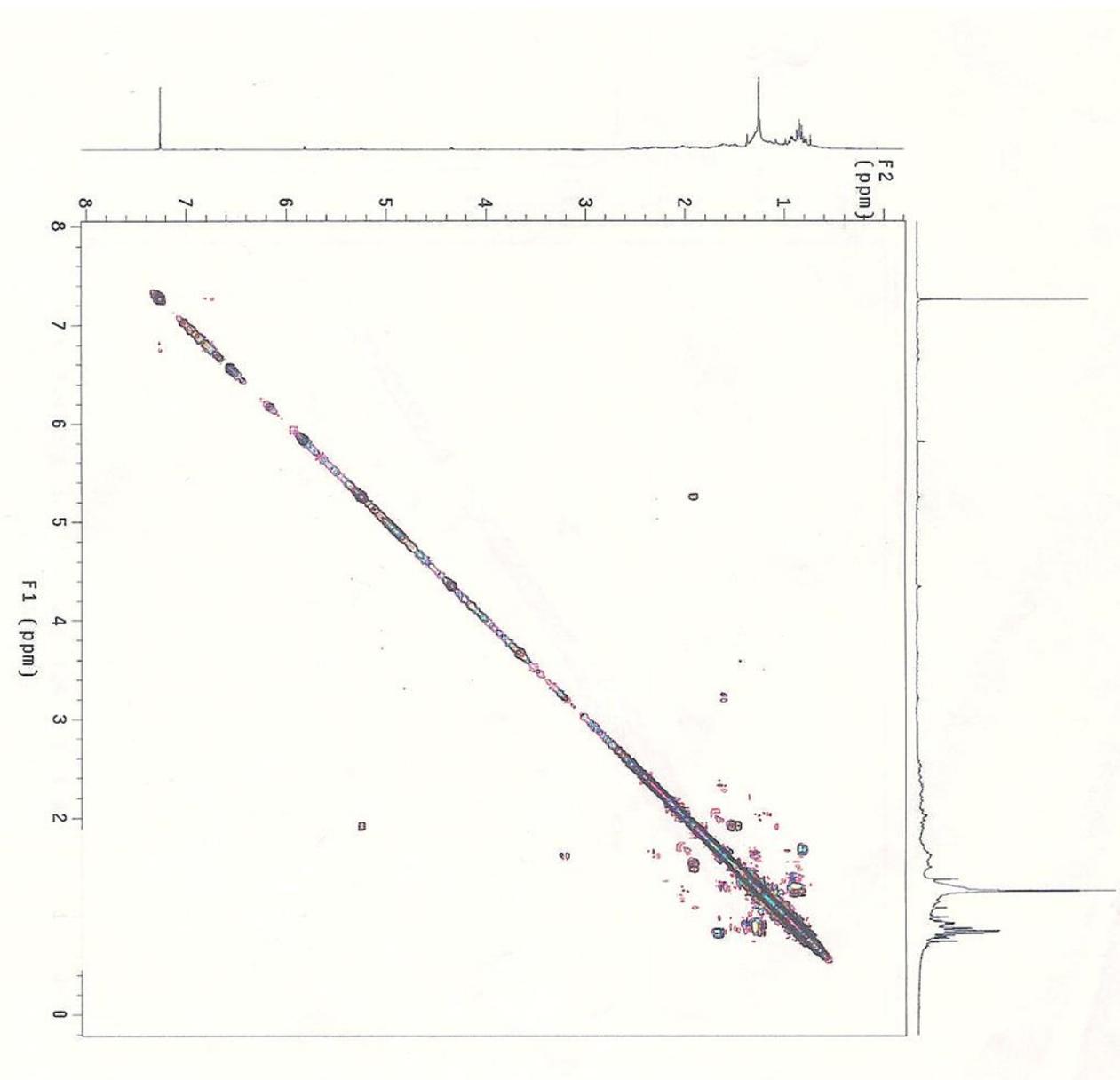


Figura 34 – Espectro de COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3) de S_4 e S_5 .

STANDARD IN OBSERVE
lab ran ufpa
reinaldo-lourivaldo
p16-4b (cd3od)
ran 111485
operador marcal
03.10.05

amostra = 15,0 mg

Pulse Sequence: s2pu1

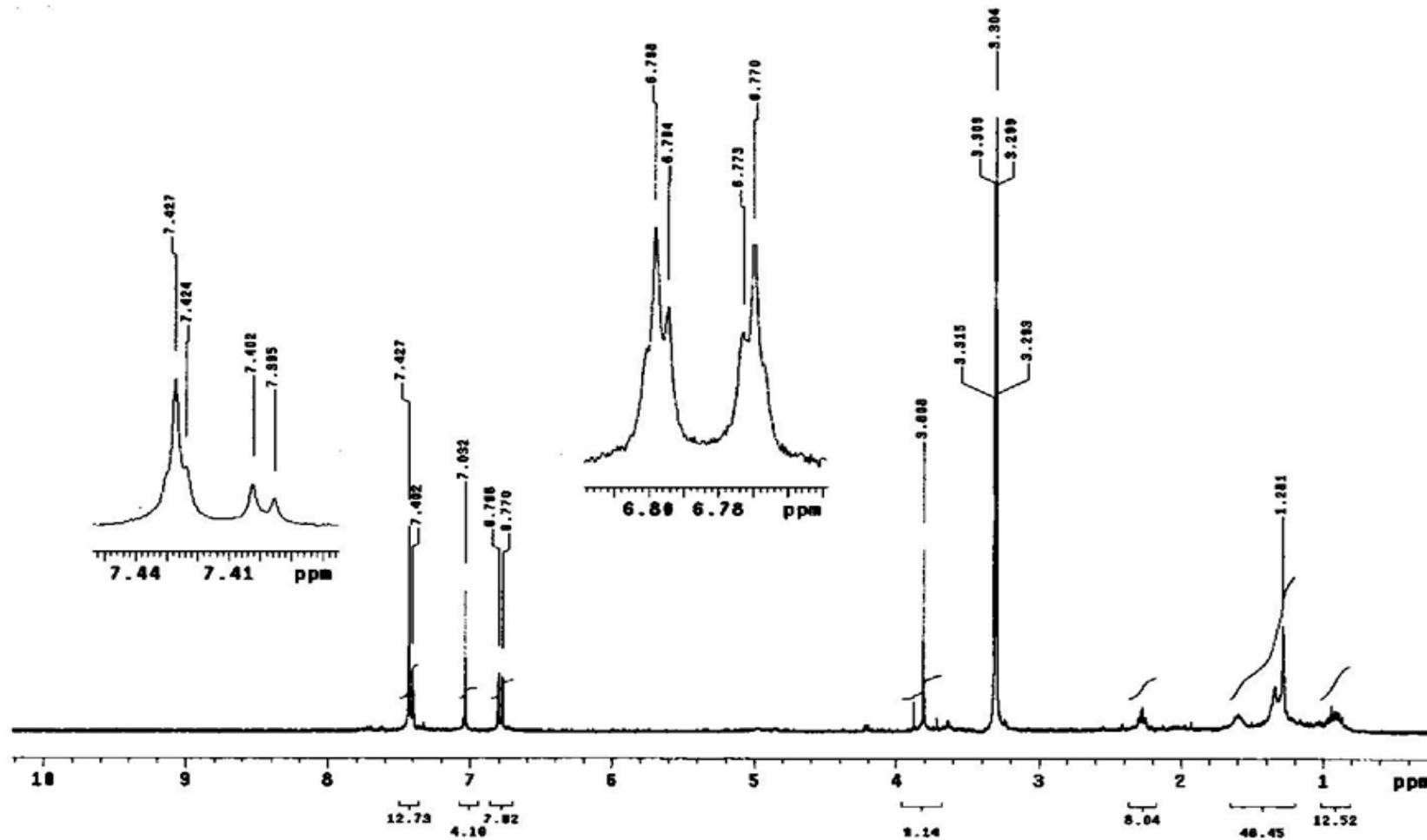


Figura 35 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD) de S_6 e S_7 .

13C OBSERVE
lab rmn ufpa
reinaldo- lourivaldo
p16-4b cd3od
rmn986c04
18.09.04
amostra= 13,7 mg
Pulse Sequence: s2pu1

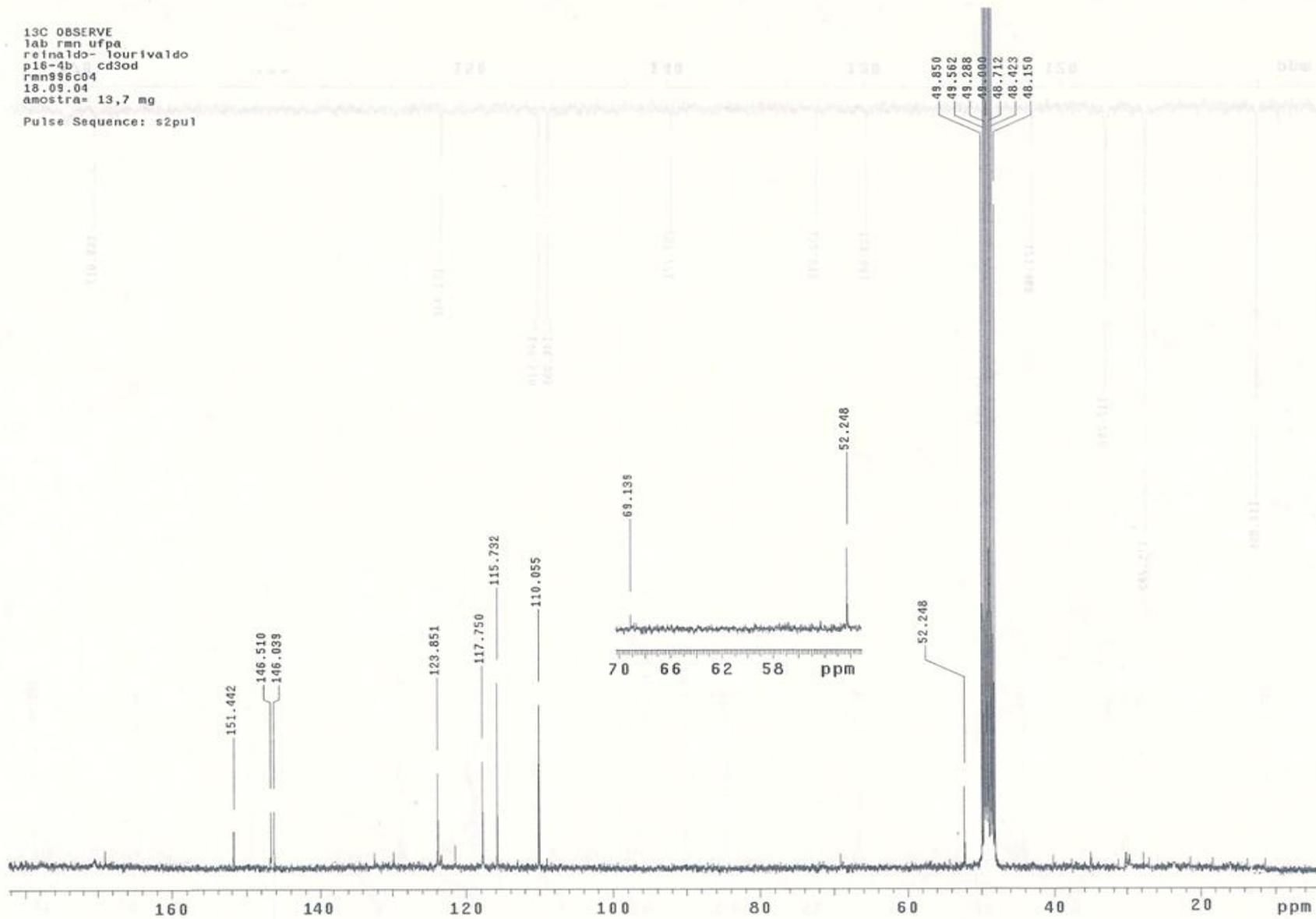


Figura 36 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) de S_6 e S_7 .

1201000100
lab imn ufpa
reinaldo - lourivaldo
rmn998dept04
18.09.04
amostra= 13,7 m
Pulse Sequence: dept

CH2 down, CH/CH3 up



CH carbons



all protonated carbons

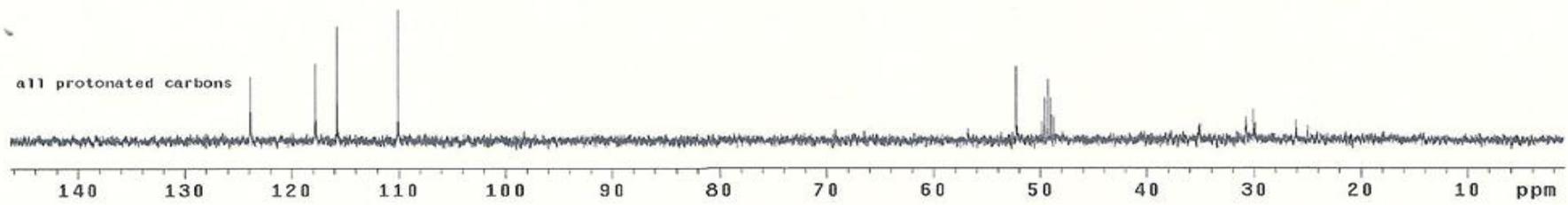


Figura 37 – Espectro de RMN ¹³C DEPT (75 MHz, CD₃OD) de S₆ e S₇.

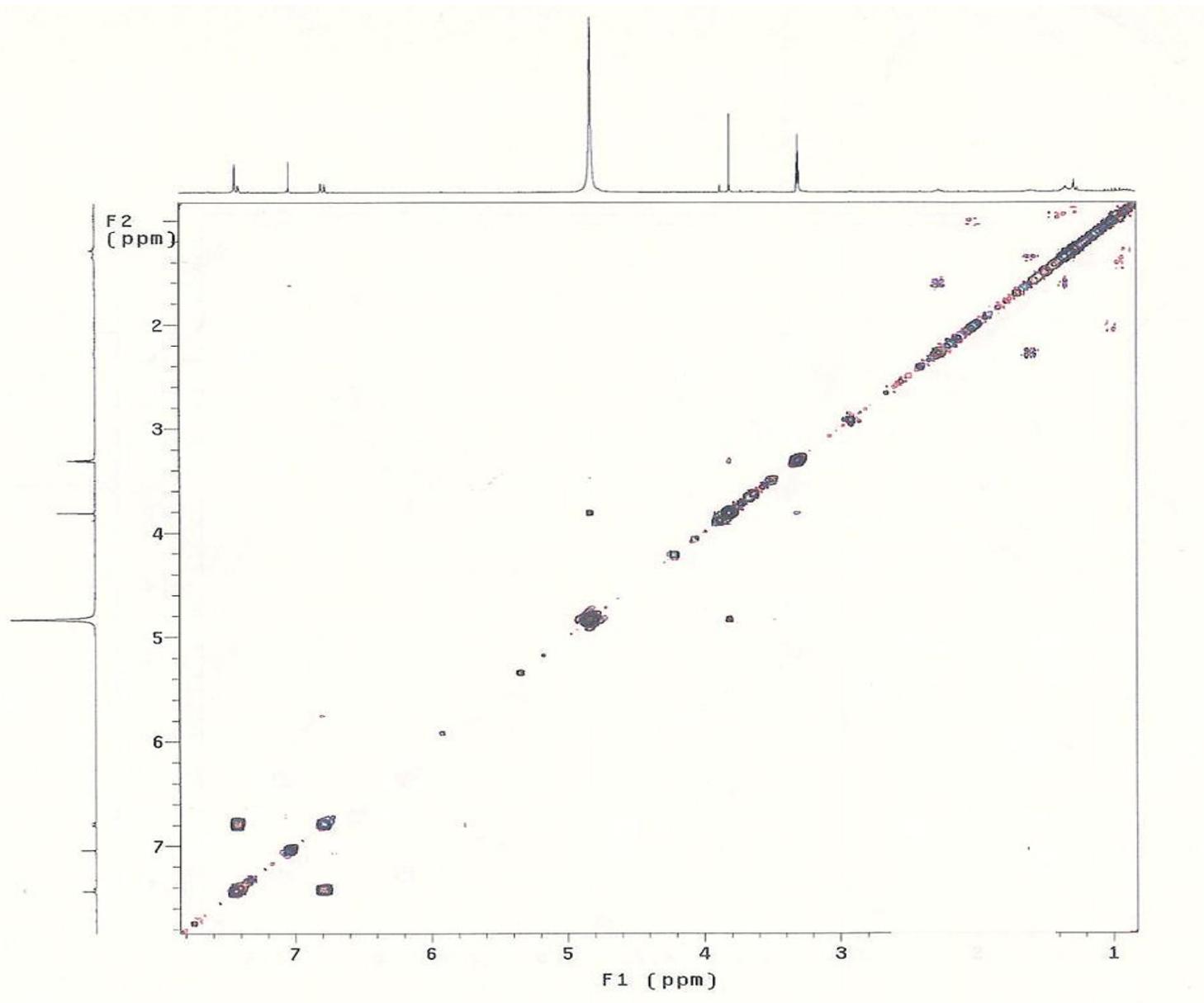


Figura 38 – Espectro de COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (300 MHz, CD_3OD) de S_6 e S_7 .

STANDARD 1H OBS
lab rmn ufpa
reinaldo-lourival
p17 - 3 acetona
rmn 950h04
operador marcal
27.08.04

amostra = 9,2 mg

Pulse Sequence: s2pu1

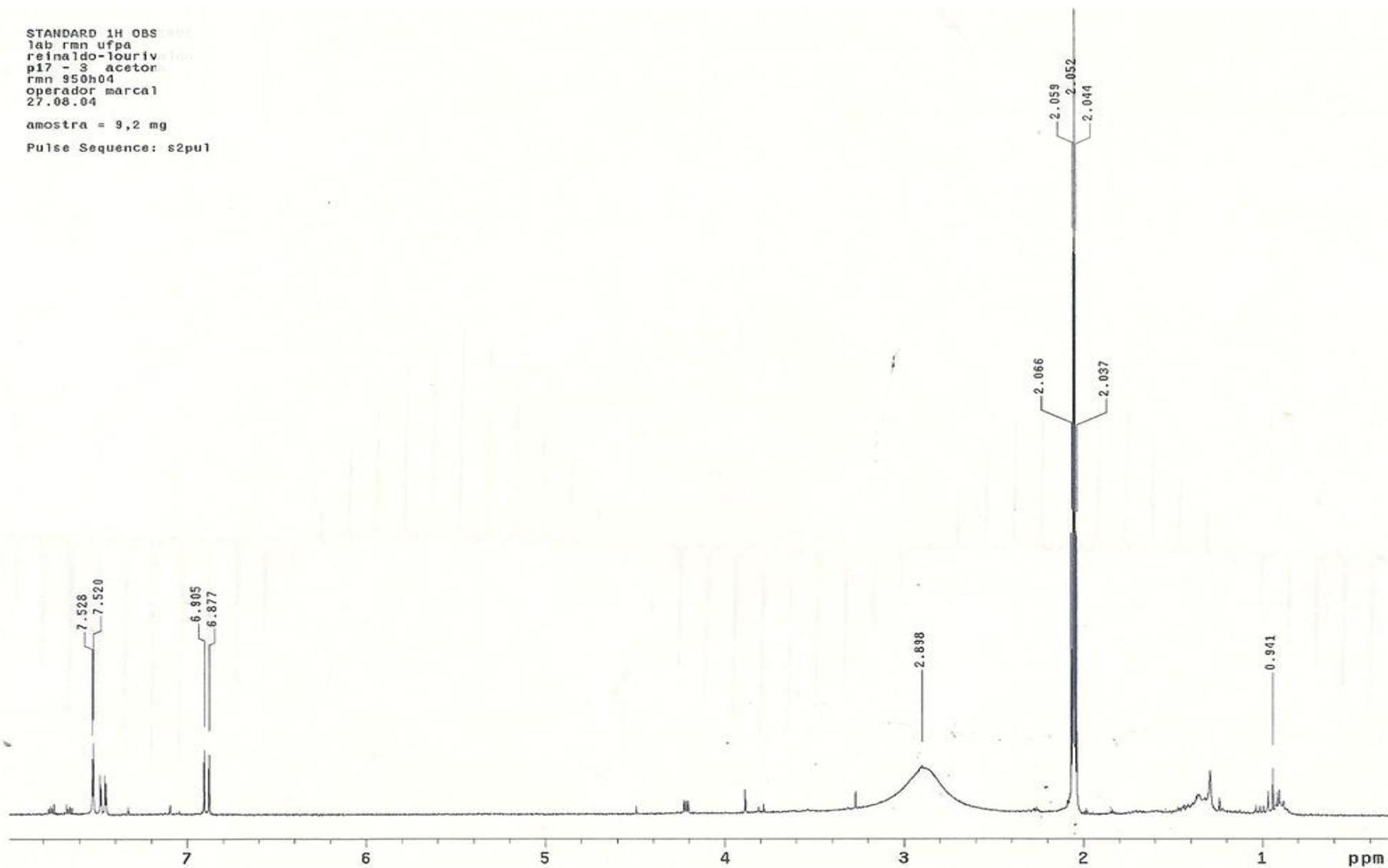


Figura 39 – Espectro de RMN ¹H (300 MHz, Acetona) de S₇.

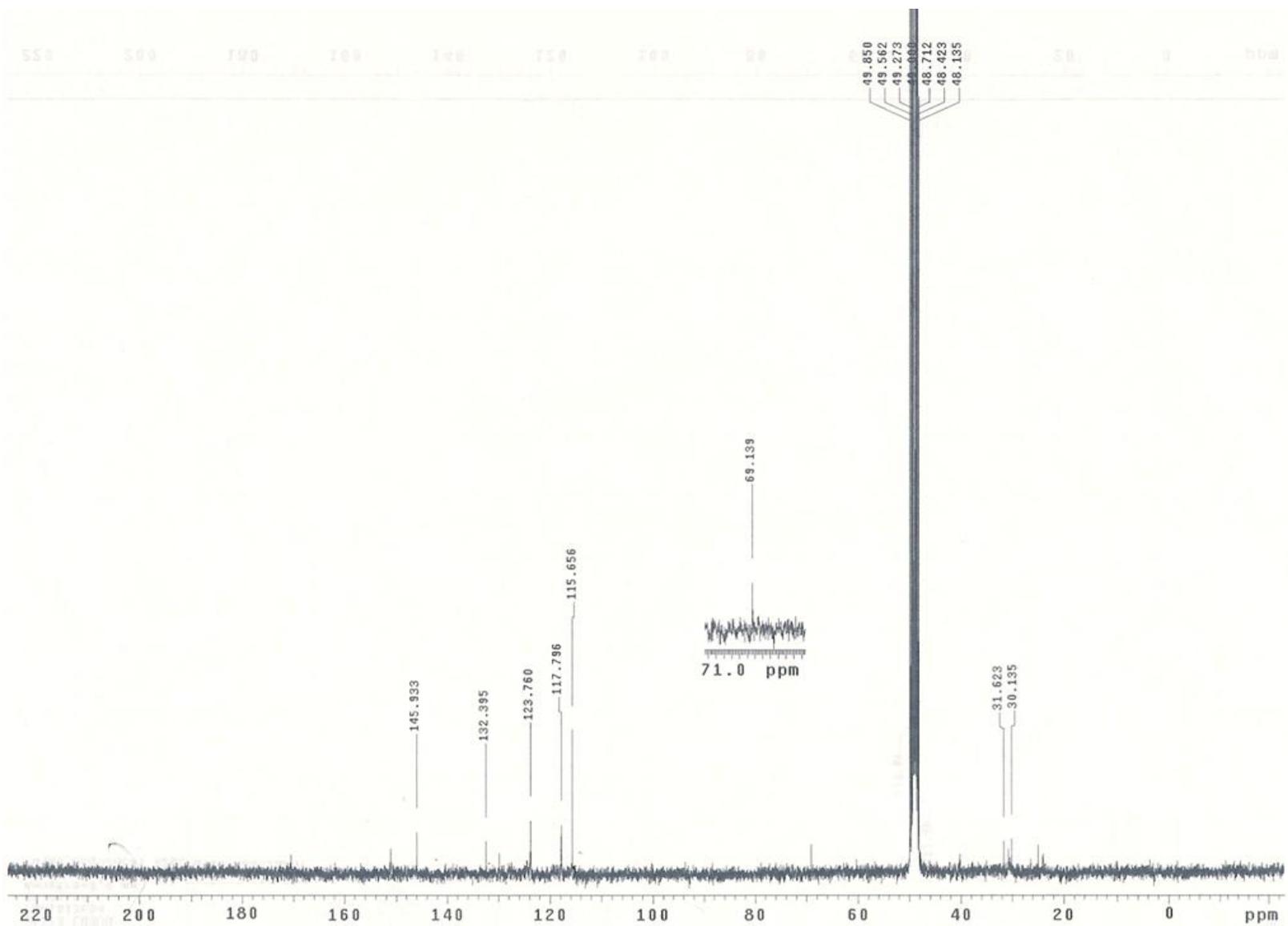


Figura 40 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) de S_7 .

13C OBSERVE
lab rmn ufpa
reinaldo - lourivaldo
p17-3 cd3od
rmn1013dept04
20.09.04
amostra=9,6 mg
Pulse Sequence: dept

CH2 down, CH/CH3 up



CH carbons



all protonated carbons

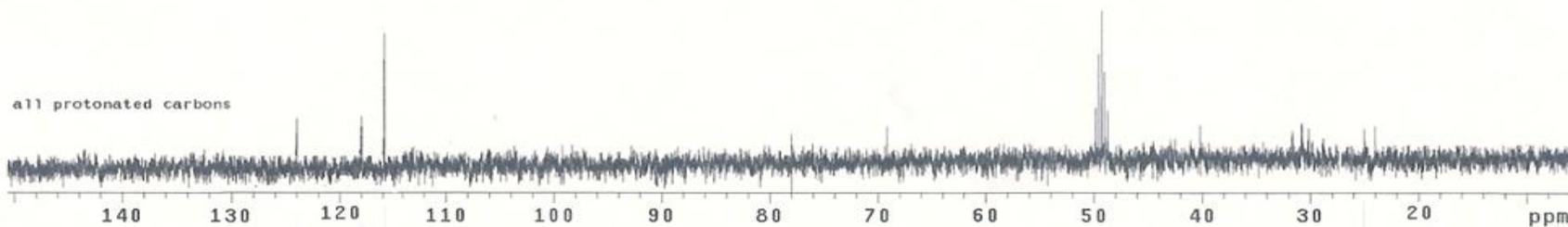


Figura 41 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT (75 MHz, CD_3OD) de S_7 .

STANDARD 1H OBSERVE
lab rmn ufpa
reinaldo-lourivaldo
p16 - 4b (acetona)
rmn 319h04
operador marca1
17.08.04

amostra = 13,7 mg

Pulse Sequence: s2pul

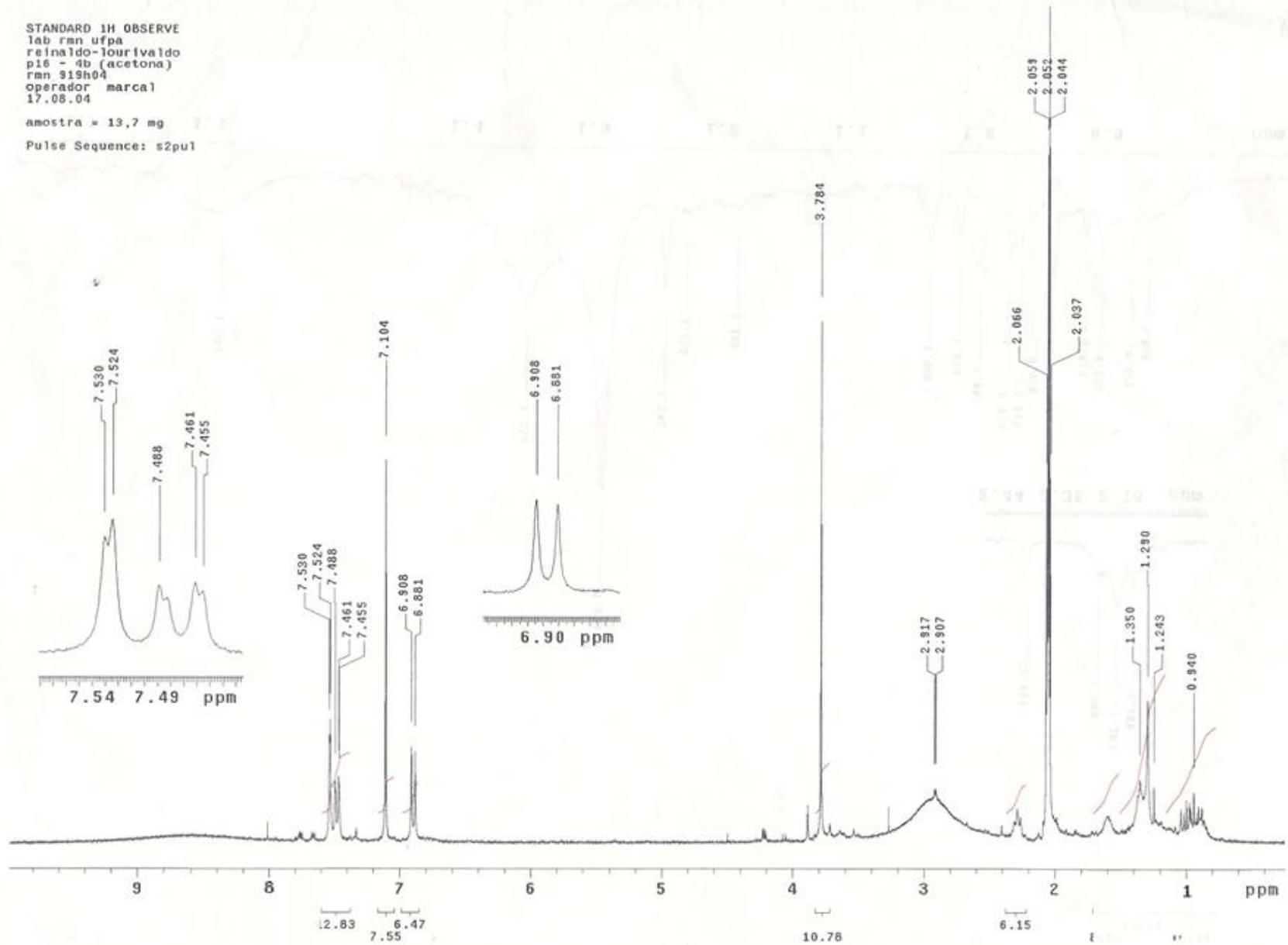


Figura 42 – Espectro de ¹H (300 MHz, Acetona) de S₆ e S₇.

STANDARD 1H OBSERVE
lab ren ufpa
reinaldo-lourivaldo
caa (metanol)
rmn 245h05
operador marcal
01.03.05
amostra = 15,6 mg
Pulse Sequence: s2pu1

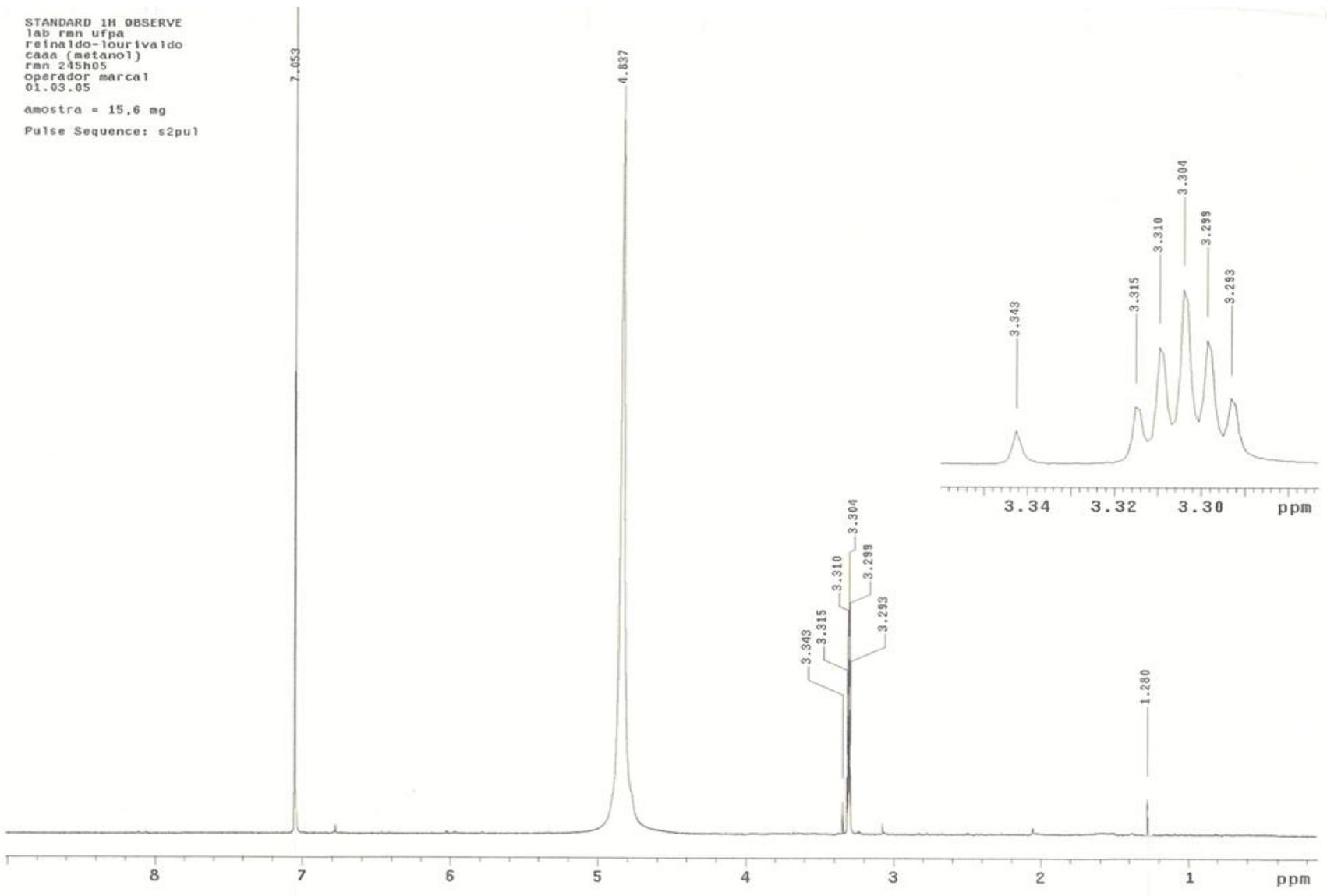


Figura 43 – Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) de S₈.

13C OBSERVE
lab rmn ufpa
reinaldo-lourivaldo
caa (cd3od)
rmn 290c05
operador marca1
21.03.05

amostra = 15,6 mg
tempo = 2 horas e 24 minutos
Pulse Sequence: s2pu1

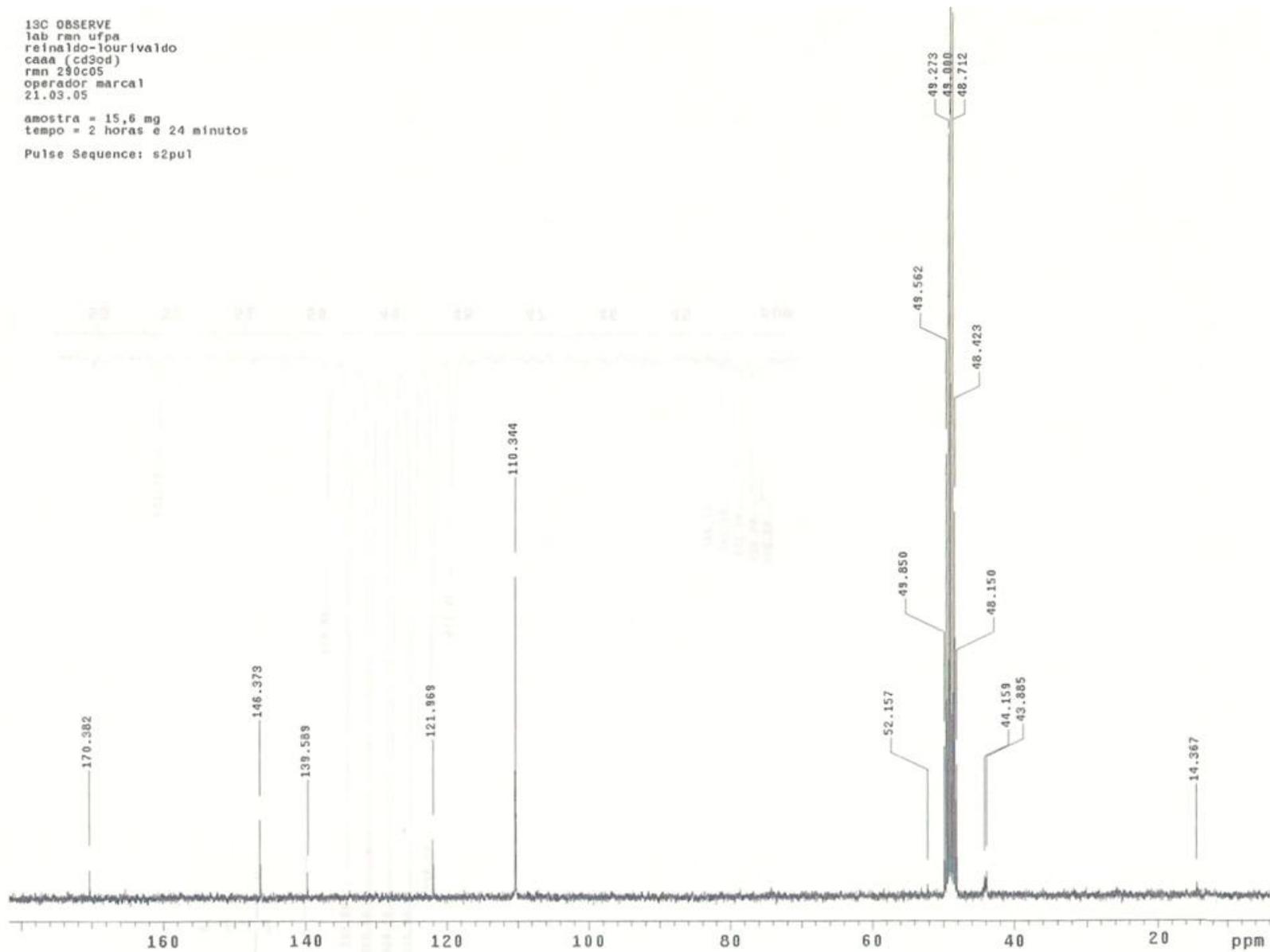


Figura 44 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) de S_8 .

13C DEPT
lab rmn uipa
reinaldo-louriv ..
caa (cd3od)
rmn 290dept05
operador marcal
21.03.05

amostra = 15,6
tempo = 01 hora

Pulse Sequence: dept

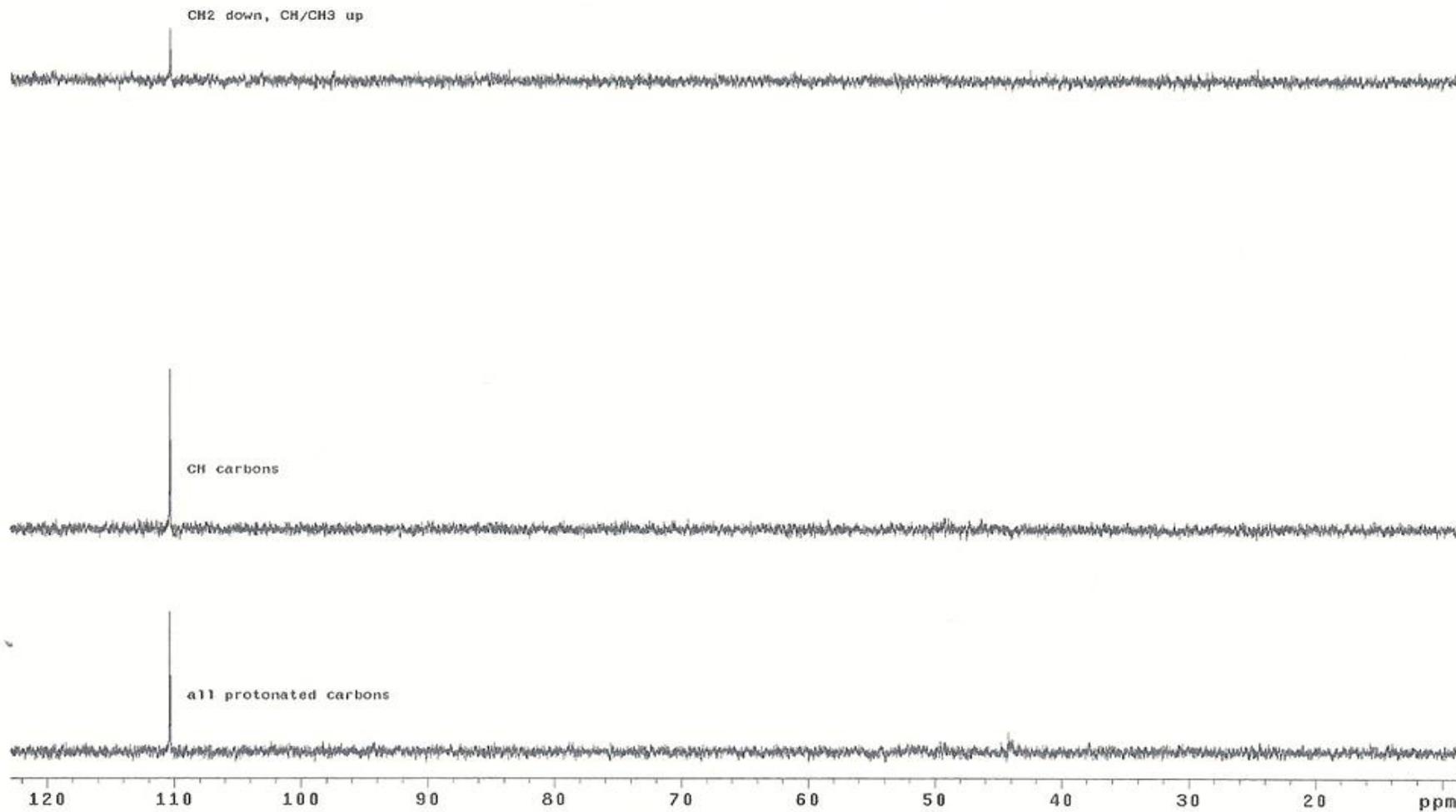


Figura 45 – Espectro de RMN ¹³C DEPT (75 MHz, CD₃OD) de S₈.

LAB RMN UFPA
 REINALDO-LOURIVALDO
 P10 M2 (CDCL3)
 RMN 289H01
 OPERADOR MARCAL
 19.03.01
 AMOSTRA= 7,5 MG

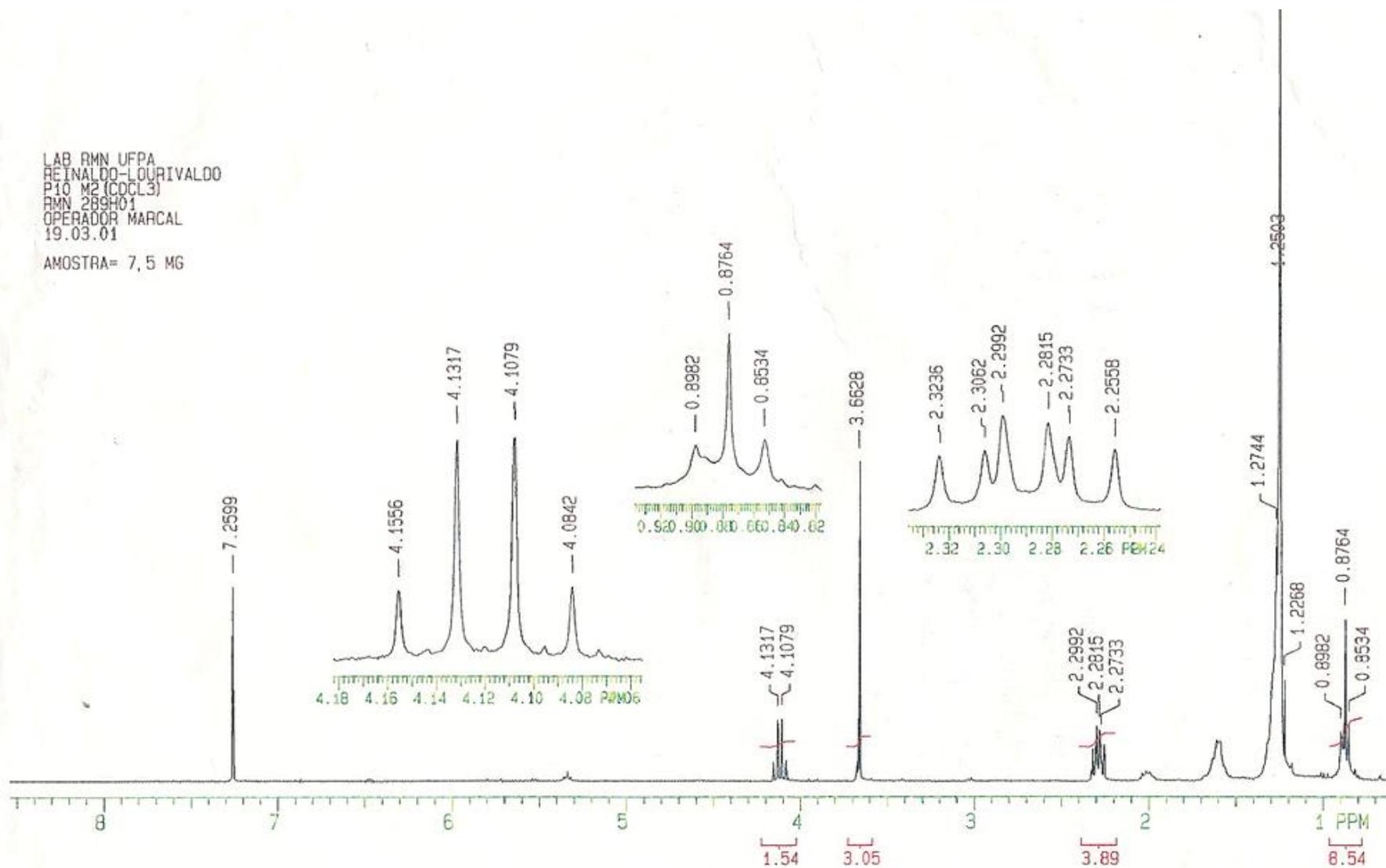


Figura 46 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de S_9 , S_{10} , S_{11} , S_{12} e S_{13} .

LAB RMN UFPA
REINALDO-LOURIVALDO
P10 M2 (CDCL3)
RMN 316C01
OPERADOR MARCAL
20.06.01

AMOSTRA= 7,5 MG

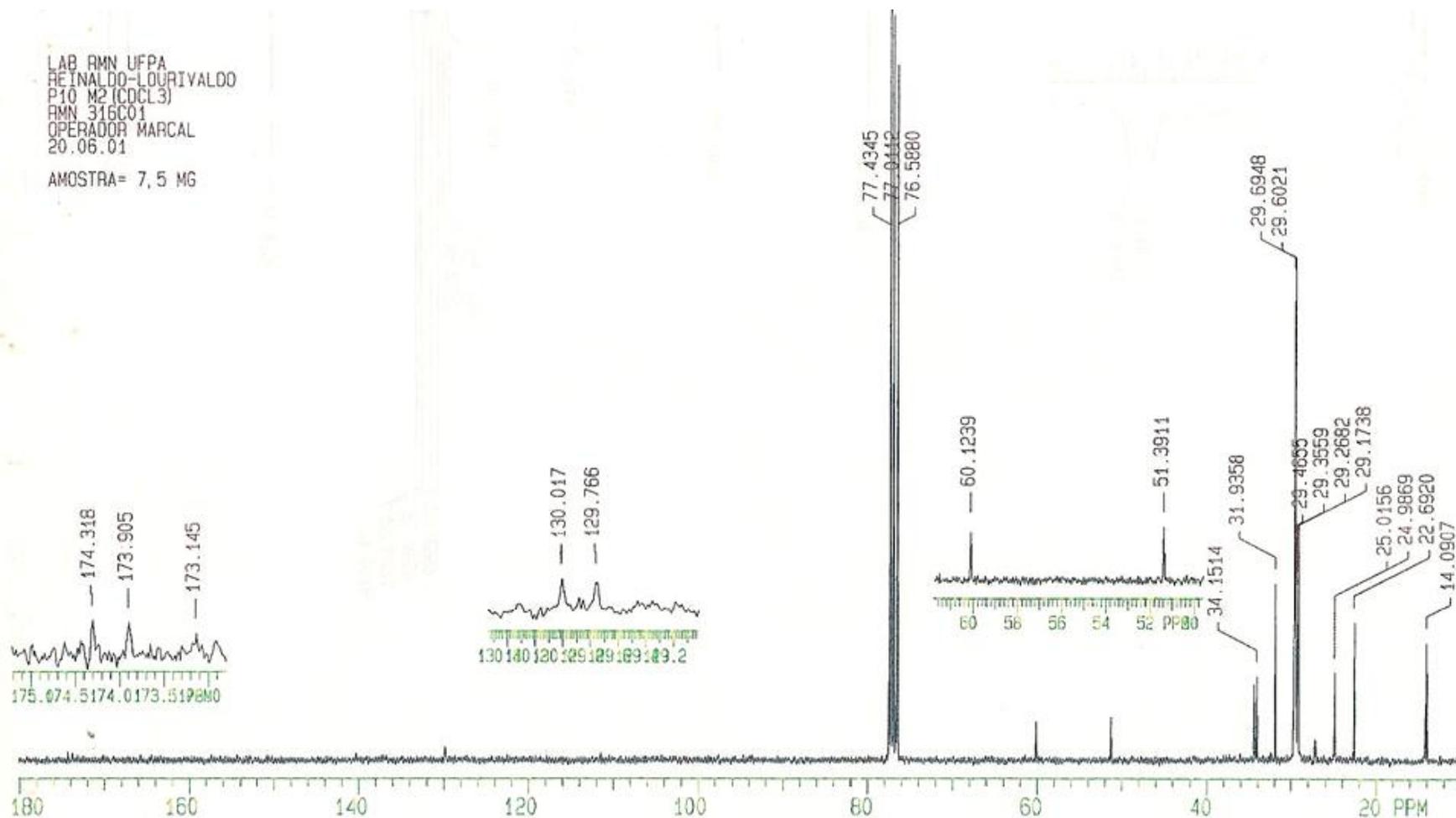


Figura 47 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de S_9 , S_{10} , S_{11} , S_{12} e S_{13} .

Scan 1117 from C:\SaturnWS\2000.40003.SMS

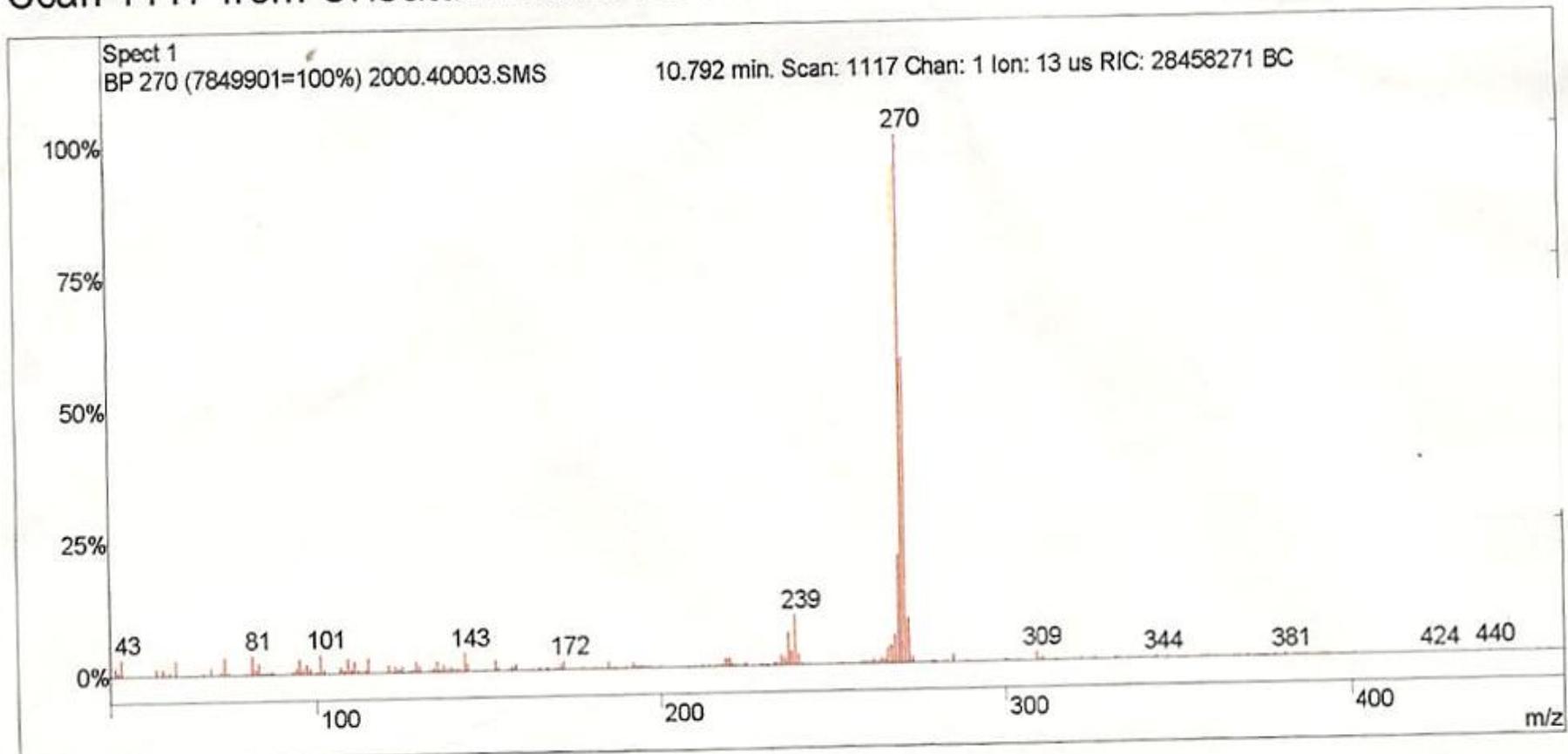


Figura 49 – Espectro de Massas de S₉.

Scan 1153 from C:\SaturnWS\2000.40003.SMS

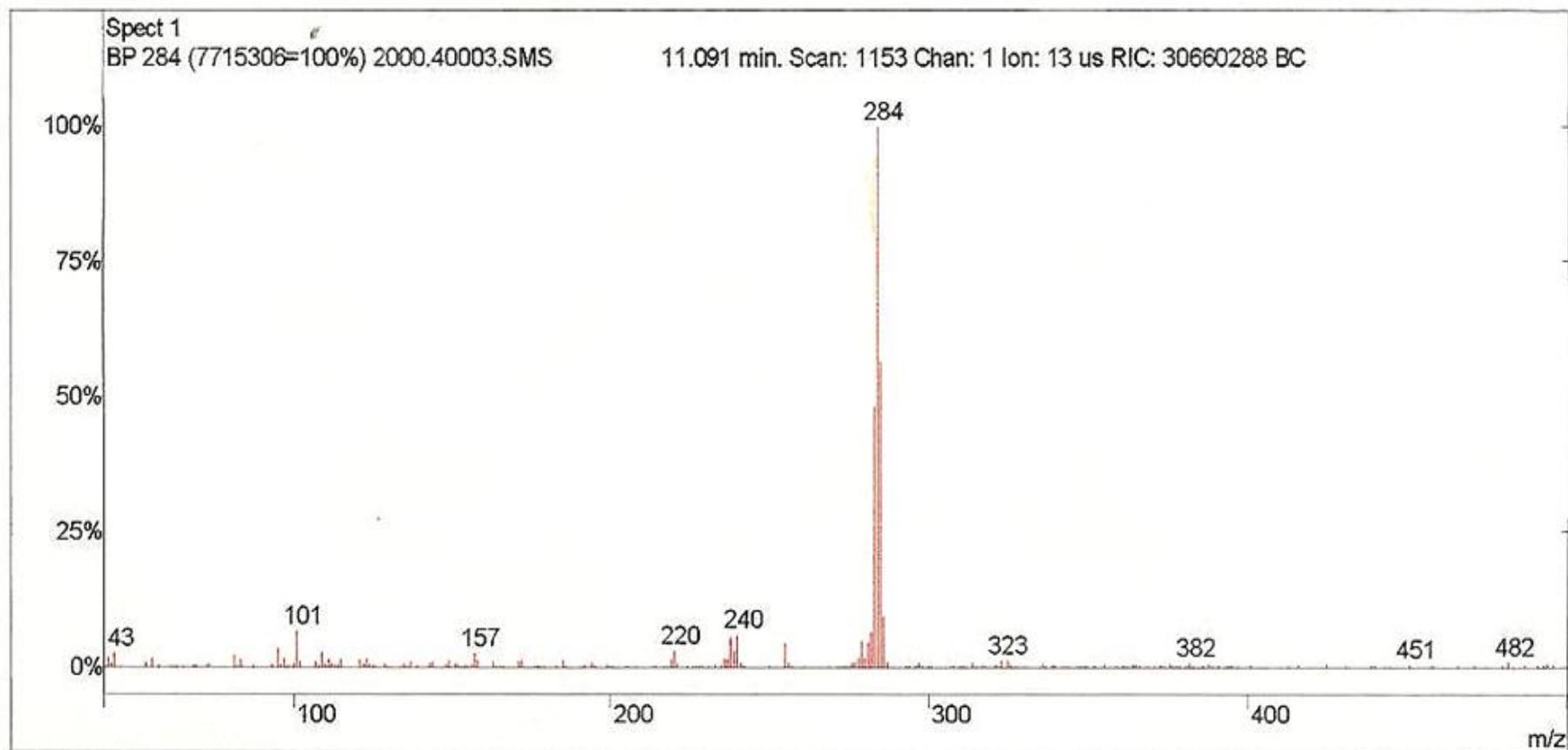


Figura 50 – Espectro de Massas de S₁₀.

Scan 1257 from C:\SaturnWS\2000.40003.SMS

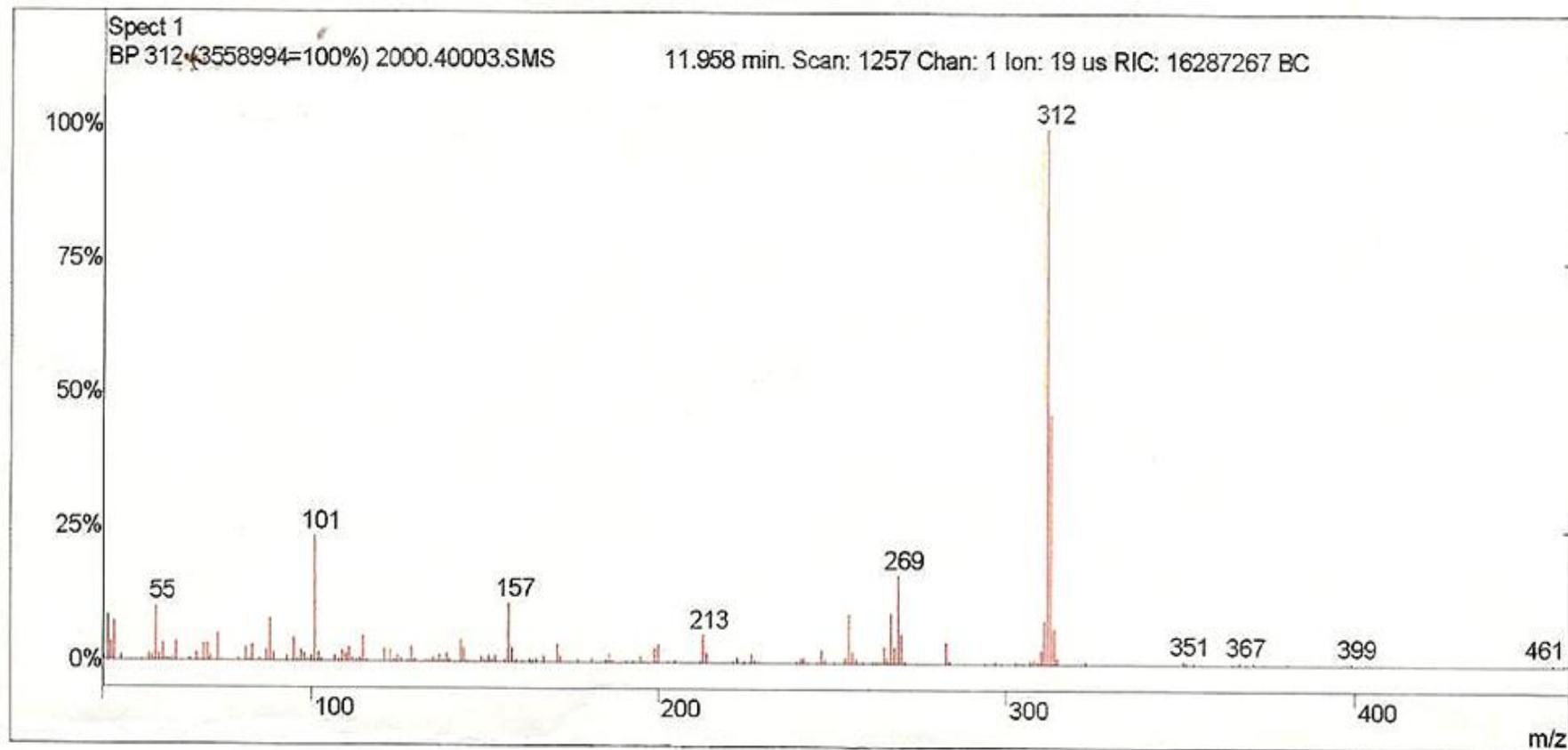


Figura 51 – Espectro de Massas de S₁₁.

Scan 1224 from C:\SaturnWS\2000.40003.SMS

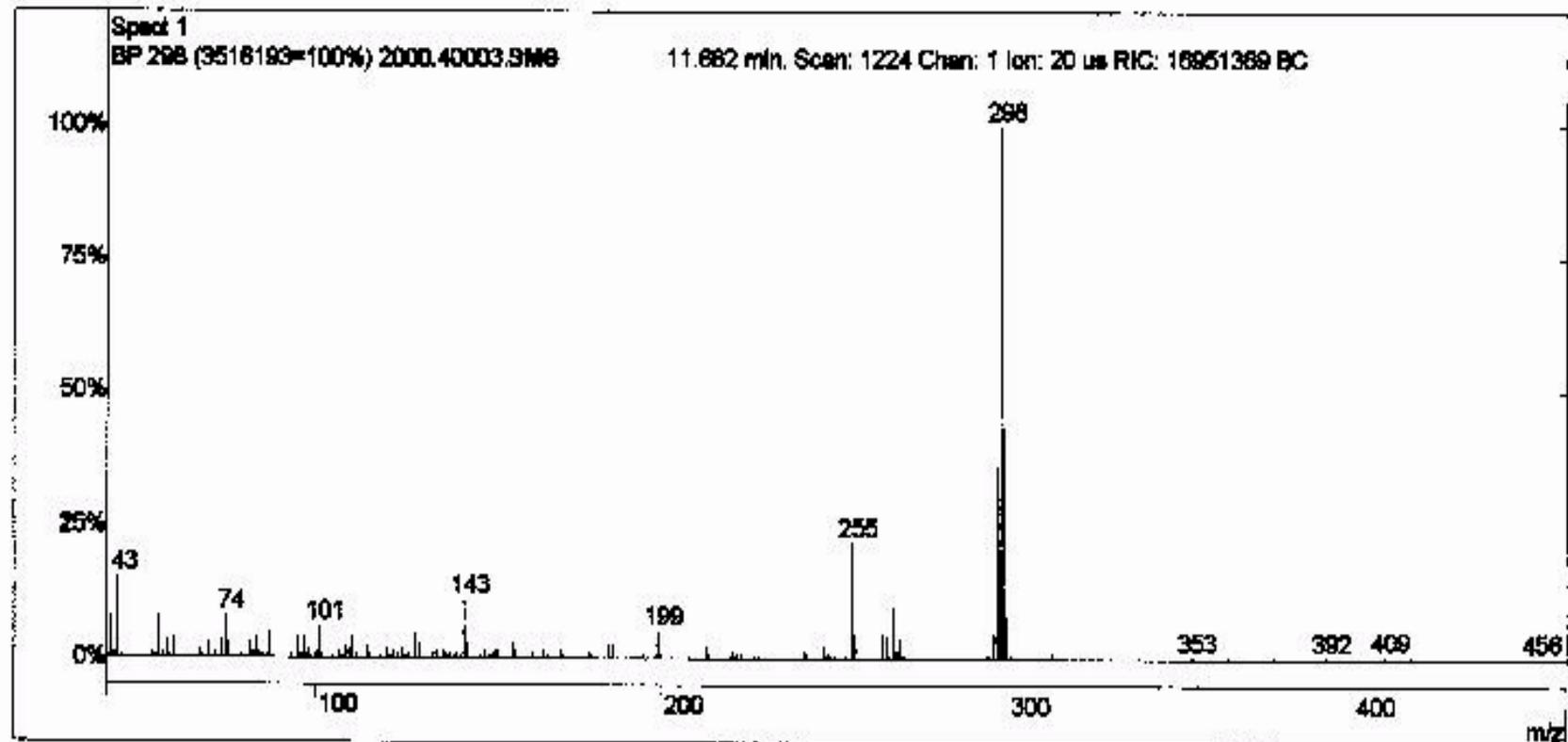


Figura 52 – Espectro de Massas de S₁₂.

Scan 1067 from C:\SaturnWS\2000.40003.SMS

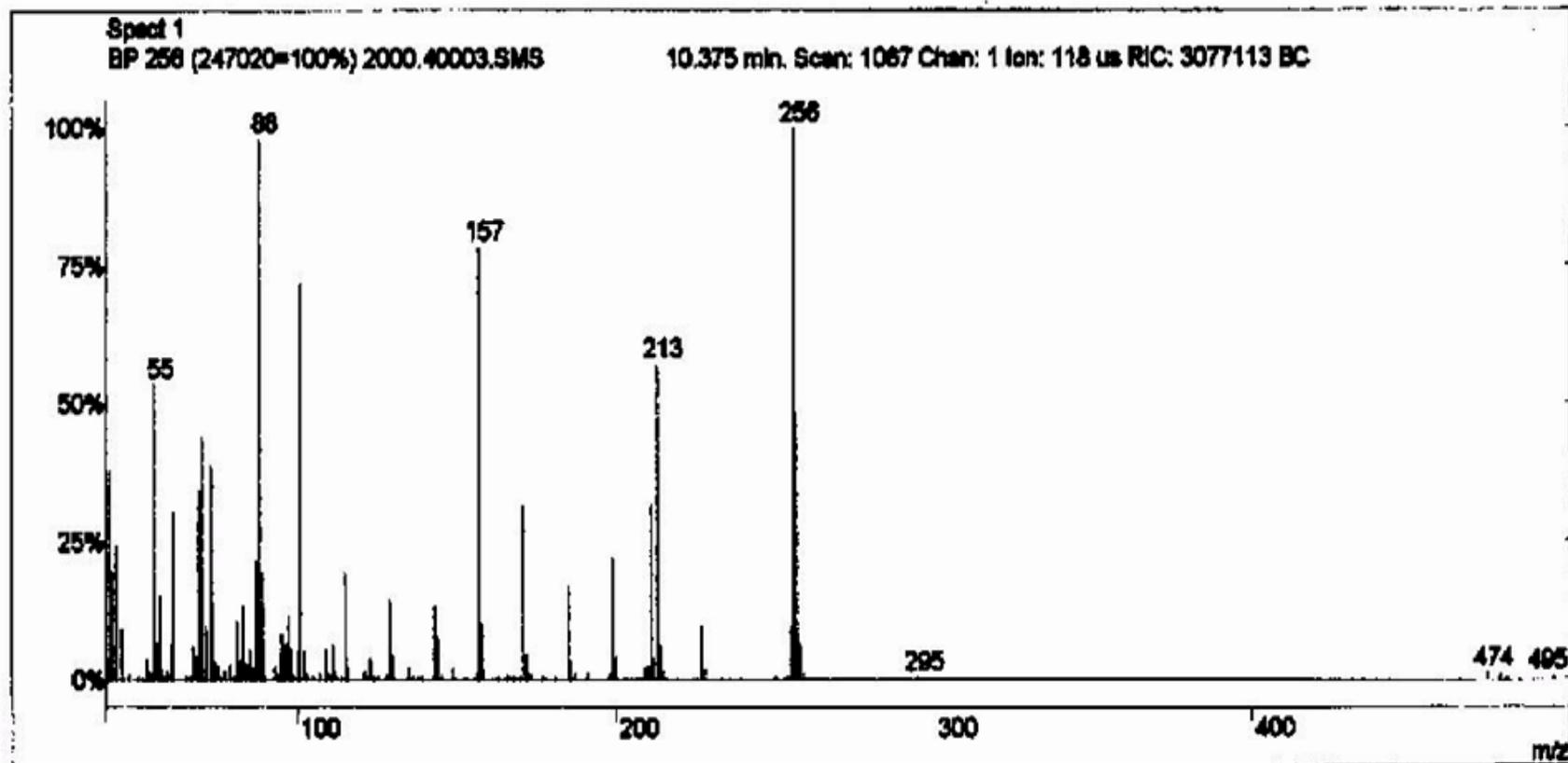


Figura 53 – Espectro de Massas de S₁₃.

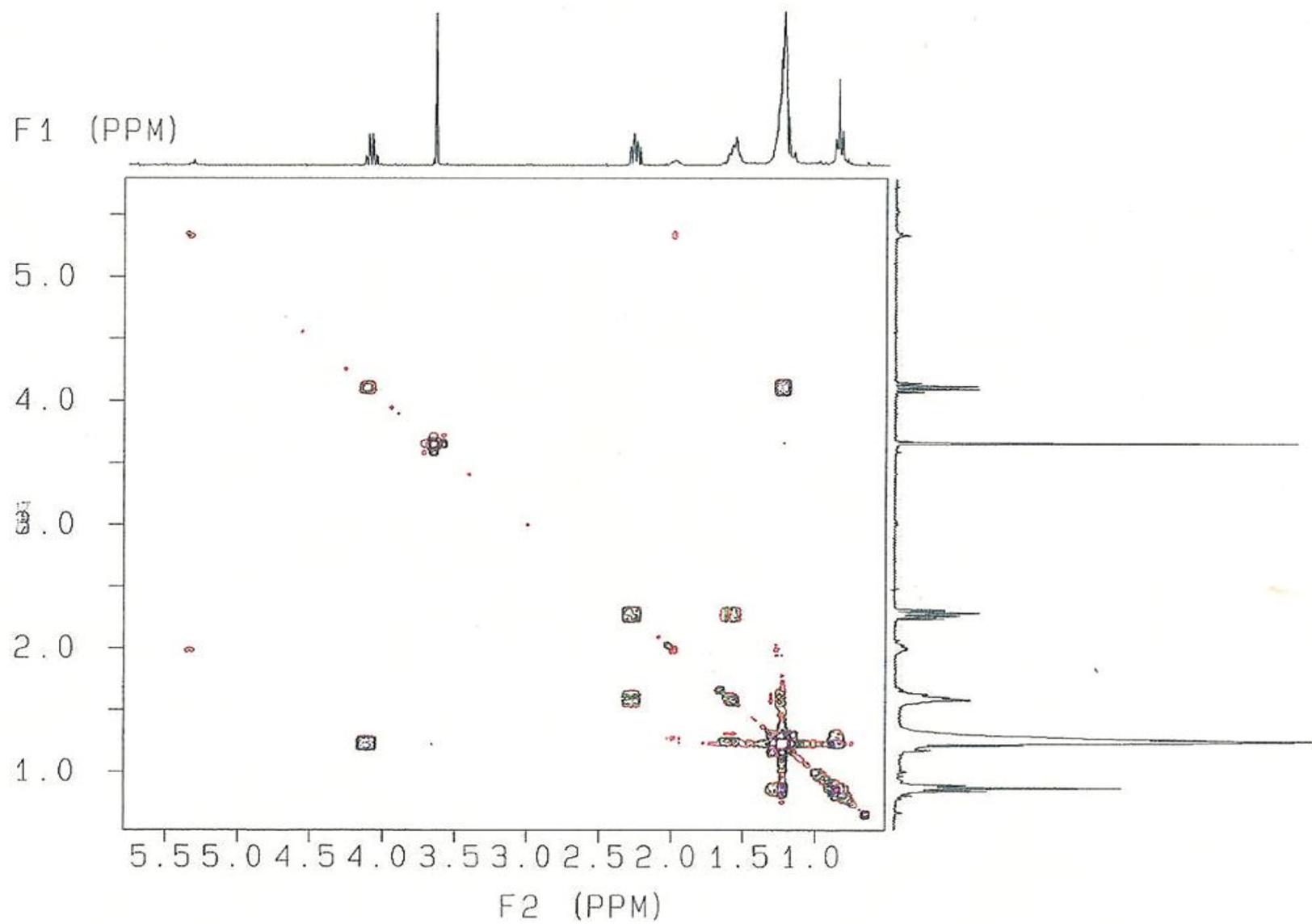


Figura 54 – Espectro de COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3) de S_9 , S_{10} , S_{11} , S_{12} e S_{13} .

Chromatogram Plot

File: c:\saturnws\2000\40003.sms

Sample: Manual Sample

Sample Notes:

Operator: Sonia/Tenorio

03/08/01 10:18

Scan Range: 1 - 2580 Time Range: 0.00 - 22.98 min.

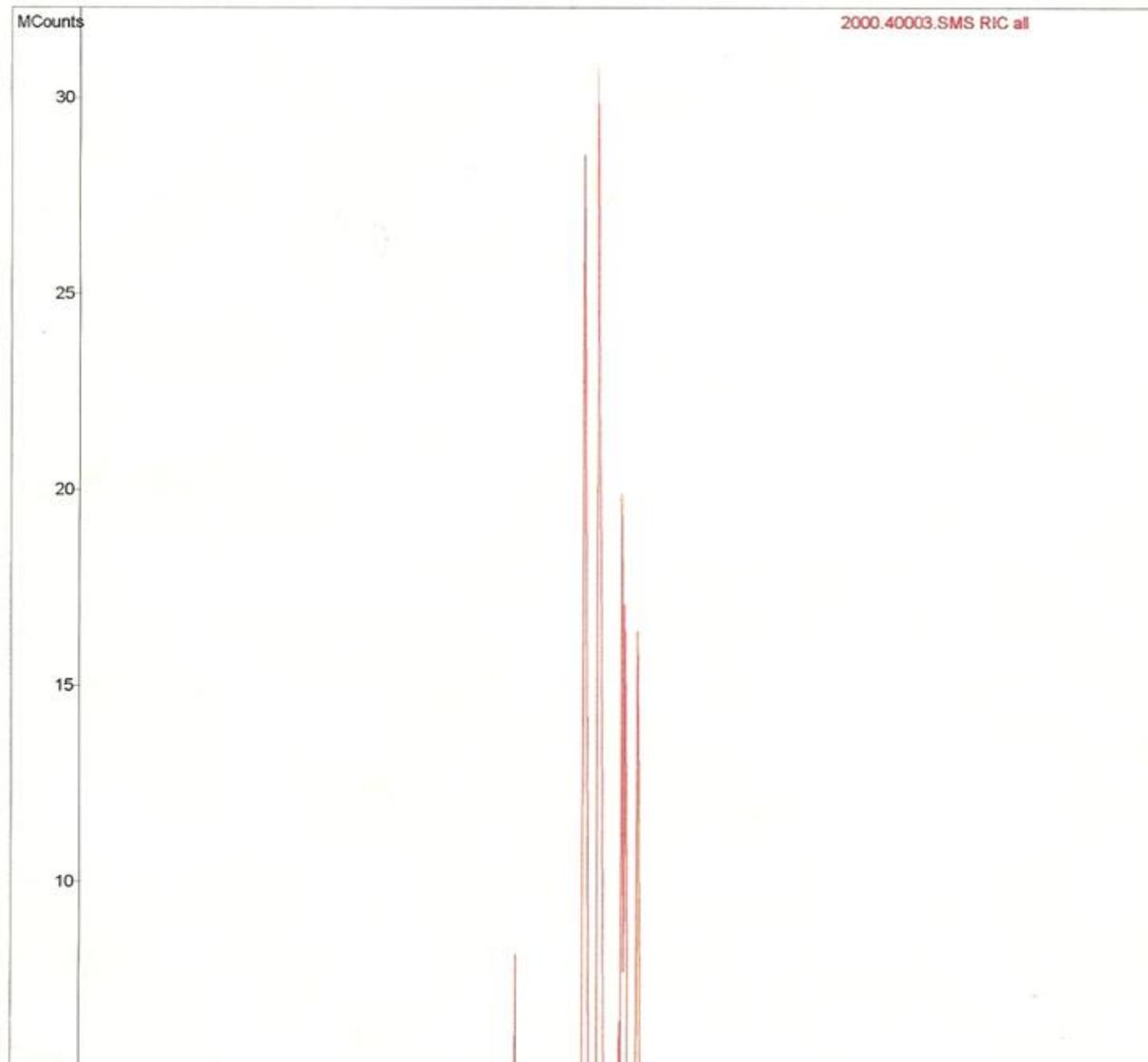


Figura 48 – Cromatograma de S₉, S₁₀, S₁₁, S₁₂ e S₁₃.

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](#)