

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO**

IURA MUNIZ ALVES

ESTUDO FITOQUÍMICO DA RAIZ DE *Dictyoloma vandellianum* A. JUSS

**SALVADOR
2008**

IURA MUNIZ ALVES

ESTUDO FITOQUÍMICO DA RAIZ DE *Dictyoloma vandellianum* A. JUSS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do grau de mestre em Química, área Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Frederico Guaré Cruz

Co-orientador: Prof. Dr. Eudes da Silva Velozo

Salvador

2008

ii

AGRADECIMENTOS

Agradeço a: Vanilda, Fernanda, Eagles, Dorivaldo, Lourenço, Prof^a Elaine, Édler, Zan, Cinara, Railda, Cássia, Edjane, Magnólia, Renata, Ricardo, Luíza, Glaucy, Sandra, Zênis, Eudes, Fred, PC Vieira, Sílvio, Jorge David, Márcia Cristina, Nina, Rita, Fernando, Daniel, Jaff, Lú, Mara Spínola, Janice, Fábio, Luciene, Cleiton, Daniel, Pinho, Cristina “The mother of the groove”, Osvaldo, Enobaldo, Angélica, Renata, Anne, Prof Themístocles, Lucas, Acácio, Pablo, Vitor, Cristiano, Juliana, Michele, Mônica, Zemba, Themístocles, Judson, Tatiana Daltro, João Paulo, Vanessa, Pedro, Milena, Aline, Lorena, Andrea, Jailton, Airan, Lenilton, Luciano, Edvan, Rogério, Acyr, Rolemberg, Djavan, Jair Oliveira, Max de Castro, Wilson Simoninha, Wilson das Neves, Ubaldo Versolato, BB King, Robert Johnson, Stevie Vai, The Jeff Healey Band, Jeff Back, The Funk Como Le Gusta, Eletrotech, Tribaltech, John Scofield, Pat Metheny, Herbie Hancock, Dennis Chambers, Mike Stern, George Benson, Tower of Power, Jamiroquai, Jorge Bem, Otávio de Moraes, JT Meirelles, Sérgio Carvalho, Alberto Continentino, Ary Barroso, Robson Jorge, Dick Farney, Chico Pinheiro, Lobão, Cláudio Zoli, Miles Davis, John Coltrane, Chet Baker, Oscar Peterson, Grant Green, Bill Evans, Stan Getz, Marcus Miller, Tarrega, JS Bach, Francesco Corbetta, Buxtehude, Van Halen, Led Zeppelin, Pink Floyd, Sade, Carine Bailey Rae, Frank Zappa, Santana, Victor Wooten, Dave Weckl, Charlie Parker, Joe Satriani, Ed Motta, Don Bento, João Donato, Tom Jobim, Zuzo, Munir Hossn, Arthur Maia, Stanley Clarck, Stanley Jordan, Joe Patitucci, Jean-Luc Ponty, Fela Kuti, Handel, Scarlatti, Robert de Visée, Gary Willis, Jaco Pastorius, Chick Corea, Allan Carol, Fourplay, Lenine, Sandra de Sá, Gibran, Saramago, Hegel, Humberto Eco, Da Vinci, Claude Monet, Edgar Degas, Renoir, Aleijadinho, Caravaggio, Rembrandt, Delacroix, Goya, Bel Borba, CAPES, CNPq...

Se esqueci alguém, assine seu nome na sequência. Muito obrigado a!!!

Grato.

Oss.

RESUMO

Nesta dissertação são descritos o isolamento e determinação estrutural de alguns produtos naturais, presentes nos extratos orgânicos da raiz de um espécime de *Dictyoloma vandellianum* A. Juss, coletado na Chapada Diamantina, Bahia. Do extrato diclorometânico da casca da raiz foram isoladas cinco cromonas. Do extrato hexânico do cerne da raiz foi isolado um esteróide. Dois alcalóides foram isolados do extrato metanólico do cerne da raiz. As substâncias isoladas e caracterizadas foram: 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico; 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico; 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina; 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno; spatheliabiscromeno; β -sitosterol; N-metil-8-metoxiflindersina e 8-metoxiflindersina. Elas foram determinadas por espectroscopia de infravermelho, técnicas de RMN, associações com propostas de biossíntese e comparação com dados da literatura. A localização do gênero *Dictyoloma* tem sido duvidosa desde a primeira vez em que foi descrito como integrante da família Rutaceae. O isolamento de cromonas preniladas na espécie *D. vandellianum* A. Juss, metabólitos que não são encontrados em outros gêneros da família Rutaceae, demonstra a singularidade do gênero dentro desta família. Deste modo, o isolamento de metabólitos característicos de Rutaceae e das cromonas preniladas contribui com a quimiotaxonomia do gênero.

Palavras-chave: *Dictyoloma*, cromonas, alcalóides.

ABSTRACT

This work presents isolation and structural determination of some natural products in organic root extract of *Dictyoloma vandellianum* A. Juss found in the Chapada Diamantina, Bahia. Five chromones were isolated from root rind dichloromethane extract and a steroid from root core hexane extract. Two alkaloids also isolated from root core methanolic extract. The following compounds were isolated and characterized: 6-(3-methyl-2-butenyl) allopteroxylin methyl ether; 8-(3-methyl-2-butenyl) spatheliachromen methyl ether; 6-(3-methyl-2-butenyl) allopteroxylin; 8-(3-methyl-2-butenyl) spatheliachromen; spatheliabischromen; β -sitosterol; N-methyl-8-methoxyflindersine and 8-methoxyflindersine. That compounds were determined by Infrared Spectroscopy and Nuclear Magnetic Resonance technique. Associations with biosynthesis approach and comparison with literature data were also done in this thesis. The exact localization of the genus *Dictyoloma* has been doubtful since its first description as member of Rutaceae family. Prenyl-chromones type isolation from *D. vandellianum* A. Juss demonstrates the importance of the plant study. The prenyl-chromones type has not been found in other genus of Rutaceae family. So, isolation of Rutaceae typical metabolites and prenyl-chromones contributes with the chemotaxonomy of the genus.

Key-words: *Dictyoloma*, chromones, alkaloids.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A Juss	Adrien-Henri e Jussieu
AAS	ácido acetilsalicílico
AcOEt	acetato de etila
CC	cromatografia em coluna
CCD	cromatografia em camada delgada
d	dubleto
dl	dubleto largo
DCM	diclorometano
dd	duplo dubleto
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
Et ₂ O	éter etílico
EP	éter de petróleo
eV	elétron-volt
Gln	glutamina
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence Spectroscopy
Hx	hexano
Hz	Hertz
IV	infravermelho
J	constante de acoplamento
L.	Linnaeus
L	litro
Lam	Lamarck
M ⁺	ión molecular
m	multiplete
mg	miligrama
min	minuto
<i>m</i>	multiplicidade
<i>m/z</i>	razão massa/carga

Me	metila
MeOH	metanol
Nu	nucleófilo
PA	pró-análise
s	singleto
SAM	S-adenosil metionina
Si 60	gel de sílica 60
sl	singleto largo
t	tripleto
tl	tripleto largo
TMS	tetrametilsilano
$W_{1/2}$	largura de banda a meia altura
μm	micrômetro

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1.1	Exemplo de compostos que formaram a base terapêutica inicial da medicina atual.	20
Figura 1.2.1	Árvore de proximidade genética entre espécies em Rutaceae (SCOTT, 2000).	23
Figura 1.2.2	Principais classes de alcalóides derivados do ácido antranílico em Rutaceae. Adaptado de WATERMAN, 1999.	25
Figura 1.3.1	Alcalóides isolados de <i>D. peruvianum</i> : dictyolomida A (1) e dictyolomida B (2).	26
Figura 1.3.2	Diagrama filogenético de Waterman para ordem Rutales, baseado na distribuição de metabólitos secundários usado aqui para localizar a subfamília Dictyolomatoideae, que previamente não foi incluída por falta de dados fitoquímicos.	27
Figura 1.4.1	Substâncias previamente isoladas de <i>D. vandellianum</i> .	29
Figura 1.5.1.1	Diferença estrutural entre cumarina e cromona e estrutura da quelina.	30
Figura 1.5.1.2	Estruturas das cromonas citadas.	31
Figura 1.5.2.1	Estrutura dos alcalóides 2-quinolônicos citados.	33
Figura 3.1.1	Mapa do ponto de coleta – parte 1: A marca representa o distrito de Inúbia.	35
Figura 3.1.2	Mapa do ponto de coleta – parte 2: As marcas representam o distrito de Inúbia.	36
Figura 3.2.1	Procedimento para obtenção dos extratos de raiz.	37
Figura 3.3.1.1	Procedimento de fracionamento do extrato hexânico do cerne da raiz.	39
Figura 3.3.2.1	Procedimento de fracionamento do extrato metanólico do cerne da raiz.	40
Figura 3.3.3.1	Procedimento de fracionamento do extrato diclorometânico da casca de raiz.	42

Figura 4.1	Estruturas das substâncias isoladas neste trabalho, com exceção da allopteroxilina e spatheliacromeno (SAENGCHANTARA & WALLACE, 1986) usadas como referência para nomear as cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico, 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico, 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno e 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina.	45
Figura 4.1.1.1	Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 1.	46
Figura 4.1.1.2	Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 2.	47
Figura 4.1.1.3	Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 3.	47
Figura 4.1.1.4	Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 4.	48
Figura 4.1.1.5	Espectro de RMN ^{13}C da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 1.	49
Figura 4.1.1.6	Espectro de RMN ^{13}C da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 2. As setas indicam os carbonos aromáticos.	50
Figura 4.1.1.7	Espectro de RMN ^{13}C 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 3.	50
Figura 4.1.1.8		51
Figura 4.1.1.9	Espectro de HMQC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 1.	52
Figura 4.1.1.10	Espectro de HMQC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 2.	52
Figura 4.1.1.11	Espectro de HMBC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 1.	53
Figura 4.1.1.12	Espectro de HMBC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 2.	54
Figura 4.1.1.13	Espectro de HMBC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 3.	54

Figura 4.1.1.14	Espectro de HMBC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 4.	55
Figura 4.1.1.15	Espectro no infravermelho da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico: 3009-2928 cm^{-1} , deformação axial de CH; 1656 cm^{-1} , deformação axial de C=O α,β -insaturada; 1625 e 1589 cm^{-1} , deformação axial de C=C de cicloalcenos e alceno trissubstituído.	57
Figura 4.1.2.1	Espectro no infravermelho da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico: 3013-2931 cm^{-1} , deformação axial de CH; 1656 cm^{-1} , deformação axial de C=O α,β -insaturada; 1592 cm^{-1} , deformação axial de C=C de cicloalcenos e alceno trissubstituído.	58
Figura 4.1.2.2	Comparativo entre os espectros de RMN ^1H das cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico.	59
Figura 4.1.2.3	Espectro de RMN ^1H da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 2.	60
Figura 4.1.2.4	Espectro de RMN ^1H da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 3.	60
Figura 4.1.2.5	Espectro de RMN ^{13}C da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 1.	61
Figura 4.1.2.6	Espectro de RMN ^{13}C da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 2.	61
Figura 4.1.2.7	Comparativo entre dados de RMN ^{13}C das cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico. As setas indicam os carbonos aromáticos.	62
Figura 4.1.2.8	Espectro de HMQC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 1.	63
Figura 4.1.2.9	Espectro de HMQC 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 2.	63

Figura 4.1.2.10	Espectro de HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 1.	64
Figura 4.1.2.11	Espectro de HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 2.	65
Figura 4.1.2.12	Espectro de HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 3.	65
Figura 4.1.2.13	Cromatograma. Ver tempo de retenção.	66
Figura 4.1.2.14	Espectro de massas da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico.	66
Figura 4.1.2.15	Formação do pico base.	66
Figura 4.1.3.1	Espectro no infravermelho da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina: 2977-2927 cm^{-1} , deformação axial de CH; 1660 cm^{-1} , deformação axial de C=O α,β -insaturada; 1588 cm^{-1} , deformação axial de C=C de cicloalcenos e alceno trissubstituído.	68
Figura 4.1.3.2	Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 1.	69
Figura 4.1.3.3	Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 2.	69
Figura 4.1.3.4	Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 3.	70
Figura 4.1.3.5	Espectro de RMN ^{13}C da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 1.	70
Figura 4.1.3.6	Comparativo entre dados de RMN ^{13}C de 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico, 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico e 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina. As setas indicam os sinais dos carbonos aromáticos.	71
Figura 4.1.3.7	Espectro de HMQC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 1.	72
Figura 4.1.3.8	Espectro de HMQC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 2.	73

Figura 4.1.3.9	Espectro de HMBC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte1.	74
Figura 4.1.3.10	Espectro de HMBC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte2.	74
Figura 4.1.3.11	Espectro de HMBC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte3.	75
Figura 4.1.4.1	Espectro no infravermelho da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno: 3462 cm^{-1} , deformação axial da ligação OH; 2981-2846 cm^{-1} , deformação axial de CH; 1659 cm^{-1} , deformação axial de C=O α,β -insaturada; 1620 e 1580 cm^{-1} , deformação axial de C=C de cicloalcenos e alceno trissubstituído.	77
Figura 4.1.4.2	Comparativo entre os espectros de RMN ^1H das cromona 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno.	78
Figura 4.1.4.3	Espectro de RMN ^1H da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte 2.	79
Figura 4.1.4.4	Espectro de RMN ^{13}C da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno parte 1.	79
Figura 4.1.4.5	Comparativo entre dados de RMN ^{13}C de 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina, 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno. As setas indicam os sinais dos carbonos aromáticos.	80
Figura 4.1.4.6	Espectro HMQC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte1.	81
Figura 4.1.4.7	Espectro HMQC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte2.	82
Figura 4.1.4.8	Espectro de HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte 1.	83
Figura 4.1.4.9	Espectro de HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte 2.	83

Figura 4.1.4.10	Espectro de HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte 3.	84
Figura 4.1.4.11	Espectro de HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte 4.	84
Figura 4.1.5.1	Espectro no infravermelho da spatheliabiscromeno: 2977 - 2858 cm^{-1} , deformação axial de CH; 1662 cm^{-1} , deformação axial de C=O α,β -insaturada; 1625 e 1573 cm^{-1} , deformação axial de C=C de cicloalcenos.	88
Figura 4.1.5.2	Espectro de RMN ^1H da spatheliabiscromeno.	89
Figura 4.1.5.3	Espectro de RMN ^{13}C da spatheliabiscromeno – parte 1.	89
Figura 4.1.5.4	Espectro de RMN ^{13}C da spatheliabiscromeno – parte 2.	90
Figura 4.1.5.5	Espectro de RMN ^{13}C da spatheliabiscromeno – parte 3.	90
Figura 4.1.5.6		91
Figura 4.1.5.7	Espectro de HMQC da spatheliabiscromeno – parte 1.	92
Figura 4.1.5.8	Espectro de HMQC da spatheliabiscromeno – parte 2.	92
Figura 4.1.5.9	Espectro de HMQC da spatheliabiscromeno – parte 3.	93
Figura 4.2.1.1		95
Figura 4.2.1.2	Espectro de RMN ^1H da 8-metoxiflindersina – parte 1	96
Figura 4.2.1.3	Espectro de RMN ^1H da 8-metoxiflindersina – parte 2	96
Figura 4.2.1.4	Espectro de RMN ^{13}C da 8-metoxiflindersina – parte 1	97
Figura 4.2.1.5	Espectro de RMN ^{13}C da 8-metoxiflindersina – parte 2	97
Figura 4.2.1.6	Espectro no infravermelho da 8-metoxiflindersina: 3397 cm^{-1} , deformação axial da ligação NH; 3019 cm^{-1} , deformação axial de CH aromático e alceno; 1653 cm^{-1} , deformação axial C=O de lactama α,β -insaturada.	98
Figura 4.2.1.7		99
Figura 4.2.1.8	Estrutura da 8-metoxiflindersina.	99
Figura 4.2.2.1	Espectro de RMN ^1H da N-metil-8-metoxiflindersina – parte 1.	101
Figura 4.2.2.2	Espectro de RMN ^1H da N-metil-8-metoxiflindersina – parte 2.	102
Figura 4.2.2.3	Espectro de RMN ^{13}C da N-metil-8-metoxiflindersina – parte 1.	102
Figura 4.2.2.4	Espectro de RMN ^{13}C da N-metil-8-metoxiflindersina – parte 2.	103

Figura 4.2.2.5		103
Figura 4.2.2.6	Espectro no infravermelho da N-metil-8-metoxiflindersina: 3010 cm^{-1} , deformação axial de CH aromático e alceno; 1643 cm^{-1} , deformação axial C=O de lactama α,β -insaturada.	104
Figura 4.3.1	Espectro de RMN ^1H do β -sitosterol – parte 1.	106
Figura 4.3.2	Espectro de RMN ^{13}C do β -sitosterol – parte 1.	107
Figura 4.3.3	Espectro de RMN ^{13}C do β -sitosterol – parte 2.	107
Figura 4.3.4	Espectro de DEPT-135 do β -sitosterol – parte 1.	108
Figura 4.3.5	Espectro de DEPT-135 do β -sitosterol – parte 2.	108
Figura 4.3.6	β -sitosterol.	109
Figura 5.1.1	Formação do poli- β -cetoéster.	111
Figura 5.1.2	Biossíntese das cromonas, formação do intermediário-chave. As reações: 1, ionização do grupo metilênico α -carbonílico; 2, ciclização de Dieckmann; 3, enolização com aromatização; 4, tautomerismo ceto-enólico; 5, Michael; 6 e 7, C-alquilações. Adaptado de DEWICK, 2002.	112
Figura 5.1.3	Biossíntese das cromonas. As reações: 1, epoxidação por ação de monooxigenase; 2, ataque nucleofílico intramolecular; 3, desidratação; 4, O-metilação. Adaptado de DEWICK, 2002.	114
Figura 5.2.1	Primeira parte da via do chiquimato, via pré-corismato. Reações e enzimas: 1, reação aldólica, 3-desoxi-D-arabino-heptulosonato-7-fosfato sintase; 2, reação aldólica, 3-desidroquinase sintase; 3, 3-desidroquinase desidratase; 4, chiquimato NADP oxidoreductase; 5, chiquimato quinase; 6, adição nucleofílica, 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase; 7, corismato sintase; 8, oxidação e enolização. Adaptado de SCHIMID,1995; DEWICK, 2002; KNAGGS, 2003.	117

- Figura 5.2.2 Segunda parte da via do chiquimato, formação da fenilalanina e tirosina. Reações e enzimas: 9, rearranjo tipo Claisen, corismato mutase; 10, transaminação, pterfenato aminotransferase; 11, descarboxilação e aromatização, arogenato desidratase; 12, descarboxilação e aromatização, arogenato desidrogenase. Adaptado de SCHIMID, 1995 e DEWICK, 2002. 118
- Figura 5.2.3 Terceira parte da via do chiquimato, formação do triptofano. Reações e enzimas: 13, aminação com amônia gerada de glutamina; 14, antranilato sintase; 15, S_N2, antranilato fosforibosil transferase; 16, fosforibosil antranilato isomerase; 17, tautomerismo imina-enamina; 18, indol-3-glicerol fosfato sintase; 19, retroaldol; 20, triptofano sintase; 21, isomerização via S_N2. Adaptado de SCHIMID, 1995 e DEWICK, 2002. 119
- Figura 5.2.4 Proposta de biossíntese para os derivados de flindersina isolados. As reações: 1, Claisen; 2, descarboxilação; 3, adição; 4, eliminação; 5, C-alquilação; 6, epoxidação por ação de monooxigenase; 7, ataque nucleofílico intramolecular; 8, desidratação; 9, 14, N-metilação; 11, 13, O-metilação; 10, 12, oxidação por ação de monooxigenase. Adaptado de DEWICK, 2002. 121

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.2.1	Representação das ordens Sapindales, Rutales, Geraniales segundo alguns autores. O asterisco corresponde a classificações baseadas em dados moleculares (SCOTT, 2000).	22
Tabela 3.2.1	Dados gerais de obtenção de extratos brutos de <i>Dictyoloma vandellianum</i> A. Juss	37
Tabela 4.1.1.1	Dados de RMN ^1H [δ (ppm), <i>m</i> , J (Hz)] e RMN ^{13}C [δ (ppm)] da dulcisxantona, isopteleprenina e flindersina.	51
Tabela 4.1.1.2	Dados de RMN ^1H e ^{13}C da cromona 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico.	56
Tabela 4.1.2.1	Comparação entre os dados experimentais das cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico.	67
Tabela 4.1.3.1	Dados de RMN ^1H e ^{13}C da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina.	76
Tabela 4.1.4.1	Dados de RMN ^1H e ^{13}C da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno.	86
Tabela 4.1.4.2	Comparação entre os dados experimentais das cromonas 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno e 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina.	87
Tabela 4.1.5.1	Comparação de dados experimentais de RMN ^{13}C das cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina e spatheliabiscromeno.	91
Tabela 4.1.5.2	Dados de RMN ^1H e ^{13}C da spatheliabiscromeno.	94
Tabela 4.2.1.1	Dados de RMN ^{13}C [δ (ppm)] da dictyolomida A, pteleprenina e flindersina.	99
Tabela 4.2.1.2	Dados de RMN ^1H e ^{13}C da 8-metoxiflindersina e 5-metoxiflindersina.	100
Tabela 4.2.2.2	Dados de RMN ^1H e ^{13}C da N-metil-8-metoxiflindersina.	100
Tabela 4.3.1	Dados de RMN ^{13}C e DEPT-135 do β -sitosterol.	110

SUMÁRIO

1	Introdução	19
1.1	Considerações iniciais	19
1.2	Família Rutaceae	21
1.3	O gênero <i>Dictyoloma</i>	26
1.4	A espécie <i>Dictyoloma vandellianum</i> A. Juss	28
1.5	Breves considerações sobre as classes de metabólitos isolados na espécie	30
1.5.1	Cromonas	30
1.5.2	Alcalóides 2-quinolônicos	32
2	Objetivos e justificativa	34
3	Material e método	35
3.1	Coleta do material vegetal e identificação botânica	35
3.2	Obtenção dos extratos	36
3.3	Fracionamentos cromatográficos	38
3.3.1	Extrato hexânico do cerne da raiz	38
3.3.2	Extrato metanólico do cerne da raiz	39
3.3.3	Extrato diclorometânico da casca da raiz	41
3.3.4	Considerações sobre as frações não trabalhadas	43
3.4	Especificações dos equipamentos, materiais e métodos usados	43
3.4.1	Equipamentos	43
3.4.2	Solventes	44
3.4.3	Colunas e placas cromatográficas	44
4	Resultados e discussão: identificação estrutural das substâncias isoladas	45
4.1	Identificação estrutural das cromonas	46
4.1.1	Identificação da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico	46
4.1.2	Identificação da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico	58
4.1.3	Identificação da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina	68
4.1.4	Identificação da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno	77
4.1.5	Identificação da spatheliabiscromeno	88

4.2	Identificação estrutural dos alcalóides 2-quinolônicos	95
4.2.1	Identificação estrutural da 8-metoxiflindersina	95
4.2.2	Identificação estrutural da N-metil-8-metoxiflindersina	101
4.3	Identificação estrutural do esteróide β -sitosterol	106
5	Biossíntese	111
5.1	Considerações sobre a biossíntese das cromonas isoladas	111
5.2	Considerações sobre a biossíntese dos alcalóides 2-quinolônicos	116
6	Conclusão	122
7	Referências	123

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

1.1 Considerações iniciais

A magnitude da biodiversidade brasileira não é conhecida com precisão tal a sua complexidade, estimando-se a existência de mais de dois milhões de espécies distintas de plantas, animais e microorganismos. O Brasil é o país com maior diversidade genética vegetal do mundo, promissora em compostos com potencial bioativo (DIAS, 1996).

As plantas são uma importante fonte de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais são utilizados como modelos para síntese de um grande número de fármacos. Químicos orgânicos de produtos naturais mostram-se impressionados pelo fato desses metabólitos encontrados na natureza revelarem uma diversidade quase inacreditável em termos de estrutura, propriedades físico-químicas e biológicas (SOEJARTO, 1996).

Os compostos de origem natural desempenham alguns papéis importantes na medicina moderna. Fornecem alguns medicamentos extremamente úteis, cuja produção e comercialização na forma sintética é difícil, se não impossível. Entre eles estão grupos tão diversificados de substâncias como os alcalóides da papoula produtora do ópio (*Papaver somniferum*), do esporão do centeio (*Claviceps purpurea*), das plantas solanáceas e os glicosídeos cardiotônicos da digitalis (*Digitalis purpurea*). De fontes naturais também são retirados compostos que podem ser ligeiramente modificados para tornarem-se mais eficazes ou menos tóxicos. Exemplo disso são as numerosas variações da molécula da morfina. O terceiro papel é sua utilidade como protótipos ou modelos para medicamentos sintéticos que tenham atividades fisiológicas semelhantes às substâncias de partida. A procaína e os anestésicos locais similares são citados como representantes dessa categoria (ROBBERS & TYLER, 1997).

Ao considerar a perspectiva de obtenção de novos fármacos, dois aspectos distinguem os produtos de origem natural dos sintéticos: a diversidade molecular e a função biológica. A diversidade molecular dos produtos naturais é muito superior àquela derivada dos processos de síntese, que, apesar dos avanços consideráveis, ainda é limitada. Além disso, como produtos de organismos que possuem muitas similaridades com o metabolismo dos mamíferos, os produtos naturais muitas vezes exibem propriedades biológicas (NISBET & MOORE, 1997).

Por centenas de anos drogas e medicamentos tradicionais têm sido usados na medicina, tendo produtos naturais como princípios ativos. Estudos químicos, clínicos e farmacológicos destes medicamentos tradicionais, predominantemente derivados de plantas, formaram a base terapêutica inicial da medicina atual. Exemplos destes medicamentos são a aspirina, digitoxina, morfina, quinina e pilocarpina (BUTLER, 2004). Observe a figura 1.1.1.

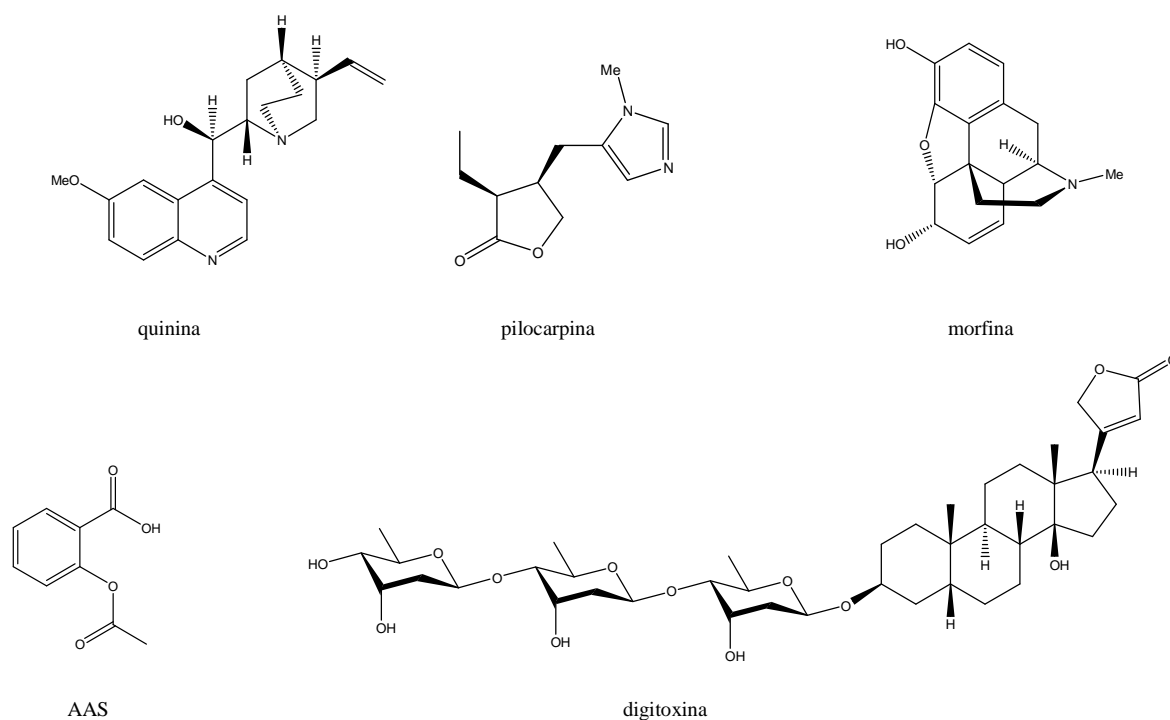


Figura 1.1.1 Exemplo de compostos que formaram a base terapêutica inicial da medicina atual.

Drogas derivadas de produtos naturais estão bem representadas no topo dos 35 medicamentos de marca mais vendidos mundialmente em 2000, 2001 e 2002 (BUTLER, 2004).

O uso de produtos naturais como matéria-prima para a síntese de substâncias bioativas, especialmente fármacos, apresenta-se amplamente relatado ao longo do tempo. Um exemplo marcante é representado pelos trabalhos de Russel E. Marker sobre a síntese de hormônios esteróides, como a progesterona, a partir de saponinas isoladas de cactus do altiplano mexicano. Esta planta é conhecida como “cabeza de negro” (*Dioscorea macrostachya* Benth) e contém diosgenina. Estes trabalhos foram de fundamental importância para o estudo de hormônios

esteróides e contribuiu significativamente para a descoberta subsequente da pílula contraceptiva feminina.

A pesquisa fitoquímica tem por objetivo conhecer os constituintes químicos de espécies vegetais ou avaliar a sua presença. Quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse, a análise fitoquímica preliminar pode indicar os grupos de metabólitos secundários relevantes na mesma. Caso o interesse esteja restrito a uma classe específica de constituinte ou às substâncias responsáveis por determinada atividade biológica, a investigação deverá ser direcionada para o isolamento e elucidação estrutural destas (SIMÕES *et al*, 2002).

1.2 Família Rutaceae

Rutaceae é uma família composta por árvores e arbustos que apresenta alguns gêneros com importância econômica. Exemplo disto são os gêneros *Citrus* com frutos comestíveis, *Flindersia* com sua madeira, *Boronia* com seus óleos aromáticos. A família Rutaceae já foi classificada em muitas ordens incluindo Sapindales, Geraniales e Rurales (SCOTT *et al*, 2000). Observe a tabela 1.2.1.

A primeira classificação compreensiva em Rutaceae foi feita por Engler, em 1931. Ele dividiu a família em sete subfamílias. Quatro destas, Flindersioideae, Dictyolomatoideae, Spathelioideae e Rhabdodendroideae foram objeto de significativa controvérsia a respeito da classificação das mesmas. As outras três subfamílias são Rutoideae, Toddalioideae e Citroideae (QUARDER *et al*, 1991).

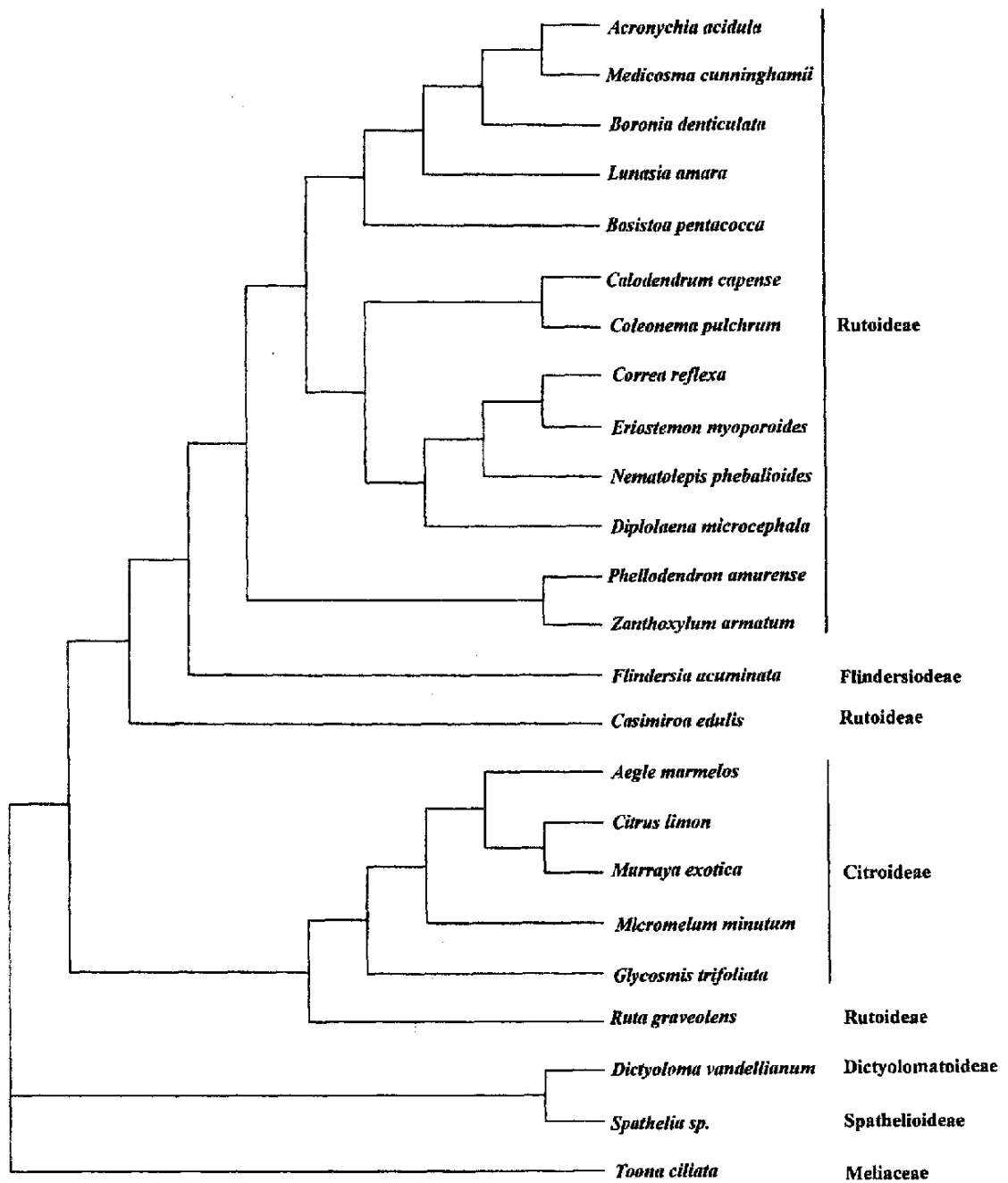
Antes da classificação feita por Engler, Bentham e Hooker, em 1862, acreditavam que Spathelioideae estaria melhor localizada em Simaroubaceae. Metcalfe and Chalk, em 1950, sugeriram que Dictyolomatoideae também estaria melhor situada em Simaroubaceae. Em 1973, Adams et al, sustentaram a localização de Spathelioideae em Rutaceae com base no isolamento do alcalóide 2-quinolônico N-metilflindersina, em *Spathelia* L (SCOTT *et al*, 2000), e com base na presença de limonóides nesta subfamília (VIEIRA *et al*, 1988). Morton et al, em 1996, usaram dados genéticos para mostrar que Dictyolomatoideae e Spathelioideae formam um grupo filogenético separado do resto de Rutaceae (SCOTT *et al*, 2000).

Tabela 1.2.1 Representação das ordens Sapindales, Rurales, Geraniales segundo alguns autores. O asterisco corresponde a classificações baseadas em dados moleculares.

	Bentham e Hooker 1862	Dahlgren 1989; Engler 1931	Cronquist 1968	Thorne 1992	Chase et al 1993*	Gadek et al 1996*
Aceraceae	Sapindales			Rurales		Sapindales
Anacardiaceae						
Sapindaceae						
Hippocastaneaceae						
Melanthaceae				Rurales		Rurales
Meliaceae	Geraniales	Rurales				
Cneoraceae						
Burseraceae						
Rutaceae						
Simaroubaceae						Rurales
Leitneriaceae						
Ptaeroxylaceae						

Fonte: SCOTT *et al.*, 2000.

Estudos de proximidade entre espécies, baseados em dados genéticos, têm mostrado árvores genéticas com topologia muito similar. Para subfamílias, a topologia destas árvores mostra uma clara distinção entre Dictyolomatoideae (*Dictyoloma vandellianum* A. Juss) e Spathelioideae (*Spathelia* sp.), do resto de Rutaceae. Isto é baseado nos dados obtidos por Morton *et al.*, em 1996 (SCOTT *et al.*, 2000). Observe figura 1.2.1.



Fonte: SCOTT *et al*, 2000.

Figura 1.2.1. Árvore de proximidade genética entre espécies em Rutaceae.

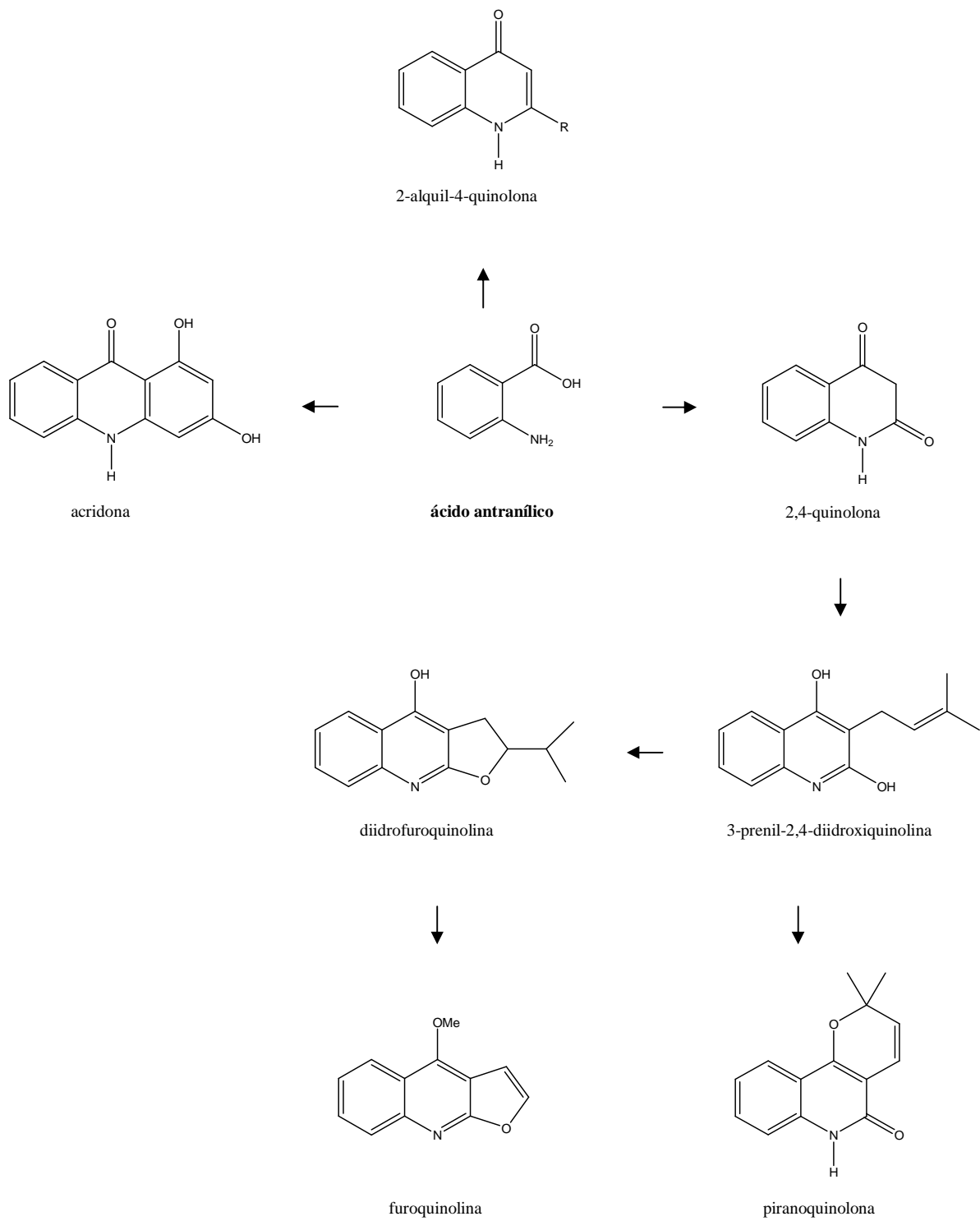
Um exame da distribuição sistemática de alcalóides, cumarinas, limonóides, flavonóides e cromonas em Rutales conduziu Waterman, em 1983, a propor uma evolução bioquímica da ordem. Há diferenças consistentes entre os limonóides de Rutaceae e aqueles de Meliaceae. De acordo com Waterman, uma consideração sobre outras classes de metabólitos secundários conduz a conclusão que Meliaceae, Cneoraceae e Simaroubaceae evoluíram a partir da família proto-Rutaceae. A variedade de alcalóides e cumarinas encontrada em Rutaceae, não observada em outras famílias, sugere que uma evolução química substancial deve ter ocorrido na família proto-Rutaceae, separando-a de Cneoraceae, Meliaceae e Simaroubaceae (SARTOR *et al*, 2003).

A família Rutaceae produz cinco grupos diferentes de alcalóides, que apresentam a seguinte classificação com base nas origens biogenéticas:

- Alcalóides derivados da fenilalanina e tirosina;
- Alcalóides derivados do triptofano tais como β -carbolinas e cantin-6-onas;
- Alcalóides derivados do ácido antranílico;
- Alcalóides derivados da histidina e imidazóis;
- Alcalóides de origem incerta como os carbazóis.

Em termos de alcalóides típicos de famílias, aqueles derivados do ácido antranílico representam excelentes marcadores taxonômicos. Esta família é certamente única na produção de um vasto grupo de alcalóides, baseados na combinação inicial do ácido antranílico com uma ou mais unidades de acetato. Uma série destes é mostrada na figura 1.2.2. Todos eles são únicos em Rutaceae, ou no mínimo, tal família é foco principal de ocorrência deles. As famílias filogeneticamente associadas a Rutaceae tais como Simaroubaceae, Meliaceae e Cneoraceae, parecem ser larga ou inteiramente incapazes na produção destes alcalóides.

A diversidade destes metabólitos secundários é incrementada ainda mais pela habilidade das espécies da família Rutaceae em empregar a unidade isopentila, proveniente do ácido mevalônico. Esta unidade pode gerar anéis do tipo furano e pirano (WATERMAN, 1999).



Adaptado de WATERMAN, 1999.

Figura 1.2.2. Principais classes de alcalóides derivados do ácido antranílico em Rutaceae.

1.3 O gênero *Dictyoloma* Juss

Dictyoloma Juss contém somente duas espécies, *D. vandellianum* A Juss (sinonímia *D. incanescens* DC) com ocorrência no Brasil e *D. peruvianum* que ocorre no Peru (VIEIRA *et al*, 1988). *D. peruvianum* é comum também na Bolívia. Trata-se de uma pequena árvore usada na medicina popular para tratamento de leishmaniose. Dois alcalóides 4-quinolônicos, dictyolomida A e B, foram isolados da casca do caule (LAVAUD *et al*, 1995). Ver figura 1.3.1.

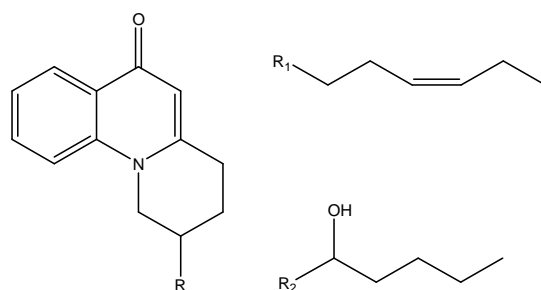
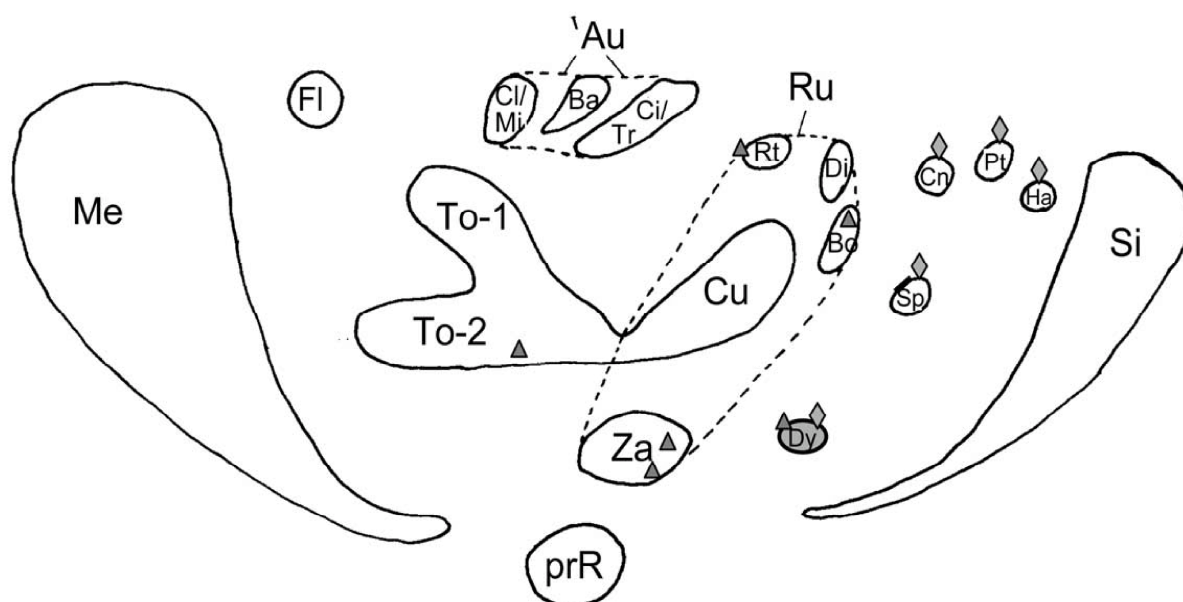


Figura 1.3.1. Alcalóides isolados de *D. peruvianum*: dictyolomida A (1) e dictyolomida B (2)

A localização dos gêneros *Dictyoloma* Juss e *Spathelia* L. tem sido duvidosa desde que eles foram descritos pela primeira vez por Linnaeus (1762), como integrantes da família Rutaceae (LIMA *et al*, 2005). Em 1825, De Candolle classificou-o como um gênero mal definido na ordem Terebinthaceae, equivalente à moderna descrição de Terebinthaceae (VIEIRA *et al*, 1988). De acordo com Bentham e Hooker (1862), *Spathelia* e *Dictyoloma* pertenciam à ordem Simaroubaceae, mas depois os reclassificaram em Rutaceae, localizando *Spathelia* na subfamília Spathelioideae e *Dictyoloma* na subfamília Dictyolomatoideae (LIMA *et al*, 2005). Engler, também primeiro incluiu este gênero em Simaroubaceae, porém mais tarde, o removeu para Rutaceae, classificando *Dictyoloma* como um gênero singular na subfamília Dictyolomatoideae (VIEIRA *et al*, 1988).

No diagrama filogenético de Waterman, figura 1.3.2, Dictyolomatoideae aparentemente ocupa uma posição entre os gêneros proto-Rutaceae e Spathelioideae, entretanto próximo da tribo Zanthoxyleae (SARTOR *et al*, 2003).

Dictyoloma e *Spathelia* são conhecidos por apresentarem alcalóides 2-quinolônicos, cromonas preniladas e limonóides. Contudo, cromonas preniladas têm sido descritas para os gêneros *Spathelia*, *Dictyoloma* e *Harrisonia*, bem como gêneros de Cneoraceae e Ptaeroxylaceae. As cromonas não têm sido encontradas em outros gêneros de Rutaceae e Simaroubaceae. Deste modo, de acordo com Waterman (1983) a ocorrência de cromonas nestes gêneros é filogeneticamente significativa por segregá-los em um grupo distinto e próximo na associação com a família Rutaceae (LIMA *et al*, 2005).



Fonte: SARTOR, 2003.

Figura 1.3.2. Diagrama filogenético de Waterman para ordem Rutales, baseado na distribuição de metabólitos secundários usado aqui para localizar a subfamília Dictyolomatoideae, que previamente não foi incluída por falta de dados fitoquímicos. Au = Aurantioideae, Ba = Balsamocitrinae, Bo = Boroniae, Ci = Citrineae, Cl = Clauseninae, Cn = Cneoraceae, Cu = Cusparieae, Di = Diosmeae, Dy = Dictyolomatoideae, FI = Flindersioideae, Ha = Harrisonia (Simaroubaceae), Me = Meliaceae, Mi = Micromelinae, prR = gênero proto - Rutaceae, Pt = Ptaeroxylaceae, Rt = Rutinae, Ru = Rutoideae, Si = Simaroubaceae, Sp = Spathelioideae, To-1 = Toddalioideae (contém cumarinas), To-2 Toddalioideae (contém acridonas), Tr = Triphasiinae, Za = Zanthoxylae (Waterman, 1983); ◆ Distribuição de cromonas, ▲ distribuição de 2-alkil-4(1H)-quinolonas.

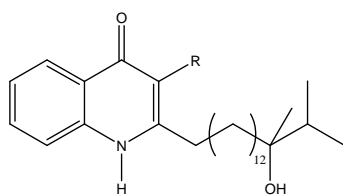
1.4 A espécie *Dictyoloma vandellianum* A. Juss

Com ocorrência no Brasil, esta espécie pertence a um gênero que remete a divergências em sua classificação. Os resultados dos estudos fitoquímicos realizados nesta espécie, ao longo do tempo, têm contribuído para confirmação de sua posição taxonômica.

Os alcalóides, limonóides e cromonas que foram isolados de *D. vandellianum* são muito próximos daqueles isolados de *Spathelia sorbifolia* mostrando a afinidade química entre as subfamílias Spathelioideae e Dictyolomatoideae. Considerando que as cromonas são desconhecidas em Rutaceae, *Spathelia* e *Dictyoloma* diferem dos outros gêneros desta família (VIEIRA *et al*, 1990).

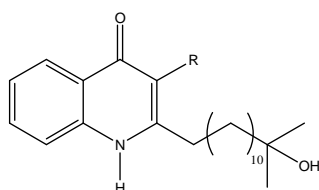
Os alcalóides 2-alquil-4(1H)-quinolônicos que têm sido recentemente isolados de *Dictyoloma vandellianum* e *Spathelia excelsa* mostraram similaridade com a tribo Zanthoxyleae, que apresenta alguns alcalóides desta classe. Estes dados fortemente suportam as conclusões taxonômicas de Chase e Scott e permitiram Sartor *et al* incluírem Dictyolomatoideae no diagrama filogenético de Waterman, em uma posição entre os gêneros proto-Rutaceae e a subfamília Spathelioideae, entretanto próximo da tribo Zanthoxyleae (LIMA *et al*, 2005).

Uma amina simples (VIEIRA *et al*, 1988), o alcalóide 8-metoxiflindersina, o triterpeno β -sitosterol (SARTOR *et al*, 2003) e limonóides também foram isolados de *D. vandellianum*. A ocorrência destes metabólitos foi importante para um melhor posicionamento do gênero na família Rutaceae (VIEIRA *et al*, 1990). A figura 1.4.1 apresenta as substâncias já isoladas na espécie.



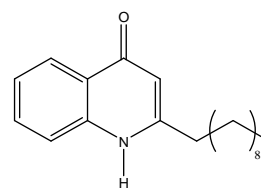
R=H : 2-(14'-hidroxi-14',15'-dimetilhexadecanil)-4-quinolona

R=OMe : 2-(14'-hidroxi-14',15'-dimetilhexadecanil)-3-metoxi-4-quinolona

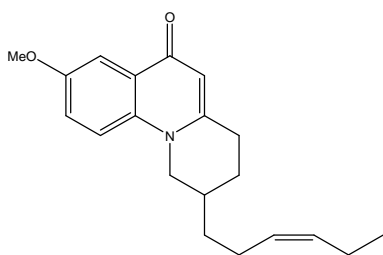


R=H : 2-(12'-hidroxi-12'-metiltridecanil)-4-quinolona

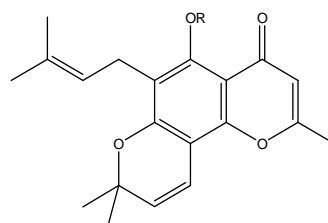
R=OMe : 2-(12'-hidroxi-12'-metiltridecanil)-3-metoxi-4-quinolona



2-(n-decanil)-4-quinolona

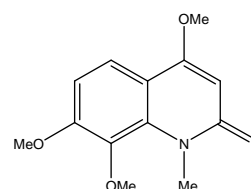


R=OMe : 6-metoxidictyolomida A

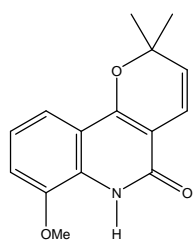


R=H : 6-(3-metil-2-butenil)-allopteroxilina

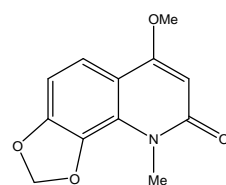
R=OMe : 6-(3-metil-2-butenil)-allopteroxilina éter metílico



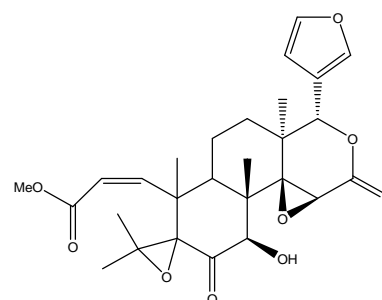
N-metil-4,7,8-trimetoxi-2-quinolona



8-metoxiflindersina



casimiroina



deacetilspathelina

Figura 1.4.1. Substâncias previamente isoladas de *D. vandellianum*.

1.5 Breves considerações sobre as classes de metabólitos secundários isolados na espécie

1.5.1 Cromonas

Quimicamente, o termo cromona refere-se a estruturas com o núcleo 1,4-benzopirona. (EDWARDS & HOWELL, 2000). Estes metabólitos representam um pequeno grupo de substâncias naturais, cujas estruturas são isômeros das cumarinas, porém com rotas biossintéticas distintas. As furanocromonas dos frutos de *Ammi visnaga* Lam. (Apiaceae), planta encontrada nos países do Mediterrâneo, são as mais conhecidas do ponto de vista medicinal, sendo a quelina seu principal representante pelas suas ações vasodilatadoras e broncodilatadoras (REYNOLDS, 1993). Esta foi a primeira cromona usada pura na terapêutica. Farmacologicamente foi estudada por Samaan em 1932, que mostrou que sua atividade relaxante da musculatura lisa deve-se a ação direta nas fibras musculares. Em 1947, Anrep et al mostraram outro uso para quelina: completo e prolongado relaxamento da asma brônquica (EDWARDS & HOWELL, 2000). Foi incluída nas farmacopéias da França, Rússia, Alemanha, Egito, Áustria e faz parte de alguns medicamentos comercializados em países europeus, com indicações para tratamento de angina pectoris e asma brônquica (REYNOLDS, 1993). É um protótipo para a produção de cromolina sódica, droga estabilizadora dos mastócitos (ROBBERS & TYLER, 1997).

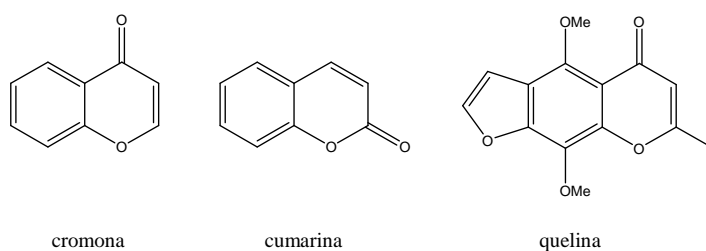


Figura 1.5.1.1. Diferença estrutural entre cumarina e cromona e estrutura da quelina.

A maioria das cromonas que ocorre na natureza apresenta grupos alcoxílico ou hidroxílico. Uma exceção é a 2-isopropilcromona a qual foi isolada do óleo essencial de *Lophomyrtus bullata*, um arbusto que cresce na nova Zelândia, com teor de 6,5%. Algumas cromonas são substituídas por hidroxilas em C5 e C7 e metila em C2. A primeira isolada com tais características foi a peucenina, obtida dos rizomas de *Peucedanum ostruthium* Koch por extração com éter e tratamento com solução aquosa básica.

A 5,7-diidroxi-2-metilcromona foi isolada da raiz de *Daucus carota* após inoculação de fungos como *Chalaropsis thielavioides* e *Botrytis cinerea*, característicos de estocagem. Cromonas contendo grupo alquílico longo na posição 2 são raras na natureza, mas Cooke e Down isolaram 5,7-diidroxi-6-metil-2-nonacosilcromona e pequenas quantidades de homólogos de duas plantas australianas, *Dianella revoluta* e *Stypandra grandis*.

Eugenina foi a primeira alcoxicromona identificada como produto natural. Foi obtida de *Eugenia caryophyllata* (L.) Thunbg e caracterizada como 5-hidroxi-7-metoxi-2-metilcromona. Algumas cromonas O-glicosídicas têm sido isoladas de líquens e outras plantas (ELLIS, 1977). Na figura 1.5.1.2 a seguir estão as estruturas das cromonas citadas acima.

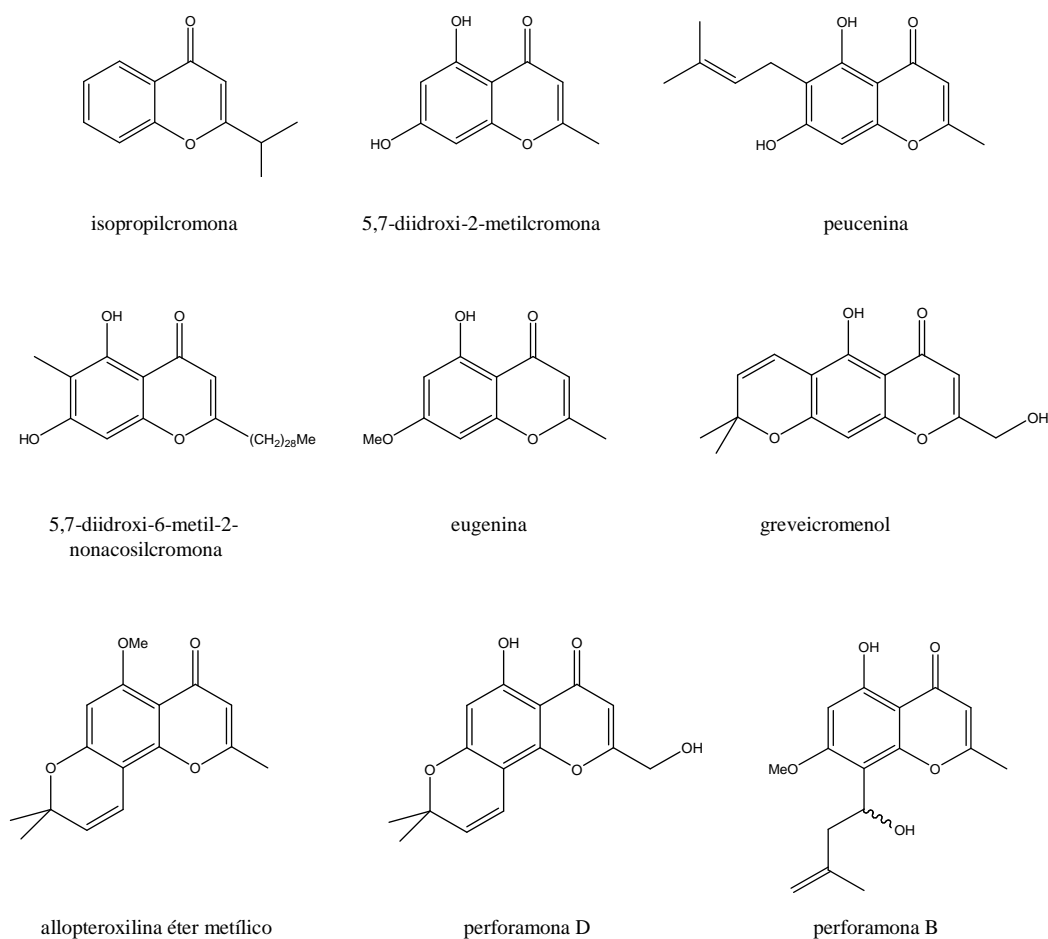


Figura 1.5.1.2. Estruturas das cromonas citadas.

Para algumas cromonas, estudos indicam atividades biológicas importantes. 7-metoxipeucenina, allopteroxilina éter metílico, perforamona B, eugenina, perforamona D, greveicromenol, apresentam atividade antimicobactéria, *in vitro*. Allopteroxilina éter metílico também apresenta atividade antimalária, *in vitro* (TUNTIWACHWUTTIKUL *et al*, 2006).

1.5.2 Alcalóides 2-quinolônicos

Da ordem Rutales, até abril de 1982, mais de 500 alcalóides haviam sido isolados de cerca de 300 espécies, pertencentes a 87 gêneros. Os alcalóides derivados do ácido antranílico são os mais comuns em Rutaceae. Eles ocorrem nos 64 de 74 gêneros e em 5 das sete subfamílias da ordem (WATERMAN & GRUNDON, 1983).

Alguns alcalóides 2-quinolônicos são também chamados de quinolonas hemiterpenóide tricíclicas, por apresentarem um grupo prenílico na posição 3. Isto possibilita formação de anéis do tipo pirano ou furano, originando estruturas tricíclicas (BRAVO *et al*, 1988).

Todos os alcalóides 2-quinolônicos conhecidos são oxigenados na posição 4. Muito raramente uma metoxila ocorre na posição 3 que freqüentemente apresenta um grupo prenílico como substituinte. No anel benzênico grupos metoxílico, metilendioxílico ou oxiprenílico aparecem como substituintes das posições 6, 7 e 8 (WATERMAN & GRUNDON, 1983).

Apesar de incomum, algumas substâncias desta classe possuem substituintes oxigenados na posição 3. A 3,4,8-trimetoxi-2-quinolona foi isolada de partes aéreas do arbusto australiano *Eriostemon gardneri*.

O alcalóide atanina foi isolado pela primeira vez de *Evodia rutaecarpa*, uma planta usada na medicina tradicional chinesa. Este alcalóide foi localizado por fracionamento biodirecionado contra o nematóide *Ostertagia circumcincta*. Depois de purificado também apresentou atividade contra o parasita humano *Schistosoma mansoni*.

Dois exemplos de piranoquinolonas são os alcalóides zanthosimulina e huajiaosimulina, isolados de *Zanthoxylum simulans*, os quais apresentam atividade contra linhagens de células de câncer de mama (MICHAEL, 1997a).

A glicocitridina é um alcalóide 2-quinolônico isolado das folhas de *Glycosmis citrifolia*. O grupo formila, um substituinte não usual, aparece na posição 3. De *Haplophyllum perforatum* foi isolado a haplosamina, uma 2-quinolona com substituinte prenila pouco comum.

Algumas piranoquinolonas foram isoladas das folhas de *Vepris bilocularis*, uma árvore de florestas do sul da Índia. São elas: haplamina, 7-metoxiflindersina, 7-preniloxiflindersina, N-metil-7-preniloxiflindersina. Este padrão de oxigenação na posição 7 tem sido observado somente em gêneros africanos como *Oricia* e o próprio *Vepris* (MICHAEL, 1997b).

A classe dos alcalóides 2-quinolônicos é utilizada como ferramenta para discussões sobre classificação taxonômica. Como exemplo, o isolamento do alcalóide N-metilflindersina contribuiu na classificação de *Spathelia* em Rutaceae (TAYLOR *et al*, 1973).

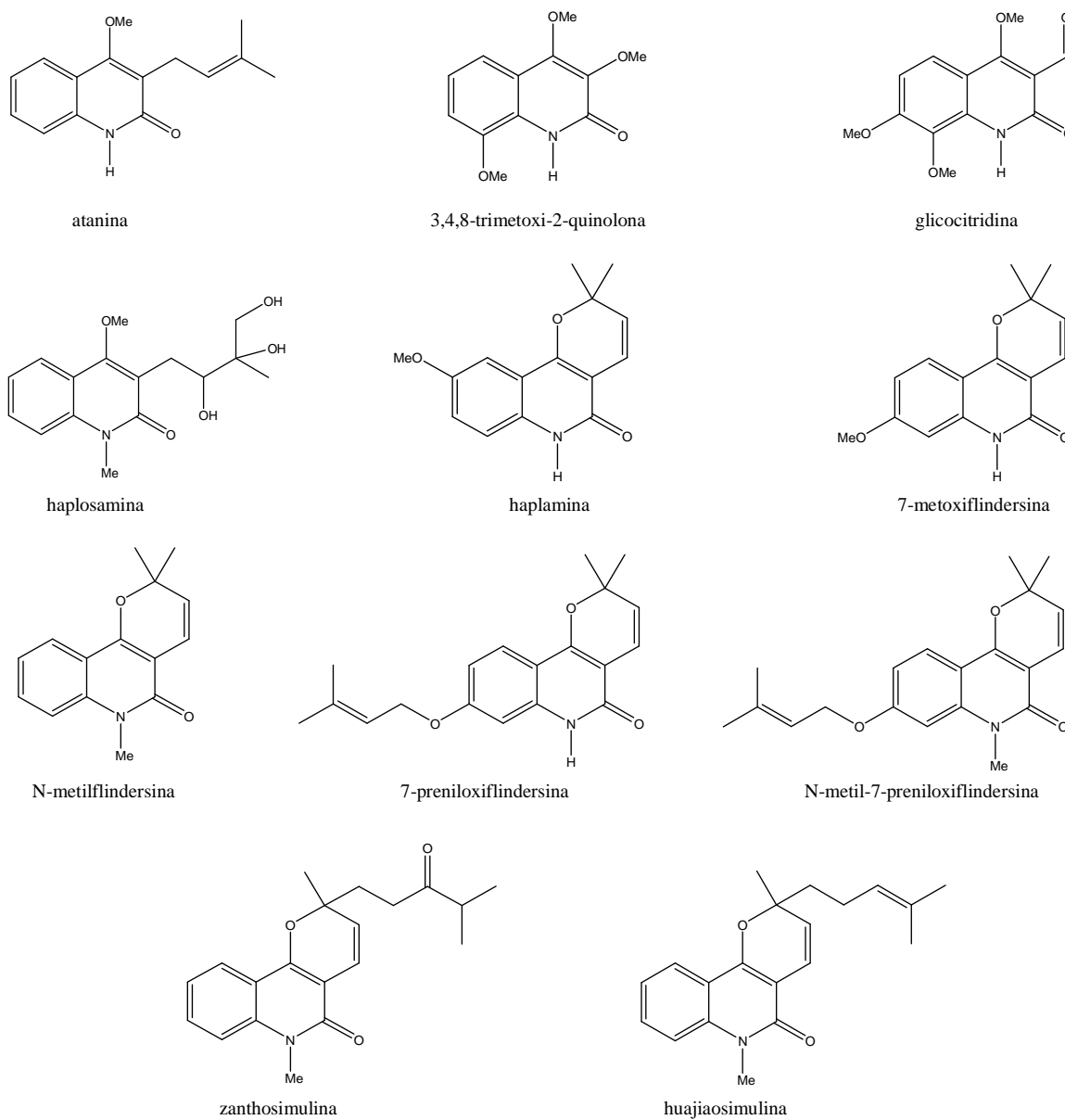


Figura 1.5.2.1. Estrutura dos alcalóides 2-quinolônicos citados.

CAPÍTULO 2: OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

2.1 Objetivos

- Isolar e identificar estruturas de substâncias presentes na raiz de *Dictyoloma vandellianum* A. Juss;
- Contribuir com a quimiosistemática do gênero *Dictyoloma*.

2.2 Justificativa

No estudo fitoquímico de uma espécie, cujo gênero seja relativamente conhecido deste ponto de vista, espera-se em princípio, encontrar substâncias pertencentes a classes de produtos naturais peculiares a este gênero. Normalmente, os ensaios químicos preliminares dos extratos já revelam um perfil compatível com a química do gênero ou da família. No entanto, à medida que ocorrem os processos de fracionamento dos extratos, é possível a detecção e isolamento de substâncias, muitas vezes em quantidades significativas, provenientes de rotas biossintéticas não usuais para o gênero ou família em questão. Esta diferenciação constitui informação de grande importância do ponto de vista quimiotaxonômico (MENDES, 2004).

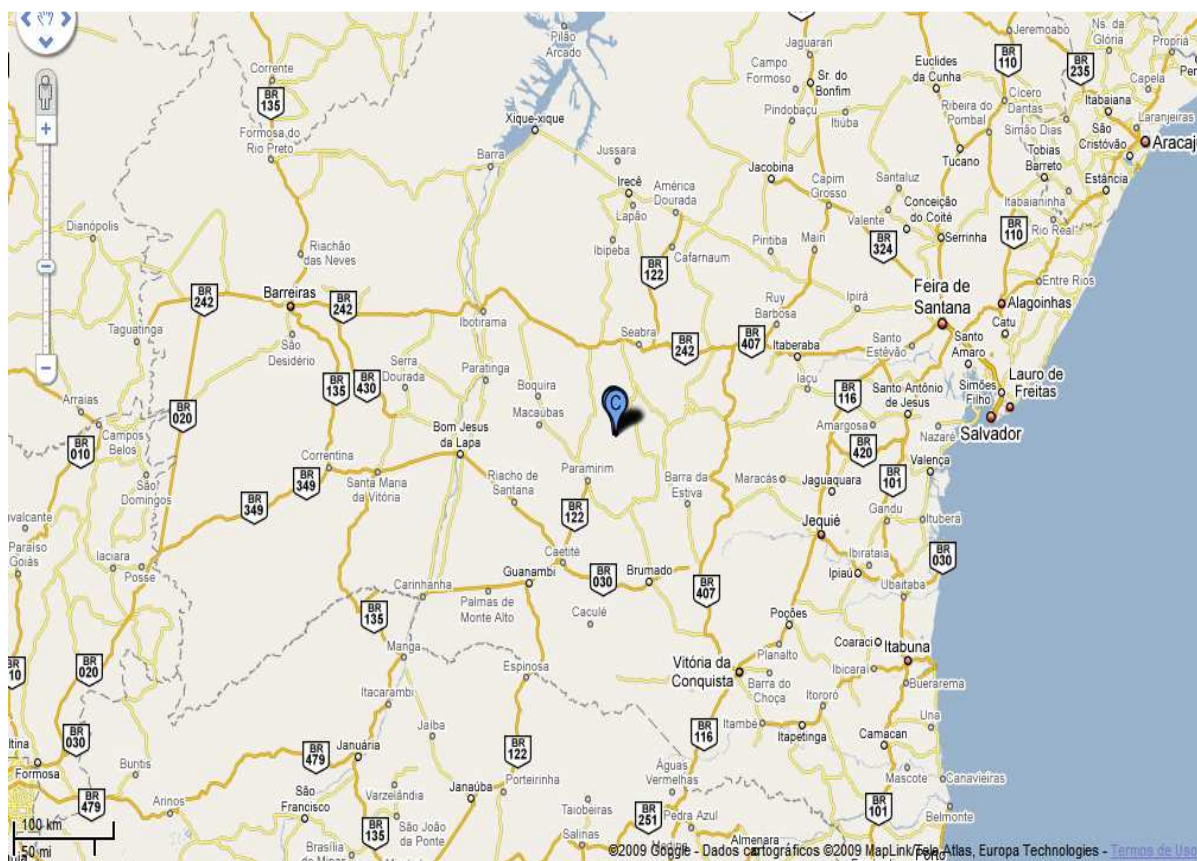
Com relação ao gênero *Dictyoloma*, surgiram dúvidas acerca de sua posição taxonômica ao longo do tempo. Estas dúvidas foram criadas, entre outros fatores, pela presença de cromonas, produtos naturais que não caracterizam a família Rutaceae. Desta forma, é interessante a continuidade do estudo fitoquímico da espécie proposta.

CAPÍTULO 3: MATERIAL E MÉTODO

3.1 Coleta do material vegetal e identificação botânica

O espécime vegetal foi coletado no dia 26/03/2005, na presença da botânica Prof^a Maria Lenise Guedes, nas margens da estrada que liga o município de Piatã e o distrito Inúbia, Chapada Diamantina – BA. O local encontra-se a 1250 metros acima do nível do mar. Ver figuras 3.1.1-2.

A planta foi identificada pela Prof^a Maria Lenise Silva Guedes, curadora do Herbário Alexandre Leal Costa do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia. Uma exsicata foi depositada neste herbário.



Fonte: Googlemaps.

Figura 3.1.1 Mapa do ponto de coleta – parte 1: A marca representa o distrito de Inúbia.



Fonte: Googlemaps.

Figura 3.1.2 Mapa do ponto de coleta – parte 2: As marcas representam o distrito de Inúbia.

3.2 Obtenção dos extratos

A raiz foi seca em estufa a 45°C por 72 horas. Posteriormente, a casca foi separada do cerne resultando, após moagem, em 384g e 1570g, respectivamente.

A preparação dos extratos foi feita por maceração, sendo que para a casca da raiz foram utilizados diclorometano e metanol como solventes e para o cerne hexano e metanol, nesta ordem. Os macerados obtidos foram submetidos a evaporação sob pressão reduzida, em rotoevaporador. Resultaram desta forma, os extratos diclorometânico e metanólico da casca da raiz e hexânico e metanólico do cerne da raiz, os quais foram secos em dessecador. Entretanto, os extratos diclorometânico da casca e metanólico do cerne apresentavam resíduo de solvente. A utilização de diclorometano para a casca e hexano para o cerne foi meramente em função da disponibilidade de solventes no laboratório. Abaixo segue a tabela 3.2.1 com a relação das massas trabalhadas e a figura 3.2.1 com procedimento da maceração.

Tabela 3.2.1. Dados gerais de obtenção de extratos brutos de *Dictyoloma vandellianum* A. Juss

Material de partida	Massa (g)	Extrato bruto	Massa do extrato bruto(g)
Casca da raiz	384	diclorometânico	38,5
		metanólico	13,5
Cerne da raiz	1570	hexânico	6,5
		metanólico	30,0

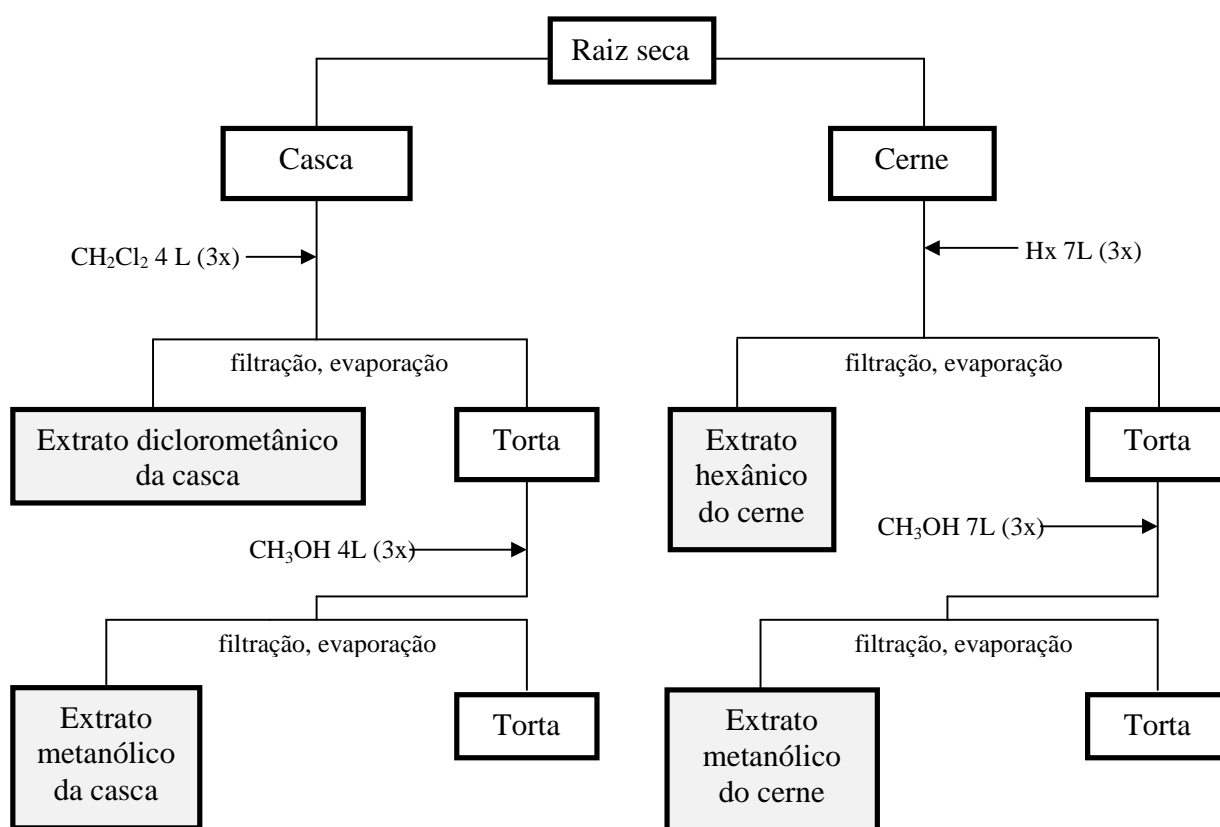


Figura 3.2.1. Procedimento para obtenção dos extratos da raiz.

3.3 Fracionamentos cromatográficos

Todos os extratos foram submetidos a CCD e obtenção de espectros de RMN ^1H , inicialmente, para observação de seus perfis cromatográficos e espectroscópicos. Além disso, em ensaios iniciais, todos apresentaram reações positivas para reagente de Dragendorff, indicando a possível presença de alcalóides.

Inicialmente, os extratos diclorometânico da casca e metanólico do cerne foram submetidos a um fracionamento rápido utilizando coluna acoplada a uma bomba de vácuo, procedimento comumente chamado de coluna filtrante. Gel de sílica 60 (63-200 μm) foi usado como fase estacionária. Posteriormente, o fracionamento de todos os extratos foi realizado utilizando cromatografia em coluna por adsorção em gel de sílica 60 (63-200 μm), com uma relação de sílica/extrato variando entre 20-40 vezes, em massa. Foram usados diferentes sistemas de solventes como fase móvel e em cada fracionamento a polaridade foi incrementada com o decorrer da separação. Coletou-se um volume médio de 10mL. A fase móvel de cada fracionamento foi escolhida por avaliação prévia em CCD.

A escolha da fração a ser trabalhada foi baseada em seu perfil cromatográfico observado por CCD, análise da sua complexidade no espectro de RMN ^1H e massa disponível. As frações obtidas em cada fracionamento foram monitoradas por CCD, reveladas em câmara com vapor de iodo, lâmpada ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm, RMN ^1H e reagente de Dragendorff para algumas frações.

As substâncias isoladas foram caracterizadas através das informações obtidas por experimentos de RMN ^1H , RMN ^{13}C , HMQC, HMBC, DEPT-135, IV e comparações com dados da literatura disponíveis.

3.3.1 Extrato hexânico do cerne da raiz

Em ensaios preliminares este extrato mostrou-se reativo frente o teste de Liebermann-Burchard, indicando possível presença de triterpenos e / ou esteróides. O extrato foi submetido a uma separação por cromatografia em coluna por adsorção em gel de sílica, cuja fase móvel foi Hx, Hx/AcOEt (98:2), (95:5), (9:1), (85:15), seguido de progressivo incremento na polaridade.

Para cada proporção foi utilizado volume de 100 mL. A fração 5 foi escolhida para seqüência do trabalho e após dois fracionamentos foi isolado o β -sitosterol (F).

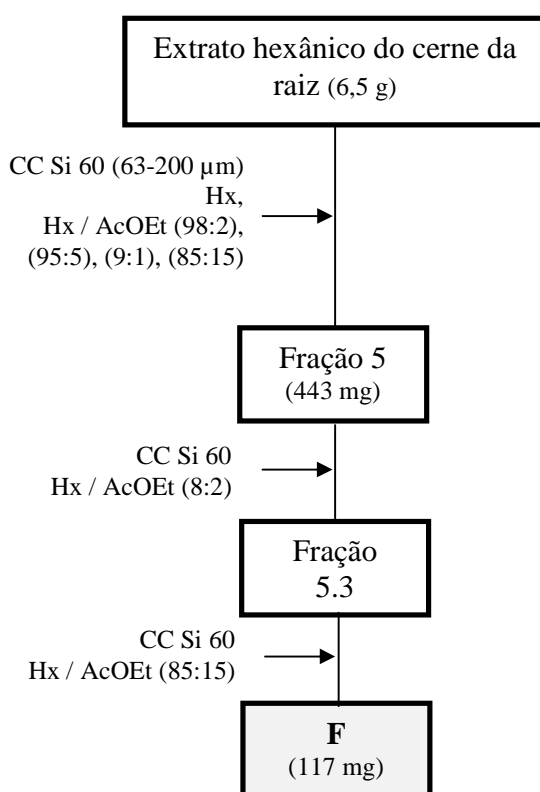


Figura 3.3.1.1. Procedimento de fracionamento do extrato hexânico do cerne da raiz.

3.3.2 Extrato metanólico do cerne da raiz

O extrato metanólico do cerne foi inicialmente submetido a um fracionamento rápido utilizando coluna acoplada a uma bomba de vácuo, procedimento comumente chamado de coluna filtrante. Gel de sílica 60 (63-200 μ m) foi usado como fase estacionária. Os solventes usados nesta etapa foram éter de petróleo, hexano, clorofórmio, éter etílico e metanol. Em função da disponibilidade de solventes no laboratório foi usado tanto éter de petróleo quanto hexano. Já o éter etílico foi utilizado por mera curiosidade.

A fração clorofórmica foi fracionada por cromatografia em coluna usando como eluente o sistema Hx/AcOEt/CHCl₃ (9:1:1), (85:15:10), (8:2:1), (75:25:10), (7:3:1). Para cada proporção foi utilizado volume de 100 mL. Desta forma, a N-metil-8-metoxiflindersina (G) foi isolada e uma mistura contendo a 8-metoxiflindersina (H) foi separada. Nova cromatografia em coluna, nesta mistura, com o sistema Hx/AcOEt (8:2) e progressivo incremento na polaridade resultou na purificação da 8-metoxiflindersina. Para cada proporção foi utilizado volume de 100 mL. Observar esquema do fracionamento na figura 3.3.2.1 a seguir.

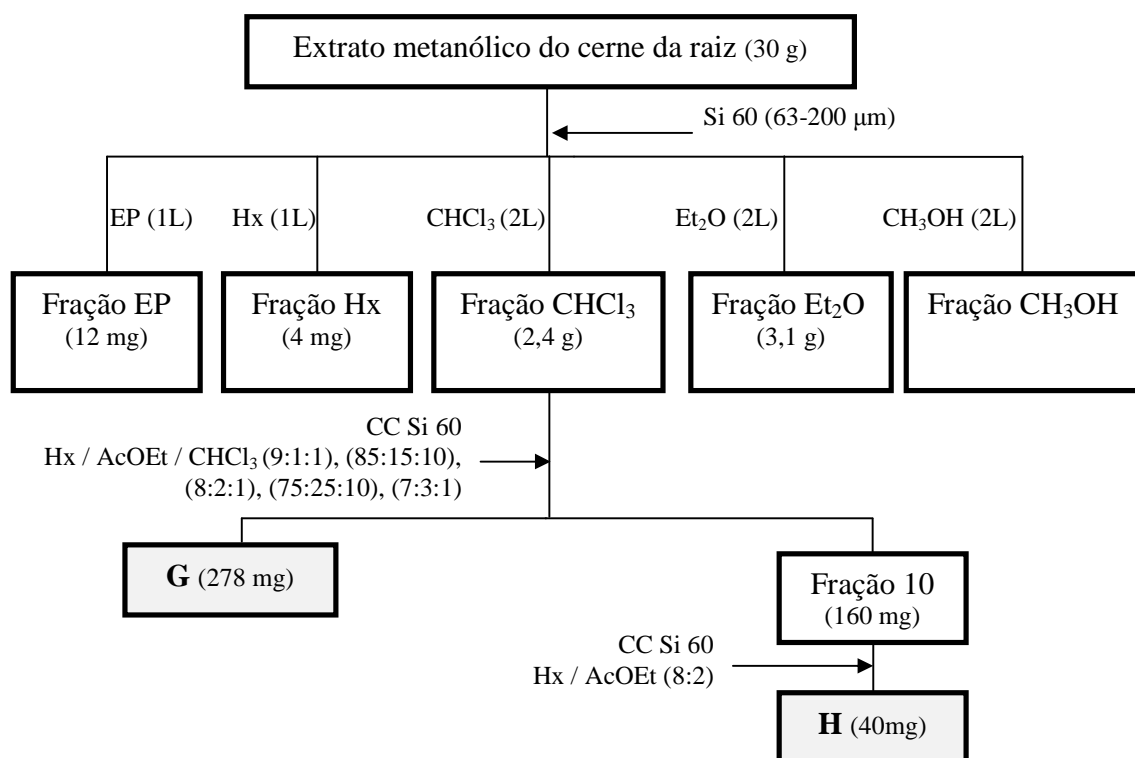


Figura 3.3.2.1. Procedimento de fracionamento do extrato metanólico do cerne da raiz.

3.3.3 Extrato diclorometânico da casca da raiz

O extrato diclorometânico da casca foi inicialmente submetido a um fracionamento rápido utilizando coluna acoplada a uma bomba de vácuo, procedimento comumente chamado de coluna filtrante. Gel de sílica 60 (63-200 μm) foi usado como fase estacionária. Os solventes usados nesta etapa foram éter de petróleo, hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol. Em função da disponibilidade de solventes no laboratório foi utilizado tanto éter de petróleo quanto hexano. A fração diclorometânica, então obtida, foi submetida a cromatografia em coluna por adsorção em gel de sílica 60 (63-200 μm). A fase móvel utilizada foi Hx, Hx/AcOEt (98:2), (96:4), (92:8), (9:1), seguido de progressivo incremento na polaridade. Para cada proporção foi utilizado volume de 100 mL.

O espectro de RMN ^1H da fração 10 indicou presença de mistura de duas substâncias majoritárias. Esta fração foi submetida a cromatografia em coluna por adsorção em gel de sílica 60 (63-200 μm), o que resultou no isolamento das cromonas 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico (C) e spatheliabiscromeno (B).

A fração 6 depois de sucessivas separações em coluna cromatográfica resultou nas cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina (D) e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno (E). Já a fração 8 após sucessivos fracionamentos resultou no isolamento da cromona 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico. Observar esquema do fracionamento na figura 3.3.3.1 a seguir.

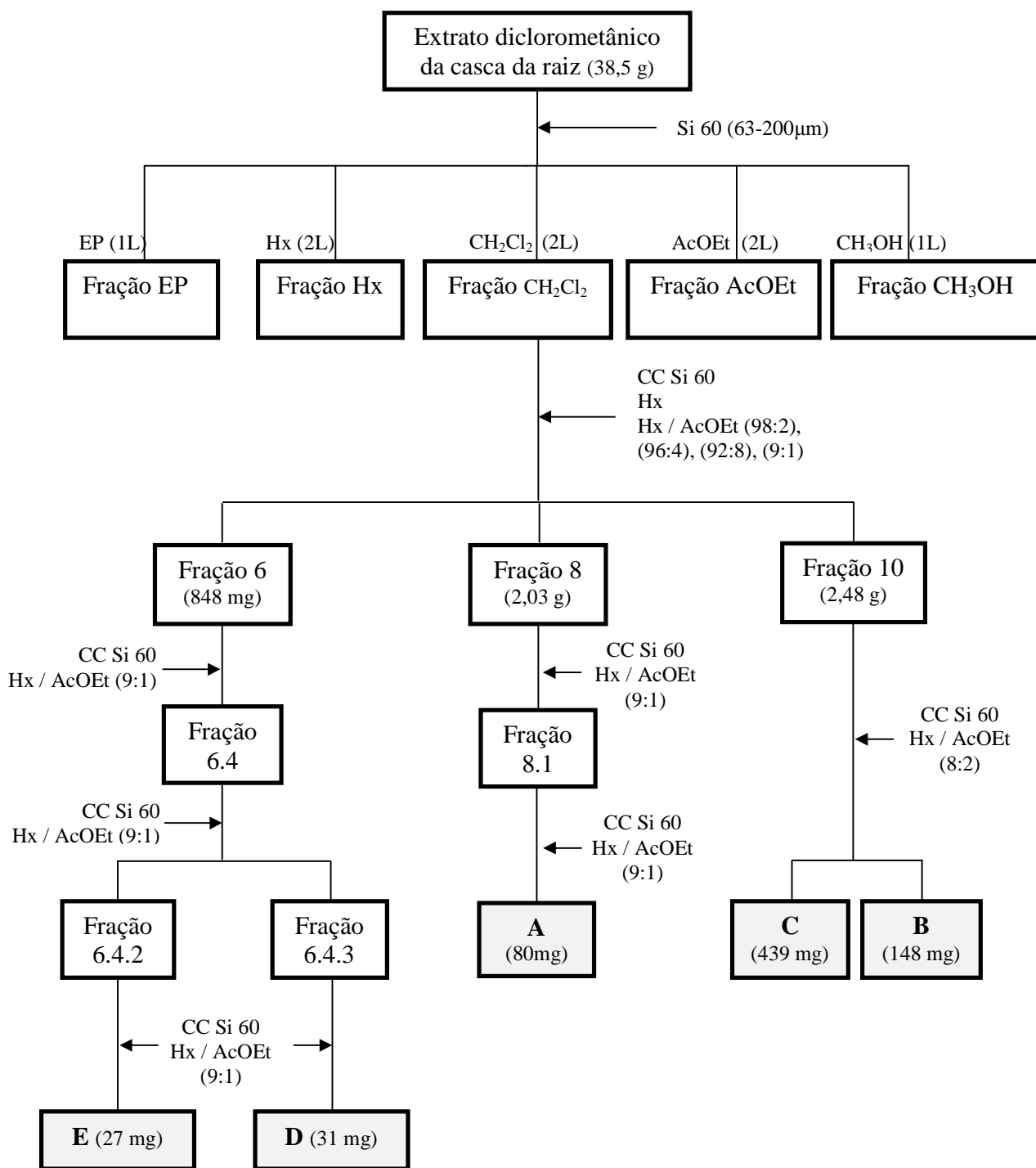


Figura 3.3.3.1 Procedimento de fracionamento do extrato diclorometânico da casca de raiz.

3.3.4 Considerações sobre as frações não descritas

Os procedimentos descritos nos itens 3.3.1-3, referentes ao isolamento das substâncias descritas neste trabalho, não contemplam a composição de todas as frações de cada extrato. Nos fluxogramas destes itens são mostrados os caminhos que proporcionaram as substâncias mais purificadas, tomando como referência os dados de RMN ^1H e ^{13}C . Deste modo, as massas informadas para cada substância isolada não correspondem à massa total que pode ser obtida para cada uma destas substâncias, considerando a sua presença em outras frações.

Pelos dados de RMN ^1H , é possível constatar em outras frações dos extratos hexânico do cerne da raiz e diclorometânico da casca da raiz a presença de cromonas preniladas com grupo hidroxílico ou metoxílico, spatheliabiscromeno, alcalóides 2-quinolônicos. Dentre estes alcalóides podem ser observados sinais referentes àqueles com núcleo flindersínico e outros que não foram identificados por falta de tempo. Em frações do extrato metanólico do cerne da raiz, não descritas anteriormente, não foram observados os sinais referentes às cromonas. Porém, mantiveram-se os sinais referentes aos alcalóides 2-quinolônicos. Em todos os três extratos pode-se notar sinais de RMN ^1H e ^{13}C que possivelmente referem-se a limonóides com esqueleto próximo àquele da deacetilspatolina.

3.4 Especificações dos equipamentos, materiais e métodos usados

3.4.1 Equipamentos

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em um espectrômetro Gemini 2000, Varian, operando a 300 MHz para ^1H e 75 MHz para ^{13}C . Os espectros de ^1H tiveram como padrão de referência interna o tetrametilsilano (TMS).

A eliminação de solventes dos macerados, realizada a pressão reduzida, foi feita em um rotoevaporador Fisaton, modelo 801, série 401650. Com ele foram utilizados um banho de aquecimento Fisaton, modelo 550, série 117459 e uma bomba de vácuo Tecnal TE-058.

Os espectros no infravermelho foram obtidos em um espectrômetro ABB BOMEM, modelo MB100 e em um espectrômetro Varian 1000 FTIR Scimitar, Series FTS 1000. Nos dois equipamentos foram utilizadas pastilhas de KBr.

O cromatógrafo usado foi da marca Perkin Elmer, modelo Clarus 500. Foi utilizada uma coluna capilar Elite 5MS (30 m, 0,25 mm, 0,1 μm), acoplado a detector de massas da mesma marca e modelo. A amostra foi injetada em uma câmara de injeção a 250 °C. Utilizada uma razão de split de 25/1. O gás de arraste foi o hélio com fluxo de 1mL/min. Uma voltagem de 70 eV foi usada no espectrômetro e um intervalo de detecção de 33-400 u.m.a.

3.4.2 Solventes

Os solventes utilizados nas macerações, cromatografia em coluna, cromatografia em camada delgada comparativa apresentavam grau PA. Foram usados éter de petróleo, hexano, clorofórmio, diclorometano, éter etílico, acetato de etila e metanol das marcas Merck, Synth, Quimex, Ecibra, Nuclear, Chemis, Vetec.

O solvente deuterado para registro de espectros de ressonância magnética nuclear foi o CDCl_3 da marca Cambridge Isotope Laboratories Inc.

3.4.3 Colunas e placas cromatográficas

Nas separações por cromatografia em coluna foram utilizadas colunas de diferentes volumes, respeitando a relação sílica / amostra de 20-40 vezes, em massa. A fase estacionária em todos os casos foi gel sílica 60 (63-200 μm) das marcas Vetec e Merck.

As separações por cromatografia em camada delgada comparativa foram realizadas utilizando placas de vidro com 75 x 25 mm. A fase estacionária foi gel de sílica 60 para CCD da marca Merck. Para aplicação da mesma nas placas foi utilizada uma suspensão em clorofórmio, na qual as placas foram imersas, retiradas e posteriormente ativadas em estufa a 105 ° C.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO – IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.

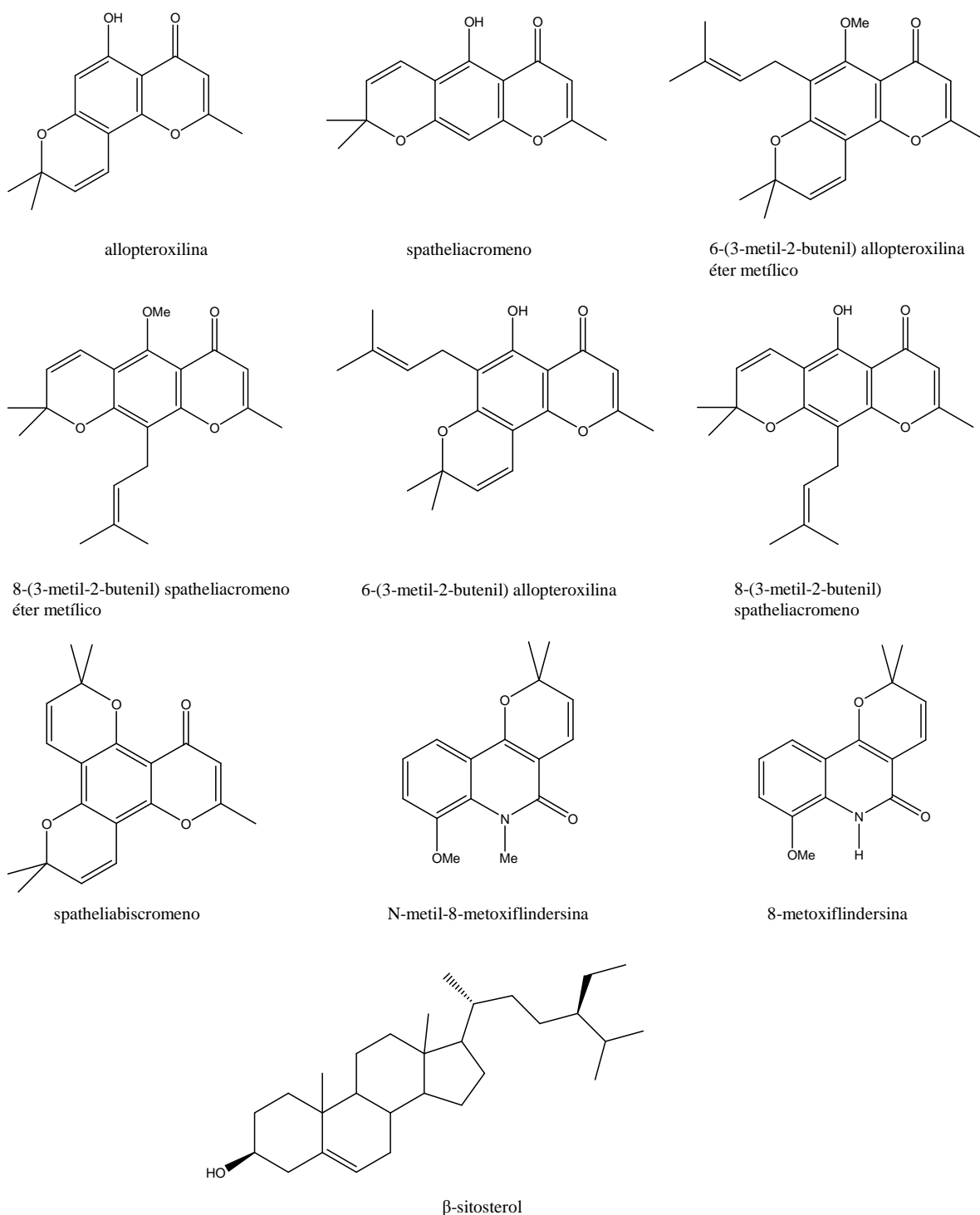


Figura 4.1 Estruturas das substâncias isoladas neste trabalho, com exceção da allopteroxilina e spatheliacromeno (SAENGCHANTARA & WALLACE, 1986) usadas como referência para nomear as cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico, 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico, 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno e 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina.

4.1 Identificação estrutural das cromonas

4.1.1 Identificação 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico

No espectro de RMN ^1H , pode-se observar um par de dubletos em δ_{H} 5,63 (1H) e δ_{H} 6,73 (1H), com constante J 9,9 Hz, compatível com acoplamento de hidrogênios olefínicos em posição *cis*. Um singlete em δ_{H} 1,46 (6H) pode ser constatado. Estes sinais sugerem a presença de um sistema 2,2-dimetilpirano na estrutura.

Também na região dos prótons olefínicos, ocorre um multipletto com deslocamento em δ_{H} 5,16 (1H). Este hidrogênio apresenta duas constantes de acoplamento J 7,5 e J 1,2 Hz. A primeira constante refere-se ao acoplamento com os hidrogênios em δ_{H} 3,35 (2H), um dubleto. A segunda refere-se a um acoplamento alílico com os hidrogênios em δ_{H} 1,66 (3H). Estes sinais juntamente com o sinal em δ_{H} 1,79 (3H) sugerem estrutura com um substituinte prenílico.

Um quarto próton olefínico foi constatado, um dubleto largo com deslocamento em δ_{H} 5,99 (1H) e J 0,6 Hz. Este sinal juntamente com o singlete largo em δ_{H} 2,30 (3H) sugerem sistema do tipo 2-metil-1,4-benzopirona presente na estrutura.

Na região do espectro referente a prótons carbinólicos, ocorre um singlete em δ_{H} 3,84 (3H) o que sugere presença do grupo metoxílico como substituinte da estrutura.

No espectro de RMN ^1H não existem sinais referentes a hidrogênios aromáticos. Ver figuras 4.1.1.1-4.

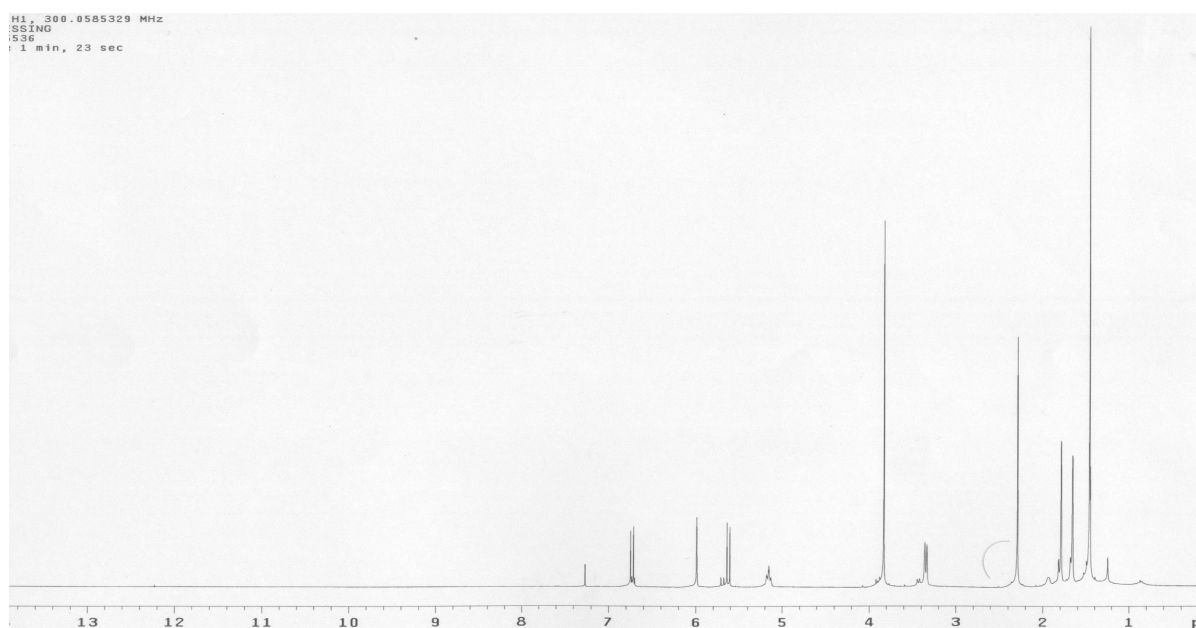


Figura 4.1.1.1 Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 1

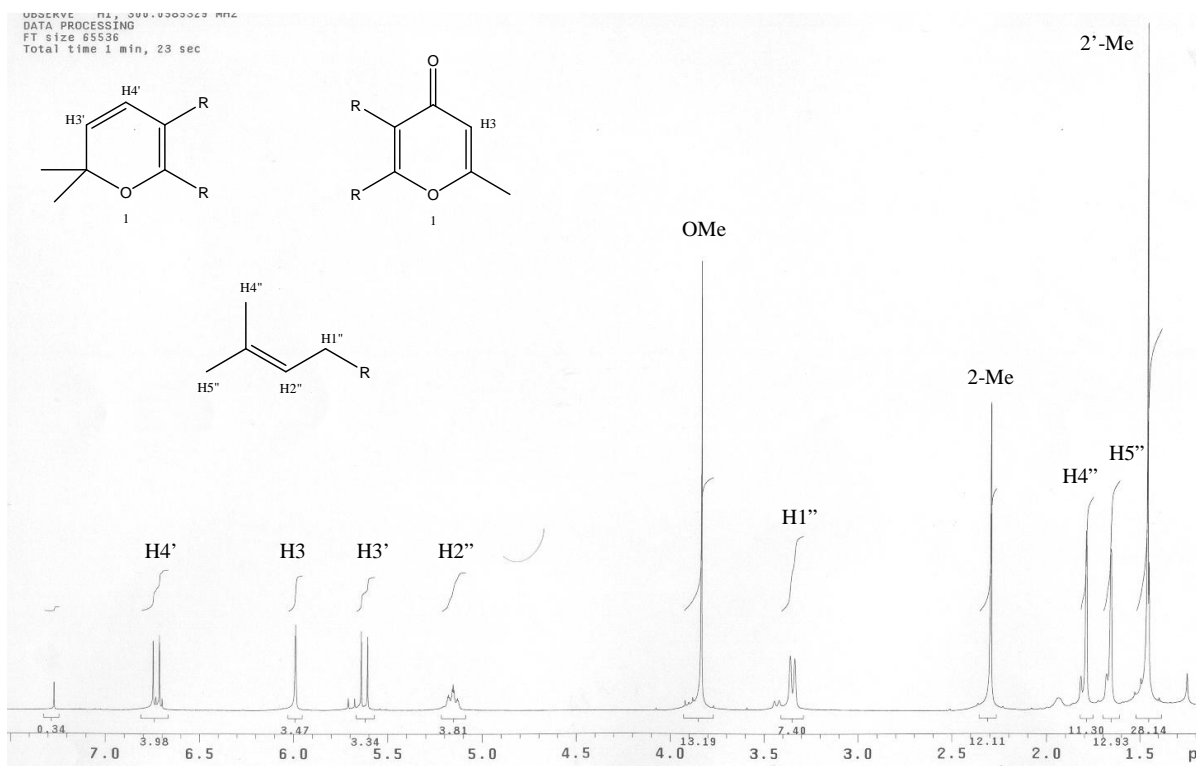


Figura 4.1.1.2 Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 2

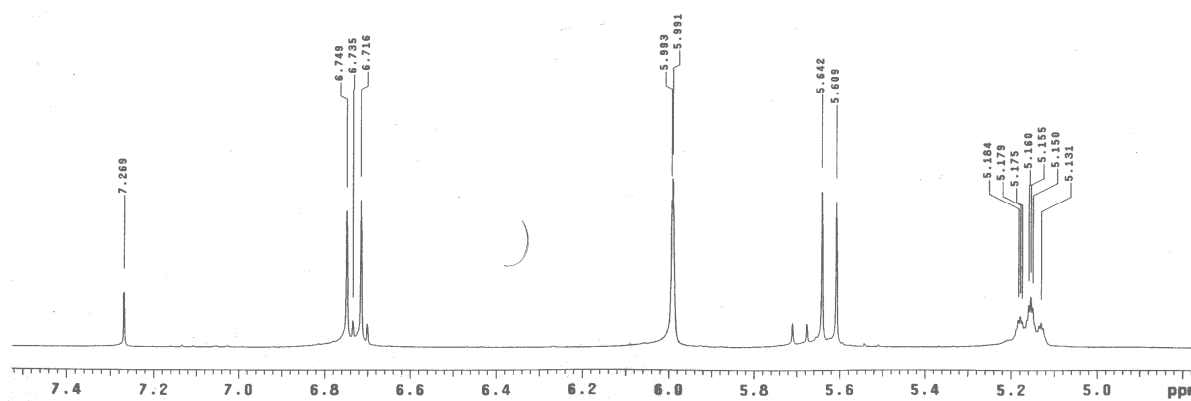


Figura 4.1.1.3 Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 3

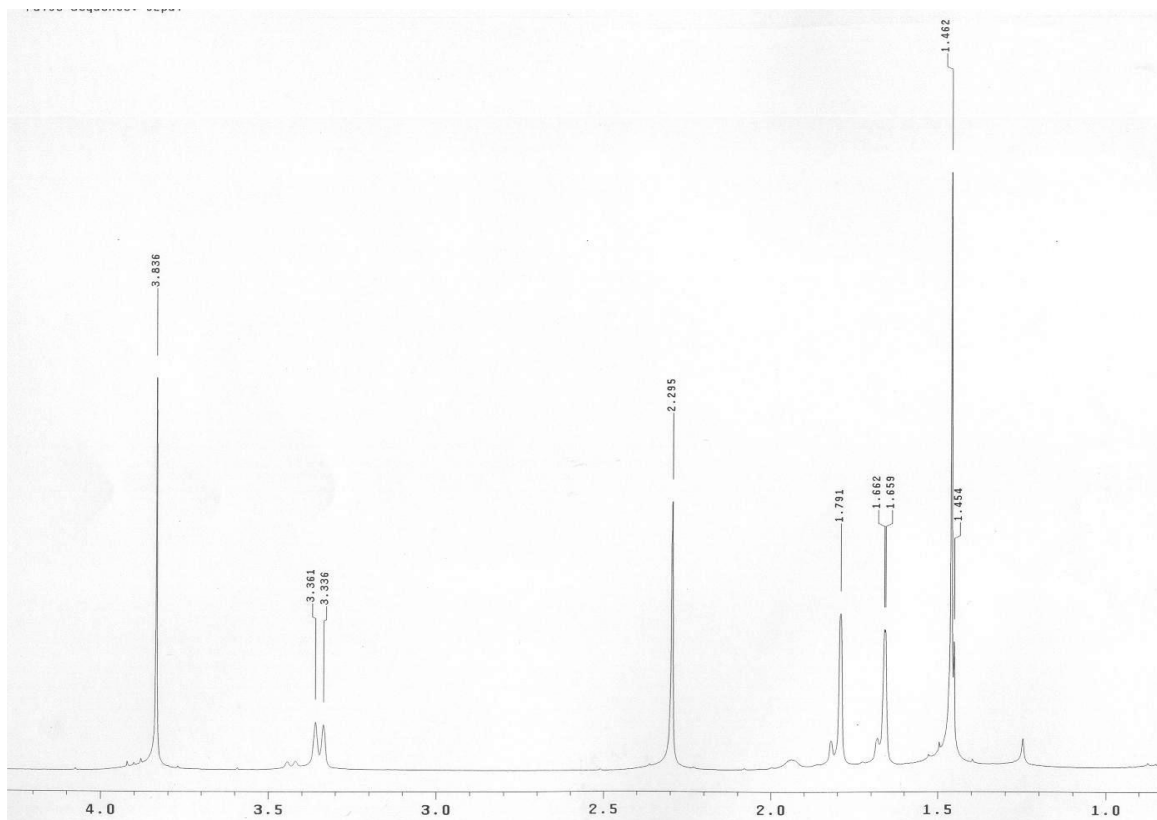


Figura 4.1.1.4 Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 4

O espectro de carbono RMN ^{13}C apresenta sinais que são condizentes com as sugestões levantadas pelos dados de RMN ^1H . O sinal δ_{C} 177,0, o mais desblindado do espectro, é compatível com alguns tipos de carbonila. Este sinal junto com os hidrogênios em δ_{H} 5,99 e δ_{H} 2,30 e banda em 1656 cm^{-1} , do espectro no IV, ver figura 4.1.1.15, estão de acordo com um sistema 2-metil-1,4-benzopirona condensado na molécula. A conjugação de uma carbonila com grupo alceno ou fenila produz absorção na região de $1685\text{ a }1666\text{ cm}^{-1}$. Conjugação adicional pode causar uma redução adicional da frequência de absorção da carbonila (SILVERSTEIN *et al*, 2000).

Doze sinais podem ser associados a carbonos aromáticos e/ou olefínicos. Tais carbonos estão compreendidos entre δ_{C} 105–163. Pela intensidade destes sinais, aparentemente, oito podem ser atribuídos a carbonos não hydrogenados e quatro a carbonos hydrogenados. Apesar da ausência de sinais no espectro de RMN ^1H que indiquem hidrogênios aromáticos na estrutura, a presença de sinais referentes a possíveis carbonos aromáticos não hydrogenados suporta a idéia de que a estrutura possui anel aromático totalmente substituído.

Dois sinais apresentam deslocamentos compatíveis com carbonos carbinólicos, sendo eles δ_C 77,5 e δ_C 62,2. Este último, juntamente com sinal δ_H 3,84, caracteriza o grupo metoxílico como substituinte.

Outros cinco sinais ocorrem em região do espectro que caracteriza carbonos alifáticos saturados. Seus deslocamentos estão compreendidos entre δ_C 17–28. Os sinais aparentemente representam, por suas respectivas intensidades, grupos metílicos e/ou metilênicos. Uma ressalva deve ser feita para o sinal com deslocamento em δ_C 28,0, o qual possivelmente refere-se a dois carbonos.

A presença dos sinais δ_H 1,66, δ_H 1,79, δ_H 5,16, δ_H 3,35, δ_C 22,1, δ_C 122,5, δ_C 131,2, δ_C 17,9 e δ_C 25,7 caracterizam a presença do grupo prenílico como substituinte. Da mesma forma, a presença dos sinais δ_H 5,63, δ_H 6,73, δ_H 1,46, δ_C 128,6, δ_C 115,3, δ_C 28,0 e δ_C 77,5 caracterizam a presença do sistema 2,2-dimetilpirano condensado em parte da molécula. Ver figuras 4.1.1.5-7.

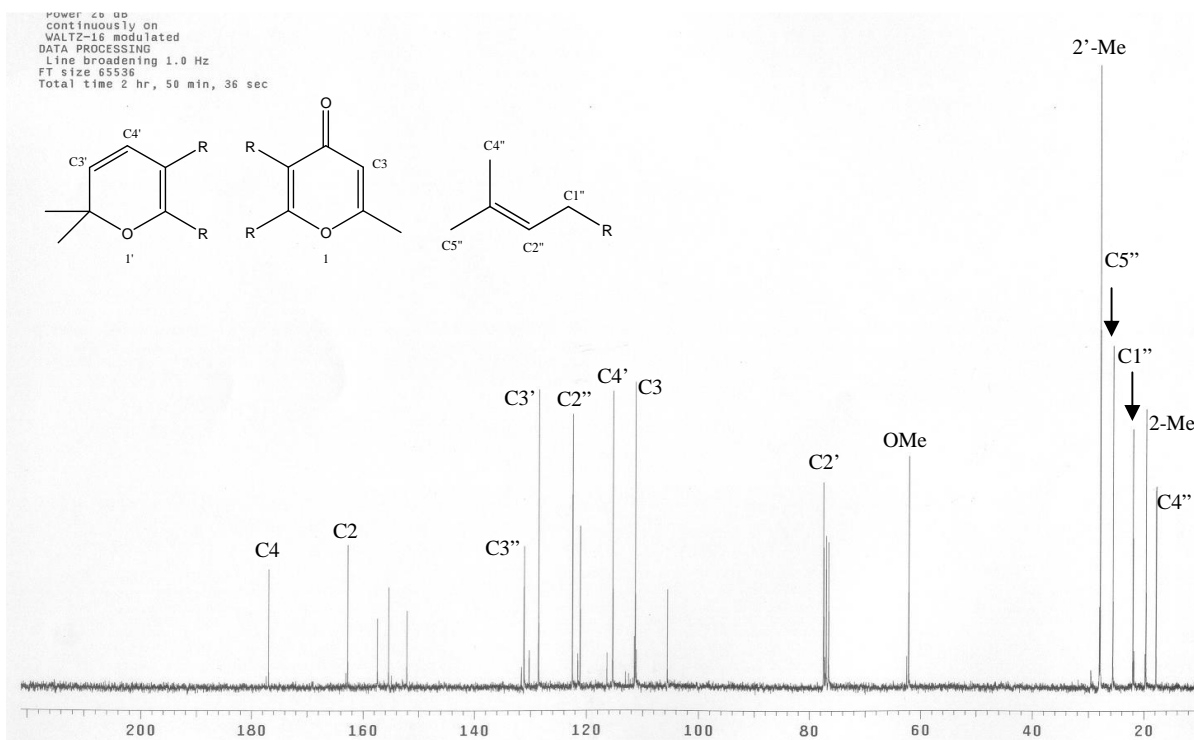


Figura 4.1.1.5 Espectro de RMN ^{13}C da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 1

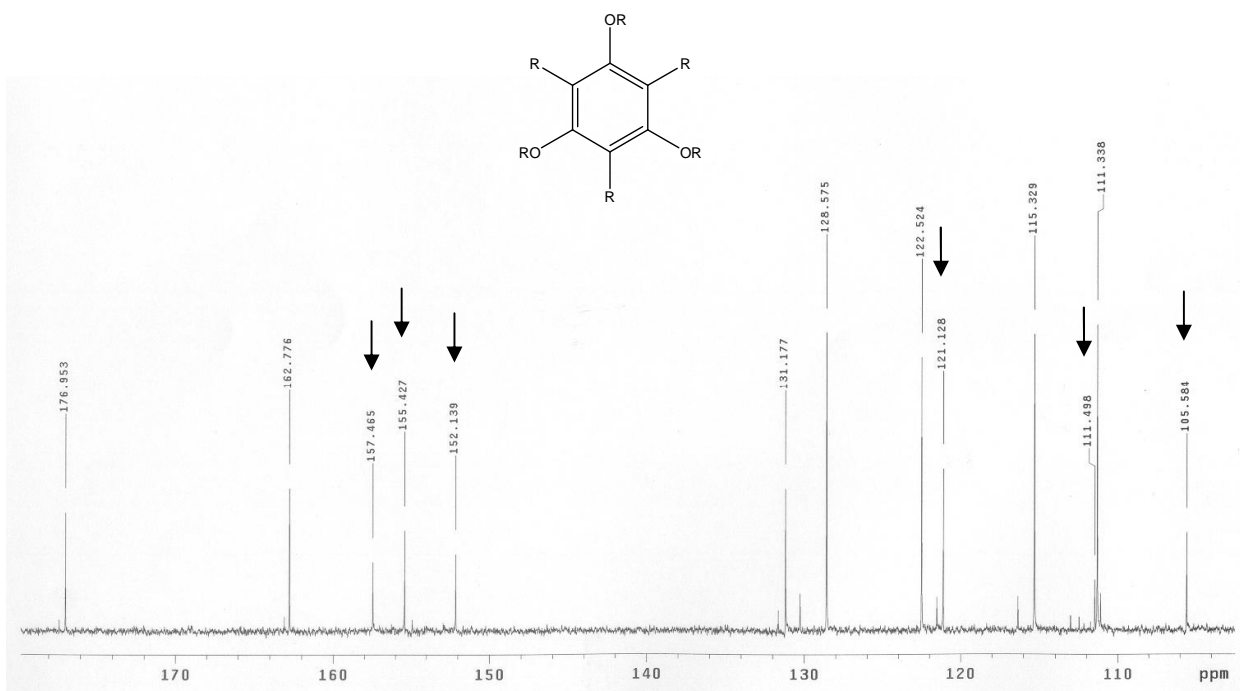


Figura 4.1.1.6 Espectro de RMN ^{13}C da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 2. As setas indicam os carbonos aromáticos.

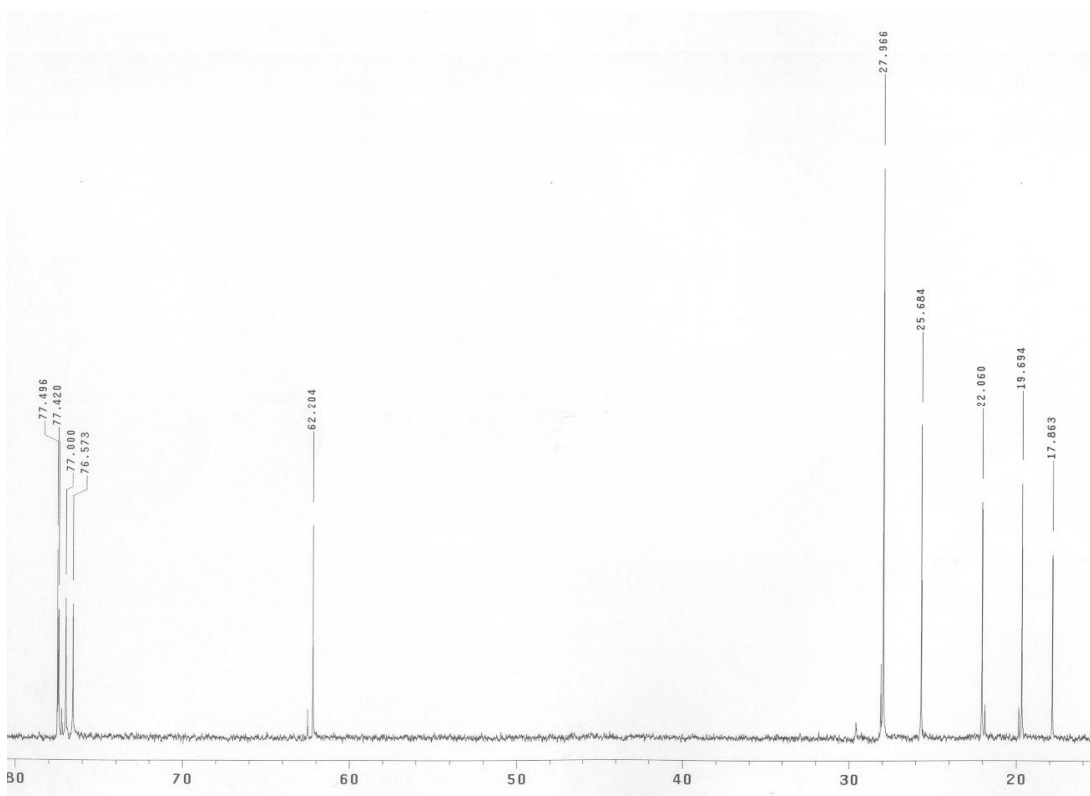


Figura 4.1.1.7 Espectro de RMN ^{13}C 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 3

A figura 4.1.1.8 e tabela 4.1.1.1 apresentam dados de RMN ^1H e ^{13}C de algumas estruturas para comparação com as interpretações feitas.

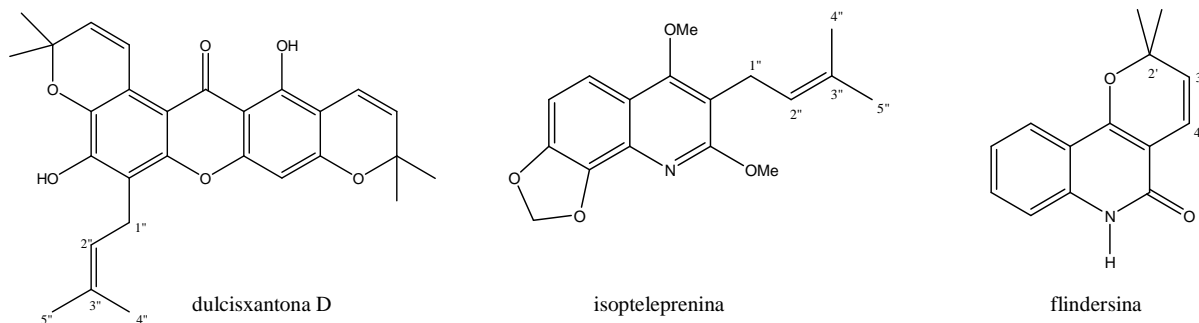


Figura 4.1.1.8

Tabela 4.1.1.1 Dados de RMN ^1H [δ (ppm), *m*, J (Hz)] e RMN ^{13}C [δ (ppm)] da dulcixantona, isopteleprelina e flindersina.

C / H	dulcixantona D ¹	isopteleprelina ²
H1''	3,57 d (7,5)	3,41 d (7,0)
H2''	5,28 tl (7,5)	5,20 tl (7,0)
H4''	1,69 s	1,68 d (1,0)
H5''	1,88 s	1,81 s
C1''	22,5	23,2
C2''	120,9	121,9
C3''	132,6	132,4
C4''	25,8	25,8
C5''	18,0	18,0
	dulcixantona D	flindersina ³
2'-Me	1,47 s	1,54 s
H3'	5,57 d (10,2)	5,56 d (9,9)
H4'	6,73 d (10,2)	6,77 d (9,9)
C2'	77,9	79,1
2'-Me	28,3	26,3
C3'	127,0	126,2
C4'	115,7	117,2

Fonte: DEACHATHAI *et al*, 2006¹; FUNAYAMA *et al*, 1994²; MORAES *et al*, 2003³.

Os dados de HMQC confirmam as atribuições feitas para os carbonos hidrogenados.
Ver figuras 4.1.1.9-10.

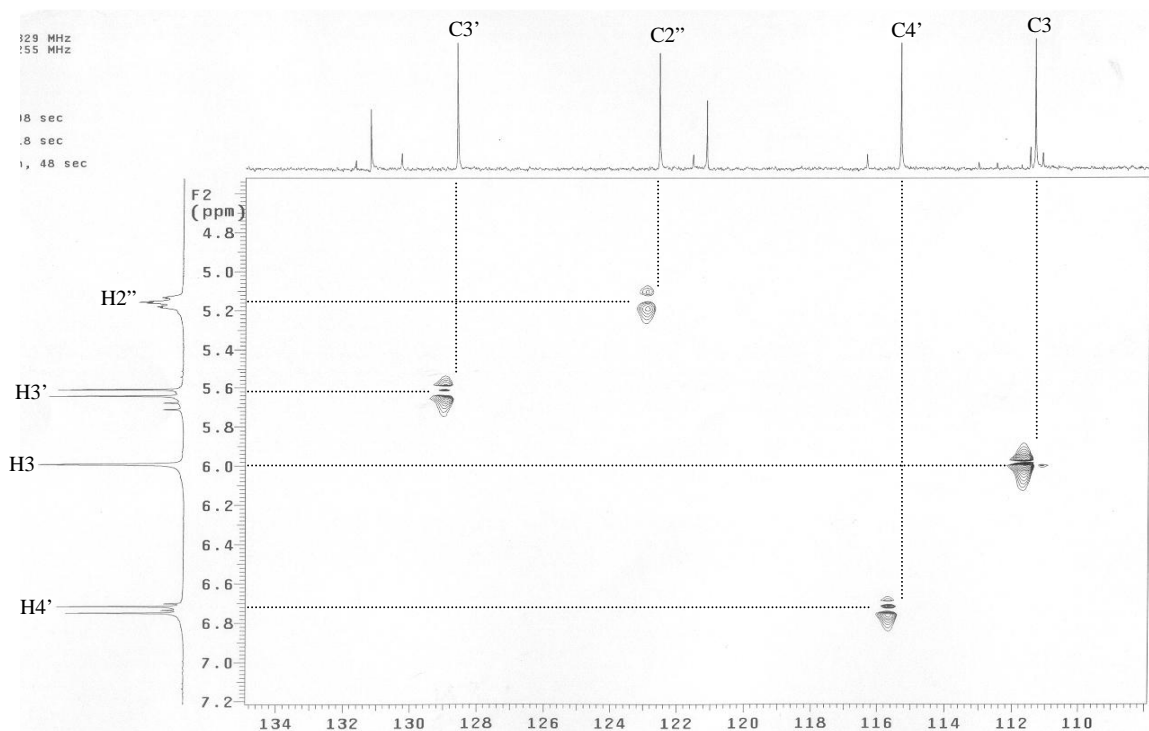


Figura 4.1.1.9 Espectro de HMQC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 1

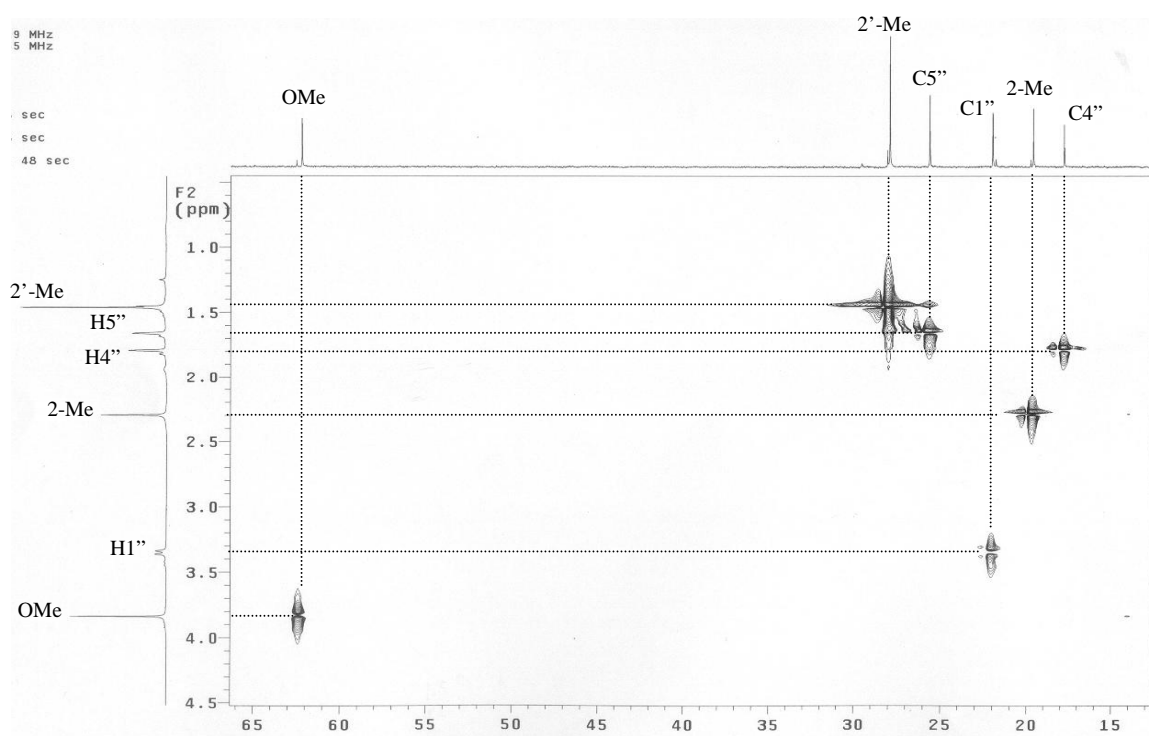


Figura 4.1.1.10 Espectro de HMQC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 2

Entretanto, somente pelos dados de RMN ^1H , ^{13}C e HMQC não é possível determinar a posição de cada um dos substituintes no anel aromático. Deste modo, torna-se necessário analisar os espectros de HMBC. Estes dados ajudam a comprovar a posição dos substituintes e determinação inequívoca da estrutura como sendo a cromona 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico. Ver estrutura na figura 4.1 ou 4.1.1.11.

Pelos dados obtidos, o carbono com deslocamento δ_{C} 157,5 apresenta correlação com os hidrogênios da metoxila e com H1". Isto define a posição orto entre estes substituintes no anel aromático corroborando a idéia de uma estrutura com fusão angular entre os anéis. As correlações observadas nas figuras 4.1.1.11-14, permitiram atribuir os carbonos do anel aromático com os seguintes deslocamentos: $\delta_{\text{C}4\text{a}}$ 111,5, $\delta_{\text{C}5}$ 157,5, $\delta_{\text{C}6}$ 121,1, $\delta_{\text{C}7}$ 155,4, $\delta_{\text{C}8}$ 105,6, $\delta_{\text{C}8\text{a}}$ 152,1.

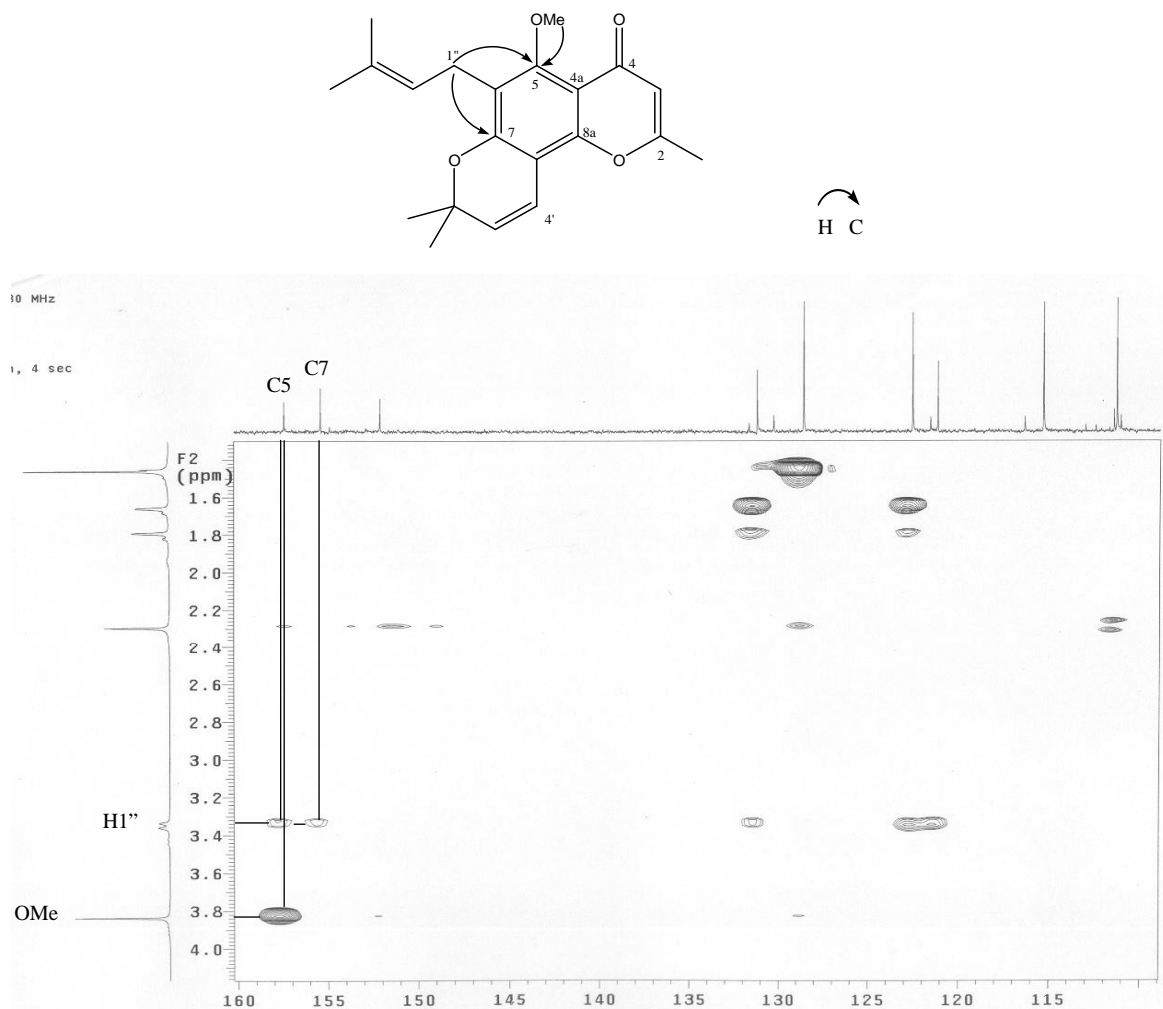


Figura 4.1.1.11 Espectro de HMBC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 1

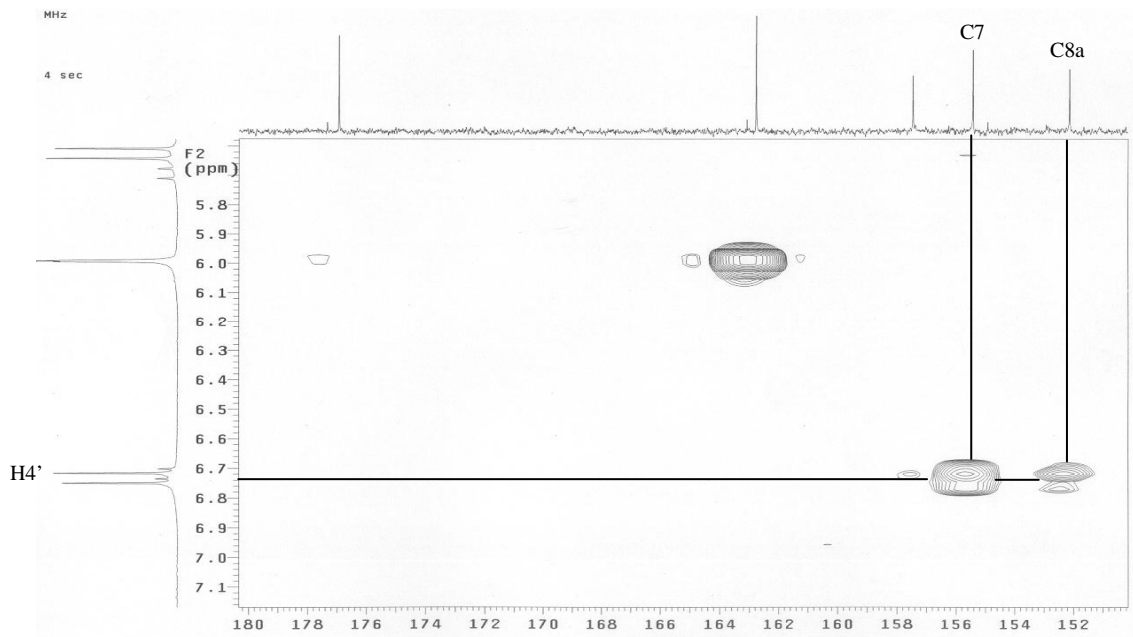
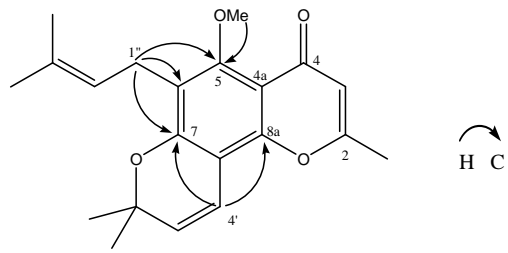


Figura 4.1.1.12 Espectro de HMBC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 2

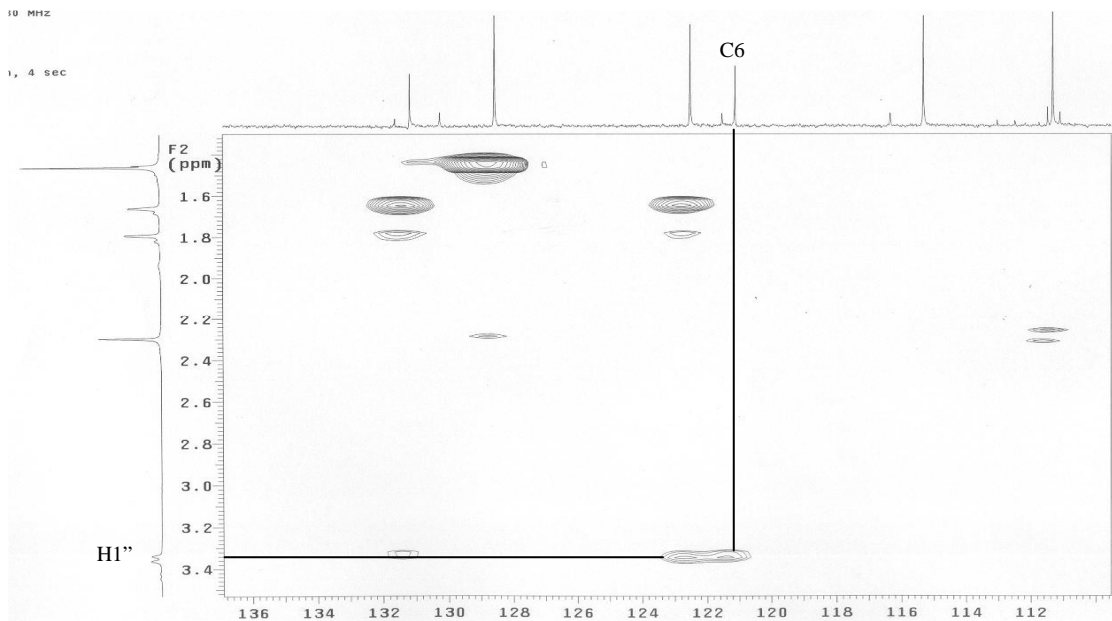


Figura 4.1.1.13 Espectro de HMBC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 3

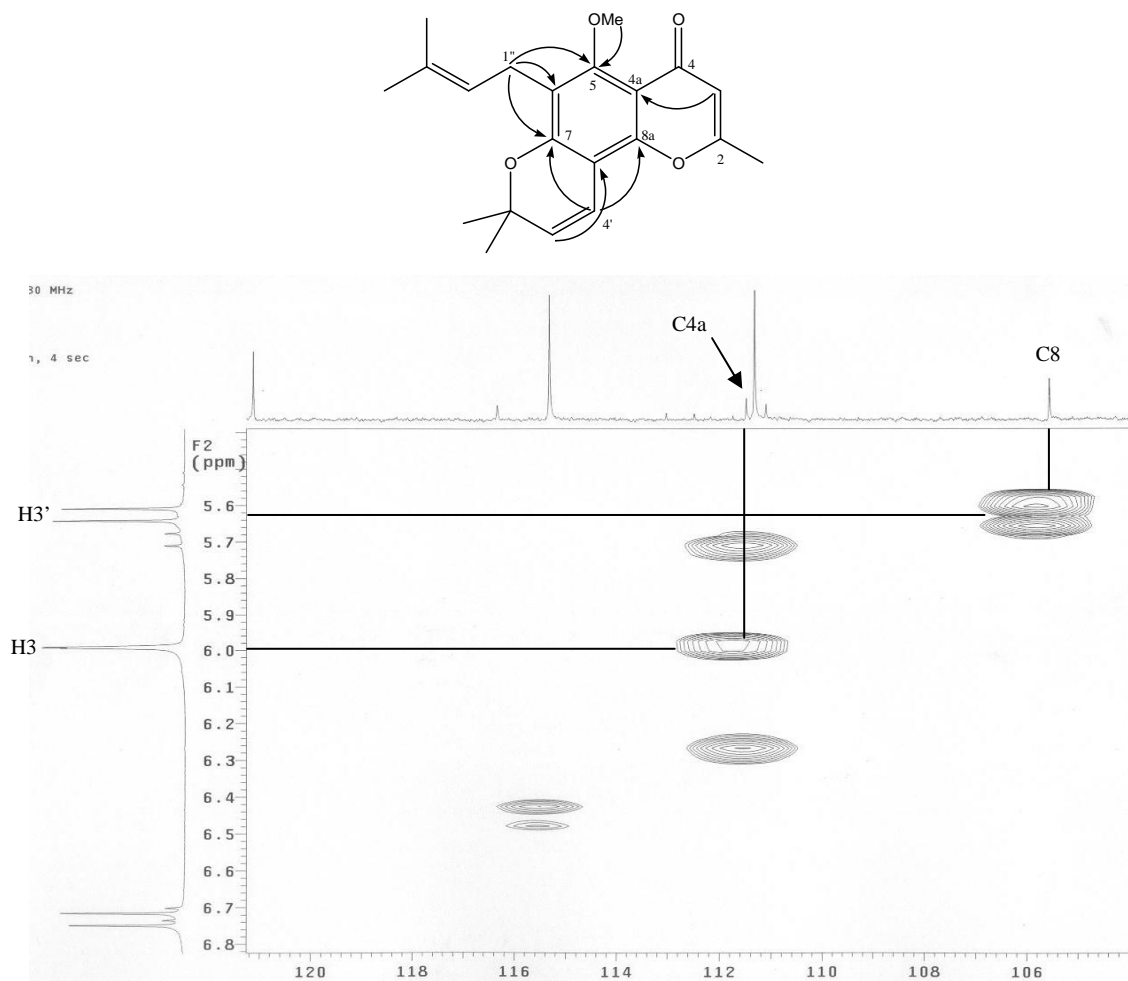


Figura 4.1.1.14 Espectro de HMBC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico – parte 4

O isolamento da cromona 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico em *D. vandellianum* já foi descrito em CAMPOS *et al*, 1987. Comparando os dados aqui apresentados com aqueles anteriormente publicados é razoável propor erros de atribuição para H3', H4', C3', C4' e os carbonos do anel aromático C4a, C5, C6, C7, C8, C8a. Provavelmente os erros ocorreram pela não aquisição de dados de experimentos de RMN bidimensionais.

Entretanto, mesmo sem a aquisição do espectro de HMQC, é possível propor de forma coerente os dados referentes a H3', H4', C3' e C4. Por C4' estar ligado diretamente ao anel aromático, H4' sofre desblindagem por efeito anisotrópico. Logo é razoável propor seu deslocamento como δ_H 6,73, ocorrendo em campo mais baixo que H3', δ_H 5,63. Metilas em posição β a um carbono olefínico proporcionam desblindagem de aproximadamente 7,2 ppm por metila, neste carbono (SILVERSTEIN *et al*, 2000). Assim é razoável propor δ_C 115,3

como C4' e δ_C 128,6 como C3', uma vez que este último sofre desblindagem por ação de duas metilas em posição β . Ver tabela 4.1.1.2.

Tabela 4.1.1.2 Dados de RMN ^1H e ^{13}C da cromona 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico.

H/C	RMN ^1H [δ (ppm), <i>m</i> , J (Hz)]		RMN ^{13}C [δ (ppm)]	
	Experimental	Literatura ¹	Experimental	Literatura ¹
2			162,8	162,7
2-Me	2,30 sl	2,30 s	19,7	19,6
3	5,99 dl (0,6)	6,01 sl	111,3	111,2
4			177,0	176,9
4a			111,5	105,5
5			157,5	155,3
6			121,1	111,5
7			155,4	152,0
8			105,6	121,0
8a			152,1	157,3
2'			77,5	77,4
2'-Me	1,46 s	1,47 s	28,0	29,3 29,8
3'	5,63 d (9,9)	6,73 d (10)	128,6	115,2
4'	6,73 d (9,9)	5,63 d (10)	115,3	128,5
1''	3,35 d (7,5)	3,35 d (7,5)	22,1	21,9
2''	5,16 m (7,5;1,2)	5,16 m (7,5;1,5)	122,5	122,4
3''			131,2	131,0
4''	1,79 sl	1,80 sl	17,9	17,8
5''	1,66 d (0,9)	1,66 sl	25,7	25,8
OMe	3,84 s	3,83 s	62,2	?

1: CAMPOS *et al*, 1987.

?: A referência não informa o deslocamento do referido carbono.

Outras observações sobre os dados de RMN ^{13}C após atribuição. Com o anel aromático totalmente substituído o espectro deve apresentar seis sinais com essas características. C5, C7, C8a são mais desblindados por possuírem substituintes oxigenados. Em contrapartida, esses substituintes blindam aqueles carbonos em posições orto e para. Desta forma os carbonos C4a, C6, C8 ocorrem em campo mais alto que C5, C7 e C8a.

Os dados no infravermelho são compatíveis com aqueles apresentados pela literatura consultada, que cita as seguintes bandas: 1665, 1635 e 1590 cm^{-1} (CAMPOS *et al*, 1987). Ver figura abaixo.

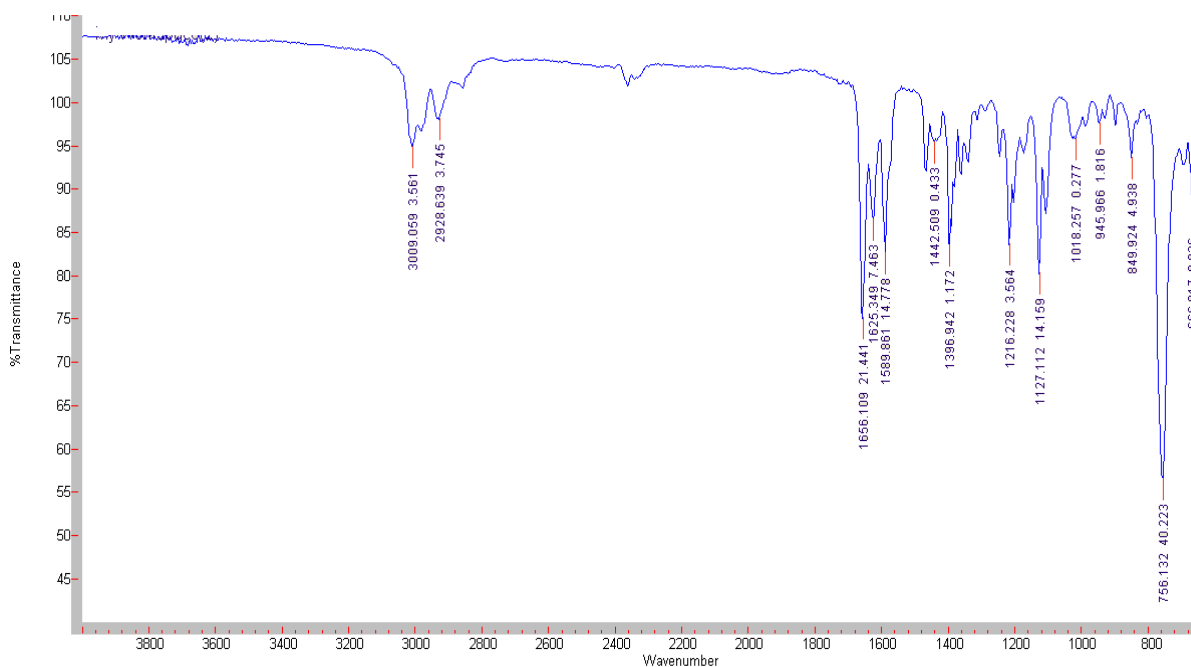


Figura 4.1.1.15 Espectro no infravermelho da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico: 3009-2928 cm^{-1} , deformação axial de CH; 1656 cm^{-1} , deformação axial de C=O α,β -insaturada; 1625 e 1589 cm^{-1} , deformação axial de C=C de cicloalenos e alceno tri-substituído.

4.1.2 Identificação 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico

A substância foi isolada como um sólido amarelo e amorfo. As bandas observadas no IV são compatíveis com aquelas apresentadas pela cromona 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico. Ver figura abaixo.

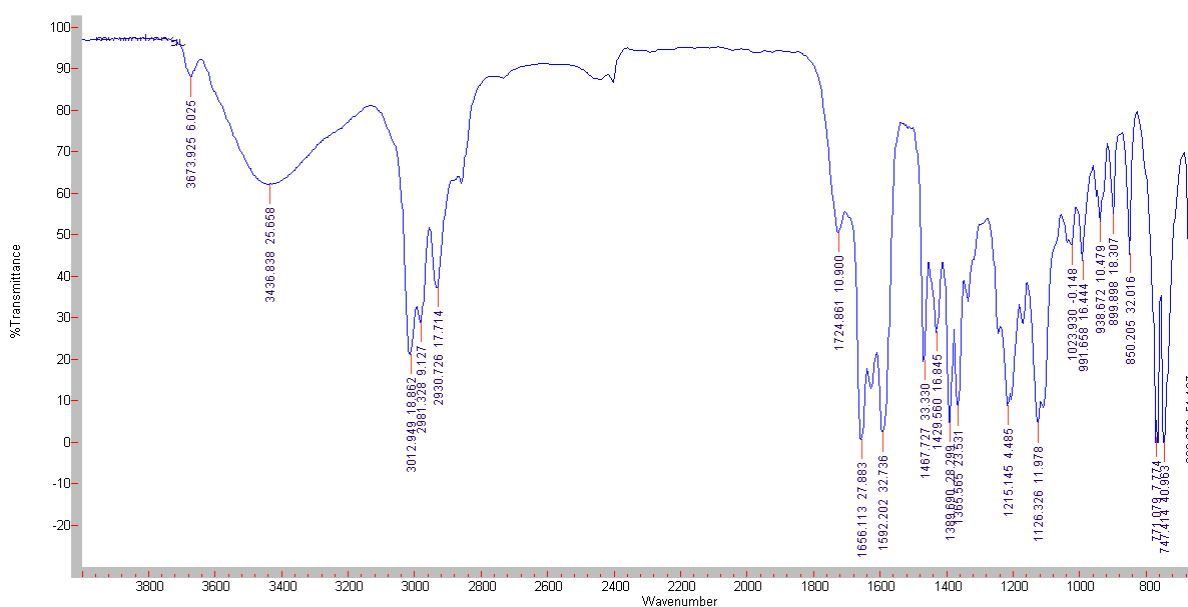
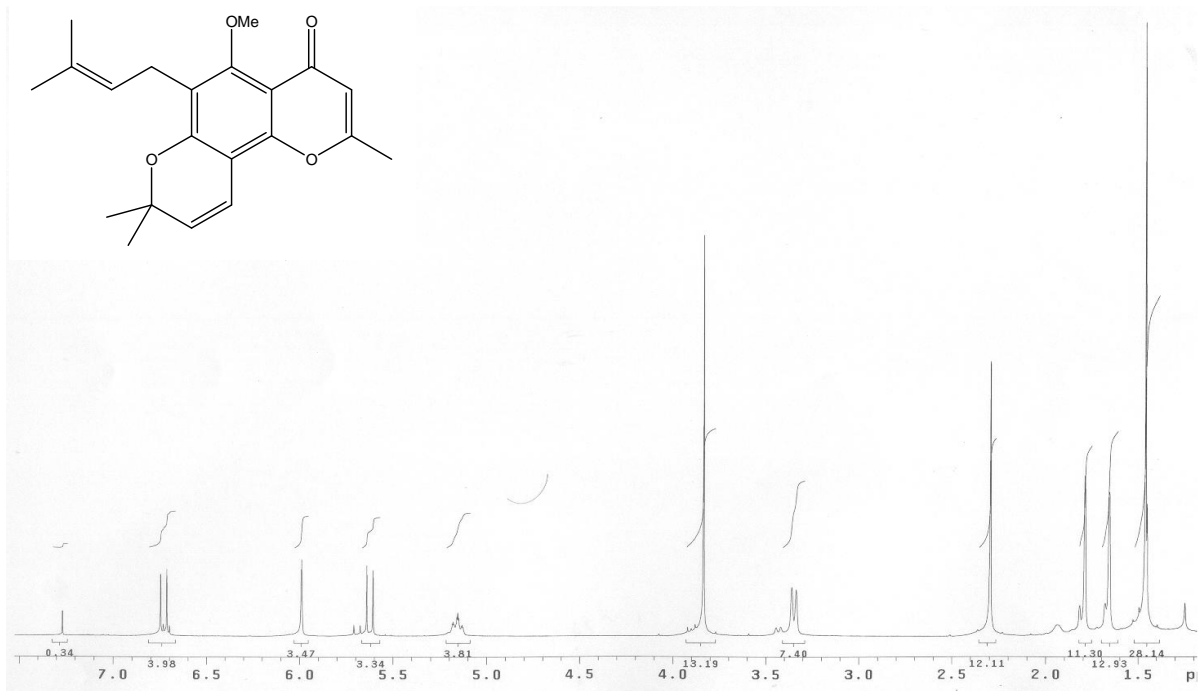


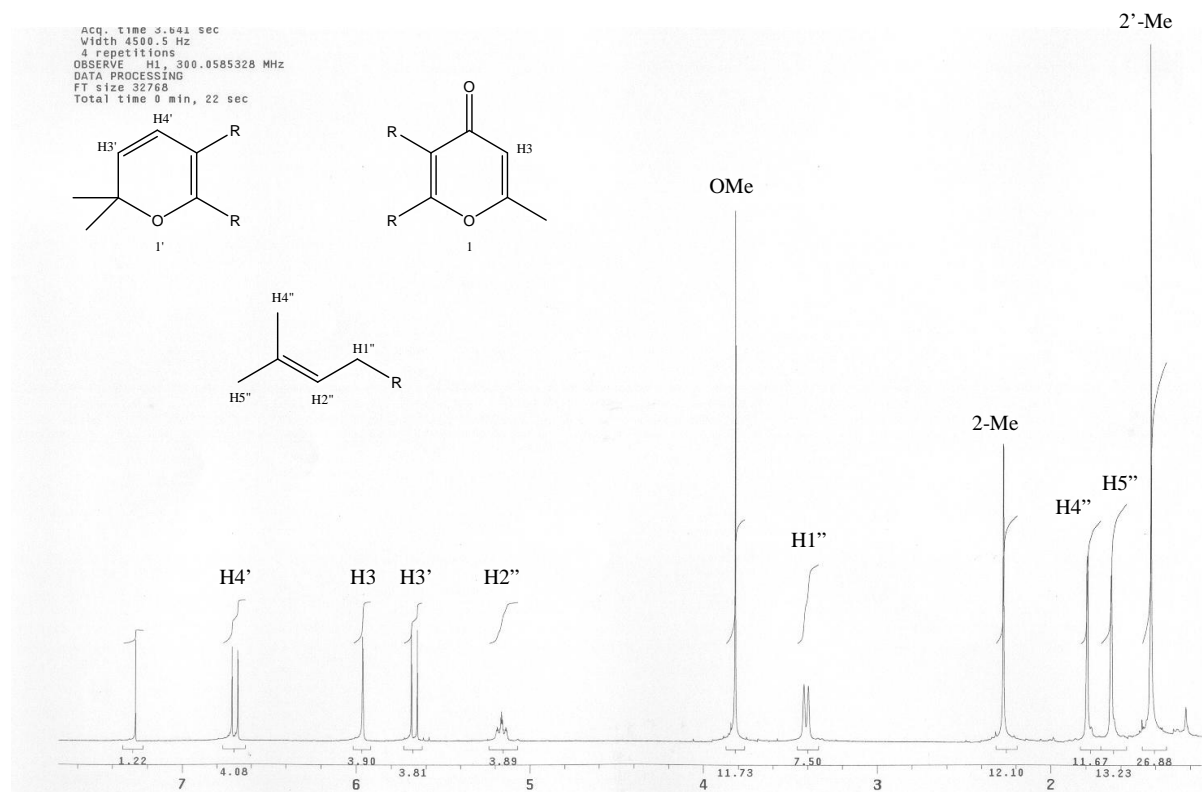
Figura 4.1.2.1 Espectro no infravermelho da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico: 3013-2931 cm^{-1} , deformação axial de CH; 1656 cm^{-1} , deformação axial de C=O α,β -insaturada; 1592 cm^{-1} , deformação axial de C=C de cicloalcanos e alceno tri-substituído.

Os dados de RMN ^1H são praticamente idênticos àqueles da estrutura anteriormente descrita. Observando os dados de forma pouco criteriosa seria possível afirmar que se trata da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico. Ver comparativo na figura 4.1.2.2. Entretanto, os dados de RMN ^{13}C apresentam algumas diferenças significativas.

Analisando os deslocamentos dos hidrogênios e carbonos é possível propor para esta molécula o mesmo núcleo descrito para 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico. Os sinais δ_{H} 3,41, δ_{H} 5,16, δ_{H} 1,79, δ_{H} 1,66, δ_{C} 21,6, δ_{C} 121,3, δ_{C} 131,3, δ_{C} 17,6, δ_{C} 25,4 indicam presença do grupo prenílico. Os sinais δ_{H} 1,43, δ_{H} 5,67, δ_{H} 6,70, δ_{C} 76,3, δ_{C} 27,8, δ_{C} 130,0, δ_{C} 116,1 sugerem presença de um anel 2,2-dimetilpirano condensado na molécula. Os sinais δ_{H} 3,82 e δ_{C} 62,2 sugerem presença de um grupo metoxílico como substituinte. A banda no IV 1656 cm^{-1} junto com os sinais δ_{H} 2,28, δ_{H} 5,96, δ_{C} 162,9, δ_{C} 19,6, δ_{C} 110,8 e δ_{C} 177,1 indicam o sistema 2-metil-1,4-benzopirona presente na estrutura. Ver figuras 4.1.2.1-6.



Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico



Espectro de RMN ^1H da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 1

Figura 4.1.2.2 Comparativo entre os espectros de RMN ^1H das cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico.

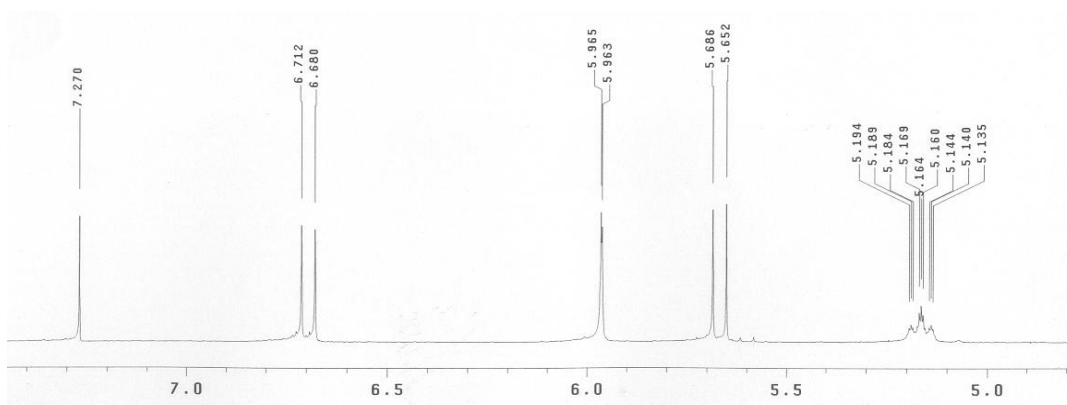


Figura 4.1.2.3 Espectro de RMN ^1H da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 2

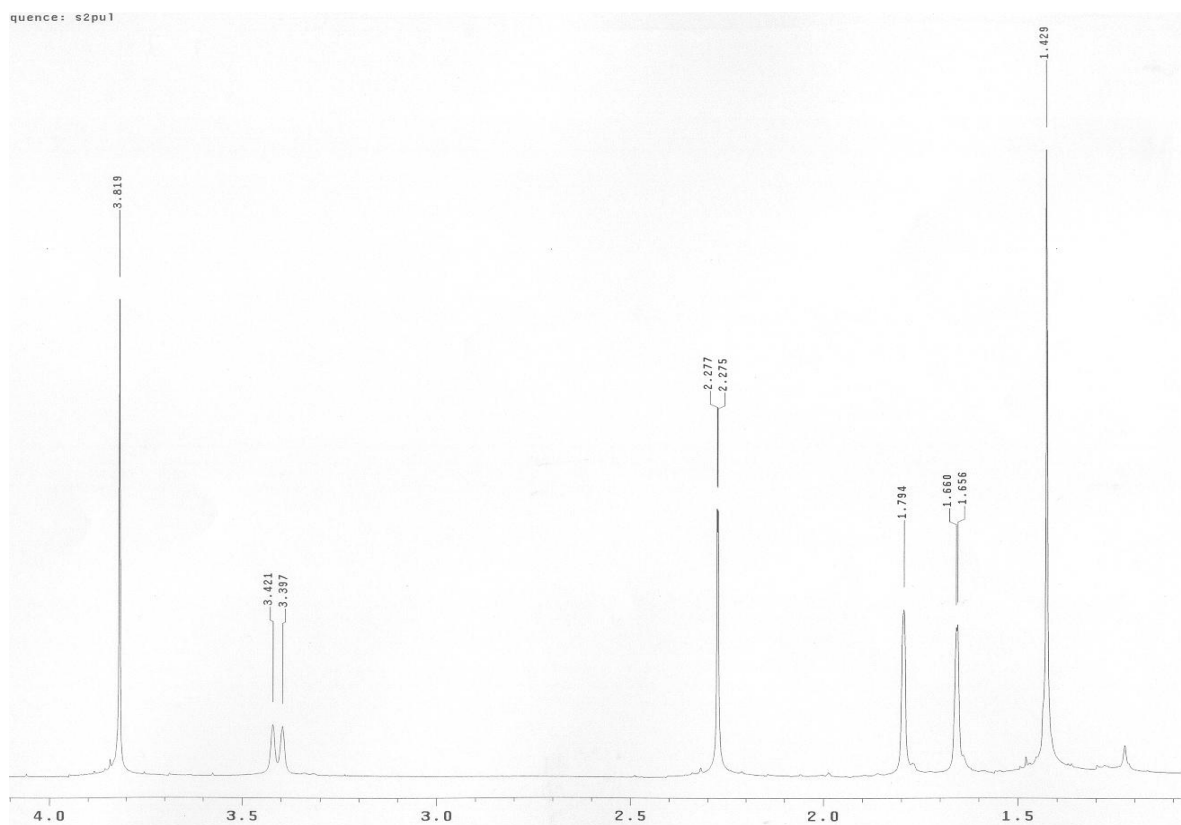


Figura 4.1.2.4 Espectro de RMN ^1H da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 3

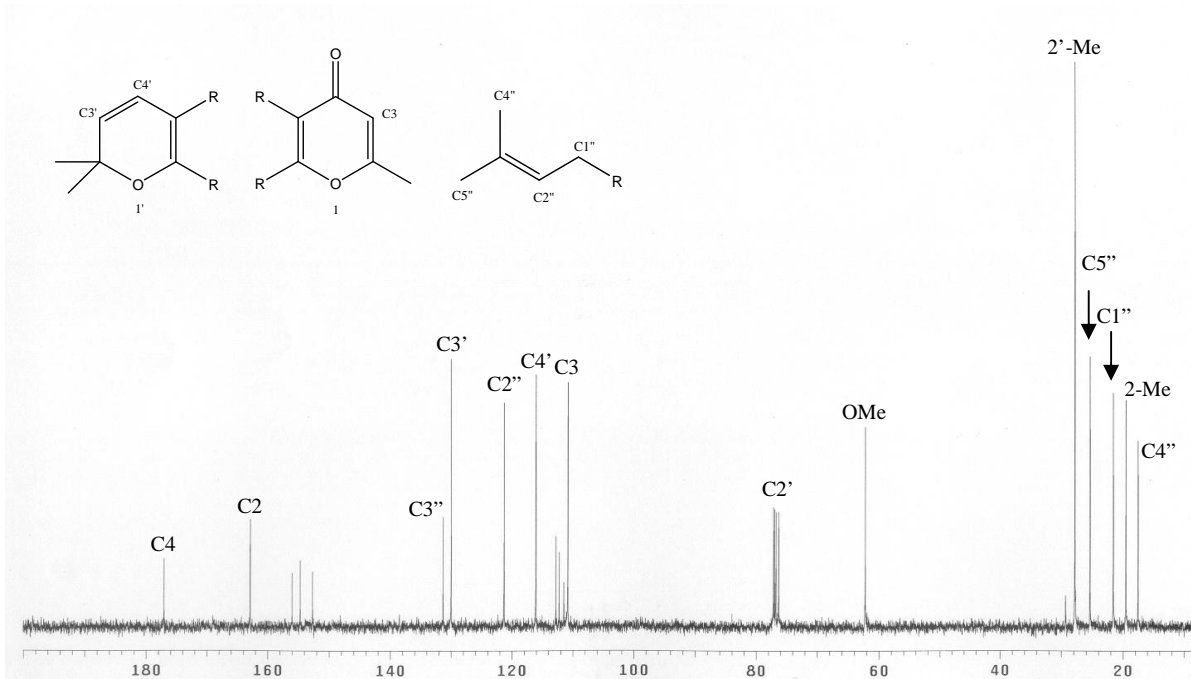


Figura 4.1.2.5 Espectro de RMN ^{13}C da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 1

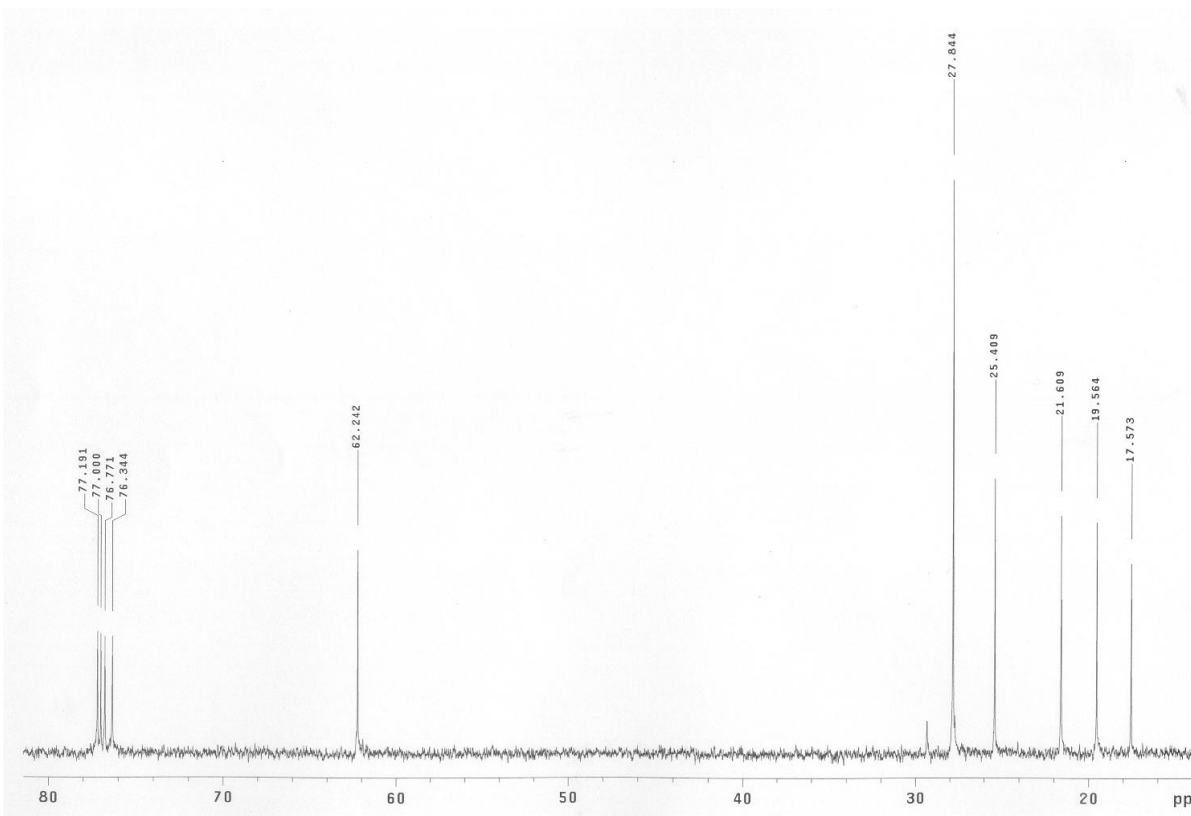
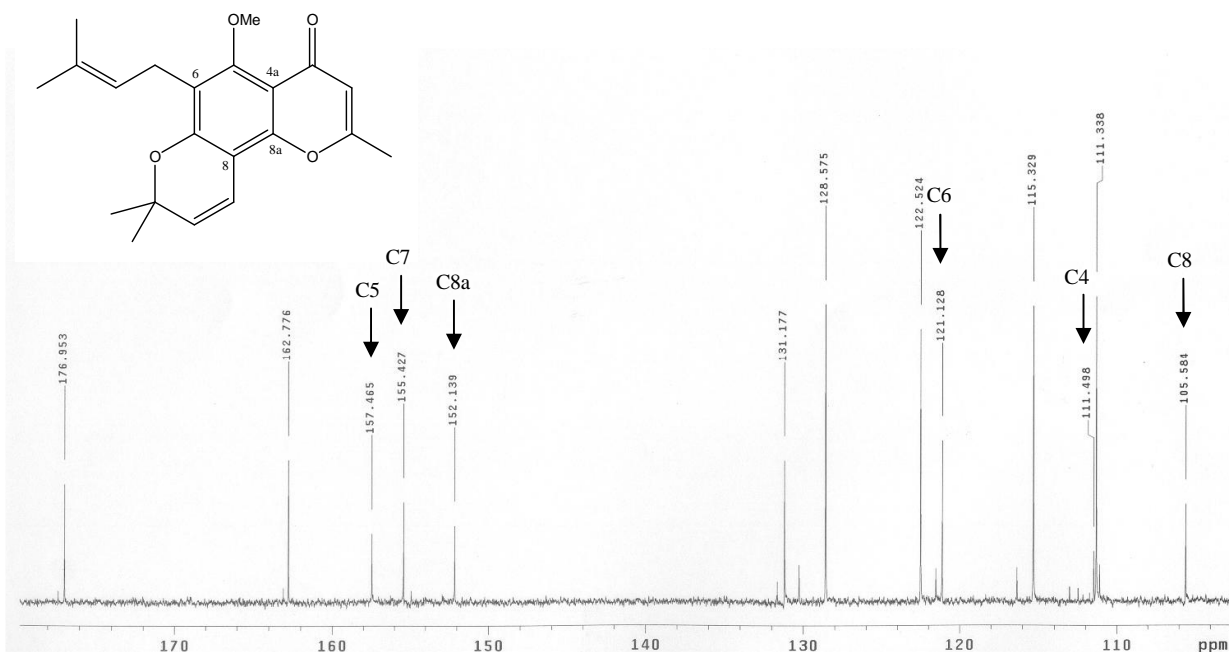
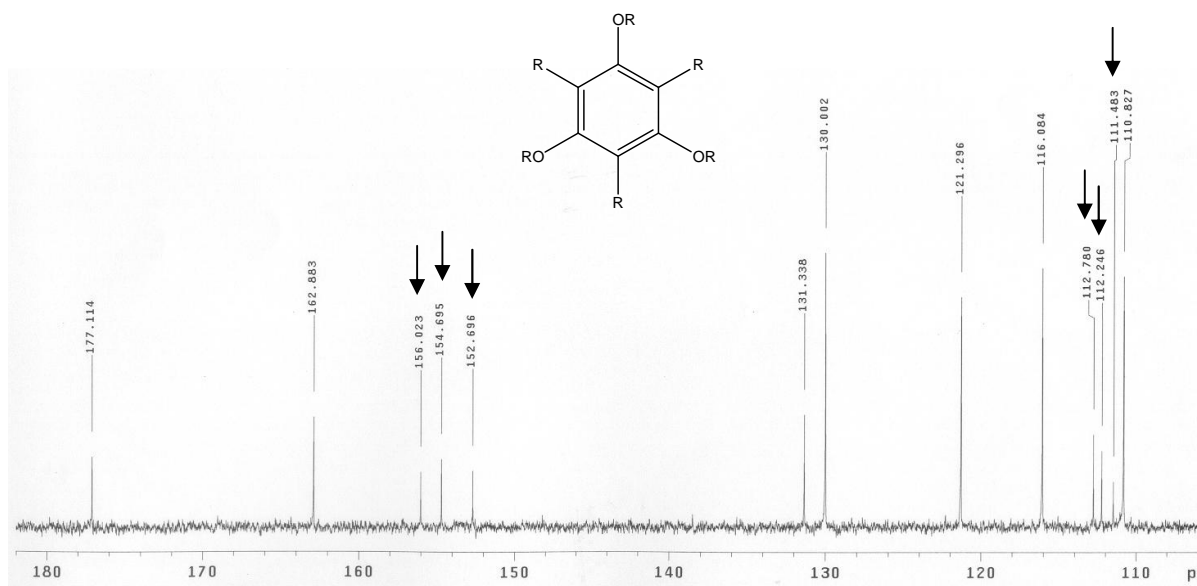


Figura 4.1.2.6 Espectro de RMN ^{13}C da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 2

Os sinais de carbono restantes podem ser associados a um anel benzênico totalmente substituído. Porém, destes seis sinais de carbono três distoam significativamente daqueles atribuídos ao anel benzênico da estrutura anterior. Ver figura abaixo.



Espectro de RMN ^{13}C da 6-(3-metil-2-butenil) alloperoxilina éter metílico.



Espectro de RMN ^{13}C 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 3.

Figura 4.1.2.7 Comparativo entre dados de RMN ^{13}C das cromonas 6-(3-metil-2-butenil) alloperoxilina éter metílico e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico. As setas indicam os carbonos aromáticos.

Estas observações indicam que a estrutura em questão possui o esqueleto e os substituintes da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico. Entretanto, para que os sinais atribuídos aos carbonos aromáticos sejam diferentes, mais especificamente os carbonos aromáticos não oxigenados, é necessária disposição diferente dos substituintes na estrutura. Desta forma, seria razoável propor que a presente substância é um isômero de posição da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico. Os dados de HMQC, ver figuras 4.1.2.8-9, confirmam as atribuições feitas para os carbonos hidrogenados.

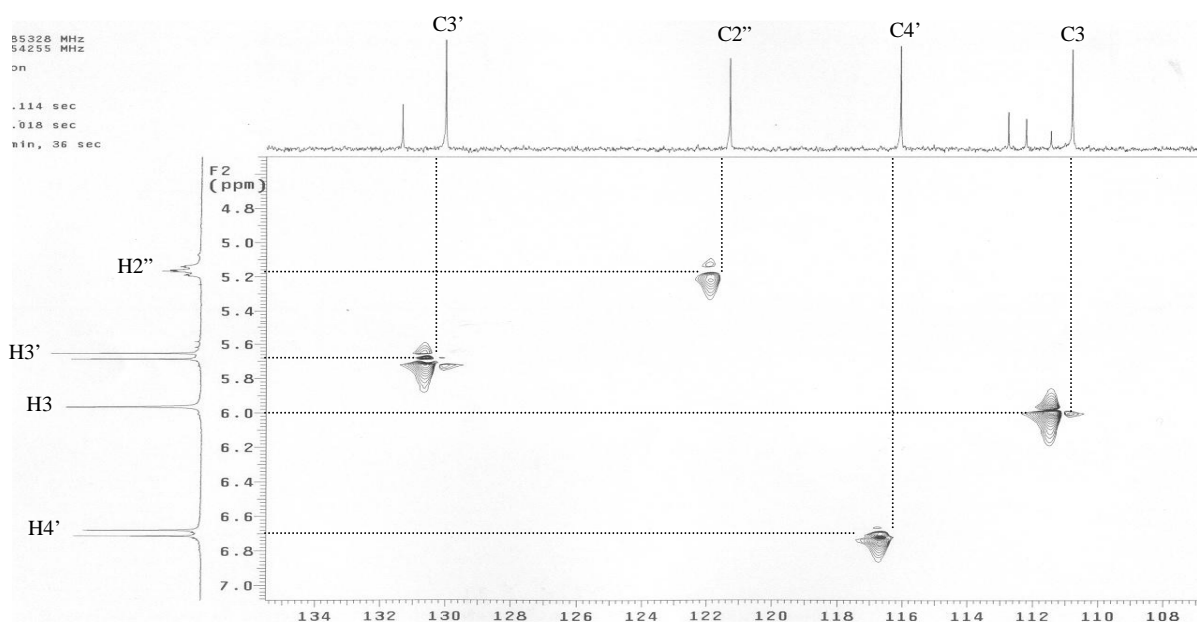


Figura 4.1.2.8 Espectro de HMQC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 1

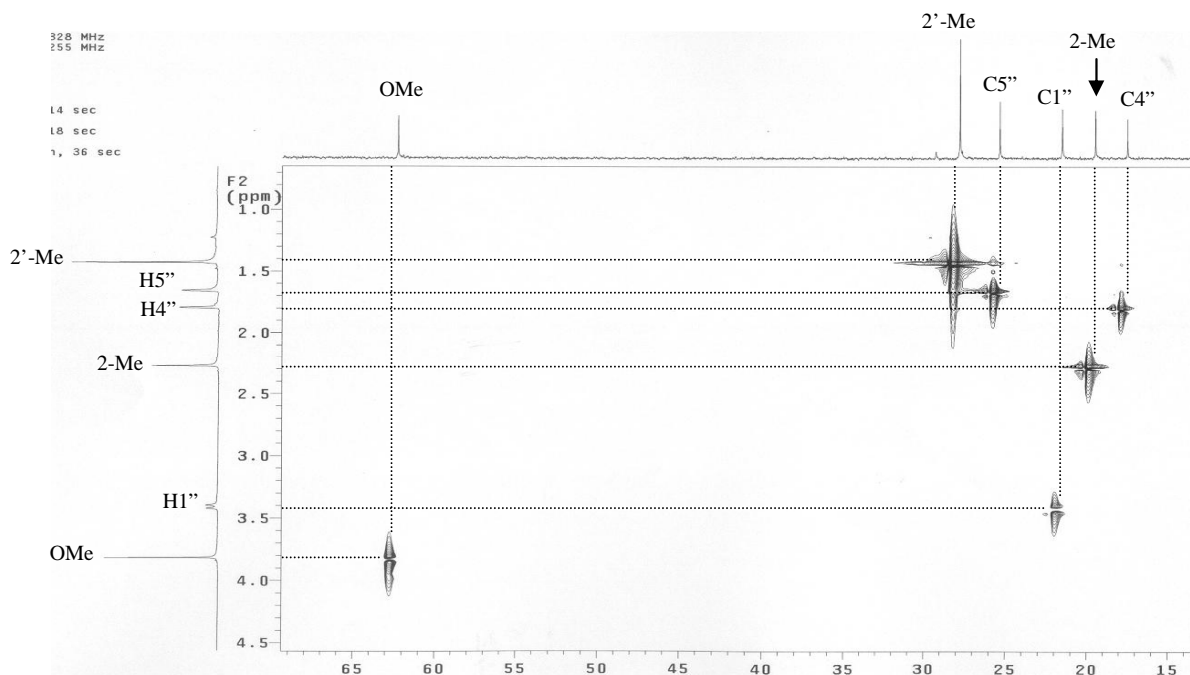


Figura 4.1.2.9 Espectro de HMQC 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 2

Somente a análise dos dados de RMN ^1H , ^{13}C e HMQC não possibilita a determinação do arranjo na estrutura. Desta forma, é necessário analisar os dados obtidos nos experimentos de HMBC. Com estes dados, é possível determinar de forma inequívoca a estrutura como a cromona 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico. Trata-se de um isômero da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico, com fusão linear entre seus anéis. Pelo espectro, os hidrogênios da metoxila apresentam correlação com $\delta_{\text{C}} 152,7$. Já H1'' apresenta correlação com dois carbonos aromáticos oxigenados, $\delta_{\text{C}} 156,0$ e $\delta_{\text{C}} 154,7$. Isto corrobora a idéia de uma estrutura com fusão linear entre os anéis. As correlações observadas nas figuras 4.1.2.10-12, permitiram atribuir os carbonos do anel aromático com os seguintes deslocamentos: $\delta_{\text{C}4\text{a}}$ 111,5, $\delta_{\text{C}5}$ 152,7, $\delta_{\text{C}6}$ 112,2, $\delta_{\text{C}7}$ 154,7, $\delta_{\text{C}8}$ 112,8, $\delta_{\text{C}8\text{a}}$ 156,0.

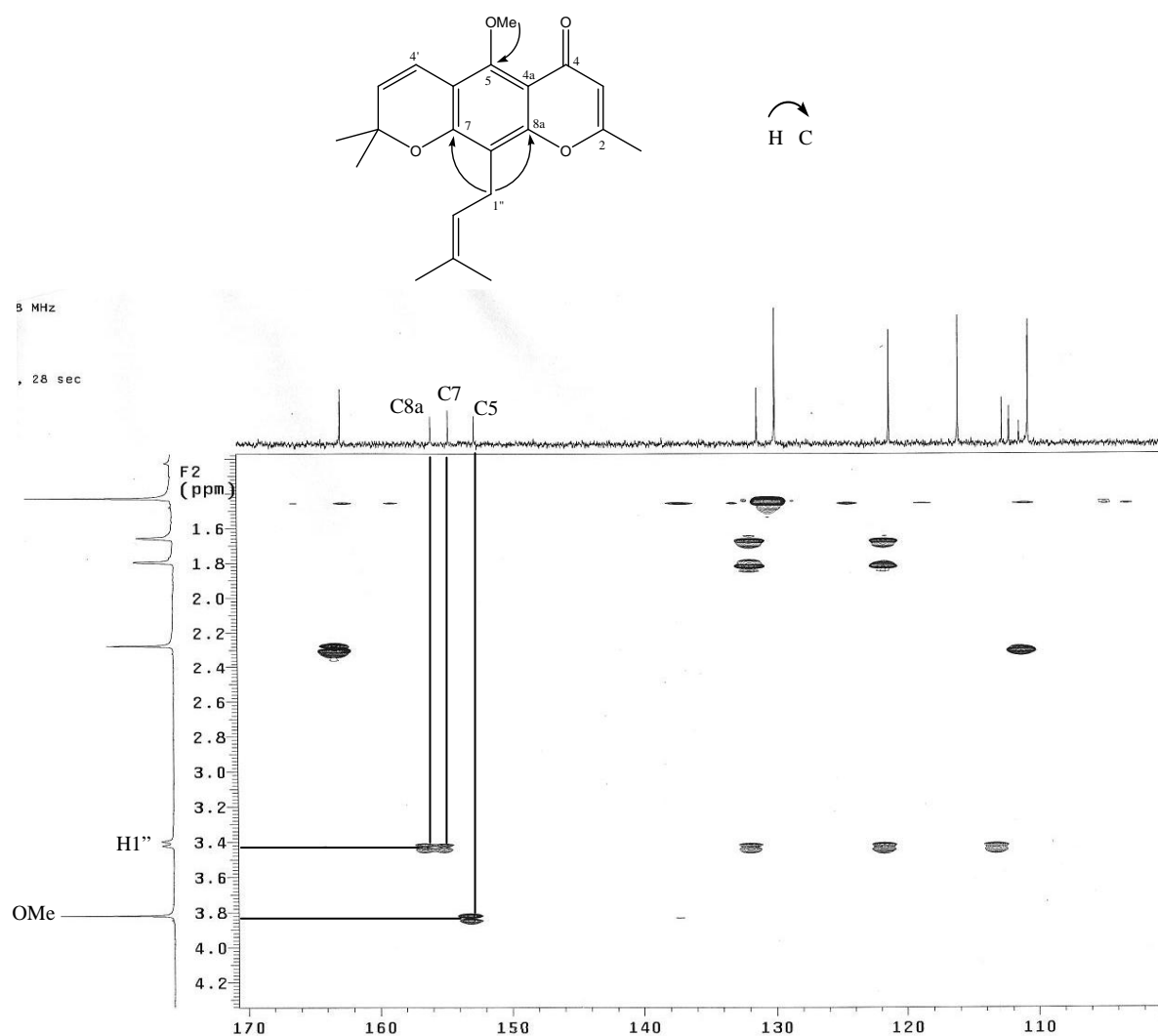


Figura 4.1.2.10 Espectro de HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 1

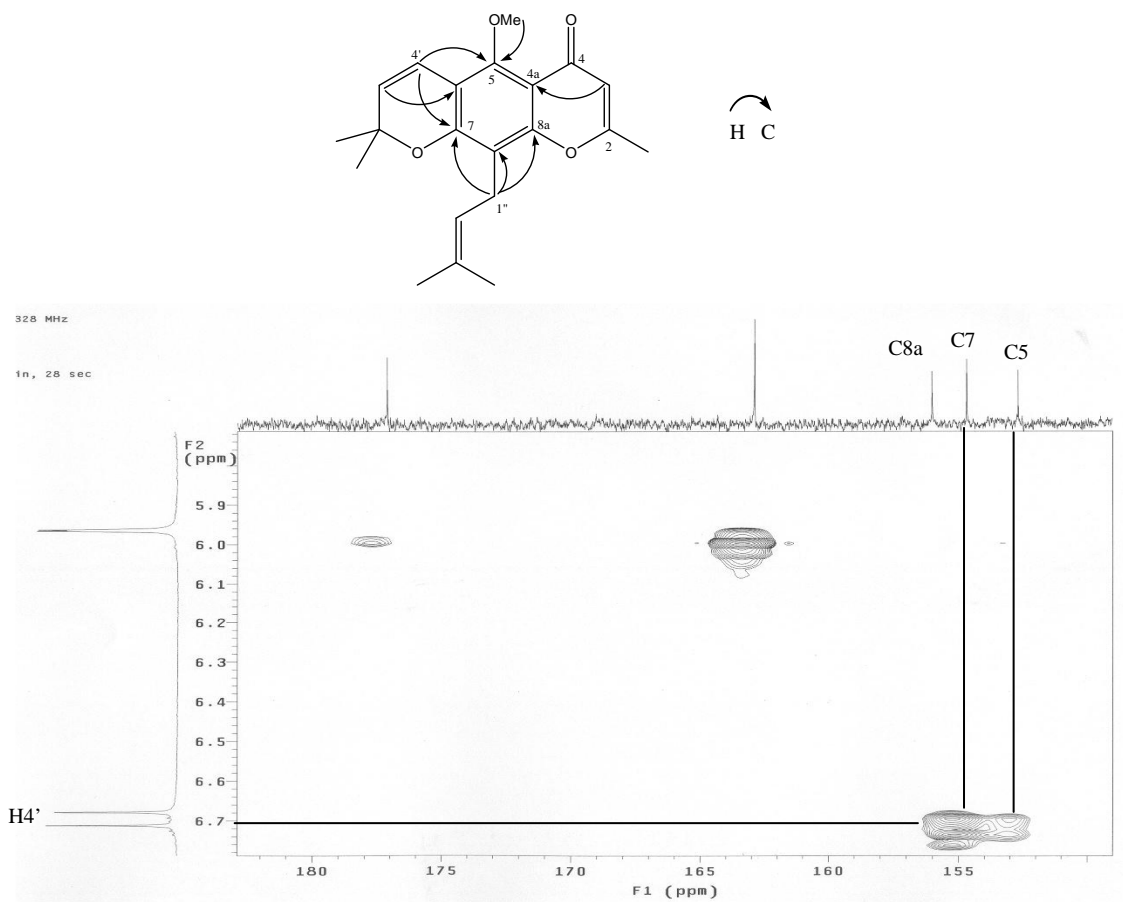


Figura 4.1.2.11 Espectro de HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 2

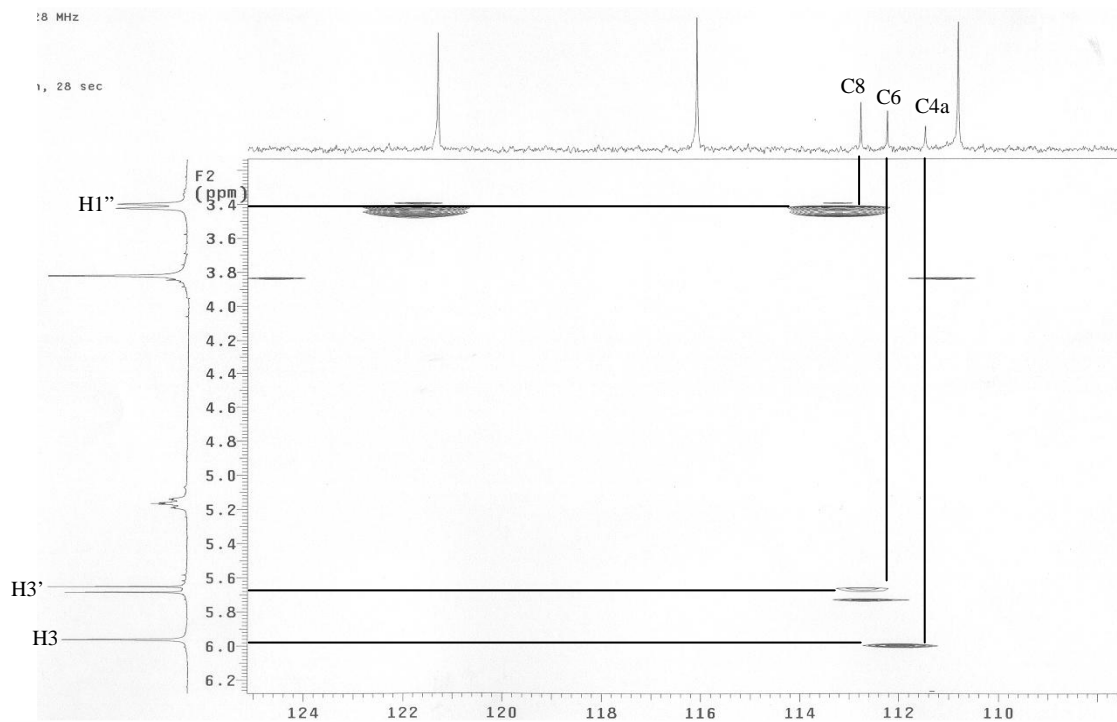


Figura 4.1.2.12 Espectro de HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico – parte 3

A estrutura proposta está de acordo com o espectro de massas obtido. Ver figuras 4.1.2.13-15.

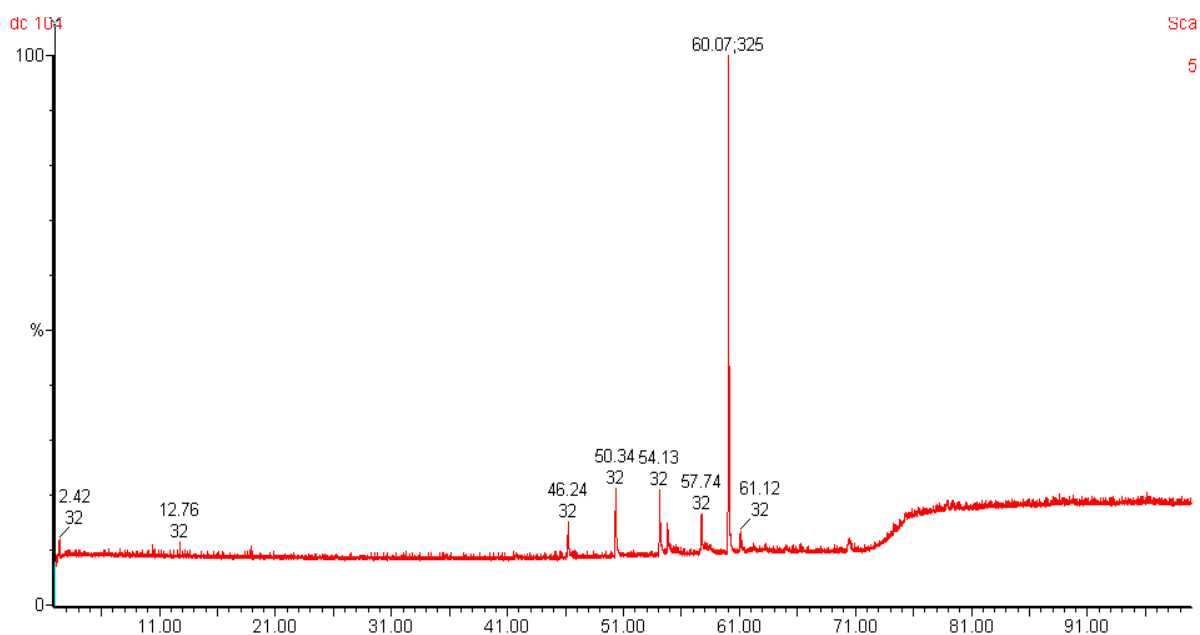


Figura 4.1.2.13 Cromatograma. Ver tempo de retenção.

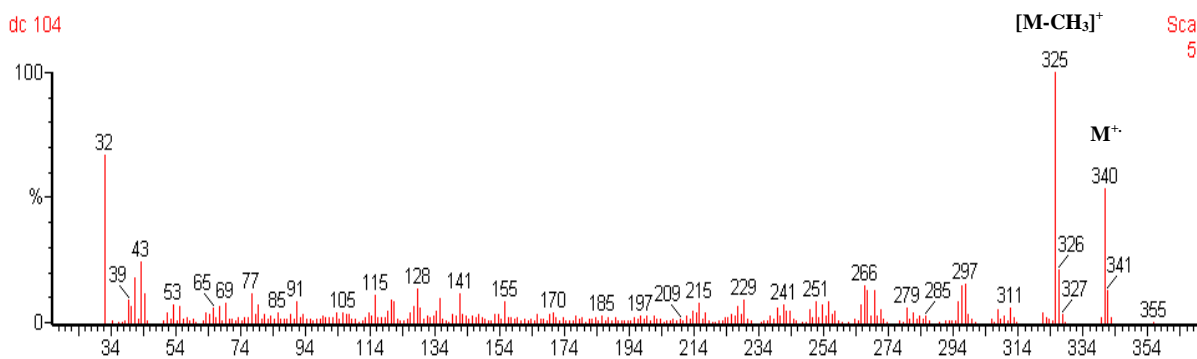


Figura 4.1.2.14 Espectro de massas da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico.

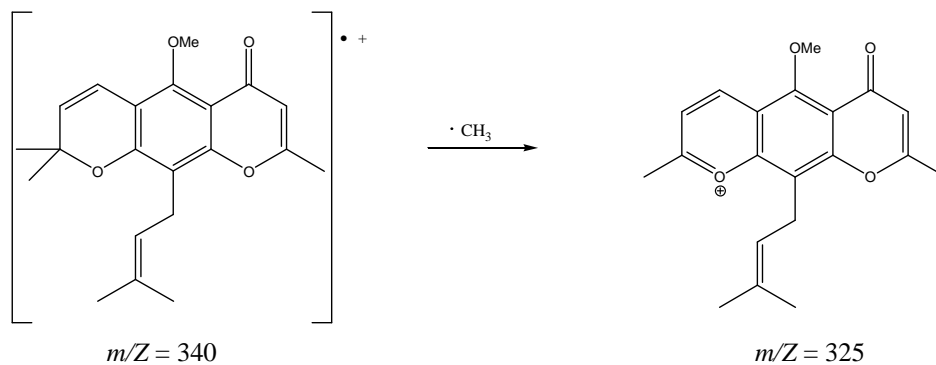


Figura 4.1.2.15 Formação do pico base.

No espectro de massas, o pico do íon molecular M^+ apresenta $m/Z = 340$ e pico base em $m/Z = 325$. A intensidade do pico base é justificada por aumento da conjugação no intermediário formado, após perda do grupo metílico.

O isolamento da cromona 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico ainda não foi descrito na literatura, baseado em buscas feitas no Chemical Abstracts on line. Trata-se de uma substância inédita.

Tabela 4.1.2.1 Comparação entre os dados experimentais das cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico.

H/C	RMN ^1H [δ (ppm), m , J (Hz)]		RMN ^{13}C [δ (ppm)]	
	6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico	8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico	6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico	8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico
2			162,8	162,9
2-Me	2,30 d (0,6)	2,28 d (0,6)	19,7	19,6
3	5,99 dl (0,6)	5,96 dl (0,6)	111,3	110,8
4			177,0	177,1
4a			111,5	111,5
5			157,5	152,7
6			121,1	112,2
7			155,4	154,7
8			105,6	112,8
8a			152,1	156,0
2'			77,5	76,3
2'-Me	1,46 s	1,43 s	28,0	27,8
3'	5,63 d (9,9)	5,67 d (10,2)	128,6	130,0
4'	6,73 d (9,9)	6,70 d (9,6)	115,3	116,1
1''	3,35 d (7,5)	3,41 d (7,2)	22,1	21,6
2''	5,16 m (7,5;1,2)	5,16 m (7,2;1,5)	122,5	121,3
3''			131,2	131,3
4''	1,79 sl	1,79 sl	17,9	17,6
5''	1,66 d (0,9)	1,66 d (1,2)	25,7	25,4
OMe	3,84 s	3,82 s	62,2	62,2

4.1.3 Identificação da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina

As bandas no IV são compatíveis com aquelas observadas para as cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico. Observar figura abaixo.

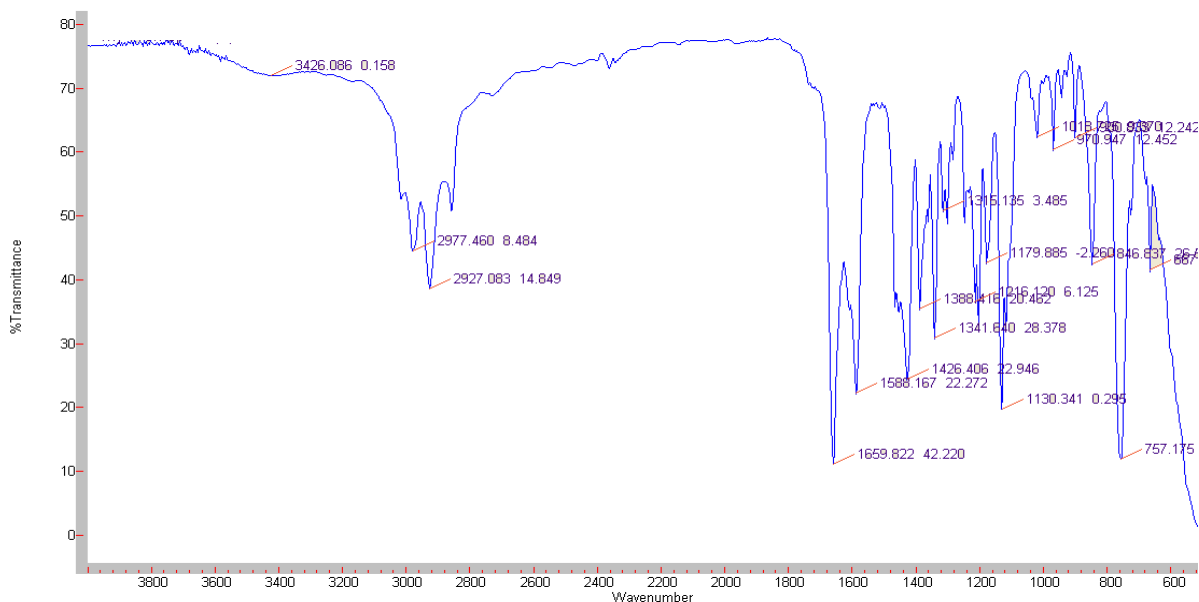


Figura 4.1.3.1 Espectro no infravermelho da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina: 2977-2927 cm^{-1} , deformação axial de CH; 1660 cm^{-1} , deformação axial de C=O α,β -insaturada; 1588 cm^{-1} , deformação axial de C=C de cicloalcanos e alceno tri-substituído.

Os dados de RMN ^1H também são semelhantes àqueles das estruturas anteriormente descritas. Porém, não há o sinal referente ao grupo metoxílico. Em contrapartida é observado um singleto com deslocamento em δ_{H} 13,00 e integração para 1H. Este tipo de sinal pode ser associado a hidroxilas fenólicas, principalmente se estas participam de pontes de hidrogênio intramolecular, chamadas de hidroxilas queladas.

Analisando os deslocamentos dos hidrogênios e carbonos é possível propor para esta molécula o mesmo núcleo descrito para as cromonas anteriores. Os sinais δ_{H} 3,32, δ_{H} 5,23, δ_{H} 1,81, δ_{H} 1,68, δ_{C} 21,2, δ_{C} 121,9, δ_{C} 131,5, δ_{C} 17,9, δ_{C} 25,8 indicam presença do grupo prenilílico. Os sinais δ_{H} 1,46, δ_{H} 5,56, δ_{H} 6,66, δ_{C} 77,6, δ_{C} 28,0, δ_{C} 127,0, δ_{C} 115,1 sugerem presença de um anel 2,2-dimetilpirano condensado na molécula. A banda no IV 1660 cm^{-1} juntamente com os sinais δ_{H} 2,35, δ_{H} 6,00, δ_{C} 166,0, δ_{C} 20,4, δ_{C} 108,5 e δ_{C} 182,6 indicam o sistema 2-metil-1,4-benzopirona presente na estrutura. Ver figuras 4.1.3.1-5.

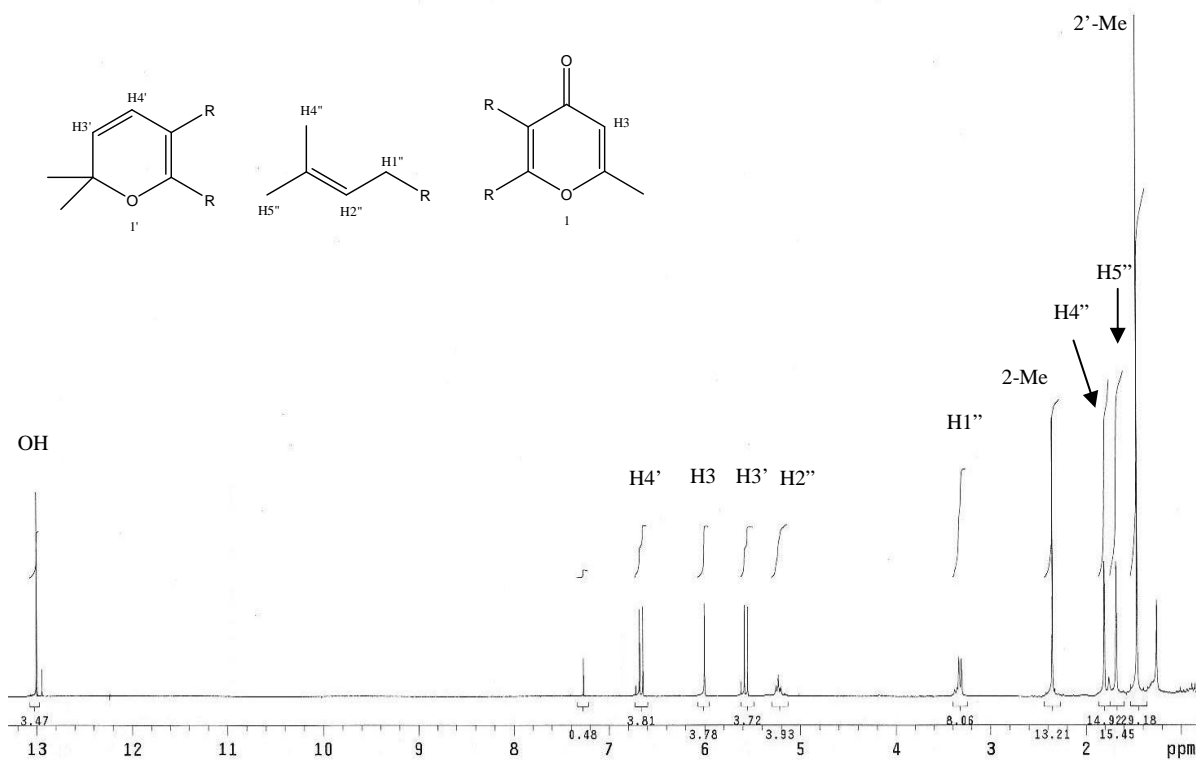


Figura 4.1.3.2 Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 1

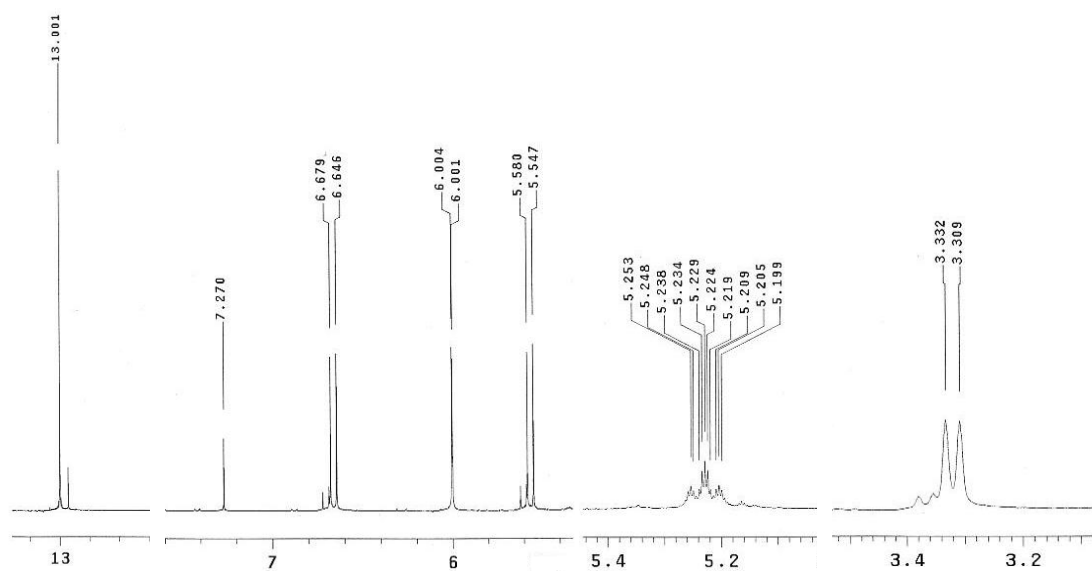


Figura 4.1.3.3 Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 2

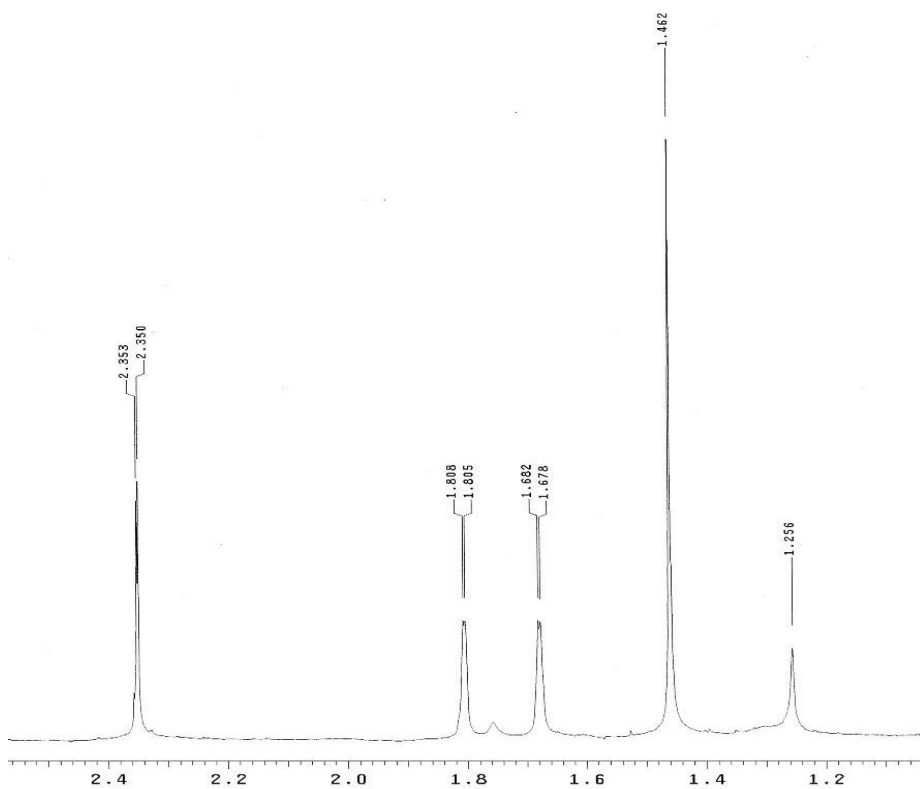


Figura 4.1.3.4 Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 3

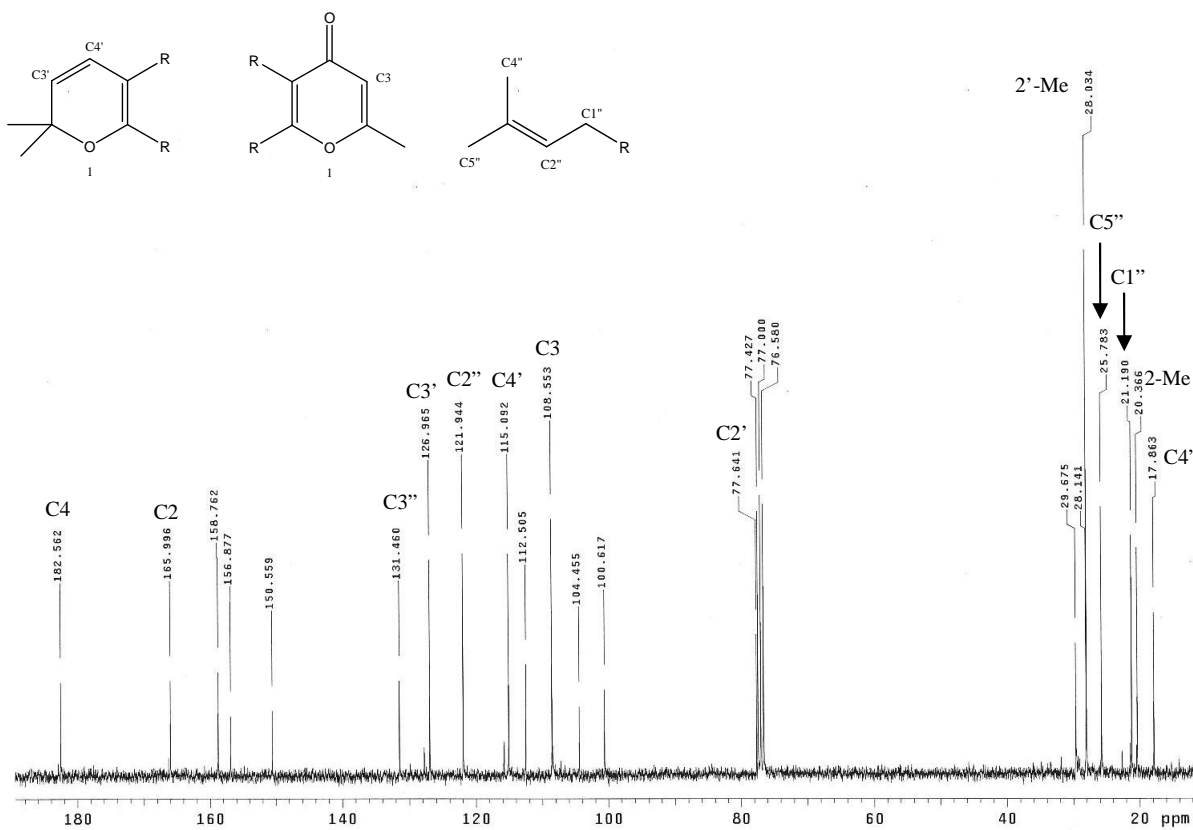


Figura 4.1.3.5 Espectro de RMN ^{13}C da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 1

Os sinais de carbono restantes podem ser associados a um anel benzênico totalmente substituído que, de forma comparativa, apresentam padrão similar àquele observado para a cromona 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico. Ver figura abaixo.

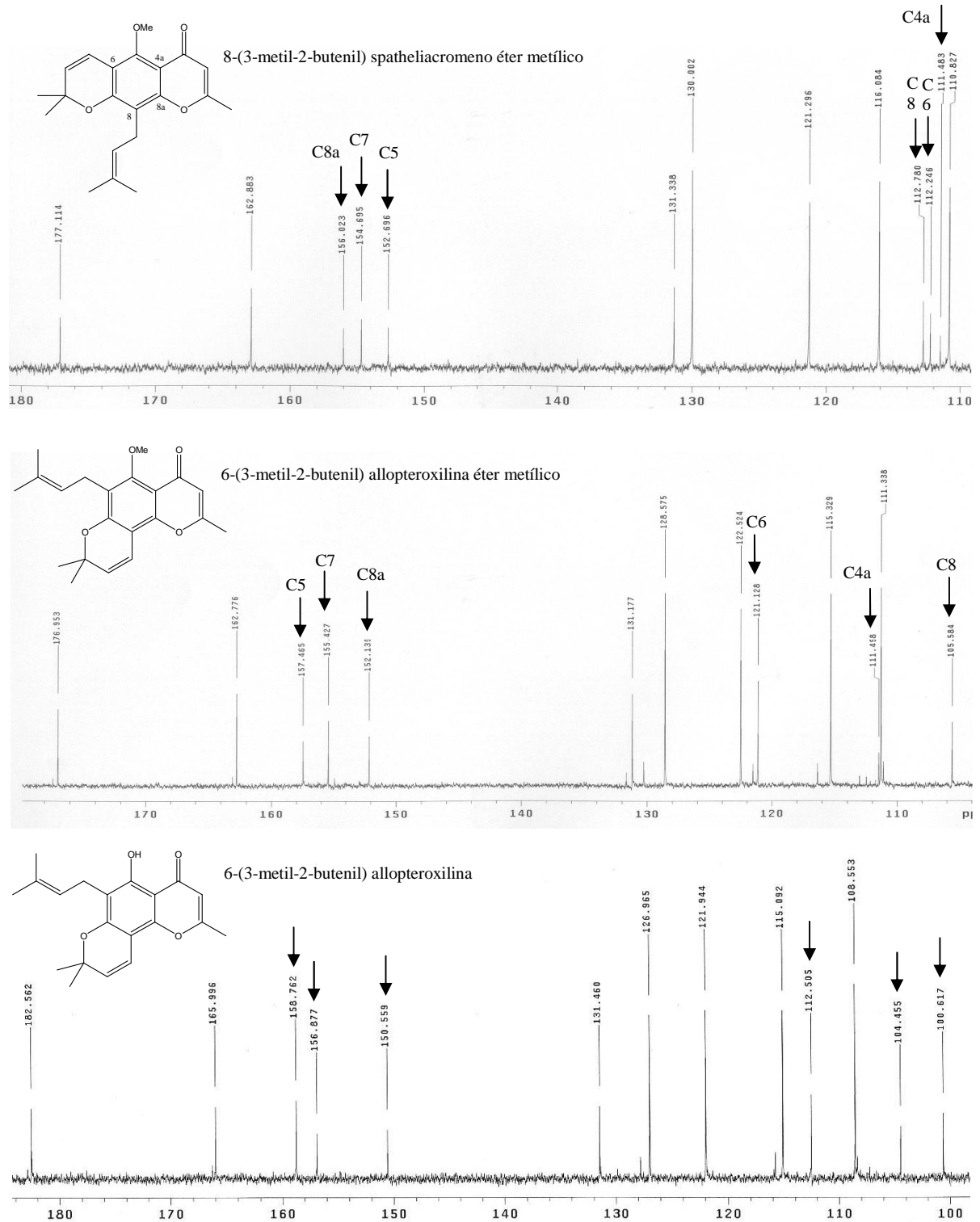


Figura 4.1.3.6 Comparativo entre dados de RMN ^{13}C de 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico, 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico e 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina. As setas indicam os sinais dos carbonos aromáticos.

Mesmo sem analisar os dados de HMBC desta substância, é possível propor sua estrutura com padrão angular de fusão entre os anéis, por comparação com os dados de RMN ^{13}C da cromona 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico. Possivelmente, o padrão angular destas estruturas implica em regiões do anel aromático com maior densidade eletrônica, logo, diferença na blindagem ou desblindagem de determinados carbonos. Desta forma, pode-se observar uma maior diferença entre os deslocamentos dos carbonos aromáticos não oxigenados das cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico e da estrutura em questão, quando comparados com os mesmos carbonos da cromona 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico que possui estrutura linear.

Como sugerido nos dados de RMN ^1H a estrutura apresenta uma hidroxila como substituinte do carbono aromático C5, no lugar do grupo metoxílico. Nesta posição, periplanar a carbonila, é favorecida a interação do tipo ponte de hidrogênio intramolecular entre esta e a hidroxila.

Os dados de HMQC confirmam as atribuições dos carbonos hidrogenados. Ver figuras 4.1.3.7-8.

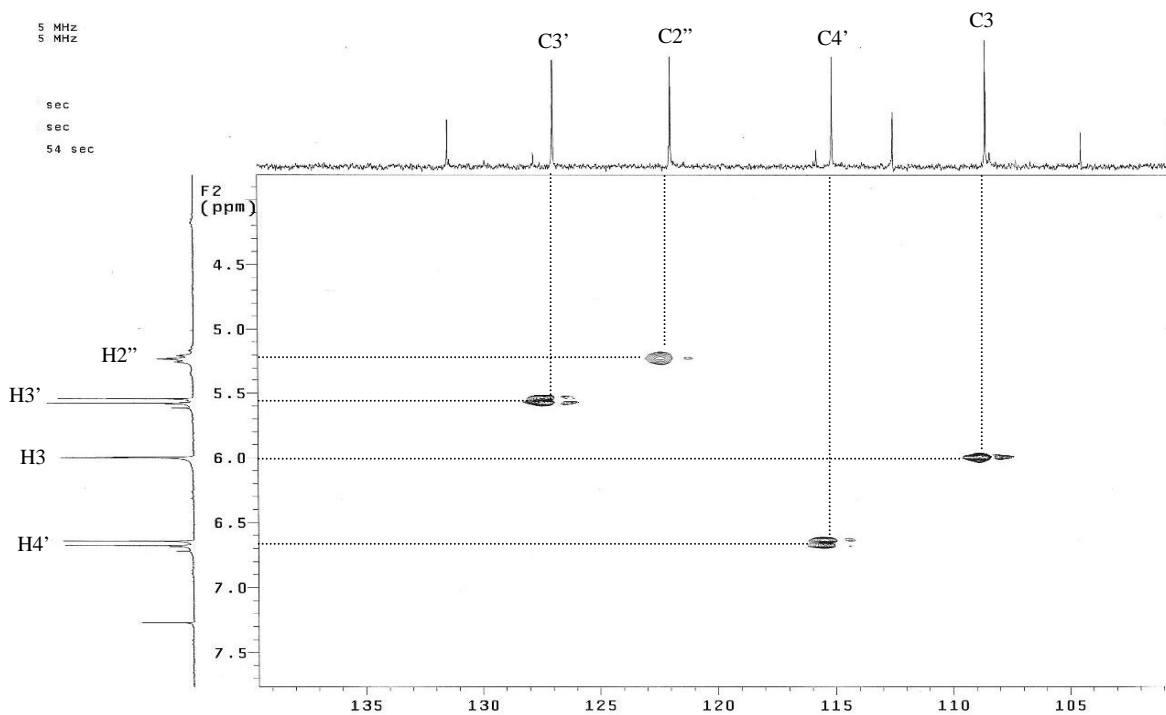


Figura 4.1.3.7 Espectro de HMQC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 1

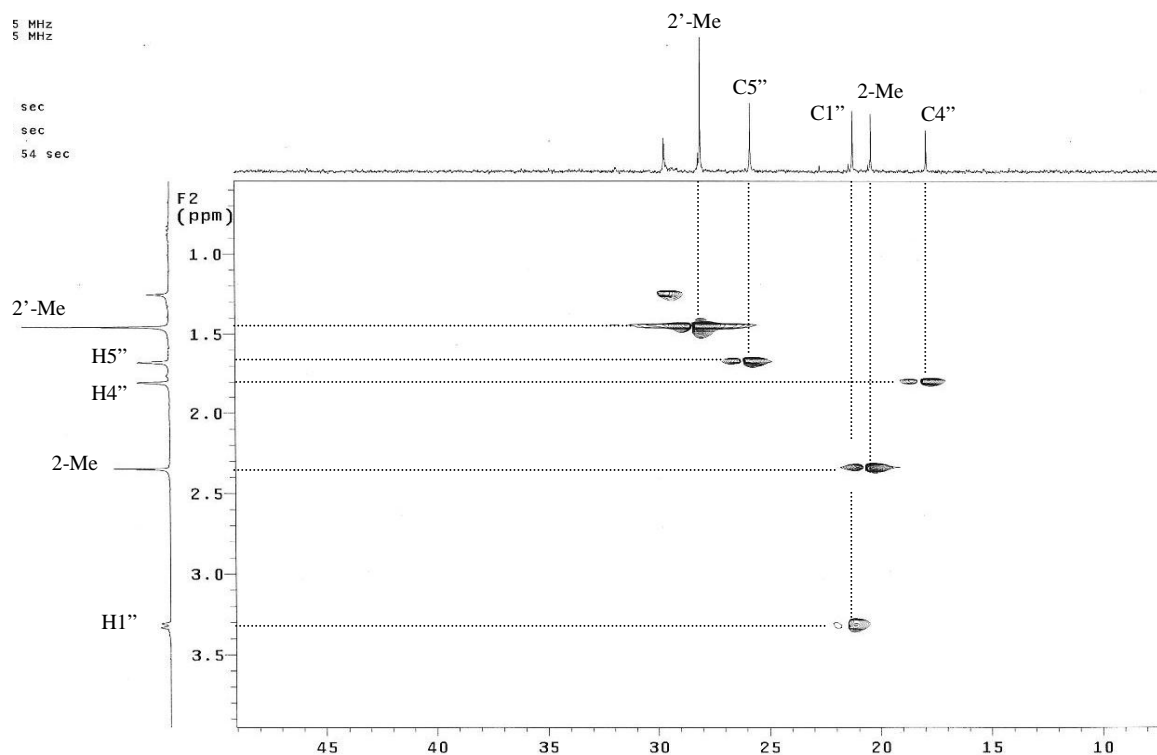


Figura 4.1.3.8 Espectro de HMQC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 2

Uma vez determinada a cromona em questão como 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina, por comparação com os dados de RMN ^{13}C de 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico, os dados de HMBC determinam os deslocamentos dos carbonos aromáticos desta estrutura. Isoladamente, os dados deste experimento não determinam a estrutura de forma inequívoca haja vista a não aquisição da correlação entre os sinais da hidroxila e do carbono C5.

Segundo as correlações observadas nas figuras 4.1.3.9-11 juntamente com as comparações feitas na figura 4.1.3.6, foi possível atribuir os carbonos do anel aromático com os seguintes deslocamentos: $\delta_{\text{C}_{4a}}$ 104,5, δ_{C_5} 158,8, δ_{C_6} 112,5, δ_{C_7} 156,9, δ_{C_8} 100,6, $\delta_{\text{C}_{8a}}$ 150,6.

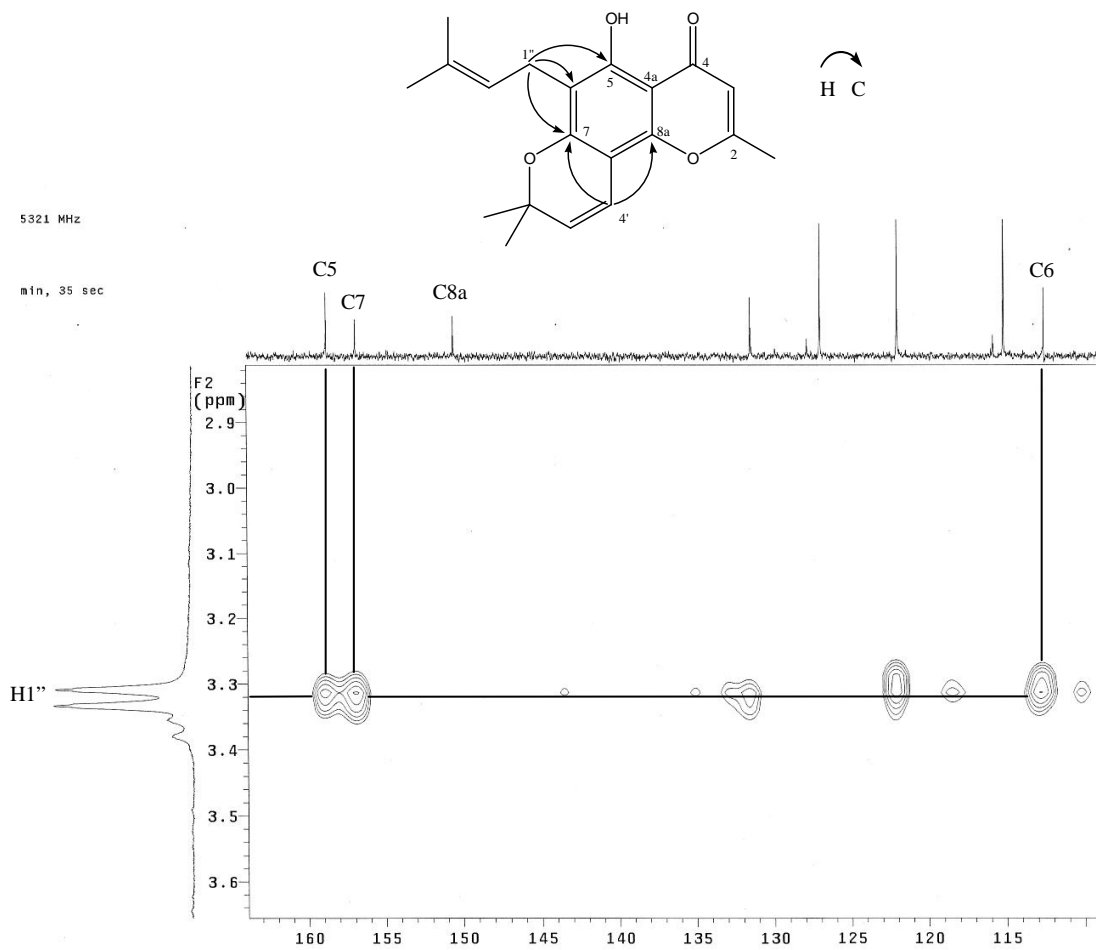


Figura 4.1.3.9 Espectro de HMBC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 1

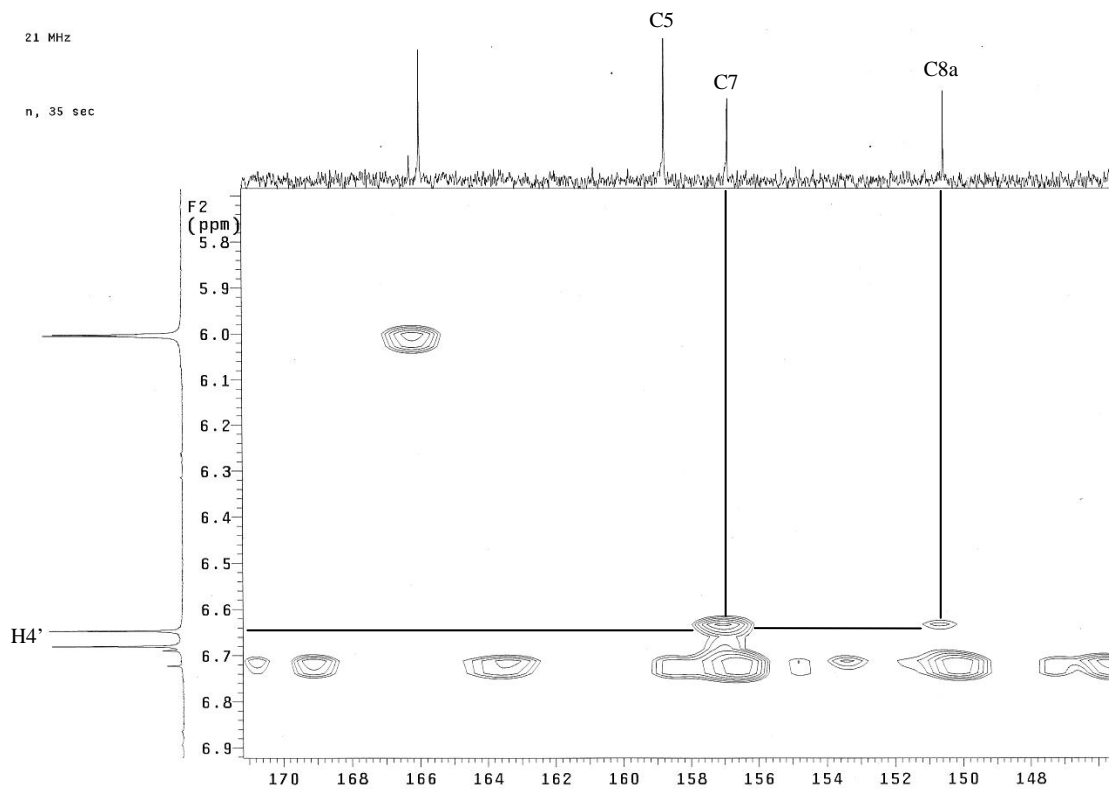


Figura 4.1.3.10 Espectro de HMBC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 2

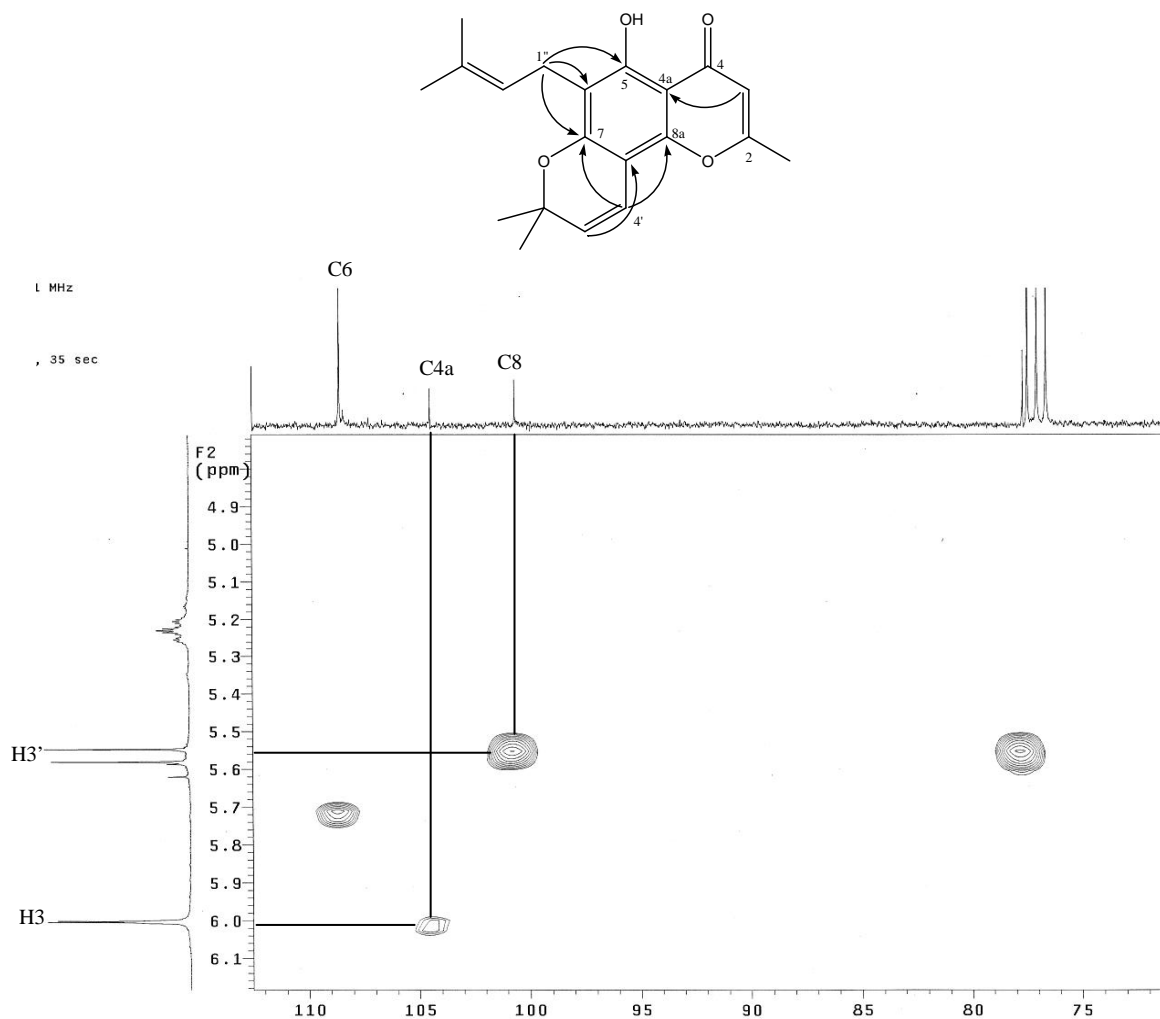


Figura 4.1.3.11 Espectro de HMBC da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina – parte 3

Segundo CAMPOS *et al* 1987, a diferença entre δ_{C8} e δ_{C6} varia entre os isômeros angular e linear, dentro de uma faixa esperada. Para o isômero angular espera-se que esta diferença esteja entre 8 – 13 ppm. Já para o isômero linear, entre 1 – 3 ppm. Consultando as tabelas 4.1.2.1 e 4.1.3.1, para 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico $\delta_{C6}-\delta_{C8}=15$ ppm e para 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina $\delta_{C6}-\delta_{C8}=12$ ppm. Por estes dados seria possível propor mesmo sem a análise dos espectros de HMBC o arranjo angular para estas duas estruturas.

O isolamento desta cromona em *D. vandellianum* já foi descrito em CAMPOS *et al*, 1987. Comparando os dados aqui apresentados com aqueles anteriormente publicados é razoável propor erros de atribuição para H3', H4', C3', C4' e os carbonos do anel aromático C4a, C5, C6, C7, C8, C8a.

Os dados de infravermelho são compatíveis com aqueles apresentados pela literatura consultada, que cita as seguintes bandas: 1665, 1635 e 1590 cm^{-1}

Tabela 4.1.3.1 Dados de RMN ^1H e ^{13}C da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina.

H/C	RMN ^1H [δ (ppm), <i>m</i> , J (Hz)]		RMN ^{13}C [δ (ppm)]	
	Experimental	Literatura ¹	Experimental	Literatura ¹
2			166,0	166,0
2-Me	2,35 d (0,9)	2,32 sl	20,4	20,2
3	6,00 dl (0,9)	5,95 sl	108,5	108,4
4			182,6	182,5
4a			104,5	104,6
5			158,8	156,7
6			112,5	100,5
7			156,9	150,4
8			100,6	112,3
8a			150,6	158,6
2'			77,6	77,5
2'-Me	1,46 s	1,45 s	28,0	27,9
3'	5,56 d (9,9)	6,62 d (10)	127,0	115,0
4'	6,66 d (9,9)	5,53 d (10)	115,1	126,8
1''	3,32 d (6,9)	3,29 d (7)	21,2	21,0
2''	5,23 m (7,5;1,5)	5,24 t (7)	121,9	121,8
3''			131,5	131,4
4''	1,81 d (0,9)	1,79 sl	17,9	17,8
5''	1,68 d (1,2)	1,68 sl	25,8	25,7
5-OH	13,00 s	13,1 s		

1: CAMPOS, 1987.

4.1.4 Identificação da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno.

As bandas observadas no IV são compatíveis com aquelas apresentadas pelas cromonas anteriormente descritas. Ver figura 4.1.4.1.

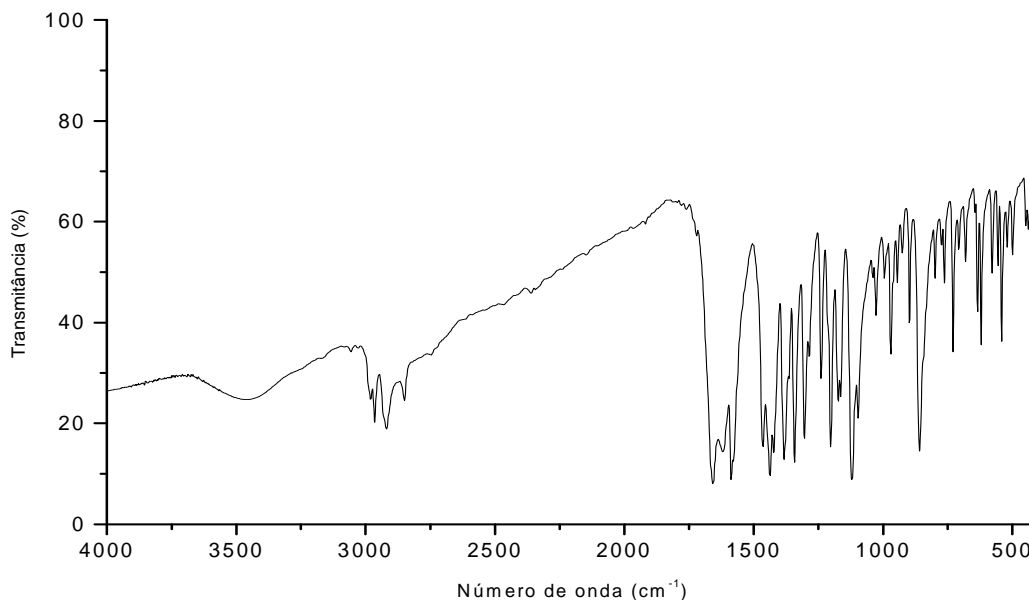
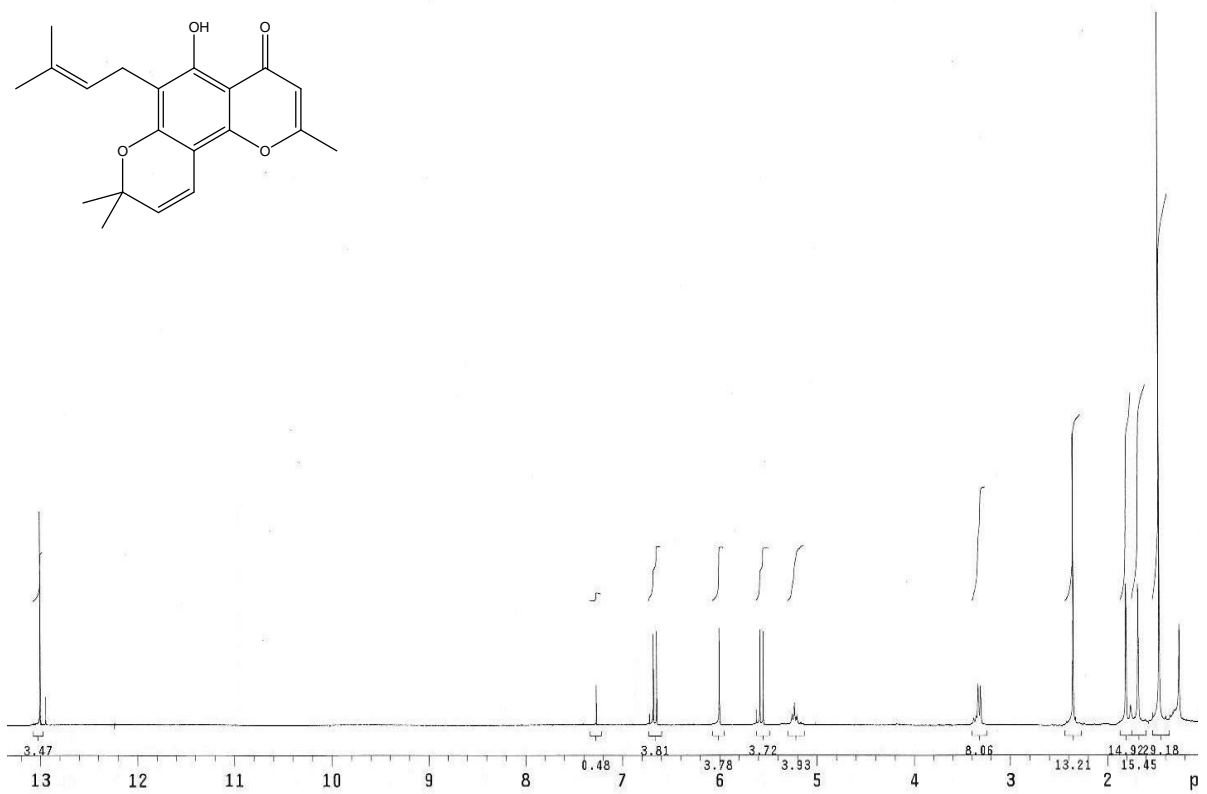
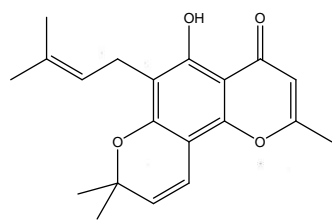


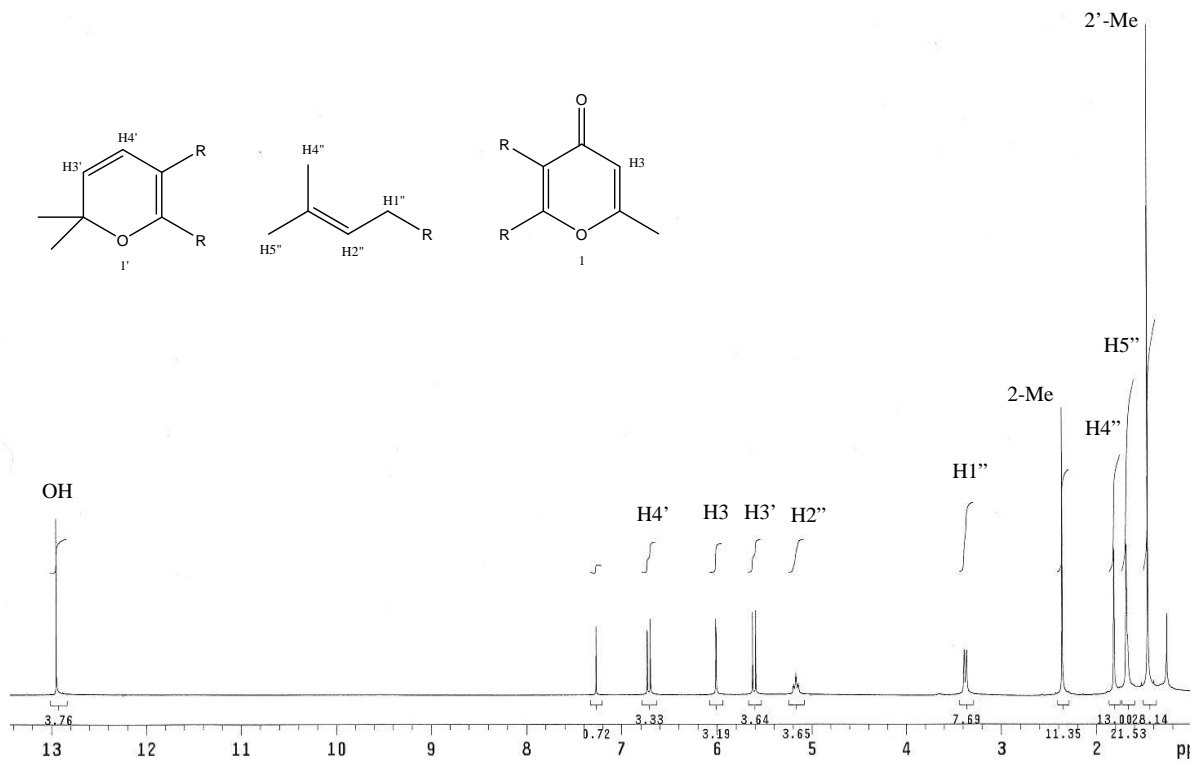
Figura 4.1.4.1 Espectro no infravermelho da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno: 3462 cm^{-1} , deformação axial da ligação OH; 2981-2846 cm^{-1} , deformação axial de CH; 1659 cm^{-1} , deformação axial de C=O α,β -insaturada; 1620 e 1580 cm^{-1} , deformação axial de C=C de cicloalcenos e alceno tri-substituído.

Os dados de RMN ^1H são praticamente idênticos àqueles da estrutura descrita no tópico 4.1.3. Observando os dados de forma pouco criteriosa seria possível afirmar que se trata da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina. Entretanto, os dados de RMN ^{13}C apresentam algumas diferenças significativas. Ver comparativo na figura 4.1.4.2.

Analisando os deslocamentos dos hidrogênios e carbonos é possível propor para esta molécula o mesmo núcleo descrito para 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina, com os mesmos substituintes e, possivelmente, um isômero de posição. Os sinais δ_{H} 3,37, δ_{H} 5,17, δ_{H} 1,82, δ_{H} 1,68, δ_{C} 21,4, δ_{C} 122,0, δ_{C} 131,4, δ_{C} 17,8 e δ_{C} 25,7 indicam presença do grupo prenilíco. Os sinais δ_{H} 1,46, δ_{H} 5,61, δ_{H} 6,71, δ_{C} 77,6, δ_{C} 28,2, δ_{C} 127,8, δ_{C} 115,8 sugerem presença de um anel 2,2-dimetilpirano condensado na molécula. A banda no IV 1659 cm^{-1} juntamente com os sinais δ_{H} 2,36, δ_{H} 6,01, δ_{C} 166,3, δ_{C} 20,4, δ_{C} 108,4 e δ_{C} 182,9 indicam a presença do sistema 2-metil-1,4-benzopirona na estrutura. Ver figuras 4.1.4.1-4.



Espectro de RMN ^1H da 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina



Espectro de RMN ^1H da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte 1

Figura 4.1.4.2 Comparativo entre os espectros de RMN ^1H das cromona 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno.

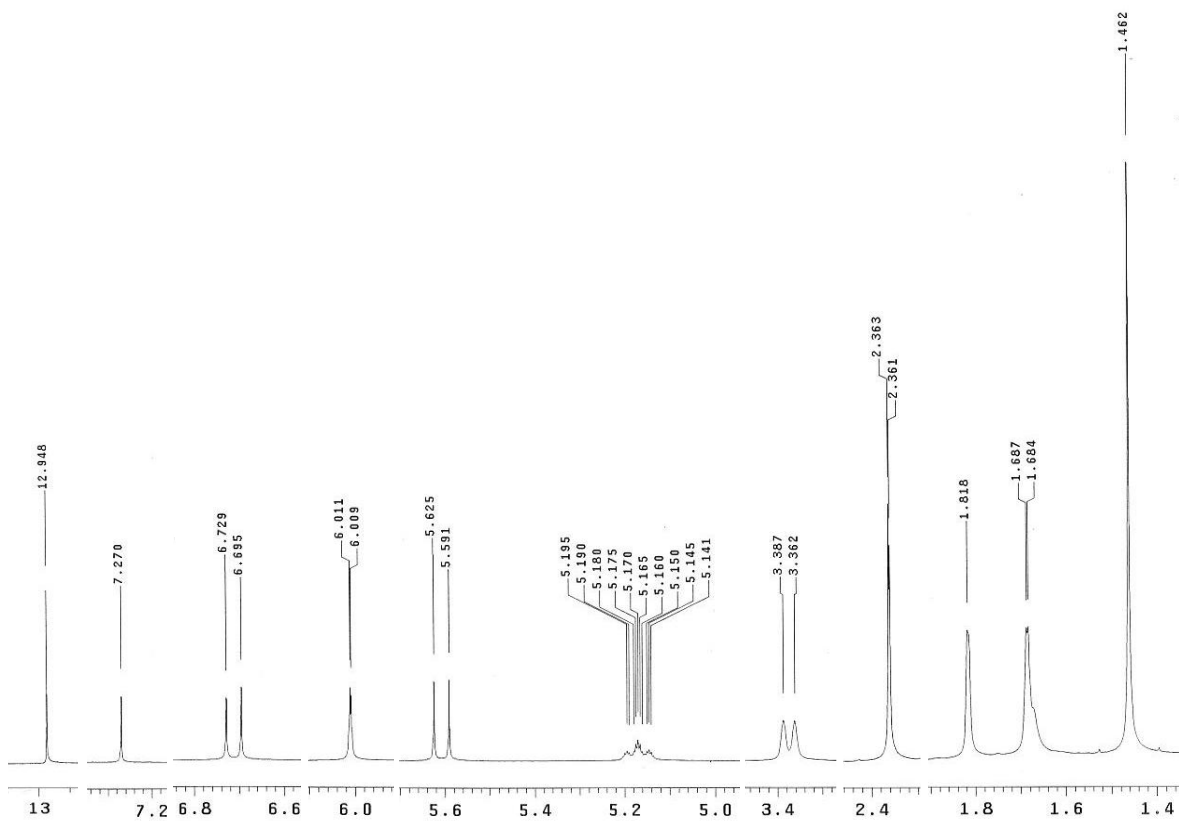


Figura 4.1.4.3 Espectro de RMN ^1H da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte 2

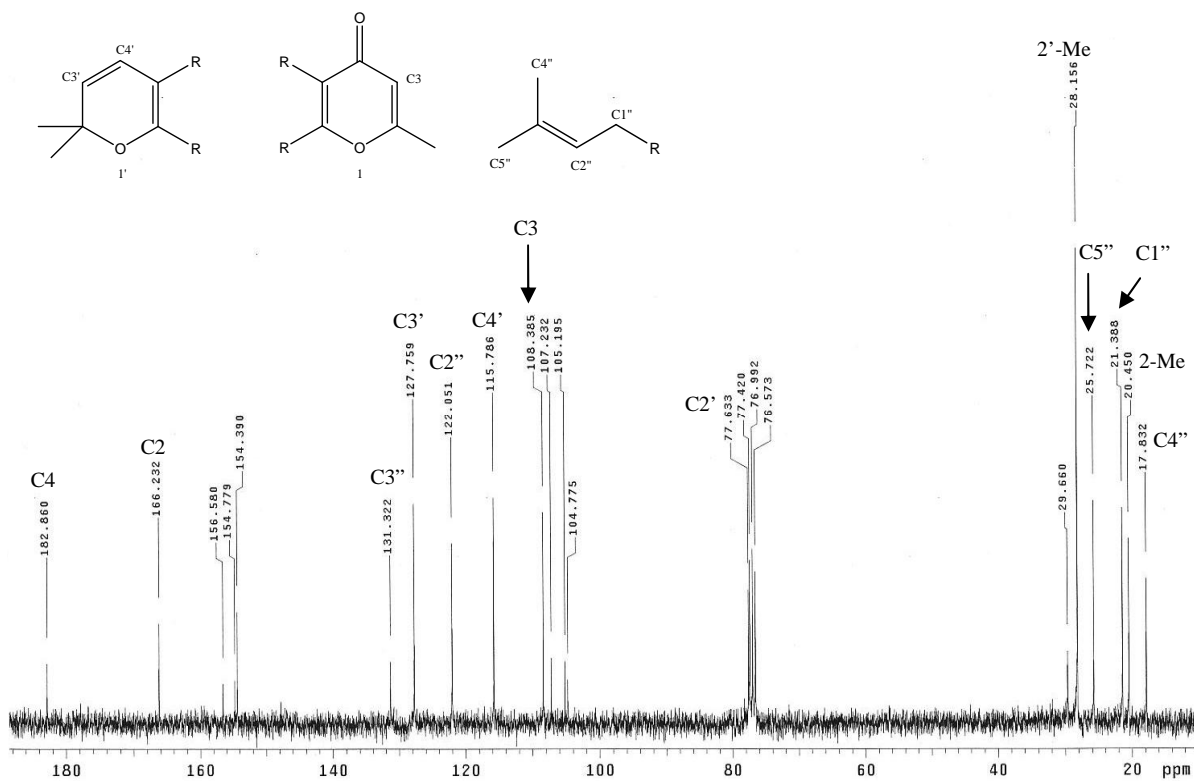


Figura 4.1.4.4 Espectro de RMN ^{13}C da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte 1

Os sinais de carbono restantes podem ser associados a um anel benzênico totalmente substituído que, de forma comparativa, apresentam padrão similar àquele observado para a cromona 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico. Ver figura abaixo.

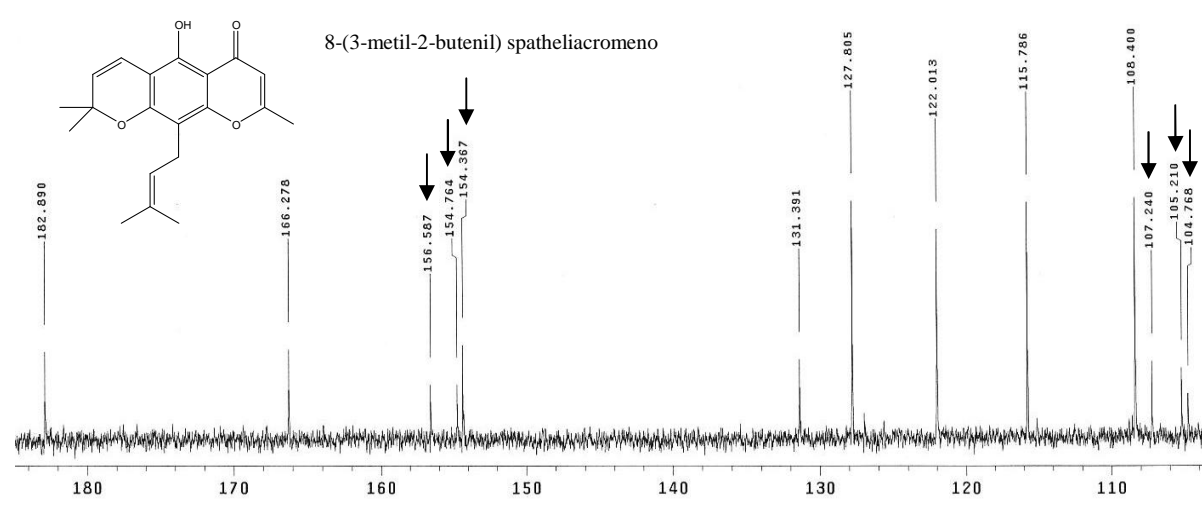
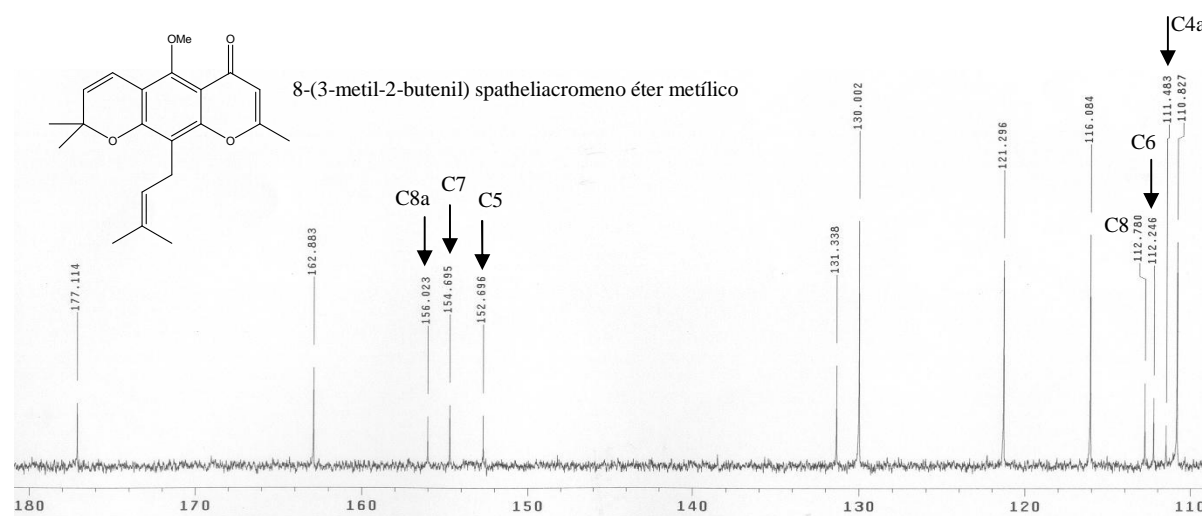
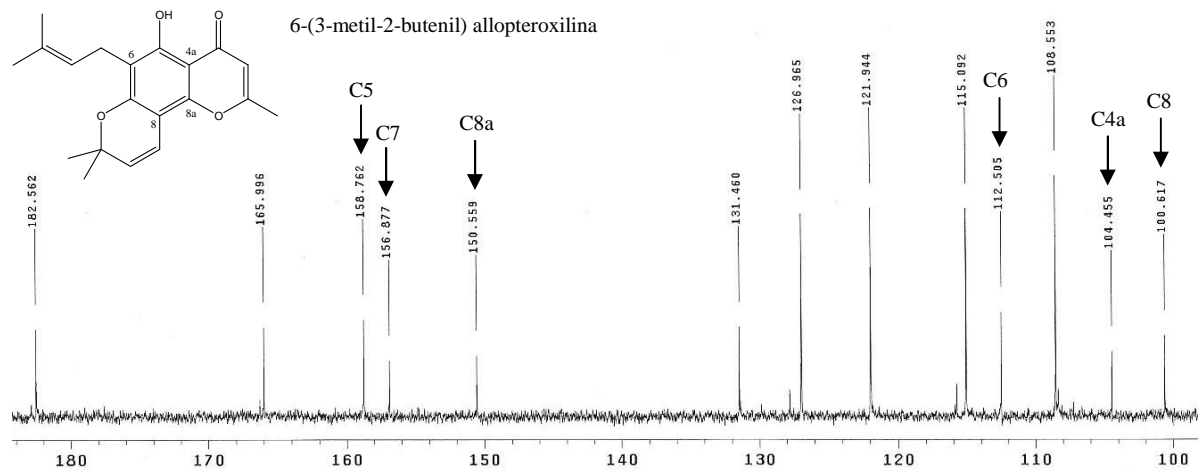


Figura 4.1.4.5 Comparativo entre dados de RMN ^{13}C de 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina, 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno. As setas indicam os sinais dos carbonos aromáticos.

Mesmo sem analisar os dados de HMBC obtidos para a presente cromona, é possível propor sua estrutura com padrão linear de fusão entre os anéis, por comparação com os dados de RMN ^{13}C da cromona 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico. Possivelmente, o padrão linear destas estruturas implica em anel aromático com densidade eletrônica mais homogênea que as estruturas angulares, logo, carbonos sob efeitos de blindagem ou desblindagem parecidos. Desta forma, pode-se observar uma menor diferença entre os deslocamentos dos carbonos aromáticos não-oxigenados das cromonas 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno, quando comparados com os mesmos carbonos das cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico e 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina, as quais possuem estruturas angulares.

Como sugerido nos dados de RMN ^1H , a estrutura apresenta uma hidroxila como substituinte do carbono aromático C5, no lugar do grupo metoxílico. Nesta posição, periplanar a carbonila, é favorecida a interação do tipo ponte de hidrogênio intramolecular entre esta carbonila e a hidroxila.

Os dados de HMQC confirmam as atribuições dos carbonos hidrogenados. Ver figuras 4.1.4.6-7.

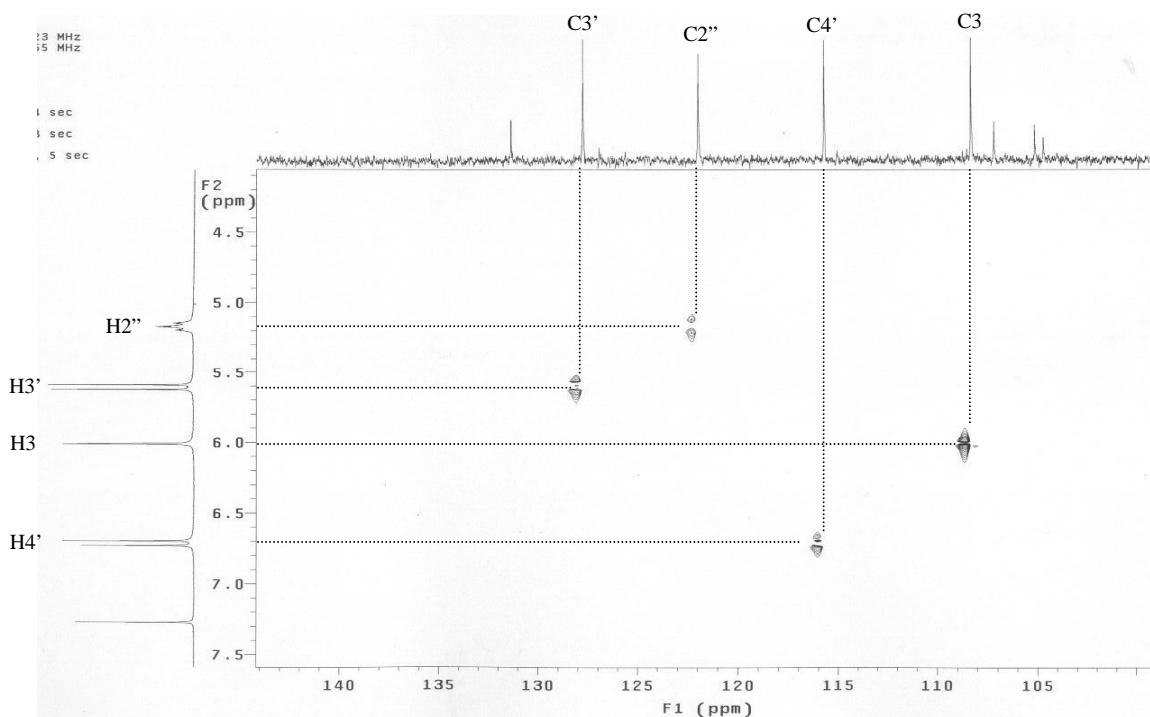


Figura 4.1.4.6 Espectro HMQC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte 1

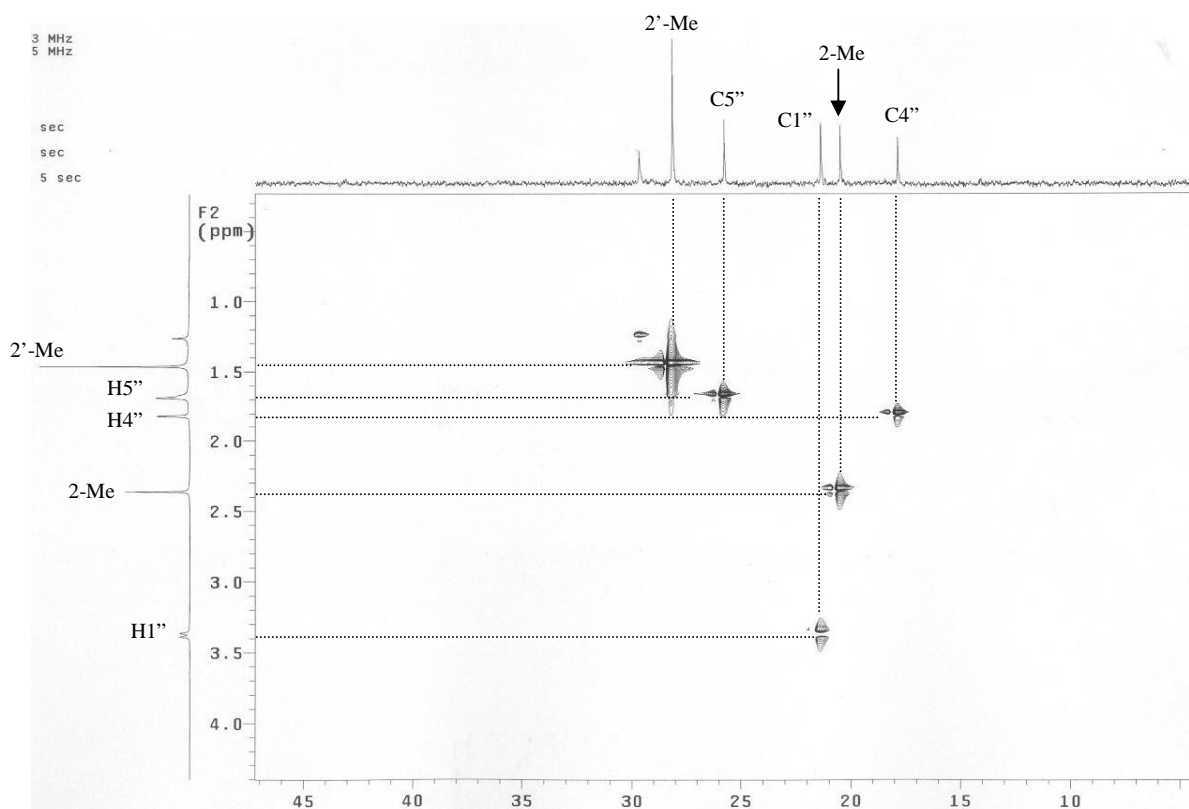


Figura 4.1.4.7 Espectro HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte 2

Uma vez determinada a estrutura como 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno, por comparação com os dados de RMN ^{13}C de 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico, os dados de HMBC determinam os deslocamentos dos carbonos aromáticos desta estrutura. Isoladamente, os dados deste experimento não determinam a estrutura de forma inequívoca haja vista a não aquisição da correlação entre os sinais da hidroxila e do carbono C5.

Segundo as correlações observadas nas figuras 4.1.4.8-11 juntamente com as comparações feitas na figura 4.1.4.5, foi possível atribuir os carbonos do anel aromático com os seguintes deslocamentos: δ_{C4a} 104,8, δ_{C5} 154,4, δ_{C6} 105,2, δ_{C7} 156,6, δ_{C8} 107,2, δ_{C8a} 154,8.

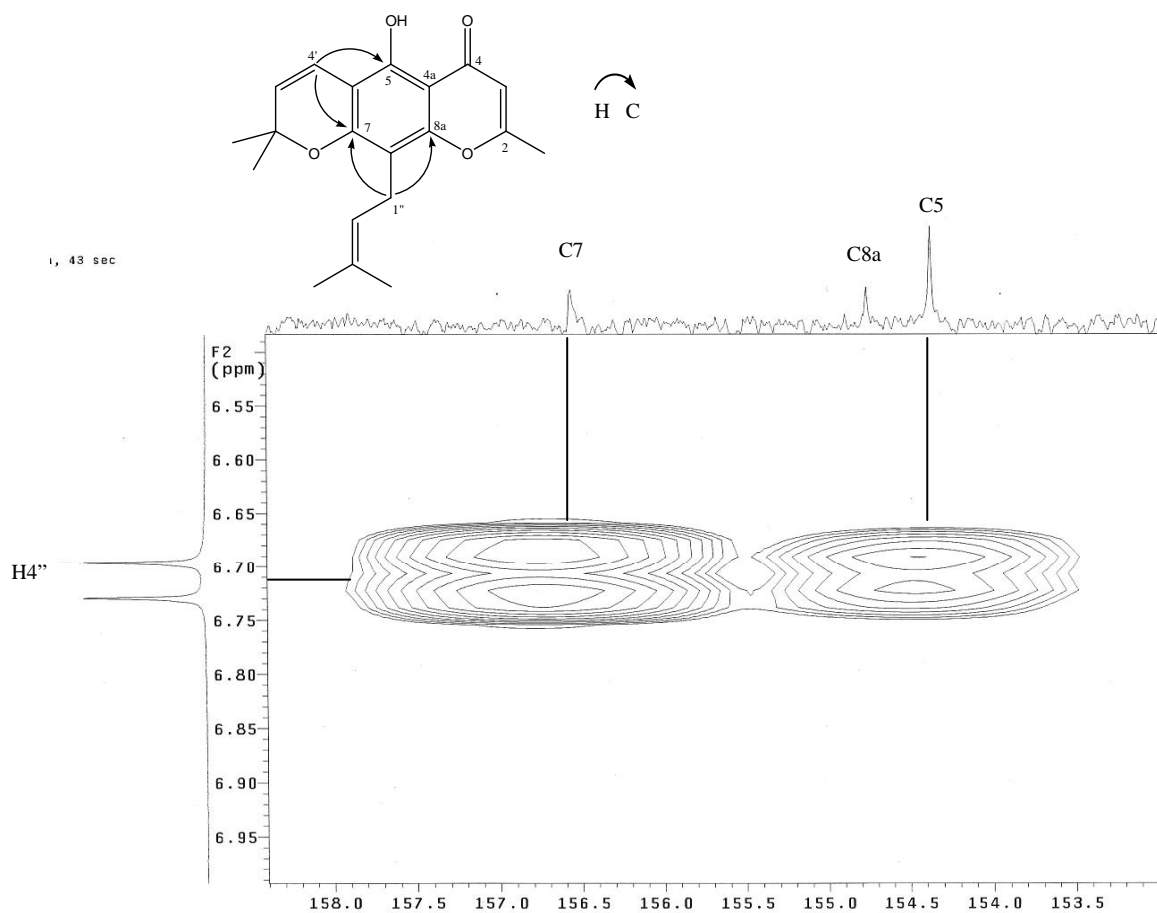


Figura 4.1.4.8 Espectro de HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte 1

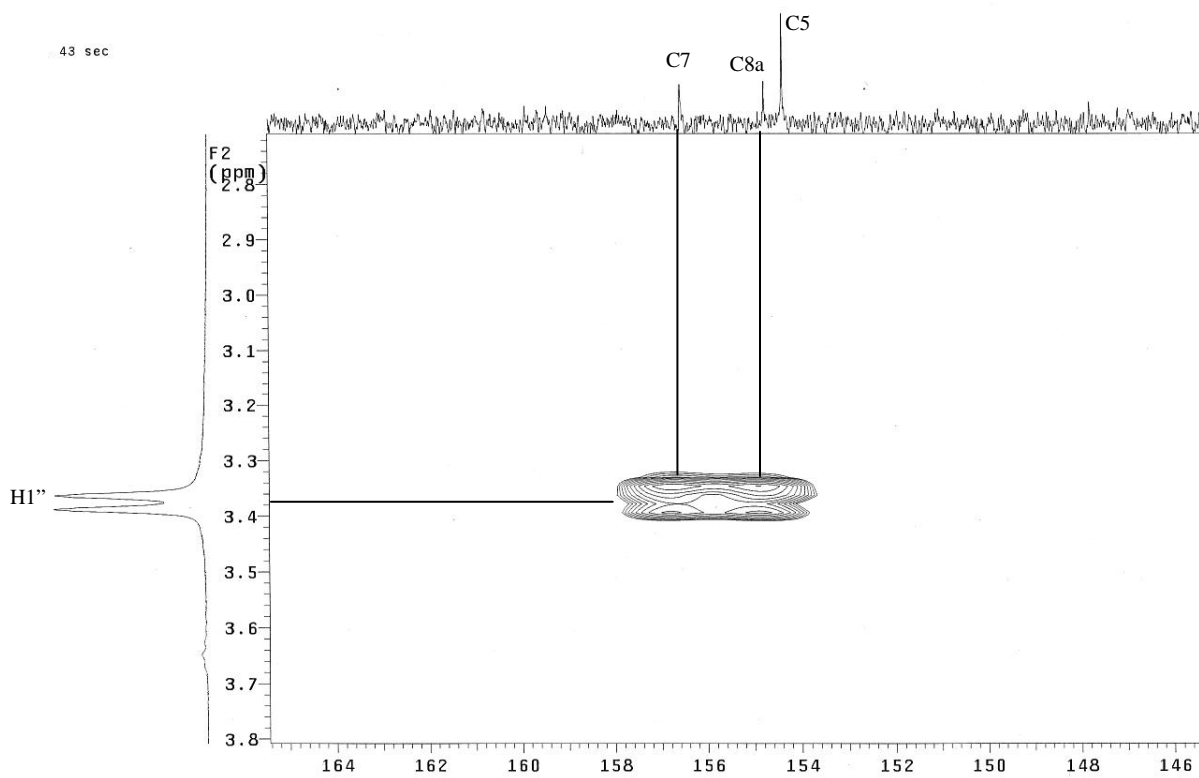


Figura 4.1.4.9 Espectro de HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte 2

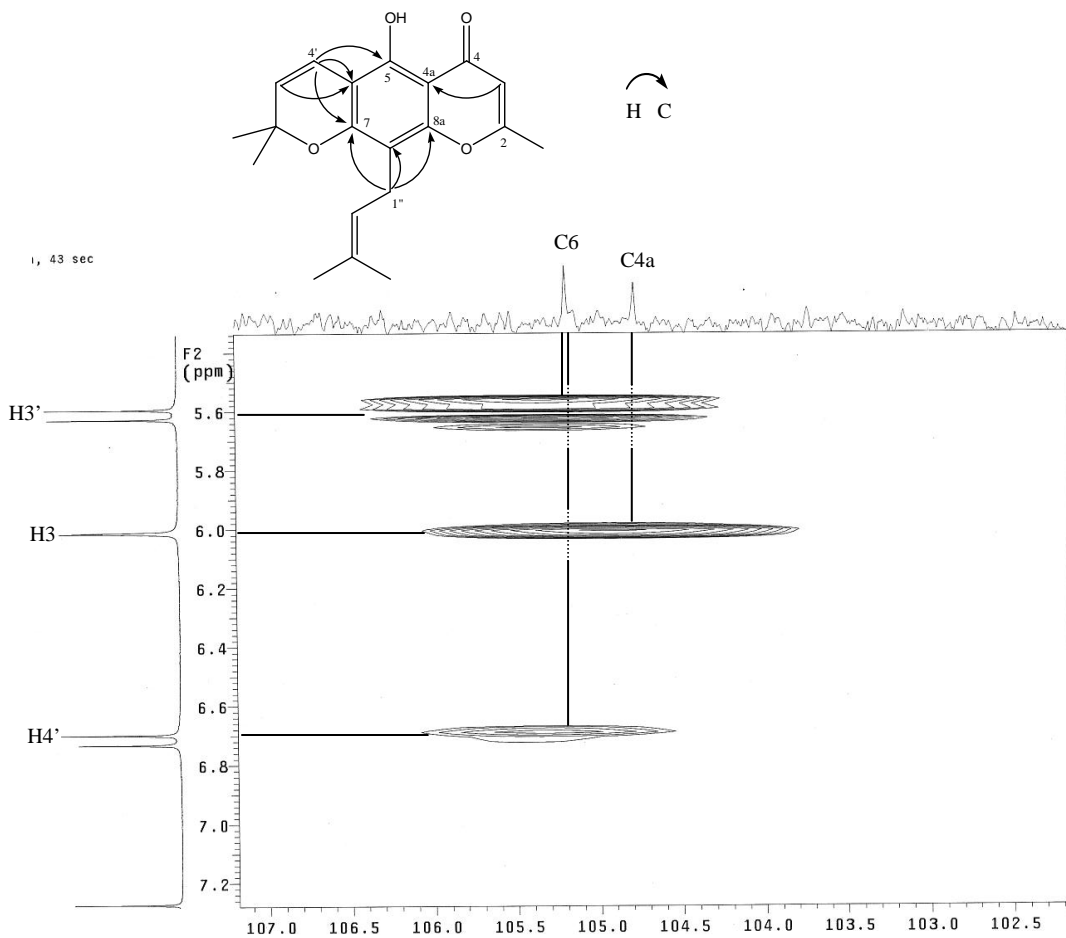


Figura 4.1.4.10 Espectro de HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte 3

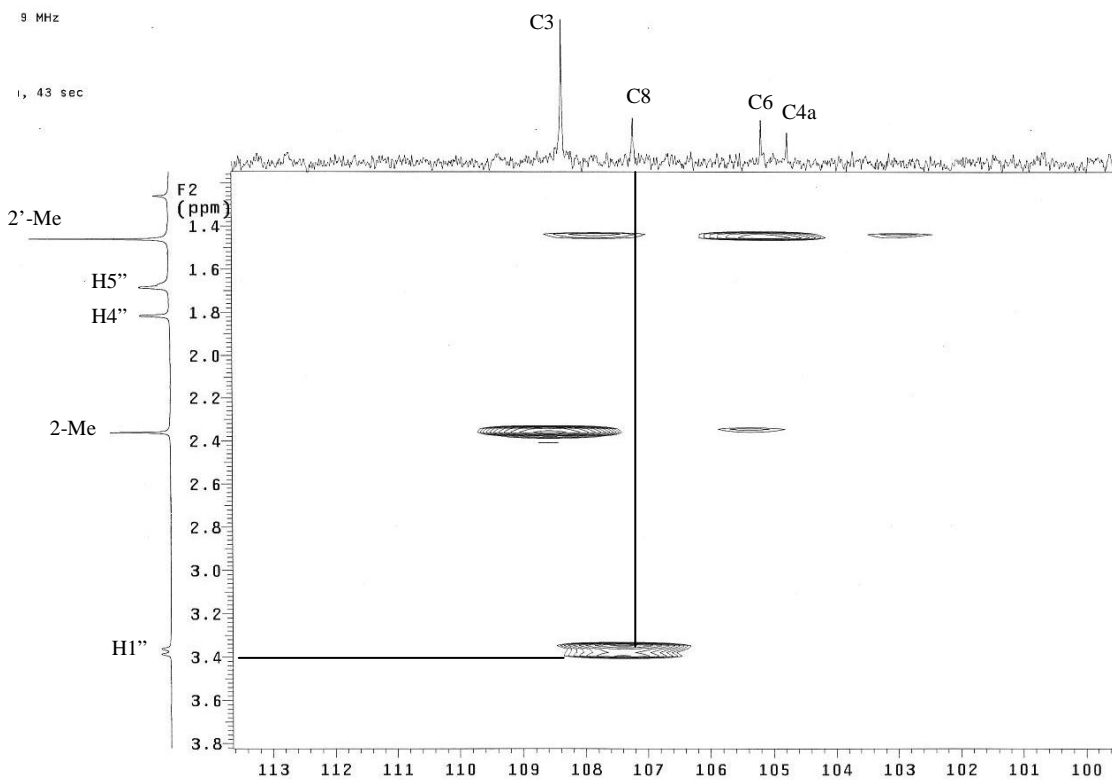


Figura 4.1.4.11 Espectro de HMBC da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno – parte 4

Como discutido na determinação estrutural anterior, a diferença entre δ_{C8} e δ_{C6} varia entre os isômeros angular e linear, dentro de uma faixa esperada. Para o isômero angular espera-se que esta diferença esteja entre 8 – 13 ppm. Já para o isômero linear, entre 1 – 3 ppm (CAMPOS *et al*, 1987). Consultando as tabelas 4.1.2.1 e 4.1.4.1, pode-se calcular: $\delta_{C6}-\delta_{C8}=0,6$ ppm, para a 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico; $\delta_{C6}-\delta_{C8}=2$ ppm, para a 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno. Por estes dados seria possível propor, mesmo sem a prévia análise dos espectros de HMBC, o arranjo linear para estas duas estruturas.

Esta cromona foi previamente identificada nas folhas de *Cneorum tricoccum*, espécie comumente encontrada no Mediterrâneo. Entretanto a literatura consultada não apresenta dados de RMN ^{13}C .

Os dados de infravermelho são compatíveis com aqueles apresentados pela literatura, que cita as seguintes bandas: 3200-2500, 1660, 1620, 1580 cm^{-1} (GONZALEZ *et al*, 1974).

Tabela 4.1.4.1 Dados de RMN ¹H e ¹³C da 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno.

H/C	RMN ¹ H [δ (ppm), <i>m</i> , J (Hz)]		RMN ¹³ C [δ (ppm)]
	Experimental	Literatura ¹	Experimental
2			166,3
2-Me	2,36 d (0,6)	2,32 s	20,4
3	6,01 dl (0,6)	6,02 s	108,4
4			182,9
4a			104,8
5			154,4
6			105,2
7			156,6
8			107,2
8a			154,8
2'			77,6
2'-Me	1,46 s	1,52 s	28,2
3'	5,61 d (10,2)	5,58 d (10)	127,8
4'	6,71 d (10,2)	6,75 d (10)	115,8
1''	3,37 d (7,5)	3,30 d <i>W</i> _{1/2} (12)	21,4
2''	5,17 m (7,5;1,5)	5,18 t <i>W</i> _{1/2} (18)	122,0
3''			131,4
4''	1,82 sl	1,80 s	17,8
5''	1,68 d (0,9)	1,68 s	25,7
5-OH	12,95 s	12,9 s	

1: GONZÁLEZ, 1974.

OBS: na referência os espectros foram adquiridos em CCl₄.

Tabela 4.1.4.2 Comparação entre os dados experimentais das cromonas 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno e 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina.

H/C	RMN ¹ H [δ (ppm), <i>m</i> , J (Hz)]		RMN ¹³ C [δ (ppm)]	
	8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno	6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina	8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno	6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina
2			166,3	166,0
2-Me	2,36 d (0,6)	2,35 d (0,9)	20,4	20,4
3	6,01 dl (0,6)	6,00 dl (0,9)	108,4	108,5
4			182,9	182,6
4a			104,8	104,5
5			154,4	158,8
6			105,2	112,5
7			156,6	156,9
8			107,2	100,6
8a			154,8	150,6
2'			77,6	77,6
2'-Me	1,46 s	1,46 s	28,2	28,0
3'	5,61 d (10,2)	5,56 d (9,9)	127,8	127,0
4'	6,71 d (10,2)	6,66 d (9,9)	115,8	115,1
1''	3,37 d (7,5)	3,32 d (6,9)	21,4	21,2
2''	5,17 m (7,5;1,5)	5,23 m (7,5;1,5)	122,0	121,9
3''			131,4	131,5
4''	1,82 sl	1,81 d (0,9)	17,8	17,9
5''	1,68 d (0,9)	1,68 d (1,2)	25,7	25,8
5-OH	12,95 s	13,00 s		

4.1.5 Identificação estrutural de spatheliabiscromeno

As bandas observadas no IV são compatíveis com aquelas apresentadas pelas cromonas descritas nos itens anteriores. Ver figura 4.1.5.1.

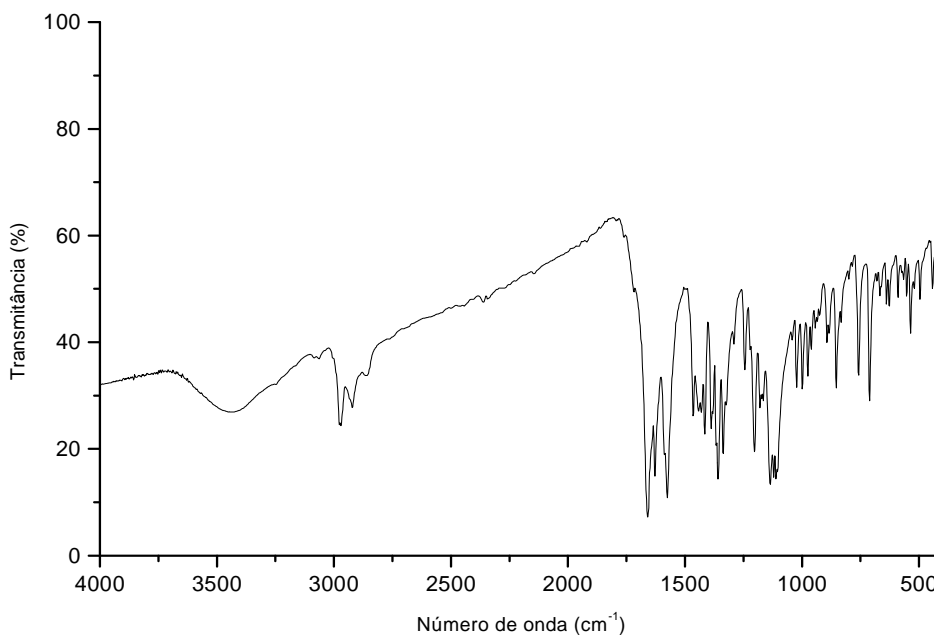


Figura 4.1.5.1. Espectro no infravermelho da spatheliabiscromeno: 2977-2858 cm^{-1} , deformação axial de CH; 1662 cm^{-1} , deformação axial de C=O α,β -insaturada; 1625 e 1573 cm^{-1} , deformação axial de C=C de cicloalcenos.

Observando os dados de RMN ^1H e ^{13}C é possível propor para esta molécula a estrutura de uma cromona tetracíclica. A banda no IV 1662 cm^{-1} juntamente com os sinais δ_{H} 2,25, δ_{H} 5,91, δ_{C} 162,4, δ_{C} 19,6, δ_{C} 111,4, δ_{C} 177,1 indicam o sistema 2-metil-1,4-benzopirona presente na estrutura. Os sinais δ_{H} 5,57, δ_{H} 6,68, δ_{H} 1,51, δ_{C} 77,7, δ_{C} 28,1, δ_{C} 128,2 e δ_{C} 115,4 sugerem presença de um anel 2,2-dimetilpirano. Da mesma forma, os sinais δ_{H} 5,56, δ_{H} 6,60, δ_{H} 1,46, δ_{C} 77,5, δ_{C} 27,7, δ_{C} 127,1 e δ_{C} 115,6 indicam presença de um segundo anel 2,2-dimetilpirano. Ver figuras 4.1.5.2-5.

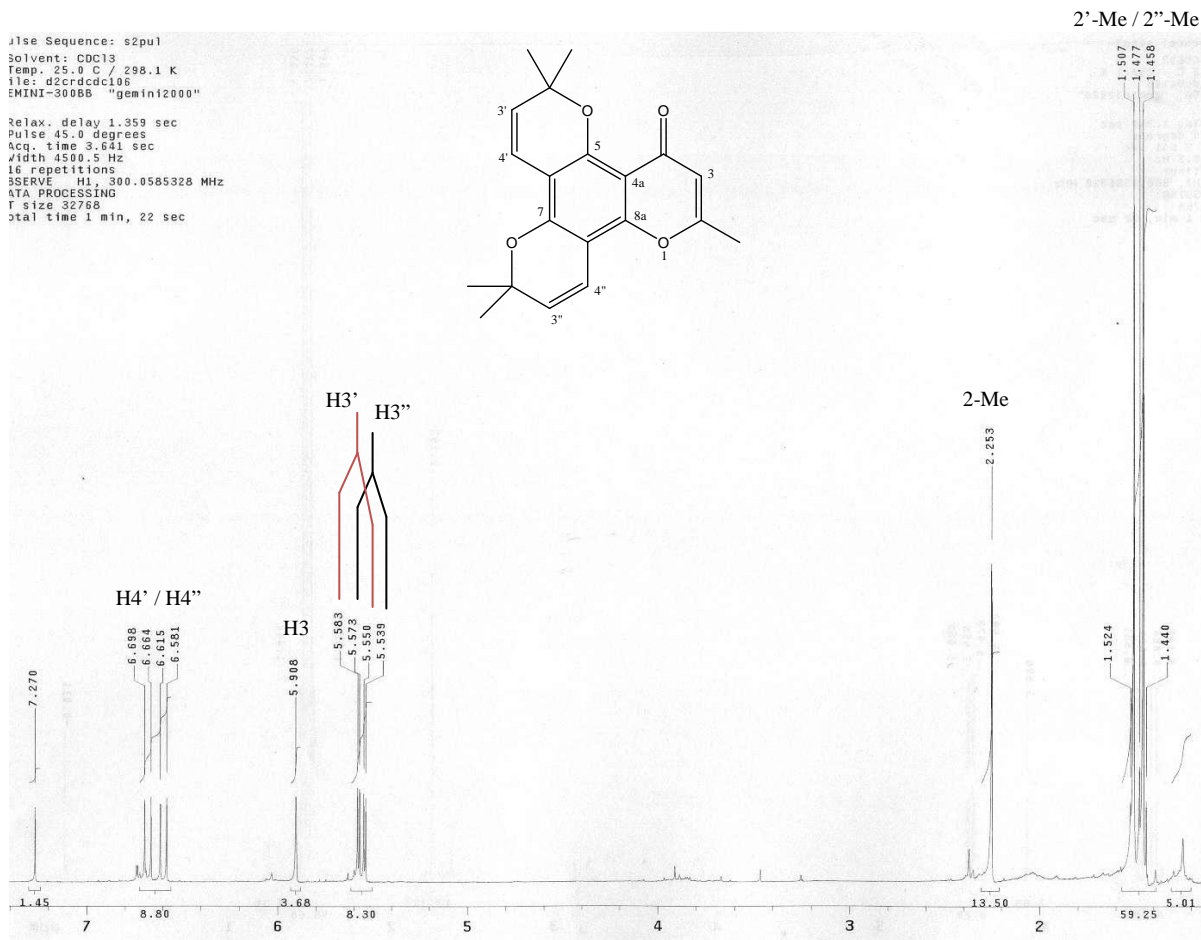


Figura 4.1.5.2 Espectro de RMN ^1H da spatheliabiscromeno.

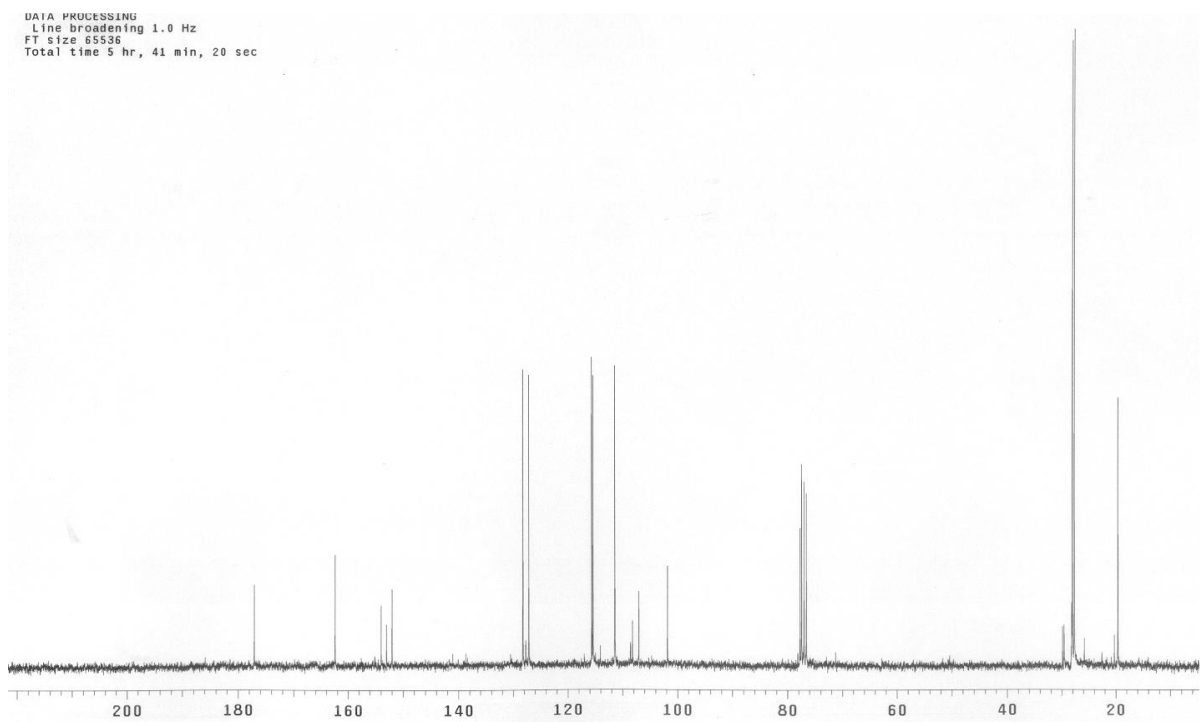


Figura 4.1.5.3 Espectro de RMN ^{13}C da spatheliabiscromeno – parte 1.

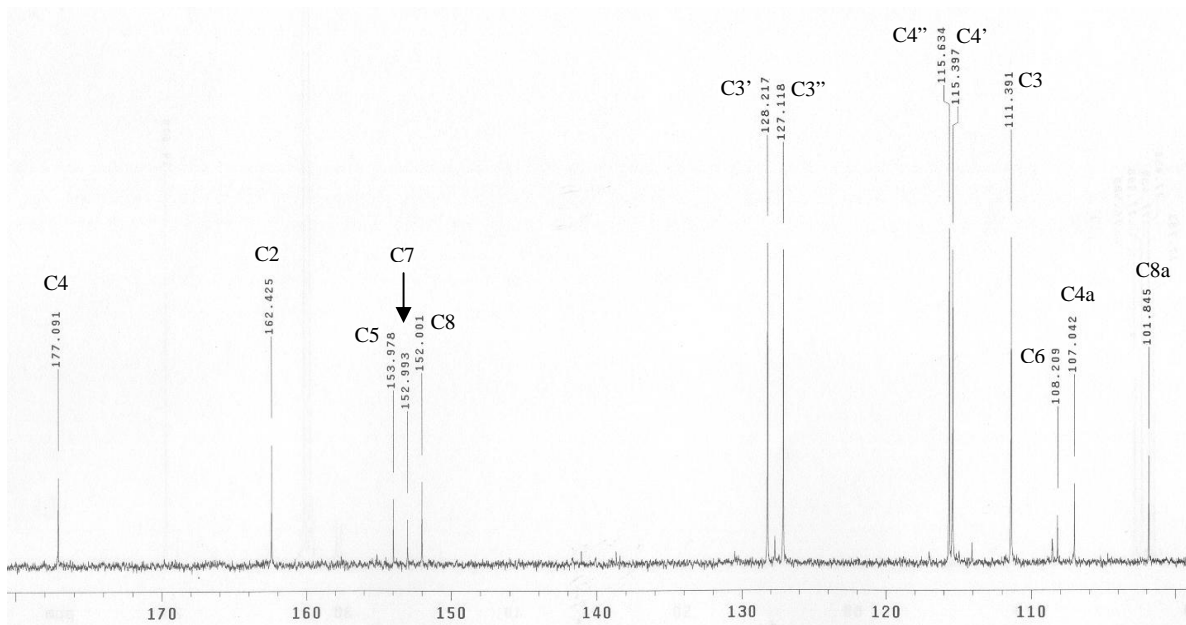


Figura 4.1.5.4 Espectro de RMN ^{13}C da spatheliabiscromeno – parte 2

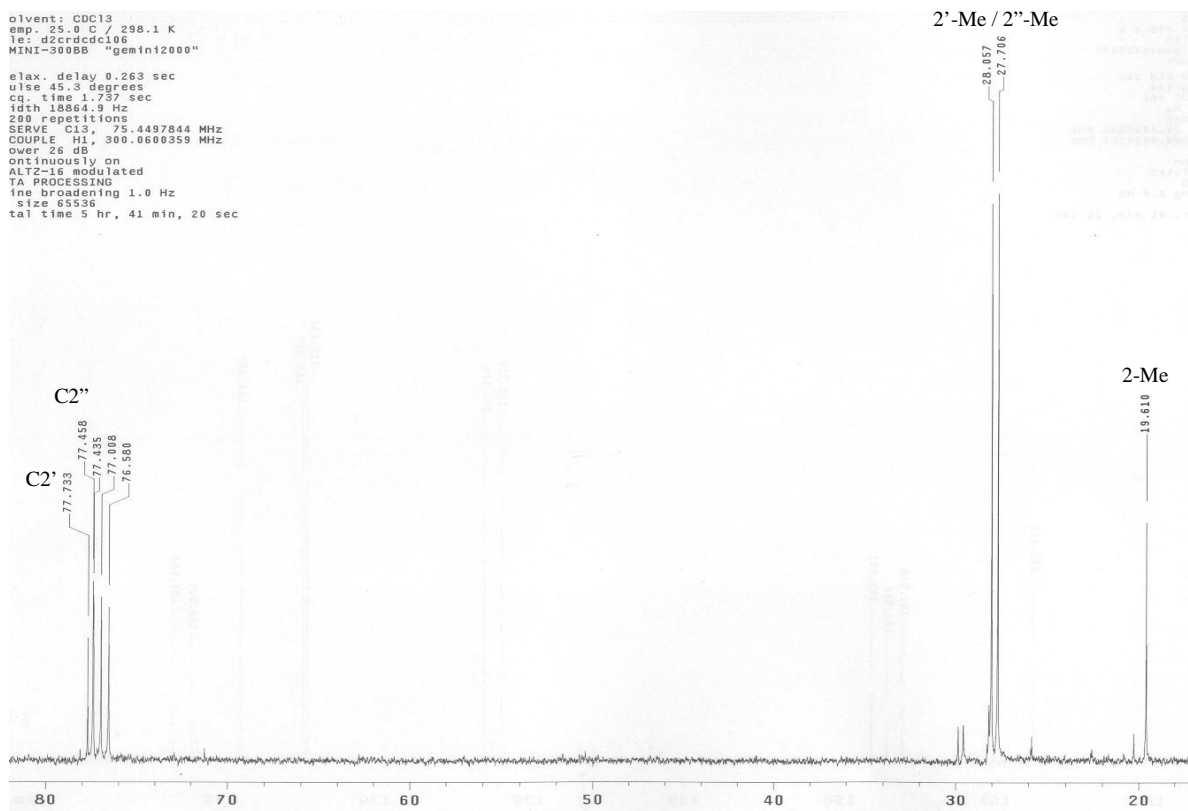


Figura 4.1.5.5 Espectro de RMN ^{13}C da spatheliabiscromeno – parte 3

Os sinais referentes aos carbonos aromáticos foram atribuídos por comparação com os dados da cromona 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina, uma vez que esta cromona pode ser considerada um precursor da spatheliabiscromeno. Ver figura 4.1.5.6 e tabela 4.1.5.1.

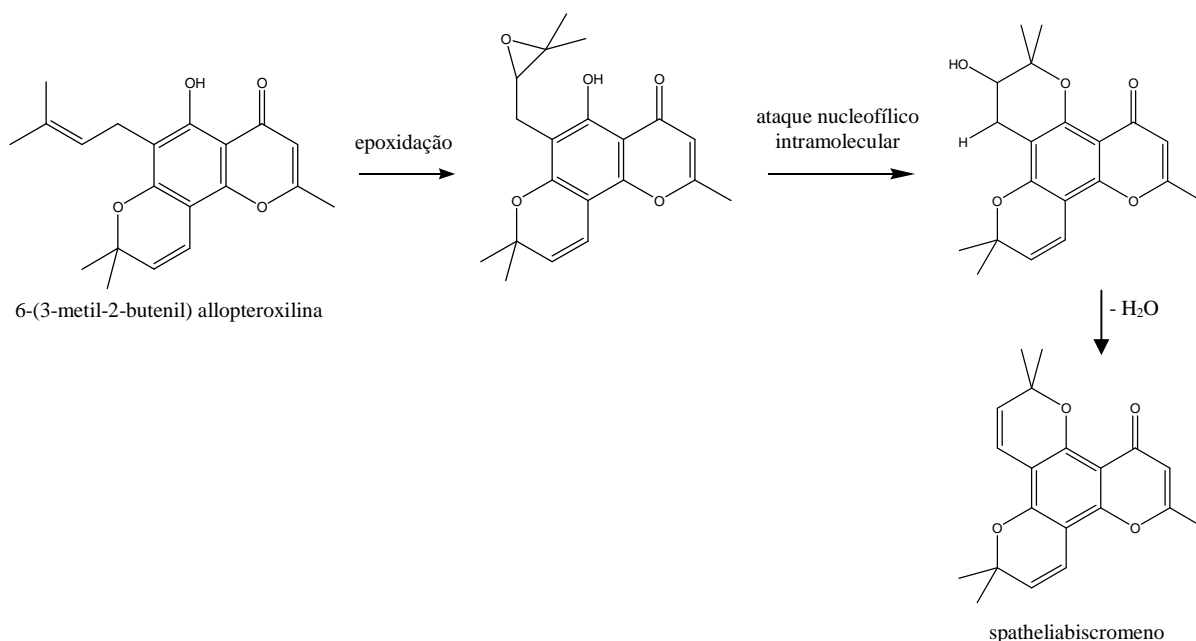


Figura 4.1.5.6

Tabela 4.1.5.1 Comparação de dados experimentais de RMN ^{13}C das cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina e spatheliabiscromeno.

C	RMN ^{13}C [δ (ppm)]	
	6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina	spatheliabiscromeno
4a	104,5	107,0
5	158,8	154,0
6	112,5	108,2
7	156,9	153,0
8	100,6	101,8
8a	150,6	152,0

OBS: como não foram utilizados dados de HMBC, podem existir erros nas atribuições.

Os dados de HMQC, ver figuras 4.1.5.7-9, confirmam as atribuições feitas aos carbonos hidrogenados, deixando dúvidas somente na atribuição das metilas e carbonos carbinólicos dos anéis 2,2-dimetilpirano. Logo estes sinais podem estar trocados.

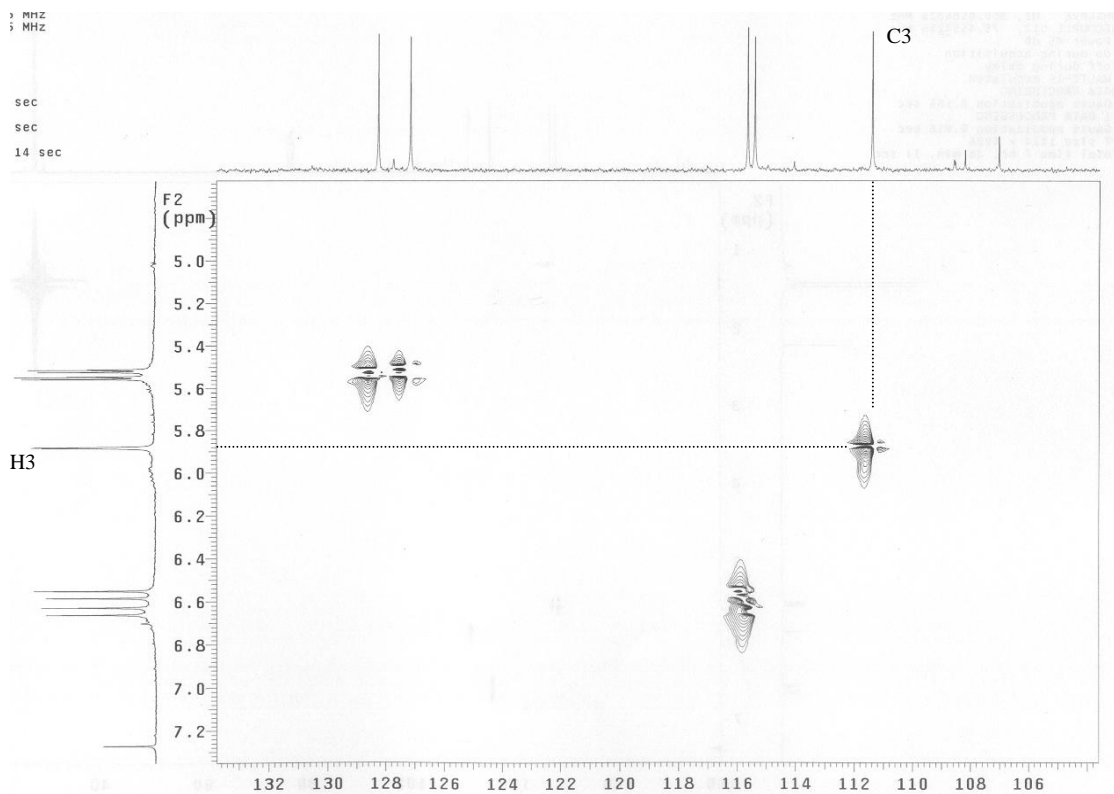


Figura 4.1.5.7 Espectro de HMQC da spatheliabiscromeno – parte 1

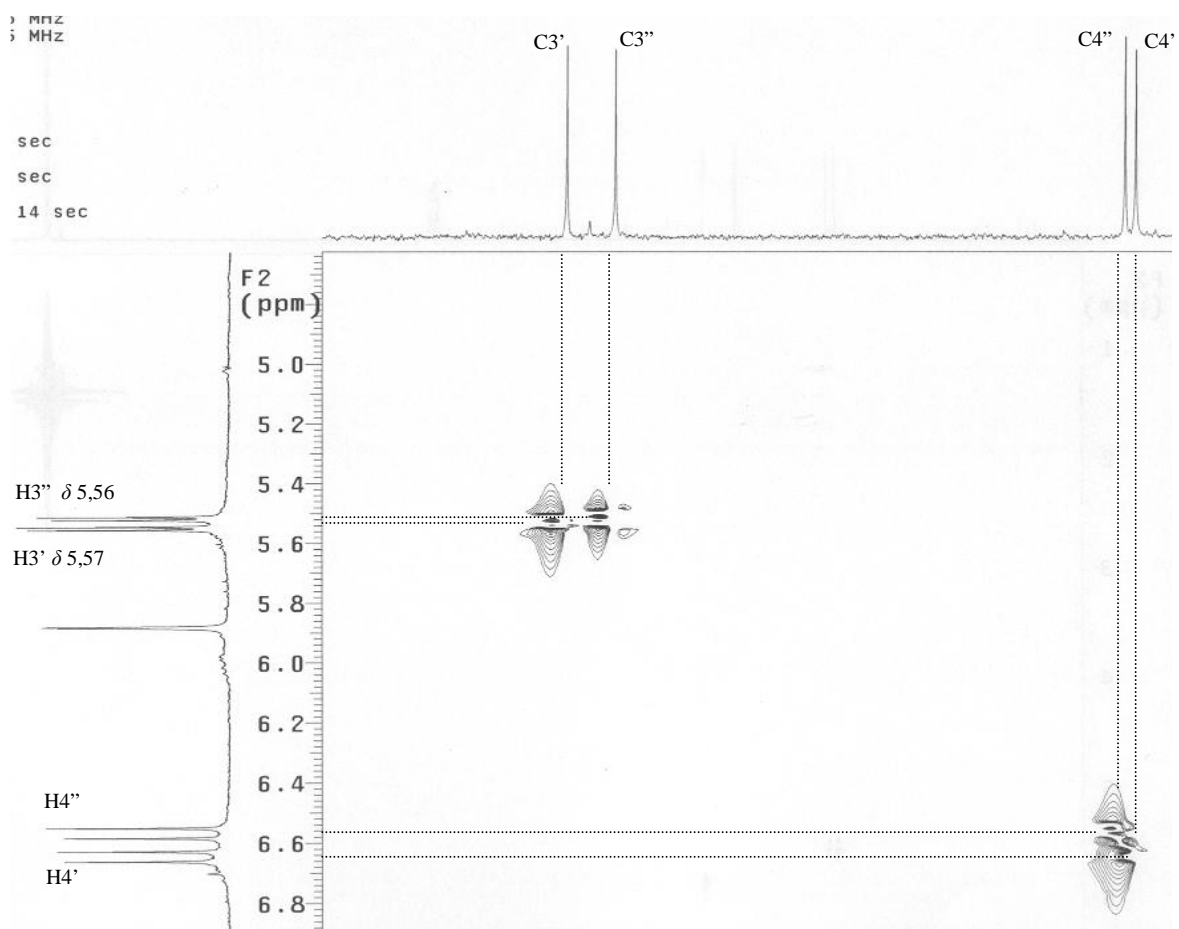


Figura 4.1.5.8 Espectro de HMQC da spatheliabiscromeno – parte 2

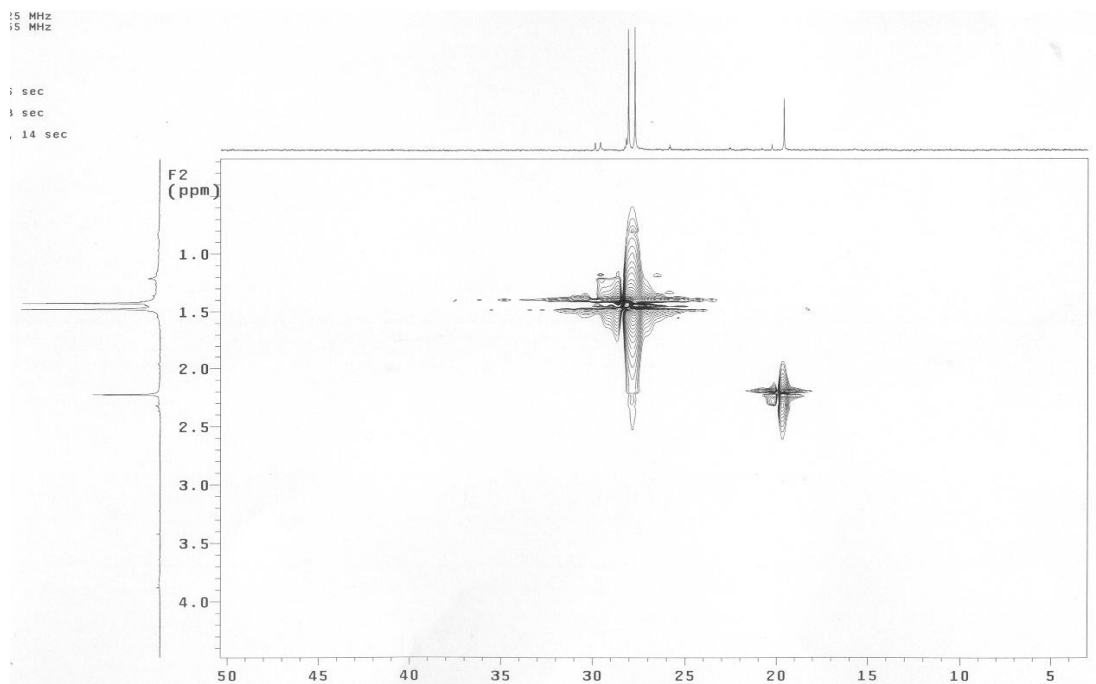


Figura 4.1.5. 9 Espectro de HMQC da cromona B – parte 3

A substância foi previamente isolada de *Cneorum tricoccum*. Os dados no infravermelho são compatíveis com aqueles relatados na literatura, que cita as seguintes bandas: 1660, 1625 e 1580 cm^{-1} (TAYLOR *et al*, 1977)

Existe síntese descrita a partir da 5,7-diidroxi-2-metilcromona (GUJRAL *et al*, 1976).

Tabela 4.1.5.2 Dados de RMN ¹H e ¹³C da spatheliabiscromeno.

H/C	RMN ¹ H [δ (ppm), <i>m</i> , J (Hz)]		RMN ¹³ C [δ (ppm)]
	Experimental	Literatura ¹	Experimental
2			162,4
2-Me	2,25 sl	2,26 sl	19,6
3	5,91 sl	5,96 sl	111,4
4			177,1
4a			107,0 ^e
5			153,0 ^d
6			101,8 ^e
7			152,0 ^d
8			108,2 ^e
8a			154,0 ^d
2'			77,7 ^c
2'-Me	1,51 ^a s	1,53 s	28,1 ^b
3'	5,57 d (9,9)	5,60 d (10)	128,2
4'	6,68 d (10,2)	6,73 d (10)	115,4
2''			77,5 ^c
2''-Me	1,46 ^a s	1,48 s	27,7 ^b
3''	5,56 d (10,2)	5,60 d (10)	127,1
4''	6,60 d (10,2)	6,65 d (10)	115,6

1: TAYLOR *et al*, 1977;

OBS: a literatura não informa dados de RMN ¹³C;

a, b, c, d, e: sinais que podem estar trocados.

4.2 Identificação estrutural dos alcalóides 2-quinolônicos

4.2.1 Identificação estrutural da 8-metoxiflindersina

Observando os dados de RMN ^1H , existem sinais que podem ser associados a hidrogênios aromáticos, sendo eles: δ_{H} 7,44 dd (J 8,1 e 0,9 Hz), δ_{H} 7,09 t (J 8,1 Hz) e δ_{H} 6,92 dd (J 8,1 e 0,9 Hz). Segundo os deslocamentos e constantes de acoplamento, é razoável propor um sistema do tipo AMX composto por três hidrogênios aromáticos vicinais, conforme figura 4.2.1.1 abaixo.

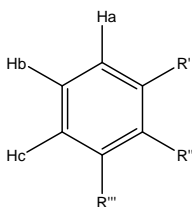


Figura 4.2.1.1

Em se tratando da família Rutaceae, a presença de um singleto largo e pouco intenso, com deslocamento em δ_{H} 9,11 e integração para 1H pode ser atribuído ao NH de um alcalóide. Um hidrogênio ligado a um átomo de nitrogênio pode sofrer troca rápida, intermediária ou lenta. Se a velocidade de troca é lenta o sinal de NH é largo devido à relaxação moderadamente eficiente induzida pelo núcleo do nitrogênio e aumento de meia-vida dos estados de spin deste mesmo núcleo. O resultado é um pico largo para este tipo de hidrogênio. Isto é observado em pirróis, indóis, amidas primárias e secundárias (SILVERSTEIN *et al*, 2000).

Os sinais δ_{H} 3,94 e δ_{C} 55,9 sugerem presença do grupo metoxílico na estrutura, possivelmente, como substituinte do anel aromático.

Assim como nas cromonas, os sinais δ_{H} 1,51, δ_{H} 5,51, δ_{H} 6,70, δ_{C} 79,0, δ_{C} 28,2, δ_{C} 126,1 e δ_{C} 117,1 indicam presença de um anel 2,2-dimetilpirano condensado na molécula. Ver figuras 4.2.1.2-5.

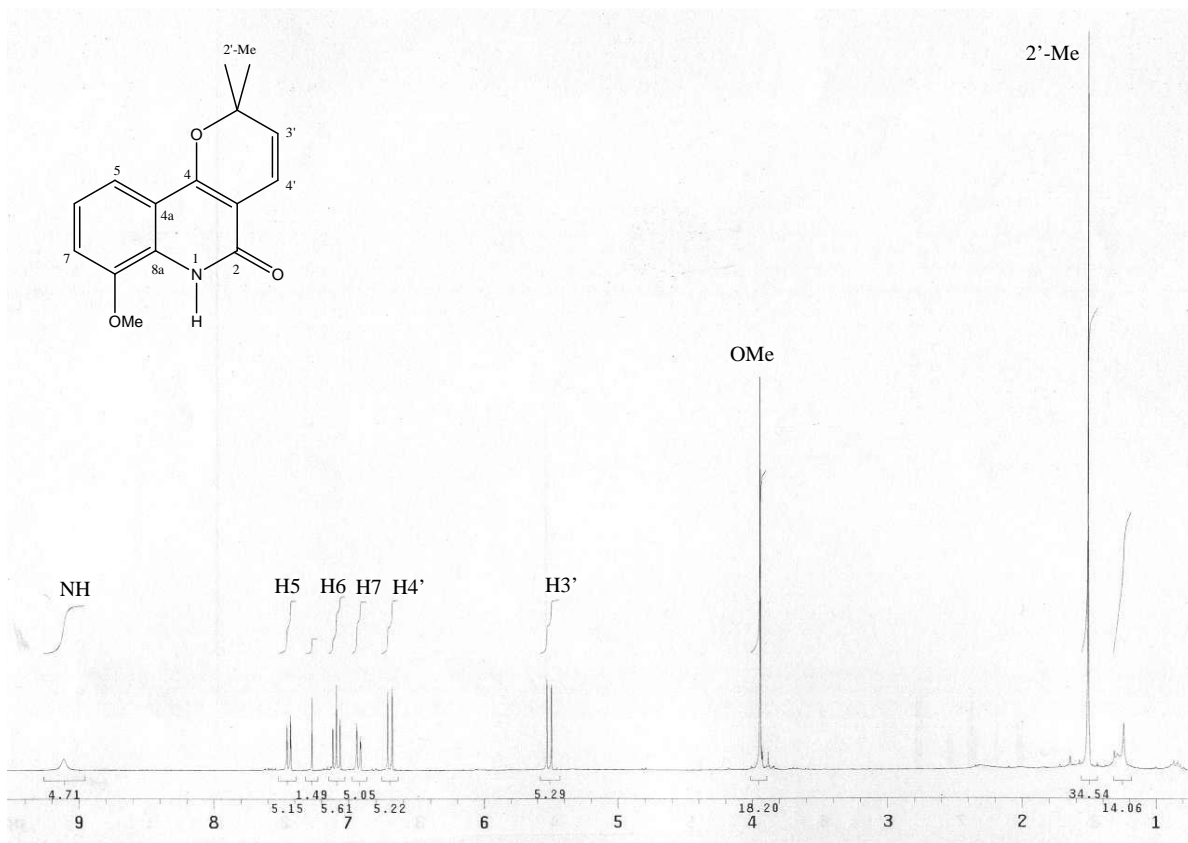


Figura 4.2.1.2 Espectro de RMN ¹H da 8-metoxiflindersina – parte 1

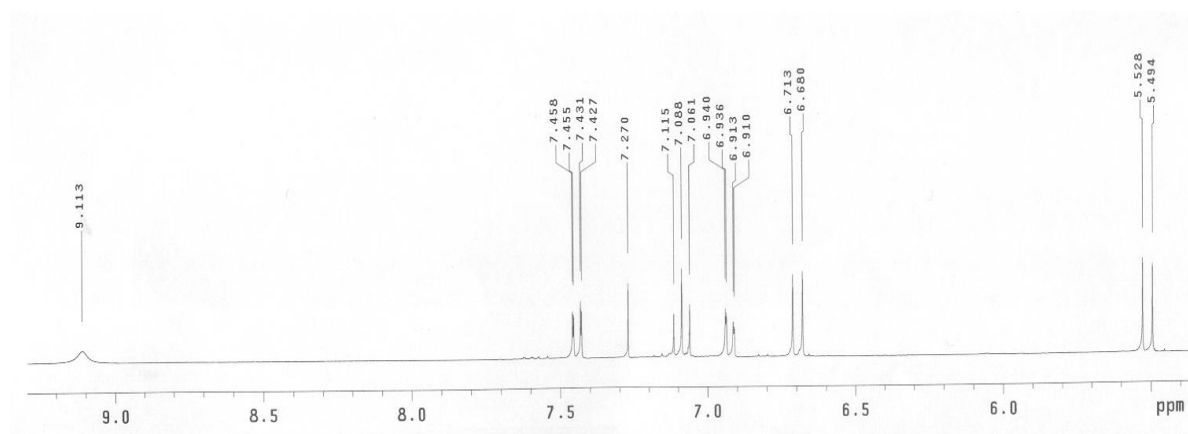


Figura 4.2.1.3 Espectro de RMN ¹H da 8-metoxiflindersina – parte 2

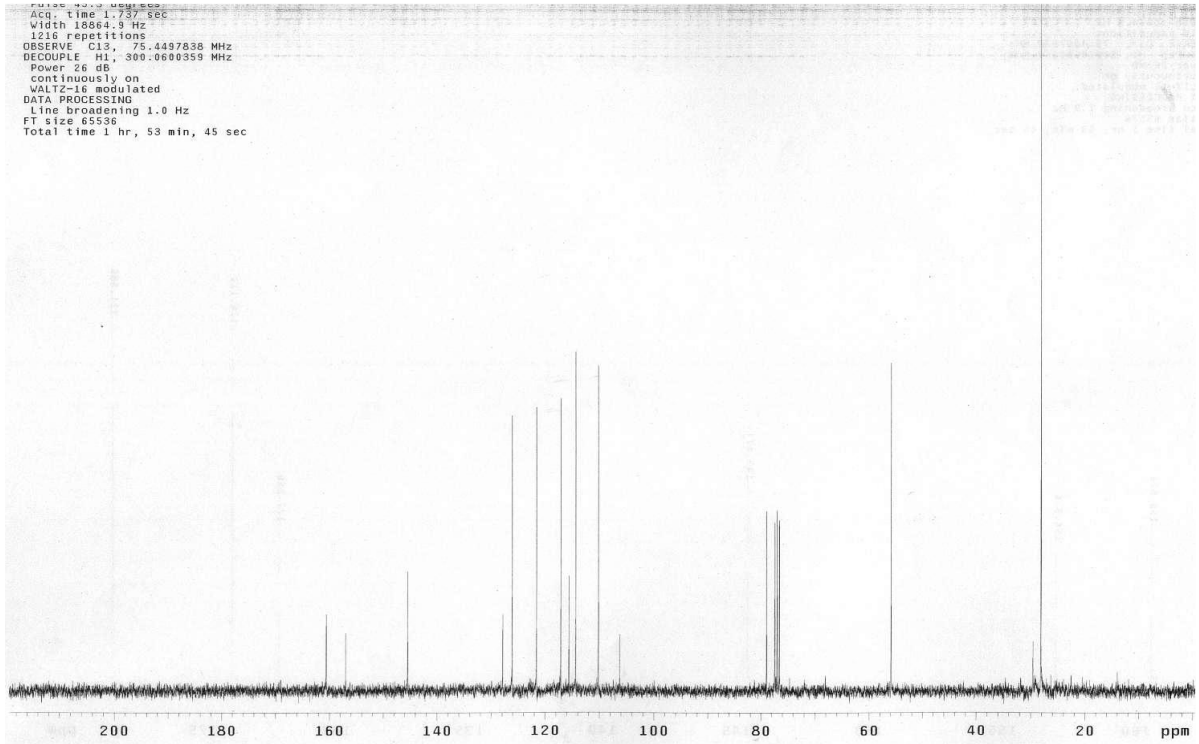


Figura 4.2.1.4 Espectro de RMN ^{13}C da 8-metoxiflindersina – parte 1

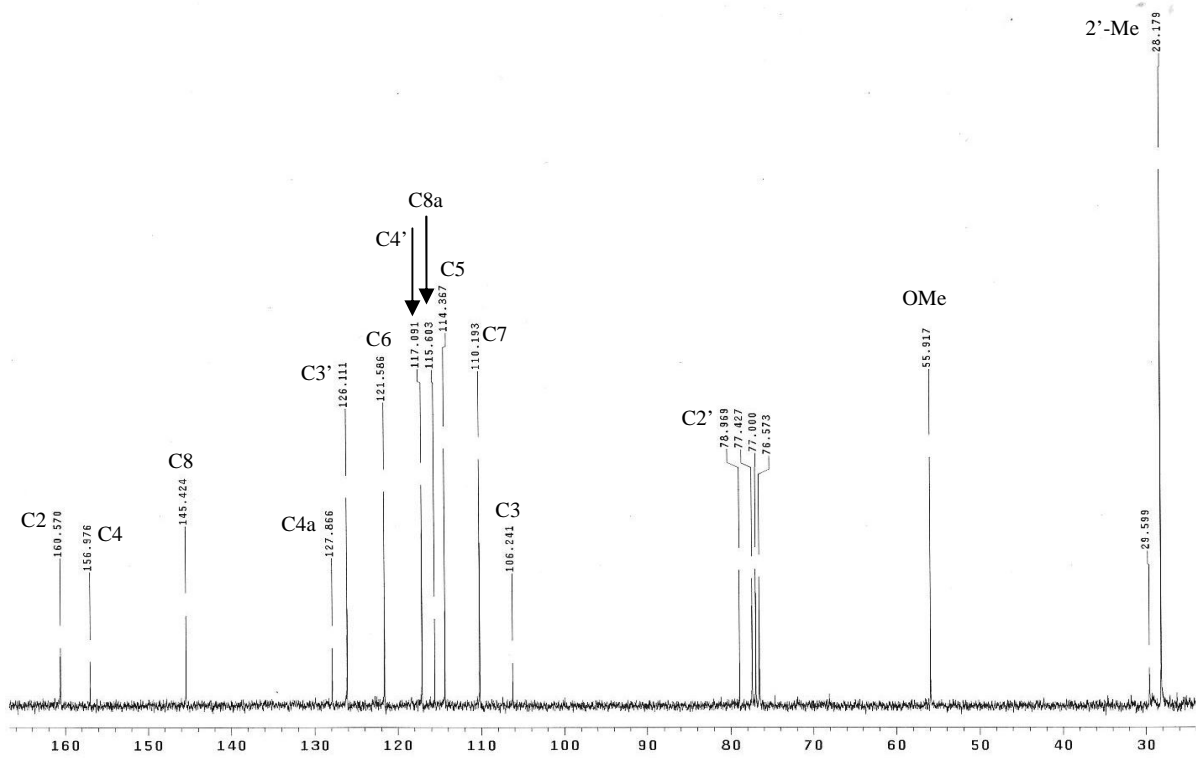


Figura 4.2.1.5 Espectro de RMN ^{13}C da 8-metoxiflindersina – parte 2

Os sinais em δ_H 9,11, δ_C 106,2, δ_C 157,0, δ_C 160,6 e a banda no IV 1653 cm^{-1} , ver figura 4.2.1.6, sugerem presença de um anel lactâmico insaturado na estrutura. Juntamente com os dados que caracterizam os anéis aromático e 2,2-dimetilpirano, conclui-se que a estrutura em questão é um alcalóide 2-quinolônico. Para que a carbonila apresente tal banda de deformação axial ela deve estar ligada a um sistema insaturado.

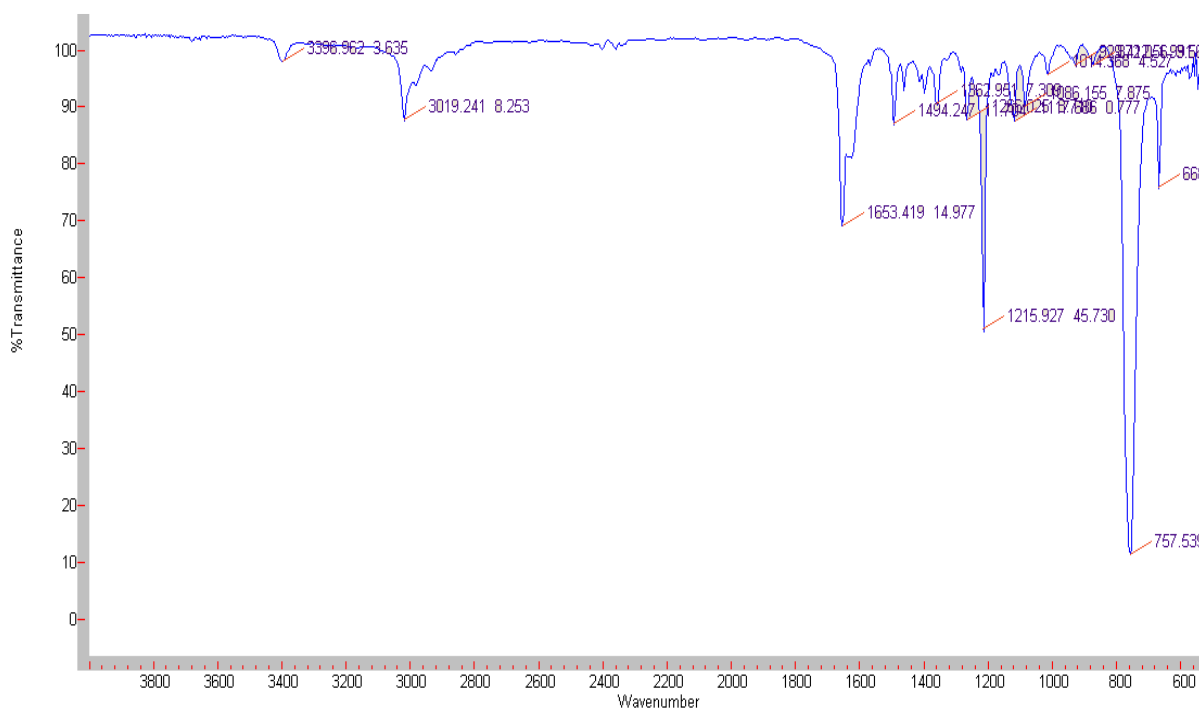


Figura 4.2.1.6 Espectro no infravermelho da 8-metoxiflindersina: 3397 cm^{-1} , deformação axial da ligação NH; 3019 cm^{-1} , deformação axial de CH aromático e alceno; 1653 cm^{-1} , deformação axial C=O de lactama α,β -insaturada.

A figura 4.2.1.7 e tabela 4.2.1.1 mostram algumas estruturas de alcalóides quinolônicos com respectivos dados de RMN ^{13}C , para comparação.

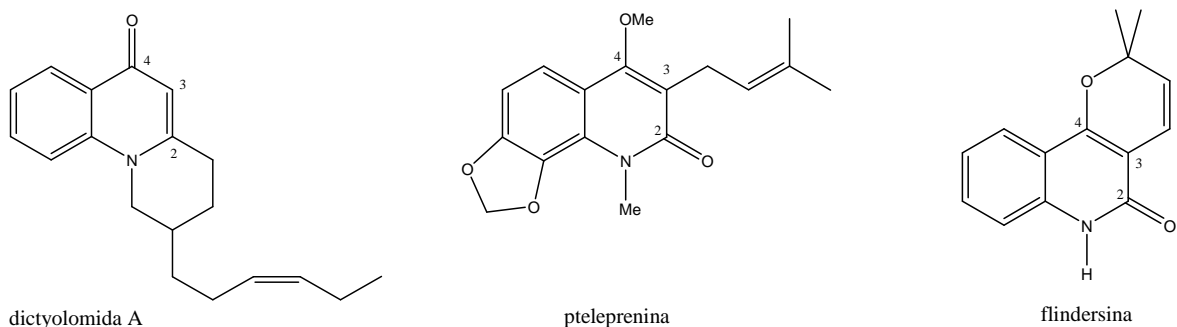


Figura 4.2.1.7

Tabela 4.2.1.1 Dados de RMN ^{13}C [δ (ppm)] da dictyolomida A, pteleprenina e flindersina.

C	dictyolomida A ¹	pteleprena ²	flindersina ³
C2	152,1	164,3	162,5
C3	109,7	120,3	105,8
C4	176,7	160,4	157,3

Fonte: LAVAUD, 1995¹; FUNAYAMA, 1994²; MORAES, 2003³.

Segundo os dados obtidos de RMN ^1H , ^{13}C , IV e dados da literatura é possível determinar a substância em questão como o alcalóide 2-quinolônico 8-metoxiflindersina. Este alcalóide foi previamente isolado das folhas de *D. vandellianum* (SARTOR *et al*, 2003) e do extrato metanólico do caule de *Neoraputia paraensis*, espécie pertencente a família Rutaceae (MORAES *et al*, 2003).

Os dados de infravermelho obtidos são compatíveis com aqueles apresentados na literatura que cita as seguintes bandas: 3400, 1660, 1510, 1280 cm^{-1} (HIFNAWY *et al*, 1977).

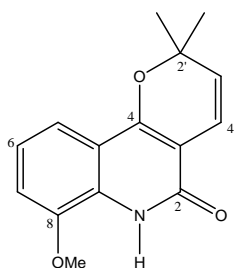


Figura 4.2.1.8. Estrutura da 8-metoxiflindersina

Na tabela 4.2.1.2 abaixo, estão esquematizados os dados de RMN ^1H e ^{13}C experimentais e da literatura para a 8-metoxiflindersina. Também são mostrados os dados da literatura para 5-metoxiflindersina, um isômero de posição, para comparação.

Tabela 4.2.1.2 Dados de RMN ^1H e ^{13}C da 8-metoxiflindersina e 5-metoxiflindersina.

H/C	RMN ^1H		RMN ^{13}C		Lit ²	
	8-metoxiflindersina		8-metoxiflindersina		5-metoxiflindersina	
	Exp	Lit ¹	Exp	Lit ¹	RMN ^1H	RMN ^{13}C
2			160,6	160,5		162,4
3			106,2	106,2		115,7
4			157,0	157,1		156,0
4^a			115,6	115,7		106,5
5	7,44 dd (8,1;0,9)	7,46 dd (8,0;1,0)	114,4	114,6		155,5
6	7,09 t (8,1)	7,10 t (8,0)	121,6	121,7	7,26 dd (8,8; 2,8)	103,5
7	6,92 dd (8,1;0,9)	6,94 dd (8,0;1,0)	110,2	110,3	7,10 d (8,8)	120,5
8			145,4	145,5	7,25 dd (8,8; 2,8)	117,4
8^a			127,9	127,9		132,9
2'			79,0	79,1		79,0
2'-Me	1,51 s	1,52 s	28,2	28,1	1,51 s	28,0
3'	5,51 d (10,2)	5,52 d (9,9)	126,1	126,2	6,76 d (9,9)	126,2
4'	6,70 d (9,9)	6,71 d (9,9)	117,1	117,3	5,54 d (9,9)	117,5
8-OMe	3,94 s	3,95 s	55,9	56,0	3,90 s	55,7
N-H	9,11 s	8,87 s				

1: MORAES *et al*, 2003;

2: ALI *et al*, 2001.

4.2.2 Identificação estrutural da N-metil-8-metoxiflindersina

Comparando os dados da estrutura discutida neste item, frente àqueles analisados para 8-metoxiflindersina, é possível notar semelhanças que possibilitam propor o mesmo núcleo estrutural.

Observando o espectro de RMN ^1H , a diferença existente é presença de mais um singlete com integração para 3H e a ausência de sinais acima de 9 ppm. Trata-se de uma metila cujos deslocamentos são δ_{H} 3,86 e δ_{C} 35,0, o que sugere a substituição da ligação NH da estrutura anterior por uma ligação NMe na presente estrutura.

Da mesma forma, segundo os deslocamentos e constantes de acoplamento, para os sinais δ_{H} 7,58, δ_{H} 7,12 e δ_{H} 7,02 é razoável propor um sistema do tipo AMX composto por três hidrogênios vizinhos no anel aromático.

Os sinais δ_{H} 1,49, δ_{H} 5,52, δ_{H} 6,73, δ_{C} 78,6, δ_{C} 28,1, δ_{C} 126,5 e δ_{C} 117,9 sugerem presença de um sistema 2,2-dimetilpirano na estrutura. Ver figuras 4.2.2.1-4.

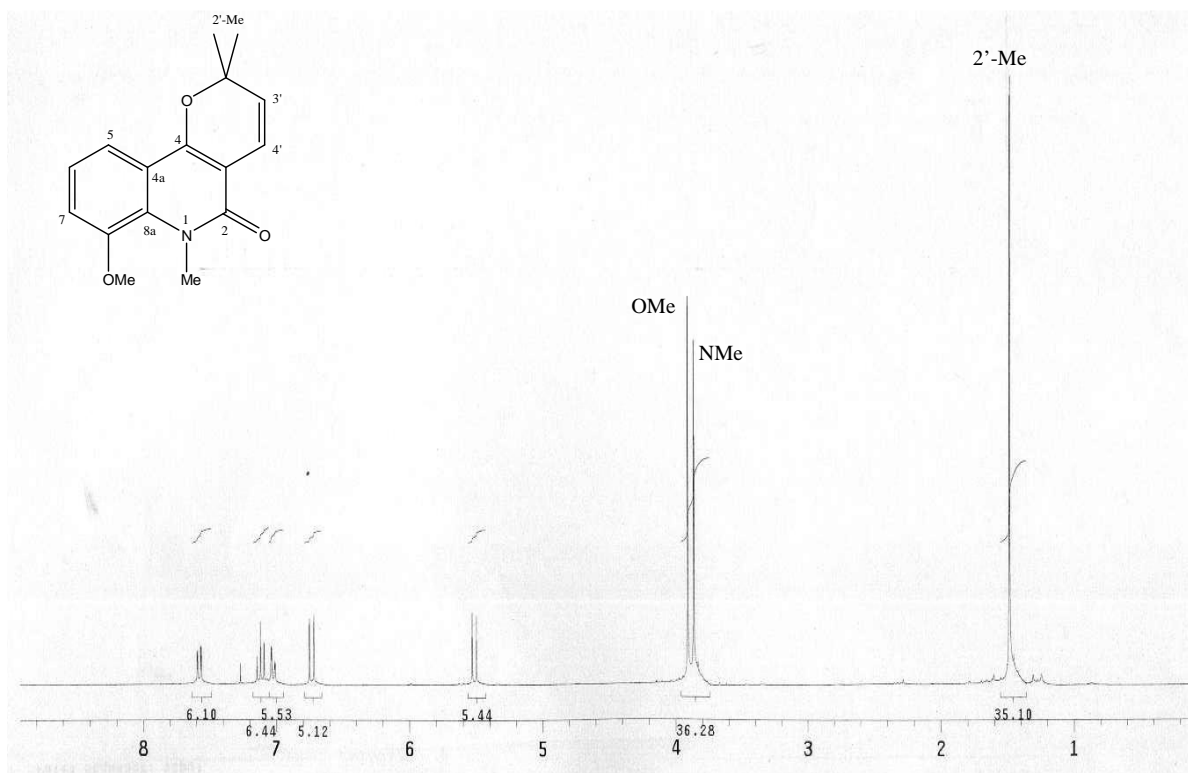


Figura 4.2.2.1 Espectro de RMN ^1H da N-metil-8-metoxiflindersina – parte 1

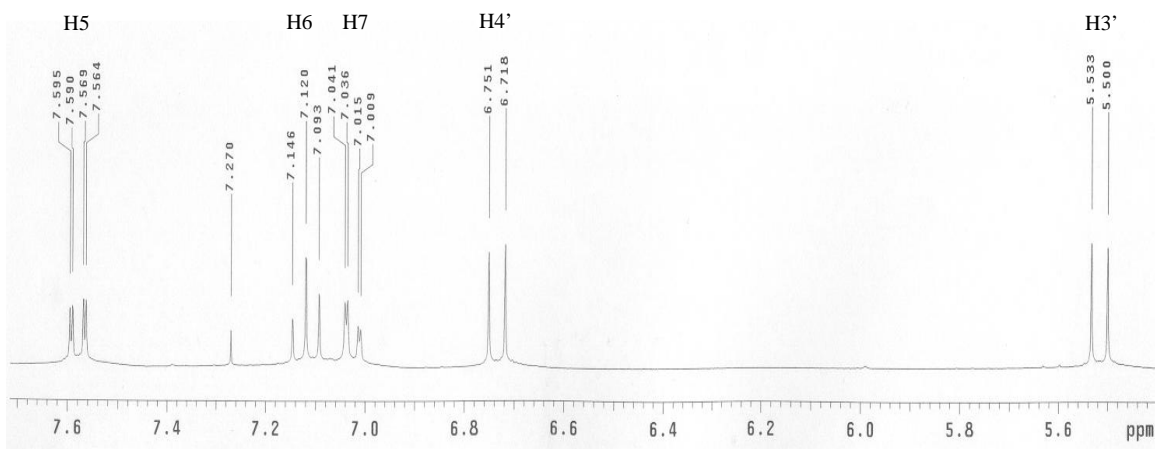


Figura 4.2.2.2 Espectro de RMN ^1H da N-metil-8-metoxiflindersina – parte 2

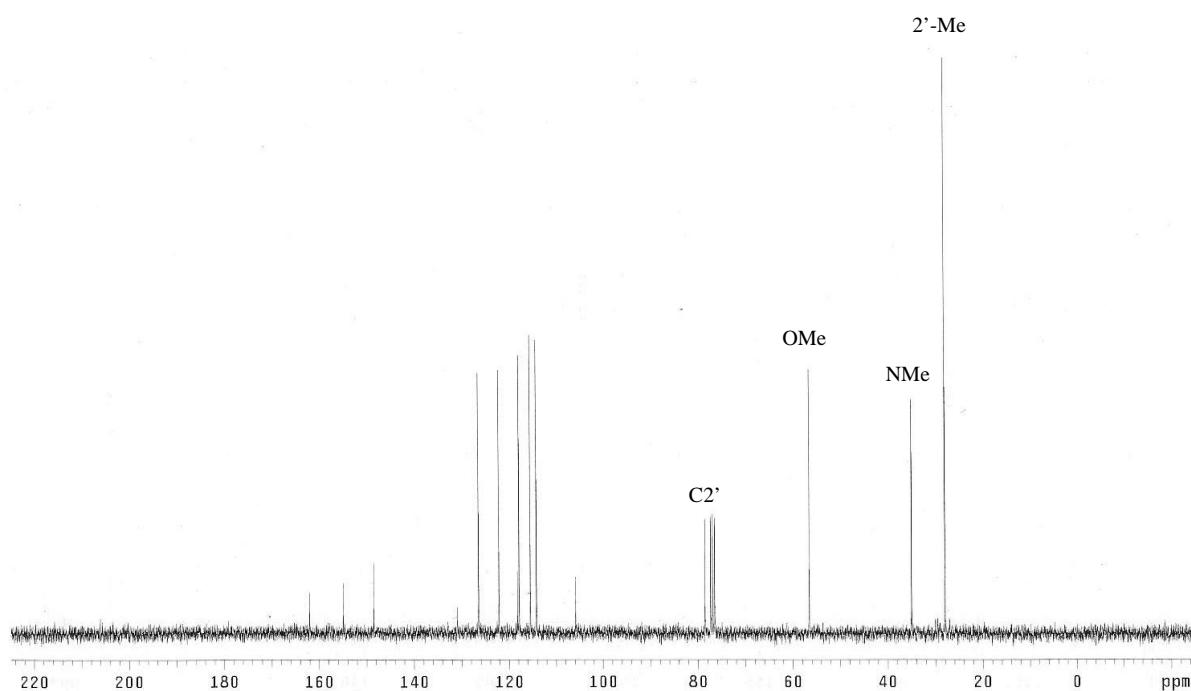


Figura 4.2.2.3 Espectro de RMN ^{13}C da 8-metoxi-N-metilflindersina – parte 1

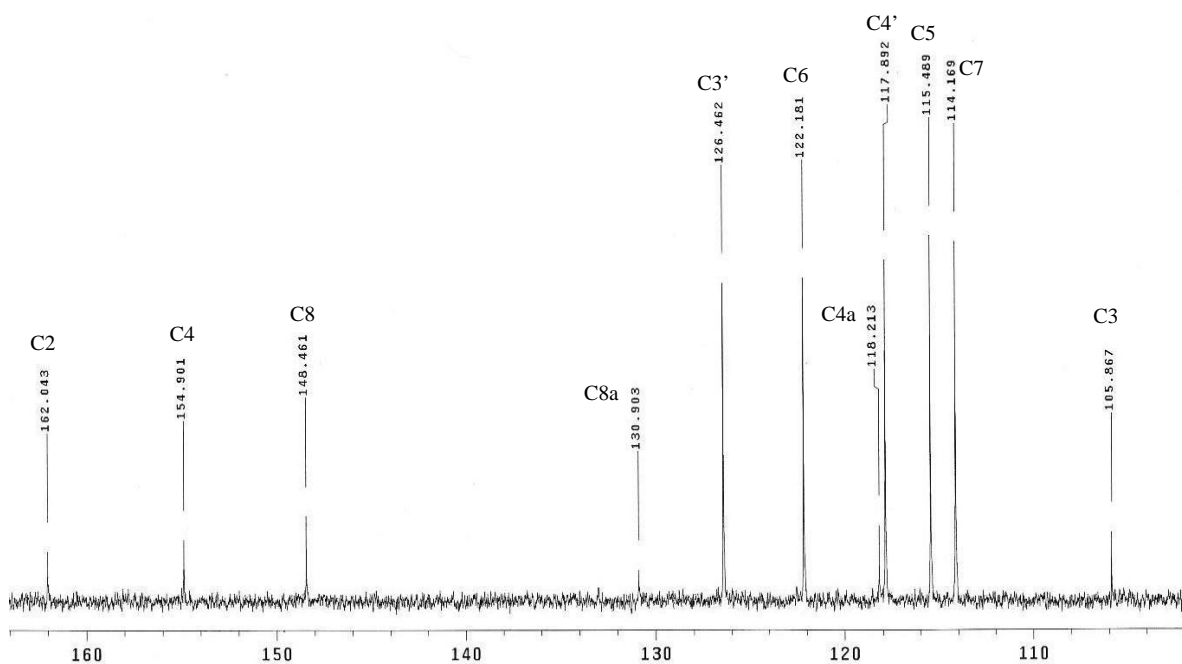


Figura 4.2.2.4 Espectro de RMN ^{13}C da N-metil-8-metoxiflindersina – parte 2

A estrutura não possui sinal de RMN ^1H compatível com hidrogênio do tipo NH, como discutido para a 8-metoxiflindersina. Ver exemplos de δ_{H} e δ_{C} para NCH_3 em alcalóides quinolônicos na figura 4.2.2.5 e tabela 4.2.2.1 abaixo.

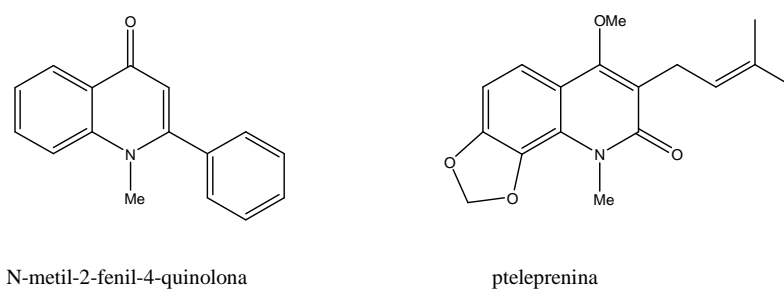


Figura 4.2.2.5

Tabela 4.2.2.1 Dados de RMN ^1H e ^{13}C das NMe de N-metil-2-fenil-4-quinolona e pteleprenina.

Substância	RMN ^1H [δ (ppm), <i>m</i>]	RMN ^{13}C [δ (ppm)]
N-metil-2-fenil-4-quinolona ¹	3,87 s	32,7
pteleprena ²	3,62 s	37,3

Fonte: BIAVATTI *et al.*, 2002¹; FUNAYAMA *et al.*, 1994².

Segundo os dados obtidos de RMN ^1H , ^{13}C , IV, dados da literatura e comparação com a determinação estrutural da 8-metoxiflindersina é possível determinar a substância em questão como o alcalóide 2-quinolônico N-metil-8-metoxiflindersina. Ele foi previamente identificado nas cascas do caule de *Zanthoxylum rhesta* (AHSAN *et al*, 2000). Esta substância também foi isolada do caule de *Orixa japonica*, um arbusto comum no Japão e China (FUNAYAMA *et al*, 1994). *Zanthoxylum rhesta* e *Orixa japonica* são espécies de Rutaceae.

Os dados de infravermelho obtidos são compatíveis com aqueles apresentados na literatura que cita as seguintes bandas: 1658, 1641, 1626, 1481, 1462, 1224 cm^{-1} (FUNAYAMA *et al*, 1994). Ver figura 4.2.2.6.

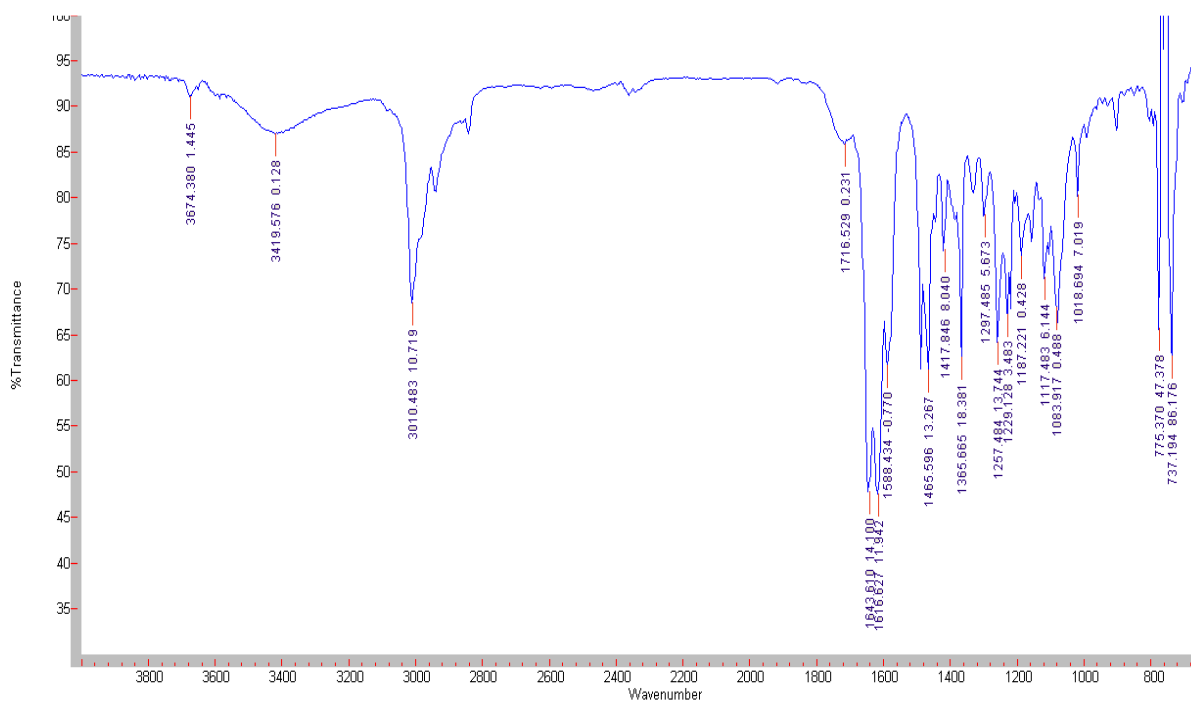


Figura 4.2.2.6 Espectro no infravermelho da N-metil-8-metoxiflindersina: 3010 cm^{-1} , deformação axial de CH aromático e alceno; 1643 cm^{-1} , deformação axial C=O de lactama α,β -insaturada.

Tabela 4.2.2.2 Dados de RMN ^1H ^{13}C da N-metil-8-metoxiflindersina.

H/C	RMN ^1H [δ (ppm), <i>m</i> , J (Hz)]		RMN ^{13}C [δ (ppm)]	
	Exp	Lit ¹	Exp	Lit ¹
2			162,0	162,2
3			105,9	106,0
4			154,9	154,9
4a			118,2	118,3
5	7,58 dd (7,8;1,5)	7,60 dd (7,7;1,5)	115,5	115,6
6	7,12 t (8,1)	7,14 dd (8,1;7,7)	122,2	122,2
7	7,02 dd (8,1;1,5)	7,05 d (8,1)	114,2	114,2
8			148,5	148,5
8a			130,9	131,0
2'			78,6	77,2
2'-Me^a	1,49 s	1,50 s	28,1	28,2
3'	5,52 d (9,9)	5,53 d (9,9)	126,5	126,5
4'	6,73 d (9,9)	6,75 d (9,9)	117,9	118,0
8-OMe	3,91 s	3,93 s	56,6	56,7
N-Me	3,86 s	3,89s	35,0	35,1

1: AHSAN, 2000.

OBS: a literatura consultada não informa se a atribuição dos carbonos foi feita com base em dados de HMBC.

4.3 Identificação estrutural do esteróide β -sitosterol

Substância isolada do extrato hexânico sob a forma de cristais brancos e acúleos. Apresenta reação positiva para teste de Liebermann-Burchard, indicativo de triterpenos e esteróides.

O espectro de RMN ^1H , ver figura 4.3.1, não apresenta sinais que caracterizem a presença de hidrogênios aromáticos na estrutura. Um multiplete em δ_{H} 3,52 sugere o hidrogênio carbinólico H3 de um esqueleto esteroidal. Existem sinais entre δ_{H} 1,2 – 0,6 dentre os quais seis podem ser associados a grupos metílicos. São eles: δ_{H} 0,68, δ_{H} 0,80, δ_{H} 0,82, δ_{H} 0,84, δ_{H} 0,92 e δ_{H} 1,00.

O duplete largo em δ_{H} 5,34 (J 5,1 Hz) sugere o hidrogênio H6 de um Δ^5 esteróide.

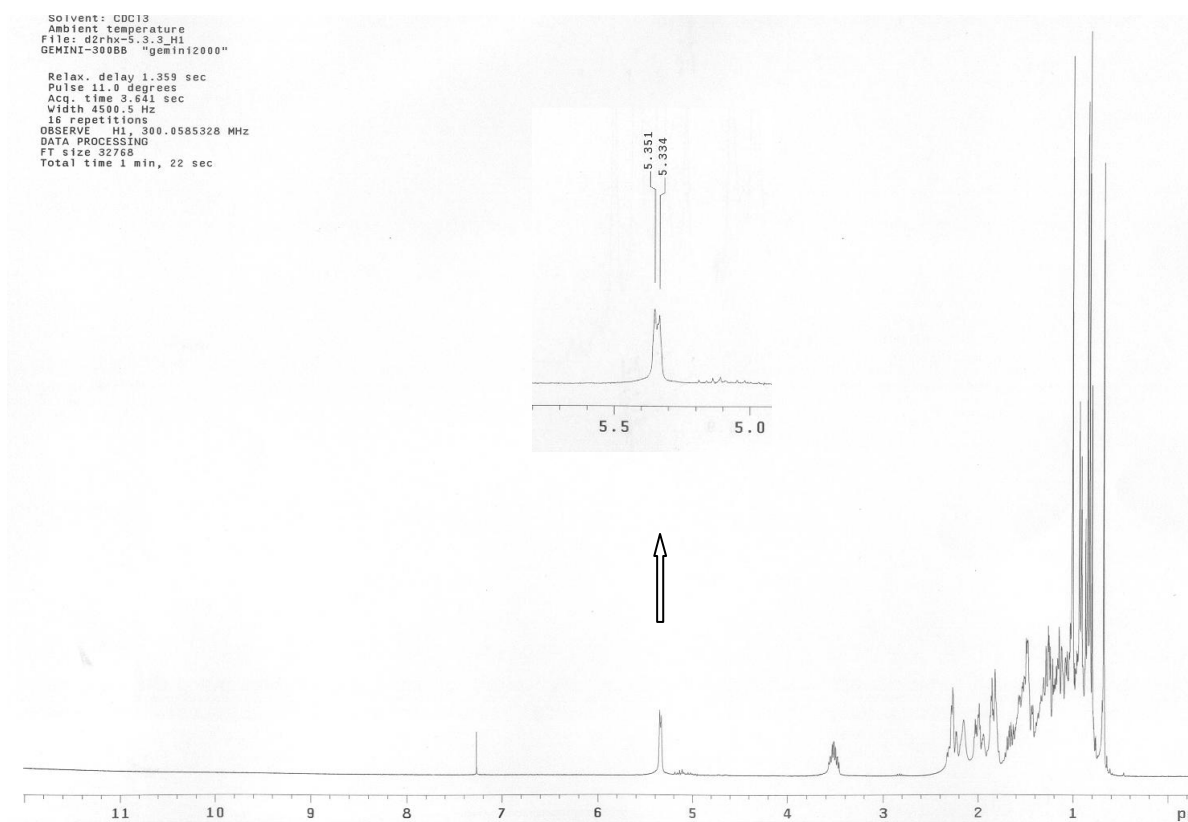


Figura 4.3.1 Espectro de RMN ^1H do β -sitosterol – parte 1

Consultando os dados de RMN ^{13}C e DEPT-135 ver figuras 4.3.2-5, é possível constatar a presença de 29 sinais. Dentre eles, 6 são carbonos metílicos, 11 metilênicos, 9 metínicos e 3 são carbonos quaternários. Ainda, neste conjunto de carbonos existem 2 olefínicos e 1 carbinólico.

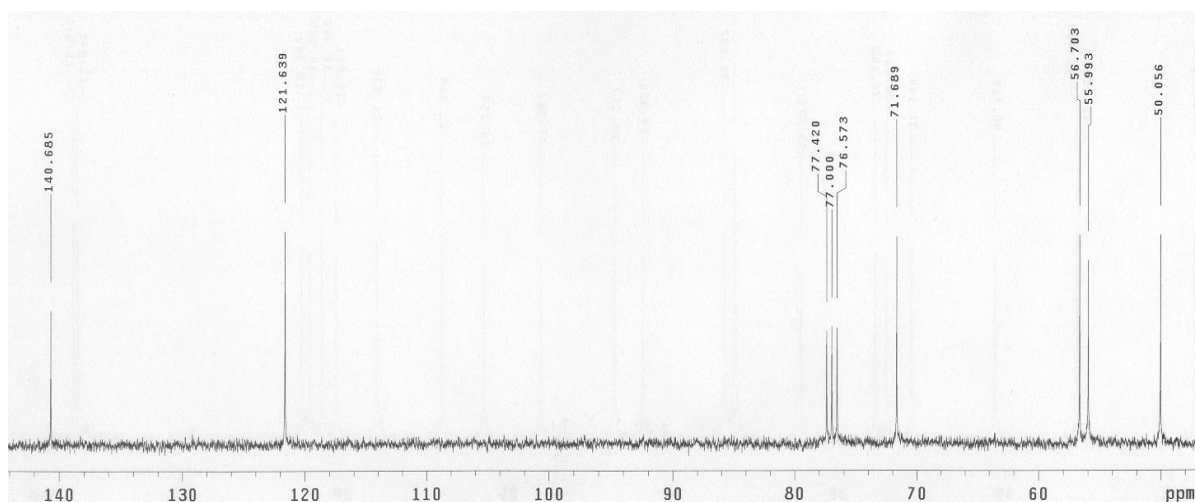


Figura 4.3.2 Espectro de RMN ^{13}C do β -sitosterol – parte 1

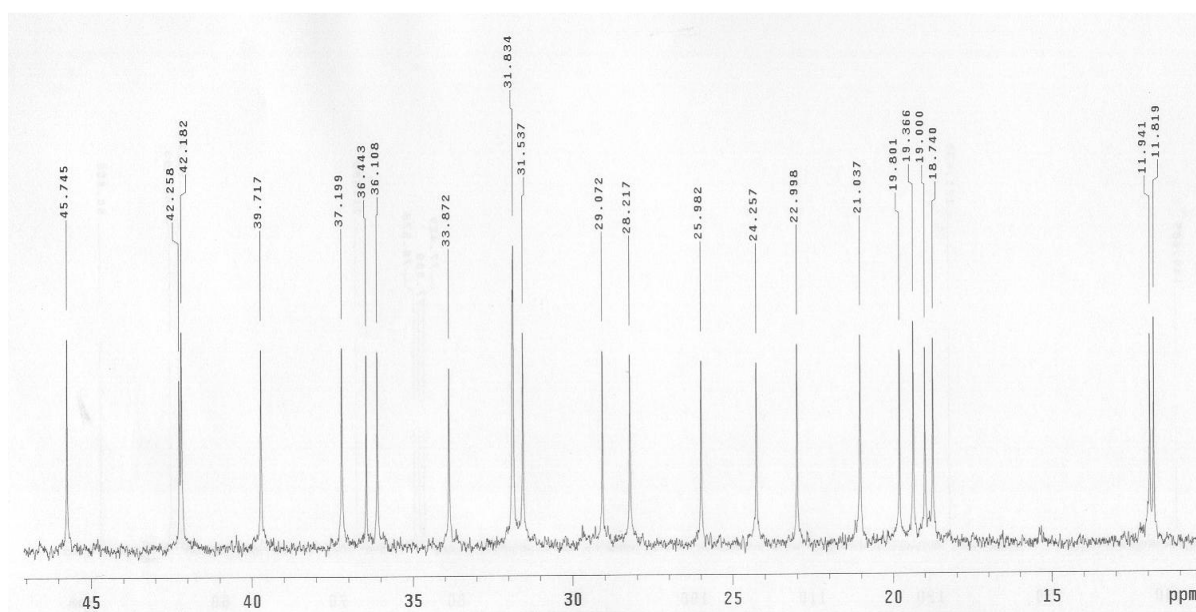


Figura 4.3.3 Espectro de RMN ^{13}C do β -sitosterol – parte 2

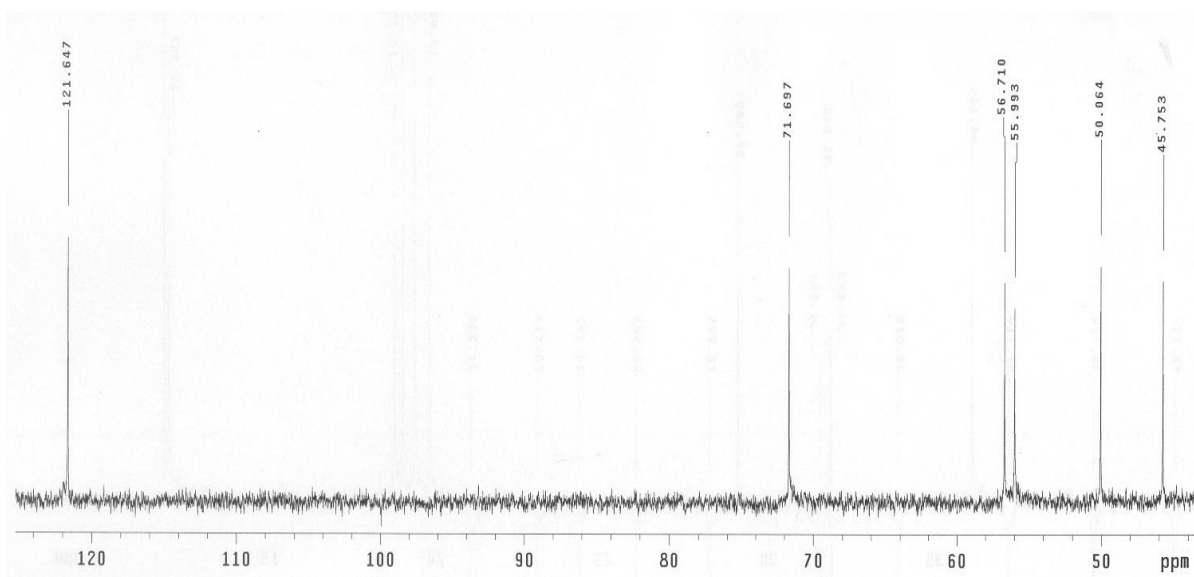


Figura 4.3.4 Espectro de DEPT-135 do β -sitosterol – parte 1

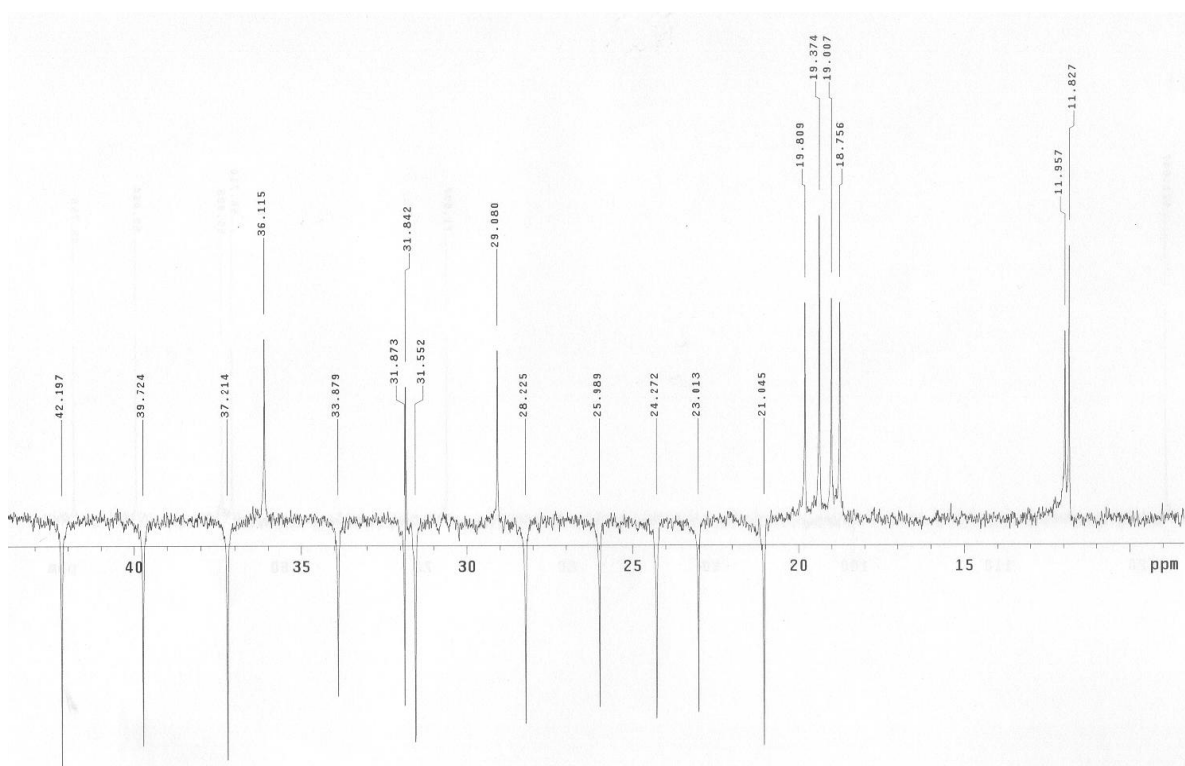


Figura 4.3.5 Espectro de DEPT-135 do β -sitosterol – parte 2

Comparando os dados obtidos de RMN ^1H , RMN ^{13}C , DEPT-135 e IV com aqueles apresentados pela literatura, é possível determinar de forma inequívoca a substância como o β -sitosterol (MENDES, 2004).

Consultando a literatura referente a esta espécie, existe relato do isolamento do esteróide β -sitosterol em folhas (SARTOR *et al*, 2003) e frutos (VIEIRA *et al*, 1988). Ver figura 4.3.6 e tabela 4.3.1.

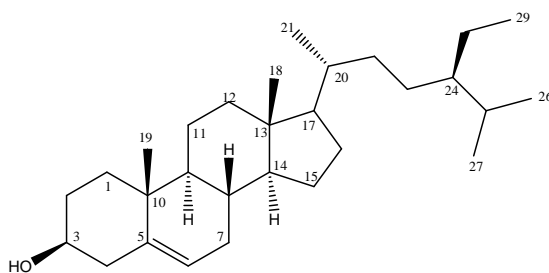


Figura 4.3.6 β -sitosterol

Tabela 4.3.1. Dados de RMN ^{13}C e DEPT-135 do β -sitosterol

H/C	RMN ^{13}C [δ (ppm)]		DEPT-135
	Literatura ¹	Experimental	
1	37,3	37,2	CH ₂
2	31,6	31,5	CH ₂
3	71,8	71,7	CH
4	42,3	42,2	CH ₂
5	140,8	140,7	C
6	121,7	121,6	CH
7	32,1	31,9	CH ₂
8	32,1	31,8	CH
9	50,2	50,1	CH
10	36,5	36,4	C
11	21,1	21,0	CH ₂
12	39,8	39,7	CH ₂
13	42,3	42,3	C
14	56,8	56,7	CH
15	24,3	24,3	CH ₂
16	28,3	28,2	CH ₂
17	56,1	56,0	CH
18	12,0	11,9	CH ₃
19	19,1	19,8	CH ₃
20	36,2	36,1	CH
21	18,8	18,7	CH ₃
22	34,0	33,9	CH ₂
23	26,2	26,0	CH ₂
24	45,2	45,7	CH
25	29,2	29,1	CH
26	18,9	19,0	CH ₃
27	19,1	19,4	CH ₃
28	23,1	23,0	CH ₂
29	11,9	11,8	CH ₃

1: KOVGANKO, 2000

CAPÍTULO 5: BIOSÍNTESE

5.1 Considerações sobre a biossíntese das cromonas isoladas

A biossíntese das cromonas começa pela ação da enzima pentacetídeo cromona sintase (PCS) que catalisa a condensação de cinco moléculas de malonil-CoA (ABE *et al*, 2005). Outra proposta seria a utilização de uma molécula de acetil-Coa e quatro de malonil-Coa (DEWICK, 2002). Ver figura 5.1.1.

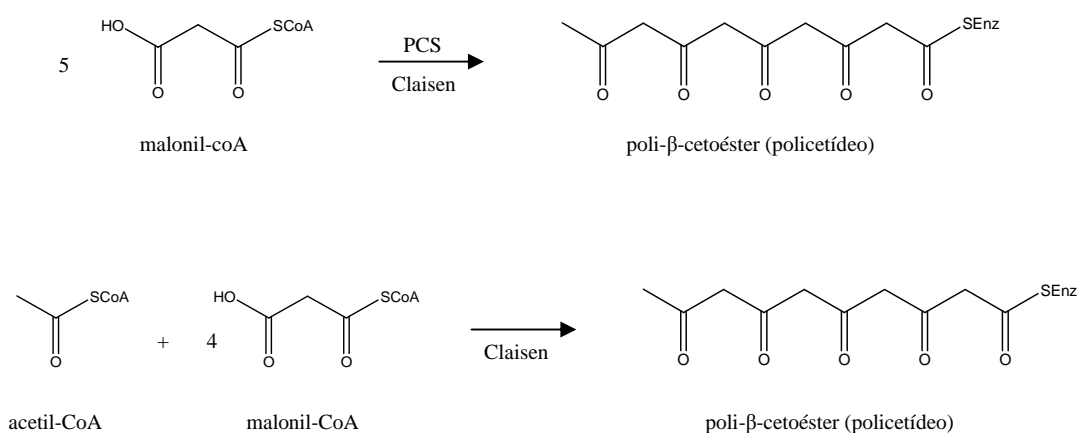


Figura 5.1.1. Formação do poli-β-cetoéster.

Os poli-β-cetoésteres possuem grupos metilênicos entre carbonilas, logo podem sofrer reação aldólica ou Claisen intramolecular. Estes grupos metilênicos apresentam acidez que permite formação de enolatos, nucleófilos nestas reações (DEWICK, 2002).

A partir do poli-β-cetoéster obtem-se a 5,7-diidroxí-2-metilcromona, intermediário-chave na rota proposta para biossíntese das 2-metilcromonas. A rota começa por uma condensação de Claisen intramolecular sofrida pelo poli-β-cetoéster. A reação de Claisen caracteriza-se por um ataque nucleofílico de um enolato em uma carbonila. A versão intramolecular desta reação, ciclização de Dieckmann, é um excelente método de preparação de cetonas cíclicas, particularmente, ciclopentanonas e ciclohexanonas (COSTA *et al*, 2003). A cetona cíclica enoliza completamente uma vez que o produto formado é um composto aromático.

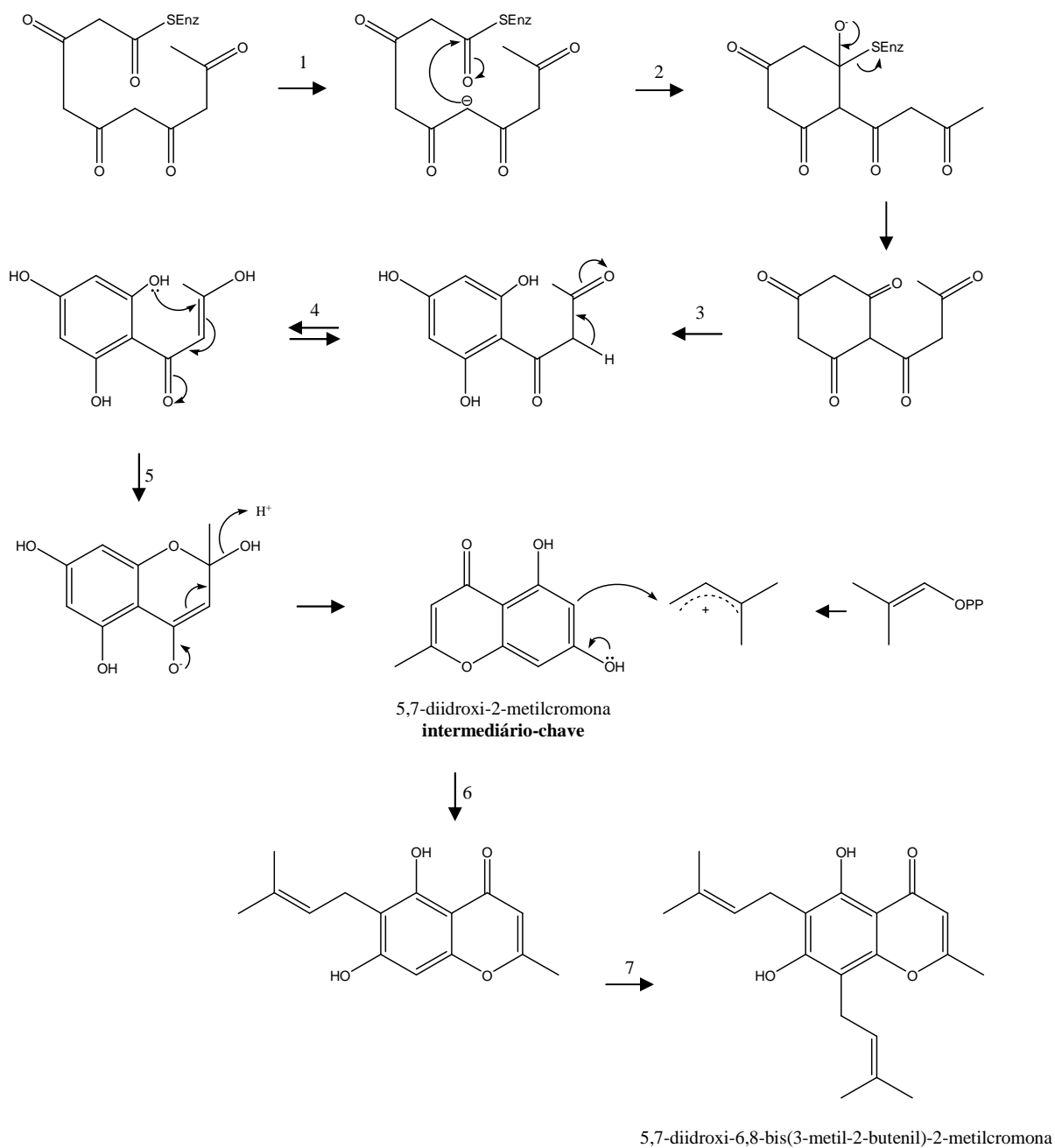


Figura 5.1.2 Biossíntese das cromonas, formação do intermediário-chave. As reações: **1**, ionização do grupo metilênico α -carbonílico; **2**, ciclização de Dieckmann; **3**, enolização com aromatização; **4**, tautomerismo ceto-enólico; **5**, Michael; **6** e **7**, C-alkilações. Adaptado de DEWICK, 2002.

A formação do sistema 2-metil-1,4-benzopirona ocorre após reação de Michael intramolecular em um tautômero. A reação é tipo Michael porque o tautômero possui em sua estrutura um aceptor de Michael, uma cetona α,β -insaturada, e um nucleófilo, uma hidroxila fenólica. Forma-se, desta forma, a 5,7-diidroxil-2-metilcromona. Os carbonos 6 e 8 apresentam caráter nucleofílico uma vez que os substituintes oxigenados, nos carbonos 5, 7 e 8a, aumentam a densidade eletrônica destes. Isso favorece a reação de C-alkilação nos carbonos 6 e 8 sendo o DMAPP o agente alkilante.

A dupla ligação do substituinte prenila sofre epoxidação, possivelmente catalisada por ação de uma monooxigenase do citocromo P-450, em presença de O_2 . O epóxido formado possui dois carbonos que podem sofrer um ataque nucleofílico intramolecular. O ataque ao carbono dimetilado e posterior desidratação origina o sistema 2,2-dimetilpirano nas estruturas. Ver figura 5.1.3.

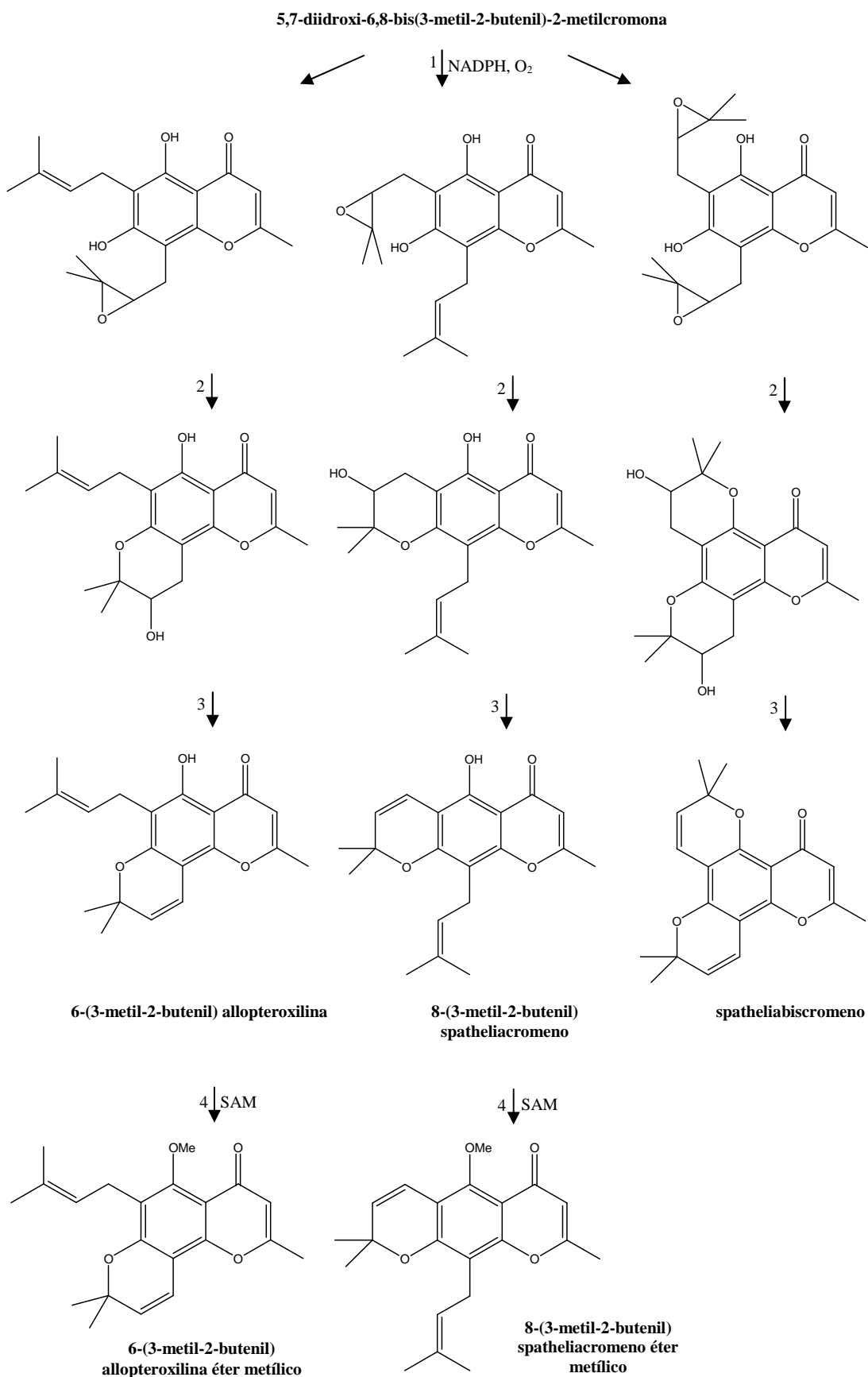


Figura 5.1.3 Biossíntese das cromonas. As reações: **1**, epoxidação por ação de monooxigenase; **2**, ataque nucleofílico intramolecular; **3**, desidratação; **4**, O-metilação. Adaptado de DEWICK, 2002.

Por muitos anos tem-se proposto a formação de anéis do tipo furano e pirano envolvendo um ataque nucleofílico em um epóxido. As reações constituem uma racionalização conveniente, entretanto os estudos em sistemas enzimáticos não têm demonstrado o intermediário epóxido. Logo pode existir outro tipo de mecanismo operando (DEWICK, 2002).

Dependendo da hidroxila fenólica e da prenila envolvidas nas reações as estruturas podem apresentar fusão entre os anéis do tipo angular ou linear. Este padrão, por sua vez, é identificado por experimentos de correlação H/C como o HMBC. Os arranjos angular ou linear dos compostos, determinados pela biossíntese, influem diretamente nos deslocamentos dos carbonos aromáticos, como discutido anteriormente nas determinações estruturais.

O estudo espectroscópico das cromonas apresentadas neste trabalho é facilitado pela compreensão da rota biossintética proposta. Sendo a 5,7-diidroxil-2-metilcromona o intermediário-chave na biossíntese das cromonas isoladas neste trabalho, espera-se que os espectros de RMN ^1H delas apresentem deslocamentos compatíveis com este núcleo estrutural. Entre eles, o deslocamento referente a metila na posição 2, deslocamento referente ao hidrogênio α -carbonílico e os sinais que caracterizam a presença do substituinte prenílico.

Para as cromonas isoladas com hidroxila em C5, espera-se que os dados de RMN ^1H apresentem singlete em torno de 13 ppm. Este sinal é observado devido formação de ponte de hidrogênio intramolecular com a carbonila, chamado de hidroxila quelada.

Os dados de RMN ^{13}C confirmam as sugestões observadas nos espectros de hidrogênio. O anel aromático do intermediário-chave possui três carbonos oxigenados e três carbonos não oxigenados. Os primeiros são desprotegidos por efeito indutivo de seus substituintes, enquanto que os outros são protegidos pelo aumento da densidade eletrônica proporcionada por estes substituintes. Desta forma espera-se que os dados de RMN ^{13}C apresentem deslocamentos de três carbonos aromáticos substituídos, em região do espectro próximo de 150 ppm, referentes a C5, C7, C8a. Já para C4a, C6 e C8 são esperados deslocamentos em torno de 100 - 120 ppm.

É interessante ressaltar que os dados esperados foram observados nos experimentos de RMN ^1H e RMN ^{13}C de todas as cromonas. Isto confirma a importância e a necessidade de interpretar espectros, sempre que possível, com base em conhecimentos prévios das rotas biossintéticas estudadas para a espécie ou gênero em questão.

5.2 Considerações sobre a biossíntese dos alcalóides 2-quinolônicos isolados

O ácido chiquímico é importante para produção de aminoácidos aromáticos, ácidos cinâmico e benzóico. Somado a outras modificações conduz a produção de lignanas, ligninas, fenilpropanóides e cumarinas. Combinações das vias do chiquimato e acetato são responsáveis pela biossíntese de stilpironas, flavonóides, stilbenos, flavolignanas e isoflavonóides (DEWICK, 2002).

Intermediários da via do ácido chiquímico servem como precursores diretos de metabólitos secundários de plantas. Alguns destes são comumente encontrados em várias espécies, enquanto outros são específicos. Fenilalanina, tirosina e triptofano, aminoácidos produzidos nesta via, são precursores biossintéticos de alcalóides. A maioria das reações bioquímicas na síntese destes aminoácidos são idênticas para plantas, fungos e bactérias.

A via do ácido chiquímico pode ser dividida didaticamente em três partes: a primeira, parte do ácido fosfoenolpirúvico e ácido eritrose-4-fosfato para produzir ácido corísmico, também chamada via pré-corismato; a segunda, parte do ácido corísmico e conduz à formação de fenilalanina e tirosina; a terceira, parte do ácido corísmico e produz o triptofano tendo o ácido antranílico como intermediário. O ácido antranílico é o precursor biossintético dos alcalóides quinolônicos (SCHMID & AMRHEIN, 1995). Ver figuras 5.2.1-3.

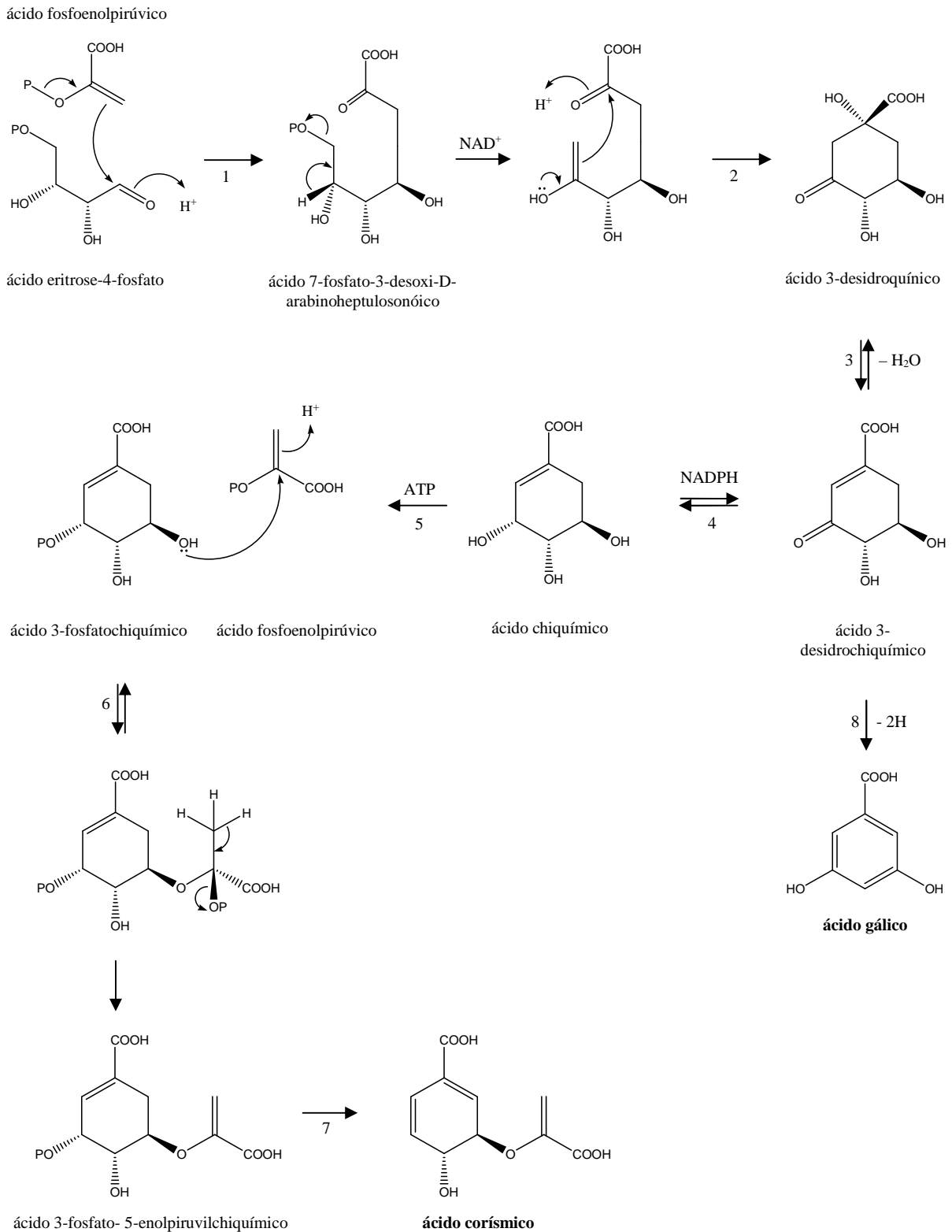


Figura 5.2.1 Primeira parte da via do chiquimato, via pré-corismato. Reações e enzimas: **1**, reação aldólica, 3-desoxi-D-arabino-heptulosonato-7-fosfato sintase; **2**, reação aldólica, 3-desidroquinase sintase; **3**, 3-desidroquinase desidratase; **4**, chiquimato NADP oxidoreductase; **5**, chiquimato quinase; **6**, adição nucleofílica, 5-enolpirvilchiquimato-3-fosfato sintase; **7**, corismato sintase; **8**, oxidação e enolização. Adaptado de SCHIMID & AMRHEIN,1995; DEWICK, 2002; KNAGGS, 2001.

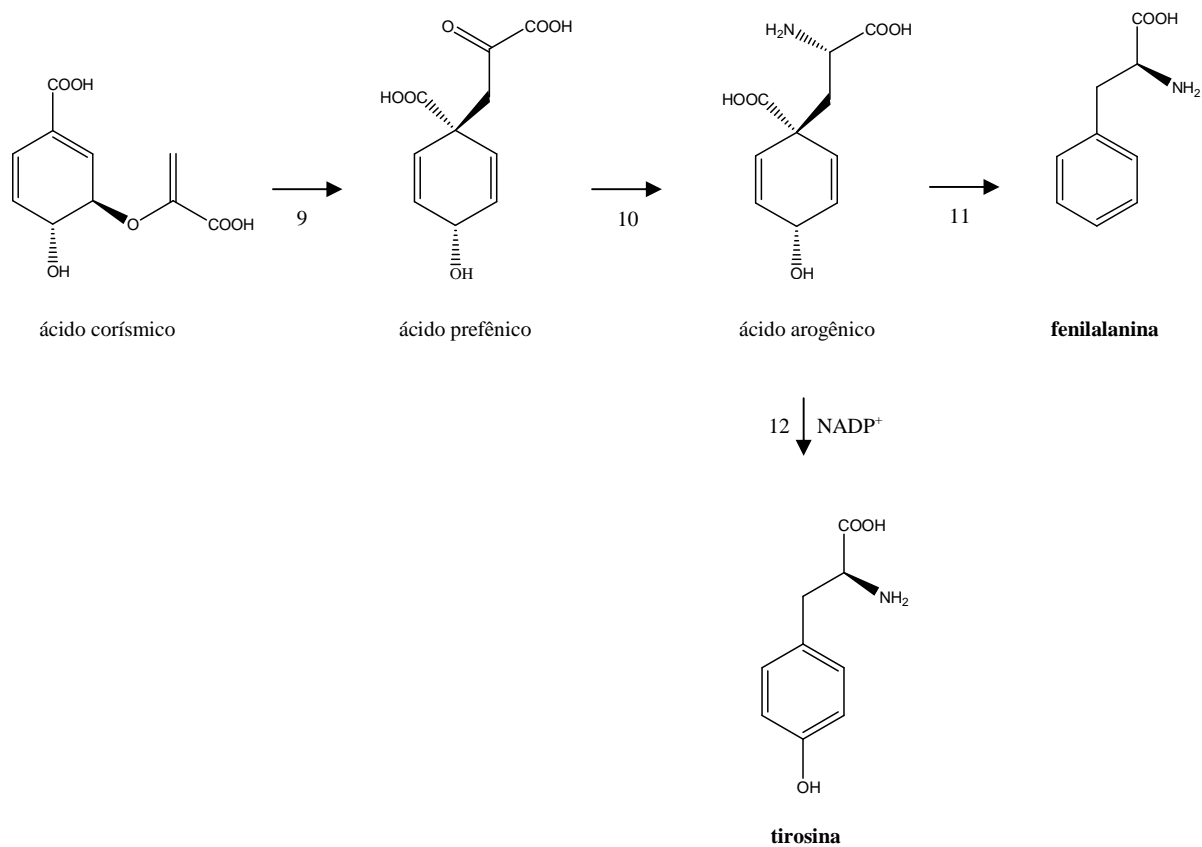


Figura 5.2.2 Segunda parte da via do chiquimato, formação da fenilalanina e tirosina. Reações e enzimas: **9**, rearranjo tipo Claisen, corismato mutase; **10**, transaminação, prefenato aminotransferase; **11**, descarboxilação e aromatização, arogenato desidratase; **12**, descarboxilação e aromatização, arogenato desidrogenase. Adaptado de SCHIMID & AMRHEIN, 1995 e DEWICK, 2002.

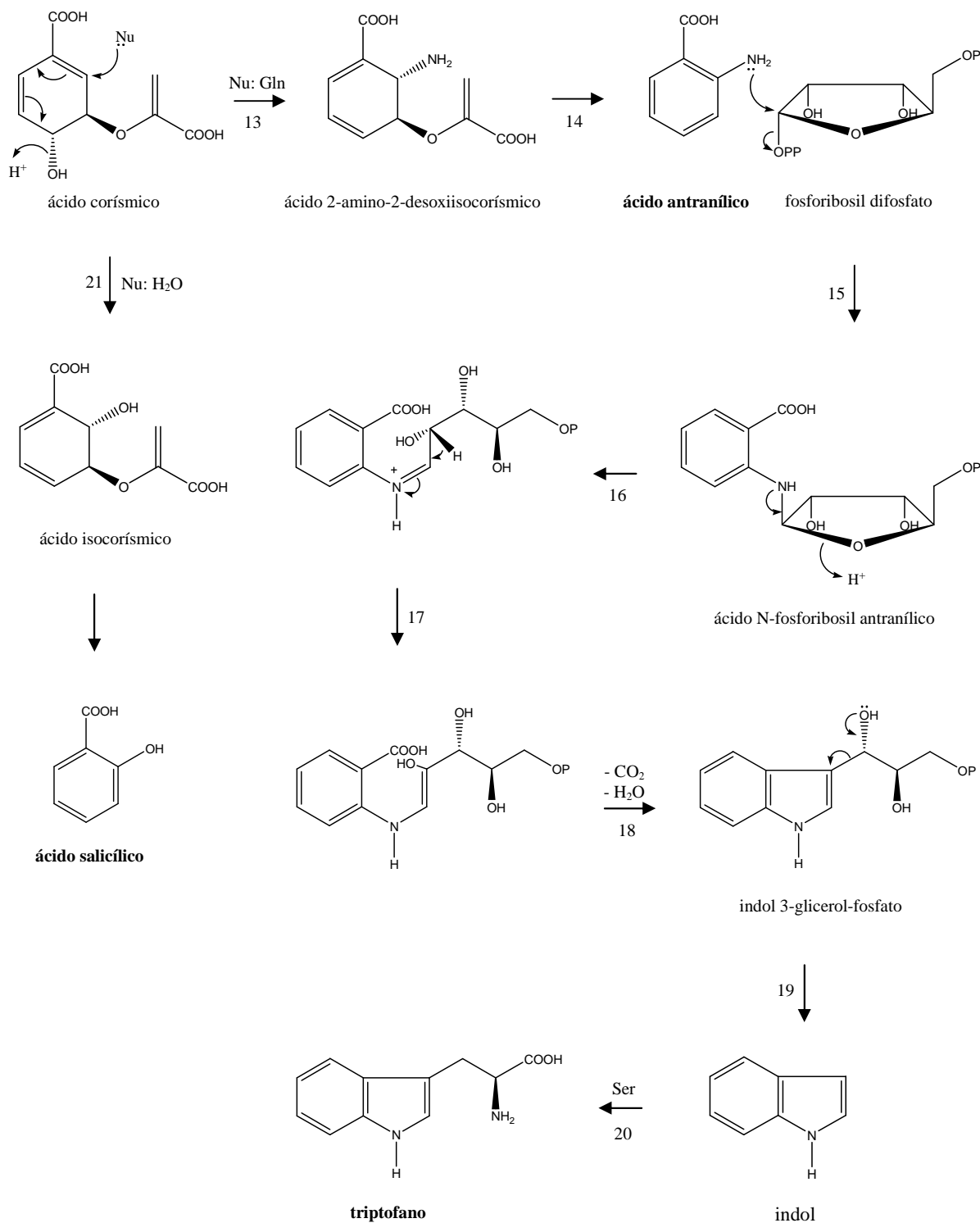


Figura 5.2.3 Terceira parte da via do chiquimato, formação do triptofano. Reações e enzimas: **13**, aminação com amônia gerada de glutamina; **14**, antranilato sintase; **15**, S_N2 , antranilato fosforibosil transferase; **16**, fosforibosil antranilato isomerase; **17**, tautomerismo imina-enamina; **18**, indol-3-glicerol fosfato sintase; **19**, retroaldol; **20**, triptofano sintase; **21**, isomerização via S_N2 . Adaptado de SCHIMID & AMRHEIN, 1995 e DEWICK, 2002.

A rota proposta para formação de sistemas 2-quinolônicos ocorre pela combinação do ácido antranílico com acetato/malonato. O antranoil-CoA e malonil-CoA são as unidade de partida. Estes participam de uma condensação de Claisen seguida de descarboxilação e posterior formação de um heterocíclico, a 4-hidroxi-2-quinolona. A posição 3 desta substância é nucleofílica e susceptível a alquilação com DMAPP. Isto permite formação adicional de anéis oxigenados de cinco ou seis membros. O processo ocorre possivelmente como descrito para as cromonas. (DEWICK, 2002). As reações conduzem à formação da flindersina, núcleo estrutural dos alcalóides isolados neste trabalho.

As flindersinas aqui descritas apresentam em suas estruturas um grupo metoxílico como substituinte da posição 8. Para que isto ocorra, sugere-se uma hidroxilação do anel aromático por uma reação de substituição nucleofílica com SAM. A reação de N-metilação também ocorre, possivelmente, com participação de SAM. Observar figura 5.2.4.

Outra proposta para biossíntese da flindersina N-metilada seria começar a rota partindo do N-metil-antranoil-CoA.

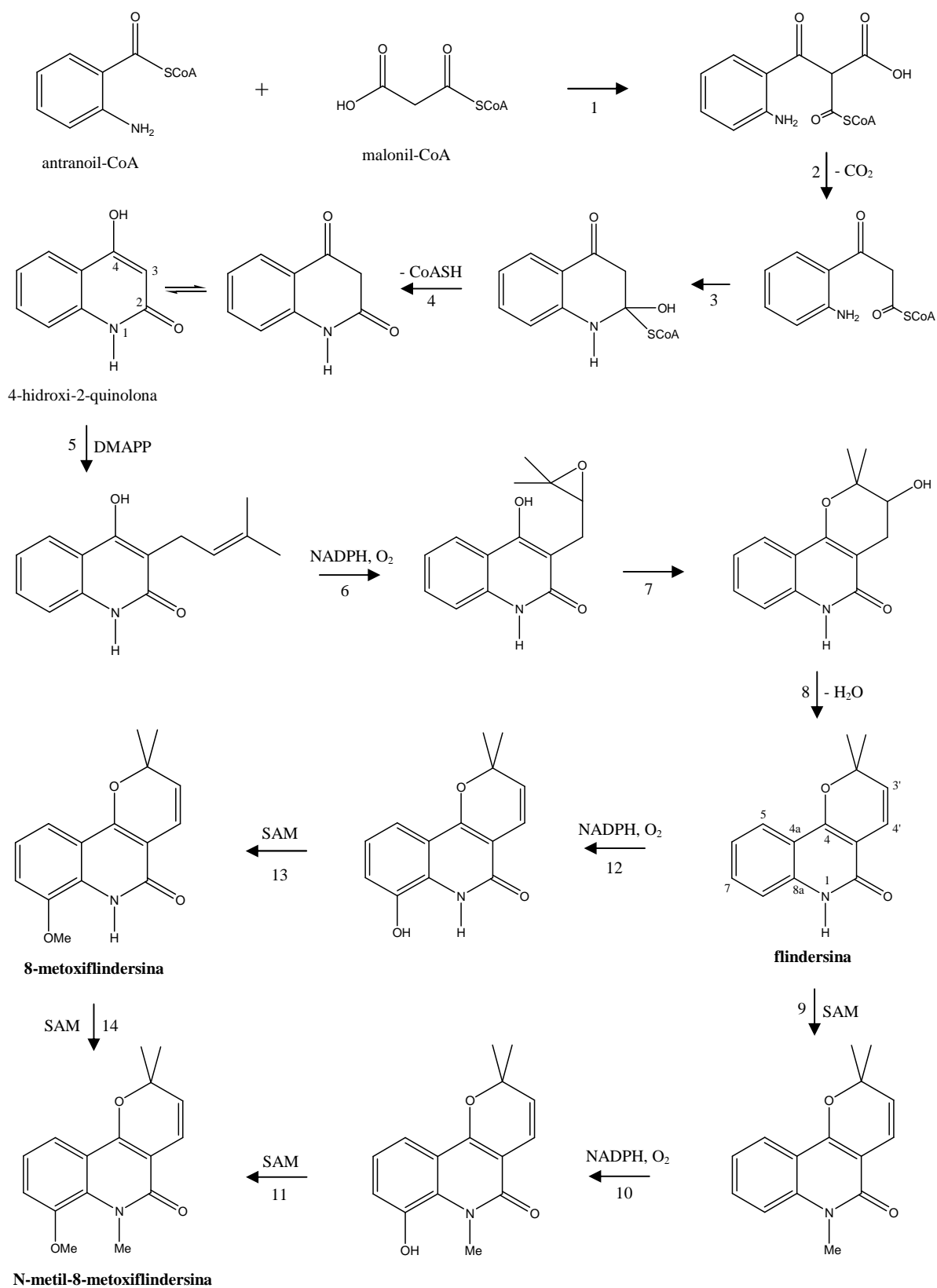


Figura 5.2.4 Proposta de biossíntese para os derivados de flindersina isolados. As reações: **1**, Claisen; **2**, descarboxilação; **3**, adição; **4**, eliminação; **5**, C-alkilação; **6**, epoxidação por ação de monooxigenase; **7**, ataque nucleofílico intramolecular; **8**, desidratação; **9**, **14**, N-metilação; **11**, **13**, O-metilação; **10**, **12**, oxidação por ação de monooxigenase. Adaptado de DEWICK, 2002.

CAPÍTULO 6: CONCLUSÃO

Esta espécie realmente apresenta característica singular dentro da família Rutaceae. Os resultados obtidos só ajudam a corroborar esta situação. Além das cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico e 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina, previamente isoladas em outros trabalhos, o isolamento e identificação das cromonas spatheliabiscromeno, 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno demonstra a habilidade desta espécie em produzir substâncias via poli- β -cetoésteres. É interessante ressaltar que estas três últimas substâncias são descritas pela primeira vez nesta espécie, e 8-(3-metil-2-butenil) spatheliacromeno éter metílico é uma estrutura inédita.

Os dados espectroscópicos obtidos para as cromonas 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina éter metílico e 6-(3-metil-2-butenil) allopteroxilina, mais especificamente os dados de HMBC, levantaram dúvidas sobre a atribuição dos dados de RMN ^1H e ^{13}C mostrados no trabalho de CAMPOS *et al*, 1987. Esta referência é a única que informa dados de RMN ^{13}C para estes metabólitos. Os dados aqui obtidos sugerem erros na atribuição.

As cromonas isoladas confirmam as informações da literatura sobre as semelhanças filogenéticas entre os gêneros *Dictyoloma* e *Spathelia*, ressaltando a peculiaridade do ponto de vista biossintético dos mesmos.

Observando os dados espectroscópicos obtidos, mais especificamente aqueles de RMN, é possível constatar que a identificação estrutural dos metabólitos é mais fácil quando baseada na correlação com possíveis rotas biossintéticas estudadas para a espécie ou gênero em questão.

A família Rutaceae caracteriza-se pela produção de cinco grupos diferentes de alcalóides, dentre eles os derivados do ácido antranílico, a exemplo dos alcalóides 2-quinolônicos. A identificação dos alcalóides 2-quinolônicos 8-metoxiflindersina e N-metil-8-metoxiflindersina, sendo este último também descrito pela primeira vez neste gênero, ajuda a confirmar a classificação do mesmo dentro da família Rutaceae, apesar da presença das cromonas atípicas. Estes dados contribuem com a quimiotaxonomia do gênero.

CAPÍTULO 7: REFERÊNCIAS

ABE, I.; OGURO, S.; UTSUMI, Y.; SANO, Y.; NOGUCHI, H. Engineered biosynthesis of plant polyketides: chain length control in an octaketide-producing plant type III polyketide synthase. **Journal of American Chemical Society**, v.127, p. 12709-12716, 2005.

ALI, M.S.; PERVEZ, H.K.; SALEEM, M.; TAREEN, R.B. Haplophytin-A and B: the alkaloidal constituents of *Haplophyllum acutifolium*. **Phytochemistry**, v.57, p. 1277-1280, 2001.

AHSAN, M.; ZAMA, T. A.; HASAN, C. M.; ITO, C.; ISLAM, S. K. N. Constituents and cytotoxicity of *Zanthoxylum rhesta* stem bark. **Fitoterapia**, v. 71, p. 697-700, 2000.

BERMUDEZ, J. A. Z. **Indústria farmacêutica, estado e sociedade**. São Paulo: Hucitec, 1995.

BIAVATTI, M. W.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F.; BERNARDES, J. B.; VICTOR, S. R.; PAGNOCCA, F. C.; ALBUQUERQUE, S.; CARACELLI, I.; SCHPECTOR, J. Z. Biological activity of quinoline alkaloids from *Raulinoa echinata* and X-ray structure of flindersiamine. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.13, n.1, p. 66-70, 2002.

BRAVO, P.; RESNATI, G.; VIANI, F.; CAVICCHIO, G. A new approach to hemiterpenoid tricyclic quinolones. Synthesis of N-methylflindersine, khaplopholine and other structurally similar alkaloids. **Gazzetta Chimica Italiana**, v.118, p.507-511, 1998.

BUTLER, M.S. The role of natural product chemistry in drug discovery. **Journal of Natural Products**, v.67, p. 2141-2153, 2004.

CAMPOS, A. M.; KHAC, D. D.; FETIZON, M. Chromones from *Dictyoloma incanescens*. **Phytochemistry**, v.26, n.10, p. 2819-2823, 1987.

COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS, M. **Substâncias carboniladas e derivados**. Porto Alegre: Bookman, 2003. p. 291-294.

DEACHATAI, S.; MAHABUSARAKAM, W.; PHONGPAICHIT, S.; TAYLOR, W. C.; ZHANG, Y. J.; YANG, C. R. Phenolic compounds from the flowers of *Garcinia dulcis*. **Phytochemistry**, v.67, p. 464-469, 2006.

DEWICK, P.M. **Medicinal Natural Products – A Biosynthetic Approach**. 2nd ed. Cinchester: John Wiley & Sons, LTD, 2002.

DIAS, B. F. S. **A implementação da convenção sobre diversidade biológica no Brasil: desafios e oportunidades**. Campinas: André Tosello, 1996.

EDWARDS, A. M.; HOWELL, J. B. L. The chromones: history, chemistry and clinical development. A tribute to the work of Dr R. E. C. Altouyan. **Clinical and Experimental Allergy**, v.30, p. 756-774, 2000.

ELLIS, G. P. Naturally Occurring Chromones. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**, v.31, p. 455-480, 1977.

FOKIALAKIS, N.; MAGIATIS, P.; MITAKU, S.; TILLEQUIN, F.; SÉVENET, T. Two new 3-methoxy-4-quinolone alkaloids from the bark of *Sarcomelicope megistophylla*. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v.48, n.12, p. 2009-2010, 2000.

FUNAYAMA, S.; MURATA, K.; NOZOE, S. Quinolone alkaloids from *Orixa japonica*. **Phytochemistry**, v.36, n.2, p. 525-528, 1994.

GONZALEZ, A. G.; FRAGA, B. M.; PINO, O. A new chromone from the stems of *Cneorum tricocum*. **Phytochemistry**, v.13, p. 2305-2307, 1974.

GUJRAL, V. K.; GUPTA, S. R.; KHANNA, P. L. Synthesis of spatheliabischromene. **Tetrahedron Letters**, v.1, p. 73-74, 1976.

HIFNAWY, M. S.; VAQUETTE, J.; SÉVENET, T.; POUSSET, J. L.; CAVÉ, A. Produits neutres et alcaloïdes de *Myrtopsis macrocarpa*, *M. myrtoidea*, *M. novae – caledoniae* et *M. selligii*. **Phytochemistry**, v.16, p. 1035-1039, 1977.

KNAGGS, A. R. The biosynthesis of shikimate metabolites. **Natural Product Reports**. v.18, p. 334-355, 2001.

KOVGANKO, N. V.; KASHKAN, N.; BORISOV, E. V. ¹³C NMR spectra of functionally substituted 3 β -chloroderivatives of cholesterol and β -sitosterol. **Chemistry of Natural Compounds**, v.36, n.6, p. 595-598, 2000.

LAVAUD, C.; MASSIOT, G.; VASQUEZ, G.; MORETTI, C.; SAUVAIN, M.; BALDERRAMA, L. 4-quinolinone alkaloids from *Dictyoloma peruviana*. **Phytochemistry**, v.40, n.1, p. 317-320, 1995.

LIMA, M.; ROSAS, L. V.; VIEIRA, P. C. Alkaloids de *Spathelia excelsa*: Their chemosystematic significance. **Phytochemistry** v.66, p. 1560-1566, 2005.

MENDES, C. A. **Terpenos de *Mikania gottliebii* sp. nov.** 2004. v.1. Tese (Doutorado em Ciências. Área de concentração Química Orgânica) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia.

MICHAEL, J. P. Quinoline, quinazoline and acridone alkaloids. **Natural Product Reports**, v.14, n.1, p. 11-20, 1997a.

MICHAEL, J. P. Quinoline, quinazoline and acridone alkaloids. **Natural Product Reports**, v.14, n.6, p. 605-618, 1997b.

MORAES, V. R. S.; TOMAZELA, D. M.; FERRACIN, R. J.; GARCIA, C. F.; SANNOMIYA, M.; SORIANO, M. P. C.; SILVA, F. G. F.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; FILHO, E. R.; MAGALHÃES, E. G.; MAGALHÃES, A. F.; PIMENTA, E. F.; SOUZA, D. H. F.; OLIVA, G. Enzymatic inhibition studies of selected flavonoids and chemosystematic significance of polymethoxylated flavonoids and quinoline alkaloids in *Neoraputia* (Rutaceae). **Journal Brazilian Chemical Society**, v.14, n.3, p. 380-387, 2003.

NISBET, L. J., MOORE, M. Will natural products remain an important source of drug research for the future? **Current Opinion in Biotechnology**, v.8, p. 708-712, 1997.

QUARDER, A.; ARMSTRONG, J. A.; GRAY, A. I.; HARTLEY, T. G.; WATERMAN, P. G. Chemosystematics of *Acradenia* and general significance of acetophenones in the Rutaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.19, p. 171-176, 1991.

RAJU, K. V. S.; SRIMANNARAYANA, G. ¹³C NMR studies of some complex natural oxygen heterocyclics. Structure of millettin, a novel isoflavone isolated from *Millettia auriculata*. **Tetrahedron**, v.37, p. 957-962, 1981.

REYNOLDS, J. E. F. **Martindale. The extra farmacopoeia.** 30th ed. London: Pharmaceutical, 1993.

ROBBERS, J. E., TYLER, V. E. **Farmacognosia e farmacobiotechnologia.** São Paulo Editora Premier, 1997.

SAENGCHATARA, S.T.; WALLACE, T.W. Chromanols, chromanones, chromones. **Natural Product Reports**. v.3, n.5, p. 465-475, 1986.

SARTOR, C. F. P.; da SILVA, M. F. G. F.; VIEIRA, P. C. Alkaloids from *Dictyoloma vandellianum*: their chemosystematics significance. **Phytochemistry**, v.63, p.185-192, 2003.

SCHMID, J.; AMRHEIN, N. Molecular organization of the shikimate pathway in higher plants. **Phytochemistry**, v.39, n.4, p. 737-749, 1995.

SCOTT, K. D.; MCINTYRE, C. L.; PLAYFORD, J. Molecular analyses a need for a significant rearrangement of Rutaceae subfamilies and minor reassessment of species relationships within *Flindersia*. **Plant Systematics and Evolution**, v.23, p. 15-27, 2000.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, FRANCIS, X. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos.** 6^a ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2000.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 4^a ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, 2002. p.15; 125; 165.

SOEJARTO, D. D. Biodiversity prospecting and benefit sharing: perspectives from the field. **Journal of Ethnopharmacology**, v.51, p. 1-15, 1996.

STEVENSON, P. C.; SIMMONDS, M. S. J.; YULE, M. A.; VEITCH, N. C.; KITE, G. C.; IRWIN, D.; LEGG, M. Insect antifeedant furanocoumarins from *Tetradium danielli*. **Phytochemistry**, v.63, p. 41-46, 2003.

TAYLOR, D. R.; ADAMS, C, D.; WARNER, J. M. N-methylflindersine from *Spathelia sorbifolia*. **Phytochemistry**, v.12, p. 1359-1360, 1973.

TAYLOR, D. R.; WARNER, J. M.; WRIGHT, J. A. New chromones from *Spathelia sorbifolia* L. Synthesis of the benzo[1,2-b:3,4-b']dipyrone sorbifolin. **Journal of Chemical Society Perkin 1 – Organic and Bio-Organic Chemistry**, v.4, p. 397-405, 1977.

TUNTIWACHWUTIKUL, P.; PHANSA, P.; POOTAENG-ON, Y.; TAYLOR, W. C. Chromones from branches of *Harrisonia perforata*. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v.54, n.1, p. 44-47, 2006.

WATERMAN, P. G. The chemical systematics of alkaloids: A review emphasising the contribution of Robert Hegnauer. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.27, p. 395-406, 1999.

WATERMAN, P. G.; GRUNDON, M. F. **Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales**. Londres / Nova Iorque: Academic Press, 1983. p. 32-34.

VIEIRA, P. C.; LÁZARO, A. R.; FERNANDES, J. B.; da SILVA, M. F. G. F. Limonoids, alkaloids and chromones from *Dictyoloma vandellianum*, and their chemosystematics significance. **Química Nova**, v.13, n.4, p. 287-288, 1990.

VIEIRA, P. C.; LÁZARO, A. R.; FERNANDES, J. B.; da SILVA, M. F. G. F. The chemosystematics of *Dictyoloma*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.16, n.6, p. 541-544, 1988.