

ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE
***Merremia tomentosa* (CHOISY) HALL. F.**
(CONVOLVULACEAE), *Sabicea brasiliensis*
WERNH. (RUBIACEAE) E *Heteropterys*
***byrsonimifolia* ADR. JUSS. (MALPIGHIACEAE)**

HELVÉCIO MARTINS DOS SANTOS JÚNIOR

2007

HELVÉCIO MARTINS DOS SANTOS JÚNIOR

**ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE *Merremia tomentosa*
(CHOISY) HALL. F. (CONVOLVULACEAE), *Sabicea brasiliensis*
WERNH. (RUBIACEAE) E *Heteropterys byrsonimifolia* ADR. JUSS.
(MALPIGHIACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Lavras como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Agroquímica e Agrobioquímica
para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador:
Prof. Dr. Denilson Ferreira Oliveira

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Santos Júnior, Helvécio Martins dos.

Estudo fitoquímico das folhas de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae) e *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae) / Helvécio Martins dos Santos Júnior. -- Lavras: UFLA, 2007.

359 p: il.

Orientador: Denilson Ferreira Oliveira.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Estudo fitoquímico. 2. *Merremia tomentosa*. 3. *Sabicea brasiliensis*. 4. *Heteropterys byrsonimifolia*. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-630.24

HELVÉCIO MARTINS DOS SANTOS JÚNIOR

**ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE *Merremia tomentosa*
(CHOISY) HALL. F. (CONVOLVULACEAE), *Sabicea brasiliensis*
WERNH. (RUBIACEAE) E *Heteropterys byrsonimifolia* ADR. JUSS.
(MALPIGHIACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica e Agrobioquímica para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 02 de março de 2007

Prof. Dra. Angelita Duarte Corrêa.....UFLA

Prof. Dra. Magda Narciso Leite.....UFJF

Prof. Dr. Teodorico de Castro Ramalho.....UFLA

Prof. Dr. Denilson Ferreira Oliveira
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

AGRADECIMENTOS

Meu Deus, obrigado por ter-me iluminado neste percurso que está sendo concluído. Obrigado pelas vitórias e também pelas derrotas e dificuldades superadas que me fizeram aprender muito. Obrigado pela oportunidade de conhecer e conviver com pessoas maravilhosas.

Agradeço a todos os meus familiares, pelo apoio e compreensão, em especial aos meus pais Helvécio e Maria de Lourdes e aos meus irmãos Alan, Fabiane e Christiano (*in memoriam*).

Agradeço ao meu orientador Denilson, pela atenção, paciência, amizade e por estar sempre pronto para ajudar.

Obrigado ao professor Alberto do Instituto de Química da UNESP em Araraquara, que nos ajudou na realização dos experimentos.

Obrigado a todos os funcionários do Departamento de Química e a todos os colegas, pela amizade.

Minha gratidão ao pessoal do Laboratório de Produtos Naturais, com os quais compartilhei momentos muito agradáveis ao longo deste período. Muito obrigado a todos, por tudo mesmo!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	i
RESUMO.....	ii
ABSTRACT	iii
CAPÍTULO 1 Estudo fitoquímico das folhas de <i>Merremia tomentosa</i> (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), <i>Sabicea brasiliensis</i> Wernh. (Rubiaceae) e <i>Heteropterys byrsonimifolia</i> adr. Juss. (Malpighiaceae)...	1
1 Introdução geral	2
2 Referencial teórico.....	4
2.1 Flora brasileira.....	4
2.2 Flora Mineira.....	5
2.3 Exemplos de plantas e substâncias de origem vegetal com atividades biológicas.....	7
3 Referências bibliográficas	14
CAPÍTULO 2 Estudo fitoquímico das folhas de <i>Merremia tomentosa</i> (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae).....	20
Resumo.....	21
Abstract	22
1 Introdução.....	23
2 Referencial teórico	24
3 Materiais e métodos.....	26
3.1 Materiais e equipamentos utilizados	26
3.2 Coleta de material botânico	27
3.3 Obtenção do extrato bruto para purificação	27
3.4 Fracionamento do extrato bruto por extração com solventes.....	29
3.5 Fracionamento da fração solúvel em hexano (Jr1-42-01).....	30
3.5.1 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-42-01.....	30
3.5.2 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-57-05.....	30
3.6 Fracionamento da fração solúvel em acetato de etila (Jr1-42-02).....	31
3.6.1 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-42-02.....	31
3.6.2 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-78-07.....	32
3.6.3 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-84-09.....	33
3.6.4 Fracionamento por extração com solventes de Jr1-86-02.....	33
3.7 Fracionamento da fração solúvel em metanol (Jr1-42-03).....	36
3.7.1 Cromatografia líquida em coluna de resina de poliestireno	36

amberlite XAD-16 de Jr1-42-03.....	
3.7.2 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo das frações Jr1-111-06 e Jr1-111-07.....	36
3.8 Elucidação estrutural das substâncias isoladas.....	37
3.8.1 Espectrometria de massas.....	37
3.8.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	38
4 Resultados e discussão.....	39
4.1 Extrato bruto das folhas de <i>Merremia tomentosa</i>	40
4.2 Fracionamento do extrato bruto por extração com solventes.....	40
4.3 Fracionamento da fração do extrato bruto de <i>Merremia tomentosa</i> solúvel em hexano (Jr1-42-01).....	41
4.3.1 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-42-01.....	41
4.3.2 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-57-05.....	42
4.4 Fracionamento da fração do extrato bruto de <i>Merremia tomentosa</i> solúvel em acetato de etila (Jr1-42-02).....	43
4.4.1 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-42-02.....	43
4.4.2 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-78-07.....	44
4.4.3 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-84-09.....	45
4.4.4 Fracionamento por extração com solventes de Jr1-86-02.....	46
4.5 Fracionamento da fração do extrato bruto de <i>Merremia tomentosa</i> solúvel em metanol (Jr1-42-03).....	46
4.5.1 Cromatografia líquida em coluna de resina de poliestireno amberlite XAD-16 de Jr1-42-03.....	46
4.5.2 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo das frações Jr1-111-06 e Jr1-111-07.....	51
4.6 Elucidação estrutural das substâncias isoladas.....	53
4.6.1 Substância Jr1-117-05.....	54
4.6.2 Substância Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo).....	60
5 Conclusões.....	66
6 Referências bibliográficas.....	67
CAPÍTULO 3 Estudo fitoquímico das folhas de <i>Sabicea brasiliensis</i> Wernh. (Rubiaceae).....	
Resumo.....	72
Abstract	73
1 Introdução	74
2 Referencial teórico	75
3 Materiais e métodos.....	78

3.1 Materiais e equipamentos utilizados.....	78
3.2 Coleta de material botânico.....	78
3.3 Obtenção do extrato bruto para purificação.....	79
3.4 Fracionamento do extrato bruto por extração com solventes.....	81
3.5 Fracionamento da fração solúvel em metanol (Jr1-108-03).....	82
3.5.1 Cromatografia líquida em coluna de resina de poliestireno amberlite XAD-16 de Jr1-108-03.....	82
3.5.2 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo da fração Jr1-112- 04.....	82
3.5.3 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo das frações Jr1- 112-06 e Jr1-112-07.....	83
3.5.4 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo da fração Jr1-123- 02.....	84
3.6 Elucidação estrutural das substâncias isoladas.....	85
3.6.1 Espectrometria de massas.....	85
3.6.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	85
4 Resultados e discussão.....	86
4.1 Extrato bruto das folhas de <i>Sabicea brasiliensis</i>	87
4.2 Fracionamento do extrato bruto por extração com solventes.....	87
4.3 Fracionamento da fração do extrato bruto de <i>Sabicea brasiliensis</i> solúvel em metanol (Jr1-108-03).....	88
4.3.1 Cromatografia líquida em coluna de resina de poliestireno amberlite XAD-16 de Jr1-108-03.....	88
4.3.2 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo da fração Jr1-112- 04.....	91
4.3.3 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo das frações Jr1- 112-06 e Jr1-112-07.....	93
4.3.4 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo da fração Jr1-123- 02.....	96
4.4 Elucidação estrutural das substâncias isoladas.....	98
4.4.1 Substância Jr1-124-02.....	99
4.4.2 Substância Jr1-145-01.....	106
5 Conclusões	112
6 Referências bibliográficas	113
CAPÍTULO 4 Estudo fitoquímico das folhas de <i>Heteropterys</i> <i>byrsonimifolia</i> adr. Juss. (Malpighiaceae).....	116

Resumo.....	117
Abstract	118
1 Introdução	119
2 Referencial teórico	120
3 Materiais e métodos.....	122
3.1 Materiais e equipamentos utilizados	122
3.2 Coleta de material botânico	122
3.3 Obtenção do extrato bruto para purificação.....	123
3.4 Fracionamento do extrato bruto por extração com solventes.....	125
3.5 Fracionamento da fração solúvel em metanol (Jr1-109-03).....	126
3.5.1 Cromatografia líquida em coluna de resina de poliestireno amberlite XAD-16 de Jr1-109-03.....	126
3.5.2 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo das frações Jr1- 113-05 e Jr1-113-06.....	126
3.5.3 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo da fração Jr1-120- 01.....	127
3.6 Elucidação estrutural das substâncias isoladas.....	128
3.6.1 Espectrometria de massas.....	128
3.6.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	129
4 Resultados e discussão.....	130
4.1. Extrato bruto das folhas de <i>Heteropterys byrsonimifolia</i>	131
4.2 Fracionamento do extrato bruto por extração com solventes.....	131
4.3 Fracionamento da fração do extrato bruto de <i>Heteropterys byrsonimifolia</i> solúvel em metanol (Jr1-109-03).....	132
4.3.1 Cromatografia líquida em coluna de resina de poliestireno amberlite XAD-16 de Jr1-109-03.....	132
4.3.2 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo das frações Jr1- 113-05 e Jr1-113-06.....	135
4.3.3 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo da fração Jr1-120- 01.....	137
4.4 Elucidação estrutural das substâncias isoladas.....	139
4.4.1 Substância Jr1-120-03.....	140
4.4.2 Substância Jr1-120-04.....	146
4.4.3 Substância Jr1-146-02.....	153
5 Conclusões.....	159
6 Referências bibliográficas.....	160
Conclusões gerais	166
Anexos	167

Anexo A	167
Anexo B.....	225
Anexo C.....	288

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

$^{2,3}J_{CH}$	acoplamento carbono-hidrogênio a duas ou três ligações
ACN	acetona
AcOEt	acetato de etila
AcOH	ácido acético
C18	sílica gel de fase reversa tipo C18
CC	cromatografia em coluna
CCD	cromatografia em camada delgada
$CDCl_3$	clorofórmio deuterado
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
d	dubleto
DAD	detector de arranjo de diodos
dd	duplo dubleto
ddd	duplo duplo dubleto
DEPT	<i>distortionless enhancement by polarization transfer</i>
DMSO- d_6	dimetilssulfóxido hexadeuterado
dq	duplo quarteto
EM-ES	espectrometria de massas com ionização por <i>electrospray</i>
gCOSY	<i>gradient correlated spectroscopy</i>
gHMBC	<i>gradient heteronuclear multiple bond coherence</i>
gHMQC	<i>gradient heteronuclear multiple quantum coherence</i>
H_2O	água
Hex	hexano
J	constante de acoplamento
m	multiplete
m/z	massa relativa/carga
MeOH	metanol
R_f	fator de retenção
RMN ^{13}C	ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN 1H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	singleto
sl	singleto largo
TOCSY	<i>total correlation spectroscopy</i>
UV-Vis	ultra violeta – visível
δ	deslocamento químico

RESUMO

SANTOS JÚNIOR, Helvécio Martins dos. **Estudo fitoquímico das folhas de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae) e *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae).** 2007. 359p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Três espécies de plantas de ocorrência em regiões de cerrado do sul mineiro foram selecionadas para estudos fitoquímicos visando um melhor entendimento das mesmas: *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae) e *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae). O extrato metanólico das folhas destas três espécies foi fracionado por diversas técnicas cromatográficas. As substâncias isoladas foram identificadas por espectrometria de ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas. Do extrato metanólico das folhas de *M. tomentosa* foram isoladas duas substâncias isoméricas conhecidas como *trans*-tilirosídeo e *cis*-tilirosídeo e outras três substâncias ainda não identificadas completamente. Do extrato metanólico das folhas de *S. brasiliensis* foram isoladas o kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo e o variabilosídeo G. Das folhas de *H. byrsonimifolia* foram isoladas a guaijaverina, a quercetina 3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo e a rutina, além de uma substância cuja estrutura ainda não foi totalmente elucidada.

Comitê Orientador: Denilson Ferreira Oliveira – UFLA (orientador).

ABSTRACT

SANTOS JÚNIOR, Helvécio Martins dos. **Phytochemical study of leaves of *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae) and *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae) leaves.** 2007. 359p. Dissertation (Master in Agrochemistry and Agrobiochemistry) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Three species of plants usually found in bushy (“cerrado”) regions of the south of Minas Gerais State (Brazil) were selected for phytochemical studies in order to improve the knowledge about them: *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae) and *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae). After fractionation of the methanol extracts of these plants leaves through several chromatographic techniques, the isolated substances were identified by nuclear magnetic resonance and mass spectrometry. Two isomeric substances known as *trans*-tiliroside and *cis*-tiliroside, as well as three other substances not yet completely identified were isolated from *M. tomentosa*. From *S. brasiliensis*, kaempferol 3-O-robinobioside and variabiloside G were isolated, while guaijaverin, quercetin 3-O- α -L-ramnopyranoside, rutin and a substance whose structure has not yet been completely elucidated, were isolated from *H. byrsonimifolia*.

Guidance Committee: Denilson Ferreira Oliveira – UFLA (Advisor).

CAPÍTULO 1

ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE *Merremia tomentosa* (CHOISY) HALL. F. (CONVOLVULACEAE), *Sabicea brasiliensis* WERNH. (RUBIACEAE) E *Heteropterys byrsonimifolia* ADR. JUSS. (MALPIGHIACEAE)

1 INTRODUÇÃO GERAL

Segundo Mann (1995), o termo produto natural se refere às substâncias de origem natural, provenientes do metabolismo secundário de animais (microrganismos, artrópodes, répteis, toxina de cobras etc.) ou vegetais (algas, plantas etc.), relacionados com os mecanismos de defesa do organismo (Coley & Barone, 1996; Gatehouse, 2002; Hochuli, 2001).

Especificamente no caso de produtos naturais de origem vegetal, sabe-se que podem ser usados como medicamentos ou para o controle de pragas e doenças de plantas (Abrahim et al., 2000; Abrahim et al., 2003; Arnason et al., 1990; Bell et al., 1990; Czarnota et al., 2001; Devi & Prasad, 1996; Lin et al., 2000; Nimbale et al., 1996; Yu et al., 2003; Zeng et al., 2001). Tais aplicações parecem bastante razoáveis, pois o uso de plantas medicinais pelo homem para o alívio de vários sintomas ou combate a muitas doenças data de cerca de cinco milênios atrás, segundo documentos escritos por antigas civilizações da China e da Índia. Egípcios, gregos e outros povos posteriores também tinham conhecimento sobre o uso medicinal de figo, cebola, alho e várias outras plantas que ainda compõem os únicos medicamentos disponíveis para o tratamento de doenças em muitas regiões do mundo (Hamburger & Hostettmann, 1991; Robbers et al., 1997). Apesar dos grandes avanços na produção de drogas de origem sintética, os produtos de origem vegetal e derivado representam algo em torno de 25% dos medicamentos em uso (Calixto, 2000). Dados de 1980 indicam que, nos Estados Unidos, foram comercializados 8 bilhões de dólares em substâncias de origem vegetal, (Balandrin et al., 1993); e que entre 1990 e 1997 o uso de ervas medicinais cresceu 400% (Ernst & Chrubasik, 2000), atingindo em 1999 um montante de 5 bilhões de dólares. Este mercado ainda é maior na Europa, onde movimentou cifra de 7 bilhões de dólares em 1997. Já

nos países asiáticos, estima-se que o comércio de ervas medicinais gire em torno de 2,3 bilhões de dólares por ano (Calixto, 2000).

De certa forma, o Brasil foi enormemente privilegiado nesta área, pois possui 20% das espécies vivas, o que o torna detentor da maior biodiversidade do planeta. Para tanto, o Estado de Minas Gerais contribui enormemente, já que graças ao seu clima, relevo, recurso hídrico e à sua vasta extensão territorial, possui uma cobertura vegetal extremamente diversa. Os dois biomas mais representativos desse Estado, a mata atlântica e o cerrado, com elevados índices de endemismos, constituem mundialmente algumas das regiões mais ricas e ameaçadas pela devastação (Fundação..., 2000). Apesar de tamanha diversidade, são poucos os estudos sobre as espécies vegetais encontradas no Estado.

Em decorrência, com vistas a contribuir para um melhor conhecimento e utilização da flora brasileira, buscou-se realizar um estudo fitoquímico de três espécies vegetais de ocorrência em regiões de cerrado do sul do Estado de Minas Gerais: *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae) e *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Flora brasileira

O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000. Aproximadamente 22% das angiospermas ou plantas floríferas ocorrem no país, distribuído principalmente na Amazônia, cerrado e mata atlântica, sendo os dois últimos biomas considerados *hotspots*, pois a devastação sistemática tem colocado considerável número de espécies em risco de extinção (Guerra & Nodari, 2003). Conseqüentemente, a conservação da diversidade biológica nos trópicos, especialmente em biomas como o cerrado, que é o ecossistema mais importante na América do Sul depois da floresta amazônica, tem sido assunto de urgência e de prioridade mundial (Fundação..., 2000).

As plantas são fontes importantes de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de substâncias de interesse comercial. Entretanto, apesar do aumento de estudos nessa área, os dados disponíveis revelam que apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal e esse índice no Brasil é de apenas 8% (Guerra & Nodari, 2003). Em termos econômicos, o valor estratégico total da biodiversidade brasileira, no qual está incluída a possibilidade de geração de novas drogas, pode passar de um trilhão de dólares (Calixto, 2000). Diante disso, o Brasil precisa de um programa nacional de bioprospecção (Zani, 1999), sob pena de perder todo esse patrimônio por causa do ritmo intenso da biopirataria e de destruição da flora e da fauna (Calixto, 2000).

2.2 Flora Mineira

Os biomas presentes no Estado de Minas Gerais - mata atlântica, cerrado e caatinga - abrigam grande variedade de fisionomias vegetais, o que resulta em uma admirável riqueza de espécies. A área de mata atlântica é, em sua maioria, ocupada por florestas estacionais semidecíduais. Elas recobrem todo o leste mineiro com maiores extensões na direção sul/sudeste, além dos vales dos rios Paranaíba e Grande e dos seus afluentes, e dos enclaves de araucária no sul do Estado (Biodiversitas, 2007).

Espécies comuns no dossel das florestas semidecíduais são, entre outras, perobas e guatambu (*Aspidosperma* spp.), angicos (*Anadenanthera* spp.), angelins (*Andira* spp.), jacarandás (*Machaerium* spp.) e cedros (*Cedrela* spp.). Na submata, é usual encontrar as canelas (*Ocotea* spp. e *Nectandra* spp.) e araçás (*Eugenia* spp.). Nos ambientes abertos, com grande penetração de luminosidade, encontram-se as carobas (*Jacaranda* spp.), os açoita-cavalos (*Luehea* spp.) e o pau-de-tamanco (*Aegiphila* sp.) (Biodiversitas, 2007).

No domínio da caatinga, onde a estação seca pode se estender por até sete meses, predominam as próprias caatingas e as florestas estacionais decíduais. Essas florestas, aí incluídas as “matas secas” que ocorrem sobre os afloramentos calcáreos, como as de Pains e as do vale do rio Peruaçu, e sobre as areias quartzosas e os cambissolos, especialmente na região do Jaíba, caracterizam-se pela perda total das folhas em determinada época do ano. Trata-se de florestas bem menos ricas que as semidecíduais devido à severidade do clima, que limita o número de espécies capazes de viver nessas áreas. Nelas, é notável a dominância de leguminosas, como o angico (*Anadenanthera colubrina*) e as esponjeiras (*Calliandra* spp.), entre outras. Também importantes são as espécies da família Anacardiaceae, como o umbuzeiro (*Spondias tuberosa*), a aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) e a baraúna (*Schinopsis brasiliensis*), as duas últimas constantes da lista de espécies ameaçadas de

extinção no Estado. Destacam-se ainda, várias espécies de ipês (*Tabebuia* spp.) as barrigudas, dentre elas a *Cavanillesia arborea*, ameaçada de extinção, e as mandiocas bravas do gênero *Manihot*, entre outras (Biodiversitas, 2007).

As caatingas apresentam baixa riqueza de plantas arbóreas, sendo, contudo, muito ricas nas formas trepadeiras e volúveis, lenhosas ou não. A nordeste do Estado, na Chapada Geraizinhos, vale dos rios Jequitinhonha e Verde, encontram-se caatingas nas quais se destacam espécies da família Cactaceae dos gêneros *Cereus*, *Pereskia* e *Pilocereus*, ameaçadas de extinção, e as da família Bromeliaceae com espécies de *Bromelia* e *Neoglaziovia* (Biodiversitas, 2007).

A maior parte do Estado é coberta pelo bioma cerrado, encontrado em todas as suas fisionomias. Ele ocorre em regiões com estação seca bem definida, que geralmente se prolonga por quatro ou cinco meses. Recobre o Triângulo Mineiro e uma grande faixa no sentido centro-noroeste a partir de Sete Lagoas. Com grande riqueza de flora, o cerrado não é homogêneo ao longo de sua distribuição latitudinal. No entanto, suas fisionomias florísticas apresentam-se com forração graminóide e comumente com espécies lenhosas de várias famílias. Podem ser citadas, entre outras: o pequi (*Caryocar brasiliense*), o murici (*Byrsonima* spp.), o barbatimão (*Stryphnodendron* spp.), o pau-terra (*Qualea* spp.), o pau-de-tucano (*Vochysia tucanurum*), a colher-de-vaqueiro (*Salvertia convallariodora*), o jatobá (*Hymenaea* spp.) e várias espécies de araticum (*Annona* spp). Nos locais onde os afloramentos do lençol freáticos provêem o encharcamento do solo, surgem as veredas, com forração graminóide e agrupamento de palmeiras típicas, os buritis. Onde o solo é menos pedregoso, assentam-se os cerradões (Biodiversitas, 2007).

2.3 Exemplos de plantas e substâncias de origem vegetal com atividades biológicas

Tendo como objetivo aumentar a eficiência no controle de fungos fitopatogênicos, e diminuir o impacto ambiental e a contaminação do homem e de alimentos com substâncias tóxicas, várias pesquisas têm sido direcionadas para a substituição dos fungicidas tradicionais por produtos de origem vegetal (Castro, 1989). Nos casos específicos de *Isatis* spp (Diepenbrock et al., 2001), *Polygonum tinctorium*, *Rubia tinctorum* e *Reseda luteola* (Müller, 1997), os resultados foram tão bons que os autores decidiram patentear o uso de tais plantas para o controle de fungos.

Cientes do grande potencial de plantas para o controle de fungos, vários autores têm buscado isolar e identificar as substâncias responsáveis por tal comportamento. Para exemplificar, pode-se citar Athukoralage et al. (2001), que obtiveram o 3-formil-2,4-diidroxi-6-metilbenzoato de 3-hidroxi-2,5-dimetil-4-(metoxicarbonil) fenila (**1**) (Figura 1.1) de *Gardenia dassanayakei*. Tal substância apresentou considerável atividade contra os fungos *Crynespora cassiicola*, *Rhizoctonia solani*, *Curvularia* sp., *Fusarium* sp e *Colletotrichum gloeosporioides*.

Também é possível mencionar o trabalho desenvolvido por Villarroel et al. (2001), que isolaram o filifolinol (**2**) (Figura 1.1) de *Heliotropium huascoense*. Nesse caso, a atividade da substância isolada foi observada contra *Fusarium moniliforme* e *Aspergillus niger*.

De forma relativamente análoga, ao trabalhar com a planta *Sebastiania schottiana*, Cechinel Filho et al. (1996) isolaram a xantoxilina (**3**) (Figura 1.1), que se mostrou ativa contra *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. neoformans*, *Microsporum canis*, *Trochophytom rubrum*, *T. mentagrophytes*, *Epidermophytum floccosum*, *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *Penicillium* sp.

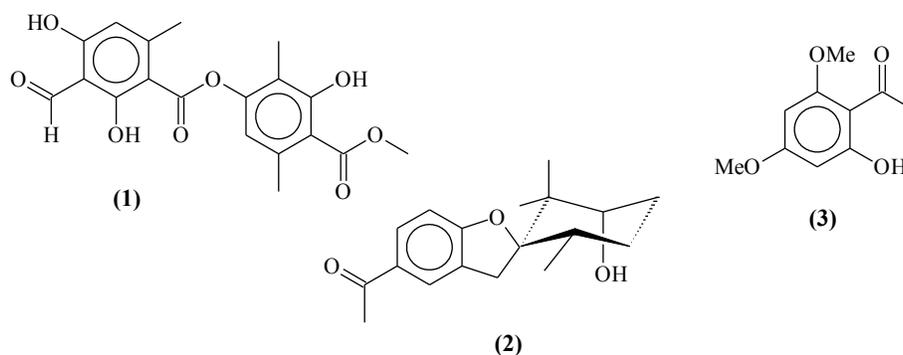


FIGURA 1.1: Substâncias isoladas de plantas com atividade fungitóxica.

Face aos problemas de resistência e aos efeitos colaterais que vários antibióticos apresentam (Harrison & Svec, 1998), a demanda por novos produtos com propriedades antibacterianas continua bastante elevado. Sabendo do potencial das plantas nesta área, vários grupos de pesquisa têm investido na identificação das espécies mais promissoras para o desenvolvimento de antibacterianos. Para exemplificar, pode-se citar o trabalho desenvolvido por Samy et al. (1999), que estudaram 16 plantas na Índia. Observaram vários resultados interessantes, com destaque para os extratos de *Tridax procumbens*, *Cleome viscosa*, *Acalypha indica* e *Boerhaavia*, que se mostraram consideravelmente ativos contra as bactérias *Aeromonas hydrophilla* e *Bacillus cereus*.

Também pode ser citado aqui o trabalho desenvolvido no Paquistão. Prepararam-se extratos de diversas plantas da família Cesalpiniaceae, para serem testados contra várias bactérias. Os melhores resultados foram obtidos com *Cassia alata* e *C. angustifolia*, cujos extratos metanólicos inibiram o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Corynebacterium diphtheriae* em 100% (Ali et al., 1999). De forma relativamente análoga, 29 plantas de uso popular em Trinidad e Tobago foram submetidas a testes *in vitro* com *Escherichia coli*,

Pseudomonas aeruginosa, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermitis* e *Enterococcus faecalis*. Observou-se que oito extratos apresentavam considerável efeito inibidor do crescimento de uma ou mais dessas bactérias (Chariandy et al., 1999). Várias plantas medicinais de Ruanda também foram submetidas a testes *in vitro* para identificar aquelas potencialmente úteis para a obtenção de novos produtos para o controle de bactérias patogênicas. Os melhores resultados foram obtidos com *Clerodendrum myricoides*, *Helichrysum cymosum*, *H. foetidum* e *Pavetta ternifolia* (Sindambiwe et al., 1999).

Em trabalho com *Phyllostachys edulis* o autor considerou os resultados tão satisfatórios, que decidiu patentear o uso de tal planta em formulações de cremes dentais. Segundo os dados apresentados, *P. edulis* apresenta considerável efeito sobre as bactérias do gênero *Streptococcus*, cujo controle é importante para evitar os processos cariogênicos (Oh, 2001).

São vários os trabalhos buscando purificar e identificar as substâncias com propriedades antibacterianas de origem vegetal. Cottiglia et al. (2001), por exemplo, isolaram várias substâncias do extrato metanólico de *Daphne gnidium*, que foi coletada na Itália. Dentre tais substâncias, destacam-se aqui a genkwanina (**1**) e a daphnetina (**2**) (Figura 1.2), que apresentaram atividade contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus lentus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. De forma análoga, pode-se mencionar o isolamento da deidrocostuslactona (**3**), do E-Fitol (**4**), da 12-dimetilmulticaulina (**5**) e da 6 β -hidroxikulactona (**6**) (Figura 1.2), a partir de *Saussurea lappa*, *Salvia multicaulis*, *Melia volkensii* e *Lucas volkensii*, respectivamente (Cantrell et al., 2001).

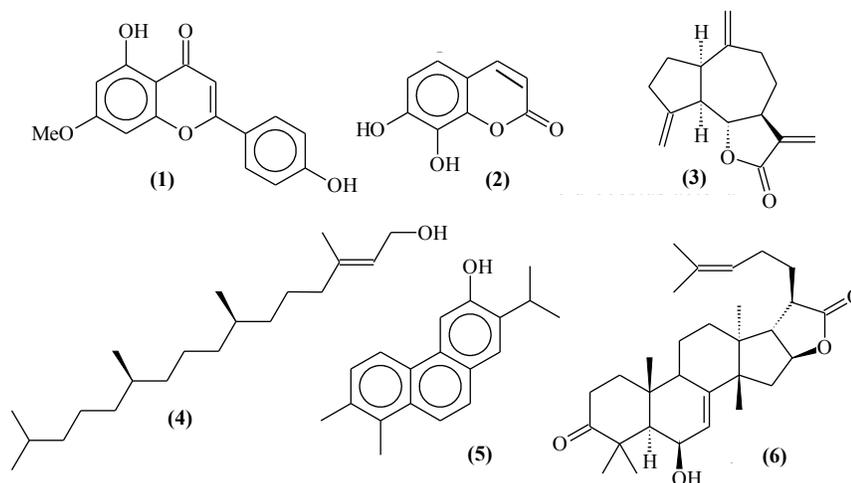


FIGURA 1.2: Substâncias com propriedades antibacterianas isoladas de plantas.

A descoberta de novas drogas antineoplásicas com atividade contra tumores malignos, principalmente os sólidos, é fundamental, pois os resultados obtidos com os quimioterápicos disponíveis são limitados. Para tanto, as plantas também representam fonte importante de substâncias (Younes et al., 2005). Isto pode ser evidenciado nos resultados de levantamentos estatísticos, segundo os quais 61% das drogas antineoplásicas aprovadas na década de 90, eram originadas ou derivadas de produtos naturais, sendo a maioria obtida a partir de plantas (Younes et al., 2005).

Diversas drogas antineoplásicas presentes no mercado foram descobertas por *screening* desenvolvido no *National Cancer Institute* – NCI/USA, como o paclitaxel (1), a elipticina (2), a camptotecina (3) e a harringtonina (4) (Figura 1.3), nos quais milhares de extratos foram avaliados. O paclitaxel, comercializado como Taxol[®], um diterpenóide extraído das cascas do caule de *Taxus brevifolia* (Taxaceae), é utilizado para o tratamento de câncer de ovário e mama (Katz, 2002; Wall & Wani, 1995). Por ser pouco abundante na

planta, não pode ser produzido comercialmente por extração direta da planta. Em decorrência, extrai-se a 10-desacetilbacatina III **(5)** (Figura 1.3), que é utilizada como precursor na síntese em laboratório do paclitaxel e do docetaxel **(6)** (Figura 1.3) (Schenkel et al., 2003). Este último, cujo nome comercial é Taxotere[®], apresenta o mesmo mecanismo de ação do Taxol[®] (Ringel & Horwitz, 1991).

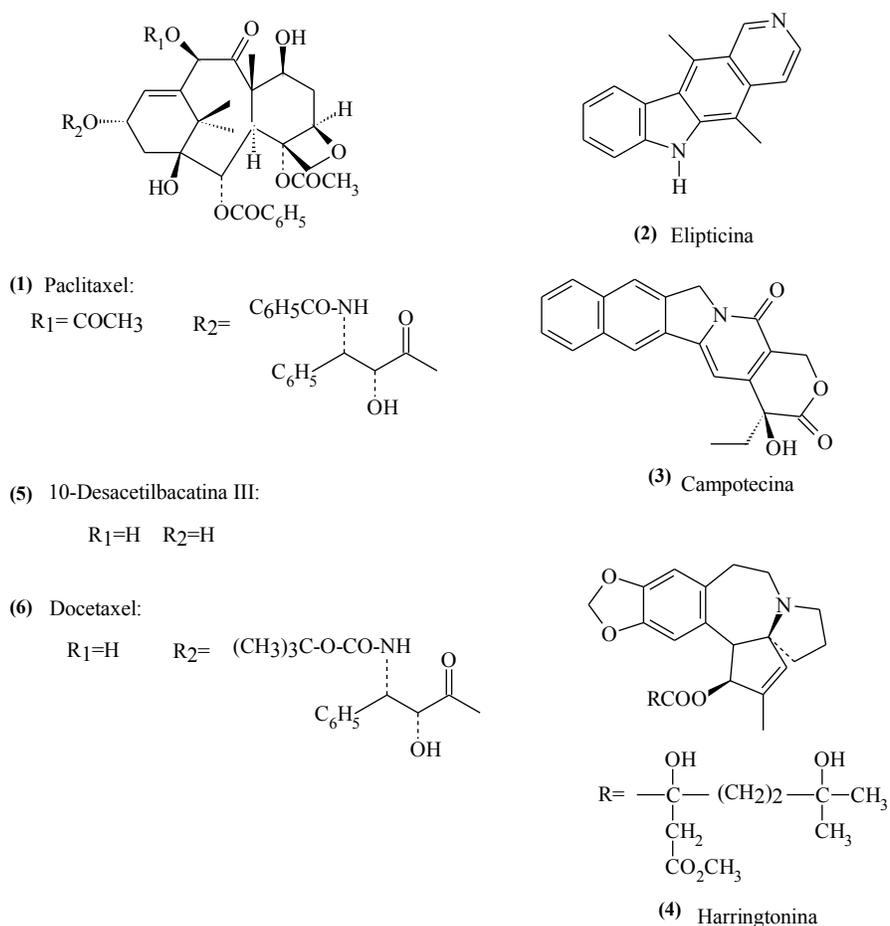


FIGURA 1.3: Substâncias anticancerígenas isoladas e derivadas de plantas.

Nos últimos anos, diversos estudos em diferentes países têm sido conduzidos para descoberta de antineoplásicos em plantas (Chattopadhyay et al., 2004; Hamada et al., 2004; Lau et al., 2004; Tan et al., 2005; Wu et al., 2002; Yin et al., 2004). Felizmente, há alguns grupos de pesquisa no Brasil que, com o apoio de entidades federais e estaduais, buscam implantar programas para a extração, identificação e testes com extratos de plantas da flora nacional para a identificação de atividade antineoplásica (Lopes, 2005; Nascimento, 2000; Younes et al., 2005).

Além das substâncias de origem vegetal e das espécies de plantas até aqui mencionadas, pode-se citar também aquelas que se encontram na Tabela 1.1. Trata-se, em todos os casos, de estruturas que tiveram grande uso na confecção de medicamentos. Em alguns casos, como o da pilocarpina, a substância ainda hoje é extraída de planta para a fabricação do medicamento correspondente.

TABELA 1.1: Fármacos obtidos a partir de matérias-primas vegetais.

Fármaco	Classe terapêutica	Espécie vegetal
Artemisinina	antimalárico	<i>Artemisia annua</i> L.
Atropina	anticolinérgico	<i>Atropa belladonna</i> L.
Capsaicina	anestésico tópico	<i>Capsicum</i> spp.
Colchicina	anti-reumático	<i>Colchicum autumnale</i> L.
Digoxina, digitoxina	glicosídeos cardíacos	<i>Digitalis purpúrea</i> L., <i>D. lanata</i> Ehrhart
Escopolamina	antiparkinsoniano	<i>Datura</i> spp.
Emetina	antiamebiano	<i>Cephaelis ipecacuanha</i> (Brot) A.Rich.
Pilocarpina	antiglaucomatoso	<i>Pilocarpus jaborandi</i> Holmes
Morfina	analgésico, antitussígeno	<i>Papaver somniferum</i> L.
Quinina	antimalárico	<i>Cinchona</i> spp.
Reserpina	anti-hipertensivo	<i>Rauwolfia</i> spp.
Tubocurarina	bloqueador neuromuscular	<i>Chondodendron tomentosum</i> Ruiz e Pavon
Vimblastina	antitumorais	<i>Catharanthus roseus</i> G. Don

(Schenkel et al.,1999).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHIM, D.; BRAGUINI, W. L.; KELMER-BRACHT, A. M.; ISHII-IWAMOTO, E. L. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. **Journal of Chemical Ecology**. New York, v. 26, n. 3, p. 611-624, Mar. 2000.

ABRAHIM, D.; TAKAHASHI, L.; KELMER-BRACHT, A. M.; ISHII-IWAMOTO, E. L. Effects of phenolic acids and monoterpenes on the mitochondrial respiration of soybean hypocotyls axes. **Allelopathy Journal**, Hisar, v. 11, n. 1, p. 21-30, Jan. 2003.

ALI, M. S.; AZHAR, I.; AMTUL, Z.; AHMAD, V. U.; USMANGHANI, K. Antimicrobial screening of some Cesalpiniaceae. **Fitoterapia**, Milano, v. 70, n. 3, p. 299-304, June 1999.

ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; MORAND, P. **Insecticide of plant origin**. Washington, DC: American Chemical Society, 1990. v. 387, 214 p.

ATHUKORALAGE, P. S.; HERATH, H. M. T. B.; DERANIYAGALA, S. A.; WIJESUNDERA, R. L. C.; WEERASINGHE, P. A. Antifungal constituent from *Gardenia dassanayakei*. **Fitopatoterapia**, Milano, v. 72, n. 5, p. 565-567, June 2001.

BALANDRIN, M. F.; KINGHORN, A. D.; FARNSWORTH, N. R. Plant-derived natural-products in drug discovery and development – an overview. **ACS Symposium Series**, Washington, v. 534, p. 2-12, 1993.

BELL, A.; FELLOWS, L. E.; SIMMONDS, M. S. J. Natural products from plants for the control of insect pests. In: HODGSON, E.; KUHR, R. J. **Safer insecticide development and use**. New York: Marcel Dekker, 1990. p. 337-383.

BIODIVERSITAS: Áreas prioritárias para conservação da flora de Minas Gerais. Disponível em: <<http://www.biodiversitas.org.br/noticias/>>. Acesso em: 13 fev. 2007.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 179-189, Feb. 2000.

CANTRELL, C. L.; FRANSBLAU, S. G.; FISCHER, N. H. Antimycobacterial plant terpenoids. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 67, n. 8, p. 685-694, Nov. 2001.

CASTRO, A. G. **Defensivos agrícolas como um fator ecológico**. Jaguariúna. EMBRAPA-CNPDA, 1989. (Documento, 6)

CECHINEL FILHO, V.; LIMA, E. O.; MORAIS, V. M. F.; GOMES, S. T. A.; MIGUEL, O. G.; YUNES, R. A. Fungicide and fungistatic effects of xanthoxyline. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 53, n. 3, p. 171-173, Sept. 1996.

CHARIANDY, C. M.; SEAFORTH, C. E.; PHELPS, R. H.; POLLARD, G. V.; KHAMBAY, B. P. S. Screening of medicinal plants from Trinidad e Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 64, n.3, p. 265-270, Mar. 1999.

CHATTOPADHYAY, P.; BESRA, S. E.; GOMES, A.; DAS, M.; SUR, P.; MITRA, S.; VEDASIROMONI, J. R. Anti-inflammatory activity of tea (*Camellia sinensis*) root extract. **Life Sciences**, Oxford, v. 15, n. 74, p. 1839-1849, Nov. 2004.

COLEY, P. D.; BARONE, J. A. Herbivory and plant defenses in tropical forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 27, p. 305-335, 1996.

COTTIGLIA, F.; LOY, G.; GARAU, D.; FLORIS, C.; CASU, M.; POMPEI, R.; BONSIGNORE, L. Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. **Phytomedicine**, Jena, v. 8, n. 4, p. 302-305, July 2001.

CZARNOTA, M. A.; PAUL, R. N.; DAYAN, F. E.; NIMBAL, C. I.; WESTON, L. A. Mode of action, localization of production, chemical nature, and activity of sorgoleone: a potent PS II inhibitor in *Sorghum* spp. root exudates. **Weed Technology**, Lawrence, v. 15, n. 4, p. 813-825, Oct./Dec. 2001.

DEVI, S. R.; PRASAD, M. N. V. Ferulic acid mediated changes in oxidative enzymes of maize seedlings: implications in growth. **Biological Plantarum**, Prague, v. 38, n. 3, p. 387-395, 1996.

DIEPENBROCK, W.; FOERSTER, K.; PFANNMOELLER, M.; WAHL, H. Composition for controlling pathogens, especially fungi, in or on plants or seeds, comprising solution or suspension obtained by treating *Isatis* genus plant material with water. **Patente número DE19962387-A1**, 26 de julho de 2001.

ERNST, E.; CHRUBASIK, S. Phyto-antiinflammatories. A systematic review of randomized, placebo-controlled, double-blind trials. **Complementary and Alternative Therapies for Rheumatic Diseases II**, Edinburgeh, v. 26, n. 1, p. 13-27, 2000.

FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS E FUNDAÇÃO ZOO-BOTÂNICA DE BELO HORIZONTE. **Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção da flora do Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte, 2000. 160 p.

GATEHOUSE, J. A. Plant resistance toward insect herbivores: a dynamic interaction. **New Phytologist**, Cambridge, v. 156, n. 2, p. 145-169, Nov. 2002.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. da Universidade UFRGS/Ed. da UFSC, 2003. cap. 1.

HAMADA, A.; YOSHIOKA, S.; TAKUMA, D.; YOKOTA, J.; CUI, T.; KUSUNOSE, M.; MIYAMURA, M.; KYOTANI, S.; NISHIOKA, Y. The effect of *Eriobotrya japonica* seed extract on oxidative stress in adriamycin-induced nephropathy in rats. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 27, n. 12, p. 1961-1964, 2004.

HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. Biocativity in plants – the link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry**, Oxford, v. 30, n. 12, p. 3864-3874, Dec. 1991.

HARRISON, J. W.; SVEC, T. A. The begining of the end of the antibiotic era ? Part II. Proposed solutions to antibiotic abuse. **Quintessence international**, Carol Stream, v. 29, n. 4, p. 223-229, Apr. 1998.

HOCHULI, D. F. Insect herbivory and ontogeny: How do growth and development influence feeding behavior, morphology and host use. **Austral Ecology**, Carlton, v. 26, n. 5, p. 563-570, 2001.

KATZ, S. Beneficial uses of plant pathogens: anticancer and drug agents derived from plant pathogens. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 24, n. 1, p. 10-13, Mar. 2002.

LAU, C. B. S.; HO, C. Y.; KIM, C. F.; LEUNG, K. N.; FUNG, K. P.; TSE, T. F.; CHAN, H. H. L.; CHOW, M. S. S. Cytotoxic activities of *Coriolus versicolor* (Yunzhi) extract on human leukemia and lymphoma cells by induction of apoptosis. **Life Sciences**, Oxford, v. 7, n. 75, p. 797-808, July 2004.

LIN, W. X.; KIM, K. U.; SHIN, D. H. Rice allelopathic potential and its modes of action on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). **Allelopathy Journal**, Hisar, v. 7, n. 2, p. 215-224, July 2000.

LOPES, R. J. Fiocruz testa plantas da mata atlântica no combate ao câncer. **Folha de São Paulo**, abr. 2003. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/folha/ciencia/ult306u8868.shtml>>. Acesso em: 30 ago. 2005.

MANN, J. **Secondary metabolism**. Oxford: Clarendon, 1995. 374 p.

MÜELLER, H. J. Wood preservative contg. plant extracts - with fungicidal and insecticidal activity. **Patente número DE19530894-A1**, 20 de fevereiro de 1997.

NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C.; SILVA, G. L. Antibacterial Activity of Plants Extracts and Phytochemicals on Antibiotic-Resistant Bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 247-256, Oct./Dec. 2000.

NIMBAL CI, YERKES CN, WESTON LA, WELLER SC: Herbicidal activity and site of action of the natural product sorgoleone. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 54, n. 1, p. 73-83, Jan. 1996.

OH, S. G. Toothpaste composition containing antibacterial plant extract. **Patente número KR2001028609-A**. 6 abr. 2001.

RINGEL, I.; HORWITZ, S. B. Studies with RP-56976 (Taxotere) – A semisynthetic analog of taxol. **Journal of the National Cancer Institute**, Bethesda, v. 83, n. 4, p. 288-291, Feb. 1991.

ROBBERS, J. E.; SPEEDI, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e farmacobiotecnologia**. São Paulo: Editora Premier, 1997.

SAMY, R. P.; IGNACIMUTHU, S.; RAJA, D. P. Preliminary screening of ethnomedicinal plants from India. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 66, n. 2, p. 235-240, Aug. 1999.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 1999. Cap. 15, p. 371.

SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P.R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. IN: SIMÕES, C.M.O. et al. (Org.). **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da Universidade UFRGS/Ed. da UFSC. cap.10, 2003.

SINDAMBIWE, J. B.; CALOMME, M.; COS, P.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A.; VANDEN BERGHE, D. Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 65, n. 1, p. 71-77, Apr. 1999.

TAN, M. L.; SULAIMAN, S. F.; NAJIMUDDIN, N.; SAMIAN, M. R.; MUHAMMAD, T. S. T. Methanolic extract of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae) induces apoptosis in breast carcinoma, T47-D cell line. **Journal of the Ethnopharmacology**, Clare, v. 96, n. 1/2, p. 287-294, Jan. 2005.

VILLARROEL, L.; TORRES, R.; URZÚA, A.; REINA, M.; CABRERA, R.; GONZÁLEZ-COLONIA, A. *Heliotropium huascoense* resin exudate: chemical constituents and defensive properties. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 64, n. 9, p. 1123-1126, Sept. 2001.

WALL, M. E.; WANI, M. C. Camptothecin and Taxol: discovery to clinic – Thirteenth Bruce F. Cain Memorial Award Lecture. **Cancer Research**, Philadelphia, v. 55, n. 4, p. 753-760, Feb. 1995.

WU, J.; WU, Y. J.; YANG, B. B. Anticancer activity of *Hemsleya amabilis* extract. **Life Sciences**, Oxford, v. 71, n. 18, p. 2161-2170, Sept. 2002.

YIN, X. L.; ZHOU, J. B.; JIE, C. F.; XING, D. M.; ZHANG, Y. Anticancer activity and mechanism of *Scutellaria barbata* extract on human lung cancer cell line A549. **Life Sciences**, Oxford, v. 75, n. 18, p. 2233-2244, Sept. 2004.

YOUNES, R. N.; VARELLA, A. D.; SUFREDINI, I. B. **Seleção, Extração e Identificação de Drogas novas Anticâncer de Plantas Brasileiras**. Disponível em: < http://www.heanc.org.br/acta/acta2k_2.html>. Acesso em: 28 de jul. de 2005.

YU, J. Q.; YE, S. F.; ZHANG, M. F.; HU, W. H. Effects of root exudates and aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*), and allelochemicals on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. **Biochemistry Systematic Ecology**, v. 31, p. 129-139, 2003.

ZANI, C. L. Brazil needs a national debate on bioprospecting. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 71, n. 2, p. 289-293, jun. 1999.

ZENG, R. S.; LUO, S. M.; SHI, Y. H.; SHI, M. B.; TU, C. Y. Physiological and biochemical mechanism of allelopathy of secalonic acid F on higher plants. **Agronomical Journal**, Madison, v. 93, n. 1, p. 72-79, Jan./Feb. 2001.

CAPÍTULO 2

ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE *Merremia tomentosa* (CHOISY) HALL. F. (CONVOLVULACEAE)

RESUMO

SANTOS JÚNIOR, Helvécio Martins dos. Estudo fitoquímico das folhas de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae). In: **Estudo fitoquímico das folhas de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae) e *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae)**. 2007. Cap.2. p.21-70. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Sabendo-se da escassez de estudos fitoquímicos de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), espécie de planta de ocorrência em regiões de cerrado do sul de Minas Gerais, o extrato metanólico das folhas de tal espécie foi submetido a diversos processos de fracionamentos visando à purificação e identificação de substâncias presentes nesta espécie para um melhor entendimento da mesma. Após extração com solventes e emprego de técnicas cromatográficas, as substâncias isoladas foram identificadas por espectrometria de ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas. Isolaram-se os isômeros *trans*-tilirosídeo e *cis*-tilirosídeo, e três substâncias ainda em fase de identificação.

Comitê Orientador: Denilson Ferreira Oliveira – UFLA (orientador).

ABSTRACT

SANTOS JÚNIOR, Helvécio Martins dos. Phytochemical study of leaves of *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae). In: **Phytochemical study of leaves of *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae) and *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae)**. 2007. Chap.2. p.21-70. Dissertation (Master in Agrochemistry and Agrobiochemistry) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Due to a scarcity of phytochemical studies about *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), a plant found in the bushy (“cerrado”) region of the south of Minas Gerais State (Brazil), the methanol extract from leaves of such species was submitted to various fractionating processes to purify and identify its metabolites in order to improve knowledge about this plant. After solvent extractions and the use of chromatographic techniques, the isolated substances were identified by nuclear magnetic resonance and mass spectrometry. The isomers *trans*-tiliroside and *cis*-tiliroside, as well as three other substances not identified yet were isolated.

Guidance Committee: Denilson Ferreira Oliveira – UFLA (Advisor).

1 INTRODUÇÃO

Sabe-se que as plantas são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muito dos quais se constituem em modelos para a síntese de várias substâncias de interesse comercial. Entretanto, há um grande número de espécies pouco estudadas no Brasil. Especialmente no Estado de Minas Gerais, cuja maior parte é coberta pelo bioma cerrado. Com vista a contribuir para mudar este quadro, buscou-se realizar um estudo fitoquímico das folhas de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), uma espécie pertencente ao cerrado mineiro, com propriedades etnofarmacológicas conhecidas popularmente.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A espécie *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f., pertencente à família Convolvulaceae, é conhecida popularmente como velame-do-campo. Na medicina popular é utilizada como depurativo do sangue na forma de infusão dos ramos com folhas e flores (Rodrigues & Carvalho, 2001).

Após uma exaustiva pesquisa na literatura, foi constatada que não havia estudos fitoquímicos desta espécie. Entretanto, encontraram-se alguns poucos estudos sobre espécies do mesmo gênero. Kitagawa et al. (1988), por exemplo, isolaram e elucidaram a estrutura de dois glicosídeos resinosos, merremosídeo B e D, do bulbo de *Merremia mamosa*. Desta mesma planta também foram isolados outros glicosídeos resinosos como os merremosídeos A, C, E, F, G e H (Kitagawa et al., 1996a; Kitagawa et al., 1996b). Outras substâncias isoladas desta espécie são os mamosídeos A, B e H (Kitagawa et al., 1997).

Já Tofem et al. (1999) conseguiram isolar das sementes de *M. quinquefolia* sete amidas pirrolidínicas alifáticas, sendo uma delas identificada como a 1-(14-metilexadecanoil) pirrolidina, um produto natural inédito na época, cuja estrutura é mostrada na Figura 2.1.

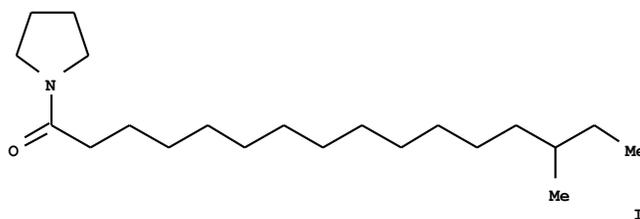


FIGURA 2.1: Amida pirrolidínica isolada de *Merremia quinquefolia*.

Estudando as folhas de *M. dissecta*, Nahrstedt et al. (1989) isolaram a prunasina e a 6'-*O*-malonilprunassina, sendo esta última o primeiro exemplo identificado de um grupo malonil conjugado a um glicosídeo cianogênico. Das sementes desta mesma espécie foram isolados a amigdalina e seus derivados inéditos até então: 6''-(4-hidroxi)benzoato e 6''-(4-hidroxi)-(E)-cinamato (Nahrstedt et al., 1990).

Buscando determinar a quimiotaxonomia de algumas espécies do gênero *Merremia* a partir da distribuição de alcalóides tropânicos, Jenett-Siems et al. (2005) isolaram de *M. dissecta* e *M. guerichii* quatro novos 3 α -aciloxitropanos: 3 α -(4-metoxibenzoiloxi) nortropano, 3 α -kurameroiloxitropano, 3 α -nervogenoiloxitropano e 3 α -[4-(β -D-glicopiranosiloxi)-3-metoxi-5-(3-metilbut-2-enil)benzoiloxi]tropano.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais e equipamentos utilizados

Empregaram-se: hexano, acetato de etila, metanol, etanol, ácido acético e ácido clorídrico de grau analítico (P.A.). A água empregada era destilada. Para as análises por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizaram-se placas de alumínio recobertas com sílica-gel (Alugram) ou com sílica-C18 (Merck) com indicador de fluorescência UV 254. Os reveladores empregados em tais análises foram: luz UV, vapor de iodo, solução de anisaldeído sulfúrico 2,5%, solução de sulfato cérico amoniacal e solução de ácido fosfomolibdico a 5% em etanol. Sílica-gel 60 (230-400 mesh, Merck) ou resina de poliestireno amberlite XAD-16 (Sigma) foram empregadas nos fracionamentos por cromatografia em coluna (CC). As análises em cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) foram realizadas em: aparelho Varian com detector de UV-Vis modelo ProStar 310, bomba ternária modelo ProStar 230, injetor manual; aparelho Varian equipado com detector de UV-Vis do tipo DAD modelo ProStar 330, bomba ternária modelo ProStar 230, injetor automático modelo ProStar 410; aparelho Shimadzu CLASS-LC10 com detector de UV-Vis do tipo DAD modelo SPD-10Ai, equipado com três bombas modelo LC10A, injetor automático modelo LC10 AutoSampler. Quanto aos fracionamentos em CLAE, foram feitos em aparelho Varian equipado com duas bombas modelo PrepStar SD1, com detector de UV-Vis modelo ProStar 320, com injetor manual. Todo o trabalho em CLAE foi realizado com colunas analíticas Phenomenex Luna Sílica-C18, Sílica-C8 ou Fenil-Hexil (5 μ m, 250 x 4,6 mm) ou com coluna preparativa Luna sílica-C18 (10 μ m, 250 x 21,2 mm). Para tanto, empregou-se água (H₂O) ultrapura do tipo I, metanol (MeOH) e acetonitrila (ACN) grau CLAE-UV..

3.2 Coleta de material botânico

Folhas de vários indivíduos de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae) foram coletadas no município de Lavras – MG e levadas ao Laboratório de Produtos Naturais, do Departamento de Química (DQI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde teve início o processo de purificação e identificação de substâncias da espécie. Uma amostra foi encaminhada ao Departamento de Biologia (DBI) da UFLA para identificação botânica por comparações com exsicatas no Herbário ESAL e consulta ao Professor Doutor Douglas Antônio de Carvalho do mesmo Departamento.

3.3 Obtenção do extrato bruto para purificação

As folhas coletadas foram secas em estufa com ventilação e renovação de ar, por no mínimo 48 horas, na temperatura de aproximadamente 40°C, para serem moídas e armazenadas em freezer. Obtiveram-se 577,3g de material seco e moído, que foi extraído exaustivamente com metanol por processos de maceração, conforme fluxograma apresentado na Figura 2.2, para resultar em 34,2g de extrato bruto liofilizado (Jr1-38-01).

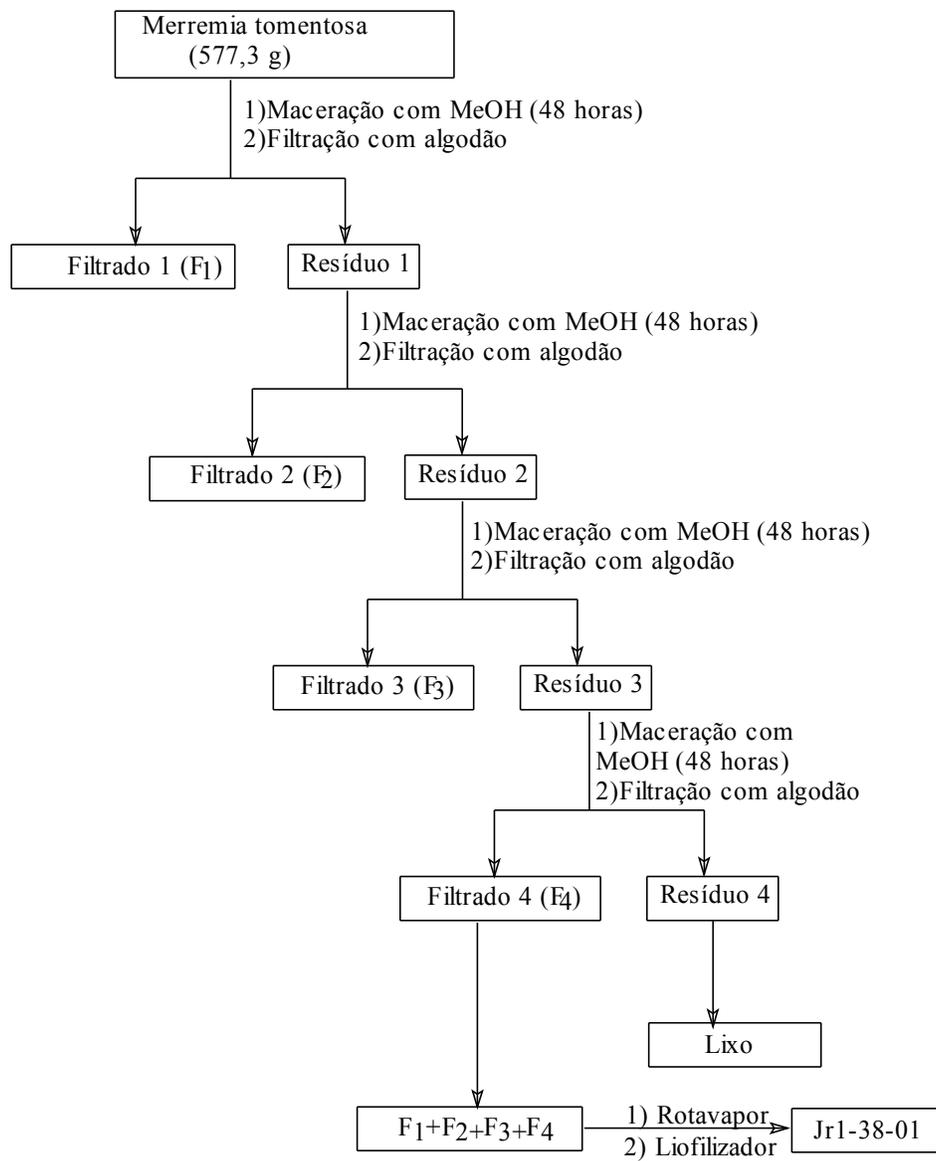


FIGURA 2.2: Metodologia de obtenção do extrato bruto metanólico das folhas secas e moídas de *Merremia tomentosa*.

3.4 Fracionamento do extrato bruto por extração com solventes

O fracionamento por extração com solventes do extrato bruto seco das folhas de *Merremia tomentosa* (Jr1-38-01) seguiu o esquema mostrado na Figura 2.3.

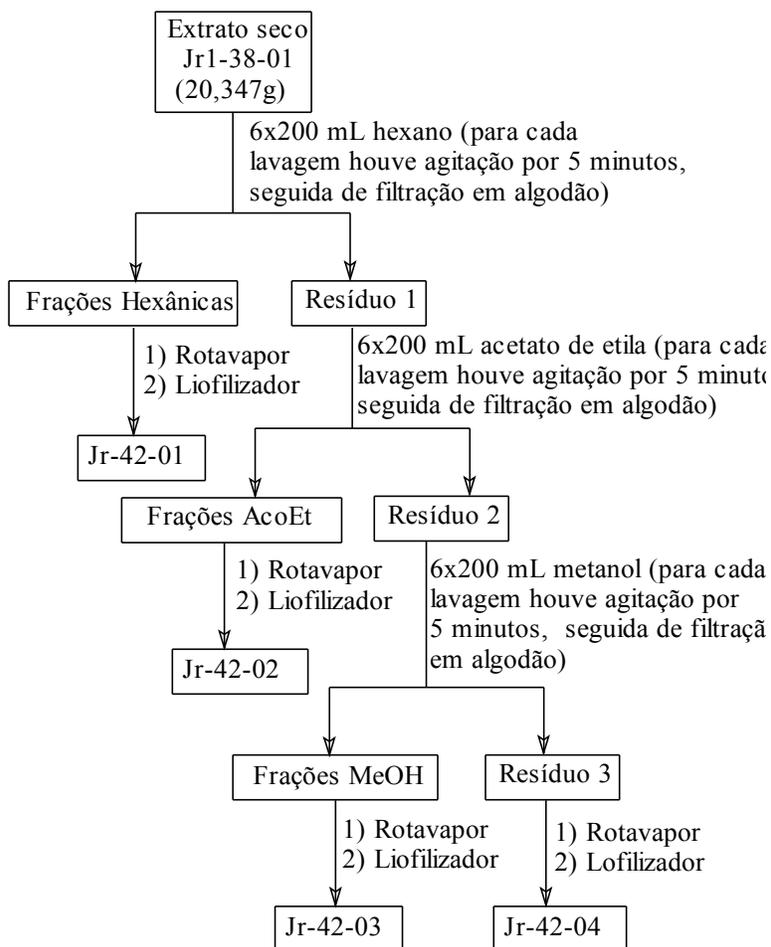


FIGURA 2.3: Fluxograma do fracionamento por extração com solventes de Jr1-38-01.

3.5 Fracionamento da fração solúvel em hexano (Jr1-42-01)

3.5.1 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-42-01

A fração solúvel em hexano (Jr1-42-01), obtida do fracionamento por extração com solventes do extrato bruto de *Merremia tomentosa* (item 3.4), foi analisada por CCD em placas com sílica gel, empregando-se como eluente hexano/acetato de etila em diferentes proporções, o que permitiu obter vários perfis cromatográficos. Posteriormente, parte da fração Jr1-42-01 foi submetida a novo fracionamento por cromatografia em coluna do tipo *flash* com 3 x 15cm de sílica gel 60. Para tanto, 903,7 mg de Jr1-42-01 foram dissolvidos em aproximadamente 5 mL de hexano e a solução resultante foi adicionada ao topo da coluna.

Através da coluna, com fluxo aproximado de 2,5 cm/min, eluíram-se hexano (200 mL), hexano:acetato de etila (30:1, 200 mL; 10:1, 200 mL, 7:1, 200 mL, 4:1, 200 mL, 1:1, 200 mL), acetato de etila (200 mL), metanol (300 mL), água (200 mL) e solução de ácido clorídrico em água destilada a 0,1 mol/L (200 mL). Foram coletadas noventa e seis frações de 20 mL que, após serem analisadas por CCD em placas com sílica gel, foram combinadas por similaridade, concentradas e liofilizadas, resultando em quatorze frações (Jr1-57-01 a Jr1-57-14, Tabela 2.3 do item 4.3.1). Também foi obtida uma fração de aproximadamente 200 mL, resultante da passagem do último eluente na coluna que, após análise por CCD, foi desprezada por não apresentar qualquer mancha com os reveladores utilizados (item 3.1).

3.5.2 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-57-05

Após análise por CCD em sílica para otimização dos eluentes a serem empregados na cromatografia em coluna, Jr1-57-05 (97,3 mg) foi dissolvida em aproximadamente 1,2 mL de hexano/acetato de etila (30:1) para ser adicionada

ao topo de uma coluna com 2 x 15cm de sílica gel 60. Através da coluna, com fluxo aproximado de 2,5 cm/min, eluíram-se hexano/acetato de etila (30:1, 200 mL; 25:1, 60 mL; 20:1, 60 mL; 15:1, 60 mL; 5:1, 200 mL), acetato de etila (100 mL), metanol (100 mL) e água (100 mL). Foram coletadas sessenta e oito frações de 10 mL que, após serem analisadas por CCD em placas com sílica-gel, foram agrupadas conforme a semelhança, concentradas e liofilizadas, resultando em dez frações (Jr1-69-01 a Jr1-69-10, Tabela 2.4 do item 4.3.2). Como a fração Jr1-69-06 (7,8 mg) se apresentava pura segundo análises por CCD em sílica gel, foi submetida a análises espectrométricas por RMN de ^1H e ^{13}C , através de experimentos unidimensionais e bidimensionais, e espectrometria de massas (itens 3.8 e 4.6), confirmando a pureza de tal fração (item 4.3.2). Também se obtiveram duas frações de aproximadamente 100 mL cada, resultantes da passagem dos dois últimos eluentes na coluna. Após análise por CCD, foi desprezado por não apresentarem qualquer mancha com os reveladores utilizados (item 3.1).

3.6 Fracionamento da fração solúvel em acetato de etila (Jr1-42-02)

3.6.1 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-42-02

A fração solúvel em acetato de etila (Jr1-42-02), obtida do fracionamento por extração com solventes do extrato bruto de *Merremia tomentosa* (item 3.4), foi analisada por CCD em placas com sílica gel, empregando-se como eluente hexano, acetato de etila e metanol em diferentes proporções, o que resultou em vários perfis cromatográficos. Em seguida, parte da fração Jr1-42-02 foi submetida a novo fracionamento por cromatografia em coluna do tipo *flash* com 3 x 15cm de sílica gel 60. Parte de Jr1-42-02 (906,0 mg) foi pulverizada em almofariz com cerca de 2 g de sílica gel e acrescentada ao topo da uma coluna. Através desta, com fluxo aproximado de 2,5 cm/min,

eluíram-se hexano/acetato de etila (10:1, 200 mL; 3:1, 400 mL; 2:1, 200 mL; 1:1, 200 mL), acetato de etila (200 mL), metanol (200 mL) e água (500 mL). Coletaram-se setenta e oito frações de aproximadamente 20 mL que, após serem analisadas por CCD em placas recobertas com sílica-gel, foram agrupadas conforme a semelhança, concentradas e liofilizadas, resultando em dez novas frações (Jr1-78-01 a Jr1-78-10, Tabela 2.5 do item 4.4.1). Também se obteve uma fração de aproximadamente 500 mL resultante da passagem do último eluente na coluna que, após análise por CCD, foi desprezada por não apresentar qualquer mancha com os reveladores utilizados (item 3.1).

3.6.2 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-78-07

Inicialmente, a fração Jr1-78-07, obtida do fracionamento anterior (item 3.6.1) foi analisada por CCD em placas com sílica gel para otimização dos eluentes a serem empregados na cromatografia em coluna. Em seguida, tal fração (279,0 mg) foi pulverizada em almofariz com cerca de 600 mg de sílica gel e acrescentada ao topo da coluna de 3 x 15cm de sílica gel previamente empacotada com hexano/acetato de etila (5:2).

Através da coluna, com fluxo aproximado de 2,5 cm/min, eluíram-se hexano/acetato de etila (5:2, 1500 mL), metanol (300 mL) e água (500 mL). Foram coletadas setenta e oito frações de aproximadamente 20 mL e uma fração de aproximadamente 240 mL correspondente à passagem de metanol. Após análises por CCD em placas com sílica-gel, as frações foram agrupadas conforme a semelhança, concentrada e liofilizadas, resultando em oito frações (Jr1-84-01 a Jr1-84-08, Tabela 2.6 do item 4.4.2). Também se obteve uma fração de aproximadamente 500 mL resultante da passagem do último eluente na coluna que, após análise por CCD, foi desprezada por não apresentar qualquer mancha com os reveladores utilizados (item 3.1). Por terem apresentado semelhança, as frações Jr1-84-04, Jr1-84-05, Jr1-84-06 e Jr1-84-07 (Tabela 2.6

do item 4.4.2) foram combinadas, resultando em uma nova fração denominada Jr1-84-09 (156,6 mg) (item 4.4.2).

3.6.3 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-84-09

Inicialmente, a fração Jr1-84-09 citada no item anterior (item 3.6.2) foi analisada por CCD em placas com sílica gel para otimização dos eluentes a serem empregados na cromatografia em coluna. Em seguida, toda a fração (156,6 mg) foi pulverizada em almofariz com cerca de 380 mg de sílica gel e acrescentada ao topo da coluna de 3 x 15cm de sílica gel previamente empacotada com hexano/acetato de etila (1:1). Através da coluna, com fluxo aproximado de 2,5 cm/min, eluíram-se hexano/acetato de etila (1:1, 600 mL), metanol (300 mL) e água (500 mL). Foram coletadas trinta frações de aproximadamente 20 mL e uma fração de aproximadamente 300 mL, correspondente à passagem do metanol. Após análises por CCD em placas com sílica gel, as frações foram agrupadas conforme a semelhança, concentradas e liofilizadas, resultando em quatro frações (Jr1-86-01 a Jr1-86-04, Tabela 2.7 do item 4.4.3). Também se obteve uma fração de aproximadamente 500 mL resultante da passagem do último eluente na coluna que, após análise por CCD, foi desprezada por não apresentar qualquer mancha com os reveladores utilizados (item 3.1).

3.6.4 Fracionamento por extração com solventes de Jr1-86-02

O fracionamento por extração com solventes de Jr1-86-02, obtida no item anterior (item 3.6.3), com vistas a purificar a substância majoritária presente em tal fração, seguiu o esquema apresentado na Figura 2.4 abaixo. O procedimento foi monitorado por CCD em placas com sílica gel, resultando em seis frações (Tabela 2.8 do item 4.4.4). A última etapa da extração resultou nas frações Jr1-98-08 (5,4mg solúvel) e Jr1-98-01 (22,5 mg, insolúvel) (Figura 2.4),

sendo que esta última apresentava apenas uma única mancha em análise por CCD em sílica, orientando o final da extração. A seguir, Jr-98-01 foi analisada por RMN ^1H e ^{13}C , através de experimentos unidimensionais e bidimensionais, e espectrometria de massas (itens 3.8 e 4.6), confirmando a pureza de tal fração (item 4.4.4).

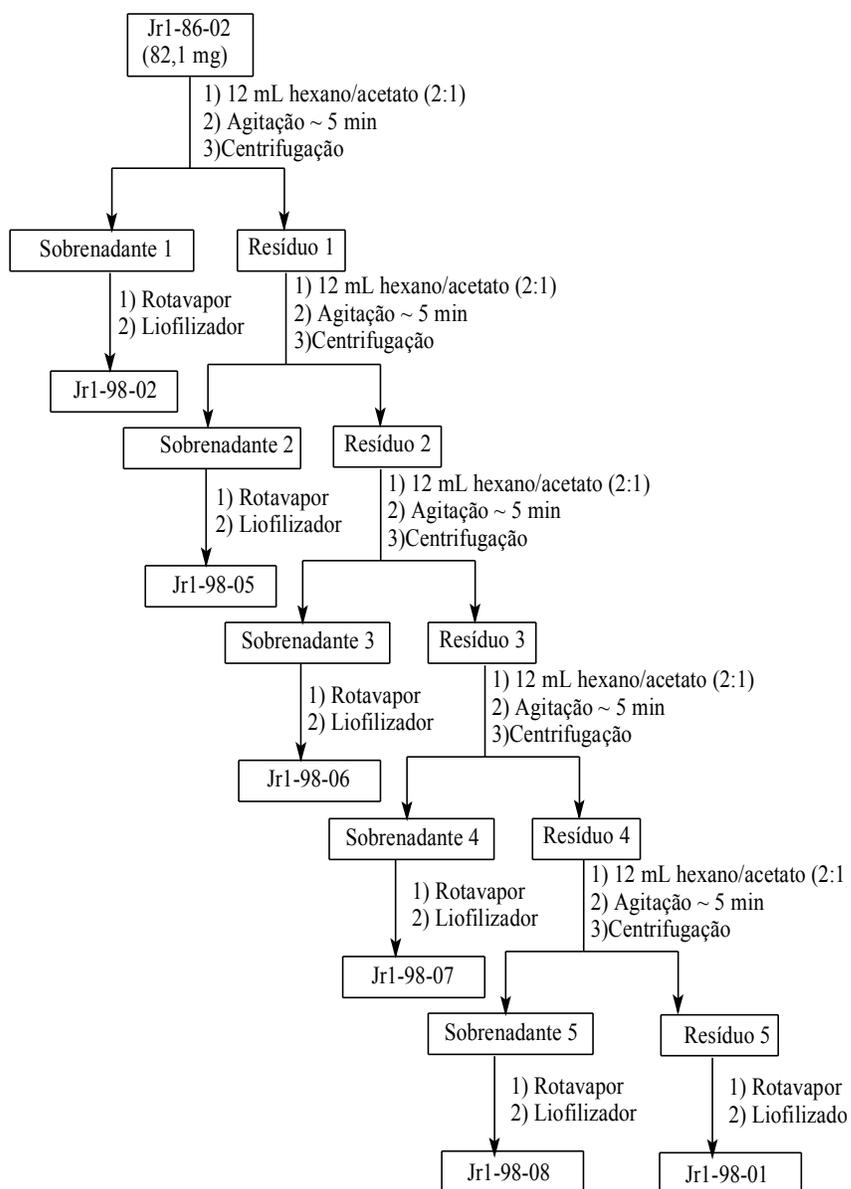


FIGURA 2.4: Fluxograma do fracionamento por extração com solventes de Jr1-86-02.

3.7 Fracionamento da fração solúvel em metanol (Jr1-42-03)

3.7.1 Cromatografia líquida em coluna de XAD-16 de Jr1-42-03

Parte (5,03 g) de Jr1-42-03 (fração solúvel em metanol do extrato bruto de *Merremia tomentosa*, item 3.4) foi solubilizada em metanol e colocada em balão de fundo redondo com cerca de 10 g de resina XAD-16. Retirou-se o solvente em evaporador rotatório e adicionou-se o resíduo ao topo de uma coluna com 4 x 10cm de resina XAD-16. Através da coluna eluíram-se água (200 mL), água/metanol (80:20, 200 mL; 60:40, 200 mL; 40:60, 200 mL; 80:20, 200 mL), metanol (200 mL), metanol/acetato de etila (50:50, 200 mL) e acetato de etila (200 mL). Coletaram-se oito frações (Jr1-111-01 a Jr1-111-08, Tabela 2.9 do item 4.5.1) de aproximadamente 200 mL, que foram analisadas em CLAE-DAD (coluna sílica-C18 Phenomenex Luna 5 μ m, 250 x 4,6 mm; gradiente de H₂O:MeOH 5% a 100% MeOH em 40 minutos, 100% de MeOH de 40 a 55 minutos; fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm; injeção de 20 μ L na concentração de 1 mg/mL de material dissolvido em metanol). Os resultados (item 4.5.1) a 254 nm demonstraram similaridade entre as frações Jr1-111-01 à Jr1-111-03 e entre as frações Jr1-111-04 à Jr1-111-08, conforme descrito no item 4.5.1. O perfil químico das frações Jr1-111-01 e Jr1-111-07, representativas das frações similares descritas acima (Jr1-111-01 à Jr1-111-03 e Jr1-111-04 e Jr1-111-08) foram obtidos por experimentos de RMN ¹H em DMSO-*d*₆ (item 4.5.1).

3.7.2 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo das frações Jr1-111-06 e Jr1-111-07

Após ajuste das condições em CLAE-UV-Vis, as frações semelhantes Jr1-111-06 e Jr1-111-07 (item 3.7.1) foram fracionadas em CLAE-UV-Vis preparativo, utilizando-se coluna preparativa de sílica-C18 Phenomenex Luna 10

μm , 250 x 21,2 mm, eluição isocrática com solução aquosa de AcOH 0,5%:ACN (74:26) por 40 minutos, fluxo de 20 mL/minuto e detecção a 254 nm. Para tanto, parte de Jr1-111-06 (324,1 mg) foi dissolvida em 22 mL de solução aquosa de AcOH 0,5%:ACN (74:26), obtendo-se uma concentração de aproximadamente 15 mg/mL de material, sendo realizadas injeções de 2 mL cada (cerca de 30 mg por injeção). Para a fração Jr1-111-07, 325,8 mg foram solubilizados em 20 mL de solução aquosa de AcOH 0,5%:ACN (74:26), obtendo-se concentração de aproximadamente 16 mg/mL de material, sendo realizadas injeções de 2 mL cada (cerca de 32 mg por injeção). Em ambos os casos coletaram-se seis frações (Jr1-117-01 a Jr1-117-06, Tabela 2.10 do item 4.5.2) que, após análise por CLAE-DAD (coluna sílica-C18 Phenomenex Luna 5 μm , 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com solução aquosa de AcOH 0,5%:ACN (74:26) em 40 minutos; fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm; injeção de 20 μL na concentração de 1 mg/mL de material dissolvido em metanol) (item 4.5.2), foram solubilizadas em DMSO- d_6 e submetidas a análise por RMN ^1H . Com isso, observou-se que as frações Jr1-117-01, Jr1-117-05 e Jr1-117-06 estavam puras (item 4.5.2).

3.8 Elucidação estrutural das substâncias isoladas

A elucidação estrutural das substâncias isoladas foi feita por meio de espectrometria de massas (EM) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).

3.8.1 Espectrometria de massas

Foram feitas análises no modo positivo e no modo negativo, do tipo MS¹, MS² e MS³, em aparelho Agilent 1100 LC/MS Trap equipado com interface do tipo *electrospray* (EM-ES).. As fragmentações foram induzidas por colisões contra Hélio. Cerca de 0,5mg das substâncias isoladas foram

dissolvidas em 1 mL de metanol/água (9:1), injetando-se 20 µL diretamente na interface com fluxo interface de 5 µL/min de metanol/água (9:1), pressão do nebulizador de 15 psi (pound-force per square inch), fluxo de nitrogênio (N₂, gás de secagem) de 5 L/min e temperatura de secagem de 325°C.

3.8.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

As análises por RMN foram realizadas em espectrômetro Varian Inova 500, operando a 500 MHz para ¹H e 126 MHz para ¹³C. A substância Jr1-69-06 foi dissolvida em CDCl₃. Já as substâncias Jr1-98-01, Jr1-117-01, Jr1-117-05 e Jr1-117-06 foram dissolvidas em DMSO-*d*₆. Realizaram-se experimentos unidimensionais e bidimensionais, empregando-se os picos dos solventes como referência: δ_H 7,26 e δ_C 77,0 para CDCl₃ e δ_H 2,49 e δ_C 39,5 para DMSO-*d*₆.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fluxograma da Figura 2.5 resume os procedimentos realizados durante o fracionamento do extrato bruto metanólico das folhas de *Merremia tomentosa*.

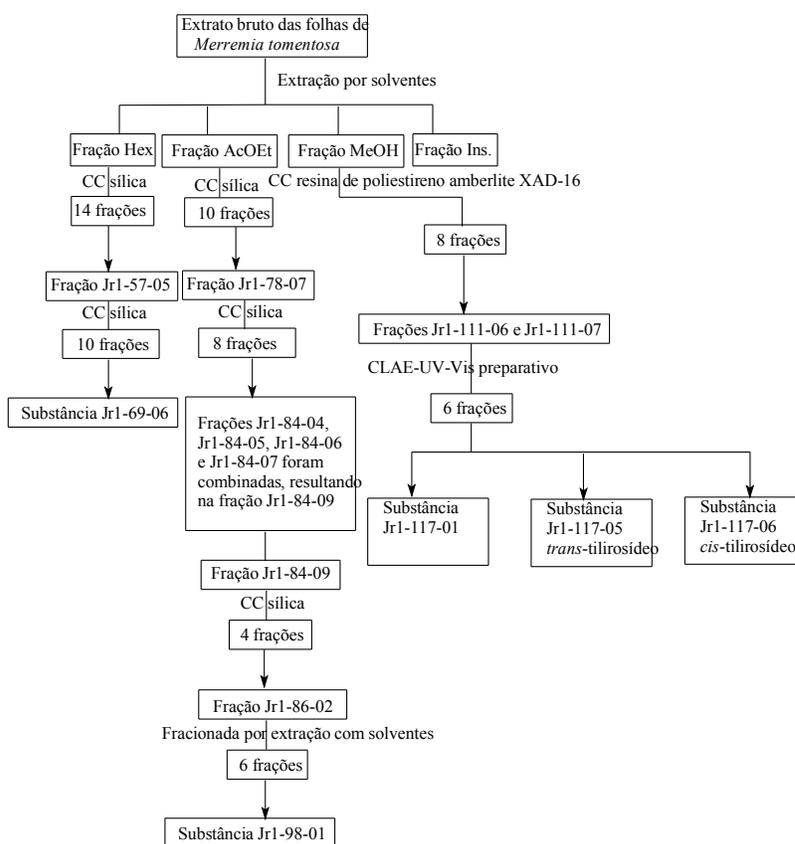


FIGURA 2.5: Resumo dos procedimentos realizados na purificação do extrato bruto metanólico das folhas de *Merremia tomentosa*.

4.1 Extrato bruto das folhas de *Merremia tomentosa*

Ao se submeter 577,3g de folhas secas e moídas de *Merremia tomentosa* à extração com metanol (item 3.3), obtiveram-se 34,2g de extrato liofilizado (Jr1-38-01), com rendimento de aproximadamente 5,9%, conforme dados apresentados na Tabela 2.1.

TABELA 2.1: Características das folhas secas e do extrato metanólico delas obtido de *Merremia tomentosa*.

Folhas de <i>Merremia tomentosa</i>		
Material seco	Massa	577,3g
	Característica	Pó verde musgo de baixa densidade
Extrato liofilizado (Jr1-38-01)	s	
	Massa	34,2g
	Rendimento	Aproximadamente 5,9%
	Característica	Pó verde escuro homogêneo
	s	

4.2 Fracionamento do extrato bruto por extração com solventes

O fracionamento por extração com solventes do extrato bruto de *Merremia tomentosa* (Jr1-38-01, item 3.4) resultou em quatro novas frações (Tabela 2.2), dentre as quais a de metanol (Jr1-42-03) era a de maior massa, correspondendo a cerca de 67,7%.

TABELA 2.2: Massas, porcentagens e aspectos das frações obtidas da extração por solventes do extrato bruto de *Merremia tomentosa* (Jr1-38-01).

Código frações obtidas	Solvente extrator	Massa (g)	Percentual (%)	Coloração/Aspecto
Jr-42-01	Hexano	4,34	24,5	Verde escuro/oleoso
Jr-42-02	Acetato de etila	1,09	6,2	Verde musgo/pó
Jr-42-03	Metanol	12,01	67,7	Marrom esverdeado/pó
Jr-42-04	Insolúvel em Metanol	0,29	1,6	Marrom/pó

4.3 Fracionamento da fração do extrato bruto de *Merremia tomentosa* solúvel em hexano (Jr1-42-01)

4.3.1 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-42-01

Dentre as várias frações obtidas após eluição de Jr1-42-01 (Tabela 2.3) através de coluna de sílica gel, conforme descrito no item 3.5.1, observou-se que a denominada Jr1-57-05 era a única que apresentava boa resolução nas análises por CCD e massa suficiente, sendo submetida a novo fracionamento conforme descrito no item 3.5.2.

TABELA 2.3: Frações combinadas da cromatografia em coluna de Jr1-42-01.

Frações Combinadas	Fração resultante	Massa (mg)
1,2,3,4,5	Jr-57-01	6,0
6,7,8,9,10,11	Jr-57-02	7,0
12,13,14,15	Jr-57-03	2,7
16,17,18,19,20,21,22,23,24	Jr-57-04	1,5
25,26,27,28,29	Jr-57-05	97,3
30,31,32,33,34,35	Jr-57-06	63,0
36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48	Jr-57-07	142,6
49,50,51,52,53,54,55,56	Jr-57-08	77,1
57,58,59	Jr-57-09	72,0
60,61,62,63,64,65	Jr-57-10	50,2
66,67,68,69,70	Jr-57-11	59,9
71,72,73,74,75	Jr-57-12	8,6
76,77,78,79,80,81,82,83,84,85	Jr-57-13	189,8
86,87,88,89,90,91,92,93,94,95,96	Jr-57-14	16,4

4.3.2 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-57-05

Análise por CCD em placa com sílica gel das frações combinadas, obtidas do fracionamento em coluna de sílica gel de Jr1-57-05 (item 3.5.2; Tabelas 2.4) permitiram observar que apenas a denominada Jr1-69-06 (7,8 mg) se tratava de uma substância pura. Tal resultado foi confirmado por análises espectrométricas de RMN de ^1H e ^{13}C , através de experimentos unidimensionais e bidimensionais, e espectrometria de massas. Tal substância ainda se encontra em fase de identificação (itens 3.8 e 4.6).

TABELA 2.4: Frações combinadas da cromatografia em coluna de sílica gel de Jr1-57-05.

Frações	Fração resultante	Massa (mg)
----------------	--------------------------	-------------------

Combinadas		
1 - 3	Jr1-69-01	0,1
4 - 6	Jr1-69-02	46,5
7 - 8	Jr1-69-03	13,5
9 - 11	Jr1-69-04	12,4
12 - 19	Jr1-69-05	13,7
20 - 28	Jr1-69-06	7,8
29 - 38	Jr1-69-07	4,1
39 - 42	Jr1-69-08	0,6
43 - 45	Jr1-69-09	0,6
46 - 68	Jr1-69-10	2,7

4.4 Fracionamento da fração do extrato bruto de *Merremia tomentosa* solúvel em acetato de etila (Jr1-42-02)

4.4.1 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-42-02

Segundo análise por CCD em placa com sílica gel, a fração solúvel em acetato de etila (Jr1-42-02), obtida do fracionamento por extração com solventes do extrato bruto de *Merremia tomentosa* (item 3.4), apresentava uma substância majoritária com R_f (fator de retenção) igual a 0,35 em placas com sílica gel e hex/AcOEt (3:1). Logo o fracionamento foi realizado com o objetivo de purificar tal substância. Obtiveram-se dez frações (Tabela 2.5), dentre as quais aquela denominada Jr1-78-07 continha a substância desejada segundo análises por CCD. Como ainda não se encontrava pura, foi submetido a novo fracionamento conforme descrito no item 3.6.2.

TABELA 2.5: Frações combinadas da cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-42-02.

Frações Combinadas	Fração resultante	Massa (mg)
1 - 4	Jr1-78-01	1,8
5 - 6	Jr1-78-02	11,8
7 - 12	Jr1-78-03	10,4
13 - 15	Jr1-78-04	1,9
16 - 18	Jr1-78-05	53,3
19 - 23	Jr1-78-06	39,6
24 - 57	Jr1-78-07	279,0
58 - 65	Jr1-78-08	45,2
66 - 68	Jr1-78-09	364,2
69 - 78	Jr1-78-10	39,5

4.4.2 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-78-07

Análise por CCD das frações combinadas (item 3.6.2; Tabela 2.6) deixaram evidente que a substância de interesse presente em Jr1-78-07(item 4.4.1) ainda não se encontrava pura. Logo, optou-se por combinar as frações contendo esta substância (Jr1-84-04, Jr1-84-05, Jr1-84-06 e Jr1-84-07), o que resultou em uma nova fração denominada Jr1-84-09 (156,6 mg).

TABELA 2.6: Frações combinadas da cromatografia líquida em coluna de sílica gel da fração Jr1-78-07.

Frações Combinadas	Fração resultante	Massa (mg)
1 - 9	Jr1-84-01	10,2
10 - 13	Jr1-84-02	4,5
14 - 17	Jr1-84-03	16,8
18 - 26	Jr1-84-04	66,8
27 - 37	Jr1-84-05	41,0
38 - 52	Jr1-84-06	27,5
53 - 78	Jr1-84-07	21,3
MeOH	Jr1-84-08	113,5

4.4.3 Cromatografia líquida em coluna de sílica gel de Jr1-84-09

Dentre as quatro novas frações obtidas a partir de Jr1-84-09 (item 3.6.3; Tabela 2.7), a denominada Jr1-86-02 apresentava maior massa e grau de pureza da substância desejada. Logo escolhida para dar continuidade ao processo (3.6.4).

TABELA 2.7: Frações combinadas da cromatografia líquida em coluna de sílica gel da fração Jr1-84-09.

Frações combinadas	Fração resultante	Massa (mg)
1 – 8	Jr1-86-01	19,7
9 – 15	Jr1-86-02	82,1
16 – 30	Jr1-86-03	26,7
MeOH	Jr1-86-04	33,6

4.4.4 Fracionamento por extração com solventes de Jr1-86-02

O fracionamento de Jr1-86-02 por extração com solventes (item 3.6.4; Tabela 2.8; Figura 2.4) teve prosseguimento até que na fase insolúvel só fosse observada a presença de uma substância segundo análise por CCD em placa de sílica. Tal amostra, denominada Jr1-98-01 (22,5 mg), teve sua pureza confirmada por análises espectrométricas e ainda se encontra em fase de identificação (itens 3.8 e 4.6).

TABELA 2.8: Frações obtidas da extração por solventes de Jr1-86-02.

Código frações obtidas	Solvente extrator	Massa (mg)
Jr1-98-01	insolúvel hexano/acetato de etila	22,5

	(2:1)	
Jr1-98-02	hexano/acetato de etila (2:1)	22,9
Jr1-98-05	hexano/acetato de etila (2:1)	11,2
Jr1-98-06	hexano/acetato de etila (2:1)	8,1
Jr1-98-07	hexano/acetato de etila (2:1)	7,4
Jr1-98-08	hexano/acetato de etila (2:1)	5,4

4.5 Fracionamento da fração do extrato bruto de *Merremia tomentosa* solúvel em metanol (Jr1-42-03)

4.5.1 Cromatografia líquida em coluna de resina de poliestireno amberlite XAD-16 de Jr1-42-03

TABELA 2.9: Frações obtidas do fracionamento em coluna de resina de polietireno amberlite XAD-16 da fração solúvel em metanol (Jr1-42-03).

Código frações obtidas	Eluente	Massa (mg)
Jr-111-01	H ₂ O	2658,5
Jr-111-02	H ₂ O/MeOH 80:20	322,7
Jr-111-03	H ₂ O/MeOH 60:40	244,1
Jr-111-04	H ₂ O/MeOH 40:60	169,2
Jr-111-05	H ₂ O/MeOH 20:80	229,0
Jr-111-06	MeOH	359,6
Jr-111-07	AcOEt/MeOH 50:50	927,0
Jr-111-08	AcOEt	131,5

Ao se analisar as frações obtidas (item 3.7.1; Tabela 2.9) por CLAE-DAD analítico, conforme descrito no item 3.7.1, observou-se que poderiam ser agrupadas por similaridade em dois conjuntos de acordo com os perfis cromatográficos obtidos: frações Jr1-111-01 à Jr1-111-03 e frações Jr1-111-04 à Jr1-111-08, conforme apresentado na Figura 2.6. No perfil químico via RMN ^1H em $\text{DMSO-}d_6$ obtido para a fração Jr1-111-01 (Figura 2.7), representativa do conjunto Jr1-111-01 à Jr1-111-03, os sinais entre δ_{H} 5,0 e δ_{H} 2,5 demonstram a presença de hidrogênios ligados a átomos de carbonos de carboidratos, indicando que o fracionamento em XAD-16 foi eficiente na remoção de açúcares da fração solúvel em metanol (Jr1-42-03, item 3.4). Já o perfil químico obtido via RMN ^1H em $\text{DMSO-}d_6$ para a amostra Jr1-111-07 (Figura 2.8), representativa do conjunto Jr1-111-04 à Jr1-111-08, apresentava sinais entre δ_{H} 8,2-6,0 e δ_{H} 4,0-3,0, o que sugeria a presença de sistemas aromáticos conectados a carboidratos.

Considerando-se as massas das frações obtidas no fracionamento em coluna de XAD-16 (Tabela 2.9), o perfil cromatográfico via CLAE-DAD (Figura 2.6) e o perfil químico via RMN ^1H (Figuras 7 e 8), optou-se por selecionar as frações Jr1-111-06 e Jr1-111-07 para serem purificadas em CLAE-UV-Vis preparativo conforme descrito no item 3.7.2. Segundo o perfil químico via RMN ^1H (Figura 2.8), tais frações pareciam ser compostas por substâncias com estruturas que poderiam ser de interesse do grupo de pesquisa no qual o trabalho se encontrava em andamento.

	Jr1-111-01
	Jr1-111-02
	Jr1-111-03
	Jr1-111-04
	Jr1-111-05
	Jr1-111-06



FIGURA 2.6 Cromatogramas analíticos das frações Jr1-111-01 a Jr1-111-08. Condições cromatográficas: coluna sílica-C18 5µm, 250 x 4,6 mm; gradiente de H₂O:MeOH 5% a 100% MeOH em 40 minutos, 100% de MeOH de 40 a 55 minutos; fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm, detecção feita a 254 nm.

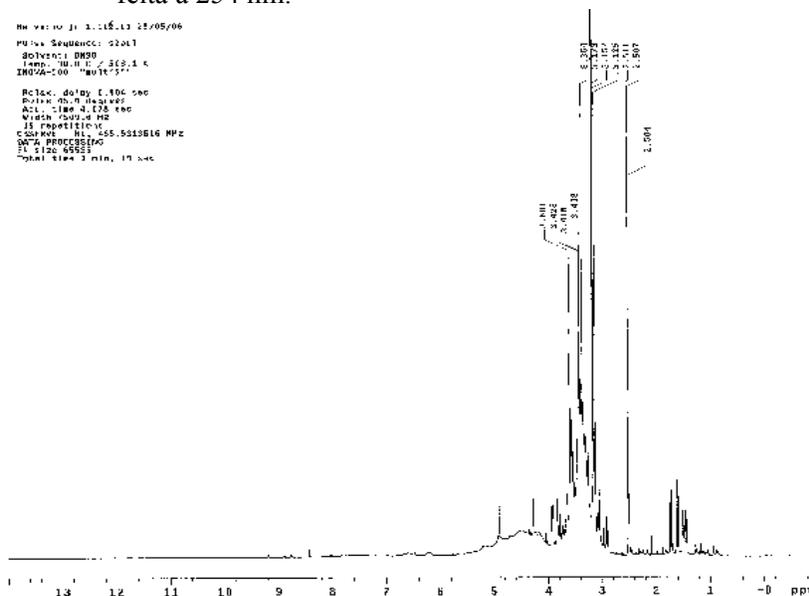


FIGURA 2.7: Espectro de RMN ¹H da fração Jr1-111-01 em DMSO-*d*₆, 500MHz.

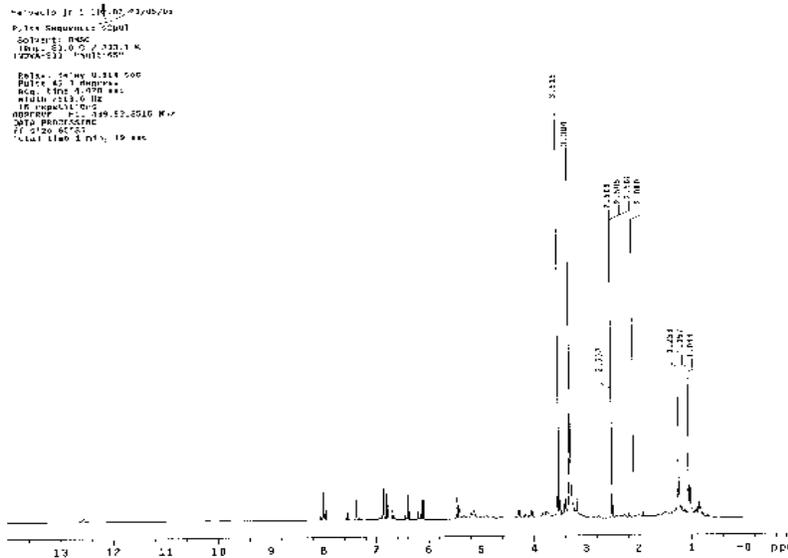


FIGURA 2.8: Espectro de RMN ^1H da fração Jr1-111-07 em $\text{DMSO-}d_6$, 500MHz.

4.5.2 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo das frações Jr1-111-06 e Jr1-111-07

Todas as seis frações obtidas (Tabela 2.10), provenientes do fracionamento de Jr1-111-06 e Jr1-111-07, foram analisadas por CLAE-DAD analítico, conforme descrito no item 3.7.2 (Figura 2.10), o que permitiu observar que Jr1-117-01 (8,5 mg), Jr1-117-05 (49,6 mg) e Jr1-117-06 (15,7 mg) estavam puras. Tais substâncias foram também analisadas por RMN (experimentos unidimensionais e bidimensionais de ^1H e ^{13}C) e espectrometria de massas (itens 3.8 e 4.6). A substância Jr1-117-01 se encontra ainda em fase de identificação (item 4.6). Já as substâncias Jr1-117-05 e Jr1-117-06, foram identificadas conforme apresentado nos itens 4.6.1 e 4.6.2, respectivamente.

TABELA 2.10: Frações obtidas do fracionamento CLAE-UV-Vis preparativo das frações Jr1-111-06 e Jr1-111-07.

Código frações obtidas	Massa (mg)
Jr-117-01	8,5
Jr-117-02	5,7
Jr-117-03	4,5
Jr-117-04	4,4
Jr-117-05	49,6
Jr-117-06	15,7

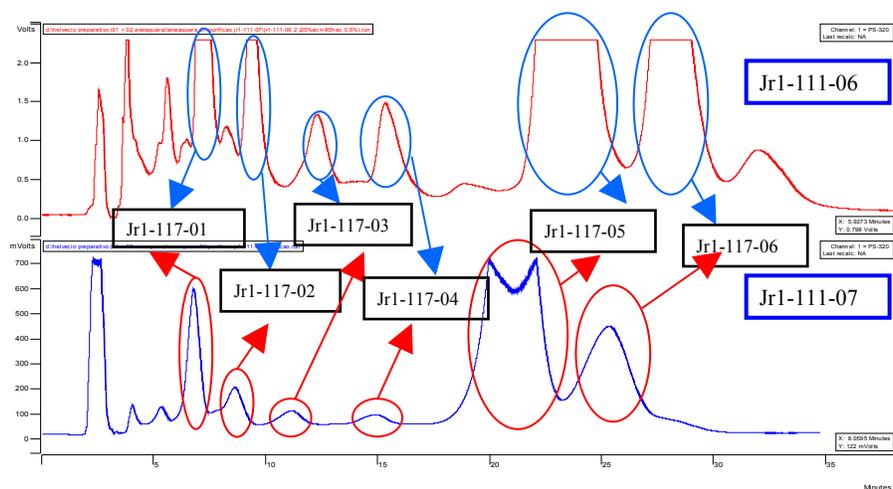


FIGURA 2.9: Cromatogramas obtidos durante o fracionamento das frações Jr1-111-06 e Jr1-111-07 em CLAE-UV-Vis preparativo e representação das frações coletadas (Jr1-117-01 a Jr1-117-06). Condições cromatográficas: coluna sílica-C18 preparativa Phenomenex Luna 10 μ m, 250 x 21,2 mm; eluição isocrática com solução aquosa de AcOH 0,5%:ACN (74:26); fluxo de 20 mL/minuto; detecção a 254 nm.

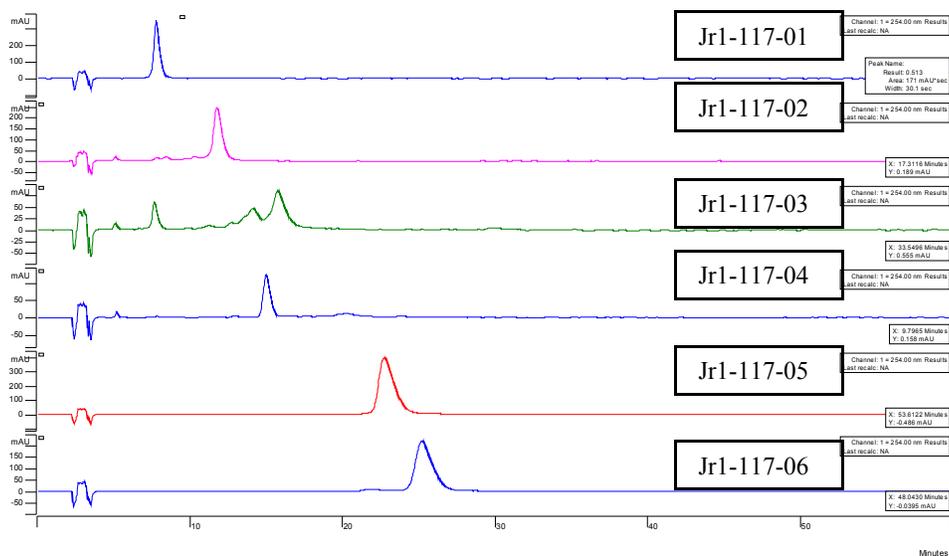


FIGURA 2.10: Cromatogramas analíticos obtidos em CLAE-DAD para as frações Jr1-117-01 a Jr1-117-06. Condições cromatográficas: coluna sílica-C18 analítica Phenomenex Luna 5 μ m, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com solução aquosa de AcOH 0,5%:ACN (74:26); fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm, detecção feita a 254 nm.

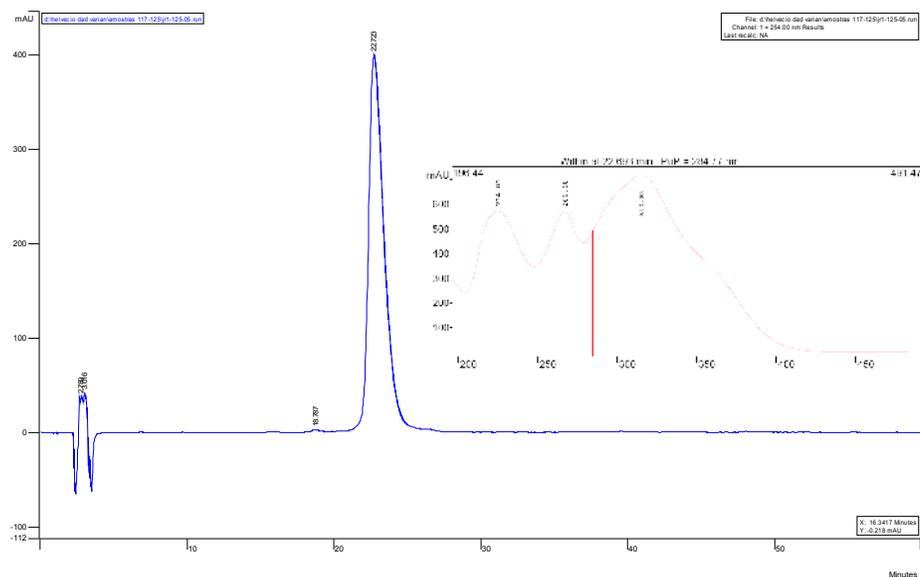
4.6 Elucidação estrutural das substâncias isoladas

As substâncias isoladas das folhas de *Merremia tomentosa* Jr1-69-06, Jr1-98-01, Jr1-117-01, Jr1-117-05 e Jr1-117-06 foram analisadas por

espectrometria de massas (EM) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C conforme descrito nos itens 3.8.1 e 3.8.2. As substâncias Jr1-69-06, Jr1-98-01 e Jr1-117-01 estão ainda em fase de identificação. Já as substâncias Jr1-117-05 e Jr1-117-06 foram identificadas, conforme apresentado nos itens 4.6.1 e 4.6.2, respectivamente.

4.6.1 Substância Jr1-117-05 (*trans*-tilirosídeo)¹

O espectro de UV obtido via CLAE-DAD (Figura 2.11) para a substância Jr1-117-05 isolada indicou que esta se tratava de um flavonóide (Santos, 2005).



¹ Espectros de EM-ES, RMN ^1H , ^{13}C , DEPT 90° e 135° , gHMQC, gHMBC, gCOSY e TOCSY 1D se encontram no Anexo A.

FIGURA 2.11: Cromatograma da substância Jr1-117-05 (*trans*-tilirosídeo), obtido em CLAE analítico e espectro no UV. Eluição isocrática com solução aquosa de AcOH 0,5%:ACN (74:26).

Durante a análise dos espectros de RMN de ^1H de Jr1-117-05 (Figuras 1A a 4A do anexo A) observaram-se sinais na região de hidrogênios aromáticos com padrão de substituição característico do flavonóide kaempferol: δ_{H} 6,38 (1H; d, $J=2,0$; H-8), δ_{H} 6,15 (1H; d, $J=2,0$; H-6), δ_{H} 7,98 (2H; d, $J=9,0$; H-2' e H-6') e δ_{H} 6,85 (2H; d, $J=9,0$; H-3' e H-6') (Budzianowski & Skrzypczak, 1995). O conjunto de sinais entre δ_{H} 3,17 e δ_{H} 5,44 foi atribuído aos hidrogênios ligados a átomos de carbono de carboidratos, sendo aquele em δ_{H} 5,44 (1H; d, $J=7,5$) característico de hidrogênio anomérico com configuração β e acoplamento *trans*-di axial (Lencina et al., 2001). Foi possível ainda evidenciar a presença de um resíduo do ácido *p*-cumárico através dos sinais característicos da dupla ligação em configuração *trans*, δ_{H} 7,34 (1H; $J=16,0$; H-7''') e δ_{H} 6,10 (1H; d, $J=16,0$; H-8'''), que ficou nítida pela elevada constante de acoplamento. A presença do referido resíduo também foi percebida pelas absorções em δ_{H} 7,36 (2H; d, $J=8,5$; H-2''' e H-6''') e δ_{H} 6,78 (2H; d, $J=8,5$; H-3''' e H-5'''), que são características de hidrogênios do anel em posição *orto* (Lencina et al., 2001).

Nos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 90° e 135° (Figuras 5A a 10A do anexo A), observou-se a presença de vinte e seis sinais, sendo treze atribuídos à unidade flavonoídica, sete à unidade *p*-cumaroil e seis à unidade glicosídica. Assim como no caso dos espectros de RMN de ^1H , havia a indicação da presença de um flavonol 5,7,4'-trihidroilado (kaempferol), com um carboidrato ligado ao carbono 3. A absorção em δ_{C} 100,9, do carbono anomérico, sugeria a presença de uma unidade glicopiranosídica na configuração β (Lencina et al., 2001).

As análises das correlações heteronucleares ($^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$) a curta (gHMQC) (Figuras 11A a 14A do anexo A) e longa (gHMBC) (Tabela 2.11; Figuras 15A a 22A do anexo A) distância, bem como das correlações homonucleares ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$) do tipo gCOSY (Figuras 23A a 25A do anexo A) e TOCSY 1D (Figura 2.26A do anexo A), permitiram um refinamento da proposta inicial, o que resultou na atribuição da estrutura do kaempferol 3-*O*- β -(6''-*O*-*E*-*p*-cumaroil)-glicopiranosídeo, conhecido como *trans*-tilirosídeo (Figura 2.12), à amostra Jr1-117-05. Pode-se destacar aqui a confirmação da ligação da unidade glicosídica ao carbono C-3 do kaempferol e do resíduo *p*-cumaroil ao carbono C-6'' da unidade glicosídica, evidenciadas no mapa de contorno gHMBC (Tabela 2.11; Figuras 15A a 22A do anexo A). Além disso, é importante deixar claro que a atribuição feita está perfeitamente de acordo com dados da literatura (Tabela 2.11) para Jr1-117-05 (*trans*-tilirosídeo – Figura 2.12) (Budzianowski & Skrzypczak, 1995).

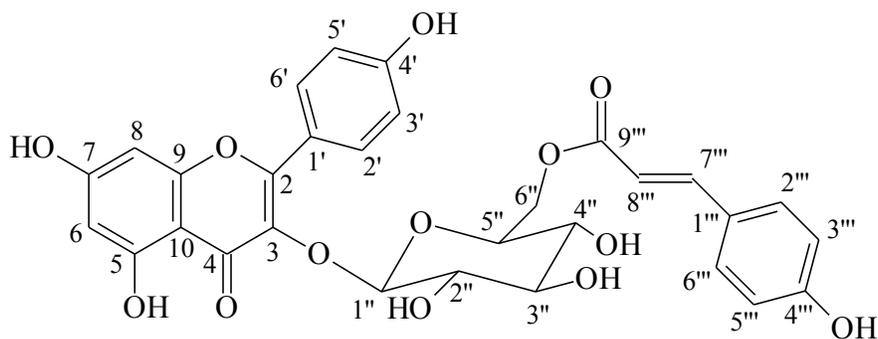


FIGURA 2.12: Estrutura da substância Jr1-117-05: *trans*-tilirosídeo.

A estrutura proposta para Jr1-117-05 através de experimentos de RMN tem fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$ e massa molecular igual a 594 u, estando de

acordo com a obtenção do pico com massa relativa/carga igual a 593 $[M - H]^-$ no modo negativo das análises por espectrometria de massas (Figura 2.53A do anexo A). No modo positivo foi observado um pico com massa relativa/carga igual a 617 $[M + Na]^+$ (Figura 2.54A do anexo A). Tais resultados estão de acordo com dados da literatura para o *trans*-tilirosídeo (Lencina et al., 2001).

TABELA 2.11: Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (126 MHz) correlacionados via gHMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$), DEPT (90° e 135°) obtidos para Jr1-117-05 e dados encontrados na literatura.

Posição	Jr1-117-05 (DMSO- d_6)				Trans-Tilrosídeo (1) (DMSO- d_6)	
	^{13}C	^1H	gHMBC	DEPT	^{13}C	^1H
1'	120,7		H-2', H-6', H-3', H-5'	C	120,7	
2' e 6'	130,7	7,98 (2H; d, J=9,0)	2' (H-6', H-3'); 6' (H-2', H-5')	CH	130,0	8,02 (2H; d, J=8,9)
3' e 5'	115,0	6,85 (2H; d, J=9,0)	3' (H-5', H-2'); 5' (H-6', H-3')	CH	115,7	6,88 (2H; d, J=8,9)
4'	159,9		H-3', H-5', H-2', H-6'	C	159,9	
2	156,4 ^a		H-2', H-6'	C	156,4	
3	133,0		H-1''	C	133,0	
4	177,3			C	177,3	
5	161,1		H-6	C	161,1	
6	98,7	6,15 (1H; d, J=2,0)	H-8	CH	98,7	6,18 (1H; d, J=2,1)
7	164,2		H-6, H-8	C	164,1	
8	93,6	6,38 (1H; d, J=2,0)	H-6	CH	93,6	6,41 (1H; d, J=2,1)
9	156,3 ^a		H-8	C	156,3	
10	103,8		H-6, H-8	C	103,8	
1''	101,0	5,43 (1H; d, J=7,5)		CH	100,9	5,48 (1H; d, J=7,5)
2''	74,01 ^b	3,29 – 3,23 (H-2''-3'')*	H-1'', H-4''	CH	74,2	3,35 – 3,20 (m; H-2''-5'')
3''	76,2	3,29 – 3,23 (H-2''-3'')*	H-1'', H-4'', H-5''	CH	76,2	3,35 – 3,20 (m; H-2''-5'')
4''	69,9	3,17 (1H)*	H-5'', H-6''A, H-6''B	CH	69,9	3,35 – 3,20 (m; H-2''-5'')
5''	74,2 ^b	3,39 (1H; ddd, J=2,0/6,5/9,5)	H-1'', H-4'', H-6''A, H-6''B	CH	74,0	3,35 – 3,20 (m; H-2''-5'')
6''	62,9	4,28 (1H; dd, J=2,0/12,0; H-6''A) e 4,03 (1H; dd, J=6,5/12,0; H-6''B)	H-4'', H-5''	CH ₂	62,9	4,30 (1H; dd, J=2,0/11,7; H-6''A) e 4,06 (1H; dd, J=6,3/11,7; H-6''B)

...continua...

TABELA 2.11, cont.

1'''	124,9		H-7''', H-8''', H-2''', H-6'''	C	124,8	
2''' e 6'''	130,1	7,36 (2H; d, J=8,5)	2''' (H-7''', H-6''', H-3'''); 6''' (H-7''', H-2''', H-5''')	CH	130,7	7,39 (2H; d, J=8,8)
3''' e 5'''	115,7	6,78 (2H; d, J=8,5)	3''' (H-2''', H-5'''); 5''' (H-6''', H-3''')	CH	115,0	6,81 (2H; d, J=8,8)
4'''	159,7		H-3''', H-5''', H-2''', H-6'''	C	159,7	
7'''	144,5	7,34 (1H; J=16,0)	H-8''', H-2''', H-6'''	CH	144,5	7,37 (1H; J=16,0)
8'''	113,6	6,10 (1H; d, J=16,0)	H-7'''	CH	113,6	6,14 (1H; d, J=16,0)
9'''	166,1		H-6''A, H-6''B, H- 7''', H-8'''	C	166,1	

Valores de deslocamento químico (δ) expressos em ppm; constante de acoplamento (J) em Hz.; * sobreposição de sinais com H₂O do DMSO-*d*₆; ^{a,b} os valores podem estar trocados; (1) Budzianowski & Skrzypczak (1995).

Buscas na literatura demonstraram que tal substância já havia sido isolada anteriormente em diversas espécies de diferentes famílias: *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae), *Waltheria indica* L. (Sterculiaceae), *Ellipeiopsis cherrevensis* (Pierre ex Finet & Gagnep.) R.E. Fr. (Annonaceae), *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky (Malvaceae), *Abutilon theophrasti* Medik. (Malvaceae), *Litsea japonica* (Thunb.) Jussieu (Lauraceae), *Marrubium velutinum* Sibth. & Sm. (Lamiaceae) e *Croton tonkinensis* Gagnep. (Euphorbiaceae) (Antas & Silva et al., 2006; Karioti et al., 2005; Lee et al., 2005; Maheswara et al., 2006; Matlawska & Sikorska, 2005; Phan et al., 2004; Silva et al., 2005; Wirasathien et al., 2006).

Ferreira et al. (2004) isolaram o *trans*-tilirosídeo do extrato metanólico de *Gomphrena agrastis*. Ele foi então testado contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa*, apresentando uma atividade moderada contra estes microrganismos.

Buchholz & Wirth (2004) patentaram uma mistura de flavonóides contendo 0,5% (m/m) de *trans*-tilirosídeo, para o tratamento de eczema. Já Kawahara et al. (2001) patentaram um preparado contendo *trans*-tilirosídeo para o tratamento de desordens do fígado causadas por envenenamento ou agentes inflamatórios.

A atividade antiinflamatória do *trans*-tilirosídeo foi confirmada por estudos de Backhouse et al. (2002), Sala et al. (2003) Rao et al. (2005), que isolaram esta substância de *Acaena splendens*, *Helichrysum italicum* e, que o isolou de *Waltheria indica*, respectivamente.

Esteves-Souza et al. (2002) realizaram ensaios citotóxicos do *trans*-tilirosídeo contra carcinoma Ehrlich e contra células leucêmicas K562. Em ambos os testes, a substância apresentou atividade. Já Sala et al. (2003) testou a atividade antioxidante do *trans*-tilirosídeo, bem como de gnafalina e pinocembrina, sendo a maior atividade observada para o primeiro.

4.6.2 Substância Jr1-117-06 (*cis*-tilirosídeo)²

De forma análoga ao observado para Jr1-117-05 (item 4.6.1), o espectro de UV obtido via CLAE-DAD (Figura 2.13) para a substância Jr1-117-06 indicou que esta se tratava de um flavonóide (Santos, 2005).

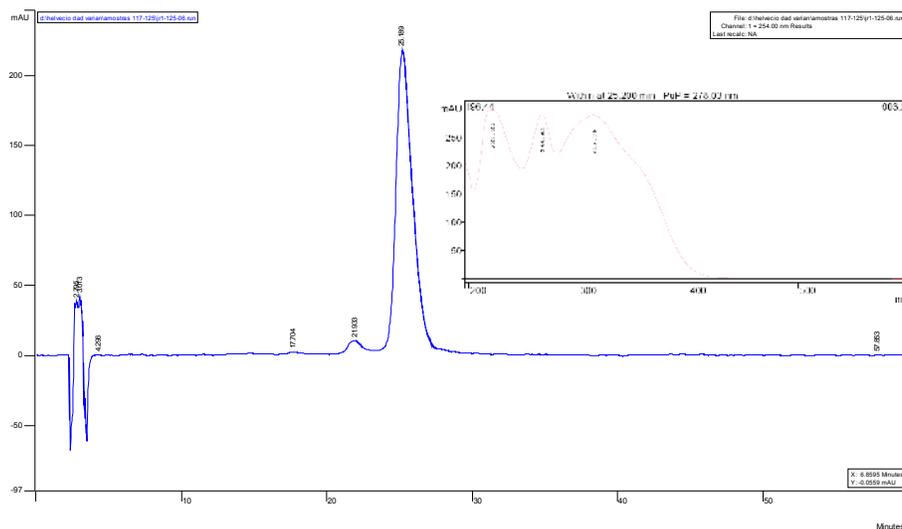


FIGURA 2.13: Cromatograma da substância Jr1-117-06 (*cis*-tilirosídeo), obtido em CLAE analítico e espectro no UV. Eluição isocrática com solução aquosa de AcOH 0,5%:ACN (74:26).

Durante a interpretação dos espectros de RMN de ^1H de Jr1-117-06 (Figuras 27A a 29A do anexo A) observaram-se sinais na região de hidrogênios aromáticos com padrão de substituição característico do flavonóide kaempferol: δ_{H} 6,32 (1H; sl; H-8), δ_{H} 6,16 (1H; sl; H-6), δ_{H} 7,95 (2H; d, $J=9,0$; H-2' e H-6') e δ_{H} 6,84 (2H; d, $J=9,0$; H-3' e H-6') (Santos, 2005). O conjunto de sinais entre δ_{H}

² Espectros de EM-ES, RMN ^1H , ^{13}C , DEPT 90° e 135°, gHMQC, gHMBC, gCOSY e TOCSY 1D se encontram no Anexo A.

3,16 e δ_H 5,40 foi atribuído aos hidrogênios ligados a átomos de carbono de carboidratos, sendo aquele em δ_H 5,40 (1H; d, J=8,0; H-1'') característico de hidrogênio anomérico (Lencina et al., 2001). Foi possível ainda evidenciar a presença de um resíduo do ácido *p*-cumárico através dos sinais em δ_H 7,55 (2H; d, J=9,0; H-2''' e H-6''') e δ_H 6,71 (2H; d, J=9,0; H-3''' e H-5'''), que são característicos de hidrogênios do anel em posição *orto* (Lencina et al., 2001). Foi atribuída uma configuração *cis* à dupla ligação na posição 7''' de tal resíduo pelos sinais em δ_H 6,69 (1H; J=12,5; H-7''') e δ_H 5,48 (1H; d, J=12,5; H-8'''), que apresentavam deslocamentos químicos e constantes de acoplamentos menores que os observados para o *trans*-tilirosídeo (Budzianowski & Skrzypczak, 1995) (Tabela 2.12).

Nos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 90° e 135° (Figuras 30A a 38A do anexo A), observou-se a presença de vinte e seis sinais, sendo treze atribuídos à unidade flavonoídica, sete à unidade *p*-cumaroil e seis à unidade glicosídica. Os espectros de ^1H e ^{13}C (Figuras 27A a 36A do anexo A) indicaram a presença de sinais relativos a um flavonol 5,7, 4'-triidroxilado (kaempferol), com um carboidrato ligado ao carbono 3. O deslocamento químico do hidrogênio anomérico δ_H 5,40, bem como a sua constante de acoplamento (8,0 Hz), característica de acoplamento *trans*-diaxial, sugeriram a presença de uma unidade glicopiranosídica na configuração β . A presença de um sinal em δ_C 101,1, atribuído ao carbono anomérico, apontava na mesma direção (Lencina et al., 2001).

As análises das correlações heteronucleares (^{13}C x ^1H) a curta (gHMQC) (Figuras 39A a 42A do anexo A) e longa (gHMBC) (Tabela 2.12; Figuras 43A a 47A do anexo A) distância, bem como das correlações homonucleares (^1H x ^1H) do tipo gCOSY (Figuras 48A a 50A do anexo A) e TOCSY 1D (Figuras 51A e 52A do anexo A), além da comparação com dados da literatura (Tabela 2.12) (Budzianowski & Skrzypczak, 1995), permitiram um refinamento da proposta

inicial, o que resultou na atribuição da estrutura do kaempferol 3-*O*-β-(6''-*O*-*Z*-*p*-cumaroil)-glicopiranosídeo, conhecido como *cis*-tilirosídeo (Figura 2.14), à amostra Jr1-117-06. Pode-se destacar aqui a confirmação da ligação da unidade glicosídica ao carbono C-3 do kaempferol e do resíduo *p*-cumaroil ao carbono C-6'' da unidade glicosídica, evidenciadas no mapa de contorno gHMBC (Tabela 2.12; Figuras 43A a 47A do anexo A).

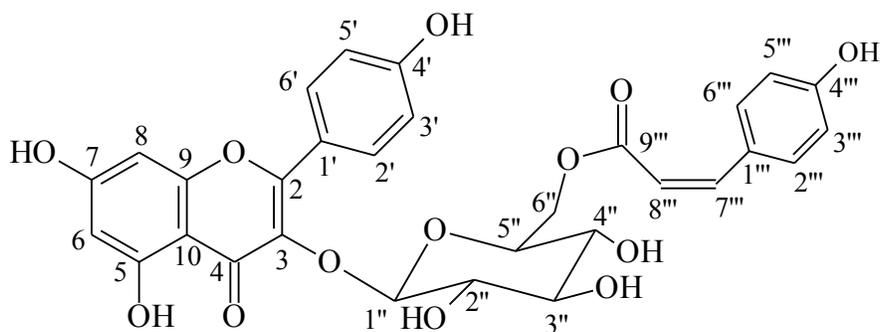


FIGURA 2.14: Estrutura da substância Jr1-117-06: *cis*-tilirosídeo.

A estrutura proposta para Jr1-117-06 através de experimentos de RMN tem fórmula molecular $C_{30}H_{26}O_{13}$ e massa molecular igual a 594 u, estando de acordo com a obtenção do pico com massa relativa/carga igual a 593 $[M - H]^-$ no modo negativo das análises por espectrometria de massas (Figura 2.55A do anexo A). No modo positivo foi observado um pico com massa relativa/carga igual a 617 $[M + Na]^+$ (Figura 2.56A do anexo A). Tais resultados estão de acordo com dados da literatura para o *cis*-tilirosídeo (Lencina et al., 2001) e são idênticos aos observados para a amostra Jr1-117-05 (*trans*-tilirosídeo; item

4.6.1), o que é plenamente coerente, já que tais substâncias diferem apenas pela estereoquímica do grupo olefínico na posição 7''''.

Com vistas a confirmar de forma inequívoca a proposta apresentada para a amostra Jr1-117-06, esta será dissolvida em CD₃OD e analisada por RMN para que os dados a serem obtidos possam ser comparados com aqueles existentes na literatura para o *cis*-tilirosídeo no mesmo solvente (Tsukamoto et al., 2004).

Assim como o *trans*-tilirosídeo (item 4.6.1), o *cis*-tilirosídeo já foi isolado de diferentes espécies de diversas famílias como o morango (*Fragaria ananassa*) e a *Rosa canina* além de *Lamium album* (Budzianowsky & Skrzypczak, 1995; Kumarasamy et al., 2003; Tsukamoto et al., 2004). Foi constatado por Tsukamoto et al. (2004), que tanto o *cis*-tilirosídeo quanto o *trans*-tilirosídeo são inibidores do citocromo P450 que participa do metabolismo de medicamentos no intestino e, principalmente, no fígado.

TABELA 2.12: Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (126 MHz) correlacionados via gHMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$), DEPT (90° e 135°) obtidos para Jr1-117-06 (*cis*-tilirosídeo) e dados encontrados na literatura para o *trans*-tilirosídeo.

Posição	Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) (DMSO- d_6)			<i>trans</i> -tilirosídeo (1) (DMSO- d_6)		
	^{13}C	^1H	gHMBC	DEPT	^{13}C	^1H
1'	120,7		H-2', H-6', H-3', H-5'	C	120,7	
2' e 6'	130,7	7,95 (2H; d, J=9,0)	2' (H-6', H-3'); 6' (H-2', H-5')	CH	130,0	8,02 (2H; d, J=8,9)
3' e 5'	115,0	6,84 (2H; d, J=9,0)	3' (H-5', H-2'); 5' (H-6', H-3')	CH	115,7	6,88 (2H; d, J=8,9)
4'	159,9		H-3', H-5', H-2', H-6'	C	159,9	
2	156,3 ^a		H-2', H-6'	C	156,4	
3	132,9		H-1''	C	133,0	
4	177,1			C	177,3	
5	161,1		H-6	C	161,1	
6	98,9	6,16 (1H; sl)	H-8	CH	98,7	6,18 (1H; d, J=2,1)
7	165,4		H-6, H-8	C	164,1	
8	93,7	6,32 (1H; sl)	H-6	CH	93,6	6,41 (1H; d, J=2,1)
9	156,4 ^a		H-8	C	156,3	
10	103,5		H-6, H-8	C	103,8	
1''	101,1	5,40 (1H; d, J=8,0)		CH	100,9	5,48 (1H; d, J=7,5)
2''	74,1 ^b	3,22 (1H; dd, J=8,0/8,5)	H-1''	CH	74,2	3,35 – 3,20 (m; H-2''-5'')
3''	76,2	3,27 (1H; dd, J=8,5/8,5)	H-1''	CH	76,2	3,35 – 3,20 (m; H-2''-5'')
4''	69,9	3,16 (1H; dd, J=8,5/9,5)	H-6''A, H-6''B	CH	69,9	3,35 – 3,20 (m; H-2''-5'')
5''	73,9 ^b	3,37 (1H; ddd, J=2,0/6,5/9,5)	H-1'', H-6''A, H-6''B	CH	74,0	3,35 – 3,20 (m; H-2''-5'')
6''	62,6	4,18 (1H; dd, J=2,0/12,0; H-6''A) e 4,08 (1H; dd, J=6,5/12,0; H-6''B)		CH ₂	62,9	4,30 (1H; dd, J=2,0/11,7; H-6''A) e 4,06 (1H; dd, J=6,3/11,7; H-6''B)

TABELA 2.12, Cont.

1'''	125,2		H-7''', H-8''', H-2''', H-6'''	C	124,8	...continua...
2''' e 6'''	132,5	7,55 (2H; d, J=9,0)	2''' (H-7''', H-6''', H- 3'''); 6''' (H-7''', H- 2''', H-5''')	CH	130,7	7,39 (2H; d, J=8,8)
3''' e 5'''	114,7	6,71 (2H; d, J=9,0)	3''' (H-2''', H-5'''); 5'''(H-6''', H-3''')	CH	115,0	6,81 (2H; d, J=8,8)
4'''	158,8		H-3''', H-5''', H-2''', H-6'''	C	159,7	
7'''	143,6	6,69 (1H; d, J=12,5)	H-8''', H-2''', H-6'''	CH	144,5	7,37 (1H; J=16,0)
8'''	114,5	5,48 (1H; d, J=12,5)	H-7'''	CH	113,6	6,14 (1H; d, J=16,0)
9'''	165,3		H-6''A, H-6''B, H-7''', H-8'''	C	166,1	

Valores de deslocamento químico (δ) expressos em ppm; constante de acoplamento (J) em Hz.; ^{a,b} os valores podem estar trocados; (1) Budzianowski & Skrzypczak (1995).

5 CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico do extrato metanólico das folhas de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae) permitiu, até o presente momento, a identificação dos flavonóides *trans*-tilirosídeo e *cis*-tilirosídeo, sendo estes pela primeira vez citados na espécie. Também foram isoladas mais três substâncias ainda em fase de identificação.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTAS E SILVA, D.; SILVA, T. M. S. da; LINS, A. C. da S.; COSTA, D. A. da; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N.; SOUZA, M. de F. V. de; FILHO, R. B. Chemical constituents and antioxidant activity of *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Quimica Nova**, São Paulo, v. 29, n. 6, p. 1250-1254, nov./dez. 2006.

BACKHOUSE, N.; DELPORTE, C.; NEGRETE, R.; SAN FELICIANO, S. A.; LOPEZ-PEREZ, J. L. Bioactive phenolic derivatives from *Acaena splendens* methanol extract. **Phytotherapy Research**, Sussex, v. 16, n. 6, p. 562-566, Sept. 2002.

BUCHHOLZ, H.; WIRTH, C. Flavonoid derivative for the treatment of eczema. **Patente número:** EP1393733-A (2004); EP1393733-A1 (2004); JP2004091489-A (2004); US2004053860-A1 (2004); DE10240923-A1 (2004); EP1393733-B1 (2006); DE60307749-E (2006).

BUDZIANOWSKI, J.; SKRZYPCZAK, L. Phenylpropanoid esters from *Lamium album* flowers. **Phytochemistry**, Oxford, v. 38, n. 4, p. 997-1001, Mar. 1995.

ESTEVEZ-SOUZA, A.; da SILVA, T. M. S.; ALVES, C. C. F.; DE CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R.; ECHEVARRIA, A. Cytotoxic activities against Ehrlich carcinoma and human K562 leukemia of alkaloids and flavonoid from two *Solanum* species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 13, n. 6, p. 838-842, Nov./Dec. 2002.

FERREIRA, E. O.; SALVADOR, M. J.; PRAL, E. M. F.; ALFIERI, S. C.; ITO, I. Y.; DIAS, D. A. A new heptasubstituted (E)-aurone glucoside and other aromatic compounds of *Gomphrena agrestis* with biological activity. **Zeitschrift fuer Naturforschung, C: Journal of Biosciences**, Tubingen, v. 59, n. 7/8, p. 499-505, July/Aug. 2004.

JENETT-SIEMS, K.; WEIGL, R.; BOHM, A.; MANN, P.; TOFERN-REBLIN, B.; OTT, S. C.; GHOMIAN, A.; KALOGA, M.; SIEMS, K.; WITTE, L.; HILKER, M.; MULLER, F.; EICH, E. Chemotaxonomy of the pantropical genus *Merremia* (Convolvulaceae) based on the distribution of tropane alkaloids. **Phytochemistry**, Oxford, v. 66, n. 12, p. 1448-1464, June 2005.

KARIOTI, A.; HEILMANN, J.; SKALTSA, H. Secondary metabolites from *Marrubium velutinum*, growing wild in Greece. **Zeitschrift fuer Naturforschung, B: Chemical Sciences**, Tübingen, v. 60, n. 3, p. 328-332, Mar. 2005.

KAWAHARA, Y.; SHIMODA, H.; NINOMIYA, K.; UEMURA, T.; YOSHIKAWA, M. Health food containing therapeutic agent against liver disorders. **Patente número: JP2001247470 A**, 2001.

KITAGAWA, I.; SHIBUYA, H.; YOKOKAWA, Y.; BAEK, N. I.; OHASHI, K.; YOSHIKAWA, M.; NITTA, A.; WIRIADINATA, H. Structures of merremoside-b and merremoside-d, new antiserotonic resin-glycosides from the tuber of *Merremia mammosa*, an Indonesian folk medicine. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 36, n. 4, p. 1618-1621, Apr. 1988.

KITAGAWA, I.; BAEK, N. I.; KAWASHIMA, K.; YOKOKAWA, Y.; YOSHIKAWA, M.; OHASHI, K.; SHIBUYA, H. Indonesian medicinal plants . 15. Chemical structures of five new resin-glycosides, merremosides a, b, c, d, and e, from the tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulaceae). **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 44, n. 9, p. 1680-1692, Sept. 1996a.

KITAGAWA, I.; BAEK, N. I.; KAWASHIMA, K.; YOKOKAWA, Y.; YOSHIKAWA, M.; OHASHI, K.; SHIBUYA, H. Indonesian medicinal plants . 16. Chemical structures of four new resin-glycosides, merremosides f, g, h(1), and h(2), from the tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulaceae). **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 44, n. 9, p. 1693-1699, Sept. 1996b.

KITAGAWA, I.; OHASHI, K.; BAEK, N. I.; SAKAGAMI, M.; YOSHIKAWA, M.; SHIBUYA, H. Indonesian medicinal plants . 19. Chemical structures of four additional resin-glycosides, mammosides A, B, H-1, and H-2, from the tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulaceae). **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 45, n. 5, p. 786-794, May 1997.

KUMARASAMY, Y.; COX, P. J.; JASPARS, M.; RASHID, M. A.; SARKER, S. Bioactive flavonoid glycosides from the seeds of *Rosa canina*. **Pharmaceutical Biology**, Lisse, v. 41, n. 4, p. 237-242, June 2003.

LEE, S-Y.; MIN, B-S.; KIM, J-H.; LEE, J.; KIM, T-J.; KIM, C-S.; KIM, Y-H.; LEE, H-K. Flavonoids from the leaves of *Litsea japonica* and their anti-complement activity. **Phytotherapy Research**, v. 19, n. 4, p. 273-276, Apr. 2005.

LENCINA, C.; PIRES, V. S.; GOSMANN, G.; TAKETA, A. T. C.; SCHENKEL, E. P. Tilirosídeo em *Croton gnaphalii* BAILL. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 11, n. 2, p. 89-93, 2001.

MAHESWARA, M.; RAO, Y. KOTESWARA; RAO, V. MADHAVA; RAO, C. VENKATA. Antibacterial activity of acylated flavonol glycoside from *Waltheria indica*. **Asian Journal of Chemistry**, Taiper, v. 18, n. 4, p. 2761-2765, 2006.

MATLAWSKA, I.; SIKORSKA, M. Flavonoids from *Abutilon theophrasti* flowers. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, Prague, v. 62, n. 2, p. 135-139, 2005.

NAHRSTEDT, A.; JENSEN, P. S.; WRAY, V. Prunasin-6'-malonato, a cyanogenic glucoside from *Merremia dissecta*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 28, n. 2, p. 623-624, Feb. 1989.

NAHRSTEDT, A.; SATTAR, E. A.; ELZALABANI, S. M. H. Amygdalin acyl derivatives, cyanogenic glucoside from the seeds of *Merremia dissecta*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 1179-1181, Apr. 1990.

PHAN, MINH GIANG; LEE, JUNG JOON; PHAN, TONG SON. Flavonoid glucosides from the leaves of *Croton tonkinensis* Gagnep. , Euphorbiaceae. **Tap Chi Hoa Hoc**, Paris, v. 42, n. 1, p. 125-128, 2004.

RAO, Y. K.; FANG, S-H.; TZENG, Y-M. Inhibitory effects of the flavonoids isolated from *Waltheria indica* on the production of NO, TNF- α and IL-12 in activated macrophages. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 28, n. 5, p. 912-915, May 2005.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. **Plantas medicinais no domínio dos cerrados**. Lavras: Ed. UFLA, 2001. 180 p.

SALA, A.; RECIO, M. C.; SCHINELLA, G. R.; MANEZ, S.; GINER, R. M.; CERDA-NICOLAS, M.; RIOS, J-L. Assessment of the anti-inflammatory activity and free radical scavenger activity of tiliroside. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v. 461, n. 1, p. 53-61, Feb. 2003.

SANTOS, L. Á. **Estudo químico e das atividades citotóxica, antioxidante e antifúngica de *Prunus myrtifolia* L. (Urban.) (Rosaceae)**. 2005. 295 p. Doutorado (Tese de Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal.

SILVA, D. A.; COSTA, D. A.; SILVA, D. E.; SOUZA, M. F. V.; AGRA, M. F.; MEDEIROS, I. A.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BRAZ-FILHO, R. Glycosyl flavonoids from *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky (Malvaceae) and preliminary pharmacological tests of kaempferol 3, 7-di-O- α -L-rhamnopyranoside. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 15, n. 1, p. 23-29, 2005.

TOFERN, B.; MANN, P.; KALOGA, M.; JENETT-SIEMS, K.; WITTE, L.; EICH, E. Aliphatic pyrrolidine amides from two tropical convolvulaceous species. **Phytochemistry**, Oxford, v. 52, n. 8, p. 1437-1441, Apr. 1999.

TSUKAMOTO, S.; TOMISE, K.; ABURATANI, M.; ONUKI, H.; HIRORTA, H.; ISHIHARAJIMA, E.; OHTA, T. Isolation of Cytochrome P450 Inhibitors from Strawberry Fruit, *Fragaria ananassa*. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 67, n. 11, p. 1839-1841, Nov. 2004.

WIRASATHIEN, L.; PENGSUPARP, T.; MORIYASU, M.; KAWANISHI, K.; SUTTISRI, R. Cytotoxic C-benzylated chalcone and other constituents of *Ellipeiopsis cherreensis*. **Archives of Pharmacal Research**, Seoul, v. 29, n. 6, p. 497-502, June 2006.

CAPÍTULO 3

ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE *Sabicea brasiliensis* WERNH. (RUBIACEAE)

RESUMO

SANTOS JÚNIOR, Helvécio Martins dos. Estudo fitoquímico das folhas de *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae). In: **Estudo fitoquímico das folhas de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae) e *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae).** 2007. Cap.3. p.72-115. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Sabendo-se da escassez de estudos fitoquímicos de *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae), uma planta de ocorrência em regiões de cerrado do sul de Minas Gerais, o extrato metanólico das folhas de tal espécie foi submetido a extrações com solventes e técnicas cromatográficas para identificar os seus metabólitos, com vistas a aumenar o conhecimento sobre tal planta. As duas substâncias isoladas foram identificadas como kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo e o variabilosídeo G após análises por espectrometria de massas e de ressonância magnética nuclear.

Comitê Orientador: Denilson Ferreira Oliveira – UFLA (orientador).

ABSTRACT

SANTOS JÚNIOR, Helvécio Martins dos. Phytochemical study of leaves of *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae). In: **Phytochemical study of leaves of *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae) and *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae).** 2007. Chap.3. p.72-115. Dissertation (Master in Agrochemistry and Agrobiochemistry) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Due to a scarcity of phytochemical studies about *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae), a plant found in the bushy (“cerrado”) region of the south of Minas Gerais State (Brazil), the methanol extract from leaves of such species was submitted to solvent extractions and chromatographic techniques to purify and identify its metabolites in order to improve knowledge about such species. Two substances were isolated and identified as kaempferol 3-*O*-robinobioside and variabiloside G after nuclear magnetic resonance and mass spectrometry analyses.

Guidance Committee: Denilson Ferreira Oliveira – UFLA (Advisor).

1 INTRODUÇÃO

Sabe-se que as plantas são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muito dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de substâncias de interesse comercial. Entretanto, há um grande número de espécies pouco estudadas no Brasil. Especialmente no Estado de Minas Gerais, cuja maior parte é coberta pelo bioma cerrado.

Com vista a contribuir para mudar este quadro, buscou-se realizar um estudo fitoquímico das folhas de *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae), uma espécie pertencente ao cerrado mineiro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O potencial das plantas em geral como fonte de substâncias bioativas é pouco explorado, já que apenas uma pequena parcela das espécies existentes foi submetida a estudos fitoquímicos (Carlos et al., 2005). Dentre as diversas espécies não estudadas destaca-se aqui *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae), que se trata de um arbusto com aproximadamente 0,80 m de altura, de ocorrência nas regiões de cerrado do Brasil (Carvalho, 1992). Esta é apenas uma das cerca de 13000 espécies da família Rubiaceae, cuja maior parte é tropical e predominantemente lenhosa. Constituída de 650 gêneros, tal família é a quarta maior dentre aquelas que apresentam flores, ficando atrás apenas de Asteraceae, Orchidaceae e Fabaceae. Em regiões de clima temperado, a família Rubiaceae é representada por poucos gêneros herbáceos, como por exemplo, *Gallium* e *Asperula*. Elas possuem flores e folhas muito pequenas (National..., 2007).

O gênero mais conhecido da família Rubiaceae é indiscutivelmente o *Coffea* no qual se testam *Coffea arabica* e *Coffea canephora* por serem espécies de café cultivadas em todos os trópicos. Outras espécies importantes economicamente são as *Cinchona*, que produzem quinina, usada no tratamento de doentes com malária; e *Psychotria ipecacuanha*, que produz emetina, utilizada como emético. Muitas outras espécies são usadas por populações indígenas como plantas medicinais. Há ainda aquelas pertencentes aos gêneros *Gardenia*, *Ixora*, *Pentas*, *Mussaenda* e *Sherardia*, que são utilizadas como plantas ornamentais (National..., 2007).

Até recentemente, esta família não era extensivamente estudada como várias outras, devido ao seu tamanho e sua reputação de ser uma família “difícil”, com gêneros muito grandes e pouco mal definidos. Nos últimos anos, entretanto, a família Rubiaceae tem-se tornado foco de detalhados estudos

(National..., 2007). A espécie *Morinda officinalis*, por exemplo, conhecida por nativos havaianos e taitianos, é usada para tratar artrite e impotência sexual. Em testes com ratos para avaliar a atividade antiinflamatória, observou-se que a monotropeína, um glicosídeo iridóide isolado da fração butanólica, reduzia significativamente os episódios de estiramento nas cobaias (Choi et al., 2005). Já em um *screening* das atividades antimicrobianas de algumas espécies da família Rubiaceae encontradas no Sri Lanka, os extratos de diversas polaridades de *Morinda tinctoria*, *Mussaenda frondosa*, *Psychotria gardneri* e *P. stenophylla* se mostraram ativos frente a *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus cereus* (Jayasinghe et al., 2002). Os extratos aquosos e etanólicos de *Uncaria tomentosa*, popularmente conhecida como unha de gato, se mostraram com elevada capacidade antioxidante em relação a outros extratos de frutas, vegetais, cereais e plantas medicinais. Entretanto, é importante lembrar que o alto nível de taninos neste extrato pode causar efeitos gástricos indesejáveis (Pilarski et al., 2006).

Um novo biflavonol denominado chimarrosídeo e oito flavonóis glicosilados foram isolados das folhas de *Chimarrhis turbinata*: 3-*O*-rutinosilquercetina, 3-*O*-rutinosil-kaempferol, 3-*O*-galactopiranosil-(6→1)-ramnopiranosil kaempferol, 3-*O*-β-galactopiranosil-(6→1)-α-ramnopiranosil-quercetina, 6-hidroxirutina, 3-*O*-galactopiranosil-kaempferol, 3-*O*-glucopiranosil-kaempferol e 3-*O*-ramnopiranosil-(6→1)-glucopiranosil-(4→1)-ramnopiranosil-kaempferol. Adicionalmente, a catequina e a procianidina B-3 (catequina-(4α→8)-catequina) também foram isoladas. O extrato bruto, frações e compostos isolados foram avaliados quanto às suas propriedades antioxidantes no teste em camada delgada aspergida com solução de β-caroteno, e teste espectrofotométrico utilizando o radical livre 1,1-difenil-2-picrilidrazila (DPPH). Os flavonóides 3-*O*-rutinosilquercetina, 3-*O*-β-galactopiranosil-(6→1)-α-ramnopiranosil-quercetina, 6-hidroxirutina, catequina e procianidina B-3

apresentaram forte atividade antioxidante quando comparados com os padrões BHT e rutina (Cardoso et al., 2005).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais e equipamentos utilizados

Empregaram-se: hexano, acetato de etila, metanol, etanol e ácido clorídrico de grau analítico (P.A.). A água empregada era destilada. Para o fracionamento por cromatografia em coluna (CC), empregou-se resina de poliestireno amberlite XAD-16 (Sigma). As análises em cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) foram realizadas em: aparelho Varian com detector de UV-Vis modelo ProStar 310, bomba ternária modelo ProStar 230, injetor manual; aparelho Varian equipado com detector de UV-Vis do tipo DAD modelo ProStar 330, bomba ternária modelo ProStar 230, injetor automático modelo ProStar 410; aparelho Shimadzu CLASS-LC10 com detector de UV-Vis do tipo DAD modelo SPD-10Ai, equipado com três bombas modelo LC10A, injetor automático modelo LC10 AutoSampler. Quanto aos fracionamentos em CLAE, foram feitos em aparelho Varian equipado com duas bombas modelo PrepStar SD1, com detector de UV-Vis modelo ProStar 320, com injetor manual. Todo o trabalho em CLAE foi realizado com colunas analíticas Phenomenex Luna Sílica-C18, Sílica-C8 ou Fenil-Hexil (5µm, 250 x 4,6 mm) ou com coluna preparativa Luna sílica-C18 (10µm, 250 x 21,2 mm). Para tanto, empregou-se água ultrapura do tipo I, metanol (MeOH) e acetonitrila (ACN) grau CLAE-UV.

3.2 Coleta de material botânico

Folhas de vários indivíduos de *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae) foram coletadas no município de Lavras – MG, e levadas ao Laboratório de Produtos Naturais, do Departamento de Química (DQI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde teve início o processo de purificação e identificação de

substâncias da espécie. Uma amostra foi encaminhada ao Departamento de Biologia (DBI) da UFLA para identificação botânica por comparações com exsicatas no Herbário ESAL e consulta ao Professor Doutor Douglas Antônio de Carvalho do mesmo Departamento.

3.3 Obtenção do extrato bruto para purificação

As folhas coletadas foram secas em estufa com ventilação e renovação de ar, por no mínimo 48 horas, na temperatura de aproximadamente 40°C, para serem moídas e armazenadas em freezer. Obtiveram-se 279,9g de material seco e moído, que foi extraído exaustivamente com metanol por processos de maceração, conforme fluxograma apresentado na Figura 3.1, para resultar em 49,5g de extrato bruto liofilizado (Jr1-36-01).

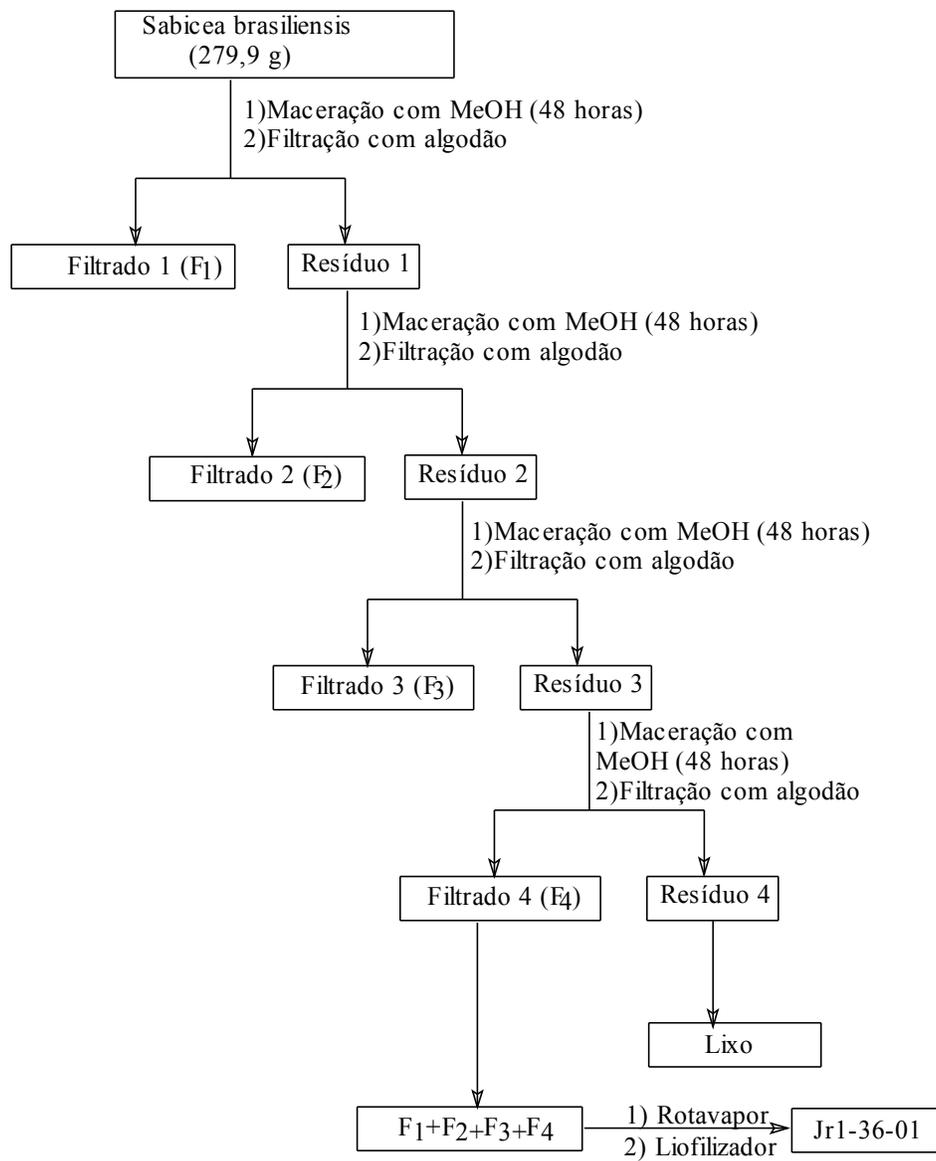


FIGURA 3.1: Metodologia de obtenção do extrato bruto metanólico das folhas de *Sabicea brasiliensis*.

3.4 Fracionamento do extrato bruto por extração com solventes

O fracionamento por extração com solventes do extrato bruto seco das folhas de *Sabicea brasiliensis* (Jr1-36-01) seguiu o esquema mostrado na Figura 3.2.

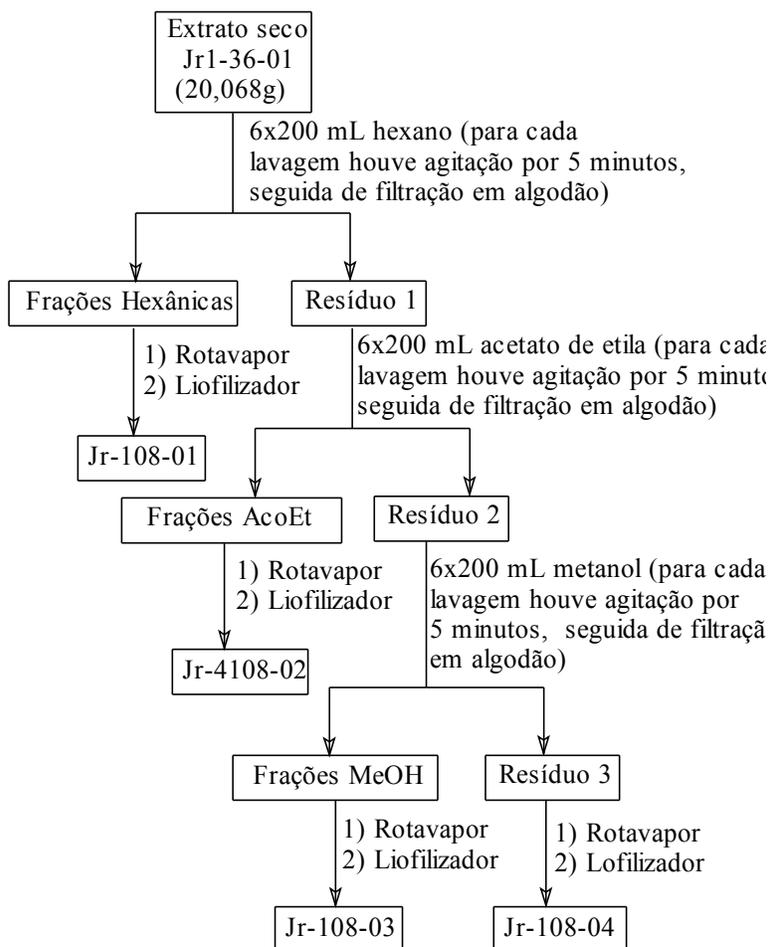


FIGURA 3.2: Fluxograma do fracionamento por extração com solventes de Jr1-36-01.

3.5 Fracionamento da fração solúvel em metanol (Jr1-108-03)

3.5.1 Cromatografia líquida em coluna de resina de poliestireno amberlite XAD-16 de Jr1-108-03

Parte (4,79 g) de Jr1-108-03 (fração solúvel em metanol do extrato bruto de *Sabicea brasiliensis*, item 3.4) foi solubilizada em metanol e colocada em balão de fundo redondo com cerca de 10 g de resina XAD-16. Retirou-se o solvente em evaporador rotatório e adicionou-se o resíduo ao topo de uma coluna com 4 x 10cm de resina XAD-16. Através da coluna eluíram-se água (200 mL), água/metanol (80:20, 200 mL; 60:40, 200 mL; 40:60, 200 mL; 80:20, 200 mL), metanol (200 mL), metanol/acetato de etila (50:50, 200 mL) e acetato de etila (200 mL). Coletaram-se oito frações (Jr1-112-01 a Jr1-112-08, Tabela 3.3 do item 4.3.1) de aproximadamente 200 mL, que foram analisadas em CLAE-DAD (coluna sílica-C18 Phenomenex Luna 5 μ m, 250 x 4,6 mm; gradiente de H₂O:MeOH 5% a 100% MeOH em 40 minutos, 100% de MeOH de 40 a 55 minutos; fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm; injeção de 20 μ L na concentração de 1 mg/mL de material dissolvido em metanol). Os resultados são apresentados no item 4.3.1.

3.5.2 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo da fração Jr1-112-04

Inicialmente, ajustaram-se os parâmetros em CLAE-UV-Vis analítico: coluna sílica-C18 Phenomenex Luna 5 μ m, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (82:18); fluxo de 1 mL/minuto; detecção a 254 nm; injeção de 20 μ L na concentração de 1 mg/mL de material dissolvido em metanol (cromatograma apresentado no item 4.3.2). A seguir, a fração Jr1-112-04 foi fracionada em CLAE-UV-Vis preparativo utilizando-se coluna preparativa de sílica-C18 Phenomenex Luna 10 μ m, 250 x 21,2 mm, eluição isocrática com H₂O:ACN (82:18), fluxo de 20 mL/minuto e detecção a 254 nm. Parte de Jr1-112-04 (361

mg) foi solubilizada em 13 mL de H₂O:ACN (82:18), obtendo-se concentração aproximada de 28 mg/mL de material, sendo realizadas injeções de 1 mL cada (cerca de 28 mg por injeção). Coletaram-se duas frações: Jr1-124-01 e Jr1-124-02 (Tabela 3.4 do item 4.3.2). A fração Jr1-124-01 se tratava de uma mistura conforme apresentado no item 4.3.2., devendo ainda ser purificada. Já a fração Jr1-124-02, foi analisada por CLAE-DAD (coluna sílica-C18 Phenomenex Luna 5µm, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (82:18); fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm; injeção de 20 µL na concentração de 1 mg/mL de material dissolvido em metanol) (item 4.3.2) e RMN ¹H, o que permitiu observar que estava pura (item 4.3.2).

3.5.3 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo das frações Jr1-112-06 e Jr1-112-07

Para fracionamento das frações semelhantes Jr1-112-06 e Jr1-112-07 em CLAE-UV-Vis preparativo, as condições foram anteriormente ajustadas em CLAE-UV-Vis analítico utilizando-se para este fim a fração Jr1-112-06, obtendo-se uma boa separação com as seguintes condições cromatográficas: coluna sílica-C18 Phenomenex Luna 5µm, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (75:25); fluxo de 1 mL/minuto; detecção a 254 nm; injeção de 20 µL na concentração de 1 mg/mL de material dissolvido em metanol (cromatograma apresentado no item 4.3.3). Em seguida, as frações semelhantes Jr1-112-06 e Jr1-112-07 foram fracionadas em CLAE-UV-Vis preparativo utilizando-se coluna preparativa de sílica-C18 Phenomenex Luna 10µm, 250 x 21,2 mm, eluição isocrática com H₂O:ACN (75:25), fluxo de 20 mL/minuto e detecção a 264 nm. Parte de Jr1-112-06 (560,0 mg) foi solubilizada em 20 mL de H₂O:ACN (75:25), obtendo-se concentração de aproximadamente 28 mg/mL de material. Realizaram-se injeções de 1 mL cada (cerca de 28 mg por injeção). Para a fração Jr1-112-07, massa de 330,2 mg foi solubilizada em 16,5 mL de

H₂O:ACN (75:25), obtendo-se concentração de aproximadamente 20 mg/mL de material, sendo realizadas injeções de 1 mL cada (cerca de 20 mg por injeção). Foram coletadas três frações (Jr1-123-01 à Jr1-123-03, Tabela 3.5 do item 4.3.3), que posteriormente foram analisadas em CLAE-DAD (coluna sílica-C18 Phenomenex Luna 5µm, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (75:25); fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm; injeção de 20 µL na concentração de 1 mg/mL de material dissolvido em metanol) (item 4.3.3). As frações Jr1-123-02 e Jr1-123-03 também foram analisadas por RMN ¹H. (item 4.3.3).

3.5.4 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo da fração Jr1-123-02

A fração Jr1-123-02 (28,1 mg) foi injetada em CLAE-UV-Vis preparativo nas mesmas condições em que foi obtida: coluna preparativa de sílica-C18 Phenomenex Luna 10µm, 250 x 21,2 mm, eluição isocrática com H₂O:ACN (75:25), fluxo de 20 mL/minuto e detecção a 264 nm (item 3.5.3). Para tanto, foi solubilizada em 9,5 mL de H₂O:ACN (75:25), resultando em solução com aproximadamente 3,1 mg/mL. Realizaram-se injeções de 2 mL cada (cerca de 6,2 mg por injeção). . Após análise por CLAE-DAD (coluna sílica-C18 Phenomenex Luna 5µm, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (75:25); fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm; injeção de 20 µL na concentração de 1 mg/mL de material dissolvido em metanol), da nova fração coletada, que foi denominada Jr1-145-01 (Tabela 3.6 do item 4.3.4), a mesma também foi analisada por RMN ¹H (item 4.3.4).

3.6 Elucidação estrutural das substâncias isoladas

A elucidação estrutural das substâncias isoladas foi feita por meio de espectrometria de massas (EM) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).

3.6.1 Espectrometria de massas

Foram feitas análises no modo positivo e no modo negativo, do tipo MS¹, MS² e MS³, em aparelho Agilent 1100 LC/MS Trap equipado com interface do tipo *electrospray* (EM-ES). As fragmentações foram induzidas por colisões contra Hélio. Cerca de 0,5 mg das substâncias isoladas foram dissolvidas em 1 mL de metanol/água (9:1), injetando-se 20 µL diretamente na interface. Condições de análise: fluxo na interface de 5 µL/min de metanol/água (9:1), pressão do nebulizador de 15 psi (pound-force per square inch), fluxo de nitrogênio (N₂, gás de secagem) de 5 L/min, temperatura de secagem de 325°C.

3.6.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

As análises por RMN foram realizadas em espectrômetro Varian Inova 500, operando a 500 MHz para ¹H e 126 MHz para ¹³C. As substâncias Jr1-124-02 e Jr1-145-01 foram dissolvidas em DMSO-*d*₆. Realizaram-se experimentos unidimensionais e bidimensionais, empregando-se os picos do solvente como referência: δ_H 2,49 e δ_C 39,5 para DMSO-*d*₆.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fluxograma da Figura 3.3 resume os procedimentos realizados na purificação do extrato bruto metanólico obtido das folhas secas de *Sabicea brasiliensis*.

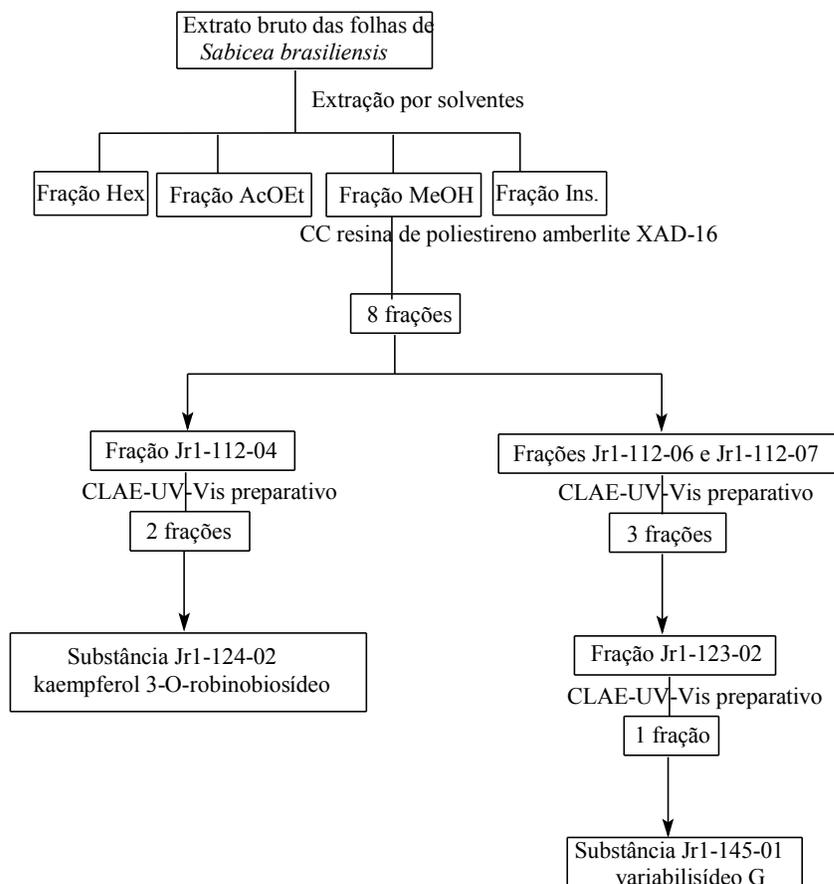


FIGURA 3.3: Resumo dos procedimentos realizados durante o fracionamento do extrato bruto metanólico das folhas secas e moídas de *Sabicea brasiliensis*.

4.1 Extrato bruto das folhas de *Sabicea brasiliensis*

Ao se submeter 279,9g de folhas secas e moídas de *Sabicea brasiliensis* à extração com metanol (item 3.3), obtiveram-se 49,5g de extrato liofilizado (Jr1-36-01), com rendimento de aproximadamente 17,7%, conforme dados apresentados na Tabela 3.1.

TABELA 3.1: Características das folhas secas e do extrato metanólico obtido de *Sabicea brasiliensis*.

Folhas de <i>Sabicea brasiliensis</i>		
Material seco e moído	Massa	279,9 g
	Características	Pó verde claro de baixa densidade
Extrato liofilizado (Jr1-36-01)	Massa	49,5 g
	Rendimento	Aproximadamente 17,7%
	Características	Pó verde escuro homogêneo

4.2 Fracionamento do extrato bruto por extração com solventes

O fracionamento por extração com solventes do extrato bruto de *Sabicea brasiliensis* (item 3.4) resultou em quatro novas frações (Tabela 3.2). Dentre estas, observou-se que a solúvel em metanol era a de maior massa, correspondendo a cerca de 81%.

TABELA 3.2: Massas, porcentagens e aspectos das frações obtidas da extração por solventes do extrato bruto de *Sabicea brasiliensis* (Jr1-36-01).

Código frações obtidas	Solvente extrator	Massa (g)	Percentual (%)	Coloração/Aspecto
Jr1-108-01	Hexano	2,05	10,8	Verde escuro/pastoso
Jr1-108-02	Acetato de etila	0,95	5,0	Verde escuro/pastoso
Jr1-108-03	Metanol	15,42	81,0	Marrom/pó
Jr1-108-04	Insolúvel em Metanol	0,62	3,2	Bege/pó

4.3 Fracionamento da fração do extrato bruto de *Sabicea brasiliensis* solúvel em metanol (Jr1-108-03)

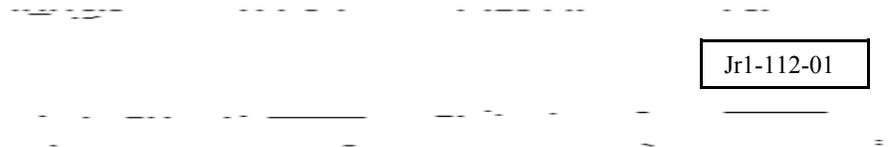
4.3.1 Cromatografia líquida em coluna de resina de poliestireno amberlite XAD-16 de Jr1-108-03

Obtiveram-se oito frações (Tabela 3.3) que, ao serem analisadas em CLAE-DAD analítico (3.5.1), apresentaram perfis cromatográficos (Figura 3.4) que permitiram agrupá-las em três conjuntos distintos: Jr1-112-01 e Jr1-112-02, Jr1-112-03 à Jr1-112-05 e Jr1-112-06 à Jr1-112-08. Descartaram-se as frações Jr1-112-01 e Jr1-112-02, pois, com base em experiência adquirida no trabalho com *Merremia tomentosa* (itens 3.7.1 e 4.5.1 do capítulo 2), acreditava-se que tinham carboidratos como componentes principais.

TABELA 3.3: Frações obtidas do fracionamento em coluna de resina de poliestireno amberlite XAD-16 da fração solúvel em metanol (Jr1-108-03).

Código frações obtidas	Eluente	Massa (mg)
Jr-112-01	H ₂ O	1295,9
Jr-112-02	H ₂ O/MeOH 80:20	638,5
Jr-112-03	H ₂ O/MeOH 60:40	354,5
Jr-112-04	H ₂ O/MeOH 40:60	386,6
Jr-112-05	H ₂ O/MeOH 20:80	340,2
Jr-112-06	MeOH	609,7
Jr-112-07	AcOEt/MeOH 50:50	330,2
Jr-112-08	AcOEt	127,4

Optou-se por dar prosseguimento ao fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo com a fração Jr1-112-04, que seria representativa para o segundo conjunto de frações (Jr1-112-03 à Jr1-112-05), conforme descrito no item 3.5.2. Quanto ao último conjunto (Jr1-112-06 à Jr1-112-08), as frações similares Jr1-112-06 e Jr1-112-07 foram escolhidas para o fracionamento em CLAE-UV-Vis conforme descrito no item 3.5.3.



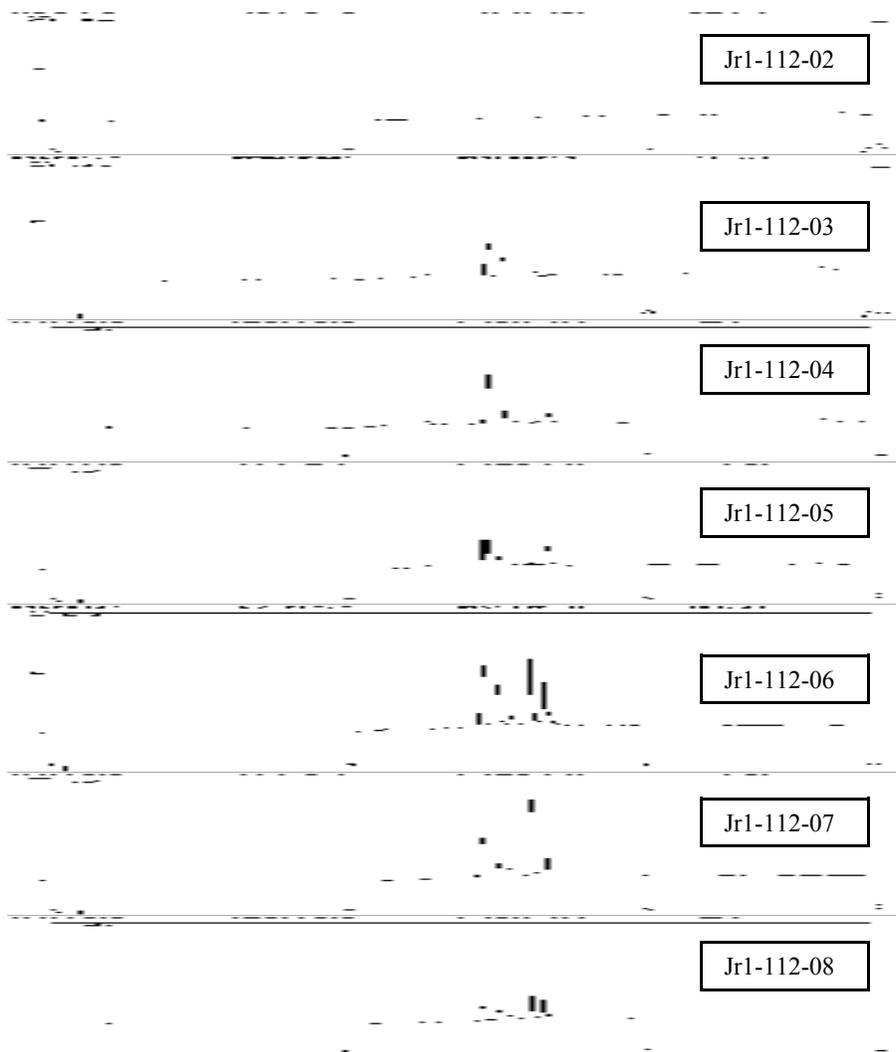


FIGURA 3.4: Cromatogramas analíticos das frações Jr1-112-01 a Jr1-112-08. Condições cromatográficas: coluna sílica-C18 5 μ m, 250 x 4,6 mm; gradiente de H₂O:MeOH 5% a 100% MeOH em 40 minutos, 100% de MeOH de 40 a 55 minutos; fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm, detecção feita a 254 nm.

4.3.2 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo da fração Jr1-112-04

Os cromatogramas analítico e preparativo da fração Jr1-112-04 (item 3.5.2; Figura 3.5), juntamente com a representação das frações coletadas (Tabela

3.4) foram apresentados na Figura 3.5. A fração Jr1-124-01 se tratava de uma mistura, devendo ainda ser purificada. Já a fração Jr1-124-02 (9,4 mg), tratava-se de uma substância pura segundo análise por CLAE-DAD (Figura 3.6; item 3.5.2) e RMN ^1H , sendo identificada conforme descrito no item 4.4.1.

TABELA 3.4: Frações obtidas do fracionamento CLAE-UV-Vis preparativo da fração Jr1-112-04.

Código frações obtidas	Massa (mg)
Jr-124-01	34,2
Jr-124-02	9,4

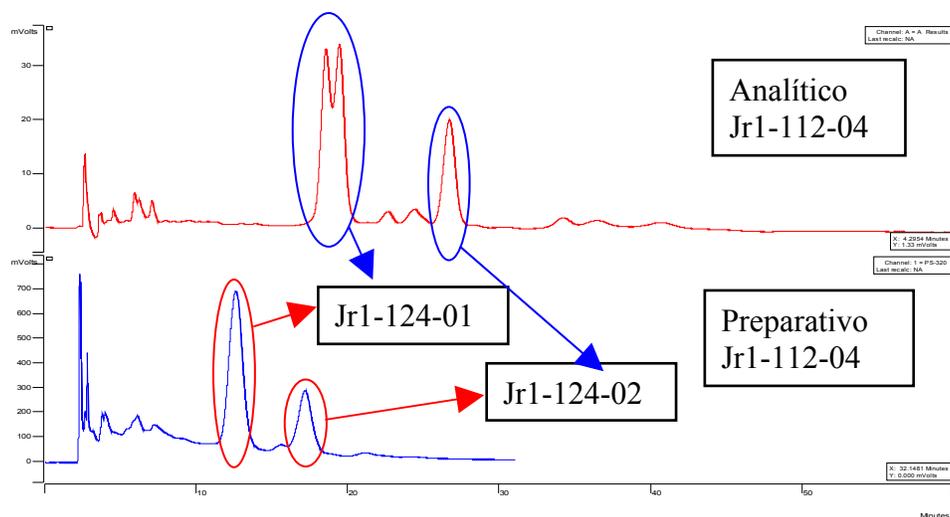


FIGURA 3.5: Cromatogramas analítico e preparativo da fração Jr1-112-04 e representação das frações coletadas (Jr1-124-01 a Jr1-124-02). Analítico: CLAE-UV-Vis; coluna sílica-C18 analítica Phenomenex Luna 5 μ m, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (82:18); fluxo de 1 mL/minuto; detecção a 254 nm. Preparativo: CLAE-UV-Vis; coluna sílica-C18 preparativa Phenomenex Luna 10 μ m, 250 x 21,2 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (82:18); fluxo de 20 mL/minuto; detecção a 254 nm.

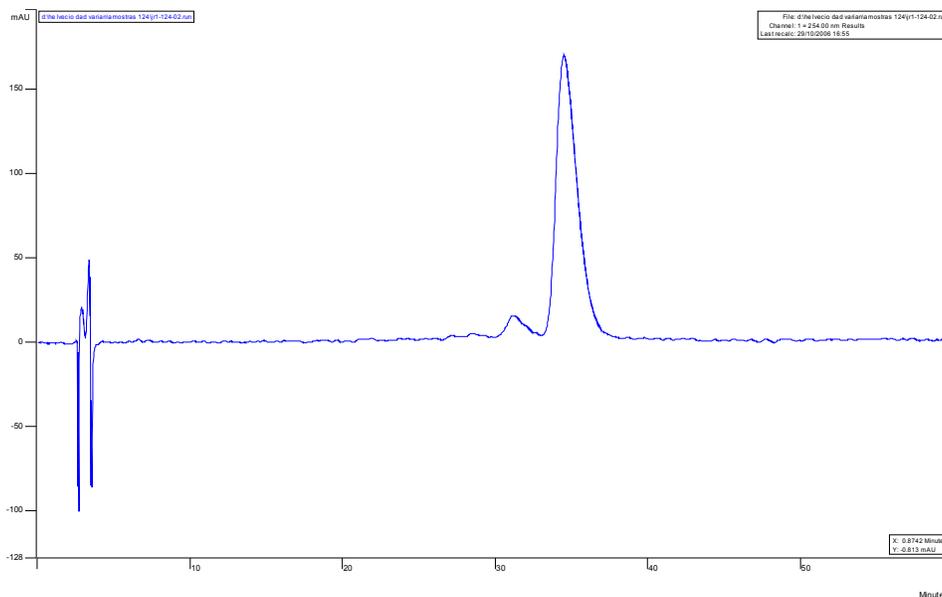


FIGURA 3.6: Cromatograma analítico obtido em CLAE-DAD para a fração Jr1-124-02. Condições cromatográficas: coluna sílica-C18 analítica Phenomenex Luna 5 μ m, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (82:18); fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm, detecção feita a 254 nm.

4.3.3 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo das frações Jr1-112-06 e Jr1-112-07

As frações obtidas do fracionamento em CLAE-UV-Vis das frações semelhantes Jr1-112-06 e Jr1-112-07 (item 3.5.3) foram apresentadas na Tabela 3.5.

TABELA 3.5: Frações obtidas do fracionamento CLAE-UV-Vis preparativo das frações Jr1-112-06 e Jr1-112-07.

Código frações obtidas	Massa (mg)
Jr1-123-01	81,5
Jr1-123-02	28,1
Jr1-123-03	11,5

Os cromatogramas analítico e preparativo de Jr1-112-06, bem como o preparativo de Jr1-112-07 (item 3.5.3), juntamente com a representação das frações coletadas (Tabela 3.5) foram apresentados na Figura 3.7. Análises por CLAE-DAD (item 3.5.3; Figura 3.8) das frações obtidas permitiram observar que a denominada Jr1-123-01 se tratava de uma mistura, devendo ainda ser purificada. A fração Jr1-123-02, apesar de apresentar um único pico no cromatograma (Figura 3.8), não estava pura segundo análise por RMN ¹H. Logo, foi submetido a novo fracionamento (item 3.5.4). A fração Jr1-123-03 também se encontrava impura e foi descartada por apresentar alta complexidade e pouca massa.

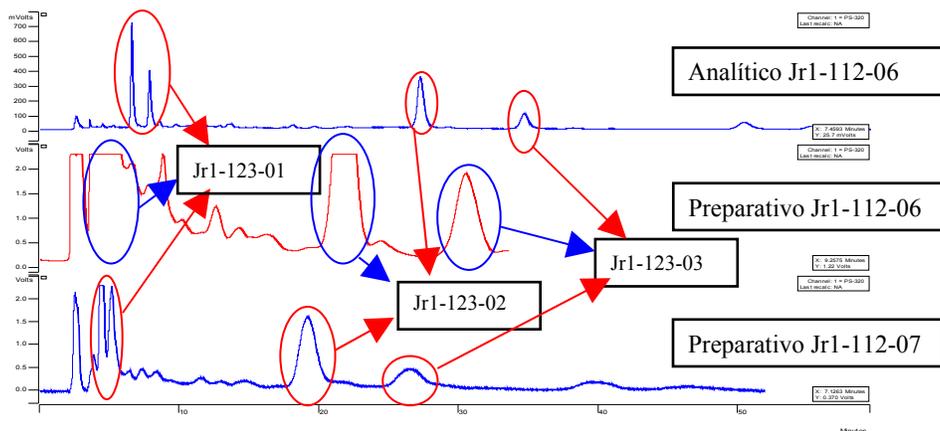


FIGURA 3.7: Cromatogramas analíticos de Jr1-112-06 e preparativos de Jr1-112-06 e Jr1-112-07 e representação das frações coletadas (Jr1-123-01 a Jr1-123-03). Analítico: CLAE-UV-Vis; coluna sílica-C18 analítica Phenomenex Luna 5 μ m, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (75:25); fluxo de 1 mL/minuto; detecção a 254 nm. Preparativos: CLAE-UV-Vis; coluna sílica-C18 preparativa Phenomenex Luna 10 μ m, 250 x 21,2 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (75:25); fluxo de 20 mL/minuto; detecção a 264 nm.

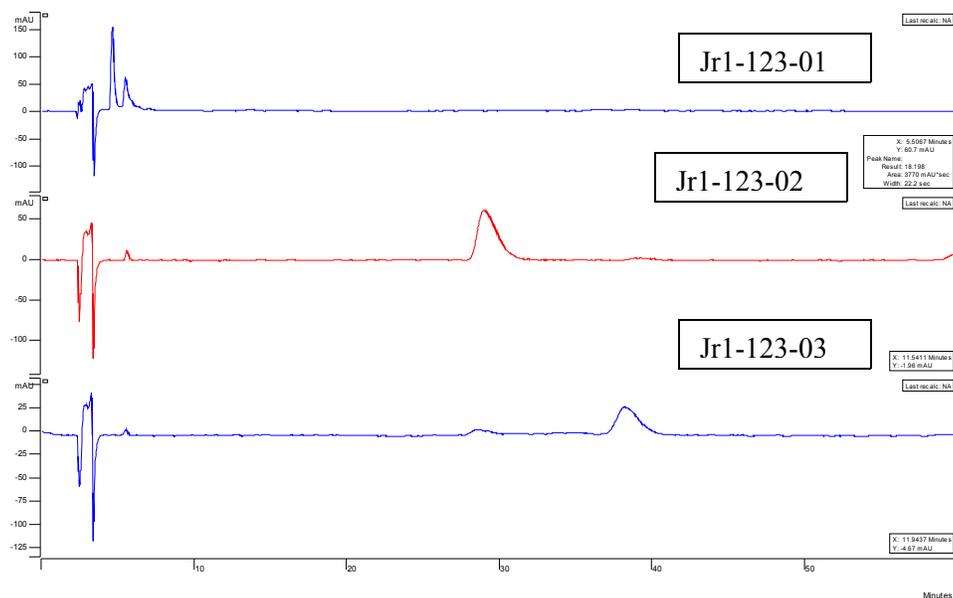


FIGURA 3.8: Cromatogramas analíticos obtidos em CLAE-DAD para as frações Jr1-123-01 à Jr1-123-03. Condições cromatográficas: coluna sílica-C18 analítica Phenomenex Luna 5 μ m, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (75:25); fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm, detecção feita a 254 nm.

4.3.4 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo da fração Jr1-123-02

Apenas a fração correspondente ao pico marcado na Figura 3.9 foi coletada, o que resultou na fração Jr1-145-01 (Tabela 3.6). Por se tratar de uma substância pura segundo análises por CLAE-DAD (Figura 3.10; item 3.5.4) e RMN ^1H foi identificado conforme descrito no item 4.4.2.

TABELA 3.6: Nova fração obtida da reinjeção de Jr1-123-02 em CLAE-UV-Vis preparativo.

Código da fração obtida	Massa (mg)
Jr1-145-01	11,4

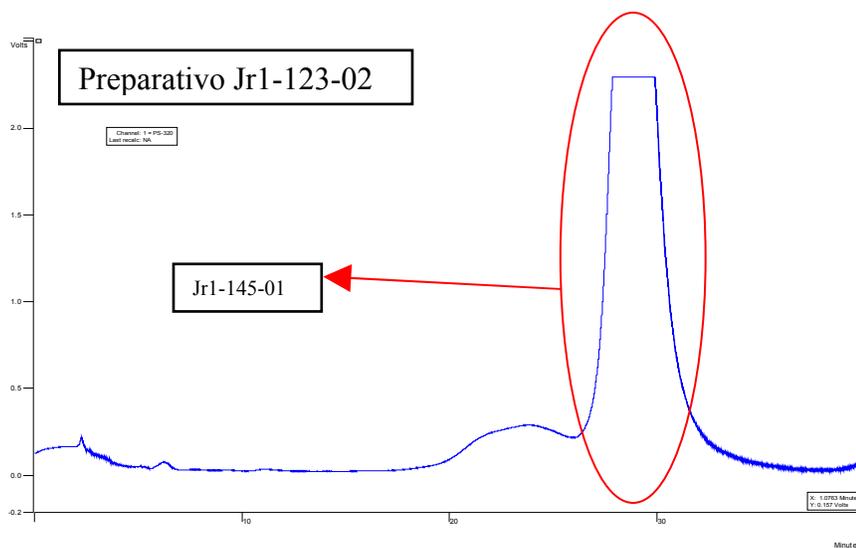


FIGURA 3.9: Cromatograma preparativo de Jr1-123-02 e representação da nova fração coletada: Jr1-145-01. Condições cromatográficas CLAE-

UV-Vis; coluna sílica-C18 preparativa Phenomenex Luna 10 μ m, 250 x 21,2 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (75:25); fluxo de 20 mL/minuto; detecção a 264 nm.

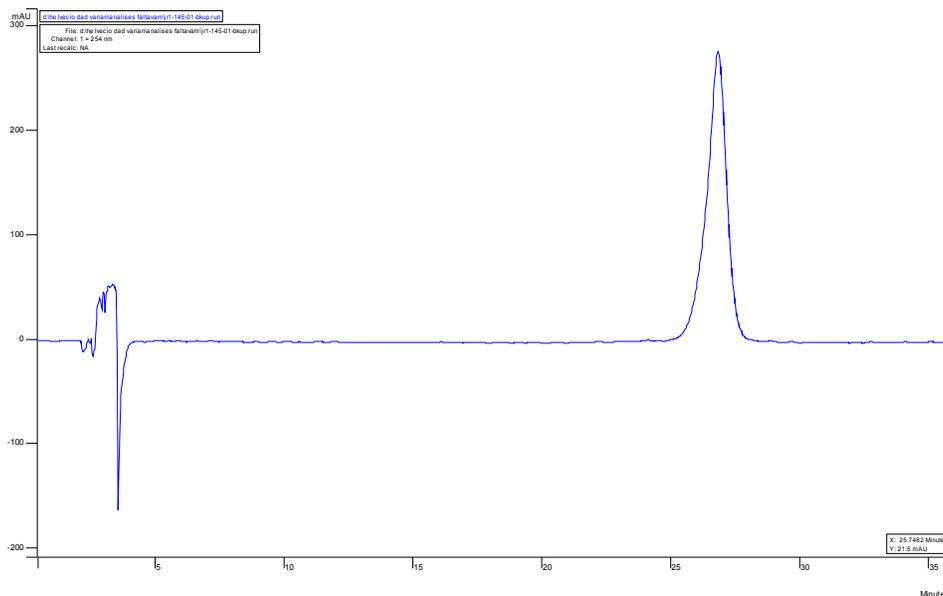


FIGURA 3.10: Cromatograma analítico obtido em CLAE-DAD para a fração Jr1-145-01. Condições cromatográficas: coluna sílica-C18 analítica Phenomenex Luna 5 μ m, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (75:25); fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm, detecção feita a 254 nm.

4.4 Elucidação estrutural das substâncias isoladas

As substâncias isoladas das folhas de *Sabicea brasiliensis* Jr1-124-02 e Jr1-145-01 foram analisadas por espectrometria de massas (EM) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C conforme descrito nos itens 3.6.1 e 3.6.2. Tais substâncias foram identificadas conforme descrito nos itens 4.4.1 e 4.4.2.

4.4.1 Substância Jr1-124-02 (kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo)³³

O perfil do espectro de UV obtido via CLAE-DAD (Figura 3.11) para a substância Jr1-124-02 sugeriu que esta se tratava de um flavonóide (Santos, 2005).

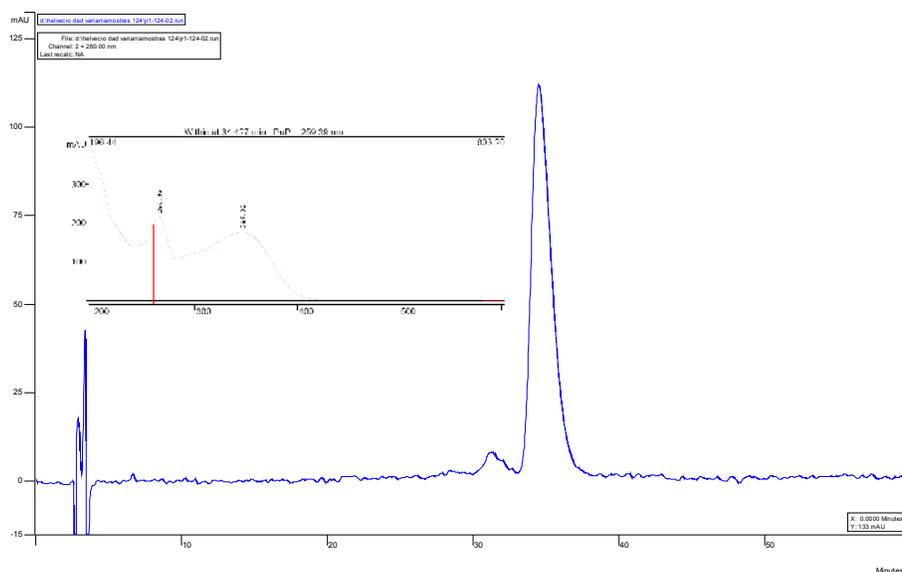


FIGURA 3.11: Cromatograma da substância Jr1-124-02 (kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo), obtido em CLAE analítico e espectro no UV. Eluição isocrática com H₂O: ACN (84:16), através de coluna de sílica C-18.

A interpretação dos espectros de RMN de ¹H de Jr1-145-01 (Figuras 1B a 3B do anexo B) permitiu identificar sinais na região de hidrogênios aromáticos

³³ Espectros de EM-ES, RMN ¹H, ¹³C, DEPT 90° e 135°, gHMQC, gHMBC, gCOSY e TOCSY 1D se encontram no Anexo B.

com padrão de substituição característico do flavonóide kaempferol: δ_H 6,32 (1H; sl; H-8), δ_H 6,11 (1H; sl; H-6), δ_H 8,03 (2H; d, J=8,5; H-2' e H-6') e δ_H 6,85 (2H; d, J=8,5; H-3' e H-6') (Coelho, 2004). O conjunto de sinais entre δ_H 3,10 e δ_H 5,25 foi atribuído aos hidrogênios ligados a átomos de carbono de carboidratos, sendo os sinais em δ_H 5,25 (1H; d, J=7,5) e δ_H 4,40 (1H; sl) característicos de hidrogênios anoméricos de duas unidades de açúcar (Santos, 2005). O sinal em δ_H 4,40 (1H; sl), aparecendo apenas como um singlete largo, sem acoplamento, característico de hidrogênios vicinais em conformação equatorial-equatorial, e o de uma provável metila em δ_H 0,93 (3H; d, J=6,0), sugeriram que um dos açúcares era a rarnose na forma α -L-rarnopirranose (Santos, 2005). Já o sinal em δ_H 5,25 (1H; d, J=7,5), com uma constante de acoplamento (7,5 Hz) característica de acoplamento *trans*-di axial, e o baixo valor de acoplamento entre os hidrogênios H-3''-H-4'' (J=3,0 Hz, axial-equatorial), juntamente com dados da literatura (Brasseur & Angenot, 1986) (Tabela 3.7), sugeriram que o outro açúcar se tratava da galactose na forma β -D-galactopirranose.

Nos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 90° e 135° (Figuras 4B a 10B do anexo B), observou-se a presença de vinte e cinco sinais, sendo treze atribuídos à unidade flavonoídica e doze às duas unidades de açúcares. Também foi possível confirmar a presença de sinais relativos a um flavonol 5,7,4'-tridroxilado (kaempferol), com um carboidrato ligado ao carbono C-3 (Brasseur & Angenot, 1986).

As análises das correlações heteronucleares (^{13}C x ^1H) a curta (gHMQC) (Figuras 11B a 13B do anexo B) e longa (gHMBC) (Tabela 3.7; Figuras 14B a 19B do anexo B) distância, bem como das correlações homonucleares (^1H x ^1H) do tipo gCOSY (Figuras 20B a 22B do anexo B) e TOCSY 1D (Figuras 23B a 25B do anexo B), permitiram um refinamento da proposta inicial, o que resultou na atribuição da estrutura do kaempferol 3-O- α -L-rarnopiranosil-(1'''' \rightarrow 6''')- β -

D-galactopiranosídeo, conhecido como kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo (Figura 3.12), à amostra Jr1-124-02. Pode-se destacar aqui a confirmação da ligação do carbono C-1'' do resíduo de galactose ao carbono C-3 do kaempferol e do C-1''' do resíduo de rarnnose ao C-6''' do resíduo de galactose, evidenciadas no mapa de contorno gHMBC (Tabela 3.7; Figuras 14B a 19B do anexo B). Além disso, é importante deixar claro que a atribuição feita está perfeitamente de acordo com dados da literatura (Tabela 3.7) para Jr1-124-02 (kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo – Figura 3.12) (Brasseur & Angenot, 1986).

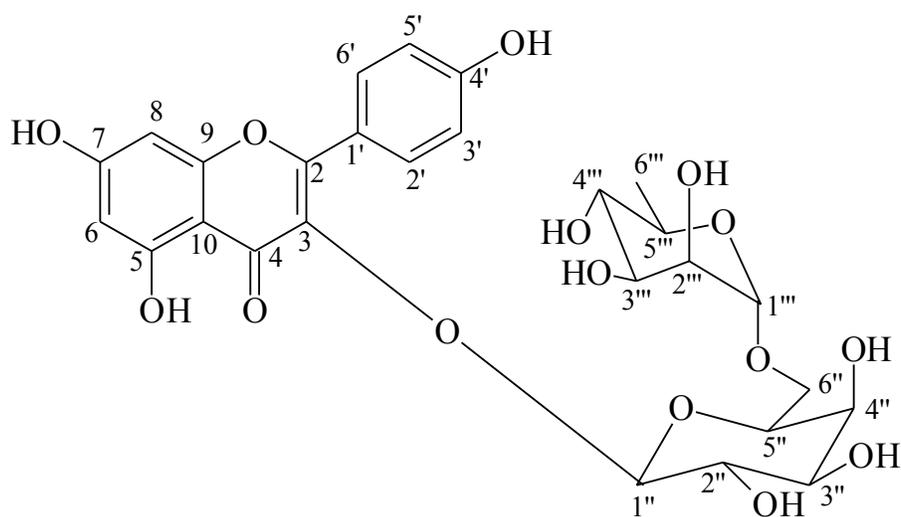


FIGURA 3.12: Estrutura da substância Jr1-124-02: kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo.

A estrutura proposta para Jr1-124-02 através de experimentos de RMN tem fórmula molecular $C_{27}H_{30}O_{15}$, massa molecular igual a 594u, estando de acordo com a obtenção do pico com massa relativa/carga igual a 593 $[M - H]^-$

no modo negativo das análises por espectrometria de massas (Figura 3.58B do anexo B). No modo positivo foi observado um pico com massa relativa/carga igual a 617, correspondente ao aduto $[M + Na]^+$ (Figura 3.59B do anexo B). Tais resultados estão de acordo com dados da literatura para o kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo (Rastrelli et al., 1995).

TABELA 3.7: Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (126 MHz) correlacionados via gHMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) e DEPT (90° e 135°), obtidos para Jr1-124-02 e dados encontrados na literatura para o kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo .

103

Posição	Jr1-124-02 (DMSO- <i>d</i> ₆)				kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo (1) (DMSO- <i>d</i> ₆)	
	^{13}C	^1H	gHMBC	DEPT	^{13}C	^1H
1'	120,9		H-2', H-6', H-3', H-5'	C	120,9	
2' e 6'	130,9	8,03 (2H; d, J=8,5)	2' (H-6', H-3'); 6' (H-2', H-5')	CH	131,0	8,04 (2H; d, J=8,0)
3' e 5'	115,1	6,85 (2H; d, J=8,5)	3' (H-5', H-2'); 5'(H-6', H-3')	CH	115,1	6,85 (2H; d, J=8,0)
4'	160,0		H-3', H-5', H-2', H-6'	C	160,0	
2	156,3		H-2', H-6'	C	156,5 ^a	
3	133,3		H-1''	C	133,3	
4	177,1			C	177,5	
5	161,1		H-6	C	161,2	
6	99,2	6,11 (1H; sl)	H-8	CH	98,8	6,18 (1H; s)
7	164,5		H-6, H-8	C	164,0	
8	94,1	6,32 (1H; sl)	H-6	CH	93,8	6,40 (1H; s)
9	156,6		H-8	C	156,5 ^a	
10	103,2		H-6, H-8	C	103,8	
1''	102,4	5,25 (1H; d, J=7,5)		CH	102,1	5,31 (1H; d, J=7,5)
2''	71,2	3,55 (1H; dd, J=7,5/9,5)	H-1''	CH	71,1	
3''	73,1	3,40 (1H; dd, J=3,0/9,5)	H-1''	CH	73,0	
4''	68,1	3,61 (1H; d, J=3,0)		CH	68,1	

...continua...

TABELA 3.7, Cont.

5''	73,6	3,75 – 3,23 (H-5''-H-6''A/H-6''B)*	H-1''	CH	73,6	
6''	65,4	3,75 – 3,23 (H-5''-H-6''A/H-6''B)*	H-1'''	CH ₂	65,4	
1'''	100,1	4,40 (1H; sl)	H-6''A, H-6''B	CH	100,1	4,39 (1H; s)
2'''	70,7	3,41 (1H; d, J=3,5)	H-1''', H-4'''	CH	70,7	
3'''	70,4	3,31 (1H; dd, J=3,5/9,5)	H-1''', H-4'''	CH	70,4	
4'''	72,0	3,10 (1H; dd, J=9,5/9,5)	H-CH ₃ (H-6'''A, H-6'''B, H-6'''C)	CH	72,0	
5'''	68,3	3,37 (1H; dq, J=6,0/9,5)	H-1''', H-CH ₃ (H- 6'''A, H-6'''B, H- 6'''C)	CH	68,3	
6'''	17,9	1,06 (3H; d, J=6,0)	H-4'''	CH ₃	17,9	10,5 (3H; d, J=6,0)

Valores de deslocamento químico (δ) expressos em ppm; constante de acoplamento (J) em Hz.; ^a sobreposição de sinais;

* sobreposição de sinais com H₂O do DMSO-*d*₆; (1) Brasseur & Angenot (1986).

Tal substância já é bastante conhecida no meio científico. Ela já foi isolada em diversas espécies de diferentes famílias tais como *Chimarrhis turbinata* DC. (Rubiaceae), *Gynura formosana* Kitam. (Asteraceae), *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze (Amaranthaceae), *Hibiscus mutabilis* L. (Malvaceae), *Astragalus tana* Sosn. (Fabaceae) e *Caragana chamlagu* Lam. (Fabaceae) (Alaniya et al., 2001; Brochado et al., 2003; Cardoso et al., 2005; Hou et al., 2005; Ma et al., 1999; Yao et al., 2003).

Tanto Cardoso et al. (2005) quanto Hou et al. (2005) testaram a atividade antioxidante do kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo e encontraram bons resultados. Este composto também inibiu a proliferação de linfócitos humanos *in vitro* (Brochado et al., 2003). Já Hasan & Ahmad (1999) testaram a atividade antimicrobiana do kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo extraído das folhas de *Rumex chalepensis*. Foi observado uma atividade moderada para esta substância.

4.4.2 Substância Jr1-145-01 (variabilosídeo G)⁴

O perfil do espectro de UV obtido via CLAE-DAD (Figura 3.13) para a substância Jr1-145-01 sugeriu que esta se tratava de um flavonóide (Santos, 2005).

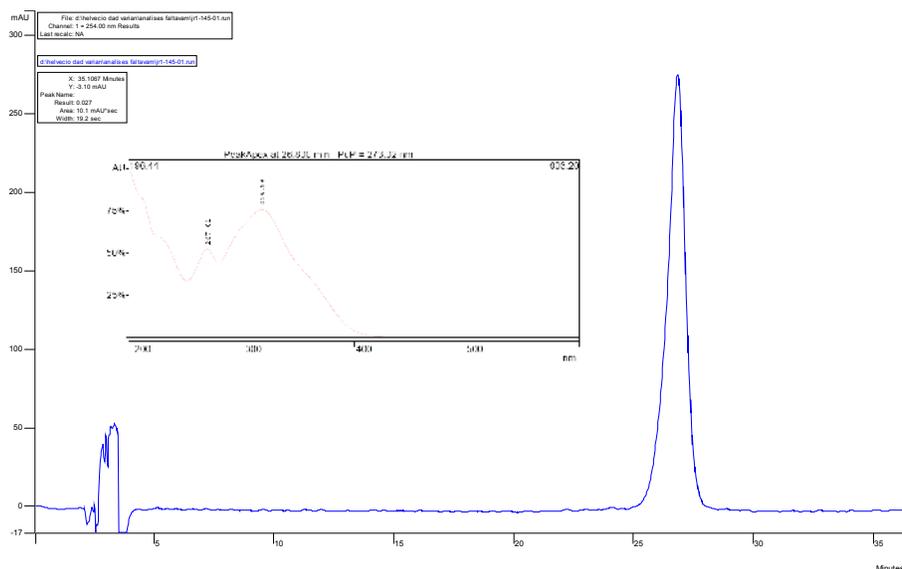


FIGURA 3.13: Cromatograma da substância Jr1-145-01 (variabilosídeo G), obtido em CLAE analítico e espectro no UV. Eluição isocrática com H₂O:ACN (75:25), através de coluna de sílica C-18.

Durante a interpretação dos espectros de RMN de ¹H de Jr1-145-01 (Figuras 26B a 29B do anexo B) ficaram evidentes os sinais na região de hidrogênios aromáticos com padrão de substituição característico do flavonóide kaempferol: δ_H 6,33 (1H; sl; H-8), δ_H 6,12 (1H; sl; H-6), δ_H 8,06 (2H; d, J=9,0;

⁴⁴ Espectros de EM-ES, RMN ¹H, ¹³C, DEPT 90° e 135°, gHMQC, gHMBC, gCOSY e TOCSY 1D se encontram no Anexo B.

H-2' e H-6') e δ_H 6,90 (2H; d, J=9,0; H-3' e H-6') (Coelho, 2004). O conjunto de sinais entre δ_H 3,06 e δ_H 5,40 foi atribuído aos hidrogênios ligados a átomos de carbono de carboidratos, sendo os sinais em δ_H 5,40 (1H; d, J=7,5) e δ_H 4,36 (1H; d, J=1,5) característicos de hidrogênios anoméricos de duas unidades de açúcar (Santos, 2005). O sinal em δ_H 4,36 (1H; d, J=1,5), com J característico de acoplamento equatorial-equatorial, e o de uma provável metila em δ_H 0,93 (3H; d, J=6,0), sugeriam que um dos açúcares era a ramnose na forma α -L-ramnopirranose (Santos, 2005). Já o sinal em δ_H 5,40 (1H; d, J=7,5), com uma constante de acoplamento (7,5 Hz) característica de acoplamento *trans*-diaxial, e os baixos valores de acoplamento entre os hidrogênios H-3''-H-4'' (J=3,5 Hz, axial-equatorial) e H-4''-H-5'' (equatorial-axial), sugeriam que o outro açúcar era a galactose na forma β -D-galactopirranose (Brasseur & Angenot, 1988). Foi possível ainda evidenciar a presença de um resíduo do ácido *p*-cumárico através dos sinais característicos da dupla ligação em configuração *trans* em δ_H 7,51 (1H; J=16,0; H-7''') e δ_H 6,33 (1H; d, J=16,0; H-8'''), que ficou nítida pela elevada constante de acoplamento. A presença do referido resíduo também foi percebida pelas absorções em δ_H 7,50 (2H; d, J=8,5; H-2''') e H-6''') e δ_H 6,81 (2H; d, J=8,5; H-3''') e H-5'''), que são características de hidrogênios do anel em posição *orto* (Lencina et al., 2001).

Nos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 90° e 135° (Figuras 30B a 39B do anexo B), observou-se a presença de trinta e dois sinais, sendo treze atribuídos à unidade flavonoídica, sete à unidade *p*-cumaroil e doze às duas unidades de açúcares. Também foi possível confirmar a presença de sinais relativos a um flavonol 5,7,4'-triidroxilado (kaempferol), com um carboidrato ligado ao carbono C-3.

As análises das correlações heteronucleares (^{13}C x ^1H) a curta (gHMQC) (Figuras 40B a 42B do anexo B) e longa (gHMBC) (Tabela 3.8; Figuras 43B a 49B do anexo B) distância, bem como das correlações homonucleares (^1H x ^1H)

do tipo gCOSY (Figuras 50B a 52B do anexo B) e TOCSY 1D (Figuras 53B a 57B do anexo B), permitiram um refinamento da proposta inicial, o que resultou na atribuição da estrutura do kaempferol 3-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1'''' \rightarrow 6''')-(4''-*O*-*E*-*p*-cumaroil)- β -D-galactopiranosídeo, conhecido como variabilosídeo G (Figura 3.14), à amostra Jr1-145-01. Pode-se destacar aqui a confirmação da ligação do carbono C-1'' do resíduo de galactose ao carbono C-3 do kaempferol, do C-1'''' do resíduo de ramosse ao C-6''' do resíduo de galactose e do C-9'''' do resíduo *p*-cumaroil ao carbono C-4''' do resíduo de galactose, evidenciadas no mapa de contorno gHMBC (Tabela 3.8; Figuras 43B a 49B do anexo B). Além disso, é importante deixar claro que a atribuição feita está perfeitamente de acordo com dados da literatura (Tabela 3.8) para Jr1-145-01 (variabilosídeo G – Figura 3.14) (Brasseur & Angenot, 1988).

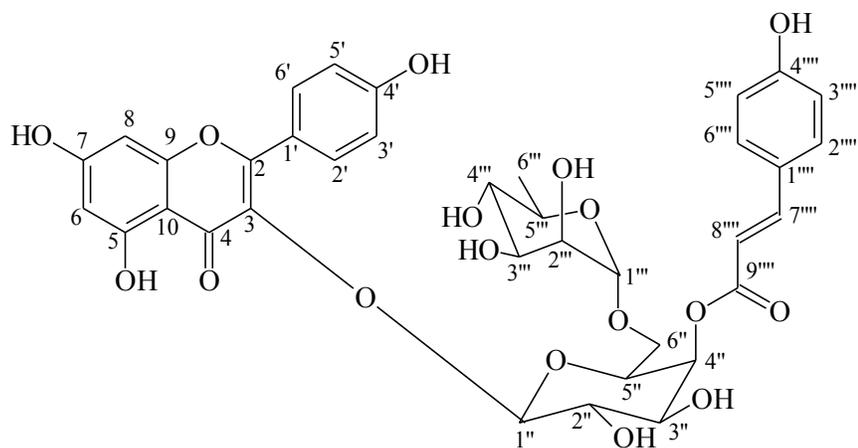


FIGURA 3.14: Estrutura da substância Jr1-145-01: variabilosídeo G.

TABELA 3.8: Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (126 MHz) correlacionados via gHMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) e DEPT (90° e 135°), obtidos para Jr1-145-01 e dados encontrados na literatura para o variabilosídeo G.

Posição	Jr1-145-01 (DMSO- d_6)				Variabilosídeo G (1) (DMSO- d_6)	
	^{13}C	^1H	gHMBC	DEPT	^{13}C	^1H
1'	120,9		H-2', H-6', H-3', H-5'	C	120,9	
2' e 6'	130,8	8,06 (2H; d, J=9,0)	2' (H-6', H-3'); 6' (H-2', H-5')	CH	130,9	8,10 (2H; d, J=9,0)
3' e 5'	115,0	6,90 (2H; d, J=9,0)	3' (H-5', H-2'); 5' (H-6', H-3')	CH	115,0	6,90 (2H; d, J=9,0)
4'	160,0		H-3', H-5', H-2', H-6'	C	160,1	
2	156,2		H-2', H-6'	C	156,4 ^c	
3	133,0		H-1''	C	133,1	
4	176,9			C	177,4	
5	161,1		H-6	C	161,2	
6	99,3	6,12 (1H; sl)	H-8	CH	98,7	6,20 (1H; d, J=2,0)
7	164,3		H-6, H-8	C	164,2	
8	94,0	6,33 (1H; sl)	H-6	CH	93,7	6,40 (1H; d, J=2,0)
9	156,6		H-8	C	156,6 ^c	
10	103,1		H-6, H-8	C	103,9	
1''	101,7	5,40 (1H; d, J=7,5)	H-2'', H-5''	CH	101,5	5,44 (1H; d, J=7,5)
2''	71,4 ^a	3,56 (1H; dd, J=7,5/9,5)	H-3'', H-4''	CH	71,7	3,30 (m; H-2''-H-6''A/H-6''B e H-2'''-H-5''')
3''	71,0	3,68 (1H; dd, J=3,5/9,5)	H-2''	CH	70,9	3,30 (m; H-2''-H-6''A/H-6''B e H-2'''-H-5''')
4''	69,9	5,20 (1H; d, J=3,5)	H-5'', H-6''A, H-6''B	CH	69,9	3,30 (m; H-2''-H-6''A/H-6''B e H-2'''-H-5''')

TABELA 3.8, Cont.

	5''	71,8	3,85 (1H; dd, J=6,5/6,5)	H-6''A, H-6''B	CH	71,5	3,30 (m; H-2''-H-6''A/H-6''B e H-2''-H-5'')
	6''	64,8	3,35 (1H; dd, J=6,5/10,0; H-6''A) e 3,12 (1H; dd, J=6,5 /10,0; H-6''B)	H-5'', H-1'''	CH ₂	64,8	3,30 (m; H-2''-H-6''A/H-6''B e H-2''-H-5'')
	1'''	100,3	4,36 (1H; d, J=1,5)	H-6''A, H-6''B	CH	100,3	4,37 (1H; s)
	2'''	70,3 ^b	3,40 (1H; dd, J=1,5/3,3)	H-1''', H-3''', H-4'''	CH	70,3 ^d	3,30 (m; H-2''-H-6''A/H-6''B e H-2''-H-5'')
	3'''	70,4 ^b	3,29 (1H; dd, J=3,3/9,0)	H-4'''	CH	70,4 ^d	3,30 (m; H-2''-H-6''A/H-6''B e H-2''-H-5'')
	4'''	71,6 ^a	3,06 (1H; dd, J=9,0/9,3)	H-2''', H-3''', H-CH ₃ (H- 6''A, H-6''B, H-6''C)	CH	71,8	3,30 (m; H-2''-H-6''A/H-6''B e H-2''-H-5'')
110	5'''	68,3	3,22 (1H; dq, J=6,0/9,3)	H-1''', H-CH ₃ (H-6''A, H-6''B, H-6''C)	CH	68,3	3,30 (m; H-2''-H-6''A/H-6''B e H-2''-H-5'')
	6'''	17,7	0,93 (3H; d, J=6,0)	H-4'''	CH ₃	17,7	0,93 (3H; d, J=6,0)
	1''''	125,0		H-7''', H-8''', H-2''', H-6'''	C	125,1	
	2'''' e 6''''	130,1	7,50 (2H; d, J=8,5)	2'''' (H-7''', H-6''', H- 3'''); 6'''' (H-7''', H- 2''', H-5''')	CH	130,2	7,53 (2H; d, J=8,5)
	3'''' e 5''''	115,8	6,81 (2H; d, J=8,5)	3'''' (H-2''', H-5'''); 5'''' (H-6''', H-3''')	CH	115,8	6,80 (2H; d, J=8,5)
	4''''	159,8		H-3''', H-5''', H-2''', H-6'''	C	159,8	
	7''''	144,7	7,51 (1H; d, J=16,0)	H-8''', H-2''', H-6'''	CH	144,7	7,52 (2H; d, J=16,0)
	8''''	114,1	6,33 (1H; d, J=16,0)	H-7'''	CH	114,2	6,35 (2H; d, J=16,0)
	9''''	165,8		H-4'', H-7''', H-8'''	C	165,8	

Valores de deslocamento químico (δ) expressos em ppm; constante de acoplamento (J) em Hz.; ^{a-d} os valores podem estar trocados; (1) Brasseur & Angenot (1988).

A estrutura proposta para Jr1-145-01 através de experimentos de RMN tem fórmula molecular $C_{36}H_{36}O_{17}$, massa molecular igual a 740u, estando de acordo com a obtenção do pico com massa relativa/carga igual a 739 $[M - H]^-$ no modo negativo das análises por espectrometria de massas (Figura 3.60B do anexo B). No modo positivo foi observado um pico com massa relativa/carga igual a 763, correspondente ao aduto $[M + Na]^+$ (Figura 3.61B do anexo B). Tais resultados estão de acordo com dados da literatura para o variabilosídeo G (Brasseur & Angenot, 1988).

Havia na literatura apenas dois trabalhos com relatos sobre o variabilosídeo G. Tal substância tinha sido isolada anteriormente das folhas de *Strychnos variabilis* (Loganiaceae) (Brasseur & Angenot, 1988) e das folhas de *Adina racemosa* (Rubiaceae) (Itoh et al., 2004). Entretanto, em nenhum destes trabalhos foi realizado qualquer teste para avaliar sua atividade biológica.

5 CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico do extrato metanólico das folhas de *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae) permitiu, até o presente momento, a purificação e identificação dos flavonóides kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo e variabilosídeo G, sendo estes pela primeira vez citados na espécie.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALANIYA, M. D.; CHKADUA, N. F.; KUTATELADZE, I. G. Flavonoids of *Astragalus tana*. **Chemistry of Natural Compounds**, New York, v. 36, n. 5, p. 537, Sept./Oct. 2001.

BRASSEUR, T.; ANGENOT, L. Flavonol glycosides from leaves of *Strychnos variabilis*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 563-564, Feb. 1986.

BRASSEUR, T.; ANGENOT, L. Six flavonol glycosides from leaves of *Strychnos variabilis*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 27, n. 5, p. 1487-1490, May 1988.

BROCHADO, C. de O.; DE ALMEIDA, A. P.; BARRETO, B. P.; COSTA, L. P.; RIBEIRO, L. S.; PEREIRA, R. L. da C.; KOATZ, V. L. G.; COSTA, S. S. Flavonol robinobiosides and rutinosides from *Alternanthera brasiliana* (Amaranthaceae) and their effects on lymphocyte proliferation in vitro. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 14, n. 3, 449-451, May/June 2003.

CARDOSO, C. L.; SILVA, D. H. S.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V. S. New Biflavonoid and Other Flavonoids from the Leaves of *Chimarrhis turbinata* and their Antioxidant Activities. **Journal of Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 16, n. 6B, p. 1353-1359, Nov./Dec. 2005.

CARLOS, I. Z.; LOPES, F. C. M.; BENZATTI, F. P.; CARLI, C. B. A.; MARQUES, M. F.; JORDÃO JUNIOR, C. M.; RINALDO, D.; CALVO, T. R.; SANTOS, L. C.; VILEGAS, W. Ação do extrato metanólico e etanólico de *Davilla elliptica* St. Hill. (Malpighiaceae) na resposta imune. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, João Pessoa, v. 15, n. 1, p. 44-50, 2005.

CARVALHO, D. A. Flora fanerogâmica de campos rupestres da serra da Bocaina, Minas Gerais: caracterização e lista de espécies. **Ciências Prática**, Lavras, v. 16, n. 1, p. 97-122, jan./mar. 1992.

CHOI, J.; LEE, K-T.; CHOI, M-Y.; NAM, J-H.; JUNG, H-J.; PARK, S-K.; PARK, H-J. Antinociceptive Anti-inflammatory Effect of Monotropein Isolated from the Root of *Morinda officinalis*. **Biological Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 28, n. 10, p. 1915-1918, Oct. 2005.

COELHO, G. C. **Estudo químico de *Zollernia ilicifolia*, *Wilbrandia eracteata* e *Caesalpinia ferrea***. 2004. 198 p. Doutorado (Tese de Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal.

HASAN, A.; AHMAD, I. Antibacterial activity of flavonoid glycosides from the leaves of *Rumex chalepensis*. **Fitoterapia**, Milano, v. 67, n. 2, p. 182-183, 1996.

HOU, W-C.; LIN, R-D.; LEE, T-H.; HUANG, Y-H.; HSU, F-L.; LEE, M-H. The phenolic constituents and free radical scavenging activities of *Gynura formosana* Kiamnra. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 85, n. 4, p. 615-621, Mar. 2005.

ITOH, A.; TANAHASHI, T.; NAGAKURA, N.; TAKENAKA, Y.; CHEN, C-C.; PELLETIER, J. Flavonoid glycosides from *Adina racemosa* and their inhibitory activities on eukaryotic Protein Synthesis. **Journal of Natural Products**, Wahington, v. 67, n. 3, p. 427-431, Mar. 2004.

JAYASINGHEA, U. L. B.; JAYASOORIYAA, C. P.; BANDARAB, B. M. R.; EKANAYAKEC, S. P.; MERLINID, L.; ASSANTEE, G. Antimicrobial activity of some Sri Lankan Rubiaceae and Meliaceae. **Fitoterapia**, Milano, v. 73, n. 5, p. 424-427, 2002.

LENCINA, C.; PIRES, V. S.; GOSMANN, G.; TAKETA, A. T. C.; SCHENKEL, E. P. Tilirosídeo em *Croton gnaphalii* BAILL. **Revista Brasileira de Framacognosia**, João Pessoa, v. 11, n. 2, p. 89-93, 2001.

MA, C. W.; HAM, I. W.; WAN, K. The flavonoids from *Caragana Chamlagu* leaves. **Yakhak Hoechi**, Tokyo, v. 43, n. 2, p. 143-149, 1999.

NATIONAL BOTANIC GARDEN OF BELGIUM. **Monographic and systematic studies in Rubiaceae**. Disponível em: <<http://www.br.fgov.be/SCIENCE/PROJECTS/rubiaceae.html>>. Acesso em: 21 de fev. de 2007.

PILARSKI, R.; ZIELIŃSKI, H.; CIESIOŁKA, D.; GULEWICZ, K. Antioxidant activity of ethanolic and aqueous extracts of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 104, n. 1-2, p. 18-23, Mar. 2006.

RASTRELLI, L.; SATURNINO, P.; SCHETTINO, O.; DINI, A. Studies on the constituents of *Chenopodium pallidicaule* (Canihua) seeds. Isolation and characterization of two new flavonol glycosides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 43, n. 8, p. 2020-2024, Aug. 1995.

SANTOS, L. Á. **Estudo químico e das atividades citotóxica, antioxidante e antifúngica de *Prunus myrtifolia* L. (Urban.) (Rosaceae).** 2005. 295 p.
Doutorado (Tese de Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista
Júlio de Mesquita Filho, Jaboticaba.

YAO, L.; LU, Y.; CHEN, Z. Studies on chemical constituents of *Hibiscus mutabilis*. **Zhongcaoyao**, Bijing, v. 34, n. 3, p. 201-203, 2003.

CAPÍTULO 4

ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE *Heteropterys byrsonimifolia* ADR. JUSS. (MALPIGHIACEAE)

RESUMO

SANTOS JÚNIOR, Helvécio Martins dos. Estudo fitoquímico das folhas de *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae). In: **Estudo fitoquímico das folhas de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae) e *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae).** 2007. Cap.4. p.117-165. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Sabendo-se da escassez de estudos fitoquímicos de *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae), espécie de planta de ocorrência em regiões de cerrado do sul de Minas Gerais, o extrato metanólico das folhas de tal espécie foi submetido a diversos processos de fracionamentos visando a purificação e identificação de substâncias presentes nesta espécie para um melhor entendimento da mesma. Após extração com solventes e emprego de técnicas cromatográficas, as substâncias isoladas foram identificadas por espectrometria de ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas. Foram isoladas quatro substâncias: a guaijaverina, a quercetina 3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo, a rutina e uma ainda em fase de identificação.

Comitê Orientador: Denilson Ferreira Oliveira – UFLA (orientador).

ABSTRACT

SANTOS JÚNIOR, Helvécio Martins dos. Phytochemical study of leaves of *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae). In: **Phytochemical study of leaves of *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae) and *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae).** 2007. Chap.4. p.117-165. Dissertation (Master in Agrochemistry and Agrobiochemistry) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Due to the scarcity of phytochemical studies of the *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae), a plant species that is found in the bushy (“cerrado”) region of the south of Minas Gerais State (Brazil), the methanol extract from the leaves of such species was submitted to various fractionating processes to purify and identify its metabolites in order to improve knowledge about this plant. After solvent extractions and the use of chromatographic techniques, the isolated substances were identified by nuclear magnetic resonance and mass spectrometry. Four substances were isolated: the guaijaverin, the quercetin 3-*O*- α -L-ramnopyranoside, the rutin and another substance that is still in the identification phase.

Guidance Committee: Denilson Ferreira Oliveira – UFLA (Advisor).

1 INTRODUÇÃO

Sabe-se que as plantas são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muito dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de substâncias de interesse comercial. Entretanto, há um grande número de espécies pouco estudadas no Brasil. Especialmente no Estado de Minas Gerais, cuja maior parte é coberta pelo bioma cerrado.

Com vista a contribuir para mudar este quadro, buscou-se realizar um estudo fitoquímico das folhas de *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae), uma espécie pertencente ao cerrado mineiro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O potencial das plantas como fontes de medicamentos é pouco explorado, já que os estudos fitoquímicos foram realizados apenas em uma minúscula parcela das plantas existentes (Carlos et al., 2005). Dentre as diversas espécies não estudadas destaca-se aqui *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss., espécie arbórea com aproximadamente 1,70m de altura, de ocorrência em regiões de cerrado do Brasil, pertencente à família Malpighiaceae (Carvalho, 1992).

A família Malpighiaceae, predominantemente tropical, conta com 65 gêneros, nos quais estão inseridas 1.250 espécies. No Brasil ocorrem 32 gêneros, com um total em torno de 300 espécies, que estão distribuídas em diversas formações vegetais (Cameron et al., 2001). Com cerca de 140 espécies, o gênero *Heteropterys* Kunth é o maior nessa família (Amorim, 2005). Dados na literatura revelam que algumas espécies desse gênero são empregadas na medicina tradicional como sedativo, ansiolítico e afrodisíaco (Galietta et al., 2005; Galvão et al., 2002).

Poucos estudos são encontrados a respeito do gênero *Heteropterys*. Melo et al. (2006) investigaram a atividade de um nitrocomposto isolado de *H. aphrodisiaca* contra poliovirus tipo 1 e contra o vírus da herpes bovina tipo 1, o que permitiu observar uma atividade antiviral moderada (CL₅₀ igual a 22,01 µg/mL e 21,10 µg/mL, respectivamente). Também se isolou um nitrocomposto da espécie *H. angustifolia*. Este foi identificado como hiptagina (1,2,4,6-tetra-3-nitropropanoil-β-D-glicopiranosídeo) (Stermitz et al., 1975).

Outras plantas da família Malpighiaceae apresentam atividades antimicrobianas. Como exemplo se pode citar *Byrsonima crassifolia*, que teve seu extrato em acetato de etila ativo contra *Klebsiella pneumoniae*,

Pseudomonas aeruginosa, *Salmonella typhi*, *Shigella flexnari*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Micrococcus luteus*. Já o extrato etanólico de suas folhas mostrou atividade moderada contra o protozoário *Tripanosoma cruzi* (Berger et al., 1998; Martínez-Vazquez et al., 1999).

Buscando propriedades antivirais em plantas panamenhas, Matsuse et al. (1998) identificaram que o extrato metanólico das partes aéreas de *Tetrapteris macrocarpa*, que pertence a mesma família, mostrou uma potente inibição da enzima HIV-reversa transcriptase, que é essencial para a replicação do vírus da AIDS.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais e equipamentos utilizados

Empregaram-se: hexano, acetato de etila, metanol, etanol e ácido clorídrico de grau analítico (P.A.). A água empregada era destilada. Para o fracionamento por cromatografia em coluna (CC), empregou-se resina de poliestireno amberlite XAD-16 (Sigma). As análises em cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) foram realizadas em: aparelho Varian com detector de UV-Vis modelo ProStar 310, bomba ternária modelo ProStar 230, injetor manual; aparelho Varian equipado com detector de UV-Vis do tipo DAD modelo ProStar 330, bomba ternária modelo ProStar 230, injetor automático modelo ProStar 410; aparelho Shimadzu CLASS-LC10 com detector de UV-Vis do tipo DAD modelo SPD-10Ai, equipado com três bombas modelo LC10A, injetor automático modelo LC10 AutoSampler. Quanto aos fracionamentos em CLAE, foram feitos em aparelho Varian equipado com duas bombas modelo PrepStar SD1, com detector de UV-Vis modelo ProStar 320, com injetor manual. Todo o trabalho em CLAE foi realizado com colunas analíticas Phenomenex Luna Sílica-C18, Sílica-C8 ou Fenil-Hexil (5µm, 250 x 4,6 mm) ou com coluna preparativa Luna sílica-C18 (10µm, 250 x 21,2 mm). Para tanto, empregou-se água (H₂O) ultrapura do tipo I, metanol (MeOH) e acetonitrila (ACN) grau CLAE-UV.

3.2 Coleta de material botânico

Folhas de vários indivíduos de *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae) foram coletadas no município de Lavras – MG e levadas ao Laboratório de Produtos Naturais, do Departamento de Química (DQI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde teve início o processo de

purificação e identificação de substâncias da espécie. Uma amostra foi encaminhada ao Departamento de Biologia (DBI) da UFLA para identificação botânica por comparações com exsicatas no Herbário ESAL e consulta ao Professor Doutor Douglas Antônio de Carvalho do mesmo Departamento.

3.3 Obtenção do extrato bruto para purificação

As folhas coletadas foram secas em estufa com ventilação e renovação de ar, por no mínimo 48 horas, na temperatura de aproximadamente 40°C, para serem moídas e armazenadas em freezer. Obtiveram-se 665,3g de material seco e moído, que foi extraído exaustivamente com metanol por processos de maceração, conforme fluxograma apresentado na Figura 4.1, para resultar em 96,7g de extrato bruto liofilizado (Jr1-37-01).

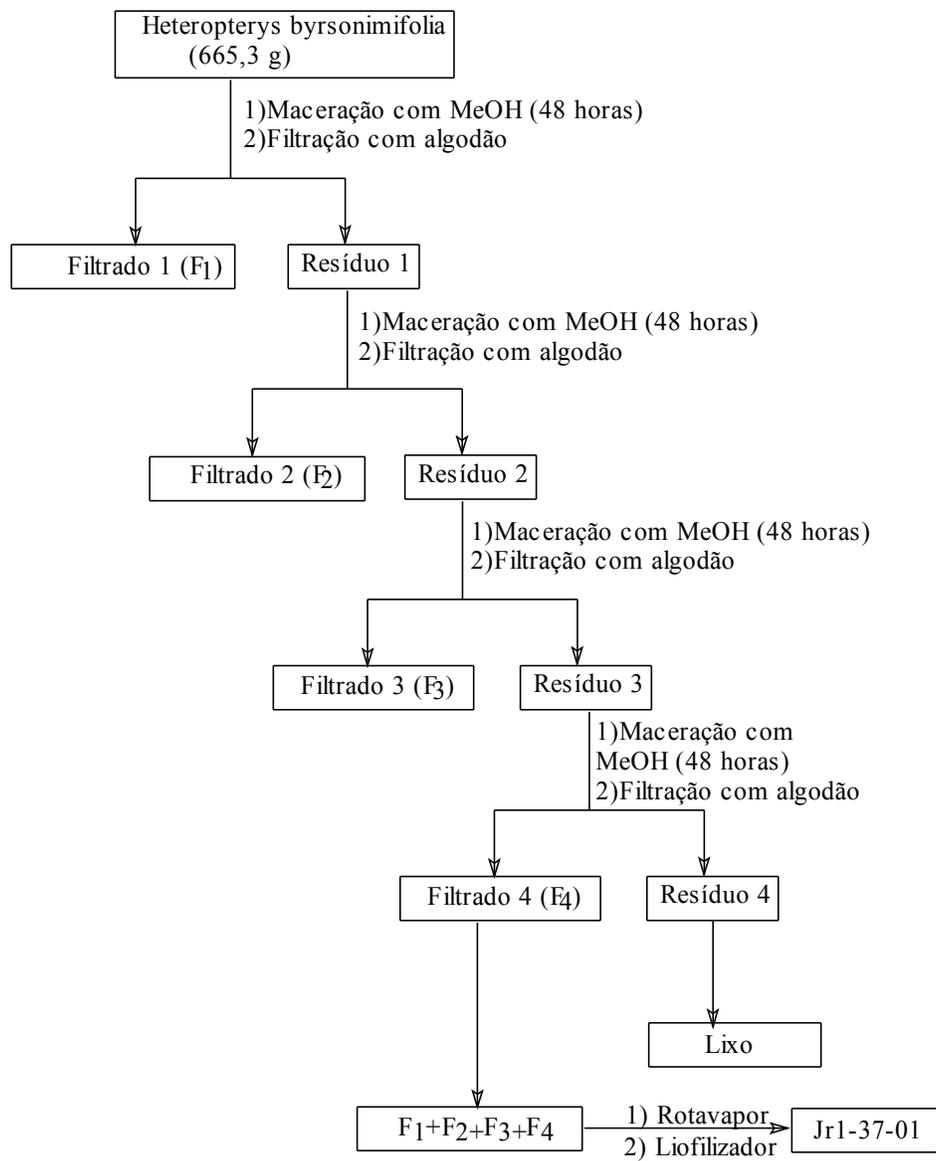


FIGURA 4.1: Metodologia de obtenção do extrato bruto metanólico das folhas secas e moídas de *Heteropterys byrsonimifolia*.

3.4 Fracionamento do extrato bruto por extração com solventes

O fracionamento por extração com solventes do extrato bruto seco das folhas de *Heteropterys byrsonimifolia* (Jr1-37-01) seguiu o esquema mostrado na Figura 4.2.

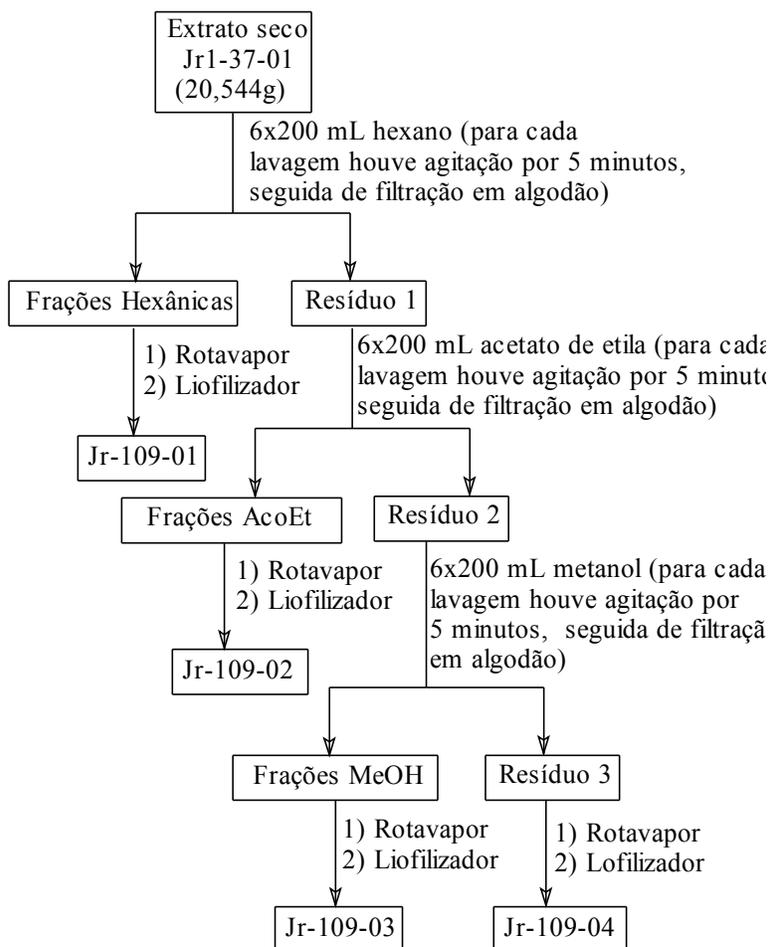


FIGURA 4.2: Fluxograma do fracionamento por extração com solventes de Jr1-37-01.

3.5 Fracionamento da fração solúvel em metanol (Jr1-109-03)

3.5.1 Cromatografia líquida em coluna de resina de poliestireno amberlite XAD-16 de Jr1-109-03

Parte (5,05 g) de Jr1-109-03 (fração solúvel em metanol do extrato bruto de *Heteropterys byrsonimifolia*, item 3.4) foi solubilizada em metanol e colocada em balão de fundo redondo com cerca de 10 g de resina XAD-16. Retirou-se o solvente em evaporador rotatório e adicionou-se o resíduo ao topo de uma coluna com 4 x 10cm de resina XAD-16. Através desta eluíram-se água (200 mL), água/metanol (80:20, 200 mL; 60:40, 200 mL; 40:60, 200 mL; 80:20, 200 mL), metanol (200 mL), metanol/acetato de etila (50:50, 200 mL) e acetato de etila (200 mL). Coletaram-se oito frações (Jr1-113-01 a Jr1-113-08, Tabela 4.3 do item 4.3.1) de aproximadamente 200 mL, que foram analisadas em CLAE-DAD (coluna sílica-C18 Phenomenex Luna 5µm, 250 x 4,6 mm; gradiente de H₂O:MeOH 5% a 100% MeOH em 40 minutos, 100% de MeOH de 40 a 55 minutos; fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm; injeção de 20 µL na concentração de 1 mg/mL de material dissolvido em metanol). O perfil cromatográfico obtido para as oito frações a 254 nm (item 4.3.1) demonstrou similaridade entre as frações Jr1-113-01 à Jr1-113-03 e entre as frações Jr1-113-04 à Jr1-113-08.

3.5.2 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo das frações Jr1-113-05 e Jr1-113-06

Para fracionamento das frações semelhantes Jr1-113-05 e Jr1-113-06 em CLAE-UV-Vis preparativo, as condições foram anteriormente ajustadas em CLAE-UV-Vis analítico, obtendo-se uma boa separação com as seguintes

condições cromatográficas: coluna sílica-C18 Phenomenex Luna 5µm, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (83:17); fluxo de 1 mL/minuto; detecção a 282 nm; injeção de 20 µL na concentração de 1 mg/mL de material dissolvido em metanol (cromatograma apresentado no item 4.3.2). Em seguida, as frações Jr1-113-05 e Jr1-113-06 foram fracionadas em CLAE-UV-Vis preparativo utilizando-se coluna preparativa de sílica-C18 Phenomenex Luna 10µm, 250 x 21,2 mm, eluição isocrática com H₂O:ACN (83:17), fluxo de 20 mL/minuto e detecção a 282 nm. Parte de Jr1-113-05 (583,0 mg) foi solubilizada em 23 mL de H₂O:ACN (83:17), obtendo-se concentração de aproximadamente 25 mg/mL. Realizaram-se injeções de 1,5 mL cada (cerca de 37,5 mg por injeção). Para a fração Jr1-113-06, uma massa de 514,1 mg foi solubilizada em 22 mL de H₂O:ACN (83:17), obtendo-se concentração de aproximadamente 23,4 mg/mL. Realizaram-se injeções de 1,5 mL cada (cerca de 35 mg de material por injeção). Foram coletadas quatro frações (Jr1-120-01 à Jr1-120-04, Tabela 4.4 do item 4.3.2), que posteriormente foram analisadas em CLAE-DAD (coluna sílica-C18 Phenomenex Luna 5µm, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (83:17); fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm; injeção de 20 µL na concentração de 1 mg/mL de material dissolvido em metanol) (item 4.3.2). As frações Jr1-120-02, Jr1-120-03 e Jr1-120-04 também foram analisadas por RMN ¹H.

3.5.3 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo da fração Jr1-120-01

A fração Jr1-120-01 (item 3.5.2) foi inicialmente analisada em CLAE-DAD, obtendo-se uma boa separação com as seguintes condições cromatográficas: duas colunas de sílica-C18 adaptadas em série Phenomenex Luna 5µm, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (83:17); fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm e detecção a 254 nm; injeção de 20 µL na concentração de 1 mg/mL de material dissolvido

em metanol (cromatograma apresentado no item 4.3.3). Em seguida, foi fracionada em CLAE-UV-Vis preparativo utilizando-se duas colunas preparativas de sílica-C18 Phenomenex Luna 10 μ m, 250 x 21,2 mm adaptadas em série, eluição isocrática com H₂O:ACN (83:17), fluxo de 20 mL/minuto e detecção a 254 nm. A massa obtida da fração Jr1-120-01 (61,8 mg) foi solubilizada em 11 mL de H₂O:ACN (50:50), obtendo-se uma concentração de aproximadamente 5,6 mg/mL de material, sendo realizadas injeções de 2 mL cada (cerca de 11,2 mg por injeção). Coletaram-se duas frações (Jr1-146-01 e Jr1-146-02, Tabela 4.5 do item 4.3.3) que foram posteriormente analisadas por CLAE-DAD juntamente com a fração de origem (Jr1-120-01, item 3.5.2) (coluna sílica-C18 Phenomenex Luna 5 μ m, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (85:15); fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm; injeção de 20 μ L na concentração de 1 mg/mL de material dissolvido em metanol) (item 4.3.3). Jr1-146-01 e Jr1-146-02 também foram analisadas por RMN ¹H (item 4.3.3).

3.6 Elucidação estrutural das substâncias isoladas

A elucidação estrutural das substâncias isoladas foi feita por meio de espectrometria de massas (EM) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).

3.6.1 Espectrometria de massas

Foram feitas análises no modo positivo e no modo negativo, do tipo MS¹, MS² e MS³, em aparelho Agilent 1100 LC/MS Trap equipado com interface do tipo *electrospray* (EM-ES).. As fragmentações foram induzidas por colisões contra Hélio. Cerca de 0,5mg das substâncias isoladas foram dissolvidas em 1 mL de metanol/água (9:1), injetando-se 20 μ L diretamente na interface. Condições de análise: fluxo na interface de 5 μ L/min de metanol/água

(9:1), pressão do nebulizador de 15 psi (pound-force per square inch), fluxo de nitrogênio (N₂, gás de secagem) de 5 L/min, temperatura de secagem de 325°C.

3.6.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

As análises por RMN foram realizadas em espectrômetro Varian Inova 500, operando a 500 MHz para ¹H e 126 MHz para ¹³C. As substâncias Jr1-120-03, Jr1-120-04, Jr1-146-01 e Jr1-146-02 foram dissolvidas em DMSO-*d*₆. Realizaram-se experimentos unidimensionais e bidimensionais, empregando-se os picos do solvente como referência: δ_{H} 2,49 e δ_{C} 39,5 para DMSO-*d*₆.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fluxograma da Figura 4.3 resume os procedimentos realizados na purificação do extrato bruto metanólico das folhas secas de *Heteropterys byrsonimifolia*.

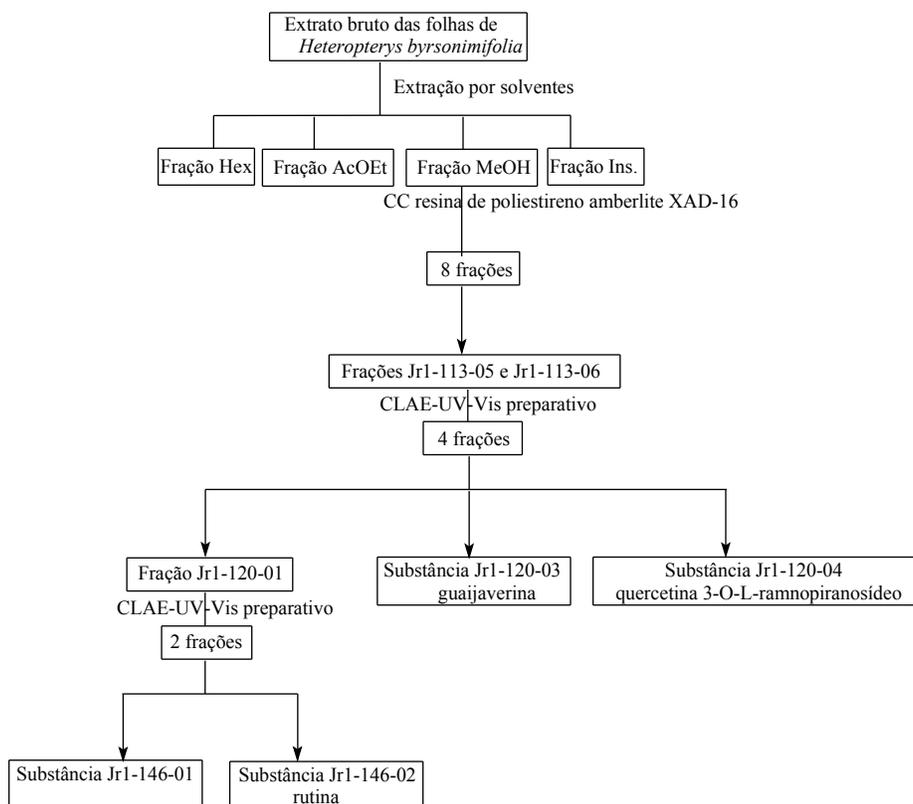


FIGURA 4.3: Resumo dos procedimentos realizados durante o fracionamento do extrato bruto metanólico das folhas de *Heteropterys byrsonimifolia*.

4.1. Extrato bruto das folhas de *Heteropterys byrsonimifolia*

Ao se submeterem 665,3g de folhas secas e moídas de *Heteropterys byrsonimifolia* à extração com metanol (item 3.3), obtiveram-se 96,7g de extrato liofilizado (Jr1-37-01), com rendimento de aproximadamente 14,5%, conforme dados apresentados na Tabela 4.1.

TABELA 4.1: Características das folhas secas e moídas de *Heteropterys byrsonimifolia* e do correspondente extrato metanólico.

Folhas de <i>Heteropterys byrsonimifolia</i>			
Material	seco	e Massa	665,3g
moído		Característica	Pó verde escuro homogêneo
Extrato liofilizado		Massa	96,7g
		Rendimento	Aproximadamente 14,5%
		Característica	Pó verde escuro homogêneo
			s

4.2 Fracionamento do extrato bruto por extração com solventes

O fracionamento por extração com solventes do extrato bruto de *Heteropterys byrsonimifolia* (item 3.4) resultou em quatro novas frações (Tabela 4.2). Dentre estas, observou-se que a solúvel em metanol era a de maior massa, correspondendo a cerca de 78%.

TABELA 4.2: Massas, porcentagens e aspectos das frações obtidas da extração por solventes do extrato bruto de *Heteropterys byrsonimifolia* (Jr1-37-01).

Código frações obtidas	Solvente extrator	Massa (g)	Percentual (%)	Coloração/Aspecto
Jr1-109-01	Hexano	3,31	16,7	Verde escuro/oleoso
Jr1-109-02	Acetato de etila	0,66	3,3	Verde escuro/pastoso
Jr1-109-03	Metanol	15,45	78,1	Marrom/pó
Jr1-109-04	Insolúvel em Metanol	0,38	1,9	Bege/pó

4.3 Fracionamento da fração do extrato bruto de *Heteropterys byrsonimifolia* solúvel em metanol (Jr1-109-03)

4.3.1 Cromatografia líquida em coluna de resina de poliestireno amberlite XAD-16 de Jr1-109-03

O fracionamento em coluna de XAD-16 da fração solúvel em metanol (Jr1-109-03, item 3.5.1) do extrato bruto de *Heteropterys byrsonimifolia* (Jr1-37-01) resultou em oito frações (Tabela 4.3), que foram analisadas em CLAE-DAD analítico (item 3.5.1). Os perfis cromatográficos observados (Figura 4.4) permitiram agrupar tais frações em dois conjuntos conforme similaridades: Jr1-113-01 à Jr1-113-03 e Jr1-113-04 à Jr1-113-08. Descartaram-se as frações Jr1-113-01 à Jr1-113-03, pois, com base em experiência adquirida no trabalho com *Merremia tomentosa* (itens 3.7.1 e 4.5.1 do capítulo 2), acreditava-se que tinham carboidratos como componentes principais.

Optou-se por dar prosseguimento ao fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo com as frações Jr1-113-05 e Jr1-113-06, que seriam representativas

para o segundo conjunto de frações (Jr1-113-04 à Jr1-113-08), conforme descrito no item 3.5.2.

TABELA 4.3: Frações obtidas do fracionamento em coluna de resina de polisetireno amberlite XAD-16 da fração solúvel em metanol (Jr1-109-03).

Código frações obtidas	Eluente	Massa (mg)
Jr-113-01	H ₂ O	1785,8
Jr-113-02	H ₂ O/MeOH 80:20	695,7
Jr-113-03	H ₂ O/MeOH 60:40	565,0
Jr-113-04	H ₂ O/MeOH 40:60	691,3
Jr-113-05	H ₂ O/MeOH 20:80	797,8
Jr-112-06	MeOH	571,6
Jr-113-07	AcOEt/MeOH 50:50	325,7
Jr-113-08	AcOEt	89,2

Jr1-113-01

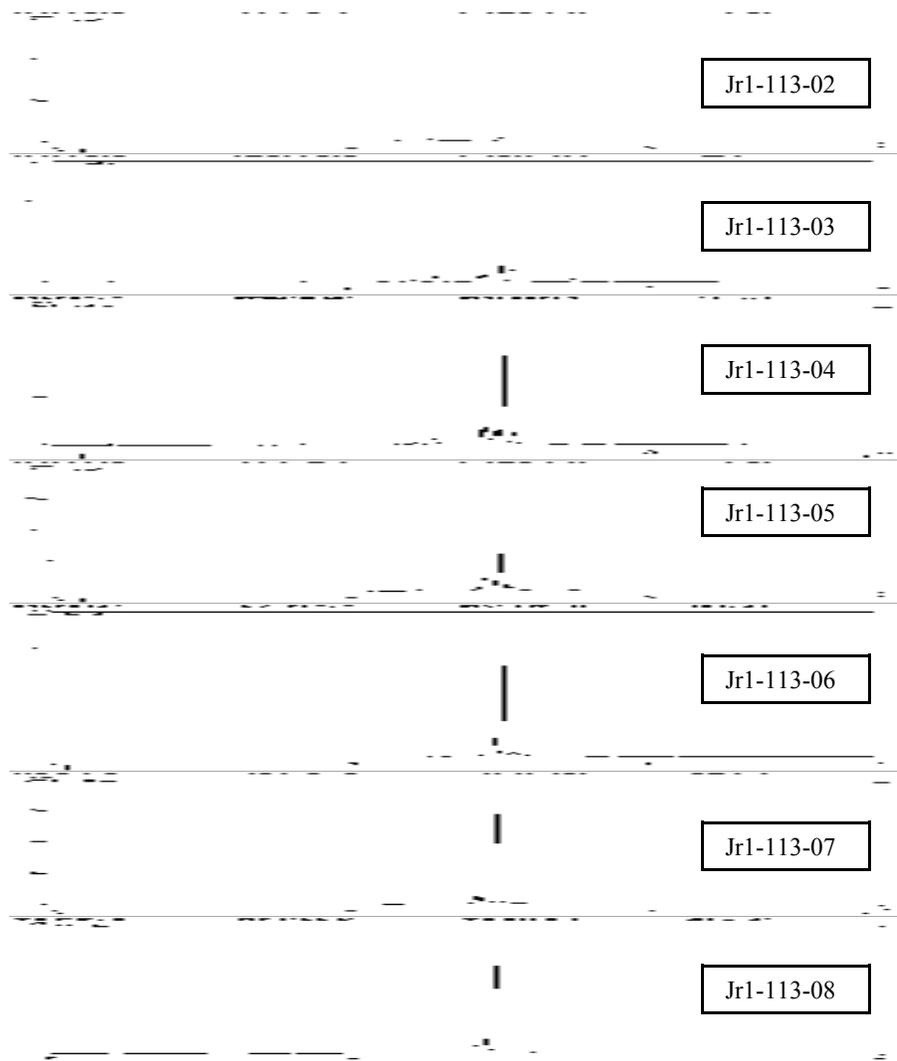


FIGURA 4.4: Cromatogramas analíticos das frações Jr1-113-01 a Jr1-113-08. Condições cromatográficas: coluna sílica-C18 5 μ m, 250 x 4,6 mm; gradiente de H₂O:MeOH 5% a 100% MeOH em 40 minutos, 100% de MeOH de 40 a 55 minutos; fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm, detecção feita a 254 nm.

4.3.2 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo das frações Jr1-113-05 e Jr1-113-06

As frações obtidas do fracionamento em CLAE-UV-Vis das frações similares Jr1-113-05 e Jr1-113-06 (item 3.5.2) foram apresentadas na Tabela 4.4.

TABELA 4.4: Frações obtidas do fracionamento CLAE-UV-Vis preparativo das frações similares Jr1-113-05 e Jr1-113-06.

Código frações obtidas	Massa (mg)
Jr1-120-01	61,8
Jr1-120-02	17,2
Jr1-120-03	11,1
Jr1-120-04	84,3

Os cromatogramas analíticos e preparativos (Figura 4.5) das frações Jr1-113-05 e Jr1-113-06 (item 3.5.2) deixam evidentes que o objetivo era coletar quatro diferentes frações (Tabela 4.4). Estas foram analisadas por CLAE-DAD (item 3.5.2), o que permitiu observar (Figura 4.6) que aquela denominada Jr1-120-01 se tratava de uma mistura, sendo submetida a novo fracionamento conforme descrito no item 3.5.3. Por parecer pura, a fração Jr1-120-02 também foi submetida a análise por RMN ^1H , o que levou a constatar que não estava pura. Já as frações Jr1-120-03 (11,1 mg) e Jr1-120-04 (84,3 mg), que só apresentavam um pico nas análises por CLAE-DAD (Figura 4.6), tiveram suas purezas confirmadas por RMN ^1H e foram posteriormente identificadas (itens 4.4.1 e 4.4.2).

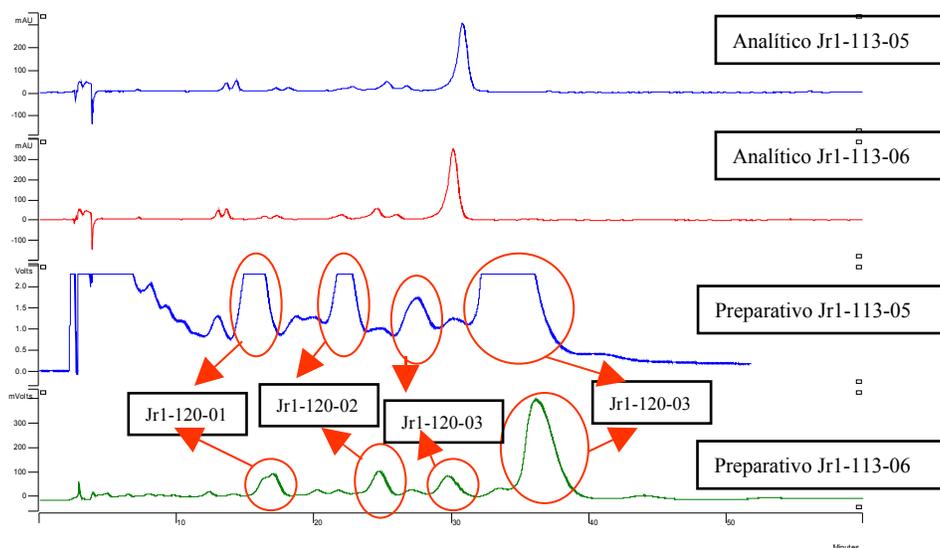


FIGURA 4.5: Cromatogramas analíticos e preparativos das frações Jr1-113-05 e Jr1-113-06 e representação das frações coletadas (Jr1-120-01 a Jr1-120-04). Cromatogramas analíticos: CLAE-UV-Vis; coluna sílica-C18 analítica Phenomenex Luna 5 μ m, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O: ACN (83:17); fluxo de 1 mL/minuto; detecção a 282 nm. Cromatogramas preparativos: CLAE-UV-Vis; coluna sílica-C18 preparativa Phenomenex Luna 10 μ m, 250 x 21,2 mm; eluição isocrática com H₂O: ACN (83:17); fluxo de 20 mL/minuto; detecção a 282 nm.

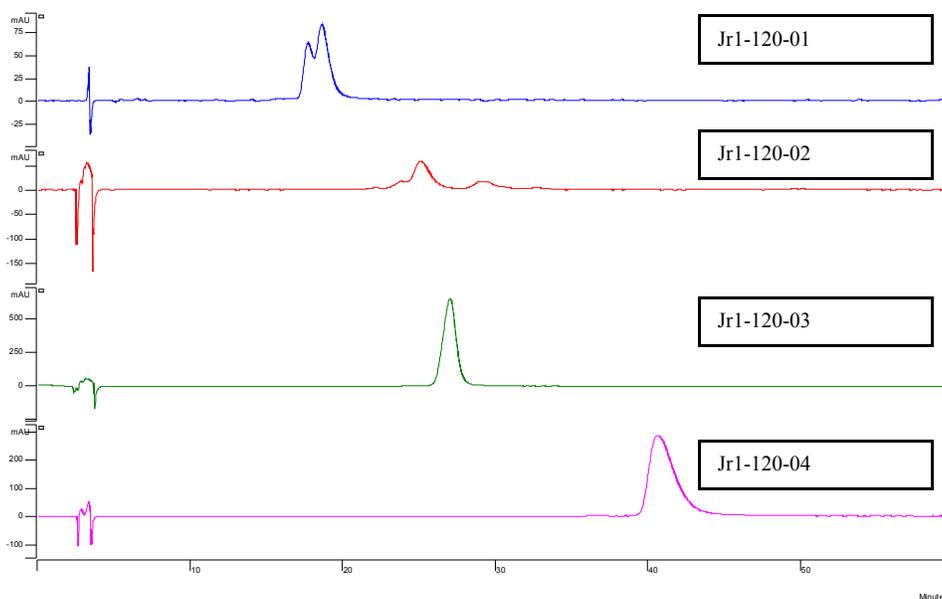


FIGURA 4.6: Cromatogramas analíticos obtidos em CLAE-DAD para as frações Jr1-120-01 à Jr1-120-04. Condições cromatográficas: coluna sílica-C18 analítica Phenomenex Luna 5 μ m, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (83:17); fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm, detecção feita a 254 nm.

4.3.3 Fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo da fração Jr1-120-01

As frações obtidas do fracionamento em CLAE-UV-Vis preparativo de Jr1-120-01 (item 3.5.3) foram apresentadas na Tabela 4.5.

Os cromatogramas analítico e preparativo de Jr1-120-01 (item 3.5.3; Figura 4.7) deixam evidentes as frações coletadas (Tabela 4.5) que, logo em seguida, foram submetidas a análises por CLAE-DAD (Figura 4.8; item 3.5.3) e RMN ¹H. Observou-se que ambas as frações Jr1-146-01 (12,8 mg) e Jr1-146-02 (20,6 mg) estavam puras. Jr1-146-01 ainda se encontra em fase de identificação (item 4.4) e Jr1-146-02 foi identificada conforme descrito no item 4.4.3.

TABELA 4.5: Frações obtidas do fracionamento CLAE-UV-Vis preparativo da fração Jr1-120-01.

Código frações obtidas	Massa (mg)
Jr1-146-01	12,8
Jr1-146-02	20,6

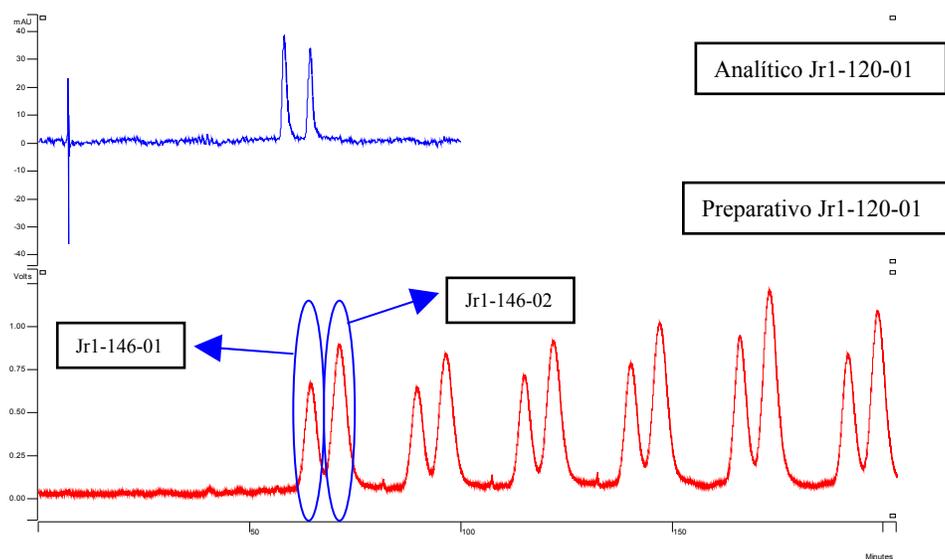


FIGURA 4.7: Cromatogramas analítico e preparativo de Jr1-120-01 e representação das frações coletadas (Jr1-146-01 e Jr1-146-02). Analítico: CLAE-DAD; duas colunas de sílica-C18 analítica Phenomenex Luna 5 μ m, 250 x 4,6 mm adaptadas em série; eluição isocrática com H₂O:ACN (83:17); fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm e detecção a 254 nm. Preparativo: CLAE-UV-Vis preparativo; duas colunas de sílica-C18 preparativas Phenomenex Luna 10 μ m, 250 x 21,2 mm adaptadas em série; eluição isocrática com H₂O:ACN (83:17); fluxo de 20 mL/minuto; detecção a 254 nm.

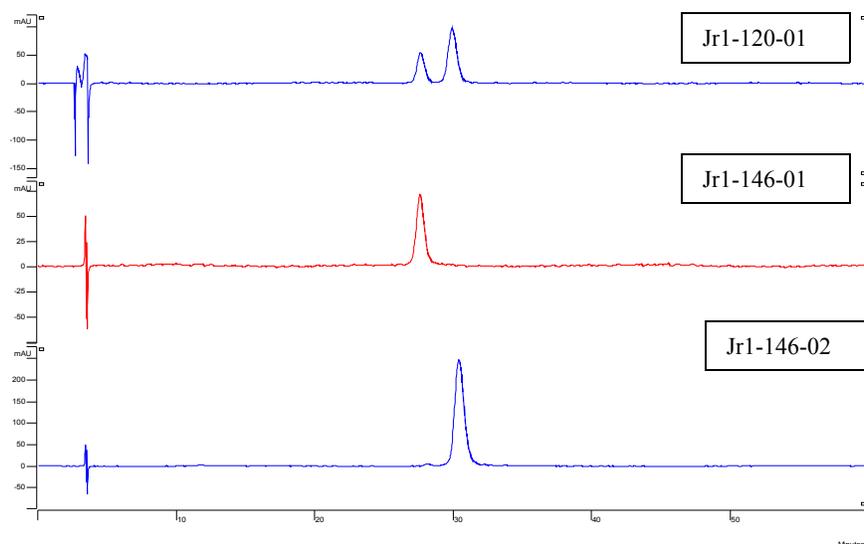


FIGURA 4.8: Cromatogramas analíticos obtidos em CLAE-DAD para a fração de origem Jr1-120-01, antes de ser purificada em CLAE-UV-Vis preparativo e as frações Jr1-146-01 e Jr1-146-02 obtidas após o fracionamento. Condições cromatográficas: coluna sílica-C18 analítica Phenomenex Luna 5 μ m, 250 x 4,6 mm; eluição isocrática com H₂O:ACN (85:15); fluxo de 1 mL/minuto; varredura de comprimento de onda de 200 a 800 nm, detecção feita a 254 nm.

4.4 Elucidação estrutural das substâncias isoladas

As substâncias isoladas das folhas de *Heteropterys byrsonimifolia* Jr1-120-03, Jr1-120-04, Jr1-146-01 e Jr1-146-02 foram analisadas por espectrometria de massas (EM) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C conforme descrito nos itens 3.6.1 e 3.6.2. As substâncias Jr1-120-03, Jr1-120-04 e Jr1-146-02 foram identificadas conforme apresentado nos itens 4.4.1, 4.4.2 e 4.4.3. Já a substância Jr1-146-01 ainda está em fase de identificação.

4.4.1 Substância Jr1-120-03 (guajaverina)⁵⁵

O perfil do espectro de UV obtido via CLAE-DAD (Figura 4.9) para a substância Jr1-120-03 sugeriu que esta se tratava de um flavonóide (Santos, 2005).

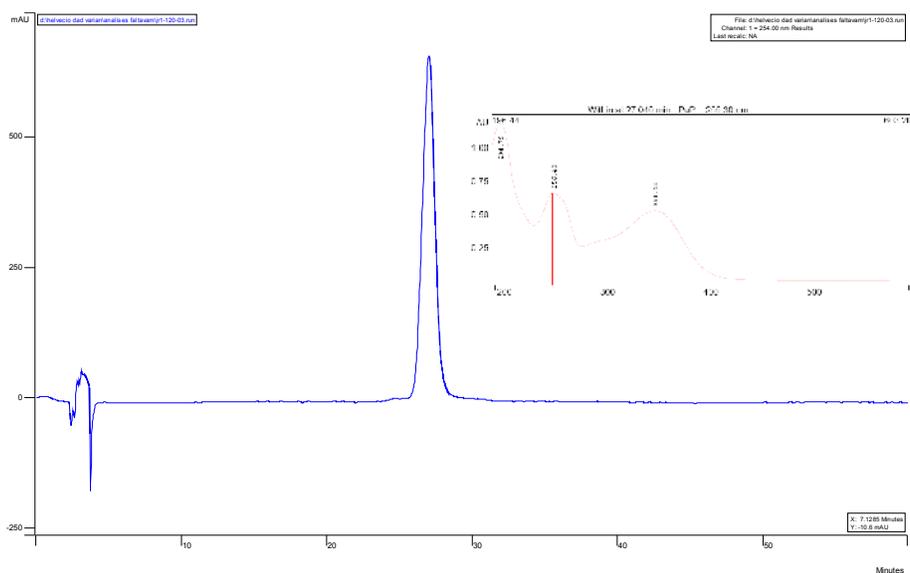


FIGURA 4.9: Cromatograma da substância Jr1-120-03 (guajaverina), obtido em CLAE analítico e espectro no UV. Eluição isocrática com H₂O:ACN (83:17), através de coluna de sílica C-18.

A interpretação dos espectros de RMN de ¹H de Jr1-120-03 (Figuras 1C a 3C do anexo C) permitiu observar sinais na região de hidrogênios aromáticos com padrão de substituição característico do flavonóide quercetina: δ_H 6,41 (1H; d, J=2,0; H-8), δ_H 6,20 (1H; d, J=2,0; H-6), δ_H 7,52 (1H; d, J=2,0; H-2'), δ_H 6,85

⁵⁵ Espectros de EM-ES, RMN ¹H, ¹³C, gHMQC, gHMBC, gCOSY e TOCSY 1D se encontram no Anexo C.

(1H; d, J=8,5; H-5') e δ_H 7,65 (1H; dd, J=2,0/8,5; H-6') (Santos, 2005). O conjunto de sinais entre δ_H 3,23 e δ_H 5,28 foi atribuído aos hidrogênios ligados a átomos de carbono de um açúcar, sendo o sinal em δ_H 5,28 (1H; d, J=5,0) característico de hidrogênio anomérico com acoplamento *trans*-diaxial (Fraisse et al., 2000). Através da comparação dos dados espectrais obtidos com aqueles provenientes da literatura (Fraisse et al., 2000) (Tabela 4.6) foi possível identificar a unidade de açúcar como sendo a arabinose na forma α -L-arabinopiranosose.

Nos espectros de RMN de ^{13}C (Figura 4.4C do anexo C), observou-se a presença de vinte sinais, sendo quinze atribuídos à unidade flavonoídica e cinco à unidade de açúcar. Também foi possível confirmar a presença de sinais relativos a um flavonol 5,7,3',4'-tetraidroxilado (quercetina), com um carboidrato ligado ao carbono C-3 (Coelho, 2004).

As análises das correlações heteronucleares ($^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$) a curta (gHMQC) (Figuras 5C a 7C do anexo C) e longa (gHMBC) (Tabela 4.6; Figuras 8C a 12C do anexo C) distância, bem como das correlações homonucleares ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$) do tipo gCOSY (Figuras 13C a 15C do anexo C) e TOCSY 1D (Figuras 16C e 17C do anexo C), permitiram um refinamento da proposta inicial, o que resultou na atribuição da estrutura do flavonol quercetina 3-O- α -L-arabinopiranosídeo, conhecido como guaijaverina (Figura 4.10), à amostra Jr1-120-03. Pode-se destacar aqui a confirmação da ligação do carbono C-1'' do resíduo de arabinose ao carbono C-3 da quercetina, evidenciada no mapa de contorno gHMBC (Tabela 4.6; Figuras 8C a 12C do anexo C). Além disso, é importante deixar claro que a atribuição feita está perfeitamente de acordo com dados da literatura (Tabela 4.6) para Jr1-120-03 (guaijaverina – Figura 4.10) (Fraisse et al., 2000). A estrutura proposta para Jr1-120-03 através de experimentos de RMN tem fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$, massa molecular igual a 434u, estando de acordo com a obtenção do pico com massa relativa/carga igual a 433 [M – H]⁻ no modo

negativo das análises por espectrometria de massas (Figuras 65C do anexo C). No modo positivo foi observado um pico com massa relativa/carga igual a 457, correspondente ao aduto $[M + Na]^+$ (Figuras 66C do anexo C). Tais resultados estão de acordo com dados da literatura para a guaijaverina (Fraisse et al., 2000).

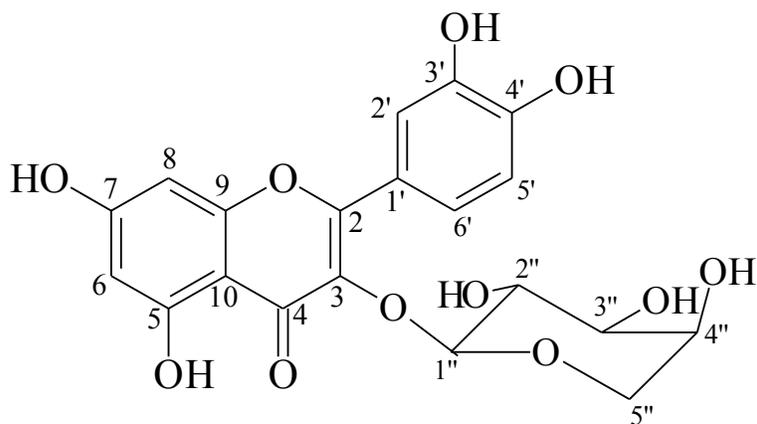


FIGURA 4.10: Estrutura da substância Jr1-120-03: guaijaverina.

Diversos trabalhos na literatura demonstram que a guaijaverina já havia sido anteriormente isolada em diversas espécies de diferentes famílias tais como *Acer truncatum* Bunge (Aceraceae), *Quercus dentata* Thunb (Fagaceae), *Prunus serotina* Ehrh. (Rosaceae), *Bauhinia megalandra* Griseb (Fabaceae), *Juglans sinensis* (C. DC.) Dode (Juglandaceae), *Byrsonima crassa* Nied (Malpighiaceae), *Vaccinium macrocarpon* Aiton (Ericaceae) e *Croton campestris* St. Hill (Euphorbiaceae) (An et al., 2005; Estrada et al., 2005; Olszewska, 2005; Sannomyia et al., 2005; Santos et al., 2005; Vvendeskaya et al., 2004; Xie et al., 2005; Zhou et al., 2005).

TABELA 4.6: Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (126 MHz) correlacionados via gHMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$), obtidos para Jr1-120-03 e dados encontrados na literatura para a guajaverina.

Posição	Jr1-120-03 (DMSO- d_6)			guajaverina (1) (DMSO- d_6)	
	^{13}C	^1H	gHMBC	^{13}C	^1H
1'	120,9		H-2', H-5', H-6'	120,8	
2'	115,7	7,52 (1H; d, J=2,0)	H-6'	115,6	7,50 (1H; d, J=2,2)
3'	144,9		H-2', H-5'	144,9	
4'	148,6		H-2', H-5', H-6'	148,6	
5'	115,3	6,85 (1H; d, J=8,5)	H-6'	115,3	6,83 (1H; d, J=8,5)
6'	122,0	7,65 (1H; dd, J=2,0/8,5)	H-2', H-5'	122,0	7,65 (1H; dd, J=2,2/8,5)
2	156,3 ^a		H-2', H-5'	156,3	
3	133,7		H-1''	133,6	
4	177,5			177,4	
5	161,2		H-6	161,1	
6	98,7	6,20 (1H; d, J=2,0)	H-8	98,7	6,18 (1H; d, J=1,7)
7	164,3		H-6, H-8	164,6	
8	93,5	6,41 (1H; d, J=2,0)	H-6	93,5	6,38 (1H; d, J=1,7)
9	156,2 ^a		H-8	156,1	
10	103,8		H-6, H-8	103,7	
1''	101,4	5,28 (1H; d, J=5,0)	H-5''A, H-5''B, H-2'', H-3''	101,4	5,27 (1H; d, J=5,1)
2''	70,7	3,77 (1H; dd, J=5,0/7,0)	H-1'', H-3'', H-4''	70,7	3,76 (1H; dd, J=5,1/7,1)
3''	71,6	3,53 (1H; dd, J=3,0/7,0)	H-1'', H-2'', H-4'', H-5''A, H-5''B	71,6	3,52 (1H; dd, J=3,2/7,1)
4''	66,0	3,67 (1H; ddd, J=2,5/3,0/5,5)	H-2'', H-3'', H-5''A, H-5''B	66,0	3,66 (1H; ddd, J=2,0/3,2/5,2)

...continua...

TABELA 4.6, Cont.

5''	64,2	3,62 (1H; dd, J=5,5/11,5; H _{ax} -5''A) e 3,23 (1H; dd, J=2,5/11,5; H _{eq} -5''B)	H-1'', H-3'', H-4''	64,2	3,60 (1H; dd, J=5,2/11,2; H _{ax} - 5''A) e 3,22 (1H; dd, J=2,0/11,2; H _{eq} -5''B)
-----	------	--	---------------------	------	--

Valores de deslocamento químico (δ) expressos em ppm; constante de acoplamento (J) em Hz.; ^a os sinais podem estar trocados; (1) Fraisse et al. (2000).

An et al. (2005) observaram que guajaverina possui grande atividade antioxidante. Já Estrada et al. (2005), trabalhando com a guajaverina extraída de *Bauhinia megalandra*, verificou que esta substância inibia o sistema glicose-6-fosfatase, o que caracterizava um efeito antihiper-glicêmico moderado. Além disso, observou-se que a guajaverina também parecia ser responsável pela atividade antiulcerogênica de *Birsonima crassa* (Sannomyia et al., 2005).

4.4.2 Substância Jr1-120-04 (quercetina 3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo)⁶⁶

De forma análoga ao observado para Jr1-120-03 (item 4.4.1), o espectro de UV obtido via CLAE-DAD (Figura 4.11) para a substância Jr1-120-04 também indicou que esta se tratava de um flavonóide (Santos, 2005).

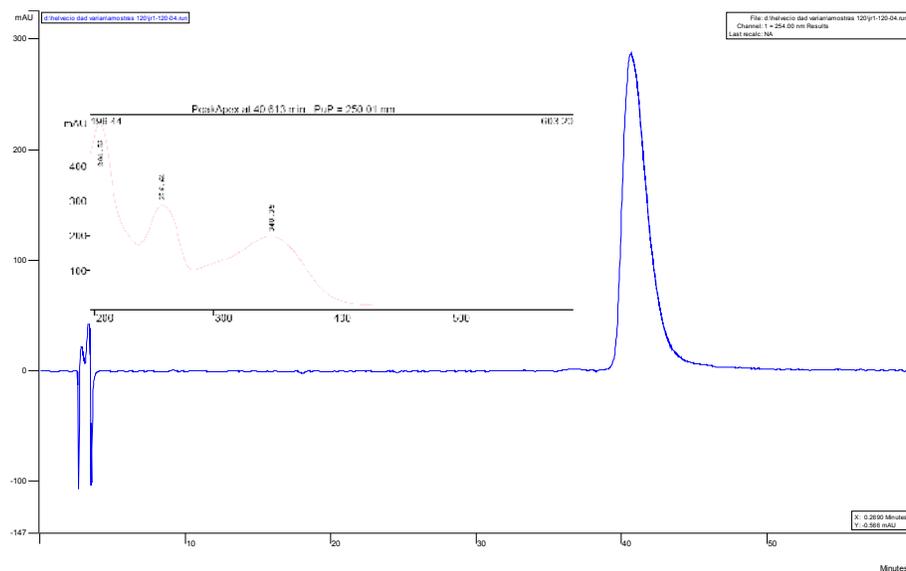


FIGURA 4.11: Cromatograma da substância Jr1-120-04 (quercetina 3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo), obtido em CLAE analítico e espectro no UV. Eluição isocrática com H₂O:ACN (83:17), através de coluna de sílica C-18.

O espectro de RMN de ¹H de Jr1-120-04 (Figuras 18C a 20C do anexo C) mostrou sinais na região de hidrogênios aromáticos com padrão de substituição característico do flavonóide quercetina: δ_H 6,39 (1H; d, J=2,0; H-8), δ_H 6,21 (1H; d, J=2,0; H-6), δ_H 7,30 (1H; d, J=2,5; H-2'), δ_H 6,87 (1H; d, J=8,5;

⁶⁶ Espectros de EM-ES, RMN ¹H, ¹³C, DEPT (90 e 135°), gHMQC, gHMBC, gCOSY e TOCSY 1D se encontram no Anexo C.

H-5') e δ_H 7,25 (1H; dd, J=2,5/8,5; H-6') (Santos, 2005). O conjunto de sinais entre δ_H 3,16 e δ_H 5,26 foi atribuído aos hidrogênios ligados a átomos de carbono de um açúcar, sendo o sinal em δ_H 5,26 (1H; d, J=1,5) característico de hidrogênio anomérico (Santos, 2005). O sinal em δ_H 5,26 (1H; d, J=1,5), com J característico de acoplamento equatorial-equatorial, e o de uma provável metila em δ_H 0,83 (3H; d, J=6,0), sugeriram que o açúcar era a ramnose na forma α -L-ramnopiranosose (Santos, 2005).

Nos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT (90° e 135°) (Figuras 21C a 23C do anexo C), observou-se a presença de vinte e um sinais, sendo quinze atribuídos à unidade flavonoídica e seis à unidade de açúcar. Também foi possível confirmar a presença de sinais relativos a um flavonol 5,7,3',4'-tetraidroxilado (quercetina), com um carboidrato ligado ao carbono C-3 (Coelho, 2004).

As análises das correlações heteronucleares (^{13}C x ^1H) a curta (gHMQC) (Figuras 24C a 27C do anexo C) e longa (gHMBC) (Tabela 4.7; Figuras 28C a 32C do anexo C) distância, bem como das correlações homonucleares (^1H x ^1H) do tipo gCOSY (Figuras 33C a 35C do anexo C) e TOCSY 1D (Figuras 36C a 39C do anexo C), permitiram um refinamento da proposta inicial, o que resultou na atribuição da estrutura do flavonol quercetina 3-O- α -L-ramnopiranosídeo (Figura 4.12) à amostra Jr1-120-04. Pode-se destacar aqui a confirmação da ligação do carbono C-1'' do resíduo de ramnose ao carbono C-3 da quercetina, evidenciada no mapa de contorno gHMBC (Tabela 4.7; Figuras 28C a 32C do anexo C). Além disso, é importante deixar claro que a atribuição feita está perfeitamente de acordo com dados da literatura (Tabela 4.7) para Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-ramnopiranosídeo – Figura 4.12) (Agrawal, 1989 e Ma et al., 2005).

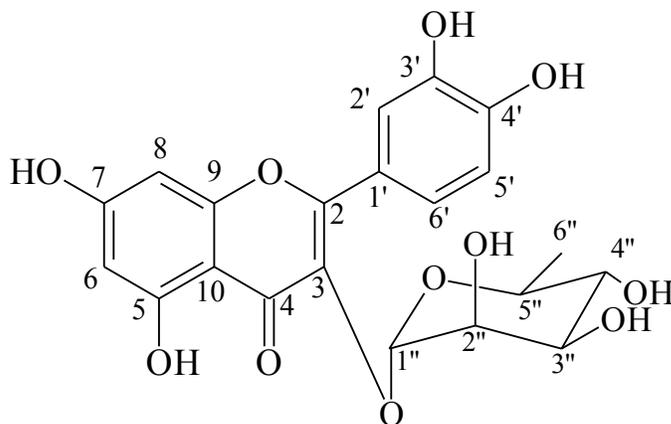


FIGURA 4.12: Estrutura da substância Jr1-120-04: quercetina 3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo.

A estrutura proposta para Jr1-120-04 através de experimentos de RMN tem fórmula molecular $C_{21}H_{20}O_{11}$, massa molecular igual a 448u, estando de acordo com a obtenção do pico com massa relativa/carga igual a 447 $[M - H]^-$ no modo negativo das análises por espectrometria de massas (Figuras 67C do anexo C). No modo positivo foi observado um pico com massa relativa/carga igual a 471, correspondente ao aduto $[M + Na]^+$ (Figuras 68C do anexo C). Tais resultados estão de acordo com dados da literatura para a quercetina 3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo (Ma et al., 2005).

Tal substância já havia sido isolada de diversas espécies de diferentes famílias tais como *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim (Rosaceae), *Davilla elliptica* St. Hill. (Dilleniaceae), *Solidago canadensis* L. (Asteraceae), *Calliandra haematocephala* Hassk. (Fabaceae), *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae), *Lumnitzera racemosa* Willd. (Combretaceae) e *Cuscuta chinensis* Lam. (Convolvulaceae) (Apati et al., 2006; Haladova et al., 2006;

Kerhoas et al., 2006; Moharram et al., 2006; Rinaldo et al., 2006; Wang et al., 2006; Zheng et al., 2005).

TABELA 4.7: Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (126 MHz) correlacionados via gHMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) e DEPT (90° e 135°), obtidos para Jr1-120-04 e dados encontrados na literatura para a quercetina 3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo.

Posição	Jr1-120-04 (DMSO- d_6)			quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo (1) (DMSO- d_6)	quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo (2) (DMSO- d_6)		
	^{13}C	^1H	gHMBC	DEPT	^{13}C	^{13}C	^1H
1'	120,7		H-2', H-5', H-6'	C	121,0 ^a	121,6	
2'	115,6	7,30 (1H; d, J=2,5)	H-6'	CH	115,4	115,9	7,29 (1H; d, J=1,5)
3'	145,2		H-2', H-5'	C	145,1	145,7	
4'	148,4		H-2', H-5', H-6'	C	148,3	149,0	
5'	115,4	6,87 (1H; d, J=8,5)	H-6'	CH	115,8	116,1	6,85 (1H; d, J=8,4)
6'	121,1	7,25 (1H; dd, J=2,5/8,5)	H-2', H-5'	CH	121,0 ^a	121,2	7,24 (1H; dd, J=1,5/8,4)
2	157,3		H-2', H-5'	C	156,4	156,9	
3	134,2		H-1''	C	134,4	134,6	
4	177,7			C	177,7	178,2	
5	161,3		H-6	C	161,2	161,8	
6	98,7	6,21 (1H; d, J=2,0)	H-8	CH	98,6	99,3	6,19 (1H; sl)
7	164,2		H-6, H-8	C	164,0	165,1	
8	93,6	6,39 (1H; d, J=2,0)	H-6	CH	93,5	94,1	6,36 (1H; sl)
9	156,4		H-8	C	157,0	157,7	
10	104,1		H-6, H-8	C	104,2	104,4	

...continua...

TABELA 4.7, Cont.

1''	101,8	5,26 (1H; d, J=1,5)	H-2'', H-5''	CH	101,9	102,3	5,25 (1H; s)
2''	70,0	3,98 (1H; dd, J=1,5/3,5)	H-1'', H-3'', H-4''	CH	70,4	70,8	
3''	70,4	3,52 (1H; dd, J=3,5/9,5)	H-1'', H-2'', H-4'', H-5''	CH	70,6	71,0	
4''	71,2	3,16 (1H; dd, J=9,5/9,5)	H-2'', H-3'', H-5'', H-CH ₃ (H-6''A, H-6''B, H-6''C)	CH	71,5	71,7	
5''	70,5	3,23 (1H; dq, J=6,0/9,5)	H-1'', H-3'', H-4'', H-CH ₃ (H-6''A, H-6''B, H-6''C)	CH	70,1	70,5	
6''	17,5	0,83 (3H; d, J=6,0)	H-4'', H-5''	CH ₃	17,3	18,0	0,81 (3H; d, J=6,0)

Valores de deslocamento químico (δ) expressos em ppm; constante de acoplamento (J) em Hz.; ^a sobreposição de sinais; (1) Agrawall (1989); (2) Ma et al. (2005).

Tanto Morrahan et al. (2006), quanto Yamazaki et al. (2006) observaram boa atividade antioxidante para a quercetina 3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo. Já Wagner et al. (2006) notaram que tal substância previne a peroxidação lipídica *in vitro*. Camuesco et al. (2006) conseguiu, ao combinar a quercetina 3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo com óleo de peixe, rico em ácidos graxos, aumentar a atividade antiinflamatória do primeiro em ratos com colite induzida.

4.4.3 Substância Jr1-146-02 (rutina)⁷

De forma análoga ao observado para Jr1-120-03 (item 4.4.1) e Jr1-120-04 (4.4.2), o espectro de UV obtido via CLAE-DAD (Figura 4.13) para a substância Jr1-146-02 também indicou que esta se tratava de um flavonóide (Santos, 2005).

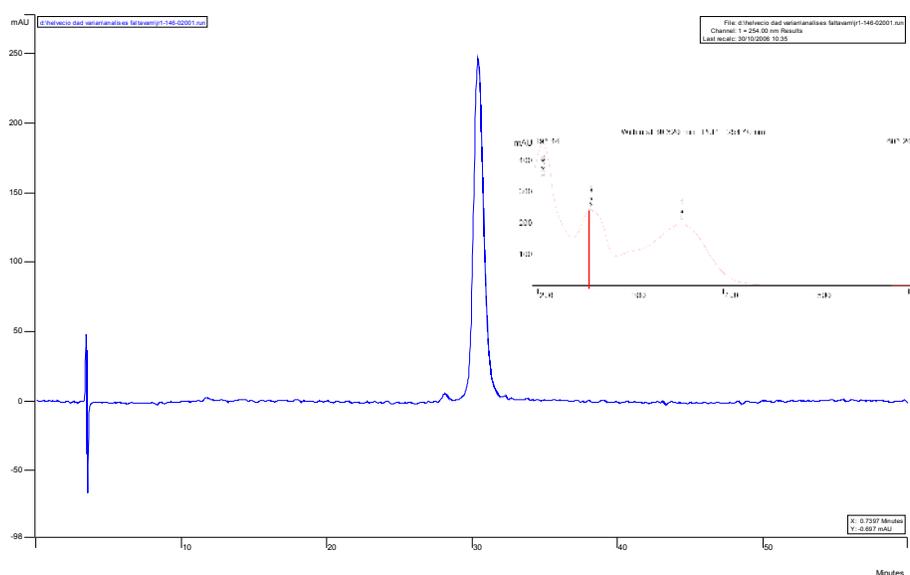


FIGURA 4.13: Cromatograma da substância Jr1-146-02 (rutina), obtido em CLAE analítico e espectro no UV. Eluição isocrática com H₂O:ACN (85:15), através de coluna de sílica C-18.

O espectro de RMN de ¹H de Jr1-146-02 (Figuras 40C a 42C do anexo C) mostrou sinais na região de hidrogênios aromáticos com padrão de substituição característico do flavonóide quercetina: δ_H 6,36 (1H; d, J=2,0; H-8),

⁷⁷ Espectros de EM-ES, RMN ¹H, ¹³C, DEPT 135°, gHMQC, gHMBC, gCOSY e TOCSY 1D se encontram no Anexo C.

δ_H 6,17 (1H; d, J=2,0; H-6), δ_H 7,53 (1H; d, J=2,0; H-2'), δ_H 6,84 (1H; d, J=8,5; H-5') e δ_H 7,55 (1H; dd, J=2,0/8,5; H-6') (Santos, 2005). O conjunto de sinais entre δ_H 3,08 e δ_H 5,33 foi atribuído aos hidrogênios ligados a átomos de carbono de carboidratos, sendo os sinais em δ_H 5,33 (1H; d, J=7,5) e δ_H 4,40 (1H; d, J=1,5) característicos de hidrogênios anoméricos de duas unidades de açúcar (Santos, 2005). O sinal em δ_H 4,40 (1H; d, J=1,5), com J característico de acoplamento equatorial-equatorial, e o de uma provável metila em δ_H 1,01 (3H; d, J=6,0), sugeriram que um dos açúcares era a ramnose na forma α -L-ramnopiranosose (Santos, 2005). Já o sinal em δ_H 5,33 (1H; d, J=7,5), com uma constante de acoplamento (7,5 Hz) característica de acoplamento *trans*-diaxial, segundo comparação com dados da literatura (Pereira, 2006) (Tabela 4.8), era oriundo da glicose na forma β -D-glicopiranosose.

Nos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135° (Figuras 43C a 47C do anexo C), observou-se a presença de vinte e sete sinais, sendo quinze atribuídos à unidade flavonoídica e doze às duas unidades de açúcares. Também foi possível confirmar a presença de sinais relativos a um flavonol 5,7,3',4'-tetraidroxilado (quercetina), com um carboidrato ligado ao carbono C-3 (Coelho, 2004).

As análises das correlações heteronucleares (^{13}C x ^1H) a curta (gHMQC) (Figuras 48C a 50C do anexo C) e longa (gHMBC) (Tabela 4.8; Figuras 51C a 58C do anexo C) distância, bem como das correlações homonucleares (^1H x ^1H) do tipo gCOSY (Figuras 59C a 61C do anexo C) e TOCSY 1D (Figuras 62C a 64C do anexo C), permitiram um refinamento da proposta inicial, o que resultou na atribuição da estrutura do flavonol quercetina 3-O- α -L-ramnopiranosil-(1'' \rightarrow 6'')- β -D-glicopiranosídeo, conhecido como quercetina 3-O-rutinosídeo ou rutina (Figura 4.14), à amostra Jr1-146-02. Pode-se destacar aqui a confirmação da ligação do carbono C-1'' do resíduo de glicose ao carbono C-3 da quercetina e do C-1''' do resíduo de ramnose ao C-6'' do resíduo de glicose,

evidenciadas no mapa de contorno gHMBC (Tabela 4.8; Figuras 51C a 58C do anexo C).

Além disso, é importante deixar claro que a atribuição feita está perfeitamente de acordo com dados da literatura (Tabela 4.8) para Jr1-146-02 (rutina – Figura 4.14) (Pereira, 2006).

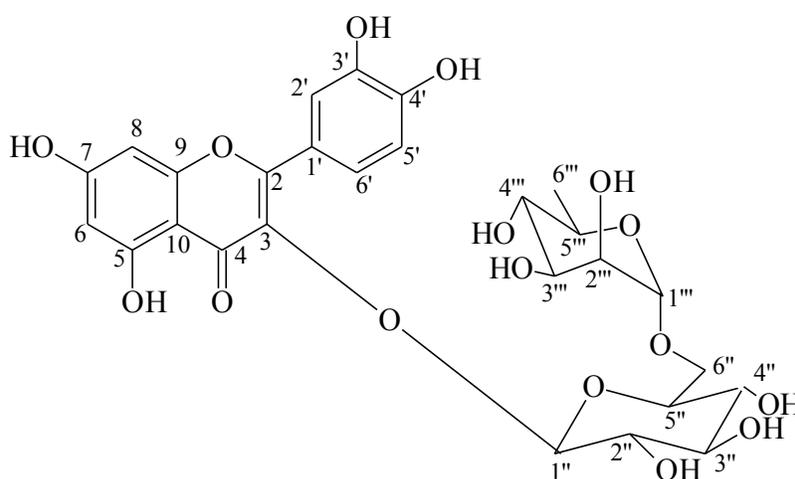


FIGURA 4.14: Estrutura da substância Jr1-146-02: rutina.

A estrutura proposta para Jr1-146-02 através de experimentos de RMN tem fórmula molecular $C_{27}H_{30}O_{16}$, massa molecular igual a 610u, estando de acordo com a obtenção do pico com massa relativa/carga igual a 609 $[M - H]^-$ no modo negativo das análises por espectrometria de massas (Figuras 69C do anexo C). No modo positivo foi observado um pico com massa relativa/carga igual a 633, correspondente ao aduto $[M + Na]^+$ (Figuras 70C do anexo C). Tais resultados estão de acordo com dados da literatura para a rutina (Pereira, 2006).

TABELA 4.8: Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (126 MHz) correlacionados via gHMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$) e DEPT 135°, obtidos para Jr1-146-02 e dados encontrados na literatura para a rutina.

Posição	Jr1-146-02 (DMSO- d_6)				rutina (1) (DMSO- d_6)	
	^{13}C	^1H	gHMBC	DEPT	^{13}C	^1H
1'	121,0		H-2', H-5', H-6'	C	121,1	
2'	116,1	7,53 (1H; d, J=2,0)	H-6'	CH	116,2	7,55 (1H; d, J=2,0)
3'	144,7		H-2', H-5'	C	144,8	
4'	148,5		H-2', H-5', H-6'	C	148,5	
5'	115,2	6,84 (1H; d, J=8,5)	H-6'	CH	115,2	6,83 (1H; d, J=8,5)
6'	121,5	7,55 (1H; dd, J=2,0/8,5)	H-2', H-5'	CH	121,6	7,53 (1H; dd, J=2,0/8,5)
2	156,4 ^a		H-2', H-5'	C	156,4	
3	133,2		H-1''	C	133,3	
4	177,2			C	177,3	
5	161,1		H-6	C	161,2	
6	98,8	6,17 (1H; d, J=2,0)	H-8	CH	98,7	6,17 (1H; d, J=1,5)
7	164,6		H-6, H-8	C	164,5	
8	93,6	6,36 (1H; d, J=2,0)	H-6	CH	93,6	6,36 (1H; d, J=1,5)
9	156,4 ^a		H-8	C	156,5	
10	103,6		H-6, H-8	C	103,8	
1''	101,3	5,33 (1H; d, J=7,5)		CH	101,3	5,34 (1H; d, J=7,1)
2''	74,0	3,33 – 3,17 (H-2''-H-5'' e H-6''B)	H-1''	CH	74,0	3,27 (1H; s)

...continua...

TABELA 4.8, Cont.

3''	76,4	3,33 – 3,17 (H-2''-H-5'' e H-6''B)	H-1''	CH	76,4	3,30 (1H; s)
4''	69,9	3,33 – 3,17 (H-2''-H-5'' e H-6''B)	H-6''A	CH	69,9	3,33 (1H; s)
5''	75,8	3,33 – 3,17 (H-2''-H-5'' e H-6''B)	H-1'', H-6''A	CH	75,9	3,17 (1H; s)
6''	66,9	3,70 (1H; d, J=10,5; H-6''A) e 3,33 – 3,17 (H-2''-H-5'' e H-6''B)	H-1'''	CH ₂	66,9	3,71 (1H; d, J=10,6; H-6''A) e 3,26
1'''	100,7	4,40 (1H; d, J=1,5)	H-6''A, H-2'''	CH	100,7	4,41 (1H; d)
2'''	70,3	3,41 (1H; dd, J=1,5/3,5)	H-1''', H-4'''	CH	70,3	3,40 (1H; d)
3'''	70,5	3,29 (1H; dd, J=3,5/9,5)	H-1''', H-2''', H-4'''	CH	70,5	3,49 (1H; d, J=5,3)
4'''	71,8	3,08 (1H; dd, J=9,5/9,5)	H-2''', H-CH ₃ (H-6''A, H-6'''B, H-6'''C)	CH	71,8	3,08 (1H; dd, J=9,4/9,4)
5'''	68,2	3,27 (1H; m)	H-1''', H-4''', H-CH ₃ (H-6''A, H-6'''B, H-6'''C)	CH	68,2	3,23 (1H; m)
6'''	17,6	1,01 (3H; d, J=6,0)	H-4'''	CH ₃	17,7	1,00 (3H; d, J=6,5)

Valores de deslocamento químico (δ) expressos em ppm; constante de acoplamento (J) em Hz.; ^a sobreposição de sinais; (1) Pereira (2006).

Buscas na literatura demonstram que a rutina, já é bastante conhecida no meio científico. Ela já foi isolada em diversas espécies de diferentes famílias tais como *Fagopyrum esculentum* Moench (Polygonaceae), *Muehlenbeckia hastulata* (J.E.Sm.) Johnst. (Polygonaceae), *Zizyphus spina-christi* L. (Rhamnaceae), *Ebenus pinnata* Aiton (Fabaceae) e *Cheilanthes farinosa* (Forsk.) Kaulf (Pteridaceae) (Abreu et al., 2007; Erazo et al., 2002; Kim et al., 2005; Shahat et al., 2001; Yonathan et al., 2006).

É cada vez maior uma busca por diferentes fontes, já que a rutina apresenta atividades fisiológicas tais como antioxidante, antiinflamatória e antihipertensiva, além de anticolesterolêmica (Kim et al., 2005; Silva et al., 2001). Seus efeitos são tão interessantes que existem estudos na literatura para aumentá-los complexando-a a metais de transição como o cobre e o ferro (Afanas'ev et al., 2001).

5 CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico do extrato metanólico das folhas de *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae) permitiu, até o presente momento, a purificação e identificação dos flavonóides guajaverina, quercetina 3-O- α -L-ramnopiranosídeo e rutina, sendo estes pela primeira vez citados na espécie. Também foi isolada mais uma substância que ainda se encontra em fase de identificação.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M.; BRAHAM, H.; BENJANNET, H.; MIGHRI, Z.; MATTHEW, S. Antioxidant compounds from *Ebenus pinnata*. **Fitoterapia**, Milano, v. 78, n. 1, p. 32-34, 2007.

AFANAS'EV, I. B.; OSTRAKHOVITCH, E. A.; MIKHAL'CHIK, E. V.; IBRAGIMOVA, G. A.; KORKINA, L. G. Enhancement of antioxidant and anti-inflammatory activities of bioflavonoid rutin by complexation with transition metals. **Biochemical Pharmacology**, Oxford, v. 61, n. 6, p. 677-684, Mar. 2001.

AGRAWALL, P. K. **Carbon-13 NMR of flavonoids**. New York: Elsevier, 1989. 564 p.

AMORIM, A. M. *Heteropterys jardimii* (Malpighiaceae), uma nova espécie para a Bahia, Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.56, n. 87, p. 175-178, 2005.

AN, R-B.; KIM, H-C.; TIAN, Y-H.; KIM, Y-C. Free radical scavenging and hepatoprotective constituents from the leaves of *Juglans sinensis*. **Archives of Pharmacal Research**, Seoul, v. 28, n. 5, p. 529-533, May 2005.

APATI, P.; HOUGHTON, P. J.; KITE, G.; STEVENTON, G. B.; KERY, A. In-vitro effect of flavonoids from *Solidago canadensis* extract on glutathione S-transferase. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 58, n. 2, p. 251-256, Feb. 2006.

BERGER, I.; BARRIENTOS, A. C.; CÁCERES, A.; HERNÁNDEZ, M.; RASTRELLI, L.; PASSREITER, C. M.; KUBELKA, W. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections: II. Activity of extracts and fractions of five Guatemalan plants against *Trypanosoma cruzi*. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 62, n. 2, p. 107-115, Feb. 1998.

CAMERON, K. M.; CHASE, M. W.; ANDERSON, W. R.; HILLS, H. G. Molecular systematics of Malpighiaceae: Evidence from plastid rbcL and matK sequences. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 88, n. 11, p. 1847-1862, Nov. 2001.

CAMUESCO, D.; COMALADA, M.; CONCHA, A.; NIETO, A.; SIERRA, S.; XAUS, J.; ZARZUELO, A.; GALVEZ, J. Intestinal anti-inflammatory activity of combined quercitrin and dietary olive oil supplemented with fish oil, rich in EPA and DHA (n-3) polyunsaturated fatty acids, in rats with DSS-induced colitis. **Clinical Nutrition**, Edinburgh, v. 25, n. 3, p. 466-476, June 2006.

CARLOS, I. Z.; LOPES, F. C. M.; BENZATTI, F. P.; CARLI, C. B. A.; MARQUES, M. F.; JORDÃO JUNIOR, C. M.; RINALDO, D.; CALVO, T. R.; SANTOS, L. C.; VILEGAS, W. Ação do extrato metanólico e etanólico de *Davilla elliptica* St. Hill. (Malpighiaceae) na resposta imune. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, João Pessoa, v. 15, n. 1, p. 44-50, 2005.

CARVALHO, D. A. Flora fanerogâmica de campos rupestres da serra da Bocaina, Minas Gerais: caracterização e lista de espécies. **Ciências Prática**, Lavras, v. 16, n. 1, p. 97-122, jan. 1992.

COELHO, G. C. **Estudo químico de *Zollernia ilicifolia*, *Wilbrandia eracteata* e *Caesalpinia ferrea***. 2004. 198 p. Doutorado (Tese de Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal.

ERAZO, S.; MUNOZ, O.; GARCIA, R.; LEMUS, I.; BACKHOUSE, N.; NEGRETE, R.; SAN FELICIANO, A.; DELPORTE, C. Constituents and biological activities from *Muehlenbeckia hastulata*. **Zeitschrift fur Naturforschung C-A Journal of Biosciences**, Tubingen, v. 57, n. 9-10, p. 801-804, Sept./Oct. 2002.

ESTRADA, O.; HASEGAWA, M.; GONZALEZ-MUJICA, F.; MOTTA, N.; PERDOMO, E.; SOLORZANO, A.; MENDEZ, J.; MENDEZ, B.; ZEA, E. G. Evaluation of flavonoids from *Bauhinia megalandra* leaves as inhibitors of glucose-6-phosphatase. **Phytotherapy Research**, Sussex, v. 19, n. 10, p. 859-863, Oct. 2005.

FRAISSE, D.; HEITZ, A.; CARNAT, A.; CARNAT, A. -P.; LAMAISON, J. -L. Quercetin 3-arabinopyranoside, a major flavonoid compound from *Alchemilla xanthochlora*. **Fitoterapia**, Milano, v. 71, n. 4, p. 463-464, Aug. 2000.

GALIETTA, G.; GIULIANI, G.; LOIZZO, A.; AMAT, A. G.; FUMAGALLI, E.; DE FEO, V.; QUARANTA, E.; PALADINO, L.; ANNA C. Neurophysiological studies of *Heteropteris glabra* Hok. & Arn. (Malpighiaceae) in DBA/2J mice **Journal of ethnopharmacology**, Clare, v. 97, n. 3, p. 415-419, Mar. 2005.

GALVÃO, S. M. P.; MARQUES, L. C.; OLIVEIRA, M. G. M.; CARLINI, E. A. Heteropterys aphrodisiaca (extract BST0298): a Brazilian plant that improves memory in aged rats **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 79, n. 3, p. 305-311, Mar. 2002.

HALADOVA, M.; EISENREICHOVA, E.; MRIZOVA, M.; GRANCAI, D.; UBIK, K. Flavonoids - main constituents of *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim leaves. **Ceska a Slovenska Farmacie**, Phara, v. 55, n. 5, p. 242-244, 2006.

KERHOAS, L.; AOUAK, D.; CINGOEZ, A.; ROUTABOUL, J-M.; LEPINIEC, L.; EINHORN, J.; BIRLIRAKIS, N. Structural Characterization of the Major Flavonoid Glycosides from *Arabidopsis thaliana* Seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 18, p. 6603-6612, Sept. 2006.

KIM, K. H.; LEE, K. W.; KIM, D. Y.; PARK, H. H.; KWON, I. B.; LEE, H. J. Optimal recovery of high-purity rutin crystals from the whole plant of *Fagopyrum esculentum* Moench (buckwheat) by extraction, fractionation, and recrystallization. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 96, n. 15, p. 1709-1721, Oct. 2005.

MA, X.; TIAN, W.; WU, L.; CAO, X.; ITO, Y. Isolation of quercetin-3-O-L-rhamnoside from *Acer truncatum* Bunge by high-speed-counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1070, n. 1/2, p. 211-214, Apr. 2005.

MARTÍNEZ-VÁZQUEZ, M.; GONZÁLEZ-ESQUINCA, A. R.; CAZARES LUNA, L.; MORENO GUTIÉRREZ, M. N.; GARCÍA-ARGÁEZ, A. N. Antimicrobial activity of *Byrsonima crassifolia* (L.) H. B. K. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 66, n. 1, p. 79-82, July 1999.

MATSUSE, I. T.; LIM, Y. A.; HATTORI, M.; CORREA, M.; GUPTA, M. P. A search for anti-viral properties in Panamanian medicinal plants. : The effects on HIV and its essential enzymes. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 64, n. 1, p. 15-22, Jan. 1998.

MELO, F. L.; BENATI, F. J.; ROMAN JUNIOR, W. A.; DE MELLO, J. C. P.; NOZAWA, C.; LINHARES, R. E. C. The *in vitro* antiviral activity of an aliphatic nitro compound from *Heteropteris aphrodisiaca*. **Microbiological Research**, Cambridge. In press.

MOHARRAM, F. A.; MARZOUK, M. S. A.; IBRAHIM, M. T.; MABRY, T. J. Antioxidant galloylated flavonol glycosides from *Calliandra haematocephala*. **Natural Product Research, Part A: Structure and Synthesis**, Abington, v. 20, n. 10, p. 927-934, Aug. 2006.

OLSZEWSKA, M. High-performance liquid chromatographic identification of flavonoid monoglycosides from *Prunus serotina* Ehrh. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, Prague, v. 62, n. 6, p. 435-441, 2005.

PEREIRA, A. C. **Purificação e caracterização de antibacterianos de plantas do município de Lavras**. 2006. 206 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Agroquímica e Agrobioquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RINALDO, D.; SILVA, M. A.; RODRIGUES, C. M.; CALVO, T. R.; SANNOMIYA, M.; DOS SANTOS, L. C.; VILEGAS, W.; KUSHIMA, H.; HIRUMA-LIMA, C. A.; BRITO, A. R. M. S. Preparative separation of flavonoids from the medicinal plant *Davilla elliptica* St. Hill. by high-speed counter-current chromatography. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 947-949, set./out. 2006.

SANNOMIYA, M.; FONSECA, V. B.; DA SILVA, M. A.; ROCHA, L. R. M.; DOS SANTOS, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A.; BRITO, A. R. M. SOUZA; VILEGAS, W. Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 97, n. 1, p. 1/6, Feb. 2005.

SANTOS, L. Á. **Estudo químico e das atividades citotóxica, antioxidante e antifúngica de *Prunus myrtifolia* L. (Urban.) (Rosaceae)**. 2005. 295 p. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal.

SANTOS, P. M. L. dos; SCHRIPSEMA, J.; KUSTER, R. M. O-Glycosyl flavonoids from *Croton campestris* St. Hill (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 15, n. 4, p. 321-325, 2005.

SHAHAT, A. A.; PIETERS, L.; APERS, S.; NAZEIF, N. M.; ABDEL-AZIM, N. S.; BERGHE, D. V.; VLIETINCK, A. J. Chemical and biological investigations on *Zizyphus spina-christi* L. **Phytotherapy Research**, Sussex, v. 15, n. 7, p. 593-597, July 2001.

SILVA R. R. da; OLIVEIRA, T. T. de; NAGEM, T. J.; PINTO, A. D.; ALBINO, L. F. T.; ALMEIDA, M. R. de; MORAIS, G. H. K. de; PINTO, J. G. Hypocholesterolemic effect of flavonoids naringin and rutin. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 51, n. 3, p. 258-264, 2001.

STERMITZ, F. R.; HNATYSZYN, O.; BANDONI, A. L.; RONDINA, R. V. D.; COUSSIO, J. D. Screening of Argentine plants for aliphatic nitro compounds: Hiptagin from *Heteropteris angustifolia*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 14, n. 5-6, p. 1341-1345, May/June 1975.

VVEDENSKAYA, I. O.; ROSEN, R. T.; GUIDO, J. E.; RUSSELL, D. J.; MILLS, K. A.; VORSA, N. Characterization of Flavonols in Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) Powder. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 2, p. 188-195, Jan. 2004.

WAGNER, C.; FACHINETTO, R.; DALLA CORTE, C. L.; BRITO, V. B.; SEVERO, D.; DIAS, G. DE O. C.; MOREL, A. F.; NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J. B. T. Quercitrin, a glycoside form of quercetin, prevents lipid peroxidation in vitro. **Brain Research**, Amsterdam, v. 1107, p. 192-198, Aug. 2006.

WANG, J-D.; DONG, M-L.; ZHANG, W.; SHEN, X.; GUO, Y-W. Chemical constituents of mangrove plant *Lumnitzera racemosa*. **Zhongguo Tianran Yaowu**, v. 4, n. 3, p. 185-187, 2006.

XIE, B.; XU, F.; LI, L.; CHEN, C. Flavonoid glycosides from *Acer truncatum*. **Yunnan Zhiwu Yanjiu**, Weinheim, v. 27, n. 3, p. 232-234, 2005.

YAMAZAKI, E.; INAGAKI, M.; KURITA, O.; INOUE, T. Antioxidant activity of Japanese pepper (*Zanthoxylum piperitum* DC.) fruit. **Food Chemistry**, Oxford, v. 100, n. 1, p. 171-177, 2006.

YONATHAN, M.; ASRES, K.; ASSEFA, A.; BUCAR, F. In vivo anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of *Cheilanthes farinosa*. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 108, n. 3, p. 462-470, Dec. 2006.

ZHENG, Y.; XU, X.; YANG, Y.; FU, S. Determination of hyperoside and quercitrin in the seeds of *Cuscuta chinensis* by HPLC. **Huaxi Yaoxue Zazhi**, Chengdu, v. 20, n. 3, p. 261-262, 2005.

ZHOU, Y.; LI, B.; LIANG, J.; XU, S.; SUN, Q.; GUO, H.; WU, L.; ZENG, G.
Flavonoid components in leaves of *Quercus dentate*. **Zhongcaoyao**, Taipei, v.
36, n. 8, p. 1140-1141, 2005.

CONCLUSÕES GERAIS

O fracionamento do extrato bruto metanólico das folhas de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae) permitiu isolar, até o presente momento, os flavonóides *trans*-tilirosídeo e *cis*-tilirosídeo, além de mais três substâncias ainda não identificadas.

No caso de *Sabicea brasiliensis* Wernh. (Rubiaceae), o fracionamento do extrato metanólico de suas folhas levou ao isolamento dos flavonóides kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo e variabilosídeo G.

Já o fracionamento do extrato bruto metanólico das folhas de *Heteropterys byrsonimifolia* adr. Juss. (Malpighiaceae) possibilitou, até agora, o isolamento de três flavonóides, a guaijaverina, a quercetina 3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo e a rutina, além de uma substância ainda em fase de identificação.

ANEXOS

ANEXO A	Página
FIGURA 2A	Espectro de RMN ^1H de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500MHz..... 171
	Expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500MHz..... 172
FIGURA 3A	Expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500MHz..... 173
FIGURA 4A	Expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500MHz..... 174
FIGURA 5A	Espectro de RMN ^{13}C de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz..... 175
FIGURA 6A	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz..... 176
FIGURA 7A	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz..... 177
FIGURA 8A	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz..... 178
FIGURA 9A	DEPT 90° de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126 MHz. 179
FIGURA 10A	DEPT 135° de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126 MHz..... 180
FIGURA 11A	Correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 181
FIGURA 12A	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 182
FIGURA 13A	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 183
FIGURA 14A	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 184
FIGURA 15A	Correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 185

FIGURA 16A	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	186
FIGURA 17A	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	187
FIGURA 18A	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	188
FIGURA 19A	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	189
FIGURA 20A	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	190
FIGURA 21A	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	191
FIGURA 22A	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	192
FIGURA 23A	Correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz...	193
FIGURA 24A	Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	194
FIGURA 25A	Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	195
FIGURA 26A	TOCSY 1D de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 5,43 (1H; d, J=7,5)]......	196
FIGURA 27A	Espectro de RMN ^1H de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	197
FIGURA 28A	Expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	198
FIGURA 29A	Expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	199
FIGURA 30A	Espectro de RMN ^{13}C de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	200
FIGURA 31A	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	201

FIGURA 32A	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	202
FIGURA 33A	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	203
FIGURA 34A	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	204
FIGURA 35A	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	205
FIGURA 36A	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	206
FIGURA 37A	DEPT 90° de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	207
FIGURA 38A	DEPT 135° de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126 MH.....	208
FIGURA 39A	Correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	209
FIGURA 40A	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	210
FIGURA 41A	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	211
FIGURA 42A	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	212
FIGURA 43A	Correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	213
FIGURA 44A	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	214
FIGURA 45A	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	215
FIGURA 46A	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	216
FIGURA 47A	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6	217

FIGURA 48A	Correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	218
FIGURA 49A	Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	219
FIGURA 50A	Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	220
FIGURA 51A	TOCSY 1D de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 5,40 (1H; d, J=8,0)].....	221
FIGURA 52A	Expansão do TOCSY 1D de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 5,40 (1H; d, J=8,0)].....	222
FIGURA 53A	Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo), $-\text{MS}^1$ (593=M-1).....	223
FIGURA 54A	Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-117-05 (<i>trans</i> -tilirosídeo), $+\text{MS}^1$ (617=M+Na $^+$).....	223
FIGURA 55A	Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo), $-\text{MS}^1$ (593=M-1).....	224
FIGURA 56A	Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-117-06 (<i>cis</i> -tilirosídeo), $+\text{MS}^1$ (617=M+Na $^+$).....	224

```

Melvicio Jr1 117-05 05/05/06
Pulse Sequence: zgpg1
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C / 803.15 K
INVA-500 499.1352 h
INVA-500 499.1352 h
Relax. delay: 0.804 sec
Acq. time: 0.098 sec
Width: 10.6 Hz
SAMPLING: 499.5245525 MHz
DATE_ TIME:
DATA PROCESSING:
F1 size: 131072
Total time: 0 min, 39 sec

```

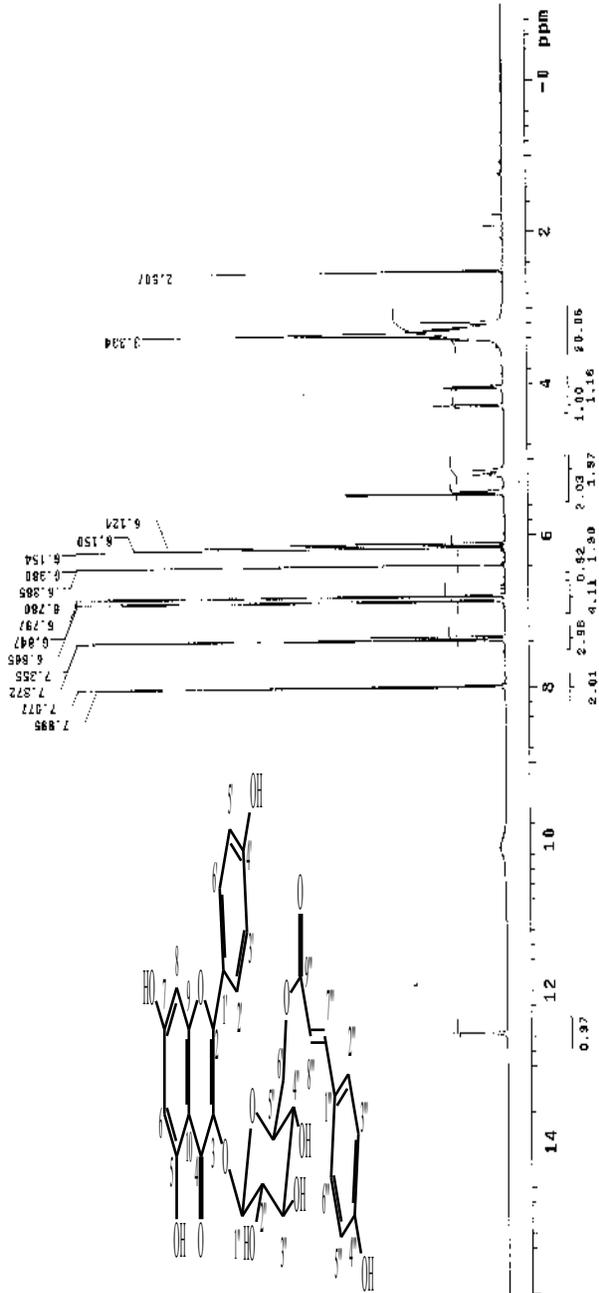


FIGURA 1A: Espectro de RMN ¹H de Jr1-117-05 (*trans*-tirosídeo) em DMSO-*d*₆ 500MHz.

Helvecio Jr1 117-05 08/08/06
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C / 303.1 K
Acq: 1024 / 209.1 h
INNOVA-500 MULTIFUS
Relax. delay 0.304 sec
Pulse 45.0 degrees
Pulse width 10.00 sec
Width 8510.6 Hz
S.F. 500.136 MHz
Q.F. 1000.272 MHz
DATA PROCESSING
FT size 131072
Total time 0 min, 39 sec

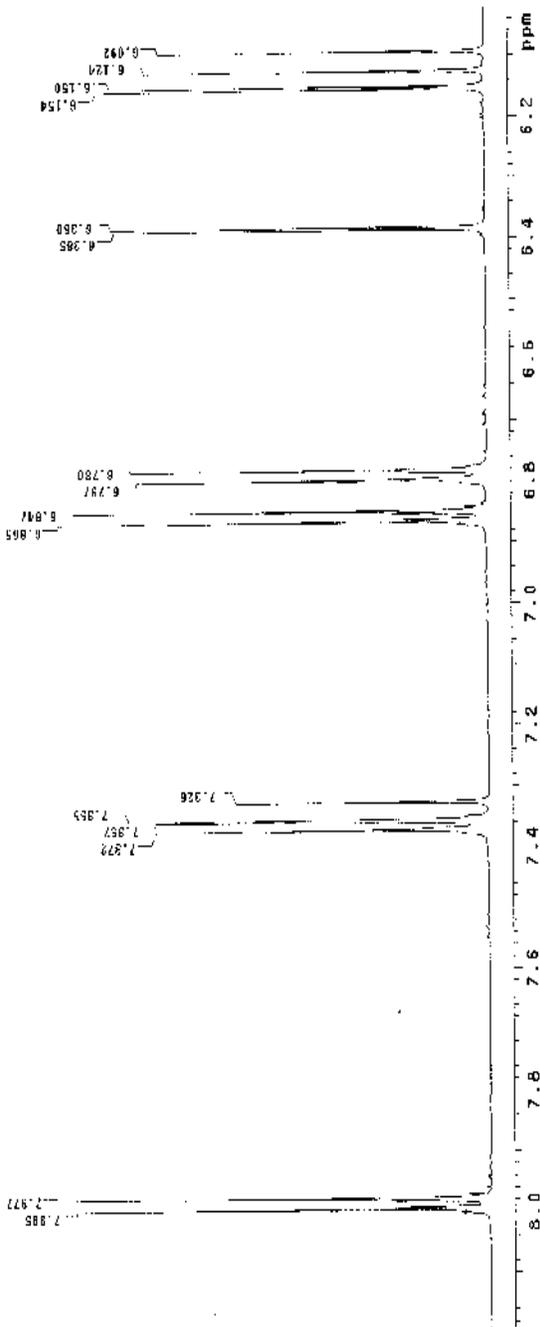


FIGURA 2A: Expansão do espectro de RMN ¹H de Jr1-117-05 (*trans*-tirosídeo) em DMSO-*d*₆ 500MHz.

Helvecio Jr1-117-05 17/10/08
 Pulse Sequence: s2pul
 Solvent: DMSO
 Temp: 30.0 C / 892.1 K
 INOVA-S00 "mult165"
 Pulse delay: 0.800 sec
 Pulse: 45.0 degrees
 Acq. time: 4.077 sec
 Wdt: 5000.0 Hz
 OBSERVE: H1 CH38.5126211 MHz
 DATA PROCESSING
 Total time: 4.19 sec

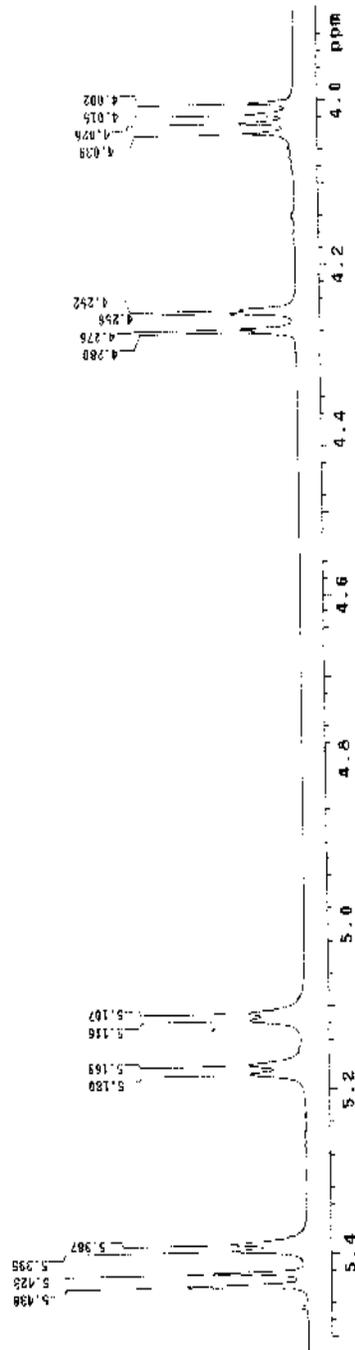


FIGURA 3A: Expansão do espectro de RMN ¹H de Jr1-117-05 (*trans*-tiliroside) em DMSO-*d*₆, 500MHz.

Helvecio Jr1 117-05 05/05/06
 Pulse Sequence: s2pu1
 Solvent: DMSO
 Temp: 30.0 C / 303.1 K
 F1: 500.136 MHz / 125.760 MHz
 INOVA-500 CMT1162705_H
 Relax, delay 0.500 sec
 Pulse 46.0 degrees
 Width 12.0 Hz
 With 5210.6 Hz
 6 repetitions
 DMSO- d_6 500.136 MHz
 FT 5128 131072
 Total time 0 min, 39 sec

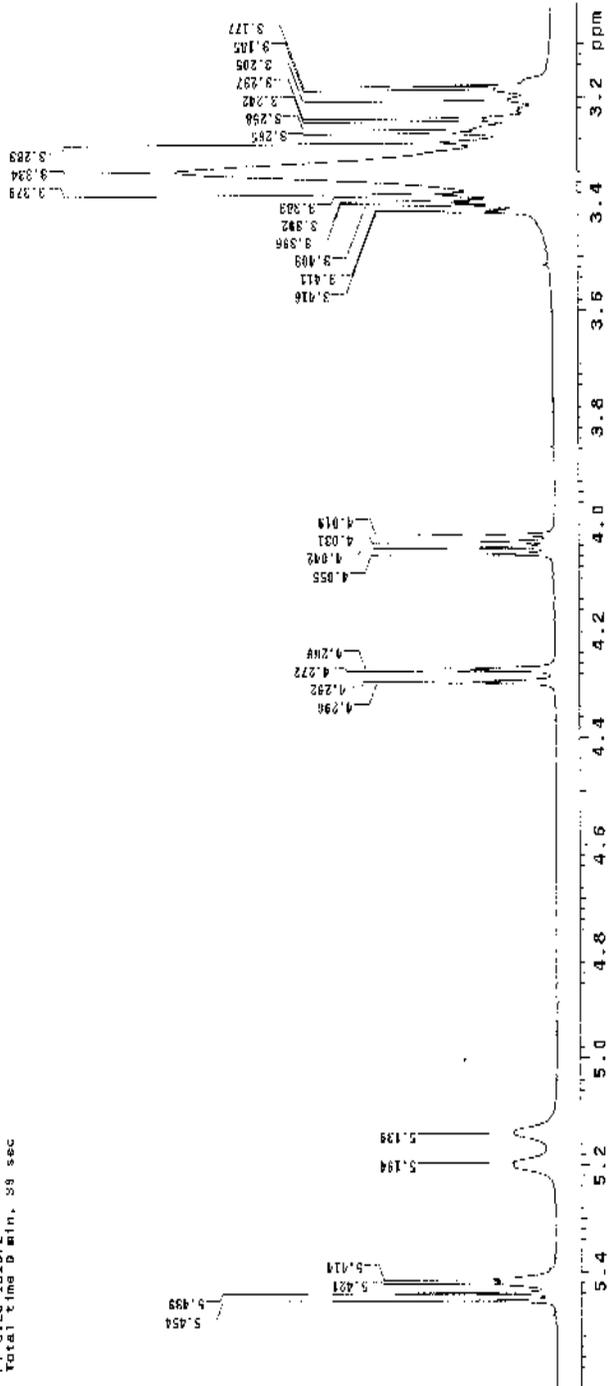


FIGURA 4A: Expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-117-05 (*trans*- d_6 -tirosídeo) em $\text{DMSO-}d_6$, 500MHz.

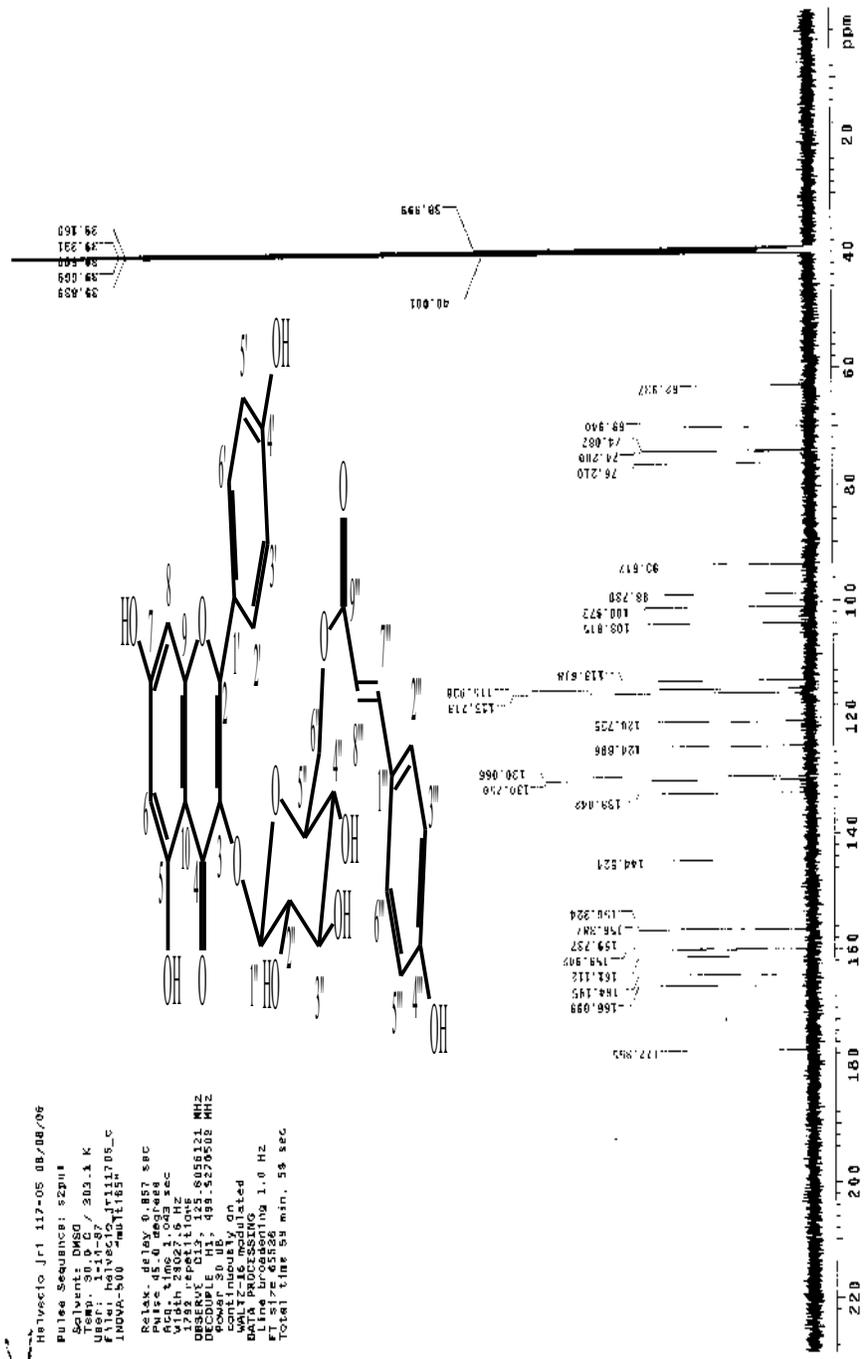


FIGURA 5A: Espectro de RMN ¹³C de Jr1-117-05 (*trans*-tirosídeo) em DMSO-*d*₆, 126MHz.

```

Metvecio Jr1 117-05 08/08/06
Pulse sequence: e2pul
Solvent: DMSO
User: 1-18-07 509.1 K
File: Metvecio Jr11705_C
PROVA-500 40011857405
Relax. delay 0.457 sec
Pulse 05.0 degrees
Pulse width 12.000 sec
Width 2007.8 Hz
1282.4 positions
DECOUPLE CH1 459.527532 MHz
Power 50 dB
WALTZ16 MODULATED
DATA PROCESSING
FT 182.855958 MHz
Final time 58 min. 59 sec

```

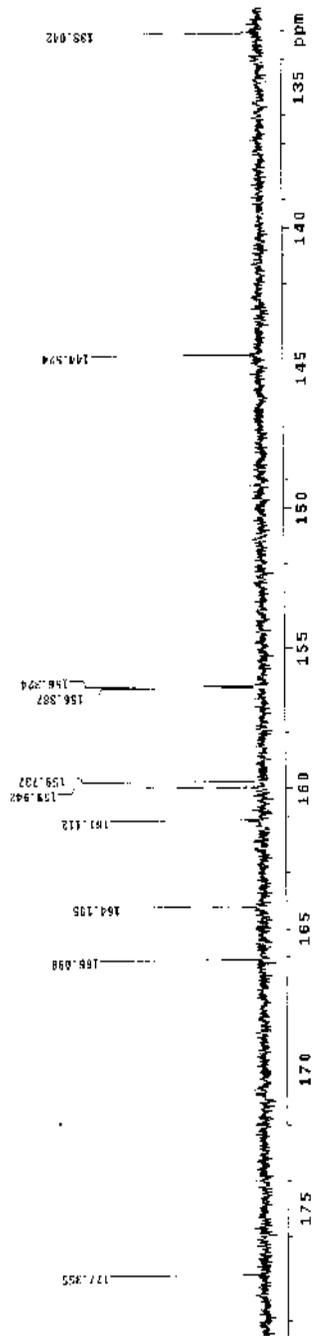


FIGURA 6A: Expansão do espectro de RMN ¹³C de Jr1-117-05 (*trans*-tiliroside) em DMSO-*d*₆ 126MHz.

```

Helvaco Jr1 117-05 06/08/05
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: DMSO
User: 114-87
File: Helvaco_11705_c
ANVA-500 400.1452705
Relax. delay 6.857 sec
Pulse 75.0 deg/eps
Width 2302.6 Hz/pc
QZ5Z2 605611005.6056121 MHz
RECORD1 HI, 488.527052 MHz
Power 30.00 dB
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
FT 11.24685539
Total time 83 min, 58 sec

```

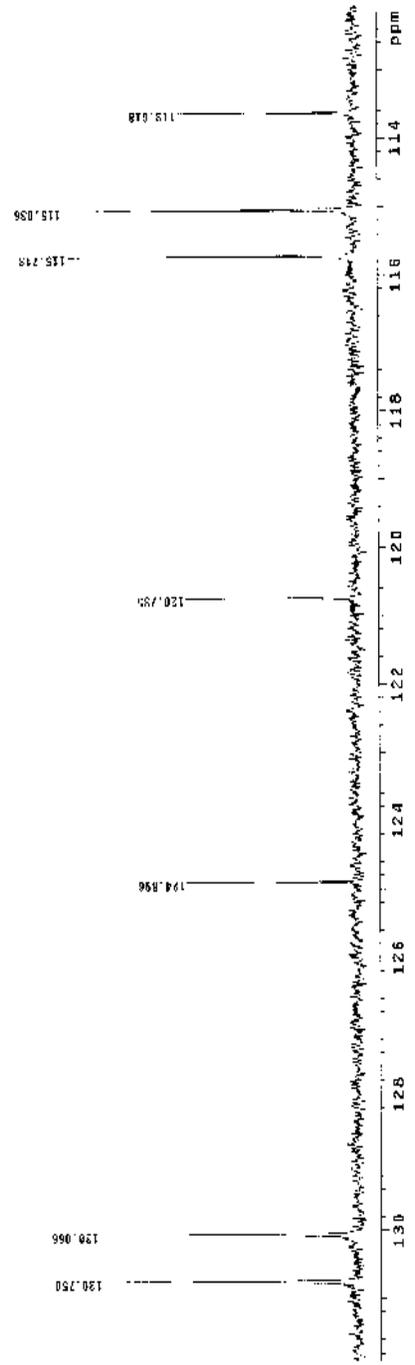


FIGURA 7A: Expansão do espectro de RMN ¹³C de Jr1-117-05 (*trans*-tilirosídeo) em DMSO-*d*₆ 126MHz.

```

Melvecfo Jr1 117-05 08/08/08
Pulse Sequence: szbul
Solvent: DMSO
Name: 21467
File: Melvecfo-Jr11705-4
INVA-500 4mu11684
Relax. delay 0.857 sec
Pulse 45.0 usec
Width 12.000 Hz
17.5 repetitions
DECOUPLE CH1 489.3270512 MHz
Power 30 dB 489.3270512 MHz
WALT16 IRREDUATED
DATA PROCESSING
SI 41 24 8554
Total time 55 min, 58 sec

```

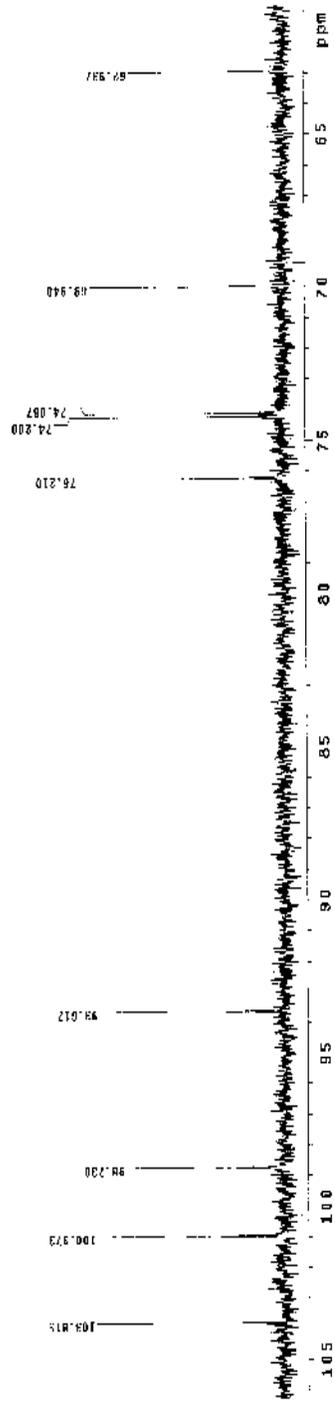


FIGURA 8A: Expansão do espectro de RMN ¹³C de Jr1-117-05 (*trans*-tiliroside) em DMSO-*d*₆ 126MHz.

```

Metivção J11-117-05 08/08/05
Pulse Sequence: DEPT 90
Solvent: DMSO
User: j11-07 / 303.1 k
INVER: 111-07 / 133.705_dspt
INVER: 303 / 303.133.705

Relax: delay 1.000 sec
Pulse: 160.000000
Pulse: 160.000000
Width: 2302.5 Hz
OSCILL: 11015.6056121 MHz
RECOUPLE: H1, 488.527802 MHz
during acquisition
off during delay
bWA PROCESSING
Line: Processing 1.0 Hz
Total time: 27 min, 49 sec

```

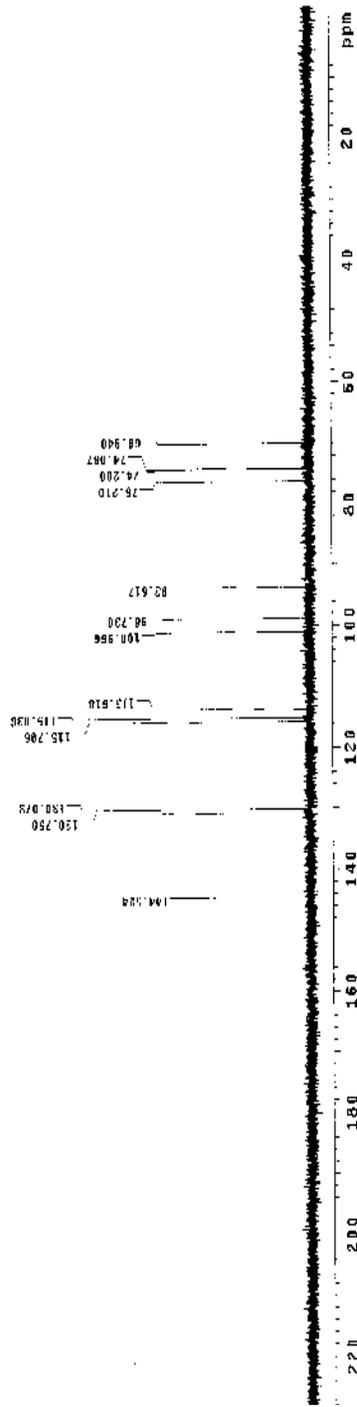
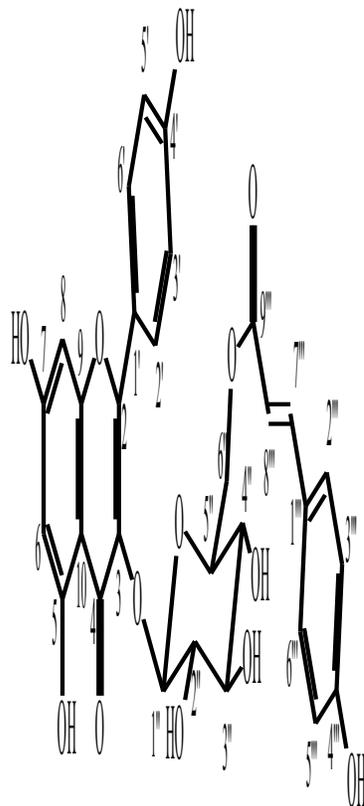


FIGURA 9A: DEPT 90° de J11-117-05 (*trans*-tilirosídeo) em DMSO- d_6 , 126 MHz.

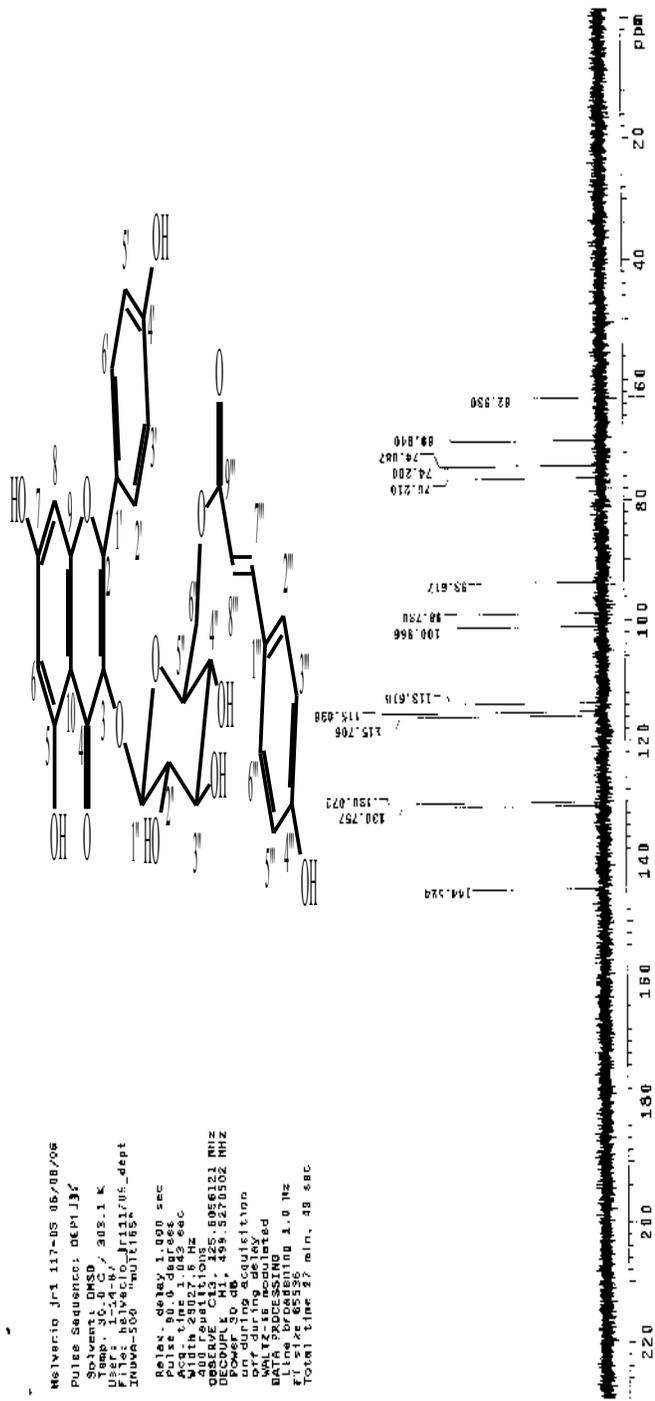


FIGURA 10A: DEPT 135° de Jr1-117-05 (*trans*-tirosoide) em DMSO- d_6 , 126 MHz.

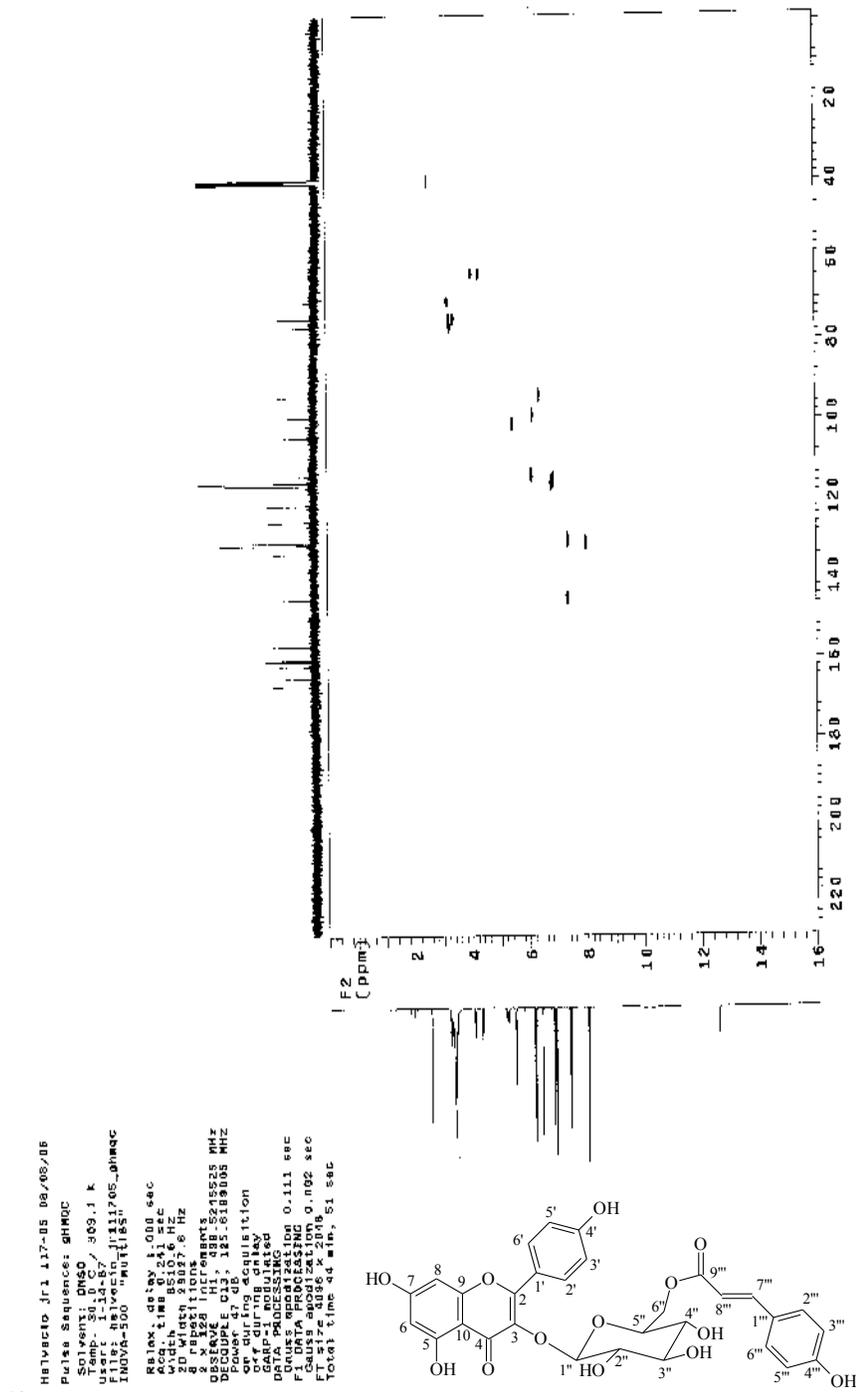


FIGURA 11A: Correlação heteronuclear a curta distância (gHMOC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (*trans*-tilirosídeo) em DMSO- d_6 .

```

Name: Helvecio Jr1 117-05 08/08/06
Pulse Sequence: gHMQC
Solvent: DMSO
Name: Helvecio Jr1 117-05 08/08/06
User: j11707
File: Helvecio Jr11705_gHMQC
INSTR: spect
PROB: zgpg30
Relax. delay: 1.000 sec
Acq. time: 0.191 sec
F2: 500.136183 MHz
2D Width: 24007.6 Hz
B repetitions: 8
Repetitions: 8
SOLVENT: DMSO
QSERIES: NS1 488.524525 MHz
DECOUPLE: CLS 165.613905 MHz
Pulsed during delay
on during acquisition
off during delay
off during acquisition
DATA PROCESSING
F2 axis: 1024
F2 axis: 0.111 sec
F2 axis: 0.002 sec
F2 axis: 0.002 sec
F2 axis: 4896 x 2048
TOTAL time at win: 51 sec

```

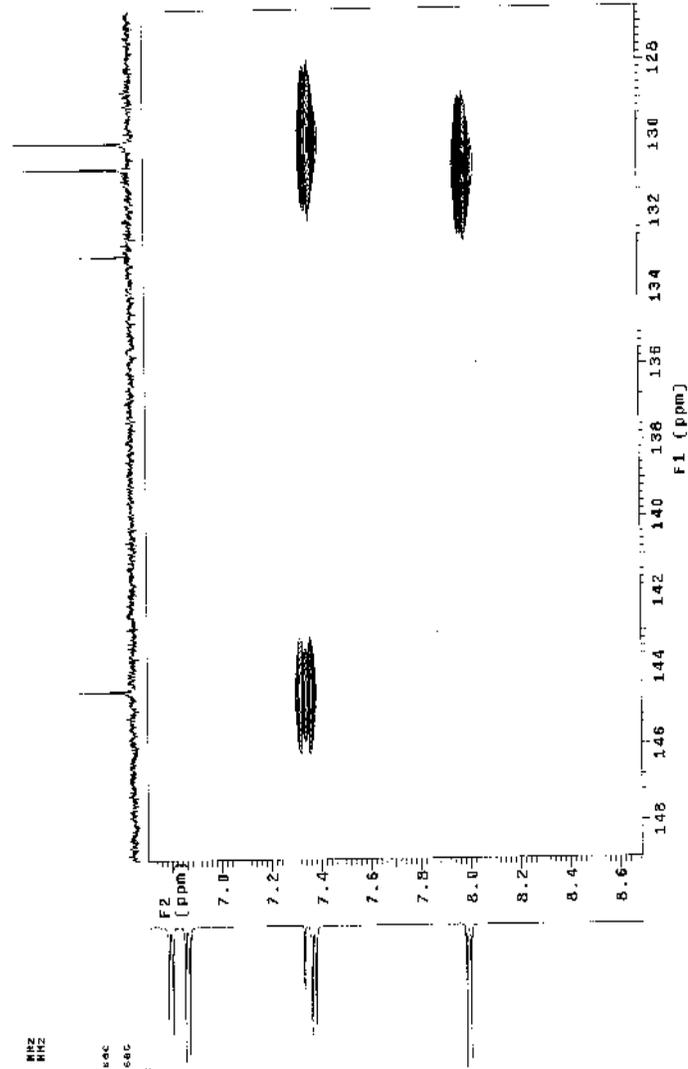


FIGURA 12A: Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (*trans*-tilirosídeo) em $\text{DMSO}-d_6$.

```

MetVecio Jrl1 117-05 05/05/05
Pulse Sequence: gHMQC
Solvent: DMSO
User: jrl1
File: helvecio_jrl1705_ghmqc
INOVA-500 MultiPuls
Relax, delay 1.000 sec
Acq. time 0.941 sec
2D width 23005.8 Hz
3 repetitions
DESEMPE INSTRUM 6295520 MHz
DECOUPLE CH1, 125.619805 MHz
Power off during acquisition
GARP-1 modulated
Off during delay
GARP-1 modulated
Gauss modulation 0.111 sec
F1 DATA PROCESSING 0.002 sec
F1 SIZE 3076 X 2048
Total time 44 min, 51 sec

```

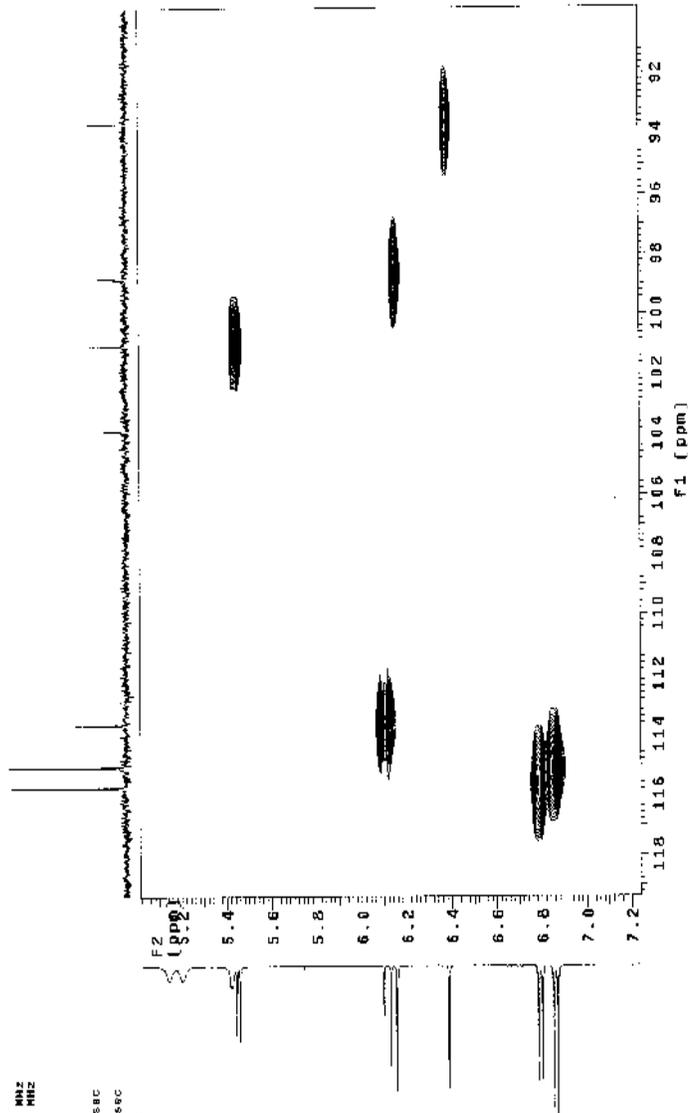


FIGURA 13A: Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jrl1-117-05 (*trans*-tilirosídeo) em DMSO- d_6 .

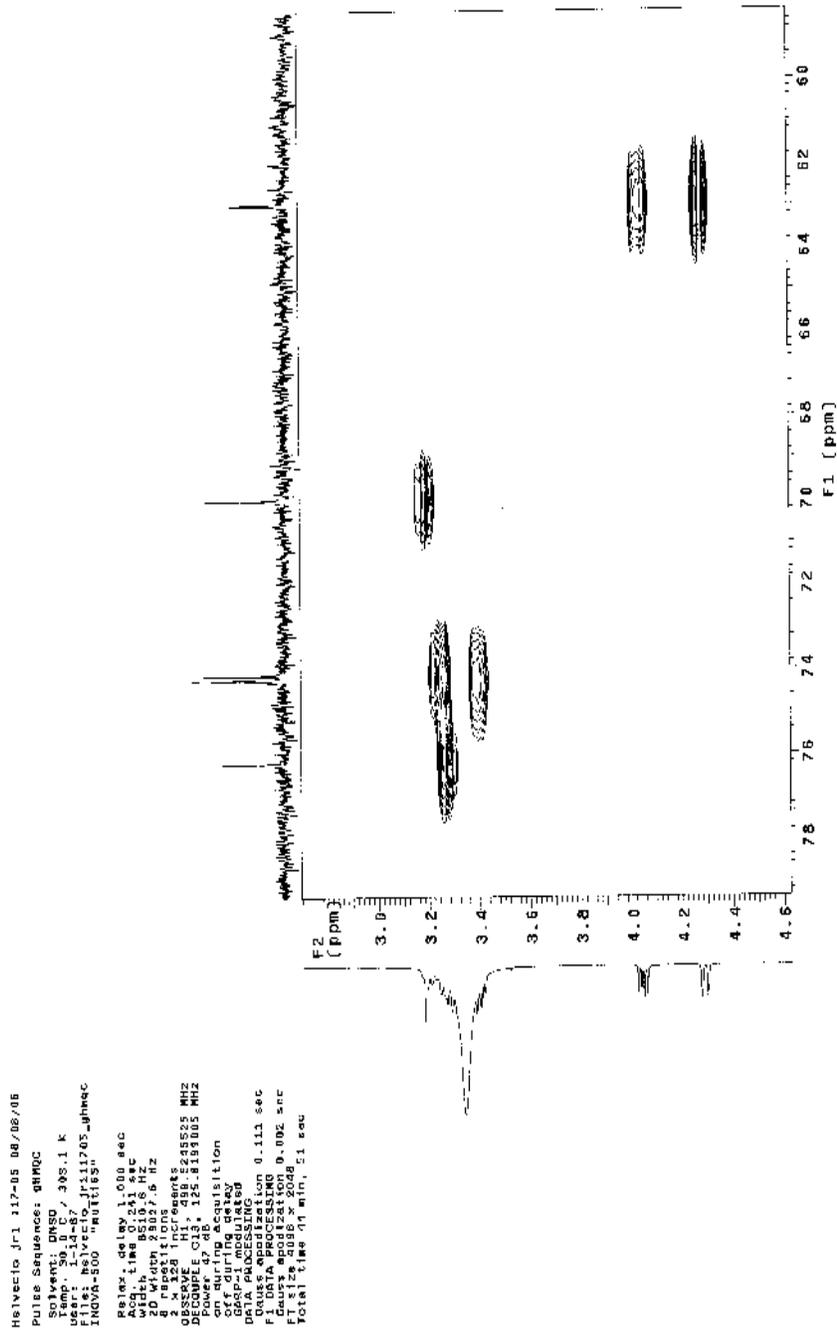


FIGURA 14A: Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (*trans*-tiliroside) em $\text{DMSO}-d_6$.

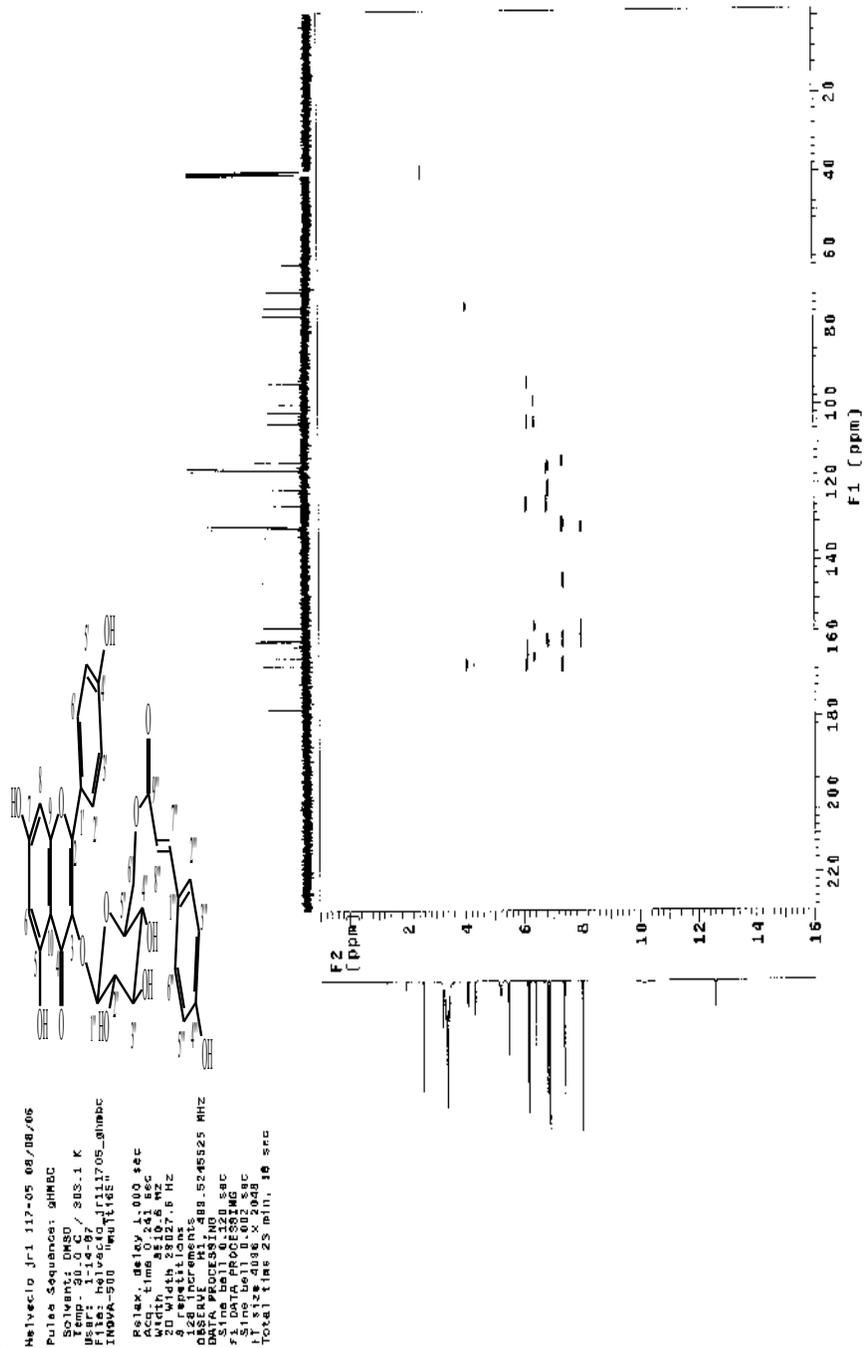


FIGURA 15A: Correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (*trans*-tiliroside) em DMSO- d_6 .

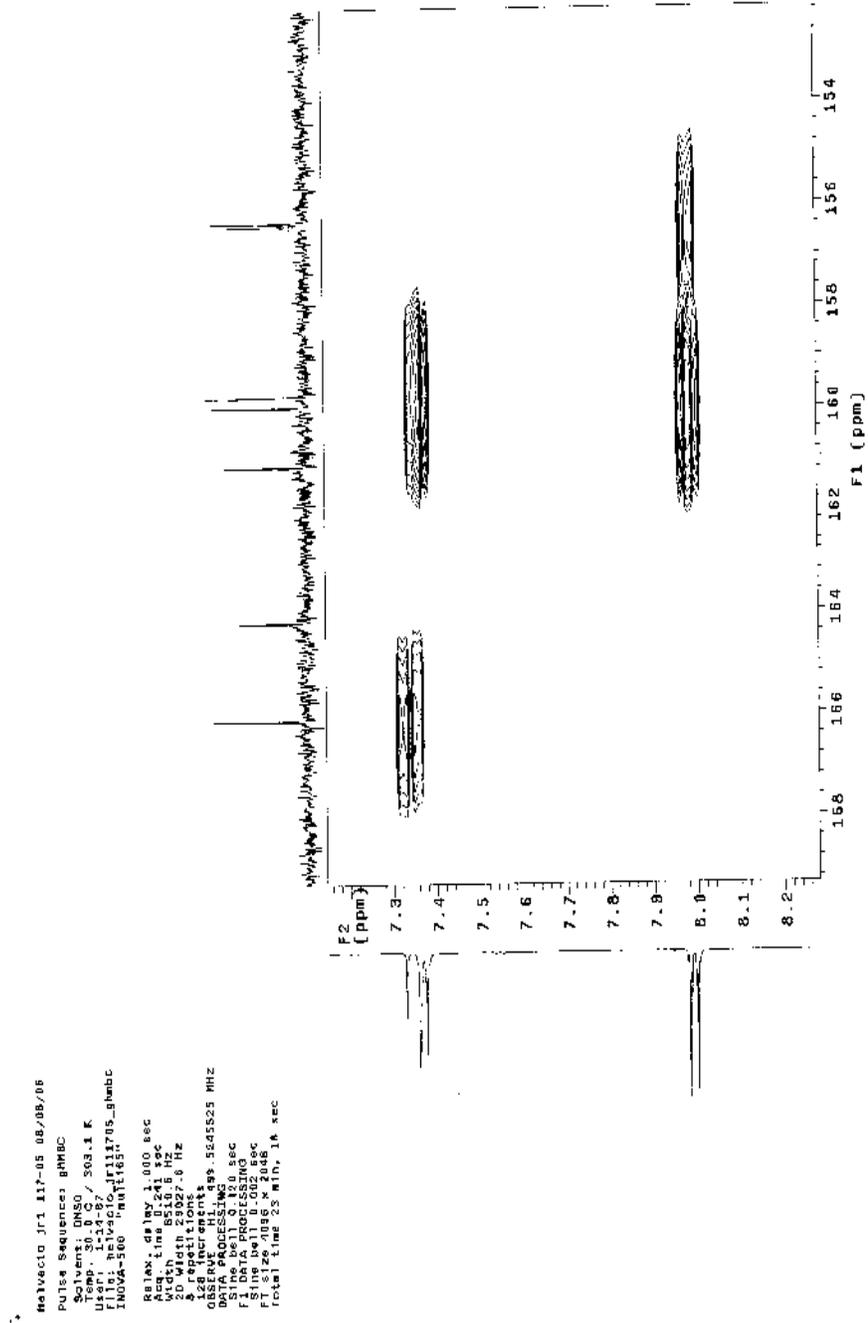


FIGURA 16A: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jf1-117-05 (*trans*-tiliroside) em DMSO- d_6 .

```

Helvecto Jr1 117-05 08/09/06
Pulse Sequence: ghmhc
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C
File: helvecto_jr11705_ghmhc
INOVA-SB0 "multisq"
Relax: delay 1.000 sec
Acq: time 0.241 sec
Width: 8520.8 Hz
Repetition: 0.5 Hz
128 increments
DDEPR: PROCSING 99.5745525 MHz
Sims Del: 0.150 sec
F1 Data: PROCSING 50.1244898 x 2048
F2 Data: PROCSING 50.1244898 x 2048
Total time 28 min, 18 sec

```

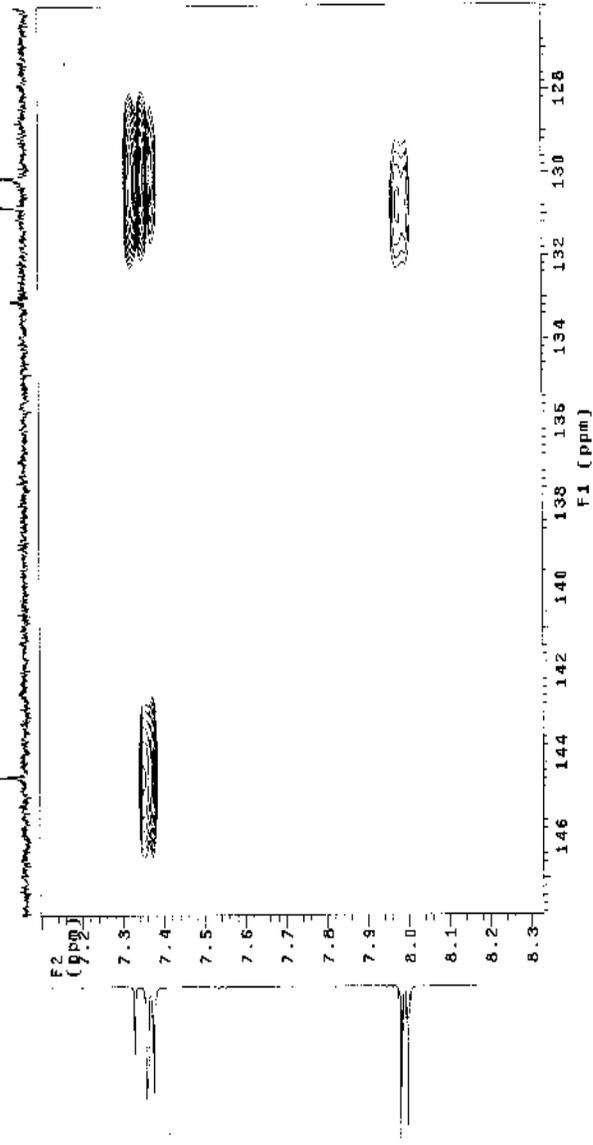


FIGURA 17A: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (*trans*-tiliroside) em $\text{DMSO}-d_6$.

```

Helvacio Jrl 117-05 08/05/08
Pulse Sequence: ghmec
Solvent: DMSO
Temp: 300.2 / 303.1 K
F1: Helvacio Jrl11705_ghmec
INOVA-500 "MULTI15"
Relax: delay 1.000 sec
Acq: time 0.241 sec
Width 4319 Hz
Freg 125.760 MHz
128 increments
DATA PROCESSING: S24525 MHZ
Sine bell 0.220 sec
Sine bell 0.200 sec
FT size 1024 x 2048
Total time 23 min. 18 sec

```

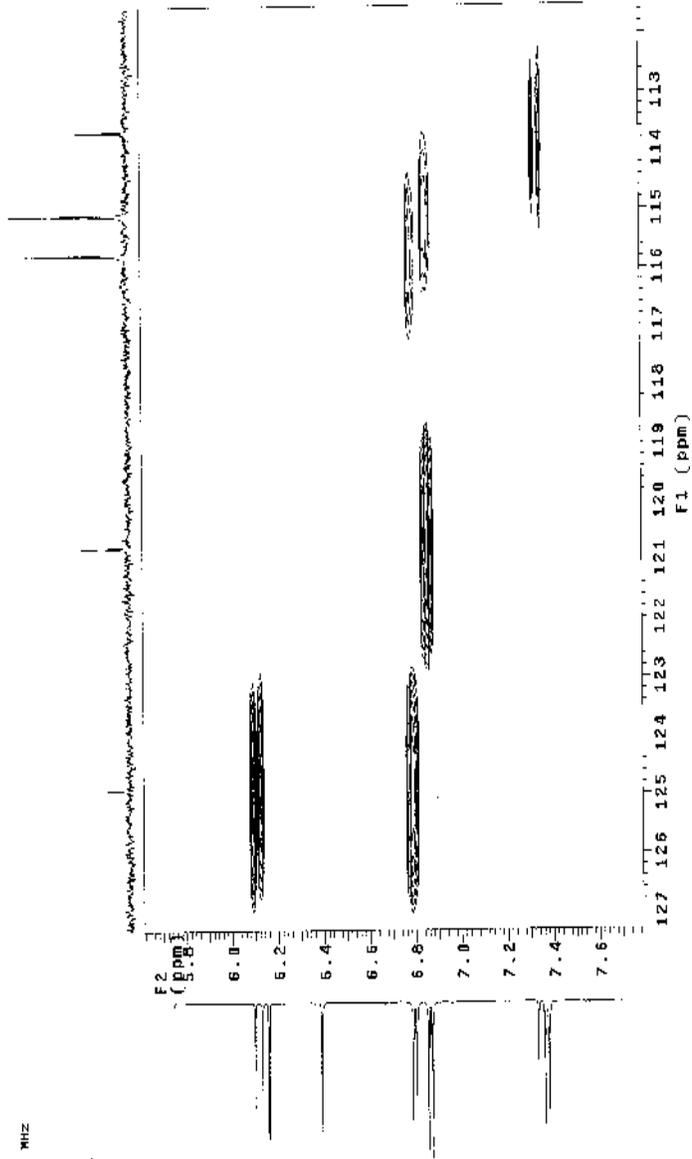


FIGURA 18A: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jrl-117-05 (*trans*-tiliroside) em DMSO- d_6 .

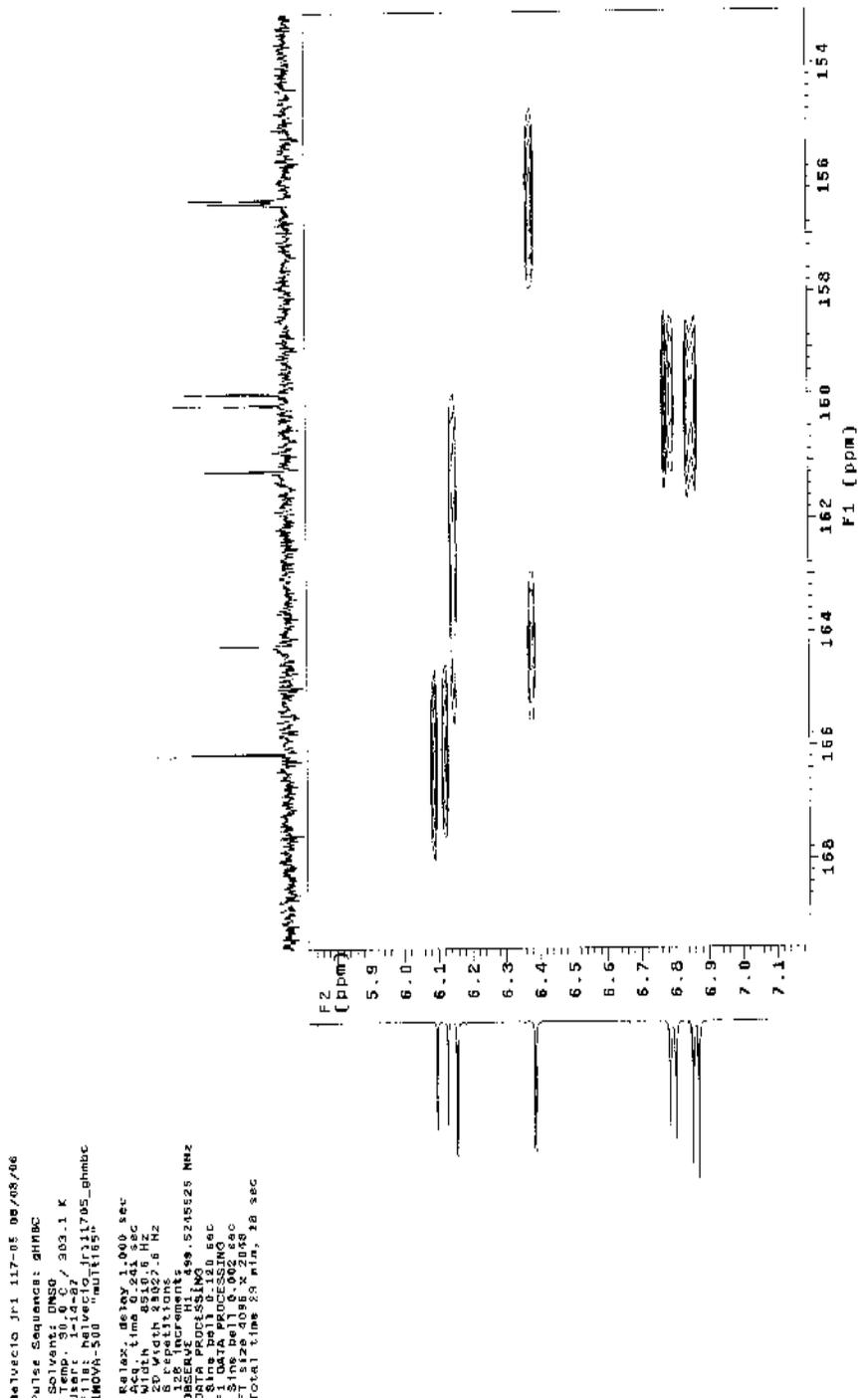


FIGURA 19A: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jt1-117-05 (*trans*-tiliroside) em $\text{DMSO}-d_6$.

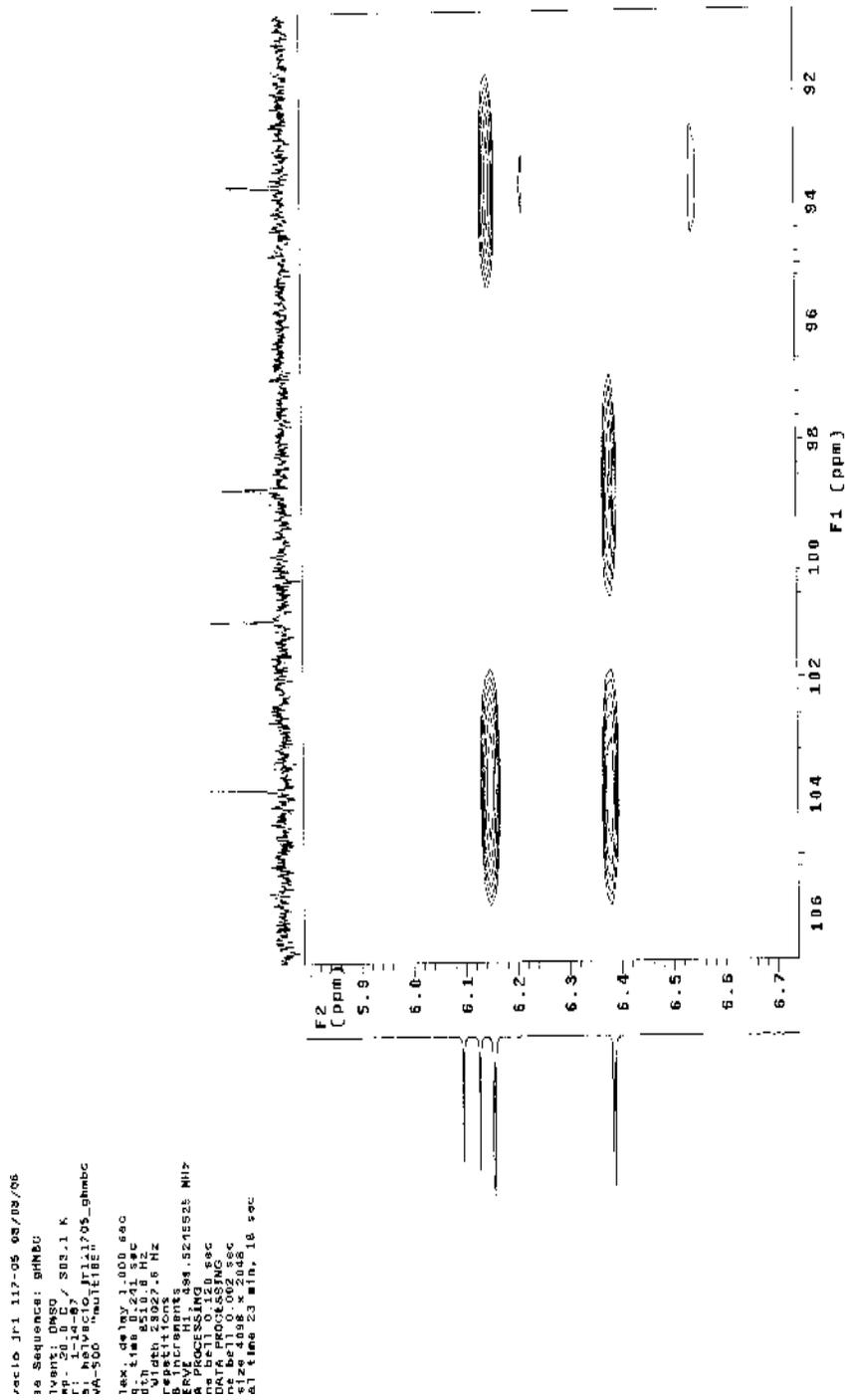


FIGURA 20A: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (*trans*-tilirosídeo) em DMSO- d_6 .

Helvecio Jr1 117-05 08/08/08
 Pulse Sequence: gHMBC
 Solvent: DMSO
 Temp: 30.0 C / 303.1 K
 F1: Helvecio Jr11705_gHMBC
 INOVA-500 "MULTI185"
 Acq. time: 1.008 sec
 Relax time: 0.242 sec
 Width: 8810.5 Hz
 Resolution: 0.242 Hz
 F2: 126.00 MHz
 128 increments
 DSI: PULPROG: zgpg30
 ODS2: PULPROG: zgpg30
 Sine Bell: 0.220 sec
 F3: 500.136 MHz
 F4: 126.00 MHz
 F5: 126.00 MHz
 FT Size: 4096 x 2048
 Total time: 23 min. 18 sec

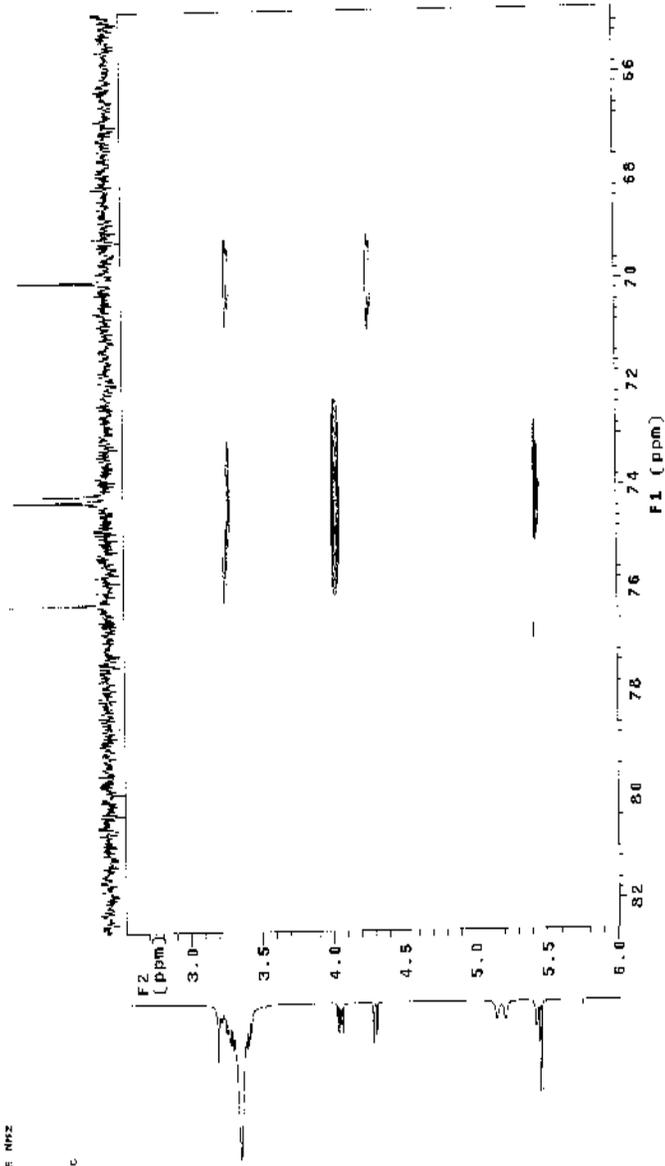


FIGURA 21A: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-05 (*trans*-tilirosídeo) em DMSO- d_6 .

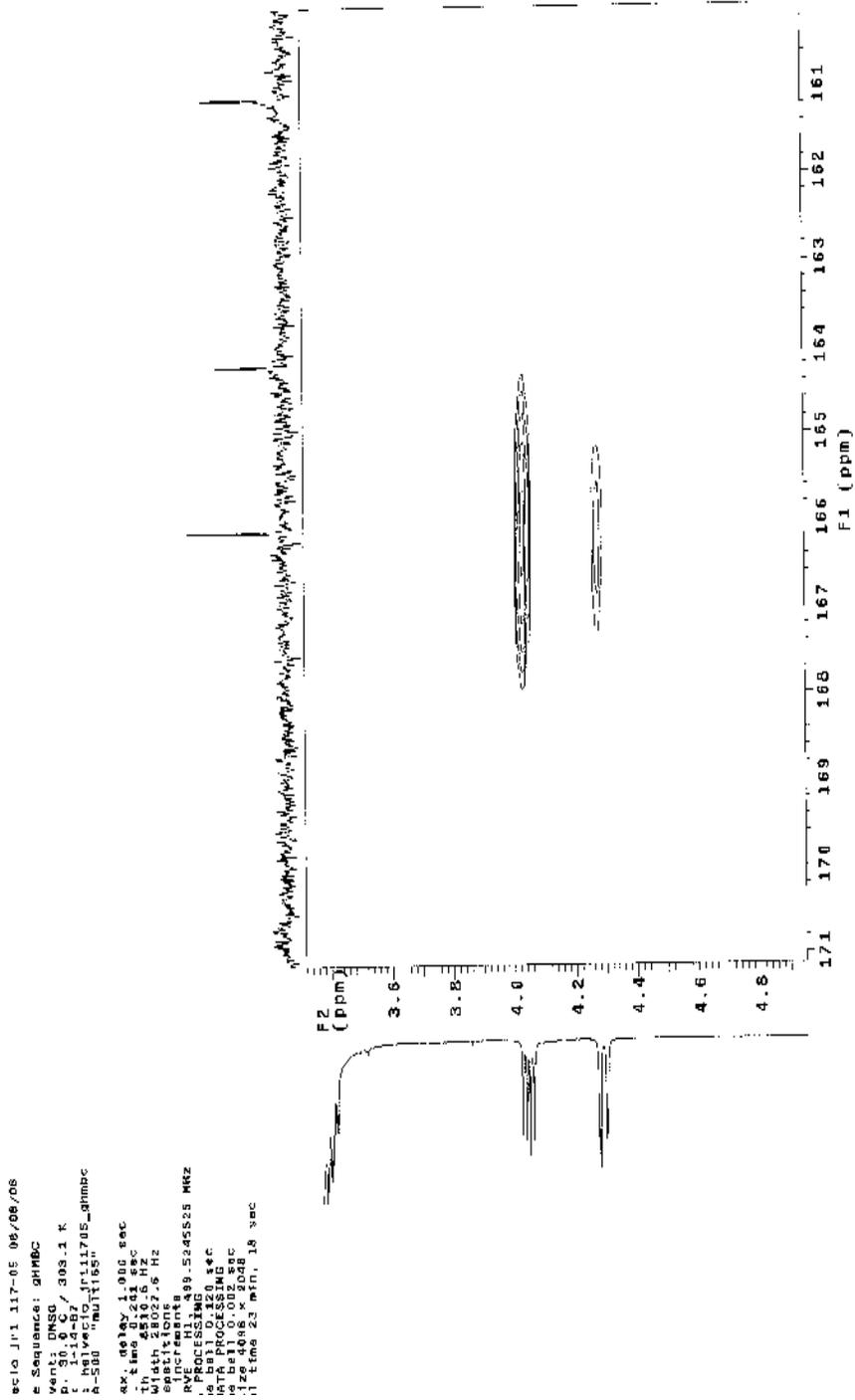
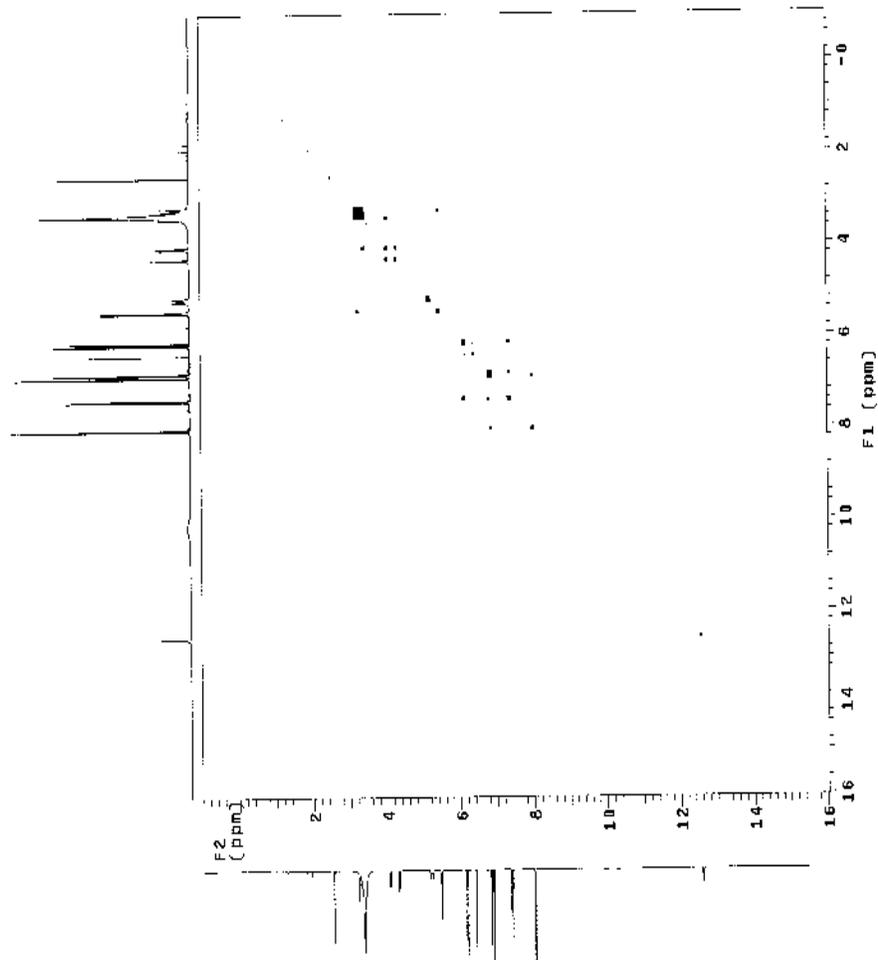


FIGURA 22A: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jrl-117-05 (*trans*-tiliroside) em DMSO- d_6 .



Hsivecto Jr1 117-05 08/08/08
 Pulse Sequence: gCOSY
 Solvent: DMSO
 F1: Hsivecto Jr1 117-05 gcosy
 INOVA-500 "multid5"
 Relax delay: 1.000 sec
 Acq time: 0.741 sec
 Width: 8310.6 Hz
 F2: 400.146 MHz
 80 repetition
 128 increments
 Data: PROCESSING.S245525.MHZ
 54.5146 sec
 F2: 400.146 MHz
 F1 size: 4096 x 4096
 Total time: 21 min, 51 sec

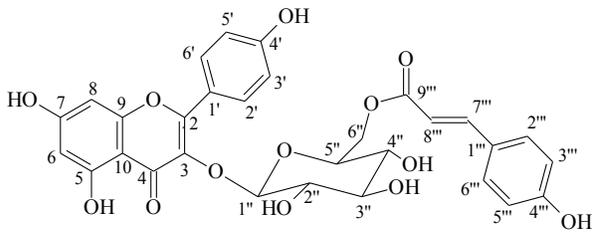
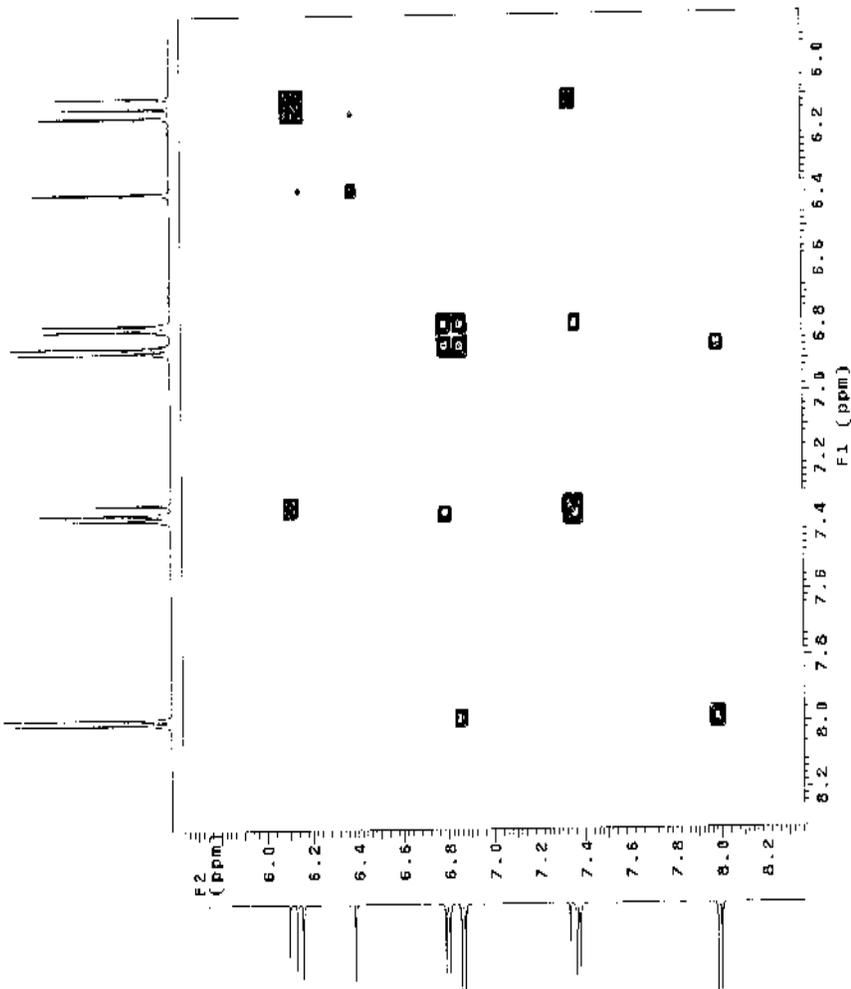
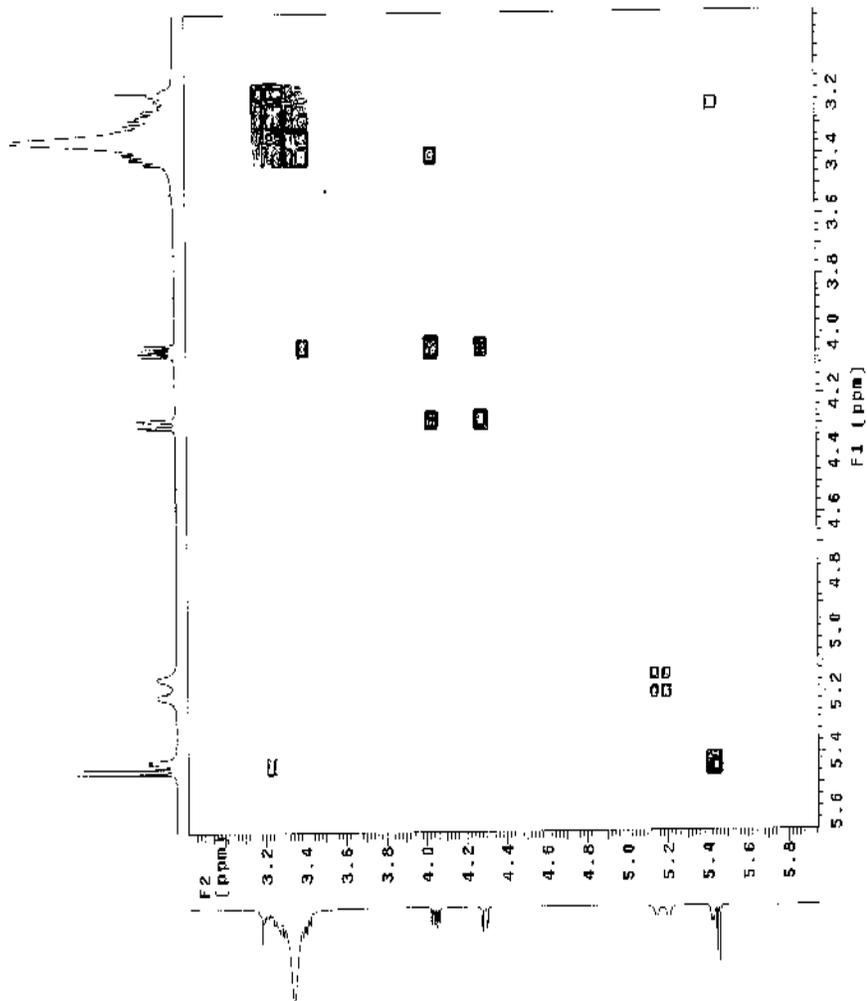


FIGURA 23A: Correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-117-05 (*trans*-tiroside) em $\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz..



```
Helvacio Jr1 117-05 06/08/06  
Pulse Sequence: gcosy  
Solvent: DMSO  
Date_ Time: 2002 1 K  
F1 Pr: helvacio_jr117_05_gcosy  
INVA=508 "mult165"  
  
Relax. delay: 1.000 sec  
Acq. time: 0.341 sec  
Width: 8518 Hz  
S repetition: 5 Hz  
S increments: 128  
S increments: 524528 MHz  
DATA PROCESSING  
S acquisition: 0.320 sec  
S acquisition: 8.444 sec  
S acquisition: 0.008 sec  
S acquisition: 0.008 sec  
S acquisition: 0.008 sec  
S acquisition: 0.008 sec  
Total time: 21 min, 51 sec
```

FIGURA 24A: Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-117-05 (*trans*-tilirosideo) em DMSO- d_6 , 500 MHz.



```

stevejo Jr1 117-05 06/06/06
Urea Sequence: gCOSY
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C / 302.1 K
Exp. Name: stevejo_117-05_gcosy
NSA: 500  Fndr11631705_gcosy

=====
Max. delay 1.000 sec
Acq. time 0.251 sec
2D Width 0410.6 Hz
# repetitions 8
=====
SERVE Cr H1. 599.8245525 MHz
ATA PROCESSING 0.120 sec
1 DATA PROCESSING
Srl. time 0.110089 sec
Total time 21.411651 sec

```

FIGURA 25A: Expansão da correlação homonuclear ¹H x ¹H (gCOSY) de Jr1-117-05 (*trans*-tilirosídeo) em DMSO-*d*₆, 500 MHz.

```

Helvello Jr1 117-05 08/05/08
Pulse Sequence: TOCSY1D TUXSY2.D
Solvent: DMSO 300.1 K
F1F2: hnlvscio_jr11705_kocsy101
INNOVA-500 "MULTI169"
Relax delay: 1.000 sec
Pulse 90.0 degreee
Mixing 0.200 sec
Relax 0.200 sec
Width 6510.0 Hz
32 repetitions
DATA PROCESSING 99.5445525 MHz
Line broadening 1.0 Hz
SFO 300.135000 MHz
Total time 3 min, 21 sec

```

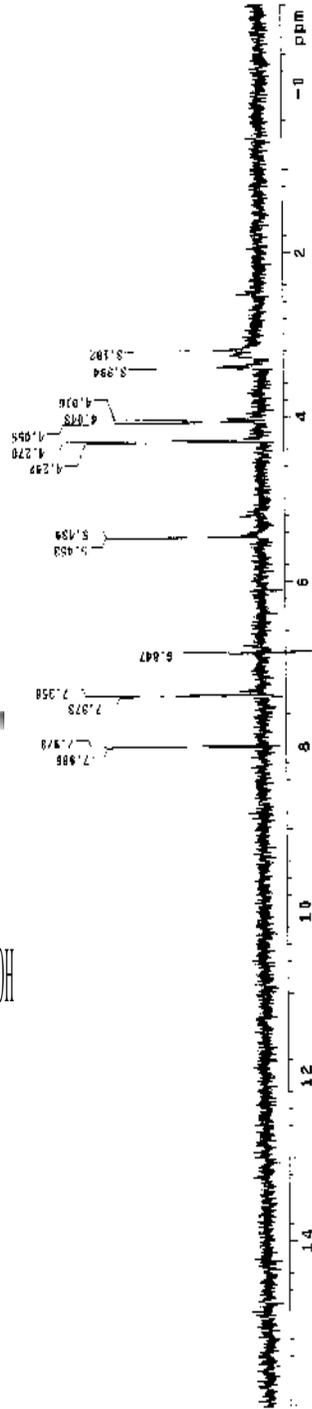


FIGURA 26A: TOCSY 1D de Jr1-117-05 (*trans*-tilirosideo) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 5,43 (1H; d, J=7,5)].

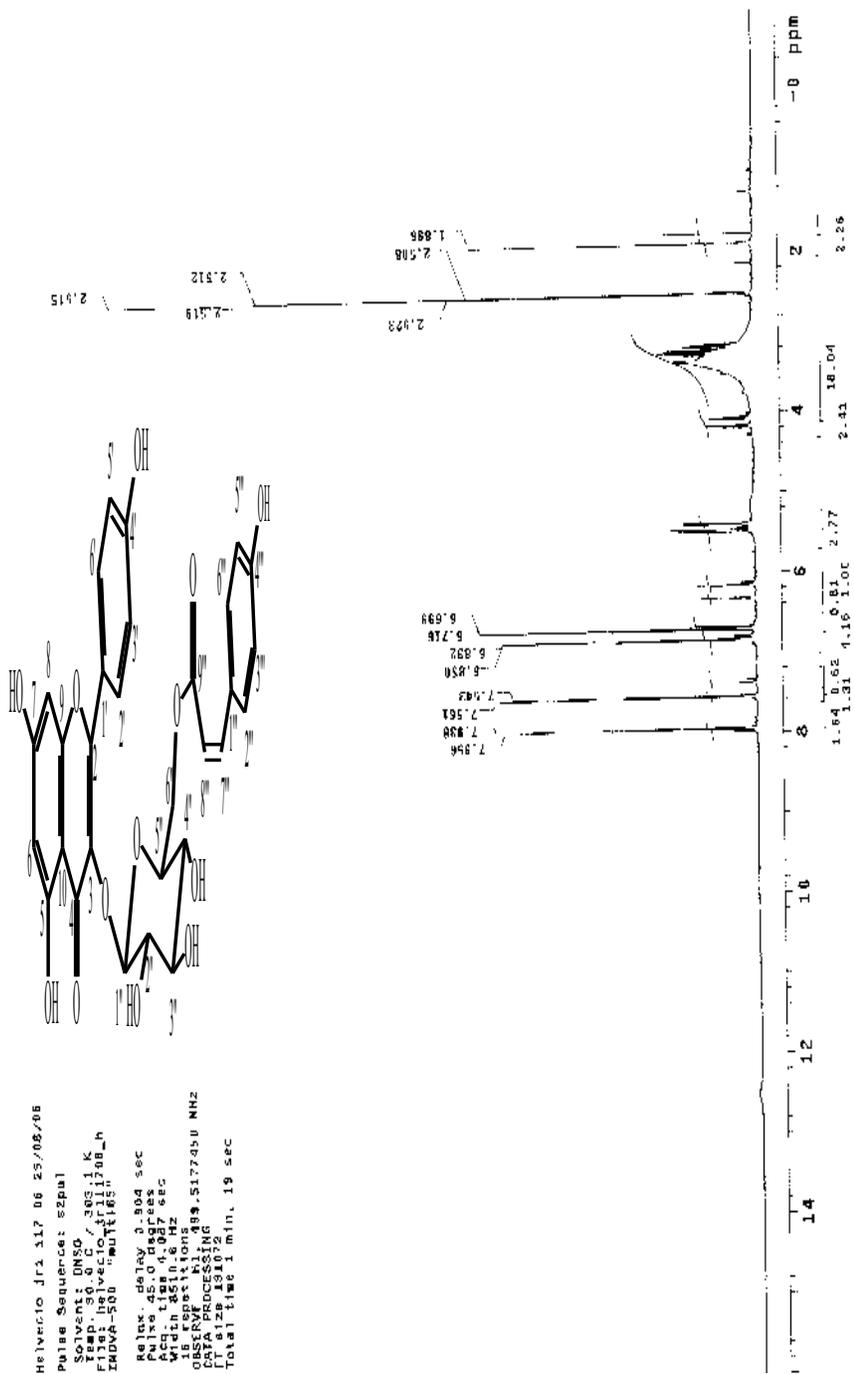


FIGURA 27A: Espectro de RMN ¹H de Jr1-117-06 (*cis*-tiliroside) em DMSO-*d*₆, 500MHz.

```

Experiment: Jr1-117-06
Date_Time: 25/08/05
Pulse Sequence: szpul
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C
Proc: szpul
File: Jr1-117-06_m
EMVA-200 "multi16"
Relax. delay 0.984 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.000 sec
Width 6500.0 Hz
18 repetitions
OBSERVED F1 499.517450 MHz
SERIAL 117
F1 size 13102
Total time 1 min. 18 sec

```

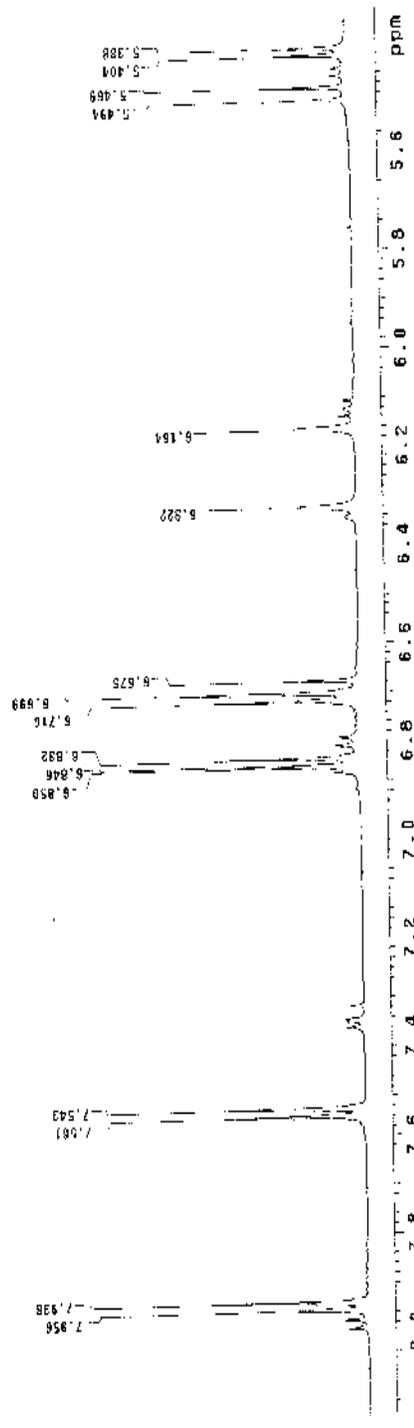


FIGURA 28A: Expansão do espectro de RMN ¹H de Jr1-117-06 (*cis*-tirosídeo) em DMSO-*d*₆, 500MHz.

```

jecio Jr1 117 06 25/08/95
se Sequence: s2pu1
solvent: DMSO
np-30.0 C / 305.1 K
qa-500 "AQ1180"
ra-500 "AQ1180"
tox-delay 0.904 sec
lse 45.0 degrees
dtime 4.007 sec
date 01/11/92
time 01:11:01
ERVE H1,489.3177450 MHZ
A PROCESSING
12:10:21 min, 19 sec

```

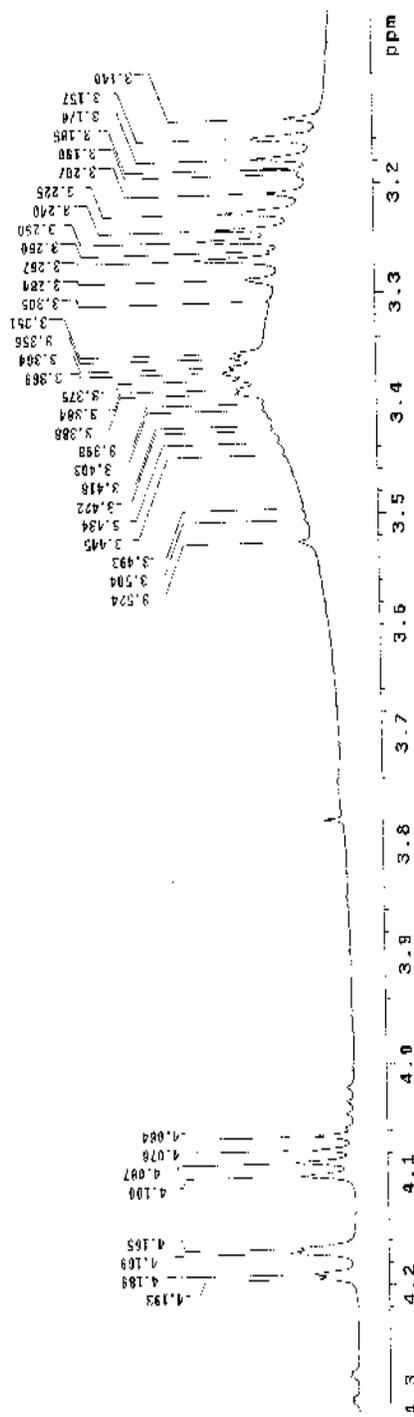


FIGURA 29A: Expansão do espectro de RMN ¹H de Jr1-117-06 (*cis*-tilirosídeo) em DMSO-*d*₆ 500MHz.

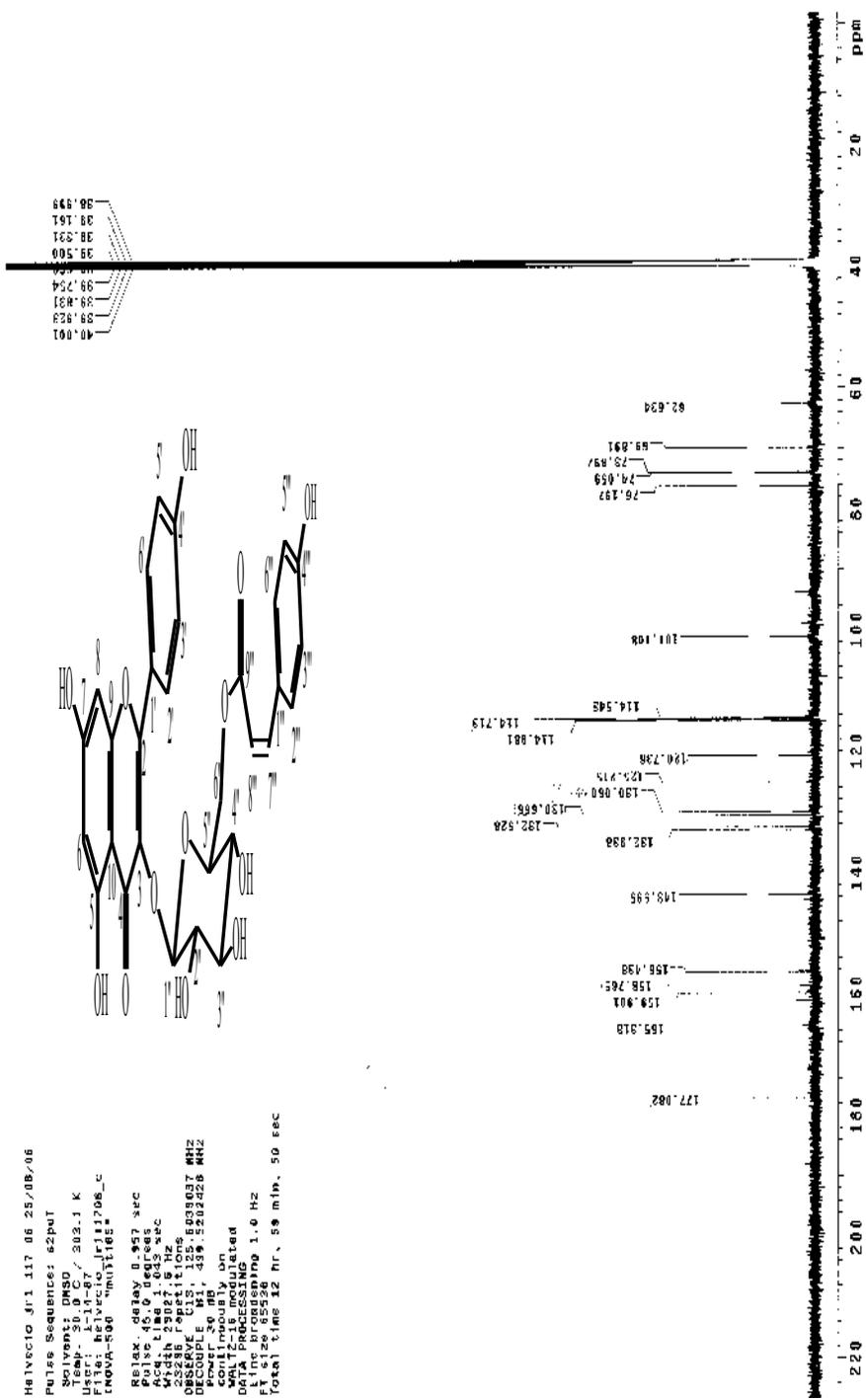


FIGURA 30A: Espectro de RMN ¹³C de Jr1-117-06 (*cis*-tirosídeo) em DMSO-*d*₆, 126MHz.

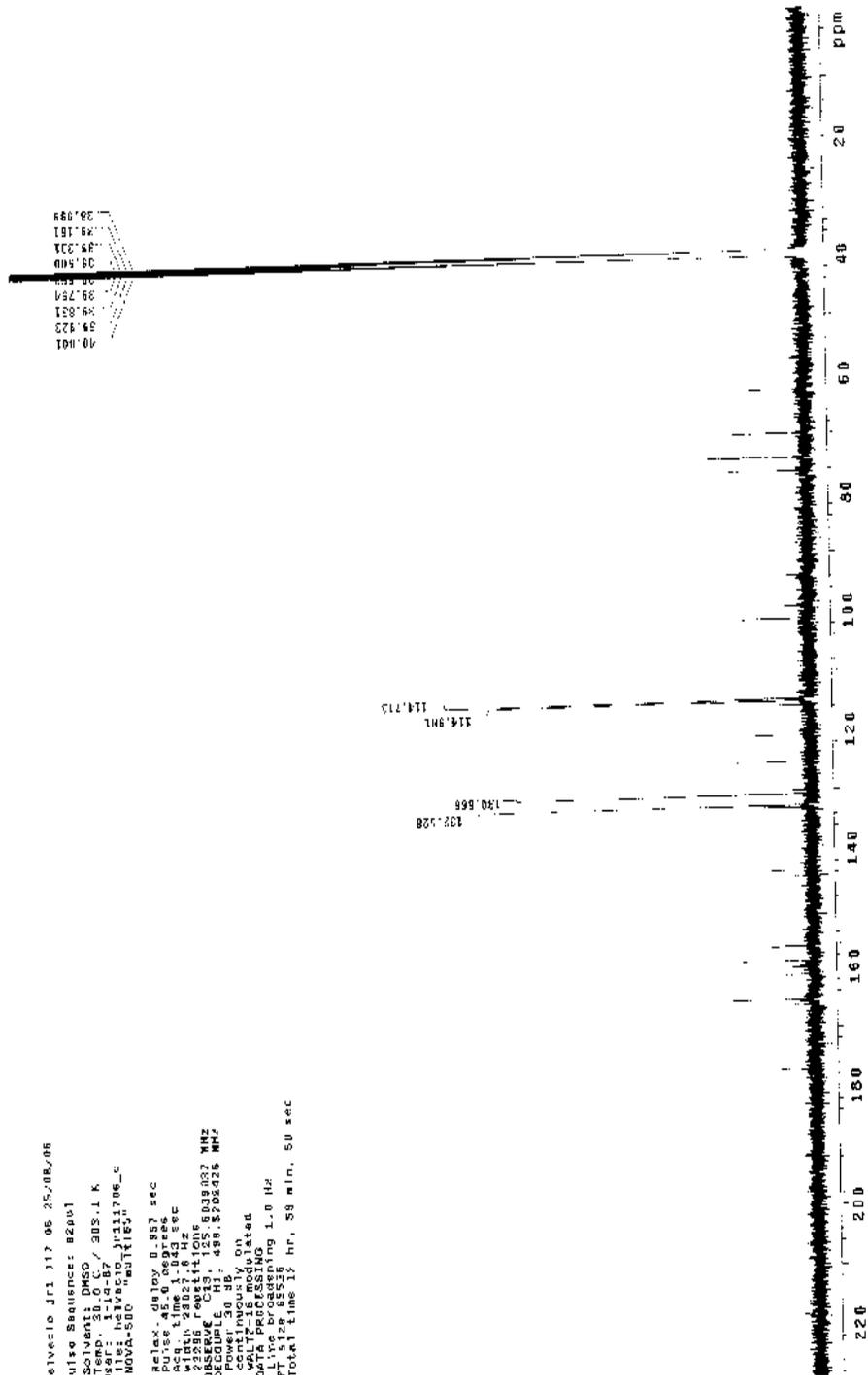


FIGURA 31A: Expansão do espectro de RMN ¹³C de Jr1-117-06 (*cis*-tilirosídeo) em DMSO-*d*₆ 126MHz.

```

Melvrico Jr1 J17 00 27,9k,00
Pulse Sequence: e2pul
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C / 263.1 K
Date_Time: 11/17/06
File: Jr1-17-06-Fr11708_E
INOVA-500 "multis165"
Pulsed delay: 0.462 sec
AQ: 46.000 sec
Acq. time: 1.083 sec
X: 2582.46 Hz
NUC1: 13C
NUC2: 1H
DECOUPLE: H1, 439.5204268 MHz
PULPROG: zgpg30
COMPOUND: OR
WALTZ16: modulated
SOLVENT: DMSO
LINE: 600MHz/101
F1 size: 65536
Total time: 12 hr, 59 min, 50 sec

```

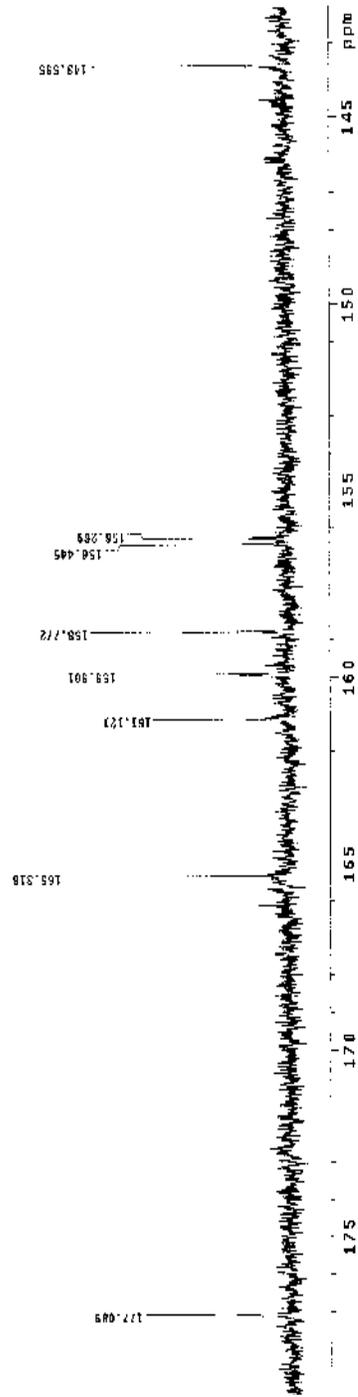


FIGURA 32A: Expansão do espectro de RMN ¹³C de Jr1-17-06 (*cis*-tirosina) em DMSO-*d*₆, 126MHz.

Helvecio Jr1 117 06 25/08/06
 Pulse Sequence: zgpg1
 Solvent: DMSO
 Temp: 110.07 / 300.1 K
 Uprg: 1.11-07
 File: helvecio-jr11706_c
 TADVA-S00 MB11465
 Relax delay 0.487 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq: 1202.8 Hz
 32286 F2 (120.738 MHz)
 OBSERVE CH1 125.62182 MHz
 Power 30.48 / 488.022426 MHz
 continuously on
 constitutively on
 DATA FIDC391MG
 Line broadening 1.0 Hz
 c120.738
 Total time: 12 hr, 58 min, 50 sec

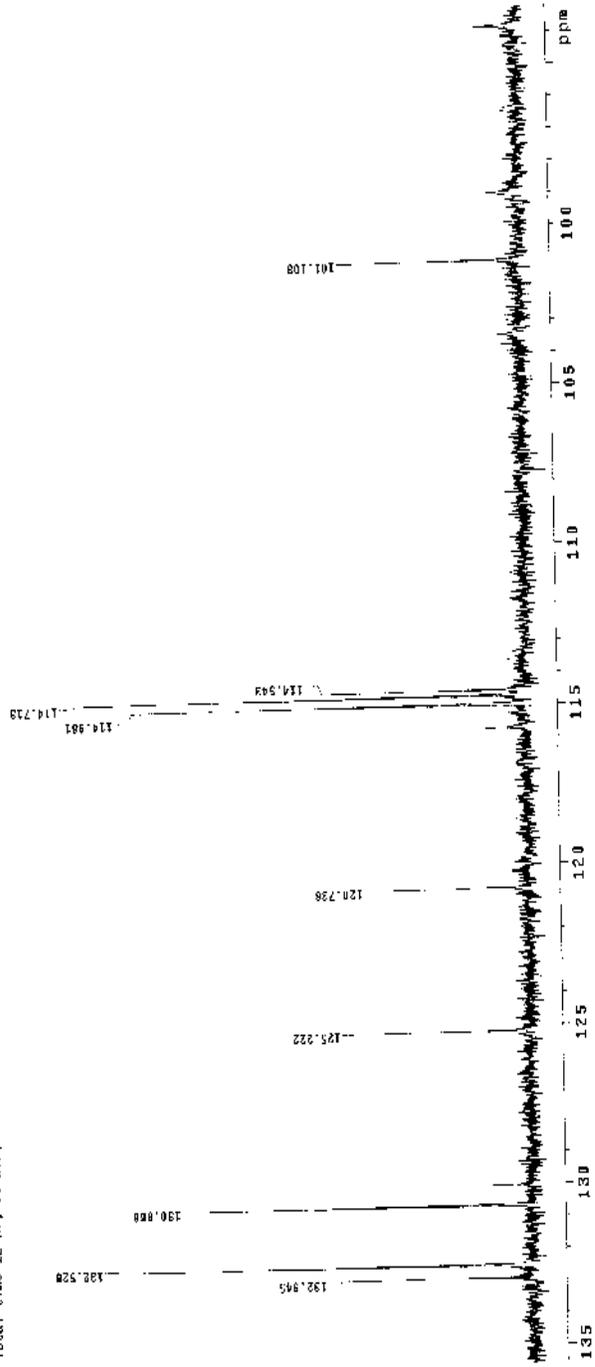


FIGURA 33A: Expansão do espectro de RMN ¹³C de Jr1-117-06 (*cis*-tirosina) em DMSO-*d*₆, 126MHz.

```

Jr1-117-06 25/05/06
=====
INSTRUM: spect
P1: DMSO
P2: 0.57 / 302.1 K
PROCNO: 111706_0
PR: multiqc

delay 0.857 sec
d1 9.00000000
d2 0.00000000
d3 0.00000000
d4 0.00000000
d5 0.00000000
d6 0.00000000
d7 0.00000000
d8 0.00000000
d9 0.00000000
d10 0.00000000
d11 0.00000000
d12 0.00000000
d13 0.00000000
d14 0.00000000
d15 0.00000000
d16 0.00000000
d17 0.00000000
d18 0.00000000
d19 0.00000000
d20 0.00000000
d21 0.00000000
d22 0.00000000
d23 0.00000000
d24 0.00000000
d25 0.00000000
d26 0.00000000
d27 0.00000000
d28 0.00000000
d29 0.00000000
d30 0.00000000
d31 0.00000000
d32 0.00000000
d33 0.00000000
d34 0.00000000
d35 0.00000000
d36 0.00000000
d37 0.00000000
d38 0.00000000
d39 0.00000000
d40 0.00000000
d41 0.00000000
d42 0.00000000
d43 0.00000000
d44 0.00000000
d45 0.00000000
d46 0.00000000
d47 0.00000000
d48 0.00000000
d49 0.00000000
d50 0.00000000
d51 0.00000000
d52 0.00000000
d53 0.00000000
d54 0.00000000
d55 0.00000000
d56 0.00000000
d57 0.00000000
d58 0.00000000
d59 0.00000000
d60 0.00000000
d61 0.00000000
d62 0.00000000
d63 0.00000000
d64 0.00000000
d65 0.00000000
d66 0.00000000
d67 0.00000000
d68 0.00000000
d69 0.00000000
d70 0.00000000
d71 0.00000000
d72 0.00000000
d73 0.00000000
d74 0.00000000
d75 0.00000000
d76 0.00000000
d77 0.00000000
d78 0.00000000
d79 0.00000000
d80 0.00000000
d81 0.00000000
d82 0.00000000
d83 0.00000000
d84 0.00000000
d85 0.00000000
d86 0.00000000
d87 0.00000000
d88 0.00000000
d89 0.00000000
d90 0.00000000
d91 0.00000000
d92 0.00000000
d93 0.00000000
d94 0.00000000
d95 0.00000000
d96 0.00000000
d97 0.00000000
d98 0.00000000
d99 0.00000000
d100 0.00000000
=====
VARIABLES
DELTA 1.00 Hz
COLLECTING 1.00 Hz
100.70 hr, 23 min, 50 sec

```

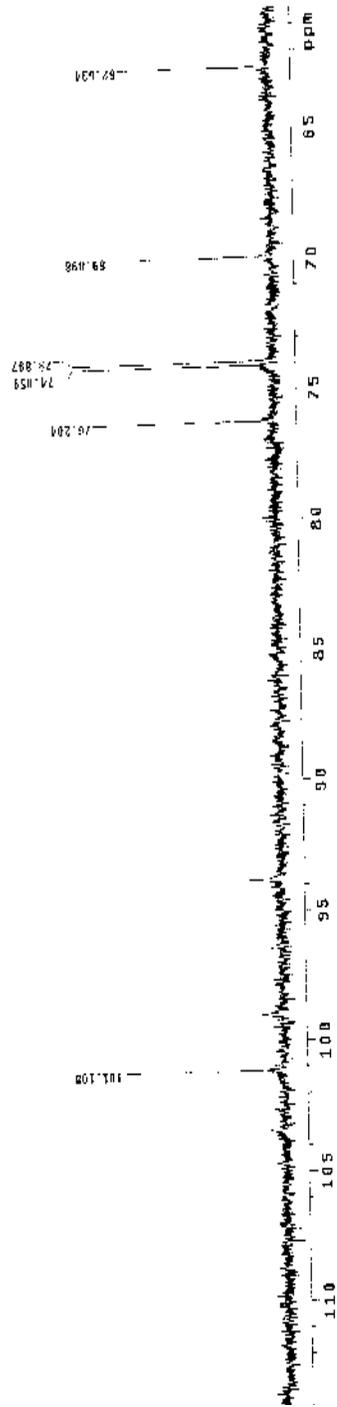


FIGURA 34A: Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-117-06 (*cis*-tiliroside) em $\text{DMSO-}d_6$, 126MHz.


```

Haltercio Jr.: 1:7 BF 2/5/05/06
Pulse Sequence: szpm
Solvent: DMSO
Temp: 300.2 / 303.1 K
File: Halvecio-Jr-11706_C
INNOVA-500 "multifiles"
=====
Pulse delay: 0.857 sec
Pulse: 45.0 degrees
Acq: 1.000 sec
32250 repeats
OBSERVE: 113.135800000 MHz
Power: 50 dB
=====
Continuously on
OBSERVE: 113.135800000 MHz
MDA PROCESSING
Line broadening: 1.0 Hz
Total time: 22 hr, 59 min, 50 sec

```

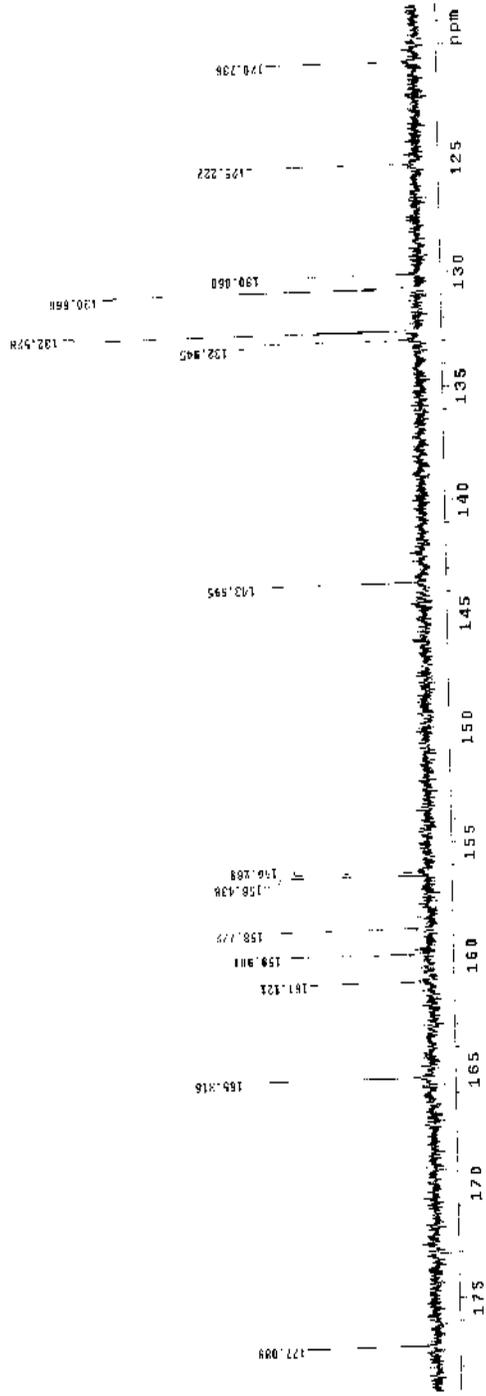


FIGURA 36A: Expansão do espectro de RMN ¹³C de Jr1-117-06 (*cis*-tiliroside) em DMSO-*d*₆, 126MHz.

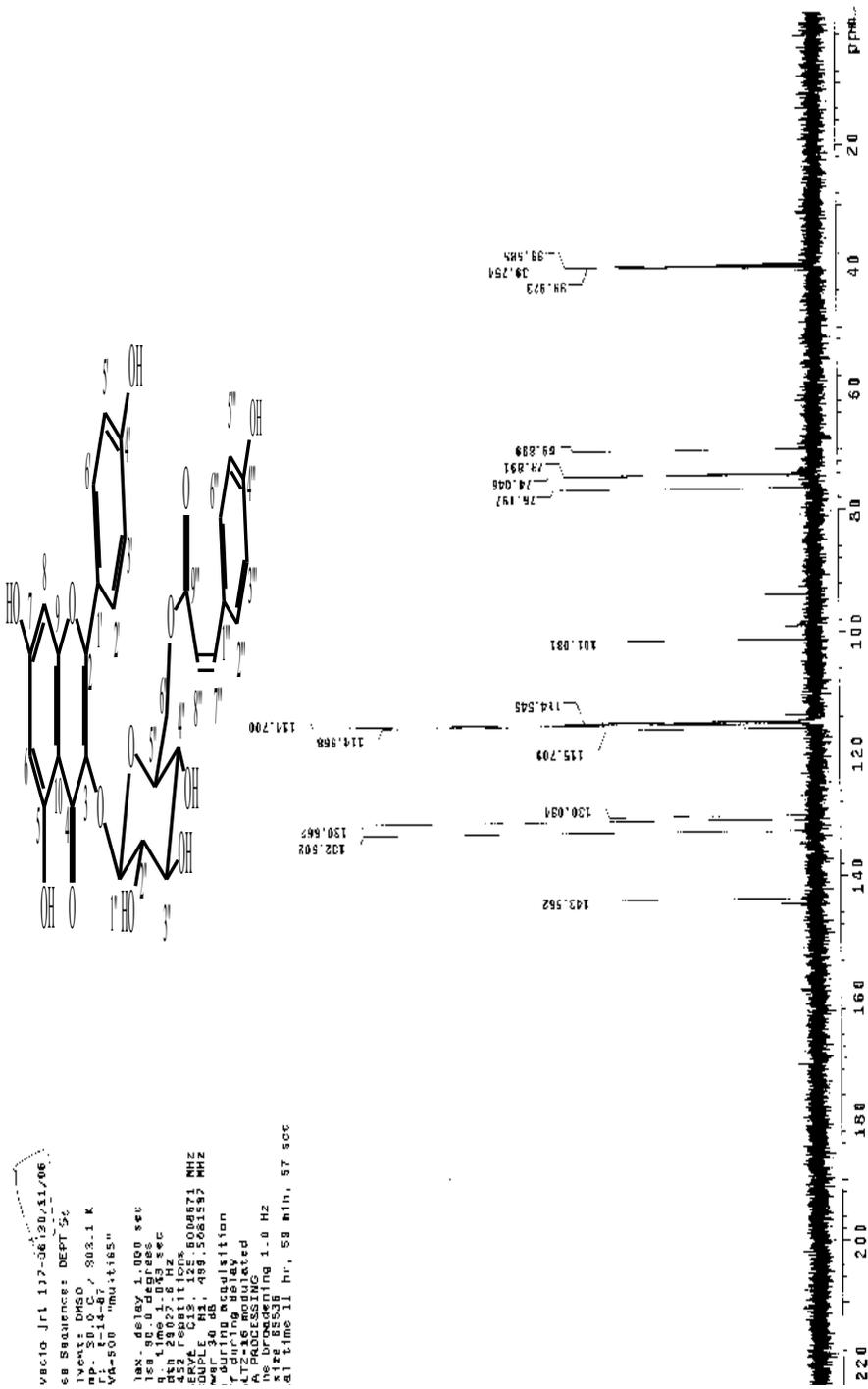


FIGURA 37A: DEPT 90° de Jr1-117-06 (*cis*-tirosídeo) em DMSO- d_6 , 126 MHz.

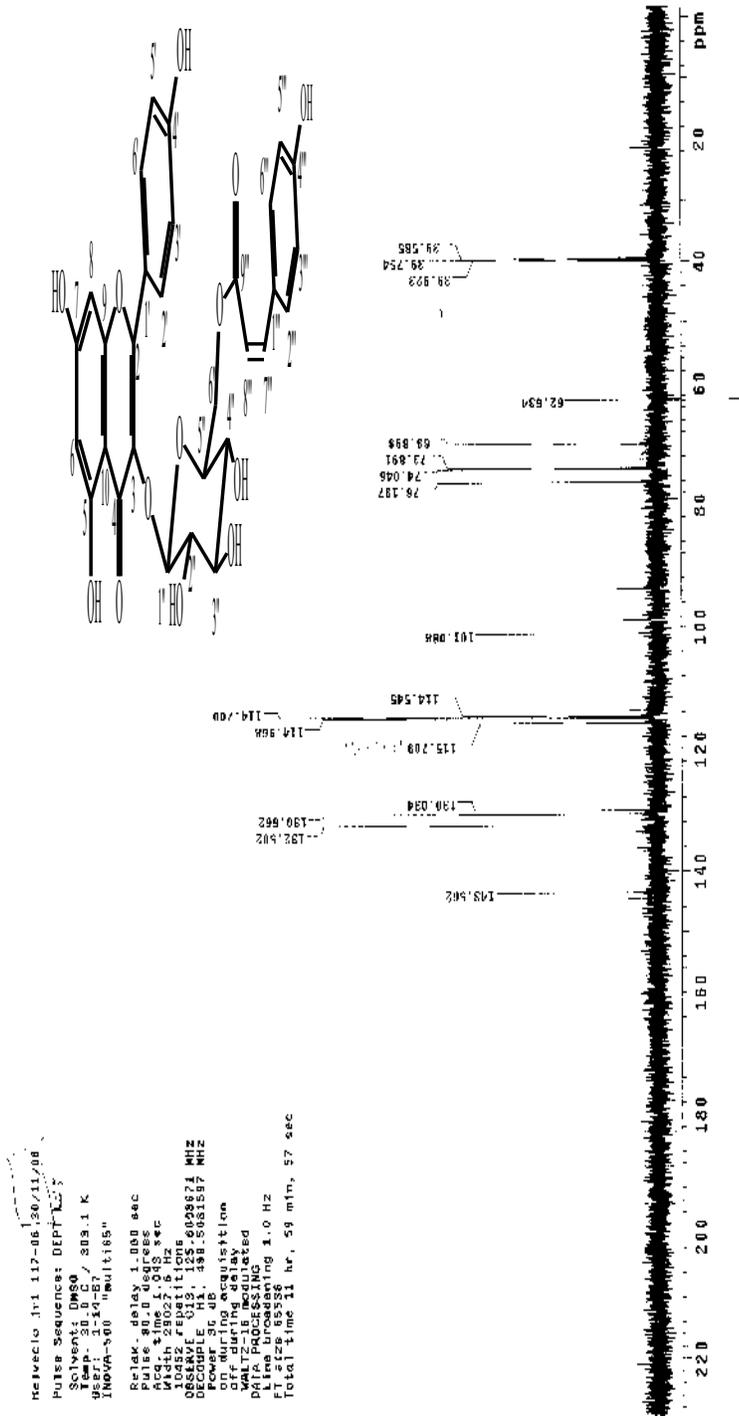


FIGURA 38A: DEPT 135° de Jr1-117-06 (*cis*-tirosídeo) em DMSO- d_6 , 126 MHz.

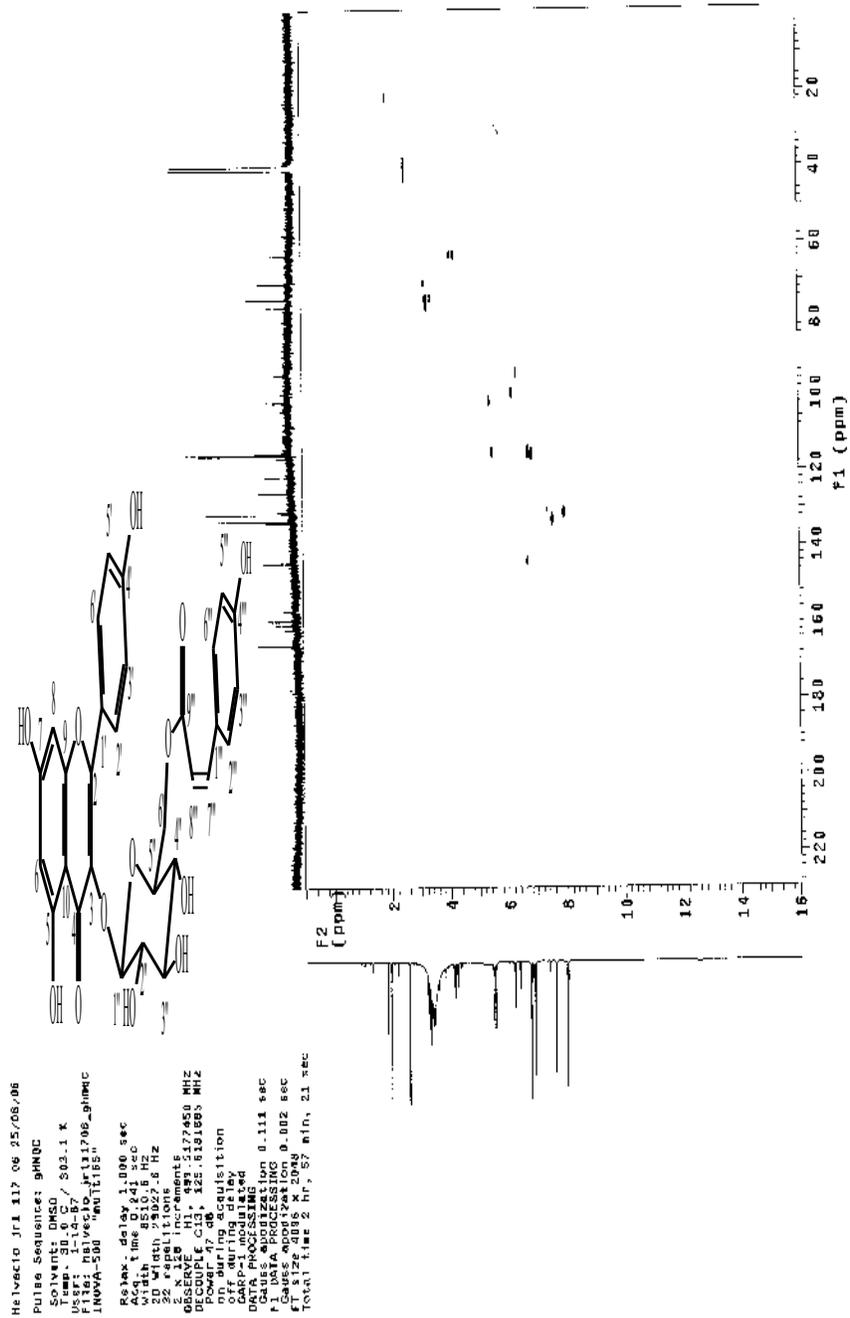


FIGURA 39A: Correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (*cis*-tilirosídeo) em DMSO- d_6

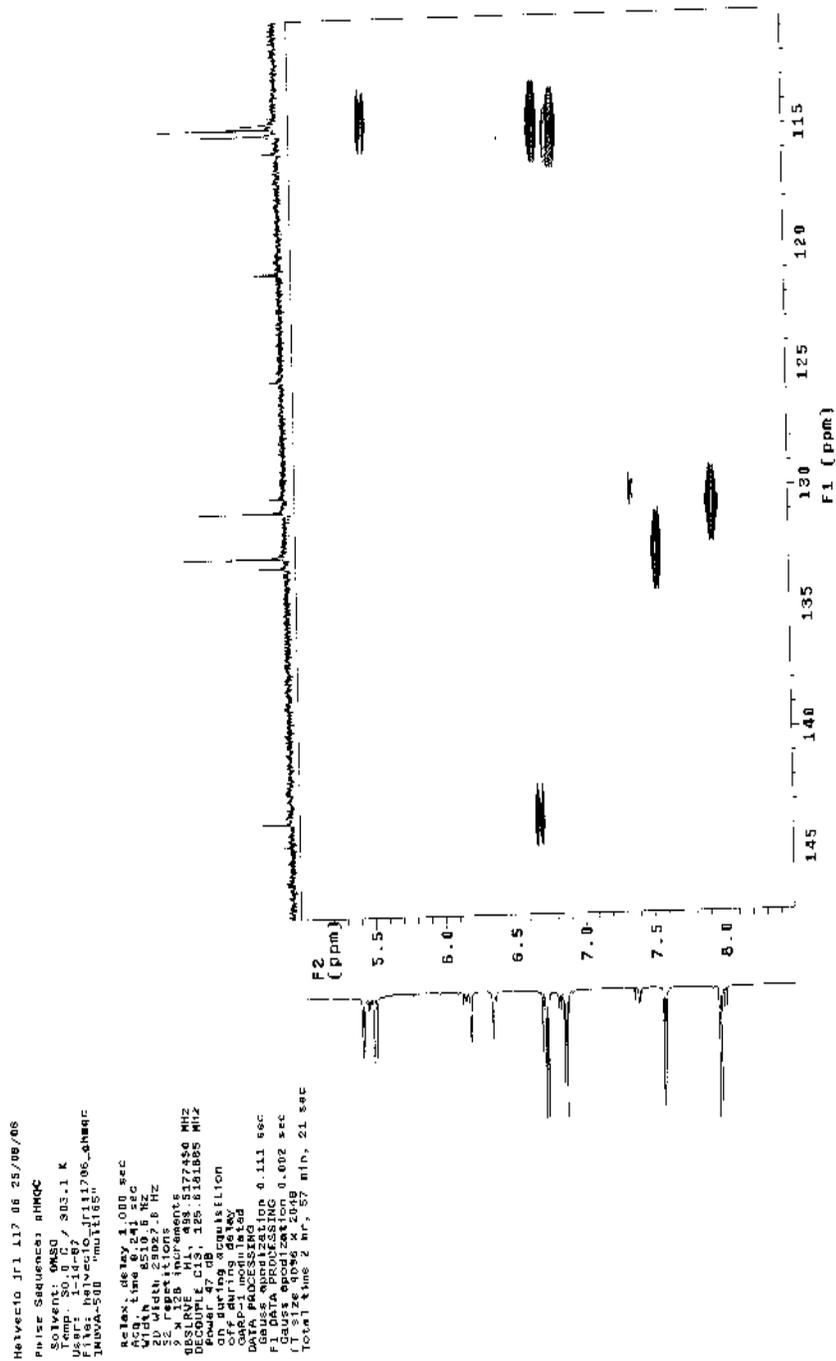


FIGURA 40A: Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (*cis*-tilosídeo) em $\text{DMSO}-d_6$.

```

Helvecto Jr1 117 06 25/05/06
Pulse Sequence: gHMQC
Name: gHMQC
Temperature 303.1 K
F1 100 MHz
User: i-14-07_4111706_gHMQC
F2 500 MHz
Relax: delay 1.000 sec
Acq: time 6.241 sec
SOLVENT: DMSO
2D Width 2802.8 Hz
S2: repetitions 32
DESCRIBE: HI RESULTS
DECOUPLE: C13, 125.6181685 MHz
Power during acquisition
off during delay
GARP: PROCESSED
Gauss: spotsize 0.151 sec
F1: DATA PROCESSING 0.002 sec
F2: size 2098 x 2048
Total time 2 hr., 37 min., 21 sec

```

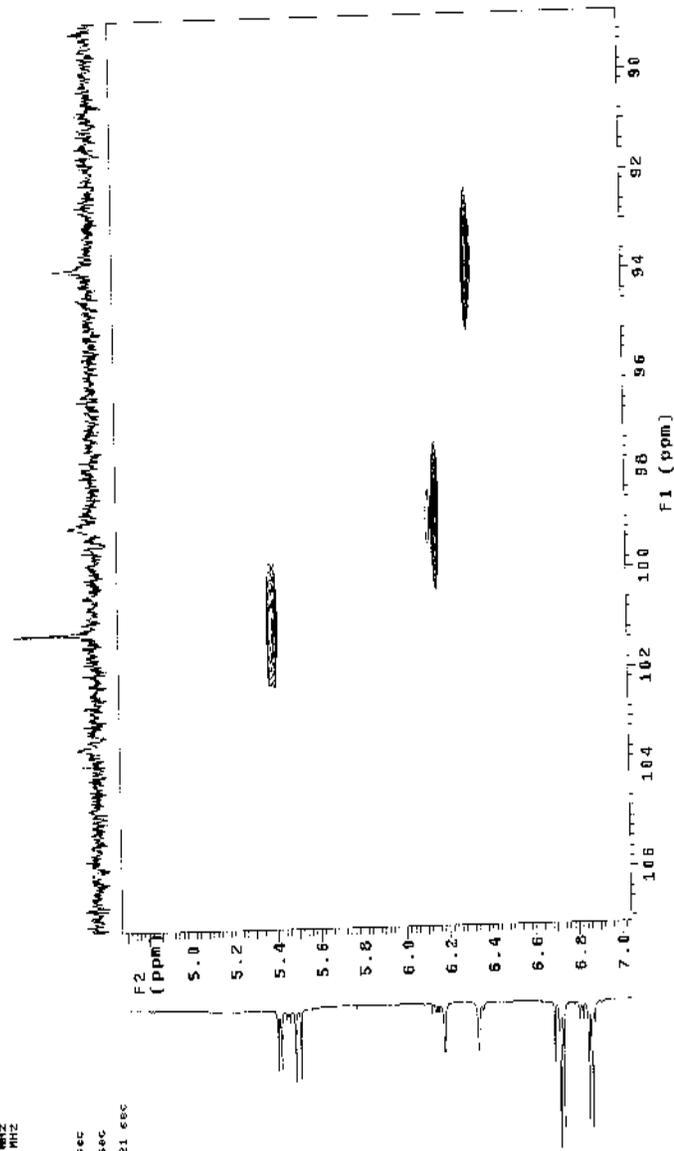


FIGURA 41A: Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (*cis*-tiliroside) em DMSO- d_6 .

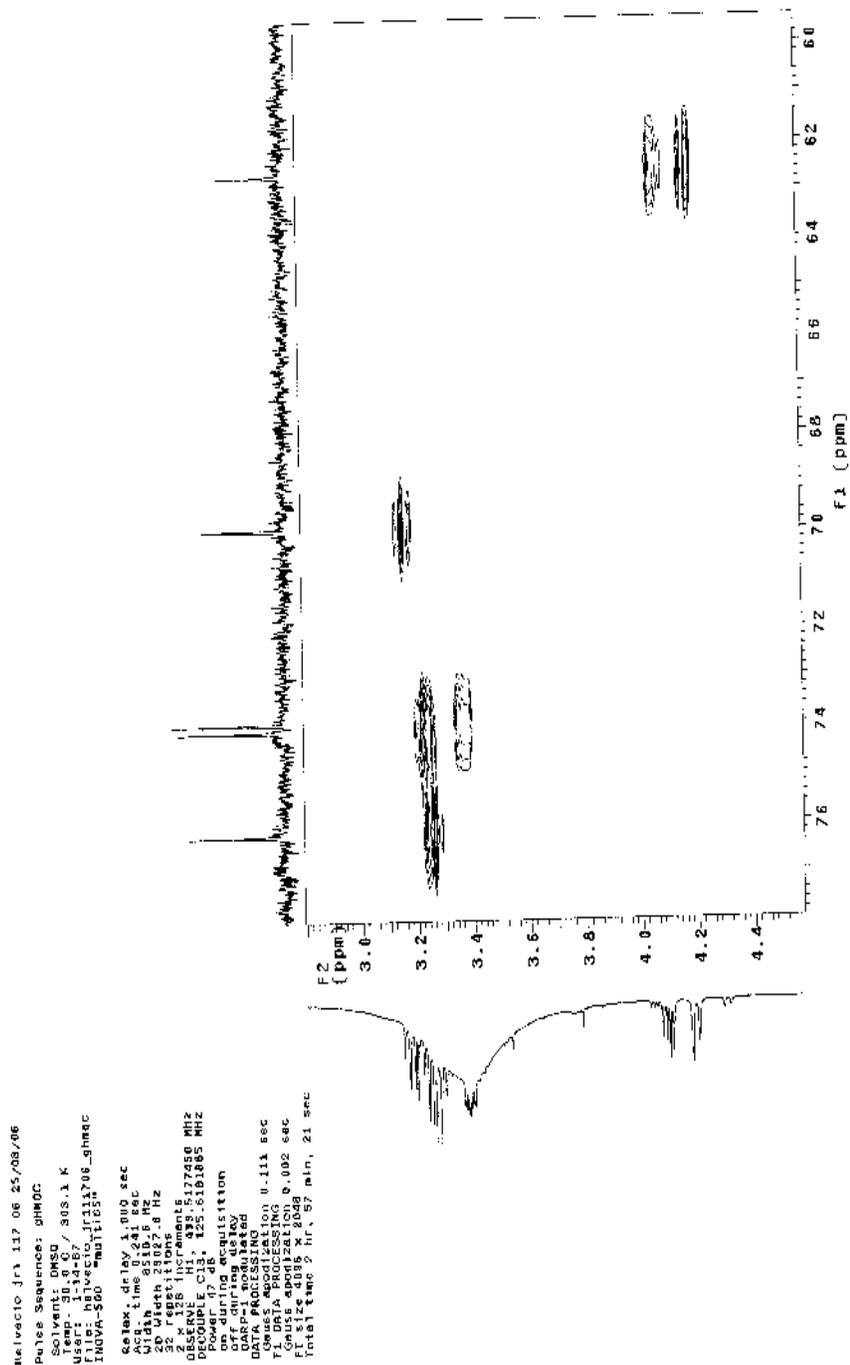


FIGURA 42A: Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMOC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (*cis*-tiliroside) em DMSO- d_6 .

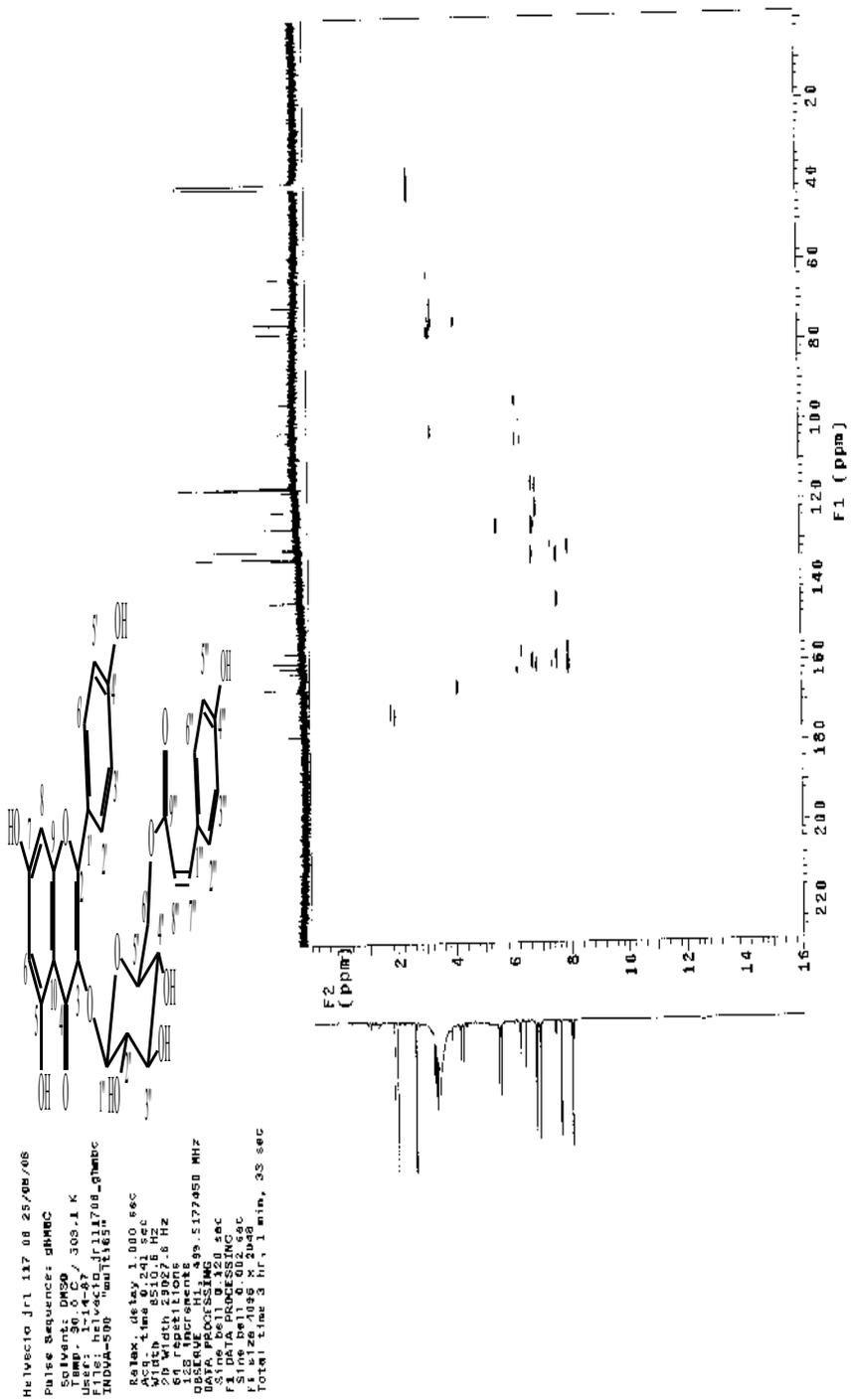


FIGURA 43A: Correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (*cis*-tiliroside) em DMSO- d_6 .

```

Helvicio jr1 117 96 25/04/06
Pulse Sequence: ghmhbc
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C / 303.1 K
F1: Helvicio jr111705_gmhbc
INDVA=500 "HMU1185"
Relax delay 4.000 sec
Acq time 0.241 sec
Width 8510.6 Hz
SFO 500.136 MHz
NUC1 13C
NUC2 1H
128 F2 channels
DATA PROCESSING 88.5177468 MHz
Sine bell 0.220 sec
Sine bell 0.202 sec
F1 size 4835 x 2048
F2 size 4835 x 2048
Total time 3 hr. 1 min. 43 sec

```

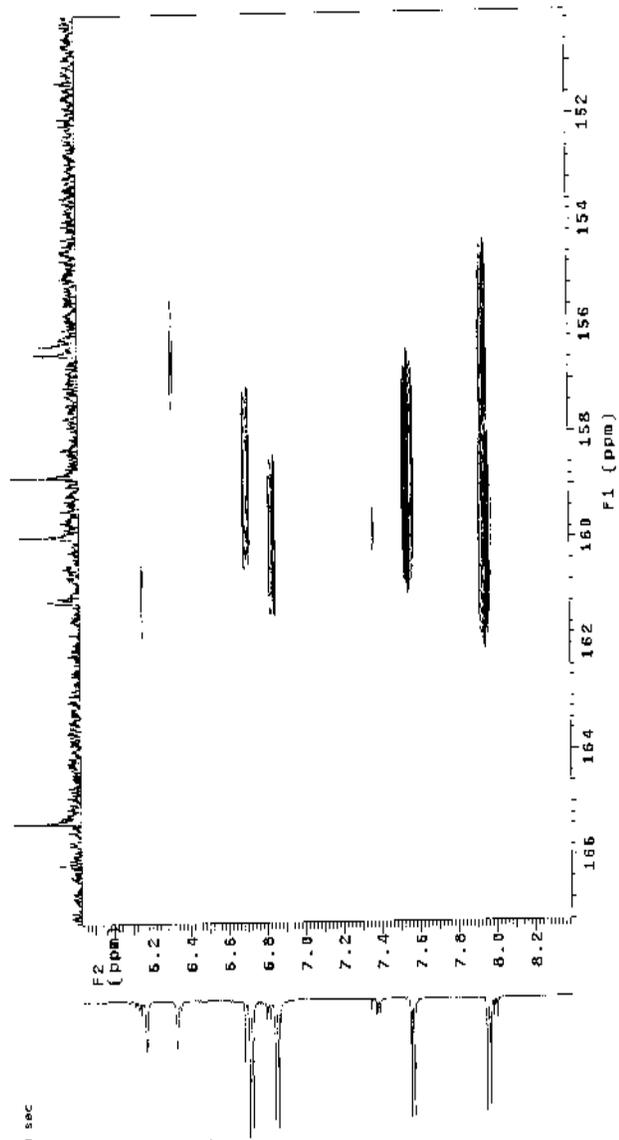


FIGURA 44A: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (*cis*-tilirosídeo) em DMSO- d_6 .

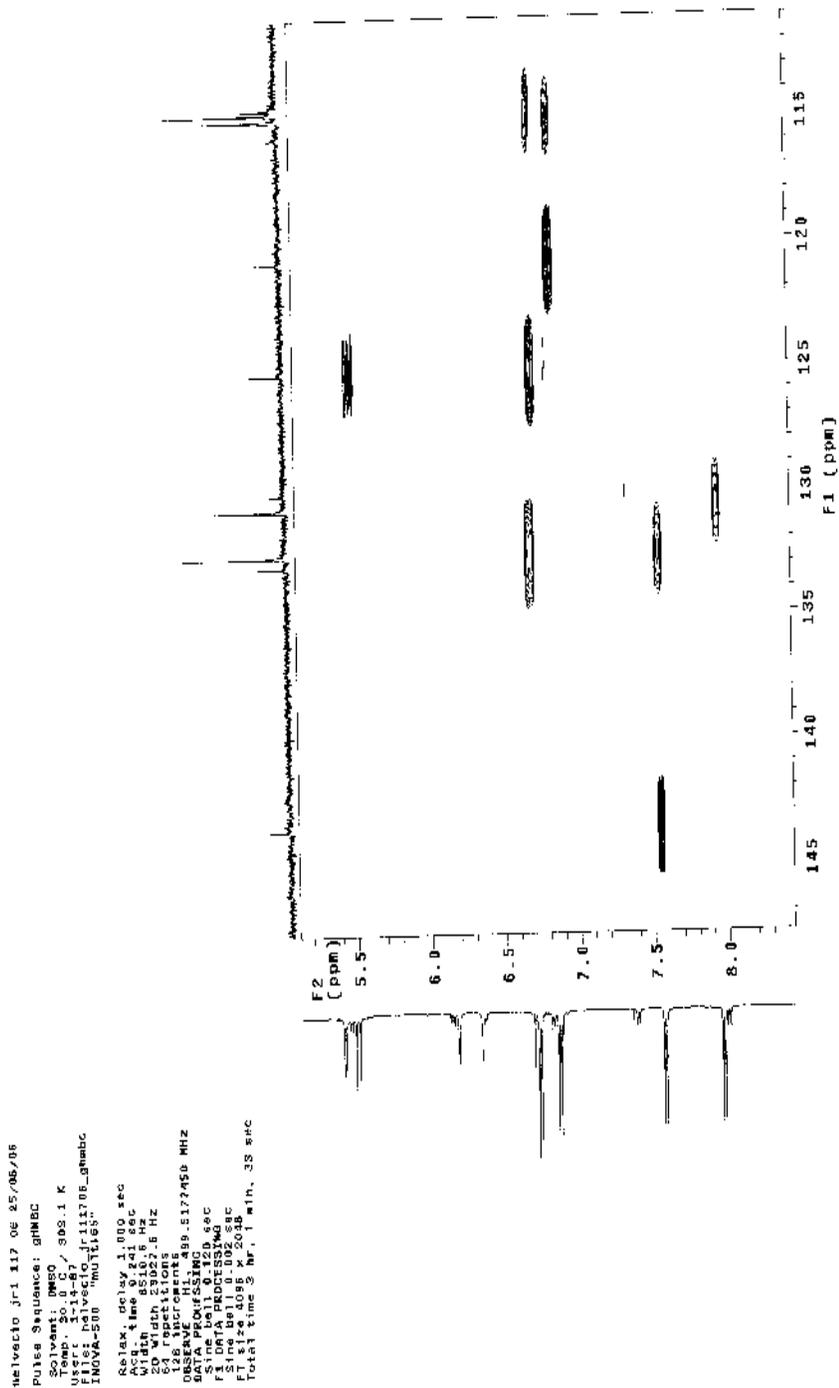


FIGURA 45A: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (*cis*-tiliroside) em DMSO- d_6 .

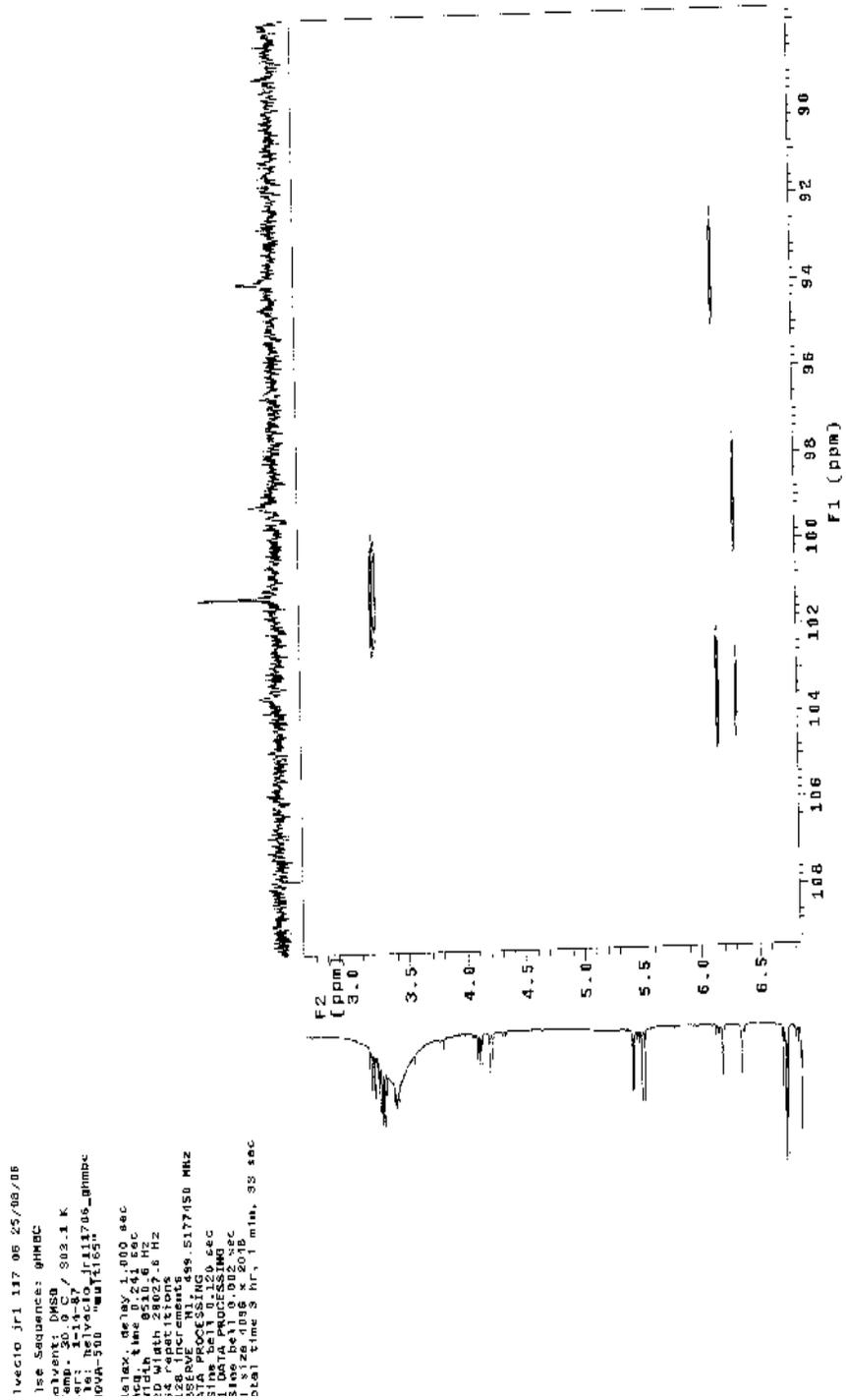


FIGURA 46A: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-117-06 (*cis*-tilirosídeo) em DMSO- d_6 .

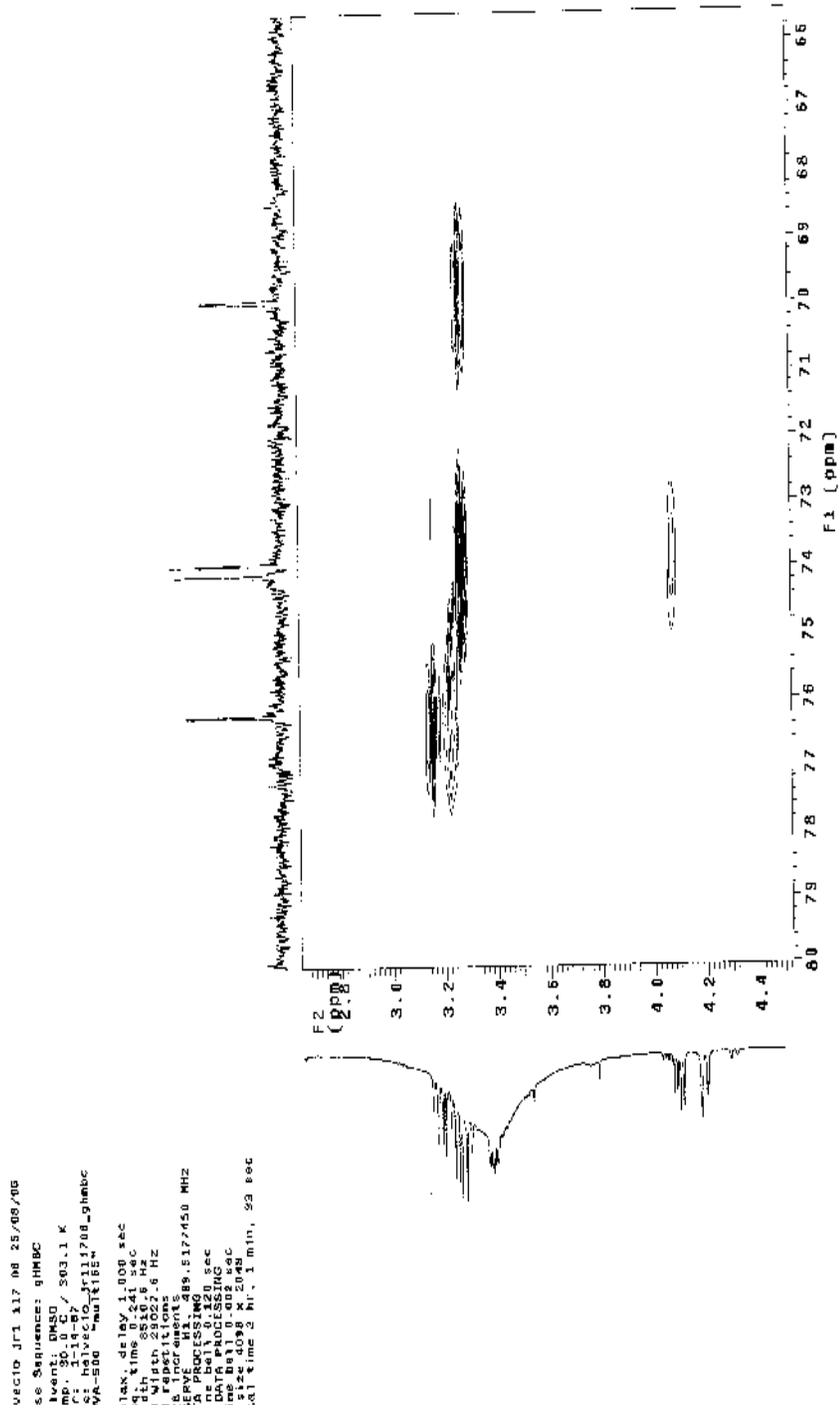


FIGURA 47A: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jf1-117-06 (*cis*-tiliroside) em $\text{DMSO}-d_6$.

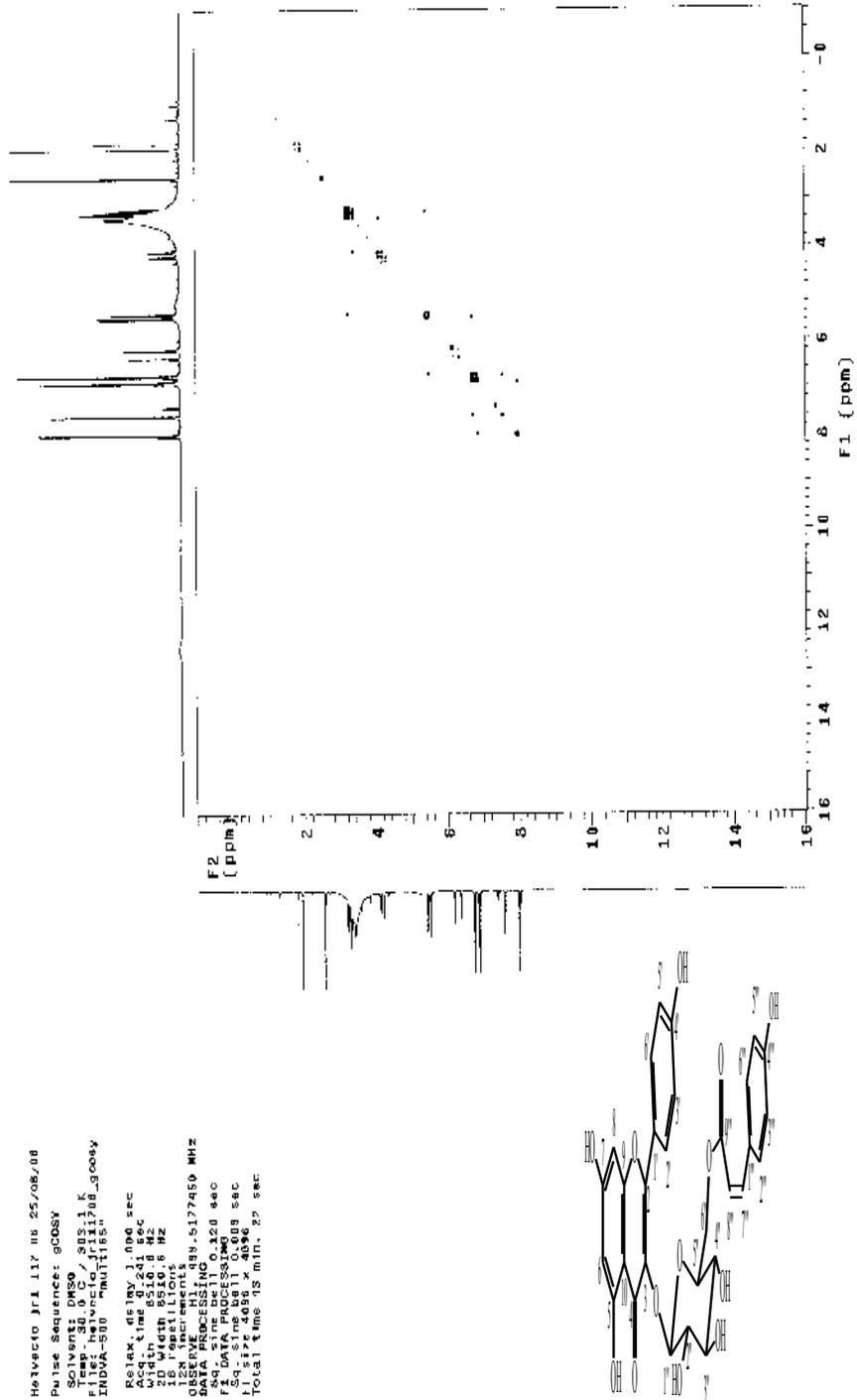
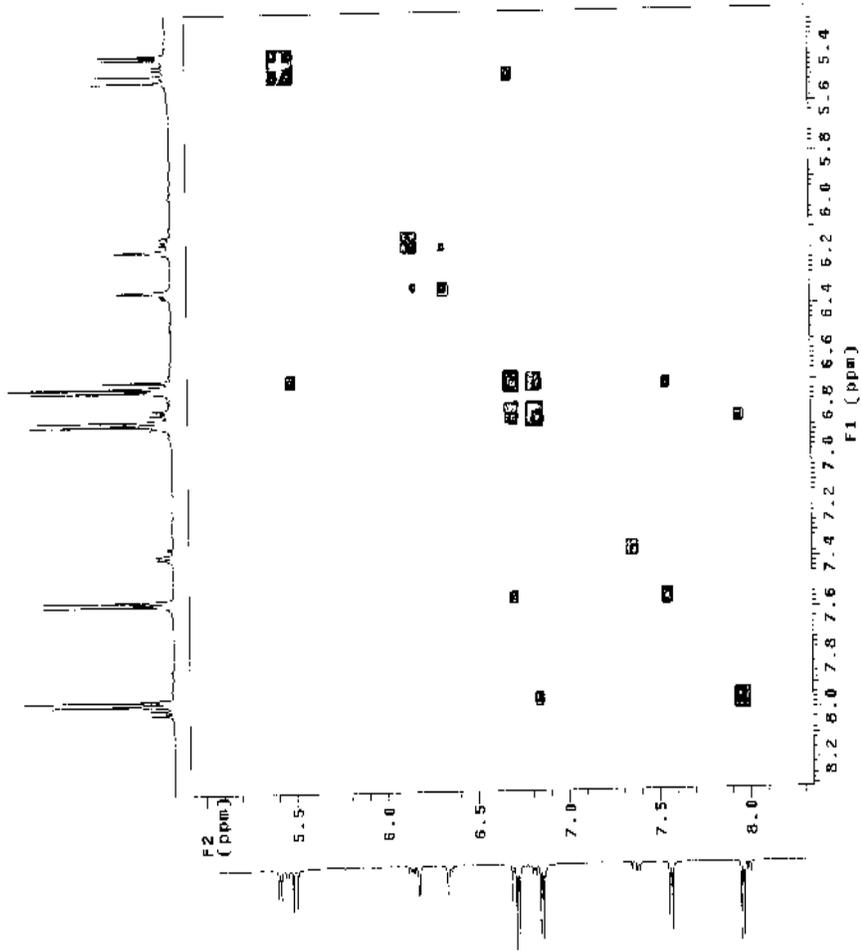


FIGURA 48A: Correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-117-06 (*cis*-tiliroside) em $\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz.



```

Helvecio Jr1 117 06 25.09.06
Pulse Sequence: gc05y
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C / 303.1 K
F1: 400.136 MHz
F2: 400.136 MHz
INNOVA-800 "HPL1162"
Relax: delay 1.000 sec
Acq: time 05:10.6 Hz
AQ: 0.387 sec
ZD: Width 8510.8 Hz
128 repetitions
128 replicates
OBSERVE: HPL1162 - 5177459 MHz
DATA ACQUISITION 0.120 sec
F1 DATA PROCESSING
F2: 400.136 MHz
F1: 400.136 MHz
Total Time: 43 min, 22 sec
  
```

FIGURA 49A: Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-117-06 (*cis*-tiliroside) em DMSO- d_6 , 500 MHz.

```

Helvecio Jr1 J17 08 25/09/00
Pulse Sequence: gCOSY
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C / 300.1 K
INNOVA-500 'INOVA1151'.06_gcosy
Relax: delay 1.000 sec
Acq: time 0.100 sec
CP: width 8510.6 Hz
16 repetitions
DMSO-D6
DMSO-D6 489.5177450 MHz
DATA PROC: SSI MG 0.120 sec
F1 DATA PROCESSING:
Sg: 1.000 sec
Total Time: 43 min, 28 sec

```

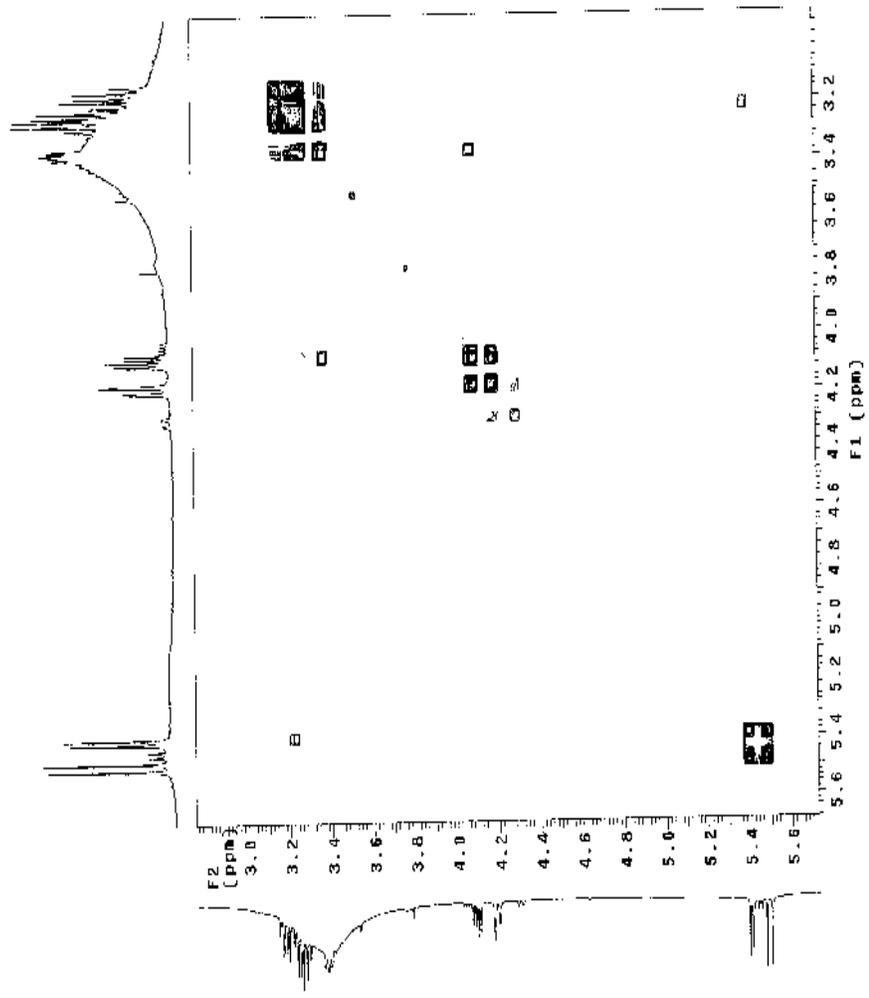


FIGURA 50A: Expansão da correlação homonuclear ¹H x ¹H (gCOSY) de Jr1-117-06 (*cis*-tilirosídeo) em DMSO-*d*₆ 500 MHz.

```

Helvecin Jr1 117 06 25/06/06
Pulse Sequence: TOCSY1D
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 U, 303.1 K
File: helvecin_jr1_117_06_toccy1d
F40A-200 06011457.00_toccy1d
Relax, delay 1.500 sec
Pulse 0, 1.000 sec
Pulse 1, 1.000 sec
Acq1 Time 1.087 sec
Acq2 Time 1.087 sec
J in 81150K
J in 81150K
OBSERVE IN: 498.517453 MHz
DATA PROCESSING 1.0 PK
FT size 13162
Total time 8 min, 7 sec

```

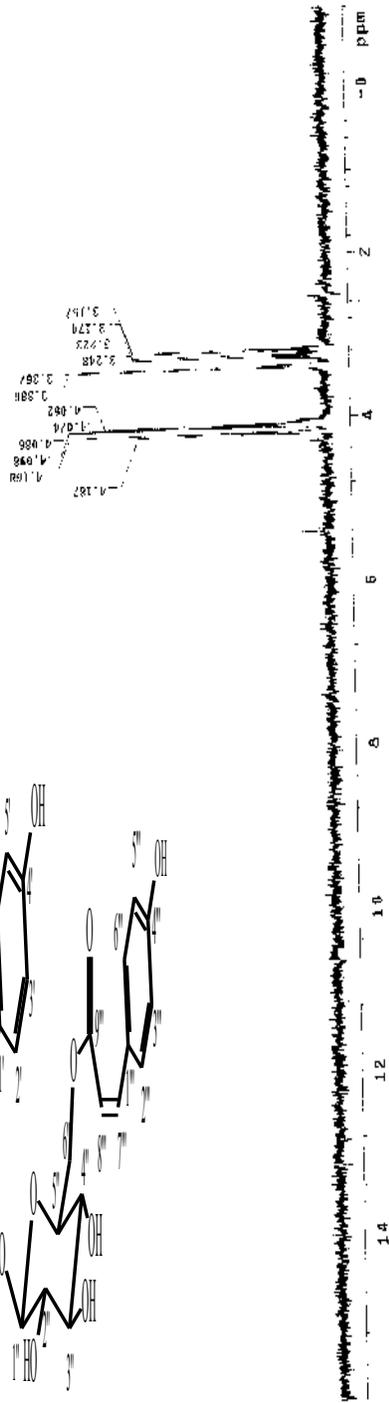
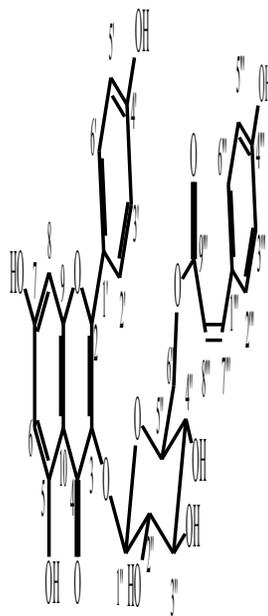


FIGURA 51A: TOCSY 1D de Jr1-117-06 (*cis*-tilirosídeo) em DMSO- d_6 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 5,40 (1H; d, $J=8,0$)].

```

Jr1 117 06 25/00/FB
suqencia: f025x10
1: DMSO
1.0 C / 200.1 K
1: ves 01:06_torsy1d2
2: 0011102n
Pulley 1.000 sec
0.100000000
0.100000000
RG 4.087 sec
24.16 Hz
0.611499-517450 MHz
CESSON 2 1.0 Hz
131072
me 6 min. 7 sec

```

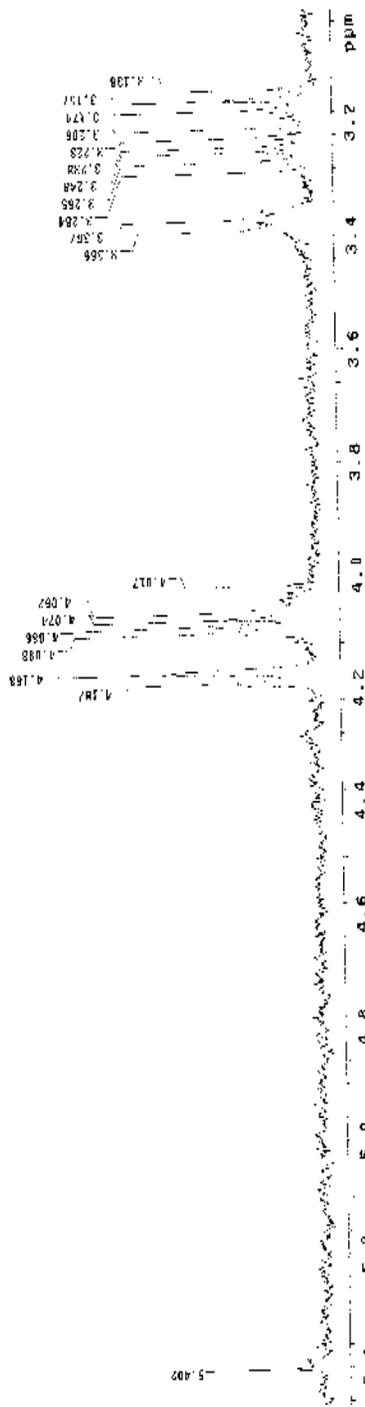


FIGURA 52A: Expansão do TOCSY 1D de Jr1-117-06 (*cis*-tiliroside) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 5,40 (1H; d, J=8,0)].

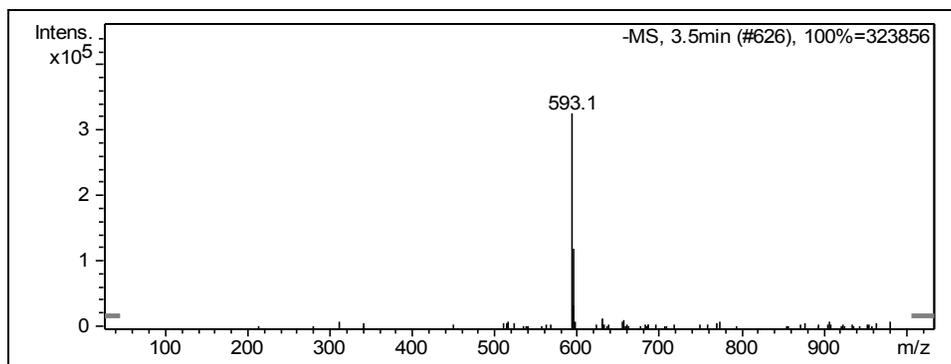


FIGURA 53A: Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-117-05 (*trans*-tilirosídeo), $-MS^1$ ($593=M-1$).

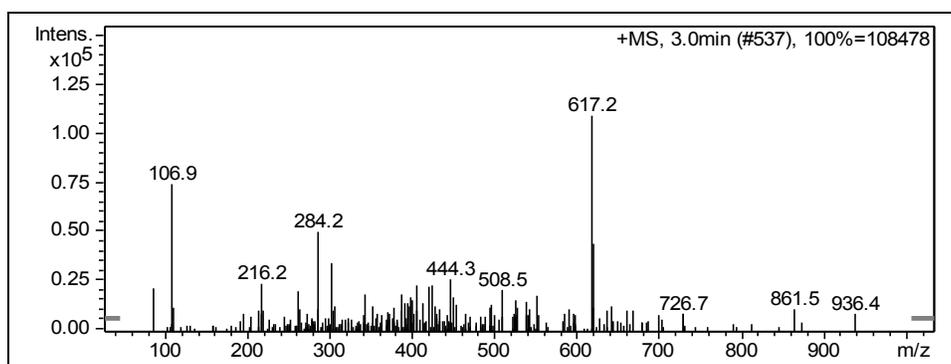


FIGURA 54A: Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-117-05 (*trans*-tilirosídeo), $+MS^1$ ($617=M+Na^+$).

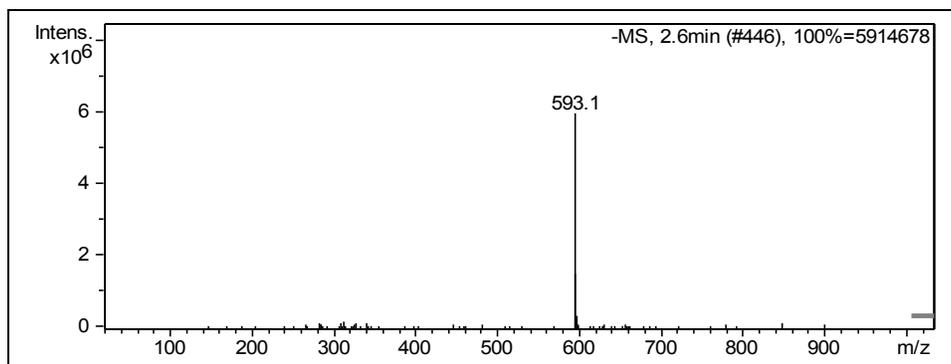


FIGURA 55A: Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-117-06 (*cis*-tilirosídeo), -MS¹ (593=M-1).

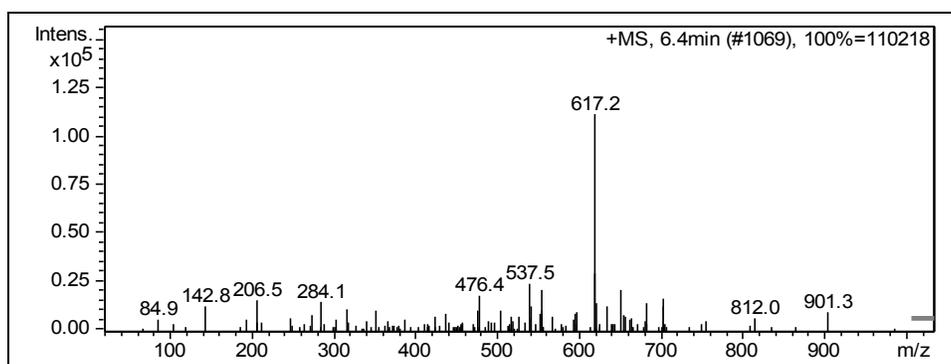


FIGURA 56A: Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-117-06 (*cis*-tilirosídeo), +MS¹ (617=M+Na⁺).

ANEXO B		Página
FIGURA 1B	Espectro de RMN ^1H de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	229
FIGURA 2B	Expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	230
FIGURA 3B	Expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	231
FIGURA 4B	Espectro de RMN ^{13}C de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	232
FIGURA 5B	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	233
FIGURA 6B	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	234
FIGURA 7B	DEPT 90° de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	235
FIGURA 8B	Expansão do DEPT 90° de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	236
FIGURA 9B	DEPT 135° de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	237
FIGURA 10B	Expansão do DEPT 135° de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	238
FIGURA 11B	Correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6	239
FIGURA 12B	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6	240
FIGURA 13B	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6	241
FIGURA 14B	Correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6	242
FIGURA 15B	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- d_6	243
FIGURA 16B	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-124-02	

	(kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- <i>d</i> ₆	244
	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ¹ H x ¹³ C (500 x 126 MHz) de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- <i>d</i> ₆	245
FIGURA 18B	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ¹ H x ¹³ C (500 x 126 MHz) de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- <i>d</i> ₆	246
FIGURA 19B	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ¹ H x ¹³ C (500 x 126 MHz) de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- <i>d</i> ₆	247
FIGURA 20B	Correlação homonuclear ¹ H x ¹ H (gCOSY) de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- <i>d</i> ₆ , 500 MHz.....	248
FIGURA 21B	Expansão da correlação homonuclear ¹ H x ¹ H (gCOSY) de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- <i>d</i> ₆ , 500 MHz.....	249
FIGURA 22B	Expansão da correlação homonuclear ¹ H x ¹ H (gCOSY) de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- <i>d</i> ₆ , 500 MHz.....	250
FIGURA 23B	TOCSY 1D e expansão do TOCSY 1D de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- <i>d</i> ₆ , 500 MHz [sinal irradiado: δ _H 1,06 (3H; d, J=6,0)].....	251
FIGURA 24B	TOCSY 1D de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- <i>d</i> ₆ , 500 MHz [sinal irradiado: δ _H 4,40 (1H; sl)].....	252
FIGURA 25B	TOCSY 1D e expansão do TOCSY 1D de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo) em DMSO- <i>d</i> ₆ , 500 MHz [sinal irradiado: δ _H 5,25 (1H; d, J=7,5)].....	253
FIGURA 26B	Espectro de RMN ¹ H de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- <i>d</i> ₆ , 500MHz.....	254
FIGURA 27B	Expansão do espectro de RMN ¹ H de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- <i>d</i> ₆ , 500MHz.....	255
FIGURA 28B	Expansão do espectro de RMN ¹ H de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- <i>d</i> ₆ , 500MHz.....	256
FIGURA 29B	Expansão do espectro de RMN ¹ H de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- <i>d</i> ₆ , 500MHz.....	257
FIGURA 30B	Espectro de RMN ¹³ C de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- <i>d</i> ₆ , 126MHz.....	258
FIGURA 31B	Expansão do espectro de RMN ¹³ C de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- <i>d</i> ₆ , 126MHz.....	259
FIGURA 32B	Expansão do espectro de RMN ¹³ C de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- <i>d</i> ₆ , 126MHz.....	260

FIGURA 33B	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	261
FIGURA 34B	DEPT 90° de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	262
FIGURA 35B	Expansão do DEPT 90° de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	263
FIGURA 36B	Expansão do DEPT 90° de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	264
FIGURA 37B	DEPT 135° de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	265
FIGURA 38B	Expansão do DEPT 135° de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	266
FIGURA 39B	Expansão do DEPT 135° de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	267
FIGURA 40B	Correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6	268
FIGURA 41B	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6	269
FIGURA 42B	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6	270
FIGURA 43B	Correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6	271
FIGURA 44B	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6	272
FIGURA 45B	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6	273
FIGURA 46B	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6	274
FIGURA 47B	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6	275
FIGURA 48B	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6	276

FIGURA 49B	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6	277
FIGURA 50B	Correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	278
FIGURA 51B	Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	279
FIGURA 52B	Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	280
FIGURA 53B	TOCSY 1D de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 5,40 (1H; d, J=7,5)]......	281
FIGURA 54B	Expansão do TOCSY 1D de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 5,40 (1H; d, J=7,5)]......	282
FIGURA 55B	TOCSY 1D de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 4,36 (1H; d, J=1,5)]......	283
FIGURA 56B	TOCSY 1D de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 0,93 (3H; d, J=6,0)]......	284
FIGURA 57B	Expansão do TOCSY 1D de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 0,93 (3H; d, J=6,0)]......	285
FIGURA 58B	Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo), $-\text{MS}^1$ (593=M-1).....	286
FIGURA 59B	Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-124-02 (kaempferol 3- <i>O</i> -robinobiosídeo), $+\text{MS}^1$ (617=M+Na $^+$)	286
FIGURA 60B	Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G), $-\text{MS}^1$ (739=M-1).....	287
FIGURA 61B	Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G), $+\text{MS}^1$ (763=M+Na $^+$).....	287

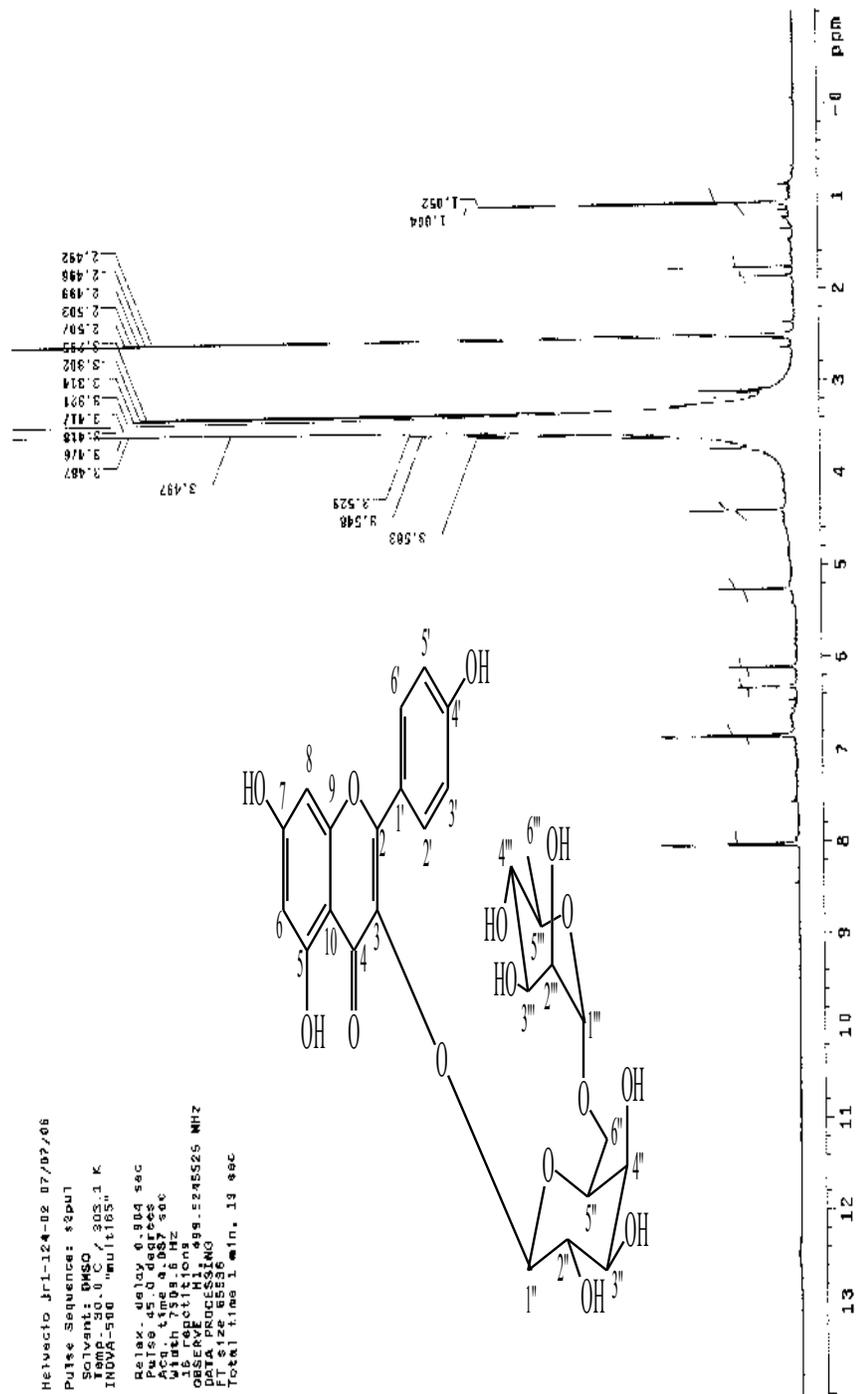


FIGURA 1B: Espectro de RMN ¹H de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em DMSO-d₆, 500MHz.

```

telvacto Jr1-124-02 07/07/06
Data Sequence: 52pul
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C
PROB: zgpg30 "multis"
Relax: delay 0.904 sec
Pulse: 45.0 deg
Acq: time 4.007 sec
RG: 655.357
18 repetitions
00&RVOC: 11.489-5245525 MHz
PT: 12.65238
Total time 1 min, 18 sec

```

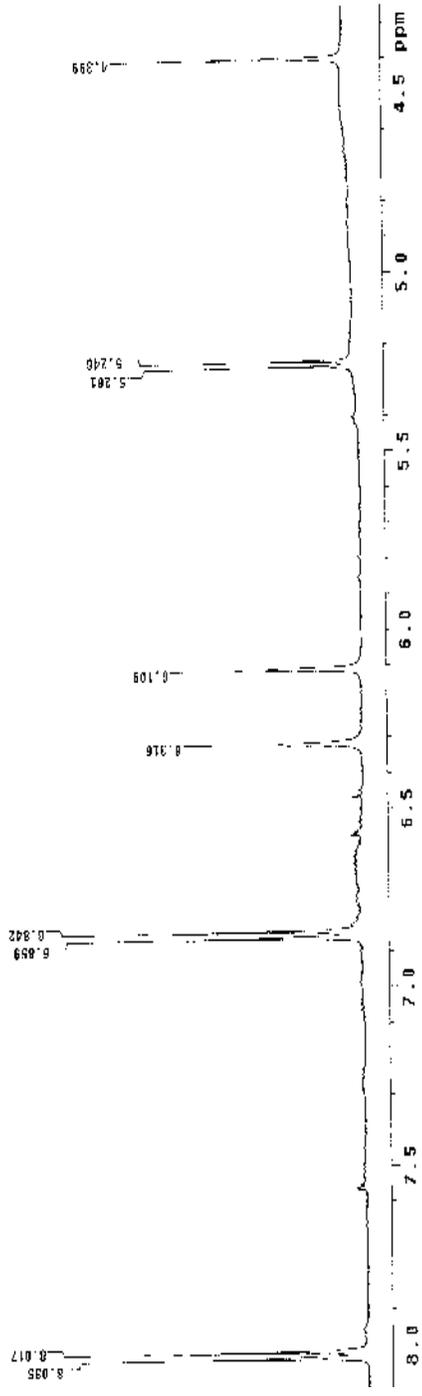


FIGURA 2B: Expansão do espectro de RMN ¹H de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em DMSO-*d*₆, 500MHz.

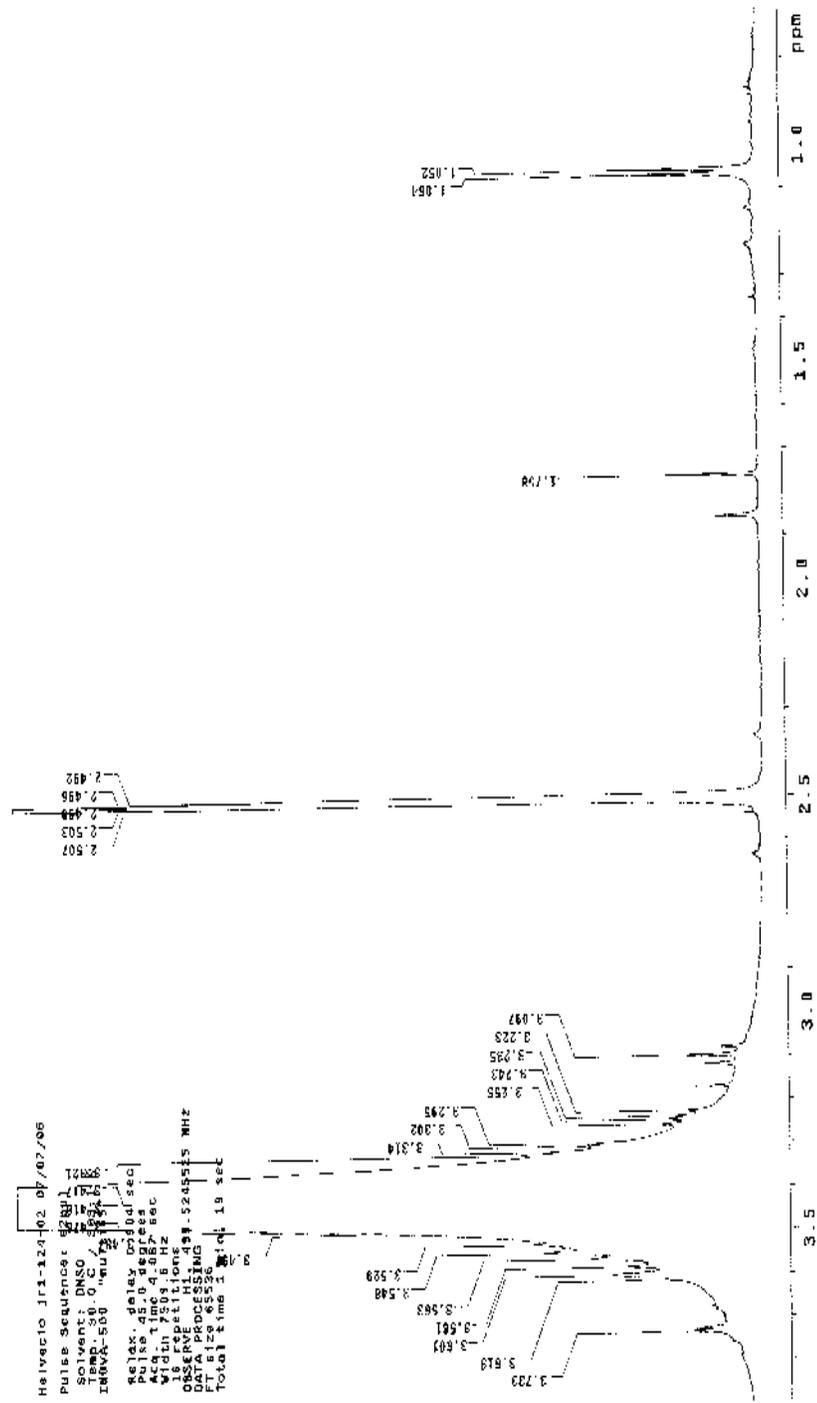


FIGURA 3B: Expansão do espectro de RMN ¹H de Jrl1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em DMSO-*d*₆, 500MHz.

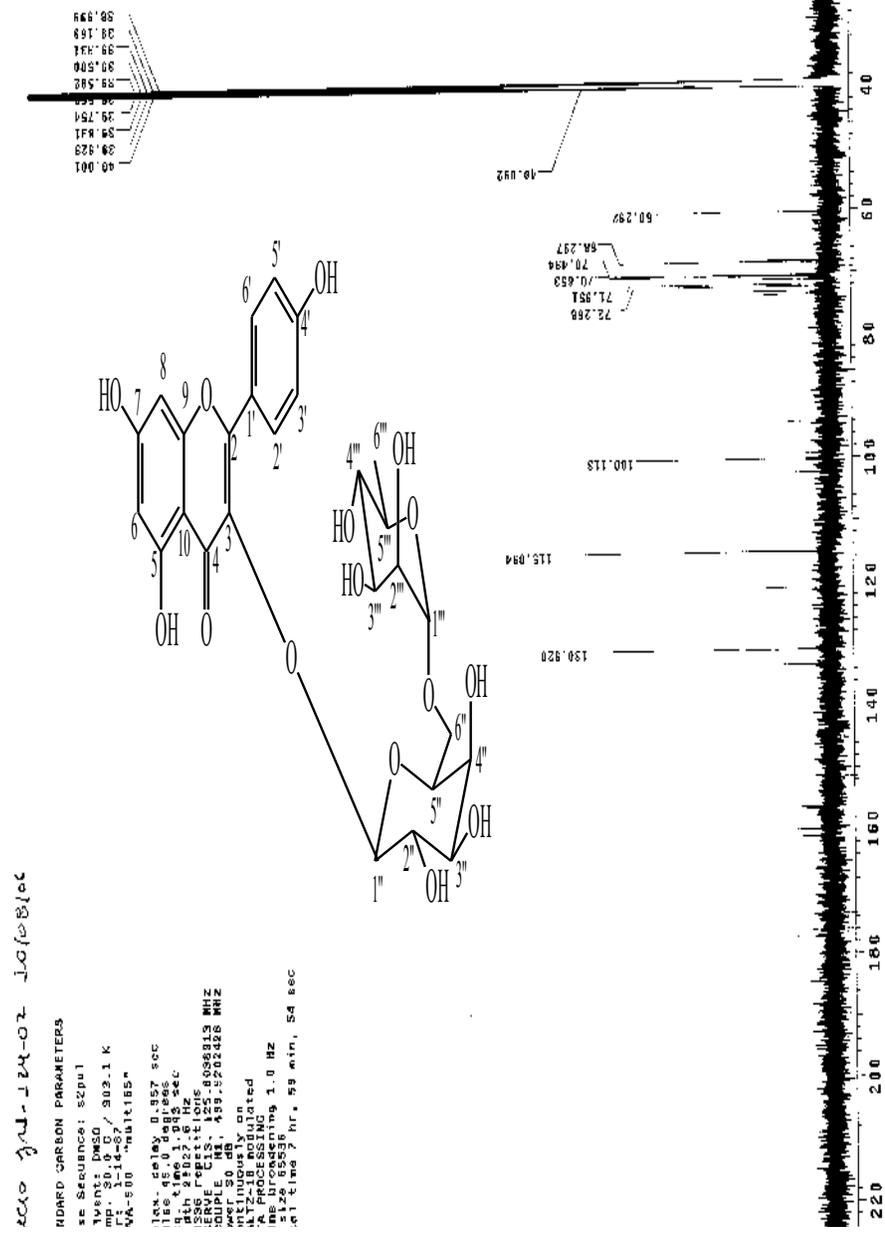


FIGURA 4B: Espectro de RMN ¹³C de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosido) em DMSO-d₆, 126MHz.

STANDARD CARBON PARAMETERS
 Pulse Sequence: szpul
 Solvent: DMSO
 Temp.: 303.1 K
 User: j.l.f.-s / mult165"
 INOVA-600 mult165"
 RfLen. relay 0.857 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Width 12.000 Hz
 With 4902.6 Hz
 14836 repetitions
 DECADE 11, 459.238428 MHz
 Power 50 dB
 WAIT 180 milliseconds
 DATA ACQUISITION
 F1 120.61536
 Total time 7 hr., 59 min., 54 sec

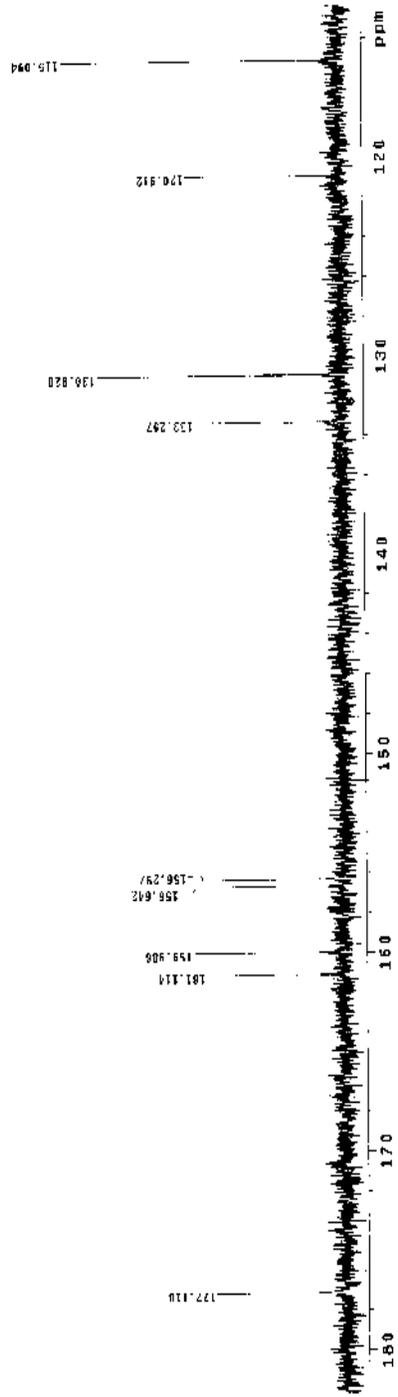


FIGURA 5B: Expansão do espectro de RMN ¹³C de Jr 1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobioside) em DMSO-*d*₆ 126MHz.

STANDARD LARSEN PARAMETERS
 Pulse Sequence: zgpg30
 Solvent: DMSO
 Temp: 30.0 C / 303.1 K
 INSTR: spect
 PULPROG: zgpg30
 Relax: delay 0.557 sec
 Pulse: 45.0 100.625 sec
 Width: 2002.6 Hz
 GSSZDE: 0.1515 cm
 DECOUPLE: 111.459.5202420 KHZ
 COMPOUND: 3-O-robinobioside
 DELT2: 18.000000 sec
 DELT3: 18.000000 sec
 Line: 100.625 MHz
 FT size: 65558
 Total time: 7 hr, 58 min, 53 sec

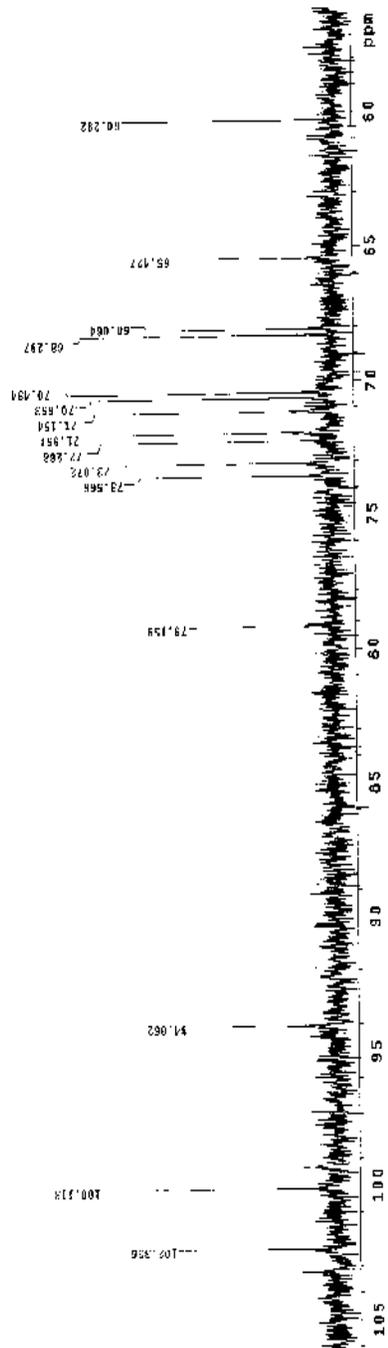


FIGURA 6B: Expansão do espectro de RMN ¹³C de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobioside) em DMSO-d₆ 126MHz.

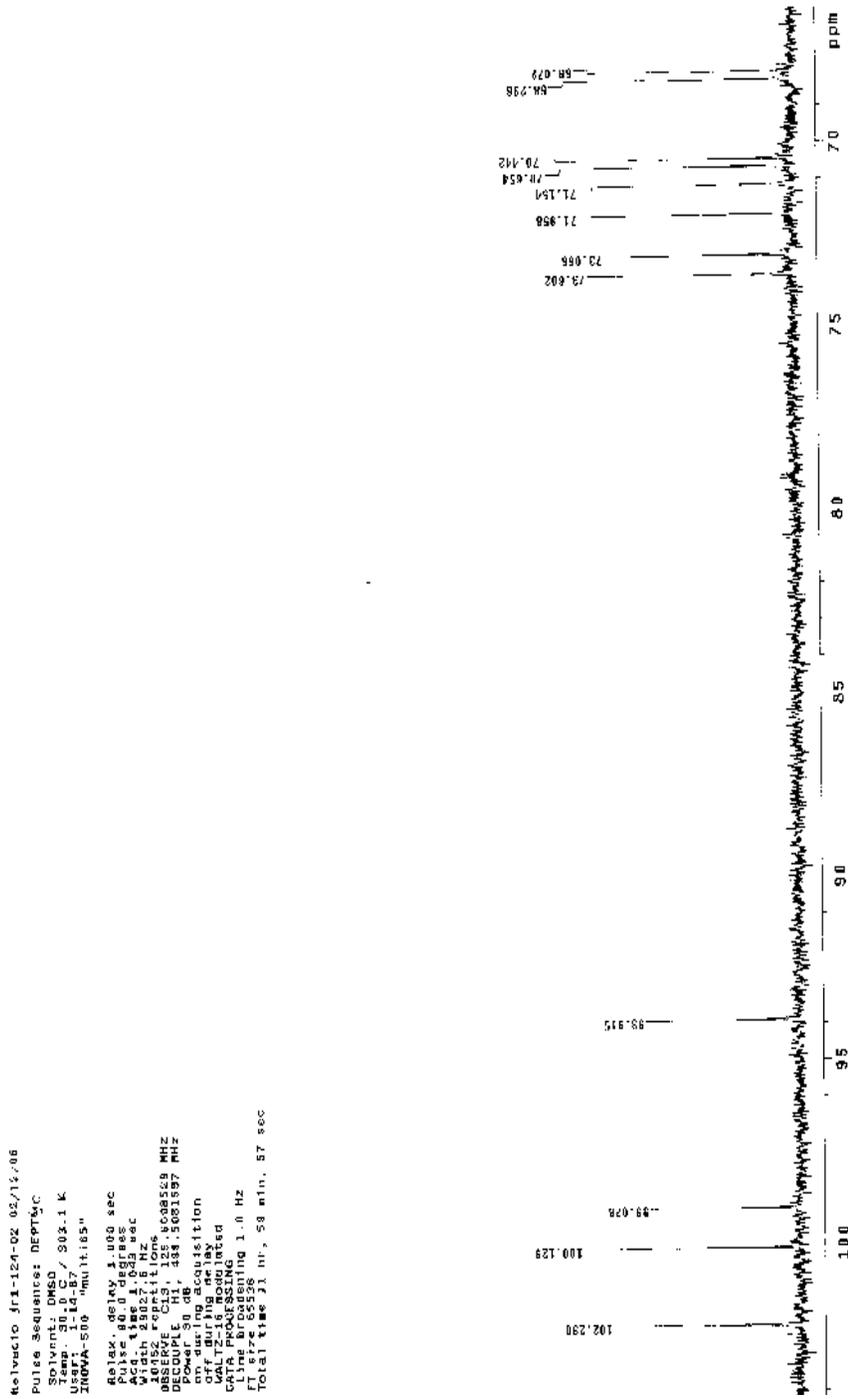


FIGURA 8B: Expansão do DEPT 90° de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobioside) em DMSO- d_6 , 126 MHz.

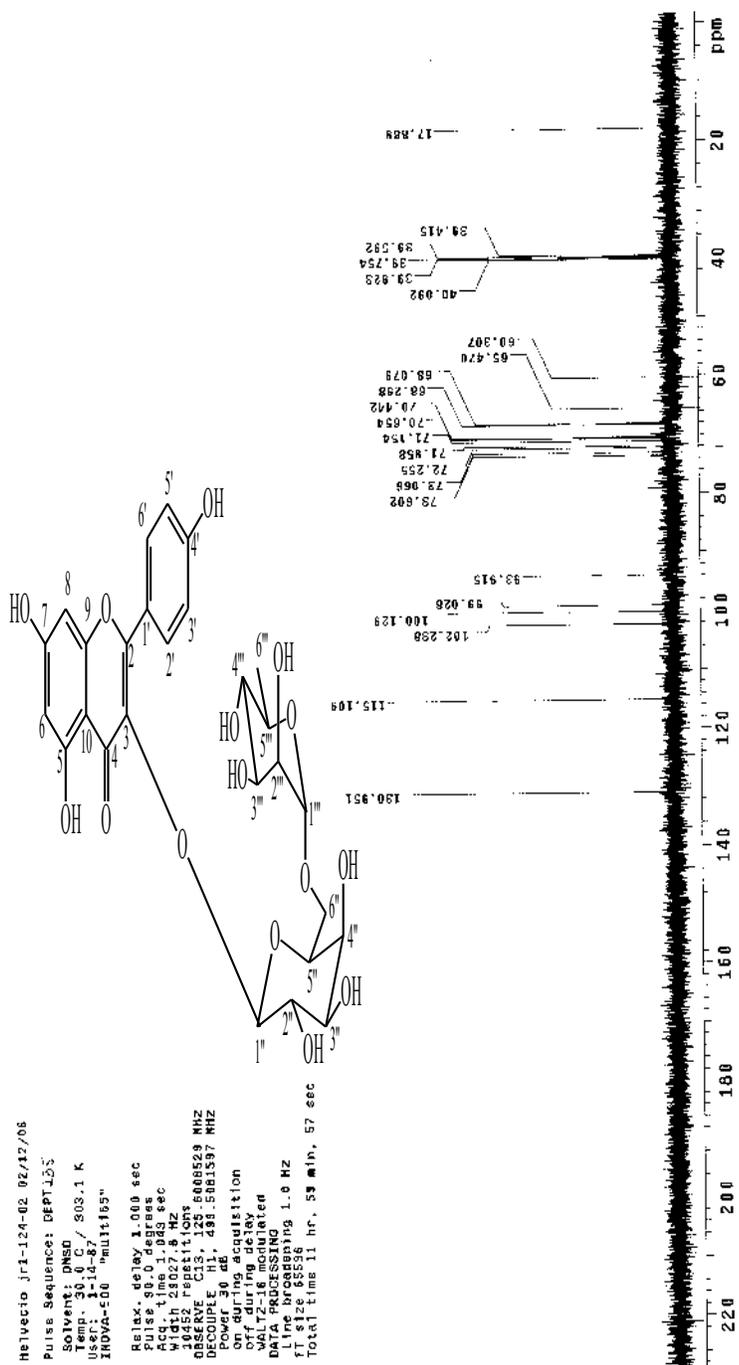


FIGURA 9B: DEPT 135° de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em DMSO-*d*₆, 126 MHz.

```

Helvicio Jr1-124-02 02/12/06
Pulse Sequence: DEPT 135
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
INOVA-500 "multis"
Relax. delay: 1.500 sec
P1: 9.00 sec
Acq. time: 1.019 sec
Width: 23027.6 Hz
DECOUPLE: RESOL 120 8006529 MHz
Power: 39 dB
CP: during acquisition
WALTZ-16: MODULATED
DATA PROCESSING
List: 00000000
Total time: 1 hr, 58 min, 57 sec

```

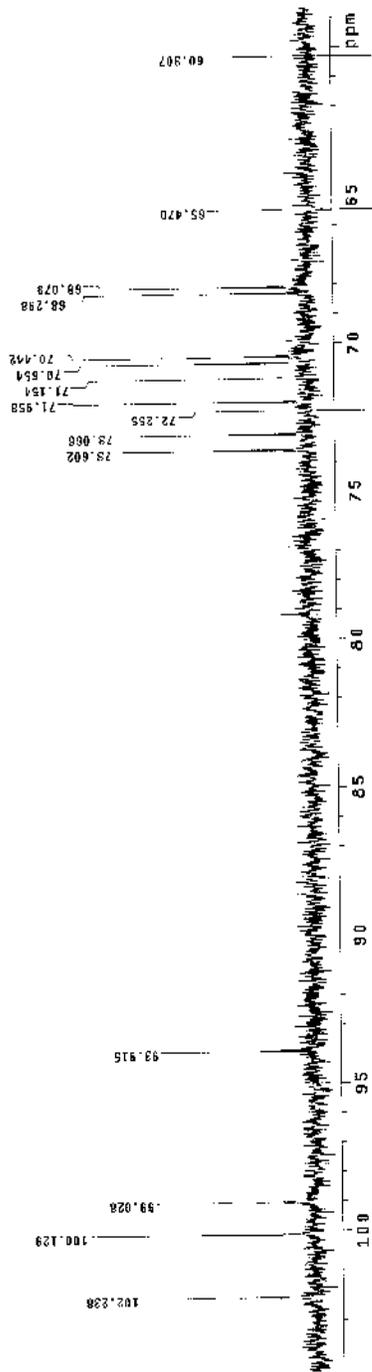


FIGURA 10B: Expansão do DEPT 135° de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em DMSO-d₆, 126 MHz.

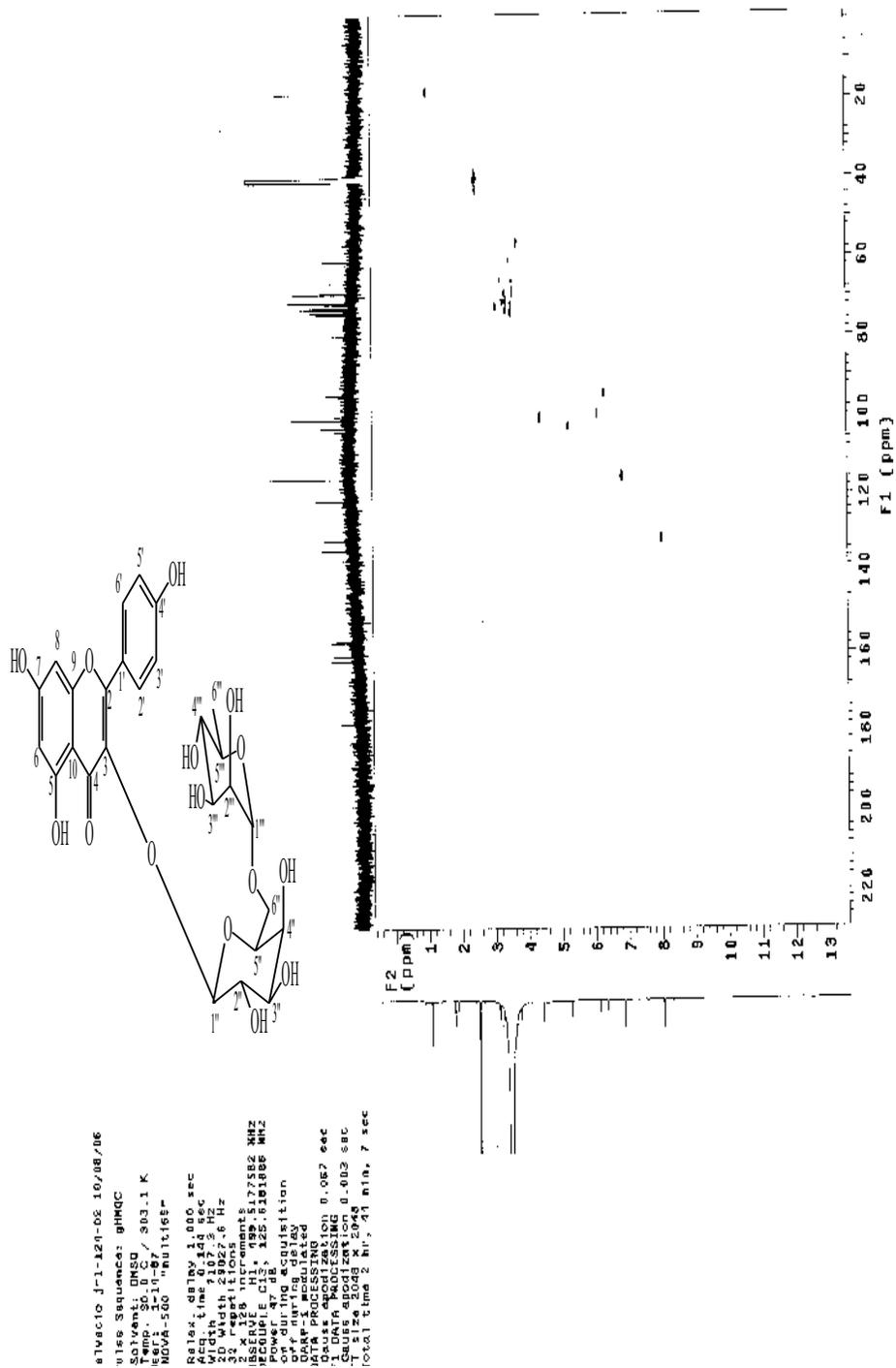


FIGURA 11B: Correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em $\text{DMSO}-d_6$.

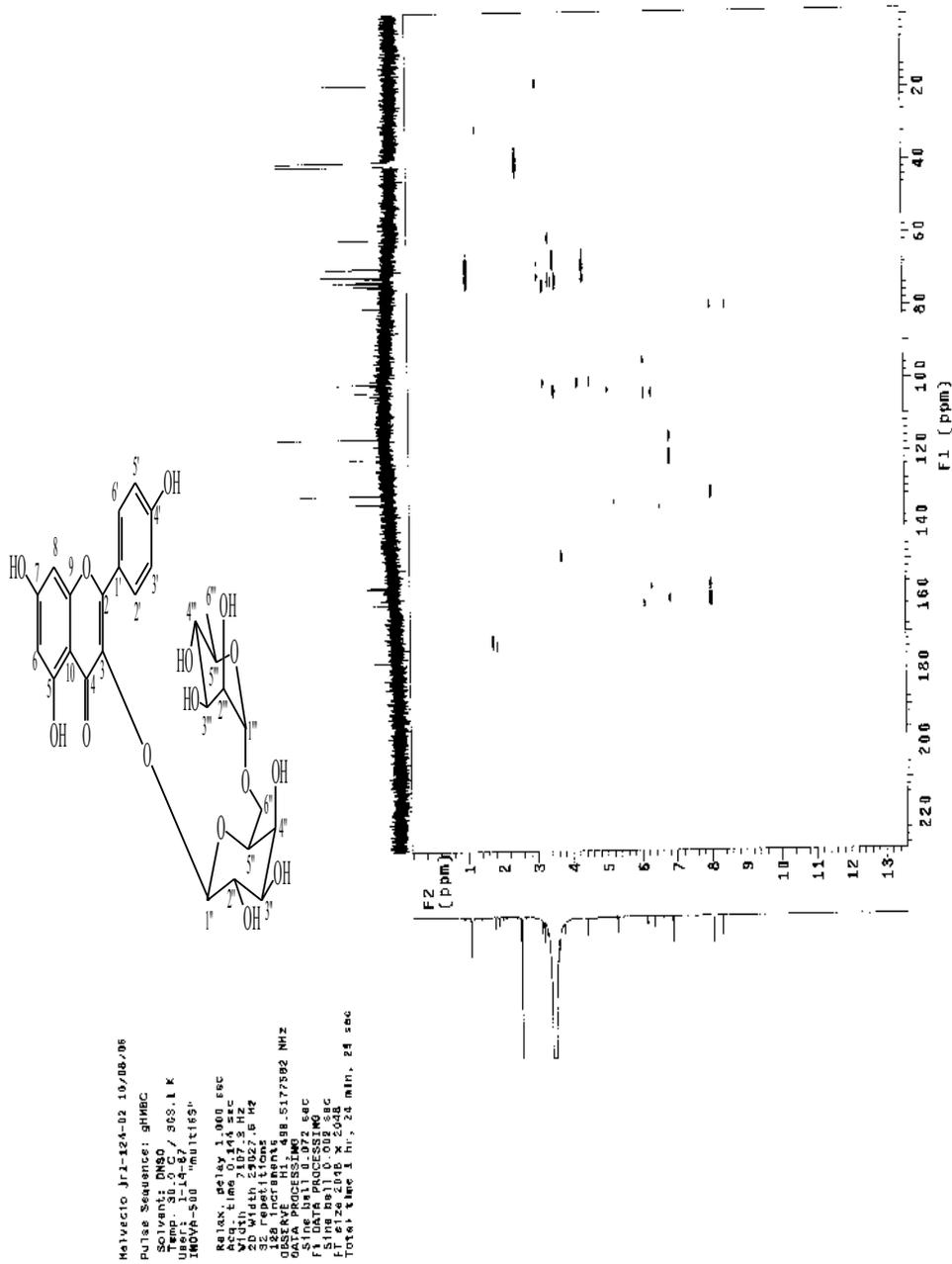


FIGURA 14B: Correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-124-02 (kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo) em $\text{DMSO}-d_6$.

```

HMWecia Jrl-124-02 10/08/05
Pulse Sequence: gHMBC
Solvent: DMSO
Temp: 30.00C / 503.1 K
User: jrl-14-87
INRVA-500 "multis5"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.143 sec
X0 Width 24027.8 Hz
32 repetitions
Observer HIN 898.517562 MHz
DATA PROCESSING
F2 Time 0.002 sec
F1 Time 0.200 sec
Total time 1 hr, 24 min, 29 sec

```

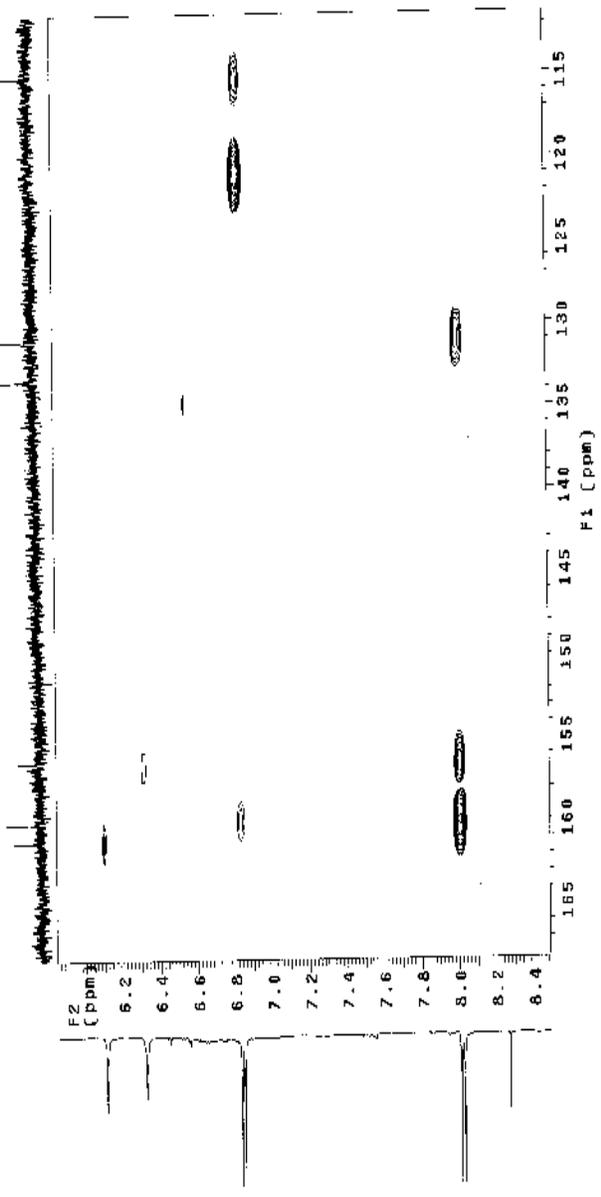


FIGURA 15B: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jrl-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em $\text{DMSO-}d_6$.

```

Helvecio Jr-1-124-02 10/2007/06
Pulse Sequences: gHMBC
F2
TORSION
Temp: 30.0 C / 303.1 K
User: 1-124-02
PROVA-50MHz.mdt1165"
Relax. delay: 1.000 sec
Acq. time: 0.154 sec
F1
2D Width: 23027.0 Hz
32 repetitions
OBSERVE F1: 499.517582 MHz
DATA PROCESSING
F1 DATA PROCESSING
Sine bell: 0.002 sec
F1: 499.517582 MHz
Total time: 1 hr, 24 min, 28 sec

```

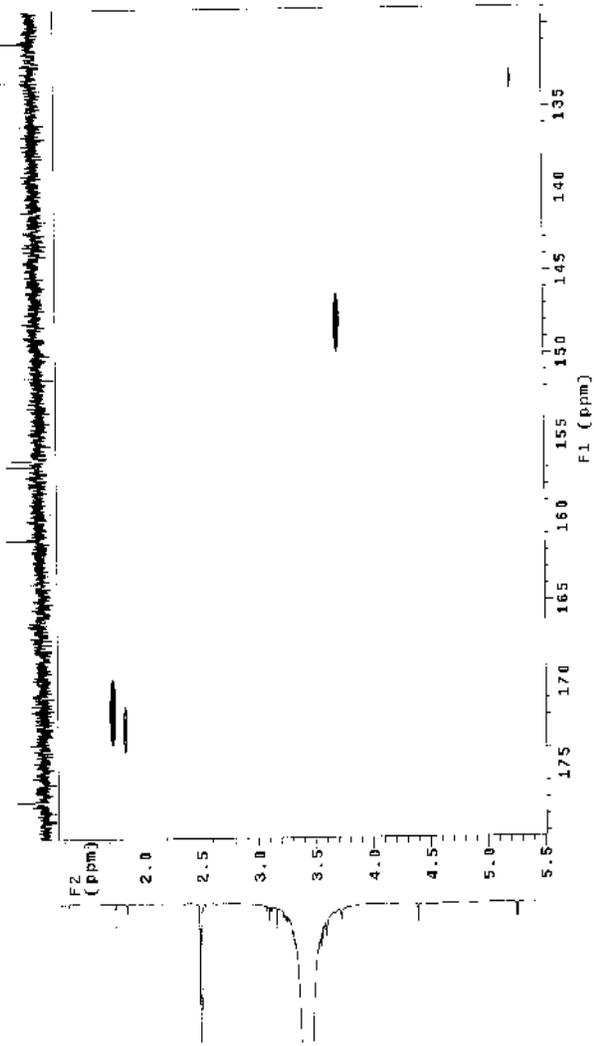


FIGURA 16B: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em $\text{DMSO}-d_6$.

```

ecio Jrl-124-02 10/06/06
6 sequencia: gHMBC
P: 90.0 C / 30S.1 K
A: 5BB "MULTI165"
ex. delay 1.000 sec
in time 10.134 sec
width 25002.5 Hz
repetitions
FVE: H1.499.5175E2 MHZ
I: PROCESSING2 SEC
MATH: F2
IN: 16380.002 sec
LI: time 1 hr. 24 min. 29 sec

```

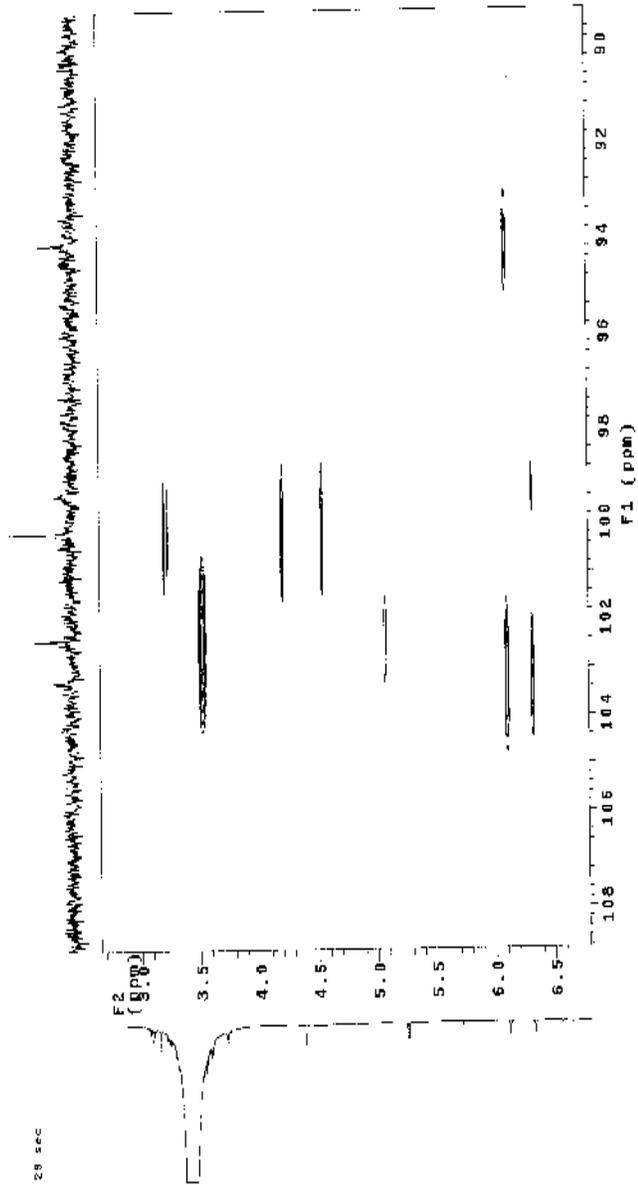


FIGURA 17B: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jrl-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em $\text{DMSO-}d_6$.

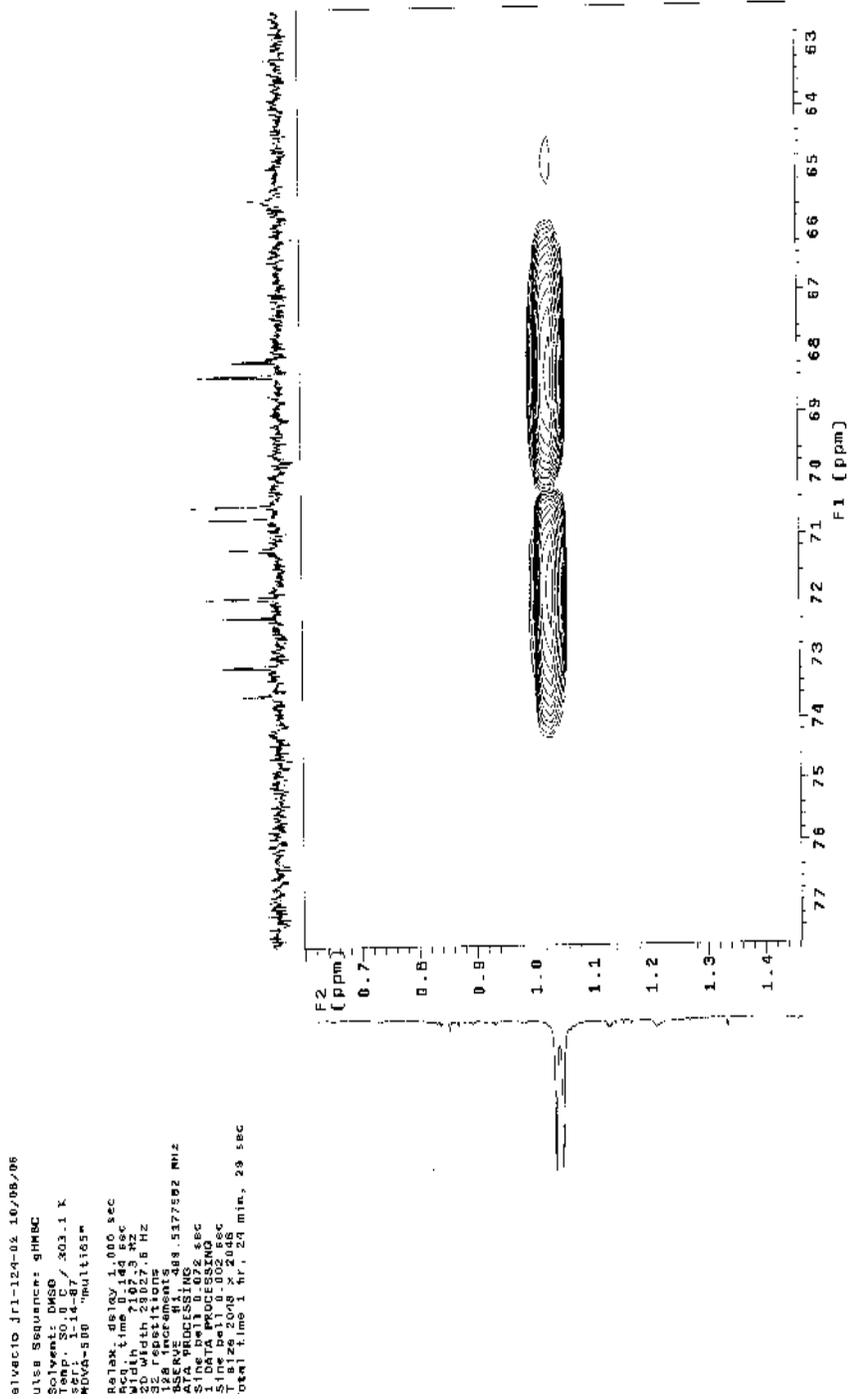


FIGURA 18B: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de J11-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em DMSO- d_6 .

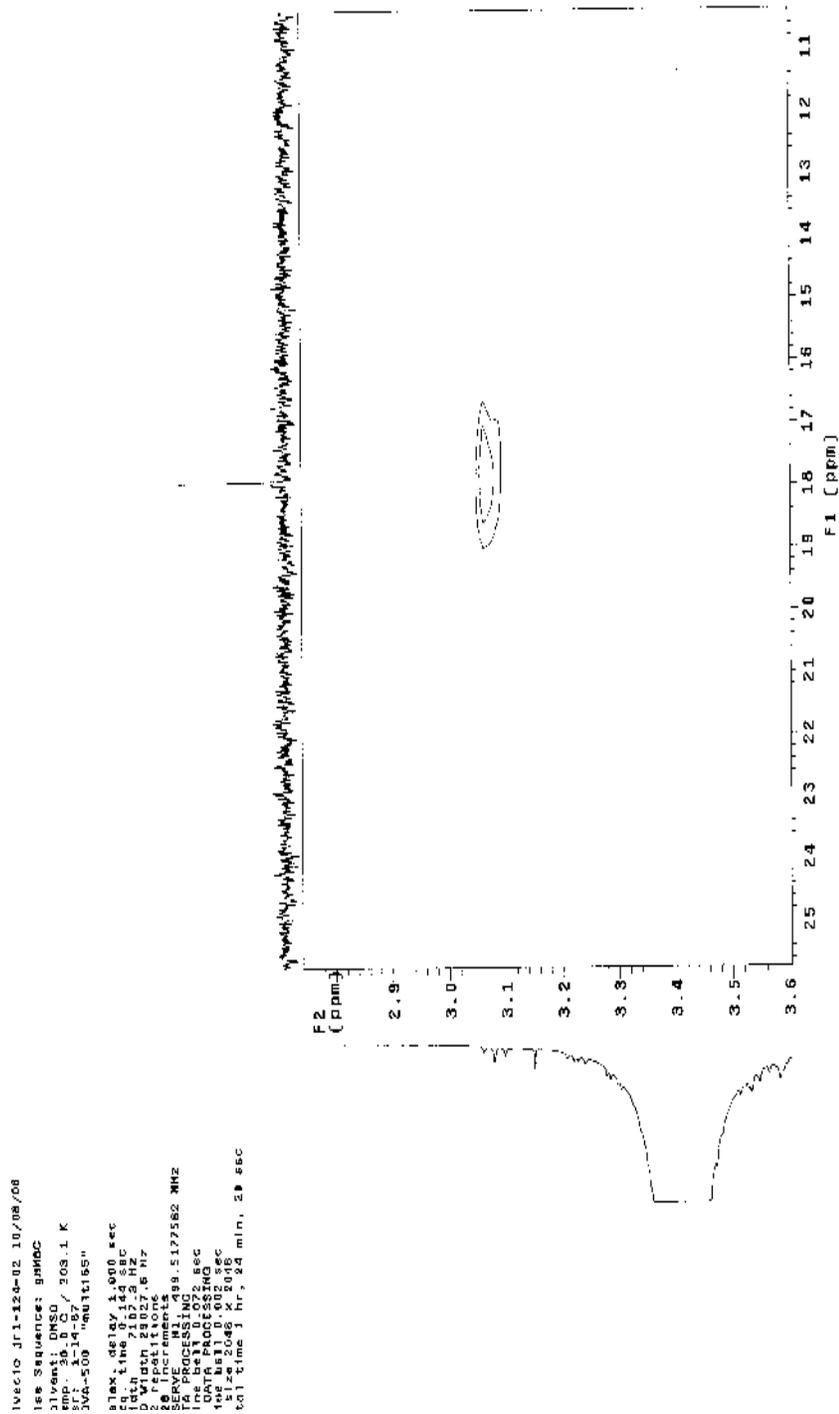
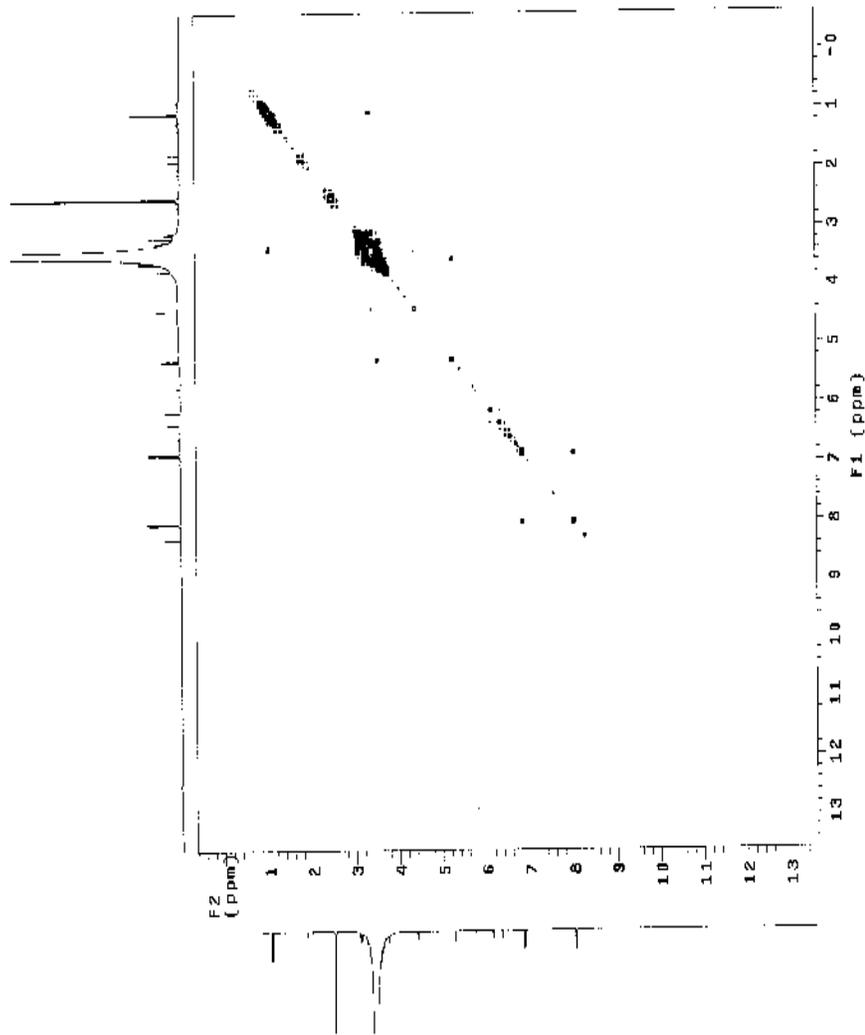


FIGURA 19B: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jf1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em DMSO- d_6 .



Id: Jr1-124-02 10/03/06
 sequence: gCOSY
 50.000 MHz / 200.1 K
 500 "multispec"
 delay: 1.000 sec
 time: 0.148 sec
 ah: 2.0075 Hz
 pd: 1.000 Hz
 Parameters
 ROESING: 517502 MHz
 time: 0.072 sec
 Parameters
 time: 0.008 sec
 time: 20.000 X 20.000
 time: 40 min., 8 sec

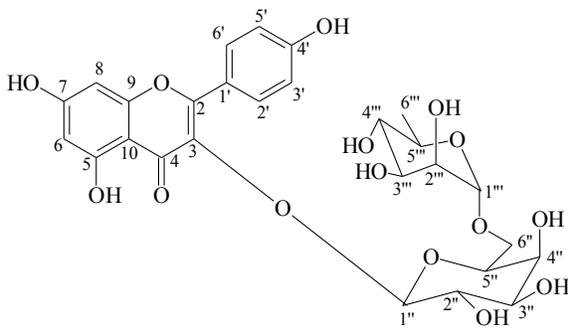


FIGURA 20B: Correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em $\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz.

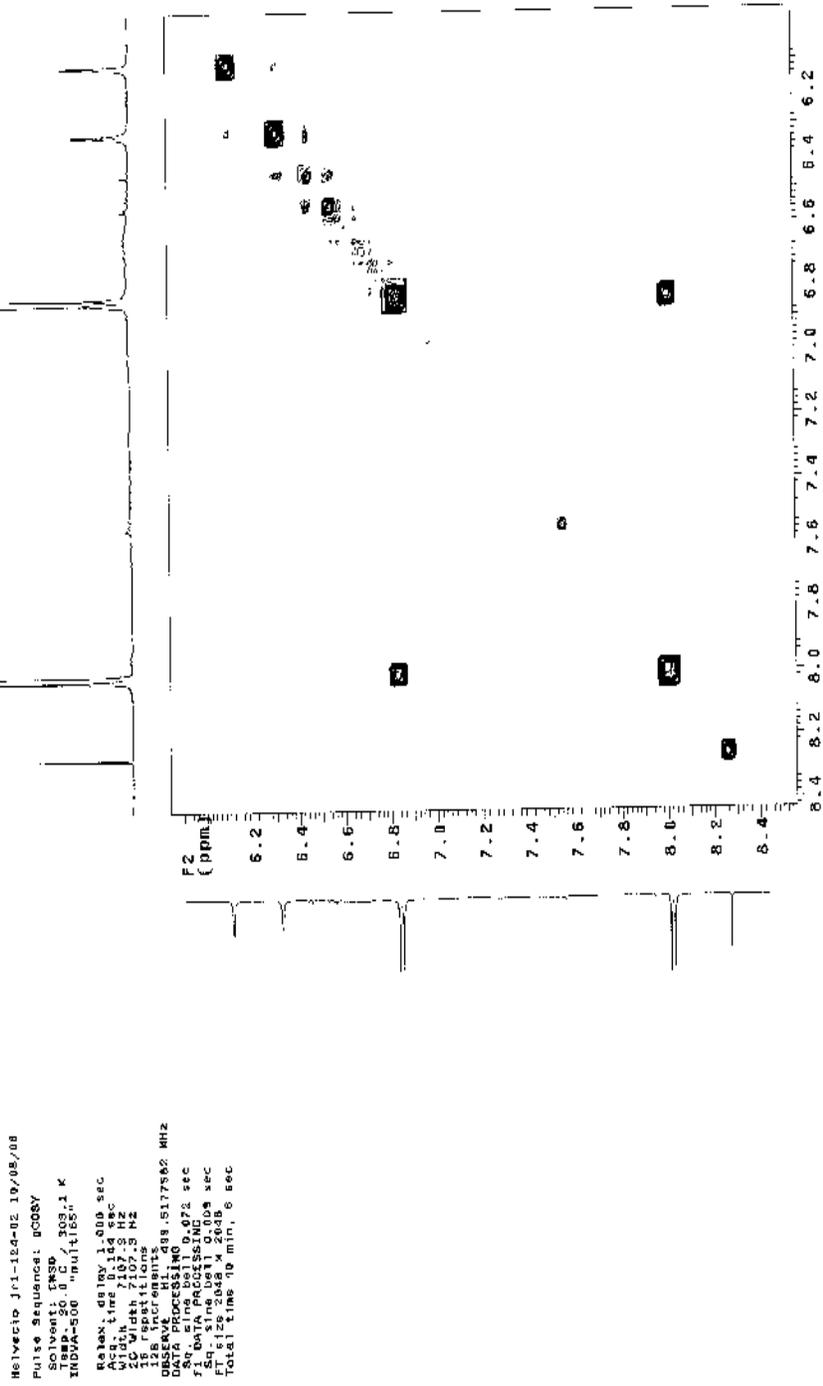


FIGURA 21B: Expansão da correlação homonuclear ¹H x ¹H (gCOSY) de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em DMSO-*d*₆ 500 MHz.

Halvacio j-1-124-02 10/05/06
Pulse Sequence: gCOSY
Solvent: DMSO, 300.1 K
PROBHD: zgpg30
INSTR: spect
Relax. delay: 1.000 sec
Acq. time: 0.072 sec
Width: 7107.5 Hz
SFO: 500.136260 MHz
128 F2 increments
OBSERVE: 1H, 499.917252 MHz
DSPA: sine bell, 0.072 sec
F1: DATA PROCESSING
F1 size: 2048 X 1048
Total time: 40 min, 6 sec

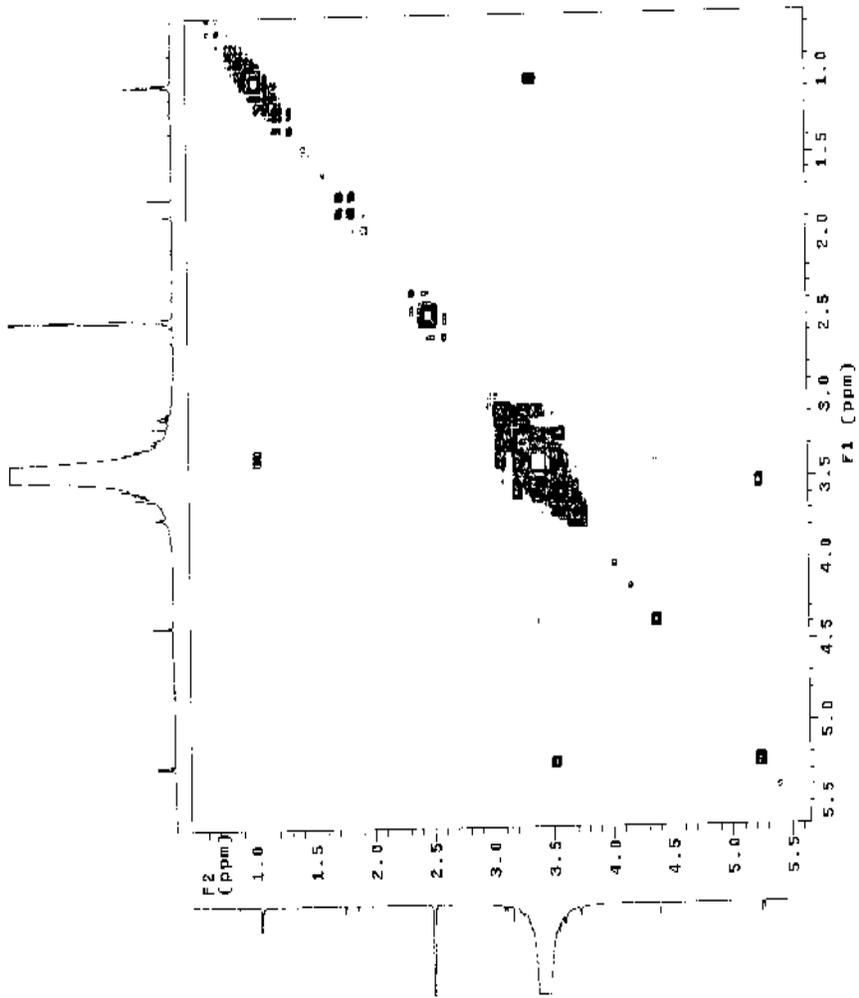


FIGURA 22B: Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em $\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz.

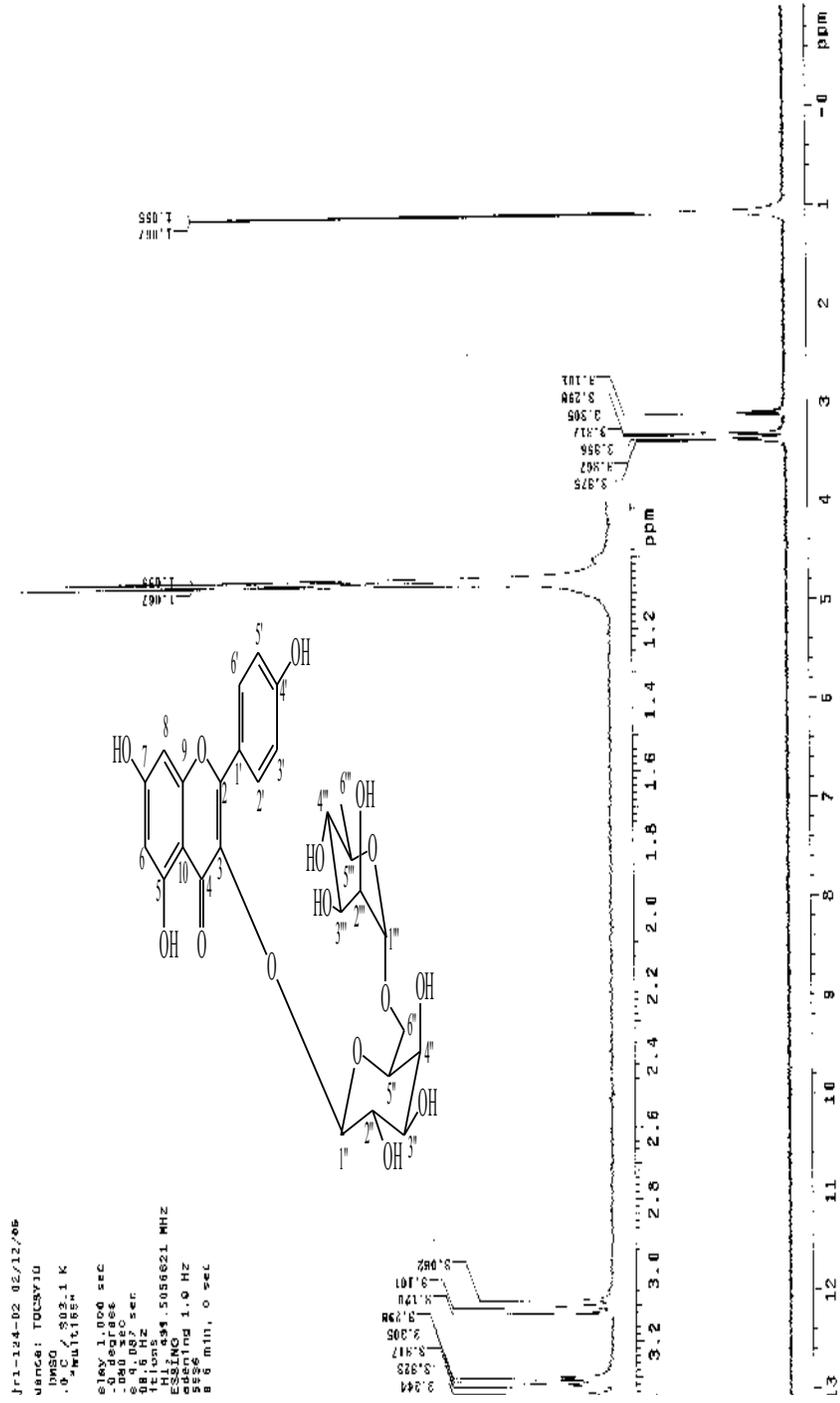


FIGURA 23B: TOCSY 1D e expansão do TOCSY 1D de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em DMSO-d₆, 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 1,06 (3H; d, J=6,0)].

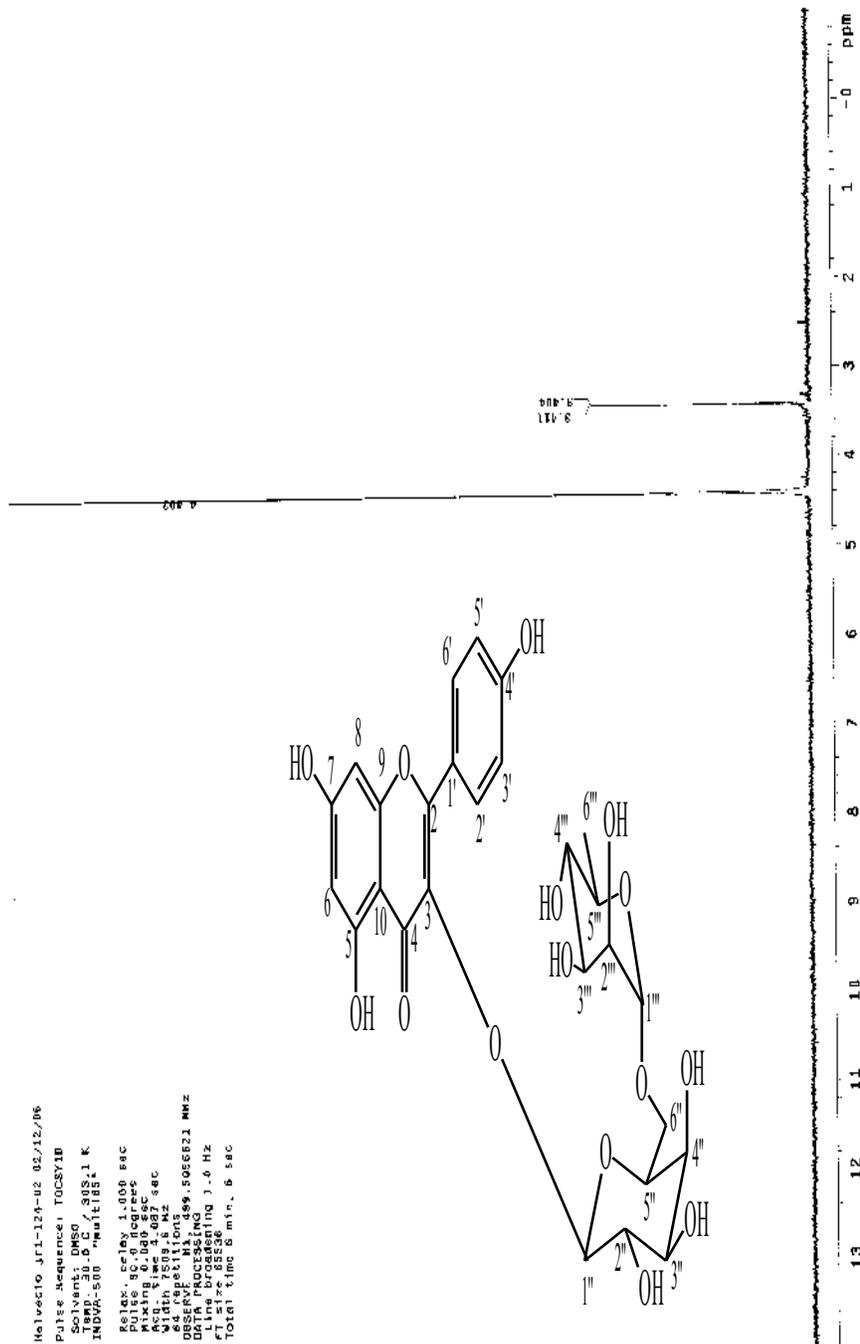


FIGURA 24B: TOCSY 1D de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 4,40 (1H; sl)].

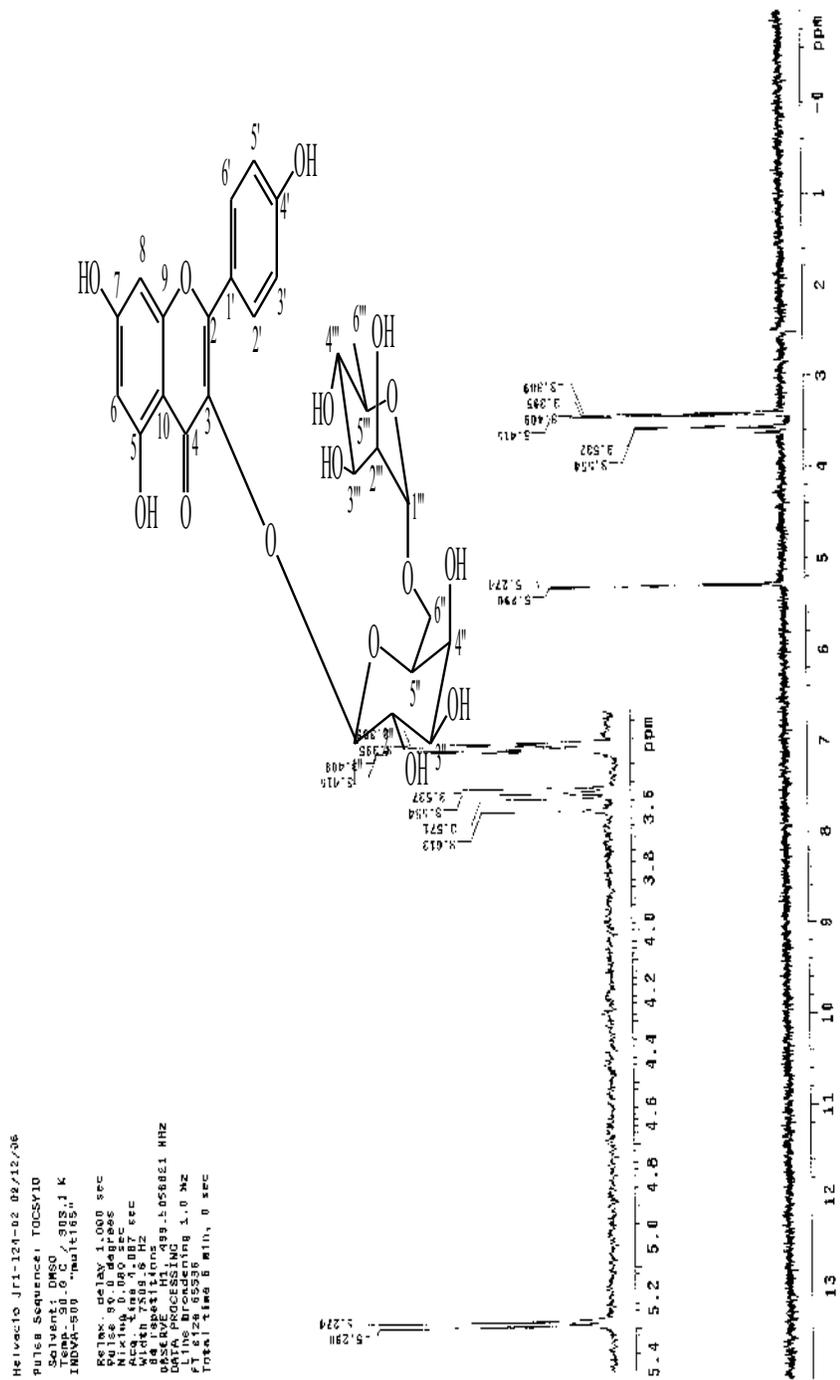


FIGURA 25B: TOCSY 1D e expansão do TOCSY 1D de Jr1-124-02 (kaempferol 3-O-robinobiosídeo) em DMSO-
 d_6 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 5,25 (1H; d, J=7,5)].

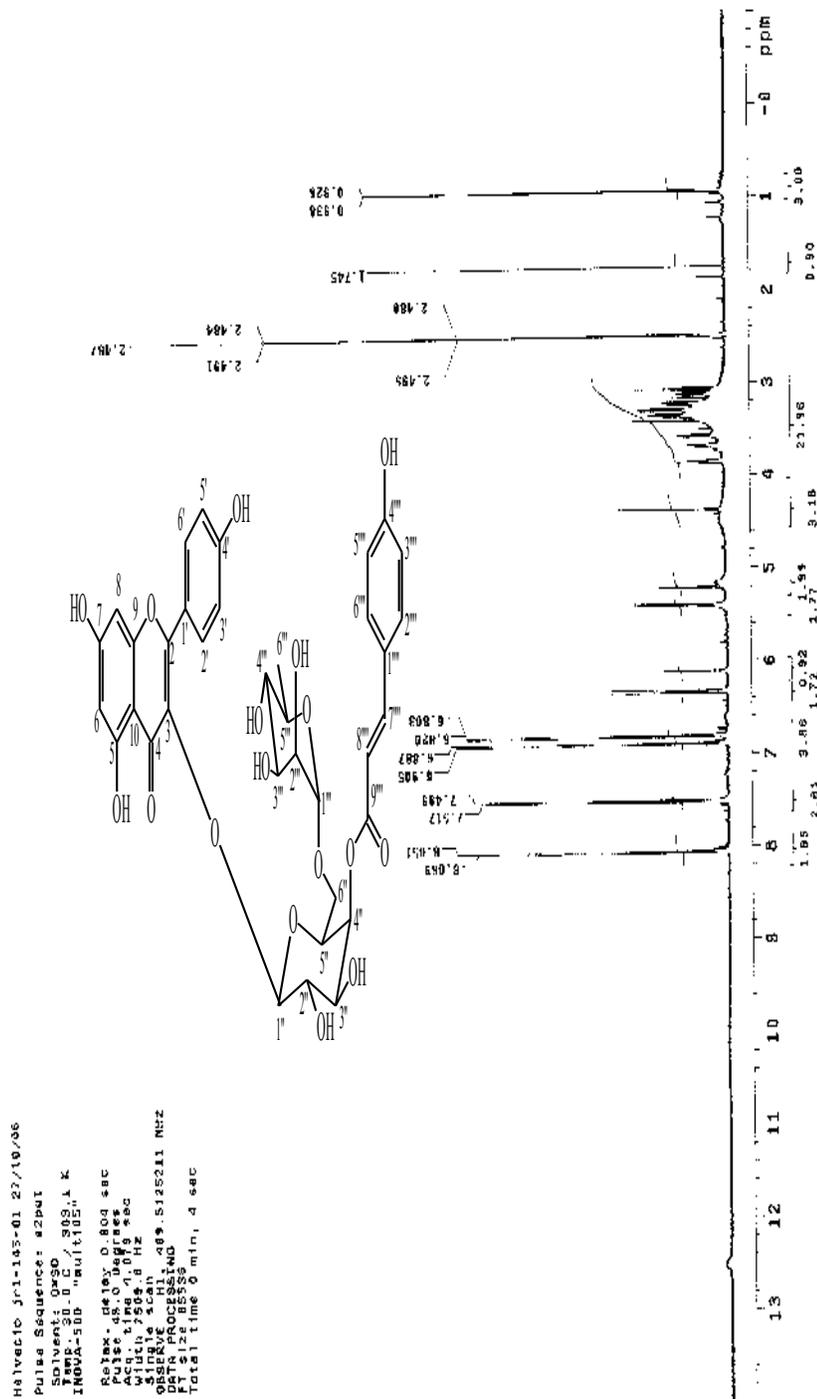


FIGURA 26B: Espectro de RMN ¹H de Jr1-145-01 (variabiloside G) em DMSO-*d*₆ 500MHz.

Maivacio Jr1-145-01 87/10/08
Pulse sequence: s2pu1
Solvent: DMSO
INSTR: spect
Relax. delay: 0.800 sec
Pulse: 45.0 degrees
Acq. time: 4.000 sec
SIN: 1 scan
OBSERVE: H1 499.5125213 MHz
F2: 125.520 MHz
F1: 500.136300 MHz
Total time: 0 min, 4 sec

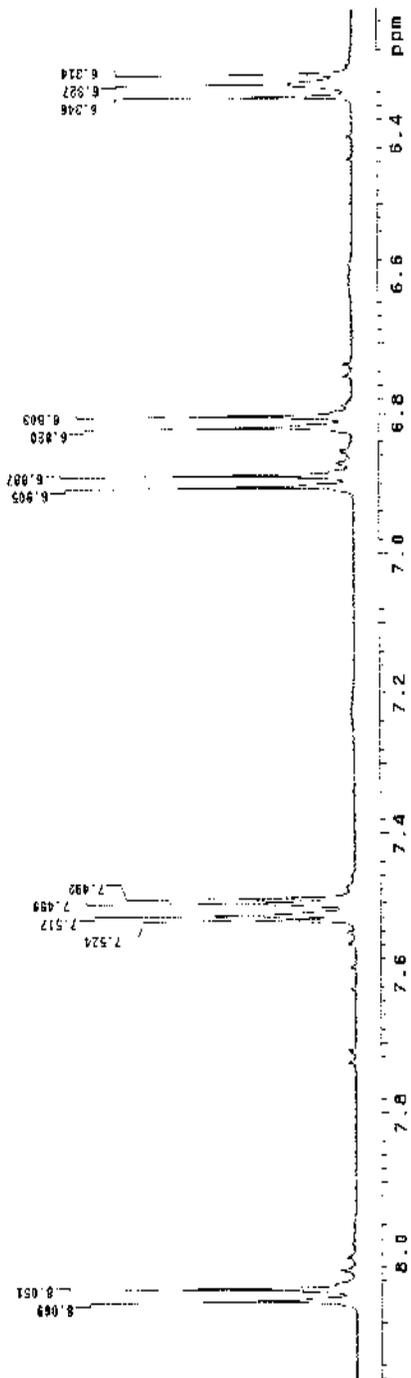


FIGURA 27B: Expansão do espectro de RMN ¹H de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO-d₆, 500MHz.

```

:tvacid Jrl-145-01 27/10/06
:ras Sequence: s22u1
:Solvent: DMSO
:QPR-50 "multis"
:QPR-50 "multis"
:relax. delay 0.504 sec
:ultra 15.0 degrees
:width 200.00 sec
:angle 90.00 Hz
:USEOC 11.489.5125211 MHz
:relax 0.504 sec
:relax time 0.504 sec

```

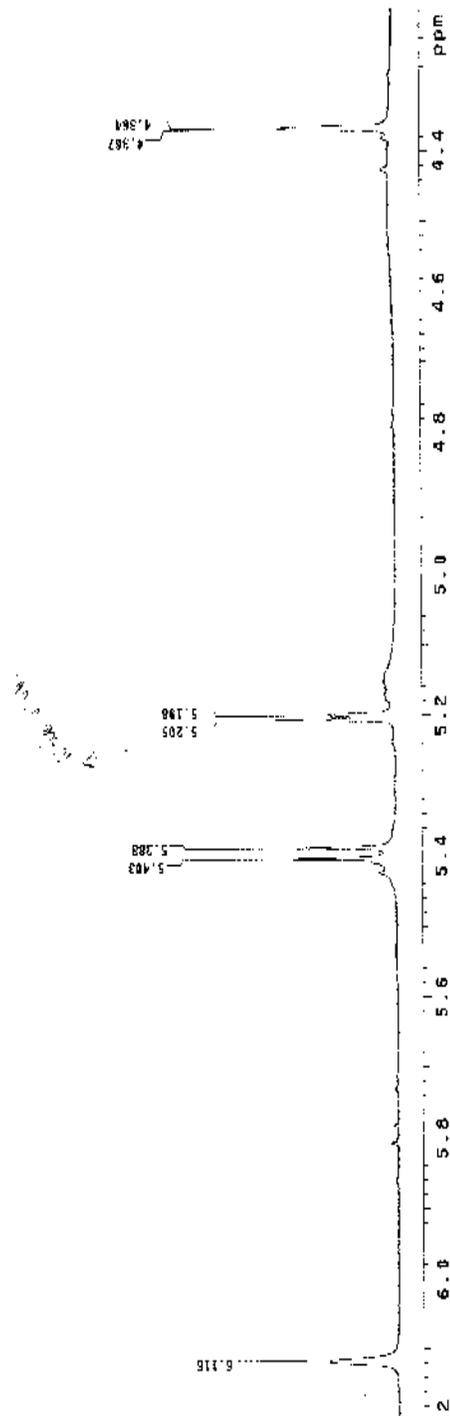


FIGURA 28B: Expansão do espectro de RMN ¹H de Jrl-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO-*d*₆, 500MHz.

Helvecio Jr1-145-01 27/10/06
 Pulsos Sequência: 32pu3
 Solvente: DMSO
 INQ04-500 "Multiflex"
 Relax: delay 0.800 sec
 Acs: 1.000 A 45.00 sec
 Width 708.0 Hz
 SSB 50.000
 DATA PROCESSING
 FT 412.85388
 Total time 4 min, 4 sec

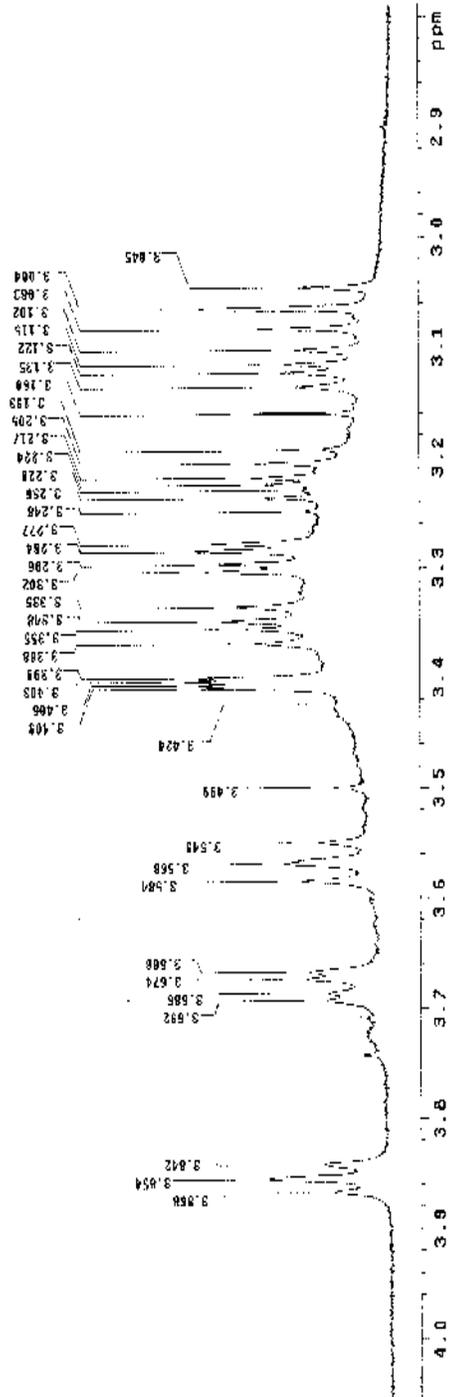


FIGURA 29B: Expansão do espectro de RMN ¹H de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO-d₆, 500MHz.

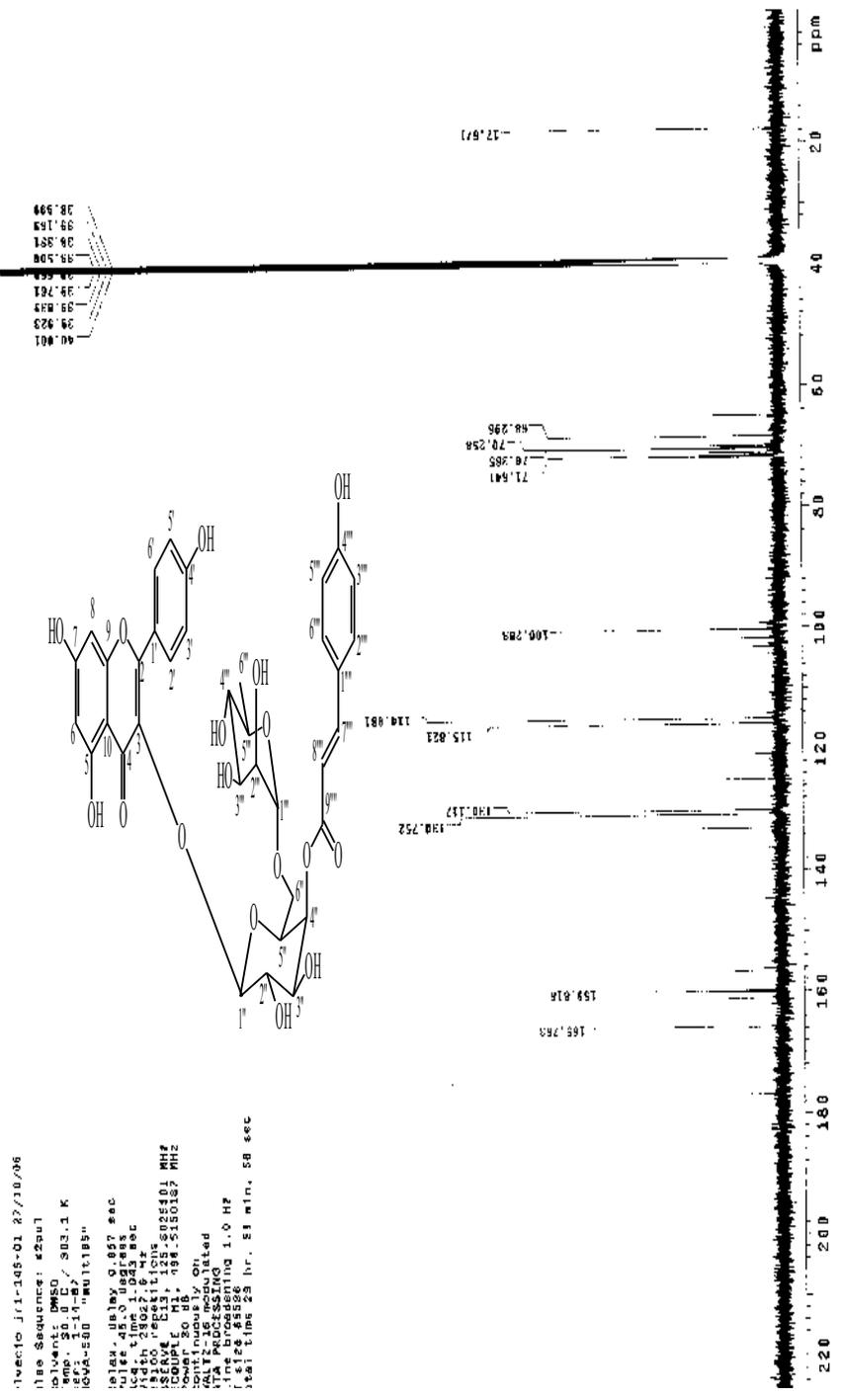


FIGURA 30B: Espectro de RMN ¹³C de Jr1-145-01 (variabiloside G) em DMSO-d₆ 126MHZ.

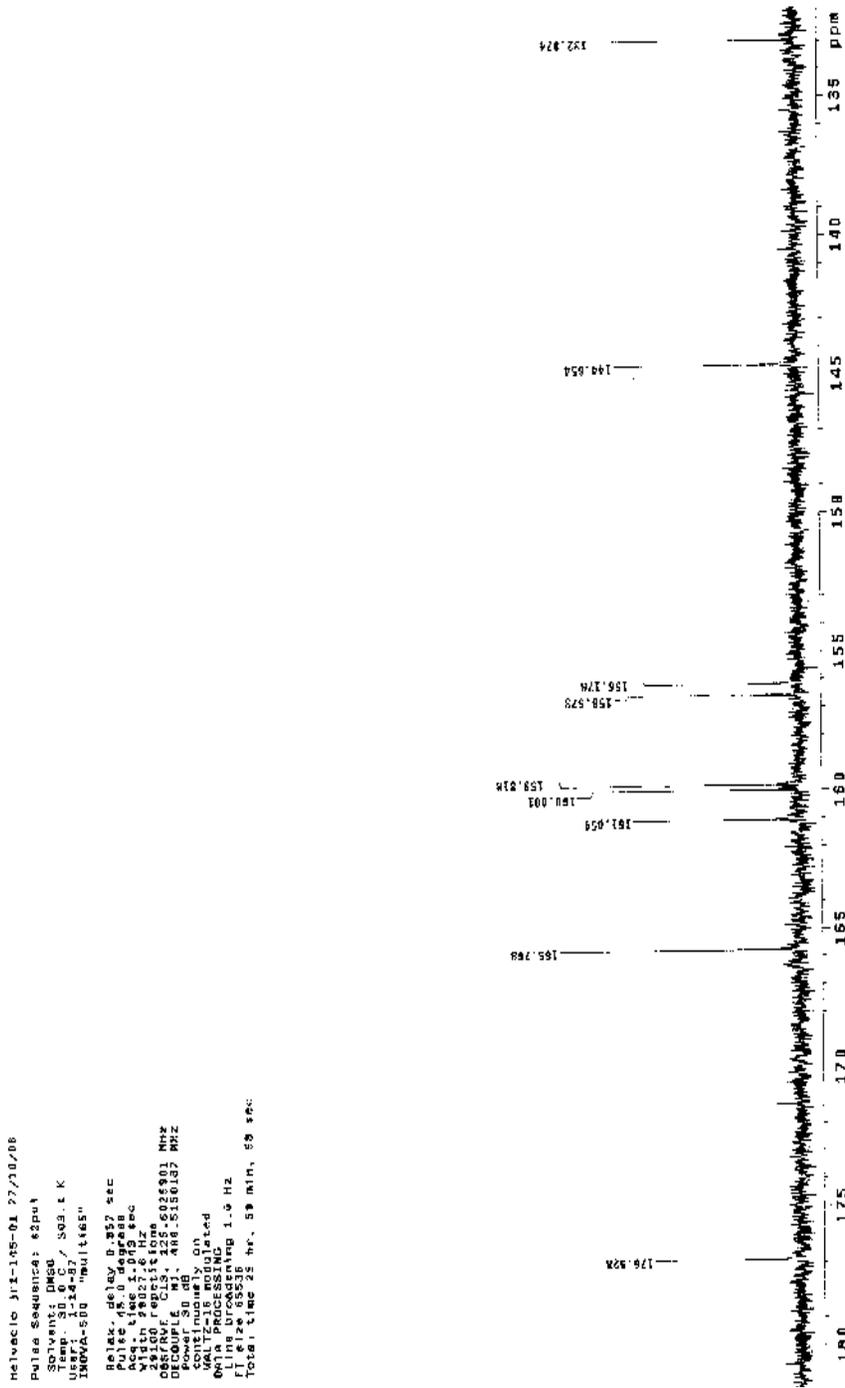


FIGURA 31B: Expansão do espectro de RMN ¹³C de Jr1-145-01 (variabilosido G) em DMSO-*d*₆, 126MHz.

```

11vecio jrl-145-01 27/10/06
File Sequence: 52001
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C / 543.1 K
P1: 1.14 s
GPA-500 Multispec
Label: delay 0.557 sec
pulse 40.0 degrees
relax: 2.00000000000000
P2: 2.0027872 sec
1300 relaxation
SCALAR CH1 499.510137 MHz
lower 30 db
JMOD on
GALZ-218 MODULATED
PULPROG zgpg30
AQ: 0.155918340 sec
AQ: 1.28555918340 sec
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP 1H/1
TD: 65536
SOLNT: DMSO
D1: 2.00000000000000
TEMP: 30.0000000000000
TIME: 0.00
TOTAL Time: 2.8 hr., 58 min., 58 sec

```

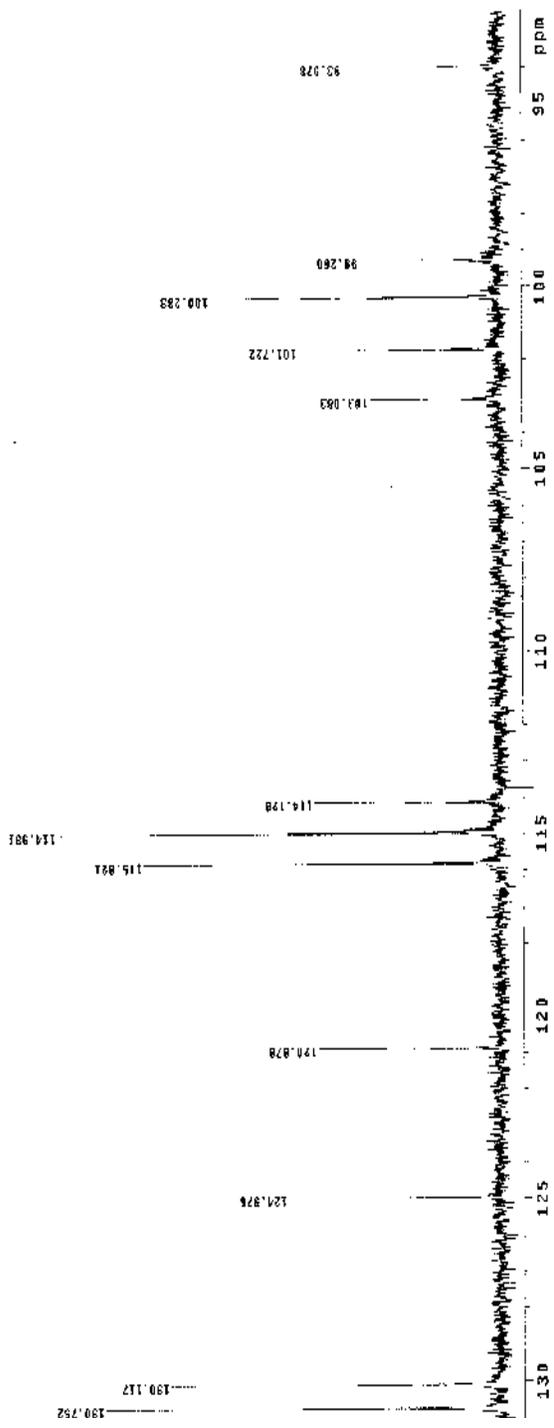


FIGURA 32B: Expansão do espectro de RMN ¹³C de Jrl-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO-*d*₆, 126MHz

```

file: jr1-145-01 27/10/06
file sequence: 82001
solvent: DMSO
temp: 30.0 C / 303.1 K
rf: 125.76 MHz
p1: 1.15 sec
dwa: 300 multires
=====
Name: Jelix 0.557 sec
pulse: 10.0 degrees
width: 1.000 sec
freq: 125.76 MHz
1000 Repetitions
SOLVENT CH1: 400.146387 MHz
Pulse: 30 dB ON
P1: 1.15 sec
P2: 1.15 sec
P3: 1.15 sec
P4: 1.15 sec
P5: 1.15 sec
P6: 1.15 sec
P7: 1.15 sec
P8: 1.15 sec
P9: 1.15 sec
P10: 1.15 sec
P11: 1.15 sec
P12: 1.15 sec
P13: 1.15 sec
P14: 1.15 sec
P15: 1.15 sec
P16: 1.15 sec
P17: 1.15 sec
P18: 1.15 sec
P19: 1.15 sec
P20: 1.15 sec
P21: 1.15 sec
P22: 1.15 sec
P23: 1.15 sec
P24: 1.15 sec
P25: 1.15 sec
P26: 1.15 sec
P27: 1.15 sec
P28: 1.15 sec
P29: 1.15 sec
P30: 1.15 sec
P31: 1.15 sec
P32: 1.15 sec
P33: 1.15 sec
P34: 1.15 sec
P35: 1.15 sec
P36: 1.15 sec
P37: 1.15 sec
P38: 1.15 sec
P39: 1.15 sec
P40: 1.15 sec
P41: 1.15 sec
P42: 1.15 sec
P43: 1.15 sec
P44: 1.15 sec
P45: 1.15 sec
P46: 1.15 sec
P47: 1.15 sec
P48: 1.15 sec
P49: 1.15 sec
P50: 1.15 sec
P51: 1.15 sec
P52: 1.15 sec
P53: 1.15 sec
P54: 1.15 sec
P55: 1.15 sec
P56: 1.15 sec
P57: 1.15 sec
P58: 1.15 sec
P59: 1.15 sec
P60: 1.15 sec
P61: 1.15 sec
P62: 1.15 sec
P63: 1.15 sec
P64: 1.15 sec
P65: 1.15 sec
P66: 1.15 sec
P67: 1.15 sec
P68: 1.15 sec
P69: 1.15 sec
P70: 1.15 sec
P71: 1.15 sec
P72: 1.15 sec
P73: 1.15 sec
P74: 1.15 sec
P75: 1.15 sec
P76: 1.15 sec
P77: 1.15 sec
P78: 1.15 sec
P79: 1.15 sec
P80: 1.15 sec
P81: 1.15 sec
P82: 1.15 sec
P83: 1.15 sec
P84: 1.15 sec
P85: 1.15 sec
P86: 1.15 sec
P87: 1.15 sec
P88: 1.15 sec
P89: 1.15 sec
P90: 1.15 sec
P91: 1.15 sec
P92: 1.15 sec
P93: 1.15 sec
P94: 1.15 sec
P95: 1.15 sec
P96: 1.15 sec
P97: 1.15 sec
P98: 1.15 sec
P99: 1.15 sec
P100: 1.15 sec
=====
NMR PROCESSING
1. 125.76 MHz
2. 125.76 MHz
3. 125.76 MHz
4. 125.76 MHz
5. 125.76 MHz
6. 125.76 MHz
7. 125.76 MHz
8. 125.76 MHz
9. 125.76 MHz
10. 125.76 MHz
11. 125.76 MHz
12. 125.76 MHz
13. 125.76 MHz
14. 125.76 MHz
15. 125.76 MHz
16. 125.76 MHz
17. 125.76 MHz
18. 125.76 MHz
19. 125.76 MHz
20. 125.76 MHz
21. 125.76 MHz
22. 125.76 MHz
23. 125.76 MHz
24. 125.76 MHz
25. 125.76 MHz
26. 125.76 MHz
27. 125.76 MHz
28. 125.76 MHz
29. 125.76 MHz
30. 125.76 MHz
31. 125.76 MHz
32. 125.76 MHz
33. 125.76 MHz
34. 125.76 MHz
35. 125.76 MHz
36. 125.76 MHz
37. 125.76 MHz
38. 125.76 MHz
39. 125.76 MHz
40. 125.76 MHz
41. 125.76 MHz
42. 125.76 MHz
43. 125.76 MHz
44. 125.76 MHz
45. 125.76 MHz
46. 125.76 MHz
47. 125.76 MHz
48. 125.76 MHz
49. 125.76 MHz
50. 125.76 MHz
51. 125.76 MHz
52. 125.76 MHz
53. 125.76 MHz
54. 125.76 MHz
55. 125.76 MHz
56. 125.76 MHz
57. 125.76 MHz
58. 125.76 MHz
59. 125.76 MHz
60. 125.76 MHz
61. 125.76 MHz
62. 125.76 MHz
63. 125.76 MHz
64. 125.76 MHz
65. 125.76 MHz
66. 125.76 MHz
67. 125.76 MHz
68. 125.76 MHz
69. 125.76 MHz
70. 125.76 MHz
71. 125.76 MHz
72. 125.76 MHz
73. 125.76 MHz
74. 125.76 MHz
75. 125.76 MHz
76. 125.76 MHz
77. 125.76 MHz
78. 125.76 MHz
79. 125.76 MHz
80. 125.76 MHz
81. 125.76 MHz
82. 125.76 MHz
83. 125.76 MHz
84. 125.76 MHz
85. 125.76 MHz
86. 125.76 MHz
87. 125.76 MHz
88. 125.76 MHz
89. 125.76 MHz
90. 125.76 MHz
91. 125.76 MHz
92. 125.76 MHz
93. 125.76 MHz
94. 125.76 MHz
95. 125.76 MHz
96. 125.76 MHz
97. 125.76 MHz
98. 125.76 MHz
99. 125.76 MHz
100. 125.76 MHz
=====
Total time: 25 hr, 53 min, 56 sec

```

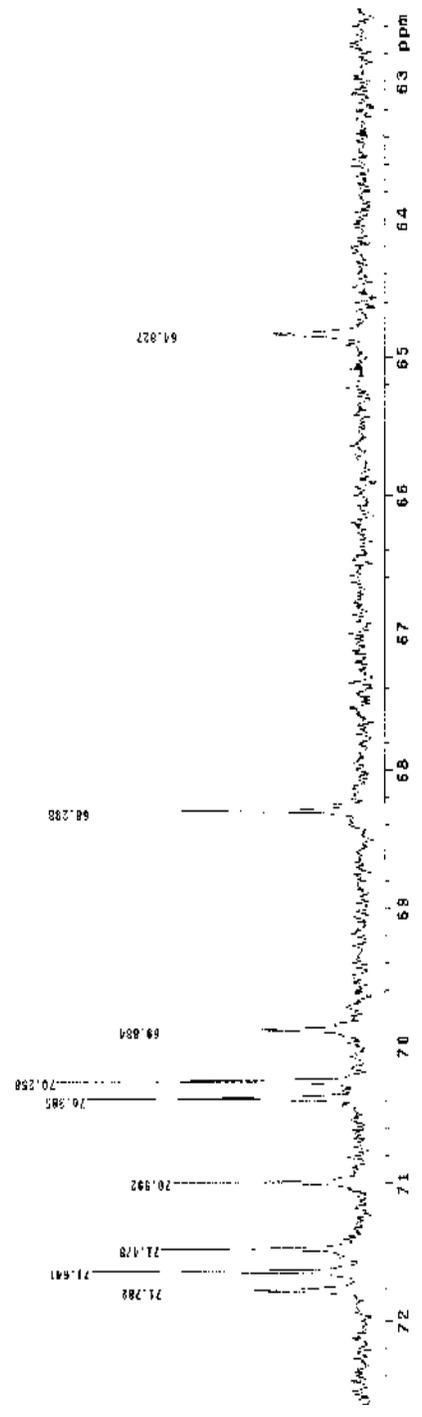


FIGURA 33B: Expansão do espectro de RMN ¹³C de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO-*d*₆, 126MHz.

Melvecio Jr1-145-01 27/10/05
 Pulse Sequence: DEPT 3c
 Solvent: DMSO
 Temp: 30.0 C / 303.1 K
 User: J14-87-201185"
 INSTR: 500 "201185"
 Relax. delay 1.000 sec
 Pulse prog. mzgpc3
 Pulse width 12.000 usec
 Width 2802.6 Hz
 20908 "recalibration" 8025801 MHz
 DECOUPLE CH1: 498.4550185 MHz
 Power 30 db, acquisition
 or during delay
 MALTZ: as calculated
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 65536
 Integ time 23 Br. 59 min, 54 sec

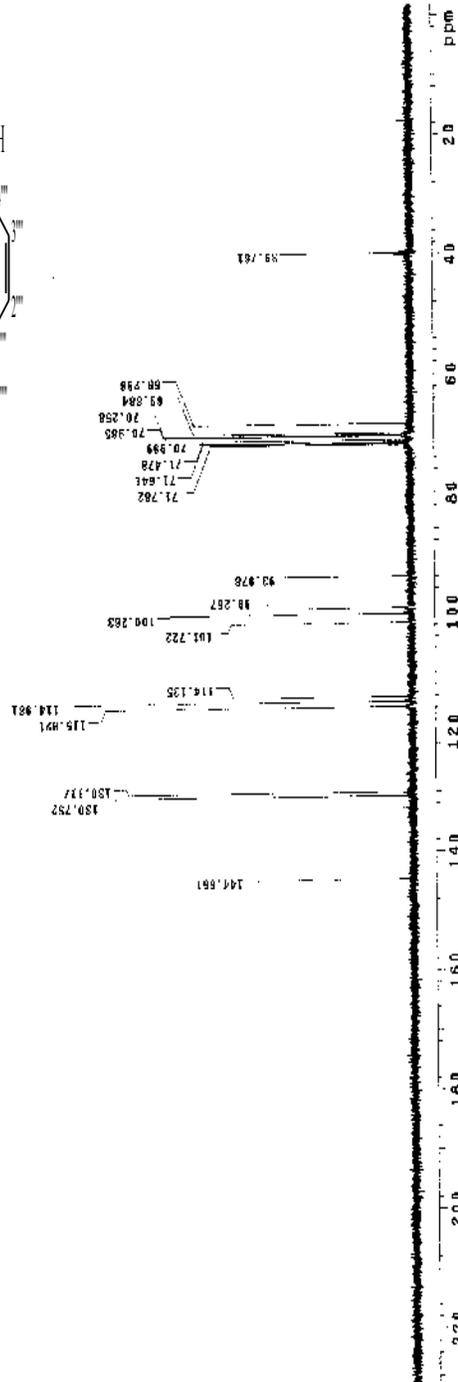
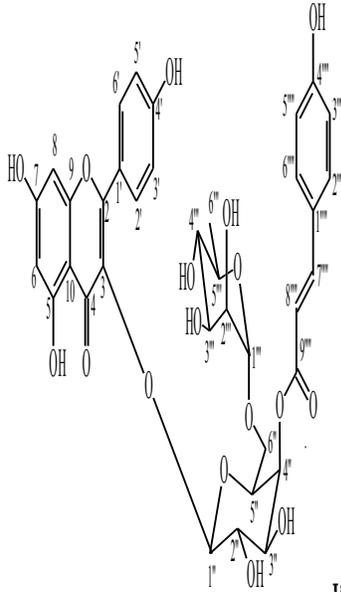


FIGURA 34B: DEPT 90° de Jr1-145-01 (variabiloside G) em DMSO-*d*₆, 126 MHz


```

HETVACIO Jrl-145-01 27/10/06
Pulse Sequence: DEPT13C
Solvent: DMSO
Temp: 30.00, 303.1 K
User: j-14-07, 303.1 K
INDIA-50C "nd1465"
Select: delay 1.000 sec
Pulse: RC0 dgtcse
Pulse: RC0 dgtcse
Width: 13.00, 6 Hz
Width: 13.00, 6 Hz
20000 repetitions 0005101 MHz
DECOUPLE: H1, 133.510187 MHz
Power: 30 dB
Off: SURT10, 0.000000
Off: SURT10, 0.000000
WALTZ: 16 modulated
Line: broadening 1.00 Hz
FT size: 65536
Total time: 23 hr, 59 min, 64 sec

```

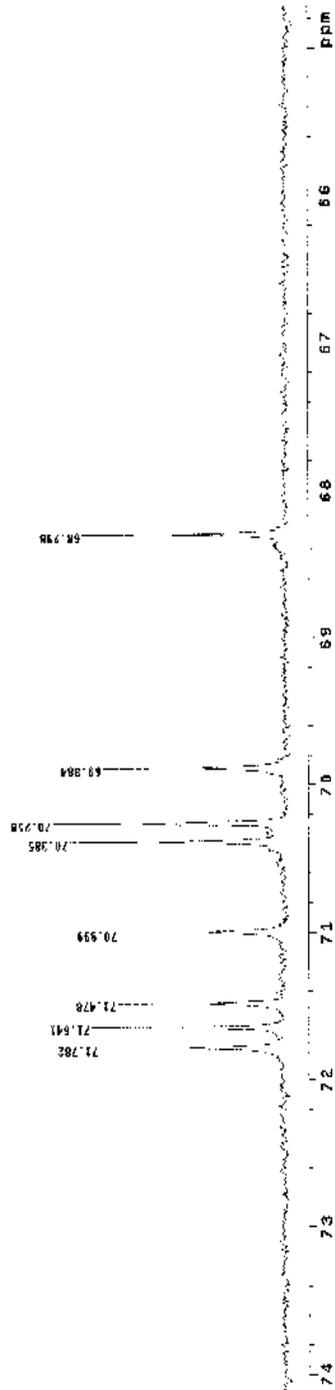


FIGURA 36B: Expansão do DEPT 90° de Jrl-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 , 126 MHz.

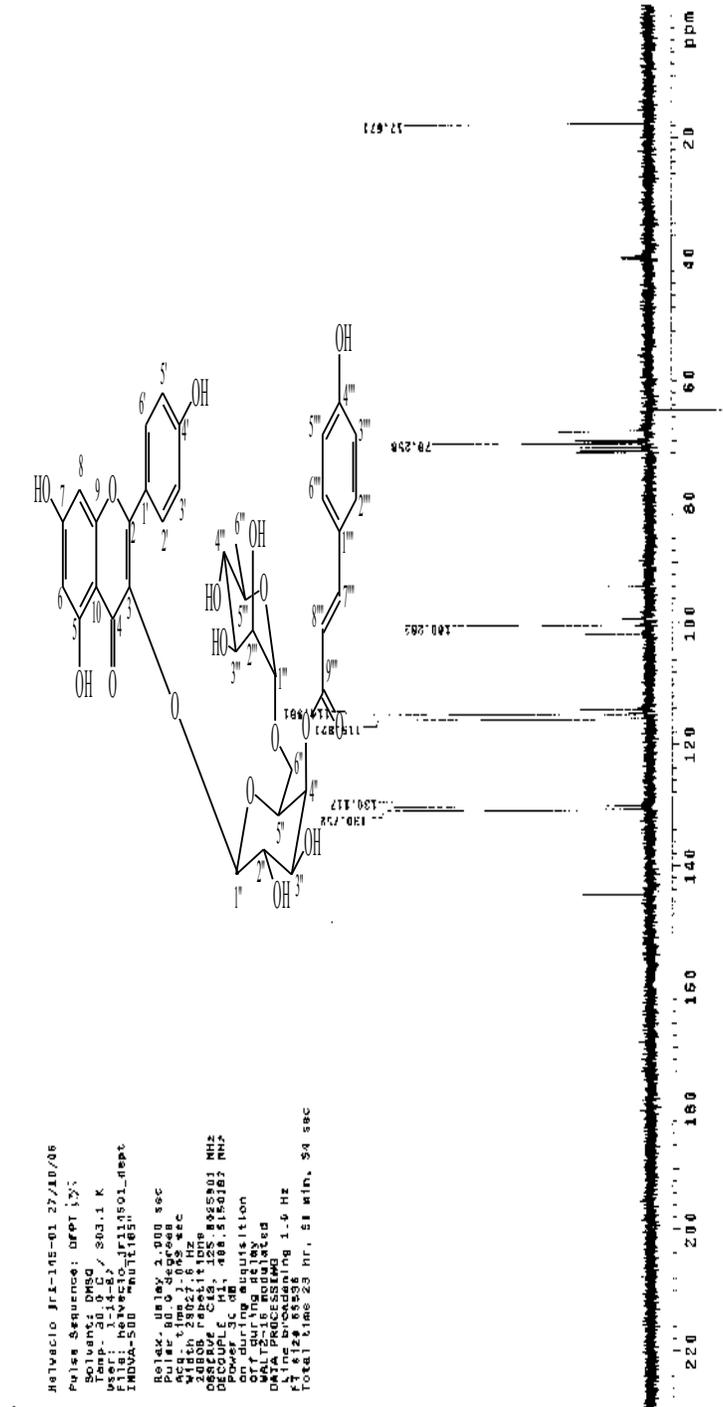


FIGURA 37B: DEPT 135° de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO-*d*₆ 126 MHz.

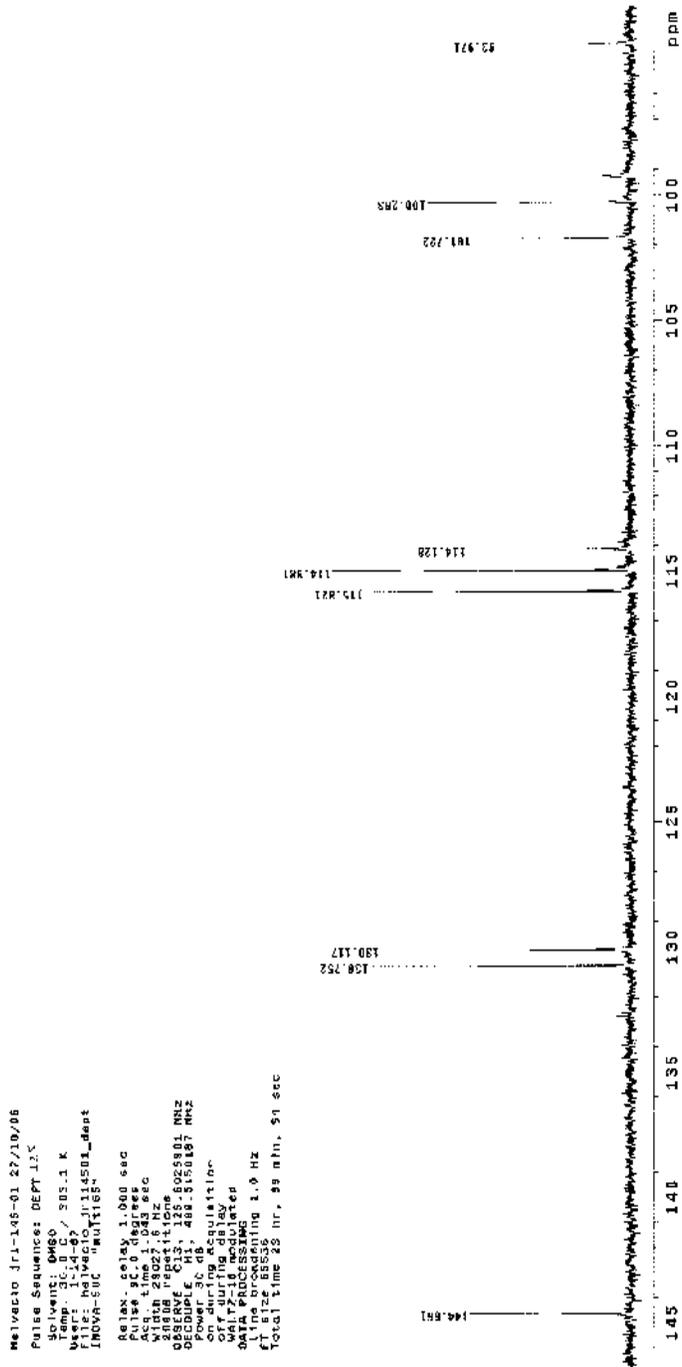


FIGURA 38B: Expansão do DEPT 135° de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 126 MHz.

Helwaco Jr1-145-01 27/10/06
Pulse Sequencia: DEPT 135
Solvent: DMSO
User: J145/ 303.1 K
File: helwaco_jr14501_dept
IND04-500 "MULTIB" "MULTIB"
Relax. delay: 1.000 sec
Pulse 90.0 degree
Acq. time 1.013 sec
Sweep 2048
2048 F2 acquisitions
OBSERVE C13, 155.602802 MHz
DECUPLE P1, 498.5150187 MHz
on during acquisition
off during delay
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
F1 size 6553
Total time 23 hr, 58 min, 51 sec



FIGURA 39B: Expansão do DEPT 135° de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 126 MHz.

Helvecio Jr1-145-D1 27/10/06
 Pulse Sequence: gHMOC
 Solvent: DMSO
 Temp: 30.0 C / 303.1 K
 F1: h14507_c1114501_gbmhc
 INOVA-500 MULTI168
 Relax: delay 2.000 sec
 Width: 7509.6 Hz
 2D width: 15027.6 Hz
 2 X 228 increments
 DMSO-d6, 500, 125.131 MHz
 Power: 47 dB, 228.1529740 MHz
 on during acquisition
 GAMP: 21, modulated
 DATA PROCESSING: 0.063 sec
 F1 F2: 16.000 MHz, 125.131 MHz
 F1 F2: 16.000 MHz, 125.131 MHz
 Results Acquisition: 0.002 sec
 Total time: 31. min, 14 sec

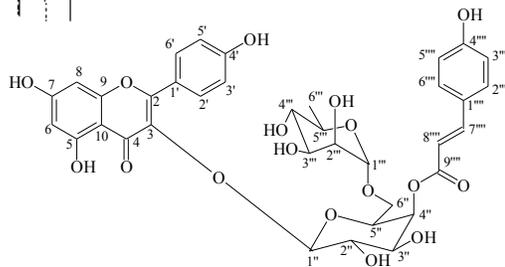
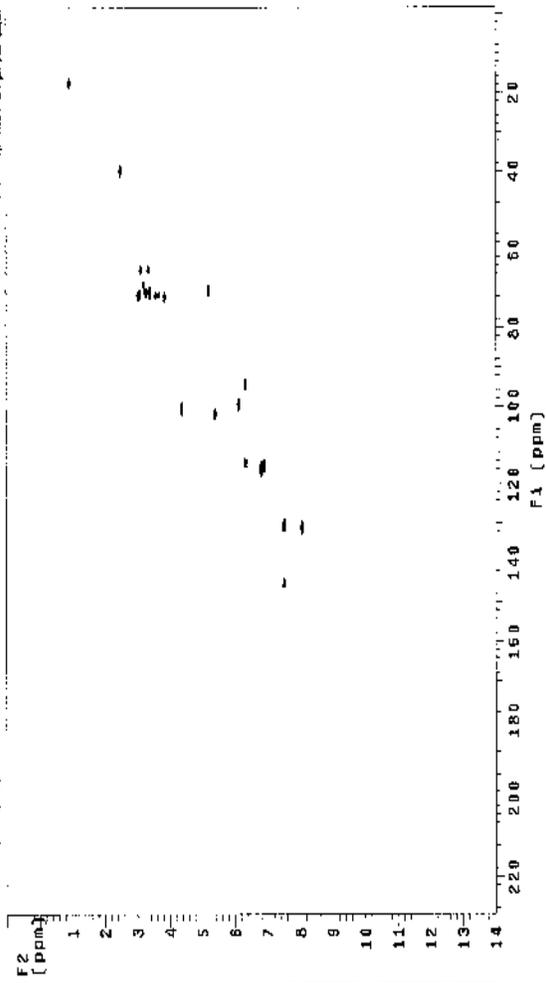


FIGURA 40B: Correlação heteronuclear a curta distância (gHMOC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em $\text{DMSO-}d_6$

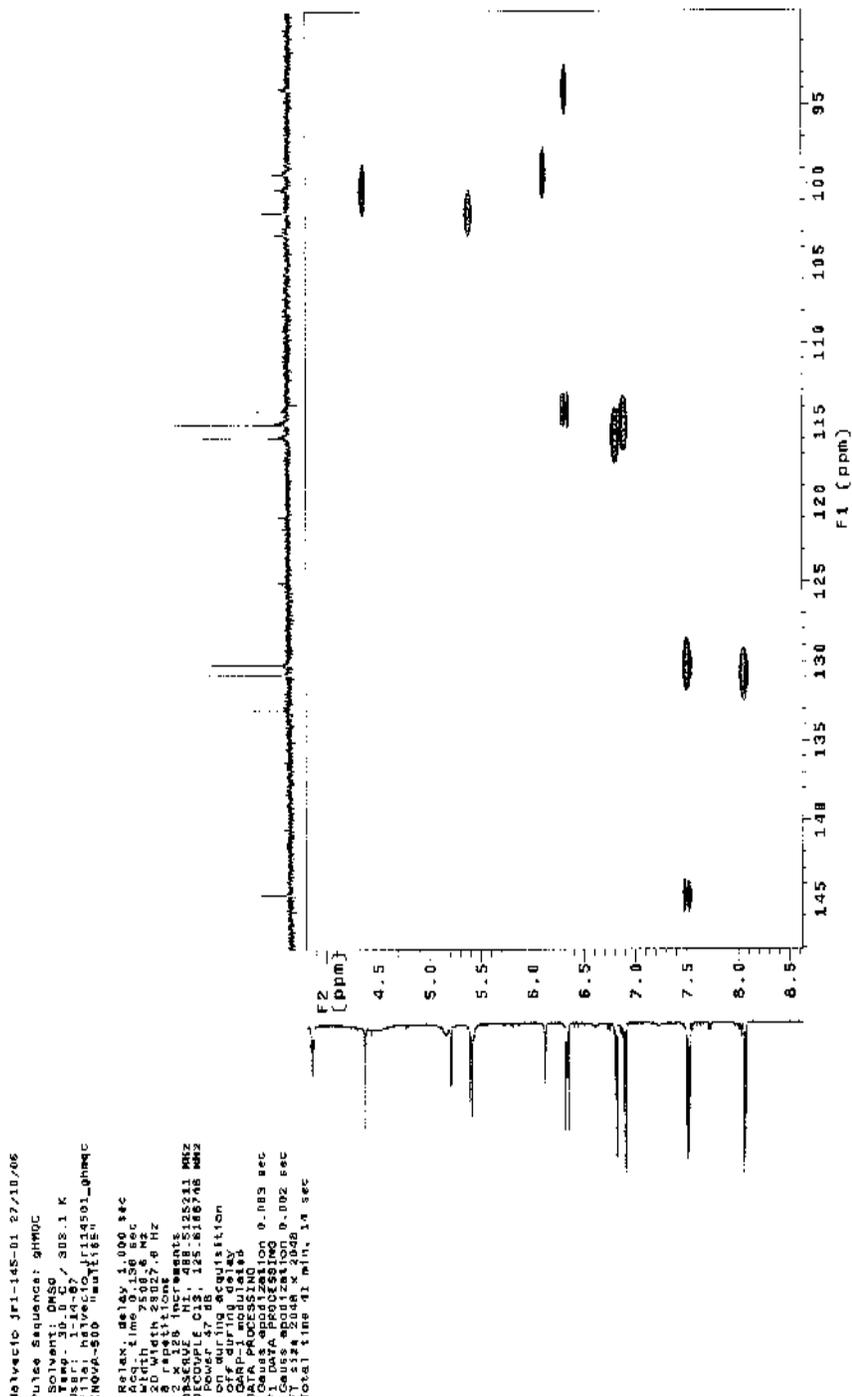


FIGURA 41B: Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosido G) em $\text{DMSO}-d_6$.

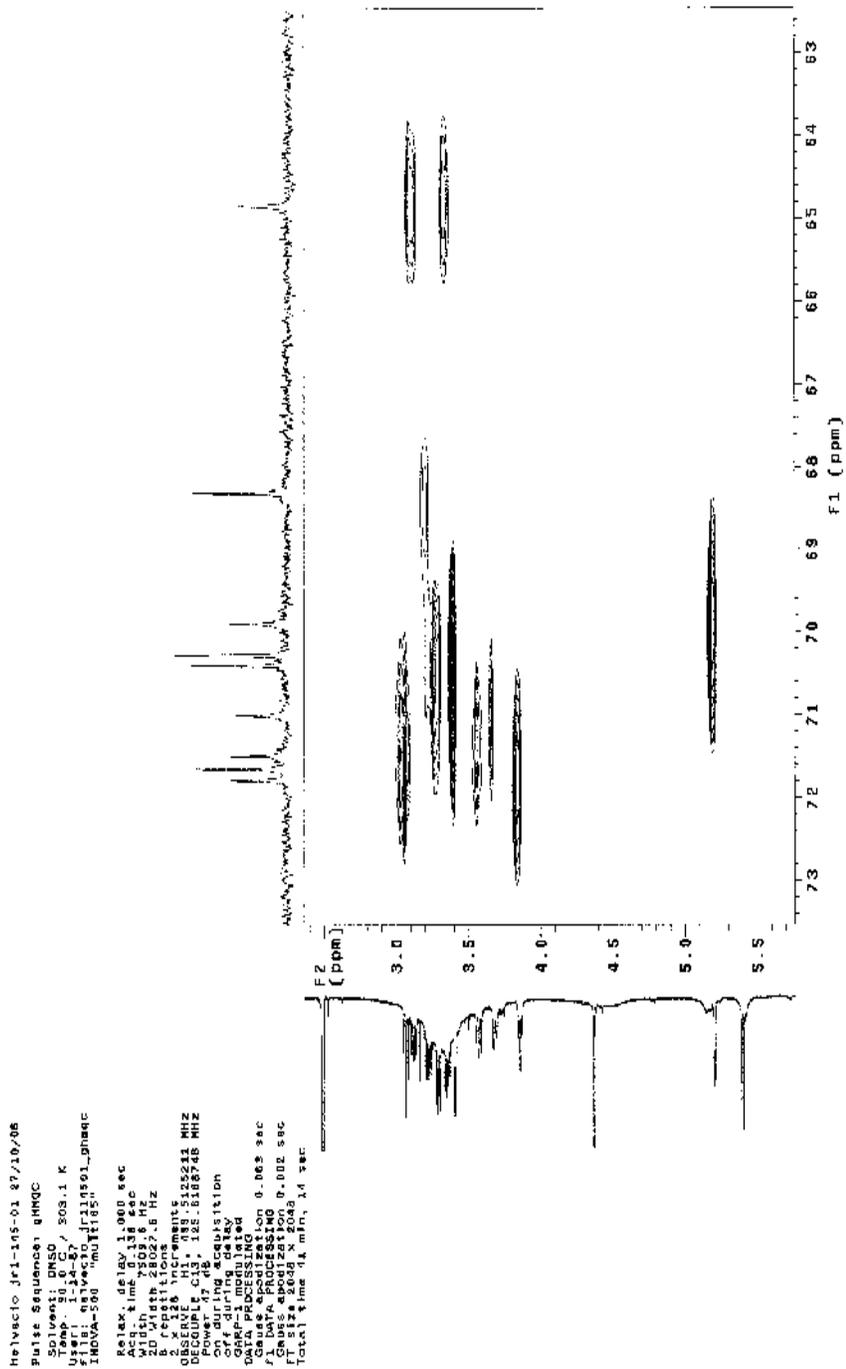


FIGURA 42B: Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilisídeo G) em DMSO- d_6 .

Helwecio Jr1-145-01 27/10/08
 Pulse Sequence: ghmhc
 Solvent: DMSO
 Temp: 30.0 C / 302.1 K
 File: h14501_jr14501_ghmhc
 INOVA-800 "nu1165"
 Relax delay: 1.000 sec
 Acq time: 0.158 sec
 Width: 7500.0 Hz
 18 repetitions
 18 increments
 QMTC PROCESSING: S125211 MHz
 Sine Bell: 0.005 sec
 Sine Bell: 0.002 sec
 Sine Bell: 0.002 sec
 FT Size: 2048 x 2048
 Total time: 02 min. 18 sec

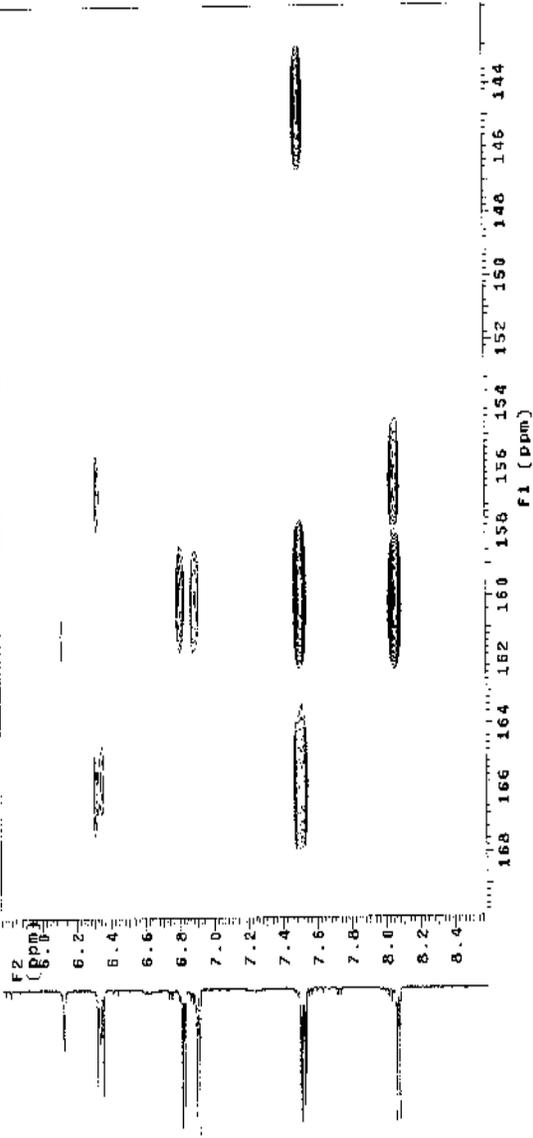


FIGURA 44B: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em $\text{DMSO-}d_6$.

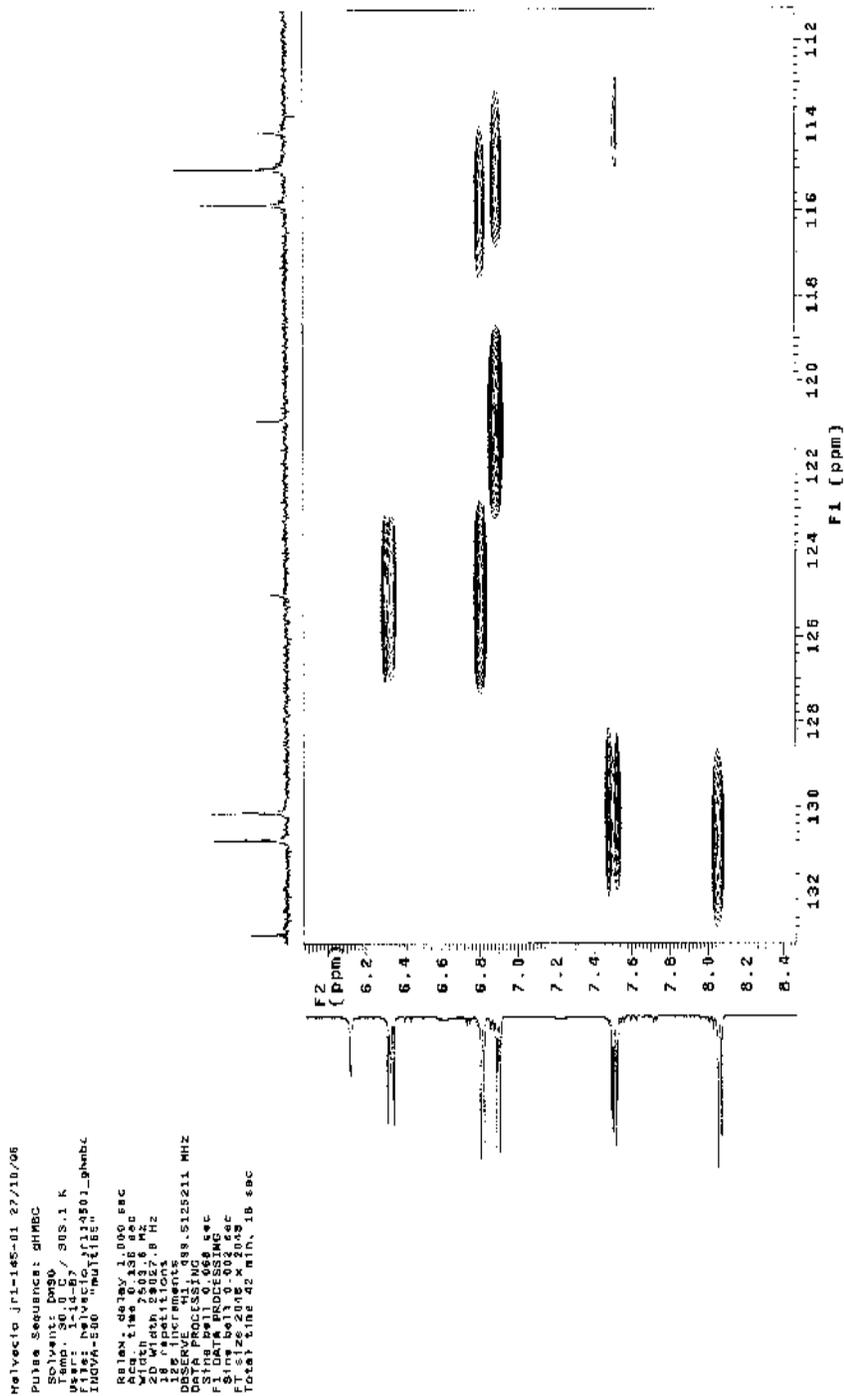


FIGURA 45B: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em $\text{DMSO}-d_6$.

```

Helvecio Jr1-145-01 27/10/08
Pulse Sequence: ghmhc
Solvent: DMSD
Temp.: 30.0 C / 303.1 K
File: h41041c.Jr114501_ghmhc
INSTR: 500 MHz 1H/125
Acq: 100 by 1.000 sec
Relax: 1.00 by 1.50 sec
Width: 7200.00 Hz
SFO: 125.130 MHz
SOLVENT: DMSO-d6
NS: 1024
DS: 4
AQ: 0.00100000 sec
RG: 327.680
AQ1: 0.00100000 sec
RG1: 327.680
AQ2: 0.00100000 sec
RG2: 327.680
AQ3: 0.00100000 sec
RG3: 327.680
AQ4: 0.00100000 sec
RG4: 327.680
AQ5: 0.00100000 sec
RG5: 327.680
AQ6: 0.00100000 sec
RG6: 327.680
AQ7: 0.00100000 sec
RG7: 327.680
AQ8: 0.00100000 sec
RG8: 327.680
AQ9: 0.00100000 sec
RG9: 327.680
AQ10: 0.00100000 sec
RG10: 327.680
AQ11: 0.00100000 sec
RG11: 327.680
AQ12: 0.00100000 sec
RG12: 327.680
AQ13: 0.00100000 sec
RG13: 327.680
AQ14: 0.00100000 sec
RG14: 327.680
AQ15: 0.00100000 sec
RG15: 327.680
AQ16: 0.00100000 sec
RG16: 327.680
AQ17: 0.00100000 sec
RG17: 327.680
AQ18: 0.00100000 sec
RG18: 327.680
AQ19: 0.00100000 sec
RG19: 327.680
AQ20: 0.00100000 sec
RG20: 327.680
AQ21: 0.00100000 sec
RG21: 327.680
AQ22: 0.00100000 sec
RG22: 327.680
AQ23: 0.00100000 sec
RG23: 327.680
AQ24: 0.00100000 sec
RG24: 327.680
AQ25: 0.00100000 sec
RG25: 327.680
AQ26: 0.00100000 sec
RG26: 327.680
AQ27: 0.00100000 sec
RG27: 327.680
AQ28: 0.00100000 sec
RG28: 327.680
AQ29: 0.00100000 sec
RG29: 327.680
AQ30: 0.00100000 sec
RG30: 327.680
AQ31: 0.00100000 sec
RG31: 327.680
AQ32: 0.00100000 sec
RG32: 327.680
AQ33: 0.00100000 sec
RG33: 327.680
AQ34: 0.00100000 sec
RG34: 327.680
AQ35: 0.00100000 sec
RG35: 327.680
AQ36: 0.00100000 sec
RG36: 327.680
AQ37: 0.00100000 sec
RG37: 327.680
AQ38: 0.00100000 sec
RG38: 327.680
AQ39: 0.00100000 sec
RG39: 327.680
AQ40: 0.00100000 sec
RG40: 327.680
AQ41: 0.00100000 sec
RG41: 327.680
AQ42: 0.00100000 sec
RG42: 327.680
AQ43: 0.00100000 sec
RG43: 327.680
AQ44: 0.00100000 sec
RG44: 327.680
AQ45: 0.00100000 sec
RG45: 327.680
AQ46: 0.00100000 sec
RG46: 327.680
AQ47: 0.00100000 sec
RG47: 327.680
AQ48: 0.00100000 sec
RG48: 327.680
AQ49: 0.00100000 sec
RG49: 327.680
AQ50: 0.00100000 sec
RG50: 327.680
AQ51: 0.00100000 sec
RG51: 327.680
AQ52: 0.00100000 sec
RG52: 327.680
AQ53: 0.00100000 sec
RG53: 327.680
AQ54: 0.00100000 sec
RG54: 327.680
AQ55: 0.00100000 sec
RG55: 327.680
AQ56: 0.00100000 sec
RG56: 327.680
AQ57: 0.00100000 sec
RG57: 327.680
AQ58: 0.00100000 sec
RG58: 327.680
AQ59: 0.00100000 sec
RG59: 327.680
AQ60: 0.00100000 sec
RG60: 327.680
AQ61: 0.00100000 sec
RG61: 327.680
AQ62: 0.00100000 sec
RG62: 327.680
AQ63: 0.00100000 sec
RG63: 327.680
AQ64: 0.00100000 sec
RG64: 327.680
AQ65: 0.00100000 sec
RG65: 327.680
AQ66: 0.00100000 sec
RG66: 327.680
AQ67: 0.00100000 sec
RG67: 327.680
AQ68: 0.00100000 sec
RG68: 327.680
AQ69: 0.00100000 sec
RG69: 327.680
AQ70: 0.00100000 sec
RG70: 327.680
AQ71: 0.00100000 sec
RG71: 327.680
AQ72: 0.00100000 sec
RG72: 327.680
AQ73: 0.00100000 sec
RG73: 327.680
AQ74: 0.00100000 sec
RG74: 327.680
AQ75: 0.00100000 sec
RG75: 327.680
AQ76: 0.00100000 sec
RG76: 327.680
AQ77: 0.00100000 sec
RG77: 327.680
AQ78: 0.00100000 sec
RG78: 327.680
AQ79: 0.00100000 sec
RG79: 327.680
AQ80: 0.00100000 sec
RG80: 327.680
AQ81: 0.00100000 sec
RG81: 327.680
AQ82: 0.00100000 sec
RG82: 327.680
AQ83: 0.00100000 sec
RG83: 327.680
AQ84: 0.00100000 sec
RG84: 327.680
AQ85: 0.00100000 sec
RG85: 327.680
AQ86: 0.00100000 sec
RG86: 327.680
AQ87: 0.00100000 sec
RG87: 327.680
AQ88: 0.00100000 sec
RG88: 327.680
AQ89: 0.00100000 sec
RG89: 327.680
AQ90: 0.00100000 sec
RG90: 327.680
AQ91: 0.00100000 sec
RG91: 327.680
AQ92: 0.00100000 sec
RG92: 327.680
AQ93: 0.00100000 sec
RG93: 327.680
AQ94: 0.00100000 sec
RG94: 327.680
AQ95: 0.00100000 sec
RG95: 327.680
AQ96: 0.00100000 sec
RG96: 327.680
AQ97: 0.00100000 sec
RG97: 327.680
AQ98: 0.00100000 sec
RG98: 327.680
AQ99: 0.00100000 sec
RG99: 327.680
AQ100: 0.00100000 sec
RG100: 327.680
Total Time: 42 min, 18 sec

```

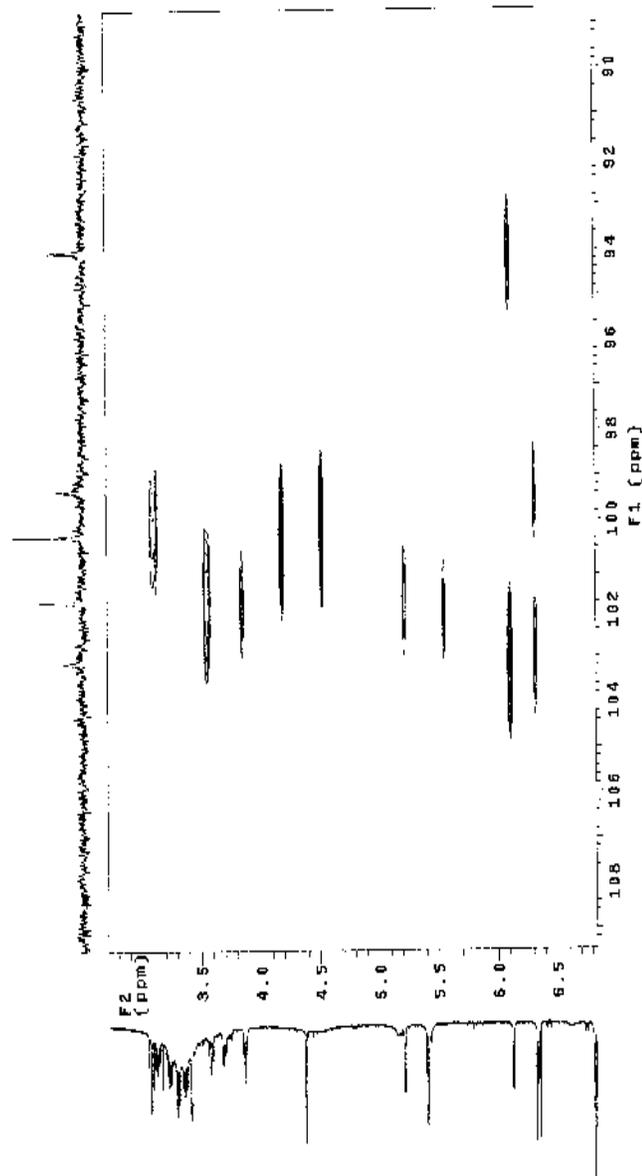


FIGURA 46B: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 .

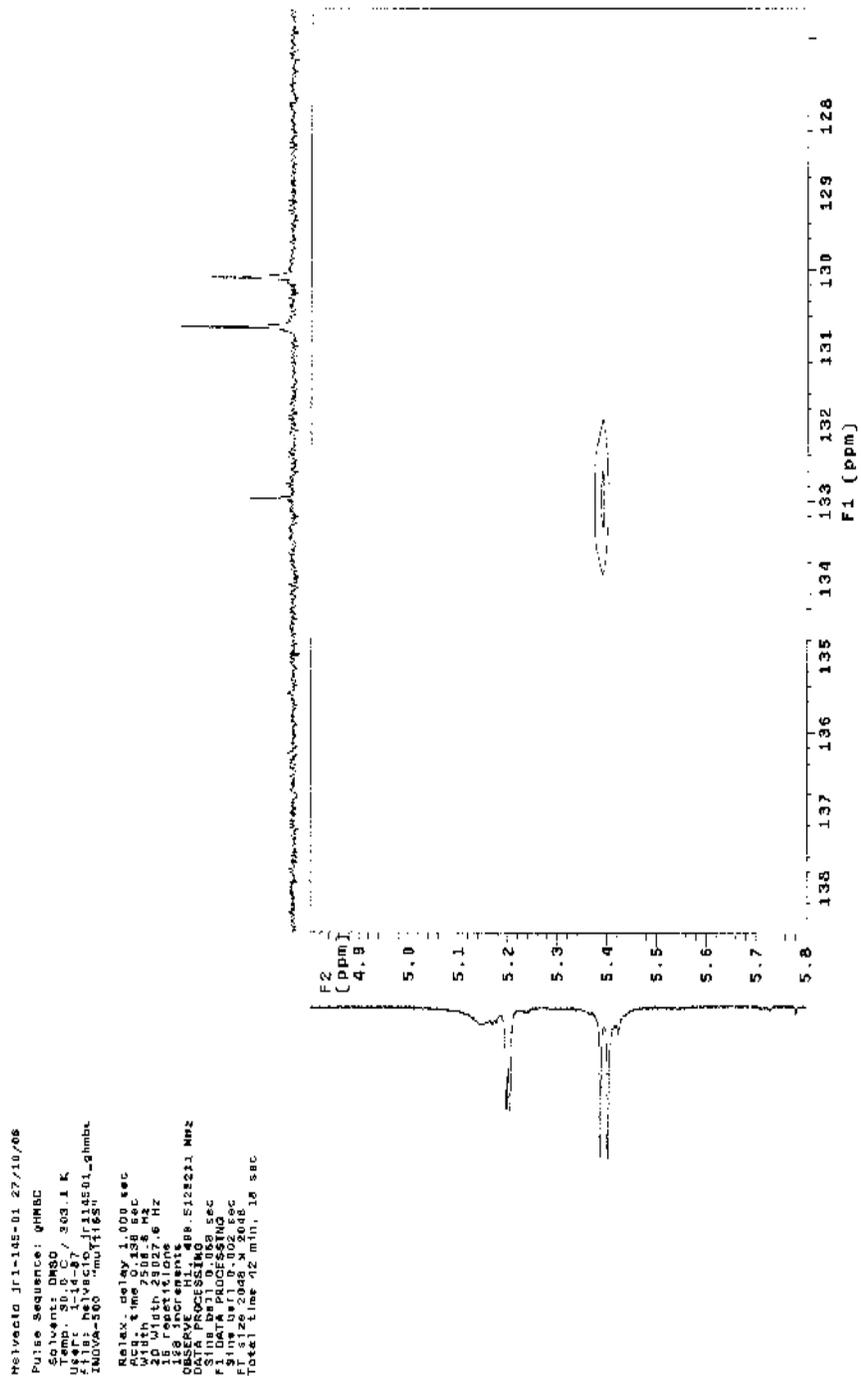


FIGURA 47B: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jrl-145-01 (variabilizado G) em DMSO- d_6 .

```

Helvacio Jr1-145-01 27/10/86
Pulsa Sequencer gHMC
Solvent: DMSO
Temp: 50.0 C / 903.1 K
User: jr1-87 jr114501_gHMC
INVA-500 "RUT115"
Acq. delay 10.000 sec
Width 25000.0 Hz
2D Width 25007.6 Hz
F2 126.000 MHz
128 increments
OBSERVED F2 126.000 MHz
SFOBS 126.000 MHz
SFR 126.000 MHz
SFI 126.000 MHz
F1 DATA PROCESSING
F1 200.000 MHz
F2 126.000 MHz
Total time 42 min. 18 sec

```

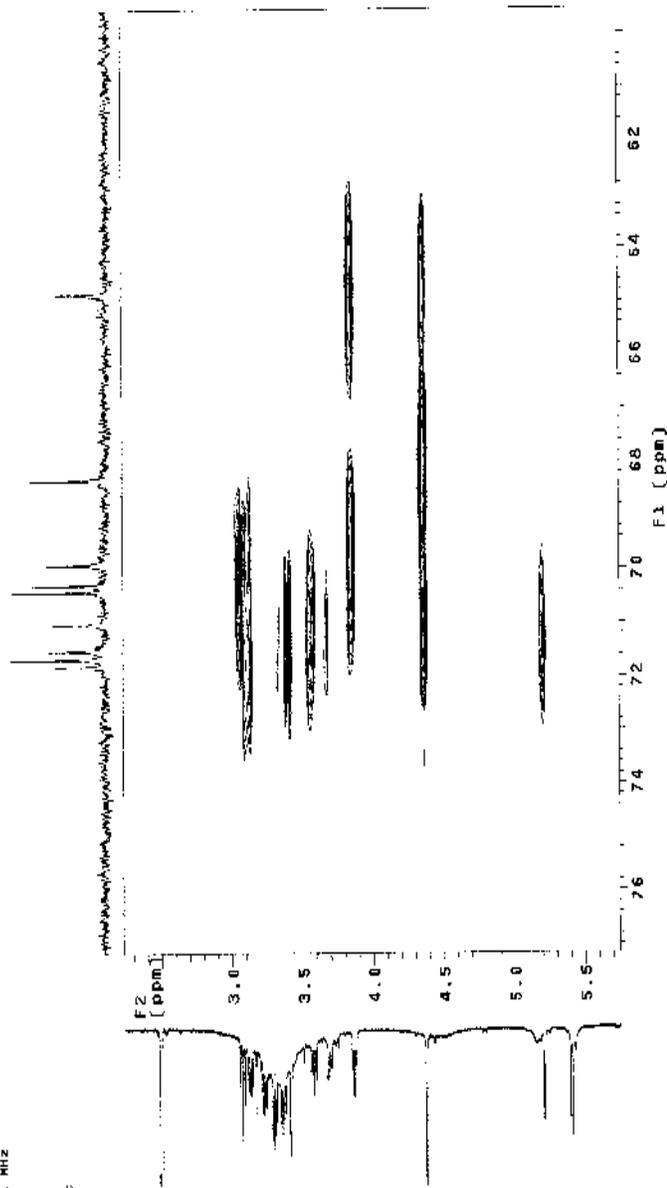


FIGURA 48B: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 .

```

145010 Jrl-145-01 27/10/08
tes Sequence: gHMBC
Solvent: DMSO
exp. 30.00 / 303.1 K
p1: 13.74 sec
p2: 13.74 sec
DVA-500 "nu1185h" ghmBC
-----
exec delay 13.000 sec
relax time 25.000 sec
F1 width 25000.0 Hz
D width 25000.0 Hz
p1 width 25000.0 Hz
28 increments
32 scans
SFOC1 149.5125211 MHz
time bell 0.088 sec
100% 4000000000 Hz
473 2048 x 2048
relax time 42 min, 18 sec
  
```

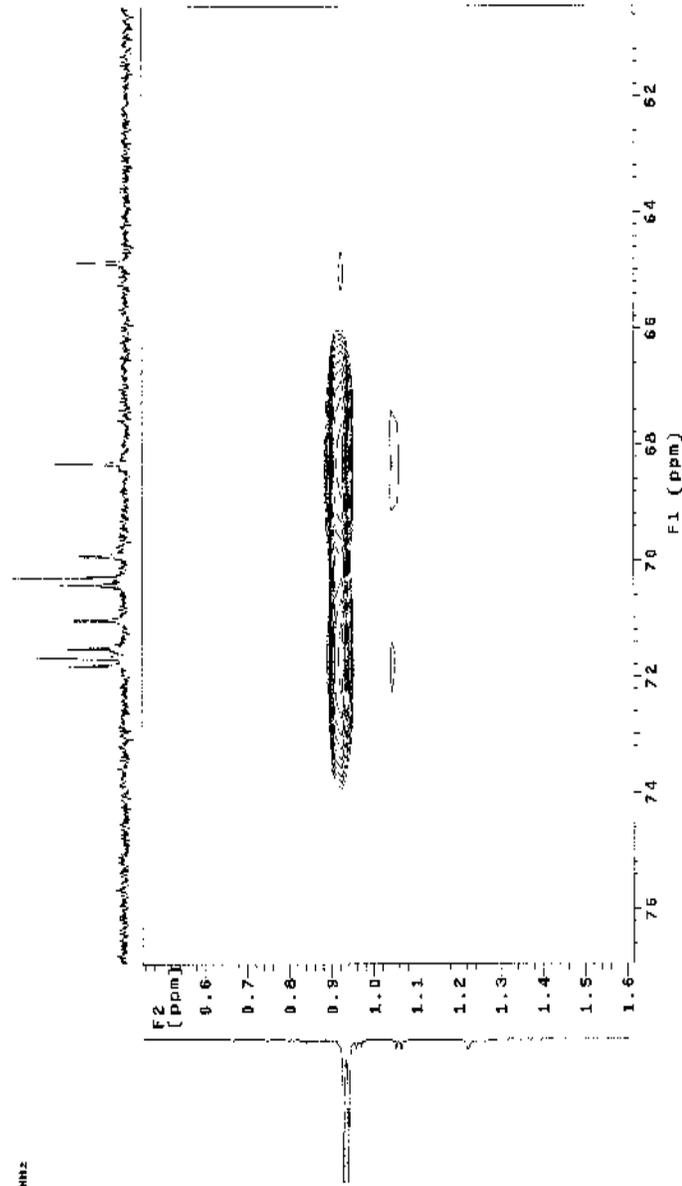
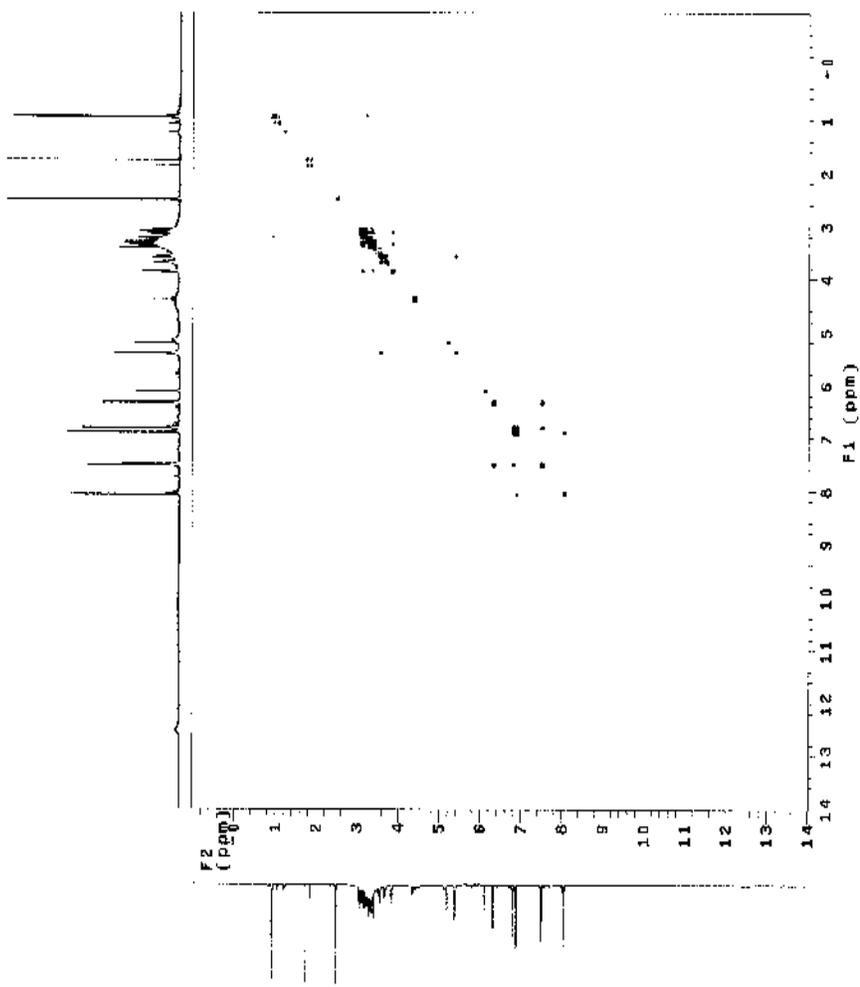


FIGURA 49B: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jrl-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 .



```

Haivecio Jr1-145-01 27/10/86
Pulse sequence: gCOSY
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C / 303.15 K
F1: 120.0 MHz
INDVA: EDD "INDT11E1" gcosy
AcqM: delay 12.000 sec
Waltz: 2000.000 Hz
2D width: 7500.0 Hz
2D height: 7500.0 Hz
128 increments
OBSERVE: FID
SFR: 515.231 MHz
F1: 120.0 MHz
F2: 120.0 MHz
F3: 120.0 MHz
Total time 10 min. 11 sec
  
```

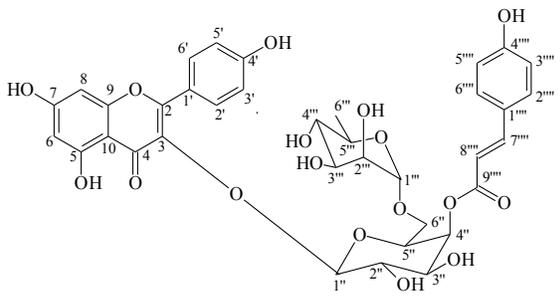


FIGURA 50B: Correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-145-01 (variabilosido G) em $\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz.

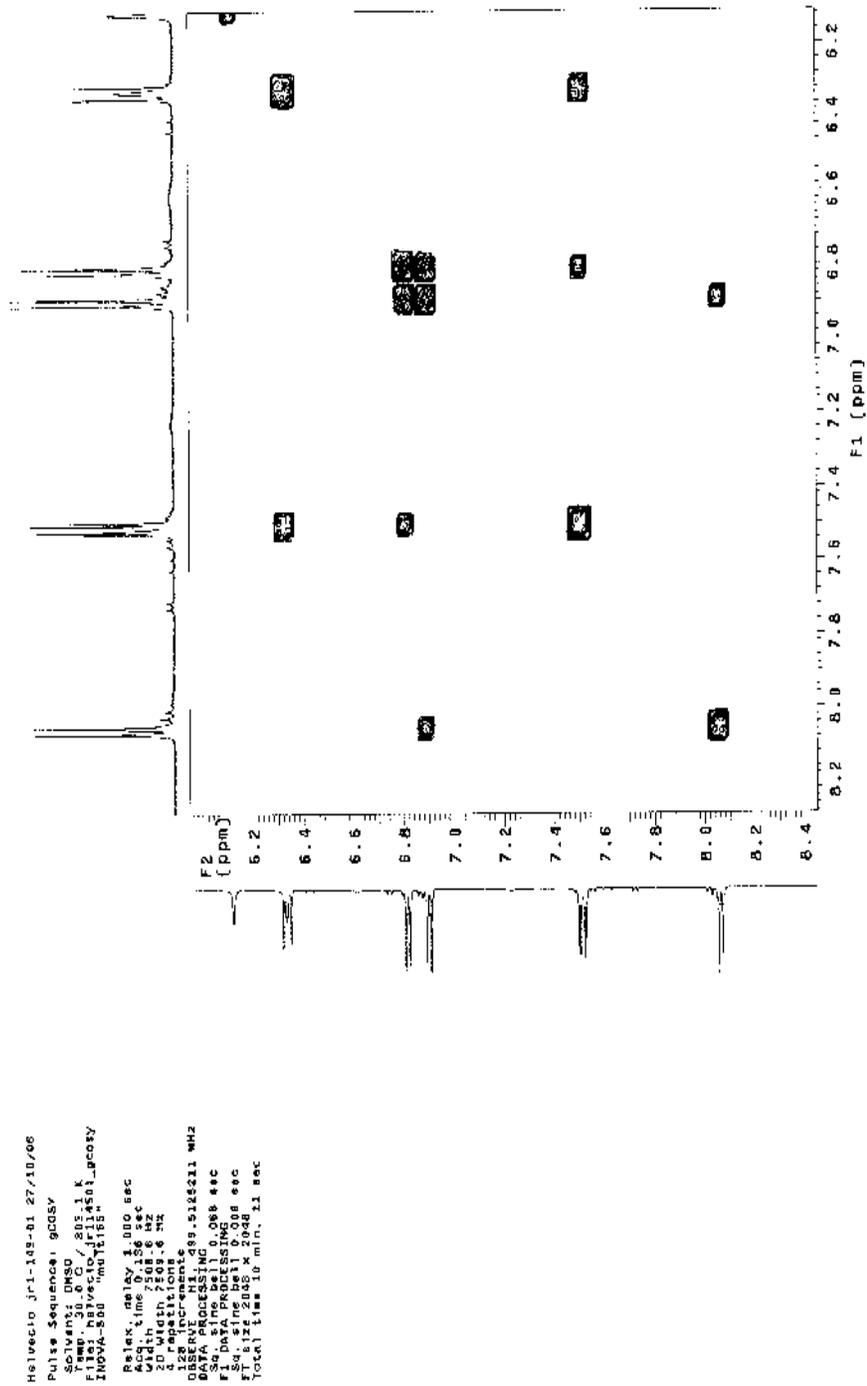


FIGURA 51B: Expansão da correlação homonuclear ¹H x ¹H (gCOSY) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO-*d*₆, 500 MHz.

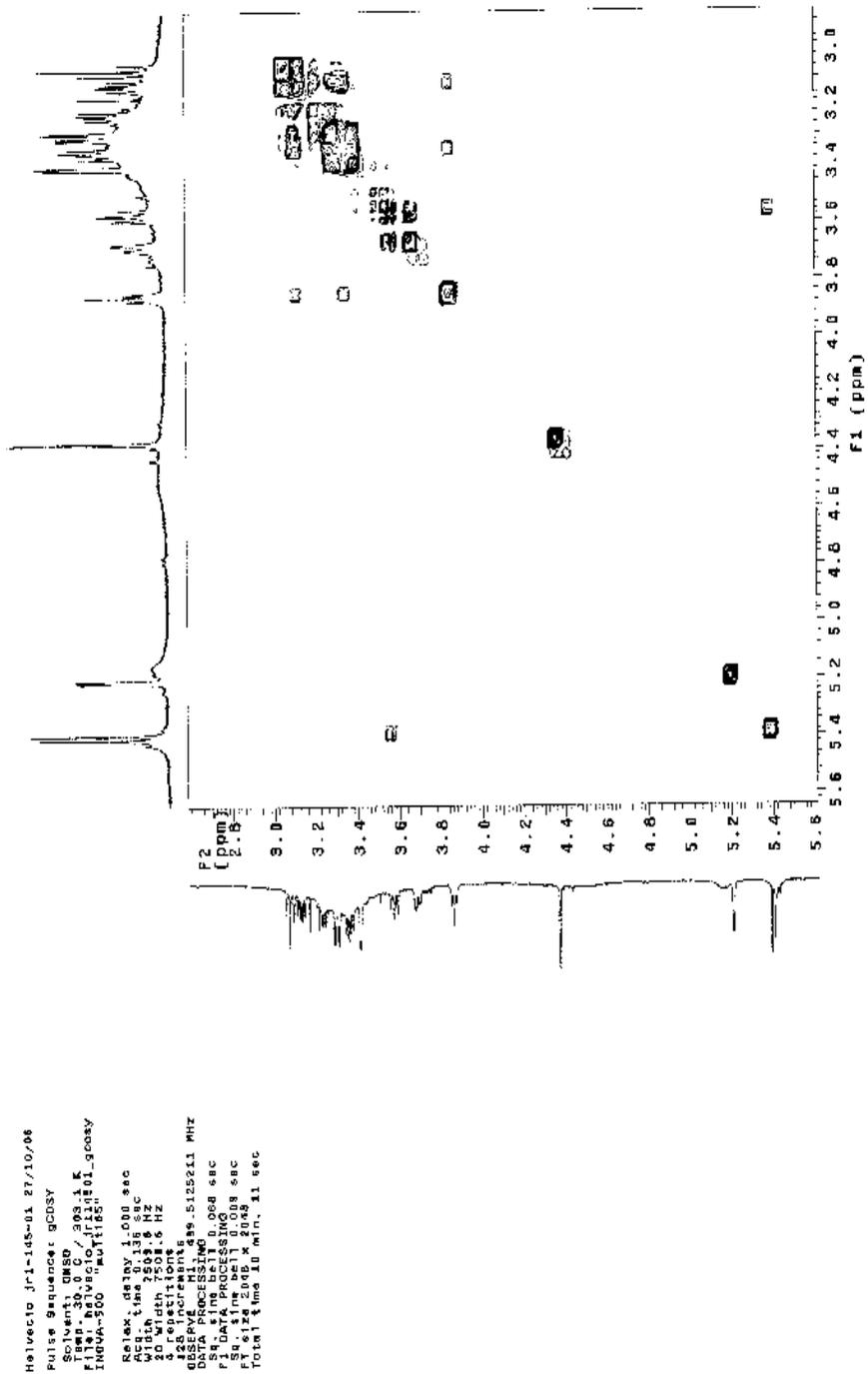


FIGURA 52B: Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em $\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz.

```

vc64d.jr1-145-01 27/10/06
se Sequence: TOCSY1D
lvent: DMSO
DS-80 0.001185+ 1 K
lax. delay 1.000 sec
k1 0.10000000
k2 0.10000000
q 1.00 0.078 sec
dch 200.142
PCPD 145.499.9125211 MHz
4 PROCESSING
SI 28.85530
SI time 3 min, 15 sec
  
```

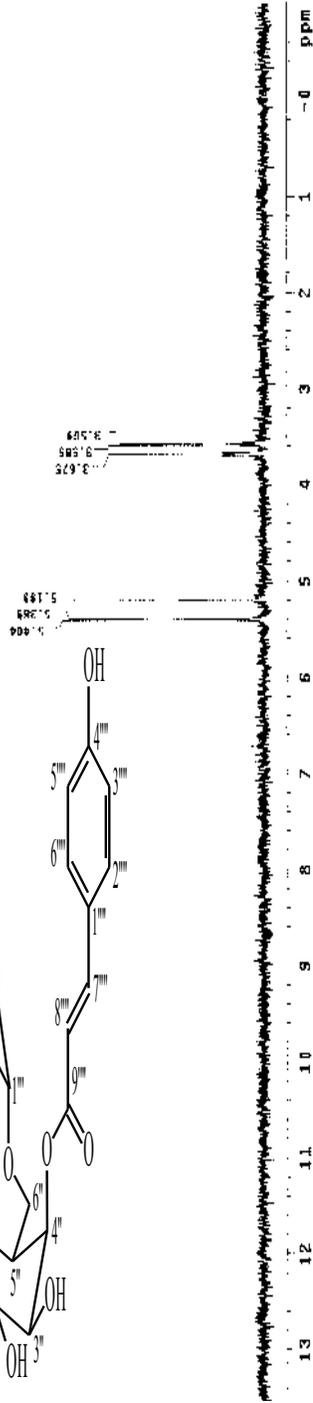
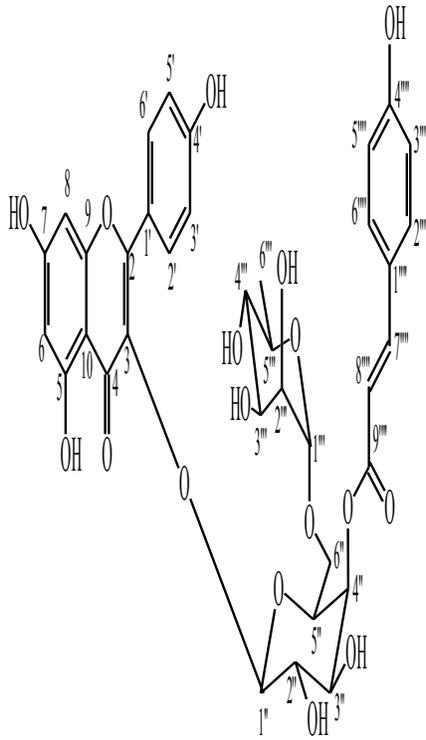


FIGURA 53B: TOCSY 1D de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 5,40 (1H; d, J=7,5)].


```

Melvecio Jr1-145-01 27/10/06
Pulse Sequence: TOCSY1D
Solvent: DMSO
Temp: 20.0 C, 298.1 K
F1: 500.136180 MHz
F2: 125.761800 MHz
INDX: 500
NUC1: 13C
NUC2: 1H
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 0.000000 sec
Pulse 0.000000 sec
AQ: 1.1887000 sec
RG: 1188.000
AQ: 1.1887000 sec
NUC1: 13C
NUC2: 1H
OBSERVE: H1
PROB: zgpg30
DATA PROCESSING:
SI: 32768
SF: 500.136180 MHz
PT: 1.2000000 sec
Total time 3 min, 14 sec
  
```

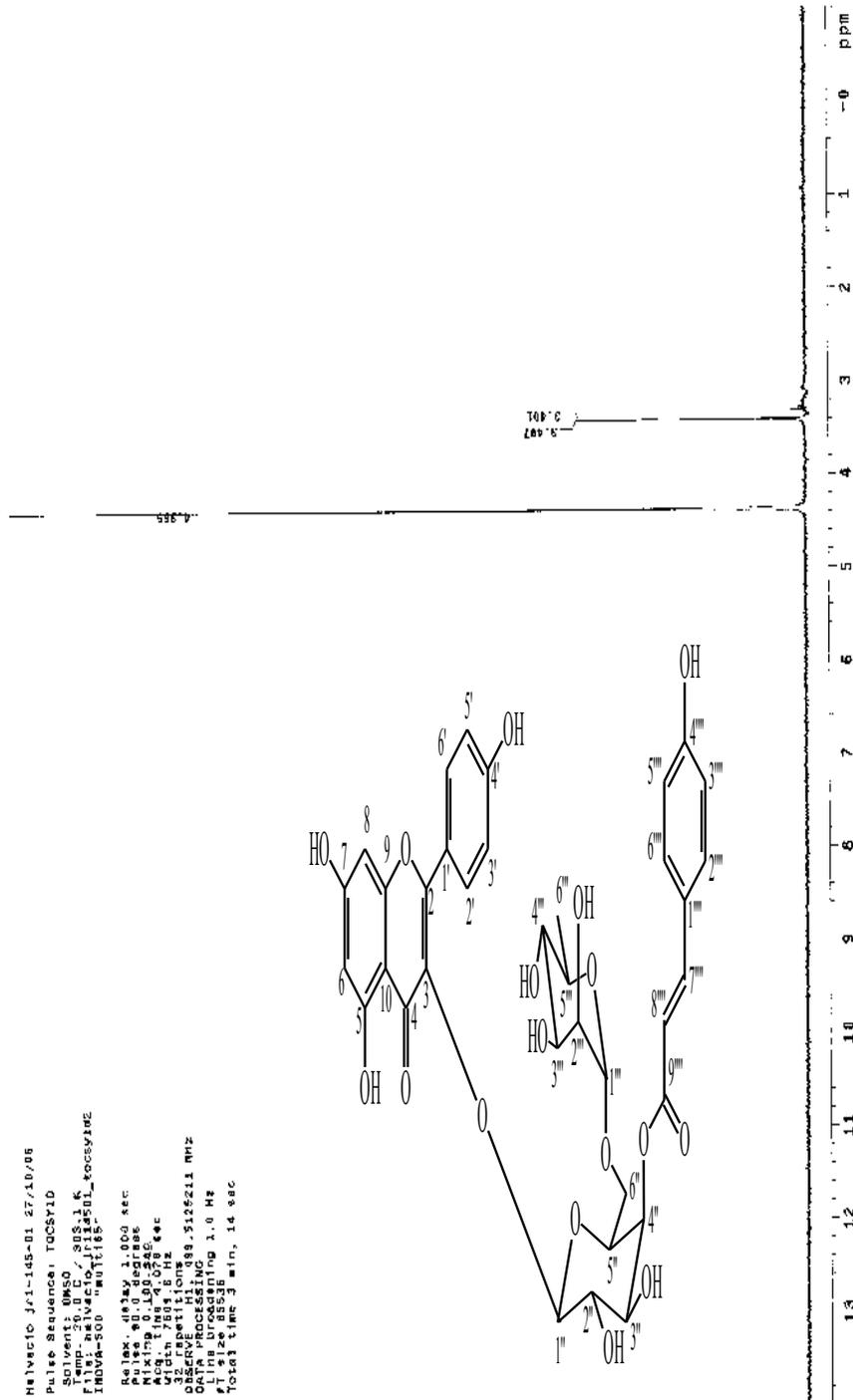
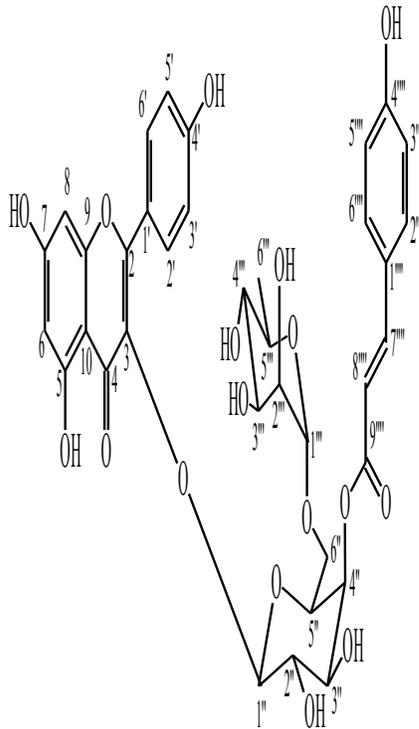


FIGURA 55B: TOCSY 1D de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 4,36 (1H; d, J=1,5)].

Melvacio Jr1-145-01 27/10/36
 Pulse Sequence: TOCSY1D
 Solvent: DMSO d6, 1 K
 INSTR: spect
 Relax, delay 1.000 sec
 Pulse 50.10 degrees
 Acq. time 4.023 sec
 Scan 1280
 F2 500.136 MHz
 F1 400.146 MHz
 OBSERVE: F1, 189.5125211 MHz
 DATA PROCESSING
 F1 K12.45838
 Total time 5 min, 15 sec

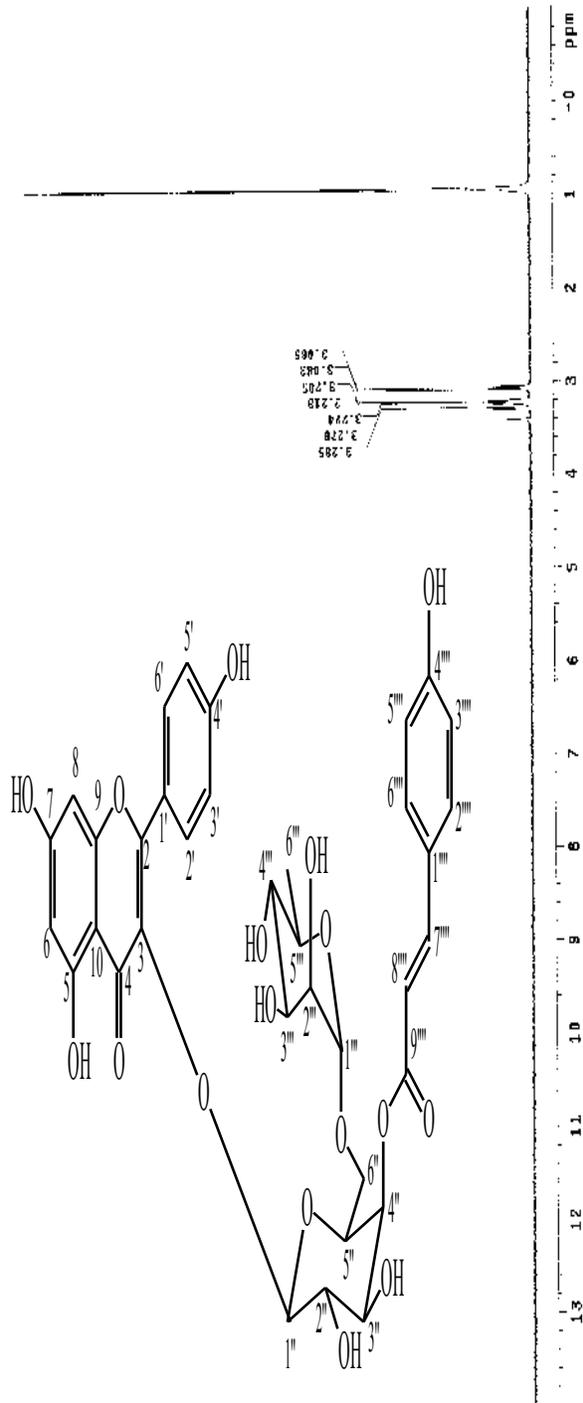


FIGURA 56B: TOCSY 1D de Jr1-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO- d_6 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 0,93 (3H; d, J=6,0)].

```

#114501 Jrl-145-01 27/10/06
Pulse sequence: TOCSY1D
Solvent: DMSO
INSTR: spect
PROB: zgpg30
Relax. delay: 1.000 sec
Mixing time: 0.150 sec
Acq. time: 4.078 sec
32 partitions
=====
QSERIES: Jrl-145-01-5125211.MHZ
Date_UTC: 20061027 11:04:38
File: 0063011010 1.0 Hz
ET: 0.128 0.0538
Total time: 3 min. 18 sec
  
```

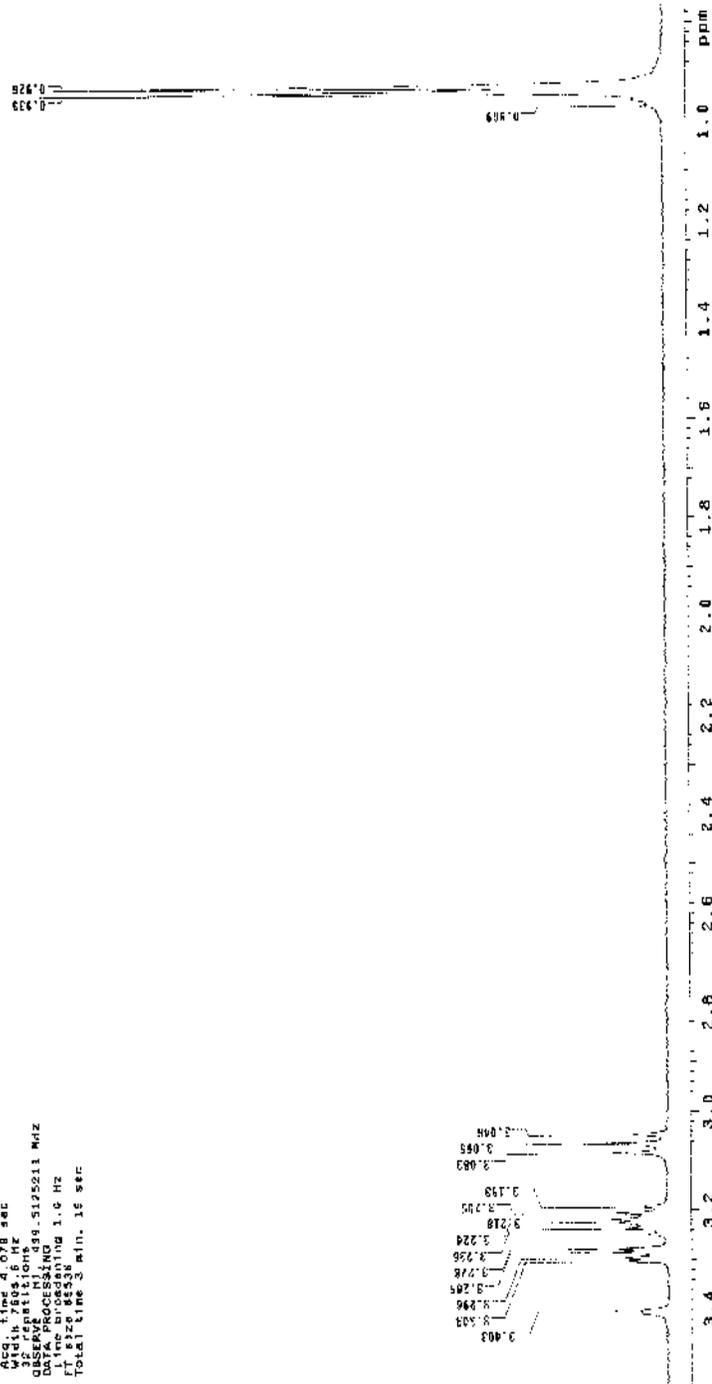


FIGURA 57B: Expansão do TOCSY 1D de Jrl-145-01 (variabilosídeo G) em DMSO-*d*₆, 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 0,93 (3H; d, J=6,0)].

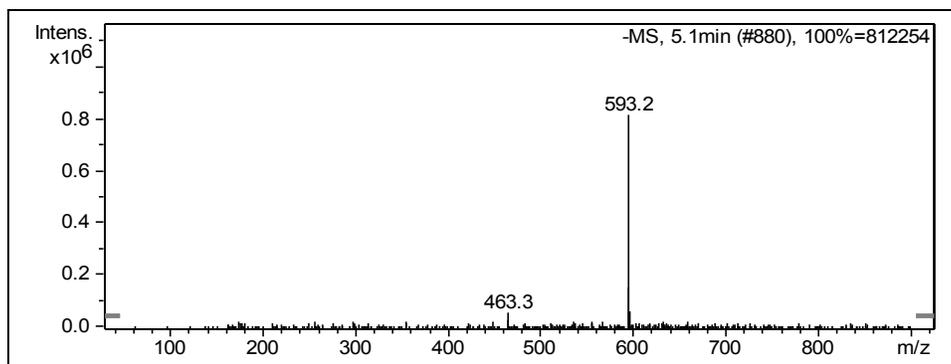


FIGURA 58B: Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-124-02 (kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo), -MS¹ (593=M-1).

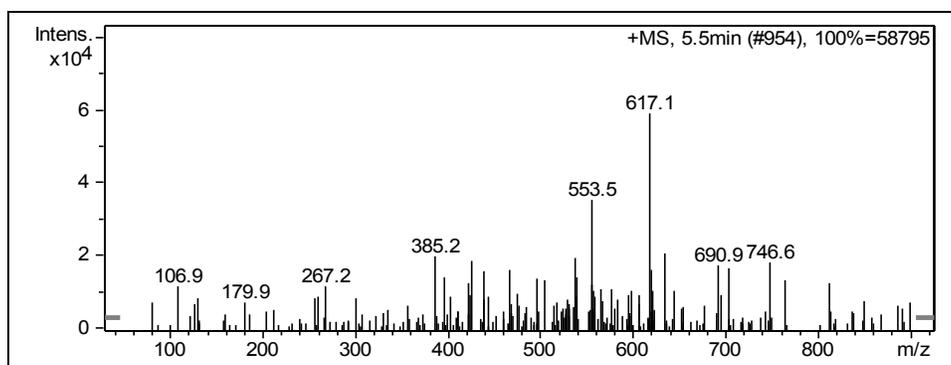


FIGURA 59B: Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-124-02 (kaempferol 3-*O*-robinobiosídeo), +MS¹ (617=M+Na⁺).

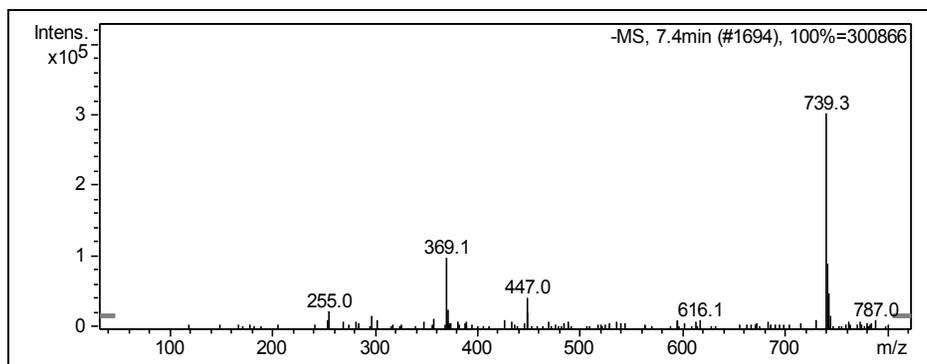


FIGURA 60B: Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G), $-MS^1$ ($739=M-1$).

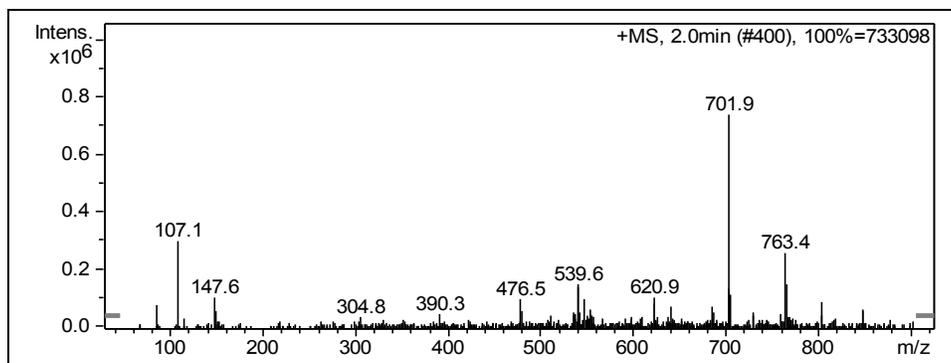


FIGURA 61B: Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-145-01 (variabilosídeo G), $+MS^1$ ($763=M+Na^+$).

ANEXO C		Página
FIGURA 1C	Espectro de RMN ^1H de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	293
FIGURA 2C	Expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	294
FIGURA 3C	Expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	295
FIGURA 4C	Espectro de RMN ^{13}C de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	296
FIGURA 5C	Correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6	297
FIGURA 6C	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6	298
FIGURA 7C	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6	299
FIGURA 8C	Correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6	300
FIGURA 9C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6	301
FIGURA 10C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6	302
FIGURA 11C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6	303
FIGURA 12C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6	304
FIGURA 13C	Correlação homonuclear ^1H x ^1H (gCOSY) de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	305
FIGURA 14C	Expansão da correlação homonuclear ^1H x ^1H (gCOSY) de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	306
FIGURA 15C	Expansão da correlação homonuclear ^1H x ^1H (gCOSY) de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	307

FIGURA 16C	TOCSY 1D de Jr1-120-03 (guaijaverina) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 5,28 (1H; d, J=5,0)]....	308
FIGURA 17C	Expansão do TOCSY 1D de Jr1-120-03 (guaijaverina) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 5,28 (1H; d, J=5,0)].....	309
FIGURA 18C	Espectro de RMN 1H de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	310
FIGURA 19C	Expansão do espectro de RMN 1H de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	311
FIGURA 20C	Expansão do espectro de RMN 1H de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	312
FIGURA 21C	Espectro de RMN ^{13}C de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	313
FIGURA 22C	DEPT 90° de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	314
FIGURA 23C	DEPT 135° de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	315
FIGURA 24C	Correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) 1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6	316
FIGURA 25C	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) 1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6	317
FIGURA 26C	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) 1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6	318
FIGURA 27C	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) 1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6	319
FIGURA 28C	Correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) 1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6	320
FIGURA 29C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) 1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6	321

FIGURA 30C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6	322
FIGURA 31C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6	323
FIGURA 32C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6	324
FIGURA 33C	Correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	325
FIGURA 34C	Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	326
FIGURA 35C	Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	327
FIGURA 36C	TOCSY 1D de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 0,83 (3H; d, J=6,0)].....	328
FIGURA 37C	Expansão do TOCSY 1D de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 0,83 (3H; d, J=6,0)].....	329
FIGURA 38C	TOCSY 1D de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 5,26 (1H; d, J=1,5)].....	330
FIGURA 39C	Expansão do TOCSY 1D de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 5,26 (1H; d, J=1,5)].....	331
FIGURA 40C	Espectro de RMN ^1H e expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	332
FIGURA 41C	Expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	333
FIGURA 42C	Expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 500MHz.....	334
FIGURA 43C	Espectro de RMN ^{13}C de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	335

FIGURA 44C	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	336
FIGURA 45C	Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 126MHz.....	337
FIGURA 46C	DEPT 135° de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	338
FIGURA 47C	Expansão do DEPT 135° de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 126 MHz.....	339
FIGURA 48C	Correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6	340
FIGURA 49C	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6	341
FIGURA 50C	Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6	342
FIGURA 51C	Correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6	343
FIGURA 52C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6	344
FIGURA 53C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6	345
FIGURA 54C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6	346
FIGURA 55C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6	347
FIGURA 56C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6	348
FIGURA 57C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6	349
FIGURA 58C	Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6	350

FIGURA 59C	Correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	351
FIGURA 60C	Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	352
FIGURA 61C	Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 500 MHz.....	353
FIGURA 62C	TOCSY 1D e expansão do TOCSY 1D de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 5,33 (1H; d, J=7,5)].....	354
FIGURA 63C	TOCSY 1D e expansão do TOCSY 1D de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 1,01 (3H; d, J=6,0)].....	355
FIGURA 64C	TOCSY 1D Jr1-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_{H} 4,40 (1H; d, J=1,5)].....	356
FIGURA 65C	Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-120-03 (guaijaverina), $-\text{MS}^1$ (433=M-1).....	357
FIGURA 66C	Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-120-03 (guaijaverina), $+\text{MS}^1$ (457=M+Na $^+$).....	357
FIGURA 67C	Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo), $-\text{MS}^1$ (447=M-1).....	358
FIGURA 68C	Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-120-04 (quercetina 3- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosídeo), $+\text{MS}^1$ (471=M+Na $^+$).....	358
FIGURA 69C	Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-146-02 (rutina), $-\text{MS}^1$ (609=M-1).....	359
FIGURA 70C	Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-146-02 (rutina), $+\text{MS}^1$ (633=M+Na $^+$).....	359

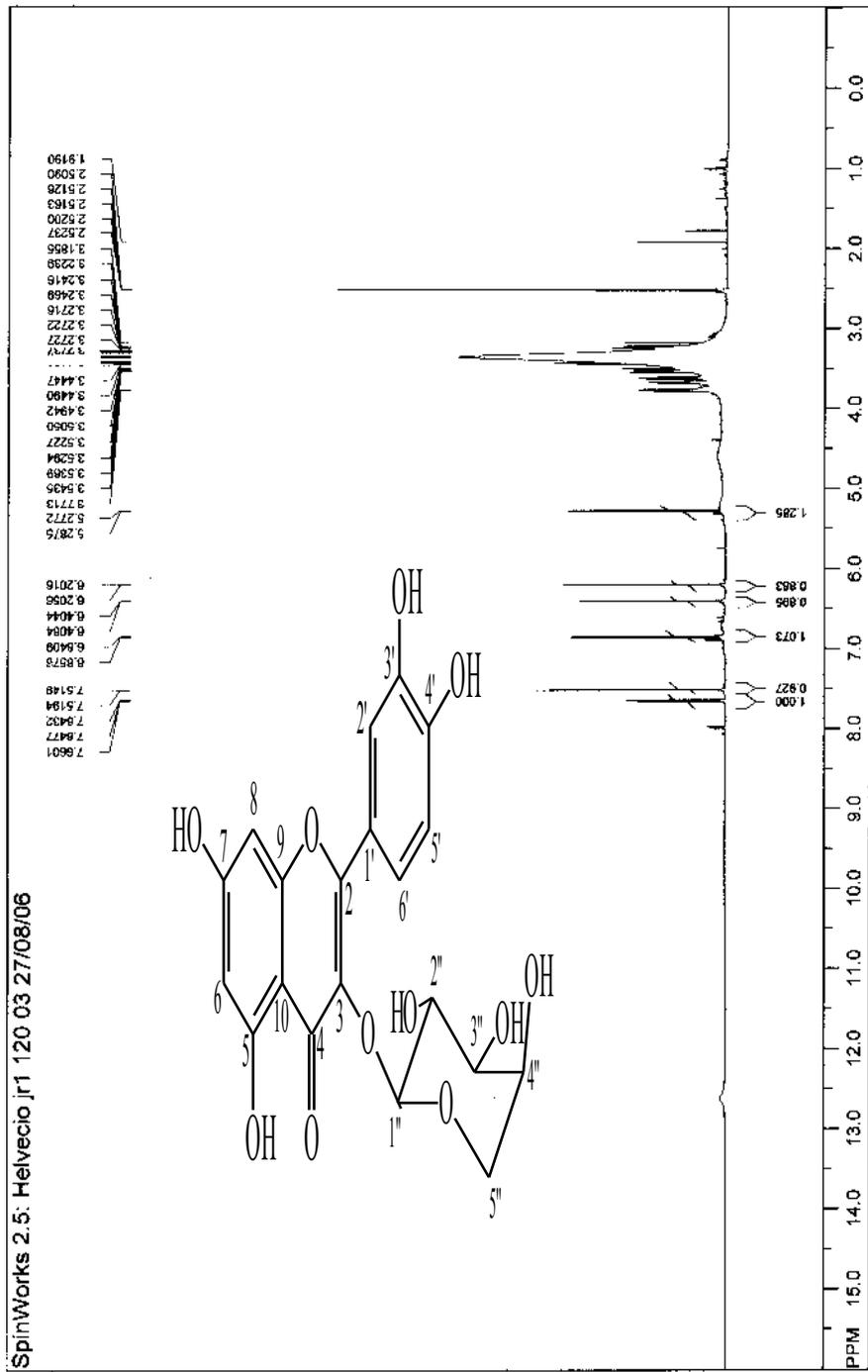


FIGURA 1C: Espectro de RMN ¹H de Jr1-120-03 (guaijaverina) em DMSO-*d*₆ 500MHz.

Helveclo jrl 120 03 27/05/06
 Pulse Sequence: e2pul
 Solvent: DMSO
 Temp: 30.0 C / 303.1 K
 INOVA-500 "multis55"
 Relax. delay 0.800 sec
 Pulse prog. progress
 Acquisition time 0.400 sec
 With 8810.5 Hz
 8 repetitions
 OBSERVED F1 F2 499.517450 MHz
 DMSO-d6
 F1 size 131022
 Total time 0 min, 38 sec

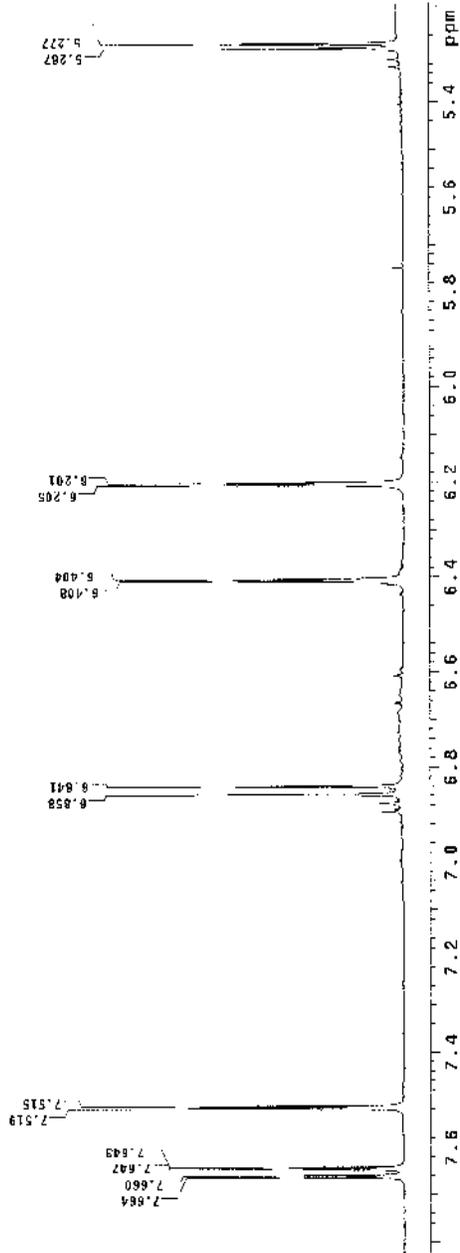


FIGURA 2C: Expansão do espectro de RMN ¹H de Jrl-120-03 (guaijaverina) em DMSO-*d*₆, 500MHz.

```

Halvecia Jr1 120 03 27/08/06
Pulse Sequence: zgpg1
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C / 503.1 K
INDYR-500 "multis"
Relax delay 0.500 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq time 0.067 sec
F1 F2
Resolution 0.12
OBSERVE 411.4985177450 MHz
DATA PROCESSING
F1 F2
Total time 0 min, 39 sec

```

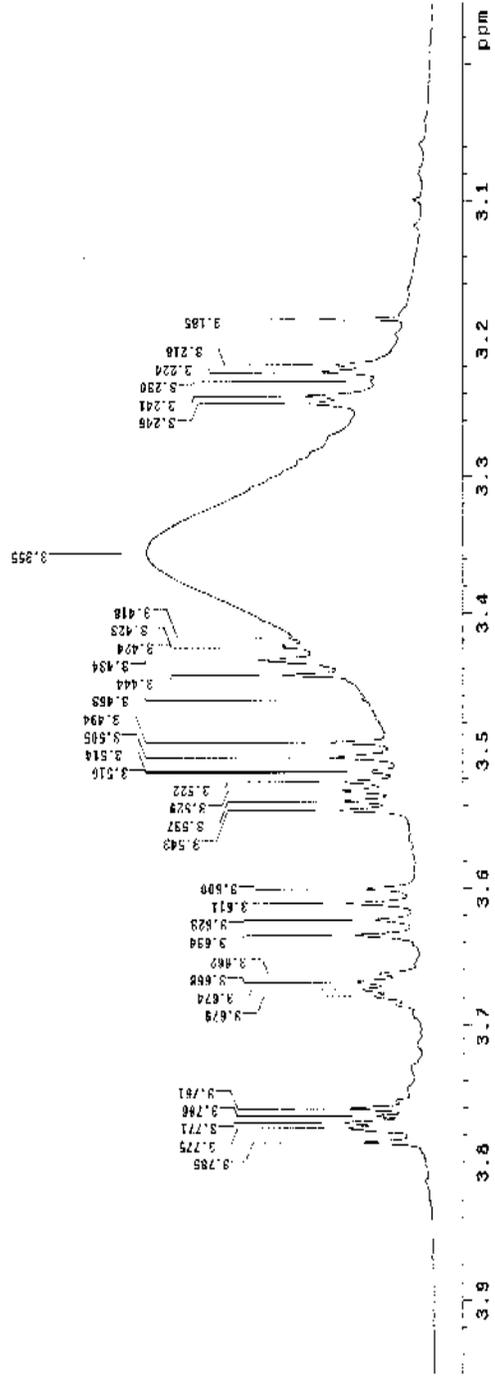


FIGURA 3C: Expansão do espectro de RMN ¹H de Jr1-120-03 (guaijaverina) em DMSO-*d*₆, 500MHz.

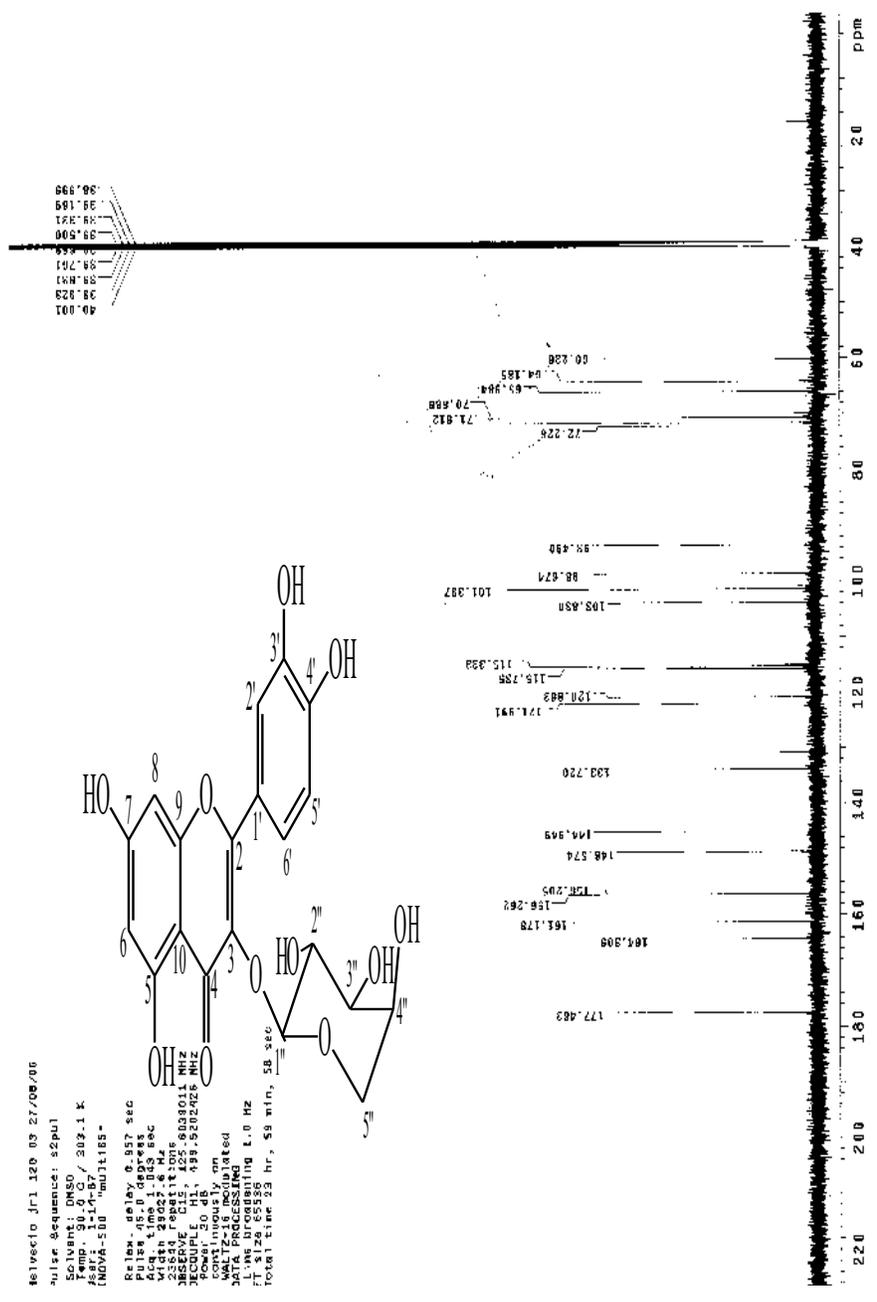


FIGURA 4C: Espectro de RMN ¹³C de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO-d₆ 126MHz.


```

Isivacio JF1 120 03 27/08/06
*Use Sequence: gHMQC
Solvent: DMSO
SER: 119-97_303.1 K
NDVA-500 "multies"
ROLEX delay 1.000 sec
Acq time 0.741 sec
Width 9810.6 Hz
IR repetitions 5
2 x 126 increments 127150 MHz
REGULTE C13 125.131685 MHz
Power 17 dB
CPT during acquisition
GAPT1 resolved
GAPT2 resolved
GAPT3 resolved
GAPT4 resolution 0.111 sec
GAPT5 resolution 0.002 sec
1 DATA PROCESSING
F1 size 4096 X 2048
Total time 1 hr, 28 min, 1 sec

```

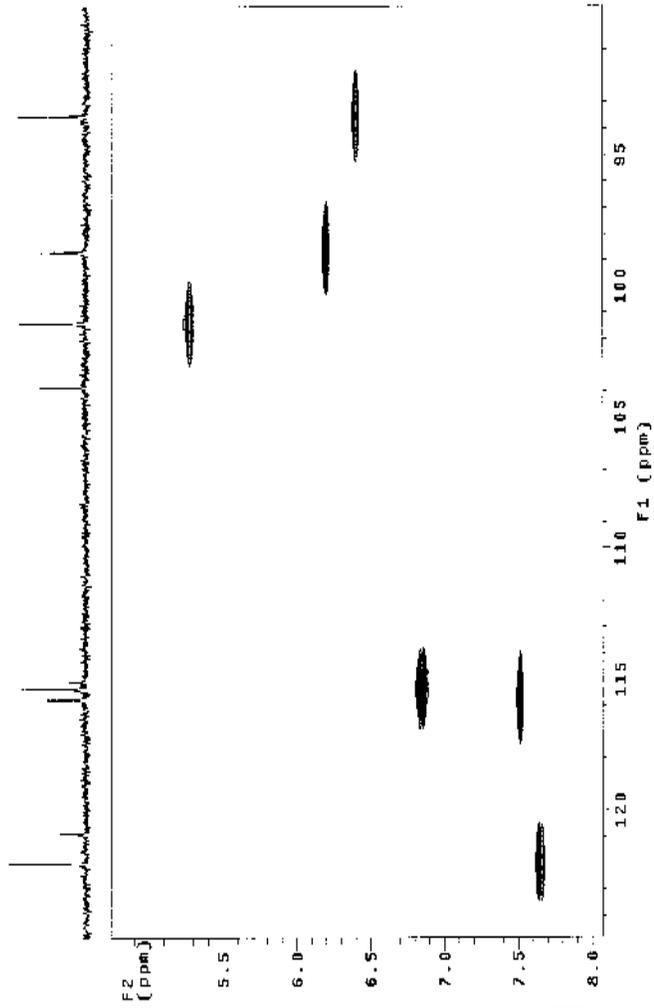


FIGURA 6C: Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de JF1-120-03 (guajaverina) em $\text{DMSO}-d_6$.

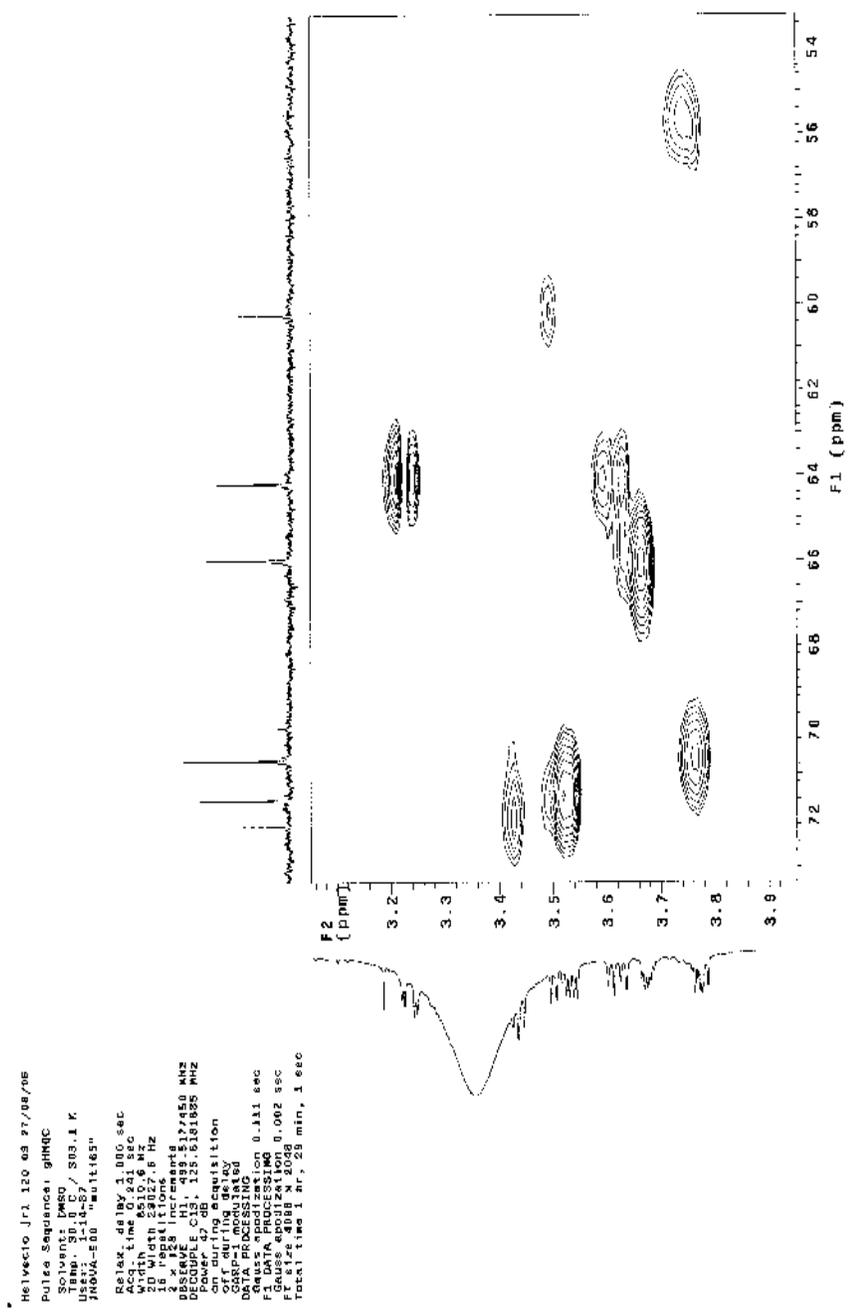


FIGURA 7C: Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de JF1-120-03 (guajaverina) em $\text{DMSO-}d_6$.

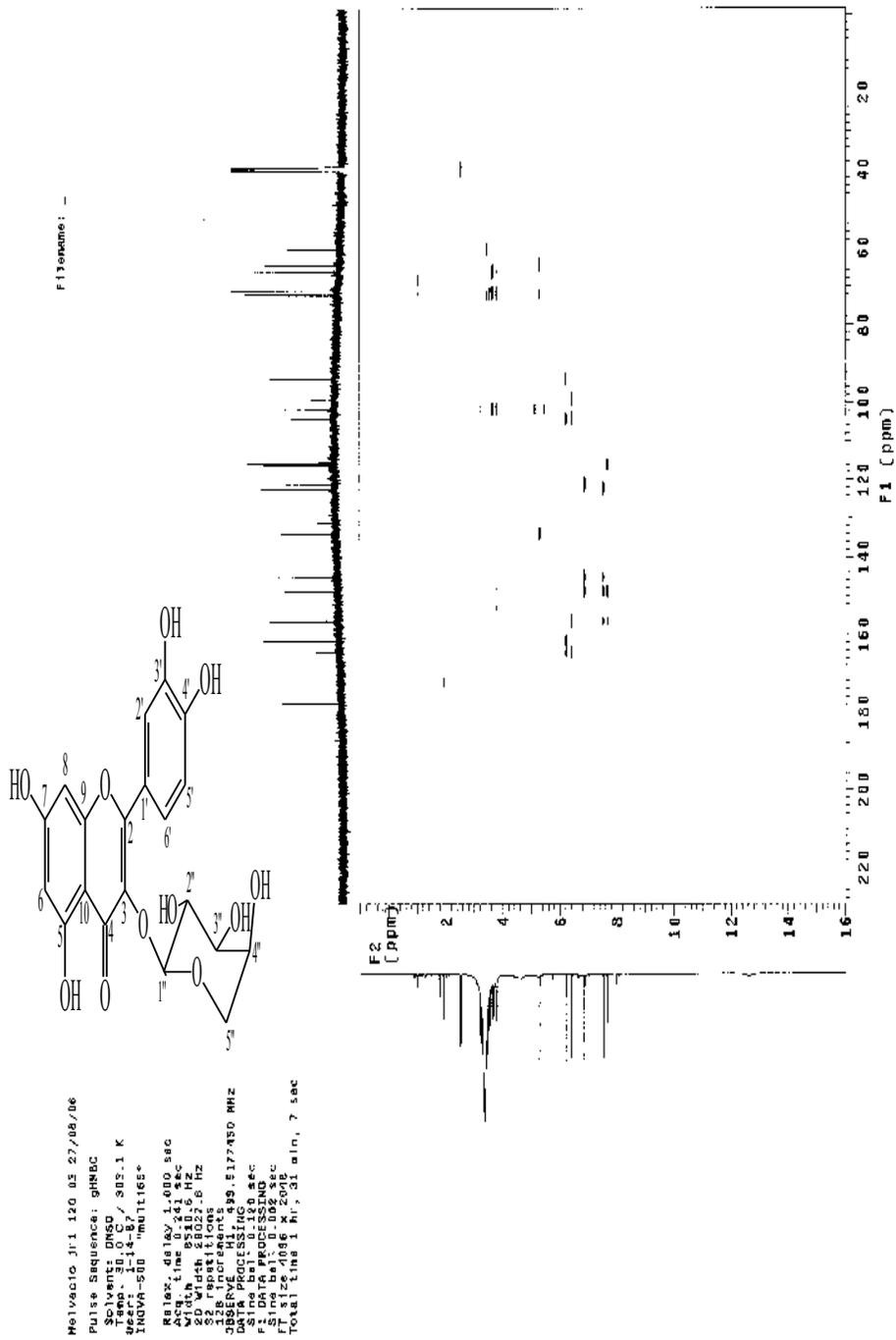


FIGURA 8C: Correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-120-03 (guaijaverina) em $\text{DMSO}-d_6$.

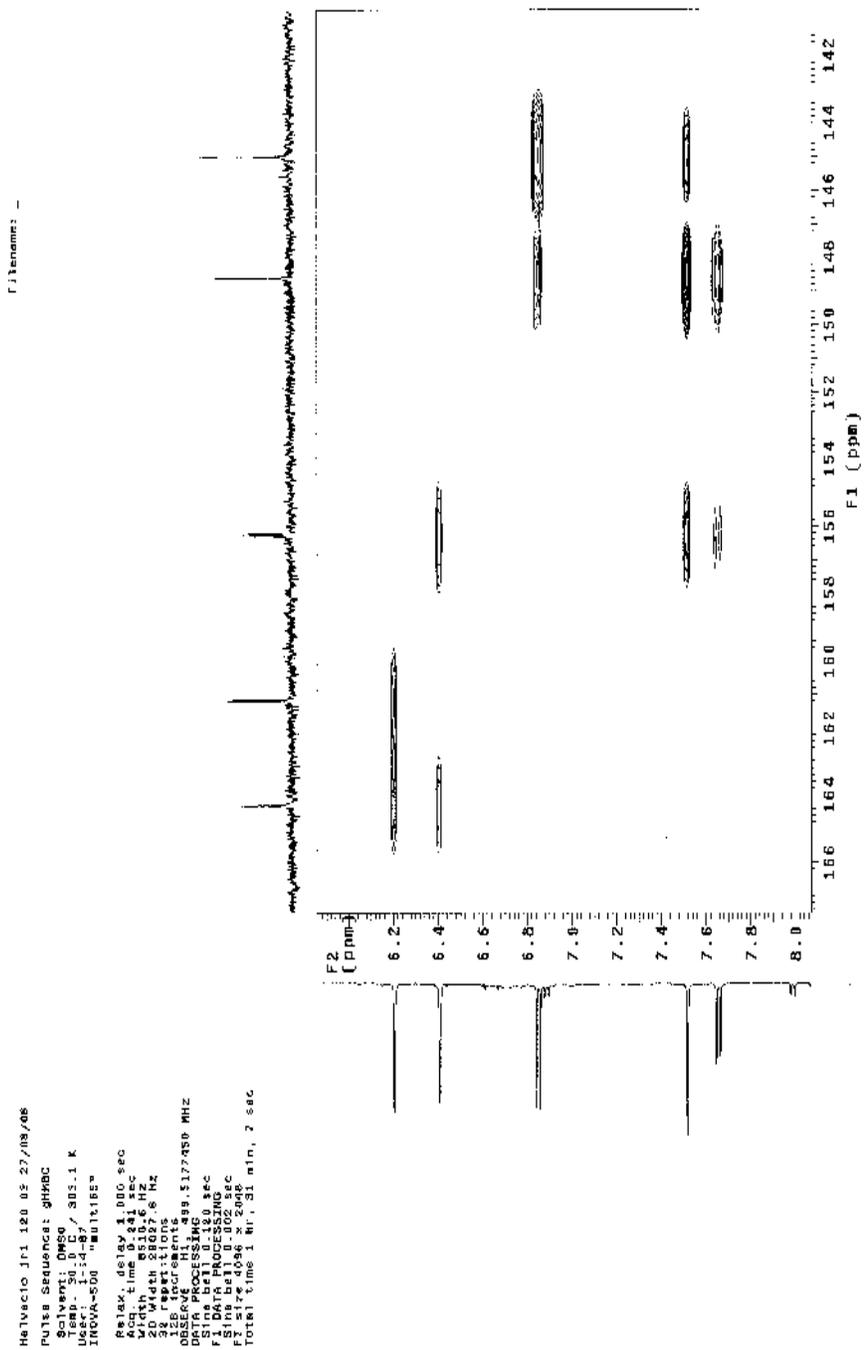


FIGURA 9C: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-120-03 (guajaverina) em $\text{DMSO}-d_6$

FILENAME: -

Nome do arquivo: Jrl_120_03_21/08/06
Pulse Sequence: gHMBC
Solvent: DMSO
Date_Time: 21-08-07 08:11 K
INDV: 1-14-07
INDV: 400 "hnu1185"
Pulse delay: 1.000 sec
Acq. time: 0.241 sec
Width: 0.510 Hz
SFO: 500.136 MHz
F2: 500.136 MHz
F1: 125.761 MHz
129 increments
Data: PROCESSING: 517750 MHz
Sine Bell: 0.120 sec
Filter Bell: 0.020 sec
FT size: 4096 x 2048
Total time: 1 hr, 31 min, 7 sec

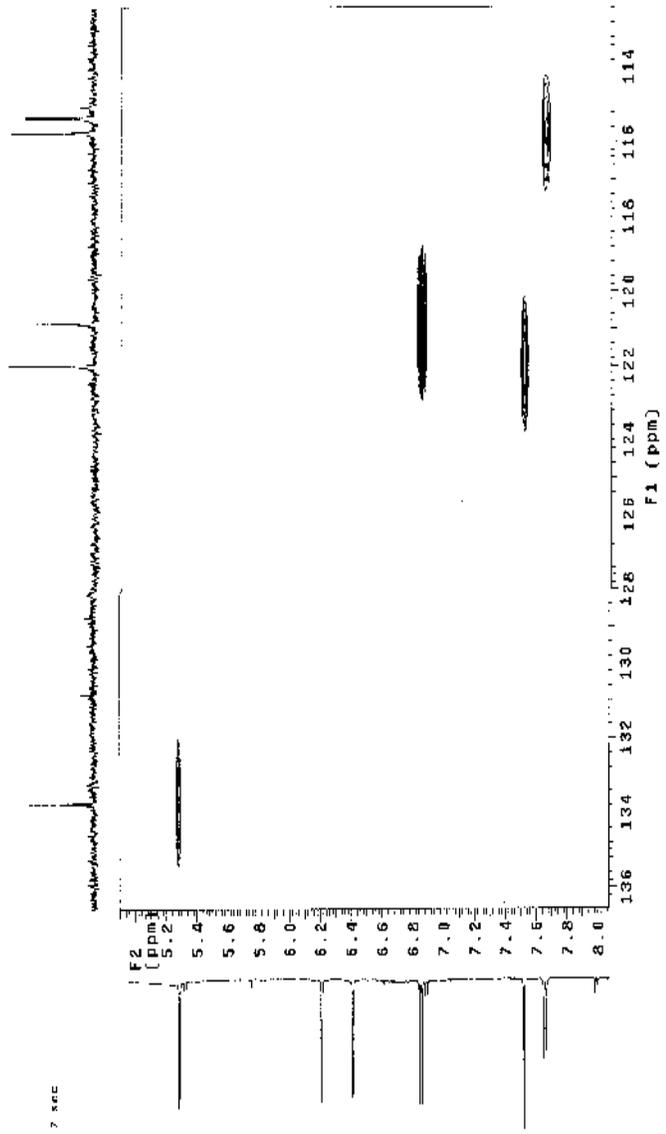


FIGURA 10C: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jrl-120-03 (guaijaverina) em $\text{DMSO-}d_6$.

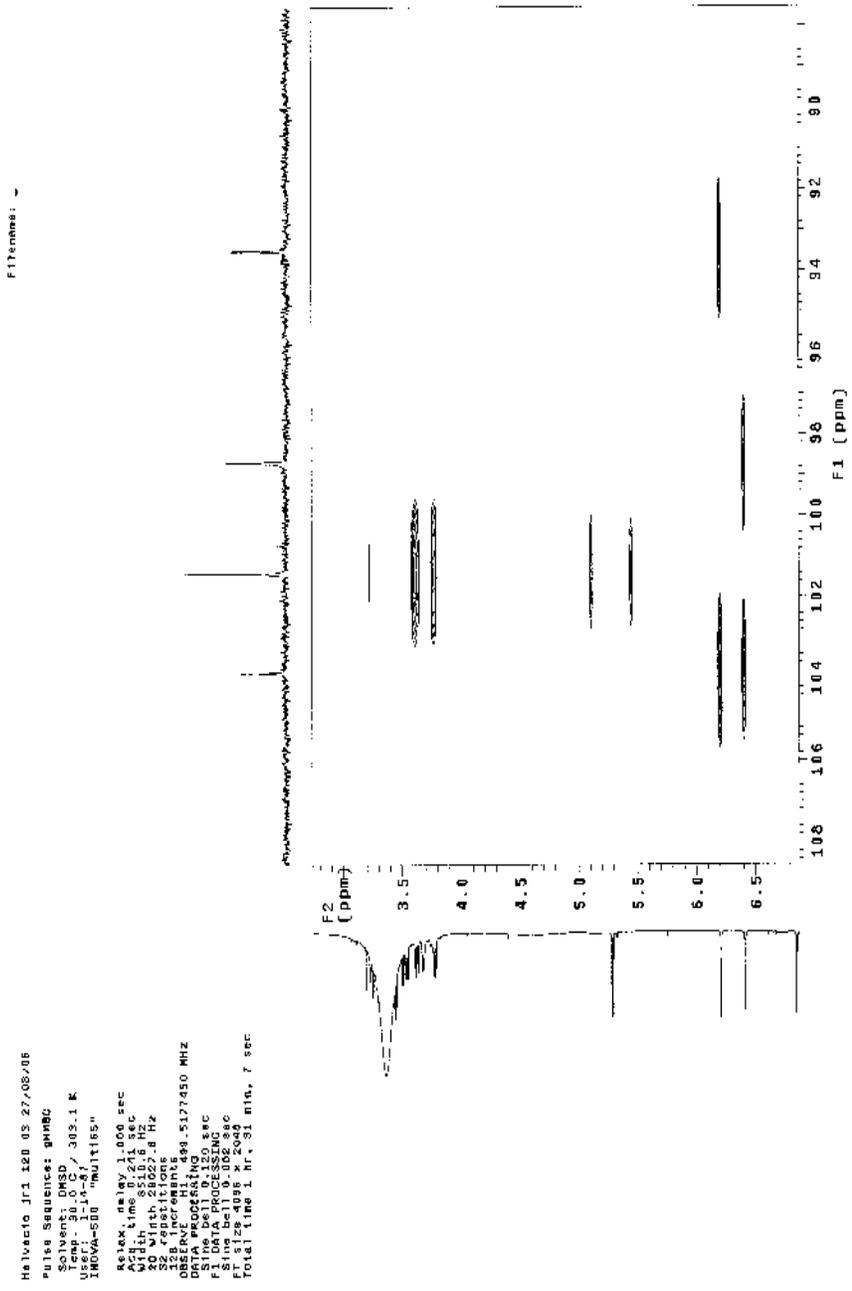


FIGURA 11C: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jrl-120-03 (guajaverina) em $\text{DMSO}-d_6$.

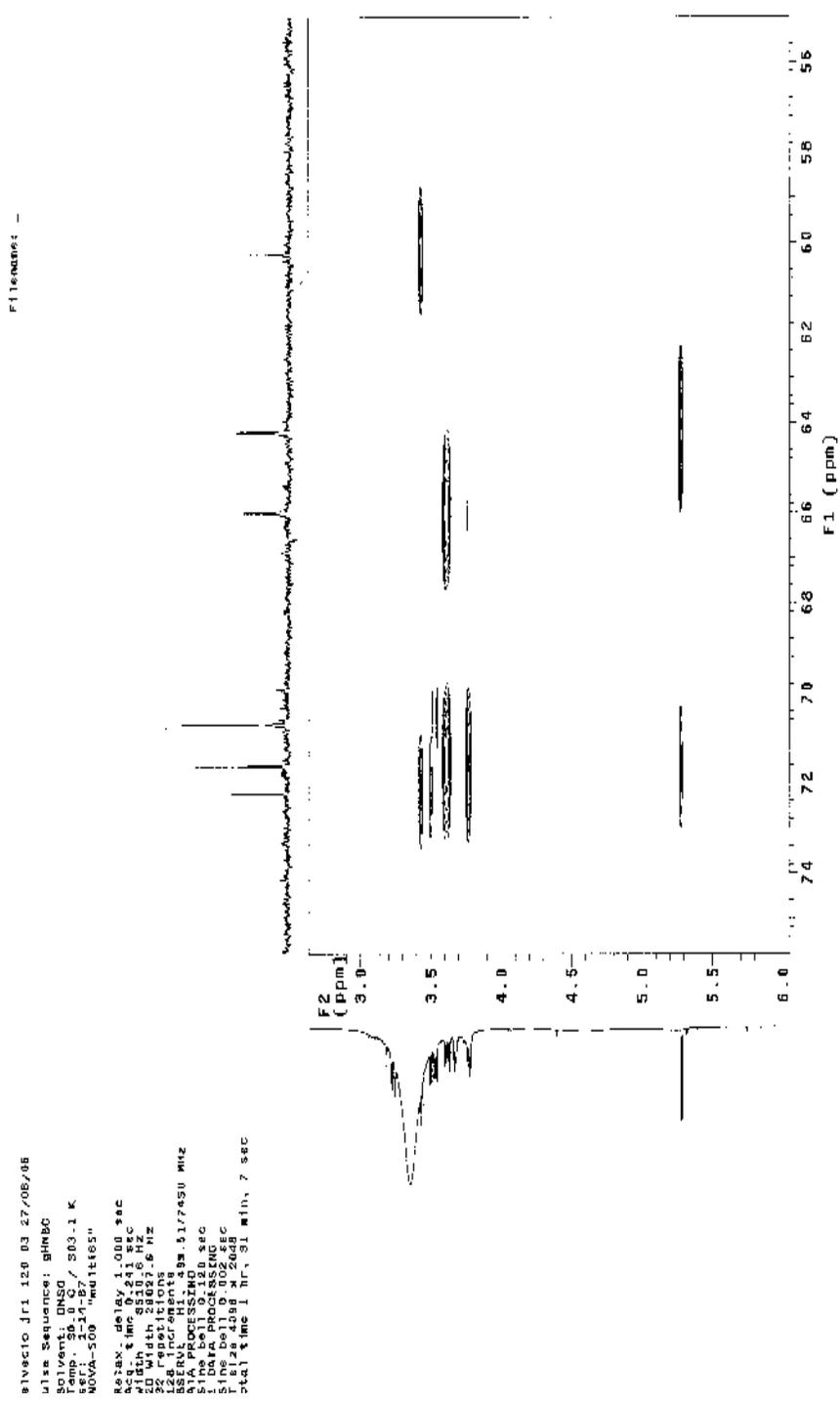
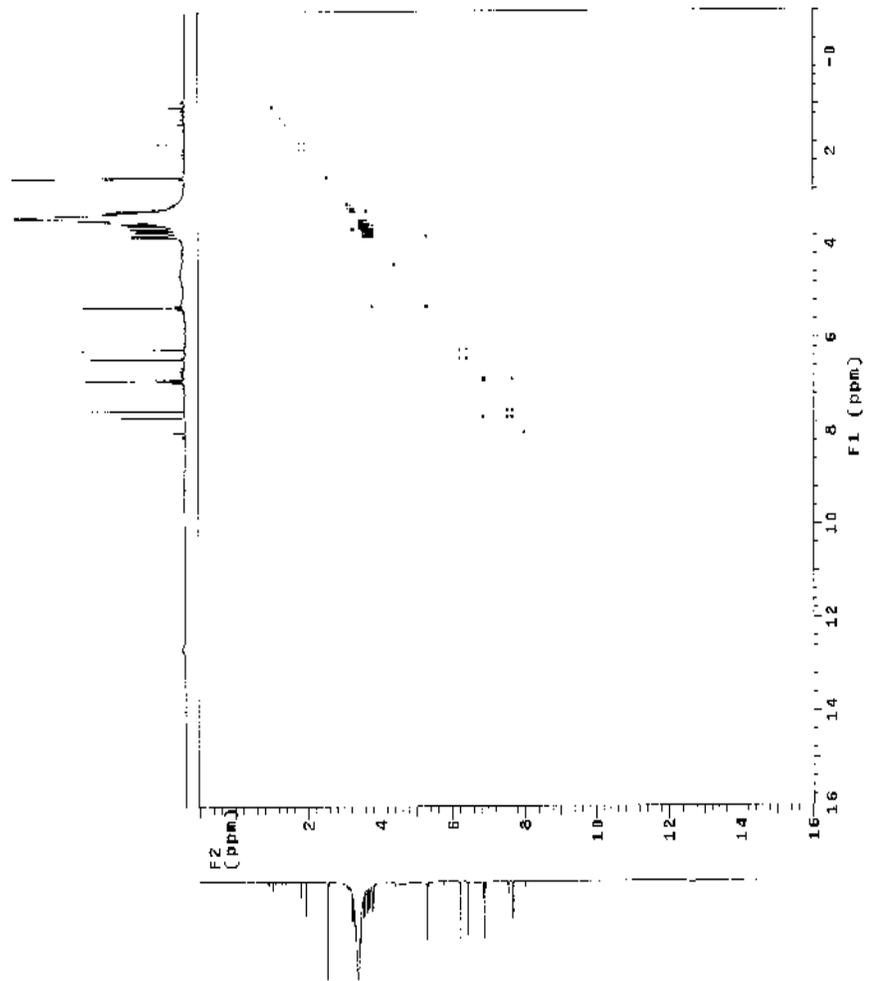


FIGURA 12C: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de J11-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6 .



```

Melvecio Jr1 120 03 27/08/06
Pulse Sequence: gCOSY
Solvent: DMSO
INSTRUM: spect
PROBHD: 5mm 1H/13
P1: 12.00
Relax. de lev.: 1.000 sec
Acq. time: 05:16.56
2D Width: 9510.6 Hz
3D Width: 9510.6 Hz
128 FID CHANNELS
128 FID CHANNELS
DESCRIBE: H1 498.5177450 MHz
SA: 517.88110.120 sec
F1 DATA PROCESSING: 8 sec
F2 DATA PROCESSING: 8 sec
Total time: 43 min, 52 sec
  
```

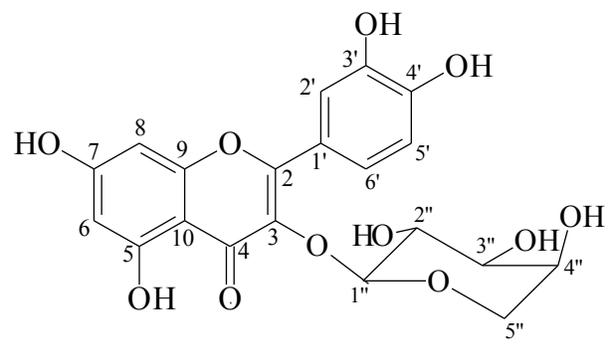


FIGURA 13C: Correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-120-03 (guajaverina) em $\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz.

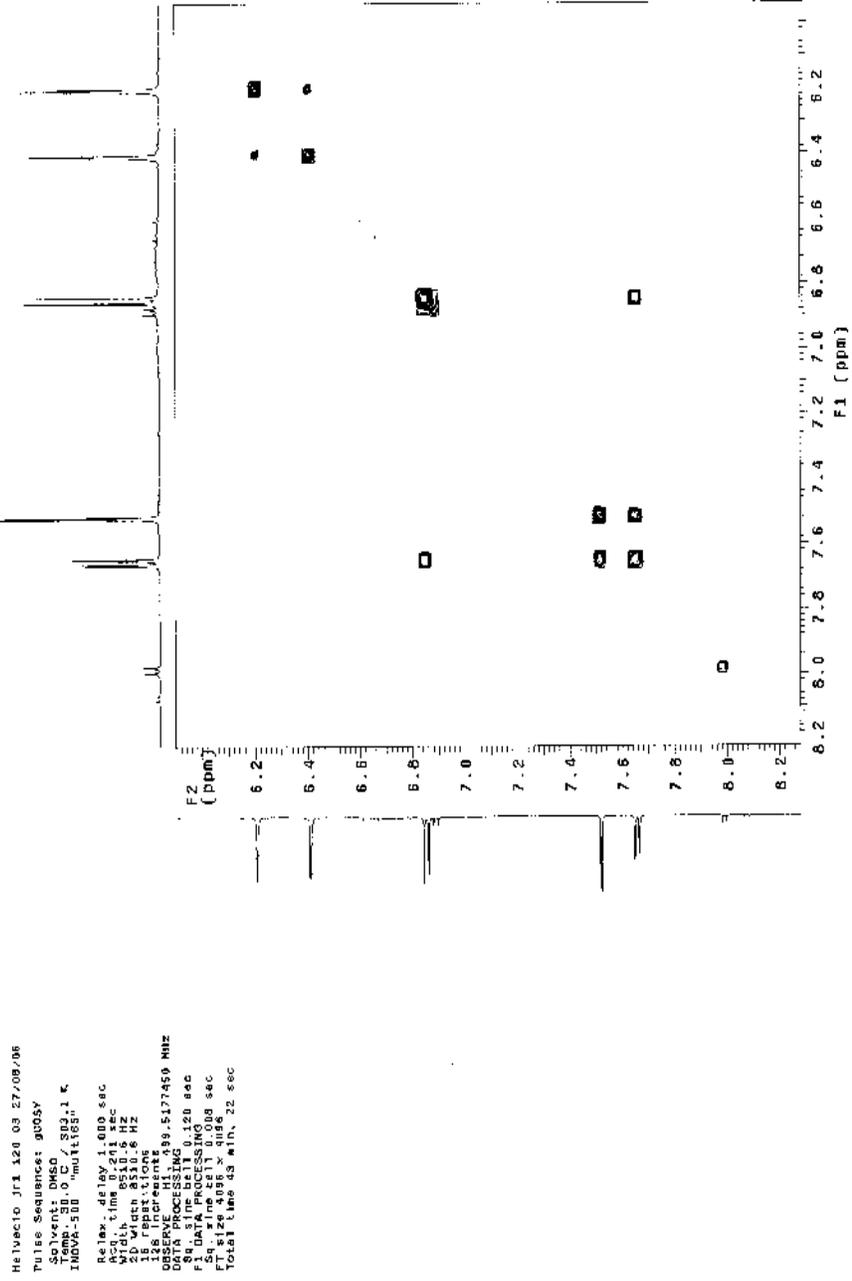


FIGURA 14C: Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-120-03 (guaijaverina) em $\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz.

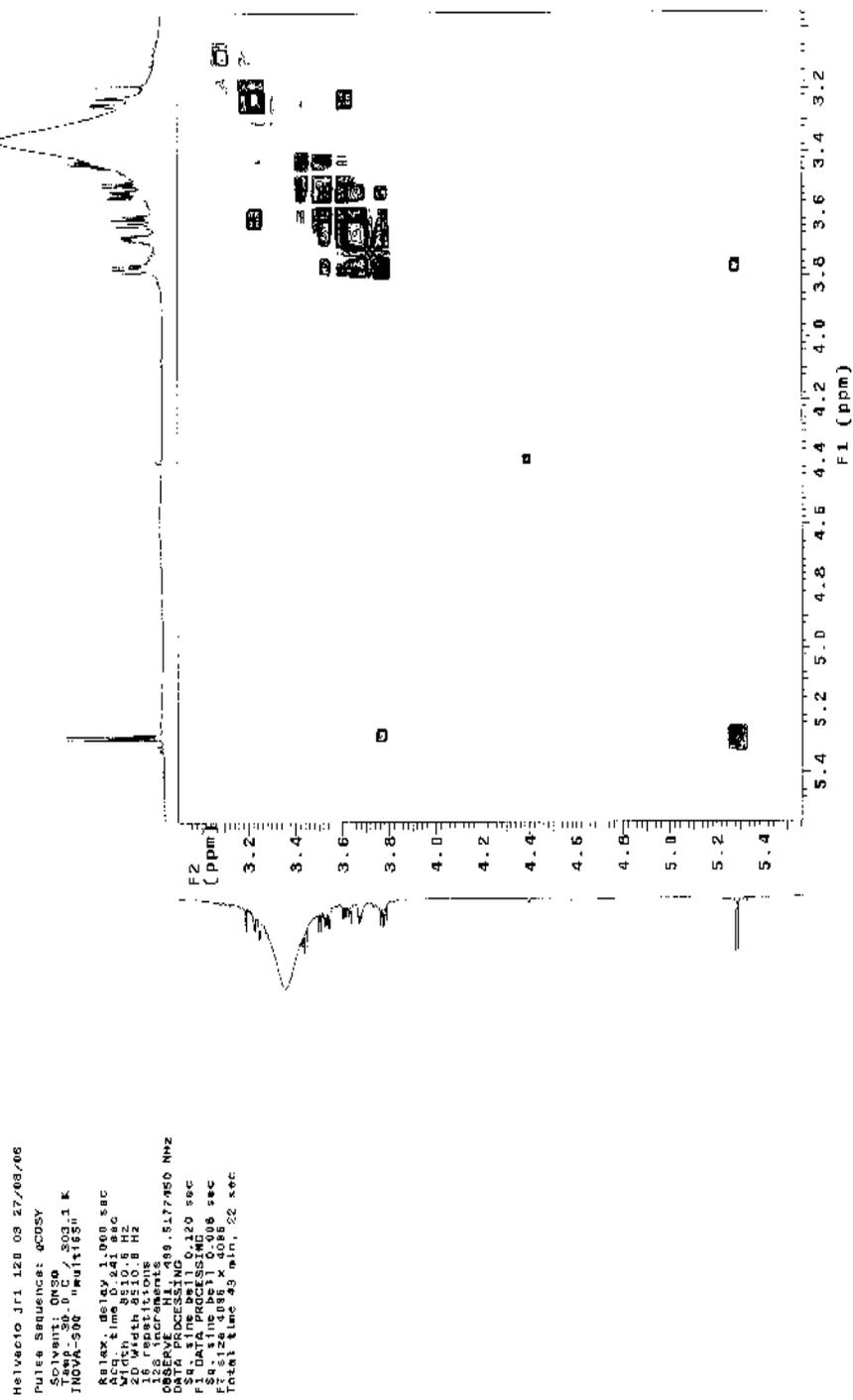


FIGURA 15C: Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-120-03 (guajaverina) em $\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz.

```

HelVecio Jr1 120 03 27/08/06
Pulsa Sequence: TOCSY1D
Solvent: DMSO
INDIC-500 - "mult:165"
Relax - delay 1.000 sec
Pulse 0.000 sec
MIXING 0.100 sec
Acc. time 4.000 sec
64 repetitions
DSSOLVE: H1, 399.5177150 MHz
P1 1.000 sec
P2 1.000 sec
FT size 131024
Total time 6 min, 3 sec
  
```

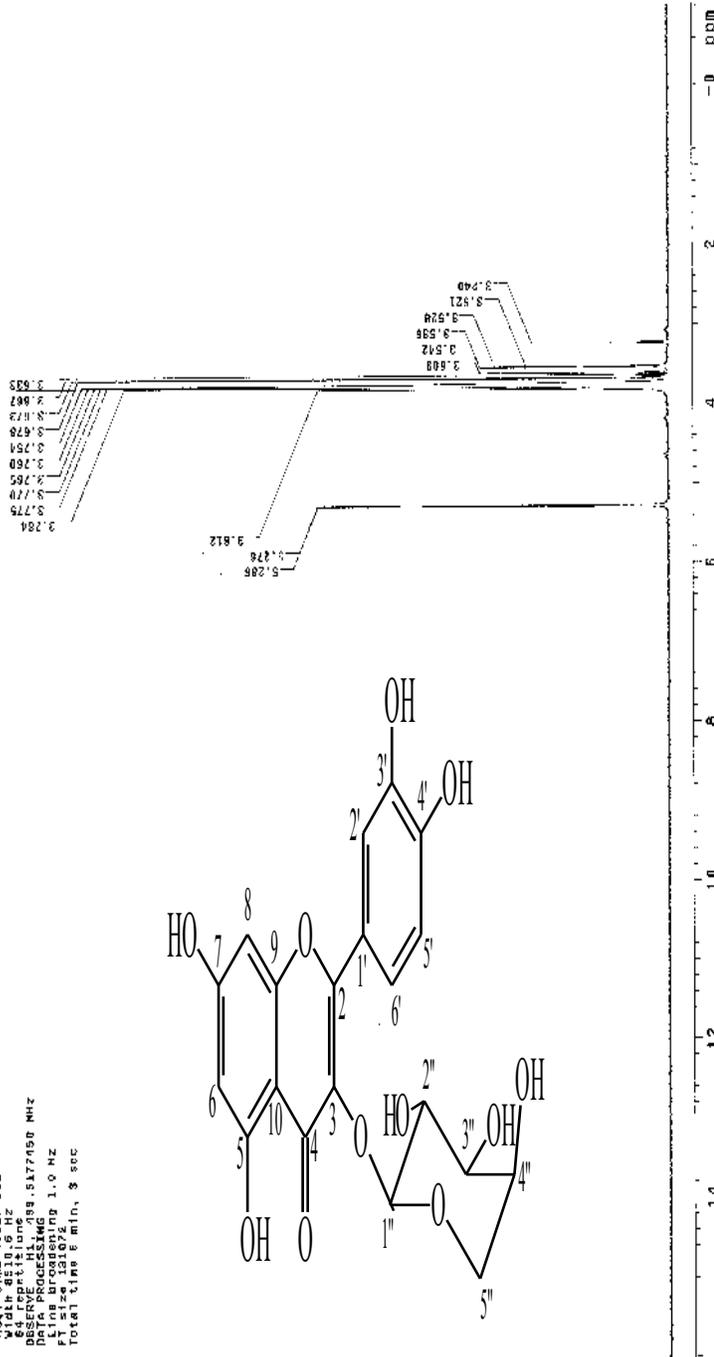
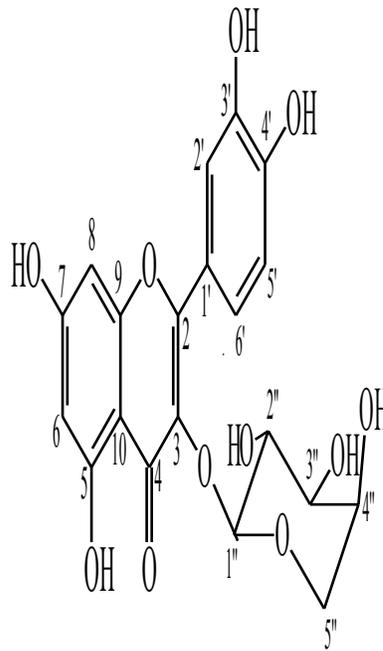


FIGURA 16C: TOCSY 1D de Jr1-120-03 (quercetin-3-O-beta-D-glucopyranoside) em DMSO-d₆, 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 5,28 (1H; d, J=5,0)].

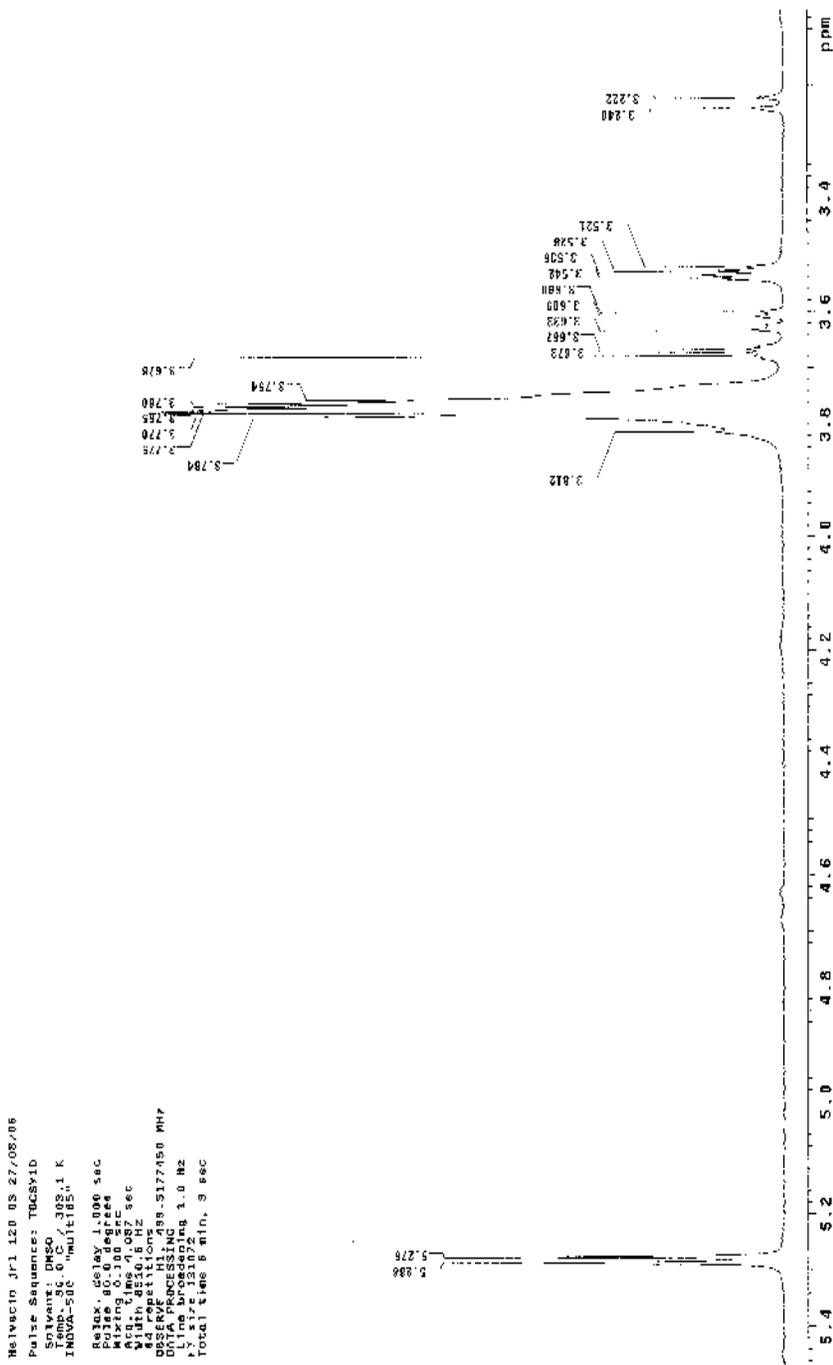


FIGURA 17C: Expansão do TOCSY 1D de Jr1-120-03 (guajaverina) em DMSO- d_6 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 5,28 (1H; d, J=5,0)].

Helvecio Jr1 120-04 07/08/05
Pulse Sequence: sfpul
Solvent: DMSO
INSTR: EBB
K1ex_datax_0.00 sec
K1ex_time_0.105 sec
K1ex_gain_1.000 sec
K1ex_sfr_4.105 sec
Width 8510.6 Hz
ORSEPR0 L1 0.499 -545525 MHZ
DATA PROCESSING
Total Time 0 min, 33 sec

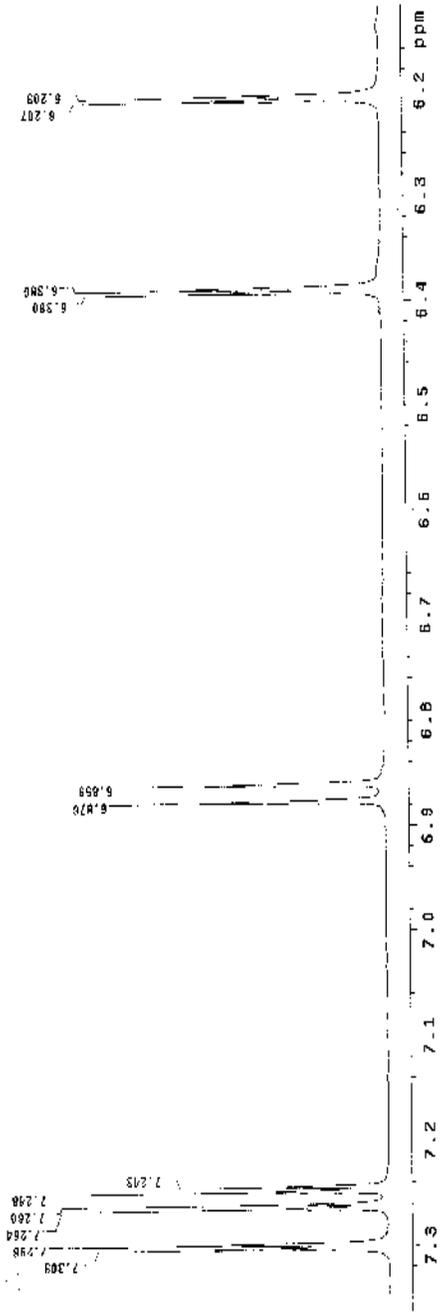


FIGURA 19C: Expansão do espectro de RMN ¹H de Jr1-120-04 (quercetina 3-O-α-L-rhamnopyranosídeo) em DMSO-d₆ 500MHz.

```

Helvecio Jr1 120-04 07/08/06
Pulse sequence: s2pwl
Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C / 303.1 K
INVA-500 "mu1111ES"
PULSE delay 0.804 sec
PULSE 45.0 degrees
Acq: time 4.878 sec
FID 0
RESOLUTIONS HZ
OBSERVE H1, 488.524525 MHz
DATA PROCESSING
TOTAL TIME 0 min, 38 sec

```

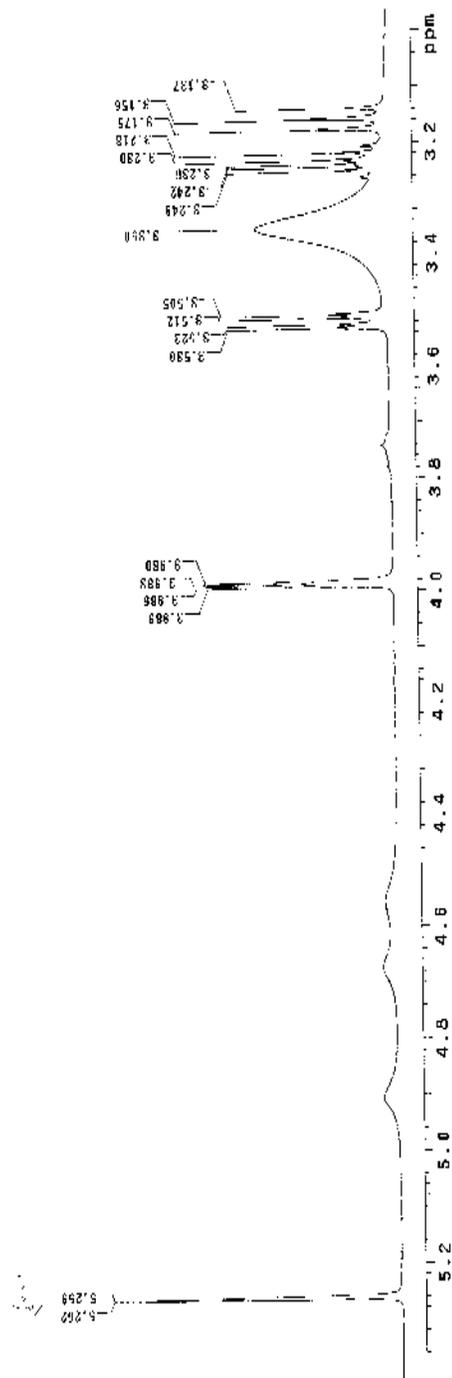


FIGURA 20C: Expansão do espectro de RMN ¹H de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO-*d*₆, 500MHz.

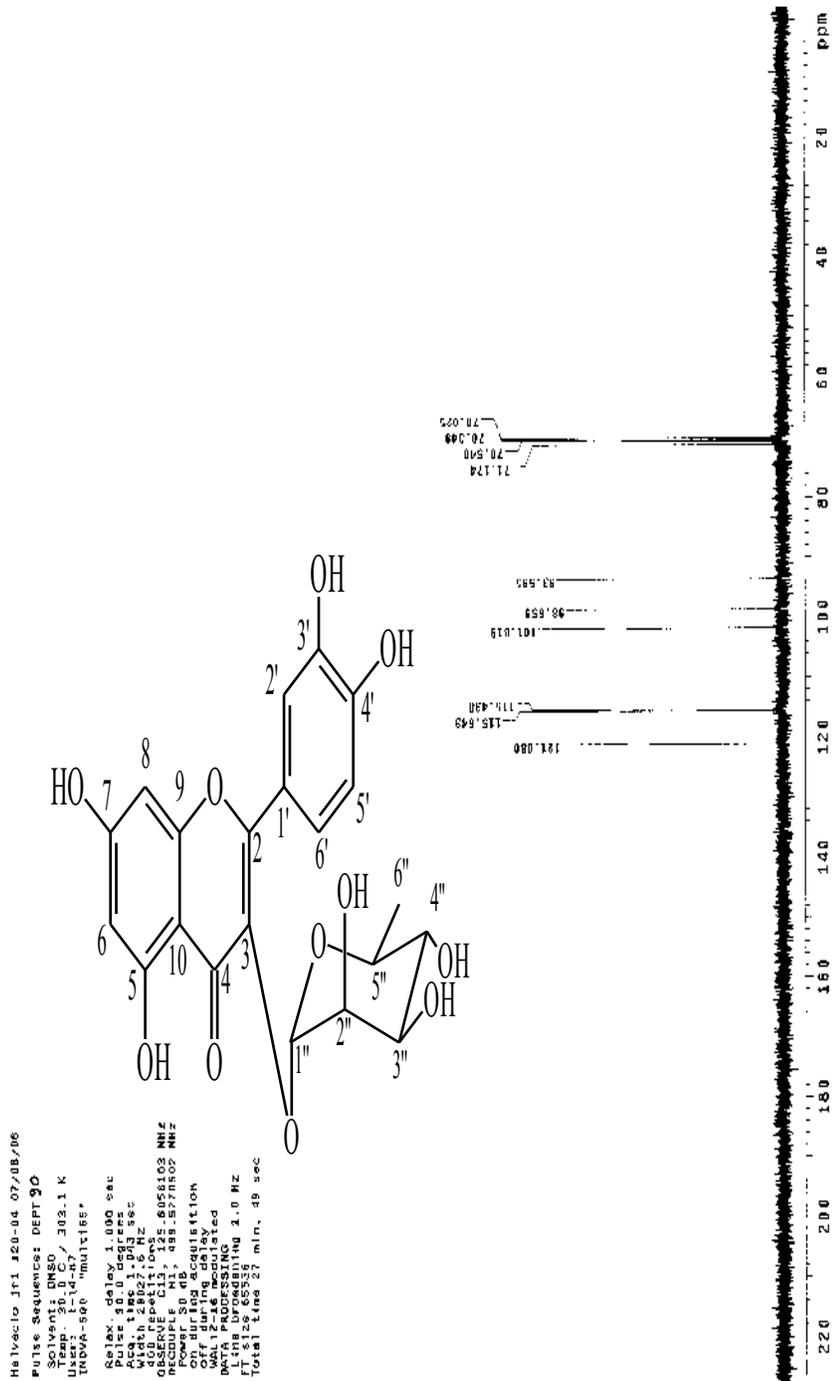


FIGURA 22C: DEPT 90° de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 126 MHz.

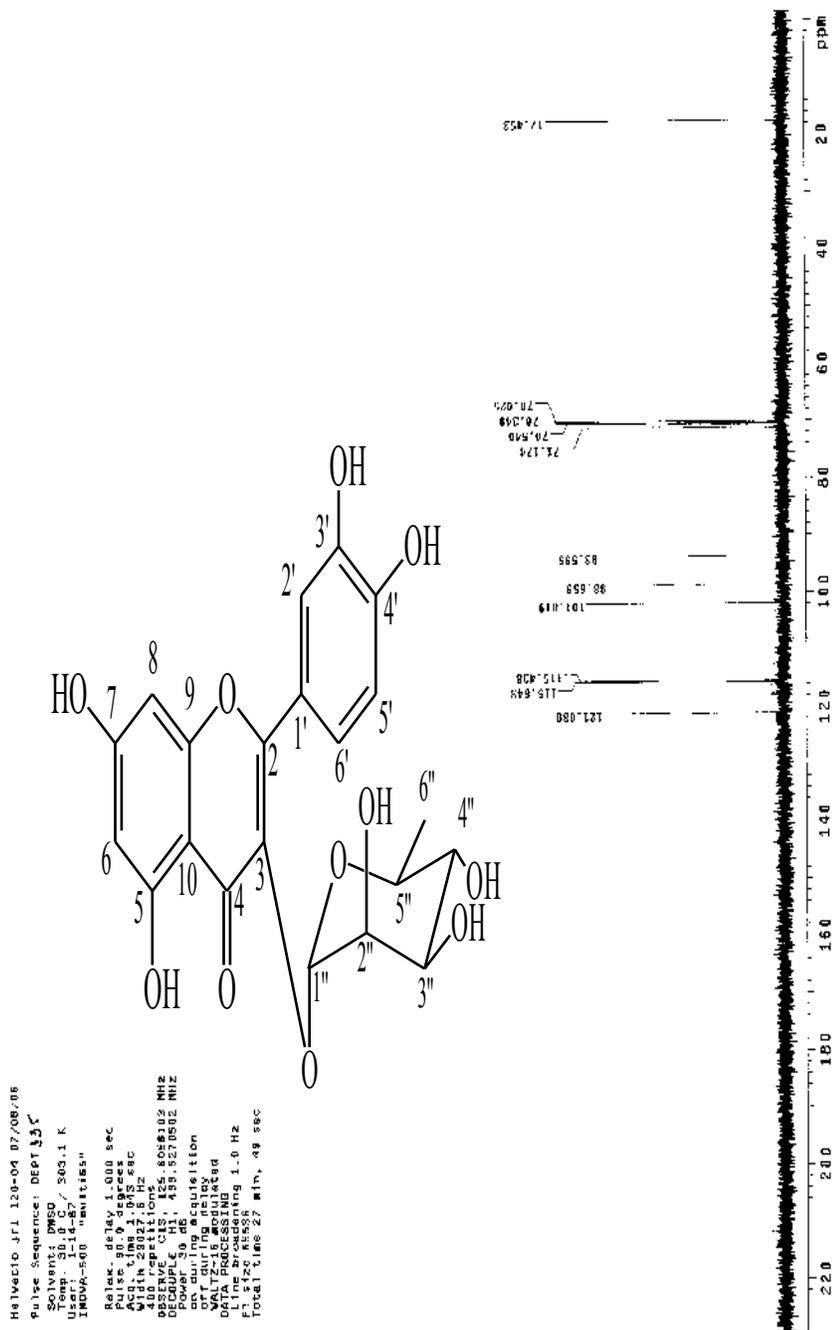


FIGURA 23C: DEPT 135° de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 126 MHz.

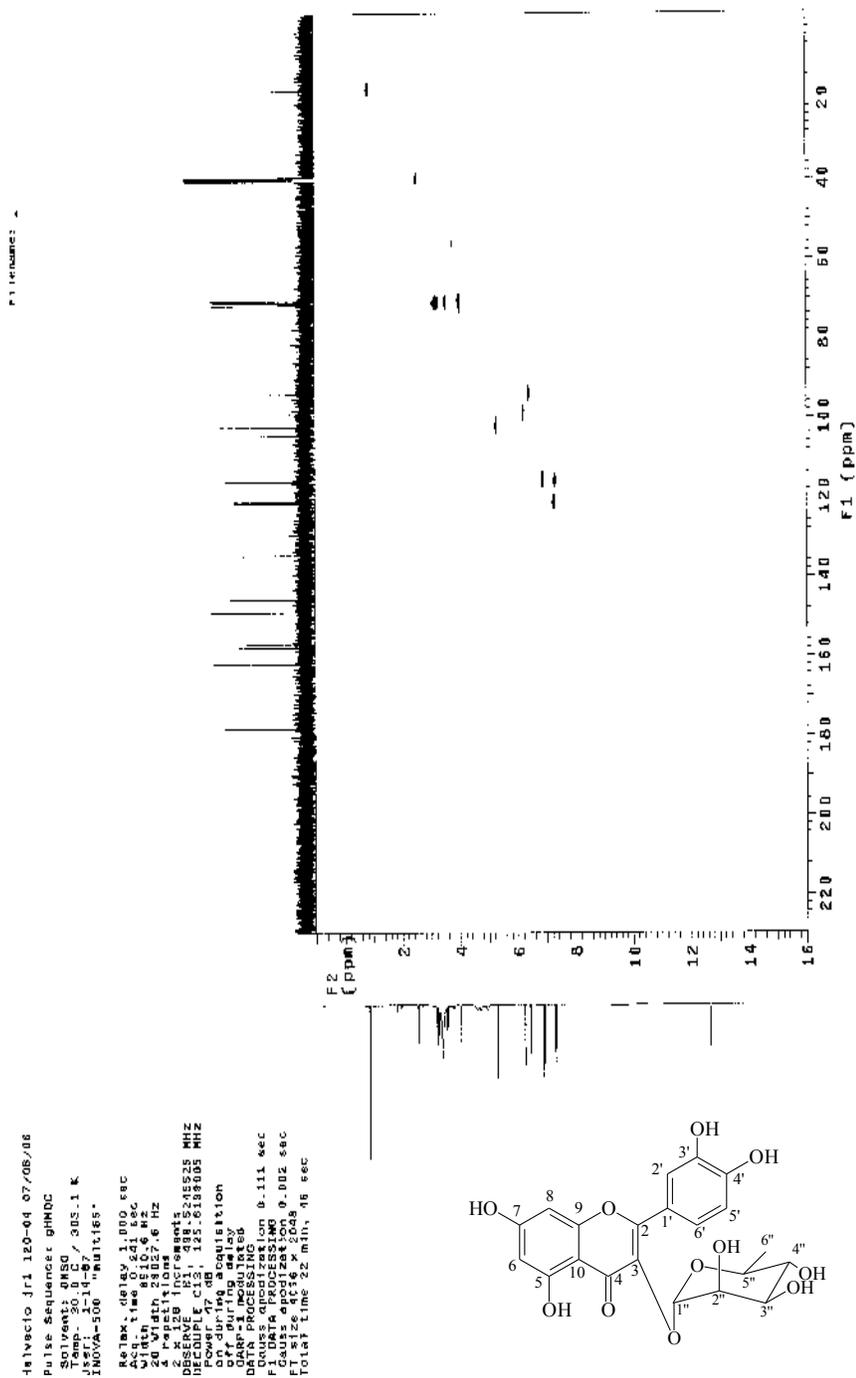


FIGURA 24C: Correlação heteronuclear a curta distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-rhamnopiranosídeo) em $\text{DMSO}-d_6$.

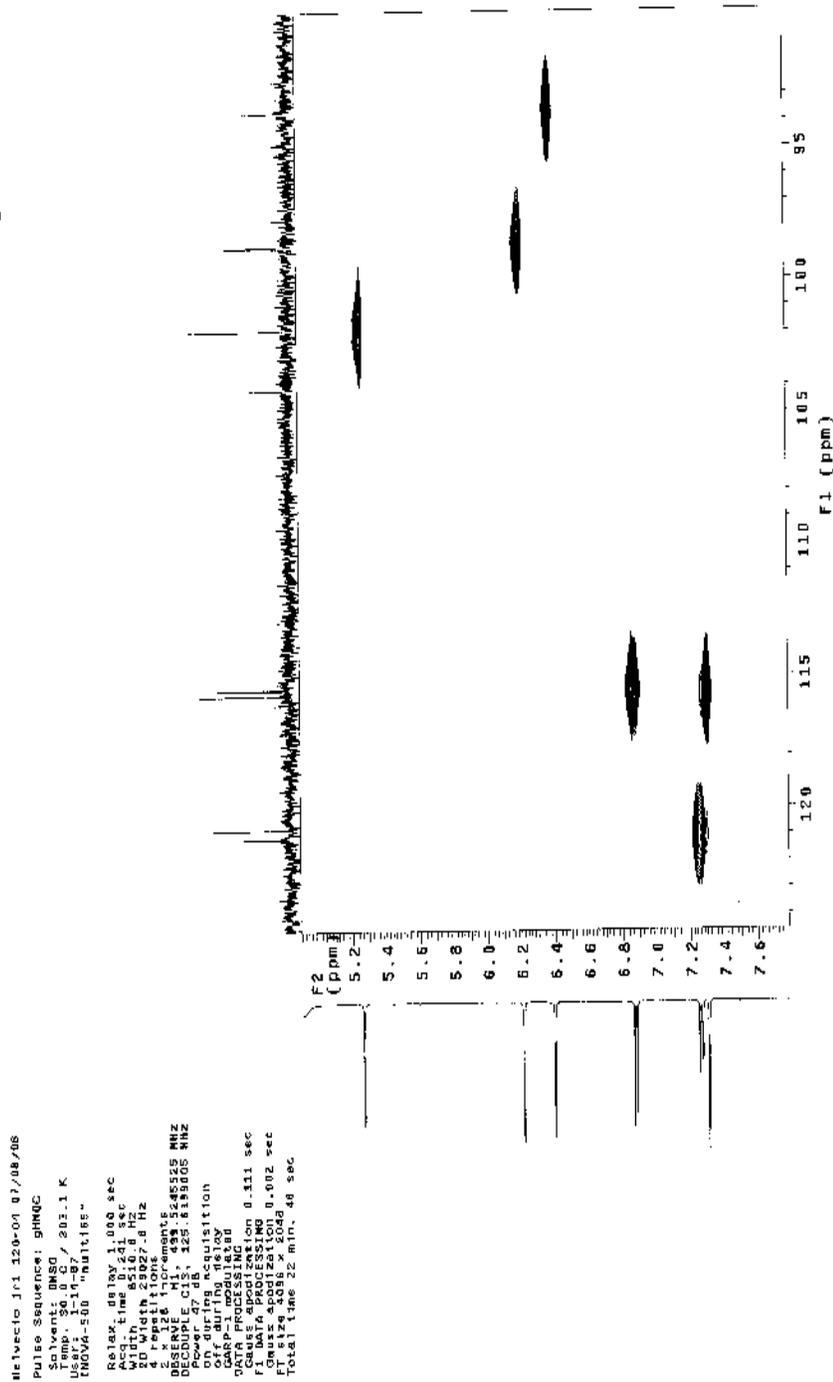


FIGURA 25C: Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-rhamnopiranosídeo) em DMSO- d_6 .

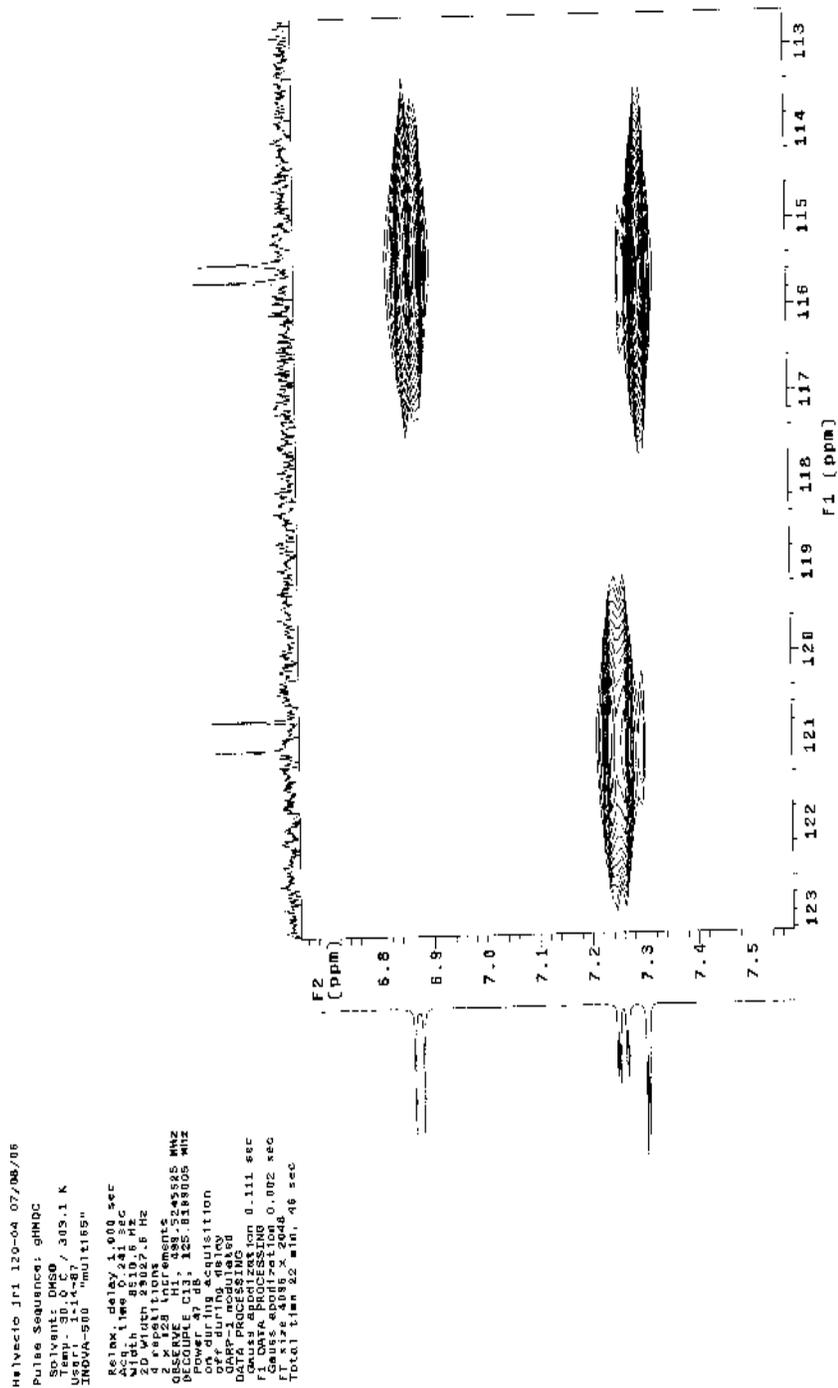


FIGURA 26C: Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMQC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-rhamnopyranosídeo) em DMSO- d_6 .

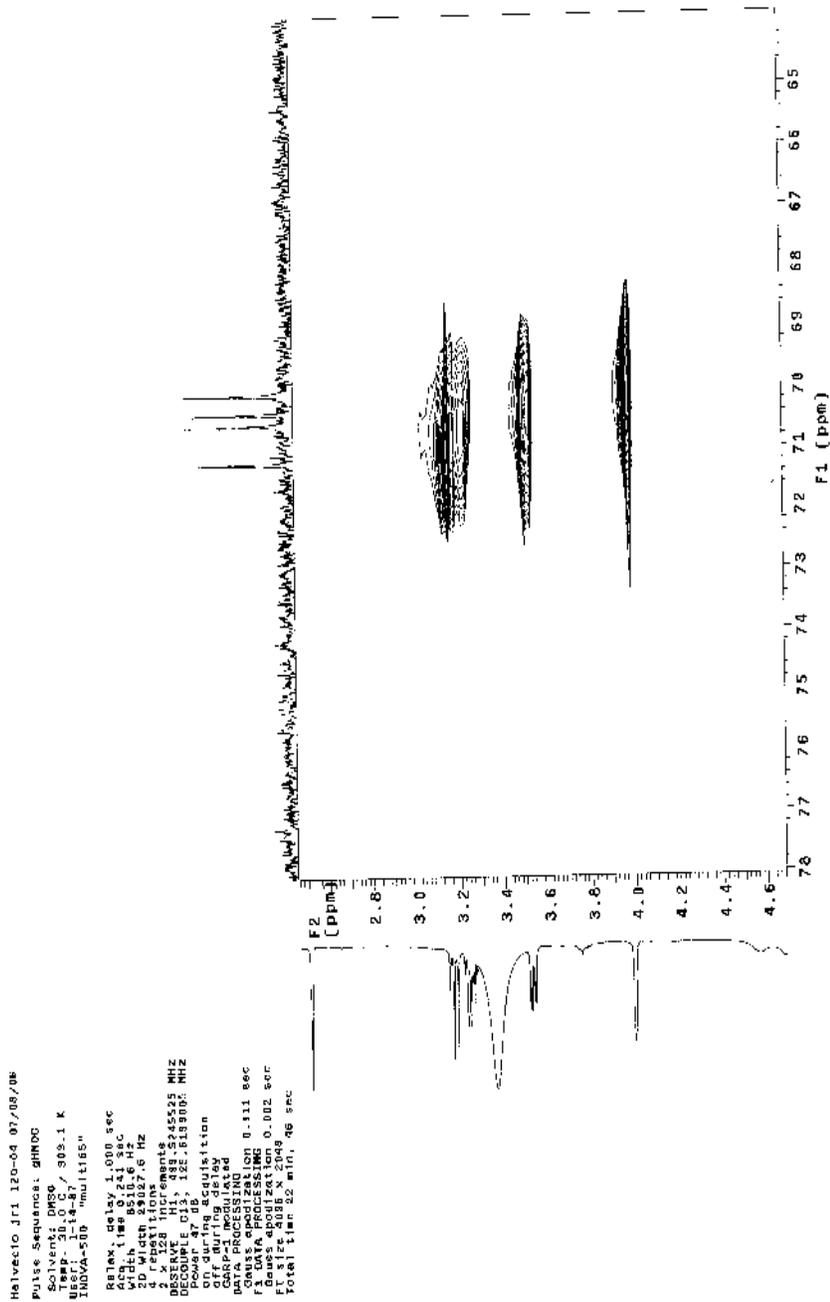


FIGURA 27C: Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMOC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-rhamnopyranosídeo) em DMSO- d_6 .

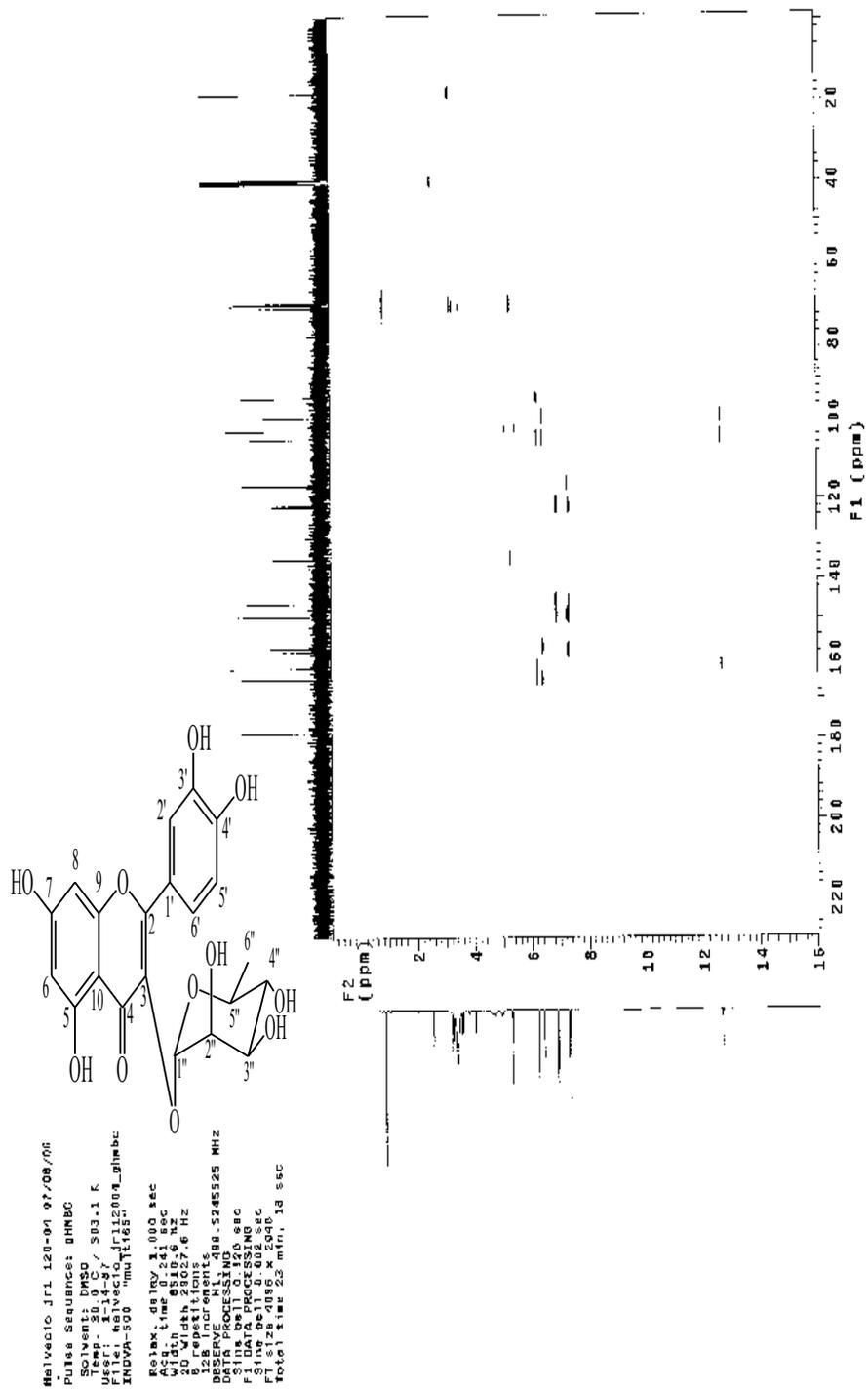


FIGURA 28C: Correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 .

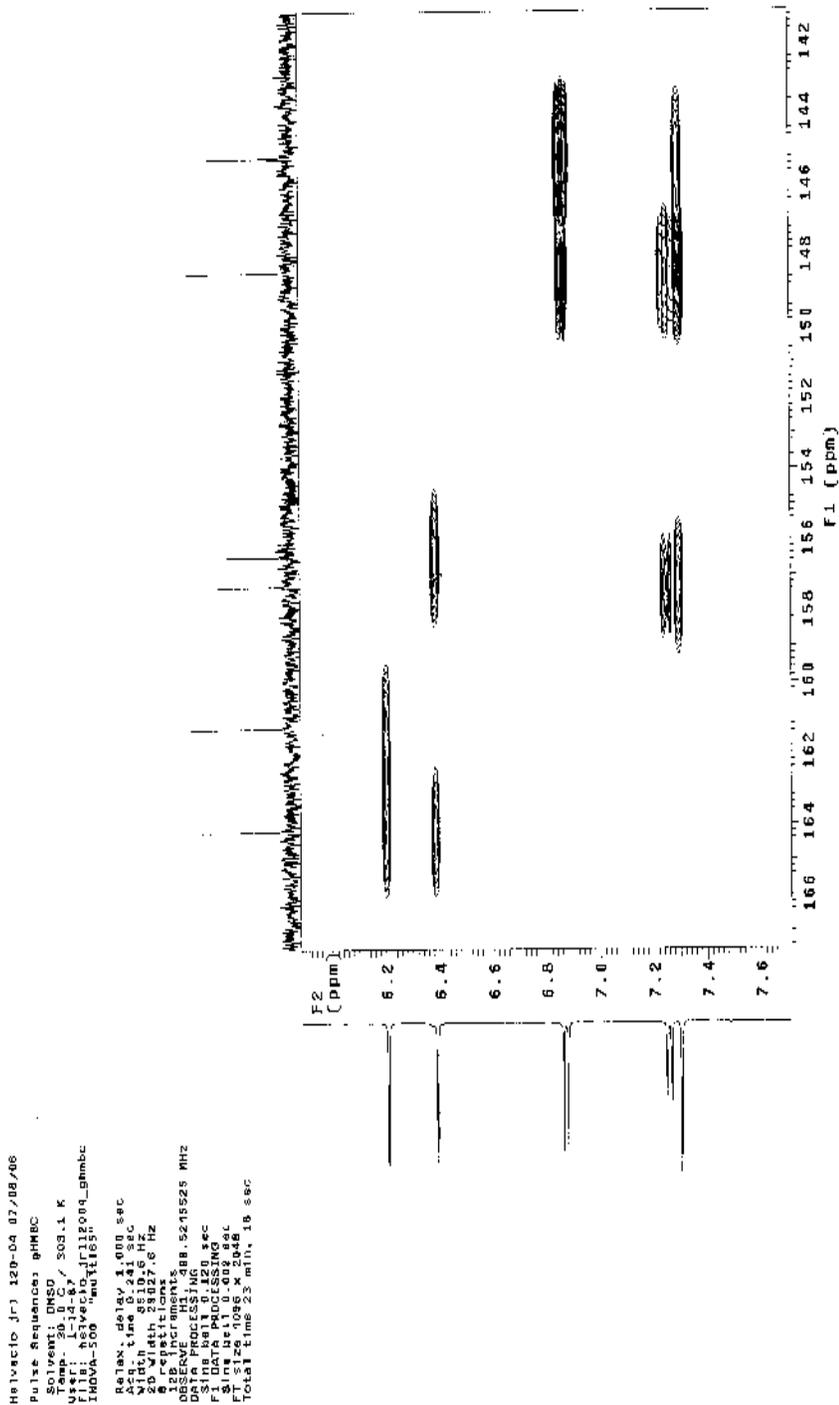


FIGURA 29C: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jrl-120-04 (quercetina 3-O- α -L-rhamnopiranosídeo) em $\text{DMSO}-d_6$.

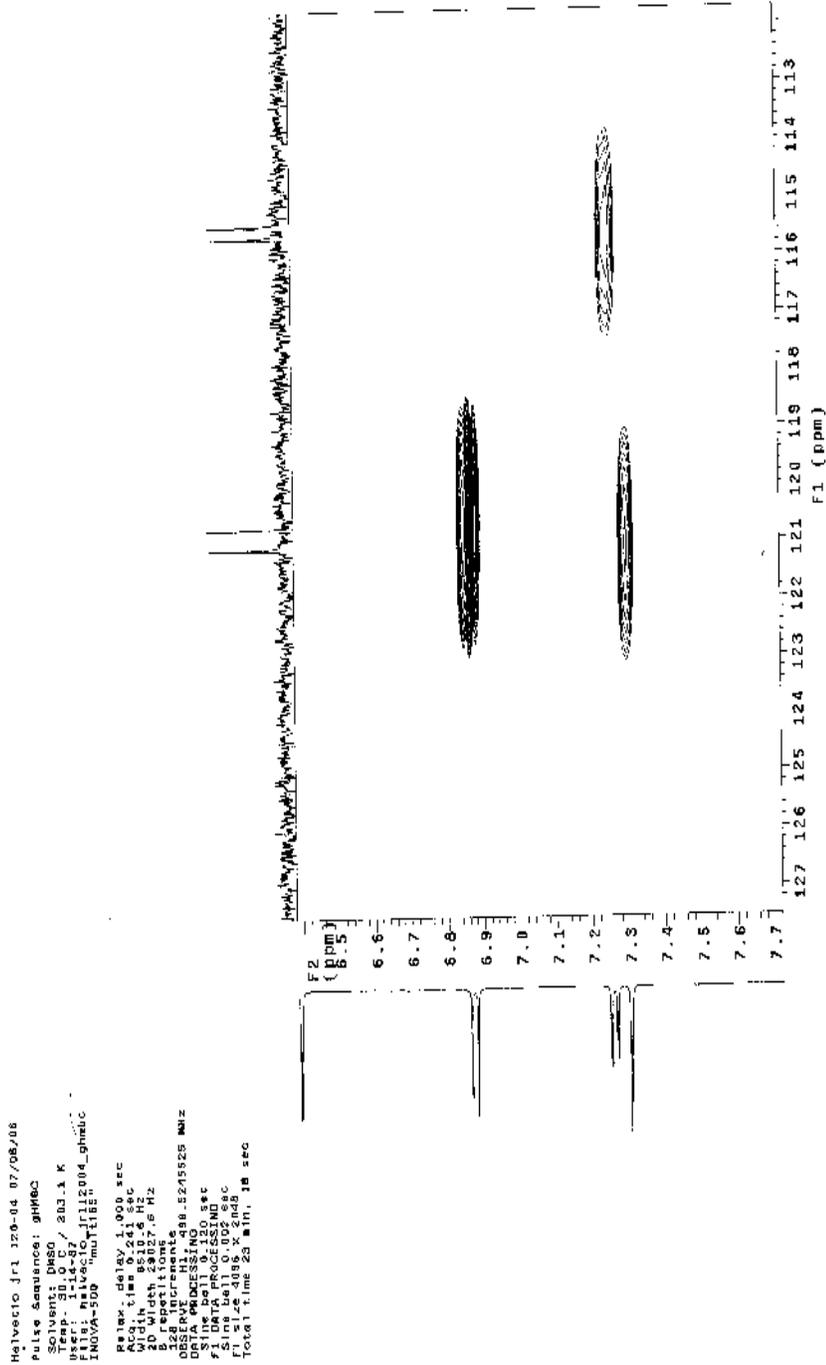


FIGURA 30C: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-rhamnopiranosídeo) em DMSO- d_6 .

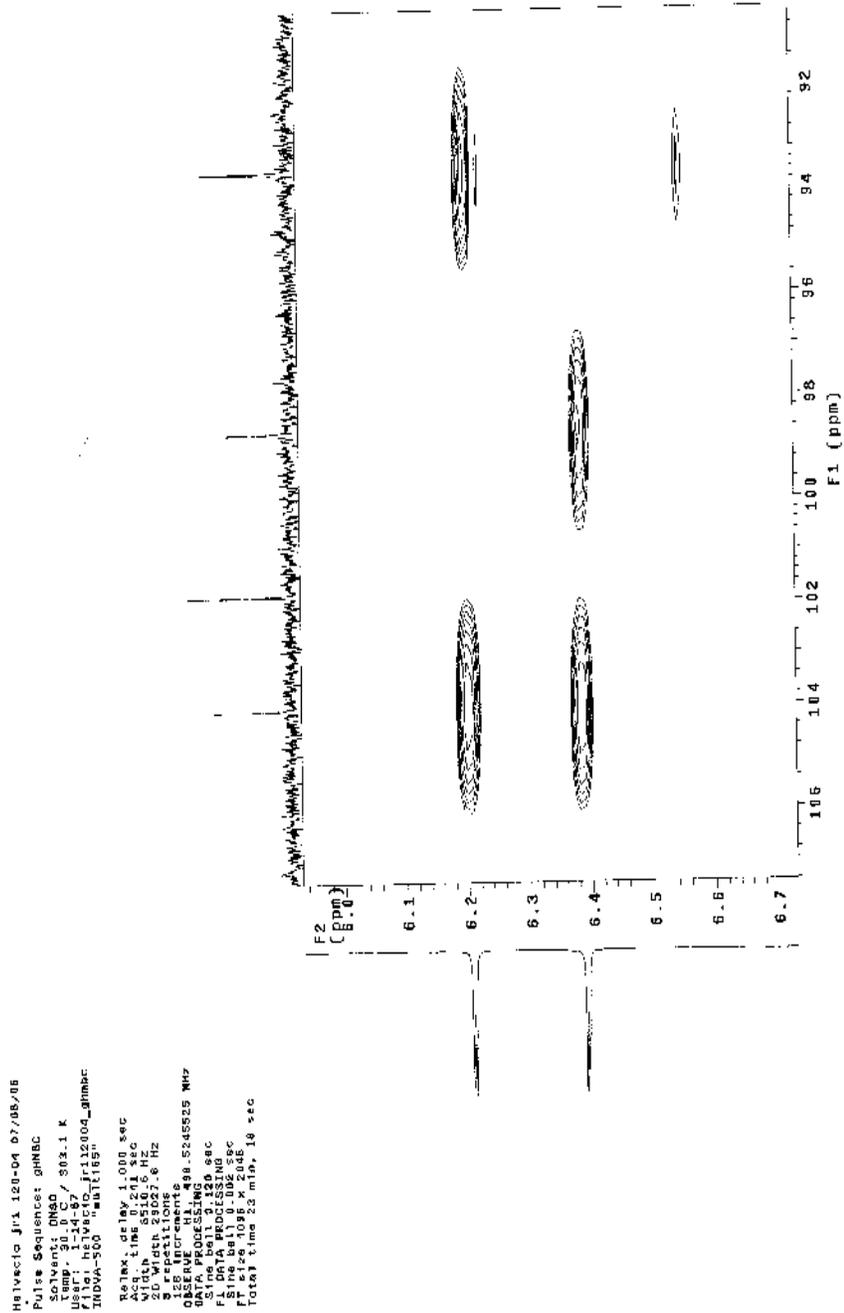


FIGURA 31C: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-rhamnopyranosídeo) em $\text{DMSO}-d_6$.

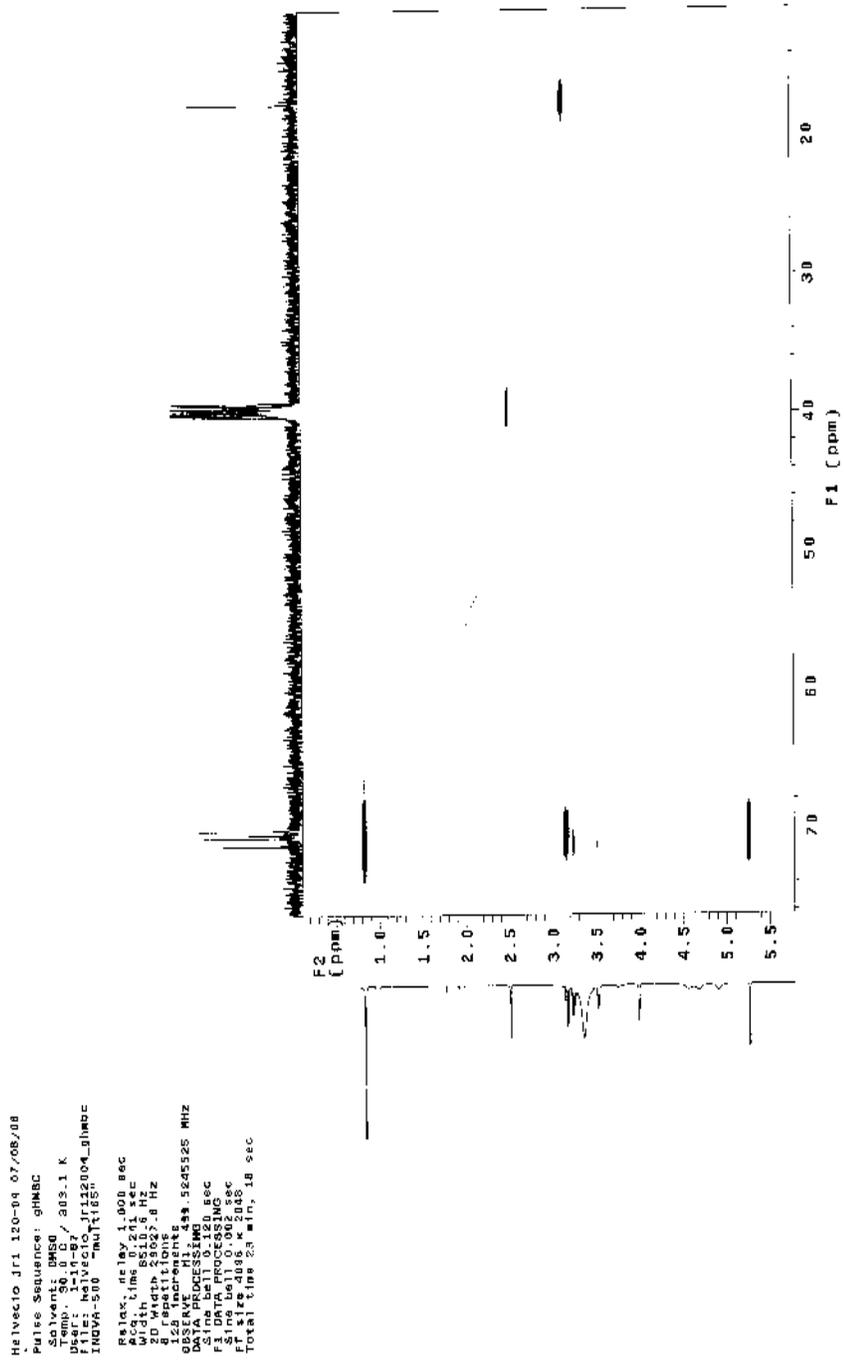


FIGURA 32C: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-rhamnopiranosídeo) em DMSO- d_6 .

```

Melvecid Jr1 120-04 07/05/06
Pulse Sequence: gCOSY
Solvent: DMSO
Temp: 300.2 K
INSTR: spect
AQ: 0.16680000
RG: 655
F2: 500.13625000
F1: 500.13625000
SFO: 500.13625000
DELTA: 1.00000000
DELTA2: 0.00000000
DELTA3: 0.00000000
DELTA4: 0.00000000
DELTA5: 0.00000000
DELTA6: 0.00000000
DELTA7: 0.00000000
DELTA8: 0.00000000
DELTA9: 0.00000000
DELTA10: 0.00000000
DELTA11: 0.00000000
DELTA12: 0.00000000
DELTA13: 0.00000000
DELTA14: 0.00000000
DELTA15: 0.00000000
DELTA16: 0.00000000
DELTA17: 0.00000000
DELTA18: 0.00000000
DELTA19: 0.00000000
DELTA20: 0.00000000
DELTA21: 0.00000000
DELTA22: 0.00000000
DELTA23: 0.00000000
DELTA24: 0.00000000
DELTA25: 0.00000000
DELTA26: 0.00000000
DELTA27: 0.00000000
DELTA28: 0.00000000
DELTA29: 0.00000000
DELTA30: 0.00000000
DELTA31: 0.00000000
DELTA32: 0.00000000
DELTA33: 0.00000000
DELTA34: 0.00000000
DELTA35: 0.00000000
DELTA36: 0.00000000
DELTA37: 0.00000000
DELTA38: 0.00000000
DELTA39: 0.00000000
DELTA40: 0.00000000
DELTA41: 0.00000000
DELTA42: 0.00000000
DELTA43: 0.00000000
DELTA44: 0.00000000
DELTA45: 0.00000000
DELTA46: 0.00000000
DELTA47: 0.00000000
DELTA48: 0.00000000
DELTA49: 0.00000000
DELTA50: 0.00000000
DELTA51: 0.00000000
DELTA52: 0.00000000
DELTA53: 0.00000000
DELTA54: 0.00000000
DELTA55: 0.00000000
DELTA56: 0.00000000
DELTA57: 0.00000000
DELTA58: 0.00000000
DELTA59: 0.00000000
DELTA60: 0.00000000
DELTA61: 0.00000000
DELTA62: 0.00000000
DELTA63: 0.00000000
DELTA64: 0.00000000
DELTA65: 0.00000000
DELTA66: 0.00000000
DELTA67: 0.00000000
DELTA68: 0.00000000
DELTA69: 0.00000000
DELTA70: 0.00000000
DELTA71: 0.00000000
DELTA72: 0.00000000
DELTA73: 0.00000000
DELTA74: 0.00000000
DELTA75: 0.00000000
DELTA76: 0.00000000
DELTA77: 0.00000000
DELTA78: 0.00000000
DELTA79: 0.00000000
DELTA80: 0.00000000
DELTA81: 0.00000000
DELTA82: 0.00000000
DELTA83: 0.00000000
DELTA84: 0.00000000
DELTA85: 0.00000000
DELTA86: 0.00000000
DELTA87: 0.00000000
DELTA88: 0.00000000
DELTA89: 0.00000000
DELTA90: 0.00000000
DELTA91: 0.00000000
DELTA92: 0.00000000
DELTA93: 0.00000000
DELTA94: 0.00000000
DELTA95: 0.00000000
DELTA96: 0.00000000
DELTA97: 0.00000000
DELTA98: 0.00000000
DELTA99: 0.00000000
DELTA100: 0.00000000

```

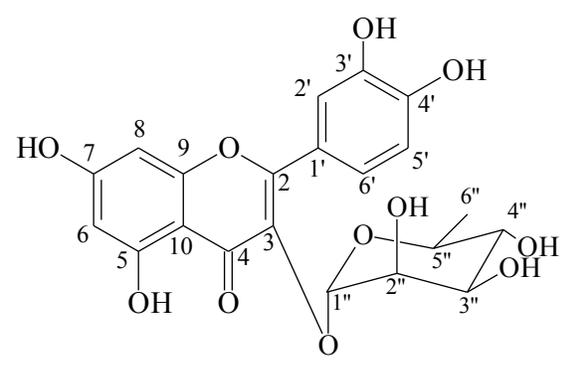
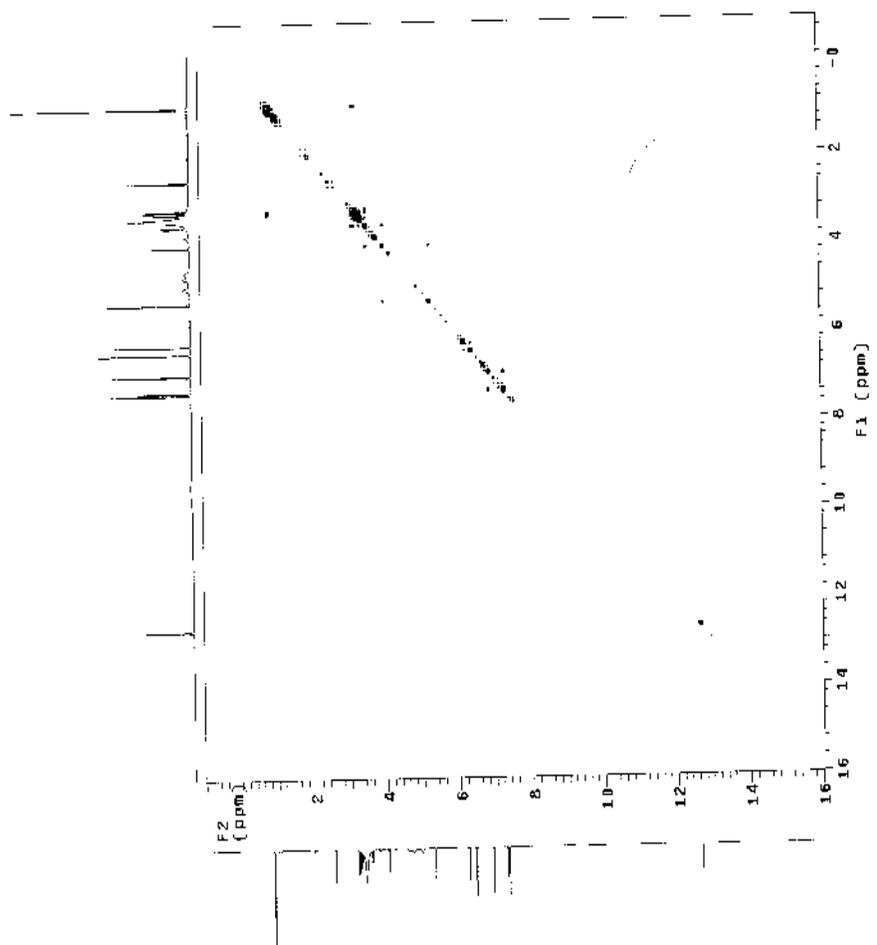


FIGURA 33C: Correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-ramnopiranosídeo) em $\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz.

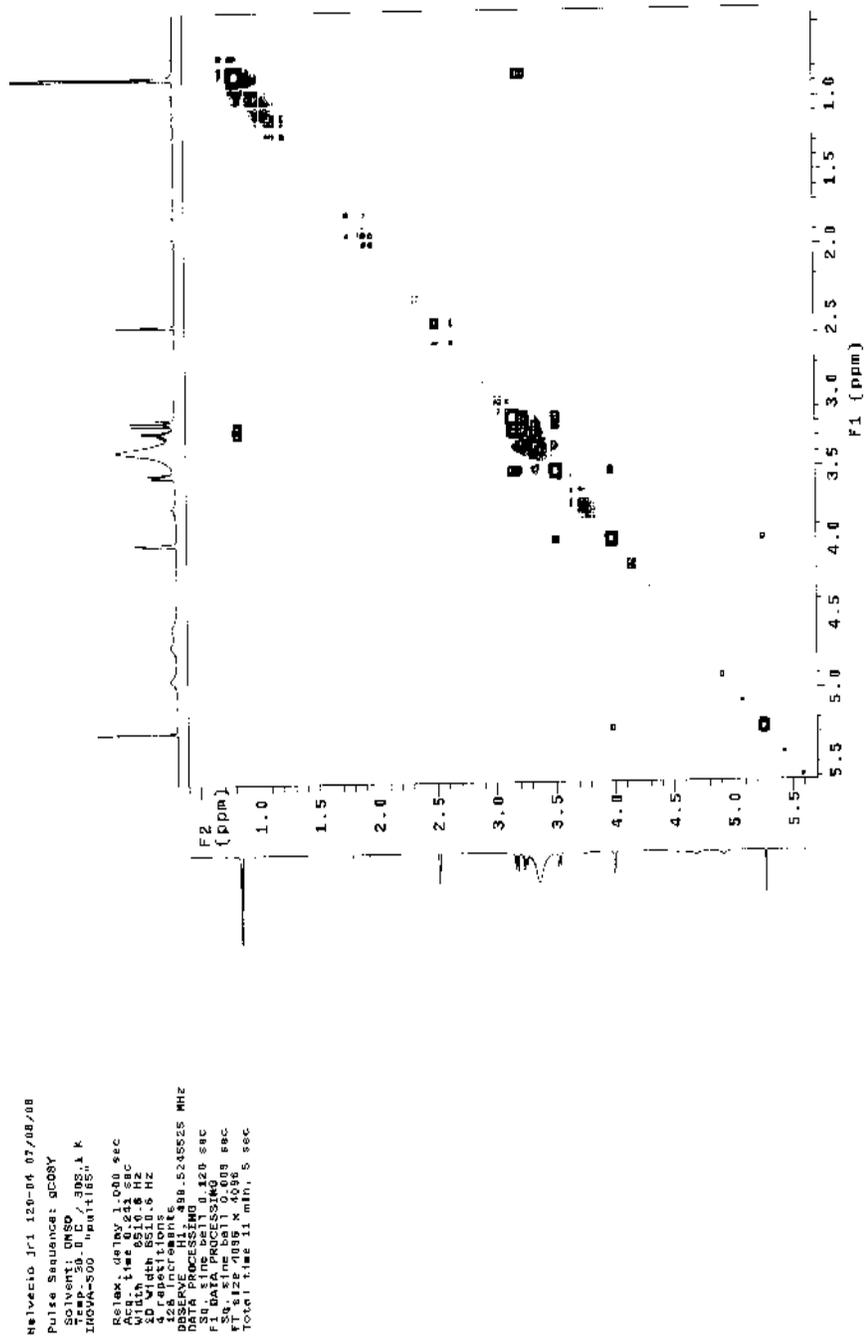


FIGURA 35C: Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jrl-120-04 (quercetina 3-O- α -L-ranmopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz.

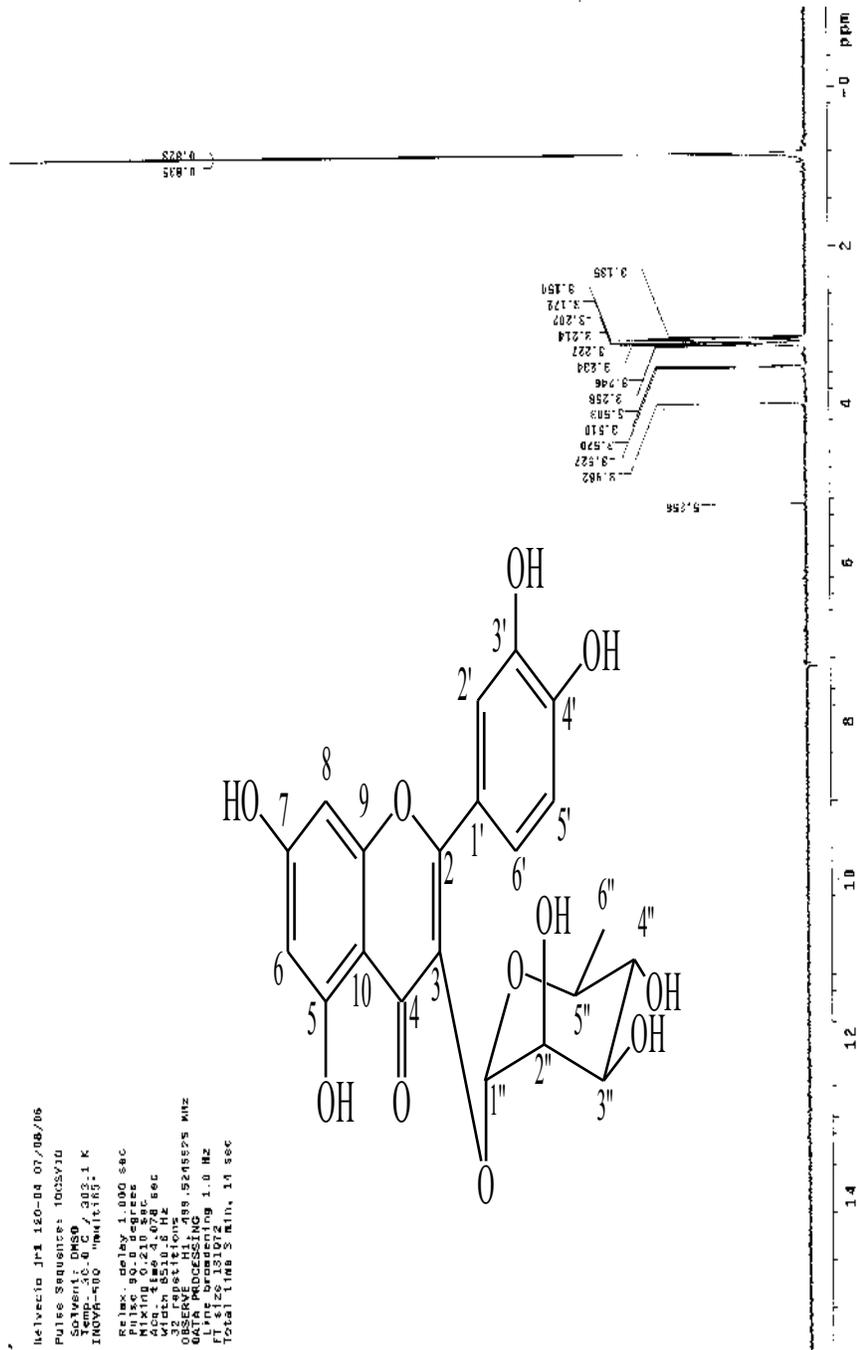


FIGURA 36C: TOCSY 1D de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-rannopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 0,83 (3H; d, J=6,0)].

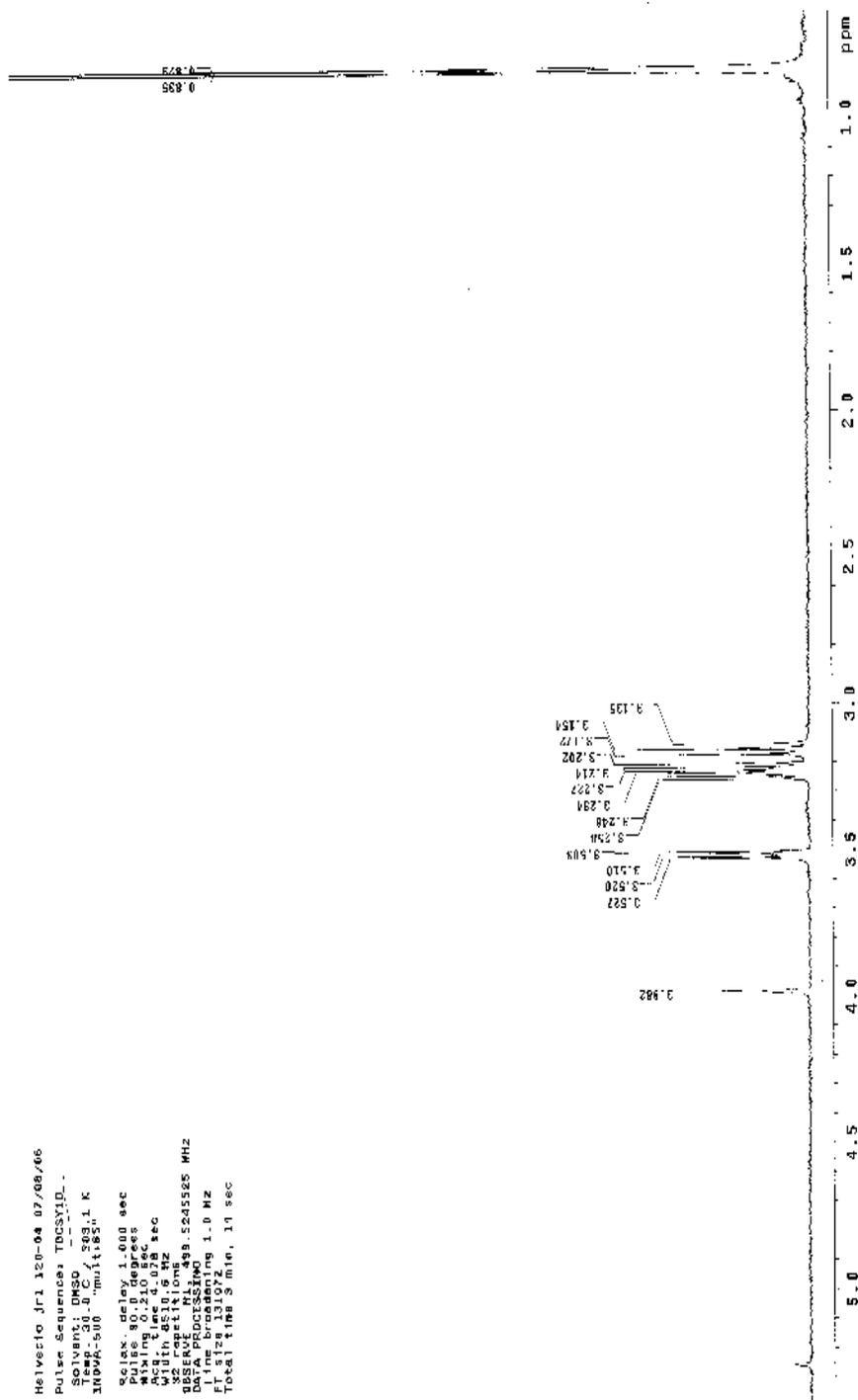


FIGURA 37C: Expansão do TOCSY 1D de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 0,83 (3H; d, J=6,0)].

Helvetic Jr1 170-04 117/08/08
 Pulse Sequencia: TOCSY1D
 Solvent: DMSO
 Temp: 300.1 K
 INOVA-SFC - 100011657
 Relax delay: 1.000 sec
 Mixing: 0.210 sec
 Acq. time: 1.078 sec
 F2: 500.131000 MHz
 F1: 100.62111000 MHz
 OBSERVED: 17.499.524555 MHz
 Line PROBHD1H0 1.0 HZ
 FT size: 431072
 Total time: 3 min. 35 sec

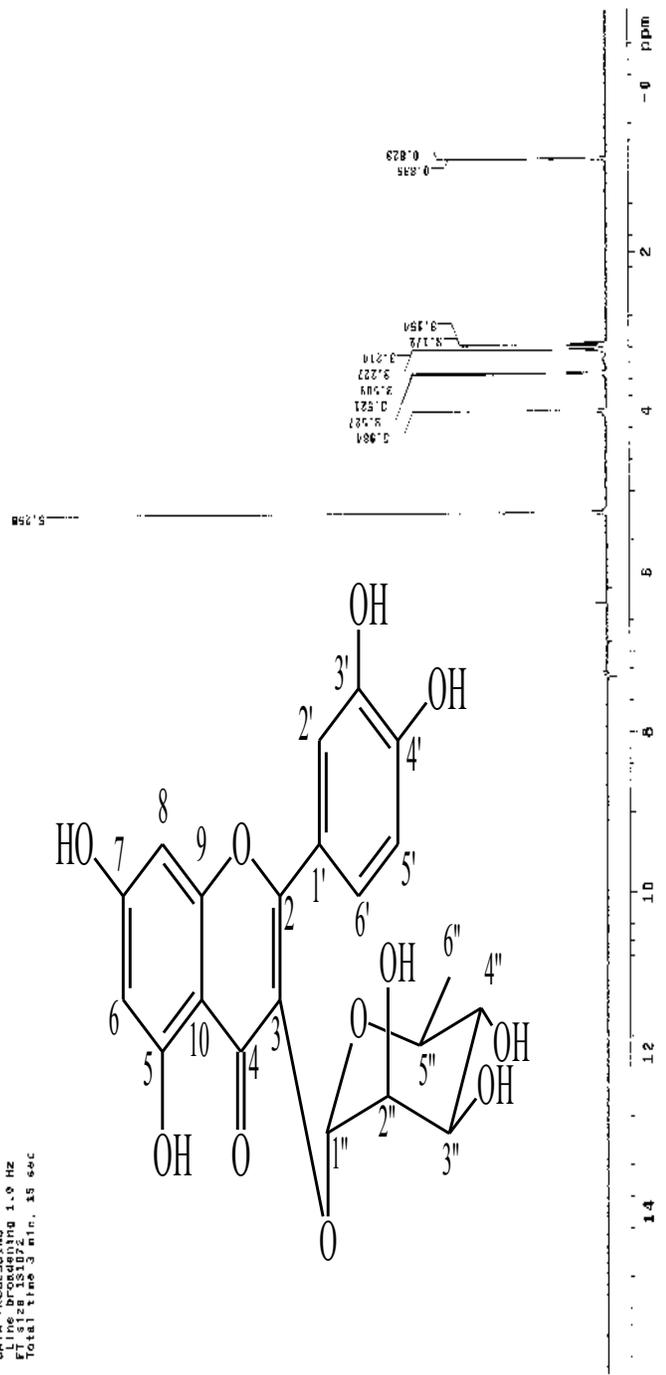


FIGURA 38C: TOCSY 1D de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-rannopiranosídeo) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 5,26 (1H; d, J=1,5)].

```

MELVEJO JF1 120-04 07/05/09
Pulse Sequence: TOCSY10
Solvent: DMSO
Temp: 50.0 C / 303.1 K
INSTR: cpo 4h1105
Relax: delay 1.000 sec
Pulse: 90.0 degrees
Acq: 128.000 MHz
RG: 327.5
AQ: 0.775 sec
NUC1: 13C
Width: 6510.6 Hz
OBSERVE: 1H
P1: 4.00
P2: 15.525
P3: 4.00
P4: 15.525
P5: 4.00
P6: 15.525
P7: 4.00
P8: 15.525
P9: 4.00
P10: 15.525
P11: 4.00
P12: 15.525
P13: 4.00
P14: 15.525
P15: 4.00
P16: 15.525
P17: 4.00
P18: 15.525
P19: 4.00
P20: 15.525
P21: 4.00
P22: 15.525
P23: 4.00
P24: 15.525
P25: 4.00
P26: 15.525
P27: 4.00
P28: 15.525
P29: 4.00
P30: 15.525
P31: 4.00
P32: 15.525
P33: 4.00
P34: 15.525
P35: 4.00
P36: 15.525
P37: 4.00
P38: 15.525
P39: 4.00
P40: 15.525
P41: 4.00
P42: 15.525
P43: 4.00
P44: 15.525
P45: 4.00
P46: 15.525
P47: 4.00
P48: 15.525
P49: 4.00
P50: 15.525
P51: 4.00
P52: 15.525
P53: 4.00
P54: 15.525
P55: 4.00
P56: 15.525
P57: 4.00
P58: 15.525
P59: 4.00
P60: 15.525
P61: 4.00
P62: 15.525
P63: 4.00
P64: 15.525
P65: 4.00
P66: 15.525
P67: 4.00
P68: 15.525
P69: 4.00
P70: 15.525
P71: 4.00
P72: 15.525
P73: 4.00
P74: 15.525
P75: 4.00
P76: 15.525
P77: 4.00
P78: 15.525
P79: 4.00
P80: 15.525
P81: 4.00
P82: 15.525
P83: 4.00
P84: 15.525
P85: 4.00
P86: 15.525
P87: 4.00
P88: 15.525
P89: 4.00
P90: 15.525
P91: 4.00
P92: 15.525
P93: 4.00
P94: 15.525
P95: 4.00
P96: 15.525
P97: 4.00
P98: 15.525
P99: 4.00
P100: 15.525
Total time 3 min, 15 sec

```

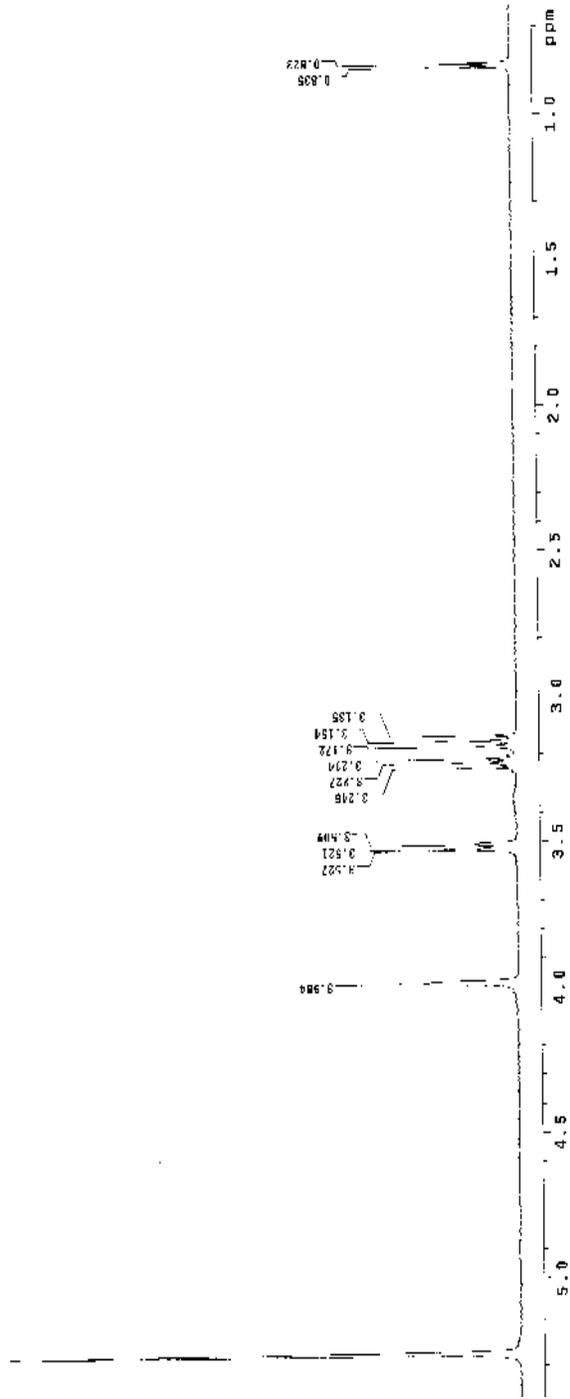


FIGURA 39C: Expansão do TOCSY 1D de Jr1-120-04 (quercetina 3-O- α -L-ramnopiranosídeo) em DMSO- d_6 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 5,26 (1H; d, J=1,5)].

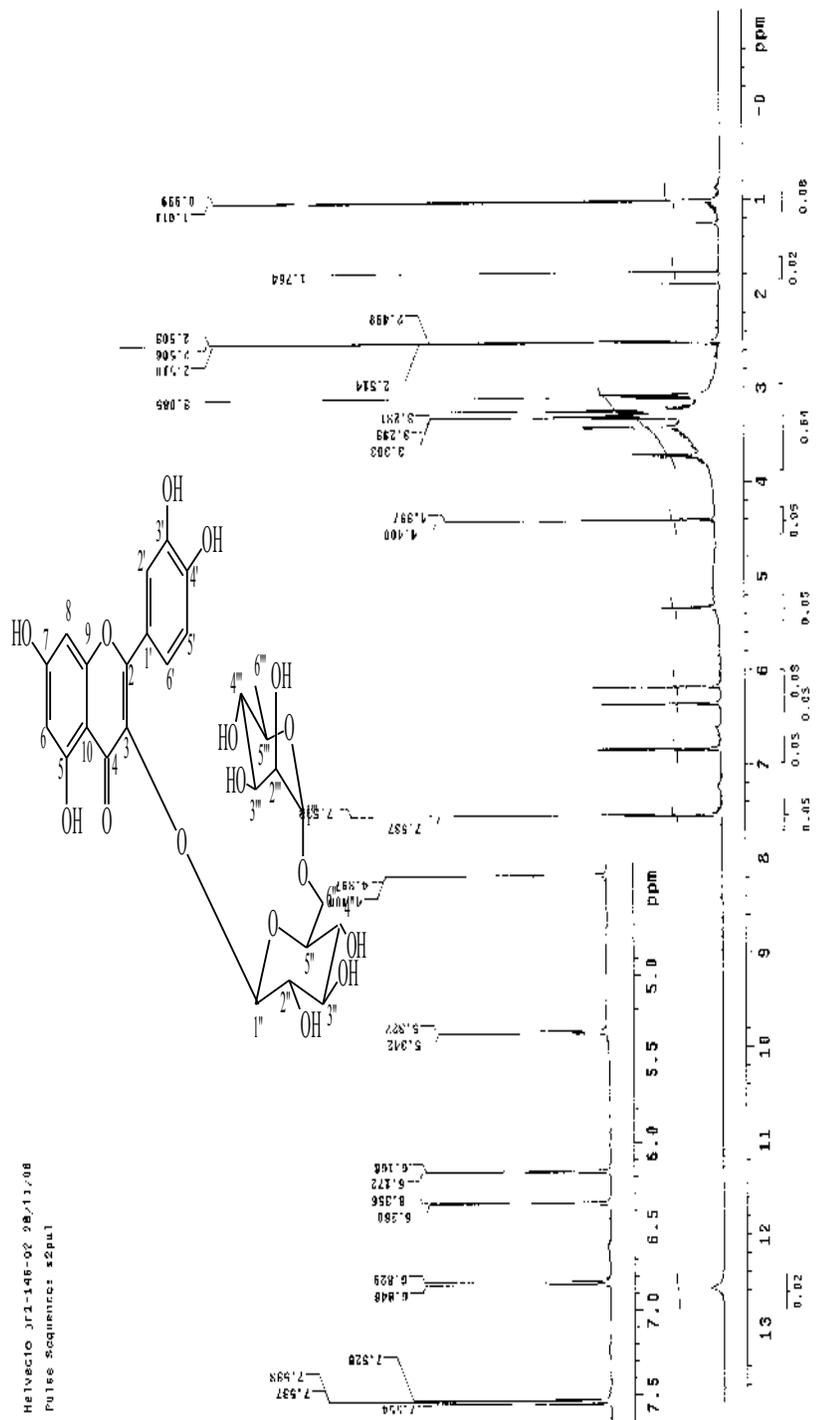


FIGURA 40C: Espectro de RMN ¹H e expansão do espectro de RMN ¹H de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO-*d*₆, 500MHz.

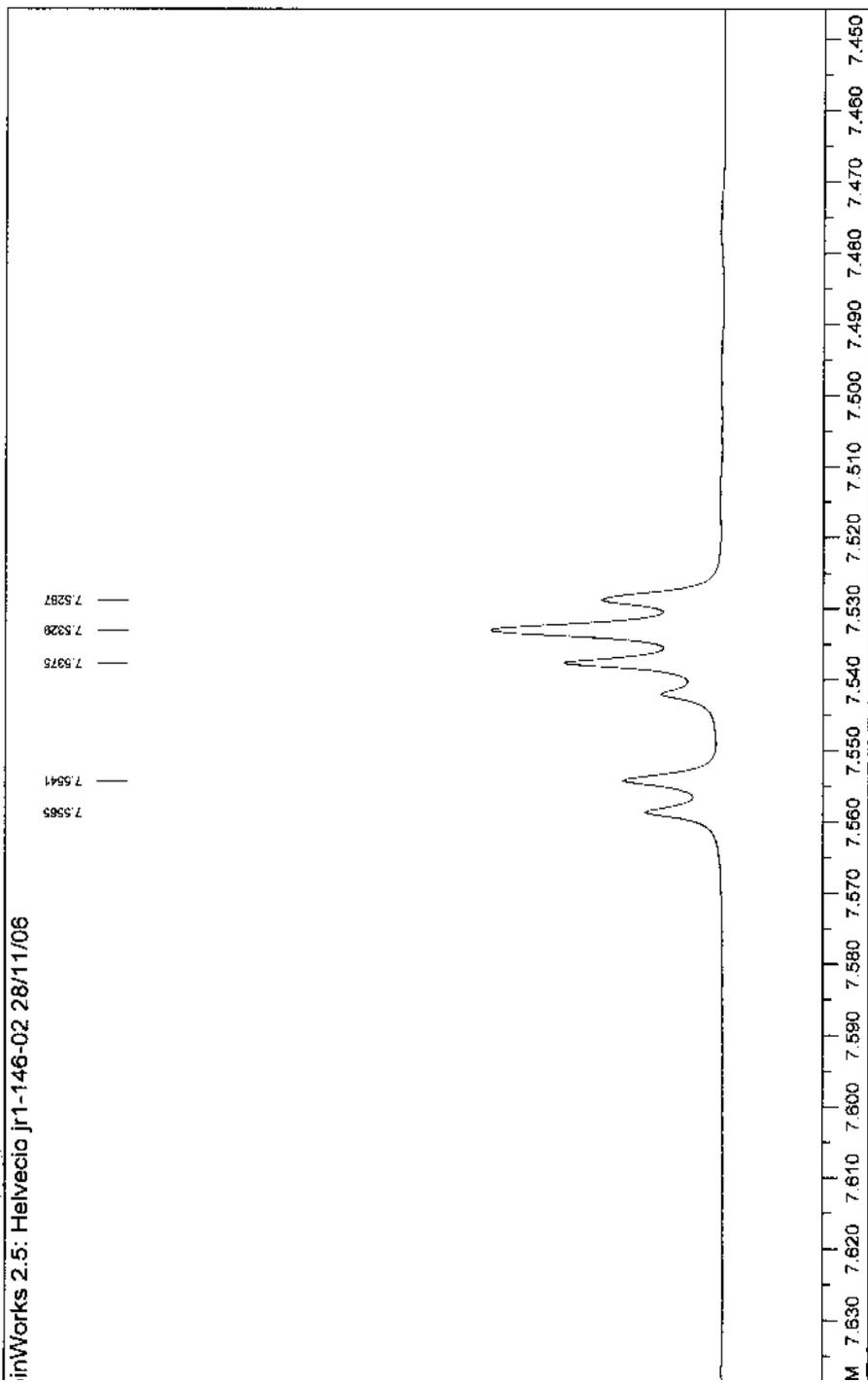


FIGURA 41C: Expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-146-02 (rutina) em $\text{DMSO-}d_6$, 500MHz.

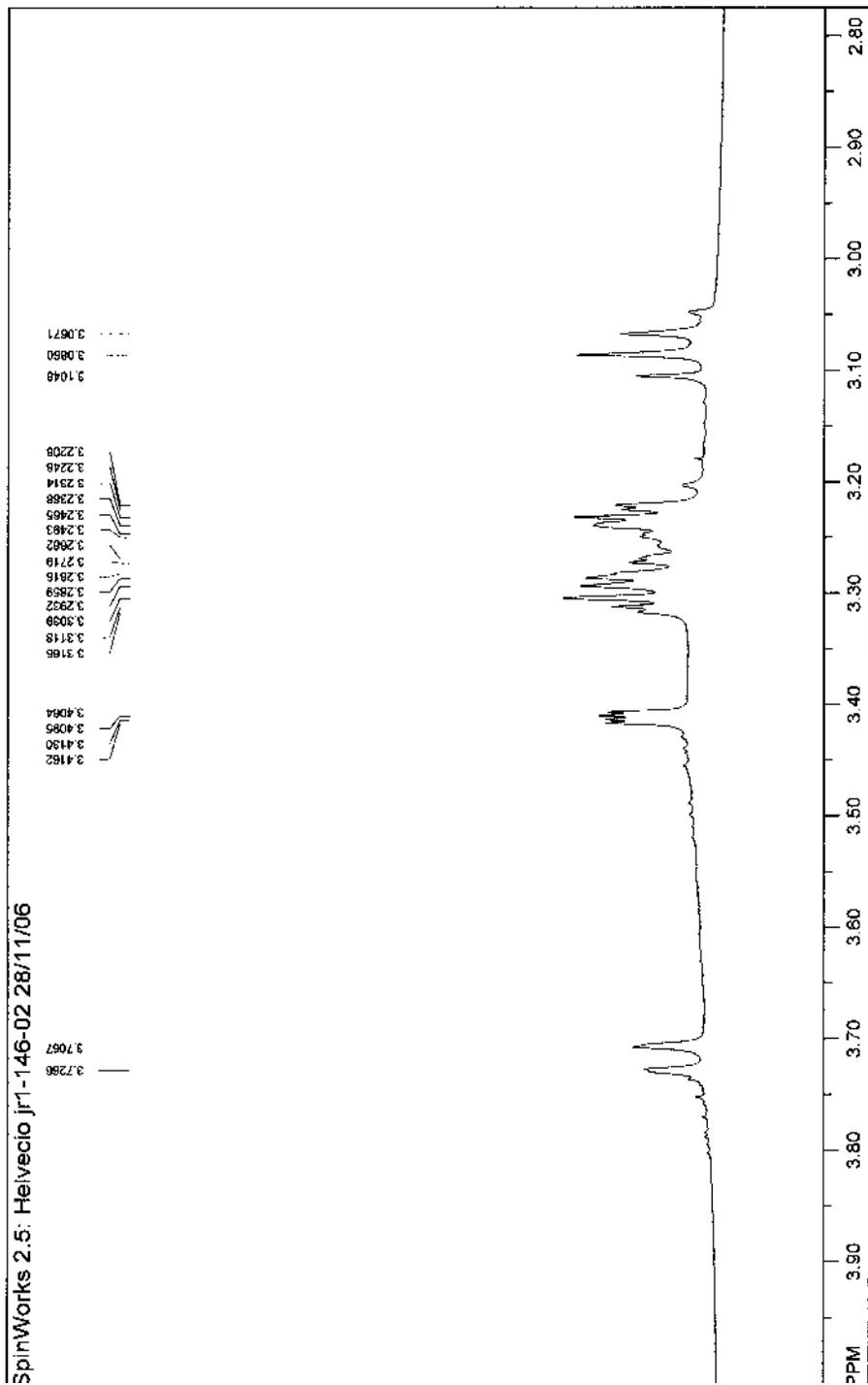


FIGURA 42C: Expansão do espectro de RMN ^1H de Jr1-146-02 (rutina) em $\text{DMSO-}d_6$, 500MHz.


```

vacio Jr1-146-02 26/11/08
ss Sequence: f22a1
Svent: DMSO
mp 31.14 57 803.1 K
VA-560 "multisite"
1ex_dg 0.397 0.397 sec
q1_time 1.043 sec
d1n 2802.0 Hz
EXVE 113.225 6009662 MHz
ODPL 5 H1. 498.5083587 MHz
intensity on
L17-05 modulated
ns 800966198 1.0 Hz
s122.66526
d1_time 5 hr, 58 min, 55 sec

```

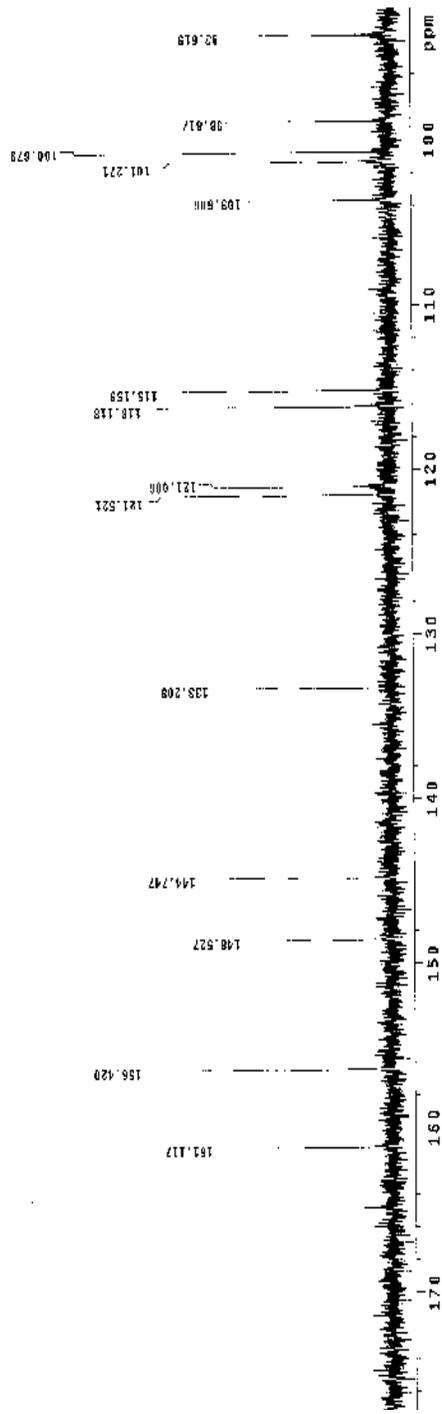


FIGURA 44C: Expansão do espectro de RMN ¹³C de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO-*d*₆ 126MHz.

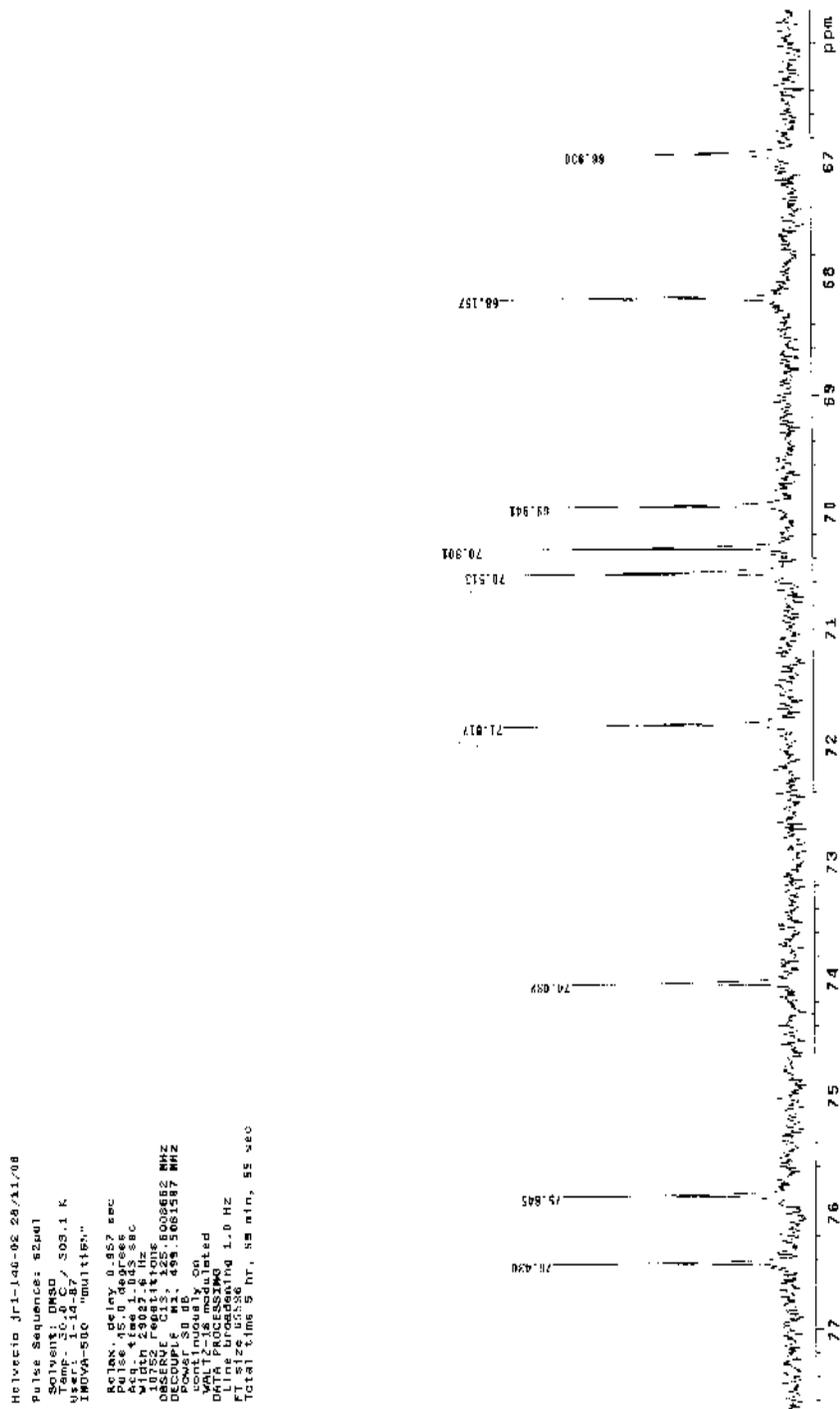


FIGURA 45C: Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Jr1-146-02 (rutina) em $\text{DMSO-}d_6$, 126MHz.

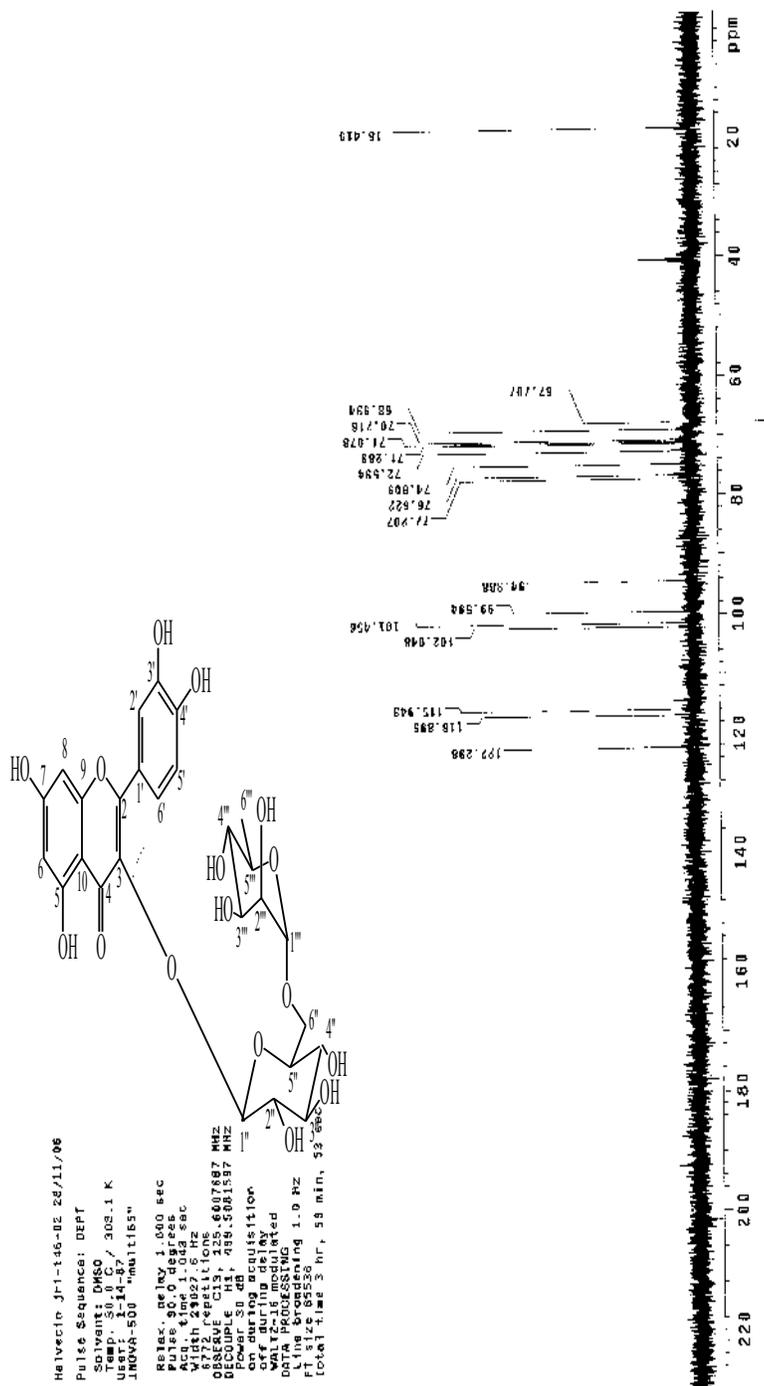


FIGURA 46C: DEPT 135° de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO-*d*₆, 126 MHz.

Helvetic Jrs1-146-02 29/11/06
Pulse Sequence: DEPT
Solvent: DMSO
Temp: 50.0 C / 303.1 K
IRAGVA-S08 "MULTIH5H"
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Pulse width 12.000 sec
Waltz 2802.6 Hz
8722 repetitions
OBSERVE Ch3, 105.601787 MHz
Power 50 dB, 439.5681397 MHz
on during acquisition
PULPROG zgpg30
VATZ 2
DELTA 1.000000
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 MHz
SFO 125.7614500 MHz
Total time 3 hr, 59 min, 58 sec

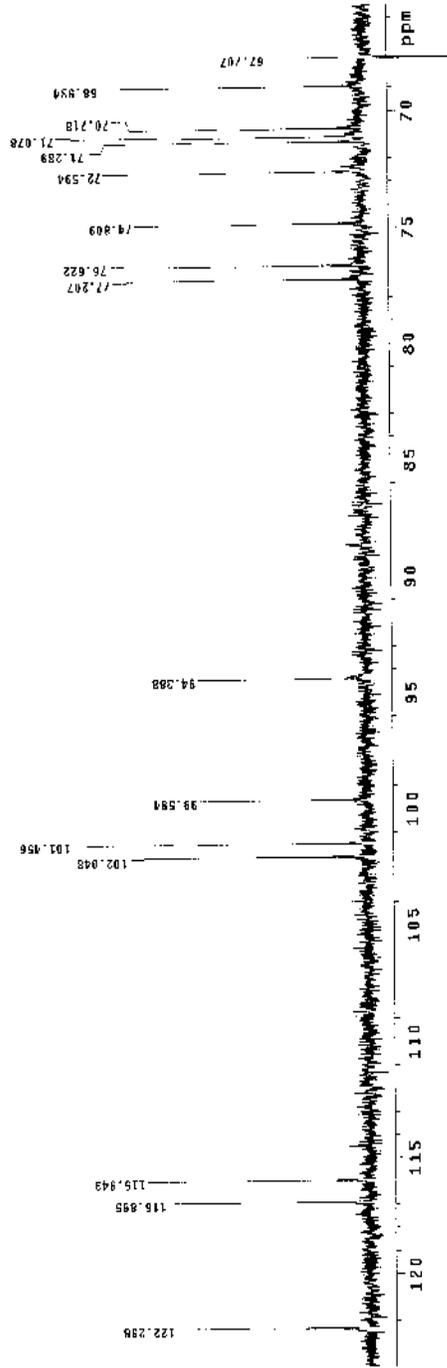


FIGURA 47C: Expansão do DEPT 135° de Jr1-146-02 (rutina) em DMSO-*d*₆, 126 MHz.

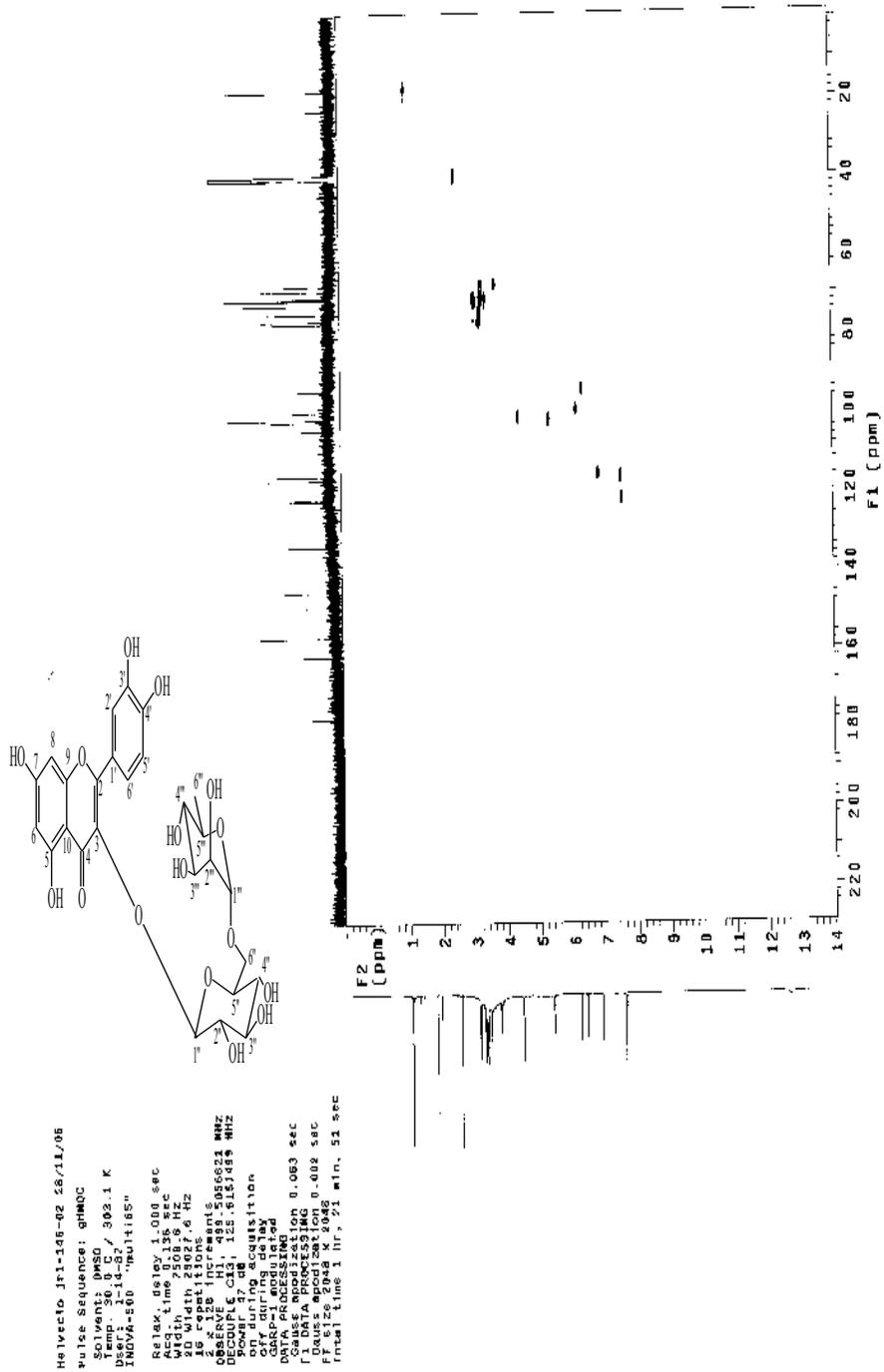


FIGURA 48C: Correlação heteronuclear a curta distância (gHMOC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-146-02 (rutina) em $\text{DMSO}-d_6$.

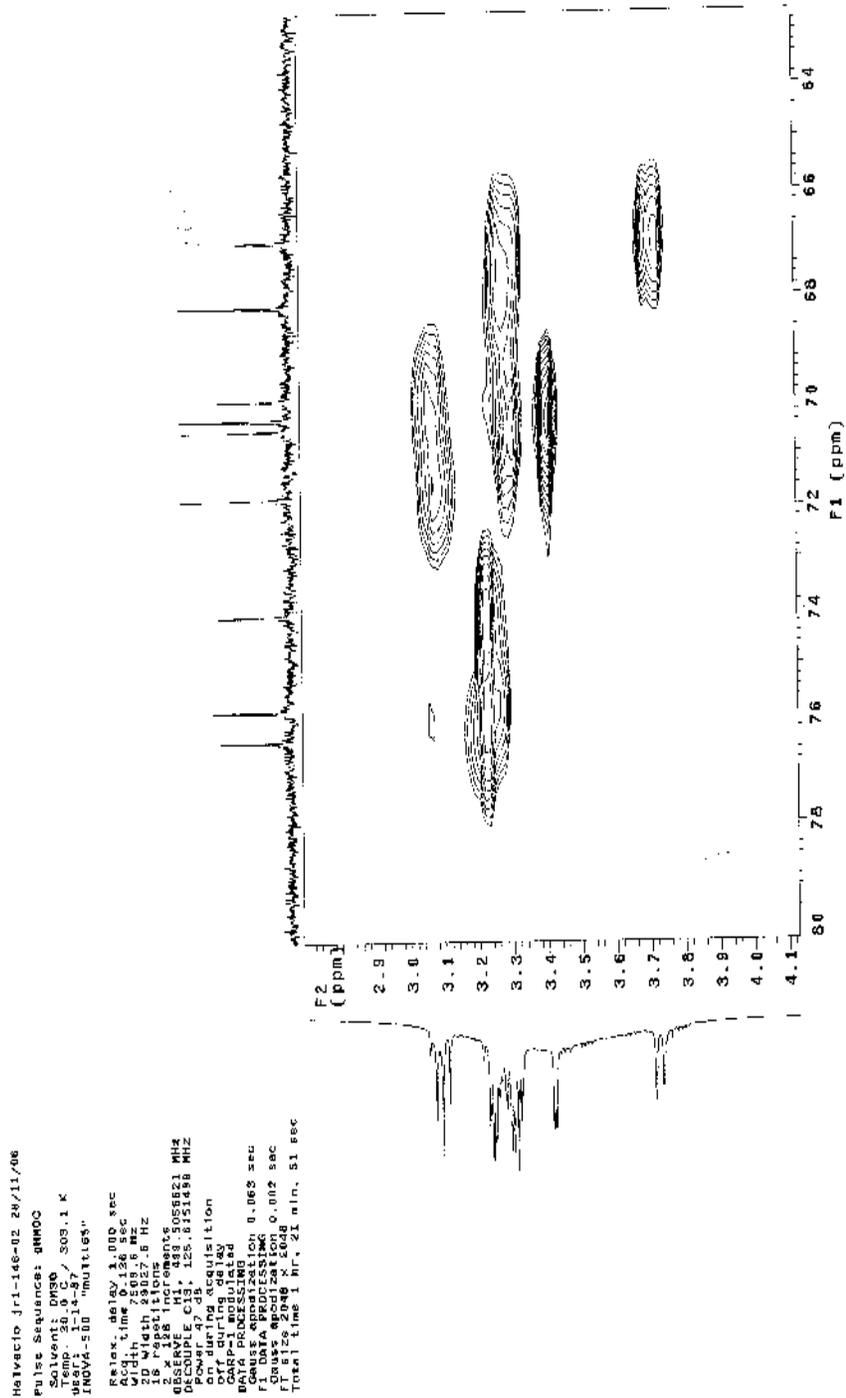


FIGURA 50C: Expansão da correlação heteronuclear a curta distância (gHMOC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jrl-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 .

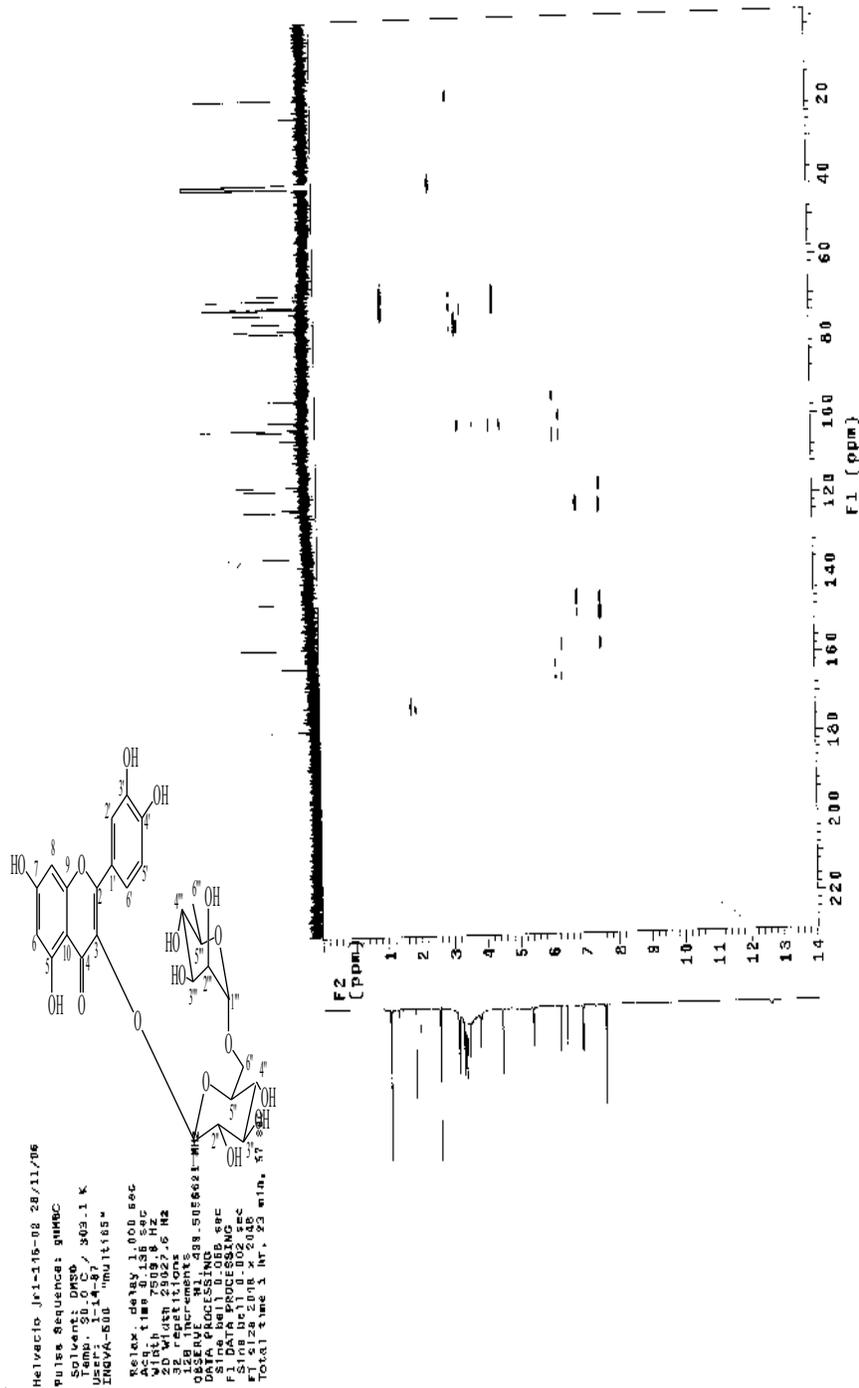


FIGURA 51C: Correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jr1-146-02 (rutina) em $\text{DMSO}-d_6$.

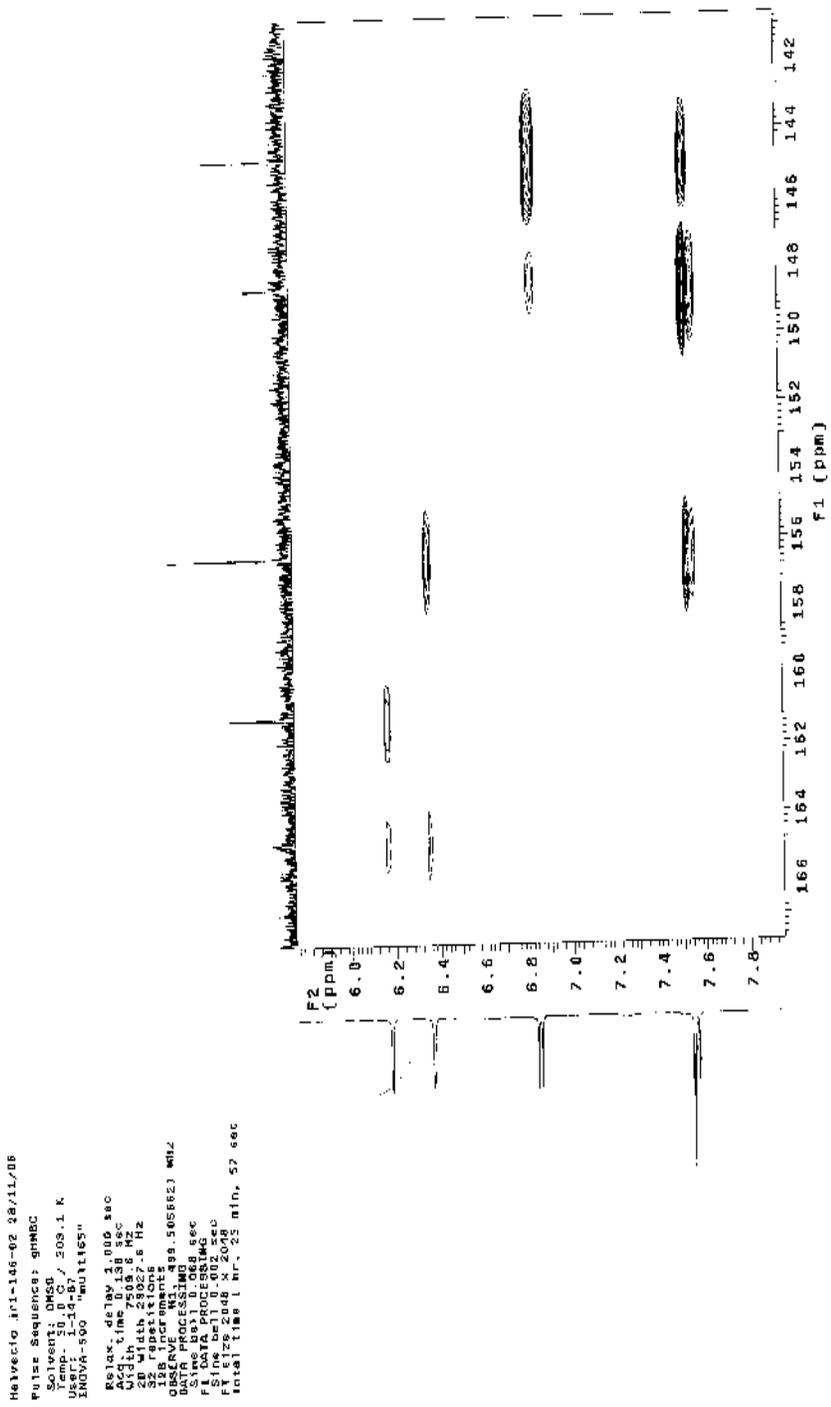


FIGURA 52C: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jri-146-02 (rotina) em DMSO- d_6 .

```

#1vecl0 Jrl-146-02 28/11/06
#1sa Sequencia: gHMBC
Solvent: DMSO
Scan: 1-14-07 / 303.1 K
INOVA-500 "TU1165"
Relax. delay: 1.000 sec
Acq. time: 0.139 sec
Width: 7509.6 Hz
32 repetitions: 38 Hz
128 increments: 09.5058821 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell: 0.000 sec
Sine bell: 0.000 sec
Sine bell: 0.002 sec
Sine bell: 0.200 sec
Total Time: 1 hr., 25 min., 57 sec

```

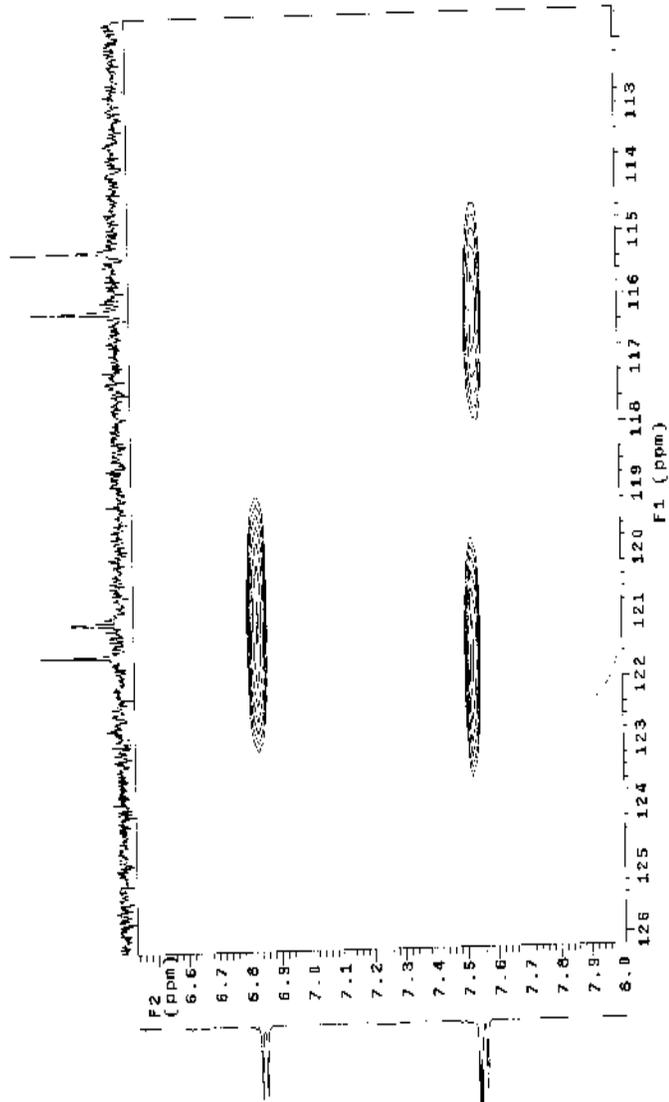


FIGURA 53C: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jrl-146-02 (rotina) em DMSO- d_6 .

```

Helvecio Jrl-146-02 28/11/06
Pulse Sequence: gHMBC
Solvent: DMSO
USERS: jrl-146-02/ 203.1 K
INNOVA-300 "mult165"
Relax delay: 1.000 sec
Acq time: 0.136 sec
Width: 2589.6 Hz
SD Repetitions: 8 Hz
120 increments
Data Processing: 605621 Mrz
Sine Bell: 0.068 sec
F1 Size: 2048 x 2048
F1 Time: 0.082 sec
Total time: 1 hr, 24 min, 57 sec

```

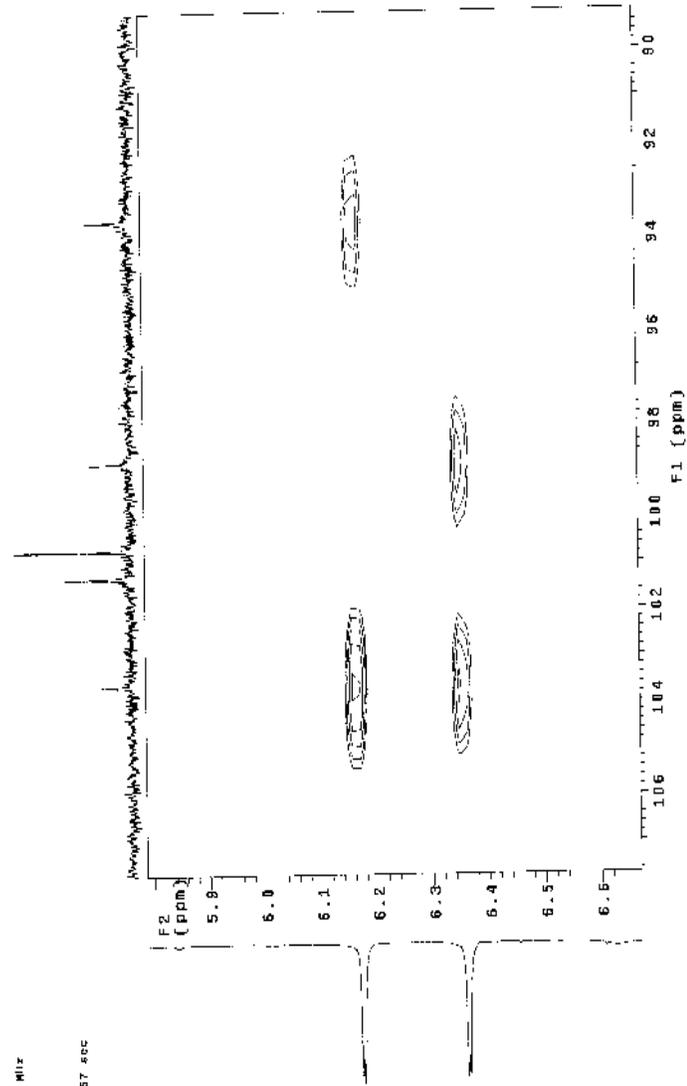


FIGURA 54C: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jrl-146-02 (rotina) em $\text{DMSO}-d_6$.

Helvecio Jrl-146-02 28/11/08
 Pulse Sequence: ghmec
 Solvents: DMSO
 User: jrl-146-02/ 500.1 K
 INOVA-500 "mull165"
 Relax delay: 3.000 sec
 Acq time: 0.158 sec
 Width: 2500.0 Hz
 F2 Position: 0 Hz
 128 Increments
 DQ: 480000000
 DQ: 1.5056821 MHz
 F1: 0.2065 sec
 F2: 0.2065 sec
 F1: 0.2065 sec
 F2: 0.2065 sec
 FT size: 3048 M 2048
 Total time: 1 hr. 23 min. 57 sec

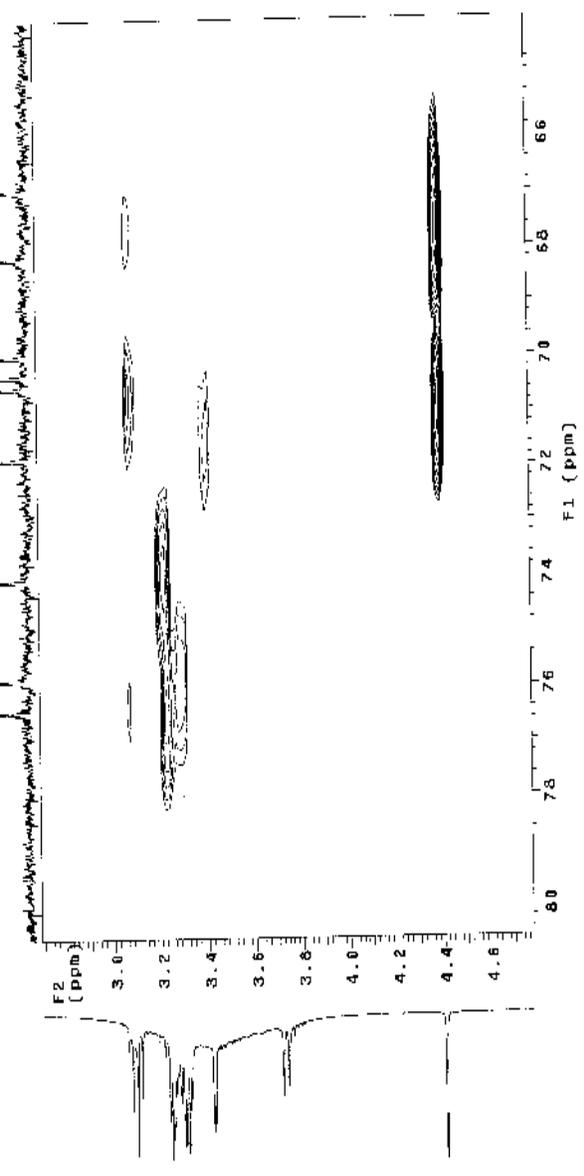


FIGURA 56C: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (ghMBC) $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 x 126 MHz) de Jrl-146-02 (rotina) em $\text{DMSO}-d_6$.

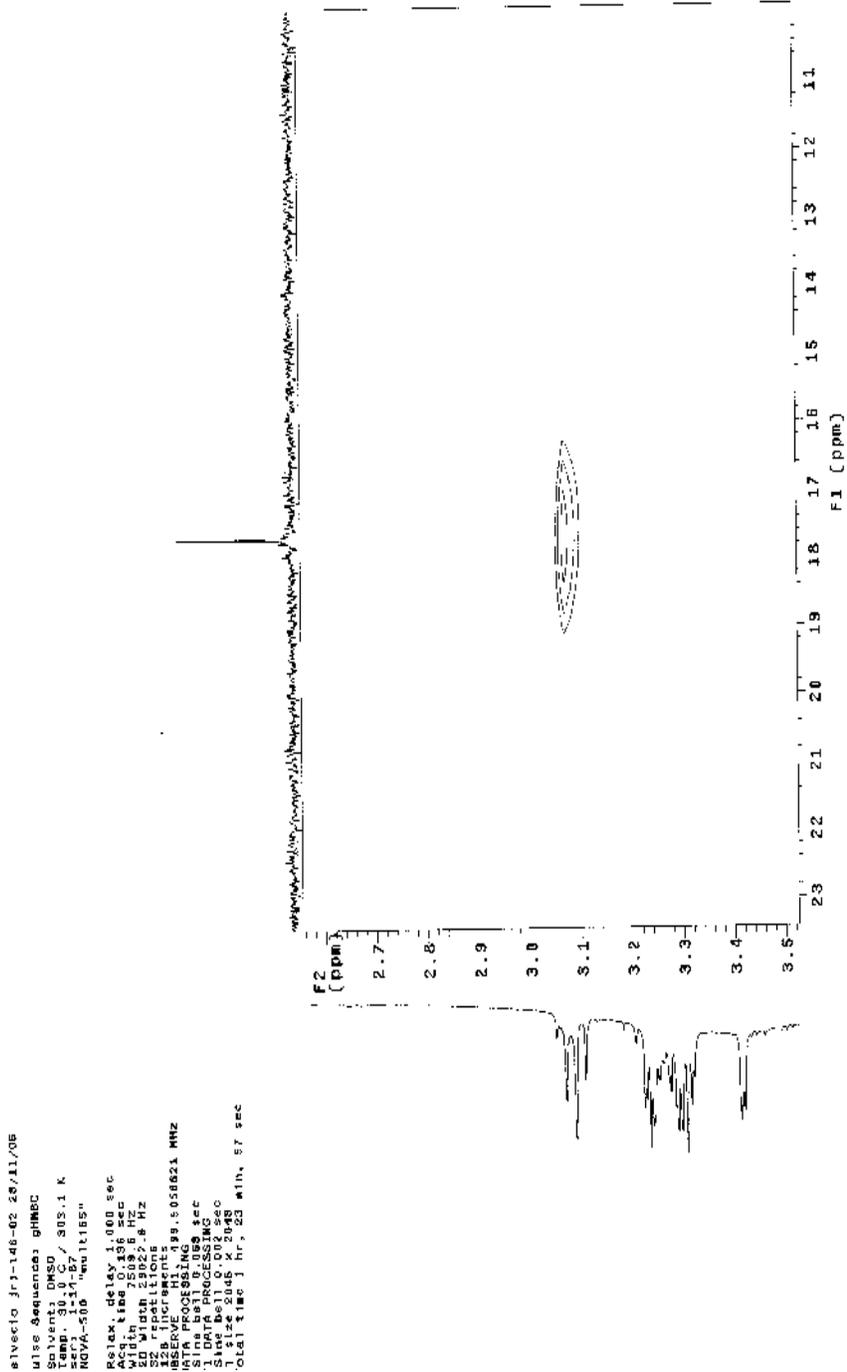


FIGURA 57C: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jr1-146-02 (rutina) em $\text{DMSO}-d_6$.

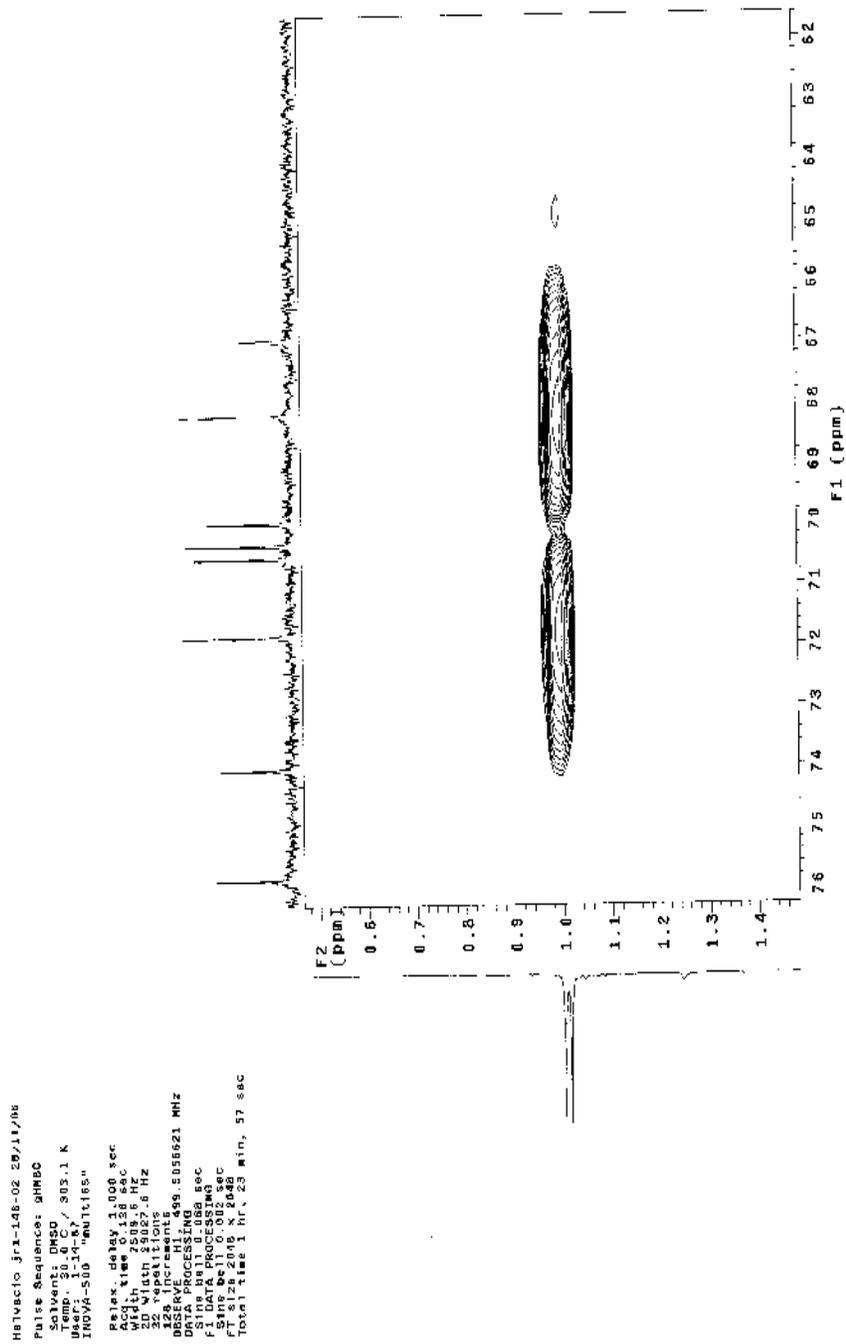
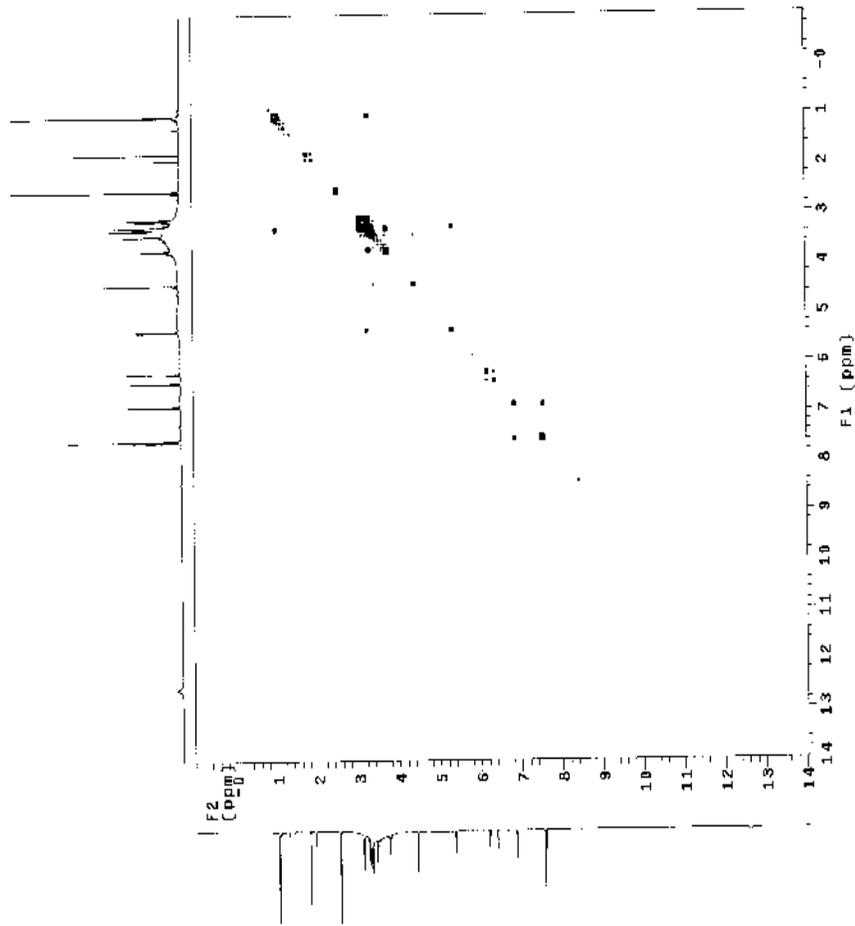


FIGURA 58C: Expansão da correlação heteronuclear a longa distância (gHMBC) ^1H x ^{13}C (500 x 126 MHz) de Jf1-146-02 (rutina) em $\text{DMSO}-d_6$.



Helvecio Jr1-146-02 29/11/08
 Pulse Sequence: gCOSY
 Date_Time: 29/11/08
 Temp: 303.1 K
 INOVA-500 "multis5"

Scale Delay: 1.000 sec
 Acq Time: 0.150 sec
 Width: 25000 Hz
 F2: 500.136 MHz
 16 repetitions
 128 increments
 Data Processing: 505821 MHz
 S0: sine bell 0.000 sec
 S1: sine bell 0.010 sec
 F2 size: 2048 x 5048
 Total time: 39 min., 45 sec.

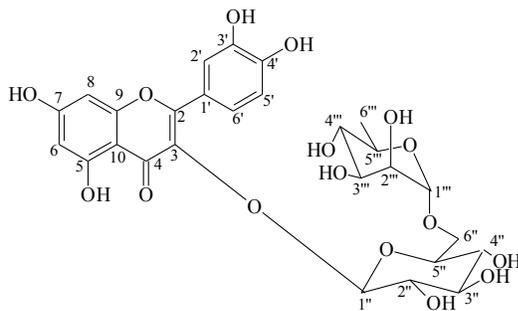


FIGURA 59C: Correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-146-02 (rutina) em $\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz.


```

BIVACTO Jr1-146-02 25/11/06
ulise Sequencia: gcosy
Solvent: DMSO
NOVA-500 500.136311
Relax. delay: 2.000 sec
Acq. time: 0.000 sec
Width: 7500.6 Hz
2D width: 7500.6 Hz
L2S: 100 minutes
ABSERVICIO: 123456789.5050021 MHz
Sfr. time: 0.068 sec
1.0 DATA: 0.0000000 sec
Total time: 20.000 x 2.048
Total time: 38 min, 45 sec

```

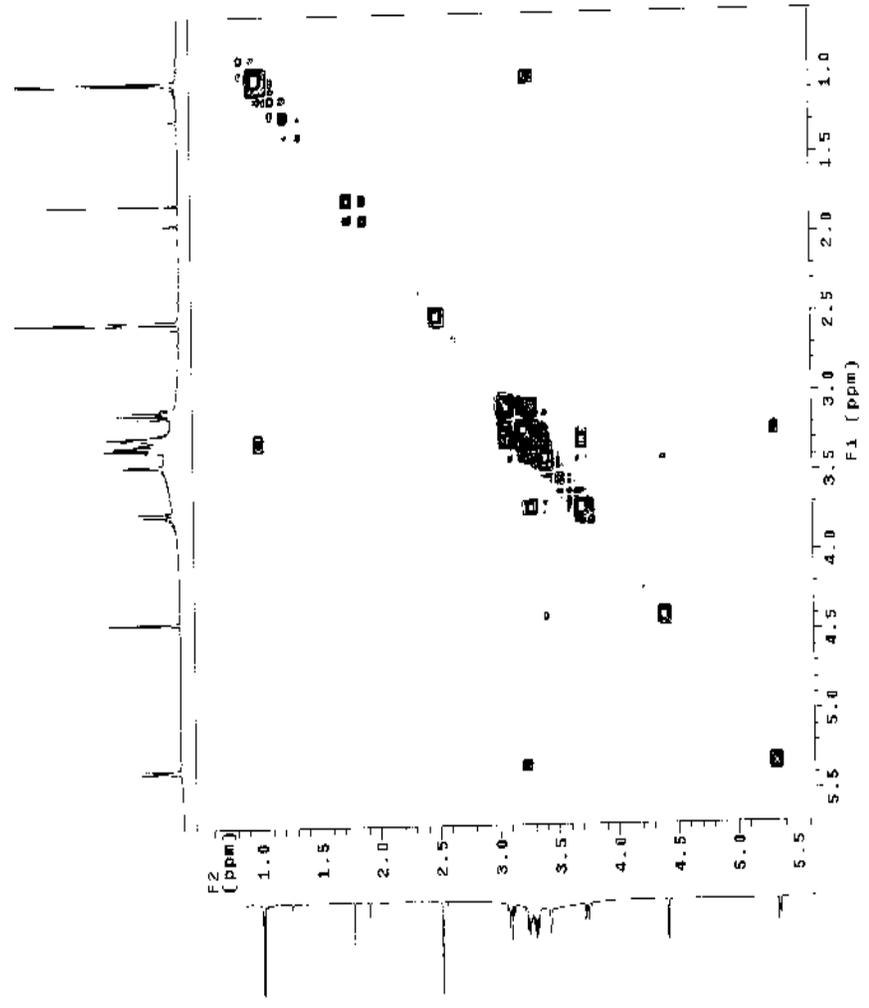


FIGURA 61C: Expansão da correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (gCOSY) de Jr1-146-02 (rutina) em $\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz.

```

file: Jrl-146-02 25/11/06
Use Sequence: TOCSY1D
Solvent: DMSO
P1: 1.00000000
P2: 1.00000000
P3: 1.00000000
P4: 1.00000000
P5: 1.00000000
P6: 1.00000000
P7: 1.00000000
P8: 1.00000000
P9: 1.00000000
P10: 1.00000000
P11: 1.00000000
P12: 1.00000000
P13: 1.00000000
P14: 1.00000000
P15: 1.00000000
P16: 1.00000000
P17: 1.00000000
P18: 1.00000000
P19: 1.00000000
P20: 1.00000000
P21: 1.00000000
P22: 1.00000000
P23: 1.00000000
P24: 1.00000000
P25: 1.00000000
P26: 1.00000000
P27: 1.00000000
P28: 1.00000000
P29: 1.00000000
P30: 1.00000000
P31: 1.00000000
P32: 1.00000000
P33: 1.00000000
P34: 1.00000000
P35: 1.00000000
P36: 1.00000000
P37: 1.00000000
P38: 1.00000000
P39: 1.00000000
P40: 1.00000000
P41: 1.00000000
P42: 1.00000000
P43: 1.00000000
P44: 1.00000000
P45: 1.00000000
P46: 1.00000000
P47: 1.00000000
P48: 1.00000000
P49: 1.00000000
P50: 1.00000000
P51: 1.00000000
P52: 1.00000000
P53: 1.00000000
P54: 1.00000000
P55: 1.00000000
P56: 1.00000000
P57: 1.00000000
P58: 1.00000000
P59: 1.00000000
P60: 1.00000000
P61: 1.00000000
P62: 1.00000000
P63: 1.00000000
P64: 1.00000000
P65: 1.00000000
P66: 1.00000000
P67: 1.00000000
P68: 1.00000000
P69: 1.00000000
P70: 1.00000000
P71: 1.00000000
P72: 1.00000000
P73: 1.00000000
P74: 1.00000000
P75: 1.00000000
P76: 1.00000000
P77: 1.00000000
P78: 1.00000000
P79: 1.00000000
P80: 1.00000000
P81: 1.00000000
P82: 1.00000000
P83: 1.00000000
P84: 1.00000000
P85: 1.00000000
P86: 1.00000000
P87: 1.00000000
P88: 1.00000000
P89: 1.00000000
P90: 1.00000000
P91: 1.00000000
P92: 1.00000000
P93: 1.00000000
P94: 1.00000000
P95: 1.00000000
P96: 1.00000000
P97: 1.00000000
P98: 1.00000000
P99: 1.00000000
P100: 1.00000000

```

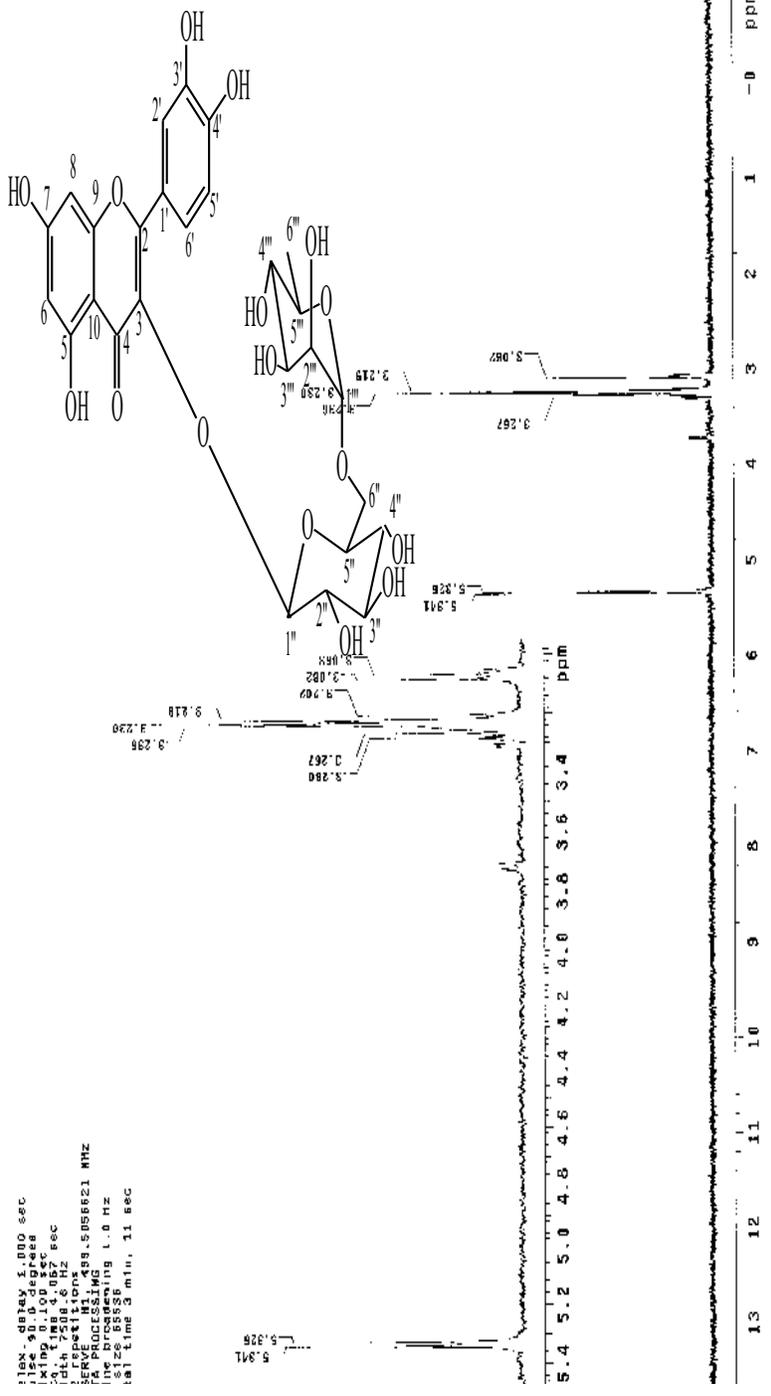


FIGURA 62C: TOCSY 1D e expansão do TOCSY 1D de Jrl-146-02 (rutina) em DMSO-*d*₆, 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 5,33 (1H; d, J=7,5)].

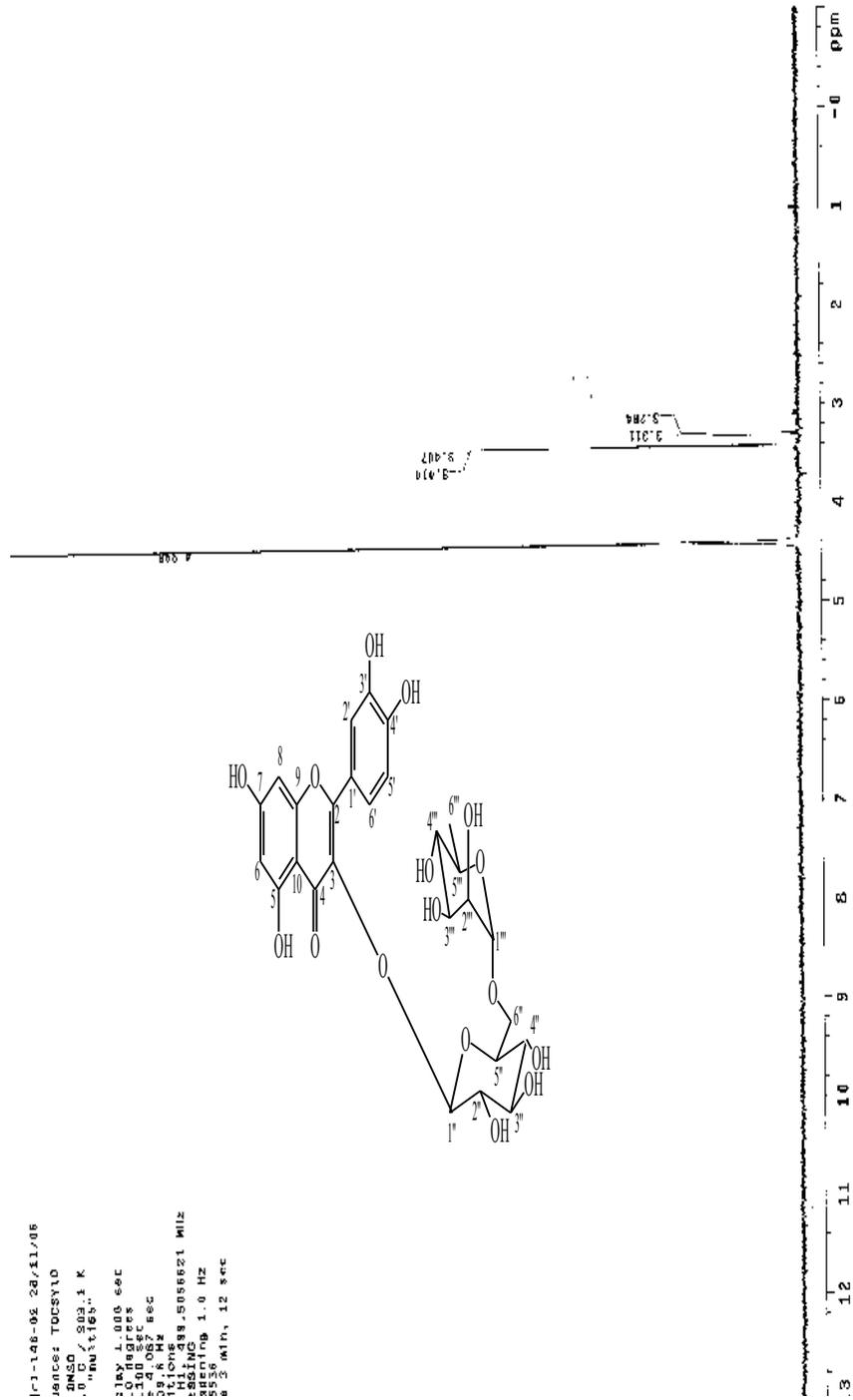


FIGURA 64C: TOCSY 1D J-146-02 (rutina) em DMSO- d_6 , 500 MHz [sinal irradiado: δ_H 4,40 (1H; d, J=1,5)].

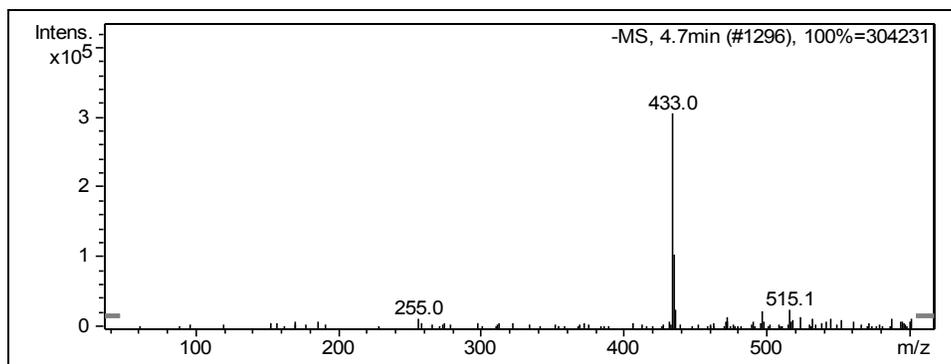


FIGURA 65C: Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-120-03 (guaijaverina), -MS¹ (433=M-1).

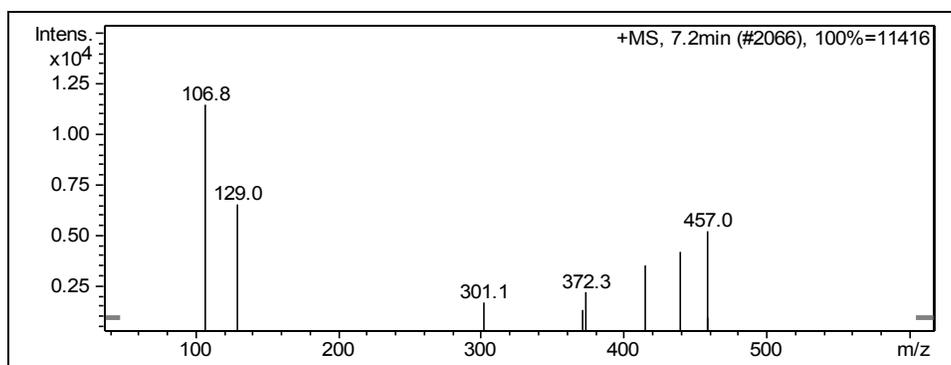


FIGURA 66C: Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-120-03 (guaijaverina), +MS¹ (457=M+Na⁺).

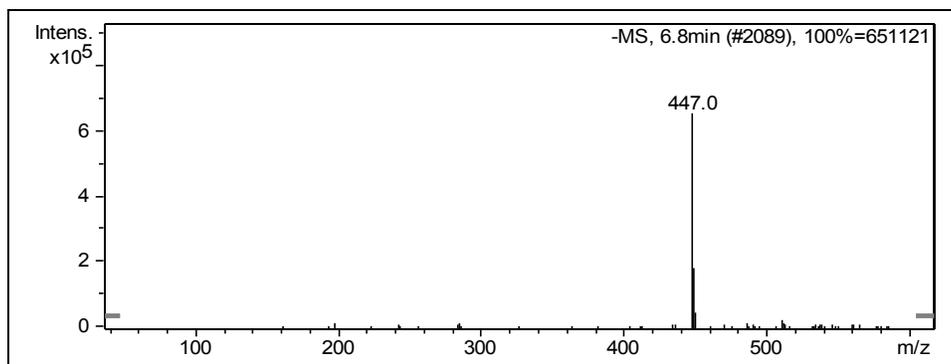


FIGURA 67C: Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-120-04 (quercetina 3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo), -MS¹ (447=M-1).

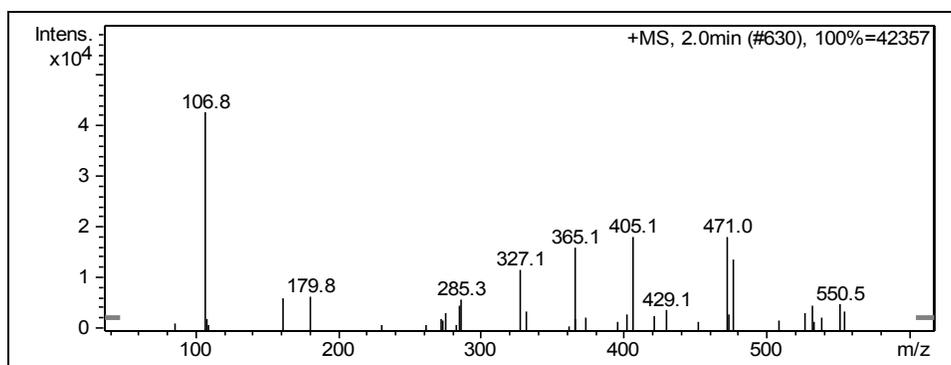


FIGURA 68C: Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-120-04 (quercetina 3-*O*- α -L-ramnopiranosídeo), +MS¹ (471=M+Na⁺).

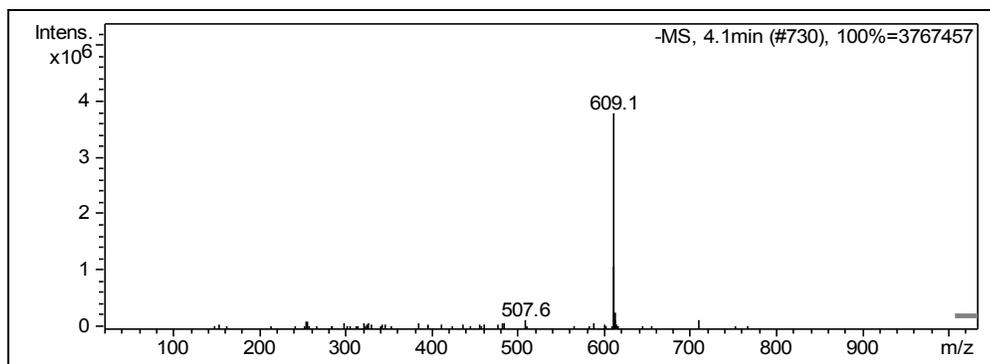


FIGURA 69C: Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-146-02 (rutina), -MS¹ (609=M-1).

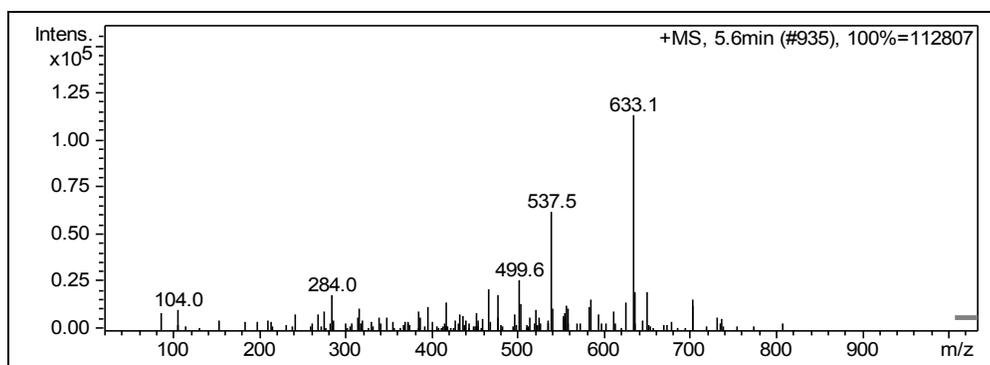


FIGURA 70C: Espectro de massas (EM-ES) de Jr1-146-02 (rutina), +MS¹ (633=M+Na⁺).