

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS**

**CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA**

**ESTUDO QUÍMICO DE *Lafoensia glyptocarpa* Koehne (LYTRACEAE)  
E *Wedelia paludosa* D.C. (ASTERACEAE)**

**GEIZI JANE ALVES DE CARVALHO**

Itaguaí, Rio de Janeiro

novembro de 1994

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS**  
**CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA**

**ESTUDO QUÍMICO DE *Lafoensia glyptocarpa* Koehne (LYTRACEAE)  
E *Wedelia paludosa* D.C. (ASTERACEAE)**

**GEIZI JANE ALVES DE CARVALHO**

Sob a orientação dos Professores

Dr. Mário Geraldo de Carvalho

Dra. Dalva Trevisan Ferreira

Tese submetida como requisito  
parcial para obtenção do grau  
de Mestre em Ciências em  
Química. Área de concentração  
em Química Orgânica.

Itaguaí, Rio de Janeiro  
novembro de 1994

**ESTUDO QUÍMICO DE *Lafoensia glyptocarpa* Koehne  
(LYTRACEAE) E *Wedelia paludosa* D.C. (ASTERACEAE)**

GEIZI JANE ALVES DE CARVALHO

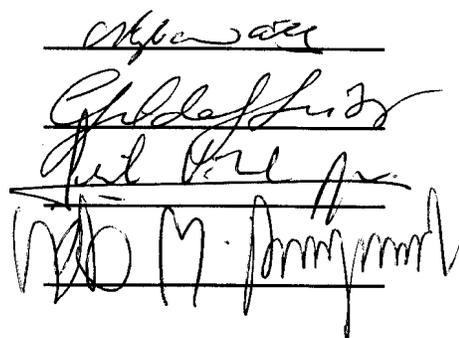
APROVADA EM 07 / 11 / 1994.

Prof. Dr. Mario Geraldo de Carvalho (UFRRJ)

Prof. Dra. Gilda Guimarães Leitão (UFRJ)

Prof. Dra. Leila Vilela Alegrio (UFRRJ)

Prof. Dr. Victor Marcos Rumjanek (UFRRJ) Suplente



The image shows four handwritten signatures, each written on a horizontal line. From top to bottom, the signatures correspond to the names of the approving professors: Mario Geraldo de Carvalho, Gilda Guimarães Leitão, Leila Vilela Alegrio, and Victor Marcos Rumjanek. The signatures are written in black ink and are somewhat stylized.

À memória de meu pai.  
Este trabalho é dedicado aos meus  
pais com toda a gratidão.

## BIOGRAFIA

Geizi Jane Alves de Carvalho, filha de Domingos Alves de Carvalho e Geizy de Souza Carvalho, nasci no Rio de Janeiro a 03 de março de 1965.

Concluí o 1º grau no centro Interescolar Municipal Fernando de Azevedo (Santa Cruz) em 1979 e o 2º grau no Colégio Estadual Barão do Rio Branco (Santa Cruz) em 1982, prestei concurso Vestibular (CESGRANRIO) em 1985 e ingressei no Curso de Licenciatura em Ciências, Habilitação em Química na UFRRJ, concluindo-o em 1988.

Durante a graduação trabalhei nas Firms Projetos e Instalações e LTD's Engenharia, como desenhista e fui monitora de Bioquímica I-A no ano de 1988. Depois da conclusão do curso trabalhei como professora secundária nos colégios Instituto Sepetiba (Sepetiba-RJ) e Colégio Realengo (Realengo-RJ) e fui colaboradora em projeto de pesquisa na área de quimiossistemático sob a orientação do Professor Euclides Lameiras Barreiros. Atualmente sou professora do Centro Escolar EDP (Campo Grande-RJ).

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Mario Geraldo de Carvalho pela grande amizade, ensinamentos e estímulo, e cuja orientação tornou possível a realização deste trabalho.

Ao Professor Raimundo Braz Filho pela amizade, orientação durante o curso e valiosas sugestões.

Ao Professor Anselmo Alpandes de Moraes, pelas sugestões, amizade e incentivo.

À Professora Dalva Trevisan Ferreira, pela colaboração para os trabalhos relacionados com capítulo 2 da tese.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela oportunidade de realizar este trabalho.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal e Ensino Superior (CAPES). pela bolsa de estudo concedida.

À funcionária Áurea de Almeida Tabagiba pelos espectros de RMN<sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, pelas sugestões, amizade e incentivo.

Ao Professor Euclides Lameiros Barreiros (in memorian) pela dedicação, amizade e incentivo.

Aos Professores José Aguiar Sobrinho e Sheila M. Simão pela coleta da planta.

Ao Professor Porfírio, pelas sugestões, amizade e incentivo.

Aos funcionários, Osmar, Carlão, Eli, Aldir, Rui, Conceição, Pimentel, Celeste, Dayse, Arlete, Maurício e Rubens, pela convivência amigável e serviços prestados.

Ao funcionário Paulo Cesar, pela digitação da tese.

Aos amigos Paulo Afonso, Francisco, Suzana, Solange, Daniela, Alaíde, José Carlos, Luciene, Izabel, Darí, Marcia e Riclene pela amizade, colaboração e apoio durante o decorrer do curso.

Aos demais professores e funcionários do Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica da UFRRJ, pela colaboração e amizade.

À minha mãe, pelo carinho, compreensão e estímulo.

À minha sobrinha-filha Camila pelo carinho

Aos meus irmãos e ao amigo Antônio M. Frade.

"Quem desiste nunca vence,  
quem vence nunca desiste".

## ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
ÍNDICE DE ESQUEMAS	xx
RESUMO	xxi
ABSTRACT	xxiii
ABREVIATURAS	xxv
PARTE 1 - ESTUDO QUÍMICO DE <i>Lafoensia glyptocarpa</i> Koehne	
OBJETIVO	2
<b>I N T R O D U Ç Ã O</b>	3
1.1 Descrição botânica de <i>Lafoensia glyptocarpa</i> Koehne	8
1.2 Especificação da planta	9
1.3 Constituintes químicos isolados de <i>Lafoensia glyptocarpa</i> Koehne	10
1.4 Determinação estrutural dos constituintes da planta	12
1.4.1 Determinação estrutural de MRMAD-1	12
1.4.2 Determinação estrutural de MRMAD-2	13
1.4.3 Determinação estrutural de MRMAH	14
1.4.4 Determinação estrutural de MRMAD-13	15
1.4.5 Determinação estrutural de MRMAD-IIC	16
1.4.6 Determinação estrutural de MRMAD-3E	17
1.4.7 Determinação estrutural de MRFA-01	19
1.4.8 Determinação estrutural de MRFA-04	20
1.5 Parte Experimental	22
1.5.1 Material e métodos	22
1.5.2 Coleta da planta	23
1.5.3 Extração	24

	Página
1.5.4 Isolamento e purificação dos constituintes da planta	24
1.5.4.1 Extrato Hexânico (madeira)	24
1.5.4.2 Extrato em Acetato de etila (madeira)	24
1.5.4.3 Extrato em Acetato de etila (fruto)	25
1.5.5 Dados físicos e espectrais dos constituintes isolados de <i>Lafoensia glyptocarpa</i> Koehne "Mirindiba Rosa"	25
CONCLUSÃO	61
PARTE 2 - ESTUDO QUÍMICO DE <i>Wedelia paludosa</i> D.C.	
OBJETIVO	63
<b>INTRODUÇÃO</b>	64
2.1 Descrição botânica de <i>Wedelia paludosa</i> D.C.	69
2.2 Especificação da planta	69
2.3 Constituintes químicos isolados de <i>Wedelia paludosa</i> D.C.	70
2.4 Determinação estrutural dos constituintes da planta	73
2.4.1 Determinação estrutural de WPE-4	73
2.4.2 Determinação estrutural de WPE VII-2	75
2.4.3 Determinação estrutural de WPE VIII-3-4	77
2.4.4 Determinação estrutural de WPE-5	80
2.4.5 Determinação estrutural de WPE-2	81
2.4.6 Determinação estrutural de WPE-1	82
2.4.7 Determinação estrutural de WPE-XIV	82
2.5 Parte Experimental	84
2.5.1 Material e métodos	84
2.5.2 Coleta da planta	85
2.5.3 Extração	85
2.5.4 Isolamento e purificação dos constituintes	85

	Página
2.5.4.1 Extrato etanólico	85
2.5.5 Dados físicos e espectrais dos constituintes isolados de <i>Wedelia paludosa</i> D.C.	86
2.5.6 Preparação de derivados	87
2.5.6.1 Metilação	87
2.5.6.2 Acetilação	87
CONCLUSÃO	140
2.6 Referências bibliográficas	141

**ÍNDICE DE TABELAS**

	Página
Parte 1	
Tabela 1 - Dados de RMN <sup>1</sup> H da substância MRMAD-1, comparados com valores citados na literatura.	27
Tabela 2 - Dados de RMN <sup>1</sup> H 1D e 2D ( <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H - COSY), da substância MRMAD-2, comparados com valores citados na literatura.	28
Tabela 3 - Dados de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C, PND e DEPT das substâncias MRMH-13 e MRMH-11C, comparados com valores citados na literatura.	29
Tabela 4 - Dados de RMN <sup>13</sup> C de MRFA-01, comparados com valores citados na literatura.	30
Tabela 5 - Estudo das frações obtidas do fracionamento cromatográfico do extrato em hexano da madeira de "mirindiba rosa".	31
Tabela 6 - Estudo das frações obtidas do fracionamento cromatográfico do extrato em acetato de etila do fruto de "mirindiba rosa".	31
Parte 2	
Tabela 1 - Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) dos carbonos da substância WPE-4.	88
Tabela 2 - Dados de RMN 1 D de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C (PND e DEPT: $\theta$ : 135 <sup>o</sup> ) e 2 D ( <sup>1</sup> H X <sup>1</sup> H - COSY, <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C - COSY; $\eta_{\text{JCH}}$ ) comparados com valores citados na literatura.	89
Tabela 3 - Dados RMN <sup>1</sup> H { <sup>1</sup> H} - NOE	90
Tabela 4 - Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) dos carbonos da substância WPE VII-2	91

	Página
Tabela 5 - Dados de RMN 1D de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (PND e DEPT) e D ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY, $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY $\eta_{\text{CH}}$ ) de WPE - VII - 2	92
Tabela 6 - Dados de RMN $^{13}\text{C}$ de WPE - VII-2, comparados com valores citados na literatura.	93
Tabela 7 - Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) dos carbonos da substância WPE-VII-3-4.	94
Tabela 8 - Dados de RMN $^{13}\text{C}$ da substância WPE-VII-3-4, comparados com valores da literatura.	95
Tabela 9 - Dados RMN $^1\text{H}$ (200 MHz) e $^{13}\text{C}$ (50,3 MHz) da substância WPE-VII-3-4 em $\text{CDCl}_3$ e TMS como referência interna.	96
Tabela 10 - Dados de RMN $^{13}\text{C}$ e $^1\text{H}$ da substância WPE-5 comparados com valores citados na literatura.	97
Tabela 11 - Deslocamentos químicos dos prótons (200 MHz) e $^{13}\text{C}$ (50.3 MHz) dos constituintes de WPE-XIV-AC comparados com valores citados na literatura.	98
Tabela 12 - Estudo das frações obtidas do fracionamento cromatográfico do extrato em éter etílico das flores de <i>Wedelia paludosa</i> D.C..	99

**ÍNDICE DE FIGURAS**

	Página
Parte 1	
Figura 1 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de MRMAD-1 em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	32
Figura 2 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (200 MHz) de MRMAD-2 em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	33
Figura 3 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H - COSY) de MRMAD-2, registrado a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	34
Figura 4 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de MRMAH, registrado a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	35
Figura 5 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C totalmente desacoplado de MRMAH, registrado a 50.3 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	36
Figura 6 - Espectros de RMN <sup>13</sup> C PND e DEPT com $\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ$ de MRMAH registrados a 50.3 MHz e TMS como referência interna.	37
Figura 7 - Espectro de I.V.. (filme NaCl) de MRMAH	38
Figura 8 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C totalmente desacoplado de MRMH-13, registrado a 50,3 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	39
Figura 9 - Espectros de RMN <sup>13</sup> C PND e DEPT com $\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ$ de MRMH-13, registrados a 50.3 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	40
Figura 10 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de MRMH-13, registrado a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	41

	Página
Figura 11 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de MRMH-IIC, registrado a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	42
Figura 12 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C totalmente desacoplado de MRMH-IIC, registrado a 50.3 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	43
Figura 13 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de MRMH-3E, registrado a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	44
Figura 14 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C totalmente desacoplado de MRMH-3E, registrado a 50.3 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	45
Figura 15 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de MRFA-01, registrado a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	46
Figura 16 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C totalmente desacoplado de MRFA-01, registrado a 50.3 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	47
Figura 17 - Espectros de RMN <sup>13</sup> C PND e DEPT com $\theta = 90^\circ$ e $135^\circ$ de MRFA-01, registrados a 50.3 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	48
Figura 18 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H - COSY) de MRFA-01, registrado a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	49
Figura 19 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H, de MRFA-04, registrado a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	50
Figura 20 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C, totalmente desacoplado de MRFA-04, registrado a 50.3 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	51

## Parte 2

- Figura 1 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  totalmente desacoplado de WPE-4, registrado a 50,3MHz em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna. 100
- Figura 1a - Espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  PND e DEPT com  $\theta = 90^\circ$  e  $\theta = 135^\circ$  de WPE-4, registrados a 50,3 MHz em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna. 101
- Figura 2 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de WPE-4, registrado a 200MHz em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna. 102
- Figura 2a - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de WPE-4-ME, registrado a 200 MHz em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna. 109
- Figura 3 - Espectro de massas de WPE-4. 104
- Figura 4 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  - COSY) de WPE-4 registrado a 200 MHz em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna. 105
- Figura 5 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - COSY,  $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ) de WPE-4, registrado a 200MHz ( $^1\text{H}$ ) e 50,3 MHz ( $^{13}\text{C}$ ) em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna. 106
- Figura 6 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  - COSY,  $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ) de WPE-4, registrado a 200 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 50.3 MHz ( $^{13}\text{C}$ ) em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna. 107
- Figura 7 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  obtido com irradiação dupla e subtração de espectros, registrados a 200 MHz em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna. 108

- Figura 8 - Espectros de RMN<sup>13</sup>C PND e DEPT com  $\theta = 90^\circ$  (c) e  $\theta = 135^\circ$  (b) de WPE-VII-2, registrados a 50,3 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna. 109
- Figura 9 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H de WPE-VII-2, registrado a 200 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna. 110
- Figura 10 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear (<sup>1</sup>H x <sup>1</sup>H - COSY) de WPE-VII-2, registrado a 200 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna. 111
- Figura 11 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear (<sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C - COSY,  $\nu_{\text{CH}}$ ) de WPE-VII-2, registrado a 200 MHz (<sup>1</sup>H) e 50.3 MHz (<sup>13</sup>C) em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna. 112
- Figura 11a-Espectro bidimensional de correlação heteronuclear (<sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C - COSY,  $\nu_{\text{CH}}$ ) de WPE-VII-2, registrado a 200 MHz (<sup>1</sup>H) e 50.3 MHz (<sup>13</sup>C) em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna. 113
- Figura 12 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear (<sup>1</sup>H x <sup>13</sup>C - COSY,  $\nu_{\text{CH}}$ ) de WPE-VII-2, registrado a 200 MHz (<sup>1</sup>H) e 50.3 MHz (<sup>13</sup>C) em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna. 114
- Figura 13 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H de WPE-VII-2-ME, registrado a 200 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna. 115
- Figura 14 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H obtido com irradiação dupla e subtração de espectros, registrados a 200 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna. 116

Figura 14a-Espectro de RMN <sup>1</sup> H obtido com irradiação dupla e subtração de espectros, registrados a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	117
Figura 15 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de WPE-VII-3-4, totalmente desacoplado, registrado a 50.3 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna	118
Figura 15a-Espectros de RMN <sup>13</sup> C PND e DEPT com $\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ$ de WPE-VII-3-4, registrados a 50,3 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	119
Figura 16 - Espectro RMN <sup>1</sup> H de WPE-VII-3-4, registrados a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	120
Figura 17 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H - COSY) de WPE-VII-3-4, registrado a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	121
Figura 18 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear ( <sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C - COSY, <sup>1</sup> J <sub>CH</sub> ) de WPE-VII-3-4, registrado a 200 MHz ( <sup>1</sup> H) e 50.3 MHz ( <sup>13</sup> C) em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	122
Figura 19 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de WPE-5, registrado a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	123
Figura 20 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C totalmente desacoplado de WPE-5, registrado a 50.3 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	124
Figura 21 - Espectros RMN <sup>13</sup> C PND e DEPT com $\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ$ de WPE-5, Registrados a 50,3 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	125

	Página
Figura 22 - Espectro de I.V. (pastilha KBr) de WPE-5.	126
Figura 23 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de WPE'-2, registrado a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	127
Figura 23a-Espectro de I.V. (filme NaCl) de WPE'-2.	128
Figura 24 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de WPE-1, registrado em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	129
Figura 25 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C totalmente desacoplado de WPE-1, registrado a 50.3 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	130
Figura 26 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de WPE-XIV-AC, registrado a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	131
Figura 27 - Espectros de RMN <sup>13</sup> C PND e DEPT com $\theta = 90^\circ$ e $\theta = 135^\circ$ de WPE-XIV-AC, registrado a 50.3 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	132
Figura 28 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear ( <sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H - COSY) de WPE-XIV-AC, registrado a 200 MHz em CDCl <sub>3</sub> e TMS como referência interna.	133

## ÍNDICE DE ESQUEMAS

	Página
Parte 1 -	
Esquema 1 - Proposta biogenética para formação de MRMAD-1 e MRMAD-2.	52
Esquema 2 - Proposta biogenética para formação de MRMAH.	53
Esquema 3 - Proposta biogenética para formação de MRMAH-13.	54
Esquema 4 - Proposta biogenética para formação de MRMAH-IIC.	55
Esquema 5 - Proposta biogenética para formação de MRFA-01.	56
Esquema 6 - Proposta biogenética para formação de MRFA-04.	57
Esquema 7 - Processamento para obtenção do Extrato em hexano e em acetato de etila da madeira de <i>Lafoensia glyptocarpa</i> Koehne "Mirindiba rosa".	58
Esquema 8 - Fracionamento do extrato em acetato de etila.	59
Esquema 9 - Processamento para obtenção do extrato em acetato de etila do fruto de <i>Lafoensia glyptocarpa</i> Koehne "Mirindiba rosa"	60
Parte 2 -	
Esquema 1 - Interpretação dos principais picos registrados no espectro de massas de WPE-4.	134
Esquema 2 - Proposta biogenética para formação de WPE-4 e WPE-VII-2.	136
Esquema 3 - Proposta biogenética para formação de WPE-VII-3-4.	137
Esquema 4 - Proposta biogenética para formação de WPE-5.	138
Esquema 5 - Proposta biogenética para formação de WPE' -2.	138
Esquema 6 - Proposta biogenética para formação de WPE-1.	138
Esquema 7 - Processamento para obtenção do extrato em éter etílico das flores de <i>Wedelia paludosa</i> D.C.	139

## RESUMO

Este trabalho descreve parte do estudo químico de duas plantas brasileiras *Lafoensia glyptocarpa* Koehne (Lytraceae) e *Wedelia paludosa* D.C.(Asteraceae).

O espécimen *Lafoensia glyptocarpa* Koehne (Lytraceae) foi coletado no Horto Florestal de Seropédica - Itaguaí - R.J. O efeito alelopático apresentado pela planta, responsável pela inibição da germinação das sementes da mesma, serviu de motivo para o estudo químico das partes aéreas da planta. Neste trabalho, os extratos em hexano e em acetato de etila dos galhos (madeira) e frutos forneceram, através de partição em solventes, fracionamento cromatográfico e cristalização das frações: acetato de sitosterila, acetato de butirospernila, cinamato de sitosterila, ferulato de alquila, cumarato de alquila, glicérides e mistura de cetonas e ésteres alifáticos.

O espécimen *Wedelia paludosa* D.C. (Asteraceae) foi coletada nas proximidades do campus da Universidade Estadual de Londrina. A atividade farmacológica de algumas substâncias de outras espécies de *Wedelia*, serviu de estímulo para a investigação fitoquímica desta planta. O extrato em éter etílico das flores de *Wedelia paludosa* D.C. forneceu através da partição em solventes, fracionamento cromatográfico e cristalização das frações: estigmasterol, ácido Kaur-16-eno-19 óico, ácido Kaur-9,16-dieno-19 óico, mistura de ésteres alifáticos e de olefinas, 3- $\beta$ -O-acil-oleano-12-eno-28-ol e a mistura de 3- $\beta$ -D-glicopiranosil-sitosterol com 3- $\beta$ -D-glicopiranosil estigmasterol.

## ABSTRACT

This work describes part of the phytochemical study of two Brazilian plants: *Lafoensia glyptocarpa* Koehne and *Wedelia paludosa* D.C..

The allelopathic effect responsible for the inhibition of germination of seeds of *Lafoensia glyptocarpa* Koehne (Lythraceae) has motivated the chemical investigation of the plant's aerial parts. The specimen of *Lafoensia glyptocarpa* Koehne was collected in the Horto Florestal- Seropedica, Itaguaí - RJ. The hexane and ethyl acetate extracts from branches and fruits were fractionated by column chromatography and crystallization of the different fractions afforded sitosterol acetate, butirospermyl acetate, sitosterol cinnamate, an alkyl-ferrulate, an alkyl-cummarate, triglycerides, ketones and aliphatic esters.

The pharmacological activity of similar substances isolated from other *Wedelia* species, served as a stimulus to the phytochemical investigation of this plant. The specimen of *Wedelia paludosa* D.C. (Asteraceae) was collected near the Londrina State University. Column chromatography of the ethereal extract of *Wedelia paludosa* D.C. flowers afforded stigmaterol, kaur-16-en-19-oic-acid, kaur-9,16-dien-19-oic-acid, a mixture of aliphatic esters and olefins, 3- $\beta$ -O-acyl-olean-12-en-28-ol and a mixture of 3- $\beta$ -D-glycopyranosyl-sitosterol and 3- $\beta$ -D-glycopyranosyl-stigmaterol.

**ABREVIATURAS**

a - axial

ac. - ácido

Ac - Acetila

C.C.D - Cromatografia em camada delgada

COLOC - COrrelation spectroscopy via LOng-rang Coupling

COSY - COrrelation spectroscopy

d - dubleto

dd - duplo dubleto

DEPT - Experiment of Próton Test Decoupling

e - equatorial

E.M. - espectometria de massas

Fig. - figura

g - grama

Hz - Hertz

I.V. - infravermelho

J - constante de acoplamento

m - multiplete

MHz - megahertz

MRFA - Extrato em Acetato de etila do Fruto de Mirindiba Rosa

MRMAD - fração em Diclorometano do extrato em Acetato de etila da Madeira de Mirindiba Rosa

MRMAH - fração em Hexâno do extrato em Acetato de etila da Madeira de Mirindiba Rosa

MRMH - extrato em Hexâno da Madeira de Mirindiba Rosa

mult. - multiplicidade

NOE - "Nuclear Overhauser Effect"

p./pág. - página

p.f. - ponto de fusão

PND - Próton Noise Decoupled

RMN<sup>13</sup>C - Ressonância magnética nuclear de carbono - 13

RMN<sup>1</sup>H - Ressonância magnética nuclear de próton

s - singleto

sl - singleto largo

TMS - tetrametilsilano

u. m .a. - unidade de massa atômica

WPE - extrato em Éter etílico das flores de *Wedelia paludosa* D.C.

**PARTE 1**

***Lafoensia glyptocarpa* Koehne**

## OBJETIVO

1- Isolar e determinar as estruturas dos principais metabólitos secundários da planta.

2- Verificar as influências dos diferentes extratos, das diferentes partes da planta, na germinação das sementes da planta.

3- Contribuir com outras áreas da ciência como ecologia química, ciências ambientais.

## Parte 1 - ESTUDO QUÍMICO DE *Lafoensia glyptocarpa* Koehne.

### INTRODUÇÃO

Como parte da luta pela sobrevivência, as plantas superiores competem entre si por água, luz e nutrientes do ecossistema. No curso desta luta as plantas têm desenvolvido vários meios de defesa contra seus inimigos, esse processo natural se chama "Alelopatia". A Alelopatia representa a competição química entre as plantas,

Molisch<sup>1a</sup>, foi o primeiro a definir a palavra alelopatia usando um sentido mais amplo para referir-se a "interações bioquímicas entre todo tipo de planta", e incluindo as interações prejudiciais e benéficas. Rice<sup>1b</sup>, em uma monografia sobre o tema, define como "o dano efetuado em uma planta por outra através da produção de compostos químicos que saem para o meio ambiente". Igual a Molisch, Rice considera como um tema muito amplo, que cobre a maioria dos tipos de interações bioquímicas, incluindo aquelas entre plantas superiores e microorganismos. Ao contrário, Muller<sup>1c</sup>, um dos principais pioneiros em estudo

sobre o tema, prefere restringir o termo alelopatia às interações fanerógamo - fanerógamo. Muitos pontos de vista são convenientes para essas definições. As plantas inferiores estão indiretamente implicadas nas interações fanerógamo - fanerógamo enquanto a eficácia das substâncias químicas produzidas em uma planta superior para influir em outra, pode depender da velocidade com que os microorganismos do solo são capazes de desintoxicar e logo metabolizar tais compostos.

Os produtos químicos que atuam nas interações das superfícies das plantas se chamam substâncias ou toxinas alelopáticas, são metabólitos secundários característicos, em geral de baixo peso molecular e de estrutura relativamente simples. A maioria já é identificada por completo, e pertencem principalmente a classe dos terpenos voláteis e de compostos fenólicos. Whittake<sup>1d</sup> entre outros, sugeriram que a causa da natureza química das substâncias alelopáticas só podem ter funções secundárias nas plantas, havendo surgido inicialmente como resposta à ação dos herbívoros. Essa teoria supõe que a evolução da cadeia alimentar é levada a produção casual de compostos que são excretados pelas folhas, galhos e raízes e vão para o ambiente deste modo, essas plantas continuariam sintetizadoras.

Os mecanismos de defesa química são invocados mais frequentemente quando um tipo de planta, por exemplo, um arbusto, o arbol, compete com outro tipo, como a vegetação herbácea, e alguns dos melhores exemplos de alelopatia terão nascidos de tais estudos. A competição entre plantas de mesma espécie como as herbáceas pode representar, também, efeitos alelopáticos. Os efeitos alelopáticos podem ocorrer entre indivíduos de mesma espécie, em particular quando há falta de água ou nutrientes que limitam o crescimento; o termo "autoxidade" é usado neste caso. A competição pela variação biológica primordial é mais aguda em climas extremos e alguns dos primeiros exemplos de alelopatia

foram demonstrados em plantas de deserto. Entretanto o efeito tem sido, também, encontrado em outros vários habitats, de forma que a alelopatia pode ocorrer em qualquer clima.

Historicamente, De Candolle<sup>1e</sup> foi um dos primeiros a informar de situações em que pareceram haver sucedidas interações químicas entre as plantas superiores. Por exemplo ele observou que os cardos (planta das Asteraceae, praga de lavouras) que crescem nos cultivos têm um efeito prejudicial sobre a aveia (*Avena sativa*), e, analogamente, as eufórbias prejudicam o crescimento do linho (*Linum catharticum*). De Candolle descreve também experimentos em que, um tipo de planta aquática, posta na água que contenha materiais exudados pelas raízes de outros indivíduos da mesma espécie, languideceram e morreram. Outras observações similares se acumularam na biblioteca botânica até 1925. Em 1925, Massey<sup>1f</sup> proporcionou uma das primeiras e divididas demonstrações de alelopatia entre árvores e herbáceas, quando estabeleceu-se uma série de experimentos para demonstrar que o nogal negro (*Juglans nigra*) produz substâncias químicas que matam os tomateiros e as plantas de alfafa que crescem num raio de 27 metros ao seu redor. Massey<sup>1f</sup> supôs, que o nogal negro exudava pelas raízes substâncias alelopáticas que afetavam as demais plantas, porém, mais tarde Bode<sup>1g</sup> provou através de experimentos, que as demais plantas eram afetadas por uma toxina combinada (4-glicosil-1,4,5-trihidroxinaftaleno), que chega ao solo através da lixiviação das folhas, caule e galhos do nogal negro, e no solo sofre hidrólise e oxidação, transformando-se na verdadeira toxina (5-hidroxinaftoquinona), que mata qualquer espécie ao seu redor.

O estudo alelopático ascendeu no período da guerra (1939 - 1945) devido aos descobrimentos, em boa parte acidentais, dos fisiólogos vegetais que trabalhavam em projetos de guerra, acerca das interações alelopáticas em

plantas que crescem no deserto da Califórnia, sobre os arbustos *Encelia farinosa* e *Parthenium argentatum*. Entretanto, o conceito de alelopatia vegetal não ficou plenamente estabelecido até os esforçados pioneiros Muller<sup>1c</sup> e seus colaboradores com seus trabalhos sobre o "chaparral californiano", e os de Rice<sup>1b</sup> sobre os fatores químicos da "rotação" de colheitas. A maioria das informações sobre alelopatia procede de uma série de trabalhos publicados ao longo de 20 anos por Muller<sup>1c</sup> e col. em Santa Bárbara (Califórnia).

Muller<sup>1c</sup> teve sempre muito cuidado de não exagerar no caso de alelopatia entre as plantas e, como ele mesmo disse, "É um dos vários processos ecológicos básicos, cuja causa química mostra um fator principal do complexo ambiental. As variáveis não predominam sobre as da luz, temperatura, água e nutrientes minerais... e competem com cada uma delas na determinação do meio dos vegetais. Entretanto, também participam de seu potencial como fator limitante, exercendo assim seu controle".<sup>1</sup>

Foi observado em uma área de reflorestamento, no Horto florestal de Seropédica, Itaguaí - RJ, que as sementes de "Mirindiba Rosa" (*Lafoensia glyptocarpa* Koehne), família Lytraceae, não conseguem germinar no solo, próximo a indivíduos da mesma espécie. Realizou-se teste de germinação das sementes e foi verificado, que as sementes germinam normalmente em outro local. Desse modo suspeitou-se que substâncias químicas produzidas pela planta, estejam inibindo a germinação das sementes. Despertando o interesse pelo estudo químico dessa espécie, na tentativa de se descobrir quais as substâncias, ou pelo menos a classe da substância que poderia estar causando tal efeito alelopático no ambiente da referida planta.

O isolamento e determinação estrutural dos constituintes das partes aéreas, folhas, galhos e frutos de "Mirindiba rosa", contribuem para o conhecimento químico desta espécie que tem utilidade econômica no torneamento da madeira

de lei. O extrato metanólico da folha, galhos e frutos deverão ser estudados posteriormente, bem como a avaliação em laboratório dos efeitos dos extratos sobre a germinação das sementes da planta.

## 1.1 DESCRIÇÃO BOTÂNICA DE *Lafoensia glyptocarpa* Koehne.

### Características gerais

Segundo Cronquist<sup>2a</sup>, a ordem Myrtales, compreende 13 famílias e cerca de 9.000 espécies<sup>2</sup>.

Os principais caracteres de progressão dos elementos da ordem podem ser apreciados nos tipos hipânico, que tem ovário livre (mediano) ou aderente (infero); a inserção dos estames na base do ovário, acima deste ou nos bordos do receptáculo cupuliforme (hipânico); ovário dividido em lóculos ou incompletamente septado; grande número de lóculos do ovário ou uma menor redução para menor número; número grande de óvulos em cada lóculo do ovário reduzindo a poucos ou as vezes a um<sup>2</sup>.

A ordem Myrtales é representada pelas famílias: Lytraceae, Thymelaeaceae, Dialypetalanthaceae, Myrtaceae, Onagraceae, Melastomataceae, Punicaceae, Conneratiaceae, Combretaceae, Trapaceae, Penaeaceae, Oliniaceae e Crypteroniaceae<sup>2a</sup>.

A família Lytraceae é representada por uma média de 500 espécies, subordinadas a 20-30 gêneros e distribuídas nos dois hemisférios. As espécies dos gêneros *Cuphea*, *Pleurophora* e *Lafoensia* são sul-americanas; as dos gêneros *Diplusodon* e *Physocalymma* são exclusivamente brasileiras<sup>2</sup>.

São plantas de hábito herbáceo, subarbustivo e arbóreo, com folhas opostas ou verticiladas, raramente alternas, com estípulas pequenas ou rudimentares.<sup>2</sup>

## 1.2 ESPECIFICAÇÃO DA PLANTA

A espécie *Lafoensia glyptocarpa* Koehne, é árvore de grande porte, glabérrima em todos os seus órgãos vegetativos, raminhos cobertos por uma epiderme grisalha, arredondados; pecíolo com 2-6 mm de comprimento, canalículado. Folha - oblonga de margens onduladas, atenuada na base e terminada em ponta alongada e obtusa, com um pequeno poro do lado dorsal, 2-6 cm de comprimento, 6-28 mm de largura (raramente até 35 mm). Racemo-terminal simples, com 2-6 flores. Pedicelos - subquadrangulares, guarnecidos de membranas aliformes muito estreitas. Botão-glaboso. Cálice - hemisférico campanulado, às vezes pubescenteverlutino, segmentos calicinos 10-11 mm, munidos de um cornículo breve e caduco reflexos. Pétalas - com 22 mm de comprimento, ablongas, estreitadas na base em um unguículo cuneiforme, alvas. Estames - 20-22 mm, inseridos a um terço abaixo da fauce do tubo. Ovário - brevemente estipulado, deprimido-glaboso, na linha meridiana com tantos sulcos quanto o número de estames, sulcos pequenos e profundos, dispostos em anel. Estilete - com cerca de 75 mm de comprimento. Cápsula - glabosa e distintamente sulcada, com 4 cm de diâmetro, estreitada para base semente - oval - elítica, circundada por uma asa membranácea, levemente chapada na base<sup>2</sup>.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA - Estende-se da Bahia até São Paulo, no Brasil<sup>3</sup>

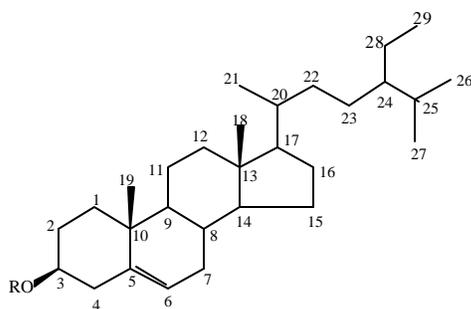
IMPORTÂNCIA ECONÔMICA: A espécie *Lafoensia glyptocarpa* quando nova presta-se para cerca de arbustos, ramos, estacas, etc. (sebes)<sup>3</sup>

Fornecer madeira de lei, densidade = 0,98, própria para construção civil, marcenaria e carpintaria. Muito recomendada para arborização de cidades, reflorestamento e para produção de lenha<sup>3</sup>.

COLETA E CLASSIFICAÇÃO: Ver ítem 1.5.2

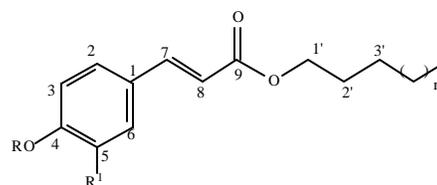
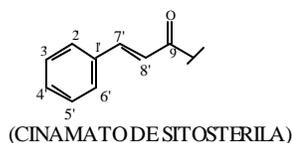
SINONÍMIA VULGAR: São conhecidas como, Mirindiba Rosa, Mirindiba bagre, Mirinduva, Louro-de-São Paulo<sup>3</sup>.

## 1.2 CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Lafoensia glyptocarpa* Koehne



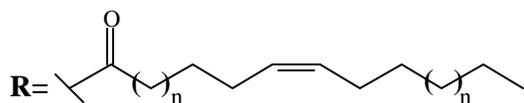
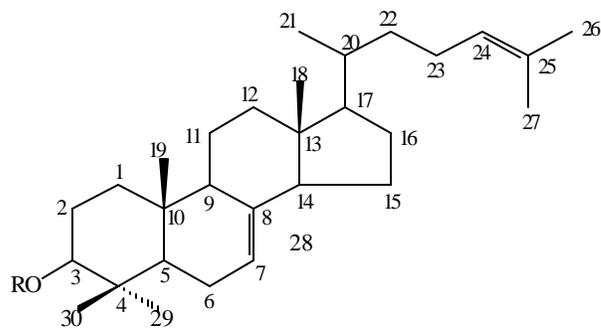
1 = R = H SITOSTEROL

2 = R = CINAMOILA =

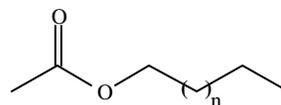


3 = R = H, R<sup>1</sup> = H (CUMARATO DE ALQUILA)

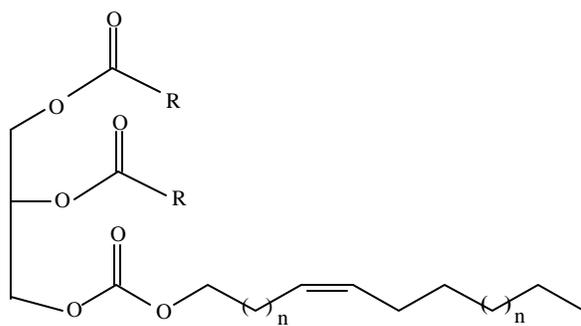
4 = R = H, R<sup>1</sup> = OCH<sub>3</sub> (FERRULATO DE ALQUILA)



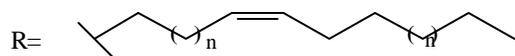
5 ÉSTER ALQUENÍLICO DO BUTIROSPERMILA



6 (ÉSTER ALIFÁTICO)



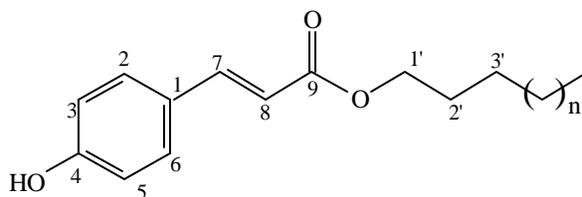
7 (GLICERÍDEO)



## 1.4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES ISOLADOS DE *Lafoensia glyptocarpa* Koehne "MIRINDIBA ROSA"

### 1.4.1 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE MRMAD-1

A avaliação dos deslocamentos químicos dos prótons (Fig.1, pág. 33) permitiu identificar os prótons aromáticos pelo sistema AA' BB' com absorção em 6,82 ppm (d; 7,8 Hz) e 7,41ppm (d;7,8 Hz) e o sistema AB de uma enona representado pelos sinais em 6,32 ppm (d; 13,3 Hz) e 7,62 ppm (d; 13,3 Hz). O sinal em 5,40 ppm (sl) pode ser atribuído a um grupo hidroxila localizado na posição *p* em relação à enona no sistema aromático. As frequências dos prótons do sistema AA' BB' justificam a proposta do anel aromático conjugado com a enona, constituindo a unidade do ácido cumárico (**1**). O sinal triplo pode ser atribuído a um CH<sub>2</sub> carbinólico vizinho a um CH<sub>2</sub> (1,63 ppm) (O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>). Os demais sinais presentes no espectro δH: 1,26 e 0,87 ppm são compatíveis com a cadeia alifática normal, ligada ao grupo carboxílico do ácido cumárico, constituindo o éster natural: cumarato de alquila (Tabela 1, pág. 27). Esta estrutura é semelhante a substância natural descrita na literatura<sup>4</sup>.



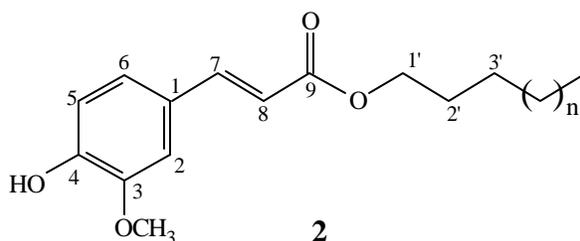
**1**

### 1.4.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE MRMAD-2.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig 2, pág. 33) mostra dois sinais duplos com acoplamento (15,9 Hz) com frequência correspondente a uma enona (6,27; H- $\alpha$  e 7,58; H $\beta$ ). Os sinais em 6,85 (d; 8,0 Hz); 7,07 (dd; 2,5 e 8,0 Hz) e 7,09 (d; 2,5 Hz) são compatíveis com um sistema aromático conjugado e sustentando dois oxigrupos. Os sinais em 3,90 ppm (OCH<sub>3</sub>) e 5,86 (OH), juntamente com as absorções acima, permitem propor a unidade estrutural **2** para MRMAD-2, que está de acordo com as interações homonuclear <sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H - COSY (Fig 3, pág. 34), onde o próton H-7 (d; 7,60 ppm; 15,9 Hz) acopla com o próton H-8 (d; 6,29 ppm; 15,9 Hz) e os acoplamentos entre H-5 (d; 6,88 ppm; 8,0 Hz) e H-6 (dd; 7,07 ppm; 2,5 e 8,0 Hz).

Os deslocamentos de H-2 e H-5 são compatíveis com o efeito protetor do OCH<sub>3</sub> e do OH respectivamente.

Os sinais em 4.19 ppm (t; 6,6 Hz), 1,67 ppm (m) e 0,88 ppm (t), observados no espectro RMN de <sup>1</sup>H (Fig 2, pág. 33), podem ser atribuídos a O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH<sub>3</sub>, respectivamente. Estes prótons pertencem à cadeia do álcool alifático que constitui o éster do ferrulato de alcoíla **2**. A Tabela 2, pág. 28 faz comparação do  $\delta$ H desta substância com modelo da literatura<sup>4</sup>.

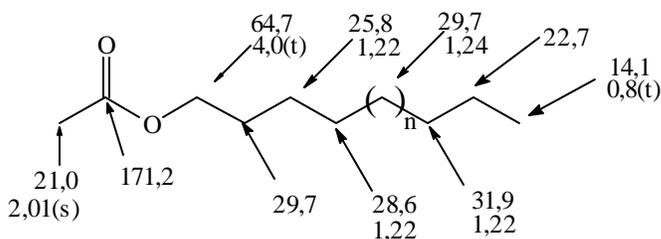
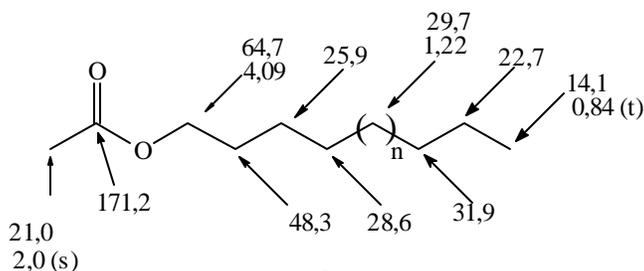


### 1.4.3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE MRMAH

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig 4, pág. 35) de MRMAH, **3**, possui sinal em 4.01 ppm (t) referente a prótons carbinólicos de éster, um singlete em 2.01 ppm referente a CH<sub>3</sub> alifático ligado a grupo carbonila, um sinal em 1,21 ppm (s) correspondente a frequência de absorção de prótons metilênicos (CH<sub>2</sub>) e um sinal em 0.84 ppm (t) que representa a frequência de absorção do grupo metila.

Os espectros de RMN<sup>13</sup>C PND e DEPT (Figs. 5, pág. 36 e 6, pág. 37) possuem um sinal em 171.2 ppm correspondente a frequência de absorção de carbonila e sinais de carbonos metilênicos de cadeia alifática normal, 31.9; 29.7; 29.5; 28.6; 25.9; 22.7 e 14.1 ppm (CH<sub>3</sub>). A frequência em 21,0 ppm confirma a proposta da unidade acetato.

O espectro de I.V. (Fig 7, pág. 38) possui banda de absorção 2.960 - 2.850 cm<sup>-1</sup> referente ao estiramento do C-H, 1.740 cm<sup>-1</sup> referente a estiramento de carbonila de éster, 1.460 cm<sup>-1</sup> referente a deformação angular do CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> e a banda em 1.240 cm<sup>-1</sup> representa a frequência de estiramento de C-O. Estes dados correspondem às frequências de absorção de um acetato de alquila (**3**). Para facilitar as atribuições fez-se comparação com o **Modelo 15**.

Modelo 1<sup>5</sup>

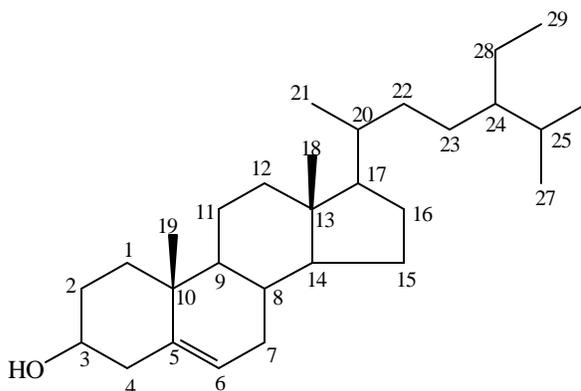
3

#### 1.4.4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE MRMH-13

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 8, pág. 39) possui sinais referentes a 29 átomos de carbono, cuja multiplicidade foi definida com base na análise dos espectros DEPT (Fig. 9, pág. 40). Esta análise permitiu identificar três carbonos quaternários (C), nove metínicos (CH), onze metilênicos ( $\text{CH}_2$ ). e seis metilas ( $\text{CH}_3$ ). Os sinais em 121,6 ppm e 140,7 ppm são referentes às absorções de carbonos olefínicos de uma dupla trissubstituída e o sinal em 73.1 ppm corresponde a um carbono carbinólico.

O espectro de RMN $^1\text{H}$  (Fig. 10, pág. 41) possui dois sinais simples em 0,65 e 0,98 ppm e outros sinais múltiplos entre 0,76 e 0,90 ppm que são compatíveis com as frequências de absorção de grupos metilas, que dão ao espectro uma feição compatível com os espectros de esteróides. Os demais sinais em 3.49 (m) e 5.32 (dl) são, respectivamente, referentes às frequências de absorção do próton carbinólico ligado ao carbono 3 ( $\delta_c$  : 73.1) e olefínico ligado ao carbono 6 ( $\delta_c$  : 121.6).

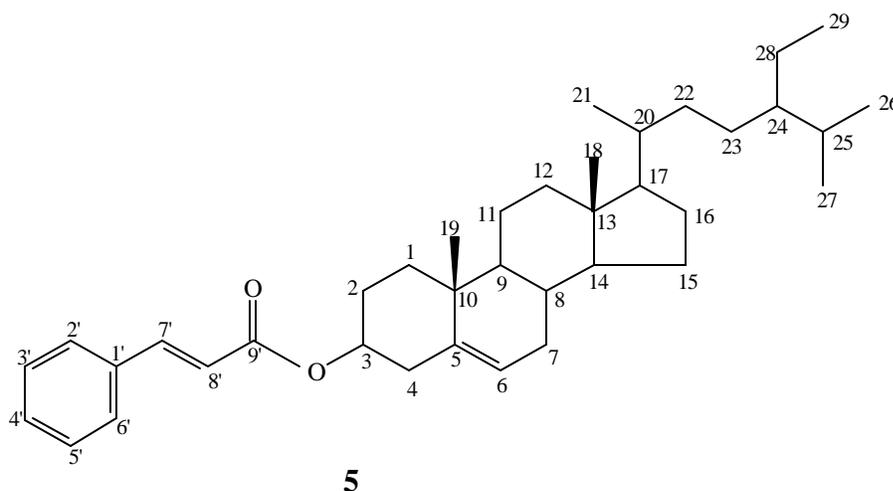
A comparação das frequências de absorção do próton (Fig. 10, pág. 41) e  $^{13}\text{C}$  (Fig. 3, pág. 39 e 4, pág. 40) com dados da literatura <sup>6,7</sup>, permitiu identificar a estrutura de MRMH-13 (**4**) como sitosterol (Tabela 3, pág. 29). Esta conclusão está de acordo com as deduções iniciais feitas com comparação de p.f.. (136 - 138  $^{\circ}\text{C}$ ) e por comparação com amostra autêntica por cromatografia em camada delgada analítica.



#### 1.4.5 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE MRMH-11C

O espectro de RMN<sup>1</sup> H (Fig. 11, pág. 42) possui dois sinais simples em 0,71 e 0,96 ppm e outros sinais múltiplos entre 0,81 e 0,92 ppm, que são compatíveis com as frequências de absorção dos grupos metilas de um esteróide idêntico a MRMH-13. O sinal em 4,15 ppm (m) corresponde à frequência de absorção de um próton carbinólico do C-3 que sustenta um grupo éster. O sinal em 5,35 corresponde a frequência do próton olefínico do esteróide. Os sinais em 6,45 ppm (d) e 7,95 ppm (d), são referentes às frequências de absorção dos carbonos olefínicos, vizinhos a carbonila e os sinais entre 7,30 e 7,70 ppm são compatíveis com absorções de prótons aromáticos.

O espectro de RMN<sup>13</sup>C (Fig. 12, pág. 43) possui, além dos sinais dos carbonos de esteróides, os sinais em 118,0 ( C-8' ) e 144.0 (C-7'), referentes as frequências dos prótons olefinicos vizinhos a carbonila. O sinal em 173,5 ppm representa a frequência de absorção de uma carbonila de éster com efeito de conjugação, estes dados permitem identificar uma unidade do ácido cinâmico, ligado a um esteróide que, através de comparação dos dados de RMN<sup>13</sup>C com valores citados na literatura <sup>6,7</sup> (Tabela 3, pág. 29), permitiu identificar a unidade terpênica como sitosterol, deste modo, a estrutura de MRMH - 11C ficou definida como cinamato de sitosterila. (5)

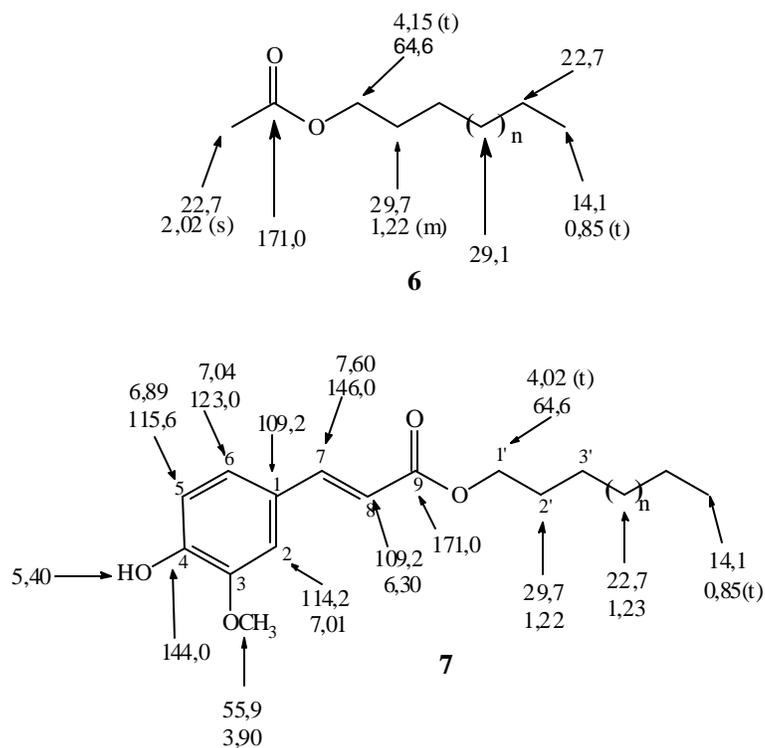


#### 1.4.6 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE MRMH-3E

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig 13, pág. 44) possui um sinal em 0.85 ppm (t) referente à frequência do grupo CH<sub>3</sub>, um sinal em 1.24 ppm (sl) correspondente à frequência de (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>, um sinal em 2.02 ppm (s), de grupo metila ligado a carbonila e um sinal em 2.26 ppm (t) referente a metileno alfa a carbonila (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C=O), sinais em 4.01 ppm (t, J = 7.2 Hz) e 4.16 ppm (t, J = 7.2 Hz) que correspondem a frequência de prótons carbinólicos. Os sinais duplos (16,0Hz) em

6.30 ppm e 7.60 ppm correspondem a um sistema AM de uma enona e os sinais em 7.01 (d), 7.04 (dd, 7.0 e 1.5 Hz) e 6.89 (d, 7.0 Hz) podem representar um anel aromático trissubstituído conjugado, tipo ferrulato (**7**). O grupo metoxila está representado pelo singlete em 3.90 ppm.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig 14, pág. 45) possui os sinais referentes aos do ferrulato de alquila proposto (**7**), semelhante às frequências do ferrulato isolado de *Jatropha elliptica*<sup>4</sup>. As atribuições das frequências dos prótons e  $^{13}\text{C}$  são representados na Estrutura **7**. Os demais sinais presentes no espectro de RMN  $^1\text{H}$  são compatíveis com acetato de alcoíla (**6**) contido em MRMAH como mistura nesta fração, além de outros sinais de prótons de um álcool e cetona alifáticos (3.60 ppm (t); 5.80 ppm, (m)).



#### 1.4.7 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE MRFA-01

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig 15, pág. 46) possui sinais simples em 0.65 e 0.99 ppm e sinais múltiplos entre 0.74 e 0.95 ppm que são compatíveis com as frequências de absorção de grupos metilas de um triterpeno. O sinal em 4.55 ppm (m) é referente à frequência do H-3 carbinólico secundário do éster.

Os sinais em 5.10 e 5.25 ppm são característicos de prótons olefínicos dos esteróides e o sinal em 5.35 ppm são prótons de olefina cis de cadeia normal.

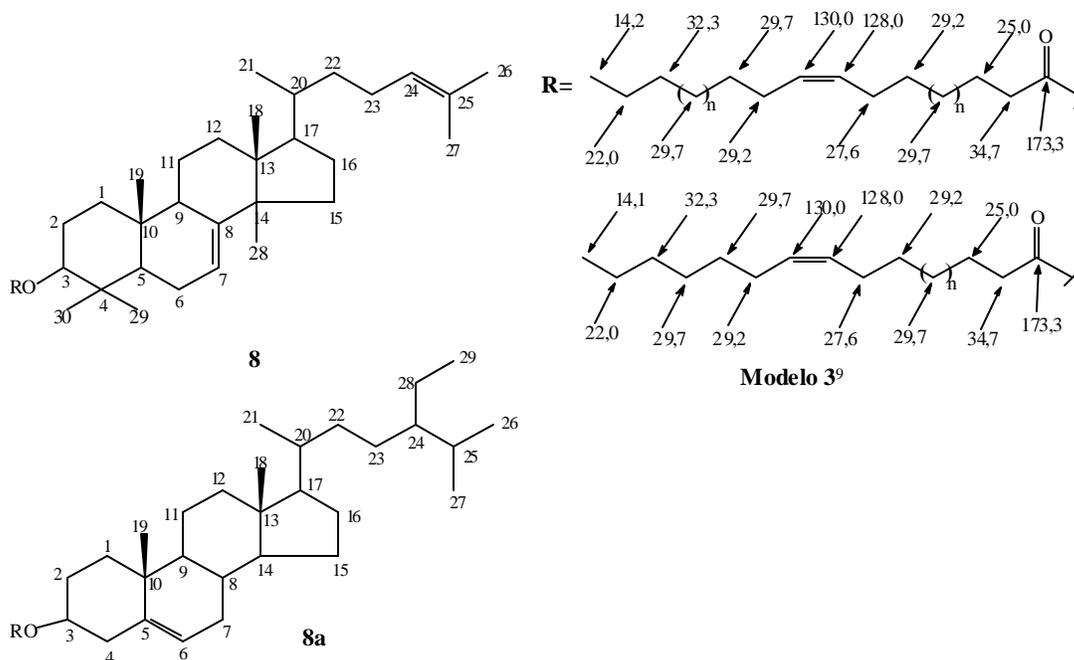
O espectros de RMN<sup>13</sup>C PND e DEPT (Figs. 16, pág. 47 e 17, pág.48) possuem sinais de frequência de carbonos, compatíveis com mistura de terpenóides. Os sinais em 80.7 e 73.7 ppm correspondem à frequências dos carbonos (C-3) de um triterpeno respectivamente e de um esteróide constituindo um éster. A diferença de frequência de absorção destes carbonos é devido ao efeito  $\beta$  desprotetor exercido pelo grupo metila do triterpeno. A ausência de sinal em 3.50 ppm no espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig 15, pág.46) justifica, também, a proposta de ésteres.

A comparação dos dados de RMN<sup>13</sup>C com valores citados na literatura<sup>8</sup> **Mod-1** e **Mod-2** (Tabela 4, pág. 30) revela a semelhança das frequências dos carbonos da literatura<sup>8</sup>, com as unidades terpênicas da mistura analisada MRFA-01 (**8** e **8a**).

Os dados de RMN<sup>13</sup>C da unidade do ácido foram atribuídos através de comparação com o modelo abaixo (**Modelo 3**).<sup>9</sup>

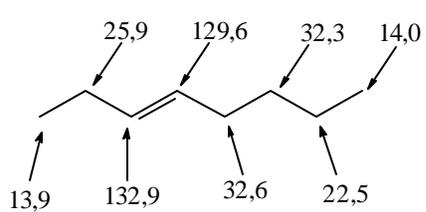
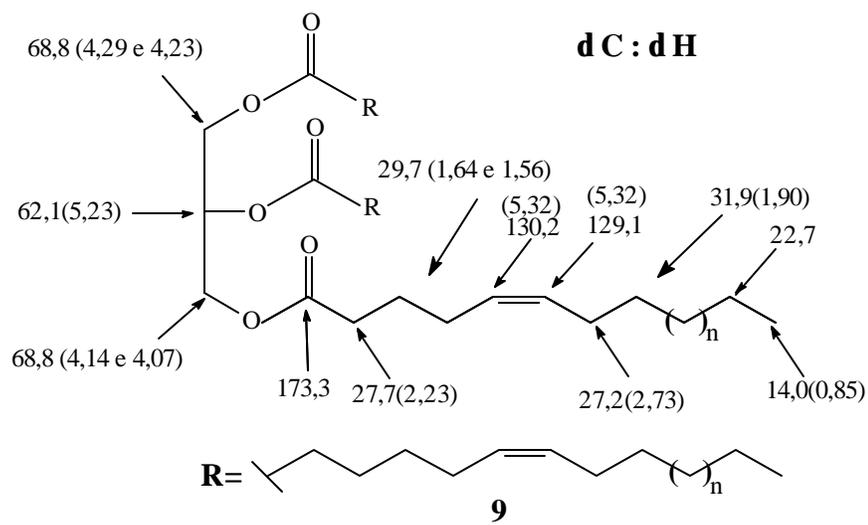
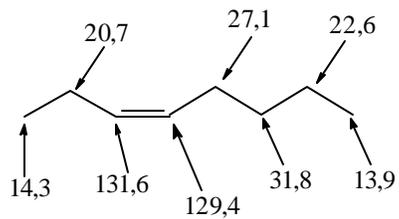
Considerando os pares de frequência de absorção de carbonos em 139.7 (122.6) correspondentes à dupla 5(6) do sitosterol, 117.9 (145.9) e 125.1 (130.1) representarem as duplas 7(8) e 24(25) do butirospermol, restam às frequências 127.9, 128.0 e 129.7, 130.0 que correspondem às ligações duplas da cadeia

olefínica proveniente do ácido natural (cis). O sinal em 1.60 ppm se refere aos grupos metila do terpeno, ligados a carbono  $sp^2$ .



#### 1.4.8 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE MRFA-04

O espectro de  $RMN^1H$  (Fig 19, pág. 50) apresentou um dubleto em 5.32 ppm, correspondente a prótons olefínicos de dupla cis (4.9Hz) semelhante a unidade olefínica de MRFA-01. Os sinais em 4.10 ppm (dd, 12.0 e 6.0 Hz), 4.23 ppm (dd, 12.0 e 4.0 Hz) e 5.23 ppm (dd, 6.0 e 4.0 Hz) são referentes a prótons carbinólicos de uma unidade glicerol. Esta unidade é confirmada pelo espectro de  $RMN^{13}C$  (Fig 20, pág. 51) que possui os sinais 68.8 e 62.1 ppm. As frequências de absorção em 2.23 ppm (t) no espectro  $RMN^1H$  (Fig 19, pág. 50) e o sinal em 173.3 ppm no espectro de  $RMN^{13}C$  (Fig 20, pág. 51) são compatíveis com cadeia do ácido constituindo um triglicerídeo de cadeia insaturada,  $\delta H$  : 5.30 (5.0 Hz) e  $\delta C$  : 129.1, 130.2 (dupla cis). Estes dados permitem propor a estrutura do triglicerídeo (**9**) para MRFA-04 e fazer as atribuições dos deslocamentos químicos dos prótons e  $^{13}C$  (Estrutura 9).

**E - 3 - OCTENO 7<sup>10</sup>****Z - 3 - OCTENO 8<sup>10</sup>**

## 1.5 PARTE EXPERIMENTAL

### 1.5.1 MATERIAL E MÉTODOS

A - As Separações por cromatografia em coluna (CC) foram efetuadas usando-se sílica gel Merck ou Riedel-de Haen Ag - Kieselgel (0,063 - 0,2 mm) como adsorvente. Para cromatografia em camada delgada (CCD) analítica, espessura com cerca de 0,5 mm utilizou-se sílica gel Kieselgel G e H (Tipo 60) Merck, e para cromatografia em camada delgada preparativa (CCD) normal ou circular (cromatroton), espessura com cerca de 1,0 mm, empregou-se Kieselgel 60 PF 254.

Nos primeiros casos a sílica foi suspensas em água destilada e distribuídas em camadas sobre placas de vidro utilizando-se espalhador e as placas para o Cromatroton foram preparados manualmente. As revelações foram efetuadas por irradiações ultravioleta a 254 e 360 nm de comprimento e/ou com vapores de iodo em cuba saturada.

B - Os solventes utilizados foram produtos da marca Merck, Grupo química ou Riolab (grau analítico). para maior grau de pureza foram destilados em aparelhagem de destilação, com coluna vigreux de 1.5 m de comprimento. Os solventes dos extratos e frações foram evaporados sob pressão reduzida.

C - O critério de pureza adotado foi obtenção de mancha única por cromatografia em camada delgada de sílica, variando-se o sistema de desenvolvimento, na revelação com vapor de iodo e/ou através da variação do ponto de fusão.

D - Os pontos de fusão (p.f.) foram determinados em bloco de Koffler e não foram corrigidos.

E - Os espectros de absorção na Região do IV foram obtidos em espectrômetro Perkin-Elmer, modelo 1420, existente na UFRRJ, utilizando-se filme em Pastilha de NaCl ou sólido em KBr. Os valores para as absorções foram medidos em unidades de número de ondas ( $\text{cm}^{-1}$ ) e os espectros calibrados com filme de poliestireno de 0,5 mm de espessura, utilizando-se a absorção em 1601 como referência.

F - Os espectros de Ressonância Nuclear de prótons foram obtidos a 200 MHz e os de  $^{13}\text{C}$ , a 50,3 MHz usando o aparelho AC - 200 da BRUCKER existente na UFRRJ. Usaram-se solventes deuterados, com tetrametilsilano como referência interna. Os deslocamentos químicos foram medidos em unidades ppm ( $\delta$ ) e as áreas relativas dos picos de absorção foram obtidos por integração eletrônica. As constantes de acoplamento (J) foram medidas em Hertz (Hz).

G - O espectro de massa (capítulo 2) foi registrados em espectrômetros da Varian, Mod. CH - 5.

### 1.5.2 COLETA DA PLANTA

*Lafoensia glyptocarpa* Koehne, foi coletada no Horto Florestal de Seropédica - Seropédica - Itaguaí - RJ, no mês de fevereiro 1992. O espécimen coletado foi classificado pelo Engenheiro Florestal José Ribamar Souza (Horto Florestal de Seropédica) e pelo Professor José Aguiar Sobrinho (UFRRJ).

O material foi separado em folhas, tronco (madeira) e frutos, submetidos a secagem durante 4 semanas exposto ao ar sob folhas de jornal e convertidos a pó em moinho de facas.

### 1.5.3 EXTRAÇÃO

O pó obtido das folhas (1.052 g) foi submetido a extração por maceração com hexano, e metanol. O pó obtido da madeira do tronco (3.150 g) e do fruto (143 g) foram submetidos a extração por maceração com hexano e metanol.

A destilação dos extratos foi feita à pressão reduzida. Estas operações encontram-se resumidas nos Esquemas 7, pág. 58, 8, pág. 59 e 9, pág. 60.

### 1.5.4 ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES.

#### 1.5.4.1 EXTRATO HEXÂNICO DA MADEIRA DE *Lafoensia glyptocarpa* Koehne "MIRINDIBA ROSA" (esquema 7, página 58).

O extrato hexânico (11,2 g) foi submetido a cromatografia em coluna, usando-se como eluentes CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e MeOH (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 100%, 95:5, 90:10, 80:20, 50:50, MeOH 100%) - Recolheram-se 480 frações de 10 ml cada uma (Tabela 5, Página 31).

#### 1.5.4.2 EXTRATO EM ACETATO DE ETILA DA MADEIRA DE *Lafoensia glyptocarpa* Koehne "MIRINDIBA ROSA" (esquema 8, pág. 59).

O extrato em acetato de etila (138,6 g) foi submetido à processo de retirada de ácido acético, produto formado no meio, e partição com solventes orgânicos (Esquema 8, pág. 59).

#### 1.5.4.3 EXTRATO EM ACETATO DE ETILA DO FRUTO DE *Lafoensia glyptocarpa* Koehne "MIRINDIBA ROSA".

O extrato em acetato de etila do fruto (5,9 g) foi submetido a fracionamento cromatográfico, coletadas 130 frações de 10 ml (cada) e reunidas através de observações em placa de cromatografia de camada delgada (CCD) Tabela 6 página 31.

#### 1.5.5 DADOS FÍSICOS E ESPECTRAIS DOS CONSTITUINTES DE *Lafoensia glyptocarpa* Koehne "MIRINDIBA ROSA"

MRMAD-1 - cumarato de alquila, óleo, RMN<sup>1</sup>H 200MHz, CDCl<sub>3</sub> (Tabela 1, pág. 27).

MRMAD -2 - ferrulato de alquila, óleo, RMN<sup>1</sup>H e <sup>1</sup>H x <sup>1</sup>H - COSY 200 MHz, CDCl<sub>3</sub> (Tabela 2, pág. 28)

MRMAH - éster alifático (cadeia saturada normal) - sólido amorfo branco - p. f. 64 °C RMN<sup>1</sup>H 200 MHz, CDCl<sub>3</sub> δH : 4.01 (H<sub>2</sub>C-O) ; 2.01 (CH<sub>3</sub>-C=O) ; 1.21 (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> ; 0,84 (CH<sub>3</sub>) ; RMN<sup>13</sup>C 50.3 MHz, CDCl<sub>3</sub> δC : 171.2 (C=O) ; 31.9 (CH<sub>2</sub>) ; 29.7 (CH<sub>2</sub>) ; 29.5 (CH<sub>2</sub>) ; 28.6 (CH<sub>2</sub>) ; 25.9 (CH<sub>2</sub>) ; 22.7 (CH<sub>2</sub>) ; 14.1 (CH<sub>3</sub>) ; 20.9 (CH<sub>3</sub>-C=O) ; I.V. 2.960 - 2.850 cm<sup>-1</sup> (C-H) ; 1.740 cm<sup>-1</sup> (C=O) ; 1.460 cm<sup>-1</sup> (CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>) ; 1.240 cm<sup>-1</sup> (C-O).

MRMH-13 - esteróide (sitosterol) cristais brancos - p. f. 137-138 °C; RMN<sup>1</sup>H 200 MHz, CDCl<sub>3</sub> e RMN<sup>13</sup>C 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub> (Tabela 3, pág. 29).

MRMH-11-C - cinamato de sitosterila sólido amarelo, p. f. 112 °C, RMN<sup>1</sup>H 200 MHz, D<sub>3</sub>COD e RMN<sup>13</sup>C 50,3 MHz, D<sub>3</sub>COD (Tabela 3, pág. 29).

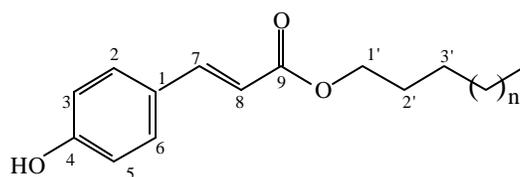
MRMH-3E - mistura (éster alifático e ferrulato de alquila) cristais amarelos p. f. 65 °C, RMN<sup>1</sup>H 200 MHz, CDCl<sub>3</sub> δH : 0.85 (CH<sub>3</sub>) ; 1.22 (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> ; 2.02 (H<sub>3</sub>C-C=O) ; 2.26 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C=O) ; 4.01 (CH<sub>2</sub>-O) ; 4.16 (CH<sub>2</sub>-O) ; 6.03 (CH<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>-C=O); 7.60 (=CH<sub>2</sub>-C=O) ; 6.89 (H - aromático) RMN<sup>13</sup>C 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub> δC: 123.0 (C-2) ; 115.6 (C-3) ; 144.0 (C-4) ; 114.6 (C-6) ; 146.0 (C-7) ; 109.2 (C-8).

MRFA - 01 - mistura de esteróides(éster alquenílico do butirospermol e éster alquenílico do sitosterol), óleo - RMN<sup>1</sup>H 200 MHz, CDCl<sub>3</sub> e RMN<sup>13</sup>C 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub> Tabela 4. Cadeia da unidade do ácido RMN<sup>1</sup>H 200 MHz, CDCl<sub>3</sub> δH : 5.35 (CH=CH) ; 2.01 (CH<sub>2</sub>-C=O) ; 1.22 (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> ; 0,86 (CH<sub>3</sub>) RMN<sup>13</sup>C 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub> δC : 180.1 (C=O) ; 34.0 (CH<sub>2</sub>-C=O) ; 129.7 (CH=CH) ; 124.1 (CH=CH) ; 27.5 (CH<sub>2</sub>-CH=) ; 29.5 (CH<sub>2</sub>-CH=) ; 22.9 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) ; 14.2 (CH<sub>3</sub>).

MRFA - 04 triglicerídeo, óleo, RMN<sup>1</sup>H 200 MHz, CDCl<sub>3</sub> δH : 5.32 (CH=CH) ; 4.10 (C-0) ; 4.23 (C-0) ; 5.23 (C-O) ; 2.27 (CH<sub>2</sub>-C=O) ; 1.21 (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> ; 1.64 e 1.56 (CH<sub>2</sub>-C<sub>2</sub>-C-0) ; 0.85 (CH<sub>3</sub>) , RMN<sup>13</sup>C 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub> δC : 68.8 (C-0) ; 173.3 (C=O) ; 27.7 (CH<sub>2</sub>-C=O) ; 29.7 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> -C=O) ; 34.0 (CH<sub>2</sub>-CH=) 130.2 (CH=CH) ; 129.1 (CH=CH) ; 34.2 (CH<sub>2</sub>-CH=); 29.3 (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> ; 22.7 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) ; 14.0 (CH<sub>3</sub>).

**TABELA 1 - Dados de RMN<sup>1</sup> H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) da substância MRMAD-1, comparandos com valores citados na literatura <sup>4</sup>**

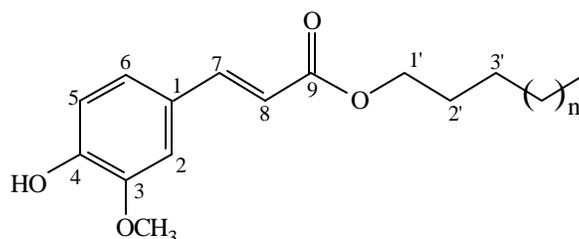
H	d H (Mult.,J Hz)	Lit. <sup>4</sup> d H (Mult.,J Hz)
2	7,42(d; 8,4Hz,2H)	7,01(d; 2,0Hz)
3	6,82(d; 8,3Hz,1H)	6,90(d; 8,5Hz)
5	6,82(d; 8,3Hz,1H)	6,90(d; 8,5Hz)
6	7,42(d; 8,4Hz,2H)	7,10(d d; 8,5 e 2,0Hz)
7	7,62(d; 16,8Hz,1H)	7,54(d; 16Hz)
8	6,32(d; 16,0Hz,1H)	6,30(d; 16Hz)
1'	4,18(t; 6,6Hz,2H)	4,20(t; 7,0Hz)
2'	1,63(m)	
(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub>	1,26(m)	1.25(SI)
CH <sub>3</sub>	0,87(SI)	0,93( t )
H-O	5,40(SI)	5,80(SI)



**MRMAD-1 (CUMARATO DE ALQUILA)**

**TABELA 2 - Dados de RMN<sup>1</sup> H e <sup>1</sup>H x <sup>1</sup>H - COSY (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>), da substância MRMAD-2, comparados com valores citados na literatura<sup>4</sup>**

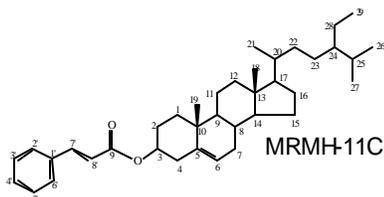
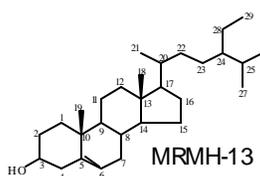
H	d H	<sup>1</sup> H x <sup>1</sup> H - COSY	Lit. <sup>4</sup> d H (1JCH)
2	7,02(d; 2,0Hz,1H)	H-6	7,01(d; 2,0Hz)
5	6,90(d; 8,0Hz,1H)	H-6	6,90(d; 8,5Hz)
6	7,24(d d; 8,0 e 2,0Hz,1H)	H-5, H-2	7,10(dd; 8,5 e 2,0Hz)
7	7,60(d; 16,0Hz,1H)	H-8	7,54(d; 16Hz)
8	6,29(d; 16,0Hz,1H)	H-7	6,30(d; 16Hz)
OCH <sub>3</sub>	3,91(Sl, 3H)		4,00(Sl)
1'	4,18(t; 6,6Hz,2H)	H-2'	4,20(t; 7,0Hz)
2'	1,67(m)	H-1'	
(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub>	1,25(Sl)		1,25(Sl)
CH <sub>3</sub>	0,87( t )		0,93( t )
H-O	5,90(Sl)		5,80(Sl)



**MRMAD-2 (FERRULATO DE ALQUILA)**

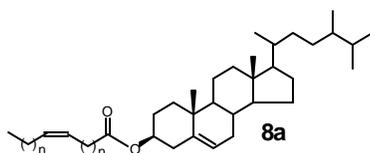
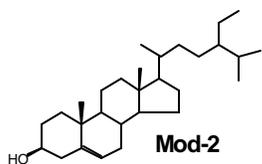
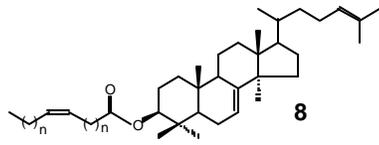
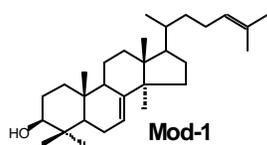
**TABELA 3 - Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200MHz) e  $^{13}\text{C}$  (50,3 MHz PND e DEPT,Q : 90 e 135°) das substâncias MRMH-13 (4) e MRMH11 C (5), comparados com valores citados na literatura<sup>6,7</sup>**

C	MULT.	(4)d C	LIT.6,7	(4)d H	(5)d C	LIT.6,7	(5)d H
1	CH <sub>2</sub>	37,2	37,3		38,2		
2	CH <sub>2</sub>	37,6	37,6		31,9		
3	CH	71,7	71,7	3,50(m)	73,5		4,10(m)
4	CH <sub>2</sub>	42,3	42,2	2,25(m)			
5	C	140,7	140,7				
6	CH	121,7	121,6	5,30(m)	122,6		5,35(m)
7	CH <sub>2</sub>	31,9	31,9	1,51(m)			
8	CH	31,9	31,9	1,93			
9	CH	50,1	50,2		50,1		
10	C	36,1	36,5		36,1		
11	CH <sub>2</sub>	21,1	21,1				
12	CH <sub>2</sub>	39,7	39,8		39,7		
13	C	42,2,	42,3				
14	CH	56,0	56,8	1,04	56,0		
15	CH <sub>2</sub>	24,3	24,3				
16	CH <sub>2</sub>	28,2	28,3		28,2		
17	CH	56,7	56,1	1,10	56,7		5,60
18	CH <sub>3</sub>	11,8	11,8	0,64(s)	11,8		0,72
19	CH <sub>3</sub>	19,4	19,4	1,02(s)			0,98
20	CH	36,5	36,3	1,38	36,5		
21	CH <sub>3</sub>	18,8	18,8	0,91			0,94-0,85
22	CH <sub>2</sub>	33,9	33,9		33,9		
23	CH <sub>2</sub>	26,0	26,4	1,19			
24	CH	45,8	46,1		45,8		
25	CH	29,1	28,9	1,73	29,1		
26	CH <sub>3</sub>	19,4	19,1	0,82			0,94-0,85
27	CH <sub>3</sub>	19,8	19,6	0,81	19,2		0,94-0,85
28	CH <sub>2</sub>	23,0	23,1	1,26			
29	CH <sub>3</sub>	12,0	12,3	0,84	11,5		0,94-,085
1'					136,0	134,7	
2', 6'					128,7	128,0	7,55(d)
3', 5'					128,7	128,0	7,30(m)
4'					130,2	130,0	7,30(m)
7'					144,0	144,2	7,95(d-14Hz)
8'					118,0	118,8	6,45(d-14Hz)
9'					173,3		



**TABELA 4 - Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de MRFA-01, comparados com valores citados na literatura<sup>8</sup>**

C	MRFA-01(8)	Mod-1	Mod-2	MRFA-01(8a)	d H
1	36,8	36,9	37,3	37,3	
2	24,3	24,3	31,6	31,9	
3	83,7	81,2	71,7	73,6	4,6m
4	37,9	37,9	42,3	48,8	
5	50,7	50,8	140,8	139,7	
6	23,7	28,8	121,6	122,6	5,24
7	117,6	117,9	31,9	31,9	5,10
8	145,9	145,9	35,8	35,9	
9	50,0	49,1	53,7	53,2	
10	35,1	35,1	35,8	39,8	
11	18,1	18,2	20,9	21,0	
12	33,9	33,9	39,5	39,7	
13	43,5	43,6	42,3	43,5	
14	51,3	51,3	55,8	56,0	
15	34,3	34,1	24,0	24,0	
16	28,5	28,5	28,0	28,2	
17	53,2	53,3	55,9	56,7	
18	13,1	13,2	11,8	11,9	0,95
19	22,7	22,1	17,3	19,3	0,65
20	35,8	35,8	35,9	35,9	
21	18,7	18,6	18,6	18,7	
22	35,9	35,3	33,8	33,7	
23	25,2	25,4	26,0	26,0	
24	125,1	125,2	45,7	45,8	5,29
25	130,1	130,9	29,1	29,1	
26	15,9	17,7	19,6	19,8	1,64
27	25,7	25,7	18,9	19,3	1,58
28	27,6	27,7	22,9	23,0	
29	27,2	27,4	11,8	11,8	
30	14,1	14,8			



**TABELA 5 - Estudo das frações obtidas do fracionamento cromatográfico do extrato hexânico da madeira.**

<b>Elemento</b>	<b>Frações</b>	<b>Substância isolada</b>
CH <sub>2</sub> 100%	1-240	sitosterol, cinamato de sitosterila
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 95:5	241-329	sitosterol, hidrocarbonetos
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 90:10	330-352	hidrocarbonetos
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 80:20	353-391	hidrocarbonetos
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 50:50	392-47	cetonas e ésteres a lífáticos
MeOH 100%	448-480	hidrocarbonetos

**TABELA 6 - Estudo das frações obtidas do fracionamento cromatográfico do extrato acetato de etila do fruto "Mirindiba rosa".**

<b>FRAÇÕES</b>	<b>(%)</b>	<b>REUNIÃO</b>
1-37	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (100%)	1
38-60	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH (99:1)	2
61-69	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH (98:2)	3
70-82	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH (95:5)	4
83-94	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH (90:10)	5
95-106	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH (80:20)	6
107-117	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH (50:50)	7
118-130	MeOH (100%)	8



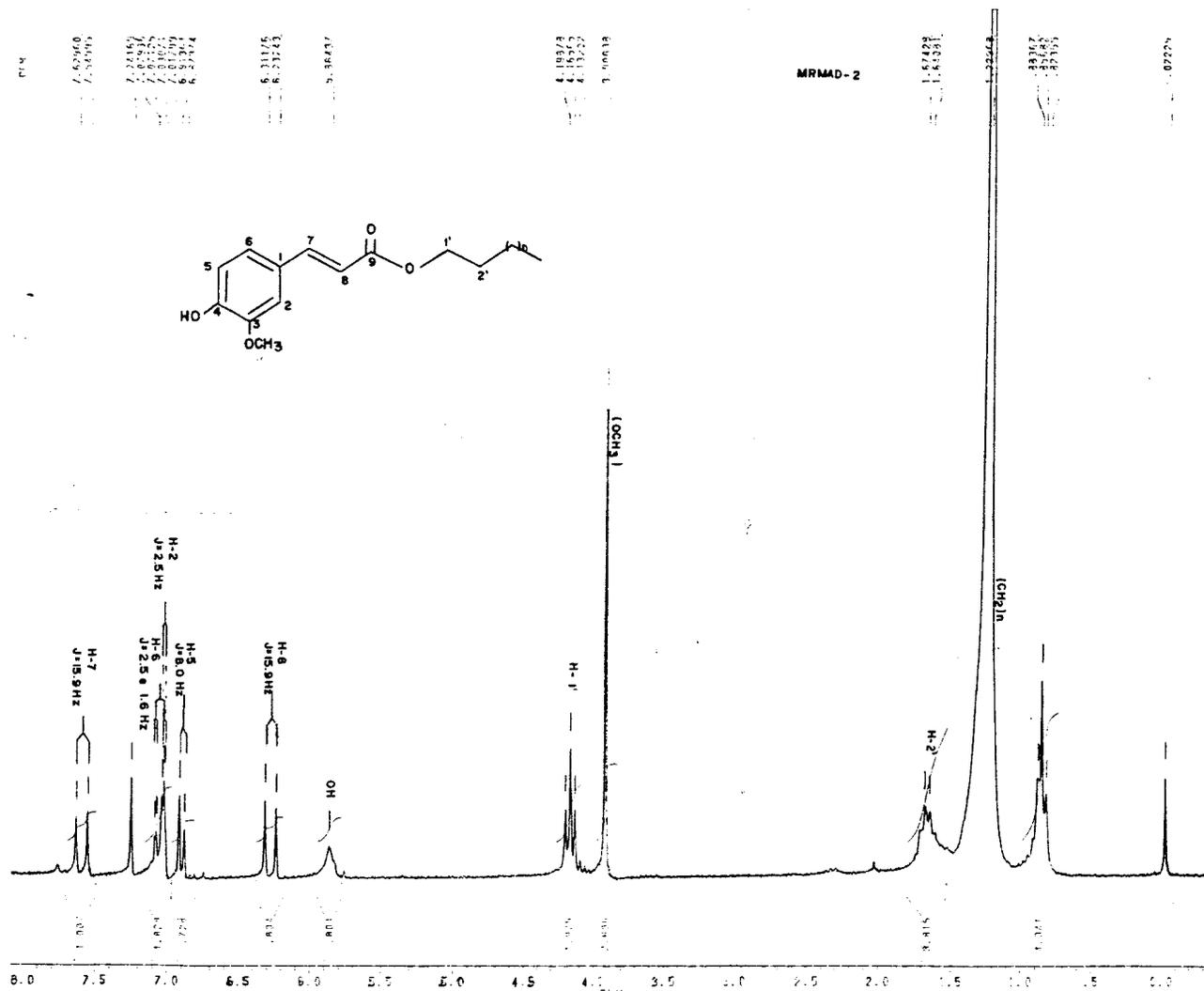


Fig.2 Espectro de RMN<sup>1</sup>H (200MHz) de MRMAD-2 em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna

NMRJ-115  
 DATE 6-11-93  
 SF 200.126  
 ST 80.1300000  
 SI 3200.900  
 TD 8000  
 SW 2358.491  
 FZ/PT .288  
 PN 2.0  
 RD 0.0  
 AQ 1.696  
 RG 10  
 NS 16  
 TC 297  
 BW 3000  
 DZ 1570.000  
 DP 1.63L PO  
 LB 0.0  
 DB 0.0  
 CB 0.0  
 CX 35.06  
 CY 0.0  
 F1 8.0750  
 F2 -1.3480  
 FZ/CX 4.762  
 PRM/CX 241  
 SR 2345.21

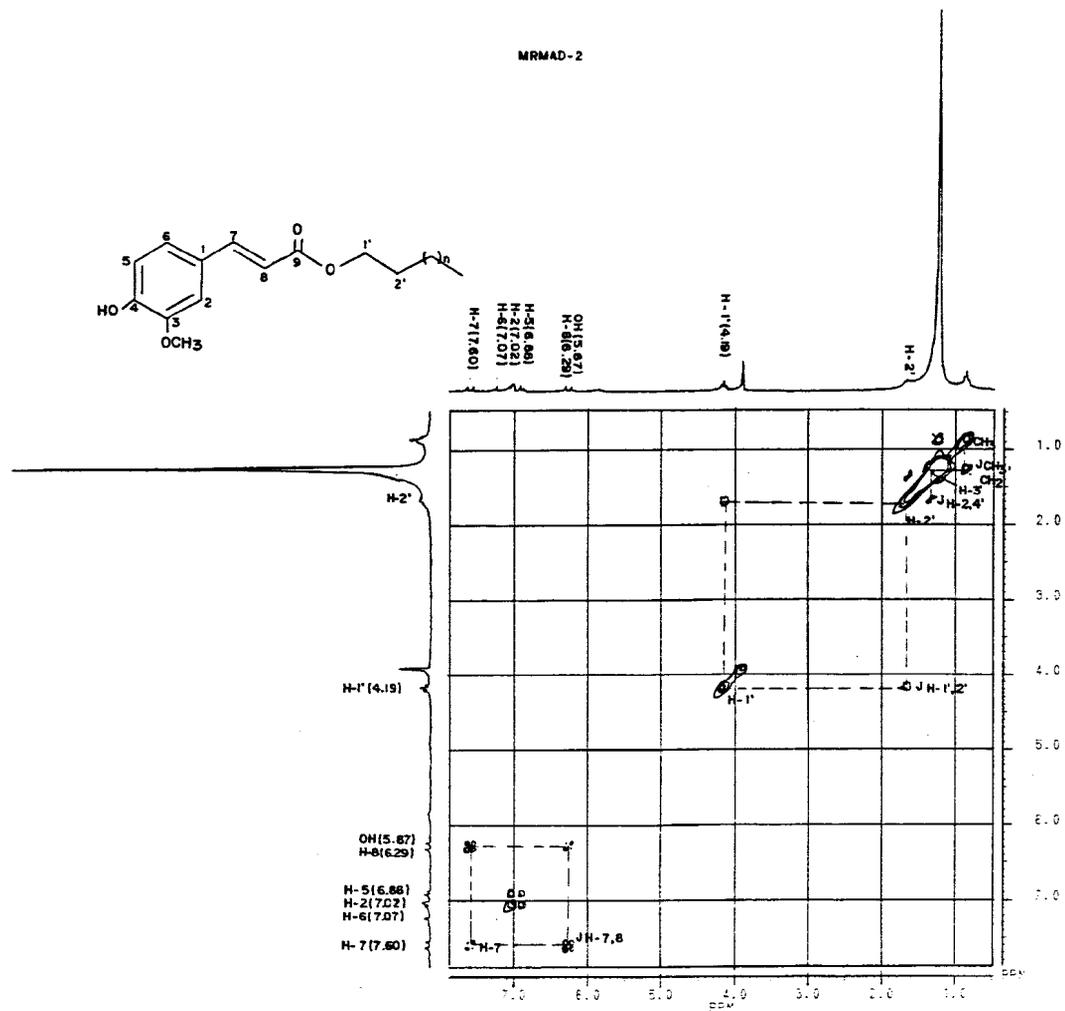
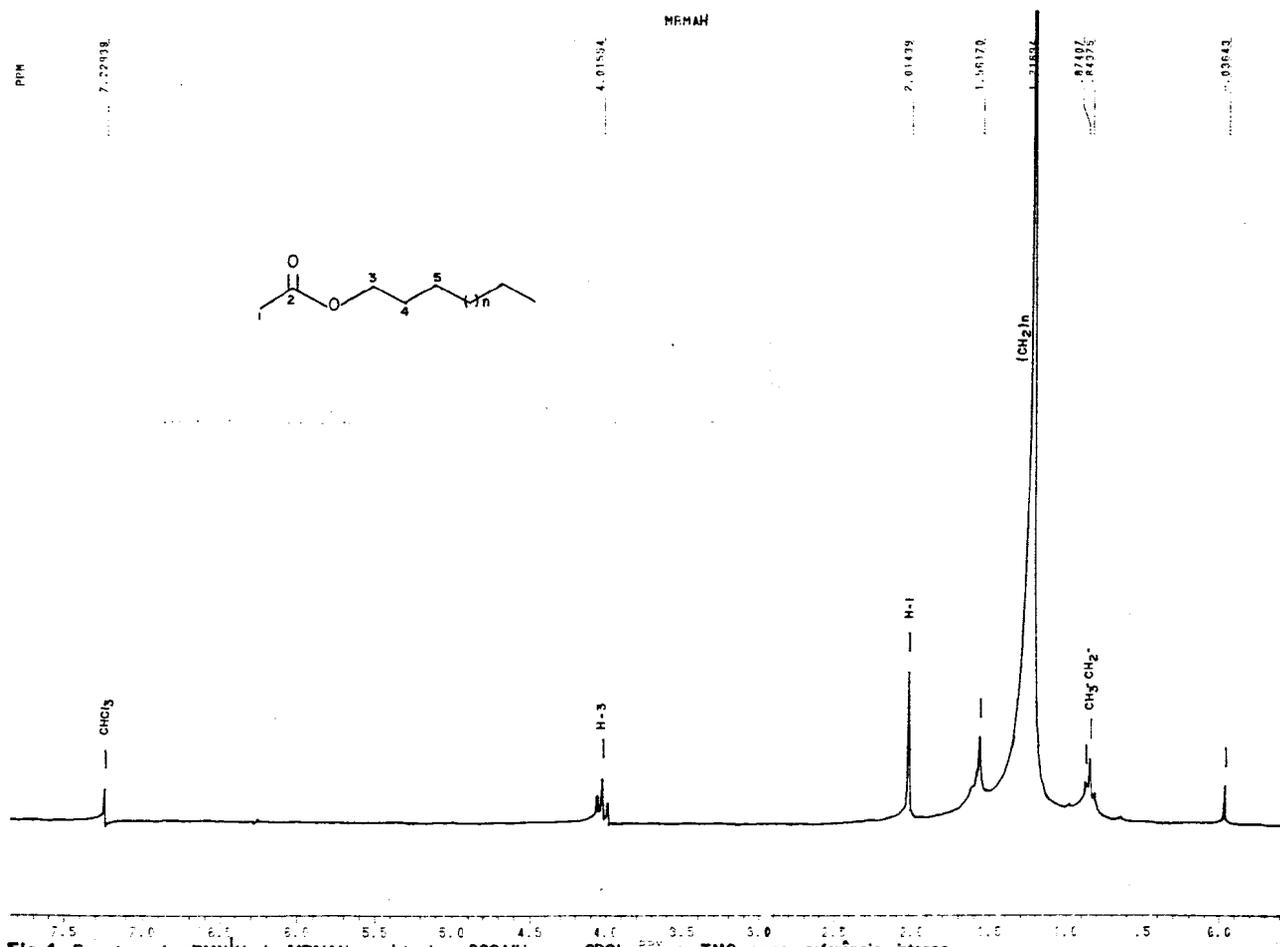


Fig. 3 Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear (<sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H-COSY) de MRMAD-2, registrado a 200 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna.



CPGDD.656  
 DATE 23-9-93  
 SF 200.132  
 SY 80.1300000  
 OI 3600.000  
 SI 16384  
 TD 8000  
 SW 3050.303  
 HZ/PT .370  
 PW 2.0  
 RD 0.0  
 AQ 1.320  
 RG 10  
 NS 128  
 TE 297  
 FW 3800  
 OZ 1570.000  
 OF 63L PO  
 LB 0.0  
 GB 0.0  
 CX 35.00  
 CY 0.0  
 FT 7.843P  
 F2 7.436P  
 HZ/CM 47.356  
 PPM/CM .237  
 SR 2346.72

Fig.4 Espectro de RMN<sup>1</sup>H de MRMAH, registrado a 200MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna



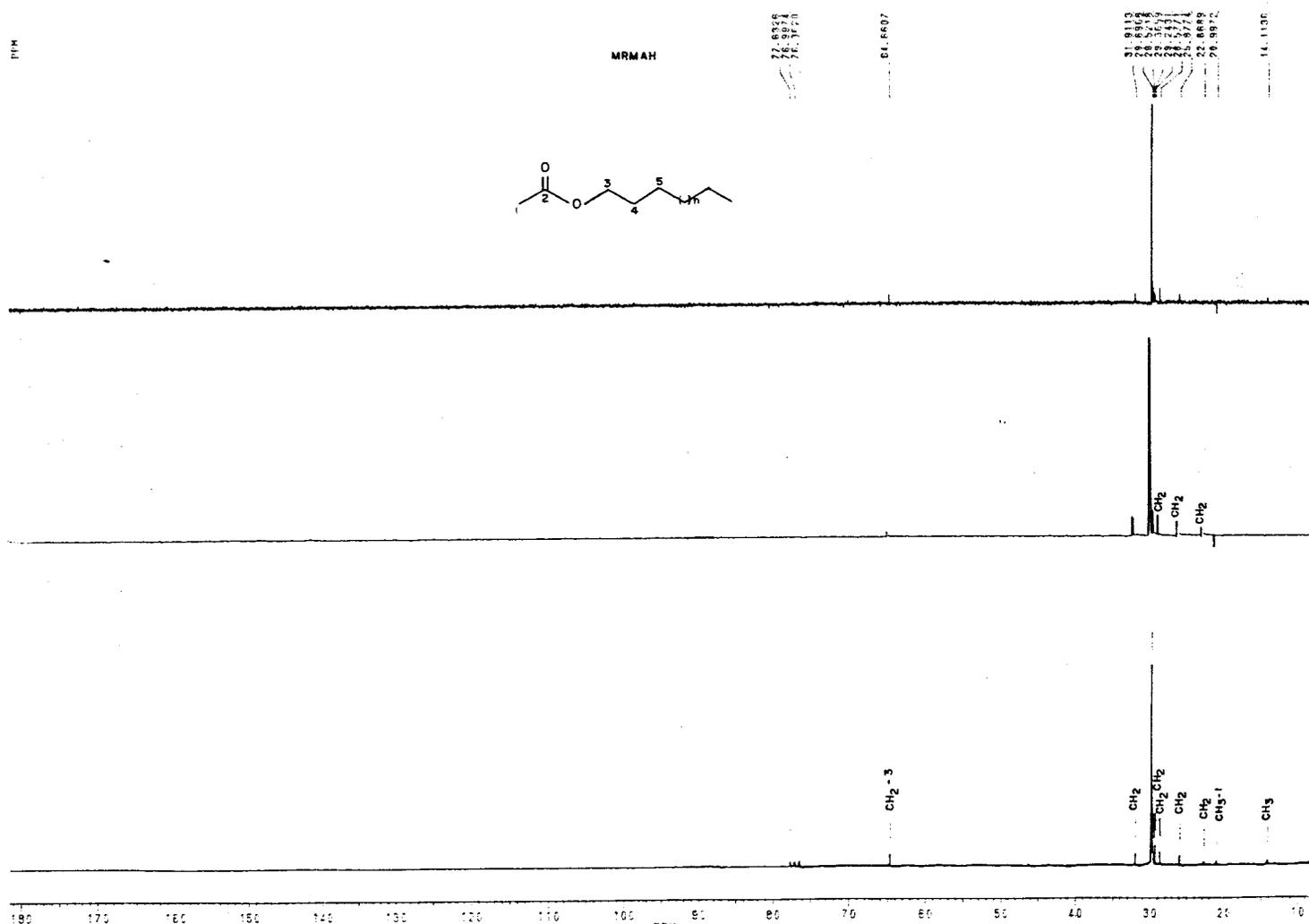
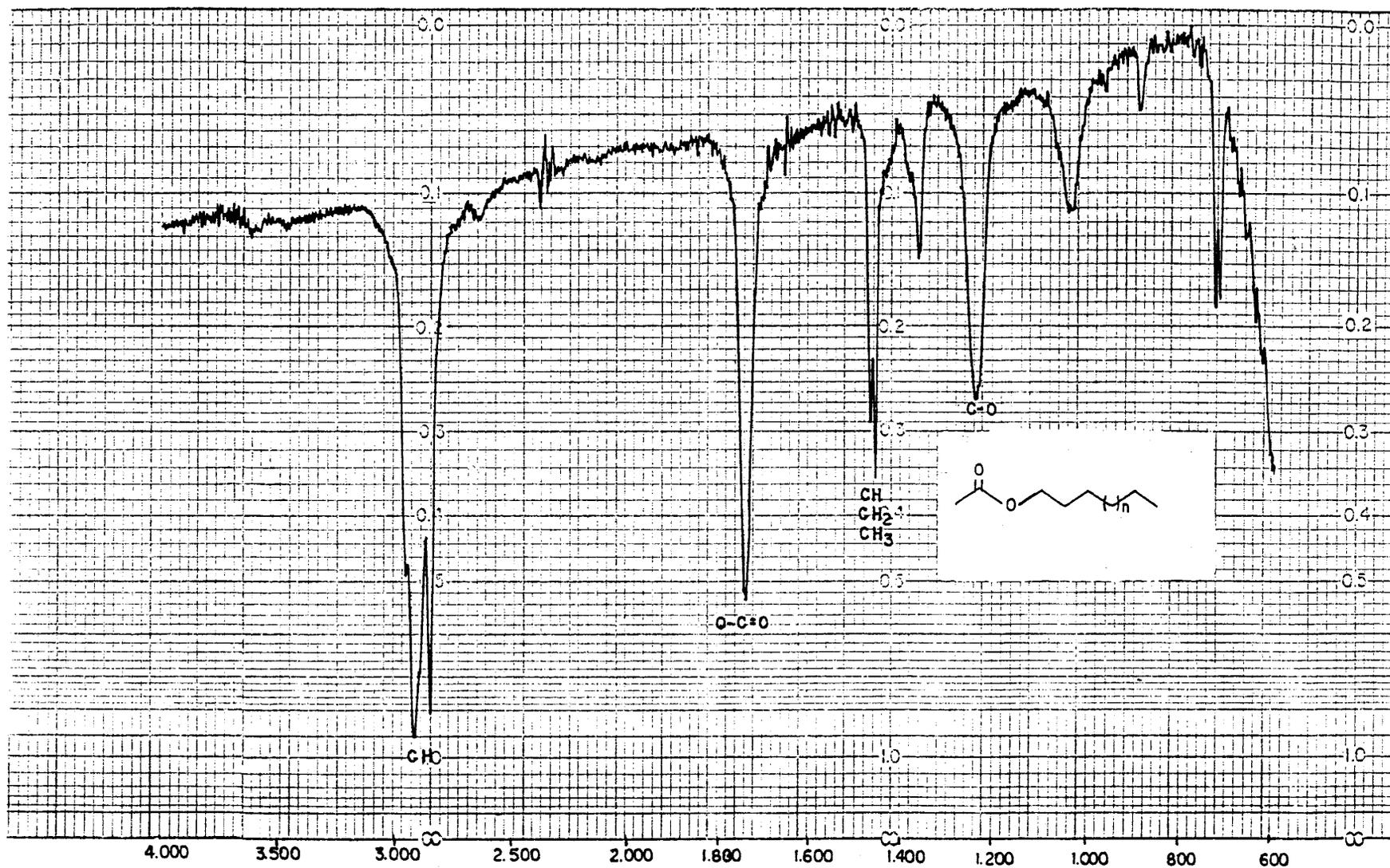


Fig. 6 Espectro de RMN<sup>13</sup>C PND e DEPT com  $\theta=90^\circ$  e  $\theta=135^\circ$  de MRMAH, registrado a 50.3 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referencia interna

MICRONS



MRMAH            OE - 23  
 Filme: NaCl    T - 75%    3 min.  
                          Nº 714

**Fig. 7** Espectro de I.V. (filme NaCl) de MRMAH

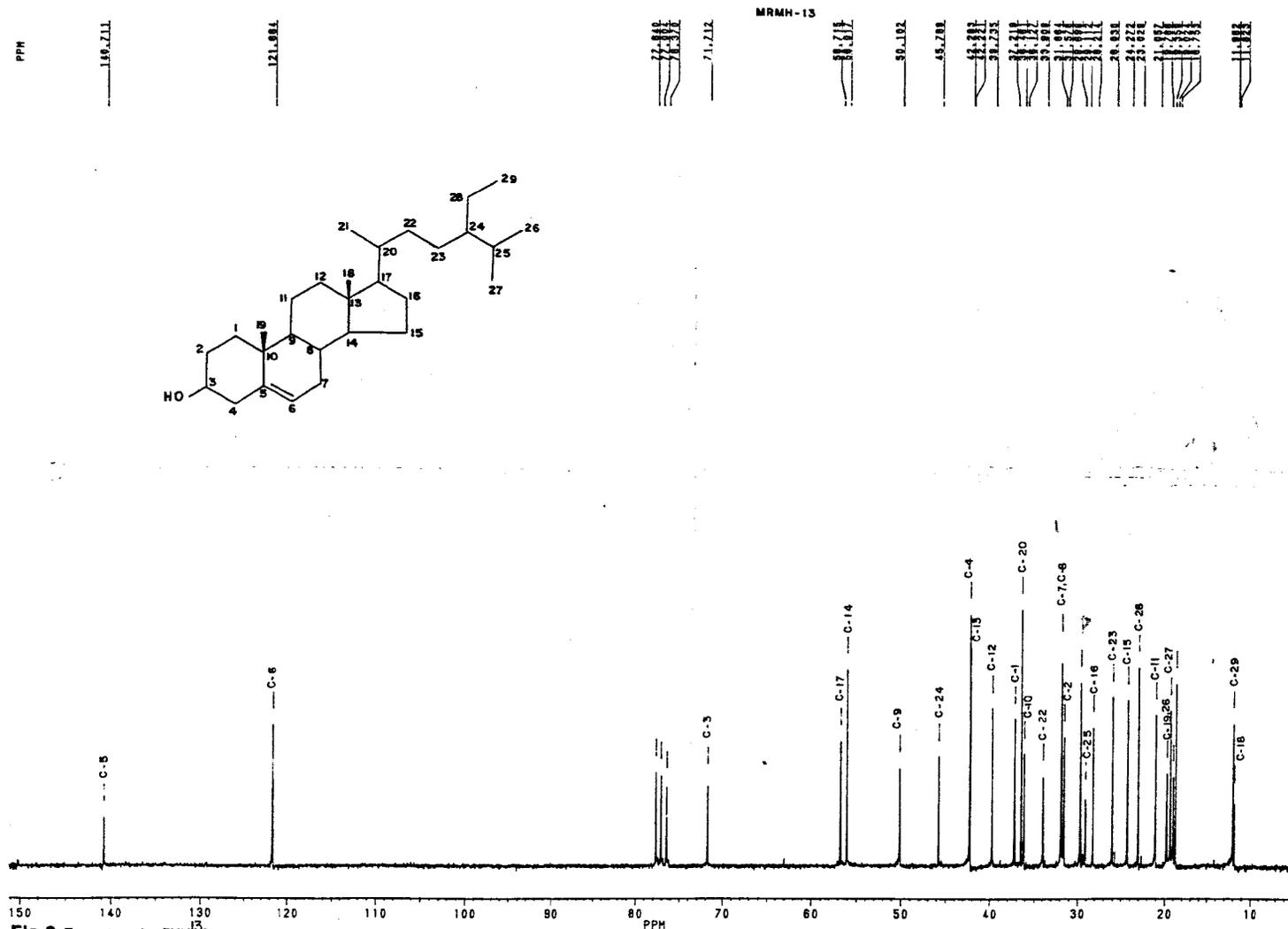
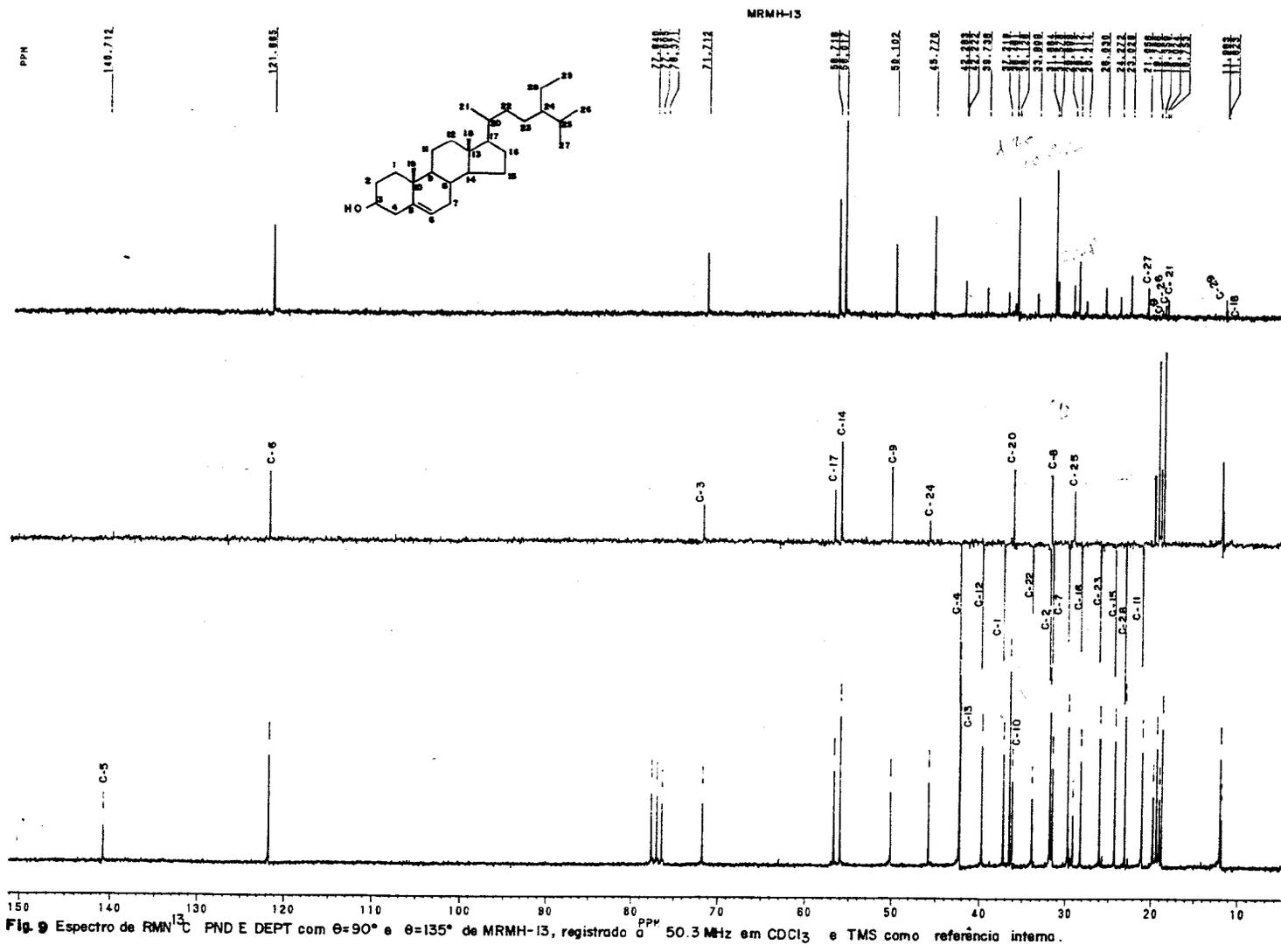


Fig. 8 Espectro de RMN<sup>13</sup>C totalmente desacoplado de MRMH-13, registrado a 50.3 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna.



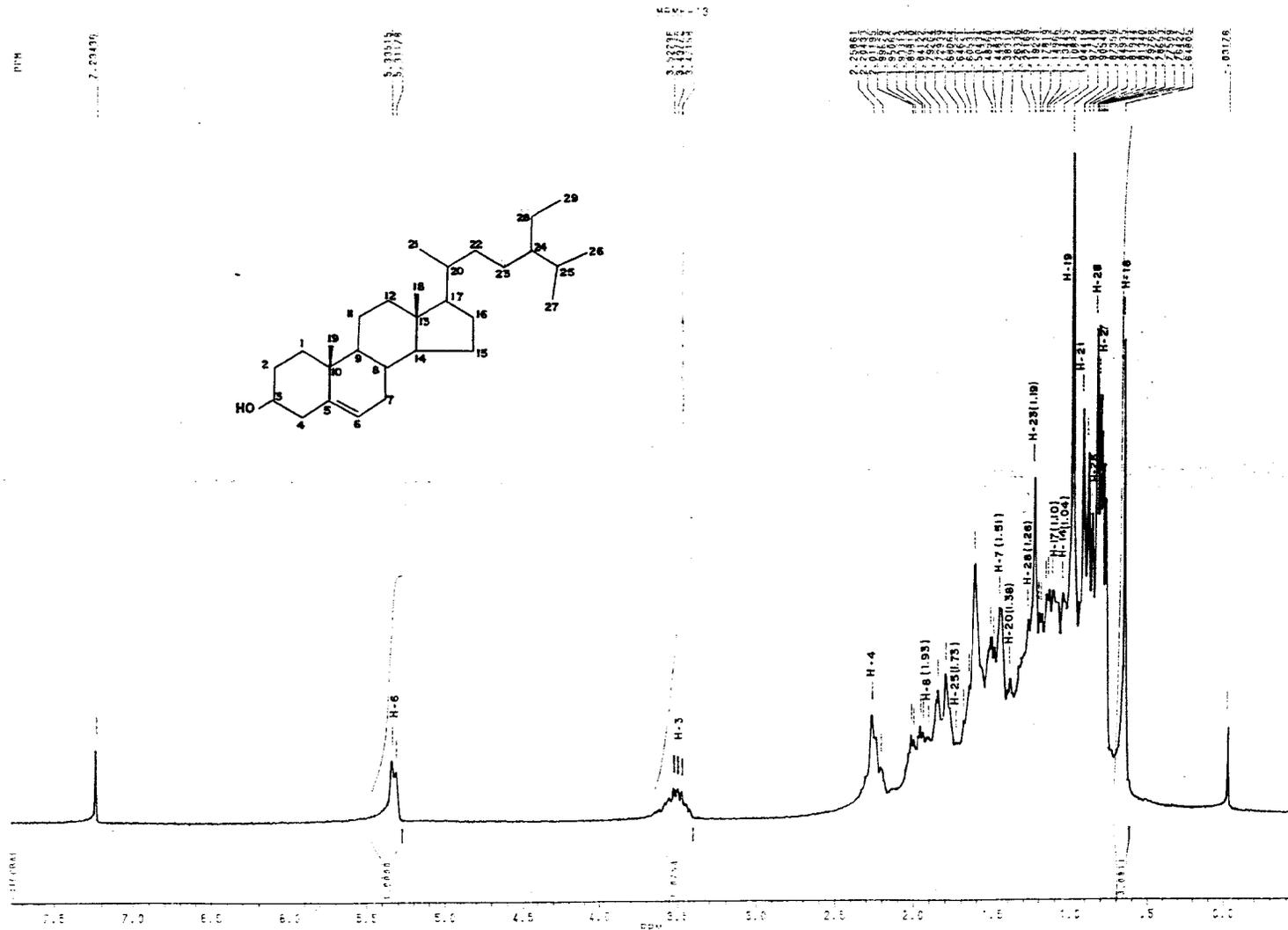


Fig.10 Espectro de RMN<sup>1</sup>H de MRMH-13, registrado a 200 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna.

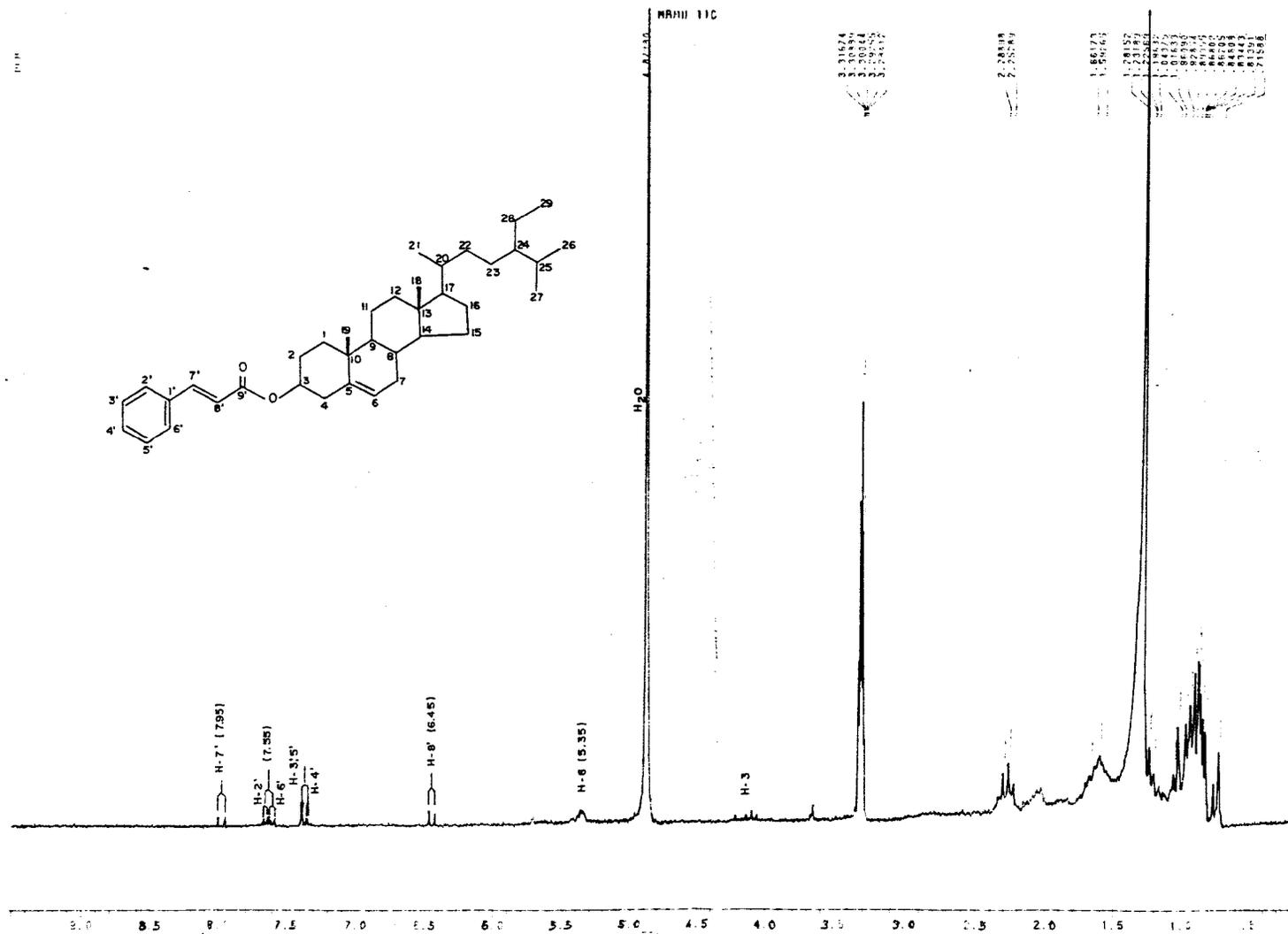


Fig. 11 Espectro de RMN<sup>1</sup>H de MRMH-11C, registrado a 200 MHz em D<sub>3</sub>COD e TMS como referência interna



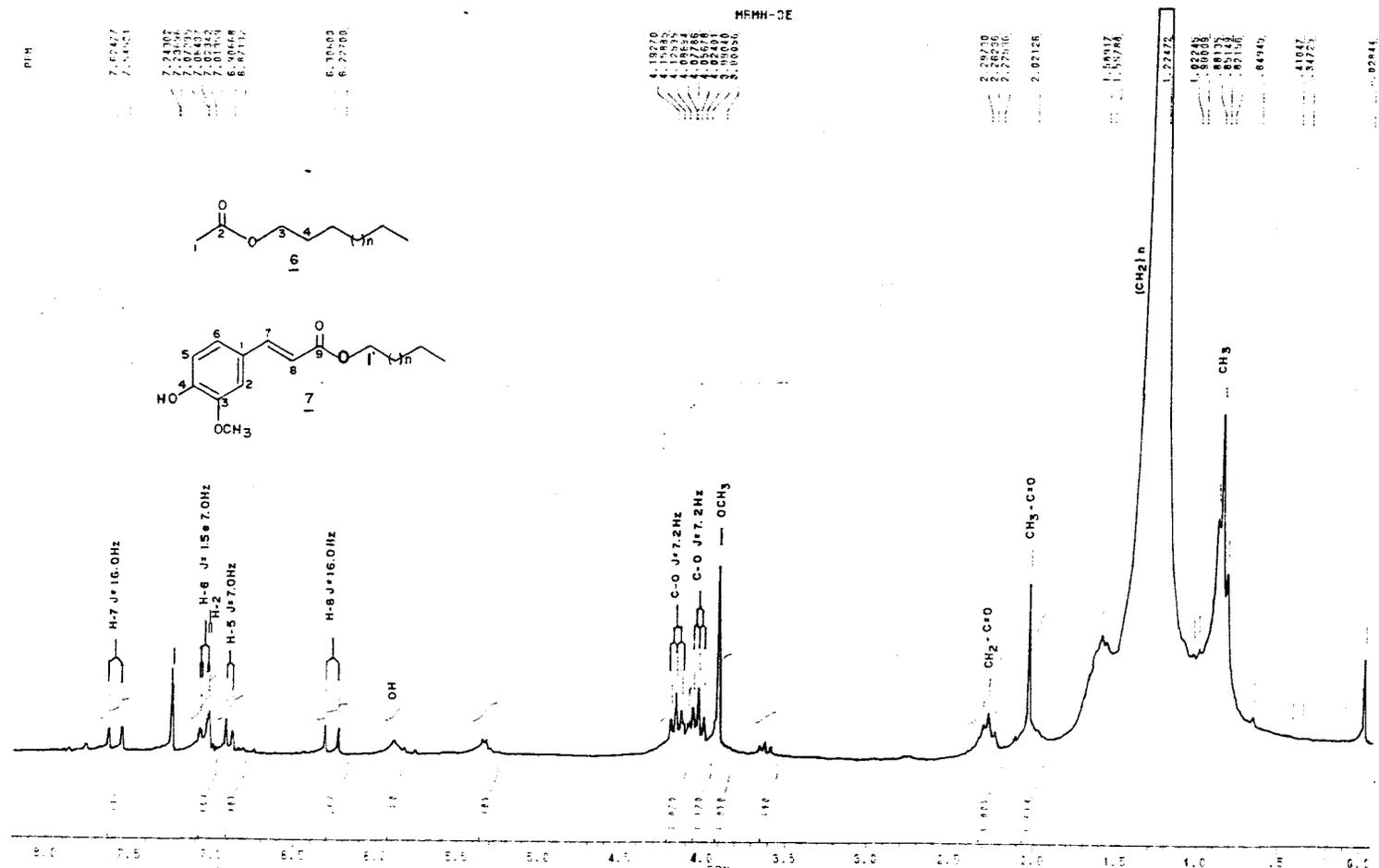
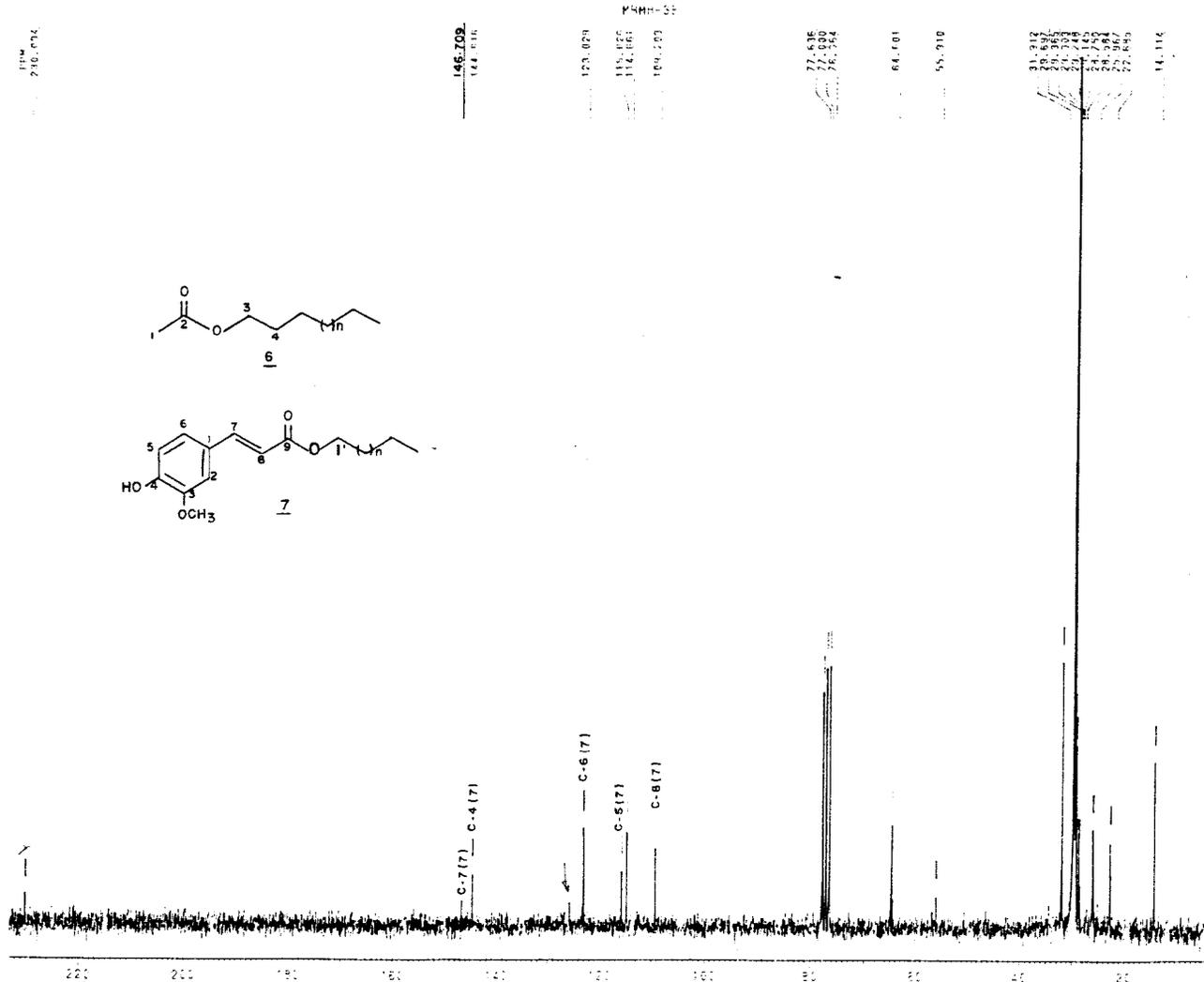


Fig. 13 Espectro de RMN<sup>1</sup>H de MRMH-3E, registrado a 200 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referencia interna



~~SALZER~~  
 CP600.603  
 AU PROG:  
 PDWD1SC.AU  
 DATE 20-9-55

SF 50.323  
 SY 50.3270000  
 O1 1800.000  
 S1 18384  
 TD 18384  
 SN 12500.000  
 HZ/PT 1.526

FW 5.5  
 RD 0.0  
 AB 655  
 RG 200  
 NS 4343  
 TE 297

FW 15706  
 D2 1570.000  
 DP 2CH PD

LB 0.0  
 CB 0.0  
 CX 38.00  
 CY 0.0  
 F1 232.0:3.0  
 F2 3.0:2.85 p  
 FZ/CM 328.2:85 p  
 PPM/CK 6.0:8.5  
 GR -5651.68

Fig.14 Espectro de RMN<sup>13</sup>C totalmente desacoplado de MRMH-3E, registrado a 50.3 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interno.



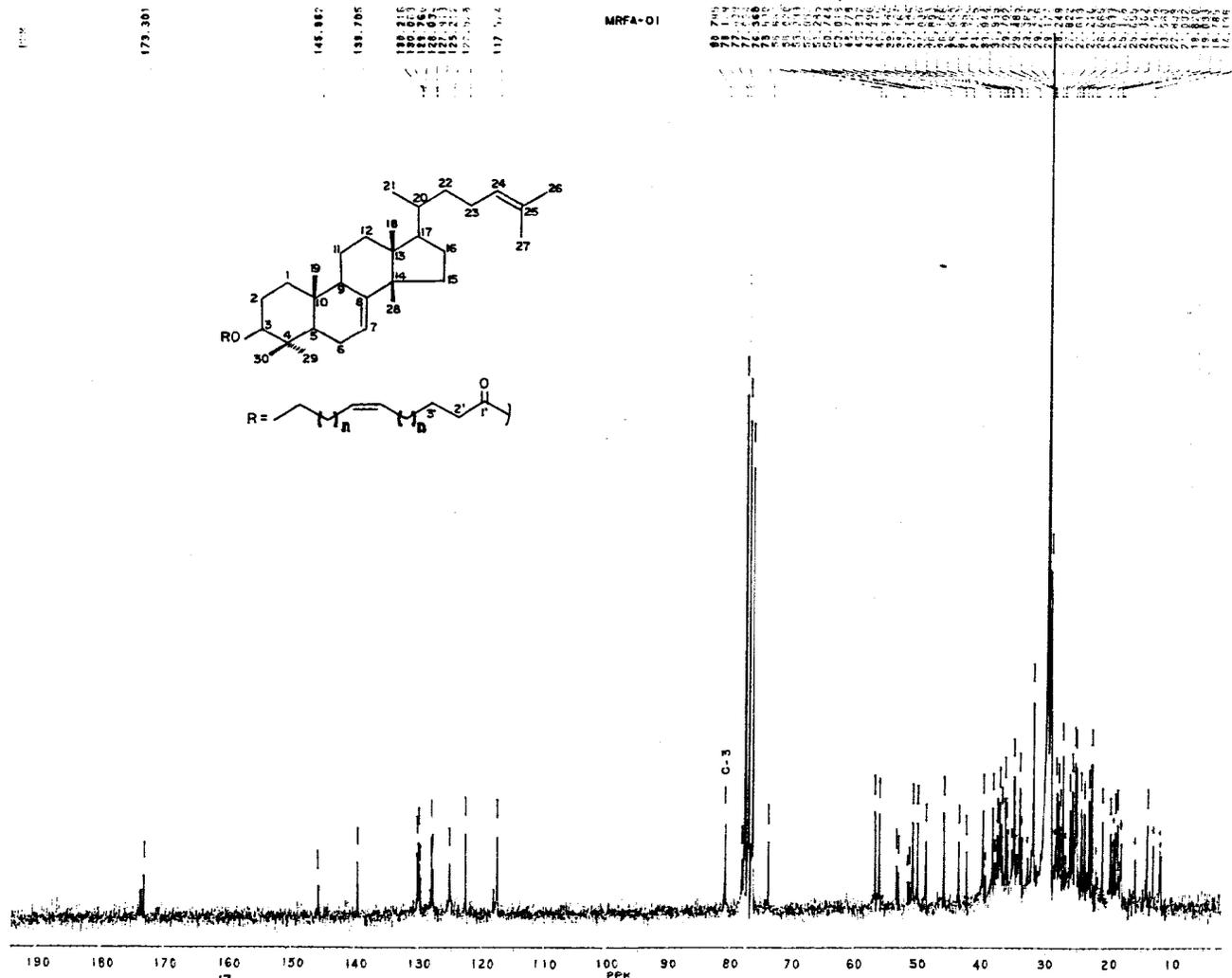
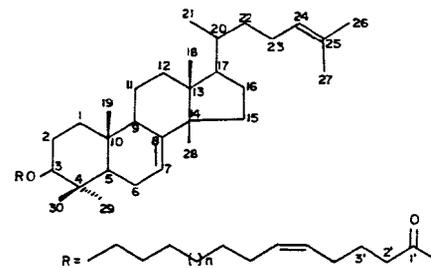
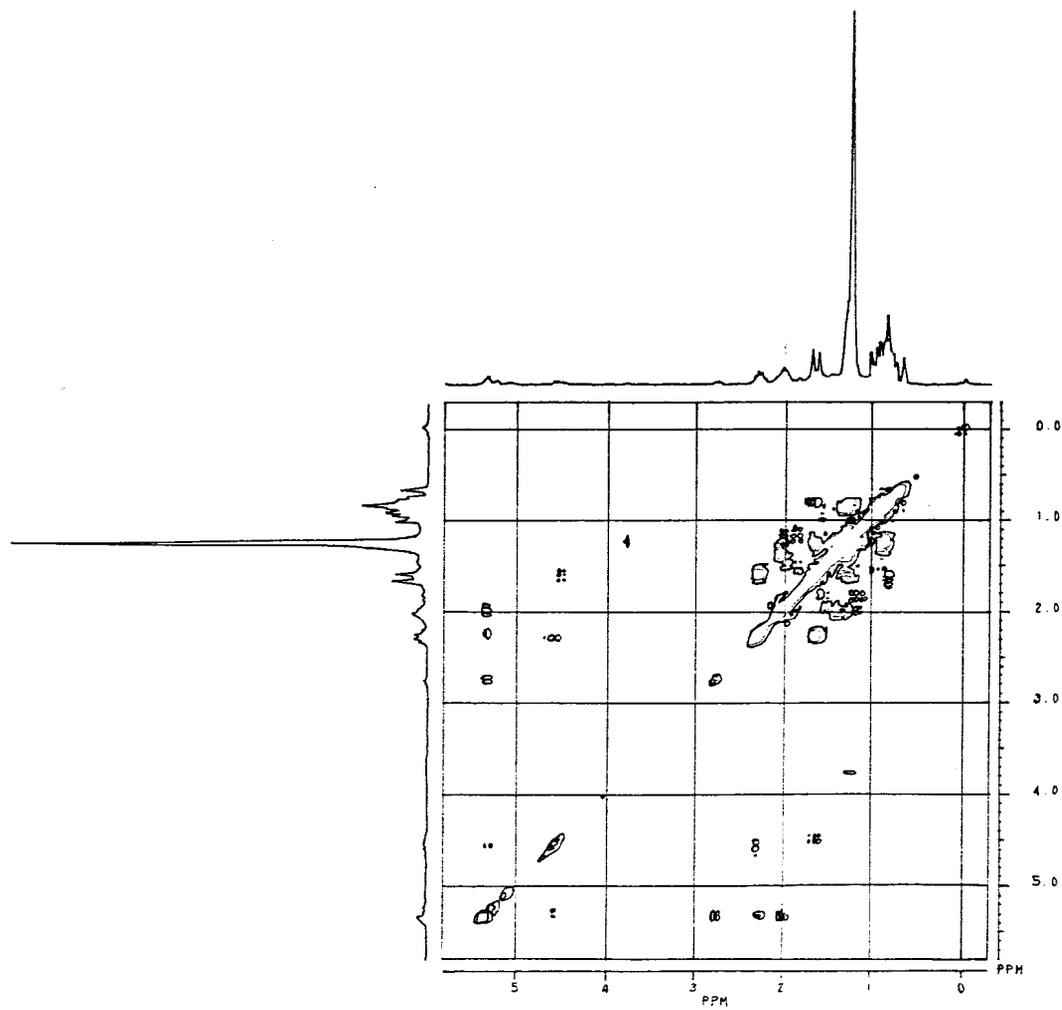


Fig. 16 Espectro de RMN<sup>13</sup>C totalmente desacoplado de MRFA-O1, registrado a 50.3 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna



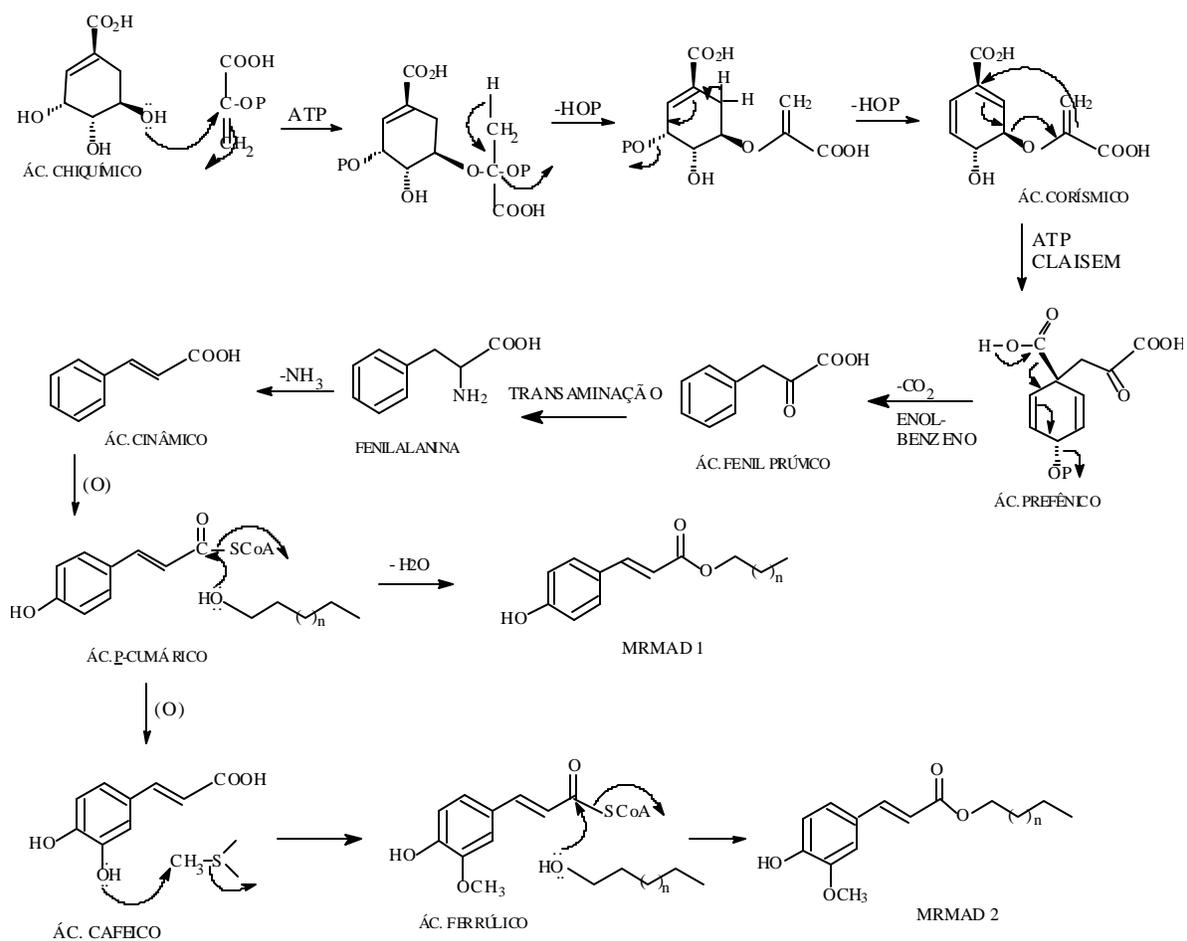


**Fig.18** Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY) de MRFA-01, registrado a 200 MHz em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna.

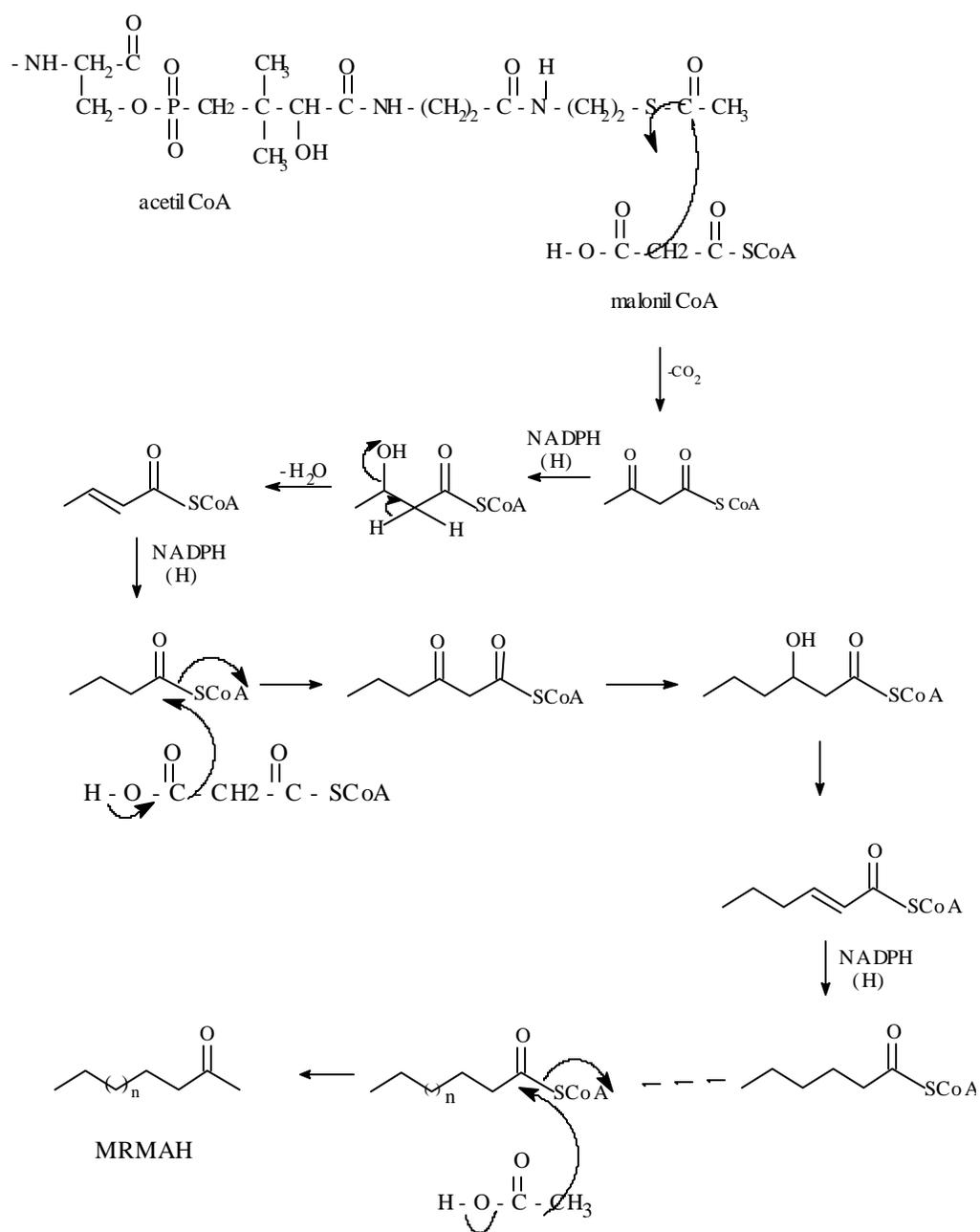


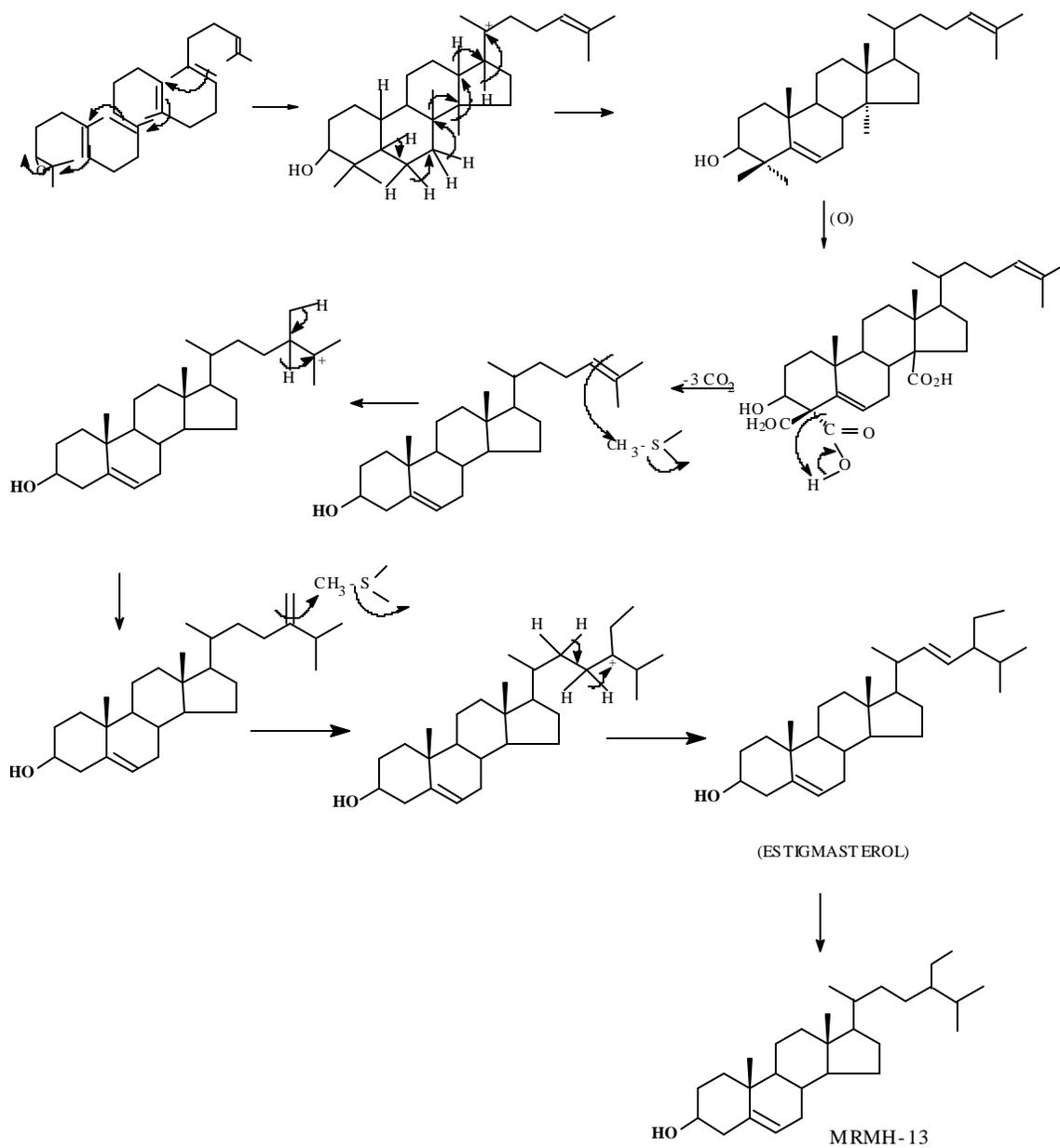


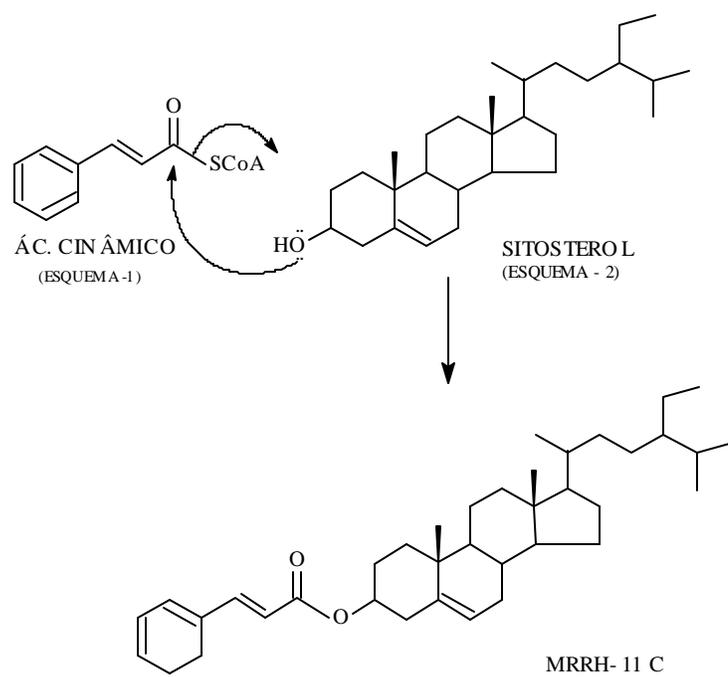
**ESQUEMA 1 - Proposta biogenética para formação de MRMAD-1 e MRMAD-2**

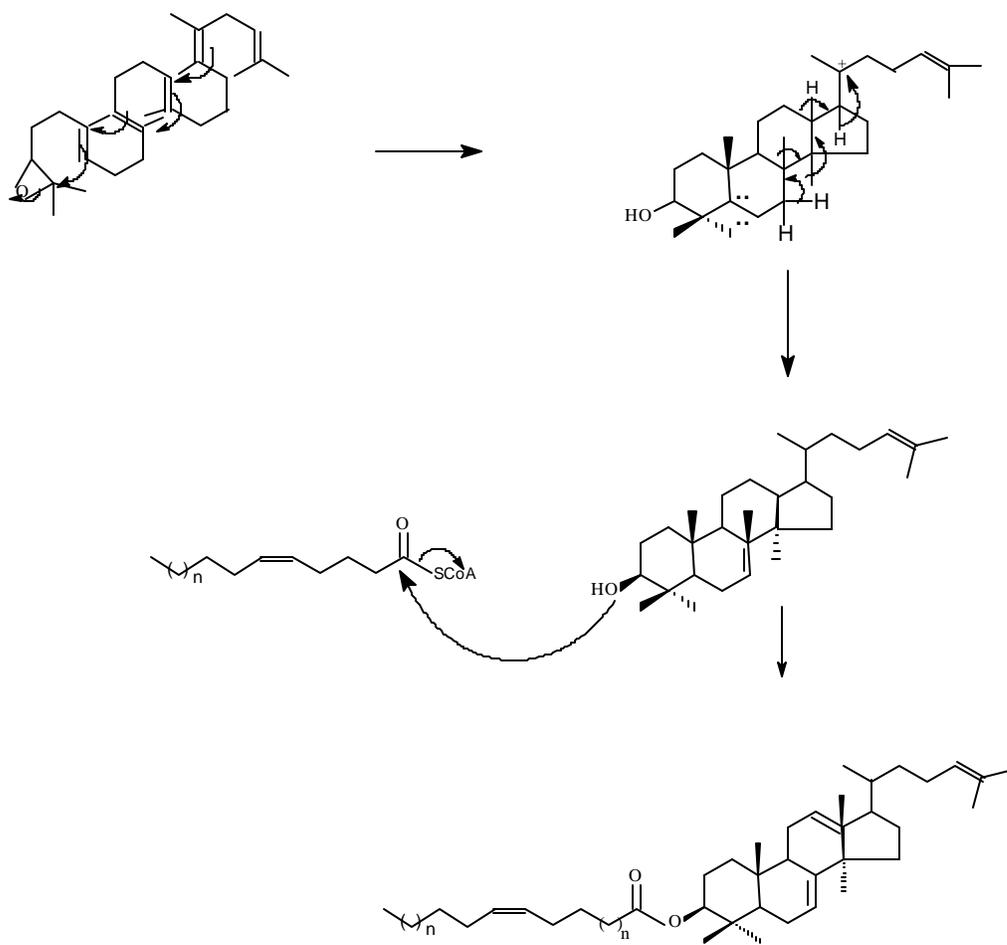


**ESQUEMA 2 - Proposta biogénica para formação de MRMAH**

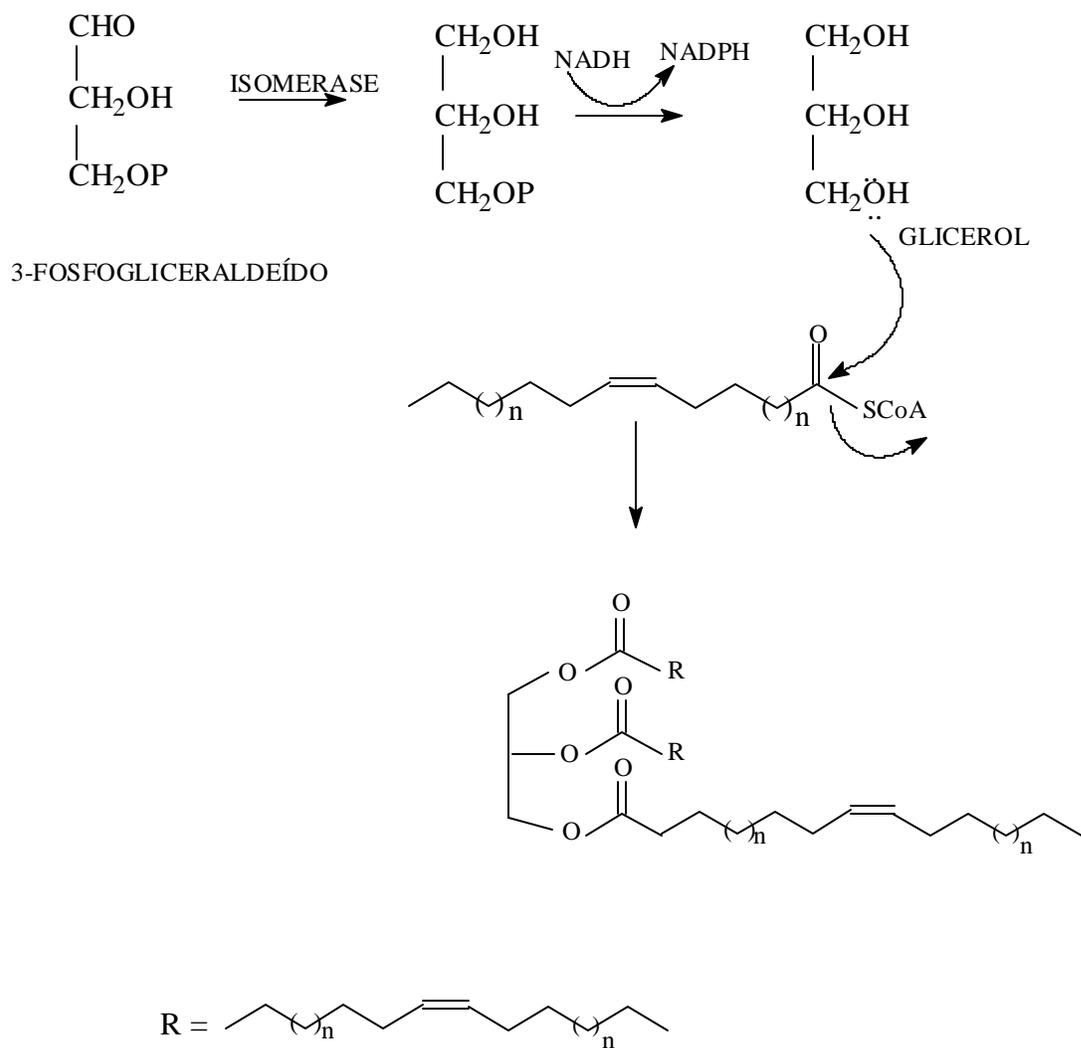


ESQUEMA 3 - Proposta biogenética para a formação de **MRMH-13**

**ESQUEMA 4 - Proposta biogênica para formação de MRRH-11**

**ESQUEMA 5- Proposta biogênica para formação de MRFA-01**

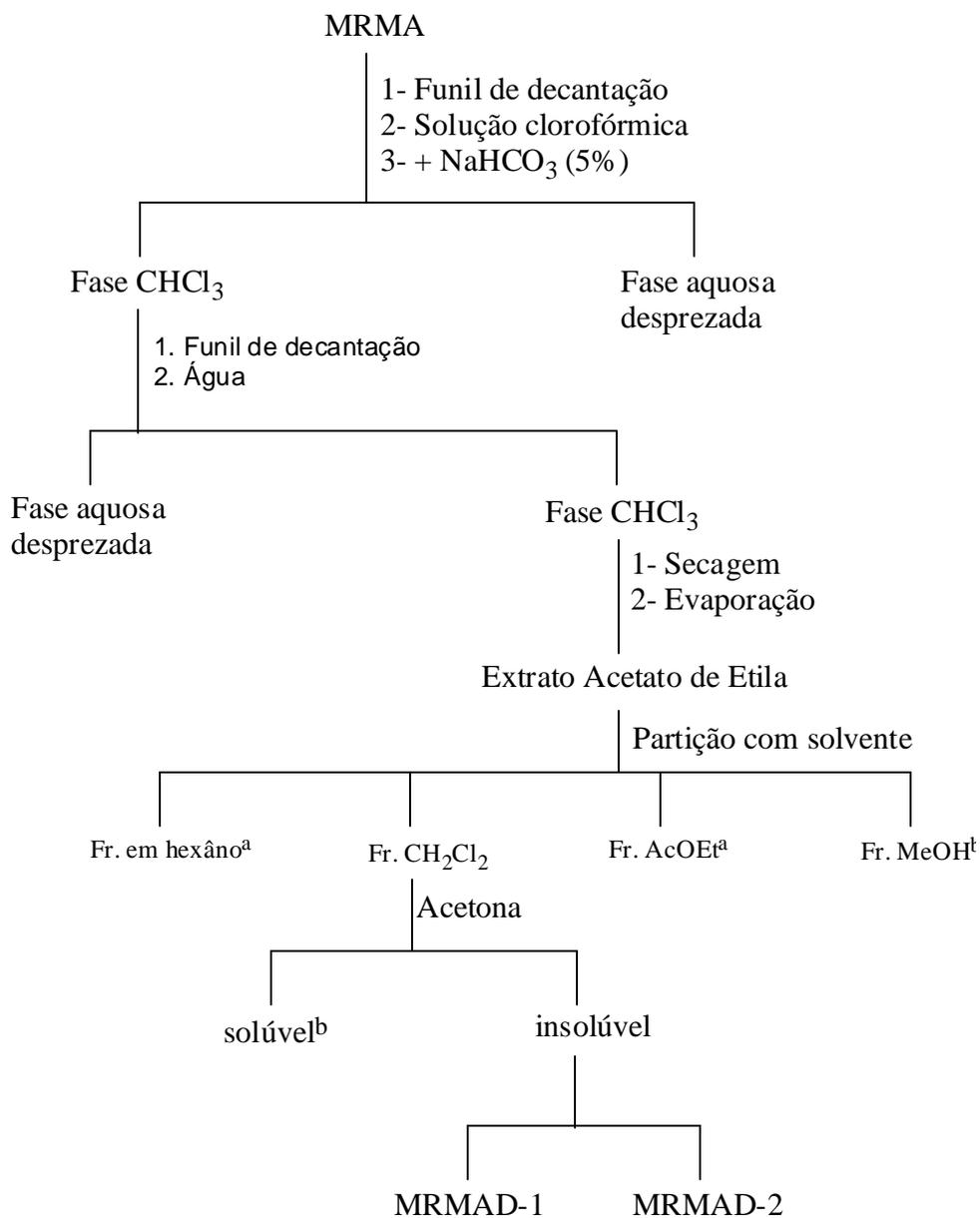
**ESQUEMA 6 - Proposta biogénica para formação de MRFA-04**



**ESQUEMA 7** - Proecessamento para obtenção do Extrato Hexânico e Acetato de Et da Madeira de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne ("Mirindiba Rosa')



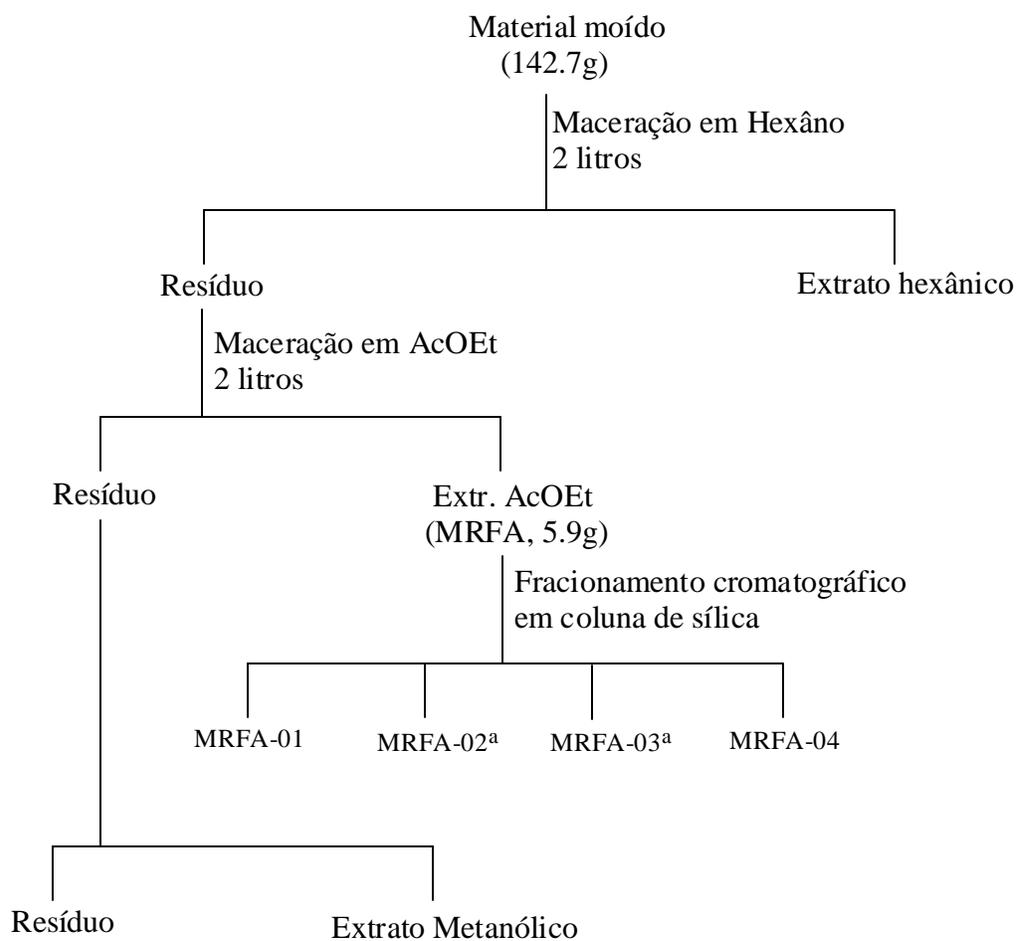
**ESQUEMA 8 - Fracionamento do Extrato Acetato de Etila**



<sup>a</sup> constituída de material alifático em pequena quantidade

<sup>b</sup> será estudada posteriormente

**ESQUEMA 9** - Processamento para obtenção do Extrato Acetato de Etila dos frut de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne ("Mirindiba rosa")



<sup>a</sup> material graxo

## CONCLUSÃO

Os extratos em hexano e em acetato de etila desta espécie possui, além de esteróides e hidrocarbonetos alifáticos, derivados do ácido cinâmico e ferrúlico. Os ésteres derivados do ácido cinâmico, são certamente os responsáveis pelo efeito alelopático, uma vez que a literatura<sup>1</sup> cita estas substâncias como responsáveis por esta propriedade.

**PARTE 2**

***Wedelia paludosa* D.C.**

## OBJETIVO

1- Isolar e determinar as estruturas dos metabólitos secundários das flores da planta.

2- Testar a atividade dos componentes isolados e comparar com a atividade do extrato bruto, para verificar qual é o componente mais ativo.

## Parte 2 - ESTUDO QUÍMICO DE *Wedelia paludosa* D.C.

### INTRODUÇÃO

Os trabalhos desenvolvidos pelos químicos de produtos naturais contribuem para o desenvolvimento de diversas áreas de ciência como: farmacologia, botânica, agricultura, química orgânica, evolução e ecologia química micromoleculares. Além da importância científica, os metabólitos secundários geram interesse econômico, fornecendo perfumes, corantes, medicamentos, inseticidas, etc.

Tem sido de grande importância para a química orgânica e, em particular para o químico de produtos naturais, o desenvolvimento de novas técnicas analíticas, como cromatografia e o aperfeiçoamento dos instrumentos de análise espectrométricas.

Apesar da variedade das diversas contribuições científicas geradas pelos trabalhos dos químicos de produtos naturais, a justificativa mais frequente para o estudo químico de plantas é a procura de substâncias com atividade farmacológica.

Os resultados das atividades experimentais desenvolvidas por pesquisadores das diversas áreas de conhecimento que envolvem trabalhos relacionados com fitoquímica são de fundamental importância para a avaliação científica das propriedades terapêuticas apontadas pelo uso popular, como já vem ocorrendo em outros países. Deve ser levado em consideração que o nível de metabólitos secundários de plantas está relacionado com estágios de desenvolvimento do organismo (idade) e do habitat.

Levando-se em consideração os fatos relevantes acima, escolheu-se para estudo uma espécie de Asteraceae, cujo gênero vem despertando interesse para estudo, à medida que vão sendo descobertas as atividades farmacológicas de extratos ou de substâncias isoladas de diferentes espécies do gênero<sup>11</sup>.

As Asteraceae compreendem cerca de 1.100 gêneros, com aproximadamente, 25.000 espécies de ampla distribuição, bem representadas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas. São na verdade plantas que tanto podem ocorrer em localidades ao nível do mar, como atingir os picos das mais altas montanhas<sup>12</sup>.

São mais abundantes nas regiões áridas do que nas florestas tropicais úmidas. No Brasil estão representadas por aproximadamente 180 gêneros<sup>11</sup>.

Na grande maioria, as Asteraceae estão representadas por espécies herbáceas, anuais ou perenes, subarbustivas ou arbustivas e, só raramente, por espécies arbóreas<sup>12</sup>.

A tribo Heliantheae é considerada a mais numerosa das tribos da família, compreendendo cerca de 200 a 300 gêneros e 4.000 espécies com ampla distribuição, principalmente, americanas. Cerca de 53 gêneros estão representados na flora do Brasil, mas poucos são endêmicos.<sup>12</sup>

Há várias espécies de *Wedelia* que foram estudadas recentemente e os motivos destes estudos são as diversas atividades farmacológicas de diferentes

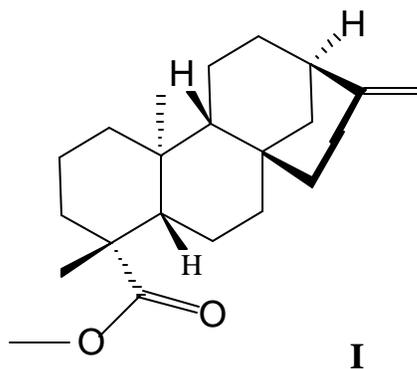
espécies do gênero, como exemplo pode-se destacar a *Wedelia biflora*<sup>13</sup> que na Tailândia tem sido usada como febrífugo e analgésico e foram isolados diprtenos com atividade anti alimentar de inseto e fungicida. A espécie *Wedelia asperrima*<sup>13</sup> foi estudada porque apresenta atividade antitumoral.

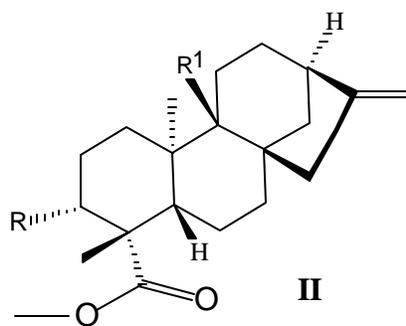
Pesquisadores argentinos estudaram quimicamente as espécies *Wedelia glauca*<sup>14</sup> e *Wedelia bupthalmiflora*<sup>15</sup> por serem tóxicas para gado.

A espécie *Wedelia paludosa* D.C. foi estudada anteriormente<sup>15</sup>, em 1987.. Teste preliminar do extrato bruto da planta constatou a presença de substâncias com atividade antibiótica<sup>15</sup>. O estudo químico desta espécie, revelou a presença de sete ácidos kaurenóicos **I** e **Ila-Ilg**, um labdano **III** e uma secokaurenolactona (**IV**). Foram realizados testes de atividades biológicas dos compostos puros contra *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *klebiselia pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, em leveduras *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* e também dermatologicamente em *Trichophyton Rubrum*<sup>15</sup>. As substâncias **Ila** e **III** foram inativas frente a bactérias e leveduras e inibiram o crescimento de *T. Rubrum* em concentração de 00,2 mg/ml. A secokaurenolactona (**IV**) inibiu o crescimento de *S. aureus*, *C. albicans* e *T. Rubrum*, em concentrações de 500, 125 e 50 mg/ml respectivamente<sup>15</sup>.

Um estudo adicional de *Wedelia paludosa* D.C., realizado por professores da Universidade Estadual de Londrina e da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro<sup>6</sup> em 1993, constatou a presença das lactonas sesquiterpênicas **V** e **VI**. Este estudo foi motivado devido ao uso da planta como fungicida e em medicina popular<sup>16</sup>.

Este trabalho conclui o estudo citado acima e descreve o isolamento de um Kaurano diferente dos isolados anteriormente nesta espécie, de um triterpeno e de esteróides glicosilados.



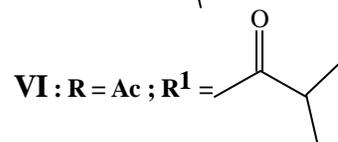
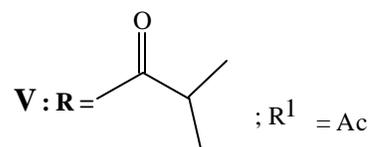
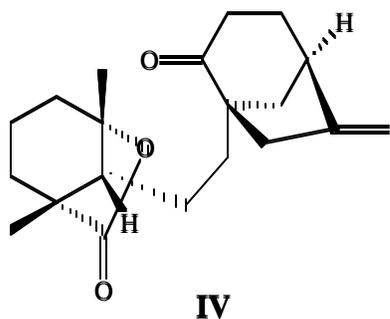
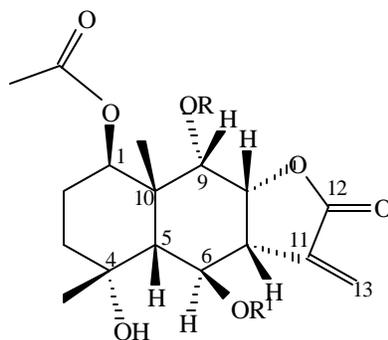
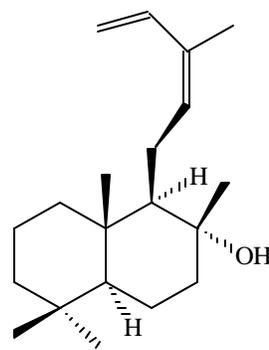


	R	R <sup>1</sup>
IIa	H	H
IIb	OAng	H
IIc	OTigl	H
IId	OCin	H
IIe	H	OH
IIf	OCin	OH
IIg	OAng	OH

CH<sub>3</sub>CH=CCH<sub>3</sub>CO: Angeloil

E=Tiplynoyl

C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH=CH-CO: Cinamoyl



## 2.1 DESCRIÇÃO BOTÂNICA DE *Wedelia paludosa* D.C.

A espécie *Wedelia paludosa* D.C. é planta herbácea, prostrada radicante nos nós. caule - castanho - avermelhado, esparsamente piloso folhas - opostas, curto pecioladas, membranáceas, pilosas nas duas faces, mais pronunciadamente na dorsal, estreitada em direção à base acima do meio provida de dois pequenos lobos laterais e um terminal, maior e denteado, 6 cm de comprimento e 3 cm de largura. Pecíolo - semicilíndrico, ciliado, com 4 mm de comprimento. Capítulos - solitários, longo - penducalados, axilares. Pendúnculo - piloso, 10 cm de comprimento, bracteas involucrais foliáceas, em 2 séries, pilosas no dorso, 8 - 12 mm de comprimento, receptáculo cônico, carnoso, paleáceo. Flores - amarelas, as marginais femininas, cerca de 13 mm, com corola lingulada, tribolada no ápice, com 8 mm de comprimento e as do disco muitas, hermafroditas, com corola tubulosa, estilete da flor feminina com os ramos glabros, carnosos, obtusos, semicilíndricos. Anteras - negras, de base sagitada Aquênio - túrgido, trínquetro, glabro, estreitado na base, com pappus ciatiforme de 1 mm de comprimento<sup>3</sup>.

## 2.2 ESPECIFICAÇÃO DA PLANTA

**DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA:** Rio de Janeiro até Região Sul do País. Esta planta é frequente nas praias, lugares sombrios e úmidos e terrenos baldios, rudera<sup>3</sup>.

**IMPORTÂNCIA ECONÔMICA:** A espécie *Wedelia paludosa* D.C. é muito ornamental, empregada para formação de relvados, vegetando bem ao sol e à sombra, aconselhada para fixar barrancos<sup>3</sup>.

SINONÍMIA VULGAR: São conhecidas como, Margaridão, Malmequer, Malmequer-do-brejo, picão-da-praia, vedélia<sup>3</sup>.

espécie - *Wedelia paludosa* D.C.

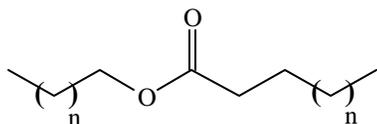
gênero - *Wedelia*

tribo - Heliantheae

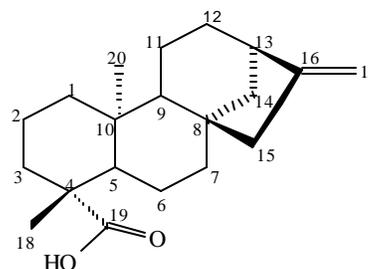
subfamília - Asteroideae

família - Asteraceae (Compositae)

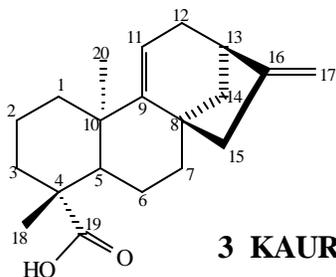
### 2.3 OUTROS CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Wedelia paludosa* D.C.



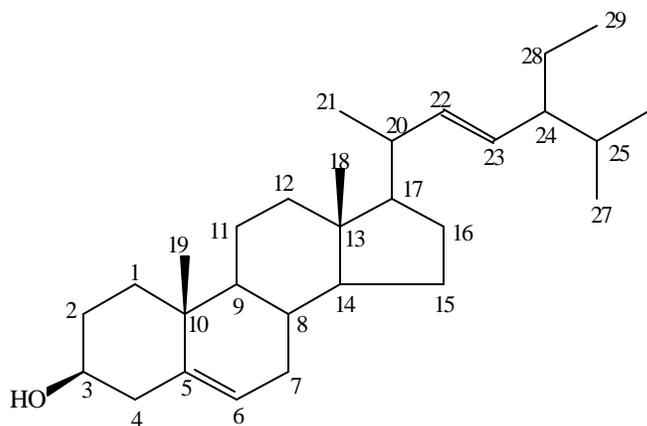
**1 ÉSTER ALIFÁTICO**



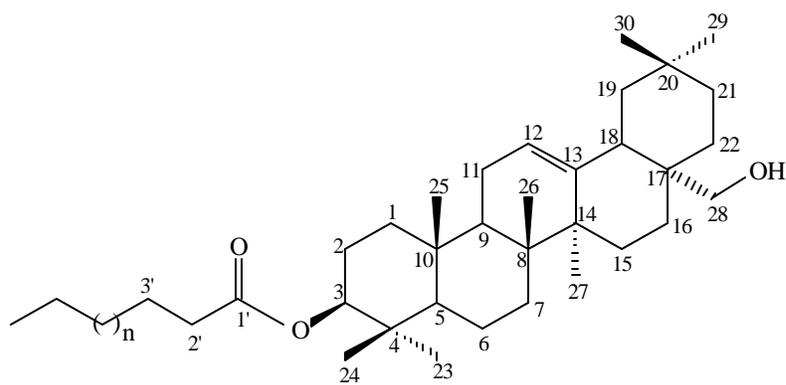
**2 KAUR-16-ENO-19-ÓICO**



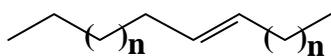
**3 KAUR-9,16-DIENO-19-ÓICO**



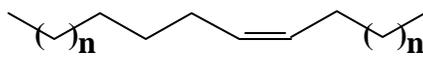
**4 ESTIGMASTEROL**



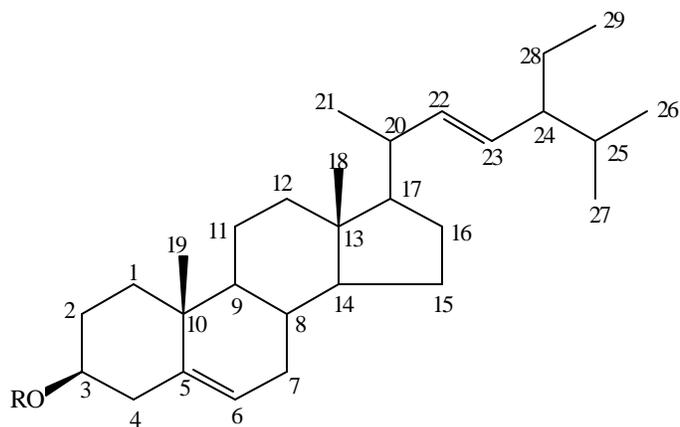
**5 3b-O-ACIL-OLEANO-12-ENO-28-OL**



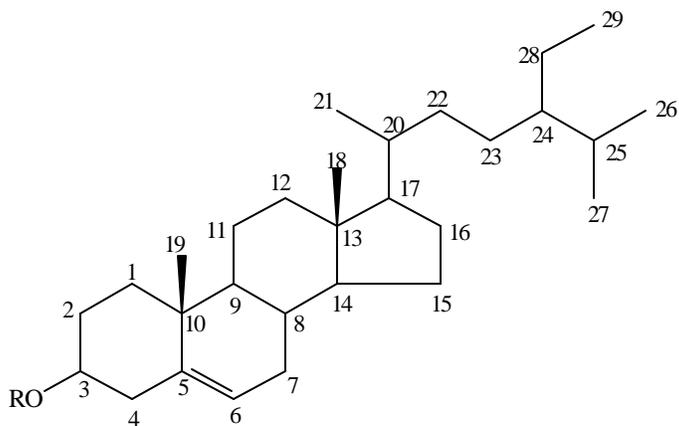
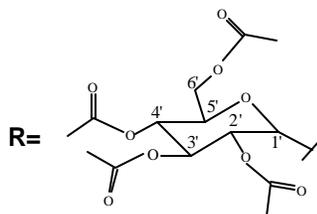
**6 OLEFINA**



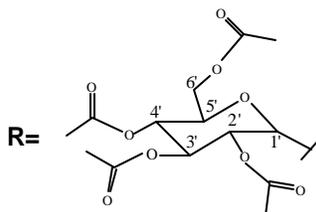
**7 OLEFINA**



**8 TETRA-O-ACIL-3 $\beta$ -D-GLICOPIRANOSIL ESTIGMASTEROL**



**9 TETRA-O-ACIL-3 $\beta$ -D-GLICOPIRANOSIL SITOSTEROL**



## 2.4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES ISOLADOS DE *Wedelia paludosa* D.C.

### 2.4.1 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE WPE-4

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (PND e DEPT,  $\theta = 135^\circ$ ) (Fig. 1, pág. 100 e 1a, pág. 101) possui vinte sinais de frequências de carbonos, sendo cinco quaternários, três metínicos, dez metilênicos e dois grupos metila (Tabela 1, pág. 88). Estes dados permitem propor a estrutura de um diterpeno com um grupo ácido carboxílico ( $\delta\text{C}: 185.0$ ) e um grupo vinila terminal ( $\{\delta\text{C}: 155.7$  (C) e  $103, 0$  ( $\text{CH}_2\}$ ). Com essas informações pode-se sugerir a fórmula ampliada  $\text{C}_3(\text{C}=\text{CH}_2)(\text{CH})_3(\text{CH}_2)_9(\text{CH}_3)_2\text{CO}_2\text{H}$ , cujo valor do peso molecular está de acordo com o pico molecular, presente no espectro de massas (Fig.3, pág. 104).

O grupo vinila e as metilas são representados no espectro de RMN $^1\text{H}$  (Fig 2, pág. 102) pelos sinais em 4,80 (sl); 4,74 (s l), 1,24 (s) e 0,85 (s).

Os dados descritos acima permitem incluir este diterpeno entre os pertencentes à série dos Kauranos. A comparação dos deslocamentos químicos dos carbonos de WPE-4 com modelos registrados na literatura<sup>17,18</sup> (Tab 2, pág. 89) permitem propor a estrutura do ácido Kaur-16-eno-19-óico (**1**) para esta substância.

O espectro de massas (Fig 3, pág. 104) desta substância apresenta sinal do  $\text{M}^+$ . 302 u.m.a., (valor correto para a estrutura proposta) e os demais picos presentes no espectro de massa correspondem a sinais de íons fragmentários que estão de acordo com a estrutura deste ácido (Esquema 1, pág. 134).

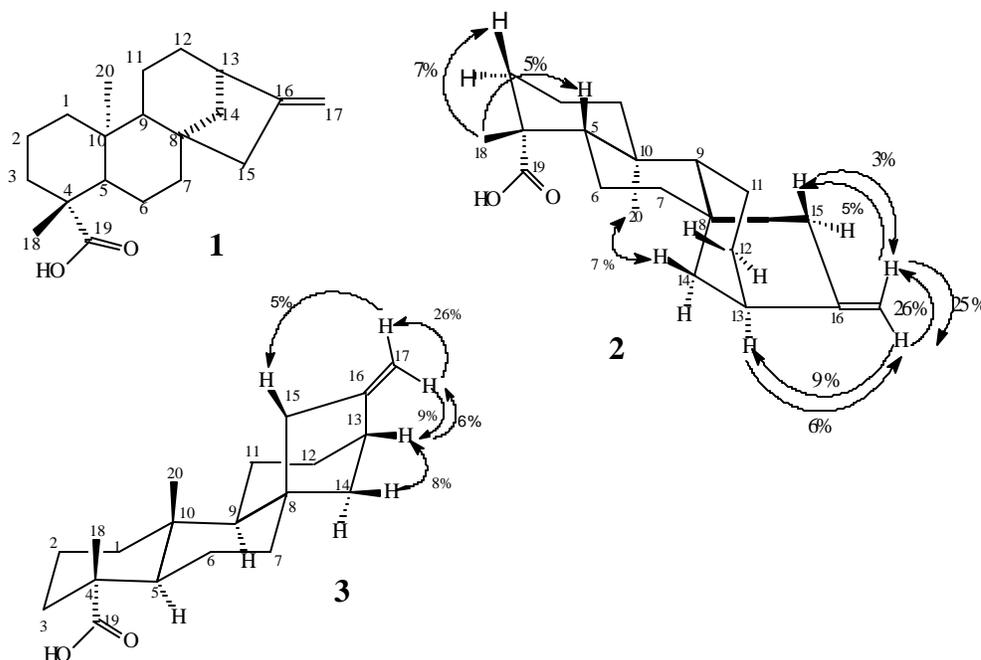
O espectro de RMN bidimensional  $^1\text{H}\times^1\text{H}$ -COSY (Fig 4; pág. 105) mostra sinais de interação dos prótons 17b ( $\delta\text{H} 4,74$ ) com os prótons alílicos H-15 ( $\delta\text{H}: 2,05$ ), H-13 ( $\delta\text{H}: 2,64$ ) com H-12 ( $\delta\text{H}: 1,70 - 1,40$ ) e com H-14<sub>a</sub> ( $\delta\text{H}: 2,10 - 1,90$ ) os

acoplamentos com os outros prótons vizinhos, não são observados, devido ao ângulo diedro conforme a estrutura **2**

As atribuições dos deslocamentos químicos dos prótons de WPE-4 foram definidas principalmente com análise dos espectros 2D ( $^1\text{H}\times^{13}\text{C}$ -COSY)  $n\text{J}_{\text{CH}}$  ( $n=1,2$  e  $3$ ) (Fig 5, pág. 106 e 6, pág. 107). O acoplamento a uma ligação ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ) permitiu definir a frequência dos carbonos e hidrogênio dos grupos metilas ( $\delta\text{C}:28,9$  e  $\delta\text{H}:1,24$  ;  $\delta\text{C}:15,5$  e  $\delta\text{H}:0,85$ ), os singletos largos em  $\delta\text{H}:2,05$ ;  $2,64$ ;  $4,70$  e  $4,80$  representam respectivamente, os prótons ligados aos carbonos  $\delta\text{C}:48,9$  ;  $43,7$  ; e  $103,0$ . Os sinais correspondentes aos acoplamentos a duas ligações permitiram definir os prótons que acoplam a longa distância com os carbonos C-4 ( $43,7$  ppm), C-10 ( $39,6$  ppm) e C-16 ( $155,7$  ppm) (Tabela 2; pág. 89). Os sinais correspondentes aos  $^3\text{J}_{\text{CH}}$  do carbono C-19 ( $185,0$  ppm) com os prótons H-18 e H-5, do C-5 ( $57,0$  ppm) com H-18, do C-13 ( $43,7$  ppm) com H-17b, C-3 ( $37,7$  ppm) com H-18 e do C-15 com H-17a. Os demais sinais de  $^1\text{J}_{\text{CH}}$  das respectivas frequências dos carbonos permitiu definir a região de absorção dos hidrogênios sustentados por eles. (Tabela 2, pág. 89) (Fig 5, pág. 106 e 6, pág. 107).

O efeito NOE observado nos prótons H-13 ( $2,64$  ppm) pela diferença de espectros com irradiação dupla, nas frequências do próton H -17a ( $4,80$  ppm) e o efeito NOE no próton 17a ( $4,80$  ppm) quando se faz irradiação na frequência do H-13 (Fig 7A e C, pág. 108) permitiu propor como estrutura para WPE-4 as conformações **2** e **3** (Tabela 3; pág. 90). O efeito NOE sobre H-15 com irradiação no H-17b e sobre H-17b com irradiação no H-15 (Fig. 7 B e F, pág. 108), e também a ausência de NOE nas frequências das metilas , mostra que ambas devem estar em posição 10,4-trans a,e. Estes dados experimentais estão de acordo com a estereoquímica relativa representada em **2** e permite assim eliminar a possibilidade estrutural **3**.

Foi obtido o éster de WPE-4 através do tratamento da substância natural com diazometano, o espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig. 2a, pag. 103), mostra a frequência do grupo metoxila do produto **2a**.



#### 2.4.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE WPE-VII-2

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig 9, pág. 110) desta substância possui, além dos sinais do terpeno WPE-4, os sinais mais intensos em  $\delta$ H 0.95 (s), 4.92 (sl) e 4.79 (sl), , e o sinal adicional em  $\delta$ H 5.25. Estas observações permitem propor para WPE-VII-2 a estrutura semelhante a WPE-4. Os espectros de RMN<sup>13</sup>C PND e

DEPT (Fig 8, pág. 109) possuem, também, sinais que estão de acordo com a mistura de dois kauranos (Tab 4, pág. 91). Uma dupla adicional de um dos componentes da mistura é representada pelo sinal 5,25 ppm, e  $\delta C$  138.0 e 114.8 ppm. Um terceiro sinal do grupo metila ( $\delta H$  : 1.25 ppm,  $\delta C$  : 23.8 ppm) corresponde também a uma diferença entre os espectros de WPE-4 e WPE-VII-2. Isto permite propor a estrutura do kaurano com uma dupla 9(11) (**4**), e fazer as estimações dos deslocamentos químicos dos carbonos de WPE-VII-2 (Tabela 5; pág. 92).

O espectro de RMN bidimensional  $^1H \times ^1H$ -COSY (Fig 10; pág. 111) mostra além dos sinais de interação dos prótons H-17b (4.92 ppm) com os prótons alílicos e H-15a e 15-b (2.07 e 2.60 ppm); os sinais do H-11 (5.24 ppm) com H-12a (1.97 ppm) e H-12b (2.40 ppm); interação de H-12a (2.40 ppm) com H-13 (2.75 ppm) que acopla com H-14 (1.00 ppm).

As atribuições dos deslocamentos químicos dos prótons de WPE-VII-2 foram definidos, também através da análise dos espectros 2D ( $^1H \times ^{13}C$ -COSY,  $nJ_{CH}$ )  $n=1, 2$  e  $3$ ) (Figs 11; pág. 112 e 12, pág. 113). O acoplamento a uma ligação ( $^1J_{CH}$ ) permitiu definir a frequência dos carbonos e os respectivos hidrogênios ligados (Tabela 5; pág. 92).

Os sinais correspondentes aos acoplamentos a três ligações ( $^3J_{CH}$ ) permitiu definir os prótons que acoplam com os carbonos: C -19 (185,0 ppm) com H-5 (1.01 ppm) e com H-18 (1.25 ppm) e C -16 (156.0 ppm) com H-12b (1.97 ppm) e com H-14 (1.00 ppm).

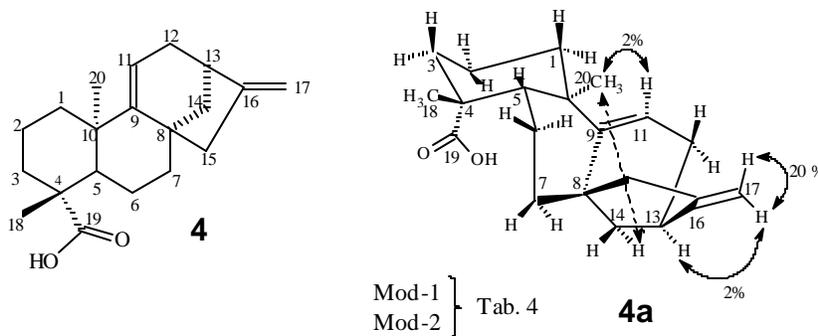
A comparação das frequências de absorção dos carbonos de WPE-VII-2 com modelos da literatura<sup>10</sup> (**Mod-1** e **Mod-2**), Tabela 6, pág. 93, permite destacar do espectro da mistura os valores compatíveis com a estrutura **4a** confirmando a proposta estrutural para WPE-VII-2.

O uso de experiências com irradiação dupla e subtração de espectros (Fig 14, pág. 116 e 14a, pág. 117) permitiu verificar um fraco NOE, no próton H-11 (2%), com a irradiação na frequência da metila CH<sub>3</sub>-20 (1.03 ppm) e não apresentou sinal de interação com CH<sub>3</sub>-18. Isto mostra que os dois grupos metilas não estão *cis*, 1.3-diaxial como no modelo **1**. O deslocamento químico do C-8 (44,2 e 43,4) de WPE-VII-2 e **Mod 2**, respectivamente, revelam a ausência de efeito de proteção da CH<sub>3</sub>-20 que ocorre no **Mod 1** (C-8:δC:38,1, /H:6,09).

Os dados discutidos acima permitem definir a estrutura de WPE-VII-2 como ácido 20-, -Metil-Kaur-9(11), 16(17)-dieno-19-óico (**4**).

Esta estrutura é idêntica ao Kaurano (**4a**), 20 $\alpha$ -Metil-Kaur-9(11), 16(17)-dieno-19-óico, isolado de *Wedelia hookeriana*<sup>20</sup> e *Wedelia bupthalmiflora* que ainda não havia sido isolada de *Wedelia paludosa* D.C.<sup>15</sup>.

Tratamento de WPE-VII-2 com diazometano forneceu o éster metílico (WPE-VII-2 -Me) cujo espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig. 13, pág. 115) mostra os sinais do grupo metoxila, confirmando a função ácida nos diterpenos da mistura.



### 2.4.3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE WPE-VII-3-4

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (PND ; Fig 5, pág. 118), mostra um sinal em 173,7 ppm correspondente a absorção de carbonila de éster  $\text{R-CO}_2\text{R}$ , e os demais sinais de absorção de C, CH,  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  (Fig 15; pág. 118 e 15a, pág. 119) revelam a natureza terpênica da substância.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig 16, pág. 120) possui sinais de prótons carbinólicos, olefínicos, metilénicos alfa a carbonila e de cadeia normal saturada.

A contagem do número de C, CH,  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (PND e DEPT) (Fig 15; pág. 118 e 15a, pág. 119) (Tabela 7, pág. 94), permitiu identificar cinco CH e sete grupos metilas que correspondem ao número de CH e  $\text{CH}_3$  de um triterpeno pentacíclico. Levando-se em consideração o  $\delta\text{C}$  dos carbonos olefínicos 122,7 e 143,6 ppm e o número de  $\text{CH}_3$ , verifica-se que se trata de um triterpeno da série dos oleananos. O sinal de  $\text{CH}_2$  em 70,5 ppm, observado no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig 15; pág. 118) e os sinais em 3,69 (d; 12 Hz, 1H) e 4,00 (d, 12 Hz, 1H) (Fig 16 pág. 120) que acoplam entre si (Fig. 17; pág. 121), podem ser atribuídos a um grupo  $\text{CH}_2$  carbinólico presente na molécula. O sinal de  $\text{CH}_3$  em 14,2 ppm é atribuído ao grupo metila terminal da cadeia do ácido alifático saturado que constitui o éster revelado acima.

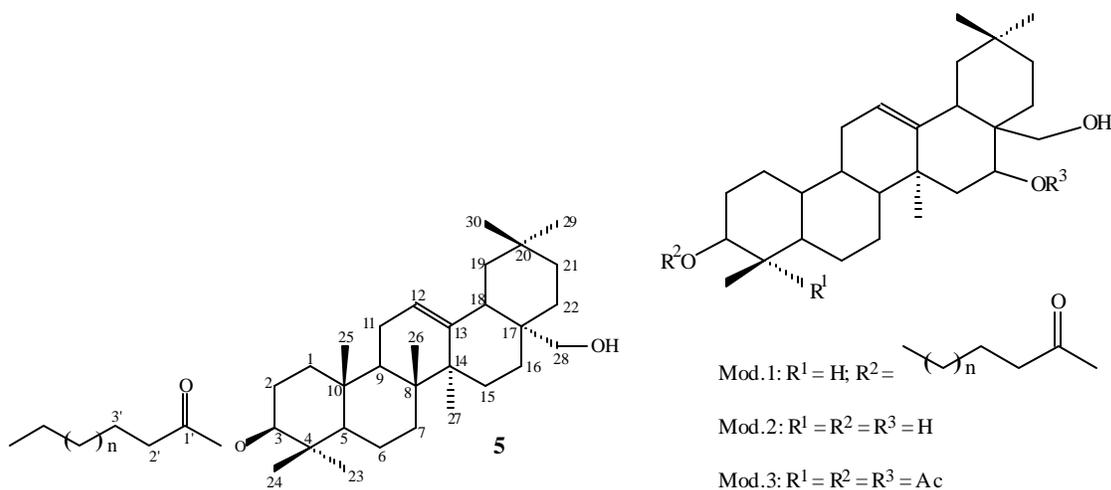
Os demais sinais em campo relativamente baixo: 4.50 (t, 8 Hz, 1H) e 5,32 (sl) estão coerentes com as frequências de um próton carbinólico ligado ao carbono 3 do terpeno sustentando um grupo éster e a um próton olefínico do C-12 da unidade terpênica.

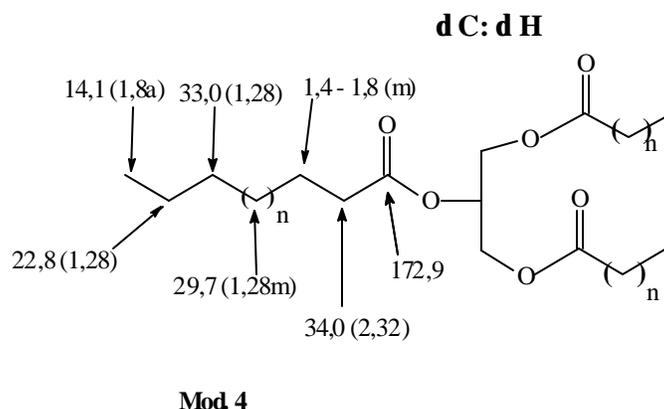
O sinal de frequência do carbono carbinólico, em 80,5 ppm é compatível com carbono do sistema que permite o efeito  $\beta$  de desproteção do grupo metila no C-4. Isto justifica a localização do grupo éster no C-3.

O espectro (2D) de  $^1\text{Hx}^1\text{H-COSY}$  de WPE VII-3-4 (Fig 17; pág. 121) mostra o acoplamento dos prótons (H-28; citado acima e do prótons H-3 (4,50 ppm) com os prótons metilênicos H-2 (1,60; m) ; do H-12 (5,32 ; sl) com H-11 (1,80 ; m) e do H-2' (2,28; t;  $\text{O}=\text{CCH}_2\text{2}'$ ) com H-3' (1,64 ; m), (Tabela 8, pág. 95).

A comparação dos deslocamentos químicos dos carbonos de WPE VII-3-4 com triperpenos da literatura<sup>12</sup>. (**Mod-1**, **Mod-2** e **Mod-3**) (Tabela 9, pág. 96), confirma as atribuições da unidade terpênica na estrutura **5** para esta substância. Os demais valores [ $\delta\text{C}$  ( $\delta\text{H}$ ):173.7, 34.8 (2.28); 25,15 (1,70-1.80); 29.5 (1.24, m); 14.20 (0.90, t)] são compatíveis com a unidade proveniente do ácido (**Mod 4**)<sup>13</sup>.

O espectro 2D ( $^1\text{Hx}^{13}\text{C-COSY}$ ,  $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ) (Fig. 18, pág. 122), mostra sinais que confirmam as atribuições dos carbonos e os respectivos prótons assinalados na Tabela 9, pág. 96.





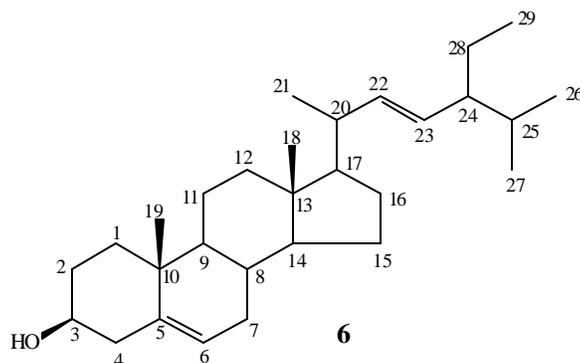
#### 2.4.4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE WPE-5

O espectro de RMN<sup>1</sup> H (Fig. 19, pág. 123) possui sinais simples em 0.65 e 0.98 ppm e sinais múltiplos entre 0.67 e 0.94 ppm que são compatíveis com as frequências de absorção de grupos metilas de um esteróide.

O sinal em 3.52 ppm (m) corresponde a frequência de absorção do próton carbinólico e os sinais de prótons 4.90 - 5.20 (2 x dd, 2H) e 5.35 [(sl), 1 H] são de duas ligações duplas no esteróide. Estes dados e as frequências dos CH olefínicos (121.7, 129.2 e 138.3) revelados no espectro de RMN<sup>13</sup>C PND e DEPT (Figs. 20; pág. 124 e 21, pág. 125) e o  $\delta$ C do CH carbinólico (71.8 ppm) são compatíveis com a estrutura do estigmasterol. A integração dos sinais em 5.35 (1.02) e 4.90-5.20 (1.90) dos prótons H-6 (1H) e H-22, 23 (2H) permitem sugerir a presença apenas do estigmasterol em WPE-5. A tabela 10, pág. 97, faz comparação dos dados de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C de WPE -5 com dados da literatura<sup>14</sup>.

O espectro de I.V. (Fig. 22, pág. 126) possui bandas de absorção em 3.420 cm<sup>-1</sup>, referente a estiramento do grupo hidroxila, 2900 - 2700 cm<sup>-1</sup> que estão de acordo com estiramento de CH, 1355 e 1450 cm<sup>-1</sup> compatíveis com estiramento

de  $\text{CH}_2$  e  $1050\text{ cm}^{-1}$  referente a absorção de álcool secundário, confirmando as principais absorções do esteróide.

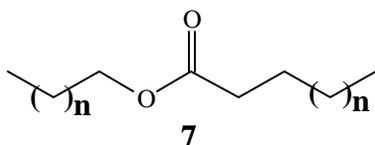


#### 2.4.5 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE WPE' - 2

O espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (Fig 23, pág. 127) possui sinal em 4,25 ppm (t) referente a prótons carbinólicos do éster, em 2,27 ppm (m) referente a  $\text{CH}_2$  alifático, ligado a grupo carbonila, o sinal em 1,23 ppm (s) corresponde a frequência de absorção de  $(\text{CH}_2)_n$  e os sinais em 0,83 e 0,88 ppm (s) representam as frequências de grupos metilas. Esses dados permitem propor a estrutura de WPE' - 2; como um éster alifático saturado.

O espectro de I.V. (Fig. 23a, pág. 128) possui banda de absorção em 2,920-2,854  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento de CH, 1,736  $\text{cm}^{-1}$  estiramento de carbonila de éster, 1,472  $\text{cm}^{-1}$  deformação angular de CH,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ , 1,380  $\text{cm}^{-1}$  deformação angular de  $\text{CH}_3$  (metila) e 1,216  $\text{cm}^{-1}$  referente a frequência de estiramento de C-O.

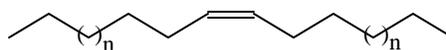
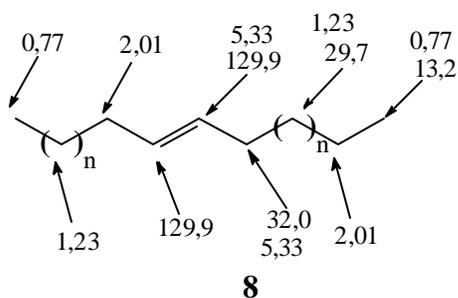
Estes dados confirmam a proposta anterior de um éster alifático saturado.



#### 2.4.6 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE WPE-1

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig 24, pág. 129) possui um sinal múltiplo em 0.77 ppm referente a sinais de metilas alifática normal, sinal intenso em 1.23 ppm (sl) correspondente à frequência de CH<sub>2</sub> da cadeia. Considerando-se os valores de integração dos sinais 1.23, 5.33 e 2.05 ppm, pode-se propor uma mistura de hidrocarbonetos alifáticos saturados e um alceno responsável pelas absorções em 5.33 (t, 2H olefínicos) e 2.01 (m, 4H alílicos).

O espectro de RMN<sup>13</sup>C (Fig 25, pág. 130) possui sinais compatíveis com a presença do alceno de cadeia normal proposto acima. A estrutura **8** mostra as atribuições dos deslocamentos químicos dos carbonos do principal componente na mistura.



#### 2.4.7 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE WPE-XIV

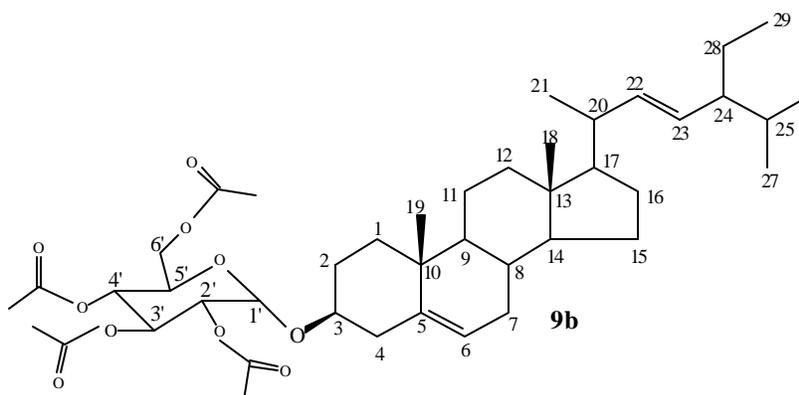
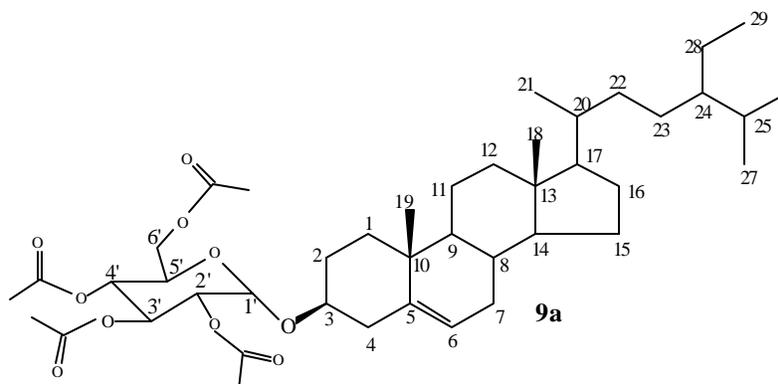
A fração WPE-XIV foi insolúvel nos solventes comuns usados para registrar os espectros para identificação dos componentes. Por isso foi preparado o

derivado acetilado através do tratamento com anidrido acético e piridina (1:1) e obteve-se o produto WPE-XIV-AC.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig 26, pág. 131) possui dois sinais simples em 0.67 e 1.03 ppm e outros sinais múltiplos entre 0.69 e 0.99 ppm que dão ao espectro uma feição compatível com as de esteróides, os sinais em 3.48(m) e 5.37(d) são, respectivamente, referentes às frequências de absorção do próton carbinólico ligado ao carbono 3 ( $\delta$ C:80.1) e olefínico ligado ao carbono 6 ( $\delta$ C:122.2), os sinais de prótons 4.95-5.20 (2 x dd, 2H) são de uma ligação dupla na cadeia alifática do esteróide, os sinais em 4.59 (d, 9.4Hz, 1H), 4.95 (t, 9.4 Hz; 1 H), 5.20 (t, 9.4 Hz, 1H), 5.06 (t, 9.4 Hz, 1H), 3.15 (m, 1H), 4.12 (dd, 13.0 e 2.0 Hz, 1H) e 4.22 (dd, 13.0 e 4.01 Hz, 1H) correspondem às frequências de absorção de uma unidade de glicose, ligada ao esteróide, os sinais pertencem, respectivamente, aos prótons: H-1', H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a' e H-6b'.

Os espectros de RMN<sup>13</sup>C PND e DEPT (Fig 27, pág. 132) possui sinais em 122.2(CH) ; 140.3 (C); 138.3 (CH) e 129.2 (CH) ppm, que são compatíveis com as frequências de absorção dos carbonos olefínicos do esteróide. Estes dados comparados com valores citados na literatura<sup>15,16e17</sup> (Tabela 11, pág. 98), permitem identificar WPE-XIV-AC como uma mistura de tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glicopiranosil sitosterol (**9a**) e tetra-o-acetil- $\beta$ -D-glicopiranosil estigmasterol (**9b**).

O espectro de RMN<sup>1</sup>H bidimensional <sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H-COSY (Fig 28, pág. 133), mostra sinais de interação dos prótons, H-3 ( $\delta$ H: 3,50) com H-4 ( $\delta$ H: 2.10), H-6 ( $\delta$ H: 5.37) com H-7a e H-7b ( $\delta$ H: 1.95 e 1.40), H-1'( $\delta$ H: 4.59) com H-2 ( $\delta$ H: 4.95), H-2' com H-3' ( $\delta$ H: 5.20), H-3' com H-4' ( $\delta$ H: 5.06), H-4' com H-5' ( $\delta$ H: 3.15) e H-5' com H-6a' ( $\delta$ H: 4.20) e H-6b' ( $\delta$ H: 4.22). Estes dados confirmam a proposta acima que define a estrutura do produto natural como 3- $\beta$ -D-glicopiranosil-sitosterol (**9a**) e 3- $\beta$ -D-glicopiranosil-estigmasterol (**9b**).



## 2.5 PARTE EXPERIMENTAL

### 2.5.1 MATERIAL E MÉTODOS (Vide capítulo 1, tópico 1.5.1)

## 2.5.2 COLETA DA PLANTA

*Wedelia paludosa* D.C., foi coletada nas proximidades do campus da Universidade Estadual de Londrina (UEL), no mês de outubro de 1990. O espécimen coletado foi classificado pela Professora Dr<sup>a</sup> Ana Odete de Santos Vieira do Centro de Ciências Biológicas (CCB), UEL.

As flores foram submetidas a secagem em estufa a 60<sup>o</sup> C, convertida a pó e submetidas a extração com solventes orgânicos.

## 2.5.3 EXTRAÇÃO

O pó obtido das flores (332,7 g) foi submetido a extração à temperatura ambiente com etanol técnico e concentrado à pressão reduzida (Esquema 7 pág. 139). O material concentrado (extrato bruto), foi submetido à processo de partição com solventes.

## 2.5.4 - ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Wedelia paludosa* D.C. (esquema 7, Página 139)

2.5.4.1 - O extrato em etanol (131 g) foi submetido à processo de partição com solventes : MeOH, H<sub>2</sub>O e éter etílico (700 ml MeOH : 90 ml H<sub>2</sub>O : 1 litro de éter etílico).

O extrato em metanol foi submetido a uma partição em acetato de etila e, considerando-se que a separação não foi eficiente, os solventes foram evaporados e o resíduo final foi considerado o extrato metanólico.

Os extratos em metanol e em éter etílico foram submetidos a fracionamentos cromatográfico para isolamento dos componente.

O extrato etanólico foi estudado anteriormente e os resultados já foram publicados 11.

Destes extrato foram isolados lactonas sesquiterpênicas (**V** e **VI**)(pag.68)

Este capítulo da tese descreve a colaboração na conclusão do estudo químico da planta com a análise das frações obtidas do extrato de éter etílico.

O extrato etéreo foi submetido à cromatografia em coluna de sílica gel e foram recolhidas 221 frações conforme descrição na Tabela 12, pág 99.

#### 2.5.5 DADOS FÍSICOS E ESPECTRAIS DOS CONSTITUINTES DE *Wedelia paludosa* D.C..

WPE - 4 - kaurano (ácido Kaur-16-eno-19-óico), cristais brancos, p.f. 181 °C - RMN<sup>1</sup>H 200 MHz, CDCl<sub>3</sub> e RMN<sup>13</sup>C 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub> (Tabela 2, pág. 89).

WPE VII - 2 - Kaurano (ácido Kaur - 9,16 dieno-19 óico), cristais amarelos - p.f. 180° - 190°C. RMN<sup>1</sup>H 200 MHz, CDCl<sub>3</sub> e RMN<sup>13</sup>C 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub> (Tabela 5, pág. 92).

WPE VII - 3-4 , 3-β-O-acil-oleano-12(13) eno-28-ol RMN<sup>1</sup>H 200 MHz, CDCl<sub>3</sub> e RMN<sup>13</sup>C 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, (Tabela 8, pág. 95).

WPE - 5 , esteróide (estigmasterol), cristais brancos, p. f. 175° - 185°C RMN<sup>1</sup>H 200 MHz, CDCl<sub>3</sub> e RMN<sup>13</sup>C 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, (Tabela 10; pág. 97).

WPE'-2 : éster alifático, óleo amarelo RMN<sup>1</sup>H 200 MHz, CDCl<sub>3</sub> δH : 4.03 (C-O) ; 2.29 (m , CH<sub>2</sub> - C = O); 1.23 (s, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>) ; 0,82 (CH<sub>3</sub>) ; 0,86 (CH<sub>3</sub>). I.V. 2.920-2.854 cm<sup>-1</sup> ( C-H); 1.736 cm<sup>-1</sup> ( C=O); 1.472 cm<sup>-1</sup> ( CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>) ; 1.380 cm<sup>-1</sup> (CH<sub>3</sub>); 1.216 cm<sup>-1</sup> ( C-O)

WPE - 1 - olefina (cadeia normal), sólido amorfo branco, p. f. 52<sup>o</sup>C RMN<sup>1</sup>H 200 MHz, CDCl<sub>3</sub> δH : 0.77 (CH<sub>3</sub>) ; 0.83 (CH<sub>3</sub>) ; 1.15 (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> ; 2.0 (CH<sub>2</sub><sub>α</sub>-dupla) ; 5.33 (=CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>) RMN<sup>13</sup>C 50,3 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δC: 2 x 13.20 (CH<sub>3</sub>) ; 27.6 (CH<sub>2</sub><sub>α</sub>-dupla) ; 27.8 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) ; 32.0 (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) ; 129.9 (CH=CH).

WPE - XIV - Identificado na forma do derivado acetilado: mistura do tetra-O-acetil-3-β-D-glicopiranosil sitosterol, tetra-O-acetil-3-β-D-glicopiranosil estigmasterol, sólido amorfo oleoso. RMN<sup>1</sup>H 200 MHz, CDCl<sub>3</sub>. (Tabela 11, pág. 98.

## 2.5.6 - PREPARAÇÃO DE DERIVADOS

### 2.5.6.1 METILAÇÃO

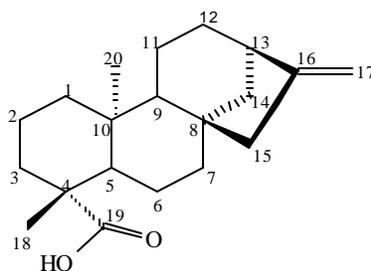
Metilação com diazometano foi efetuada segundo o procedimento de Vogel, A.I.; Química Orgânica, Análise Orgânica Qualitativa, vol.3, pág. 1023, 1971

### 2.5.6.2 ACETILAÇÃO

Acetilação foi efetuada pelo procedimento: 3ml de piridina, 3ml de anidrido acético, repouso (mínimo 24 horas), adição de água destilada (3 x 30ml), extração com CHCl<sub>3</sub> (30ml) em funil de separação, adição de HCl 5% (30 ml), extração com CHCl<sub>3</sub> (3 x 30 ml) em funil de separação, evaporação do solvente à pressão reduzida.

**TABELA 1 - Destocamentos químicos (d ) dos carbonos e nº de C, CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> da substância WPE-4**

<b>C</b>	<b>CH</b>	<b>CH<sub>2</sub></b>	<b>CH<sub>3</sub></b>
39,6	43,7	18,4	15,5
43,7	55,0	19,0	28,9
44,1	57,0	21,8	
155,7		33,0	
185,0		37,7	
		39,6	
		40,6	
		41,2	
		48,9	
		104,0	
<b>C<sub>5</sub></b>	<b>(CH)<sub>3</sub></b>	<b>(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub></b>	<b>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub></b>

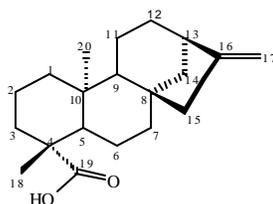


**WPE-4 (KAUR-16-ENO-19-ÓICO)**

TABELA 2 - Dados de RMN <sup>1</sup>D de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C (PND e DEPT :q : 135°) e 2D de <sup>1</sup>Hx<sup>1</sup>H - COSY, <sup>1</sup>Hx<sup>13</sup>C - COSY (<sup>1</sup>J<sub>CH</sub>) de WPE-4 comparados com valores citados na literatura<sup>17,18</sup>.

<sup>1</sup> H x <sup>13</sup> C - COSY - <sup>1</sup> J <sub>CH</sub>			<sup>2</sup> J <sub>CH</sub> x <sup>13</sup> C - COSY - <sup>n</sup> J <sub>CH</sub>	<sup>1</sup> Hx <sup>1</sup> H - COSY	Literatura <sup>17,18</sup>	
C	dC	dH	<sup>2</sup> J <sub>CH</sub>	<sup>3</sup> J <sub>CH</sub>	dC	dHa
4	43,7		3H-18		43,9	
8	44,1				44,3	
10	39,6		3H-20		39,8	
16	155,7		2H-15		155,9	
19	185,0			3H-18, H-5	185,1	
<b>CH</b>						
5	57,0	1,20-0,90		3H-18	57,2	
9	55,0	1,20-0,90			55,3	
13	43,7	2,64(sl)		H-17b	43,9	2,65
<b>CH<sub>2</sub></b>						
1	40,6	2,01-1,80:1,01-0,70			40,8	
2	19,0	2,01-1,80:1,50-1,30			19,2	
3	37,7	2,20-2,01:1,20-0,80		3H-18	37,8	
6	21,8	2,01-1,70:1,60-1,40			21,9	
7	41,2	1,80-1,90:1,60-1,40			41,4	
11	18,4	1,70-1,30			19,5	
12	33,0	1,70-1,40			33,2	
14	39,6	2,10-1,90,1,30-1,01			39,8	
15	48,9	2,05(sl)		H-17a	49,1	
17	103,0	4,80(sl)Ha, 4,74(sl)Hb			103,1	4,77
<b>CH<sub>3</sub></b>						
18	28,9	1,24( s)			29,0	1,25
20	15,5	0,85(s)			15,6	0,97

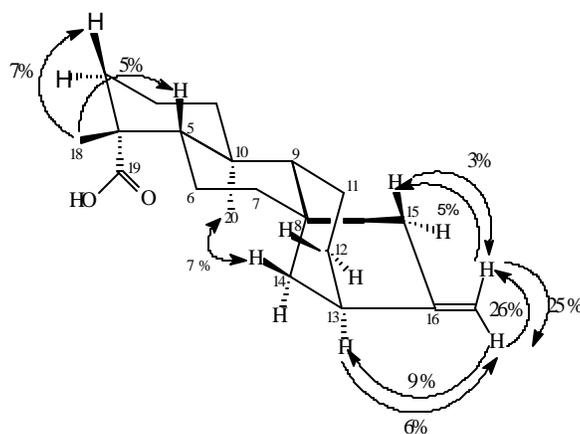
<sup>a</sup>Os demais valores não foram citados na literatura.



WPE-4 (KAUR-16-ENO-19-ÓICO)

**TABELA 3 - Dados RMN  $^1\text{H}$  { $^1\text{H}$ } - NOE DS de WPE-4 (Fig. 7, A,B,C,D e E)**

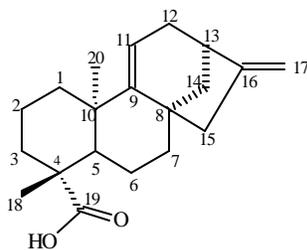
$^1\text{H}$ { $^1\text{H}$ } - NOE DS				
IRRADIADO		NOE		
H	dH	H	dH	%
17a	4,80	13	2,64	9
		17b	4,74	26
17b	4,74	17a/H-15	4,80/2,05	25/5
13	2,64	17a	4,80	6
15	2,05	17b	4,74	3
18	1,24	3ax	1,90	7
20	0,85	15	2,05	7



WPE-4 (ÁCIDO KAUR- 16-ENO-19-ÓICO)

**TABELA 4 - Deslocamentos químicos (d) dos carbonos e nº de C, CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> da substância WPE-VII-2.**

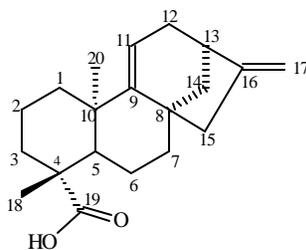
C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
185,0	114,8	105,5	28,3
156,0	57,0	49,0	23,8
138,0	43,8	41,2	
44,2		41,0	
43,9		39,6	
38,8		37,7	
		33,1	
		21,8	
		19,0	
C	(CH) <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>



ÁCIDO KAUR-9,16-DIENO-19-ÓICO

TABELA 5 - Dados de RMN 1D de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (PND e DEPT q :135 ) e 2D ( $^1\text{H}\times^1\text{H}$ -COSY,  $^1\text{H}\times^{13}\text{C}$ -COSY,  $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ) de WPE-VII-2.

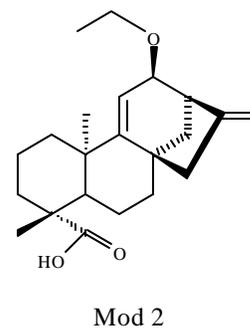
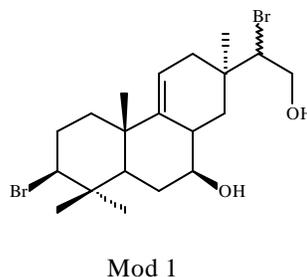
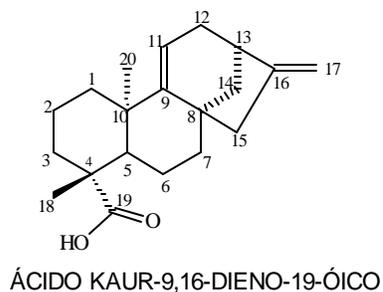
	$^1\text{H}\times^{13}\text{C}$ -cosy- $^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H}\times^{13}\text{C}$ -cosy- $^n\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H}\times^1\text{H}$ -cosy
	C	d C	d H	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
<b>CH</b>	4	43,9		H-18	
	8	44,2			H-20
	9	138,0			
	10	38,8		H-20	
	16	156,0			H-14,12b
	19	185,0			H-5,H-18
<b>CH</b>	5	57,0	1,01		
	11	114,8	5,25		12a,12b
	13	43,8	2,75		12a
<b>CH<sub>2</sub></b>	1	41,0	1,90		H-20
	2	19,0	1,5(m)		
	3	37,7			
				1,95(m)	
	6	21,8		1,80(m)	
	7	41,2		1,90(m)	
	12	33,1	2,90/1,97		
	14	39,6	1,10		
	15	49,0	2,1/2,6		
	17	105,5	4,79/4,90		17a,17b
<b>CH<sub>3</sub></b>	18	28,3	1,25		
	20	23,8	1,03		



ÁCIDO KAUR-9,16-DIENO-19-ÓICO

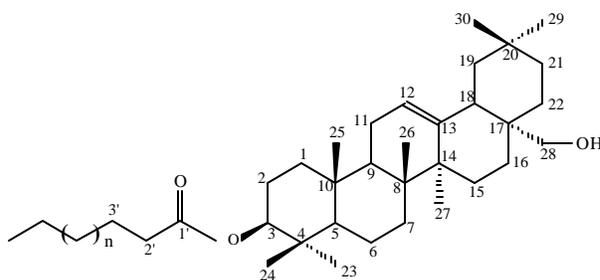
**TABELA 6 - Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de WPE-VII-2, comparado com valores citados na literatura<sup>10</sup>**

C	WPE-VII-2	Mod-1	Mod-2
1	40,7	38,0	38,2
2	19,0	31,1	18,4
3	37,7	69,0	29,2
4	43,9	39,0	43,4
5	57,0	50,2	44,9
6	21,8	38,7	20,2
7	41,2	77,2	40,8
8	44,2	38,1	43,4
9	138,0	145,8	159,9
10	38,8	39,8	39,0
11	114,8	115,6	116,1
12	33,1	33,0	80,2
13	43,8	35,5	46,4
14	39,6	38,0	47,4
15	49,0	68,2	44,7
16	156,0	64,3	153,3
17	105,5	24,7	108,0
18	28,3	21,1	23,3
19	185,0	30,5	178,5
20	23,8	18,2	15,7
1'			64,1
2'			28,3



**TABELA - 7 Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) dos carbonos e nº de C, CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> da substância WPEVII -3-4**

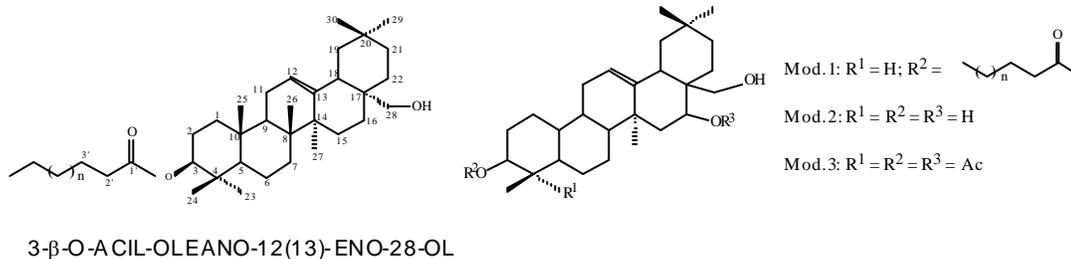
C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
173,8	122,7	70,5	33,1
173,7	80,5	46,2	28,0
143,6	55,2	38,2	25,9
41,5	47,5	34,8	23,5
39,7	42,4	34,5	16,7
37,7		33,9	16,7
36,8		32,4	15,5
31,0		31,9	14,2
		30,9	
		29,7(n)	
		29,5	
		29,3	
		29,3	
		29,2	
		27,2	
		25,6	
		25,2	
		23,5	
		22,7	
		22,3	
		18,2	
<b>C<sub>9</sub></b>	<b>(CH)<sub>5</sub></b>	<b>(CH<sub>2</sub>)<sub>20</sub></b>	<b>(CH<sub>3</sub>)<sub>8</sub></b>



**3-β-O-ACIL-OLEANO-12(13)-ENO-28-OL**

**TABELA 8 - Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância WPEVII-3-4, comparados com valores citados na literatura<sup>21</sup>**

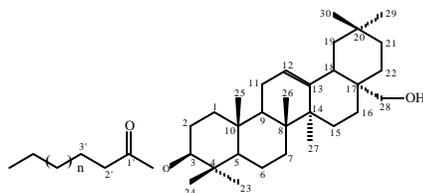
C	WPE 3-4	Mo - 1	Mo - 2	Mo - 3
4	37,7	41,8	38,8	37,7
8	39,7	39,8	39,9	39,7
10	36,8	36,9	36,9	36,8
13	143,6	144,2	142,8	141,8
14	41,5	41,8	43,7	43,4
17	35,8	36,9	40,0	40,0
20	31,0	31,0	30,8	30,7
<b>CH</b>				
3	80,2	76,7	78,9	80,8
5	55,2	49,8	55,3	55,2
9	47,5	47,6	46,8	46,7
12	112,7	122,3	122,6	123,6
18	42,4	42,4	44,7	43,2
<b>CH<sub>2</sub></b>				
1	38,2	38,3	38,8	38,3
2	22,7	26,0	26,9	23,5
6	18,2	18,5	18,4	18,1
7	32,4	32,4	32,6	32,6
11	23,5	23,6	23,6	23,5
15	25,6	25,6	35,8	31,7
16	22,3	22,0	67,7	68,7
19	46,2	46,5	46,7	46,2
21	34,5	34,1	33,6	33,7
22	30,9	31,0	26,2	23,5
23		72,0		
28	70,5	69,7	71,1	66,4
<b>CH<sub>3</sub></b>				
23	28,1		28,1	28,0
24	16,7	11,4	15,6	16,7
25	15,5	15,9	15,6	15,6
26	16,7	16,8	16,7	16,8
27	25,9	26,8	26,9	26,9
29	33,1	33,2	33,2	32,9
30	23,5	23,6	23,9	23,5



**TABELA 9 - Dados de RMN  $^1\text{H}$  (200Hz) e  $^{13}\text{C}$  (50,3Hz) da substância WPE-VII-3-4 em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna.**

C	d H	H	d H( $^1J_{\text{CH}}$ )	Mult.	$^1\text{Hx}^1\text{H-COSY}$
4	37,7				
8	39,7				
10	36,8				
13	143,6				
14	41,5				
17	35,8				
20	31,0				
<b>CH</b>					
3	80,2	3	4,48	7	H-2
5	55,2	5			
9	47,5	9			
12	122,7	12	5,19	SI	H-11
18	42,4	18			
<b>CH<sub>2</sub></b>					
1	38,2	1			
2	22,7	2			H-3
6	18,2	6			
7	32,4	7			
11	23,5	11	1,60	m	H-2
15	25,6	15			
16	22,3	16			
19	46,3	19			
21	34,5	21			
22	30,7	22			
28	70,5	28a	4,00	d	H-28
	70,5	28b	3,69	d	H-28
<b>CH<sub>3</sub></b>					
23	28,0	23	0,84	S	
24	16,7	24			
25	15,5	25			
26	16,7	26			
27	26,1	27	0,86	S	
29	33,1	29	0,93	S	
30	23,5	30			

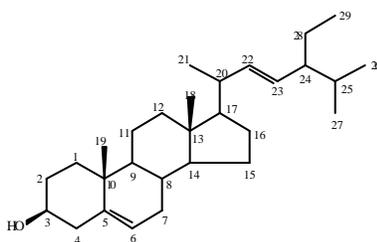
\* Os valores da unidade do ácido, estão citados no texto e na figura a.



3-β-O-ACIL-OLEANO-12(13)-ENO-28-OL

**TABELA 10 - Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  das substância WPE-5, comparados com valores citados literatura  $^{12}$**

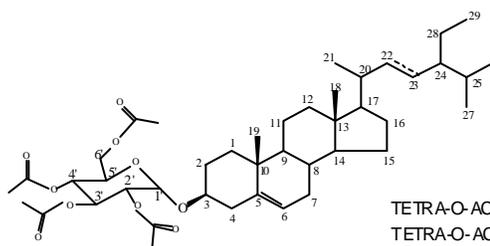
Mult.	C	LITERATURA <sup>8</sup>		WPE 5	
		d C	d H	d C	d H
CH <sub>2</sub>	1	37,3		37,3	
CH <sub>2</sub>	2	31,6		31,7	
CH	3	71,7	3,50 (m)	71,8	
CH <sub>2</sub>	4	42,2		71,8	
C	5	140,7		138,3	
CH	6	121,6	5,35 (m)	121,7	5,35
CH <sub>2</sub>	7	31,9		31,9	
CH	8	31,9		31,9	
CH	9	50,2		51,2	
C	10	36,5		36,2	
CH <sub>2</sub>	11	21,1		22,2	
CH <sub>2</sub>	12	39,8		42,3	
C	13	42,3		42,3	
CH	14	56,8		56,9	
CH <sub>2</sub>	15	24,3		24,4	
CH <sub>2</sub>	16	28,3		29,2	
CH	17	56,1	5,60	55,9	
CH <sub>3</sub>	18	11,8	0,72	12,1	0,65
CH <sub>3</sub>	19	19,4	0,98	19,4	0,94
CH	20	36,3		40,3	
CH <sub>3</sub>	21	18,8	0,94-0,85	16,6	0,91-0,67
CH	22	33,9		129,3	5,01 ( )
CH	23	26,4		129,3	
CH	24	46,1		50,1	
CH	25	28,9		29,2	
CH <sub>3</sub>	26	19,1	0,94-0,85	19,0	0,91-0,67
CH <sub>3</sub>	27	19,6	0,94-0,85	21,1	0,91-0,67
CH <sub>2</sub>	28	23,1		21,1	
CH <sub>3</sub>	29	12,3	0,94-0,85	12,3	0,91-0,67



ESTIGMASTEROL

**TABELA 11 - Deslocamentos químicos dos prótons (200 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (50,3 MHz) dos constituintes de WPE-XIV-AC (1 e 2) comparados com valores citados na literatura 6,7,22,23**

C	C (PND e DEPT)		d H (Mult. JCH N° H)	d C (Lit) <sup>6,7,22,23</sup>		
	1(Mod 1 e 3)	2 (Mod 2)		Mod1 <sup>6,7,22</sup>	Mod2 <sup>6,7</sup>	Mod3 <sup>23</sup>
1		37,2		37,2		37,9
2		29,4		39,4		31,5
3		80,1	3,50(m)	80,1		71,4
4		38,8	2,10	38,9		38,2
5	140,3			140,3		44,9
6	112,2	28,2	5,37(m)	122,		28,9
7	31,9		19,5 e 1,40(m)	31,8		32,1
8	31,8			31,9		35,5
9	50,1			50,1		54,4
10	36,6			36,7		35,5
11	21,0			21,0		21,4
12	39,0	39,6		39,7	39,6	40,1
13	42,2	42,2		42,3	42,2	42,6
14	56,7	56,8		56,7	56,8	56,7
15	24,3	24,3		24,3	24,4	24,2
16	28,2	28,9		28,2	28,9	28,3
17	56,0	55,8		56,0	55,9	56,4
18	11,8	11,9	0,69(s)/0,69(s)	11,8	12,0	12,1
19	19,3	19,3	0,99(s)/1,08(s)	19,4	19,4	12,3
20	36,1	40,5		36,1	40,5	35,8
21	18,9	21,2	0,93 - 0,78	18,8	21,2	18,7
22	33,8	138,3	5,01 - 5,20(m)	33,9	138,1	36,3
23	25,4	129,2	5,01 - 5,20(m)	26,0	129,1	23,4
24	45,7	51,2		45,8	51,2	39,5
25	29,1	31,8		29,1	31,9	28,0
26	19,5	21,2	0,93 - 0,78	19,8	21,2	22,6
27		18,9	0,93 - 0,78		19,0	22,8
28	23,0	25,4		23,1	25,4	
29	11,9	12,2	0,86	12,0	12,3	
1'		99,6	4,59(d; 9,4; 1H)		99,7	
2'		71,3	4,95(t; 9,4; 1H)		71,5	
3'		72,8	5,2(t; 9,4; 1H)		72,9	
4'		68,4	5,06(t; 9,4; 1H)		68,5	
5'		71,6	3,15(m; 1H)		71,7	
6'		62,0	4,12; dd; 13,0; 2,0/4,22(13,0; 4,0)		62,1	
OC=O		170,4 - 169,0			170,7 - 169,3	
CH <sub>3</sub>		21,2 - 20,6	2,07 - 2,00		20,8 - 20,6	



TETRA-O-ACETIL- $\beta$ -D-GLICOPRANOSIL STIGMASTEROL (22,23 dihidro)  
TETRA-O-ACETIL- $\beta$ -D-GLICOPRANOSIL ESTIGMASTEROL ( $\Delta^{22,23}$ )

**TABELA 12- Estudo das frações obtidas do fracionamento cromatográfico do extrato éter etílico das flores de *Wedelia paludosa* D.C..**

Frações	Solvente (%)
1-10	hexano (100%)
11-51	hexano / CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (95:5)
52-79	hexano / CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (85:15)
80-113	hexano / CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (75:25)
114-117	hexano / CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (70:30)
118-150	hexano / CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (50:50)
151-157	hexano / CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (20:80)
158-174	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (100%)
175-188	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / acetato (90:10) <sup>a</sup>
189-192	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / acetato (80:20)
193-196	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / acetato (50:50)
197-202	acetato de etila (100%)
203-213	acetato / MeOH (90:10)
214-218	acetato / MeOH (80:20)
219-221	MeOH (100%)

<sup>a</sup> acetato=acetato de etila

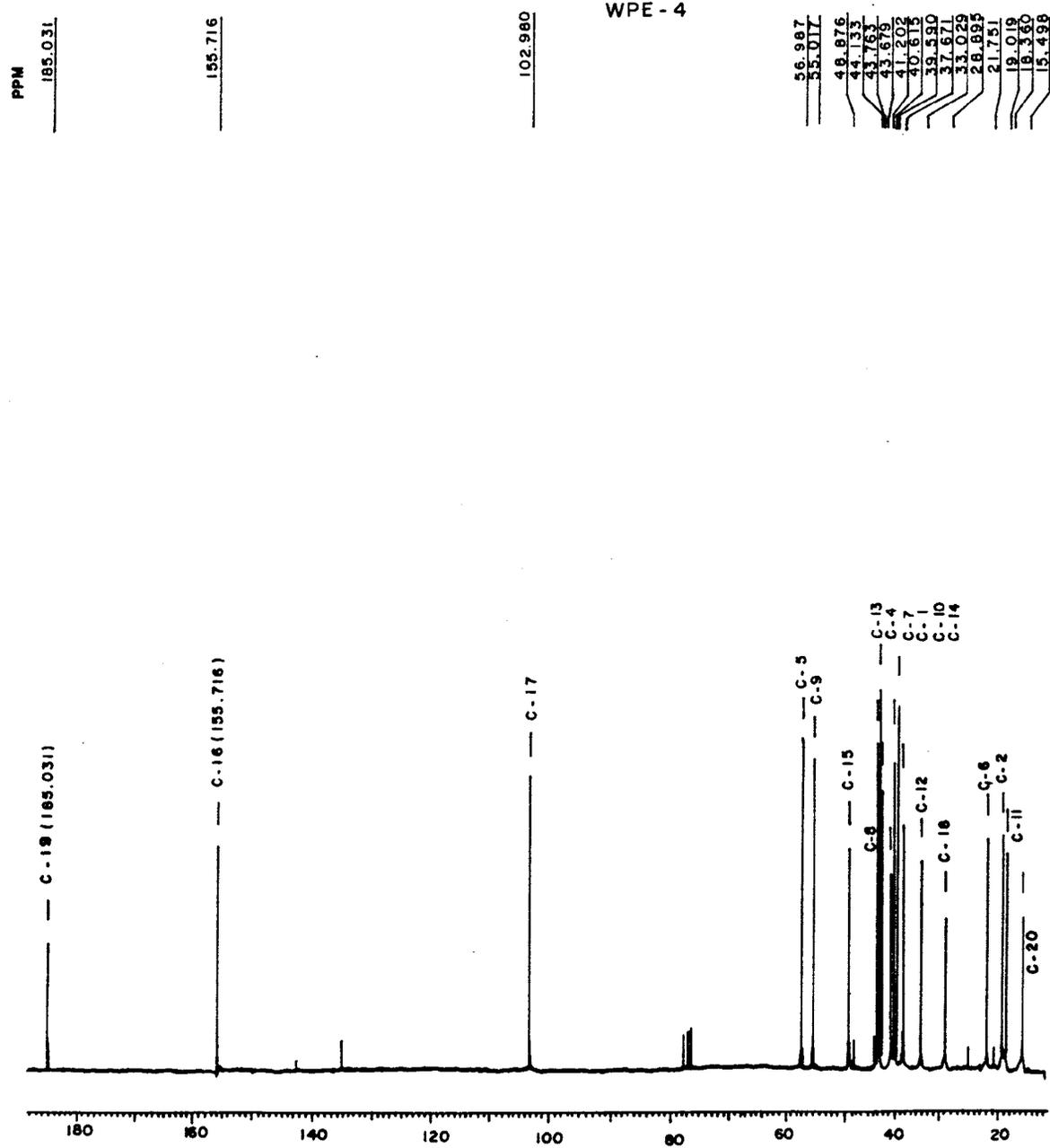
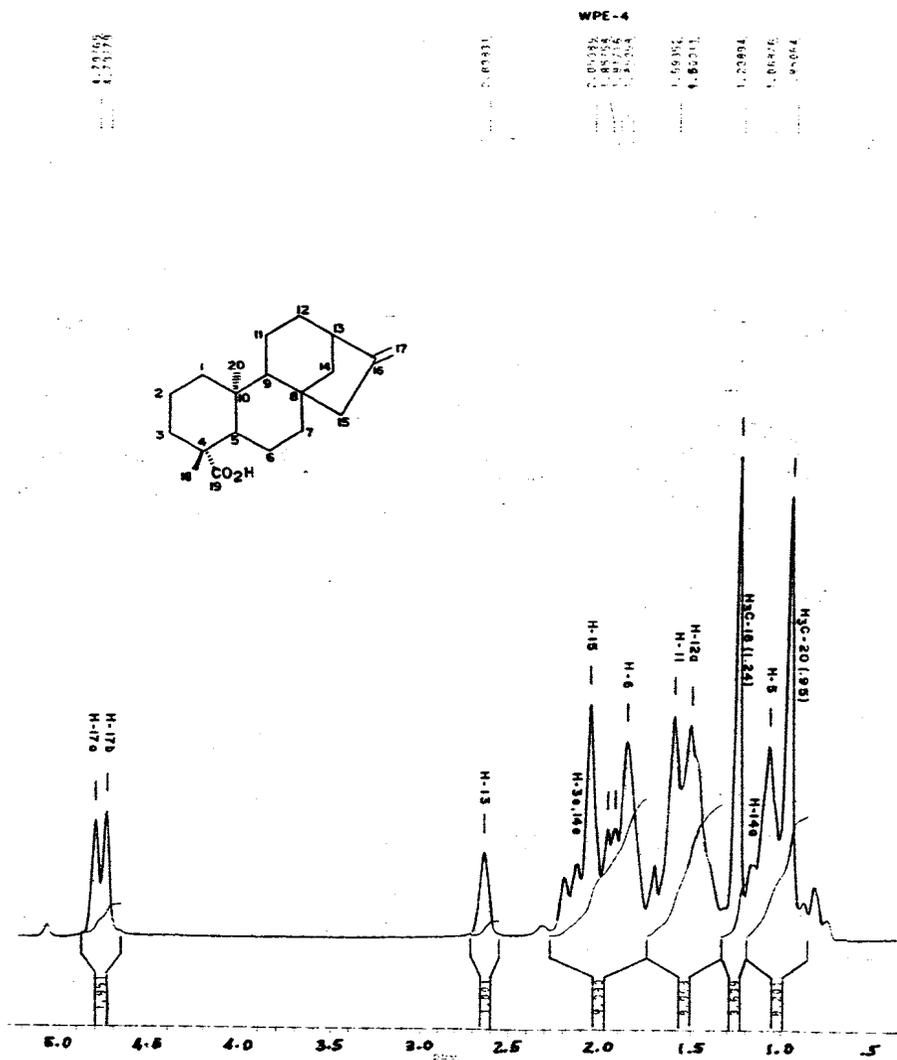
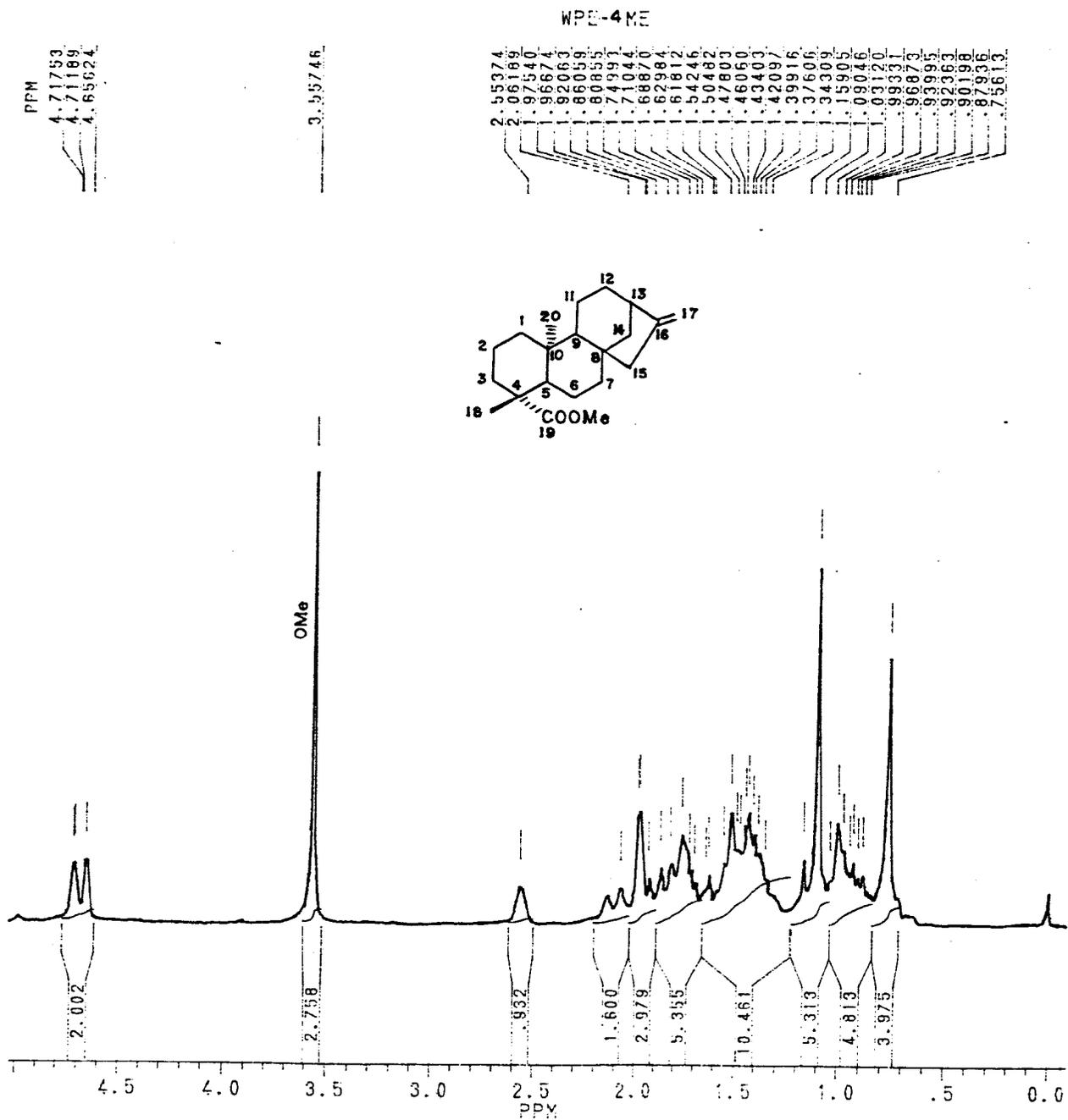


Fig. 1 Espectro de RMN <sup>13</sup>C totalmente desacoplado de WPE-4, registrado a 50.3 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna







**Fig. 2a** Espectro de RMN<sup>1</sup>H de WPE-4-ME, registrado a 200 MHz e CDCl<sub>3</sub> e

File:CRIS Ident:604-593 Win 100PPM Acq:12-MAY-1992 15:43:54 +21:04  
AutoSpecQ EI+ Magnet BpM:302 BpI:505216 TIC:11177806

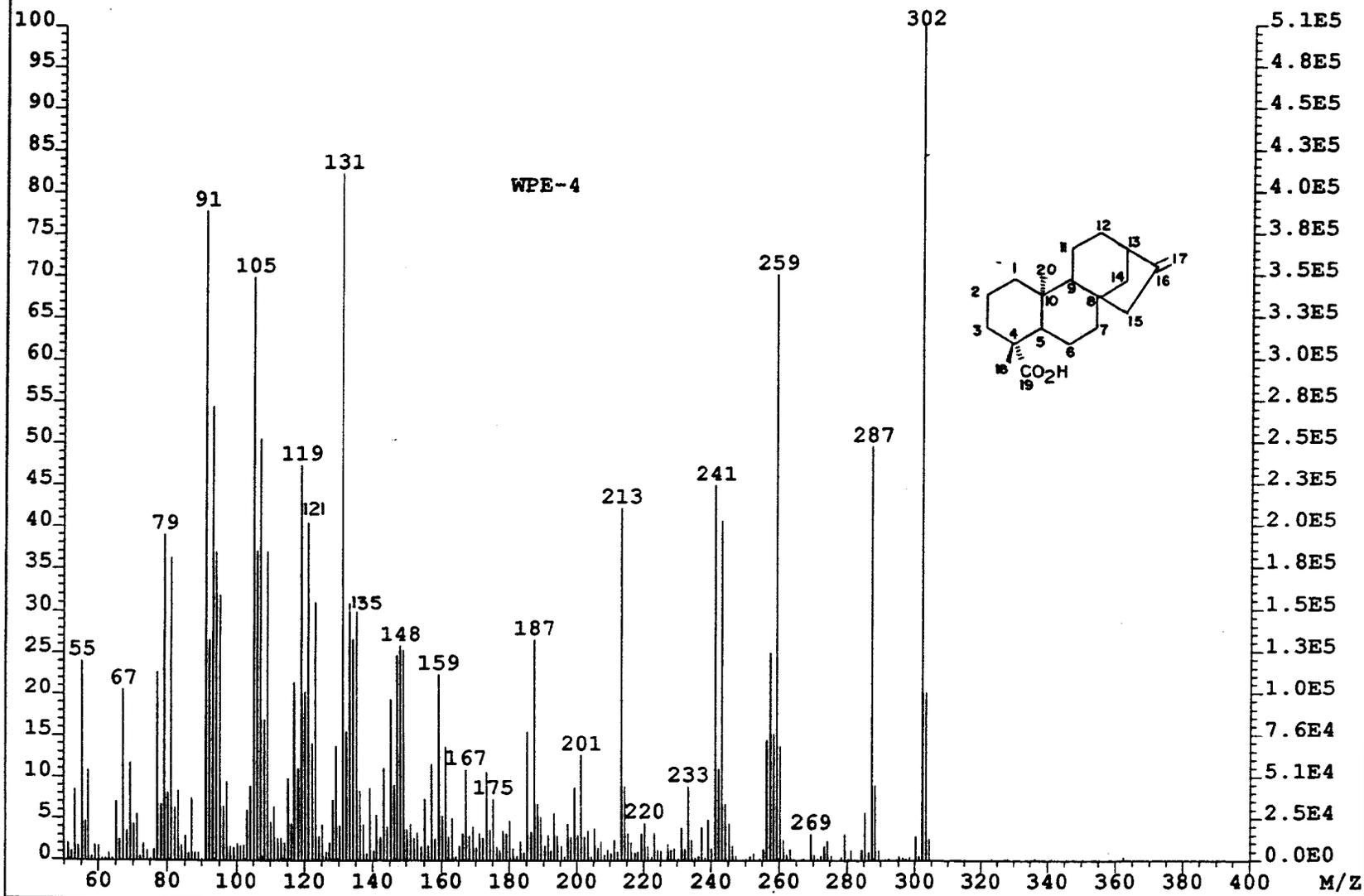
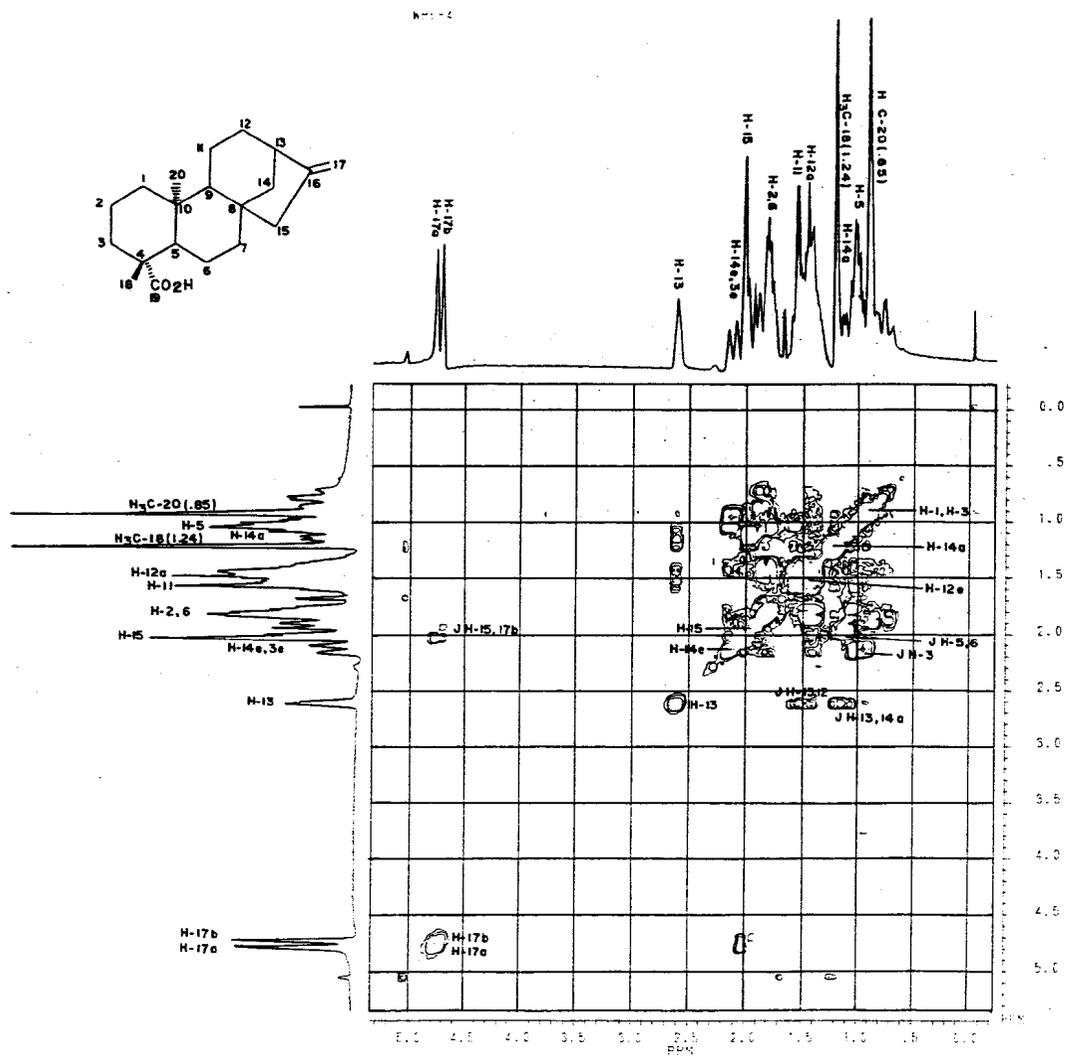


Fig. 3 Espectro de massas de WPE - 4



de WPE - 4, registrado

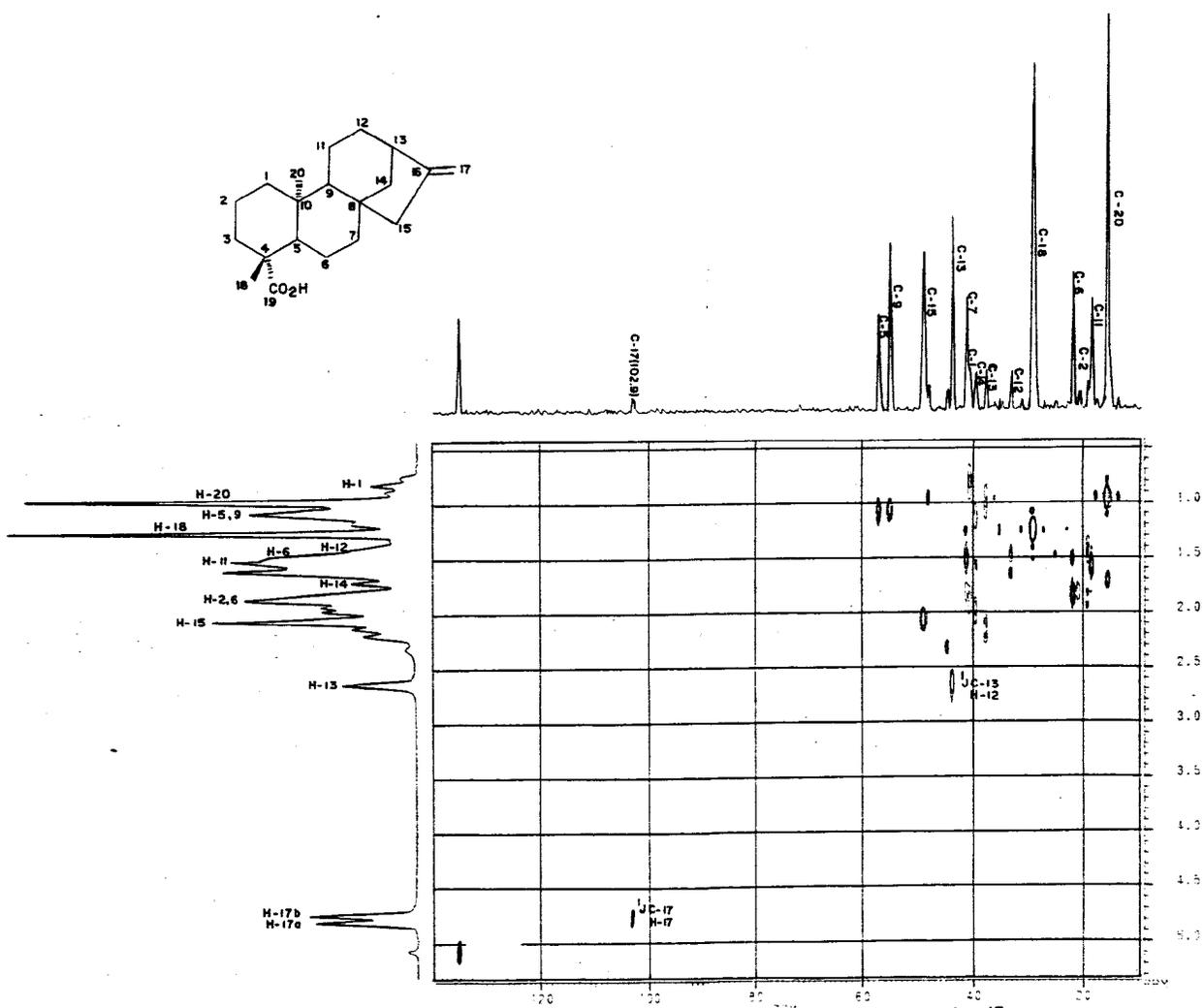


Fig. 5 Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  - COSY,  $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ) de WPE-4, registrado a 200 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 50.3 MHz ( $^{13}\text{C}$ ) em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna.

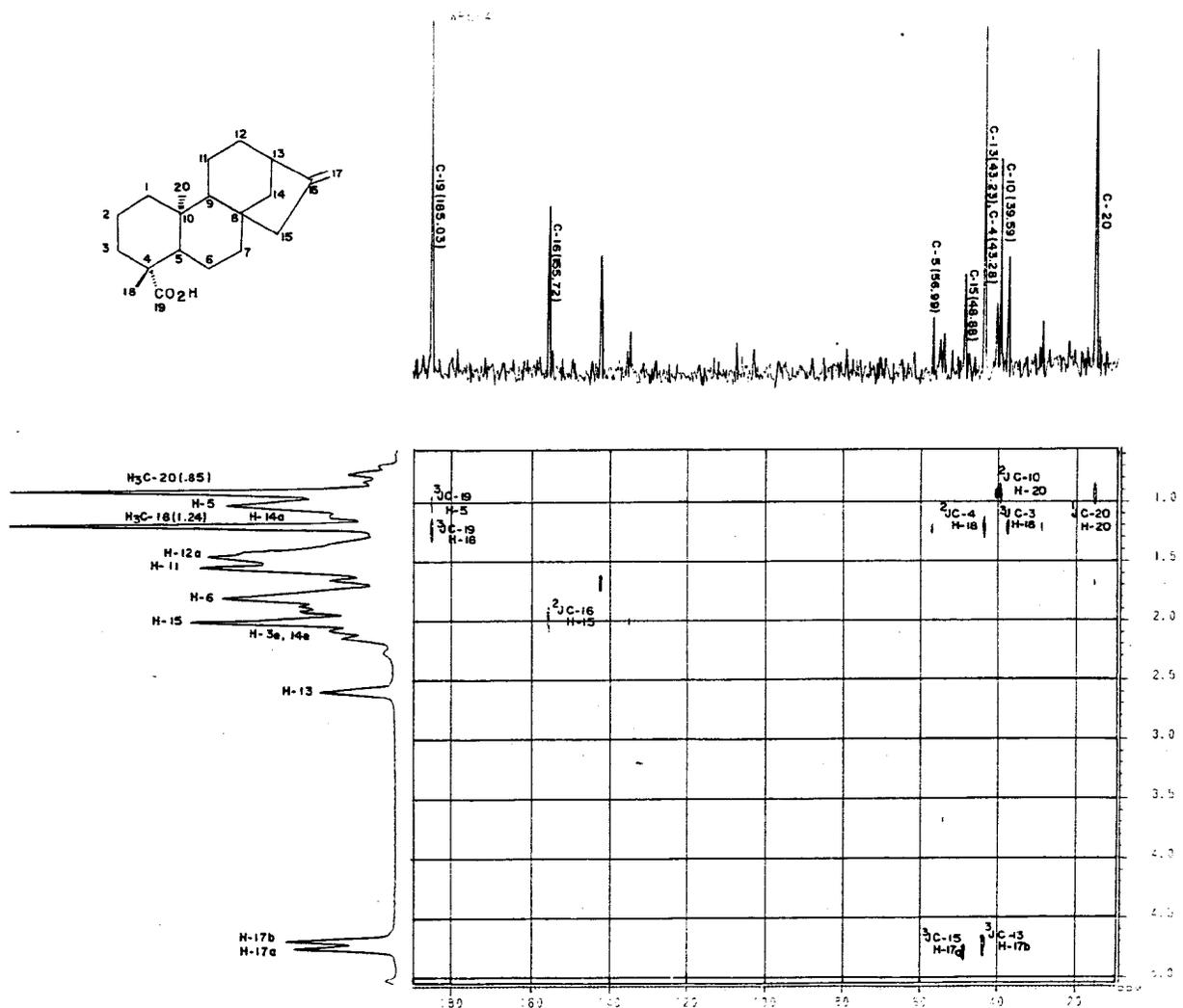
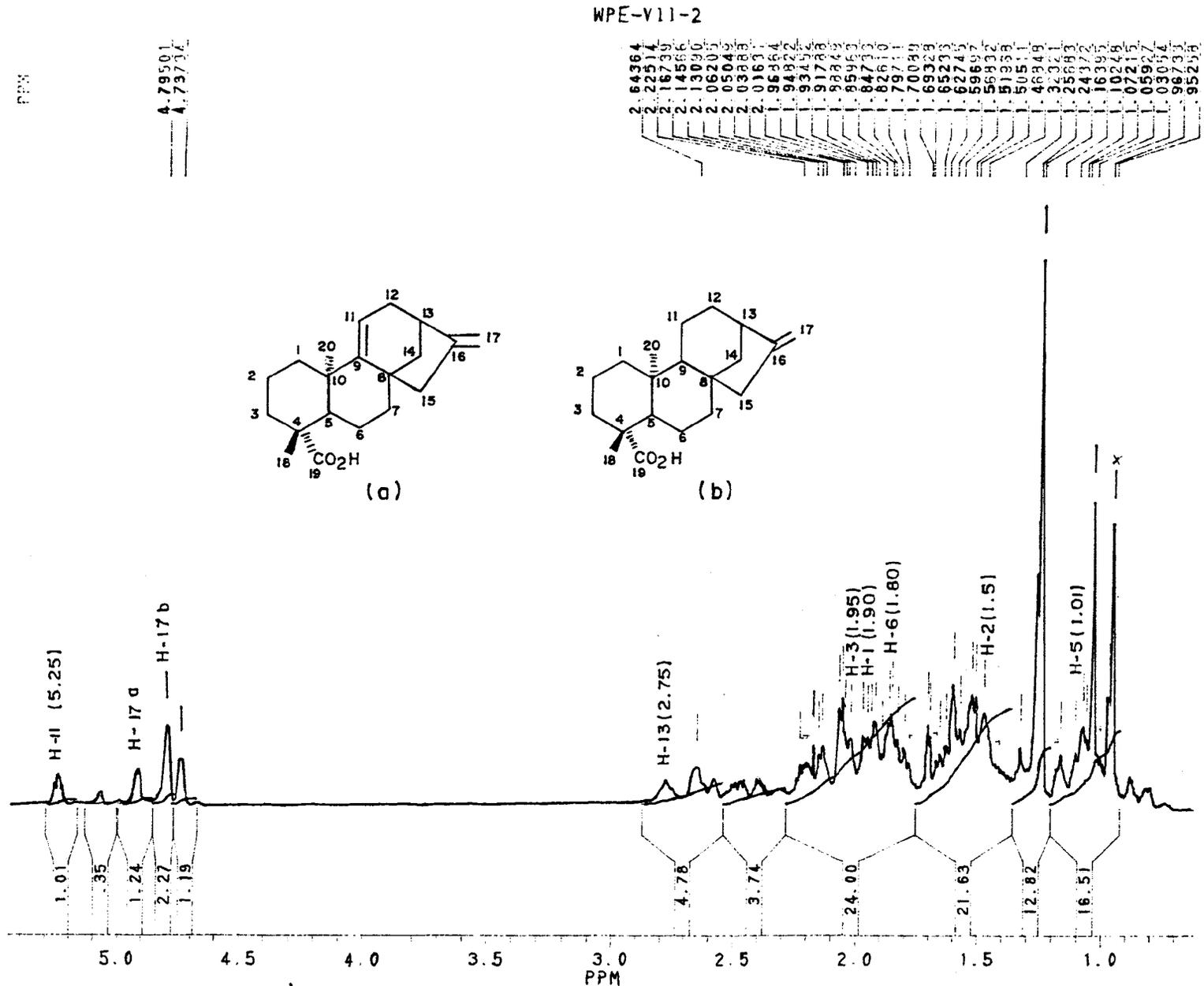


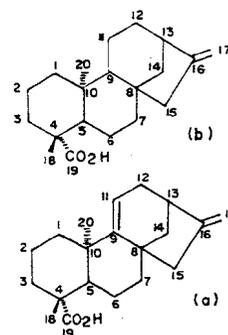
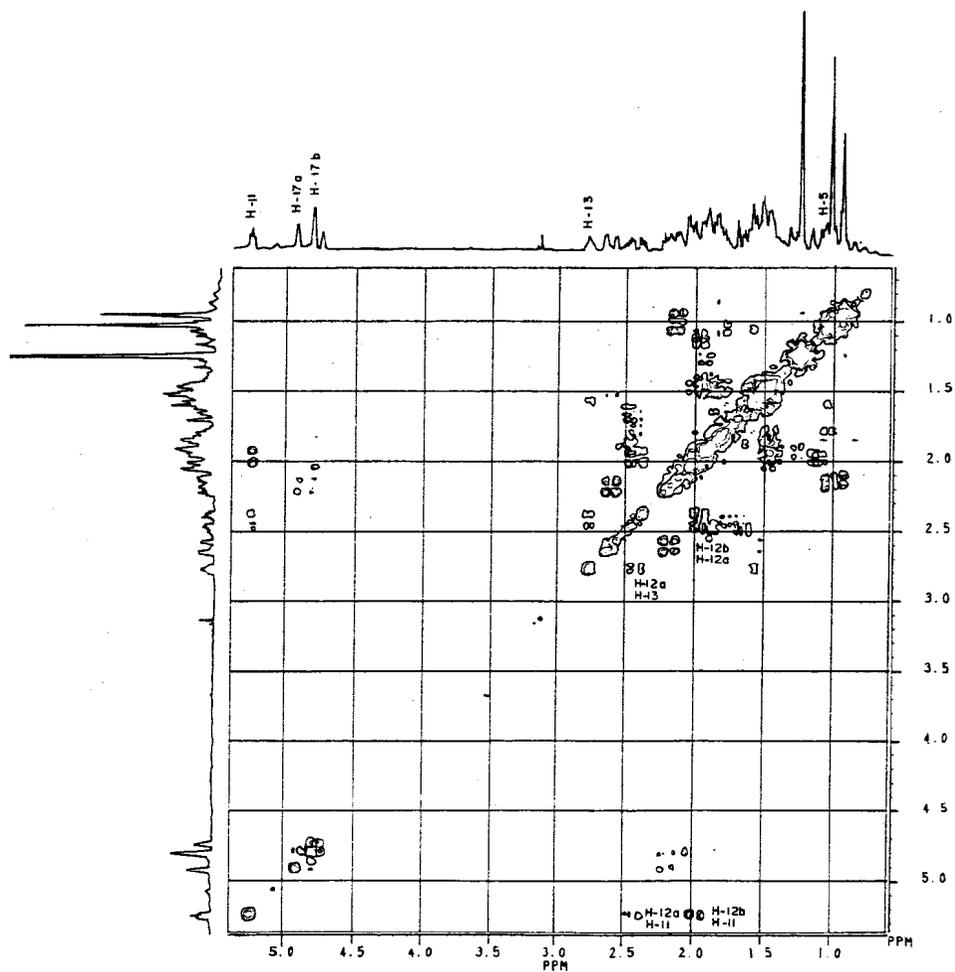
Fig. 6 Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -COSY,  $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ) de WPE-4, registrado a 200 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 50.3 MHz ( $^{13}\text{C}$ ) em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna.



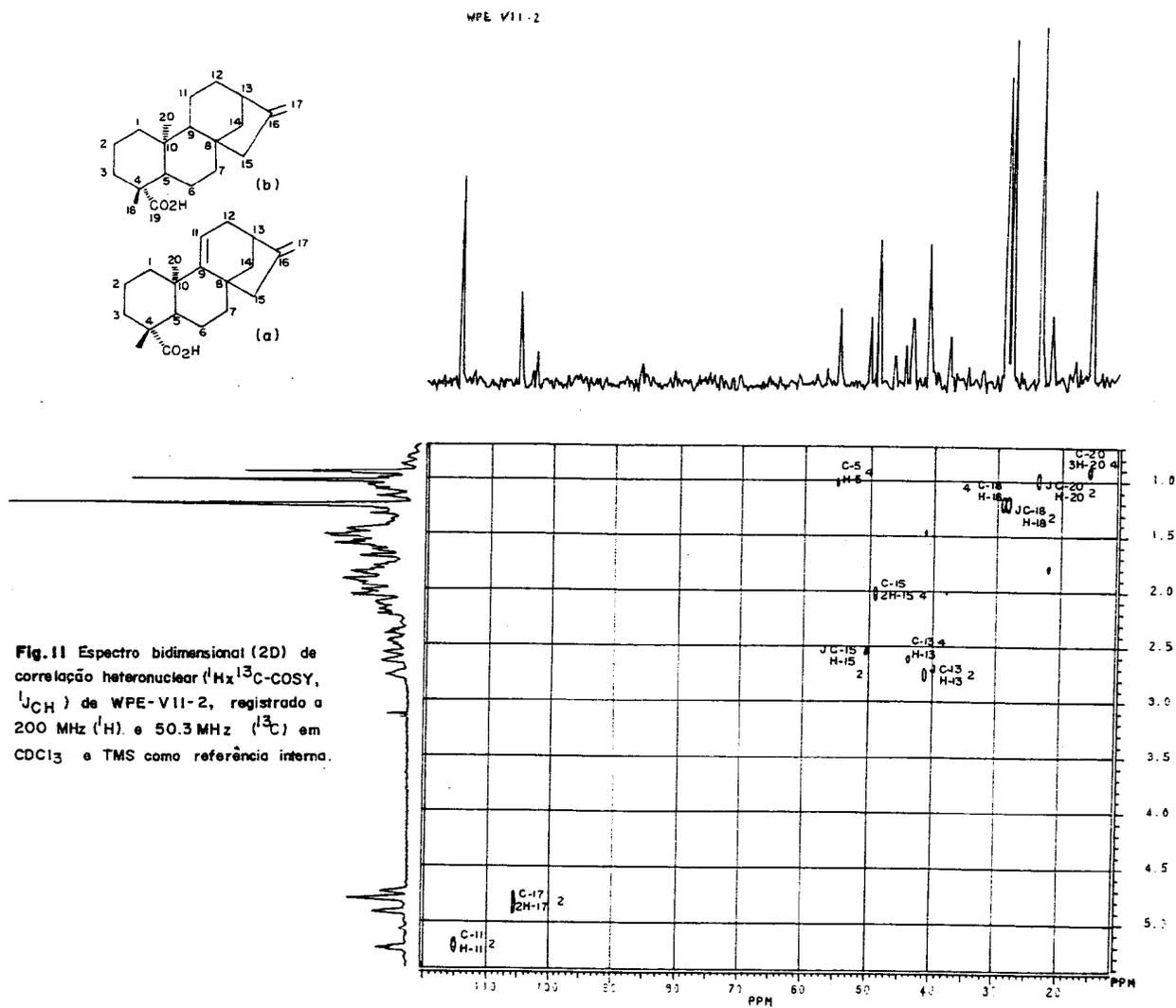




**Fig. 9** Espectro de RMN<sup>1</sup>H de WPE-VII-2, registrado a 200 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna



**Fig. 10** Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ( $^1\text{H}_x\text{ }^1\text{H}$ -COSY) de WPE-VII-2, registrado a 200 MHz, em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna.



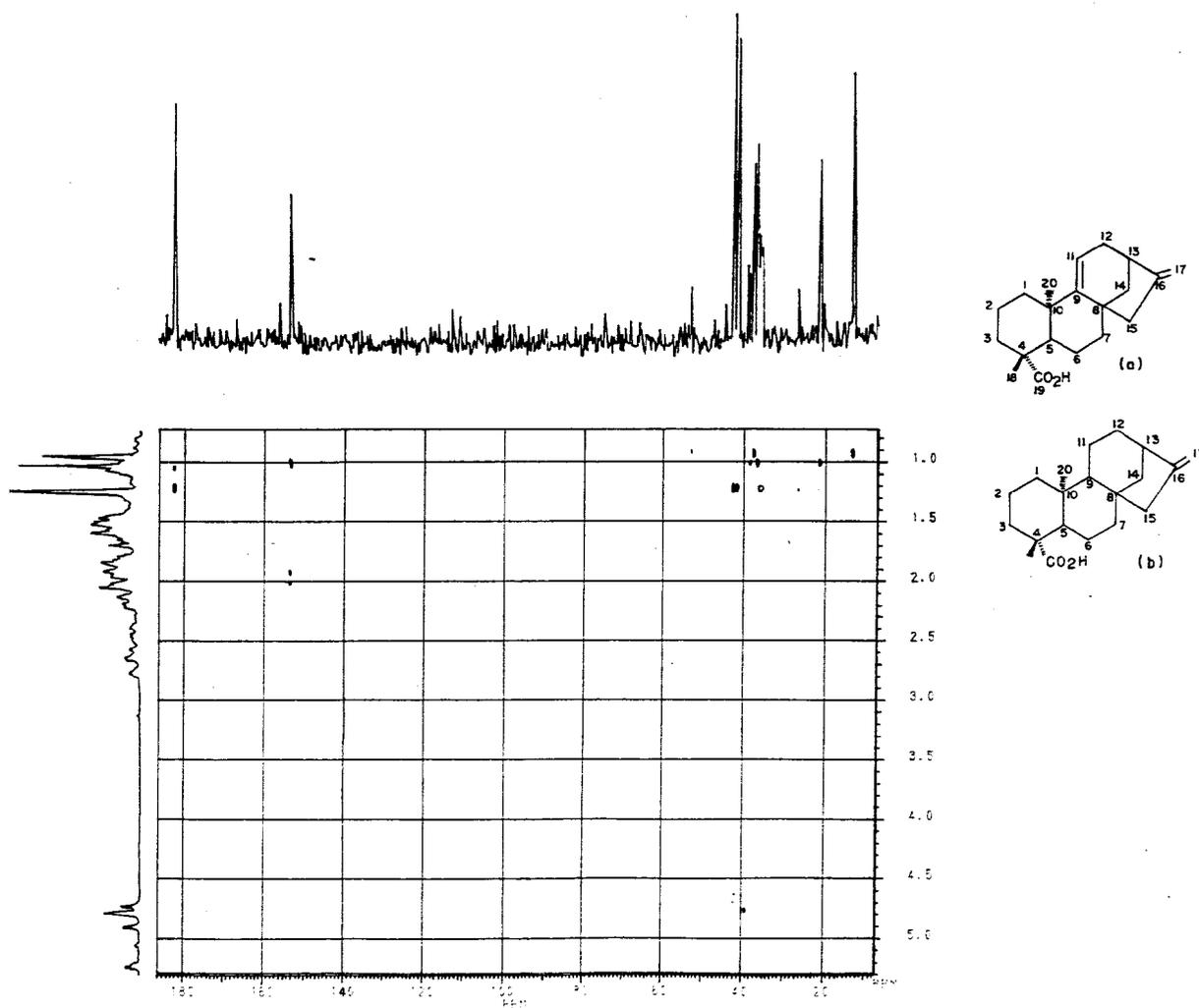
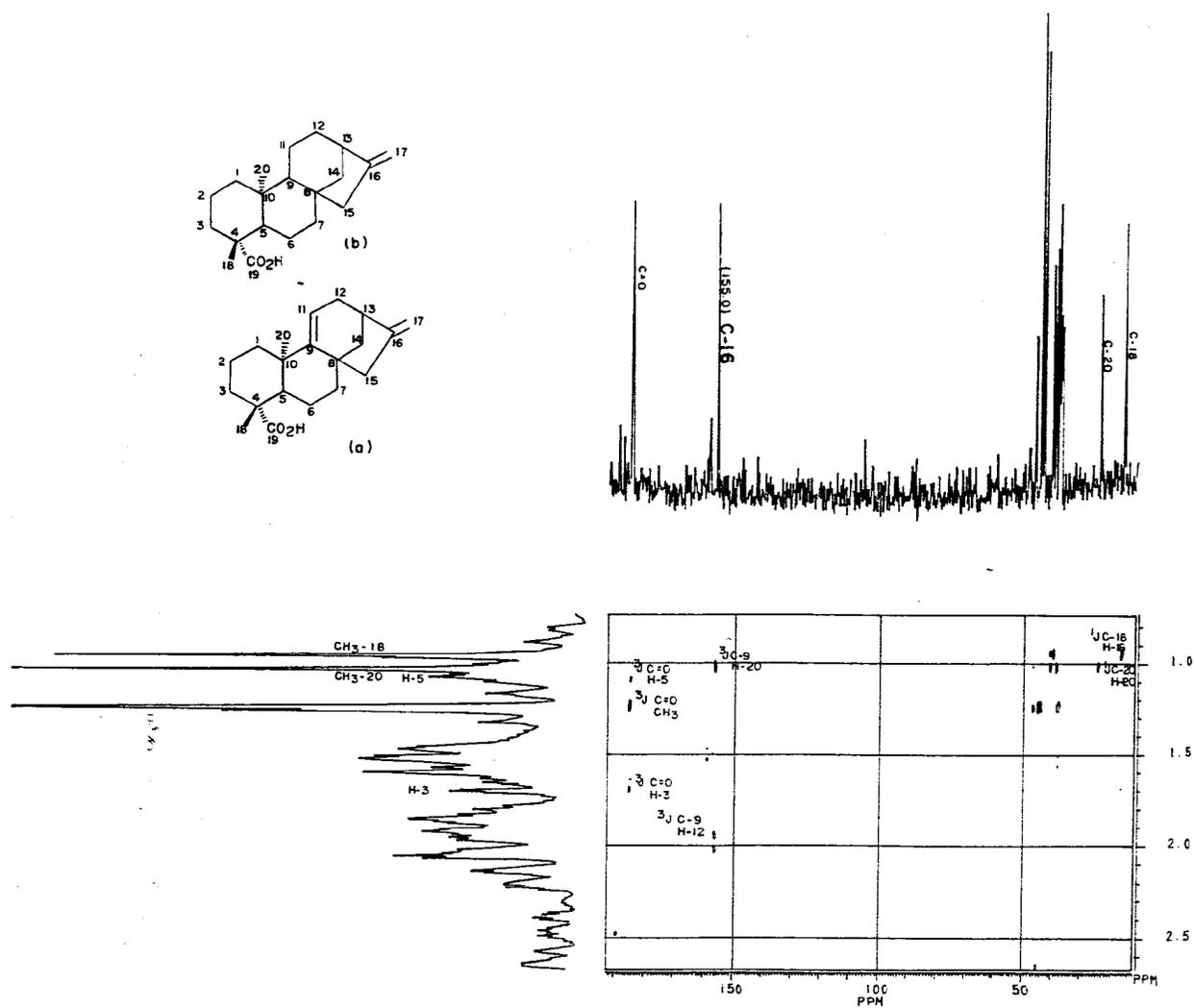
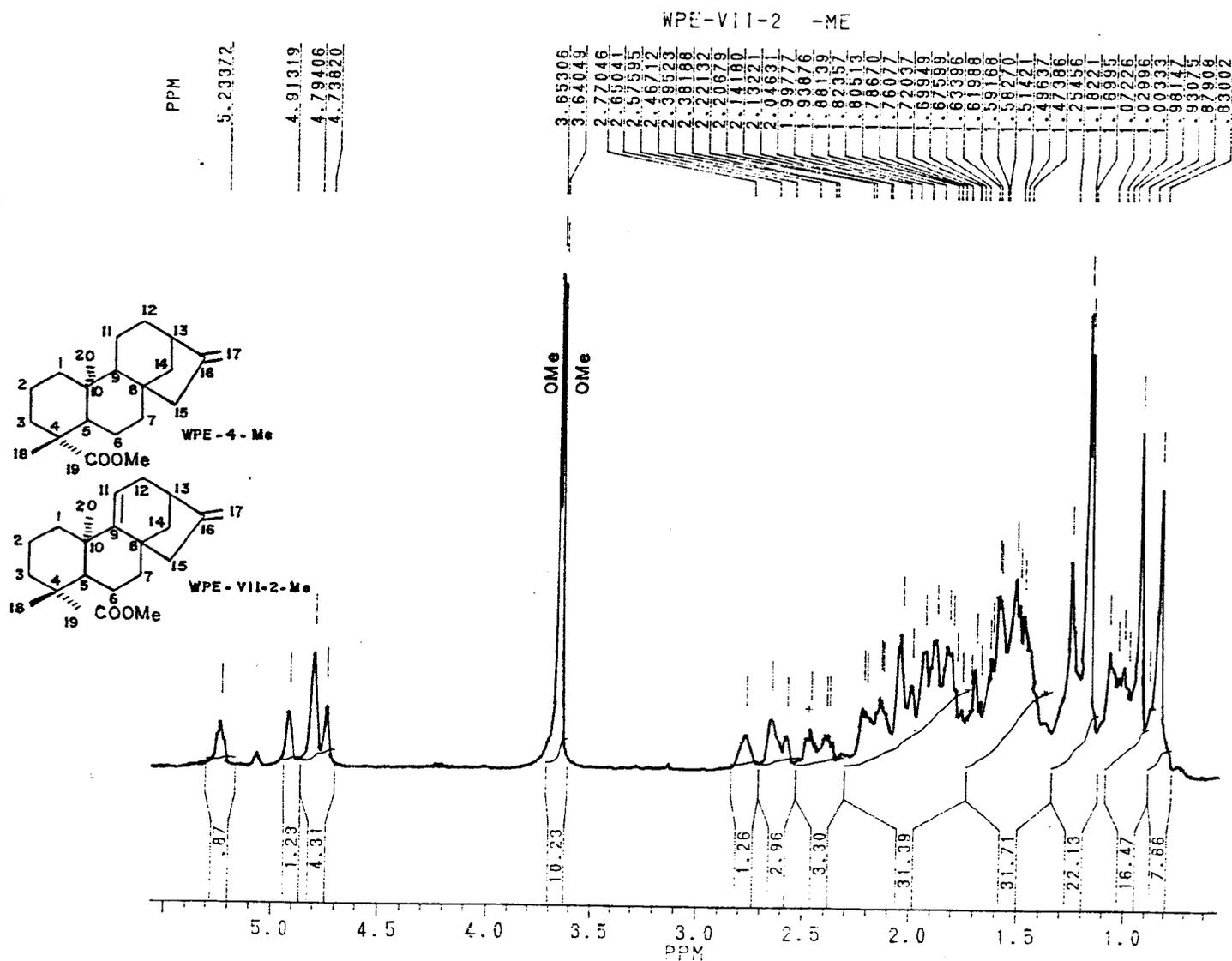


Fig. 11a Espectro bidimensional (2D) de correlaçã heteronuclear ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY,  $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ) de WPE-VII-2, registrado a 200 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 50.3 MHz ( $^{13}\text{C}$ ) em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referênci interna



**Fig. 12** Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -COSY,  $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ) de WPE-VII-2, registrado a 200 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 50.3 MHz ( $^{13}\text{C}$ ) em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna.



**Fig. 13** Espectro de RMN<sup>1</sup> H de WPE-VII-2-ME, registrado a 200 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna.

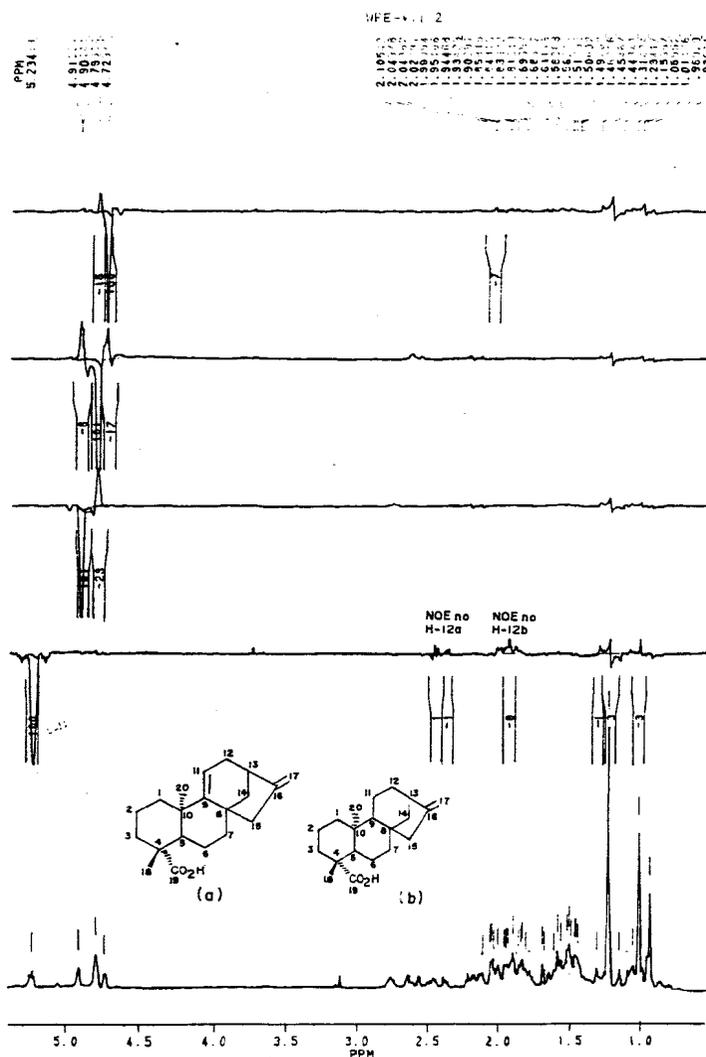
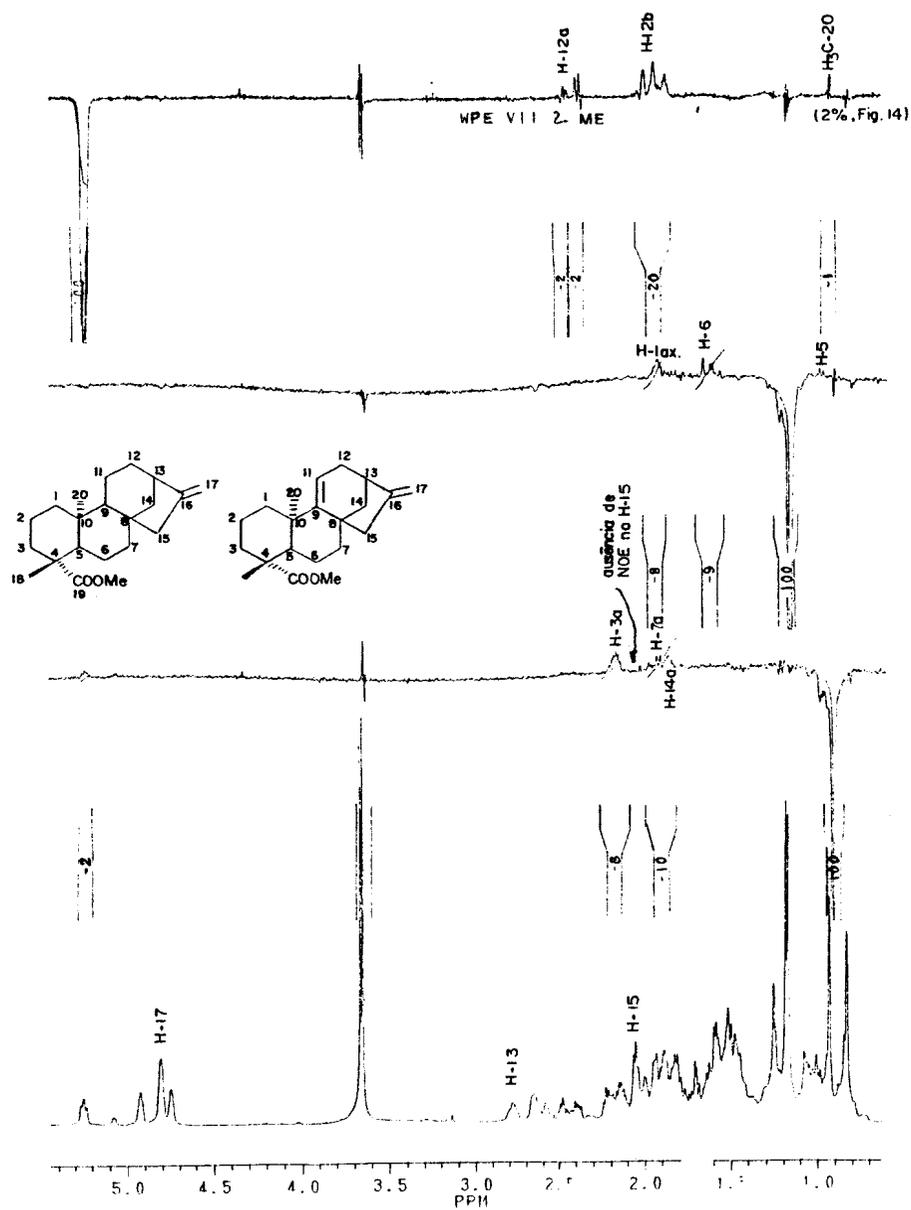
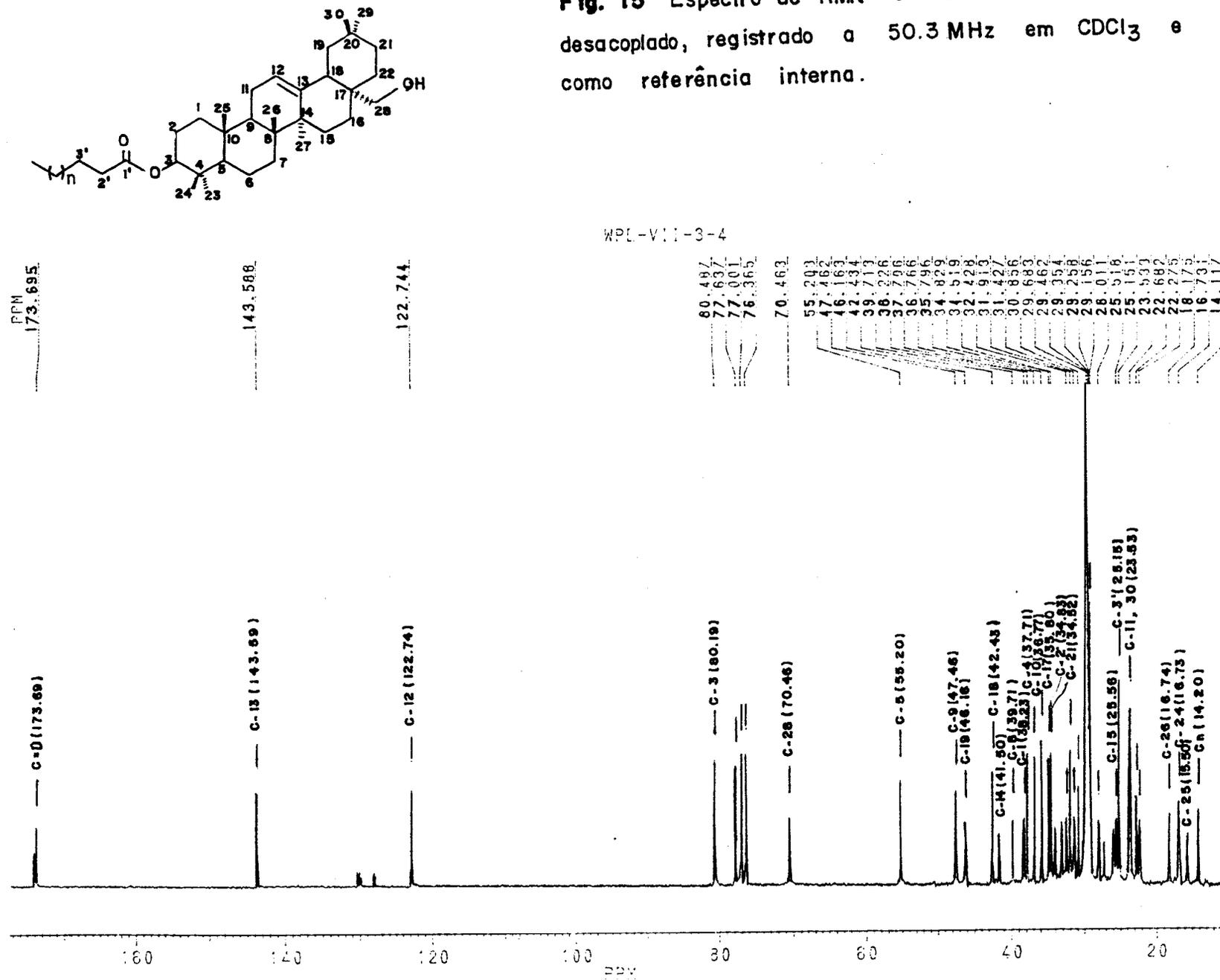


Fig. 14 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  obtido com irradiação dupla e com subtração de espectros, registrados a 200 MHz em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna.



**Fig. 14a** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  obtido com irradiação dupla e subtração de espectros, registrado a 200 MHz em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna.

**Fig. 15** Espectro de RMN<sup>13</sup>C de WPE-VII-3-4, totalmente desacoplado, registrado a 50.3 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna.



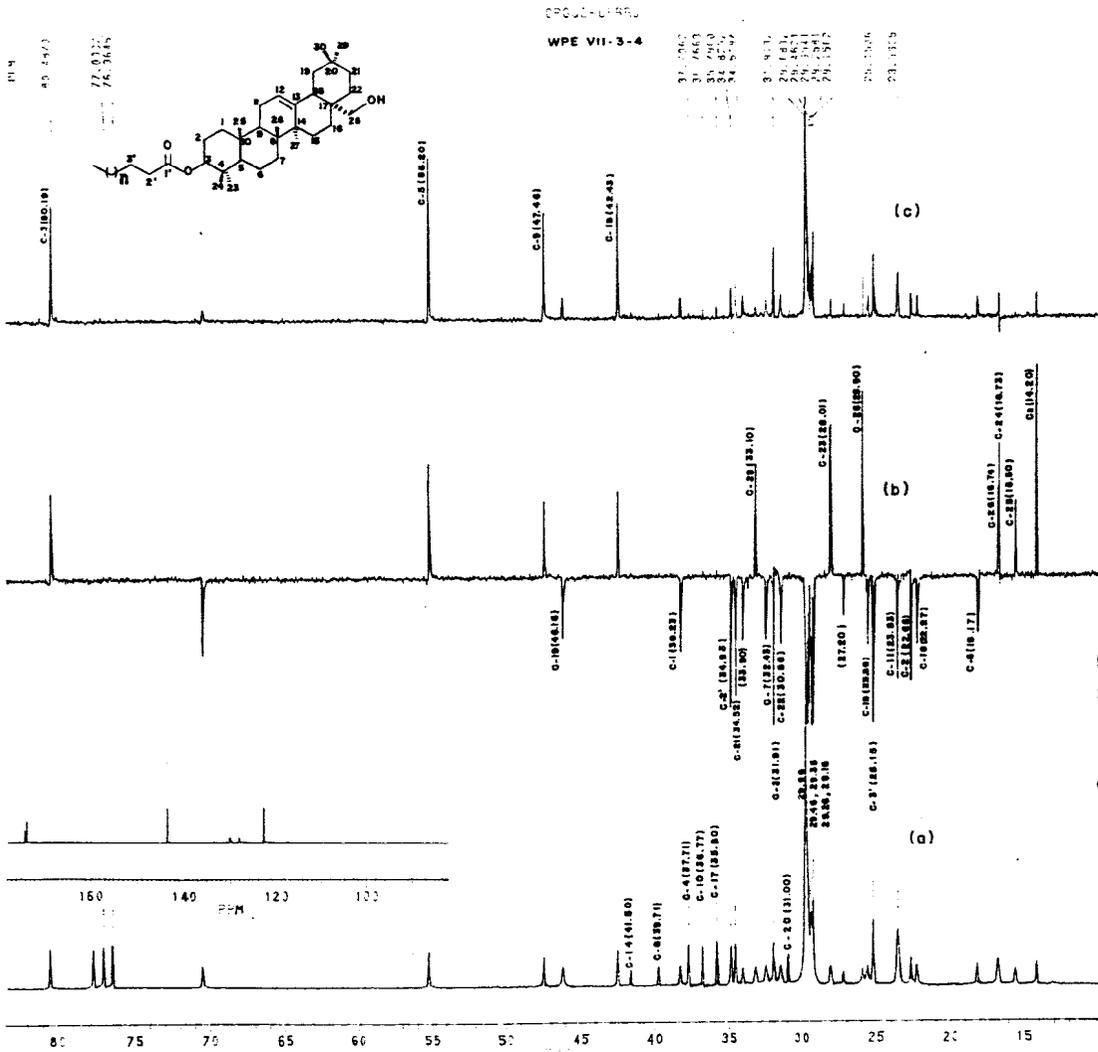
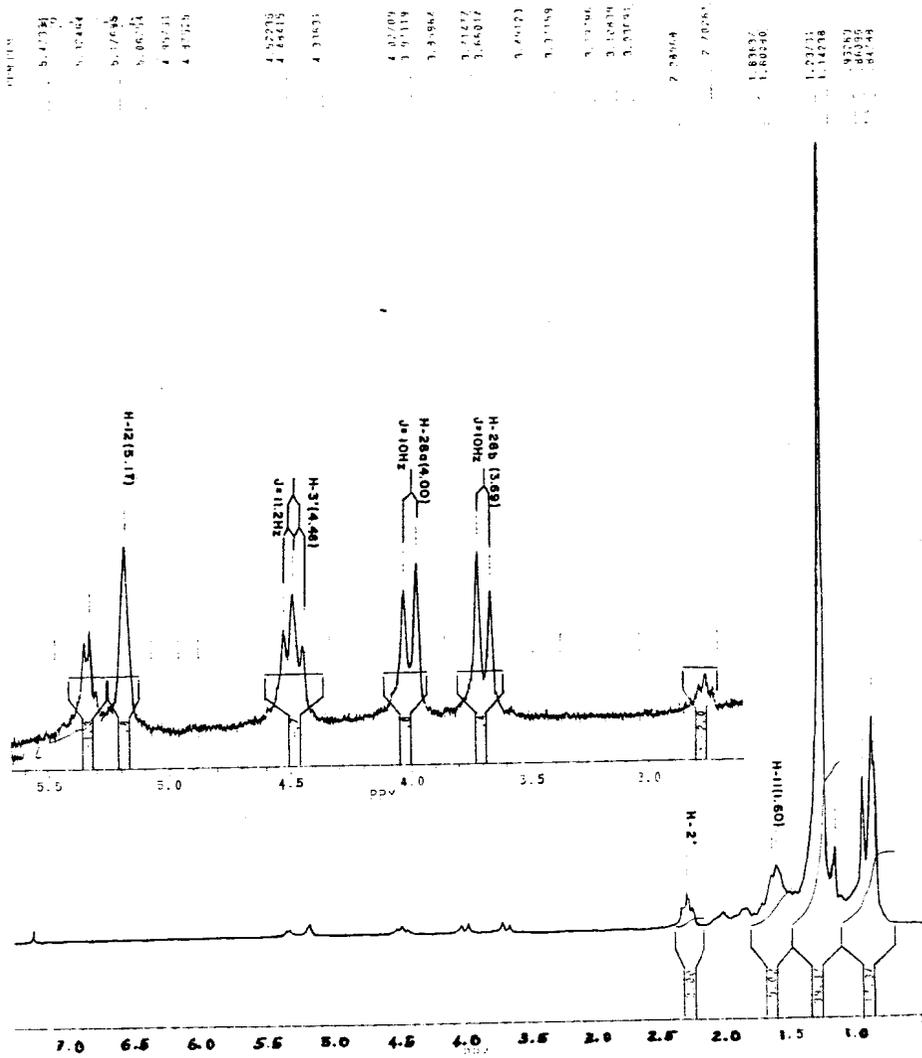
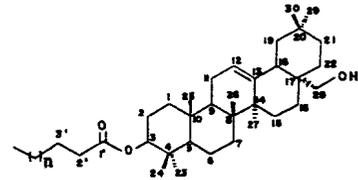


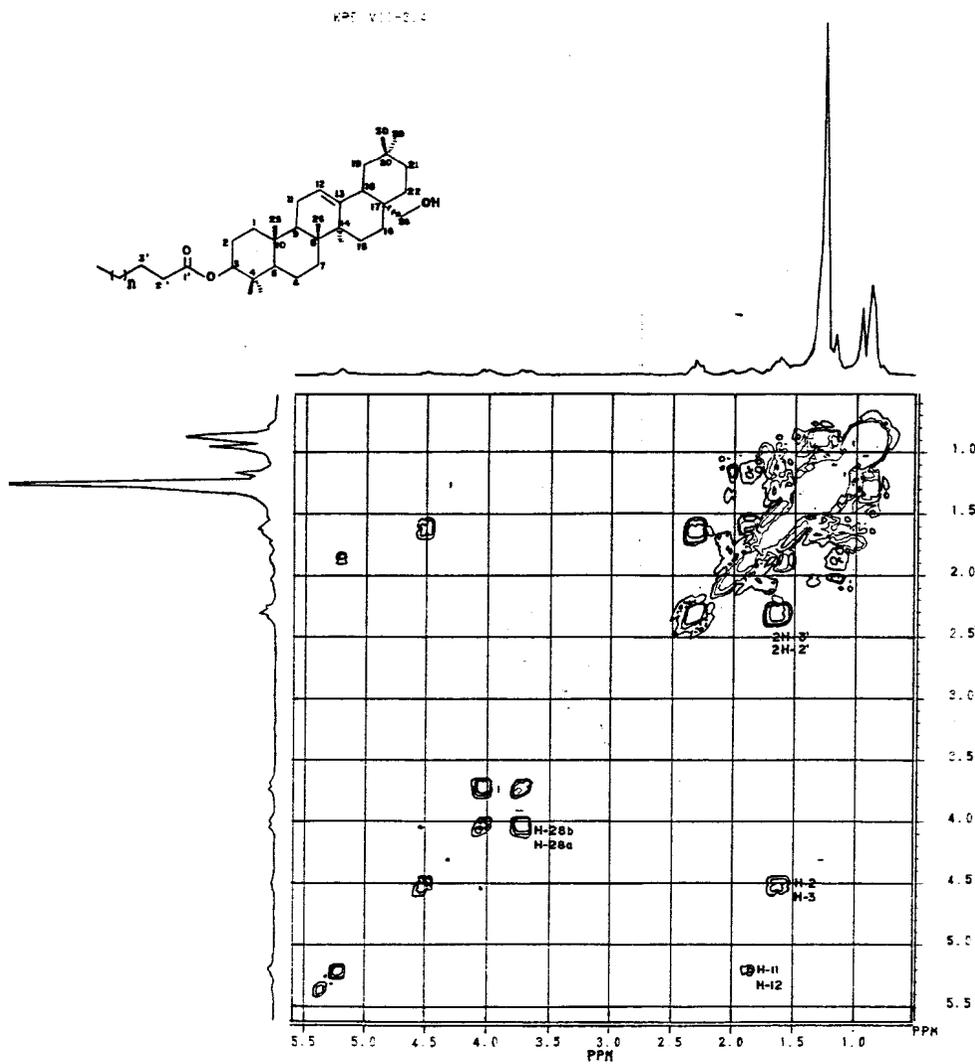
Fig. 15 e Espectro de RMN <sup>13</sup>C, PND E DEPT com  $\theta = 90^\circ$  (c) e  $\theta = 135^\circ$  (b) de WPE-VII-3-4, registrados a 50.3 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna.



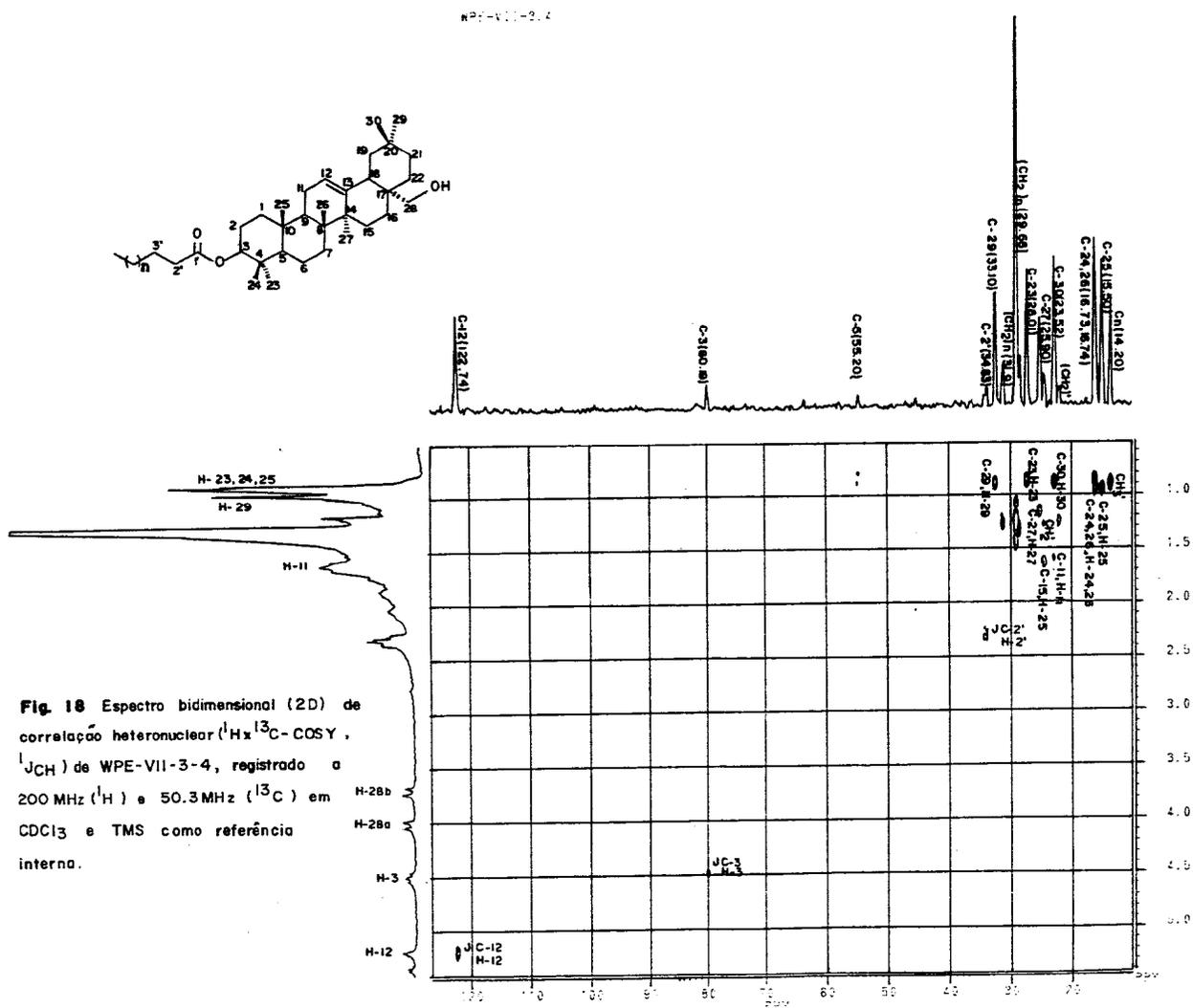
WPE VII-3-4

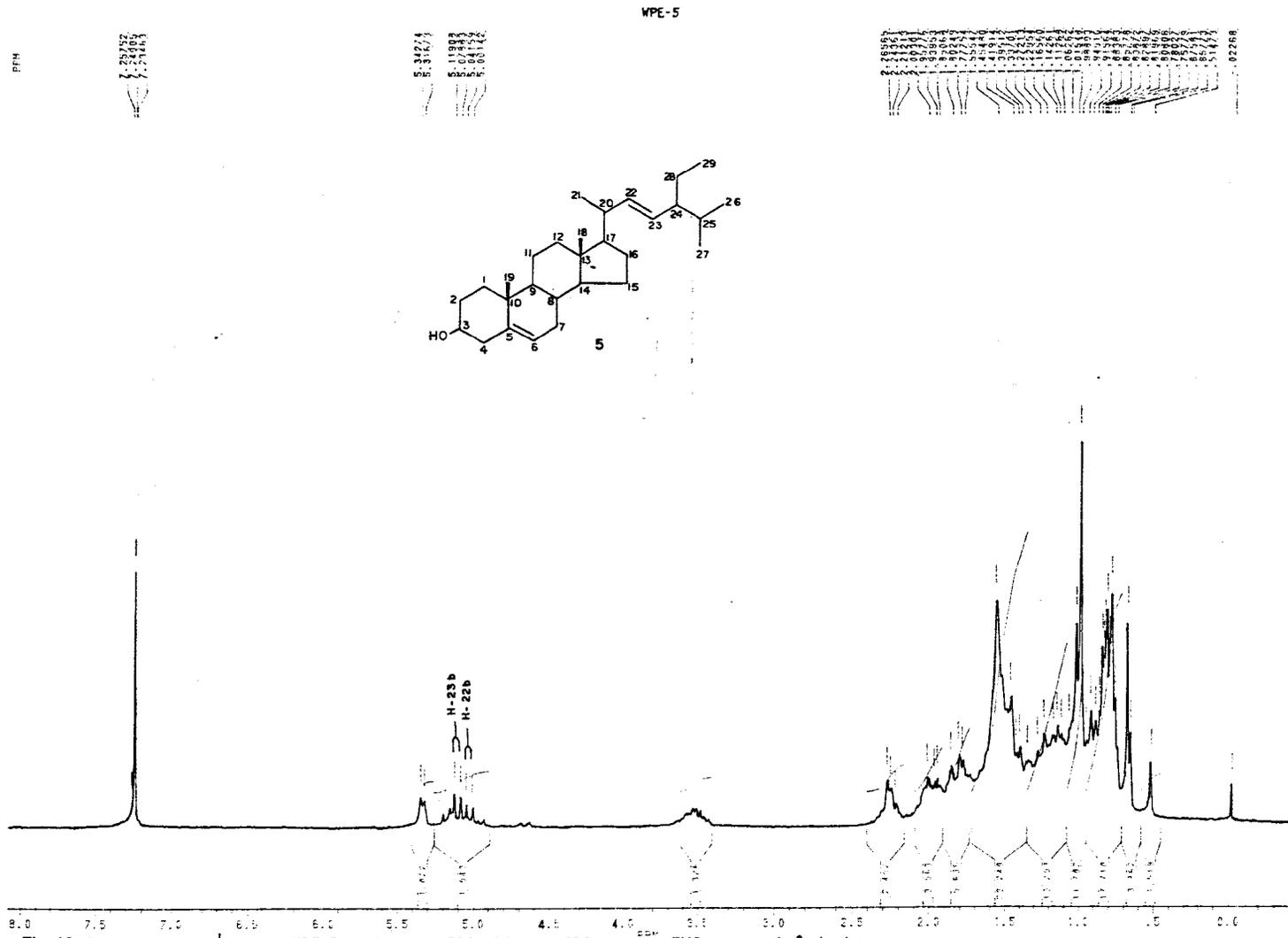


**Fig. 16** Espectro de RMN<sup>1</sup>H de WPE - VII-3-4, registrado a 200MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna.



**Fig. 17** Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ( $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY) de WPE-VII-3-4, registrado a 200 MHz em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna.







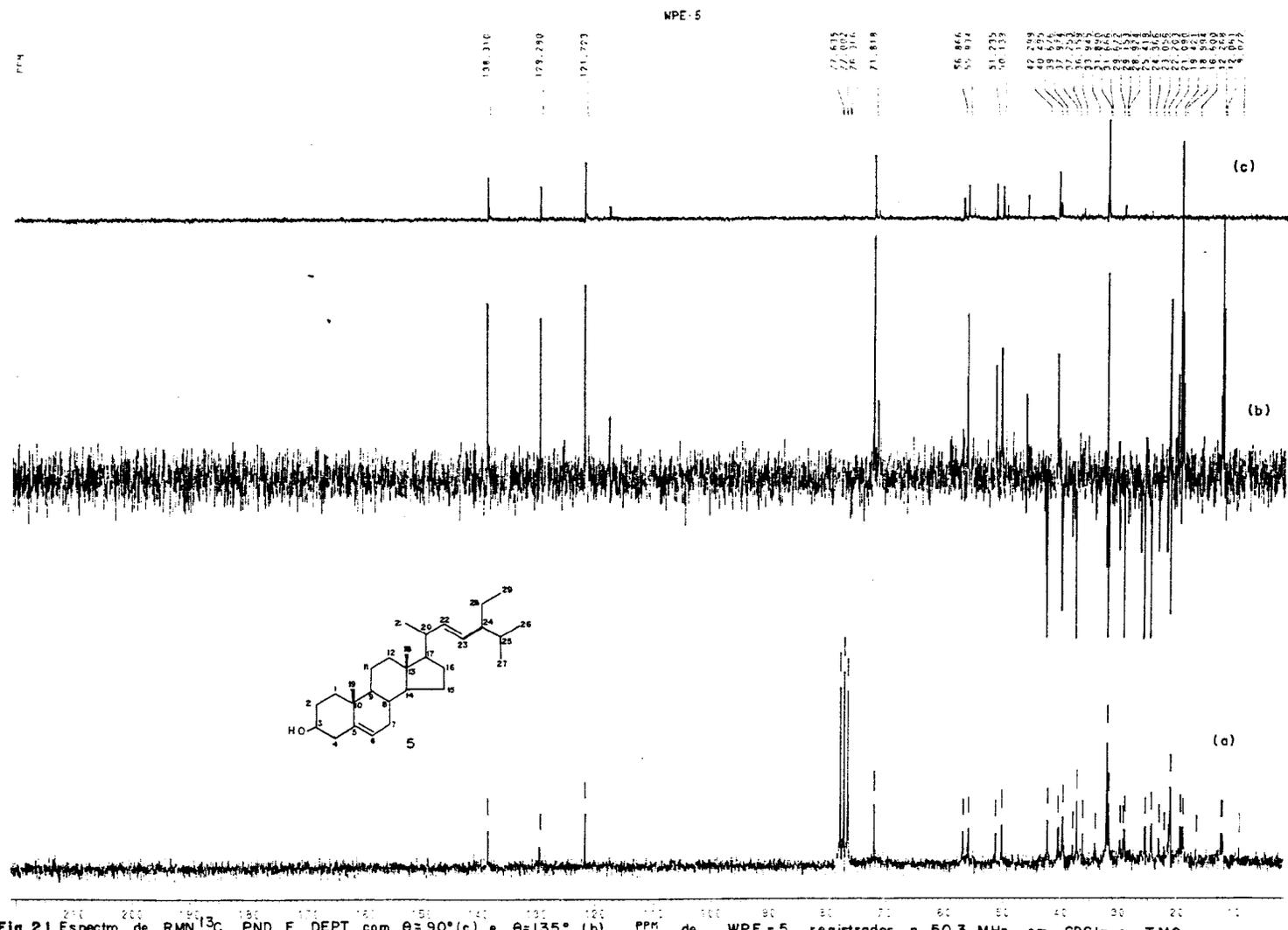


Fig. 21 Espectro de RMN <sup>13</sup>C, PND E DEPT com  $\theta=90^\circ$  (c) e  $\theta=135^\circ$  (b) PPM de WPE-5, registrados a 50.3 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna.

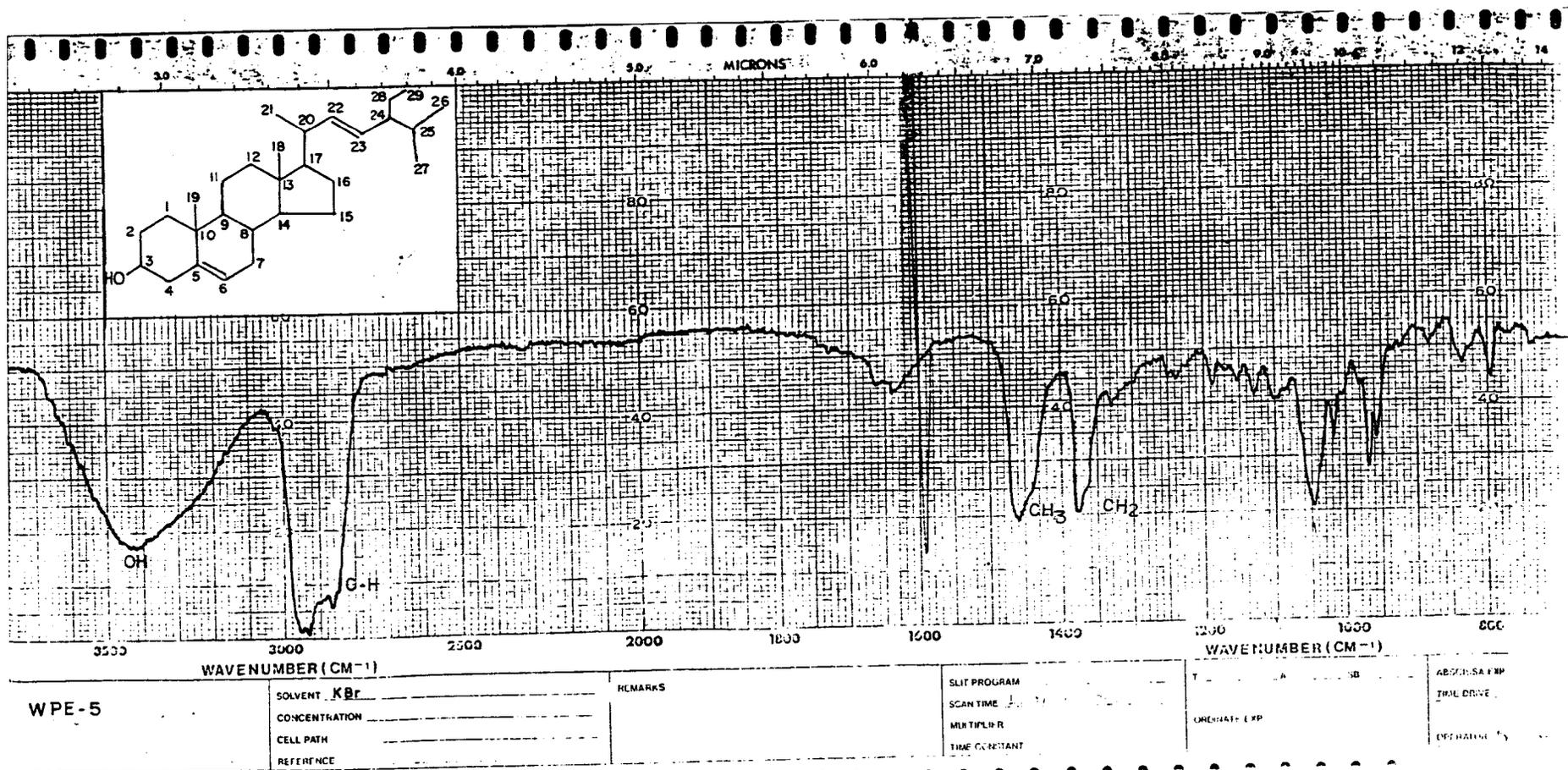
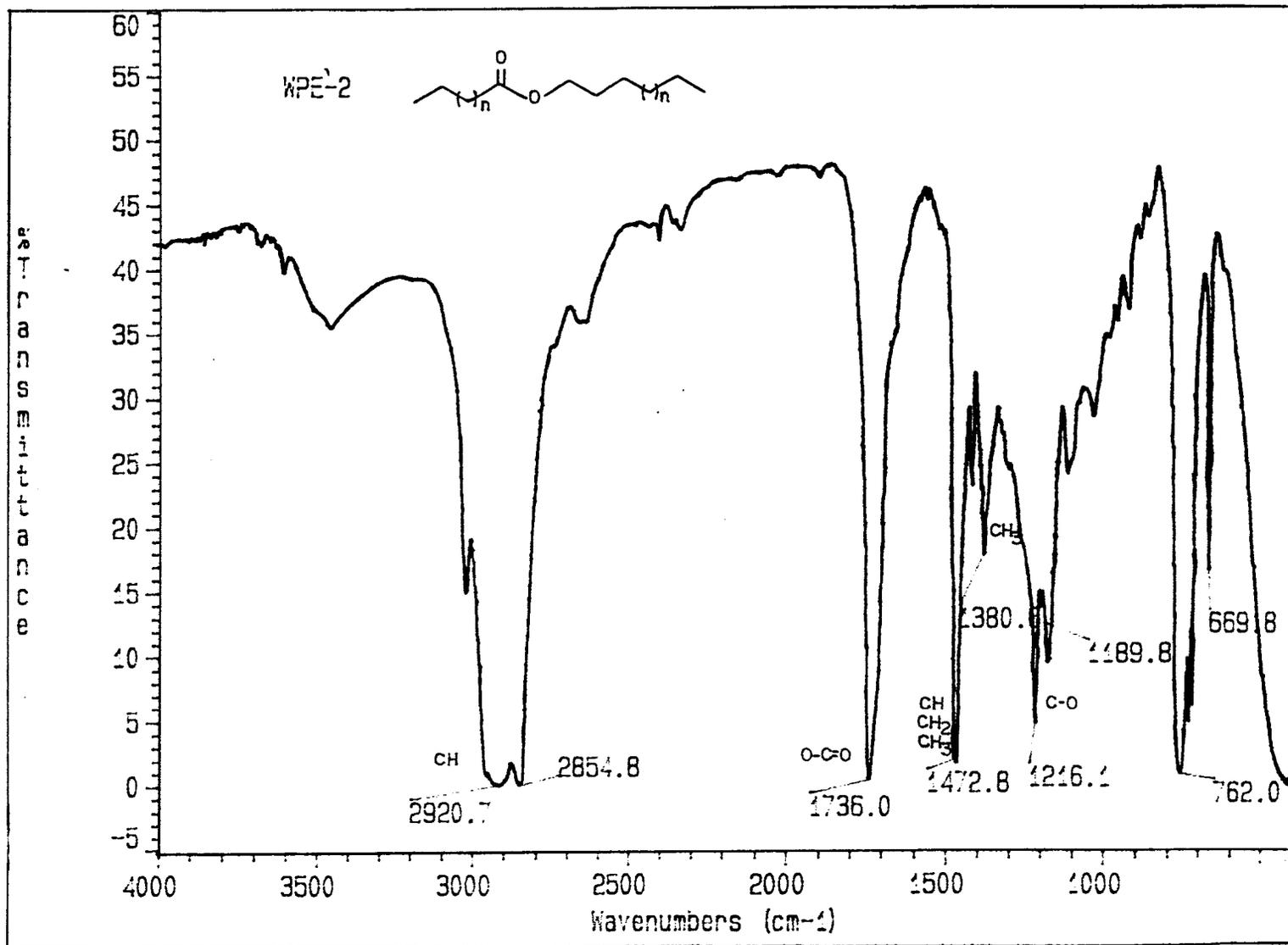


Fig. 22 Espectro de I.V. (pastilha KBr) de WPE -5





**Fig. 23 a** Espectro de i.v. (filme NaCl) de WPE'-2



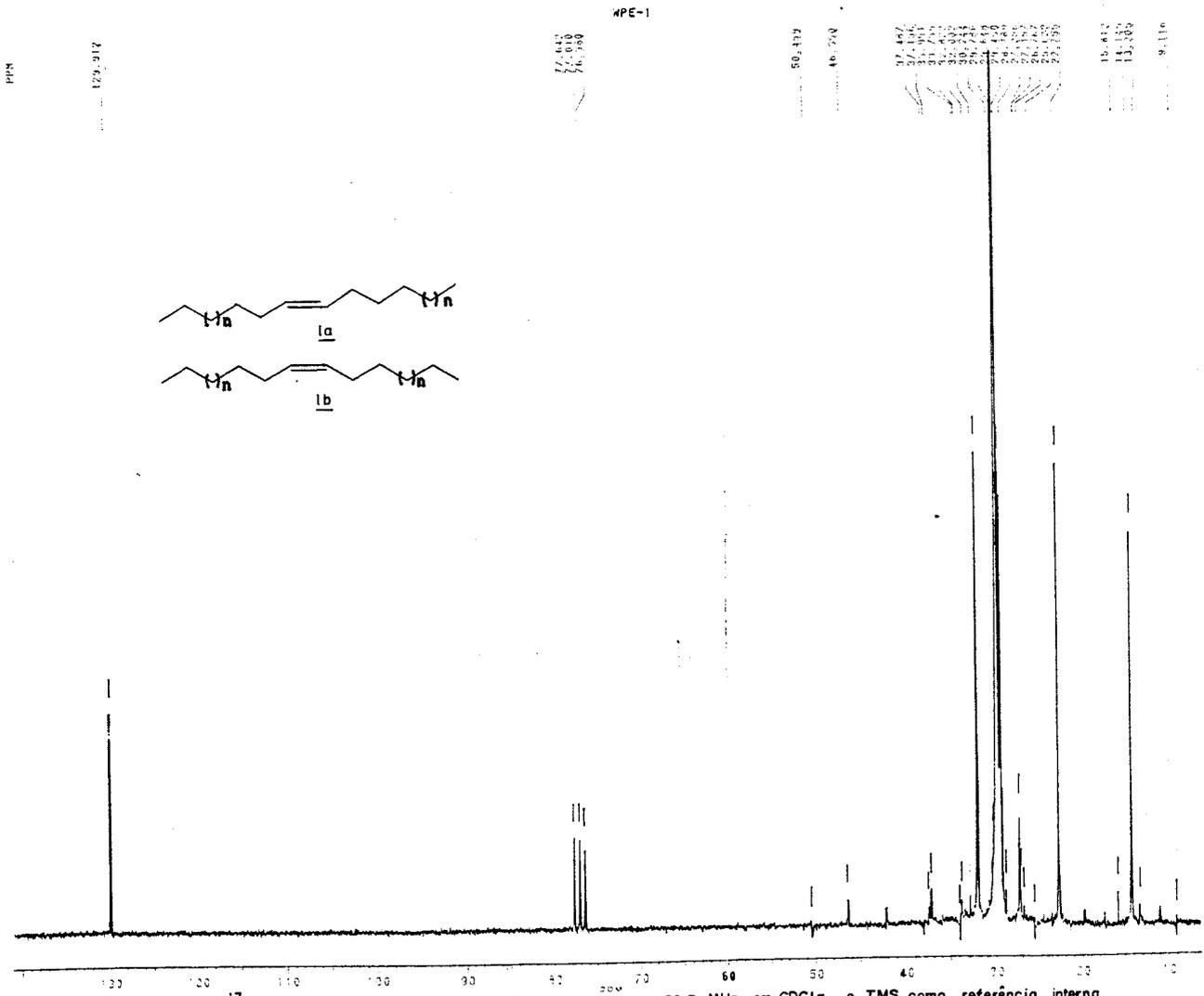


Fig. 25 Espectro de RMN<sup>13</sup>C totalmente desacoplado de WPE-1, registrado a 50.3 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna.

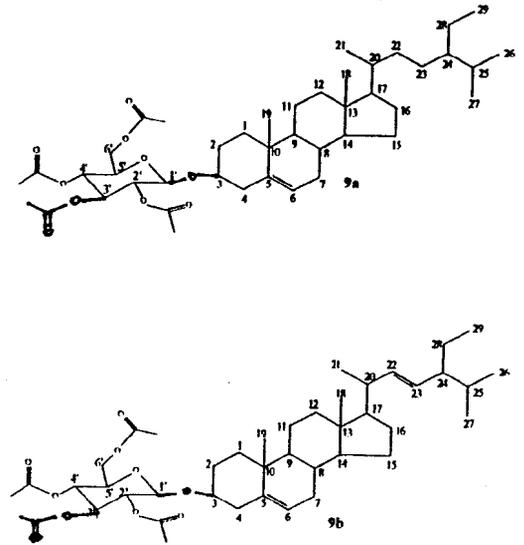
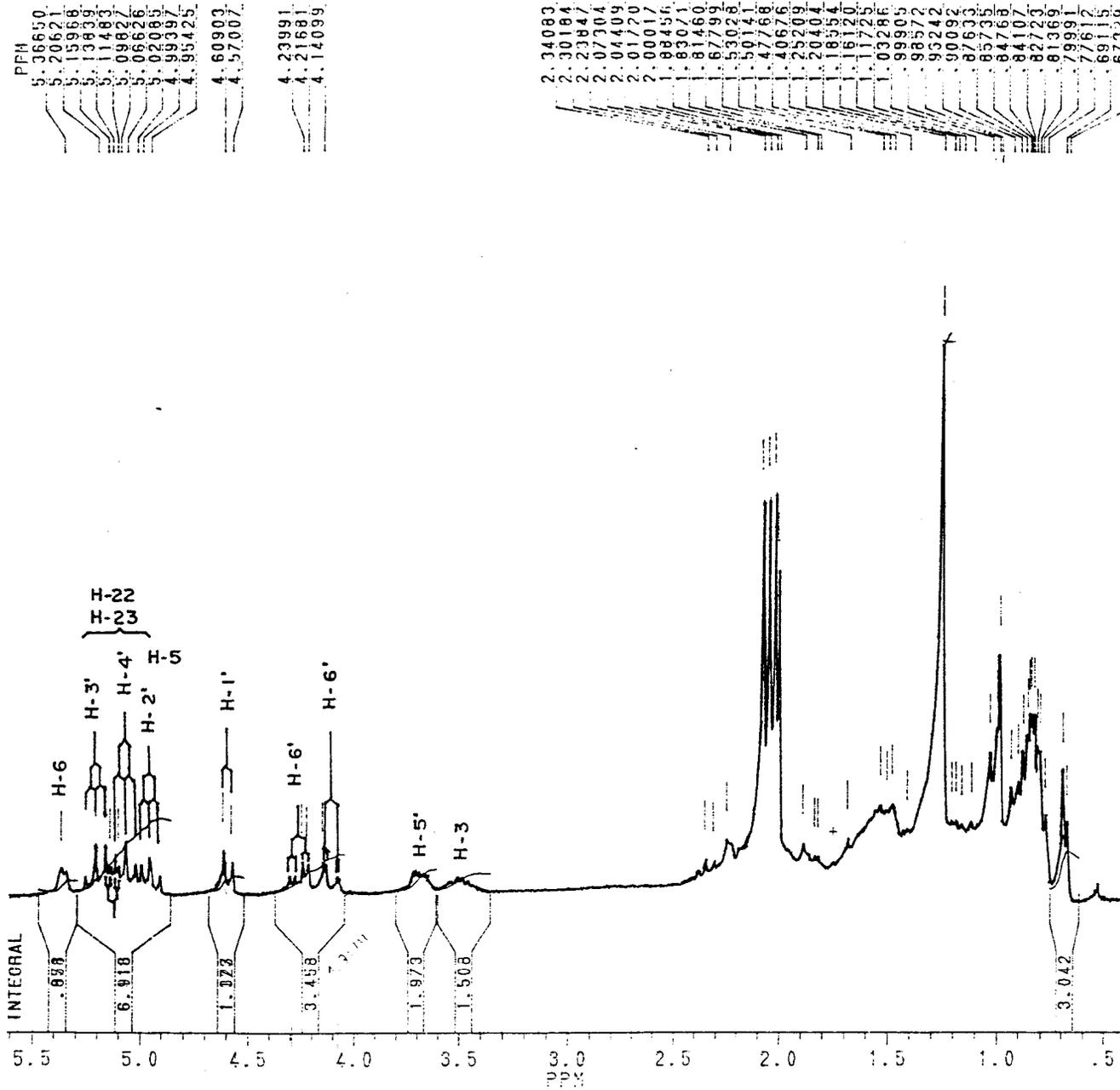
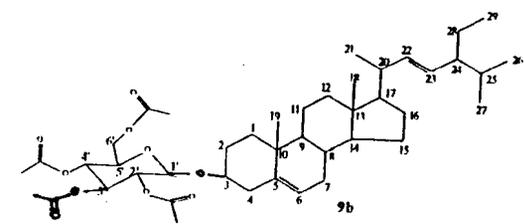
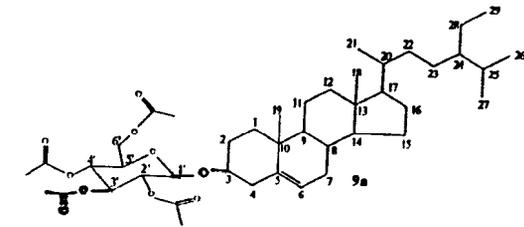
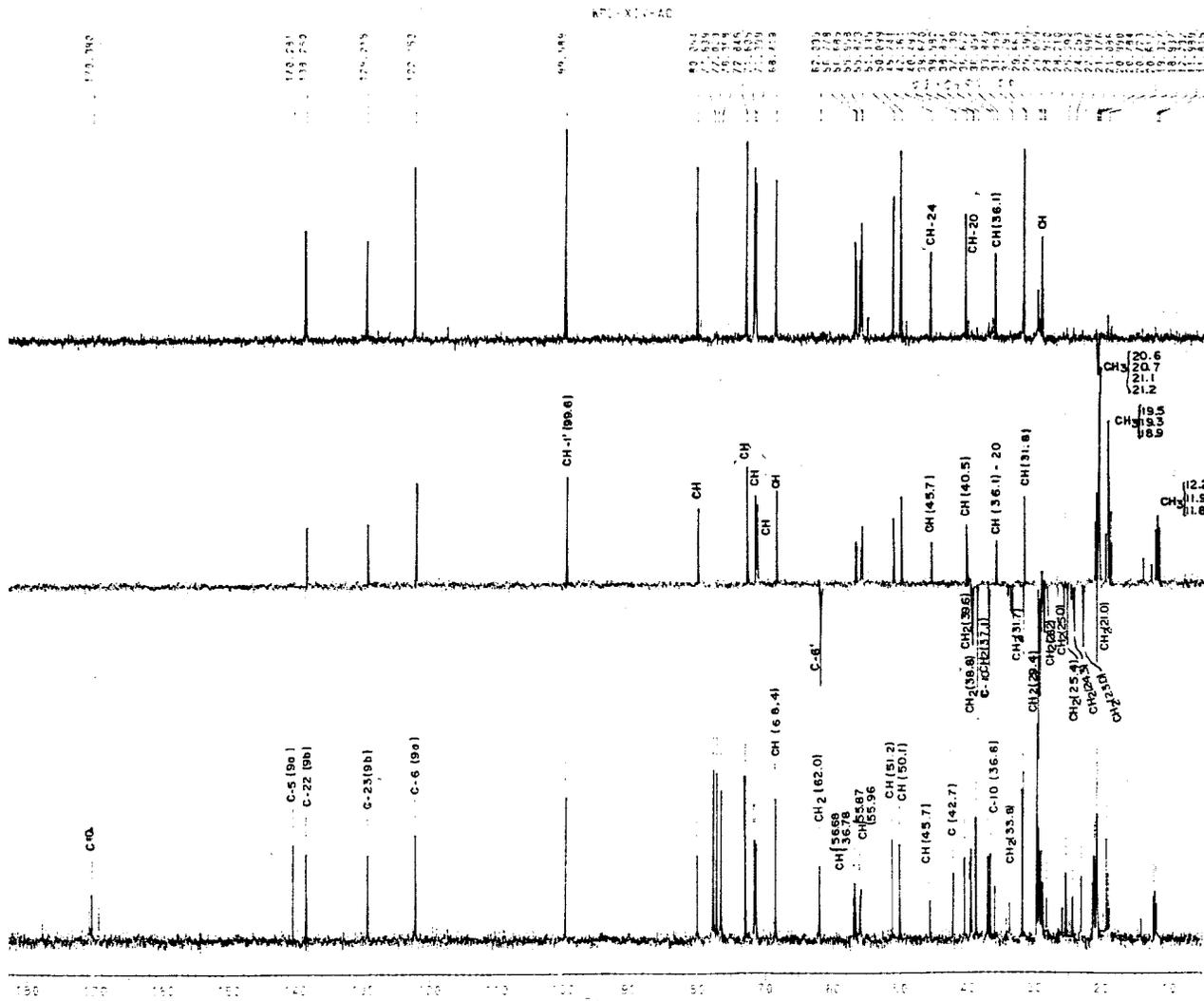
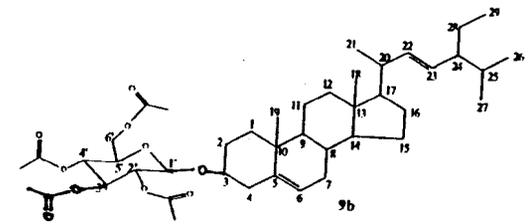
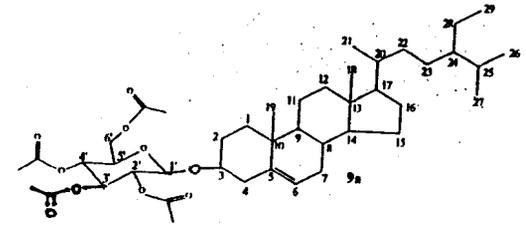
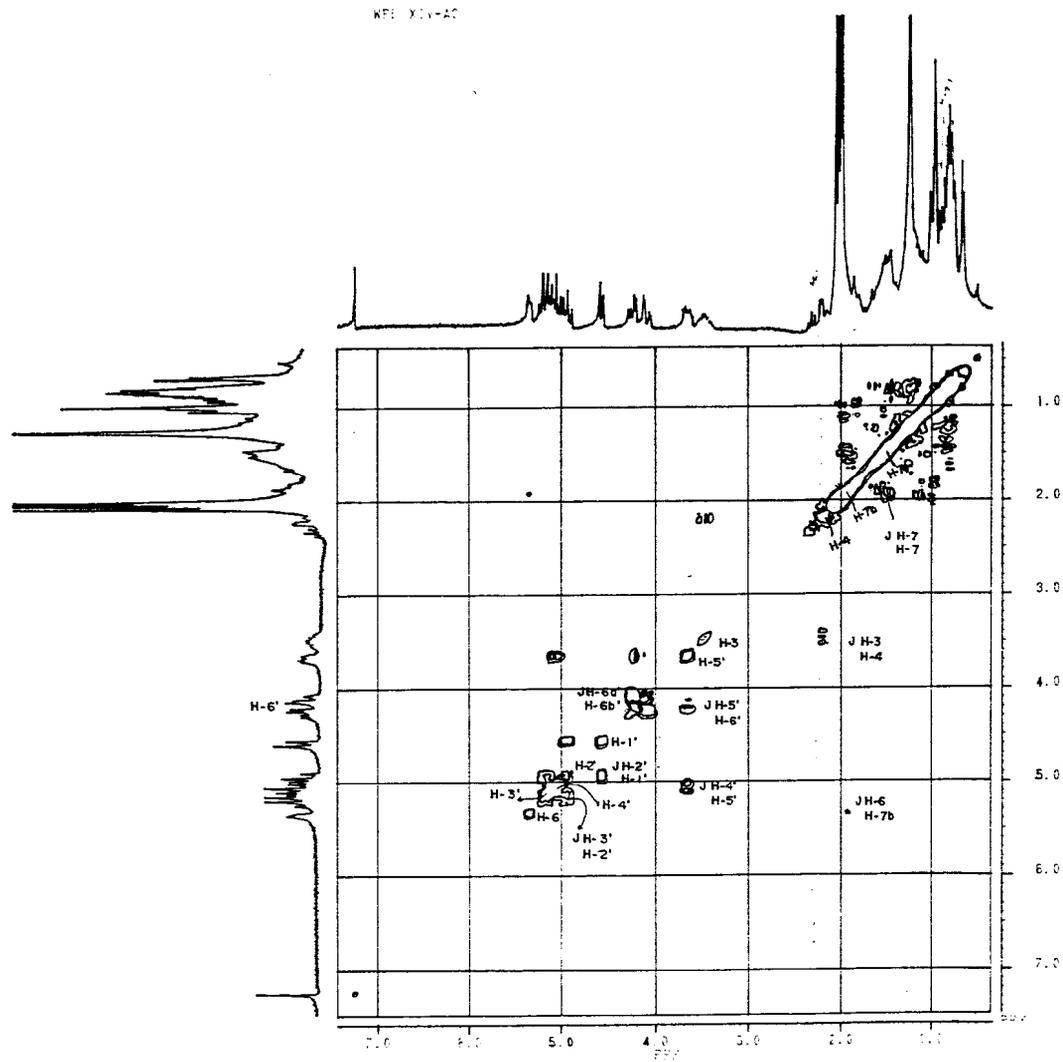


Fig. 26 Espectro de RMN<sup>1</sup>H de WPE-XIV-AC, registrado a 200 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna.

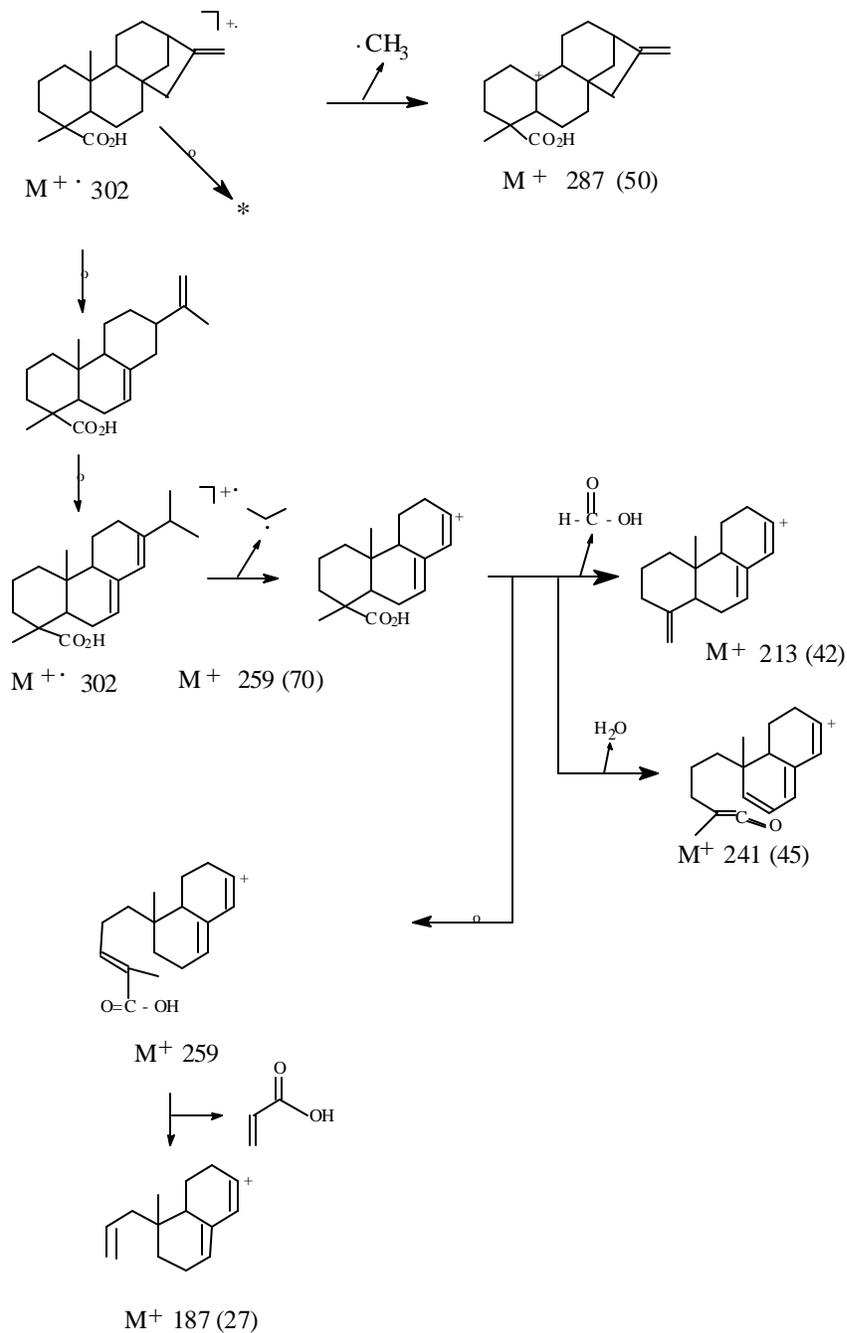


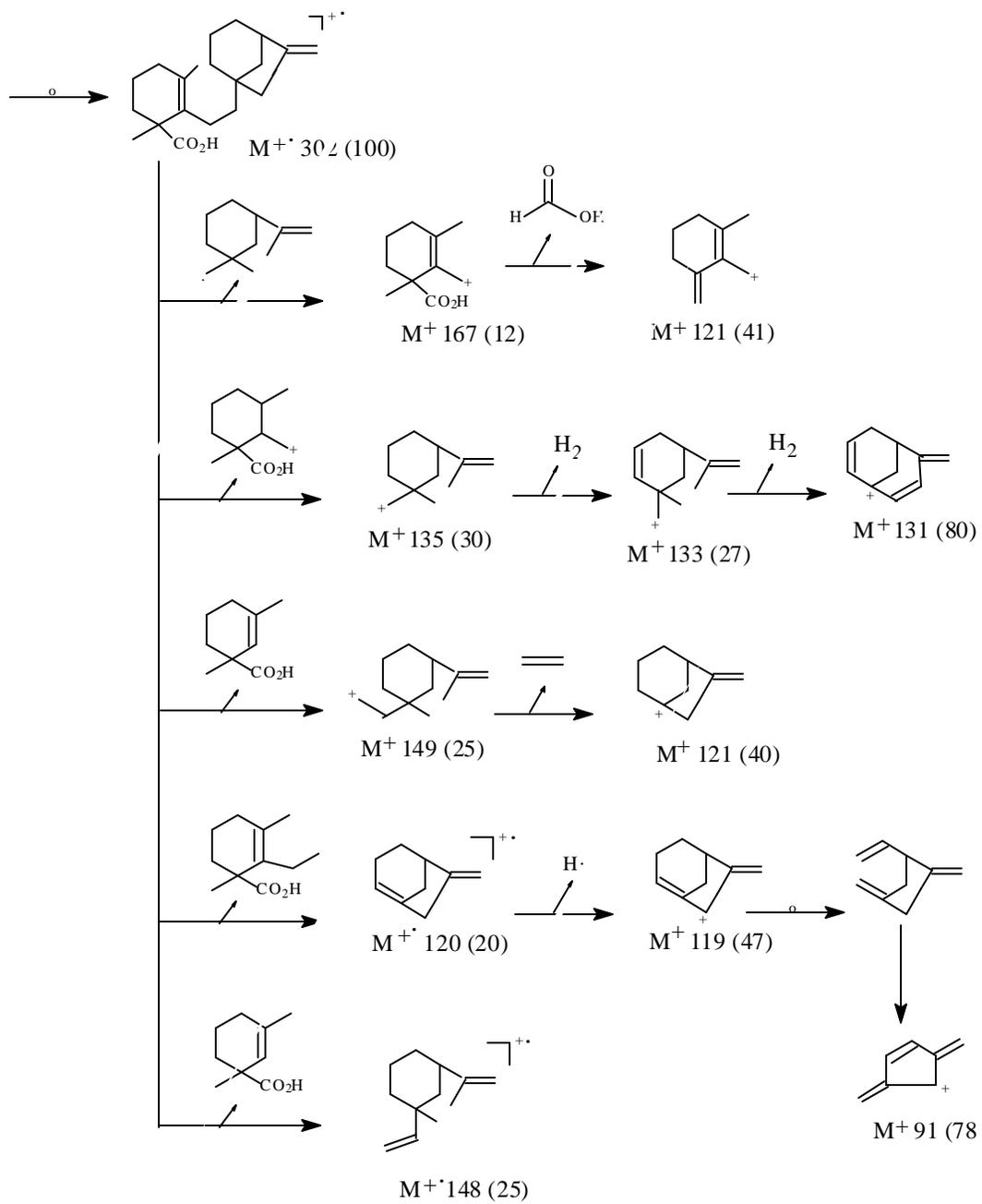
9. 27 Espectro de RMN <sup>13</sup>C PND e DEPT com  $\theta = 90^\circ$  e  $\theta = 135^\circ$  de WPE - XIV - AC, registrados a 50.3 MHz em CDCl<sub>3</sub> e TMS como referência interna

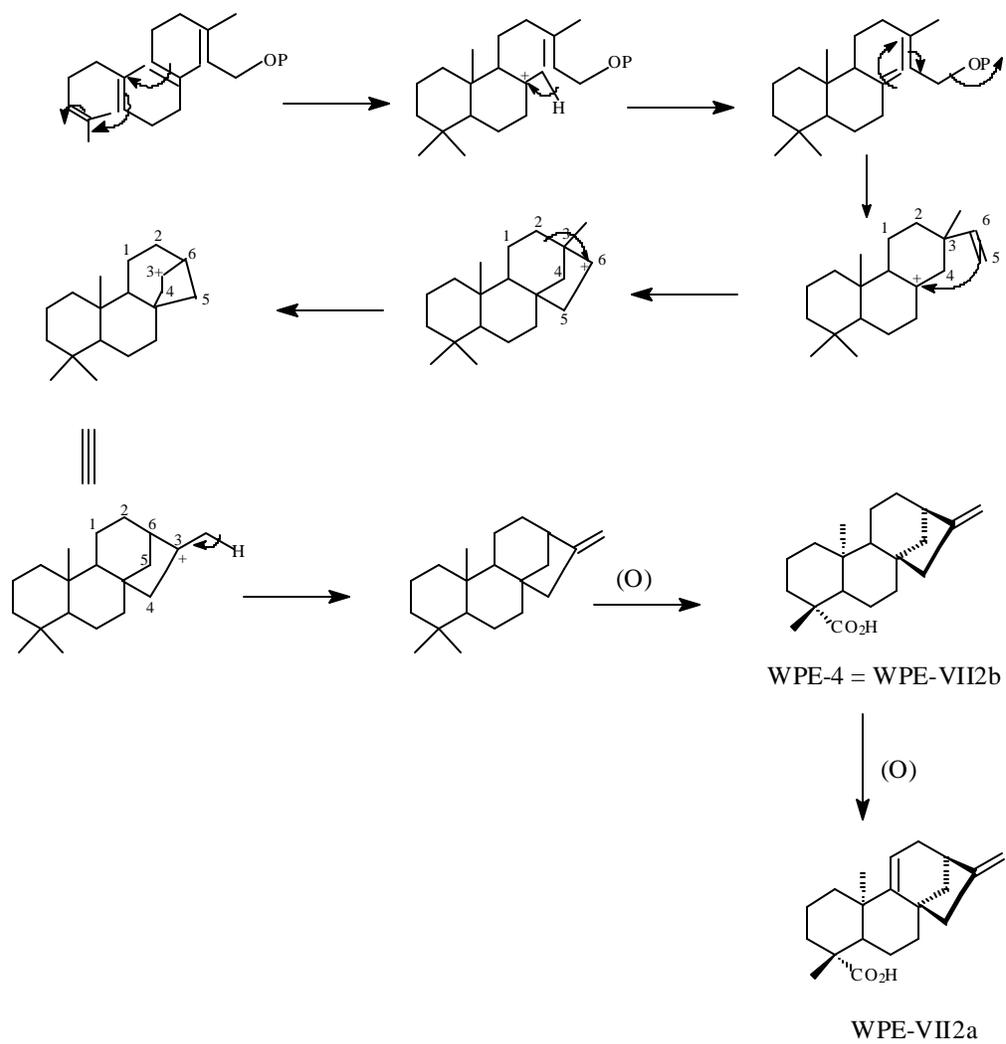


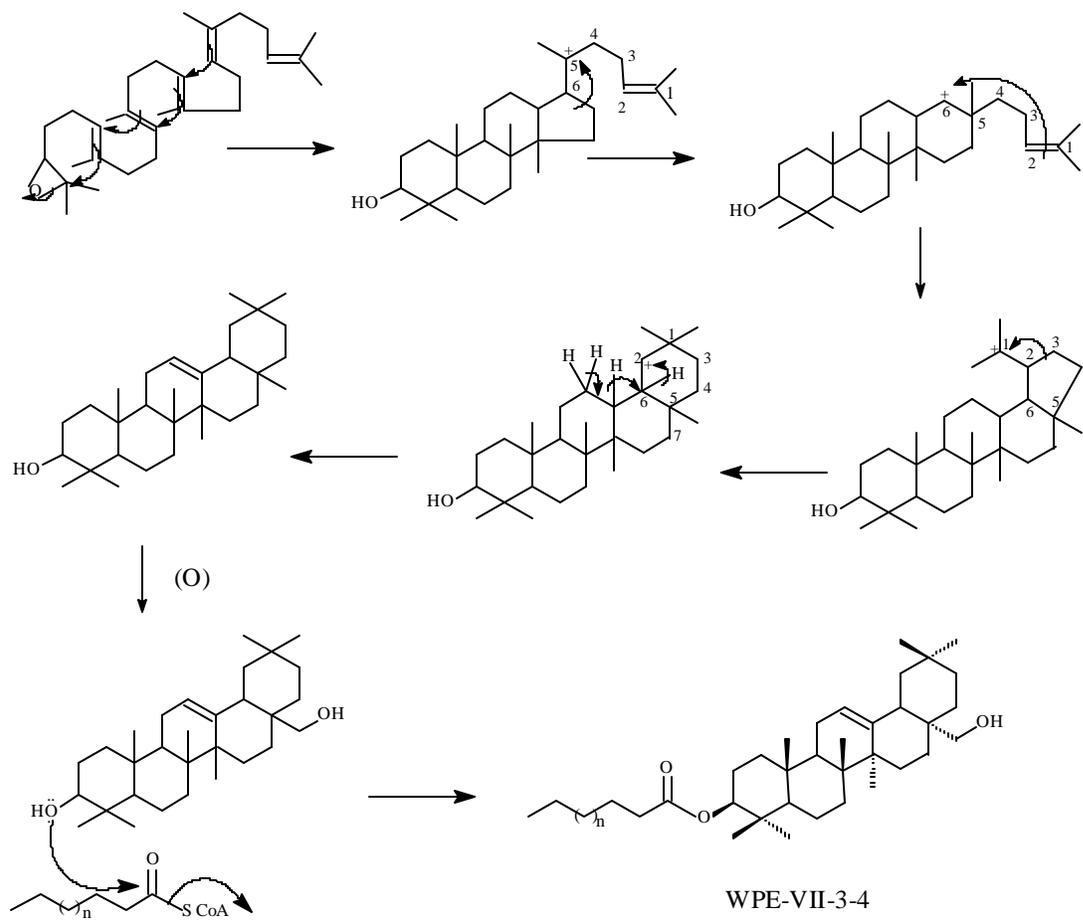
**Fig. 28** Espectro bidimensional (2D) de correlação homonuclear ( $^1\text{Hx}^1\text{H}$ -COSY) de WPE-XIV-AC, registrado a 200 MHz em  $\text{CDCl}_3$  e TMS como referência interna.

ESQUEMA 1 - Interpretação dos principais picos registrados no espectro de massas de **WP**



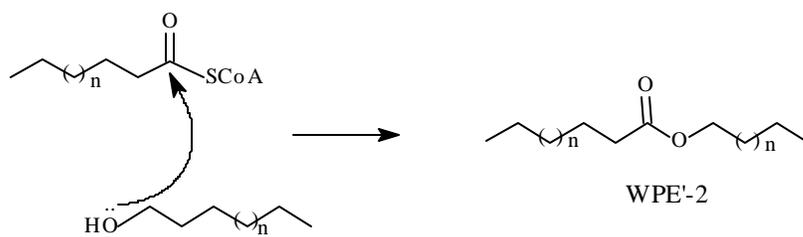
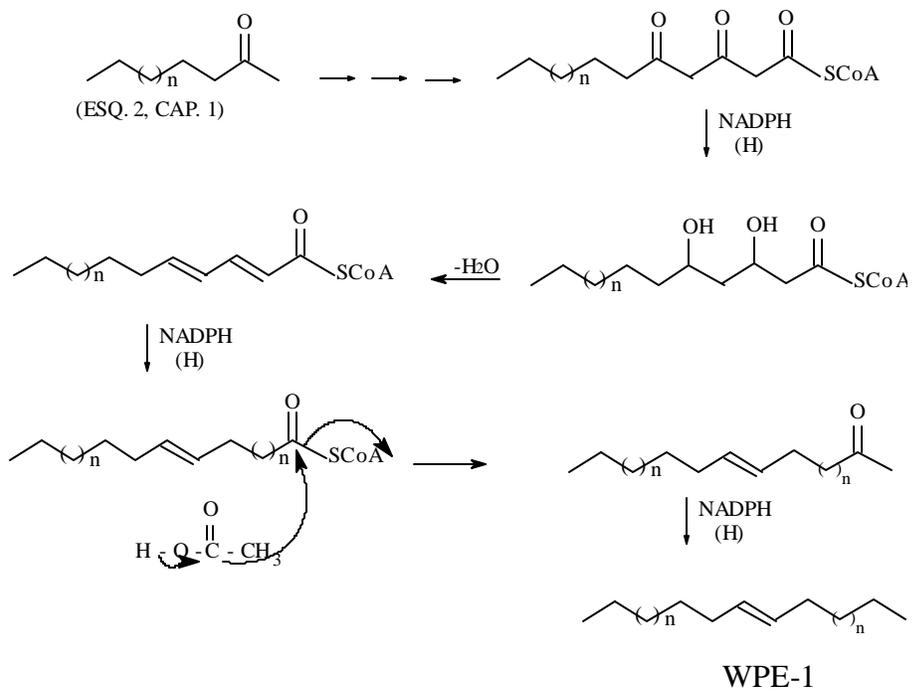


**ESQUEMA 2 - Proposta biogenética para formação de WPE-4 e WPE-VI**

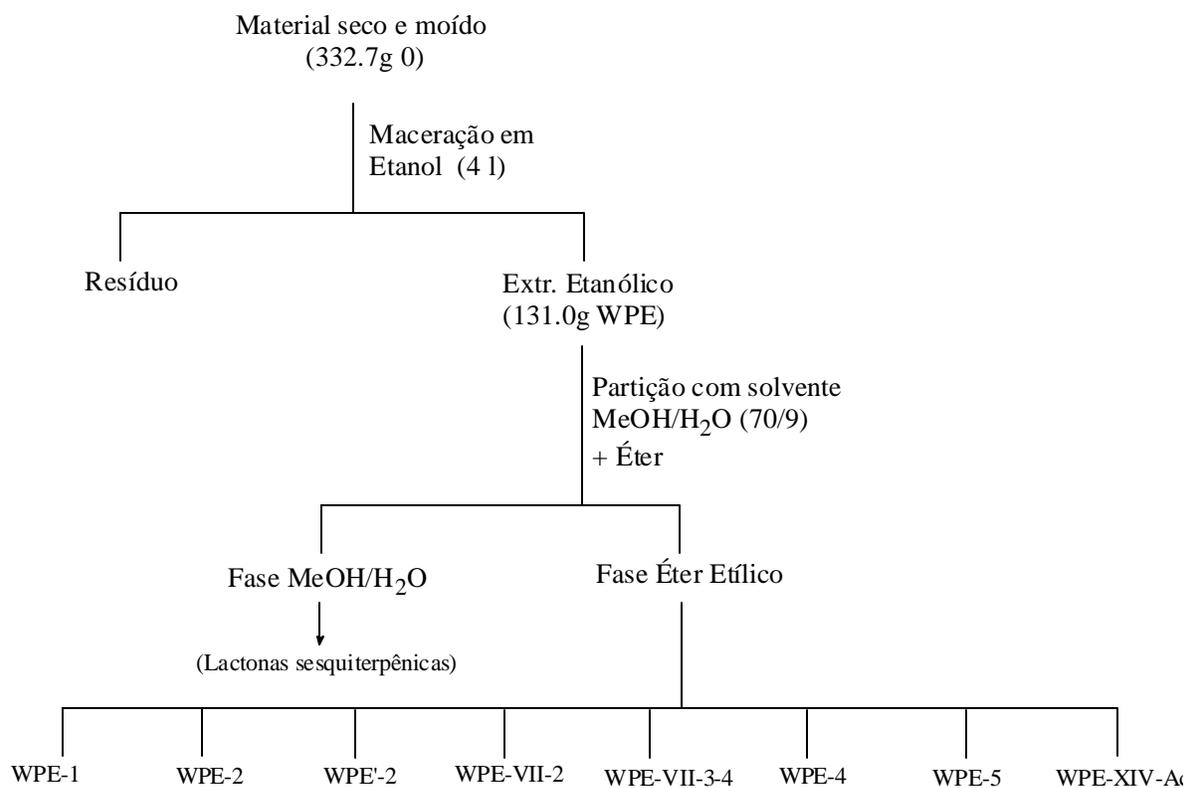
**ESQUEMA 3 - Proposta biogenética para formação de WPE-VII-3-4**

**ESQUEMA 4 - Proposta biogenética para formação de WPE-5**

VIDE ESQUEMA 2, CAPÍTULO 1

**ESQUEMA 5 - Proposta biogenética para formação de WPE'-2****ESQUEMA 6 - Proposta biogenética para formação de WPE-1**

**ESQUEMA 7** - Processamento para obtenção do Extrato Éter Etílico das flores de *Wedelia paludosa* D.C.



## CONCLUSÃO

Além das substâncias já encontradas nesta espécie, através de trabalhos desenvolvidos anteriormente, foram encontrados kauranos (ácido kaur 16(17) eno-19-óico e ácido kaur 9(11), 16(17) dieno-19-óico), triterpeno (3- $\beta$ -O-acil-oleano- 12(13) eno-28-ol) e esteróides glicosilados (3- $\beta$ -D-glicopiranosil,sitosterol e 3- $\beta$ -D-glicopiranosil estigmasterol). O uso de técnicas modernas 1D e 2D de RMN, permitiu definir as freqüências de absorção dos  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos diterpenos isolados.

## 2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - HARBONE, J. B., Introducción a la Bioquímica Ecológica. Ed. Alhambra 1982.
- 1a- Molisch, in HARBONE, J. B., Introducción a la Bioquímica Ecológica. Ed Alhambra, 1982. 267 p.
- 1b- Rice, in HARBONE, J. B., Introducción a la Bioquímica Ecológica. Ed. Alhambra, 1982. 267 p.
- 1c- Muller, in HARBONE, J. B., Introducción a la Bioquímica Ecológica. Ed. Alhambra, 1982. 267 p.
- 1d- Whittake, in HARBONE, J. B., Introducción a la Bioquímica Ecológica. Ed. Alhambra, 1982. 268 p.
- 1e- De Candole, in HARBONE, J. B., Introducción a la Bioquímica Ecológica. Ed. Alhambra, 1982. 269 p.
- 1f- Massey, in HARBONE, J. B., Introducción a la Bioquímica Ecológica. Ed. Alhambra, 1982, 269 p.
- 1g- Bode, in HARBONE, J. B., Introducción a la Bioquímica Ecológica. Ed. Alhambra, 1982. 272 p.
- 2 - BARROSO, G. M. ; Sistmática de Angiosperma do Brasil. vol 2, Ed. UFV - MG, 1986.
- 2a- Cronquist, in BARROSO, G. M. ; Sistmática de Angiosperma do Brasil. vol 2, Ed. UFV - MG, 1986. 107 p.
- 3 - CORREA, M. P., Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, vol V. Ed. Ministério da Agricultura - Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984.

- 4 - GOULART, M. O. F.; SANT'ANA, A. E. G.; LIMA, R. A.; CAVALCANTE, S. H.; CARVALHO, M. G. e BRAZ-FILHO, R. "Fitoconstituintes químicos isolados de *Jatropha elliptica*. Atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono e hidrogênio dos diterpenos Jatrolonas A e B". *Química Nova*, 1994. **16**. (2) . p. 95 - 100 .
- 5 - KALINOWSK, H. O.; BERGER, S. e BRONN, S.; Carbom - 13 NMR Spectroscopy. Jhon Wiley, N. Y., 1988.
- 6 - GUEVARA, A. P.; LIM-SYLIANCO, C. Y.; DAYRIT, F. M. e FINCH, P. "Acylglucosil sterols from *Momordica charantia*" . *Phytochemistry*, 1989. **28**. (6). p. 1721-24.
- 7 - AKIHISA, T.; GHOSH, P.; THAKUR. S.; OSHIKIRI, S.; TAMURA, T. e MATSUMOTO, T. " 24  $\beta$  - Methylcholesta-5, 22 E, 25-trien-3 $\beta$ -ol and 24-  $\alpha$ -ethyl-5- $\alpha$  cholest-22 E - en-3 $\beta$ -ol from *Clerodendrum fragrans*". *Phytochemistry*, 1988. **27**. (1). p. 241 - 244.
- 8 - TULLOCH, A. P. e BERGTER, L." Analysis of the conjugated Trienoic Acid Containing Oil from *Fevillea Trilobata* by  $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance -Spectroscopy" . Reprinted from *Lipids*, 1979. **14**. (12). p. 996 - 1002 .
- 9 - BRAZ- FILHO, R.; CARVALHO, M. G.; GOTTLIEB, O. R. "Eperudiendiol, Glycerides and Neolignas from Fruits of *Osteophloeum platyspermum*" . *Planta Médica*, 1984. **1**. p. 53-54.
- 10- BREITMEIR, E.; VOELTER, W.; Carbon 13 - NMR spectroscopy third. ed N. Y. - USA, 1987.
- 11- BARROSO, G. M. Sistemática de Angiosperma do Brasil. vol. **3**, Ed. UFV - MG, 1986

- 12- MILES, D. H. ; CHITTAWONG, V. e PAYNE, A. M. "Cotton Boll Weevil Antifeedant Activity and Antifungal Activity (*Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum*) of Extracts of the Stems of "*Wedelia biflora*". *J. Agric. Food Chem.*, 1990. **38**. p. 1591-94
- 13- OBERTI, J. C.; ROMILO, A. B. e GROSS, E. G. "Diterpenes and sterols from *Wedelia glauca*". *Phytochemistry*, 1980. **19**. p. 2051-52.
- 14- SCHTEINGART, C. D. e POMILIO, A. B. "Terpenoids from *Wedelia buphthalmiflora*". *Phytochemistry*, 1981. **20** (11). p. 2589-90.
- 15- ROQUE, N. F.; GIANNELLA, T. L.; GIESBRECHT, A. M. e BARBOSA, R. C. C. B. C. "Kaurene diterpenes from *Wedelia paludosa*". *Rev. Latinoam. Quím.*, 1987. **18** (3-4). p. 110-11.
- 16- FERREIRA, D. T.; LEOVORATO, A. R.; FARIA, T. J.; CARVALHO, M. G. e BRAZ-FILHO, R. "Eudesmanolide lactones from *Wedelia paludosa*". *Natural Product Letters*, 1994. **4** (1). p. 1-7.
- 17- HASAN, C. M.; HEALEY, T. M. e WATERMAN, P. G. "Kolavane and kaurene diterpenes from the stem Bark of *Xylopiya aethiopica*". *Phytochemistry*, 1982. **29** (6). p. 1365-68.
- 18- CASTELLARO, S. J.; DOLAN, S. C.; MACMILLAN, J. e WILLIS, C. L. "Deuterium labelling of ent-kaur-16-en-19-oic acid at carbon-6-and-7". *Phytochemistry*, 1970. **29** (6). p. 1823-31.
- 19- ATTA-UR-RAHMAN e VIQAR UDDIN AHMAD, <sup>13</sup>C- NRM of Natural Products Letters - vol. 2 - Diterpenes. 279 p. e 347p. 1972.
- 20- BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; KING, R. M. e ROBINSON, H. "Eudesmanolides and kaurene derivatives from *Wedelia hookeriana*". *Phytochemistry*, 1982. **9** . p. 2329-33.

- 21- TORI, K.; YOSHIMURA, Y.; SEO, S.; SAKURAWI, K.; TOMITA, Y. e  
ISHII, H.; Carbon-13 NMR "Spectra of Saikogenins. Stereochemical  
dependence in hydroxylation effects upon carbon-13 chemical shifts of  
oleanene-type triterpenoids". *Tetrahedron Letters*, 1976. **46**. p. 4163-66.
- 22-KOJIMA,H.; SATO, N.; HATANO, A. e OGURA, H. "Sterol glucosides  
from *Plunela vulgaris*". *Phytochemistry*, 1990. **29**. (7), p. 2351-55.
- 23- GUEVARA, A. P.; LIM-SYLIANCO, C. Y.; DAYRIT, F. M. e FINCH, P.  
"Acylglucosyl sterol from *Mormodica charantia*". *Phytochemistry*, 1989. **28**  
6). p. 1721-24.
- 24- TEREZA, J. P.; URONES, J. G.; MARCOS, I. S.; BASABE, P.; CUADRADO,  
M.J. S. e MORO, R. F. "Triterpenes from *Euphorbia broten*".  
*Phytochemistry*, 1987. **26** (6). p. 1767-76.