



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ISLEY FEHLBERG**

**Terpenos e Fenilpropanoides de *Myrcia guianensis***  
**(MYRTACEAE)**

Salvador - Bahia  
2011

**ISLEY FEHLBERG**

**Terpenos e Fenilpropanóides de *Myrcia guianensis*  
(MYRTACEAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Química na área de concentração em Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Frederico Guaré Cruz

Salvador - Bahia  
2011

Sistema de Bibliotecas – IQ/UFBA

Fehlberg, Isley.

Terpenos e fenilpropanoides de *Myrcia guianensis* (Myrtaceae) / Isley Fehlberg . - 2012.  
415 f. : il.

Inclui anexos

Orientador: Prof. Dr. Frederico Guaré Cruz.

Tese (doutorado) - Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Salvador, 2011.

1. Mirtacea. 2. Fitoquímicos. 3. Flavonoides. 4. Sesquiterpenos. 5. Terpeno. 6. Lignanas. I. Cruz, Frederico Guaré. II. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. III. Título.

CDD – 583.42  
CDU – 547.9

A

Ilário, eterno pai querido....

Mocinha, mãe guerreira e amorosa.... meu exemplo de mulher.

Erick, meu amor, minha perseverança, minha vida.

Minha amada e sempre presente família.

## AGRADECIMENTOS

São tantos..... Será que lembrarei de todos?

Ao Prof. Frederico Guaré pela orientação e amizade.

A Profa Maria de Lourdes M. F. Botelho e Josênia Santos do Amaral pela atenção e agilidade com que resolveram meu processo de defesa de doutorado.

Aos Professores Dra Fernanda Rodrigues Garcez (UFMS), Dra Vanderlucia Fonseca de Paula (UESB), Dra Nídia Franca Roque (UFBA), Dr. Dirceu Martins (UFBA) e Dr. Eudes da Silva Veloso (UFBA) por aceitar o convite de participar da banca de defesa da tese.

A Botânica Prof<sup>ta</sup>. Maria Lenise Silva Guedes (Instituto de Biologia-UFBA) pela identificação da espécie.

Ao Prof. Eudes Veloso e sua equipe do Lapem, que nos abrigou quando o IQ foi interditado. Em especial a Railda que possibilitou que o trabalho pudesse ser realizado da melhor forma possível. Agradeço a amizade que ficou...

Ao Dr. Massuo Jorge Kato e a Dra. Lydia Fumiko Yamaguchi do Instituto de Química – USP e a Dra. Otília D. Pessoa – UFC pelas aquisições dos espectros de massa.

A minha grande irmã e amiga Ítala, que sem medir esforços me apoiou e muito contribuiu para que hoje eu pudesse dividir com todos mais esta conquista.

A minha abençoada família que mesmo distante e vivenciando momentos muito difíceis e tristes mostrou-se unida, amorosa, companheira, cúmplice e confiante.

A meu grande amor Erick pelo incentivo, doação, companheirismo, amor e carinho.

Ao meu cunhado Adriano pela amizade e por suportar meus dias de stress.

A meu amigo e irmão Luciano pelo apoio sempre.

A Paulo Daniel (gaúcho), Miquéias e Martins pela amizade, pelas discussões químicas e por suas críticas construtivas que muito contribuíram para a qualidade do trabalho.

A minha amiga Mayara por tudo...

A Zeninha pela amizade e força nos momentos muito difíceis pelos quais passei...

A Ivoneide e Elisângela que sempre se dispuseram a ajudar quando se fazia necessário a realização de uma análise de RMN e pela amizade.

A Dra Lourdes Cardoso de Souza Neta e a Dra Regina Geris pela confiança no trabalho realizado no laboratório de Bioensaios e pela amizade.

Aos colegas e amigos do lab 110 pelas conversas de corredor que tanto alegrava o dia-a-dia.

Aos colegas e amigos do lab 106 (LBQM) pela convivência diária, pelo cafezinho, pelas conversas descontraídas e por suportar meus ataques de loucura.

A minha amiga e mãe científica Profa. Rosilene A. de Oliveira que permitiu que eu pudesse realizar uma parte da tese em seu laboratório e sob sua orientação. Felizmente, nesse período eu pude conviver um pouco mais com o meu pai que faleceu três meses depois (muita saudade).

Aos meus colegas e amigos do lab 119 pela amizade, companheirismo e pela agradável convivência.

A Aninha, Egídia, Judhit, Alice, Aliomar e Rafael pela ajuda, paciência, compreensão e amizade.

Aos Professores da UESC e UFBA, que muito contribuíram para a minha formação e para esta conquista.

A CAPES, CNPq, FAPESB e FINEP pelo apoio financeiro.

“... todas as vezes que se comprometerem a fazer algo na vida, procurem fazer do melhor modo, com honestidade, sinceridade e acima de tudo, com bom senso e sensibilidade.  
... não se curvem às críticas insensatas, descomedidas, de pessoas que nem sempre têm consciência do seu momento.  
Façam de suas vidas uma eterna conquista, rumo ao conhecimento, à grandeza de ser, à autenticidade e serão, sempre, vencedores.”

M. Gandhi

## RESUMO

Os extratos etanólicos obtidos a partir das folhas e do caule de *Myrcia guianensis* foram particionados sequencialmente com hexano, diclorometano ou clorofórmio e acetato de etila. As fases em diclorometano e acetato de etila das folhas, bem como, as fases clorofórmica e hexânica do caule foram submetidas a vários procedimentos cromatográficos em coluna e em camada delgada preparativa. A partir da fase diclorometânica das folhas foram obtidos os sesquiterpenos 5-(6-metilheptan-2-ona)-biciclo-[3.1.0]-hexan-3-ona, 6-metil-5-(2-hidroxi-3-cloro-5-metilfenil)heptan-2-ona, 6-metil-5-(2-hidroxi-5-metilfenil)heptan-2-ona (sesquichamaenol) e oplopanona, sendo os dois primeiros inéditos. O estudo da fase acetato de etila resultou no isolamento do ácido gálico e dos flavonóides quercetina, quercitrina e guaijaverina. Da fase hexânica do caule foram isolados um sesquiterpeno aromático inédito do tipo cadinano, 7-hidroxi-5-isopropil-3,8-dimetil-2-metóxi-1,4-naftoquinona, e os esteróides  $\beta$ -sitosterol e seu derivado glicosilado, o daucosterol. A partir da fase clorofórmica foi isolada a lignana (-)-(8*R*,8'*R*)-9,9'-di-*O*-(*E*)-feruloil-secoisolariciresinol e sete triterpenos, sendo eles, ácido maslínico, ácido estáclico A e seu novo derivado *p*-cumárico, ácido 3 $\beta$ -*trans-p*-oxicumaroil-2 $\alpha$ ,23,29-triidroxi-olean-12-en-28-oico, ácido arjunólico e os derivados, ácido 3 $\beta$ -*trans-p*-oxicumaroil-2 $\alpha$ ,23-diidroxi-olean-12-en-28-oico, ácido 23-*trans-p*-oxicumaroil-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -diidroxi-olean-12-en-28-oico e o novo ácido 3 $\beta$ -*trans*-feruloil-2 $\alpha$ ,23-diidroxi-olean-12-en-28-oico. As estruturas destas substâncias foram determinadas e/ou identificadas por análises de Espectrometria no Infravermelho, Espectrometria de massas, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135°, HMBC, HMQC, COSY e NOESY.

**Palavras-chaves:** *Myrcia guianensis*, Myrtaceae, flavonoides, sesquiterpenos, triterpenos, lignana.

## ABSTRACT

The ethanolic extracts obtained from leaves and stems from *Myrcia guianensis* were partitioned sequentially with hexane, dichloromethane or chloroform and ethyl acetate. The dichloromethane and ethyl acetate phases of the leaves, as well as phases in hexane and chloroform of the stem were subjected to several column chromatographic and preparative thin layer procedures. From dichloromethane phase were obtained the sesquiterpenes 5 - (6-Methylheptan-2-one)-bicyclo[3.1.0]hexan-3-one, 6-methyl-5-(2-hydroxy-3-choro-5-methylphenyl)heptan-2-one, 6-methyl-5-(2-hydroxy-5-methylphenyl)heptan-2-one (sesquichamaenol) and oplopanone, the former two are new. The study of ethyl acetate phase resulted in the isolation of gallic acid and of the flavonoids quercetin, quercitrin and guaijaverin. From hexane phase of the stem were isolated a new aromatic cadinane type sesquiterpene, 7-hydroxy-5-isopropyl-3,8-dimethyl-2-methoxy-1,4-naphthoquinone, and the steroids  $\beta$ -sitosterol and its glycosylated derivative, the daucosterol. From the chloroformic phase of the stem was isolated the lignan (-)-(8*R*,8'*R*)-9,9'-di-*O*-(*E*)-feruloyl-secoisolariciresinol and seven triterpenes, the maslinic acid, stachlic acid A and its new *p*-coumaric derivative, 3 $\beta$ -*trans-p*-coumaroyloxy-2 $\alpha$ ,23,29-trihydroxyolean-12-en-28-oic, arjunolic acid and its derivatives 3 $\beta$ -*trans-p*-coumaroyloxy-2 $\alpha$ ,23-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid, 23-*trans-p*-coumaroyloxy-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihydroxyolean-12-en-28-oic acid and the new 3 $\beta$ -*trans*-feruloyloxy-2 $\alpha$ ,23-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid. The structure of these substances were determined and / or identified by Infrared Spectroscopy analysis, mass spectrometry, <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR, DEPT 135°, HMBC, HMQC, COSY and NOESY as well as by comparison with literature data.

**Word-keys:** *Myrcia guianensis*, Myrtaceae, flavonoids, sesquiterpenes, triterpenes, lignane.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Flores e frutos de <i>Myrcia guianensis</i>	17
Figura 2 – Espécies de Myrtaceae brasileiras	23
Figura 3 - Parque Metropolitano do Abaeté - Salvador-BA	30
Figura 4 - Exsicata da <i>Myrcia guianensis</i>	31
Figura 5 - Correlações gHMBC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ da substância <b>DI</b>	49
Figura 6 - Estrutura parcial A da substância <b>DI</b>	49
Figura 7 - Estrutura parcial B da substância <b>DI</b>	50
Figura 8 - Proposta de estrutura para <b>DI</b>	50
Figura 9 - Correlações gCOSY (-) da substância <b>DI</b>	50
Figura 10 - Correlações gCOSY (-) da substância <b>DI</b>	50
Figura 11 - Correlações gCOSY (-) da substância <b>DI</b>	51
Figura 12 - Correlações gCOSY (-) da substância <b>DI</b>	51
Figura 13 - Correlações gCOSY (-) da substância <b>DI</b>	51
Figura 14 - Correlações gCOSY (-) da substância <b>DI</b>	51
Figura 15 - Correlações NOESY da substância <b>DI</b>	52
Figura 16 - Deslocamentos químicos de RMN $^{13}\text{C}$ [ $\text{CDCl}_3$ ] das substâncias <b>DI</b> , cromolaevanodiona e di-idroxipalenona	53
Figura 17 - Dados de RMN $^{13}\text{C}$ de C6 e C9 para o Litseacromolaevano	53
Figura 18 – Estrutura da substância Saniculamóide D e proposta de estrutura para a substância <b>DI</b>	54
Figura 19 - Correlações HMBC da substância <b>DII</b>	59
Figura 20 - Correlações HMBC da substância <b>DII</b>	59
Figura 21 - Correlações HMBC da substância <b>DII</b>	59
Figura 22 -. Correlações HMBC da substância <b>DII</b>	59
Figura 23 -. Correlações HMBC da substância <b>DII</b>	59
Figura 24 -. Proposta de estrutura para <b>DII</b>	60
Figura 25 - Proposta de estrutura para <b>DIII</b>	61

Figura 26 - Correlações HMBC da substância <b>DIII</b>	62
Figura 27 - Correlações HMBC da substância <b>DIV</b>	63
Figura 28 - Correlações HMBC da substância <b>DIV</b>	63
Figura 29 - Sesquiterpeno Oplopanona	64
Figura 30 - Estrutura da substância <b>DIV</b>	64
Figura 31 - Proposta de estrutura da substância <b>HIII</b>	66
Figura 32 - Correlações gHMBC da substância <b>HIII</b>	67
Figura 33 - Correlações gHMBC da substância <b>HIII</b>	67
Figura 34 - Correlações gHMBC da substância <b>HIII</b>	67
Figura 35 - Correlações gHMBC da substância <b>HIII</b>	67
Figura 36 - Substância isoladas da família Malvaceae	68
Figura 37 - Triterpeno do tipo oleanano $\Delta^{12}$	69
Figura 38 - Proposta de estrutura para <b>CI</b>	71
Figura 39 - Ácido <i>p</i> -cumárico	74
Figura 40 - Proposta de estrutura para <b>CII</b>	75
Figura 41 - Correlações gHMBC da substância <b>CII</b>	76
Figura 42 - Ácido ferúlico	78
Figura 43 - Correlações gHMBC da substância <b>CIII</b>	79
Figura 44 - Correlações gHMBC da substância <b>CIII</b>	79
Figura 45 - Proposta de estrutura para <b>CIV</b>	81
Figura 46 - Correlações gHMBC da substância <b>CV</b>	82
Figura 47 - Estrutura da $\beta$ -amirina	84
Figura 48 - Estrutura do Ácido Maslínico	85
Figura 49 - Correlações gHMBC da substância <b>CVII</b>	88
Figura 50 - Estrutura do $\beta$ -sitosterol	90
Figura 51 - 3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopiranosídeo- $\beta$ -sitosterol – <b>HII</b>	91
Figura 52 - Proposta de estrutura para <b>AI</b>	94
Figura 53 - Correlações gHMBC da substância <b>AII</b>	96
Figura 54 - Correlações gHMBC da substância <b>AIII</b>	98
Figura 55 - Correlações gHMBC da substância <b>CVIII</b>	101
Figura 56 - Correlações gHMBC da substância <b>CVIII</b>	101
Figura 57 - Correlações gHMBC da substância <b>CVIII</b>	102

Figura 58 - Correlações gHMBC da substância <b>CVIII</b>	102
Figura 59 - Correlações gHMBC da substância <b>CVIII</b>	102
Figura 60 - Correlações gHMBC da substância <b>CVIII</b>	103
Figura 61 - Proposta de estrutura para <b>CVIII</b>	103
Figura 62 - Estrutura da substância <b>CVIII</b> : (-)-(8 <i>R</i> ,8' <i>R</i> )-9,9'-di- <i>O</i> -( <i>E</i> )-feruloil- secoisolariciresinol	104
Figura 63 - Proposta de estrutura para a substância <b>AIV</b>	106
Figura 64 – Constituintes químicos isolados a partir das folhas de <i>Myrcia guianensis</i>	107
Figura 65 – Constituintes químicos isolados a partir dos caules de <i>Myrcia guianensis</i>	108

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Obtenção das fases em hexano, diclorometano e acetato de etila das folhas de <i>M. guianensis</i>	32
Esquema 2 - Fluxograma do fracionamento da fase diclorometânica das follhas de <i>M. guianensis</i>	33
Esquema 3 - Fluxograma do fracionamento da fração MGA-(1-5)	34
Esquema 4 - Estudo cromatográfico da fração DMGA-(6-25)	35
Esquema 5 - Fracionamento da fase em acetato de etila das follhas de <i>M. guianensis</i>	36
Esquema 6 – Estudo cromatográfico da fração AMG-(8-14)B-(1-60) da fase em acetato de etila	37
Esquema 7 - Obtenção das fases em hexano, clorofórmio e acetato de etila dos caules de <i>M. guianensis</i>	38
Esquema 8 - Fracionamento da fase clorofórmica do caule de <i>M. guianensis</i>	39
Esquema 9 - Estudo cromatográfico da fração CMG-(2-5)B20	40
Esquema 10 - Estudo cromatográfico da fração CMG-(2-5)B21	41
Esquema 11 - Estudo cromatográfico da fração CMG-(2-5)B23	42
Esquema 12 - Estudo cromatográfico da fração CMG-(2-5)B25-26	43
Esquema 13 - Fracionamento da fase hexânica do caule de <i>M. guianensis</i>	44
Esquema 14 - Estudo cromatográfico da fração EHCMG-(2-5)B29-31	45

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Dados de RMN  $^1\text{H}$  [500 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$  e  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{H}}$  (ppm)], RMN  $^{13}\text{C}$  [125 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$  e  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] e correlações de HMBC da substância **DI** e dados da literatura [ $\text{C}_6\text{D}_6$  e  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{H}}$  (ppm) e  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{C}}$ ] (MISRA, JAKUPOVIC, BOHLMANN, 1985) 56
- Tabela 2 - Dados de RMN  $^1\text{H}$  [500 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$  e  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{H}}$  (ppm)] e RMN  $^{13}\text{C}$  [125 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$  e  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] da substância **DI** e dados da literatura do saniculamoide D [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{H}}$  (ppm) e 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] (Li *et al.*, 2011) 57
- Tabela 3 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{H}}$  (ppm)], RMN de  $^{13}\text{C}$  [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] e correlações de HMBC da substância **DII** e dados da literatura (ZHANG *et al.*, 2003) 60
- Tabela 4 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  [300 MHz e 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$   $\delta$  (PPM)] e correlações de HMBC da substância **DIII** e dados da substância **DII** 62
- Tabela 5 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$  (ppm)] e RMN de  $^{13}\text{C}$  [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$  (ppm)] da substância **DIV** e dados da literatura [400 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 75 MHz ( $^{13}\text{C}$ ),  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)] 65
- Tabela 6 - Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da substância **DIII** [500 MHz e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)] 68
- Tabela 7 - Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  da substância **CI** [125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] e dos ácidos oleanólico e arjunólico [piridina- $d_5$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] (AGRAWAL, 1992) 73
- Tabela 8 - Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **CI** (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ), **CII** (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ), **CIII** (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ), **CIV** (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ), **CV** (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e dos ácidos 3 $\beta$ -*trans*-*p*-oxicumaroil-2 $\alpha$ ,23-diidroxi-olean-12-en-28-oico e 23-*trans*-*p*-oxicumaroil-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -diidroxi-olean-12-en-28-oico [piridina- $d_5$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] (GU, 2001) 77
- Tabela 9 - Dados de RMN  $^1\text{H}$  das substâncias **CI** (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ), **CII** (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ), **CIII** (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ), **CIV** (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ) e **CV** (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 83
- Tabela 10 - Dados de RMN  $^1\text{H}$  das substâncias **CI** (ácido arjunólico) (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),

	<b>CVI</b> (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD), <b>CVII</b> (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD)	86
Tabela 11	- Dados de RMN de <sup>13</sup> C [125 MHz, CD <sub>3</sub> OD, δ <sub>C</sub> (ppm)] das substâncias <b>CVI</b> e <b>CVII</b> , bem como de <b>CI</b> (ácido arjunólico) [125 MHz, CD <sub>3</sub> OD, δ <sub>C</sub> (ppm)] e dos ácidos maslínico [CD <sub>3</sub> OD, δ <sub>C</sub> (ppm)] (TANACA, VIDOTTI, SILA, 2003) e estáclico A [125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N, δ <sub>C</sub> (ppm)] (YANG <i>et al.</i> , 2006)	87
Tabela 12	- Dados de RMN de <sup>13</sup> C das substâncias <b>HI</b> [125 MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ <sub>C</sub> (ppm)], β-sitosterol [125 MHz, CDCl <sub>3</sub> , δ <sub>C</sub> (ppm)], <b>III</b> [125 MHz, piridina-d <sub>5</sub> , δ <sub>C</sub> (ppm)] e daucosterol [125 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> , δ <sub>C</sub> (ppm)] (MOGHADDAM <i>et al.</i> , 2007)	92
Tabela 13	- Dados de RMN de <sup>1</sup> H [300 MHz, CD <sub>3</sub> COCD <sub>3</sub> , δ <sub>H</sub> (ppm)] e RMN de <sup>13</sup> C [75 MHz, CD <sub>3</sub> COCD <sub>3</sub> , δ <sub>C</sub> (ppm)] da substância <b>AI</b> e dados da literatura [300 MHz ( <sup>1</sup> H) e 75 MHz ( <sup>13</sup> C), DMSO-d <sub>6</sub> , δ (ppm)] (ADEROGBA, OGUNDAINI, ELOFF, 2006)	94
Tabela 14	- Dados de RMN <sup>1</sup> H [300 MHz, CD <sub>3</sub> COCD <sub>3</sub> , δ <sub>H</sub> (ppm)] e RMN <sup>13</sup> C [75 MHz, CD <sub>3</sub> COCD <sub>3</sub> , δ <sub>C</sub> (ppm)] da substância <b>AII</b> e dados da literatura [400 MHz ( <sup>1</sup> H) e 100 MHz ( <sup>13</sup> C), DMSO-d <sub>6</sub> , δ (ppm)] (SANTOS <i>et al.</i> , 2005)	97
Tabela 15	- Dados de RMN <sup>1</sup> H [300 MHz, CD <sub>3</sub> COCD <sub>3</sub> , δ <sub>H</sub> (ppm)] e RMN <sup>13</sup> C [75 MHz, CD <sub>3</sub> COCD <sub>3</sub> , δ <sub>C</sub> (ppm)] da substância <b>AIII</b> e dados da literatura [400 MHz ( <sup>1</sup> H) e 62,5 MHz ( <sup>13</sup> C), CD <sub>3</sub> OD, δ (ppm)] (ARIMA <i>et al.</i> , 2002)	99
Tabela 16	- Dados de RMN de <sup>1</sup> H [500 MHz, CD <sub>3</sub> COCD <sub>3</sub> , δ <sub>H</sub> (ppm)] e RMN de <sup>13</sup> C [125 MHz, CD <sub>3</sub> COCD <sub>3</sub> , δ <sub>C</sub> (ppm)] da substância <b>CVIII</b> e dados da literatura [400 MHz ( <sup>1</sup> H) e 100 MHz ( <sup>13</sup> C), CDCl <sub>3</sub> , δ (ppm)] (CHEN <i>et al.</i> , 2008)	105

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

CCDC	Cromatografia em Camada Delgada Comparativa.
CCDP	Cromatografia em Camada Delgada Preparativa.
gCOSY	gradient Correlation Spectroscopy
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer.
<i>d</i>	Dupleto.
<i>dd</i>	Duplo dupleto.
<i>ddd</i>	Duplo duplo dupleto.
EM	Espectrometria de massas.
gHMBC	gradient Heteronuclear Multiple Bond Correlation.
gHMQC	gradient Heteronuclear Multiple Quantum Coherence.
IV	Infravermelho.
IDH	Índice de Deficiência de Hidrogênio.
<i>J</i>	Constante de acoplamento.
MeOH	Metanol.
<i>m/z</i>	Relação massa/carga.
<i>m</i>	Multiplete.
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy.
PF	Ponto de Fusão.
ppm	Parte por milhão.
<i>q</i>	Quarteto.
RMN de <sup>1</sup> H	- Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup> H.
RMN de <sup>13</sup> C	- Ressonância Magnética Nuclear de <sup>13</sup> C.
<i>s</i>	Simpleto.
<i>sl</i>	Simpleto largo.
TMS	Tetrametilsilano.
[ $\alpha$ ]	Rotação específica.
$\delta$	Deslocamento químico.

## SUMÁRIO

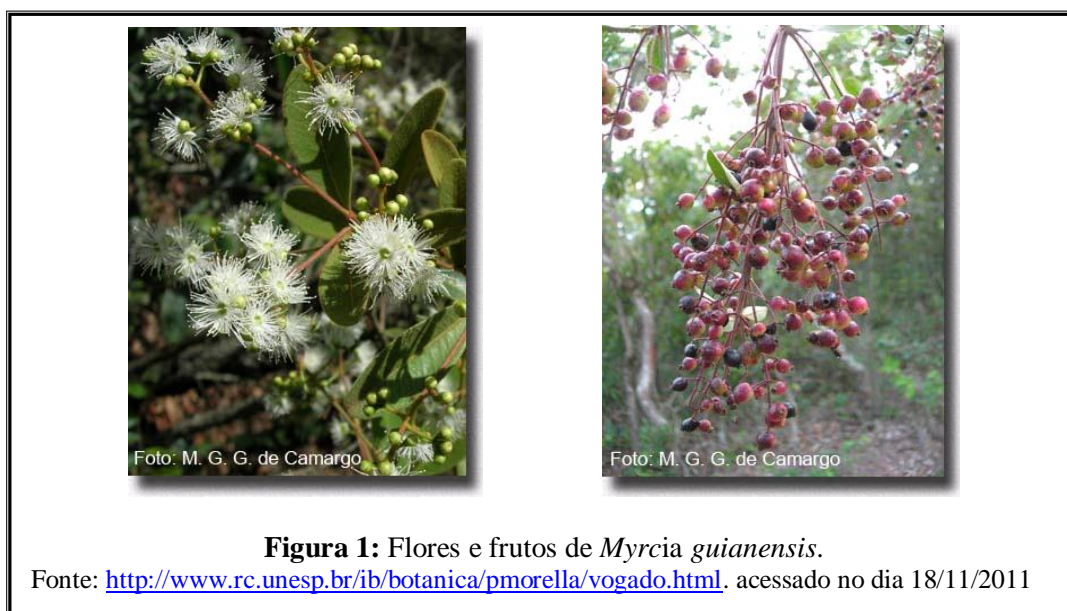
<b>APRESENTAÇÃO</b>	17
<b>CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO</b>	20
<b>1.0 INTRODUÇÃO</b>	21
1.0.1 A família Myrtaceae	21
1.0.2 Terpenos	24
<b>1.1 OBJETIVOS</b>	26
<b>CAPÍTULO II – PARTE EXPERIMENTAL</b>	27
<b>2.0 PARTE EXPERIMENTAL</b>	28
2.1 Métodos de análise	28
2.1.1 Métodos Cromatográficos	28
2.2 Métodos físicos	28
2.2.1 Ponto de fusão	28
2.2.2 Espectroscopia de IV	29
2.2.3 Espectroscopia de RMN	29
2.2.4 Espectrometria de massas	29
2.2.5 Rotação óptica	30
2.3 Material Vegetal	30
2.4 Isolamento dos constituintes químicos das folhas e caule de <i>M. guianensis</i>	31
2.4.1 Obtenção das fases hexânica, diclorometânica e acetato de etila a partir das folhas	31
2.4.1.1 Fracionamento cromatográfico da fase em diclorometano das folhas	33
2.4.1.1.1 Fracionamento cromatográfico da fração DMGA-(1-5)	33
2.4.1.1.2 Fracionamento cromatográfico da fração DMGB-(6-25)	34
2.4.1.2 Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das folhas	36
2.4.1.2.1 Análise das frações AMG-(8-14)B-(1-60)	37
2.4.2 Obtenção das fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila a partir do extrato etanólico dos caules de <i>M. guianensis</i>	37
2.4.2.1 Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica do caule de <i>M. guianensis</i>	39
2.4.2.1.1 Fracionamento cromatográfico da fração CMG-(2-5)B20	40
2.4.2.1.2 Fracionamento cromatográfico da fração CMG-(2-5)B21	41
2.4.2.1.3 Fracionamento cromatográfico da fração CMG-(2-5)B23	42



2.4.2.1.4	Fracionamento cromatográfico da fração CMG-(2-5)B25-26	43
2.4.2.2	Fracionamento cromatográfico da fase hexânica do caule <i>M. guianensis</i>	44
2.4.2.2.1	Fracionamento cromatográfico da fração EHCMG-(2-5)B29-31	45
<b>CAPÍTULO III - RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>		
<b>3.0</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	47
<b>3.1</b>	<b>Sesquiterpenos</b>	47
3.1.1	Substância DI	47
3.1.2	Substância DII	58
3.1.3	Substância DIII	61
3.1.4	Substância DIV	63
3.1.5	Substância HIII	65
<b>3.2</b>	<b>Triterpenos</b>	69
3.2.1	Substância CI	69
3.2.2	Substância CII	74
3.2.3	Substância CIII	78
3.2.4	Substância CIV	80
3.2.5	Substância CV	81
3.2.6	Substância CVI	84
3.2.7	Substância CVII	88
<b>3.3</b>	<b>Esteróides</b>	90
3.3.1	Substância HI	90
3.3.2	Substância HII	91
<b>3.4</b>	<b>Fenilpropanóides</b>	93
3.4.1	Substância AI	93
3.4.2	Substância AII	95
3.4.3	Substância AIII	98
3.4.4	Substância CVIII	100
3.4.5	Substância AIV	106
<b>CAPÍTULO IV - CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>		109
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	109
<b>REFERÊNCIAS</b>		111
<b>ANEXO – Espectros de EM, IV e RMN uni e bidimensionais das substâncias isoladas</b>		

## Apresentação

Os espécimens de *Myrcia guianensis* apresentam-se como arbustos cujas folhas contêm glândulas oleíferas, flores brancas e pequenos frutos (Figura 1) e pode ser encontrada nas dunas da Lagoa do Abaeté – Salvador-BA. Pertence à família Myrtaceae e ao gênero *Myrcia*, o qual constitui um dos gêneros mais representativos das mirtáceas americanas com aproximadamente 500 espécies (LUCAS *et al.*, 2007).



Popularmente, a *Myrcia guianensis*, assim como as espécies *M. sphaerocarpa*, *M. citrifolia* e *Eugenia citrifolia* são chamadas de pedra-ume-caá. Essas espécies são utilizadas na medicina popular para tratamento da diabetes (JORGE *et al.*, 2000).

Apesar da grande representatividade do gênero *Myrcia* e do conhecimento empírico da utilização de suas espécies no tratamento de doenças como diabetes, pouco se conhece sobre o perfil químico das espécies desse gênero.

O estudo fitoquímico dessa espécie foi iniciado em 2003 e pesquisa bibliográfica realizada nessa época revelou que não havia qualquer estudo fitoquímico sobre a espécie e poucos relatos foram obtidos para o gênero, o que motivou a realização do estudo. Em outubro de 2011, uma nova pesquisa bibliográfica foi realizada no Scifinder empregando o termo *Myrcia* e foram obtidos 128 resultados. Dentre esses artigos, somente trinta e um continham o termo *Myrcia* em seus títulos. Desses, dezessete relatam o estudo químico do óleo essencial de diversas espécies de *Myrcia* (ANON, 1910; PICKLES, 1911; NADAL, 1957, 1959; HENRIQUES *et al.*, 1997; ZOGHBI *et al.*, 2003; LIMBERGER *et al.*, 2004;

STEFANELLO *et al.*, 2007, 2010, 2011; COLE *et al.*, 2008; CERQUEIRA *et al.*, 2007, 2009; ALARCON *et al.*, 2009; CANDIDO, *et al.*, 2010; NAKAMURA *et al.*, 2010; TENORIO *et al.*, 2011), dez descrevem a atividade antidiabética, hepatoprotetora, inibidora das enzimas tireóide peroxidase e da alfa glucosidase de extratos e de algumas substâncias isoladas de *Myrcia uniflora* e *multiflora* (HECHT, 1984; RUSSO *et al.*, 1990; PEPATO *et al.*, 1993; NAKAYAMA *et al.*, 1997; YOSHIKAWA *et al.*, 1998, 2000; FERREIRA *et al.*, 2006, 2010; ISHIYAMA *et al.*, 2008), e somente quatro artigos relatam o estudo fitoquímico das espécies *Myrcia uniflora*, *Myrcia multiflora* e *Myrcia citrifolia* (GOTTLIEB *et al.*, 1972; MATSUDA *et al.*, 2002; BATISTA *et al.*, 2011; FERREIRA *et al.*, 2011), os quais relatam o isolamento dos flavonóides miricitrina, myrciacitrinas I, II, III, IV e V, myrciafenonas A e B e a eucaliptina, o triterpeno  $\beta$ -amirina e o derivado do ácido benzóico, 2',4',6'-triidroxiaacetofenona.

Como visto acima, mais de 50% das pesquisas realizadas com espécies do gênero *Myrcia* envolvem o estudo químico dos óleos essenciais e somente 12% relatam o estudo fitoquímico dos constituintes químicos fixos de espécies desse gênero. Dentre as espécies de *Myrcia* relatadas nesses estudos, nenhum relato foi encontrado para *Myrcia guianensis*.

Pesquisas bibliográficas realizadas em outras fontes de pesquisa, tais como o google, resultaram em dois artigos. Um deles relata o potencial alelopático do óleo essencial, dos extratos e das substâncias ácido gálico e ácido protocatecuico de *M. guianensis* (SOUZA *et al.*, 2006) e o outro descreve a anatomia foliar das espécies denominadas de pedra-ume-caá (JORGE *et al.*, 2000). Além dessas informações, Cerqueira (2008) relata a composição química do óleo essencial das folhas de *M. guianensis*, o qual contém o  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -terpineno, p-cimeno, eucaliptol, linalol, trans-pinocarveol, pinocarvona, myrtenol, ciclosativeno,  $\alpha$ -ylangeno,  $\alpha$ -santaleno e óxido de cariofileno.

Diante desse cenário foi iniciado o estudo fitoquímico de *M. guianensis* começando pela fase diclorometânica do extrato etanólico das folhas. Esse estudo resultou no isolamento de duas flavonas C- metiladas, sendo uma inédita; um sesquiterpeno do tipo bourbonano, inédito em plantas, mas já descrito como produto de síntese; uma tetralona e um triterpeno pentacíclico do tipo ursano, conhecido como ácido ursólico (FEHLBERG, 2007).

Esses resultados motivaram a continuidade do estudo químico da fase diclorometânica do extrato etanólico das folhas e o início do estudo químico da fase acetato de etila das folhas e das fases clorofórmica e hexânica do caule, visando traçar o perfil químico da espécie.

O presente trabalho é constituído por dois volumes. O v. 1 apresenta quatro capítulos, que estão subdivididos em: Capítulo I – Introdução; Capítulo II – Parte experimental; Capítulo III – Resultados e discussões; Capítulo IV – Considerações finais, quadro com as substâncias isoladas de *Myrcia guianensis*, referências. O v. 2 é o anexo onde estão os espectros de EM, IV e RMN unidimensionais ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135°) e bidimensionais (HMBC, gHMBC, HMQC, gHMQC, COSY e NOESY) das substâncias isoladas.

*Capítulo I – Introdução*

---

## 1.0 Introdução

### 1.0.1 A FAMÍLIA MYRTACEAE

A família Myrtaceae possui cerca de 140 gêneros e mais de 3000 espécies, o que a posiciona como a maior família da ordem Myrtales (GOMES *et al.*, 2009). Ela apresenta centros de dispersão na Austrália, sudeste da Ásia, América tropical e temperada, tendo pouca representação na África (WILSON *et al.*, 2001).

Segundo De Candolle, a família Myrtaceae era dividida nas subfamílias Leptospermoideae, predominante na Oceania, caracterizada pelos frutos secos, e Myrtoideae, com frutos carnosos, de distribuição pantropical. Entretanto, estudos filogenéticos recentes mostraram que os caracteres usados para a distinção entre as duas subfamílias não eram consistentes (WILSON *et al.*, 2001, 2005) e que caracteres como frutos secos ou carnosos surgiram independentemente em diversas linhagens da família (LIMA *et al.*, 2011). Atualmente, a nova classificação proposta por Wilson e colaboradores (2005), com base em estudos filogenéticos, reconhece duas subfamílias, Myrtoideae e Psiloxyleae, e 17 tribos (GRESSLER *et al.*, 2006). Todos os gêneros capsulares (a tradicional Leptospermoideae) foram incluídos na Myrtoideae (COSTA *et al.*, 2008). Dentro desta subfamília há 15 tribos (WILSON *et al.*, 2005), dentre as quais está a Myrteae, que compreende todas as mirtáceas americanas à exceção do gênero andino *Tepualia* Griseb. (LIMA *et al.*, 2011).

Segundo Wilson e colaboradores (2005) as demais tribos dessa subfamília são Backhousieae, Chamelaucieae, Eucalypteae, Kanieae, Leptospermeae, Lindsayomyrteae, Lophostemoneae, Melaleuceae, Metrosidereae, Myrteae, Osbornieae, Syncarpieae, Syzygieae, Tristanieae, Xanthostemoneae. A subfamília Psiloxyleae apresenta duas tribos monogenéricas: Psiloxyleae e Heteropyxideae (WILSON *et al.*, 2005).

A tribo Myrteae DC. de distribuição Pantropical é representada por árvores ou, ocasionalmente, arbustos. Compreende 49 gêneros e cerca de 2500 espécies, incluindo os grandes gêneros *Eugenia* (com mais de 550 espécies estimadas) e *Myrcia* (entre 250-500 espécies). A maior diversidade de espécies dessa tribo ocorre na América do Sul, particularmente ao longo da costa brasileira, na Guiana e no caribe (LUCAS *et al.*, 2007).

A Myrtaceae é uma das famílias mais importantes do Brasil destacando-se, com mais de uma centena de espécies, os gêneros *Eugenia*, *Myrcia* e *Calypttranthes*, enquanto o restante dos gêneros possui menos de 60 espécies brasileiras (GRESSLER *et al.*, 2006). No Brasil, as

espécies de Myrtaceae estão restritas à tribo Myrteae, classicamente subdividida nas subtribos Myrtinae, Eugeniinae e Myrciinae (GOMES *et al.*, 2009). É uma das famílias lenhosas dominantes em várias formações vegetais brasileiras, especialmente na Floresta Atlântica onde mais de 50 espécies podem ocorrer sintopicamente (GRESSLER *et al.*, 2006).

As mirtáceas brasileiras apresentam grande potencial econômico, pois os frutos de algumas espécies podem ser comercializados. Dentre várias espécies frutíferas podem-se citar a goiabeira (*Psidium guajava* L.), jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg.) e a pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) (GRESSLER *et al.*, 2006) (Figura 2). Outra espécie de mirtácea que é explorada comercialmente no Brasil, mas é uma mirtácea australiana é o *Eucalyptus globulus*. Seu óleo essencial é utilizado pelas indústrias na fabricação de produtos farmacêuticos inalantes, em produtos de higiene bucal, produtos de limpeza, como sabão e desinfetante, e como aromatizante em medicamentos. A indústria de papel também utiliza a madeira do *Eucalyptus globulus* para a fabricação de papéis (ROCHA, 2007).

As espécies da família Myrtaceae são utilizadas também em ornamentação, especiarias e na medicina popular. Os botões florais do “cravo-da-índia” (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry) e frutos da “pimenta-da-jamaica” (*Pimenta dióica* (L.) Merr.) são especiarias utilizadas como condimentos. Na medicina popular destacam-se o eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.) empregado no tratamento da gripe, congestão nasal e sinusite; do “camu-camu” (*Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh) que apresenta alto teor de vitamina C e do “jambolão” (*Syzygium cumini* (L.) Skeels), usado como hipoglicemiante para controle do diabetes (SILVA, 2009). Outro uso medicinal é a utilização das folhas de *Psidium guajava* no tratamento de doenças pulmonares, tosse, vômitos e diarreia, além de atuar como agente hemostático, antiinflamatório, antimicrobiano e antiamebíico (LAPSICK *et al.*, 2005).

As mirtáceas apresentam também uma grande importância ecológica, pois seus frutos suculentos e carnosos são fontes de alimento à fauna silvestre. Muitos tipos de aves e macacos que se alimentam desses frutos acabam veiculando a dispersão das sementes, favorecendo a sobrevivência e permanência das espécies do qual se beneficiam (SILVA, 2009).

A presença de flores, geralmente de cor branca e seu aroma doce são responsáveis pela atração visual e olfativa dos polinizadores garantindo a reprodução das espécies (GRESSLER *et al.*, 2006) (Figura 2, p. 21).



**Figura 2:** Espécies de Myrtaceae brasileiras. Flores: 1. *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret (foto: J.P.H.J. Ducroquet). 2. *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg (foto: C.E.B. Proença). 3. *Calycorectes australis* D. Legrand. 4. *Calypranthes lanceolata* O. Berg. 5. *Campomanesia pubescens* (DC.) O. Berg. 6. *Eugenia stipitata* McVaugh (foto: S.A.N. Ferreira). 7. *Myrcia rostrata* DC. (foto: H.M. Torezan-Silingardi). 8. *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh (foto: M.M. Maués). Frutos: 9. *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. 10. *Eugenia cuprea* (O. Berg) Mattos. 11. *Eugenia mosenii* (Kausel) Sobral. 12. *Eugenia multicostata* D. Legrand. 13. *Gomidesia flagellaris* D. Legrand. 14. *Marlierea obscura* O. Berg. 15. *Myrceugenia myrcioides* (Cambess.) O. Berg. 16. *Psidium guajava* L. Barras = 1 cm.

(GRESSLER *et al.*, 2006)



O perfil químico relatado para as espécies da família Myrtaceae é composto por flavonóides (FERREIRA *et al.*, 2006; HABERLEIN *et al.*, 1998; MUSTAFA *et al.*, 2005; ONYILAGHA, 2004; SRIVASTAVA *et al.*, 1995; WOLLENWEBER *et al.*, 2000), taninos (LEE *et al.*, 1997; TANAKA *et al.*, 1996; YOSHIDA *et al.*, 1996; YANG *et al.*, 2000), adutos do floroglucinol (UMEHARA *et al.*, 1998), acetofenonas (YOSHIKAWA *et al.*, 1998) e terpenos que podem ocorrer na forma livre ou glicosilados e como ésteres de fenilpropanoides (BENYAHIA *et al.*, 2005; CONNOLLY, 2000; DJOUKENG *et al.*, 2005; GU *et al.*, 2001; LEE, 1998; MAHATO, 1997; SIDDIQUI *et al.*, 2000; SRIVASTAVA *et al.*, 1995).

### 1.0.2 TERPENOS

Dentre as classes de produtos naturais de ampla ocorrência em plantas superiores estão os terpenos (COLOMA *et al.*, 2011). Esses compostos podem ser encontrados também em organismos marinhos, algas, microrganismos e em menor extensão em fungos (HILL & CONNOLLY, 2005). Apresentam uma grande diversidade estrutural derivada da junção cabeça-cauda de unidades de cinco átomos de carbonos chamadas de unidades isoprênicas. As estruturas químicas formadas através da junção de duas, três, quatro, cinco, seis e oito unidades isoprênicas são chamadas de mono, sesqui, di, sester, tri e tetraterpenos, respectivamente. Dessas classes, os mono e sesquiterpenos são os principais constituintes dos óleos essenciais e das resinas. Os representantes das demais classes são em sua maioria sólidos e podem ser encontrados na forma livre, glicosilados ou como ésteres. Até o momento, estima-se que haja aproximadamente 30.000 terpenos identificados, sendo 4.000 referentes a triterpenos (DZUBAK *et al.*, 2005).

Os triterpenos têm despertado grande interesse por parte dos pesquisadores devido a seu amplo espectro de atividade biológica, tais como anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antiviral, antitumoral, antidiabética, antiulcerogênica, anticariogênica, hepatoprotetora, neuroprotetora, antiparasítica, analgésica e antioxidante (COLOMA *et al.*, 2011).

Os triterpenos compreendem um grande número de diferentes tipos de compostos que podem ser subdivididos em famílias de estruturas químicas importantes. Os principais grupos de triterpenoides e seus derivados glicosilados são representados por derivados tetracíclicos

dos protostanos, cicloartanos, damaranos, eufanos e derivados pentacíclicos do tipo ursano, oleanano, gamacerano, lupano e ropano (PATOCKA, 2003).

Os triterpenos pentacíclicos apresentam um esqueleto com trinta átomos de carbonos arrançados em cinco anéis de seis carbonos (ursanos e lanostanos) ou quatro anéis de seis e um anel de cinco carbonos (lupanos e ropanos). Dentre esses compostos, o betulinol é o mais abundante na natureza e é o precursor na biosíntese de muitos compostos biologicamente potentes, como o ácido betulínico (PATOCKA, 2003). O betulinol e seus derivados esterificados têm sido utilizados na produção de cosméticos e como matéria prima na produção do PVC (PATOCKA, 2003). O ácido betulínico é um potente agente anti-inflamatório que atua na inibição das enzimas na rota do ácido araquidônico e tem sido considerado um agente anticancerígeno em potencial. Estudos experimentais realizados com o ácido betulínico têm revelado uma forte seletividade frente às células do melanoma humano, evitando o ataque às células normais. Esta característica faz do ácido betulínico único em comparação aos compostos que são correntemente usados na terapia contra o câncer, tais como taxol, camptotecina, elipticina, etoposídeo, vinblastina e a vincristina. Esses compostos são muito tóxicos e inibem a replicação de ambas as células cancerígenas e normais. No entanto, são utilizadas como as drogas de escolha na quimioterapia (PATOCKA, 2003). A ausência de toxicidade frente às células normais e a alta atividade antitumoral têm feito do ácido betulínico um forte candidato para a terapia adjuvante no tratamento do melanoma humano (PISHA *et al.*, 1995; PATOCKA, 2003). Outra atividade de destaque do ácido betulínico e de seus derivados é a de proteção das células do sistema imunológico humano contra o ataque pelo vírus HIV (PATOCKA, 2003).

Outra importante função apresentada por triterpenos pentacíclicos está relacionada com o tratamento da Diabetes Tipo 2. Estudos têm revelado que triterpenos do tipo oleanano, ursano e lupano têm atuado como inibidores da enzima glicogênio fosforilase, diminuindo os níveis de glucose no sangue. Dentre esses compostos, estão o ácido oleanólico, ácido maslínico e seus derivados, ácido arjunólico e ácido corosólico. Essa inibição tem feito desses compostos alvos terapêuticos promissores para o tratamento de doenças causadas por anomalias no metabolismo do glicogênio (CHEN *et al.*, 2006; WEN *et al.*, 2005, 2006, 2008; LIANG *et al.*, 2011).

Além das propriedades medicinais relatadas para os triterpenos, o campo da nanociência e química supramolecular tem demonstrado grande interesse nessas moléculas. O triterpeno pentacíclico triidroxilado do tipo oleanano, conhecido como ácido arjunólico, bem

como seus derivados alquílicos e arílicos tem sido alvo de estudos nessa área. A propriedade desses compostos de gelificar quando em contato com solventes orgânicos em baixa concentração tem aberto a possibilidade de empregá-los em diversas áreas, tais como, fotografia, liberação de drogas no organismo, indústria alimentícia, cosméticos, hidrometalurgia e indústria de lubrificantes (BAG *et al.*, 2005a, 2005b, 2006, 2009; SETH *et al.*, 2011).

Além dos triterpenos, os sesquiterpenos constituem outra classe de terpenos com grande diversidade de estruturas e de ocorrência em plantas, fungos e algumas bactérias. Nas plantas, participam ativamente dos processos de interações entre planta-planta, planta-inseto e planta-patógeno protegendo-as dos ataques de predadores.

Os sesquiterpenos apresentam esqueletos isoprenóides-C<sub>15</sub> com uma ampla diversidade estrutural e complexidade estereoquímica, contando com mais de 300 tipos de sesquiterpenos cíclicos já caracterizados (PICAUD, 2006). Esses compostos são quimicamente definidos por sua formação a partir de um precursor C<sub>15</sub> comum, pirofosfato de farnesila, o qual é formado a partir de três unidades de pirofosfato de isopentenila. Eles ocorrem com monoterpenoides em óleos essenciais de plantas e podem ser classificados como acíclicos, monocíclicos, bicíclicos ou tricíclicos. Alguns são hidrocarbonetos insaturados simples, mas muitos têm grupos funcionais extras e podem ser álcoois, cetonas ou ácidos carboxílicos.

Os óleos essenciais constituem uma grande fonte de sesquiterpenos e os compostos bisabolol, cariofileno,  $\alpha$ -cadineno,  $\beta$ -farneseno e  $\beta$ -selineno apresentam ampla distribuição nos voláteis de espécies das famílias Labiatae, Myrtaceae, Pinaceae, Rutaceae e Lauraceae.

## 1.1 Objetivos

- ◆ Estudar a composição química das folhas e caules de um espécimen de *Myrcia guianensis* que ocorre na Lagoa do Abaeté, Salvador-BA.

*Capítulo II – Parte Experimental*.....

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1 MÉTODOS DE ANÁLISE

#### 2.1.1 Métodos cromatográficos

As análises cromatográficas em camada delgada comparativa (CCDC) foram realizadas utilizando placas de vidro com tamanhos de 2,5 x 7,0 cm e 5,0 x 20,0 cm. Foi utilizado o adsorvente sílica gel 60 GF<sub>254</sub> e HF<sub>254 + 366</sub> da marca Merck. As análises por cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) foram realizadas em placas de vidro de tamanho 20,0 x 20,0 cm nas quais foram espalhadas uma suspensão de sílica em água destilada com o auxílio de um espalhador do tipo Heidelberg para obenção de placas com 1,00 mm espessura. O adsorvente utilizado foi sílica gel 60 HF<sub>254 + 366</sub> da marca Merck.

As revelações das substâncias nas cromatoplasas foram realizadas através de exposição destas em lâmpada de irradiação na faixa do ultravioleta (UV) nos comprimentos de onda 254 e 366 nm.

As análises por cromatografia em coluna foram realizadas utilizando o adsorvente sílica gel 60 70–230 mesh e 230–400 mesh da Merck. Esta última foi utilizada nas etapas de purificação.

A quantidade de sílica utilizada nos procedimentos cromatográficos em coluna foi trinta vezes maior que a massa da amostra.

Os solventes utilizados durante as análises cromatográficas foram de qualidade P.A das marcas Merck, Grupo Química, Vetec, Quimex ou previamente destilados.

A destilação dos solventes dos extratos e frações resultantes dos processos cromatográficos foi realizada sob pressão reduzida em evaporador rotatório.

### 2.2 MÉTODOS FÍSICOS

#### 2.2.1 Ponto de fusão

As medidas de faixa de fusão das substâncias isoladas foram realizadas em equipamento da Microquímica modelo APF-301.

### 2.2.2 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos na faixa de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  usando espectrômetro BOMEM-MB-102. As amostras foram preparadas na forma de pastilhas de KBr, para amostras sólidas e em filme com clorofórmio para amostras que apresentaram-se como uma cera.

### 2.2.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ), uni- e bidimensionais foram obtidos em espectrômetros VARIAN GEMINI 2000 e INOVA 500 operando na frequência de 300 e 500 MHz, respectivamente, para hidrogênio e 75 e 125 MHz para Carbono-13. Os solventes deuterados utilizados na dissolução das amostras e obtenção dos espectros foram: clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ ), acetona ( $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ), benzeno ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ), metanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e piridina ( $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}-d_5$ ).

Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  pelo pico de hidrogênio pertencente à fração não deuterada dos solventes: clorofórmio ( $\delta_{\text{H}}$  7,27;  $\delta_{\text{C}}$  77,00), acetona ( $\delta_{\text{H}}$  2,05;  $\delta_{\text{C}}$  29,90 ), benzeno ( $\delta_{\text{H}}$  7,15;  $\delta_{\text{C}}$  128,0), metanol ( $\delta_{\text{H}}$  3,31;  $\delta_{\text{C}}$  49,15) e piridina ( $\delta_{\text{H}}$  8,74; 7,58; 7,22;  $\delta_{\text{C}}$  150,35; 135,91; 123,87).

### 2.2.4 Espectrometria de massas (EM)

Os espectros de massas de baixa e alta resolução foram obtidos em:

- espectrômetro HP 5973 por inserção direta com impacto de elétrons e operando a 70 eV.
- espectrômetro Quattro II triplo quadrupolo Micromass. Interface: *electrospray* no modo positivo de ionização. Fragmentação do íon molecular com energia de colisão de 25 eV (gás de colisão: argônio).
- espectrômetro com ionização por *electrospray* (EM-IES). Os espectros foram registrados num espectrômetro LCMS-IT-TOF (SHIMADZU), sendo os “scans” adquiridos no modo positivo. Condições: voltagens do *end plate* 3500 V e do capilar 4000 V, temperatura e fluxo

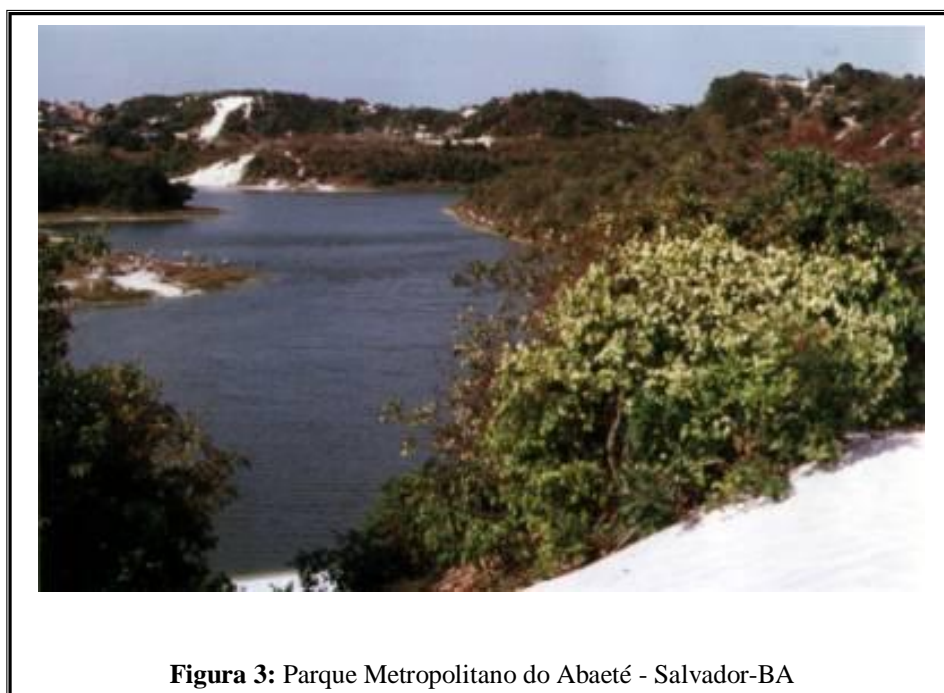
de gás seco: 150 °C e 150 µL/h. Nitrogênio foi utilizado como gás nebulizador. Laboratório de Espectrometria de massas do Nordeste- LEMANOR (UFC).

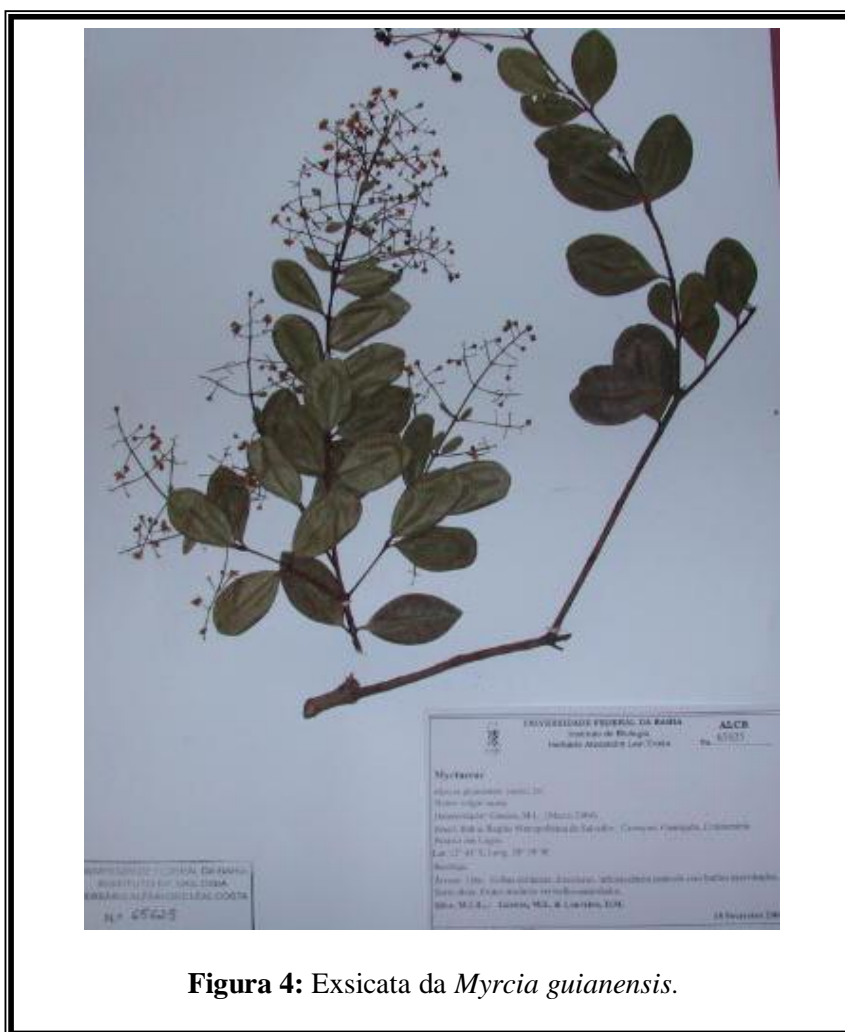
### 2.2.5 Rotação Óptica

As medidas de rotação óptica específica das substâncias DI, CII, CIII, CIV, CVII, e CVIII foram obtidas em polarímetro digital Perkin-Elmer 343 com filtro de Na e cela de quartzo com 10 mm de caminho óptico. Para a substância DIII, a determinação da rotação óptica específica foi realizada em polarímetro digital JASCO DIP-370, filtro de Na e cela de quartzo com 10 mm de caminho óptico.

## 2.3 MATERIAL VEGETAL

O espécime foi coletado em quatorze de fevereiro de 2004 no Parque Metropolitano do Abaeté - Salvador-BA (**Figura 3**) pelo professor Dr. Frederico Guaré Cruz, sendo identificado pela botânica Prof<sup>a</sup> Maria Lenise Silva Guedes do Instituto de Biologia – UFBA e registrada no Herbário “Alexandre Leal Costa” do Instituto de Biologia da UFBA sob o número ALCB 65625 (**Figura 4**).





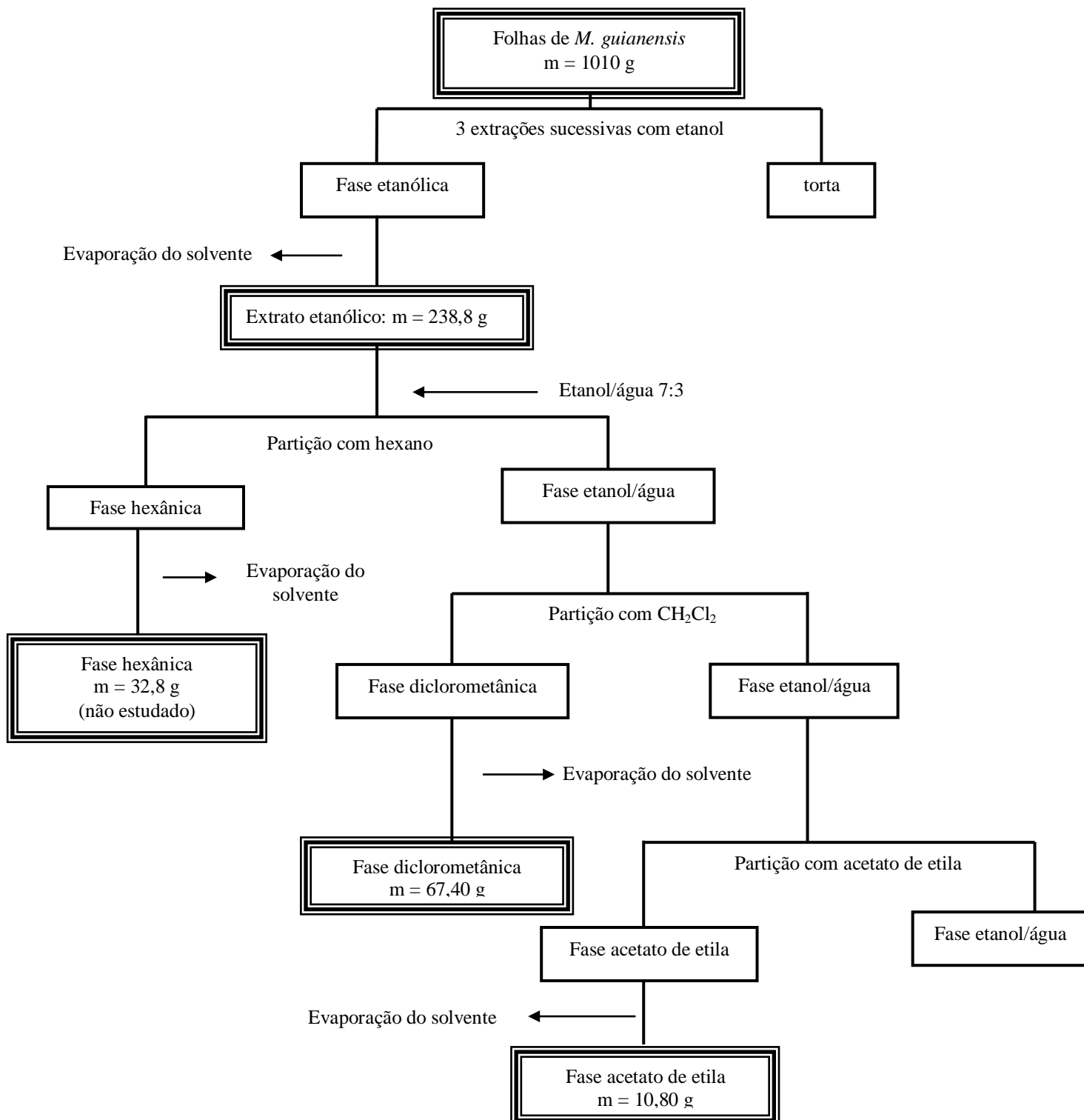
**Figura 4:** Exsicata da *Myrcia guianensis*.

## 2.4 ISOLAMENTOS DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS FOLHAS E CAULE DE *Myrcia guianensis*

### 2.4.1 Obtenção das fases hexânica, diclorometânica e acetato de etila a partir do extrato etanólico das folhas

As folhas ( $m = 1010$  g) de *M. guianensis* foram secadas à temperatura ambiente e trituradas em moinho. O material foi submetido a três extrações sucessivas com etanol, por um período de 72 horas cada. Ao final a fase etanólica foi concentrada a um volume final de 450 mL ao qual foi acrescentado 135 mL de água. A seguir a solução foi submetida à partição com os solventes hexano, diclorometano e acetato de etila, respectivamente. Este procedimento foi realizado por três vezes com cada solvente, que após evaporação originaram as fases hexânica, diclorometânica e acetato de etila (Esquema 1).

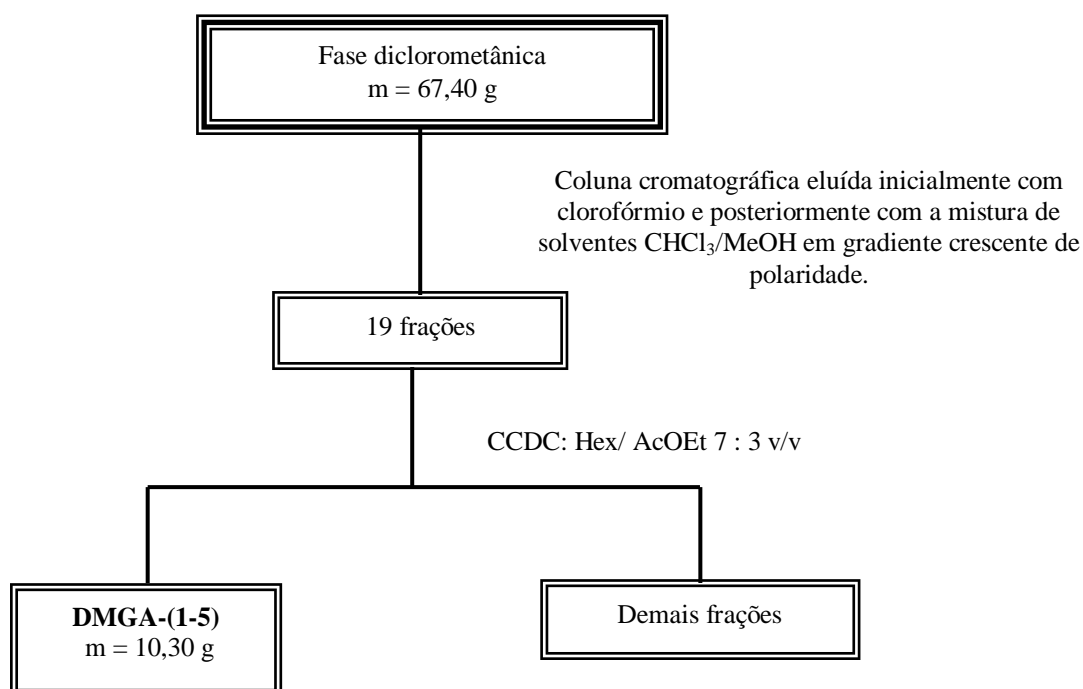




**Esquema 1:** Obtenção das fases em hexano, diclorometano e acetato de etila do extrato etanólico das folhas de *M. guianensis*.

### 2.4.1.1 Fracionamento cromatográfico da fase diclorometânica das folhas

A fase diclorometânica ( $m = 67,40$  g) foi fracionada em coluna de sílica gel (70-230 mesh), eluída inicialmente com clorofórmio. A polaridade do eluente foi gradualmente aumentada pela adição de metanol. Foram obtidas 19 frações de 250 mL cada, que foram concentradas e analisadas por CCDC (Esquema 2). As cinco primeiras frações foram reunidas, sendo estas as únicas estudadas até o momento. Esta fração foi denominada DMGA-(1-5) e foi escolhida para estudo por apresentar um maior número de manchas e uma melhor resolução na CCDC, além disso, após a análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração foi possível identificar sinais na região de 7,00 a 8,00 ppm e de 0,7 a 1,4 ppm que permitiram sugerir a presença de substâncias aromáticas e terpênicas.

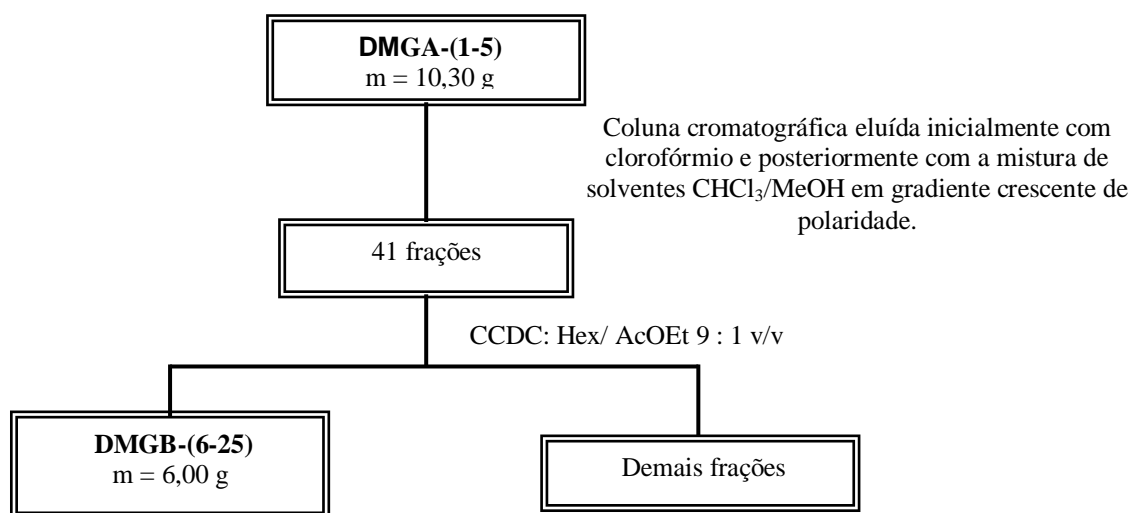


**Esquema 2:** Fluxograma do fracionamento da fase diclorometânica das folhas de *M. guianensis*.

#### 2.4.1.1.1 Fracionamento cromatográfico da fração DMGA-(1-5)

A fração DMGA-(1-5) ( $m = 10,30$  g) foi submetida a um fracionamento em coluna de sílica gel 60 (70-230 mesh) eluída inicialmente com clorofórmio. A polaridade do eluente foi aumentada de forma gradual com adição de metanol até alcançar a percentagem de 100% do

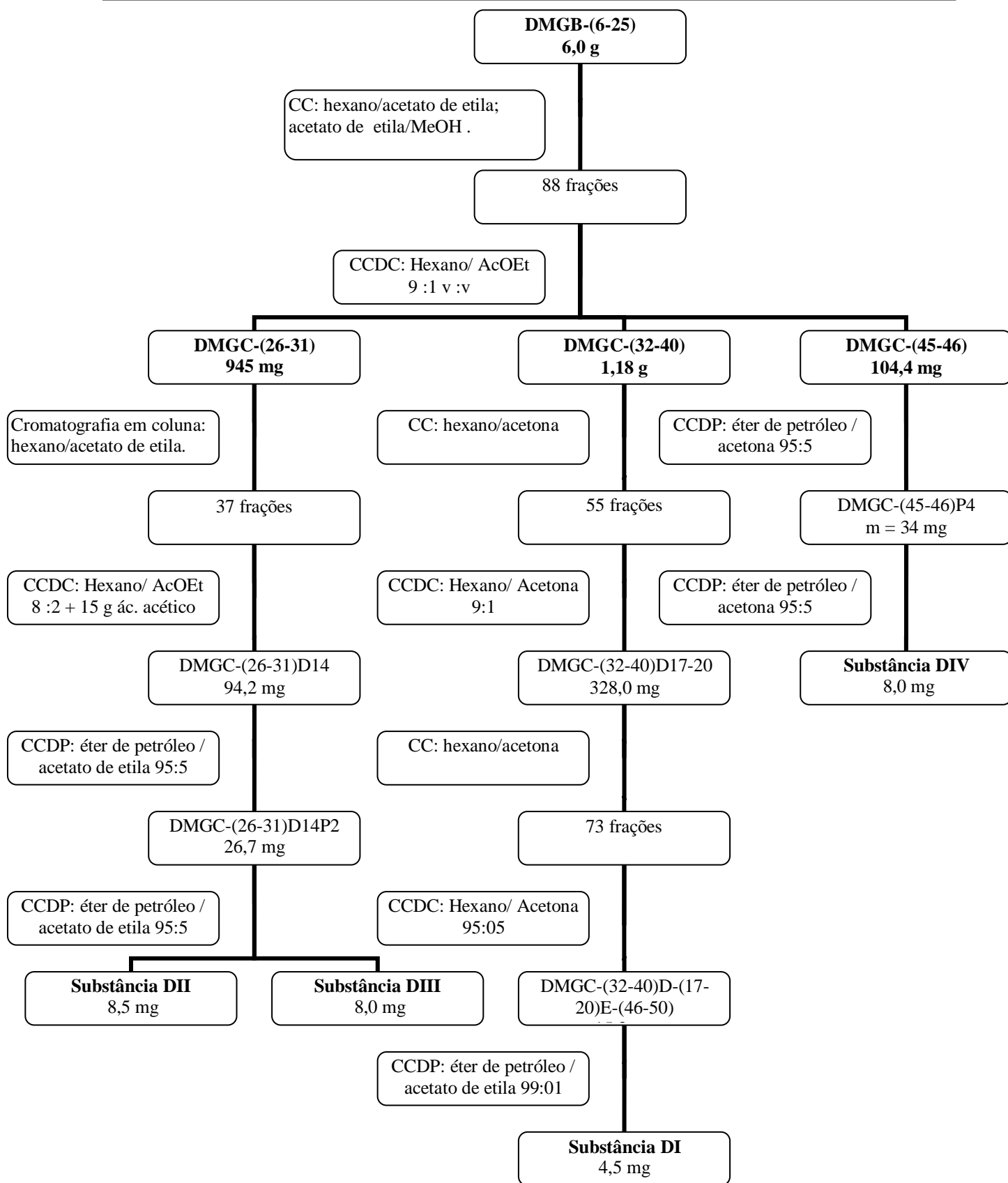
álcool. Foram obtidas 41 frações de 100 mL cada, que foram denominadas DMGB, estas foram concentradas e analisadas por CCDC (Esquema 3). As frações DMGB-6 a DMGB-25 foram reunidas, sendo denominadas DMGB-(6-25) (Esquema 4, p 39). Esta fração foi selecionada para estudo por apresentar um maior número de manchas e uma maior massa.



**Esquema 3:** Fluxograma do fracionamento da fração MGA-(1-5)

#### 2.4.1.1.2 Fracionamento da fração DMGB-(6-25)

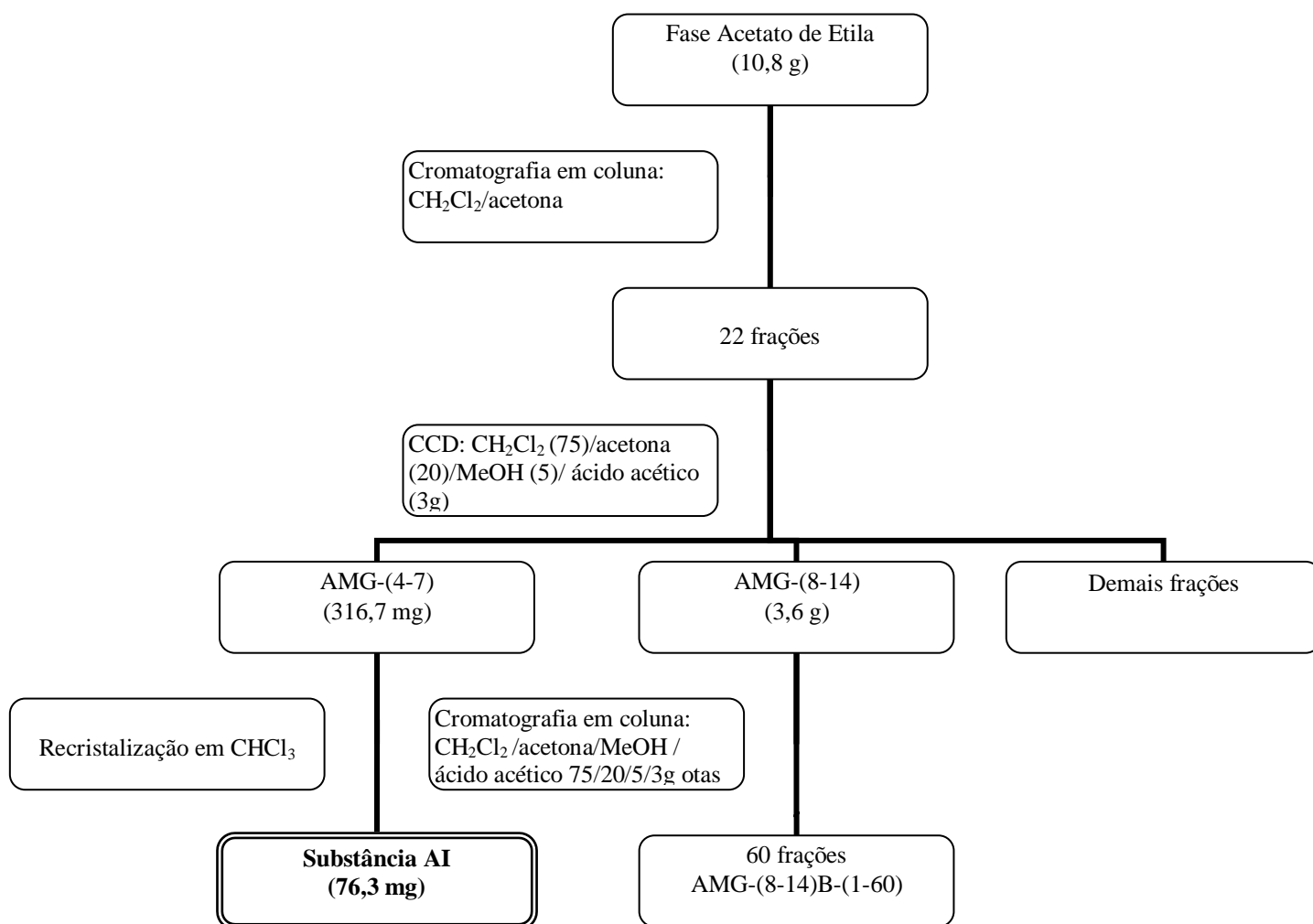
A fração DMGB-(6-25) ( $m = 6,0$  g) foi submetida a um fracionamento em coluna de sílica gel 60 (70-230 mesh) eluída inicialmente com hexano. A polaridade do eluente foi aumentada de forma gradual com adição de acetato de etila. Após eluir somente com acetato de etila, a polaridade da fase móvel foi gradualmente aumentada com a adição crescente de metanol à mistura acetato de etila / MeOH. Foram obtidas 88 frações de 100 mL cada, sendo denominadas DMGC, estas foram analisadas por CCDC e reunidas em 29 novas frações. Dessa, DMGC-(26-31), DMGC-(32-40) e DMGC-(45-46) foram selecionadas para estudo e resultaram no isolamento das substâncias DI, DII, DIII e DIV (Esquema 4).



Esquema 4: Estudo cromatográfico da fração DMGB-(6-25)

### 2.4.1.2 Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das folhas

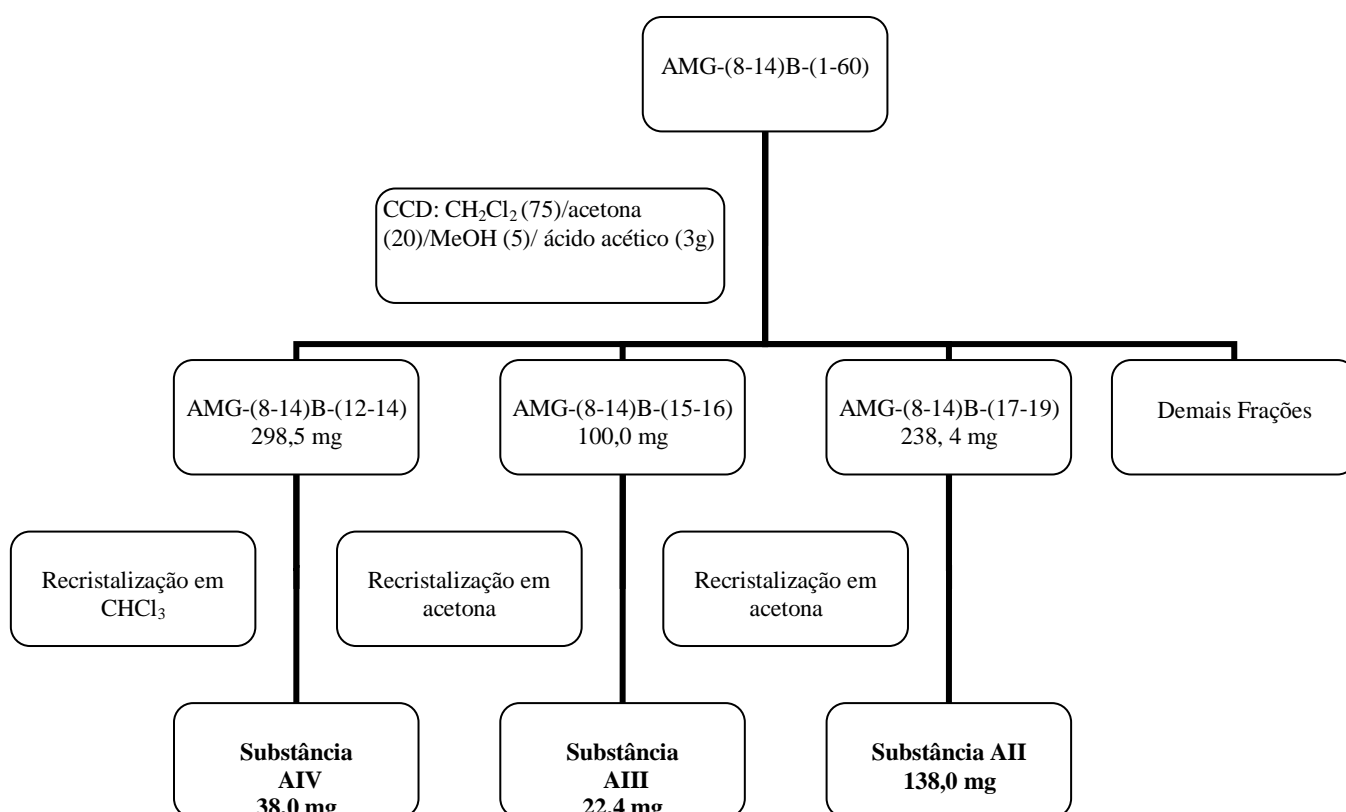
A fase acetato de etila (m = 10,80 g) foi fracionada em coluna de sílica gel (70-230 mesh), sendo eluída inicialmente com diclorometano. A polaridade do eluente foi gradualmente aumentada pela adição de acetona. Foram obtidas 22 frações de 250 mL cada, que foram concentradas e analisadas por CCDC (Esquema 5). Foram agrupadas as frações quatro a sete e oito a quatorze. A fração AMG-(4-7) apresentou sólido amarelo e foi submetida a recristalização em clorofórmio resultando no isolamento da substância AI. A fração oito a quatorze foi denominada AMG-(8-14) e foi escolhida para estudo por apresentar maior massa e melhor resolução na CCDC.



**Esquema 5:** Fracionamento da fase acetato de etila das follhas de *M. guianensis*.

### 2.4.1.2.1 Análise das frações AMG-(8-14)B-(1-60)

As frações AMG-(8-14)B-(1-60) foram analisadas por CCDC usando o sistema de eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /acetona/MeOH/ ácido acético 75/20/5/3gotas e resultaram no agrupamento das subfrações descritas no esquema abaixo. Todas essas subfrações foram submetidas a processos de recristalização e resultaram no isolamento das substâncias AII, AIII e AIV (Esquema 6).

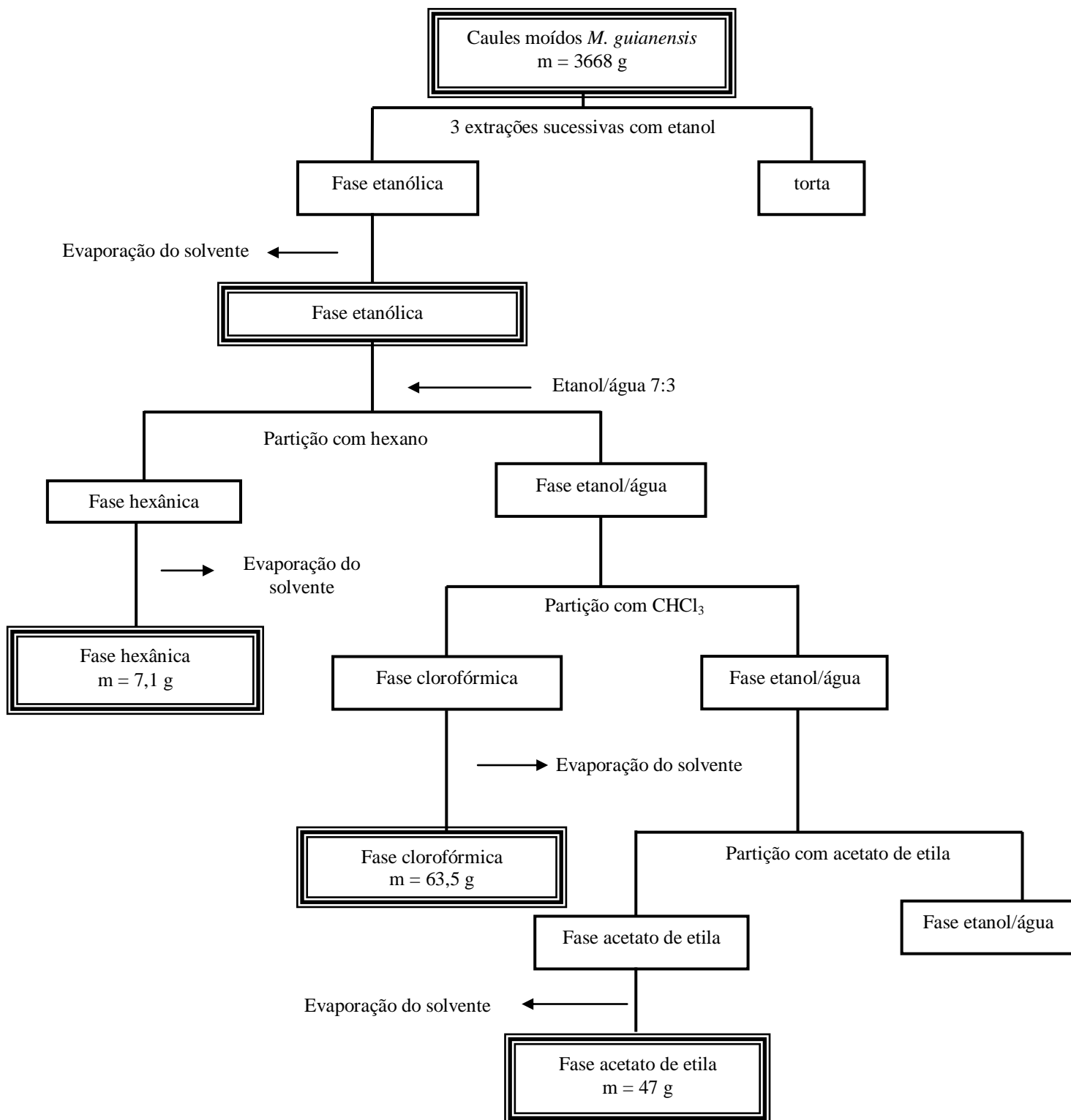


**Esquema 6:** Estudo cromatográfico da fração AMG-(8-14)B-(1-60) da fase acetato de etila.

### 2.4.2 Obtenção das fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila a partir do extrato etanólico dos caules de *M. guianensis*

Os caules ( $m = 1010$  g) de *M. guianensis* foram secados à temperatura ambiente e triturados em moinho. O material foi submetido a três extrações sucessivas com etanol, por um período de 72 horas cada. Ao final a fase etanólica foi concentrada a um volume final de 450 mL ao qual foi acrescentado 135 mL de água. A seguir a solução foi submetida à partição

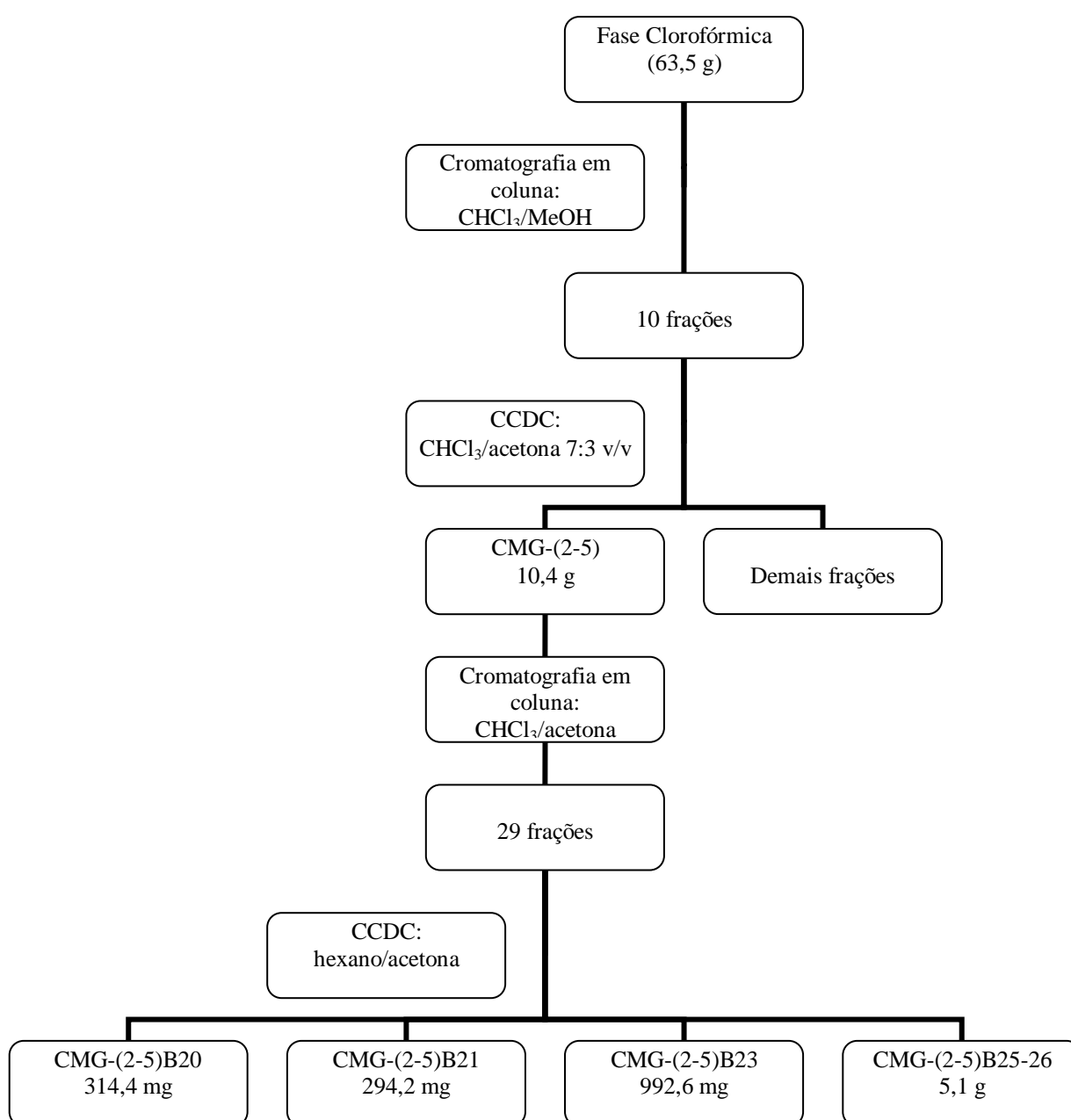
com os solventes hexano, clorofórmio e acetato de etila, respectivamente. Este procedimento foi realizado por três vezes com cada solvente, que após evaporação originaram as fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila (Esquema 7).



**Esquema 7:** Obtenção das fases em hexano, clorofórmio e acetato de etila do extrato etanólico dos caules de *M. guianensis*.

**2.4.2.1 Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica do caule de *Myrcia guianensis*:**

A fase clorofórmica (m = 63,5 g) foi fracionada em coluna de sílica gel (70-230 mesh), eluído inicialmente com clorofórmio. A polaridade do eluente foi gradualmente aumentada pela adição de metanol até adição de metanol 100%. Foram obtidas 10 frações de 250 mL cada, que foram concentradas e analisadas por CCDC (Esquema 8). As frações de dois a cinco foram reunidas e fracionadas resultando em vinte e nove subfrações. Destas, foram estudadas a CMG-(2-5)B20, CMG-(2-5)B21, CMG-(2-5)B23 e a CMG-(2-5)B22-26.

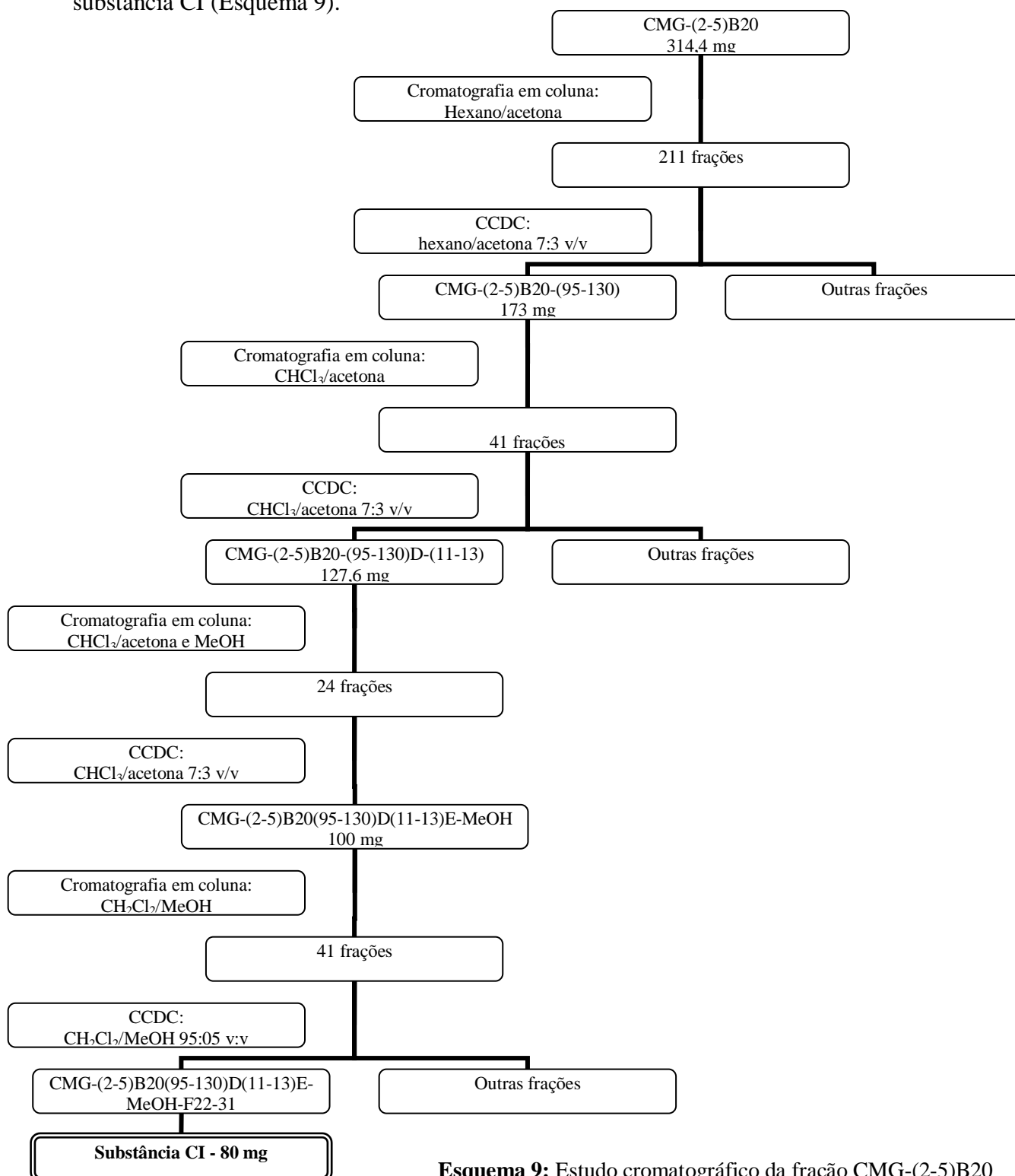


**Esquema 8:** Fracionamento da fase clorofórmica do caule de *M. guianensis*



**2.4.2.1.1 Fracionamento cromatográfico da fração CMG-(2-5)B20**

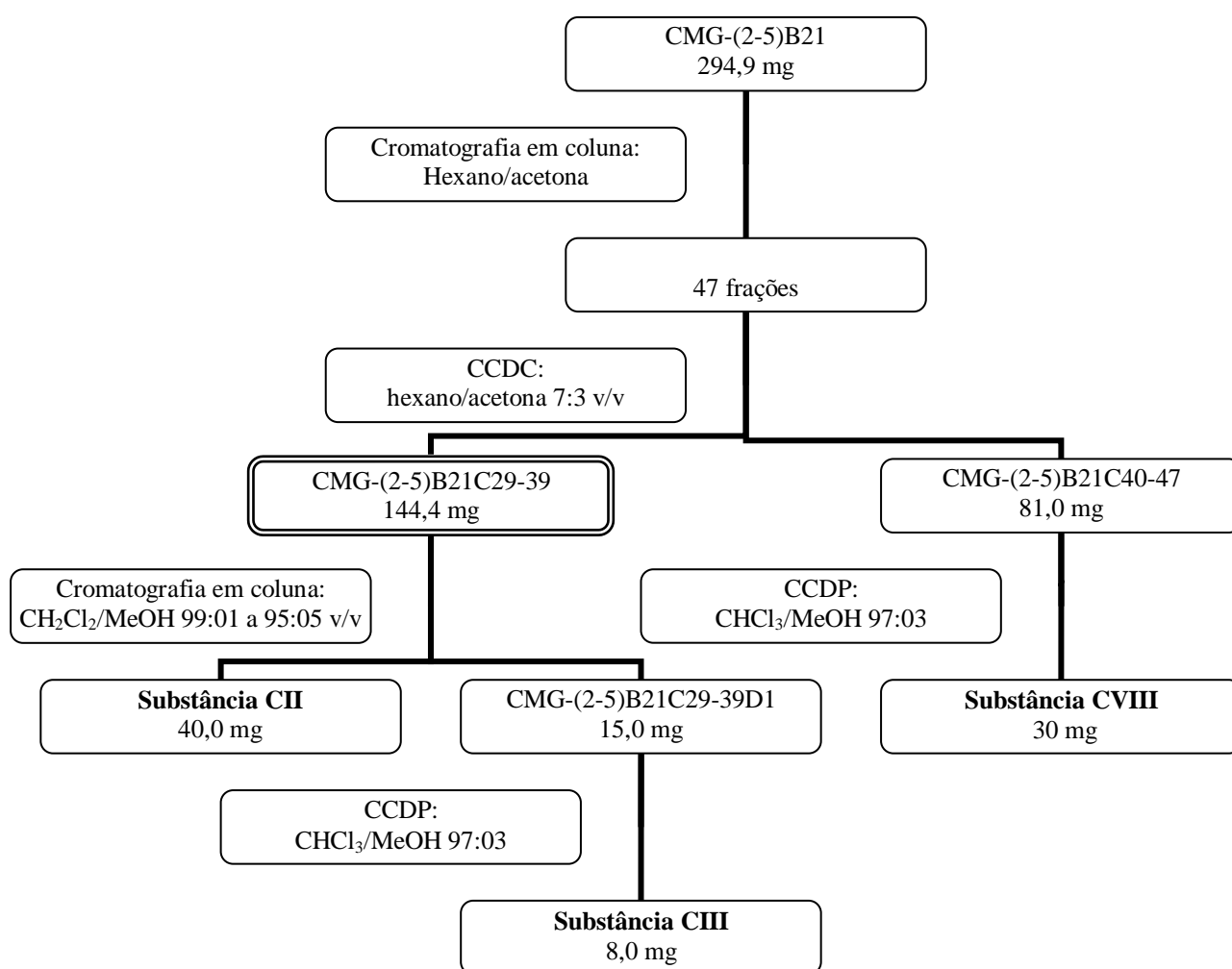
A fração CMG-(2-5)B20 (m =314,4 mg) foi submetida a sucessivos processos cromatográficos em coluna de sílica gel 60 (70-230 mesh) que resultaram no isolamento da substância CI (Esquema 9).



**Esquema 9:** Estudo cromatográfico da fração CMG-(2-5)B20

**2.4.2.1.2 Fracionamento cromatográfico da fração CMG-(2-5)B21**

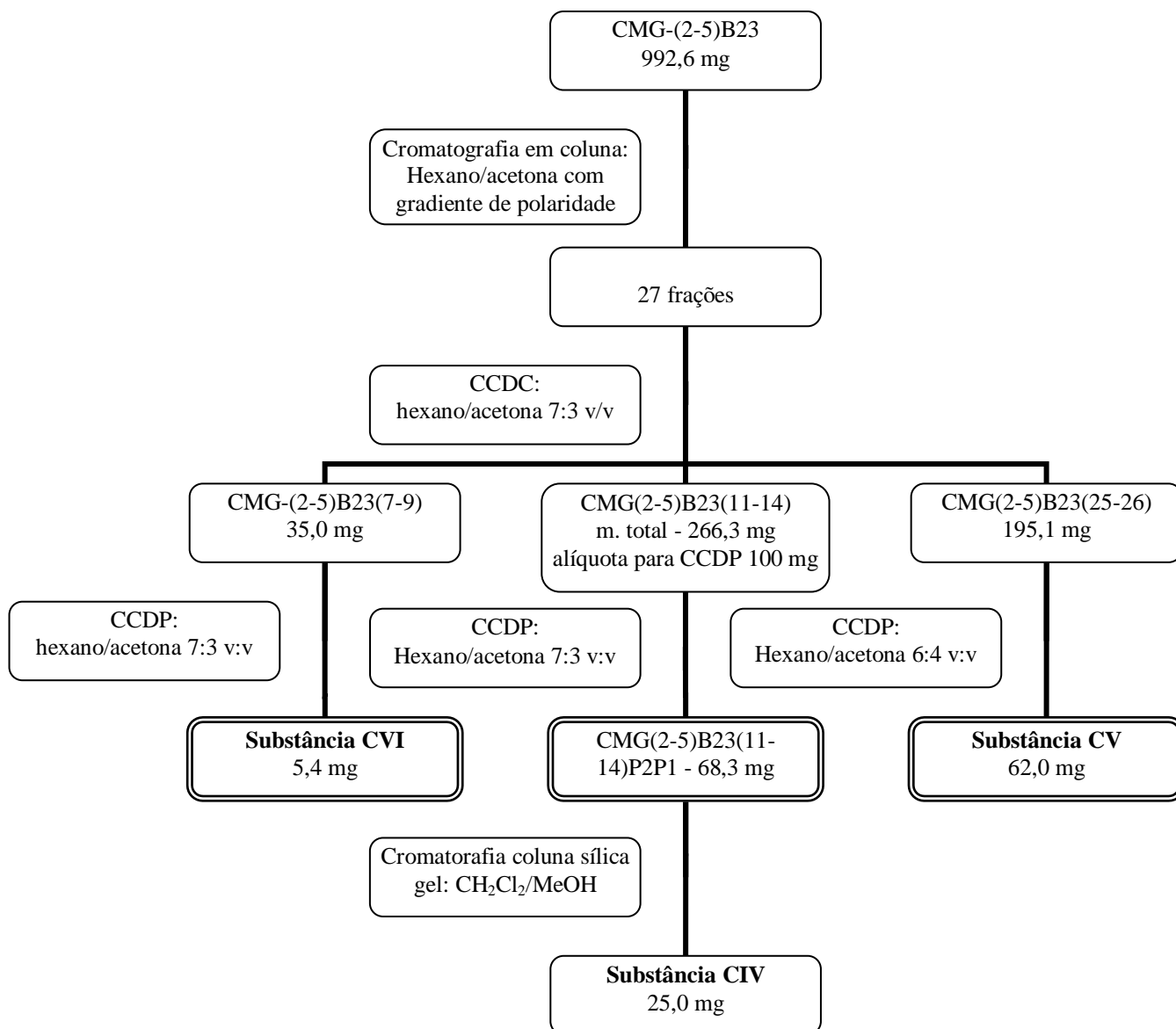
A fração CMG-(2-5)B21 (m = 294,9 mg) foi submetida a processos de separação cromatográficos em coluna de sílica gel 60 (70-230 mesh) e de purificação por cromatografia em camada delgada preparativa resultando no isolamento das substâncias CII, CIII e CVIII (Esquema 10).



**Esquema 10:** Estudo cromatográfico da fração CMG-(2-5)B21.

### 2.4.2.1.3 Fracionamento cromatográfico da fração CMG-(2-5)B23

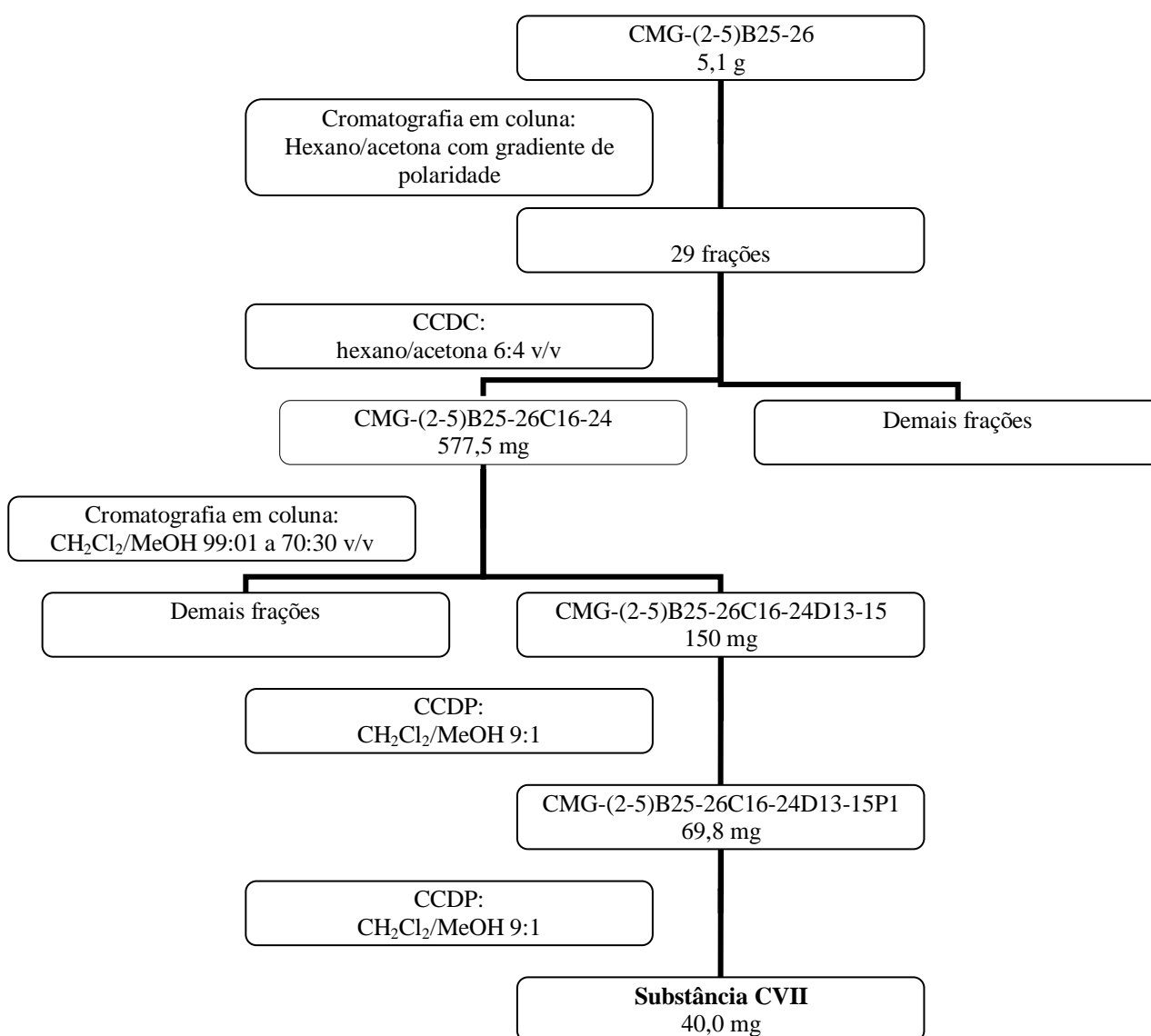
A fração CMG-(2-5)B23 (m = 992,6 mg) foi submetida a fracionamento cromatográfico em coluna de sílica gel 60 (70-230 mesh) fornecendo três subfrações que foram purificadas por cromatografia em camada delgada preparativa resultando no isolamento das substâncias CIV, CV e CVI (Esquema 11).



**Esquema 11:** Estudo cromatográfico da fração CMG-(2-5)B23

#### 2.4.2.1.4 Fracionamento cromatográfico da fração CMG-(2-5)B25-26

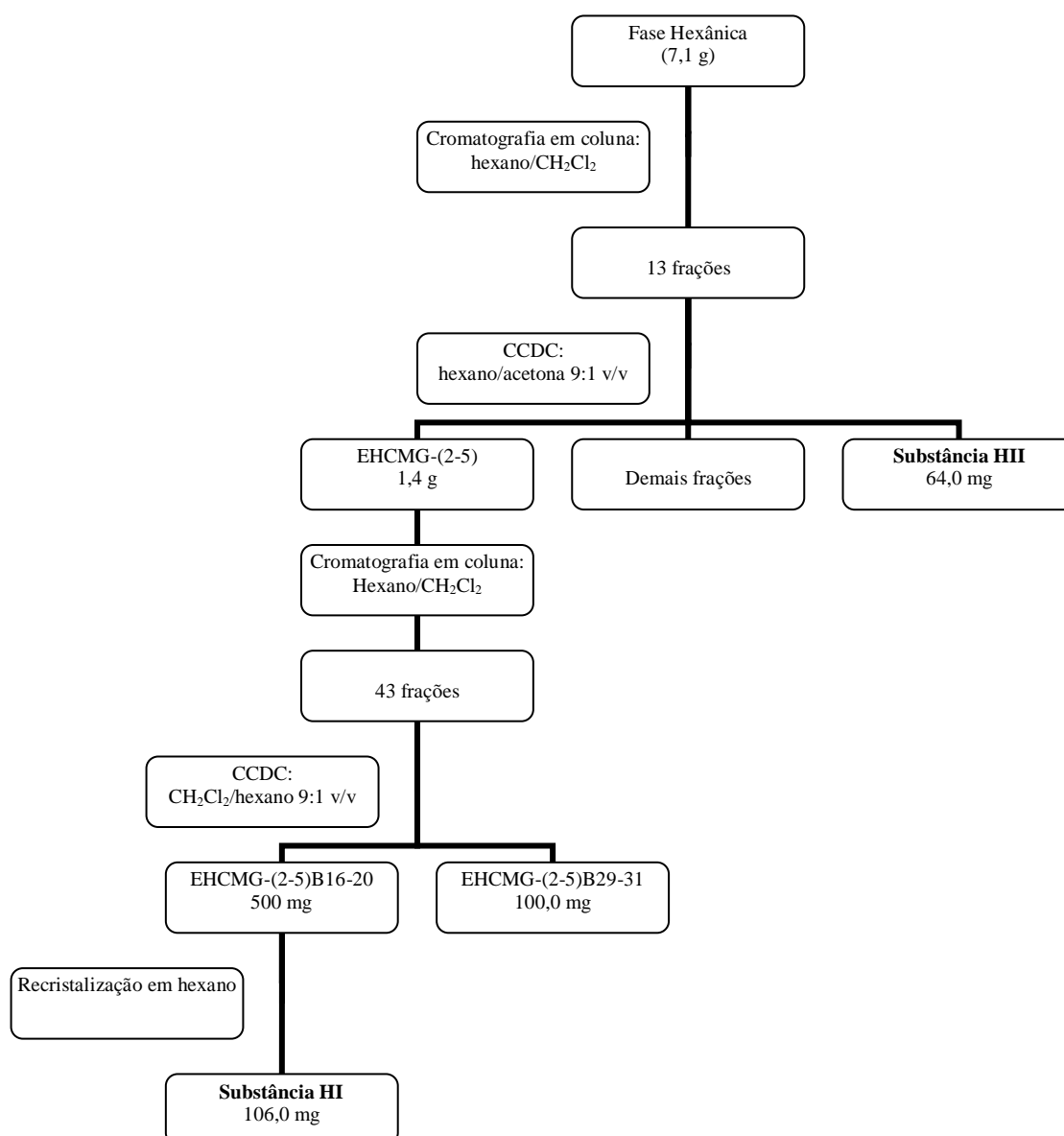
A fração CMG-(2-5)B25-26 ( $m = 5,1$  g) foi submetida a sucessivos processos cromatográficos em coluna de sílica gel 60 (70-230 mesh) resultando na obtenção da fração CMG-(2-5)B25-26C16-24D13-15P1 ( $m = 69,8$  mg). A purificação dessa fração por cromatografia em camada delgada preparativa resultou no isolamento da substância CVII (Esquema 12).



**Esquema 12:** Estudo cromatográfico da fração CMG-(2-5)B25-26.

### 2.4.2.2 Fracionamento cromatográfico da fase hexânica do caule de *M. guianensis*

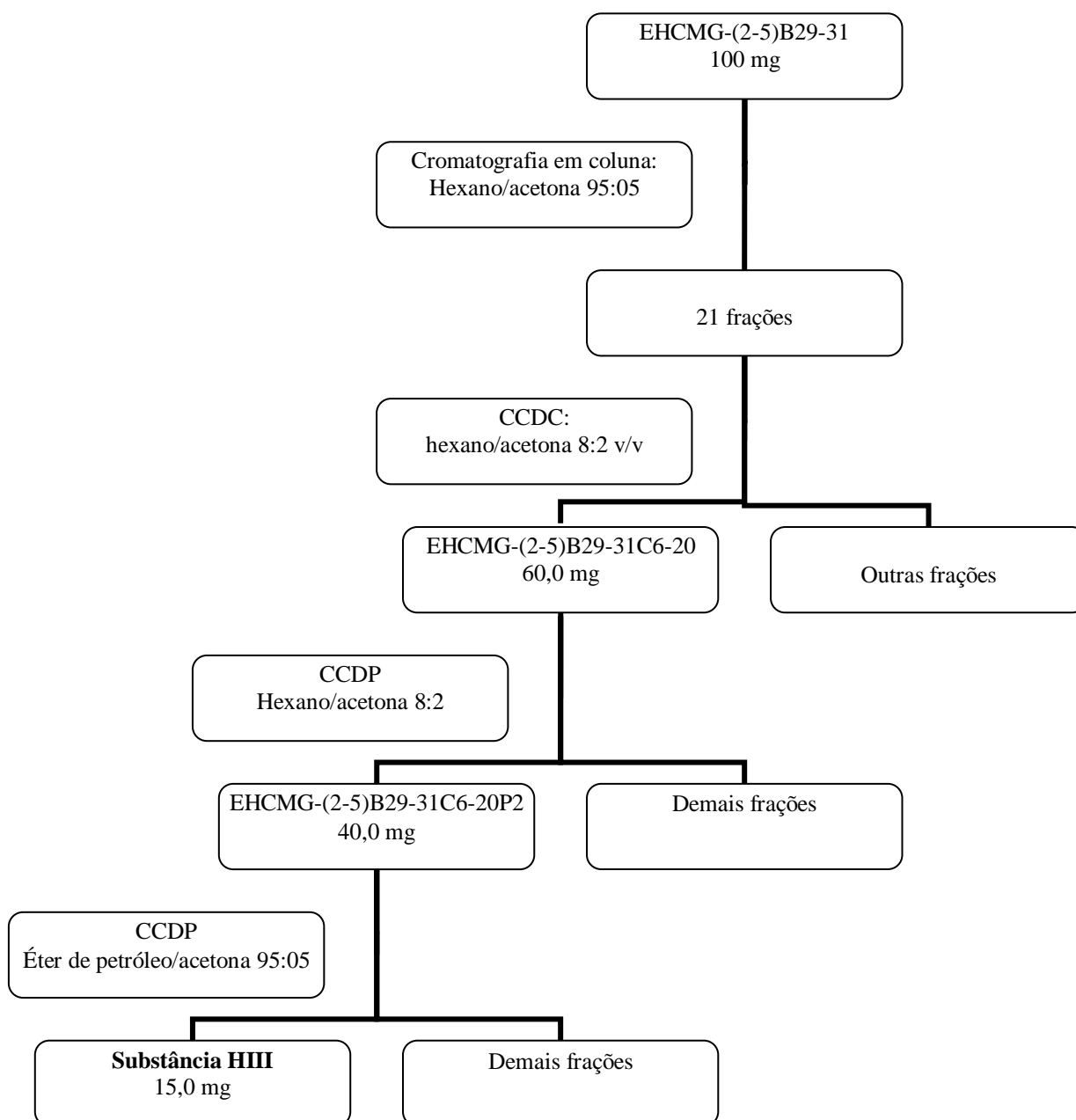
A fase hexânica (m = 7,1 g) foi fracionada em coluna de sílica gel (70-230 mesh), eluída inicialmente com hexano. A polaridade do eluente foi gradualmente aumentada pela adição de diclorometano. Foram obtidas 13 frações de 250 mL cada, que foram concentradas e analisadas por CCDC (Esquema 12). Desse processo cromatográfico foi obtida a substância HII. As frações de dois a cinco foram reunidas e fracionadas resultando em quarenta e três subfrações. Destas, foram estudadas a EHCMG-(2-5)B16-20 e a EHCMG-(2-5)B29-31 (Esquema 13, p. 48). A purificação por recristalização em hexano da fração EHCMG-(2-5)B16-20 resultou no isolamento da substância HI.



Esquema 13: Fracionamento da fase hexânica do caule de *M. guianensis*

**2.4.2.2.1 Fracionamento cromatográfico da fração EHCMG-(2-5)B29-31**

A fração EHCMG-(2-5)B29-31 (m = 100,0 mg) foi submetida a fracionamento cromatográfico em coluna de sílica gel 60 (70-230 mesh) fornecendo a subfração EHCMG-(2-5)B29-31C6-20. Esta foi submetida a dois processos sucessivos de purificação por cromatografia em camada delgada preparativa resultando no isolamento das substâncias HIII (Esquema 14).



**Esquema 14:** Estudo cromatográfico da fração EHCMG-(2-5)B29-31.

*Capítulo III – Resultados e Discussões* \_\_\_\_\_

## 3.0 Resultados e Discussões

### 3.1. SESQUITERPENOS

As substâncias codificadas como DI, DII, DIII e DIV foram isoladas a partir da fase diclorometânica do extrato etanólico das folhas. O composto com o código HIII foi isolado da fase hexânica do extrato etanólico do caule.

#### 3.1.1. Substância DI

A substância **DI** foi isolada na forma de uma cera e sua estrutura foi determinada a partir da análise dos espectros de massas e RMN unidimensionais (RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135°) e bidimensionais (gHMBC, gHMBC, gCOSY e NOESY). A análise do espectro de massas de alta resolução (HRESIMS), realizado no modo positivo, revelou o pico do íon pseudomolecular  $[\text{M}+\text{H}]^+$  em 223,169256.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  realizado em benzeno- $\text{d}_6$  apresentou dois dubletos, integrando para três hidrogênios cada um, em  $\delta$  0,77 ( $J = 7,0$  Hz) e  $\delta$  0,78 ( $J = 7,0$  Hz) que foram atribuídos a hidrogênios metílicos de um grupo isopropílico. Outro sinal também integrando para três hidrogênios foi observado em  $\delta$  1,69 (s) indicando a presença de um grupo metílico desprotegido. Além desses, apresentou um conjunto de sinais relativo a hidrogênios bastante protegidos em  $\delta$  0,58 (ddd,  $J = 3,0; 4,0; 10,0$  Hz) e  $\delta$  0,25 (dddd,  $J = 5,0; 6,0; 8,5; 15,0$  Hz), sendo o primeiro conjunto de sinais indicativo da presença de hidrogênio ciclopropílico (PAVIA *et al.*, 2010; TRAYNHAM *et al.*, 1968). Foram observados, também, três grupos de duplo duplo dubletos em  $\delta$  1,98 ( $J = 5,5; 8,5; 16,5$  Hz),  $\delta$  1,90 ( $J = 5,5; 8,5; 16,5$  Hz) e  $\delta$  1,26 ( $J = 5,0; 9,0; 9,0$  Hz) e dois grupos de duplo duplo duplo dubleto em  $\delta$  1,74 ( $J = 1,5; 2,0; 10,0; 18,5$  Hz) e  $\delta$  1,71 ( $J = 1,5; 2,0; 10,0; 18,5$  Hz). Três multipletos apareceram em  $\delta$  1,35- $\delta$  1,47,  $\delta$  1,48- $\delta$  1,55 e  $\delta$  1,60- $\delta$  1,67 (**Tabela 1; p. 56**).

A análise dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135° realizados em  $\text{CDCl}_3$  revelou a presença de catorze sinais. Desses, três foram atribuídos a carbonos metílicos, quatro a carbonos metilênicos, cinco a carbonos metínicos e dois a carbonos não hidrogenados oxigenados. Esses dois últimos sinais apareceram em  $\delta$  208,9 e  $\delta$  214,4 e foram atribuídos a



carbonos carbonílicos de cetona (**Tabela 1; p. 56**). Foi realizado também um espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em benzeno- $\text{d}_6$  no qual os sinais de carbonos carbonílicos não foram observados. Entretanto, foram observadas correlações no espectro bidimensional gHMBC, realizado em benzeno- $\text{d}_6$ , de sinais de hidrogênios em  $\delta$  1,40,  $\delta$  1,69,  $\delta$  1,70- $\delta$  1,76,  $\delta$  1,90- $\delta$  1,98, com os carbonos carbonílicos, confirmando a presença dos mesmos. Sendo assim foi possível estimar os deslocamentos químicos dos carbonos carbonílicos em benzeno- $\text{d}_6$  como sendo de  $\delta$  205,8 e  $\delta$  210,8. Com base nas informações obtidas com o EM de alta resolução foi possível propor a fórmula  $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_2$  que está de acordo com as informações obtidas com os espectros de RMN. O valor de massa calculado para essa fórmula foi de 222,1620.

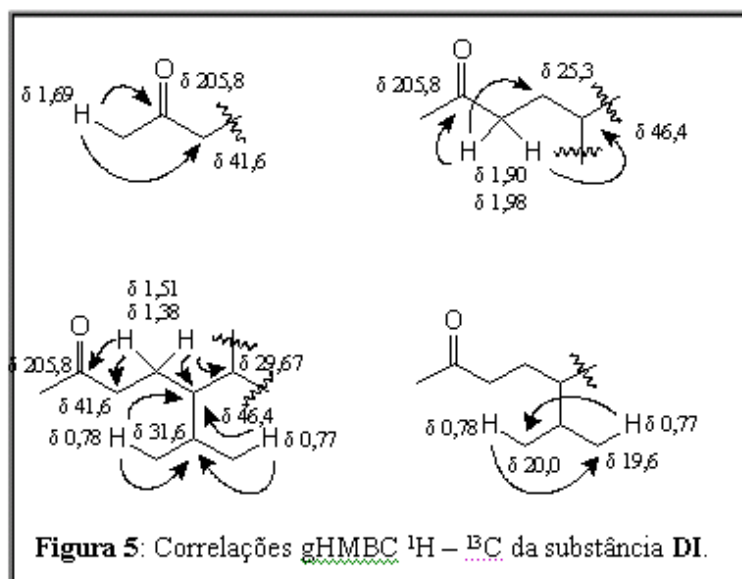
O Índice de Deficiência de Hidrogênio (IDH) calculado para esta fórmula foi igual a quatro. Dois são referentes a duas carbonilas e os outros dois foram atribuídos à presença de dois ciclos na estrutura. Conforme já observado no espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **DI**, um desses deve ser o ciclopropano. O segundo anel foi determinado com base nas análises dos valores dos carbonos carbonílicos e com base no número de carbonos metínicos e metilênicos: a presença de hidrogênios metílicos com sinal em  $\delta$  1,69 e de um carbono de cetona com sinal em  $\delta$  208,9 permitiu sugerir a presença de um grupo acila. O sinal de carbono da segunda carbonila de cetona apareceu bem mais desprotegido em  $\delta$  214,4, o que descartou a possibilidade dessa carbonila estar em uma cadeia alifática ou em um anel de seis membros. Diante disso foi proposta a presença do anel ciclopentanona para o qual o valor da carbonila de  $\delta$  214,4 é mais aceitável (PRETSCH *et al.*, 2000).

Para propor uma estrutura para a substância **DI** foi necessário estabelecer as correlações entre hidrogênios e carbonos a duas e três ligações utilizando o espectro de gHMBC realizado em benzeno- $\text{d}_6$ . As correlações diretas entre hidrogênio e carbonos foram realizadas a partir do espectro bidimensional gHMQC.

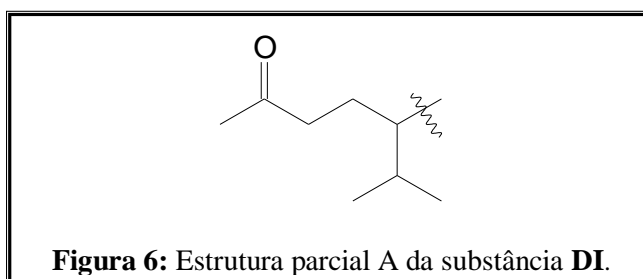
A análise do espectro de gHMBC mostrou correlações do sinal do hidrogênio metílico em  $\delta$  1,69 com sinais do carbono carbonílico em  $\delta$  205,8 e com o do carbono metilênico em  $\delta$  41,6 confirmando a existência do grupo acila e indicando a ligação da carbonila a um carbono metilênico (**Figura 5, p. 49**). Os sinais pertencentes aos hidrogênios ligados ao carbono metilênico em  $\delta$  41,6 foram observados em  $\delta$  1,98 e  $\delta$  1,90, conforme dados de gHMQC. Estes sinais apresentaram correlação com o sinal do carbono carbonílico em  $\delta$  205,8 confirmando a ligação de um carbono metilênico a carbonila. Além disso, esses sinais também apresentaram correlação com os sinais em  $\delta$  46,4 e  $\delta$  25,3, referentes a carbonos metínico e metilênico, respectivamente (**Figura 5, p. 49**).

Os sinais em  $\delta$  1,51 e  $\delta$  1,38, atribuídos a hidrogênios ligados ao carbono metilênico em  $\delta$  25,3, apresentaram correlação com os sinais dos carbonos carbonílico e metilênico em  $\delta$  205,8 e  $\delta$  41,6, respectivamente, e com os sinais dos carbonos metínicos em  $\delta$  29,67 e  $\delta$  46,4 (**Figura 5**).

Os sinais em  $\delta$  0,77 e  $\delta$  0,78, atribuídos a hidrogênios metílicos do grupo isopropílico, apresentaram correlação com os sinais de carbonos metínicos em  $\delta$  46,4 e  $\delta$  31,6, bem como, com os sinais de carbonos metílicos em  $\delta$  20,0 e  $\delta$  19,6 confirmando a presença do grupo isopropílico e permitindo ligar este grupo ao carbono metínico  $\delta$  46,4 (**Figura 5**).



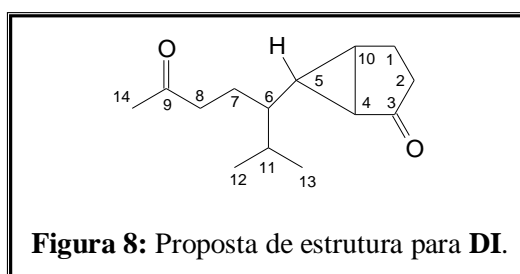
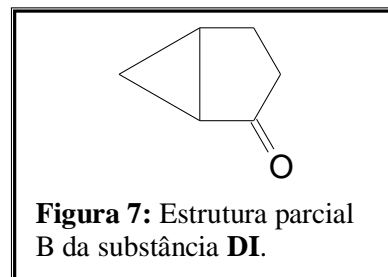
Diante dessas informações foi possível propor para a substância **DI** a estrutura parcial A apresentada abaixo (**Figura 6**).



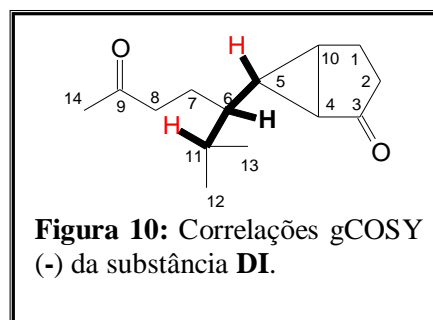
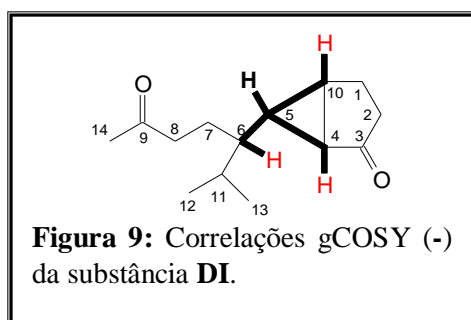
Estas mesmas informações foram obtidas a partir do espectro gHMBC realizado em  $\text{CDCl}_3$ , pois o sinal em  $\delta$  2,19, atribuído a hidrogênios metílicos, apresentou correlações com os sinais dos carbonos em  $\delta$  208,9 e  $\delta$  41,9. Os hidrogênios ligados ao carbono  $\delta$  41,9 apareceram em  $\delta$  2,53 e apresentou correlações com os sinais em  $\delta$  25,0 e  $\delta$  46,6.

Para finalizar a proposta da estrutura da substância **DI** faltava ligar na estrutura parcial A os anéis ciclopropano e ciclopentanona. Considerando que a substância **DI** apresentou catorze átomos de carbono e que oito foram atribuídos a estrutura parcial A, os outros seis átomos de carbono foram atribuídos a um sistema de anel bicíclico do tipo [3.1.0]hexan-2-ona, conforme apresentado na estrutura parcial B (**Figura 7**).

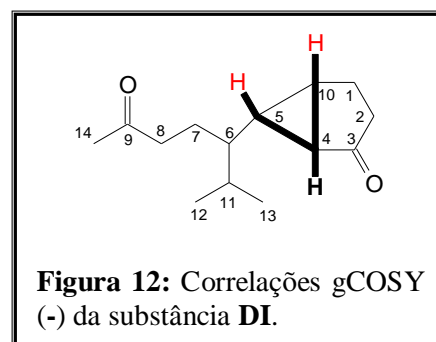
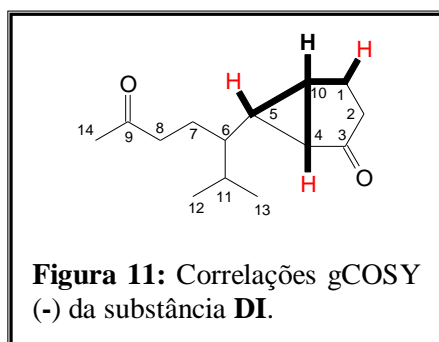
A conexão das estruturas parciais A e B foi possível devido a análise do espectro gCOSY, realizado em benzeno- $d_6$ , uma vez que não foi observada correlação entre o sinal  $\delta$  0,58, atribuído a hidrogênio ciclopropílico, com qualquer átomo de carbono no espectro gHMBC, realizado em benzeno- $d_6$ . O espectro gCOSY foi também de suma importância para confirmar a proposta da estrutura da substância **DI** (**Figura 8**).



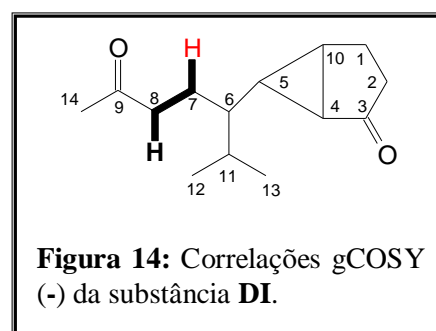
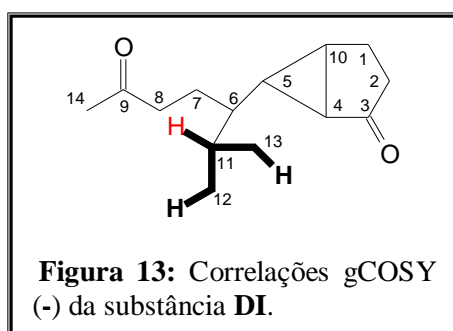
A análise do espectro gCOSY mostrou acoplamento entre os sinais  $\delta$  0,58 (H-5) com  $\delta$  0,25 (H-6) confirmando a ligação do carbono em  $\delta$  46,6 (C-6) da estrutura parcial A ao carbono em  $\delta$  29,7 do ciclopropano (C-5) da estrutura parcial B (**Figura 9**). Foi observado, também, acoplamento do sinal  $\delta$  0,58 (H-5) com os sinais  $\delta$  1,26 e  $\delta$  1,43 que foram atribuídos aos hidrogênios cabeça de ponte H-10 e H-4, respectivamente. O sinal em  $\delta$  0,25 (H-6) mostrou acoplamento com  $\delta$  0,58 (H-5) e  $\delta$  1,52 (H-11) reforçando a ligação da estrutura parcial A no carbono ciclopropílico da estrutura parcial B (**Figura 10**).



A carbonila do anel de cinco membros foi posicionada adjacente ao carbono cabeça de ponte por não ter sido observada equivalência química entre os hidrogênios metilênicos dos carbonos do anel de cinco membros. O espectro gCOSY revelou, também, acoplamento entre os sinais  $\delta$  1,26 atribuído a H-10 e  $\delta$  0,58,  $\delta$  1,43 e  $\delta$  1,42 atribuídos a H-5, H-4 e H-1, respectivamente (**Figura 11**). O acoplamento do hidrogênio H-4 com H-5 e H-10 foi reforçado pela presença de acoplamento entre os sinais  $\delta$  1,43 e  $\delta$  0,58 e  $\delta$  1,26 (**Figura 12**).

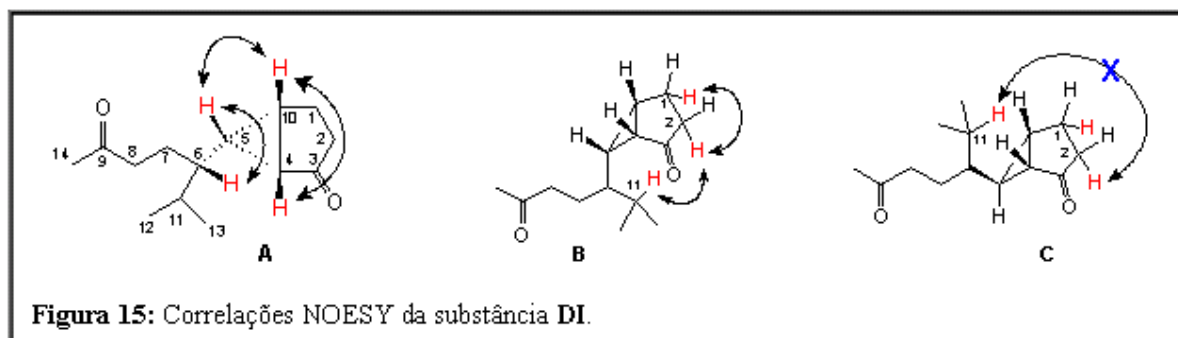


A presença de acoplamento dos sinais  $\delta$  0,77 (H-13) e  $\delta$  0,78 (H-12) com  $\delta$  1,52 (H-11) confirmou a presença do grupo isopropílico (**Figura 13**). Os sinais em  $\delta$  1,90 e  $\delta$  1,98 atribuídos a H-8 mostraram acoplamento com o multipletto em  $\delta$  1,51 revelando a presença do sinal referente a H-7 nesta região (**Figura 14**).



A estereoquímica relativa da substância **DI** foi determinada através das correlações observadas no espectro NOESY, realizado em benzeno- $d_6$ . No espectro NOESY foram observadas as correlações entre os sinais  $\delta$  0,58 (H-5) com  $\delta$  0,25 (H-6) e  $\delta$  1,26 (H-10) e de  $\delta$  1,26 (H-10) com  $\delta$  0,58 (H-5) e  $\delta$  1,43 (H-4) (**Figura 15: estrutura A, p. 52**). Essas informações permitiram sugerir que os hidrogênios H-4, H-5 e H-10 apresentam configuração *cis* entre eles. A presença de correlação dos sinais  $\delta$  1,74 (H-2a) e  $\delta$  1,64 (H-2b) com  $\delta$  1,42 (H-1) e  $\delta$  1,52 (H-11) foi fundamental para reforçar a proposta de estrutura na qual os hidrogênio H-4, H-5 e H-10 apresentam configuração *cis* (**Figura 15: estrutura B, p. 52**). Se o hidrogênio H-5 apresentasse configuração *trans* em relação a H-4 e H-10 as correlações entre

os hidrogênio H-2a e H-2b com H-11 não seriam possíveis (**Figura 15**: estrutura C). Além disso, não foi observada correlação do sinal do Hidrogênio H-5 com H-2 ou H-1, o que permitiu descartar a estrutura C como proposta de estrutura para a substância DI.



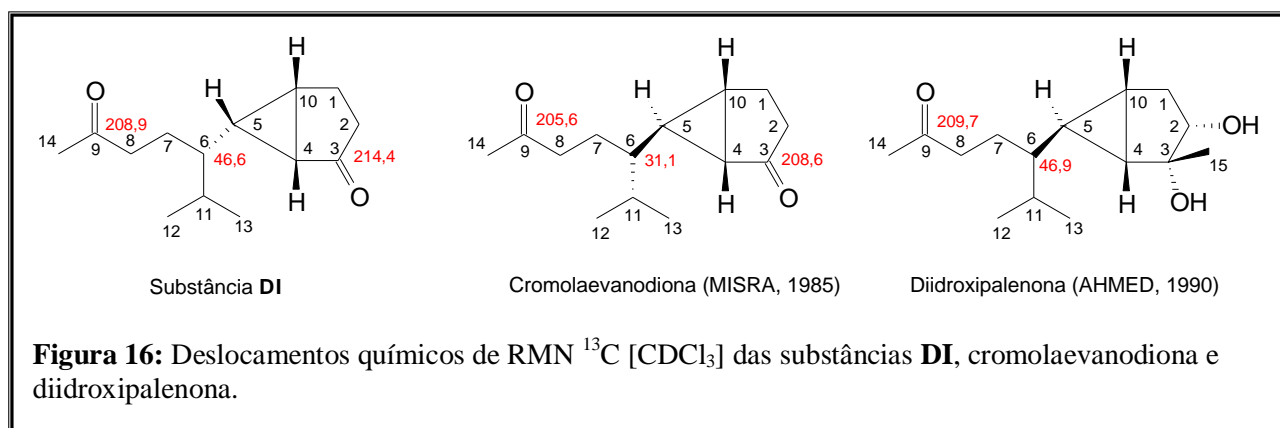
Após propor para a substância **DI** a estrutura B da figura 16, foi realizada em abril de 2011 uma pesquisa na literatura usando o Scifinder para avaliar o ineditismo da mesma. Foram obtidos dois artigos relatando o isolamento dessa substância. O primeiro descreve o isolamento a partir de uma espécie da família Compositae, a *Chromolaena laevigata* (MISRA *et al.*, 1985) e o segundo artigo a partir da *Litsea verticillata* pertencente à família Lauraceae (ZHANG *et al.*, 2005).

Segundo Misra e colaboradores (1985), esse artigo foi o primeiro relato do isolamento dessa substância à qual chamou de cromolaevanodiona. Sua estrutura foi determinada através de experimentos de desacoplamento de spin que permitiram atribuir os sinais de RMN  $^1\text{H}$  e a estereoquímica a partir de comparações de dados de RMN  $^{13}\text{C}$  com compostos similares. O artigo publicado por Zhang e colaboradores (2005) não apresenta os dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da cromolaevanodiona, porém relata a identificação do norsesquiterpeno através da comparação de seus dados espectrais com os publicados por Misra e colaboradores (1985).

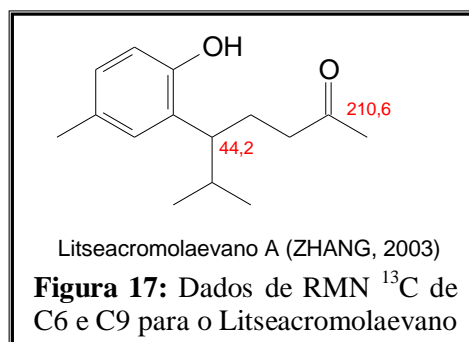
Um terceiro artigo foi encontrado utilizando a percentagem de semelhança estrutural fornecida pelo Scifinder. Nesse artigo foi descrita a determinação estrutural de um composto com o mesmo esqueleto básico da cromolaevanodiona, porém, alguns deslocamentos químicos de carbono diferem dos publicados por Misra e colaboradores (1985) (AHMED *et al.*, 1990) (Figura 17, p. 56). Os dois co-autores desse artigo foram também co-autores do trabalho publicado em 1985 (MISRA *et al.*, 1985).

Ao comparar os dados de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância **DI** com os publicados por Misra e outros (1985) para a cromolaevanodiona (**Tabela 1, p. 56**) foi observada uma grande semelhança entre eles, exceto entre os sinais dos carbonos C-6, C-3 e C-9 (**Figura 16, p. 53**).

O deslocamento químico encontrado para esses carbonos na substância **DI**, realizado em  $\text{CDCl}_3$ , foi de  $\delta$  46,6 (C-6),  $\delta$  214,4 (C-3) e  $\delta$  208,9 (C-9) e na cromolaevanodiona, também realizado em  $\text{CDCl}_3$ , foi de  $\delta$  31,1 (C-6),  $\delta$  208,6 (C-3) e  $\delta$  205,6 (C-9). No artigo publicado por Ahmed e colaboradores (1990) os sinais referentes aos carbonos C-6 e C-9 estão de acordo com os encontrados para a substância **DI** e em desacordo com os publicados por Misra e colaboradores (1985) (**Figura 16**).



Outro artigo que descreve a determinação estrutural de um sesquiterpeno com o mesmo grupo alifático da substância **DI** é o publicado por Zhang e colaboradores (2003). Nesse artigo, os deslocamentos químicos referentes aos carbonos C-6 e C-9 estão muito próximos dos encontrados para a substância **DI** (**Figura 17**). Além disso, as substâncias DII e DIII isoladas neste trabalho também apresentam o mesmo grupo alifático da substância **DI** e os deslocamentos químicos dos carbonos C-6 e C-9 em discussão, estão de acordo com

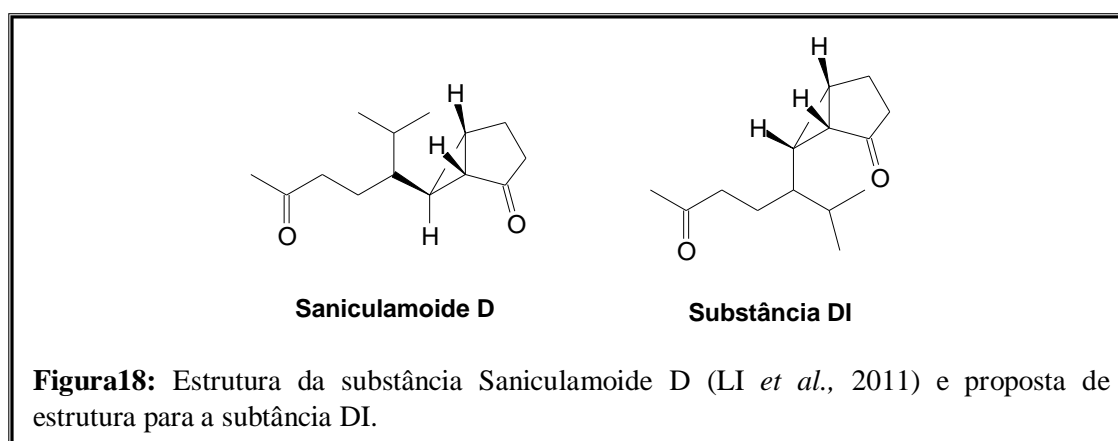


os encontrados para a substância **DI**. Diante da grande diferença observada nos deslocamentos químicos dos carbonos C-6 e C-9 apresentados por Misra e colaboradores (1985) frente ao da substância **DI** e do baixo valor de deslocamento químico de carbono atribuído a uma carbonila de uma ciclopentanona não é possível afirmar que a substância **DI** seja a cromolaevanodiona isolada por Misra e colaboradores (1985).

Em agosto de 2011, através de uma pesquisa realizada no Scifinder, foi obtido um novo artigo relatando o isolamento de uma substância com o mesmo esqueleto da substância **DI** e com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  idênticos (LI *et al.*, 2011) (**Tabela 2, p. 57**). Nesse artigo, Li e colaboradores comentam a diferença observada no deslocamento químico de C-6 da substância isolada por eles, chamada saniculamoide D, com o da cromolaevanodiona e sugere

que isto ocorre pelo fato de ambas serem estereoisômeros. Segundo Li e colaboradores (2011) esta suposição foi confirmada após comparar os valores de  $[\alpha]_D$  de ambas as substâncias. O encontrado para o saniculamoide D foi de  $[\alpha]_D^{24} - 52,2$  ( $c$  0,8,  $\text{CHCl}_3$ ) e o da cromolaevanodiona de  $[\alpha]_D^{20} + 13,6$  ( $c$  0,1,  $\text{CHCl}_3$ ). Este novo estereoisômero foi isolado de *Sanicula lamelligera* pertencente a família Apiaceae.

Apesar de apresentarem os mesmos esqueletos, as substâncias **DI** e saniculamóide D se diferenciam na configuração do carbono C5, conforme apresentado na figura 19.



Diante disso, foi realizada a análise de rotação óptica da substância **DI** para comparar com o relatado para o saniculamóide D. O valor obtido foi de  $[\alpha]_D^{20} - 4,0$  ( $c$  0,31, MeOH) e o relatado para o saniculamoide D de  $[\alpha]_D^{24} - 52,2$  ( $c$  0,8,  $\text{CHCl}_3$ ). O baixo valor obtido para a substância **DI** pode estar relacionado com a presença de impurezas na amostra o que o torna inconclusivo e inviabiliza sua utilização como parâmetro de análise. Além disso, a discussão apresentada por Li e colaboradores (2011) sobre a configuração do carbono C5 do saniculamoide D é contraditória. Li e colaboradores afirmam, com base na constante de acoplamento, que os hidrogênios H4 e H5 apresentam uma relação sin entre eles, porém, o desenho da estrutura no artigo mostra uma relação anti entre esses hidrogênios. Outro dado que diverge da relação sin entre os hidrogênios H4 e H5 é a correlação observada no espectro de ROESY do saniculamóide D fornecido como material suplementar. Nesse espectro é possível ver com clareza correlação entre os hidrogênios H2 e H1 com H5 reforçando a proposta de relação anti entre os hidrogênios H4 e H5. Dessa forma, não é possível afirmar que saniculamoide D e a substância DI sejam idênticas, pois há falhas na atribuição da configuração do C5 no saniculamoide D.

Até o momento, é possível afirmar somente que esse é o primeiro relato da ocorrência da substância DI na família Myrtaceae.

A substância conhecida como cromolaevanodiona, possível estereoisômero do saniculamóide D, foi inicialmente isolada de *Chromolaena laevigata*, Compositae, (MISRA *et al.*, 1985) e posteriormente de *Litsea verticillata*, Lauraceae, (ZHANG *et al.*, 2005), *Dysoxylum densiflorum*, Meliaceae, (XIE *et al.*, 2008) e *Senecio argunensis*, Compositae, (XIE *et al.*, 2010).



**Tabela 1:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  [500 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$  e  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{H}}$  (ppm)], RMN  $^{13}\text{C}$  [125 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$  e  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] e correlações de HMBC da substância **DI** e dados da literatura [ $\text{C}_6\text{D}_6$  e  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{H}}$  (ppm) e  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{C}}$ ] (MISRA *et al.*, 1985).

Posição	SUBSTÂNCIA DI					MISRA <i>et al.</i> , 1985		
	$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, J		$\delta$ $^{13}\text{C}$		HMBC	$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, J		$\delta$ $^{13}\text{C}$
	$[\text{C}_6\text{D}_6]$	$[\text{CDCl}_3]$	$[\text{C}_6\text{D}_6]$	$[\text{CDCl}_3]$	$[\text{C}_6\text{D}_6]$	$[\text{C}_6\text{D}_6]$	$[\text{CDCl}_3]$	$[\text{CDCl}_3]$
H-1a	1,42 m	-	23,1	23,1	-	1,54 m	-	24,9
H-1b	1,40 m	-	-	-	-	1,47 m	-	-
H-2a	1,74 dddd (1,5; 2,0; 10,0; 18,5 Hz)	2,07	33,0	33,0	-	1,75 dddd (7,5; 9,0; 18,0; 1,5 Hz)	2,14 m	32,8
H-2b	1,71 dddd (1,5; 2,0; 10,0; 18,5 Hz)	-	-	-	-	1,67 ddd (1,5; 9,0; 18,0 Hz)	2,03 m	-
3	-	-	210,8	214,4	-	-	-	208,6
4	1,43 m	1,64	34,6	34,6	-	1,47 ddl (1,5; 4,0 Hz)	-	34,4
5	0,58 ddd (3,0; 4,0; 10,0 Hz)	1,04	29,67	30,1	-	0,62 ddd (4,0; 3,0; 10,0 Hz)	1,03 ddd (4,0; 3,0; 10,0 Hz)	29,9
6	0,25 dddd (5,0; 6,0; 8,5; 15,0 Hz)	0,71	46,4	46,6	-	0,28 dddd (10,0; 5,0; 9,0; 5,0 Hz)	-	31,1
H-7a	1,51 m	-	25,3	25,0	C-5, C-6, C-8;	1,54 m	-	22,9
H-7b	1,38 m	-	-	-	C-9	1,44 m	-	-
H-8a	1,98 ddd (5,5; 8,5; 16,5 Hz)	2,53	41,6	41,9	C-6; C-7; C-9	2,00 ddd (6,0; 9,0; 17,0 Hz)	2,52 m	41,7
H-8b	1,90 ddd (5,5; 8,5; 16,5 Hz)	-	-	-	-	1,94 ddd (6,0; 9,0; 17,0 Hz)	-	-
9	-	-	205,8	208,9	-	-	-	205,6
10	1,26 ddd (5,0; 9,0; 9,0)	1,87	27,6	28,1	-	1,28 ddd (3,0 Hz)	1,86 ddd (3,0 Hz)	27,8
11	1,52 m	-	31,6	31,2	-	1,54 m	-	31,1
12	0,78 d (7,0 Hz)	0,93 d (7,0 Hz)	20,0	19,7	C-6; C-11; C-13	0,81 d (7,0 Hz)	0,90 (7,0 Hz)	19,5
13	0,77 d (7,0 Hz)	0,93 d (7,0 Hz)	19,6	19,4	C-6; C-11; C-12	0,79 d (7,0 Hz)	0,90 (7,0 Hz)	19,2
14	1,69 s	2,19 s	29,70	30,2	C-8; C-9	1,71 s	2,17 s	30,0

**Tabela 2:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  [500 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$  e  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{H}}$  (ppm)] e RMN  $^{13}\text{C}$  [125 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$  e  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] da substância **DI** e dados da literatura do Saniculamoide D [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{H}}$  (ppm) e 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] (Li *et al.*, 2011).

Posição	SUBSTÂNCIA DI				SANICULAMOIDE D	
	$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, J		$\delta$ $^{13}\text{C}$		$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, J	$\delta$ $^{13}\text{C}$
	[ $\text{C}_6\text{D}_6$ ]	[ $\text{CDCl}_3$ ]	[ $\text{C}_6\text{D}_6$ ]	[ $\text{CDCl}_3$ ]	[ $\text{CDCl}_3$ ]	[ $\text{CDCl}_3$ ]
H-1a	1,42 m	-	23,1	23,1	2,16 dd (9,3; 5,1)	22,7
H-1b	1,40 m	-	-	-	2,04 m	-
H-2a	1,74 dddd (1,5; 3,2; 9,5; 18,0 Hz)	2,07 m	33,0	33,0	2,08 m	32,6
H-2b	1,64 ddd (3,2; 9,5; 18,0 Hz)	-	-	-	-	-
3	-	-	210,8	214,4	-	214,1
4	1,43 m	1,64	34,6	34,6	1,64 dd (4,0; 2,9)	34,2
5	0,58 ddd (3,0; 4,0; 10,0 Hz)	1,04	29,67	30,1	1,06 ddd (10,1; 4,0; 2,8)	29,8
6	0,25 dddd (5,0; 6,0; 8,5; 15,0 Hz)	0,71	46,4	46,6	0,70 m	46,1
H-7a	1,51 m	-	25,3	25,0	1,73 m	24,5
H-7b	1,38 m	-	-	-	1,66 m	-
H-8a	1,98 ddd (5,5; 8,5; 16,5 Hz)	2,53	41,6	41,9	2,54 m	41,5
H-8b	1,90 ddd (5,5; 8,5; 16,5 Hz)	-	-	-	-	-
9	-	-	205,8	208,9	-	208,6
10	1,26 ddd (5,0; 9,0; 9,0)	1,87	27,6	28,1	1,87 m	27,7
11	1,52 m	-	31,6	31,2	1,78 m	30,8
12	0,78 d (7,0 Hz)	0,93 d (7,0 Hz)	20,0	19,7	0,91 d (7,0)	19,4
13	0,77 d (7,0 Hz)	0,93 d (7,0 Hz)	19,6	19,4	0,91 d (7,0)	19,0
14	1,69 s	2,19 s	29,70	30,2	2,18	29,8

### 3.1.2. Substância DII

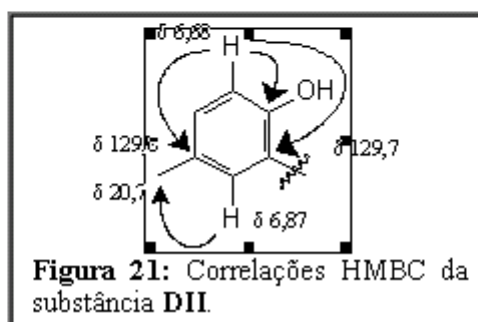
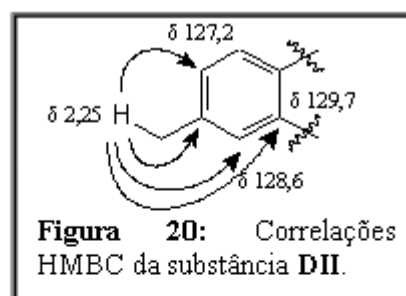
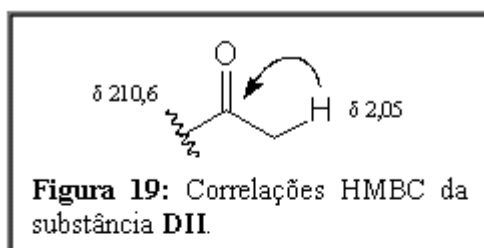
A substância DII apresentou aspecto de cera e sua estrutura foi determinada através das análises dos espectros de massa e de RMN unidimensionais ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT  $135^\circ$ ) e bidimensionais (gHMQC e HMBC) e foi posteriormente identificada por comparação com dados reportados na literatura (ZHANG *et al.*, 2003). O espectro de massa, obtido por impacto de elétrons (70 eV), apresentou pico do íon molecular em  $m/z$  234. A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  revelou a presença de um anel aromático trissubstituído pois apresentou um dubleto em  $\delta$  6,68 (1H,  $J = 8,1$  Hz) e dois sinais sobrepostos em  $\delta$  6,85 integrando para dois hidrogênios. Apresentou também, dois singletos em  $\delta$  2,05 e  $\delta$  2,25, integrando para três hidrogênios cada um, sugerindo a presença de dois grupos metílicos desprotegidos. Foi observado também em  $\delta$  0,74 e  $\delta$  1,01 dois dubletos com constante de acoplamento de 6,6 Hz e integração para três hidrogênios cada um, indicando a presença de um grupo isopropílico. Além desses sinais foram observados, ainda, um duplo duplo dubleto em  $\delta$  2,61 ( $J = 12,0; 9,0; 3,9$  Hz) e três multipletos em aproximadamente  $\delta$  1,76,  $\delta$  1,85 e  $\delta$  2,21 (**Tabela 3; p. 60**).

A análise dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT  $135^\circ$  revelou a presença de quinze átomos de carbono, sendo quatro metílicos, dois metilênicos, cinco metínicos e quatro carbonos não hidrogenados. Dentre esses, os sinais em  $\delta$  210,6 e  $\delta$  152,0 foram atribuídos a um carbono carbonílico de cetona e a um carbono aromático oxigenado, respectivamente. Dentre os carbonos metínicos os sinais em  $\delta$  128,6,  $\delta$  127,2 e  $\delta$  115,6 foram atribuídos a carbonos de anel aromático, confirmando a presença de um anel trissubstituído. Os sinais em  $\delta$  20,8,  $\delta$  21,2 e  $\delta$  32,9 foram atribuídos a dois carbonos metílicos e um carbono metínico, respectivamente, caracterizando a presença de um grupo isopropílico. Outros dois sinais apareceram em  $\delta$  20,7 e  $\delta$  30,0 e indicaram a presença de mais dois grupos metílicos (**Tabela 3; p. 60**). Com esses dados foi possível propor a fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$ , compatível com o íon molecular em  $m/z$  234 observado no espectro de massa.

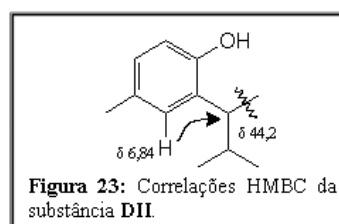
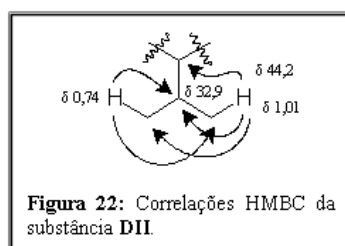
A análise do espectro bidimensional HMBC permitiu propor uma estrutura para a substância DII através das correlações observadas entre hidrogênios e carbonos a duas e a três ligações. A presença da correlação entre o sinal em  $\delta$  2,05, atribuído a hidrogênios metílicos, e o sinal em  $\delta$  210,6 permitiu sugerir a ligação desse grupo metílico com o carbono carbonílico de uma cetona (**Figura 19, p. 59**). O sinal em  $\delta$  2,25, atribuído a hidrogênios metílicos, apresentou correlação com os sinais em  $\delta$  127,2(CH),  $\delta$  128,6 (CH),  $\delta$  129,7 e  $\delta$

129,8 revelando a ligação do segundo grupo metílico com um carbono de um anel aromático (**Figura 20**).

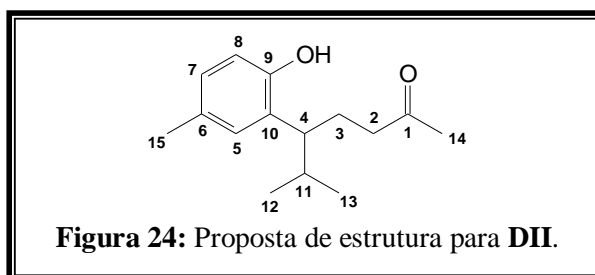
Esta proposta foi reforçada pela correlação entre o sinal em  $\delta$  6,87, atribuído a um dos hidrogênios ligados ao anel aromático e o sinal do carbono metílico em  $\delta$  20,7. O duplete em  $\delta$  6,68, atribuído a hidrogênio de anel aromático com acoplamento orto apresentou correlação com os sinais de carbonos aromáticos não hidrogenados em  $\delta$  129,7 e  $\delta$  129,8, bem como com o sinal de carbono aromático oxigenado em  $\delta$  152,0 (**Figura 22**).



A correlação observada entre o duplete em  $\delta$  0,74 (3H) atribuído a hidrogênios metílicos e os sinais em  $\delta$  20,8 e  $\delta$  32,9 atribuídos a carbono metílico e metínico, respectivamente, bem como, a presença de correlação entre o duplete em  $\delta$  1,01 e os sinais em  $\delta$  21,2 e  $\delta$  32,9 permitiram confirmar a presença de um grupo isopropila. Além disso, esses doubletos apresentaram correlação com o sinal do carbono metínico em  $\delta$  44,2, indicando a ligação do grupo isopropila a um carbono metínico (**Figura 22**). A correlação observada entre o sinal em  $\delta$  6,84, atribuído a hidrogênio ligado a anel aromático, e o sinal em  $\delta$  44,2 permitiu ligar este carbono metínico ao anel aromático (**Figura 23**).



Com base na estrutura parcial apresentada na figura 23, e considerando ainda a presença de um grupo acila e de dois carbonos metilênicos, foi proposta a estrutura abaixo para a substância **DII**.



Após pesquisa na literatura esse composto foi identificado como 6-metil-5-(2-hidroxi-5-metilfenil)heptan-2-ona ou litseacromolaevano A, um sesquiterpeno encontrado em *Litsea verticillata* (Lauraceae) (ZHANG *et al.*, 2003) e *Cedrelopsis microfoliata* (Ptaeroxylaceae) (KOORBANALLY *et al.*, 2002). Este é o primeiro relato da ocorrência desta substância na família Myrtaceae.

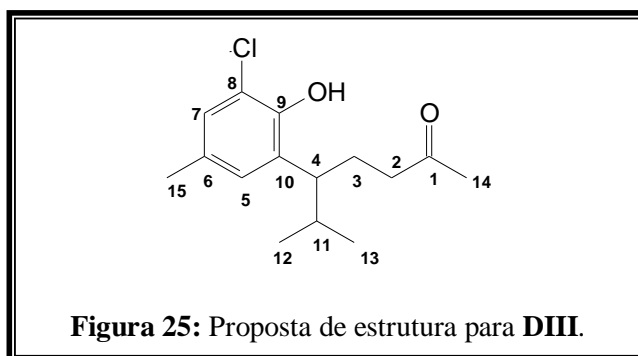
**Tabela 03:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{H}}$  (ppm)], RMN de  $^{13}\text{C}$  [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$   $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] e correlações de HMBC da substância **DII** e dados da literatura (ZHANG *et al.*, 2003)

Posição	Substância <b>DII</b>			ZHANG <i>et al.</i> , 2003	
	$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, <i>J</i>	$\delta$ $^{13}\text{C}$	HMBC	$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, <i>J</i>	$\delta$ $^{13}\text{C}$
1	-	210,6	-	-	210,6
2	2,21 m	41,8	C-1; C-3; C-14	2,22 ddd (16,7; 8,5; 5,6) 2,14 dd (16,6; 8,9 Hz)	41,8
3	1,76 m	26,6	C-1; C-4; C-2; C-10	2,08 m	26,7
4	2,61 ddd (12,0; 9,0; 3,9 Hz)	44,2	-	1,73 dddd (13,8; 11,7; 7,9; 5,1 Hz) 2,57 ddd (12,0; 8,8; 3,8 Hz)	44,2
5	6,84 d (1,8 Hz)	128,6	C-4; C-7; C-15	6,81 d (1,8 Hz)	128,5
6	-	129,8*	-	-	129,8
7	6,85 dd (1,8 e 8,1 Hz)	127,2	C-5; C-15	6,84 dd (7,9 e 2,1 Hz)	127,3
8	6,68 d (8,1Hz)	115,6	C-6; C-9, C-10	6,65 d (8,0 Hz)	115,7
9	-	152,0	-	-	151,9
10	-	129,7*	-	-	129,9
11	1,85 m	32,9	-	1,84 d (6,7; 1,9Hz)	33,0
12	1,01 d (6,6 Hz)	20,8	C-4; C-11; C-13	0,99 d (6,6Hz)	20,9
13	0,74 d (6,6 Hz)	21,2	C-4; C-11; C-12	0,71 d (6,7Hz)	21,3
14	2,05 s	30,0	C-1; C-2	2,03 s	30,1
15	2,25 s	20,7	C-7; C-5; C-10	2,23 s	20,7

\*Os sinais podem estar trocados

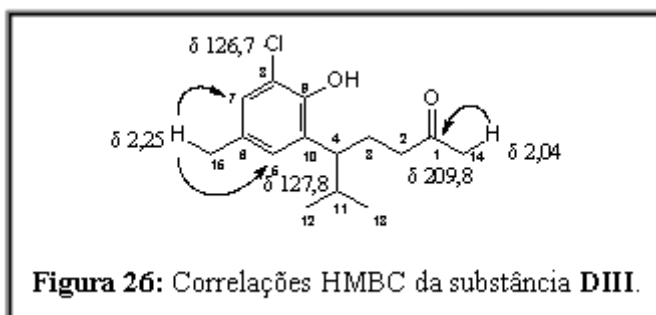
### 3.1.3. Substância DIII

A substância **DIII** foi obtida com aspecto de uma cera e apresentou  $[\alpha]_D^{20}$  de  $-13,6$  ( $c$  0,22,  $\text{CHCl}_3$ ). O espectro de massas de alta resolução (HREIMS), apresentou o pico base em  $m/z$  291,1161 referente ao íon  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  acompanhado de um pico  $[\text{M}+\text{Na}]^+ + 2$  com um terço da intensidade do pico do íon molecular, indicando a presença de um átomo de cloro. A análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  revelaram que a substância **DIII** apresenta uma estrutura semelhante a da substância DII que foi identificada como litseacromolaevano A, diferindo somente no padrão de substituição do anel aromático (**Tabela 4; p. 62**). Os dados obtidos a partir do espectro de RMN  $^1\text{H}$  indicaram a presença de um anel aromático 1,2,3,5-tetrasubstituído através dos sinais em  $\delta$  6,8 (1H,  $J = 1,8$  Hz) e  $\delta$  7,0 (1H,  $J = 1,8$  Hz). A presença de um grupo isopropílico foi evidenciada pelos dubletos em  $\delta$  1,0 (3H,  $J = 6,6$  Hz) e  $\delta$  0,74 (3H,  $J = 6,6$  Hz) e, ainda, os dois outros grupos metílicos foram identificados pela presença dos sinais em  $\delta$  2,04 (s, 3H) e  $\delta$  2,25 (s, 3H) (**Tabela 4; p. 62**). Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT  $135^\circ$  reforçaram a presença de quinze átomos de carbono, sendo quatro carbonos metílicos, dois metilênicos, quatro metínicos e cinco carbonos não hidrogenados. Os sinais em  $\delta$  209,8 e  $\delta$  147,4 foram atribuídos a um carbono carbonílico de cetona e a um carbono aromático oxigenado, respectivamente, igual ao observado para a substância DII. Dentre os carbonos metínicos, os sinais em  $\delta$  127,8 e  $\delta$  126,7 reforçaram a presença de um anel aromático tetrasubstituído (**Tabela 4; p. 62**). Os dados de RMN, DEPT e EM permitiram propor a fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{O}_2\text{Cl}$ , cuja massa calculada de 268.123008 está de acordo com a massa obtida no espectro de massas supracitado. A estrutura da substância **DIII** foi determinada com base na análise dos dados dos espectros de HMBC, EM e comparação com os dados obtidos para a substância DII (litseacromolaevano A) (**Figura 25**).



No espectro de HMBC o sinal em  $\delta$  2,25, atribuído a hidrogênios metílicos, apresentou correlação com os sinais em  $\delta$  127,8 e  $\delta$  126,7 indicando a ligação desse grupo metílico com o

anel aromático. Além disso, a correlação do sinal em  $\delta$  2,04, atribuído a hidrogênios metílicos, com o sinal em  $\delta$  209,8 confirmou a presença de um grupo metílico ligado a carbono carbonílico (**Figura 26**). Outras correlações observadas estão apresentadas na tabela 04.



A comparação dos dados de RMN da substância **DIII** com os da substância **DII** revelou que ambas apresentam a mesma estrutura, diferindo apenas pela presença de um átomo de cloro na posição C-8 do anel aromático na substância **DIII**. Até o momento a substância 6-metil-5-(2-hidroxi-3-cloro-5-metilfenil)heptan-2-ona é inédita, pois não foi encontrado qualquer relato sobre ela na literatura.

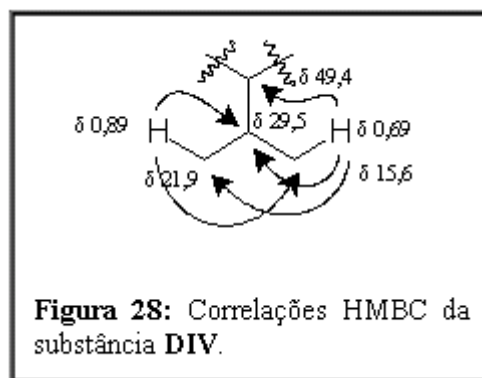
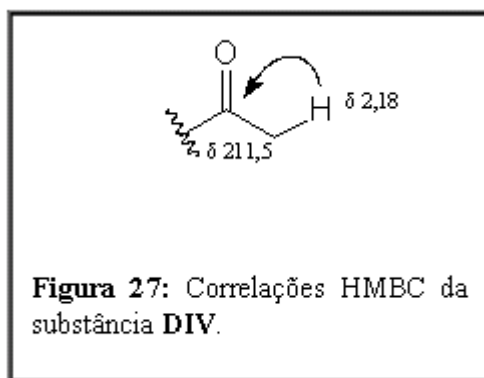
**Tabela 04:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$  (ppm)], RMN de  $^{13}\text{C}$  [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] e correlações de HMBC da substância **DIII** e dados da substância **DII**

Posição	Substância <b>DIII</b>			Substância <b>DII</b> (litseacromolaevano A)	
	$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, J	$\delta$ $^{13}\text{C}$	HMBC	$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, J	$\delta$ $^{13}\text{C}$
1	-	209,8	-	-	210,6
2	2,18 m	42,0	C-3; C-14	2,21 m	41,8
3	1,74 m	26,1	C-1; C-2; C-4; C-10	1,76 m	26,6
4	2,72 ddd (11,4; 3,3 Hz)	45,2	-	2,61 ddd (12,0; 9,0; 3,9 Hz)	44,2
5	6,8 d (1,8 Hz)	127,8	C-4; C-7; C-9; C-15	6,84 d (1,8 Hz)	128,6
6	-	130,2	-	-	129,8
7	7,0 d (1,8 Hz)	126,7	C-5; C-8; C-9; C-15	6,85 dd (1,8 e 8,1 Hz)	127,2
8	-	119,6	-	6,68 d (8,1 Hz)	115,6
9	-	147,4	-	-	152,0
10	-	131,4	-	-	129,7
11	1,84 m	32,8	C-13	1,85 m	32,9
12	1,00 d (6,6 Hz)	20,7	C-4; C-11; C-13	1,01 d (6,6 Hz)	20,8
13	0,74 d (6,6 Hz)	21,1	C-4; C-11; C12	0,74 d (6,6 Hz)	21,2
14	2,04 (s)	30,0	C-1; C-2	2,05 s	30,0
15	2,25 (s)	20,6	C-5; C-7	2,25 s	20,7

### 3.1.4 Substância DIV

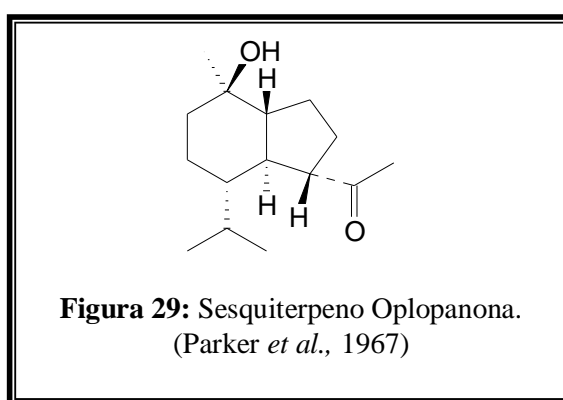
A substância **DIV** foi obtida na forma de uma cera incolor e a determinação de sua estrutura foi realizada com base nas análises dos espectros unidimensionais RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT  $135^\circ$  e bidimensional HMBC e com posterior comparação com dados de RMN publicados na literatura (PIERS, GAVAI, 1990). O espectro de RMN  $^1\text{H}$  apresentou dois dubletos com integração para três hidrogênios cada um em  $\delta$  0,69 ( $J = 6,9$  Hz) e  $\delta$  0,89 ( $J = 6,9$  Hz) indicando a presença de um grupo isopropílico. Foi observado também dois singletos em  $\delta$  2,18 (3H) e  $\delta$  1,20 (3H) sugerindo a presença de dois grupos metílicos ligados a carbonos não hidrogenados (**Tabela 5; p. 65**).

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT  $135^\circ$  revelaram a presença de quinze átomos de carbonos, sendo quatro metílicos, quatro metilênicos, cinco metínicos e dois não hidrogenados, sendo um em  $\delta$  73,0 e o outro em  $\delta$  211,5, indicando a presença de um carbono oxigenado e de um carbono carbonílico de cetona, respectivamente (**Tabela 5; p. 65**). Através da análise do espectro de HMBC foi possível estabelecer a conectividade entre os átomos e, desta forma, confirmar a presença de alguns grupos. A correlação observada entre o sinal  $\delta$  2,18, referente a hidrogênios metílicos, e o sinal em  $\delta$  211,5 permitiu confirmar a presença de um grupo acetila (**Figura 27**). A correlação entre o sinal  $\delta$  0,69, referente a hidrogênios metílicos, e os sinais do carbono metílico em  $\delta$  21,9 e dos carbonos metínicos em  $\delta$  29,5 e  $\delta$  49,4, bem como, entre o sinal em  $\delta$  0,89, referente a hidrogênios metílicos, e os sinais do carbono metílico em  $\delta$  15,6 e dos carbonos metínicos em  $\delta$  29,5 e  $\delta$  49,4 permitiram confirmar a presença de um grupo isopropílico ligado ao carbono metínico  $\delta$  49,4 (**Figura 28**).

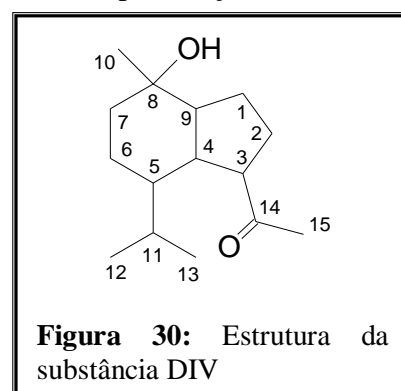




Diante dessas informações foi possível identificar que a substância **DIV** pertence à classe dos sesquiterpenos e que o mesmo apresenta, além de um grupo acetila, um grupo metílico ligado a um carbono não hidrogenado e oxigenado. Apresenta, ainda, um grupo isopropílico ligado a carbono metínico. Com essas informações foi realizada uma pesquisa para identificar o esqueleto base desse sesquiterpeno. Parker e colaboradores (1967) publicaram um artigo de revisão sobre a Biogênese dos sesquiterpenos. Nesse artigo foi possível identificar um sesquiterpeno que apresentava as mesmas características estruturais que a substância **DIV**. Tratava-se da Oplopanona, um sesquiterpeno do tipo cadinano modificado (**Figura 29**).

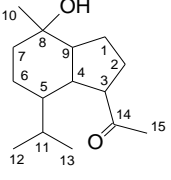
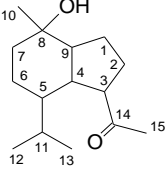


Como não havia relatos de dados de RMN nesse artigo foi, então, realizada uma segunda pesquisa para encontrar os dados de RMN desse sesquiterpeno e compará-los aos da substância **DIV**. Piers e Gavai (1990) publicaram dados de RMN para uma mistura racêmica da ( $\pm$ )-oplopanona, obtida por síntese (**Tabela 5; p. 65**). Nessa publicação é citada a ocorrência do enantiômero (-)-oplopanona em vários organismos terrestres. O enantiômero (+)-oplopanona foi isolado a partir de uma fonte marinha a alga *Laurencia subopposita*. Li e McChesney (1990) também relatam dados de RMN do enantiômero (+)-oplopanona isolado a partir da *Clausena lansium* Skeels. A comparação dos dados de RMN da substância **DIV** com os relatados por Piers e Gavai (1990) permitiu confirmar a identidade da substância **DIV** como sendo a da Oplopanona.



Esta substância está sendo relatada pela primeira vez na família Myrtaceae.

**Tabela 5:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  [300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$  (ppm)] e RMN de  $^{13}\text{C}$  [75 MHz,  $\text{CDCl}_3$  (ppm)] da substância **DIV** e dados da literatura [400 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 75 MHz ( $^{13}\text{C}$ ),  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)]

Substância <b>DIV</b>		PIERS, GAVAL, 1990		
				
Posição	$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, $J$	$\delta$ $^{13}\text{C}$	$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, $J$	$\delta$ $^{13}\text{C}$
1		25,3		25,3
2		28,6		28,6
3		46,7	1,96 (1H, ql, $J = 11,0$ Hz)	46,7
4		49,4		55,8
5	2,64 ddd, ( $J = 5,4, 9,0$ e $11,7$ Hz)	55,7	2,66 (1H, ddd, $J = 6,0, 9,0$ e $11,0$ Hz)	49,5
6		23,0		23,0
7		42,0		42,1
8		73,0		73,1
9		57,0		57,0
10	1,20 s (3H)	20,3	1,20 (3H, s)	20,3
11		29,5		29,7
12	0,89 d (3H, $J = 6,9$ Hz)	21,9	0,90 (3H, d, $J = 7,0$ Hz)	22,0
13	0,69 d (3H, $J = 6,9$ Hz)	15,6	0,70 (3H, d, $J = 7,0$ Hz)	15,6
14		211,5		211,5
15	2,18 s (3H)	29,5	2,19 (3H, s)	29,6

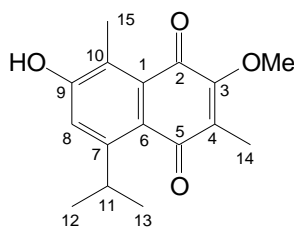
### 3.1.5 Substância **HIII**

A estrutura da substância **HIII** foi determinada a partir dos espectros de massas de alta resolução, IV e RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT  $135^\circ$ , HMQC e HMBC. O espectro de massas, realizado por ionização via eletrospray no modo negativo, apresentou pico do íon quasimolecular  $[\text{M} - \text{H}]^-$  em  $m/z$  273,1131. O espectro de IV realizado em pastilha de KBr apresentou uma banda larga na região de  $3100\text{ cm}^{-1}$  a  $3500\text{ cm}^{-1}$  característico de grupo hidroxílico. Apresentou, também, um pico de absorção em aproximadamente  $1650\text{ cm}^{-1}$  característico de carbonila conjugada e absorção em  $2900\text{ cm}^{-1}$  característico de ligação C-H de grupo alquila. O espectro de RMN  $^1\text{H}$  apresentou um singlete em  $\delta$  7,08 (1H) atribuído a hidrogênio de anel aromático

e três singletos integrando para três hidrogênios cada um em  $\delta$  4,01,  $\delta$  2,57 e  $\delta$  2,04 que foram atribuídos a hidrogênios de um grupo metoxílico e dois grupos metílicos, respectivamente. Foi observado, também, um dubleto em  $\delta$  1,25 (6H,  $J = 7,0$  Hz) e um septeto em  $\delta$  4,22 (1H,  $J = 7,0$  Hz) indicando a presença de um grupo isopropílico (**Tabela 6, p. 68**).

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT  $135^\circ$  revelaram a presença de três sinais referentes a grupos metílicos, sendo dois em  $\delta$  9,3 e  $\delta$  13,0 e um em  $\delta$  23,7, este último referente a dois carbonos metílicos quimicamente equivalentes. Além desses, apresentou um sinal em  $\delta$  60,2, atribuído a um carbono metoxílico, e  $\delta$  28,9 referente a carbono metínico do grupo isopropílico. Outro sinal de carbono metínico foi observado em  $\delta$  117,1 juntamente com sete sinais de carbonos não hidrogenados na região de 120,0 a 160,0 ppm. Dentre esses sinais dois apresentaram-se mais desprotegidos aparecendo em  $\delta$  157,3 e  $\delta$  158,0 o que permitiu sugerir a presença de dois carbonos aromáticos oxigenados. Esses dados indicaram a presença de um anel aromático pentassubstituído e de um grupo olefínico totalmente substituído. Foram observados outros dois sinais em  $\delta$  184,2 e  $\delta$  187,7 referentes a carbonos carbonílicos (**Tabela 6, p. 68**).

A partir desses dados foi proposta a fórmula molecular  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_4$ , cuja massa calculada foi de 274,1205, compatível com a massa obtida para o íon quasimolecular  $[\text{M} - \text{H}]^-$   $m/z$  273,1131. O IDH igual a oito, obtido para esta fórmula, juntamente com os dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  permitiram propor para a substância **IIII** a fórmula estrutural baseada num sesquiterpeno do tipo cadinano. Essa estrutura contém dois anéis de seis carbonos condensados, entretanto em **IIII**, um deles é aromático e o outro contém duas carbonilas em conjugação com uma dupla ligação carbono-carbono (**Figura 31**). Os grupos hidroxílico e metoxílico foram posicionados de acordo com estruturas similares encontradas na literatura (SHIBATANI *et al.*, 1999a).

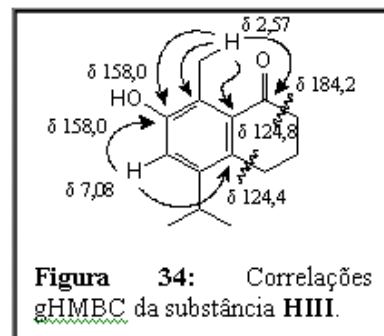
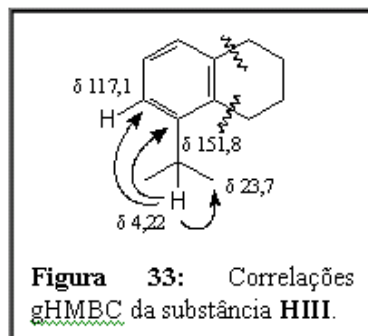
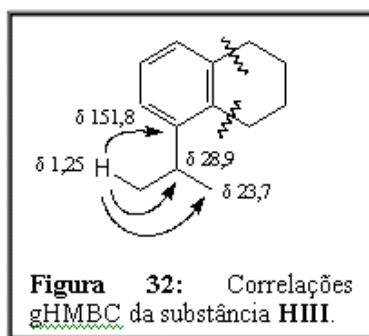


**Figura 31:** Proposta de estrutura da substância **IIII**.

A proposta estrutural foi reforçada através da análise do espectro gHMBC. A presença de correlação observada entre o dubleto em  $\delta$  1,25 e os sinais em  $\delta$  23,7 (CH<sub>3</sub>),  $\delta$  28,9 (CH) e  $\delta$  151,8 (C) permitiu confirmar a ligação do grupo isopropílico ao anel aromático (**Figura 32**).

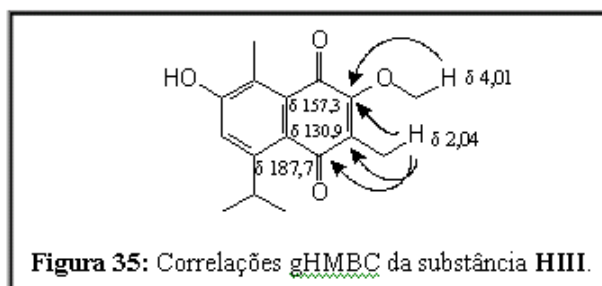
O septeto em  $\delta$  4,22, atribuído ao hidrogênio metínico do grupo isopropílico, apresentou correlação com os sinais em  $\delta$  23,7 (CH<sub>3</sub>),  $\delta$  117,1 (CH) e  $\delta$  151,8 (C) reforçando a ligação do grupo isopropílico com o anel aromático e permitindo posicioná-lo vizinho ao carbono aromático hidrogenado (**Figura 33**).

A correlação observada entre o singlete em  $\delta$  2,57, atribuído a hidrogênio metílico, e os sinais em  $\delta$  158,0 (C),  $\delta$  184,2 (C),  $\delta$  133,2 (C) e  $\delta$  124,8 (C) permitiu confirmar a ligação do grupo metílico com o anel aromático e reforçar a posição de uma das carbonilas no segundo anel (**Figura 34**). Além disso, foi observada a correlação entre o singlete em  $\delta$  7,08, atribuído ao hidrogênio aromático, e os sinais  $\delta$  158,0 e  $\delta$  124,4 (**Figura 34**).

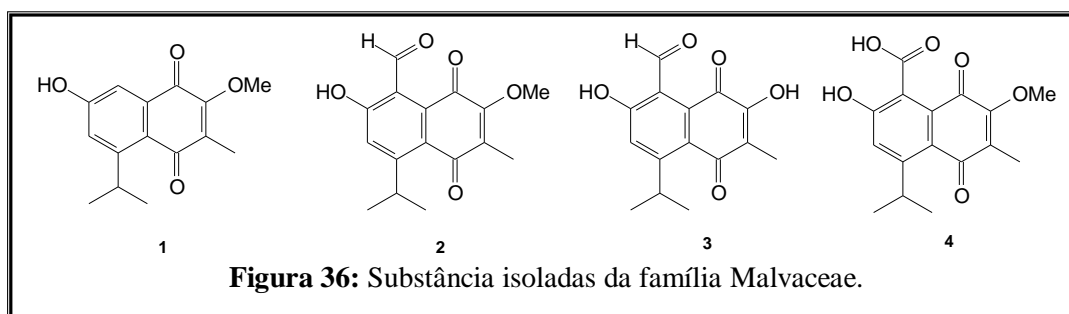


Segundo os dados obtidos a partir dos espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C faltava confirmar, ainda, a posição da dupla ligação totalmente substituída e da segunda carbonila, bem como do grupo metoxílico em  $\delta$  4,01 e do grupo metílico em  $\delta$  2,04.

O sinal em  $\delta$  2,04, atribuído a hidrogênios metílicos, apresentou correlação com os sinais em  $\delta$  187,7,  $\delta$  157,3 e  $\delta$  130,9 confirmando a ligação do grupo metílico a um carbono olefínico conjugado com uma carbonila (**Figura 35**). A presença de correlação entre o sinal  $\delta$  4,01 referente a hidrogênios de um grupo metoxílico e o sinal em  $\delta$  157,3 permitiu posicionar o grupo metoxílico sobre o carbono olefínico (**Figura 35**).



Após propor a estrutura para a substância **III** foi realizada uma pesquisa no Scifinder para avaliar o ineditismo da mesma. Foram encontradas substâncias com estruturas similares em *Bombax malabaricum* e *Pachira aquatica*, ambas pertencentes à família Malvaceae (ZHANG *et al.*, 2007; REDDY *et al.*, 2003; SHIBATANI *et al.*, 1999a; SHIBATANI *et al.*, 1999b) (**Figura 36**). No entanto, não foi encontrado qualquer relato sobre o isolamento da substância **III**. Assim sendo, é a primeira vez que se relata a ocorrência da substância 7-hidroxi-5-isopropil-3,8-dimetil-2-metóxi-1,4-naftoquinona.



**Tabela 6:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da substância **III** [500 MHz e 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)].

Posição	Substância <b>III</b>		
	RMN $^1\text{H}$	RMN $^{13}\text{C}$	gHMBC
1	-	124,8	-
2	-	184,2	-
3	-	157,3	-
4	-	130,9	-
5	-	187,7	-
6	-	124,4	-
7	-	151,8	-
8	7,08 s (1H)	117,1	C-9; C-6
9	-	158,0	-
10	-	133,2	-
11	4,22 sept. (1H, $J = 7,0$ Hz)	28,9	C-7; C-8; C12; C-13
12 e 13	1,25 d (6H, $J = 7,0$ Hz)	23,7	C-7; C-11
14	2,04 s (3H)	9,3	C-3; C-4; C-5
15	2,57 s (3H)	13,0	C-1; C-2; C-9; C-10
OMe	4,01 s (3H)	60,2	C-3

## 3.2. TRITERPENOS

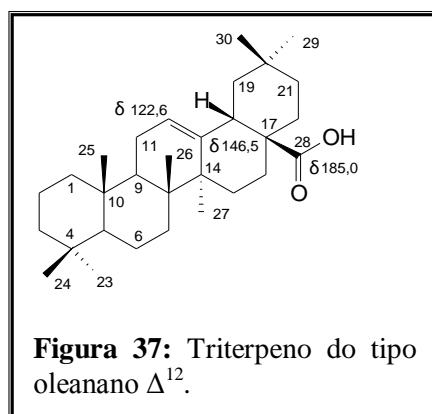
As substâncias codificadas como CI a CVII foram isoladas a partir da fase clorofórmica obtida do extrato etanólico do caule de *Myrcia guianensis*.

### 3.2.1 Substância CI

A substância **CI** foi isolada na forma de um sólido branco com faixa de fusão de 330 – 332 °C. Sua identificação foi realizada com base nas análises dos espectros de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135<sup>0</sup> e por comparação com dados da literatura (AGRAWAL, JAIN, 1992).

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  revelou a presença de seis singletos em  $\delta$  0,70,  $\delta$  0,86,  $\delta$  0,88,  $\delta$  0,95,  $\delta$  1,03 e  $\delta$  1,16 integrando para 3H cada um, indicando a presença de seis grupos metílicos, e um triplete em  $\delta$  5,24 (1H,  $J = 3,6$  Hz) característico de hidrogênio olefínico. Revelou também, a presença de um duplo dubleto em  $\delta$  2,89 (1H,  $J = 4,0$  Hz e 14,0 Hz), três dubletos em  $\delta$  3,27 (1H,  $J = 11,0$  Hz),  $\delta$  3,36 (1H,  $J = 9,5$  Hz) e  $\delta$  3,50 (1H,  $J = 11,0$  Hz) e um duplo duplo dubleto em  $\delta$  3,69 (1H,  $J_1 \approx J_2 \approx 11,5$  e  $J_3 = 4,5$  Hz) (**Tabela 9, p. 83**).

A partir da análise dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135<sup>0</sup> foi possível identificar a presença de 30 sinais, dos quais o sinal em  $\delta$  185,0 foi atribuído a um carbono de um grupo carboxílico e os sinais em  $\delta$  122,6 e  $\delta$  146,5 foram atribuídos a carbonos olefínicos, sendo um hydrogenado e o outro não hydrogenado, respectivamente (**Tabela 7, p. 73**). Estes dados, em conjunto com os obtidos a partir do espectro de RMN  $^1\text{H}$ , permitiram sugerir que a substância em questão pertence à classe dos triterpenos pentacíclicos com esqueleto oleanano  $\Delta^{12}$  (OLEA, ROQUE, 1990) (**Figura 37**).



A presença dos sinais em  $\delta$  78,4,  $\delta$  69,7 e  $\delta$  66,6 que foram atribuídos a dois carbonos oximetínicos e um carbono carbinólico metilênico, respectivamente, possibilitou sugerir que o triterpeno **CI** apresenta três carbonos contendo hidroxilas. Com essas informações foi realizada uma comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de **CI** com os do ácido oleanólico (**Tabela 7, p. 73**) com o objetivo de identificar os carbonos oxidados de **CI**.

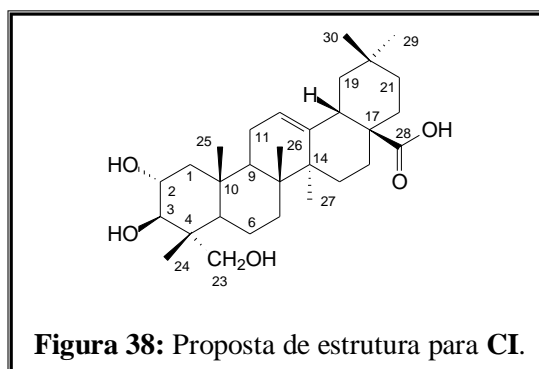
O ácido oleanólico apresenta o esqueleto triterpênico representado na figura 32, porém, com uma oxidação no carbono C3. Neste composto o carbono metílico C23 apresenta deslocamento químico em  $\delta$  28,7. A ausência deste sinal em **CI** e a presença do sinal em  $\delta$  66,6, referente a carbono carbinólico metilênico, permitiu sugerir que um dos carbonos oxidados seria o C23. Além disso, foi observada uma diferença de 2,6 ppm no carbono metílico C24 de **CI** quando comparado com o do ácido oleanólico. Em **CI** este sinal aparece em  $\delta$  13,9 e no ácido oleanólico em  $\delta$  16,5. Este dado reforça a proposta de oxidação do carbono C23 em **CI**, pois o grupo hidroxílico promove um efeito  $\gamma$  gauche de proteção sobre o carbono C24.

A presença do centro estereogênico em C4 vizinho ao carbono metilênico C23 torna os hidrogênios metilênicos em C23 diastereotópicos. Por ser o carbono C4 não hidrogenado, os hidrogênios diastereotópicos de C23 acoplam entre si dando origem a dois dubletos que foram observados em  $\delta$  3,27 (1H,  $J = 11,0$  Hz) e outro em  $\delta$  3,50 (1H,  $J = 11,0$  Hz).

Os sinais de carbonos metínicos oxigenados  $\delta$  69,7 e  $\delta$  78,4 foram atribuídos inicialmente com base na análise dos sinais de RMN  $^1\text{H}$ . A presença do dubleto em  $\delta$  3,36 (1H,  $J = 9,5$  Hz) permitiu inferir que este hidrogênio pertencia a um dos carbonos metínicos oxigenados e que este carbono apresentava como vizinhos dois outros carbonos, um não hidrogenado e um metínico. Outro sinal foi observado em  $\delta$  3,69 (ddd, 1H,  $J_1 \approx J_2 \approx 11,5$  e  $J_3 = 4,5$  Hz) e foi atribuído ao hidrogênio do segundo carbono metínico oxigenado. A multiplicidade deste sinal bem como suas constantes de acoplamento permitiu sugerir que os hidrogênios dos carbonos metínicos oxigenados estavam acoplando entre si, sendo, portanto, os carbonos carbinólicos metínicos vicinais.

Com base no que foi discutido e no conhecimento da rota biosintética dos triterpenos, os carbonos oximetínicos foram atribuídos a C2 e C3, sendo que o sinal em  $\delta$  78,4 foi atribuído a C3, pois este sofre três efeitos  $\beta$  de desproteção provenientes dos grupos metílico C24, hidroxílico ligado a C2 e do grupo hidroximetilênico. O sinal em  $\delta$  69,7 foi atribuído a C2, pois este sofre efeito  $\beta$  de desproteção somente do grupo hidroxílico ligado a C3. Com

base nesta discussão, foi proposta a estrutura da substância **CI**, conforme representado na figura abaixo.



A configuração relativa dos carbonos C2 e C3 foi atribuída com base nas constantes de acoplamento observadas para H2 e H3. O dubleto em  $\delta$  3,36 (1H,  $J = 9,5$  Hz) foi atribuído ao hidrogênio H3 e a constante de acoplamento de 9,5 Hz permitiu sugerir que este hidrogênio está em posição axial em relação a H2. Desta forma, o grupo hidroxílico ligado a C3 apresenta uma orientação  $\beta$  e o ligado a C2 orientação  $\alpha$  (**Figura 38**).

Após propor uma estrutura para **CI** foi realizada uma pesquisa bibliográfica e constatou-se que a substância **CI** havia sido identificada como ácido  $2\alpha,3\beta,23$ -trihidroxi-olean-12-en-28-oico, conhecido como ácido arjunólico. Os dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de **CI** estão de acordo com os relatados para essa substância (AGRAWAL, JAIN, 1992) (**Tabela 7, p. 73**).

O ácido arjunólico foi isolado pela primeira vez a partir das cascas da árvore *Terminália arjuna* e é considerado o principal constituinte químico dessa espécie em razão de sua quantidade. Sua ocorrência também é relatada a partir de outras espécies, tais como, *Cochlospermum tinctorium*, *Cornus capitata*, *Leandra chaetodon*, *Combretum leprosum*, *Campsis grandiflora*, *Combretum nelsonii* (HEMALATHA *et al.*, 2010). Em Myrtaceae, sua ocorrência é relatada em *Syzygium guineense*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Psidium guajava*, *Melaleuca alternifolia*, *Melaleuca leucadendron* e *Myrtus Communis* L. (GUTI'ERREZ *et al.*, 2008; TSIRI *et al.*, 2008; SHAHEEN *et al.*, 2006; DJOUKENG *et al.*, 2005; VIEIRA *et al.*, 2004).

Há muitos anos o ácido arjunólico tem sido utilizado na medicina Ayurvedica como um tônico cardíaco devido a seus efeitos cardioprotetores. Estudos experimentais têm provado a existência dessa função terapêutica confirmando a sua ação preventiva contra a necrose do miocárdio, agregação plaquetária e coagulação, bem como, sua atuação na redução da pressão sanguínea, frequência cardíaca e níveis de colesterol. Além dessa função cardioprotetora, o ácido arjunólico também tem atuado na proteção de células contra a toxicidade causada por



metais e apresentado atividade antiinflamatória, antidiabética, antitumoral e antimicrobiana (HEMALATHA *et al.*, 2010).

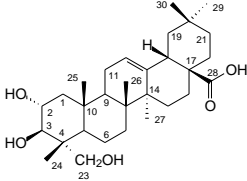
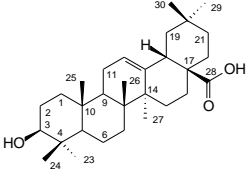
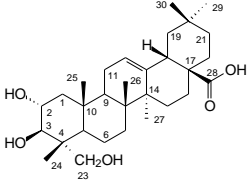
Além das propriedades medicinais mencionadas o ácido arjunólico e seus derivados alquílicos e aromáticos tem despertado grande interesse na área da nanociência, como relatado na introdução desse trabalho.

Atualmente, a *Terminalia arjuna* tem sido a fonte natural de obtenção do ácido arjunólico em grandes quantidades (BAG *et al.*, 2005a, 2005b, 2006, 2009). Entretanto, há uma dificuldade em isolá-lo de forma pura, visto que o mesmo encontra-se em mistura com o ácido asiático (HEMALATHA *et al.*, 2010; BAG *et al.*, 2009).

A versatilidade na utilização desse composto nas áreas medicinal e de tecnologia, bem como, a escassez de fontes naturais que permita seu isolamento de forma pura e em quantidades expressivas tem tornado de significativa relevância a descoberta de novas fontes desse composto.

O estudo fitoquímico da fase clorofórmica do extrato etanólico do caule de *Myrcia guianensis* tem revelado, de forma qualitativa, que o ácido arjunólico é o triterpeno de maior ocorrência no caule dessa espécie. Essa informação foi obtida a partir da análise por CCD, das frações resultantes do fracionamento da fase clorofórmica, monitoradas com um padrão do ácido arjunólico. Além disso, não foi observada, durante o estudo fitoquímico do caule de *Myrcia guianensis*, a ocorrência do ácido arjunólico com qualquer outro ácido triterpênico que inviabilizasse seu isolamento com aceitável grau de pureza. Dessa forma, faz-se necessário fazer uma estimativa da proporção de ácido arjunólico em relação à massa de extrato para avaliar se é possível propor a espécie *Myrcia guianensis* como candidata em potencial para a obtenção dessa substância.

**Tabela 7:** Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  da substância **CI** [125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] e dos ácidos oleanólico e arjunólico [piridina- $d_5$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] (AGRAWAL, JAIN, 1992).

posição	<b>CI</b> 	$\delta^{13}\text{C}$ Ácido oleanólico (AGRAWAL, JAIN, 1992) 	$\delta^{13}\text{C}$ Ácido arjunólico (AGRAWAL, JAIN, 1992) 
1	48,0	38,9	47,6
2	69,7	28,2	68,8
3	78,4	78,0	78,2
4	44,2	39,4	43,6
5	48,4	55,8	48,0
6	19,2	18,8	18,5
7	34,3	33,3	32,9
8	43,2	39,8	39,8
9	49,2	48,1	48,1
10	40,6	37,4	38,4
11	24,7	23,8	23,7
12	122,6	122,5	123,2
13	146,5	144,8	144,9
14	39,2	42,0	42,2
15	29,2	28,3	28,3
16	24,5	23,8	23,9
17	48,5	46,7	47,6
18	43,3	42,0	42,0
19	48,0	46,7	46,4
20	31,8	31,0	30,9
21	35,4	34,3	34,1
22	33,5	33,3	33,2
23	66,6	28,7	66,6
24	13,9	16,5	14,2
25	18,2	15,5	17,3
26	17,6	17,5	17,5
27	26,6	26,2	26,1
28	185,0	180,2	180,0
29	33,9	33,3	33,2
30	24,3	23,8	23,7

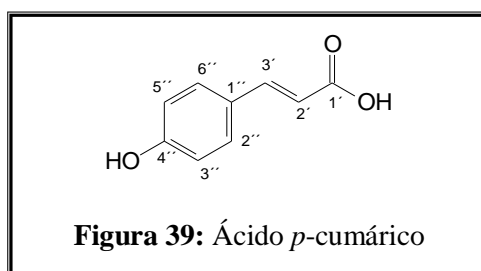
### 3.2.2 Substância CII

A substância **CII** apresentou-se como um sólido amorfo amarelo claro com faixa de fusão 248-250 °C. Sua estrutura foi determinada através das técnicas de RMN unidimensionais (RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135°) e bidimensionais (gHMQC e gHMBC), sendo posteriormente identificada por comparação de seus dados de RMN com os relatados na literatura (GU *et al.*, 2001) (**Tabela 8, p. 76**).

A análise dos espectros unidimensionais de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  revelou que **CII** apresentou sinais característicos do mesmo esqueleto triterpênico que **CI**, identificado como ácido arjunólico.

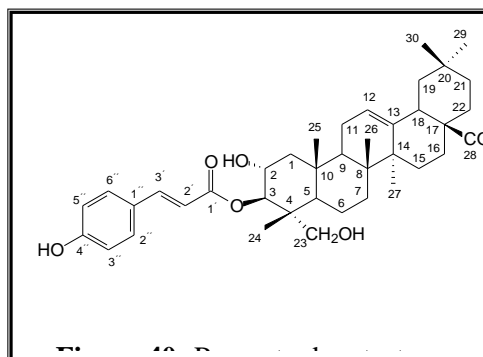
A diferença observada foi a presença de sinais na região de  $\delta$  6,0 a 8,0 no espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **CII**. Nesta região foram observados dois dubletos em  $\delta$  6,38 e  $\delta$  7,64 com constante de acoplamento de 16,0 Hz e integrando para um hidrogênio cada um, e dois dubletos em  $\delta$  6,89 e  $\delta$  7,54 integrando para dois hidrogênios cada e com constante de acoplamento de 8,5 Hz (**Tabela 9, p. 83**). Os dois primeiros dubletos descritos acima foram atribuídos a hidrogênios olefínicos com configuração *trans* e os outros dois dubletos, atribuídos a quatro hidrogênios de um anel aromático 1,4-dissubstituído.

A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135° confirmou a presença do anel aromático 1,4-dissubstituído através dos sinais em  $\delta$  127,0 (C),  $\delta$  131,0 (CH),  $\delta$  116,8 (CH) e  $\delta$  160,8 (C), sendo que a desproteção observada para este último sinal permitiu identificar que um dos carbonos aromáticos estava ligado a um grupo hidroxílico. Além dos sinais referentes ao anel aromático, foram observados os sinais em  $\delta$  115,8 e  $\delta$  145,8 atribuídos a carbonos olefínicos hidrogenados, um sinal em  $\delta$  169,2 atribuído a um carbono carbonílico de éster, além de sinais referentes ao esqueleto triterpênico do ácido arjunólico (**Tabela 8, p. 76**). A presença de um sinal em  $\delta$  127,0, que foi atribuído a um carbono aromático não hidrogenado, permitiu sugerir que este anel estava ligado a um sistema carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado. Após levantamento bibliográfico foi observado que este grupo apresentava o mesmo esqueleto do ácido *p*-cumárico (**Figura 39**) e que ésteres deste ácido com triterpenos já haviam sido relatados (GU *et al.*, 2001).



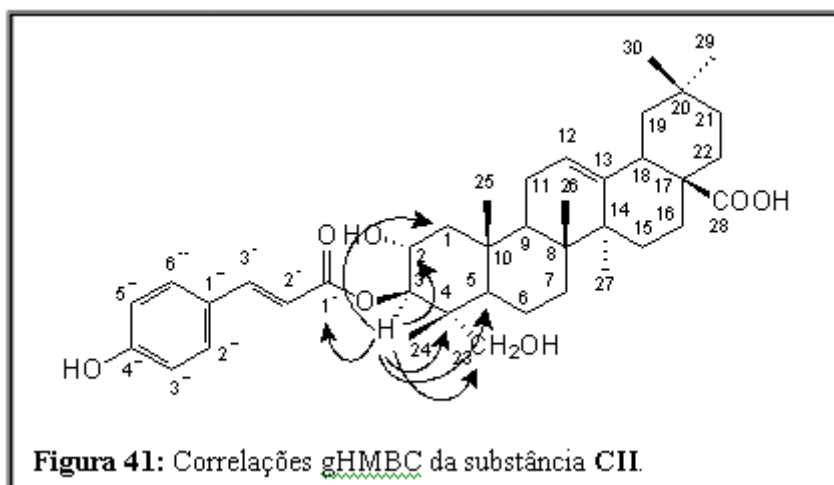
Inicialmente, o grupo hidroxílico ligado ao anel aromático foi posicionado no carbono C4''. Este, por sua vez, promove uma proteção sobre os carbonos C3'' e C5'' e por isso o sinal em  $\delta$  116,8 foi atribuído a eles. Como os carbonos C2'' e C6'' não sofrem esse efeito de proteção por parte do grupo hidroxílico estes carbonos são mais desprotegidos e aparecem em  $\delta$  131,0. Os sinais dos hidrogênios destes carbonos também foram discutidos com base nos efeitos de desproteção provenientes do efeito anisotrópico da dupla ligação carbono-carbono. O sinal em  $\delta$  7,54 foi atribuído aos hidrogênios ligados aos carbonos C2'' e C6'' do anel aromático em virtude destes hidrogênios estarem posicionados no cone de desproteção da dupla ligação carbono-carbono e estarem localizados nos carbonos que são desprotegidos por efeito de ressonância do anel aromático com a dupla ligação carbono-carbono. Estes efeitos não são observados para os hidrogênios de C3'' e C5'' e por isso o sinal destes hidrogênios aparece em  $\delta$  6,89. A ligação da carbonila a um dos carbonos olefínicos formando um sistema carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado também justifica um dos hidrogênios olefínicos apresentar-se mais desprotegido em relação ao outro. O hidrogênio do carbono  $\beta$ -carbonílico é mais desprotegido pois está posicionado no carbono que é mais deficiente em elétrons. Além disso, este hidrogênio sofre efeito de desproteção devido à anisotropia do anel aromático. Desta forma, os sinais  $\delta$  6,38 e  $\delta$  7,64 foram atribuídos aos hidrogênios  $\alpha$  e  $\beta$  carbonílicos, respectivamente.

Ao dar continuidade à análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  de **CI** e **CII** outra diferença foi observada: em **CII**, o sinal em  $\delta$  4,89 (1H, d,  $J = 10,0$  Hz) foi atribuído ao hidrogênio H3 que apresentou-se mais desprotegido que o hidrogênio H3 de **CI**, observado em  $\delta$  3,36 (**Tabela 9, p. 83**). Esta desproteção permitiu sugerir que o grupo *p*-cumaroil está ligado ao oxigênio do carbono C3 e, dessa forma, o hidrogênio H3 encontra-se na região de desproteção do grupo carbonílico do *p*-cumaroil (**Figura 40**).



A proposta de ligação do grupo *p*-cumaroil ao oxigênio do carbono metínico C3 do triterpeno foi confirmada pelas correlações observadas no espectro de RMN gHMBC entre os

sinais  $\delta$  4,89 (H3) e  $\delta$  169,2 (C1'),  $\delta$  48,3 (C1),  $\delta$  66,8 (C2),  $\delta$  44,2 (C4),  $\delta$  48,5 (C5),  $\delta$  65,0 (C23) e  $\delta$  14,6 (C24) (**Figura 41**).



Após pesquisa bibliográfica foi constatado que a substância **CII** era o ácido 3 $\beta$ -*trans*-*p*-oxicumaroil-2 $\alpha$ ,23-diidroxi-olean-12-en-28-oico, isolado unicamente de duas espécies da família Myrtaceae, a *Eugenia sandwicensis* e a *Melaleuca leucadendron* L (Lee, 1998b). Nesse artigo também é relatado o valor de  $[\alpha]_D$  do ácido 3 $\beta$ -*trans*-*p*-oxicumaroil-2 $\alpha$ ,23-diidroxi-olean-12-en-28-oico  $\{[\alpha]_D^{20} + 25,5 (c 0,047, \text{MeOH})\}$  que está de acordo com o encontrado para a substância **CII**  $\{[\alpha]_D^{20} + 28,0 (c 1,0, \text{MeOH})\}$ .

Este é o primeiro relato da ocorrência desta substância no gênero *Myrcia*.

**Tabela 8:** Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **CI** (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ), **CII** (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ), **CIII** (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ), **CIV** (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ), **CV** (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e dos ácidos 3 $\beta$ -*trans*-*p*-oxicumaroil-2 $\alpha$ ,23-diidroxi-olean-12-en-28-oico e 23-*trans*-*p*-oxicumaroil-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -diidroxi-olean-12-en-28-oico [piridina- $d_5$ ,  $\delta_C$  (ppm)] (GU *et al.*, 2001).

C	CI Ácido arjunólico	CII	CIII	CIV	CV	GU <i>et al.</i> , 2001 CIV	GU <i>et al.</i> , 2001 CII
1	48,0	48,3	48,4	47,4	48,4	47,8	48,0
2	69,7	66,8	67,8	68,6	67,8	68,4	66,4
3	78,4	80,2	80,1	77,4	80,1	77,4	79,7
4	44,2	44,2	44,6	43,1	44,6	43,2	43,6
5	48,4	48,5	47,9	48,7	47,9	48,5	47,9
6	19,2	18,6	19,1	18,8	19,1	18,7	18,0
7	34,3	33,4	33,4	33,2	33,4	33,1	33,2
8	43,2	40,3	40,7	40,1	40,7	39,9	39,3

<b>9</b>	49,2	47,4	49,1	48,5	49,1	48,0	47,0
<b>10</b>	40,6	38,6	39,1	38,6	39,1	38,3	37,9
<b>11</b>	24,7	24,3	24,8	24,2	24,8	24,0	23,6
<b>12</b>	122,6	122,9	123,5	122,8	123,3	122,4	121,6
<b>13</b>	146,5	145,1	145,6	145,0	145,7	144,9	145,4
<b>14</b>	39,2	42,7	43,2	42,4	43,1	42,2	42,0
<b>15</b>	29,2	28,5	28,9	28,3	29,0	28,2	28,2
<b>16</b>	24,5	23,8	24,2	23,6	24,3	23,6	23,6
<b>17</b>	48,5	46,9	47,8	46,6	47,8	46,6	46,5
<b>18</b>	43,3	42,3	42,9	42,2	42,2	42,0	41,9
<b>19</b>	48,0	46,8	47,4	46,8	41,7	46,3	46,4
<b>20</b>	31,8	31,4	31,8	31,2	37,0	30,9	30,8
<b>21</b>	35,4	34,5	35,0	34,3	29,5	34,2	34,2
<b>22</b>	33,5	33,2	34,0	33,2	33,3	33,2	32,5
<b>23</b>	66,6	65,0	65,3	66,1	65,3	66,5	64,5
<b>24</b>	13,9	14,6	14,8	13,7	14,8	14,1	14,6
<b>25</b>	18,2	17,7	17,7	17,4	17,7	17,3	17,0
<b>26</b>	17,6	17,7	17,9	17,6	18,0	17,5	17,3
<b>27</b>	26,6	26,4	26,6	26,1	26,7	26,0	25,9
<b>28</b>	185,0	179,2	182,0	178,9	182,6	180,2	180,2
<b>29</b>	33,9	33,4	33,7	33,3	74,7	33,2	33,1
<b>30</b>	24,3	24,0	24,1	23,8	19,7	23,8	23,6
<b>1'</b>	-	169,2	170,1	167,2	170,2	167,4	168,2
<b>2'</b>	-	115,8	116,0	115,6	115,6	115,3	115,4
<b>3'</b>	-	145,8	147,0	145,2	146,8	145,1	144,8
<b>1''</b>	-	127,0	128,0	126,8	127,4	126,1	125,7
<b>2''</b>	-	131,0	111,9	130,9	131,3	130,7	130,3
<b>3''</b>	-	116,8	149,5	116,6	117,0	116,9	116,6
<b>4''</b>	-	160,8	150,7	160,6	161,3	161,5	161,3
<b>5''</b>	-	116,8	116,6	116,6	117,0	116,9	116,6
<b>6''</b>	-	131,0	124,3	130,9	131,3	130,7	130,3
<b>3-OMe</b>	-	-	56,6	-	-	-	-

### 3.2.3 Substância CIII

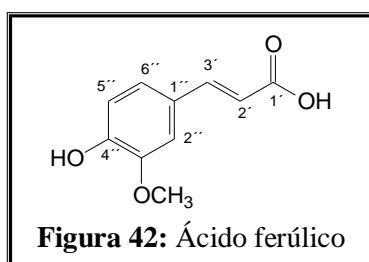
A substância **CIII** isolada como um sólido amorfo de cor amarelo claro apresentou pico do íon quasi-molecular  $[M-H]^-$  (HRESI/MS) em  $m/z$  663,3970.

Sua estrutura foi determinada através da análise dos dados de RMN  $^1H$ ,  $^{13}C$ , DEPT 135° e de espectros bidimensionais (gHMOC e gHMBC). A análise dos espectros unidimensionais revelou que **CIII** apresenta o mesmo esqueleto triterpênico que **CII**. Além disso, **CIII** apresentou sinais na região de 6,0 a 8,0 ppm no espectro de RMN  $^1H$  igualmente a **CII**. No entanto, a multiplicidade dos sinais sugeriu a presença de um grupo fenólico diferente do encontrado para **CII** (**Tabela 9, p. 83**).

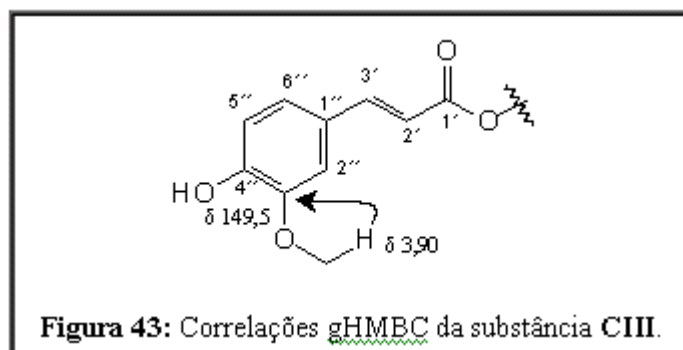
Foram observados dois dubletos com integração para 1H cada e com constante de acoplamento de 16 Hz, um em  $\delta$  7,65 e outro em  $\delta$  6,42. Apresentou ainda, dois dubletos com integração para 1H cada, sendo um em  $\delta$  6,82 ( $J = 8,0$  Hz) e outro em  $\delta$  7,20 ( $J = 2,0$  Hz), e um duplo dubleto em  $\delta$  7,08 ( $J = 8,0$  Hz e 2,0 Hz) indicando a presença de um anel aromático 1,3,4-trissubstituído. Estes dados permitiram sugerir a presença de um anel aromático 1,3,4-trissubstituído ligado a um sistema carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado similar ao encontrado em **CII**.

A análise dos espectros de RMN  $^{13}C$  e DEPT 135° permitiu confirmar a presença do sistema carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado através dos sinais em  $\delta$  170,1 (C=O),  $\delta$  116,0 (CH),  $\delta$  147,0 (CH) e do anel aromático 1,3,4-trissubstituído através dos sinais em  $\delta$  128,0 (C),  $\delta$  111,9 (CH),  $\delta$  149,5,  $\delta$  150,7,  $\delta$  116,6 (CH) e  $\delta$  124,3 (CH). Os sinais mais desprotegidos,  $\delta$  149,5 e  $\delta$  150,7, foram atribuídos a carbonos aromáticos oxigenados (**Tabela 8, p. 76**). Foi observado também, no espectro de RMN  $^1H$ , um singlete em  $\delta$  3,90, integrando para 3H, e um sinal em  $\delta$  56,6 no espectro de RMN  $^{13}C$ , indicando a presença de um grupo metoxílico. Este grupo foi inicialmente atribuído como um dos substituintes do anel aromático.

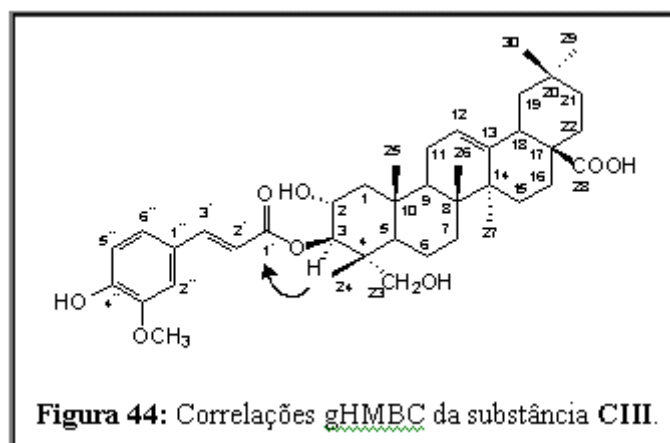
Após levantamento bibliográfico foi possível sugerir que este grupo poderia ser o *trans*-feruloil originado do ácido ferúlico (CHIEN *et al.*, 2004) (**Figura 42**).



A análise do espectro de RMN bidimensional gHMBC permitiu confirmar a ligação do grupo metoxílico ao anel aromático através da correlação entre os sinais  $\delta$  3,90 e  $\delta$  149,5.



Após determinar a estrutura do grupo fenólico que encontrava-se ligado ao triterpene era preciso saber em qual posição este grupo estava ligado. Ao comparar os espectros de RMN  $^1\text{H}$  de **CII** e **CIII** foi observado que **CIII** apresentava um dubleto em  $\delta$  4,93 (1H,  $J = 10,0$  Hz) igualmente a **CII** ( $\delta$  4,89, 1H,  $J = 10,0$  Hz). Em **CII** este sinal foi atribuído a H3. Esta semelhança permitiu propor que o grupo fenólico da substância **CIII** estava ligado ao oxigênio do carbono C3, igualmente em **CII**. Esta proposta foi confirmada pela análise do espectro de RMN bidimensional gHMBC que revelou correlação entre os sinais  $\delta$  4,93 (H3) e  $\delta$  170,1(C1') (**Figura 44**).



Diante disso foi proposta para **CIII** a estrutura do ácido  $3\beta$ -*trans*-feruloil-2 $\alpha$ ,23-diidroxi-olean-12-en-28-oico ilustrada na figura 45 para o qual o valor de  $[\alpha]_D^{20}$  foi de + 13,0 ( $c$  0,52, MEOH). Esta proposta está de acordo com o íon quasi-molecular  $[\text{M}-\text{H}]^-$  (HRESI/MS) observado em  $m/z$  663,3970 referente à fórmula molecular  $\text{C}_{40}\text{H}_{55}\text{O}_8$ . A massa calculada para a fórmula  $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_8$  foi de 664,3975.

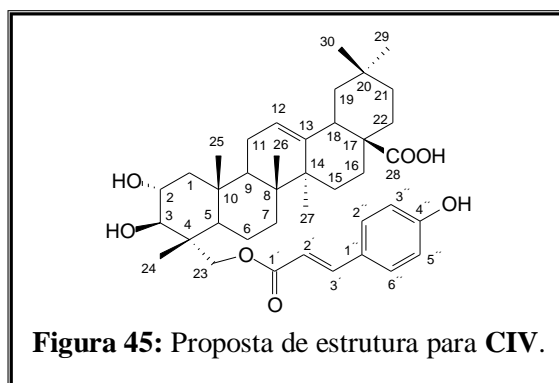


A pesquisa bibliográfica realizada no scifinder para essa estrutura não apresentou relato sobre o isolamento ou síntese dessa substância. Diante disso, pode-se dizer que esta substância é inédita.

### 3.2.4 Substância CIV

A substância **CIV** foi isolada sob a forma de um sólido amorfo amarelo claro com faixa de fusão de 210 – 214 °C. Sua estrutura foi determinada com base na análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135° e por comparação com os dados de RMN encontrados para **CII**. Após determinação da estrutura, a identificação foi realizada comparando-se os dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  com os encontrados na literatura (GU *et al.*, 2001). A análise inicial do espectro de RMN  $^1\text{H}$  revelou que **CIV** apresenta uma grande semelhança estrutural com **CII**, ou seja, apresentam o mesmo esqueleto triterpênico ligado ao grupo fenólico *p*-cumaroil. Estas informações foram obtidas após observar no espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **CII** e **CIV** a presença de sinais de hidrogênios de seis grupos metílicos, um hidrogênio olefínico e quatro dubletos na região de  $\delta$  6,0 a 8,0 que foram atribuídos ao grupo *p*-cumaroil (**Tabela 9, p. 83**).

A comparação dos dados obtidos a partir dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135° de **CIV** e **CII** reforçou a proposta que **CIV** apresenta o esqueleto do ácido arjunólico esterificado com o grupo *p*-cumaroil igualmente ao observado em **CII** (**Tabela 8, p. 76**). Algumas diferenças observadas nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  de **CII** e **CIV** permitiram sugerir que o grupo fenólico não encontrava-se ligado ao oxigênio do carbono C3, como observado em **CII**. O sinal atribuído a H3 em **CIV** foi observado em  $\delta$  3,36, semelhante ao observado para o ácido arjunólico (CI). Em **CII** este sinal aparece em  $\delta$  4,89 (**Tabela 9, p. 83**). Outra diferença observada refere-se aos sinais dos hidrogênios diastereotópicos de C23. Em **CIV** o sinal atribuído a esses hidrogênios apresentou-se como dubleto em  $\delta$  4,07 com constante de acoplamento de 2,1 Hz, bem diferente do observado para **CII** cujos hidrogênios apresentaram-se como dubletos em  $\delta$  3,30 e  $\delta$  2,95 com constante de acoplamento de 12,0 Hz (**Tabela 9, p. 83**). Esta diferença observada nos sinais dos hidrogênios de C23 permitiu posicionar o grupo *p*-cumaroil no oxigênio do carbono C23 (**Figura 45, p. 81**).



A pesquisa bibliográfica realizada para **CIV** no Scifinder gerou um único relato da ocorrência desta substância. **CIV** foi identificada como ácido 23-*trans*-*p*-oxicumaroil-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -diidroxiolean-12-en-28-oico isolada somente de *Eugenia sandwicensis*, pertencente à família Myrtaceae (GU *et al.*, 2001).

O valor de  $[\alpha]_D$  encontrado para **CIV** foi de  $[\alpha]_D^{20} + 63,0$  (*c* 0,38, MeOH) e está de acordo com o publicado por Gu e outros (2001) para o Ácido 23-*trans*-*p*-oxicumaroil-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -diidroxiolean-12-en-28-oico  $\{[\alpha]_D^{20} + 21,8$  (*c* 0,055, MeOH) $\}$ .

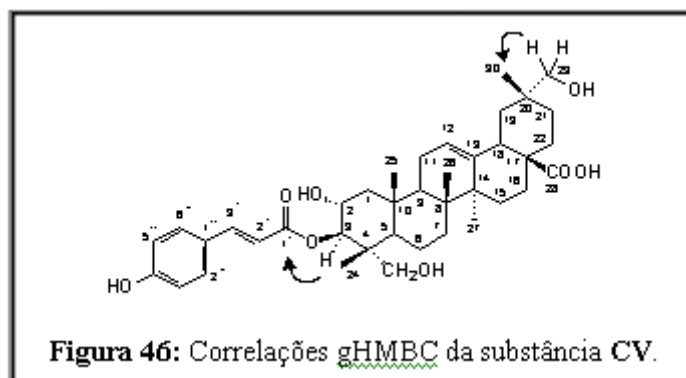
Este é o segundo relato do isolamento desta substância em plantas e o primeiro em *Myrcia*.

### 3.2.5 Substância CV

A determinação estrutural de **CV** foi realizada através da análise dos dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135° e gHMBC e por comparação desses dados com os obtidos para **CII**. Esta substância, sólido amorfo, amarelo claro, apresentou pico do íon quasi-molecular  $[\text{M-H}]^-$  (HREIMS) em  $m/z$  649,3742.

A comparação dos dados de RMN  $^1\text{H}$  de **CV** com **CII** (Tabela 9, p. 83) revelou que **CV** apresenta o mesmo esqueleto triterpênico que **CII**, porém com um grupo metílico a menos, ou seja, cinco. Revelou também a presença do grupo fenólico *p*-coumaroil, possivelmente ligado ao oxigênio do carbono C3, visto que tanto **CV** quanto **CII** apresentam

para o hidrogênio H3 um dubleto em aproximadamente  $\delta$  4,90 (1H,  $J = 10,0$  Hz). Além da ausência de um grupo metílico, foi observado um singlete em  $\delta$  3,19 integrando para dois hidrogênios. Esta informação permitiu propor que um dos carbonos metílicos havia sido oxidado. Na análise dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (Tabela 8, p. 76) foi observada a ausência do sinal em  $\delta$  33,3, característico do carbono metílico C29, além da desproteção do carbono C20 e proteção do carbono metílico C30. Estes dados permitiram posicionar o grupo hidroxílico no carbono C29 e desta forma, este grupo exerceria um efeito  $\beta$  de desproteção sobre o carbono C20 e um efeito  $\gamma$  de proteção sobre o carbono C30. A análise dos dados de gHMBC possibilitou confirmar a posição do grupo hidroxílico no carbono C29 através das correlações observadas entre os sinais  $\delta$  3,19 (H29) e  $\delta$  19,7 (C30), bem como, a posição do grupo *p*-coumaroil no oxigênio do C3 através da correlação entre  $\delta$  4,93 (H3) e  $\delta$  170,2 (C1') (Figura 46).



Com base na discussão acima foi proposto para **CV** a estrutura do ácido 3 $\beta$ -*trans-p*-oxicumaroil-2 $\alpha$ ,23,29-triidroxi-olean-12-en-28-oico representado na figura 47. Esta proposta está de acordo com o íon quasi-molecular  $[\text{M}-\text{H}]^-$  (ESI/MS) observado em  $m/z$  649,3742 para a fórmula  $\text{C}_{39}\text{H}_{53}\text{O}_8$ . A massa calculada para a substância com a fórmula molecular  $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{O}_8$  foi de 650,3819. Não foi encontrado relato, através do scifinder, do isolamento da substância **CV**.

**Tabela 9:** Dados de RMN <sup>1</sup>H das substâncias **CI** (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD), **CII** (500 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>), **CIII** (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD), **CIV** (300 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>) e **CV** (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD).

H	CI	CII	CIII	CIV	CV
H-1					
H-2	3,69 ddd (1H, $J_1 \approx J_2 \approx 11,5$ e $J_3 = 4,5$ Hz)	4,0 ddd (1H, $J_1 \approx J_2 \approx 11,5$ e $J_3 = 4,5$ Hz)	3,94 ddd (1H, $J_1 \approx J_2 \approx 15,0$ e $J_3 = 5,0$ Hz)	3,72 ddd (1H, $J_1 \approx J_2 \approx 10,8$ e $J_3 = 5,7$ Hz)	3,96 ddd (1H, $J_1 \approx J_2 \approx 11,1$ e $J_3 = 4,2$ Hz)
H-3	3,36 d (1H, $J = 9,5$ Hz)	4,89 d (1H, $J = 10,0$ Hz)	4,93 d (1H, $J = 10,0$ Hz)	3,36 d (1H, $J = 9,6$ Hz)	4,93 d (1H, $J = 10,0$ Hz)
H-5					
H-6					
H-7					
H-9					
H-11					
H-12	5,24 t (1H)	5,27 t (1H, $J = 3,5$ Hz)	5,27 t (1H)	5,25 t (1H)	5,27
H15					
H-16					
H-18	2,89 dd (1H, $J = 4,0$ e $14,0$ Hz)	2,90 dd (1H, $J = 4,5$ e $14,5$ Hz)	2,87 dd (1H, $J = 4,5$ e $13,5$ Hz)	2,87 dd (1H, $J = 3,6$ e $13,8$ Hz)	2,90 dd (1H, $J = 4,5$ e $9,9$ Hz)
H-19					
H-21					
H-22					
H-23	3,50 d (1H, $J = 11,0$ Hz)	3,30 d (1H, $J = 12$ Hz)	3,32 d (1H, $J = 11,7$ Hz)	4,07 d (1H, $J = 2,1$ Hz)	2,98 d (1H, $J = 9,9$ Hz)
H-23	3,27 d (1H, $J = 11,0$ Hz)	2,95 d (1H, $J = 12$ Hz)	3,0 d (1H, $J = 12$ Hz)	4,07 d (1H, $J = 2,1$ Hz)	
H-24	0,70 s (3H)	0,77 s (3H)	0,79 s (3H)	0,80 s (3H)	0,78 s (3H)
H-25	1,03 s (3H)	1,08 s (3H)	1,09 s (3H)	1,05 s (3H)	1,08 s (3H)
H-26	0,86 s (3H)	0,82 s (3H)	0,84 s (3H)	0,82 s (3H)	0,85 s (3H)
H27	1,16 s (3H)	1,20 s (3H)	1,20 s (3H)	1,13 s (3H)	1,20 s (3H)
H-29	0,88 s (3H)	0,92 s (3H)	0,92 s (3H)	0,90 s (3H)	3,19 s (2H)
H-30	0,95 s (3H)	0,95 s (3H)	0,95 s (3H)	0,93 s (3H)	0,94 s (3H)
H-2'	-	6,38 d (1H, $J = 16$ Hz)	6,42 d (1H, $J = 16,0$ Hz)	6,38 d (1H, $J = 16,2$ Hz)	6,38 d (1H, $J = 15,9$ Hz)
H-3'	-	7,64 d (1H, $J = 16$ Hz)	7,65 d (1H, $J = 16,0$ Hz)	7,64 d (1H, $J = 16,2$ Hz)	7,65 d (1H, $J = 15,9$ Hz)
H-2''	-	7,54 d (1H, $J = 8,5$ Hz)	7,20 d (1H, $J = 2,0$ Hz)	7,54 d (1H, $J = 8,7$ Hz)	7,46 d (1H, $J = 8,7$ Hz)
H-3''	-	6,89 d (1H, $J = 8,5$ Hz)	-	6,89 d (1H, $J = 8,7$ Hz)	6,81 d (1H, $J = 8,7$ Hz)
H-5''	-	6,89 d (1H, $J = 8,5$ Hz)	6,82 d (1H, $J = 8,0$ Hz)	6,89 d (1H, $J = 8,7$ Hz)	6,81 d (1H, $J = 8,7$ Hz)
H-6''	-	7,54 d (1H, $J = 8,5$ Hz)	7,08 dd (1H, $J = 8,0$ e $2,0$ Hz)	7,54 d (1H, $J = 8,7$ Hz)	7,47 d (1H, $J = 8,7$ Hz)
3''-OMe	-	-	3,90 s (3H)	-	-

Configuração de 2-OH ( $\alpha$ ) e 3-OH ( $\beta$ ): trans diequatorial.

### 3.2.6 Substância CVI

A substância **CVI** de cor branca e faixa de fusão de 266 – 269 °C foi identificada através da análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135° e por comparação com dados da literatura (TANACA *et al.*, 2003).

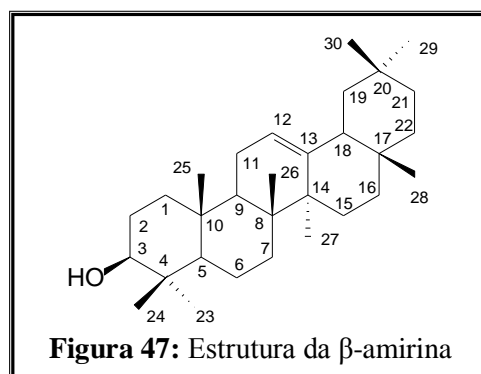
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  revelou sete singletos em  $\delta$  0,80,  $\delta$  0,87,  $\delta$  0,87,  $\delta$  0,95,  $\delta$  0,99,  $\delta$  1,00 e  $\delta$  1,13, integrando para 3H cada um, indicando a presença de sete grupos metílicos. Apresentou também um triplete em  $\delta$  5,21 (1H,  $J = 3,5$  Hz), atribuído a hidrogênio olefínico, um dubleto em  $\delta$  2,90 (1H,  $J = 9,5$  Hz) e um duplo duplo dubleto em  $\delta$  3,61 (1H,  $J_1 \approx J_2 \approx 11,0$  e  $J_3 = 4,5$  Hz), ambos atribuídos a hidrogênios oximetínicos (**Tabela 10, p. 86**).

A análise dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135° revelou a presença de trinta átomos de carbonos, dos quais sete referentes a carbonos metílicos, nove metilênicos, seis metínicos e oito carbonos não hidrogenados (**Tabela 11, p. 87**). Estes dados indicaram que a substância **CVI** pertencia à classe dos triterpenos pentacíclicos.

A presença do sinal em  $\delta$  186,3, atribuído a um carbono carboxílico, além dos sinais em  $\delta$  122,3 e  $\delta$  147,1, atribuídos a carbonos olefínicos, sendo um hidrogenado e o outro não hidrogenado, permitiram propor a presença do esqueleto oleanano  $\Delta^{12}$  com um grupo carboxílico. A presença dos sete grupos metílicos foi confirmada pelos sinais em  $\delta$  17,2 (C24),  $\delta$  17,6 (C25),  $\delta$  18,4 (C26),  $\delta$  24,5 (C30),  $\delta$  26,6 (C27),  $\delta$  29,5 (C23) e  $\delta$  34,1 (C29) (**Tabela 11, p. 87**).

De acordo com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  relatados para a substância  $\beta$ -amirina (3 $\beta$ -hidroxiolean-12-ene) (MAHATO & KUNDO, 1994), o sinal em  $\delta$  29,5 poderia ser atribuído a C23 ou a C28.

Como não foi observada alteração no deslocamento químico do carbono metílico C24 o sinal em  $\delta$  29,5 foi atribuído ao carbono metílico C23. Além disso, como não foi observado um segundo sinal nesta região, concluiu-se que a metila C28 da substância

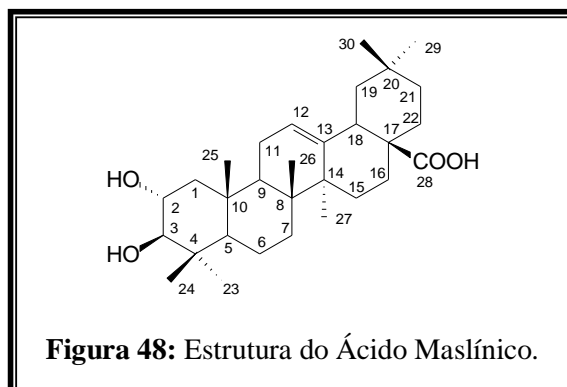


**CVI** apresenta-se oxidada a ácido carboxílico. Diante disso, o sinal em  $\delta$  186,3 foi atribuído ao carbono C28. Foram observados também sinais referentes a carbonos carbinólicos metínicos em  $\delta$  69,7 e  $\delta$  84,7, atribuídos aos carbonos C2 e C3, respectivamente. A

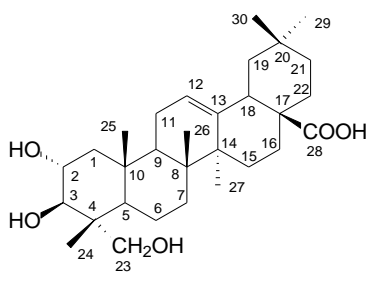
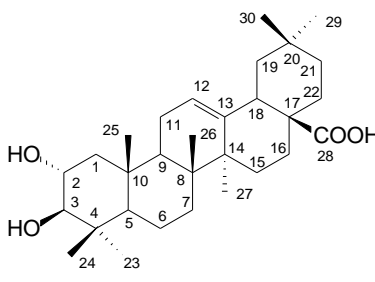
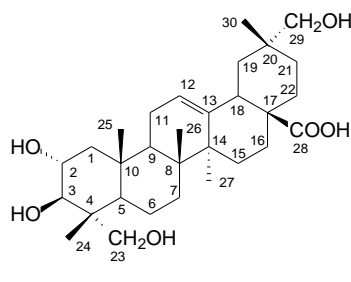
configuração relativa dos grupos hidroxílicos em C2 e C3 foi atribuída com base nas constantes de acoplamento dos sinais dos hidrogênios metínicos.

O dubleto em  $\delta$  2,90 (1H,  $J = 9,5$  Hz) foi atribuído ao carbono C3 em virtude de H3 acoplar somente com H2, visto que o carbono vizinho C4 é não hydrogenado. A constante de acoplamento de 9,5 Hz permite dizer que H3 está em posição axial. Da mesma forma, o duplo duplo dubleto em  $\delta$  3,61 (1H,  $J_1 = J_2 = 11,0$  e  $J_3 = 4,5$  Hz) foi atribuído a H2 por este acoplar-se a H3 e aos dois hidrogênios de C1. A magnitude da constante de acoplamento permite dizer que H2 está em posição axial. Desta forma, pode-se afirmar que os grupos hidroxílicos de C2 e C3 estão em posição  $\alpha$  e  $\beta$ , respectivamente.

Com base no que foi discutido foi proposto para a substância **CVI** a estrutura do ácido  $2\alpha,3\beta$ -diidróxiolean-12-ene-28óico. Após pesquisa bibliográfica, a substância **CVI** foi identificada como ácido maslínico (TANACA *et al.*, 2003) (**Figura 48**).



**Tabela 10:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  das substâncias **CI** (ácido arjunólico) (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ), **CVI** (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ), **CVII** (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ).

H	<b>CI</b> 	<b>CVI</b> 	<b>CVII</b> 
H-1			
H-2	3,69 ddd (1H, $J_1 \approx J_2 \approx 11,5$ e $J_3 = 4,5$ Hz)	3,61 ddd (1H, $J_1 \approx J_2 \approx 11,0$ e $J_3 = 4,5$ Hz)	3,70 ddd (1H, $J_1 \approx J_2 \approx 11,0$ e $J_3 = 4,5$ Hz)
H-3	3,36 d (1H, $J = 9,5$ Hz)	2,90 d (1H, $J = 9,5$ Hz)	3,36 d (1H, $J = 9,0$ Hz)
H-5			
H-6			
H-7			
H-9			
H-11			
H-12	5,24 t (1H)	5,21 t (1H)	5,27 t (1H)
H-15			
H-16			
H-18	2,89 dd (1H, $J = 4,0$ e $14,0$ Hz)	2,91 dd (1H, $J = 4,5$ e $10,5$ Hz)	2,92 d (1H, $J = 11,0$ Hz)
H-19			
H-21			
H-22			
H-23	3,50 d (1H, $J = 11,0$ Hz)	-	3,51 d (1H, $J = 11,0$ Hz)
H-23	3,27 d (1H, $J = 11,0$ Hz)	0,80 s (3H)	3,27 d (1H, $J = 11,0$ Hz)
H-24	0,70 s (3H)	0,87 s (3H)	0,71 s (3H)
H-25	1,03 s (3H)	1,00 s (3H)	1,04 s (3H)
H-26	0,86 s (3H)	0,87 s (3H)	0,85 s (3H)
H-27	1,16 s (3H)	1,13 s (3H)	1,19 s (3H)
H-29	0,88 s (3H)	0,95 s (3H)	3,19 s (2H)
H-30	0,95 s (3H)	0,99 s (3H)	0,95 s (3H)

**Tabela 11:** Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  [125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] das substâncias **CVI** e **CVII**, bem como de **CI** (ácido arjunólico) [125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] e dos ácidos maslínico [ $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] (TANACA *et al.*, 2003) e estálico A [125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] (YANG *et al.*, 2006).

C	Substância CVI	Ácido maslínico (TANACA, VIDOTTI, SILA, 2003)	CI (Acido arjunólico)	Substância CVII	Ácido estálico A (YANG <i>et al.</i> , 2006)
1	48,3	48,1	48,0	48,0	48,1
2	69,7	69,5	69,7	69,8	69,3
3	84,7	84,5	78,4	78,4	78,7
4	40,6	40,5	44,2	44,2	44,1
5	56,9	56,7	48,4	48,4	48,5
6	19,8	19,5	19,2	19,2	19,0
7	34,2	33,9	34,3	33,5	33,3
8	39,5	39,2	43,2	40,7	40,2
9	49,41	49,0	49,2	49,2	48,6
10	40,7	39,2	40,6	39,2	38,9
11	24,7	24,0	24,7	24,4	24,2
12	122,3	123,6	122,6	123,1	122,9
13	147,1	145,5	146,5	146,1	145,5
14	43,2	42,6	39,2	43,2	42,6
15	29,4	28,8	29,2	29,1	28,8
16	24,8	24,0	24,5	24,8	24,4
17	49,4	47,7	48,5	47,6	47,5
18	43,6	42,7	43,3	42,4	41,8
19	48,3	47,2	48,0	41,9	41,7
20	32,0	31,6	31,8	37,0	37,0
21	35,7	34,9	35,4	29,7	29,5
22	34,6	33,8	33,5	33,5	33,1
23	29,5	29,3	66,6	66,6	67,1
24	17,2	17,0	13,9	14,0	14,7
25	17,6	17,1	18,2	18,2	17,8
26	18,4	17,4	17,6	17,7	18,0
27	26,6	23,9	26,6	26,7	26,6
28	186,3	180	185,0	183,1	180,6
29	34,1	33,5	33,9	74,8	74,3
30	24,5	23,9	24,3	19,8	20,2



### 3.2.7 Substância CVII

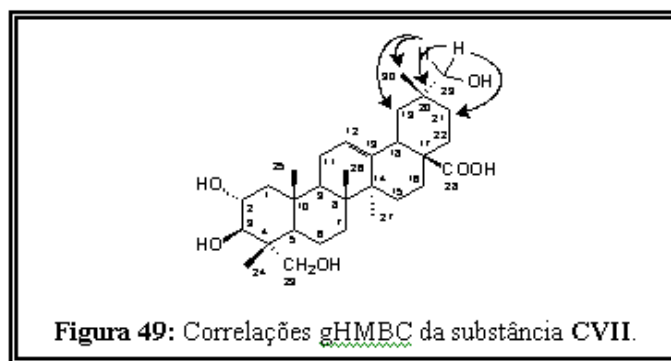
A substância **CVII** de cor branca e faixa de fusão de 287–289 °C apresentou pico do íon quasi-molecular  $[M-H]^-$  em  $m/z$  503,3426.

Os dados de RMN  $^1H$  de **CVII** apresentaram-se similares aos do ácido arjunólico (**Tabela 10, p. 86**). As diferenças observadas foram a presença de cinco singletos em  $\delta$  0,71,  $\delta$  0,85,  $\delta$  0,95,  $\delta$  1,04 e  $\delta$  1,19 atribuídos a cinco grupos metílicos, ao invés de seis, e a presença de um singlete em  $\delta$  3,19 integrando para dois hidrogênios, que foi atribuído a hidrogênios ligados a carbono carbinólico.

O espectro de RMN  $^{13}C$  apresentou trinta sinais e confirmou a presença dos cinco grupos metílicos através dos sinais em  $\delta$  14,0,  $\delta$  17,7,  $\delta$  18,2,  $\delta$  19,8 e  $\delta$  26,7. Foram observados, ainda, dois sinais referentes a carbonos carbinólicos metilênicos, um em  $\delta$  66,6 e outro em  $\delta$  74,8. O primeiro sinal foi atribuído ao carbono C24, igualmente observado para o ácido arjunólico, e o segundo sinal foi atribuído ao carbono C29, em virtude dos efeitos  $\gamma$  de proteção observados sobre o carbono metílico C30 e carbonos metilênicos C19 e C21, quando comparado com os dados do ácido arjunólico (**Tabela 11, p. 87**).

A presença do grupo carboxílico foi proposta com base no sinal largo e de baixa intensidade observado em  $\delta$  183,1. Foi confirmado, também, a presença dos dois carbonos carbinólicos metínicos C2 e C3 através dos sinais em  $\delta$  69,8 e  $\delta$  78,4. A configuração relativa atribuída aos carbonos C2 e C3 foi semelhante à do ácido arjunólico, pois foram observados no espectro de RMN  $^1H$  um dubleto em  $\delta$  3,36 (1H,  $J = 9,0$  Hz) e um duplo duplo dubleto em  $\delta$  3,70 (1H,  $J_1 \approx J_2 \approx 11,0$  Hz e  $J_3 = 4,5$  Hz) atribuídos aos hidrogênios H3 e H2, respectivamente.

A análise dos dados de RMN gHMBC permitiu confirmar a atribuição do grupo oximetilênico ao carbono C29, pois foi observado correlação entre o sinal em  $\delta$  3,19 (H29) e  $\delta$  19,8 (C30),  $\delta$  29,7 (C21),  $\delta$  37,0 (C20) e  $\delta$  41,9 (C19) (**Figura 49**).



Diante do exposto, foi proposta para a substância **CVII** a estrutura do ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,23,29-triidroxiolean-12-ene-28-oico. Esta estrutura está de acordo com a fórmula molecular C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>6</sub> obtida a partir do espectro de massa. Após pesquisa bibliográfica constatou-se que a substância **CVII** é o ácido estáclico A, isolado de *Stachyurus himalaicus* var. *himalaicus*, pertencente a família Stachyuraceae (YANG *et al.*, 2006) e de *Photinia serrulata*, família Rosaceae (SONG *et al.*, 2008).

Os dados de atividade óptica de  $[\alpha]_D^{25} + 47,7$  (*c* 0,72, MeOH) encontrados para o Ácido estáclico A (YANG *et al.*, 2006) estão de acordo com os encontrados para a substância **CVII** que foi de  $[\alpha]_D^{20} + 35,0$  (*c* 1,0, MeOH).

Esta substância está sendo relatada pela primeira vez na família Myrtaceae.

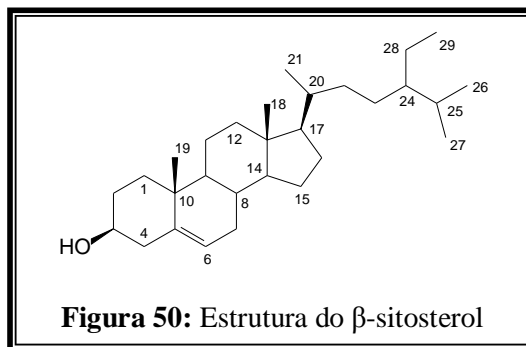
### 3.3 ESTERÓIDES

As substâncias **HI** e **HII** foram isoladas da fase hexânica obtida a partir do extrato etanólico do caule.

#### 3.3.1 Substância **HI**

A substância **HI** foi isolada sob a forma de um sólido cristalino branco com faixa de fusão de 132,6 - 133,6 °C e sua estrutura foi identificada por comparação de seus dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  com os da literatura (MOGHADDAM *et al.*, 2007).

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  realizado em  $\text{CDCl}_3$  revelou a presença de um tripleto em  $\delta$  5,36 (1H,  $J = 2,0$  Hz), que foi atribuído a hidrogênio olefínico, e um aparente septeto em  $\delta$  3,53 (1H,  $J = 4,5$  Hz) indicando a presença de um carbono oximetínico. Foram observados também dois singletos em  $\delta$  1,01 e  $\delta$  0,69, cada um integrando para três hidrogênios, um tripleto em  $\delta$  0,85 (3H,  $J = 7,5$  Hz) e três dubletos em  $\delta$  0,93 (3H,  $J = 7,0$  Hz),  $\delta$  0,84 (3H,  $J = 6,5$  Hz) e  $\delta$  0,82 (3H,  $J = 6,5$  Hz). Além desses, foram observados multipletos em  $\delta$  2,27 (2H),  $\delta$  2,17 (2H),  $\delta$  1,86 (3H) e outros na região de 1,0 a 1,70 ppm. O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  revelou a presença de vinte e nove átomos de carbono (**Tabela 12, p. 92**). A análise do espectro de DEPT 135<sup>0</sup> permitiu identificar a presença de seis metilas, onze carbonos metilênicos, nove carbonos metínicos e três não hidrogenados. O número total de átomos de carbonos, dos quais seis eram de metilas, bem como a multiplicidade observada para os hidrogênios metílicos possibilitaram propor a presença de um esteróide do tipo poriferastano com uma insaturação e um carbono oximetínico igualmente ao encontrado para a substância  $\beta$ -sitosterol. A comparação dos dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da substância **HI** com os do  $\beta$ -sitosterol (MOGHADDAM *et al.*, 2007) (**Tabela 12, p. 92**) permitiu identificar o composto **HI** (**Figura 50**).

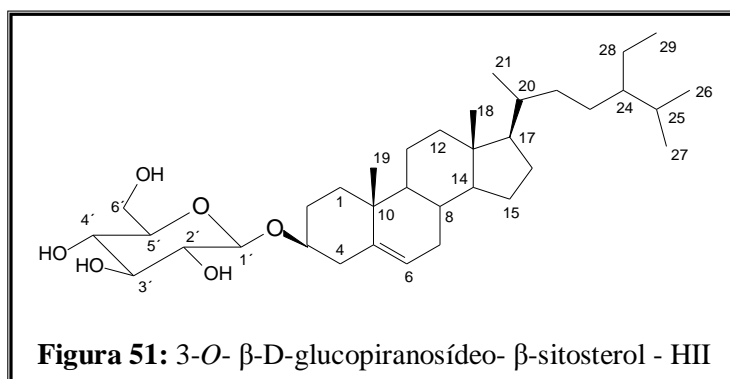


**Figura 50:** Estrutura do  $\beta$ -sitosterol

### 3.3.2 Substância **HII**

A determinação estrutural da substância **HII** foi realizada a partir dos dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Os sinais observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  realizado em  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$  foram semelhantes aos observados para **HI**. Foi observada a presença de um tripleto em  $\delta$  5,38 (1H,  $J = 3,0$  Hz), característico de hidrogênio olefínico, e dos sinais em  $\delta$  1,02 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz),  $\delta$  0,96 (3H, s),  $\delta$  0,92 (3H, t,  $J = 7,0$  Hz),  $\delta$  0,91 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz),  $\delta$  0,89 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz) e  $\delta$  0,69 (3H, s) atribuídos a seis grupos metílicos. Além desses, foram observados sinais na região de  $\delta$  4,00 a 5,00, tais como,  $\delta$  5,08 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz),  $\delta$  4,59 (1H, dd,  $J = 2,0$  e 11,5 Hz),  $\delta$  4,43 (1H, dd,  $J = 5,5$  e 12,0 Hz),  $\delta$  4,31 (2H, quint.,  $J = 7,5$  Hz),  $\delta$  4,08 (1H, t,  $J = 7,5$  Hz) e  $\delta$  4,00 (2H, m). Estes dados permitiram inferir que a substância **HII** apresentava o mesmo esqueleto básico que **HI**, porém, com uma unidade glicosídica.

A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135° e a comparação com dados da substância **HI** permitiram confirmar a proposta acima (**Tabela 12, p. 92**). Além dos sinais referentes ao esqueleto do  $\beta$ -sitosterol foram observados mais cinco sinais referentes a carbonos metínicos oxigenados em  $\delta$  103,1,  $\delta$  79,0,  $\delta$  78,7,  $\delta$  75,9,  $\delta$  72,2 e um referente a carbono metilênico oxigenado em  $\delta$  63,4. A comparação desses sinais com as de unidades glicosídicas permitiu identifica-la como sendo a  $\beta$ -D-glucopiranosídeo (PRETSCH *et al.*, 2000). Dessa forma, foi proposta para a substância **HII** a estrutura do 3-O-  $\beta$ -D-glucopiranosídeo-  $\beta$ -sitosterol (**Figura 51**). A comparação dos dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  com os da literatura (MOGHADDAM *et al.*, 2007) (**Tabela 12, p. 92**) confirmou a proposta acima. Essa substância também é conhecida como daucosterol.



**Tabela 12:** Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  das substâncias HI [125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)],  $\beta$ -sitosterol [125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)], HII [125 MHz, piridina- $d_5$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] e daucosterol [125 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] (MOGHADDAM *et al.*, 2007).

C	Substância <b>HI</b>	$\beta$ -sitosterol MOGHADDAM <i>et al.</i> , 2007	Substância <b>HII</b>	Daucosterol MOGHADDAM <i>et al.</i> , 2007
1	37,3	37,7	37,5	38,8
2	31,9	32,3	32,7	33,5
3	71,8	72,2	79,1	79,8
4	42,3	42,8	40,5	41,3
5	140,8	141,2	141,5	142,3
6	121,7	122,1	122,4	123,2
7	31,7	32,1	30,8	31,6
8	31,9	32,3	32,6	33,4
9	50,2	50,6	50,9	51,7
10	36,5	36,9	38,0	38,2
11	21,1	21,5	21,8	22,7
12	39,8	40,2	39,9	40,7
13	42,3	42,8	43,0	43,8
14	56,8	57,2	57,3	58,1
15	24,3	24,7	25,0	25,8
16	28,2	28,7	29,1	29,9
17	56,1	56,5	56,8	57,7
18	12,0	12,4	12,7	13,5
19	19,4	19,8	19,9	20,7
20	36,1	36,6	36,9	37,7
21	18,8	19,2	19,7	20,3
22	34,0	34,4	34,8	35,5
23	26,1	26,5	26,9	27,7
24	45,9	46,2	46,6	47,4
25	29,2	29,6	30,0	30,7
26	19,8	20,2	19,5	21,3
27	19,0	19,5	20,5	20,5
28	23,1	23,5	23,9	24,7
29	11,9	12,3	12,5	13,3
1'	-	-	103,1	103,9
2'	-	-	75,9	76,7
3'	-	-	79,0	79,9
4'	-	-	72,2	73,0
5'	-	-	78,7	79,4
6'	-	-	63,4	64,1

### 3.4 Fenilpropanoides

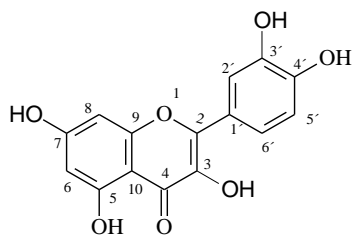
As substâncias AI a AIV foram isoladas da fase acetato de etila obtida a partir do extrato etanólico das folhas. O composto CVIII foi isolado da fase clorofórmica obtido a partir do extrato etanólico do caule.

#### 3.4.1 Substância AI

A substância **AI** foi isolada como um sólido amarelo de faixa de fusão de 312 – 314 °C e sua identificação estrutural foi realizada através da análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e por comparação com dados da literatura (ADEROGBA *et al.*, 2006).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  realizado em acetona- $d_6$  apresentou um singleto integrando para 1H em  $\delta$  12,14 sugerindo a presença de hidrogênio hidroxílico envolvido em ligação de hidrogênio. Foram observados, ainda, mais cinco sinais na região de  $\delta$  6,0 a 8,0, cada um integrando para 1H, sendo quatro dubletos em  $\delta$  6,26 ( $J = 1,8$  Hz),  $\delta$  6,51 ( $J = 1,8$  Hz),  $\delta$  6,99 ( $J = 8,4$  Hz),  $\delta$  7,82 ( $J = 2,1$  Hz) e um duplo dubleto em  $\delta$  7,69 ( $J = 8,4$  e 2,1 Hz) (**Tabela 13; p. 94**). Os dois primeiros sinais foram atribuídos a hidrogênios de um anel aromático 1,2,3,5-tetrassubstituído e os três últimos sinais a hidrogênios de um anel aromático 1,3,4-trissubstituído. Como não foi observada a presença de outros sinais no espectro de RMN  $^1\text{H}$  foi sugerido grupos hidroxílicos como substituintes desses anéis aromáticos. Com essas informações foi proposto que a substância **AI** pertencia a classe dos flavonoides.

A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  reforçou essa proposta por apresentar quinze átomos de carbono (**Tabela 13; p. 94**). Além disso, a presença dos sinais em  $\delta$  147,0,  $\delta$  136,7 e  $\delta$  176,5 possibilitou identificar o esqueleto flavonoídico como sendo o flavonol (HARBORNE, 1983). Os sinais de carbonos não hidrogenados em  $\delta$  145,8,  $\delta$  148,3,  $\delta$  157,8,  $\delta$  162,3 e  $\delta$  165,0 confirmaram a presença dos substituintes oxigenados e permitiram sugerir a estrutura de um flavonol pentaidroxilado (**Figura 52, p. 94**).



3,5,7,3',4'-pentaidroxi-flavonol

**Figura 52:** Proposta de estrutura para **AI**

Após pesquisa na literatura e comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  foi possível identificar a substância **AI** como a quercetina, isolada de *Bauhinia monandra*, Fabaceae (ADEROGBA *et al.*, 2006) e amplamente relatada em espécies da família Myrtaceae (REYNERTSON *et al.*; 2008; GALLO *et al.*, 2006; ARIMA & DANNO, 2002).

**Tabela 13:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  [300 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$  (ppm)] e RMN de  $^{13}\text{C}$  [75 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] da substância **AI** e dados da literatura [300 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 75 MHz ( $^{13}\text{C}$ ),  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$  (ppm)] (ADEROGBA *et al.*, 2006).

Posição	Substância AI		ADEROGBA <i>et al.</i> , 2006	
	$\delta^1\text{H}$ , multiplicidade, $J$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ , multiplicidade, $J$	$\delta^{13}\text{C}$
2	-	147,0	-	146,8
3	-	136,7	-	135,8
4	-	176,5	-	175,9
5	-	162,3	-	160,7
6	6,26 (1H, d, $J = 1,8$ Hz)	99,2	6,18 (1H, d, $J = 1,8$ Hz)	98,2
7	-	165,0	-	163,9
8	6,51 (1H, d, $J = 1,8$ Hz)	94,4	6,40 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	93,4
9	-	157,8	-	156,2
10	-	104,1	-	103,0
1'	-	123,8	-	122,0
2'	7,82 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	115,7	7,67 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	115,1
3'	-	145,8	-	145,1
4'	-	148,3	-	147,7
5'	6,99 (1H, d, $J = 8,4$ Hz)	116,2	6,89 (1H, d, $J = 8,4$ Hz)	115,6
6'	7,69 (1H, dd, $J = 2,1$ e 8,4 Hz)	121,4	7,54 (1H, dd, $J = 2,1$ e 8,7 Hz)	120,0
5-OH	12,14 (1H, s)	-	12,49 (1H, s)	-

### 3.4.2 Substância AII

A substância **AII** foi isolada sob a forma de um sólido amarelo de faixa de fusão de 176 – 179 °C . Sua estrutura foi determinada com base nos espectros unidimensionais de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e bidimensionais gHMBC. Posteriormente sua estrutura foi identificada por comparação com dados da literatura (SANTOS *et al.*, 2005).

A análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (acetona- $d_6$ ) revelou a presença de cinco sinais entre  $\delta$  6,0 e  $\delta$  8,0 com integração para 1H cada, sendo três dubletos com  $J = 2,1$  Hz em  $\delta$  6,24,  $\delta$  6,44 e  $\delta$  7,47, um dubleto com  $J = 8,4$  Hz em  $\delta$  6,97 e um duplo dubleto com  $J = 2,1$  e 8,4 Hz em  $\delta$  7,36 sugerindo a presença de dois anéis aromáticos, sendo um 1,2,3,5-tetrassubstituído e o outro anel 1,3,4-trissubstituído. Na região de campo mais alto foram observados sinais com integração para 1H cada, sendo um dubleto em  $\delta$  5,50 ( $J = 1,5$  Hz), três duplos dubletos em  $\delta$  4,20 ( $J = 1,5$  e 3,3 Hz),  $\delta$  3,74 ( $J = 3,3$  e 9,0 Hz),  $\delta$  3,33 ( $J = 9,0$  Hz) e um multiplete em  $\delta$  3,36 (**Tabela 14, p. 97**). Além desses sinais foi observado um dubleto em  $\delta$  0,91 ( $J = 6,0$  Hz) integrando para 3H, indicando a presença de um grupo metílico ligado a carbono metínico. Com estes dados foi possível sugerir a estrutura de um flavonoide *O*-glicosilado.

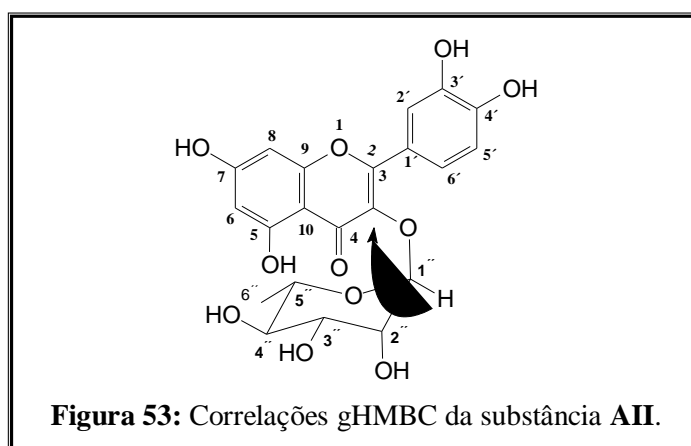
A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  reforçou a proposta acima apresentando vinte e um átomos de carbono, sendo onze hidrogenados e dez não hidrogenados (**Tabela 14, p. 97**). Na região entre  $\delta$  180,0 e  $\delta$  90,0 foram observados dezesseis sinais, dos quais  $\delta$  94,4,  $\delta$  99,5,  $\delta$  116,1,  $\delta$  116,7 e  $\delta$  122,4 foram atribuídos aos carbonos aromáticos hidrogenados e  $\delta$  162,8,  $\delta$  165,4,  $\delta$  158,2,  $\delta$  149,2,  $\delta$  146,00,  $\delta$  122,1 e  $\delta$  105,3 atribuídos a carbonos aromáticos não hidrogenados. Destes, os cinco sinais mais desprotegidos foram atribuídos a carbonos oxigenados. Os sinais em  $\delta$  157,7,  $\delta$  135,5 e  $\delta$  179,1 foram atribuídos a dois carbonos olefínicos oxigenados não hidrogenados e a um carbono carbonílico, respectivamente. A comparação destes sinais com os da literatura possibilitou identificar a substância **AII** como um flavonol (HARBORNE, 1983).

Na região entre  $\delta$  80,0 e  $\delta$  70,0 foram observados os sinais  $\delta$  72,80,  $\delta$  71,96 e  $\delta$  71,29, sendo este último com intensidade duplicada para dois átomos de carbonos. Esses dados juntamente com o sinal em  $\delta$  102,62 indicaram a presença de cinco carbonos metínicos oxigenados que foram atribuídos à unidade glicosídica. Esta unidade foi identificada como



sendo a ramnose devido à presença de um grupo metílico em  $\delta$  17,81 que é característico desse açúcar (HARBORNE, 1983).

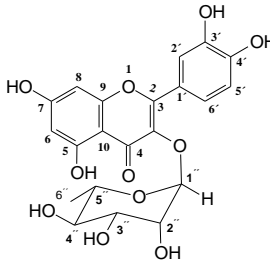
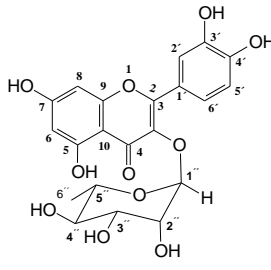
A posição deste glicosídeo foi confirmada com a análise do espectro bidimensional gHMBC. Este espectro apresentou correlação do sinal em  $\delta$  5,50 ( $H-1''$ ), atribuído a hidrogênio ligado ao carbono metínico  $C1''$  do glicosídeo, com o sinal em  $\delta$  135,48, atribuído ao carbono olefínico  $\alpha$  carbonílico. Desta forma o glicosídeo ramnose foi posicionado no oxigênio do carbono C3 do anel C do flavonol (**Figura 53**).



Além disso, o deslocamento químico deste carbono metínico  $C1''$  de  $\delta$  102,6 reforça sua ligação com o oxigênio do carbono C3 do anel C (HARBORNE, 1983). Utilizando os dados de RMN  $^{13}C$  da unidade glicosídica e comparando-os com dados da literatura foi possível identificar a configuração da ramnose em questão como sendo a  $\alpha$  (HARBORNE, 1983).

A comparação destes dados com os da literatura (**Tabela 14, p. 97**) possibilitou identificar a substância **AII** como o flavonoide 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosil quercetina, conhecido também como quercitrina (SANTOS *et al.*, 2005) (**Figura 53**) e isolado anteriormente de várias espécies da família Myrtaceae (REYNERTSON *et al.*; 2008; GALLO *et al.*, 2006; ARIMA & DANNO, 2002) e de *Croton campestris* St. Hill. (Euforbiaceae) (SANTOS *et al.*, 2005).

**Tabela 14:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  [300 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$  (ppm)] e RMN  $^{13}\text{C}$  [75 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] da substância **AII** e dados da literatura [400 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ ),  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$  (ppm)] (SANTOS *et al.*, 2005).

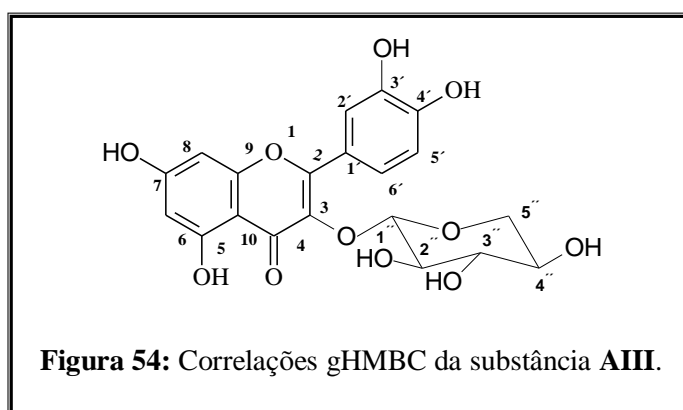
	Substância AII		Quercitrina (SANTOS <i>et al.</i> , 2005)	
				
Posição	$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, $J$	$\delta$ $^{13}\text{C}$	$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, $J$	$\delta$ $^{13}\text{C}$
2	-	157,7	-	156,84
3	-	135,5	-	134,72
4	-	179,1	-	178,24
5	-	162,8	-	161,81
6	6,24 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	99,5	6,20 (1H, d, $J = 2,2$ Hz)	99,30
7	-	165,4	-	164,94
8	6,44 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	94,4	6,38 (1H, d, $J = 2,2$ Hz)	94,23
9	-	158,2	-	157,01
10	-	105,3	-	104,54
1'	-	122,1	-	121,25
2'	7,47 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	116,7	7,29 (1H, d, $J = 2,2$ Hz)	116,16
3'	-	146,00	-	145,74
4'	-	149,2	-	149,00
5'	6,97 (1H, d, $J = 8,4$ Hz)	116,1	6,88 (1H, d, $J = 8,0$ Hz)	116,00
6'	7,36 (1H, dd, $J = 2,1$ e 8,4 Hz)	122,4	7,25 (1H, dd, $J = 2,2$ e 8,0 Hz)	121,66
5-OH	12,69 (1H, s)	-	-	-
1''	5,50 (1H, d, $J = 1,5$ Hz)	102,6	5,28 (1H, d, $J = 1,4$ Hz)	102,35
2''	4,20 (1H, dd, $J = 3,3$ e 1,5 Hz)	71,3	3,98 (1H, m)	70,59
3''	3,74 (1H, dd, $J = 3,3$ e 9,0 Hz)	72,0	3,75 (1H, m)	71,71
4''	3,36 (1H, dd, $J = 9,0$ Hz)	72,8	3,21 (1H, m)	71,12
5''	3,36 m	71,3	3,50 (1H, m)	70,88
6''	0,91 (3H, d, $J = 6,0$ Hz)	17,8	0,80 (1H, s)	18,02

### 3.4.3 Substância AIII

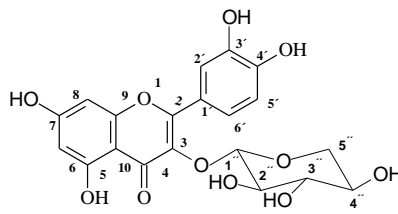
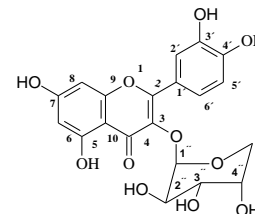
A substância **AIII** foi isolada do extrato etanólico, fase acetato de etila, obtido a partir das folhas. Sólido amarelo de faixa de fusão de 255 – 268 °C, sua estrutura foi determinada através da análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e gHMBC e posteriormente identificada por comparação com dados da literatura (ARIMA *et al.*, 2002).

A análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  revelou que **AIII** apresenta o mesmo esqueleto flavonoídico que AII. No entanto AIII apresentou sinais na região de  $\delta$  3,0 a 6,0 cuja multiplicidade sugeriu a presença de um grupo glicosídico diferente do encontrado para AII. Nessa região foi observado um dubleto em  $\delta$  5,28 (1H,  $J = 6,0$  Hz) e cinco duplos dubletos em  $\delta$  3,94 (1H,  $J = 6,0$  e 7,5 Hz),  $\delta$  3,85 (1H,  $J = 2,4$  e 5,7 Hz),  $\delta$  3,79 (1H,  $J = 4,2$  e 12,0 Hz),  $\delta$  3,72 (1H,  $J = 3,3$  e 7,8 Hz) e  $\delta$  3,45 (1H,  $J = 2,1$  e 12,0 Hz) (**Tabela 15, p. 99**). Os sinais de RMN  $^{13}\text{C}$  referentes a unidade glicosídica apareceram em  $\delta$  104,1 (CH),  $\delta$  73,7 (CH),  $\delta$  72,4 (CH),  $\delta$  68,1 (CH) e  $\delta$  66,0 (CH<sub>2</sub>) (**Tabela 15, p. 99**). A comparação desses valores com os relatados por Harborne (1983) permitiu identificar a unidade glicosídica como sendo a  $\alpha$ -L-arabinopiranosídeo.

A análise do espectro bidimensional gHMBC permitiu posicionar o grupo glicosídico no oxigênio do carbono C3 através da correlação observada entre o dubleto  $\delta$  5,28 (H-1'') e o sinal em  $\delta$  135,4 (C3) (**Figura 54**). Após comparação com dados da literatura foi possível identificar a substância **AIII** como sendo a 3-*O*- $\alpha$ -L-arabinopiranosil quercetina, também chamada de guajaverina (ARIMA *et al.*, 2002). Seu isolamento foi também descrito em *Siphoneugena densiflorum* Berg e *Psidium guajava* L., ambas pertencentes a Myrtaceae (MATSUZAKI *et al.*, 2010; GALLO *et al.*, 2006; PRABU *et al.*, 2006; ARIMA & DANNO, 2002) e em *Croton campestris* St. Hill. (Euforbiaceae) (SANTOS *et al.*, 2005).



**Tabela 15:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  [300 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$  (ppm)] e RMN  $^{13}\text{C}$  [75 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] da substância **AIII** e dados da literatura [400 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 62,5 MHz ( $^{13}\text{C}$ ),  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$  (ppm)] (ARIMA *et al.*, 2002).

	Substância AIII		Guaijaverina (ARIMA <i>et al.</i> , 2002)	
				
Posição	$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, $J$	$\delta$ $^{13}\text{C}$	$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, $J$	$\delta$ $^{13}\text{C}$
2	-	157,8	-	157,4
3	-	135,4	-	134,7
4	-	179,0	-	178,5
5	-	162,9	-	162,1
6	6,27 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	99,6	6,39 (1H, sl)	98,9
7	-	165,2	-	165,0
8	6,51 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	94,5	6,19 (1H, sl)	93,7
9	-	157,8	-	157,7
10	-	105,4	-	104,7
1'	-	122,7	-	122,0
2'	7,87 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	117,3	7,74 (1H, s)	115,2
3'	-	145,5	-	145,0
4'	-	149,4	-	148,9
5'	6,94 (1H, d, $J = 8,4$ Hz)	115,8	6,86 (1H, d, $J = 8,0$ Hz)	116,5
6'	7,66 (1H, dd, $J = 2,1$ e 8,4 Hz)	122,7	7,57 (1H, d, $J = 8,0$ Hz)	121,9
1''	5,28 (1H, d, $J = 6,0$ Hz)	104,1	5,15 (1H, d, $J = 7,0$ Hz)	103,6
2''	3,94 (1H, dd, $J = 6,0$ e 7,5 Hz)	73,7	3,89 (1H, dl, $J = 9,6$ Hz)	73,1
3''	3,72 (1H, dd, $J = 3,3$ e 7,8 Hz)	72,4	3,64 (1H, dl, $J = 3,6$ Hz)	71,9
4''	3,85 (1H, dd, $J = 2,4$ e 5,7 Hz)	68,0	3,80 (1H, m)	68,1
5''	3,45 (1H, dd, $J = 2,1$ e 12,0 Hz) 3,79 (1H, dd, $J = 4,2$ e 12,0 Hz)	66,0	3,82 (1H, m)	65,9

### 3.4.4 Substância CVIII

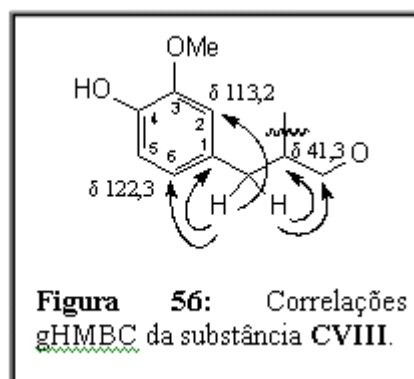
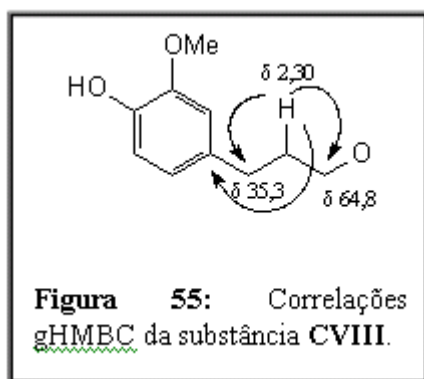
Esta substância foi isolada como um sólido amarelo com faixa de fusão de 179 – 182 °C apresentou atividade óptica rotatória de  $[\alpha]_D^{20} - 35,0$  ( $c$  1,0, MEOH).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$ , realizado em acetona- $d_6$ , revelou a presença de um multipletto em  $\delta$  2,30, quatro duplos dubletos em  $\delta$  2,69 ( $J= 14,0$  e  $7,5$  Hz),  $\delta$  2,83 ( $J= 14,0$  e  $7,5$  Hz),  $\delta$  4,18 ( $J= 11,5$  e  $6,0$  Hz) e  $\delta$  4,39 ( $J= 11,5$  e  $6,0$  Hz) e dois singletos em  $\delta$  3,75 e  $\delta$  3,90. Apresentou ainda dois dubletos com constante de acoplamento de 15,5 Hz em  $\delta$  6,43 e  $\delta$  7,61, dois dubletos com constante de acoplamento de 2,0 Hz em  $\delta$  6,76 e  $\delta$  7,31, dois dubletos com constante de acoplamento de 8,0 Hz em  $\delta$  6,73 e  $\delta$  6,85 e dois duplos dubletos em  $\delta$  6,64 e  $\delta$  7,14 com constante de acoplamento de 8,0 e 2,0 Hz (**Tabela 16, p. 105**). Com exceção dos singletos, todos os outros sinais apresentaram integrações semelhantes o que levou a sugerir que cada sinal integrava para um hidrogênio. Os singletos apresentaram o triplo do valor de integração e foram atribuídos a hidrogênios de dois grupos metoxílicos. Os sinais presentes na região de  $\delta$  6,0 a 8,0 indicaram a presença de dois anéis aromáticos 1,3,4-trissubstituído e de dois hidrogênios olefínicos com configuração *trans*.

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135° revelaram a presença de vinte átomos de carbonos, sendo dois metílicos, dois metilênicos, nove metínicos e sete carbonos não hidrogenados (**Tabela 16, p. 105**). Os sinais em  $\delta$  56,1 e  $\delta$  56,3 foram atribuídos aos dois grupos metoxílicos e o sinal em  $\delta$  167,5 a um carbono carbonílico. O baixo deslocamento químico apresentado pelo carbono carbonílico juntamente com a presença dos sinais de carbonos olefínicos em  $\delta$  115,8 e  $\delta$  145,8 permitiram sugerir a presença de um sistema carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado. Os seis sinais de carbonos  $sp^2$  hidrogenados observados em  $\delta$  111,4,  $\delta$  113,2,  $\delta$  115,6,  $\delta$  116,1,  $\delta$  122,3 e  $\delta$  123,9, bem como os seis sinais de carbonos  $sp^2$  não hidrogenados em  $\delta$  127,4,  $\delta$  132,4,  $\delta$  145,7,  $\delta$  148,2,  $\delta$  148,7 e  $\delta$  150,1 permitiram confirmar a existência de dois anéis aromáticos 1,3,4-trissubstituído. Os quatro últimos sinais foram atribuídos a carbonos aromáticos oxigenados. Os sinais dos carbonos metilênicos foram observados em  $\delta$  35,3 e  $\delta$  64,8 e o do carbono metínico em  $\delta$  41,3. Os sinais dos hidrogênios do carbono metilênico  $\delta$  64,8 apresentaram-se como dois duplos dubletos, sendo um em  $\delta$  4,18 ( $J= 11,5$  e  $6,0$  Hz) e outro em  $\delta$  4,39 ( $J= 11,5$  e  $6,0$  Hz). As constantes de acoplamento observadas para estes sinais revelaram um acoplamento geminal e um vicinal. O mesmo foi

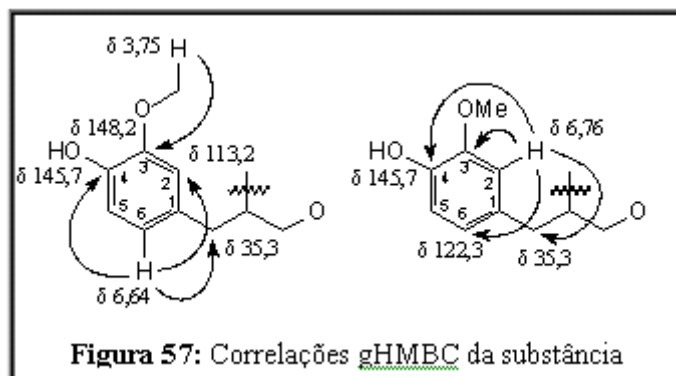
observado para os hidrogênios ligados ao carbono metilênico em  $\delta$  35,3, aos quais foram atribuídos os sinais em  $\delta$  2,69 ( $J= 14,0$  e  $7,5$  Hz) e  $\delta$  2,83 ( $J= 14,0$  e  $7,5$  Hz). O acoplamento vicinal apresentado por esses hidrogênios diastereotópicos foi sugerido ocorrer com o hidrogênio do carbono metínico  $\delta$  41,3, cujo sinal apresentou-se como um multipletto em  $\delta$  2,30. A análise dos dados de RMN gHMBC permitiu confirmar a correlação entre os hidrogênios diastereotópicos  $\delta$  4,18 e  $\delta$  4,39 com o carbono em  $\delta$  64,8, assim como, os hidrogênios em  $\delta$  2,69 e  $\delta$  2,83 com o carbono em  $\delta$  35,3.

Com as informações apresentadas acima foi possível identificar na estrutura da substância CVIII, a presença de dois anéis aromáticos 1,3,4-trissubstituído, um sistema carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado, dois grupos metoxílicos e um grupo alifático do tipo  $-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{O}-$ . A conexão destas estruturas parciais foi possível com a análise dos dados de RMN gHMBC. A análise foi iniciada a partir do grupo alifático descrito acima. O sinal em  $\delta$  2,30, atribuído ao hidrogênio do carbono metínico, apresentou correlação com os sinais  $\delta$  35,3,  $\delta$  64,8 e  $\delta$  132,4, confirmando a estrutura parcial descrita acima e revelando a ligação desse grupo a um dos carbonos aromáticos (**Figura 55**). A ligação desse grupo alifático ao anel aromático foi confirmada através da correlação entre os sinais  $\delta$  2,69 e  $\delta$  2,83, atribuídos a um dos grupos de hidrogênios diastereotópicos, com  $\delta$  41,3,  $\delta$  64,8,  $\delta$  113,2,  $\delta$  122,3 e  $\delta$  132,4 (**Figura 56**).

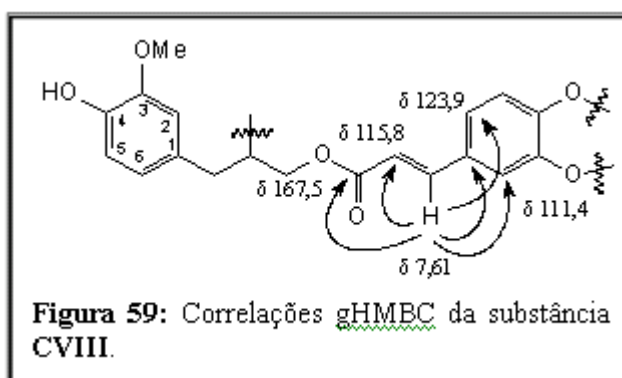
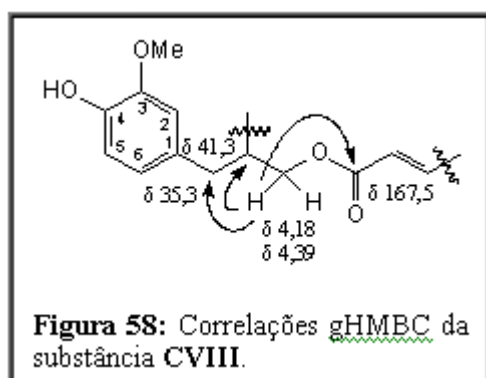


A análise do espectro de RMN gHMBC revelou que os sinais  $\delta$  113,2 e  $\delta$  122,3 pertenciam aos carbonos C2 e C6 (**Figura 57, p. 102**), cujos sinais de hidrogênios apareceram em  $\delta$  6,76 (d,  $J = 2,0$  Hz) e  $\delta$  6,64 (dd,  $J = 8,0$  e  $2,0$  Hz), respectivamente. Na análise dos dados de RMN gHMBC, o duplo dubleto em  $\delta$  6,64, atribuído a H6, apresentou correlações com  $\delta$  35,3,  $\delta$  113,2 e  $\delta$  145,7, e o dubleto em  $\delta$  6,76, atribuído a H2, apresentou correlações com  $\delta$  35,3,  $\delta$  122,3,  $\delta$  145,7 e  $\delta$  148,2 (**Figura 57, p. 102**). Foi observado também correlação entre

o singlete em  $\delta$  3,75 com o sinal em  $\delta$  148,2. Este dado permitiu posicionar um dos grupos metoxílicos no anel aromático.

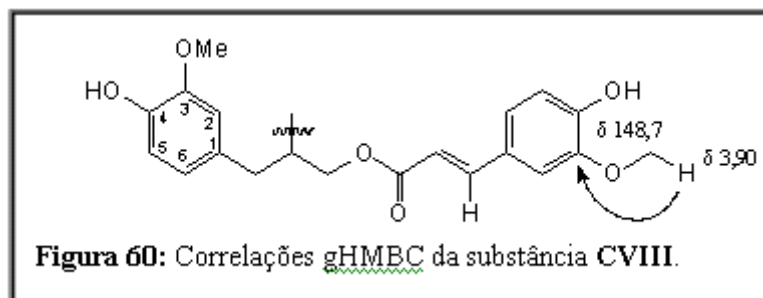


Além disso, como não foi observada correlação entre o sinal  $\delta$  3,75, atribuído aos hidrogênios do segundo grupo metoxílico com o sinal em  $\delta$  145,7 deduziu-se que um grupo hidroxílico estivesse ligado ao carbono C4 do anel aromático como apresentado na figura 52. Os sinais em  $\delta$  4,18 ( $J= 11,5$  e  $6,0$  Hz) e  $\delta$  4,39 ( $J= 11,5$  e  $6,0$  Hz), atribuído aos hidrogênios do carbono carbinólico apresentaram correlação com os sinais em  $\delta$  35,3,  $\delta$  41,3 e  $\delta$  167,5, possibilitando unir a estrutura parcial, representada na figura 52, ao carbono carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado (**Figura 58**). Foi observado, também, correlação dos dubletos em  $\delta$  6,42 e  $\delta$  7,61, atribuídos aos hidrogênios olefínicos com configuração trans, com o sinal em  $\delta$  167,5 (C=O) e  $\delta$  127,4 (C). Além disso, o sinal em  $\delta$  7,61 apresentou correlações também com os sinais  $\delta$  111,4 (CH),  $\delta$  115,8 (CH),  $\delta$  116,1 (CH) e  $\delta$  123,9 (CH) possibilitando unir o carbono olefínico ao segundo anel aromático 1,3,4-trissubstituído (**Figura 59**).



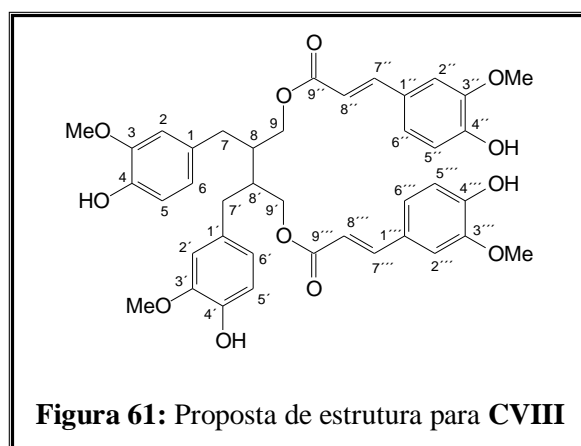
A análise dos dados de gHMQC revelou que os sinais em  $\delta$  7,31 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz),  $\delta$  6,85 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz) e  $\delta$  7,14 (1H, dd,  $J = 8,0$  e  $2,0$  Hz) eram referentes aos hidrogênios dos carbonos em  $\delta$  111,4,  $\delta$  116,1 e  $\delta$  123,9, respectivamente. Os sinais em  $\delta$  148,7 e  $\delta$  150,1 foram atribuídos aos carbonos aromáticos oxigenados. A presença de correlação observada no

espectro de RMN gHMBC entre o singlete em  $\delta$  3,90 com o sinal em  $\delta$  148,7 permitiu propor a ligação do segundo grupo metoxílico com o anel aromático (**Figura 60**).



A posição relativa dos grupos hidroxílicos e metoxílicos em ambos os anéis aromáticos foi atribuída com base na estrutura do álcool coniferílico, um dos precursores dos fenilpropanoides (DEWICK, 2002).

A atribuição de todos os sinais de hidrogênio e carbono resultou na proposta de estrutura representada na figura 60. No entanto, faltava identificar o grupo ligado ao carbono metínico cujo sinal do carbono aparecia em  $\delta$  41,3 (C8) e o sinal do respectivo hidrogênio aparecia em  $\delta$  2,30 como um multiplete. O deslocamento químico apresentado por esse carbono descartou a possibilidade de ser um grupo hidroxílico ou amino. Diante disso, foi proposta a presença de duas unidades, iguais às representadas na figura 60, ligadas através dos carbonos metínicos (C8) (**Figura 61**). Esta proposta justificaria a integração observada no espectro de RMN  $^1\text{H}$ .

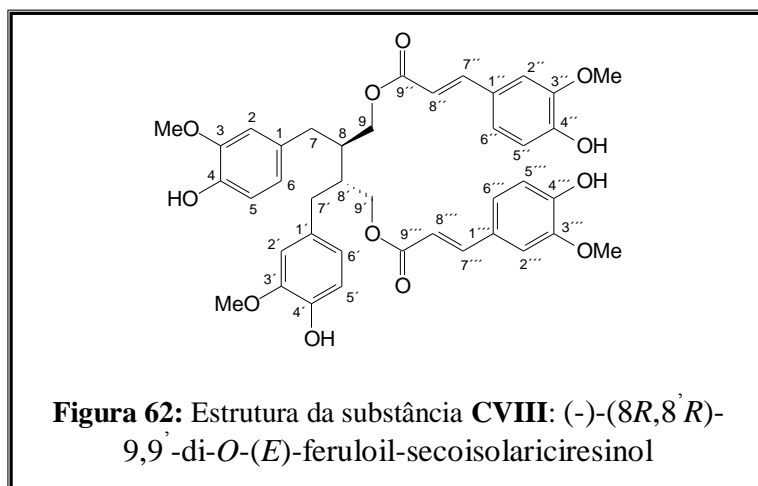


Após pesquisa bibliográfica, a substância **CVIII** foi identificada como 9,9'-*O*-di-(*E*)-feruloil-secoisolariciresinol, um derivado da lignana secoisolariciresinol, isolado de *Microtropis japonica* (Celastraceae) (CHEN *et al.*, 2008), *Trichosanthes kirilowii* (Cucurbitaceae) (MOON *et al.*, 2008), *Hibiscus taiwanensis* (Malvaceae) (WU *et al.*, 2004) e



*Antidesma membranaceum* (Euforbiaceae) (BUSKE *et al.*, 1997). Não foi encontrado relato do isolamento dessa substância na família Myrtaceae.

Os dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  utilizados para comparação foram os do isômero 9,9'-*O*-di-(*Z*)-feruloil-secoisolariciresinol, pois os encontrados para o isômero *trans* estavam em DMSO- $d_6$  para o RMN  $^1\text{H}$  e em  $\text{CD}_3\text{OD} + \text{CDCl}_3$  para os dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (MOON *et al.*, 2008). O valor da rotação específica da substância **CVIII** foi de  $[\alpha]_D^{20} - 35,0$  (*c* 1,0, MeOH) e está de acordo com o valor de  $[\alpha]_D - 41,2$  (*c* 0,80,  $\text{CHCl}_3$ ) relatada por Chen e colaboradores (2010) para o (-)-(8*R*,8'*R*)-9,9'-di-*O*-(*E*)-feruloil-secoisolariciresinol, isolada de *Cinnamomum osmophloeum* (Lauraceae). Moon e colaboradores (2008) também relata o valor de  $[\alpha]_D^{20} - 40,4$  (*c* 0,37, MeOH) para essa mesma lignana isolada de *Trichosanthes kirilowii* (Cucurbitaceae). Desta forma pode-se afirmar que a substância **CVIII** apresenta a estereoquímica representada na estrutura abaixo.



Segundo Wu e colaboradores (2004) esta lignana apresentou forte atividade citotóxica frente as linhagens de células humanas de carcinoma de pulmão (A549) e carcinoma de mama (MCF-7) com  $\text{EC}_{50}$  de 1,88 e 3,9  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectivamente. Moon e colaboradores (2008) também relata a atividade citotóxica desta lignana frente a linhagens de células de melanoma humano (SK-Mel-2) e melanoma de ratos (SRB) com  $\text{EC}_{50}$  de 3,0 e 13  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectivamente.

**Tabela 16:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  [500 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$  (ppm)] e RMN de  $^{13}\text{C}$  [125 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$  (ppm)] da substância **CVIII** e dados da literatura [400 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ ),  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm)] (CHEN *et al.*, 2008).

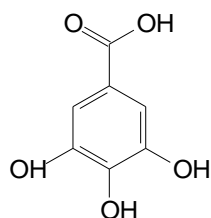
Posição	Substância CVIII		9,9'-O-di-(Z)-feruloil(-)-secoisolariciresinol	
	$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, $J$	$\delta$ $^{13}\text{C}$	(CHEN <i>et al.</i> , 2008)	
			$\delta$ $^1\text{H}$ , multiplicidade, $J$	$\delta$ $^{13}\text{C}$
1 e 1'	-	132,4	-	131,9
2 e 2'	6,76 (d, $J = 2,0$ Hz)	113,2	6,53 (d, $J = 2,0$ Hz)	111,5
3 e 3'	-	148,2	-	146,7
4 e 4'	-	145,7	-	144,1
5 e 5'	6,73 (d, $J = 8,0$ Hz)	115,6	6,81 (d, $J = 8,0$ Hz)	114,4
6 e 6'	6,64 (dd, $J = 8,0$ e 2,0 Hz)	122,3	6,62 (dd, $J = 8,0$ e 2,0 Hz)	122,0
7 e 7'	2,69 (dd, $J = 14,0$ e 7,5 Hz)	35,3	2,70 (dd, $J = 13,8$ e 7,2 Hz)	35,5
	2,83 (dd, $J = 14,0$ e 7,5 Hz)	35,3	2,75 (dd, $J = 13,8$ e 7,2 Hz)	35,5
8 e 8'	2,30 m	41,3	2,22 m	40,1
9 e 9'	4,18 (dd, $J = 11,5$ e 6,0 Hz)	64,8	4,22 (dd, $J = 11,4$ e 5,4 Hz)	64,5
	4,39 (dd, $J = 11,5$ e 6,0 Hz)	64,8	4,40 (dd, $J = 11,4$ e 5,6 Hz)	64,5
1'' e 1'''	-	127,4	-	127,3
2'' e 2'''	7,31 (d, $J = 2,0$ Hz)	111,4	7,01 (d, $J = 2,0$ Hz)	113,1
3'' e 3'''	-	148,7	-	146,2
4'' e 4'''	-	150,1	-	147,4
5'' e 5'''	6,85 (d, $J = 8,0$ Hz)	116,1	6,91 (d, $J = 8,0$ Hz)	114,1
6'' e 6'''	7,14 (dd, $J = 8,0$ e 2,0 Hz)	123,9	7,07 (dd, $J = 8,0$ e 2,0 Hz)	126,0
7'' e 7'''	7,61 (d, $J = 15,5$ Hz)	145,8	7,59 (d, $J = 15,8$ Hz)	144,9
8'' e 8'''	6,43 (d, $J = 15,5$ Hz)	115,8	6,29 (d, $J = 15,8$ Hz)	116,5
9'' e 9'''	-	167,5	-	166,6
OMe-3	3,75 s	56,1	3,78 s	55,7
OMe-3'				
OH-4 e OH-4'	-	-	5,51 sl	-
OMe-3'' e OMe-3'''	3,90 s	56,3	3,93 s	55,9
OH-4'' e OH-4'''	-	-	5,51 sl	-

### 3.4.5 Substância AIV

A substância **AIV** foi isolada como cristais brancos com ponto de fusão de 252 – 254 °C. Sua estrutura foi identificada através da análise dos espectro de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$ , realizado em acetona- $d_6$ , revelou a presença de um singleto em  $\delta$  7,15 com integração para dois hidrogênios, e dois singletos largos em  $\delta$  8,0 (1H) e  $\delta$  8,25 (2H) indicando a presença de três grupos hidroxílicos.

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135° revelaram a presença de cinco sinais em  $\delta$  110,1,  $\delta$  122,0,  $\delta$  138,6,  $\delta$  145,9 e  $\delta$  167,7, sendo o primeiro sinal referente a carbono hydrogenado e os outros a carbonos não hydrogenados. O sinal em  $\delta$  167,7 foi atribuído a carbono carbonílico. Os sinais em  $\delta$  110,1 e  $\delta$  145,9 apresentaram intensidade duplicada indicando a presença de quatro carbonos, sendo dois carbonos hydrogenados e dois oxigenados. Com esses dados foi possível identificar a presença de sete átomos de carbono, sendo seis referentes a carbonos de anel aromático e um a carbono carbonílico. Desta forma, foi proposta a estrutura do ácido gálico para a substância **AIV**.



**Figura 63:** Proposta de estrutura para a substância **AIV**.

### 3.5 Substâncias isoladas de *Myrcia guianensis* a partir das folhas

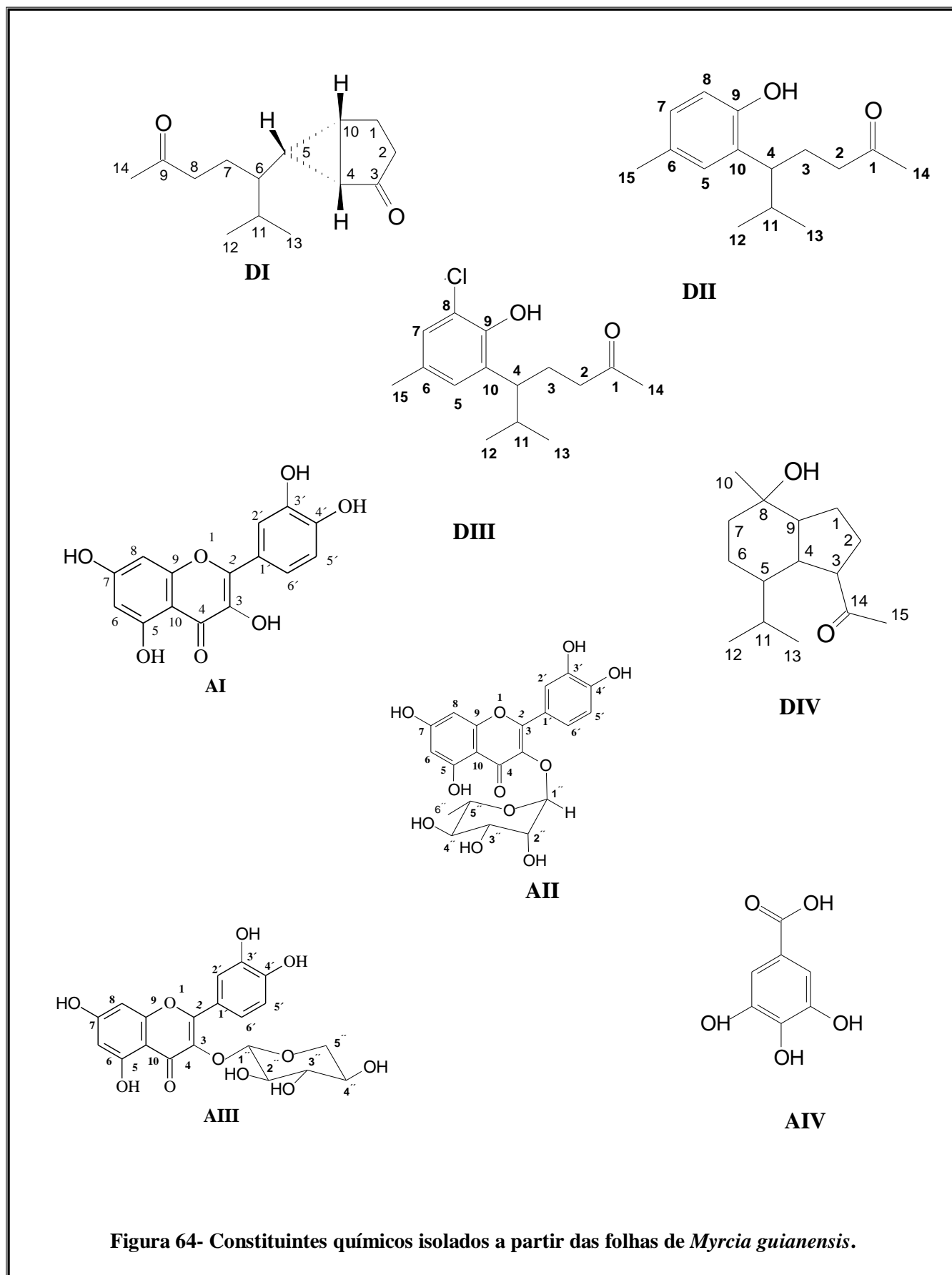


Figura 64- Constituintes químicos isolados a partir das folhas de *Myrcia guianensis*.

### 3.6 Substâncias isoladas de *Myrcia guianensis* a partir do caule

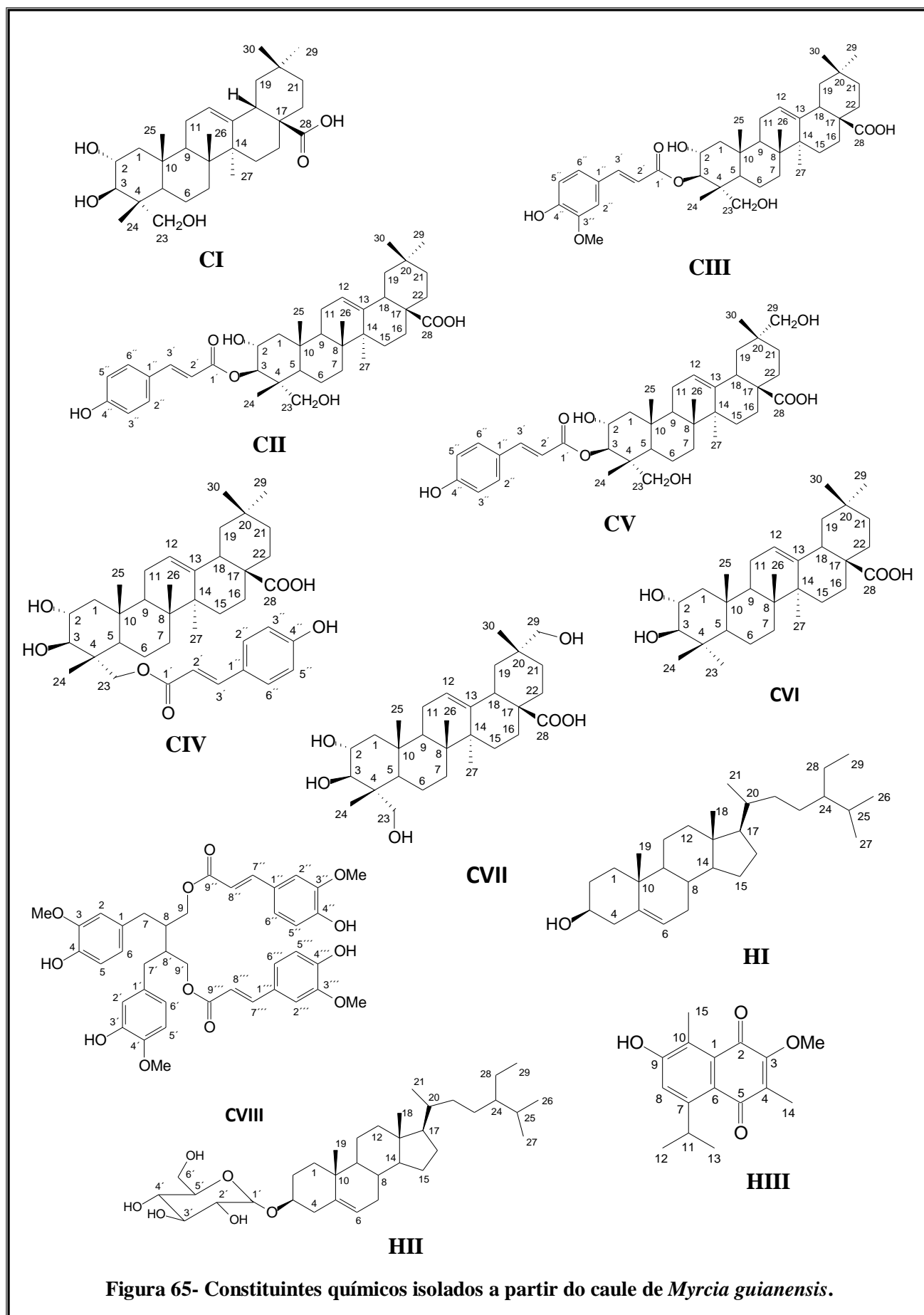


Figura 65- Constituintes químicos isolados a partir do caule de *Myrcia guianensis*.

*Capítulo IV – Considerações Finais*

---

## 4.0 Considerações Finais

O estudo fitoquímico de folhas e caules de *M. guianensis* contribuiu de forma expressiva para o conhecimento químico do gênero *Myrcia* e da família Myrtaceae, tendo em vista que das dezenove substâncias isoladas, quatro foram inéditas e cinco foram relatadas pela primeira vez dentro da família.

A utilização de substâncias pertencentes à classe dos flavonoides e terpenos no combate a doenças como diabetes e câncer, respectivamente, incentiva a investigação do potencial biológico das substâncias isoladas e motivam a continuidade do estudo fitoquímico da *M. guianensis*, bem como, encoraja o estudo químico e biológico de novas espécies do gênero *Myrcia*.

---

**REFERÊNCIAS**

- ADEROGBA, M. A.; OGUNDAINI, A. O.; ELOFF, J. N. Isolation of two flavonoids from *Bauhinia monandra* leaves and their antioxidative effects. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 03, n. 04, p. 59-65, 2006.
- AGRAWAL, P. K. and JAIN, D.  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy of oleanane triterpenoids. **Progress in NMR Spectroscopy**, v. 24, p. 1-90, 1992.
- AHMED, A. A.; JAKUPOVIC, J.; BOHLMANN, F. Dihidroxypallenone, a sesquiterpene with a new carbon skeleton from *Pallenis spinosa*. **Phytochemistry**, v. 29, n<sup>o</sup> 10, p. 3355-3358, 1990.
- ALARCON, L. D.; PENA, A. E.; GONZALES, C. de N.; QUINTERO, A.; MEZA, M.; USUBILLAGA, A.; VELASCO, J. Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Myrcia fallax* (Rich.) DC. from Venezuela. **Revista de la Sociedad Quimica del Peru**, v. 75, n<sup>o</sup> 2, p. 221-227, 2009.
- ANON. Oil of *Myrcia gale* L. **Bulletin Scientifique et Industriel de la Maison Roure-Bertrand Fils**, v. 1, p. 54-7, 1910.
- ARIMA, H.; DANNO, G.-i. Isolation of antimicrobial Compounds from Guava (*Psidium guajava* L.) and their Structural Elucidation. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v. 66, n<sup>o</sup> 08, p. 1727-1730, 2002.
- BAG, B. G.; DINDA, S. K.; DEY, P. P.; MALLIA, V. A.; WEISS, R. G. Self-Assembly of Esters of Arjunolic Acid into Fibrous Networks and the Properties of their Organogels. **Langmuir**, v. 25, n<sup>o</sup> 15, p. 8663-8671, 2009.
- BAG, B. G.; MAITY, G. C.; PRAMANIK, S. R. Arjunolic Acid: A promising new building block for nanochemistry. **PRAMANA – Journal of physics**, v. 65, n<sup>o</sup> 5, p. 925-929, 2005a.
- BAG, B. G.; MAITY, G. C.; PRAMANIK, S. R. A terpenoid-based Gelator: The First Arjunolic Acid-derived Organogelator for Alcohols and Mixed Solvents. **Supramolecular Chemistry**, v. 17, n<sup>o</sup> 5, p. 383-385, 2005b.
- BAG, B. G.; MAITY, G. C.; DINDA, S. K. Donor-Acceptor Interaction Promoted Gelation: Visual Observation of Color Change. **Organic Letters**, v. 8, n<sup>o</sup> 24, p. 5457-5460, 2006.
- BATISTA, A. N. de L.; COLOMBO, R.; DE PASCOLI, I. C.; TELES, H. L.; SILVA, G. H.; BOMFIM, G. C. C.; BURGOS, R. C. R.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. da S.; SILVA, D. H. S. *et al.* Development and validation of a HPLC method for standardization of herbal and commercial extracts of *Myrcia uniflora*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n<sup>o</sup> 3, p. 402-406, 2011.
- BENYAHIA, S.; BENAYACHE, S.; BENAYACHE, F.; LEÓN, F.; QUINTANA, J.; LOPEZ, M.; HERNÁNDEZ, J. C.; ESTÉVEZ, F. BERMEJO, J. Cladocalol a pentacyclic 28-



*nor*-triterpene from *Eucalyptus cladocalyx* with cytotoxic activity. **Phytochemistry**, v.66, p. 627-632, 2005.

BUSKE, A.; SCHMIDT, J.; PORZEL, A.; ADAM, G. Benzopyranones and Ferulic acid Derivatives from *Antidesma Membranaceum*. **Phytochemistry**, v. 46, n° 8, p. 1385-1388, 1997.

CANDIDO, C. S.; PORTELLA, C. S. A.; LARANJEIRA, B. J.; DA SILVA, S. S.; ARRIAGA, A. M. C.; SANTIAGO, G. M. P.; GOMES, G. A.; ALMEIDA, P. C.; CARVALHO, C. B. M. Effects of *Myrcia ovata* Cambess. Essential oil on planktonic growth of gastrointestinal microorganisms and biofilm formation of *Enterococcus faecalis*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n° 3, p. 621-627, 2010.

CERQUEIRA, M. D.; SOUZA-NETA, L. C.; DAS GRACAS, M.; PASSOS, V. M.; LIMA, E. de O.; ROQUE, N. F.; MARTINS, D.; GUEDES, M. L. S.; CRUZ, F. G. Seasonal variation and antimicrobial activity of *Myrcia myrtifolia* essential oils. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n° 5, p. 998-1003, 2007.

CERQUEIRA, M. D. de. **Composição química e atividade antimicrobiana de óleos essenciais obtidos de espécies do gênero *Myrcia*. Novos triterpeno e alcalóide isolados de *Myrcia blanchetiana* (O. Berg.) Mattos (Myrtaceae)**. 2008. 165 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

CERQUEIRA, M. D.; DE JESUS, E. M.; MARTINS, D.; ROQUE, N. F.; CRUZ, F. G.; GUEDES, M. L. da S. Seasonal variation of the composition of essential oil from *Myrcia salzmannii* Berg. (Myrtaceae). **Quimica Nova**, v. 32, n° 6, p. 1544-1548, 2009.

CHEN, J.; LIU, J.; ZHANG, L.; WU, G.; HUA, W.; WU, X.; SUN, H. Pentacyclic triterpenes. Part 3: Synthesis and biological evaluation of oleanolic acid derivatives as novel inhibitors of glycogen phosphorylase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, p. 2915-2919, 2006.

CHEN, J-J; YANG, C-S; PENG, C-F; CHEN, I-S; MIAW, C-L. Dihydroagarofuranoid Sesquiterpenes, a Lignan Derivative, a Benzenoid, and Antitubercular Constituents from the Stem of *Microtropis japonica*. **J. Nat. Prod.**, 71, 1016-1021, 2008.

CHEN, T-H; HUANG, Y-H; LIN, J-J; LIAU, B-C; WANG, S-Y; WU, Y-C ; JONG, T-T. Cytotoxic Lignan Esters from *Cinnamomum osmophloeum*. **Planta Medica**, v. 76, p. 613-619, 2010.

CHIEN, N. Q.; HUNG, N. V.; SANTARSIERO, B. D.; MESECAR, A. D.; CUONG, N. M.; SOEJARTO, D. D.; PEZZUTO, J. M.; FONG, H. H. S.; TAN, G. T. New 3-*O*-Acyl Betulinic Acids from *Strychnos vanprukii* Craib. **J. Nat. Prod.**, v. 67, no 6, p. 994-998, 2004.

COLE, R. A.; HABBER, W. A.; SETZER, W. N. The leaf oil composition of *Myrcia splendens* from Monteverde, Costa Rica. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 11, n° 1, p. 41-44, 2008.

COLOMA, A. G.; BALBOA, C. L.; REINA, O. S. M.; FRAGA, B. M. Triterpene-based plant defenses. **Phytochem Ver**, v. 10, p. 245-260, 2011.

- CONNOLLY, J. D.; HILL, R. A. Triterpenoids. **Nat. Prod. Rep.**, v.17, p. 463-482, 2000.
- CONNOLLY, J. D.; HILL, R. A. Triterpenoids. **Nat. Prod. Rep.**, v.17, p. 463-482, 2005.
- COSTA, I. R. DA; DORNELAS, M. C.; MARTINS, E. R. F.- Nuclear genome size variation in fleshy-fruited Neotropical Myrtaceae. **Plant Systematics and Evolution**, v. 276, p. 209-217, 2008.
- DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach**. 2<sup>a</sup> ed. England: Wiley, 2002, p. 507.
- DJOUKENG, J. D.; ABOU-MANSOUR, E.; TABACCHI, R.; TAPONDJOU, A. L.; BOUDA, H.; LONTSI, D. Antibacterial triterpenes from *Syzygium guineense* (Myrtaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, p. 283-286, 2005.
- FEHLBERG, I. **ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANAS E ANTIPARASITÁRIAS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *Myrcia Guianensis* (MYRTACEAE)**. 2007. 95 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador.
- FERREIRA, A. C. F.; NETO, J. C.; SILVA, A. C. M. da; KUSTER, R. M.; CARVALHO, D. P. Inhibition of Thyroid Peroxidase by *Myrcia uniflora* Flavonoids. **Chem. Res. Toxicol.**, v. 19, n<sup>o</sup> 3, p. 351-355, 2006.
- FERREIRA, E. A.; GRIS, E. F.; FELIPE, K. B.; CORREIA, J. F. G.; CARGNIN-FERREIRA, E.; WILHELM, D.F.; PEDROSA, R. C. Potent hepatoprotective effect in CCl<sub>4</sub> – induced hepatic injury in mice of phloroacetophenone from *Myrcia multiflora*. **The Libyan journal of medicine**, v. 5, 2010.
- FERREIRA, E. A.; GRIS, E. F.; REBELLO, J. M.; CORREIA, J. F.; DE OLIVEIRA, L. F.; FILHO, D. W.; PEDROSA, R. C. The 2',4',6'-Trihydroxyacetophenone isolated from *Myrcia multiflora* has antiobesity and mixed hypolipidemic effects with the reduction of Lipid intestinal absorption. **Planta medica**, v. 77, n<sup>o</sup> 14, p. 1569-74, 2011.
- GALLO, M. B. C.; SILVA, F. C. da; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. das G. F. New Natural Products from *Siphoneugena densiflora* Berg (Myrtaceae) and their Chemotaxonomic Significance. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 17, n<sup>o</sup> 2, p. 279-288, 2006.
- GOMES, S. M.; SOMAVILLA, N. S. D. N.; BEZERRA, K. M. G.-; MIRANDA, S. do C. de, ; CARVALHO, P. S. DE-; RIBEIRO, D. G.-. Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomia e filogenia. **Acta botânica brasileira**, v. 23, n<sup>o</sup> 1, p. 223-238, 2009.
- GOTTLIEB, O. R.; DA SILVA, M. L; MAIA, J. G. S. Chemistry of Brazilian Myrtaceae. III. Eucalyptin from Eugenia and Myrcia species. **Phytochemistry**, v. 11, n<sup>o</sup> 3, p. 1185, 1972.
- GRESSLER, E.; PIZO, M. A.; MORELLATO, P. C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, n<sup>o</sup> 4, p. 509-530, 2006.

- GU, J-Q; PARK, E.J; LUYENGI, L.; HAWTHORNE, M. E.; MEHTA, R. G.; FARNSWORTH, N. R.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Constituents of *Eugenia sandwicensis* with potential cancer chemopreventive activity. **Phytochemistry**, v. 58, p. 121-127, 2001.
- GUTI'ERREZ, R. M. P.; MITCHELL, S.; SOLIS, R. V. *Psidium guajava*: A review os its tradicionais uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 117, p. 1-27, 2008.
- HARBORNE, J. B. (Ed) **The Flavonoids: Advances in Researches since 1986**. Londres: Chapman & Hall, p. 20 - 51, 1983.
- HÄBERLEIN, H.; TSCHIRSCH, K-P. On the occurrence of methylated and methoxylated flavonoids in *Leptospermum scoparium*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 26, p. 97-103, 1998.
- HECHT, S. M. Biologically active extracts from *Myrcia fallax* (Myrtaceae) Peru. U.S., 1984.
- HEMALATHA, T.; PULAVENDRAN, S.; BALACHANDRAN, C.; MANOHAR, B. M.; PUVANAKRISHNAN, R. Arjunolic Acid : A novel phytomedicine with multifunctional therapeutic applications. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 48, p. 238-247, 2010.
- HENRIQUES, A. T.; SOBRAL, M.; BRIDI, R.; VERIN, P.; MENUT, C.; LAMATY, G.; BESSIERE, J. M. Part V. Aromatic plants from Brazil. Essentials oils from southern Brazilian species of *Myrcia* (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 9, n° 1, p. 13-18, 1997.
- HILL, R. A.; CONNOLLY, J. D. Triterpenoids. **Natural Products Report**, v. 28, p. 1087-1117, 2011.
- ISHIYAMA, K.; HASHIMOTO, T.; YAMADA, H. Anticholesteremic agents containing *Myrcia* extracts. **Jpn. Kokai Tokkyo Koho**, 2008.
- JORGE, L. I. F.; AGUIAR, J. P. L.; SILVA, M. de L. P. Anatomia foliar de pedra-hume-caá (*Myrcia sphaerocarpa*, *Myrcia guianensis*, *Eugenia puniceifolia* - Myrtaceae). **Acta Amazonica**, v. 30, n° 1, p. 49-57, 2000.
- KOORBANALLY, N. A.; RANDRIANARIVELOJOSIA, M.; MULHOLLAND, D. A.; UFFORD, L. Q. V.; BERG, A. J. J. V. D. Bioactive constituents of *Cedrelopsis microfoliata*. **Journal of Natural Products**, v. 65, p. 1349-1352, 2002.
- LAPSICK, O.; KLEIJDU, B.; KOKOSKA, L.; DAVIDOVA, M.; AFANDI, K.; KUBAN, V.; HAMPL, R. Identification of isoflavones in *Acca sellowiana* and two *Psidium* species (Myrtaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, p. 983-992, 2005.
- LEE, M.; NISHIMOTO, S.; YANG, L.; YEN, K.; HATANO, T.; YOSHIDA, Y.; OKUDA, T. Two macrocyclic hydrolysable tannin dimers from *Eugenia uniflora*. **Phytochemistry**, v. 44, n° 7, p. 1343-1349, 1997.

- LEE, C-K. New triterpenes from the heartwood of *Melaleuca leucadendron* L. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 45. n° 2, p. 303-306, 1998.
- LI, W.-S.; McCHESNEY, J. D. Furanocoumarins and Sesquiterpene Ketone from *Clausena lansium* Skeels. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 37, p. 571-575, 1990.
- LI, X-S.; ZHOU, X-J.; ZHANG, X-J.; SU, J. ; LI, X-J. ; YAN, Y-M. ; ZHENG, Y-T. ; LI, Y. ; YANG, L-M. ; CHENG, Y-X. Sesquiterpene and Norsesquiterpene Derivatives from *Sanicula lamelligera* and Their Biological Evaluation. **Journal of Natural Products**, v. 74, p. 1521-1525, 2011.
- LIANG, Z.; ZHANG, L.; LI, L.; LIU, J.; LI, H.; ZHANG, L.; CHEN, L.; CHENG, K.; ZHENG, M.; WEN, X.; ZHANG, P.; HAO, J.; GONG, Y.; ZHANG, X.; ZHU, X.; CHEN, J.; LIU, H.; JIANG, H.; LUO, C.; SUN, H. Identification of pentacyclic triterpenes derivatives as potent inhibitors against glycogen phosphorylase based on 3D-QSAR studies. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 2011-2021, 2011.
- LIMA, D. F.; GOLDENBERG, R.; SOBRAL, M. O gênero *Campomanesia* (Myrtaceae) no estado do Paraná, Brasil. **Rodriguésia**, v. 62, n° 3, p. 683-693, 2011.
- LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T. Essential oils from *Myrcia* species native to Rio Grande do Sul. **Quimica Nova**, v. 27, n° 6, p. 916-919, 2004.
- LUCAS, E. J.; HARRIS, S. A.; MAZINE, F. F.; BELSHAM, S. R.; LUGHADHA, E. M. N.; TELFORD, A.; GASSON, P. E.; CHASE, M. W. Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (Myrtales). **Taxon**, v. 56, n° 4, p. 1105-1128, 2007.
- MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. <sup>13</sup>C NMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids – A Compilation and Some Salient Features. **Phytochemistry**, v. 37, n° 6, p. 1517-1575, 1994.
- MAHATO, S. B.; SEN, S. Advances in Triterpenoid Research, 1990-1994. **Phytochemistry**, v. 44, n° 7, p. 1185-1236, 1997.
- MATSUDA, H.; NISHIDA, N.; YOSHIKAWA, M. Antidiabetic principles of natural medicines. V. Aldose reductase inhibitors from *Myrcia multiflora* DC. (2): Structures of myrciacitrins III, IV and V, Chemical Pharmaceutical Bulletin, v. 50, n° 3, p. 429-431, 2002.
- MATSUZAKI, K.; ISHII, R.; KOBIYAMA, R.; KITANAKA, S. New Benzophenone and Quercetin galloyl glycosides from *Psidium guajava* L. **J. Nat. Med.**, v. 64, p. 252-256, 2010.
- MISRA, L. N.; JAKUPOVIC, J.; BOHLMANN, F. Isodaucane Derivatives, Norsesquiterpenes and Clerodanes from *Chromolaena laevigata*. **Tetrahedron**, v. 41, no. 22, p. 5353-5356, 1985.
- MOGHADDAM, F. M.; FARIMANI, M. M.; SALAHVARZI, S.; AMIN, G. Chemical Constituents of Dichloromethane Extract of Cultivated *Satureja khuzistanica*. **Advance access Publication**, 4:(1), 95-98, 2007.

- MOON, S-S; RAHMAN, A. A.; KIM, J-Y; KEE, S-H. Hanultarin, a cytotoxic lignin as an inhibitor of actin cytoskeleton polymerization from the seeds of *Trichosanthes kirilowii*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 16, 7264-7269, 2008.
- MUSTAFA, K. A.; PERRY, N. B.; WEAVERS, R. T. Lipophilic C-methylflavonoids with no B-ring oxygenation in *Metrosideros* species (Myrtaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, p. 1049-1059, 2005.
- NADAL, N. G. DE M. Nonterpenic fraction of Puerto Rican bay oil, *Myrcia acris*. **American Perfumer and Aromatics**, v. 73, n° 6, p. 22-4, 1959.
- NADAL, N. G. DE M. Separation and identification of terpenic compounds in Puerto Rican bay oil (*Myrcia acris*). **American Perfumer and Aromatics**, v. 70, n° 3, p. 51-5, 1957.
- NAKAMURA, M. J.; MONTEIRO, S. S.; BIZARRI, C. H. B.; SIANI, A. C.; RAMOS, M. F. S. Essential oils of four Myrtaceae species from the Brazilian southeast. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, n° 6, p. 1170-1175, 2010.
- NAKAYAMA, M.; FUJITA, T.; HAYASHI, K.; DONPOU, M.; NAKAJIMA, H. ALPHA-glucosidase inhibitor / alpha-glucosidase inhibitor extracted from *Myrcia sphaerocarpe* and having high inhibiting activity. **Jpn. Kokai Tokkyo Koho**, 1997.
- OLEA, R. S. G. e ROQUE, N. F. Análise de misturas de triterpenos por RMN de <sup>13</sup>C. **Química Nova**, v. 13, n° 4, p. 278-281, 1990.
- ONYILAGHA, J. C. and GROTEWOLD, E. The biology and structural distribution of surface flavonoids. **Recent Res. Devel. Plant Sci.**, v. 2, p.01-19, 2004.
- PARKER, W.; ROBERTS, J. S.; RAMAGE, R. Sesquiterpene Biogenesis. **Quarterly Reviews**, p.331-363, 1967.
- PATOCKA, J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine signification. **Journal of Applied Biomedicine**, v. 1, p. 7-12, 2003.
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. Tradução da 4ª edição norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 700.
- PEPATO, M. T.; OLIVEIRA, J. R.; KETTELHUT, I. C.; MIGLIORINI, R. H. Assessment of the antidiabetic activity of *Myrcia uniflora* extracts in streptozotocin diabetic rats. **Diabetes research**, v. 22, n° 2, p. 49-57, 1993.
- PICAUD, S.; MERCKE, P.; HE, X.; STERNER, O.; BRODELIUS, M.; CANE, D. E.; BRODELIUS P. E. Amorpha-4,11-diene synthase: Mechanism and stereochemistry of the enzymatic cyclization of farnesyl diphosphate. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 448, p. 150-155, 2006.
- PICKLES, L. S. S. Composition of the Essential oil of *Myrcia gale*. **Journal of the Chemical Society, Transactions**, v. 99, p. 1764-8, 1911.

- PIERS, E.; GAVAI, A. V. A (2)-Ethylidenecyclopentane Annulation Method. Total Syntheses of ( $\pm$ )-Anhydrooplopanone, ( $\pm$ )-Oplopanone, and ( $\pm$ )-8-epi-Oplopanone. **J. Org. Chem.**, v. 55, p. 2380-2390, 1990.
- PISHA, E.; CHAI, H.; LEE, I.-S. ; CHAGWEDERA, T. E.; FARNSWORTH, N. R.; CORDELI, G. A.; BEECHER, C. W. W.; FONG, H. H. S.; KINGHORN, D.; BROWN, D. M.; WANI, M. C.; WALL, M. E.; HIEKEN, T. J.; GUPTA, T. K. DAS; PEZZUTO, J. M. Discovery of betulinic acid as a selective inhibitor of human melanoma that functions by induction of apoptosis. **Nature**, v. 1, n<sup>o</sup> 10, p. 1046-1051, 1995.
- PRABU, G. R.; GNANAMANI, A.; SADULLA, S. Guaijaverin – a plant flavonoid as potential antiplaque agent against *Streptococcus mutans*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 101, p. 487-495, 2006.
- PRETSCH, E.; BUHLMANN, P.; AFFOLTER, C. **Structure Determination of Organic Compounds: Tables of Spectral Data**. Third Completely Revised and Enlarged English Edition. Berlin: Springer, 2000. 404 p.
- REDDY, M. V. B.; REDDY, M. K.; GUNASEKAR, D.; MURTHY, M. M.; CAUX, C.; BODO, B. A New Sesquiterpene Lactone from *Bombax malabaricum*. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 51, n<sup>o</sup> 4, p. 458-459, 2003.
- REYNERTSON, K. A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolics constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, p. 883-890, 2008.
- ROCHA, M. E. DO N.; SANTOS, C. L. DOS. O uso comercial e popular do eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) – Myrtaceae. **Saúde & Ambiente em Revista**, v. 2, n<sup>o</sup> 2, p. 23-34, 2007.
- RUSSO, E. M.; REICHEL, A. A.; DE-AS, J. R.; FURLANETTO, R. P.; MOISES, R. C.; KASAMATSU, T. S.; CHACRA, A. R. Clinical trial of Myrcia uniflora and Bauhinia forficata leaf extracts in normal and diabetic patients. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 23, n<sup>o</sup> 1, p. 11-20, 1990.
- SANTOS, G. G.; ALVES, J. C. N.; RODILLA, J. M. L.; DUARTE, A. P.; LITHGOW, A. M.; URONES, J. G. Terpenoids and other constituents of *eucalyptus globulus*. **Phytochemistry**, v. 44, n<sup>o</sup> 7, p. 1309-1312, 1997.
- SANTOS, P. M. L. dos; SCHRIPSEMA, J.; KUSTER, R. M. Flavonóides O-glicosilados de *Croton campestris* st. Hill. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, n<sup>o</sup> 4, p. 321-325, 2005.
- SETH, S. K.; MAITY, G. C.; KAR, T. Structural elucidation, Hirshfeld surface analysis and quantum mechanical study of para-nitro benzylidene methyl arjunolate. **Journal of Molecular Structure**, v. 1000, p. 120–126, 2011.

- SHAHEEN, F.; AHMAD, M.; KHAN, S. N.; HUSSAIN, S. S.; ANJUM, S.; TASHKHODJAEV, B.; TURGUNOV, K.; SULTANKHODZHAEV, M. N.; CHOUDHARY, M. I.; RAHMAN, A.-U. New  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors and Antibacterial Compounds from *Myrtus communis* L. **Eur. J. Org. Chem.**, p. 2371-2377, 2006.
- SHIBATANI, M.; HASHIDOKO, Y.; TAHARA, S. Accumulation of Isohemigossypolone and its Related Compounds in the Inner Bark and Heartwood of Diseased *Pachira aquatica*. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v. 63, n<sup>o</sup> 10, p. 1777-1780, 1999a.
- SHIBATANI, M.; HASHIDOKO, Y.; TAHARA, S. A Major Fungitoxin from *Pachira aquatica* and its Accumulation in Outer Bark. **Journal of Chemical Ecology**, v. 25, n<sup>o</sup> 02, p. 347-353, 1999b.
- SIDDIQUI, B. S.; SULTANA, I.; BEGUM, S. Triterpenoidal constituents from *Eucalyptus camaldulensis* var. *obtusata* leaves. **Phytochemistry**, v. 54, p. 861-865, 2000.
- SILVA, J. O. DO N. E. **A família Myrtaceae no Parque Estadual das Dunas do Natal – RN, Brasil**. 2009. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- SONG, Y.-L.; WANG, Y.-H.; LU, Q.; QIAO, H.-J.; CHENG, Y.-X. Triterpenoids from the Edible Leaves of *Photinia serrulata*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 91, p. 665-672, 2008.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; SANTOS, R. A.; SANTOS, L. S.; GUILHON, G. M. P.; SANTOS, A. S.; ARRUDA, M. S. P.; MULLER, A. H.; ARRUDA, A. C. Potencial alelopático de *Myrcia guianensis*. **Planta Daninha**, v. 24, n<sup>o</sup> 4, p. 649-656, 2006.
- SRIVASTAVA, R.; SHAW, A. K.; KULSHRESHTHA, D. K. Triterpenoids and chalcone from *Syzygium samarangense*. **Phytochemistry**, v. 38, n<sup>o</sup> 3, p. 687-689, 1995.
- STEFANELLO, M. E. A.; CERVI, A. C.; WISNIEWSKI, A. Jr.; SIMIONATTO, E. L. Essential oil composition of *Myrcia laruotteana* Camb. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, n<sup>o</sup> 5, p. 466-467, 2007.
- STEFANELLO, M. E. A.; CERVI, A. C.; WISNIEWSKI, A. Jr.; SIMIONATTO, E. L. Composition and seasonal variation of essential oil from *Myrcia obtecta* (O. Berg) Kiaersk. Var. *obtectata*, Myrtaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n<sup>o</sup> 1, p. 82-86, 2010.
- STEFANELLO, M. E. A.; RIVA, D.; SIMIONATTO, E. L.; DE CARVALHO, J. E.; RUIZ, A. L. T. G.; SALVADOR, M. J. Chemical composition and cytotoxic activity of essential oil from *Myrcia laruotteana* fruits. **Journal of Essential Oil Research**, v. 23, n<sup>o</sup> 5, p. 7-10, 2011.
- TANAKA, T.; ORII, Y.; NONAKA, G.; NISHIOKA, I.; KOUNO, I. Syzyginins A and B, two ellagitannins from *Syzygium aromaticum*. **Phytochemistry**, v. 43, n<sup>o</sup> 6, p. 1345-1348, 1996.

- TANAKA, J. C. A.; VIDOTTI, G. J.; SILA, C. C. A New Tormentic Acid Derivative from *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, n° 3, p. 475-478, 2003.
- TENORIO, A. I. S.; VARGAS, D.; ESPINOSA, A.; DIAZ, A.; GUPTA, M. P. Chemical composition of leaf essential oils of *Calyptanthus microphylla* B. Holts & M. L., *Myrcia aff fosteri* Croat and *Eugenia octopleura* Krug & Urb from Panama. **Journal of Essential Oil Research**, v. 23, n° 5, p. 29-33, 2011.
- TRAYNHAM, J. G.; DEHN, J. S.; GREEN, E. E. Nuclear Magnetic Resonance Chemical Shifts of Cyclopropane HCH in Unsubstituted Bicyclo[x.1.0]alkanes as a Function of Ring Size. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 33, n° 6, p. 2587-2589, 1968.
- TSIRI, D.; ALIGIANNIS, N.; GRAIKOU, K.; SPYROPOULOS, C.; CHINO, I. Triterpenoids from *Eucalyptus camaldulensis* DEHNH. Tissue Cultures. **Helvetica Chimica Acta**, v. 91, p. 2110-2114, 2008.
- VIEIRA, T. R.; BARBOSA, L. C. A.; MALTHA, C. R. A.; PAULA, V. F.; NASCIMENTO, E. A. CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Melaleuca alternifolia* (MYRTACEAE). **Quimica Nova**, v. 27, n° 4, p. 536-539, 2004.
- UMEHARA, K.; SINGH, I. P.; ETOH, H.; TAKASAKI, M.; KONOSHIMA, T. Five phloroglucinol-monoterpene adducts from *Eucalyptus grandis*. **Phytochemistry**, v. 49, n° 6, p. 1699-1704, 1998.
- WEN, X.; SUN, H.; LIU, J.; WU, G.; ZHANG, L.; WU, X.; NI, P. Pentacyclic triterpenes. Part 1: The first examples of naturally occurring pentacyclic triterpenes as a new class of inhibitors of glycogen phosphorylases. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p. 4944-4948, 2005.
- WEN, X.; ZHANG, P.; LIU, J.; ZHANG, L.; WU, X.; NI, P.; SUN, H. Pentacyclic triterpenes. Part 2: Synthesis and biological evaluation of maslinic acid derivatives as glycogen phosphorylase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, p. 722-726, 2006.
- WEN, X.; SUN, H.; LIU, J.; CHENG, K.; ZHANG, P.; ZHANG, L.; HAO, J.; ZHANG, L.; NI, P.; ZOGRAPHOS, S. E.; LEONIDAS, D. D.; ALEXACOU, K.-M.; GIMISIS, T.; HAYES, J. M.; OIKONOMAKOS, N. G. Naturally Occurring Pentacyclic Triterpenes as Inhibitors of Glycogen Phosphorylase: Synthesis, Structure – Activity Relationships, and X-ray Crystallographic Studies. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, n° 12, p. 3540-3554, 2008.
- WILSON, P. G.; O'BRIEN, M. M.; GADEK, P. A.; HESLEWOOD, M. M.; QUINN, C. J. Myrtaceae Revisited: A Reassessment Of Intrafamilial Groups. **American Journal of Botany**, v. 88, n° 11, p. 2013-2025, 2001.
- WILSON, P. G.; O'BRIEN, M. M.; HESLEWOOD, M. M.; QUINN, C. J. Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a *matK* phylogeny. **Plant Systematics and evolution**, v. 251, p. 3-19, 2005.



WOLLENWEBER, E.; WEHDE, R.; DÖRR, M.; LANG, G.; STEVENS, J. F. C-Methyl-flavonoids from the leaf waxes of some Myrtaceae. **Phytochemistry**, v. 55, p. 965-970, 2000.

WU, P-L.; CHUANG, T-H.; HE, C-X. ; WU, T-S. Cytotoxicity of phenylpropanoid esters from the stems of *Hibiscus taiwanensis*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 2193-2197, 2004.

XIE, B-J.; YANG, S-P.; YUE, J-M. Terpenoids from *Dysoxylum densiflorum*. **Phytochemistry**, v. 69, p. 2993-2997, 2008.

XIE, W-D.; NIU, Y-F.; LAI, P-X. ; ROW, K-H. Sesquiterpenoids and Other Constituents from *Senecio argunensis*. **Chem. Pharm. Bull**, v. 58, n° 7, p. 991-994, 2010.

YANG, L.; LEE, C.; YEN, K. Induction of apoptosis by hydrolysable tannins from *Eugenia jambos* L. on human leukemia cells. **Cancer Letters**, v. 157, n° 1, p. 65-75, 2000.

YANG, J-H; WANG, Y-S; HUANG, R.; LUO, S-D; ZHANG, H-B. New Polyoxygenated Triterpenoids from *Stachyurus himalaicus* var. himalaicus, **Helvetica Chimica Acta**, v. 89, p. 2830-2835, 2006.

YOSHIKAWA, M.; SHIMADA, H.; NISHIDA, N.; L. I.,Y.; TOGUCHIDA, I.; YAMAHARA, J.; MATSUDA, H. Antidiabetic principles of natural medicines. II. Aldose reductase and alpha-glucosidase inhibitors from Brazilian natural medicine, the leaves of *Myrcia multiflora* DC. (Myrtaceae): Structures of myrciacitrins I and II and myrciaphenones A and B, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 46: (1), 113-119, **1998**.

YOSHIKAWA, M.; WAKI, H.; NISHIDA, N.; LEE, Y.; TOGUCHIDA, I.; MATSUDA, H.; YAMAHARA, J. Flavonoids glycosides from *Myrcia multiflora* DC as aldose reductase inhibitors for treatment of diabetic complications. **Jpn. Kokai Tokkyo Koho**, 2000.

YOSHIDA, T.; MARUYAMA, T.; NITTA, T. O.; An hydrolysable tannin and accompanying polyphenols from *Melaleuca leucadendron*. **Phytochemistry**, v. 42, n° 4, p. 1171-1173, 1996.

ZHANG, H.-J.; TAN, G. T.; SANTARSIERO, B. D.; MESECAR, A. D.; HUNG, N. V.; CUONG, N. M.; SOEJARTO, D. D.; PEZZUTO, J. M.; FONG, H. H. S. New Sesquiterpenes from *Litsea verticillata*. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 609-615, 2003.

ZHANG, H-J.; HUNG, N. V.; CUONG, N. M.; SOEJARTO, D. D.; PEZZUTO, J. M.; FONG, H. H. S.; TAN, G. T. Sesquiterpenes and Butenolides, Natural, Anti-HIV Constituents from *Litsea verticillata*. **Planta Medica**, v. 71, p. 452-457, 2005.

ZHANG, X.; ZHU, H.; ZHANG, S.; YU, Q.; XUAN, L. Sesquiterpenoids from *Bombax malabaricum*. **J. Nat. Prod.**, v. 70, n° 9, p. 1526-1528, 2007.

ZOGHBI, M. das G. B.; ANDRADE, E. H. A.; DA SILVA, M. H. L.; CARREIRA, L. M. M.; MAIA, J. G. S. Essential oils from three *Myrcia* species. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, n° 5, p. 421-424, 2003.