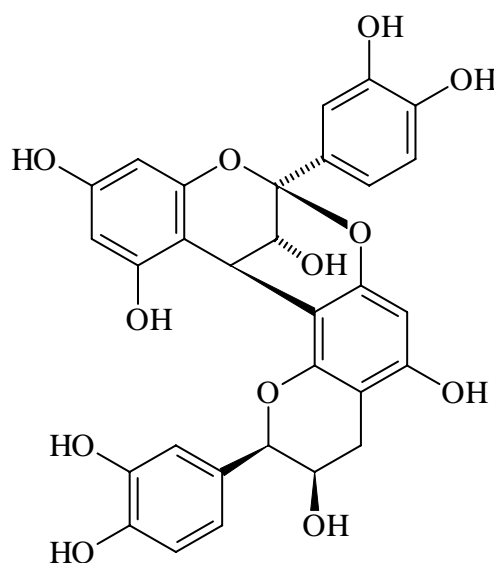


6.8.2. Identificação da *epicatequina-(2 β →7,4 β →8)-epicatequina*

Epicatequina-(2 β →7,4 β →8)-epicatequina
(DV23)

Os espectros de RMN ^{13}C (Figura 151, p. 210) e ^1H (Figuras 148 e 149, p. 209) de **DV23** auxiliados por experimentos DEPT (Figuras 151, 152, 153 e 154, p. 210 e 211) apresentaram sinais para 30 átomos de carbono e 15 átomos de hidrogênio, o que em conjunto com o número de carbonos oxigenados nos sugeriu uma fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$, MM = 576 (Tabela 42, p. 224).

Análise do espectro de RMN ^1H mostrou a presença de 4 anéis aromáticos, sendo dois trissubstituídos apresentando três hidrogênios num sistema AMX de *spins* cada em δ 7,29 *d*, δ 6,85 *d* e δ 7,02 *dd*, e em δ 7,18 *d*, δ 6,83 *d* e δ 7,04 *dd*, formando dois grupos catecol. Um anel tetrasubstituído apresentando dois hidrogênios num sistema AX de *spins* em δ 5,98 *d* ($J = 2,3$) e δ 6,06 *d* ($J = 2,3$ Hz), indicativo para acoplamento em *meta* e um anel aromático pentasubstituído, apresentando um único simpleto de hidrogênio aromático (δ 6,14) (Figura 150, p. 210; Tabela 42, p. 224).

A região referente aos hidrogênios ligados a C-sp^3 apresentou dois hidrogênios metínicos acoplando entre si, além de dois hidrogênios oximetínicos e dois hidrogênios metilênicos, característicos para a *epicatequina* (Figuras 148 e 149, p. 209; Tabela 42, p. 224).

Os deslocamentos de RMN ^{13}C (Figura 151, p. 201) auxiliados pelos experimentos DEPT 135° e 90° (Figuras 151, 152, 153 e 154, p. 210 e 211) pouco diferem dos deslocamentos da

epicatequina para ambos os monômeros, a exceção dos carbonos C-2*u* não hidrogenado característico para a ligação C-O-C (δ 99,83) entre os dois flavonóides, C-4*u* metínico em δ 28,66, mais protegido devido ao anel bicíclico rígido característico da ligação C-C, e do carbono C-8*l* não hidrogenado em δ 106,74 (Tabela 42, p. 224).

Comparação direta dos dados com os publicados na literatura confirmou que a substância **DV23** tratava-se da *epicatequina*-(2 β →7,4 β →8)-*epicatequina*, também conhecida como a Proantocianidina A2, por ter sido a primeira proantocianidina do tipo-A a ser isolada (JACQUES, 1974). Esta substância já havia sido isolada de *D. lasiophylla* (DAVID, 2002).

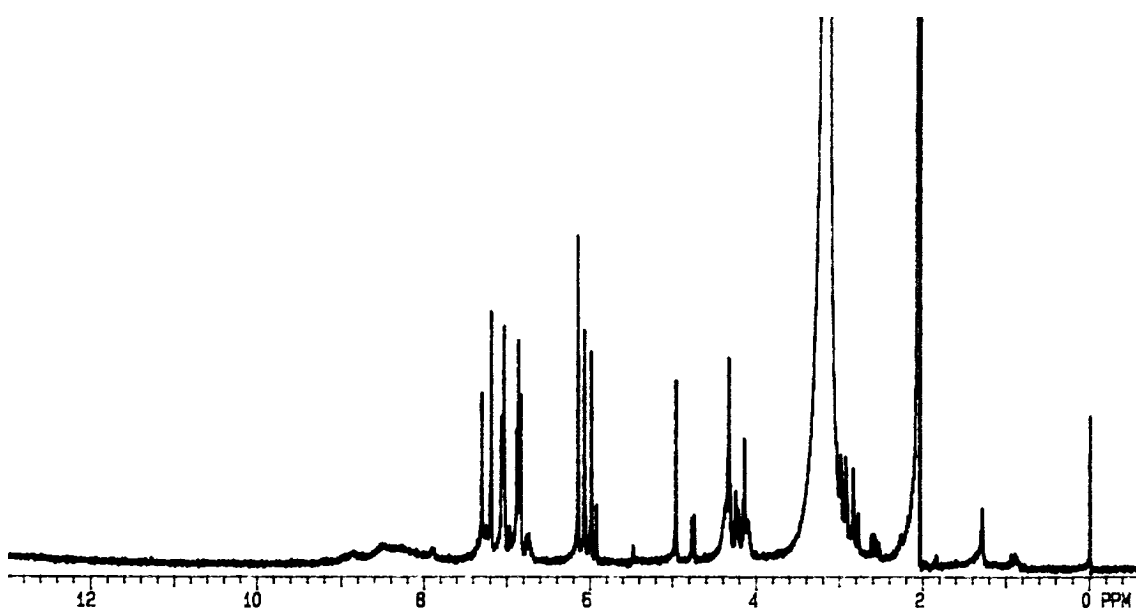


Figura 148 – Espectro de RMN ¹H de **DV23** [300 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

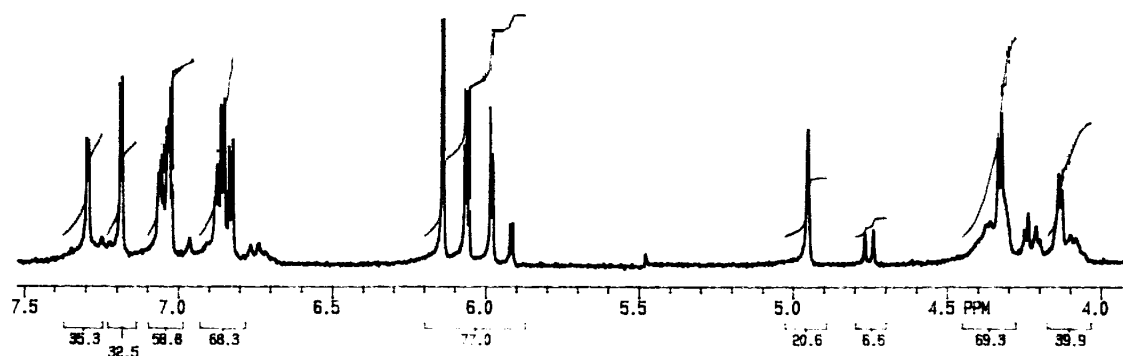


Figura 149 – Espectro de RMN ¹H de **DV23** (integração) [300 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

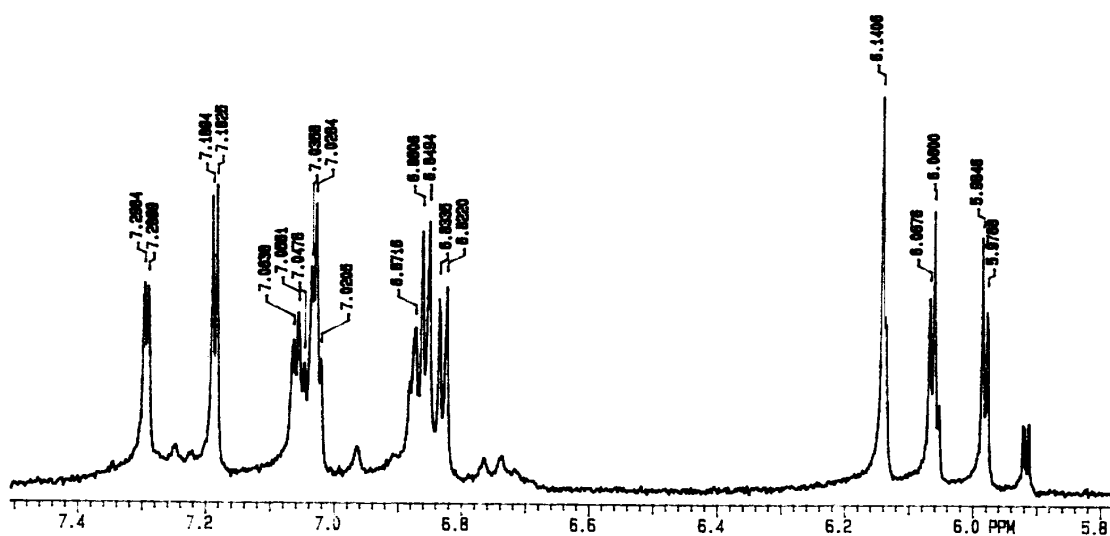


Figura 150 – Espectro de RMN ^1H de **DV23** (ampliação) [300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, δ (ppm)]

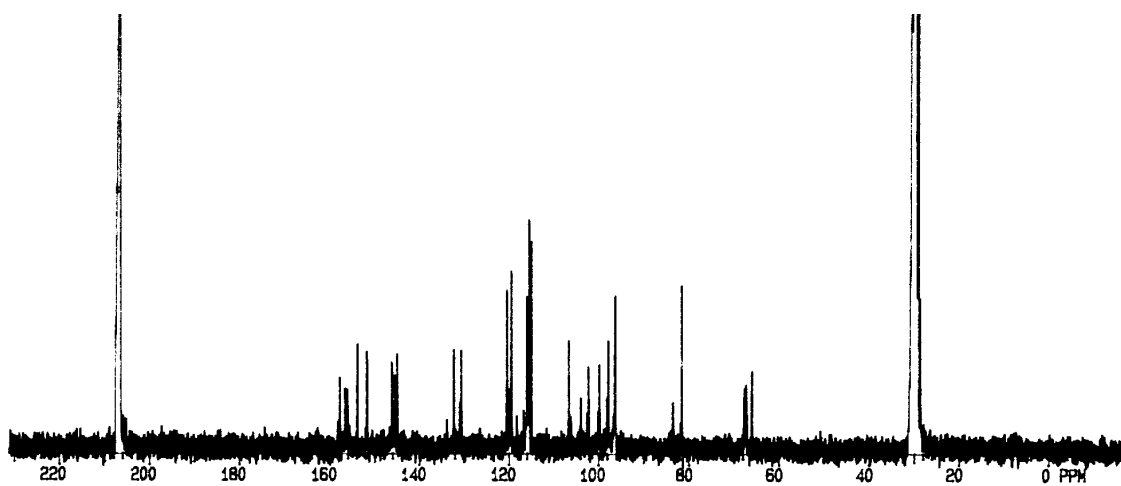


Figura 151 – Espectro de RMN ^{13}C de **DV23** [75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, δ (ppm)]

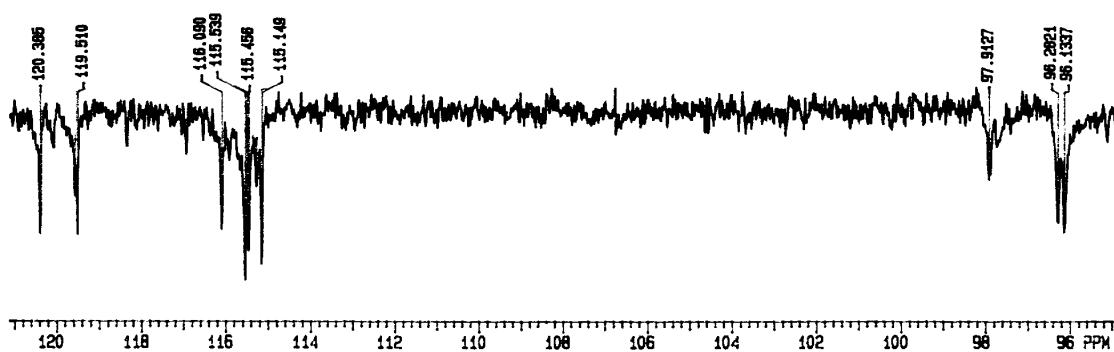


Figura 152 – Experimento DEPT 135° de **DV23** (ampliação) [75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, δ (ppm)]

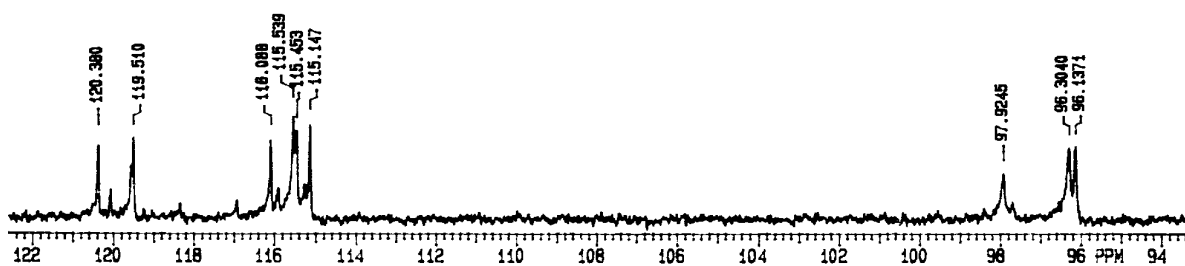


Figura 153 – Experimento DEPT 90° de **DV23** (ampliação) [75 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

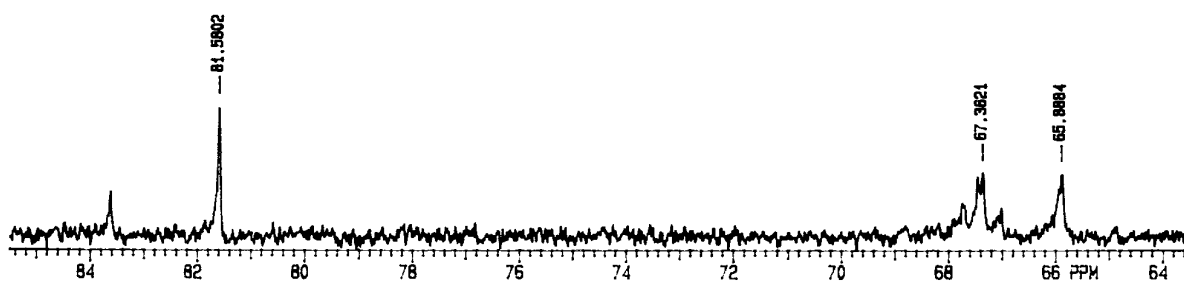
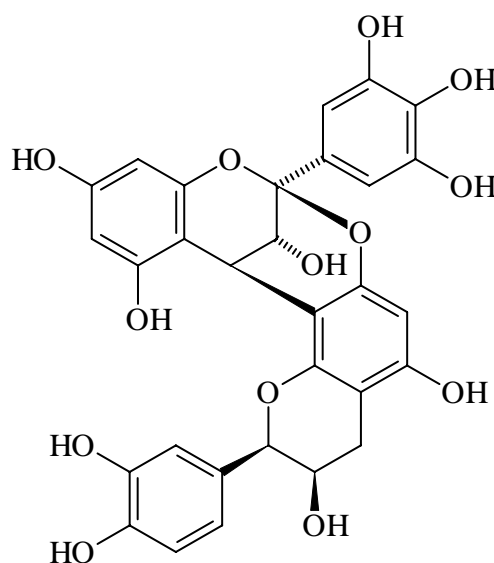


Figura 154 – Experimento DEPT 90° de **DV23** (ampliação) [75 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

6.8.3. Identificação da *epigalocatequina-(2β→7,4β→8)-epicatequina*

Epigalocatequina-(2β→7,4β→8)-epicatequina
(DV24)

A substância **DV24** apresentou-se na forma de cristais marrons. O EMFAB (positivo) apresentou o íon “*quasi-molecular*” $[M+H]^+$ em m/z 593 (Figura 169, p. 222) e o EMFAB (negativo) apresentou o íon “*quasi-molecular*” $[M-H]^+$ em m/z 591 (Figura 168, p. 222). Estes dados juntamente com o resultado de análise elementar de **DV24** que indicou 54,1% C e 5% H sugeriram a fórmula molecular $C_{30}H_{24}O_{13}$. A análise elementar de $C_{30}H_{24}O_{13} \cdot 4H_2O$ requer C 54,2% e H 4,8%. Na análise de seu espectro de RMN de 1H (Figuras 155 e 156, p. 215 e 216) pode-se verificar a presença de 13 sinais. Os sinais em δ 7,28 (*d*, $J=2,0$, 1H), δ 7,04 (*dd*, $J=8,1$ e $2,0$, 1H) e δ 6,85 (*d*, $J=8,1$, 1H) por seus deslocamentos e valores das suas constantes de acoplamento caracterizaram anel aromático com sistema AMX de substituição (Figura 156, p. 216). O simpleto em δ 6,76, integrando para 2 hidrogênios, sugeriu presença de outro anel aromático substituído nas posições 1', 3', 4' e 5'. Nessa mesma região do espectro puderam ser verificados ainda dois dupletos em δ 6,06 e 5,98 cuja constante de acoplamento ($J=2,3$ Hz) indicou correlação *meta* entre os hidrogênios, e um simpleto em δ 6,13 integrando para um hidrogênio. Pelo exposto, a análise preliminar indicou a presença de quatro anéis aromáticos sendo um tri-substituído, dois tetra-substituídos e um penta-substituído. Em outra região espectral (Figura 155, p. 215) foram verificados dois dupletos (δ 4,31 e δ 4,11) que pelas constantes de acoplamento axial-equatorial e pelo espectro 1H - 1H COSY (Figuras 166 e

170, p. 220 e 223) indicaram estar acoplados. Além disso, verificaram-se outros quatro sinais em δ 4,96 (Figura 155, p. 215), δ 4,24 (visível quando o espectro foi registrado em CD_3OD), δ 2,94 e δ 2,80 (Figura 155, p. 215) que, tanto pelas constantes e acoplamento quanto pelo COSY (Figuras 166 e 170, p. 220 e 223) também se encontravam acoplados. Os duplos dupletos em δ 2,94 e 2,80, referentes aos hidrogênios de um carbono metilênico, foram um indicativo da natureza de uma das unidades das catequinas. O multipletto em δ 4,24 sugere um próton oximetínico de uma unidade catequina. Já o simpleto em δ 4,96, referente a um hidrogênio oxibenzílico, é o simpleto característico de catequinas onde a hidroxila encontram-se em posição *cis* em relação ao grupo fenila (JACQUES, 1974).

O espectro de RMN de ^{13}C (Figuras 157, 158 e 159, p. 216 e 217) apresentou 28 sinais, porém dois deles encontravam-se com o dobro da intensidade normal (δ 107,28 e 145,67). Estes sinais aliados ao simpleto em δ 6,76 integrando para 2 hidrogênios, observado no espectro de RMN de ^1H corroboram um anel aromático 3, 4, 5 trioxigenado. Este dado possibilitou comprovar que esses sinais de carbono encontravam-se dobrados, tendo-se valores para 30 carbonos, estando de acordo com a FM. Análise conjunta dos dados de RMN ^{13}C com os experimentos DEPT 135° (Figuras 160 e 161, p. 218) e DEPT 90° (Figura 162, p. 218) indicou a presença de 1 carbono metilênico, 12 carbonos metínicos e 17 carbonos não hidrogenados. O número de átomos de carbono, assim como a quantidade de carbonos não hidrogenados sugeriu tratar-se de um biflavonóide. Todos os hidrogênios foram correlacionados com os carbonos aos quais encontravam-se diretamente ligados através do espectro HETCOR (Figura 163, p. 219). Este experimento permitiu fazer a atribuição dos valores de deslocamento químico de todos os carbonos hidrogenados (Tabela 43, p. 225). Os sinais de carbonos metínicos em δ 81,54 (C-2*l*) e δ 65,90 (C-3*l*) sustentaram a configuração *cis* para uma das unidades, esta proposição foi baseada na comparação direta com dados de catequinas descritos na literatura (AGRAWAL, 1989). Os sinais em δ 99,81 (C-2*u*) carbono não hidrogenado, e δ 28,58 (C-4*u*), carbono metínico, sugeriram que as duas unidades flavanas da proantocianidina encontravam-se ligadas nessas posições.

As correlações a longa distância observadas no espectro de HETCOR ^1H - ^{13}C (Figuras 164, 165 e 170, p. 219, 220 e 223) possibilitaram atribuir os deslocamentos químicos da maioria dos carbonos, incluindo-se os não hidrogenados, além de indicar como as unidades catequinas e os anéis aromáticos encontravam-se ligados. O H-2*l* em δ 4,96 correlacionou a longa distância C-1'*l* (δ 130,73), C-2'*l* (δ 115,54) e C6' (δ 120,42). Esta observação permitiu concluir que o anel com 1', 3', 4' tri-substituído encontrava-se ligado ao C-2*l* da unidade

inferior. Isso sugeriu que a unidade inferior tratava-se da *epicatequina*. As correlações obtidas através de espectro HOMOCOSY entre os dois prótons metilênicos H-4a l e H-4b l , característico para CH₂ de flavanas, e o multiplete em δ 4,24 (H-3 l), bem como o simpleto largo em δ 4,96 (H-2 l) confirmaram esta proposição. Para confirmar a atribuição dos hidrogênios foi feito o derivado acetilado (Tabela 43, p. 225).

A unidade superior também foi identificada através de espectros bidimensionais. Esta correlação permitiu a localização do anel aromático 3, 4, 5-trioxigenado em C-2 u . Deste modo, foi possível identificar a unidade superior como sendo formada pela *epigalocatequina*.

Pelo exposto **DV24** é uma proantocianidina formada por uma unidade *epicatequina* inferior e uma unidade *epigalocatequina* superior. Os dados de RMN de ¹H e ¹³C sugeriram que a interligação ocorre em C-2 u e C-4 u . Essas ligações interflavanas foram determinadas através de correlações obtidas por HETCOR a longa distância e ¹H-¹H COSY (Figuras 166 e 170, p. 220 e 223), assim como comparação com dados da literatura (BALDÉ, 1991). A correlação observada entre H-4 u (δ 4,31) e C-8 l (δ 106,65), C-7 l (δ 151,72) e C-9 l (δ 151,56), assim como o deslocamento químico do carbono não hidrogenado C-2 u (δ 99,81), demonstraram claramente a ligação C-C de C-4 u com C-8 l e presença da ligação C-O-C entre C-2 u e C-7 l . Esta proantocianidina é denominada do tipo A2 (THOMPSON, 1972). Todas as correlações observadas nos experimentos bidimensionais estão sumarizadas na Tabela 43 e Figura 170.

A estereoquímica relativa de **DV24** foi obtida através de experimento de “nOe diff”. A associação de nOe observada entre H-2 l e H-4 u com 12% de incremento desses prótons, bem como a observada entre H-6 u e H-6' l foram conclusivas para entender o modo como as duas catequinas se ligavam. Para H-2 l e H-4 u correlacionarem é necessário que eles se encontrem do mesmo lado do plano. Desse modo, a ligação interflavanas deveria ocorrer para o mesmo lado do plano que a ligação na unidade *epicatequina* entre C-2 l e o anel aromático. A associação de nOe observada entre H-3 u e H-6 l com 2% de incremento demonstrou que estes encontravam-se do mesmo lado do plano, determinando dessa maneira a configuração relativa de C-3 u . Todos os incrementos visualizados no experimento estão sumarizados na Figura 170.

A configuração absoluta no C-4 u foi estabelecida por dados de DC (Figura 167, p. 221) em MeOH. Através do registro de curvas de DC de diversas proantocianidinas, foi observado que dependendo do Efeito Cotton nos seus comprimentos de onda mais baixos, é possível estabelecer a estereoquímica do centro C-4 u . A principal distinção nas curvas DC para as proantocianidinas é uma banda muito intensa, positiva ou negativa, em comprimento de onda

baixo (220-230 nm). Uma banda positiva intensa nessa região está relacionada a estereoquímica absoluta 4*R* enquanto que uma banda negativa intensa relaciona-se a estereoquímica absoluta 4*S* (BARRETT, 1979). O Efeito Cotton em 227 nm ($[\Phi]_{211} +119573$) observado para **DV24** indicou, portanto a configuração 4*R*. Com base em todas essas observações, a proantocianidina **DV24** foi determinada como sendo a *epigallocatequina*-(2 β →7, 4 β →8)-*epicatequina*, que também foi isolada de *Dioclea lasiophylla* (BARREIROS, 2000) e de *Xanthoceras sorbifolia* (MA, 2000).

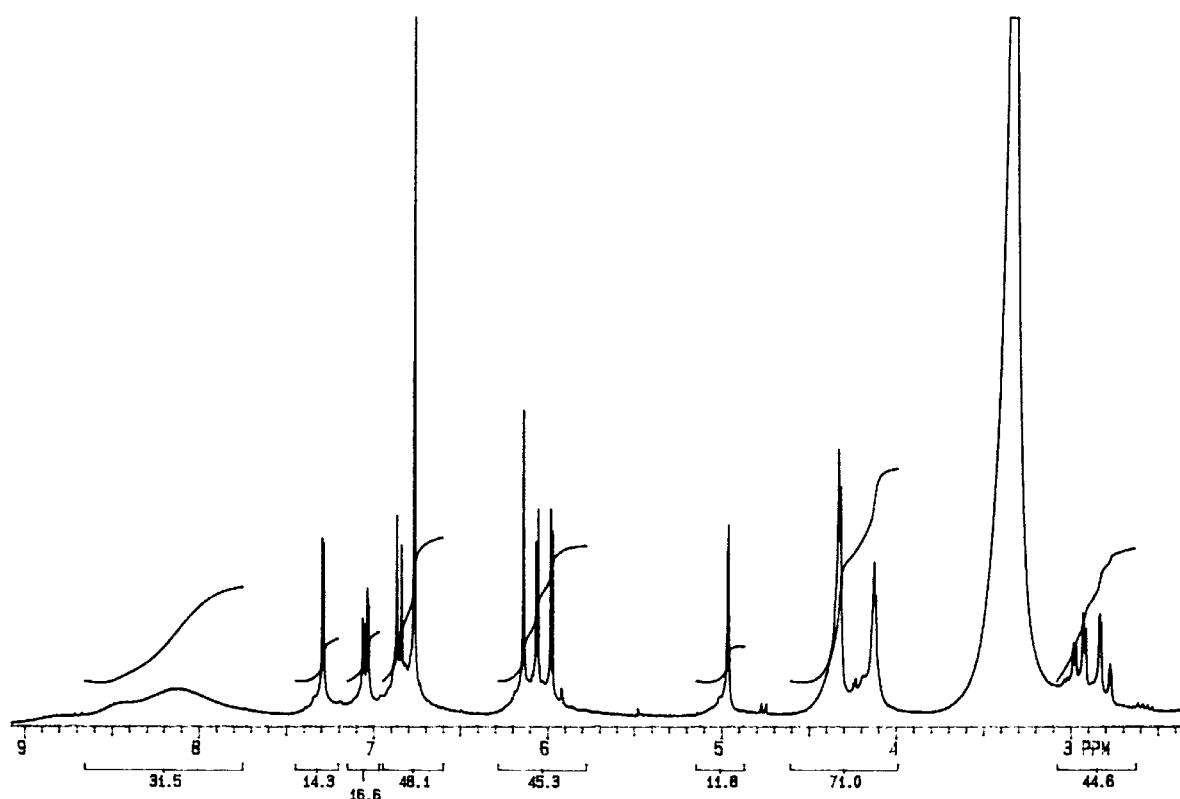


Figura 155 – Espectro de RMN ^1H de **DV24** (integração) [300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, δ (ppm)]

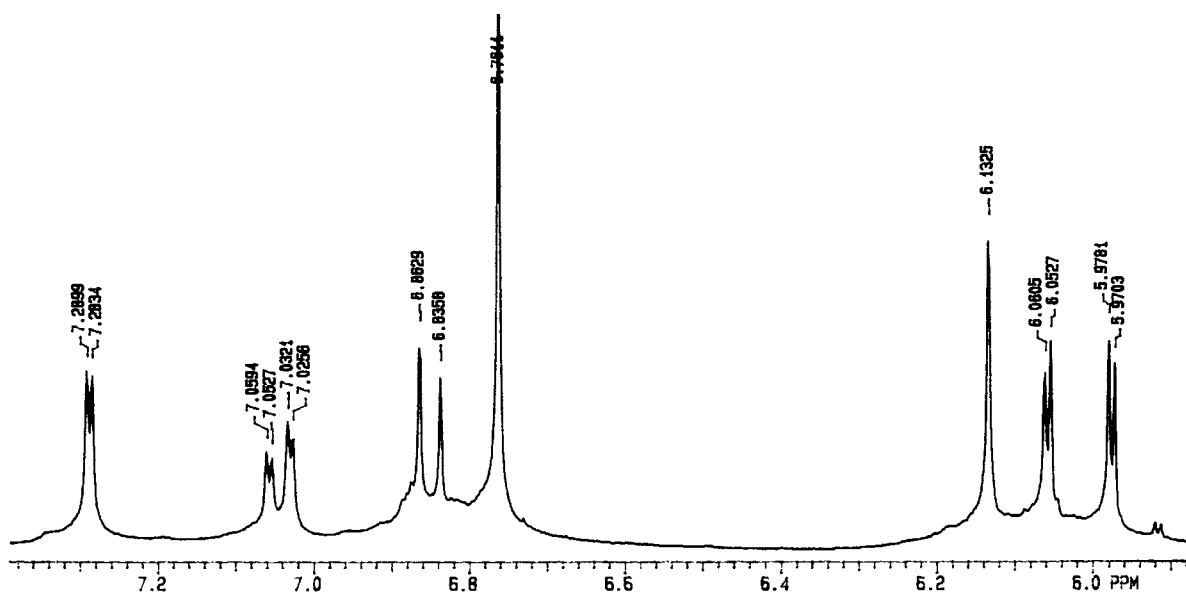


Figura 156 – Espectro de RMN ^1H de **DV24** (ampliação) [300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, δ (ppm)]

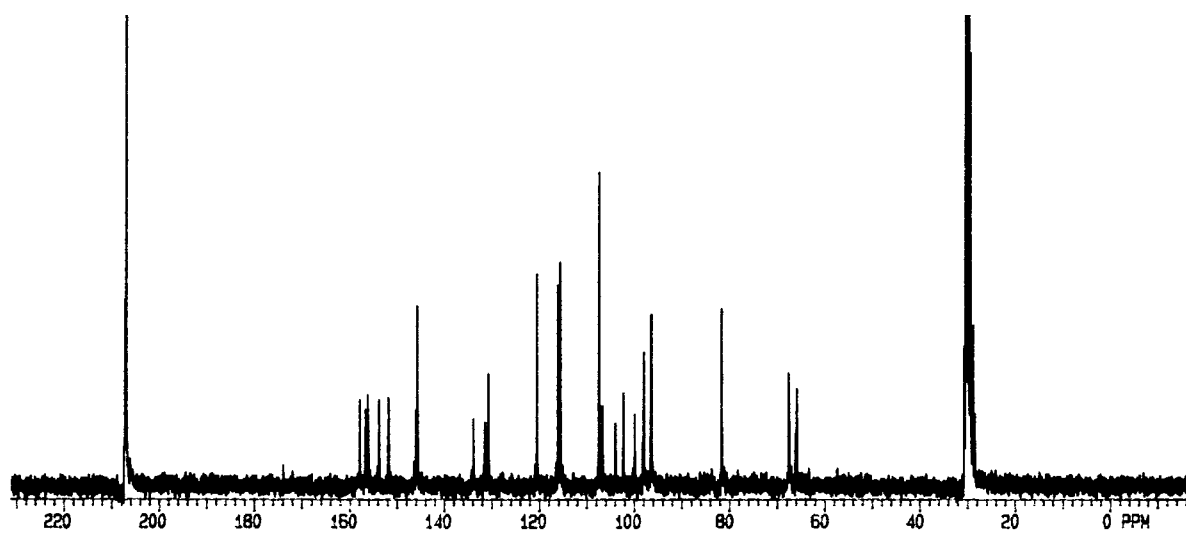


Figura 157 – Espectro de RMN ^{13}C de **DV24** [75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, δ (ppm)]

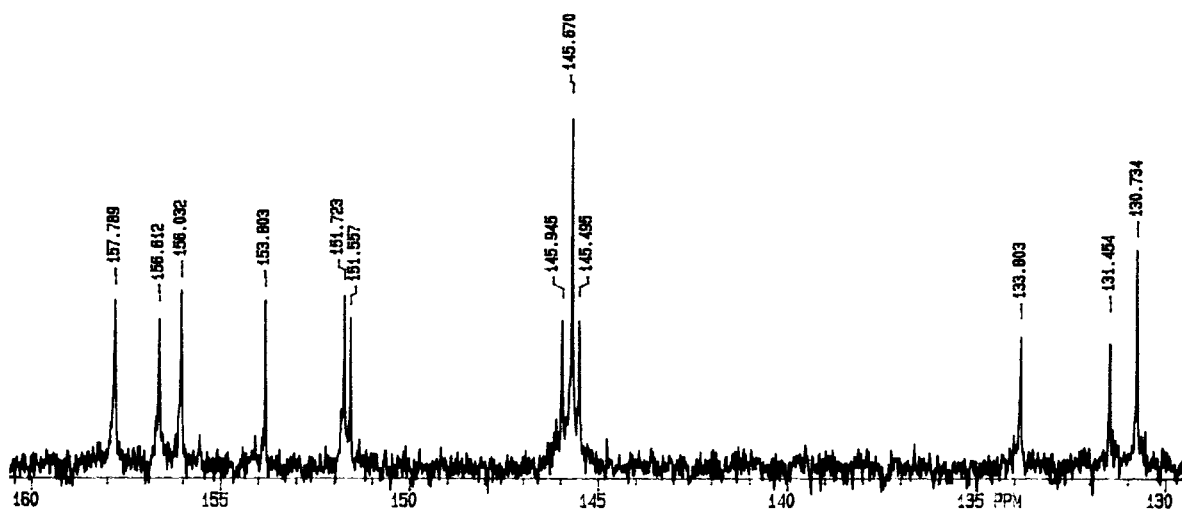


Figura 158 – Espectro de RMN ¹³C de DV24 (ampliação) [75 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

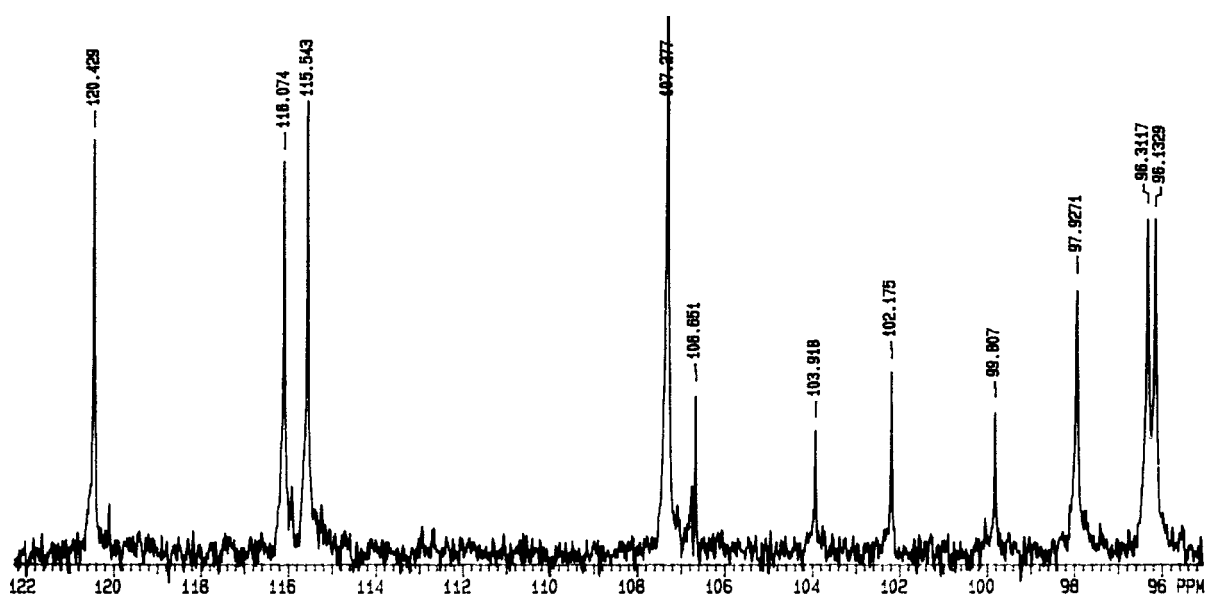


Figura 159 – Espectro de RMN ¹³C de DV24 (ampliação) [75 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

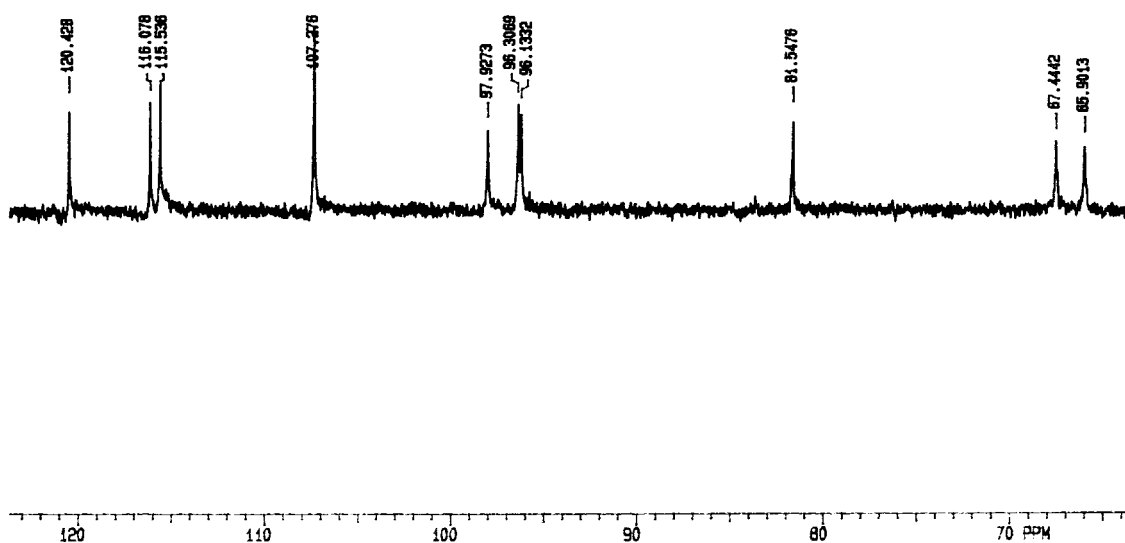


Figura 160 – Experimento DEPT 135° de **DV24** (Ampliação) [75 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

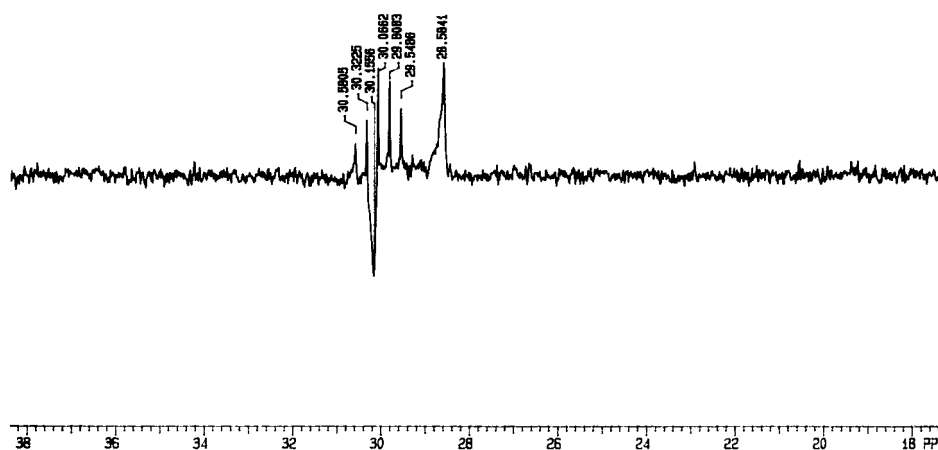


Figura 161 – Experimento DEPT 135° de **DV24** (Ampliação) [75 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

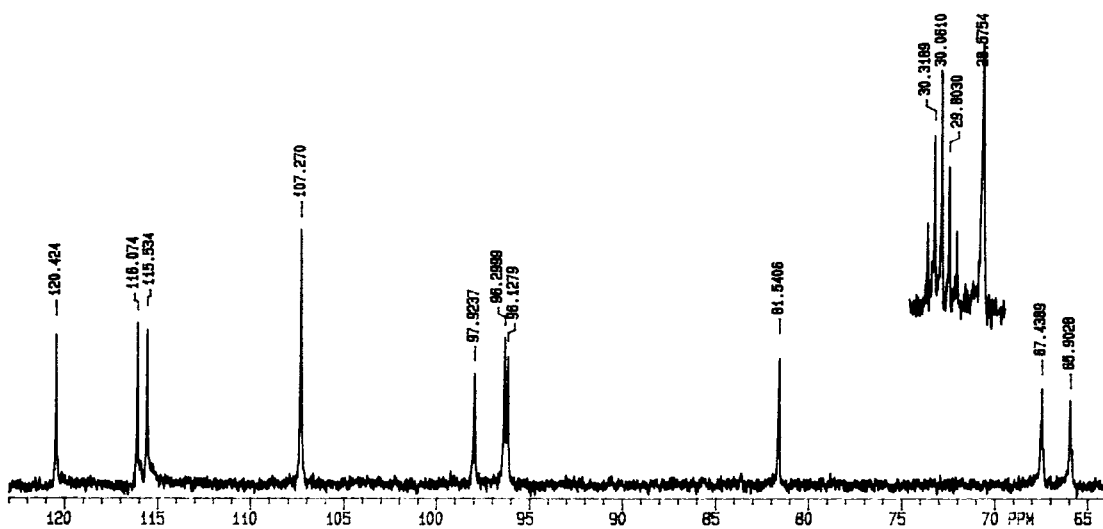


Figura 162 – Experimento DEPT 90° de **DV24** (ampliação) [75 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

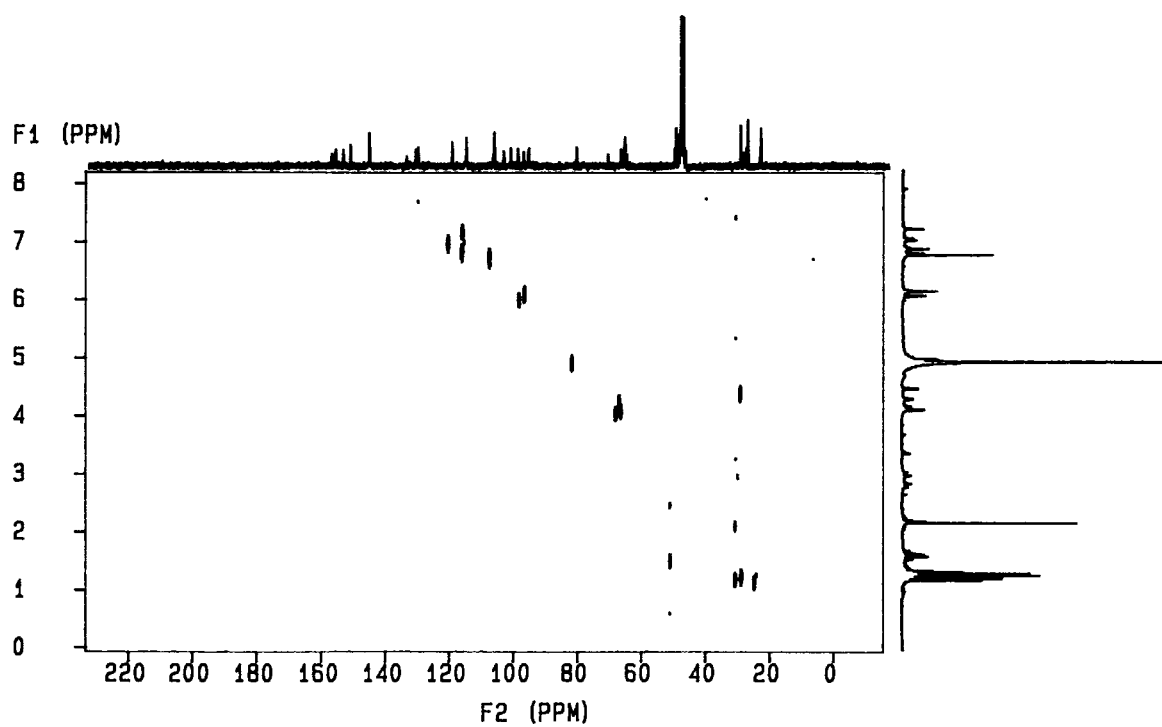


Figura 163 – Experimento HETCOR ^1H - ^{13}C de DV24 ($J = 140$ Hz) [300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, δ (ppm)]

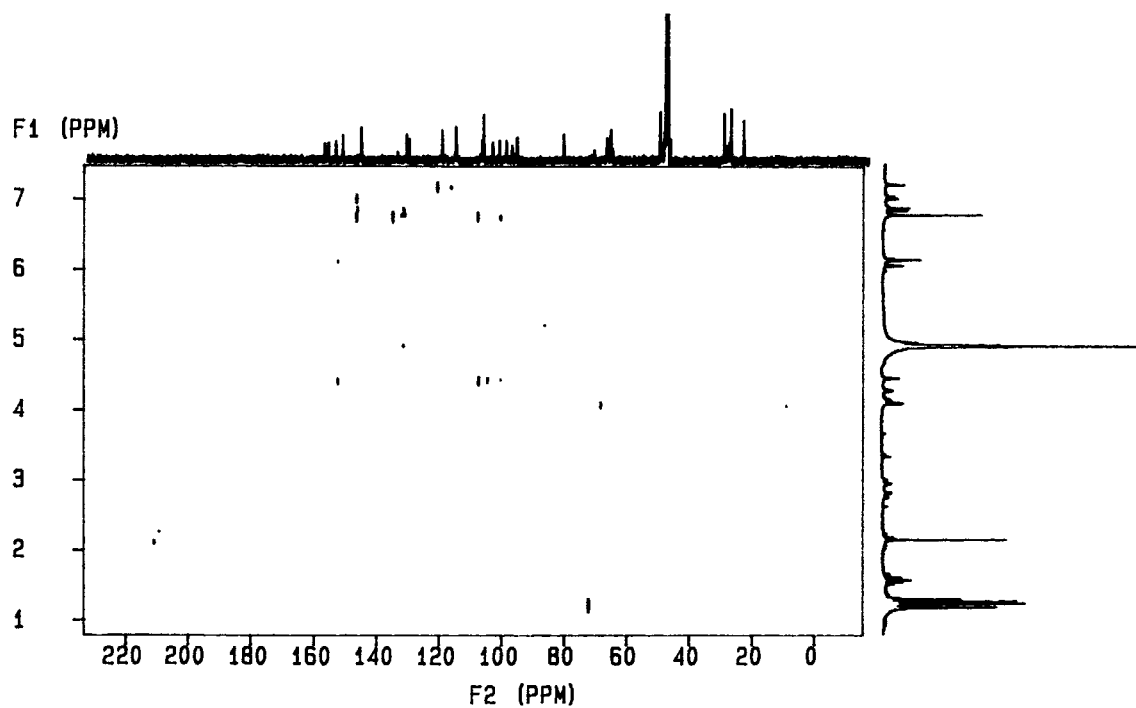


Figura 164 – Experimento HETCOR ^1H - ^{13}C ($J = 9$ Hz) de DV24 [300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, δ (ppm)]

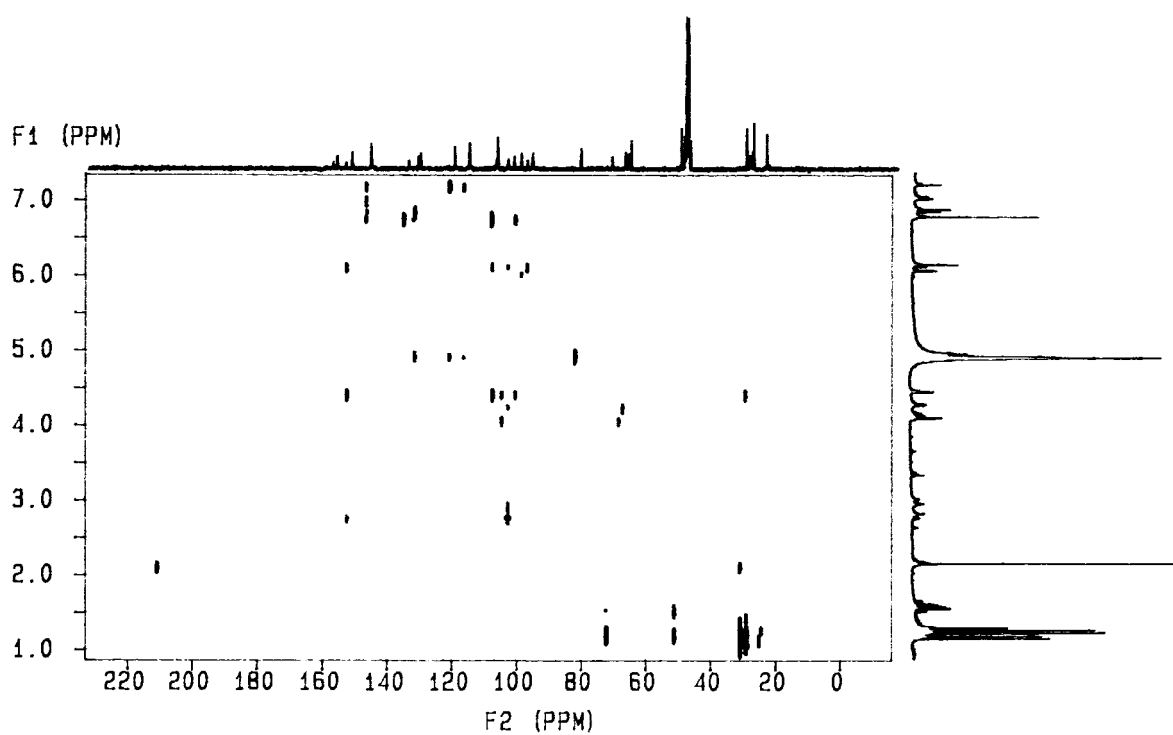


Figura 165 – Experimento HETCOR ¹H-¹³C (J= 11Hz) de DV24 [300 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

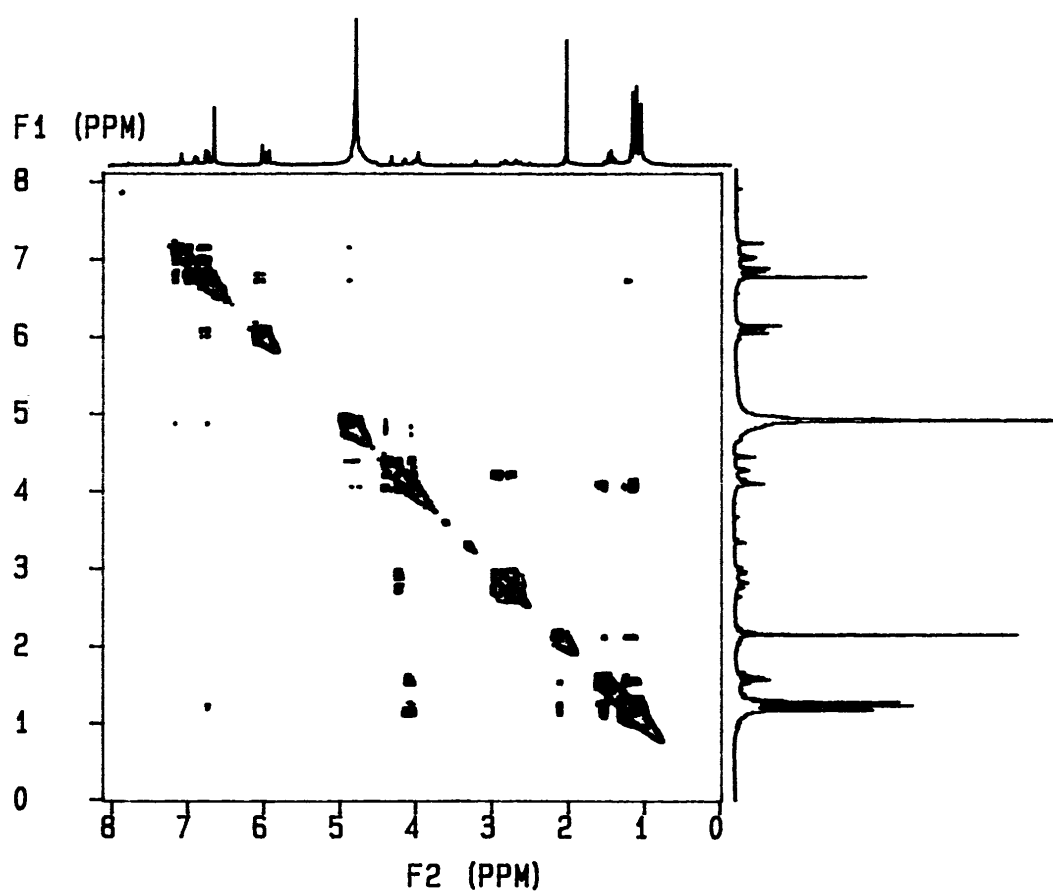


Figura 166 – Experimento COSY ¹H-¹H de DV24 [300 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

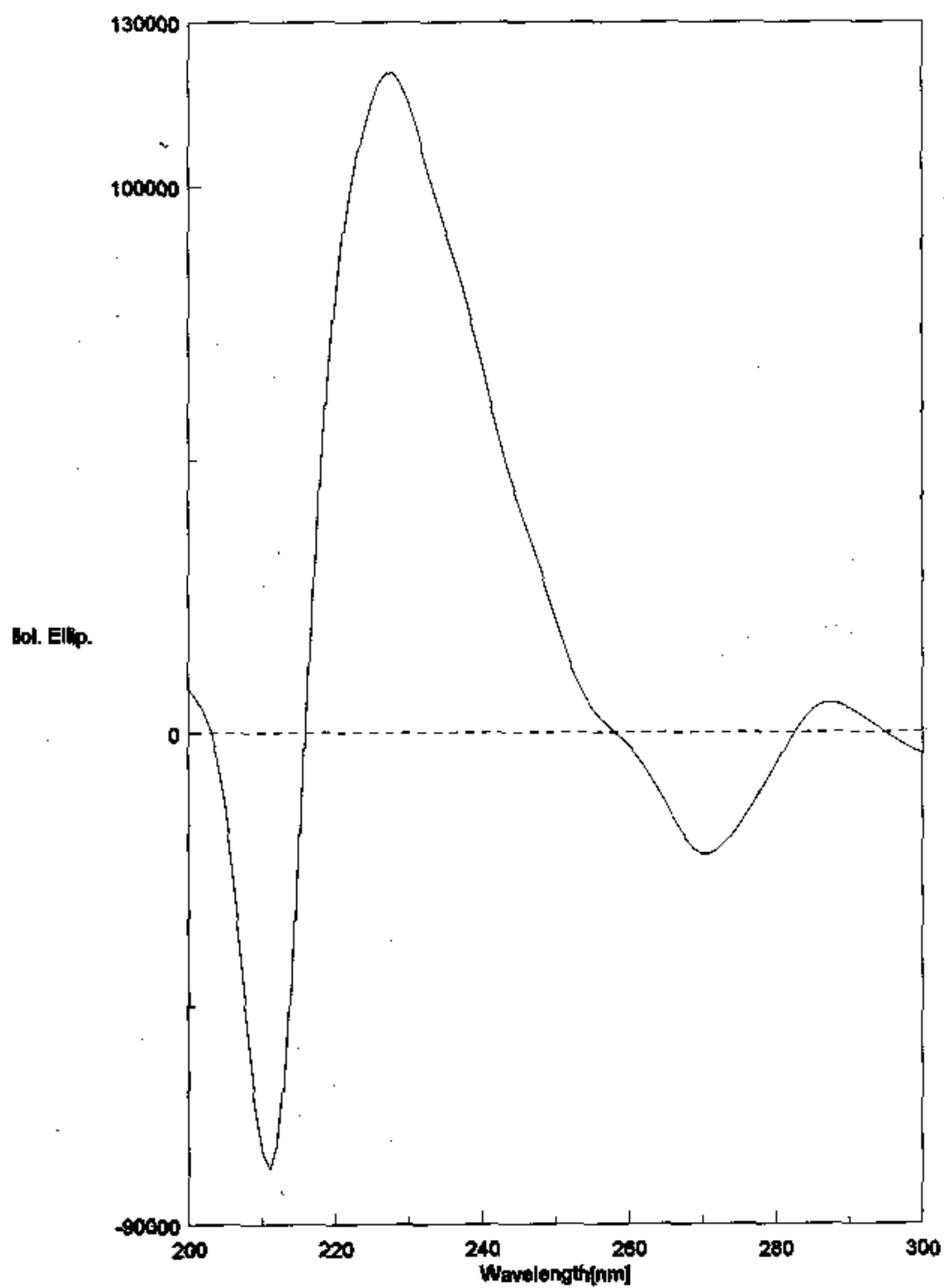


Figura 167 – Dicroísmo Circular de DV24

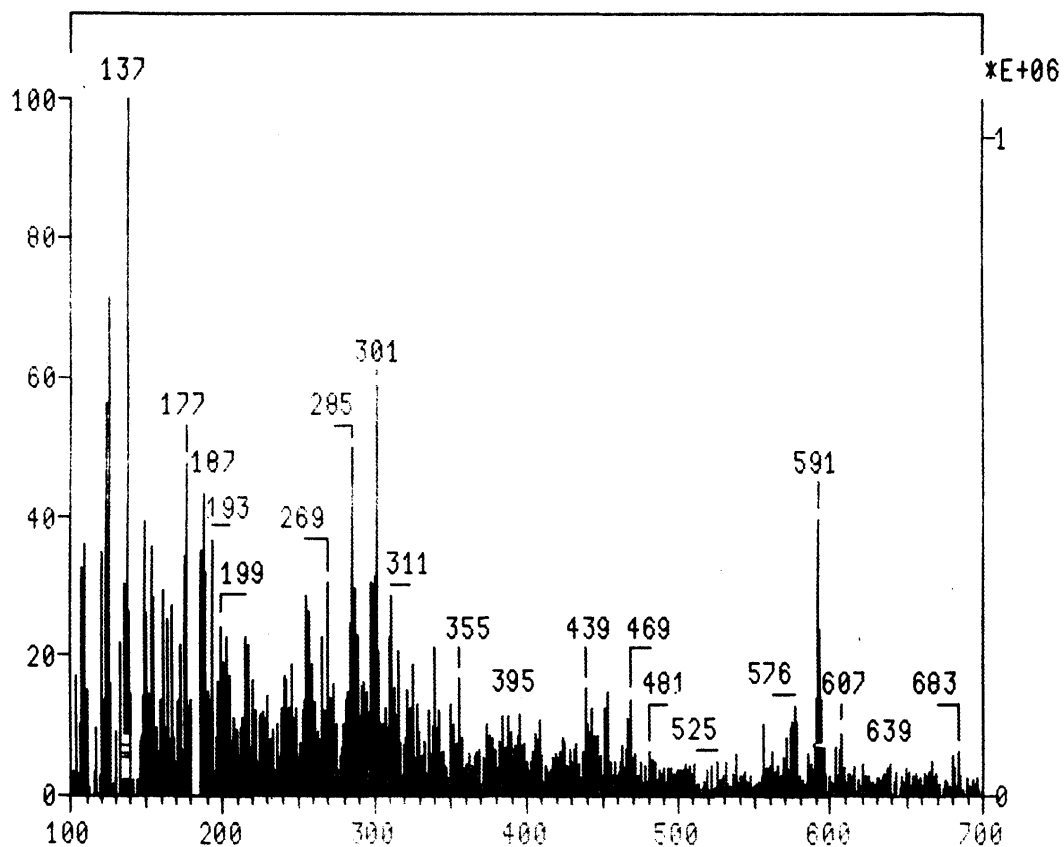


Figura 168 – EM no modo FAB negativo de DV24

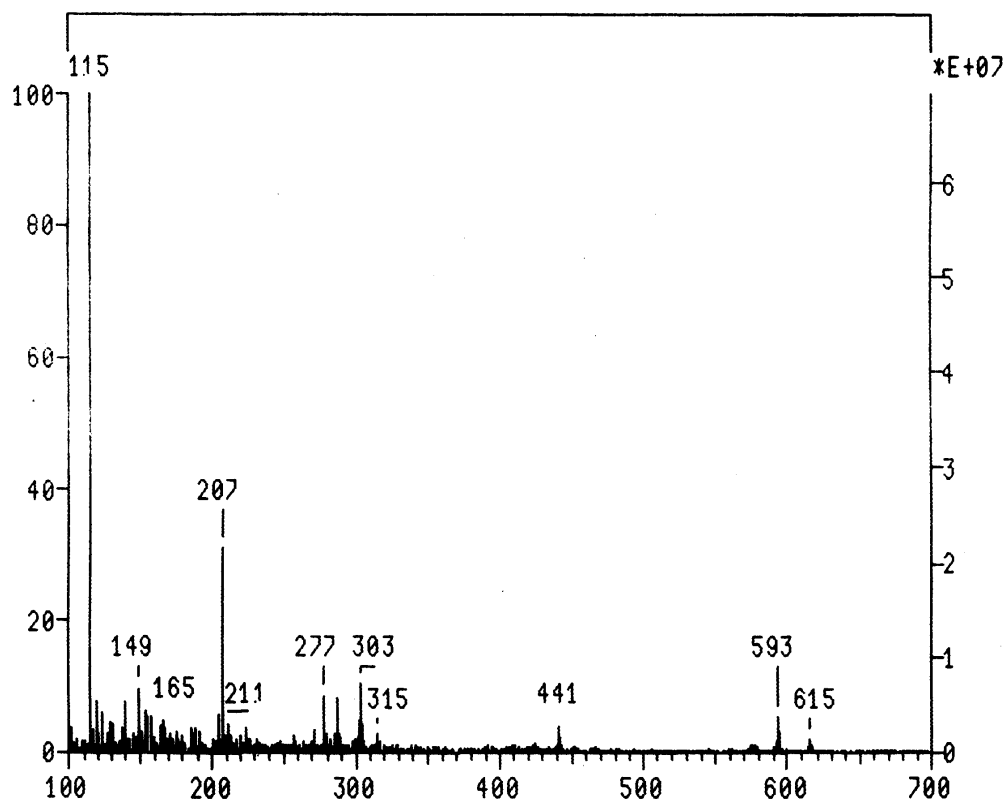
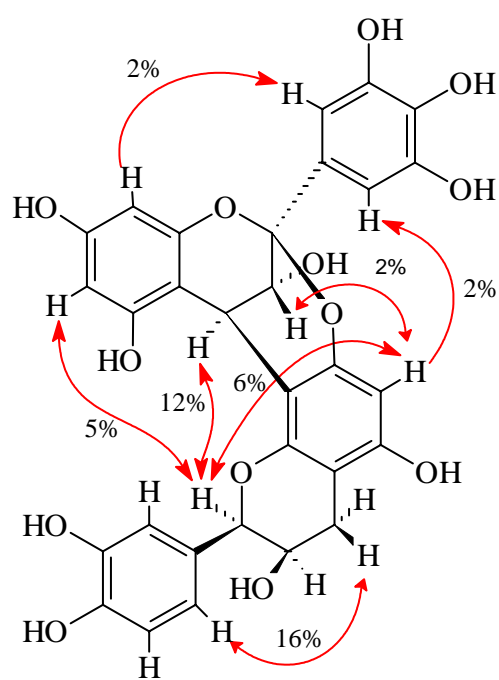
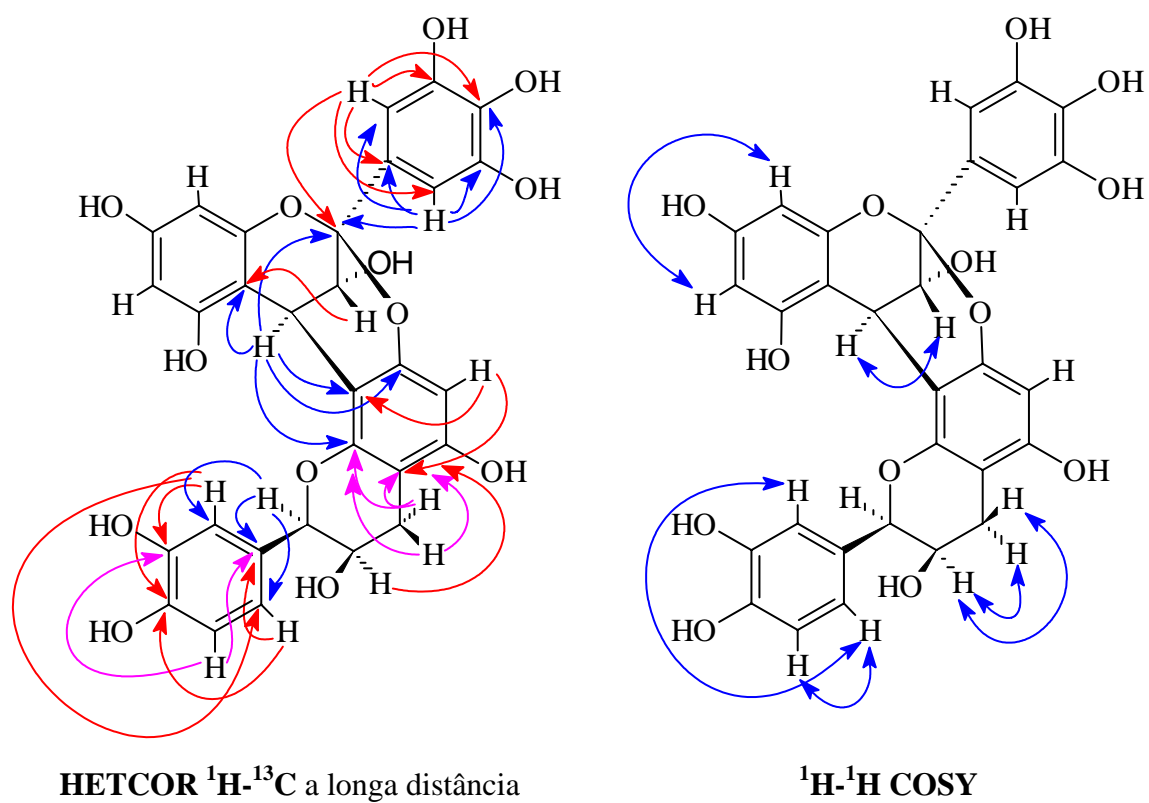


Figura 169 – EM no modo FAB positivo de DV24



Incrementos de “nOe diff”

Figura 170 – Correlações observadas nos espectros bidimensionais de DV24

Tabela 42 – Dados de RMN ¹H e ¹³C, HMQC e HMBC de DV21 e DV23

Posição	DV21*			DV23 [§]	
	δ -H	δ -C	HMBC	δ -H	δ -C
2u	-	101,63	-	-	99,83
3u	1,28 <i>m</i>	23,26	-	4,13 <i>d</i> (3,4)	67,33
4u	3,35 <i>m</i>	38,09	-	4,33 <i>d</i> (3,4)	28,66
5u	7,68 <i>d</i> (8,7)	128,66	156,30	-	156,07
6u	6,88 <i>dd</i> (2,1; 8,7)	111,02	156,30	5,98 <i>d</i> (2,3)	97,92
7u	-	156,30	-	-	157,87
8u	6,28 <i>d</i> (2,1)	102,42	-	6,06 <i>d</i> (2,3)	96,30
9u	-	162,80	-	-	153,87
10u	-	113,94	-	-	103,89
1'u	-	131,61	-	-	131,26
2'u	6,73 <i>d</i> (2,0)	115,61	-	7,29 <i>d</i> (1,95)	115,45
3'u	-	144,92	-	-	145,05
4'u	-	145,07	-	-	145,52
5'u	7,62 <i>d</i> (8,7)	115,39	131,61	6,85 <i>d</i> (8,1)	115,15
6'u	6,51 <i>dd</i> (2,0; 8,7)	119,59	-	7,02 <i>dd</i> (1,95; 8,1)	119,51
2l	4,95 <i>d</i> (11,4)	83,51	-	4,95 <i>sl</i>	81,57
3l	4,39 <i>d</i> (11,4)	72,58	-	4,37 <i>m</i>	65,85
4al	-	192,29	-	2,94 <i>dd</i> (5,0; 17,0)	30,15
4bl	-	-	-	2,79 <i>dd</i> (1,7; 17,0)	-
5l	7,90 <i>d</i> (9,3)	126,35	165,29; 166,99; 192,29	-	156,61
6l	6,86 <i>d</i> (9,3)	101,80	165,29	6,14 <i>s</i>	96,14
7l	-	165,29	-	-	151,78
8l	-	128,36	-	-	106,74
9l	-	166,99	-	-	151,61
10l	-	111,85	-	-	102,24
1'l	-	131,71	-	-	130,79
2'l	7,68 <i>d</i> (2,4)	115,11	147,30	7,18 <i>d</i> (2,1)	116,09
3'l	-	145,70	-	-	145,98
4'l	-	147,30	-	-	146,14
5'l	6,72 <i>d</i> (8,7)	114,89	147,30; 131,71	6,83 <i>d</i> (8,3)	115,54
6'l	7,54 <i>dd</i> (2,4; 8,7)	119,36	131,71	7,04 <i>dd</i> (2,1; 8,3)	120,38
1''	4,13 <i>dd</i> (5,7; 1,5)	67,42	-	-	-
2''	1,23 <i>m</i>	22,42	-	-	-
3''	1,35 <i>m</i> (7,2)	28,38	-	-	-
4''	0,88 <i>d</i> (7,2)	10,83	13,92; 28,38	-	-
5''	0,85 <i>d</i> (3,6)	13,92	10,83; 28,38	-	-

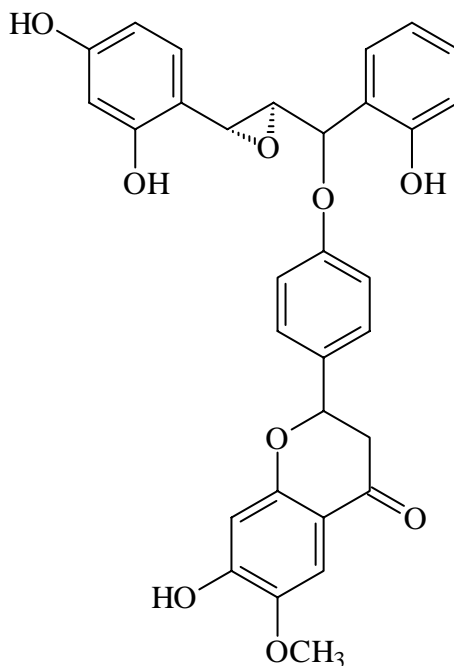
*DMSO, [§](CD₃)₂CO, Multiplicidades obtidas por DEPT.

Tabela 43 – ^1H NMR*, ^{13}C NMR**, HETCOR e correlações ^1H - ^{13}C a longa distância de DV24

Posição	$\delta\text{-H}$	$\delta\text{-C}^\#$	$\delta\text{-H}^*$ Acetilado	HETCOR longa distância	
				^2J	^3J
2u	-	99,81	-	-	-
3u	4,11 <i>d</i> (3,1)	67,44	4,63 <i>d</i> (4,3)	-	103,92
4u	4,31 <i>d</i> (3,1)	28,58	5,30 <i>d</i> (4,3)	103,92; 106,65	99,81; 151,72; 151,56
5u	-	156,03	-	-	-
6u	5,98 <i>d</i> (2,3)	97,92	6,87 <i>d</i> (2,1)	-	-
7u	-	157,79	-	-	-
8u	6,06 <i>d</i> (2,3)	96,31	6,55 <i>d</i> (2,1)	-	-
9u	-	153,80	-	-	-
10u	-	103,92	-	-	-
1'u	-	131,45	-	-	-
2'u	6,76 <i>s</i>	107,28	7,47 <i>s</i>	131,45; 145,67	133,80; 107,28; 99,81
3'u	-	145,67	-	-	-
4'u	-	133,80	-	-	-
5'u	-	145,67	-	-	-
6'u	6,76 <i>s</i>	107,28	7,47 <i>s</i>	131,45; 145,67	133,80; 107,28; 99,81
2l	4,96 <i>sl</i>	81,54	5,43 <i>sl</i>	130,73	115,54; 120,42
3l	4,24 <i>m</i> em CD_3OD	65,90	5,33 <i>m</i>	-	102,18
4l- <i>eq</i>	2,94 <i>dd</i> (17,2; 4,7)	30,16	2,99 <i>dd</i>	102,18	151,56
4l- <i>ax</i>	2,80 <i>dd</i> (17,2; 2,1)		(17,8;2,6) 2,75 <i>dd</i> (17,8;4,1)	102,18	151,56
5l	-	156,61	-	-	-
6l	6,13 <i>s</i>	96,13	6,54 <i>s</i>	151,72	106,65; 102,18
7l	-	151,72	-	-	-
8l	-	106,65	-	-	-
9l	-	151,56	-	-	-
10l	-	102,18	-	-	-
1'l	-	130,73	-	-	-
2'l	7,28 <i>d</i> (2,0)	115,54	7,25 <i>d</i> (2,6)	145,50	145,95; 120,18
3'l	-	145,50	-	-	-
4'l	-	145,95	-	-	-
5'l	6,85 <i>d</i> (8,1)	116,07	-	-	145,50; 130,73
6'l	7,04 <i>dd</i> (8,1; 2,0)	120,42	-	130,73	145,95

300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, $^\text{CD}_3\text{OD}$, δ (ppm), J(Hz); **75 MHz. #Multiplicidade obtida por DEPT 135° e DEPT 90°, *u*= unidade superior (*epigalocatequina*), *l*= unidade inferior (*epicatequina*).

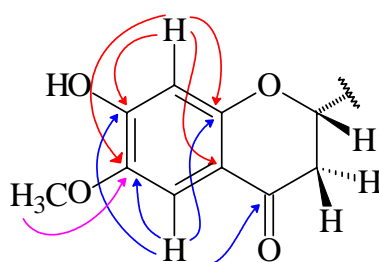
6.9. Biflavonóide

6.9.1. Determinação estrutural da α,β' -epoxi,-2,2',4'-triidroxichalcona-($\beta \rightarrow 4'$)-7,4'-diidroxiflavanona**DV17**

A estrutura deste biflavonóide foi proposta baseada em análise detalhada dos espectros de RMN de ^1H (Figura 171, p. 230), ^{13}C (Figura 174, p. 232) e de correlações. O espectro de RMN ^{13}C de **DV17** apresentou 29 sinais, sendo dois deles dobrados, o que mostra a presença de 31 átomos de carbono na estrutura. O espectro de RMN ^1H registrou sinais para 22 átomos de hidrogênio. Estes dados juntamente com a presença de 7 C-sp^2 aromáticos oxigenados evidenciados pelos valores dos sinais no espectro de RMN de ^{13}C , uma carbonila e sinais para um anel oxirano, levaram a propor a FM $\text{C}_{31}\text{H}_{26}\text{O}_9$, MM = 542.

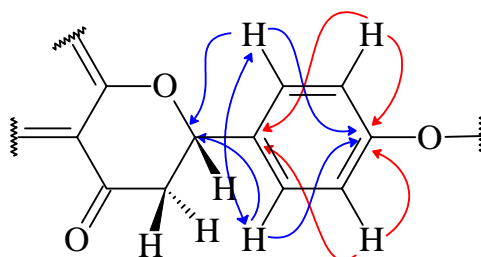
A análise do espectro de RMN ^1H e ^{13}C pode ser dividida em duas regiões distintas; a dos sinais referentes aos grupos aromáticos e, a dos alifáticos. No espectro de RMN de ^1H e ^{13}C , na região de deslocamento de hidrogênios ligados a C-sp^2 (Figuras 172, p. 231 e 175, 176 e 177, p. 232 e 233), observa-se claramente a presença de 4 anéis aromáticos com sistemas de *spins* diferentes. O mais simples deles apresenta dois simpletos, integrando para 1H cada. O primeiro deles em δ 7,28, pode-se assegurar pelo espectro de correlação HMQC, está ligado ao carbono em δ 107,87 (C-5). No espectro bidimensional HMBC este mesmo hidrogênio encontra-se correlacionado com os carbonos em δ 155,37 (C-7), δ 158,92 (C-9), δ 190,43

(C-4l) e δ 144,25 (C-6l). O outro simpleto (δ 6,48), pelo espectro de correlação HMQC, mostra-se ligado ao carbono em δ 104,26 (C-8l) e, pelo espectro HMBC correlaciona com os carbonos em δ 144,25 (C-6l), δ 113,5 (C-10l), δ 155,37 (C-7l) e δ 158,92 (C-9l) (Figura 190, p. 244; Tabela 44, p. 245). Estes dados confirmam as atribuições para este anel e mostram que o primeiro hidrogênio encontra-se a três ligações da carbonila, ou seja, no C-5l (**121**). A localização da metoxila em C-6l foi proposta pela correlação observada no HMBC entre δ 3,87 s e δ 144,25 (C-6l) (Figura 190, p. 244).



121

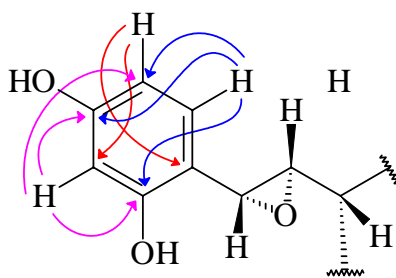
Pelo espectro de RMN de ^1H , o segundo anel apresentou dois dupletos, integrando para 2H cada, característicos de um sistema de *spins* A_2X_2 , ou seja, para anéis aromáticos *para* dissubstituídos. O duplete em δ 7,40 que correlaciona por HMQC com o carbono em δ 128,25 (C-2'l / C-6'l) e por HMBC com os carbonos em δ 158,46 (C-4'l), δ 128,25 (C-2'l e C-6'l) e δ 80,58 (C-2l). O outro duplete em δ 6,90 correlaciona por HMQC com o carbono em δ 116,03 (C-3'l e C-5'l) e por HMBC com os carbonos em δ 131,35 (C-1'l) e δ 158,46 (C-4'l) (Figura 190, p. 244; Tabela 44, p. 245). Estas evidências além de confirmar as atribuições para o anel confirmam também a ligação deste anel ao carbono oxibenzílico em δ 80,58 (**122**).



122

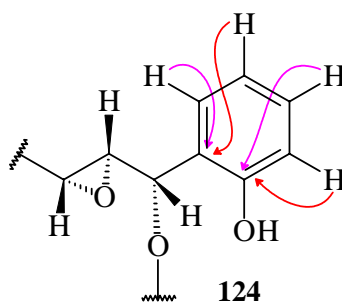
O terceiro anel aromático observado pelo espectro de RMN ^1H apresentou sinais de hidrogênios acoplado num sistema de *spins* ABX. O duplete em δ 7,32 apresenta correlação no espectro HMQC com o carbono em δ 119,00 (C-3'u). Já no espectro HMBC este hidrogênio mostrou correlação com δ 159,00 (C-2'u), δ 156,48 (C-4'u) e δ 117,21 (C-5'u). O duplo duplete em δ 7,05 correlacionou com δ 117,21 (C-5'u) no HMQC e, com δ 123,65 (C-

1'*u*) e 119,00 (C-3'*u*) no HMBC. Enquanto que o duplete em δ 7,30 está correlacionando por HMQC com δ 130,00 (C-6'*u*) e, por HMBC com δ 159,00 (C-2'*u*), 156,48 (C-4'*u*) e 117,21 (C-5'*u*) (Figura 190, p. 244; Tabela 44, p. 245). Estas correlações foram importantes (**123**), pois confirmaram as atribuições para este anel. No entanto elas não revelaram onde este anel encontra-se ligado.



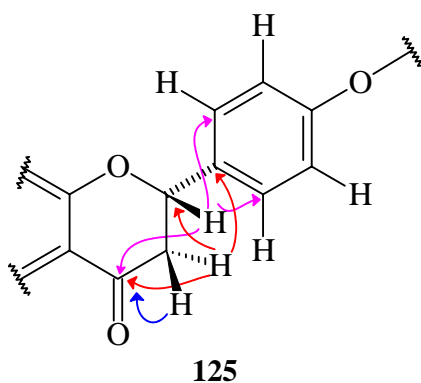
123

O quarto anel apresentou sinais referentes a 4 hidrogênios acoplando num sistema complexo de *spins*, onde nenhum dos hidrogênios é equivalente quimicamente ou magneticamente. Estes hidrogênios caracterizam um anel *orto* dissubstituído, onde os dois substituintes são diferentes. Tanto no espectro de RMN de ^1H a 300 MHz quanto a 500 MHz só foi possível registrar o espectro de primeira ordem, onde se observam dois tripletos e dois dupletos. O espectro bidimensional HMQC permitiu correlacionar os 4 hidrogênios com seus respectivos carbonos (Figuras 181, 182, 183, 184, 185 e 186; p. 235 à 240; Tabela 44, p. 245). O duplete em δ 7,10 apresentou correlação no HMQC com o carbono metínico em δ 110,16 (C-3*u*) e por HMBC com δ 148,66 (C-2*u*). O tripleto em δ 7,57 apresentou correlação no HMQC com o carbono metínico em δ 128,57 (C-4*u*) e por HMBC com δ 148,66 (C-2*u*). O outro tripleto em δ 7,51 correlaciona por HMQC com δ 128,49 (C-5*u*) e por HMBC com δ 133,48 (C-1*u*). Já o outro duplete em δ 7,61 correlaciona por HMQC com δ 121,41 (C-6*u*) e por HMBC com δ 133,48 (C-1*u*) (Figura 190, p. 244; Tabela 42, p. 245). Estas correlações permitiram confirmar as atribuições para este anel (**124**), entretanto, elas não revelam onde ele encontra-se ligado.

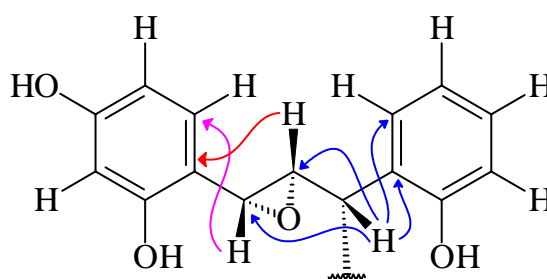


124

A análise dos espectros de RMN de ^1H (Figura 173, p. 231) e ^{13}C (Figura 178, p. 233), na região referente aos C-sp^3 e hidrogênios ligados a estes carbonos, foi mais elucidativa quanto à disposição dos anéis aromáticos previamente analisados. Primeiramente observaram-se três hidrogênios acoplado num sistema de *spins* AMX, o primeiro deles oximetínico em δ 5,42 *dd* correlacionando por HMQC com δ 80,58 (C-2*l*) e por HMBC com δ 128,25 (C-2'*l*), e os outros dois metilênicos em δ 2,66 *dd* e δ 3,03 *dd* ambos correlacionando por HMQC com δ 44,54 (C-3*l*) e por HMBC com a carbonila em δ 190,43 (C-4*l*), com δ 80,58 (C-2*l*) e δ 131,35 (C-1*l*) (**125**) (Figura 190, p. 244; Tabela 44, p. 245). Estas correlações confirmam que uma das unidades da substância é uma flavanona. Comparação com os dados para a substância **DV16** confirmou a sugestão de que a unidade inferior é a 7,4'-diidroxiflavanona.



Os outros deslocamentos nesta região mostraram três hidrogênios acoplado num sistema de *spins* AMX. O duplete em δ 5,53 apresenta correlação no espectro HMQC com δ 61,33 (C- β *u*) e por HMBC com os carbonos C-1*u*, C-2*u*, C- α *u* e C- β' *u* (Figura 182, p. 236; Tabela 44, p. 245). O duplo duplete em δ 3,61 apresenta correlação no HMQC com δ 54,13 (C- α *u*), e no HMBC com o carbono em δ 123,65 (C-1*u*). Já o duplete em δ 3,68 correlaciona por HMQC com δ 51,07 (C- β' *u*) e por HMBC com δ 130,00 (C-6'*u*). Os valores de deslocamento para estes carbonos (Tabela 44, p. 245; **126**) encontram-se protegidos para carbonos oximetínicos, este fato sugeriu a presença de um anel oxirano. As correlações observadas para o duplete em δ 5,53 indicaram que o anel 4 encontra-se ligado ao carbono oximetínico em δ 61,33. E as correlações do duplo duplete em δ 3,61 com δ 123,65 C e do duplete em δ 3,68 com 130,00 CH, mostraram que o anel 3 está ligado ao carbono em δ 51,07 (Figuras 181, 182, 183, 184, 185 e 186, p. 235 a 240). Deste modo, estes dados permitiram propor que a unidade superior do biflavonóide tratava-se da 2,2',4' triidroxichalcona, que possivelmente tenha sofrido adição 1,4 da unidade inferior no carbono β -carbonílico, seguida de epoxidação.



126

Correlações de NOESY (Figuras 187, 188, 189 e 190, p. 241 a 244) corroboram a proposta estrutural, em particular a correlação observada entre o duplete em δ 7,40 e o tripleto em 7,57 que mostraram que as duas unidades encontram-se ligadas (Figura 190, p. 244). Estes dados nos permitiram propor que **DV17** é a α,β' -epoxi,-2,2',4'-triidroxichalcona-($\beta \rightarrow 4'$)-7,4'-diidroxii-6-metoxiflavanona, que está sendo relatada aqui pela primeira vez. Há necessidade ainda da obtenção do EM por FAB ou ES além da análise elementar para confirmar esta sugestão.

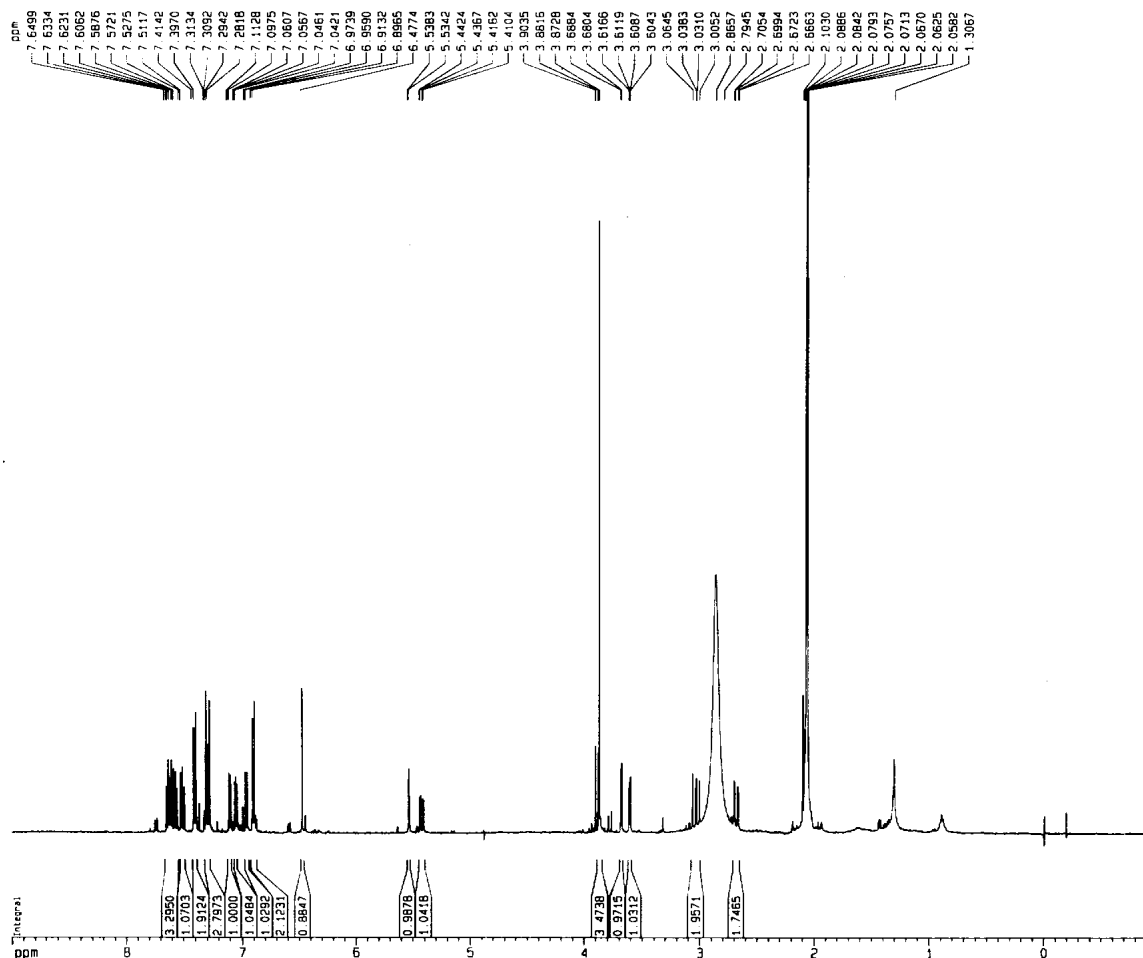


Figura 171 – Espectro de RMN ^1H de **DV17** (integração) [500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, δ (ppm)]

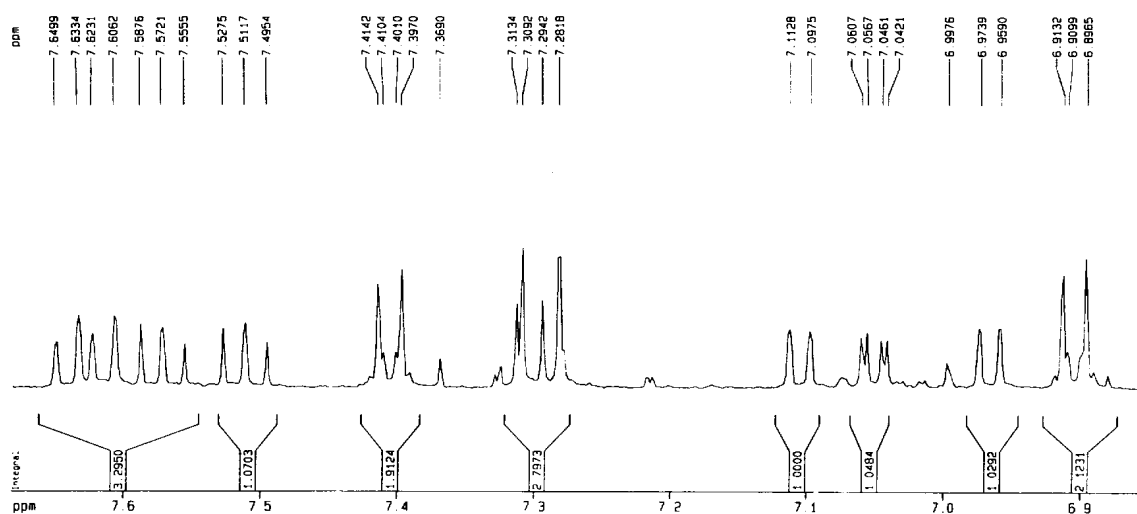


Figura 172 – Espectro de RMN ^1H de **DV17** (ampliação) [500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, δ (ppm)]

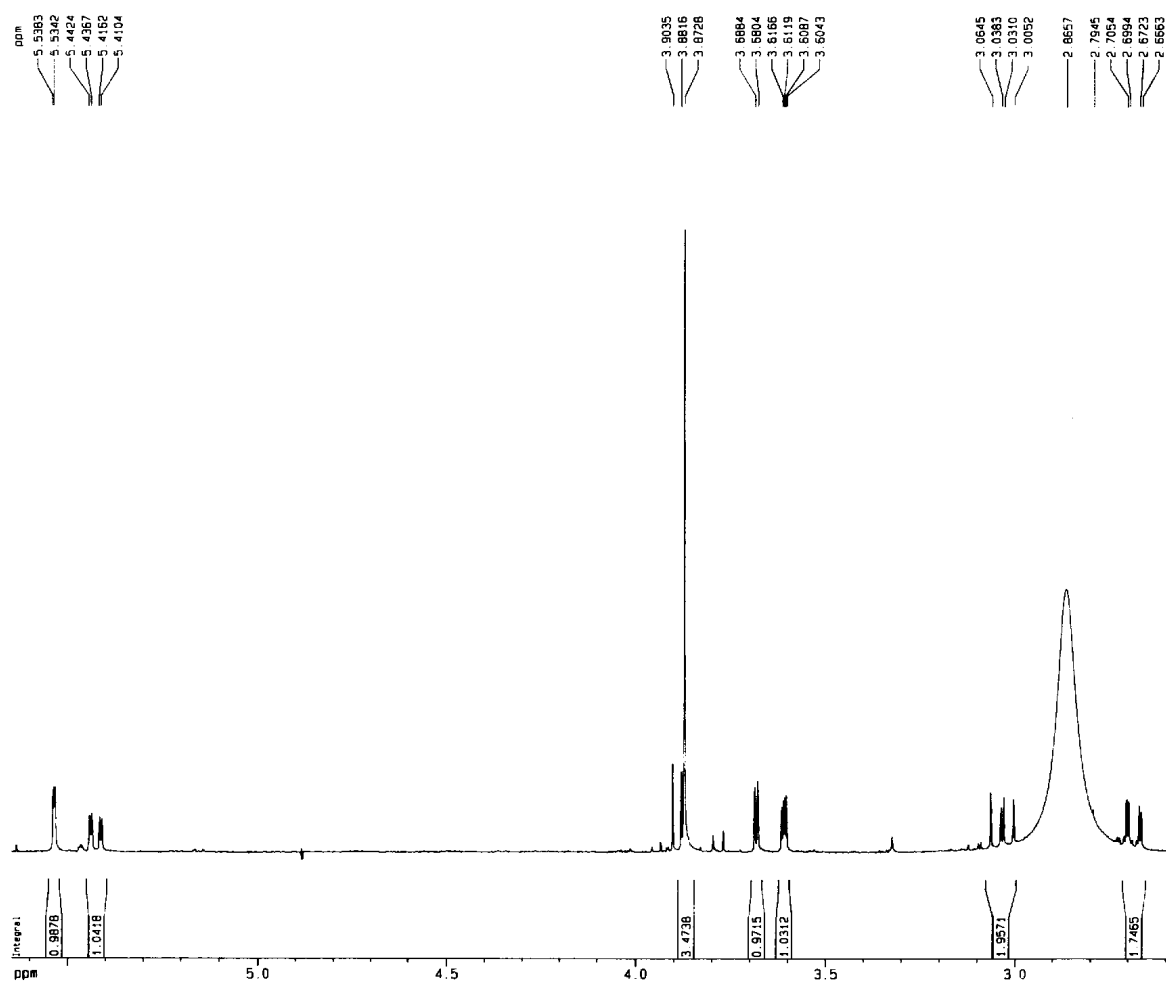


Figura 173 – Espectro de RMN ^1H de **DV17** (ampliação) [500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, δ (ppm)]

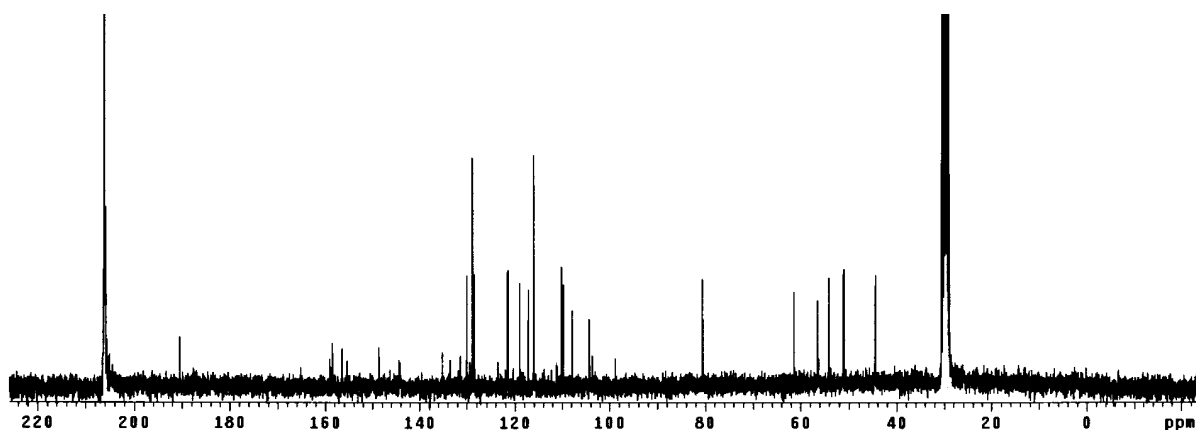


Figura 174 – Espectro de RMN ¹³C de **DV17** [75 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

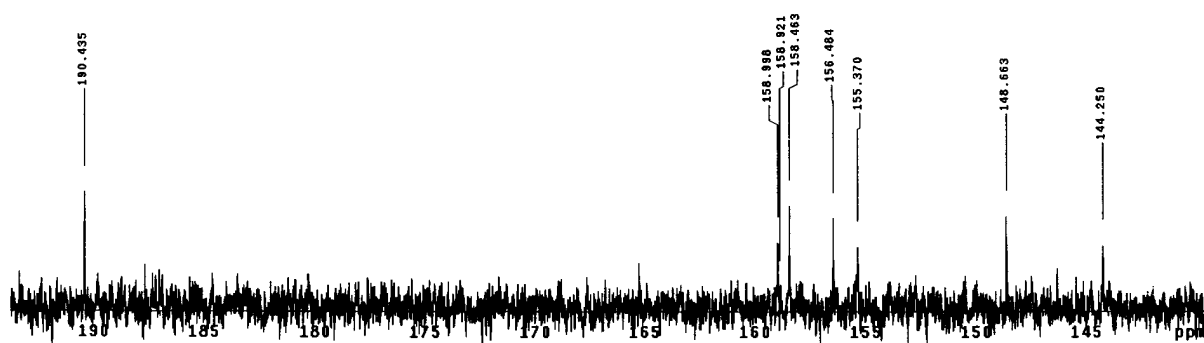


Figura 175 – Espectro de RMN ¹³C de **DV17** (ampliação) [75 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

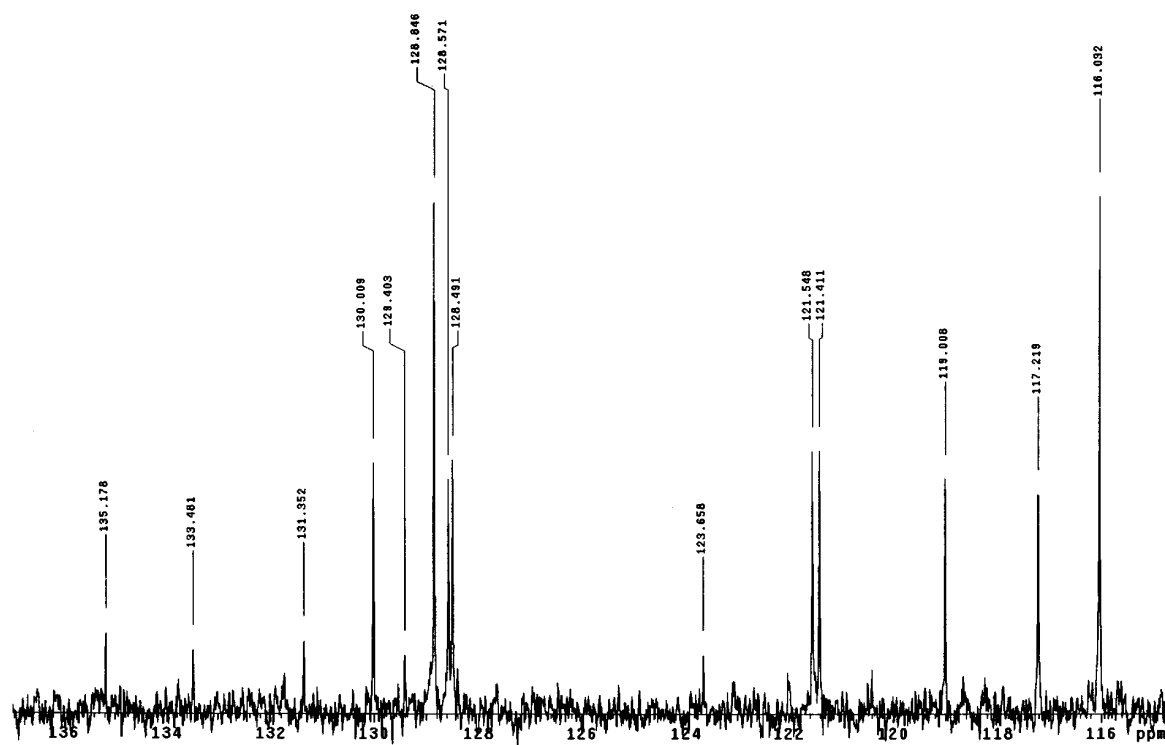


Figura 176 – Espectro de RMN ¹³C de **DV17** (ampliação) [75 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

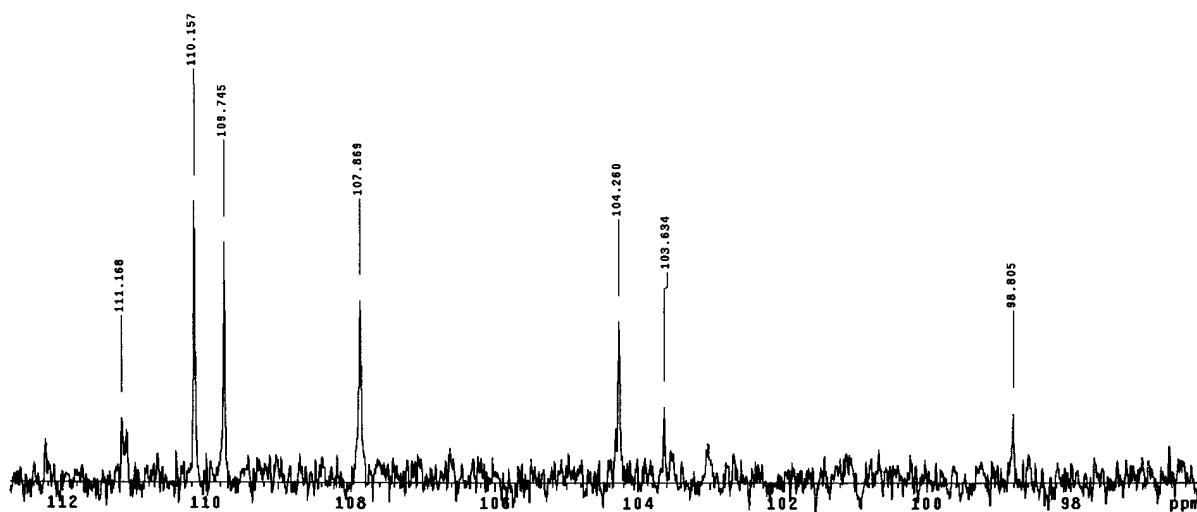


Figura 177 – Espectro de RMN ^{13}C de DV17 (ampliação) [75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, δ (ppm)]

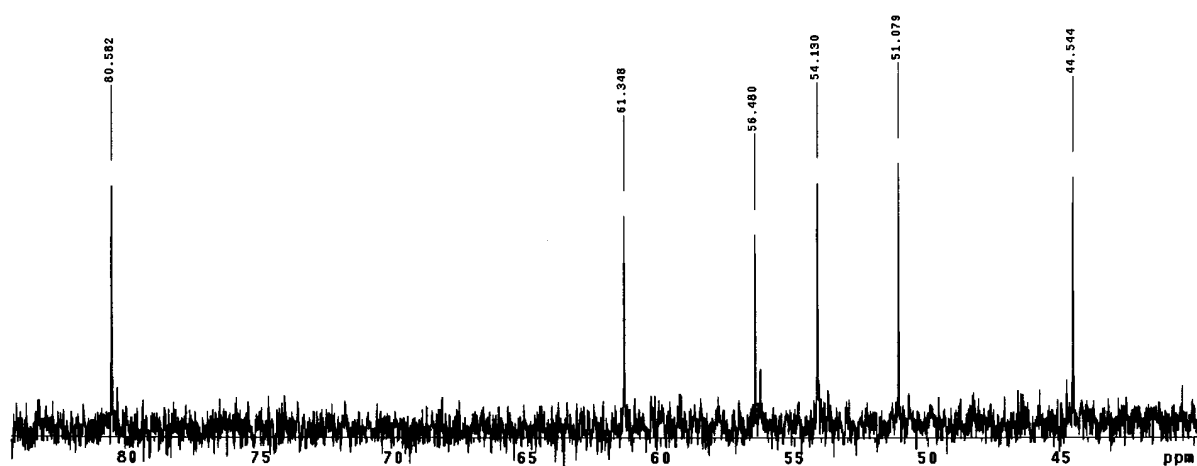


Figura 178 – Espectro de RMN ^{13}C de DV17 (ampliação) [75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, δ (ppm)]

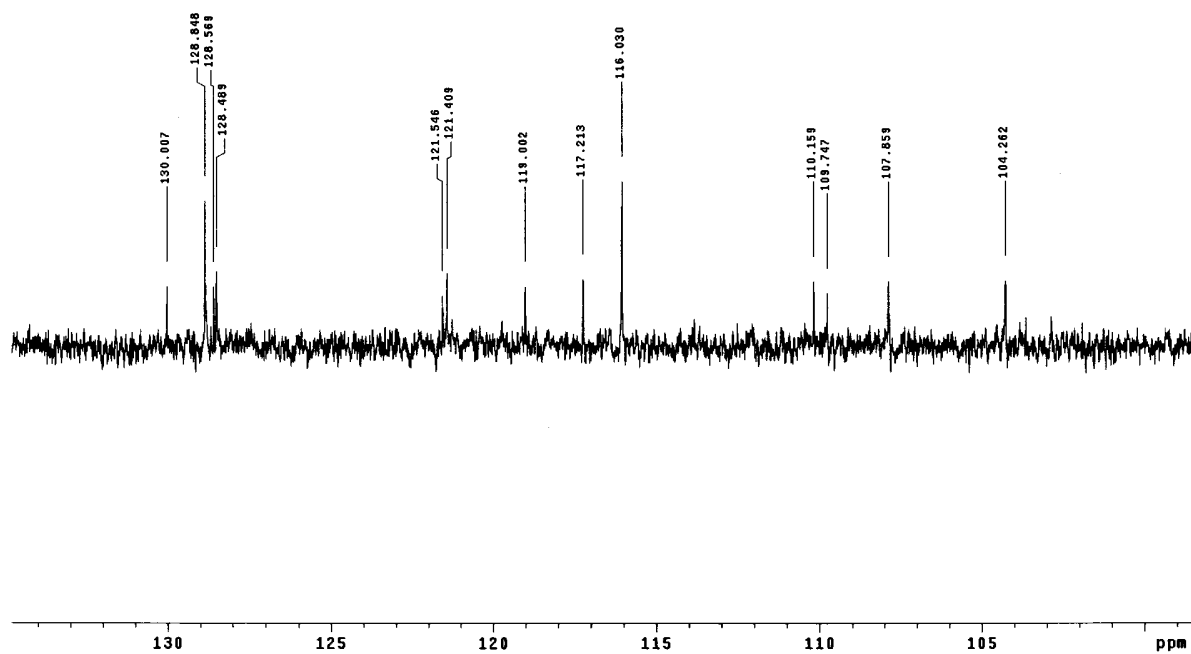


Figura 179 – Experimento DEPT 135° de **DV17** (ampliação) [75 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

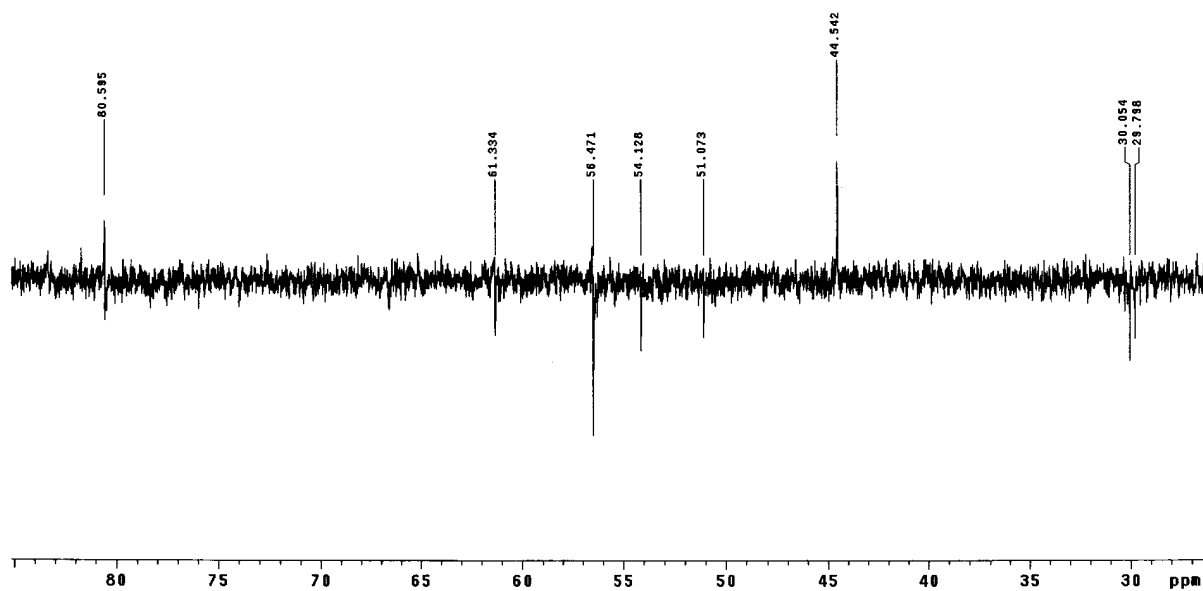


Figura 180 – Experimento DEPT 135° de **DV17** (ampliação) [75 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

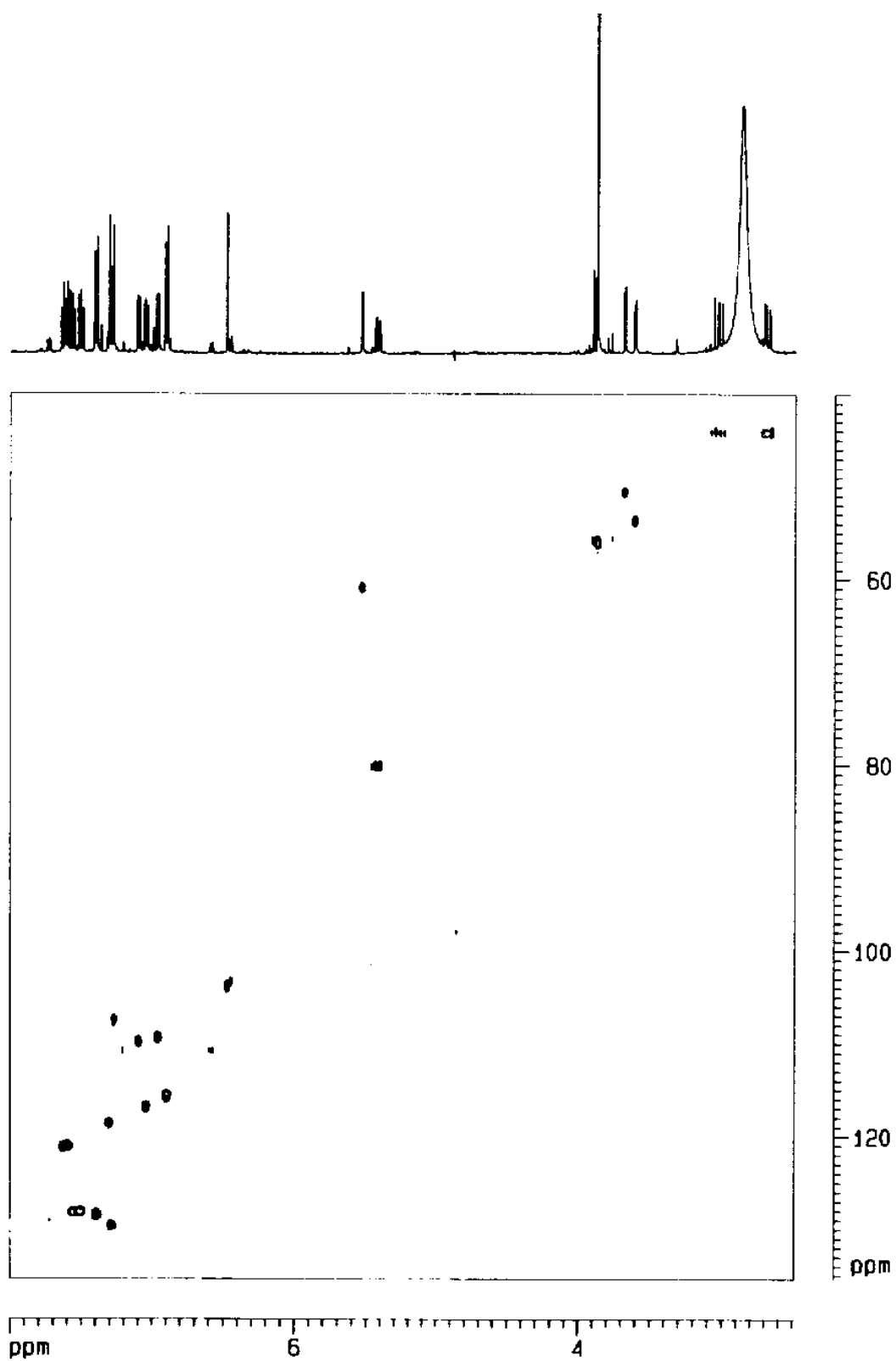


Figura 181 – Experimento HMQC de **DV17** [500 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

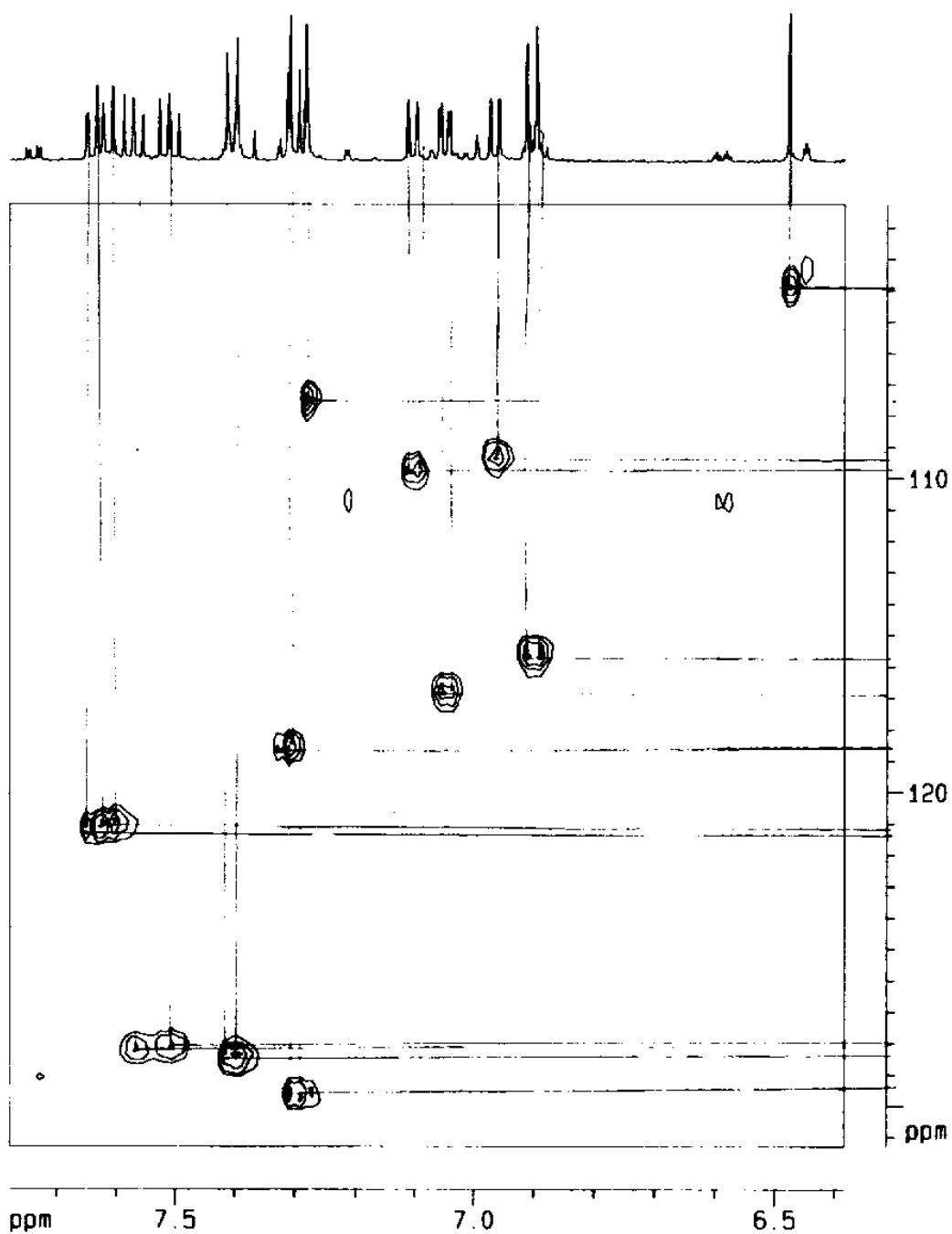


Figura 182 – Experimento HMQC de **DV17** (ampliação) [500 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

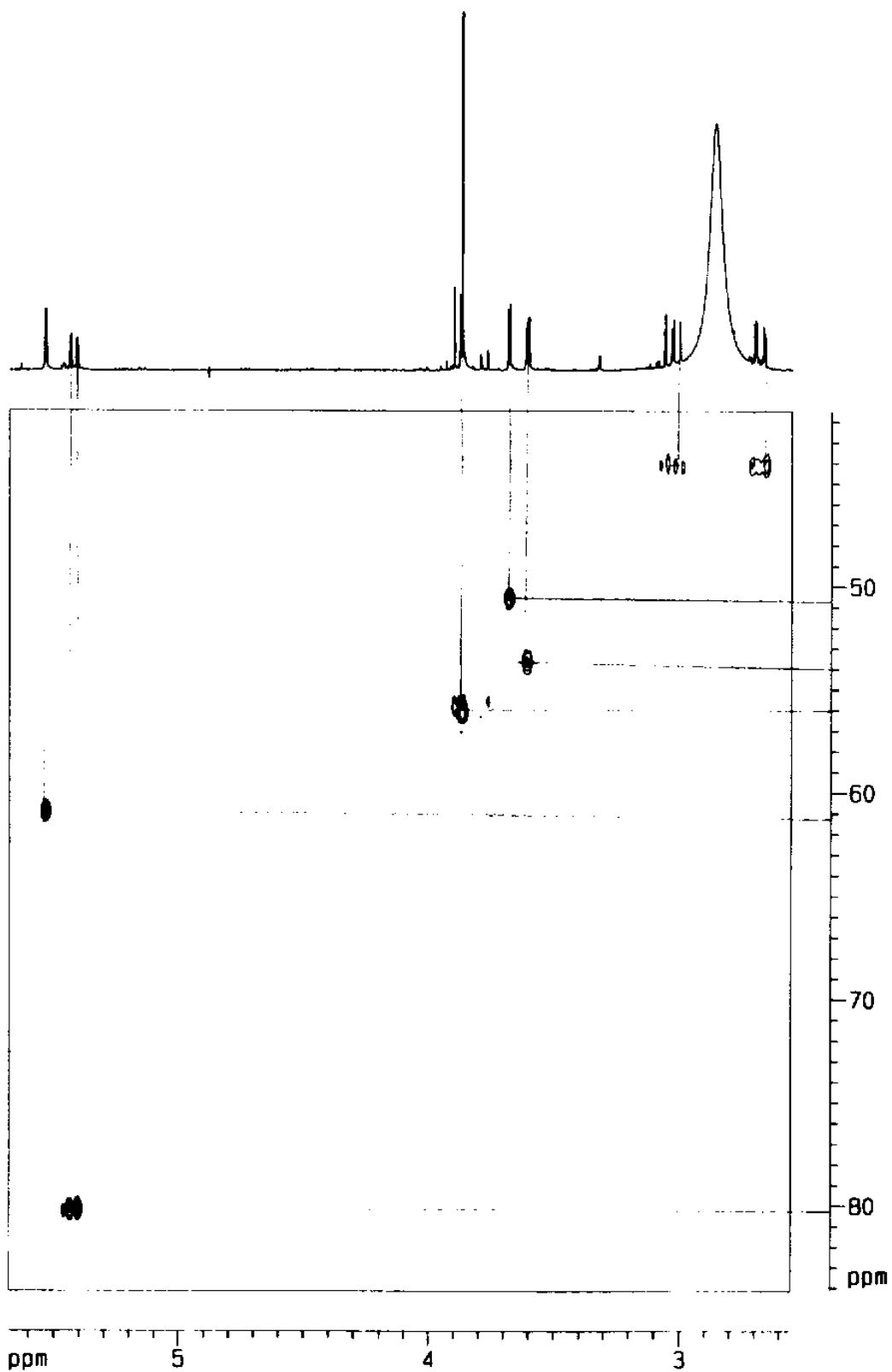


Figura 183 – Experimento HMPC de **DV17** (ampliação) [500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, δ (ppm)]

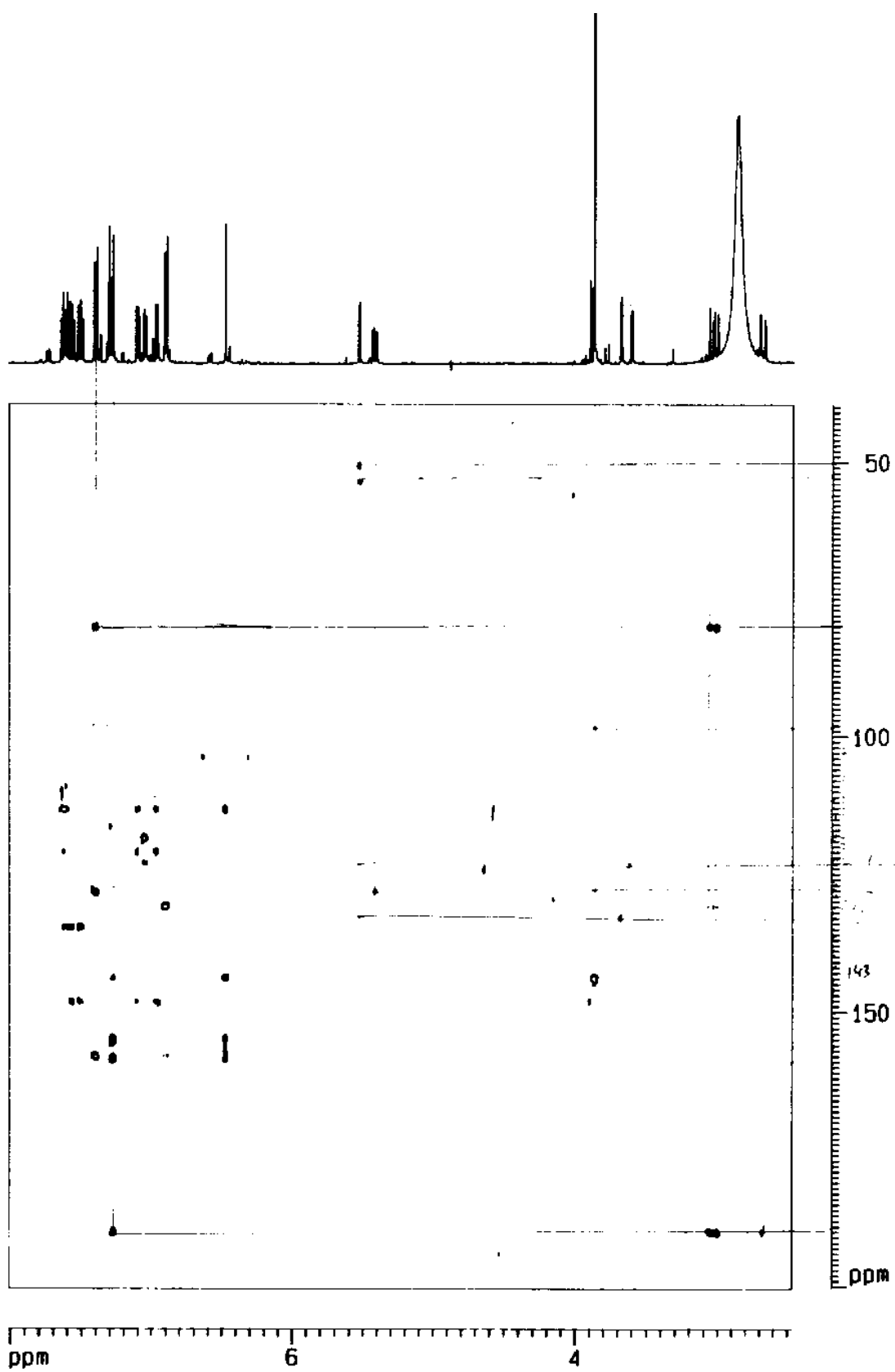


Figura 184 – Experimento HMBC de DV17 [500 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

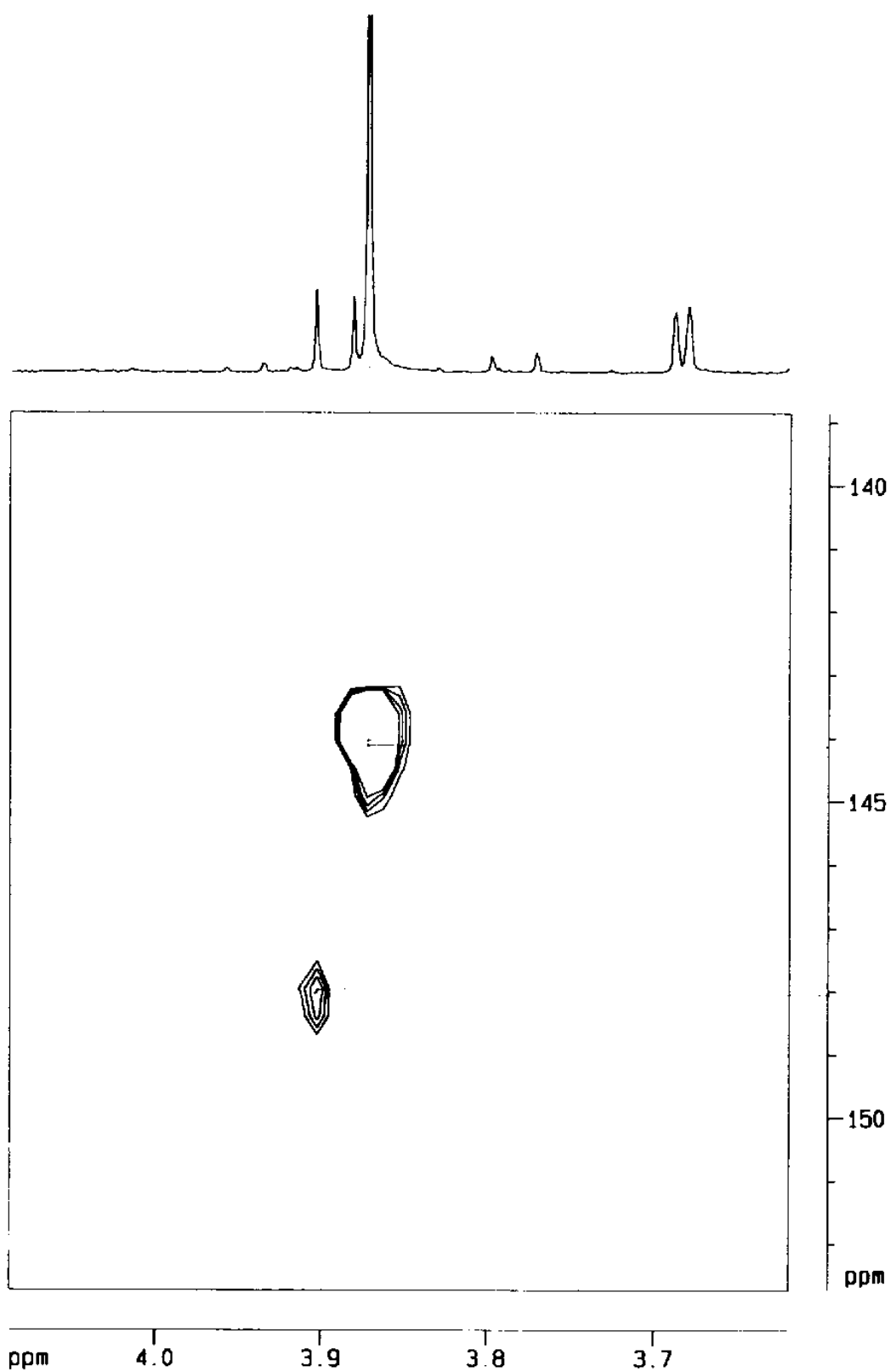


Figura 185 – Experimento HMBC de **DV17** (ampliação) [500 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

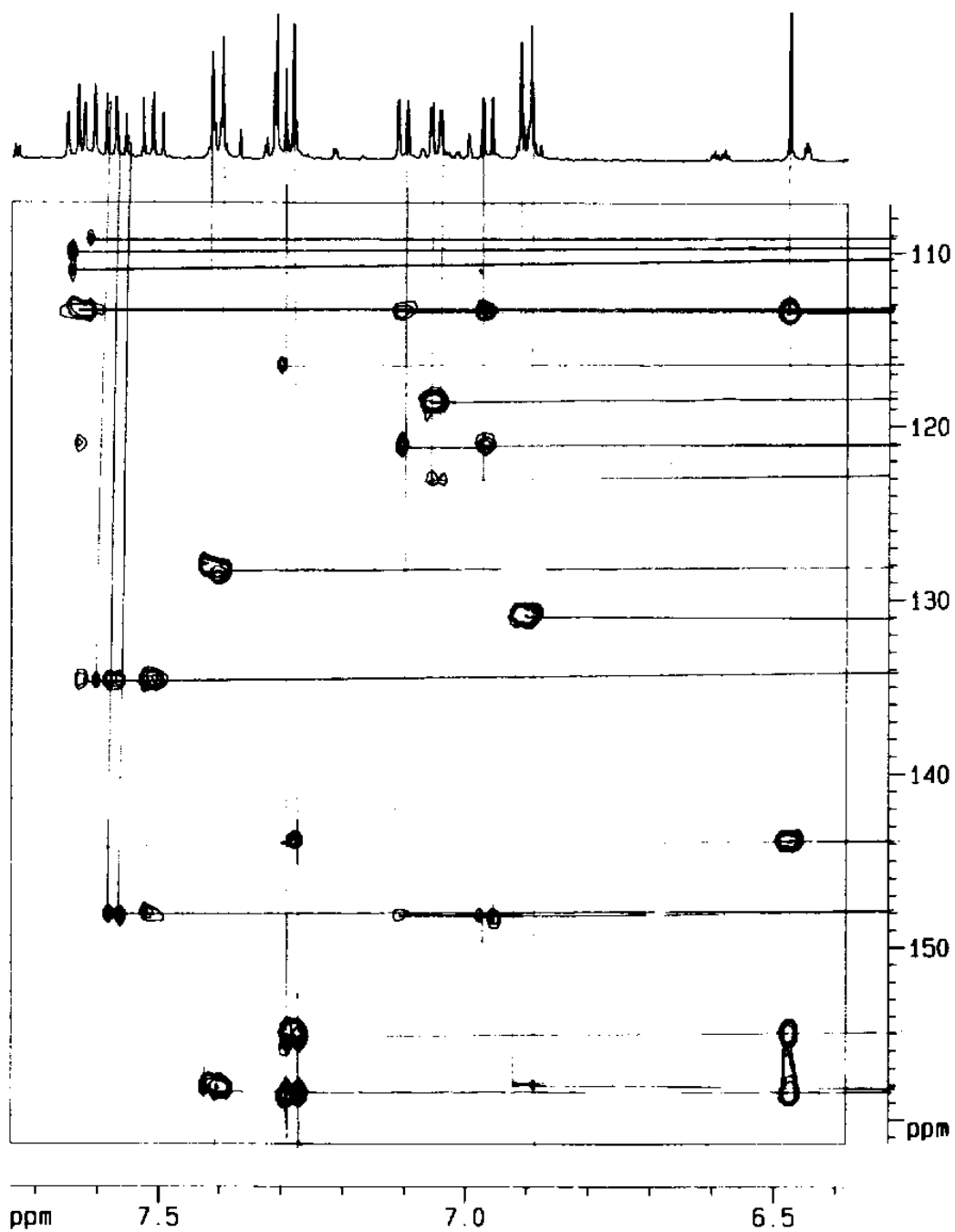


Figura 186 – Experimento HMBC de **DV17** (ampliação) [500 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

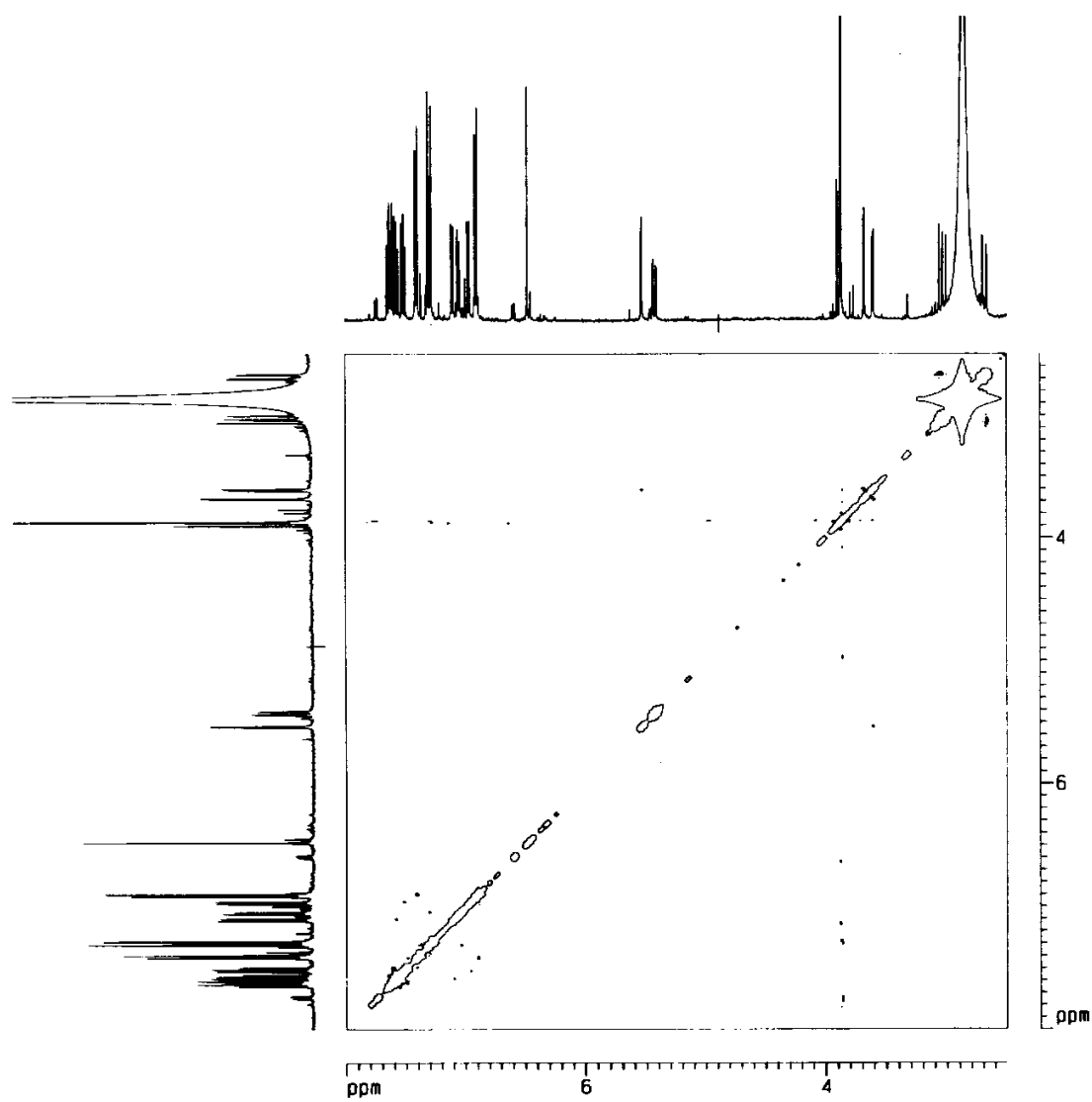


Figura 187 – Experimento NOESY de **DV17** [500 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

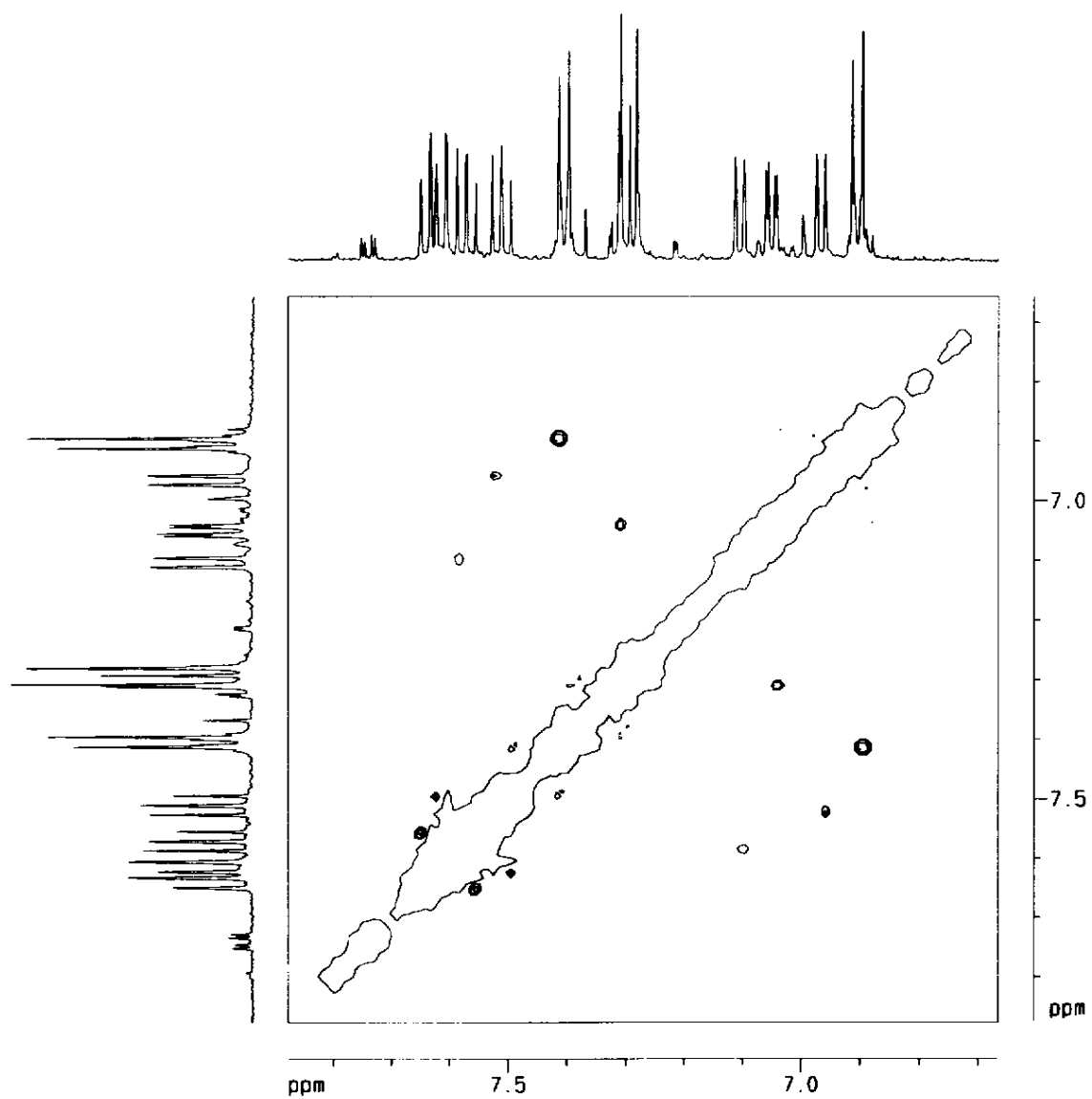


Figura 188 – Experimento NOESY de **DV17** (ampliação) [500 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]

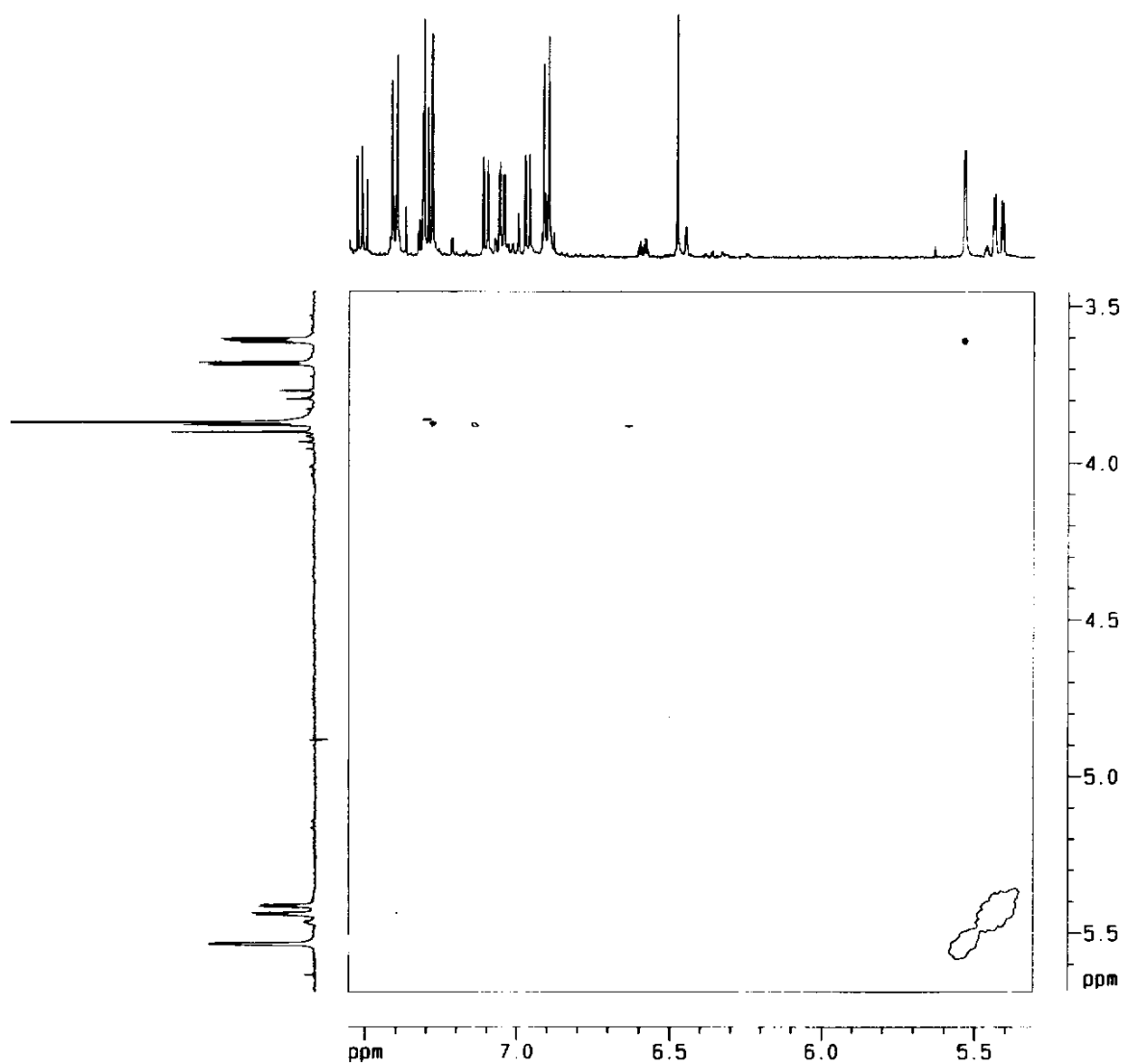
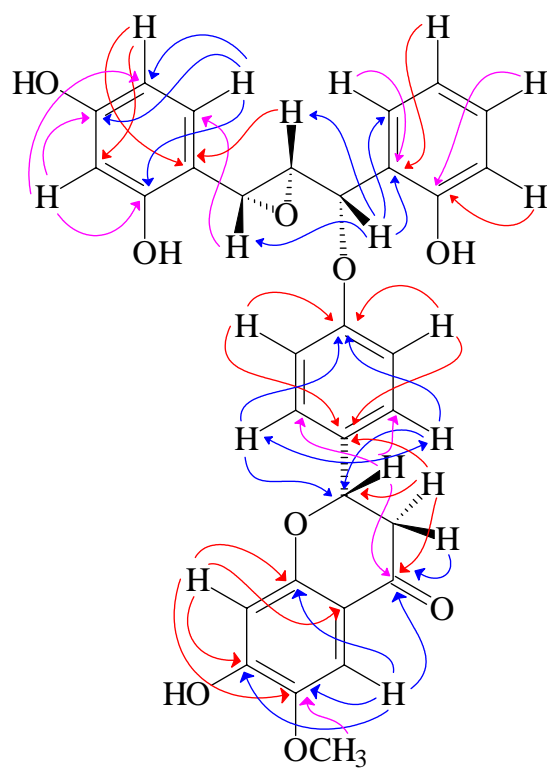
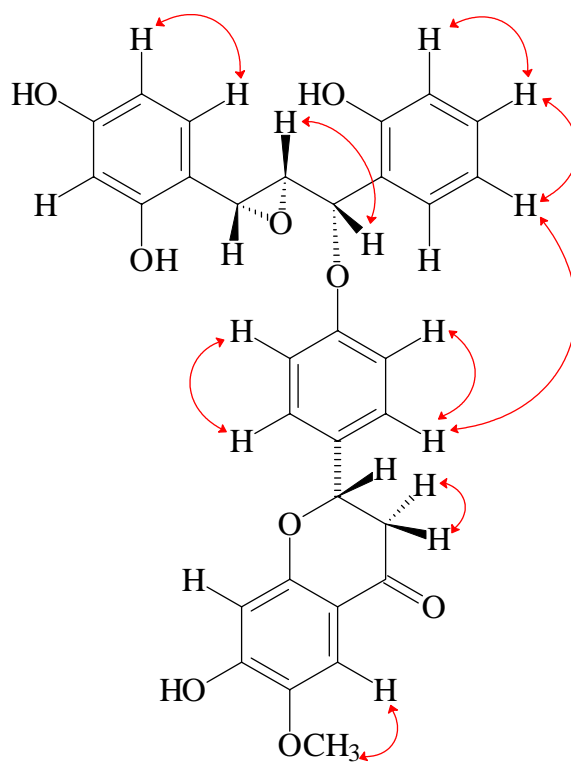


Figura 189 – Experimento NOESY de **DV17** (ampliação) [500 MHz, (CD₃)₂CO, δ (ppm)]



HMBC



NOESY

Figura 190 – Correlações observadas nos espectros bidimensionais de DV17

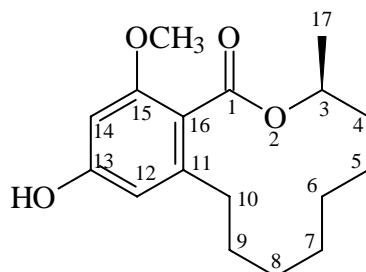
Tabela 44 – Dados de ^1H (500 MHz), RMN ^{13}C (75 MHz), HMQC e HMBC de **DV17** $[(\text{CD}_3)_2\text{CO}]$

Posição	$\delta\text{-H}$	$\delta\text{-C}^*$	HMBC
βu	5,53 <i>d</i> (2,1)	61,33	121,41; 133,48; 54,13; 51,07
αu	3,61 <i>dd</i> (2,1; 4,0)	54,13	123,65
$\beta' u$	3,68 <i>d</i> (4,0)	51,07	130,00
1' <i>u</i>	-	123,65	-
2' <i>u</i>	-	159,00	-
3' <i>u</i>	7,32 <i>d</i> (2,1)	119,00	117,21; 156,48; 159,00
4' <i>u</i>	-	156,48	-
5' <i>u</i>	7,05 <i>dd</i> (2,1; 7,5)	117,21	119,00; 123,65
6' <i>u</i>	7,30 <i>d</i> (7,5)	130,00	117,21; 156,48; 159,00
1 <i>u</i>	-	133,48	-
2 <i>u</i>	-	148,66	-
3 <i>u</i>	7,10 <i>d</i> (7,7)	110,16	148,66
4 <i>u</i>	7,57 <i>t</i> (8,0)	128,57	148,66
5 <i>u</i>	7,51 <i>t</i> (8,0)	128,49	133,48
6 <i>u</i>	7,61 <i>d</i> (8,5)	121,41	133,48
2 <i>l</i>	5,42 <i>dd</i> (3,0; 13,1)	80,58	128,25
3 <i>l</i> - <i>eq</i>	2,66 <i>dd</i> (3,0; 16,6)	44,54	131,35; 80,58, 190,43
3 <i>l</i> - <i>ax</i>	3,03 <i>dd</i> (13,1; 16,6)		
4 <i>l</i>	-	190,43	-
5 <i>l</i>	7,28 <i>s</i>	107,87	190,43; 158,92; 155,37; 144,25
6 <i>l</i>	-	144,25	-
7 <i>l</i>	-	155,37	-
8 <i>l</i>	6,48 <i>s</i>	104,26	144,25; 155,37; 158,92; 113,5
9 <i>l</i>	-	159,92	-
10 <i>l</i>	-	113,50	-
1' <i>l</i>	-	131,35	-
2' <i>l</i>	7,40 <i>d</i> (8,4)	128,25	158,46; 128,25; 80,58
3' <i>l</i>	6,90 <i>d</i> (8,4)	116,03	131,35; 158,46
4' <i>l</i>	-	158,46	-
5' <i>l</i>	6,90 <i>d</i> (8,4)	116,03	131,35; 158,46
6' <i>l</i>	7,40 <i>d</i> (8,4)	128,25	158,46; 128,25; 80,58
OCH ₃	3,87 <i>s</i>	56,48	144,25

*Multiplicidades obtidas por DEPT.

6.10. Lactona

6.10.1. Identificação da lasiodiplodina

Lasiodiplodina (**DV12**)

Os espectros de RMN de ^{13}C (Figura 192, p. 248) e ^1H (Figura 191, p. 247) de **DV12** auxiliado por experimentos DEPT 135° (Figuras 193 e 194, p. 248) e 90° (Figura 195, p. 249) apresentaram sinais para 17 carbonos e 24 hidrogênios. Estes dados em conjunto com seu íon molecular em m/z 292 observado no EM (Figura 196, p. 249) permitiram propor a fórmula molecular como sendo $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_4$.

Análise do espectro de RMN ^1H (Figura 191, p. 247) revelou a presença um simpleto em δ 6,21, integrando para 2H, uma metoxila ligada a $\text{C}-sp^2$ (δ 3,67), uma hidroxila fenólica em δ 6,93 *sl*, uma metila em δ 1,32 *d* ($J = 6,4$ Hz) acoplado com um hidrogênio oximetínico em δ 5,28 *m*. Além destes sinais o espectro apresentou outros referentes a hidrogênios metilênicos (Tabela 45, p. 252).

Análise do espectro de RMN ^{13}C (Figura 192, p. 248; Tabela 45, p. 252) auxiliado por experimentos DEPT (Figuras 193, 194 e 195, p. 248 e 249) confirmou a presença de anel aromático tetrasubstituído. Os valores de deslocamento indicaram tratar-se de um anel 1,2,3,5-tetrasubstituído. Além disto, o espectros de RMN ^{13}C mostra a presença de $\text{C}=\text{O}$ de éster em δ 169,38, do carbono metílico em δ 19,52, da metoxila em δ 55,79, do carbono metínico em δ 72,52, e de 7 carbonos metilênicos (Tabela 45, p. 252).

O espectro no UV apresentou duas bandas em 244 e 283 nm, que não sofreram deslocamento batocrômico na presença de AlCl_3 , o que exclui a possibilidade da hidroxila fenólica estar quelada com a carbonila (Figura 197, p. 250). O uso de CH_3ONa provocou deslocamento batocrômico da banda em 244 nm para 275 nm, acompanhado de efeito hiperacrômico, o que confirma a presença da hidroxila fenólica (Figura 197, p. 250). O uso de

CH₃COONa não provocou deslocamento no espectro, o que mostra a baixa acidez da hidroxila fenólica (Figura 197, p. 250), sugerindo uma fraca estabilização por ressonância do cátion formado.

O EMIE mostrou como pico base fragmento derivado de rearranjo de McLafferty em m/z 182, além de perda de CO₂ deste fragmento em m/z 138, o que confirma que a substância possui um grupo éster. Além destes, apresentou fragmento característico para ácidos carboxílicos aromáticos e seus derivados em m/z 164 (Figuras 196 e 199, p. 249 e 251). O espectro de IV (Figura 198, p.251) apresentou ν C=O em 1692 cm⁻¹ de éster, ν OH de fenol em 3394 cm⁻¹, além de ν C-O aromático em 1166 cm⁻¹ e ν C-O alifático em 1096 cm⁻¹.

Os dados apresentados sugeriram que a substância **DV12** trata-se de uma lactona aromática. Comparação com dados da literatura (MATSUURA, 1998; YANG, 2000) permitiram identificar **DV12** como a Lasiodiplodina, que foi isolada pela primeira vez do fungo *Lasiodiplodia theobromae* (ALDRIDGE, 1971; MATSUURA, 1998), e de fonte vegetal de *Annona dioica* (dos SANTOS, 2003). A rotação da luz plano polarizada está relacionada à configuração absoluta, de forma que os compostos levorrotatórios apresentam configuração *S*, enquanto os dextrorrotatórios apresentam configuração *R*. (MATSUURA, 1998). A configuração absoluta foi então determinada pelo sinal negativo do $[\alpha]_D^{25} = -66,0$, como sendo 3*S*, sendo portanto a (3*S*)-lasiodiplodina.

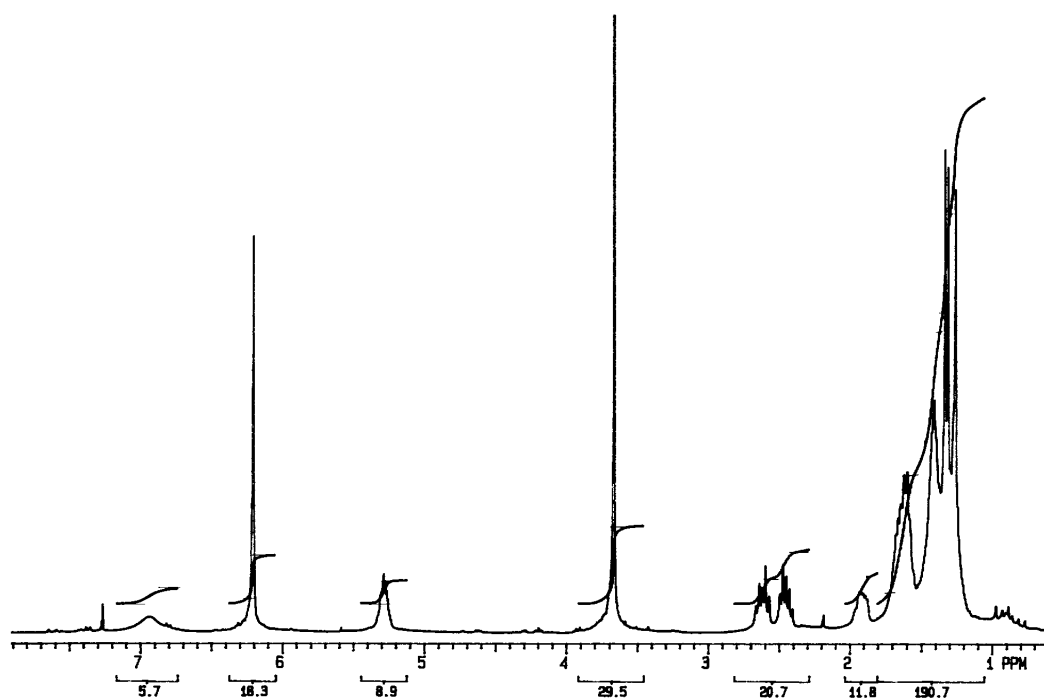
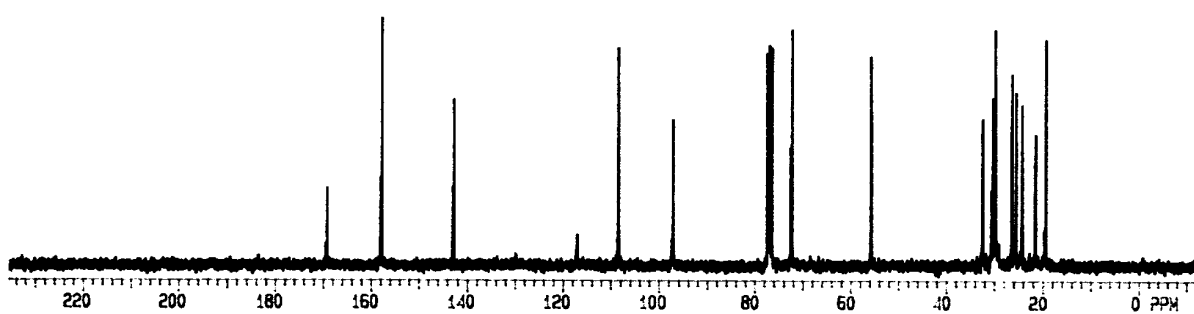
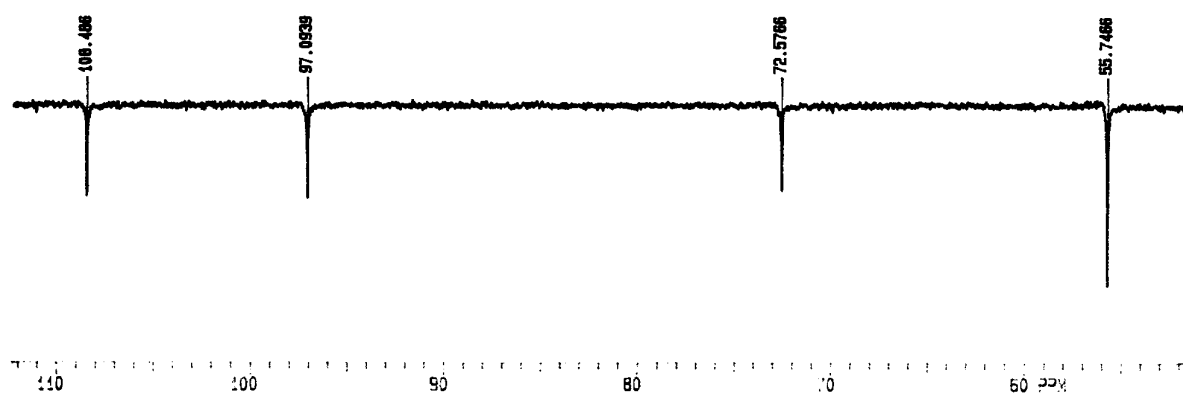
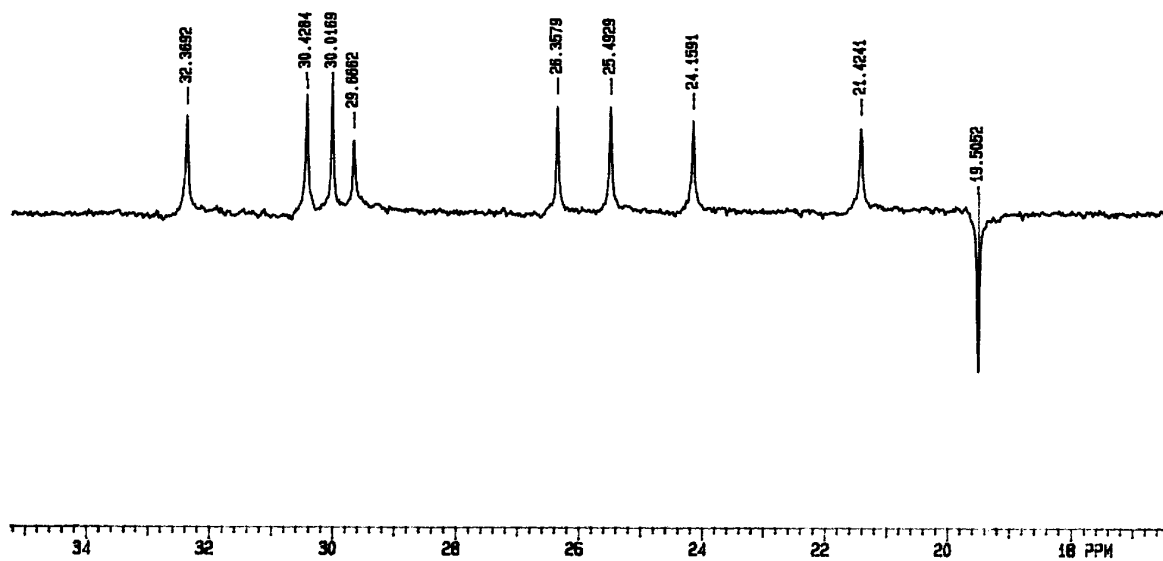


Figura 191 – Espectro de RMN ¹H de **DV12** (integração) [300 MHz, CDCl₃, δ (ppm)]

Figura 192 – Espectro de RMN ^{13}C de DV12 [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]Figura 193 – Experimento DEPT 135° de DV12 (ampliação) [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]Figura 194 – Experimento DEPT 135° de DV12 (ampliação) [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]

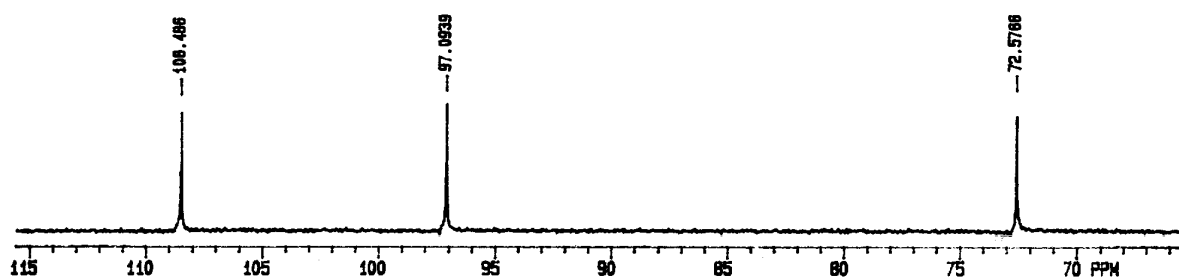


Figura 195 – Experimento DEPT 90° de DV12 (ampliação) [75 MHz, CDCl₃, δ (ppm)]

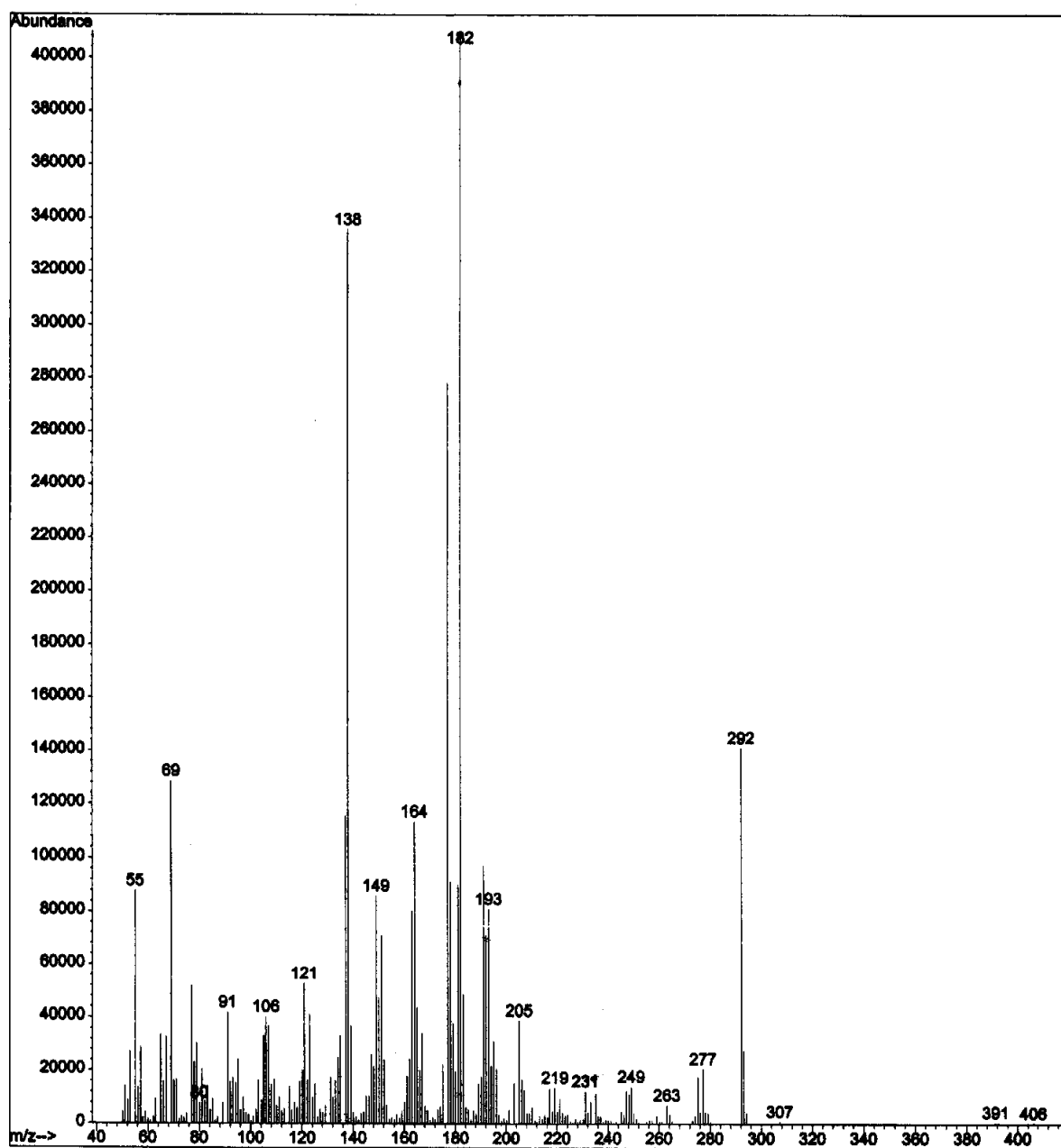


Figura 196 – EMIE 70 eV de DV12

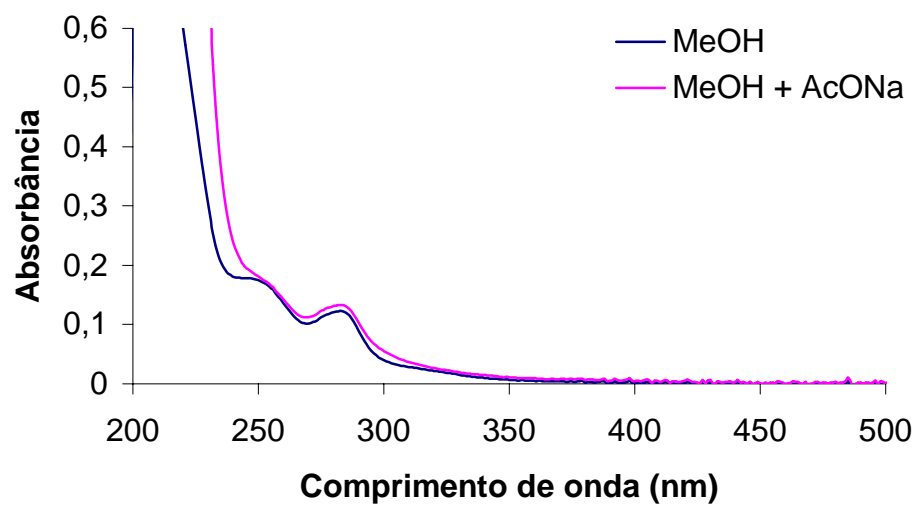
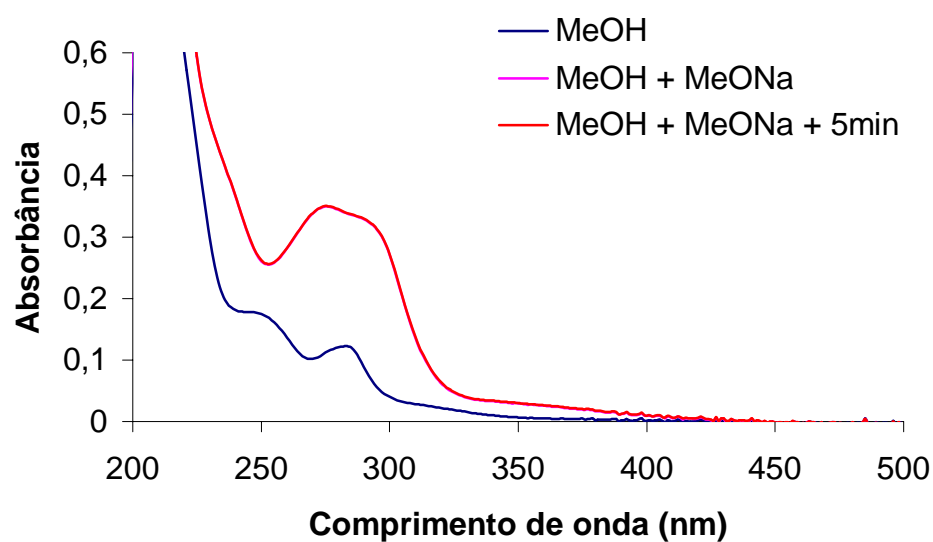
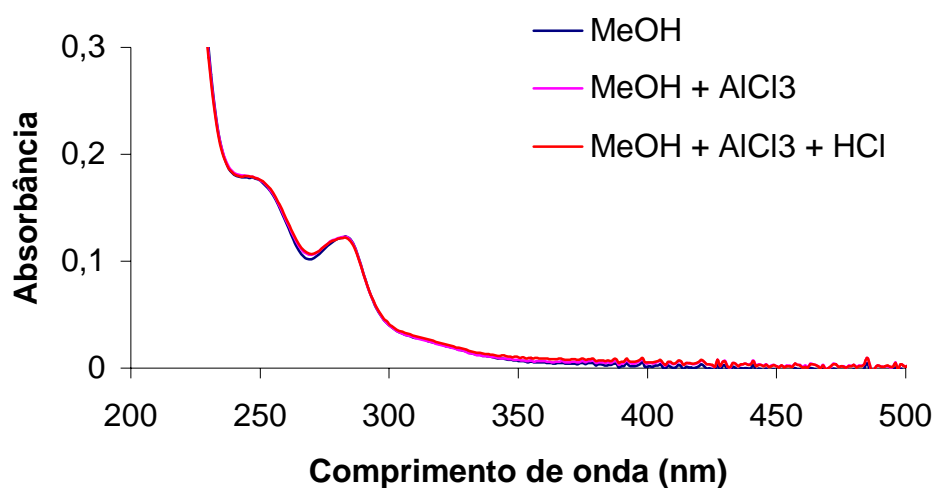


Figura 197 – Espectro no UV de **DV12** em CH₃OH com: a) AlCl₃ e AlCl₃ + HCl, b) MeONa, c) AcONa

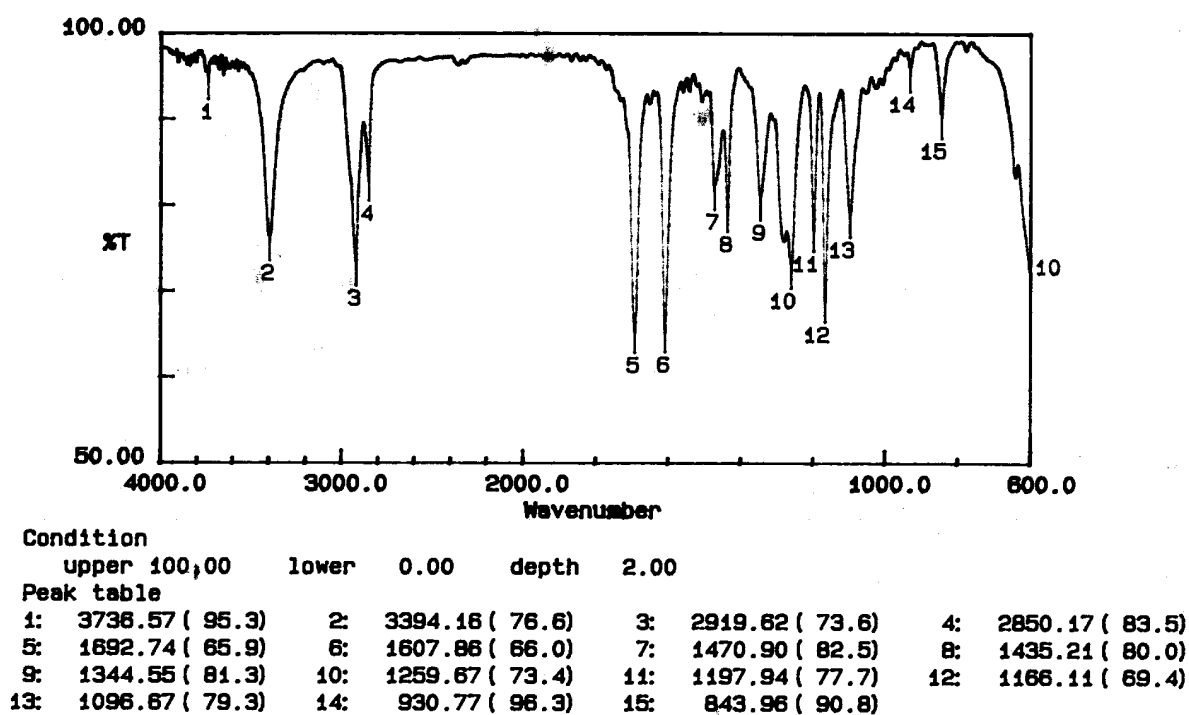


Figura 198 – Espectro IV de DV12 em KBr

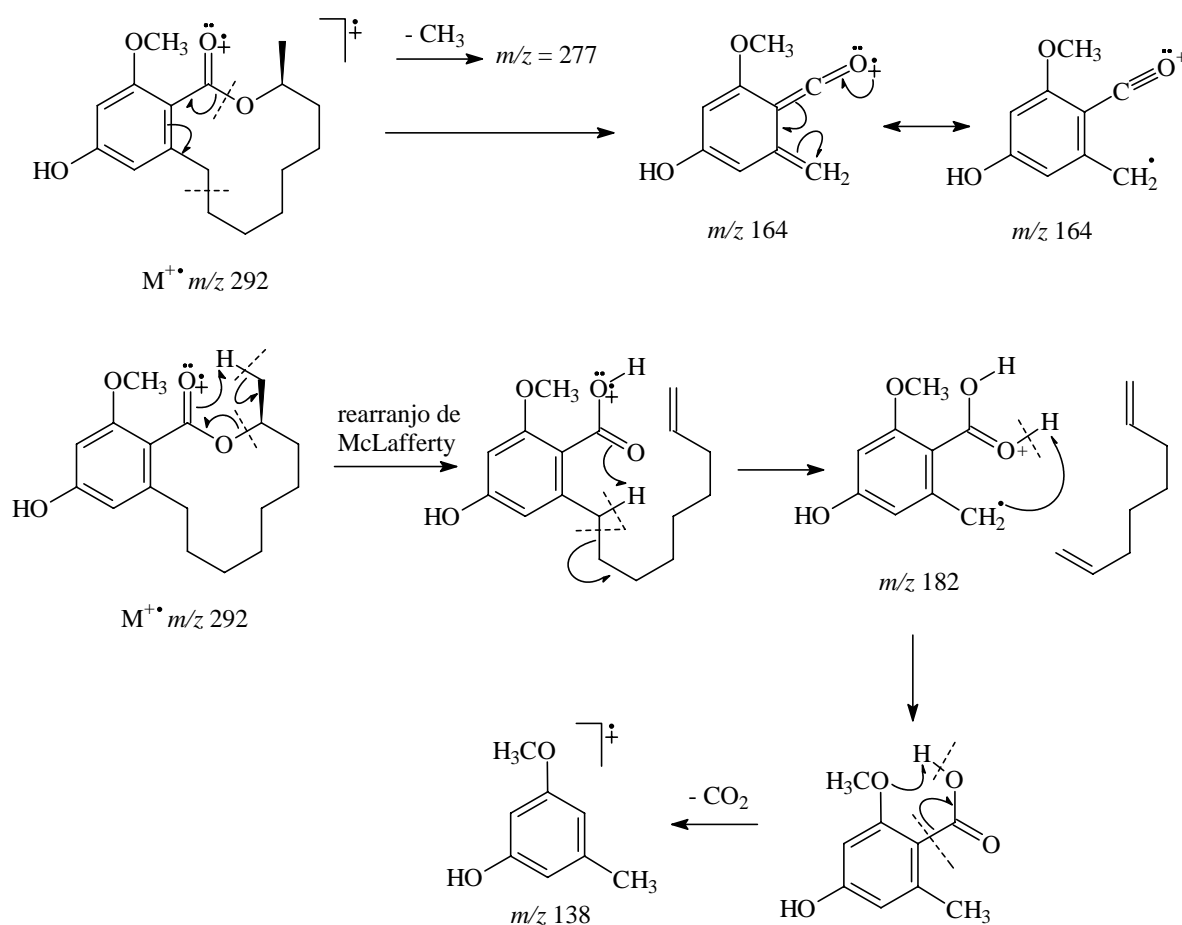


Figura 199 – Principais fragmentações de massa observadas no EMIE de DV12.

Tabela 45 – Dados de RMN ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) de **DV12** [CDCl_3 , δ (ppm)]

Posição	$\delta\text{-H}$	$\delta\text{-C}^*$
1	-	169,38
3	5,28 <i>m</i>	72,52
4 _{ax}	2,62 <i>m</i>	32,46
4 _{eq}	2,46 <i>m</i>	
5	1,63 <i>m</i>	21,53
6	1,63 <i>m</i>	24,24
7	1,63 <i>m</i>	25,53
8	1,41 <i>m</i>	26,39
9	1,41 <i>m</i>	30,00
10 _{ax}	1,41 <i>m</i>	30,46
10 _{eq}	1,90 <i>m</i>	
11	-	142,94
12	6,21 <i>s</i>	108,51
13	-	157,98
14	6,21 <i>s</i>	97,19
15	-	157,98
16	-	117,2
17	1,32 <i>d</i> ($J = 6,36$ Hz)	19,52
OCH_3	3,67 <i>s</i>	55,79
OH	6,93 <i>sl</i>	-

*Multiplicidades obtidas por DEPT.

6.11. Resultados dos testes de atividade

6.11.1. Atividade antioxidante

Os testes da atividade antioxidante pelos métodos de inibição da autooxidação do β -caroteno e do sequestro do radical livre estável DPPH apresentaram resultados semelhantes, respeitando-se as diferenças no mecanismo avaliado. No primeiro teste é mais importante o potencial de oxidação/redução da substância testada, isto é, quanto mais facilmente ela se oxidar, mais ela irá competir com o β -caroteno na reação com o oxigênio simpleto, ou seja, maior será a sua proteção ao β -caroteno. No segundo teste é mais importante a capacidade de doar hidrogênio radicalar (H^\bullet) ao radical livre DPPH, o que é favorecido pelo número de hidroxilas fenólicas na substância e a estabilidade do radical formado. Esta estabilização é tanto maior quanto maior for a deslocalização do radical pela estrutura. Observou-se que em ambos os testes as substâncias mais ativas foram as duas proantocianidinas **DV23** e **DV24** e, a *epicatequina* **DV22**, que apresentam o maior número de hidroxilas fenólicas e sistemas catecois dentre as estruturas avaliadas. Este fato se justifica, pois na ausência de conjugação entre os anéis aromáticos as estruturas com maior número de hidroxilas são as mais ativas. A inversão de atividade entre **DV23** e **DV24** no sequestro do DPPH pode ser atribuída à hidroxila em C-5'*u* que ajuda a estabilizar o radical formado em C-4'*u* após a doação de H^\bullet . Todas as três substâncias apresentaram ótima atividade, comparável aos antioxidantes comerciais BHT, galato de n-propila e α -tocoferol (**DV1**). O número de hidroxilas fenólicas em sistema catecol em **DV19** e **DV20** é também responsável por sua atividade intermediária, sendo que a conjugação do anel B com a insaturação em **DV20** justifica sua maior atividade no sequestro do DPPH (Figuras 200 e 201, p. 254).

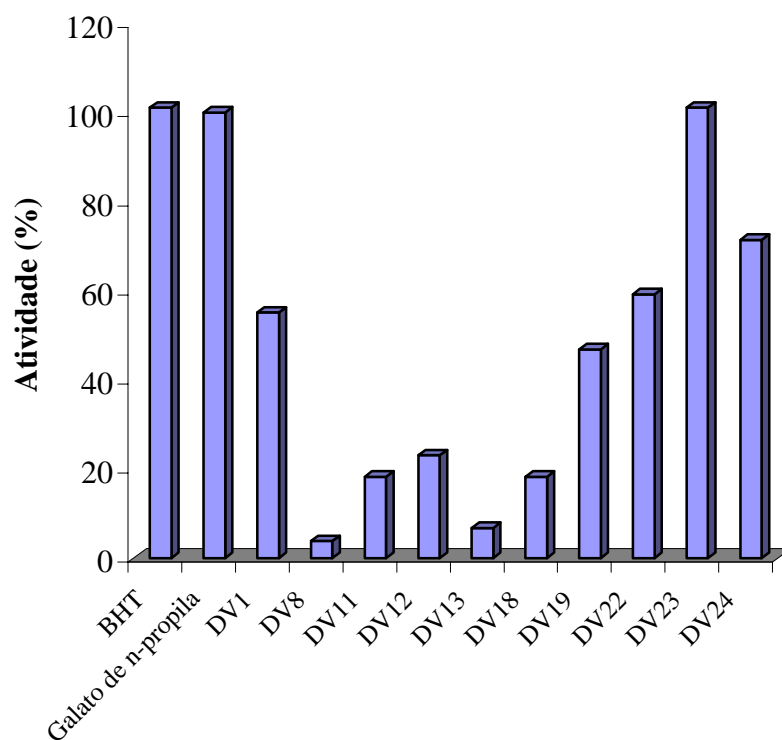


Figura 200 – Atividade antioxidante pelo método da inibição da autooxidação do β -caroteno

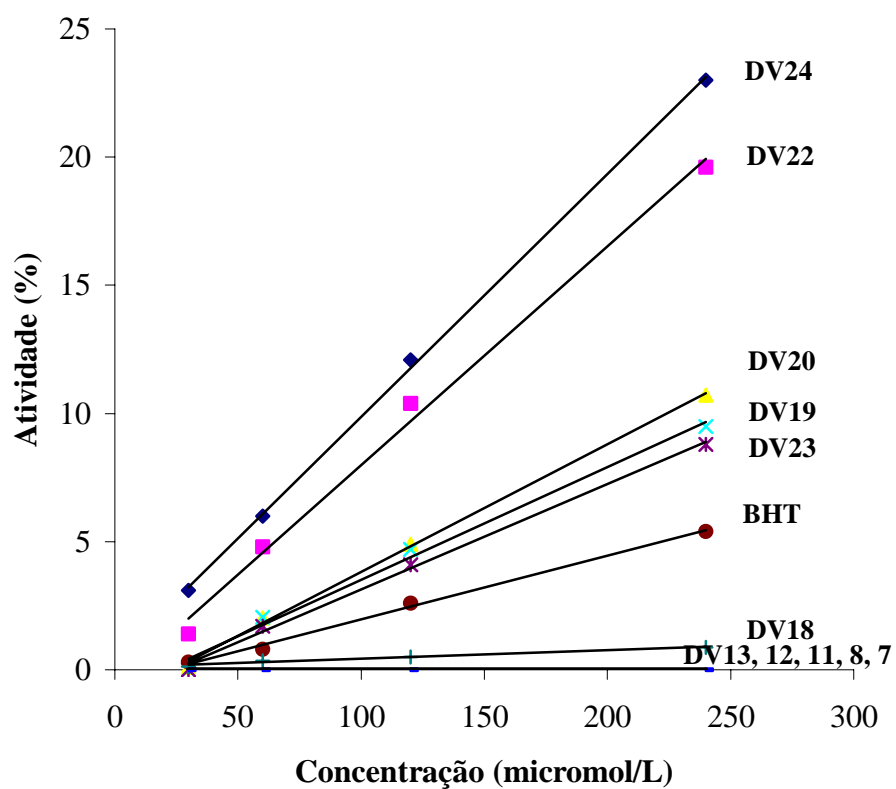


Figura 201 – Atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical DPPH

6.11.2. Atividade Imunomoduladora

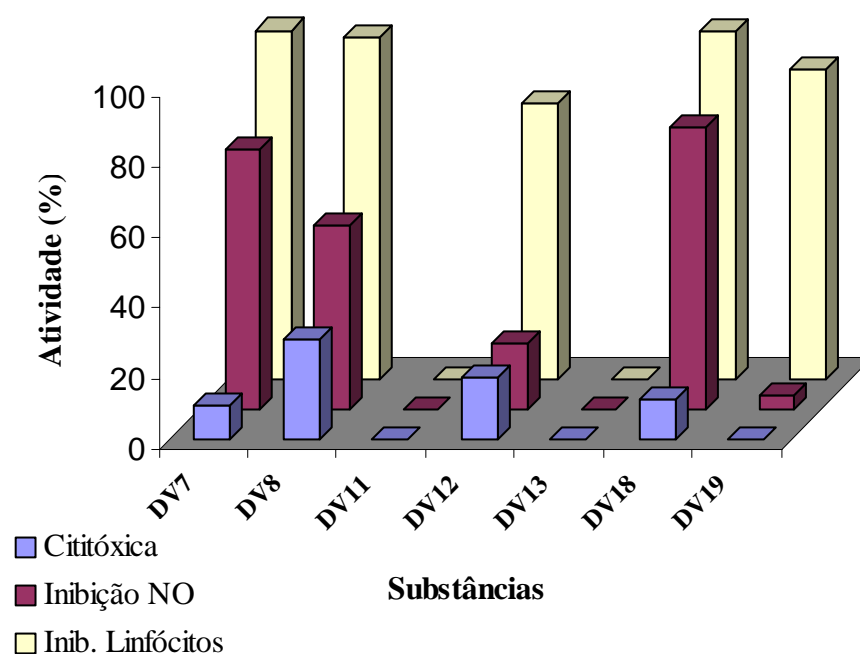
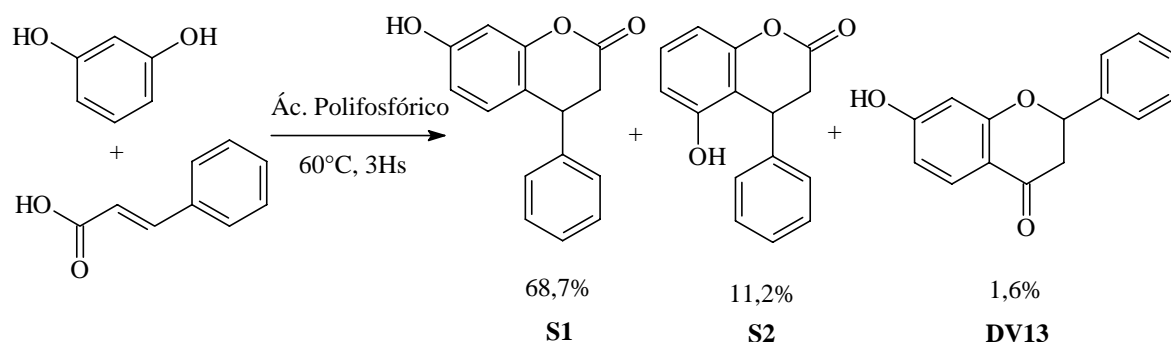


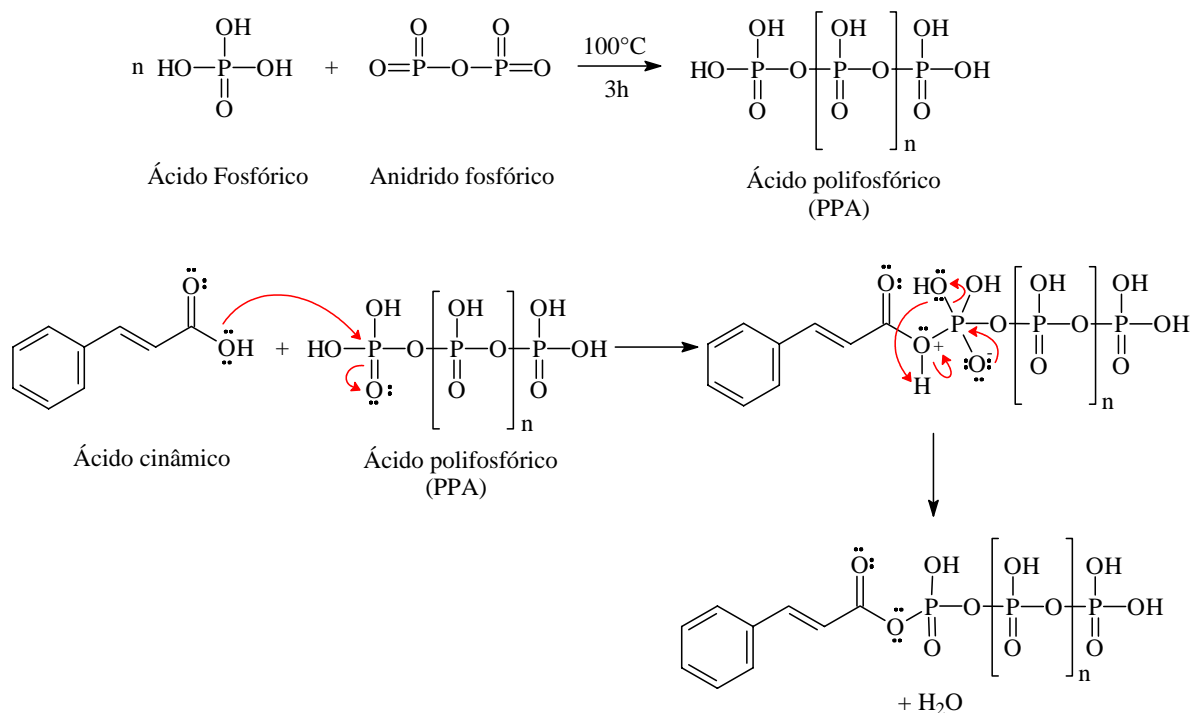
Figura 202 – Atividades citotóxica, inibição da síntese de NO e inibição da proliferação de linfócitos.

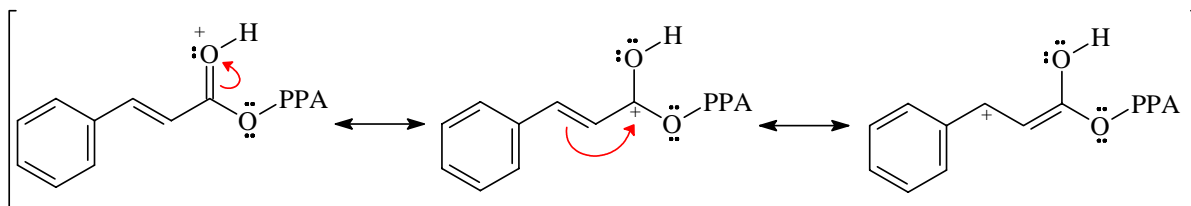
Dentre as substâncias que tiveram sua atividade imunomoduladora avaliada, as mais promissoras foram a 7-hidroxi-flavanona (**DV7**) e a 4',7-diidroxi-flavanona (**DV18**), pois apresentaram maior inibição da síntese de NO (73,7% e 80,3%) e da proliferação de linfócitos (99,1% e 98,6%), associadas à baixa citotoxicidade (9,5% e 11,5%). As substâncias 7-hidroxi-6-metoxi-flavanonol (**DV8**) e lasiodiplodina (**DV12**) apresentaram razoável inibição de NO (52,1% e 18,7%) e boa inibição da proliferação de linfócitos (96,96% e 78,2%). A substância 3',4',7-triidroxi-flavanona (**DV19**) foi seletiva para a atividade de inibição a proliferação de linfócitos (88,1%), apresentando baixa inibição da síntese de NO (3,8%). As demais substâncias avaliadas foram todas inativas (Figura 202, p. 255).

6.12. Síntese de Flavonóides

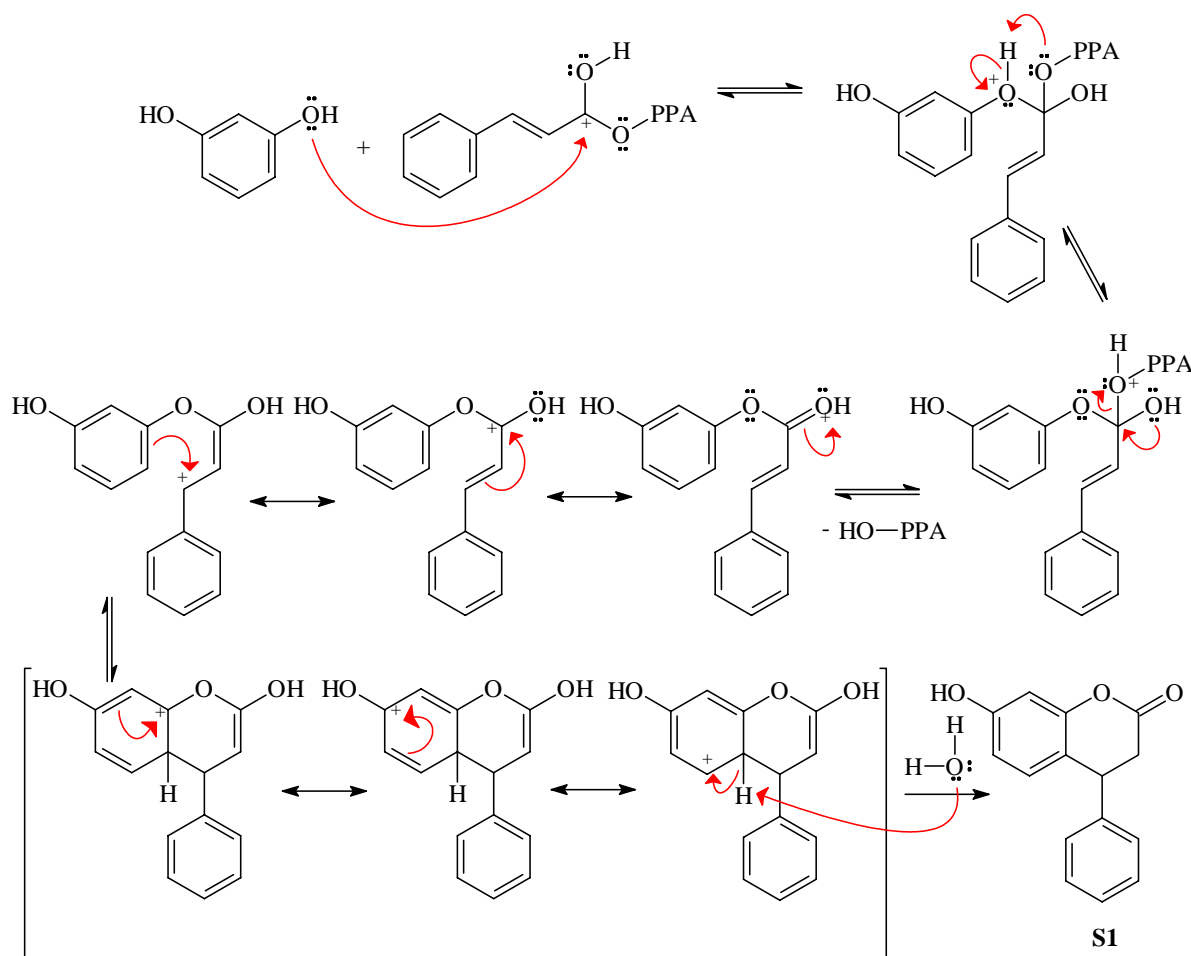


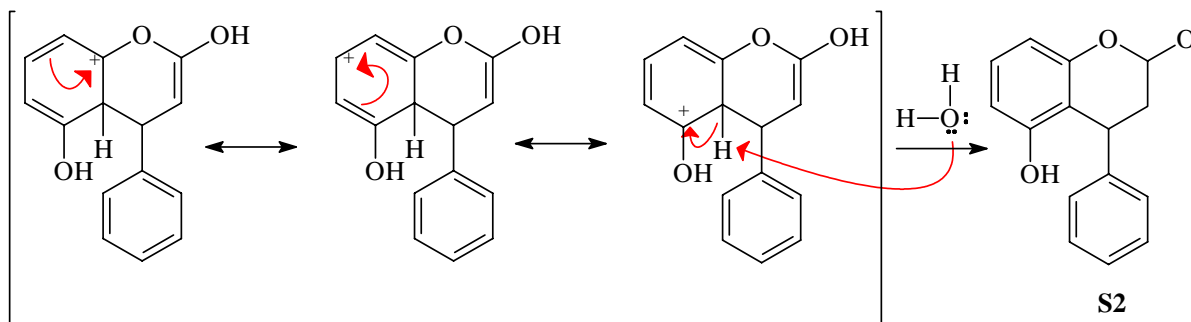
O produto desejado 7-hidroxi flavanona (**DV13**), que apresentou maior atividade, foi obtido em menor quantidade 1,6%. Os produtos principais foram os neoflavonóides da classe das 3,4-diidro-4-arilcumarinas, 7-hidroxi-3,4-diidro-4-fenilcumarina (**S1**) e 5-hidroxi-3,4-diidro-4-fenilcumarina (**S2**) (ver p. 77 e 78). A etapa inicial da síntese foi a condensação do anidrido fosfórico e ácido fosfórico para produzir o ácido polifosfórico. Em seguida ocorre a condensação do ácido cinâmico com o ácido polifosfórico e sua posterior protonação na qual observam-se três estruturas de ressonância principais.



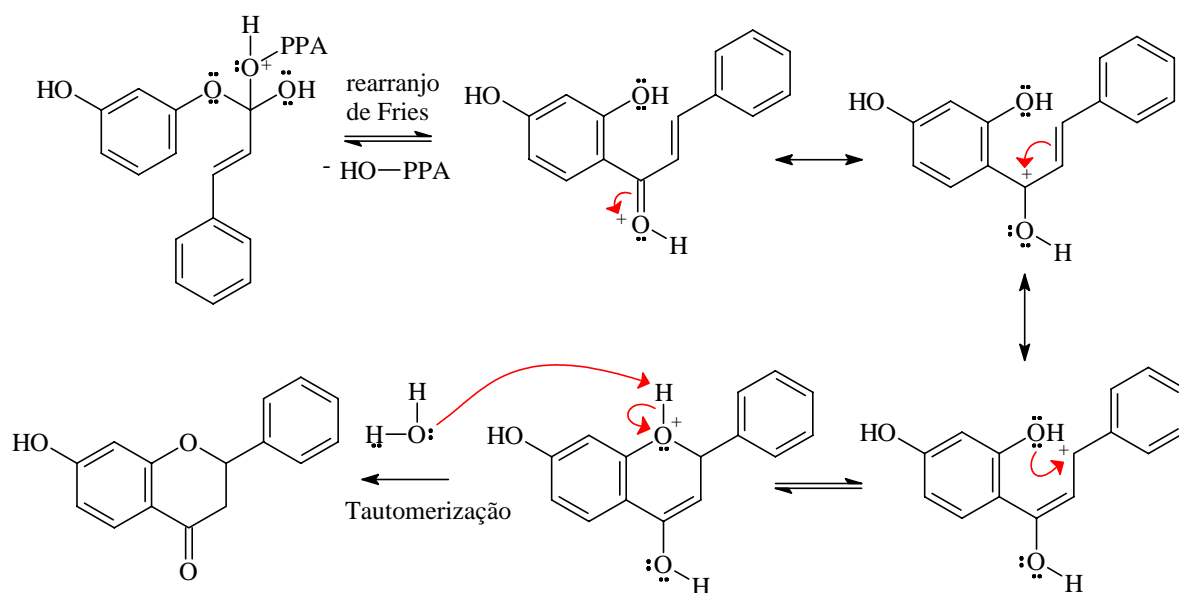


Em seguida ocorre a esterificação com o resorcinol, pois a acilação direta do anel aromático é desfavorecida para fenóis e aminas que sofrem O-acilação (esterificação) ou N-acilação (formação de amida) respectivamente. O processo seguinte ainda é discutido, mas segundo TALAPATRA (1986) o resorcinol esterificado pode levar ao neoflavonóide, ou a flavanona, ou mesmo a produtos mais complexos a depender das condições da reação. Abaixo está representada então proposta mecanística para os produtos obtidos. Há dois caminhos diferentes que podem ser seguidos a partir da esterificação. O primeiro deles leva à perda do ácido polifosfórico seguida de ciclização e tautomerização, que leva preferencialmente a **S1**, e a **S2** em menor quantidade devido ao impedimento estérico que dificulta a ciclização entre os dois oxigênios.





A segunda rota pode ser justificada pelo rearranjo de Fries antes da ciclização e da tautomerização, formando **DV11**. As condições utilizadas levaram preferencialmente a **S1** (68,7%) e **S2** (11,2%), apesar do relatado por ADITYACHAUDHURY (1971) e TALAPATRA (1986).



As substâncias sintetizadas foram identificadas por análise dos espectros de RMN ^1H (Figuras 203, 204, 205 e 210, p. 259, 260 e 262), RMN ^{13}C (Figuras 206, 207, 208, 211, 212 e 213, p. 260, 261, 263 e 264) e experimentos de DEPT 135° (Figuras 209 e 214, p. 262 e 264) e comparação com dados de literatura (DONNELLY, 1988 e 1993). Este é o primeiro relato da síntese de **S2**.

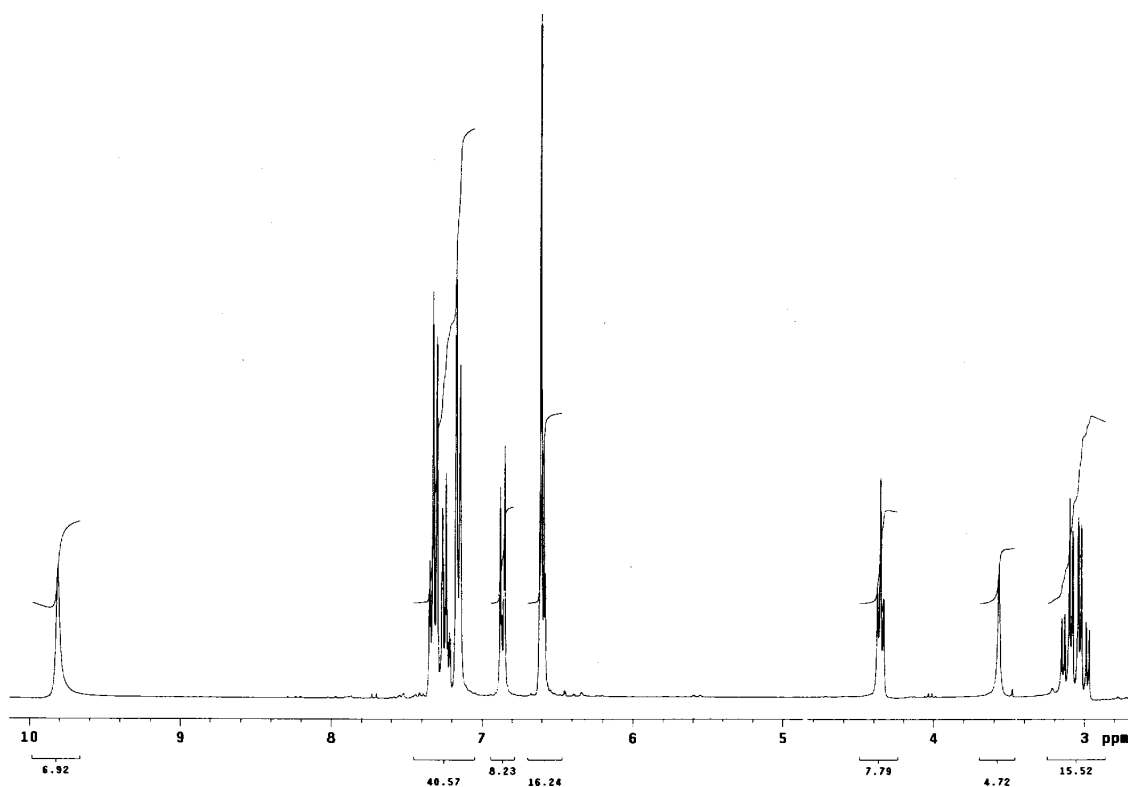


Figura 203 – Espectro de RMN ^1H de S1 [300 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]

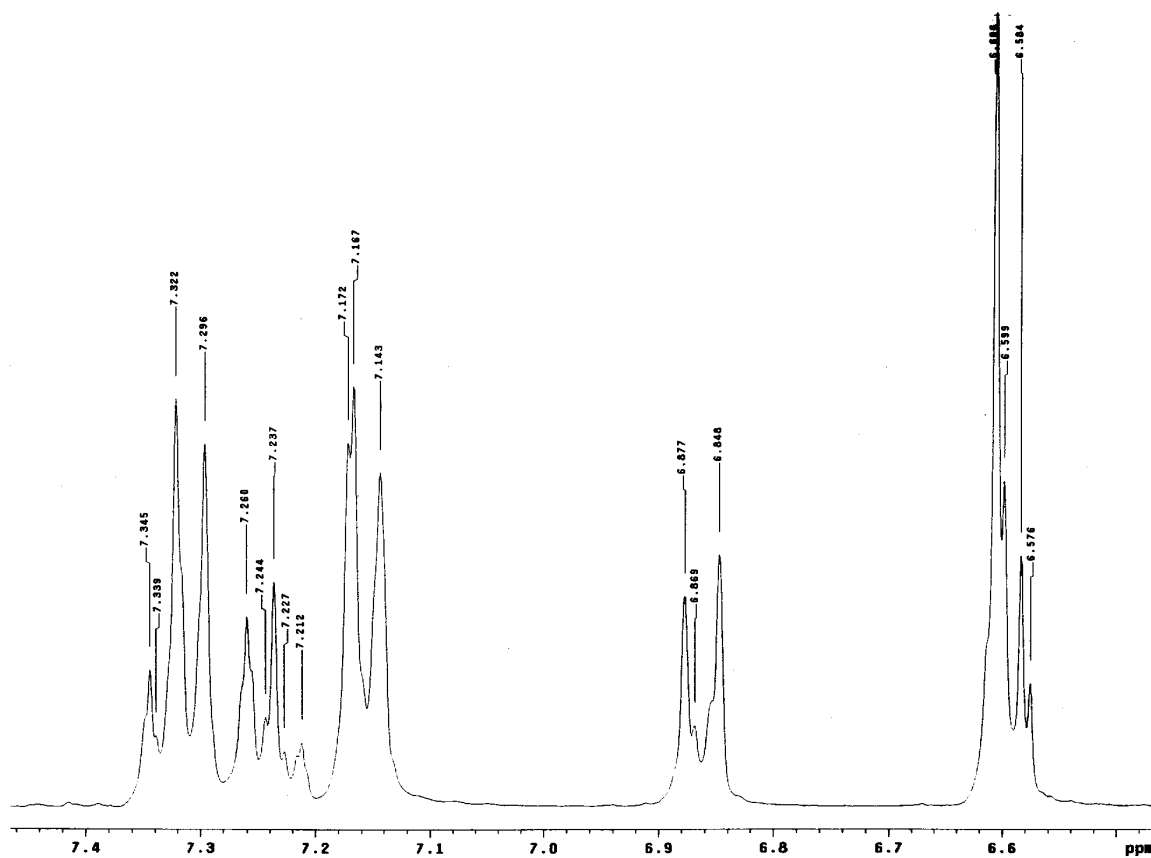


Figura 204 – Espectro de RMN ^1H de S1 (ampliação) [300 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]

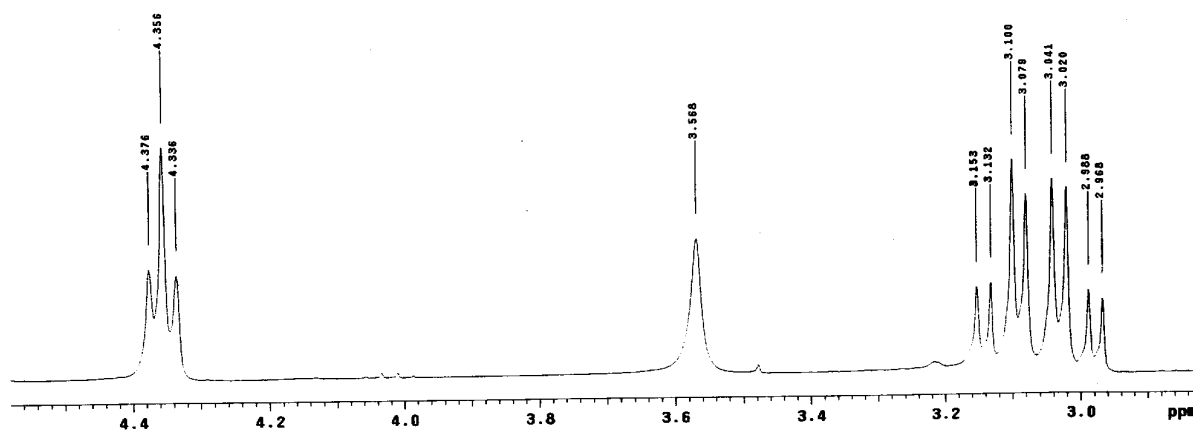


Figura 205 – Espectro de RMN ^1H de S1 (ampliação) [300 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]

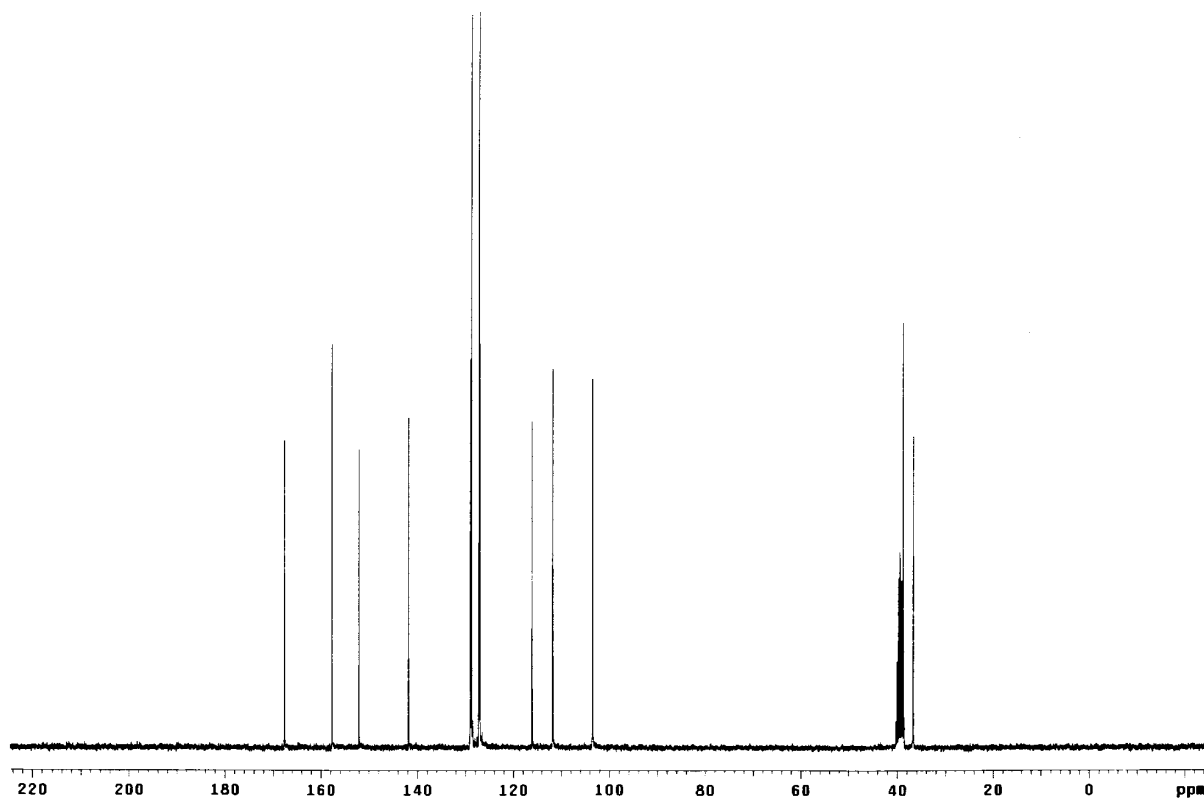


Figura 206 – Espectro de RMN ^{13}C de S1 [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]

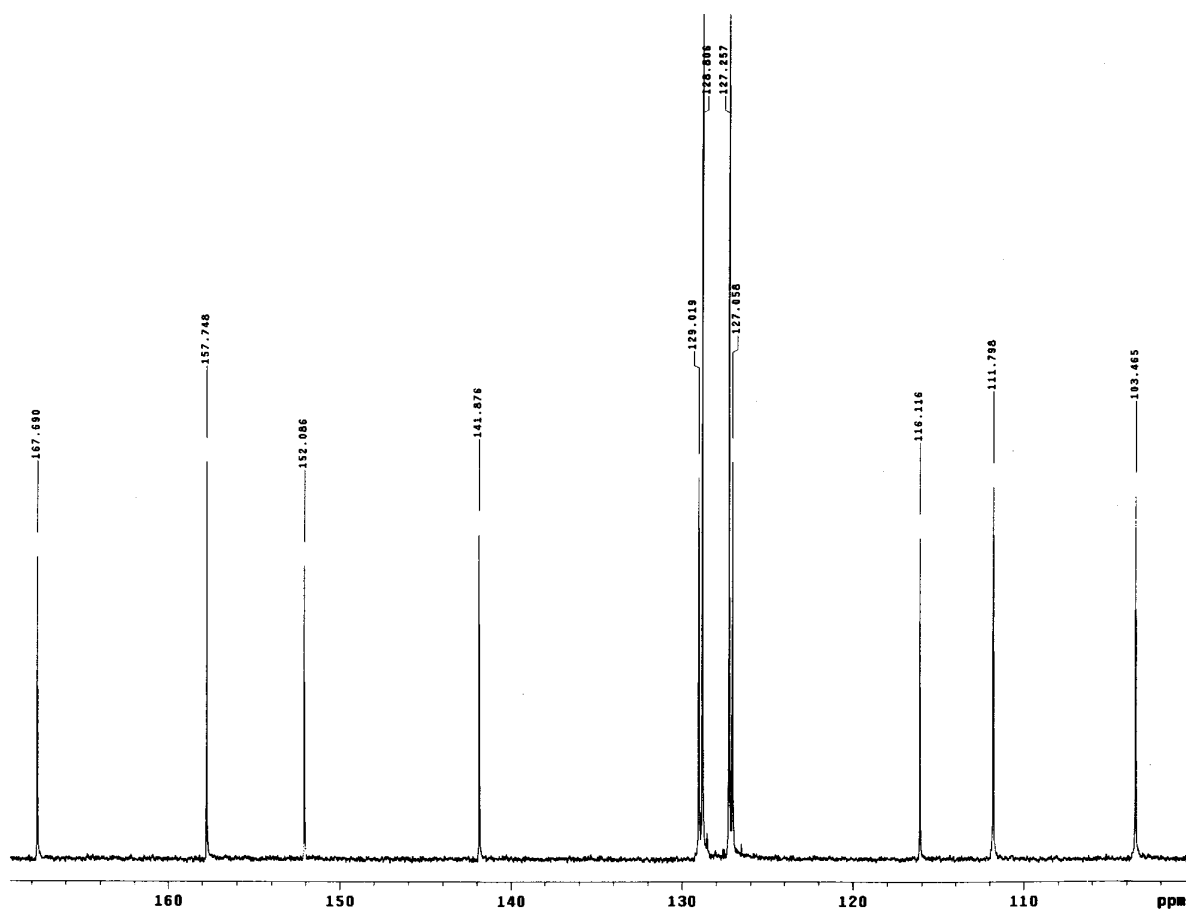


Figura 207 – Espectro de RMN ^{13}C de S1 (ampliação) [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]

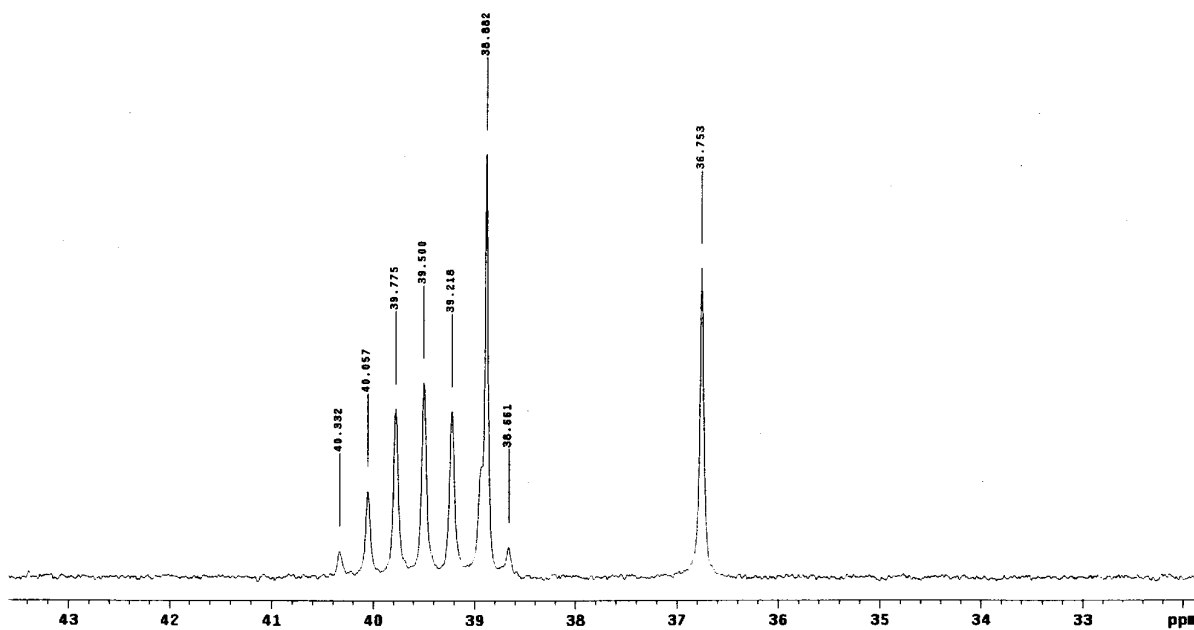


Figura 208 – Espectro de RMN ^{13}C de S1 (ampliação) [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]

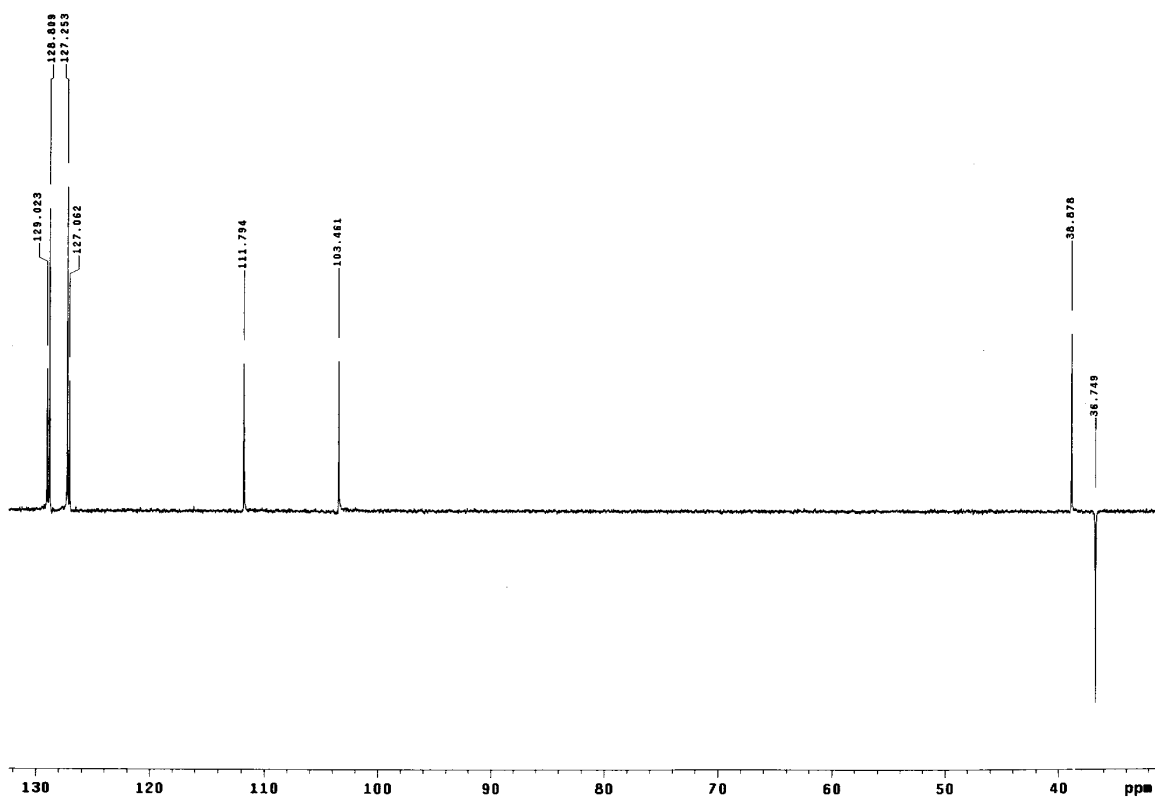


Figura 209 – Experimento DEPT 135° de **S1** (ampliação) [75 MHz, CDCl₃, δ (ppm)]

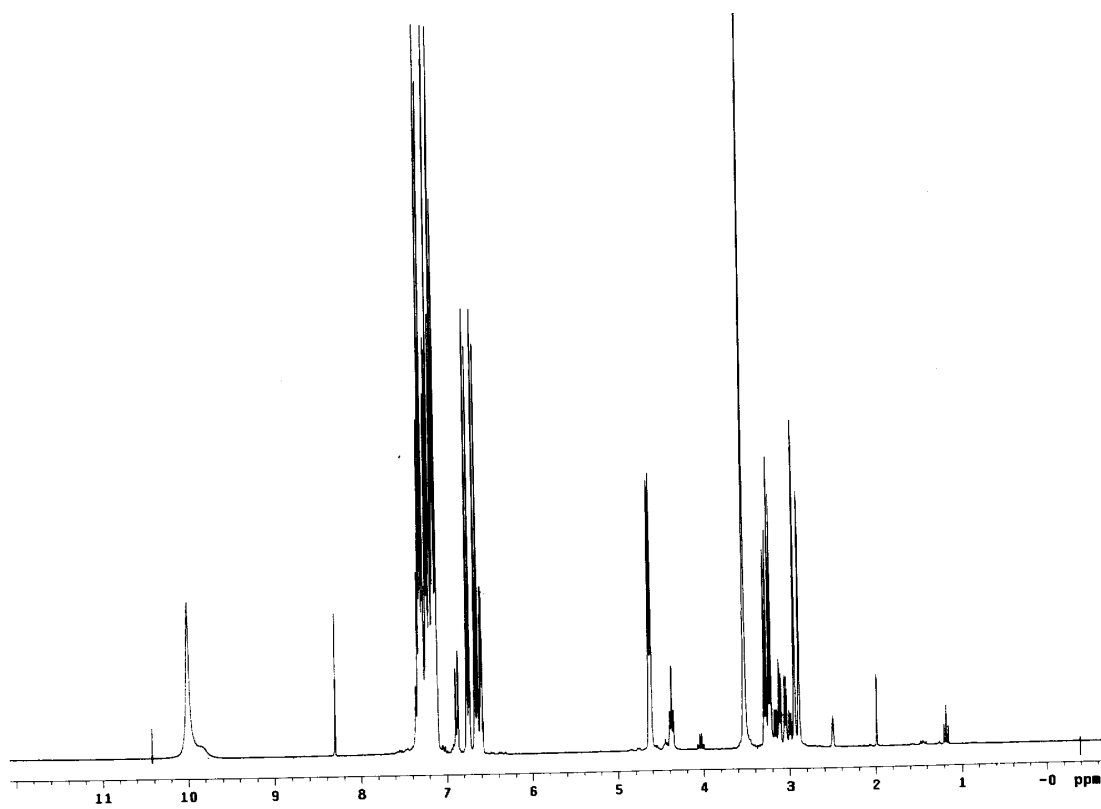


Figura 210 – Espectro de RMN ¹H da mistura **S2** e **S1** [300 MHz, CDCl₃, δ (ppm)]

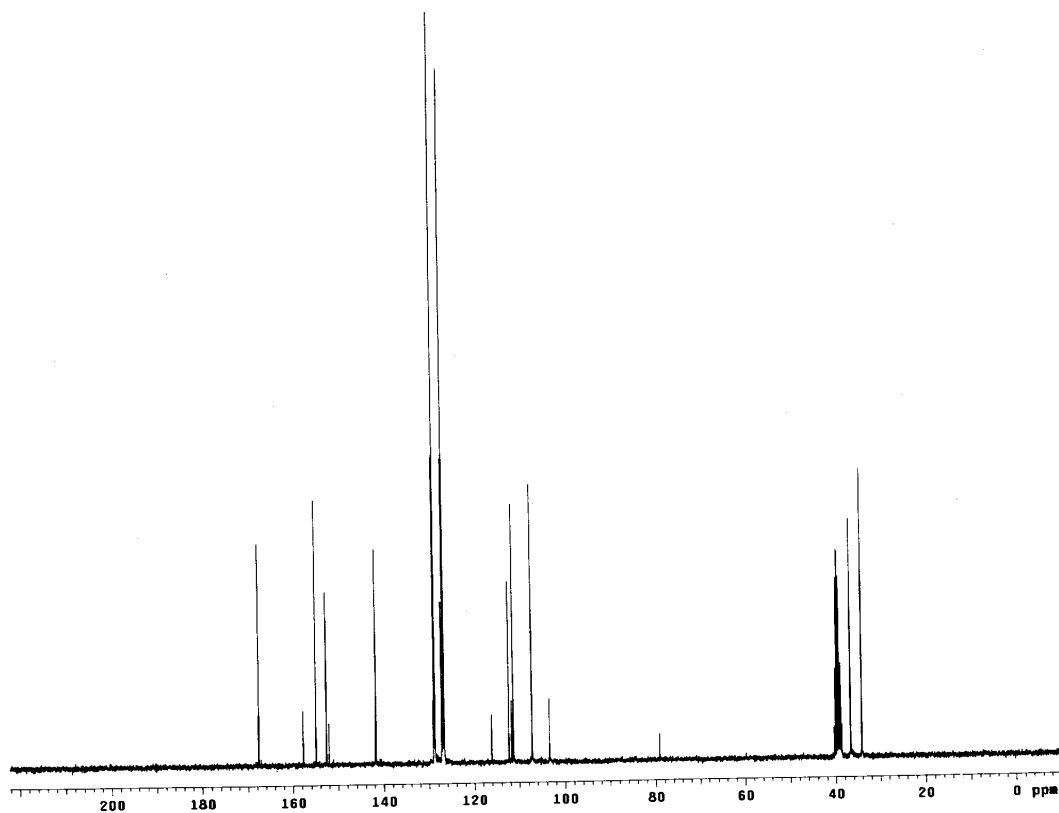


Figura 211 – Espectro de RMN ^{13}C da mistura S2 e S1 [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]

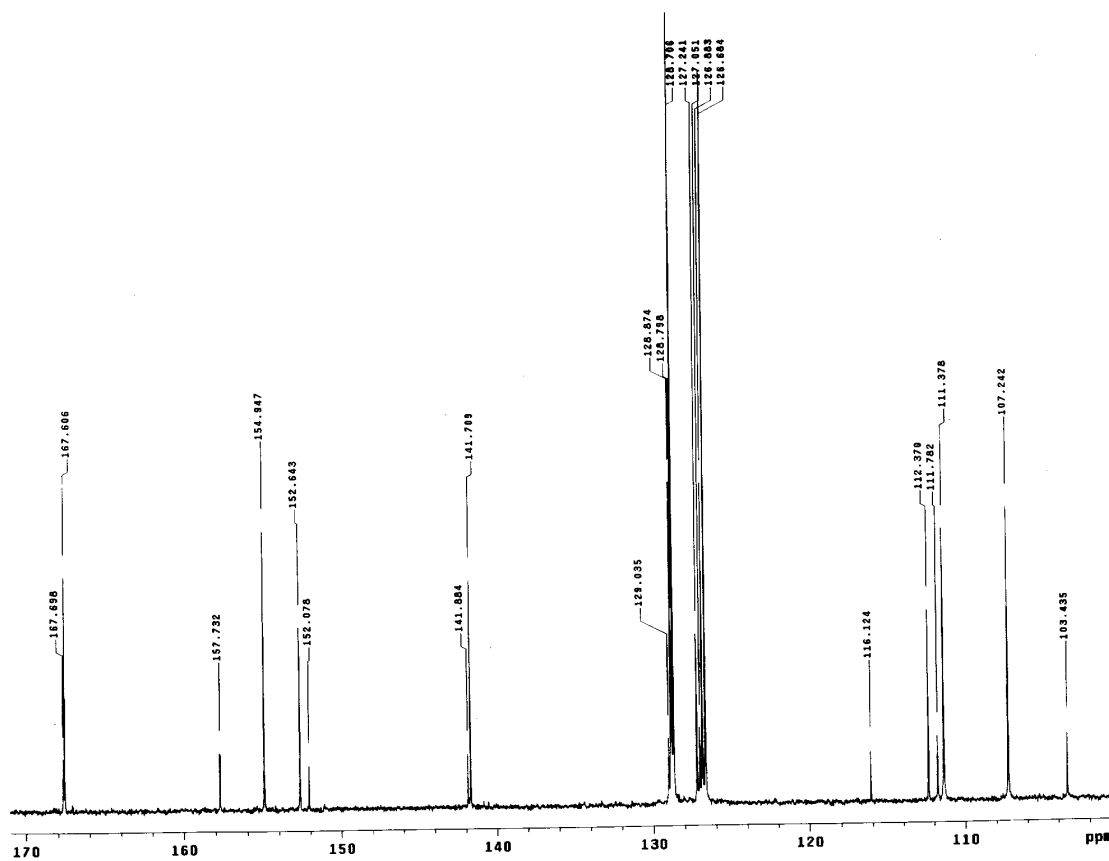


Figura 212 – Espectro de RMN ^{13}C da mistura S2 e S1 (ampliação) [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]

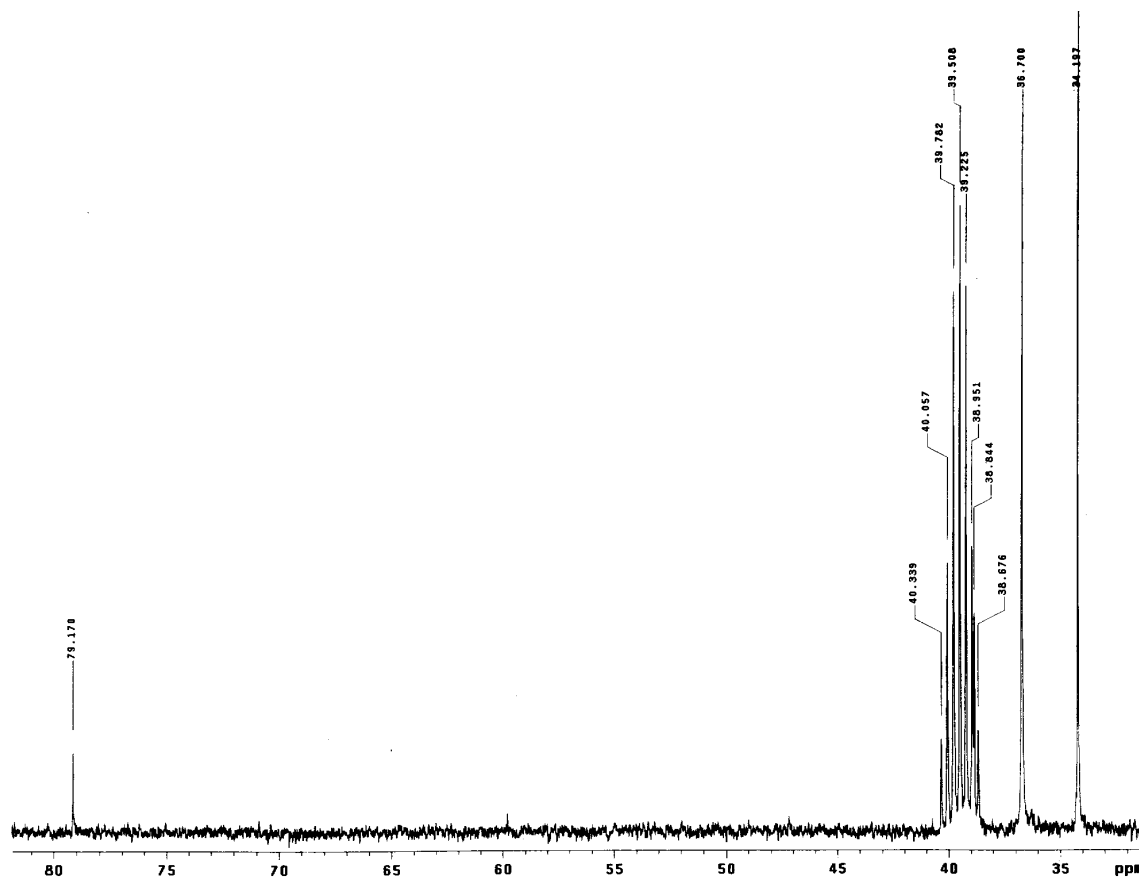


Figura 213 – Espectro de RMN ^{13}C da mistura **S2** e **S1** (ampliação) [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]

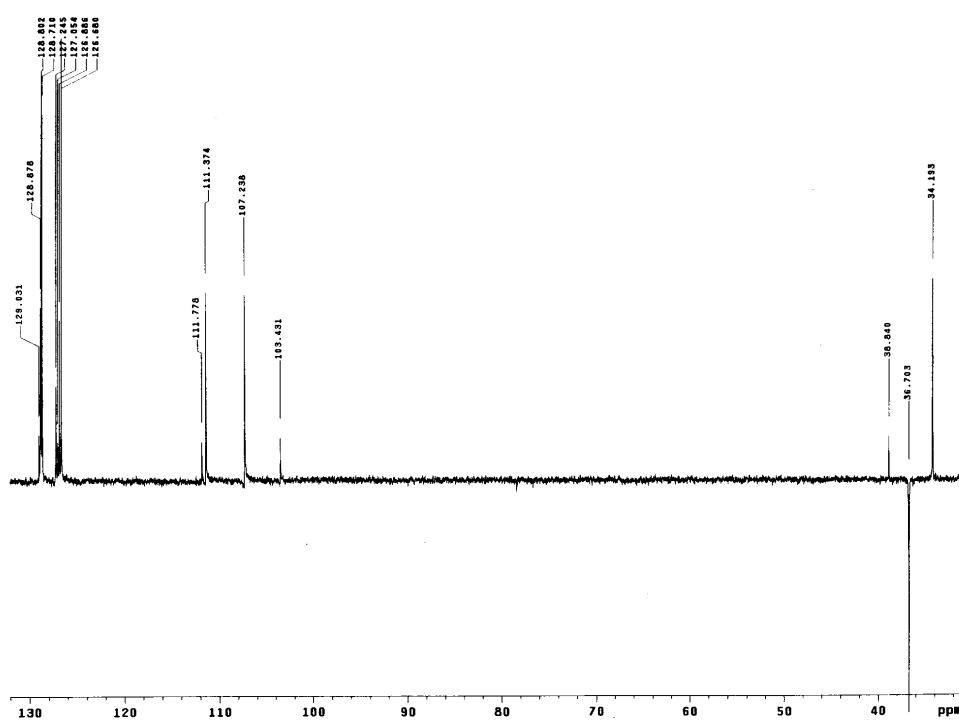


Figura 214 – Experimento DEPT 135° da mistura **S2** e **S1** (ampliação) [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]

7. Considerações Finais

Os resultados obtidos neste trabalho de doutorado cumpriram satisfatoriamente os objetivos propostos. O extrato clorofórmico de *D. violacea* assemelha-se mais a *D. grandiflora* rica em flavanonas e flavanonas preniladas, do que à *D. lasiophylla* que apresentou neste extrato triterpenos e lignanas, o que talvez justifique tentativas de se subdividir o gênero *Dioclea* em três subgêneros. Os extratos acetato de etila tanto de *D. lasiophylla* quanto de *D. violacea* apresentaram a proantocianidina epigallocatequina-(2 β →7,4 β →8)-epicatequina (DV24) e a já conhecida epicatequina-(2 β →7,4 β →8)-epicatequina (DV23). Porém não se pode falar ainda em marcadores quimiosistemáticos do gênero pois, faltam estudos com outras espécies e o estudo do extrato acetato de etila de *D. grandiflora* não está completo. Dentre as substâncias isoladas, duas flavanonas metoxiladas são inéditas, a 7-hidroxi-6-metoxiflavanona (DV7) e a 7,4'-diidroxiflavanona (DV16). A proantocianidina epigallocatequina-(2 β →7,4 β →8)-epicatequina (DV24) foi isolada de *D. lasiophylla* em nosso trabalho de mestrado, sendo seu terceiro registro na literatura, a partir de *D. violacea*. A proantocianidina 3',4',7-triidroxiflavana-(2 β →7,4 β →8)-3-prenilfustina (DV21) é inédita. Mas a posição da prenila carece de confirmação através de HMBC e de confirmação da MM por EM nas técnicas FAB ou Elétron Spray. O biflavonóide (DV17) ainda é uma proposta estrutural, carecendo de EM para confirmação. As demais substâncias já foram relatadas anteriormente na literatura. Causa estranheza o isolamento de lasiodiplodina (DV12) em grande quantidade de *D. violacea*, pois esta é uma substância isolada anteriormente do fungo *Lasiodiplodia theobromae*. Este fato leva a suspeitar que esta substância possa ser proveniente de um fungo endofítico.

Os resultados da atividade antioxidante estão de acordo com o esperado, pois quando não há conjugação entre os anéis as substâncias mais ativas serão aquelas que apresentarem maior número de hidroxilas fenólicas e grupos catecois. Quanto aos testes de atividade imunomoduladora, foram isoladas substâncias promissoras neste campo, dentre elas destacando-se a 7-hidroxiflavanona (DV7) e a 4',7'-diidroxiflavanona (DV18), as quais devem ser posteriormente sintetizadas. Por fim, os resultados das sínteses não foram os esperados, porém levaram a obtenção de dois neoflavonóides 7-hidroxi-3,4-diidro-4-fenilcumarina (S1) e 5-hidroxi-3,4-diidro-4-fenilcumarina (S2). O primeiro deles com grande rendimento, e o

segundo sendo sintetizado pela primeira vez, o que abre uma nova vertente de pesquisa pessoal e para o grupo.

As perspectivas para o futuro abrangem o estudo de outras espécies de *Dioclea*, com ênfase nos extratos clorofórmicos e acetato, visando o isolamento de novas substâncias bioativas e em busca de marcadores quimiosistemáticos que possam caracterizar o gênero. Envolvem também a síntese das substâncias bioativas isoladas e a síntese de neoflavonóides flavanonas e chalconas, no intuito de avaliar suas atividades e correlacionar estas as suas estruturas.

8. Referências Bibliográficas

- ACHENBACH, H., STÖCKER, M., CONSTENLA, M. A. Flavonoid and other constituents of *Bauhinia manca*. *Phytochemistry* v. 27, p. 1835-1841, 1988.
- van ACKER, S. A. B. E., van BALEN, G. P., van den BERG, D-J, BAST, A., van der VIJGH, W. J. F. Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochemical Pharmacology* v. 56, p. 935-943, 1998.
- van ACKER, S. A. B. E., van den BERG, D-J., TROMP, M. N. J. L., GRIFFIOEN, D. H., van BENNEKOM, W. P., van der VUGH, W. J. F., BAST, A. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine* v. 20, p. 331-342, 1996a.
- van ACKER, S. A. B. E., de GROOT, M. J., van den BERG, D-J, TROMP, M. N. J. L., den KELDER, G. D-O., van der VIJGH, W. J. F., BAST, A.. A quantum chemical explanation of the antioxidant activity of flavonoids. *Chemical Research in Toxicology* v. 9, p. 1305-1312, 1996b.
- ADITYACHAUDHURY, N., KIRTANIYA, C. L., MUKHERJEE, B. Chalcones of *Flemingia chappar* Ham. The structure and synthesis of flemichapparin. *Tetrahedron* v. 27, p. 2111-2117, 1971.
- ADITYACHAUDHURY, N., KIRTANIYA, C. L., MUKHERJEE, B. Chemical examination of *Flemingia chappar* Ham. Occurrence of 2',4'-dihydroxy-chalcone. *Journal of the Indian Chemical Society* 46, p. 964-968, 1969.
- AINOUZ, I. L., MOREIRA, R. A., CAMPOS, F. D. A P., RICHARDSON, M., BEGBIE, R., STEWART, J. C.WATT, W. B., PUSZTALT, A. The isolation and amino acid sequence of the β - and γ -subunits of the lectin from the seeds of *Dioclea grandiflora*. *Phytochemistry* v. 26, p. 1435-1440, 1987.

- ALDRIDGE, D. C., GALT, S., GILES, D., TURNER, W. B. Metabolites of *Lasiodiplodia theobromae*. *Journal of Chemical Society (c)*, p. 1623-1627, 1971.
- ALMEIDA, R. N., NAVARRO, D. S., AGRA, M. de F., ALMEIDA, E. R., MAJETICH, G., BHATTACHARYYA, J. Analgesic effect of Dioclenol and Dioflorin isolated from *Dioclea grandiflora*. *Pharmaceutical Biology* v. 38, p. 394-395, 2000.
- ALMEIDA, A. P., CÔRTEZ, S. F., FERREIRA, A. J., LEMOS, V. S. Increased on the coronary flow induced by dioclein in isolated rat heart. *Life Sciences* v. 70, p. 1121-1128, 2002.
- ARORA, A., BYREM, T. M., NAIR, M. G., STRASBURG, G. M. Modulation of Liposomal Membrane Fluidity by Flavonoids and Isoflavonoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* v. 373, p. 102-109, 2000.
- ARORA, A., NAIR, M. G., STRASBURG, G. M. Antioxidant activities of isoflavones and their biological metabolites in a liposomal system. *Archives of Biochemistry and Biophysics* v. 356, p. 133-141, 1998.
- ASAD, S. F., SING., S., AHMAD, A., KHAN, N. U., HADI, S. M. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. *Chemico-Biological Interactions* v. 137, p. 59-74, 2001.
- BABIOR, B. M. Superoxide: a two-edged sword. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* v. 30, p. 141-155, 1997.
- BABIOR, B. M. Phagocytes and Oxidative Stress. *The American Journal of Medicine* v. 109, p. 33-43, 2000.
- BALDÉ, A. M., PIETERS, L. A., GERGELY, A., KOLODZIEJ, H. CLAEYS, M., VLIETINCK, A. J. A-type Proanthocyanidins from Stem-bark of *Pavetta owariensis*. *Phytochemistry* v. 30, p. 337-342, 1991.

- BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. P., de QUEIROZ, L. P., DAVID, J. M. A-type proanthocyanidin antioxidant from *Dioclea lasiophylla*. *Phytochemistry* v. 55, p. 805-808, 2000.
- BARRETT, M. W., KLYNE, W., SCOPES, P. M., FLETCHER, A. C., PORTER, L. J., HASLAM, E. Plant Proanthocyanidins. Part 6. Chiroptical Studies. Part 95. Circular Dichroism of Proanthocyanidins. *Journal of Chemical Society. Perkin I*, p. 2375, 1979.
- BATISTA, J. S., ALMEIDA, R. N., BHATTACHARYYA, J. Analgesic effect of *Dioclea grandiflora* constituents in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* v. 45, p. 207-210, 1995.
- BERGER, P., LEITNER, N. K. V., DORÉ, M., LEGUBE B. Ozone and Hydroxyl Radicals Induced Oxidation of Glycine. *Water Research* v. 33, p. 433-441, 1999.
- BERGERON, C., MARSTON, A., HAKIZAMUNGU, E., HOSTETTMANN, K. Antifungal constituents of *Chenopodium procerum*. *International Journal of Pharmacognosy* v. 33, p. 115-119, 1995.
- BHATTACHARYYA, J., BATISTA, J. S., ALMEIDA, R. N. Dioclein, a flavanone from the roots of *Dioclea grandiflora*. *Phytochemistry* v. 38, p. 277-278, 1995.
- BHATTACHARYYA, J., MAJETICH, G., SPEARING, P., ALMEIDA, R. N. Dioclenol, a minor flavanonol from the root-bark of *Dioclea grandiflora*. *Phytochemistry* v. 46, p. 385-387, 1997.
- BHATTACHARYYA, J., MAJETICH, G., JENKINS, T. M., ALMEIDA, R. N. Dioflirin, a minor flavonoid from *Dioclea grandiflora*. *Journal of Natural Products* v. 61, p. 413-414, 1998.
- BLAIR, I. A. Lipid Hydroperoxide-mediated DNA Damage. *Experimental Gerontology* v. 36, p. 1473-1481, 2001.

- BLAZOVICS, A., LUGASI, A., KEMENY, T., HAGYMASI, K., KERY, A. Membrane stabilizing effects of natural polyphenols and flavonoids from *Sempervivum tectorum* on hepatic microsomal mixed-function oxidase system in hyperlipidemic rats. *Journal of Ethnopharmacology* v. 73, p. 479-485, 2000.
- BLIZNAKOV, E. G. Cardiovascular diseases, oxidative stress and antioxidants: the decisive role of coenzyme Q₁₀. *Cardiovascular Research* v. 43, p. 248-249, 1999.
- BORS, W., HELLER, W., MICHEL, C., SARAN, M. Flavonoids as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods in Enzymology* v. 186, p. 343-355, 1990.
- BUDZIKIEWICS, H., DJERASSI, C. Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. I. Steroid Ketones. *Journal of the American Chemical Society* v. 84, p. 1430-1439, 1962.
- BUDZIKIEWICS, H., WILSON, J. M., DJERASSI, C. Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. XXXII. Pentacyclic Triterpenes. *Journal of the American Chemical Society* v. 85, p. 3688-3699, 1963.
- BUETTNER, G. R. The Pecking Order of Free Radicals and Antioxidants: Lipid Peroxidation, α -Tocopherol, and Ascorbate. *Archives of Biochemistry and Biophysics* v. 300, p. 535-543, 1993.
- BURGER, A. P. N., BRANDT, E. V., ROUX, D. G. *O*-(Dihydrobenzofuranyl)-dibenzo- α -pyrones from *Umtiza listerana*. *Phytochemistry* v. 22, p. 2813-2817, 1983.
- BURRI, B. J. Beta-carotene and human health: A review of current research. *Nutrition Research* v. 17, p. 547-580, 1997.
- BURTON, G. W. and INGOLD, K. U. Autoxidation of Biological Molecules. 1. The Antioxidant Activity of Vitamin E and Related Chain-Breaking Phenolic Antioxidants *in Vitro*. *Journal of the American Chemical Society* v. 103, p. 6472-6477, 1981.

- CADET, J., DELATOUR, T., DOUKI, T., GASPARUTTO, D., POUGET, J. P., RAVANAT J. L., SAUVAIGO, S. Hydroxyl Radicals and DNA base Damage. *Mutation Research: Fundamental and Molecular Mechanism of Mutagenesis* v. 424, p. 9-21, 1999.
- CALANASAN, C. A., MACLEOD, J. K. A diterpenoid sulfate and flavonoids from *Wedelia asperrima*. *Phytochemistry* v. 47, p. 1093-1099, 1998.
- CALVET, J. J., THOLE, H. H., RAIDA, M., URBANKE, C., ROMERO, A., GRANGEIRO, T. B., RAMOS, M. V., da ROCHA, I. M. A., GUIMARÃES, F. N., CAVADA, B. S. Molecular characterization and crystallization of Diocleinae lectins. *Biochimica et Biophysica Acta* v. 1430, p. 367, 1999.
- CAO, G., SOFIC, E., PRIOR, R. L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-Activity relationships. *Free Radical Biology & Medicine* v. 22, p. 749-760, 1997.
- CHATGILIALOGLU C., O'NEILL P. Free Radicals Associated with DNA Damage. *Experimental Gerontology* v. 36, p. 1459-1471, 2001.
- CHOPIN J., MOLHO D., PACHECO H, MENTZER, C. Structure dun nouveau derive flavonique isole du bois de merisier (*Prunus avium*). *Bulletin de La Societe Chimique de France*, p. 192-204, 1957.
- CLARK-LEWIS, J. W., PORTER L. J. Phytochemical survey of heartwood flavonoids of *Acacia* species from arid zones of Australia. *Australian Journal of Chemistry* v. 25, p. 1943-1948, 1972.
- CORDELL, G. A. Changing Strategies in Natural Products Chemistry *Phytochemistry* v. 40, p. 1585-1612, 1995.
- CORREA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984. v. II, III e V.

- DAILLY, E., URIEN, S., BARRÉ, J., REINERT, P., TILLEMENT, J. P. Role of bilirubin in the regulation of the total peroxy radical trapping antioxidant activity of plasma in sickle cell disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications* v. 248, p. 303-306, 1998.
- DALLNER, G., SINDELAR, P. J. Regulation of Ubiquinone Metabolism. *Free Radical Biology & Medicine* v. 29, p. 285-294, 2000.
- DAVID, J. P., dos SANTOS, E. O., MIRANDA, M. S., BARREIROS, A. L. B. S., dos SANTOS, I. D., DAVID, J. M. Atividade antioxidante da epicatequina-(2 β →7,4 β →8)-epicatequina isolada de *Dioclea lasiophylla*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* v. 12, p. 5-8, 2002.
- DAVID, J. M., BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. P. Antioxidant phenylpropanoid esters of triterpenes from *Dioclea lasiophylla*. *Pharmaceutical Biology* v. 42, p. 36-38, 2004.
- DENICOLA, A., FREEMAN, B. A., TRUJILLO, M., RADI, R. Peroxynitrite Reaction with Carbon Dioxide/Bicarbonate: Kinetics and Influence on Peroxynitrite-Mediated Oxidations. *Archives of Biochemistry and Biophysics* v. 333, p. 49-58, 1996.
- DONNELLY, D. M. X., SHERIDAN, M. H. Neoflavonoids. Em HARBORNE, J. B. *The Flavonoids: Advances in Research since 1980*. Chapman and Hall Ltd. New York NY, USA, 1988.
- DONNELLY, D. M. X., BOLAND, G. Neoflavonoids. em HARBORNE, J. B. *The Flavonoids: Advances in Research since 1986*. Chapman and Hall Ltd. New York NY, USA, 1994.
- DOYLE, J. J., DOYLE, J. L. Chloroplast DNA phylogeny of the Papilionoid legume tribe Phaseoleae. *Systematics and Botanic* v. 18, p. 309-327, 1993.
- EISERICH, J. P., CROSS, C. E., JONES, A. D., HALLIWELL, B., VLIET, A. V. Formation of Nitrating and Chlorinating Species by Reaction of Nitrite with Hypochlorous acid. *The Journal of Biological Chemistry* v. 271, p. 19199-19208, 1996.

- FAURÉ, M., LESSI, E., TORRES, R., VIDELA, C. A. Antioxidant Activities of Lignans and Flavonoids. *Phytochemistry* v. 29, p. 3773-3775, 1984.
- FICO, G., BILIA, A. R., MORELLI, I., TOME, F. Flavonoid distribution in *Pyracantha coccinea* plants at different growth phases. *Biochemical Systematics and Ecology* v.28, p. 673-678, 2000.
- FINKEL, T., HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* v. 408, p. 239-247, 2000.
- FRIEDLAND, S. S., LANE, G. H., LONGMAN, K. E., O'NEAL, M. J. Jr. Mass Spectra of Steroids. *Analytical Chemistry* v. 31, p. 169-174, 1959.
- GOLDFARB, A. H. A. Da Alquimia a Química 2^a. ed São Paulo Nova Stella, 1988.
- GUERRA, M. P., NODARI, R. O. Biodiversidade: Aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. Em SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J. P., MENTZ, L. A., PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da Planta ao Medicamento. Editora da Universidade, Porto Alegre/Florianópolis, cap. 1, p. 13-21, 1999.
- GRACY, R. W., TALENT, J. M., KONG, Y., CONRAD, C. C. Reactive oxygen species: the unavoidable environmental insult? *Mutation Research: Fundamental and Molecular Mechanism of Mutagenesis* v. 428, p. 17-22, 1999.
- GRECA, M. D., MONACO, P., PREVITERA, L. Stigmasterols from *Typha latifolia*. *Journal of Natural Products* v. 53, p. 1430-1435, 1990.
- HALLIWELL, B. Oxygen and Nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by Reactive Oxygen, Chlorine and Nitrogen Species: Measurement, Mechanism and Effects of Nutrition. *Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* v. 443, p. 37-52, 1999a.

- HALLIWELL, B. Vitamin C: poison, prophylactic or panacea? *Trends in Biochemical Sciences* v. 24, p. 255-259, 1999b.
- HALLIWELL, B. The antioxidant paradox. *The Lancet* v. 355, p. 1179-1180, 2000a.
- HALLIWELL, B., AESCHBACH, R., LOLIGER, J., AROUMA, O. I. The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology* v. 33, p. 601-617, 1995.
- HALLIWELL, B., CLEMENT, M. V., LONG, L. H. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Letters* v. 486, p. 10-13, 2000b.
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J. M. C., CROSS, C. E. Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease: Where are we now? *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* v. 119, p. 598-620, 1992.
- HAO, H., HANDONG, S., SHOUXUN, Z. Flavonoids from *Isodon oresbius*. *Phytochemistry* v. 42, p. 1247-1248, 1996.
- HARBORNE, J. B., WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* v. 55, p. 481-504, 2000.
- HIDALGO, M.E., FERNANDÉZ, E., QUILHOT, W., LISSI, E. *Phytochemistry* v. 37, p. 1585-1587, 1994.
- HO, C. T., FERRARO, T., CHEN, Q., HOSEN, R. T., HUANG, M. T. *Phytochemicals in Teas and Rosemary and their Cancer-Preventive Properties in: Food Phytochemicals for Cancer Prevention II*. HO, C. T., OSAWA, T., HUANG, M. T., HOSEN, R. T. Washington DC: ed. By American Chemical Society. 2p., 1994.
- JACOB, R. A. The integrated antioxidant system. *Nutrition Research* v. 15, p. 755-766, 1995.
- JACQUES, D., HASLAN, E., BEDFORD, G. R., GREATBANKS, D. Plant Proanthocyanidins. Part II. Proanthocyanidin-A2 and its derivatives. *Journal of Chemical Society. Perkin I*, p. 2663-2671, 1974.

- JAKUPOVIC J., ZDERO C., GRENZ M., TSICHRITZIS, F., LEHMANN, L. Acylphloroglucinol derivatives and further constituents from south-african *Helichrysum* species. *Phytochemistry* v. 28, p. 1119-1131, 1989.
- JENKINS, T., BHATTACHARYYA, J., MAJETICH, G., TENG, Q., de FATIMA, A. M., ALMEIDA, R. Flavonoids from de root-bark of *Dioclea grandiflora*. *Phytochemistry* v. 52, p. 723-730, 1999.
- JOLY, A. B. Botânica: Introdução à taxonomia vegetal. 13.Ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, p. 219-221, 371-382, 2002.
- JIN, F., LEITICH, J., SONNTAG, C. V. The photolysis ($\lambda = 254$ nm) of tyrosine in aqueous solution in the absence and presence of oxygen. The reaction of tyrosine with singlet oxygen. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* v. 92, p. 147-153, 1995.
- JOVANOVIC, S. V., STEENKEN, S., TOSIC, M., MARJANOVIC, B., SIMIC, M. C. Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemical Society* v. 116, p. 4846-4851, 1994.
- KAGAN, V. E., ARROYO, A., TYURIN, V. A., TYURINA, Y. Y., VILLALBA, J. M., NAVAS, P. Plasma membrane NADH-coenzyme Q₀ reductase generates semiquinone radicals and recycles vitamin E homologue in a Superoxide-dependent reaction. *FEBS Letters* v. 428, p. 43-46, 1998.
- KÄSS, E., WINK, M. Phylogenetic relationships in the Papilionoideae (family Leguminosae) based on nucleotide sequences of cpDNA (rbcL) and ncDNA (ITS 1 and 2). *Molecular Phylogenetics and evolution* v. 8, p. 65-88, 1997.
- KAVANAGH, T. A., FERGUSON, I. K. Pollen morphology and taxonomy of the subtribe Diocleinae (Leguminosae: Papilionoideae: Phaseoleae). *Review of Palaeobotany and Palynology* v. 32, p. 317-367, 1981.

- KEHRER, J. P. The Haber-Weiss reaction and Mechanisms of toxicity. *Toxicology* v. 149, p. 43-50, 2000.
- KONDO, K. KURIHARA, M., MIYATA, N., SUZUKI, T., TOYODA, M. Mechanistic studies of catechins as antioxidants against radical oxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* v. 362, p. 79-86, 1999.
- LaDUKE, J.C. Flavonoid chemistry and systematics of *Tithonia* (Compositae). *American Journal of Botany* v. 69, p. 784-792, 1982.
- LARSON, R. A. Naturally Occurring Antioxidants. Lewis Publishers. Boca Raton – NY. P. 25-49, 1997.
- LEMOS, V. S., FREITAS, M. R., MULLER, B., LINO, Y. D., QUEIROGA, C. E. G., CÔRTEZ, S. F. Dioclein, a new nitric oxide- and endothelium-dependent vasodilator flavonoid. *European Journal of Pharmacology* v. 386, p. 41-46, 1999.
- LEMOS, V. S., dos SANTOS, M. H., RABELO, L. A., CÔRTEZ, S. F. Spectral assignments and reference data: Total assignments of ^1H and ^{13}C NMR spectra of a new prenylated flavanone from *Dioclea grandiflora*. *Magnetic Resonance in Chemistry* v. 40, p. 793-794, 2004.
- LEPREVOST, A. Contribuição ao estudo químico da coronha (*Diocloea violacea* Mart.). *Arquivos de Biologia e Tecnologia* v. VII, p. 137-140, 1952.
- LEVINE, M., DARUWALA, R. C., PARK, J. B., RUMSEY, S. C., WANG, Y. Does Vitamin C have a Pro-oxidant Effect? *Nature* v. 395, p. 231-232, 1998.
- LINDSTEDT G, MISIORNY A. Constituents of pine heartwood .24. Investigations on strobopin, cryptostrobin, and 2 new substances, strobobanksin and strobochrysin, from the heartwood of pinus-strobus. *Acta Chemica Scandinavica* v. 5, p. 1-12, 1951.
- LIN, M., LI, S., EBIZUKA, Y., MIKAWA, U. Chemical constituents of stem of suberect spatholobus (*Spatholobus suberectus*). *Zhongcaoyao* v. 20, p. 53-56, 1989.

- MA, C. M., NAKAMURA, N., HATTORI, M., KAKUDA, H., QIAO, J. C., YU, H. L. Inhibitory effects on HIV-1 protease of constituents from the wood of *Xanthoceras sorbifolia*. *Journal of Natural Products* v. 63, p. 238-242, 2000.
- MAHATO, S. B., KUNDU, A. P. ¹³CNMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids: a Compilation and Some Salient Feature. *Phytochemistry*, v.37, p. 1517-1575, 1994.
- MALTERUD, K.E., FARBROT, T.L., HUSE, A.E., SUND, R.B. Antioxidant and Radical Scavenging effects of Anthraquinones end Anthrones. *Pharmacology* v. 47, p. 77-85, 1993.
- MATOS, F. J. de A., GOTTLIEB, O. R., ANDRADE, C. H. S., OLLIS, W. D. Os flavonóides de *Dalbergia ecastophyllum*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* v. 42, p. 61-64, 1970.
- MATSUURA, H., NAKAMORI, K., OMER, E. A., HATAKEYAMA, C, YOSHIHARA, T. Three lasiodiplodins from *Lasiodiplodia theobromae*. *Phytochemistry*, v. 49, p. 579-584, 1998.
- MELLO, M. O. de A., COSTA, C. F., BARBOSA, M. M. da S. Boletim do Instituto Biológico da Bahia: Catálogo das plantas tóxicas e medicinais do estado da Bahia. Salvador: Imprensa Oficial da Bahia, v. X, n. 1, 1971.
- MORDI, R. C., WALTON, J. C. Oxidative degradation of β -Carotene and β -apo-8'-carotenal. *Tetrahedron* v. 49, p. 911-928, 1993.
- MOREIRA, R. A., MONTEIRO, A. C. O., HORTA, A. C. G., OLIVEIRA, J. T. A., CAVADA, B. S. Isolation and characterization of *Dioclea altissima* var. *megacarpa* seed lectin. *Phytochemistry* v. 46, p. 139-144, 1997.
- NAGARAJAN, G. R., PARMAR, V. S. Flavonoids of *Prunus cerasus*. *Planta Medica* v. 32, p. 50-53, 1977.

- NELSON, D. L., COX, M. M. LEHNINGER: Princípios de Bioquímica, 3^a, Edição. Sarvier Editora de Livros Médicos Ltda. São Paulo –SP, p. 294-296, 517-519, 2002.
- NIETO, F. J., IRIBARREN, C., GROSS, M. D., COMSTOCK, G. W., CUTLER, R. G. Uric acid and serum antioxidant capacity: a reaction to atherosclerosis. *Atherosclerosis* v. 148, p. 131-139, 2000.
- NOHL, H., GILLE, L., KOZLOV, A. V. Antioxidant-derived prooxidant formation from ubiquinol. *Free Radical Biology & Medicine* v. 25, p. 666-675, 1998.
- NOHL, H., KOZLOV, A. V., STANIEK, K., GILLE, L. The multiple functions of coenzyme Q. *Bioorganic Chemistry* v. 29, p. 1-13, 2001.
- OLIVEIRA, A. B. de., MOREIRA, M. de L. C. D., SILVA, L. G. F., GOTTLIEB, O. R., CASTRO, C. R. de. Os flavanóides do *Platymiscium praecox*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* v. 42, p. 109-110, 1970.
- PALACE, V. P., KHAPER, N., QIN, Q., SINGAL, P. K. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radical Biology & Medicine* v. 26, p. 746-761, 1999.
- PARTRIDGE, L. G., MIDGLEY, I., DJERASSI, C. Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. 249. Elucidation of the Course of the Characteristic Ring D Fragmentation of Unsaturated Steroids. *Journal of the American Chemical Society* p. 7686-7695, 1977.
- PEREZ, G., HERNANDEZ, M., MORA, E. Isolation and characterization of a lectin from the seeds of *Dioclea lehmanni*. *Phytochemistry* v. 29, p. 1745-1749, 1990.
- PEREZ, G. Isolation and characterization of a novel lectin from *Dioclea lehmanni* (Fabaceae) seeds. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* v. 30, p. 843-853, 1998.
- PERKIN, A. G., HUMMEL, J. J. *Journal of the Chemical Society*, p. 1459, 1904.

- PETERSON, J., DWYER, J. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research* v. 18, p. 1995-2018, 1998.
- PIETTA, P. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products* v. 63, p. 1035-1042, 2000.
- PODMORE, I. D., GRIFFITHS, H. R., HERBERT, K. E., MISTRY, N., MISTRY, P., LUNEC, J. Vitamin C Exhibits pro-oxidant Properties. *Nature* v. 392, p. 559-559, 1998.
- PORTER, L. J. Flavans and proanthocyanidins. em HARBORNE, J. B. *The Flavonoids: Advances in Research since 1986*. Chapman & Hall, London, UK. Cap. 2, 1994.
- RESENDE, B. A., CÔRTEZ, S. F., LEMOS, V. S. Mechanisms involved in the vasodilator effect of the flavanol floranol in rat small mesenteric arteries. *Planta Medica* v. 70, p. 465, 2004.
- RIBEIRO, M. N. S., ZOGHBI, M. G. B., SILVA, M. L., GOTTLIEB, O. R., RESENDE, C. M. M. *Cadastro Fitoquímico Brasileiro 2 ed* Manaus IMPA/FUA 1987.
- RICCA, G. S., NICOTRA, F. Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectra os Some Phytosterols. *Gazzetta Chimica Italiana*, v.108, p.713-15, 1978.
- RICE-EVANS, C. A., MILLER, N. J., PAGANGA, G. Structure-Antioxidant activity relationships of flavonoids and Phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine* v. 20, p. 936-956, 1996.
- RICE-EVANS, C. A., MILLER, N. J., PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science* v. 2, p. 152-159, 1997.
- ROUGÉ, P., VARLOOT, L. Structural homologies between Leguminosae lectins as revealed by the hydrophobic cluster analysis (Hca) method. *Biochemical Systematics and Ecology* v. 18, p. 419-427, 1990.

- dos SANTOS, P. R. D., MORAIS, A. A., BRAZ-FILHO, R. Alkaloids from *Annona dioica*. *Journal of the Brazilian Chemical Society* v. 14, p. 396-400, 2003.
- SARMA, A. D., SHARMA, R. Anthocyanin-DNA Co pigmentation Complex: Mutual Protection against Oxidative Damage. *Phytochemistry* v. 52, p. 1313-1318, 1999.
- SCHÖNEICH, C. Reactive Oxygen Species and Biological Aging: A Mechanistic Approach. *Experimental Gerontology* v. 34, p. 19-34, 1999.
- SHINODA, J., UYEDA, S. *Chem. Ber.* v. 67, p. 434, 1934.
- da SILVA, M. F., de SOUZA, L. A. G., CARREIRA, L. M. de M. Nomes Populares das Leguminosas do Brasil. EDUA – Editora da Universidade Federal do Amazonas, Manaus AM, 2004.
- SIMIC, M. G., JOVANOVIC, S. V. Antioxidant Mechanisms of Uric Acid. *Journal of The American Chemical Society* v. 111, p. 5778-5782, 1989.
- SONG, C. Q., HU, Z. B. Abruquinone A, B, D, E, F and G from the root of *Abrus precatorius*. *Zhiwu Xuebao* v.40, p. 734-739, 1998.
- SPEARING, P., MAJETICH, G., BHATTACHARYYA, J. Synthesis of (*R, S*)-Dioclein, a bioactive flavanone from the root bark of *Diocleia grandiflora*. *Journal of Natural Products* v. 60, p. 399, 1997.
- STAHL, E. Thin-Layer Chromatography: A Laboratory Handbook. 2. ed. New York: Heidelberg, 1969. p.1041.
- STANLEY, L. L., MAZIER, M. J. P. Potential Explanations for the French Paradox. *Nutrition Research* v. 19, p. 3-15, 1999.

- TALAPATRA, B., DEB, T., TALAPATRA, S. Condensation of phenols & cinnamic acids in presence of polyphosphoric acid: A novel biogenetic-type oxidative self-cyclisation of *p*-methoxycinnamic acid to 7-methoxycoumarin. *Indian Journal of Chemistry* v. 25B, p. 1122-1125, 1986.
- TAMIR, S., TANNENBAUM, S. R. The Role of nitric oxide (NO) in the carcinogenic process. *Biochimica et Biophysica ACTA* v. 1288, p. F31-F36, 1996.
- TANAKA H, ICHINO K, ITO K A novel Flavanone Linderatone, from *Lindera umbellata*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* v. 33, p. 2602-2604, 1985.
- TANRISEVER, N., FRONCZEK, F. R., FISCHER, N. H., WILLIAMSON, G. B. Ceratiolin and other flavonoids from *Ceratiola ericoides*. *Phytochemistry* v.26, p. 175-179, 1987.
- THERIAUL, A., CHAO, J-T., WANG, Q., GAPOR, A., ADELI, K. Tocotrienol: A review of its therapeutic potential. *Clinical Biochemistry* v. 32, p. 309-319, 1999.
- THOMPSON, R. S., JACQUES, D., TANNER, R. J. N. Plant Proanthocyanidins. Part I. Introduction; the Isolation, Structure, and Distribution in Nature of Plant Proanthocyanidins *Journal of Chemical Society* p. 1387-1399, 1972.
- TRIGUEIRO, F., CÔRTEZ, S. F., ALMEIDA, R. N., LEMOS, V. S. Endothelium-independent vasorelaxant effect of Dioclein, a new flavonoid isolated from *Dioclea grandiflora*, in the rat aorta. *Journal of Pharmacy and pharmacology* v. 52, p. 1431-1434, 2000.
- VARELA, E. S., LIMA, J. P. M. S., GALDINO, A. S., PINTO, L. da S., BEZERRA, W. M., NUNES, E. P., ALVES, M. A. O., GRANGEIRO, T. B. Relationships in subtribe Diocleinae (Leguminosae; Papilionoideae) inferred from internal transcribed spacer sequences from nuclear ribosomal DNA. *Phytochemistry* v. 65, p. 59-69, 2004.
- VISIOLI, F., KEANEY Jr., J. F., HALLIWELL, B. Antioxidants and cardiovascular disease; panaceas or tonics for tired sheep? *Cardiovascular Research* v. 47, p. 409-409, 2000.

- VOGT, W. Oxidation of Methionyl Residues in Proteins: Tools, Targets, and Reversal. *Free Radical Biology & Medicine* v. 18, p. 93-105, 1995.
- WAGNER, H., JURCIC, K. Assays for Immunomodulation and Effects on Mediators of Inflammation. Em: DEY, P. W., HARBORNE, J. B. *Methods in Plant Biochemistry. Assay for Bioactivity*. San Diego, CA: Ed. Academic Press Limited, 1991, cap. 6, p. 195-215.
- WISEMAN, H., KAUR, H., HALLIWELL, B. DNA Damage and Cancer: Measurement and Mechanism. *Cancer Letters* v. 93, p. 113-120, 1995.
- WOLLENWEBER, E., SEIGLER, D. S. Flavonoids from the exudate of *Acacia neovernicosa*. *Phytochemistry* v. 21, p. 1063-1066, 1982.
- WOODALL, A. A., BRITTON, G., JACKSON, M. J. Carotenoids and protection of phospholipids in solution or in liposomes against oxidation by peroxy radicals: Relationship between carotenoid structure and protective ability. *Biochimica et Biophysica Acta* v. 1336, p. 575-586, 1997a.
- WOODALL, A. A., LEE, S. W-M., WEESIE, R. J., JACKSON, M. J., BRITTON, G. Oxidation of carotenoids by free radicals: relationship between structure and reactivity. *Biochimica et Biophysica Acta* v. 1336, p. 33-42, 1997b.
- YANG, B., KOIANI, A., ARAI, K., KUSU, F. Relationship of Electrochemical Oxidation of Catechins on their Antioxidant Activity in Microsomal Lipid Peroxidation. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* v. 49, p. 747-751, 2001.
- YANG, Q., ASAI, M., MATSUURA, H., YOSHIHARA, T. Potato micro-tuber inducing hydroxylasiodiplodins from *Lasiodiplodia theobromae*. *Phytochemistry* v. 54, p. 489-494, 2000.
- YENESEW, A., INDULI, M., DERESE, S., MIDIWO, J. O., HEYDENREICH, M., PETER, M. G., AKALA, H., WANGUI, J., LIYALA, P., WATERS, N. C. Anti-plasmodial flavonoids from the stem bark of *Erythrina abyssinica*. *Phytochemistry* v. 65, p. 3029-3032, 2004.

YOON, J. S.; SUNG, S. H.; PARK, J.; KIM, Y. C. Flavonoids from *Spatholobus suberectus*.

Archives of Pharmacal Research v. 27, p. 589-592, 2004.

ZHAO, F., GHEZZO-SCHÖNEICH, E., ACED, G. I., HONG, J., MILBY, T., SCHÖNEICH

C. Metal-catalyzed Oxidation of Histidine in Human Growth Hormone. *The Journal of Biological Chemistry* v. 272, p. 9019-9029, 1997.

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Capítulos de livros publicados

DAVID, J. P., BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. M. Antioxidantes de Fontes Naturais. In: CARVALHO, J. C.T. (Org.). Fitoterápicos Anti-inflamatórios: Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Tecmed, Ribeirão Preto, 2004, p. 125-161.

Artigos completos publicados em periódicos

BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. M., DAVID, J. P. Estresse Oxidativo: Relação Entre Geração de Espécies Reativas e a Defesa do Organismo. *Química Nova* (Trabalho aceito).

DAVID, J. M., BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. P. Antioxidant Phenylpropanoid Esters of Triterpenes from *Dioclea lasiophylla*. *Pharmaceutical Biology* v. 42, n. 1, p. 36-38, 2004.

BARREIROS, A. L. B. S., BARREIROS, M. L., DAVID, J. M., DAVID, J. P., de QUEIROZ, L. P. Atividade antioxidante de substâncias presentes em *Dioclea violacea* e *Erythroxylum nummularia*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* v. 13, supl.2, p. 8-11, 2003.

DAVID, J. P., dos SANTOS, E. O., MIRANDA, M. S., BARREIROS, A. L. B. S., dos SANTOS, I. D., DAVID, J. M. Atividade Antioxidante da Epicatequina-(2 β →7,4 β →8)-Epicatequina Isolada de *Dioclea lasiophylla*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* v. 12, n. suplemento, p. 5-6, 2002.

BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. P., de QUEIROZ, L. P., DAVID, J. M. A-Type Proanthocyanidin antioxidant from *Dioclea lasiophylla*. *Phytochemistry* v. 55, n. 7, p. 805-808, 2000.

Trabalhos resumidos apresentados e publicados em anais de eventos

DAVID, J. P., BRANDÃO, H. N., DAVID, J. M., MEIRA, M., BRANCO, A., BARREIROS, A. L. B. S., AGRA, M. de F., BARBOSA, M. R., GIULIETI, A. M. Atividade Antioxidante de Plantas do Semi-árido Brasileiro. *XXVI Congresso Latinoamericano de Química / 27a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*. Salvador, v. 1, p. PN255-PN255, 2004.

BARREIROS, A. L. B. S., CORDEIRO, A. V. R., BARREIROS, M. L., DAVID, J. P., DAVID, J. M. Novos Flavonóides Metoxilados de *Dioclea violacea*. *XXVI Congresso Latinoamericano de Química / 27a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*. Salvador, v. 1, p. PN248-PN248, 2004.

BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. P., DAVID, J. M. Atividade Antioxidante de Flavonoides e Lactona Isolados do caule de *Dioclea violacea*. *IV Simpósio Brasileiro de Farmacognosia*. Salvador, p. AB18, 2003.

BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. P., DAVID, J. M. Flavonóides e Lactona Isolados do Caule de *Dioclea violacea*. *III Congresso Norte/Nordeste de Farmácia e Bioquímica*, Salvador. 2001.

de CASTRO, I. B. D., BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. P., DAVID, J. M. Triterpenos e Esteróides de *Dioclea violacea* identificados por Espectrometria de Massas. *XLI Congresso Brasileiro de Química*, Porto Alegre. 2001.

DAVID, J. P., dos SANTOS, E. O., MIRANDA, M. S., BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. M. Atividade Antioxidante da *Epicatequina-(2 β →7,4 β →8)-Epicatequina* Isolada de *Dioclea lasiophylla*. *XVI Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil*. Recife, p. QU095, 2000.

BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. M., dos SANTOS, E. O., DAVID, J. P. Constituents of *Dioclea lasiophylla*. *22nd IUPAC International Symposium on the Chemistry of Natural Products*. São Carlos, p. 073, 2000.

BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. M., de QUEIROZ, L. P., DAVID, J. P. Nova Proantocianidina do tipo A2 e Flavonóides das Folhas de *Dioclea lasiophylla*. 23A. *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*. Ligação Química Brasil-Portugal. Poços de Caldas, v. 2, p. pn038, 2000.

BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. M., DAVID, J. P. Estudo Fitoquímico dos Extratos Hexânico e Clorofórmico do Caule de *Dioclea grandiflora*. 22A. *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*. O papel da Química na Solução de Problemas Brasileiros. Poços de Caldas, v. 2, p. PN044, 1999.

BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. M., DAVID, J. P. Novo Triterpeno de *Dioclea lasiophylla*. III *Reunião da Sociedade Latino-Americana de Fitoquímica*, III *Reunião da Sociedade Latino-Americana de Fitoquímica*. Gramado, p. 96, 1999.

BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. P., DAVID, J. M. Estudo Fitoquímico do Caule de *Dioclea grandiflora*. XXXVIII *Congresso Brasileiro de Química*. São Luis, 1998.