

**Estudo fitoquímico de três espécies pertencentes à
família Rhamnaceae: *Discaria americana*, *Colletia
paradoxa* e *Gouania ulmifolia***

por

SANDRO ROGÉRIO GIACOMELLI

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química, área de Química Orgânica, da Universidade Federal de Santa Maria (RS), como requisito parcial para obtenção do grau de DOUTOR EM QUÍMICA.

Santa Maria, RS – BRASIL.

2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

a comissão examinadora, abaixo assinado, aprova a tese

**Estudo fitoquímico de três espécies pertencentes à
família Rhamnaceae: *Discaria americana*, *Colletia
paradoxa* e *Gouania ulmifolia***

elaborada por

SANDRO ROGÉRIO GIACOMELLI

como requisito parcial para obtenção do grau de doutor em química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. Ademir Farias Morel – Orientador – UFSM

Prof^a. Dr^a. Ionara Irion Dalcol - UFSM

Prof. Dr. Antônio Carlos Siane – FIOCRUZ

Prof. Dr. José Ângelo Zuanazzi - UFRGS

Prof. Dr. Marco Aurélio Mostardeiro - UNIJUI

Santa Maria, 26 de agosto de 2005.

À meus pais Raul Giacomelli e Nahyr
Pivetta Giacomelli, pelo incentivo e
carinho ao longo desses anos

À minha namorada Ionara, pelo amor,
apoio e compreensão durante a
realização deste trabalho

Ao Prof. Dr. Ademir Farias Morel meu sincero agradecimento pela sua amizade, orientação, estímulo e compreensão no decorrer deste trabalho

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Ionara Irion Dalcol, pela sua amizade e co-orientação neste trabalho.

Aos Profs. Dr. Antônio Carlos Siane – FIOCRUZ, Dr. José Ângelo Zuanazzi - UFRGS e Dr. Marco Aurélio Mostardeiro - UNIJUI pelo auxílio, para a melhoria deste trabalho como membros da banca examinadora.

Ao Prof. Dr. Nilo Zanatta e a funcionária Maria Angélica pela oportunidade de operar os equipamentos de RMN do Departamento de Química.

Ao Prof. Dr. Adelino A. Filho pela identificação botânica das plantas estudadas.

Ao Prof. Dr. Ludger Wessjohann (Halle-Saale) pelas análises de massas de alta resolução.

In memoriam à Prof^a. Dr^a. Emília C. S. M. Dessoy, pela contribuição na realização deste trabalho durante seu convívio.

Aos colegas e amigos de moradia Almir, Mirta e Wellington pelos momentos que nos confraternizamos.

A Graciela Maldaner, os meus sinceros agradecimentos pela sua compreensão, dedicação, colaboração e confiança durante este período.

Aos colegas Gilvan, Ubiratan, Solange, Euclésio, Enrique, Vinícius, Irene, Eduardo, Andréia, Anderson, Vanessa e Marco Aurélio pelo convívio nestes anos.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da UFSM que proporcionou a realização deste curso.

Aos funcionários do Departamento de Química Jorge, Valéria e Ademir que colaboraram de alguma forma para realização deste trabalho.

A funcionária do Herbário Benardete, do Departamento de Biologia, pela atenção dispensada.

A Claudia, Adriana e Carol pela realização das atividades antimicrobianas.

Aos demais colegas de laboratório pela contribuição e convívio durante a realização deste trabalho.

A diretoria da URI Campus - Frederico Westphalen

A Karine Arend, Coordenadora do Curso de Química da URI Campus - Frederico Westphalen, pela compreensão durante o período de conclusão deste trabalho.

Aos colegas professores do Curso de Química e Farmácia da URI Campus - Frederico Westphalen.

As entidades de fomento FAPERGS, CAPES e CNPq.

A todas as pessoas (não-citadas) que de forma direta ou indireta colaboraram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigado.

RESUMO

TÍTULO: “Estudo fitoquímico de três espécies pertencentes à família Rhamnaceae: *Discaria americana*, *Colletia paradoxa* e *Gouania ulmifolia*”

AUTOR: Sandro Rogério Giacomelli

ORIENTADOR: Prof. Dr. Ademir Farias Morel

O presente trabalho descreve o estudo fitoquímico e antimicrobiano das partes aéreas e casca da raiz de três espécies pertencentes à família Rhamnaceae: *Discaria americana* Gilles & Hook, *Colletia paradoxa* Sprengel e *Gouania ulmifolia* Hook & Arnott. Quatro novos ciclopeptídeos naturais, discareno C (**154**), discareno D (**155**), discarina M (**156**), discarina N (**157**) e nove alcalóides ciclopeptídicos, adoutina Y (**92**), adoutina Y' (**47**), franganina (**66**), frangulanina (**67**), discarina A (**59**), discarina B (**58**), discarina C (**100**), discarina D (**101**) e miriantina A (**105**), um triterpeno pentacíclico, ácido betulínico (**192**) e três esteróides, β -sitosterol (**195**), β -sitosterol glicosilado (**196**) e β -sitosterol 6'-O-acil glicosilado (**197**), foram isolados da casca da raiz de *D. americana*, juntamente com três compostos já descritos **192**, **195**, **196**, dois triterpenos pentacíclicos, ácido ursólico (**194**) e ácido ceanótico (**193**) e um éster derivado ácido ferúlico (**198**) das partes aéreas.

Das partes aéreas de *C. paradoxa* isolou-se um novo metabólito, denominado seco-3,4-germaniconina (**205**), juntamente com os compostos conhecidos, ácido ursólico (**194**), lupeol (**199**), ácido betulínico (**192**), ácido ceanótico (**193**), taraxerol (**200**), taraxerona (**201**), seco-3,4-taraxerona (**202**), germanicol (**203**), germaniconina (**204**), β -sitosterol (**195**) e β -sitosterol glicosilado (**196**). Da casca da raiz foi isolado ácido ziziberenólico (**206**), juntamente com os compostos **192**, **193**, **194**, **195** e **196**.

Dos extratos das partes aéreas de *Gouania ulmifolia* foram isolados dois novos triterpenos pentacíclicos, ácido 2-hidroxi-2-nor-20(29)-lupen-27,28-diólico

(**208**) e ácido 24-hidroxi-A(1)-nor-2,20(29)-lupadien-27,28-dióico (**209**), juntamente com os compostos conhecidos lupeol (**199**), ácido betulínico (**192**), ácido alfitólico (**207**), β -sitosterol (**195**) e β -sitosterol glicosilado (**196**). Todos compostos estão sendo descritos pela primeira vez na espécie.

Adicionalmente, foram analisadas as atividades antimicrobianas dos extratos, frações e metabólitos isolados de *Discaria americana*, *Colletia paradoxa* e *Gouania ulmifolia*, através da técnica de bioautografia, medindo-se as atividades inibitórias do crescimento sobre diferentes microorganismos, três bactérias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*) e quatro bactérias Gram negativas (*Klebsiella pneumonia*, *Salmonella setubal*, *Escherichia coli* e *Pseudomona aeruginosa*) e os fungos (*Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans*).

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Tese de doutorado em Química
Santa Maria, 26 agosto de 2005

ABSTRACT

TITLE: " Phytochemistry study of three species from Rhamnaceae family: *Discaria americana*, *Colletia paradoxa* and *Gouania ulmifolia*"

AUTHOR: Sandro Rogério Giacomelli

ACADEMIC ADVISOR: Prof. Dr. Ademir Farias Morel

The present work describes the phytochemistry study and antimicrobial activity of the aerial parts and bark root of three species from Rhamnaceae family: *Discaria americana* Gilles & Hook, *Colletia paradoxa* Sprengel and *Gouania ulmifolia* Hook & Arnott. Four new cyclopeptide natural, discarene C (**154**), discarene D (**155**), discarine M (**156**), discarine N (**157**) and nine cyclopeptide alkaloids, adoutine Y (**92**), adoutine Y' (**47**), franganine (**66**), frangulanine (**67**), discarine A (**59**), discarine B (**58**), discarine C (**100**), discarine D (**101**) and myrianthine A (**105**), a pentacyclic triterpenoid, acid betulinic (**192**) and three sterols, β -Sitosterol (**195**), β -sitosterol-3-O-6- β -D-glucopyranoside (**196**) and β -sitosterol-3-O-6-stearoyl- β -D-glucopyranoside (**197**), were isolated of the bark root of *D. americana*, along with three compounds already described **192**, **195**, **196**, two pentacyclic triterpenoids, ursolic acid (**194**) and ceanotic acid (**193**) and an ester derived from ferulic acid (**198**) of the aerial parts.

From the aerial parts of *C. paradoxa* it was isolated a new compound, called seco-3,4-germanicone (**205**), along with the known compounds ursolic acid (**194**), lupeol (**199**), betulinic acid (**192**), ceanothic acid (**193**), taraxerol (**200**), taraxerone (**201**), seco-3,4-taraxerone (**202**), germanicol (**203**), germanicone (**204**), β -sitosterol (**195**) and β -sitosterol-3-O-6- β -D-glucopyranoside (**196**). From the bark root it was isolated zizyberenalic acid (**206**), along with compounds **192**, **193**, **194**, **195** and **196**.

The extracts of the aerial parts of *Gouania ulmifolia*, two new pentacyclic triterpenoids were isolated, 2-hydroxy-2-nor-20(29)-lupen-27,28-dioic acid (**208**)

and 24-hydroxy-A(1)-nor-2,20(29)-lupadien-27,28-dioic acid (**209**), along with the known compounds lupeol (**199**), betulinic acid (**192**), alphitolic acid (**207**), β -sitosterol (**195**) and β -sitosterol-3-O-6- β -D-glucopyranoside (**196**). All compounds are being described for the first time in the species.

Additionally, antimicrobial activity of extracts, fractions and isolated compounds of *Discaria americana*, *Colletia paradoxa* and *Gouania ulmifolia* was analyzed, through the bioautography technique, measuring the inhibitory activity of the growth on different microorganisms, three Gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*) and four Gram negative bacteria (*Klebsiella pneumonia*, *Salmonella setubal*, *Escherichia coli* and *Pseudomona aeruginosa*) and the fungus (*Saccharomyces cerevisiae* and *Candida albicans*).

FEDERAL UNIVERSITY OF SANTA MARIA
GRADUATED COURSE IN CHEMISTRY

Doctor Thesis in Chemistry
Santa Maria, August 26, 2005

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	x
LISTA DE TABELAS	xv
LISTA DE FIGURAS	xvi
LISTA DE ESQUEMAS	xxi
LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.	xxii
1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVOS	06
3. REVISÃO DA LITERATURA	07
3.1 <i>Discaria americana</i> Gill. & Hook	07
3.2 <i>Colletia paradoxa</i> Sprengel	08
3.3 <i>Gouania ulmifolia</i> Hook & Arnott.	08
3.4 Alcalóides ciclopeptídicos	09
3.4.1 Estereoquímica	25
3.4.2 Atividade biológica	26
3.4.3 Biossíntese	28
3.5 Triterpenóides	30
3.5.1 Atividade biológica	32
3.5.1.1 Atividades anticâncer e antitumoral	32
3.5.1.2 Atividade antiviral	33
3.5.1.3 Atividade antimicrobiana	34
3.5.1.4 Atividade anti-inflamatória	34
3.5.2 Biossíntese	35
3.5.2.1 Ciclização do esqualeno	36
3.5.2.2 Ciclização do 2,3-epóxi-esqualeno	38
3.5.2.3 Ciclização do 2,3, 22,23-diepóxi-esqualeno	39

4. PARTE EXPERIMENTAL	41
4.1 Procedimentos experimentais gerais	41
4.1.1 Espectroscopia ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C	41
4.1.2 Espectroscopia de infravermelho	41
4.1.3 Polarímetro	41
4.1.4 Espectrometria de massas	42
4.1.5 Aparelho de ponto de fusão	42
4.1.6 Cromatógrafo gasoso	42
4.1.7 Materiais e métodos cromatográficos	42
4.1.8 Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i>	43
4.1.8.1 Microrganismos empregados nos ensaios	43
4.1.8.2 Padrões utilizados nos ensaios microbiológicos	44
4.1.8.3 Meios de cultura	44
4.1.8.4 Avaliação da atividade antimicrobiana	44
4.1.8.5 Preparo das suspensões dos microorganismos (inoculo)	45
4.1.8.6 Determinação da atividade antimicrobiana pelo método de bioautografia	45
4.2 <i>Discaria americana</i> Gill & Hook	46
4.2.1 Casca da raiz	46
4.2.1.1 Extração, fracionamento e cromatografia	46
4.2.1.2 Fracionamento neutro dos extratos brutos das casca das raízes de <i>D. americana</i> coletadas em Santana do Livramento e São Sepé	51
4.2.2 Partes aéreas	52
4.2.2.1 Extração, fracionamento e cromatografia	52
4.3 <i>Colletia paradoxa</i> Sprengel	55
4.3.1 Extração das partes aéreas e da casca da raiz	55
4.3.2 Isolamento dos constituintes das partes aéreas	56
4.3.3 Isolamento dos metabólitos da casca da raiz	58
4.4 <i>Gouania ulmifolia</i> Hook & Arnott	59
4.4.1 Extração e cromatografia	59

4.5 Dados sobre os metabólitos isolados de <i>Discaria americana</i> Gill & Hook (Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari), <i>Colletia paradoxa</i> Sprengel e <i>Gouania ulmifolia</i> Hook & Arnott	62
4.5.1 Alcalóides ciclopeptídicos	62
4.5.1.1 Adoutina Y, A16 (92)	62
4.5.1.2 Adoutina Y', A01 (47)	62
4.5.1.3 Franganina, A02 (66)	63
4.5.1.4 Frangulanina, S03 (67)	63
4.5.1.5 Discarina A, S04 (59)	64
4.5.1.6 Discarina B, A09 (58)	65
4.5.1.7 Discarina C, A04 (100)	65
4.5.1.8 Discarina D, A05 (101)	66
4.5.1.9 Miriantina A, A06 (105)	66
4.5.2 Ciclopeptídeos neutros	67
4.5.2.1 Discareno C, D02 (154)	67
4.5.2.2 Discareno D, D03 (155)	68
4.5.2.3 Discarina M, D01 (156)	68
4.5.2.4 Discarina N, D15 (157)	69
4.5.3 Degradação química dos ciclopeptídeos neutros	70
4.5.3.1 Hidrólise dos ciclopeptídeos neutros	70
4.5.3.2 Esterificação dos aminoácidos	70
4.5.3.3 N, ou N, O-trifluoracetilação	70
4.5.4 Triterpenóides	71
4.5.4.1 Ácido ursólico, J61 (194)	71
4.5.4.2 Lupeol, C06 (199)	71
4.5.4.3 Ácido betulínico, L02 (192)	72
4.5.4.4 Ácido ceanótico, J20 (193)	72
4.5.4.5 Ácido ziziberenálico, C15 (206)	73
4.5.4.6 Taraxerol, C09 (200)	73
4.5.4.7 Taraxerona, C11 (201)	74
4.5.4.8 seco-3,4 taraxerona, C64 (202)	74
4.5.4.9 Germanicol, C24 (203)	75
4.5.4.10 Germanicona, C12 (204)	75
4.5.4.11 seco-3,4-germanicona, C63 (205)	76

4.5.4.12	Ácido alfitólico, G41 (207)	76
4.5.4.13	Ácido 2-hidroxi-2-nor-20(29)-lupen-27,28-dióico, G44 (208)	77
4.5.4.14	Ácido 24-hidroxi-A(1)-nor-2,20(29)-lupadien-27,28-dióico, G45, (209)	77
4.5.5	Esteróides	78
4.5.5.1	β -sitosterol, L01 (195)	78
4.5.5.2	β -sitosterol glicosilado, L04 (196)	78
4.5.5.3	β -sitosterol 6'-O-acil glicosilado, L03 (197)	79
4.5.6	Éster ferúlico, J05 (198)	79
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
5.1.	Análise fitoquímica	80
5.1.1	<i>Discaria americana</i> Gill & Hook	80
5.1.1.1	Partes aéreas	80
5.1.1.1.1	Identificação do tripernóide L02	81
5.1.1.1.2	Identificação do tripernóide J20	84
5.1.1.1.3	Identificação do tripernóide J61	87
5.1.1.1.2	Identificação dos esteróides L01, L03 e L04	90
5.1.1.1.2	Identificação do ferulato J05	93
5.1.1.2	Casca da raiz	98
5.1.1.2.1	Alcalóides ciclopeptídicos	98
5.1.1.2.1.1	Alcalóide A02	99
5.1.1.2.1.2	Alcalóide S03	104
5.1.1.2.1.3	Alcalóide A01	109
5.1.1.2.1.4	Alcalóide S04	114
5.1.1.2.1.5	Alcalóide A09	118
5.1.1.2.1.6	Alcalóide A04	123
5.1.1.2.1.8	Alcalóide A06	128
5.1.1.2.1.7	Alcalóide A05	132
5.1.1.2.1.9	Alcalóide A16	137
5.1.1.2.2	Ciclopeptídeos Neutros	141
5.1.1.2.2.1	Identificação do ciclopeptídeo D02	141
5.1.1.2.2.1	Identificação do ciclopeptídeo D03	159
5.1.1.2.2.3	Identificação do ciclopeptídeo D01	176

5.1.1.2.2.3 Identificação do ciclopeptídeo D15	193
5.1.1.2.3 Análise da estereoquímica dos ciclopeptídeos D01, D02, D03 e D15	206
5.1.1.2.3.1 Estereoquímica do ciclopeptídeo discareno C (D02)	206
5.1.1.2.3.2 Estereoquímica do ciclopeptídeo discareno D (D03)	208
5.1.1.2.3.3 Estereoquímica do ciclopeptídeo discarina M (D01)	209
5.1.1.2.3.4 Estereoquímica do ciclopeptídeo discarina N (D15)	211
5.1.2 <i>Colletia paradoxa</i> Sprengel	213
5.1.2.1 Partes aéreas	213
5.1.2.1.1 Identificação do triterpenóide C06	213
5.1.2.1.2 Identificação do triterpenóide C09	216
5.1.2.1.3 Identificação do triterpenóide C11	219
5.1.2.1.4 Identificação do triterpenóide C64	222
5.1.2.1.5 Identificação do triterpenóide C24	225
5.1.2.1.6 Identificação do triterpenóide C12	228
5.1.2.1.7 Identificação do triterpenóide C63	231
5.1.2.2 Casca da raiz	240
5.1.2.2.1 Identificação do triterpenóide C15	240
5.1.3 <i>Gouania ulmifolia</i> Hook & Arnott	246
5.1.3.1 Partes aéreas	246
5.1.3.1.1 Identificação do metabólito codificado como G41	246
5.1.3.1.2 Identificação do triterpenóide codificado como G44	250
5.1.3.1.3 Identificação do triterpenóide codificado como G45	260
5. 2. Atividade antimicrobiana	270
5.2.1. Determinação da atividade antimicrobiana pelo método de bioautografia	271
5.2.2. Determinação da atividade antimicrobiana das partes aéreas de <i>Discaria americana</i>	272
5.2.3. Determinação da atividade antimicrobiana da casca da raiz de <i>Discaria americana</i>	276
5.2.4. Determinação da atividade antimicrobiana das partes aéreas de <i>Colletia paradoxa</i>	281
5.2.5. Determinação da atividade antimicrobiana da casca da raiz de <i>Colletia paradoxa</i>	284

5.2.6. Determinação da atividade antimicrobiana das partes aéreas de <i>Gouania ulmifolia</i>	286
6. CONCLUSÕES	289
7. ANEXOS	291

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Alcalóides ciclopeptídicos de treze membros do tipo numularina C	11
Tabela 02	Alcalóides ciclopeptídicos de treze membros do tipo zizifina A	12
Tabela 03	Alcalóides ciclopeptídicos de catorze membros do tipo frangulanina	13
Tabela 04	Alcalóides ciclopeptídicos de catorze membros do tipo frangulanina com aminoácido intermediário	15
Tabela 05	Alcalóides ciclopeptídicos de catorze membros do tipo integerrina	16
Tabela 06	Alcalóides ciclopeptídicos de catorze membros do tipo integerrina com aminoácido intermediário	17
Tabela 07	Alcalóides ciclopeptídicos de catorze membros do tipo amfibina F	17
Tabela 08	Alcalóides ciclopeptídicos de catorze membros do tipo Amfibina B	18
Tabela 09	Alcalóides ciclopeptídicos de catorze membros do tipo Pandamina	19
Tabela 10	Alcalóides ciclopeptídicos de quinze membros do tipo Mucronina A	19
Tabela 11	Ciclopeptídeos de catorze membros	20
Tabela 12	Ocorrência de alcalóides ciclopeptídicos	21
Tabela 13	Triterpenóides isolados na família Rhamnaceae	31
Tabela 14	Microrganismos indicadores	43
Tabela 15	Meios de cultura	44
Tabela 16	Quantidades de raiz, extrato bruto e frações de <i>D. americana</i>	47
Tabela 17	Cromatografia da fração básica etérea - <i>Discaria americana</i> - Santana do Livramento	48
Tabela 18	Cromatografia da fração básica etérea - <i>Discaria americana</i> – São Sepé	48

Tabela 19	Cromatografia da fração básica etérea - <i>Discaria americana</i> – Jaguari	49
Tabela 20	Cromatografia da fração ácida etérea - <i>Discaria americana</i> - Santana do Livramento	49
Tabela 21	Cromatografia da fração ácida etérea - <i>Discaria americana</i> – São Sepé	50
Tabela 22	Cromatografia da fração ácida etérea - <i>Discaria americana</i> – Jaguari	50
Tabela 23	Extratos metanólicos (E.M) e frações hexânicas (FNH), etéreas (FNE), acetato de etila (FNAE) e butanólicas (FNB) das partes aéreas de <i>D. americana</i>	52
Tabela 24	Cromatografia das frações hexânicas - <i>Discaria americana</i> – Partes Aéreas	53
Tabela 25	Cromatografia das frações etéreas - <i>Discaria americana</i> – Partes Aéreas - Santana do Livramento e São Sepé	54
Tabela 26	Cromatografia das fração etérea - <i>Discaria americana</i> – Partes Aéreas - Jaguari	54
Tabela 27	Metabólitos presentes nas frações AcOEt - <i>Discaria americana</i> – Partes Aéreas - Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari	55
Tabela 28	Quantidade de extrato obtido das partes aéreas e casca da raiz - <i>Colletia paradoxa</i>	56
Tabela 29	Cromatografia do extrato hexânico - Partes Aéreas - <i>Colletia paradoxa</i>	56
Tabela 30	Cromatografia do extrato dicloro metano - Partes Aéreas - <i>Colletia paradoxa</i>	57
Tabela 31	Cromatografia do extrato acetato de etila - Partes Aéreas - <i>Colletia paradoxa</i>	57
Tabela 32	Cromatografia do extrato hexânico - Casca da raiz - <i>Colletia paradoxa</i>	58
Tabela 33	Cromatografia do extrato dicloro metano - Casca da raiz - <i>Colletia paradoxa</i>	58

Tabela 34	Cromatografia do extrato acetato de etila - Casca da raiz - <i>Colletia paradoxa</i>	59
Tabela 35	Cromatografia do extrato hexânico - Partes Aéreas - <i>Gouania ulmifolia</i>	60
Tabela 36	Cromatografia do extrato dicloro metano - Partes Aéreas - <i>Gouania ulmifolia</i>	61
Tabela 37	Cromatografia do extrato acetato de etila - Partes Aéreas - <i>Gouania ulmifolia</i>	61
Tabela 38	Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C para discareno C, em CDCl_3 , a 400.13 MHz..	158
Tabela 39	Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de ^1H e ^{13}C para discareno D, em DMSO, a 400.13 MHz.	175
Tabela 40	Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C para discarina M, em DMSO, a 400.13 MHz.	192
Tabela 41	Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C para D15, em DMSO, a 400.13 MHz.	205
Tabela 42	Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de ^1H e ^{13}C para C63, em CDCl_3 , a 400.13 MHz.	239
Tabela 43	Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de ^1H e ^{13}C para G44, em acetona- d_6 , a 400.13 MHz	259
Tabela 44	Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de ^1H e ^{13}C para G45, em acetona- d_6 , a 400.13 MHz	269
Tabela 45	Concentração (μg) de cada substância padrão	272
Tabela 46	Atividade antimicrobiana e QIM dos extratos brutos metanólicos (EBM) das partes aéreas de <i>Discaria americana</i>	273
Tabela 47	Atividade antimicrobiana e QIM das frações hexânica, etérea e acetato de etila das partes aéreas de <i>Discaria americana</i>	274
Tabela 48	Atividade antimicrobiana e QIM dos metabólitos isolados das partes aéreas de <i>Discaria americana</i>	275
Tabela 49	Atividade antimicrobiana e QIM dos extratos brutos metanólicos (EBM) da casca da raiz de <i>Discaria americana</i>	277

Tabela 50	Atividade antimicrobiana e QIM das frações da casca da raiz de <i>Discaria americana</i>	278
Tabela 51	Atividade antimicrobiana e QIM dos metabólitos isolados da casca da raiz de <i>Discaria americana</i>	280
Tabela 52	Atividade antimicrobiana e QIM dos extratos obtidos das partes aéreas de <i>Colletia paradoxa</i>	281
Tabela 53	Atividade antimicrobiana e QIM dos metabólitos isolados das partes aéreas de <i>Colletia paradoxa</i>	283
Tabela 54	Atividade antimicrobiana e QIM dos extratos da casca da raiz de <i>Colletia paradoxa</i>	284
Tabela 55	Atividade antimicrobiana e QIM dos metabólitos isolados da casca da raiz de <i>Colletia paradoxa</i>	277
Tabela 56	Atividade antimicrobiana e QIM dos extratos das partes aéreas de <i>Gouania ulmifolia</i>	286
Tabela 57	Atividade antimicrobiana e QIM dos metabólitos isolados das partes aéreas de <i>Gouania ulmifolia</i>	288
Tabela 58	Parâmetros de aquisição dos experimentos de RMN de ^1H uni- e bidimensionais	291
Tabela 59	Parâmetros de aquisição dos experimentos de RMN de ^{13}C BB, DEPT 90° e DEPT 135	292
Tabela 60	Parâmetros de aquisição dos experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C bidimensionais	293
Tabela 61	Metabólitos isolados das partes aéreas de <i>Discaria americana</i> triterpenos e esteróides	294
Tabela 62	Metabólitos isolados da casca da raiz de <i>Discaria americana</i> triterpenos e esteróides	295
Tabela 63	Metabólitos isolados da casca da raiz de <i>Discaria americana</i> alcalóides	296
Tabela 64	Metabólitos isolados da casca da raiz de <i>Discaria americana</i> ciclopeptídeos	297
Tabela 65	Metabólitos isolados das partes aéreas e casca da raiz de <i>Colletia paradoxa</i>	298
Tabela 66	Metabólitos isolados das partes aéreas de <i>Gouania ulmifolia</i>	299

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	<i>Discaria americana</i> Gill. & Hook	02
Figura 02	<i>Colletia paradoxa</i> Sprengel	04
Figura 03	<i>Gouania ulmifolia</i> Hook & Arnott	05
Figura 04	Espectro de RMN de ^1H de L02, em CDCl_3 , a 400.13MHz	82
Figura 05	Espectro de RMN de ^{13}C de L02, em CDCl_3 , a 400.13MHz	82
Figura 06	Espectro DEPT 135° de L02, em CDCl_3 , a 400.13MHz	83
Figura 07	Espectro de RMN de ^1H de J20, em CDCl_3 , a 400.13MHz	85
Figura 08	Espectro de RMN de ^{13}C de J20, em CDCl_3 , a 400.13MHz	85
Figura 09	Espectro DEPT 135° de J20, em CDCl_3 , a 400.13MHz	86
Figura 10	Espectro de RMN de ^1H de J61, em CDCl_3 , a 400.13MHz	88
Figura 11	Espectro de RMN de ^{13}C de J61, em CDCl_3 , a 400.13MHz	88
Figura 12	Espectro DEPT 135° de J61, em CDCl_3 , a 400.13MHz	89
Figura 13	Espectro de RMN de ^{13}C de L01, em CDCl_3 , a 400.13MHz	91
Figura 14	Espectro de RMN de ^{13}C de L04, em CDCl_3 , a 400.13MHz	91
Figura 15	Espectro de RMN de ^{13}C de L03, em CDCl_3 , a 400.13MHz	92
Figura 16	Espectro de RMN de ^1H de J05, em CDCl_3 , a 400.13MHz	94
Figura 17	Espectro de RMN de ^{13}C de J05, em CDCl_3 a 100.32 MHz	94
Figura 18	Espectro DEPT 135° de J05, em CDCl_3 , a 100.32 MHz	95
Figura 19	Espectro COSY de J05, em CDCl_3 , a 400.13MHz	95
Figura 20	Espectro HMQC de J05, em CDCl_3 , a 400.13MHz	96
Figura 21	Espectro HMBC de J05, em CDCl_3 , a 400.13MHz	97
Figura 22	Espectro de RMN de ^1H de A02, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	99
Figura 23	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 4,10-7,67 ppm de A02, em CDCl_3 a 400 MHz	101
Figura 24	Espectro de RMN de ^{13}C de A02, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	103
Figura 25	Espectro de RMN de ^1H de S03, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	104
Figura 26	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 0,50-6,50 ppm de A02, em CDCl_3 a 400 MHz	106
Figura 27	Espectro de RMN de ^{13}C de S03, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	108
Figura 28	Espectro de RMN de ^1H de A01, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	109
Figura 29	Espectro de RMN de 2D, COSY de A01, em CDCl_3 a 400 MHz	111

Figura 30	Espectro de RMN de ^{13}C de S03, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	113
Figura 31	Espectro de RMN de ^1H de S04, em DMSO, a 400.13 MHz	114
Figura 32	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 0,50-4,0 ppm de S04, em DMSO a 400 MHz	116
Figura 33	Espectro de RMN de ^{13}C de S04, em DMSO, a 400.13 MHz	117
Figura 34	Espectro de RMN de ^1H de A09, em DCCl_3 a 400 MHz	118
Figura 35	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 2,50-7,50 ppm de A09, em DCCl_3 a 400 MHz	120
Figura 36	Espectro de RMN de ^{13}C de A09, em DCCl_3 a 400 MHz	122
Figura 37	Espectro de RMN de ^1H de A04, em DCCl_3 a 400 MHz	123
Figura 38	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 4,0-7,80 ppm de A04, em DCCl_3 a 400 MHz	125
Figura 39	Espectro de RMN de ^{13}C de A04, em DCCl_3 a 400 MHz	127
Figura 40	Espectro de RMN de ^1H de A06, em DCCl_3 a 400 MHz	128
Figura 41	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 4,0-7,90 ppm de A06, em DCCl_3 a 400 MHz	130
Figura 42	Espectro de RMN de ^{13}C de A06, em DCCl_3 a 400 MHz	131
Figura 43	Espectro de RMN de ^1H de A05, em DCCl_3 a 400 MHz	132
Figura 44	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 4,0-7,90 ppm de A05, em DCCl_3 a 400 MHz	134
Figura 45	Espectro de RMN de ^{13}C de A05, em DCCl_3 a 400 MHz	136
Figura 46	Espectro de RMN de ^1H de A16, em DCCl_3 a 400 MHz	137
Figura 47	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 0,0-3,90 ppm de A16, em DCCl_3 a 400 MHz	139
Figura 48	Espectro de RMN de ^{13}C de A16, em DCCl_3 a 400 MHz	140
Figura 49	Espectro de RMN de ^1H de D02 em CDCl_3 , a 400.13 MHz	142
Figura 50	Espectro expandido de RMN de ^1H , região entre δ 0,63-2,35 ppm de D02, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	143
Figura 51	Espectro expandido de RMN de ^1H , na região δ 3,51-5,94 ppm de D02, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	143
Figura 52	Espectro expandido de RMN de ^1H , na região δ 6,13-7,54 ppm de discareno C, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	144

Figura 53	Espectro de RMN de 2D, COSY de D02, em CDCl_3 a 400.13 MHz	145
Figura 54	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 4,10-6,77 ppm de D02, em CDCl_3 a 400 MHz	146
Figura 55	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 0,63-2,35 ppm de D02, em CDCl_3 a 400.13 MHz	147
Figura 56	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 7,14-7,54 ppm de D02, em CDCl_3 a 400.13 MHz	148
Figura 57	Espectro de RMN de 2D, NOESY de D02, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	149
Figura 58	Espectro expandido de RMN de 2D, NOESY, região δ 4,84-7,54 ppm de D02, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	150
Figura 59	Principais correlações observadas no espectro NOESY de D02	151
Figura 60	Espectro de RMN de ^{13}C de D02, em CDCl_3 a 100.32 MHz	152
Figura 61	Espectro de RMN de ^{13}C DEPT 135° de D02, em CDCl_3 a 100.32 MHz	152
Figura 62	Espectro 2D, heteronuclear $^1\text{J}_{\text{H-C}}$, HMQC de D02, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	153
Figura 63	Espectro expandido 2D, heteronuclear $^1\text{J}_{\text{H-C}}$, HMQC de D02, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	154
Figura 64	Espectro 2D, heteronuclear $^{2-3}\text{J}_{\text{H-C}}$, HMBC de D02, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	155
Figura 65	Principais correlações observadas no espectro HMBC de D02	156
Figura 66	Espectro expandido 2D, heteronuclear $^{2-3}\text{J}_{\text{H-C}}$, HMBC de D02, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	157
Figura 67	Espectro de RMN de ^1H de D03, em DMSO, a 400.13 MHz	160
Figura 68	Espectro expandido de RMN de ^1H , região entre δ 0,50-3,42 ppm de D03, em DMSO, a 400.13 MHz	161
Figura 69	Espectro expandido de RMN de ^1H , região δ 3,85-6,51 ppm de D03, em DMSO, a 400.13 MHz	162
Figura 70	Espectro expandido de RMN de ^1H , região δ 6,80-8,29 ppm de D03, em DMSO, a 400.13 MHz	163

Figura 71	Espectro de RMN de 2D, COSY de discareno D, em DMSO a 400.13 MHz.	163
Figura 72	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 0,85-6,51 ppm de D03, em DMSO a 400.13 MHz	164
Figura 73	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 2,51-8,19 ppm de D03, em DMSO a 400.13 MHz	165
Figura 74	Espectro de RMN de 2D, NOESY de D03, em DMSO a 400.13 MHz	166
Figura 75	Espectro expandido de RMN de 2D, NOESY, região δ 4,06-8,19 ppm de D03, em DMSO a 400 MHz	167
Figura 76	Principais correlações observadas no espectro NOESY de D03	168
Figura 77	Espectro de RMN de ^{13}C de D03, em DMSO a 100.32 MHz	169
Figura 78	Espectro expandido de RMN de ^{13}C de D03, região δ 119-140 ppm, em DMSO a 100.32 MHz	169
Figura 79	Espectro de ^{13}C DEPT 135° de discareno D, em CDCl_3 , a 100.32 MHz	170
Figura 80	Espectro 2D, heteronuclear $^1\text{J}_{\text{H-C}}$, HMQC de D03, em DMSO, a 400.13 MHz	171
Figura 81	Espectro expandido 2D, heteronuclear $^1\text{J}_{\text{H-C}}$, HMQC de D03, em DMSO, a 400.13 MHz	172
Figura 82	Principais correlações observadas no espectro HMBC de D03	173
Figura 83	Espectro 2D, heteronuclear $^{2-3}\text{J}_{\text{H-C}}$, HMBC de D03, em DMSO, a 400.13 MHz	174
Figura 84	Espectro de RMN de ^1H , D01, em DMSO, a 400.13 MHz	176
Figura 85	Espectro expandido de RMN de ^1H , região δ 0,54-2,42 ppm de D01, em DMSO, a 400.13 MHz	177
Figura 86	Espectro expandido de RMN de ^1H , região δ 3,83-4,83 ppm de D01, em DMSO, a 400.13 MHz	178
Figura 87	Espectro expandido de RMN de ^1H , região δ 5,84-8,45 ppm de D01, em DMSO, a 400.13 MHz	178
Figura 88	Espectro de RMN de 2D, COSY de D01, em DMSO a 400.13 MHz	179

Figura 89	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 3,75-8,45 ppm de D01, em DMSO a 400.13 MHz	180
Figura 90	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 0,5-3,75 ppm de D01, em DMSO a 400 MHz	182
Figura 91	Espectro de RMN de 2D, NOESY de D01, em DMSO, a 400.13 MHz	183
Figura 92	Espectro expandido de RMN de 2D, NOESY, região δ 0,41-4,95 ppm de D01, em DMSO, a 400.13 MHz	184
Figura 93	Espectro expandido de RMN de 2D, NOESY, região δ 4,47-8,45 ppm de D01, em DMSO, a 400.13 MHz	185
Figura 94	Principais correlações observadas no espectro NOESY de D01	186
Figura 95	Espectro de RMN de ^{13}C de D01, em DMSO, a 100.32 MHz	186
Figura 96	Espectro de ^{13}C DEPT 135° de D01, em DMSO, a 100.32 MHz	187
Figura 97	Espectro 2D, heteronuclear $^1\text{J}_{\text{H-C}}$, HMQC de D01, em DMSO, a 400.13 MHz.	188
Figura 98	Espectro 2D, heteronuclear $^{2-3}\text{J}_{\text{H-C}}$, HMBC de D01, em DMSO, a 400.13 MHz	189
Figura 99	Espectro expandido 2D, heteronuclear $^{2-3}\text{J}_{\text{H-C}}$, HMBC de D02, em DMSO, a 400.13 MHz	190
Figura 100	Principais correlações observadas no espectro HMBC de D01	191
Figura 101	Espectro de RMN de ^1H , D15, em DMSO, a 400.13 MHz	193
Figura 102	Espectro expandido de RMN de ^1H , região δ 5,54-8,42 ppm de D15, em DMSO, a 400.13 MHz	194
Figura 103	Espectro de RMN de 2D, COSY de D15, em DMSO a 400.13 MHz	195
Figura 104	Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 3,99-8,06 ppm de D15, em DMSO a 400.13 MHz	196
Figura 105	Espectro de RMN de 2D, NOESY de D15, em DMSO, a 400.13 MHz	198
Figura 106	Espectro expandido de RMN de 2D, NOESY, região entre δ 0,86-4,50 ppm de D15, em DMSO a 400.13 MHz	199

Figura 107	Principais correlações observadas no espectro NOESY de D15	199
Figura 108	Espectro de RMN de ^{13}C de discarina N, em DMSO a 100.32 MHz	200
Figura 109	Espectro DEPT 135°, de D15, em DMSO, a 100.32 MHz	200
Figura 110	Espectro 2D, heteronuclear $^1\text{J}_{\text{H-C}}$, HMQC de D15, em DMSO, a 400.13 MHz	201
Figura 111	Espectro expandido 2D, heteronuclear $^1\text{J}_{\text{H-C}}$, HMQC de D15, em DMSO, a 400.13 MHz	202
Figura 112	Principais correlações observadas no espectro HMBC de D15	203
Figura 113	Espectro 2D, heteronuclear $^{2-3}\text{J}_{\text{H-C}}$, HMBC de D15, em DMSO, a 400.13 MHz	203
Figura 114	Espectro expandido 2D, heteronuclear $^{2-3}\text{J}_{\text{H-C}}$, HMBC de D15, em DMSO, a 400.13 MHz	204
Figura 115	Determinação da configuração absoluta do aminoácido leucina no hidrolisado de discareno C	207
Figura 116	Determinação da configuração absoluta do aminoácido fenilalanina no hidrolisado de discareno D	208
Figura 117	Determinação da configuração absoluta do aminoácido leucina no hidrolisado de discarina M	210
Figura 118	Determinação da configuração absoluta do aminoácido <i>treo</i> -fenilserina no hidrolisado de discarina N	211
Figura 119	Espectro de RMN de ^1H C06, em CDCl_3 , a 400.13MHz	214
Figura 120	Espectro de RMN de ^{13}C de C06, em CDCl_3 a 100.32 MHz	215
Figura 121	Espectro DEPT 135° de C06, em CDCl_3 a 100.32 MHz	215
Figura 122	Espectro de RMN de ^1H de C09, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	217
Figura 123	Espectro de RMN de ^{13}C C09, em CDCl_3 a, 100.32 MHz	218
Figura 124	Espectro DEPT 135° de C09, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	218
Figura 125	Espectro de RMN de ^1H de C11, em CDCl_3 a 100.32 MHz	220
Figura 126	Espectro de RMN de ^{13}C de C11, em CDCl_3 a 100.32 MHz	221
Figura 127	Espectro DEPT 135° de C11, em CDCl_3 a 100.32 MHz	221
Figura 128	Espectro de RMN de ^1H de C64, em CDCl_3 , a 400.13 MHz	223
Figura 129	Espectro de RMN de ^{13}C de C64, em CDCl_3 a 100.32 MHz	224

Figura 130	Espectro DEPT 135° de C63, em CDCl ₃ a 100.32 MHz	224
Figura 131	Espectro de RMN de ¹ H de C24, em CDCl ₃ , a 400.13 MHz	226
Figura 132	Espectro de RMN de ¹³ C de C24, em CDCl ₃ a 100.32 MHz	227
Figura 133	Espectro DEPT 135° de C24, em CDCl ₃ a 100.32 MHz	227
Figura 134	Espectro expandido de RMN de ¹ H, na região δ 0,50- 2,90 ppm, de C12, em CDCl ₃ , a 400.13 MHz	229
Figura 135	Espectro de RMN de ¹³ C de C12, em CDCl ₃ a 100.32 MHz	230
Figura 136	Espectro DEPT 135° de C12, em CDCl ₃ a 100.32 MHz	230
Figura 137	Principais correlações observadas no espectro HMBC de C63	233
Figura 138	Espectro de RMN de ¹ H de C63, em CDCl ₃ , a 400.13 MHz	234
Figura 139	Espectro de RMN de ¹ H de C63, expandido 0,5-2,5 ppm, em CDCl ₃ , a 400.13 MHz	234
Figura 140	Espectro de RMN 2D COSY de C63, em CDCl ₃ , a 400.13 MHz	235
Figura 141	Espectro de RMN de ¹³ C de C63, em CDCl ₃ , a 100.32 MHz	236
Figura 142	Espectro DEPT 135° de C63, em CDCl ₃ a 100.32 MHz	236
Figura 143	Espectro DEPT 90° de C63, em CDCl ₃ a 100.32 MHz	237
Figura 144	Espectro de RMN 2D HMQC de C63, em CDCl ₃ a 100.32 MHz	237
Figura 145	Espectro de RMN 2D HMBC de C63, em CDCl ₃ a 100.32 MHz	238
Figura 146	Espectro de RMN de ¹ H de C15, em CDCl ₃ , a 400.13 MHz	242
Figura 147	Espectro de RMN de ¹³ C de C15, em CDCl ₃ , a 400.13 MHz	243
Figura 148	Espectro DEPT 135° de C15, em CDCl ₃ , a 400.13 MHz	243
Figura 149	Espectro de RMN 2D HMQC de C15, em CDCl ₃ a 100.32 MHz	244
Figura 150	Espectro de RMN 2D HMBC de C15, em CDCl ₃ a 100.32 MHz	245
Figura 151	Espectro de RMN de ¹ H de G41, em CDCl ₃ , a 400.13MHz	248
Figura 152	Espectro de RMN de ¹³ C de G41, em CDCl ₃ , a 400.13MHz	248
Figura 153	Espectro RMN DEPT 135° de G41, em CDCl ₃ , a 400.13MHz	249
Figura 154	Principais correlações observadas no espectro HMBC de G44	252

Figura 155	Espectro de RMN de ^1H G44, em acetona- d_6 , a 400.13MHz	253
Figura 156	Espectro de RMN de ^1H G44, expandido 0,8-2,5 ppm, em acetona- d_6 , a 400.13MHz	253
Figura 157	Espectro RMN 2D COSY de G44, em acetona- d_6 , a 400.13MHz	254
Figura 158	Espectro de RMN 2D NOESY de G44, em acetona- d_6 a 400.13 MHz	255
Figura 159	Espectro de RMN de ^{13}C de G44, em acetona- d_6 , a 100.32 MHz	256
Figura 160	Espectro RMN DEPT 135° de G44, em acetona- d_6 , a 100.32 MHz	256
Figura 161	Espectro RMN 2D HMQC de G44, em acetona- d_6 , a 400.13MHz	257
Figura 162	Espectro RMN 2D HMBC de G44, em acetona- d_6 , a 400.13MHz	258
Figura 163	Principais correlações observadas no espectro HMBC de G45	262
Figura 164	Espectro de RMN de ^1H de G45, em acetona- d_6 , a 400.13MHz	263
Figura 165	Espectro de RMN de ^1H G45, expandido δ 0,80-2,60 ppm, em acetona- d_6 , a 400.13MHz	263
Figura 166	Espectro de RMN 2D COSY de G45, em acetona- d_6 a 400.13 MHz	264
Figura 167	Espectro de RMN 2D NOESY de G45, em acetona- d_6 a 400.13 MHz	265
Figura 168	Espectro de RMN de ^{13}C de G45, em acetona- d_6 , a 100.32 MHz	266
Figura 169	Espectro RMN DEPT 135° de G45, em acetona- d_6 a 100.32 MHz	266
Figura 170	Espectro RMN 2D HMQC de G45, em acetona- d_6 a 100.32 MHz	267
Figura 171	Espectro RMN 2D HMBC de G45, em acetona- d_6 a 100.32 MHz	268

- Figura 172** Quantidade mínima (μg) do EBM das partes aéreas de *D. americana* (Jaguari) requerida para inibição de *Salmonella setubal* 273
- Figura 173** Quantidade mínima (μg) do EBM das partes aéreas de *D. americana* (Jaguari) requerida para inibição de *Staphylococcus epidermidis* 273
- Figura 174** Quantidade mínima (μg) da fração neutra etérea das partes aéreas de *D. americana* (Jaguari) requerida para inibição de *Bacillus subtilis* 274
- Figura 175** Quantidade mínima (μg) da fração neutra etérea das partes aéreas de *D. americana* (Jaguari) requerida para inibição de *Salmonella setubal* 274
- Figura 176** Quantidade mínima (μg) do ácido ceanótico (**193**) requerida para inibição de *Staphylococcus epidermidis* 275
- Figura 177** Quantidade mínima (μg) do ácido ceanótico (**193**) requerida para inibição de *Klebsiella pneumoniae* 275
- Figura 178** Quantidade mínima (μg) do EBM da casca da raiz de *D. americana* (Jaguari) requerida para inibição de *Escherichia coli* 277
- Figura 179** Quantidade mínima (μg) do EBM da casca da raiz de *D. americana* (Santana do Livramento) requerida para inibição de *Candida albicans* 277
- Figura 180** Quantidade mínima (μg) da FBE de *D. americana* (Jaguari) requerida para inibição de *Bacillus subtilis* 279
- Figura 181** Quantidade mínima (μg) da FBE de *D. americana* (Jaguari) requerida para inibição de *Klebsiella pneumoniae* 279
- Figura 182** Quantidade mínima (μg) de discarina A (**57**) requerida para inibição de *Bacillus subtilis* 280
- Figura 183** Quantidade mínima (μg) de discarina B (**58**) requerida para inibição de *Klebsiella pneumoniae* 280
- Figura 184** Quantidade mínima (μg) do extrato DCM das partes aéreas de *C. paradoxa* requerida para inibição de *Staphylococcus aureus* 281

Figura 185	Quantidade mínima (μg) do extrato AcOEt das partes aéreas de <i>C. paradoxa</i> requerida para inibição de <i>Escherichia coli</i>	281
Figura 186	Quantidade mínima (μg) do ácido ceanótico (193) requerida para inibição de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	283
Figura 187	Quantidade mínima (μg) de seco-3,4-germaniconona (205) requerida para inibição de <i>Bacillus subtilis</i>	283
Figura 188	Quantidade mínima (μg) do extrato DCM requerido para inibição de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	284
Figura 189	Quantidade mínima (μg) do extrato AcOEt requerido para inibição de <i>Staphylococcus aureus</i>	284
Figura 190	Quantidade mínima (μg) do ácido ziziberenólico (206) requerido para inibição de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	285
Figura 191	Quantidade mínima (μg) de seco-3,4-germaniconona (205) requerida para inibição de <i>Staphylococcus aureus</i>	285
Figura 192	Quantidade mínima (μg) do extrato DCM requerida para inibição de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	287
Figura 193	Quantidade mínima (μg) do extrato DCM requerido para inibição de <i>Escherichia coli</i>	287
Figura 194	Quantidade mínima (μg) do ácido alfitólico (207) requerida para inibição de <i>Staphylococcus aureus</i>	288
Figura 195	Quantidade mínima (μg) do ácido alfitólico (207) requerida para inibição de <i>Salmonella setubal</i>	288
Figura 196	Quantidade mínima (μg) de G44 (208) requerida para inibição de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	288
Figura 197	Quantidade mínima (μg) de G45 (209) requerida para inibição de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	288

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 01	Biossíntese de terpenos	36
Esquema 02	Ciclização do esqualeno	37
Esquema 03	Ciclização do 2,3-epóxi-esqualeno	38
Esquema 04	Ciclização do 2,3, 22,23-diepóxi-esqualeno	39
Esquema 05	Conversão do esqualeno em epóxi-lanosterol	40
Esquema 06	Fracionamento ao qual os extratos brutos da casca da raiz de <i>D. americana</i> (Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari) foram submetidos	47
Esquema 07	Fracionamento ao qual os extratos metanólicos da casca da raiz de <i>D. americana</i> (Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari) foram submetidos	51
Esquema 08	Fracionamento ao qual os extratos metanólicos das partes aéreas de <i>D. americana</i> (Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari) foram submetidos	52
Esquema 09	Extração das partes aéreas e casca da raiz de <i>C. paradoxa</i>	55
Esquema 10	Extração das partes aéreas de <i>G. ulmifolia</i>	60
Esquema 11	Degradação química dos ciclopeptídeos neutros	70

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

δ	Deslocamento químico
J	Constante de acoplamento
λ	Comprimento de onda
μg	Micro grama
ATCC	American Type Culture Collection
BB	Espectro de Carbono Totalmente Desacoplado
$^{\circ}\text{C}$	Grau Celcius
CC	Cromatografia em Colunas
CCD	Cromatografia em camada delgada
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CG	Cromatografia gasosa
CG-EM	Cromatografia gasosa - Espectroscopia de massas
COSY	Correlated spectroscopy
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
EI	Ionização eletrônica
EM	Espectroscopia de massas
ev	elétron-volt
FAB	Fast atom bombardment
FDA	Food and Drug Administration
IV	Infra Vermelho
HMBC	Heteronuclear multiple-bond correlation
HMQC	Heteronuclear multiple-quantum correlation
DC	Dicroísmo circular
Hz	Hertz
m	Multiplete
mg	miligramas
$M + H^{+}$	Íon molecular mais um próton
m/z	Relação massa / carga
NOESY	Nuclear overhauser enhancement spectroscopy
NPPN	Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais
P.	Página

ppm	Parte por milhão
R_f	Fator de retenção
RMN	Ressonância magnética nuclear
s	singleto
t	Tripleto
TMS	Tetrametilsilano
TSA	Trypticase Soy Agar
UFSM	Universidade Federal de Santa Maria
UI	Unidades Internacionais
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
URI	Universidade Integrada do Alto Uruguai de das Missões
USP	United States Pharmacopeia
UV	Ultravioleta

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto a espécie humana. Ainda hoje plantas são usadas como o único recurso terapêutico de uma parcela da população brasileira e de mais de 2/3 da população do planeta. Dessa forma, usuários de plantas de todo mundo mantêm em voga a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas as informações terapêuticas que foram acumuladas durante séculos.

Esse tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como por exemplo a etnobotânica, farmacologia e fitoquímica. A etnobotânica tem contribuído na descoberta de agentes biologicamente ativos, tradicionalmente empregados ou observados por determinado agrupamento humano. Por outro lado, a farmacologia busca resultados que possam validar ou não o uso da planta como medicinal. A investigação fitoquímica permite o conhecimento dos constituintes químicos bioativos (ou não), presentes em cada espécie vegetal.

Dentro deste contexto, o grupo do Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais (NPPN), cujo diretor é o Prof. Dr. Ademir F. Morel, vem contribuindo não somente para a fitoquímica clássica (isolamento e determinação estrutural), mas também realizando trabalhos que envolvem atividade biológica de plantas que apresentem algum tipo de uso na medicina popular. Como integrante deste Grupo, buscando envolver etnobotânica, fitoquímica e atividade biológica, tive a oportunidade de realizar o projeto de doutorado em química de produtos naturais com plantas pertencentes à família das Rhamnaceae.

Dentre as várias plantas empregadas na medicina popular brasileira, as pertencentes à família das Rhamnaceae são largamente empregadas na cura de várias moléstias como doenças de pele, desenteria, agente antitérmico, hipertensão arterial e vários tipos de infecções.¹⁻⁹

1. Bandoni, A.L., Mendiondo, M.E., Rondina, R.V.D., Coussio J.D., 1976. *Economic Botany* 30, 161

2. Bertho, A. and Liang, W.S. *Arch.*, 1933. *Pharm* 271, 273

3. Correa, M.P., 1978. *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Inst. Bras. de Desenv. Florestal. Rio de Janeiro. 5, 568

4. Davyt, D., Dellacassa, E., Ferreira, P., Menendez, P., Moyna, P., Vazquez, A., 1991. *Fitoterapia* 62, 519

5. Kelein, K.F. and Rapoport, H., 1968. *J. Chem. Soc.* 90 (9), 2398

6. Jung, G.; Sartor, J. F.; Ver., 1986. *Inst. Antib.* 23, 27

7. Reissek, S., Martius, C.F.R., 1861. *Flora Brasiliensis*, 11, 100

8. Shah, A.H., Pandey, V.B., Eckhardt, G., and Tschesche, R., 1985. *Phytochemistry* 24, 2768

9. Záchia, N.R.B., Moraes, D., 1999. *Pesquisas Botânicas* 49, 121

As plantas desta família, alvo deste estudo pertencem aos gêneros *Discaria*, *Colletia* e *Gouania*, sendo encontradas em formações vegetais nativas do Rio Grande do Sul. As principais classes de constituintes químicos característicos destes gêneros são alcalóides ciclopeptídicos,¹⁰⁻²¹ ciclopeptídeos,^{22,23} flavonóides, antocianinas, taninos, esteróides, triterpenóides e saponinas.^{1,4,24-26}

Discaria americana Gill. & Hook (Figura 1) é conhecida vulgarmente como brusca, quina-do-brasil, quina-do-rio-grande (Brasil); brusquilla (Argentina); coronillo-del-campo e quina-del-campo (Uruguai). As cascas de suas raízes são utilizadas na medicina popular como agente antitérmico, no tratamento das doenças de pele, contra afecções do estômago e diabetes e como um tônico, sob forma de chás e infusões.^{1,3,4,7,9}



Figura 1. *Discaria americana* Gill. & Hook

-
10. Mascaretti, O.A., Merkuza, V.M., Ferraro, G.E., Ruveda, E.A., Chang, C.-J., Wenkert, E., 1972. *Phytochemistry* 11, 1133
 11. Silva, M., Bhakuni, D., Sammes, P.G., 1974. *Phytochemistry* 13, 861
 12. Tschesche, R., Hillebrand, D., Bick, I.R.C., 1980. *Phytochemistry* 19, 1000
 13. Digel, M., Morel, A., Layer, H., Biermann, J., Voelter, W., 1983. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 364, 1641
 14. Herzog, R., Morel, A.F., Biermann, J., Voelter, W., 1984. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 365, 1351
 15. Herzog, V.R., Morel, A.F., Biermann, J., Voelter, W., 1984. *Chemiker-Zeitung* 108, 406
 - 16 - Morel, A., Herzog, R., Biermann, J., Voelter, W., 1984. *Zeitschrift für Naturforschung* 39B, 1825
 17. Morel, A.F., Herzog, R., Voelter, W., 1985. *Chimia* 39, 98
 18. Hennig, P., Morel, A.F., Voelter, W., 1986. *Zeitschrift für Naturforschung* 41b, 1180
 19. Voelter, W. 1987. *Zeitschrift für Naturforschung* 42, 467
 20. Morel, A.F., Machado, E.C., Wessjohann, L.A., 1995. *Phytochemistry* 39, 431
 21. Machado, E.C., Filho, A.A., Morel, A.F., 1995. *Journal of Natural Products* 58, 548
 22. Giacomelli, S.R., Missau, F.C., Mostardeiro, M.A., Silva, U.F., Dalcol, I.I., Zanatta, N., Morel, A.F., 2001. *Jour. of Nat. Prod.* 64, 997
 23. Giacomelli, S.R., Maldaner, G., Gonzaga, W.A., Garcia, C.M., Silva, U.F., Dalcol, I.I., and Morel, A.F., 2004. *Phytochemistry*, 65, 933
 24. Kennelly, E.J., Lewis, W.H., Winter, R.E.K., Johnson, S., Elvin-Lewis, M. and Gossling, J., 1993. *Journal of Natural Products* 56, 402
 25. Sheela, P.N. and Rao, J.M., 1993. *Phytochemistry* 33, 711
 26. Moyna, P., Heinzen, H., Laborde, E. and Ramos, G., 1983. *Phytochemistry* 22, 1283

Uma revisão taxonômica do gênero *Discaria* realizada por Tortosa e colaboradores permitiu que nove espécies de *Discaria* (*Discaria febrifuga* Martius, 1843, *Discaria longispina* (Hook. Et Arn.) Meires, 1860, *Discaria lycioides* Meires, *Discaria lycioides* var. *exilis* Meires, *Discaria spiculata* Meires, *Discaria spiculata* var. *gracilenta* Meires, *Discaria longispina* (Hook. Et Arn.) Meires var. *foliosa* Grisebach, 1879, *Discaria exilis* (Meires) Herter, 1957 e *Discaria gracilenta* (Meires) Herter, assim como duas *Colletias* (*Colletia longispina* Hooker et Arnott, em Hooker, 1833 e *Colletia longispina* var. *foliosa* Hooker et Arnott, 1877), fossem reagrupadas como sinonímias de *Discaria americana* Gilles & Hooker, 1830. A chave analítica para identificação dessa espécie vegetal foi elaborada a partir da análise qualitativa e quantitativa dos caracteres vegetativos e reprodutivos observados em seu habitat natural e avaliação do material botânico depositado nos herbários do Brasil, Argentina e Uruguai.²⁷

27. Tortosa, R.D., 1983. Boletín de la sociedad Argentina de Botánica 22, 301

A espécie *Colletia paradoxa* Sprengel (Figura 2), conhecida popularmente como espinho de cruz, quina-de-porto-alegre (Brasil), barba-de-tigre, espina de la cruz, quina (Uruguai), curro, curru, cura-manuel (Argentina), tem sido usada na medicina popular em substituição a *Discaria americana*,²⁶ como purgante e antiespasmódica.^{9,28} Uma revisão taxonômica do gênero *Colletia* permitiu propor que as espécies descritas como *Colletia cruciata* Gilles & Hook, *Colletia bictonensis* Lindl e *Colletia exserta* Klotzsch fossem consideradas sinônimas de *Colletia paradoxa* Sprengel.²⁹ Poucos estudos fitoquímicos e farmacológicos têm sido relatados na literatura sobre a espécie em questão.



Figura 2. *Colletia paradoxa* Sprengel

28. Reitz, P.R., 1972. Parte I: As Plantas. Ramnáceas 22-28. Itajaí - Santa Catarina – Brasil

29. Bastos-Záchia, N.R.B., Moraes, D., 1999. Pesquisas Botânicas 49, 121

Gouania ulmifolia Hook & Arnott (Figura 3), apresenta-se como trepadeira lenhosa, ocorre no sul do Brasil, Paraguai, Uruguai e mesopotâmia Argentina, sendo conhecida popularmente como jacareí (Brasil).³⁰ Embora seja indicada apenas a espécie *G. ulmifolia* para o Rio Grande do Sul, este gênero, além de grande, é de difícil identificação das espécies, devido ao fato de não haver nenhuma revisão ou estudo mais aprofundado sobre as características morfológicas que diferenciam uma espécie da outra. Aliado a este fato, além da ausência de estudos químicos e farmacológicos sobre esta espécie nos motivou a estudá-la, visando contribuir para sua fitoquímica, quimiotaxonomia e farmacologia.



Figura 3. *Gouania ulmifolia* Hook & Arnott

30. Bastos, N.R., 1990. Pesquisas Botânicas 41, 99

2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo principal o estudo de plantas pertencentes a família Rhamnaceae do gênero *Discaria*, *Colletia* e *Gouania*, e como objetivos específicos:

- a) Extração, separação e purificação dos constituintes químicos com alto grau de pureza, da raiz e partes aéreas das plantas selecionadas;
- b) Identificação estrutural dos metabólitos isolados utilizando-se de técnicas de análise tais como: espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C unidimensional e bidimensionais (NOESY, COSY ^1H - ^1H , HMQC e HMBC), além de comparação com dados da literatura;
- c) Determinação da estereoquímica dos centros quirais dos aminoácidos presentes na estrutura dos ciclopeptídeos, através de RMN de ^1H homonuclear bidimensionais NOESY e por hidrólise e análise CG enantioseletiva;
- d) Realização de ensaios para determinar a atividade antimicrobiana, através da técnica de bioautografia, dos extratos, frações e das substâncias isoladas em suas formas puras.

3. REVISÃO DA LITERATURA

A família Rhamnaceae compreende 58 gêneros com aproximadamente 900 espécies em todo mundo. Na América do Sul, são encontradas cerca de 93 espécies. Dentre as mais importantes cita-se, as pertencentes aos gêneros *Discaria*, *Colletia*, *Gouania*, *Condalia*, *Colubriana*, *Ziziphus*, *Crumenaria*, *Kentrothamnus*, *Retanilla*, *Rhamnus*, *Sageretia* e *Scutia*.

Morfologicamente, apresentam-se como plantas que podem ser árvores, arbustos, subarbustos lianas, inerme ou armados. Essas espécies habitam principalmente ambientes de formações vegetais campestres ou florestais.^{29,30}

3.1 *Discaria americana* Gill. & Hook

A grande diversidade de espécies de *Discaria* (*D. americana* Gill & Hook, *D. articulata* Meirs, *D. chacaye* Tort., *D. nana* Weberb. e *D. trinervis* Reiche) encontradas na América do Sul, principalmente nos sistemas montanhosos do sudoeste, indicam esta região como centro de origem do gênero. *D. americana* é a única encontrada no Brasil, nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, além de ocorrer no Uruguai e na Argentina.⁹

Discaria americana encontra-se entre as plantas brasileiras que necessitam de um estudo fitoquímico mais aprofundado devido a seu uso na medicina popular em determinadas regiões do Rio Grande do Sul. Esta espécie destaca-se por ser rica em substâncias pertencentes à classe dos alcalóides ciclopeptídicos¹⁴⁻²¹ e ciclopeptídeos.^{22, 23} Estes fatos, associados à necessidade de um estudo mais aprofundado acerca dessas estruturas peptídicas, impulsionaram para o desenvolvimento de uma nova pesquisa a respeito desta planta.

3.2 *Colletia paradoxa* Sprengel

A descrição do gênero *Colletia* foi publicada por Jussieu em 1789 na sua obra *Genera Plantarum*. Durante vários anos, plantas pertencentes a esse gênero foram classificadas equivocadamente como pertencentes ao gênero *Discaria*. Em uma revisão do gênero *Colletia*, realizada por Tortosa em 1982, foram classificadas apenas cinco espécies deste gênero como de ocorrência na América do Sul: *C. paradoxa*, *C. spinosissima*, *C. hystrix*, *C. ulicina* e *C. spatioides*.

Colletia paradoxa caracteriza-se como um arbusto de porte arbóreo, lenhoso, cor verde oliva, às vezes acinzentado, com ramos ascendentes ou laxos. Possui espinhos que variam de 0,7-4,0 cm de comprimento, normalmente achatados na base, ápice agudo de cor escura. Floresce de outubro a janeiro e frutifica em junho. Este arbusto ocorre na região sul do Brasil, nos estados do Rio Grande Sul e Santa Catarina, na costa do Uruguai e no sudoeste da Província de Buenos Aires (Argentina). Habita preferencialmente solos pedregosos e arenosos, ladeiras rochosas, morros baixos e margens de rios e arroios.⁹

Poucos estudos químicos sobre *C. paradoxa* têm sido descritos, podendo-se citar a presença de triterpenóides e esteróides, nas partes aéreas e raízes.²⁶ Devido seu uso na medicinal popular, torna-se interessante não somente uma investigação fitoquímica, mas a realização de ensaios farmacológicos dos extratos e das substâncias isoladas de *C. paradoxa* visando justificar suas ações farmacológicas descritas na medicina popular.

3.3 *Gouania ulmifolia* Hook & Arnott.

O gênero *Gouania* foi descrito por Jacquin em 1763, sendo o nome adotado em homenagem ao botânico francês Antoine Gouän. Esse gênero possui de 30 a 50 espécies, sendo a maior parte delas no Novo Mundo, além de ocorrer também na Ásia, Madagáscar, Ilhas do Oceano Índico, África e Nova Caledônia.

Na América do Sul estão registradas em torno de 30 espécies, de ocorrência, desde a Venezuela, passando pela Colômbia e pelas Guianas, até o Norte da Argentina. No Brasil ocorrem cerca de 17 espécies distribuídas em todo território.

No Rio Grande do Sul ocorre apenas a espécie *G. ulmifolia*, tendo sido encontrada ao norte, leste e centro do estado, geralmente trepando sobre árvores

de matas primárias, na beira de arroios ou em pequenas matas campestres, em solos normalmente úmidos.²⁸

Estudos fitoquímicos realizados com plantas pertencentes ao gênero *Gouania* indicam que as mesmas são constituídas principalmente de triterpenóides e saponinas.^{24, 25}

3.4 Alcalóides ciclopeptídicos

Alcalóides ciclopeptídicos são comuns em plantas da família Rhamnaceae, sendo também encontrados em algumas espécies de outras famílias como, por exemplo, Sterculiaceae, Urticaceae, Pandaceae, Rubiaceae, Hymenocardiaceae, Celastraceae (Tabela 12).³¹ Eles são encontrados nas folhas, flores, casca da raiz, tronco de árvore e sementes, mas são muitas vezes difíceis de serem isolados, por estarem presentes em pequenas quantidades. O rendimento desses metabólitos, em relação ao material seco da planta, varia de 0,01 a 0,09% e depende de fatores, tais como, método de isolamento, região de crescimento e a maturidade da planta.³²

O termo alcalóide peptídico foi primeiramente proposto por Goutarel *et al.*,³³ em 1964. Mais tarde, Tschesche³² sugeriu a denominação "**alcalóide ciclopeptídico**", como sendo uma designação mais adequada, considerando que essas bases, com uma única exceção, lasiodina A (**1**),³⁴ apresentam um anel macrociclo em sua estrutura (sistema *ansa*). Posteriormente, em 1985 Joullie e Nutt³⁵ dividiram estes compostos em três grupos: alcalóides ciclopeptídicos genuínos (*stricto sensu*), alcalóides lineares e ciclopeptídeos neutros. Os alcalóides ciclopeptídicos *stricto sensu* e os ciclopeptídeos neutros também podem ser classificados de acordo com o número de átomos que fazem parte do macrociclo em: treze (Tabela 1 e 2), catorze (Tabela 3-9) ou quinze membros (Tabela 10). Algumas vezes entre as unidades A e B ocorre um aminoácido adicional (intermediário) e é designado como E.

A classe de substâncias descrita inicialmente como ciclopeptídeos neutros, em analogia aos alcalóides ciclopeptídicos, não apresenta a unidade *N,N*-dimetil em sua estrutura. Isto tem causado divergências quanto à sua

31. Gournelis, D. C.; Laskaris, G. G and Verpoorte, R., 1997. Natural Product Reports 82, 75

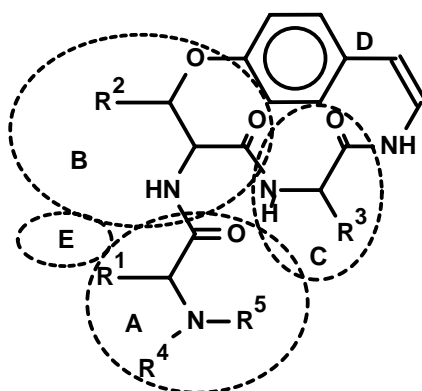
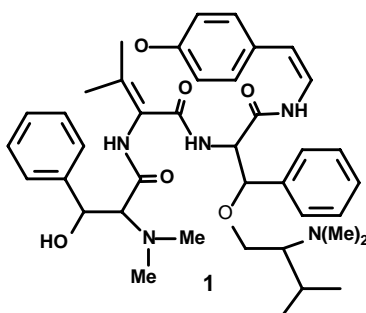
32. Tschesche, R. and Kaussman, E. U., 1975. The Alkaloids, Vol. 15, Manske (Ed.) Academic Press, New York, N. Y., 165

33. Pais, M.; X. Monseur, X. Lusinchi and R. Goutarel, 1964. Bull. Soc. Chim. France 817

34. Marchand, J.; Pais, M.; Monseur, X.; and Jarreau, F.X., 1969. Tetrahedron 25, 937

35. Joullie, M.M., Nutt, R.F., 1984. Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives, ed. Pelletier, S.W., Wiley, New York, 3, 113

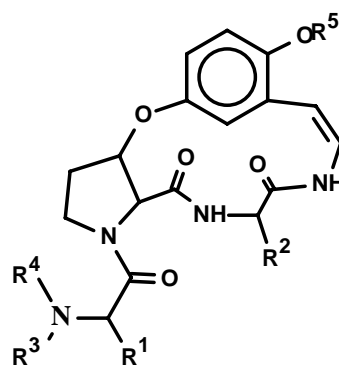
classificação (Tabela 11).^{22,31} Nos poucos trabalhos acerca do assunto, as estruturas desses metabólitos foram publicadas como sendo ciclopeptídeos neutros, o que os diferencia dos alcalóides ciclopeptídicos, por não apresentarem o grupo básico que caracteriza um alcalóide. Recentemente, alguns periódicos reconhecem estas estruturas como sendo alcalóides,²³ talvez por serem obtidos, na biossíntese, de aminoácidos.



- A = aminoácido terminal básico
- B = *b*-hidróxi aminoácido
- C = aminoácido ligado ao anel
- D = unidade hidróxi estirilamina
- E = aminoácido adicional

Estrutura básica dos alcalóides ciclopeptídicos

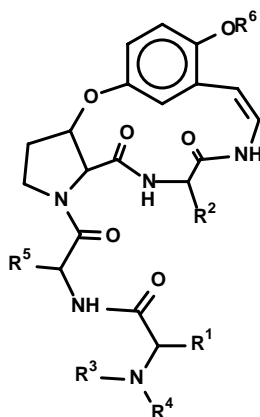
Tabela 1: Alcalóides ciclopeptídicos de treze membros do tipo numularina C



Alcalóide	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	Ref
2 Alcalóide 2	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	36
3 Daechuina S6	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	37
4 Daechuina S7	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	CH ₃	CH ₃	37
5 Daechuina S10	CH ₂ C ₈ H ₆ N	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	37
6 Daechuina S26	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	37
7 Lotusina F	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	CH ₃	H	38
8 Nummularina C	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	CH ₃	CH ₃	39
9 Nummularina R	CH ₂ C ₈ H ₆ N	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	40
10 Nummularina S	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₂ C ₆ H ₅	H	H	CH ₃	41
11 Nummularina S10	CH ₂ C ₈ H ₆ N	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	37
12 Paliurina E	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	42
13 Rugosanina B	CH ₂ C ₈ H ₆ N	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	CH ₃	CH ₃	43
14 Sativnina G	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	44
15 Sativanina K	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	CHO	CH ₃	45
16 Tscheschamina	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	H	H	CH ₃	46

36. Barboni, L., Gariboldi, P., Torregiani, E., Verotta, L., 1994. *Phytochemistry* 35, 1579
37. Han, H.B., Park, M.H., and Park, J.H., 1989. *Pure & Appl. Chem.* 61, 443
38. Ghedira K. Chemli, R., Caron, C., Nuzillard, J.-M., Zeches, M., and Le Men-Oliveir, L., 1995. *Phytochemistry* 38, 767
39. Tschesche, R., Elgamal, M., Miana, G.A., and Eckhardt, G., 1974. *Chem. Ber.* 107, 3180.
40. Devi, S., Pandey, V.B., Singh, J.P., and Shah, A.H., 1987. *Phytochemistry* 26, 3374
41. Shah, A.H., Khan, R.M.A., Maurya, S.K., and Singh, V.P., 1989. *Phytochemistry* 28, 305
42. Lin, H., Chen, C-H., You, B-J., Liu, K.C.S., and Lee, S-S., 2000. *Journal of Natural Products* 63, 1338
43. Tripathi, Y.C., Maurya, S.K., Singh, V.P., and Pandey, V.B., 1989. *Phytochemistry* 28, 1563
43. Shah, A.H.; Pandey, V.B., Eckhardt, G., Tschesche, R., 1985. *Phytochemistry* 23, 931
45. Shah, A.H., Al-Yahya, M.A., Devi, S., and Pandey, V.B., 1987. *Phytochemistry* 26, 1230
46. Shah, A.H., Pandey, V.B., Eckhardt, G., and Miana, G.A., 1988. *Heterocycles* 27, 2777

Tabela 2: Alcalóides ciclopeptídicos de treze membros do tipo zizifina A



Alcalóide	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	Ref
17 Amfibina H	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	CH ₃	47
18 Alcalóide 3	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	36
19 Daechuina S3	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	37
20 Daechuina S8	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	37
21 Jubanina A	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	48
22 Jubanina B	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	48
23 Lotusina E	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	H	38
24 Mucronina D	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	49
25 Nummularina A	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	39
26 Nummularina B	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	H	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	CH ₃	39
27 Nummularina H	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	50
28 Nummularina N	H	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	CH ₃	51
29 Nummularina O	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ C ₆ H ₅	H	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	52
30 Nummularina P	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	CH ₃	53
31 Nummularina T	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CHO	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	CH ₃	54
32 Paliurina A	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	42
33 Paliurina B	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	42
34 Paliurina C	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	42
35 Paliurina D	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	42
36 Paliurina F	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	42
37 Paliurina G	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	CH ₃	55
38 Paliurina H	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	55
39 Paliurina I	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	H	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	55

47. Tschesche, R., Spilles, C., Eckhardt, G., 1974. Chem. Ber. 107, 686

48. Tschesche, R., Khokhar, J., Wilhelm, H., and Eckhardt, G., 1976. Phytochemistry 15, 541

49. Tschesche, R.; David, S.T., Uhlendorf, J., und Fehlhaber, H.W., 1972. Chem. Ber. 105, 3106

50. Tschesche, R., Elgamal, M., and Eckhardt, G., 1977. Chem. Ber.110, 2649

51. Pandey, V.B., Singh, J.P., Seth, K.K., Shah, A.H., and Eckhardt, G., 1984. Phytochemistry 23, 2118

52. Pandey, V.B., Dwivedi, S.P.D., Shah, A.H., and Eckhardt, G., 1986. Phytochemistry 25, 2690

53. Dwivedi, S.P.D., Pandey, V.B., Shah, A.H., and Eckhardt, G., 1987. Journal of Natural Products 50, 235

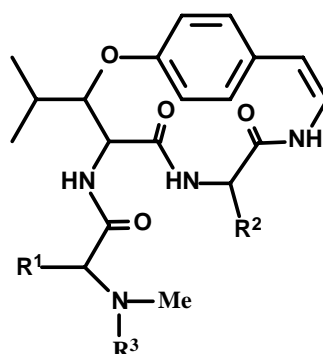
54. Singh, B., Pandey, V.B., 1995. Phytochemistry 38, 271

55. Lee, S-S., Su, W-C., Liu, K.C.S.C., 2001. Phytochemistry 58, 1271

Continuação da Tabela 2

40	Rugosanina A	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CHO	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	CH ₃	56
41	Sativanina C	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	CH ₃	57
42	Sativanina F	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ C ₆ H ₅	H	H	CH(CH ₃) ₂	CH ₃	8
43	Sativanina H	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	CH ₃	58
44	Zizifina A	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	59
45	Zizifina B	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ CH ₂ CH ₂	H	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	59
46	Zizifina C	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ CH ₂ CH ₂	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	60

Tabela 3: Alcalóides ciclopeptídicos de catorze membros do tipo frangulanina



Alcalóide	R ¹	R ²	R ³	Ref	
47	Adoutina X	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	61
48	Adoutina Y'	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	62
49	Americina	CH ₂ C ₈ H ₆ N	CH(CH ₃) ₂	H	63
50	Amfibina A	CH ₂ C ₈ H ₆ N	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	56
51	AM1	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	64
52	Anorldianina	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	Prolina	CH ₃	57
53	Ceanotina A	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	65
54	Ceanotina B	CH ₂ CH ₂ CH ₂ -R ³	CH ₂ C ₆ H ₅	-	65
55	Ceanotina C	CH ₂ CH ₂ CH ₂ -R ³	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	-	66
56	Daechuina S5	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	37
57	Discarina A	CH ₂ C ₈ H ₆ N	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	10
58	Discarina B	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ C ₈ H ₆ N	CH ₃	10
59	Discarina E	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	17
Continuação da Tabela 3					
60	Discarina F	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	16

56. Pandey, V.B., Tripathi, Y.C., Devi, S., Singh, J.P., and Shah, A.H., 1988. *Phytochemistry* 27, 191557. Shah, A.H., Pandey, V.B., Eckhardt, G., and Tschesche, R., 1984. *Phytochemistry* 23, 93158. Shah, A.H., Miana, G.A., Devi, S., Pandey, V.B., 1986. *Planta Medica* 50059. Tschesche, R., Kausmann, E.U., and Eckhardt, G., 1973. *Tetrahedron Lett* 257760. Cassels, B.K., Eckhardt, G., Kausmann, E.U., and Tschesche, R., 1974. *Tetrahedron* 30, 246161. Pais, M.; Mainil, Y and Goutarel, R., 1963. *Ann. Pharm. Fr.* 21, 13962. Marchand, J.; Monseur, X. & Pais, M., 1968. *Ann. Pharm. Fr.* 26, 77163. Klein, F.K and Rapoport, M., 1968. *J. Am. Chem. Soc.* 20, 239864. Arbain, D., Taylor, W., 1993. *Phytochemistry* 33, 126365. Wahrnhoff, E.W., Ma, J.C.N., and Wahrnhoff, P.R., 1965. *J. Am. Chem. Soc.* 87, 419866. Wahrnhoff, E. W.; Pradhan, S. K.; Ma, J. C. N., 1965. *Can. J. Chem.* 43, 2594

61	Discarina G	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	CH_3	14
62	Discarina H	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	CH_3	15
63	Discarina I	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	$\text{CH}_2\text{C}_8\text{H}_6\text{N}$	H	18
64	Discarina K	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	$\text{CH}_2\text{C}_8\text{H}_6\text{N}$	CH_3	19
65	Discarina X	$\text{CH}_2\text{C}_8\text{H}_6\text{N}$	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	CH_3	21
66	Franganina	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	CH_3	67
67	Frangulanina	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	CH_3	66
68	Frangufolina	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	CH_3	68
69	Hovenina A	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	H	69
70	Melofolina	$\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	CH_2CH_3	CH_3	70
71	Melonovina A	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	CH_3	71
72	Melonovina B	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}(\text{OH})\text{C}_6\text{H}_5$	CH_3	71
73	Miriantina C	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	CH_3	72
74	Nummularina K	$\text{CH}_2\text{C}_8\text{H}_6\text{N}$	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	CH_3	50
75	Pubescina A	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	CH_3	12
76	Sanjoinina B	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	H	36
77	Scutianina B	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	CH_3	73
78	Scutianina C	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	CH_3	74
79	Scutianina D	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	$\text{CH}(\text{OH})\text{C}_6\text{H}_5$	CH_3	74
80	Scutianina E	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	$\text{CH}(\text{OH})\text{C}_6\text{H}_5$	CH_3	74
81	Scutianina G	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	$\text{CH}(\text{OH})\text{C}_6\text{H}_5$	CH_3	75
82	Scutianina H	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	$\text{CH}(\text{OH})\text{C}_6\text{H}_5$	CH_3	76
83	Scutianina J	$\text{CH}(\text{OH})\text{C}_6\text{H}_5$	$\text{CH}(\text{OH})\text{C}_6\text{H}_5$	CH_3	77
84	Texensina	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}_2\text{C}_8\text{H}_6\text{N}$	CH_3	78
85	Walterina A	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	CH_3	79
86	Walterina B	$\text{CH}_2\text{C}_8\text{H}_6\text{N}$	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	CH_3	79
87	Walterina C	$\text{CH}_2\text{C}_8\text{H}_6\text{N}$	CH_3	CH_3	80
89	Alcalóide 4	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	CH_3	44

67. Tschesche, R., Last, H., 1968. Tetrahedron Lett. 25, 2993

68. Tschesche, R.; Wilhel, H., und Fehlhaber, H.W., 1972. Tetrahedron Lett. 26, 2609

69. Takai, M., Ojihara, Y., and Shibata, S., 1973. Phytochemistry 12, 2985

70. Bhakuni, R.S., Shukala, Y.N., Thakur, R., 1987. Phytochemistry 26, 324

71. Kapadia, G.J., Shukla, Y.N., Morton, J.F., and Lloyd, H.A., 1977. Phytochemistry 16, 1431

72. Marchand, J.; Monseur, X. & Pais, M., 1968. Ann. Pharm. Fr. 26, 771

73. Tschesche, R., Ammermann, E., und Fehlhaber, H-W., 1971. Tetrahedron Lett. 46, 4405

74. Tschesche, R., und Ammermann, E. 1974. Chem. Ber. 107, 2274

75. Tschesche, R., and Hillebrand, D., 1977. Phytochemistry, 16, 1817

76. Morel, A.F., Bravo, R.V.F., Reis, F.D.A.M., and Ruveda, E.A., 1979. Phytochemistry 18, 473

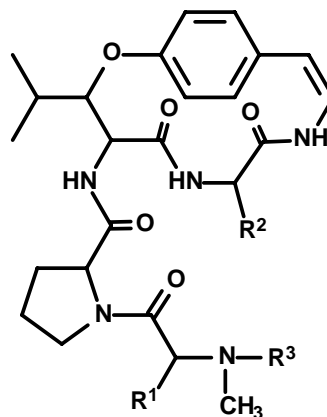
77. Meneses, A.S., Zanatta, N., Morel, A.F., 1995. Phytochemistry 38, 783

78. Wani, M.C., Taylor, H.L., and Wall, M.E., 1973. Tetrahedron Lett 47, 4675

79. Morel, A.F., Gehrke, I.T.S., Mostardeiro, M.A., Ethur, E.M., Zanatta, N., Machado, E.C.M., 1999. Phytochemistry 51, 473

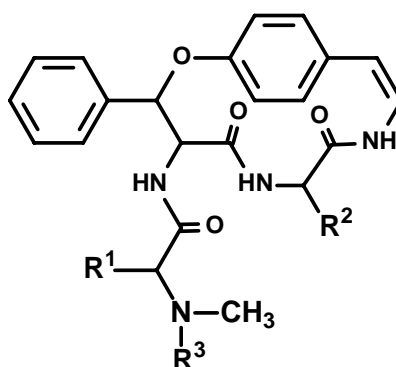
80. Morel, A.F., Flack, A., Zanatta, N., Ethur, E.M., Mostardeiro, M.A., Gehrke, I.T.S., 1999. Tetrahedron Lett. 40, 9205

Tabela 4: Alcalóides ciclopeptídicos de catorze membros do tipo frangulanina, com aminoácido intermediário na posição E



Alcalóide	R ¹	R ²	R ³	Ref
90 Lasiodina B	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	34
91 Scutianina A	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	81

Tabela 5: Alcalóides ciclopeptídicos de catorze membros do tipo integerrina



Alcalóide	R ¹	R ²	R ³	Ref
92 Adoutina Y	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	61
93 Aralionina A	COC ₆ H ₅	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	82
94 Aralionina B	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	CH ₂ C ₆ H ₅	83
95 Aralionina C	CH(OH)C ₆ H ₅	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	84
96 Cantiumina	CH ₂ C ₆ H ₅	Prolina	CH ₃	85
97 Ceanotina E	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	86
98 Condalina A	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	58
99 Crenatina A	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	87
100 Discarina C	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	13
101 Discarina D	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	13
102 Integerrina	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ C ₈ H ₆ N	CH ₃	88
103 Integerrenina	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	89
104 Integerressina	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	89
105 Miriantina A	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	72
106 Nummularina E	CH(OH)CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	90
107 Nummularina M	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	51
108 Sativanina A	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH(CH ₃) ₂	CH ₃	91
109 Alcalóide 6	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ C ₈ H ₆ N	H	82

82. Tschesche, R.; Behrendt, L., und Fehlhaber, H.W., 1969. Chem. Ber. 102, 50

83. Tschesche, R., Froberg, E., und Fehlhaber, H.W., 1970. Chem. Ber. 103, 2501

84. Tschesche, R., Hillebrand, D., Wilhel, H., Ammermann, E., Eckhardt, G., 1977. Phytochemistry, 16, 1025

85. Boulvin, R., Ottinger, R., Pais, M., Chiurdoglu, G., 1969. Bull. Soc. Chim. Belg. 78, 583

86. Servis, R.E. Kosak, A.I., Tschesche, R., Froberg, E., und Fehlhaber, H.W., 1969. J. Amer. Chem. Soc. 91, 5619

87. Silva, M., Bhakuni, D.S., Sammes, P.G., Pais, M., and Jarreau, F.X., 1974. Phytochemistry, 13, 861

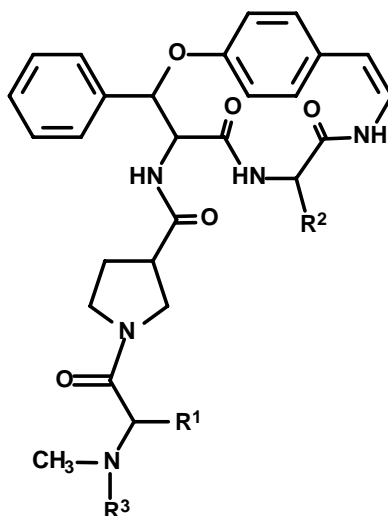
88. Tschesche, R.; Wetters, R.; Fehlhaber, H. W., 1967. Chem. Ber, 100, 3924

89. Tschesche, R.; Wilhel, H., und Fehlhaber, H.W., 1968. Tetrahedron Lett. 1311

90. Tschesche, R., Elgamal, M., Miana, G.A., and Eckhardt, G., 1975. Tetrahedron 31, 2944

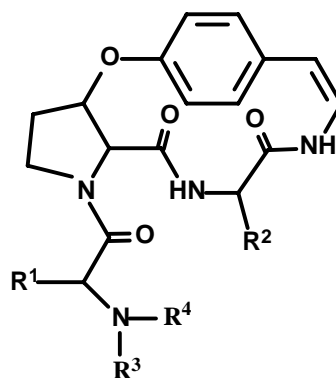
91. Tschesche, R., Shah, A.H., and Eckhardt, G., 1979. Phytochemistry 18, 702

Tabela 6: Alcalóides ciclopeptídicos de catorze membros do tipo integerrina, com aminoácido intermediário na posição E



Alcalóide	R ¹	R ²	R ³	Ref
110 Adoutina Z	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	61
111 Jubanina C	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	92

Tabela 7: Alcalóides ciclopeptídicos de catorze membros do tipo amfibina F



Alcalóide	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Ref
112 Amfibina F	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	H	CH ₃	47
113 Amfibina G	CH ₂ C ₈ H ₆ N	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	CH ₃	47
114 Lotusina A	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	93
115 Lotusina D	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	H	93
116 Lotusina G	CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	H	94
117 Mauritina C	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ C ₆ H ₅	H	CH ₃	95

92. Tripathi, M., Pandey, M.B., Jha, R.N., Pandey, V.B., Tripathi, P.N., Singh, J.P., 2001. Fitoterapia 72, 507

93. Ghedira, K., Chemli, R., Richard, B., Nuzillard, J-M., Zeches, M., and Men-Olivier, L., 1993. Phytochemistry 32, 1591

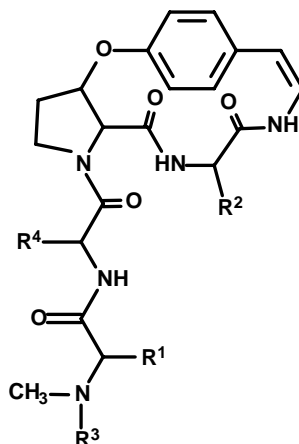
94. Crouéour, G.L., Thépenier, P., Richard, B., Petermann, C., Ghédira, K., Zèches-Hanrot, M., 2002. Fitoterapia, 73, 63

95. Tschesche, R., Wilhelm, H., Kaussmann, E.U., and Eckhardt, G., 1974. Liebigs Ann. Chem. 1694

Continuação da Tabela 7

118 Mucronina J	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	96
119 Nummularina F	H	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	90
120 Spinanina A	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	Prolina	H	H	97
121 Zizifina G	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	Prolina	H	H	98

Tabela 8: Alcalóides ciclopeptídicos de catorze membros do tipo Amfibina B, com aminoácido intermediário na posição E



Alcalóide	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Ref
122 Amfibina B	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	99
123 Amfibina C	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	99
124 Amfibina D	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	99
125 Amfibina E	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₂ C ₈ H ₆ N	99
126 Hisodricanina A	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	Prolina	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	84
127 Lotusina B	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	100
128 Mauritina A	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	101
129 Mauritina B	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	101
130 Mauritina D	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	95
131 Mauritina E	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	95
132 Mauritina F	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	H	CH(CH ₃) ₂	95
133 Mauritina H	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	84
134 Mauritina I	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	CH ₂ C ₈ H ₆ N	
135 Mauritina J	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	CH ₂ C ₈ H ₆ N	102

96. Auvin, C. 1996. Journal of Natural Products 59, 676

97. Abbel-Galil, F.M., and El-Jissry, M.A., 1991. Phytochemistry 30, 1348

98. Tschesche, R., Khokhar, I., Spilles, C., Eckhardt, G., and Cassels, B.K., 1974. Tetrahedron Lett, 2941

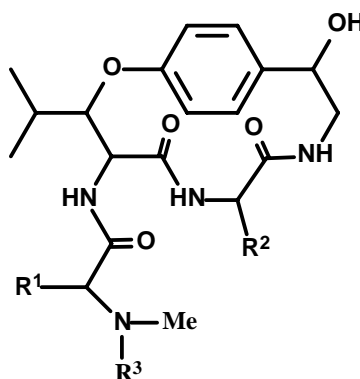
99. Tschesche, R., Kaubmann, E.U., und Fehlhaber, H.W., 1972. Chem. Ber. 105, 3094

100. Abu-Zarga, M., Sabri, S., Al-Aboudi, A., Ajaz, M.S., Sultana, N., and Atta-ur-Rahman, 1995. Journal of Natural Products 58, 504

101. Tschesche, R.; Wilhelm, H, and Fehlhaber, H.W., 1972. Tetrahedron Lett., 2609

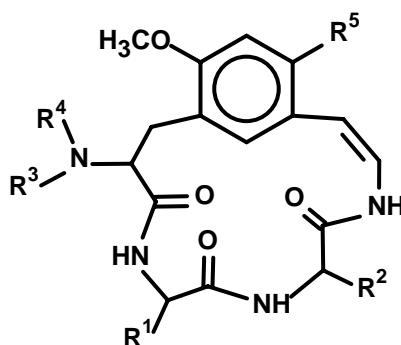
102. Jossang, A., Zahir, A., and Diakite, D., 1996. Phytochemistry 42, 565

Tabela 9: Alcalóides ciclopeptídicos de catorze membros do tipo Pandamina



Alcalóide	R ¹	R ²	R ³	Ref
136 Discarina G	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	14
137 Discarina H	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	15
138 Discarina K	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ C ₈ H ₆ N	CH ₃	19
139 Discarina L	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	20
140 Pandamina	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	33
141 Pandaminina	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	103
142 Sanjoinina G ₁	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	36

Tabela 10: Alcalóides ciclopeptídicos de quinze membros do tipo mucronina A

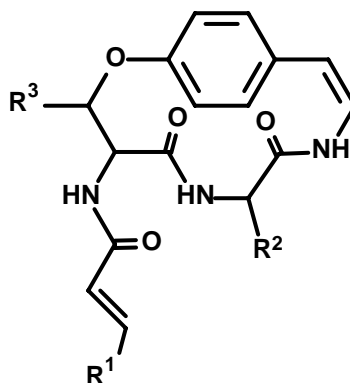


Alcalóide	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	Ref
143 Abissenina A	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	H	H	60
144 Abissenina B	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₃	H	H	60
145 Abissenina C	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	H	H	60
146 Mucronina A	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	CH ₃	H	104
147 Mucronina B	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	H	H	104
148 Mucronina C	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	CH ₃	H	104
149 Mucronina E	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	H	OCH ₃	60
150 Mucronina F	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	H	OCH ₃	60
151 Mucronina G	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	H	OCH ₃	60
152 Mucronina H	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	H	H	H	60
153 Zizifina D	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	C[CH ₃ (OH)]CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	60

103. Pais, M., Jarreau, F.X., Lusinchi, X., and Goutarel, R., 1966. Ann. Chim. 13, 83

104. Fehlhaber, H.W., Uhlendorf, J., David, S.T., und Tschesche, R., 1972. Liebigs Ann. Chem. 795, 195

Tabela 11: Ciclopeptídeos de catorze membros



Alcalóide	R ¹	R ²	R ³	AA intermediário	Ref
154 Discareno C	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	C ₆ H ₅	-	22
155 Discareno D	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	-	22
156 Discarina M	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃) ₂	-	23
157 Discarina N	C ₆ H ₅	CH(OH)C ₆ H ₅	CH(CH ₃) ₂	-	23
158 Lotusanine B	C ₆ H ₅	CH ₂ C ₆ H ₅	CH(CH ₃) ₂	prolina	100
159 Sanjoinenine	C ₆ H ₅	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃) ₂	-	42
160 Scutianeno C	C ₆ H ₅	CH(OH)C ₆ H ₅	CH(CH ₃) ₂	-	38

Outros alcalóides

Hymenocardina (**161**), Nummularina G (**162**), Sanjoinina G2 (**163**)

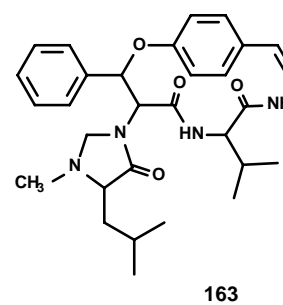
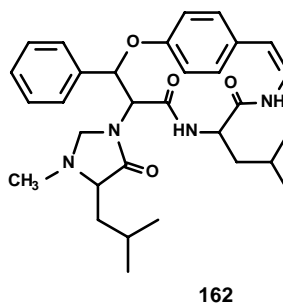
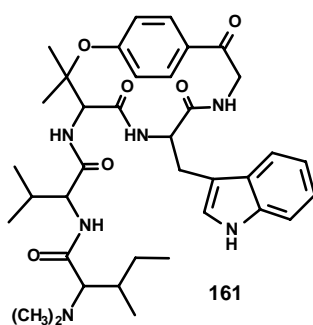


Tabela 12: Ocorrência de alcalóides ciclopeptídicos

Alcalóide	Espécie	Família
1 Lasiodina A	<i>Lasiodiscus marmoratus</i>	Rhamnaceae
2 Alcalóide 1	<i>Zizyphus mucronata</i>	Rhamnaceae
3 Daechuina S6	<i>Zizyphus jujuba</i> var. <i>inermis</i>	Rhamnaceae
4 Daechuina S7	<i>Zizyphus jujuba</i> var. <i>inermis</i>	Rhamnaceae
5 Daechuina S10	<i>Zizyphus jujuba</i> var. <i>inermis</i>	Rhamnaceae
6 Daechuina S26	<i>Zizyphus jujuba</i> var. <i>inermis</i>	Rhamnaceae
7 Lotusina F	<i>Zizyphus lotus</i>	Rhamnaceae
8 Nummularina C	<i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
9 Nummularina R	<i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
10 Nummularina S	<i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
11 Nummularina S10	<i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
12 Paliurina E	<i>Paliurus ramosissimus</i>	Rhamnaceae
13 Rugosanina B	<i>Zizyphus rugosa</i>	Rhamnaceae
14 Sativnina G	<i>Paliurus ramosissimus</i>	Rhamnaceae
15 Sativanina K	<i>Zizyphus sativa</i> , <i>Zizyphus rugosa</i>	Rhamnaceae
16 Tscheschamina		
17 Amfibina H	<i>Zizyphus xylopyra</i>	Rhamnaceae
18 Alcalóide 2	<i>Zizyphus mucronata</i>	Rhamnaceae
19 Daechuina S3	<i>Zizyphus jujuba</i> var. <i>inermis</i> , <i>Paliurus ramosissimus</i>	Rhamnaceae
20 Daechuina S8	<i>Zizyphus jujuba</i> var. <i>inermis</i>	Rhamnaceae
21 Jubanina A	<i>Zizyphus jujuba</i>	Rhamnaceae
22 Jubanina B	<i>Zizyphus jujuba</i>	Rhamnaceae
23 Lotusina E	<i>Zizyphus lotus</i>	Rhamnaceae
24 Mucronina D	<i>Zizyphus mucronata</i>	Rhamnaceae
25 Nummularina A	<i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
26 Nummularina B	<i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
27 Nummularina H	<i>Zizyphus nummularia</i> , <i>Paliurus ramosissimus</i>	Rhamnaceae
28 Nummularina N	<i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
29 Nummularina O	<i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
30 Nummularina P	<i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
31 Nummularina T	<i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
32 Paliurina A	<i>Paliurus ramosissimus</i>	Rhamnaceae
33 Paliurina B	<i>Paliurus ramosissimus</i>	Rhamnaceae
34 Paliurina C	<i>Paliurus ramosissimus</i>	Rhamnaceae
35 Paliurina D	<i>Paliurus ramosissimus</i>	Rhamnaceae
36 Paliurina F	<i>Paliurus ramosissimus</i>	Rhamnaceae
37 Paliurina G	<i>Paliurus ramosissimus</i>	Rhamnaceae
38 Paliurina H	<i>Paliurus ramosissimus</i>	Rhamnaceae
39 Paliurina I	<i>Paliurus ramosissimus</i>	Rhamnaceae
40 Rugosanina A	<i>Zizyphus rugosa</i>	Rhamnaceae
41 Sativanina C	<i>Zizyphus sativa</i> , <i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
42 Sativanina F	<i>Zizyphus sativa</i>	Rhamnaceae

Continuação da Tabela 12

43 Sativanina H	<i>Zizyphus sativa</i>	Rhamnaceae
44 Zizifina A	<i>Zizyphus jujuba</i>	Rhamnaceae
45 Zizifina B	<i>Zizyphus oenoplia</i>	Rhamnaceae
46 Zizifina C	<i>Zizyphus oenoplia</i>	Rhamnaceae
47 Adoutina X	<i>Ceanothus americanus</i> , <i>Zizyphus jujuba</i> <i>Alphitonia macrocarpa</i> <i>Waltheria americana</i>	Rhamnaceae Sterculiaceae
48 Adoutina Y'	<i>Discaria longispina</i> , <i>Ceanothus sanguineus</i> , <i>Zizyphus lotus</i> <i>Waltheria americana</i> <i>Myrianthus arboreus</i>	Rhamnaceae Sterculiaceae Urticaceae
49 Americina	<i>Ceanothus americanus</i>	Rhamnaceae
50 Amfibina A	<i>Zizyphus amphibia</i> , <i>Zizyphus spinachristi</i> , <i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
51 AM1	<i>Antidesma montana</i>	Euphorbiaceae
52 Anorldianina	<i>Canthium anorldianum</i>	Rubiaceae
53 Ceanotina A	<i>Ceanothus americanus</i>	Rhamnaceae
54 Ceanotina B	<i>Ceanothus americanus</i> , <i>Ceanothus sanguineus</i>	Rhamnaceae
55 Ceanotina C	<i>Ceanothus americanus</i>	Rhamnaceae
56 Daechuina S5	<i>Zizyphus jujuba</i>	Rhamnaceae
57 Discarina A	<i>Discaria longispina</i>	Rhamnaceae
58 Discarina B	<i>Discaria longispina</i> , <i>Ceanothus sanguineus</i> , <i>Ceanothus integerrimus</i>	Rhamnaceae
59 Discarina E	<i>Discaria febrifuga</i>	Rhamnaceae
60 Discarina F	<i>Discaria febrifuga</i>	Rhamnaceae
61 Discarina G	<i>Discaria febrifuga</i>	Rhamnaceae
62 Discarina H	<i>Discaria febrifuga</i>	Rhamnaceae
63 Discarina I	<i>Discaria febrifuga</i>	Rhamnaceae
64 Discarina K	<i>Discaria febrifuga</i>	Rhamnaceae
65 Discarina X	<i>Discaria longispina</i>	Rhamnaceae
66 Franganina	<i>Rhammus frangula</i> , <i>Zizyphus jujuba</i> var. <i>inermis</i> , <i>Discaria americana</i> , <i>Zizyphus spinachristi</i> <i>Euonymus europaeus</i> <i>Melochia corchorifolia</i>	Rhamnaceae Celastraceae Sterculiaceae
67 Frangulanina	<i>Rhammus frangula</i> , <i>Discaria longispina</i> , <i>Zizyphus</i> <i>sativa</i> , <i>Zizyphus jujuba</i> var. <i>inermis</i> , <i>Ceanothus</i> <i>americanus</i> , <i>Hovenia dulcis</i> , <i>Hovenia tomentella</i> <i>Euonymus europaeus</i>	Rhamnaceae Celastraceae
68 Frangufolina	<i>Rhammus frangula</i> , <i>Discaria longispina</i> , <i>Zizyphus</i> <i>mauritiana</i> , <i>Zizyphus nummularia</i> <i>Melochia pyramidata</i> , <i>Melochia corchorifolia</i> <i>Euonymus europaeus</i>	Rhamnaceae Sterculiaceae Celastraceae
69 Hovenina A	<i>Hovenia dulcis</i>	Rhamnaceae
70 Melofolina	<i>Melochia corchorifolia</i>	Sterculiaceae

Continuação da Tabela 12

71 Melonovina A	<i>Melochia tomentosa</i>	Apocynaceae
72 Melonovina B	<i>Melochia tomentosa</i>	Apocynaceae
73 Miriantina C	<i>Myrianthus arboreus</i>	Urticaceae
	<i>Plectronia odorata</i>	Oliniaceae
74 Nummularina K	<i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
75 Pubescina A	<i>Discaria pubescens</i>	Rhamnaceae
76 Sanjoinina B	<i>Zizyphus vulgaris</i> var. <i>spinus</i>	Rhamnaceae
77 Scutianina B	<i>Scutia buxifolia</i>	Rhamnaceae
78 Scutianina C	<i>Scutia buxifolia</i> , <i>Zizyphus jujuba</i>	Rhamnaceae
79 Scutianina D	<i>Scutia buxifolia</i>	Rhamnaceae
80 Scutianina E	<i>Scutia buxifolia</i>	Rhamnaceae
81 Scutianina G	<i>Scutia buxifolia</i>	Rhamnaceae
82 Scutianina H	<i>Scutia buxifolia</i>	Rhamnaceae
83 Scutianina J	<i>Scutia buxifolia</i>	Rhamnaceae
84 Texensina	<i>Colubrina texensis</i>	Rhamnaceae
85 Walterina A	<i>Waltheria americana</i>	Sterculiaceae
86 Walterina B	<i>Waltheria americana</i>	Sterculiaceae
87 Walterina C	<i>Waltheria americana</i>	Sterculiaceae
89 Alcalóide 3	<i>Ceanothus americanus</i>	Rhamnaceae
90 Lasiodina B	<i>Lasiodiscus marmoratus</i>	Rhamnaceae
91 Scutianina A	<i>Scutia buxifolia</i>	Rhamnaceae
92 Adoutina Y	<i>Waltheria americana</i>	Sterculiaceae
	<i>Ceanothus americanus</i>	Rhamnaceae
93 Aralionina A	<i>Araliorhammus vaginatus</i>	Rhamnaceae
94 Aralionina B	<i>Araliorhammus vaginatus</i>	Rhamnaceae
95 Aralionina C	<i>Araliorhammus vaginatus</i>	Rhamnaceae
96 Cantiumina	<i>Canthium euryoides</i>	Rubiaceae
97 Ceanotina E	<i>Ceanothus americanus</i>	Rhamnaceae
98 Condalina A	<i>Condalia buxifolia</i>	Rhamnaceae
99 Crenatina A	<i>Discaria crenata</i>	Rhamnaceae
100 Discarina C	<i>Discaria febrifuga</i>	Rhamnaceae
101 Discarina D	<i>Discaria febrifuga</i>	Rhamnaceae
102 Integerrina	<i>Ceanothus integerrimus</i>	Rhamnaceae
103 Integerrenina	<i>Ceanothus integerrimus</i> , <i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
	<i>Melochia pyramidata</i>	Sterculiaceae
104 Integerressina	<i>Ceanothus integerrimus</i> , <i>Retanilla ephedra</i>	Rhamnaceae
105 Miriantina A	<i>Myrianthus arboreus</i>	Urticaceae
106 Nummularina E	<i>Zizyphus nummularia</i> , <i>Zizyphus hysodrica</i>	Rhamnaceae
107 Nummularina M	<i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
108 Sativanina A	<i>Zizyphus sativa</i> , <i>Zizyphus spinachristi</i>	Rhamnaceae
109 Alcalóide 4	<i>Araliorhammus vaginatus</i>	Rhamnaceae
110 Adoutina Z	<i>Waltheria americana</i> , <i>Melochia pyramidata</i>	Sterculiaceae
	<i>Feretia apodanthera</i>	Rubiaceae
111 Jubanina C	<i>Zizyphus jujuba</i>	Rhamnaceae

Continuação da Tabela 12

112	Amfibina F	<i>Zizyphus amphibia</i> , <i>Zizyphus mauritiana</i> , <i>Zizyphus spinachristi</i>	Rhamnaceae
113	Amfibina G	<i>Zizyphus amphibia</i>	Rhamnaceae
114	Lotusina A	<i>Zizyphus lotus</i>	Rhamnaceae
115	Lotusina D	<i>Zizyphus lotus</i>	Rhamnaceae
116	Lotusina G	<i>Zizyphus lotus</i>	Rhamnaceae
117	Mauritina C	<i>Zizyphus mauritiana</i> , <i>Zizyphus spinachristi</i>	Rhamnaceae
118	Mucronina J	<i>Zizyphus mucronata</i>	Rhamnaceae
119	Nummularina F	<i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
120	Spinanina A	<i>Zizyphus spinachristi</i>	Rhamnaceae
121	Zizifina G	<i>Zizyphus oenoplia</i>	Rhamnaceae
122	Amfibina B	<i>Zizyphus amphibia</i> , <i>Zizyphus mauritiana</i>	Rhamnaceae
123	Amfibina C	<i>Zizyphus amphibia</i>	Rhamnaceae
124	Amfibina D	<i>Zizyphus amphibia</i> , <i>Zizyphus mauritiana</i> , <i>Zizyphus juazeiro</i>	Rhamnaceae
125	Amfibina E	<i>Zizyphus amphibia</i> , <i>Zizyphus mauritiana</i> , <i>Zizyphus spinachristi</i>	Rhamnaceae
126	Hisodricanina A	<i>Zizyphus hysodrica</i> , <i>Zizyphus hutchinsonii</i>	Rhamnaceae
127	Lotusina B	<i>Zizyphus lotus</i>	Rhamnaceae
128	Mauritina A	<i>Zizyphus amphibia</i> , <i>Zizyphus mauritiana</i> , <i>Zizyphus spinachristi</i> , <i>Zizyphus jujuba</i>	Rhamnaceae
129	Mauritina B	<i>Zizyphus mauritiana</i>	Rhamnaceae
130	Mauritina D	<i>Zizyphus mauritiana</i> , <i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
131	Mauritina E	<i>Zizyphus mauritiana</i> , <i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
132	Mauritina F	<i>Zizyphus mauritiana</i>	Rhamnaceae
133	Mauritina H	<i>Zizyphus mauritiana</i>	Rhamnaceae
134	Mauritina I	<i>Zizyphus mauritiana</i>	Rhamnaceae
135	Mauritina J	<i>Zizyphus mauritiana</i>	Rhamnaceae
136	Discarina G	<i>Discaria febrifuga</i>	Rhamnaceae
137	Discarina H	<i>Discaria febrifuga</i>	Rhamnaceae
138	Discarina K	<i>Discaria febrifuga</i>	Rhamnaceae
139	Discarina L	<i>Discaria febrifuga</i>	Rhamnaceae
140	Pandamina	<i>Panda oleosa</i>	Pandaceae
141	Pandaminina	<i>Panda oleosa</i>	Pandaceae
142	Sanjoinina G ₁	<i>Zizyphus vulgaris</i> var. <i>spinosus</i>	Rhamnaceae
143	Abissenina A	<i>Zizyphus abyssinica</i> , <i>Araliorhammus vaginatus</i>	Rhamnaceae
144	Abissenina B	<i>Zizyphus abyssinica</i> , <i>Araliorhammus vaginatus</i>	Rhamnaceae
145	Abissenina C	<i>Zizyphus abyssinica</i>	Rhamnaceae
146	Mucronina A	<i>Zizyphus mucronata</i> , <i>Zizyphus abyssinica</i>	Rhamnaceae
147	Mucronina B	<i>Zizyphus mucronata</i> , <i>Zizyphus abyssinica</i>	Rhamnaceae
148	Mucronina C	<i>Zizyphus mucronata</i>	Rhamnaceae
149	Mucronina E	<i>Zizyphus mucronata</i>	Rhamnaceae
150	Mucronina F	<i>Zizyphus mucronata</i>	Rhamnaceae
151	Mucronina G	<i>Zizyphus mucronata</i>	Rhamnaceae

Continuação da Tabela 12

152 Mucronina H	<i>Zizyphus mucronata</i>	Rhamnaceae
153 Zizifina D	<i>Zizyphus oenoplia</i>	Rhamnaceae
154 Discareno C	<i>Discaria americana</i>	Rhamnaceae
155 Discareno D	<i>Discaria americana</i>	Rhamnaceae
156 Discarina M	<i>Discaria americana</i>	Rhamnaceae
157 Discarina N	<i>Discaria americana</i>	Rhamnaceae
158 Lotusanine B	<i>Zizyphus lotus</i>	Rhamnaceae
159 Sanjoinenine	<i>Zizyphus vulgaris</i> var. <i>spinosus</i>	Rhamnaceae
160 Scutianeno C	<i>Scutia buxifolia</i>	Rhamnaceae
161 Hymenocardina	<i>Hymenocardia acida</i>	Hymenocardiaceae
162 Nummularina G	<i>Zizyphus nummularia</i>	Rhamnaceae
163 Sanjoinina G ₂	<i>Zizyphus vulgaris</i> var. <i>spinosus</i>	Rhamnaceae

3.4.1 Estereoquímica

O desenvolvimento de técnicas de RMN de ¹H e ¹³C (COSY, TOCSY, NOESY, HMQC HMBC) e cromatográficas (CG-MS) tem se tornado, nos últimos tempos, ferramentas indispensáveis na determinação estrutural de alcalóides ciclopeptídicos, principalmente na resolução da estereoquímica dos aminoácidos presentes em suas estruturas.

Os espectros de RMN desses alcalóides fornecem informações quanto a sua fórmula constitucional, sendo também possível de obter informações valiosas quanto aos aspectos estereoquímicos e conformacionais. Alcalóides do tipo mauritina A (**128**) que apresentam o aminoácido hidroxiprolina em suas estruturas sendo analisados por RMN, devido ao valor da constante de H_α e H_β desta unidade resulta uma constante de acoplamento J_{H_α-H_β} = 5,0 Hz, caracterizando a configuração *cis* para este aminoácido.¹⁰⁵

Em alcalóides do tipo frangulanina (**67**), em que a β-hidroxileucina participa do sistema macrocíclico, os hidrogênios metínicos α e β dessa unidade acoplam entre si com um J = 8,0 Hz. Esta constante de acoplamento reflete um ângulo diedro H-α/H-β entre 0-20° ou 150-180°. Devido à rigidez do sistema macrocíclico, somente a geometria *anti* é permitida, indicando uma configuração *eritro*.¹⁰⁶⁻¹⁰⁸

O aprimoramento de técnicas cromatográficas como a cromatografia gasosa utilizando-se colunas quirais, torna esta metodologia analítica de grande

105. Wolf, J.S., Ogle, J.D., and Logan, M.A., 1996. *J. Biol. Chem.* 241, 1300

106. Hasslinger E., 1979. *Tetrahedron* 34, 685

107. Wanhoff, E.W., 1970. *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* 28, 163.

108. Sierra, G.M., Mascaretti, O.A., Diaz, F.J., and Rúveda, E.A. 1974. *J. Chem. Soc. Comm.* 653

significado no auxílio à solução dos problemas envolvendo a estereoquímica dos aminoácidos presentes nas estruturas desses metabólitos. Este método tem sido utilizado com sucesso por Morel e colaboradores, na determinação da estereoquímica absoluta das unidades dos aminoácidos participantes do anel, com exceção de β -hidroxiaminoácido. Esta determinação é realizada com base na comparação dos cromatogramas dos D,L-aminoácidos padrões com os cromatogramas dos hidrolisados dos alcalóides ciclopeptídicos e através da coinjeção de ambos. Utilizando-se esta metodologia foram determinadas as configurações absolutas dos aminoácidos presentes nos alcalóides Scutianinas B, C, D e E, franganina, adoutina Y',⁸³ condalina A,⁹⁹ discarinas M e N²³ e dos ciclopeptídeos neutros discarenos C e D.²² As configurações relativas dos β -hidroxiaminoácidos, não determinadas por cromatografia gasosa enantioseletiva, têm sido elucidadas através das análises dos espectros de RMN de ¹H uni- e bidimensionais, principalmente o experimento do tipo NOESY.

3.4.2 Atividade biológica

A baixa concentração de alcalóides ciclopeptídicos³¹ é a principal razão pela qual poucos estudos tenham sido realizados sobre suas propriedades biológicas. Entretanto, o interesse nesta classe de compostos tem aumentado, principalmente devido à atividade antimicrobiana de muitos representantes.¹⁰⁹⁻¹¹²

Alguns alcalóides ciclopeptídicos na forma livre ou como sais hidrocloreto, como por exemplo as scutianinas A (**91**), B (**77**), C (**78**), E (**80**) e discarina A (**57**), exibiram atividade contra a bactéria Gram-positiva *Bacillus subtilis*, sendo que discarina A e scutianina C mostraram atividade nas concentrações de 200 e 25 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.^{23,74} Também os alcalóides mauritina A (**128**), B (**129**) e D (**130**) na forma de sais hidrocloreto apresentaram fraca atividade bacteriana contra o mesmo microorganismo.⁹⁵

Condalina A (**98**), discarina B (**58**), frangufolina (**68**), nummularina K (**74**) e scutianina B (**77**) exibiram uma significativa atividade antibacteriana contra as bactérias Gram-negativas *Klebsiela pneumoniae*, *Escherichia coli* e contra a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*,^{23,105,113} enquanto que os

109. Tschesche, R., Kausmann, E.U., 1975. The Alkaloids, ed. Manske, R.H.F., Academic Press, New York 15, 165

110. Schmidt, U., Lieberknecht, A., and Haslinger, E., 1985. The Alkaloids, ed. Brossi, A., Academic Press, New York 26, 299

111. Bhat, K.L., and Joullie, M.M., 1987. J. Chem. Educ. 64, 21

112. Joullie, M.M., Nutt, R.F., 1984. Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives, ed. Pelletier, Wiley, New York 3, 113

alcalóides mucronina F (**150**), G (**151**), H (**152**) e pubescina A (**75**), na forma de seus sais hidrocloreto apresentaram bioatividade frente às bactérias *B. subtilis* e *E. coli*.¹¹⁴

Investigações da atividade antifúngica desses metabólitos revelaram que os alcalóides scutianina A (**91**), B (**77**), C (**78**), E (**80**) [sais hidrocloreto], mauritina A (**128**), B (**129**), C (**117**), D (**130**), E (**131**) [sais hidrocloreto], mucronina F, G, e H (sais hidrocloreto) indicaram inibição ao desenvolvimento de *Phytium debaryanum*.^{74,95,114} Por outro lado, pubescina A e abissinina C (**145**) exibiram atividade antifúngica contra *P. debaryanum* e *Trichoderma viride*,^{114,115} enquanto que os alcalóides frangufolina (**68**), amfibina H (**17**), G (**113**), rugosanina A (**40**), B (**13**) e as nummularinas B (**25**), K (**74**), R (**09**), S (**10**) apresentaram significativa atividade contra *Aspergillus niger*.¹¹³

Além das atividades farmacológicas já citadas, os alcalóides ciclopeptídicos podem apresentar efeitos sedativos, como por exemplo, a frangufolina (**68**) que apresentou significativa atividade sedativa, em doses de 3 mg Kg⁻¹ (efeito esse monitorado em ratos, medindo-se o prolongamento do sono induzido com hexobarbital).³⁷ A Adoutina Z (**110**) aduziu discreta atividade sedativa, possivelmente de origem simpatolítica.¹¹⁶ Nummularina H (**27**), em combinação com mextohexital (agente que induz ao sono), diminuiu significativamente o tempo de sono em ratos, em vez de aumentar o efeito sedativo, como mostrado pelas paulirinas A (**32**) e F (**36**).⁵⁵

Embora exista pouco conhecimento a respeito de suas funções biológicas nas plantas, há evidências de que alcalóides ciclopeptídicos atuem como ionóforos e possam estar envolvidos na absorção de nutrientes do solo, principalmente íons de metais alcalinos.¹¹⁷

A inibição de mecanismos de transferência de energia em fotofosforilações, por alguns alcalóides ciclopeptídicos em testes realizados em cloroplastos de *Rhodospirillum rubrum*, pode estar relacionada com suas propriedades biológicas nas plantas.¹¹⁸

113. Pandey, V.B., and Devi, S., 1990. *Planta Med.* 56, 649

114. Tschesche, R., David, S.T., Zerbos, R., Radloff, M.V., Kausmann, E.U., and Eckhardt, G., 1974. *Liebigs Ann. Chem.* 1915

115. Tschesche, R., Hillebrand, D., and Bick, I.R.C., 1980. *Phytochemistry* 19, 1000

116. Blanpin, O., Pais, M., and Quevauviller, M.A., 1963. *Ann. Pharm. Fr.* 21, 147

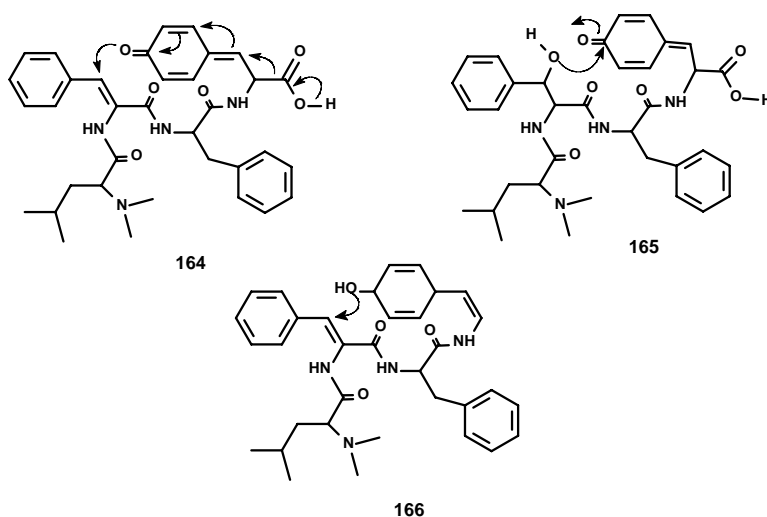
117. Kawai, K., Nozawa, Y., Ogihara, Y., 1977. *Experientia* 33, 27

3.4.3 Biossíntese

Embora tenham sido realizadas poucas investigações no sentido de esclarecer a biossíntese desses compostos em plantas, baseando-se em estudos com prováveis intermediários, é possível propor algumas rotas biossintéticas principais.

As primeiras evidências da biossíntese desta classe de compostos surgiram com o isolamento de alcalóides lineares como a lasiodina A (**1**) que apresenta em sua estrutura um grupo fenólico livre, além da unidade diidroaminoácido.³⁴ Outros alcalóides lineares desse tipo foram isolados de *Cliona celeta*, uma espécie de esponja marinha.¹¹⁹

Um provável precursor pode ser uma quinona, composta de uma dihidrofenilalanil-fenilalanina, ligada a uma tirosina oxidada (**164**). Esse composto pode sofrer uma descarboxilação seguida de uma adição de Michael para formar o macrociclo. Ainda há a possibilidade da biossíntese ocorrer via ataque de um grupo β -hidroxil à carbonila da quinona, seguida por descarboxilação e perda do hidroxilfenolato (**165**). Também é possível ocorrer o ataque da hidroxila fenólica ao carbono β da amida α,β -insaturada (**166**).^{111,120}

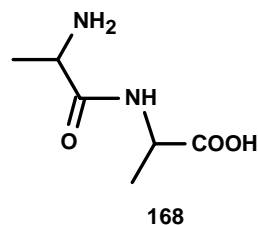
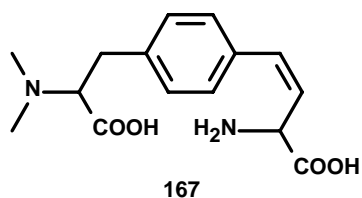


118. Ravizzini, R.A., Andreo, C.S., and Vallejos, R.H., 1977. *Plant & Cell Physiol.* 18, 701

119. Stonard, R.J., and Andersen, R.J., 1980. *J. Org. Chem.* 45, 3687

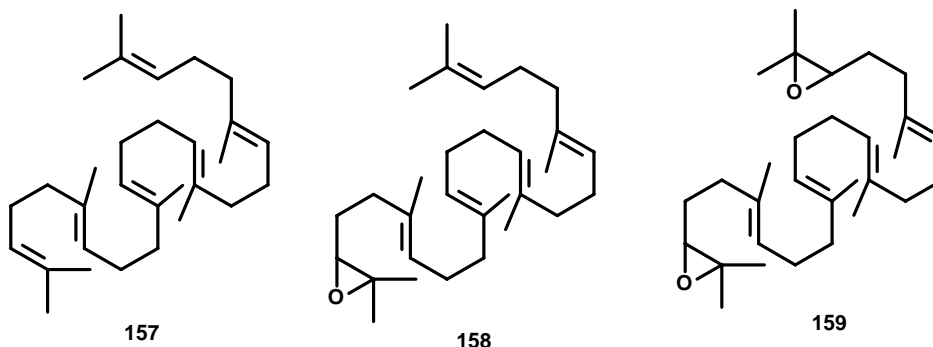
120. Warnhoff, E. W.; 1971. *The alkaloids* 1, 445

Alcalóides ciclopeptídicos contendo um macrociclo de quinze membros não possuem a unidade β -fenoxiaminoácido, sendo a ligação entre o anel benzênico feita através dos átomos de carbono. Uma outra alternativa para biogênese de tais compostos pode envolver a unidade *p*-fenilenodialanina (**167**) como precursor, ou o correspondente dihidro (**168**).¹¹⁰



3.5 Triterpenóides

Os triterpenóides constituem o maior grupo de metabólitos secundários de origem vegetal, com grande diversidade estrutural, sendo derivados do esqualeno (**169**), 2,3-epóxi-esqualeno (**170**) ou 2,3,24,25-diepóxi-esqualeno (**171**).¹²¹



A maioria dos triterpenóides são 6-6-6-5 tetracíclicos, 6-6-6-6-5 pentacíclicos, ou 6-6-6-6-6 pentacíclicos. No entanto, triterpenóides acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, tricíclicos e hexacíclicos têm sido isolados de origem natural.¹²²

A era clássica da química dos triterpenóides foi iniciada quando em 1949 Bischof e colaboradores elucidaram a estrutura do ácido oleanóico.¹²³ Devido ao desenvolvimento de técnicas, como ressonância magnética nuclear, Raios X, infravermelho, espectrometria de massas, dicroísmo circular e outros, a elucidação estrutural desses compostos foi enormemente facilitada. Como consequência desses avanços, atualmente um vasto número de triterpenóides, incluindo alguns com estruturas muito complexas, têm sido elucidados.¹²⁴

Em plantas pertencentes à família Rhamnaceae é comum a ocorrência de triterpenóides.¹²⁵⁻¹⁴⁶ Estes metabólitos encontram-se distribuídos, principalmente,

121. Cannolly, J. D., Hill, R. A., 2002. Nat. Prod. Rep. 19, 494

122. Xu, R., Fazio, G. C., Matsuda, S. P. T., 2004. Phytochemistry 65, 261

123. Bischof, B., Jeger, O., and Ruzicka, L., 1949. Helv. Chim. Acta 32, 1911.

124. Das, M. C., and Mahato, S. B, 1983. Phytochemistry 22, 1071

125. Merkuza, V.M., Mascaretti, O.A., Croplare, R., and Rúveda, E.A., 1971. Phytochemistry 10, 908

126. Pacheco, P., Albonico, S.M., and Silva, M., 1973. Phytochemistry 12, 954

127. Pacheco, P., Silva, M., Sammes, P.G., and Tyler, T.W., 1973. Phytochemistry 12, 893

128. Yagi, A., Okamura, N., Haraguchi, J., Noda, K., and Nishioka, I., 1978. Chem. Pharm. Bull. 26, 1798

129. Routman, J.N., and Jurd, L., 1978. Phytochemistry 17, 491

130. Baddeley, G.V., Simes, I.I.H, and Aj, T.H., 1980. Aust. J. chem., 33 2071

131. Betancor, C. Freire, R., Hernandez, R., Suarez, E., Cortes, M., Prange, T., and Pascard, C., 1983. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1119

132. Higuchi, R., Kubota, S., Comori, T., Kawasaki, T., Pandey, V.B., Singh, J.P, and Shah, A.H., 1984. Phytochemistry 23, 2597

133. Villar, A., Terencio, M.C., Paya, M., 1986. J. of Ethnopharmacology 16, 269

134. Kennelly, E.J., Lewis, W.H., Winter, R.E., Johnson, S., Elvin-Lewis, M., Gossling, J., 1993. Journal of Natural Products 56, 402

135. Brandão, M.G.L., Lacaille-Dubois, M-A., Teixeira, M.A., and Wagner, H., 1993. Phytochemistry 34, 1123

136. Nair, S.P., and Rao, J.M., 1993. Phytochemistry 33, 711

137. Oulad-Ali, A., Guillaume, D., Weniger, B., Jiang, J., and Anton, R., 1994. Phytochemistry 36, 445

nos gêneros *Ampelozizyphus*, *Ceanothus*, *Colubrina*, *Emmenospermum*, *Gouania*, *Hovenia*, *Paliurus*, *Rhamnus*, *Trevoa*, *Zizyphus* (Tabela 13). A classe dos triterpenos pentacíclicos com esqueleto carbônico de tipo $\Delta^{20(29)}$ -lupeno são o maior grupo de triterpenos encontrados na família Rhamnaceae, juntamente com os que possuem esqueleto tipo oleonano, taraxerano e ursano.

Tabela 13 .Triterpenóides isolados na família Rhamnaceae

Triterpenóide	Espécie	Ref
Ácido alfitólico	<i>Zizyphus jujuba</i> , <i>Zizyphus joazeiro</i>	125, 143, 144, 145
Ácido betulínico	<i>Discaria longispina</i> , <i>Colletia paradoxa</i> , <i>Zizyphus jujuba</i> , <i>Zizyphus joazeiro</i>	125, 143, 144, 145, 139
Ácido betulônico	<i>Zizyphus jujuba</i>	145
Ácido ceanótico	<i>Discaria longispina</i> , <i>Colletia paradoxa</i> , <i>Ceanothus americanus</i>	125, 139, 140
Ácido 27-hidroxi ceanótico	<i>Ceanothus americanus</i>	140
Ácido ceanotanólico	<i>Paliurus hemsleyanus</i>	141
Ácido ceanotétrico	<i>Ceanothus americanus</i> , <i>Hovenia trichocarea</i>	140, 142
Ácido colubrínico	<i>Zizyphus jujuba</i> , <i>Paliurus hemsleyanus</i> , <i>Colubrina granulosa</i>	125, 129, 141, 144, 145
Ácido euscáfico	<i>Paliurus hemsleyanus</i>	141
Ácido gouânico	<i>Gouania microcarpa</i>	136
Ácido granulosico	<i>Colubrina granulosa</i>	129
Ácido hovênico	<i>Hovenia trichocarea</i>	142
Ácido oleanólico	<i>Zizyphus jujuba</i>	125, 144
Ácido oleanônico	<i>Zizyphus jujuba</i>	144, 145
Ácido ursólico	<i>Zizyphus joazeiro</i>	143, 139
Ácido α -hidroxi ursólico	<i>Zizyphus jujuba</i>	139
Ácido ziziberenólico	<i>Zizyphus jujuba</i> , <i>Paliurus hemsleyanus</i>	125, 141, 144, 145
Betulina	<i>Zizyphus jujuba</i>	139
Lupeol	<i>Colletia paradoxa</i>	26
Lupenona	<i>Colletia spinosissima</i>	127

138. Lee, S.S., Lin, C.J. and Liu, K. C., 1992. Journal of Natural Products 55, 602

139. Lee, S-S., Lin, B-F., and Liu, K.C.S., 1996. Phytochemistry 43, 847

140. Li, X-C., Cai, L., and Wu, C.D., 1997. Phytochemistry 46, 97

141. Lee, S-S., Shy S-N., and Liu, K.C.S., 1997. Phytochemistry 46, 549

142. Yoshikawa, K., Kimura, Y.K.E., Arihara, S., 1998. Phytochemistry 49, 2057

143. Schühly, W., Heilmann, J., Çalis, I., and Sticher, O., 1999. Planta Medica 65, 740

144. Lee, S., M., Min, B.S, Lee, C-G., Kim, K-S., and Kho, Y.H., 2003. Planta medica 69, 1051

145. Lee, S-M., Park, J-G., Lee, Y-H., Lee, C-G., Min, B-S., Kim, J-H., and Lee, H-K., 2004. Biol. Pharm. Bull. 27, 1883

146. Merkuza, V.M., Mascaretti, O.A., Croplare, R., and Rúveda, E.A., 1971. Phytochemistry 10, 908

Continuação da Tabela XX

Germanicol	<i>Colletia paradoxa</i>	26
Taraxerol	<i>Colletia paradoxa</i>	26
Taraxerona	<i>Colletia paradoxa</i>	26
Trevoagenina A	<i>Trevoa trinervis</i>	131
Triterpeno	<i>Emmenospermum pancherianum</i>	130
Triterpeno I	<i>Zizyphus fructus</i>	128
Triterpeno II	<i>Paliurus ramosissimus</i>	138

3.5.1 Atividades biológicas

O elevado número de triterpenóides distribuídos no reino vegetal leva à suposição de que essas substâncias sejam essenciais à própria vida do vegetal, seja atuando como defesa química contra insetos ou ao ataque de microrganismos. Portanto, é bastante lógico que também essas substâncias possam ser aproveitadas pelo homem na cura de moléstias causadas por determinados patógenos.

Em geral, os triterpenóides são pouco solúveis em água, sendo ligeiramente solúveis em solventes orgânicos apolares, o que dificulta a realização de ensaios biológicos. Porém, o recente desenvolvimento de novas técnicas para melhorar a solubilidade de drogas tem propiciado a realização de ensaios farmacológicos com estes metabólitos, indicando uma variedade de propriedades biológicas dessas substâncias.¹⁴⁷

3.5.1.1 Atividades anticâncer e antitumoral

Alguns exemplos da relação entre estrutura química e atividade anticancerígena de alguns triterpenóides tetracíclicos e pentacíclicos foi estudada por Ling *et al*, 1982. Os ensaios biológicos foram desenvolvidos em células de carcinoma humano das linhagens ME-180, u-87MG, SK-HEP-1, CALU-1, CAMA-1, SK-OV-3 e HEC-1-A. Entre os triterpenóides, o epimanidiol (3 β ,16 α -dihidróxi-olean-12-eno) apresenta atividade citotóxica em doses de 100 μ g/mL contra HEC-1-A, CAMA-1, ME-180, u-87MG, CALU-1 e SK-OV-3. A concentração mínima requerida para produzir 50% de inibição contra HEC-1-A foi aproximadamente de 10 μ g/mL. Maniladiol, o 16 β -epímero do epimanidiol, exibiu citotoxicidade contra ME-180 e CAMA-1 em doses de 100 μ g/mL, enquanto sophoradiol (3 β ,22 β -Dihidroxiolean-12-eno) exibiu citotoxicidade somente contra ME-180 em doses de

147. Mahato, S. B, and Sen S., 1997. Phytochemistry 44, 1185

100 µg/mL. Esses resultados sugerem que a presença de um grupo 16α-hidroxi é importante para manifestação da atividade citotóxica dos 12-oleanenos.¹⁴⁸

Vários triterpenóides tipo oleaneno, quimicamente derivados do ácido oleanóico e da hederagenina, foram testados *in vivo* e *in vitro* contra tumores induzidos por 12-O-tetracaniol-phorbol-13-acetato (TPA). Os testes *in vitro* foram monitorados, em fosfolipídeos, com a incorporação de ³²P induzido por TPA. Os testes *in vivo* foram realizados em tumores epiteliais de ratos induzidos com 7,12-dimetil-benz[a]antraceno (DMBA) e com TPA, sendo que os triterpenóides 18β-olean-12-eno-3β,23,28-triol, 18α-olean-12-eno-3β-28-diol e 18α-olean-12-eno-3β,23,28-triol, mostraram significativos efeitos supressivos. Em particular, os derivados do 18-α-oleananos que possuem um grupo –CH₂OH no C-17 foram 100 vezes mais efetivos que o ácido glicirrético, um usual supressor de tumores tanto *in vitro* ou *in vivo*.¹⁴⁹

3.5.1.2 Atividade antiviral

Apesar do elevado número de representantes dos triterpenóides, poucos estudos relativos à atividade antiviral desta classe de compostos tem sido realizados.¹⁵⁰ Poehland e colaboradores investigaram a atividade antiviral de nove triterpenos isolados da resina de dammar, contra o vírus *Herpes simplex* tipo I e II.¹⁵¹ Estudos envolvendo atividade anti-HIV de triterpenóides revelaram que o ácido betulínico e seus derivados,¹⁵²⁻¹⁵⁶ o ácido plantânico, o ácido salaspermico¹⁵⁷ e o suberosol¹⁵⁸ reduziram a replicação do vírus em células infectadas. Alguns triterpenos têm sido usados em combinação com outros medicamentos (coquetel de drogas), diminuindo o ritmo de reprodução do vírus em relação à monoterapia até então empregada.¹⁵⁹

148. Ling, H. C., King, M. L., Chen, C. F., Hsu, K. P., Su, M. H., and Lin, M. H., 1982. Chem. Abs. 97, 1201

149. Nishino, H., Nishino, A., Takayasu, J., Hasegawa, T., Iwashima, A., Hirabayahi, K., Iwata, S., and Shibata, S., 1988. Cancer Res. 48, 5210

150. Mahato, S., Nandy, A. K., Roy, G. Phytochemistry 1992, 31, 2199

151. Poehland, B. L., Carte, B. K., Francis, T. A., Hyland, I. J., Allaudeen, H. S. and Troupe, N. J. Nat. Prod. 1987, 50, 706.

152. Hashimoto, F., Kashiwada, Y., Cosentino, L. M. Chen, C-H., Garrett, P. E., Lee, K-H. Bioorg. & Med. Chem. 1997, 12, 2133

153. Jain, S. C., Singh, B., Jain, R. Fitoterapia 2001, 72, 666

154. Benoit-Vical, F., Imbert, C., Bonfis, J-P., Sauvare, Y., Phytochemistry 2003, 62, 747

155. Inoue, H., Mori, T., Shibata, S., and Koshihara, Y. J. Pharm. Pharmacol. 1988, 40, 272

156. Otsuka, H., Fujioka, S., Komiya, T., Goto, M., Hiramatsu, Y., and Fujimura, H., 1981. Chem. Pharm. Bull. 29, 3099

157. Chen K., Shi, Q., Kashiwada, Y. Journal of Natural Products 1992, 55, 340

158. Li, H. Y., Sun, N. J., Kashiwada, Y. Journal of Natural Products 1993, 56, 1130

159. Shanbrom, E., US patent, US 5,128, 149 (Chemical Abstracts, 117, 178292U) 1992

3.5.1.3 Atividade antimicrobiana

Triterpenos pentacíclicos derivados do ácido Imbérico, isolados de *Terminalia stuhlmannii*, apresentaram potente atividade antibacteriana, principalmente contra *Mycobacterium fortuitum* e *Staphylococcus aureus*. Por outro lado, esses compostos não apresentaram atividade contra *Escherichia coli*, sugerindo que esses metabólitos não são ativos contra bactérias Gram negativas.¹⁶⁰

A atividade antimicrobiana de nove triterpenóides isolados de *Heliotropium ellipticum* foi testada contra bactérias e fungos usando o método de difusão em ágar. Dentre os compostos destacam-se a cicloartenona e a friedelina, por apresentarem atividade antibacteriana e antifúngica superior, quando comparadas com os antibióticos de referência.¹⁶¹

A atividade antifúngica de 49 triterpenóides foi testada *in vitro*, usando como microorganismo de teste *Saccharomyces carlsbergensis*. Estes testes revelaram que os triterpenos pentacíclicos glicosilados com um grupo carboxílico C28 ou C27 livre, possuem as atividades antifúngicas mais altas.¹⁶²

3.5.1.4 Atividade antiinflamatória

A atividade antiinflamatória dos triterpenóides tem sido motivo de muitas pesquisas, sendo perfeitamente justificável, devido a vasta diversificação estrutural que esta classe de compostos é capaz de apresentar.¹²⁴ Os triterpenóides 18 β -olean-12-eno-3 β ,30-diol, 18 β -olean-9,12-dieno-3 β ,30-diol e olean-11,13-dieno-3 β ,30-diol, derivados da série do oleanano, em testes de edema de pata de rato induzido por carragenina, mostraram significativa inibição do edema por administração via oral (ID₅₀= 90; 130 e 88 mg.Kg⁻¹, respectivamente) e tópica (ID₅₀= 1,9; 2,8 e 1,7 mg).¹⁶³

O ácido piracrênico, isolado das cascas de *Pyracantha crenulata*, teve sua atividade antiinflamatória testada pelo método do algodão, mostrando-se ser um potente inibidor da formação de tecido granuloso.¹⁶⁴

160. Benoit-Vical, F., Imbert, C., Bonfils, J-P., Sauvairec, Y. Phytochemistry 2003, 62, 747

161. Jain, S.C., Singh, B., Jain, R.. Fitoterapia 72, 2001, 666

162. Ansimov, M. M., Shcheglov, V. V., Strigna, L. L., Chetyrma, W. S., Uvarova. N. I., Oshltok, G. I., Alad'ma, W. G., Vecherko, L. P., Zoina, A. D. Izr. Akad. Nauk, SSSR Ser. Biol. 1979, 570

163. Ioune, H., Mori, T., Shibata, S. and Koshihara, Y. J. Pharmacol. 1988, 40, 204.

164. Otsuka, H., Fujioka, S., Komiya, T., Goto, M., Hiramatsu, Y., and Fujimura, H. Chem. Pharm. Bull. 1981, 29, 3099

O suco da fruta de *Ecballium elaterium*, usado na Turquia para o tratamento da sinusite, foi testado quanto à sua atividade antiinflamatória em ratos. Investigações adicionais revelaram que a cucurbitacina B é o principal composto presente no suco responsável pela sua atividade antiinflamatória.¹⁶⁵

A literatura também registra atividade antiinflamatória para o moretenol,¹⁶⁶ taraxasterol¹⁶⁷ e seus respectivos acetatos e o lupanol,¹⁶⁶ ácido 11-oxo-oleanólico,¹⁶⁸ ácido glicirretínico¹⁶⁹ e as papirogeninas A e C.¹⁷⁰

3.5.2 Biossíntese

Várias décadas de pesquisa têm aperfeiçoado a compreensão do ciclo biossintético dos metabólitos secundários derivados do isopreno. Não constitui, portanto, surpresa que um precursor comum, o mevalonato, seja usado pelas plantas na biossíntese dos terpenóides e esteróides, através de sua conversão em isopentenil-pirofosfato, ou isopreno ativo.

A polimerização do mevalonato vai originar moléculas de cadeias carbônicas crescentes, múltiplos de cinco átomos de carbono (isopreno), onde resultará a formação de monoterpenos (C10), sesquiterpenos (15) e diterpenos (C20). A ligação entre duas moléculas de farnesil-pirofosfato (C15) dará origem ao esqualeno. O esqualeno (**169**) é o triterpeno mais simples e também o precursor imediato de todos os triterpenóides, enquanto que os esteróides (C27) podem ser considerados metabólitos da via dos triterpenos (Esquema 1).¹⁷¹

As enzimas que catalisam a biossíntese dos terpenos são conhecidas com triterpeno sintases e podem ser classificadas como esqualeno ciclases ou óxido esqualeno ciclases, as quais convertem o esqualeno (**169**), 2,3-epóxi-esqualeno (**170**) e 2,3,22,23-diepóxi-esqualeno (**171**), respectivamente, a terpenos e triterpenóides cíclicos.^{172,173} É interessante salientar que a conformação dos precursores é mantida pelo sistema enzimático durante o processo de ciclização.

165. Yesibada, E., Tanaka, S., Sezik, E. and Tabata, M. *Journal of Natural Products* 1988, 51, 504

166. Chawla, A. S., Kaith, B. S., Handa, S. S., Kulshreshtha, D. K. and Srimal, R. S. *Fitoterapia* 1991, 60, 441

167. Singh, B., Ram S. M., Pandey, V. B., Joshi, V. K. and Gambhir, S. S. *Phytother Research*, 1991, 5, 103

168. Han, B. H., Lee, H. J. and Han, D. S. *Yakha Hoe Chi* 1982, 26, 1 (Chem. Abs. 1982, 97 156257)

169. Capasso, F., Mascolo, N., Autore, G. Duraccio, M. R. *J. Pharm. Pharmacol.* 1983, 35, 332

170. Sugishita, E., Amagaya, S. and Ogihara, Y. *J. Pharmacobio-Dyn.* 1983, 6, 287

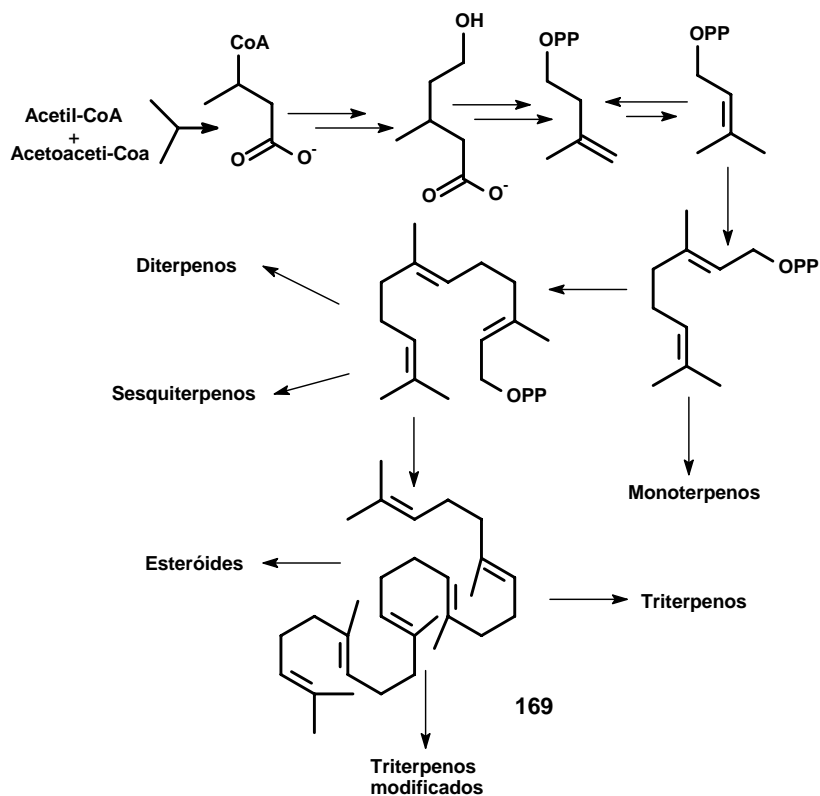
171. Simões, C. M. O., Schenkel, E. P., Gosmann, G., Mello, J. C. P., Mentz, L. A., Petrovick, P. R. *Farmacognosia da planta ao medicamento* 1999, Ed. Universidades / UFRGS / UFSC, Porto Alegre / Florianópolis. P. 350

172. Bohlmann, J., Meyer-Gauen, G., Croteau, R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 1998, 95, 4126

173. Trapp, S. C., Croteau, R. B., 2001. *Genetics* 158, 811

Deste modo, os centros assimétricos dos metabólitos oriundos da mesma rota biogênica adquirem a mesma configuração.

Esquema 1. Biossíntese de terpenos



3.5.2.1 Ciclização do esqualeno

O “*Dicionário de Produtos Naturais*”¹⁷⁴ contém cerca de 57 compostos $C_{30}H_{50}$ ou $C_{30}H_{52}O$ derivados do esqualeno (**169**), biossintetizados pela ação das enzimas esqualeno ciclases, proveniente da rota biogênica do isopreno. Os $C_{30}H_{50}$ são compostos resultantes da desprotonação e/ou transferência de grupos para o intermediário carbocátion, formado a partir da ciclização do esqualeno. Por outro lado, os $C_{30}H_{52}O$ originam-se pela adição de um equivalente hidróxido ao carbocátion, formado durante a biogênese desses compostos.

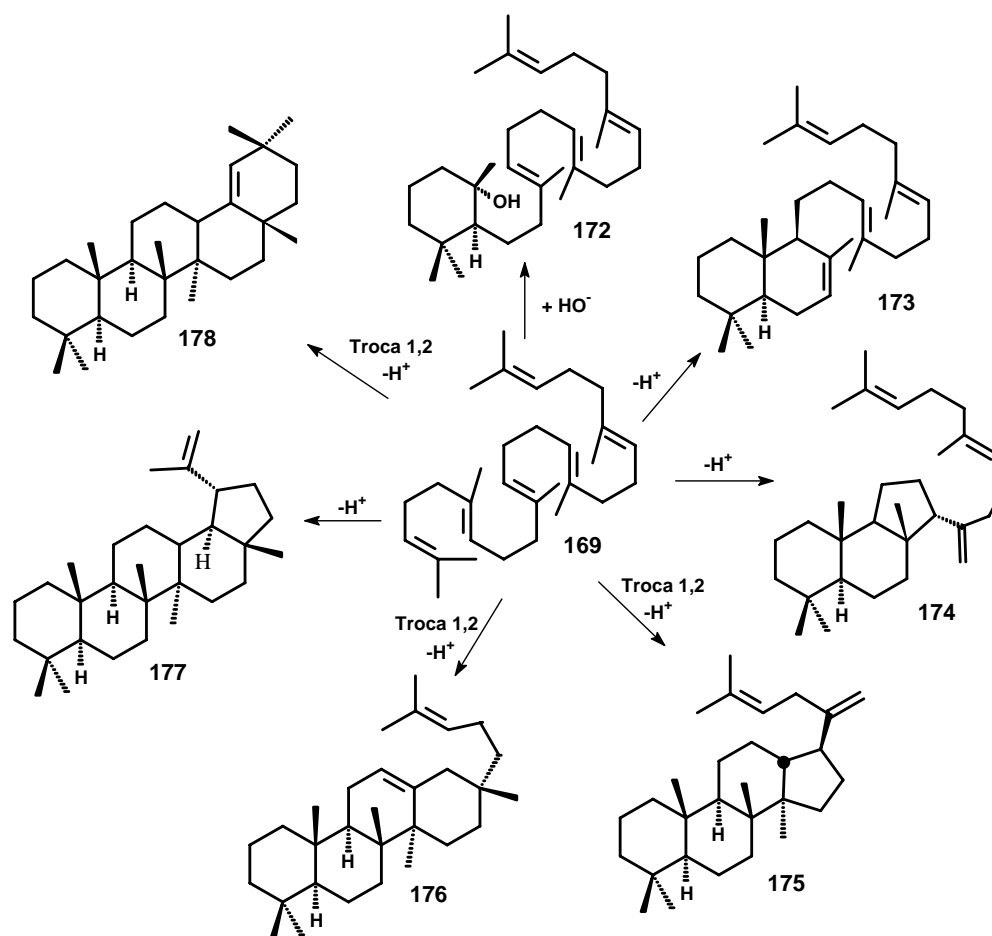
Na biossíntese dos triterpenos cíclicos, sabe-se inicialmente, que o esqualeno permanece numa conformação rígida sobre o sistema enzimático e pode sofrer ciclização por diferentes modos. Desta maneira, originam-se os triterpenos monocíclico [9,13,17,21-achillatetraen-6-ol (**172**)],¹⁷⁵ bicíclico

174. Buckingham, J., (Ed.) 2002. Dictionary of Natural Products, (Web version 2002 ed.). Chapman & Hall/CRC Press.

175. Arai, Y., Hirohara, M., Ageta, H., Hsu, H. Y., 1992. Tetrahedron Lett. 33, 1325

[7,13,17,21-polipodatetreno (**173**)],¹⁷⁶ triciclo 6-6-5 [13 α -14,17,21-malabaricatreno (**174**)],¹⁷⁷ tetracíclico 6-6-6-5 [dammara-20,24-dieno (**175**)],¹⁷⁸ tetracíclico 6-6-6-6 [12,21-baccharadieno (**176**)],¹⁷⁸ pentacíclico 6-6-6-6-5 [20-lupeno (**177**)],¹⁷⁹ pentacíclico 6-6-6-6-6 [18-oleaneno (**178**)],¹⁸⁰ mostrados no esquema 2 a seguir.

Esquema 2. Ciclização do esqualeno



176. Shiojima, K., Arai, Y., Masuda, K., Kamada, T., Ageta, H., 1983. Tetrahedron Lett. 24, 5733

177. Masuda, K., Shiojima, K., Ageta, H., 1989. Chem. Pharm. Bull. 37, 1140

178. Masuda, K., Shiojima, K., Ageta, H., 1983. Chem. Pharm. Bull. 31, 2530

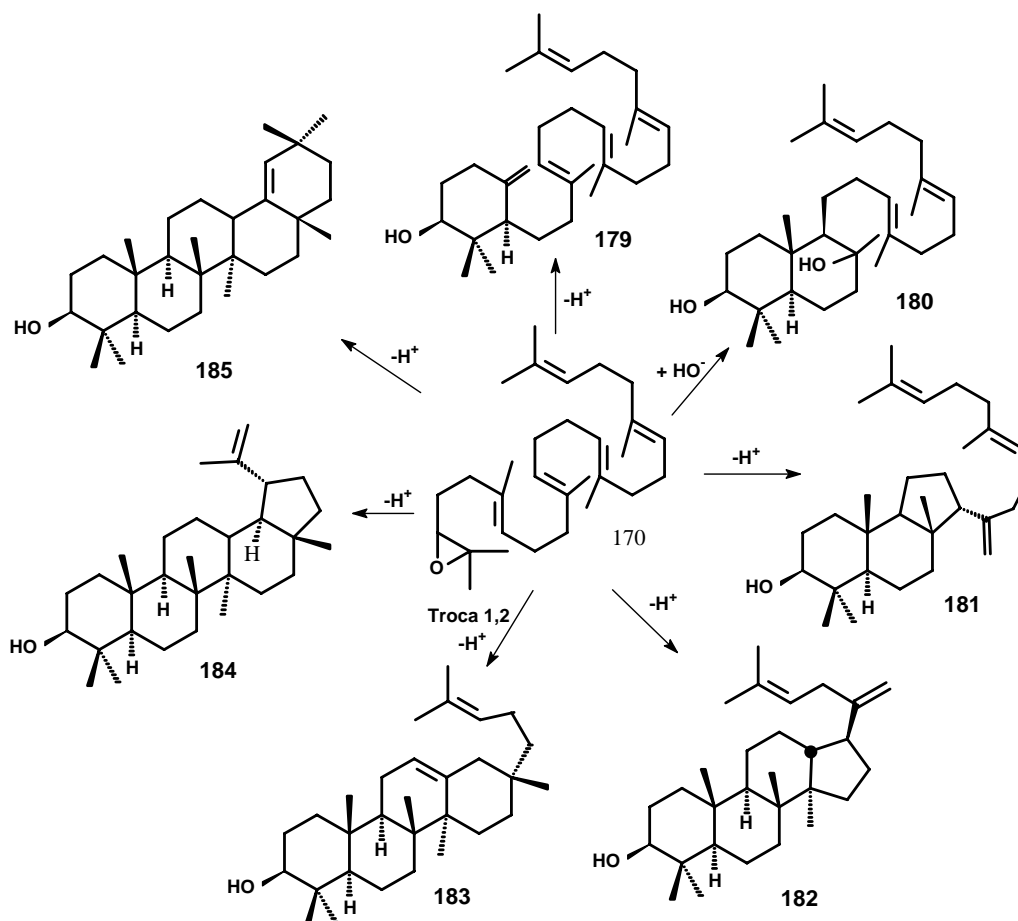
179. Wenkert, E., Baddeley, G. V., Burfitt, I. R., Moreno, L. N., 1978. Org. Magn. Reson. 11, 337

180. Ageta, H., Arai, Y. Phytochemistry 1983, 22, 1801

3.5.2.2 Ciclização do 2,3-epóxi-esqualeno

A epoxidação enzimática do esqualeno dará origem ao 2,3-epóxido-esqualeno (**170**), provavelmente o precursor da maioria dos 3 β -OH-triterpenóides. Este intermediário poderá sofrer diferentes estágios de anelação, durante a biogênese. Fato esse, constatado através do isolamento de diferentes espécies vegetais e fungos, dos álcoois triterpênicos monocíclico [achilleol A (**179**)],¹⁸¹ bicíclico [polipoda-13,17,21-trien-3,8-diol (**180**)],¹⁸² tricíclico 6-6-5 [malabarica-14,17,21-trien-3-ol (**181**)],¹⁸³ tetracíclico 6-6-6-5 [dammara-17,24-dien-3-ol (**182**)],¹⁸⁴ tetracíclico 6-6-6-6 [Bacchara-12,21-dien-3-ol (**183**)],¹⁸⁵ pentacíclico 6-6-6-6-5 [lupeol (**184**)]¹⁸⁶ e pentacíclico 6-6-6-6-6 [germanicol (**185**)]¹⁸⁷ (Esquema 3).

Esquema 3. Ciclização do 2,3-epóxi-esqualeno



181. Barrero, A.F., Alvarez-Manzaneda, E.J., Alvarez-Manzaneda, R., 1989. Tetrahedron Lett. 30, 3351

182. Boar, R.B., Couchman, L.A., Jaques, A.J., Perkins, M.J., 1984. J. Am. Chem. Soc. 106, 2476

183. Jakupovic, J., Eid, F., Bohlmann, F., El-Dahmy, S., 1987. Phytochemistry 26, 1536

184. Mills, J.S., 1956. J. Chem. Soc. 2196

185. Akihisa, T., Kimura, Y., Tamura, T., 1994. Phytochemistry 37, 1413

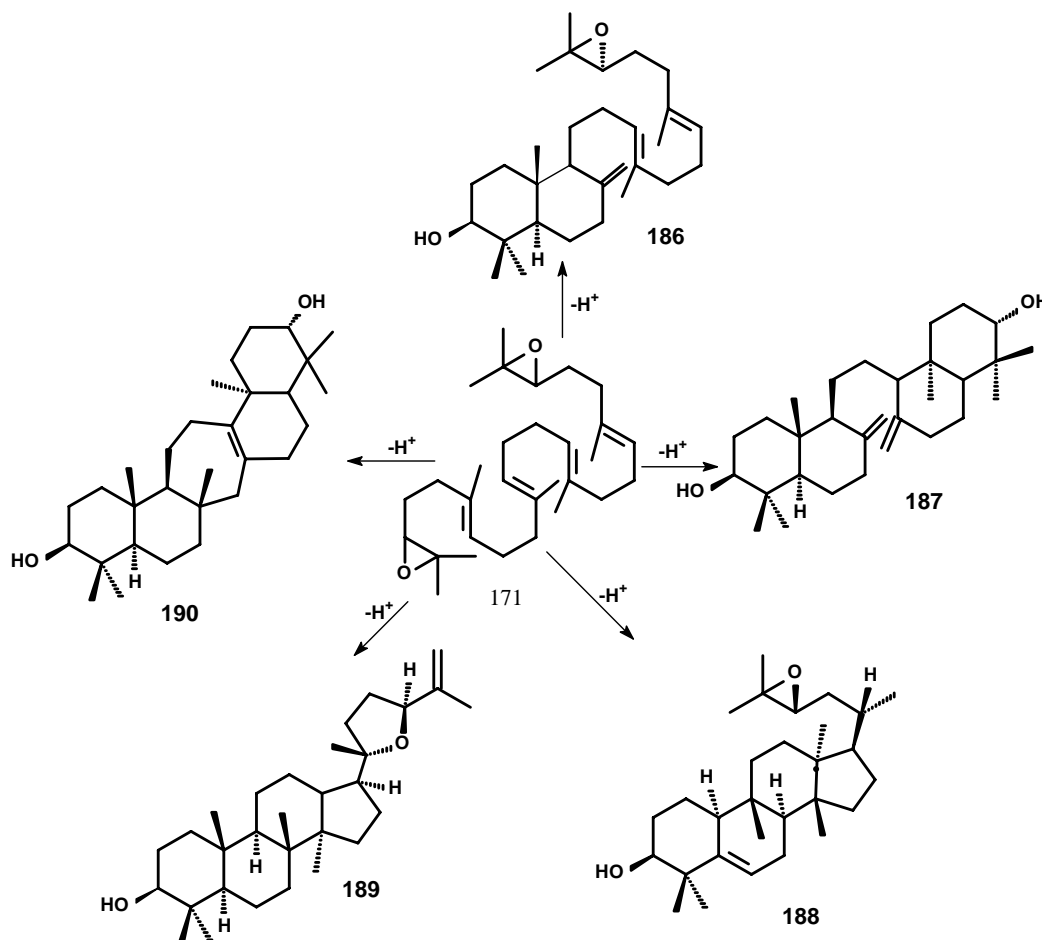
186. Ames, T.R., Halsall, T.G., Jones, E.R.H., 1951. J. Chem. Soc. 450

187. David, S., 1949. Soc. Chim. Fr. 155

3.5.2.3 Ciclização do 2,3,22,23-diepóxi-esqualeno

O 2,3,22,23-diepóxi-esqualeno (**171**), substrato usado na biogênese de vários triterpenóides, origina-se da oxidação do esqualeno, realizada pelas enzimas esqualeno epoxidases.¹²² A ciclização do 2,3,22,23-diepóxi-esqualeno, através de ciclização em cascata, rearranjos intramolecular e desprotonação, ataque nucleofílico do 22,23-epóxido ou equivalente hidróxido, origina os triterpenóides bicíclico [preonocerin (**186**)],¹⁸⁸ bis-bicíclico [onocerin (**187**)],¹⁸⁹ tetracíclico [24,25-epóxi-Reissantenol (**188**)],¹⁹⁰ tetrahidropirano [richenol (**189**)]¹⁹¹ e pentacíclico [13-serratene-3 β ,21 α -diol (**190**)],¹⁹² mostrados no esquema 4.

Esquema 4. Ciclização do 2,3, 22,23-diepóxi-esqualeno



188. Rowan, M.G., Dean, P.D.G., 1972. *Phytochemistry* 11, 3111

189. Barton, D.H.R., Overton, K.H., 1955. *J. Chem. Soc.* 2639

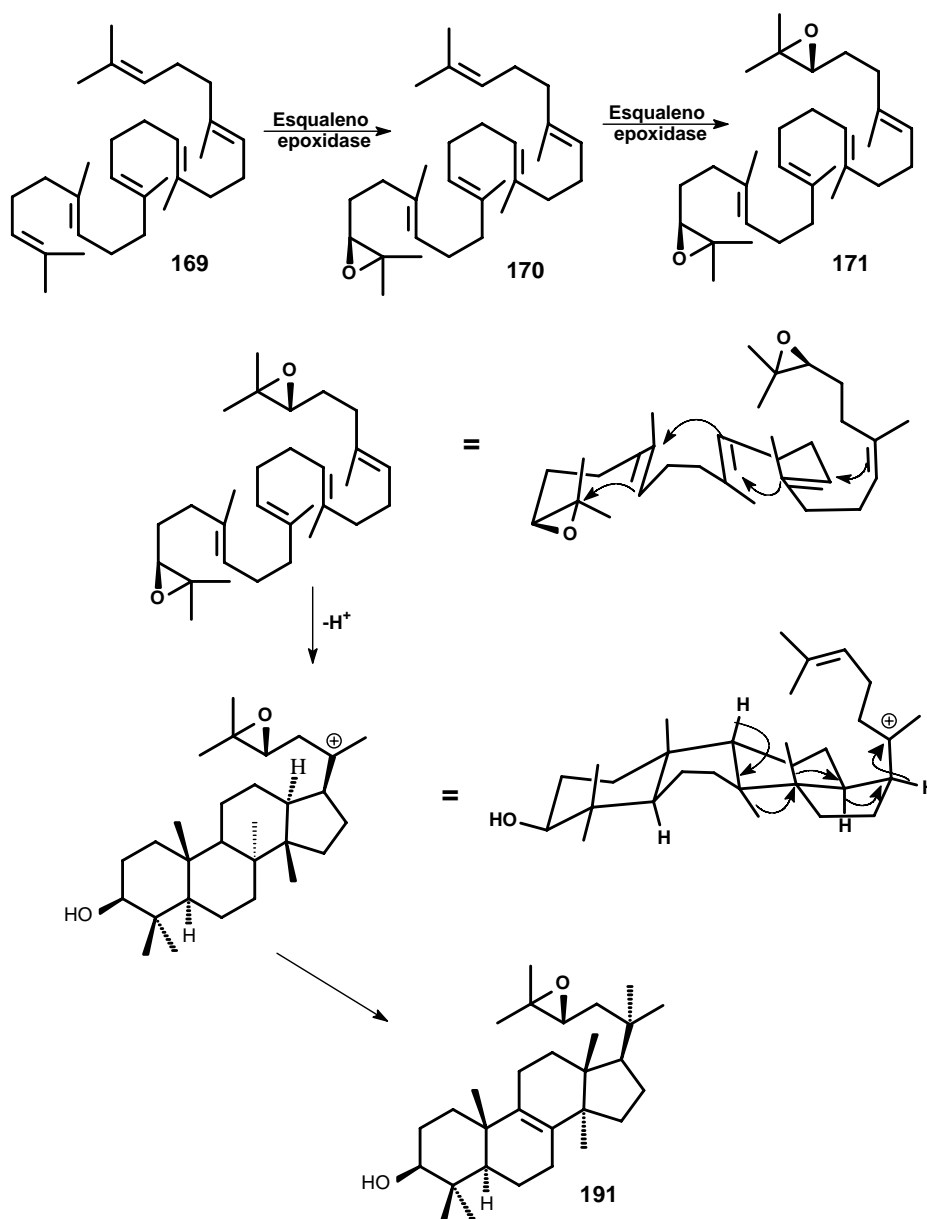
190. Gamlath, C.B., Gunatilaka, A.A.L., Subramaniam, S., 1989. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2259

191. Aalbersberg, W., Singh, Y., 1991. *Phytochemistry* 30, 921

192. Inubushi, Y., Sano, T., Tsuda, Y., 1964. *Tetrahedron Lett.* 1303

O exemplo mais bem estudado de ciclização do diepóxido-esqualeno é a conversão do 2,3-(S)-22,23-(S)-diepóxi-esqualeno (**171**) a 24,25-epoxilano-3-ol (**191**).¹⁹³ Inicialmente o esqualeno (**169**) é oxidado pela enzima esqualeno epoxidase à oxidoesqualeno (**170**) e, em condições que a lanosterol sintase é limitante, a outra extremidade do epóxi-esqualeno poderá sofrer epoxidação. O 2,3-22,23-diepóxi-esqualeno (**171**) resultante, por sua vez, é o substrato para biossíntese do epoxilano-sterol (**191**)^{194,195} (Esquema 5).

Esquema 5. Conversão do esqualeno em epóxi-lanosterol



193. Field, R.B., Holmlund, C.E., 1977. Arch. Biochem. Biophys. 180, 465

194. Spencer, T.A., 1994. Accounts Chem. Res. 27, 83

195. Gardner, R.G., Shan, H., Matsuda, S.P.T., Hampton, R.Y., 2001. J. Biol. Chem. 276, 8681

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Procedimentos experimentais gerais

4.1.1 Espectroscopia ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram registrados em um espectrômetro Bruker DPX 400, do Departamento de Química, da Universidade Federal de Santa Maria, operado a 400,13 MHz para ^1H e 100,62 MHz para ^{13}C . As soluções foram preparadas a partir de 10-15,0 mg de amostra em 0,4 mL de solvente deuterado em tubos de 5 mm. Os solventes utilizados para análise das amostras foram clorofórmio deuterado (CDCl_3), piridina deuterada (Pyr-d_6), acetona deuterada e dimetilsulfóxido (DMSO-d_6). Os deslocamentos químicos foram registrados em “ppm” (partes por milhão) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Utilizou-se como referência interna o TMS (δ 0,00) para os espectros de hidrogênio e CDCl_3 (77,0), Pyr-d_6 (135,0), acetona- d_6 (205,0) e DMSO-d_6 (39,5) para os espectros de ^{13}C . Os espectros 1D e 2D foram obtidos e processados com o software XwinNmr 1.3. Os parâmetros de aquisição dos experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C uni- e bidimensionais encontram-se em anexo.

4.1.2 Espectroscopia de infravermelho

Os espectros de IV foram registrados em pastilhas de KBr num espectrômetro Perkin-Elmer modelo LR649122C existente na Universidade Regional Integrada do alto Uruguai (URI) - Campus Frederico Westphalen.

4.1.3 Polarímetro

A rotação óptica foi determinada em um polarímetro Perkin Elemer 341, automático com lâmpada de mercúrio com precisão de 0,05 graus, em cubeta de 10 dm de comprimento, utilizando clorofórmio e metanol como solvente. Os experimentos foram realizados na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

4.1.4 Espectrometria de massas

Para obtenção dos espectros de massas foi utilizado o aparelho Bruker BioApex 70 eV Spectrometer, do Institut of Plant Biochemistry, Halle-Saale, Alemanha.

4.1.5 Aparelho de ponto de fusão

Os pontos de fusão das substâncias isoladas foram determinados em um aparelho MQAPF-301 Digital da Micro Química, com termômetro não aferido.

4.1.6 Cromatógrafo gasoso

Os cromatogramas foram obtidos em cromatógrafo a gás VariaM 3800 equipado com detector de ionização de chama (DIC), injetor "SPLIT-SPLITLESS", operando com as temperaturas do injetor e do detector a 220 °C e 280 °C respectivamente. O gás de arraste utilizado foi H₂ a 50Kpa de pressão (1 ml/min). Foram empregadas colunas capilares de sílica fundida (CCSF) com 25 m de comprimento e 0,32 mm de diâmetro, com fases estacionárias quirais 2,6-Me-3-PeB-CD (50%) e Lipodex-E (50%).

4.1.7 Materiais e métodos cromatográficos

Cromatografias em colunas (CC) foram realizadas, utilizando-se sílica gel tipo 60 (Merck), 70-230 e 230-400 mesh, como adsorvente.

Cromatografias em placas preparativas foram realizadas usando-se sílica gel 60 GF 254 (Merck).

Cromatografias em camada delgada (CCD) foram efetuadas sob placas de cromatofolhas de alumínio como suporte e sílica gel 60 F₂₅₄ como adsorvente.

Os cromatogramas foram revelados através de lâmpadas ultravioleta ($\lambda = 254$ e 366 nm, Spectroline), reativo de Dragendorff, modificado segundo Munier e Machebouf (alcalóides),¹⁹⁶ reativo de Liebermann-Büchard (triterpenóides), solução de ácido sulfúrico e álcool etílico (10:90, V/V) seguido de aquecimento e por reagente de Erlich específico para grupos indólicos.¹⁹⁷

Os solventes e reagentes utilizados foram produtos analiticamente puros Merck, Vetec e Reagen. Em certos casos, aplicaram-se técnicas específicas de

196. Munier, R., Macheboeuf, A. Bull. Soc. Chim. Biol. 1951, 33, 846

197. E. Merck A, Darmstadt, Alemanha. Reactivos de coloracion para cromatografia em capa fina y papel

purificação de solventes, obtendo-se, dessa maneira, produtos com maior grau de pureza.¹⁹⁸ A relação, a seguir, apresenta os principais sistemas de solventes utilizados nas técnicas cromatográficas.

1. Clorofórmio, Metanol (gradiente) **2.** Clorofórmio, Éter Diisopropílico (95:5); **3.** Clorofórmio, Éter Diisopropílico (90:10); **4.** Clorofórmio, Metanol, Éter Etílico, Acetato (1:0,5:20:10); **5.** Clorofórmio, Éter Etílico, Acetona, Benzeno (4:4:1:1); **6.** Benzeno, Acetato de Etila (gradiente) **7.** Hexano, Acetona (gradiente)

4.1.8 Atividade antimicrobiana *in vitro*

4.1.8.1 Microrganismos empregados nos ensaios

Utilizaram-se cepas padrão da American Type Culture Collection (ATCC), constituídas de microrganismos Gram-positivos, Gram-negativos e fungos, conforme Tabela 14.

Tabela 14: Microrganismos indicadores

Microrganismos		
Gram-negativos	Gram-positivos	Fungos
<i>Pseudomona aeruginosa</i> 9341	<i>Staphylococcus aureus</i> 6538p	<i>Candida albicans</i> 10231
<i>Escherichia coli</i> 11103	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 12228	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2601
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 10031	<i>Bacillus subtilis</i> 6633	
<i>Salmonella setubal</i> 19196		

198. Perrin, D. D.; Armarego, W.L.F and Perrin, D.R. Purification of Laboratory Chemicals, 2^a ed.; Pergamon Press, 1980.

4.1.8.2 Padrões utilizados nos ensaios microbiológicos

As substâncias utilizadas como padrões foram as seguintes: Amoxicilina para bactérias, potência (978,9 µg / mg); Nistatina para fungos, potência (2464,38 UI / mg), padrões primários da USP, que foram preparados conforme FDA.¹⁹⁹

4.1.8.3 Meios de cultura

As cepas dos microrganismos foram repicadas a cada 15 dias, em tubos de ensaios contendo de 5,0-8,0 mL de Ágar simples para bactérias e Ágar Sabouraud para fungos, sendo os mesmos incubados a 37 °C por 24 a 48 horas (Tabela 15).

Tabela 15: Meios de cultura

Meios de Cultura			
Ágar simples		Ágar sabouraud	
Caldo Nutriente	8,0 g	Peptona	10,0 g
Ágar – ágar	15,0 g	Dextrose	40,0 g
Água destilada	1,0 L	Ágar – ágar	15,0 g
		Água destilada	1,0 L

Os respectivos meios foram pesados, dissolvidos em água destilada, fervidos e esterilizados em autoclave a 121 °C por 20 minutos. Após a esterilização, os tubos foram mantidos inclinados até a sua solidificação.

4.1.8.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

Para as análises de atividade nas amostras em estudo foi utilizado o seguinte meio de cultura:

Ágar Mueller-Hinton

- Infuso de carne	300,0 g
- Caseína hidrolisada	17,5 g
- Amido	1,5 g
- Ágar-ágar	17,0 g

199. Food and Drugs Administration: Code of Federal Regulations 1991, Cap. 21, 300

- Água destilada 1.000,0 mL

De acordo com instruções do fabricante, reidrataram-se 38,0 g em água destilada, esterilizando em seguida em autoclave a 120 °C por quinze minutos.

4.1.8.5 Preparo das suspensões dos microorganismos (inóculo)

Os microorganismos utilizados foram mantidos em tubos de ensaios contendo 5–8,0 mL de meio ágar nutriente inclinado. Para o desenvolvimento dos ensaios foram efetivadas novas culturas em tubos com os mesmos meios por 24 horas à temperatura de 32–35 °C. As culturas crescidas sobre os meios inclinados foram submetidas à lavagem com 6,0 mL de uma solução fisiológica estéril. Para a padronização do inóculo, diluiu-se a suspensão de germes com solução fisiológica estéril, medindo-se a turbidez de acordo com a escala de 0,5 de Mac Farland.

4.1.8.6 Determinação da atividade antimicrobiana pelo método de bioautografia

O ensaio de determinação da atividade antimicrobiana pelo método de bioautografia foi realizado de acordo com Rahalison e colaboradores.²⁰⁰ Para a realização deste, foram utilizadas placas de Petri de 10 mm altura x 100 mm de diâmetro, onde foram depositadas as cromatoplasmas com as amostras a serem analisadas. Em seguida, foram adicionados 10,0 mL do meio de cultura inoculado com o microorganismo indicador sobre as cromatoplasmas. Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas por uma noite a 37 °C. Decorrido o período de incubação, os cromatogramas foram revelados com uma solução aquosa de sal de tetrazóleo (20,0 mg/mL) e incubados por um período entre 2 a 4 horas a 37 °C.

A atividade antimicrobiana do extrato bruto, das frações e das substâncias isoladas, contra bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus* e *Bacillus subtilis*; bactérias Gram-negativas: *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella setubal*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* e fungos: *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae* foram determinadas por este método.²⁰¹ Os microorganismos usados para os ensaios antimicrobianos foram conservados no Laboratório de Microbiologia do

200. Rahalison, L., Hamburger, M., Hostettmann, K., Monod, M., Frenk, E. *Phytochemical Analysis* 1991, 2, 199

201. Saxena, G., Farmer, S., Towers, G.H.N., Hancock, R.E.W. *Phytochemical Analysis* 1995, 6, 125

Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais (NPPN) do Departamento de Química da UFSM. Para os ensaios das substâncias isoladas foram testadas as seguintes concentrações: 100,0; 50,0; 25,0; 12,5; 6,25, 3,12 e 1,5 µg, enquanto que para os extratos brutos e as frações as concentrações foram de: 500,0; 200,0; 100,0; 50,0; 25,0 µg e 200,0; 100,0; 50,0; 25,0 e 12,5 µg, respectivamente, aplicados em cromatoplas. Depois das aplicações, as cromatoplas foram colocadas em placas de Petri estéreis, e a elas foi adicionado o meio de cultura inoculado com o microrganismo indicador.

4.2 *Discaria americana* Gill & Hook

As partes aéreas e casca da raiz de *D. americana* foram coletadas durante o mês de dezembro de 2000 nos municípios de Santana do Livramento (30° 53' 33" S, 55° 31' 36" N), São Sepé (29° 45' 30" S, 54° 20' 33" N), e Jaguarí (29° 49' 70" S, 54° 69' 00" N) no RS. A identificação do material botânico foi realizada através de comparação com amostra já existente no Herbário do Departamento de Botânica – UFSM, sob número SMDB 2829.

4.2.1 Casca da raiz

4.2.1.1 Extração, fracionamento e cromatografia

A casca da raiz de *D. americana*, depois de seca em estufa a uma temperatura de 50⁰C e moída em moinho Wiley, foi submetida a extração, em Soxhlet, com metanol, durante 12 horas. O solvente foi evaporado a pressão reduzida, resultando um resíduo escuro, denominado extrato bruto. O extrato bruto foi suspenso em uma mistura de água e éter etílico (1:1, V/V) em ampola de decantação, acidificados com HCl 2N a pH próximo de 1,5 e depois extraído exaustivamente com éter etílico, resultando um sólido escuro, denominado fração ácida etérea. A solução aquosa remanescente foi alcalinizada com NH₄OH a pH 9,0 e extraída sucessivamente com éter etílico, acetato de etila e *n*-butanol, conforme o esquema 6. Os extratos orgânicos obtidos foram submetidos à secagem com sulfato de sódio anidro, filtrados e evaporados sob pressão reduzida, resultando em 3 diferentes frações básicas: etérea, acetato de etila e butanólica (Tabela 16).

Esquema 6: Fracionamento ao qual os extratos brutos da casca da raiz de *D. americana* (Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari) foram submetidos

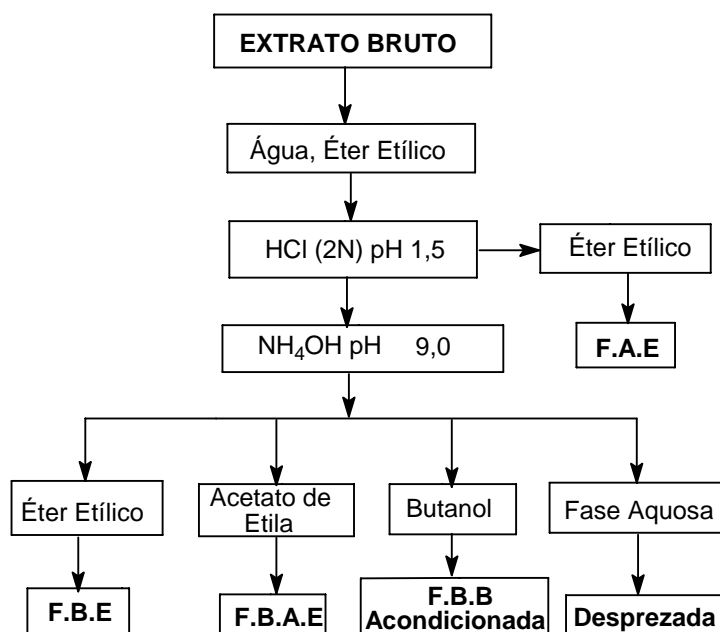


Tabela 16: Quantidades de raiz, extrato bruto e frações de *D. americana*.

Coleta	Raiz	E.B	F.A.E	F.B.E	F.B.A.E	F.B.B
São Sepé	3,0 Kg	950,0 g	32,1 g	6,0 g	5,6 g	149,3 g
Jaguari	5,4 Kg	1508,1 g	49,2 g	9,5 g	9,7 g	216,3 g
S. Livramento	1,8 Kg	420,4 g	8,3 g	4,9 g	3,2 g	67,1 g

As frações (F.A.E, F.B.E, F.B.A.E e F.B.B) das diferentes coletas, obtidas dos seus respectivos extratos brutos, foram comparadas entre si, através da análise em CCD, utilizando-se vários sistemas de solventes, lâmpadas UV_{254nm} e UV_{365nm}, reagente de Dragendorff e ácido sulfúrico/etanol (10:90 V/V). Deste modo, observou-se que as frações básicas etéreas (teste com reagente de Dragendorff) continham manchas com Rfs semelhantes, mas também havia manchas que não eram comuns, indicando assim a presença de diferentes metabólitos para *D. americana* coletada em Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari. Já as frações básicas acetato de etila eram semelhantes às frações básicas etéreas, dos respectivos locais de coleta. As frações butanólicas foram submetidas a análise em CCD, porém nos sistemas de solventes usuais (hexano, CH₂Cl₂, CHCl₃ e MeOH) não houve eluição dos metabólitos presentes. Por outro lado, as frações ácidas etéreas, quando comparadas em CCD, reveladas em ácido sulfúrico, seguido de aquecimento, não apresentaram diferenças entre si.

As frações básicas etéreas (1,5 g, 4,0 g e 6,5 g dos materiais de S. do Livramento, São Sepé e Jaguarí, respectivamente) foram submetidas à cromatografia em coluna, utilizando-se sílica gel 60H (70-230 msh) como adsorvente e CHCl₃-MeOH como sistema eluente, em várias concentrações, com aumento gradativo da polaridade. Frações de 150,0 mL foram coletadas e analisadas individualmente em CCD, resultando em novas frações que estão relatadas nas Tabelas 17-19. As frações puras, semelhantes em CCD, foram reunidas, enquanto as impuras foram submetidas a novos processos de purificação, através de recristalização, cromatografia em coluna, utilizando-se sílica gel 60H (230-400 mesh), ou em placas preparativas.

Tabela 17: Cromatografia da fração básica etérea (FBE-SL)

<i>Discaria americana</i> - Santana do Livramento			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	CHCl ₃	Material Graxo	35,1
II	CHCl ₃ :MeOH (97:03)	A01	32,4
III	CHCl ₃ :MeOH (94:06)	A01, A02	114,7
IV	CHCl ₃ :MeOH (92:08)	A02, A04	298,5
V	CHCl ₃ :MeOH (90:10)	A04, A05	79,4
VI	CHCl ₃ :MeOH (85:15)	A04, A05, A06	26,2
VII	CHCl ₃ :MeOH (80:20)	A09, D01, D02,	147,9
VIII	CHCl ₃ :MeOH (75:25)	D01, D02, D03	86,8
IX	CHCl ₃ :MeOH (70:30)	A16, D15	58,2
X	MeOH	Resíduo	175,0

Tabela 18: Cromatografia da fração básica etérea (FBE-SS)

<i>Discaria americana</i> – São Sepé			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	HCCl ₃	Material Graxo	135,1
II	CHCl ₃ :MeOH (99:01)	A01, A02	285,9
III	CHCl ₃ :MeOH (92:02)	A02	428,7
IV	CHCl ₃ :MeOH (95:05)	A02, S03, S04	526,1
V	CHCl ₃ :MeOH (93:07)	S04	412,5
VI	CHCl ₃ :MeOH (90:10)	S04, A04	455,9
VII	CHCl ₃ :MeOH (88:12)	A03, A05	301,8

Continuação da Tabela 18

VIII	CHCl ₃ :MeOH (80:20)	A09	691,7
IX	CHCl ₃ :MeOH (75:25)	D03, D15	125,1
X	MeOH	Resíduo	335,5

Tabela 19: Cromatografia da fração básica etérea (FBE-JA)

<i>Discaria americana</i> – Jaguari			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	HCCl ₃	Material Graxo	116,3
II	CHCl ₃ :MeOH (98:02)	A01	145,9
III	CHCl ₃ :MeOH (96:04)	A01, A02, S03	834,7
IV	CHCl ₃ :MeOH (95:05)	A02, S03	729,1
V	CHCl ₃ :MeOH (93:07)	S03, S04	942,0
VI	CHCl ₃ :MeOH (90:10)	S04	857,2
VII	CHCl ₃ :MeOH (88:12)	A04, A05	864,5
VIII	CHCl ₃ :MeOH (85:15)	A09	795,8
IX	MeOH	Resíduo	528,2

As frações ácidas etéreas [2,0 g de cada local de coleta (S. do Livramento, São Sepé e Jaguari)] foram cromatografadas em colunas (separadas), utilizando-se como adsorvente sílica gel 60 H (70-230 mesh) e Hexano-AcOEt-MeOH como sistema eluente. As frações obtidas foram reunidas, de acordo com análise em CCD e reveladas com ácido sulfúrico/etanol, seguido de aquecimento. Os resultados obtidos encontram-se listados nas Tabelas 20-22.

Tabela 20: Cromatografia da fração ácida etérea (FAE-SL)

<i>Discaria americana</i> – Santana do Livramento			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	Hexano	Material Graxo	26,1
II	Hexano-AcOEt (95:05)	Material Graxo	45,8
III	Hexano-AcOEt (90:10)	L01	65,3
IV	Hexano-AcOEt (85:15)	L01, L02	179,1
V	Hexano-AcOEt (80:20)	L02	524,0
VI	Hexano-AcOEt (75:25)	L02, L03	257,8
VII	Hexano-AcOEt (70:30)	L02, L04	184,5
VIII	AcOEt	L04	195,8
IX	MeOH	Resíduo	228,2

Tabela 21: Cromatografia da fração ácida etérea (FAE-SS)

<i>Discaria americana</i> – São Sepé			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	Hexano	Material Graxo	19,0
II	Hexano-AcOEt (95:05)	M. Graxo L01	22,5
III	Hexano-AcOEt (90:10)	L01	49,0
IV	Hexano-AcOEt (85:15)	L01, L02	188,9
V	Hexano-AcOEt (80:20)	L02	451,1
VI	Hexano-AcOEt (75:25)	L02, L03	149,5
VII	Hexano-AcOEt (70:30)	L03, L04	214,6
VIII	AcOEt	L04	209,3
IX	AcOEt-MeOH (50:50)	L04, Resíduo	83,5
X	MeOH	Resíduo	162,3

Tabela 22: Cromatografia da fração ácida etérea (FAE-JA)

<i>Discaria americana</i> – Jaguari			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	Hexano	Material Graxo	21,5
II	Hexano-AcOEt (95:05)	Material Graxo	34,1
III	Hexano-AcOEt (90:10)	L01	56,3
IV	Hexano-AcOEt (85:15)	L01, R02	210,7
V	Hexano-AcOEt (80:20)	L02	502,0
VI	Hexano-AcOEt (75:25)	L02, L03	111,2
VII	Hexano-AcOEt (70:30)	L03, L04	321,9
VIII	AcOEt	L04	181,6
IX	AcOEt-MeOH (50:50)	L04, Resíduo	113,8
X	MeOH	Resíduo	139,1

4.2.1.2 Fracionamento neutro dos extratos brutos das cascas das raízes de *D. americana* coletadas em Santana do Livramento e São Sepé.

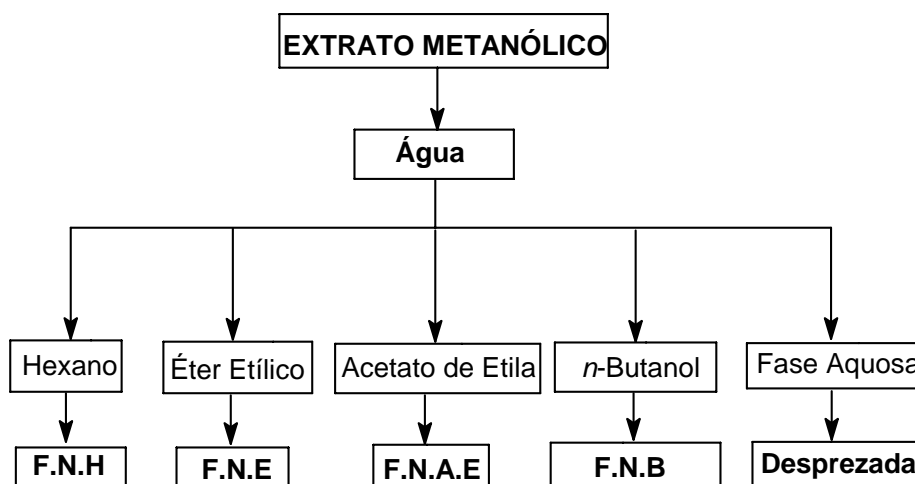
A finalidade de se realizar um fracionamento neutro dos extratos brutos obtidos foi compará-lo com o método anterior, o qual, pela utilização de um fracionamento ácido-base, poderia originar artefatos.

Para isso, cada extrato bruto foi suspenso em água e submetido a extrações sucessivas com hexano, éter etílico, acetato de etila e *n*-butanol, conforme mostra o Esquema 9.

As frações orgânicas, dos extratos brutos das casca das raízes de *D. americana* coletadas em Santana do Livramento e São Sepé, foram secas com sulfato de sódio anidro, filtradas, evaporadas sob pressão reduzida a 30 °C, individualmente, originando quatro subfrações neutras: hexânico (1,58 g), éter etílico (5,0 g), acetato de etila (3,5 g) e butanólica (23,0 g), conforme Esquema 7.

Após a comparação por CCD dos dois procedimentos de extração (MeOH à quente e MeOH à frio), verificou-se que os metabólitos isolados, eram os mesmos, confirmando assim que as substâncias isoladas não são artefatos, mas sim, metabólitos originais.

Esquema 7: Fracionamento ao qual os extratos metanólicos da casca da raiz de *D. americana* (Santana do Livramento e São Sepé) foram submetidos



4.2.2 Partes aéreas

4.2.2.1 Extração, fracionamento e cromatografia

As partes aéreas de *D. americana* coletadas em Santana do Livramento, São Sepé e Jaguarí, foram secas em estufa a 50 °C com ar circulante, moídas em moinho Wiley e extraídas com metanol, conforme o método descrito anteriormente para a casca da raiz, originando os respectivos extratos metanólicos.

Através da análise em CCD dos extratos, utilizando-se diversos sistemas de solventes, e seguido de revelação com reagente de Dragendorff, não detectou-se a presença de material alcaloídico. Porém, quando revelados com ácido sulfúrico-etanol (10:90, V/V), observou-se o aparecimento de manchas escuras, sendo que estas não apresentaram absorção no UV. Desta forma, optou-se por um fracionamento neutro do extrato com *hexano*, éter etílico, acetato de etila e *n*-butanol, conforme esquema 8. Obtendo-se, após evaporação dos solventes, as frações hexânicas (FNH), etéreas (FNE), acetato de etila (FNAE) e butanólicas (FNB), respectivamente (Tabela 23).

Esquema 8: Fracionamento ao qual os extratos metanólicos das partes aéreas de *D. americana* (Santana do Livramento, São Sepé e Jaguarí) foram submetidos

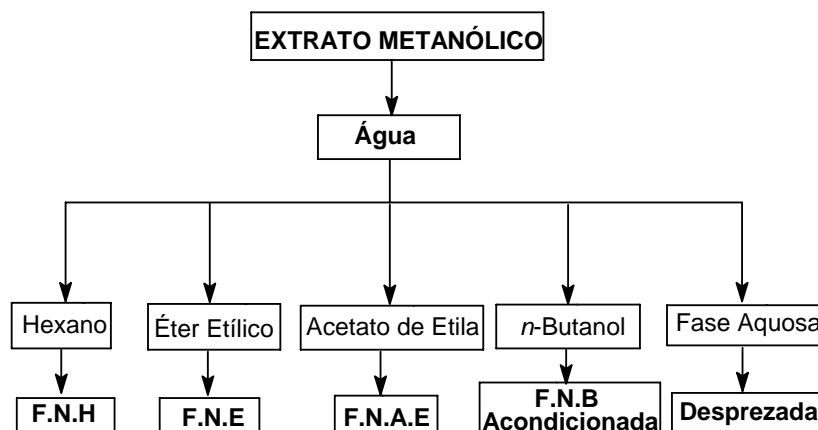


Tabela 23: Extratos metanólicos (EM) e frações hexânicas (FNH), etéreas (FNE), acetato de etila (FNAE) e butanólicas (FNB) das partes aéreas de *D. americana*.

Coleta	P. Aéreas	E.M	F.N.H	F.N.E	F.N.A.E	F.N.B
São Sepé	5,1 Kg	586,5 g	155,1g	74,9 g	57,1 g	101,3 g
Jaguarí	6,0 Kg	412,0 g	123,5 g	10,0 g	89,2 g	164,9 g
S. Livramento	2,3 Kg	112,7 g	15,2 g	17,5 g	11,9 g	41,8 g

As frações neutras hexânicas, etéreas, acetato de etila e butanólicas foram analisadas individualmente e também comparadas umas com as outras, através de CCD, utilizando-se para revelação ácido sulfúrico-etanol (10:90, V/V), seguido de aquecimento.

Na comparação, entre as frações dos diferentes locais de coleta, ficou evidente que as frações neutras hexânicas, etéreas e acetato de etila de Santana do Livramento e São Sepé, eram constituídas dos mesmos metabólitos. Por outro lado, verificou-se que as frações neutras etérea e acetato de etila das partes aéreas coletadas em Jaguari, possuíam pelo menos, dois metabólitos que não eram encontradas nas frações obtidas do material de Santana do Livramento e São Sepé. Devido a alta polaridade e baixa solubilidade em clorofórmio, acetato de etila e metanol, do material presente nas frações butanólicas, não foi realizada uma análise comparativa entre as mesmas.

Partes das frações hexânicas (2,0 g, 2,5 g e 2,5 g, Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari, respectivamente), foram submetidas à cromatografia em coluna, separadamente, utilizando-se sílica gel 60 H (70-230 mesh) como adsorvente e hexano-acetato de etila (100:00:100, V/V) como sistemas eluentes. Foram recolhidas frações de 100 mL cada, analisadas individualmente em CCD, onde se verificou que algumas frações eram constituídas de metabólitos puros. As frações impuras foram reunidas de acordo com suas semelhanças de R_fs, como mostrado na Tabela 24.

Tabela 24: Cromatografia das frações hexânicas (FNH)

<i>Discaria americana</i> – Partes Aéreas							
Fração	Sistema de solvente	Hexânica Livramento		Hexânica São Sepé		Hexânica Jaguari	
		Substância	Peso (mg)	Substância	Peso (mg)	Substância	Peso (mg)
I	Hexano	Óleo	38,1	Óleo	79,0	Óleo	82,7
II	Hex-AcOEt (95:05)	Óleo, L01	74,6	Óleo, L01	98,3	Óleo, L01	78,3
III	Hex-AcOEt (90:10)	L01	65,3	L01	88,7	L01	85,2
IV	Hex-AcOEt (85:15)	L01, L02	85,1	L01, L02	175,3	L01, L02	135,6
V	Hex-AcOEt (80:20)	L02	402,7	L02	796,1	L02	981,1
VI	Hex-AcOEt (75:25)	L02, Resíduo	165,2	L02, Resíduo	236,4	L02, Resíduo	365,3
VII	Hex-AcOEt (70:30)	Resíduo	220,8	Resíduo	331,0	Resíduo	287,0

As frações neutras etéreas (2,0 g, 2,5 g e 4,0 g, Santana do Livramento, São Sepé e Jaguarí, respectivamente), foram cromatografadas em colunas, utilizando-se sílica gel 60 H como fase estacionária e *hexano*-acetato de etila, em ordem crescente de polaridade, como sistemas eluentes. Frações de 100,0 mL foram coletadas, reunidas, de acordo com análise em CCD comparativa. Deste processo, foi possível obter metabólitos puros, que através da comparação com amostras autênticas, ponto de fusão e RMN de ^1H e ^{13}C , tiveram suas estruturas elucidadas. A seguir, nas Tabelas 25 e 26 encontram-se descritos os resultados obtidos.

Tabela 25: Cromatografia das frações etéreas (FNE-SL e FNE-SS)

<i>Discaria americana</i> – Partes Aéreas					
Etérea - Livramento			Etérea - São Sepé		
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)	Substância	Peso (mg)
I	Hexano	Óleo	81,5	Óleo	55,1
II	Hex-AcOEt (80:20)	L02	470,2	L02	395,7
III	Hex-AcOEt (75:25)	L02, L04	520,7	L02, L04	648,2
IV	Hex-AcOEt (70:30)	L04	115,8	L04	271,5
V	Hex-AcOEt (50:50)	L04, Resíduo	162,1	L04, Resíduo	305,8
IV	AcOEt	Resíduo	282,5	Resíduo	274,6

Tabela 26: Cromatografia da fração etérea (FNE-JA)

<i>Discaria americana</i> – Partes Aéreas			
Etérea - Jaguarí			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	Hexano	Óleo	74,1
II	Hex-AcOEt (80:20)	L02	381,6
III	Hex-AcOEt (77:23)	L02, J61	491,5
IV	Hex-AcOEt (75:25)	J61	511,4
V	Hex-AcOEt (72:28)	J61, J05	241,7
VI	Hex-AcOEt (70:30)	J05	95,1
VII	Hex-AcOEt (70:30)	J05, J20	258,9
VIII	Hex-AcOEt (68:32)	J20	102,3
IX	Hex-AcOEt (65:35)	J20, L04	372,4
X	Hex-AcOEt (65:35)	L04	347,1
XI	Hex-AcOEt (50:50)	L04, Resíduo	329,6
XII	AcOEt	Resíduo	122,9

Sabendo-se da semelhança das frações acetato de etila com as frações etéreas dos respectivos locais de coleta, decidiu-se, neste caso, não realizar cromatografia em coluna. A caracterização dos metabólitos presentes nas frações acetato de etila (Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari), foi realizada por cromatografia em CCD, utilizando-se como padrão de referência, amostras autênticas e compostos isolados das respectivas frações etéreas. Na Tabela 27, estão listados os metabólitos presentes nas frações acetato de etila (AcOEt).

Tabela 27: Metabólitos presentes nas frações AcOEt.

<i>Discaria americana</i> – Partes Aéreas		
ACoEt Livramento	ACoEt São Sepé	ACoEt Jaguari
L02, L04	L02, L04	L02, J61, J05, J20, L04

4.3 *Colletia paradoxa* Sprengel

A espécie vegetal *Colletia paradoxa* Sprengel foi coletada no município de Piratini – RS (29° 57' 12" S, 51° 37' 21" W), no mês de novembro de 2001, e foi identificada pelo Prof.º. Adelino A. Filho. A exsicata encontra-se depositada no Herbário do Departamento de Botânica – UFSM, registrada sob o código SMDB-2576.

4.3.1 Extração das partes aéreas e da casca da raiz

As partes aéreas (8,5 Kg) de *C. paradoxa* e a casca da raiz (6,5 Kg), foram secas em estufa a uma temperatura de 50 °C, pulverizadas e extraídas com solventes de polaridade crescente (hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol) sob refluxo durante 10 horas por 5 dias, sendo que, a cada dia, o solvente era retirado e concentrado em evaporador rotativo sob vácuo. (Esquema 9). Deste modo, obtiveram-se os extratos hexânicos (Hex), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanólicos (MeOH) [Tabela 28].

Esquema 9: Extração das partes aéreas e casca da raiz de *C. paradoxa*

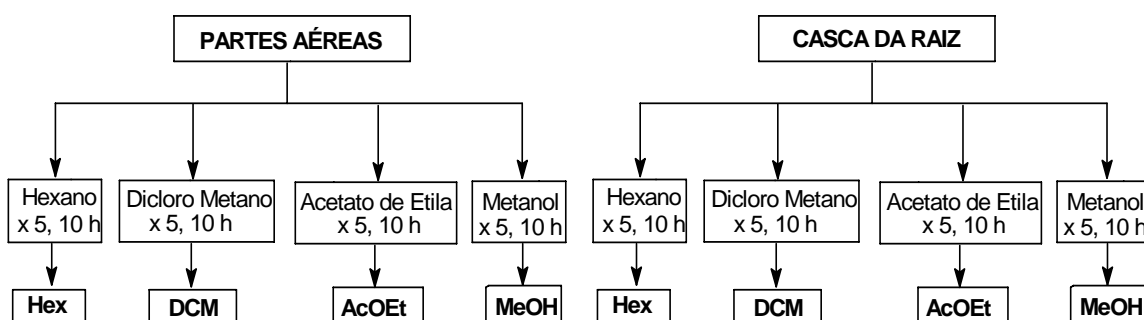


Tabela 28: Quantidade de extrato obtido das partes aéreas e casca da raiz

Colletia paradoxa				
	Hexânicos	Diclorometano	Acetato de etila	Metanólicos
Partes aéreas	58,0 g	30,1 g	23,7 g	8,8 g
Casca da raiz	5,5 g	33,0 g	38,5 g	10,2 g

Os extratos Hex, DCM e AcOET (partes aéreas e casca da raiz) foram analisados individualmente em CCD, em sistemas de solventes com diferentes polaridades. Essas CCDs, apresentaram várias manchas de coloração róseo-avermelhada, quando reveladas pelo reativo de Liebermann-Burchard e/ou coloração escura quando reveladas com ácido sulfúrico-etanol (10:90, V/V) seguido de aquecimento e, reação negativa frente ao reagente de Dragendorff.

4.3.2 Isolamento dos constituintes das partes aéreas

Uma porção (6,0 g) do extrato hexânico das partes aéreas foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel 60 H (70-230 mesh), utilizando-se como eluente hexano-CH₂Cl₂ em gradiente de polaridade, fornecendo 120 frações (150 mL cada), que foram analisadas individualmente em CCD e reunidas em grupos de acordo com a semelhança de R_fs (Tabela 29). A maioria das frações mostrou ser composta por mistura de metabólitos. Essas frações foram submetidas a novos processos de purificação, através de recristalizações, cromatografias em colunas ou placas preparativas.

Tabela 29: Cromatografia do extrato hexânico (E-Hex)

Colletia paradoxa – Partes Aéreas			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	Hexano	Material graxo	87,2
II	Hex-CH ₂ Cl ₂ (98:02)	C11, C12	461,7
III	Hex-CH ₂ Cl ₂ (95:05)	C11, C12, C06	318,2
IV	Hex-CH ₂ Cl ₂ (95:05)	C06	589,5
V	Hex-CH ₂ Cl ₂ (93:07)	C06, C23, C24	577,4
VI	Hex-CH ₂ Cl ₂ (90:10)	C23, C24	492,9
VII	Hex-CH ₂ Cl ₂ (85:15)	C23, C24, L02	145,1
VIII	Hex-CH ₂ Cl ₂ (80:20)	L02, J61	351,5
IX	Hex-CH ₂ Cl ₂ (75:25)	L02, J61, C43	409,1
X	Hex-CH ₂ Cl ₂ (70:30)	C43	113,1
XI	Hex-CH ₂ Cl ₂ (60:40)	J20	427,6
XI I	Hex-CH ₂ Cl ₂ (50:50)	J20, C63	139,4
XIII	Hex-CH ₂ Cl ₂ (40:60)	C63, C64	711,8
XIV	Hex-CH ₂ Cl ₂ (20:80)	C63, C64, Resíduo	166,2
XV	CH ₂ Cl ₂	Resíduo	261,4

O extrato CH₂Cl₂ (5,5 g) foi fracionado em coluna cromatográfica de sílica gel 60 H (70-230 mesh) eluída com misturas de CH₂Cl₂/MeOH em gradiente de polaridade. Foram recolhidas frações de 150 mL cada, agrupadas posteriormente em 11 frações, através do monitoramento por CCD. A seguir, na Tabela 30, apresentam-se os resultados desse procedimento.

Tabela 30: Cromatografia do extrato diclorometano (E-CH₂Cl₂)

<i>Colletia paradoxa</i> – Partes Aéreas			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	CH ₂ Cl ₂	Material graxo	25,1
II	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (98:02)	C06, L01	252,3
III	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (95:05)	L01	674,6
IV	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (93:07)	L02, C59, C63, C64	546,8
V	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (90:10)	C64, C09	239,4
VI	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (88:12)	C09	874,1
VII	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (85:15)	C09, C18	461,3
VIII	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (80:20)	J20	35,0
IX	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (75:25)	L04	507,2
X	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (50:50)	L04, Resíduo	381,5
XI	MeOH	Resíduo	311,5

Parte do extrato AcOEt (2,2 g), foi fracionado por meio de cromatografia em coluna, utilizando-se sílica gel 60 H (70-230 mesh) e eluentes em polaridades crescentes (CH₂Cl₂/MeOH). Com estes solventes foram eluídas 100 frações de 150 mL cada. Essas frações foram analisadas individualmente em CCD, reunidas de acordo com suas semelhanças de R_fs, resultando em 10 frações (Tabela 31). Análise comparativa dessas frações, em CCD, com os compostos isolados do extrato DCM, revelou que a maioria dos metabólitos presentes eram semelhantes.

Tabela 31: Cromatografia do extrato acetato de etila (E-AcOEt)

<i>Colletia paradoxa</i> – Partes Aéreas			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	CH ₂ Cl ₂	Material graxo	40,2
II	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (95:05)	L01 L02	153,5
III	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (93:07)	L02	491,0
IV	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (90:10)	L02, C09	88,5
V	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (85:15)	C09	265,1
VI	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (80:20)	C09, J20	95,2
VII	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (75:25)	J20	72,8
VIII	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (70:30)	J20, L04	59,0
IX	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (50:50)	L04, Resíduo	63,5
X	MeOH	Resíduo	191,6

4.3.3 Isolamento dos metabólitos da casca da raiz

2,5 g do extrato hexânico foram fracionados em coluna de sílica gel 60 H (70-230 mesh), usando clorofórmio como eluente inicial e alterando-se a polaridade com metanol. Recolheram-se desta coluna 62 frações (150 mL cada) que foram analisadas através de CCD e reunidas em 10 grupos de frações (Tabela 32). Os grupos que apresentavam misturas, foram novamente submetidos a processos de purificação, através de cromatografia em placa preparativa e/ou coluna utilizando-se sílica gel 60 H (230-400 mesh) e recristalizações.

Tabela 32: Cromatografia do extrato hexânico (E-Hex)

<i>Colletia paradoxa</i> – Casca da raiz			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	CHCl ₃	Material graxo	14,1
II	CHCl ₃ -MeOH (99:01)	Material graxo L01	51,6
III	CHCl ₃ -MeOH (97:03)	L01	72,5
IV	CHCl ₃ -MeOH (95:05)	L01, L02	261,0
V	CHCl ₃ -MeOH (93:07)	L02	162,7
VI	CHCl ₃ -MeOH (90:10)	L02, J20,	317,5
VII	CHCl ₃ -MeOH (88:12)	J20	411,8
VIII	CHCl ₃ -MeOH (80:20)	J20, C63	351,4
IX	CHCl ₃ -MeOH (70:30)	J20, C63, Resíduo	303,5
X	CHCl ₃ -MeOH (50:50)	Resíduo	94,2

O extrato CH₂Cl₂ (3,1 g) foi cromatografado em coluna de sílica gel 60 H (70-230 mesh) eluída com misturas de CHCl₃/MeOH em gradiente crescente de polaridade. Foram recolhidas frações 150 mL, agrupadas posteriormente em 10 frações, através de monitoramento por CCD (Tabela 33). As frações impuras foram purificadas, através de cromatografia em coluna, placa preparativa ou recristalizações com solventes adequados.

Tabela 33: Cromatografia do extrato diclorometano (E-CH₂Cl₂)

<i>Colletia paradoxa</i> – Casca da raiz			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	CHCl ₃	Material graxo	6,6
II	CHCl ₃ -MeOH (95:05)	Material graxo L01	327,1
III	CHCl ₃ -MeOH (93:07)	L01, L02	294,7
IV	CHCl ₃ -MeOH (90:10)	L02	319,5
V	CHCl ₃ -MeOH (85:15)	L02, J20	370,6
VI	CHCl ₃ -MeOH (80:20)	J20	403,0
VII	CHCl ₃ -MeOH (75:25)	J20, C15	145,1
VIII	CHCl ₃ -MeOH (65:35)	J20, C15, L04	189,4
IX	CHCl ₃ -MeOH (50:50)	L04, Resíduo	162,5
X	MeOH	Resíduo	104,8

O extrato acetato de etila (AcOEt) obtido (2,6 g) foi submetido a cromatografia em coluna, conforme método já descrito para o extrato DCM, resultando em 7 frações. Os resultados obtidos desse procedimento cromatográfico encontram-se descritos na Tabela 34.

Tabela 34: Cromatografia do extrato acetato de etila (E-AcOEt)

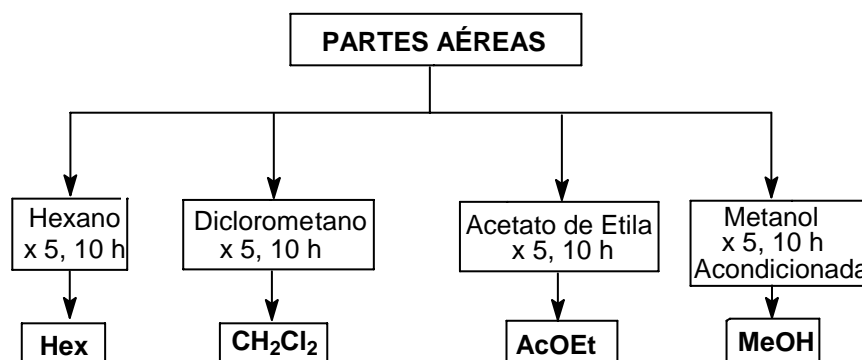
<i>Colletia paradoxa</i> – Casca da raiz			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	CHCl ₃ -MeOH (90:10)	Material graxo, L02	45,1
II	CHCl ₃ -MeOH (85:15)	L02, J20	165,0
III	CHCl ₃ -MeOH (80:20)	J20, C15	81,6
IV	CHCl ₃ -MeOH (70:30)	J20, C15, L04	138,2
V	CHCl ₃ -MeOH (60:40)	L04	619,0
VI	CHCl ₃ -MeOH (50:50)	L04, Resíduo	574,7
VII	MeOH	Resíduo	230,8

4.4 *Gouania ulmifolia* Hook & Arnott

O material botânico foi coletado no município de Jaguari – RS (29° 49' 70" S, 54° 69' 00" N), Brasil, no mês de janeiro de 2003, e foi identificado pelo Prof.º Adelino A. Filho. Um espécime testemunha (SMDB-3022) encontra-se depositado no Herbário do Departamento de Botânica – UFSM.

4.4.1 Extração e cromatografia

Cerca de 10,0 kg de material botânico (partes aéreas) de *G. ulmifolia*, seco e moído, foram submetidos à extração (Esquema 10), como descrito anteriormente para *Colletia paradoxa* Sprengel. Após a concentração dos solventes (hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol), sob vácuo, cada extrato originou 10,8 g, 21,6 g, 35,1 g e 5,3 g, respectivamente.

Esquema 10: Extração das partes aéreas de *G. ulmifolia*

O resíduo hexânico (2,2 g) foi fracionado em uma coluna de sílica gel 60 H (70-230 mesh) empregando gradiente de hexano-CH₂Cl₂ como sistema eluente. Foram recolhidas frações de 250 mL, analisadas em CCD, reunidas em grupos de acordo com suas semelhanças de R_fs. Desta coluna resultaram 8 frações (Tabela 35).

Tabela 35: Cromatografia do extrato hexânico (E-Hex)

<i>Gouania ulmifolia</i> – Partes aéreas			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	hexano	Material graxo	25,8
II	n-Hex-CH ₂ Cl ₂ (98:02)	Material graxo, C06	94,1
III	n-Hex-CH ₂ Cl ₂ (95:05)	C06	70,1
IV	n-Hex-CH ₂ Cl ₂ (90:10)	C06	102,6
V	n-Hex-CH ₂ Cl ₂ (85:15)	C06	746,3
VI	n-Hex-CH ₂ Cl ₂ (80:20)	C06, L01	141,0
VII	n-Hex-CH ₂ Cl ₂ (60:40)	L01, L02	38,4
VIII	CH ₂ Cl ₂	L02, Resíduo	261,7

O extrato CH₂Cl₂ (5,2 g) foi submetido a uma coluna cromatográfica usando sílica gel 60 H (70-230 mesh) e gradiente de CH₂Cl₂-MeOH como eluente em ordem crescente de polaridade. Frações de 200 mL foram coletadas e agrupadas com base na análise com CCD em 11 frações (Tabela 36). A maioria das frações mostrou ser composta por uma mistura de material terpenoídico (reação positiva frente ao reagente de Liebermann-Büchard).

Tabela 36: Cromatografia do extrato diclorometano (E-CH₂Cl₂)

<i>Gouania ulmifolia</i> – Partes aéreas			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	CH ₂ Cl ₂	Material graxo, C06	63,1
II	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (98:02)	C06, L01, L02	324,1
III	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (95:05)	L01, L02	135,2
IV	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (93:07)	L02	72,0
V	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (90:10)	L02, G39, G40	491,7
VI	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (88:12)	G39, G40	760,5
VII	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (85:15)	G41, G44	418,4
VIII	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (80:20)	G44, G45	605,2
IX	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (70:30)	G44, G45, L04	471,3
X	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (60:40)	L04	238,4
XI	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (50:50)	L04, Resíduo	691,4

O extrato acetato de etila [AcOEt (2,1 g)] foi aplicado em coluna de sílica gel 60 H (70-230 mesh) utilizando como fase móvel, diclorometano, diclorometano/metanol e metanol, em variados gradientes de eluição. Foram recolhidas 50 frações, de 250 mL cada. Pela semelhança, revelada em CCD, essas frações foram reunidas, resultando em 8 grupos, conforme mostrado na Tabela 37.

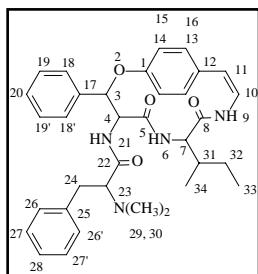
Tabela 37: Cromatografia do extrato acetato de etila (E-AcOEt)

<i>Gouania ulmifolia</i> – Partes aéreas			
Fração	Sistema de solvente	Substância	Peso (mg)
I	CH ₂ Cl ₂	Material graxo	17,2
II	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (95:05)	L01, L02	86,0
III	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (90:10)	L02, G39, G40	171,5
IV	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (85:15)	G41, G44, G45	326,7
V	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (70:30)	G44, G45, L04	285,1
VI	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (60:40)	L04	149,9
VII	CH ₂ Cl ₂ -MeOH (50:50)	L04, Resíduo	261,0
VIII	MeOH	Resíduo	301,5

4.5 Dados sobre os metabólitos isolados de *Discaria americana* Gill & Hook (Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari), *Colletia paradoxa* Sprengel e *Gouania ulmifolia* Hook & Arnott

4.5.1 Alcalóides ciclopeptídicos

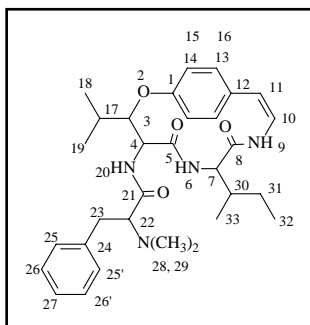
4.5.1.1 Adoutina Y, A16 (92): sólido branco; Pf.: 293 °C (Lit. 293 °C); Rf.: 0,14,



em CHCl_3 -MeOH (98:2); $[\alpha]_D^{20} = -230$ (c 0,1 em CHCl_3 -MeOH 90:10);⁶¹ isolada da fração básica etérea de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento (Tabela 17); RMN de ^1H a 400,13 MHz, CDCl_3 : δ 6,21 (1H, *d*, $J = 8,4$ Hz, H-3), 4,51 (1H, *dd*, $J = 8,4, 10,2$ Hz, H-4), 6,38 (1H, *d*, $J = 10,4$ Hz, NH-6),

3,62 (1H, *dd*, $J = 6,2, 10,4$ Hz, H-7), 6,82 (1H, *d*, $J = 9,1$ Hz, NH-9), 6,65 (1H, *dd*, $J = 8,5, 9,1$ Hz, H-10), 6,73 (1H, *d*, $J = 8,5$ Hz, H-11), 7,09-7,35 (4H, H-13, -14, -15, -16), 7,09-7,35 (4H, H-18, -18', -19, -19', -20), 9,11 (1H, *d*, $J = 10,2$ Hz, NH-21), 3,59 (1H, H-23), 2,92/3,26 (1H, *dd*, $J = 6,14, 8,11$ Hz, H-24, -24'), 7,09-7,35 (5H, H-26, -26', -27, -27', -28), 2,41 [6H, N,N-(CH_3)₂-29, -30], 2,17 (1H, *m*, H-31), 1,27/1,37 (1H, *m*, H-32, -32'), 0,85 (3H, *t*, CH_3 -33), 0,97 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, CH_3 -34); RMN de ^{13}C a 100,62 MHz, CDCl_3 : δ 155,2 (C-1), 79,3 (C-3), 57,0 (C-4), 168,5 (C-5), 57,4 (C-7), 166,0 (C-8), 127,1 (C-10), 114,5 (C-11), 129,6 (C-12), 125,4-129,4 (C-13, -14, -15, -16), 133,2 (C-17), 128,8 (C-18), 129,0 (C-19), 128,9 (C-20), 172,4 (C-22), 70,6 (C-23), 29,9 (C-24), 139,1 (C-25), 115,9-129,4 (C-26, -26', -27, -27', -28), 41,3 (C-29, -30), 35,9 (C-31), 22,9 (C-32), 12,0 (C-33).

4.5.1.2 Adoutina Y', A01 (47): sólido branco; Pf.: 288-289 °C (Lit. 289-290 °C);

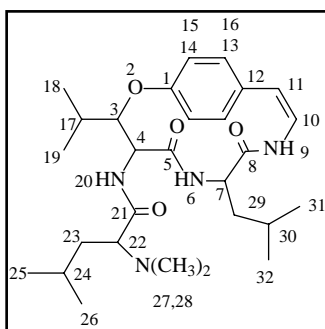


Rf.: 0,66, em CHCl_3 -MeOH (98:02); $[\alpha]_D^{20} = -230$ (c 0,1 em CHCl_3);⁶² isolada das frações básicas etéreas de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari (Tabelas 17-19); RMN de ^1H a 400,13 MHz, CDCl_3 : δ 5,01 (1H, *dd*, $J = 2,1, 8,0$ Hz, H-3), 4,47 (1H, *dd*, $J = 2,1, 10,0$ Hz, H-4), 5,78 (1H, *d*, $J = 8,4$ Hz, NH-6), 3,91

(1H, *dd*, $J = 3,6, 8,4$ Hz, H-7), 6,52 (1H, *d*, $J = 9,6$ Hz, NH-9), 6,65 (1H, *dd*, $J = 7,6, 9,6$ Hz, H-10), 6,35 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz, H-11), 7,03-7,26 (4H, H-13, -14, -15, -16), 1,95 (1H, *m*, H-17), 1,28 (3H, *d*, $J = 8,0$ Hz, CH_3 -18), 1,02 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, CH_3 -19), 7,77 (1H, *d*, $J = 10,0$ Hz, NH-20), 3,11 (1H, *dd*, $J = 4,8, 7,2$ Hz, H-22),

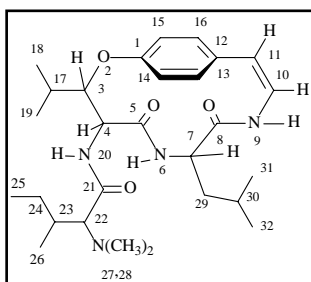
2,84/3,19 (1H, *dd*, $J = 4,8, 7,2$ Hz, H-23, -23'), 7,03-7,27 (5H, H-25, -25', -26, -26', -27), 2,28 [6H, N-(CH₃)₂-28, -29], 2,05 (3H, *m*, CH₃-30), 0,68/1,01 (2H, *m*, CH₂-31), 0,69 (3H, *t*, CH₃-32), 0,39 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, CH₃-33); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: $\delta = 155,8$ (C-1), 81,3 (C-3), 55,2 (C-4), 172,0 (C-5), 59,5 (C-7), 166,8 (C-8), 125,5 (C-10), 115,9 (C-11), 131,8 (C-12), 122,8-131,8 (C-13, -14, -15, -16), 29,3 (C-17), 20,3 (C-18), 15,4 (C-19), 172,7 (C-21), 70,8 (C-22), 29,9 (C-23), 140,2 (C-24), 126,0-129,0 (C-25, 25', -26, -26', -27), 41,8 (C-28, -29), 34,5 (C-30), 23,6 (C-31), 11,9 (C-32), 15,6 (C-33).

4.5.1.3 Franganina, A02 (66): sólido branco; Pf.: 248-249 °C (Lit. 248 °C); Rf.:



0,60, em CHCl₃-MeOH (98:2); $[\alpha]_D^{20} = -302$ (c 0,1 em CHCl₃);⁶⁷ isolada em maior proporção, das frações básicas etéreas de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari (Tabelas 17-19); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 4,99 (1H, *dd*, $J = 4,0$ 7,6 Hz, H-3), 4,47 (1H, *dd*, $J = 4,0, 10,1$ Hz, H-4), 5,78 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz, NH-6), 4,07 (1H, *m*, H-7), 6,49 (1H, *d*, $J = 9,9$ Hz, NH-9), 6,67 (1H, *dd*, $J = 7,8, 9,9$ Hz, H-10), 6,37 (1H, *d*, $J = 7,8$ Hz, H-11), 7,03-7,26 (4H, H-13, -14, -15, -16), 1,92 (1H, *m*, H-17), 1,28 (3H, *d*, $J = 8,0$ Hz, CH₃-18), 0,97 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, CH₃-19), 7,84 (1H, *d*, $J = 10,1$ Hz, NH-20), 2,81 (1H, *dd*, $J = 4,9, 4,9$ Hz, H-22), 1,35/1,61 (2H, *m*, CH₂-23, -23'), 1,27 (1H, *m*, H-24), 0,71 (3H, *d*, $J = 6,4$ Hz, CH₃-25), 0,82 (3H, *d*, $J = 6,4$ Hz, CH₃-26), 2,22 [6H, N-(CH₃)₂-27, -28], 1,33/1,75 (2H, *m*, CH₂-29, -29'), 1,79 (1H, *m*, H-30), 0,95 (3H, *d*, $J = 6,5$ Hz, CH₃-31), 0,90 (3H, *d*, $J = 6,5$ Hz, CH₃-32); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 156,2 (C-1), 81,9 (C-3), 55,2 (C-4), 172,0 (C-5), 52,8 (C-7), 167,5 (C-8), 125,9 (C-10), 116,0 (C-11), 132,1 (C-12), 131,9-123,0 (C-13, -14, -15, -16), 29,5 (C-17), 20,8 (C-18), 15,1 (C-19), 174,0 (C-21), 66,3 (C-22), 34,6 (C-23), 26,5 (C-24), 23,1 (C-25), 22,2 (C-26), 41,9 (2C-27, 28), 39,5 (C-29), 24,6 (C-30), 23,4 (C-31), 20,5 (C-32).

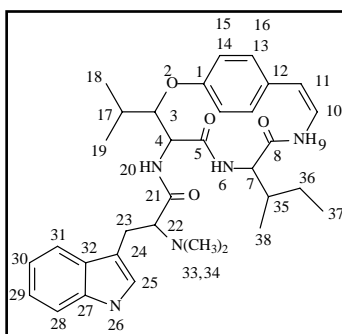
4.5.1.4 Frangulanina, S03 (67): sólido branco; Pf.: 277-278 °C (Lit. 276-279 °C);



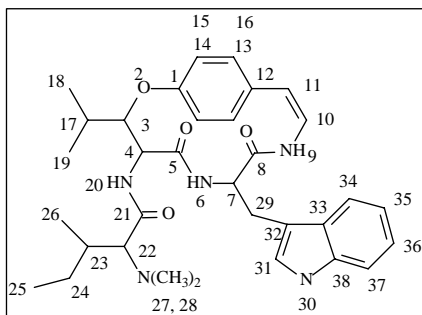
Rf.: 0,60, em CHCl₃-MeOH (98:2); $[\alpha]_D^{20} = -288$ (c 0,1 em CHCl₃);⁶⁶ isolada das frações básicas etéreas de *D. americana*, coletada em São Sepé e Jaguari (Tabelas 18 e 19); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CHCl₃: δ 4,93 (1H, *dd*, $J =$

7,6, 7,7 Hz, H-3), 4,48 (1H, *dd*, $J = 7,7, 8,6$ Hz, H-4), 6,07 (1H, *d*, $J = 7,4$ Hz, NH-6), 4,02 (1H, *m*, H-7), 6,48 (1H, NH-9), 6,56 (1H, *d*, $J = 7,9$ Hz, H-10), 6,44 (1H, *d*, $J = 7,9$ Hz, H-11), 7,03-7,16 (4H, H-13, -14, -15, -16), 2,01 (1H, *m*, H-17), 1,26 (3H, *d*, $J = 8,0$ Hz, CH₃-18), 1,01 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, CH₃-19), 7,25 (1H, *d*, $J = 8,6$ Hz, NH-20), 2,65 (1H, *d*, $J = 4,9$ Hz, H-22), 1,77 (2H, *m*, H-23), 1,29/1,52 (1H, *m*, H-24, -24'), 0,95 (3H, *t*, CH₃-25), 0,91 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz, CH₃-26), 2,18 [6H, N-(CH₃)₂-27, -28], 1,25/1,64 (2H, *m*, H-29 e -29'), 1,79 (1H, *m*, H-30), 0,75 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz, CH₃-31), 0,81 (3H, *d*, $J = 6,5$ Hz, CH₃-32); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 156,3 (C-1), 81,7 (C-3), 55,4 (C-4), 172,3 (C-5), 52,7 (C-7), 168,1 (C-8), 125,9 (C-10), 118,2 (C-11), 131,7 (C-12), 121,7-131,3 (C-13, -14, -15, -16), 29,1 (C-17), 21,6 (C-18), 15,3 (C-19), 171,4 (C-21), 73,1 (C-22), 33,9 (C-23), 28,2 (C-24), 12,1 (C-25), 15,0 (C-26), 42,9 (2C-27, 28), 40,3 (C-29), 42,9 (C-30), 24,5 (C-31), 22,8 (C-32).

4.5.1.5 Discarina A, S04 (57): sólido branco; Pf.: 227-228 °C (Lit. 229-231 °C);

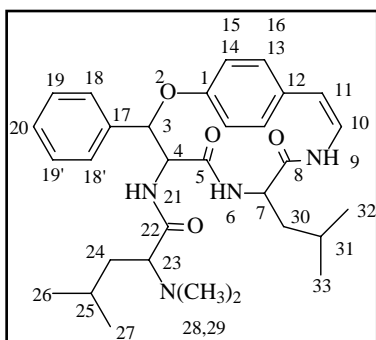


Rf.: 0,23, em CHCl₃-MeOH (98:2); $[\alpha]_D^{20} = -282$ (c 0,1 em CHCl₃);¹⁰ isolada das frações básicas etéreas de *D. americana*, coletada em São Sepé e Jaguari (Tabelas 18 e 19); RMN de ¹H a 400,13 MHz, DMSO-*d*₆: δ 4,86 (1H, *dd*, $J = 1,8, 7,7$ Hz, H-3), 4,45 (1H, *dd*, $J = 7,7, 10,0$ Hz, H-4), 6,46 (1H, NH-6), 3,84 (1H, *dd*, $J = 6,0, 8,1$ Hz, H-7), 7,18 (1H, *d*, $J = 6,0$ Hz, NH-9), 6,34 (1H, *dd*, $J = 6,9, 7,2$ Hz H-10), 6,48 (1H, H-11), 6,91-7,07 (4H, H-13, -14, -15, -16), 2,01 (1H, *m*, H-17), 1,15 (3H, *d*, $J = 6,7$ Hz, CH₃-18), 0,91 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz, CH₃-19), 7,82 (1H, *d*, $J = 10,0$ Hz, NH-20), 3,38 (1H, H-22), 3,08/3,13 (1H, *m*, H-23, -23'), 7,01 (1H, H-25), 10,17 (1H, NH-26), 7,28 (1H, *d*, $J = 8,08$ Hz, H-28), 6,94 (1H, H-29), 6,91 (1H, H-30), 7,49 (1H, *d*, $J = 7,84$ Hz, H-31), 2,31 [6H, N-(CH₃)₂-33, -34], 1,68 (1H, *m*, H-35), 0,93/1,19 (1H, *m*, H-36, -36'), 0,68 (3H, *t*, CH₃-37), 0,63 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, CH₃-38); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, DMSO-*d*₆: δ 154,3 (C-1), 79,7 (C-3), 53,7 (C-4), 170,0 (C-5), 56,6 (C-7), 167,4 (C-8), 110,0-134,9 (C-10, -11, -12, -13, -14, -15, -16), 27,0 (C-17), 19,0 (C-18), 13,9 (C-19), 170,0 (C-21), 66,7 (C-22), 21,8 (C-23), 110,0-134,9 (C-25, -26, -27, -28, -29, -30, -31, -32), 40,3 (C-33, -34), 34,5 (C-35), 22,6 (C-36), 9,6 (C-37), 13,9 (C-38).

4.5.1.6 Discarina B, A09 (58): sólido branco; Pf.: 234-235 °C (Lit. 235- 236 °C);

Rf.: 0,48, em CHCl₃-MeOH (98:2); $[\alpha]_D^{20} = -172$ (c 0,1 em CHCl₃);¹⁰ isolada das frações básicas etéreas de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento, São Sepé e Jaguarí (Tabelas 17-19); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 4,91 (1H, *dd*, *J* = 2,0, 5,6 Hz, H-3), 4,44 (1H, *dd*, *J* = 5,6, 8,0 Hz,

H-4), 5,96 (1H, *d*, *J* = 6,8, NH-6), 4,26 (1H, *m*, H-7), 6,13 (1H, *d*, *J* = 9,2 Hz, NH-9), 6,48 (1H, H-10), 6,29 (1H, *d*, *J* = 7,6 Hz, H-11), 6,78-7,18 (4H, H-13, -14, -15, -16), 1,99 (1H, *m*, H-17), 1,23 (3H, *d*, *J* = 6,8 Hz, CH₃-18), 0,98 (3H, *d*, *J* = 6,8 Hz, CH₃-19), 7,07 (1H, NH-20), 2,44 (1H, *d*, *J* = 4,4 Hz, H-22), 1,78 (1H, *m*, H-23), 1,26/1,50 (1H, *m*, H-24, H-24'), 0,94 (3H, *t*, CH₃-25) 0,88 (3H, *d*, *J* = 6,8 Hz, CH₃-26), 2,05 [6H, N-(CH₃)₂-27, -28], 2,87/3,31 (1H, *dd*, *J* = 4,8, 7,8 Hz, H-29, -29'), 8,14 (1H, *s*, NH-30), 7,16 (1H, H-31), 7,31 (1H, *d*, *J* = 8,0 Hz, H-34), 7,12 (1H, H-35), 7,09 (1H, H-36), 7,59 (1H, *d*, *J* = 8,1 Hz, H-37); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 156,3 (C-1), 81,6 (C-3), 55,7 (C-4), 171,3 (C-5), 54,3 (C-7), 167,5 (C-8), 125,6 (C-10), 114,0 (C-11), 131,5 (C-12), 119,7-131,5 (C-13, -14, -15, -16), 29,1 (C-17), 20,1 (C-18), 14,9 (C-19), 172,2 (C-21), 74,0 (C-22), 34,7 (C-23), 27,5 (C-24), 12,1 (C-25), 14,6 (C-26), 42,8 (C-27, -28), 27,3 (C-29), 109,5-136,5 (C-31, 32, -33, -34, -35, -36, -37, -38).

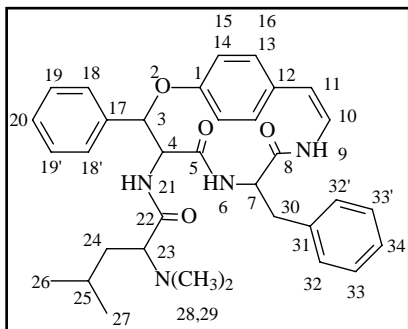
4.5.1.7 Discarina C, A04 (100): sólido branco; Pf.: 240-242 °C (Lit. 241-242 °C);

Rf.: 0,57, em CHCl₃-MeOH (98:2); $[\alpha]_D^{20} = -239$ (c 0,1 em CHCl₃);¹³ isolada das frações básicas etéreas de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento, São Sepé e Jaguarí (Tabelas 17-19); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 6,16 (1H, *d*, *J* = 6,4 Hz, H-3), 4,74 (1H, *dd*, *J* = 6,4, 8,8 Hz, H-4), 6,26 (1H, *d*, *J* = 8,0

Hz, NH-6), 4,14 (1H, *m*, H-7), 6,61 (1H, *d*, *J* = 10,4 Hz, NH-9), 6,73 (1H, *dd*, *J* = 7,6, 10,4 Hz, H-10), 6,37 (1H, *d*, *J* = 7,6 Hz, H-11), 7,12-7,55 (4H, H-13, -14, -15, -16), 7,12-7,55 (5H, H-18, -18', -19, -19', 20), 7,32 (1H, NH-21), 2,61 (1H, *dd*, *J* = 4,8, 5,2 Hz, H-23), 1,00/1,31 (1H, *m*, H-24, -24'), 1,23 (1H, *m*, H-25), 0,71 (3H, *d*, *J* = 6,8 Hz, CH₃-26), 0,79 (3H, *d*, *J* = 6,8 Hz, CH₃-27), 1,66 [6H, N-(CH₃)₂-28, -29], 1,27/1,77 (1H, *m*, H-30, -30'), 1,61 (1H, *m*, H-31), 0,79 (3H, *d*, *J* = 6,8 Hz, CH₃-32),

0,87 (3H, *d*, $J = 6,4$ Hz, CH₃-33); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 155,3 (C-1), 81,9 (C-3), 55,9 (C-4), 171,1 (C-5), 54,0 (C-7), 167,5 (C-8), 125,6 (C-10), 115,0 (C-11), 132,7 (C-12), 123,6-132,1 (C-13, -14, -15, -16), 137,2 (C-17), 127,8-129,0 (C-18, -18' -19, -19', -20), 173,8 (C-22), 65,4 (C-23), 33,7 (C-24), 24,4 (C-25), 20,5 (C-26), 21,8 (C-27), 40,9 (C-29, 30), 26,1 (C-31), 23,2 (C-32), 22,8 (C-33).

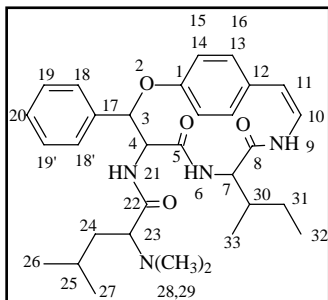
4.5.1.8 Discarina D, A05 (101): sólido branco; Pf.: 211-213 °C (Lit. 212 °C); Rf.:



0,54, em CHCl₃-MeOH (98:2); $[\alpha]_D^{20} = -148$ (c 0,1 em CHCl₃);¹³ isolada das frações básicas etéreas de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento, São Sepé e Jaguarí (Tabelas 17-19); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 6,11 (1H, *d*, $J = 6,4$ Hz, H-3), 4,66 (1H, *dd*, $J = 6,4, 64,4$ Hz, H-4),

6,49 (1H, *d*, $J = 8,0$ Hz, NH-6), 4,57 (1H, *m*, H-7), 6,52 (1H, *d*, $J = 12,4$ Hz, NH-9), 6,74 (1H, *dd*, $J = 7,6, 12,4$ Hz, H-10), 6,39 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz, H-11), 7,12-7,55 (4H, H-13, -14, -15, -16), 7,05-7,50 (5H, H-18, -18', -19, -19', 20), 7,21 (1H, NH-21), 2,26 (1H, *dd*, $J = 6,0, 6,0$ Hz, H-23), 0,96/1,09 (1H, *m*, H-24, -24'), 1,48 (H, *m*, H-25), 0,79 (3H, *d*, $J = 6,4$ Hz, CH₃-26), 0,85 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, CH₃-27), 1,57 [6H, N-(CH₃)₂-28, -29], 2,86/3,19 (1H, *dd*, $J = 9,2, 4,0$ Hz, H-30, -30'), (5H, H-32, -32' -33, -33', 34); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃. δ 155,3 (C-1), 81,9 (C-3), 55,9 (C-4), 171,1 (C-5), 54,0 (C-7), 166,7 (C-8), 125,5 (C-10), 115,7 (C-11), 132,5 (C-12), 123,4-132,0 (C-13, -14, -15, -16), 137,3 (C-17), 127,8-128,8 (C-18, -18' -19, -19', -20), 173,7 (C-22), 64,8 (C-23), 34,6 (C-24), 26,0 (C-25), 22,2 (C-26), 22,9 (C-27), 40,8 (C-28, -29), 36,3 (C-30), 136,3 (C-31), 126,7-129,0 (C-32, -32', -33, -33', -34).

4.5.1.9 Miriantina A, A06 (105): sólido branco; Pf.: 206-207 °C (Lit. 206 °C); Rf.:



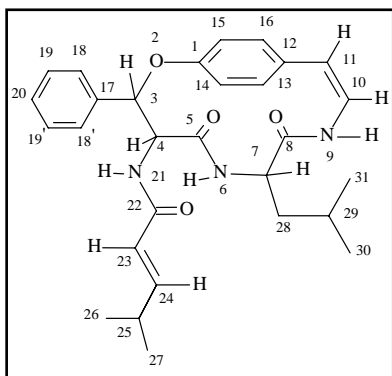
0,51, em CHCl₃-MeOH (98:2); $[\alpha]_D^{20} = -263$ (c, 0,1 CHCl₃);⁷² isolada da fração básica etérea de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento (Tabela 17); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 6,21 (1H, *d*, $J = 6,4$ Hz, H-3), 4,71 (1H, *dd*, $J = 6,4, 8,4$ Hz, H-4), 6,40 (1H, *d*, $J = 8,4$ Hz, NH-6), 4,09 (1H, *dd*, $J = 3,2, 3,2$ Hz, H-7),

6,61 (1H, *d*, $J = 10,4$ Hz, NH-9), 6,73 (1H, *dd*, $J = 7,6, 10,4$ Hz, H-10), 6,38 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz, H-11), 7,12-7,54 (4H, H-13, -14, -15, -16), 7,12-7,54 (5H, H-18, -18', -

19, -19', 20), 7,26 (1H, NH-21), 2,63 (1H, *dd*, $J = 8,4, 8,4$ Hz, H-23), 1,02/1,21 (1H, *m*, H-24, -24'), 1,62 (H, *m*, H-25), 0,78 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, CH₃-26), 0,86 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, CH₃-27), 1,68 [6H, N-(CH₃)₂-27, -28], 2,19 (1H, *m*, H-30), 0,97/1,08 (2, *m*, H-31, -31'), 0,81 (3H, *t*, CH₃-32), 0,66 (3H, *d*, $J = 7,2$ Hz, CH₃-33); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 155,4 (C-1), 81,8 (C-3), 56,4 (C-4), 171,6 (C-5), 59,3 (C-7), 166,9 (C-8), 125,7 (C-10), 115,3 (C-11), 132,7 (C-12), 123,6-132,3 (C-13, -14, -15, -16), 137,4 (C-17), 127,7-129,1 (C-18, -18' -19, -19', -20), 173,8 (C-22), 65,8 (C-23), 33,8 (C-24), 26,1 (C-25), 21,7 (C-26), 23,0 (C-27), 41,2 (C-28, -29), 33,8 (C-30).

4.5.2 Ciclopeptídeos neutros

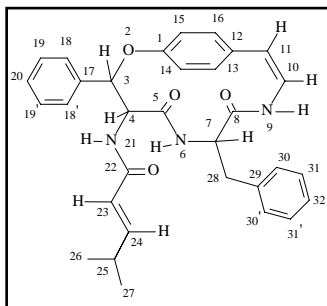
4.5.2.1 Discareno C, D02 (154): Pf.: Amorfo, com decomposição à 273-275



°C; Rf.: 0,28, em CHCl₃-MeOH (98:2); $[\alpha]_D^{20} = -51,7$ (c 0,2 em CHCl₃-MeOH 50:50);²² isolado da fração básica etérea de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento (Tabela 17); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 6,14 (1H, *d*, $J = 6,2$ Hz, H-3), 4,86 (1H, *dd*, $J = 6,2, 8,8$ Hz, H-4), 6,38 (1H, NH-6), 4,13 (1H, *m*, H-7), 6,64 (1H, *d*, $J = 10,2$ Hz,

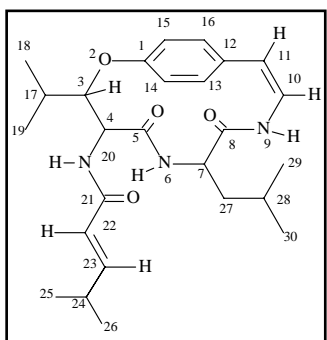
NH-9), 6,74 (1H, *dd*, $J = 7,6, 10,2$ Hz, H-10), 6,37 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz, H-11), 7,17 (1H, H-13), 7,33 (1H, H-14), 7,41 (1H, H-15), 7,15 (1H, H-16), 7,52 (2H, H-18, H-18'), 7,47 (2H, H-19, H-19'), 7,43 (1H, H-20), 5,12 (1H, *d*, $J = 8,8$ Hz, NH-21), 5,23 (1H, *d*, $J = 14,0$ Hz, H-23), 6,36 (1H, *dd*, $J = 6,8, 14,0$ Hz, H-24), 2,27 (1H, *m*, H-25), 0,92 (3H, *d*, $J = 6,7$ Hz, CH₃-26), 0,91 (3H, *d*, $J = 6,7$ Hz, CH₃-27), 1,79/1,29 (1H, *m*, H-28, H-28'), 1,18 (1H, *m*, H-29), 0,75 (3H, *d*, $J = 6,5$ Hz, CH₃-30), 0,64 (3H, *d*, $J = 6,5$ Hz, CH₃-31); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 155,2 (C-1), 81,9 (C-3), 56,1 (C-4), 171,1 (C-5), 52,5 (C-7), 167,4 (C-8), 125,4 (C-10), 114,8 (C-11), 132,6 (C-12), 130,3 (C-13), 123,6 (C-14), 129,1 (C-15), 132,1 (C-16), 136,5 (C-17), 127,8 (C-18, C-18'), 128,9 (C-19, C-19'), 123,4 (C-20), 165,8 (C-22), 119,1 (C-23), 153,0 (C-24), 30,7 (C-25), 21,2 (C-26), 21,1 (C-27), 39,1 (C-28), 23,1 (C-29), 22,5 (C-30), 20,4 (C-31); IR (KBr) ν_{\max} 3280, 1625, 1234 cm⁻¹; FABMS m/z 490 [M+H]⁺; *anal.* C 71,30%, H 7,19%, N 8,44%, calculado para C₂₉H₃₅N₃O₄, C 71,54%, H 7,21%, N 8,58%.

4.5.2.2 Discareno D, D03 (155): sólido branco; Pf.: 268-270 °C; Rf.: 0,23, em



CHCl₃-MeOH (98:2); $[\alpha]_D^{20} = -164,0$ (c 0,2 em CHCl₃-MeOH 50:50); ²² isolado da fração básica etérea de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento (Tabela 17); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 5,80 (1H, *d*, *J* = 7,6 Hz, H-3), 4,88 (1H, *dd*, *J* = 7,6, 10,0 Hz, H-4), 8,03 (1H, *d*, *J* = 8,2 Hz, NH-6), 4,06 (1H, *m*, H-7), 6,96-7,04 (1H, NH-9), 6,51 (2H, H-10, -11), 6,97-7,28 (4H, H-13, -14, -15, -16), 7,42 (2H, H-18, -18'), 6,97-7,28 (3H, H-19, -19', -20), 7,59 (1H, *d*, *J* = 10,0 Hz, NH-21), 5,32 (1H, *d*, *J* = 14,0 Hz, H-23), 6,29 (1H, *dd*, *J* = 6,6, 14,0 Hz, H-24), 2,25 (1H, *m*, H-25), 0,90 (3H, *d*, *J* = 6,0 Hz, CH₃-26), 0,92 (3H, *d*, *J* = 6,0 Hz, CH₃-27), 3,01/2,60 (1H, *dd*, *J* = 6,4, 14,0 Hz, H-28, -28'), 6,67-7,28 (5H, H-30, -30', -31, -31', -32); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CHCl₃: δ 155,1 (C-1), 82,2 (C-3), 55,7 (C-4), 170,5 (C-5), 55,2 (C-7), 167,5 (C-8), 125,8 (C-10), 119,2 (C-11), 131,4 (C-12), 130,7 (C-13), 120,9 (C-14), 122,4 (C-15), 129,9 (C-16), 137,6 (C-17), 128,1 (C-18, -18'), 127,2 (C-19, -19'), 127,4 (C-20), 163,5 (C-22), 120,9 (C-23), 148,2 (C-24), 29,8 (C-25), 21,1 (C-26), 21,3 (C-27), 36,1 (C-28), 137,1 (C-29), 128,5 (C-30), 127,9 (C-31), 125,6 (C-32) IR (KBr): ν_{\max} 3260, 1648, 1277, 1261 cm⁻¹; FABMS *m/z* 490 [M+H]⁺; *anal.* C 71.30%, H 7.19%, N 8.44%, calculado para C₂₉H₃₅N₃O₄, C 71.54%, H 7.21%, N 8.58%.

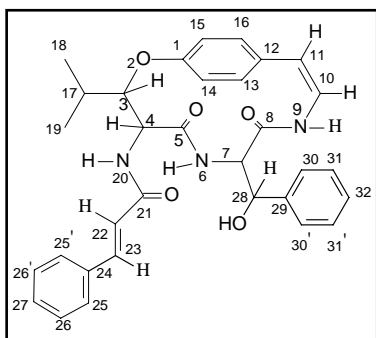
4.5.2.3 Discarina M, D01 (156): Pf.: Amorfo, com decomposição à 295-297 °C;



Rf.: 0,36, em CHCl₃-MeOH (98:2); $[\alpha]_D^{20} = -176,7$ (c 0,2 em CHCl₃-MeOH 50:50); ²³ isolada das frações básicas etéreas de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento e São Sepé (Tabelas 17 e 18); RMN de ¹H a 400,13 MHz, DMSO-*d*₆: δ 4,89 (1H, *dd*, *J* = 7,6, 7,7 Hz, H-3), 4,55 (1H, *dd*, *J* = 7,6, 10,0 Hz, H-4), 6,72 (1H, *d*, *J* = 8,0 Hz, NH-6), 3,78 (1H, *m*, H-7), 7,62 (1H, *d*, *J* = 9,7 Hz, NH-9), 6,51 (1H, *dd*, *J* = 9,7, 7,5 Hz, H-10), 6,38 (1H, *d*, *J* = 7,5 Hz, H-11), 6,93 (1H, *d*, *J* = 8,3 Hz, H-13), 7,11 (1H, *d*, *J* = 8,3 Hz, H-14), 7,08 (1H, *d*, *J* = 8,7 Hz, H-15), 7,00 (1H, *d*, *J* = 8,7 Hz, H-16), 2,08 (1H, *m*, H-17), 0,82 (3H, *d*, *J* = 6,7 Hz, CH₃-18), 1,13 (3H, *d*, *J* = 6,7 Hz, CH₃-19), 8,42 (1H, *d*, *J* = 10,0 Hz, NH-20), 5,84 (1H, *d*, *J* = 14,0 Hz, H-22), 6,61 (1H, *dd*, *J* = 6,8, 14,0 Hz, H-23), 2,35 (1H,

m, H-24), 0,94 (3H, *d*, $J = 6,7$ Hz, CH₃-25), 0,96 (3H, *d*, $J = 6,7$ Hz, CH₃-26), 1,43/1,31 (1H, *m*, H-27, -27'), 1,25 (1H, *m*, H-28), 0,69 (3H, *d*, $J = 6,5$ Hz, CH₃-29), 0,49 (3H, *d*, $J = 6,5$ Hz, CH₃-30); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, DMSO-*d*₆: δ 155,8 (C-1), 82,2 (C-3), 54,9 (C-4), 171,4 (C-5), 52,1 (C-7), 168,0 (C-8), 125,7 (C-10), 116,8 (C-11), 131,1 (C-12), 130,9 (C-13), 121,4 (C-14), 122,8 (C-15), 130,3 (C-16), 28,2 (C-17), 14,4 (C-18), 20,4 (C-19), 164,1 (C-21), 121,0 (C-22), 149,7 (C-23), 30,0 (C-24), 21,4 (C-25), 21,5 (C-26), 38,6 (C-27), 23,4 (C-28), 23,1 (C-29), 21,3 (C-30); IR (KBr) ν_{\max} 3280, 1625, 1234 cm⁻¹; FABMS *m/z* 456 [M+H]⁺; *anal.* C 68.27%, H 8.09%, N 9.47%, calculado para C₂₆H₃₇N₃O₄, C 68.54%, H 8.19%, N 9.22%.

4.5.2.4 Discarina N, D15 (157): sólido branco; Pf.: 233-235 °C; Rf.: 0,5, em



CHCl₃-MeOH (95:5); $[\alpha]_D^{20} = + 98,0$ (c 0,092 em CHCl₃-MeOH 50:50),²³ isolada das frações básicas etéreas de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento e São Sepé (Tabelas 17 e 18); RMN de ¹H a 400,13 MHz, DMSO-*d*₆: δ 4,13 (1H, *d*, $J = 7,2$ Hz, H-3), 4,21 (1H, *dd*, $J = 7,2, 8,8$ Hz, H-4), 7,19 (1H, *d*, $J = 11,5$ Hz, NH-6), 4,01 (1H, *m*, H-7), 6,09 (1H, *d*, $J = 8,8$ Hz, NH-9), 6,85 (1H, *dd*, $J = 7,4, 8,8$ Hz, H-10), 6,44 (1H, *d*, $J = 7,4$ Hz, H-11), 7,00 (1H, *d*, $J = 8,5$ Hz, H-13), 6,87 (1H, *d*, $J = 8,5$, H-14), 6,54 (1H, *d*, $J = 8,1$ Hz, H-15), 7,11 (1H, *d*, $J = 8,1$ Hz, H-16), 1,83 (1H, *dd*, $J = 6,7, 6,8$ Hz, H-17), 1,14 (3H, *d*, $J = 6,7$ Hz, CH₃-18), 0,86 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, CH₃-19); 8,05 (1H, *d*, $J = 8,8$ Hz, NH-20), 5,96 (1H, *d*, $J = 15,8$ Hz, H-22), 6,85 (1H, *d*, $J = 15,8$ Hz, H-23), 6,98-6,92 (5H, H-25, -25', -26, -26', -27), 4,23 (1H, *dd*, $J = 6,4, 4,4$ Hz, H-28), 5,49 (1H, *d*, $J = 4,4$, Hz, OH-28), 7,45-7,41 (5H, H-30, -30', -31, -31', -32). RMN de ¹³C a 100,62 MHz, DMSO-*d*₆: δ 158,6 (C-1), 86,5 (C-3), 56,0 (C-4), 166,9 (C-5), 57,4 (C-7), 163,3 (C-8), 126,9 (C-10), 117,6 (C-11), 132,0 (C-12), 131,2 (C-13), 121,2 (C-14), 127,9 (C-15), 129,4 (C-16), 28,0 (C-17), 14,9 (C-18), 20,4 (C-19), 168,9 (C-21), 121,7 (C-22), 139,4 (C-23), 134,7 (C-24), 127,7 (C-25), 129,1 (C-26), 129,7 (C-27), 73,3 (C-28), 142,2 (C-29), 127,0 (C-30), 126,8 (C-31), 127,3 (C-32); IR (KBr): ν_{\max} 3260, 1648, 1277, 1261 cm⁻¹; FABMS *m/z* 540 [M+H]⁺; *anal.* C 71.02%, H 6.04%, N 7.95%, calculado para C₃₂H₃₃N₃O₅, C 71.22%, H 6.16%, N 7.79%.

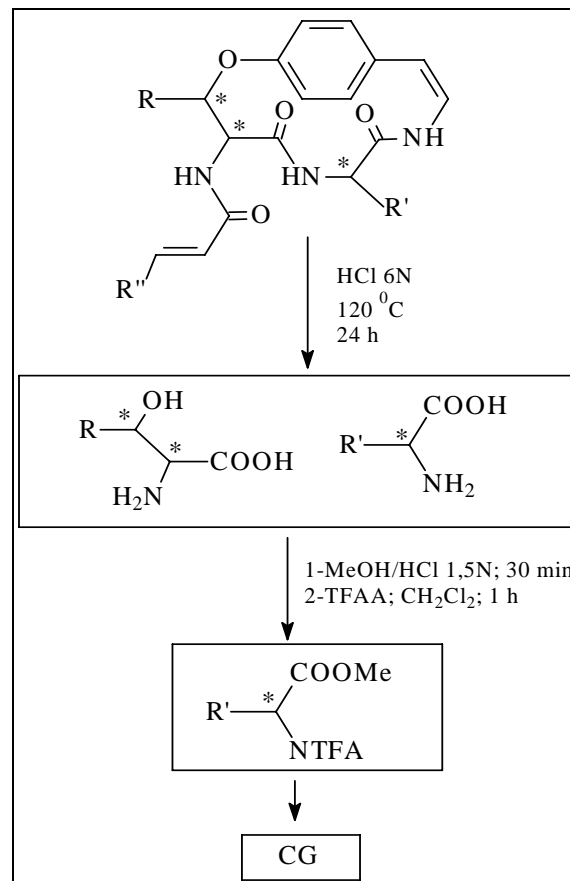
4.5.3 Degradação química dos ciclopeptídeos neutros (Esquema 11)^{202,203}

4.5.3.1 Hidrólise dos ciclopeptídeos neutros

Em uma ampola de vidro, adicionou-se o ciclopeptídeo neutro (10,0 mg) e HCl 6N (3,0 mL), o tubo foi selado e deixado a 120 °C durante 24 h. Após evaporação do solvente, o produto foi colocado em dessecador a vácuo, sob NaOH, durante 12 h.

4.5.3.2 Esterificação dos aminoácidos

A reação de esterificação, catalizada por ácido, das unidades de aminoácidos resultantes da hidrólise, foi realizada colocando-se em um vidro de 2 mL, bem vedado, 1,0 mL de MeOH-HCl 1,5N. Decorrido 30 minutos a temperatura ambiente, o solvente foi removido com corrente de nitrogênio.



Esquema 11: Degradação química

4.5.3.3 N, ou N, O-trifluoracetilação

O produto da esterificação foi dissolvido, em um recipiente de vidro bem vedado, com 200,0 µL de diclorometano e 50,0 µL de anidrido trifluoracético.

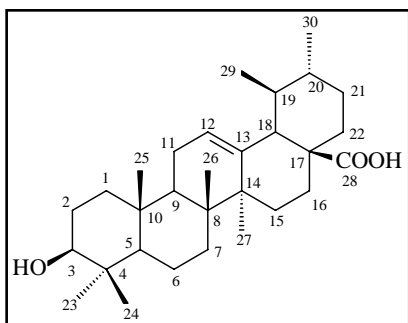
Após ter mantido 30 minutos a temperatura ambiente, o solvente foi removido por corrente de nitrogênio. O produto da reação foi dissolvido em 500,0 µL de diclorometano e analisado por CG.

202. Silva, U.F., Cardoso, C.D., Zanatta, N., Morel, A.F., Icheln, D., Gehrcke, B. *Phytochemical Analysis* 1996, 7, 20

203. Bayer, A. L., König, W. A. J. *Chromatogr. Sci.* 1969, 7, 95

4.5.4 Triterpenóides

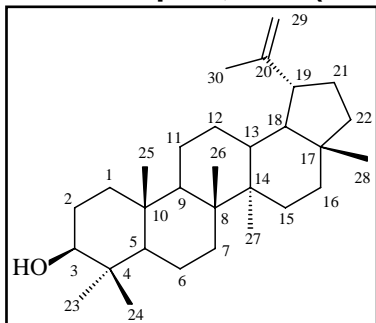
4.5.4.1 Ácido ursólico, J61 (194): sólido branco; Pf: 294-295 °C (Lit. 294-296 °C);²⁰⁴ Rf: 0,22 em Hex-AcOET (75:25); isolado das



partes aéreas de *D. americana* coletada em Jaguarí e partes aéreas de *C. paradoxa* (Tabelas 26 e 29); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 3,14 (1H, *dd*, *J*= 6,0, 10,6, H-3), 5,17 (1H, *t*, H-12), 2,16 (1H, *d*, *J*= 11,5 H-18), 1,81 (1H, *dd*, *J*= 6,0, 6,41 H-19), 0,67,

0,78, 0,85, 0,88, 0,91, 0,95, 1,0, (3H, *s*, CH₃-23, -24, -25, -26, -27, -29, -30), 1,06-1,85 (*m*, outros hidrogênios); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 38,6 (C-1), 27,2 (C-2), 78,9 (C-3), 38,7 (C-4), 55,2 (C-5), 18,2 (C-6), 32,9 (C-7), 39,4 (C-8), 47,1 (C-9), 36,9 (C-10), 23,2 (C-11), 125,5 (C-12), 138,1 (C-13), 41,9 (C-14), 28,0 (C-15), 24,2 (C-16), 48,0 (C-17), 52,8 (C-18), 38,8 (C-19), 39,0 (C-20), 30,6 (C-21), 36,6 (C-22), 28,1 (C-23), 15,5 (C-24), 15,4 (C-25), 16,8 (C-26), 23,5 (C-27), 183,7 (C-28), 16,9 (C-29), 21,1 (C-30).

4.5.4.2 Lupeol, C06 (199): sólido branco; Pf: 216-217 °C (Lit. 216-218 °C);²⁰⁵ Rf:



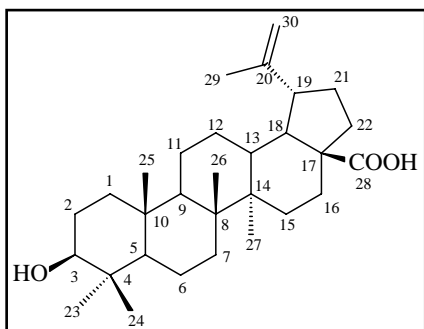
0,28 em Hex-DCM (95:05); isolado das partes aéreas de *C. paradoxa* e *G. ulmifolia* (Tabelas 29 e 35). RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 3,16 (1H, *dd*, *J*= 4,9, 5,0, H-3), 1,89 (1H, *m*, H-13), 2,35 (1H, *m*, H-19), 0,73, 0,76, 0,80, 0,91, 0,94, 0,95, 1,01, 1,65 (3H, *s*, CH₃-23, -24, -25, -26, -27, -28, -30), 4,53/4,65 (1H, *s*,

H-29, -29'), 0,64-1,62 (*m*, outros hidrogênios); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 38,1 (C-1), 27,4 (C-2), 78,9 (C-3), 38,8 (C-4), 55,2 (C-5), 18,1 (C-6), 34,3 (C-7), 40,8 (C-8), 50,4 (C-9), 37,2 (C-10), 20,9 (C-11), 25,2 (C-12), 37,9 (C-13), 42,8 (C-14), 27,4 (C-15), 35,5 (C-16), 42,9 (C-17), 48,3 (C-18), 47,9 (C-19), 150,8 (C-20), 29,6 (C-21), 40,0 (C-22), 27,9 (C-23), 15,2 (C-24), 16,0 (C-25), 15,4 (C-26), 15,3 (C-27), 18,3 (C-28), 109,3 (C-29), 19,2 (C-30).

204. Porter, R., Reese, P.B., Williams, L., Williams, D., 1995. *Phytochemistry* 40, 735

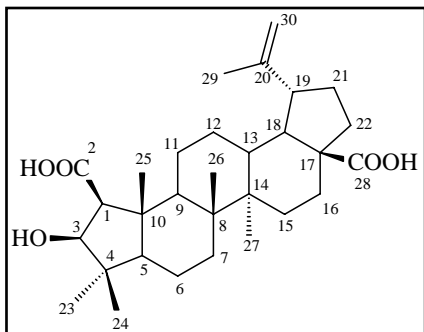
205. Reynolds, W. F., Mclean, S., Poplawski, J., Enriquez, R. G., Escobar, L. I. *Tetrahedron* 1996, 42, 3419

4.5.4.3 Ácido betulínico, L02 (192): sólido branco; Pf: 289-290 °C (Lit. 290-291 °C);²⁰⁶ Rf: 0,60, em CHCl₃-MeOH (95:5); isolado das partes aéreas e casca da raiz de *D. americana*



e *Colletia paradoxa* e, partes aéreas de *Gouania ulmifolia* (Tabelas 20-22, 24-27, 29-37); RMN de ¹H a 400,13 MHz, Pyr-d₅: δ 3,45 (1H, *m*, H-3), 2,65 (1H, *m*, H-19), 0,81, 1,01, 1,05, 1,07, 1,22, 1,78 (3H, *s*, CH₃-23, -24, -25, -26, -27, -30), 4,76/4,93 (2H, *s*, H-29, -29'), 0,91-2,72 (*m*, outros hidrogênios); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, Pyr-d₅: δ 38,6 (C-1), 28,3 (C-2), 78,1 (C-3), 39,5 (C-4), 55,9 (C-5), 18,8 (C-6), 34,8 (C-7), 41,1 (C-8), 51,1 (C-9), 37,5 (C-10), 21,2 (C-11), 26,1 (C-12), 39,3 (C-13), 42,8 (C-14), 30,3 (C-15), 32,9 (C-16), 56,2 (C-17), 49,8 (C-18), 47,8 (C-19), 151,3 (C-20), 31,2 (C-21), 37,5 (C-22), 28,7 (C-23), 16,3 (C-24), 16,4 (C-25), 16,4 (C-26), 14,9 (C-27), 178,8 (C-28), 109,9 (C-29), 19,4 (C-30).

4.5.4.4 Ácido ceanótico, J20 (193): amorfo decomposição 333-335 °C; (Lit. 335-338 °C);²⁰⁷ Rf: 0,22 em Hex-AcOET (75:25); isolado das partes aéreas de *D. americana*

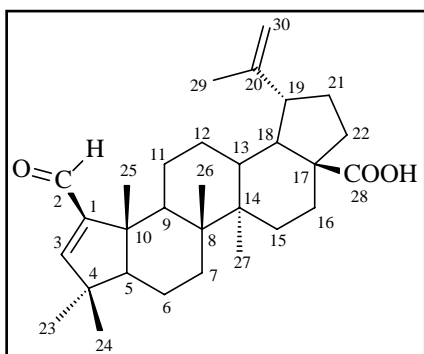


coletada em Jaguari, partes aéreas e casca da raiz de *C. paradoxa* (Tabelas 26 e 27, 29-34); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 2,52 (1H, *s*, H-1), 4,08 (1H, *s*, H-3), 2,13 (1H, *dd*, *J*= 12,2, 2,5 H-13), 2,88 (1H, *m*, H-19), 0,84, 0,85, 0,86, 0,99, 1,04, 1,57 (3H, *s*, CH₃-23, -24, -25, -26, -27, -30), 4,52/4,64 (2H, *s*, H-29, -29'), 1,26-1,81 (*m*, outros hidrogênios); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 65,4 (C-1), 178,0 (C-2), 84,7 (C-3), 43,2 (C-4), 56,5 (C-5), 18,4 (C-6), 33,9 (C-7), 41,6 (C-8), 46,8 (C-9), 49,4 (C-10), 23,5 (C-11), 25,3 (C-12), 38,5 (C-13), 42,7 (C-14), 29,8 (C-15), 32,1 (C-16), 56,5 (C-17), 49,4 (C-18), 44,5 (C-19), 150,3 (C-20), 30,6 (C-21), 36,9 (C-22), 30,7 (C-23), 19,4 (C-24), 18,4 (C-25), 16,4 (C-26), 14,7 (C-27), 179,3 (C-28), 109,5 (C-29), 19,1 (C-30).

206. Ogura, M., Cordell G. A., Farnsworth, N. R. *Lloydia*, 1977, 40, 157

207. Lee, S.-S., Lin, C.-J. and Liu, K., *Journal of Natural Products*, 1992, 55(5), 602

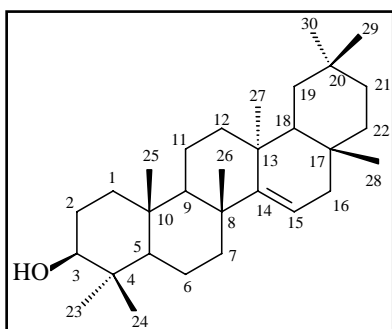
4.5.4.5 Ácido ziziberenólico, C15 (206): sólido branco; Pf: 213-215 °C (Lit. 214-



216 °C);²⁰⁸ Rf: 0,42 em CHCl₃-MeOH (80:20); obtido da raiz de *C. paradoxa* (Tabelas 33 e 34); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 9,70 (1H, s, H-2), 6,53 (1H, s, H-3), 3,01 (1H, m, H-9), 4,66 (1H, d, J= 2,2, 2,5 H-30), 0,96, 0,97, 0,98, 1,12, 1,13, 1,67 (3H, s, CH₃-23, -24, -25, -26, -27, -29), 0,85-2,31 (m, outros hidrogênios); RMN de ¹³C a 100,62

MHz, CDCl₃: δ 157,3 (C-1), 191,4 (C-2), 163,2 (C-3), 43,7 (C-4), 63,0 (C-5), 16,8 (C-6), 35,1 (C-7), 42,9 (C-8), 46,9 (C-9), 52,2 (C-10), 24,1 (C-11), 25,1 (C-12), 38,2 (C-13), 42,5 (C-14), 29,8 (C-15), 32,3 (C-16), 56,2 (C-17), 49,4 (C-18), 47,5 (C-19), 150,0 (C-20), 30,6 (C-21), 37,1 (C-22), 28,1 (C-23), 20,4 (C-24), 19,0 (C-25), 17,6 (C-26), 14,7 (C-27), 182,6 (C-28), 19,3 (C-29), 109,9 (C-30).

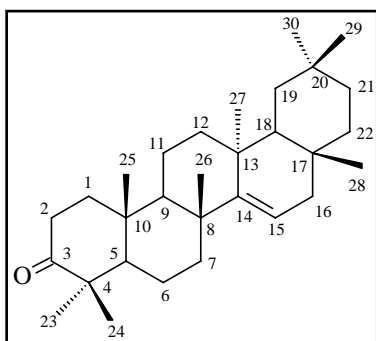
4.5.4.6 Taraxerol, C09 (200): sólido branco; Pf: 279-281 °C (Lit.278-279 °C);²⁰⁹ Rf:



0,57 em DCM-MeOH (90:10); obtido das partes aéreas de *C. paradoxa* (Tabelas 30 e 31); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 3,19 (1H, d, J= 9,3, H-3), 0,77 (1H, H-5), 2,04 (1H, m, H-7), 1,03 (1H, d, J= 4,3, H-9), 5,53 (1H, dd, J= 3,0, 5,1, H-15), 1,64/1,89 (1H, dd, J= 2,4, 12,2, H-16), 0,80, 0,82, 0,90, 0,91, 0,92,

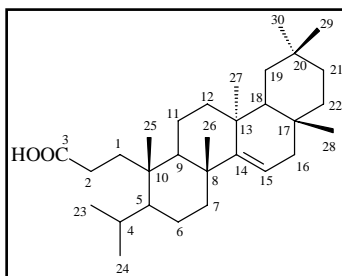
0,95, 0,97, 1,09 (3H, s, CH₃-23, -24, -25, -26, -27, -28, -29, -30), 1,22-1,66 (m, outros hidrogênios); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 37,7 (C-1), 27,1 (C-2), 79,0 (C-3), 38,9 (C-4), 55,5 (C-5), 18,8 (C-6), 41,3 (C-7), 38,7 (C-8), 48,9 (C-9), 35,7 (C-10), 17,5 (C-11), 35,1 (C-12), 37,5 (C-13), 158,1 (C-14), 116,8 (C-15), 36,9 (C-16), 38,0 (C-17), 49,3 (C-18), 37,7 (C-19), 28,8 (C-20), 33,7 (C-21), 33,1 (C-22), 28,0 (C-23), 15,4 (C-24), 15,4 (C-25), 29,8 (C-26), 25,9 (C-27), 29,9 (C-28), 33,3 (C-29), 21,5 (C-30).

4.5.4.7 Taraxerona, C11 (201): sólido branco; Pf: 280-283 °C (Lit. 278-280 °C);²¹⁰



Rf: 0,14 em Hex-Acetona (95:05); isolado da fração hexânica das partes aéreas de *C. paradoxa* (Tabela 29); RMN de ^1H a 400,13 MHz, CDCl_3 : δ 1,87/1,66 (2H, *m*, H-1), 2,55/2,34 (2H, *m*, H-2), 5,56 (1H, *dd*, $J=3,2, 8,0$, H-15), 1,68/1,94 (1H, *dd*, $J=2,4, 12,2$, H-16), 2,06 (1H, *t*, H-18), 0,83, 0,91, 0,91, 0,95, 1,06, 1,08, 1,09, 1,14 (3H, *s*, CH_3 -23, -24, -25, -26, -27, -28, -29, -30), 0,99-1,68 (*m*, outros hidrogênios); RMN de ^{13}C a 100,62 MHz, CDCl_3 : δ 38,3 (C-1), 34,1 (C-2), 217,5 (C-3), 47,5 (C-4), 55,7 (C-5), 19,9 (C-6), 35,1 (C-7), 38,8 (C-8), 48,7 (C-9), 37,5 (C-10), 17,4 (C-11), 36,6 (C-12), 37,6 (C-13), 157,6 (C-14), 117,1 (C-15), 37,7 (C-16), 35,7 (C-17), 48,8 (C-18), 40,6 (C-19), 28,7 (C-20), 33,5 (C-21), 33,0 (C-22), 26,1 (C-23), 21,4 (C-24), 14,7 (C-25), 29,9 (C-26), 25,5 (C-27), 29,8 (C-28), 33,3 (C-29), 21,3 (C-30).

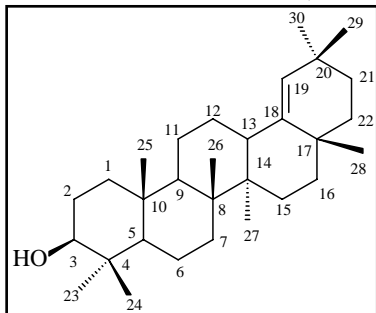
4.5.4.8 Seco-3,4 taraxerona, C64 (202): amorfo decomposição 252-255 (Lit. >



250 °C);²¹¹ Rf: 0,48 em Hex-Acetona (90:10); obtida do extrato hexânico das partes aéreas de *C. paradoxa* (Tabelas 29 e 30); RMN de ^1H a 400,13 MHz, CDCl_3 : δ 1,72 (2H, *t*, H-2), 2,21 (2H, *m*, H-2), 1,86 (1H, *m*, H-4), 2,16 (1H, H-13), 5,28 (1H, *d*, $J=6,7$, H-15), 1,79 (2H, H-16), 4,85 (1H, *s*, H-19), 0,90 (3H, *d*, $J=6,9$, H-23), 0,79 (3H, *d*, $J=6,7$, H-24), 0,84, 0,92, 1,01, 1,02, 1,05, 1,23 (3H, *s*, CH_3 -25, -26, -27, -28, -29, -30), 0,88-1,46 (*m*, outros hidrogênios); RMN de ^{13}C a 100,62 MHz, CDCl_3 : δ 28,4 (C-1), 32,7 (C-2), 180,7 (C-3), 31,2 (C-4), 47,5 (C-5), 17,6 (C-6), 34,5 (C-7), 39,6 (C-8), 40,8 (C-9), 36,5 (C-10), 17,6 (C-11), 33,9 (C-12), 40,8 (C-13), 158,0 (C-14), 116,9 (C-15), 37,6 (C-16), 40,8 (C-17), 46,2 (C-18), 39,1 (C-19), 30,9 (C-20), 32,7 (C-21), 30,0 (C-22), 25,0 (C-23), 18,7 (C-24), 19,8 (C-25), 24,7 (C-26), 24,4 (C-27), 23,7 (C-28), 33,5 (C-29), 23,5 (C-30).

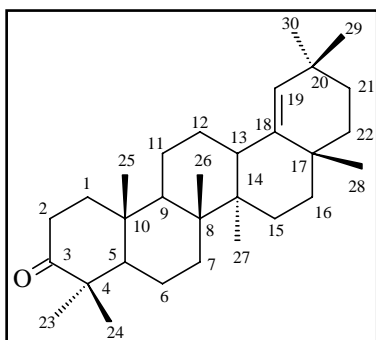
210. Souza, A. D. L., Rocha, A. F. I., Pinheiro, M. L. B., Andrade, C. H. S., Galotta, A. L. A. Q., Santos M. P. S. S. Química Nova, 2001, 24, 439

211. Setzer, W. N., Shen, X., Bates, R. B., Burns, J. R., McClure, K. J., Zhang, P., Moriarity, D. M., Lawton, R. O. Fitoterapia, 2000, 71, 195

4.5.4.9 Germanicol, C24 (203): sólido branco; Pf: 218-220 °C (Lit. 221-222

°C);²¹² Rf: 0,62 em Hex-DCM (90:10); isolado do extrato hexânico das partes aéreas de *C. paradoxa* (Tabela 29); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 3,19 (1H, *d*, *J*= 9,3, H-3), 0,77 (1H, H-5), 2,04 (1H, *m*, H-7), 1,03 (1H, *d*, *J*= 4,3, H-9), 1,64/1,89 (1H, *dd*, *J*= 2,4, 12,2, H-16), 4,84 (1H, *dd*, *J*= 3,0, 5,1, H-19), 0,80,

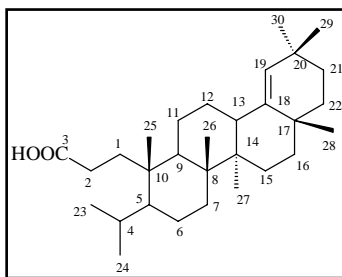
0,82, 0,90, 0,91, 0,92, 0,95, 0,97, 1,09 (3H, *s*, CH₃-23, -24, -25, -26, -27, -28, -29, -30), 1,22-1,66 (*m*, outros hidrogênios); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 37,7 (C-1), 27,1 (C-2), 79,0 (C-3), 38,9 (C-4), 55,5 (C-5), 18,8 (C-6), 41,3 (C-7), 38,7 (C-8), 48,9 (C-9), 35,7 (C-10), 17,5 (C-11), 35,1 (C-12), 37,5 (C-13), 158,1 (C-14), 116,8 (C-15), 36,9 (C-16), 38,0 (C-17), 142,6 (C-18), 129,7 (C-19), 28,8 (C-20), 33,7 (C-21), 33,1 (C-22), 28,0 (C-23), 15,4 (C-24), 15,4 (C-25), 29,8 (C-26), 25,9 (C-27), 29,9 (C-28), 33,3 (C-29), 21,5 (C-30).

4.5.4.10 Germanicon, C12 (204): sólido branco; Pf: 189-191 °C (Lit. 190-192

°C);²¹³ Rf: 0,11 em Hex-Acetona (95:05); isolado do extrato hexânico das partes aéreas de *C. paradoxa* (Tabela 29); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 4,85 (1H, *s*, H-19), 0,94, 0,95, 0,99, 1,03, 1,04, 1,05, 1,08, 1,11 (3H, *s*, CH₃-23, -24, -25, -26, -27, -28, -29 e -30), 0,74-2,47 (*m*, *s*, outros hidrogênios); RMN de ¹³C a

100,62 MHz, CDCl₃: δ 38,3 (C-1), 34,0 (C-2), 218,0 (C-3), 47,1 (C-4), 54,8 (C-5), 19,6 (C-6), 35,4 (C-7), 39,5 (C-8), 50,4 (C-9), 36,8 (C-10), 21,4 (C-11), 26,8 (C-12), 38,4 (C-13), 43,2 (C-14), 27,4 (C-15), 37,3 (C-16), 33,9 (C-17), 129,8 (C-18), 142,4 (C-19), 32,2 (C-20), 33,5 (C-21), 37,5 (C-22), 29,1 (C-23), 15,8 (C-24), 15,9 (C-25), 17,9 (C-26), 14,4 (C-27), 25,2 (C-28), 31,2 (C-29), 29,7 (C-30).

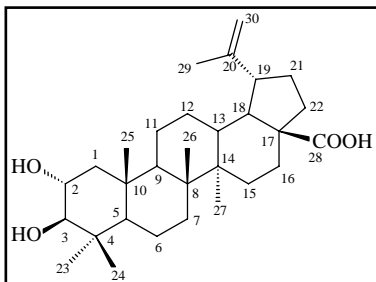
4.5.4.11 Seco-3,4-germanicono, C63 (205): sólido branco; Pf: 210-212 °C, $[\alpha]_D^{20}$



= + 11,4 (C 1,01, CHCl₃); Rf: 0,48 em Hex-Acetona (90:10); obtida dos extratos hexânicos das partes aéreas e casca da raiz de *C. paradoxa* (Tabelas 29 e 30); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 1,72 (2H, *t*, H-1), 2,21 (2H, *m*, H-2), 1,86 (1H, *m*, H-4), 0,89 (1H, *m*, H-5), 1,23

(1H, *m*, H-6), 1,15 (2H, *m*, H-7), 1,46 (1H, *d*, *J*= 10,1, H-9), 1,01 (2H, *m*, H-11), 1,38 (2H, *m*, H-12), 2,16 (1H, *dd*, *J*= 8,6, 3,9, H-13), 1,79 (2H, *m*, H-15), 1,25 (2H, *m*, H-16), 4,85 (1H, *s*, H-19), 1,12 (2H, *m*, H-21), 0,88 (2H, *m*, H-22), 0,90 (3H, *d*, *J*= 6,9, H-23), 0,79 (3H, *d*, *J*= 6,7, H-24), 0,84, 0,92, 1,02, 1,05, 1,07, 1,23 (3H, *s*, CH₃-25, -26, -27, -28, -29, -30); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 28,5 (C-1), 33,1 (C-2), 180,7 (C-3), 25,2 (C-4), 48,7 (C-5), 18,2 (C-6), 35,7 (C-7), 40,0 (C-8), 51,5 (C-9), 40,6 (C-10), 21,3 (C-11), 26,2 (C-12), 38,5 (C-13), 43,6 (C-14), 28,2 (C-15), 37,6 (C-16), 33,6 (C-17), 142,7 (C-18), 129,7 (C-19), 32,3 (C-20), 33,3 (C-21), 36,6 (C-22), 24,7 (C-23), 18,4 (C-24), 17,4 (C-25), 18,7 (C-26), 14,4 (C-27), 25,1 (C-28), 31,3 (C-29), 29,2 (C-30); FABMS *m/z* 442,37317; IR (KBr): ν_{\max} 2951, 1710, 1464 cm⁻¹.

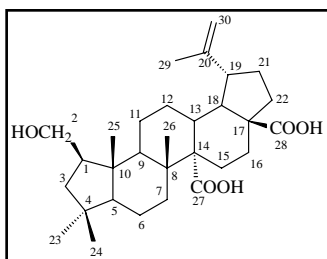
4.5.4.12 Ácido alfitólico, G41 (207): sólido branco; Pf: 275-278 °C (Lit. °C);²¹⁴ Rf:



0,48 em DCM-MeOH (88:12); obtido das partes aéreas de *G. ulmifolia* (Tabelas 36 e 37); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 0,86/2,03 (2H, *dd*, *J*= 4,0, 8,0, H-1), 3,64 (1H, H-2), 3,01 (1H, H-3), 2,97 (1H, H-18), 0,79, 0,88, 0,90, 0,91, 0,96, 0,95, 1,01, 1,68 (3H, *s*,

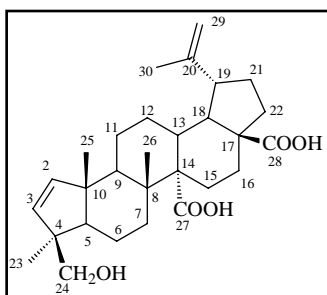
CH₃-23, -24, -25, -26, -27, 30), 0,84-2,35 (*m*, outros hidrogênios); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 46,7 (C-1), 69,2 (C-2), 83,8 (C-3), 38,5 (C-4), 55,4 (C-5), 18,2 (C-6), 34,2 (C-7), 40,7 (C-8), 50,4 (C-9), 39,1 (C-10), 20,9 (C-11), 25,3 (C-12), 38,2 (C-13), 42,4 (C-14), 29,6 (C-15), 32,1 (C-16), 56,5 (C-17), 46,9 (C-18), 49,4 (C-19), 150,4 (C-20), 30,6 (C-21), 36,9 (C-22), 28,4 (C-23), 17,3 (C-24), 16,5 (C-25), 15,9 (C-26), 14,6 (C-27), 181,4 (C-28), 109,6 (C-29), 19,3 (C-30).

4.5.4.13 Ácido 2-hidroxi-2-nor-20(29)-lupen-27,28-dióico, G44 (208): sólido



branco; Pf: 246-248 °C; $[\alpha]_D^{20} = + 27,1$ (C. 1,1, CHCl₃); Rf: 0,45 em DCM-MeOH (85:15); obtido das partes aéreas de *G. ulmifolia* (Tabelas 36 e 37); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 1,82 (1H, *m*, H-1), 3,21/3,66 (1H, *dd*, *J*= 4,1, 8,5, H-2, -2'), 1,78 (2H, *dd*, *J*= 4,3, 8,1, H-3), 1,19 (1H, *m*, H-5), 1,37 (1H, *m*, H-6), 2,07/2,43 (1H, *m*, H-7, -7'), 1,79 (1H, *dd*, *J*= 6,2; 6,6, H-9) 1,35/1,54 (1H, *m*, H-11, -11'), 1,62/2,14 (1H, *m*, H-12, -12'), 2,38 (1H, *m*, H-13), 1,48/1,53 (1H, *m*, H-15, -15'), 1,72/1,94 (1H, *m*, H-16, -16'), 1,73 (1H, *dd*, *J*= 6,1; 6,8, H-18), 3,11 (1H, *m*, H-19), 1,91/1,98 (1H, *m*, H-21, -21'), 1,51/1,66 (1H, *m*, H-22, -22'), 4,61/4,73 (1H, *s*, H-29, -29'), 0,90, 0,91, 0,99, 1,04, 1,71 (3H, *s*, CH₃-23, -24, -25, -26, -30); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 44,1 (C-1), 62,5 (C-2), 42,0 (C-3), 38,1 (C-4), 58,0 (C-5), 19,0 (C-6), 34,9 (C-7), 41,2 (C-8), 52,1 (C-9), 48,3 (C-10), 23,6 (C-11), 26,3 (C-12), 40,5 (C-13), 60,1 (C-14), 28,5 (C-15), 37,5 (C-16), 56,3 (C-17), 52,2 (C-18), 47,7 (C-19), 150,9 (C-20), 30,9 (C-21), 37,9 (C-22), 33,8 (C-23), 26,7 (C-24), 19,0 (C-25), 17,9 (C-26), 178,5 (C-27), 178,1 (C-28), 110,2 (C-29), 20,0 (C-30); IR (KBr): ν_{\max} 3417, 2949, 1690, 1459, 886 cm⁻¹.

4.5.4.14 Ácido 24-hidroxi-A(1)-nor-2,20(29)-lupadien-27,28-dióico, G45 (209):

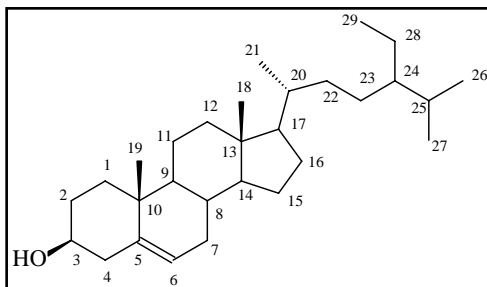


sólido branco; Pf: 238-240 °C; $[\alpha]_D^{20} = + 8,3$ (C. 1,2, CHCl₃); Rf: 0,22 em DCM-MeOH (85:15); obtido das partes aéreas de *G. ulmifolia* (Tabelas 36 e 37); RMN de ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 5,49 (1H, *d*, *J*= 5,8, H-2), 6,07 (1H, *d*, *J*= 5,8, H-3), 1,29 (1H, *d*, *J*= 12,3, H-5), 1,56/1,63 (1H, *m*, H-6), 2,05/2,21 (1H, *m*, H-7, -7'), 1,75 (1H, H-9), 1,52/1,64 (1H, *m*, H-11, -11'), 1,66/2,16 (1H, *m*, H-12, -12'), 2,47 (1H, *m*, H-13), 1,49/1,97 (1H, *m*, H-15, -15'), 1,41/1,94 (1H, *m*, H-16, -16), 1,77 (1H, H-18), 3,12 (1H, *m*, H-19), 1,89/1,92 (1H, *m*, H-21, -21), 1,63/1,67 (1H, *m*, H-22, -22') 3,45/3,59 (1H, *dd*, *J*= 6,4, 10,4, H-23, -23'), 4,58/4,73 (1H, *s*, H-29, -29'), 1,02, 1,06, 1,09, 1,71 (3H, *s*, CH₃-23, -25, -26, -30); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 136,6 (C-2), 142,7 (C-3), 51,4 (C-4), 62,9 (C-5), 18,3 (C-6), 34,8 (C-7), 41,7 (C-8), 51,9 (C-9), 50,9 (C-10), 23,5 (C-11), 26,2 (C-12), 40,0 (C-13), 60,0 (C-14), 28,3 (C-15), 37,5 (C-16), 56,3 (C-17), 48,6 (C-18), 47,7 (C-19), 151,0 (C-20), 30,9 (C-21), 38,6 (C-22), 24,2 (C-23),

66,4 (C-24), 18,9 (C-25), 18,2 (C-26), 178,2 (C-27), 177,7 (C-28), 110,0 (C-29), 20,7 (C-30); IR (KBr): ν_{\max} 3408, 2952, 1689, 1450, 894 cm^{-1} .

4.5.5 Esteróides

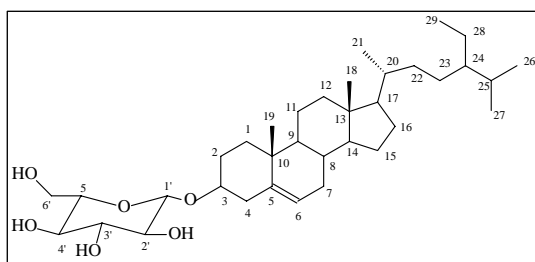
4.5.5.1 β -Sitosterol, L01 (195): sólido branco; Pf: 138-140 $^{\circ}\text{C}$ (Lit. 136-138 $^{\circ}\text{C}$);²¹⁵



Rf: 0,65, em CHCl_3 -MeOH (95:5); isolado das partes aéreas e casca da raiz de *D. americana* e *Colletia paradoxa* e, partes aéreas de *Gouania ulmifolia* (Tabelas 20-22 e 24 e 31-33 e 35-37); RMN de ^1H a 400,13 MHz, CDCl_3 : δ

3,51 (1H, *m*, H-3), 0,68, 0,80, 0,84, 0,86, 0,96, 1,0 (3H, CH_3 -18, -19, -21, -26, -27, -29), 5,34 (1H, *d*, H-6), 0,91-2,31 (*m*, outros hidrogênios); RMN de ^{13}C a 100,62 MHz, CDCl_3 : δ 37,2 (C-1), 31,6 (C-2), 71,7 (C-3), 42,3 (C-4), 140,7 (C-5), 121,6 (C-6), 31,9 (C-7), 31,9 (C-8), 51,1 (C-9), 36,5 (C-10), 21,2 (C-11), 39,8 (C-12), 42,6 (C-13), 56,7 (C-14), 24,2 (C-15), 28,2 (C-16), 56,0 (C-17), 11,8 (C-18), 18,7 (C-19), 36,1 (C-20), 19,0 (C-21), 33,9 (C-22), 26,1 (C-23), 45,8 (C-24), 29,1 (C-25), 19,7 (C-26), 19,3 (C-27), 23,0 (C-28), 12,0 (C-29).

4.5.5.2 β -Sitosterol glicosilado, L04 (196): sólido branco; Pf: 293-295 $^{\circ}\text{C}$ (Lit.

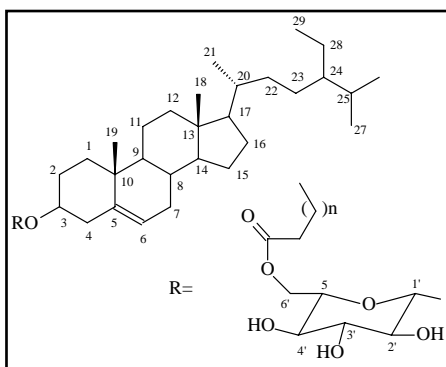


295-298 $^{\circ}\text{C}$);²¹⁶ Rf: 0,15, em CHCl_3 -MeOH (90:10); isolado das partes aéreas e casca da raiz de *D. americana* e *C. paradoxa* e, partes aéreas de *G. ulmifolia* (Tabelas 20-22, 25-27, 30 e 31, 33 e 34, 36 e 37); RMN

de ^1H a 400,13 MHz, Pyr-d_5 : RMN de ^{13}C a 100,62 MHz, Pyr-d_5 : δ 37,5 (C-1), 26,4 (C-2), 75,3 (C-3), 40,0 (C-4), 140,9 (C-5), 121,9 (C-6), 32,1 (C-7), 32,2 (C-8), 50,4 (C-9), 36,9 (C-10), 21,3 (C-11), 39,3 (C-12), 42,5 (C-13), 56,8 (C-14), 24,5 (C-15), 28,6 (C-16), 56,3 (C-17), 12,0 (C-18), 19,0 (C-19), 36,4 (C-20), 19,2 (C-21), 34,2 (C-22), 30,3 (C-23), 46,1 (C-24), 29,5 (C-25), 20,0 (C-26), 19,4 (C-27), 23,4 (C-28), 12,2 (C-29), (Glucose) 102,6 (C-1'), 78,1 (C-2'), 78,5 (C-3'), 71,7 (C-4'), 78,6 (C-5'), 62,8 (C-6').

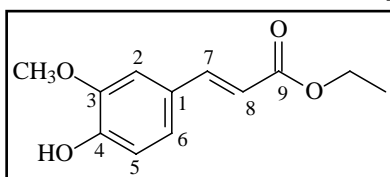
215. Akihisa, T., Thakur, S., Rosenstein, F. U., Matsumoto, T. *Lipids*, 1986, 21 39
216. Itoh, T., Yohida, K., Tamura, T., Matsumoto, T. *Phytochemistry* 1982, 21, 727

4.5.5.3 β -Sitosterol 6'-O-acil glicosilado, L03 (197): sólido incolor; Pf: 108-109



$^{\circ}\text{C}$ (Lit. 107-108 $^{\circ}\text{C}$);²¹⁷ Rf: 0,25, em CHCl_3 -MeOH (95:5); isolado somente da casca da raiz de *D. americana* (Tabelas 20-22); RMN de ^{13}C a 100,62 MHz, CDCl_3 : δ 37,2 (C-1), 29,3 (C-2), 73,8 (C-3), 38,9 (C-4), 140,3 (C-5), 122,0 (C-6), 31,9 (C-7), 31,8 (C-8), 50,8 (C-9), 36,7 (C-10), 21,0 (C-11), 39,8 (C-12), 42,3 (C-13), 56,7 (C-14), 24,9 (C-15), 28,2 (C-16), 56,1 (C-17), 11,8 (C-18), 18,7 (C-19), 36,1 (C-20), 19,0 (C-21), 33,9 (C-22), 27,2 (C-23), 50,1 (C-24), 29,2 (C-25), 19,7 (C-26), 19,3 (C-27), 22,6 (C-28), 11,9 (C-29), (Glucose) 101,2 (C-1'), 73,4 (C-2'), 79,7 (C-3'), 70,3 (C-4'), 76,2 (C-5'), 63,5 (C-6'), 174,6 (- $\text{CH}_2\text{COO-}$), 34,2 (- $\text{CH}_2\text{COO-}$), 29,7-29,9 [(- CH_2) $_n\text{CH}_2\text{COO-}$], 23,0 (CH_3CH_2 -), 14,0 (CH_3CH_2 -).

4.5.6 Éster ferúlico, J05 (198): óleo; Rf: 0,50 em DCM; isolado da fração etérea



das partes aéreas de *D. americana* coletada em Jaguari (Tabelas 26 e 27). RMN de ^1H a 400,13 MHz, CDCl_3 : δ 1,21 (3H, *t*, - CH_2CH_3), 3,08 (3H, *s*, - OCH_3), 4,09 (2H, *q*, - CH_2CH_3), 7,05 (1H, *s*, H-2), 7,09 (1H, *d*, $J = 8,1$, H-5), 6,76 (1H, *d*, $J = 8,1$, H-6), 5,73 (1H, *d*, $J = 15,9$, H-8), 7,53 (1H, *d*, $J = 15,9$, H-9); RMN de ^{13}C a 100,62 MHz, CDCl_3 : δ 122,8 (C-1), 109,4 (C-2), 146,8 (C-3), 147,9 (C-4), 114,7 (C-5), 126,8 (C-6), 144,6 (C-7), 115,3 (C-8), 167,3 (C-9), 55,7 (- OCH_3), 60,2 (- CH_2CH_3), 14,17 (- CH_2CH_3).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, 3 espécies de plantas pertencentes à família Rhamnaceae serão discutidas quanto a composição química de cada uma e a atividade biológica dos metabólitos isolados e extratos obtidos. Os resultados, seguidos de discussão, serão apresentados na seguinte ordem:

- a) análise fitoquímica da casca da raiz e partes aéreas de *Discaria americana*;
- b) composição química das partes aéreas e raiz de *Colletia paradoxa*;
- c) composição química das partes aéreas de *Gouania ulmifolia*;
- d) análise da atividade antimicrobiana, pelo método da bioautografia, dos extratos brutos, frações e metabólitos isolados.

A determinação estrutural dos metabólitos isolados das partes aéreas e raízes das espécies vegetais investigadas foi estabelecida com base na interpretação de dados espectrais, principalmente de RMN de ^1H e ^{13}C uni- e bidimensionais, infravermelho e espectrometria de massas; em combinação com dados da literatura.

5.1. Análise fitoquímica

5.1.1 *Discaria americana* Gill & Hook

5.1.1.1 Partes aéreas

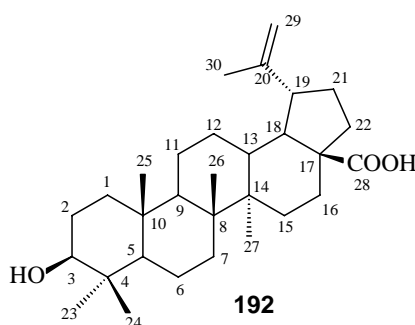
O fracionamento das partes aéreas de *D. americana* coletada em 3 diferentes regiões, conforme descrito na parte experimental, e separação dos correspondentes metabólitos secundários utilizando-se de cromatografia em coluna e/ou CCD preparativa e purificação por recristalização, conduziram ao isolamento e identificação dos seguintes metabólitos: ácido betulínico (**192**), ácido ceanótico (**193**), ácido ursólico (**194**), β -sitosterol livre (**195**), β -sitosterol glicosilado (**196**), β -sitosterol acetilglicosilado (**197**) e o ferulato de etila (**198**). Esses metabólitos, apesar de serem de ocorrência comum em plantas, são aqui descritos pela primeira vez nas partes aéreas de *D. americana*.

As estruturas destas substâncias foram elucidadas a partir dos dados obtidos por análises espectroscópicas de RMN de ^1H e ^{13}C , experimentos DEPT

90° e 135° e comparação dos registros na literatura para essas substâncias, que foram fundamentais para a confirmação de suas estruturas. Como tratam-se de estruturas conhecidas, serão brevemente discutidas neste trabalho.

5.1.1.1.1 Identificação do triterpenóide L02

Esse metabólito foi isolado em maior proporção (cerca de 30 %) com relação a mistura de metabólitos presentes na casca da raiz de *D. americana*. Também foi encontrado nas partes aéreas desta espécie, nas partes aéreas e casca da raiz de *Colletia paradoxa* e nas partes aéreas de *Gouania ulmifolia* (Tabelas 20-22, 24-27, 29-37; págs 44-50).



O espectro de RMN de ^1H deste metabólito (Figura 4) mostrou seis sinais de grupos metílicos terciários em δ 0,81, 1,01, 1,05, 1,07, 1,22, 1,78 ppm (3H, s, Me-23, -24, -25, -26, -27 e -30), um hidrogênio carbinólico em δ 3,45 (1H, m, H-3), dois hidrogênios olefínicos em δ 4,76 ppm e 4,93 ppm (2H, s, H-29, -29'), um hidrogênio metínico em δ 2,65 ppm (1H, m, H-19), além de sinais entre δ 1,39-2,27 ppm pertencentes aos hidrogênios metilênicos e metínicos presentes na estrutura.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 5), indicou a presença de 30 carbonos na molécula, sugerindo um triterpeno. Os sinais em δ 109,5 ppm (C-29) e 150,3 ppm (C-20), são típicos de triterpenos com esqueleto tipo $\Delta^{20(29)}$ -lupeno. O experimento do tipo DEPT 135° (Figura 6), mostrou 12 sinais com amplitude positiva e 11 com amplitude negativa, indicando a presença de 7 carbonos desprotonados na substância.

Após estas análises e juntamente com dados registrados na literatura,²⁰⁶ foi possível propor a estrutura **192** para de L02, que corresponde ao triterpeno pentacíclico denominado de ácido betulínico, de ocorrência comum em plantas. Os deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C deste composto são fornecidos na parte experimental (Página 72).

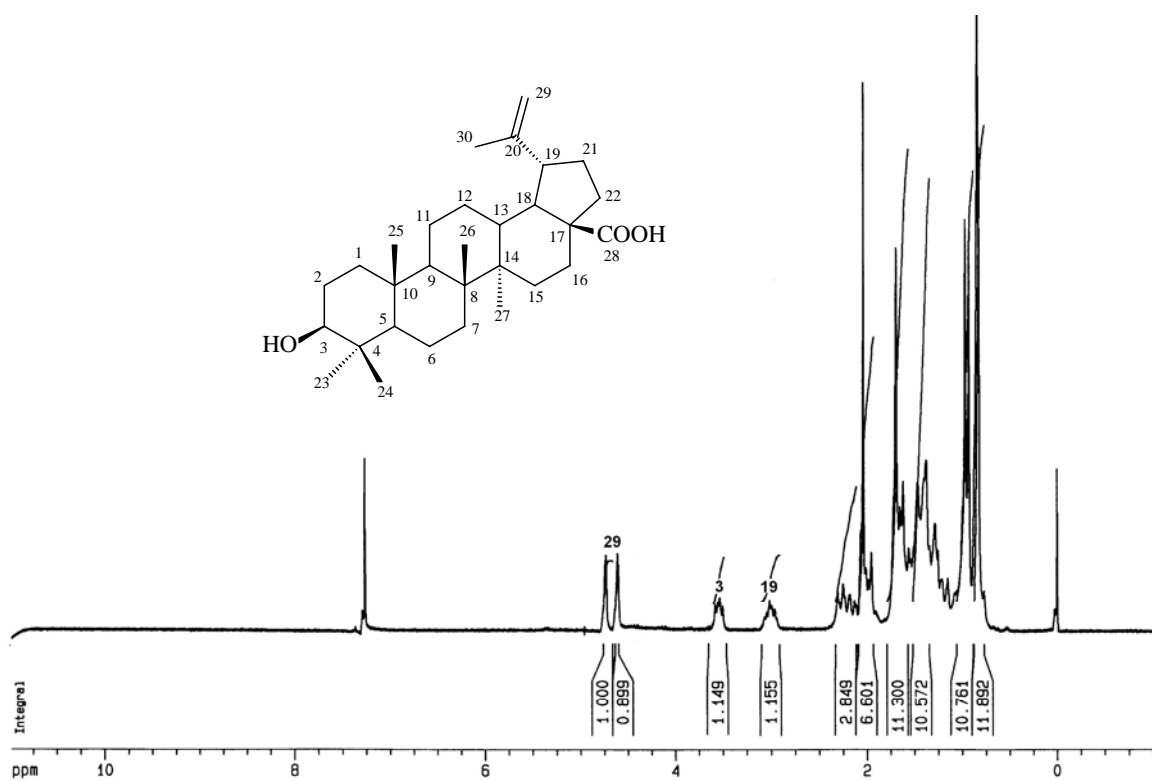


Figura 4 - Espectro de RMN de ^1H de L02, em CDCl_3 , a 400 MHz.

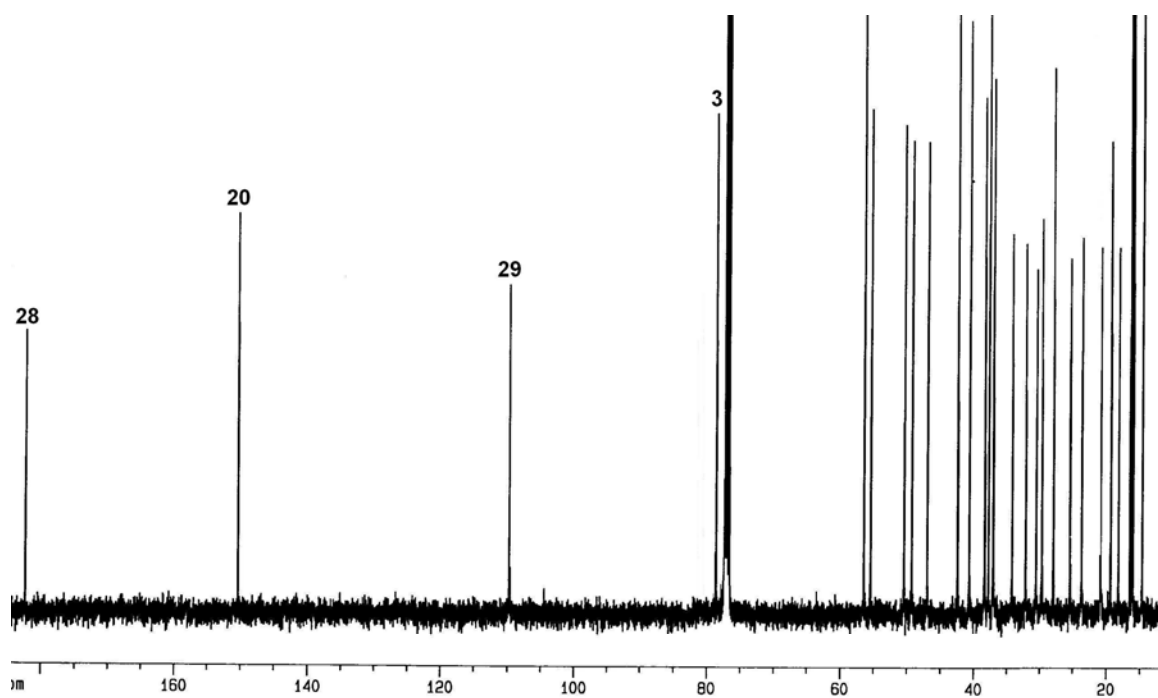


Figura 5 - Espectro de RMN de ^{13}C de L02, em CDCl_3 , a 400 MHz.

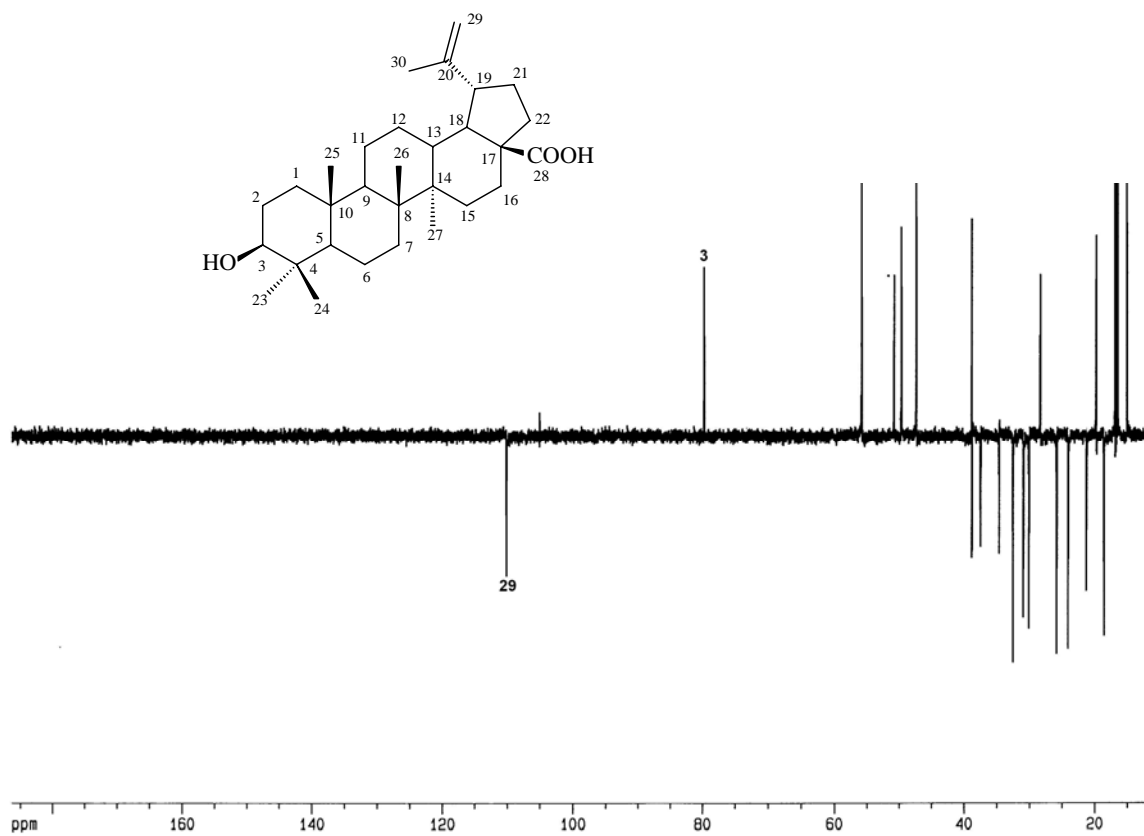
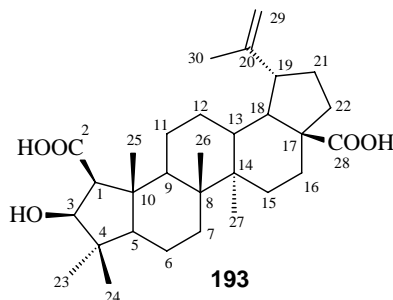


Figura 6 - Espectro DEPT 135° de L02, em CDCl_3 , a 400 MHz.

5.1.1.1.2 Identificação do triterpenóide J20

J20 foi obtido das partes aéreas de *D. americana*, do material coletado em Jaguari, e nas partes aéreas e casca da raiz de *C. paradoxa* (Tabelas 26 e 27, 29-34, págs 54-59). A caracterização deste metabólito teve como base a análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , unidimensional e técnica tipo DEPT 135°.



Inicialmente, o composto foi analisado através do espectro de RMN de ^1H (Figura 7), que revelou a presença de seis sinais em δ 0,84, 0,85, 0,86, 0,99, 1,04, 1,57 ppm (3H, s, Me-23, -24, -25, -26, -27 e -30), correspondentes a grupos metilas terciárias. Os sinais em δ 2,13 ppm (1H, *dd*, $J = 12,2; 2,5$ Hz) e 2,88 ppm (1H, *m*) foram atribuídos aos hidrogênios metínicos H-13 e H-19, respectivamente. Como na estrutura do ácido betulínico (**192**), a presença de dois singletos em δ 4,52 e 4,64 ppm (2H, s, H-29, 29'), sugere que o metabólito apresenta um sistema triterpênico tipo $\Delta^{20(29)}$ -lupeno. A principal diferença entre os espectros de RMN de ^1H de L02 e J20 está nos hidrogênios metínicos H-1 e H-3, que aparecem em campo mais baixo, em δ 2,52 e 4,08 ppm, na forma de singletos.

O espectro de RMN de ^{13}C , totalmente desacoplado (Figura 8), mostrou um total de 30 carbonos. Com o auxílio do experimento DEPT 135° (Figura 9) foi possível caracterizar a presença de seis carbonos metílicos (fase positiva), nove carbonos metilênicos (fase negativa), sete carbonos metínicos (fase positiva) e oito carbonos quaternários, não observados neste experimento. De posse destes dados, registros da literatura e análise comparativa com os espectros do ácido betulínico (**192**), foi possível identificar J20, como sendo o ácido ceanótico (**193**), anteriormente isolado da espécie vegetal *Ceanothus americanus* Linn.²⁰⁷ Os sinais atribuídos nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , 400 MHz, em CDCl_3 , para J20, estão descritos na parte experimental (Página 72).

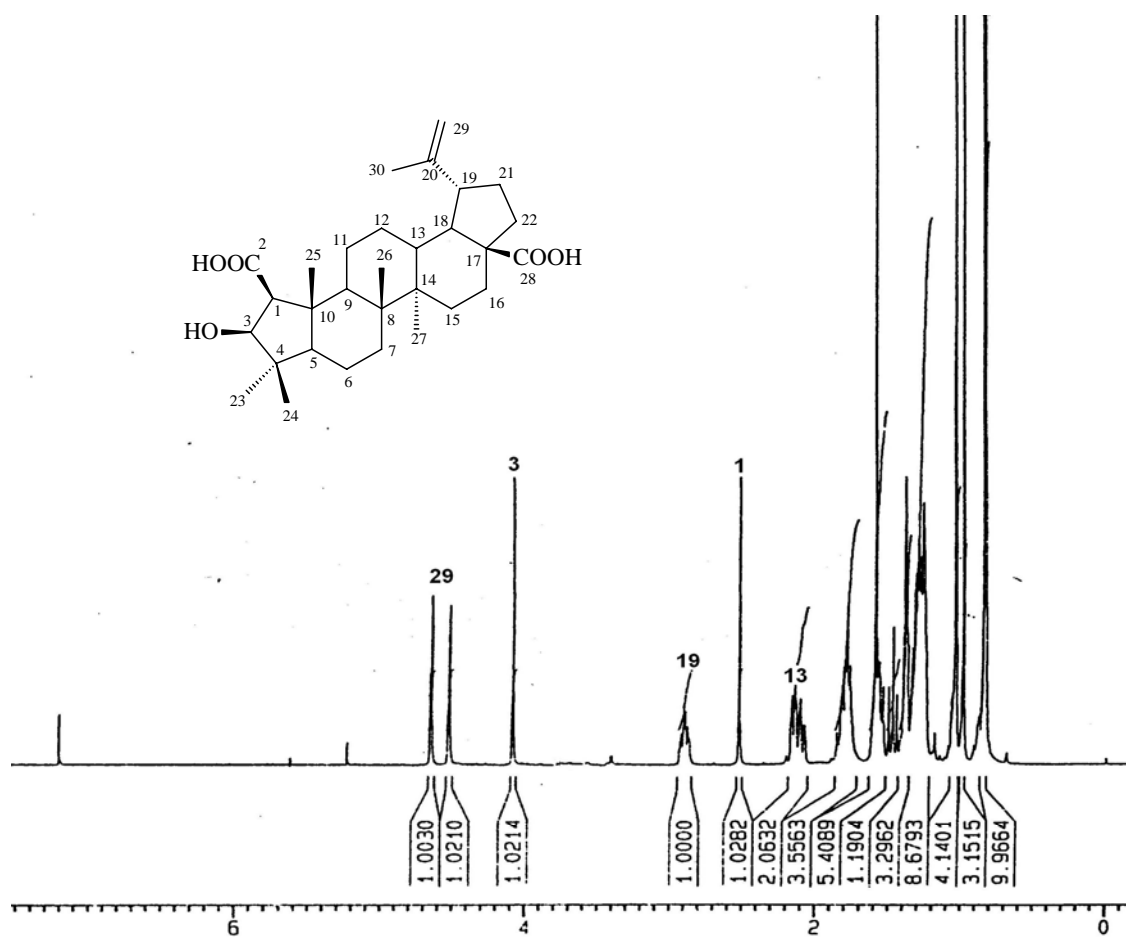


Figura 7 - Espectro de RMN de ^1H de J20, em CDCl_3 , a 400 MHz.

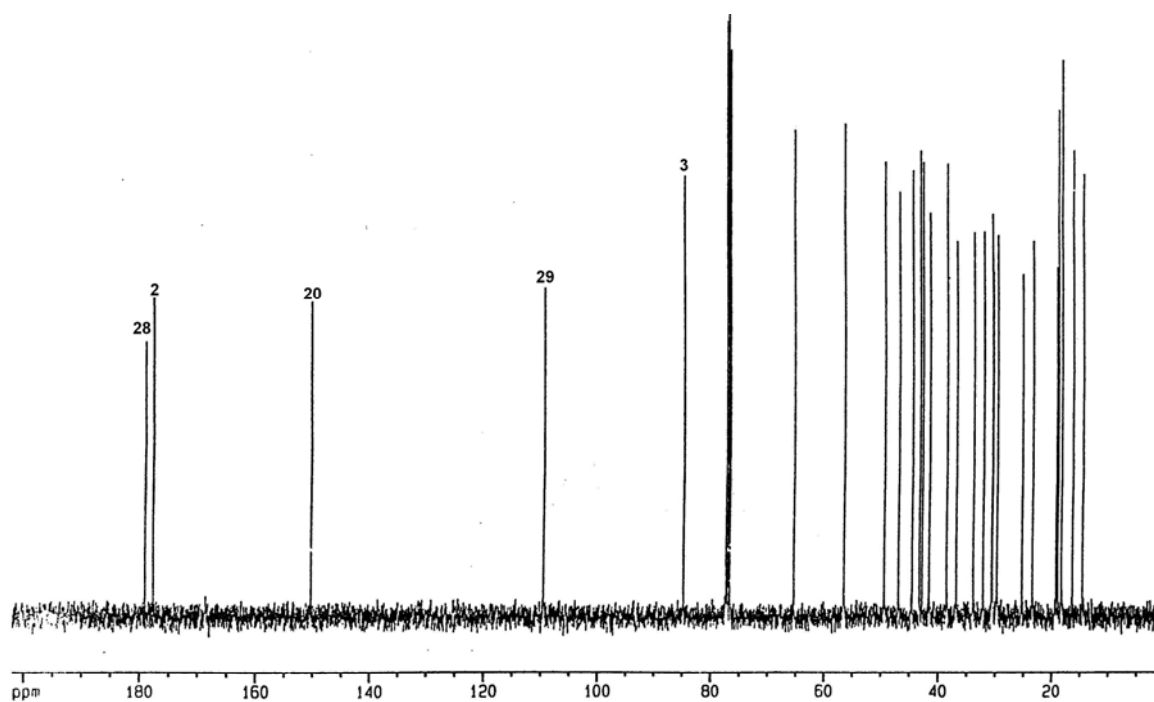


Figura 8 - Espectro de RMN de ^{13}C de J20, em CDCl_3 , a 400 MHz.

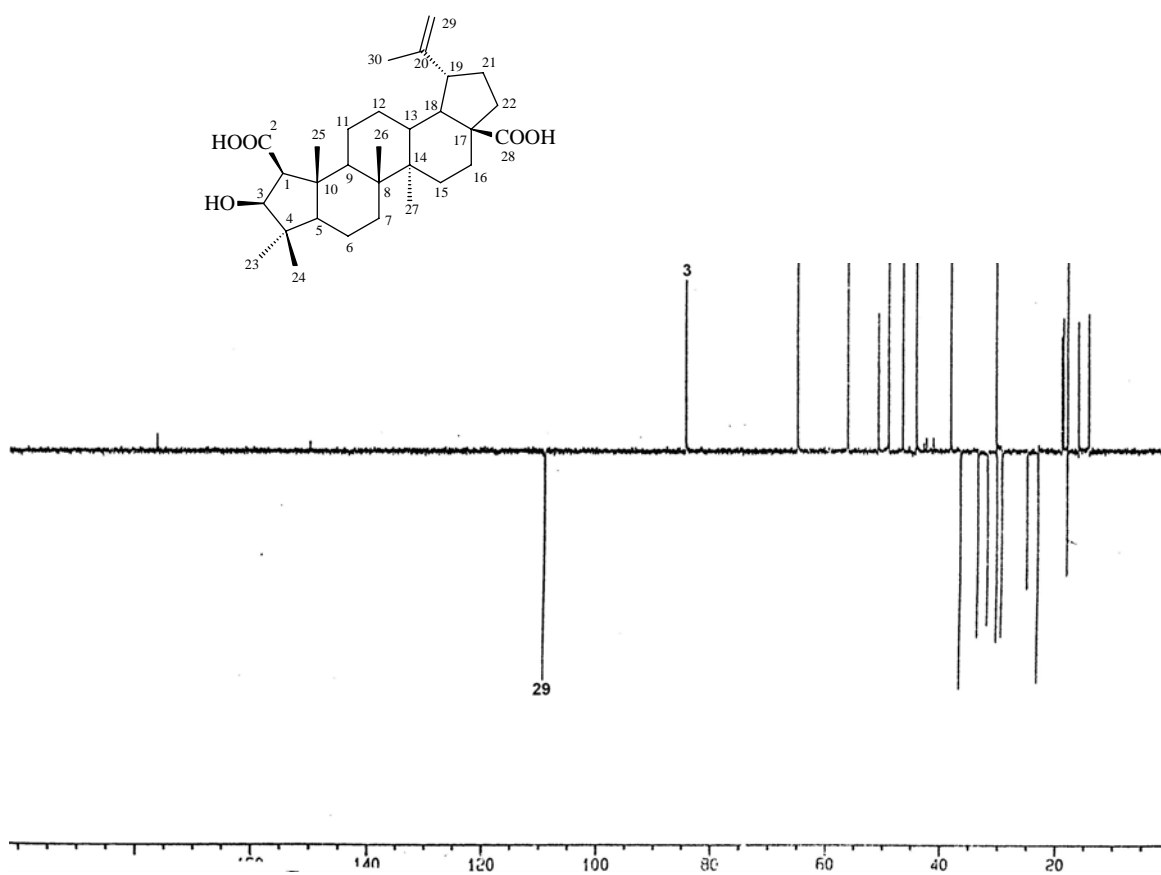
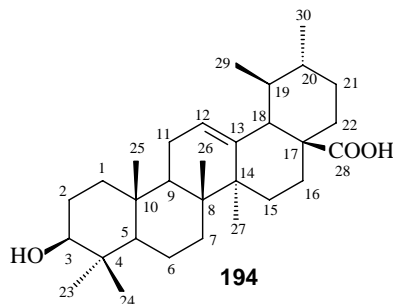


Figura 9 - Espectro DEPT 135° de J20, em CDCl₃, a 400 MHz.

5.1.1.1.3 Identificação do triterpenóide J61

Encontrado nas partes aéreas de *D. americana*, do material coletado em Jaguari, e nas partes aéreas de *C. paradoxa* (Tabelas 26 e 29), J61 foi purificado através de coluna cromatográfica em sílica gel eluída com hexano-dicloro metano. Apresentou-se na forma de um sólido branco, tendo sua estrutura elucidada através dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C e comparação com dados já publicados na literatura.



No espectro de RMN de ^1H de J61 (Figura 10) detectou-se a presença de cinco grupos metílicos terciários em δ 0,67, 0,78, 0,88, 0,91, 1,01 ppm (3H, s, Me-23, -24, -25, -26 e -27) e duas metilas secundárias em δ 0,85 e 0,95 ppm (3H, Me-29 e -30). O hidrogênio carbinólico H-3 foi atribuído ao duplo dublete em δ 3,14 ppm (1H, *dd*, $J = 6,0; 10,6$ Hz, H-3). O tripleto em δ 5,17 ppm (1H, *t*, H-12) é conferido ao hidrogênio vinílico H-12. Os sinais em δ 2,16 ppm (1H, *d*, $J = 11,5$ H-18), 1,81 ppm (1H, *dd*, $J = 6,0, 6,41$ H-19) são atribuídos aos hidrogênios metínicos H-18 e H-19, respectivamente. Os dados acima descritos juntamente com o deslocamento químico dos carbonos olefínicos em δ 125,5 ppm (C-12) e 138,1 ppm (C-13), permitiram sugerir um esqueleto tipo ursano a este composto.

Os espectros de RMN de ^{13}C (Figura 11) e DEPT 135° (Figura 12), permitiram confirmar a estrutura **194** proposta, através da atribuição dos sinais aos respectivos carbonos. O espectro RMN de ^{13}C , totalmente desacoplado, apresentou 30 sinais. O espectro DEPT 135° mostrou 14 sinais com amplitude positiva (carbonos metílicos e metínicos) e 9 sinais com amplitude negativa (carbonos metilênicos), ficando evidente que 7 carbonos desidrogenados também fazem parte da estrutura. A identificação desses e outros sinais, em RMN de ^1H e ^{13}C , e comparação em CCD com uma amostra autêntica, permitiram atribuir a estrutura **194**, para J61, que corresponde ao ácido 3 β -hidroxi urs-12-eno-28-óico (ácido ursólico),²⁰⁴ amplamente encontrado em espécies vegetais.

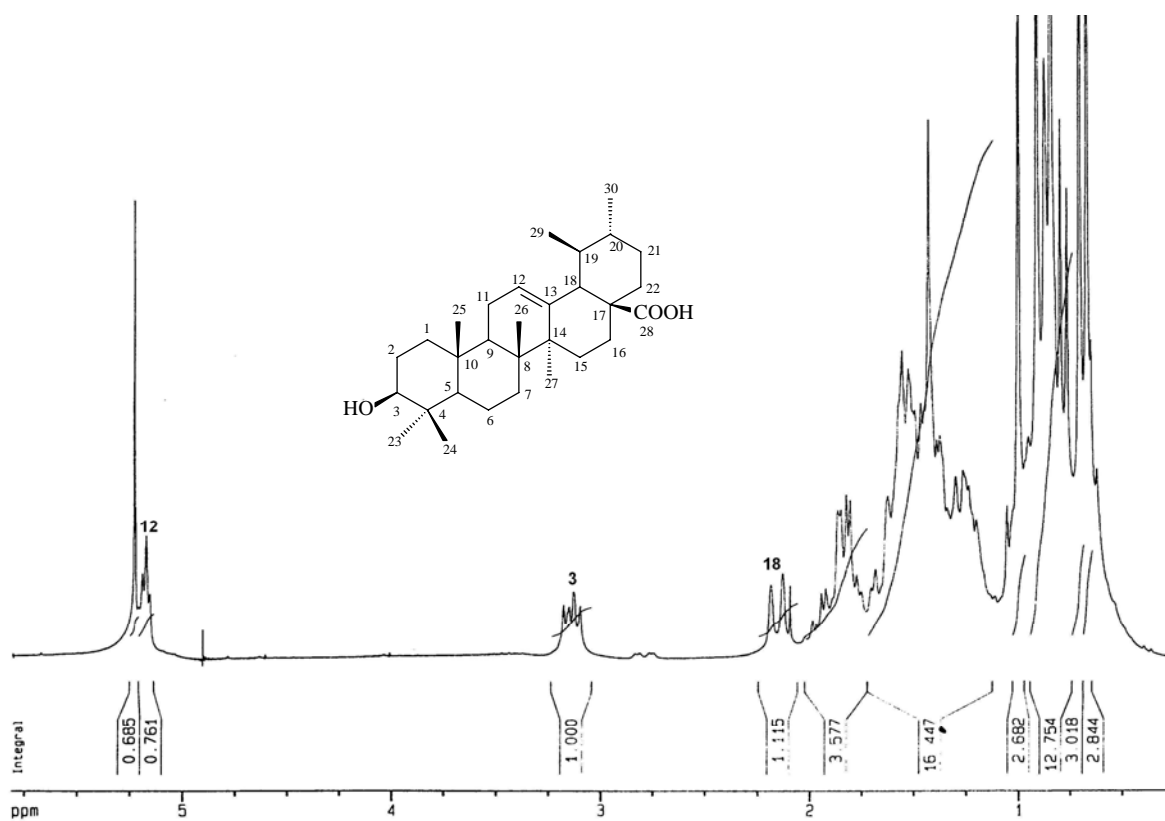


Figura 10 - Espectro de RMN de ^1H de J61, em CDCl_3 , a 400 MHz.

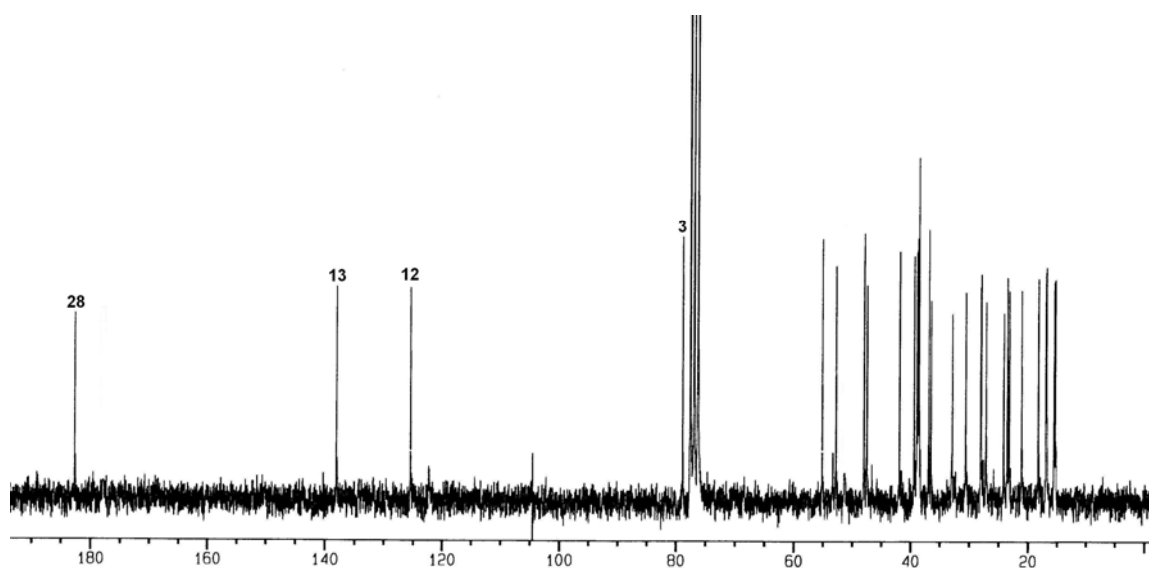


Figura 11 - Espectro de RMN de ^{13}C de J61, em CDCl_3 , a 400 MHz.

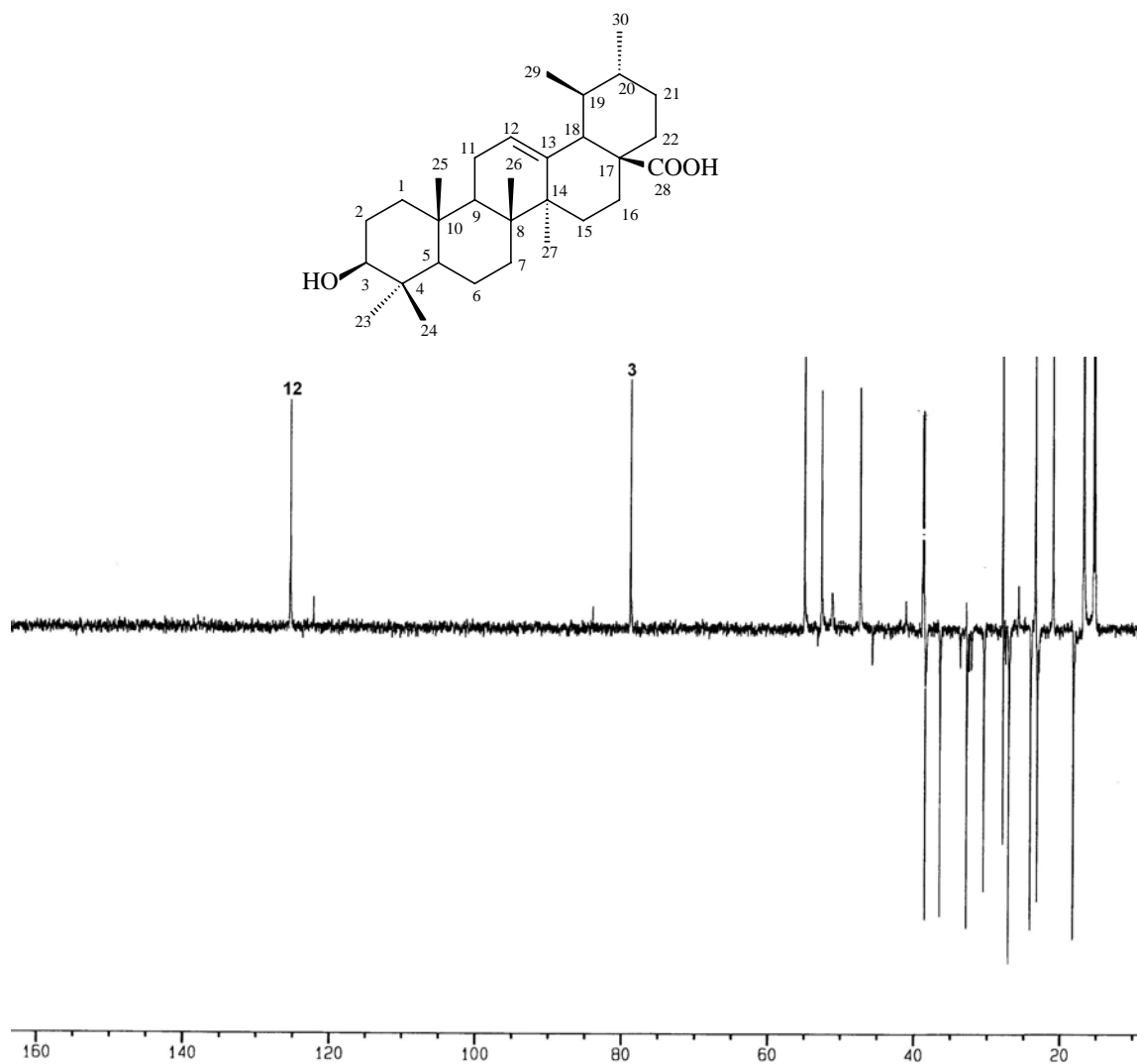
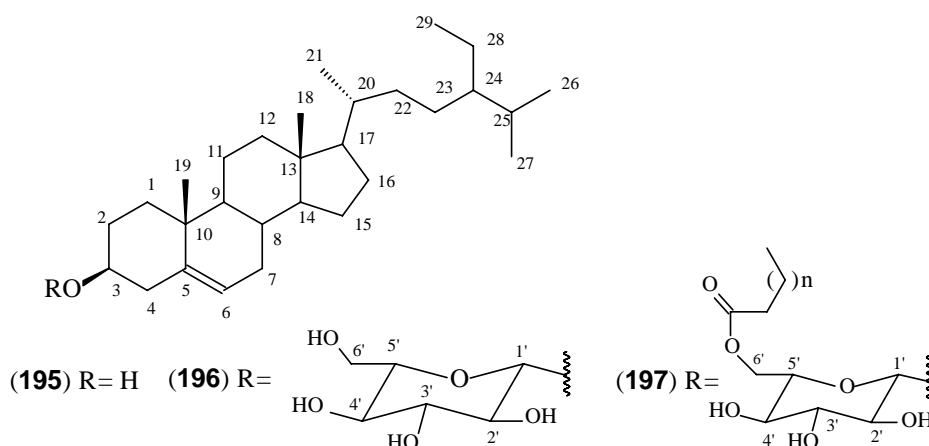


Figura 12 - Espectro DEPT 135° de J61, em CDCl_3 , a 400 MHz.

5.1.1.1.2 Identificação dos esteróides L01, L03 e L04

As substâncias L01 e L04 encontram-se distribuídas nas partes aéreas e casca da raiz das espécies em estudo (*Discaria americana*, *Colletia paradoxa* e *Gouania ulmifolia*), enquanto L03, foi encontrado somente na casca da raiz de *Discaria americana*. Estes metabólitos foram identificadas baseando-se nos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C , comparação destes dados com os já descritos na literatura e através de CCD, com amostras autênticas. Deste modo, foi possível identificar L01 como sendo o β -sitosterol livre (**195**),²¹⁵ L04 como β -sitosterol glicosilado (**196**)²¹⁶ e L03 como β -sitosterol acetilglicosilado (**197**).²¹⁷



Estas substâncias L01, L03 e L04, largamente encontrados em espécies vegetais, apresentaram dados de RMN perfeitamente coerentes aos descritos na literatura, permitindo a confirmação das estruturas. Os dados obtidos da análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (Figuras 13-15) dessas substâncias, com exceção àqueles referentes a cadeia alquílica de L03, devido a sobreposição de sinais na região entre δ 29,7-29,9 ppm [$(-\underline{\text{C}}\text{H}_2)_n\text{CH}_2\text{COO}-$], estão relacionados na parte experimental (Páginas 78 e 79).

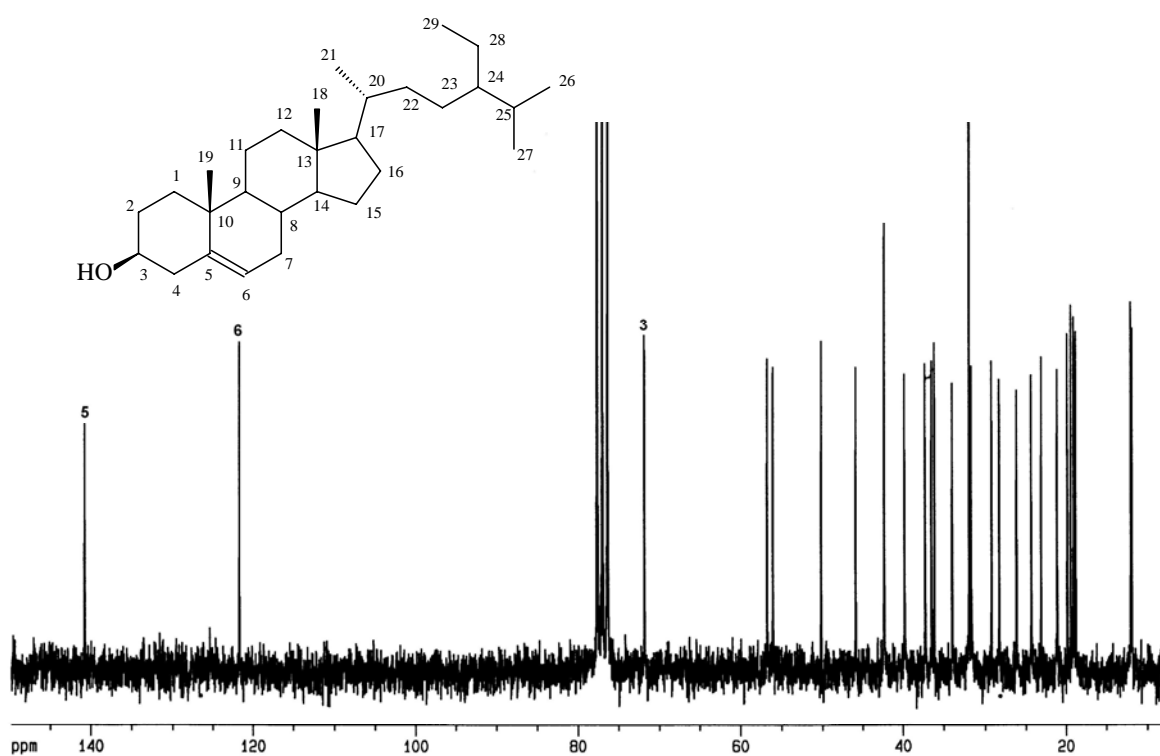


Figura 13 - Espectro de RMN de ^{13}C de L01, em CDCl_3 , a 400 MHz.

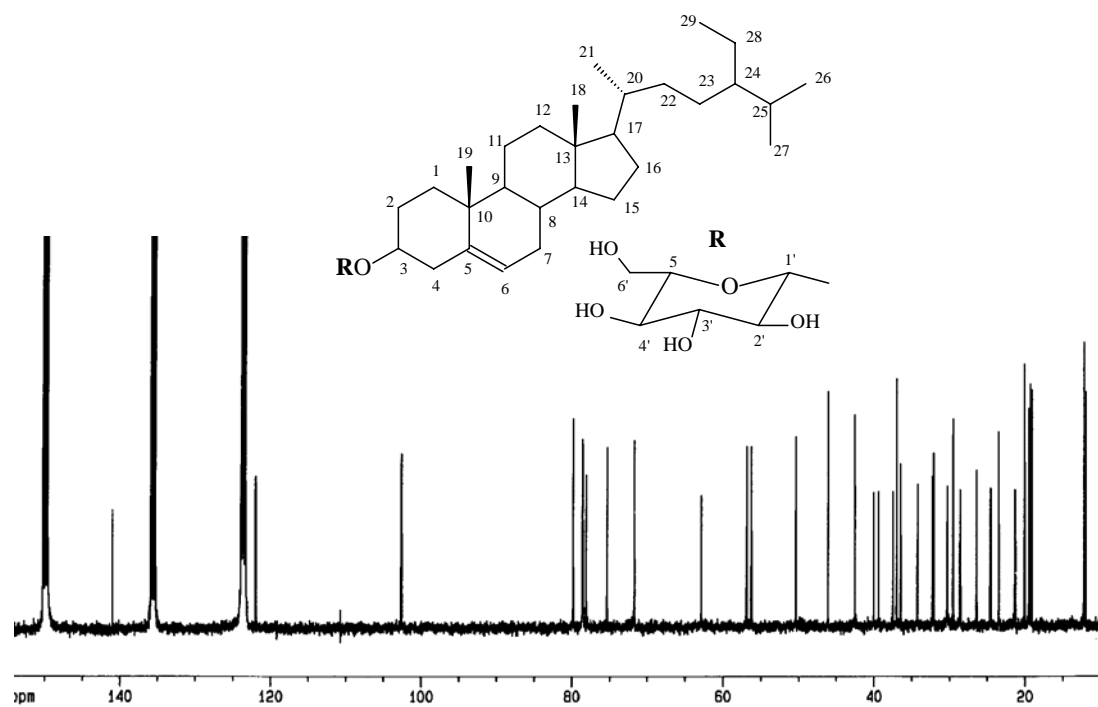


Figura 14 - Espectro de RMN de ^{13}C de L04, em Pyr-d_6 , a 400 MHz.

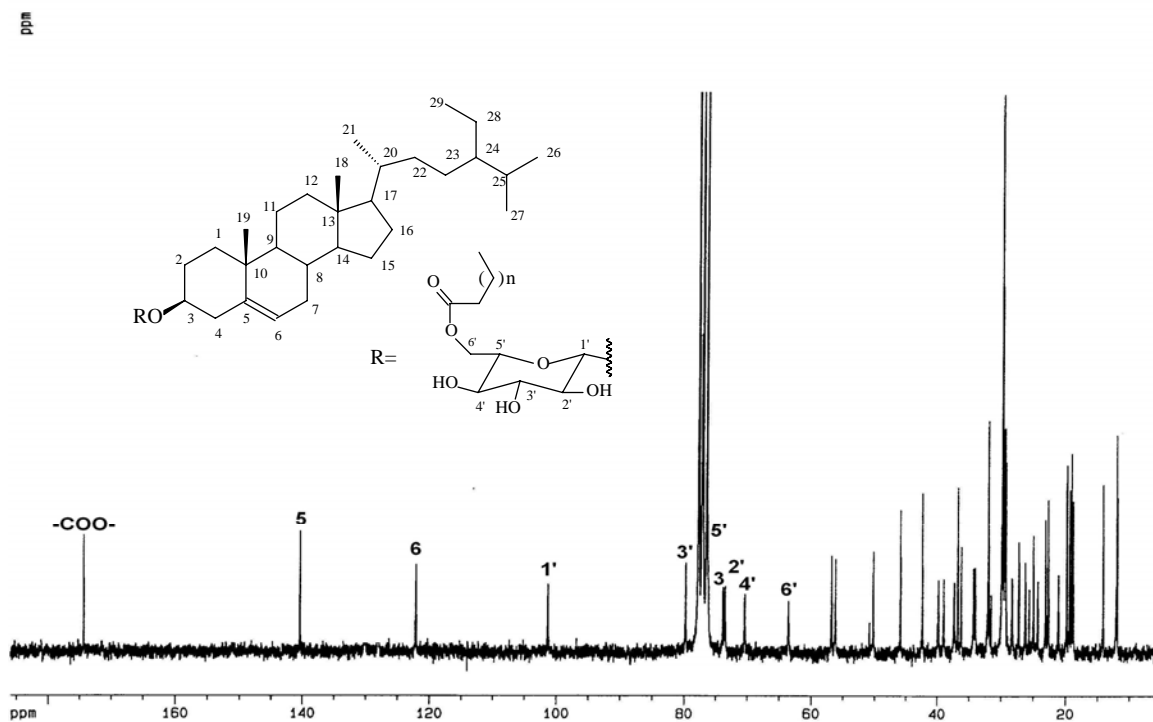
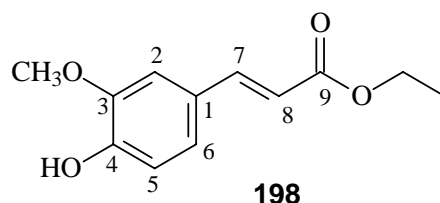


Figura 15 - Espectro de RMN de ^{13}C de L03, em CDCl_3 , a 400 MHz.

5.1.1.1.2 Identificação do ferulato J05

Ésteres *n*-alquílicos derivados dos ácidos *cis* e *trans*-hidroxi-cinâmicos têm sido isolados de plantas,²¹⁸ porém ainda não descritos para espécies da família Rhamnaceae. A substância J05 foi isolada da fração etérea neutra, obtida a partir do fracionamento do extrato metanólico das partes aéreas de *Discaria americana* coletada em Jaguari.



A fórmula molecular $C_{12}H_{14}O_4$, assim como a extensão da cadeia lateral de J05, foram confirmadas através de análises por CG-EM, RMN de 1H e ^{13}C uni- e bidimensionais. Análises detalhadas dos dados de RMN 1H (Figura 16) deste composto indicaram a presença de um anel aromático 1,3,4-tri-substituído devido aos sinais característicos em δ 7,05 (s), 7,09 (d) e 6,76 ppm (d), que correspondem, respectivamente, a H-2, H-5 e H-6, bem como pelos sinais dos carbonos metínicos a δ 109,4, 114,7 e 126, 8 ppm, no espectro de RMN DEPT 135° (Figura 18). Além disso, a presença dos grupos hidroxila e metoxila (δ 3,08 ppm), ligados ao anel aromático, foram caracterizados através dos sinais de carbonos em δ 55,7 (-OCH₃), 146,8 (C-3) e 147,9 ppm (C-4). Por outro lado, a presença de um grupo éster α,β -insaturado pode ser assinalada pelos sinais de carbonos metínicos sp^2 e carbonílicos, observados em δ 115,3 (C-8), 144,6 (C-7) e 167,3 ppm (C-9) no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 17). A constante de acoplamento ($J = 15,9$ Hz) entre H-7 (δ 7,53 ppm) e H-8 (δ 6,21 ppm) observada no espectro de RMN de 1H , permitiu estabelecer a configuração *E* para a ligação dupla.

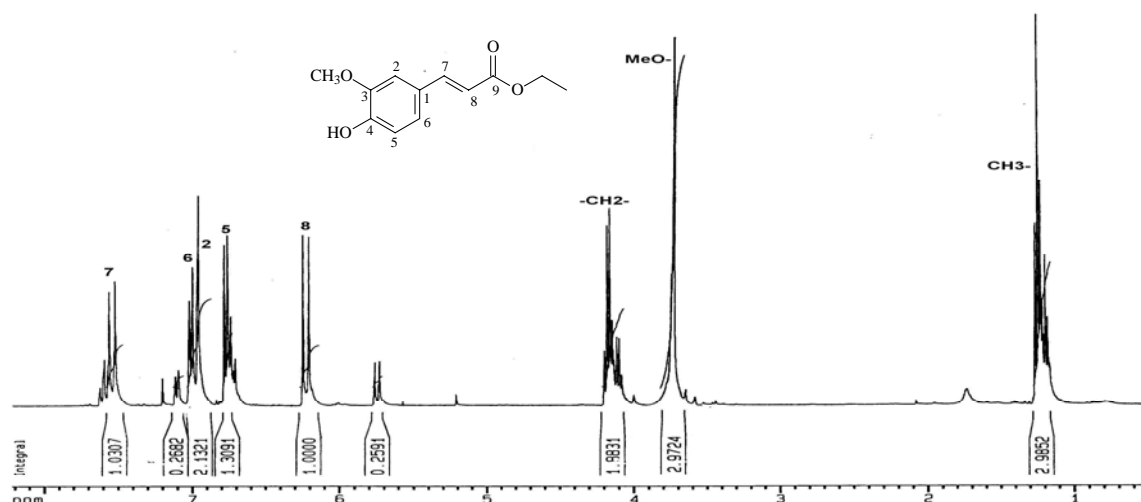


Figura 16 - Espectro de RMN de ^1H de J05, em CDCl_3 , a 400 MHz.

Finalmente, o tamanho da cadeia alquílica do éster foi determinado pela análise do espectro de massas e RMN. Neste caso, o espectro de massas mostra um fragmento de m/z 29, sugerindo a presença do grupo $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, enquanto o espectro de RMN de ^1H mostra sinais com deslocamentos a δ 1,21 (3H, t, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4,09 (2H, q, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$).

Para atribuição correta dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C foram realizados, adicionalmente, experimentos bidimensionais homo- e heteronucleares tipo COSY, HMQC e HMBC.

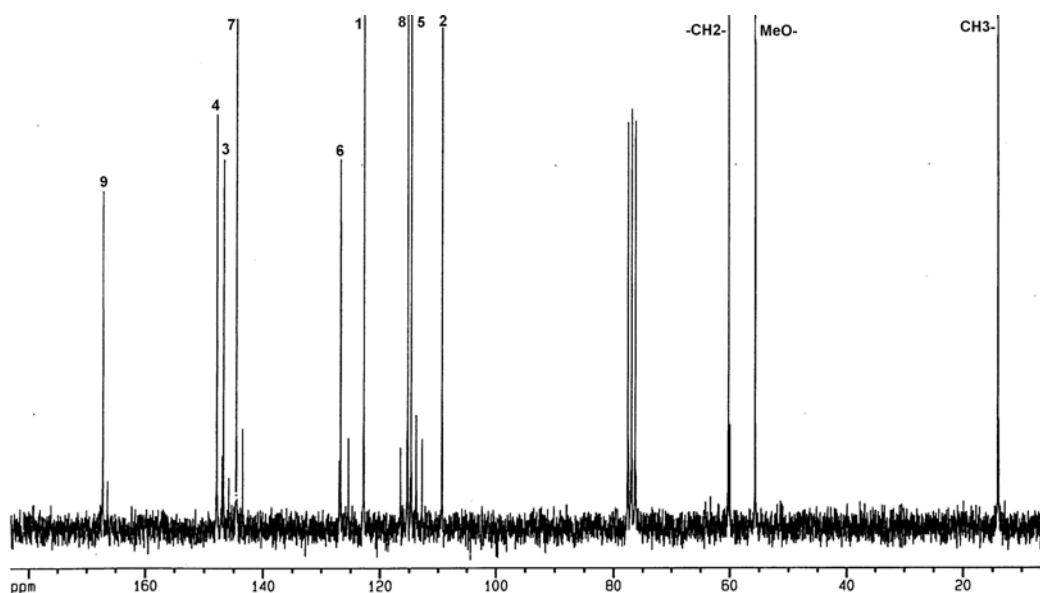


Figura 17 - Espectro de RMN de ^{13}C de J05, em CDCl_3 a 100 MHz.

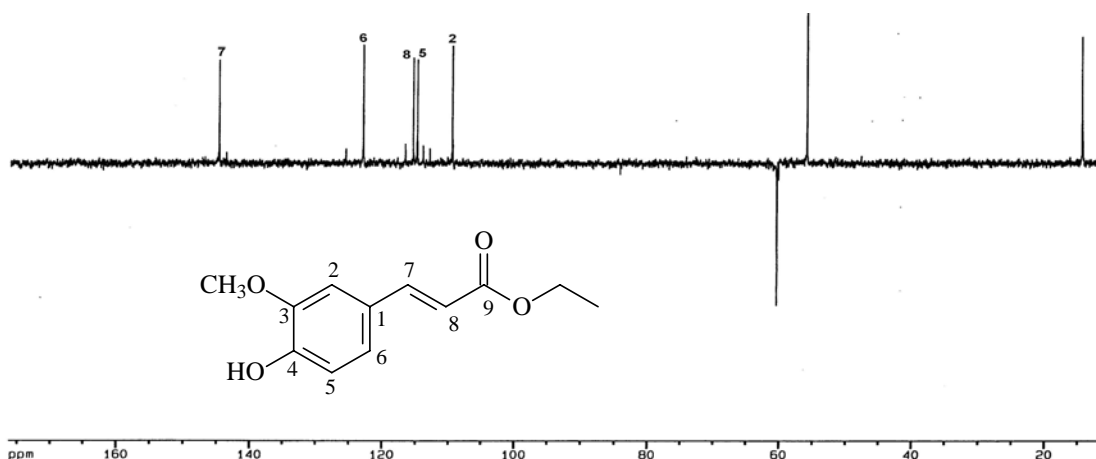


Figura 18 - Espectro DEPT 135° de J05, em CDCl_3 , a 100 MHz.

O espectro [bidimensional homonuclear, COSY], (Figura 19), permitiu analisar as correlações entre os hidrogênios através das ligações ($J_{\text{H-H}}$). A figura 19, referente ao espectro COSY de J05, apresenta três sistemas de spins na molécula. O primeiro sistema de spins refere-se aos hidrogênios do grupo - CH_2CH_3 da cadeia lateral; no segundo se observam as correlações entre os hidrogênios vinílicos H-7 e H-8, enquanto que o terceiro sistema de spins mostra as correlações entre os hidrogênios presentes no anel aromático.

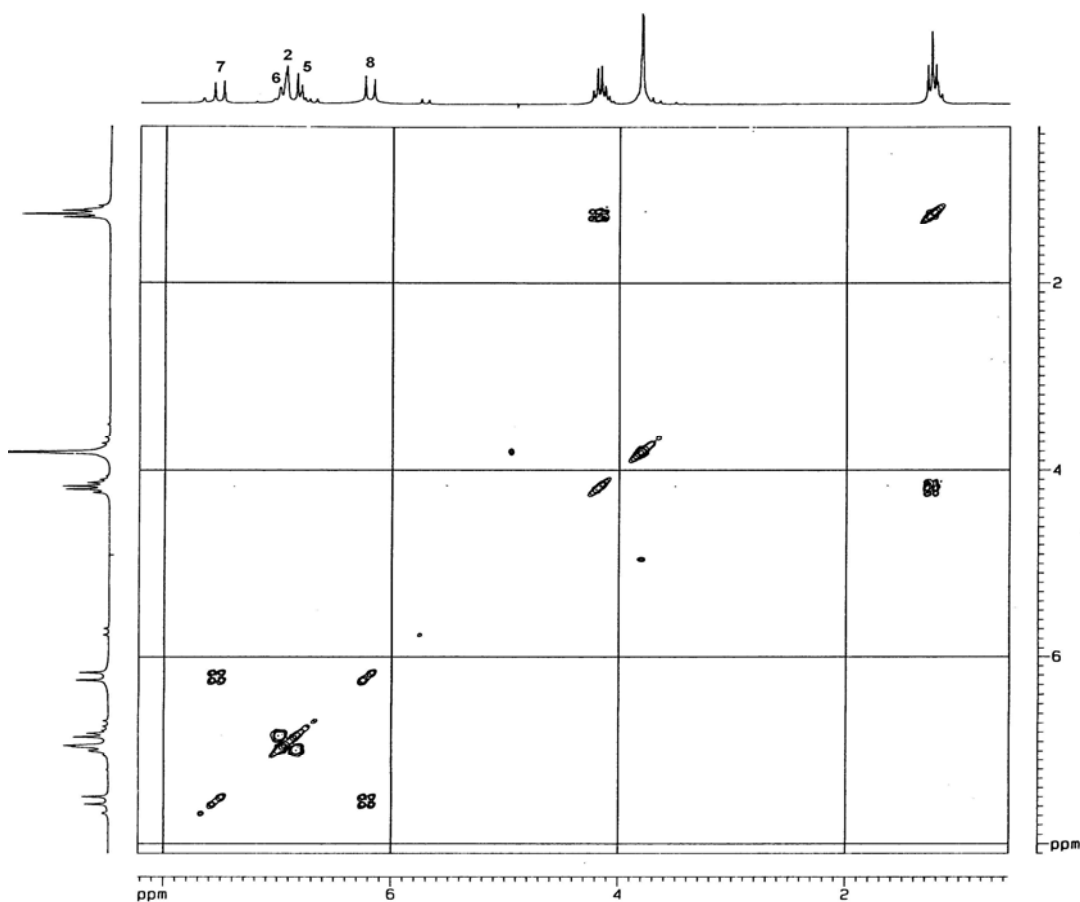


Figura 19 - Espectro COSY de J05, em CDCl_3 , a 400 MHz.

Os espectros HMQC (Figura 20) e HMBC (Figura 21), foram ferramentas úteis para confirmar a estrutura **198**, como sendo de um derivado do ácido ferúlico, e também assinalar os deslocamentos de todos os carbonos presentes na estrutura.

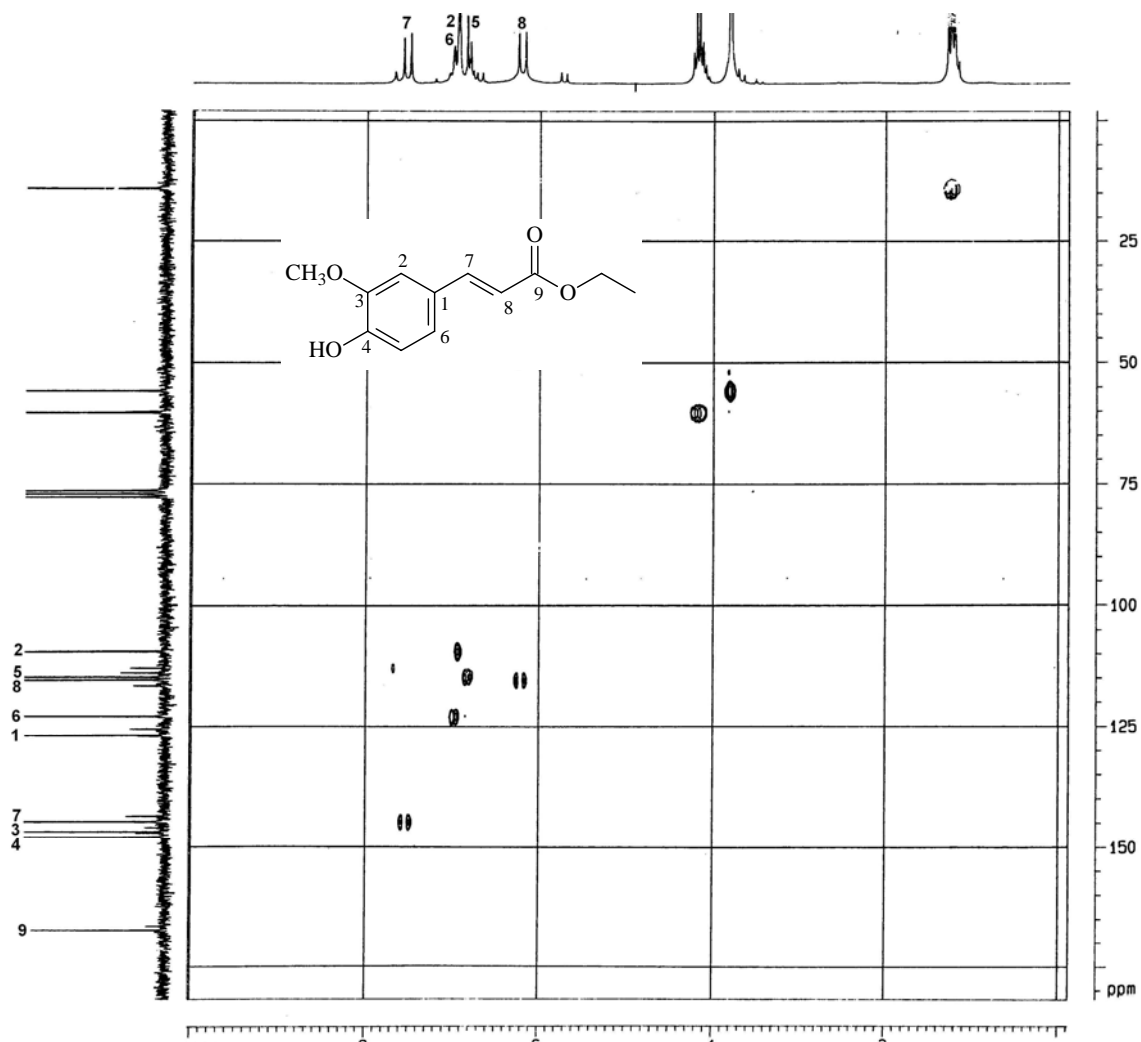


Figura 20 - Espectro HMQC de J05, em CDCl_3 , a 400 MHz.

No espectro HMBC (Figura 21), pode-se observar as seguintes correlações: $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ (δ 1,21 ppm) com $-\text{C}\text{H}_2\text{CH}_3$; $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ (δ 4,09 ppm) com C-9; H-7 (δ 7,53 ppm) com C-6, C-2 e C-9; H-8 (δ 6,21 ppm) com C-1 e C-9. Além disso, pode-se confirmar a localização dos grupos hidroxila e metoxila no anel aromático através das correlações entre OCH_3 (δ 3,81 ppm) com C-3, H-6 (δ 6,68 ppm) com C-2 e C-4 e H-5 (δ 6,84 ppm) com C-1 e C-3; H-2 (δ 7,01 ppm) com C-6 e C-4.

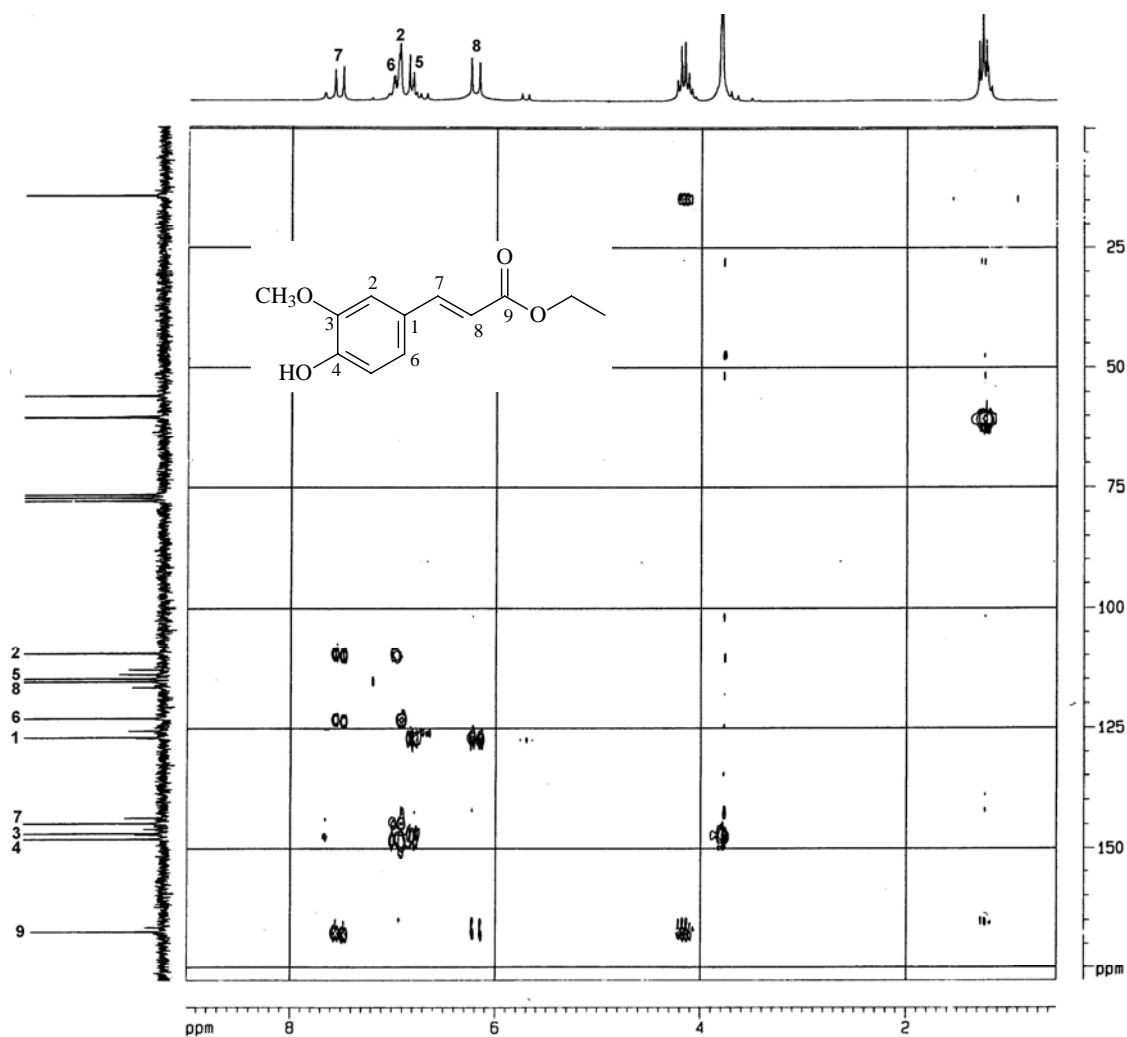


Figura 21 - Espectro HMBC de J05, em CDCl_3 , a 400 MHz.

Desta maneira, o metabólito J05 foi identificado como sendo ferulato de etila (**198**), isolado pela primeira vez de *D. americana*. Os dados espectrométricos deste metabólito encontram-se descritos na parte experimental (Página 79).

5.1.1.2 Casca da raiz

A investigação fitoquímica dos extratos metanólicos das cascas das raízes de *D. americana* coletadas em diferentes locais, possibilitou o isolamento de 17 metabólitos, sendo nove alcalóides ciclopeptídicos, conhecidos como adoutina Y (**92**), adoutina Y' (**47**), franganina (**66**), frangulanina (**67**) discarina A (**57**), discarina B (**58**), discarina C (**100**), discarina D (**101**), miriantina A (**105**), quatro ciclopeptídeos neutros, denominados de discareno C (**154**), discareno D (**155**), discarina M (**156**) e discarina N (**157**), ácido betulínico (**192**), o esteroíde β -sitosterol na sua forma livre (**195**), glicosilado (**196**) e β -sitosterol acetil glicosilado (**197**).

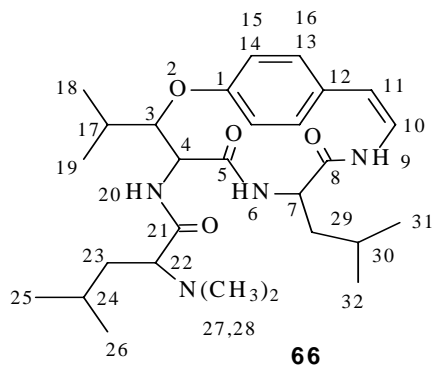
O triterpeno pentacíclico ácido betulínico, juntamente com os esteróides β -sitosterol livre, β -sitosterol glicosilado e β -sitosterol acetil glicosilado, anteriormente isolados das partes aéreas, foram identificados por comparação em CCD, com uma amostra autêntica, e através das análises de RMN de ^1H e ^{13}C (Páginas 81-92).

5.1.1.2.1 Alcalóides ciclopeptídicos

As estruturas destes alcalóides foram definidas a partir dos dados obtidos por análises espectroscópicas de RMN de ^1H e ^{13}C , experimento tipo COSY, análise em CCD frente a amostras autênticas e comparação com dados da literatura. Estas estruturas, por não serem inéditas, e devido a maioria já ter sido isolada e bem caracterizada pelo nosso grupo de pesquisa,¹⁴⁻²¹ estas não serão discutidas detalhadamente neste trabalho. Neste caso, apenas serão discutidas as informações mais relevantes, que permitiram identificá-las estruturalmente, como os dados dos espectros de RMN de ^1H , as principais correlações observadas no espectro COSY e informações importantes dos espectros de RMN ^{13}C .

5.1.1.2.1.1 Alcalóide A02

A02 foi o alcalóide encontrado em maior proporção na mistura de alcalóides obtidos de *D. americana* das três regiões (Tabelas 17-19). Apresentou-se em forma de cristais incolores, após sucessivas recristalizações em clorofórmio-éter etílico (50:50, V/V). Homogêneo em CCD, em vários sistemas de solventes, reagiu positivamente com reagente de Dragendorff (coloração alaranjada), indicando a presença de nitrogênio básico na estrutura molecular.



A análise preliminar do espectro de RMN de ^1H (Figura 22), revelou que a estrutura deste metabólito é constituída das seguintes unidades de aminoácidos: leucina, hidroxileucina e *N,N*-dimetil leucina.

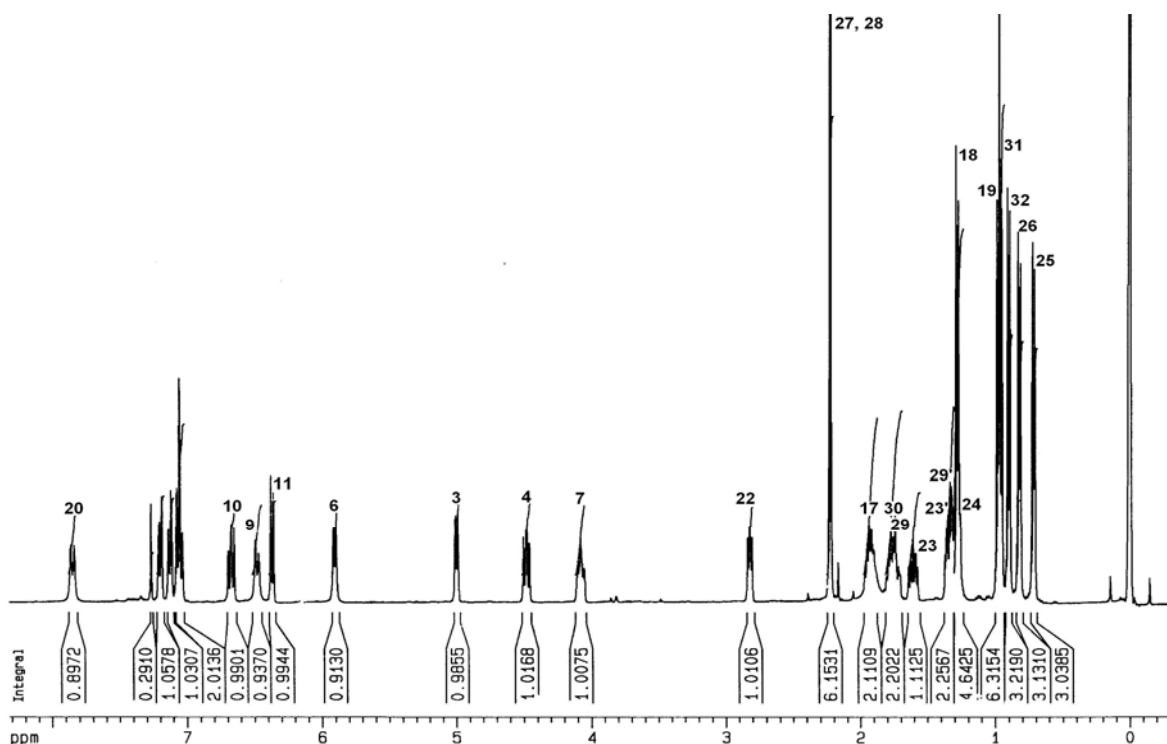


Figura 22 - Espectro de RMN de ^1H de A02, em CDCl_3 , a 400 MHz.

Os seis dubletos observados entre δ 0,72-1,28 ppm, com uma constante de acoplamento de J 6,5 Hz, correspondem aos seis grupos metílicos, que caracterizam as unidades *N,N*-dimetil leucina (Me-25 e -26), leucina (Me-31 e -32) e β -hidroxileucina (Me-18 e -19).

Os multipletos que apresentam deslocamentos entre δ 1,25-1,94 ppm, correspondem aos hidrogênios metilênicos β -carbonílicos H-23 e H-29 e aos hidrogênios metínicos γ -carbonílicos H-17, H-24 e H-30.

Observa-se ainda, nessa região espectral, um singlete a δ 2,22 ppm, pertencente aos hidrogênios metílicos da unidade *N,N*-dimetil do aminoácido básico terminal.

A região espectral entre δ 2,59-5,24 ppm, contém os sinais que correspondem aos hidrogênios metínicos α -carbonílicos H-22 (δ 2,81 ppm), H-7 (δ 4,06 ppm) e H-4 (δ 4,48 ppm). Também inclui-se nessa região espectral, o sinal referente ao hidrogênio metínico β -carbonílico, H-3 (δ 5,01 ppm), pertencente a unidade β -hidroxileucina participante do sistema macrocíclico.

Os dubletos em δ 5,89 ppm e 7,84 ppm, correspondem aos hidrogênios amídicos NH-6 e NH-20, que acoplam com os hidrogênios α -carbonílicos H-7 e H-4, respectivamente. O hidrogênio amídico NH-9, da unidade enamina, apresenta-se também em forma de dubleto com deslocamento químico em δ 6,37 ppm, devido ao acoplamento com H-10.

Os hidrogênios olefínicos H-10 e H-11 foram identificados através dos sinais em δ 6,37 ppm e 6,67 ppm, na forma de duplo dubleto e dubleto, respectivamente.

Os deslocamentos químicos entre δ 7,03-7,26 ppm, correspondentes aos quatro hidrogênios aromáticos da unidade *p*-hidróxiestirilamina, apresentam-se em forma de duplos dubletos com constantes de acoplamento entorno de J 8,0 Hz, relação *orto*, J 2,0 Hz, relação *meta*, em relação à função éter. Essas constantes de acoplamento são características para sistemas benzênicos 1,4-dissubstituídos.²¹⁹

219. Rhaman, A., 1996. Nuclear Magnetic Resonance. Sping Verlag, New York.

Considerando-se a inexistência de acoplamentos entre os hidrogênios amídicos de uma unidade aminoácido com os hidrogênios α -carbonílicos da unidade subsequente (NH-6 e H-4; NH-9 e H-7; NH-20 e H-22), é possível, através do espectro bidimensional homonuclear COSY ^1H - ^1H , identificar os seguintes sistemas de spins: (I) sistema de spins envolvendo os hidrogênios do β -hidroxiaminoácido; (II) sistema de spins relativo ao α -aminoácido participante do sistema macrocíclico; (III) o sistema de spins formado pelo aminoácido do resíduo terminal básico (IV), e o sistema de spins do grupo enamina da unidade estirilamina. Deste modo, foi possível assinalar inequivocamente, as posições de ressonância de todos os hidrogênios presentes na molécula.

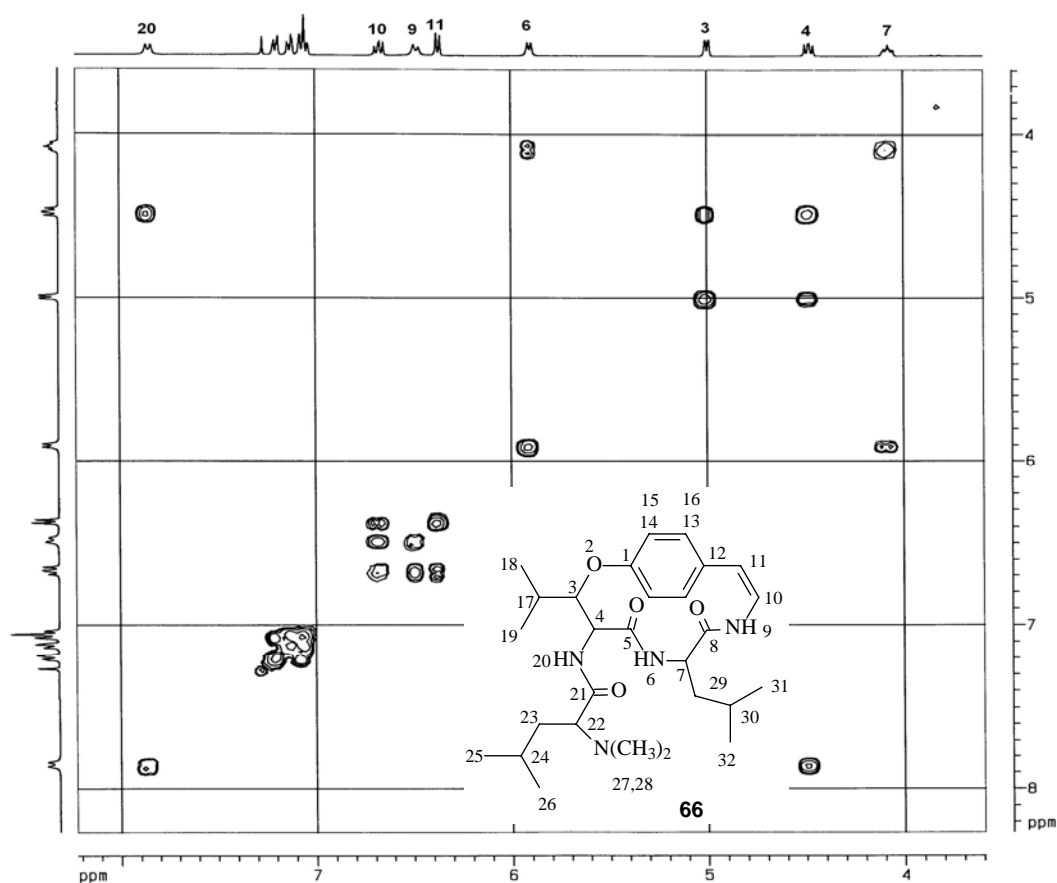


Figura 23 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 4,10-7,67 ppm de A02, em CDCl_3 a 400 MHz.

Para atribuição do (I) sistema de spins no espectro COSY (Figura 23), constituído pela unidade β -hidroxileucina, foi utilizado como ponto de partida o hidrogênio amídico NH-20 (δ 7,84 ppm) que apresenta correlação com o

hidrogênio metínico H-4 (δ 4,47 ppm) que, por sua vez, mostra correlação com o hidrogênio metínico H-3 (δ 4,99 ppm). Observa-se também a correlação entre H-3 com o hidrogênio metínico H-17 (δ 1,92 ppm), que correlaciona-se com os hidrogênios das duas metilas (Me-18 e -19), completando assim o sistema de spins da unidade β -hidroxileucina.

O sistema de spins (II), formado pelo α -aminoácido, foi atribuído partindo-se do hidrogênio α -carbonílico H-7 (δ 4,07 ppm) que mostra correlação com o hidrogênio amídico NH-6 (δ 5,78 ppm) e com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-29 (δ 1,33 ppm) e H-29' (δ 1,75 ppm) e, estes por sua vez, correlacionam entre si e com o hidrogênio metínico H-30 (δ 1,79 ppm). H-30 mostra correlação com as metilas Me-31 e Me-32, confirmando a presença da unidade leucina como α -aminoácido.

A atribuição do (III) sistema de spins foi iniciada pelo sinal correspondente ao hidrogênio metínico H-22 (δ 2,81 ppm), o qual correlaciona-se com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-23 (δ 1,35 ppm) e H-23' (δ 1,61 ppm). H-23 também, apresenta correlação com H-23' e com hidrogênio metínico H-24 (δ 1,27 ppm). H-24, por sua vez, correlaciona-se com as duas metilas Me-25 (δ 0,71 ppm) e Me-26 (δ 0,82 ppm) completando o sistema de spins da unidade leucina do resíduo terminal básico. O grupo *N,N*-dimetil dessa unidade básica terminal não apresenta nenhuma correlação. Entretanto, as metilas Me-27 e Me-28, desse grupo, são seguramente atribuídas ao típico singleto em δ 2,22 ppm, com integração para seis hidrogênios.

Os hidrogênios olefínicos, do grupo enamina, que formam o IV sistema de spins, foram identificados através da correlação entre o hidrogênio amídico NH-9 (δ 6,49 ppm) que apresenta correlação com hidrogênio H-10 (δ 6,67 ppm). Este, por sua vez, correlaciona-se com o sinal do hidrogênio H-11 (δ 6,37 ppm), definindo assim a enamina da unidade estirilamina.

O espectro de RMN de ^{13}C totalmente desacoplado (Figura 24), que reduz singletos todos os multipletos resultantes do acoplamento ^{13}C - ^1H , apresentou vinte e oito sinais, distribuídos numa região espectral entre δ 15,0-175,0 ppm.

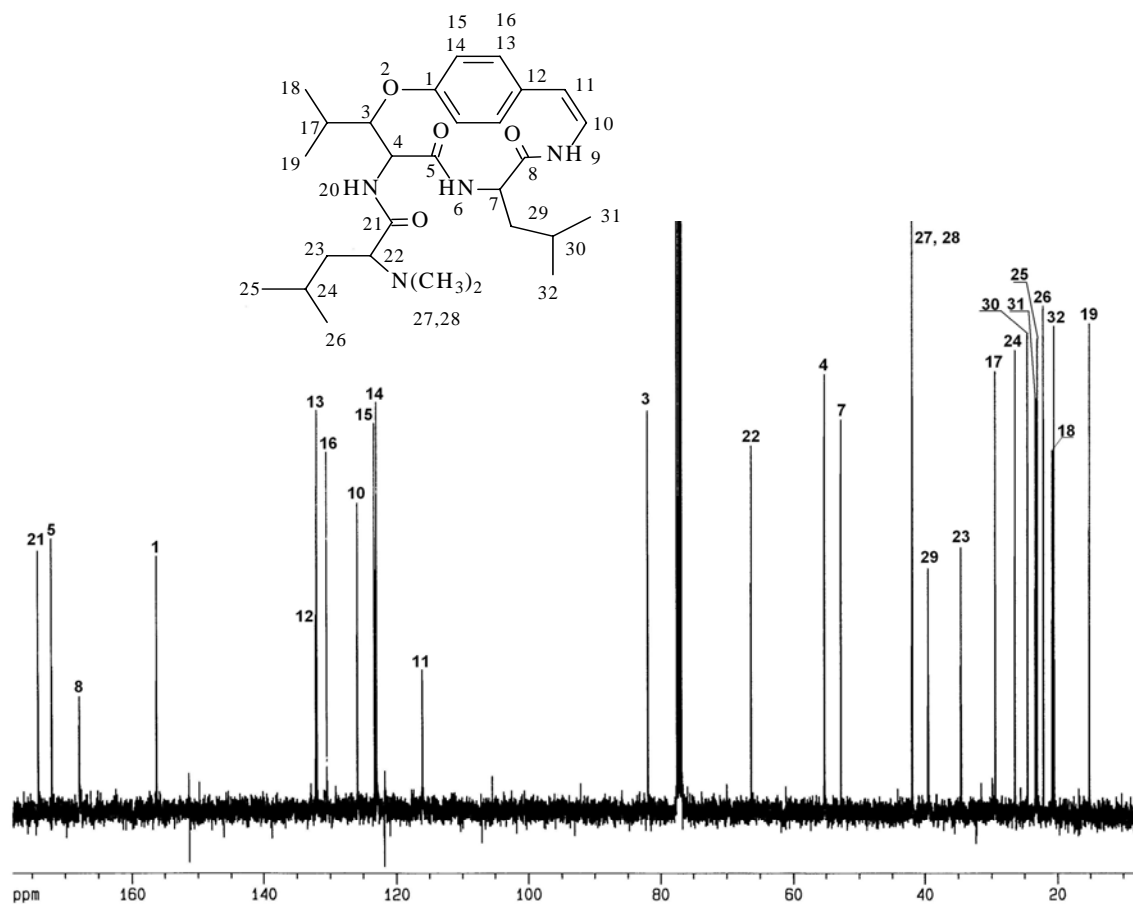


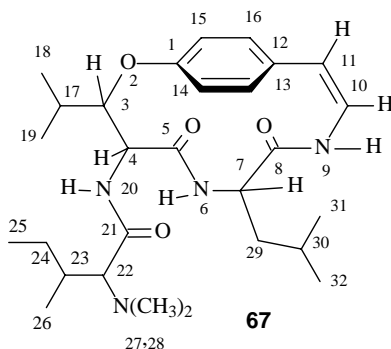
Figura 24 - Espectro de RMN de ^{13}C de A02, em CDCl_3 , a 100 MHz.

Estes dados, juntamente com registros na literatura, e análise em CCD com amostra autêntica, permitiram identificar A02 como sendo o alcalóide ciclopeptídico franganina,⁶⁷ também encontrado em plantas pertencentes às famílias Celastraceae e Sterculiaceae.

Os deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos presentes em franganina (**66**) encontram-se descritos na parte experimental (Página 63).

5.1.1.2.1.2 Alcalóide S03

Este alcalóide foi isolado das frações etéreas básicas, obtidas do extrato bruto metanólico das cascas das raízes de *D. americana*, coletada em São Sepé e Jaguari (Tabelas 18 e 19). Este alcalóide não foi encontrado no material coletado em Santana do Livramento. Apresentou-se na forma de um sólido branco, após purificação em placa preparativa e reagiu positivamente com reagente de Dragendorff (coloração alaranjada).



A análise do espectro de RMN de ^1H de S03 (Figura 25), permitiu identificar a presença das unidades *N,N*-dimetil isoleucina, ausente na estrutura de A02, leucina e β -hidroxileucina.

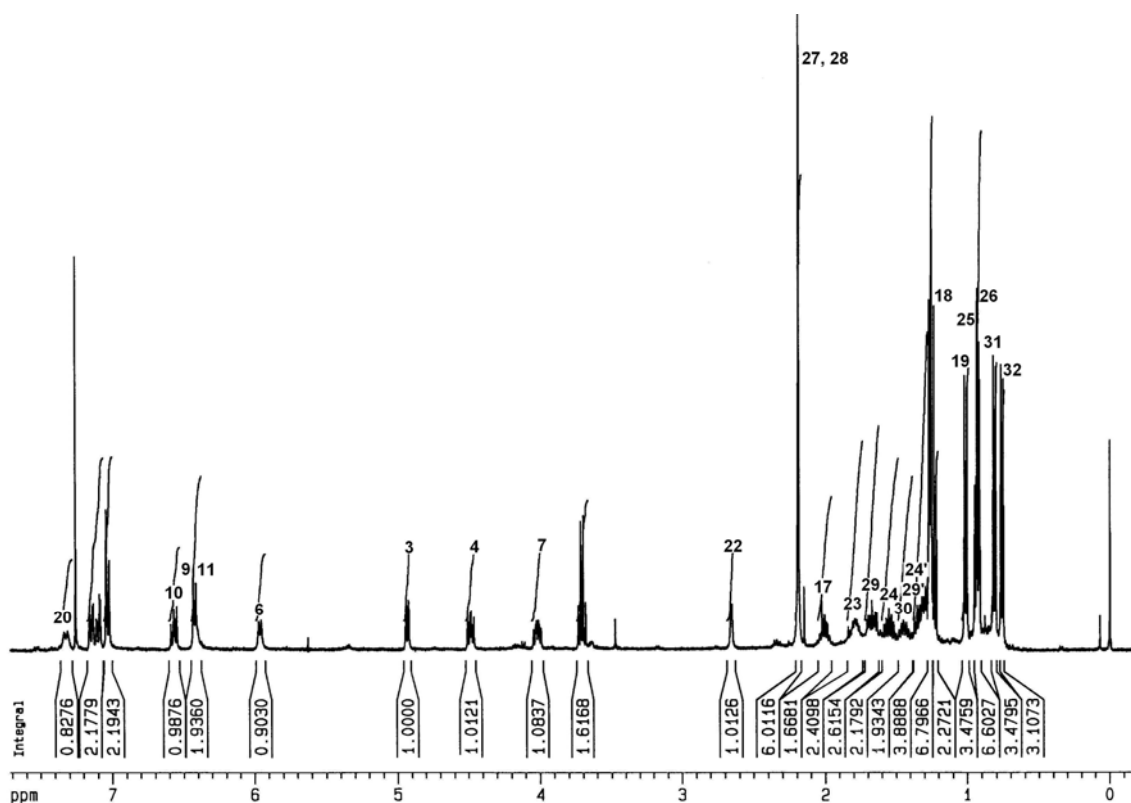


Figura 25 - Espectro de RMN de ^1H de S03, em CDCl_3 , a 400 MHz.

Na região espectral entre δ 6-7,30 ppm, são encontrados, na forma de dubletos, os hidrogênios amídicos NH-6 (δ 6,07 ppm), NH-9 (δ 6,48 ppm) e NH-20 (δ 7,25 ppm). Nesta região, observam-se também os sinais que correspondem aos hidrogênios olefínicos H-10 (δ 6,56 ppm), H-11 (δ 6,44 ppm) e os hidrogênios aromáticos da unidade estirilamina.

A região espectral, que compreende deslocamentos entre δ 0,50-5,0 ppm apresenta os hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos, pertencentes aos resíduos β -hidroxileucina, *N,N*-dimetil isoleucina e o aminoácido leucina.

Os dois dubletos em δ 1,01 ppm e 1,26 ppm correspondem aos hidrogênios das duas metilas heterotópicas Me-19 e Me-18 do grupo isopropil, da unidade β -hidroxileucina. Esses dubletos resultam do acoplamento com o hidrogênio metínico H-17 que ressona em δ 2,01 ppm, na forma de um multipletto. Os hidrogênios metínicos H-3 e H-4 da mesma unidade ressonam como duplos dubletos em δ 4,93 e 4,48 ppm, respectivamente.

O aminoácido leucina, como unidade participante do sistema macrociclo de 14 membros, foi caracterizado pelos sinais dos hidrogênios metílicos Me-31 e Me-32 em δ 0,75 ppm e 0,81 ppm, respectivamente, na forma de dubletos pelo acoplamento com o hidrogênio metínico H-30 e este, por sua vez, ressona na forma de multipletto em δ 1,79 ppm, devido ao acoplamento com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-29 (δ 1,25 ppm) e H-29' (δ 1,64 ppm). O hidrogênio metínico H-7 ressona como um multipletto em δ 4,02 ppm.

O mesmo espectro permitiu confirmar a presença do aminoácido isoleucina, como resíduo terminal básico de S03. Essa unidade foi identificada através dos sinais em δ 0,91 ppm (tripletto) correspondente à metila CH₃-25, δ 0,95 ppm (dubletto) relativo à metila CH₃-26, δ 1,25 ppm e 1,52 ppm (multiplettos) correspondentes aos hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-24 e H-24', respectivamente, δ 1,77 ppm (multipletto) relativo ao hidrogênio metínico H-23 e o sinal em δ 2,65 ppm (dubletto) atribuído ao hidrogênio metínico H-22. Os hidrogênios metílicos Me-27 e Me-28, do grupo *N,N*-dimetil dessa unidade, apresentam-se na forma de um singletto em δ 2,18 ppm.

Através da análise do espectro de RMN de 2D, COSY correlação ^1H - ^1H deste alcalóide, foi possível identificar os hidrogênios que constituem as unidades isoleucina *N,N*-dimetilada, além dos demais sistemas de spins.

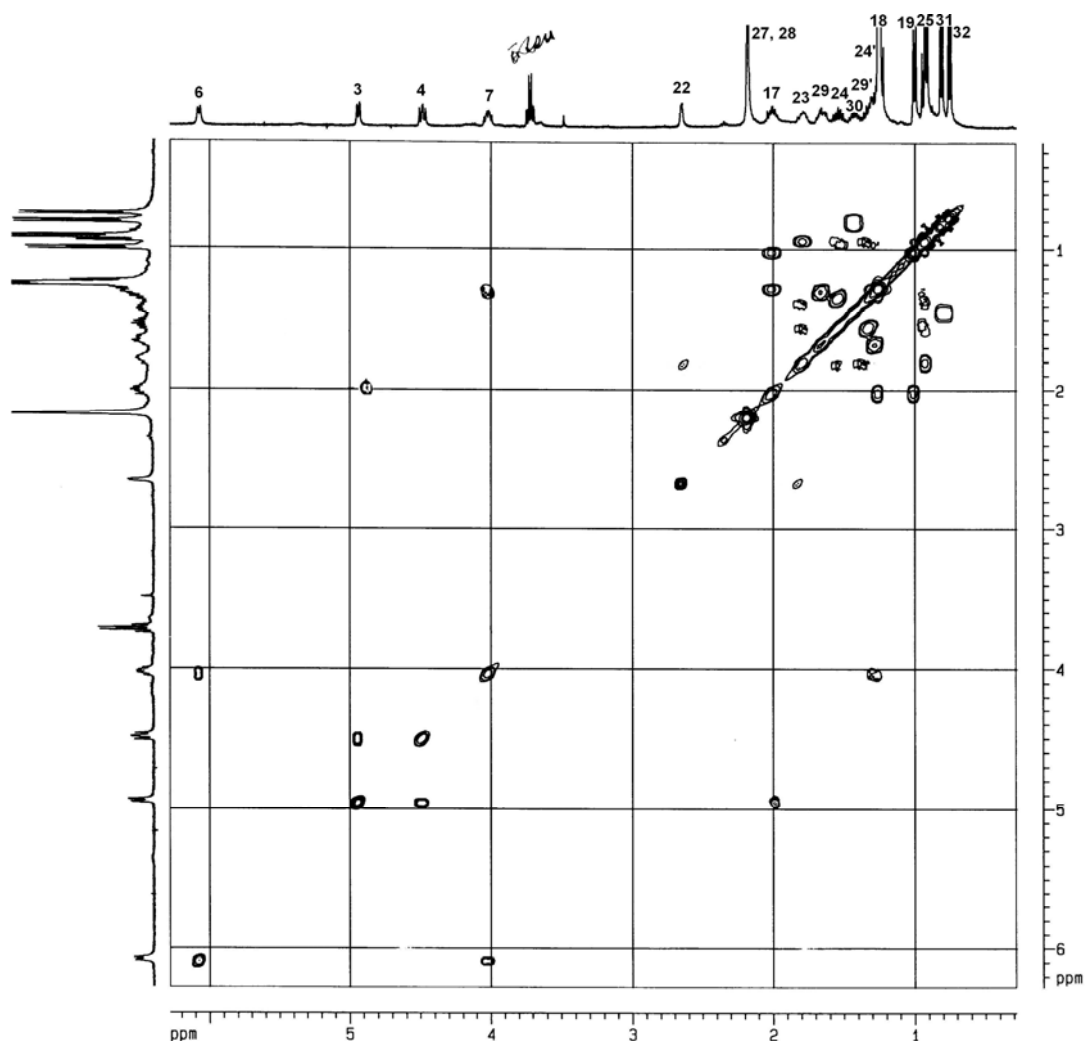


Figura 26 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 0,50-6,50 ppm de S03, em CDCl_3 a 400 MHz

Para atribuição dos sinais da unidade isoleucina no espectro COSY (Figura 26), foi utilizado como ponto de partida o hidrogênio metínico α -carbonílico H-22 (δ 2,65 ppm), o qual correlaciona-se com H-23 (δ 1,77 ppm), este por sua vez, correlaciona-se com a metila Me-26 (δ 0,91 ppm) e com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-24 (δ 1,29 ppm) e H-24' (δ 1,52 ppm). H-24 também apresenta correlação com H-24' e com a metila Me-25 (δ 0,95 ppm) completando o sistema de spins para essa unidade.

A atribuição dos sinais pertencentes à unidade β -hidroxileucina foi iniciada pelo sinal que ressona em δ 7,39 ppm referente ao hidrogênio amídico NH-20, que apresenta uma correlação bem definida com o hidrogênio metínico H-4 (δ 4,48 ppm) e este, por sua vez, mostra correlação do hidrogênio metínico H-3 (δ 4,93 ppm). Observa-se neste espectro uma correlação entre H-3 com o hidrogênio metínico H-17, que ressona em δ 2,01 ppm. H-17 e, por sua vez, correlaciona-se com os hidrogênios das metilas Me-18 (δ 1,26 ppm) e Me-19 (δ 1,01 ppm), finalizando assim o sistema de spins formado pelos hidrogênios dessa unidade.

A localização da unidade leucina como α -aminoácido participante do sistema macrociclo de 14 membros, foi definido através da correlação observada entre o hidrogênio α -carbonílico H-7 (δ 4,02 ppm) com o hidrogênio amídico NH-6 (δ 6,07 ppm) e com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-29 (δ 1,25 ppm) e H-29' (δ 1,64 ppm) e, estes por sua vez, correlacionam entre si e com o hidrogênio metínico H-30 (δ 1,79 ppm). H-30 mostra correlação com as metilas Me-31 (δ 0,75 ppm) e Me-32 (δ 0,81 ppm), confirmando assim a presença da leucina como α -aminoácido.

O grupo enamina, da unidade estirilamina foi definido através do sistema de spins formado pelos hidrogênios olefínicos H-10 e H-11 e o hidrogênio amido NH-9, como descrito em A02.

O espectro de RMN de ^{13}C de S03 (Figura 27) revela a presença de vinte e oito sinais de carbonos distribuídos entre δ 10,0-175,0 ppm, e indicando a presença de carbonos metílicos, metilênicos, metínicos e desidrogenados.

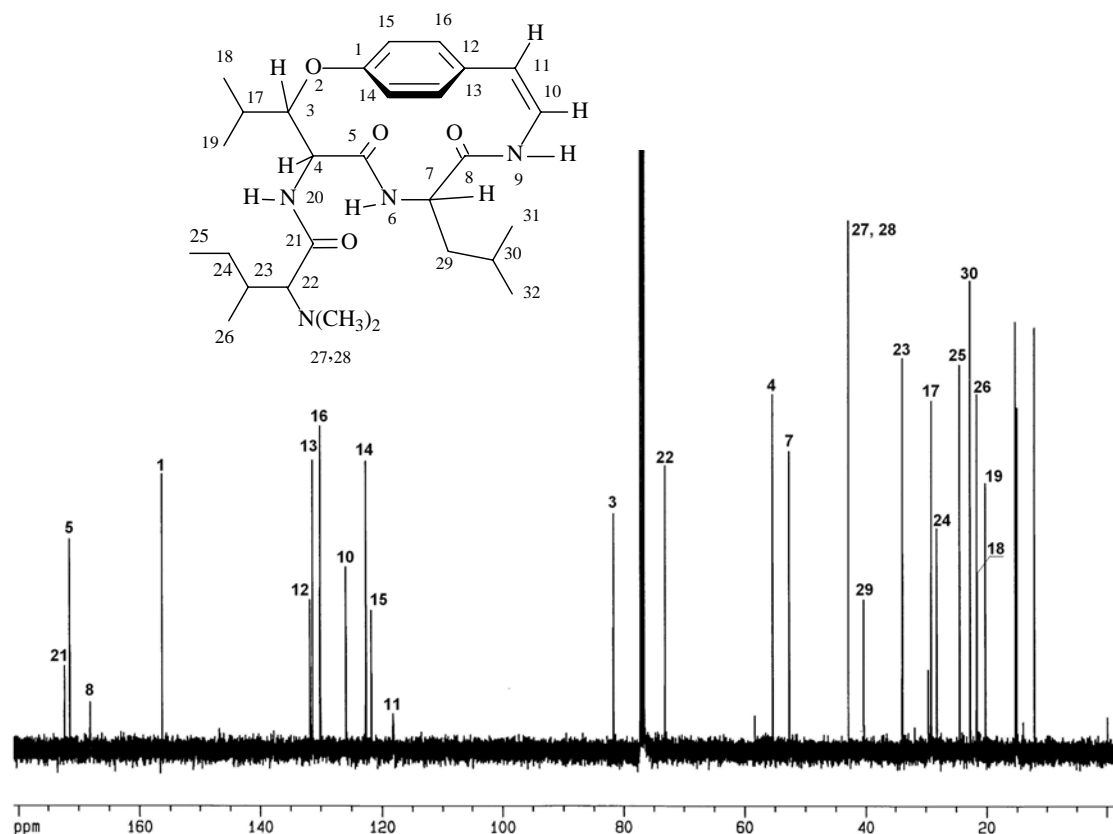


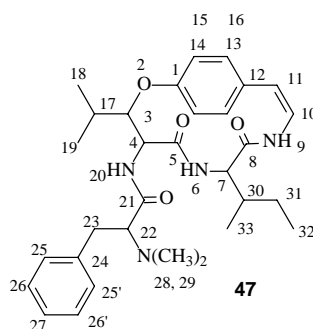
Figura 27 - Espectro de RMN de ^{13}C de S03, em CDCl_3 , a 100 MHz.

Através dos dados encontrados na literatura e dos acima descritos, foi possível propor a estrutura **67** para S03, como sendo um alcalóide ciclopeptídico. Este alcalóide já foi descrito como a frangulanina,⁶⁶ sendo isolado anteriormente de várias espécies pertencentes a família Rhamnaceae.

Os deslocamentos químicos dos carbonos e hidrogênios presentes em **67** (S03), bem como seus dados físicos, encontram-se descritos na parte experimental (Página 63).

5.1.1.2.1.3 Alcalóide A01

A01 foi obtido das frações básicas etéreas de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari, conforme descrito na parte experimental (Tabelas 17-19). Apresentou-se como um sólido branco, cuja pureza foi confirmada por CCD, utilizando-se vários sistemas de solventes, reagindo positivamente frente ao reagente de Dragendorff.



O espectro de RMN de ^1H de A01 (Figura 28) foi analisado por comparação com os espectros de A02 e S03, o que indicou a presença dos aminoácidos β -hidroxileucina e isoleucina como participantes do sistema macrociclo de 14 membros, através dos sinais observados em δ 1,28 (3H, *d*, $J = 8,0$ Hz, Me-18), 1,02 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, Me-19), 0,69 (3H, *t*, Me-32) e 0,39 ppm (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, Me-33).

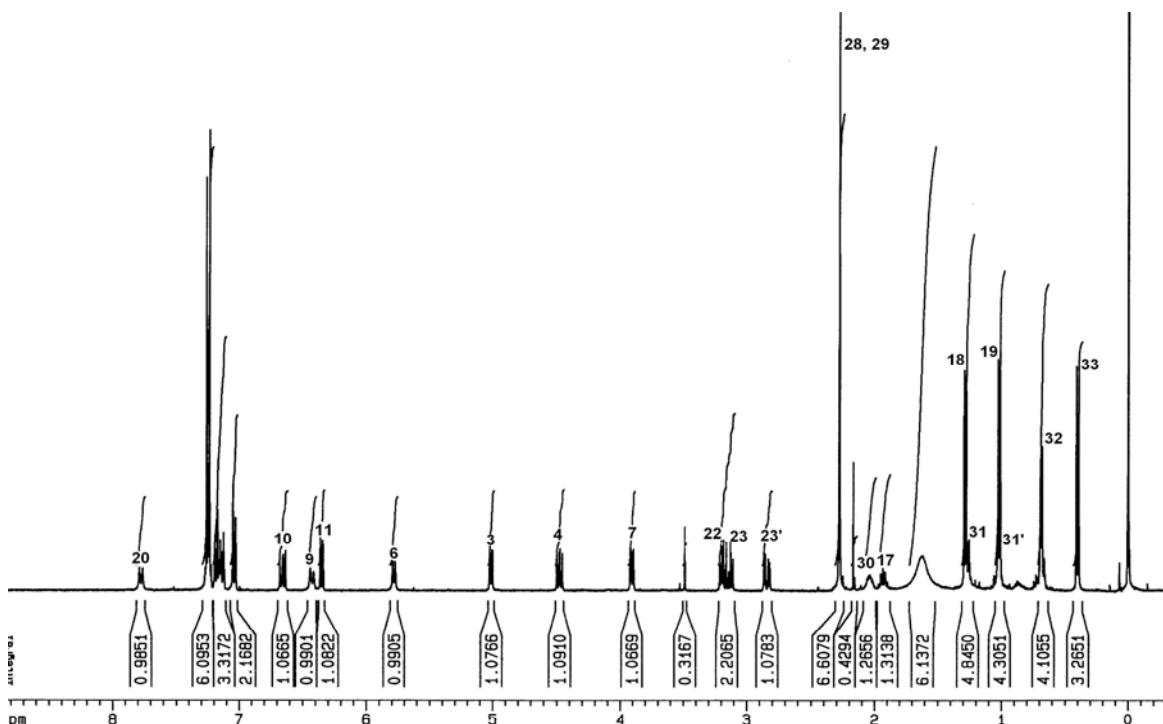


Figura 28 - Espectro de RMN de ^1H de A01, em CDCl_3 , a 400 MHz.

O hidrogênio metínico H-3 (β -carbonílico) da unidade β -hidroxileucina ressona em δ 5,01 ppm, na forma de um duplo dubleto, devido ao acoplamento com os hidrogênios metínicos H-17 (δ 1,95 ppm) e H-4 (δ 4,47 ppm). O hidrogênio amídico NH-20 dessa mesma unidade ressona como um dubleto em δ 7,77 ppm, devido ao acoplamento com H-4.

O hidrogênio metínico H-7 (α -carbonílico) da unidade isoleucina, corresponde ao duplo dubleto em δ 3,91 ($J = 3,6, 8,4$ Hz), o qual resulta do acoplamento com o hidrogênio metínico H-30 (δ 2,05 ppm) e com o hidrogênio amídico NH-6 (δ 5,78 ppm). Já os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-31' e H-31 correspondem aos multipletos em δ 0,68 e 1,01 ppm resultantes do acoplamento com o H-30 metínico e com a metila Me-32.

O singlete em δ 2,28 ppm, com integração para seis hidrogênios, refere-se aos hidrogênios das metilas Me-28 e Me-29, do resíduo básico terminal *N,N*-dimetilado.

No mesmo espectro, observam-se os sinais referentes ao hidrogênio metínico H-22 (α -carbonílico) em δ 3,11 ppm, na forma de um duplo dubleto, e os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-23' (δ 2,84, *dd*, $J = 4,8, 7,2$ Hz) e H-23 (δ 3,19, *dd*, $J = 4,8, 7,2$ Hz), do resíduo terminal básico.

Os hidrogênios aromáticos pertencentes à unidade estirilamina e ao resíduo terminal básico, apresentam deslocamentos entre δ 7,03-7,26 ppm, com sobreposição de sinais. A atribuição precisa dos deslocamentos químicos para esses hidrogênios foi possível pela análise do espectro COSY.

Os sinais correspondentes aos hidrogênios olefínicos H-10 e H-11 e ao hidrogênio amídico NH-9, apresentam deslocamentos em δ 6,65, 6,35 e 6,52 ppm, respectivamente. A identificação desses sinais baseou-se na região de ressonância destes hidrogênios, em franganina (Figura 22). Outro fator importante na atribuição desses sinais foi a multiplicidade apresentada. Assim, o hidrogênio amídico NH-9 é representado por um dubleto resultante do acoplamento com H-10. H-10 corresponde a um duplo dubleto, pois acopla com H-11 e o hidrogênio amídico NH-9, enquanto H-11 é representado por um dubleto, resultante do acoplamento com H-10.

O espectro COSY (Figura 29) permite confirmar o aminoácido isoleucina como α -aminoácido participante do sistema macrocíclico, além da presença do

aminoácido fenilalanina *N,N*-dimetilado, como unidade participante do resíduo terminal básico.

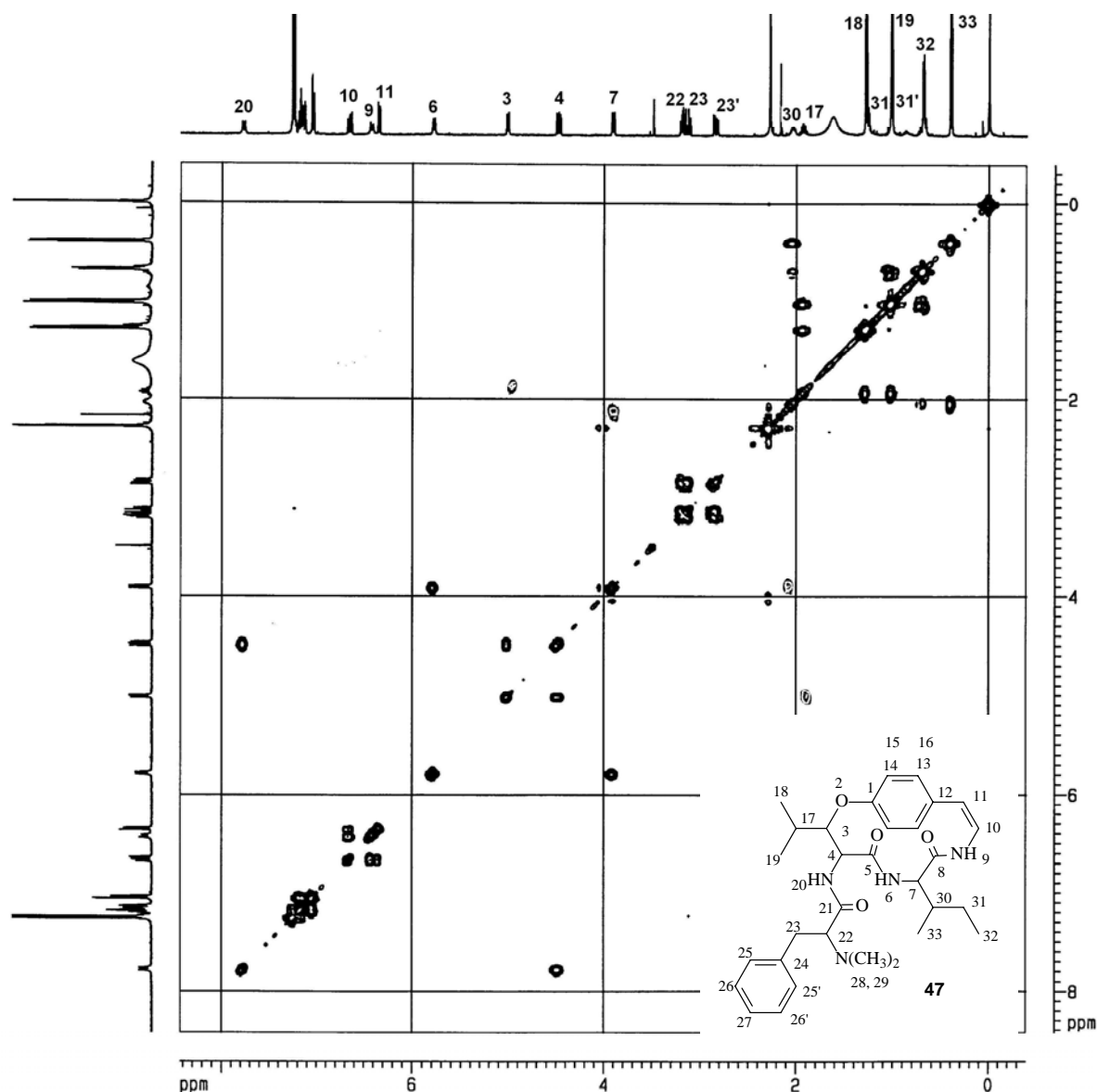


Figura 29 - Espectro de RMN de 2D, COSY de A01, em CDCl₃ a 400 MHz.

Tomou-se como ponto de partida, para caracterização da isoleucina como α -aminoácido, o sinal em δ 3,91 ppm, correspondente ao hidrogênio metínico H-7, o qual apresenta correlação com outro hidrogênio metínico H-30 (δ 2,05 ppm) e com o hidrogênio amídico NH-6 (δ 5,78 ppm). H-30, por sua vez, mostra correlação com a metila Me-33 (δ 2,05 ppm) e também com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-31' (δ 0,68 ppm) e H-31 (δ 1,01 ppm). Este último correlaciona-se com H-31' e com a metila Me-32 (δ 0,69 ppm), definindo assim o sistema de spins formado pelos hidrogênios da unidade isoleucina.

O espectro COSY também revela a correlação do hidrogênio metínico H-22 (δ 2,87 ppm) com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-23 (δ 2,84 ppm) e H-23' (δ 3,19 ppm), formando um sistema de spins isolado. Assim, foi possível atribuir inequivocamente, a posição da unidade fenilalanina, como sendo a unidade *N,N*-dimetilada.

A seqüência de correlações mostra que o hidrogênio amídico NH-20 (δ 7,77 ppm) apresenta correlação com o hidrogênio metínico H-4 (δ 4,47 ppm), e este por sua vez, mostra correlação com H-3 (δ 5,01 ppm), enquanto o hidrogênio metínico H-17 (δ 1,95 ppm) apresenta correlação com H-3 e com as metilas Me-18 (δ 1,28 ppm) e Me-19 (δ 1,02 ppm), caracterizando assim a unidade β -hidroxileucina.

O hidrogênio amídico NH-9 (δ 6,52 ppm), pertencente à unidade estirilamina, foi identificado por sua correlação com H-10 (δ 6,65 ppm), o qual correlaciona-se com H-11 (δ 6,35 ppm), formando um sistema isolado de spins.

O espectro de carbono totalmente desacoplado (Figura 30) permitiu identificar 28 sinais de carbonos, sendo que 3 sinais continham dois núcleos de carbono, o que resultara num total de 31 carbonos, definindo a estrutura do alcalóide ciclopeptídico.

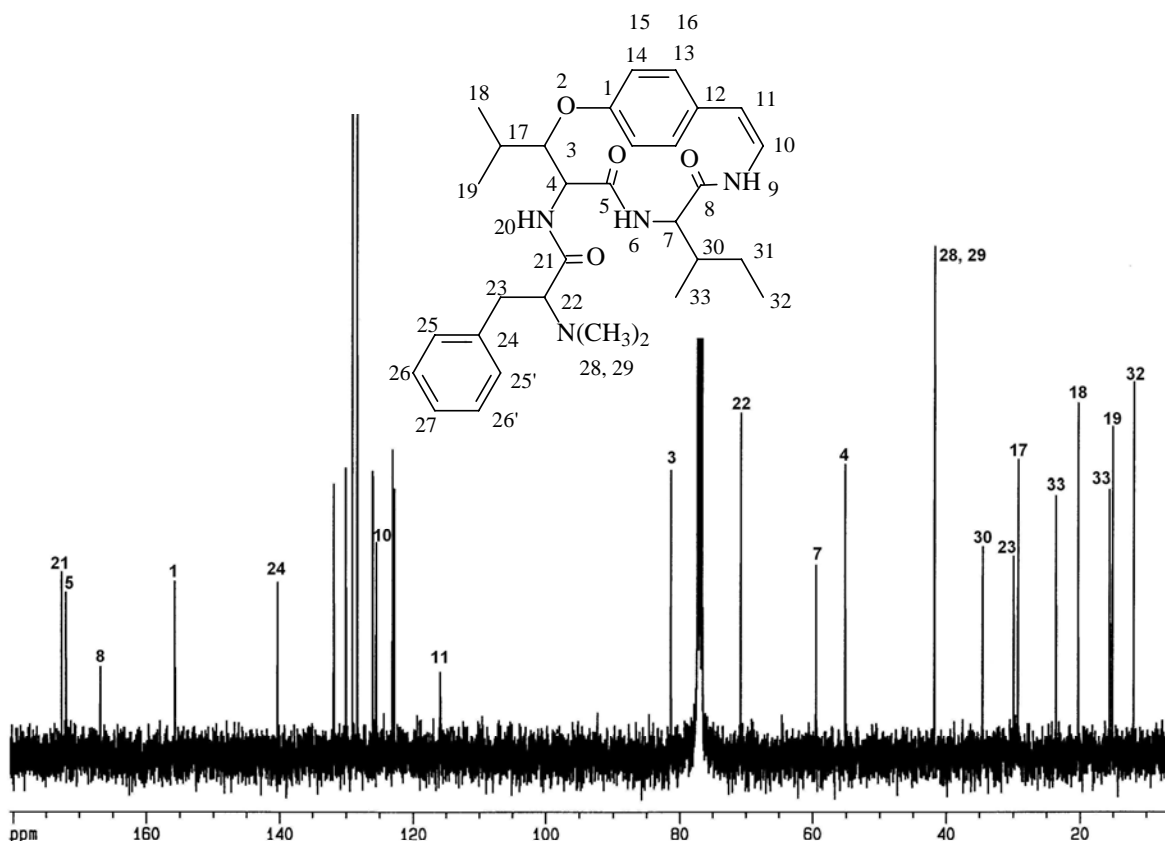


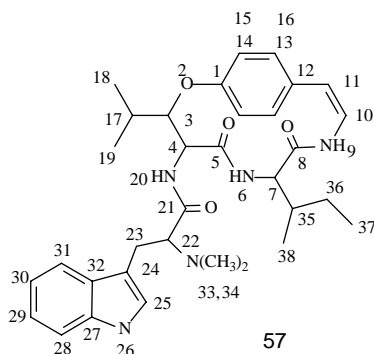
Figura 30 - Espectro de RMN de ^{13}C de A01, em CDCl_3 , a 100 MHz.

Através da comparação em CCD com uma amostra autêntica, ponto de fusão, dados obtidos dos espectros RMN de ^1H , ^{13}C e COSY acima discutidos, juntamente com os dados da literatura, foi possível propor a estrutura 47 para A01, que corresponde ao alcalóide ciclopeptídico adoutina Y' (**47**), anteriormente isolado de *Discaria febrifuga*.¹³

Os dados físicos e espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de **47** (A01) encontram-se descritos na parte experimental (Página 62).

5.1.1.2.1.4 Alcalóide S04

Eluído das frações básicas etéreas de *D. americana*, do material coletado em São Sepé e Jaguari (Tabelas 18 e 19), este alcalóide apresentou-se na forma de um sólido. Reagiu positivamente com o reagente de Dragendorff e Erlich, indicando a presença de nitrogênio básico e a unidade triptofano na estrutura molecular.



A análise preliminar do espectro unidimensional de RMN de ^1H de S04 (Figura 31), mostra que na região alifática (δ 0,62 e 1,23 ppm) os deslocamentos químicos e as multiplicidades dos sinais são semelhantes aos observados em S03, sugerindo a presença das unidades β -hidroxileucina e isoleucina.

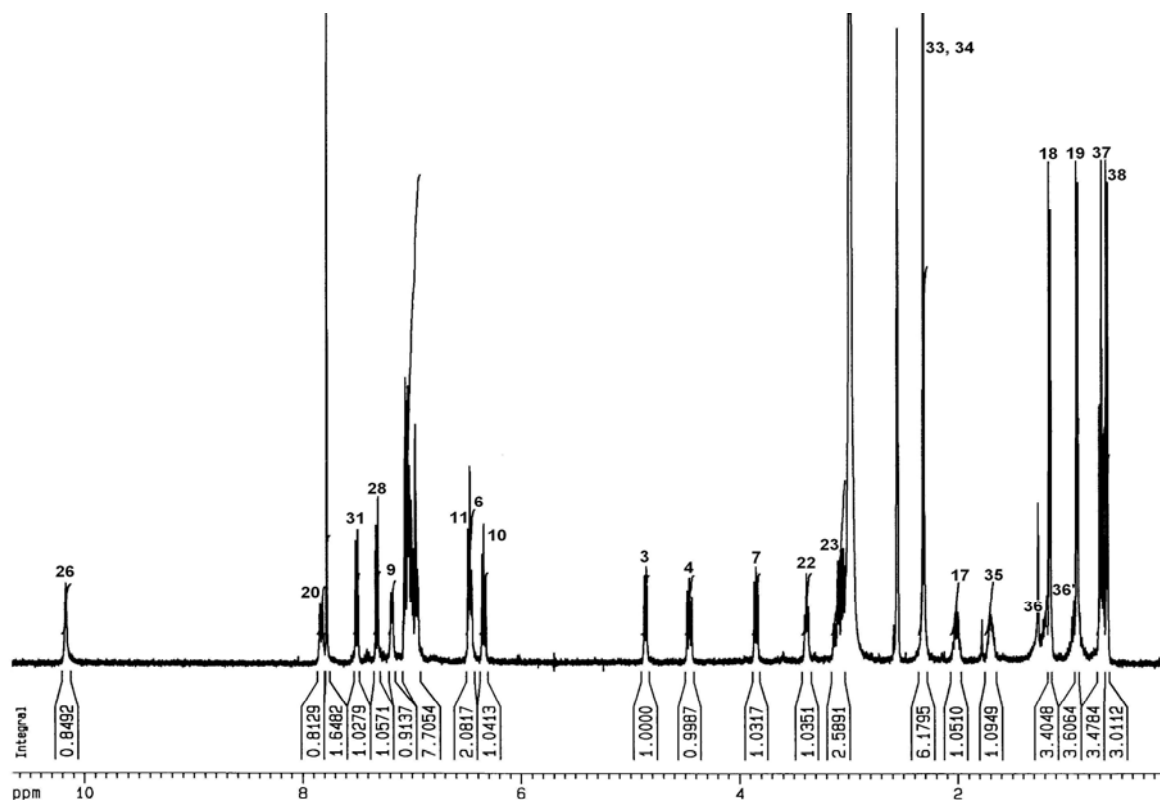


Figura 31 - Espectro de RMN de ^1H de S04, em DMSO, a 400 MHz.

A presença do hidrogênio metínico H-7 (α -carbonílico) na forma de um duplo dubleto em δ 3,84 ($J = 6,0, 8,1$ Hz), o qual resulta do acoplamento com o hidrogênio metínico H-35 (δ 1,68 ppm) e com o hidrogênio amídico NH-6 (δ 6,46 ppm), caracteriza a presença da unidade isoleucina como aminoácido participante do sistema macrociclo de 14 membros. Já os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-36' e H-36 dessa unidade correspondem aos sinais em δ 0,93 e 1,19 ppm, na forma de multipletos, resultante do acoplamento com as metilas Me-37 (δ 0,68, *t*) e Me-38 (δ 0,63, *d*).

No mesmo espectro, os deslocamentos químicos em δ 7,82 (1H, *d*, $J = 10,0$ Hz), 4,86 (1H, *dd*, $J = 1,8, 7,7$ Hz), 4,45 (1H, *dd*, $J = 7,7, 10,0$ Hz), 2,01 (1H, *m*), 1,15 (3H, *d*, $J = 6,7$ Hz) e 0,91 ppm (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz) são referentes ao hidrogênio amídico NH-20, aos hidrogênios metínicos H-3, H-4 e H-17 e aos hidrogênios das metilas Me-18 e Me-19, respectivamente, caracterizando a presença da unidade β -hidroxileucina.

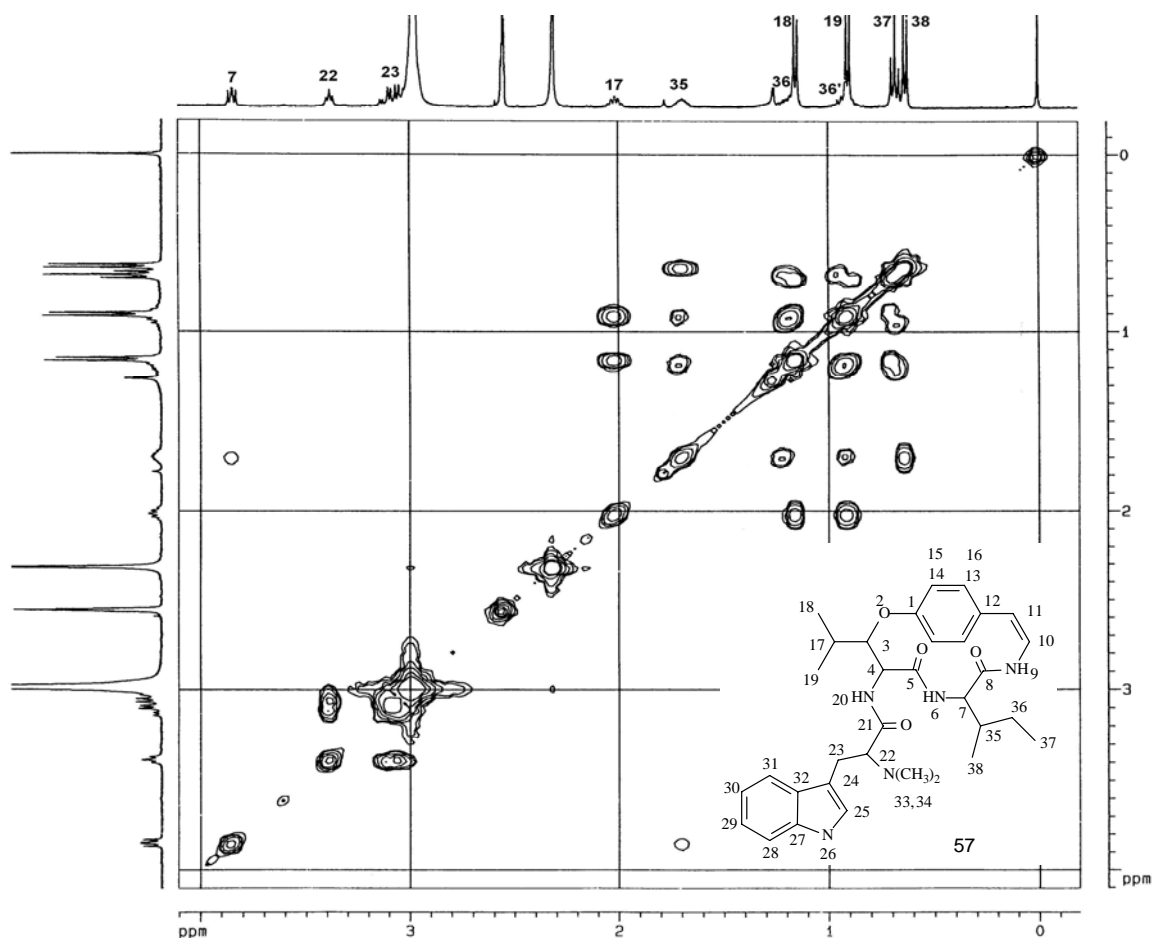


Figura 32 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 0,50-4,0 ppm de S04, em DMSO a 400 MHz.

Na região entre δ 2,31-3,39 ppm inclui-se o sinal referente ao hidrogênio metínico α -carbonílico, H-22 (δ 3,38 ppm), os hidrogênios diastereotópicos, β -carbonílicos H-23' (δ 3,08 ppm) e H-23 (δ 3,13 ppm), e ainda as metilas do grupo *N,N*-dimetil Me-33 e -34 (δ 2,31 pp), todos pertencentes à unidade triptofano.

Os hidrogênios olefínicos H-10 e H-11 e amídico NH-9 do grupo enamina são atribuídos aos sinais em δ 6,34, 6,48 e 7,18 ppm, respectivamente. Já os hidrogênios aromáticos da unidade *p*-hidróxiestirilamina e do resíduo triptofânico apresentam deslocamentos entre δ 6,91-7,51 ppm. Difíceis de serem atribuídos devido à sobreposição de sinais, a resolução desses sinais foi possível pela análise do espectro COSY.

As atribuições de sinais no espectro de RMN de ^1H de S04, foi auxiliada pelo espectro homonuclear bidimensional tipo COSY, que permitiu atribuir inequivocamente os hidrogênios presentes na estrutura molecular.

Os hidrogênios pertencentes ao resíduo triptofano, foram atribuídos a partir do espectro COSY, na região entre δ 6,91-7,51 ppm. Tomou-se como ponto de partida o sinal que ressona em δ 10,17 ppm, correspondente ao hidrogênio indólico NH-26, o qual apresenta correlação bem definida com o hidrogênio H-25 em δ 7,01 ppm. Nesta região, o hidrogênio H-28 em δ 7,28 ppm apresenta uma correlação com o hidrogênio H-29 em δ 6,94 ppm. Este por sua vez, correlaciona-se com H-30 em δ 6,91 ppm, o qual mostra uma correlação com H-31 em δ 7,49 ppm, definindo dessa forma, os deslocamentos químicos para unidade triptofano. As demais unidades presentes neste alcalóide foram identificadas à maneira descrita nos exemplos anteriores.

O espectro de carbono totalmente desacoplado de S04 (Figura 33) permitiu identificar 33 sinais de carbonos pertencentes à estrutura do alcalóide ciclopeptídico; distribuídos na região espectral entre δ 10,0-175,0 ppm.

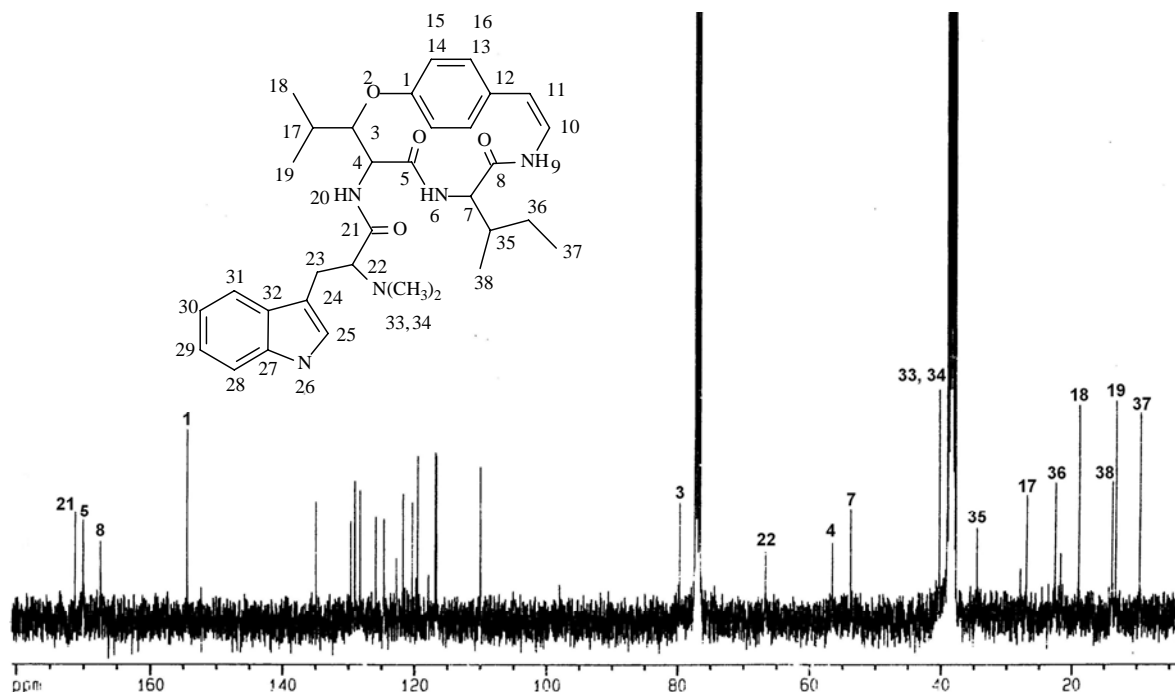


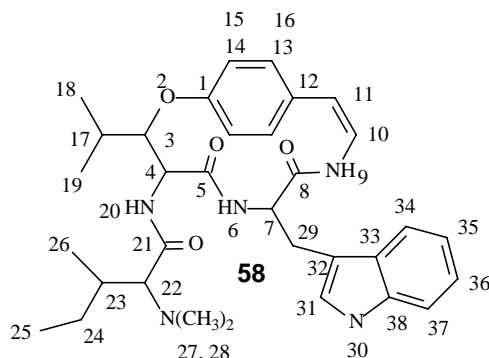
Figura 33 - Espectro de RMN de ^{13}C de S04, em DMSO, a 100 MHz.

Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros de RMN de ^{13}C de S04 são idênticos aos descritos na literatura para o alcalóide ciclopeptídico discarina A. Mediante os resultados acima descritos e ponto de fusão de 227-228 °C (Lit. 229-231 °C), foi possível propor que S04 trata-se do alcalóide ciclopeptídico discarina A (**57**), isolado anteriormente de *Discaria longispina*.¹⁰

Os dados físicos e espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de S04 encontram-se descritos na parte experimental (Página 64).

5.1.1.2.1.5 Alcalóide A09

Este alcalóide foi encontrado no extrato de todas as coletas de *D. americana* (Tabelas 17-19). Após sucessivas recristalizações, foi obtido na forma de sólido branco, com aspecto granuloso. Apresentou reação positiva no teste com reagente de Dragendorff. Enquanto a forte coloração violeta desenvolvida em contato com o reagente de Erlich, demonstrou que esse alcalóide também contém, em sua estrutura, a unidade triptofano.



Comparando-se os espectros de RMN de ^1H (Figura 34) deste metabólito com os espectros de S04 (discarina A), verifica-se que ambos guardam similaridade.

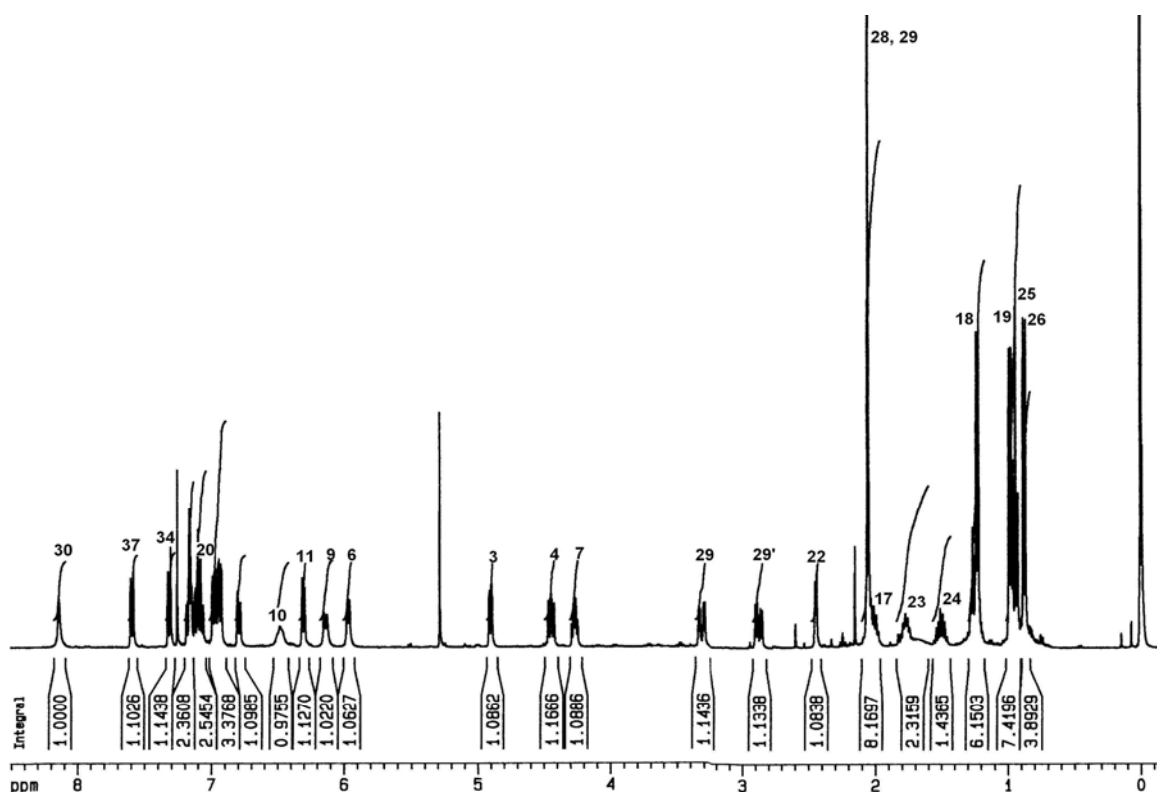


Figura 34 - Espectro de RMN de ^1H de A09, em CDCl_3 a 400 MHz.

Contudo, duas diferenças significativas foram observadas nessa comparação: o hidrogênio metínico H-7 (δ 4,26 ppm) em S04 apresenta-se na forma de um duplo dubleto, enquanto em A09, ocorre na forma de um multipletto; e o hidrogênio metínico H-22 (δ 2,44 ppm) em S04 apresenta-se na forma de um duplo dubleto, ao passo que em A09, este aparece na forma de um dubleto.

A região espectral compreendida entre δ 0,75-2,0 ppm apresenta os hidrogênios metílicos Me-18 (δ 1,23 ppm), Me-19 (δ 0,98 ppm), Me-25 (δ 0,94 ppm) e Me-26 (δ 0,88 ppm), os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-24 (δ 1,26 ppm) e H-24' (δ 1,5 ppm) e os hidrogênios metínicos H-23 (δ 1,78 ppm) e H-17 (δ 1,99 ppm).

Os hidrogênios metínicos α -carbonílicos (H-4, H-7 e H-22), correspondem aos sinais localizados entre δ 2,4-5,0 ppm. Nessa região inclui-se também, o sinal referente ao hidrogênio β -carbonílicos, H-3 da unidade β -hidroxileucina, e ainda os hidrogênios diastereotópicos β -carbonílicos H-29 e H-29', da unidade triptofano, que correspondem aos sinais em δ 2,87 ppm e 3,31 ppm.

Os deslocamentos químicos, compreendidos entre δ 5,95-8,14 ppm, apresentam sinais correspondentes aos hidrogênios amídicos NH-6, NH-9 e NH-20, das funções peptídicas e ao hidrogênio indólico NH-30, da unidade triptofano. Nessa região, aparecem também os sinais que correspondem aos hidrogênios olefínicos do grupo enamina e aos hidrogênios da unidade *p*-hidróxiestirilamina e do resíduo triptofano.

Com o auxílio do espectro COSY, foi possível identificar as posições de ressonância dos hidrogênios que constituem o alcalóide A09.

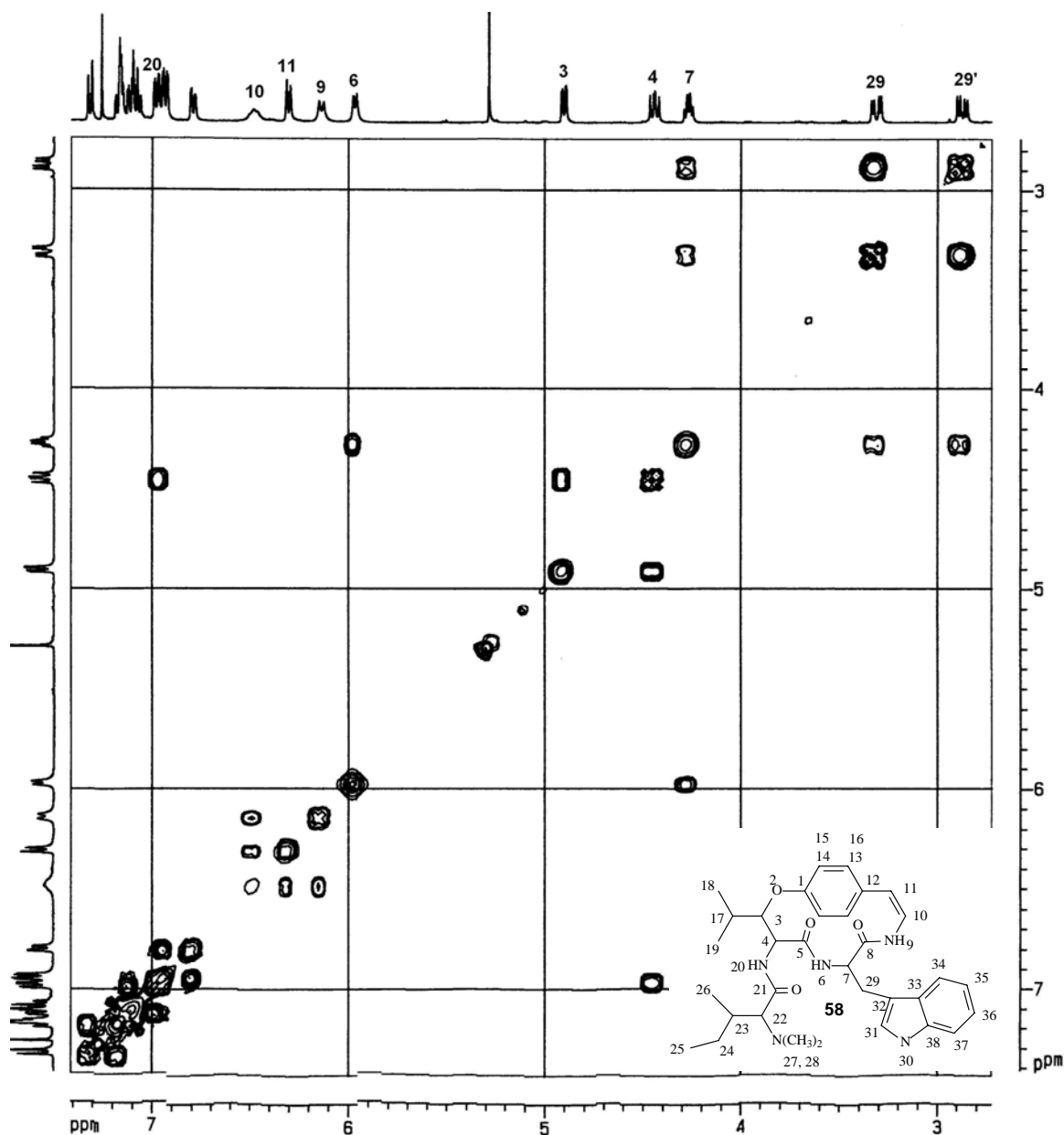


Figura 35 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 2,50-7,50 ppm de A09, em CDCl_3 a 400 MHz.

A atribuição de sinais do resíduo indólico iniciou-se a partir do sinal de NH -30 em δ 8,14 ppm, o qual apresenta correlação com o hidrogênio H-31 em δ 7,01 ppm. Nesta região, H-34 em δ 7,31 ppm apresenta uma correlação com o hidrogênio H-35 em δ 7,12 ppm. Este por sua vez, correlaciona-se com H-36 em δ 7,09 ppm, o qual mostra uma correlação com H-37 em δ 7,59 ppm. Após a

identificação dos deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos, observa-se que H-7 (δ 4,26 ppm) (Figura 35), apresenta sinais de correlação com o hidrogênio amídico NH-6 (δ 5,96 ppm) e ainda com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-29 (δ 2,87 ppm) e H-29' (δ 3,31 ppm), e estes por sua vez não mostram correlação com outros hidrogênios, definindo assim a posição da unidade triptofânica.

Para a atribuição de sinais da unidade *N,N*-dimetil isoleucina, o sinal do hidrogênio α -carbonílico H-22 (δ 2,44 ppm), foi utilizado como ponto de partida. Este hidrogênio (H-22) apresenta correlação com o hidrogênio metínico H-23 (δ 1,78 ppm), enquanto este mostra correlação com a metila Me-26 (δ 0,88 ppm) e ainda com hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-24 (δ 1,26 ppm) e H-24' (δ 1,50 ppm). Esses correlacionaram entre si por serem hidrogênios geminais não equivalentes, e com a metila Me-25 (δ 0,94 ppm). O singlete isolado (não mostra correlação) foi atribuído às metilas *N,N*-Me-27 e -28 (δ 2,02 ppm), identificando assim os deslocamentos químicos dos hidrogênios dessa unidade.

Os deslocamentos químicos dos hidrogênios da unidade β -hidroxileucina, foram identificados a partir do sinal, em δ 4,44 ppm, correspondente ao hidrogênio metínico H-4. Este sinal apresenta duas correlações distintas, a primeira com o hidrogênio amídico NH-20 (δ 7,07 ppm), a segunda com o hidrogênio metínico H-3 (δ 4,91 ppm). H-3, por sua vez, apresenta correlação com o sinal em δ 1,99 ppm, atribuído ao hidrogênio γ -carbonílico H-17. O sinal desse hidrogênio, apresenta correlação com as metilas Me-18 (δ 1,23 ppm) e Me-19 (δ 0,98 ppm).

O espectro de RMN de ^{13}C de A09, totalmente desacoplado, Figura 36, permitiu a identificação de trinta sinais distribuídos numa região entre δ 12,0-175 ppm, indicando a presença de carbonos metílicos, metilênicos, metínicos e desprotonados. Desses sinais, três indicam sobreposição de dois núcleos de carbonos, perfazendo um total de trinta e três átomos de carbono, que correspondem ao número observado na estrutura **58**.

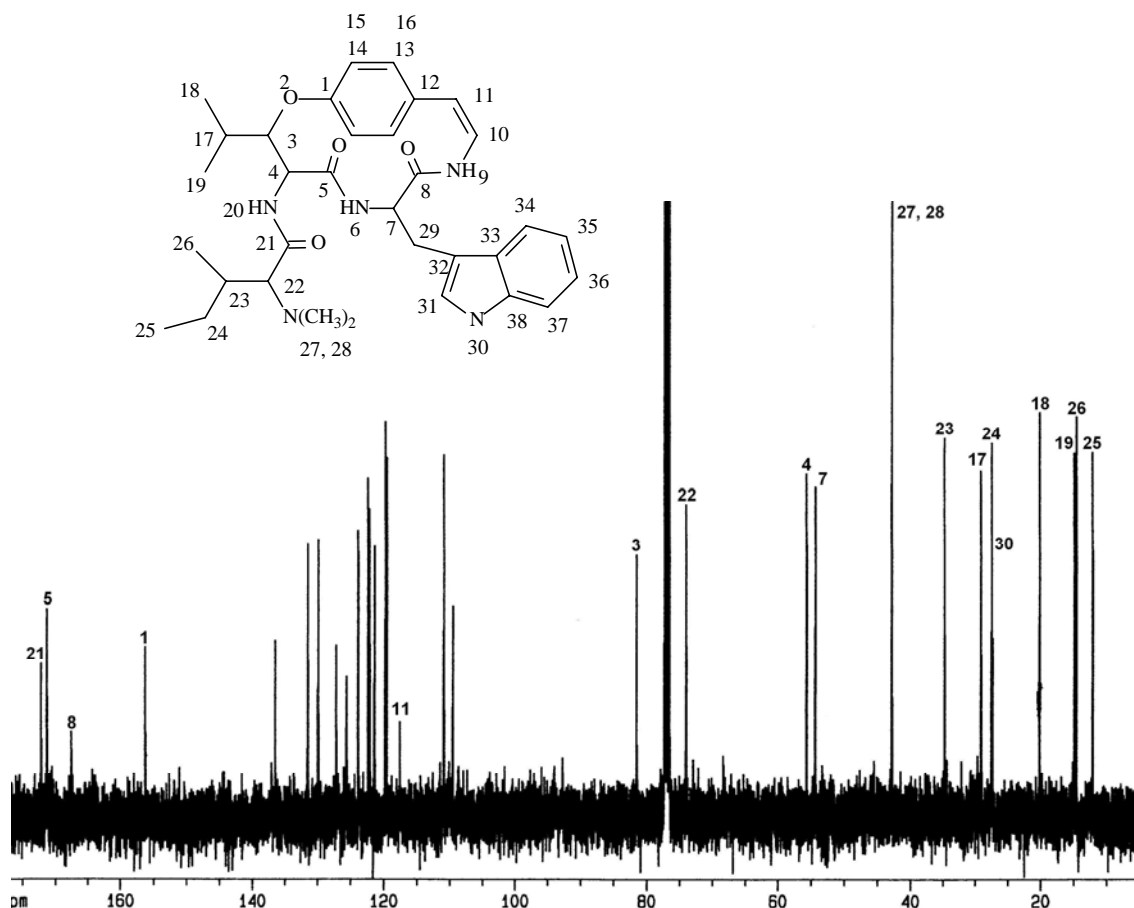


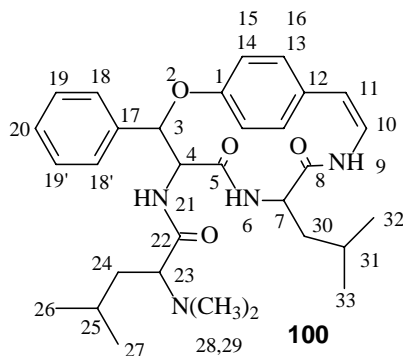
Figura 36 - Espectro de RMN de ^{13}C de A09, em CDCl_3 a 100 MHz.

Baseando-se nas observações acima descritas e na literatura, foi possível propor a estrutura **58**, para A09, que corresponde ao alcalóide ciclopeptídico discarina B,¹⁰ isolado pela primeira vez de *Discaria longispina*.

Os dados físicos e espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de **58** (A09) estão listados na parte experimental (Página 65).

5.1.1.2.1.6 Alcalóide A04

Este alcalóide foi obtido de *D. americana* coletada nas três regiões. Desenvolveu forte coloração alaranjada em contato com o reagente de Dragendorff, indicando a presença de nitrogênio básico em sua estrutura.



Uma primeira análise do espectro de RMN de ^1H de A04 (Figura 37) revela a presença de quatro sinais de hidrogênios metílicos com deslocamentos químicos em δ 0,71, 0,78, 0,79, 0,87 ppm, na forma de dubletos, muito similares àqueles observados para o alcalóide A02. Esses sinais caracterizam a presença das unidades leucina e *N,N*-dimetil leucina, como participantes da estrutura molecular de A04. Estes deslocamentos químicos, entre δ 0,71-0,87 ppm, eliminam a possibilidade da presença da unidade β -hidroxileucina.

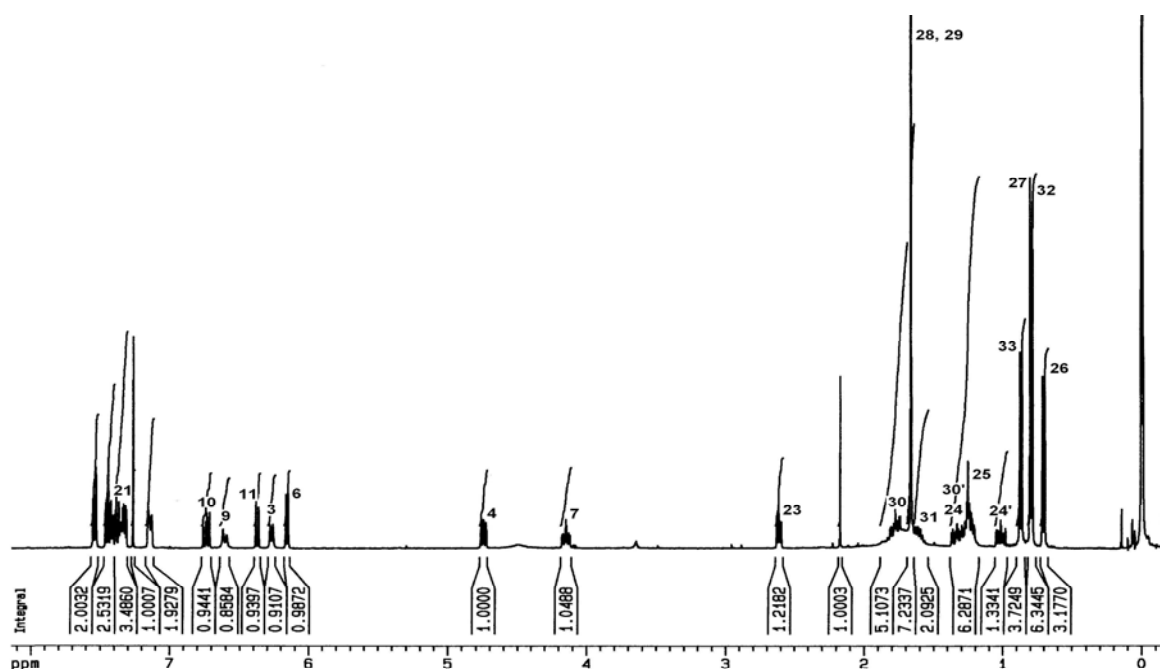


Figura 37 - Espectro de RMN de ^1H de A04, em CDCl_3 a 400 MHz.

Duas diferenças significativas são observadas, quando comparados os espectros de RMN de ^1H de A04 e A02. A primeira diferença está relacionada

com a ausência dos sinais relativos às metilas Me-18 e Me-19 em A04. A segunda diferença refere-se ao deslocamento químico e à multiplicidade do hidrogênio metínico β -carbonílico H-3. Em A02 (franganina), este apresenta-se na forma de um duplo dubleto, devido ao acoplamento com os hidrogênios metínicos H-4 e H-17, em δ 5,01 ppm. Por outro lado, em A04, H-3 encontra-se deslocado para campo mais baixo, na forma de um dubleto, em δ 6,16 ppm, porque acopla somente com o hidrogênio metínico H-4. Por sua vez, H-4 apresenta-se na forma de um duplo dubleto, em δ 4,74 ppm, resultante do acoplamento com o H-3 e com o hidrogênio amídico NH-21, que constitui-se em um dubleto, em δ 7,32 ppm. A partir destes dados, conclui-se que A04 não apresenta a unidade β -hidroxileucina em sua estrutura, como os demais alcalóides discutidos até o momento. Com base nestas observações, foi possível propor que A04 apresenta, como hidroxiaminoácido participante do sistema macrocíclico, a unidade β -fenilserina.

A unidade leucina, em A04, é confirmada pela presença de dois dubletos, em δ 0,79 e 0,87 ppm, que identificam as metilas Me-32 e Me-33, do grupo *iso*-butil dessa unidade. Esses dubletos resultam do acoplamento com o hidrogênio metínico H-31 (δ 1,61 ppm), na forma de um multipletto. O hidrogênio metínico H-7, α -carbonílico, constitui-se em um multipletto, pois acopla-se com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-30 (δ 1,27 ppm) e H-30' (δ 1,77 ppm) e com o hidrogênio amídico NH-6 (δ 6,26 ppm).

Os sinais referentes aos hidrogênios da unidade básica terminal, correspondem aos sinais em δ 2,61 (1H, *dd*, $J = 4,8, 5,2$ Hz 23), 1,00/1,31 (1H, *m*, H-24, -24'), 1,23 (1H, *m*, H-25), 0,71 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, CH₃-26), 0,79 (3H, *d*, $J = 6,8$ Hz, CH₃-27) e 1,66 ppm [6H, N-(CH₃)₂-28, -29], atribuídos de acordo com as multiplicidades apresentadas, através dos valores $^1J_{HH}$ e, pela típica posição de ressonância, conforme observa-se no espectro de RMN de 1H , de franganina (Figura 23).

Os hidrogênios do grupo enamina correspondem aos sinais em δ 6,37 (H-11), 6,61 (NH-9) e 6,73 (H-10) ppm. O sinal de NH-9 constitui-se num dubleto, que se origina do acoplamento com H-10; este por sua vez, apresenta-se na forma de um duplo dubleto, porque também acopla com H-11, enquanto H-11, corresponde a um dubleto, que acopla somente com o hidrogênio vizinho H-10.

Os sinais correspondentes aos hidrogênios aromáticos da unidade *p*-hidróxiestirilamina e da β -fenilserina, estão contidos na região de δ 7,15-7,55 ppm. Difíceis de serem atribuídos neste espectro, devido à complexidade e sobreposição de sinais, a resolução desses sinais foi possível pelo espectro COSY.

O espectro COSY também confirma os aminoácidos leucina e β -fenilserina, como participantes do sistema macrocíclico, além da presença da *N,N*-dimetil leucina, como unidade do resíduo terminal básico.

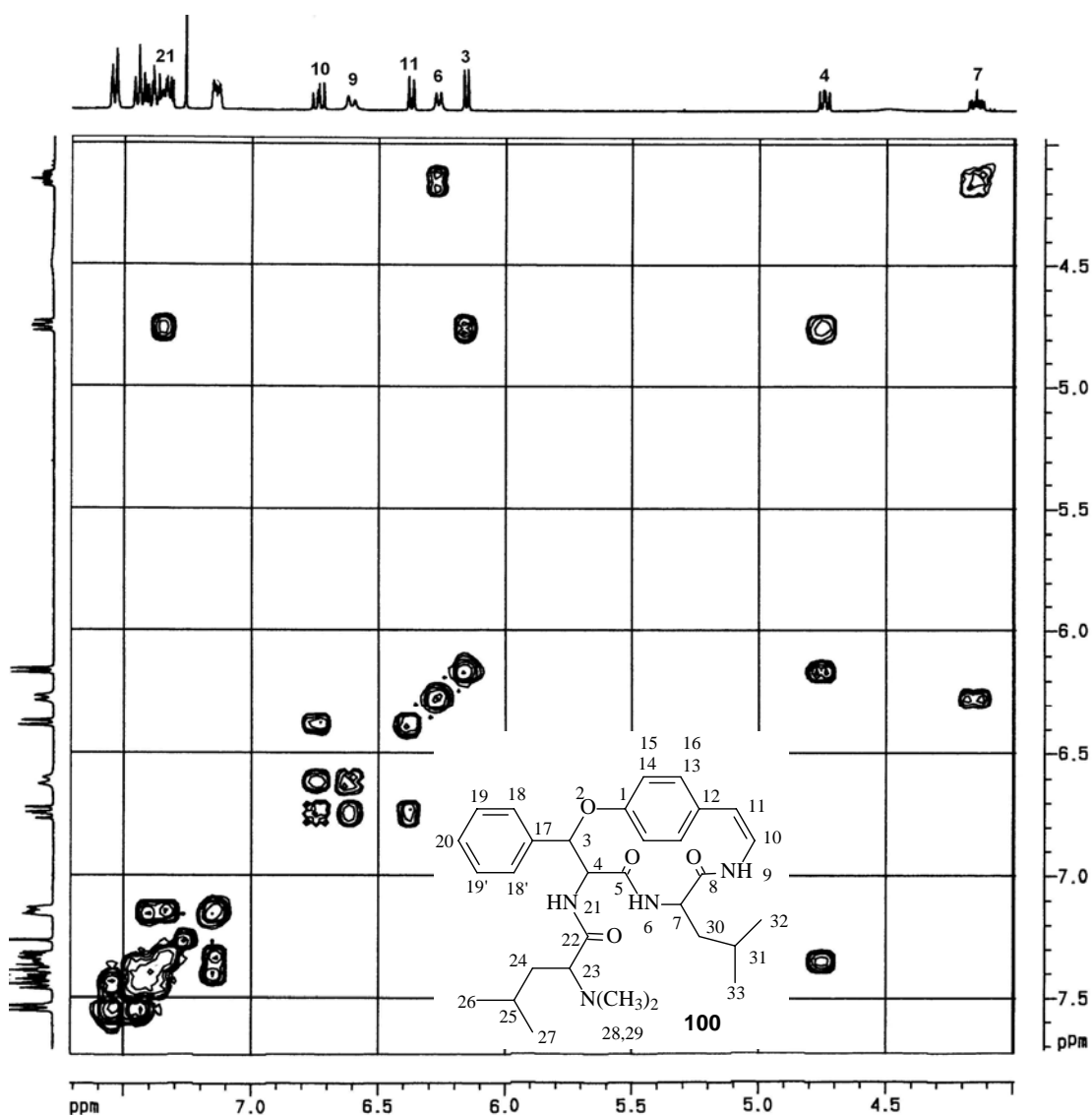


Figura 38 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 4,0-7,80 ppm de A04, em CDCl_3 a 400 MHz.

No espectro COSY (Figura 38), o sinal do hidrogênio metínico H-4 (δ 4,74 ppm) apresenta correlação com o hidrogênio amídico NH-21 (δ 7,32 ppm) e com o hidrogênio metínico H-3 (δ 6,16 ppm). Não foi observada a correlação entre os hidrogênios metínicos H-3 e H-17, sugerindo que o carbono C-17 seja desprotonados. Essa observação foi importante, pois permite assinalar de maneira inequívoca a unidade β -fenilserina, como hidroxiaminoácido participante do sistema macrocíclico.

Para atribuição da unidade leucina, foi utilizada como ponto de partida o hidrogênio metínico α -carbonílico H-7 (δ 4,14 ppm) que mostra correlação com o hidrogênio amídico NH-6 (δ 6,26 ppm) e com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-30 (δ 1,27 ppm) e H-30' (δ 1,77 ppm). Estes, por sua vez, correlacionam entre si e com o hidrogênio metínico H-31 (δ 1,61 ppm). H-30 mostra correlação com as metilas heterotópicas Me-32 (δ 0,79 ppm) e Me-33 (δ 0,87 ppm), confirmando assim a presença da leucina como α -aminoácido.

Os hidrogênios da unidade *N,N*-dimetil leucina foram atribuídos a partir do sinal correspondente ao hidrogênio metínico H-23 (δ 2,61 ppm), o qual correlaciona-se com os hidrogênios metilênicos H-24 (δ 1,00 ppm) e H-24' (δ 1,31 ppm). H-24 também, apresenta correlação com H-24' e com hidrogênio metínico H-25 (δ 1,23 ppm). H-25, por sua vez correlaciona-se com as duas metilas diastereotópicas Me-26 (δ 0,71 ppm) e Me-27 (δ 0,79 ppm), completando o sistema de spins da unidade leucina do resíduo terminal básico. As metilas Me-28 e Me-29, desse grupo são seguramente atribuídas ao típico singleto em δ 2,22 ppm, com integração para seis hidrogênios.

O espectro totalmente desacoplado RMN de ^{13}C , BB (Figura 39), mostra vinte oito sinais de carbonos, sendo que destes, três indicam sobreposição de dois núcleos de carbonos, indicando que a estrutura deste alcalóide é composta por trinta e um átomos de carbono.

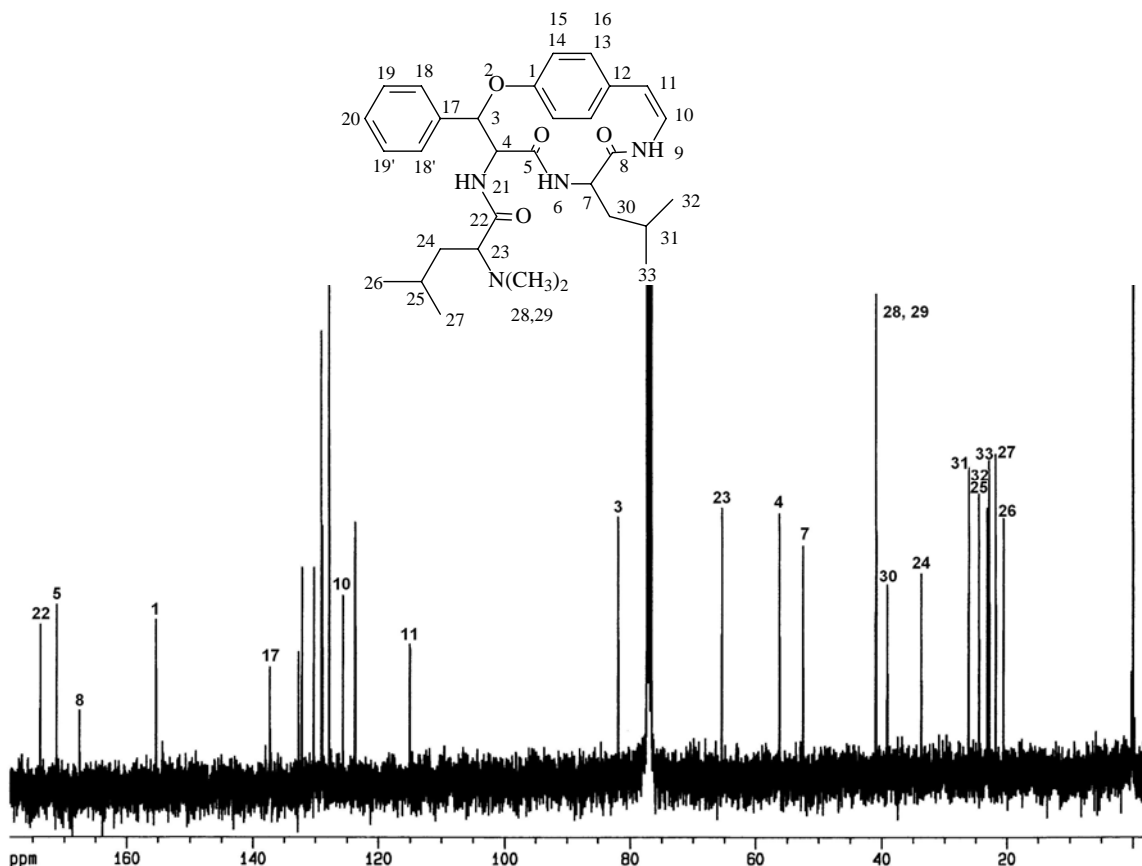
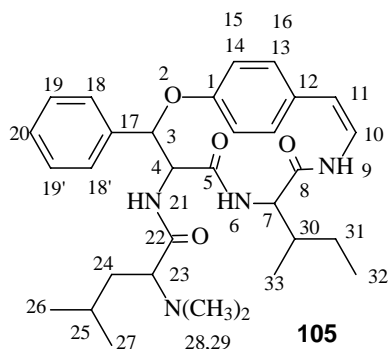


Figura 39 - Espectro de RMN de ^{13}C de A04, em CDCl_3 a 100 MHz.

Após estas análises e consulta à literatura, o alcalóide A04 foi identificado como sendo o alcalóide ciclopeptídico discarina C (**100**). Este alcalóide foi anteriormente isolado de *Discaria febrifuga*.¹³ Os dados físicos e espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de **100** (A04) encontram-se descritos na parte experimental (Página 65).

5.1.1.2.1.8 Alcalóide A06

Este alcalóide foi encontrado somente no material coletado em Santana do Livramento (Tabela 17). Após sucessivas recristalizações, apresentou-se como um sólido branco, solúvel em CHCl_3 , cuja pureza foi confirmada através de CCD utilizando-se vários sistemas de solventes.



No espectro de RMN de ^1H (Figura 40) do composto A06, verifica-se inicialmente a presença de quatro sinais relativos a metilas entre δ 0,65-0,89 ppm, sendo três deles na forma de dubleto e um na forma de tripleto, em uma região espectral característica de grupos *iso*-butil e *sec*-butil. Esses sinais caracterizam as unidades *N,N*-dimetil leucina [Me-26 (δ 0,78 ppm, *d*, $J = 6,8$ Hz) e Me-27 (δ 0,86 ppm, *d*, $J = 6,8$ Hz)] e leucina [Me-32 (δ 0,81 ppm, *t*) e Me-33 (δ 0,66 ppm, *d*, $J = 7,2$ Hz)] como aminoácidos constituintes de A06.

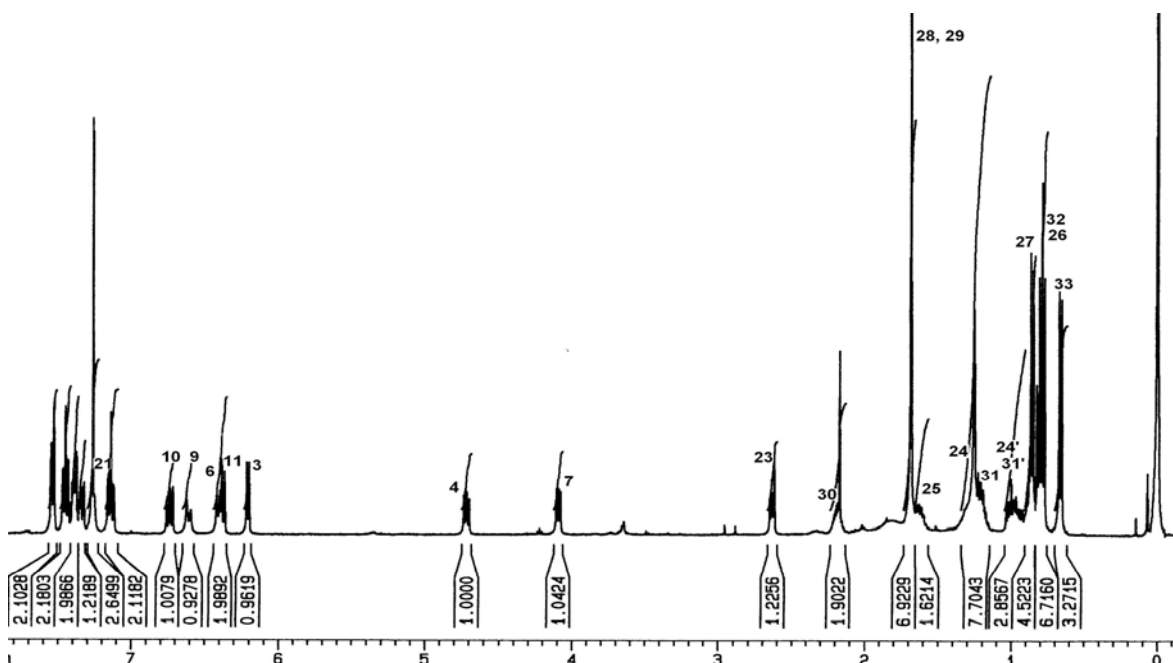


Figura 40 - Espectro de RMN de ^1H de A06, em CDCl_3 a 400 MHz.

Este espectro revela ainda, na região entre δ 0,96-2,20 ppm, observou a presença dos hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-24 (δ 1,02 ppm), H-24' (δ 1,21 ppm) e H-31 (δ 0,97 ppm), H-31' (δ 1,08 ppm) e dos hidrogênios metínicos H-25 (δ 1,62 ppm) e H-30 (δ 2,19 ppm). Observou-se ainda, nessa região, um singlete em δ 1,68 ppm, característico do grupo *N,N*-dimetil do resíduo terminal básico.

A região entre δ 2,60-4,80 ppm contém os sinais que correspondem aos hidrogênios metínicos α -carbonílicos, H-23 (δ 2,63 ppm), H-7 (δ 4,09 ppm) e H-4 (δ 4,71 ppm).

O deslocamento químico em δ 6,21 ppm, na forma de dubleto, foi atribuído ao hidrogênio metínico β -carbonílico H-3, caracterizando, como observado em A04, a presença da unidade β -fenilserina em A06.

Os hidrogênios amídicos NH-6, NH-9 e NH-21 foram atribuídos aos dubletos em δ 6,40, 6,61 e 7,26 ppm, respectivamente; enquanto os hidrogênios olefínicos H-10 e H-11 da unidade estirilamina apresentam deslocamentos químicos em δ 6,73 e 6,38 ppm, respectivamente.

Os sinais correspondentes aos hidrogênios aromáticos da unidade *p*-hidróxiestirilamina e da β -fenilserina, estão contidos na região de δ 7,15-7,55 ppm. Difíceis de serem atribuídos neste espectro, devido a complexidade e sobreposição de sinais, a resolução desses sinais foi possível pelo espectro COSY.

As correlações observadas no espectro COSY (Figura 41), entre os hidrogênios presentes em A06, foram importantes para localização das unidades *N,N*-dimetil leucina, isoleucina e β -fenilserina, na estrutura 105.

A localização da unidade leucina, como sendo o aminoácido *N,N*-dimetilado, foi possível através da correlação entre o sinal em δ 2,63 ppm, atribuído ao hidrogênio metínico α -carbonílico H-23 com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-24 (δ 1,02 ppm) e H-24' (δ 1,21 ppm). Estes por sua vez, correlacionam-se com hidrogênio metínico H-25 (δ 1,62 ppm). H-25 mostra correlação com as metilas CH₃-26 (δ 0,78 ppm) e CH₃-27 (δ 0,86 ppm), completando assim o sistema de spins dessa unidade.

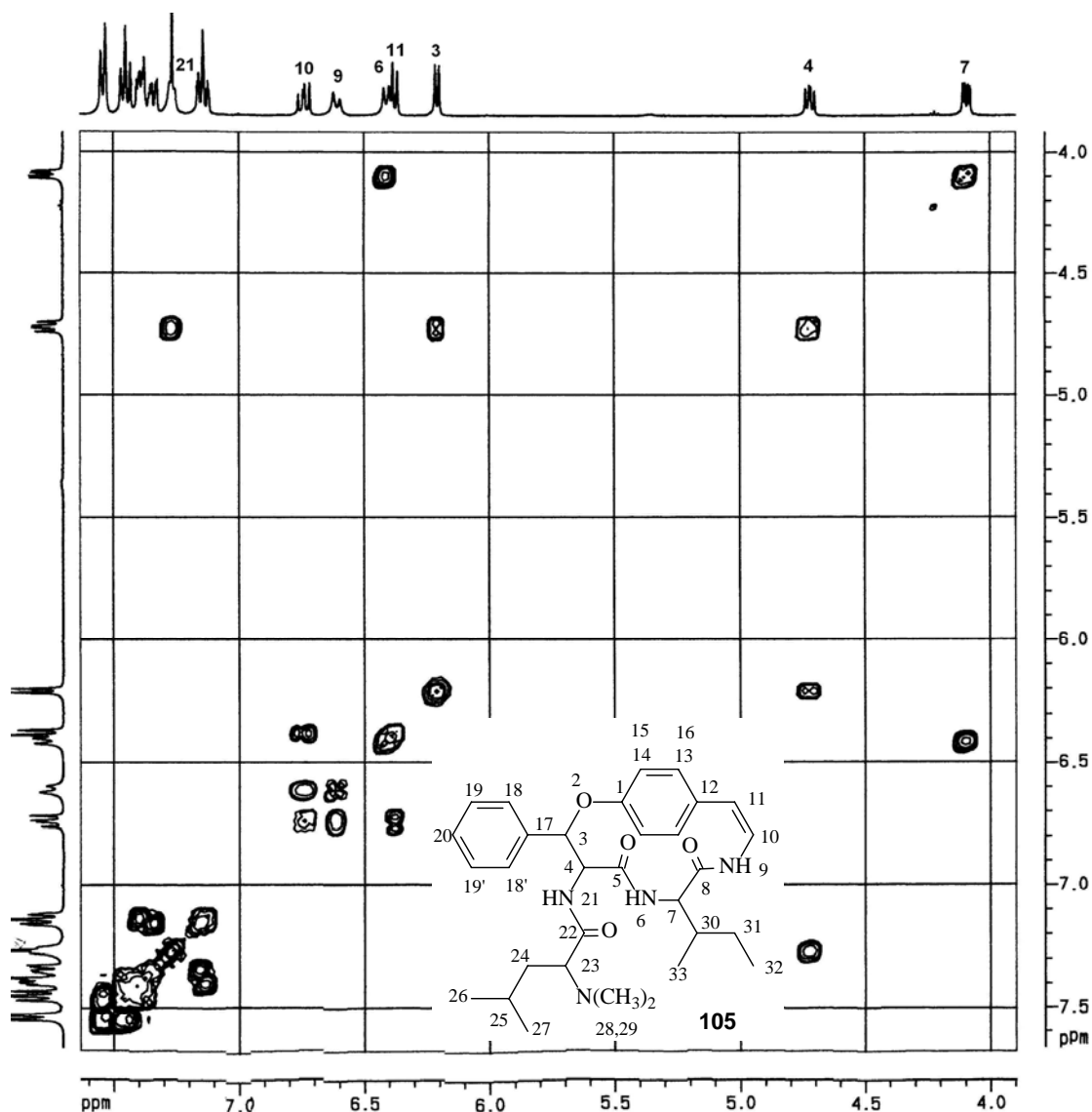


Figura 41 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 4,0-7,90 ppm de A06, em CDCl_3 a 400 MHz.

Tomou-se como ponto de partida, para caracterização da unidade isoleucina, o sinal em δ 4,09 ppm, correspondente ao hidrogênio metínico α -carbonílico H-7, o qual apresenta correlação com o hidrogênio metínico H-30 (δ 2,19 ppm) e com o hidrogênio amídico NH-6 (δ 6,40 ppm). H-30, por sua vez, mostra correlação com a metila Me-33 (δ 0,66 ppm) e também os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-31 (δ 0,97 ppm) e H-31' (δ 1,08 ppm). H-31' correlaciona-se com H-31 e com a metila Me-32 (δ 0,81 ppm), definindo assim o sistema de spins formado pelos hidrogênios dessa unidade.

O espectro de RMN de ^{13}C de A06 (Figura 42) apresenta vinte e oito sinais de carbonos. Três deles indicam sobreposição de dois núcleos de carbonos, perfazendo um total de trinta e um átomos de carbono presentes em A06, o mesmo número observado para a discarina C (**100**).

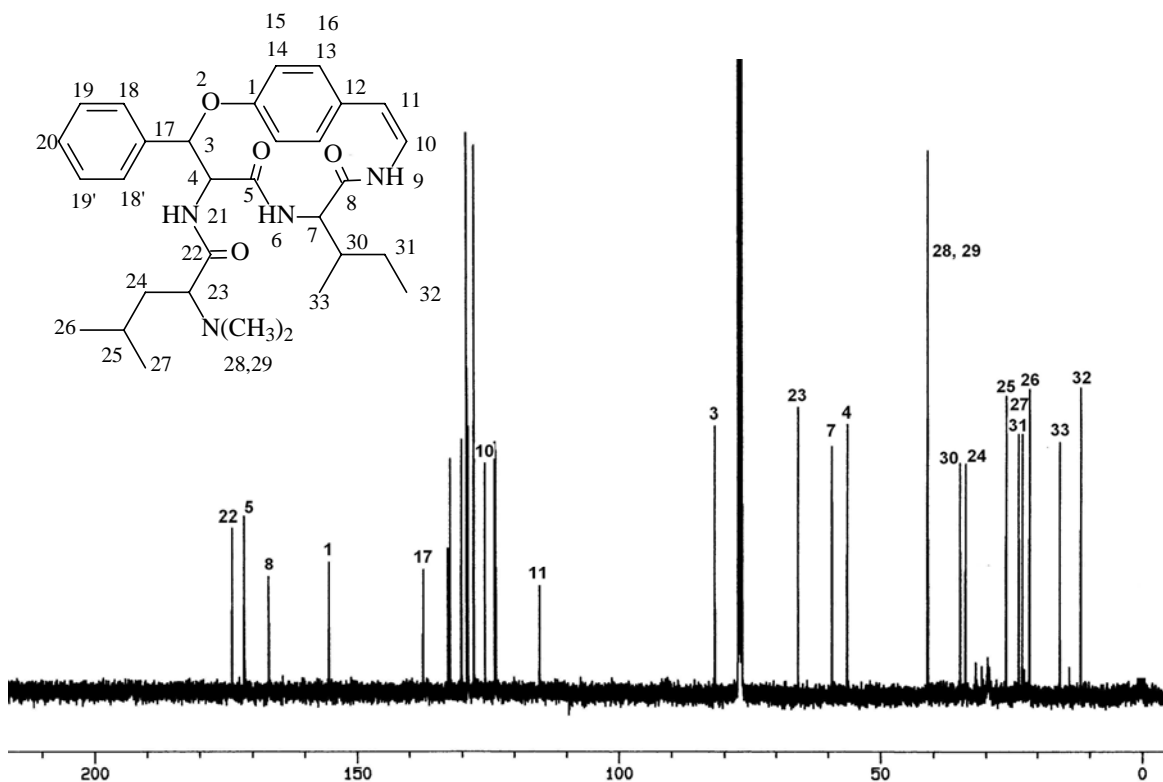
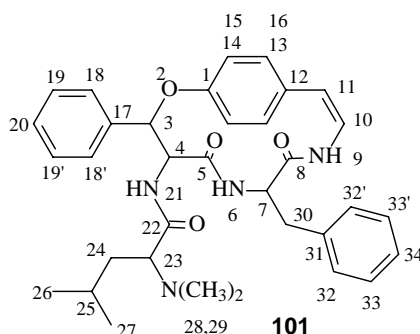


Figura 42 - Espectro de RMN de ^{13}C de A06, em CDCl_3 a 100 MHz.

Com base nas informações espectroscópicas acima descritas e pesquisa na literatura, foi possível identificar A06 como sendo o alcalóide ciclopeptídico miriantina A (**105**). Este metabólito já foi isolado anteriormente de *Myrianthus arboreus* (Urticaceae),⁷² porém é aqui descrito pela primeira vez em *Discaria americana*. Os dados físicos e espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C , de A06, estão descritos na parte experimental (Página 66).

5.1.1.2.1.7 Alcalóide A05

A05, encontrado nas três regiões de coleta de *D. americana*, (Tabelas 17-19), apresentou-se como um sólido branco, solúvel em CHCl_3 , e teve sua pureza comprovada em CCD. Desenvolveu reação positiva com reagente de Dragendorff, pelo aparecimento de mancha alaranjada, indicando a presença de nitrogênio básico em sua estrutura.



A análise do espectro de RMN de ^1H de A05 (Figura 43), permitiu identificar a presença do aminoácido fenilalanina, ausente na estrutura de A06, *N,N*-dimetil leucina e β -fenilserina.

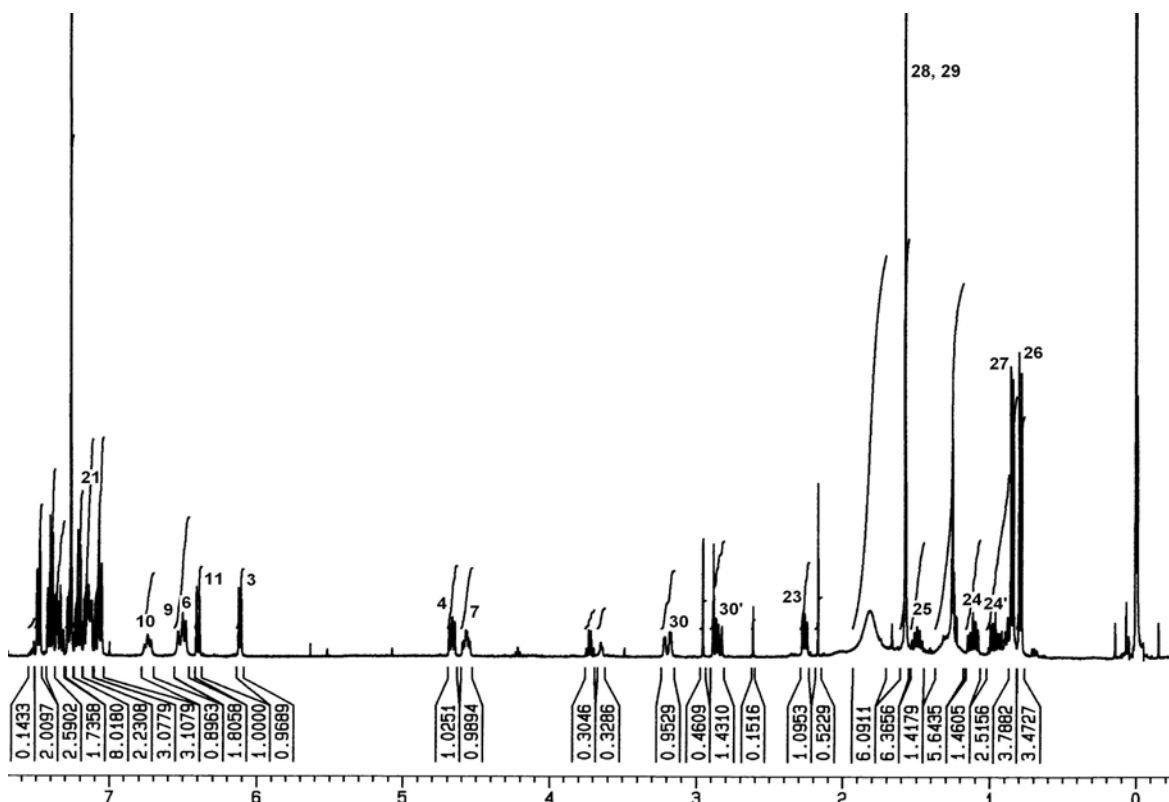


Figura 43 - Espectro de RMN de ^1H de A05, em CDCl_3 a 400 MHz.

Os dubletos em δ 0,79 e 0,85 ppm correspondem aos hidrogênios das metilas heterotópicas Me-26 e Me-27 do grupo isopropil, da unidade N,N-dimetil leucina. Esses dubletes resultam do acoplamento com o hidrogênio metínico H-25 que ressona em δ 1,48 ppm, na forma de um multipletto. Os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-24 e H-24' dessa unidade apresentam-se na forma de multipletos em δ 0,96 e 1,09 ppm, respectivamente; enquanto o hidrogênio metínico α -carbonílico H-23 é atribuído ao sinal em δ 2,26 ppm, como um duplo dubleto. Os hidrogênios metílicos Me-28 e Me-29, do grupo N,N-dimetil, dessa unidade apresenta-se na forma de um singlete em δ 1,57 ppm.

A presença da unidade fenilalanina em A05 é sugerida através dos sinais em δ 2,86 e 3,19 ppm, na forma de duplos dubletos, relativos aos hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-30 e H-30', respectivamente, devido ao acoplamento com hidrogênio metínico α -carbonílico H-7 que ressona em δ 4,57 ppm, na forma de um multipletto.

O deslocamento químico do hidrogênio metínico β -carbonílico H-3 em δ 6,21 ppm, na forma de um dubleto, como observado em A04 e A06, caracteriza a presença da unidade β -fenilserina em A05. O hidrogênio metínico α -carbonílico H-4, dessa unidade, apresenta-se na forma de um duplo dubleto, em δ 4,7 ppm, devido acoplamento com H-3 e NH-21.

Os hidrogênios amídicos, NH-6, NH-9 e NH-21, das unidades β -fenilserina, fenilalanina e do grupo enamina, foram atribuídos aos sinais que ressonam como dubletos em δ 6,49, 6,52 e 7,21 ppm, respectivamente.

Os hidrogênios aromáticos pertencentes as unidades *p*-hidróxiestirilamina, β -fenilserina e fenilalanina foram de difícil atribuição, mesmo com o auxílio do espectro COSY, devido à complexidade e sobreposição de sinais apresentadas.

O espectro de RMN 2D, bidimensional COSY permitiu visualizar os principais sistemas de spins presentes em A05.

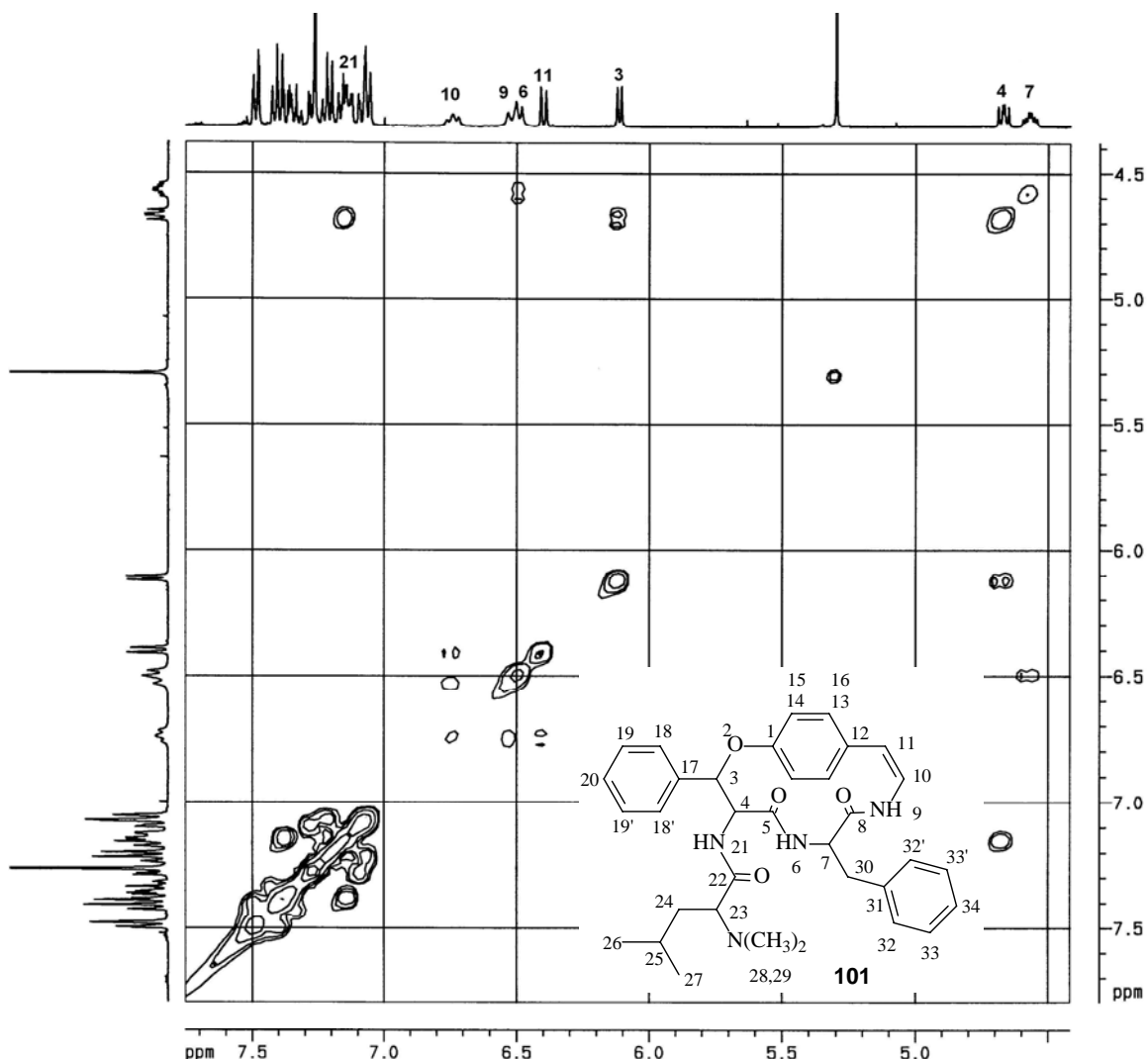


Figura 44 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 4,0-7,90 ppm de A05, em CDCl_3 a 400 MHz.

Para a atribuição do sistema de spins formado pelos hidrogênios metínicos α - (H-4) e β -carbonílicos (H-3) e o hidrogênio amídico (NH-21) da unidade β -fenilserina (Figura 21), tomou-se como ponto de partida o sinal correspondente hidrogênio H-3, que mostra correlação somente com H-4 em δ 6,11 ppm. Este, por sua vez, apresenta correlação com hidrogênio amídico NH-21 em δ 7,21 ppm.

As correlações observadas entre o hidrogênio α -carbonílico H-23 (δ 2,26 ppm) com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-24 (δ 1,09 ppm) e H-24' (δ 0,96 ppm), estes por sua vez, mostrando correlação com o hidrogênio metínico

H-25 (δ 1,48 ppm), enquanto H-25, também mostra correlação com as metilas CH₃-26 (δ 0,79 ppm) e CH₃-27 (δ 0,85 ppm), foram fundamentais para identificação da unidade leucina, como resíduo terminal básico.

A hipótese de que a unidade fenilalanina faz parte da estrutura de A05, foi confirmada através do espectro COSY, onde se observa a correlação do hidrogênio amídico NH-6 (δ 5,96 ppm) com hidrogênio metínico H-7 (δ 4,26 ppm). H-7 também mostra correlação com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos em H-30 (δ 2,87 ppm) e H-30' (δ 3,31 ppm); estes, por sua vez, mostram somente correlação entre si. Assim, pode-se afirmar que existe um carbono desidrogenado vicinal a estes hidrogênios, o que implica que a unidade fenilalanina faz parte do sistema macrocíclico de A05 como α -aminoácido.

O sistema de spins formado pelos hidrogênios do grupo enamina foi caracterizado através da correlação entre o hidrogênio amídico NH-9 (δ 6,52 ppm), que apresenta correlação com hidrogênio olefínico H-10 (δ 6,74 ppm). Este, por sua vez, correlaciona-se com o sinal do hidrogênio H-11 (δ 6,39 ppm), definindo assim a enamina da unidade estirilamina.

O espectro de RMN de ^{13}C , totalmente desacoplado de A05 (Figura 45) apresenta sinais distribuídos numa região espectral, entre δ 22,0-175,0 ppm, indicando a presença de carbonos metílicos, metilênicos, metínicos e desidrogenados. Os sinais, principalmente os pertencentes aos carbonos aromáticos das unidades β -fenilserina, fenilalanina e *p*-hidróxiestirilamina, foram atribuídos com base nos dados disponíveis na literatura.

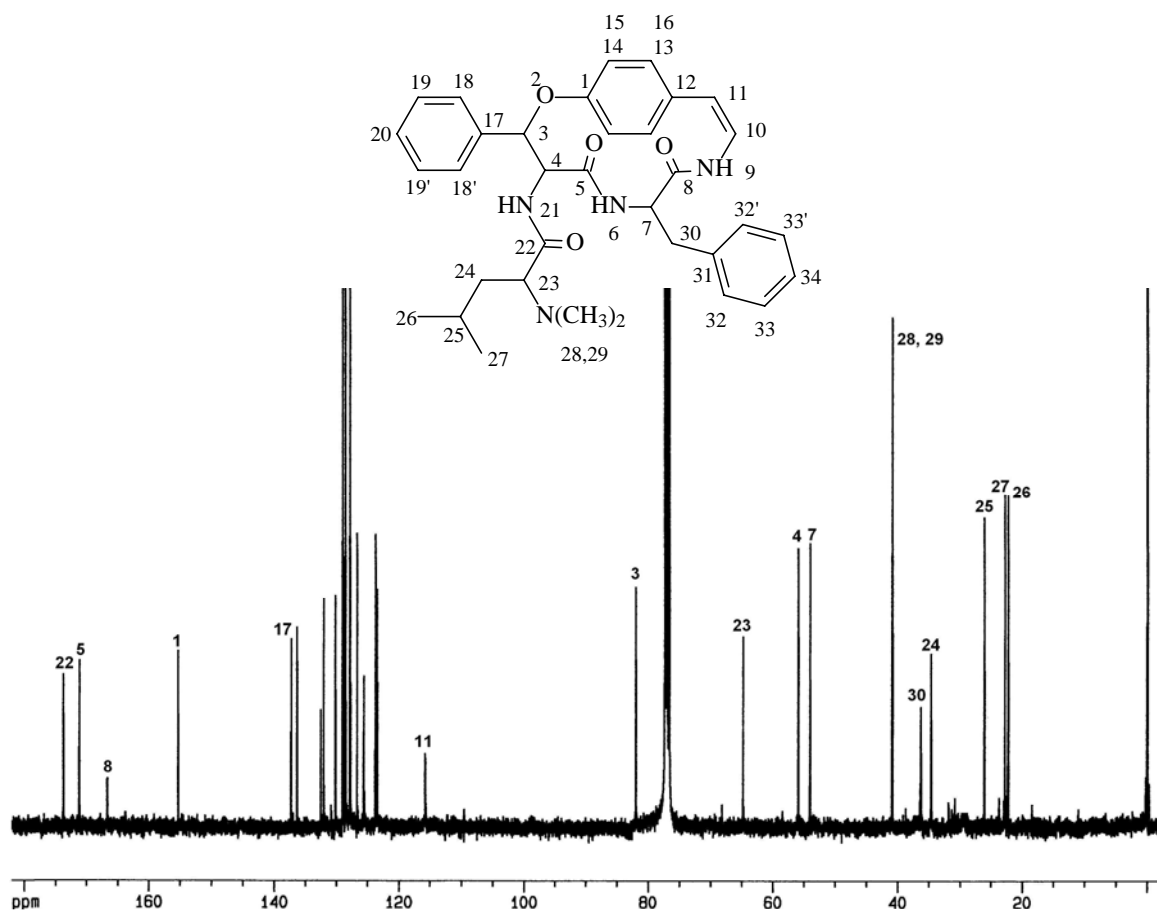


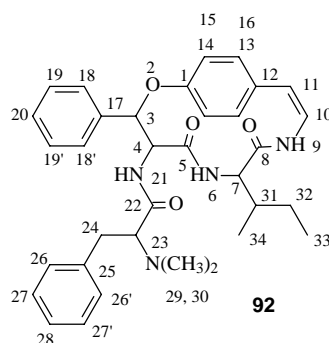
Figura 45 - Espectro de RMN de ^{13}C de A05, em CDCl_3 a 100 MHz.

A análise destes resultados e o auxílio dos dados da literatura permitiram a proposição da estrutura **101** para A05, como o alcalóide ciclopeptídico discarina D. Este alcalóide foi isolado pela primeira vez de *Discaria febrífuga*.¹³

Os dados físicos e espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C , de **101** (A05) estão listados na parte experimental (Página 66).

5.1.1.2.1.9 Alcalóide A16

Este alcalóide foi encontrado somente no material coletado em Santana do Livramento (Tabela 17). Apresentou-se como um sólido branco, solúvel CHCl_3 , após sucessivas recristalizações em acetona, o qual teve sua pureza comprovada em CCD em vários sistemas de solventes. Desenvolveu reação positiva com reagente de Dragendorff, pelo aparecimento de mancha alaranjada, indicando a presença de nitrogênio básico em sua estrutura.



Uma análise preliminar do espectro unidimensional de RMN de ^1H (Figura 46) do metabólito A16 revela sinais pertencentes às unidades β -fenilserina, isoleucina e *N,N*-dimetil fenilalanina.

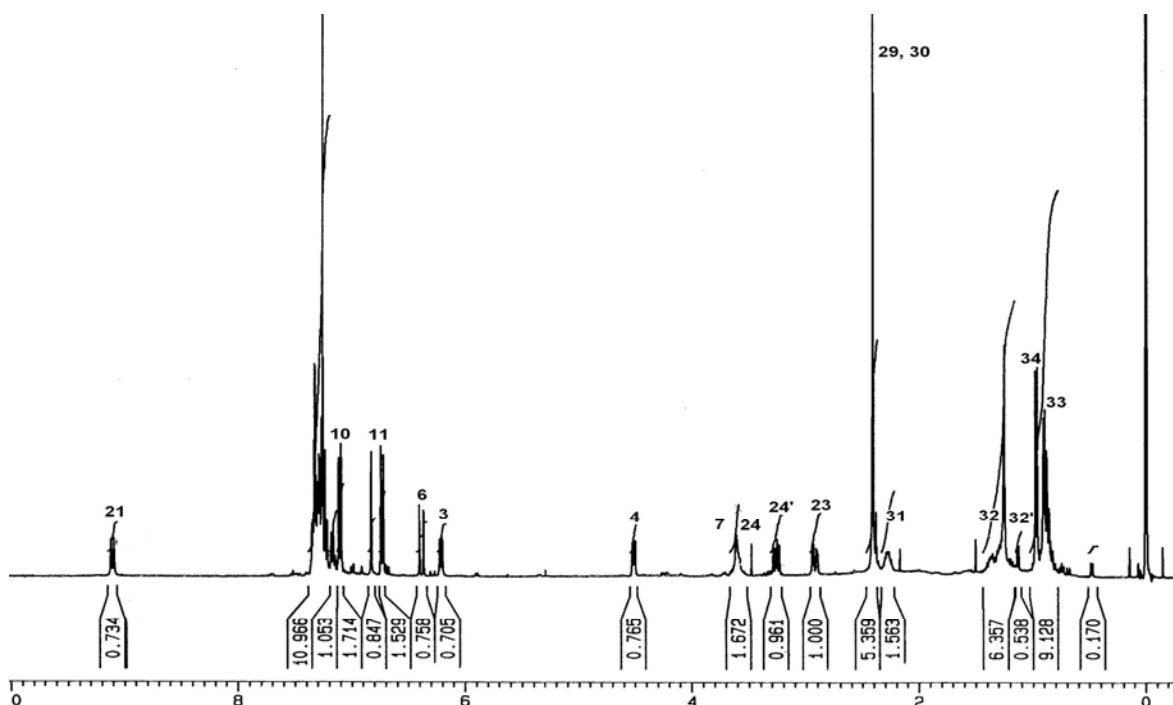


Figura 46 - Espectro de RMN de ^1H de A16, em CDCl_3 a 400 MHz.

O sinal do hidrogênio metínico H-7 (α -carbonílico), na forma de um duplo dubleto, em δ 3,62 ppm ($J= 6,2, 10,4$ Hz), resultante do acoplamento com o hidrogênio metínico H-31 (δ 2,17 ppm) e com o hidrogênio amídico NH-6 (δ 6,38 ppm), sugere a presença da unidade isoleucina como α -aminoácido participante do sistema macrociclo de 14 membros. Já os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-32 e H-32', dessa unidade, correspondem aos sinais em δ 1,27 e 1,37 ppm, respectivamente; enquanto os hidrogênios pertencentes às metilas Me-33 e Me-34 foram atribuídas aos sinais em δ 0,85 (triplete) e δ 0,97 (dubleto).

No mesmo espectro é possível se identificar os sinais referentes aos hidrogênio metínico H-23 (α -carbonílico) em δ 3,11 ppm, na forma de um duplo dubleto; e os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-24 (δ 2,92 ppm) e H24' (δ 3,26 ppm), do resíduo terminal básico. O singleto em δ 2,41 ppm refere-se aos seis hidrogênios pertencentes às duas metilas, Me-28 e Me-29, do resíduo básico terminal *N,N*-dimetilado.

À maneira similar de A04, A05 e A6, a unidade β -fenilserina em A16 foi caracterizada a partir do deslocamento químico típico do hidrogênio metínico β -carbonílico H-3 em δ 6,21 ppm, como um dubleto devido ao acoplamento com o hidrogênio metínico α -carbonílico H-4 em δ 4,51 ppm (duplo dubleto), enquanto o hidrogênio amídico NH-21 ressona em δ 9,11 ppm, forma de um dubleto em consequência do acoplamento com H-4.

Os hidrogênios pertencentes ao grupo enamina da unidade *p*-hidróxiestirilamina foram atribuídos a partir das observações nos espectros dos alcalóides já descritos. Assim, o hidrogênio amídico NH-9 é representado por um dubleto em δ 6,82 ppm, resultante do acoplamento com H-10. H-10 corresponde ao um duplo dublete em δ 6,65 ppm, pois acopla com H-11 e o hidrogênio amídico NH-9, enquanto H-11 é representado por um dublete δ 6,73 ppm, resultante do acoplamento com H-10.

Os hidrogênios aromáticos pertencentes às unidades β -fenilserina, estirilamina e do resíduo terminal básico, apresentam deslocamentos entre δ 7,09-7,35 ppm, gerando sinais sobrepostos de difícil atribuição.

O espectro COSY apresenta as correlações via $^1J_{H-H}$ entre os hidrogênios presentes em de A16, confirmando a presença das unidades β -fenilserina, isoleucina e *N,N*-dimetil fenilalanina, através dos sistemas de spins formados.

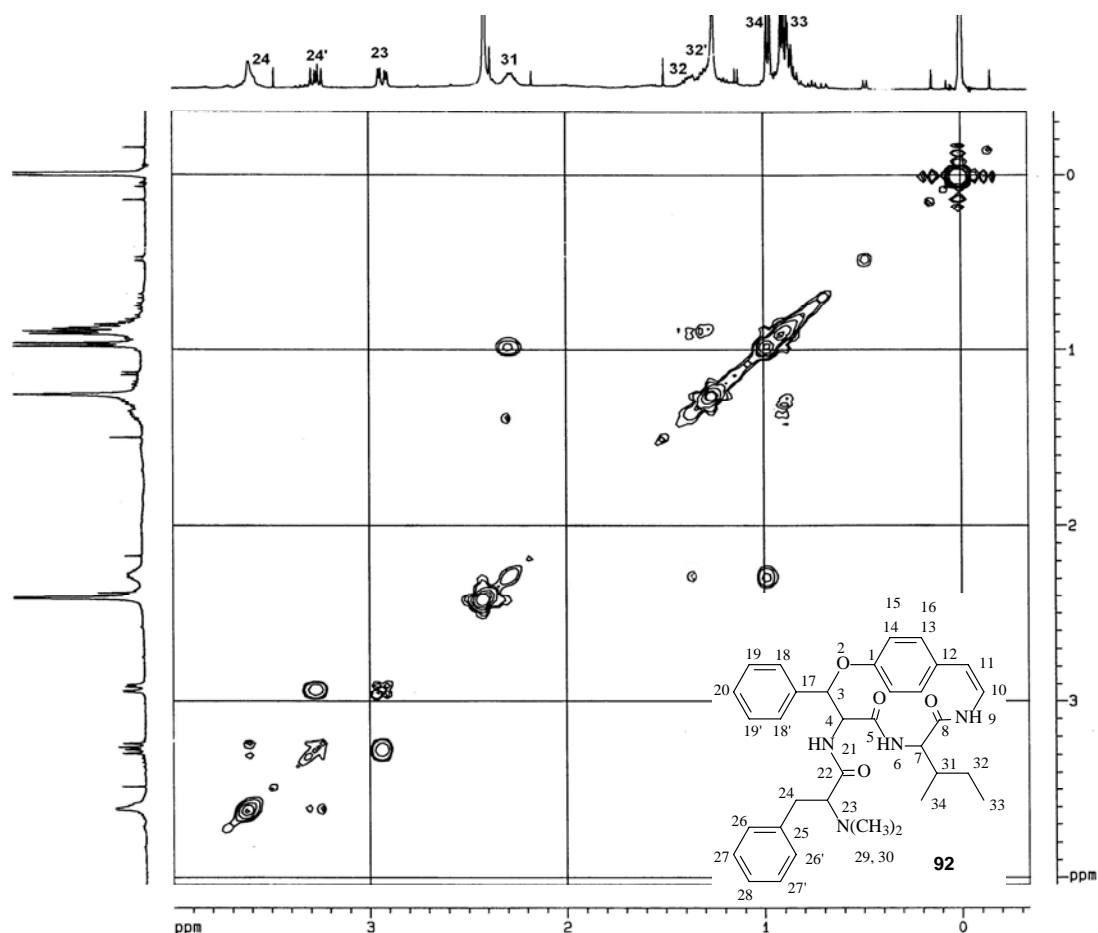


Figura 47 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 0,0-3,90 ppm de A16, em CDCl_3 a 400 MHz.

A unidade *N,N*-dimetil fenilalanina no espectro COSY (Figura 47) foi caracterizada a partir da correlação observada entre hidrogênio metínico H-23 em δ 2,87 ppm com o hidrogênios metilênicos diastereotópicos H24' (δ 3,26 ppm). Este por sua vez, mostra correlação com os outros hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-24 (δ 2,92 ppm), formando assim um sistema isolado de spins.

A presença da unidade isoleucina, como α -aminoácido participante do sistema macrocíclico, foi identificada neste espectro, através das correlações observadas entre o hidrogênio metínico H-7 em δ 3,62 ppm com o hidrogênio amídico NH-6 e com o hidrogênio metínico, H-31, em δ 2,17 ppm. H-31 também apresenta correlação com a metila Me-34 em δ 0,97 ppm e com os hidrogênios diastereotópicos H-32 e H-32' em δ 1,27 e 1,37 ppm, respectivamente, e estes por sua vez correlacionam-se com o sinal em δ 0,85 ppm, relativo à metila CH_3 -33.

A correlação entre o sinal em δ 6,21 ppm, correspondente ao hidrogênio metínico H-3, com sinal em δ 5,51 ppm, atribuído ao hidrogênio metínico α -carbonílico H-4 e este por sua mostrando correlação com o sinal em δ 9,11 ppm, correspondente ao hidrogênio amídico NH-21, permitiram identificar a unidade β -fenilserina como o hidroxiaminoácido em A16.

O espectro de RMN de ^{13}C de A16 (Figura 48) apresenta vinte seis sinais de carbonos. Destes sinais, sete indicam sobreposição de dois núcleos de carbonos, perfazendo um total de trinta e quatro átomos de carbono presentes em A16.

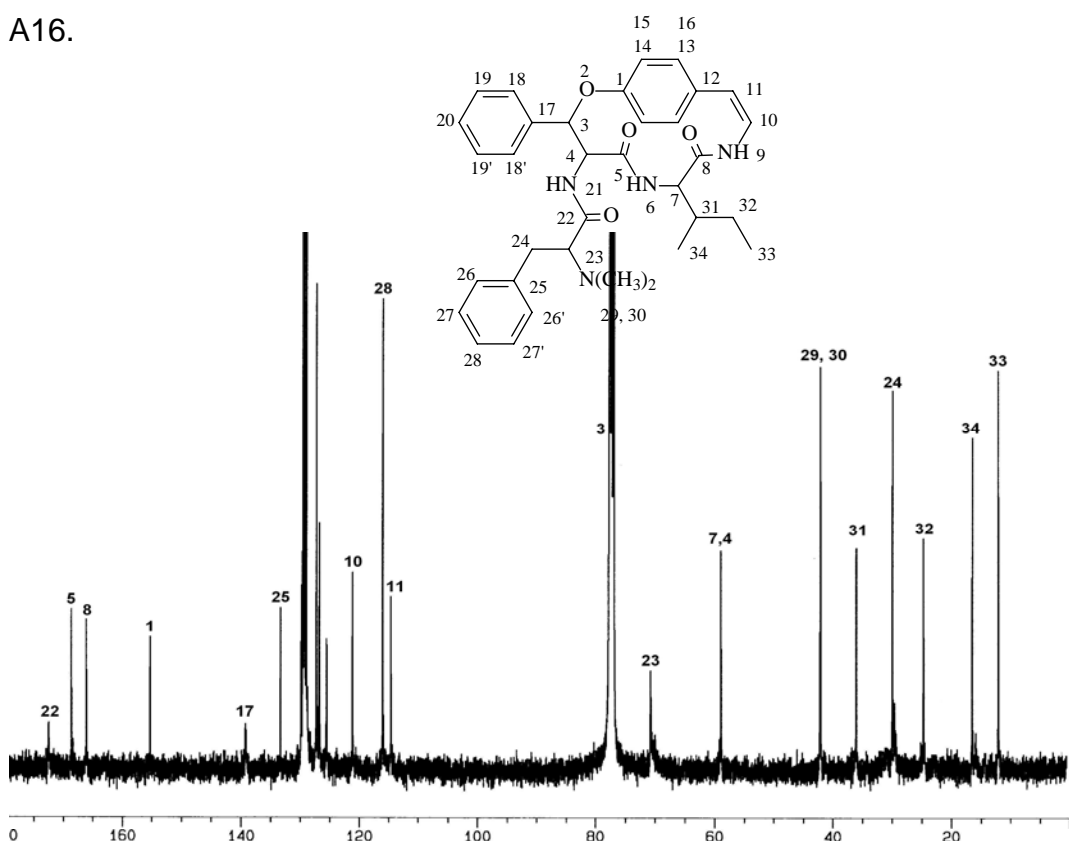


Figura 48 - Espectro de RMN de ^{13}C de A16, em DCCl_3 a 100 MHz.

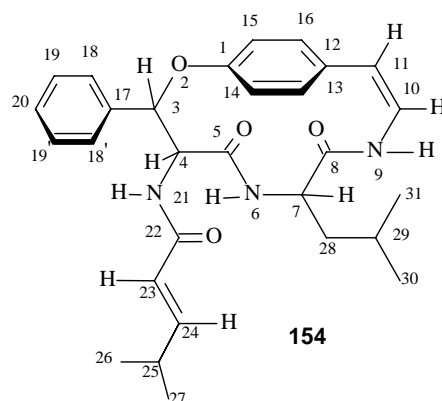
Através de comparação com registros na literatura, dos dados acima descritos foi proposta a estrutura **92** para A16, a qual corresponde ao alcalóide ciclopeptídico adoutina Y, já descrito anteriormente na literatura,⁶¹ porém isolado pela primeira vez de *Discaria americana*.

5.1.1.2.2 Ciclopeptídeos Neutros

Dentre os metabólitos isolados da casca da raiz de *D. americana*, foram isolados varias substâncias neutras com estruturas análogas aos alcalóides ciclopeptídicos discutidos anteriormente. Este tipo de estrutura tem causado confusão quanto sua classificação. A maioria foi publicada como sendo compostos ciclopeptídeos neutros, cuja denominação utiliza a terminação *eno*. Isto para diferenciar dos alcalóides ciclopeptídicos de estruturas análogas, cuja denominação utiliza a terminação *ina*. Um único trabalho da literatura considera estas estruturas neutras como alcalóides, cujas denominações utiliza a terminação *ina*. Esta publicação corresponde aos resultados de uma parte do trabalho aqui descrito, cuja classificação e denominação utilizadas (discarinas M e N), se deve a uma exigência do “referee” que analisou o trabalho, e do próprio editor do periódico.²³ Devido a estas estruturas não darem teste positivo com o reagente de Dragendorff, e por não apresentarem a unidade *N,N*-dimetil, responsável pela basicidade, serão consideradas, neste trabalho, como peptídeos cíclicos e não como alcalóides. As estruturas isoladas deste tipo foram denominadas de discareno C (**154**), discareno D (**155**), discarina M (**156**) e discarina N (**157**).

5.1.1.2.2.1 Identificação do ciclopeptídeo D02

Este metabólito foi isolado somente da fração básica etérea, da casca da raiz de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento (Tabela 17). Apresentou-se em forma de um sólido amorfo e resultou esbranquiçado sob aplicação do reagente de Dragendorff em CCD.



As análises dos espectros de RMN de ^1H (Figura 49) e ^{13}C (Figura 60) deste metabólito mostraram algumas semelhanças com os espectros de RMN ^1H

(Figura 37) e ^{13}C (Figura 39) do alcalóide discarina C (**100**). Diferenças marcantes entre os espectros foram: ausência do grupamento *N,N*-dimetil básico terminal; inexistência dos hidrogênios diastereotópicos H-24 e H-24'; aparecimento de dois sinais correspondentes a hidrogênios olefínicos, um dubleto em δ 5,23 ppm e um duplo dubleto em δ 6,36 ppm. Esta diferença entra as duas estruturas pode ser atribuída a uma possível eliminação do tipo Hoffmann do grupo *N,N*-dimetil, formando a dupla ligação. Essas observações, associadas as análises dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C bidimensionais do tipo COSY, NOESY, HMQC e HMBC, permitiram propor a estrutura **154** para o peptídeo cíclico, denominado neste trabalho de discareno C, devido a semelhança estrutural com o alcalóide discarina C (**100**).

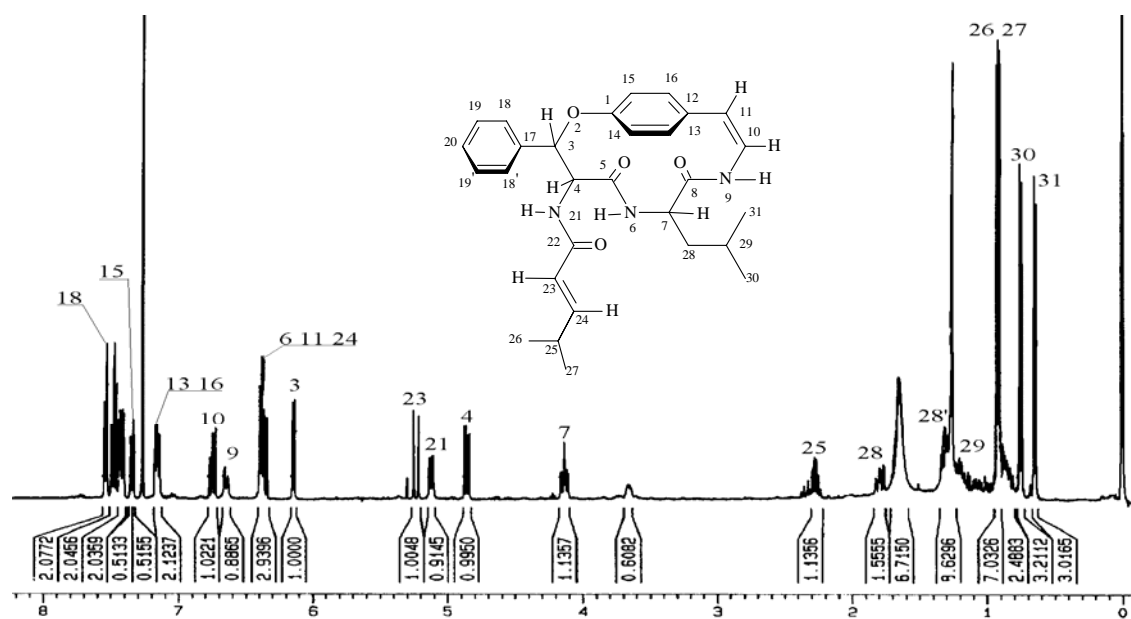


Figura 49 - Espectro de RMN de ^1H de D_2O em CDCl_3 , a 400 MHz.

Na expansão do espectro da Figura 50, as duas metilas Me-30 e Me-31, do grupo *iso*-butil da unidade leucina, aparecem em δ 0,75 e 0,64 ppm, na forma de dubletos, resultantes do acoplamento com H-29, que ressona a δ 1,80 ppm.

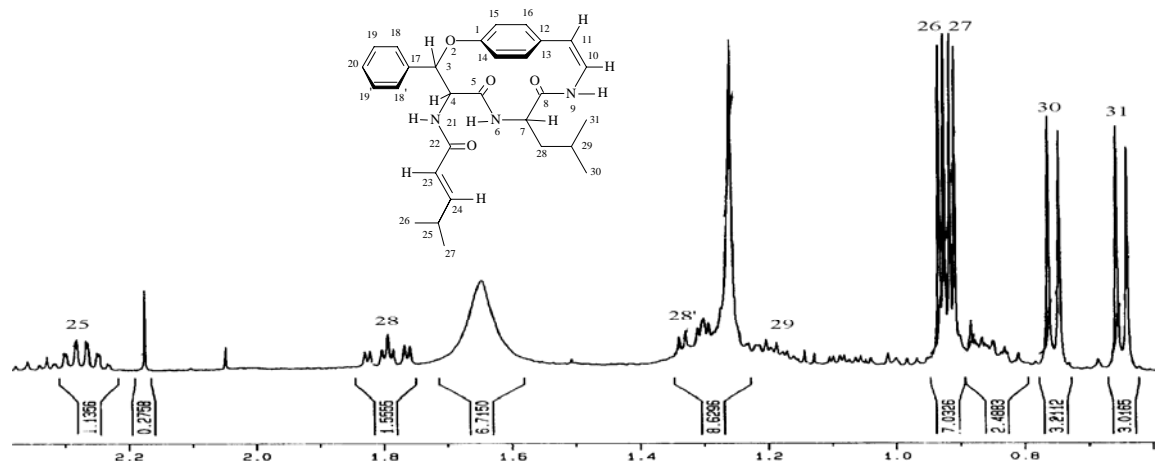


Figura 50- Espectro expandido de RMN de ^1H , região entre δ 0,63-2,35 ppm de D_2O , em CDCl_3 , a 400 MHz.

O Hidrogênio metínico H-7 (Figura 51), apresenta-se como um multipeto a δ 4,13 ppm, devido ao acoplamento com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-28, H-28' (δ 1,79 e 1,29 ppm) e com o hidrogênio amídico NH-6 (δ 6,38 ppm).

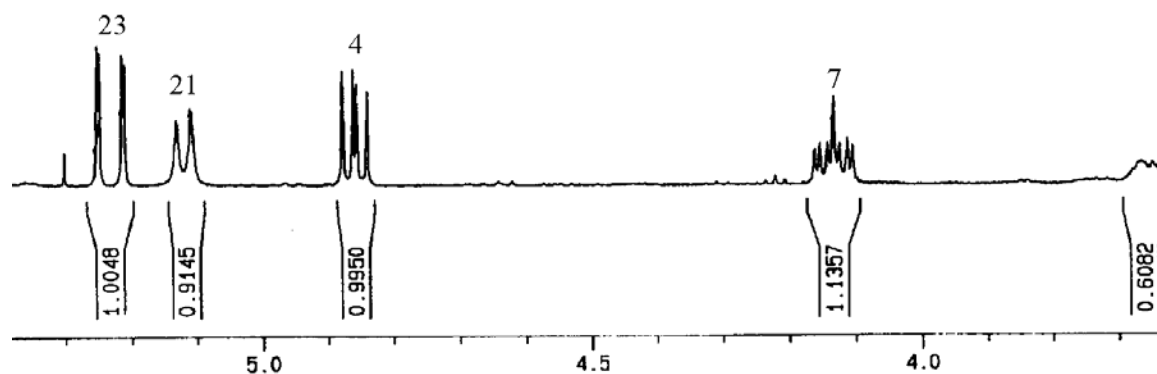


Figura 51 - Espectro expandido de RMN de ^1H , na região δ 3,51-5,94 ppm de D_2O , em CDCl_3 , a 400 MHz.

O espectro expandido (Figura 51) permitiu confirmar a presença do grupamento não participante do sistema macrocíclico de 14 membros em discareno C. Esse grupamento foi identificado através dos sinais localizados em δ 6,36 e 5,23 ppm. O sinal que aparece a δ 5,23 ppm, na forma de dubleto, J 15,4

Hz, corresponde ao hidrogênio olefínico H-23, devido ao acoplamento com o H-24, que ressona na forma de um duplo dublete a δ 6,36 ppm. O hidrogênio metínico H-25, apresenta-se na forma de um multipletto à δ 2,27 ppm, devido ao seu acoplamento com o hidrogênio olefínico H-24 e com as metilas heterotópicas Me-26 (δ 0,92 ppm) e Me-27 (δ 0,91 ppm).

Os hidrogênios metínicos H-3 e H-4, da unidade β -fenilserina, apresenta-se como dublete a δ 6,14 ppm (J_{3-4} 6,2 Hz) e duplo dublete a δ 4,68 ppm (J_{4-21} 8,8 Hz), respectivamente.

Os deslocamentos químicos dos hidrogênios que encontram-se na região espectral entre δ 6,34-7,54 ppm, fazem parte da unidade *p*-hidróxiestirilamina e β -fenilserina, em forma de sinais complexos, difíceis de serem resolvidos. Esses sinais foram totalmente definidos pela análise dos espectros bidimensionais homo- e heteronucleares do tipo COSY, NOESY, HMQC e HMBC.

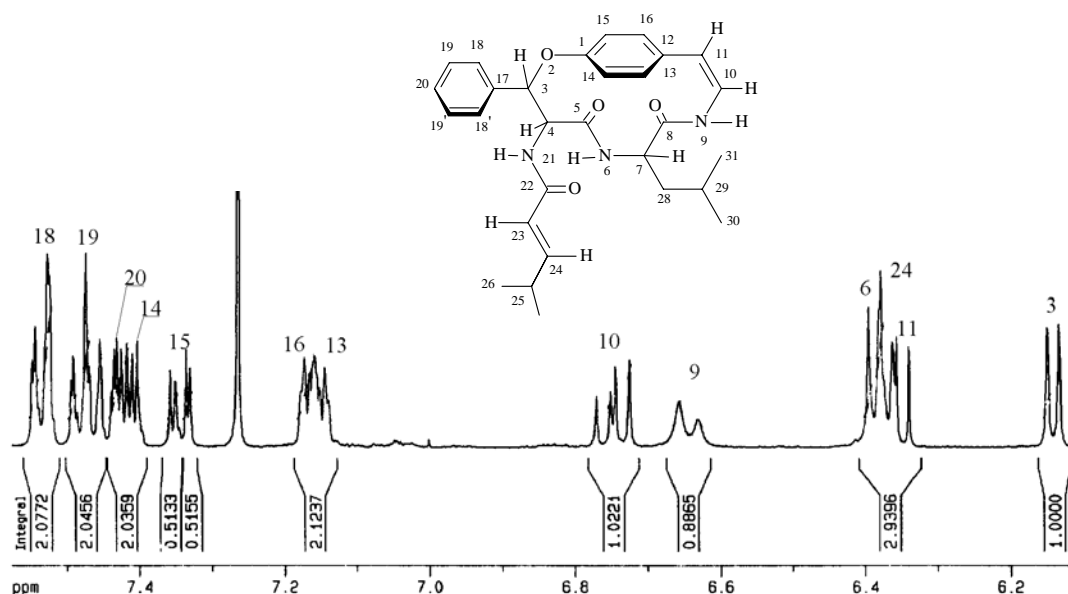


Figura 52 - Espectro expandido de RMN de ^1H , na região δ 6,13-7,54 ppm de discareno C, em CDCl_3 , a 400 MHz.

Com o propósito de assinalar inequivocamente os hidrogênios da estrutura **154**, foi realizado o experimento do tipo COSY, correlação ^1H - ^1H .

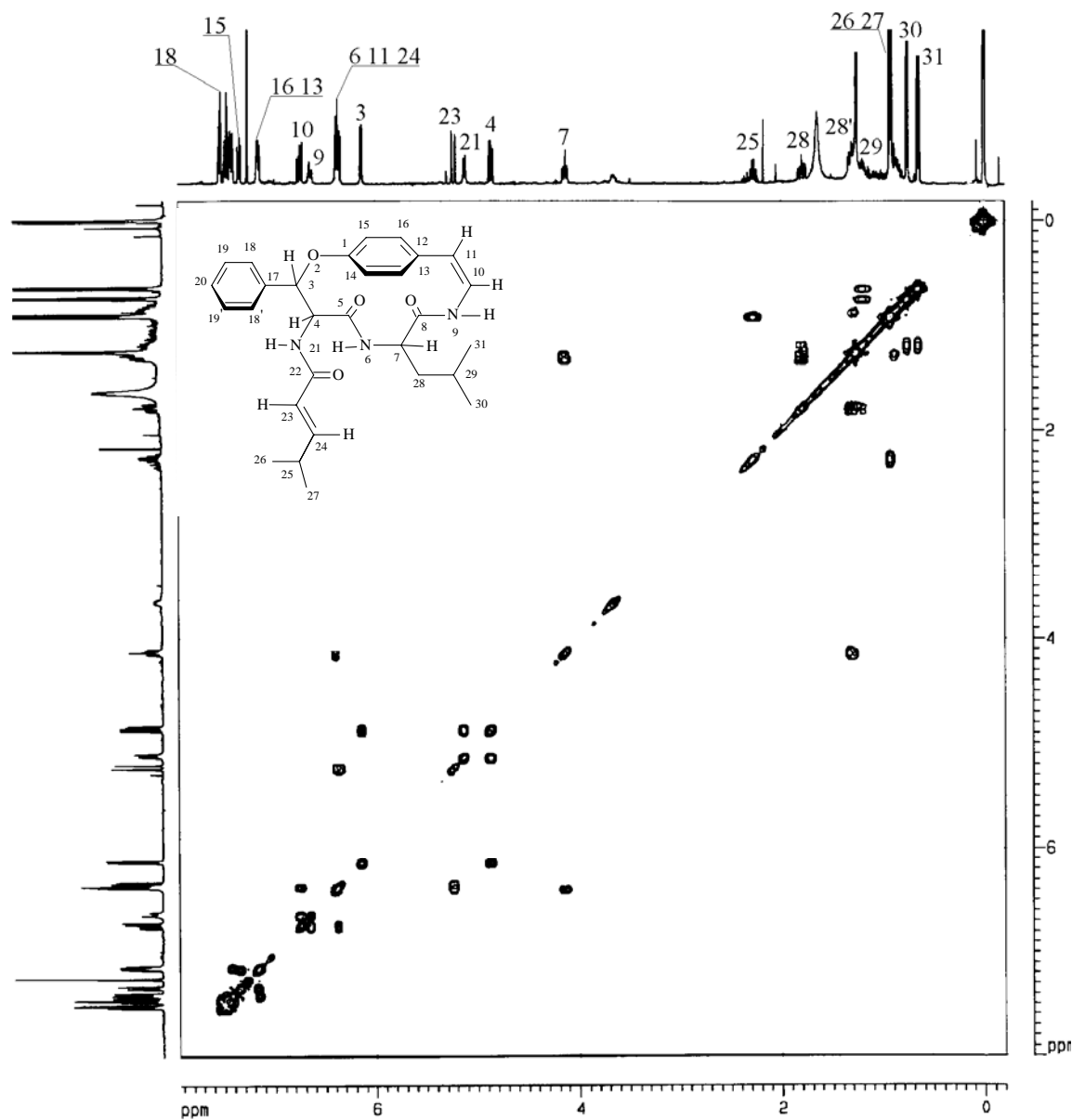


Figura 53 - Espectro de RMN de 2D, COSY de D02, em CDCl_3 a 400 MHz.

Através da análise deste espectro, expandido na região de δ 4,10-6,77 ppm (Figura 54) pôde-se confirmar os hidrogênios metínicos H-3, H-4 e o hidrogênio amídico NH-21. O hidrogênio metínico H-3, localizado em δ 6,14 ppm, apresenta correlação com um sinal que ressona a δ 4,68 ppm, referente ao hidrogênio metínico H-4, um duplo dublete, que por sua vez, correlaciona-se com o hidrogênio amídico NH-21 a δ 5,12 ppm.

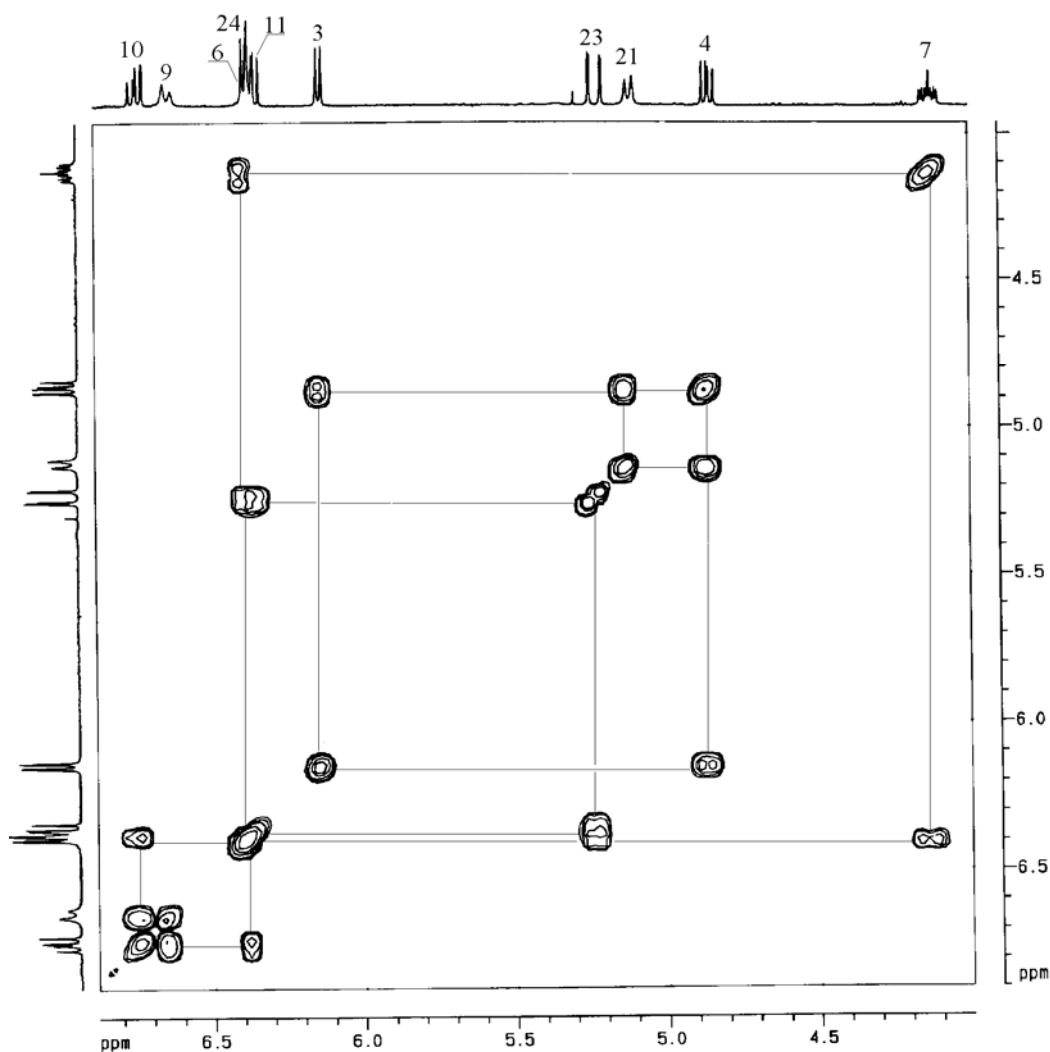


Figura 54 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 4,10-6,77 ppm de D₂O, em CDCl₃ a 400 MHz.

A atribuição no mesmo espectro, para a unidade enamina do sistema macrocíclico, iniciou-se pelo sinal localizado em δ 6,74 ppm correspondente ao hidrogênio metínico H-10, que correlaciona-se com o hidrogênio metínico H-11 a δ 6,37 ppm, e com o hidrogênio amídico NH-9 a δ 6,64 ppm.

Este espectro também revela a correlação entre o hidrogênio H-23, a δ 5,23 ppm, com H-24, a δ 6,36 ppm. H-24, por sua vez, apresenta correlação com H-25, localizado a δ 2,27 ppm.

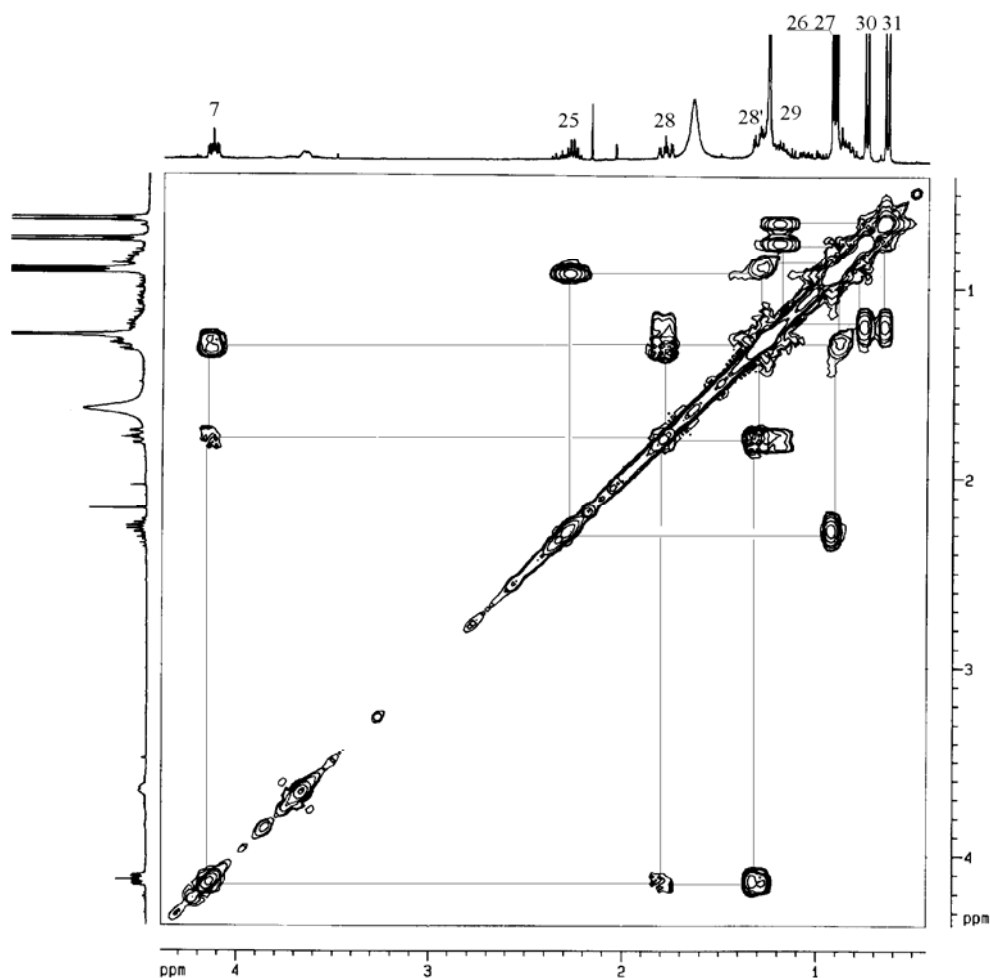


Figura 55 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 0,63-2,35 ppm de D02, em CDCl_3 a 400 MHz.

No espectro da Figura 55, observa-se a correlação existente entre o hidrogênio metínico H-25 com as metilas heterotópicas Me-26 a δ 0,92 ppm e Me-27 a δ 0,91 ppm. Nesse mesmo espectro, verifica-se a correlação entre o hidrogênio metínico H-7 com os hidrogênios diastereotópicos H-28 e 28'. Estes apresentaram correlações entre si e com o hidrogênio metínico H-29, que por sua vez, correlaciona-se com as metilas Me-30 e Me-31.

Os hidrogênios aromáticos, da unidade *p*-hidróxiestirilamina e β -fenilserina, somente foram definidos com o auxílio dos experimentos do tipo NOESY, HMQC e HMBC.

Deste modo, foi possível definir que os sinais da região espectral entre δ 7,52 a 7,43 ppm (Figura 56) correspondem aos hidrogênios aromáticos da unidade β -fenilserina, onde H-18 (δ 7,52 ppm) correlaciona-se com H-19, a δ 7,47 ppm, que por sua vez, apresenta correlação com H-20, a δ 7,43 ppm.

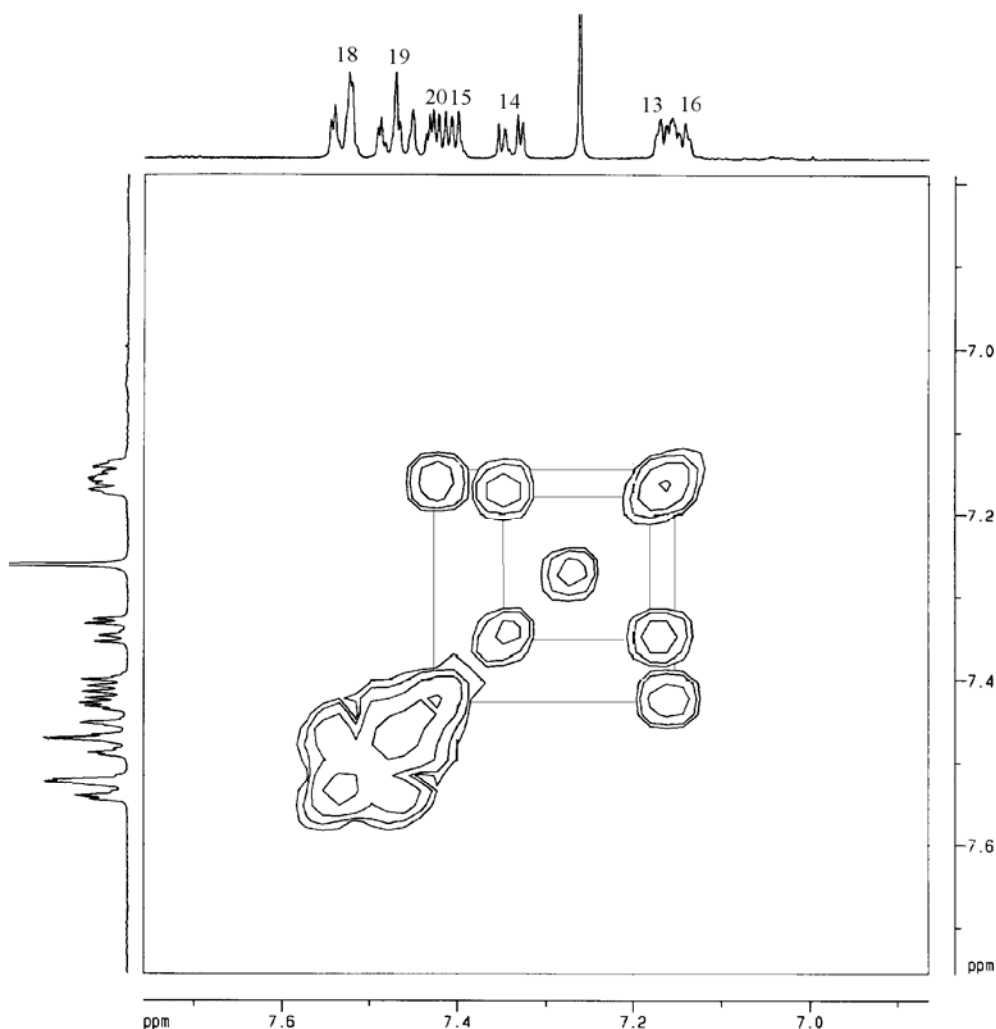


Figura 56 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 7,14-7,54 ppm de D02, em CDCl_3 a 400 MHz.

A atribuição dos hidrogênios da unidade *p*-hidróxiestirilamina foi possível a partir da definição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios da função éter, H-14 (δ 7,41 ppm) e H-15 (δ 7,33 ppm). Assim, as correlações apresentadas por estes no espectro COSY, permitem atribuir aos sinais à δ 7,15 ppm, para H-13 e δ 7,17 ppm, para H-16.

O experimento de RMN ^1H homonuclear bidimensional NOESY (Figura 57) deste ciclopeptídeo neutro permitiu obter informações importantes quanto à configuração dos centros assimétricos.

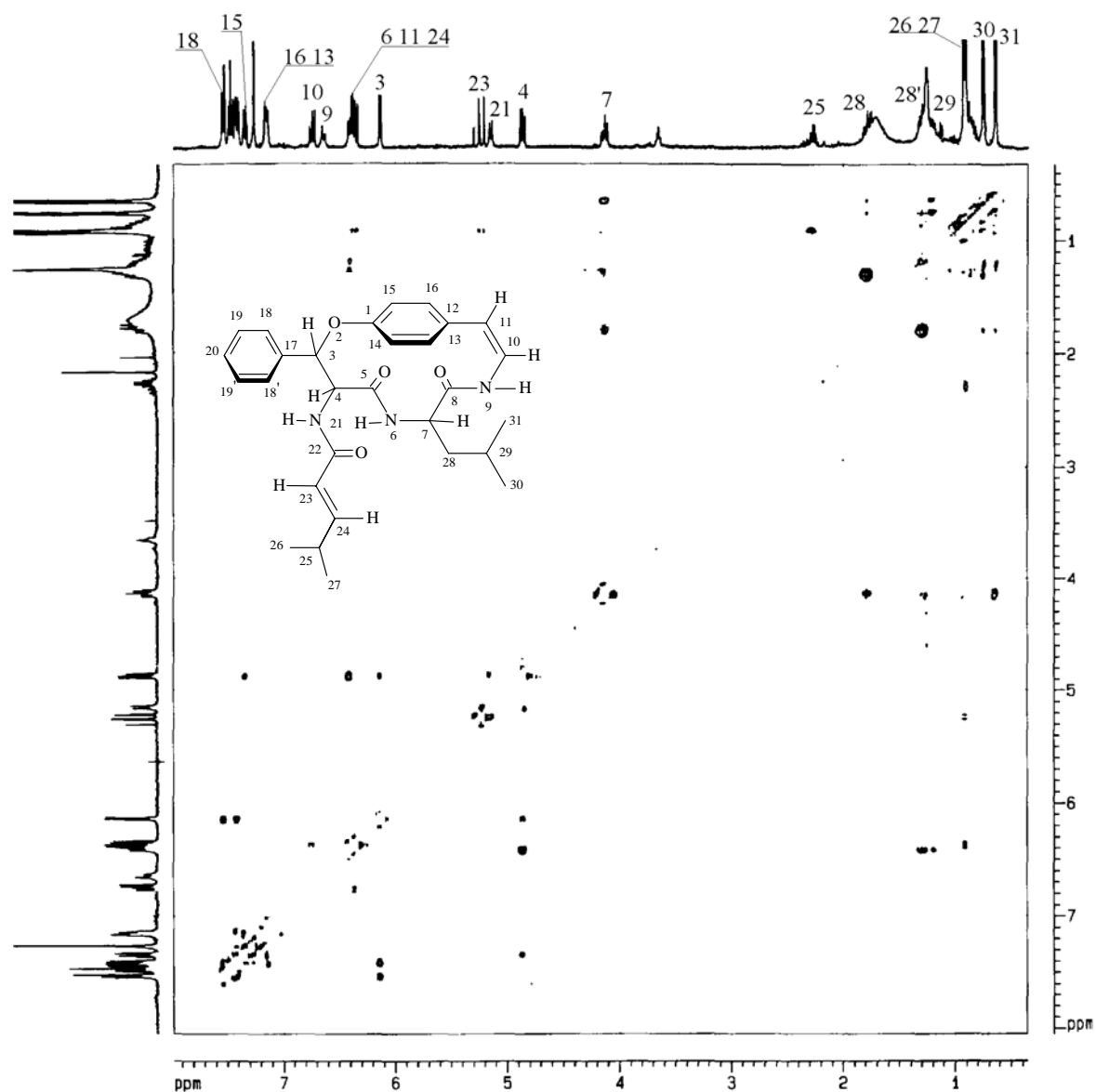


Figura 57 - Espectro de RMN de 2D, NOESY de D_2O , em CDCl_3 , a 400 MHz.

Por exemplo, no espectro expandido NOESY (Figura 58) observa-se a correlação do hidrogênio metínico H-3 com H-4 e com os hidrogênios aromáticos H-15 e H-18. O hidrogênio metínico H-4, por sua vez, apresenta correlação com os hidrogênios amídicos NH-21, NH-6 e com H-3, sugerindo uma geometria *syn* entre eles.

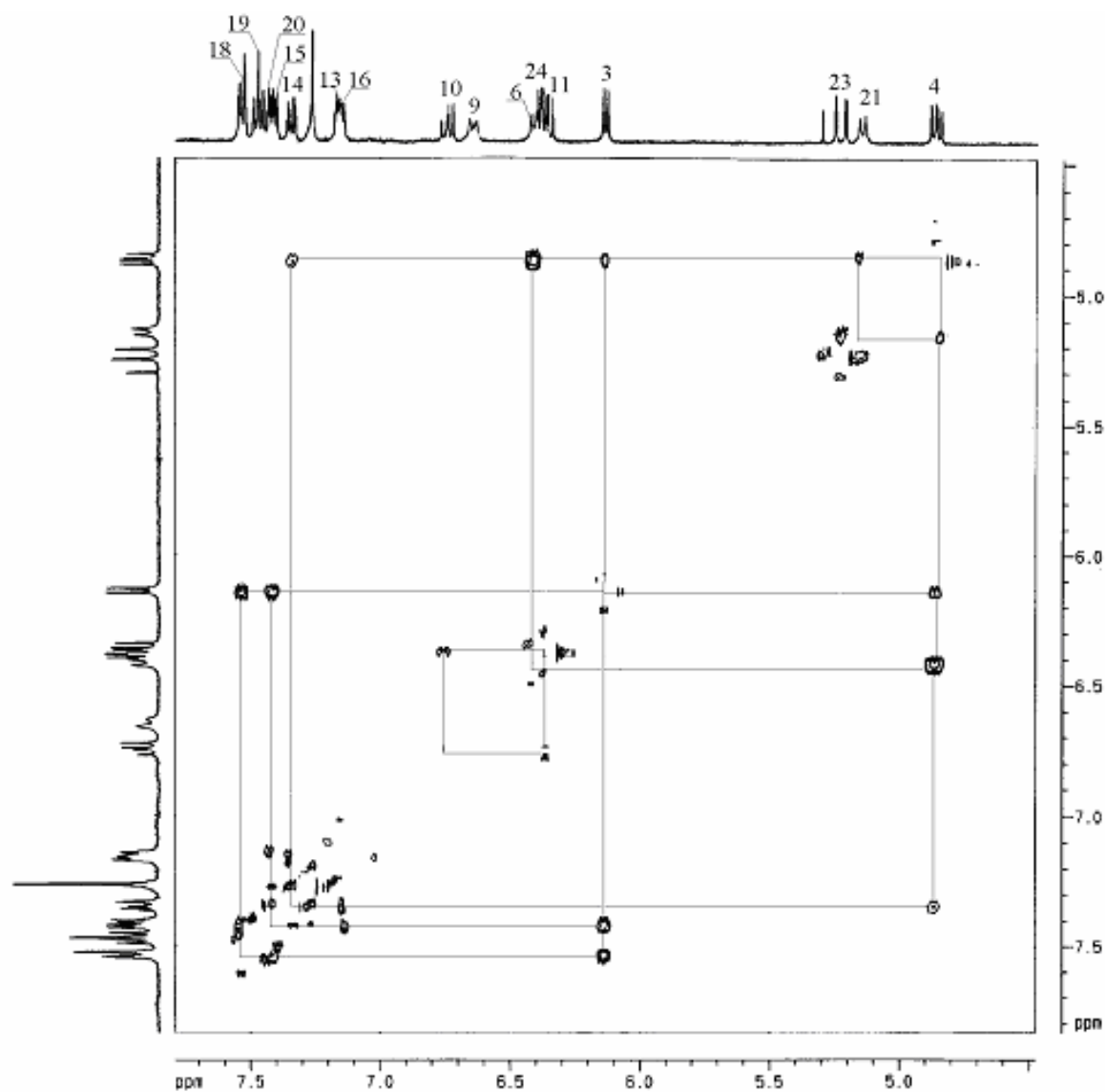


Figura 58 - Espectro expandido de RMN de 2D, NOESY, região δ 4,84-7,54 ppm de D₂O, em CDCl₃, a 400 MHz.

Um outro dado observado, é a não correlação entre os hidrogênios NH-6 e H-7, indicando uma geometria *anti* entre os mesmos. Por outro lado, H-7 apresenta correlação com os hidrogênios diastereotópicos H-28, 28', que por sua vez, correlacionam-se com as metilas Me-30 e Me-31.

Neste mesmo espectro, também pôde-se observar as correlações entre o hidrogênio amídico NH-21 com o hidrogênio olefínico H-23, que por sua vez, não mostra correlação com o hidrogênio H-24, indicando uma relação *trans* entre os mesmos.

A determinação da posição de ressonância dos hidrogênios das unidades estirilamina e fenilserina foi possível através da interação observada entre H-3 com os hidrogênios H-15 e H-18. As principais correlações espaciais observadas no espectro NOESY são mostradas na figura abaixo.

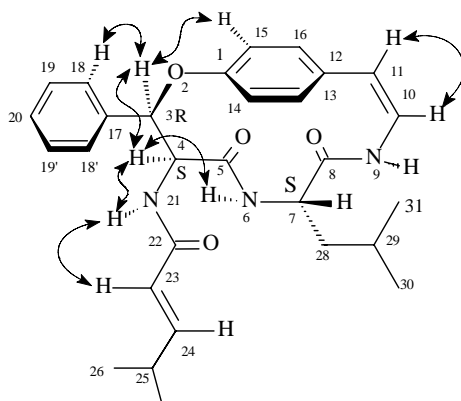


Figura 59 - Principais correlações observadas no espectro NOESY de D02.

O espectro de carbono (Figura 60) totalmente desacoplado (BB), de D02, apresentou 27 sinais, distribuídos na região entre δ 14,02-171,10 ppm. Desses sinais, dois indicam a presença de dois núcleos de carbonos, através de suas intensidades, perfazendo, em consequência, um total de 29 átomos de carbono, que correspondem ao número observado na estrutura **154**. O espectro DEPT 135° (Figura 61) confirmou a presença de seis carbonos não protonados em D02.

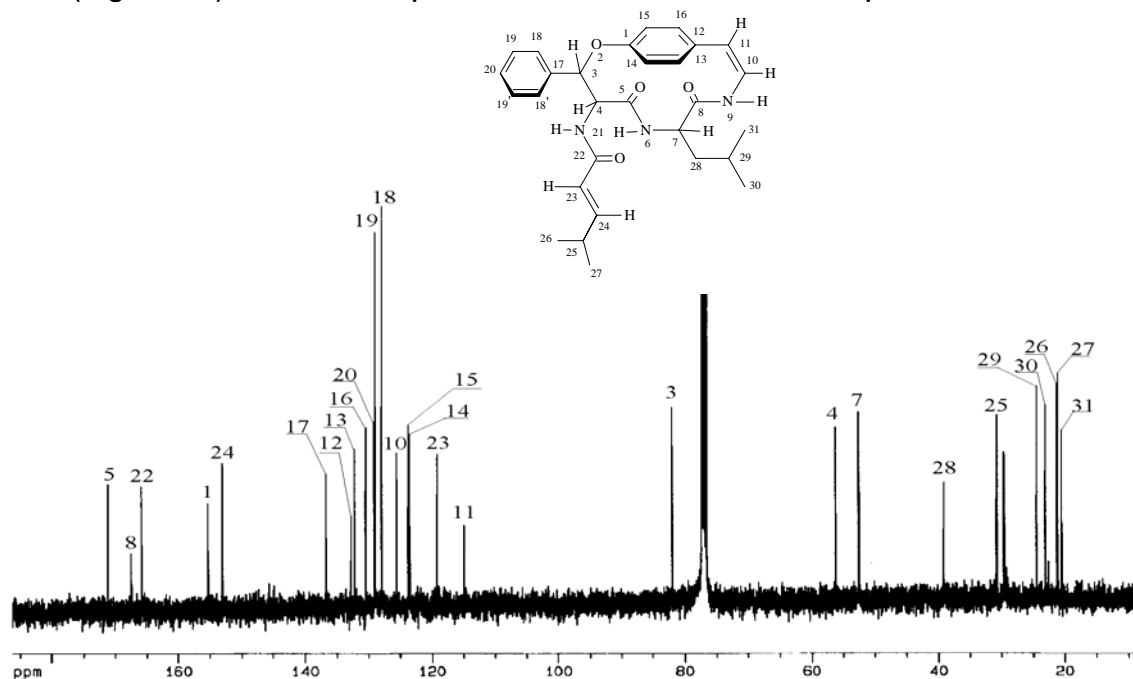


Figura 60 - Espectro de RMN de ^{13}C de D02, em CDCl_3 a 100 MHz.

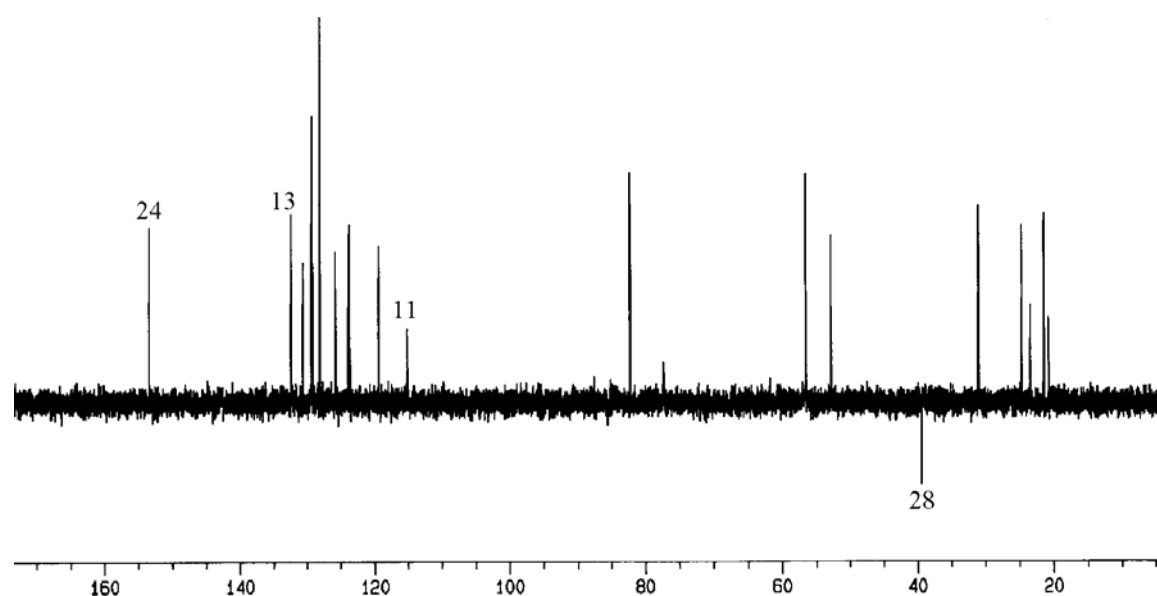


Figura 61 - Espectro de ^{13}C DEPT 135° de D02, em CDCl_3 , a 100 MHz

O experimento HMQC (Figuras 62 e 63) foi importante para a identificação dos sinais de carbonos com dois os núcleos, a posição dos hidrogênios diastereotópicos e os carbonos aromáticos, com seus respectivos hidrogênios.

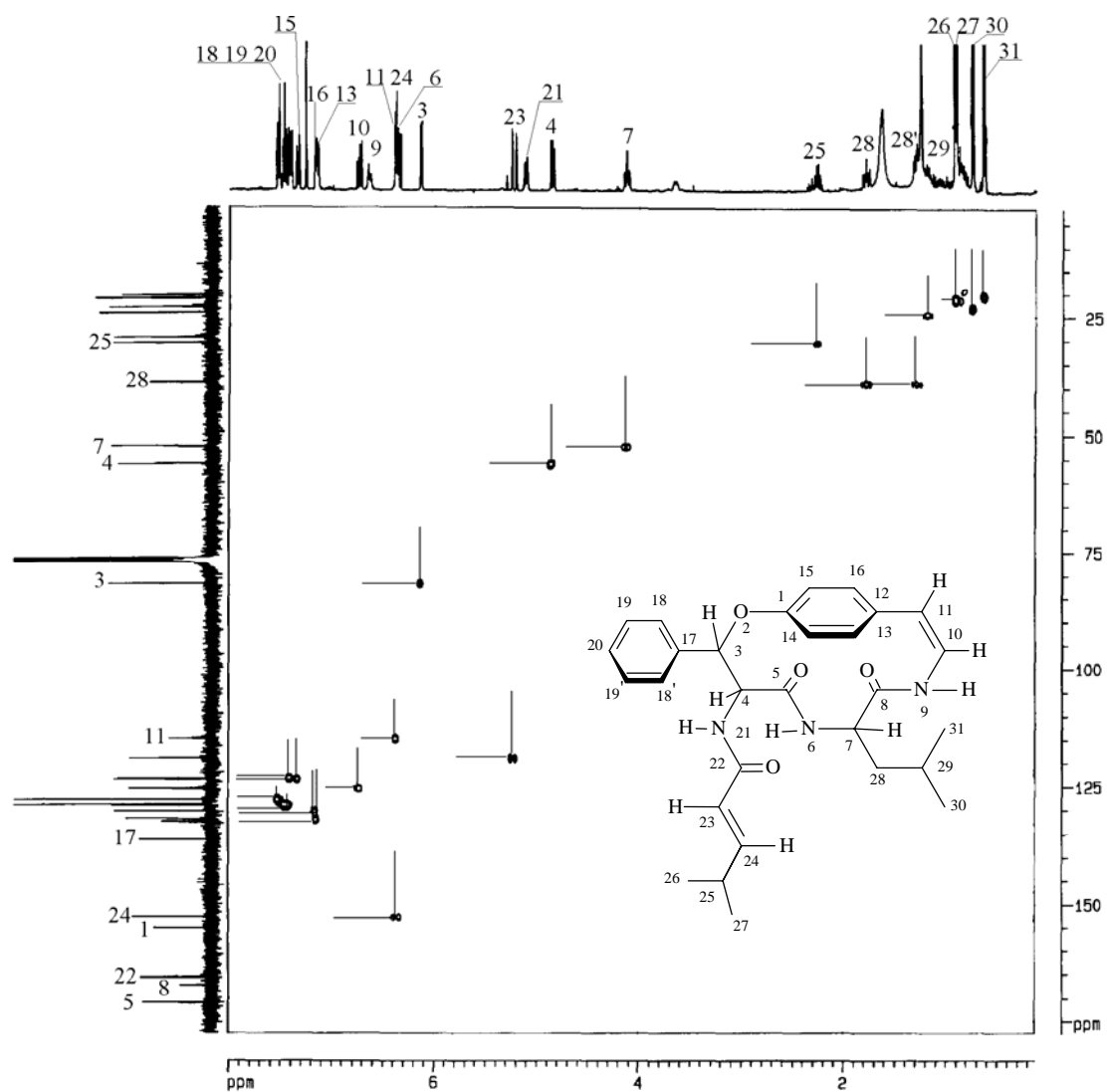


Figura 62 - Espectro 2D, heteronuclear $^1\text{J}_{\text{H-C}}$, HMQC de D₂O, em CDCl_3 , a 400 MHz.

Também foi possível, através desse experimento, identificar os dois hidrogênios geminais diastereotópicos H-28 e 28', localizados em campos diferentes, porém correlacionam com o mesmo carbono a δ 39,10 ppm.

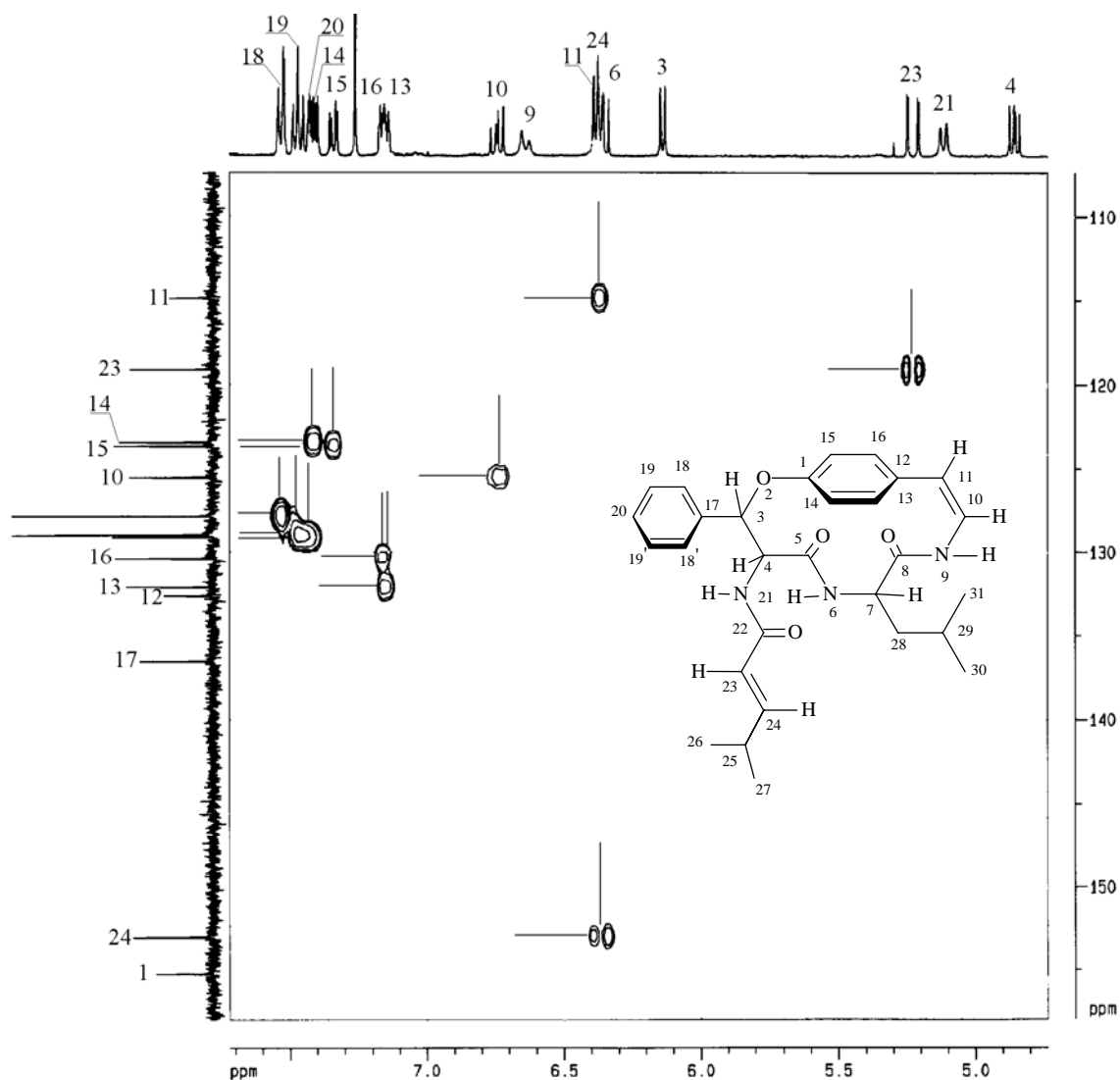


Figura 63 - Espectro expandido 2D, heteronuclear $^1\text{J}_{\text{H-C}}$, HMQC de D02, em CDCl_3 , a 400 MHz.

No espectro HMBC (Figura 64) foram observadas as correlações a longa distancia via $^2J_{H-C}$ e $^3J_{H-C}$, que permitiram atribuir corretamente todas as carbonilas e, principalmente, os carbonos pertencentes aos sistemas aromáticos e confirmar os demais presentes no metabólito.

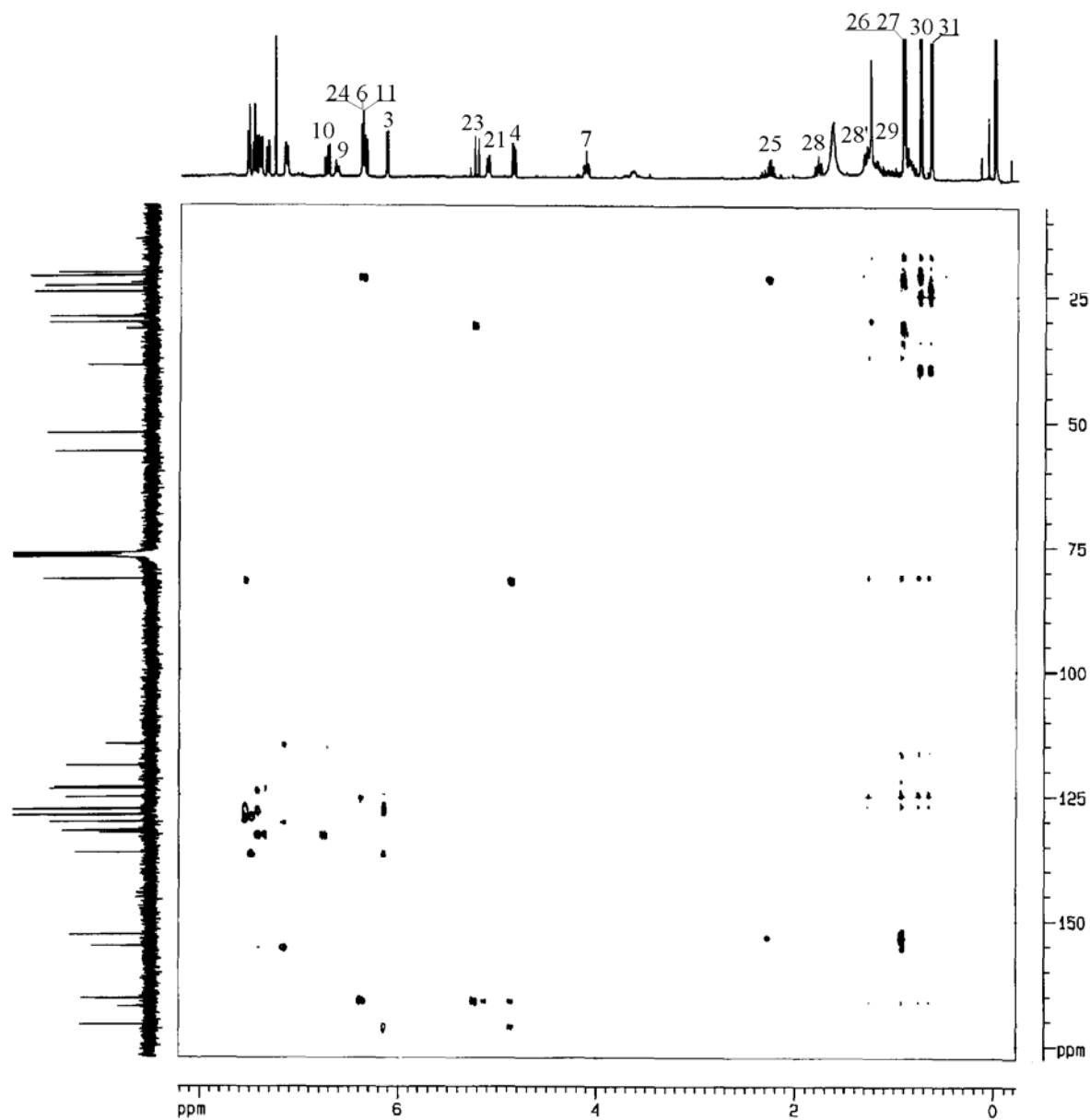


Figura 64 - Espectro 2D, heteronuclear $^{2-3}J_{H-C}$, HMBC de D02, em $CDCl_3$, a 400 MHz

No espectro expandido HMBC de D02 (Figura 66) observam-se, entre outras, as seguintes correlações: H-3 a δ 6,14 ppm com dois carbonos aromáticos C-17 a δ 136,55 ppm e C-18 a δ 127,86 ppm; H-14 e H-15 com o carbono quaternário C-12 a δ 132,67 ppm; H-16 e H-13 com C-11 a δ 114,89 ppm; H-11 com C-10 a δ 125,52 ppm; H-14 com C-15 a δ 123,66 ppm; H-15 com C-14 a δ 123,43 ppm; H-20 com C-18 a δ 127,86 ppm. As demais correlações observadas no espectro HMBC que permitiram a elucidação da estrutura desse ciclopeptídeo neutro estão listadas na Tabela 38 e podem ser vistas na figura 65.

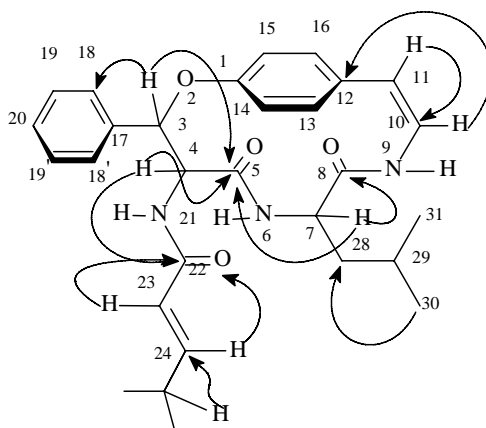


Figura 65 - Principais correlações observadas no espectro HMBC de D02.

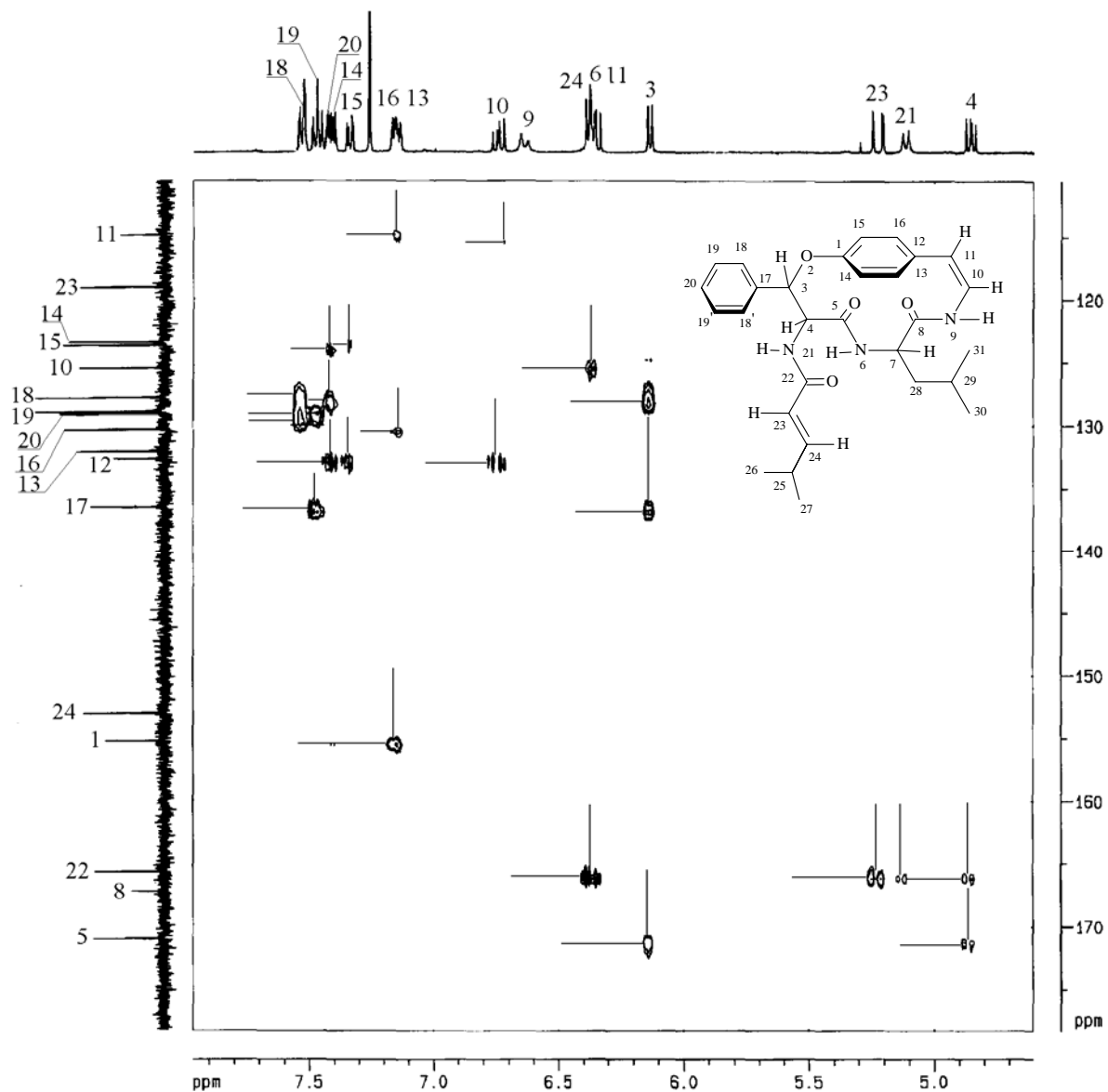


Figura 66 - Espectro expandido 2D, heteronuclear $^2J_{\text{H-C}}$, HMBC de D02, em CDCl_3 , a 400 MHz.

Tabela 38. Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de ^1H e ^{13}C para discareno C, em CDCl_3 , a 400 MHz.

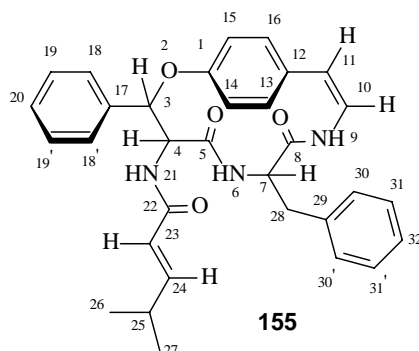
Posição	$\delta^1\text{H}^*$	J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}^\#$	NOESY	HMBC
1			155,25		
3	6,14 d	$J_{3,4}=6,2$	81,98	H18, H15, H4	C5, C17, C18
4	4,86 dd	$J_{4,3}=6,2$ $J_{4,21}=8,8$	56,18	H6, H21, H3	C5, C22
5			171,10		
6	6,38			H4	
7	4,13 m		52,55	H28, H28'	
8			167,41		
9	6,64 d	$J_{9,10}=10,2$			
10	6,74 dd	$J_{10,9}=10,2$ $J_{10,11}=7,6$	125,52	H11	C12
11	6,37 d	$J_{11,10}=7,6$	114,89	H10	C10
12			132,67		
13	7,17		130,37		C1, C11, C16
14	7,33		123,66		C12
15	7,41		129,13		C12, C14
16	7,15		132,12		C1, C11
17			136,55		
18	7,52		127,86		C19, C20
18'	7,52		127,86		C19, C20
19	7,47		128,99		C17, C20
19'	7,47		128,99		C17, C20
20	7,43		123,43		C18
21	5,12 d	$J_{21,4}=8,8$		H4, H23	C22
22			165,81		
23	5,23 d	$J_{23,24}=15,4$	119,12	H21	C22
24	6,36 dd	$J_{24,23}=15,4$	153,04	H25	C22
25	2,27 m		30,70	H26, H28	C24, C26, C27
26	0,92 d	$J_{26,25}=6,8$	21,24		C24, C25, C27
27	0,91 d	$J_{27,25}=6,7$	21,14		C24, C25, C26
28	1,29 m		39,10		
28'	1,79 m				
29	1,18 m		23,14		
30	0,75 d	$J_{30,29}=6,6$	22,59		C28, C29, C31
31	0,64 d	$J_{31,29}=6,5$	20,49		C28, C29, C30

*Deslocamentos químicos confirmados por ^1H - ^1H COSY e NOESY.

Deslocamentos químicos confirmados por HMQC, HMBC e DEPT.

5.1.1.2.2.1 Identificação do ciclopeptídeo D03

Este metabólito, assim como o anterior, foi isolado somente da casca da raiz de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento (Tabela 17). Foi obtido na forma de um sólido branco, e deu teste negativo frente ao reagente de Dragendorff.



A interpretação dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , permitiu atribuir a estrutura do metabólito como sendo um outro peptídeo cíclico, neste caso, uma estrutura análoga ao alcalóide conhecido como discarina D (**101**). Devido a essa semelhança estrutural D03, foi denominado de discareno D (**157**). Estes espectros indicam a presença de sinais relativos ao substituinte – $\text{COCH}=\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$, e a ausência do grupo *N*-mono ou *N,N*-dimetilado. Além disso, estes espectros permitiram identificar as unidades fenilalanina e β -fenilserina como aminoácidos participantes da estrutura do macrociclo.

As atribuições inequívocas dos sinais nos espectros de ^1H e ^{13}C para **155**, foram possíveis pelos experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C bidimensionais homo- e heteronucleares do tipo COSY, HMQC e HMBC, além da comparação com os espectros de RMN do discareno C (**154**) e do alcalóide discarina D (**101**).

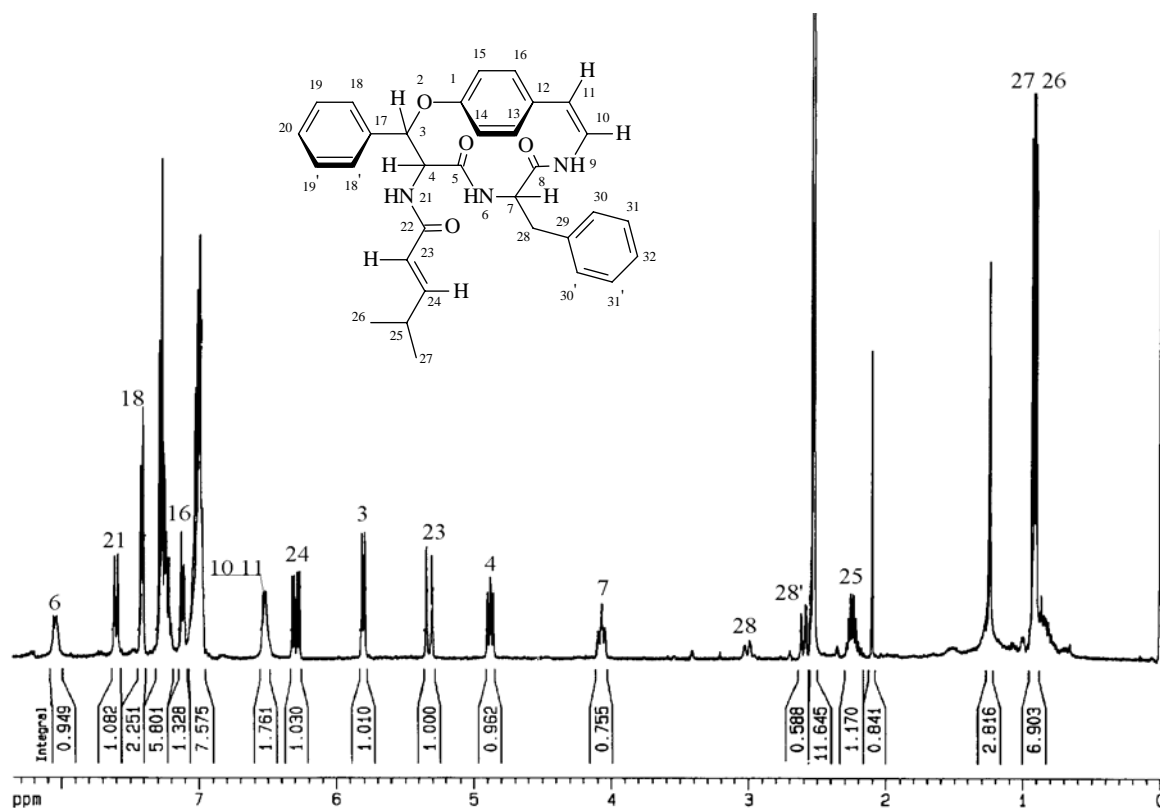


Figura 67 - Espectro de RMN de ¹H de D03, em DMSO, a 400 MHz.

Os espectros de RMN de ¹H, Figura 67 e 68 mostram sinais referentes aos hidrogênios metílicos a δ 0,90 ppm e 0,92 ppm, de um hidrogênio metínico, na forma de um multipletto a δ 2,25 ppm, e de dois duplos dubletes a δ 2,60 ppm e 3,01 ppm, referentes a hidrogênios metilênicos diastereotópicos (HMQC). Estes sinais foram atribuídos aos grupos metílicos em C-26 e 27, ao hidrogênio metínico em C-25 e aos dois hidrogênios metilênicos diastereotópicos em C-28.

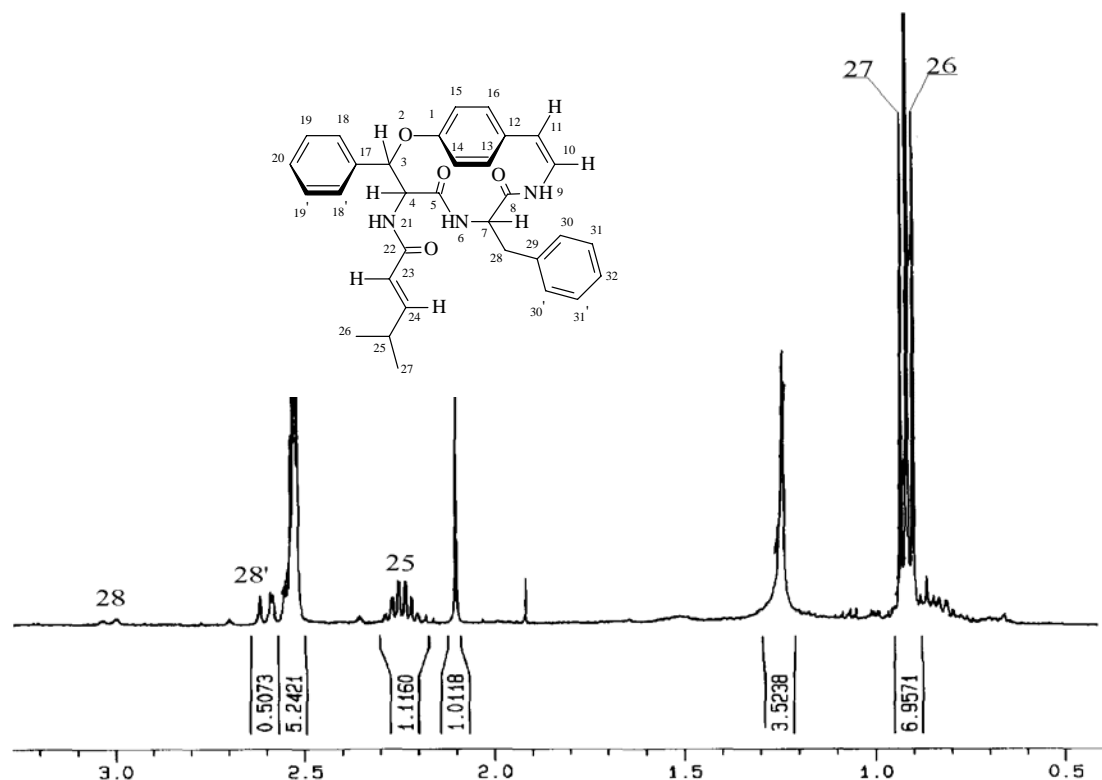


Figura 68 - Espectro expandido de RMN de ^1H , região entre δ 0,50-3,42 ppm de D03, em DMSO, a 400 MHz.

No espectro da Figura 69, que mostra a expansão entre δ 3,85-6,51 ppm, identifica-se hidrogênios importantes para a atribuição estrutural, como o hidrogênio metínico que ressona a δ 4,06 ppm, atribuído para H-7. Este hidrogênio aparece na forma de multipletto, devido ao acoplamento com um hidrogênio amídico, NH-6, e com os dois hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-28 e H-28'. O espectro COSY mostra que estes hidrogênios fazem parte do mesmo sistema de spins, e que os hidrogênios metilênicos não apresentam outras correlações, confirmando a fenilalanina como unidade de aminoácido do macrociclo. Um outro hidrogênio metínico foi identificado como um duplo dubleto a δ 4,88 ppm. No espectro COSY, este sinal mostra um cruzamento com outro hidrogênio metínico que ressona, na forma de um dubleto, a δ 5,80 ppm. Estes hidrogênios foram atribuídos como H-4 e H-3, respectivamente. H-4 mostra também um cruzamento com o hidrogênio amídico NH-21, que ressona a δ 7,59 ppm. Como na estrutura anterior, o desdobramento de H-3 na forma de um

dubleto identifica a unidade fenilserina como sendo o β -hidroxiaminoácido da estrutura.

No mesmo espectro, os hidrogênios olefínicos H-23 e H-24 foram identificados a δ 5,32 ppm e a δ 6,29 ppm, na forma de um dubleto e de um duplo dubleto, respectivamente. O espectro COSY, Figura 72, mostra que H-23 e H-24 formam um sistema de spins com o hidrogênio metínico H-25 e com as metilas em C-26 e C-27. Os hidrogênios H-10 e H-11 foram identificados como sinais sobrepostos a δ 6,51 ppm.

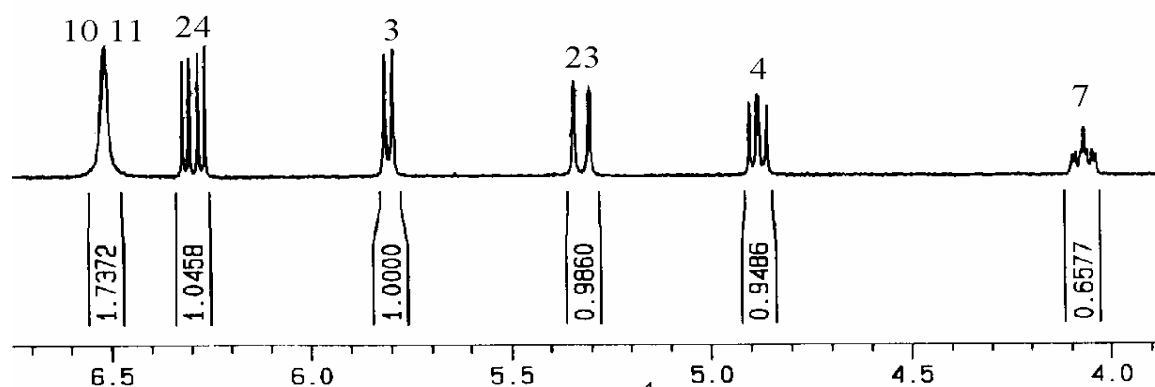


Figura 69 - Espectro expandido de RMN de ^1H , região δ 3,85-6,51 ppm de D03, em DMSO, a 400 MHz.

Os hidrogênios amídicos NH-6 e NH-20 correspondem aos dubletos em δ 8,01 e 7,59 ppm, respectivamente. NH-9, pela sobreposição de sinais, não pode ser atribuído seguramente.

Na região compreendida entre δ 6,97-7,42 ppm (Figura 70), encontram-se os hidrogênios aromáticos, pertencentes às unidades *p*-hidroxiestirilamina, fenilserina e fenilalanina, de difícil atribuição, devido à complexidade e à sobreposição de sinais. Os deslocamentos químicos desses hidrogênios foram definidos com o auxílio dos espectros HMQC, HMBC, NOESY e COSY.

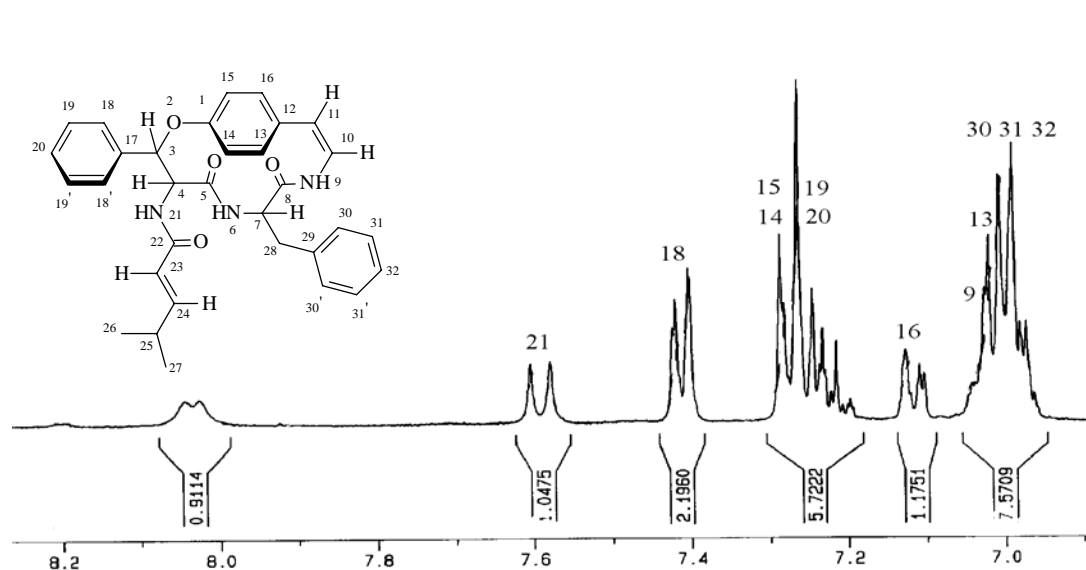


Figura 70 - Espectro expandido de RMN de ^1H , região δ 6,80-8,29 ppm de D03, em DMSO, a 400 MHz.

A análise do espectro COSY (Figura 71), permitiu visualizar os sistemas de spins presentes em D03.

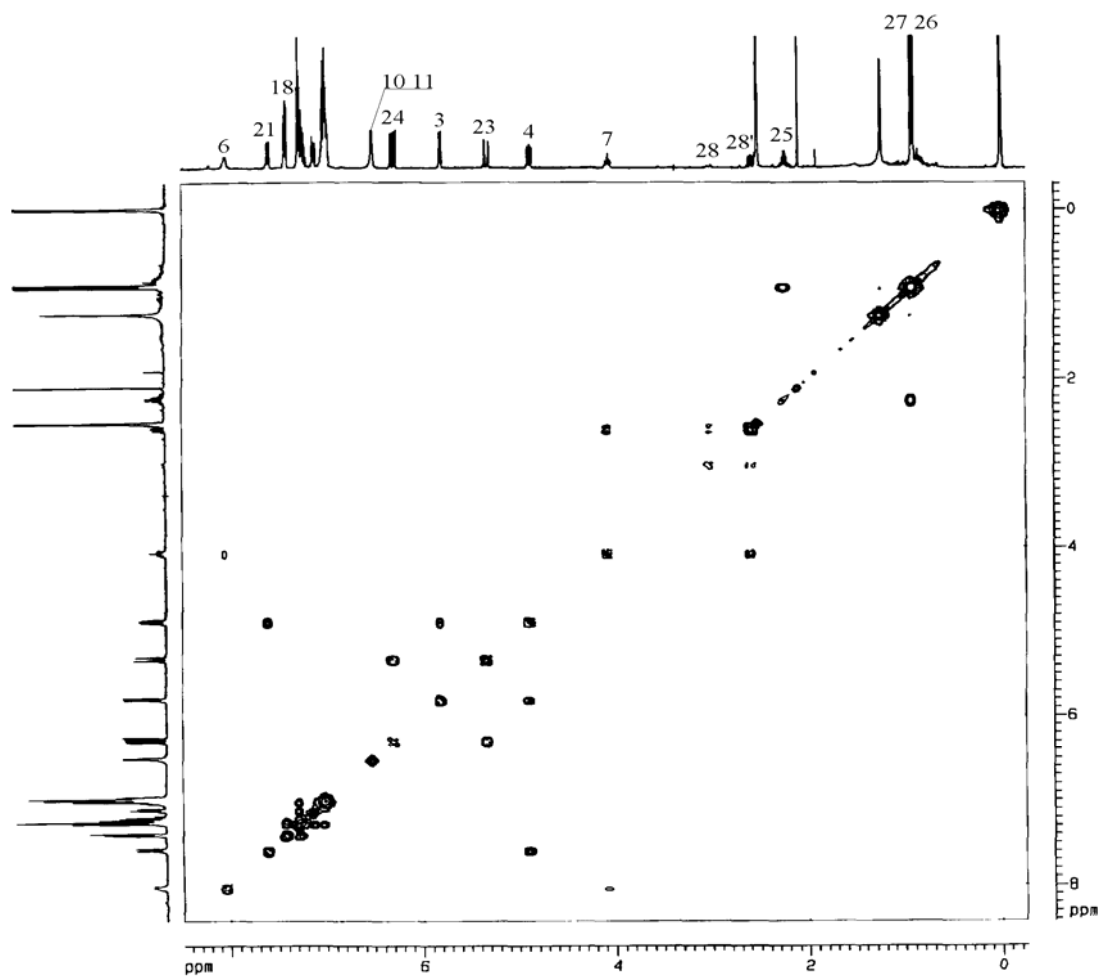


Figura 71 - Espectro de RMN de 2D, COSY de discareno D, em DMSO a 400 MHz.

Para a atribuição dos hidrogênios pertencentes ao grupamento que não faz parte do sistema macrocíclico de 14 membros, utilizou-se o espectro COSY, na região compreendida entre δ 0,85 a 6,51 ppm (Figura 72).

Tomou-se como ponto de partida o sinal localizado em δ 5,32 ppm, correspondente ao hidrogênio olefínico H-23, o qual apresenta correlação com H-24, que apresenta-se a δ 6,29 ppm. H-24, por sua vez, apresenta correlação com H-25 a δ 2,25 ppm. Este último correlaciona-se com as duas metilas heterotópicas Me-26 e Me-27, localizadas em δ 0,90 e 0,92 ppm, respectivamente, definindo assim os deslocamentos químicos dos hidrogênios pertencentes a este grupamento.

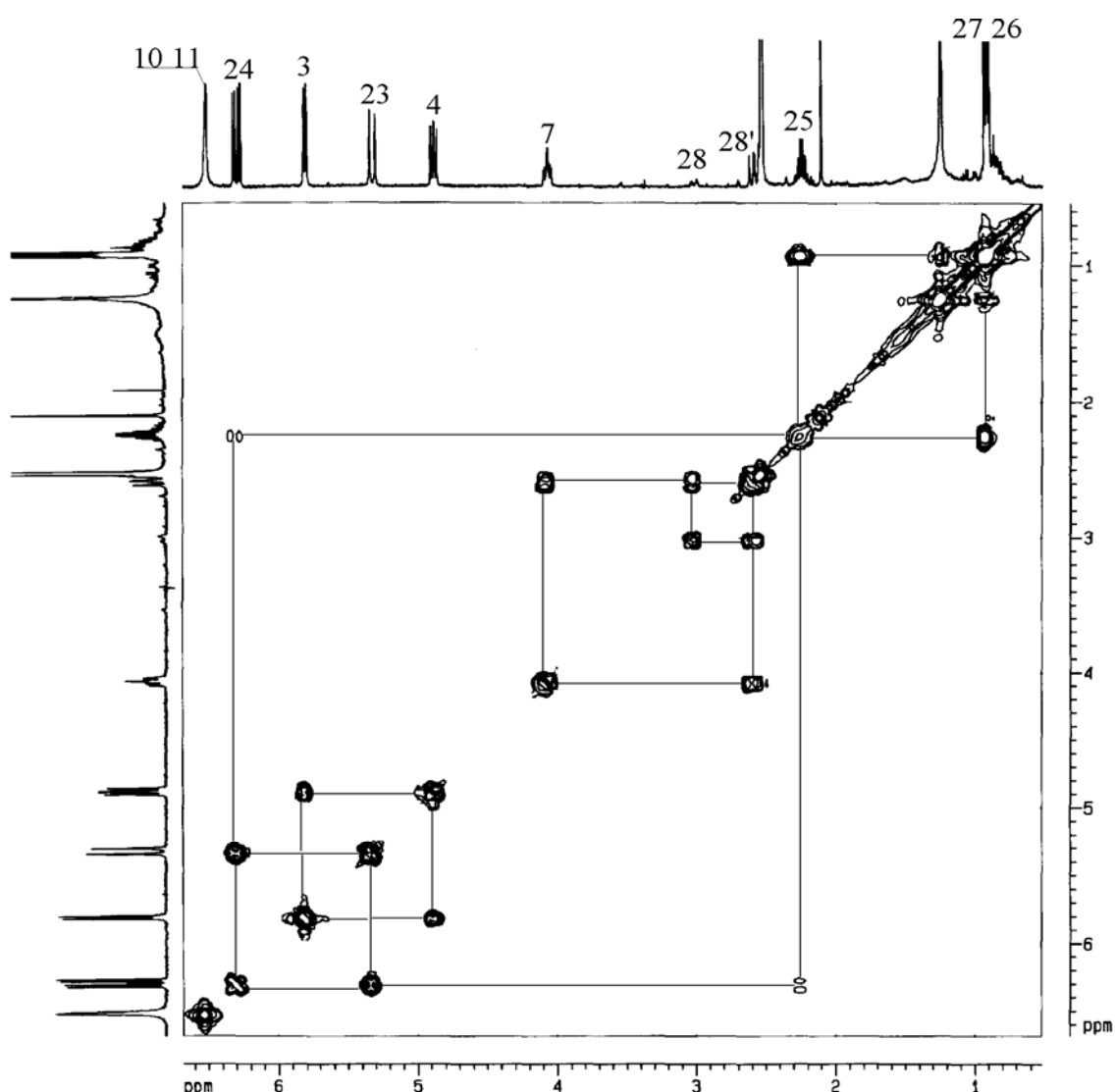


Figura 72 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 0,85-6,51 ppm de D03, em DMSO a 400 MHz.

No espectro COSY da Figura 73, pôde-se observar a correlação entre o hidrogênio metínico H-3 a δ 5,80 ppm com H-4 a δ 4,88 ppm e, este por sua vez, mostra uma correlação com NH-21, a δ 7,59 ppm.

Nesse mesmo espectro, foi possível identificar o sistema de spins referente ao aminoácido fenilalanina, participante do sistema macrocíclico. Para atribuição desta unidade, partiu-se do sinal localizado a δ 8,03 ppm, relativo ao hidrogênio amídico NH-6, que apresenta correlação com o hidrogênio metínico H-7, a δ 4,06 ppm e, este por sua vez, mostra correlação com o hidrogênios diastereotópicos H-28 e -28', localizados a δ 2,60 e 3,01 ppm, confirmando assim esse sistema de spins.

As correlações dos hidrogênios aromáticos das unidades *p*-estirilamina, fenilserina e fenilalanina foram difíceis de serem observadas, devido à sobreposição de sinais.

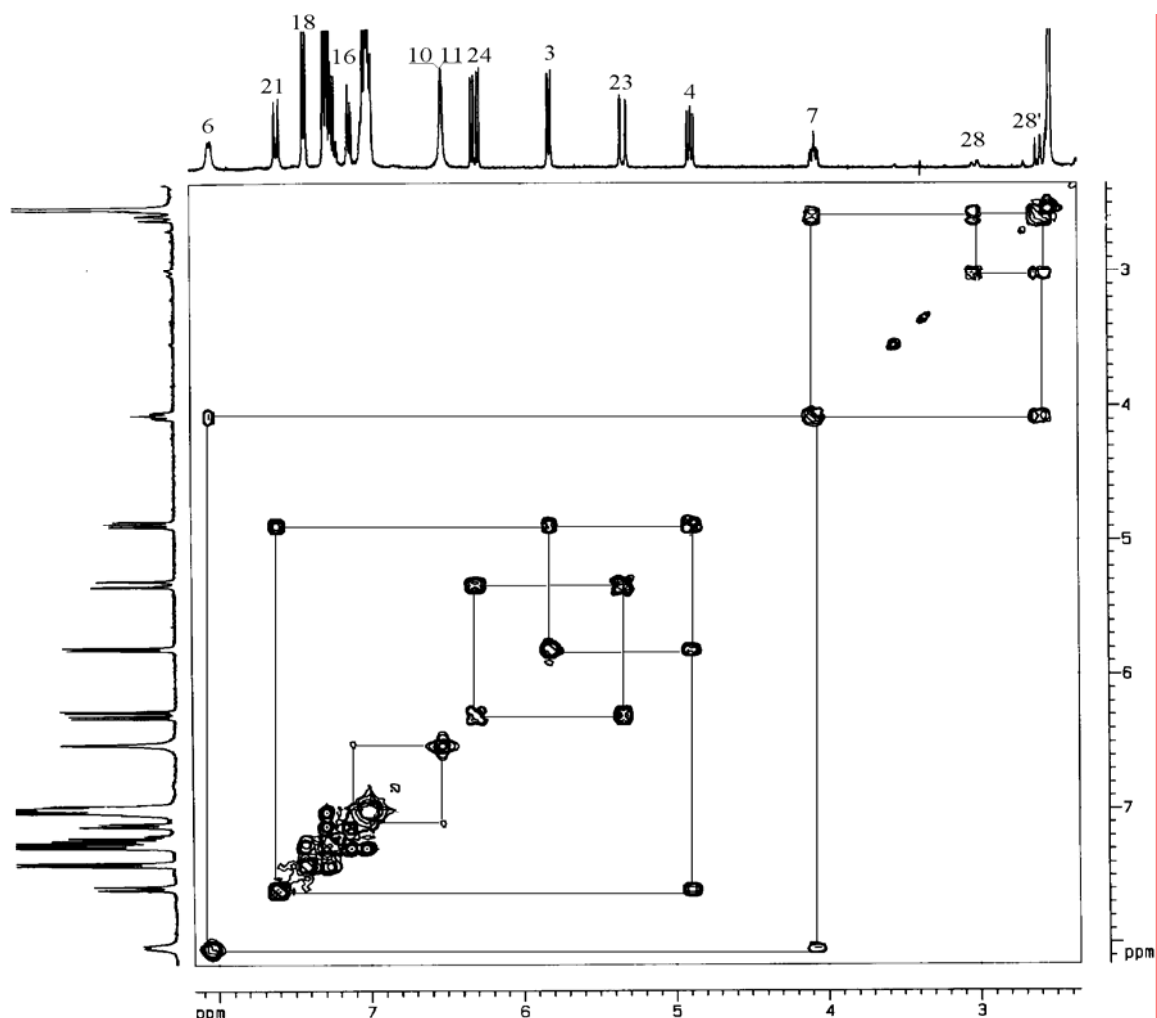


Figura 73 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 2,51-8,19 ppm de D03, em DMSO a 400 MHz.

O espectro NOESY (Figuras 74 e 75) de D03 fornece informações quanto à geometria da molécula, através de algumas correlações espaciais importantes.

O ponto de partida para a análise deste espectro foi o hidrogênio metínico H-7, localizado a δ 4,06 ppm, o qual mostra correlação espacial com o hidrogênio aromático H-30 e com hidrogênio amídico NH-6, indicando uma relação espacial *cis* entre os mesmos.

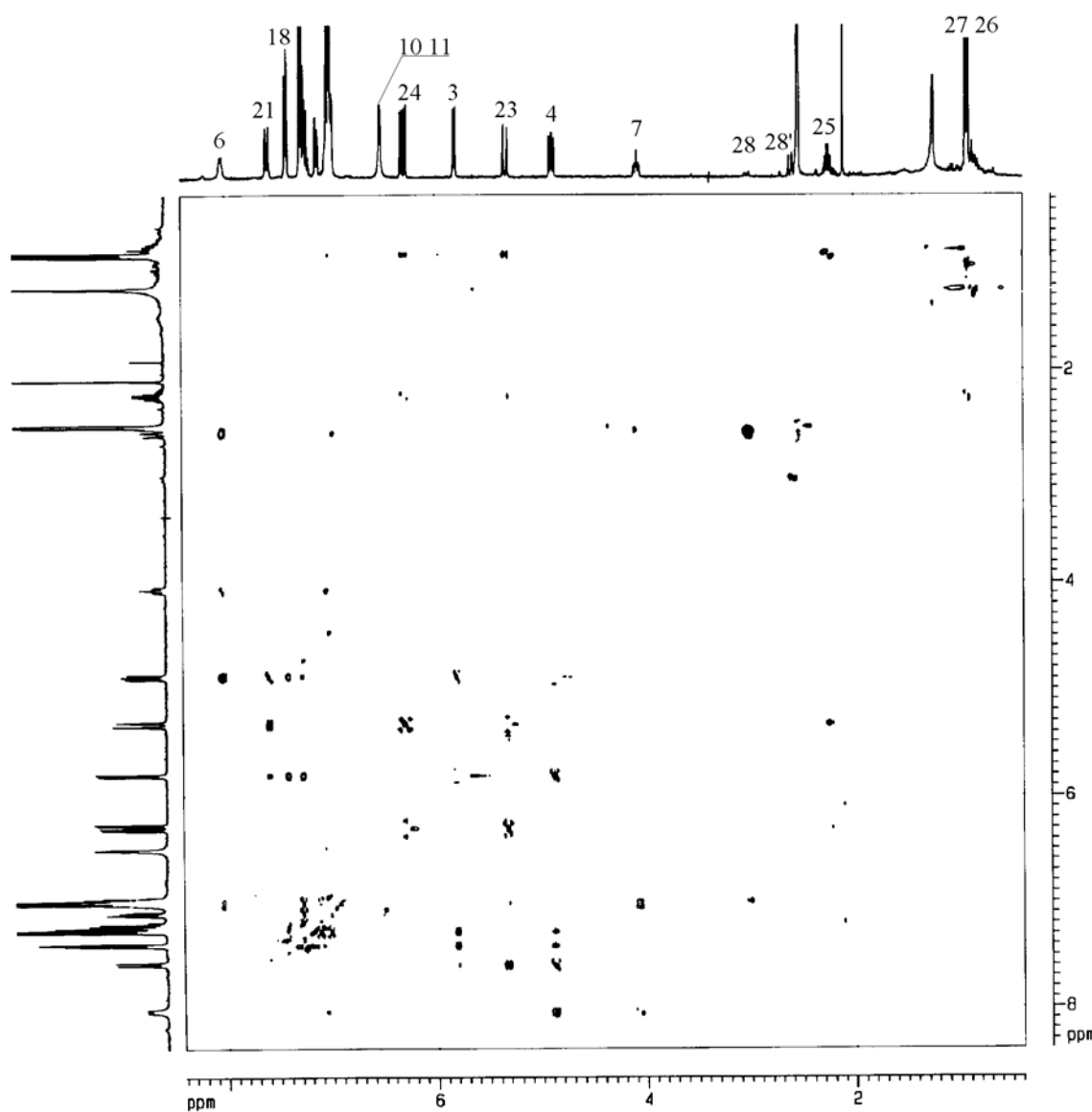


Figura 74 - Espectro de RMN de 2D, NOESY de D03, em DMSO a 400 MHz.

Outro dado importante observado nesse espectro, foi a interação espacial entre o hidrogênio metínico H-4 (δ 4,88 ppm) com os hidrogênios amídicos NH-6 e NH-21 à δ 8,03 e 7,59 ppm, respectivamente e, com o hidrogênio metínico H-3 (δ 5,80 ppm), indicando uma relação espacial *cis* entre eles.

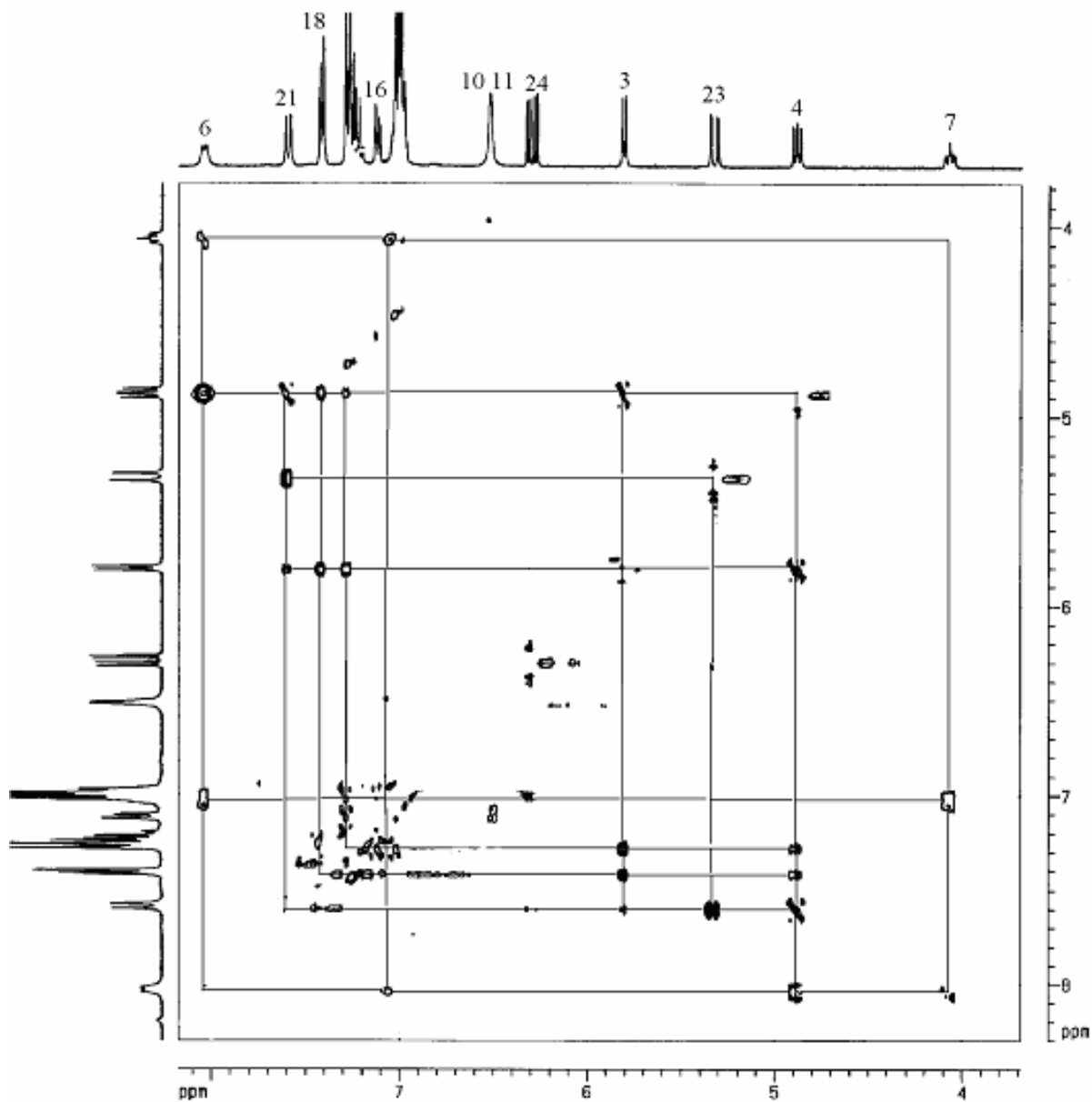


Figura 75 - Espectro expandido de RMN de 2D, NOESY, região δ 4,06-8,19 ppm de D03, em DMSO a 400 MHz.

Uma outra correlação observada nesse espectro foi a interação espacial entre os hidrogênio olefínico H-23, em δ 5,32 ppm, com o hidrogênio amídico NH-21, em δ 7,59 ppm.

As demais interações espaciais observadas neste experimento são apresentadas na Figura 76 e estão listadas na Tabela 39.

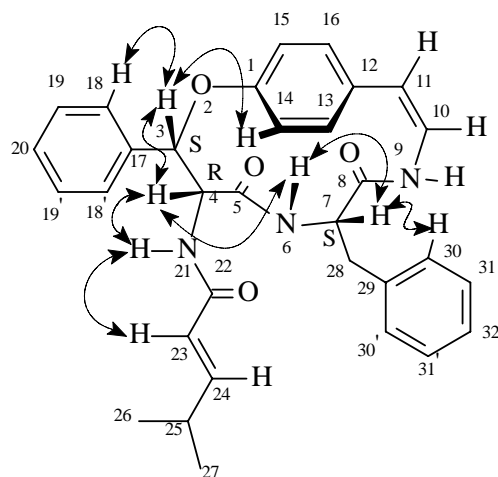


Figura 76 - Principais correlações observadas no espectro NOESY de D03.

O espectro de carbono totalmente desacoplado (Figuras 77 e 78) permitiu identificar 26 sinais, entre os quais, seis indicam a presença de dois núcleos de carbono, através de suas intensidades, perfazendo, em consequência, um total de 32 átomos de carbono, que correspondem ao número de carbonos observado na estrutura. Esses sinais foram posteriormente confirmados pelos espectros HMQC e HMBC.

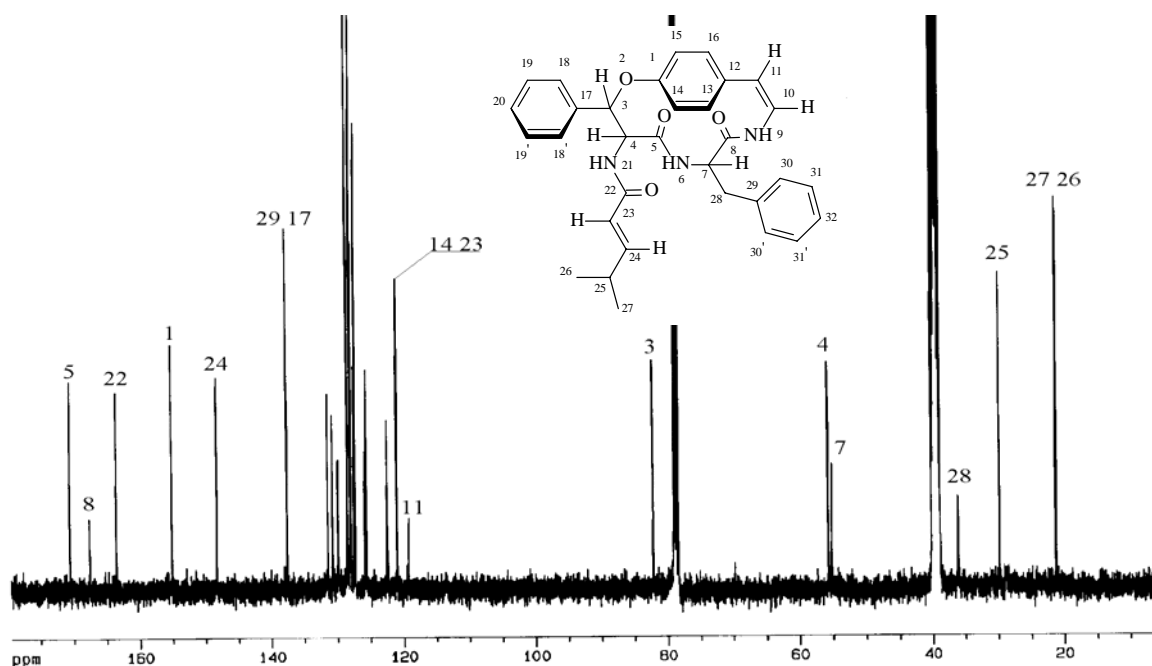


Figura 77 - Espectro de RMN de ^{13}C de D03, em DMSO a 100 MHz.

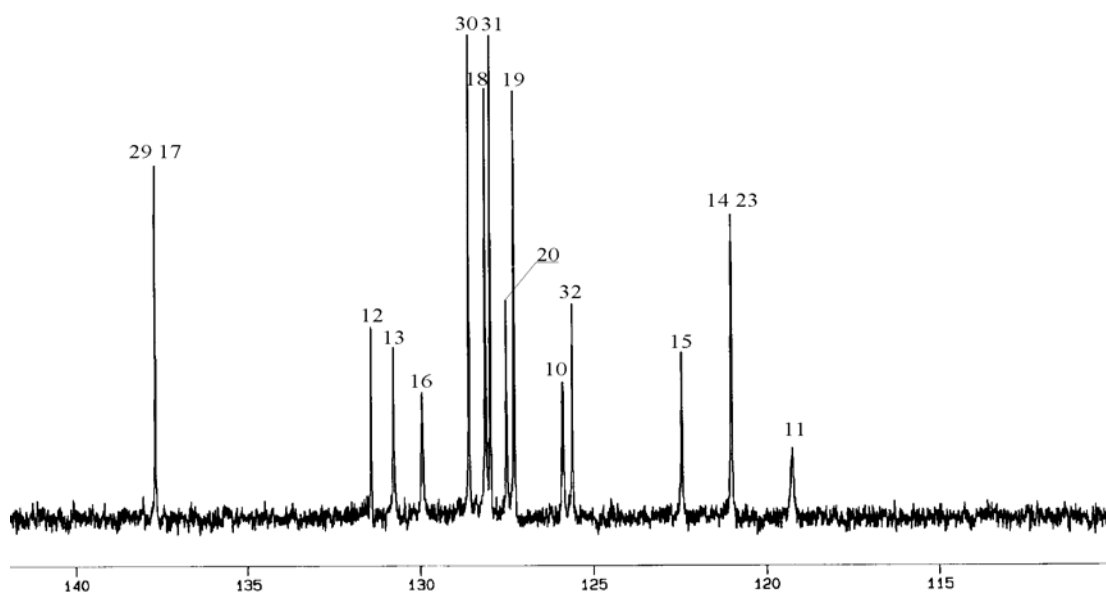


Figura 78 - Espectro expandido de RMN de ^{13}C de D03, região δ 119-140 ppm, em DMSO a 100 MHz.

O espectro DEPT 135° (Figura 79), revela que dos 26 sinais encontrados no espectro de carbono BB, 6 desapareceram, constatando-se, deste modo, a presença de sete carbonos (C-17 e C-29 apresentam o mesmo deslocamento químico) não protonados, sendo 3 deles pertencentes as carbonilas C-5, C-8 e C-22, localizados na região espectral entre δ 170,57 e 163,55 ppm e, quatro sinais referentes aos carbonos aromáticos C-1, C-12, C-17 e C-29. Com amplitude negativa, foi observado somente um sinal relativo ao carbono metilênico C-28, a δ 36,15 ppm.

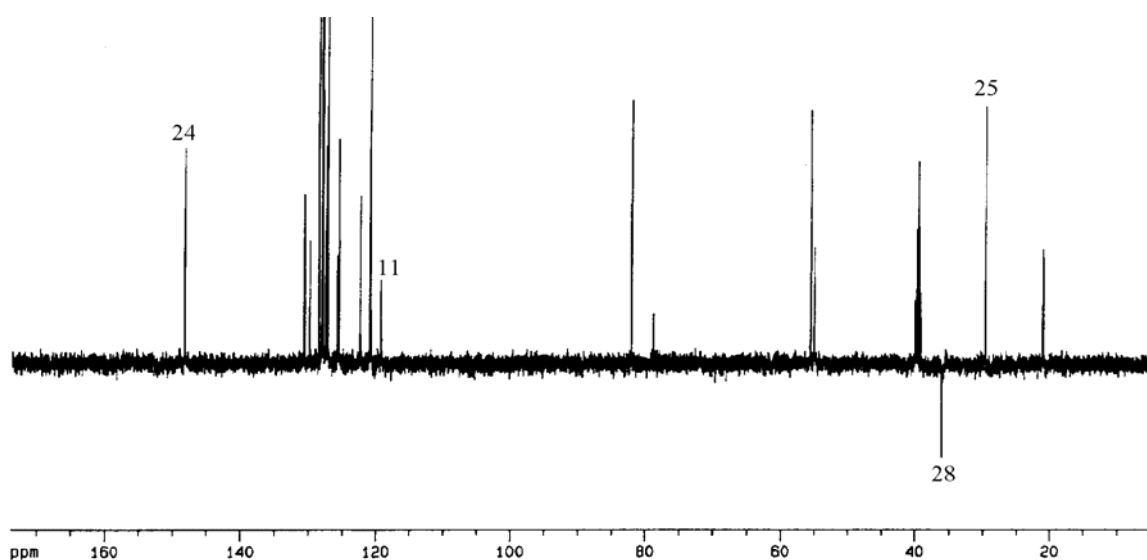


Figura 79 - Espectro de ^{13}C DEPT 135° de discareno D, em CDCl_3 , a 100 MHz.

A Tabela 39, pg. 175, mostra os deslocamentos químicos dos carbonos pertencentes ao ciclopeptídeo neutro D03.

O espectro HMQC, além de confirmar todos os carbonos através do cruzamento com os respectivos hidrogênios (Figuras 80 e 81), mostra também que o sinal de carbono a δ 120,99 ppm corresponde aos carbonos sobrepostos C-14 e C-23.

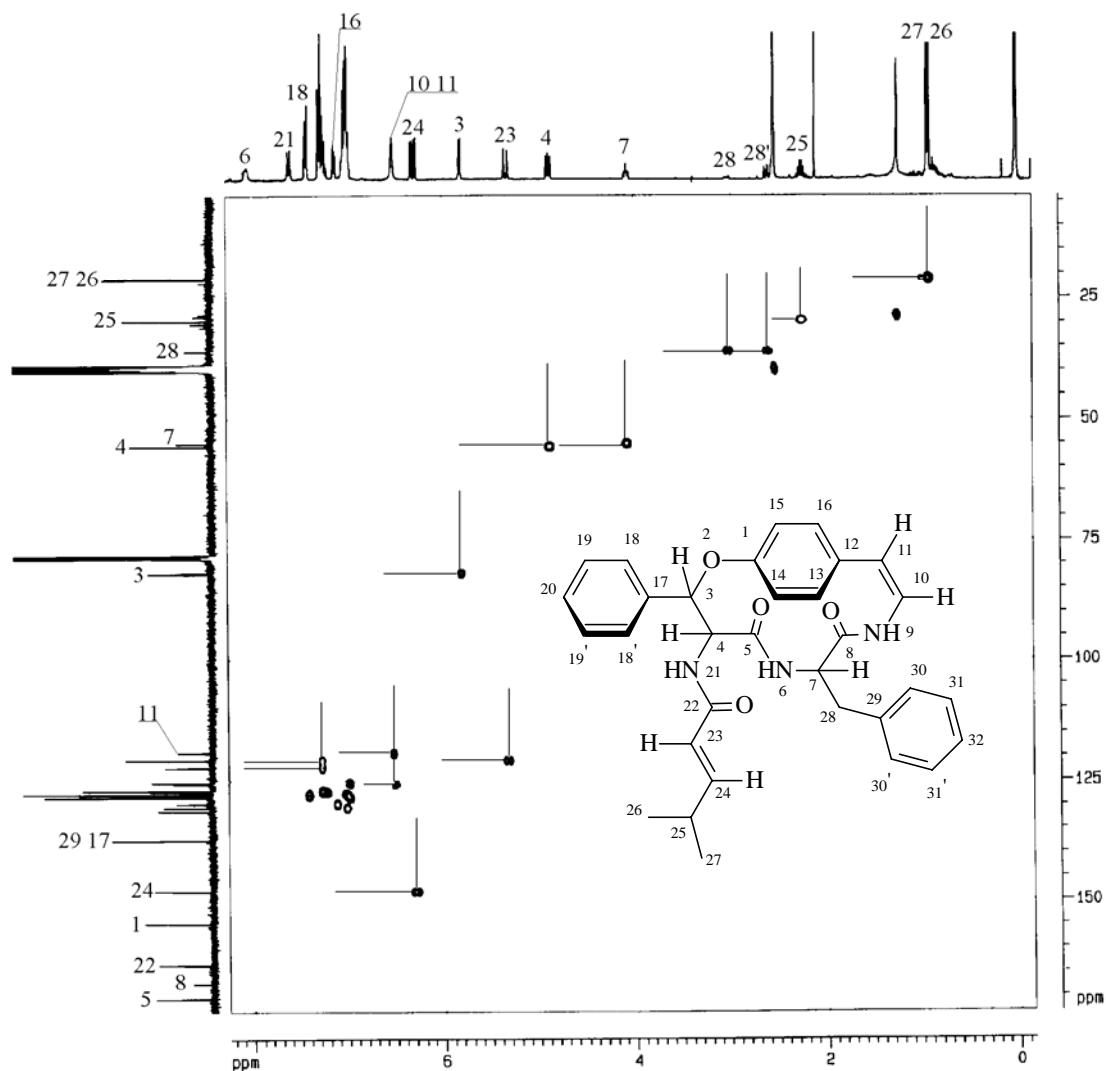


Figura 80 - Espectro 2D, heteronuclear $^1J_{H-C}$, HMQC de D03, em DMSO, a 400 MHz.

Além disso, foi possível definir, que o sinal a δ 6,51 ppm no espectro de hidrogênio corresponde aos hidrogênios olefínicos H-10 e H-11, já que correlaciona com dois diferentes núcleos de carbono C-10 e C-11, localizados a δ 125,87 e 119,23 ppm, respectivamente. Um outro dado importante, obtido deste espectro, é a posição, no espectro de hidrogênio, dos hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-28 e H-28'.

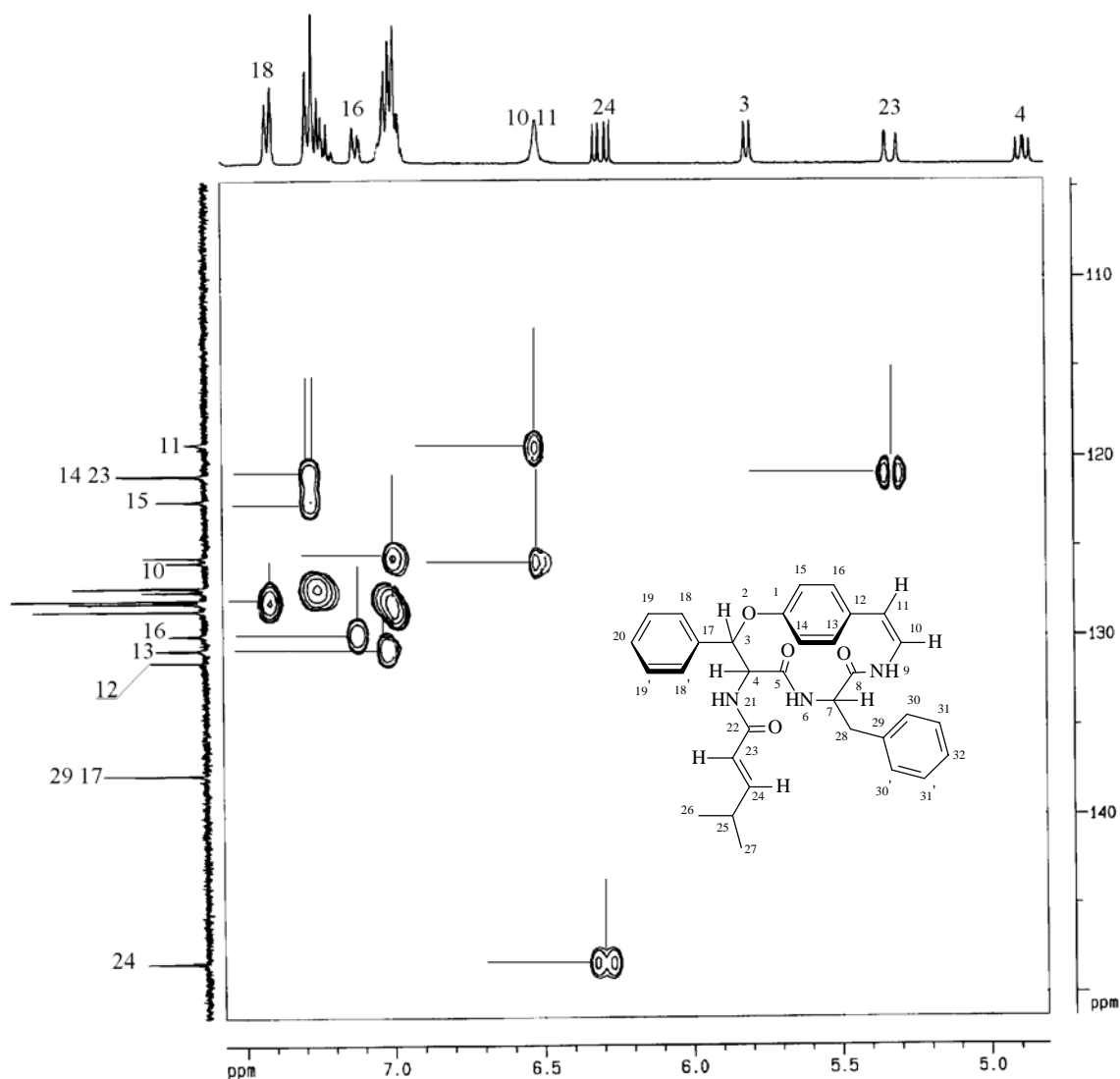


Figura 81 - Espectro expandido 2D, heteronuclear $^1\text{J}_{\text{H-C}}$, HMQC de D03, em DMSO, a 400 MHz.

A análise do espectro HMBC (Figura 83) revela correlações a longa distância via 2J e 3J que permitiram atribuir todas as carbonilas presentes em D03, além dos carbonos aromáticos desprotonados das unidades estirilamina, hidróxifenilserina e fenilalanina. Neste espectro o hidrogênio metínico H-3 mostra correlação com sinais em δ 137,67 e 170,57 ppm atribuídos aos carbonos C-5 e C-17, respectivamente. Os hidrogênios H-4 e H-23, por sua vez, apresentam correlação com um carbono em δ 163,55 ppm, atribuído à carbonila C-22, enquanto o hidrogênio metínico H-7 mostra correlação com os carbonos em δ 128,56 e 167,55 ppm, assinalando o carbono desidrogenado C-29 e a carbonila C-8, respectivamente. As principais correlações observadas neste espectro são demonstradas nas figuras 82 e 83 e, encontram-se descritas na Tabela 39.

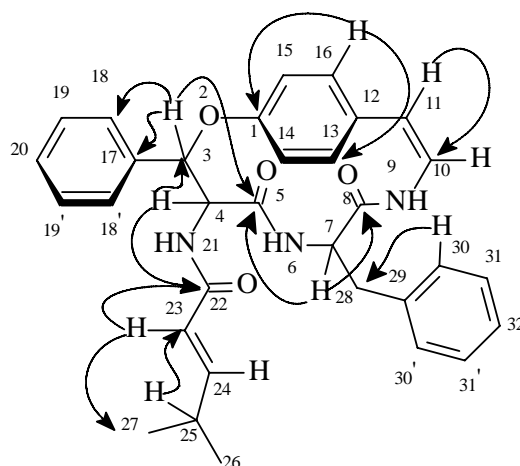


Figura 82 - Principais correlações observadas no espectro HMBC de D03

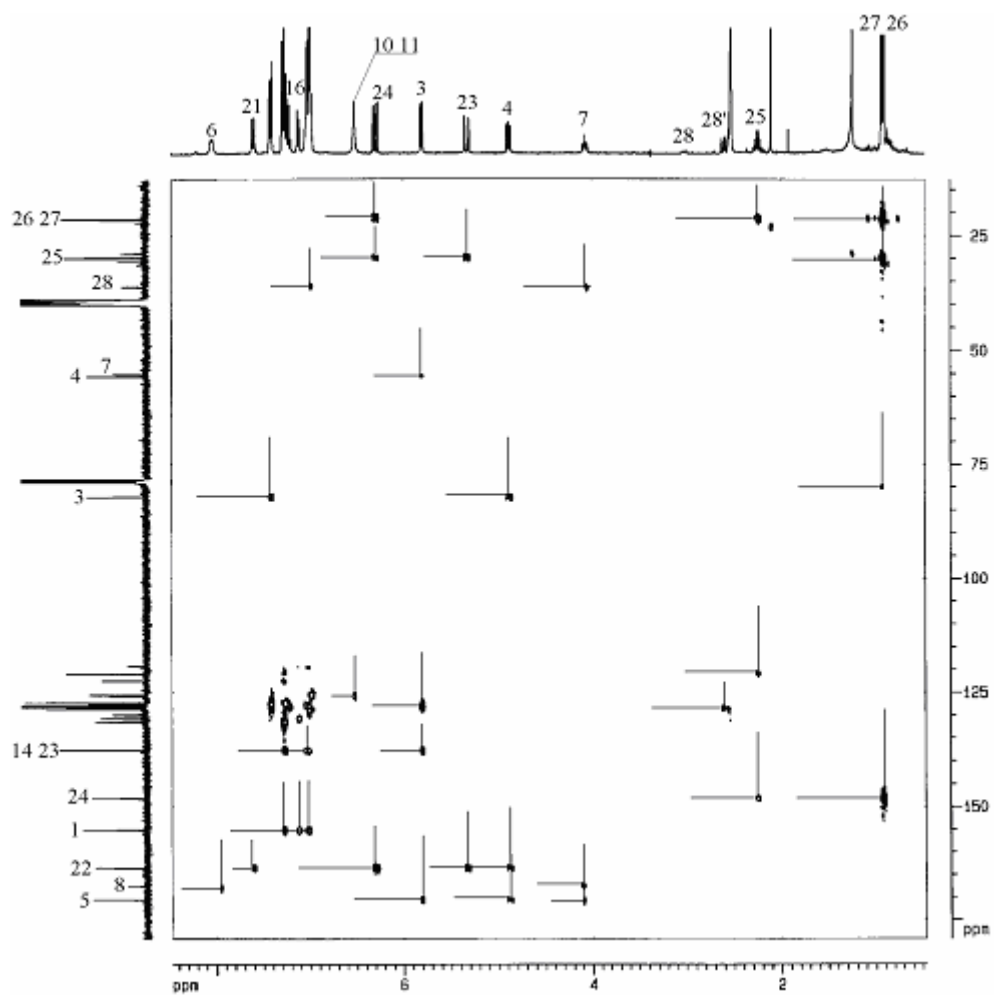


Figura 83 - Espectro 2D, heteronuclear $^{2-3}J_{H-C}$, HMBC de D03, em DMSO, a 400 MHz.

Tabela 39 - Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de ^1H e ^{13}C para discareno D, em DMSO, a 400 MHz.

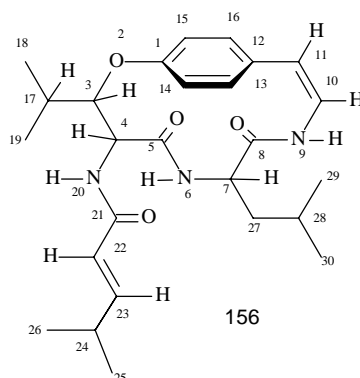
Posição	$\delta^1\text{H}^*$	J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}^\#$	NOESY	HMBC
1			155,14		
3	5,80 d	$J_{3,4}=7,6$	82,21	H4, H14, H18	C17, C18, C4, C5
4	4,88 dd	$J_{4,3}=7,6; J_{4,21}=10,0$	55,75	H3, H6, H21	C22, C5, C3
5			170,57		
6	8,03 d	$J_{6,7}=7,6$		H7, H4	C8
7	4,06 m		55,20		C5, C8, C29
8			167,56		
9					
10	6,51		125,87		C11
11	6,51		119,23		C10
12			131,40		
13			130,75		C16
14			120,99		C15, C12, C13
15			122,43		C14, C12 C3
16	7,21		129,92		C13
17			137,67		
18-18'	7,42	$J_{18,19}=8,2$	128,10		C20
19-19'		$J_{19,18}=8,2$	127,27		C19', C19
20			127,49		C18
21	7,59 d	$J_{21,4}=10,0$			C4, C22
22			163,55		
23	5,32 d	$J_{23,24}=14,3;$ $J_{23,25}=1,0$	120,99	H21	C25, C22
24	6,29 dd	$J_{24-23}=14,3 J_{24-25}=6,6$	148,25	H25	C22, C25, C26
25	2,25 m	$J_{25,24}=6,6$	29,80	H26, H27	C26, C27
26	0,90 d	$J_{26,25}=6,0$	21,17	H25	C25, C27
27	0,92 d	$J_{27-26}=6,0$	21,30	H25	C25, C26
28	3,01 dd	$J_{28,27}=2,8$	36,15		
28'	2,60 dd	$J_{28,28'}=14,0$			
29		$J_{28,7}=6,4$	137,17		
30-30'			128,56		C28, C32
31-31'			127,96		C29, C31
32			125,60		C30, C30'

*Deslocamentos químicos confirmados por ^1H - ^1H COSY e NOESY.

Deslocamentos químicos confirmados por HMQC, HMBC e DEPT.

5.1.1.2.2.3 Identificação do ciclopeptídeo D01

Este metabólito foi isolado da casca de raízes de *D. americana*, material coletado em Santana do Livramento e São Sepé (Tabelas 17 e 18), e teve sua estrutura (156) elucidada e identificada como sendo um outro ciclopeptídeo neutro. A estrutura foi definida pelas análises de RMN de ^1H e ^{13}C uni- e bidimensionais, correlações homo- e heteronucleares do tipo COSY, HMQC e HMBC.



Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C deste metabólito sugeriram uma semelhança estrutural com o alcalóide ciclopeptídico franganina (**67**), o que facilitou a determinação estrutural do mesmo. Devido a semelhança estrutural, esse composto foi denominado, inicialmente, de franganeno, sendo a terminação *eno* derivada da presença de uma dupla ligação, inexistente no alcalóide análogo. A denominação desta substância de discarina M (**156**) foi uma sugestão do editor do periódico onde o trabalho foi publicado.²³

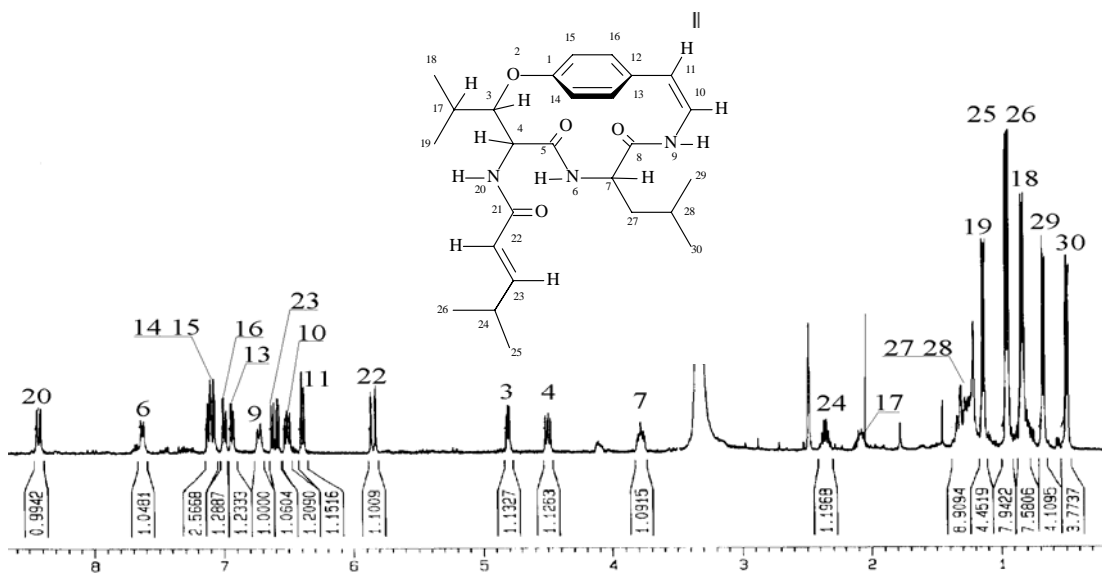


Figura 84 - Espectro de RMN de ^1H , D01, em DMSO, a 400 MHz.

O espectro de hidrogênios deste metabólito, expandido entre δ 0,54 e 1,3 ppm, (Figura 85) mostra claramente seis sinais na forma de dubletos; todos com integração para 3 hidrogênios, caracterizando seis grupos metilas na estrutura, com $J_{H-H} = 6,6$ Hz. Os sinais correspondem aos seis grupos de metilas heterotópicas, de grupos isopropil. Estas metilas indicam que a estrutura é formada pelas unidades β -hidroxileucina (Me-18 e -19) e leucina (Me-29 e -30), além do fragmento olefínico não participante do macrociclo (Me-25 e -26).

Os sinais entre δ 1,24-2,42 ppm foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos β -carbonílico H-27 e aos hidrogênios metínicos γ -carbonílicos H-17, H-24 e H-28.

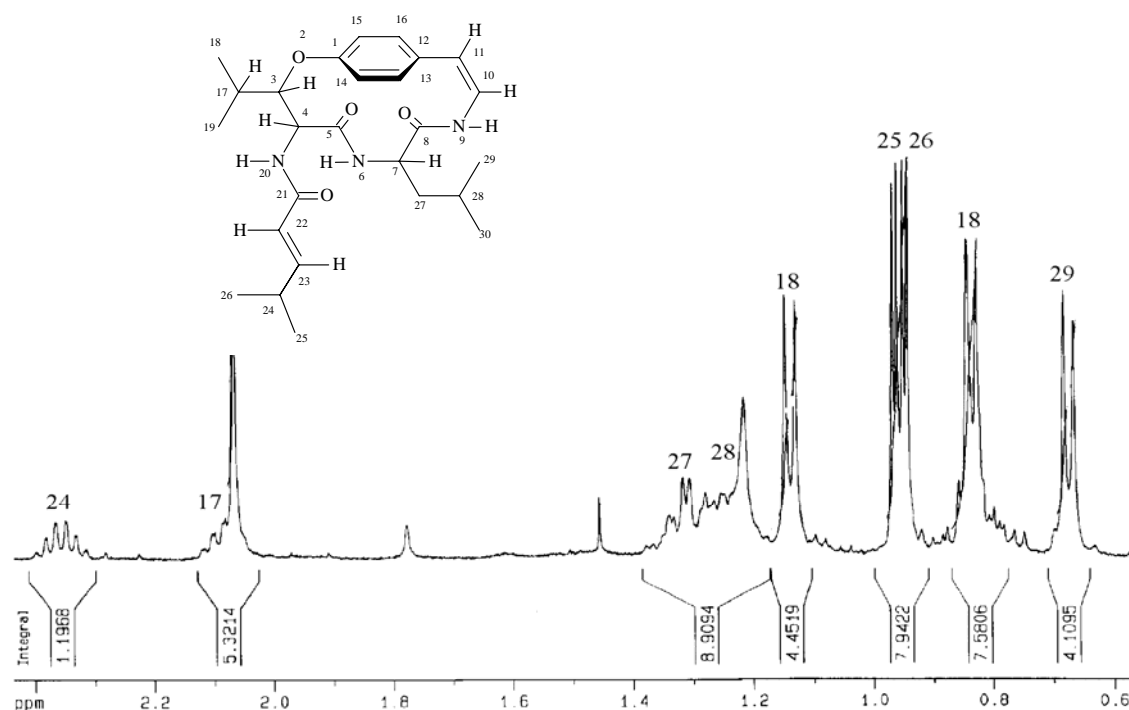


Figura 85 - Espectro expandido de RMN de ^1H , região δ 0,54-2,42 ppm de D01, em DMSO, a 400 MHz.

A região espectral compreendida entre δ 3,83 e 4,83 ppm (Figura 86), mostra os sinais que correspondem aos hidrogênios α -carbonílicos, H-7 e H-4. Também inclui-se nessa mesma região o sinal relativo ao hidrogênio metínico β -carbonílico, H-3, da unidade β -hidroxileucina.

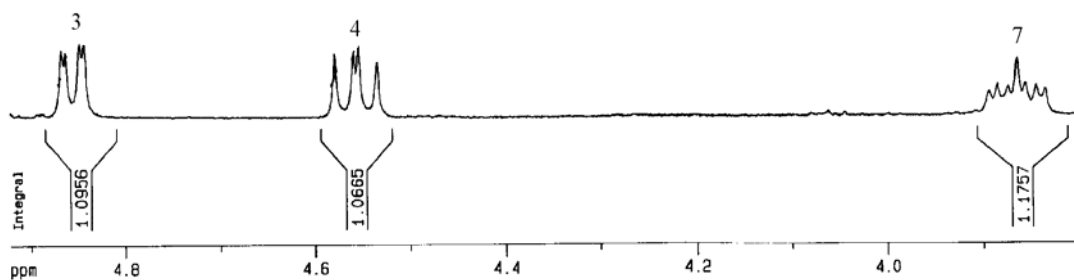


Figura 86 - Espectro expandido de RMN de ^1H , região δ 3,83-4,83 ppm de D01, em DMSO, a 400 MHz.

Os sinais em δ 6,72, 7,43 e 8,40 ppm (Figura 87), na forma de dubletos, com constante de acoplamento em torno de 10 Hz, correspondem aos hidrogênios amídicos NH-9, NH-6 e NH-20, respectivamente. Os hidrogênios olefínicos H-10 e H-11 do grupo enamina da unidade estilamina, apresentam posições de ressonância em δ 6,53 ppm (H-10) e δ 6,38 ppm (H-11). Os hidrogênios vinílicos H-22 e H-23, do grupamento que não está ligado diretamente ao sistema macrocíclico, apresentam deslocamentos em δ 5,84 ppm (H-22) e 6,67 ppm (H-23). A magnitude da constante de acoplamento (14,0 Hz) indica uma geometria *trans* entre H-22 e H-23. Os sinais relativos aos quatro hidrogênios aromáticos da unidade *p*-hidroxi-estirilamina mostram deslocamentos entre δ 6,9 e 7,12 ppm, com constantes de acoplamento, em torno de 8 Hz, típicos de sistemas benzênicos 1,4-dissubstituídos.

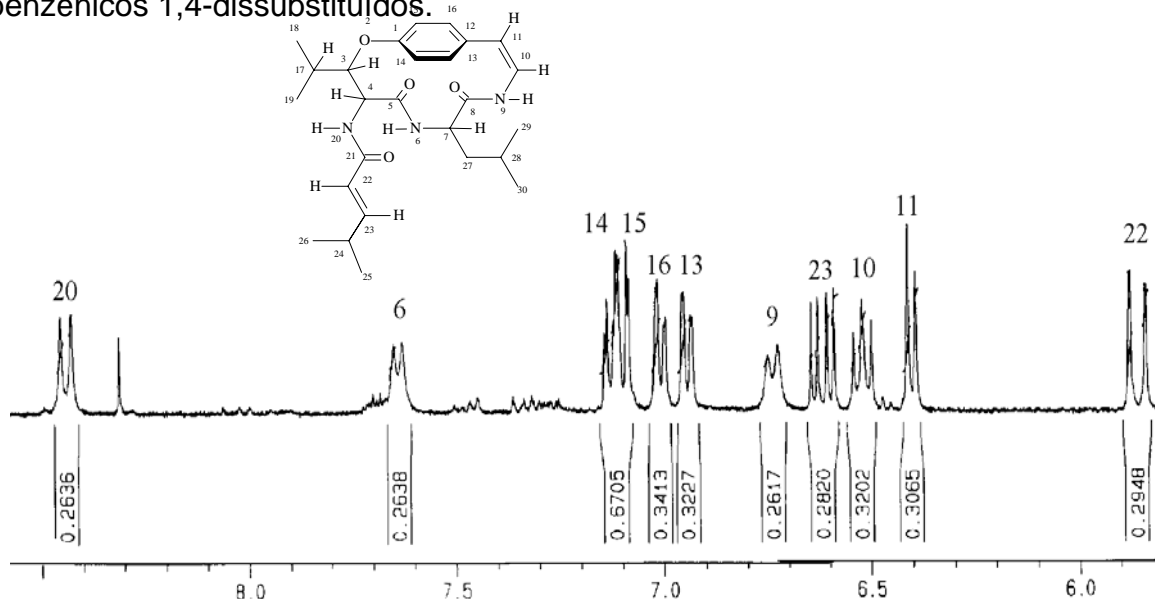


Figura 87 - Espectro expandido de RMN de ^1H , região δ 5,84-8,45 ppm de D01, em DMSO, a 400 MHz.

O experimento COSY (Figura 88) deste metabólito foi útil para definir os seguintes sistemas de spins: (I) o sistema de spins envolvendo os hidrogênios da unidade β -hidroxileucina, (II) sistema de spins do grupamento que não está ligado diretamente no sistema macrocíclico, (III) sistema de spins do aminoácido leucina, participante do macrocíclico, (IV) sistema de spins do grupo enamina da unidade estirilamina e (V) os hidrogênios aromáticos da unidade *p*-estirilamina.

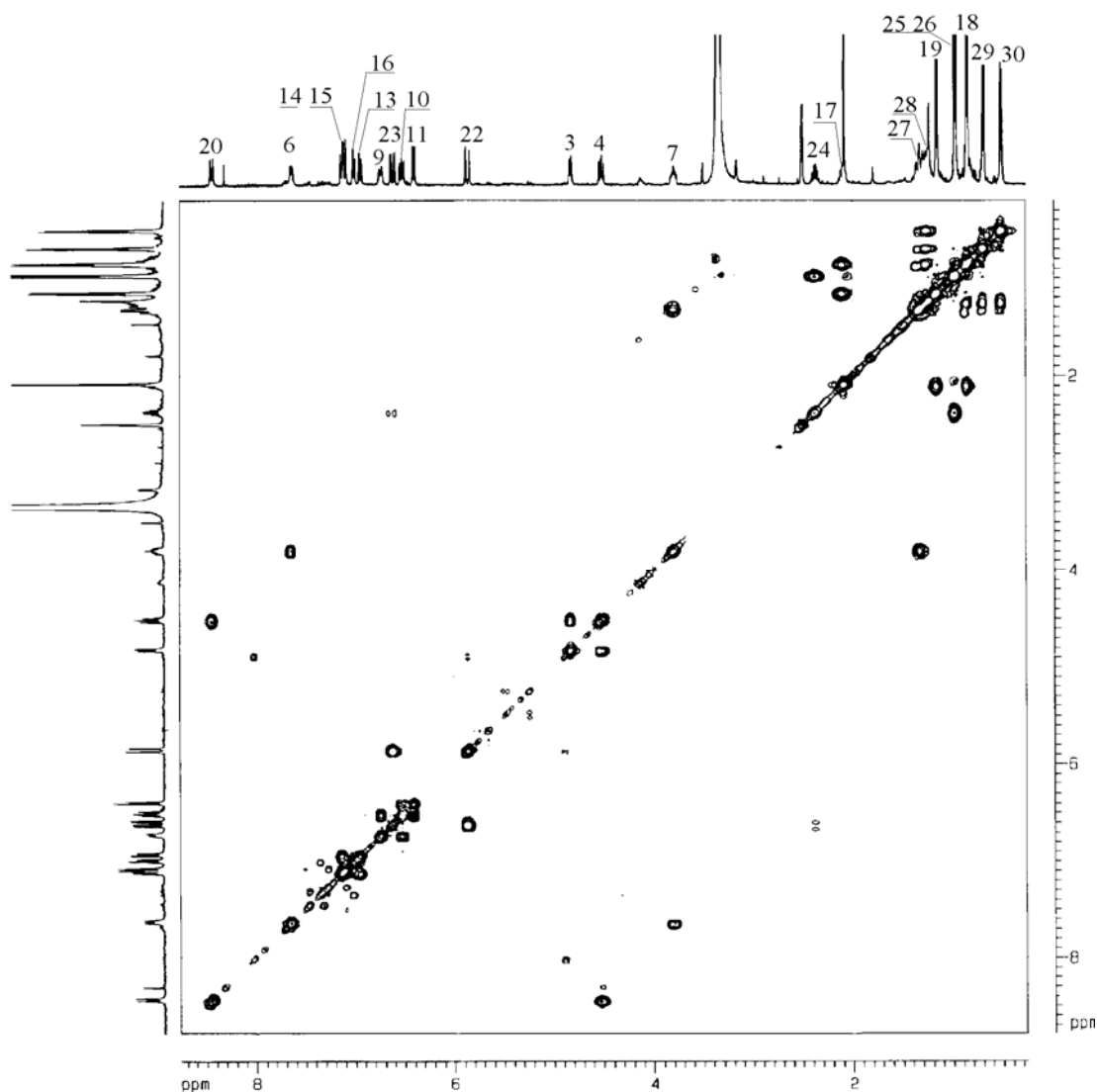


Figura 88 - Espectro de RMN de 2D, COSY de D01, em DMSO a 400 MHz.

A atribuição do primeiro sistema de spins (I), constituído pela unidade β -hidroxileucina, foi possível, partindo-se do hidrogênio amídico NH-20. NH-20 pode ser diferenciado dos demais hidrogênios amídicos pela troca por deutério, quando uma gota de D_2O é adicionada à amostra.²²⁰

NH-20 apresenta correlação com o sinal do hidrogênio H-4 que, por sua vez, correlaciona-se com o hidrogênio metínico H-3 (Figura 89).

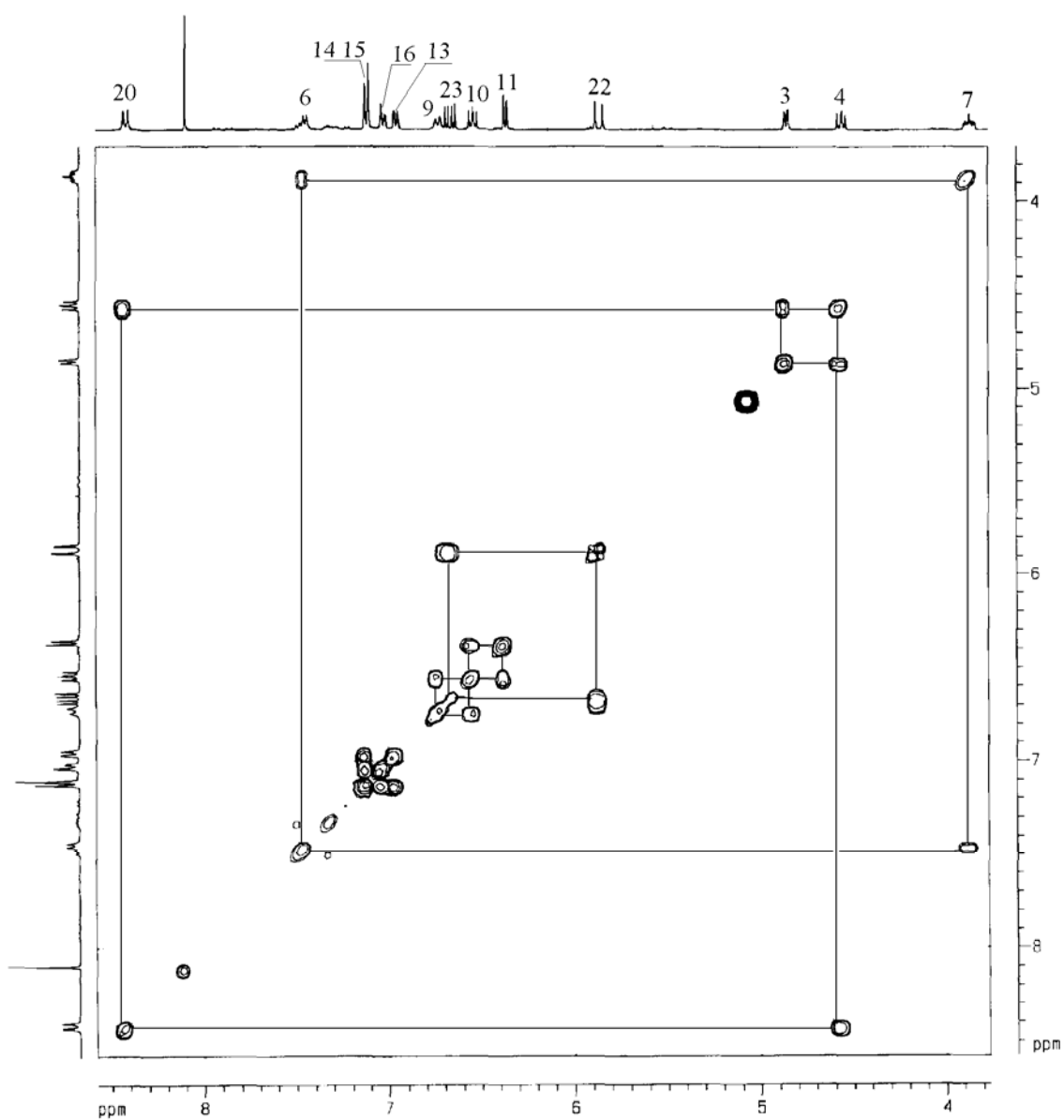


Figura 89 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 3,75-8,45 ppm de D01, em DMSO a 400 MHz.

O hidrogênio metínico H-17 apresenta correlação com os hidrogênios heterotópicos das metilas (Me-18 e Me-19), concluindo assim o sistema de spins da unidade hidróxileucina. Não foi observada a correlação entre H-3 e H-17.

Para a determinação do segundo sistema de spins referente ao grupamento que não faz parte do sistema macrocíclico, partiu-se do sinal correspondente ao hidrogênio metínico H-22, o qual correlaciona-se com o hidrogênio H-23 em δ 6,61 ppm, em forma de dublete.

O hidrogênio H-23, além de apresentar correlação com H-22 em δ 5,84 ppm, possui correlação com um multipeto em δ 2,35 ppm, correspondente ao hidrogênio metínico H-24. Por sua vez, H-24 apresenta correlação com dois dubletes em δ 0,95 e 0,96 ppm, que correspondem às duas metilas heterotópicas Me-25 e 26, completando assim o sistema de spins.

O aminoácido participante do sistema macrocíclico, em D01, é caracterizado por uma unidade leucina, que forma o terceiro sistema de spins da molécula.

Para a definição desse sistema, partiu-se do hidrogênio metínico H-7, localizado em δ 3,78 ppm, que apresenta correlação com o hidrogênio amídico NH-6 em δ 6,72 ppm e com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-27 em δ 1,43 e H-27' em δ 1,31 ppm (Figura 90).

Após atribuição dos hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-27 e 27', observa-se que H-27' correlaciona-se com um multipeto em δ 1,25 ppm, referente ao hidrogênio metínico H-28, o qual mostra correlação com dois dubletes em δ 0,69 e 0,49 ppm, permitindo assim identificar as duas metilas heterotópicas Me-29 e Me-30.

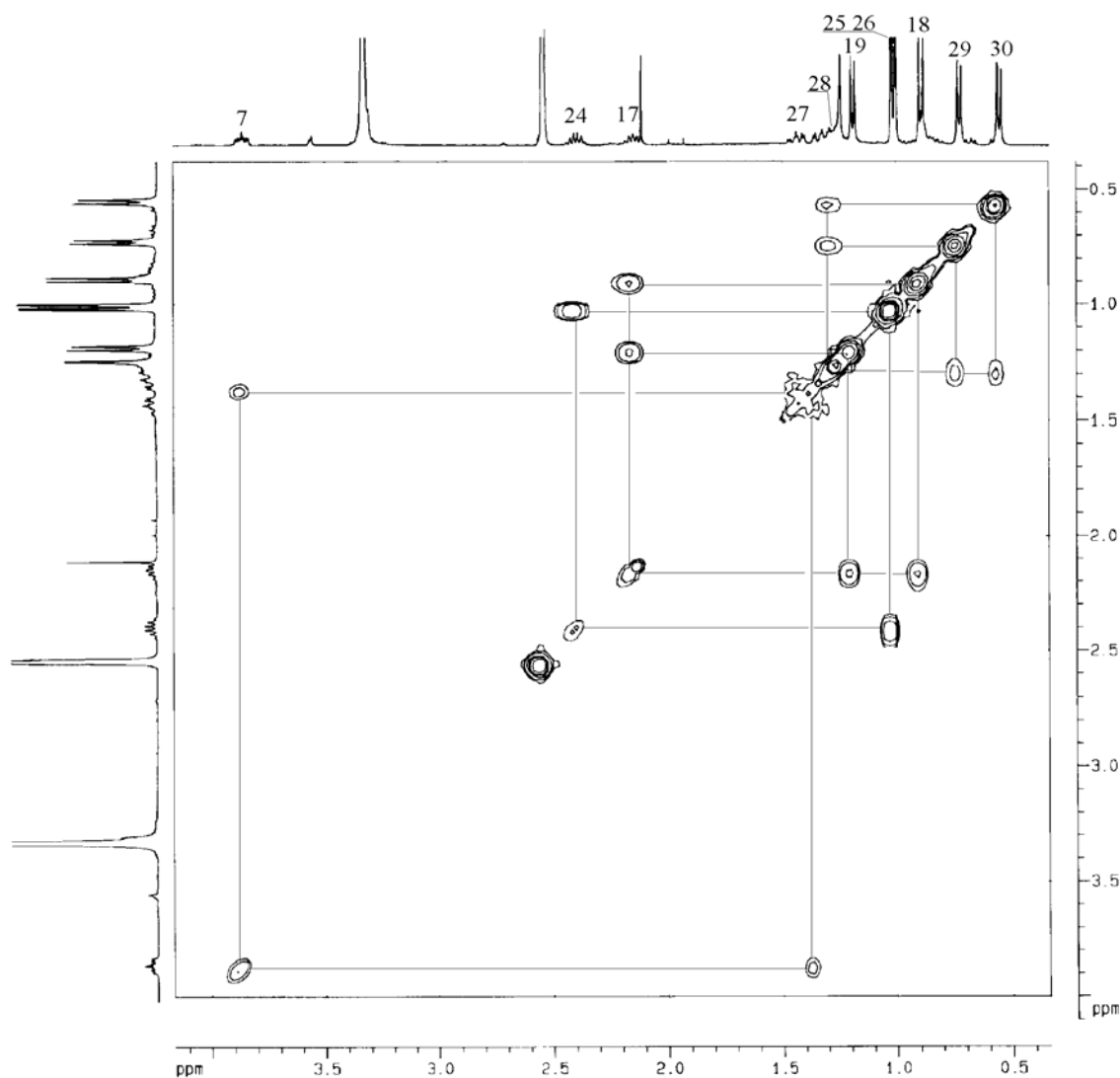


Figura 90 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 0,5-3,75 ppm de D01, em DMSO a 400 MHz.

O sistema de spins (IV), relativo ao grupo enamina, foi definido a partir do hidrogênio metínico H-11, um duplete em δ 6,38 ppm, que mostra correlação com o hidrogênio metínico H-10 em δ 6,51 ppm. Este, por sua vez, correlaciona-se com o duplete do hidrogênio amídico NH-9 em δ 7,62 ppm.

Os quatro hidrogênios aromáticos da unidade *p*-hidróxiestirilamina (sistema de spins V), apresentam sinais com deslocamentos químicos entre δ 6,93 e 7,11 ppm. A definição desse sistema de spins ficou clara, somente através das correlações homo- e heteronucleares do tipo NOESY, HMQC e HMBC.

A análise do espectro de RMN de ^1H homonuclear bidimensional NOESY (Figura 91) deste ciclopeptídeo neutro permitiu obter informações importantes quanto à configuração de alguns centros assimétricos de D01, principalmente da unidade β -hidroxiaminoácido do sistema macrocíclico.

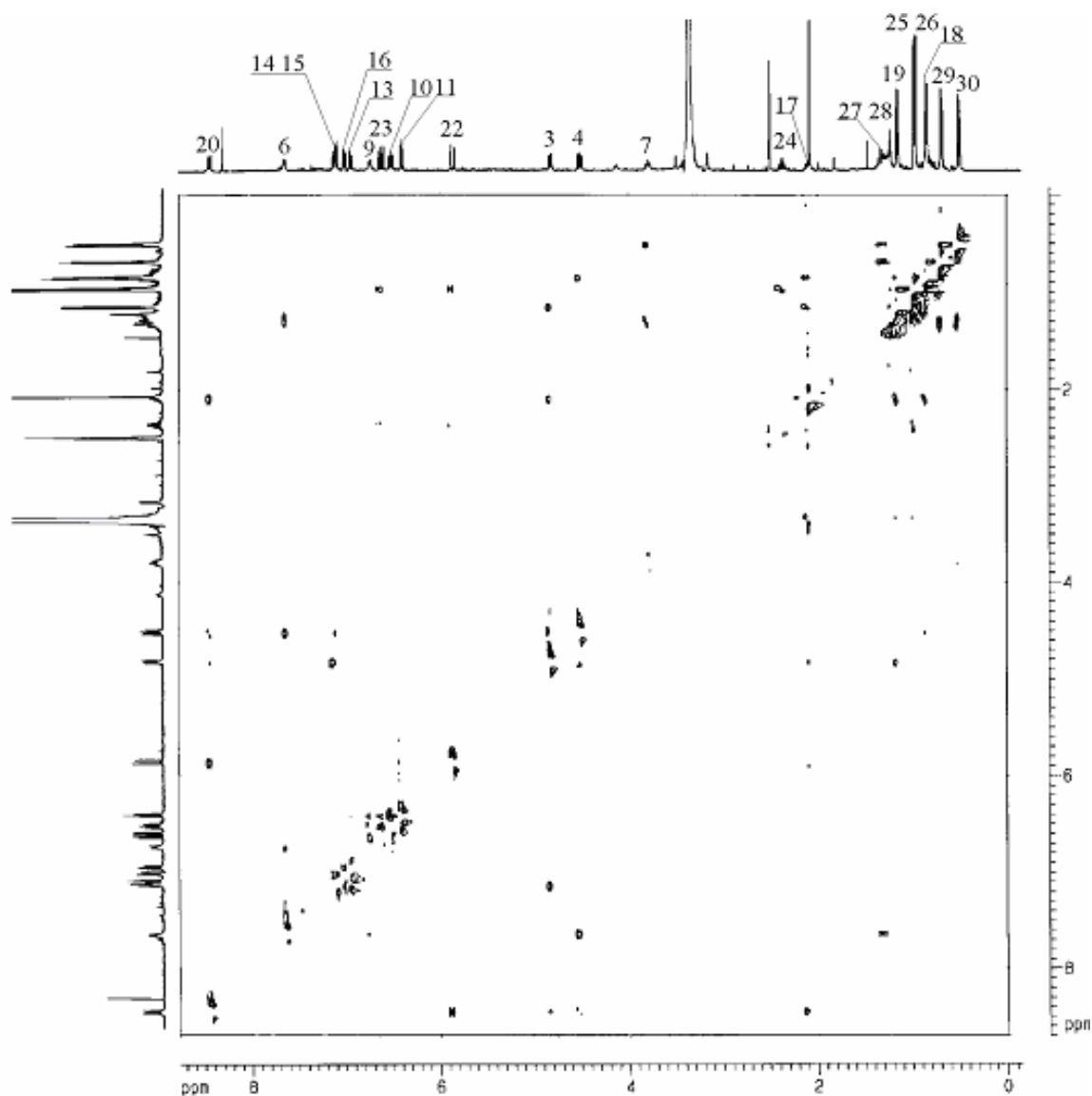


Figura 91 - Espectro de RMN de 2D, NOESY de D01, em DMSO, a 400 MHz.

Para análise deste espectro (Figura 92), foi utilizado, como ponto de partida, o sinal localizado em δ 4,89 ppm, relativo ao hidrogênio metínico H-3 da unidade β -hidroxileucina, por apresentar interação espacial com o hidrogênio aromático H-14 do sistema estirilamina. Além disso, H-3 apresenta uma correlação com o hidrogênio metínico H-17 e com um sinal em δ 1,13 ppm, referente à metila Me-18.

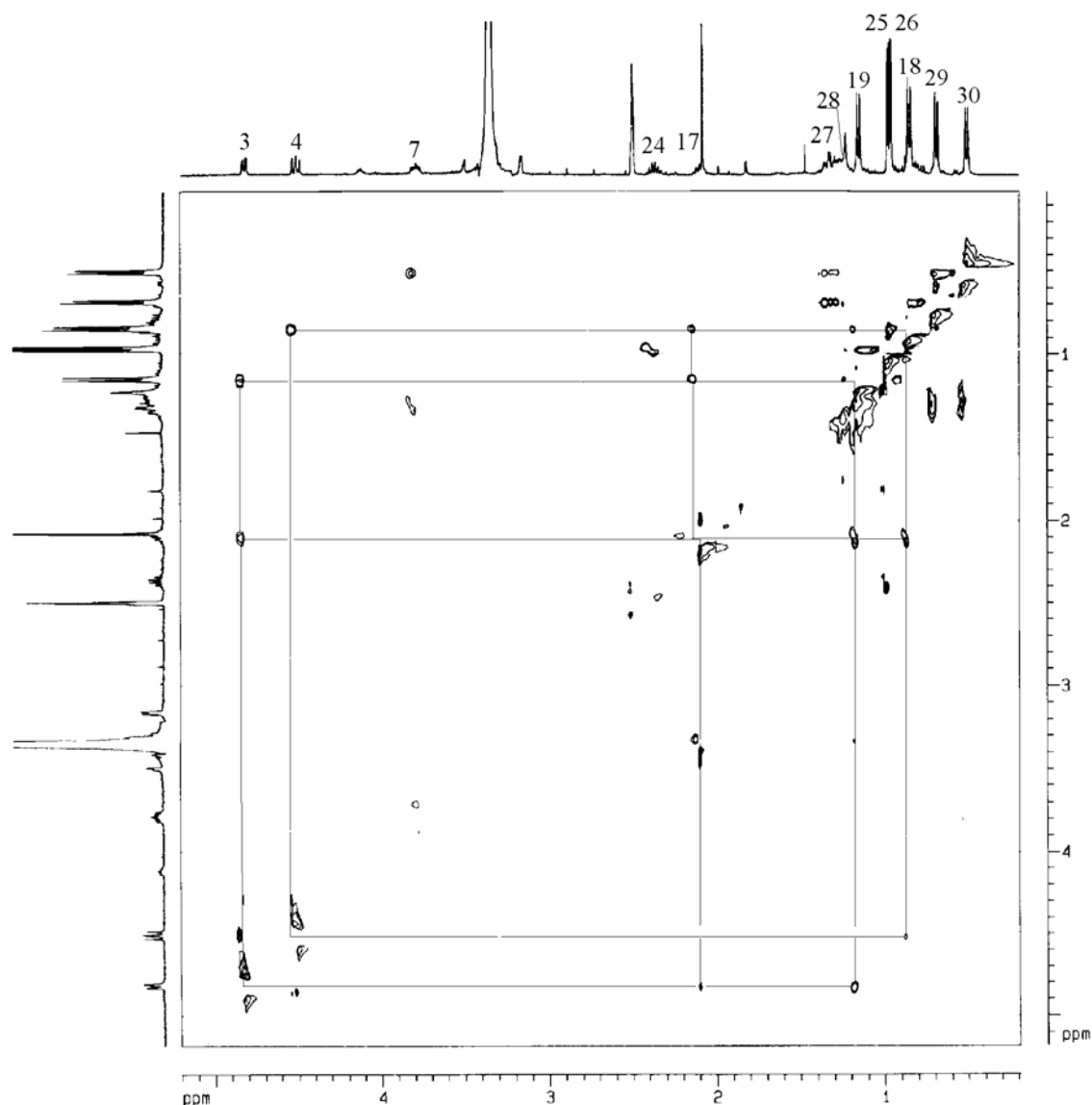


Figura 92 - Espectro expandido de RMN de 2D, NOESY, região δ 0,41-4,95 ppm de D01, em DMSO, a 400 MHz.

H-3, ao contrário do que foi observado no espectro COSY, não apresenta interação espacial com H-4, localizado em δ 4,55 ppm, indicando uma relação *anti* entre eles. Por outro lado, H-4 apresenta interação espacial com NH-6, que ressona em δ 6,72 ppm.

Uma interação espacial entre os hidrogênios NH-6 e H-7 não foi observada, mostrando uma relação *anti* entre os mesmos.

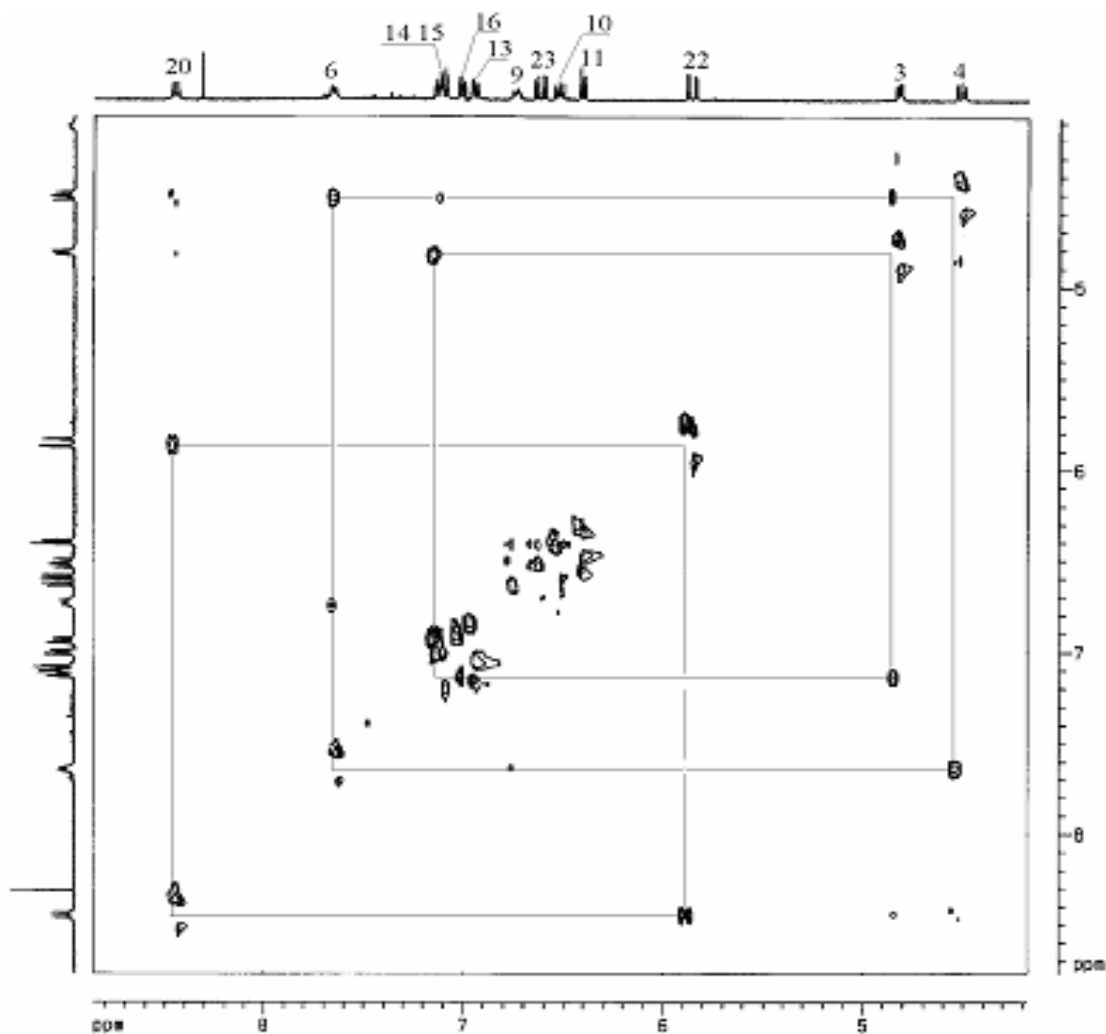


Figura 93 - Espectro expandido de RMN de 2D, NOESY, região δ 4,47-8,45 ppm de D01, em DMSO, a 400 MHz.

O hidrogênio amídico NH-20 (δ 8,42 ppm) apresenta interação espacial com o hidrogênio olefínico H-22. Este por sua vez, não se correlaciona com o hidrogênio olefínico H-23, que apresenta-se na forma de um duplo dublete em δ 6,61 ppm.

O mesmo espectro (Figura 93) não apresenta a interação entre o hidrogênio NH-20 com o hidrogênio metínico H-4, indicando uma relação *anti* entre eles. As duas metilas heterotópicas (Me-25 e Me-26) desse fragmento apresentam correlações espaciais com o hidrogênio metínico H-24 (δ 2,35 ppm). No entanto, a correlação entre H-24 e H-23 não aparece nesse espectro, ao contrário do que ocorre no COSY.

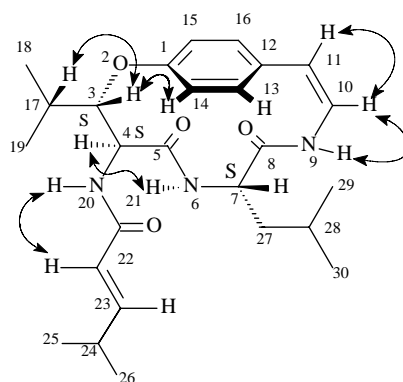


Figura 94 - Principais correlações observadas no espectro NOESY de D01.

Pela análise do espectro de carbono totalmente desacoplado, BB (Figura 95), é possível observar a presença dos 26 sinais correspondentes aos carbonos presentes na estrutura deste metabólito.

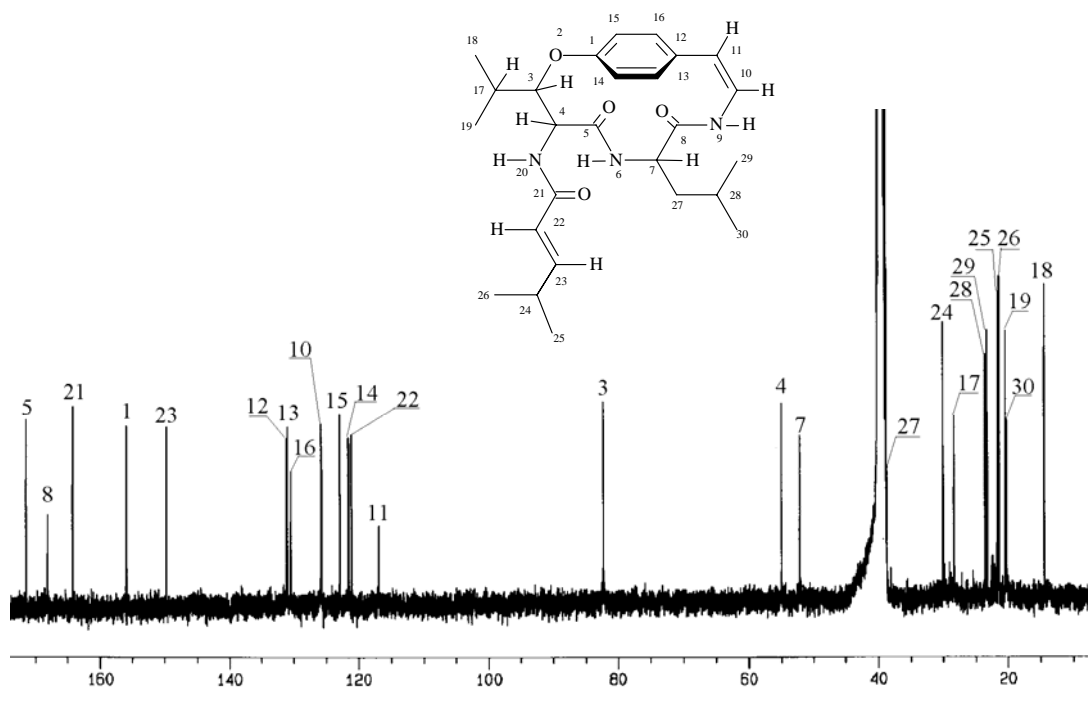


Figura 95 - Espectro de RMN de ^{13}C de D01, em DMSO, a 100 MHz.

No espectro DEPT 135° (Figura 96) há o desaparecimento dos cinco sinais, referentes aos carbonos não protonados, um sinal com amplitude negativa referente ao carbono metilênico C-27 e 20 sinais com amplitude positiva, correspondentes aos carbonos metílicos (CH₃) e metínicos (CH).

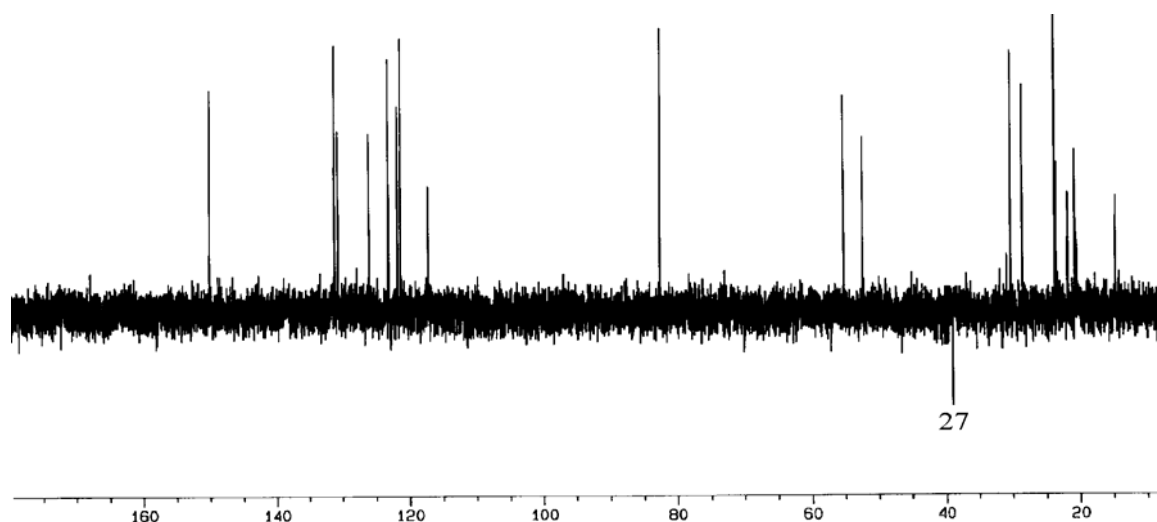


Figura 96 - Espectro de ¹³C DEPT 135° de D01, em DMSO, a 100 MHz

Com a aplicação de técnicas do tipo HMQC, que expressa correlação via ¹J_{H-C}, e HMBC, que exibe correlação via ²⁻³J_{H-C}, foi possível confirmar inequivocamente os deslocamentos químicos de todos os ¹H e ¹³C presentes em D01.

O espectro HMQC (Figura 97) permitiu a confirmação dos deslocamentos químicos dos carbonos hidrogenados, bem como a correlação de cada um dos hidrogênios com seu respectivo carbono.

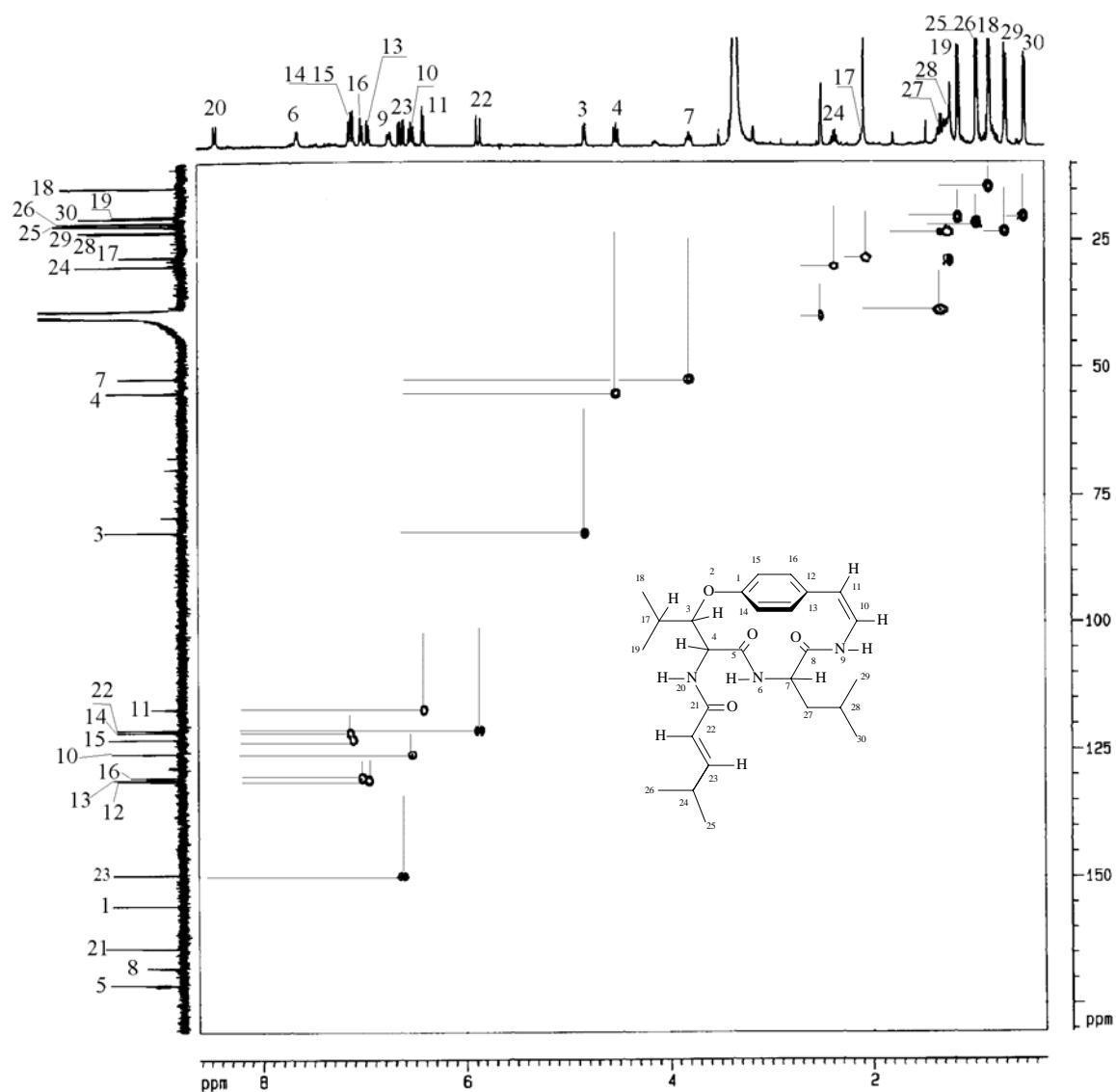


Figura 97 - Espectro 2D, heteronuclear $^1J_{H-C}$, HMQC de D01, em DMSO, a 400 MHz.

As correlações a longa distância via $^{2-3}J_{H-C}$, foram observadas no espectro HMBC (Figura 98), permitindo assim, assinalar claramente todas as correlações dos carbonos da estrutura (156), principalmente os aromáticos, quaternários e carbonílicos.

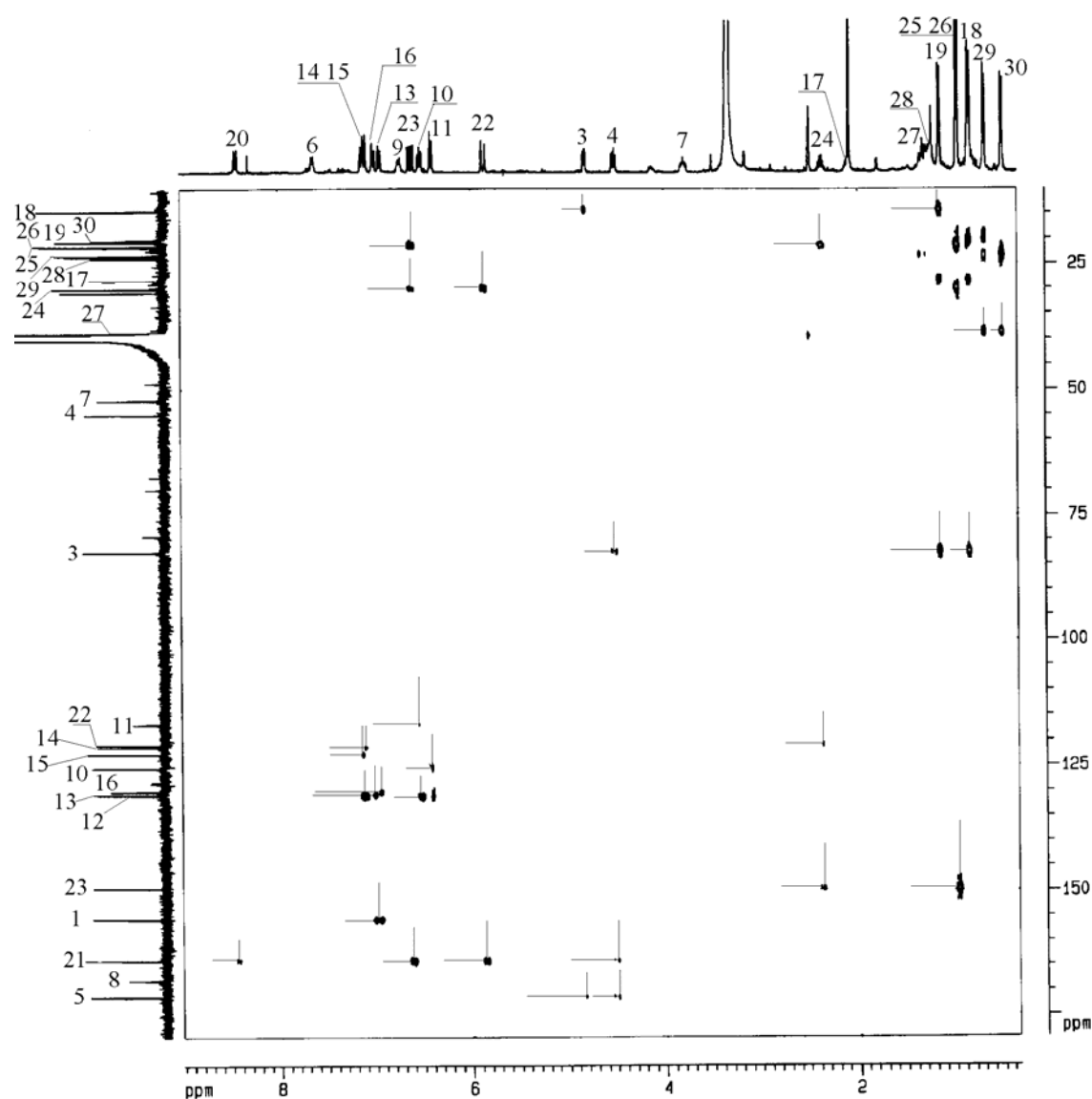


Figura 98 - Espectro 2D, heteronuclear $^{2-3}J_{H-C}$, HMBC de D01, em DMSO, a 400 MHz.

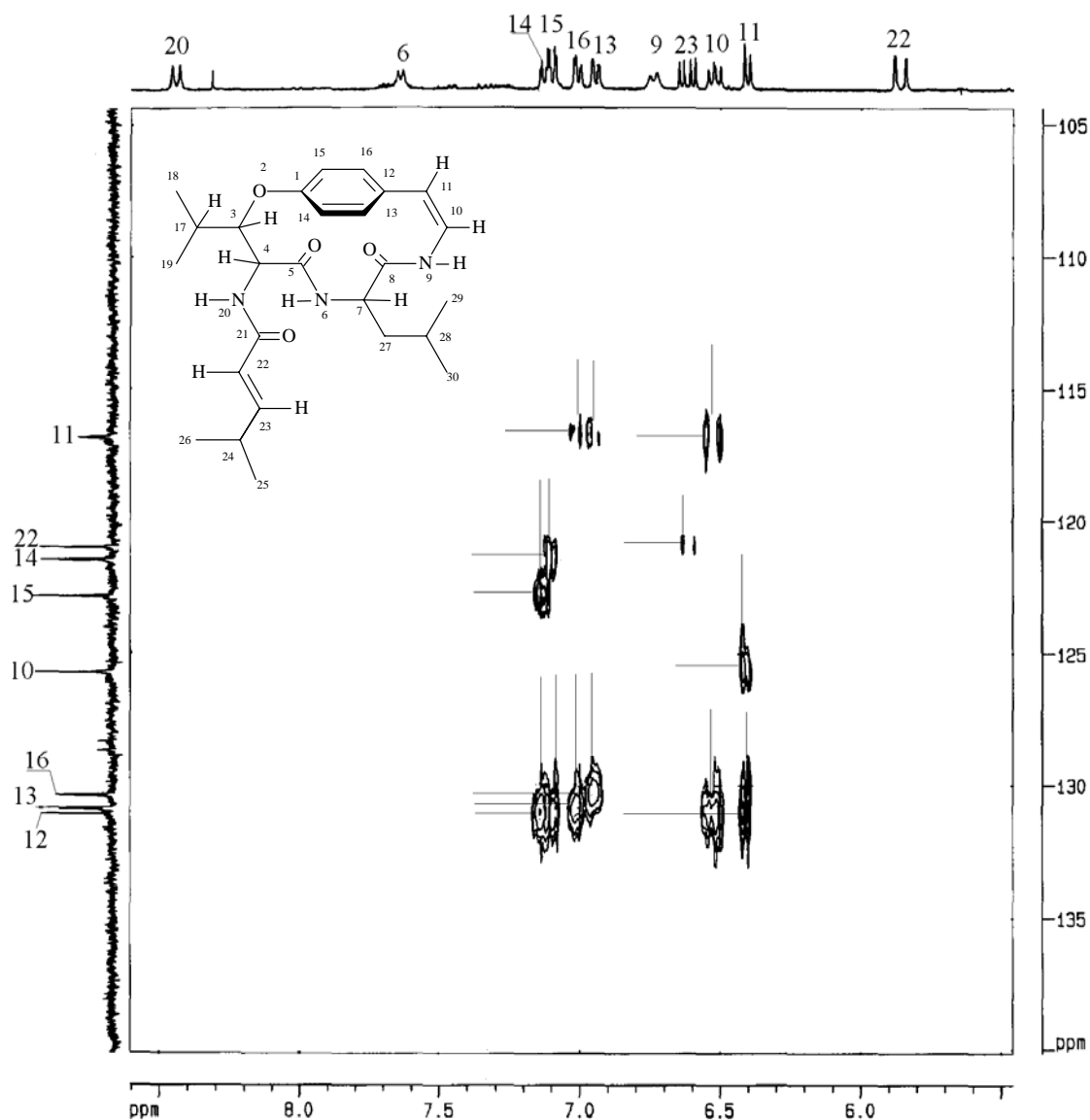


Figura 99 - Espectro expandido 2D, heteronuclear ${}^{2-3}J_{H-C}$, HMBC de D02, em DMSO, a 400 MHz.

O espectro expandido HMBC (Figura 99) mostra as correlações a longa distância via ${}^{2-3}J_{H-C}$ entre os seguintes sinais: H-11 em δ 6,38 ppm com C-13 em δ 130,90 ppm, C-16 em δ 130,37 ppm e com C-10 em δ 125,70 ppm; H-10 em δ 6,51 ppm com C-11 em δ 116,87 ppm e C-12 em δ 131,10 ppm; H-23 em δ 6,61 ppm com C-22 em δ 121,00 ppm; H-13 em δ 6,93 ppm com C-11 em δ 116,87 ppm e C-16 em δ 130,37 ppm; H-16 em δ 7,00 ppm com C-11 em δ 116,87 ppm e C-13 em δ 130,90 ppm; H-15 com C-12 em δ 131,10 ppm e C-14 em δ 121,48 ppm; H-14 em δ 7,11 ppm com C-12 em δ 131,10 ppm e C-15 em δ 122,85 ppm.

As demais correlações observadas no espectro HMBC de discarina M, estão listadas na Tabela 40 e mostradas na figura 100.

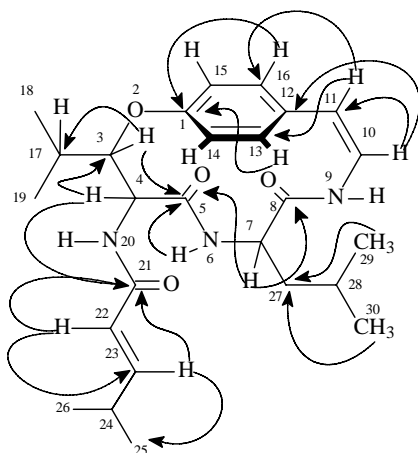


Figura 100 - Principais correlações observadas no espectro HMBC de D01.

Tabela 40 - Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de ^1H e ^{13}C para discarina M, em DMSO, a 400 MHz.

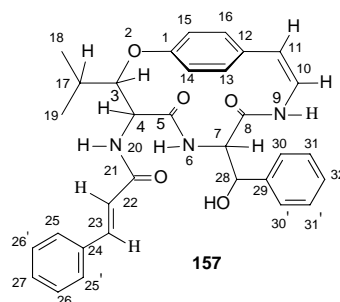
Posição	$\delta^1\text{H}^*$	J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}^\#$	NOESY	HMBC
1			155,85		
3	4,89 dd	$J_{3,4}=7,6$; $J_{3,17}=7,7$	82,26	H14, H17, H19	C5, C18, C19
4	4,55 dd	$J_{4,3}=7,6$; $J_{4,20}=10,0$	54,94	H6	C3, C5, C21
5			171,41		
6	6,72 d	$J_{6,7}=8,0$		H4	C5
7	3,78 m		52,11		
8			168,06		
9	7,62 d	$J_{9,10}=9,7$			
10	6,51 dd	$J_{10,9}=9,7$; $J_{10,11}=7,5$	125,70	H11	C12, C11
11	6,38 d	$J_{11,10}=7,5$	116,87	H10	C13, C16, C10
12			131,10		
13	6,93 dd	$J_{13,14}=6,8$; $J_{13,16}=2,4$	130,90		C16, C1
14	7,11 dd	$J_{14,13}=6,8$; $J_{14,15}=2,4$	121,48	H3	C12, C15
15	7,08 dd	$J_{15,16}=8,7$	122,85		C12, C14
16	7,00 dd	$J_{15,16}=8,7$	130,37		C13, C1
17	2,08 m		28,28	H3, H18, H19	
18	0,82 d	$J_{18,17}=6,7$	14,42		C17, C19
19	1,13 d	$J_{19,17}=6,8$	20,40		C17, C18
20	8,42 d	$J_{20,4}=10$		H22	C21
21			164,15		
22	5,84 dd	$J_{22,23}=14$; $J_{22,24}=1,3$	121,00	H20	C21, C24
23	6,61 dd	$J_{23,22}=14$; $J_{23,24}=6,8$	149,71		C24, C25, C26
24	2,35 m		30,01	H25, H26	C22, C23, C26
25	0,94 d	$J_{25,24}=6,7$	21,40		C23, C24
26	0,96 d	$J_{26,24}=6,7$	21,54		C23, C24
27	14,3 m		38,68		C29, C30
27'	1,31 m				
28	1,25 m		23,47	H29, H30	
29	0,96 d	$J_{29,28}=6,5$	23,19		C27, C28, C30
30	0,49 d	$J_{30,28}=6,5$	21,40		C27, C28, C29

*Deslocamentos químicos confirmados por ^1H - ^1H COSY e NOESY.

Deslocamentos químicos confirmados por HMQC, HMBC e DEPT.

5.1.1.2.2.3 Identificação do ciclopeptídeo D15

Este composto foi isolado das frações básicas etéreas de *D. americana*, coletada em Santana do Livramento e São Sepé (Tabelas 17 e 18). A estrutura **157** foi proposta para esse metabólito a partir da análise dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C e, principalmente pela utilização das técnicas bidimensionais homo- e heteronucleares e confrontação com dados da literatura.



O espectro de RMN de ^1H (Figuras 101 e 102) foi analisado, utilizando-se como referência os dados da literatura do alcalóide ciclopeptídeo scutianina D (**79**). Essa comparação permitiu sugerir a presença da unidade hidroxileucina como β -hidroxiaminoácido e a β -fenilserina como participantes do sistema macrocíclico de 14 membros em D15. Inicialmente, devido à semelhança estrutural com o alcalóide scutianina D, D15 foi denominado de scutianeno D. Porém, por sugestão dos “referees” e do editor da revista, onde foi publicado o trabalho, D15 foi denominado discarina N.²³

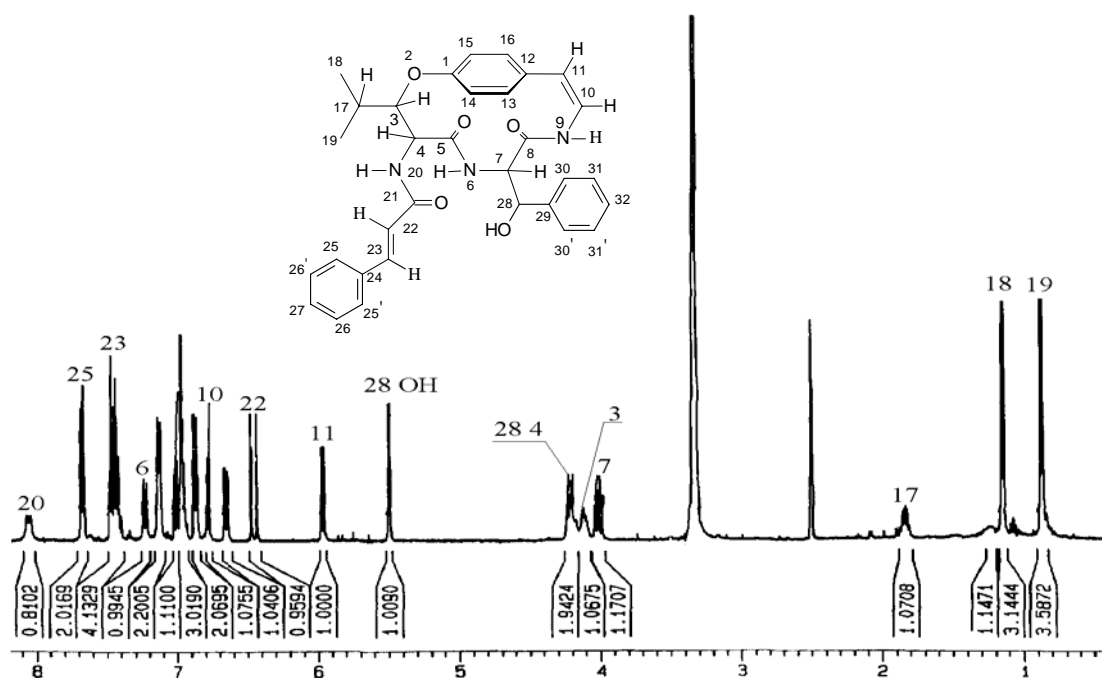


Figura 101 - Espectro de RMN de ^1H , D15, em DMSO, a 400 MHz.

Neste espectro, a unidade β -hidroxileucina foi identificada pela presença de dois dubletes, localizados em δ 0,86 e 1,14 ppm, que compreende às metilas Me-19 e Me-18, respectivamente. Esses dubletes resultam do acoplamento com o hidrogênio metínico H-17, que ressona em δ 1,83 ppm. Os hidrogênios metínicos H-3 e H-4 correspondem aos sinais em δ 4,13 e 4,20 ppm, respectivamente, enquanto que o hidrogênio amídico NH-20 é atribuído ao sinal em δ 8,05 ppm, na forma de um dublete, pelo acoplamento com o hidrogênio metínico H-4 ($J_{21,4} = 8,8$ Hz).

Os hidrogênios pertencentes à unidade β -fenilserina, exceto os aromáticos, são caracterizados pelos seguintes sinais: δ 4,01 ppm (m, H-7); δ 4,23 ppm (H-28); δ 5,49 ppm (OH-28) e δ 7,20 ppm (NH-6).

Os hidrogênios olefínicos, do grupamento que não faz parte do sistema macrocíclico, podem ser localizados em δ 6,58 (H-22) e H-23 a 7,42 ppm; ambos na forma de dubletos. A medida de constante de acoplamento de 15,8 Hz entre os hidrogênios olefínicos H-22 e H-23 indica uma geometria *trans*.

A região entre δ 6,63-7,67 ppm mostra sinais referentes aos hidrogênios aromáticos das unidades *p*-hidróxiestirilamina, fenilalanina e do grupamento que não faz parte do sistema macrocíclico, de difícil atribuição, devido à sobreposição de sinais e multiplicidades apresentadas. A localização desses hidrogênios só foi possível através dos experimentos COSY e NOESY.

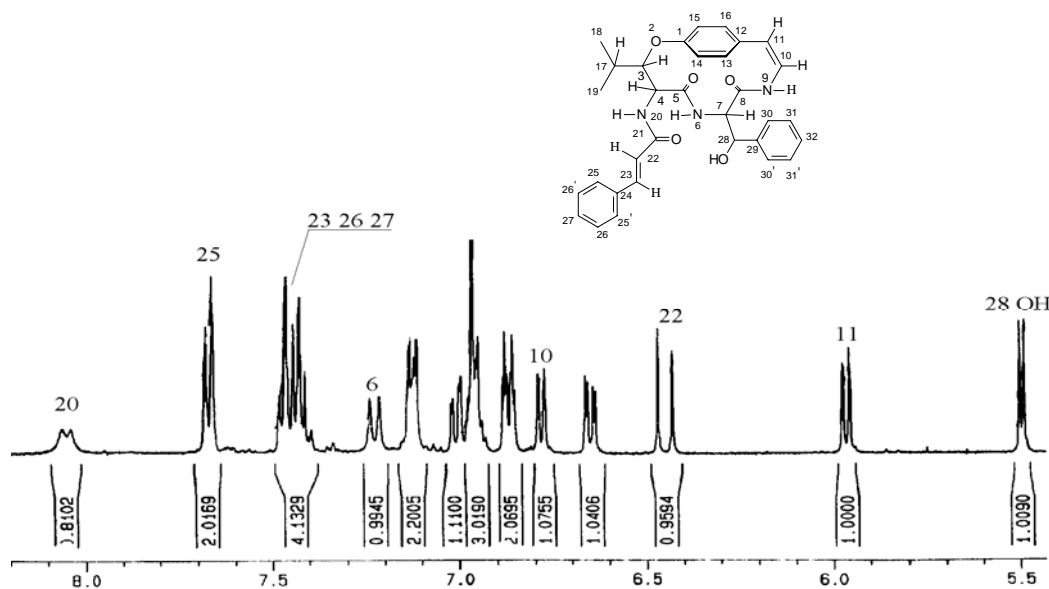


Figura 102 - Espectro expandido de RMN de ^1H , região δ 5,54-8,42 ppm de D15, em DMSO, a 400 MHz.

A análise do espectro COSY (Figuras 103 e 104) possibilitou a identificação correta dos sinais de hidrogênio que constituem as unidades β -hidroxileucina e os hidrogênios não aromáticos da fenilserina, além dos demais sistemas de spins presentes em D15.

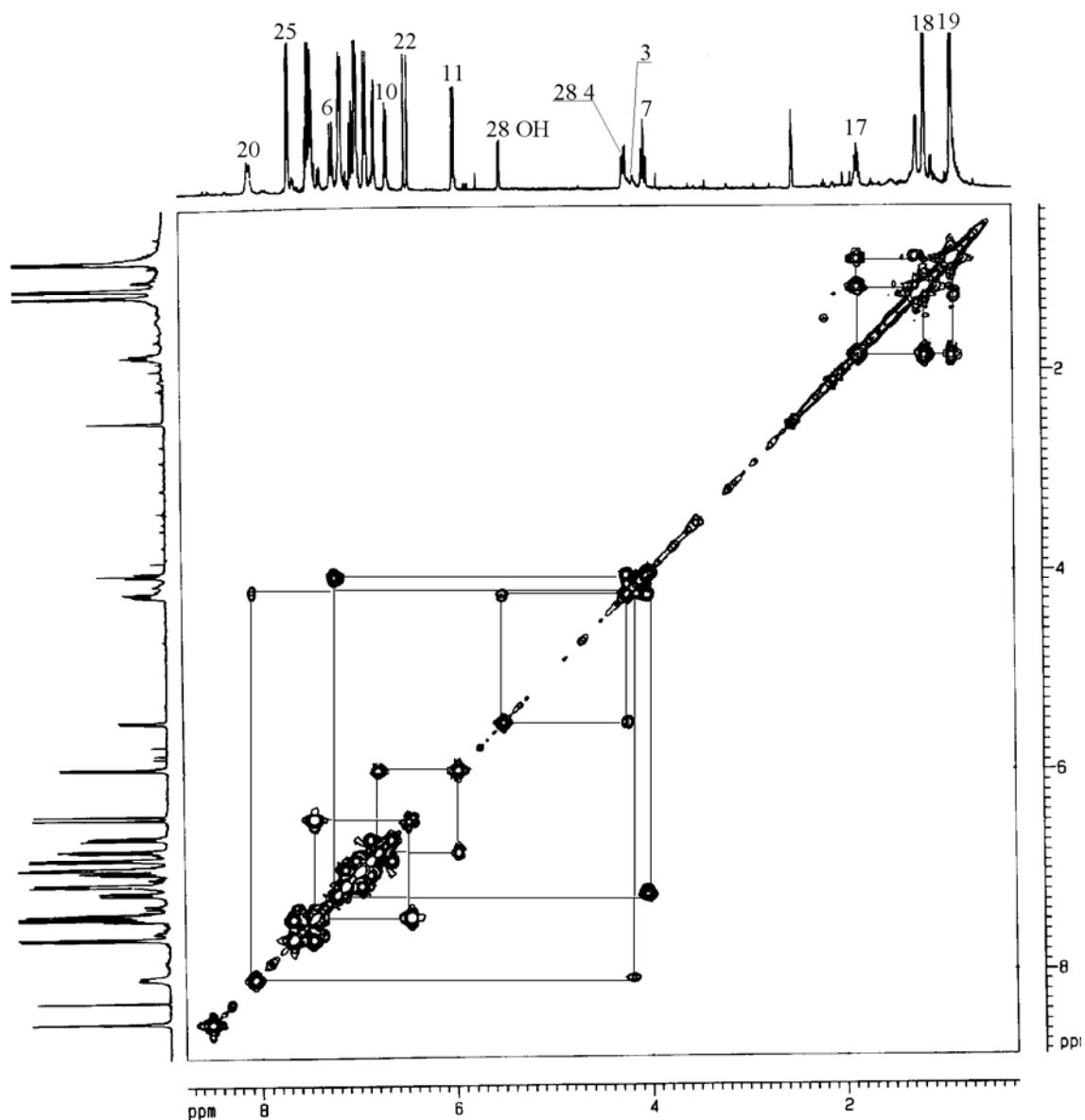


Figura 103 - Espectro de RMN de 2D, COSY de D15, em DMSO a 400 MHz.

Para a atribuição dos hidrogênios da unidade β -hidroxileucina iniciou-se pelo sinal localizado a δ 8,05 ppm, relativo ao hidrogênio amídico NH-20, identificado pelo seu deslocamento químico característico. Este apresenta correlação com o hidrogênio metínico H-4, que por sua vez mostra correlação com H-3. Não foi observada correlação do hidrogênio H-3 e H-17, porém, este último mostra correlação com os hidrogênios heterotópicos das duas metilas, 18 e 19, completando assim o sistema de spins dessa unidade.

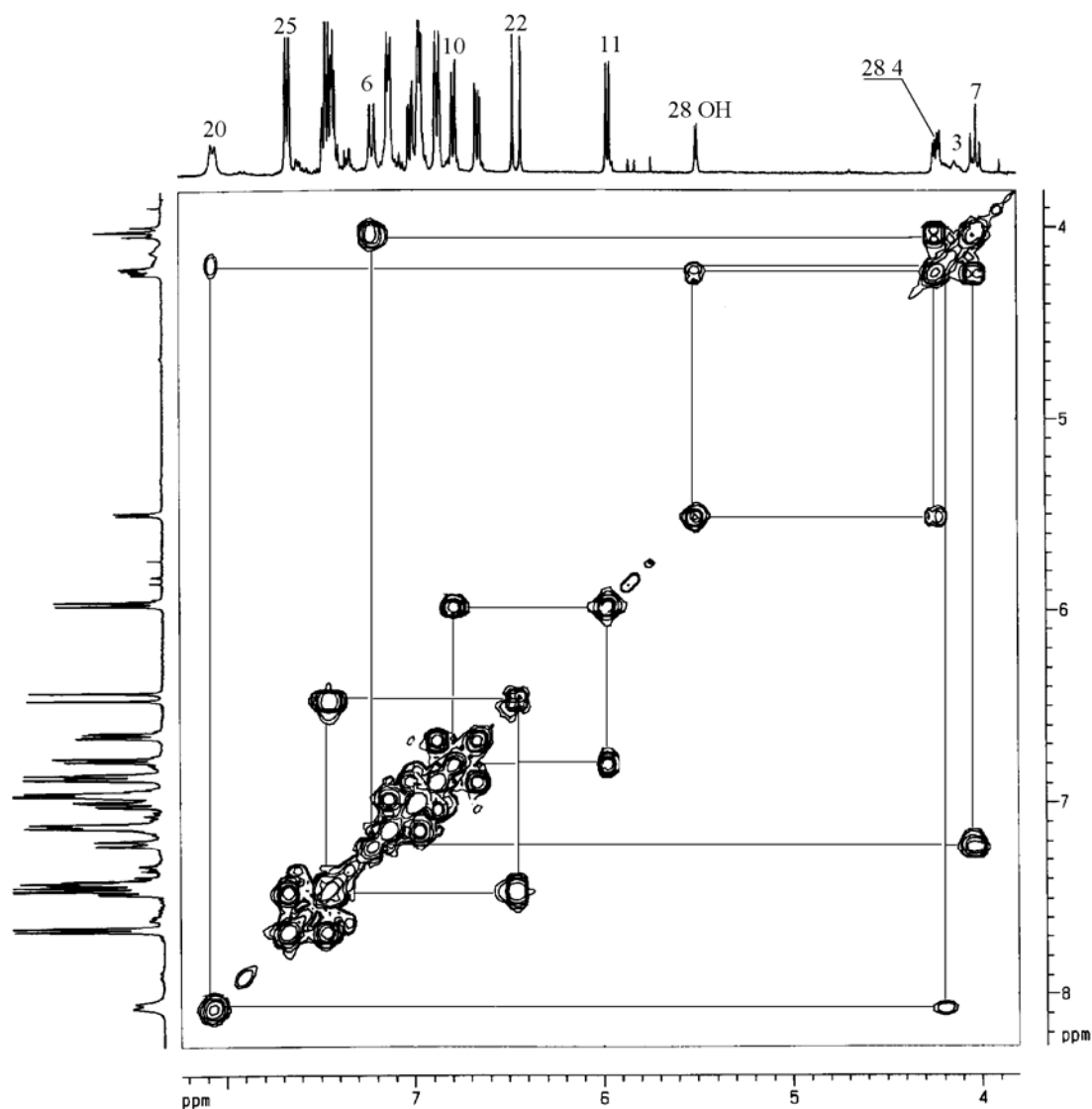


Figura 104 - Espectro expandido de RMN de 2D, COSY, região δ 3,99-8,06 ppm de D15, em DMSO a 400 MHz.

Para atribuição dos sinais da unidade fenilserina, foi utilizado como ponto de partida o hidrogênio amídico NH-6, que corresponde ao sinal a δ 7,20 ppm. Este se correlaciona com o hidrogênio metínico H-7, que por sua vez, correlaciona-se com o hidrogênio H-28. Este último apresenta correlação com o hidrogênio da hidroxila HO-C28. Este sistema de spins foi para atribuir o aminoácido fenilserina como sendo o α -aminoácido participante do sistema macrocíclico.

Nos outros dois sistemas de spins isolados, H-22 correlaciona-se com H-23, no grupamento que não faz parte do sistema macrocíclico, enquanto que o hidrogênio metínico H-11 do resíduo não aminoácido do anel, a estirilamina, se correlaciona com H-10 e este por sua vez, também mostra correlação com o hidrogênio amídico NH-9.

O espectro NOESY de D15 revela correlações espaciais importantes que forneceram informações quanto a geometria da molécula. Nesta análise (Figura 105), foi utilizado como ponto de partida o sinal localizado em δ 4,01 ppm, relativo ao hidrogênio metínico H-7. Este apresenta uma interação espacial com H-28, que por sua vez, se correlacionam com o hidrogênio aromático H-30, em δ 7,12 ppm. Por outro lado, H-7 não apresenta interação espacial com o hidrogênio amídico NH-6, indicando deste modo uma geometria *anti* entre os mesmos.

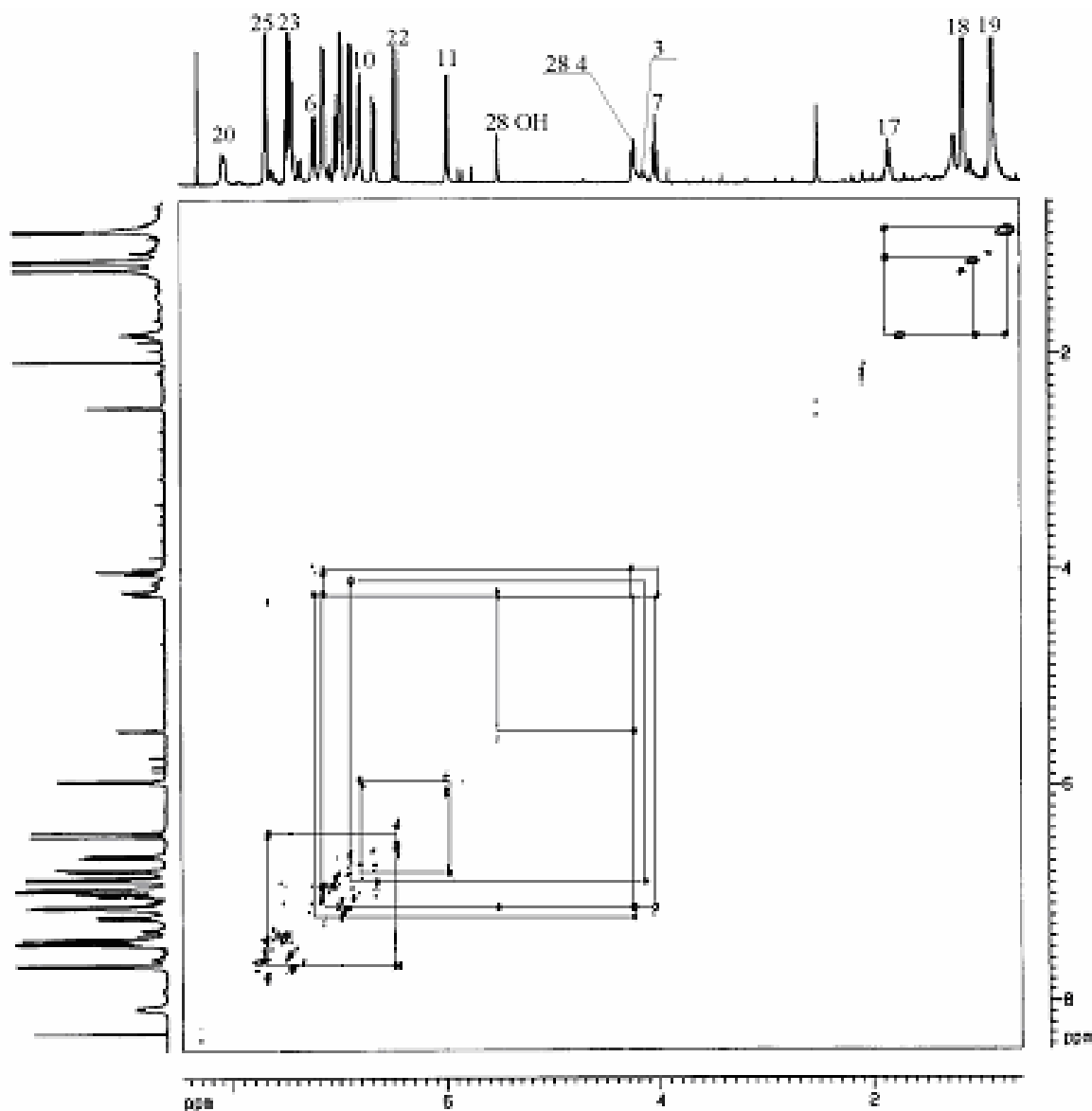


Figura 105 - Espectro de RMN de 2D, NOESY de D15, em DMSO, a 400 MHz.

O hidrogênio metínico H-3 da unidade β -hidroxileucina apresenta interação espacial com o hidrogênio aromático H-14 (δ 6,86 ppm) da unidade *p*-estirilamina. Por outro lado, H-3, ao contrário do que foi observado no espectro COSY, não apresenta interação espacial com H-4, indicando uma geometria *anti* entre eles; e que H-4 se encontra em uma posição α (abaixo do plano) da molécula. Já H-4, por sua vez, apresenta interação espacial com o hidrogênio amídico NH-6 sugerindo assim uma geometria *syn* entre os mesmos. Estes dados sugerem que os hidrogênios H-3 e H-7 se encontram em posição β (acima do plano), enquanto H-4 e NH-6 em posição α (abaixo do plano) da molécula.

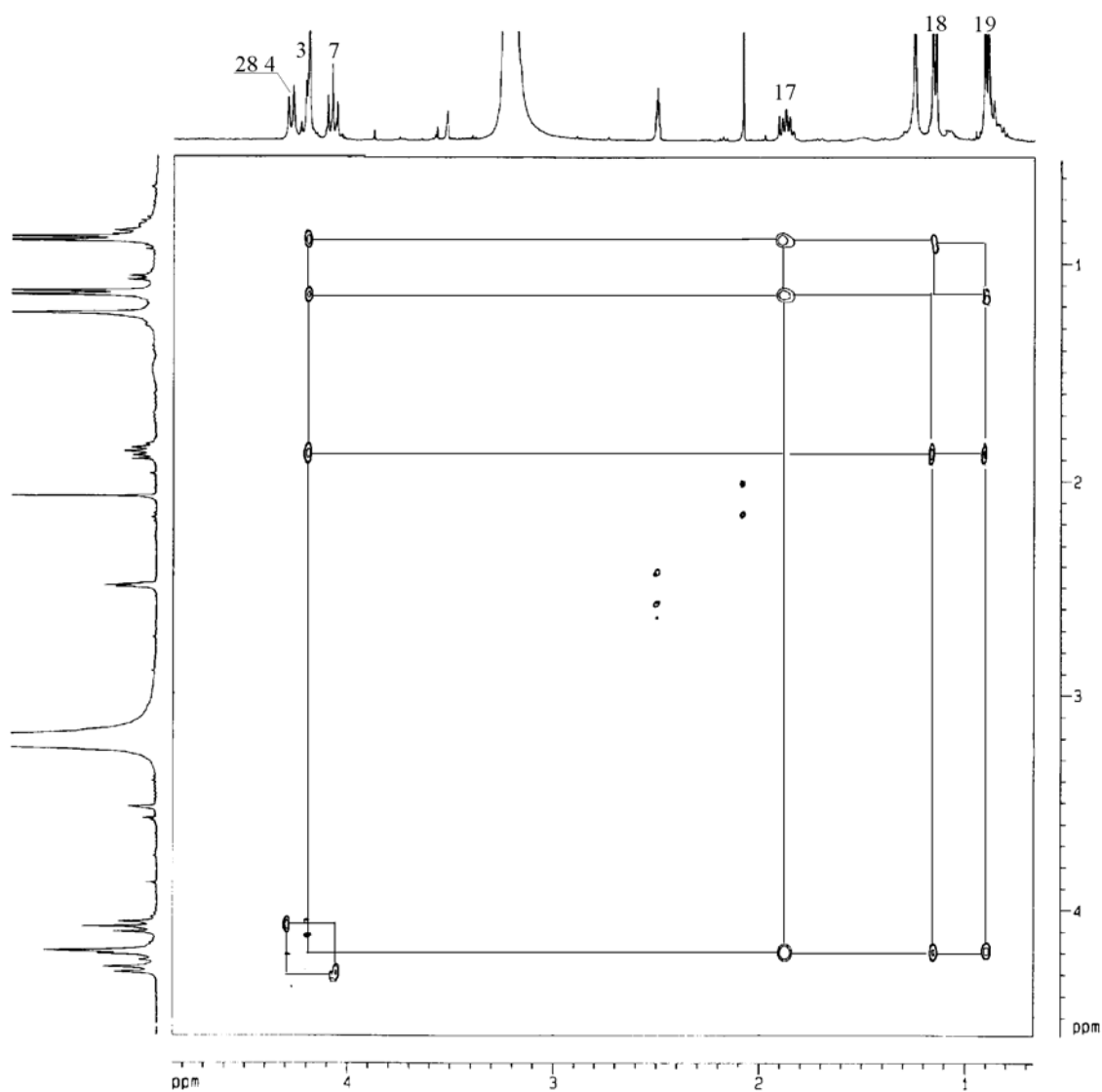


Figura 106 - Espectro expandido de RMN de 2D, NOESY, região entre δ 0,86-4,50 ppm de D15, em DMSO a 400 MHz.

Outras interações espaciais observadas no espectro NOESY de D15 estão listadas na Tabela 40 e podem ser observadas nas Figuras 106 e 107.

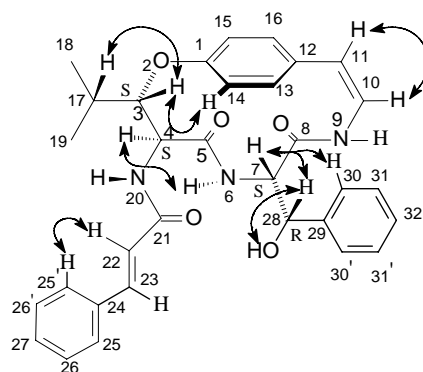


Figura 107 - Principais correlações observadas no espectro NOESY de D15.

O espectro de carbono totalmente desacoplado, BB, (Figura 108) apresentou sinais distribuídos numa região espectral compreendida entre δ 14,93 e 168,83 ppm.

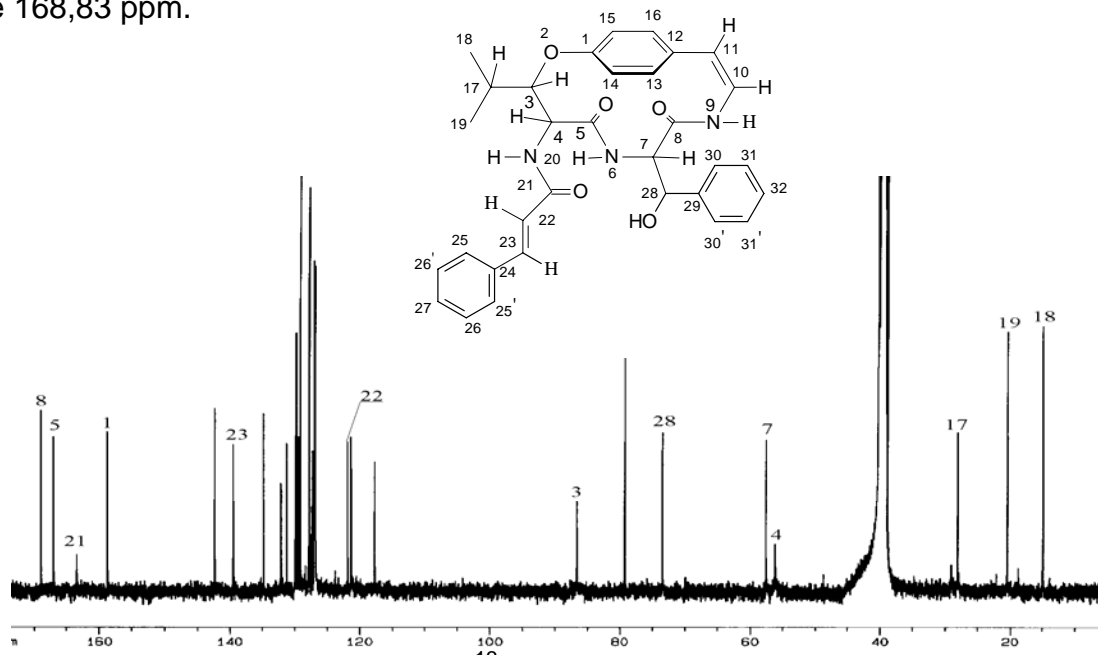


Figura 108 - Espectro de RMN de ^{13}C de discarina N, em DMSO a 100 MHz.

Analisando-se o espectro DEPT 135° (Figura 109), verificou-se a ausência de sete sinais de carbono, em relação ao espectro BB, sugerindo assim sete carbonos desidrogenados presentes na discarina N. Neste espectro não foi observado nenhum carbono metilênico, em concordância com a estrutura proposta.

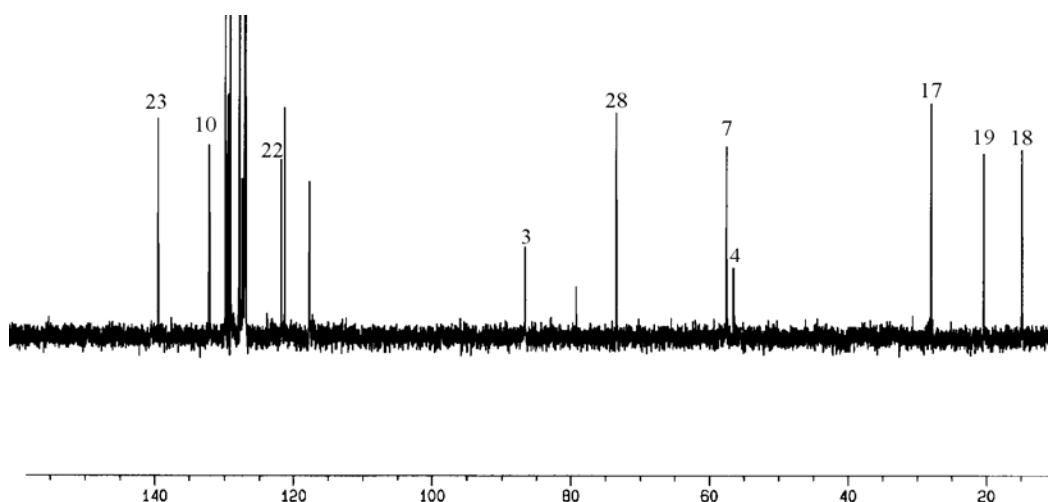


Figura 109 - Espectro DEPT 135°, de D15, em DMSO, a 100 MHz.

O espectro HMQC (Figuras 110 e 111) permitiu confirmar os deslocamentos químicos dos carbonos hidrogenados. Além disso, o espectro facilita a discriminação entre os carbonos hidrogenados dos não hidrogenados e a correlação de cada sinal de hidrogênio com seu respectivo carbono.

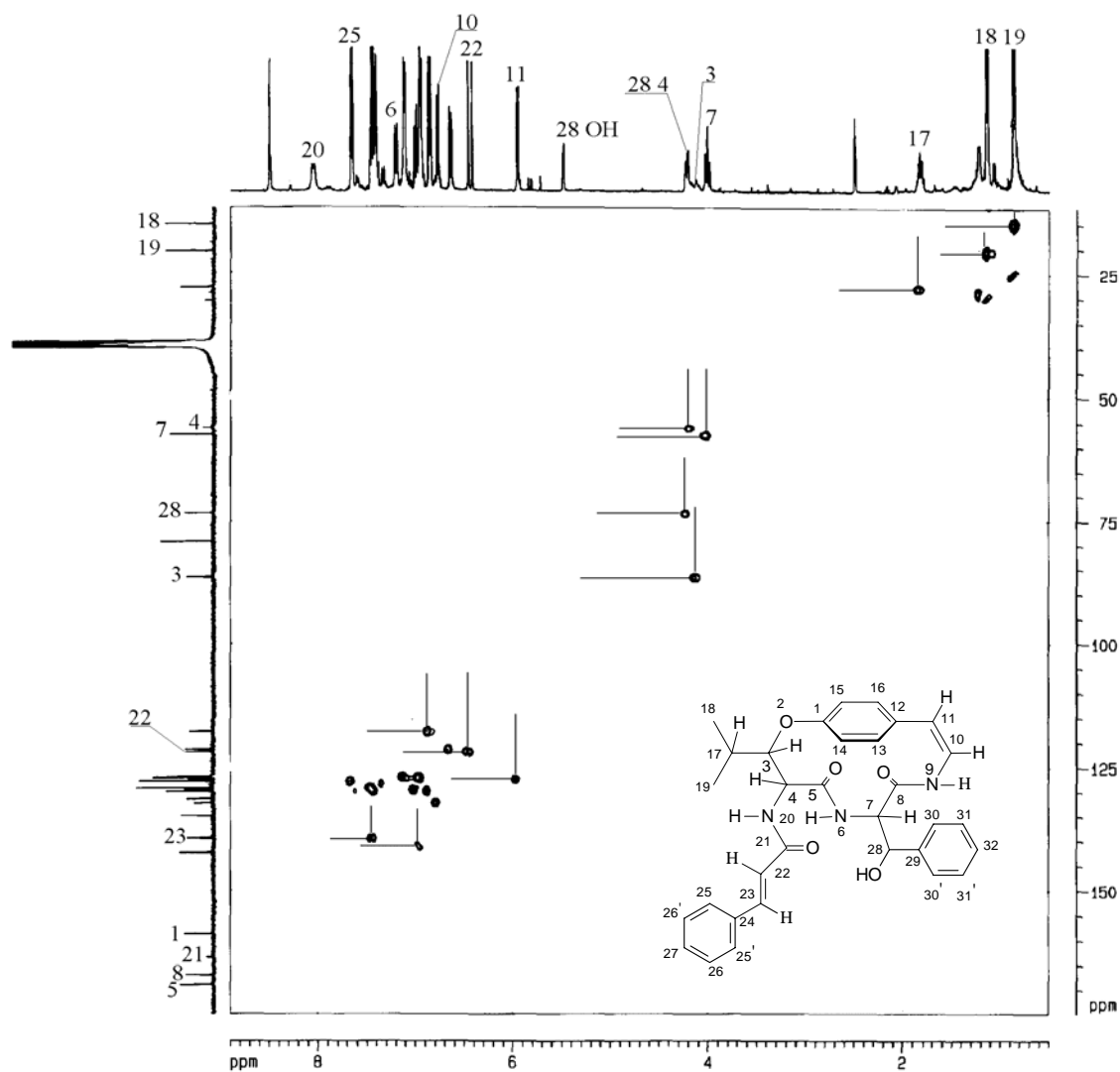


Figura 110 - Espectro 2D, heteronuclear $^1J_{H-C}$, HMQC de D15, em DMSO, a 400 MHz.

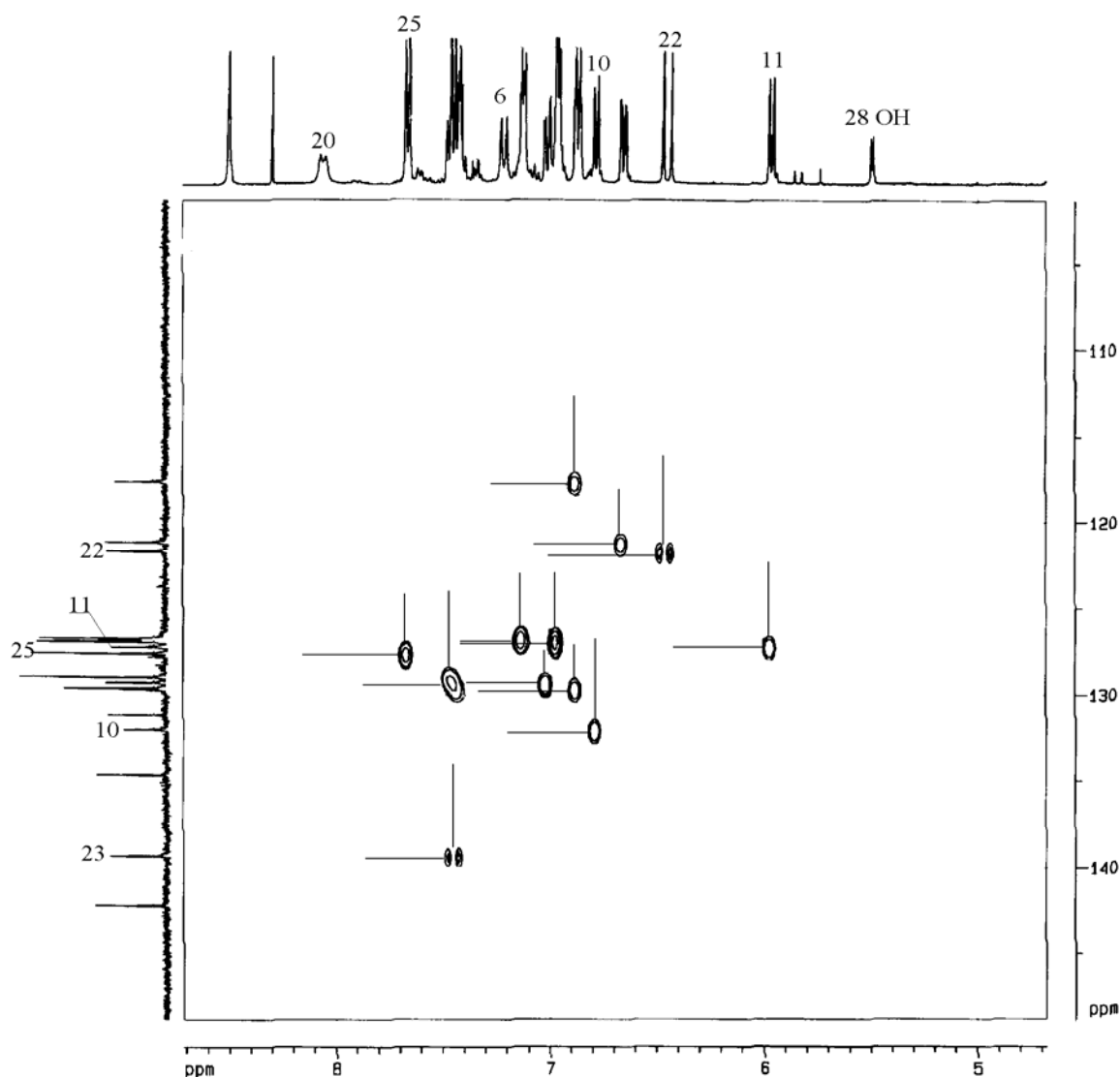


Figura 111 - Espectro expandido 2D, heteronuclear $^1J_{H-C}$, HMQC de D15, em DMSO, a 400 MHz.

O espectro HMBC (Figuras 113 e 114) permitiu atribuir os carbonos quaternários de D15 e, principalmente, os pertencentes aos sistemas aromáticos, de difícil atribuição devido à sobreposição de sinais.

As principais correlações observadas podem ser vistas na Figura 112 e estão listadas na Tabela 41.

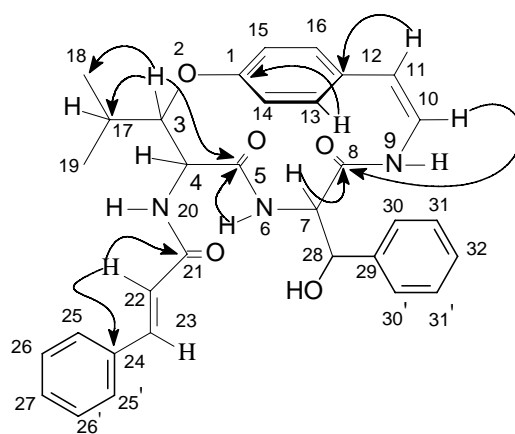


Figura 112 - Principais correlações observadas no espectro HMBC de D15

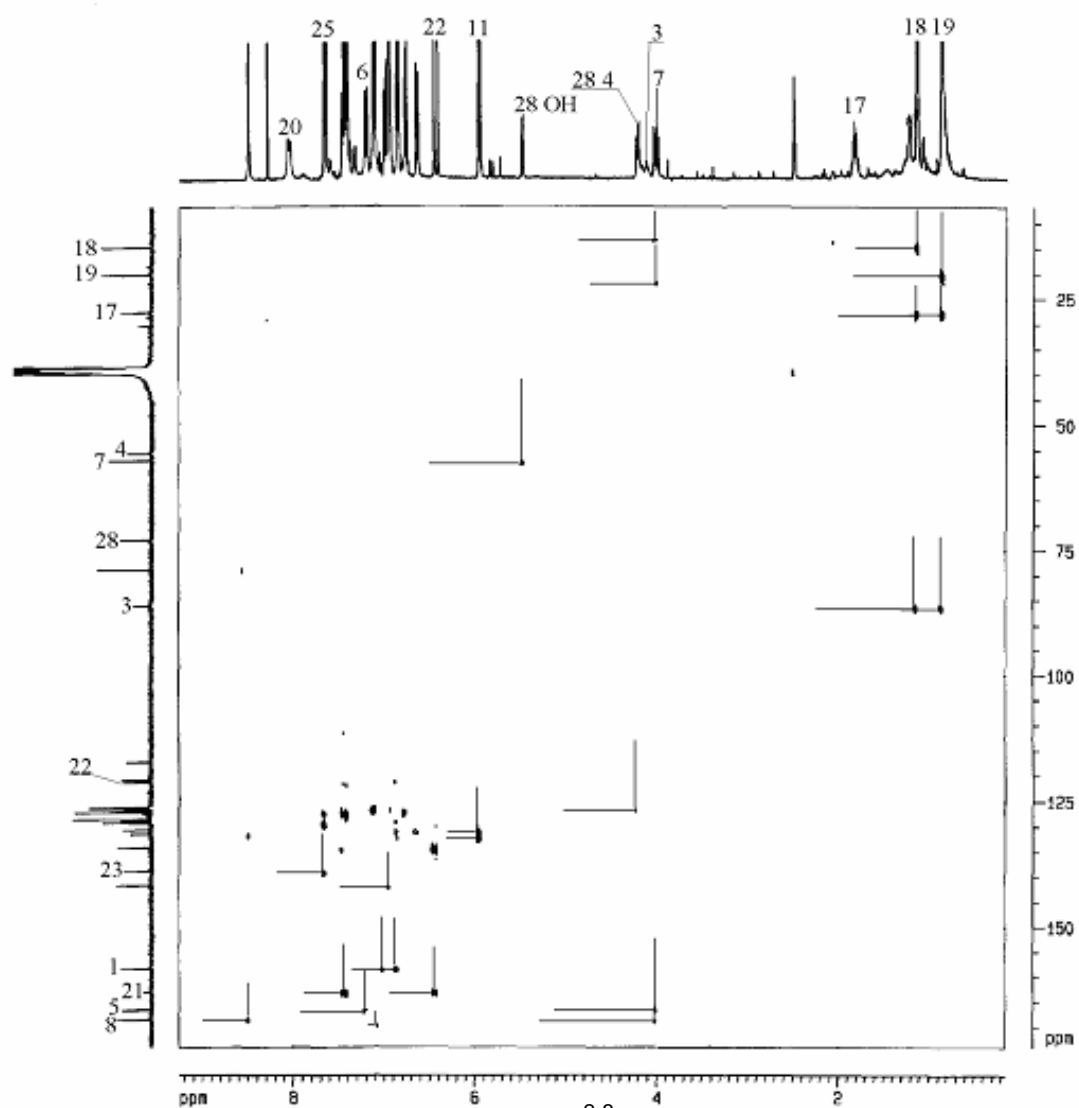


Figura 113 - Espectro 2D, heteronuclear ${}^{2-3}J_{\text{H-C}}$, HMBC de D15, em DMSO, a 400 MHz.

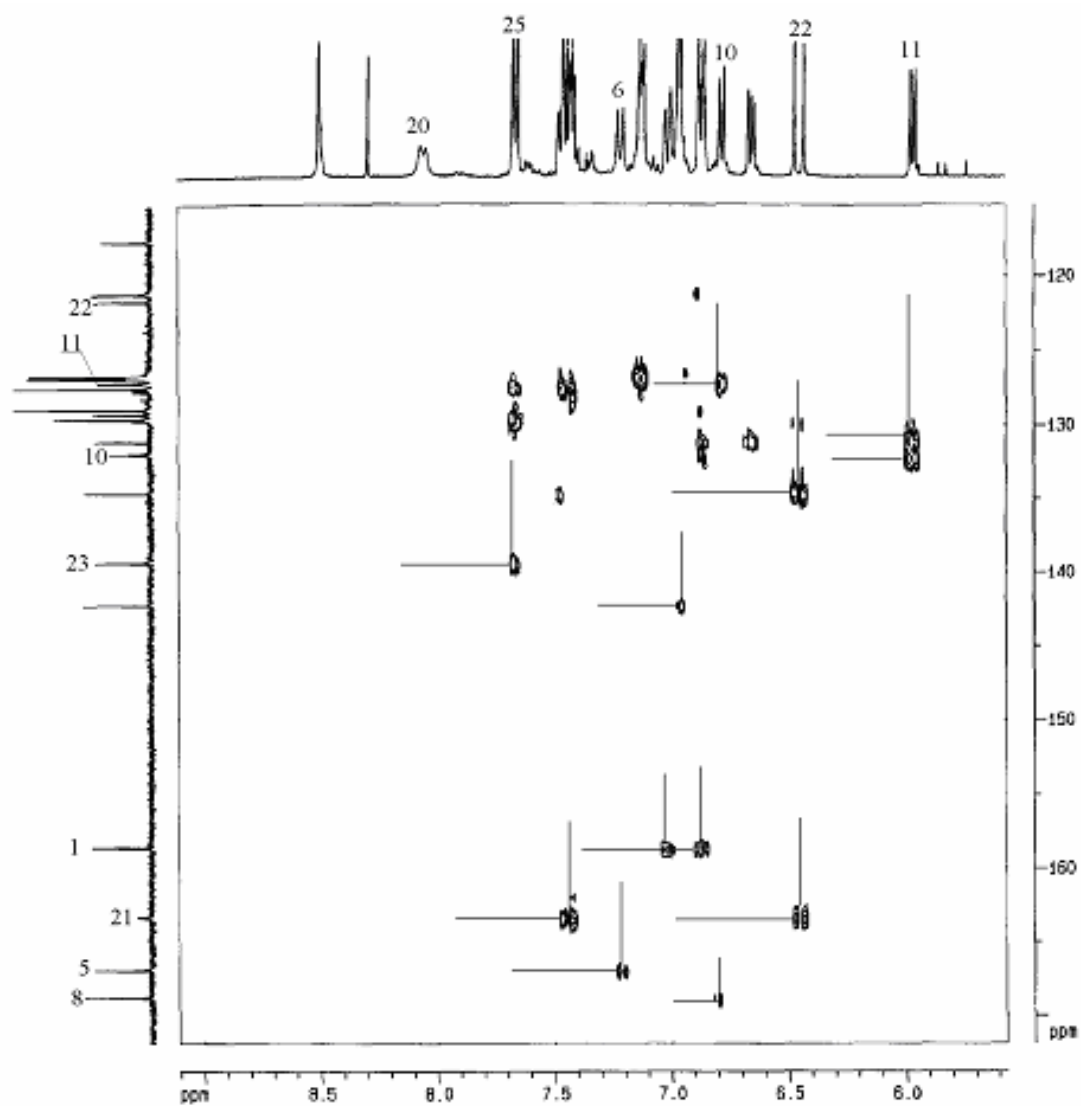


Figura 114 - Espectro expandido 2D, heteronuclear ${}^{2-3}J_{H-C}$, HMBC de D15, em DMSO, a 400 MHz.

Tabela 41 - Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de ^1H e ^{13}C para D15, em DMSO, a 400 MHz.

Posição	$\delta^1\text{H}^*$	J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}^\#$	NOESY	HMBC
1			158,69		
3	4,13		86,57	H14	
4	4,20 dd	$J_{4,20} = 8,8$	56,08		
5			166,97		
6	7,19 d	$J_{6,7} = 11,5$		H7	C5
7	4,01 m		57,46	H6, H28, H30	C5, C8, C9
8			163,39		
9	6,09 d	$J_{9,10} = 8,8$			
10	6,85 d	$J_{10,11} = 7,4$		H11	C8
11	6,44 d	$J_{11,10} = 7,4$	121,77		C12
12			134,71		
13	7,00 d	$J_{13-14} = 8,5$	129,40		C1
14	6,87 d	$J_{13-14} = 8,5$			
15	6,54 d	$J_{15-16} = 8,1$			
16	7,11 d	$J_{15-16} = 8,1$			
17	1,83	$J_{17,18} = 6,7$ $J_{19,17} = 6,8$	28,00	H18, H19	
18	1,14	$J_{18,17} = 6,7$	14,93		C3, C17, C19
19	0,86	$J_{19,17} = 6,8$	20,44		C3, C17, C18
20	8,05	$J_{20,4} = 8,8$			
21			168,93		
22	5,96	$J_{22,23} = 15,8$	127,33		C21, C23, C24
23	6,85	$J_{23,22} = 15,8$	132,09		C22
24			131,25		
25, 25'	6,92-6,98				
26, 26'	6,92-6,98				
27	6,92-6,98				
28	4,23 dd	$J_{28\text{OH},7} = 6,4$ $J_{28\text{OH},28} = 4,4$	73,38	H7, OH28	C29
28OH	5,49 d	$J_{28\text{OH},28} = 4,4$		H28	
29			142,26		
30, 30'	7,45-7,41				
31, 31'	7,45-7,41				
32	7,45-7,41				
33					

*Deslocamentos químicos confirmados por COSY e NOESY.

Deslocamentos químicos confirmados por HMQC, HMBC e DEPT.

5.1.1.2.3 Análise da estereoquímica dos ciclopeptídeos D01, D02, D03 e D15

Nesta parte do trabalho, será discutida a metodologia utilizada para determinação das configurações absolutas dos centros quirais das estruturas ciclopeptídicas aqui obtidas, que implicou especificamente na determinação das configurações absolutas dos aminoácidos que compõem estas estruturas. Para isso, a principal ferramenta utilizada foi a cromatografia gasosa enantioseletiva, utilizando-se de colunas capilares com ciclodextrinas modificadas como fases estacionárias quirais. Como os β -hidroxiaminoácidos que formam o macrociclo destes peptídeos não foram detectados no processo de hidrólise ácida utilizada para a obtenção dos aminoácidos, os mesmos tiveram suas configurações assinaladas através da técnica NOESY.

5.1.1.2.3.1 Estereoquímica do ciclopeptídeo discareno C (D02)

Como determinada anteriormente, a estrutura deste peptídeo é formado por duas unidades de aminoácidos, o hidroxiaminoácido que neste caso é a fenilserina e a leucina. A determinação da estereoquímica da leucina, estrutura mais simples e estável as condições de hidrólise ácida foi o objetivo inicial. Portanto, o peptídeo foi submetido a uma hidrólise ácida conforme descrito na parte experimental, e o(s) aminoácido(s) obtidos desta hidrólise, derivatizados para adquirirem volatilidade necessária às análises por cromatografia gasosa.

A Figura 115 mostra os cromatogramas de D,L-Leu (A), L-Leu (B), hidrolisado de discareno C (C), reforço do hidrolisado de discareno C com D,L-Leu (D), realizados em uma coluna com fase estacionária 2,6-Pe-3-Bc- γ -CD (Lipodex-E). Pela análise dos cromatogramas, podemos definir, sem equívoco, que o aminoácido ligado ao sistema macrocíclico é a leucina de configuração L (S).

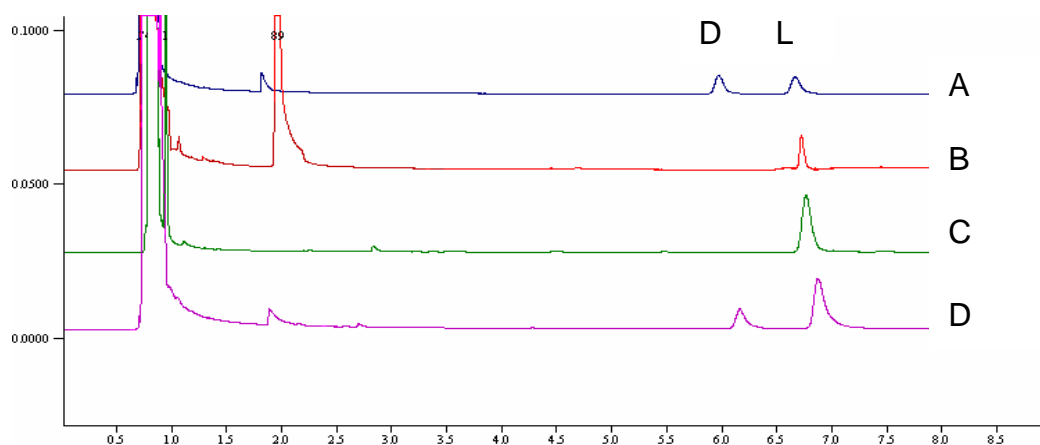
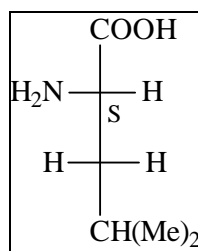
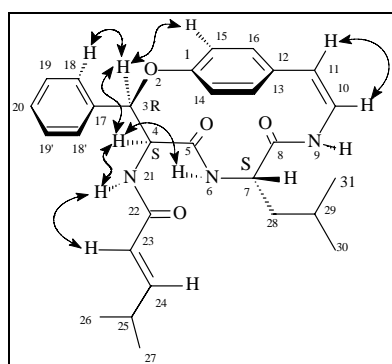
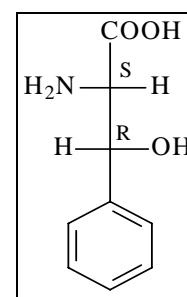


Figura 115 - Determinação da configuração absoluta do aminoácido leucina no hidrolisado de discareno C. CCSF, 25 m, Lipodex-E, 100 °C, 10 Psi H₂. A) D,L-Leu B) L-Leu C) Hidrolisado de discareno-C D) D,L-Leu e hidrolisado de discareno-C

Como o hidroxiaminoácido fenilserina não foi detectado no produto de hidrólise, possivelmente devido a uma decomposição durante este processo foram utilizados os dados obtidos do espectro NOESY. Assim, a estereoquímica desta unidade foi determinada da seguinte forma: o espectro NOESY desta substância (Figura 58), mostra uma correlação espacial entre os hidrogênios NH-6, H-4 e H-3. Este dado mostra que os 3 hidrogênios se encontram do mesmo lado da estrutura (relação *syn*). Como NH-6 não mostra correlação com H-7, ambos devem estar localizados em uma posição *anti* na estrutura. Sabendo-se que a configuração do aminoácido leucina é *S*, absoluta, o hidrogênio metínico (H-7) desta unidade se encontra em uma posição β (acima do plano). Com a informação do espectro NOESY, conclui-se que H-3, H-4 e NH-6 se encontram em posição α (abaixo do plano). Desta maneira, a estereoquímica absoluta da unidade hidróxifenilserina foi determinada como *L-Treo* (3R/4S).



L-Leu

L-treo- β -PheSer

5.1.1.2.3.2 Estereoquímica do ciclopeptídeo discareno D (D03)

Comparando-se a estrutura deste peptídeo com o anterior, observa-se que a diferença estrutural entre ambos está no α -aminoácido do sistema macrocíclico. No discareno D, trata-se do aminoácido fenilalanina no lugar da leucina. Portanto, neste caso o objetivo inicial foi a determinação da configuração do aminoácido fenilalanina. Para isso, discareno D foi submetido ao mesmo tratamento utilizado para o peptídeo anterior.

A Figura 116 mostra os cromatogramas da mistura racêmica D,L-Phe (A), reforço do aminoácido puro na forma natural L (D,L Phe + L-Phe) (B), produto do hidrolisado de discareno D (C), reforço do hidrolisado de discareno D com D,L-Phe (D). Neste caso, utilizou-se uma coluna com a fase estacionária 2,6-Me-3-Pe- β -CD. A comparação entre os cromatogramas permitiu propor que o aminoácido fenilalanina, participante do sistema macrocíclico, apresenta-se na configuração *L* (S).

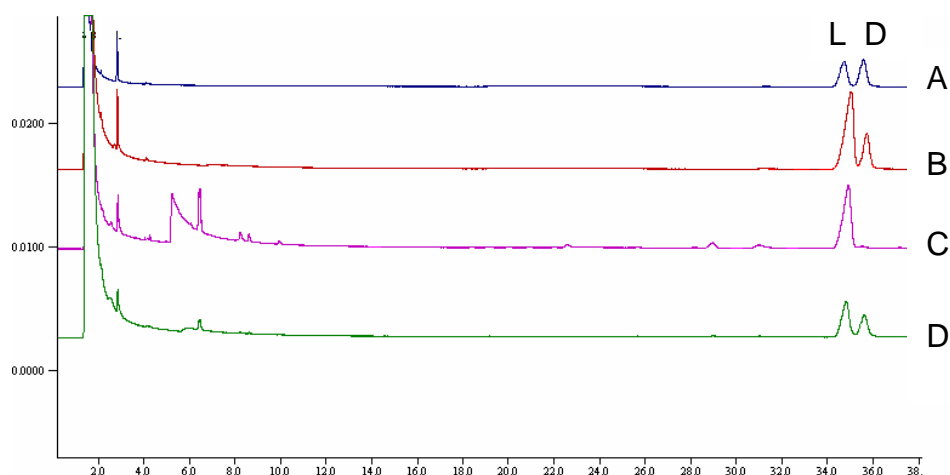
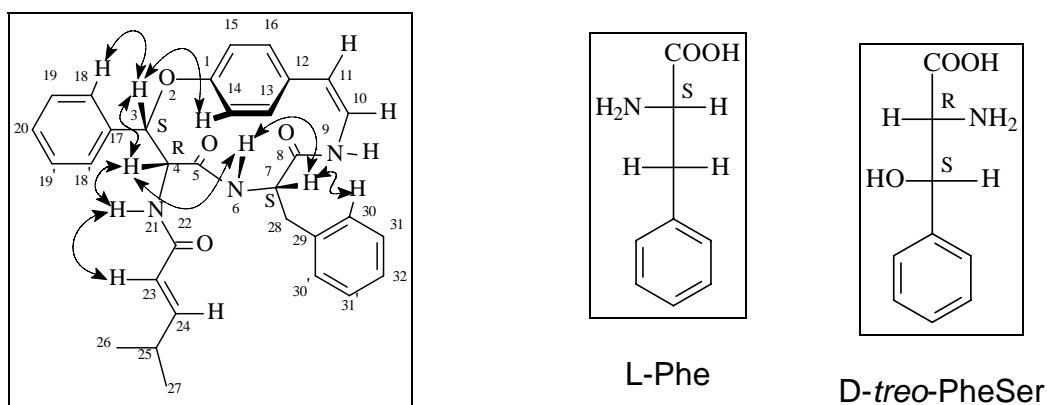


Figura 116 - Determinação da configuração absoluta do aminoácido fenilalanina no hidrolisado de discareno D. CCSF, 25 m, 2,6-Me-3-Pe- β -CD, 120 °C, 6 Psi H₂. A) D,L-Phe B) L-Phe + D,L-Phe C) Hidrolisado de discareno D D) D,L-Phe e hidrolisado de discareno D.

O espectro NOESY (Figura 74) deste peptídeo mostra claramente, que H-7, posiciona-se espacialmente acima do plano (β) se correlaciona com NH-6, o qual se correlaciona com H-4 e este por sua mostra correlação com H-3. Portanto, todos estes hidrogênios metínicos se encontram acima do plano, em posição β . Assim, a configuração absoluta da unidade β -fenilserina (β -PheSer) foi atribuída como sendo *D-Treo* (3*S*, 4*R*).



5.1.1.2.3.3 Estereoquímica do ciclopeptídeo discarina M (D01)

Estruturalmente, este peptídeo difere do primeiro por apresentar a hidroxileucina em lugar da fenilserina, como hidroxiaminoácido do anel. Neste caso, nosso objetivo inicial foi a configuração do aminoácido leucina.

A Figura 117 mostra os cromatogramas de D,L-Leu (A), L-Leu (B), hidrolisado de discarina M (C) e reforço do hidrolisado de discarina M com D,L-Leu (D), realizados em uma coluna com fase estacionária 2,6-Pe-3-Bc- γ -CD (Lipodex-E). Deste modo, foi possível definir que o aminoácido leucina ligado ao sistema macrocíclico apresenta estereoquímica L (S).

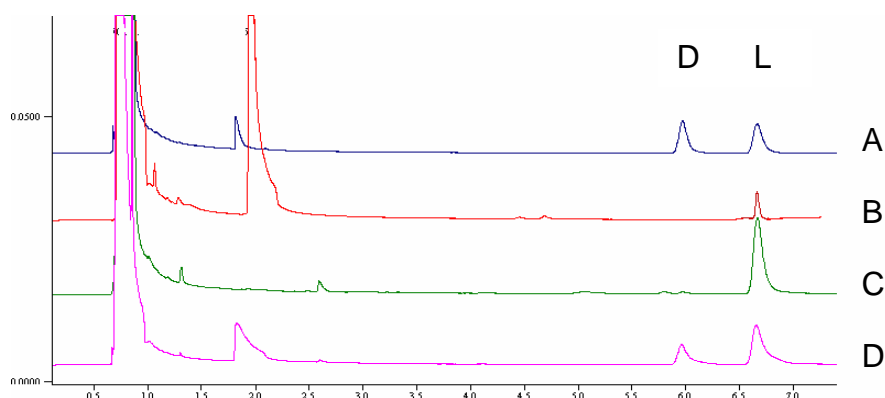
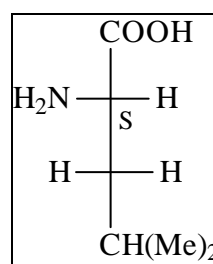
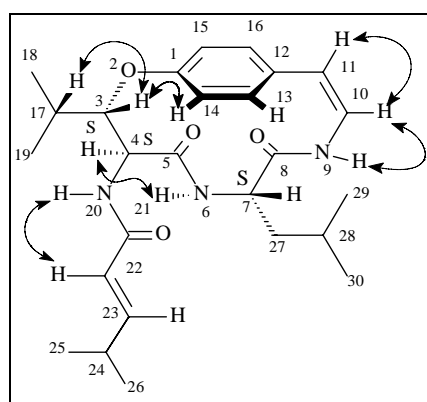
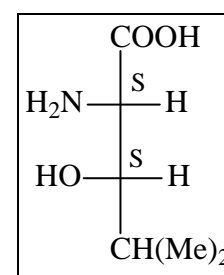


Figura 117 - Determinação da configuração absoluta do aminoácido leucina no hidrolisado de discarina M. CCSF, 25 m, Lipodex-E, 100 °C, 10 Psi H₂. A) D,L-Leu B) L-Leu C) Hidrolisado de discarina M D) D,L-Leu e hidrolisado de discarina M

Analisando-se o espectro NOESY (Figura 91) de discarina M, observou-se que NH-6 se correlaciona com H-4 (relação *syn*), mas não se observa correlação entre H-4 e H-3 e nem entre H-7 e NH-6. Portanto conclui-se que H-7 e H-3 estão no mesmo plano β , enquanto NH-6 e H-4 se encontram em posição α . Portanto, a estereoquímica absoluta desta unidade foi identificada como *L-eritro* (3*S*, 4*S*) hidroxileucina.



L-Leu



L-eritro-HO-Leu

5.1.1.2.3.4 Estereoquímica do ciclopeptídeo discarina N (D15)

Como foi determinado anteriormente, o sistema *ansa* deste metabólito é formado por dois hidroxiaminoácidos, a β -hidroxileucina e fenilserina. Nesta estrutura, a fenilserina corresponde ao α -aminoácido. Nesta posição, este aminoácido é estável às condições de hidrólise, por não estar formando a ligação fenol-éter do macrociclo. Como este hidroxiaminoácido pode existir na forma de 4 estereoisômeros (*eritro* D,L e *treo*-D,L), inicialmente selecionou-se entre as duas formas (CCD papel). A estereoquímica absoluta desta unidade, identificada como sendo *treo*, foi analisada posteriormente através de CG quiral.

A Figura 118 mostra os cromatogramas de D,L-*treo*-PheSer (A), *treo*-L-PheSer (B), hidrolisado de discarina N (C), reforço do hidrolisado de discarina N com D,L-*treo*-PheSer (D), realizados em uma coluna com fase estacionária 2,6-Me-3-Pe- β -CD. A comparação entre os cromatogramas permitiu propor que o aminoácido fenilserina, participante do sistema macrocíclico em discarina N apresenta-se na forma L-*treo* (7S, 28R).

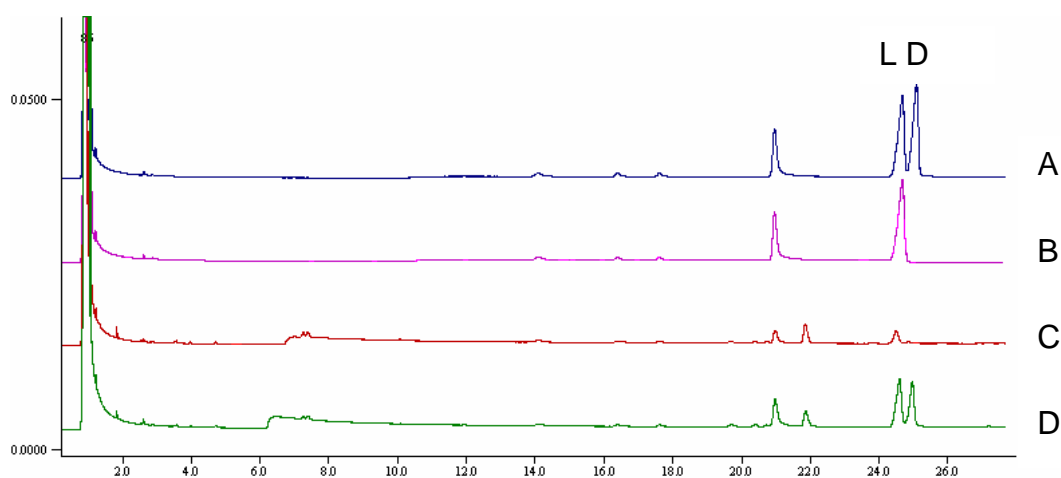
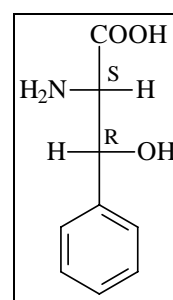
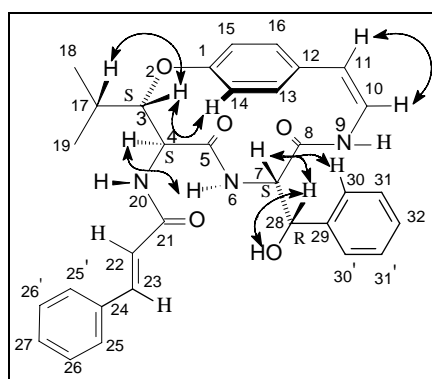
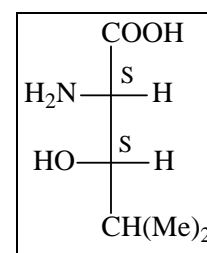


Figura 118 - Determinação da configuração absoluta do aminoácido *treo*-fenilserina no hidrolisado de discarina N. CCSF, 25 m, 2,6-Me-3-Pe- β -CD, 100-180 °C 1°C/min, 10 Psi H₂. A) *treo*-D L-PheSer B) *treo*-L-PheSer C) Hidrolisado de discarina N D) *treo*-D L-PheSer e hidrolisado de discarina N.

Através da análise do espectro NOESY (Figura 105), conclui-se que a unidade β -hidroxileucina em discarina N tem a configuração absoluta *L-eritro* (3*S*, 4*S*). Apesar do espectro NOESY não ser um método de determinação de configuração absoluta, neste caso, considerou-se a configuração de todos os hidroxiaminoácidos como absolutos, pela relação espacial dos mesmos e pela estrutura cíclica com a configuração dos α -aminoácidos, que foram determinados de uma forma absoluta.

L-*treo*-PheSerL-*eritro*-HO-Leu

5.1.2 *Colletia paradoxa* Sprengel

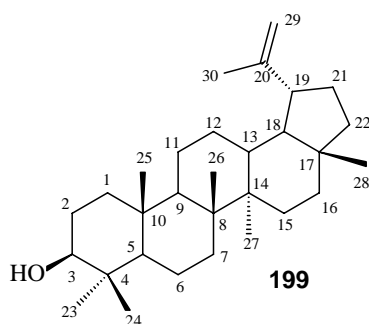
5.1.2.1 Partes aéreas

Dos extratos hexânico, diclorometano e acetato de etila, das partes aéreas de *C. paradoxa*, foram isolados através de técnicas cromatográficas as seguintes substâncias: ácido betulínico (**192**), ácido ursólico (**194**), β -sitosterol livre (**195**), β -sitosterol glicosilado (**196**), lupeol (**199**), taraxerol (**200**), taraxerona (**201**), seco-3,4-taraxerona (**202**), germanicol (**203**), germanicona (**204**) e seco-3,4-germanicona (**205**). Essas substâncias naturais foram identificadas utilizando-se dados espectrais, comparação com os dados de RMN registrados na literatura e em alguns casos por análise comparativa em CCD, com uma amostra autêntica.

Os esteróides β -sitosterol livre, β -sitosterol glicosilado e os triterpenos pentacíclicos ácido betulínico e ácido ursólico, já isolados anteriormente de *Discaria americana*, foram caracterizados por comparação em CCD, com uma amostra autêntica, e através das análises de RMN de ^1H e ^{13}C .

5.1.2.1.1 Identificação do triterpenóide C06

C06 foi encontrado nas partes aéreas de *C. paradoxa* e *Gouania ulmifolia* (Tabelas 29 e 35), apresentou-se na forma de sólido, solúvel em CHCl_3 , que fundiu entre 216-217 $^\circ\text{C}$.



O espectro de RMN de ^1H (Figura 119) de C06 mostrou a presença de sete metilas (singletos), destacando-se dentre estes o sinal da metila ligada a carbono sp^2 em δ 1,65 ppm que, juntamente com os sinais em δ 4,53 ppm e 4,65 ppm, atribuídos aos dois hidrogênios olefínicos, caracterizam um grupo isopropenil. Neste mesmo espectro, também foi observada presença de um duplo dublete em δ 3,16 ppm referente ao hidrogênio carbinólico H-3.

No espectro RMN ^{13}C (Figura 120), verificou-se a presença de 30 sinais de carbono, destacando-se os sinais característicos dos carbonos olefínicos dos triterpenos do grupo $\Delta^{20(29)}$ -lupeno em δ 109,3 ppm (C-29) e 150,8 (C-20) ppm, bem como o sinal do carbono oximetínico (C-3) em δ 78,9 ppm. O experimento DEPT 135° (Figura 121) mostrou a presença de 11 carbonos com amplitude negativa (metilênicos), 13 carbonos com amplitude positiva (metílicos e metínicos). A ausência nesse experimento de 6 sinais de carbono quando comparado com o espectro de ^{13}C totalmente desacoplado, sugeriu a presença de 6 carbonos desprotonados em C06. Essas análises espectroscópicas, juntamente com o auxílio de registros na literatura, forneceram respaldo suficiente para confirmar a estrutura **199**, para C06, que corresponde ao triterpeno pentacíclico lupeol, encontrado em várias espécies vegetais.²⁰⁵ Os deslocamentos químicos dos hidrogênios (principais) e dos carbonos presentes em C06, encontram-se descritos na parte experimental (Página 71).

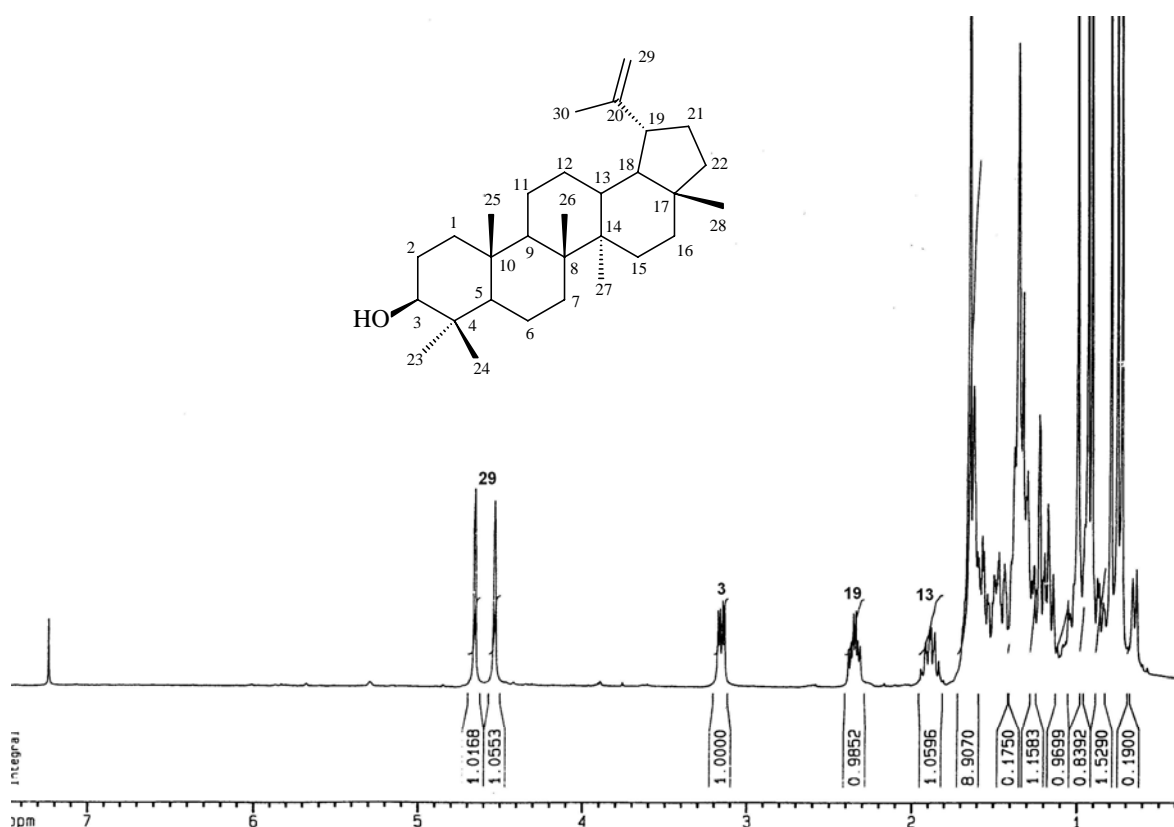


Figura 119 - Espectro de RMN de ^1H C06, em CDCl_3 , a 400 MHz.

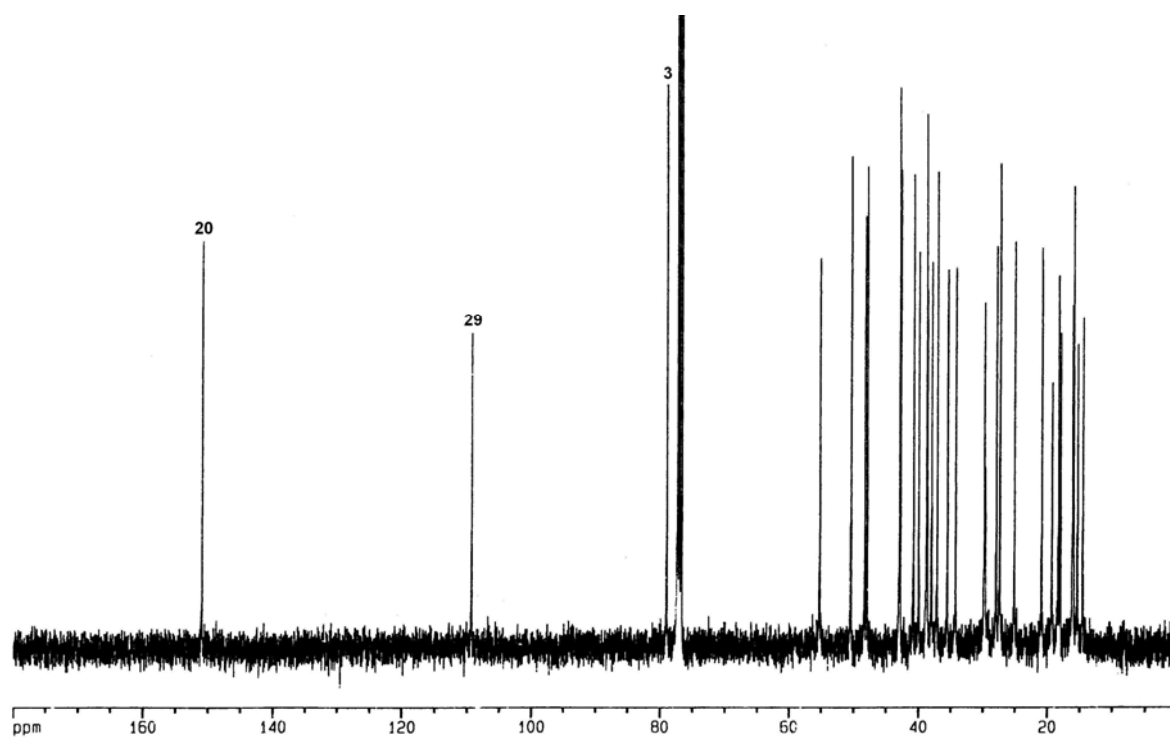


Figura 120 - Espectro de RMN de ^{13}C de C06, em CDCl_3 a 100 MHz.

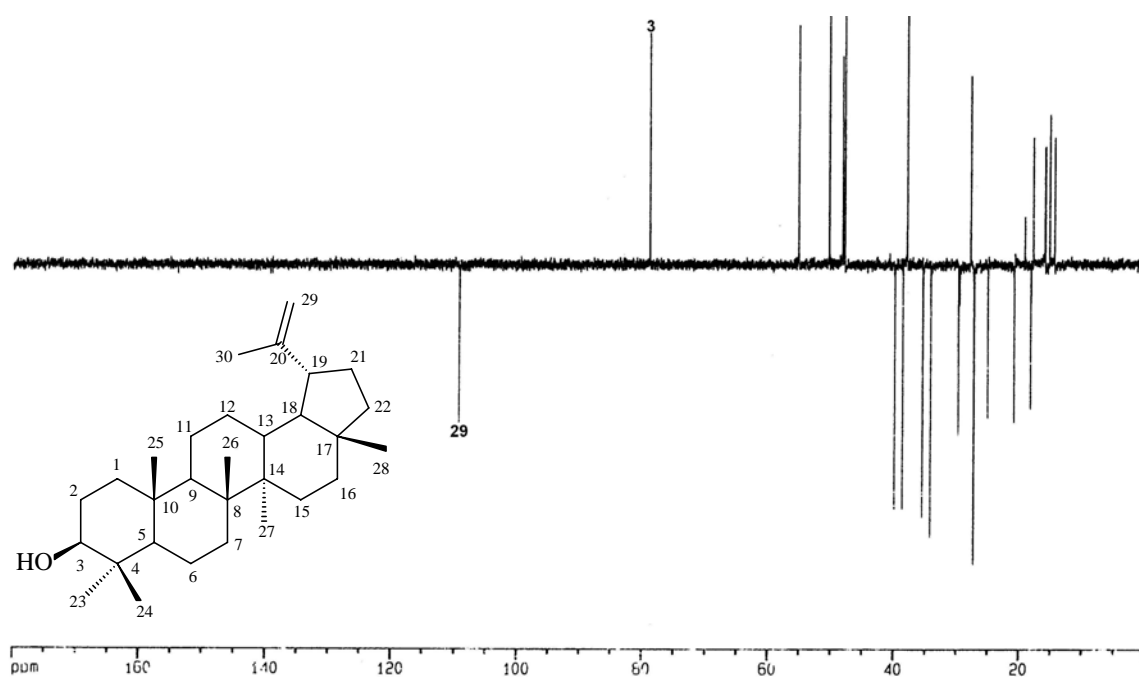
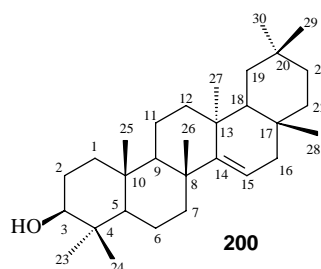


Figura 121 - Espectro DEPT 135° de C06, em CDCl_3 a 100 MHz.

5.1.2.1.2 Identificação do triterpenóide C09

A fração VI, obtida por meio de cromatografia em coluna do extrato dicloro metano das partes aéreas de *C. paradoxa* (Tabelas 30 e 31), foi tratada com *n*-hexano, diversas vezes, até a recristalização de um composto incolor, que fundiu em 279-281 °C. Esse metabólito, solúvel em CHCl₃, foi codificado como C09 e submetido à análise de RMN de ¹H e ¹³C.



O espectro de RMN de ¹H (Figura 122) de C09 apresentou sinais em δ 0,80, 0,82, 0,90, 0,91, 0,92, 0,95, 0,97, 1,09 ppm (singletos), atribuídos aos grupos metílicos Me-23, -24, -25, -26, -27, 28, -29 e -30. O duplo dublete em δ 5,53 ppm (1H, d,d $J= 3,0, 5,1$, H-15) sugeriu à presença de uma ligação dupla endocíclica na estrutura. O dublete em δ 3,19 ppm (1H, d, $J= 9,3$ Hz, H-3) relativo ao hidrogênio carbinólico H-3, possui configuração 3 α axial, estabelecida através da medida da constante de acoplamento ($J= 9,3$ Hz). No mesmo espectro, observa-se vários sinais entre δ 1,66-1,22 ppm, que foram atribuídos aos grupos metilênicos e metínicos presentes em C09.

No espectro de RMN ¹³C de C09 (Figura 123) observou-se um total de trinta sinais de carbonos, sendo que a maioria destes apresenta deslocamentos entre δ 15,0-60,0 ppm, caracterizando um esqueleto triterpênico para este metabólito. Os sinais em δ 158,1 (C-14), 116,8 ppm (C-15), característicos de carbonos olefínicos, caracterizam um esqueleto triterpênico tipo $\Delta^{14(15)}$ -taraxerano para C09. O sinal em δ 79,0 ppm foi atribuído como sendo o carbono carbinólico C-3. Este fato está de acordo com os deslocamentos químicos para carbonos C-3, que possuem a hidroxila na posição 3 β equatorial.

O espectro DEPT 135° (Figura 124) mostrou vinte e três sinais de carbonos, sendo treze primários ou terciários (amplitude positiva) e dez secundários (amplitude negativa), sugerindo a presença de 7 carbonos desprotonados em C09. Com base nestes dados e registros na literatura foi possível sugerir a estrutura 200, para C09, que corresponde ao triterpeno

pentacíclico taraxerol,²⁰⁹ já isolado de *C. paradoxa*.²⁶ O deslocamento químico dos hidrogênios (principais) e de todos os carbonos presentes na estrutura **200**, encontram-se descritos na parte experimental (Página 73).

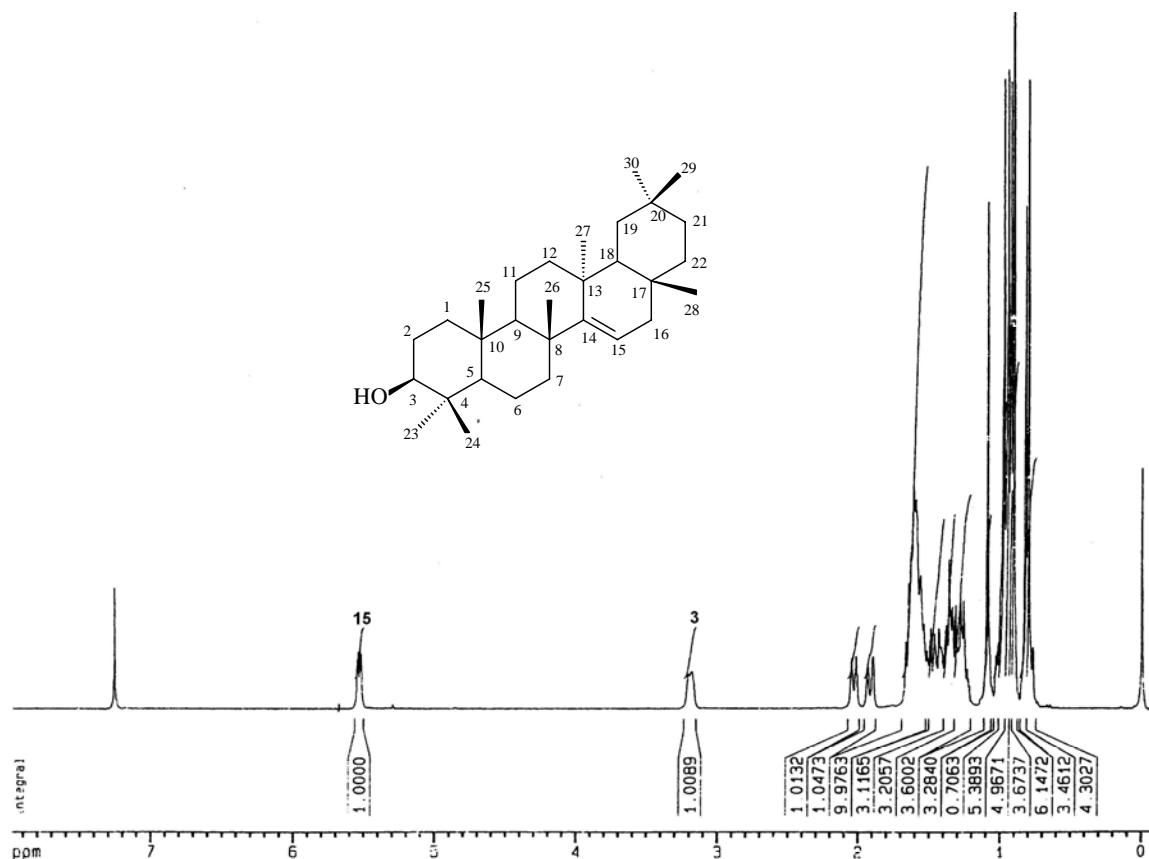


Figura 122 - Espectro de RMN de ¹H de C09, em CDCl₃, a 400 MHz.

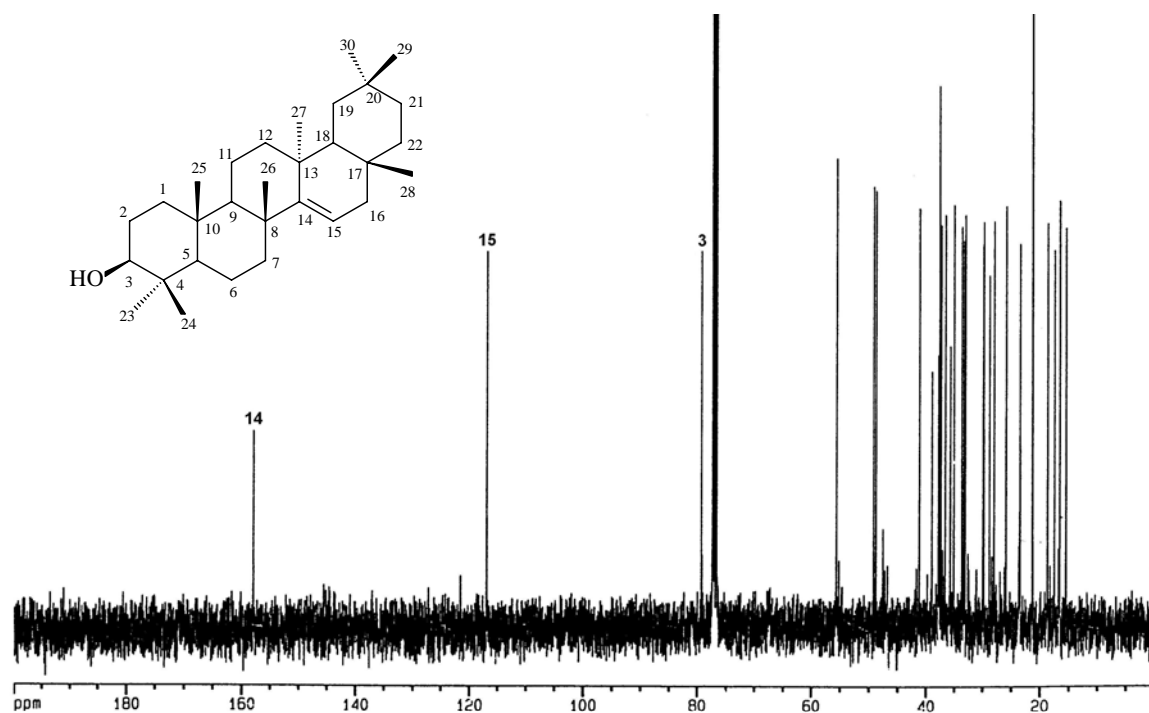


Figura 123 - Espectro de RMN de ^{13}C C09, em CDCl_3 a, 100 MHz.

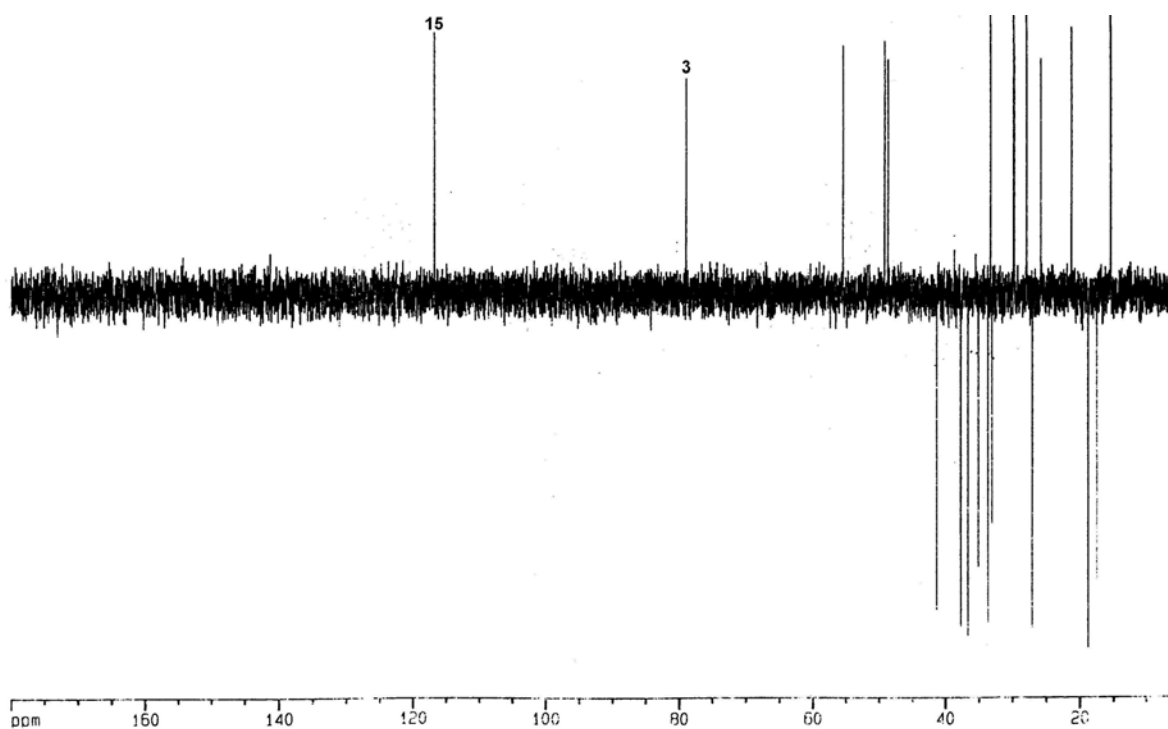
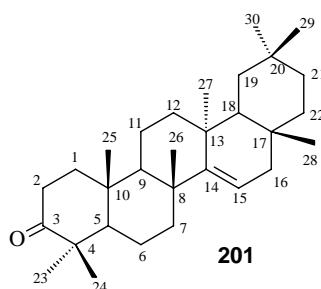


Figura 124 - Espectro DEPT 135° de C09, em CDCl_3 , a 400 MHz.

5.1.2.1.3 Identificação do triterpenóide C11

O composto codificado como C11 foi obtido após fracionamento cromatográfico do extrato hexânico das partes aéreas de *C. paradoxa* (Tabela 29). Após purificação em cromatografia de camada delgada (preparativa), apresentou-se como um sólido branco, solúvel em CHCl_3 , que fundiu entre 280-283 °C.



O espectro de RMN de ^1H de C11 (Figura 125), apresentou sinais muito similares aos observados para C09. Neste espectro, observou-se sinais, na forma de singletos em δ 0,83, 0,91, 0,91, 0,95, 1,06, 1,08, 1,09, 1,14 ppm (3H, s, Me-23, -24, -25, -26, -27, -28, -29, -30), referente às metilas terciárias. O sinal em δ 5,56 ppm (1H, d,d $J= 3,2, 8,0$ Hz), típico de um hidrogênio vinílico, foi atribuído ao hidrogênio olefínico H-15. A região entre δ 0,99-1,68 ppm apresenta vários sinais que podem ser atribuídos aos hidrogênios metilênicos e metínicos presentes em C11. A principal diferença observada entre os espectros de RMN de ^1H de C09 (**200**) e C11 (**201**) está na ausência do hidrogênio carbinólico em H-3, e numa pequena desblindagem nos hidrogênios metilênicos H-1 e H-2. Estas observações são um indicativo da presença de um grupo cetônico no carbono C-3 de C11. A presença de uma função cetona nesta posição foi posteriormente confirmada através do espectro de RMN de ^{13}C .

O espectro de RMN de ^{13}C de C11 (Figura 126), mostrou sinais similares aos encontrados em C09, distinguindo-se pela presença de um carbono em δ 217,51 ppm, e a ausência do carbono carbinólico. Os sinais em δ 117,1 (C-15) e 157,6 (C-14), similares aos encontrados em **200**, indicam a natureza triterpênica tipo $\Delta^{14(15)}$ -taraxerano em C11. O experimento DEPT 135° (Figura 127), vem confirmar a presença destes sinais, bem como, a multiplicidade dos demais sinais de carbonos presentes na estrutura desta substância. Este conjunto de dados, registros na literatura e comparação com o taraxerol (**200**), permitiram propor a

estrutura **201**, para C11, que corresponde ao triterpeno pentacíclico conhecido como taraxerona,²¹⁰ isolada de várias espécies, inclusive de *C. paradoxa*.²⁶

Na parte experimental (Página 74), encontram-se descritos os deslocamentos químicos dos hidrogênios (principais) e dos carbonos que fazem parte da estrutura do triterpeno pentacíclico taraxerona (**201**).

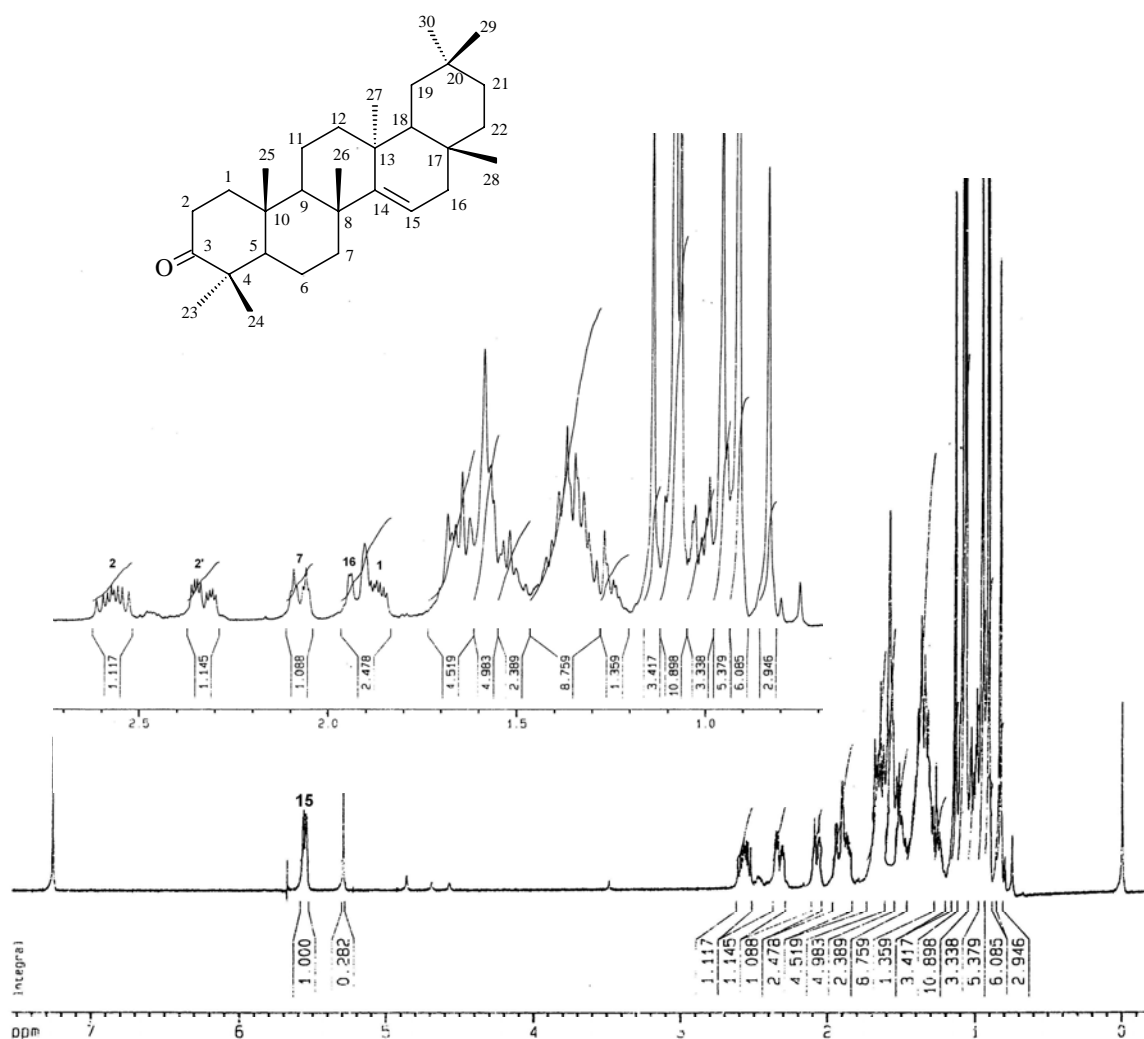


Figura 125 - Espectro de RMN de ¹H de C11, em CDCl₃ a 100 MHz.

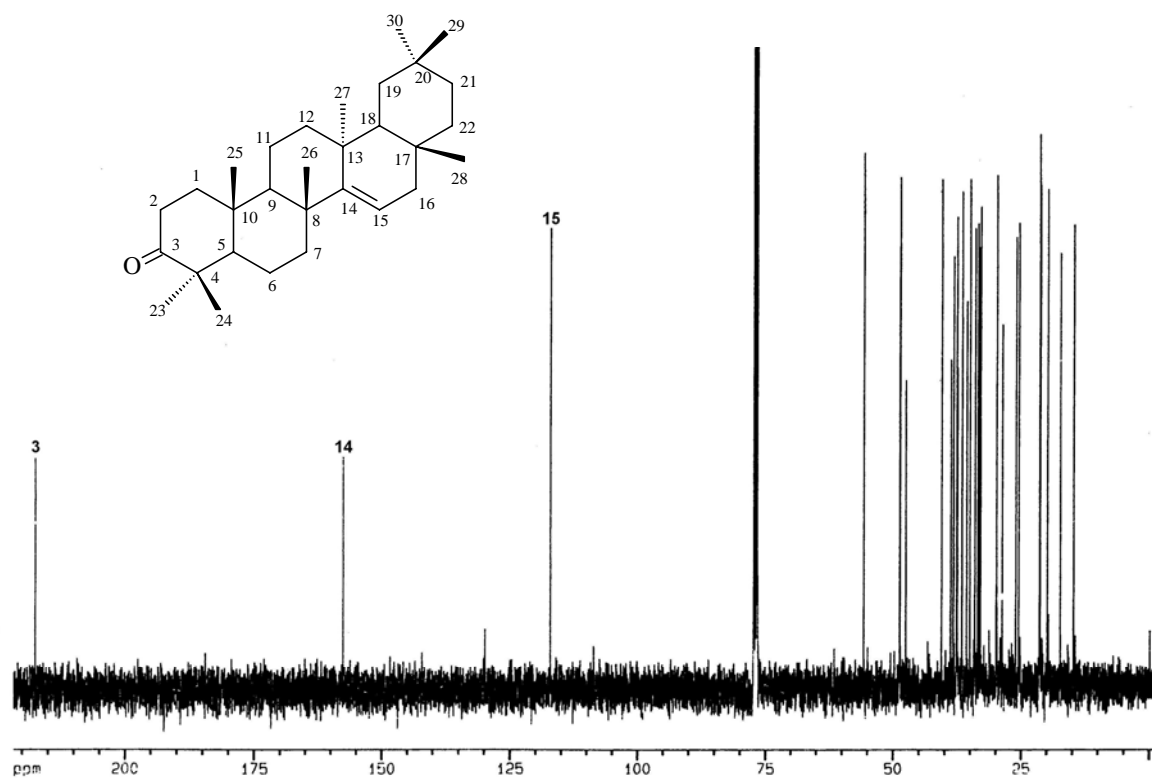


Figura 126 - Espectro de RMN de ^{13}C de C11, em CDCl_3 a 100 MHz.

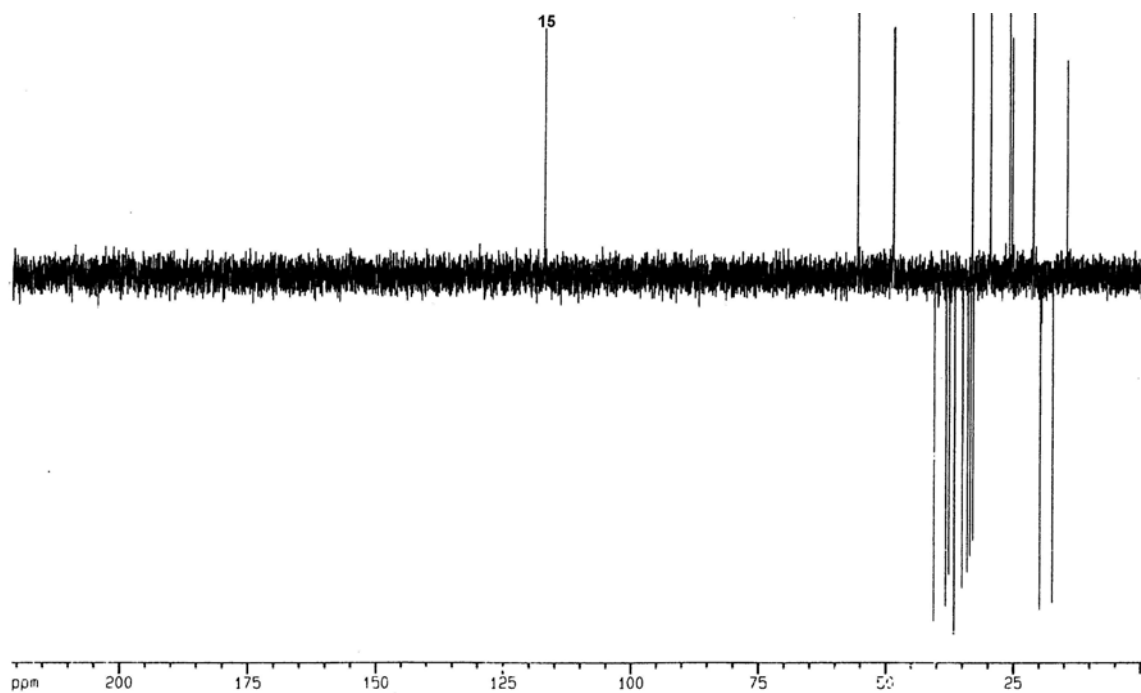
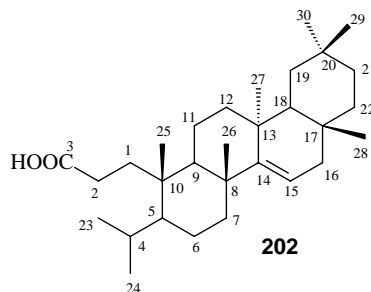


Figura 127 - Espectro DEPT 135° de C11, em CDCl_3 a 100 MHz.

5.1.2.1.4 Identificação do triterpenóide C64

Este metabólito, foi isolado do extrato hexânico das partes aéreas de *C. paradoxa* (Tabelas 29 e 30). Apresentou-se na forma de um sólido branco, ponto de fusão entre 280-283 °C e solúvel em CHCl₃.



A análise do espectro de RMN de ¹H (Figura 128) deste metabólito possibilitou o reconhecimento de oito sinais correspondente aos grupos metílicos da estrutura. Seis destes sinais aparecem na forma de singletos, característicos de metilas terciárias, em δ 0,78, 0,85, 0,88, 1,06, 1,09 e 1,14 ppm. Estes sinais foram identificados como sendo das metilas Me-25, -26, -27, -28, -29 e -30. Os outros dois sinais na forma de dubletos em δ 0,79 ppm (3H, d, $J=6,9$) e 0,91 ppm (3H, d, $J6,7$), foram atribuídos às metilas Me-23 e Me-24, respectivamente. Estas duas metilas sugerem a presença de um substituinte isopropila na estrutura. Como nas estruturas anteriores (**200** e **201**), observou-se um sinal em δ 5,28 ppm, na forma de um duplo dublete, correspondente a um hidrogênio olefínico. Devido sobreposição e multiplicidade mostradas, os sinais entre δ 0,88-1,46 ppm não foram atribuídos. A presença de duas metilas, na forma de dubletos, em δ 0,79 e 0,91 ppm e, ausência do hidrogênio carbinólico H-3, são as principais diferenças observadas, quando feita análise comparativa entre os espectros de RMN de ¹H de C64 e C09.

Através do espectro de RMN ¹³C (Figura 129) identificou-se, inicialmente, os sinais dos carbonos olefínicos em δ 116,92 e 158,01 ppm, atribuídos aos carbonos C-15 e C-14, respectivamente. Esta atribuição foi confirmada pelo espectro DEPT 135° (Figura 130), o qual mostra que sinal o em δ 116,92 ppm corresponde ao carbono hidrogenado C-15, enquanto que o sinal em 158,01 ppm corresponde ao carbono desidrogenado C-14. Portanto, este dado sugere tratar-se de um outro triterpeno do tipo $\Delta^{14(15)}$ -taraxerano. A ausência do carbono carbinólico C-3, o aparecimento de um sinal em δ 180,0 ppm (C-3), típico de uma carbonila de ácido carboxílico, juntamente com as informações obtidas do

espectro de RMN de ^1H , nos permitiu concluir que o anel A, presente nas estruturas **200** e **201**, esteja aberto neste composto. Além disso, a diferença observada nos deslocamentos químicos dos carbonos C-5 (δ 47,5 ppm) e C-10 (δ 40,8 ppm) desta estrutura, em relação aos observados em C09 [C-5 (δ 55,5 ppm) e C-10 (δ 35,7 ppm)], corroboram para essa afirmação. Estes dados, juntamente com os registros na literatura, permitiram identificar C64, como sendo o triterpeno seco-3,4-taraxerona de estrutura **202**, isolado anteriormente da espécie vegetal *Alchornea latifolia*,²¹¹ porém está sendo descrito pela primeira vez na espécie *Colletia paradoxa*.

Os principais deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos que fazem parte da estrutura **202** encontram-se descritos na parte experimental (Página 74).

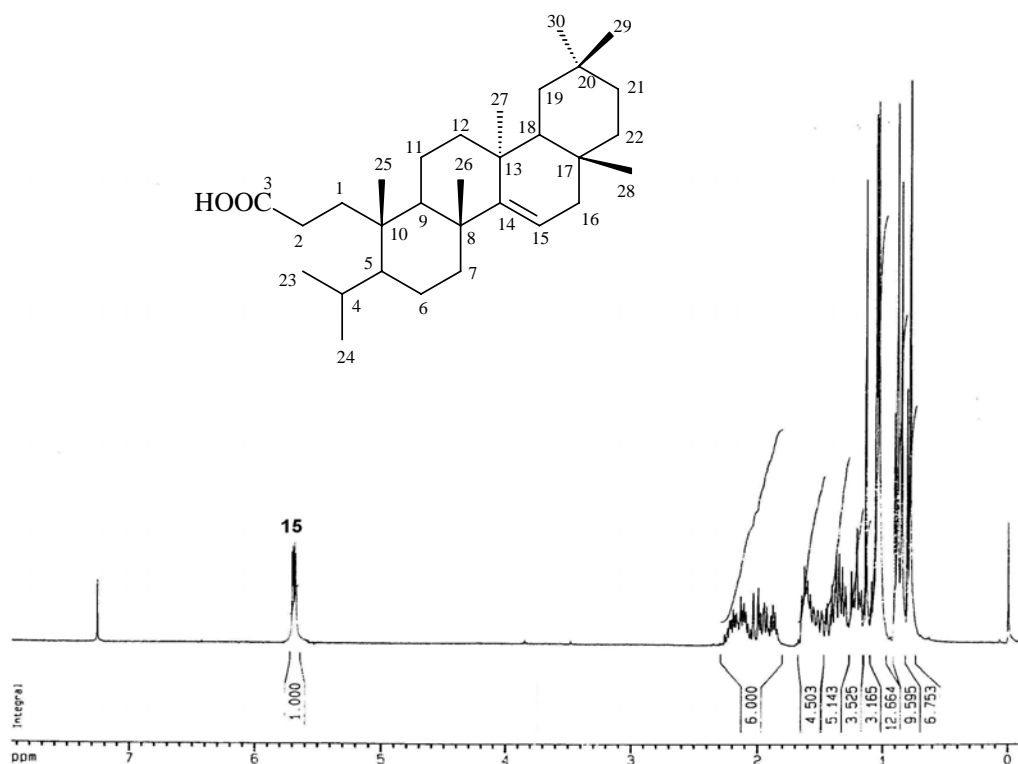


Figura 128 - Espectro de RMN de ^1H de C64, em CDCl_3 , a 400 MHz.

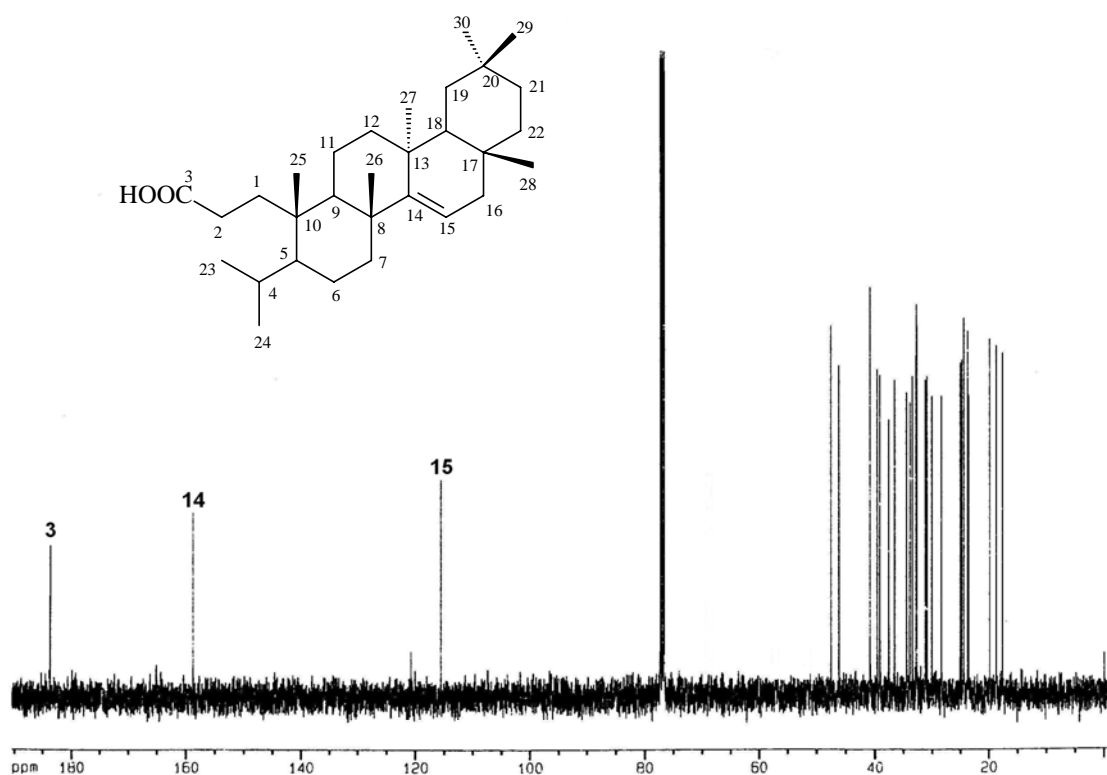


Figura 129 - Espectro de RMN de ¹³C de C64, em CDCl₃ a 100 MHz.

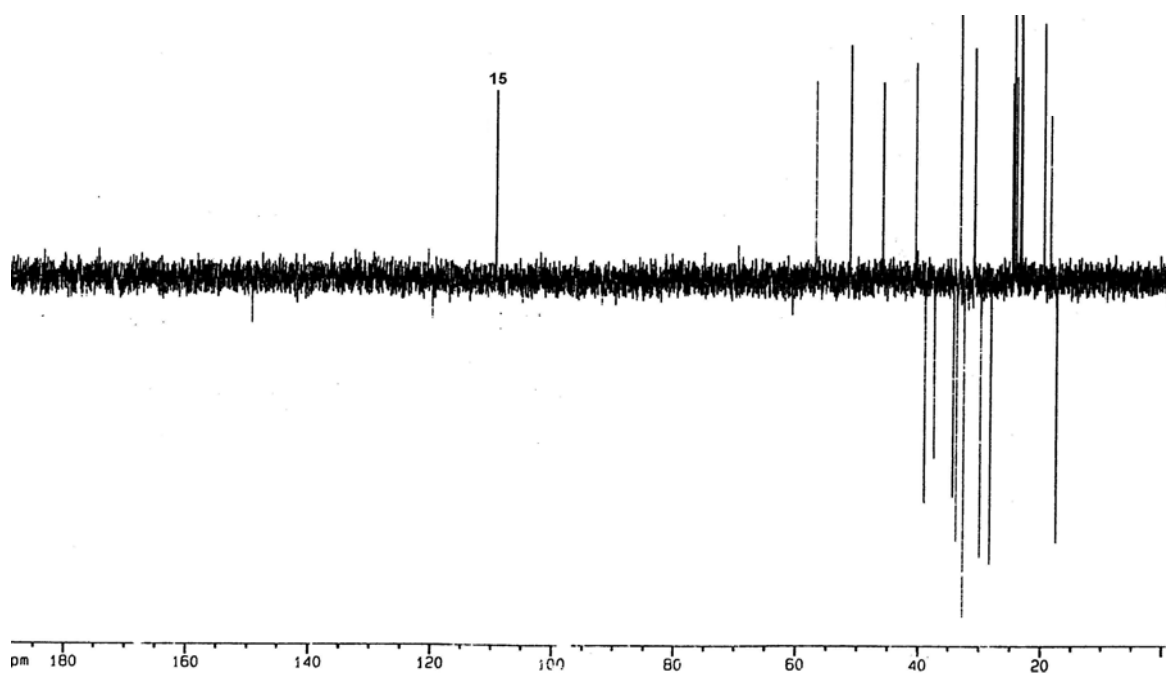
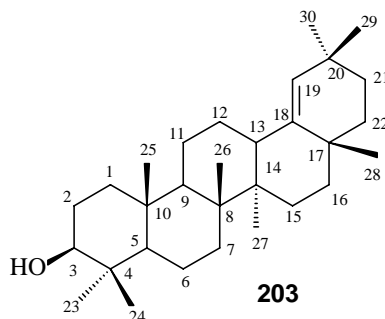


Figura 130 - Espectro DEPT 135° de C63, em CDCl₃ a 100 MHz.

5.1.2.1.5 Identificação do triterpenóide C24

Este metabólito foi obtido das partes aéreas de *C. paradoxa* (extrato hexânico, Tabela 29). Apresentou-se na forma de um sólido branco, P_f.: 218-220 °C e solúvel em CHCl₃.



Uma análise preliminar do espectro de RMN de ¹H de C24 (Figura 131) mostrou certa similaridade com o espectro de C09 (Figura 122), deixando claro que existe uma semelhança estrutural.

Por exemplo, ambos espectros de RMN de ¹H apresentam oito sinais correspondentes aos grupos metilas ligadas a carbonos desprotonados, além do sinal relativo ao hidrogênio carbinólico. Nesta substância, as metilas ressonam em δ 0,83, 0,84, 0,91, 0,94, 0,98, 1,02, 1,04, 1,07 ppm, todas na forma de singletos, que foram atribuídas como sendo as metilas Me-23, -24, -25, -26, -27, -28, -29 e -30, enquanto que o sinal em δ 4,47 ppm, foi atribuído ao hidrogênio carbinólico H-3. Porém, o que diferencia os espectros das duas substâncias, são os sinais correspondentes aos hidrogênios olefínicos. Em C09, o hidrogênio olefínico que ressona em δ 5,53 ppm aparece na forma de um duplo dubleto ($J= 3,0; 5,1$ Hz), enquanto que no metabólito atual, aparece no espectro em 4,84 ppm, na forma de um simples singlete. Esta observação foi importante para propor que na estrutura de C24, o hidrogênio vinílico se posiciona próximo a dois carbonos não hidrogenados. Essa observação foi posteriormente confirmada através da análise do espectro de RMN de ¹³C (Figura 132), no qual os sinais em δ 142,65 e 129,78 ppm são atribuídos aos carbonos vinílicos C-18 e C-19, respectivamente [158,1 (C-14), 116,8 (C-15) em C09]. É importante lembrar, neste momento, que os valores de deslocamento químico de carbonos olefínicos, em triterpenóides, são um diagnóstico importante para diferenciação do tipo de esqueleto triterpênico que faz parte de suas estruturas. Assim, foi possível definir o esqueleto triterpênico de C24, como sendo do tipo $\Delta^{18(19)}$ -oleaneno.

O espectro de RMN ^{13}C (Figura 132), mostra que a estrutura é formada por 30 sinais de carbonos, caracterizando um triterpeno. Com o auxílio do experimento DEPT 135° (Figura 133), os sinais observados no espectro de ^{13}C puderam ser discriminados em 10 carbonos metilênicos, 8 metílicos, 4 metínicos e 7 carbonos desprotonados. De posse destas informações, juntamente com dados da literatura e ponto de fusão, foi possível propor a estrutura **203** para C24 trata-se do triterpeno germanicol, isolado anteriormente de várias espécies vegetais,²¹³ inclusive de *C. paradoxa*.²⁶

Na parte experimental (Página 75) estão descritos os deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos que fazem parte da estrutura **203**.

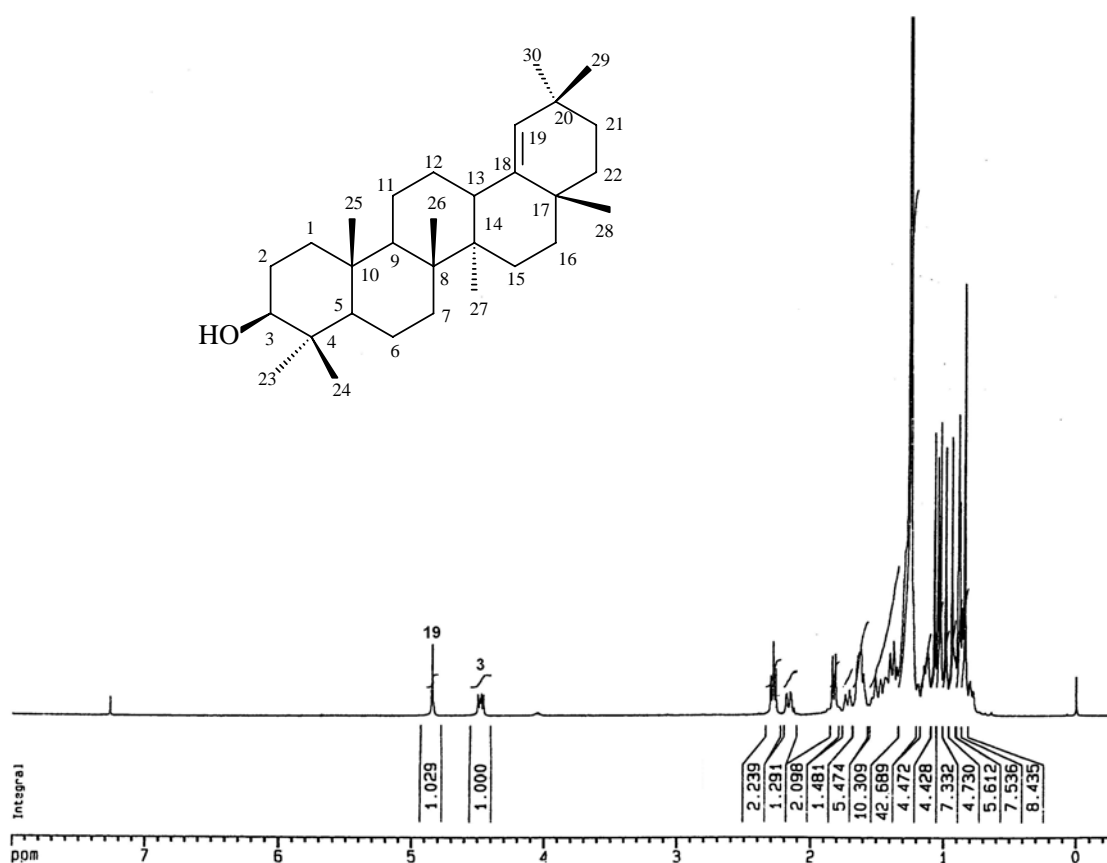


Figura 131 - Espectro de RMN de ^1H de C24, em CDCl_3 , a 400 MHz.

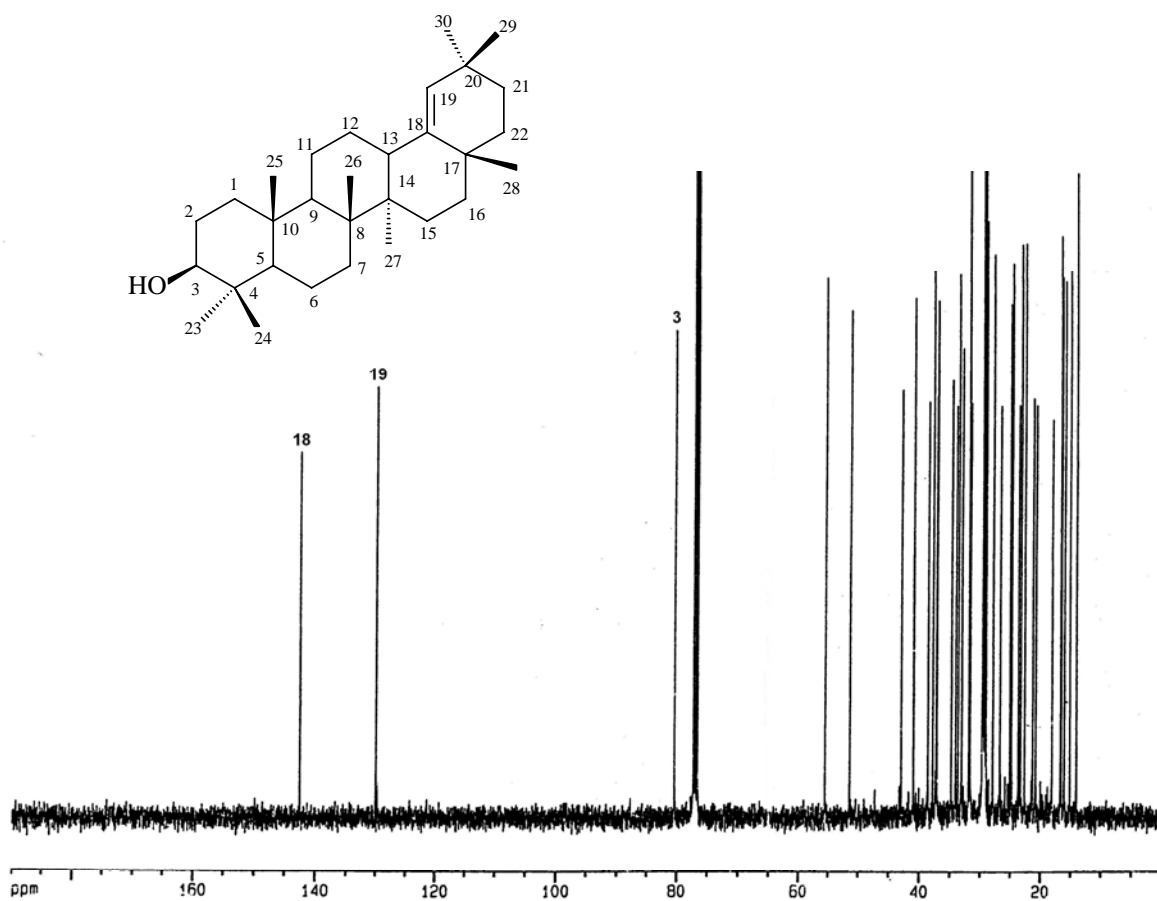


Figura 132 - Espectro de RMN de ¹³C de C24, em CDCl₃ a 100 MHz.

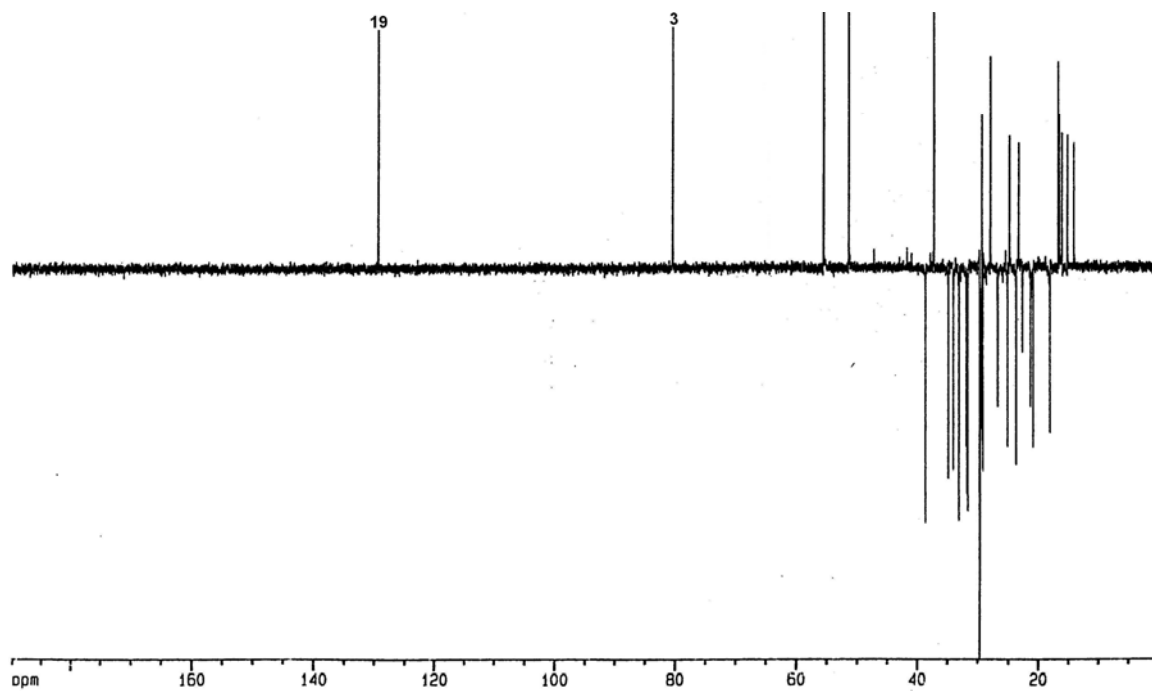
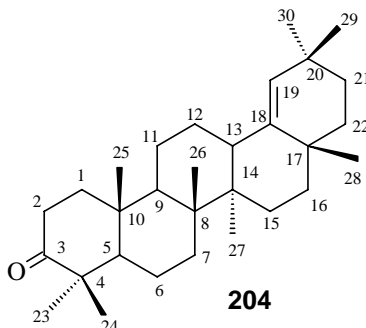


Figura 133 - Espectro DEPT 135° de C24, em CDCl₃ a 100 MHz.

5.1.2.1.6 Identificação do triterpenóide C12

Este metabólito, codificado como C12, foi também obtido do extrato hexânico das partes aéreas de *C. paradoxa* (Tabela 29). Trata-se de um sólido, de Pf.: 189-191 °C e solúvel em CHCl_3 .



Uma análise preliminar do espectro de RMN de ^1H (Figura 134) mostrou uma similaridade estrutural com o metabólito C24, facilitando a determinação de sua estrutura. A principal diferença entre ambos está na ausência do carbono carbinólico C-3, que foi substituído, conforme análise do espectro de RMN de ^{13}C , por um carbono carbonílico. No espectro de RMN de ^1H (Figura 134), foram identificados oito sinais, na forma de singletos, em δ 0,94, 0,95, 0,99, 1,03, 1,04, 1,05, 1,08, 1,11 ppm, todos com integração para 3 hidrogênios, que foram atribuídos a grupos metílicos terciários, e identificados nas posições Me-23, -24, -25, -26, -27, -28, -29 e -30. O deslocamento químico do único hidrogênio olefínico em δ 4,85 ppm, na forma de um singlete, juntamente com os sinais em δ 129,8 e 142,4 ppm, observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 135), confirma o esqueleto da estrutura como sendo do tipo $\Delta^{18(19)}$ -oleaneno. Neste mesmo espectro (Figura 134), os sinais em δ 0,93, 1,09, 1,31/1,84, 1,35, 1,38, 1,81, 1,19 e 2,45 ppm, foram atribuídos aos hidrogênios H-11, H-22, H-1/1', H-9, H-12, H-21, H-13 e H-2, respectivamente. Alguns hidrogênios da estrutura, que ressonam na região entre δ 1,25-1,52 ppm, não foram atribuídos devido a sobreposição de sinais.

Através da análise do espectro de RMN ^{13}C (Figura 135), pode-se observar a existência de trinta sinais de carbonos. Com auxílio do experimento DEPT 135° (Figura 136), esses sinais foram discriminados em oito carbonos metílicos, dez carbonos metilênicos, quatro carbonos metínicos e oito carbonos desprotonados. A presença de um sinal em δ 217,9 ppm, semelhante ao observado no espectro de RMN ^{13}C de C11 (Figura 126), confirmou a presença de uma função carbonila de cetona em C12.

Levando-se em conta os dados espectroscópicos obtidos, a análise comparativa com substâncias já identificadas e registros na literatura, foi possível propor a estrutura **204**, para C12, correspondente ao metabólito germanicono, previamente isolada de *C. paradoxa*.²⁶

Na parte experimental (Página 75) estão descritos os deslocamentos químicos de hidrogênios e carbonos presentes na estrutura **204**.

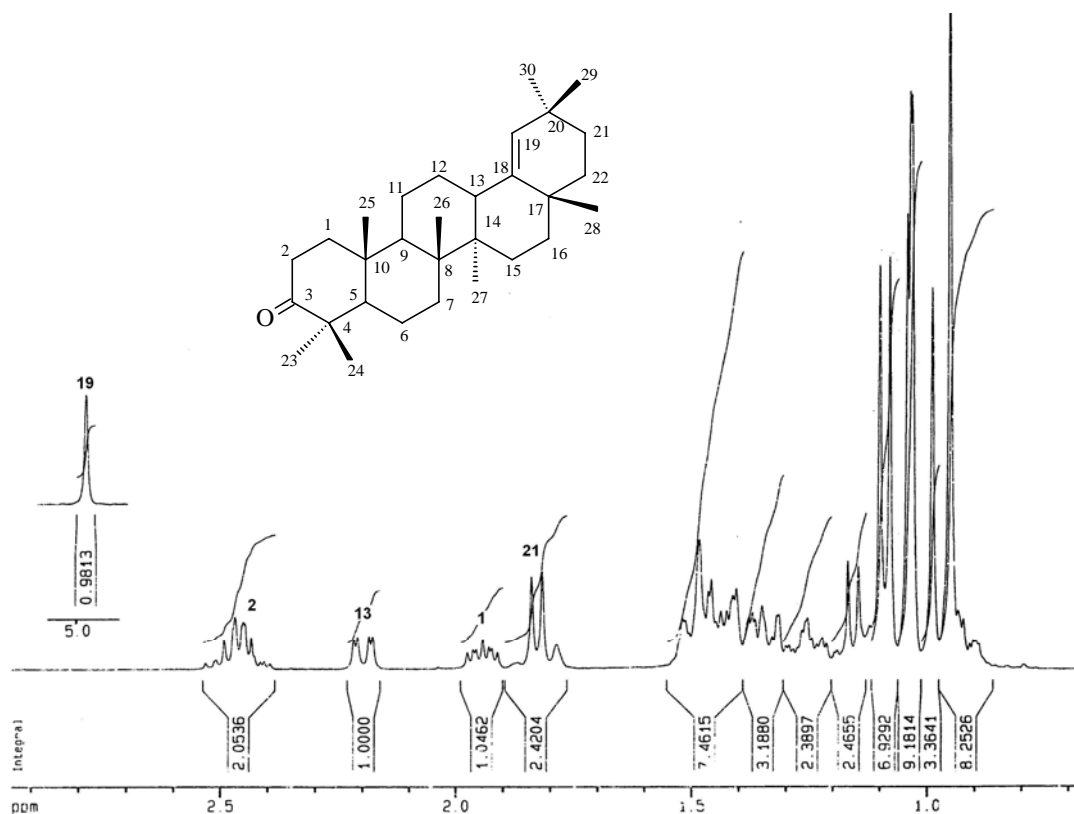


Figura 134 - Espectro expandido de RMN de ¹H, na região δ 0,50- 2,90 ppm, de C12, em CDCl₃, a 400 MHz.

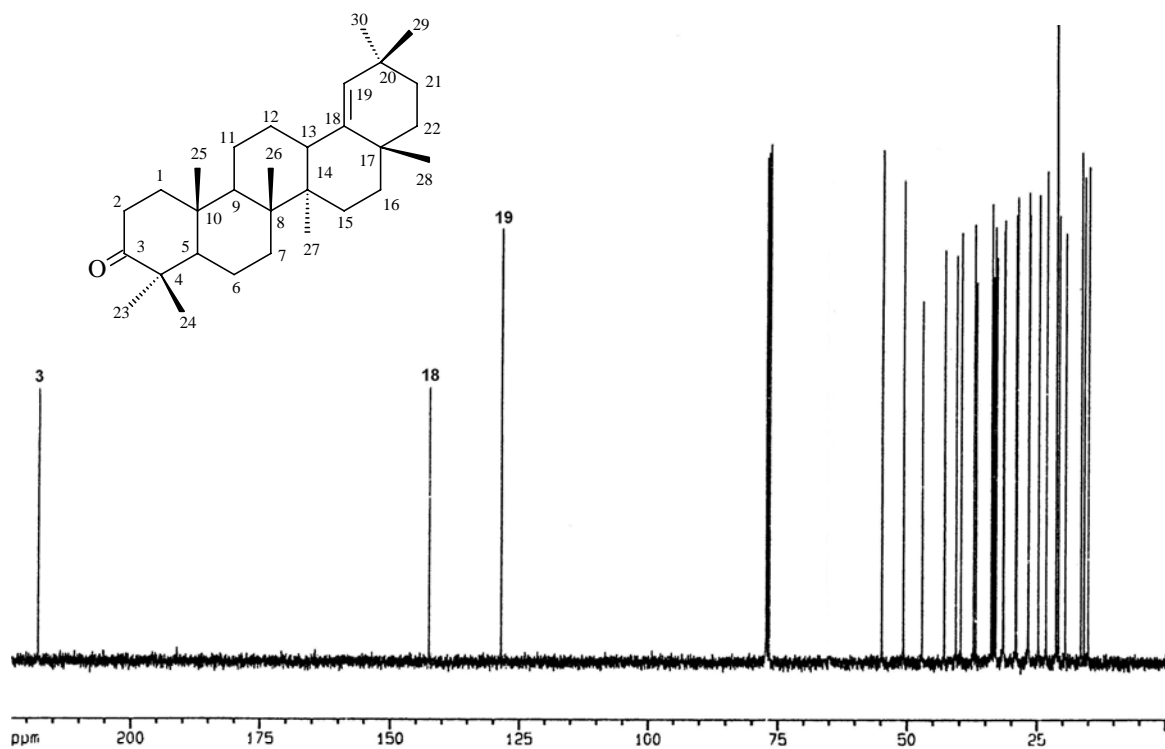


Figura 135 - Espectro de RMN de ¹³C de C12, em CDCl₃ a 100 MHz.

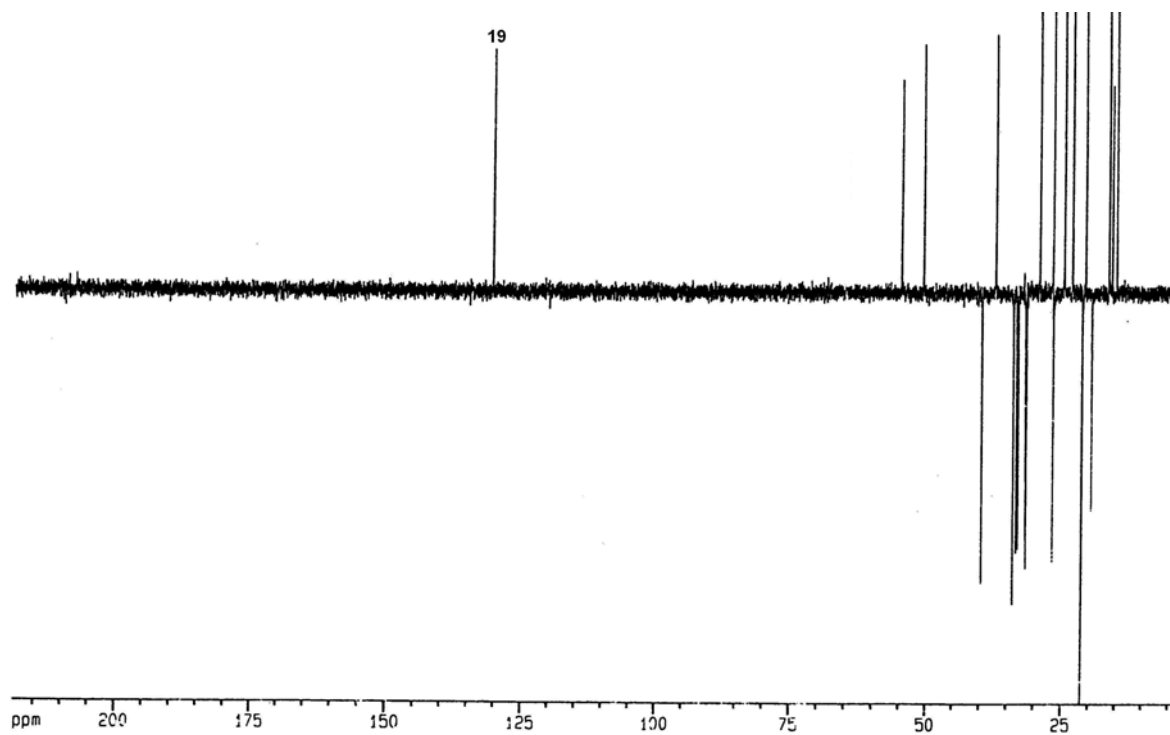
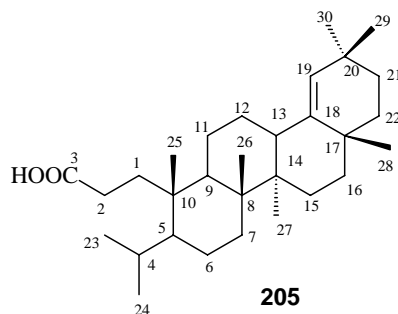


Figura 136 - Espectro DEPT 135° de C12, em CDCl₃ a 100 MHz.

5.1.2.1.7 Identificação do triterpenóide C63

Este metabólito foi encontrado nos extratos hexânicos das partes aéreas e casca da raiz de *C. paradoxa* (Tabelas 29 e 30). Apresentou-se na forma de um sólido branco, solúvel em CHCl_3 , que funde em 210-212 °C e com uma rotação óptica $[\alpha]_D^{20} = + 11,4$ (c 1,01, CHCl_3).



Este metabólito foi submetido a uma análise por espectrometria de massas de alta resolução, cujo espectro mostra um pico íon molecular com $m/z = 442,37317$. Este dado, aliado aos dados obtidos através de RMN ^{13}C (Figura 141), permitiu sugerir a fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ para C63.

O espectro de RMN de ^1H (Figuras 138 e 139), mostrou a presença de oito grupos metílicos. Destes sinais, seis apresentam-se na forma de singletos, de grupos metílicos terciários, em δ 0,84, 0,92, 1,02, 1,05, 1,07, 1,23 ppm (3H, s, Me-25, -26, -27, -28, -29 e -30) e, dois na forma de dubleto em δ 0,90 (3H, d, $J = 6,9$, Me-23) e 0,79 ppm (3H, d, $J = 6,7$, Me-24). Estes dados sugerem alguma semelhança com a estrutura do metabólito anteriormente discutido.

O espectro HMBC (Figura 145) desta substância, mostra que os sinais correspondentes aos grupos metilas Me-23 e Me-24, que ressonam em δ 0,90 e 0,79 ppm, respectivamente mostram correlação via J^2 com o mesmo carbono metínico, que ressona em δ 25,5 ppm. Este dado confirma a presença de um grupo isopropil. Nesta estrutura se observa, como em C64 a ausência do carbono carbinólico C-3 e a presença de uma função ácido carboxílico, devido o aparecimento de um sinal em δ 180,0 ppm no espectro de RMN ^{13}C (Figura 141). O espectro HMBC (Figura 145) também foi importante para se identificar a posição desse grupo ácido na estrutura. Isto foi possível devido H-1 (δ 2,21 ppm) e H-2 (δ 1,72 ppm) se correlacionarem via $^{2,3}J$ com o mesmo carbono carbonílico (C-3) em δ 180,0 ppm.

Esses dados nos permitem concluir que a estrutura de C63 apresenta o anel **A** aberto como em C64. A diferença entre as duas estruturas esta na posição

da dupla ligação olefínica, que na estrutura atual, o hidrogênio olefínico ressona em δ 4,69 ppm, e o que é importante, na forma de um singlete. Além disso, no espectro HMBC (Figura 145), este hidrogênio mostra um cruzamento com o carbono quaternário C-20. Portanto, como na estrutura de C24 (**203**), a dupla ligação se encontra entre C-18 e C-19, e o esqueleto deste metabólito é de um triterpeno do tipo *seco*-3,4- $\Delta^{18(19)}$ -oleaneno. Os sinais, no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 141), em δ 129,7 (C-19) e 142,7 (C-18) ppm, típicos de carbonos olefínicos, também corroboram para essa atribuição. Com o auxílio dos experimentos tipo COSY, HMQC e HMBC, foi possível assinalar os demais núcleos de hidrogênios e carbonos presentes em C63.

Entre os vários sistemas de spins observados no espectro COSY (Figura 140), três foram importantes para atribuição da estrutura de C63. O primeiro sistema de spins mostra correlação entre os hidrogênios metilênicos atribuídos como H-1 (δ 2,21 ppm) e H-2 (δ 1,72 ppm) na estrutura. Neste caso, a falta de correlação de H-2 com outro(s) hidrogênio(s) foi o dado mais importante. O segundo sistema foi identificado através das correlações existentes entre os hidrogênios que foram atribuídos como H-13 (δ 2,16 ppm), H-12 (δ 1,38 ppm), H-11 (δ 1,01 ppm) e H-9 (δ 1,46 ppm), todos ligados ao anel C da estrutura proposta. O terceiro foi atribuído ao sistema de spins formados por duas metilas heterotópicas, atribuídas como Me-23 (δ 0,90 ppm) e Me-24 (δ 0,79 ppm), se correlacionando com um hidrogênio metínico em (δ 1,86 ppm), atribuído a H-4. Este, por sua vez, se correlaciona com outro hidrogênio metínico, atribuído como H-5, que ressona a δ 0,89 ppm, o qual se correlaciona com dois hidrogênios metilênicos H₂-6 a δ 1,23 ppm, e estes com outros dois hidrogênios metilênicos H₂-7 a δ 1,15 ppm. Este sistema de spins foi importante para atribuir o substituinte isopropila na posição 5 do esqueleto tetracíclico, e que trata-se de uma estrutura *seco* comparada ao metabólito C63.

O espectro de RMN ^{13}C de C63 (Figura 141) apresenta trinta sinais de carbonos com ressonância entre δ 10,0-185,0 ppm. Comparando-se com os experimentos DEPT 135° (Figura 142), que apresenta dez carbonos com amplitude negativa (metilênicos) e treze sinais com amplitude positiva (metílicos e metínicos), com o DEPT 90° (Figura 143) que mostra apenas a presença de cinco sinais de carbonos metínicos e com o espectro HMQC (Figura 144) que mostra

correlação via 1J entre H \rightarrow C, conclui-se que a estrutura deste metabólito é formada por sete carbonos desprotonados. Através das correlações observadas no espectro bidimensional, HMBC (Figura 145), foi possível assinalar o deslocamento de todos os carbonos desprotonados da estrutura, confirmando a estrutura proposta. As principais correlações observadas no espectro HMBC são mostradas na figura 137.

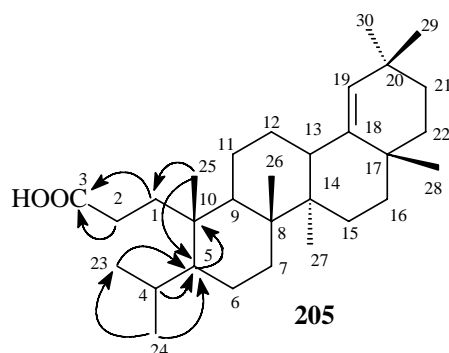


Figura 137 – Principais correlações observadas no espectro HMBC de C63

Essas observações, juntamente com dados de substâncias análogas já descritas na literatura²¹¹ e neste trabalho, permitiram propor a estrutura **205**, para C63. Essa substância, ainda não descrita na literatura, foi denominada de *seco*-3,4-germanicon (seco-3,4-oleo-18(19)-eno), em analogia a germanicon (**204**).

A Tabela 42 apresenta todos os deslocamentos químicos de hidrogênios e carbonos presentes na estrutura (**205**), proposta para C63, bem como as principais correlações observadas no espectro bidimensional heteronuclear HMBC.

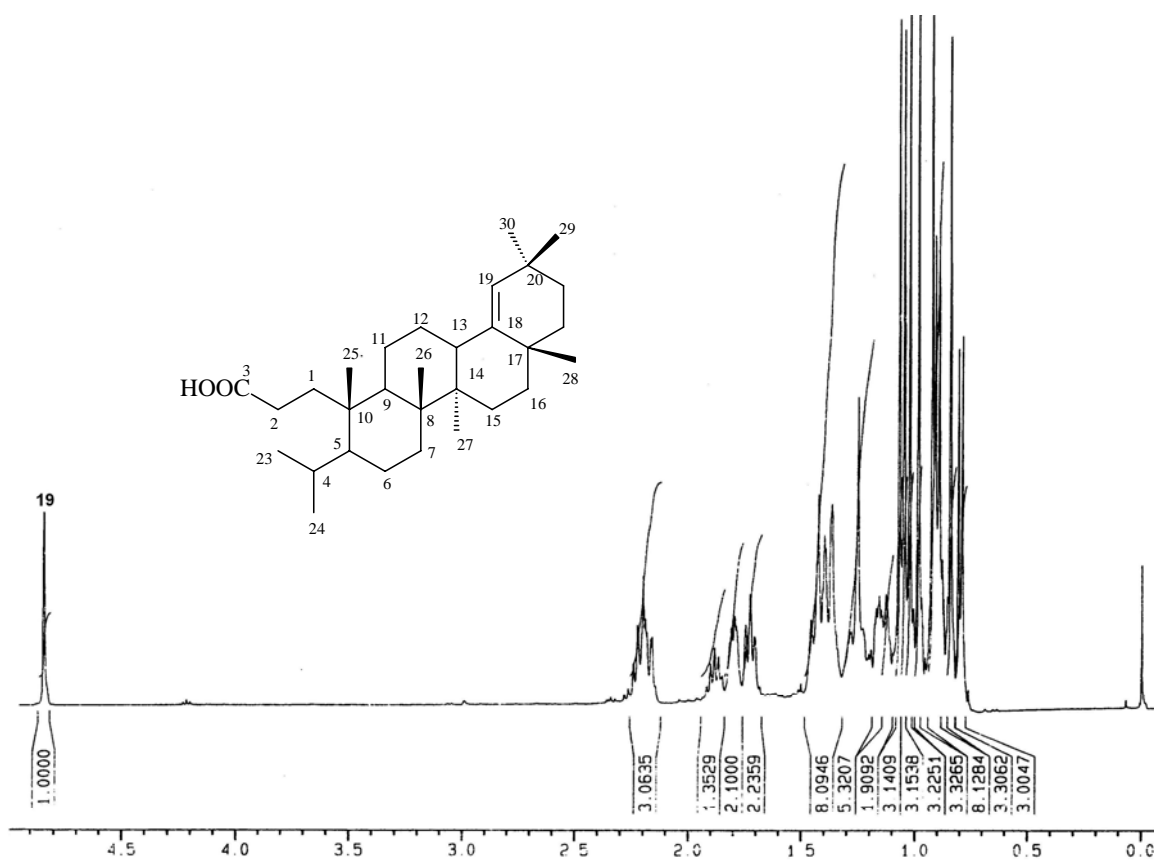


Figura 138 - Espectro de RMN de ^1H de C63, em CDCl_3 , a 400 MHz

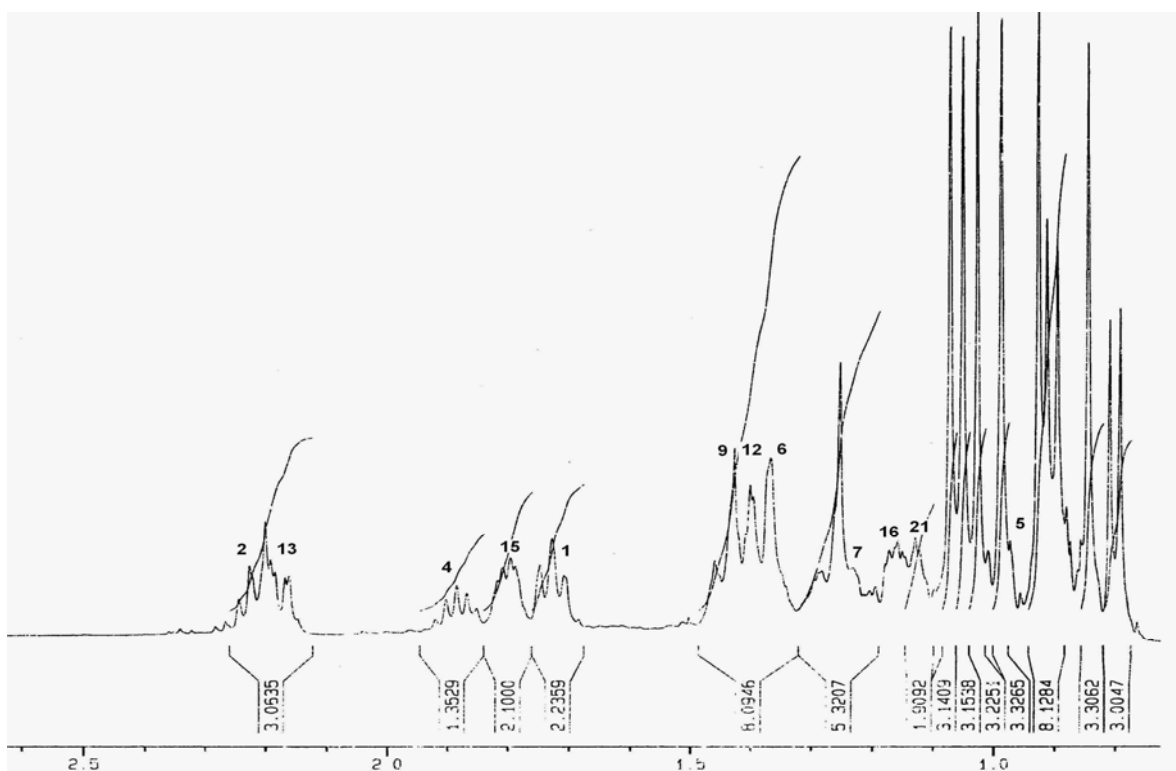


Figura 139 - Espectro de RMN de ^1H de C63, expandido 0,5-2,5 ppm, em CDCl_3 , a 400 MHz

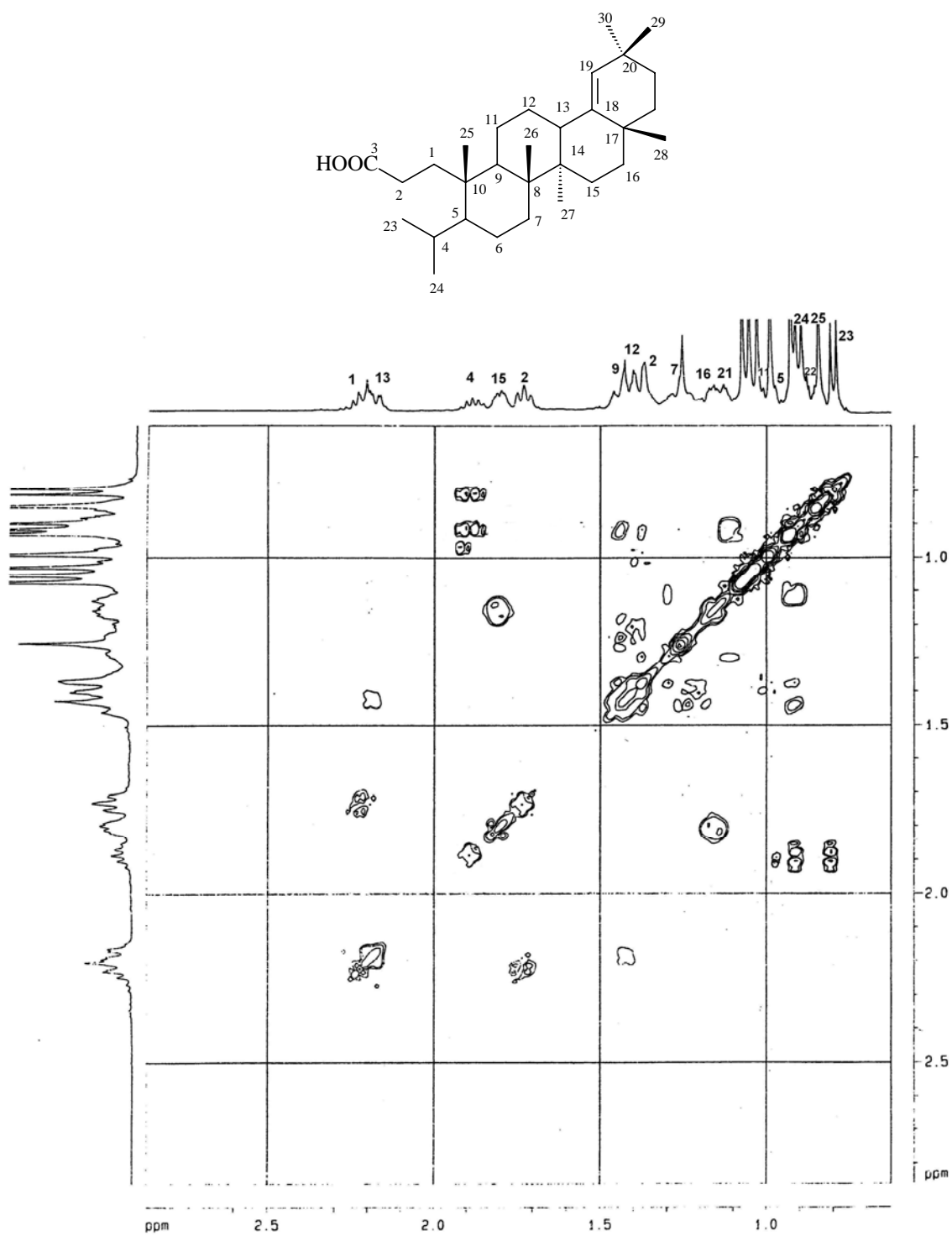


Figura 140 - Espectro de RMN 2D COSY de C63, em CDCl₃, a 400 MHz.

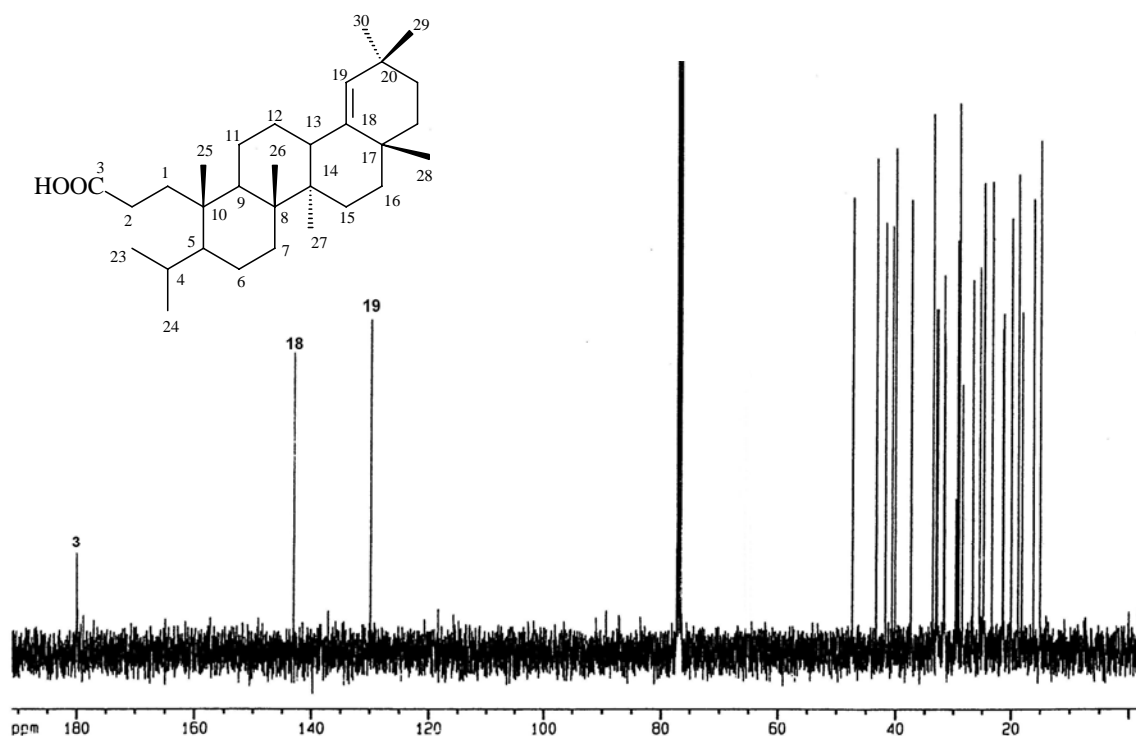


Figura 141 - Espectro de RMN de ^{13}C de C63, em CDCl_3 , a 100 MHz.

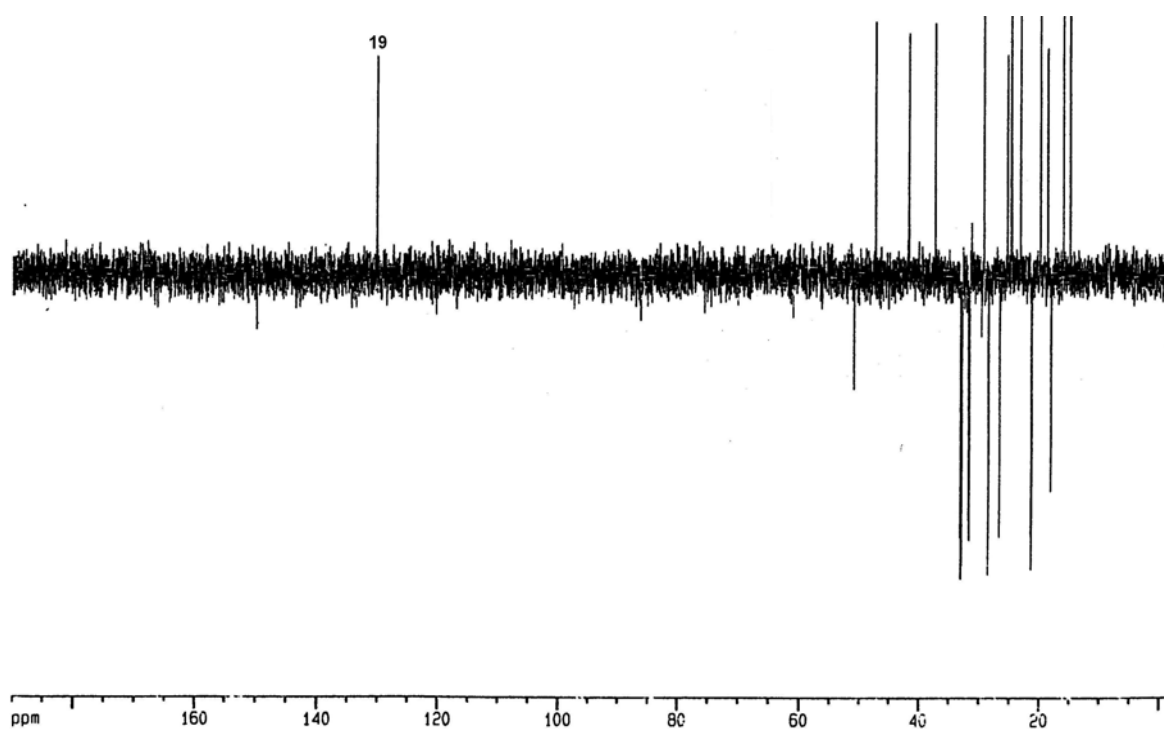


Figura 142 - Espectro DEPT 135° de C63, em CDCl_3 a 100 MHz.

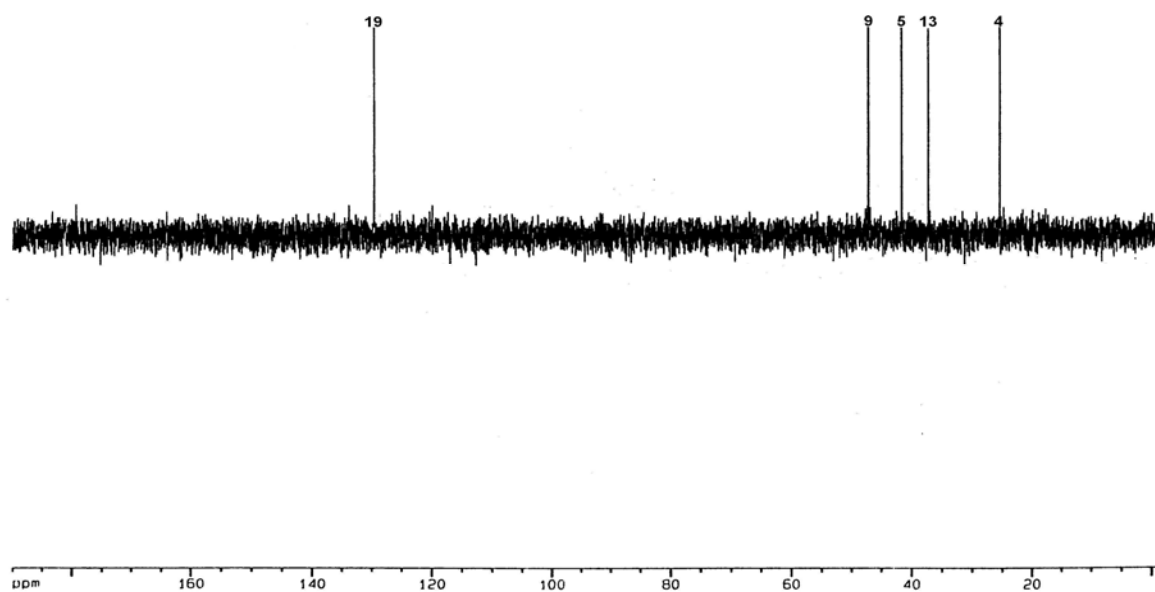


Figura 143 - Espectro DEPT 90° de C63, em CDCl₃ a 100 MHz.

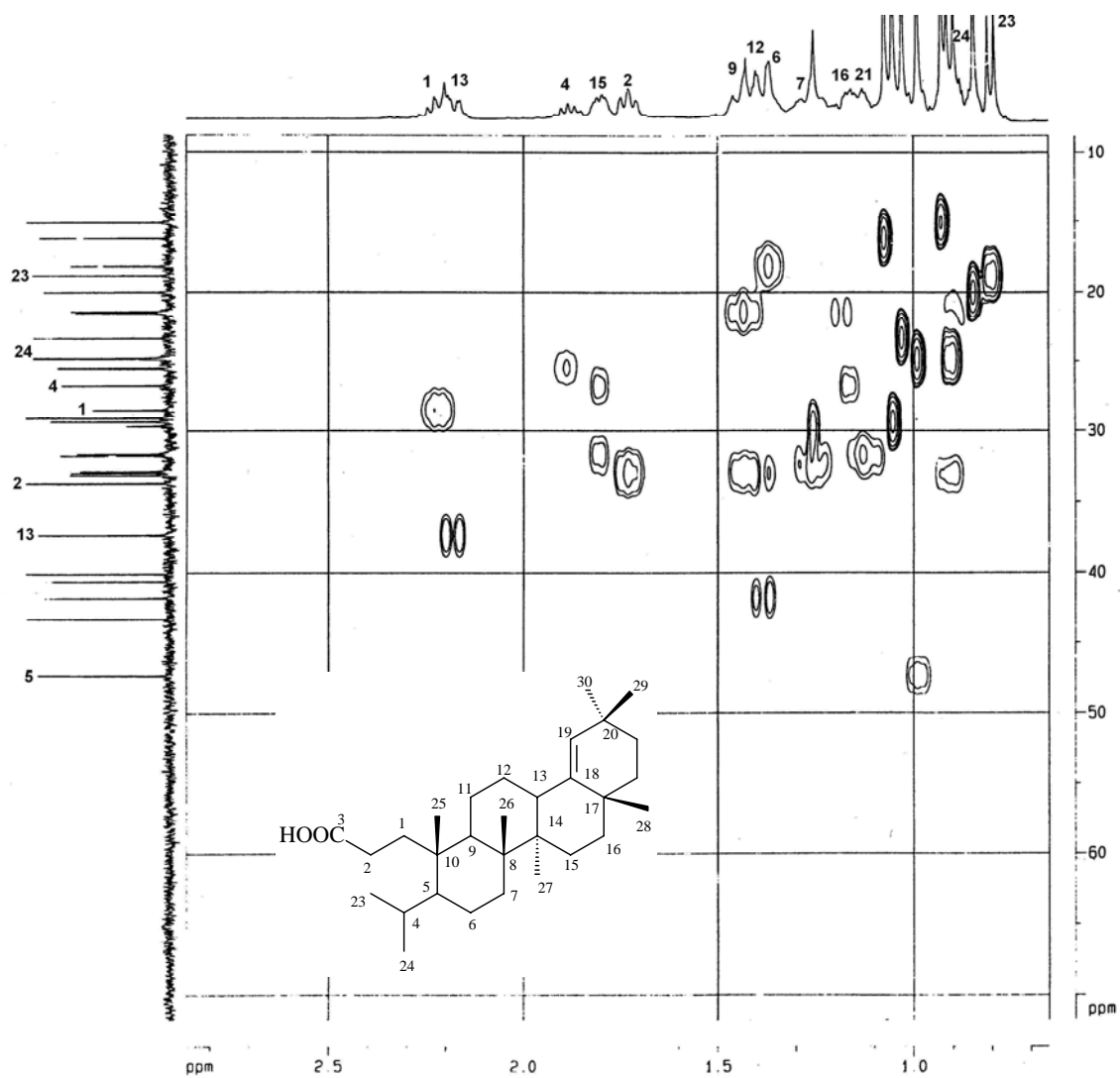


Figura 144 - Espectro de RMN 2D HMQC de C63, em CDCl₃ a 100 MHz.

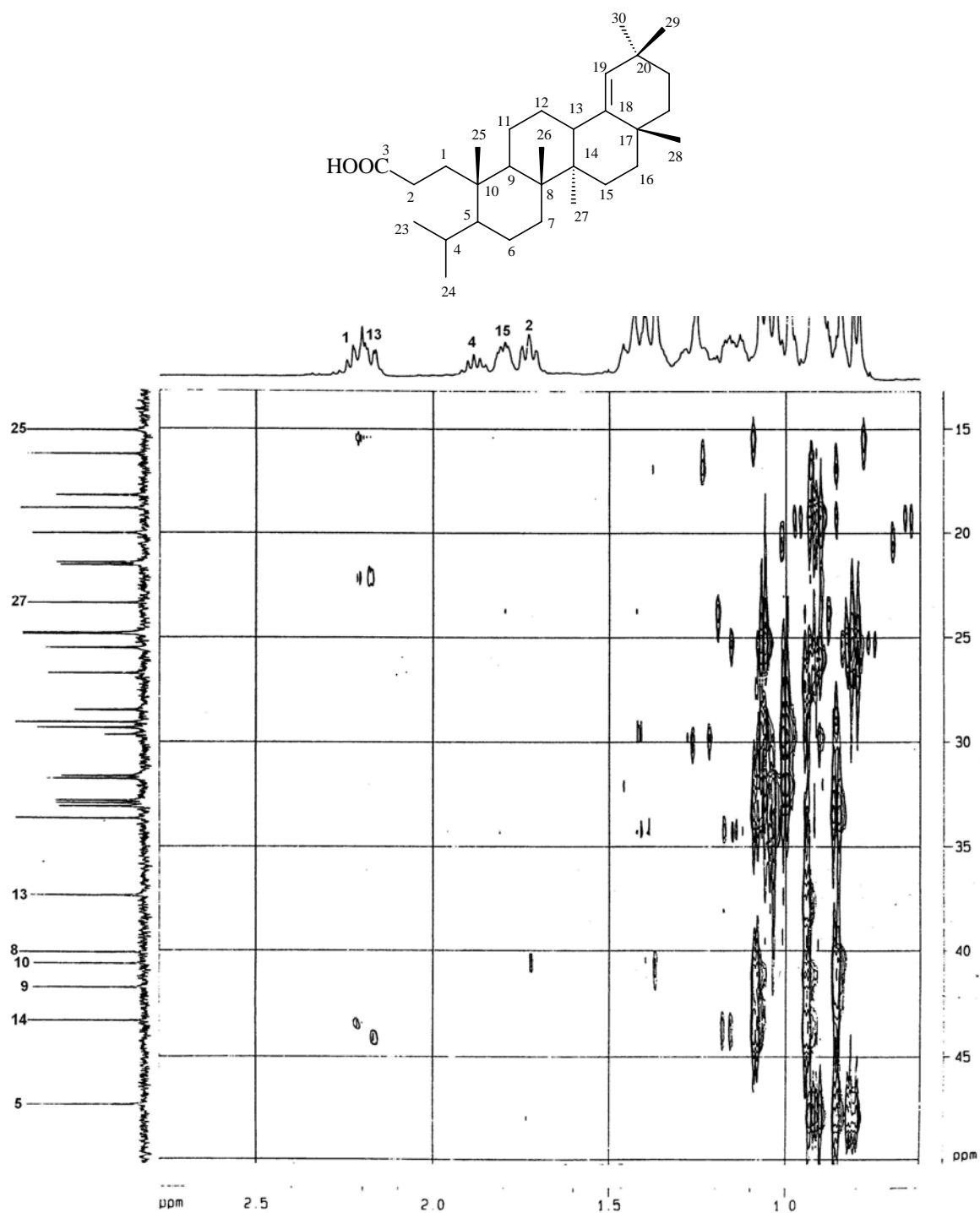


Figura 145 - Espectro de RMN 2D HMBC de C63, em CDCl₃ a 100 MHz.

Tabela 42 - Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C e as principais correlações observadas no espectro HMBC de C63, em CDCl_3 .*

Posição	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	HMBC
1	1,72 (t)	28,5	C3, C10
2	2,21 (m)	33,1	C3, C10
3		180,7	
4	1,86 (m)	25,2	C5
5	0,89 (m)	48,7	C10
6	1,23 (m)	18,2	
7	1,15 (m)	35,7	
8		40,0	
9	1,46 (?)	51,5	
10		40,6	
11	1,01 (m)	21,3	
12	1,38 (m)	26,2	
13	2,16 (dd, $J= 8,6, 3,9$)	38,5	
14		43,6	
15	1,79 (m)	28,2	
16	1,25 (m)	37,6	
17		33,6	
18		142,7	
19	4,85 (s)	129,7	C18, C20
20		32,3	
21	1,12 (m)	33,3	
22	0,88 (m)	36,6	
23	0,90 (d, $J= 6,9$)	24,7	C5, C24
24	0,79 (d, $J= 6,7$)	18,4	C5, C23
25	0,84-1,23 (s)	17,4	C1, C5
26	0,84-1,23 (s)	18,7	
27	0,84-1,23 (s)	14,4	
28	0,84-1,23 (s)	25,1	
29	0,84-1,23 (s)	31,3	
30	0,84-1,23 (s)	29,2	

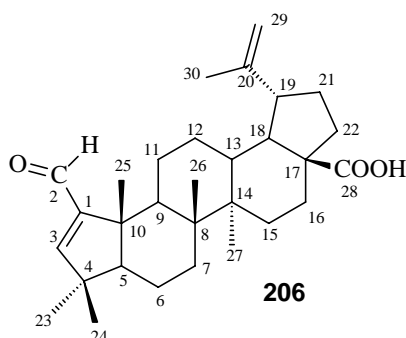
* Deslocamentos químicos (δ) em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz

5.1.2.2 Casca da raiz

A investigação fitoquímica da raiz de *Colletia paradoxa*, conforme descrito na parte experimental, levou ao isolamento dos seguintes metabólitos: ácido ziziberenólico (**206**), β -sitosterol (**195**), β -sitosterol glicosilado (**196**), ácido betulínico (**192**), seco-3,4-taraxerona (**202**), seco-3,4-germaniconona (**205**). Todos, com exceção do primeiro, foram previamente identificados nas partes aéreas, e o ácido ceanótico (**193**), isolado anteriormente das partes aéreas de *Discaria americana*, do material coletado em Jaguari, RS. As substâncias acima descritas, exceto o ácido ziziberenólico, foram identificadas por comparação em CCD, com amostras autênticas e seus respectivos pontos de fusão.

5.1.2.2.1 Identificação do triterpenóide C15

Este metabólito, encontrado somente na casca da raiz de *C. paradoxa* (Tabelas 33 e 34), teve sua estrutura identificada através da comparação com dados de RMN de ^1H e de ^{13}C , ponto de fusão (Pf.: 213-215 °C), descritos literatura.



O espectro de RMN de ^1H (Figura 146) apresentou cinco sinais com integração para 3 hidrogênios, na forma de singletos, em δ 0,96, 0,97, 0,98, 1,12, 1,13, 1,67 ppm, caracterizando grupos metílicos ligados a carbonos não hidrogenados. Os mesmos foram atribuídos como sendo as metilas Me-23, -24, -25, -26 e-27 presentes na estrutura. Os sinais em δ 1,67, 4,61 e 4,73 ppm, em analogia aos dados obtidos para o metabólito C06, foram atribuídos a um substituinte isopropenil, ligado em C15 no sistema pentacíclico da estrutura. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 147) deste metabólito, os sinais em δ 109,9 (C-29) e 150,04 (C-20) ppm, confirmam este substituinte, além de sugerir uma estrutura com esqueleto terpênico do tipo $\Delta^{20(29)}$ -lupeno para C15. No espectro de hidrogênio, um singlete com integração para um hidrogênio em δ 9,71 ppm sugere

uma função aldeído na estrutura. Esta sugestão foi confirmada através da análise do espectro de carbonos (Figura 147), que mostrou um sinal em δ 191,4 ppm, atribuído como sendo carbono C-2. Um hidrogênio, que ressona em δ 6,53 ppm, na forma de um singleto, e cujo carbono aparece no espectro em δ 163,2 ppm (correlação no HMQC, Figura 149), foi atribuído ao hidrogênio olefínico H-3. No espectro HMBC (Figura 150), este hidrogênio mostra correlação com o carbono desidrogenado que ressona em δ 157,3 ppm, atribuído ao C-1, e com o carbono carbonílico, confirmando a presença de um grupo aldeído α,β -insaturado. Além disso, o espectro HMBC (Figura 150) foi importante para localizar este grupo no anel A da estrutura, através das seguintes correlações: H-3 (δ 6,53 ppm) \rightarrow C-1, C-2, C-23 e C-24; H-2 (δ 9,71 ppm) \rightarrow C-1, C-3 e C-10; CH₃-25 (δ 0,98 ppm) \rightarrow C-1, C-5 e C-9. Essas observações, nos permitiram propor que C15 seja um derivado do ácido ceanótico (**193**), com um grupo aldeído no carbono C-2 e a dupla ligação na posição 1,3.

Através da interpretação simultânea dos espectros de RMN de ¹³C (Figura 147) e DEPT 135° (Figura 148), foi possível verificar a presença de trinta sinais de carbonos, que foram discriminados em 6 carbonos metílicos (CH₃), nove carbonos metilênicos (CH₂), oito carbonos metínicos (CH) e sete carbonos desprotonados (C). Com exceção dos sinais pertencentes aos carbonos do anel A (ciclo penteno), o restante dos sinais de carbono são muito similares aos registrados na literatura para o ácido ceanótico (**193**),²⁰⁷ o que facilitou a confirmação estrutural de C15, que foi atribuído ao ácido 2-oxo-2-nor-1(3),20(29)-lupadieno-28-óico (**206**). Este composto, já descrito na literatura, foi isolado pela primeira vez da espécie *Paliurus hemsleyanus* (Rhamnaceae), com denominação de ácido ziziberenálico.²⁰⁸ Os dados de RMN de ¹H e ¹³C encontram-se descritos na parte experimental, página 73.

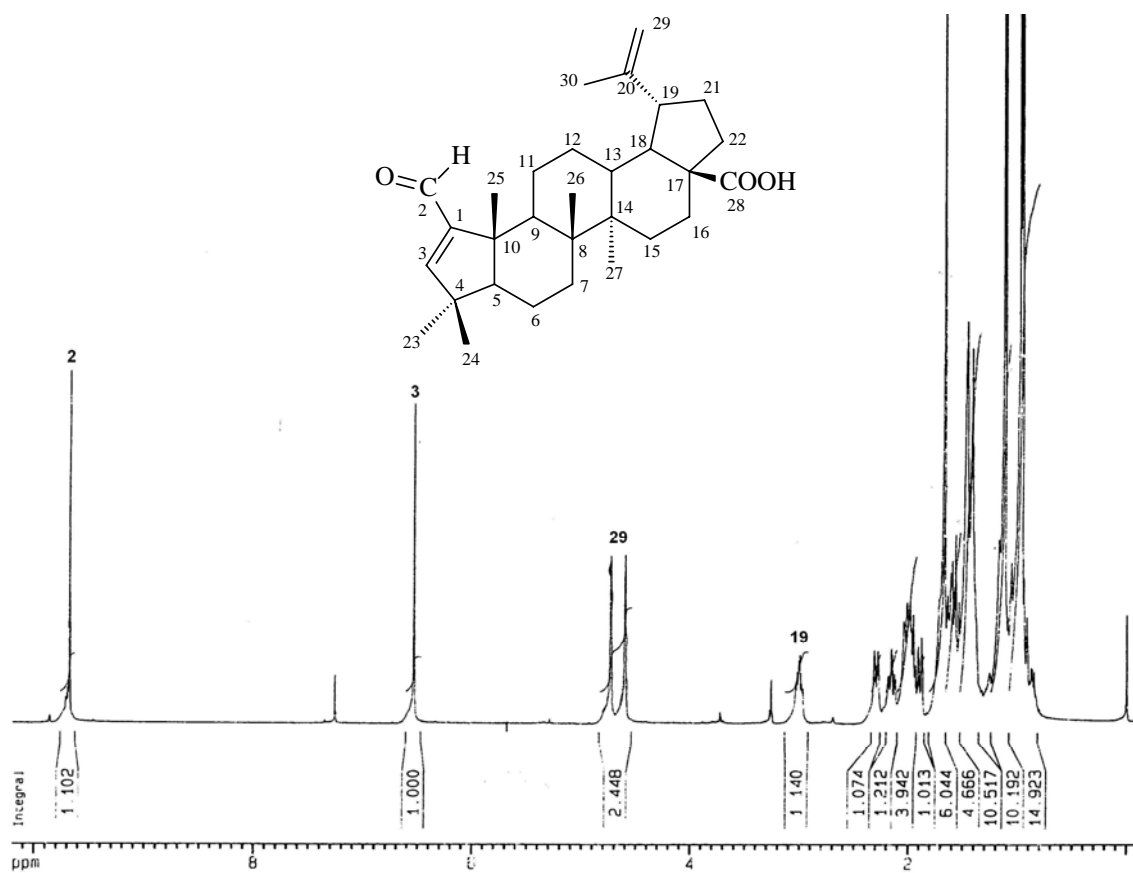


Figura 146 - Espectro de RMN de ^1H de C15, em CDCl_3 , a 400 MHz.

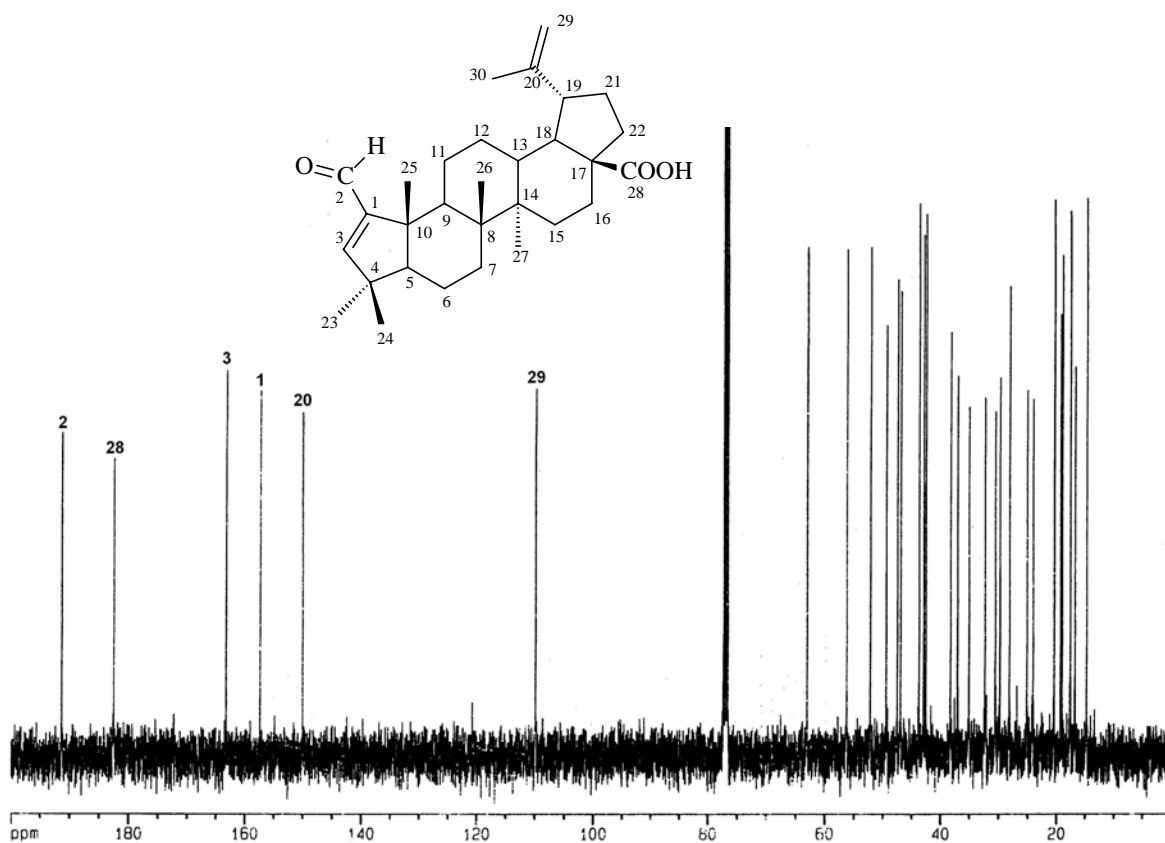


Figura 147 - Espectro de RMN de ^{13}C de C15, em CDCl_3 , a 400 MHz.

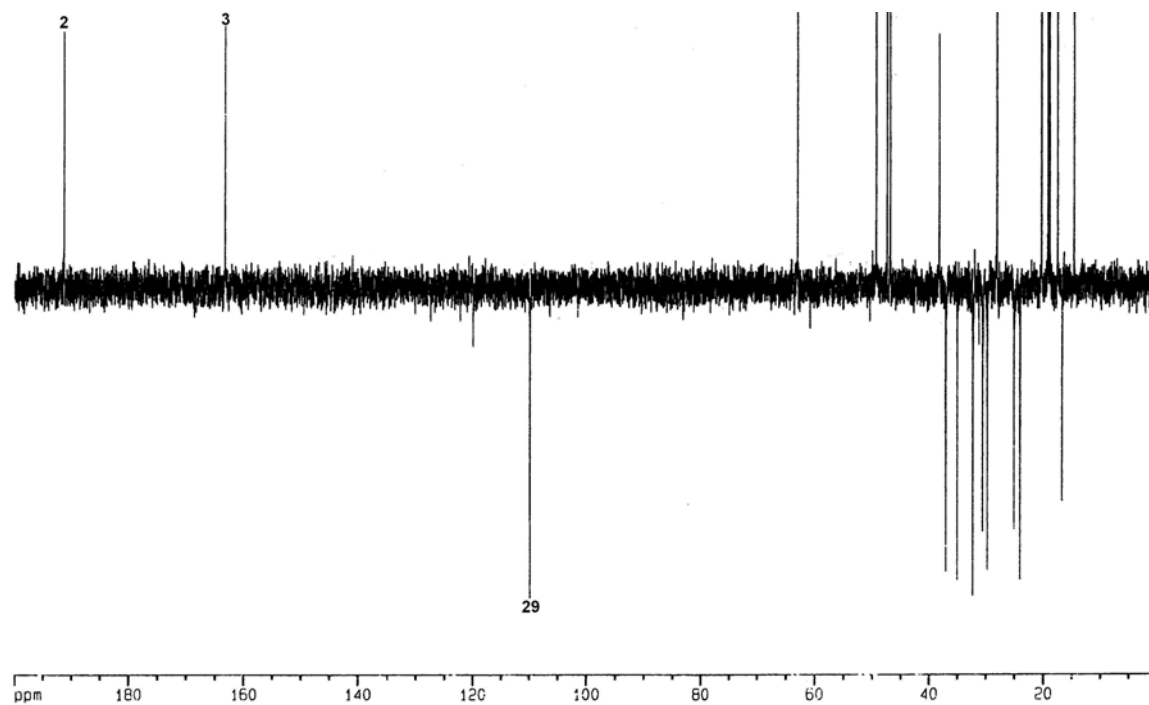


Figura 148 - Espectro DEPT 135° de C15, em CDCl_3 , a 400 MHz.

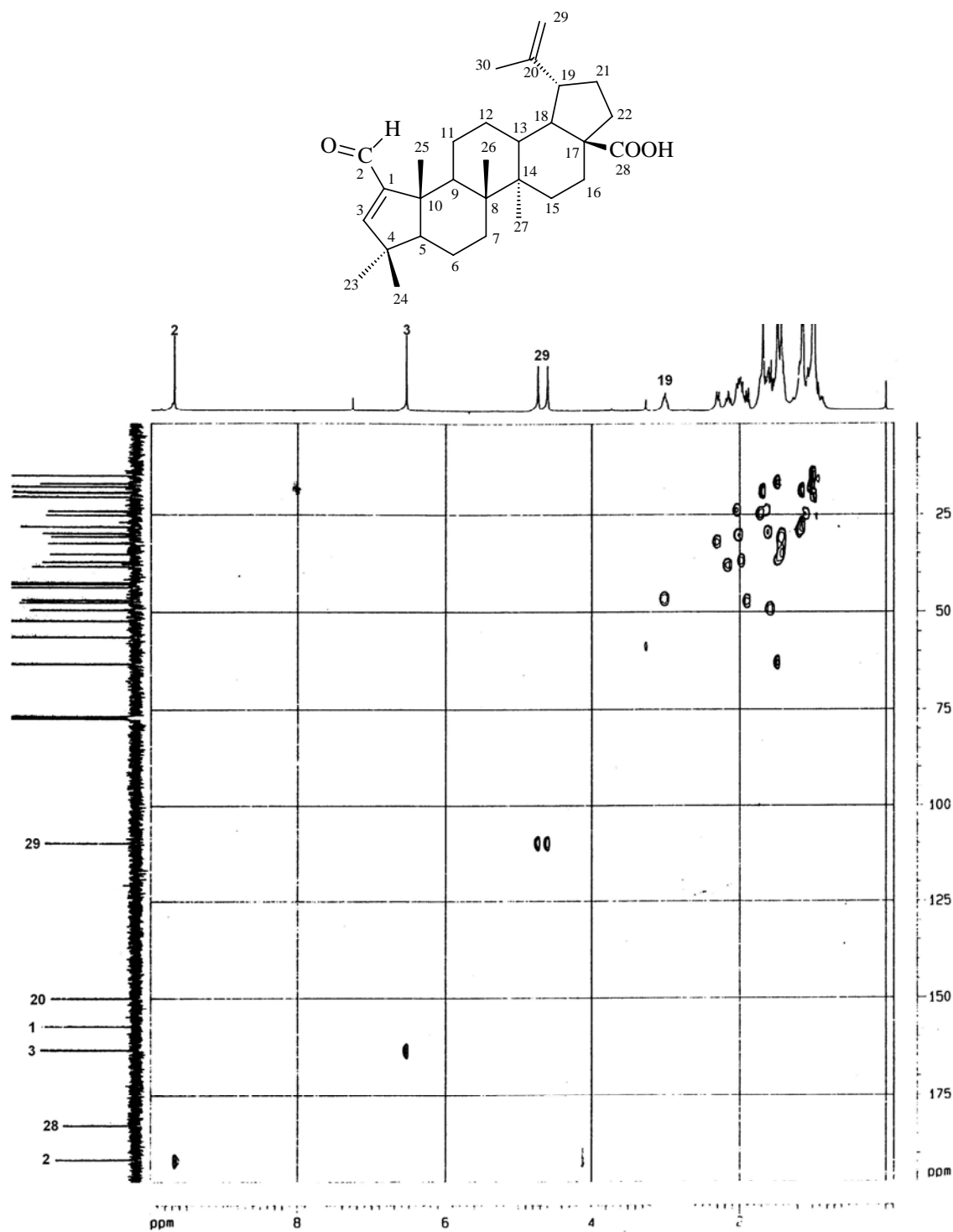


Figura 149 - Espectro de RMN 2D HMQC de C15, em CDCl₃ a 100 MHz.

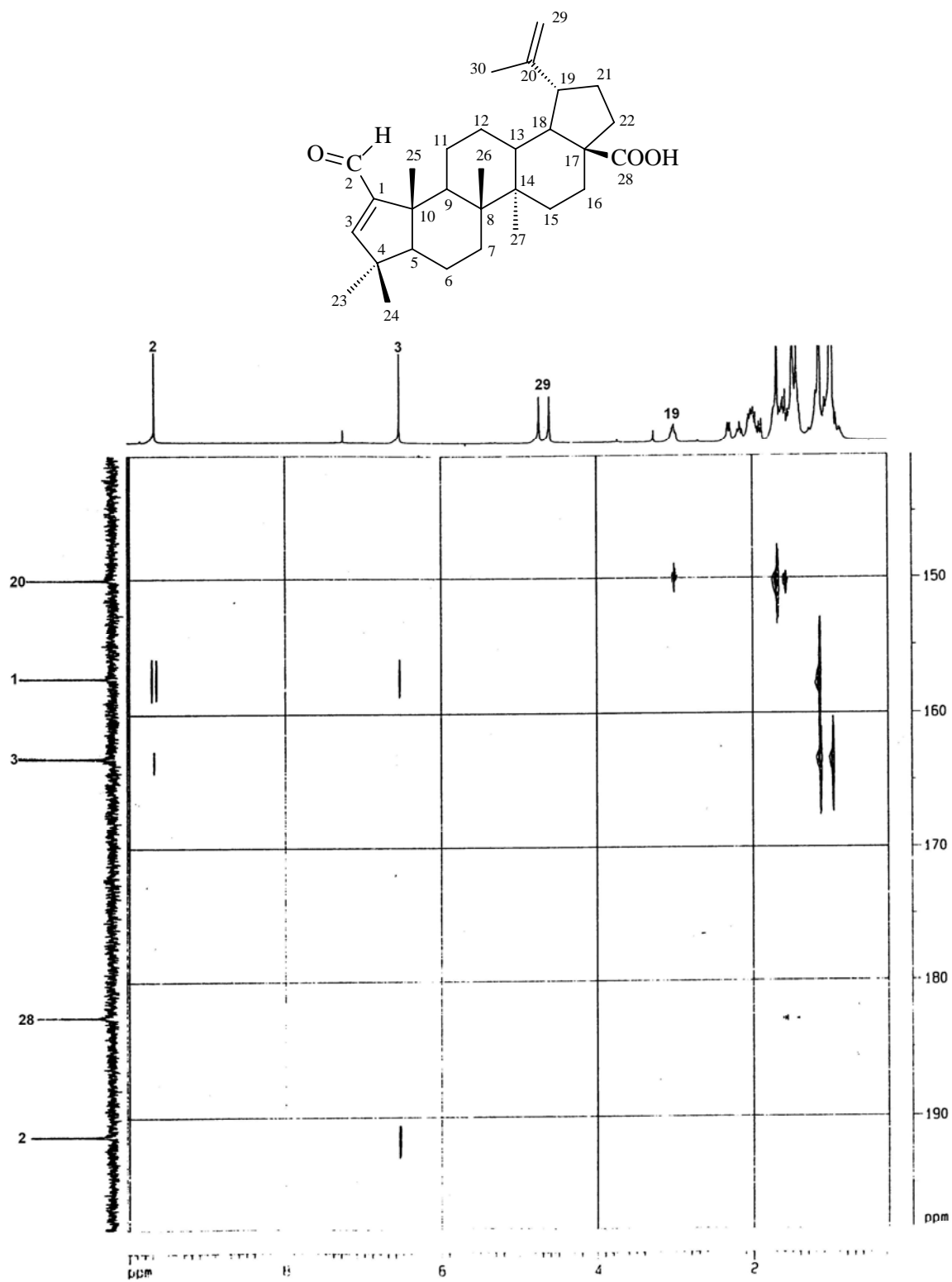


Figura 150 - Espectro de RMN 2D HMBC de C15, em CDCl_3 a 100 MHz.

5.1.3 *Gouania ulmifolia* Hook & Arnott

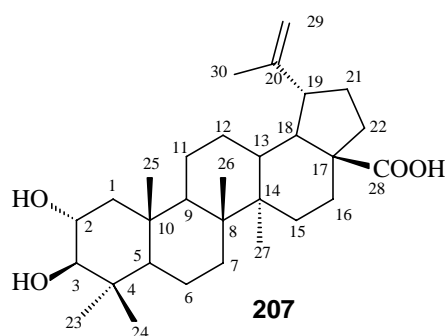
5.1.3.1 Partes aéreas

O estudo químico das partes aéreas de *Gouania ulmifolia* resultou no isolamento do β -sitosterol livre (**195**), β -sitosterol glicosilado (**196**), lupeol (**199**) ácido betulínico (**192**), e os metabólitos codificados como G41 (**207**), G44 (**208**)* e G45 (**209**)*.

A identificação do β -sitosterol livre, β -sitosterol glicosilado, lupeol e o ácido betulínico, também isolados de *Discaria americana* e *Colletia paradoxa*, foi realizada por comparação em CCD, com amostras autênticas, e através de seus respectivos pontos de fusão. As estruturas das demais substâncias acima mencionadas foram determinadas baseando-se em seus dados de RMN de ^1H e ^{13}C , experimentos DEPT 135°, COSY, HMQC e HMBC e comparando-se com dados disponíveis na literatura.

5.1.3.1.1 Identificação do metabólito codificado como G41

Este metabólito foi isolado das partes aéreas de *G. ulmifolia* após purificação da fração VII (Tabelas 36 e 37) em placa preparativa. Após recristalização em n-hexano, apresentou-se na forma de um sólido de Pf.: 275-278 °C. Chegou-se a estrutura **207** para este metabólito através das análises dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C .



O espectro de RMN de ^1H (Figura 151) de G41 mostrou seis singletos em δ 0,79, 0,88, 0,91, 0,96, 1,01, 1,72 ppm (3H, s, Me-23, -24, -25, -26, -27 e -30), sinais referentes a grupos metílicos terciários. Os sinais em δ 4,61 e 4,73 ppm (1H, s), típicos de hidrogênios vinílicos de sistemas triterpênicos do tipo $\Delta^{20(29)}$ -

* Os metabólitos G44 e G45 foram enviados para o "Institute of Plant Biochemistry" da Universidade de Halle (Alemanha), onde seus espectros de massas estão em fase de obtenção.

lupeno, foram atribuídos aos hidrogênios H-29 e -29' do grupo isopropenil. Os sinais em δ 3,01 ppm (1H, d, J 10,4 Hz) e 3,64 ppm (1H, d, $J=$ 4,4, 10,4 Hz) indicaram a presença de dois hidrogênios carbinólicos, atribuídos à H-2 e H-3. A constante de acoplamento de $J = 10,4$ Hz entre os dois hidrogênios ligados a carbonos oxigenados sugere uma relação *anti* entre os mesmos.²²¹ Além disso, informa que os dois substituintes oxigenados se encontram em uma relação α/β . No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 152) o deslocamento químico em δ 83,85 ppm é característico para um carbono em C-3, com uma hidroxila na posição β . Portanto, podemos sugerir um diol $2\alpha,3\beta$ na estrutura.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 152), em análise conjunta com o espectro DEPT 135° (Figura 153), confirma a presença de 6 carbonos metílicos, dez carbonos metilênicos, 7 metínicos e 7 carbonos desidrogenados, perfazendo um total de trinta carbonos.

A análise comparativa dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C deste metabólito com os previamente descritos para o lupeol (**199**) e ácido betulínico (**192**), ponto de fusão e registros na literatura, possibilitou sugerir a estrutura **207** para G41, substância já descrita na literatura, como sendo o ácido alfitólico, encontrado em várias espécies vegetais.²¹⁴

Os demais dados de RMN de ^1H e ^{13}C relativos a estrutura **207** encontram-se descritos na parte experimental (Página 76).

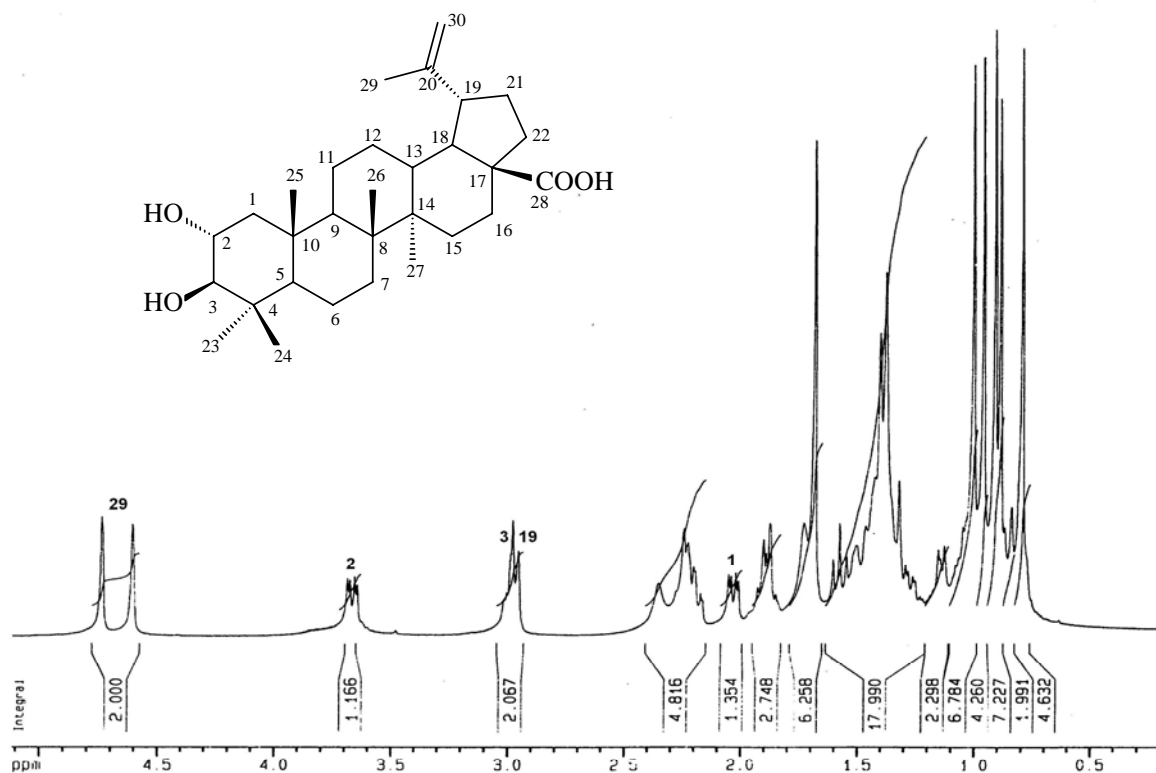


Figura 151 - Espectro de RMN de ^1H de G41, em CDCl_3 , a 400 MHz.

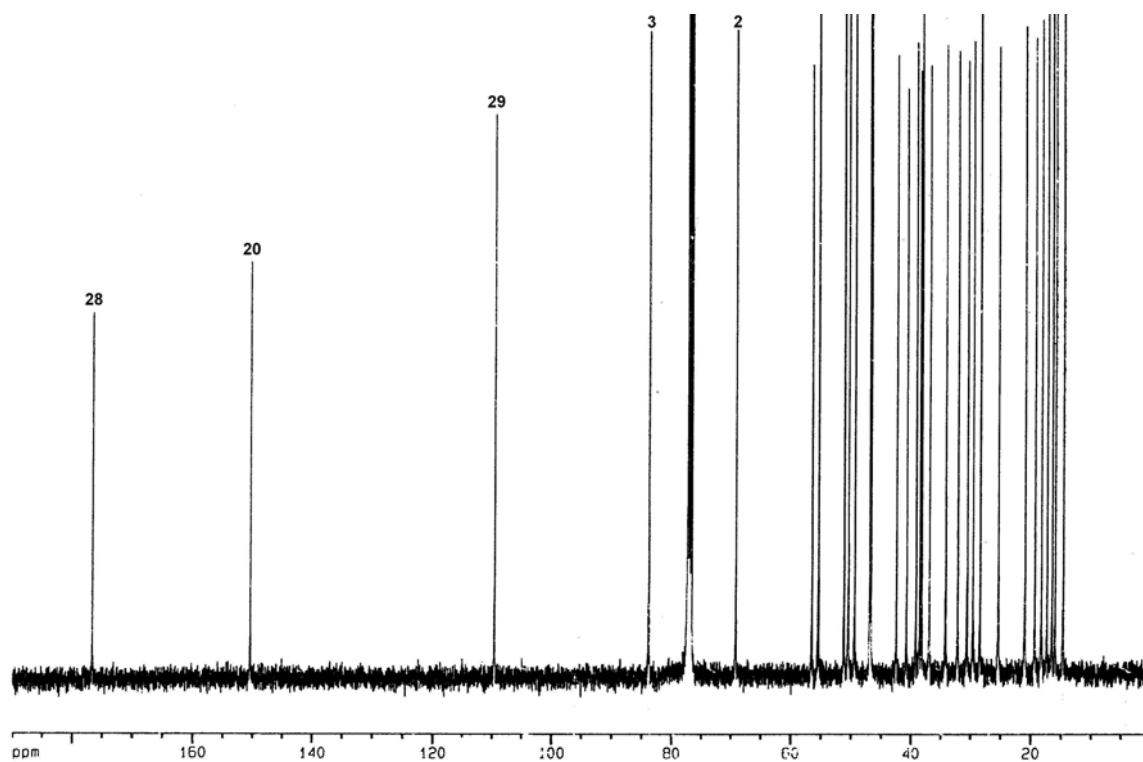


Figura 152 - Espectro de RMN de ^{13}C de G41, em CDCl_3 , a 400MHz.

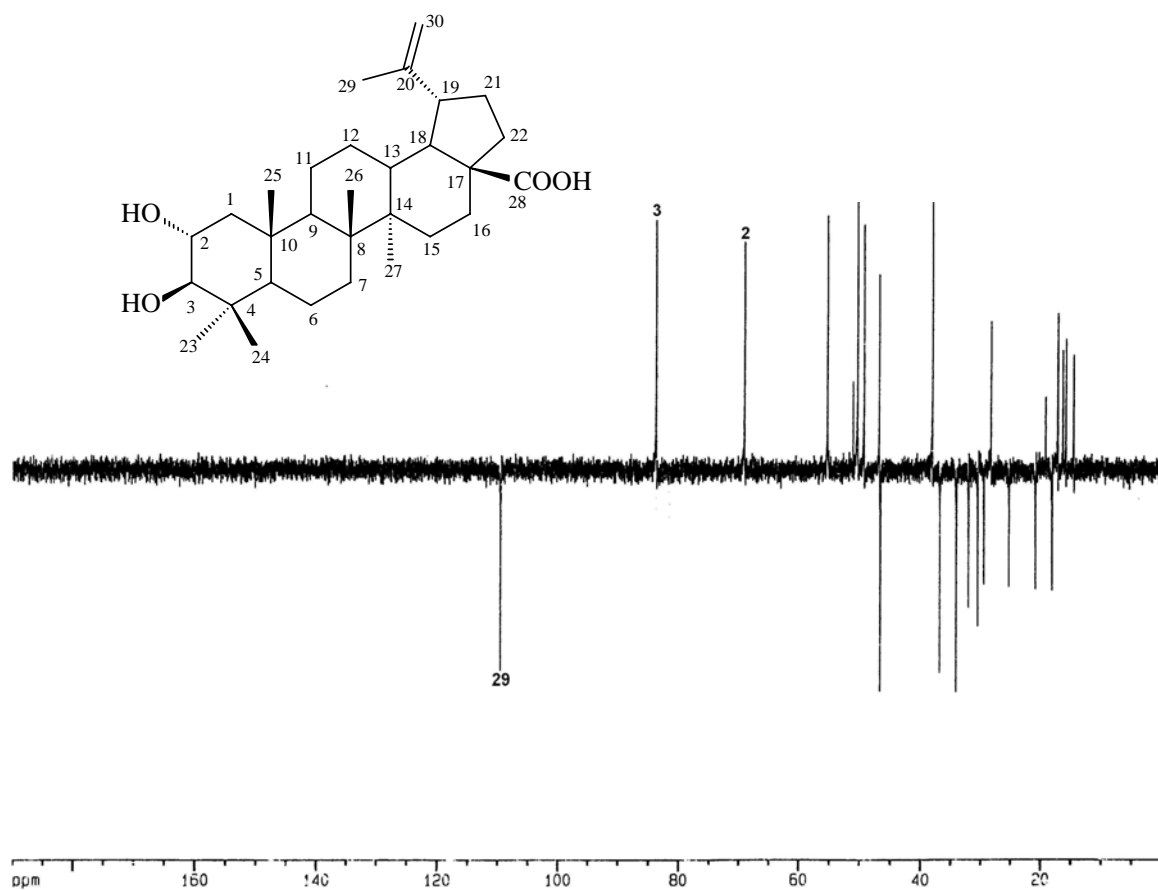
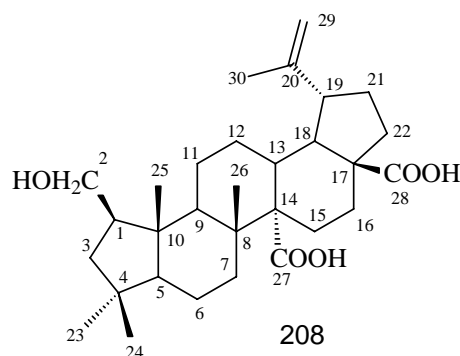


Figura 153 - Espectro RMN DEPT 135° de G41, em CDCl₃, a 400MHz.

5.1.3.1.2 Identificação do triterpenóide codificado como G44

Esta substância, codificada como G44, foi obtida do extrato diclorometano das partes aéreas de *G. ulmifolia* (Tabelas 36 e 37), após cromatografia em coluna. Foi obtida na forma de um sólido branco, homogêneo em CCD, com ponto de fusão entre 246-248 °C e uma rotação $[\alpha]_D^{20} = + 27,1$ (c 1,1; CHCl_3). A estrutura **208** para esta substância foi proposta através dos dados descritos a seguir.



Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C de G44 mostram que existe similaridade estrutural desse composto com G41 (**207**) e o ácido betulínico (**192**). A presença dos sinais em δ 4,61 e 4,73 ppm, no espectro de RMN de ^1H (Figura 155) e δ 109,21 e 150,91 ppm, no espectro de ^{13}C (Figura 159), caracterizam a presença do grupo isopropenil em G44. Assim, podemos sugerir um esqueleto carbônico de tipo $\Delta^{20(29)}$ -lupeno. Porém, significativas diferenças são observadas no espectro RMN de ^1H de G44 (Figura 156), onde se verifica a presença de somente cinco grupos metílicos terciários em δ 0,90, 0,91, 0,99, 1,04, 1,71 ppm (3H, s, CH_3 -23, -24, -25, -26, -30), enquanto no espectro de RMN de ^{13}C , verifica a presença adicional de uma carbonila de ácido carboxílico em δ 178,5 ppm. Esta observação nos permitiu sugerir que o composto G44 tem um grupo ácido carboxílico, a mais que na estrutura do ácido betulínico (**192**). Esta carboxila estaria substituindo um grupo metila. A posição no esqueleto carbônico de G44, dos grupos carboxílicos, foi realizada através das correlações observadas no espectro HMBC (Figura 162) entre H-13 e H-15 \rightarrow C-14 e C-27 e, H-18 e H-22 \rightarrow C-17 e C-28 (Figura 154).

A presença de um sinal em δ 62,5 ppm, no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 159), dentro da faixa de deslocamento químico de álcoois, em adição a dois duplos dubletes em δ 3,21 e 3,66 ppm, no espectro RMN de ^1H , caracterizam a presença de um álcool primário em G44. No espectro DEPT 135° (Figura 160), o sinal em δ 62,5 ppm, apresenta-se com amplitude negativa (carbono metilênico) e mostra correlação, no espectro HMQC (Figura 161), com os hidrogênios em δ

3,21 e 3,66 ppm, ratificando a presença deste grupo hidroxila. Com o auxílio do experimento a longa distância, HMBC (Figura 162), determinou-se a localização inequívoca deste grupo em G44, através das correlações observadas entre os hidrogênios metilênicos em C-2 (δ 3,21 e 3,66 ppm) com C-1 (44,1 ppm), C-10 (48,3 ppm) e com C-3 em δ 42,0 ppm.

A análise do espectro COSY de G44 (Figura 157), proporcionou a identificação dos vários sistemas de spins presentes na molécula. Dentre os quais, destacaremos o sistema de spins formado pela correlação entre os hidrogênios metilênicos em δ 3,21 e 3,66 ppm com um hidrogênio metínico em δ 1,82 ppm, o qual por sua vez mostrou correlação com os hidrogênios metilênicos em δ 1,78 ppm. Outro sistema de spins importante é o formado entre H-11, H-12, H-13, H-18, H-19, H-21 e H-22, mostrando a junção dos anéis C, D e E.

Através da interpretação dos dados do espectro NOESY (Figura 158) desta substância observa-se que os hidrogênios metilênicos (δ 3,21 e 3,66 ppm) do grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$ estão localizados espacialmente próximos de um grupo metila (Me-25). Neste mesmo espectro observa-se uma interação espacial entre os hidrogênios metínicos H-1 (δ 1,82 ppm) e H-5 (δ 1,19 ppm). Estas observações, juntamente com o fato dos hidrogênios metilênicos não apresentarem interação espacial com o hidrogênio metínico H-5 (δ 1,19 ppm) permitiu sugerir que o grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$ se encontra na posição β no C-1 do anel A.

Levando-se em conta os dados espectroscópicos já obtidos, fica claro que a estrutura deste composto apresenta como anel A, um ciclo de cinco membros. Essa afirmação também pode ser confirmada pelos deslocamentos químicos dos carbonos C-5 (δ 58,09 ppm) e C-10 (δ 48,32 ppm), no espectro de RMN de ^{13}C . Esses sinais, em compostos que possuem como anel A, um ciclo de seis membros, encontram-se a campo mais alto, em δ 55,00 (C-5) e 37,00 ppm (C-10). Após a análise do conjunto de dados espectroscópicos relativos a esta substância, foi possível propor a estrutura **208**, ainda não descrita na literatura, cuja nomenclatura IUPAC é ácido 2-hidroxi-2-nor-20(29)-lupen-27,28-dióico.

Os valores de deslocamento químico dos demais hidrogênios e carbonos presentes em G44, bem como as principais correlações observadas no espectro HMBC, encontram-se descritos na parte experimental (Página 77) e na Tabela 43 e, também foram estabelecidos com o auxílio dos experimentos DEPT 135°,

COSY, HMQC e HMBC, além de comparação com dados registrados na literatura.

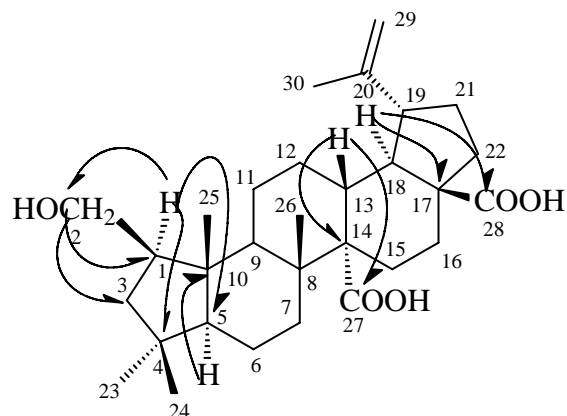


Figura 154 – Principais correlações observadas no espectro HMBC de G44

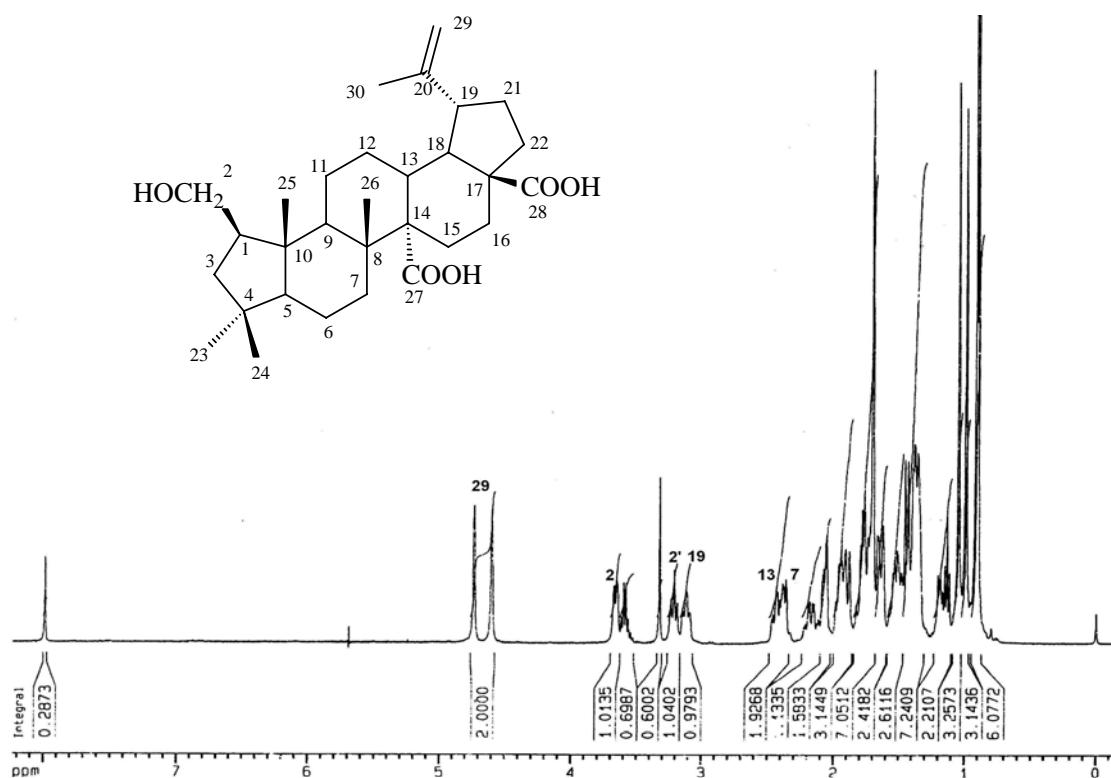


Figura 155 - Espectro de RMN de ^1H G44, em acetona- d_6 , a 400MHz.

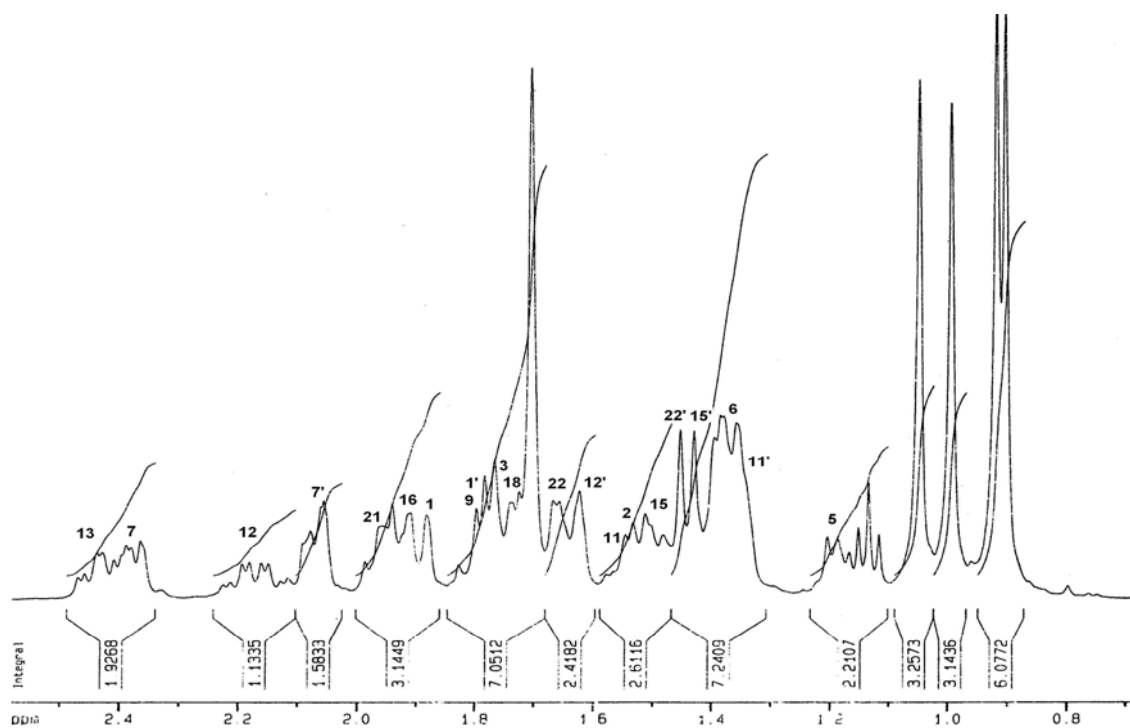
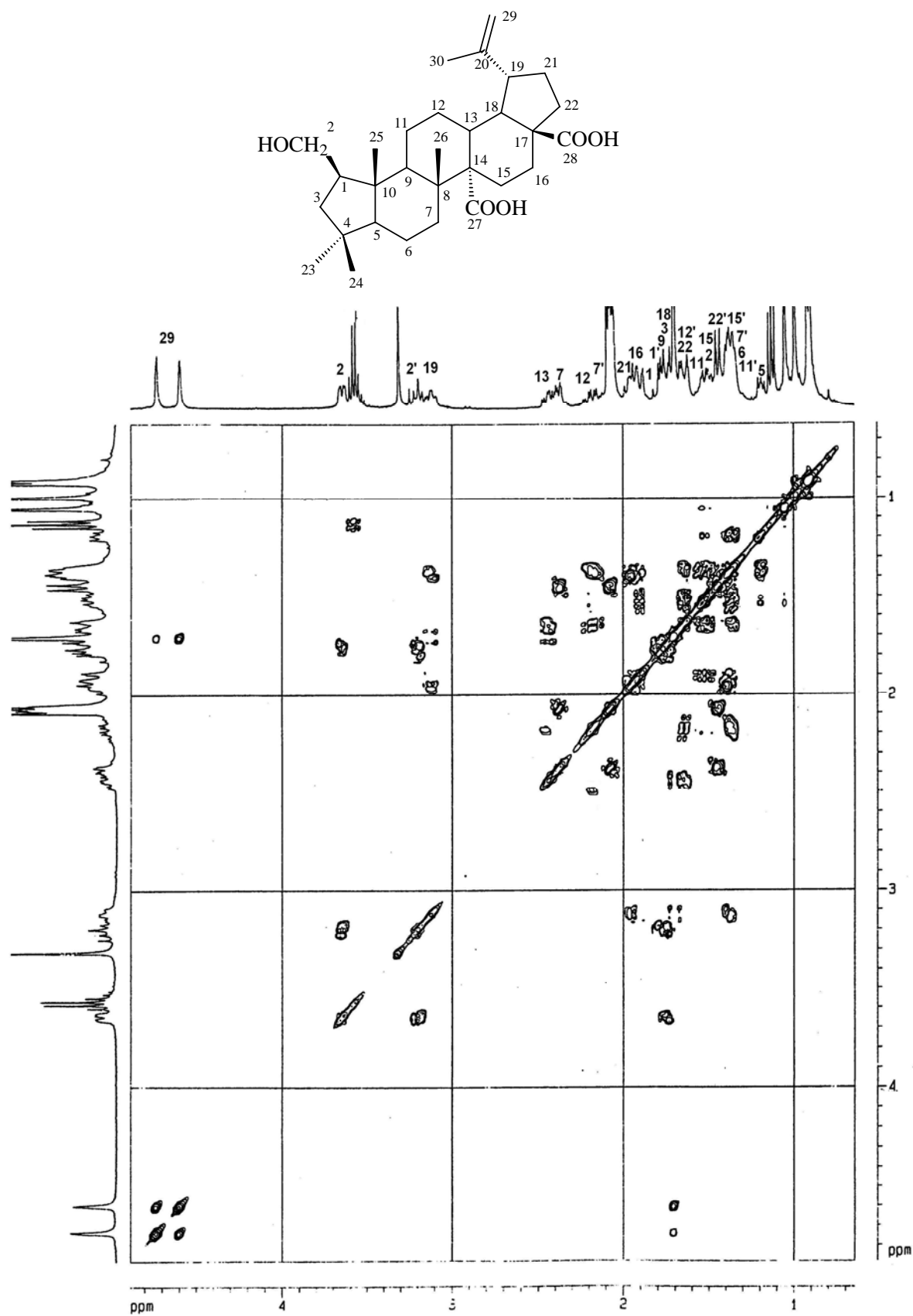
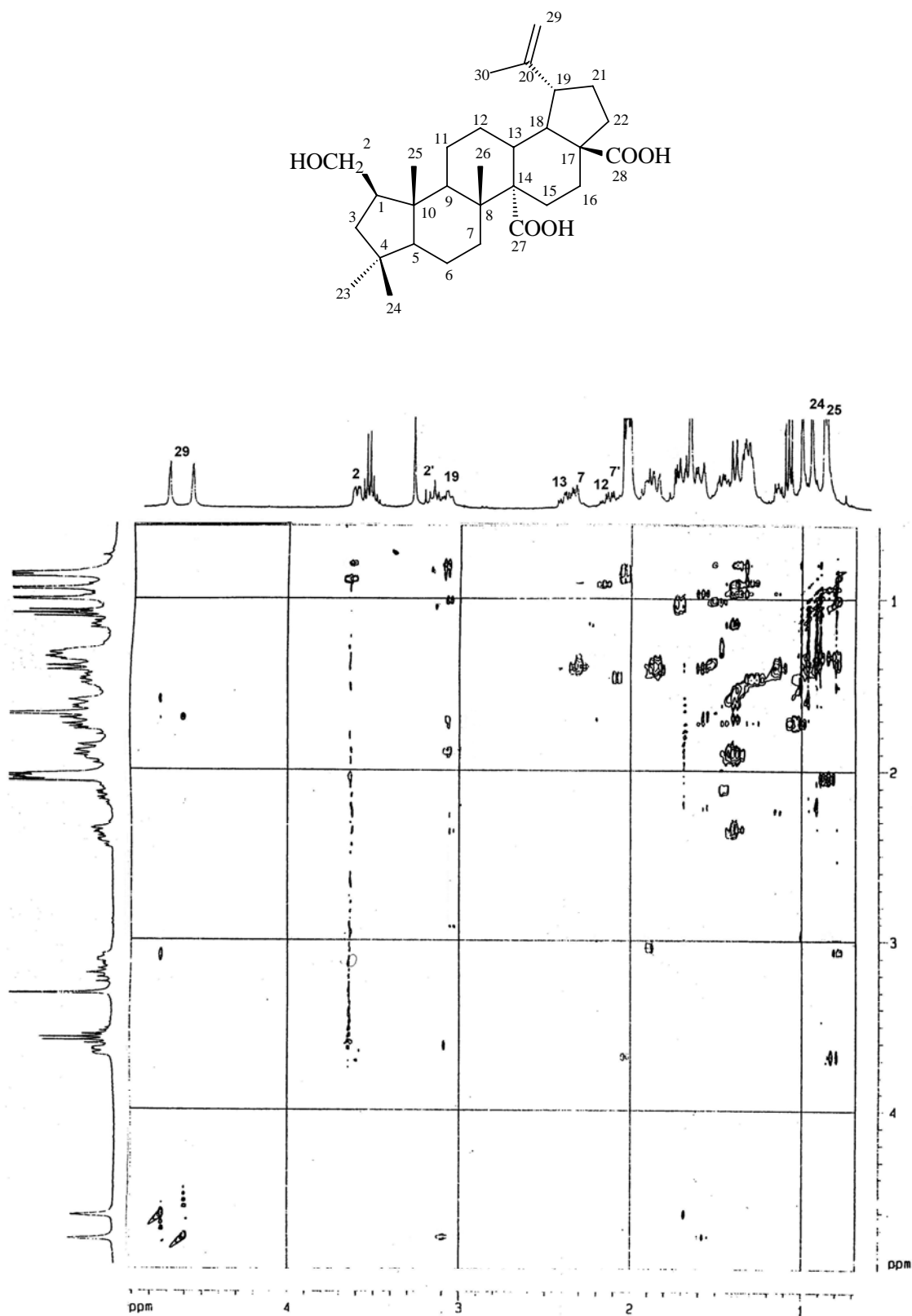


Figura 156 - Espectro de RMN de ^1H G44, expandido 0,8-2,5 ppm, em acetona- d_6 , a 400MHz.

Figura 157 - Espectro RMN 2D COSY de G44, em acetona-*d*₆, a 400MHz.

Figura 158 - Espectro de RMN 2D NOESY de G44, em acetona-*d*₆ a 400 MHz

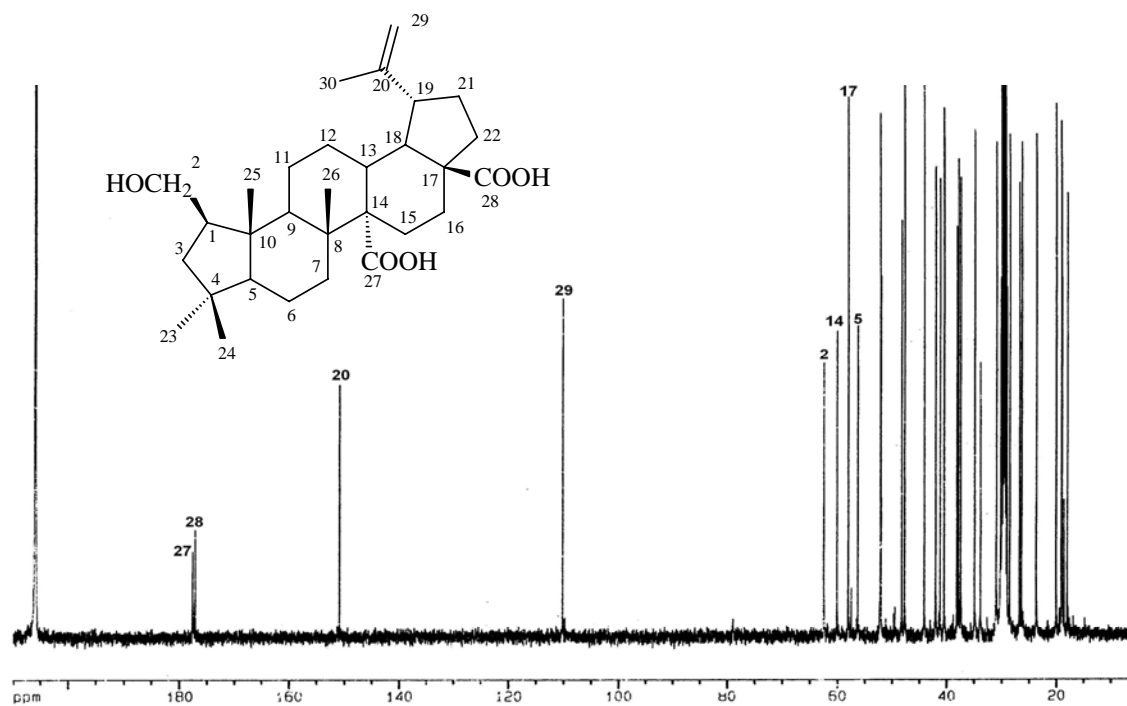


Figura 159 - Espectro de RMN de ¹³C de G44, em acetona-*d*₆, a 100 MHz.

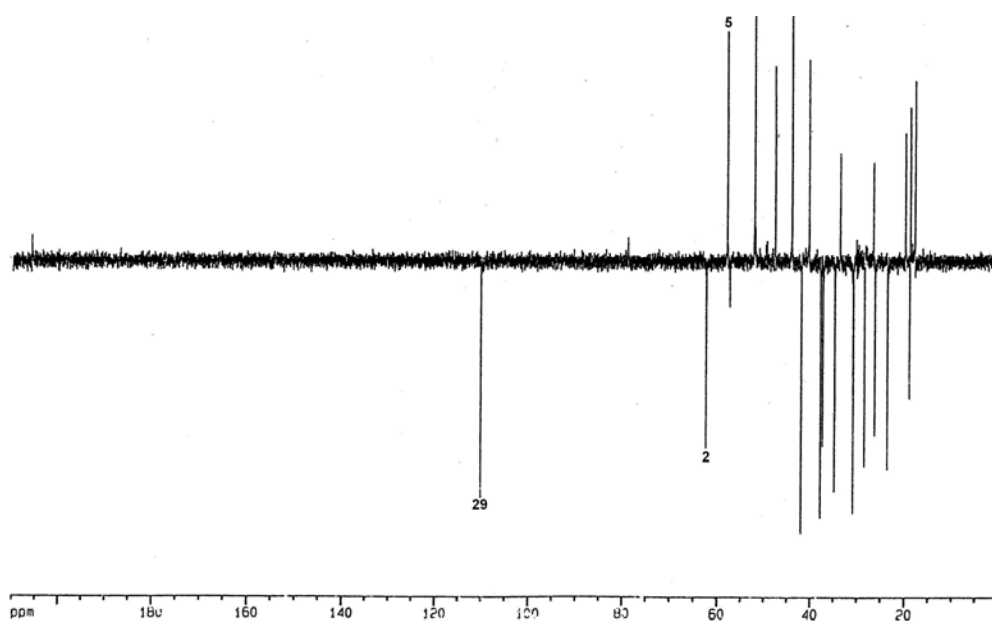
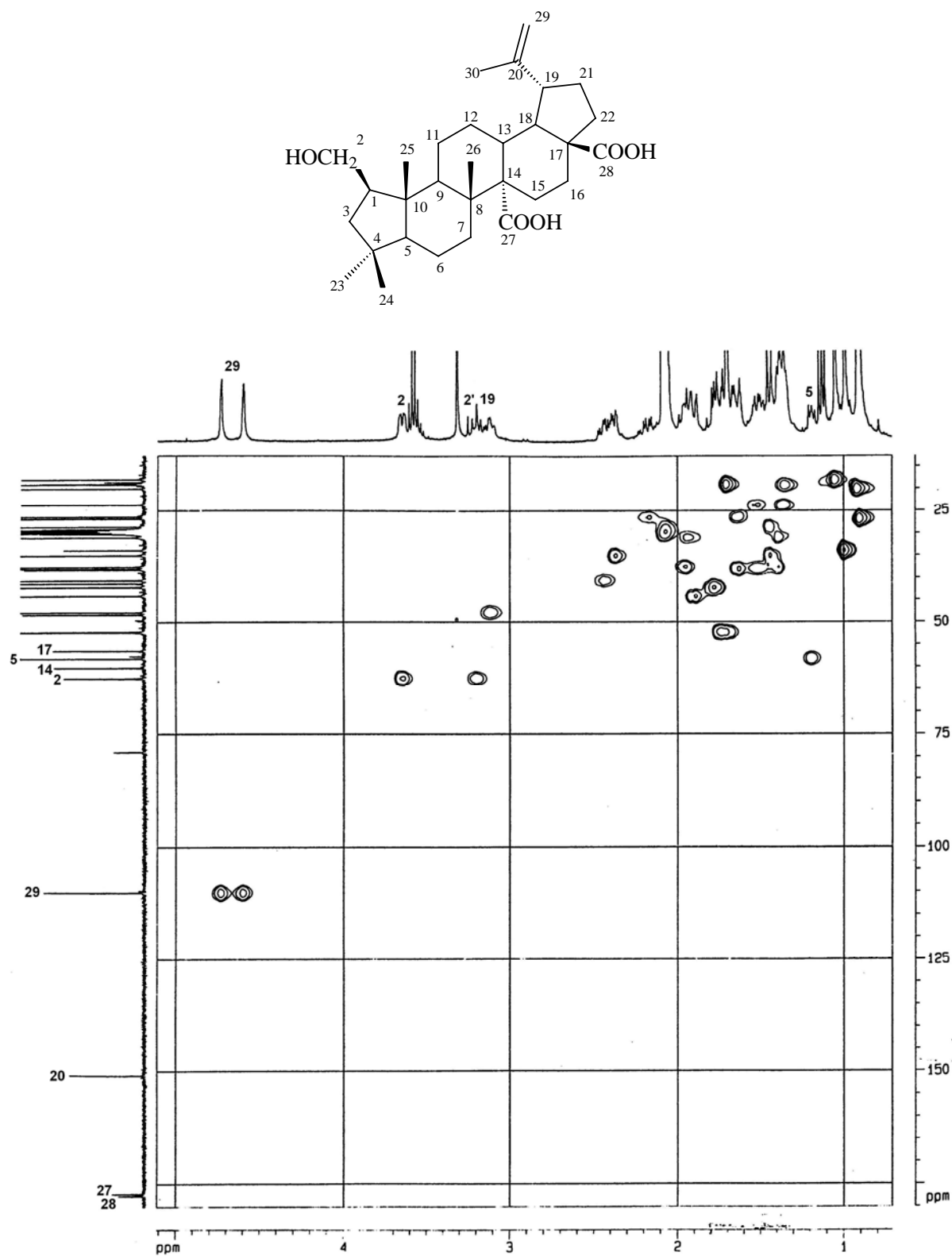


Figura 160 - Espectro RMN DEPT 135° de G44, em acetona-*d*₆, a 100 MHz.

Figura 161 - Espectro RMN 2D HMQC de G44, em acetona-*d*₆, a 400MHz.

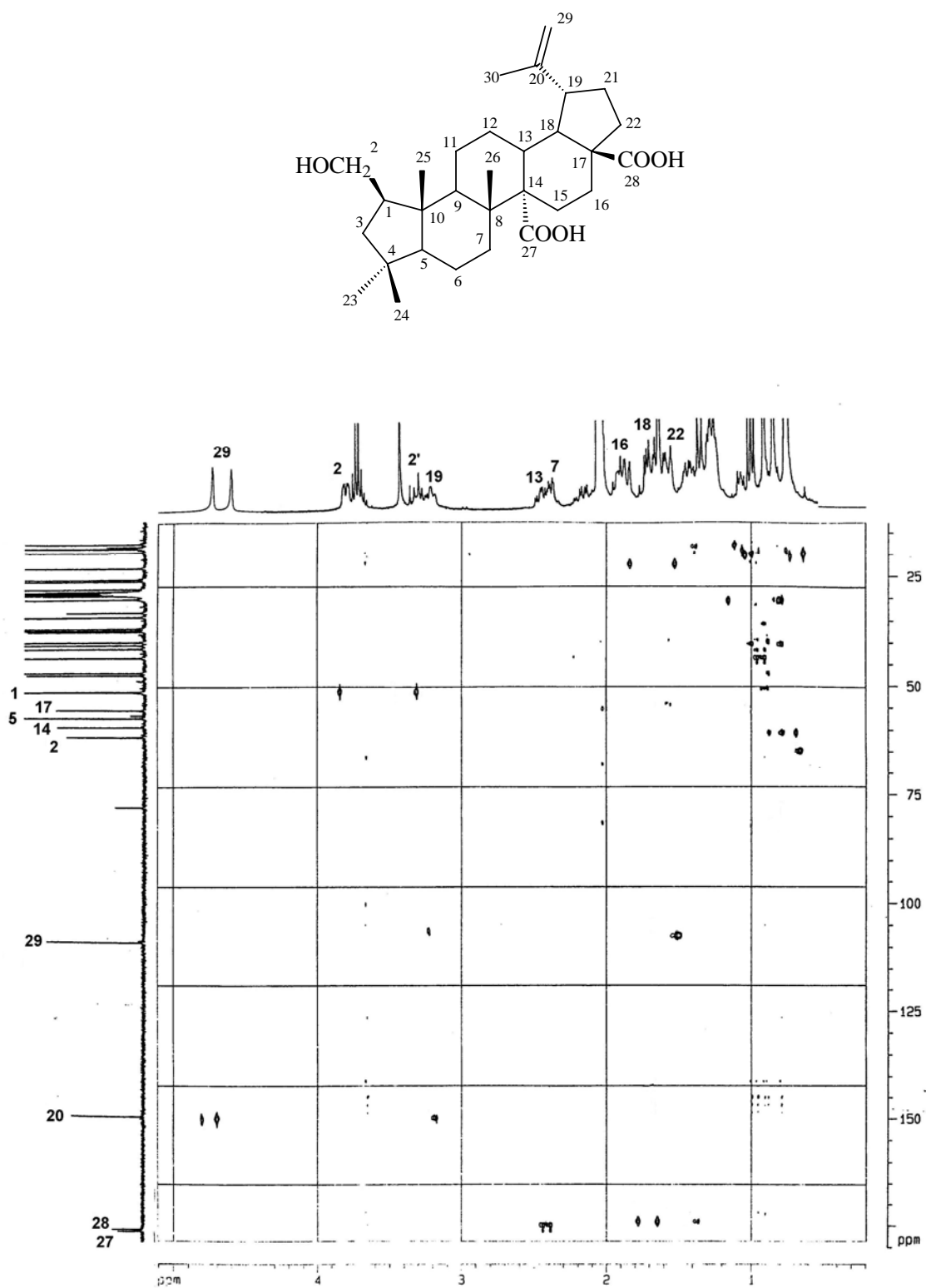
Figura 162 - Espectro RMN 2D HMBC de G44, em acetona-*d*₆, a 400MHz.

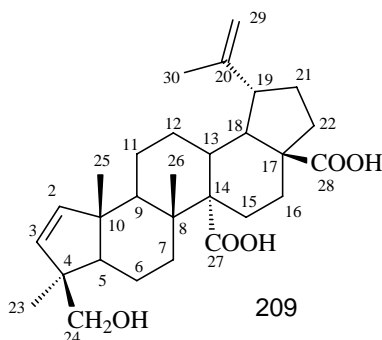
Tabela 43 - Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C e as principais correlações observadas no espectro HMBC de G44, em acetona- d_6 .*

Posição	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	HMBC
1	1,82 (m)	44,1	C2, C4, C5
2	3,21/3,66 (dd, $J= 4,1; 8,5$)	62,5	C1, C3
3	1,78 (dd, $J= 4,3; 8,1$)	42,0	
4		38,1	
5	1,19 (m)	58,0	C10
6	1,37 (m)	19,0	
7	2,07/2,43 (m)	34,9	
8		41,2	
9	1,79 (dd, $J= 6,2; 6,6$)	52,1	
10		48,3	
11	1,35/1,54 (m)	23,6	
12	1,62/2,14 (m)	26,3	
13	2,38 (m)	40,5	C14, C18, C27
14		60,1	
15	1,48/1,53 (m)	28,5	
16	1,72/1,94 (m)	37,5	
17		56,3	
18	1,73 (dd, $J= 6,1; 6,8$)	52,2	C13, C17, C28
19	3,11 (m)	47,7	
20		150,9	
21	1,91/1,98 (m)	30,9	
22	1,51/1,66 (m)	37,9	
23	0,90-1,04 (s)	33,8	
24	0,90-1,04 (s)	26,7	
25	0,90-1,04 (s)	19,0	
26	0,90-1,04 (s)	17,9	
27		178,5	
28		178,1	
29	4,61/4,73 (s)	110,2	C19, C20, C30
30	1,71 (s)	20,0	C19, C20, C29

* Deslocamentos químicos (δ) em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz

5.1.3.1.3 Identificação do triterpenóide codificado como G45

Este metabólito foi isolado do extrato diclorometano das partes aéreas de *G. ulmifolia* (Tabelas 36 e 37). Apresentou-se na forma de um sólido branco com ponto de fusão entre 238-240 °C e $[\alpha]_D^{20} = + 8,3$ (c 1,2; CHCl₃). A estrutura para esta substância foi proposta através dos dados de RMN de ¹H e ¹³C, e comparação com dados da literatura, além dos dados dos metabólitos descritos anteriormente.



Comparando-se os espectros deste metabólito com os espectros do metabólito anterior (G44), observam-se algumas semelhanças entre os mesmos, como a presença em comum de dois grupos carboxílicos, um grupo -CH₂OH e de um grupo isopropenila como substituintes no esqueleto principal. Ambos metabólitos apresentam um anel A de cinco membros.

A principal diferença entre ambos foi observada através do espectro de carbono-13, que mostra que a estrutura do metabólito atual apresenta um carbono a menos [A(1)nor] em relação ao anterior. Além disso, os sinais em δ 5,49 ppm (1H, d, $J = 5,8$) e 6,07 ppm (1H, d, $J = 5,8$), característicos de sistemas vinílicos, no espectro de RMN de ¹H de G45 (Figura 164), mostra a presença adicional de uma dupla ligação. A presença de um grupo -CH=CH-, adicional em G45, é evidenciada no espectro de RMN de ¹³C (Figura 168) pelos sinais em δ 136,61 e 142,76 ppm de carbonos metínicos [amplitude positiva no espectro DEPT 135° (Figura 169)].

A presença de somente quatro sinais em δ 1,02, 1,06, 1,09, 1,71 ppm (3H, s), no espectro de RMN de ¹H (Figura 165), relativo a grupos metílicos terciários, é outra diferença significativa entre G44 e G45. Essa observação nos permite propor que um grupo -Me está substituído por um grupo -CH₂OH. Esse grupo é identificado através dos sinais em δ 3,45 e 3,59 ppm, no espectro de RMN de ¹H, e o sinal em δ 66,43 ppm, no espectro de RMN de ¹³C. Os hidrogênios deste

grupo (δ 3,45 e 3,59 ppm), no espectro HMQC (Figura 170), mostram correlação com o mesmo carbono em δ 66,43 ppm, portanto, tratam-se de hidrogênios diastereotópicos. Além disso, ao contrário do observado no espectro COSY de G44 (Figura 166), o grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$, em G45 não mostra correlação, indicando que este encontra-se ligado a um carbono quaternário.

As correlações observadas no espectro HMBC (Figura 171) entre os hidrogênios do grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$ (δ 3,45 e 3,59 ppm) com os sinais de carbonos em δ 24,22 (C-23 ou -24), 51,41 (C-4), 62,91 (C-5) e 136,62 (C-3) ppm, além da correlação entre o hidrogênio olefínico H-3 (δ 6,07 ppm) com os carbonos em δ 24,22 (C-23 ou -24), 51,41 (C-4), 62,91 (C-5), nos permite sugerir que o grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$ encontra-se ligado no carbono C-4, além de confirmar, que o anel A é constituído de um ciclo-penteno, em vez de, um ciclo-pentano como assinalado em G44. Outras correlações observadas no espectro HMBC estão descritas na tabela 44 e podem ser vistas na figura 162. O deslocamento, no espectro de RMN de ^{13}C , para campo mais baixo dos sinais dos carbonos C-4 (δ 51,42 ppm), C-5 (δ 62,91 ppm) e C-10 (δ 50,95 ppm), quando comparados aos valores obtidos em G44, também corroboram essa afirmação.

Por outro lado, os dados acima descritos, somente indicam que o grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$ está ligado no carbono C-4, mas não revelam se este substituinte encontra-se ligado em posição α (C-23) ou β (C-24). Para tanto, uma ferramenta fundamental para esclarecer esta dúvida é a observação das correlações no espectro NOESY (Figura 167). Neste caso, não foi verificado NOE entre o hidrogênio H-5 (δ 1,31 ppm) e os hidrogênios em δ 3,45 e 3,59 ppm do grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$, indicando que este grupo encontra-se na posição β (C-24), *anti*.

A atribuição dos sinais de hidrogênios e carbonos presentes nos anéis B, C, D e E de G45 foi feita em comparação com os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C de G44. Nessa comparação, verifica-se que não existe diferença significativa entre os mesmos, nos anéis B, C, D e E, sugerindo que os grupos carbonilas encontram-se também presentes nos carbonos C-27 e C-28. A identificação desses sinais e outros sinais, nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C permitiram atribuir a estrutura **209**, para G45, cujo nome IUPAC é ácido 24-hidroxi-A(1)-nor-2(3),20(29)-lupadien-27,28-dióico. Este composto ainda não foi descrito na literatura.

Os deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C presentes na estrutura proposta (**209**), além das principais correlações observadas no espectro HMBC, encontram-se descritos na Tabela 44.

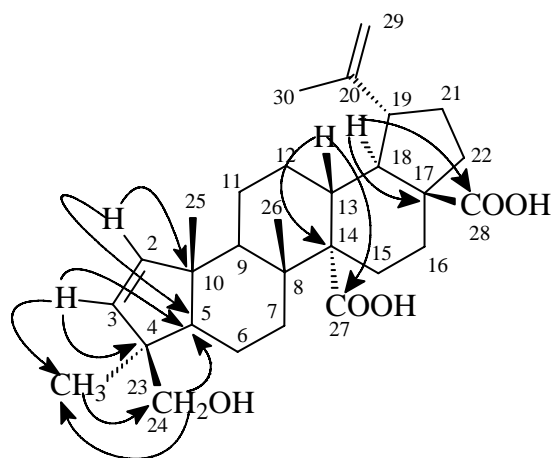


Figura 163 - Principais correlações observadas no espectro HMBC de G45

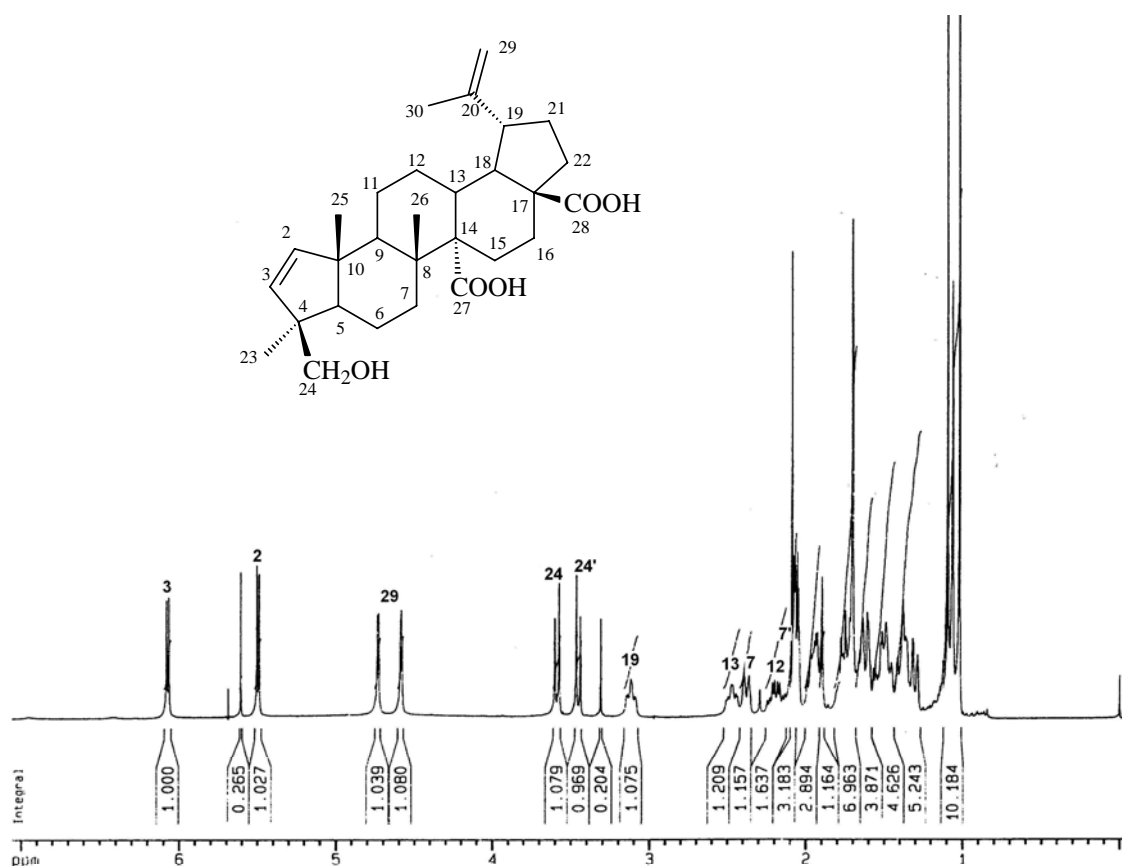


Figura 164 - Espectro de RMN de ^1H de G45, em acetona- d_6 , a 400MHz.

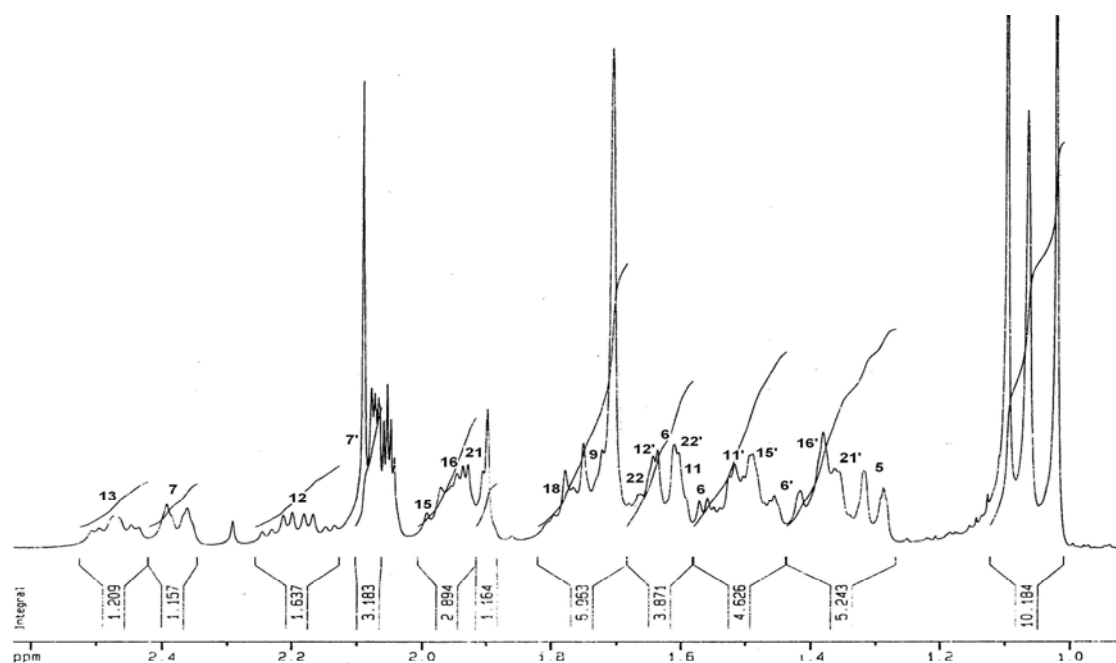


Figura 165 - Espectro de RMN de ^1H G45, expandido δ 0,80-2,60 ppm, em acetona- d_6 , a 400MHz.

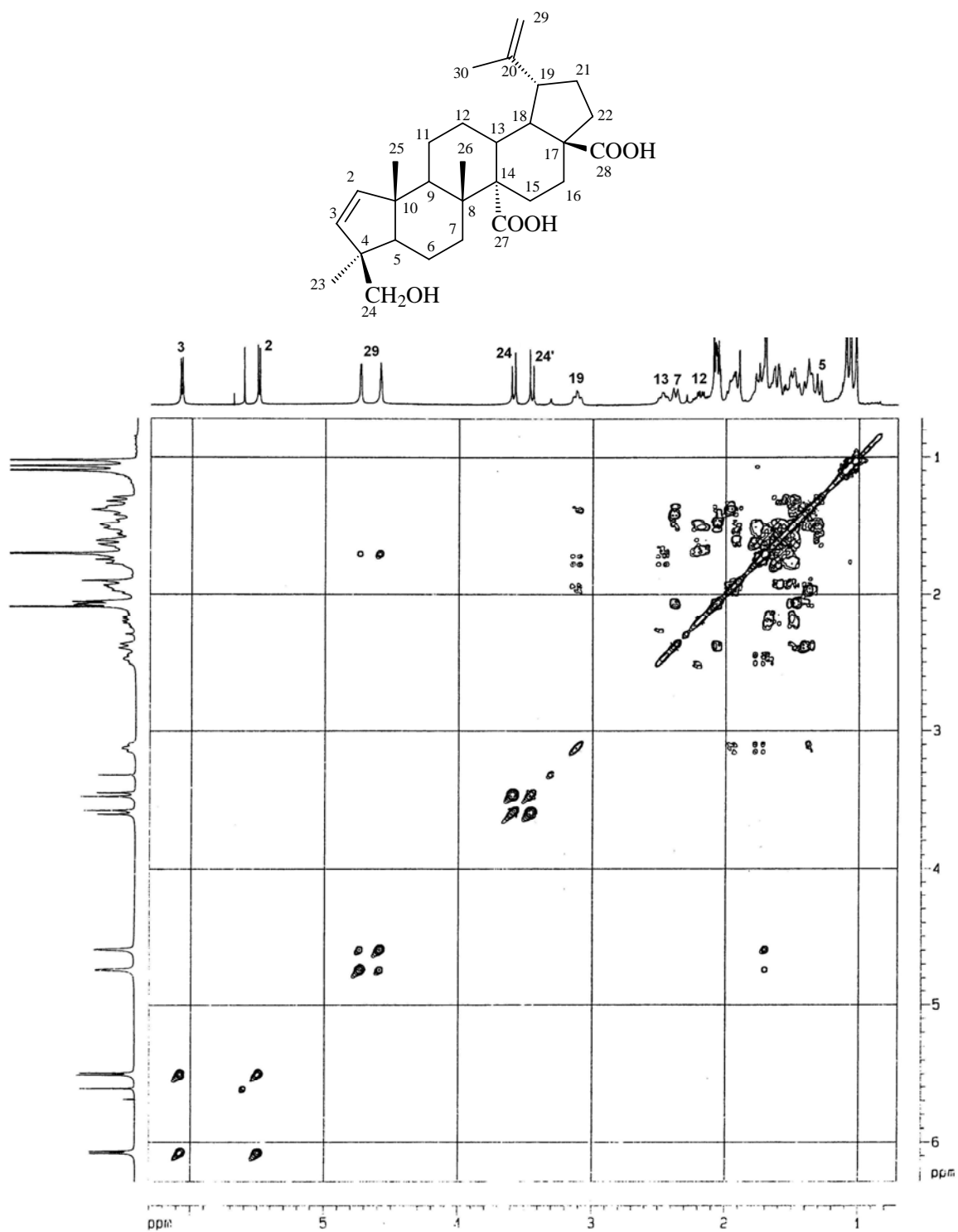
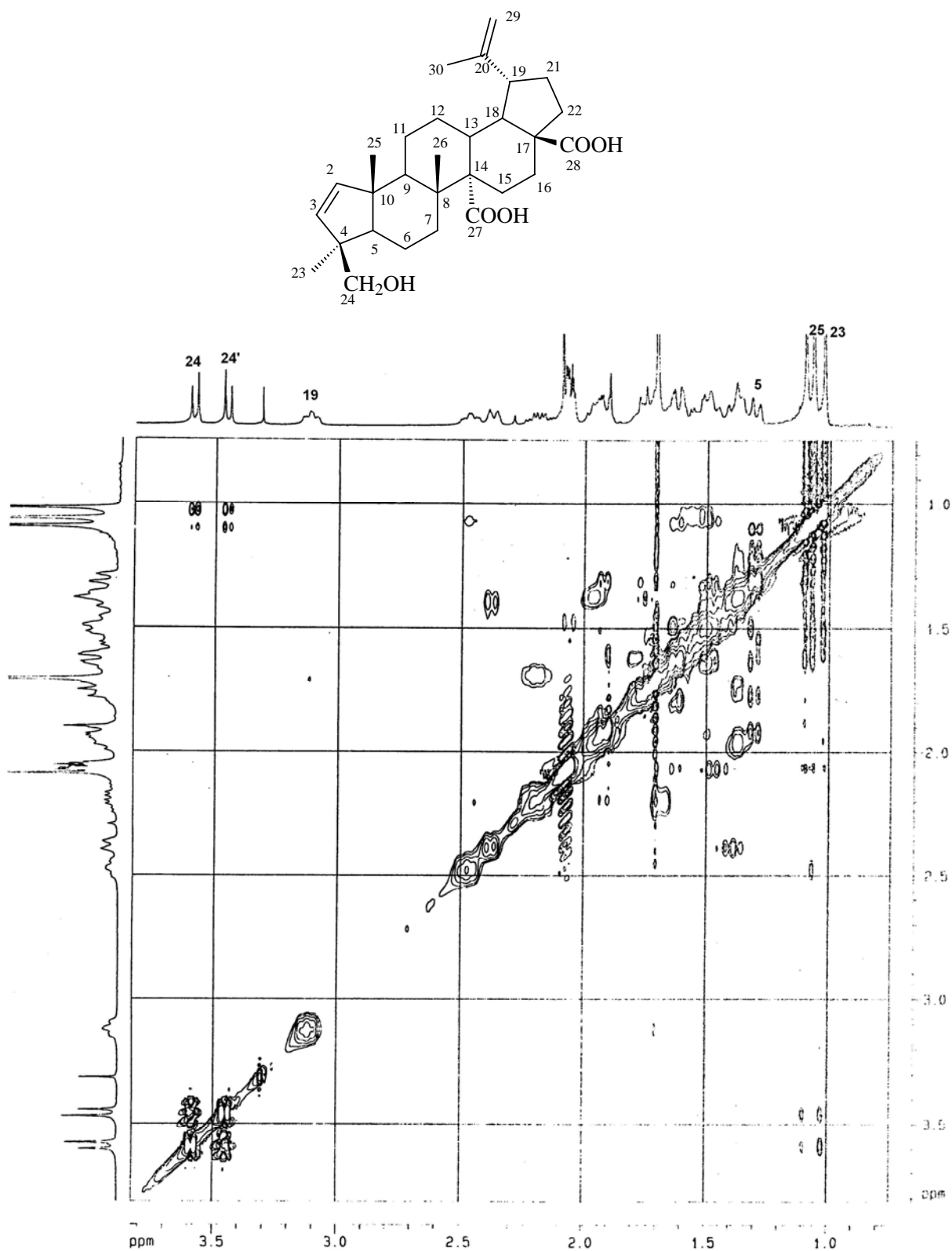


Figura 166 - Espectro de RMN 2D COSY de G45, em acetona- d_6 a 400 MHz.

Figura 167 - Espectro de RMN 2D NOESY de G45, em acetona-*d*₆ a 400 MHz.

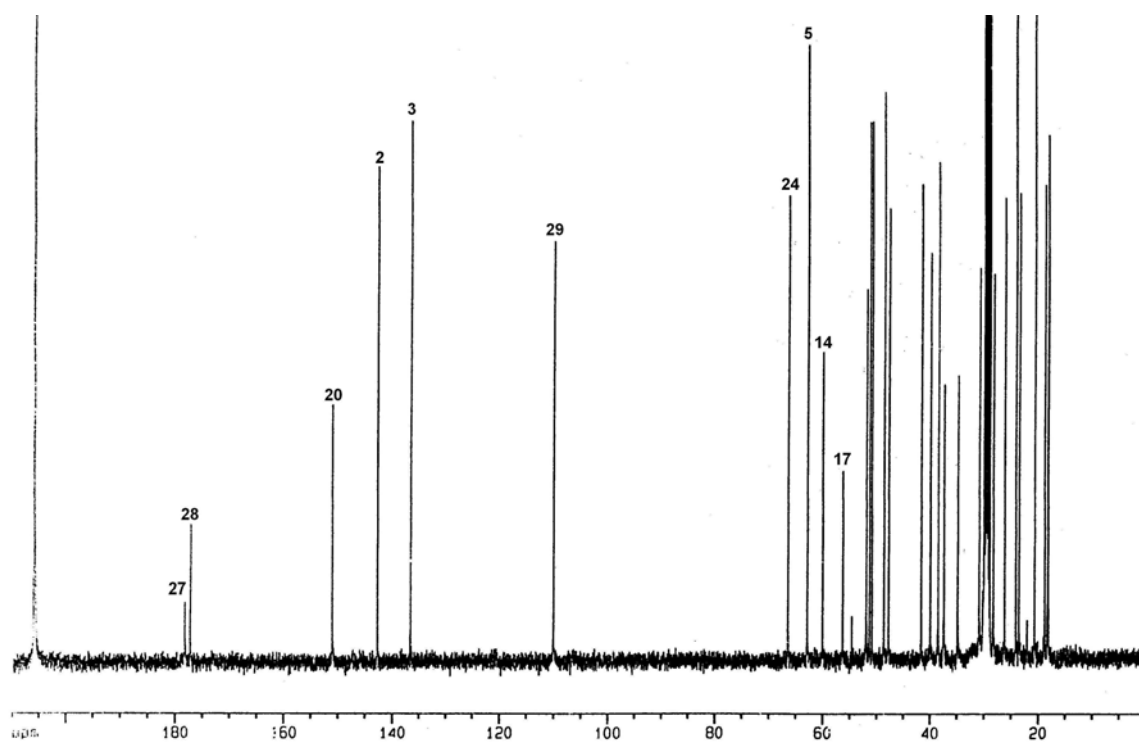


Figura 168 - Espectro de RMN de ^{13}C de G45, em acetona- d_6 , a 100 MHz.

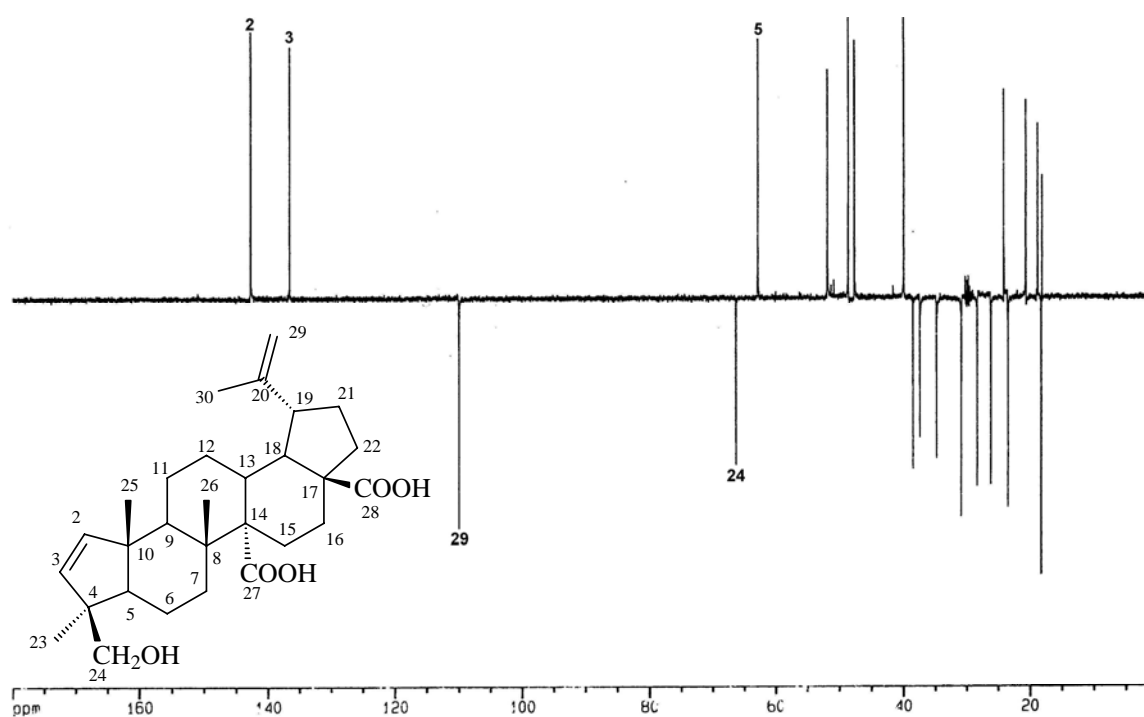
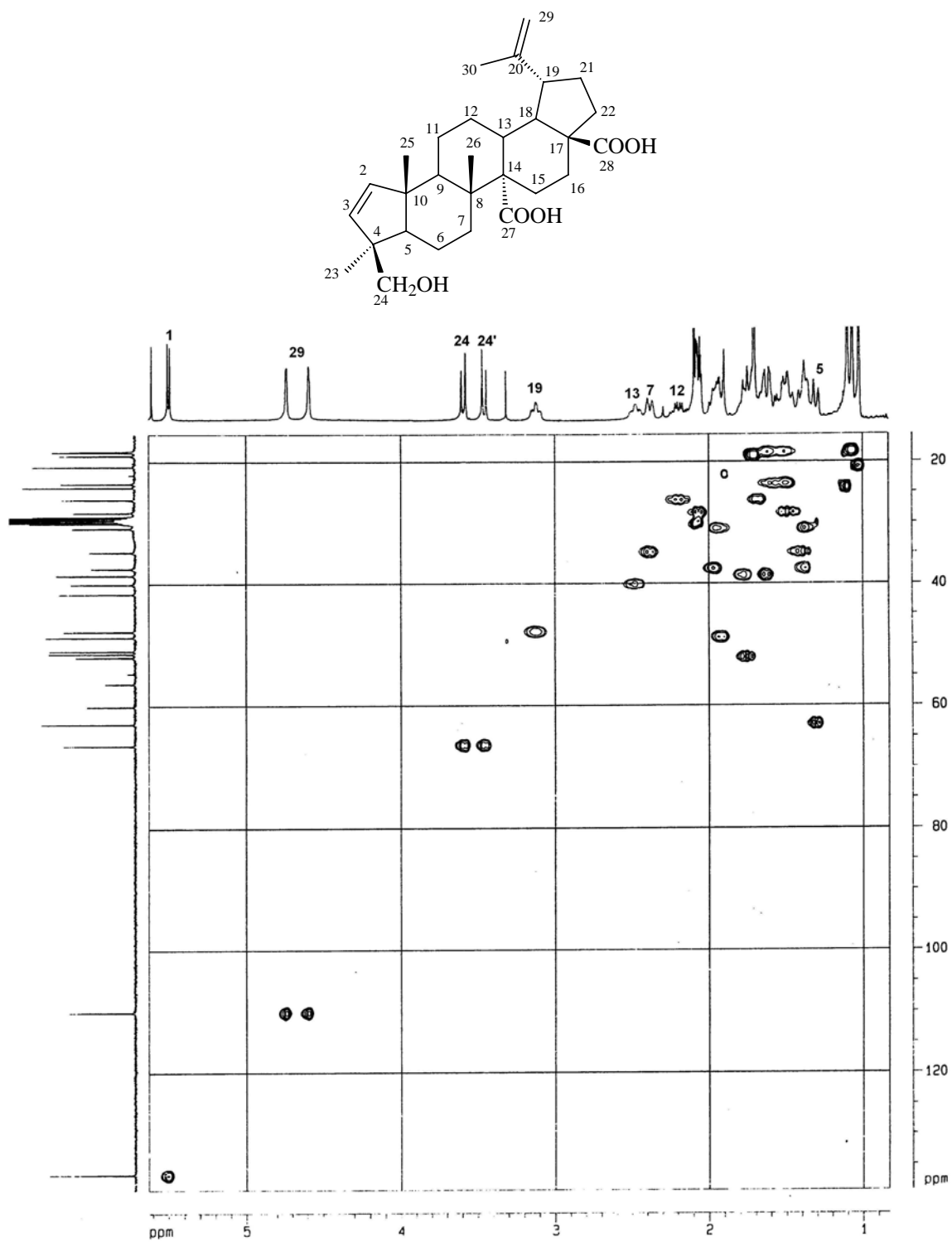


Figura 169 - Espectro RMN DEPT 135° de G45, em acetona- d_6 a 100 MHz.

Figura 170 – Espectro RMN 2D HMQC de G45, em acetona-*d*₆ a 100 MHz.

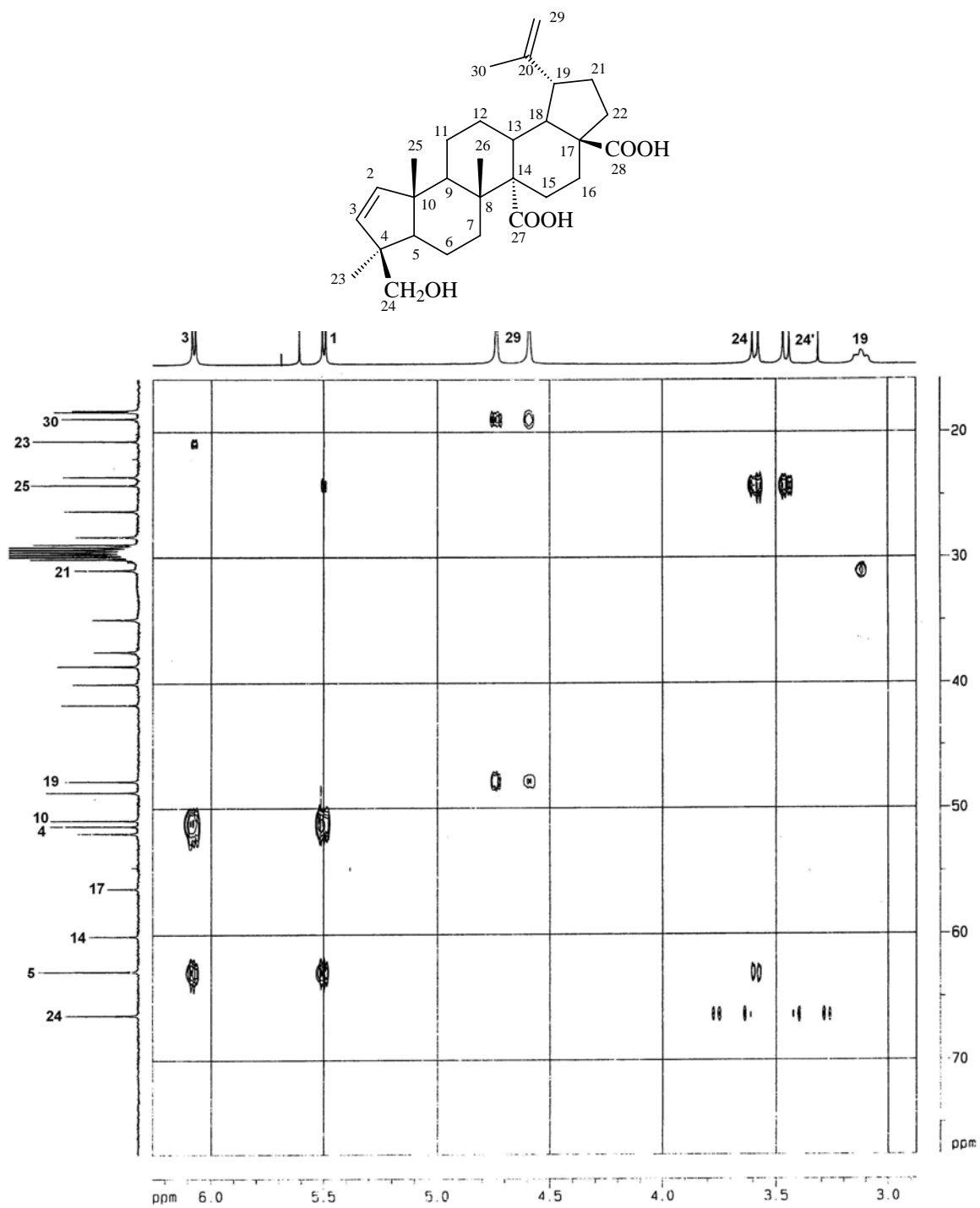
Figura 171 - Espectro RMN 2D HMBC de G45, em acetona- d_6 a 100 MHz.

Tabela 44 - Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C e as principais correlações observadas no espectro HMBC de G45, em acetona- d_6 .*

Posição	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	HMBC
2	5,49 (d, $J= 5,8$)	136,6	C5, C10
3	6,07 (d, $J= 5,8$)	142,7	C4, C5, C23
4		51,4	
5	1,29 (d, $J= 12,3$)	62,9	C3, C23
6	1,56/1,63 (m)	18,3	
7	2,05/2,21 (m)	34,8	
8		41,7	
9	1,75 (?)	51,9	
10		50,9	
11	1,52/1,64 (m)	23,5	
12	1,66/2,16 (m)	26,2	
13	2,47 (m)	40,0	C14, C18, C27
14		60,0	
15	1,49/1,97 (m)	28,3	
16	1,41/1,94 (m)	37,5	
17		56,3	
18	1,77 (?)	48,6	C13, C17, C19, C28
19	3,12 (m)	47,7	
20		151,0	
21	1,89/1,92 (m)	30,9	
22	1,63/1,67 (m)	38,6	
23	1,09 (s)	24,2	
24	3,45/3,59 (dd $J= 6,4, 10,4$)	66,4	
25	1,02 (s)	18,9	
26	1,06 (s)	18,2	
27		178,2	
28		177,7	
29	4,58/4,73 (s)	110,0	C19, C20, C30
30	1,71 (s)	20,7	C19, C20, C29

* Deslocamentos químicos (δ) em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz

5.2. Atividade antimicrobiana

A importância dos produtos naturais na terapêutica é reconhecida desde tempos imemoriais. É notório que no Brasil e outros países em desenvolvimento, as plantas são muito utilizadas no tratamento de doenças.²²² No entanto, a maioria destas plantas não foram estudadas de acordo com protocolos científicos quanto a sua atividade farmacológica. Como o uso popular e mesmo o tradicional, não são suficientes para avaliar a real eficácia no tratamento das enfermidades,²²³ delineamos como um dos objetivos deste trabalho a avaliação das atividades biológicas dos extratos, frações e substâncias isoladas de *D. americana*, *C. paradoxa* e *G. ulmifolia*. Assim, foi realizada uma série de testes das possíveis atividades antimicrobianas dos extratos, frações e substâncias isoladas, utilizando-se o método de bioautografia, com microorganismos bactérias Gram positivas, Gram negativas e fungos. Para os ensaios, devido a ausência de conhecimento do potencial antimicrobiano dos extratos, frações e substâncias isoladas, foram testadas inicialmente em quantidades de 500, 200 e 100 µg, respectivamente.

Nessa triagem de microorganismos estão representadas as principais bactérias que fazem parte do grupo das infecções oportunistas, aparecendo freqüentemente em pacientes imunocomprometidos.

Entre as cepas testadas estão os *Staphylococcus* que produzem diversas patologias no homem, destacando-se as enfermidades do aparelho urinário ou órgãos genitais, doenças pulmonares e infecções alimentares, etc, sendo que o homem, bovinos e o cão são os reservatórios naturais desse microorganismo.

Bactérias do gênero *Salmonella* são os agentes mais freqüentes de intoxicação alimentar, no homem, através da ingestão de alimentos contaminados. As aves, principalmente galinha, pato e peru, suas carcaças e ovos são as principais fontes desse microorganismo.

Escherichia coli, pode causar no homem uma série de patologias desde diarreias, como também infecções no aparelho urinário e órgão de reprodução. A principal via de entrada no homem é oral, através da ingestão da água contaminada por esse microorganismo.

222. Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária, Portaria nº 6/95 de 31.01.1995. Diário Oficial da União, v. 200, Seção I., 1523.

223. Di Stasi, L.C., 1996. Plantas Mediciniais: arte e ciência. São Paulo:Unesp, 230

As bactérias do gênero *Klebsiella* causam infecções, principalmente gastrointestinais, depois da ingestão de alimentos contaminados. É possível também ocorrer infecção por esse microorganismo em ferimentos.

As *Candida*, que são parte do grupo das infecções oportunistas, encontram-se no tubo digestivo do homem, causando patogenia em pacientes com baixa imunidade (por exemplo, pacientes HIV positivos). Também podem causar pequenas infecções nas mucosas ou nos órgãos.²²⁴

5.2.1. Determinação da atividade antimicrobiana pelo método de bioautografia

As atividades antimicrobianas dos extratos, frações e substâncias isoladas de *Discaria americana*, *Colletia paradoxa* e *Gouania ulmifolia* foram determinadas pelo método de bioautografia segundo Rahalison e colaboradores.²⁰⁰ Para isso foram utilizadas bactérias Gram positivas [*Staphylococcus aureus* (Sa), ATCC 6538p, *Bacillus subtilis* (Bs), ATCC 6633, *Staphylococcus epidermidis* (Se), ATCC 12228] e Gram negativas [*Klebsiella pneumoniae* (Kp), ATCC 10031, *Salmonella setubal* (Ss), ATCC 19196, *Escherichia coli* (Ec), ATCC 11103] e *Pseudomona aeruginosa* (Pa) ATCC 9341 e os fungos *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) ATCC 2601 e *Candida albicans* (Ca) ATCC 10231.

Os extratos, frações e substâncias isoladas de *Discaria americana*, *Colletia paradoxa* e *Gouania ulmifolia* que apresentaram atividade frente aos microorganismos testados, foram submetidos à análise para se determinar a quantidade inibitória mínima (QIM). Para isso, aplicaram-se, em cada placa cromatográfica, as quantidades de: 500, 250, 125, 62,5, 31,2, 15,7 e 7,8 µg para os extratos brutos; 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,1 e 1,5 µg para as frações; 100, 50, 25, 12,5, 6,2, 3,1, 1,5 e 0,75 µg referente às substâncias puras. Como substâncias padrões foram utilizados os seguintes antibióticos: Amoxicilina (978,9 UI/mg) para bactérias e Nistatina (2464,38 UI/mg) para fungos (Tabela 45), padrões primários da USP, que foram preparados conforme protocolos da FDA.¹⁹⁹

224. Guerreiro, G.M., Oliveira, J.S., Saraiva, D., Wiest, J.M., Lieberknecht, F., Poester, P.F., Dias, J.C.A., Fernandes, J.C.T., Langeloh, A., Baptista, P.J.H.P., 1984. Porto Alegre, Ed. Sulina, capítulo 11, 135

Tabela 45. Concentração (μg) de cada substância padrão

Microorganismos	Sa	Se	Bs	Kp	Ss	Ec	Pa	Sc	Ca
Amoxicilina	0,16	0,32	0,16	0,32	0,32	0,32	0,16		
Nistidina								0,8	0,16

Por esta técnica, quando aplicado o sal de tetrazóleo, os microorganismos metabolicamente ativos convertem este em um complexo colorido (vermelho), chamado de formazan. Deste modo, os resultados da atividade antimicrobiana são detectados através da visualização de halos (branco) de inibição entorno do ponto de aplicação da amostra devido a ausência de atividade enzimática. Assim, a quantidade inibitória mínima (QIM) foi definida como a quantidade de substância na qual não houve crescimento dos microorganismos, após 18 horas de incubação. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

5.2.2. Determinação da atividade antimicrobiana das partes aéreas de *Discaria americana*.

Avaliou-se, primeiramente, a atividade antimicrobiana dos extratos brutos metanólicos (EBM) das partes aéreas de *Discaria americana* contra nove diferentes microorganismos (sete bactérias e dois fungos). Os resultados mostrados na Tabela 46 permitiram inferir a baixa atividade antimicrobiana dos EBM do material botânico coletado em Santana do Livramento e São Sepé (QIM $\geq 250 \mu\text{g}$), enquanto que o extrato do material coletado em Jaguari mostrou-se ativo contra a maioria dos microorganismos testados, com valores de QIM variando de 500 a $15,7 \mu\text{g}$ (Figuras 172 e 173). Os microorganismos que não foram inibidos pelos extratos metanólicos foram *Pseudomona aeruginosa* (Pa) e *Saccharomyces cerevisiae* (Sc).

Tabela 46. Atividade antimicrobiana e QIM dos extratos brutos metanólicos (EBM) das partes aéreas de *Discaria americana*

Material	Microorganismos								
	Sa	Se	Bs	Kp	Ss	Ec	Pa	Sc	Ca
<i>Discaria americana</i>									
Santana do Livramento	250	250	500	NA	500	250	NA	NA	500
São Sepé	250	250	500	NA	500	250	NA	NA	500
Jaguari	125	31,2	125	62,5	15,7	31,2	NA	NA	500

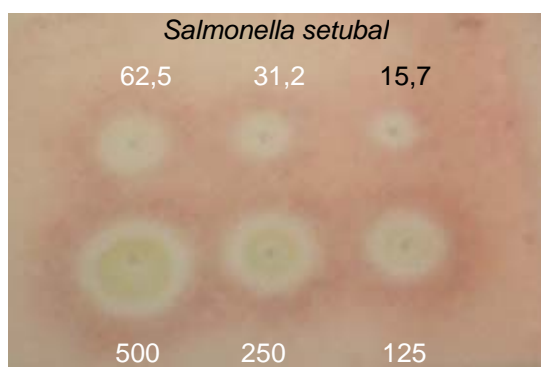


Figura 172: Quantidade mínima (μg) do EBM das partes aéreas de *D. americana* (Jaguari) requerida para inibição de *Salmonella setubal*

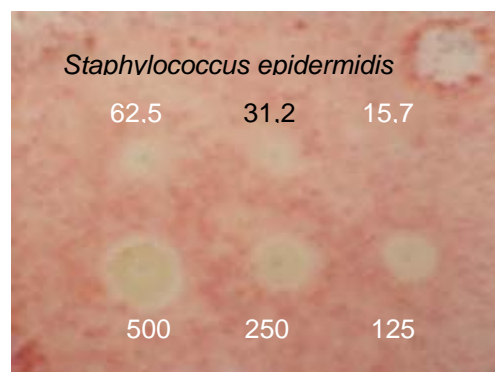
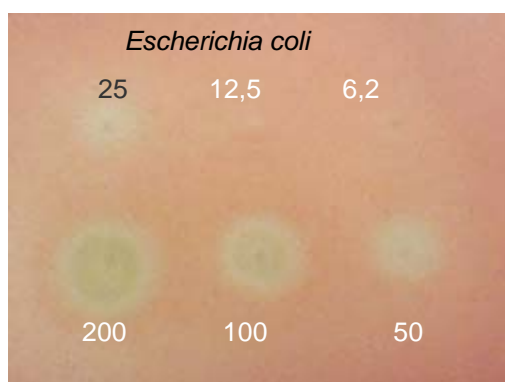
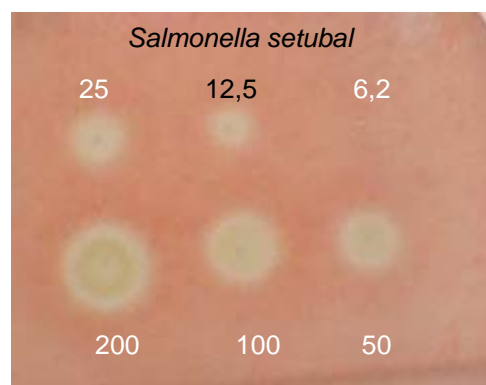


Figura 173: Quantidade mínima (μg) do EBM das partes aéreas de *D. americana* (Jaguari) requerida para inibição de *Staphylococcus epidermidis*

Ensaio realizados com as frações hexânica, etérea e acetato de etila, obtidas da partição do extrato metanólico do material coletado em Jaguari, indicou que a fração etérea apresenta a maior atividade antimicrobiana (Figuras 174 e 175), enquanto que as frações hexânica e acetato de etila se mostraram pouco ativas ou sem atividade. Por outro lado, as frações hexânica, etérea e acetato de etila, do material coletado em Santana do Livramento e São Sepé se mostraram inativas (Tabela 47).

Tabela 47. Atividade antimicrobiana e QIM das frações hexânica, etérea e acetato de etila das partes aéreas de *Discaria americana*

Material	Microorganismos								
	Sa	Se	Bs	Kp	Ss	Ec	Pa	Sc	Ca
Jaguari									
F. neutra hexânica	200	NA	200	NA	200	NA	NA	NA	NA
F. neutra etérea	100	25	50	25	12,5	25	100	NA	NA
F. neutra acetato de etila	200	100	NA	NA	100	NA	NA	NA	NA
São Sepé									
F. neutra hexânica	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
F. neutra etérea	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
F. neutra acetato de etila	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Santana do Livramento									
F. neutra hexânica	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
F. neutra etérea	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
F. neutra acetato de etila	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Figura 174: Quantidade mínima (μg) da fração neutra etérea das partes aéreas de *D. americana* (Jaguari) requerida para inibição de *Escherichia coli*Figura 175: Quantidade mínima (μg) da fração neutra etérea das partes aéreas de *D. americana* (Jaguari) requerida para inibição de *Salmonella setubal*

Dos metabólitos presentes nas partes aéreas de *D. americana* (Tabela 26) apenas o ácido ceanótico (**193**) apresentou atividade antimicrobiana, conforme a Tabela 48. A QIM deste metabólito foi de 6,2 μg para as bactérias *Staphylococcus epidermidis* (Se) (Figura 176) e *Salmonella setubal* (Ss), 12,5 μg para *Klebsiella pneumoniae* (Kp) (Figura 177) e *Escherichia coli* (Ec), 50 μg para *Pseudomona aeruginosa* e 100 μg para *Staphylococcus aureus* (Sa), enquanto que *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) e *Candida albicans* (Ca) não foram sensíveis a nenhuma concentração testada.

Tabela 48. Atividade antimicrobiana e QIM dos metabólitos isolados das partes aéreas de *Discaria americana*

Material	Microorganismos									
	Sa	Se	Bs	Kp	Ss	Ec	Pa	Sc	Ca	
Metabólitos isolados										
Ácido ursólico	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ácido betulínico	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ácido ceanótico	100	6,2	50	12,5	6,2	12,5	50	NA	NA	NA
β -Sitosterol livre	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
β -Sitosterol glicosilado	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

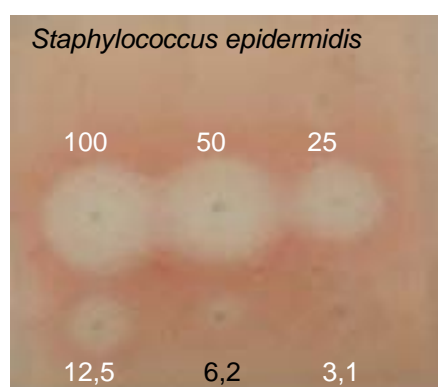


Figura 176: Quantidade mínima (μg) do ácido ceanótico (**193**) requerida para inibição de *Staphylococcus epidermidis*

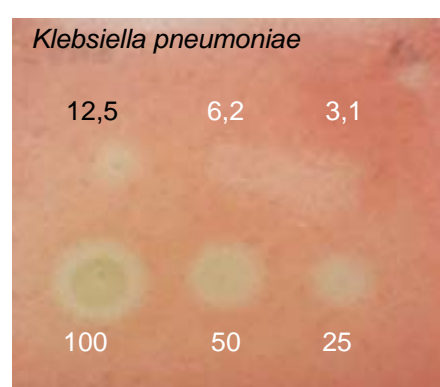


Figura 177: Quantidade mínima (μg) do ácido ceanótico (**193**) requerida para inibição de *Klebsiella pneumoniae*

5.2.3. Determinação da atividade antimicrobiana da casca da raiz de *Discaria americana*.

Os ensaios realizados para avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos brutos metanólicos (EBM) da casca da raiz de *Discaria americana* mostraram atividade moderada frente aos microorganismos testados (Tabela 49).

Comparada à atividade desses extratos, o extrato obtido do material coletado em Jaguari foi mais efetivo, apresentando atividade antimicrobiana sobre todos os microorganismos testados, com valores de QIM variando de 125,0 a 7,8 μg (Tabela 49). Os microorganismos mais sensíveis (QIM 7,8 μg) a esse extrato foram *Staphylococcus aureus* (Sa), *Staphylococcus epidermidis* (Se), *Klebsiella pneumoniae* (Kp), *Salmonella setubal* (Ss) e *Escherichia coli* (Ec) (Figura 178). Os que apresentaram sensibilidade intermediária foram *Bacillus subtilis* (Bs), e *Cândida albicans* (Ca). Os menos sensíveis (QIM 125 μg) foram *Pseudomona aeruginosa* (Pa) e *Saccharomyces cerevisiae* (Sc).

O extrato do material coletado em Santana do Livramento foi mais efetivo (QIM 7,8 μg) contra *Bacillus subtilis* (Bs), *Klebsiella pneumoniae* (Kp) e *Salmonella setubal* (Ss), apresentando atividade moderada, com valores de QIM entre 15,7 e 62,5 μg para *Staphylococcus epidermidis* (Se), *Escherichia coli* (Ec) e *Candida albicans* (Ca) (Figura 179), e uma baixa atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (Sa) (QIM 125 μg) e *Pseudomona aeruginosa* (Pa) (QIM 250 μg); enquanto que *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) não foi sensível à nenhuma concentração testada deste extrato (Tabela 49).

O extrato do material botânico coletado em São Sepé apresentou, de maneira geral, baixa atividade antimicrobiana, com valores de QIM entre 31,2 a 250 μg . Os microorganismos mais sensíveis frente ao extrato foram *Staphylococcus epidermidis* (Se), *Klebsiella pneumoniae* (Kp), *Escherichia coli* (Ec) (QIM 31,2 μg), *Bacillus subtilis* (Bs) e *Salmonella setubal* (Ss) (QIM 62,5 μg). Os menos sensíveis foram *Staphylococcus aureus* (Sa), *Candida albicans* (Ca) (QIM 125 μg) e *Pseudomona aeruginosa* (Pa) (QIM 250 μg). *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) não foi sensível à nenhuma concentração testada deste extrato (Tabela 49).

Tabela 49. Atividade antimicrobiana e QIM dos extratos brutos metanólicos (EBM) da casca da raiz de *Discaria americana*

Material	Microorganismos								
	Sa	Se	Bs	Kp	Ss	Ec	Pa	Sc	Ca
<i>Discaria americana</i>									
Santana do Livramento	125	62,5	15,7	7,8	7,8	15,7	250	NA	31,2
São Sepé	125	31,2	62,5	31,2	62,5	31,2	250	NA	125
Jaguari	7,8	7,8	62,5	7,8	7,8	7,8	125	125	31,2

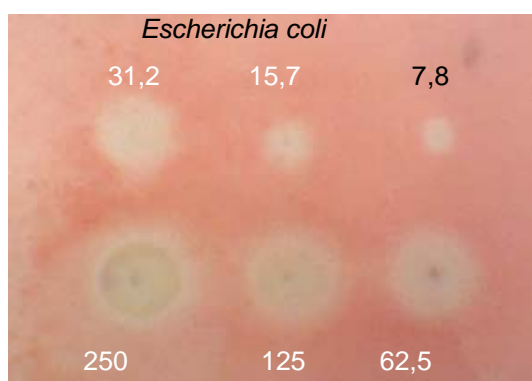


Figura 178: Quantidade mínima (μg) do EBM da casca da raiz de *D. americana* (Jaguari) requerida para inibição de *Escherichia coli*

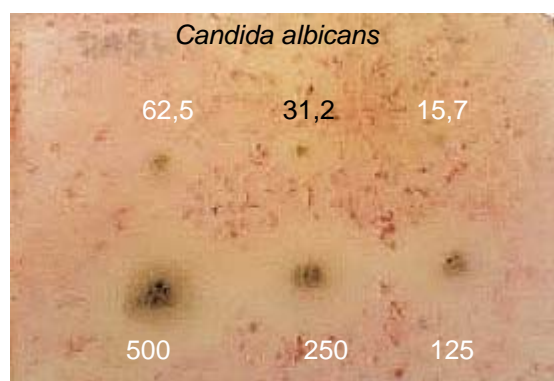


Figura 179: Quantidade mínima (μg) do EBM da casca da raiz de *D. americana* (Santana do Livramento) requerida para inibição de *Candida albicans*

As frações ácidas etéreas (FAE), básicas etéreas (FBE) e básicas acetato de etila (FBAE), provenientes do fracionamento ácido/base dos extratos metanólicos (Esquema 7), também foram testadas quanto à atividade antimicrobiana (Tabela 50). Os resultados demonstram que as melhores atividades são encontradas nas frações básicas, evidenciando a fração básica etérea do material coletado em Jaguari. Os microrganismos mais sensíveis para esta fração foram *Bacillus subtilis* (Bs) (Figura 180), *Klebsiella pneumoniae* (Kp) (Figura 181) e *Salmonella setubal* (Ss) (QIM 12,5 µg). Os menos sensíveis (QIM 50-100 µg) foram *Staphylococcus aureus* (Sa), *Staphylococcus epidermidis* (Se) e *Escherichia coli* (Ec). As frações básicas acetato de etila não apresentaram diferenças significativas entre si quanto à atividade antimicrobiana. As frações ácidas etéreas exibiram uma baixa atividade antimicrobiana, com valor de QIM de 200 µg. Os microrganismos que não foram inibidos pelas três diferentes frações, na maior concentração testada (200 µg), foram *Pseudomona aeruginosa* (Pa), *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) e *Candida albicans* (Ca).

Tabela 50. Atividade antimicrobiana e QIM das frações da casca da raiz de *D. americana*.

Material	Microorganismos								
	Sa	Se	Bs	Kp	Ss	Ec	Pa	Sc	Ca
Santana do Livramento									
F. ácida etérea	200	NA	NA	NA	200	NA	NA	NA	NA
F. básica etérea	100	100	50	25	12,5	50	NA	NA	NA
F. básica acetato de etila	100	100	50	12,5	25	50	NA	NA	NA
São Sepé									
F. ácida etérea	200	NA	NA	NA	200	NA	NA	NA	NA
F. básica etérea	100	50	50	12,5	25	50	NA	NA	NA
F. básica acetato de etila	100	100	50	12,5	25	50	NA	NA	NA
Jaguari									
F. ácida etérea	200	NA	200	NA	200	NA	NA	NA	NA
F. básica etérea	100	50	12,5	12,5	12,5	50	NA	NA	NA
F. básica acetato de etila	100	50	50	12,5	25	50	NA	NA	NA

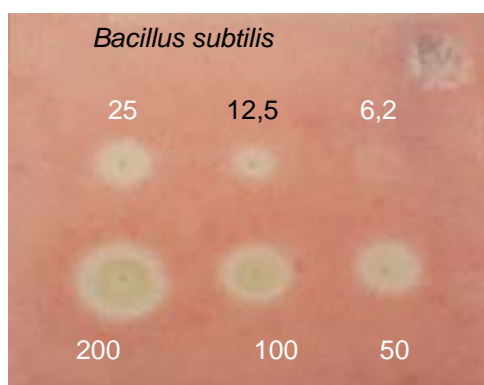


Figura 180: Quantidade mínima (μg) da FBE de *D. americana* (Jaguari) requerida para inibição de *Bacillus subtilis*

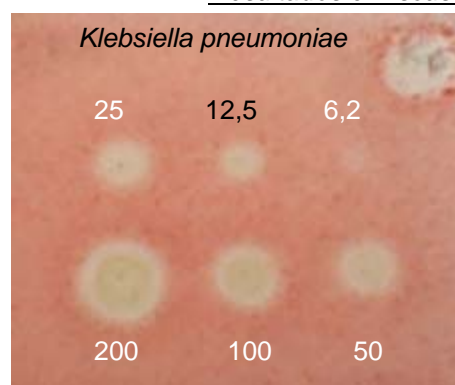


Figura 181: Quantidade mínima (μg) da FBE de *D. americana* (Jaguari) requerida para inibição de *Klebsiella pneumoniae*

Uma vez demonstrada a atividade dos extratos e frações, foi avaliada a atividade antimicrobiana dos metabólitos isolados da casca da raiz de *D. americana* (Tabela 51). Dos metabólitos isolados, apenas as discarinas A (**57**) e B (**58**) apresentaram atividade antimicrobiana nas concentrações testadas. Discarina A mostrou baixa atividade antimicrobiana, sendo que *Bacillus subtilis* (Bs) (Figura 182) foi o microrganismo mais sensível (QIM 25 μg). Aqueles menos sensíveis (QIM 100 μg) à discarina A foram *Staphylococcus epidermidis* (Se), *Klebsiella pneumoniae* (Kp) e *Salmonella setubal* (Ss). Os microrganismos que não foram inibidos, nas concentrações testadas, por discarina A foram *Staphylococcus aureus* (Sa), *Escherichia coli* (Ec), *Pseudomona aeruginosa* (Pa), *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) e *Candida albicans* (Ca). Por outro lado, discarina B foi mais efetiva, com valores de QIM entre 6,7 a 25 μg . O microrganismo que apresentou maior sensibilidade foi *Klebsiella pneumoniae* (Kp), (QIM 6,7 μg), (Figura 183), enquanto que *Staphylococcus aureus* (Sa), *Bacillus subtilis* (Bs), *Salmonella setubal* (Ss) e *Staphylococcus epidermidis* (Se) foram sensíveis com valores de QIM de 12,5, 12,5, 12,5 e 25 μg , respectivamente. Como observado em discarina A, *Staphylococcus aureus* (Sa), *Escherichia coli* (Ec), *Pseudomona aeruginosa* (Pa), *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) e *Cândida albicans* (Ca) não foram sensíveis à nenhuma concentração de discarina B testada.

Quando comparada à atividade dos extratos metanólicos, das frações e dos metabólitos isolados, é evidente a melhor atividade biológica apresentada pelos extratos. Isto pode ser atribuído à diferença de constituintes presentes em cada planta e também às diferentes concentrações destes metabólitos. Como os

extratos são uma mistura de substâncias, há ainda a possibilidade da ocorrência de sinergismo.

Tabela 51. Atividade antimicrobiana e QIM dos metabólitos isolados da casca da raiz de *Discaria americana*

Material	Microorganismos								
	Sa	Se	Bs	Kp	Ss	Ec	Pa	Sc	Ca
Metabólitos isolados									
Adoutina Y	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Adoutina Y'	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Franganina	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Frangulanina	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Discarina A	NA	100	25	100	100	NA	NA	NA	NA
Discarina B	12,5	25	12,5	6,2	12,5	NA	NA	NA	NA
Discarina C	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Discarina D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Miriantina A	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Discareno C	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Discareno D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Discarina M	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Discarina N	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ácido ursólico	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ácido betulínico	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
β -Sitosterol livre	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
β -Sitosterol glicosilado	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
β -Sitosterol O-acetil glicosilado	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

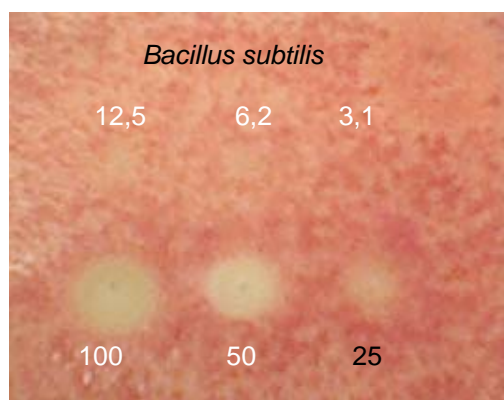


Figura 182: Quantidade mínima (μg) de discarina A (**57**) requerida para inibição de *Bacillus subtilis*

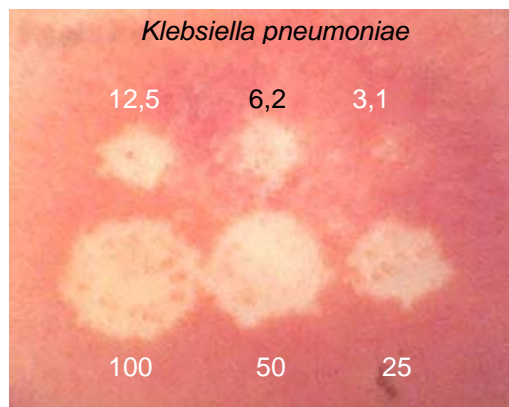


Figura 183: Quantidade mínima (μg) de discarina B (**58**) requerida para inibição de *Klebsiella pneumoniae*

5.2.4. Determinação da atividade antimicrobiana das partes aéreas de *Colletia paradoxa*.

Os extratos hexânico, diclorometano e acetato de etila, das partes aéreas de *C. paradoxa*, apresentaram significativa atividade antimicrobiana para *Staphylococcus aureus* (Sa) (Figura 184), *Bacillus subtilis* (Bs), *Staphylococcus epidermidis* (Se), *Klebsiella pneumoniae* (Kp), *Salmonella setubal* (Ss) e *Escherichia coli* (Ec) (Figura 185), com valores de QIM variando de 6,2 a 50 µg. Enquanto que, para *Pseudomona aeruginosa* (Pa), *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) e *Candida albicans* (Ca) esses extratos não foram sensíveis à nenhuma concentração testada. O extrato metanólico não apresentou atividade antimicrobiana contra nenhum dos microrganismos testados para valores de QIM ≤ 500 µg (Tabela 52).

Tabela 52. Atividade antimicrobiana e QIM dos extratos obtidos das partes aéreas de *Colletia paradoxa*.

Material	Microorganismos								
	Sa	Se	Bs	Kp	Ss	Ec	Pa	Sc	Ca
<i>C. paradoxa</i> - P. aéreas									
Extrato hexânico	12,5	6,2	6,2	6,2	12,5	6,2	NA	NA	NA
Extrato diclorometano	6,2	6,2	12,5	6,2	50	6,2	NA	NA	NA
Extrato acetato de etila	50	12,5	25	25	50	12,5	NA	NA	NA
Extrato metanólico	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

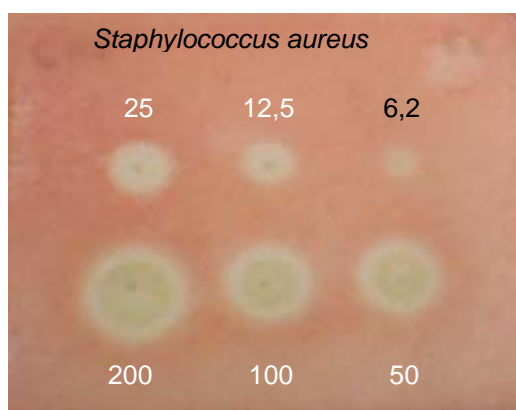


Figura 184: Quantidade mínima (µg) do extrato CH₂Cl₂ das partes aéreas de *C. paradoxa* requerida para inibição de *Staphylococcus aureus*

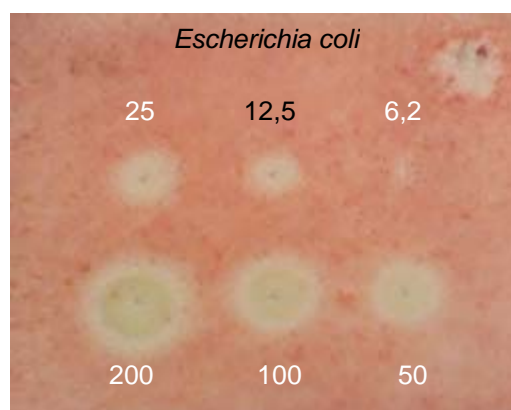


Figura 185: Quantidade mínima (µg) do extrato AcOEt das partes aéreas de *C. paradoxa* requerida para inibição de *Escherichia coli*

Uma vez demonstrada a atividade dos extratos hexânico, diclorometano e acetato de etila, foi avaliada atividade antimicrobiana dos metabólitos isolados a partir desses extratos (Tabela 53). Os resultados obtidos mostram que o ácido ceanótico (**193**) e a seco-3,4-germaniconona (**205**) são os metabólitos ativos presentes nestes extratos. Os resultados obtidos para a atividade antimicrobiana do ácido ceanótico (**193**) (Figura 186), foram os mesmos que nas análises efetuadas anteriormente (Tabela 48). Enquanto que seco-3,4-germaniconona (**205**) foi fortemente ativa frente aos microrganismos *Bacillus subtilis* [(Bs) (QIM 3,1 µg) (Figura 187)] e *Staphylococcus aureus* (Sa) (QIM 6,2 µg), ativa frente a *Staphylococcus epidermidis* (Se) (QIM 25 µg), moderadamente ativa frente *Klebsiella pneumoniae* (Kp) (QIM 100 µg) e *Escherichia coli* (Ec) (QIM 100 µg) e sendo inativa frente aos demais microrganismos testados, *Pseudomonas aeruginosa* (Pa), *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) e *Candida albicans* (Ca).

Tabela 53. Atividade antimicrobiana e QIM dos metabólitos isolados das partes aéreas de *Colletia paradoxa*.

Material	Microorganismos								
	Sa	Se	Bs	Kp	Ss	Ec	Pa	Sc	Ca
Metabólitos									
Lupeol	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ácido betulínico	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ácido ceanótico	100	6,2	50	12,5	6,2	12,5	50	NA	NA
Taraxerol	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Taraxerona	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
seco-3,4-taraxerona	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Germanicol	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Germanicona	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
seco-3,4-germanicona	6,2	25	3,1	100	NA	100	NA	NA	NA
Ácido ursólico	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
β -Sitosterol livre	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
β -Sitosterol glicosilado	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

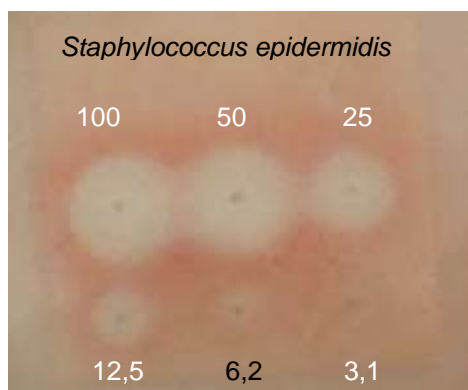


Figura 186: Quantidade mínima (μg) do ácido ceanótico (**193**) requerida para inibição de *Staphylococcus epidermidis*

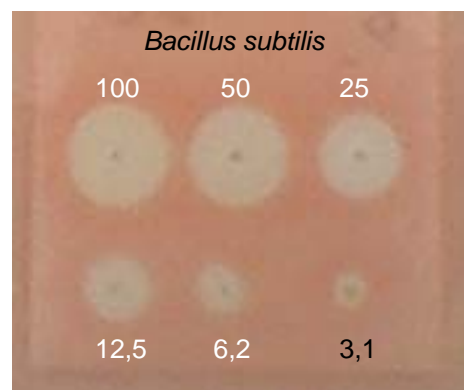


Figura 187: Quantidade mínima (μg) de seco-3,4-germanicona (**205**) requerida para inibição de *Bacillus subtilis*

5.2.5. Determinação da atividade antimicrobiana da casca da raiz de *Colletia paradoxa*.

Pode-se observar, através dos dados listados na tabela 54 (Figuras 188 e 189), que os extratos hexânico, diclorometano e acetato de etila mostraram-se fortemente ativos contra todas as bactérias, com valores de QIM variando de 6,2-50 μg e inativos contra os fungos testados ($\text{QIM} \leq 500 \mu\text{g}$). Por outro lado, o extrato metanólico não exibiu atividade antimicrobiana contra os microrganismos utilizados ($\text{QIM} \leq 500 \mu\text{g}$).

Tabela 54. Atividade antimicrobiana e QIM dos extratos da casca da raiz de *Colletia paradoxa*

Material	Microorganismos									
	Sa	Se	Bs	Kp	Ss	Ec	Pa	Sc	Ca	
Extrato hexânico	50	6,2	6,2	12,5	6,2	6,2	6,2	NA	NA	
Extrato diclorometano	6,2	6,2	6,2	12,5	6,2	6,2	6,2	NA	NA	
Extrato acetato de etila	12,5	6,2	6,2	12,5	6,2	6,2	6,2	NA	NA	
Extrato metanólico	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	

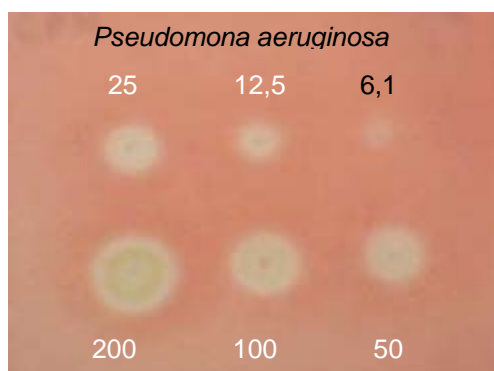


Figura 188: Quantidade mínima (μg) do extrato DCM requerido para inibição de *Pseudomonas aeruginosa*

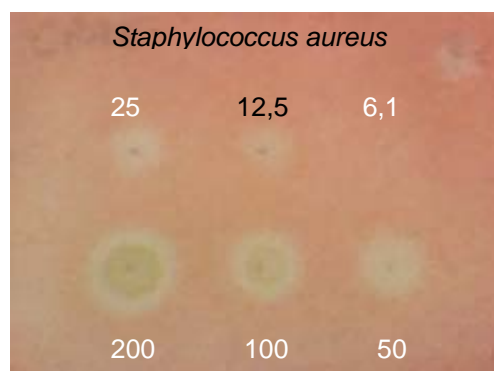


Figura 189: Quantidade mínima (μg) do extrato AcOEt requerido para inibição de *Staphylococcus aureus*

Análises dos metabólitos isolados dos extratos hexânico, diclorometano e acetato de etila revelaram que o ácido ziziberenólico (**206**) (Figura 190) e o principal responsável pela atividade antimicrobiana desenvolvida por esses extratos, juntamente com ácido ceanótico (**193**) e a seco-3,4-germaniconona (**205**) (Figura 191). A quantidade mínima requerida destas substâncias para inibir o crescimento de cada microrganismo estão descritas na Tabela 53. Não foi observada atividade antifúngica para esses metabólitos (QIM \leq 100 μ g). Os demais metabólitos presentes na raiz de *C. paradoxa* não foram ativos frente aos microrganismos testados (Tabela 55).

Tabela 55. Atividade antimicrobiana e QIM dos metabólitos isolados da casca da raiz de *Colletia paradoxa*

Material	Microorganismos								
	Sa	Se	Bs	Kp	Ss	Ec	Pa	Sc	Ca
Metabólitos									
Lupeol	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ácido betulínico	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ácido ceanótico	100	6,2	50	12,5	6,2	12,5	50	NA	NA
Ácido ziziberenólico	3,1	1,5	3,1	3,1	3,1	3,1	1,5	NA	NA
seco-3,4-germaniconona	6,2	25	3,1	100	NA	100	NA	NA	NA
β -Sitosterol livre	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
β -Sitosterol glicosilado	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

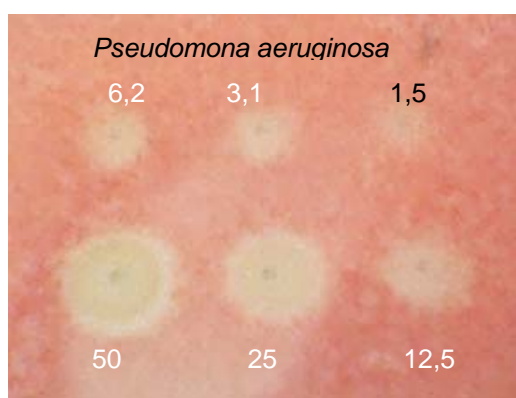


Figura 190: Quantidade mínima (μ g) do ácido ziziberenólico (**206**) requerido para inibição de *Pseudomonas aeruginosa*

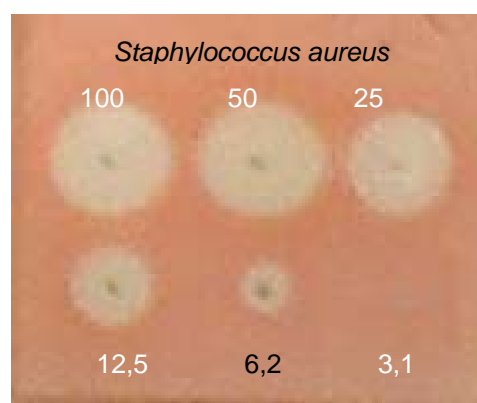


Figura 191: Quantidade mínima (μ g) de seco-3,4-germaniconona (**205**) requerida para inibição de *Staphylococcus aureus*

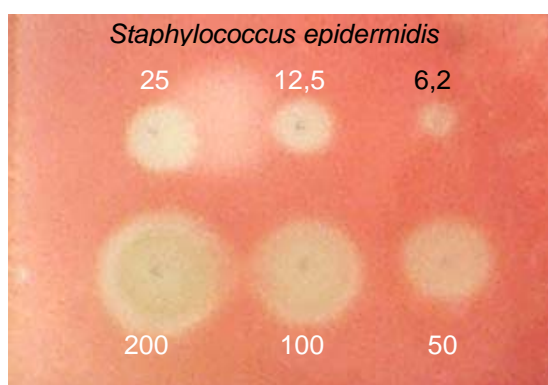


Figura 192: Quantidade mínima (μg) do extrato DCM requerida para inibição de *Staphylococcus epidermidis*

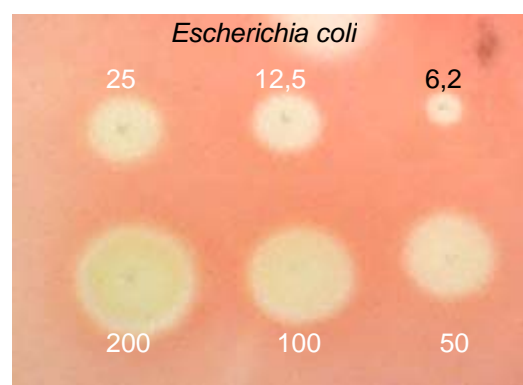


Figura 193: Quantidade mínima (μg) do extrato DCM requerido para inibição de *Escherichia coli*

Conforme pode ser visto na Tabela 57, dos metabólitos isolados das partes aéreas de *G. ulmifolia* apenas o ácido alfitólico (**207**), ácido 2-hidroxi-nor-20(29)-lupen-27,28-dióico (**208**) e o ácido 24-hidroxi-A(1)-nor-2,20(29)-lupadien-27,28-dióico (**209**) apresentaram atividade antimicrobiana. O ácido alfitólico mostrou os melhores resultados de inibição para as bactérias, sendo necessário apenas 1,5 μg para inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* (Sa) (Figura 194), *Bacillus subtilis* (Bs) e *Salmonella setubal* (Ss) (Figura 195), e de 3,1 μg para *Staphylococcus epidermidis* (Se), *Klebsiella pneumoniae* (Kp), *Escherichia coli* (Ec) e *Pseudomona aeruginosa* (Pa). Já G44 e G45 apresentaram halos de inibição a partir de 1,5 μg para *Staphylococcus aureus* (Sa), *Staphylococcus epidermidis* (Se) (Figura 196) e *Klebsiella pneumoniae* (Kp) (Figura 197), 3,1 μg para *Bacillus subtilis* (Bs) e *Pseudomona aeruginosa* (Pa). Os microrganismos menos sensíveis para G45 foram *Escherichia coli* (Ec) [QIM 12,5 μg] e *Salmonella setubal* (Ss), [QIM 25 μg], enquanto que para G44 foi somente *Salmonella setubal* (Ss) (QIM 6,2 μg). Por outro lado, lupeol (**199**), ácido betulínico (**192**), β -sitosterol livre (**195**) e o β -sitosterol glicosilado (**196**) não apresentaram halos de inibição contra nenhum microrganismo, até a concentração testada (100 μg).

Tabela 57. Atividade antimicrobiana e QIM dos metabólitos isolados das partes aéreas de *Gouania ulmifolia*.

Metabólitos	Microorganismos									
	Sa	Se	Bs	Kp	Ss	Ec	Pa	Sc	Ca	
Lupeol	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ácido betulínico	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ácido alfitólico	1,5	3,1	1,5	3,1	1,5	3,1	3,1	NA	NA	NA
G44	1,5	1,5	3,1	1,5	6,2	3,1	3,1	NA	NA	NA
G45	1,5	1,5	3,1	1,5	25	12,5	3,1	NA	NA	NA
β -Sitosterol livre	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
β -Sitosterol glicosilado	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

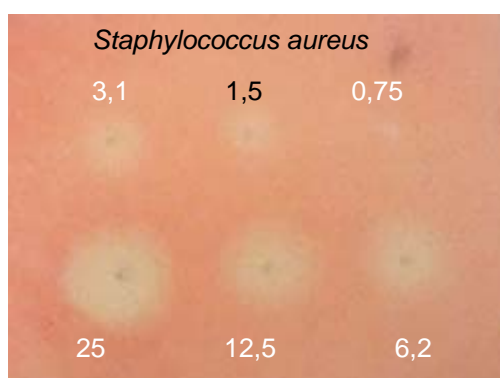


Figura 194: Quantidade mínima (μg) do ácido alfitólico (**207**) requerida para inibição de *Staphylococcus aureus*

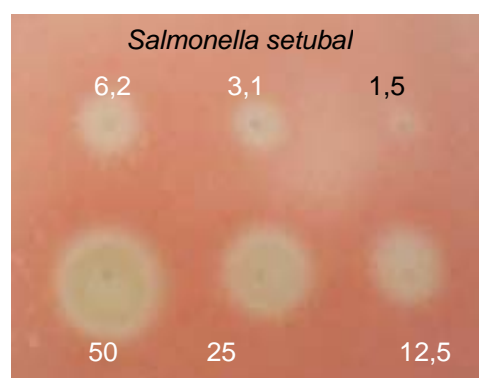


Figura 195: Quantidade mínima (μg) do ácido alfitólico (**207**) requerida para inibição de *Salmonella setubal*

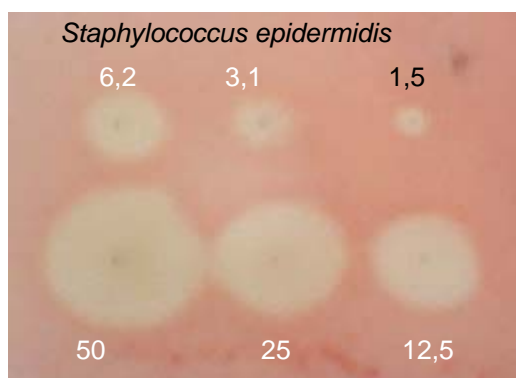


Figura 196: Quantidade mínima (μg) de G44 (**208**) requerida para inibição de *Staphylococcus epidermidis*

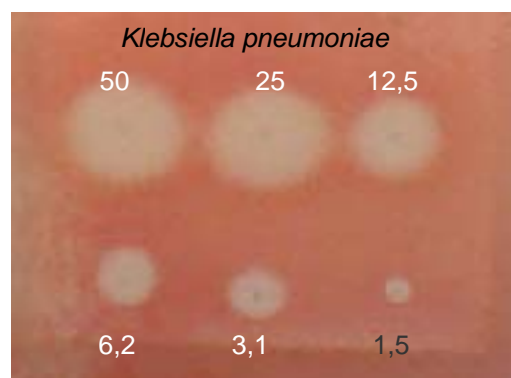


Figura 197: Quantidade mínima (μg) de G45 (**209**) requerida para inibição de *Klebsiella pneumoniae*

6. CONCLUSÕES

Após a avaliação fitoquímica e antimicrobiana realizada com três espécies pertencentes a família Rhamnaceae, *Discaria americana* Gilles & Hook, *Colletia paradoxa* Sprengel e *Gouania ulmifolia* Hook & Arnott, pode-se concluir que:

- As espécies em estudo apresentaram constituintes químicos de diferentes classes de metabólitos: alcalóides ciclopeptídicos, ciclopeptídeos, triterpenóides e esteróides. Todas as espécies analisadas apresentam como constituintes majoritários triterpenos pentacíclicos, destacando-se os pertencentes a classe dos $\Delta^{20(29)}$ lupeno.
- A investigação química da espécie *D. americana* possibilitou a identificação estrutural de nove alcalóides ciclopeptídicos, adoutina Y (**92**), adoutina Y' (**47**), franganina (**66**), frangulanina (**67**), discarina A (**59**), discarina B (**58**), discarina C (**100**), discarina D (**101**) e miriantina A (**105**), quatro ciclopeptídeos, discareno C (**154**), discareno D (**155**), discarina M (**156**) e discarina N (**157**), três triterpenos pentacíclicos, ácido ursólico (**194**), ácido betulínico (**192**) e ácido ceanótico (**193**), três esteróides, β -sitosterol (**195**), β -sitosterol glicosilado (**196**) e β -sitosterol 6'-O-acil glicosilado (**197**) e um éster derivado ácido ferúlico (**198**).
- O estudo comparativo entre as partes aéreas e casca da raiz de *D. americana* revelou que existe diferença significativa entre as mesmas quanto a constituição química. Enquanto nas partes aéreas são encontrados triterpenos pentacíclicos e esteróides, nas raízes, além destes metabólitos são encontrados alcalóides ciclopeptídicos e ciclopeptídeos.
- Em relação a espécie *D. americana* também foram observadas diferenças químicas em relação à região de coleta, sugerindo que os parâmetros associados aos diferentes locais de crescimento influem na biossíntese dos metabólitos secundários.
- Foram isolados da espécie *C. paradoxa*, onze metabólitos secundários, sendo nove triterpenos pentacíclicos, ácido ursólico (**194**), lupeol (**199**), ácido betulínico (**192**), ácido ceanótico (**193**), ácido ziziberenálico (**206**), taraxerol (**200**), taraxerona (**201**), seco-3,4 taraxerona (**202**), germanicol (**203**), germanicona (**204**), seco-3,4-germanicona (**205**) e dois esteróides,

- β -sitosterol (**195**) e β -sitosterol glicosilado (**196**). Destes metabólitos um ainda não foi descrita na literatura, e que foi denominado de seco-3,4-germanicono (**205**).
- A comparação entre as composições químicas das partes aéreas e casca da raiz de *Colletia paradoxa* demonstrou que existem diferenças entre as mesmas. O ácido ziziberenálico (**206**) foi isolado somente da raiz, enquanto o ácido ursólico (**194**), lupeol (**199**), taraxerol (**200**), taraxerona (**201**), seco-3,4 taraxerona (**202**), germanicol (**203**) e germanicono (**204**) foram isolados exclusivamente das partes aéreas, sendo que os demais metabólitos encontram-se em ambas as partes.
 - A investigação química partes aéreas de *Gouania ulmifolia*, permitiu o isolamento e identificação estrutural dos triterpenos: lupeol (**199**), ácido betulínico (**192**), ácido alfitólico (**207**), ácido 2-hidroxi-2-nor-20(29)-lupen-27,28-diólico (**208**), ácido 24-hidroxi-A(1)-nor-2,20(29)-lupadien-27,28-diólico (**209**) e dos esteróides β -sitosterol (**195**) e β -sitosterol glicosilado (**196**). Os metabólitos **195**, **196**, **199**, **192** e **207** são constituintes químicos comumente encontrados em plantas, porém estão sendo descritos pela primeira vez para espécie. Os compostos **208** e **209** são metabólitos naturais inéditos.
 - A aplicação de técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C uni- e bidimensionais, homo e heteronucleares como: COSY, NOESY, HMQC e HMBC, espectrometria de massas, espectroscopia de Infravermelho e cromatografia gasosa enantioseletiva, possibilitaram elucidar as estruturas dos metabólitos isolados, enquanto através da cromatografia gasosa enantioseletiva, foi possível atribuir as configurações de alguns centros assimétricos dos compostos acima citados, neste caso, dos ciclopeptídeos.
 - Nos estudos de atividade antimicrobiana por bioautografia dos extratos, frações e metabólitos isolados de *Discaria americana*, *Colletia paradoxa* e *Gouania ulmifolia*, mostraram zonas de inibição bem definidas contra bactérias Gram positivas e Gram negativas, sugerindo que esta técnica é sensível e bastante eficiente podendo ser usada na busca de substâncias com atividade antimicrobiana.

Tabela 58 - Parâmetros de aquisição dos experimentos de RMN de ^1H uni- e bidimensionais.

^1H	COSY	NOESY
--------------	------	-------

Tabela 59 - Parâmetros de aquisição dos experimentos de RMN de ^{13}C BB, DEPT 90° e DEPT 135°

^{13}C	DEPT 90 °	DEPT 135 °
-----------------	-----------	------------

Tabela 60 - Parâmetros de aquisição dos experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C bidimensionais.

HMBC	HMQC
-------------	-------------

Tabela 61: Metabólitos isolados das partes aéreas de *Discaria americana*

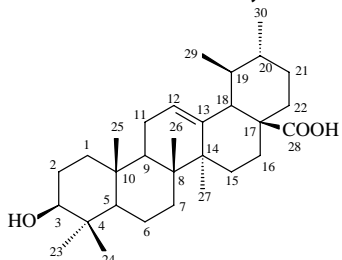
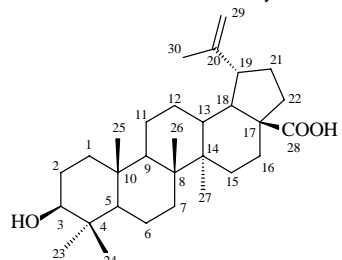
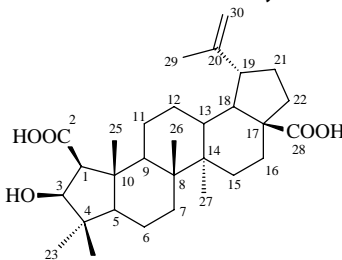
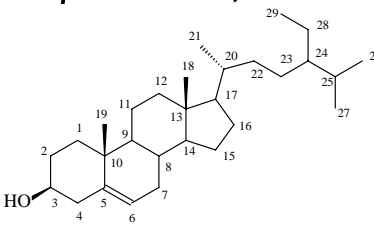
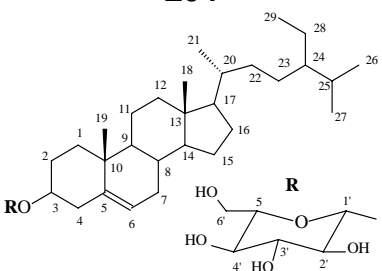
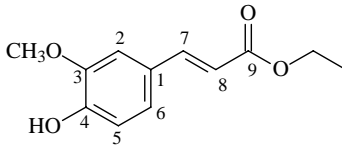
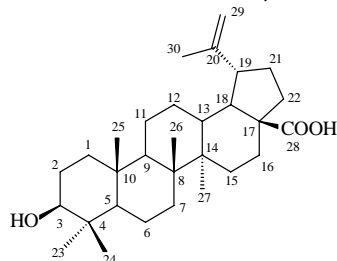
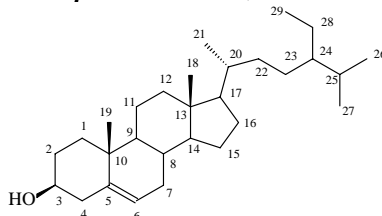
Triterpenos e esteróides		
<p>Ácido ursólico, J61</p>  <p>Jaguari</p>	<p>Ácido betulínico, L02</p>  <p>Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari</p>	<p>Ácido ceanótico, J20</p>  <p>Jaguari</p>
<p>β-sitosterol, L01</p>  <p>Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari</p>	<p>β-sitosterol glicosilado, L04</p>  <p>Santana do Livramento, São Sepé e Jaguari</p>	<p>Éster ferúlico, J05</p>  <p>Jaguari</p>

Tabela 62: Metabólitos isolados da casca da raiz de *Discaria americana*

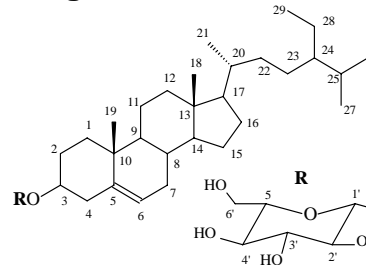
Triterpenos e esteróides

Ácido betulínico, L02

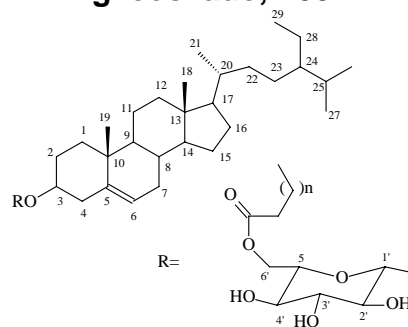
Santana do Livramento,
São Sepé e Jaguarí

 β -sitosterol, L01

Santana do Livramento,
São Sepé e Jaguarí

 β -sitosterol glicosilado, L04

Santana do Livramento,
São Sepé e Jaguarí

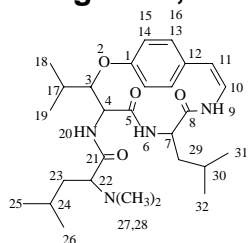
 β -Sitosterol 6'-O-acil glicosilado, L03

Santana do Livramento,
São Sepé e Jaguarí

Tabela 63: Metabólitos isolados da casca da raiz de *Discaria americana*

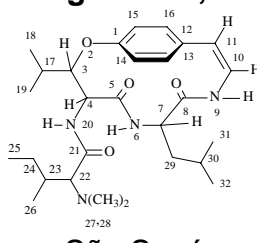
Alcalóides

Franganina, A02



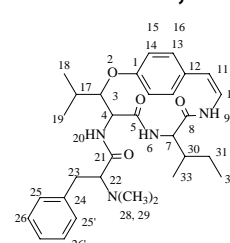
Santana do Livramento
São Sepé
Jaguari

Frangulanina, S03



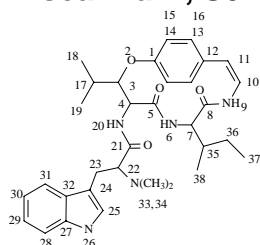
São Sepé
Jaguari

Adoutina Y', A01



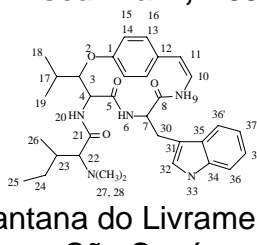
Santana do Livramento
São Sepé e
Jaguari

Discarina A, S04



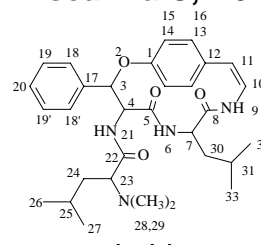
São Sepé
Jaguari

Discarina B, A09



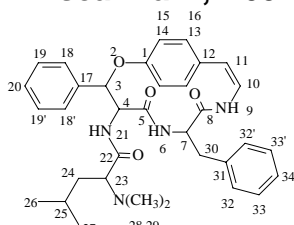
Santana do Livramento
São Sepé
Jaguari

Discarina C, A04



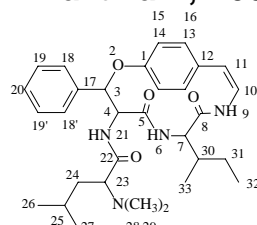
Santana do Livramento
São Sepé
Jaguari

Discarina D, A05



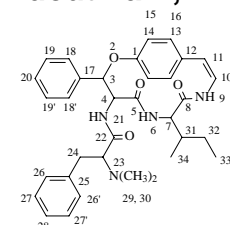
Santana do Livramento
São Sepé
Jaguari

Miriantina A, A06

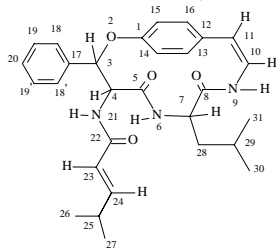


Santana do Livramento

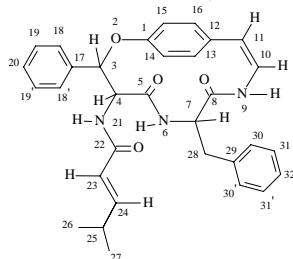
Adoutina Y, A16



Santana do Livramento

Tabela 64: Metabólitos isolados da casca da raiz de *Discaria americana*Ciclopeptídeos isolados de *D. americana***Discareno C, D02**

Santana do Livramento

Discareno D, D03

Santana do Livramento

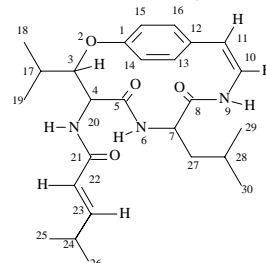
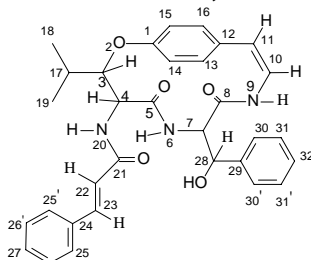
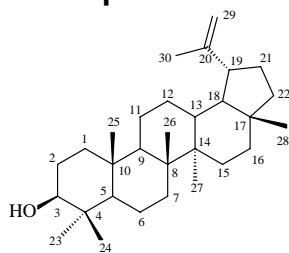
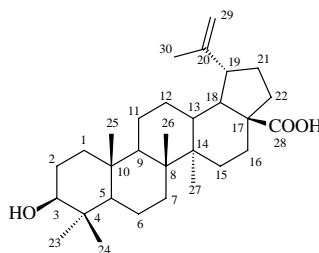
Discarina M, D01Santana do Livramento
São Sepé**Discarina N, D15**Santana do Livramento
São Sepé

Tabela 65: Metabólitos isolados de *Colletia paradoxa*

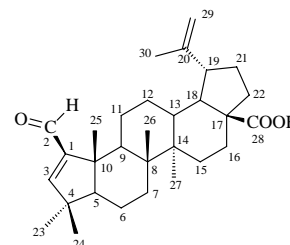
Metabólitos isolados das partes aéreas e casca da raiz

Lupeol C06

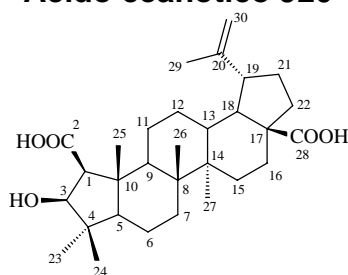
P. aéreas, Raiz

Ácido betulínico L02

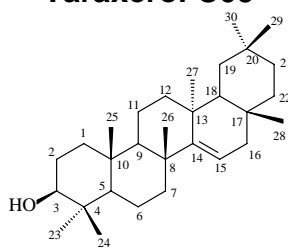
P. aéreas, Raiz

Ácido ziziberenânico C15

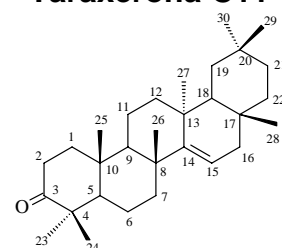
Raiz

Ácido ceanótico J20

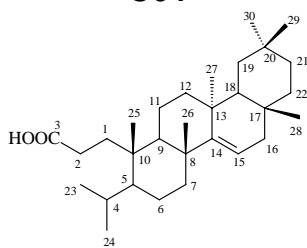
P. aéreas, Raiz

Taraxerol C09

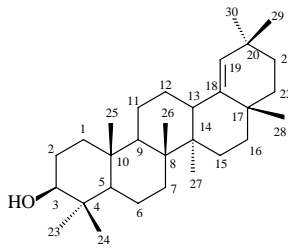
P. aéreas

Taraxerona C11

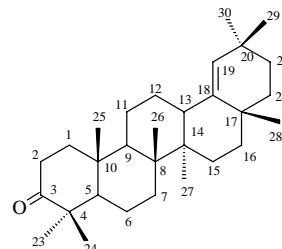
P. aéreas

seco-3,4-taraxerona C64

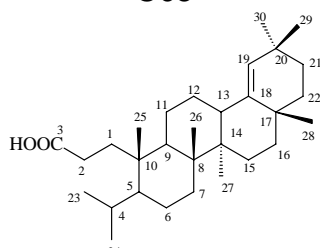
P. aéreas

Germanicol C24

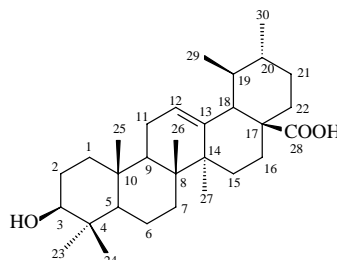
P. aéreas

Germanicona C12

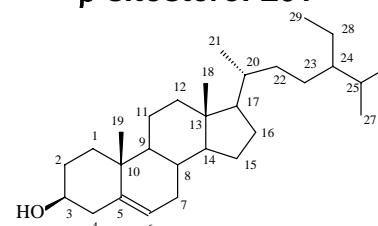
P. aéreas

seco-3,4-germanicona C63

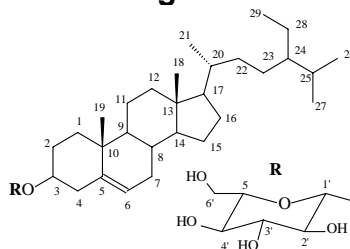
P. aéreas, Raiz

Ácido ursólico J61

P. aéreas

β-sitosterol L01

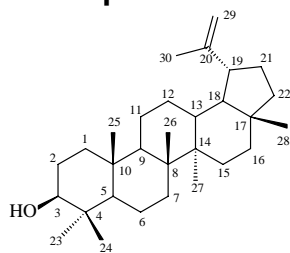
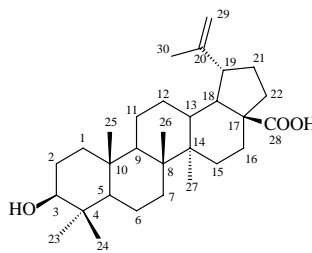
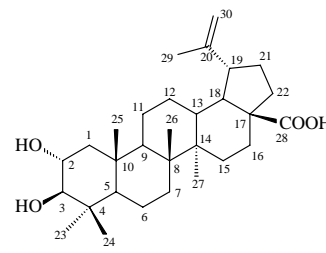
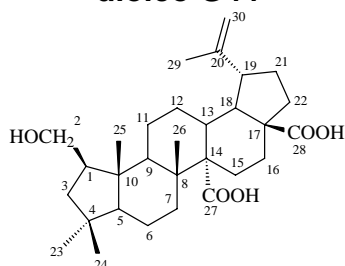
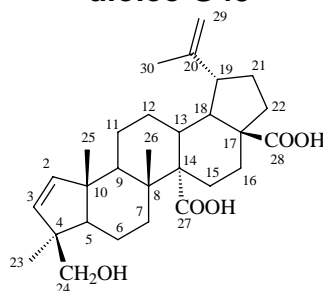
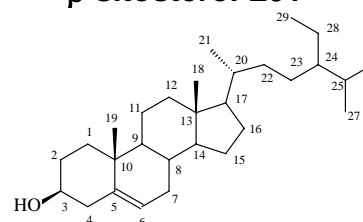
P. aéreas, Raiz

β-sitosterol glicosilado L04

P. aéreas, Raiz

Tabela 66. Metabólitos isolados das partes aéreas de *Gouania ulmifolia*

Metabólitos isolados das partes aéreas

Lupeol C06**Ácido betulínico L02****Ácido alfitólico G41****Ácido 2-hidroxi-2-nor-20(29)-lupen-27,28-dióico G44****Ácido 24-hidroxi-A(1)-nor-2(3),20(29)-lupadien-27,28-dióico G45** **β -sitosterol L01** **β -sitosterol glicosilado L04**