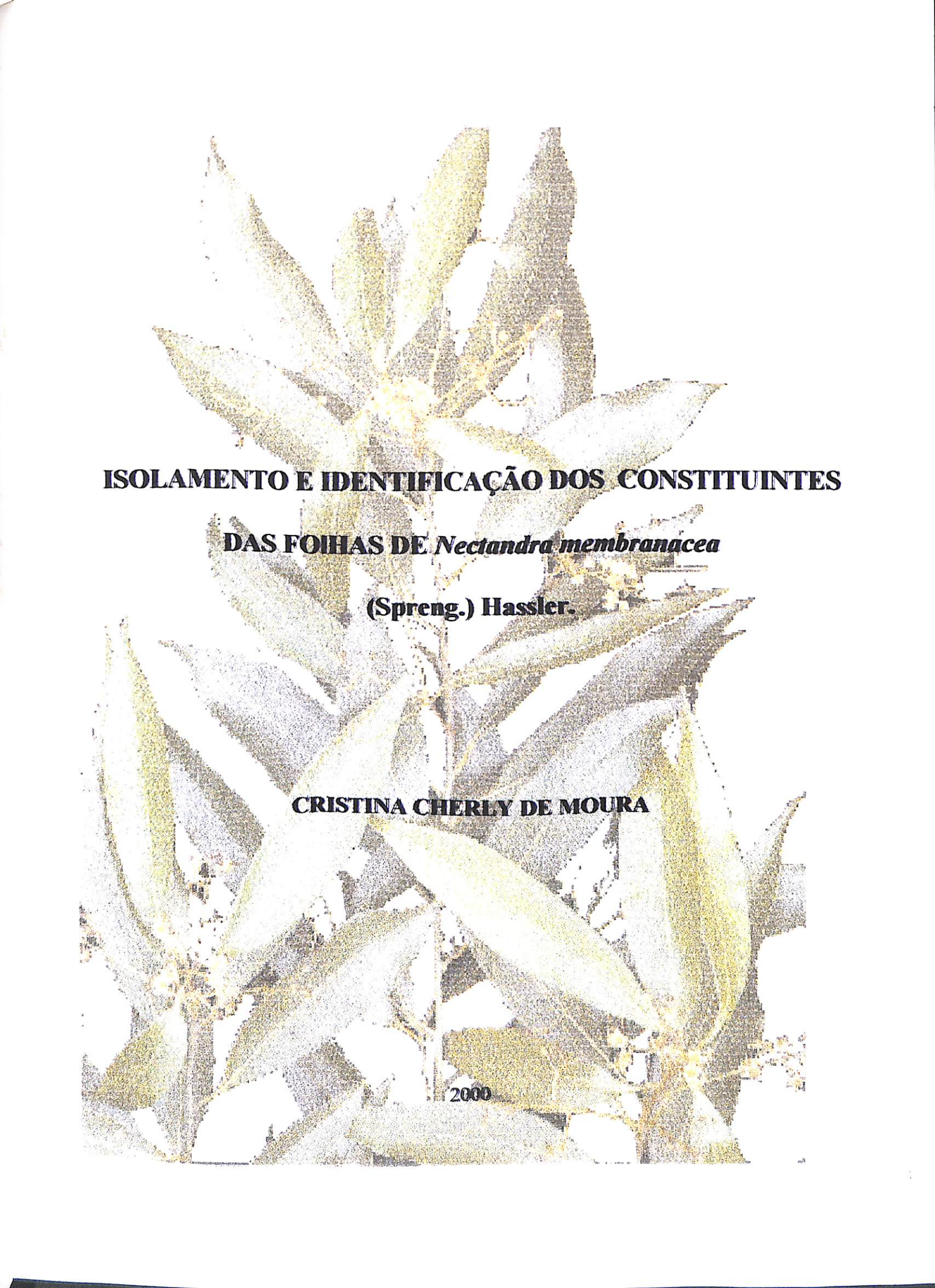


The background of the entire page is a detailed botanical illustration of the plant *Nectandra membranacea*. It features several large, lanceolate leaves with prominent pinnate venation and serrated margins. Interspersed among the leaves are clusters of small, tubular flowers with distinct corolla and calyx lobes.

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES

DAS FOIHAS DE *Nectandra membranacea*

(Spreng.) Hassler.

CRISTINA CHERLY DE MOURA

2000

Este trabalho é dedicado primeiramente a Deus, por tudo o que sou.

Aos meus pais e avó, Camilo, Marlene e Judite, pela abnegação à minha educação, carinho, compreensão e estímulo.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES
DAS FOIHAS DE *Nectandra membranacea*

(Spreng.) Hassler.

CRISTINA CHERLY DE MOURA

SOB A ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR

ANSELMO ALPÂNDE MORAIS

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

Seropédica, Rio de Janeiro

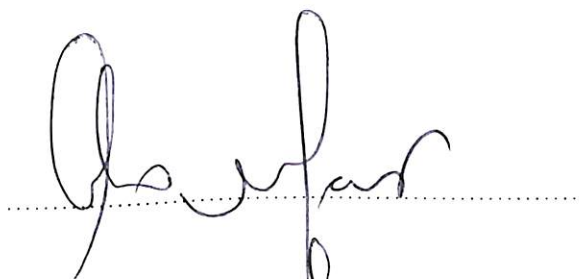
Abril de 2000.

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES
DAS FOIHAS DE *Nectandra membranacea*
(Spreng.) Hassler.

CRISTINA CHERLY DE MOURA

APROVADO EM ____/____/____

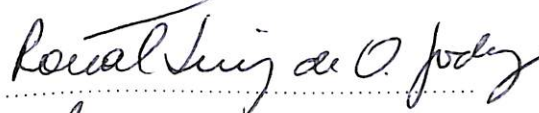
Dr. Anselmo Alpande Moraes (UFRRJ)



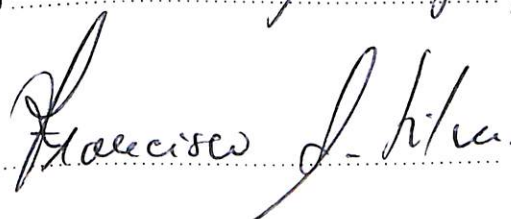
Dr. Paulo Roberto Dias dos Santos (UNIG)



Dr. Ronoel Luiz de Oliveira Godoy (EMBRAPA- RJ)



Dr. Francisco de Assis da Silva (UFRRJ)(Suplente)



Este trabalho é dedicado primeiramente a Deus, por tudo o que sou.

Aos meus pais e avó, Camilo, Marlene e Judite, pela abnegação à minha educação, carinho, compreensão e estímulo.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Anselmo Alpande Moraes, pelos ensinamentos, orientação, apoio e valiosas colaborações na realização deste trabalho, e a sua família pelo acolhimento e amizade.

Ao Professor Dr. Raimundo Braz Filho pelas múltiplas contribuições, amizade e orientações.

Aos Professores Drs. Otto Richard Gottlieb e Maria Renata Borin, pelo apoio e bibliografias concedidas que permitiram a realização deste trabalho.

Ao Botânico Dr. Rogério de Oliveira, pela coleta da planta.

A Professora Dr^a Áurea Echevarria, pelo incentivo que muito contribuiu na escolha pelo curso de pós-graduação em Química Orgânica.

Ao Botânico Alexandre Kinner, pelas sugestões para elaboração da introdução deste trabalho.

Ao amigo Marco Antônio, por tudo em especial, pela confiança depositada no meu trabalho e incentivo nos momentos de desânimo.

Ao amigo Paulo Afonso, pela presença amiga sempre constante.

As colegas do curso de pós-graduação, que tornaram o tempo de trabalho mais agradável: Lucinha, André, Andressa, Janaína, Ana Beatriz, Rosane, Geize, Daniela, Márcia, Bauer, Raquel, Tânia, Cássia e Viviane.

À Áurea de Almeida Tatagiba e Francis Regiane, pela amizade e pelos espectros de RMN.

Aos funcionários: Osmar, Reginaldo, Fábio, Carlão, Elir, Aldir, Rui, Conceição, Arlete, Pedro, Maurício, Kátia e Rogéria, pela convivência amiga.

Ao Corpo Docente do programa de pós-graduação da UFRRJ pela formação acadêmica, que permitiram a elaboração deste trabalho.

Aos membros da Banca Examinadora pela aceitação do convite para o julgamento deste trabalho.

À Universidade Federal de Fortaleza pelos espectros de RMN fornecidos.

À minha família, pelo apoio e incentivo.

À todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

"Para que se vença não basta lutar, é preciso acreditar no ideal a ser conseguido".

(Léa Hoffman)

SUMÁRIO

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xxiv
RESUMO	xxviii
ABSTRACT.....	xxx
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Família Lauraceae	1
1.2 Distribuição Geográfica.....	7
1.3 Importância Econômica.....	8
1.4 Principais Classes de Constituintes	10
1.5 Gênero <i>Nectandra</i>	10
1.6 Especificação da Planta	18
2. PARTE EXPERIMENTAL	20
2.1 Materiais e Métodos	20
2.2 Coleta da Planta.....	22
2.3 Preparação dos Extratos	22
2.4 Isolamento e Purificação dos Constituintes Químicos do Extrato Hexânico das Folhas	23
2.5 Frações Analisadas e Resultantes do Fracionamento Cromatográfico do Extrato Hexânico de <i>N. membranacea</i> . (Spreng.) Hassler	24

2.6 Constituintes Químicos Isolados das Folhas de <i>N. membranacea</i> (Spreng.) Hassler.	26
2.7 Dados Físicos e Espectroscópicos dos Constituintes de <i>N. membranacea</i> (Spreng.) Hassler.....	28
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
3.1 Determinação Estrutural do Sesquiterpeno I	33
3.2 Determinação Estrutural do Esteróide II	44
3.3 Determinação Estrutural das Neolignanas III e IV	49
3.4 Determinação Estrutural da Neolignana V.....	76
3.5 Determinação Estrutural do Esteróide VI.....	105
3.6 Determinação Estrutural da Neolignana VII.....	124
3.7 Determinação Estrutural das Neolignanas VIII e IX.....	154
4. BIOSÍNTESE	186
4.1 Origem Biossintética das Unidades dos Compostos Triterpênicos	186
4.1.1 Proposta biossintética para formação do sesquiterpeno.	187
4.1.2 Proposta biossintética para formação dos triterpenos	191
4.2 Aspectos Referentes à Biossíntese de Lignóide.....	193
4.2.1 Origem das unidades precursoras dos compostos lignóides.....	194
4.2.2 Conversão do ácido cinâmico em derivados de ácido cinâmico	195
4.2.3 Ácidos cinâmicos ativados	196
4.2.4 Biossíntese de lignóides	197
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	204

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 : Substâncias isoladas de espécies do gênero <i>Nectandra</i>	13
Figura 2 : Espectro de IV do sesquiterpeno I	36
Figura 3 : Espectro de RMN de ^1H do sesquiterpeno I (200 MHz, CDCl_3).....	37
Figura 4 : Espectro de RMN de ^{13}C DEPT 90° , 135° do sesquiterpeno I (50 MHz, CDCl_3).....	38
Figura 5 : Espectro de RMN 2D HOMOCOSY ^1H x ^1H do sesquiterpeno I (200 MHz, CDCl_3).....	39
Figura 6 : Espectro de RMN 2D HETCOSY ^1H x ^{13}C do sesquiterpeno I (50 MHz, CDCl_3).....	40
Figura 7 : Espectro de RMN 2D COLOC ^1H x ^{13}C $^n\text{J}_{\text{CH}}$ $n = 1, 2, 3$ do sesquiterpeno I (50 MHz, CDCl_3).....	41
Figura 8 : Espectro de massas do sesquiterpeno I	42
Figura 9 : Espectro de IV do esteróide II	46
Figura 10 : Espectro de RMN de ^1H do esteróide II (200 MHz, CDCl_3).....	47
Figura 11 : Espectro de RMN de ^{13}C do esteróide II (50 MHz, CDCl_3).....	48
Figura 12 : Espectro de IV das neolignanas III e IV	60
Figura 13 : Espectro de RMN de ^1H das neolignanas III e IV (500 MHz, CDCl_3) .	61
Figura 14 : Espectro de RMN de ^1H , região 0,6-4,6 ppm das neolignanas III e IV (500 MHz, CDCl_3).....	62

Figura 15 : Espectro de RMN de ^1H , região 5,0-7,5 ppm das neolignanas III e IV (500 MHz, CDCl_3)	63
Figura 16 : Espectro de RMN de ^{13}C das neolignanas III e IV (125 MHz, CDCl_3)	64
Figura 17 : Espectro de RMN de ^{13}C , região 100,0-150,0 ppm das neolignanas III e IV (125 MHz, CDCl_3)	65
Figura 18 : Espectro de RMN de ^{13}C DEPT 135° da neolignanas III e IV (125 MHz, CDCl_3)	66
Figura 19 : Espectro de RMN 2D HOMOCOSY ^1H x ^1H das neolignanas III e IV (500 MHz, CDCl_3)	67
Figura 20 : Espectro de HMQC ^1H x ^{13}C , região 3,0-5,1 x 40-70 das neolignanas III e IV (125 MHz, CDCl_3)	68
Figura 21 : Espectro de ^1H x ^{13}C HMQC, região 0,0-7,0 x 0,0-130,0 das neolignanas III e IV (125 MHz, CDCl_3)	69
Figura 22 : Espectro de ^1H x ^{13}C HMQC, região 4,7-7,5 x 90,0-135,0 das neolignanas III e IV (125 MHz, CDCl_3)	70
Figura 23 : Espectro de HMBC ^1H x ^{13}C - $^n\text{J}_{\text{CH}}$ $n = 2, 3$, região 0,0-10,0 x 0,0- 200,0 das neolignanas III e IV (125 MHz, CDCl_3)	71
Figura 24 : Espectro de ^1H x ^{13}C HMBC - $^n\text{J}_{\text{CH}}$ $n = 2, 3$, região 0,0-8,0 x 60,0- 115,0 das neolignanas III e IV (125 MHz, CDCl_3)	72
Figura 25 : Espectro de HMBC ^1H x ^{13}C - $^n\text{J}_{\text{CH}}$ $n = 2, 3$, região 1,0-10,0 x 120,0- 195,0 ppm das neolignanas III e IV (125 MHz, CDCl_3)	73

Figura 26 : Espectro de NOESY, região 0,0-10,0 x 0,0-10,0 ppm das neolignanas III e IV (500 MHz, CDCl ₃).....	74
Figura 27 : Espectro de NOESY, região 3,2-7,0 x 1,0-6,0 das neolignanas III e IV (500 MHz, CDCl ₃).....	75
Figura 28 : Espectro de IV da neolignana V.	85
Figura 29 : Espectro de RMN de ¹ H da neolignana V (500 MHz, CDCl ₃).....	86
Figura 30 : Espectro de RMN de ¹ H, região 1,4-4,4 ppm da neolignana V (500 MHz, CDCl ₃)	87
Figura 31 : Espectro de RMN de ¹ H, região 4,8-7,8 ppm da neolignana V (500 MHz, CDCl ₃)	88
Figura 32 : Espectro de RMN de ¹³ C da neolignana V (125 MHz, CDCl ₃).....	89
Figura 33 : Espectro de RMN de ¹³ C, região 108,0-150,0 ppm da neolignana V (125 MHz, CDCl ₃)	90
Figura 34 : Espectro de RMN de ¹³ C - DEPT 135° da neolignana V (125 MHz, CDCl ₃)	91
Figura 35 : Espectro de RMN 2D HOMOCOSY, região 0,0-8,0 x 0,0-8,0 ppm da neolignana V (500 MHz, CDCl ₃)	92
Figura 36 : Espectro de RMN 2D - ¹ H x ¹³ C HMQC, região 1,0-7,0 x 20,0-135,0 ppm da neolignana V (125 MHz, CDCl ₃).....	93
Figura 37 : Espectro de RMN 2D ¹ H x ¹³ C HMQC, região 0,5-2,7 x 10,0-36,0 ppm da neolignana V (125 MHz, CDCl ₃).....	94

Figura 38 : Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C HMQC, região 3,0-4,6 x 40,0-70,0 ppm da neolignana V (125 MHz, CDCl_3).....	95
Figura 39 : Espectro de RMN 2D, ^1H x ^{13}C HMQC, região 4,7-7,6 x 90,0 -130,0 ppm da neolignana V (125 MHz, CDCl_3).....	96
Figura 40 : Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C HMBC, região 0,0-7,0 x 10,0-55,0 ppm da neolignana V (125 MHz, CDCl_3).....	97
Figura 41 : Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C HMBC, região 0,0-10,0 x 65,0-115,0 ppm da neolignana V (125 MHz, CDCl_3).....	98
Figura 42 : Espectro de RMN 2D, ^1H x ^{13}C HMBC, região 1,5-10,0 x 120,0-195,0 ppm da neolignana V (125 MHz, CDCl_3).....	99
Figura 43 : Espectro de NOESY, região 0,4-10,0 x 0,4-10,0 ppm da neolignana V (500 MHz, CDCl_3)	100
Figura 44 : Espectro de NOESY, região 3,0-7,6 x 0,5-3,2 ppm da neolignana V (500 MHz, CDCl_3)	101
Figura 45 : Espectro de NOESY, região 3,2-7,0 x 3,2-7,0 ppm da neolignana V (500 MHz, CDCl_3)	102
Figura 46 : Espectro de massas da neolignana V.....	103
Figura 47 : Espectro de IV do esteróide VI.....	113
Figura 48 : Espectro de RMN de ^1H do esteróide VI (400 MHz, CDCl_3).....	114
Figura 49 : Espectro de RMN de ^1H , região 4,05-5,45 ppm do esteróide VI (400 MHz, CDCl_3)	115

Figura 50 : Espectro de RMN de ^{13}C , região 0,7-180,0 ppm do esteróide VI (100 MHz, CDCl_3)	116
Figura 51 : Espectro de RMN de ^{13}C , região 11,0-33,0 ppm do esteróide VI (100 MHz, CDCl_3)	117
Figura 52 : Espectro de RMN de ^{13}C , região 31,0-74,5 ppm do esteróide VI (100 MHz, CDCl_3)	118
Figura 53 : Espectro de RMN de ^{13}C - DEPT 90° e 135° do esteróide VI (100 MHz, CDCl_3)	119
Figura 54 : Espectro de ^1H x ^{13}C HMBC, região 0,5-7,5 x 15,0-170,0 ppm do esteróide VI (100 MHz, CDCl_3)	120
Figura 55 : Espectro de ^1H x ^{13}C HMBC, região 0,3-2,5 x 10,0-85,0 ppm do esteróide VI (100 MHz, CDCl_3)	121
Figura 56 : Espectro de ^1H x ^{13}C HMBC, região 3,4-5,6 x 10,0-105,0 ppm do esteróide VI (100 MHz, CDCl_3)	122
Figura 57 : Espectro de ^1H x ^{13}C HMBC, região 0,8-5,2 x 110,0-185,0 ppm do esteróide VI (100 MHz, CDCl_3)	123
Figura 58 : Espectro de IV da neolignana VII	136
Figura 59 : Espectro de RMN ^1H da neolignana VII (500 MHz, CDCl_3)	137
Figura 60 : Espectro de RMN ^1H , região 1,9-4,10 ppm da neolignana VII (500 MHz, CDCl_3)	138

Figura 61 : Espectro de RMN ^1H , região 4,5-6,45 ppm da neolignana VII (500 MHz, CDCl_3)	139
Figura 62 : Espectro de RMN ^{13}C da neolignana VII (125 MHz, CDCl_3)	140
Figura 63 : Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° da neolignana VII (125 MHz, CDCl_3)	141
Figura 64 : Espectro de RMN 2D HOMOCOSY ^1H x ^1H , região 0,5-6,0 x 0,5-6,0 ppm da neolignana VII (500 MHz, CDCl_3).....	142
Figura 65 : Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C HMQC, região 0,2-8,0 x 10,0-140,0 ppm da neolignana VII (125 MHz, CDCl_3).....	143
Figura 66 : Espectro de RMN 2D HMQC ^1H x ^{13}C , região 0,5-4,0 x 25,0-70,0 ppm da neolignana VII (125 MHz, CDCl_3).....	144
Figura 67 : Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C HMBC, região 1,0-8,0 x 10,0-100,0 ppm da neolignana VII (125 MHz, CDCl_3).....	145
Figura 68 : Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C HMBC, região 0,0-8,0 x 0,0-210,0 ppm da neolignana VII (125 MHz, CDCl_3).....	146
Figura 69 : Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C HMBC, região 0,5-7,0 x 100,0-170,0 ppm da neolignana VII (125 MHz, CDCl_3).....	147
Figura 70 : Espectro de NOESY, região 1,7-7,5 x 0,0-8,0 ppm da neolignana VII (500 MHz, CDCl_3)	148
Figura 71 : Espectro de NOESY, região 1,5-4,0 x 0,5-4,0 da neolignana VII (500 MHz, CDCl_3)	149

Figura 72 : Espectro de NOESY, região 4,5-7,4 x 0,7-4,5 da neolignana VII (500 MHz, CDCl ₃)	150
Figura 73 : Espectro de NOESY, região 4,4-7,0 x 2,0-4,0 da neolignana VII (500 MHz, CDCl ₃)	151
Figura 74 : Espectro de massas da neolignana VII.....	152
Figura 75 : Espectro de IV das neolignanas VIII e IX.....	169
Figura 76 : Espectro de RMN de ¹ H das neolignanas VIII e IX (500 MHz, CDCl ₃)	170
Figura 77 : Espectro de RMN de ¹ H região 1,8-4,0 ppm das neolignanas VIII e IX (500 MHz, CDCl ₃).....	171
Figura 78 : Espectro de RMN de ¹ H região 4,0-6,4 ppm das neolignanas VIII e IX (500 MHz, CDCl ₃).....	172
Figura 79 : Espectro de RMN de ¹³ C das neolignanas VIII e IX (500 MHz, CDCl ₃)	173
Figura 80 : Espectro de RMN de ¹³ C - DEPT 135° das neolignanas VIII e IX (125 MHz, CDCl ₃)	174
Figura 81 : Espectro de RMN 2D - HOMOCOSY ¹ H x ¹ H, região 0,0-6,0 x 0,0-6,0 ppm das neolignanas VIII e IX (500 MHz, CDCl ₃).....	175
Figura 82 : Espectro de RMN 2D - ¹ H x ¹³ C HMQC, região 1,6-3,0 x 5,0-45,0 ppm das neolignanas VIII e IX (125 MHz, CDCl ₃)	176

Figura 83 : Espectro de RMN 2D - ^1H x ^{13}C HMQC, região 2,0-5,0 x 45,0-85,0 ppm das neolignanas VIII e IX (125 MHz, CDCl_3)	177
Figura 84 : Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C HMQC, região 4,3-6,6 x 95,0-135,0 ppm das neolignanas VIII e IX (125 MHz, CDCl_3)	178
Figura 85 : Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C HMBC, região 0,7-6,8 x 10,0-75,0 ppm das neolignanas VIII e IX (125 MHz, CDCl_3)	179
Figura 86 : Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C HMBC, região 0,5-6,7 x 80,0-160,0 ppm das neolignanas VIII e IX (125 MHz, CDCl_3)	180
Figura 87 : Espectro de NOESY, região 0,5-7,0 x 0,5-7,0 ppm das neolignanas VIII e IX (500 MHz, CDCl_3)	181
Figura 88 : Espectro de NOESY, região 1,5-3,6 x 0,8-2,5 ppm das neolignanas VIII e IX (500 MHz, CDCl_3)	182
Figura 89 : Espectro de NOESY, região 4,0-6,8 x 1,0-4,0 ppm das neolignanas VIII e IX (500 MHz, CDCl_3)	183
Figura 90 : Espectro de massas das neolignanas VIII e IX	184

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 : Quantidade de material vegetal estudado e de extratos brutos obtidos de <i>N. membranacea</i> (Spreng.) Hassler.....	23
Quadro 2 : Fracionamento cromatográfico em coluna do extrato hexânico (6,25 g) e os respectivos eluentes utilizados.	24

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 : Divisão da família Lauraceae em subfamílias, tribos e subtribos segundo Kostermans, 1957	6
Tabela 2 : Classes de metabólitos secundários encontrados no gênero <i>Nectandra</i> ...	12
Tabela 3 : Identificação dos carbonos CH ₃ , CH ₂ , CH e C da substância I através de RMN ¹³ C (PND e DEPT, 50,3 MHz).....	34
Tabela 4 : Valores de RMN de ¹ H (200 MHz, CDCl ₃ , ppm, Hz) e de ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃ , ppm, Hz) correlação ¹ H x ¹³ C COSY e ¹ H x ¹³ C COLOC ⁿ J _{CH} , n = 1, 2, e 3 da substância I e comparação com valores de literatura.....	35
Tabela 5 : Valores de RMH de ¹ H (200 MHz, CDCl ₃ , ppm, Hz) e ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃ , ppm, Hz) da substância II e comparação com dados de literatura.....	45
Tabela 6 : Identificação dos carbonos CH ₃ , CH e C das substâncias III e IV, através dos espectros de RMN ¹³ C e DEPT.	50
Tabela 7 : Dados de NOE obtidos por experiência 2D ¹ H x ¹ H NOESY para a substância III*.	56
Tabela 8 : Dados de NOE obtidos por experiência 2D ¹ H x ¹ H NOESY para a substância IV*.	57

Tabela 9 : Valores de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 ppm, Hz) e de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) correlação, $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC $^1J_{\text{CH}}$ e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^nJ_{\text{CH}}$, $n = 2, 3$ da substância III e comparação com valores de literatura .	58
Tabela 10 : Valores de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 ppm, Hz) e de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) correlação, $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC - $^1J_{\text{CH}}$ e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^nJ_{\text{CH}}$, $n = 2, 3$ da substância IV e comparação com valores de literatura.	59
Tabela 11 : Dados de NOE obtidos por experiência 2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY para a substância V*	83
Tabela 12 : Valores de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 ppm, Hz) e de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) correlação DEPT, $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC - $^1J_{\text{CH}}$ e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^nJ_{\text{CH}}$, $n = 2$ e 3 da substância V	84
Tabela 13 : Dados resultantes de experiência de 1D e 2D, RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , ppm, Hz) e ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) - DEPT, e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC e HMBC - $^nJ_{\text{CH}}$ $n = 2, 3$ com a substância VI	111
Tabela 14 : Dados de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , ppm, Hz) e ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância VI e comparados com valores citados na literatura (em CDCl_3).	112
Tabela 15 : Bandas de absorção registradas no espectro de IV da substância VII ...	124
Tabela 16 : Identificação dos carbonos CH_3 , CH_2 , CH e C da substância VII através da análise dos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT.	125

Tabela 17 : Dados de NOE obtidos por experiência 2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - NOESY na substância VII *.....	134
Tabela 18 : Valores de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 ppm, Hz) e ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^nJ_{\text{CH}}$ n = 2, 3 da substância VII e comparação com valores de literatura.	135
Tabela 19 : Identificação dos carbonos CH_3 , CH_2 , CH e C das substâncias VIII e IX através dos espectros de RMN ^{13}C e DEPT 135°.....	154
Tabela 20 : Análise comparativa dos átomos de hidrogênio e carbono da segunda unidade (alifática) e CH-7, CH-8 da substância VIII com valores encontrados na literatura.	160
Tabela 21 : Dados de NOE obtidos por experiências de 2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY na amostra, e registrado para VIII *.	164
Tabela 22 : Dados de NOE obtidos por experiências de 2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY na amostra, e registrados para IX *.	166
Tabela 23 : Valores de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 , ppm, Hz) e ^{13}C (125 MHz, CDCl_3), correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^nJ_{\text{CH}}$ n = 2, 3 da substância VIII e comparação com valores e literatura.....	167
Tabela 24 : Valores de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 ppm, Hz) e ^{13}C (125 MHz, CDCl_3), correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^nJ_{\text{CH}}$ n = 2, 3 da substância IX	168

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1 : Metodologia utilizada para obtenção dos extratos e dos constituintes químicos das folhas de <i>N. membranacea</i> (Spreng.) Hassler.....	23
Esquema 2 : Proposta de fragmentação para o sesquiterpeno I	43
Esquema 3 : Proposta de fragmentação para a substância V	104
Esquema 4 : Proposta de fragmentação para a substância VII	153
Esquema 5 : Proposta de fragmentação para a substância VIII	185
Esquema 6 : Formação das unidades IPP e DMAPP através do ácido mevalônico..	187
Esquema 7 : Formação das unidades farnesil e nerolidol pirofosfato.....	188
Esquema 8 : Proposta biossintética para formação do espatulenol.....	190
Esquema 9 : Proposta biossintética para formação das substâncias II e VI	192
Esquema 10 : Formação de radicais de alil (3, 4, 8, 9 e 10) propenil fenol (1, 2, 5, 6 e 7) em neolignanas.....	199
Esquema 11 : Proposta biossintética para a formação das substâncias III e V através do acoplamento oxidativo entre as unidades (2 e 4) esqueleto 8.5'	200
Esquema 12 : Proposta biossintética para a formação da substância IV , através do acoplamento oxidativo entre as unidades (5 e 4), esqueleto 8.5'	201

Esquema 13 : Proposta biossintética para a formação da substância VII e IX,
através do acoplamento oxidativo entre as unidades (2 e 7)
esqueleto 8.5' 202

Esquema 14 : Proposta biossintética para a formação da substância VIII, através
do acoplamento oxidativo entre as unidades (2 e 8) esqueleto 8.1' ... 203

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

α - rotação específica

δ - Deslocamento químico

A.C. - antes de Cristo

ADP - Adenosil Difosfato

Ar - Arila

ATP - Adenosil Trifosfato

c - concentração

CC - Cromatografia em coluna

CCR – Cromatografia em coluna rápida

CCDA - Cromatografia em camada delgada analítica

CCDP - Cromatografia em camada delgada preparativa

CG/MS - Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa

cm - centímetro

cm^{-1} - número de onda

col - colaboradores

COLOC - Correlation via long-range couplings

Comp. - Comprimento

COSY - Correlation spectrometry

Diâm. - Diâmetro

d - dubleto

D - dextrógira

dd - duplo dubleto

DEPT - Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

dl - dubleto largo

dq - duplo quarteto

EMIE - Espectrometria de Massas por Impacto de Elétrons

Esq - Esquema

eV - eletron Volt

FEEMA - Fundação Estadual de Engenharia de Meio Ambiente

Fig - Figura

g - grama

°C - Graus Celsius

Gu - 4-hidroxi-3-metoxifenil

HOMOCOSY - Homonuclear correlation spectroscopy

HETECOSY - Heteronuclear correlation spectroscopy

HMBC - Heteronuclear multiple-bond connectivity

HMQC - Heteronuclear multiple quantum coherence

Hz - Hertz

int. rel. - intensidade relativa

IV - Infravermelho

l - Litro

Larg - Largura

Lit - Literatura

m - multipeto

m - metro

M^{*+} - Pico do íon molecular

Me - CH_3

MHz - Megahertz

mg - miligrama

ml - mililitro

mm - milímetro

Mo-1 - modelo - 1

Mp - 3-metoxi-4,5-metilenodioxifenil

m/z - Relação massa/carga

n° - número

NADP - Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato

NADPH - Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Reduzido

nm - nanômetro

NOE - Nuclear Overhauser Effect

NOESY - Nuclear Effect Correlation Spectroscopy

p. , pág - página

PAL - Fenil alaninamoniase

Pf - Ponto de fusão

Pi - 3,4 metilenodioxifenil

PND - Proton Noise Decoupling

ppm - parte por milhão

R_f - relação de altura da substância/eluente na placa

RMN ¹³C - Ressonância magnética nuclear de carbono 13

RMN ¹H - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

s - singleto

sl - singleto largo

t - tripleto

Tab - tabela

TMS - Tetra metil silano

Tp - 3,4,5-trimetoxifenil

u.m.a. - unidade de massa atômica

UV - Ultravioleta

Ve - 3,4-dimetoxifenil

v/v - volume por volume

RESUMO

O presente trabalho relata o estudo químico das folhas de um espécime de *Nectandra membranacea* (Spreng.) Hassler; a planta foi coletada no topo da serra do Camorim (Maciço da Pedra Branca), município do Rio de Janeiro em fevereiro de 1997, e registrada no herbário da FEEMA sob o nº 85743-8 e classificada pelo botânico Dr. Rogério R. de Oliveira.

As folhas foram submetidas a extração por percolação a frio com hexano e posteriormente etanol à temperatura ambiente.

O extrato hexânico foi fracionado em coluna de CCR, usando como eluentes: hexano (puro), mistura de hexano-clorofórmio com polaridades crescentes; clorofórmio (puro) e metanol (puro), através de fracionamento cromatográfico, CCP e cristalização foram isolados um sesquiterpeno - Espatulanol **I**, dois esteróides - Sitosterol **II** e Tetra-O-acetil- β -D-glicopiranosil sitosterol **VI** e seis neolignanas, três diidrobenezofurânicas: rel-(7R,8R)- Δ^7 -3,4,5,3'-Tetrametoxi-7.O.4',8.5'-neolignana **III**, rel-(7R,8R)- Δ^7 -3,4,3'-Trimetoxi-7.O.4',8.5'-neolignana **IV** e rel-(7R,8R)- Δ^7 -4-Hidroxi-3,5,3'-trimetoxi-7.O.4',8.5'-neolignana **V** e três bicíclicas: rel-(7S,8S,2'R,3'S,5'S)- $\Delta^{6',8'}$ -2'-Hidroxi-3,4,5,5'-tetrametoxi-4'-oxo-8.5',7.3'-neolignana **VII**, rel-(7S,8S,1'R,3'S,4'R)- $\Delta^{5',8'}$ -4'-Hidroxi-3,4,5,5'-tetrametoxi-2'-oxo-8.1',7.5'-neolignana **VIII** e rel-(7S,8S,2'S,3'S,5'S)- $\Delta^{6',8'}$ -2'-Hidroxi-3,4,5,5'-tetrametoxi-4'-oxo-8.5',7.3'-neolignana **IX**. Quatro desses compostos (**V**, **VI**, **VIII** e **X**) são relatados pela primeira vez na literatura.

A identificação das substâncias e elucidação das estruturas foram realizadas através de métodos espectroscópicos RMN ^1H e RMN ^{13}C (incluindo DEPT, HOMOCOSY, HETECOSY, HMQC, HMBC e NOESY) EM e IV.

Com base no isolamento de neolignanas benzofurânicas e bicíclicas confirma-se a presença destes tipos de substâncias na família Lauraceae; com relação aos esteróides são também encontrados em plantas deste gênero.

Do ponto de vista biossintético observa-se uma clara tendência na produção de metabólitos da via do ácido chiquímico com formação de neolignanas com esqueleto 8.5' e 8.1' e com maior grau de evolução química.

ABSTRACT

The phytochemical study of the leaves from the *Nectandra membranacea* (Spreng.) Hassler specimen collected in the city of Rio de Janeiro and identified by Dr. Rogério R. de Oliveira the FEEMA, is described.

The hexane extract of the leaves has led to the isolation of one sesquiterpene : spatulenol (I) two steroids : β -sitosterol (II) and sitosterol tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranoside (VI), six neolignans : rel-(7R,8R)- Δ^7 -3,4,5,3'-Tetramethoxy-7.O.4',8.5'-neolignan III, rel-(7R,8R)- Δ^7 -3,4,3'-Trimethoxy-7.O.4',8.5'-neolignan IV; rel-(7R,8R)- Δ^7 -4-Hydroxy-3,4,5,3'-trimethoxy-7.O.4',8.5'-neolignan V; rel-(7S,8S,2'R,3'S,5'S)- $\Delta^{6',8'}$ -2'-Hydroxy-3,4,5,5'-tetramethoxy-4'-oxo-8.5',7.3'-neolignan VII, rel-(7S,8S,1'R,3'S,4'R)- $\Delta^{5',8'}$ -4'-Hydroxy-3,4,5,5'-tetramethoxy-2'-oxo-8.1',7.3'-neolignan VIII and rel-(7S,8S,2'S,3'S,5'S)- $\Delta^{6',8'}$ -2'-Hydroxy-3,4,5,5'-tetramethoxy-4'-oxo-8.5',7.3'-neolignan IX.

Four of these compounds (V, VI, VIII and IX) are reported by the first time in the literature.

These compounds were identified by their ^1H and ^{13}C , infra-red and mass-spectra. The 2D heteronuclear NMR techniques for observing coupling through one bond ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - HOMOCOSY, $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HETCOSY), $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC $^1J_{\text{CH}}$ and two or three bonds ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC) - COLOC.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Família Lauraceae

Alguns dos membros da família são conhecidos desde os tempos remotos como *Cinnamomum camphora* (L.) Sieb., registrados em documentos da China no ano de 2.800 A.C. por suas propriedades medicinais [1].

No Brasil, os primeiros dados sobre a família datam de 1540, quando, em uma viagem desde os Andes ao estuário do rio Amazonas, os soldados espanhóis encontraram "*Cinnamomum-tree*" registrado como *Cinnamomum zeylanicum* Nees mas, provavelmente uma *Aniba canelilla* (H.B.K.) Mez. [2].

Anderson (1956), na obra "Plants of the Bible", fez numerosas referências à utilização de algumas espécies desta família pelos antigos Hebreus.

A relação de Lauraceae com outras famílias tem sido alvo de divergências na interpretação morfológica por partes dos sistematas. Tais divergências resultam em sistemas

de classificação inteiramente diferentes. Essa problemática promove várias alterações de posicionamento de ordens e de famílias em Angiospermae [6].

Em 1853, Lindley posicionou a família Lauraceae dentro da ordem Daphnales junto com as famílias: Thymelaeaceae, Polycarpicae e Cassytheaceae. Outros sistematas também tentaram relacionar a família com outros táxons suprafamiliares, dentre eles : Baillon (1870), Bentham (1880-1883), Eichler (1886), Pax (1891), Hallier (1912), Bessey, Rendle (1925), Engler e Diels (1936), Hutchinson (1926) e Stelbins (1974) [3].

Dahlgren (1980) posiciona a família dentro da ordem Laurales, na superordem Magnoliiflorae, que compreende um dos grupos vegetais mais primitivos dentro da subclasse das dicotiledôneas [4].

De acordo com Record & Mell (1924), provavelmente não existe nenhuma outra família com integrantes tão importantes e tão difíceis de classificar e descrever. Assemelham-se de tal maneira que é quase impossível distinguí-las no campo, o que torna os estudos problemáticos e demorados.

Os limites entre análise dos gêneros são quase sempre vagos e permanentemente questionados, trazendo dificuldades de classificação para a família, devido a problemas dos caracteres morfológicos taxonomicamente úteis e imprescindíveis para avaliar suas relações de afinidade.

A classificação das lauráceas tem sido também variadamente interpretada pelos botânicos, ao criarem sistemas em grande parte artificiais, relevando caracteres como

inflorescência, flor e frutos. Os primeiros trabalhos sobre a sistemática na família foram realizados por Nees (1831, 1833 e 1836) e Meissner 1864.

Jussieu (1789) reuniu as espécies conhecidas de lauraceas na ordem *Lauri*, os gêneros; *Laurus*, *Aiouea* e *Ocotea* e as relacionou com os gêneros *Myristica*, *Virola* e *Hernandia*.

Nees (1836), em sua monografia "Systema Laurinarum", procurou encontrar um sistema natural com base nas delimitações dos gêneros, analisando principalmente a forma dos estames e o sexo da flor, dando assim, passos para a unificação da família. Deve-se a ele a primeira organização da família em treze tribos e trinta e quatro gêneros.

Meissner (1864), desenvolveu vários trabalhos envolvendo a família. A monografia "Prodromus Systematic Naturalis" representou um grande adianto aos trabalhos de Nees. O autor estruturou a família em quatro tribos, três subordens e quarenta e seis gêneros. As subordens foram divididas: *Laurineae*, *Gyrocarpeae* e *Cassytheae*. A subordem *Laurineae* foi dividida em dois grupos sem nomes, de acordo com a presença ou ausência do involúcro por baixo das brácteas das flores. Os grupos sem involúcro incluíram três tribos, principalmente diferenciados pelo desenvolvimento do tubo da flor no fruto. As tribos foram subdivididas de acordo com o número de partes da flor e essas subdivisões não foram nomeadas. O grupo com flores involucradas incluiu somente uma tribo (*Litsaeaceae*), que foi subdividida de acordo com os números de células de antera, no qual as subtribos receberam os seguintes nomes : *Tetranthereae* e *Daphnidiaceae* [3].

Baillon (1870) reconheceu oito tribos e as três últimas foram incorporadas em *Hernandiaceae*. As demais correspondem mais ou menos às de Meissner (*Oreodaphneae* na

classificação de Baillon foi chamada de *Ocoteae*). Alguns gêneros da tribo *Cryptocaryeae*, de Meissner, foram modificados para tribo *Cinnamomeae*.

Bentham (1880) dividiu a família em quatro tribos: *Perseaceae*, sem involúcro, *Litseaceae*, com involúcro, *Cassytheae* e *Hernandieae*. Como Meissner, teve as mesmas dificuldades na análise da característica dos frutos. A subdivisão de *Perseaceae* foi feita de acordo com o número de células de antera e o desenvolvimento dos tubos florais no fruto. Bentham reconheceu somente trinta e três gêneros próprios de Lauraceae.

Pax (1889), em sua dissertação sobre “Lauraceae”, descreve uma nova revisão da família além de novos táxons. Baseou sua classificação em números de células de antera e subdividiu a família nas tribos *Lauroideae* e *Persoideae*, colocando o gênero *Cassytha* dentro da tribo *Lauroideae*. Curiosamente, os trabalhos de Dadswell & Eckersley (1940) e Desch (1941), com o estudo anatômico da madeira em plantas dessa família, fortaleceram a subdivisão de Pax.

Mez (1889), em sua monografia “System of American Lauraceae”, descreve novos gêneros e várias espécies. Dividiu a família em duas subordens: *Laureae* e *Cassytheae*. A subordem *Laureae* foi subdividida em duas tribos: *Perseae* e *Litseae*. As subdivisões foram feitas de acordo com números de células de antera, e pela presença ou não de um involúcro na inflorescência [3].

Kostermans foi um dos pesquisadores que mais contribuiu para a revisão completa da família, tendo inúmeros trabalhos entre as décadas de 30 e 70. Publicou em (1957) uma nova classificação, (Tab. 1, pág 6) e dividiu a família em duas subfamílias: *Lauroideae* (árvores ou arbustos) e *Cassythoideae* (ervas), reconhecendo cinco tribos. Uma

tribo foi identificada pela inflorescência invólucro, e as outras quatro pela inflorescência não invólucro, com presença ou ausência da cúpula. Desse modo, uma tribo foi organizada pela completa ausência da cúpula (Ex. *Persea*, *Beilschmiedia*), a segunda, possuindo a base dos frutos embutidos em uma cúpula (*Ocotea* e *Nectandra*), a terceira, tendo o fruto completamente dentro do tubo floral cercado pela cúpula (Ex. *Cryptocarya*) e a quarta tendo o ovário inferior e o fruto cercado por Hypanthium (somente *Hypodaphnis*).

Em uma comparação contemporânea à classificação de Hutchinson (1964), Kostermans é claramente superior, não apenas pelos caracteres utilizados, mas pelo profundo conhecimento na família Lauraceae, sendo essa classificação aceita nos últimos 30 anos.

Richter (1981) classificou a família através de reconhecimento na anatomia das raízes e madeira, na qual dividiu-a em três grandes grupos: *Perseeae*, *Laureae* e *Cryptocaryeae*.

Van de Werrff & Richter (1996) recentemente propuseram uma supragenérica classificação, baseando-se somente na estrutura da inflorescência, sustentando esses grupos e reconhecendo-os nas tribos [5].

Rohwer (1993) baseando-se nos caracteres florais, evolução dos táxons, informações anatômicas, embriológicas e químicas, subdividiu a família em grupos e subgrupos de gêneros, separando os cinquenta e dois gêneros em duas tribos: *Laureae* e *Perseeae* [6].

Tabela 1 : Divisão da família Lauraceae em subfamílias, tribos e subtribos segundo Kostermans, 1957

Subfamílias	Tribos	Subtribos	Gêneros
Lauroideae	Perseae	Perseineae	<i>Persea</i> , = <i>Machilus</i> = <i>Nothaphoebe</i> <i>Phoebe</i>
		Beilschmiediiineae	<i>Apollonias</i> <i>Beilschmiedia</i> <i>Dehaasia</i> <i>Endiandria</i> <i>Mezilaurus</i> <i>Hexapora</i> <i>Potameia</i>
	Cinnamomeae	Cinnamomineae	<i>Actinodaphne</i> <i>Cinnamomum</i> <i>Dicypellium</i> <i>Ocotea</i> = <i>nectandra</i> = <i>pleurothyruim</i> <i>Sassafras</i> <i>Umbelluaria</i>
		Anibeneae	<i>Aiouea</i> <i>Aniba</i> <i>Endlicheria</i> <i>Licaria</i> <i>Systemonodaphne</i> <i>Urbanodendron</i>
	Litsea	Litseineae	<i>Litsea</i> <i>Neolitsea</i>
		Laurineae	<i>Lindera</i> <i>Laurus</i>
	Cryptocaryaeae	Eusideroxyleneae	<i>Eusideroxylon</i>
		Cryptocaryneae	<i>Cryptocarya</i> <i>Ravensara</i>
Cassythoideae	Hypodaphneae		<i>Hypodaphnis</i> <i>Cassytha</i>

1.2 Distribuição Geográfica

Ocorre em florestas úmidas subtropicais e tropicais do mundo, podendo ser encontrada até 4.000 m de altitude, integrando-se à vegetação da floresta almontana e em solos bem drenados ou pantanosos. Em lugares de climas mais secos tornam-se mais raras [3]. Várias espécies são adaptadas às condições climáticas, sendo encontrados aproximadamente cinquenta gêneros e 2500-3500 espécies caracterizadas por tipos arbóreos ou arbustivos. O gênero *Cassytha* com espécies parasitas de caule trepador, constitui uma exceção. A grande maioria das espécies tem importância econômica ou fitossociológica devido à sua grande representatividade e distribuição. Estão bem representadas na América Central, América do Norte e Ásia tropical, tendo um grande número de espécies na Austrália e Madagascar mas pouco presente na África. No Brasil é descrita por dezenove gêneros e trezentos e cinquenta espécies [7].

Na Europa são mais encontradas em regiões próximas à costa mediterrânea (*Laurus nobilis* L.). Na China, Coréia e Nepal são do gênero *Litsea*, e no Japão, onde também se encontra *Lindera*. Na África-do-Sul algumas espécies ocorrem em menor número sendo uma delas *Ocotea bullata* E. Mey, porém em Madagascar encontram-se duas espécies: *Beilschmiedia tawa* Benth e *B. tarairi* Benth.

Alguns gêneros são panamericanos nativos como: *Beilchmiedia*, *Cryptocarya*, *Persea*, *Phoebe*, *Litsea* e *Cassytha*, outros são restritos a Ásia e Austrália: *Actinodaphne*, *Cinnamomum*, *Dehaasia*, *Endiandria*, *Eusideroxylon*, *Lindera*, *Hexapora* e *Neolitsea*.

Os gêneros indígenas *Persea*, *Laurus* e *Apollonias* estão presentes nas ilhas Atlânticas. A espécie *Apollonias barbujana* constitui um dos principais elementos arbóreos da floresta sempre verde das ilhas Canárias e Madeira.

Os gêneros americanos mais encontrados são: *Ocotea*, *Nectandra*, *Aiouea*, *Aniba*, *Dicypellium*, *Licaria*, *Mezilaurus*, *Phyllostemonodaphne*, *Urbanodendron* e na América do Norte encontra-se *Beilschmiedia*, *Cryptocarya* *Litsea* [3].

1.3 Importância Econômica

Embora as lauráceas sejam consideradas elementos florestais de grande importância, poucas espécies têm atingido mais que posição econômica. O produto mais importante comercializado é o abacate (*Persea americana* Miller) no qual o fruto é utilizado principalmente como alimento, sendo sua polpa empregada também como base na produção de cosméticos. Na seqüência de produtos comestíveis e de especiarias incluem-se *Laurus nobilis* Linn., *Cinnamomum zeylanicum* Breyn., *Cryptocarya moschata* Mez. e *Decypellium caryophyllaceum* [6].

O gênero *Cinnamomum* fornece cânfora a partir da destilação da madeira de *Cinnamomum canfora* Nees, e uma leve fragrância é obtida a partir das flores em botão de *C. cassia* Nees. O “óleo de *Cinnamomum*” produzido a partir do arbusto ou de pequenas árvores de *C. zeylanicum* Breyn. é usada em medicina e como aromatizante.

As madeiras de espécies de *Ocotea* são utilizadas nas fabricações de móveis e em construção, sendo muito apreciadas por sua resistência. *Ocotea bullata* E. Mey é

comumente usada no sul da África para a fabricação de móveis. O óleo essencial obtido de *O. opifera* Velloso é empregado para combater o reumatismo, artrismo e paralisias. De *O. pretiosa* (Nees) Mez, “*Canela imbuia*” e *O. porosa* Nees são extraídos óleos essenciais, usados em perfumarias.

O estudo fitoquímico de *Ocotea glaziovii* Mez. levou ao isolamento de “Glaziovina” (Fig. 36, pág. 15), uma substância empregada nos EUA como ansiolítico que não possui contra indicações.

O gênero *Sassafras* que ocorre tanto no leste da Ásia (China) quanto na parte atlântica da América do Norte fornece um material aromatizante muito usado em cosméticos, que é obtido da casca de suas raízes e *Sassafras albidum* Nees, espécie nativa do sudeste da América do Norte onde sua madeira é usada na fabricação de cercas.

As folhas do Loureiro *Laurus nobilis* Linn. ou “magnólia da virgínia” produzem óleo valioso para a perfumaria e eram usadas pelos antigos romanos e gregos para confeccionar coroas com as quais homenageavam guerreiros e atletas vitoriosos.

A madeira de *Aniba perutilis* Hemsl. é valiosa em construção e confecção de móveis. *A. rosaeodora* Ducke., popularmente conhecida como “pau rosa” é uma importante fonte de óleos essenciais. Essa planta encontra-se em extinção devido ao corte e exportação desenfreados de sua madeira.

Edlicheria sericea Nees, árvore encontrada na floresta da Índia e Venezuela, fornece uma ótima madeira para a fabricação de móveis. *Nectandra pichury* Nees é uma espécie aromática usada no Brasil como tônico e adstringente [2].

1.4 Principais Classes de Constituintes

O perfil químico de lauráceas não foi ainda elaborado, devido à existência de poucos trabalhos envolvendo o estudo fitoquímico de espécies dessa família, mas um trabalho de revisão de quimiossistemática foi publicado por Gottlieb e col. Ela é portadora de alcalóides benzilisoquinólicos, arilpropanóides, lignanas, neolignanas, nitroderivados, ésteres derivados de ácido benzóico, pironas, flavonóides, benzofenonas, ácidos graxos, alcenos e alcinos de cadeia longa, monoterpenos e sesquiterpenos. A química da família é complexa, apresentando componentes micromoleculares de grande diversidade estrutural [2].

1.5 Gênero *Nectandra*

Esse gênero foi primeiro descrito por Rottboell (1778) com duas espécies *N. sanguinea* e *N. bijuga* baseando-se nas anotações de Rolander. O nome *Nectandra* tem origem em uma misteriosa interpretação da estrutura das flores, possuidora de nove estames com lóbulos de néctar.

Nectandra é o segundo maior gênero de Lauraceae, com cento e quatorze espécies, das quais, aproximadamente 10 % são conhecidas, sendo *Ocotea* o gênero principal possuindo entre trezentas a quinhentas espécies [7]. São arbustos ou árvores, que podem chegar até 40 m de altura, e normalmente estão entre 8 a 15 m. O gênero apresenta certa semelhança morfológica com o gênero *Ocotea*, levando assim a semelhança nos nomes

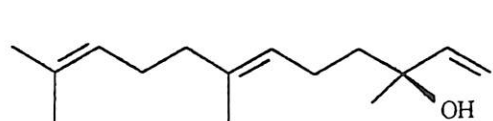
dos gêneros e de espécies tais como: *Nectandra* (*Ocotea*) *rodiei* R. Shomb., *Nectandra* (*Ocotea*) *pichurim* (HBK) Mez. e *Nectandra elaiophora* (*Ocotea barcelensis*) Barb Rodr. [8,9,10]. A maioria das espécies são árvores arbustos encontradas em bosques úmidos.

O gênero se distribui na América tropical e subtropical, incluindo as Antilhas. O maior centro de diversidade se encontra nas falhas orientais, nos Andes e na região adjacente à Amazônia Peruana.

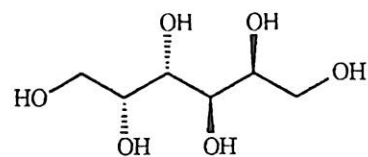
Na pesquisa bibliográfica realizada durante o presente trabalho, foram encontradas vinte e uma espécies estudadas. O estudo fitoquímico tem recebido muita atenção especialmente de Gottlieb e seu grupo. Entretanto este gênero é pouco conhecido, observando-se um perfil químico caracterizado pela frequência de lignóides e arilpropanóides. Nessas classes encontra-se; Bis- aril propanóide ($C_6C_3-C_6C_3$) como as lignanas e neolignanas resultantes da dimerização de duas unidades fenilpropanóídicas, fenilpropanóides com esqueleto básico C_6C_3 , como alilfenóis ou propenilfenóis, derivados biossinteticamente do ácido cinâmico e álcool cinamílico [11].

Tabela 2 : Classes de metabólitos secundários encontrados no gênero *Nectandra*

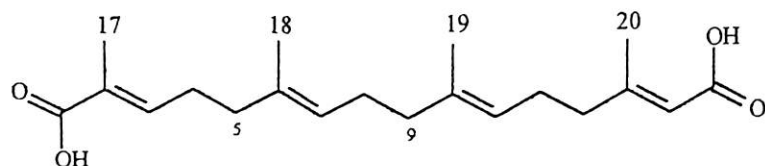
Espécies	Material para estudo	Substâncias isoladas	Ref.
<i>N. amazonums</i> (Nees.) Brasil	Fruto	1, 2, 4, lignanas furofurânicas 58 e 59	12
<i>N. coto</i> Rusby. EUA	Casca	9, 9a, 9b, 11 e 12	13
<i>N. pichurim</i> Mez. (<i>O. pichurim</i> HBK.)	Folhas	Alcalóides aporfinicos: 18 e 19	9
<i>N. miranda</i> (San) dev. Brasil	Madeira	Neolignanas: 40, 41, 43 e 43a, 44, 47, 47a, 48, 49 e 50	14
<i>N. elaiophora</i> Barb. Rodr. (<i>O. barcellensis</i>)	Madeira	13	10
<i>N. glabrescens</i> (Beth) Brasil	Fruto	7b, 7c, 8a, 8b Neolignanas 41 e 42 Flavonóides 15a e 15b	12
<i>N. megapotamica</i> (S. preg.) Chodat et Massler Brasil	Casca	Alcalóides indólicos 16 e 17	15
<i>N. polita</i> Colômbia	Madeira	6, 7b, 7a. Neolignanas, 46, 46a e 46b	16
<i>N. puberula</i> (Schott) Nees. Brasil	Casca	6,3, Neolignanas 45, 55, 56, 5a e 56b	17
<i>N. rigida</i> (Nees.) Brasil	Casca	Alcalóide aporfinicos: 20. Neolignanas: 41, 52, 55 e 57	18
<i>N. rodiei</i> (Shomb.) Brasil	Casca	Alcalóides: 38a e 38b	8
<i>N. rubra</i> (Mez.) Brasil	Madeira	5a e 5b	19
<i>N. saligna</i> Argentina	Casca	Alcalóides aporfinicos: 21 e 27.	20
<i>N. sp</i> (Kubitzki) Brasil	Madeira	Neolignanas, 43, 47, 47a, 48 e 51	21
<i>N. turbacensis</i> (HBK) Nees Brasil	Madeira	14. lignanas furofurânicas. 57, 59, 60, 61 e 62	22
<i>N. grandeflora</i>	Raízes	Alcalóides aporfinicos 23, 24 e 18	23
<i>N. salicifolia</i> (H.B.K) Nees Costa Rica	Raízes	18, 26, 23, 25, 27, 28, 29, 30, 36, Alcalóides aporfinicos 31, 32, 33, 34, 35, Alcalóide benziltetrahydroisoquinolínico 36 Alcalóide isoquinolínico 39 Alcalóide benzilisoquinolínicos	24
<i>N. membranacea</i> Costa Rica, Brasil	Folhas	Alcalóides aporfinicos: 22, 18, 37 Óleo essencial: Monoterpenos 63. Sesquiterpenos: 65, 66, 67	25 26
<i>N. mollis</i> Brasil	Folhas	óleo essencial: monoterpenos: 64, sesquiterpenos: 67, 68 e 69. Substância aromática 70.	26
<i>N. nitidula</i> Brasil	Folha	óleo essencial: monoterpenos: 63, sesquiterpenos: 71, 72 e 73.	26
<i>N. reticulata</i> Brasil	Folhas	óleo essencial: monoterpenos: 64, sesquiterpenos: 66, 73 e 69	26



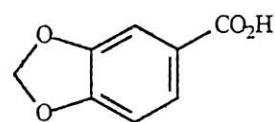
1 : Nerolidol



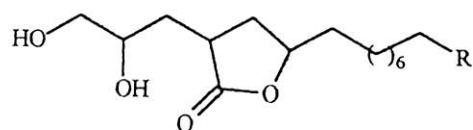
2 : Manitol



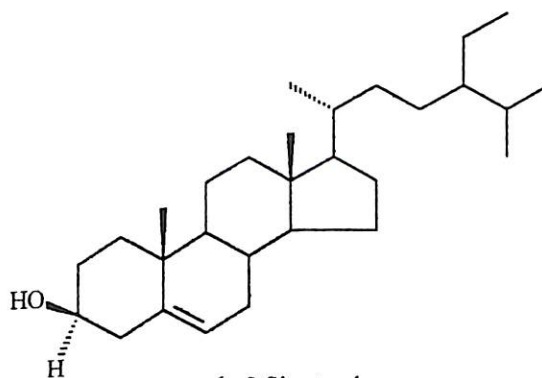
3 : Ácido geranylgeranodióico



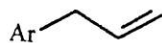
4 : Ácido piperonílico



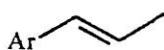
5a: R = CH₂=CH-
 5b: R = HC≡C-
 } Rubrenolídeo



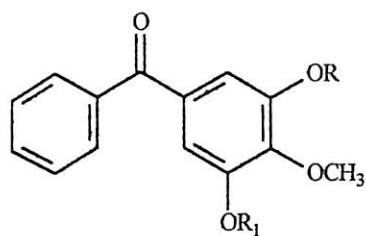
6 : β-Sitosterol



7a : Ar = Ve - O - Metil eugenol
 7b : Ar = Gu - Eugenol
 7c : Ar = Pi - Isoeugenol

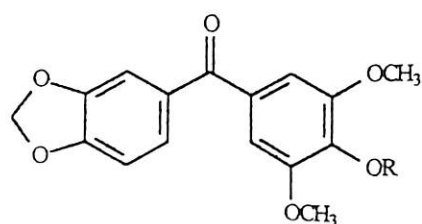


8a : Ar = Gu - Safrol
 8b : Ar = Pi - Isosafrol

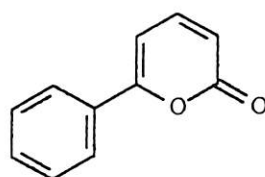


9 : R = R₁ = H - Cotoína
 9a : R = H; R₁ = CH₃
 9b : R = R₁ = C₂H₅
 } derivados

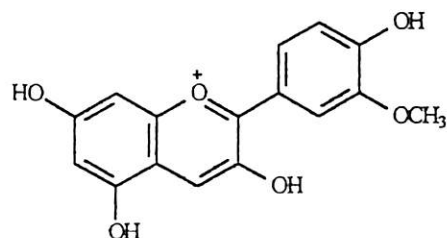
Figura 1 : Substâncias isoladas de espécies do gênero *Nectandra*.



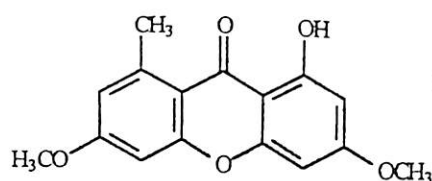
10 : R = H }
11 : R = Me } derivados



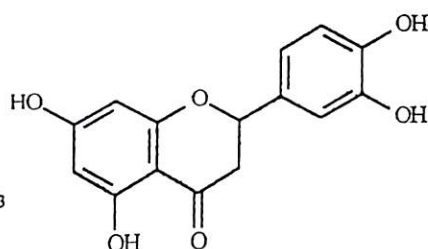
12 : Fenil cumarina



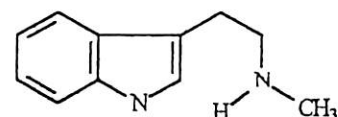
13 : Peonidina



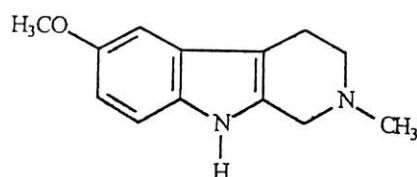
14 : Liquexantona



15a : $\Delta^{2,3}$
15b : 2,3 diidro

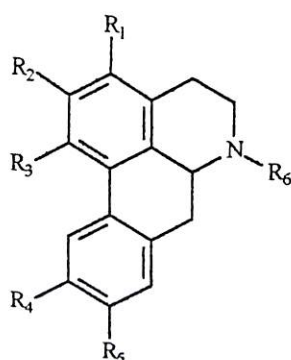


16 : N - metil triptamina



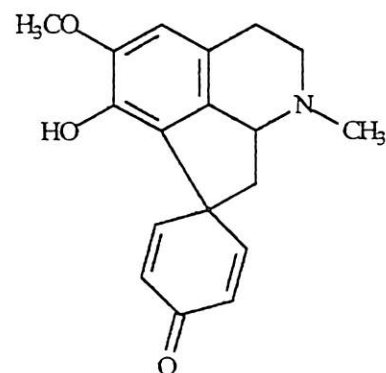
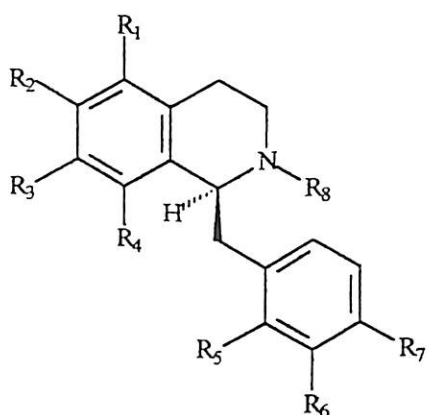
17 : 6-metoxi-N-metil-1,2,3,4-tetrahidro- β -carbolina

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6



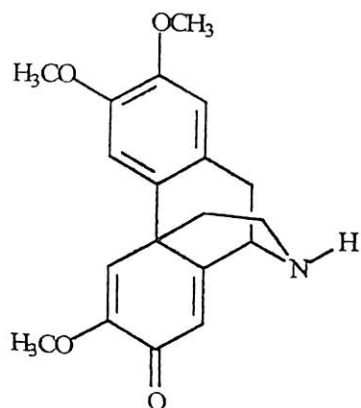
- | | | |
|------|--|-------------------------|
| 18 : | H , OCH ₃ , OH , OCH ₃ , H , CH ₃ | - Isobaldina |
| 19 : | H , OCH ₃ , OCH ₃ , OCH ₃ , OCH ₃ , CH ₃ | - Glaucina |
| 20 : | H , OCH ₃ , OH , OCH ₃ , H , H | - Laureliptina |
| 21 : | OCH ₃ , OCH ₂ O , OCH ₃ , OCH ₃ , CH ₃ | - Ocoteina |
| 22 : | H , H , H , OH , H , CH ₃ | - Apoglaziovina |
| 23 : | OCH ₃ , OH , H , H , OH , OCH ₃ | - Lauroletsina |
| 24 : | OCH ₃ , OCH ₃ , H , H , OH , OCH ₃ | - Laurotetamina |
| 25 : | OCH ₃ , OCH ₃ , OCH ₃ , OCH ₃ , OCH ₃ , H | - N-orpupureina |
| 26 : | H , OH , OCH ₃ , OCH ₃ , OH , CH ₃ | - Baldina |
| 27 : | 21 com dupla em 6 a 7 | |
| 28 : | H , OCH ₃ , OCH ₃ , OH , OCH ₃ , CH ₃ | - Isocorydina |
| 29 : | H , OCH ₃ , OCH ₃ , OH , OCH ₃ , H | - Norisocorydina |
| 30 : | H , OCH ₃ , OCH ₃ , OCH ₃ , OH , OCH ₃ | - N-metil-laurotitamina |

Figura 1 : (Continuação)

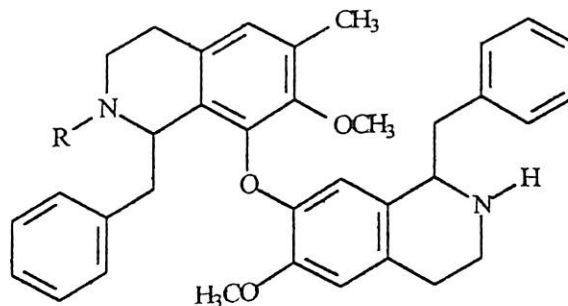


36 : Glaziovina

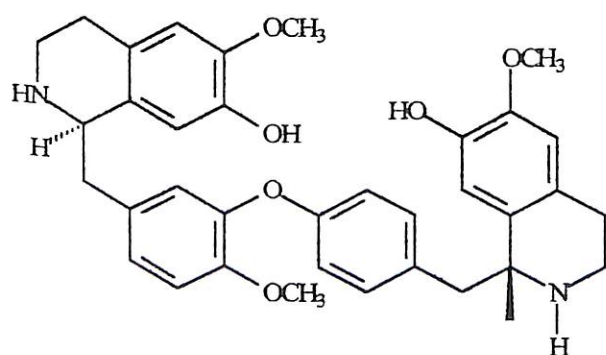
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	
31 :	H	OCH ₃	OH	H	OH	H	H	H	- Coclaurina
32 :	H	OCH ₃	OH	H	H	H	OH	CH ₃	- N-metilcoclaurina
33 :	H	H	OCH ₃	OH	H	H	OH	CH ₃	- Yuziphina
34 :	H	H	OCH ₃	OH	H	H	OH	H	- Noryuziphina
35 :	H	OCH ₃	OH	H	H	OH	OCH ₃	H	- Reticulina



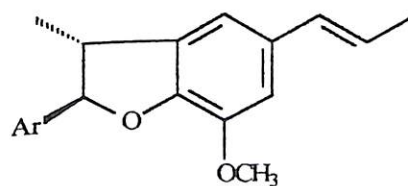
37 : Sebeferina



38a : 12 e 11' (-H); R = CH₃ - Ocotina
 38b : 12 - 11' (-O-); R = -H - Seperina

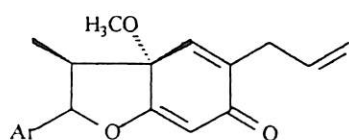
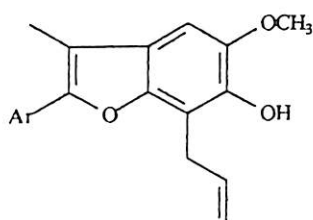


39 : Costaricina

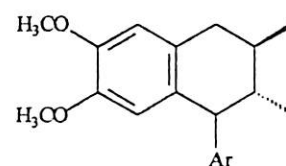


40 : Ar = Tp - Licarina C
 41 : Ar = Gu - Licarina A
 42 : Ar = Pi - Licarina E

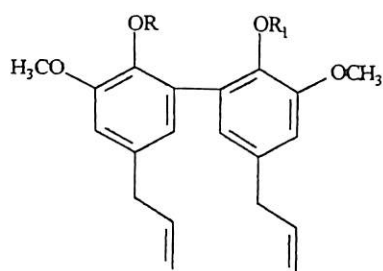
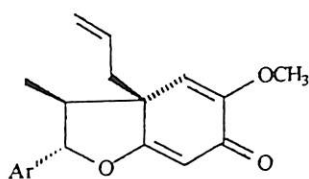
Figura 1 : (Continuação)

43 : Ar = α - Tp - Mirandina A43a : Ar = β - Tp - Mirandina B

44 : Ar = Tp

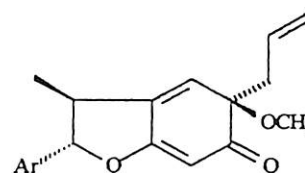


45 : Ar = Ve

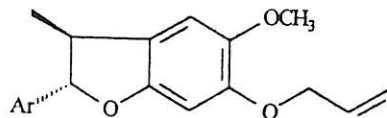
46 : R = R₁ = H46a : R = CH₃, R₁ = H46b : R = R₁ = CH₃

47 : Ar = Ve - Burchelin

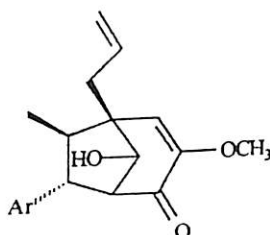
47a : Ar = Tp



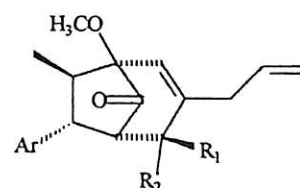
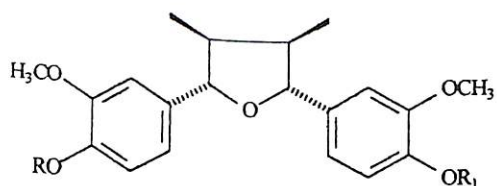
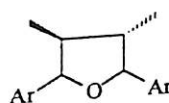
48 : Ar = Tp



49 : Ar = Tp



50 : Guaianina

51 : R₁ = H, R₂ = OH - Macrophyllir52 : R = R₁ = CH₃ - Galgravina53 : R = H, R₁ = CH₃ - Nectrandrina A54 : R = R₁ = H

55 : Ar = Ve

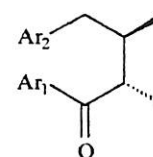
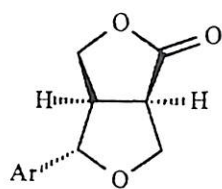
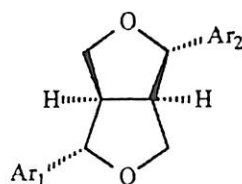
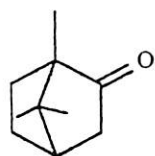
56 : Ar₁ = Pi, Ar₂ = Gu56a : Ar₁ = Ar₂ = Pi56b : Ar₁ = Pi, Ar₂ = Ve

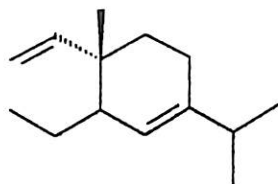
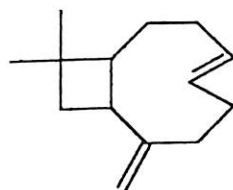
Figura 1 : (Continuação)



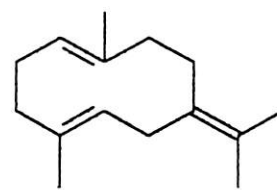
57 : Ar = Me - Glaberina

58 : Ar₁ = Ar₂ = Ve - Metilpiperitol59 : Ar₁ = Ar₂ = Pi - Sesamina60 : Ar₁ = Pi, Ar₂ = Mp - Dimetoxiexcelsina61 : Ar₁ = Pi, Ar₂ = Gu - Piperitol62 : Ar₁ = Gu, Ar₂ = Mp - Metoxipiperitol

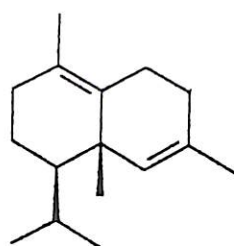
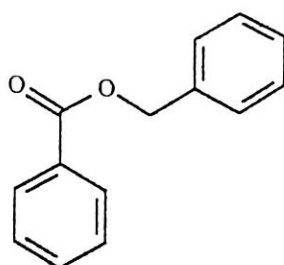
63 : Cânfora

64 : α - Pineno65 : γ - Elemeno

66 : Trans Cariofileno



67 : Germacreno B

68 : γ - Cadineno

69 : Benzoato de benzila

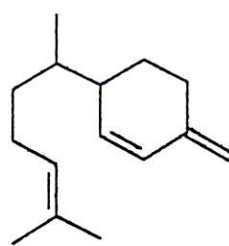
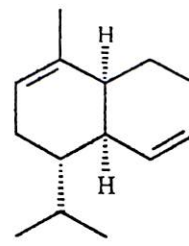
70 : β - Sesquifilandreno71 : α - Muroleno

Figura 1 : (Continuação)

1.6 Descrição botânica da Planta

A espécie *Nectandra membranacea* (Spreng.) Hassler é uma árvore com tronco de casca lisa, esverdeada, râmulos sub-angulosos, tomentosos, folhas alternas, lanceoladas, membranaceas a cartáceas, 10,0-16,0-21,0 cm comp., 2,7-2,9-4,1 cm larg., ápice agudo a acuminado, base aguda, sub-revoluta, principalmente na base, discolor verde, padrão de nervação camptódroma, face adaxial glabrescente, nervura primária e nervuras secundárias plano-achatadas, face abaxial glabrescente a tomentosa, com nervuras primárias e secundárias delgadas, proeminentes, reticulado laxo, nervuras terciárias perpendiculares a nervura primária; pecíolo delgado, 0,8-2,0 cm comp., canaliculado. Inflorescência tirsóide heterocládico disjunto, paracládios de 1 ordem, 28,5 cm comp., paracládios de 2 ordem 11,0-16,4 cm comp., paracládios de 3 ordem 3,0-5,5 cm comp., paracládios de 4 ordem 1,0-1,5 cm comp., pedicelos 0,4-0,5 cm comp., com prófilos terminados em 3 flores. Flores hermafroditas, aureo-tomentosas, 0,4-0,6 cm comp., cálice curto, cônico, tépalas 1,5-1,6 mm comp., oblongo-lanceoladas, levemente papilosas, anteras de primeira e segunda séries transversalmente elípticas a trapeziformes, ápice obtuso a truncado, 0,5-0,7 mm comp., papilosas, introrsas, 0,3-0,4 mm comp., glabro, mais delgado que antera, anteras da terceira série retangulares a obtrapeziformes, extrorsas, 0,5-0,6 mm comp., papilosas, filetes com mesma largura que antera, 0,6-0,7 mm comp., com glândulas globosas, glabras, Quarta série estaminodial clavada, 0,5-0,6 mm comp., pilosa e papilosa, hipanto piloso, ovário elipsóide 0,75 mm comp., glabro, estilete 0,75 mm comp., estigma indiviso; Fruto baga globosa, 1,1-

1,4 mm comp., 0,6-0,7 mm diâm., envolvida por cúpula, 0,6-0,7 cm comp., 1,0-1,2 cm diâm., cobrindo metade do fruto, pedicelo clavado.

Tempo de floração: junho a dezembro na Costa Rica e Panamá, junho a outubro nas Antilhas, maio a setembro e algumas vezes em dezembro na Venezuela, janeiro a março no sudeste e oeste do Brasil, dezembro a janeiro na Bolívia, na Colômbia, Equador e Peru onde encontram-se os mais complicados exemplos, provavelmente dependendo da altitude ou de exposição solar.

Distribuição: no Brasil ocorre nos estados do Espírito Santo, Santa Catarina, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Rondônia além de países da América Central.

Nomes populares: canela (Minas Gerais); canela branca do brejo e canela fogo (Rio de Janeiro); canela caqui (Paraná); Injuva branca (São Paulo); louro graveto (Bahia); canela branca, canela nhaçara e canela branca miúda (Santa Catarina).

Importância econômica: Essa espécie é própria para obras internas de carpintaria e caixotaria. É empregada na medicina para cura de feridas através do uso externo de substâncias extraídas da casca [1,7].

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Materiais e Métodos

Para extrações, partições e sistemas cromatográficos foram utilizados solventes PA das marcas Merck, Grupo Químico e Vetec (os quais foram destilados para maior grau de pureza, em aparelhagem de destilação com coluna vigreux, de 1,5 m de comprimento).

A eliminação dos solventes do extrato orgânico, das frações de colunas cromatográficas e outros processos foi realizada em evaporador da marca BUCHI modelo RP-2 à pressão reduzida.

Nas separações cromatográficas em (CC) foi utilizada sílica gel Merck ou Vetec com 70-230 mesh (0,063-0,2 mm) como adsorvente. Para (CCDA) utilizou-se sílica gel G e H com espessura de 0,25 mm, e para (CCDP) sílica gel GF 254 com espessura de 1,00 e 4,00 mm. Em ambos os casos a sílica foi suspensa em água destilada e distribuída sobre placas de vidro, sendo preliminarmente desengordurada com água, detergente e acetona, utilizando-se espalhador da marca Quieft. As revelações foram

efetuadas por irradiação ultravioleta a 254 e 360 nm de comprimento de onda e/ou com vapores de iodo em cuba saturada e também em spray de sulfato de cério. Os espectros uni (1D) e bidimensionais (2D) foram obtidos em espectrômetros AC-200 e Advance 500 da BRUCKER, operando a 200 e 500 MHz para (RMN ^1H), 50,3 e 125 MHz para (RMN ^{13}C) com pulsos de frequência e transformada de Fourier existente na UFRRJ e UFC. As amostras para análise foram dissolvidas em CDCl_3 , tendo TMS como referência interna. Os deslocamentos químicos foram medidos em unidades ppm (δ) e as áreas relativas dos sinais foram obtidas por integração eletrônica. As constantes de acoplamento (J) foram medidas em (Hz).

Os espectros no IV foram obtidos em espectrômetro Perkin Elmer modelo 1420 e foram registrados em pastilhas de KBr ou filmes em janelas desmontáveis de NaCl. Os valores para as bandas de absorções, foram medidos em unidade de número de ondas (cm^{-1}) e os espectros calibrados com filme de poliestireno de 0,5 mm de espessura, utilizando-se a absorção em 1601 cm^{-1} como referência.

Adotou-se como critério de pureza, a obtenção de uma mancha única em camada delgada de sílica gel, variando-se por três vezes o sistema de eluentes. As misturas de solventes foram feitas (v/v) e revelação com vapor de iodo e/ou através de nitidez do ponto de fusão.

Os pontos de fusão (Pf) determinados em bloco de Kofler com microscópio não foram corrigidos.

Os espectros de massas foram obtidos em aparelho GC/MS modelo Hewlett Packard 5890 A, existente na UFRRJ.

2.2 Coleta da Planta

A espécie utilizada para o estudo foi coletada no topo da Serra do Camorim (Maciço da Pedra Branca) município do Rio de Janeiro em fevereiro de 1997, e registrada no herbário da FEEMA sob o (nº 85743-8). A classificação botânica foi realizada pelo Dr. Rogério R. de Oliveira.

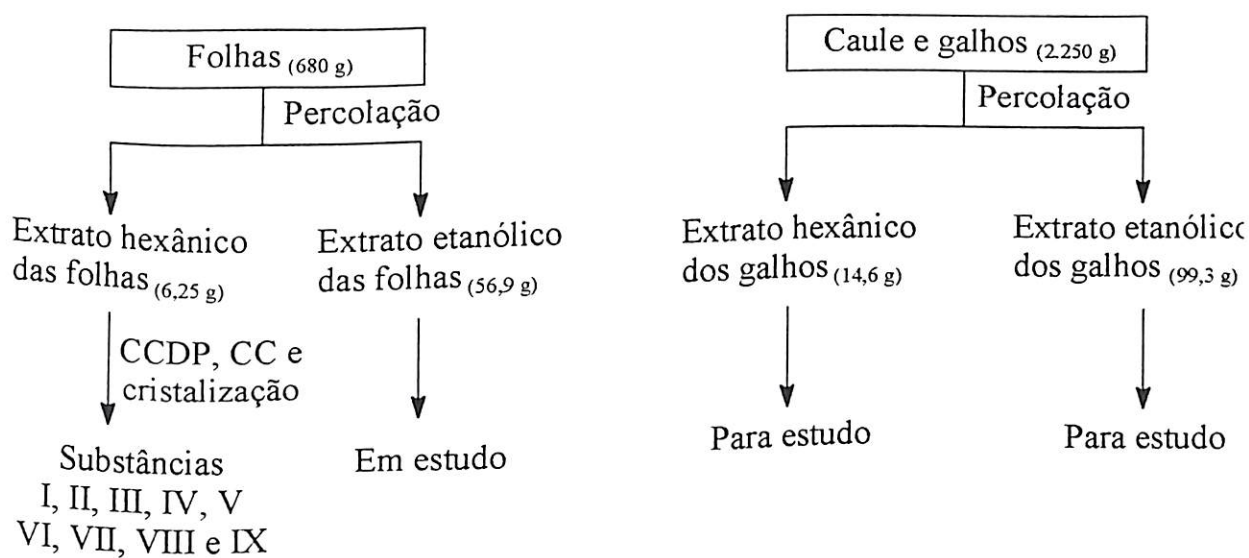
2.3 Preparação dos Extratos

O material foi separado em folhas, caules e galhos, e submetidos à secagem durante 30 dias. Posteriormente foram triturados em moinho de facas, obtendo-se 680 g de folhas e 2.250 g de madeira, que foram submetidos à extração por percolação a frio com hexano e posteriormente etanol 95 % a temperatura ambiente.

A destilação dos solventes foi realizada à pressão reduzida. Obtiveram-se as seguintes quantidades (Quadro 1):

Material vegetal	Extrato hexânico	Extrato etanólico
Folhas (680 g)	6,25 g	56,9 g
Caule e galhos (2.250 g)	14,6 g	99,3 g

Quadro 1 : Quantidade de material vegetal estudado e de extratos brutos obtidos de *N. membranacea* (Spreng.) Hassler.



Esquema 1 : Metodologia utilizada para obtenção dos extratos e dos constituintes químicos das folhas de *N. membranacea* (Spreng.) Hassler.

2.4 Isolamento e Purificação dos Constituintes Químicos do Extrato Hexânico das Folhas

O extrato hexânico das folhas (6,25g) foi fracionado em coluna de cromatografia utilizando para isso 150 g de sílica gel, usando como eluentes: hexano (puro), mistura de hexano-clorofórmio com polaridade crescente, clorofórmio (puro) e metanol (puro). Quadro 2

Frações	Eluente	Relação
1-62	Hexano	(100 %)
63-147	Hexano + Clorofórmio	(9:1)
148-162	Hexano + Clorofórmio	(8,5:1,5)
163-170	Hexano + Clorofórmio	(8:2)
171-266	Hexano + Clorofórmio	(7:3)
267-420	Hexano + Clorofórmio	(5:5)
421-464	Hexano + Clorofórmio	(3:7)
465-491	Clorofórmio	(100 %)
492-499	Metanol	(100 %)

Quadro 2 : Fracionamento cromatográfico em coluna do extrato hexânico (6,25 g) e os respectivos eluentes utilizados.

As 499 frações de 250 ml cada, após destilação do solvente sob pressão reduzida à vácuo foram analisadas por CCDA e reunidas, aquelas que se apresentaram com o mesmo Rf.

As frações reunidas foram submetidas a vários processos de purificação como: CC, CCDP de 1 e 4 mm, e recristalização que forneceu sesquiterpeno, esteróides, neolignanas diidrobencofurânicas e bicíclicas.

2.5 Frações Analisadas e Resultantes do Fracionamento Cromatográfico do Extrato

Hexânico de *N. membranacea* (Spreng.) Hassler.

Fração 72-94: apresentou aspecto oleoso de cor amarela. A fração foi submetida a CCDP, camada de 4 mm de sílica gel. A análise da placa preparativa sob lâmpada de UV, conduziu à separação de quatro frações. O material extraído com

CHCl_3 e metanol, filtração e evaporação do solvente, conduziu à identificação de espatulenol (I), 74,00 mg na fração 4.

Fração 135-136: Esta fração apresentou cristais em forma de agulha, imersos em material de aspecto oleoso de cor amarelo. Tratamento com metanol a quente forneceu uma parte cristalina e outra oleosa. A fração cristalina, após recristalizações sucessivas com metanol, forneceu a substância II, 52,0 mg como cristais incolores e Pf. 136-138 °C sendo identificada como β -sitosterol.

Fração 209-216: Apresentou material de consistência pastosa, cor marrom escura, que foi analisada por CCDP de 1 mm. Após análise sob lâmpada de UV a 254 nm, extração com clorofórmio/metanol e filtração, separaram-se três frações. A fração I revelou tratar-se de uma mistura de duas substâncias : rel-(7R,8R)- Δ^7 -3,4,5,3'-Tetrametoxi-7.O.4', 8.5'-neolignana (III) e rel-(7R,8R)- Δ^7 -3,4,3'-Trimetoxi-7.O.4', 8.5'-neolignana (IV).

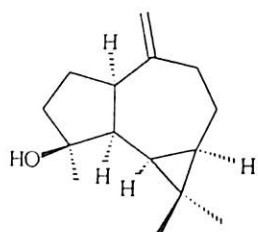
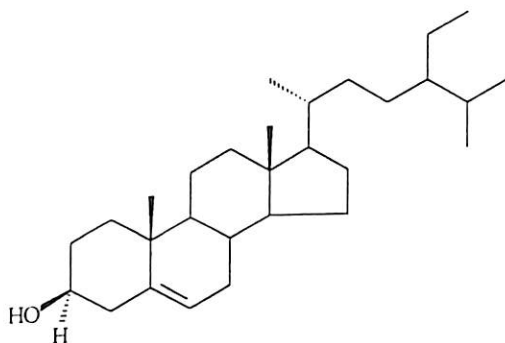
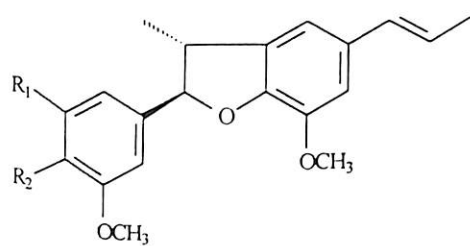
Fração 282-287: A fração mostrou uma coloração marrom escura, na qual apresentou 3 (três) manchas por análise em CCDA. Tentativas de purificação por recristalização em acetona, metanol ou mistura, não conduziram ao resultado desejado. Essa fração reunida foi submetida a novo fracionamento cromatográfico em coluna de sílica gel, utilizando-se hexano, clorofórmio:hexano (3:7) e metanol como eluentes. Recolheram-se vinte e sete frações. À análise dessas frações por CCDA, reuniu-se em 1-9, 10-16, 17-22, 23, 24, e 25-27. A fração 10-16, material amarelo, revelou tratar-se de (7R,8R)- Δ^7 -4-Hidroxi-3,5,3'-trimetoxi-7.O.4', 8.5'-neolignana (V). A fração 23, após secagem, apresentou cristais incolores em forma de agulhas 43,0 mg. A análise dos dados espectrais

permitiu identificar o material como sendo Tetra-O-acetil- β -D-glicopiranosil sitosterol (VI).

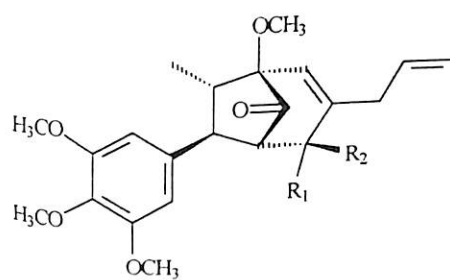
Fração 469: Material de aspecto verde escuro e pastoso. A análise por CCDA revelou a presença de várias substâncias, podendo observar-se, após revelação em vapores de iodo, quatro manchas fracas menos polares e cinco manchas fortes mais polares. Tentativas de purificação da parte mais polar por CCDP, usando como eluente, hexano e clorofórmio (3,5:6,5) e eluição por duas vezes, conduziu à separação de sete frações. Após extração com clorofórmio e metanol, filtração e evaporação do solvente, conduziu a duas frações que se apresentaram com menor teor de graxa, permitindo a identificação dos componentes após análise espectral: rel-(7S,8S,2'R,3'S,5'S)- $\Delta^{6',8'}$ -2'-Hidroxi-3,4,5,5'-tetrametoxi-4'-oxo-8.5',7.3'-neolignana (VII), rel-(7S,8S,1'R,3'S,4'R)- $\Delta^{5',8'}$ -4'-Hidroxi-3,4,5,5'-tetrametoxi-2'-oxo-8.1',7.3'-neolignana (VIII), e rel-(7S,8S,2'S,3'S,5'S)- $\Delta^{6',8'}$ -2'-Hidroxi-3,4,5,5'-tetrametoxi-4'-oxo-8.5',7.3'-neolignana (IX).

2.6 Constituintes Químicos Isolados das Folhas de *N. membranacea* (Spreng.) Hassler.

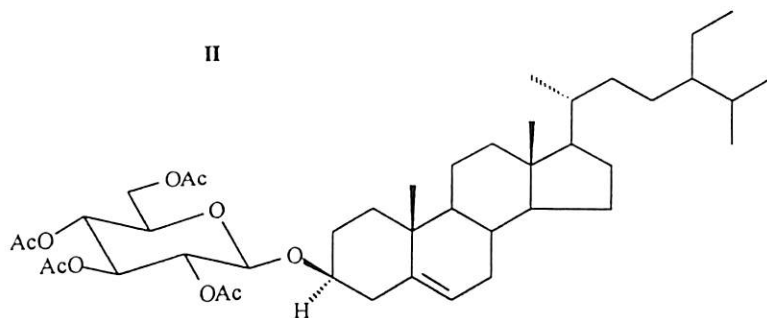
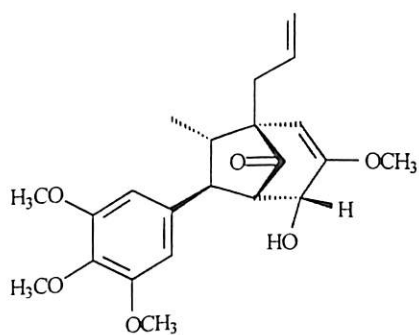
O presente trabalho desenvolvido com esta espécie permitiu o isolamento e a caracterização de seis neolignanas (III, IV, V, VII, VIII e IX), dois esteróides (II e VI) e um sesquiterpeno (I).

**I****II**

III : $R_1, R_2 = \text{OCH}_3$
 IV : $R_1 = \text{H}; R_2 = \text{OCH}_3$
 V : $R_1 = \text{OCH}_3; R_2 = \text{OH}$



VII : $R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{H}$
 IX : $R_1 = \text{H}; R_2 = \text{OH}$

**VI****VIII**

2.7 Dados Físicos e Espectroscópicos dos Constituintes de *N. membranacea* (Spreng.)

Hassler.

Espatulenol (I) $C_{15}H_{23}OH$, óleo de cor amarelo. IV ν_{max}^{film} (cm^{-1}) 3393, 3080, 2927, 2863, 1636, 1455, 1375, 1293, 1096, 888. RMN 1H (200 MHz, $CDCl_3$, Hz, δ): 0,40 (dd, $J = 11,1$; 9,4 Hz, H-6), 0,60 (dl, $J = 9,4$ Hz, H-7), 0,90 (m, H-8b), 1,01 (s, H-12), 1,02 (s, H-13), 1,25 (s, H-15), 1,30-1,86 (m, H-3), 1,50-1,80 (m, H-2), 1,27 (dd, $J = 15,8$; 11,1 Hz, H-5), 1,90 (m, H-8a), 1,95 (m, H-9b), 2,12 (d, $J = 15,8$ Hz, H-1), 2,36 (m, H-9a), 4,63-4,64 (m, H-14). RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$, Hz, δ): 16,29 (C-12), 20,20 (C-11), 24,72 (C-8), 26,03 (C-15), 26,35 (C-2), 27,43 (C-7), 28,61 (C-13), 29,88 (C-6), 38,82 (C-9), 41,70 (C-3), 53,36 (C-1), 54,26 (C-5), 80,91 (C-4), 106,22 (C-14), 153,37 (C-10). EMIE (70 eV) m/z (int. rel): 220 (M^{+} , 9), 205 (51), 202 (16), 177 (13), 159 (33), 91 (47), 43 (100).

β -Sitosterol (II), $C_{29}H_{49}O$, cristais em forma de agulha incolores, Pf 136-138 °C (metanol), Lit. 137-138 °C [28]. IV ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}) 3423, 2936, 2856, 1737, 1646, 1463, 1376, 1329, 1132, 1058, 802. RMN 1H (200 MHz, $CDCl_3$, Hz, δ): 0,65 (s, H-18), 0,78 (d, $J = 4,0$ Hz, H-27), 0,79 (d, $J = 4,0$ Hz, H-26), 0,82 (t, $J = 5,7$ Hz, H-29), 0,89 (d, $J = 6,0$ Hz, H-21), 0,93 (s, H-23), 0,98 (s, H-19), 1,51 (m, H-7), 1,98 (m, H-8), 2,25 (m, H-4), 3,51 (m, H-3), 5,31 (d, $J = 6,5$ Hz, H-6). RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$, Hz, δ): 11,8 (C-18), 12,0 (C-29), 18,8 (C-21), 19,0 (C-26), 19,2 (C-27), 19,4 (C-19), 21,1 (C-11), 23,0 (C-28), 24,3 (C-15), 26,0 (C-23), 28,2 (C-16), 29,1 (C-25), 31,6 (C-2), 31,9 (C-7), 31,9 (C-8), 33,9 (C-22), 36,1

(C-10), 36,5 (C-20), 37,2 (C-1), 39,8 (C-12), 42,3 (C-13), 42,3 (C-4), 45,8 (C-24), 50,1 (C-9), 56,0 (C-17), 56,8 (C-14), 71,7 (C-3), 121,7 (C-6), 140,7 (C-5).

209-221 - rel-(7R,8R)- $\Delta^{7'}$ -3,4,5,3'-Tetrametoxi-7.O.4',8.5'-neolignana (III). Óleo de cor amarela. $[\alpha]_D^{20} + 31^\circ$ (CHCl₃ c 0,075). IV ν_{max}^{filme} : 3471, 2929, 2854, 1713, 1594, 1499, 1460, 1423, 1365, 1328, 1231, 1129, 1007, 964, 893, 836, 724. RMN ¹H; (500 MHz, CDCl₃, Hz, δ): 1,39 (d, J = 6,4 Hz, H-9), 1,85 (d, J = 6,3 Hz, H-9'), 3,45 (dq, J = 9,2; 6,4 Hz, H-8), 3,82 (s, OCH₃-4), 3,83 (s, OCH₃-3,5), 3,84 (s, OCH₃-3'), 5,07 (d, J = 9,2 Hz, H-7), 6,09 (dq, J = 16,2; 6,3 Hz, H-8), 6,35 (d, J = 16,2 Hz, H-7'), 6,63 (s, 2H-2,6), 6,75 (s, H-6'), 6,78 (s, H-2'). RMN ¹³C; (125 MHz, CDCl₃, Hz, δ) : 17,86 (C-9), 18,05 (C-9'), 45,74 (C-8), 56,00 (OCH₃-3'), 56,23 (2 OCH₃-3,5), 60,89 (OCH₃-4), 93,82 (C-7), 103,59 (C-2,6), 109,35 (C-2'), 113,35 (C-6'), 123,66 (C-8'), 130,92 (C-7'), 132,84 (C-1'), 133,15 (C-5'), 135,90 (C-1), 138,02 (C-4), 144,23 (C-3'), 146,55 (C-4'), 153,38 (C-3,5).

-rel-(7R,8R)- $\Delta^{7'}$ -3,4,3'-Trimetoxi-7.O.4',8.5'-neolignana (IV). Óleo de cor amarela. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, Hz, δ) : 1,46 (d, J = 6,6 Hz; H-9), 1,91 (d, J = 7,1 Hz, H-9'), 3,45 (dq, J = 9,1, 6,6 Hz, H-8), 3,84 (s, OCH₃-3'), 3,88 (s, 2 OCH₃-3,4), 5,22 (d, J = 9,1, H-7), 5,70 (dq, J = 16,5; 6,6 Hz, H-8'), 6,40 (d, J = 16,2 Hz, H-7'), 6,61 (s, H-2'), 6,64 (s, H-6'), 6,72 (m, H-5), 6,77 (m, H-6), 6,80 (m, H-2). RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃, Hz, δ) : 17,91 (C-9), 18,76 (C-9'), 45,01 (C-8), 56,00 (OCH₃-3'), 56,14 (2 OCH₃-3,4), 94,98 (C-7), 109,35 (C-2), 111,91 (C-2'), 112,68 (C-5), 116,39 (C-6'), 120,04 (C-6), 123,66 (C-8'), 130,92 (C-7'), 131,65 (C-1), 133,51 (C-5'), 133,55 (C-1'), 144,23 (C-3'), 145,04 (C-4'), 146,07 (2C-3,4).

282-287 - rel-(7R, 8R)- Δ^7 -4-Hidroxi-3,5,3'-trimetoxi-7.O.4',8.5'-neolignana (V), óleo de cor amarela. $[\alpha]_D^{20} + 71^\circ$ (CHCl₃ c 0,115). IV $\nu_{\max}^{\text{filme}}$ (cm⁻¹) : 3424, 2921, 2851, 1730, 1682, 1607, 1495, 1460, 1326, 1215, 1119, 963, 837. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, Hz, δ) : 1,47 (d, J = 6,6 Hz, H-9), 1,95 (d, J = 6,5 Hz, H-9'), 3,55 (dq, J = 9,5; 6,6 Hz, H-8), 3,97 (s, 2 OCH₃-3,5), 3,98 (s, OCH₃-3'), 5,15 (d, J = 9,5 Hz, H-7), 6,19 (dq, J = 15,5; 6,5 Hz, H-8'), 6,45 (d, J = 15,5 Hz, H-7'), 6,75 (s, H-2,6), 6,85 (s, H-6'), 6,87 (s, H-2'). RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃, Hz, δ) : 17,61 (C-9), 18,42 (C-9'), 45,75 (C-8), 55,97 (OCH₃-3'), 56,41 (2 OCH₃-3,5), 94,13 (C-7), 103,52 (C-2,6), 109,28 (C-2'), 113,32 (C-6'), 123,61 (C-8'), 130,94 (C-7'), 131,25 (C-1), 132,33 (C-1'), 133,22 (C-5'), 134,83 (C-4), 144,21 (C-3'), 147,08 (C-3,5), 147,22 (C-4'). EMIE (70 eV) m/z (int. rel) : 356 (M⁺, 100), 341 (40), 325 (9), 208 (1), 207 (17), 189 (1), 181 (9), 175 (1), 167 (18), 148 (1), 91 (9).

Tetra-O-acetil- β -D-glicopiranosil sitosterol (VI), cristais incolores, Pf. 162-164 °C (CHCl₃) IV $\nu_{\max}^{KBr}$ (cm⁻¹) : 2957, 2863, 1751, 1685, 1462, 1375, 1224, 1163, 1104, 1046. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, Hz, δ) : 0,67 (s, H-18), 0,81 (d, J = 7,0 Hz, H-27), 0,83 (d, J = 6,8 Hz, H-26), 0,84 (t, J = 7,3 Hz, H-29), 0,92 (d, J = 6,5 Hz, H-21), 0,98 (s, H-19), 1,40 (m, H-7a), 1,95 (m, H-7b), 1,99 (m, CH₃CO-), 2,01 (m, CH₃CO), 2,04 (m, CH₃CO), 2,07 (m, CH₃CO), 2,10 (m, H-4), 3,48 (m, H-3), 3,67 (m, H-5'), 4,11 (dd, J = 12,2; 2,6 Hz, H-6'b), 4,25 (dd, J = 12,2; 4,9 Hz, H-6'a), 4,59 (d, J = 7,9 Hz, H-1'), 4,95 (dd, J = 9,4; 7,9 Hz, H-2'), 5,06 (t, J = 9,4 Hz, H-4'), 5,20 (t, J = 9,4 Hz, H-3'), 5,35 (d, J = 5,2 Hz, H-6). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, Hz, δ) : 11,84 (C-18), 11,93 (C-29), 18,77 (C-26), 19,04 (C-21), 19,33 (C-19), 19,78 (C-27), 20,61-20,67 (4 CH₃CO), 23,10 (C-28), 24,27 (C-15), 26,15 (C-23), 28,21 (C-16), 29,21 (C-25), 29,46 (C-2), 31,89 (C-7,8), 33,97 (C-22), 36,12 (C-

20), 36,72 (C-10), 37,21 (C-1), 38,93 (C-4), 39,78 (C-12), 42,34 (C-13), 45,88 (C-24), 50,09 (C-17), 50,21 (C-9), 56,77 (C-14), 62,15 (C-6'), 68,64 (C-4'), 71,57 (C-2'), 71,72 (C-5'), 72,96 (C-3'), 80,05 (C-3), 99,64 (C-1'), 122,14 (C-6), 140,37 (C-5), 169,22 (CH₃CO-2'), 169,34 (CH₃CO-4'), 170,26 (CH₃CO-6'), 170,60 (CH₃CO-3').

469-4 - rel-(7S,8S,2'R,3'S,5'S)- $\Delta^{6',8'}$ -2'-Hidroxi-3,4,5,5'-tetrametoxi-4'-oxo-8.5',7.3'-neolignana (**VII**), óleo incolor. $[\alpha]_D^{20}$ - 48° (CHCl₃ c 0,17). IV ν_{max}^{filme} (cm⁻¹): 3473, 3076, 2935, 2840, 1755, 1709, 1640, 1591, 1508, 1460, 1427, 1355, 1327, 1240, 1187, 1126, 1069, 1005, 921, 825. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, Hz, δ): 1,10 (d, J = 6,6 Hz, H-9), 2,24 (dd, J = 8,4; 6,6 Hz, H-8), 2,58 (d, J = 4,3 Hz, H-3'), 2,90 (d, J = 8,4 Hz, H-7), 2,94 (m, H-7'), 3,46 (s, OCH₃-5'), 3,73 (s, OCH₃-4), 3,74 (s, 2 OCH₃-3,5), 4,65 (d, J = 4,3 Hz, H-2'), 5,07 (d, J = 9,7 Hz, H-9'b), 5,09 (d, J = 17,2 Hz, H-9'a), 5,54 (sl, H-6'), 5,78 (m, H-8'), 6,28 (s, H-2,6). RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃, Hz, δ): 11,83 (C-9), 35,96 (C-7'), 45,29 (C-7), 46,06 (C-8), 52,97 (OCH₃-5'), 56,15 (2 OCH₃-3,5), 58,67 (C-3'), 60,82 (OCH₃-4), 76,11 (C-2'), 85,26 (C-5'), 104,21 (C-2,6), 117,46 (C-9'), 126,17 (C-6'), 134,94 (C-8'), 136,40 (C-4), 140,35 (C-1'), 140,54 (C-1), 153,24 (C-3,5), 209,02 (C=O, C-4'). EMIE (70 eV) m/z (int. rel.): 388 (M⁺, 100), 347 (16), 329 (6), 301 (5), 222 (17), 221 (30), 209 (28), 208 (88), 193 (37), 181 (15), 167 (5), 165 (10), 137 (8), 91 (12).

469-5(3) - rel-(7S,8S,1'R,3'S,4'R)- $\Delta^{5',8'}$ -4'-Hidroxi-3,4,5,5'-tetrametoxi-2'-oxo-8.1',7.3'-neolignana (**VIII**). Óleo incolor. $[\alpha]_D^{20}$ + 153° (CHCl₃ c 0,7). IV ν_{max}^{filme} (cm⁻¹): 3443, 3075, 2929, 2854, 1750, 1637, 1590, 1508, 1459, 1427, 1329, 1241, 1126, 1068, 1006, 921, 825. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, Hz, δ): 1,13 (d, J = 6,5 Hz, H-9), 2,03 (dd, J = 8,0; 6,5 Hz, H-8), 2,28 (dd, J = 14,2; 6,2 Hz, H-7'b), 2,39 (dd, J = 14,2; 8,8 Hz, H-7'a), 2,78 (d, J = 5,1

Hz, H-3'), 3,02 (d, $J = 8,0$ Hz, H-7), 3,64 (s, OCH₃-5'), 3,81 (s, OCH₃-4), 3,83 (s, 2 OCH₃-3,5), 4,46 (s, H-6'), 4,72 (d, $J = 5,1$ Hz, H-4'), 5,08 (d, $J = 9,0$ Hz, H-9'b), 5,10 (d, $J = 15,7$ Hz, H-9'a), 5,91 (m, H-8'), 6,41 (s, H-2,6). RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃, Hz, δ) : 12,43 (C-9), 35,39 (C-7'), 46,42 (C-7), 48,39 (C-8), 52,95 (C-1'), 55,34 (OCH₃-5'), 56,04 (2 OCH₃-3,5), 58,12 (C-3'), 60,88 (OCH₃-4), 74,17 (C-4'), 98,62 (C-6'), 104,50 (C-2,6), 117,95 (C-9'), 133,88 (C-8'), 136,60 (C-4), 140,25 (C-1), 153,31 (C-3,5), 153,94 (C-5'), 210,33 (C-2'). EMIE (7 eV) m/z (int.rel.) : 388 (M⁺, 100), 327 (9), 301 (5), 208 (32), 195 (18), 193 (18), 165 (9), 133 (9), 91 (14).

- rel-(7S,8S,2'S,3'S,5'S)- $\Delta^{6',8'}$ -2'-Hidroxi-3,4,5,5'-tetrametoxi-4'-oxo-8.5',7.3'-neolignana (IX). Óleo incolor. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, Hz, δ): 1,12 (d, $J = 6,5$ Hz, H-9), 2,19 (m, H-8), 2,28 (d, $J = 7,7$ Hz, H-7), 2,59 (d, $J = 3,5$ Hz, H-3'), 2,99 (m, H-7'), 3,57 (s, OCH₃-5'), 3,82 (s, OCH₃-4), 3,84 (s, 2 OCH₃-3,5), 4,60 (d, $J = 3,5$ Hz, H-2'), 5,20 (d, $J = 9,6$ Hz, H-9'b), 5,21 (d, $J = 17,5$ Hz, H-9'a), 5,72 (s, H-6'), 5,88 (m, H-8'), 6,37 (s, H-2,6). RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃, Hz, δ): 12,71 (C-9), 37,14 (C-7'), 46,02 (C-8), 48,93 (C-7), 53,35 (OCH₃-5'), 56,15 (OCH₃-3,5), 57,49 (C-3'), 60,85 (OCH₃-4), 80,61 (C-2'), 85,21 (C-5'), 104,13 (C-2,6), 118,03 (C-9'), 129,48 (C-6'), 134,77 (C-8'), 136,98 (C-4), 139,08 (C-1), 140,32 (C-1'), 153,46 (C-3,5), 213,22 (C-4').

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Determinação Estrutural do Sesquiterpeno I

O espectro de IV da substância (Fig. 2 pág. 36) revelou bandas de absorção em 3550-3200 cm^{-1} referente a estiramento do grupo OH associado, 2927-2823 cm^{-1} que estão em acordo com estiramento simétrico e assimétrico de grupos CH_3 , CH_2 e CH, 1636 cm^{-1} referente a estiramento do grupo C=C, 1152 cm^{-1} atribuída ao sistema C-O de álcool terciário. O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 3, pág. 37) possui sinais referentes a 15 átomos de carbono cuja multiplicidade foi definida com base na análise dos espectros de DEPT de 90° e 135° (Tab. 3, pág. 34).



Tabela 3 : Identificação dos carbonos CH₃, CH₂, CH e C da substância I através de RMN ¹³C (PND e DEPT, 50,3 MHz)

C	CH	CH ₂	CH ₃
153,37	54,26	106,22	28,61
80,91	53,36	41,70	26,03
<u>20,20</u>	29,88	38,82	<u>16,29</u>
(=C)	<u>27,43</u>	26,35	(CH ₃) ₃
(C-OH)	(CH) ₄	<u>24,72</u>	
(C)		(=CH ₂)	
		(CH ₂) ₄	
C ₃ OH	C ₄ H ₄	C ₅ H ₁₀	C ₃ H ₉ → C ₁₅ H ₂₃ OH

O espectro de massas (Fig. 8, pág. 42) apresentou pico molecular (M⁺) em 220 u.m.a. sendo compatível com a fórmula molecular C₁₅H₂₄O, então um sesquiterpeno com 4 insuficiências, possuindo uma ligação dupla e 3 ciclos (Esquema 2, pág. 43). Análise dos espectros de RMN ¹H (Fig. 3, pág. 37) e RMN ¹³C (Fig. 4, pág. 38) mostrou sinais de ligação dupla, caracterizada pelos carbonos em δ_c 153,37 (C-10) e δ_c 106,22 (C-14) este sendo um CH₂ caracterizado pelos sinais em δ_H 4,66 (s, H-14) e δ_H 4,63 (s, H-14) e banda de absorção em 888 cm⁻¹, mostrando presença de um grupo olefínico terminal.

Um sistema ciclopropano foi observado pelos sinais dos carbonos metínicos em δ_c 27,43 (C-7) e δ_c 29,88 (C-6) e carbono quaternário presente em δ_c 20,20 (C-11) contendo os prótons correspondentes em δ_H 0,60 (dl, J = 9,4 Hz, H-7) e δ_H 0,40 (dd, J = 11,1; 9,4 Hz, H-6). A constante de acoplamento em J = 9,4 Hz mostra a relação *cis* entre os 2 hidrogênios metínicos. A junção entre dois outros ciclos foi mostrada pelos deslocamentos químicos dos carbonos metínicos em δ_c 53,36 (C-1) e δ_c 54,26 (C-5) e hidrogênios δ_H 2,12 (d, J = 15,8 Hz) e δ_H 1,27 (dd, J = 15,8; 11,1 Hz). A constante de acoplamento entre CH-1

e CH-5 de $J = 15,8$ Hz representa uma junção *cis* e de $J = 11,1$ Hz evidencia também a relação *cis* com CH-6. Estas deduções são mostradas na análise do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COLOC - $^nJ_{\text{CH}}$ $n = 1, 2$ e 3 (Fig. 7, pág. 41) evidenciando a interação de C-7 com 3H-12 e 3H-13; e C-6 com 3H-12 e 3H-13. Essas deduções confirmam a estrutura do tipo Guaiano, para a substância. Análise comparativa dos dados espectrais da substância $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (Fig. 5, pág. 39), e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ COSY (Fig. 6, pág. 40), com valores de dados na literatura (Tabela 4), permitiram identificar a substância **I** como espatulenol [27].

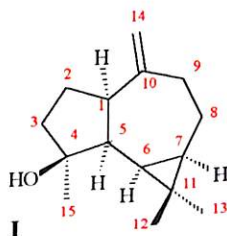


Tabela 4 : Valores de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , ppm, Hz) e de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , ppm, Hz) correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ COSY e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ COLOC $^nJ_{\text{CH}}$, $n = 1, 2$, e 3 da substância **I** e comparação com valores de literatura.

I					Espatulenol [27]	
C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY - $^1J_{\text{CH}}$		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY - $^nJ_{\text{CH}}$		δ_{H}	δ_{C}
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$		
1	53,36	2,12 (d, $J = 15,8$)	3H-15	H-14	1,0-2,5 (m)	53,3
2	26,35	1,50-1,80 (m)		3H-15	1,0-2,5 (m)	26,6
3	41,70	1,86 - 1,30 (m)		3H-15	1,0-2,5 (m)	41,7
4	80,91			3H-15	1,0-2,5 (m)	80,9
5	54,26	1,27 (dd, $J = 15,8; 11,1$)		3H-12;3H-13	1,0-2,5 (m)	54,3
6	29,88	0,40 (dd, $J = 11,1; 9,4$)		3H-12;3H-13	0,45 (dd)	29,9
7	27,43	0,60 (dl, $J = 9,4$)		3H-12;3H-13	0,4-0,6 (m)	27,4
8a	24,72	1,90 (m)			1,0-2,5 (m)	24,7
8b		0,90 (m)		2H-14	1,0-2,5 (m)	38,8
9a	38,82	2,36(m)				
9b		1,95 (m)				
10	153,37		3H-12;3H-13		1,0-2,5 (m)	153,4
11	20,20			3H-13	1,0-2,5 (m)	20,2
12	16,29	1,01 (s)		3H-12	1,04 (s)	16,3
13	28,61	1,02 (s)			1,05 (s)	28,6
14	106,22	4,63-4,66 (m)			4,65 (m)	106,2
15	26,03	1,25(s)			1,08 (s)	26,0

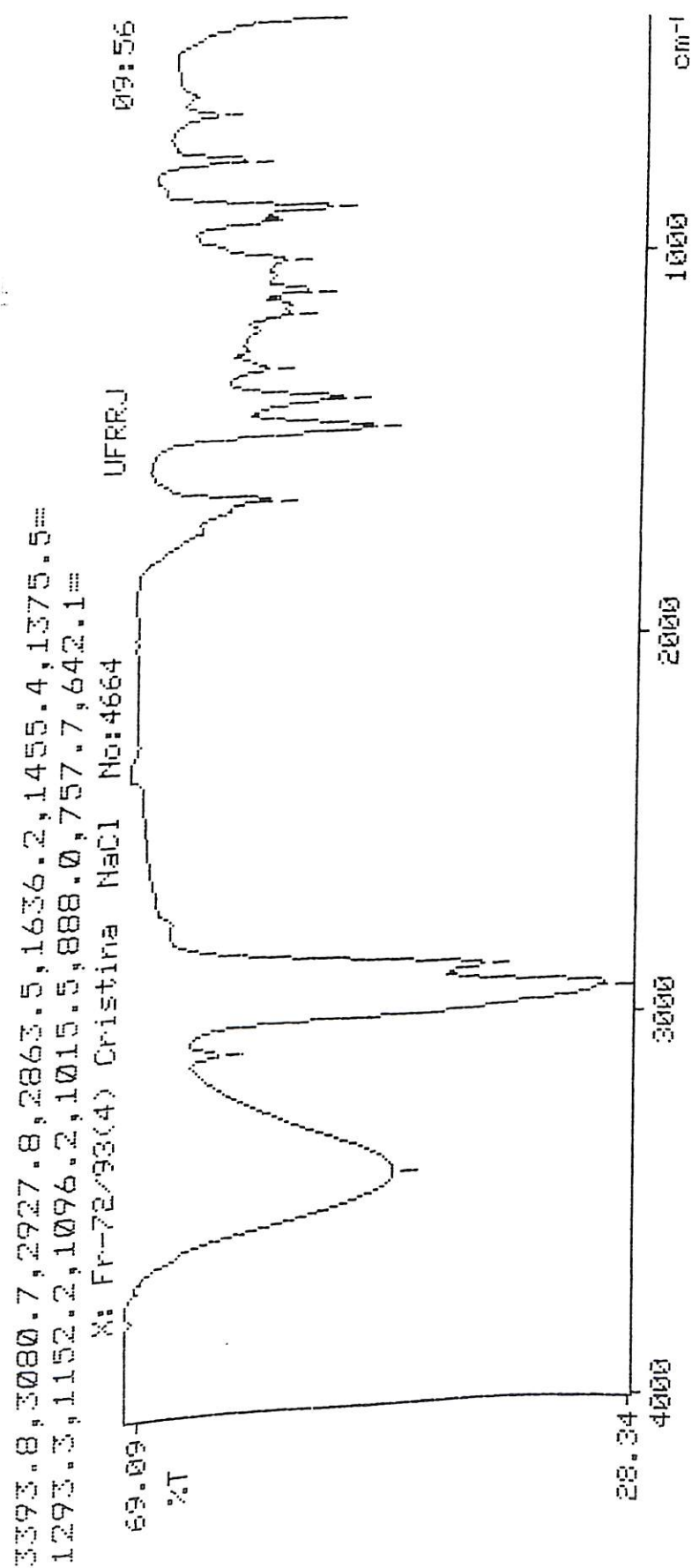


Figura 2 : Espectro de IV do sesquiterpeno I

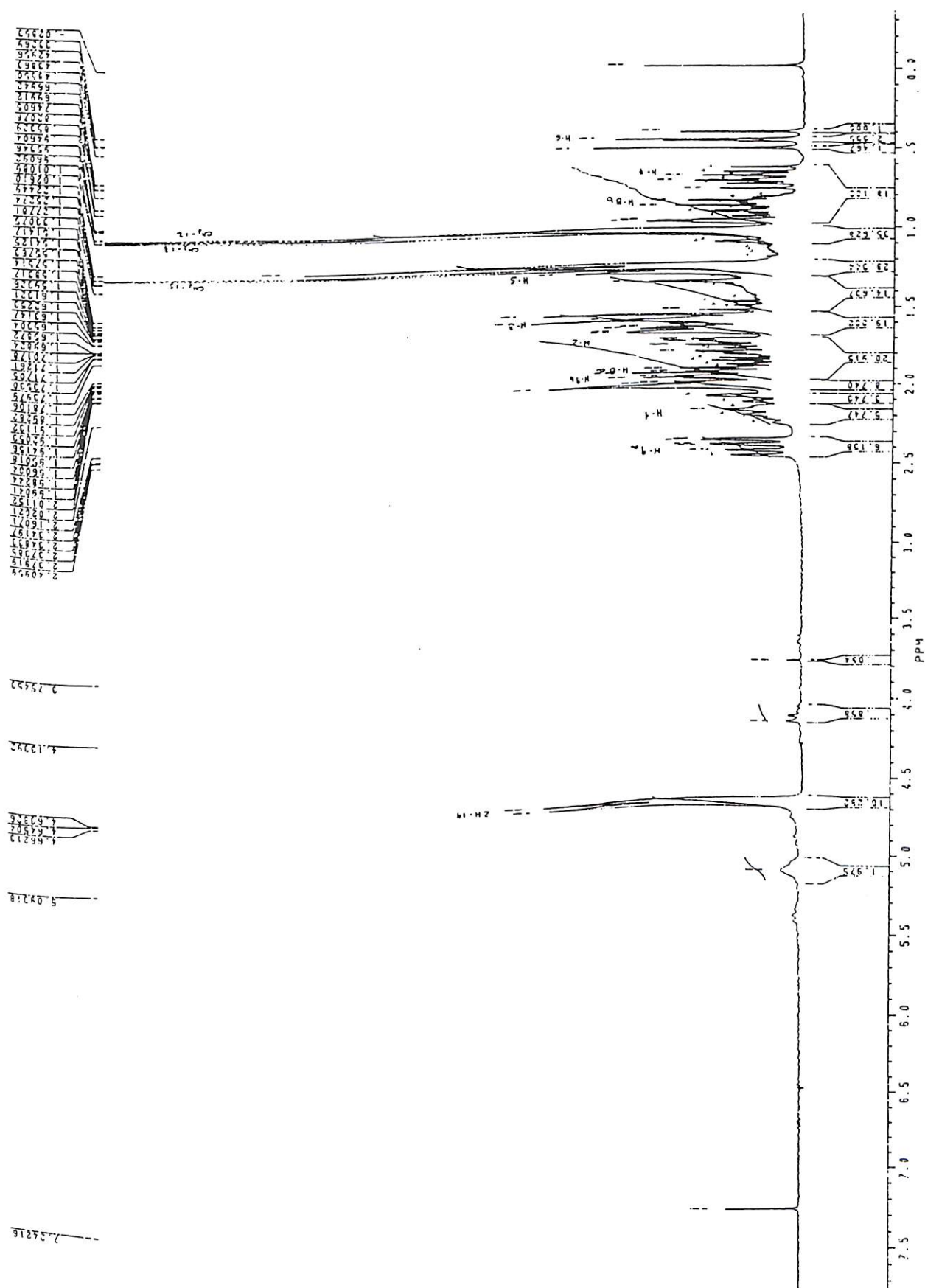
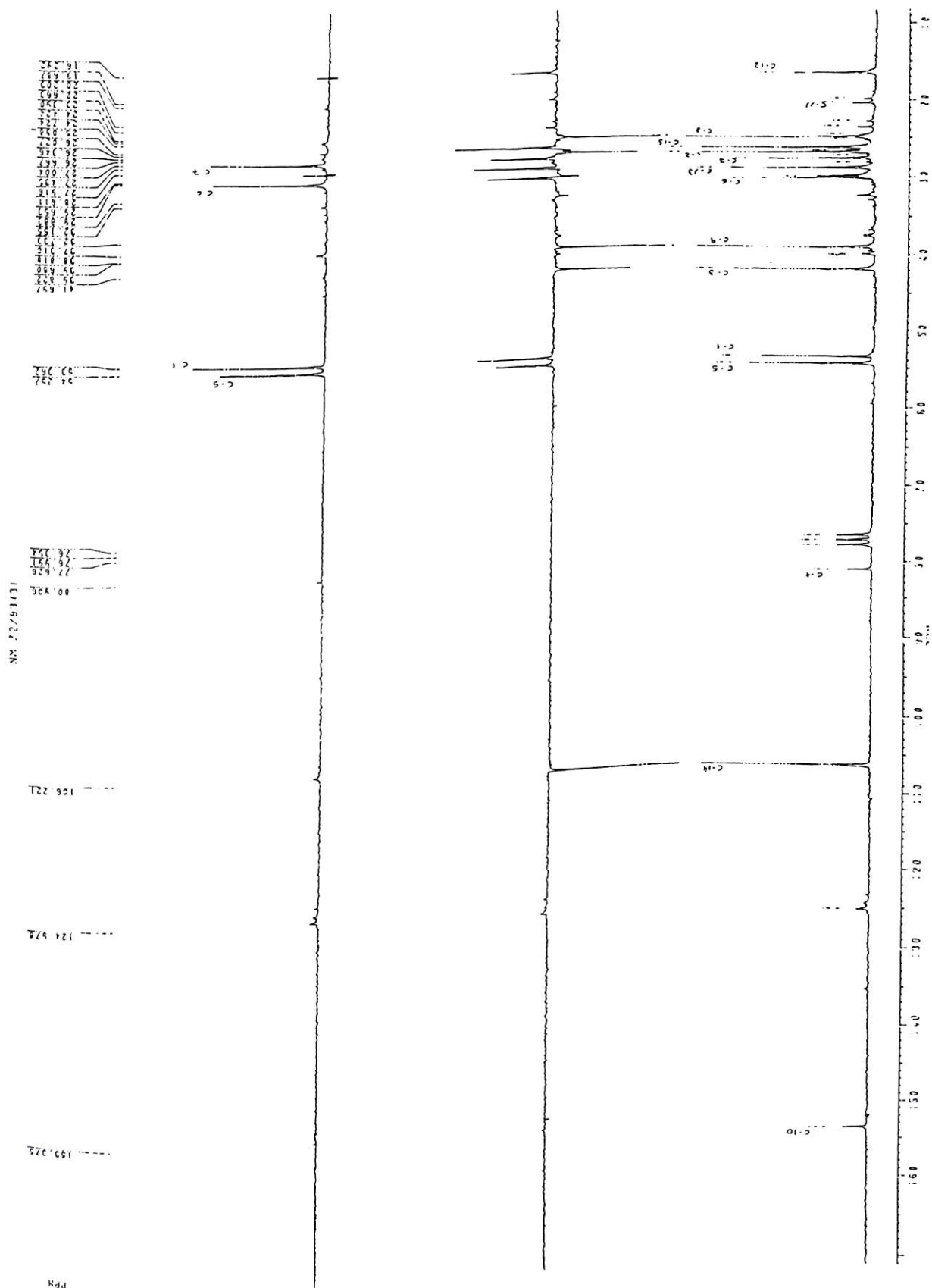


Figura 3 : Espectro de RMN de ^1H do sesquiterpeno I (200 MHz, CDCl_3)



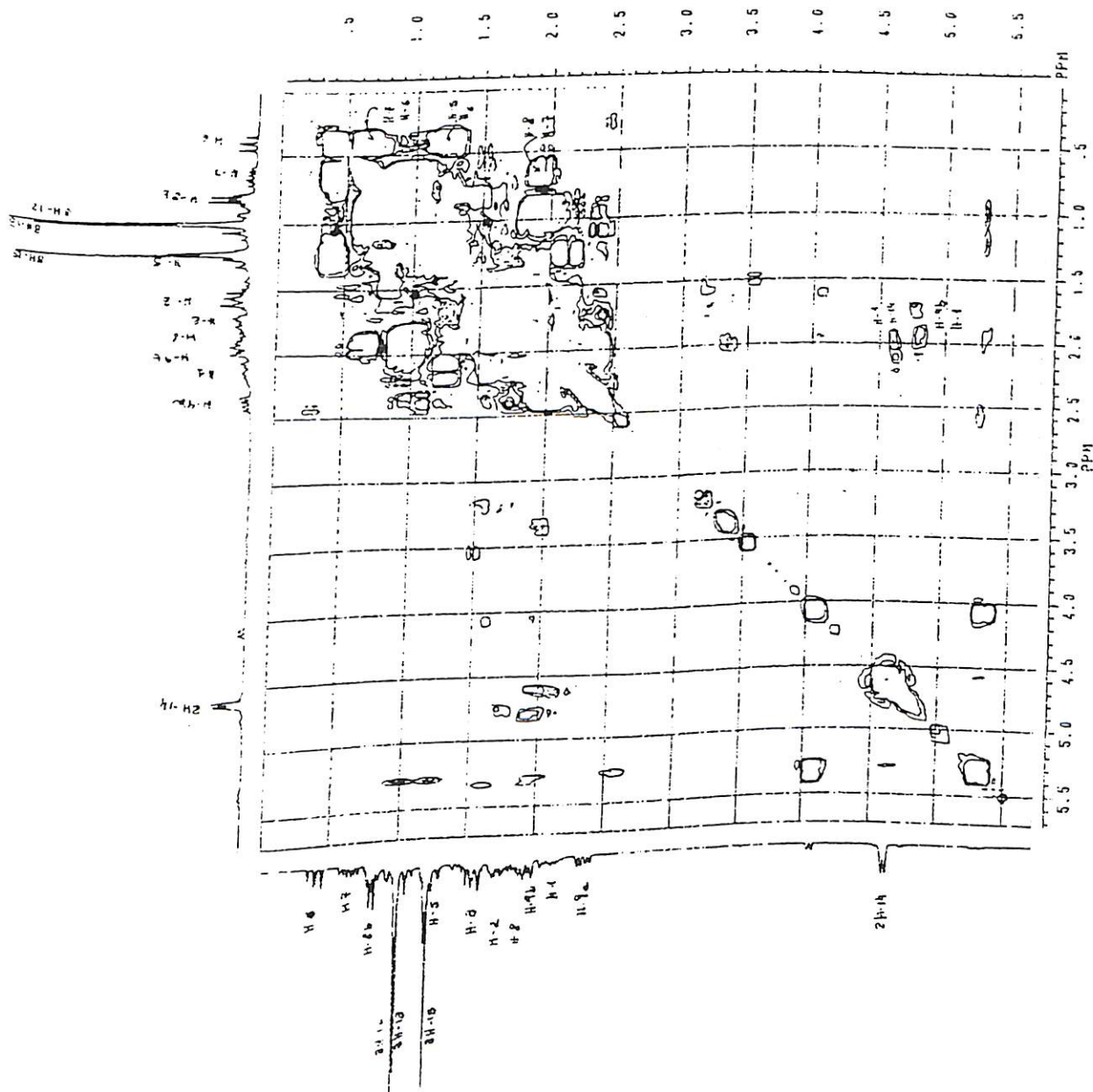


Figura 5 : Espectro de RMN 2D HOMOCOSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ do sesquiterpeno I (200 MHz, CDCl_3)

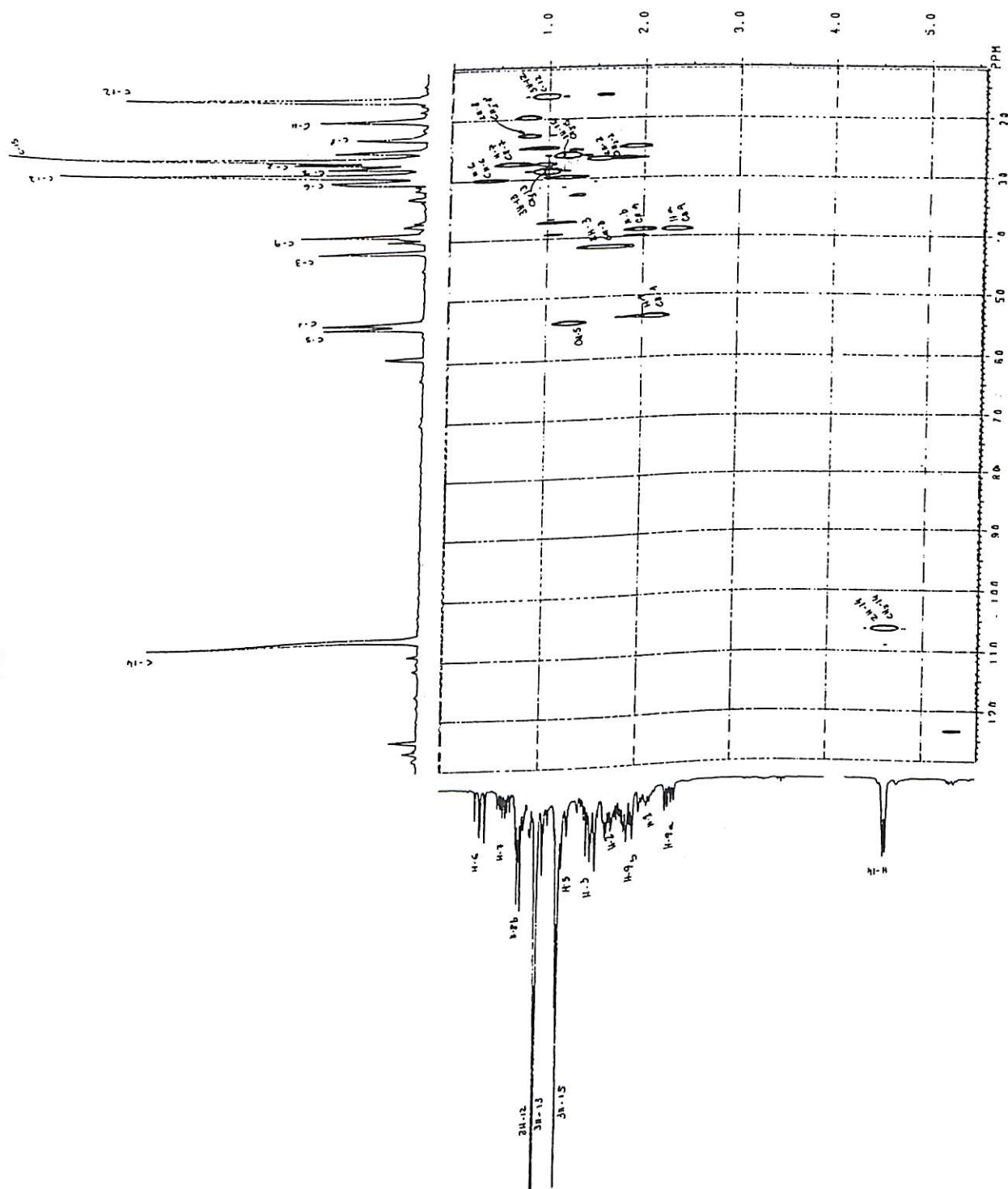


Figura 6 : Espectro de RMN 2D HETCOSY ^1H x ^{13}C do sesquiterpeno I (50 MHz, CDCl_3)

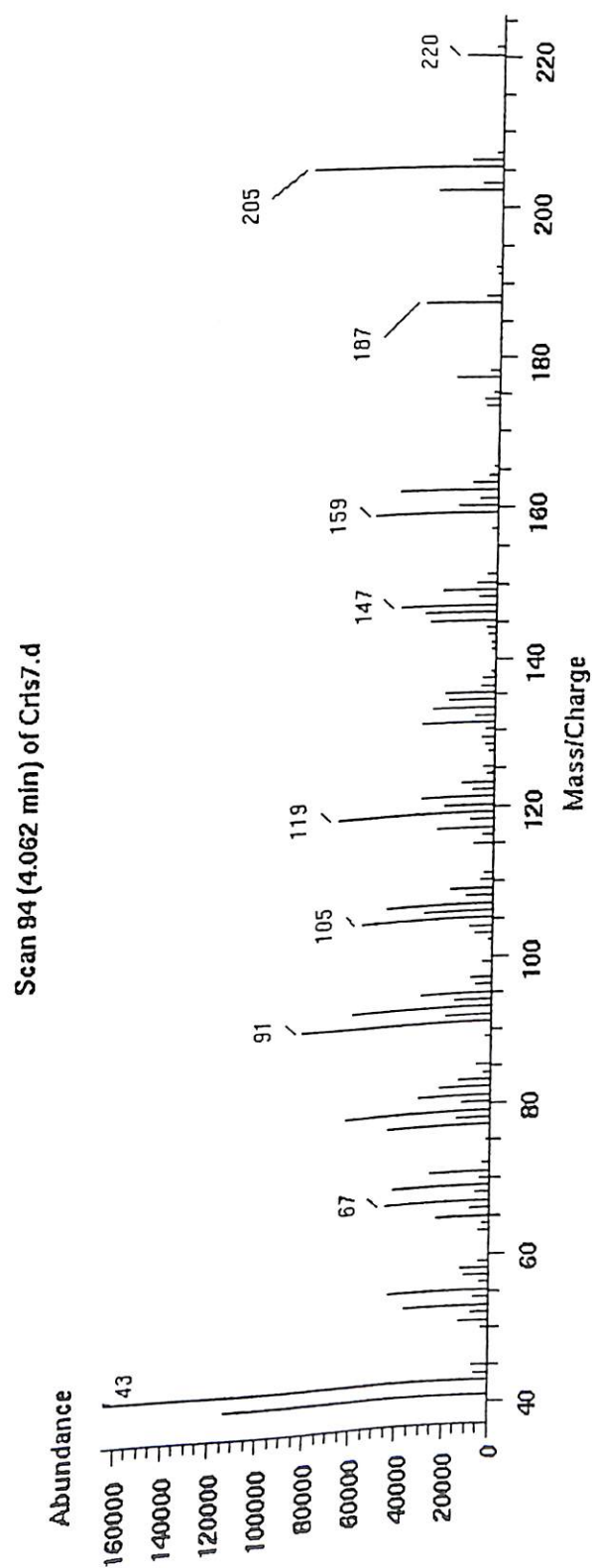
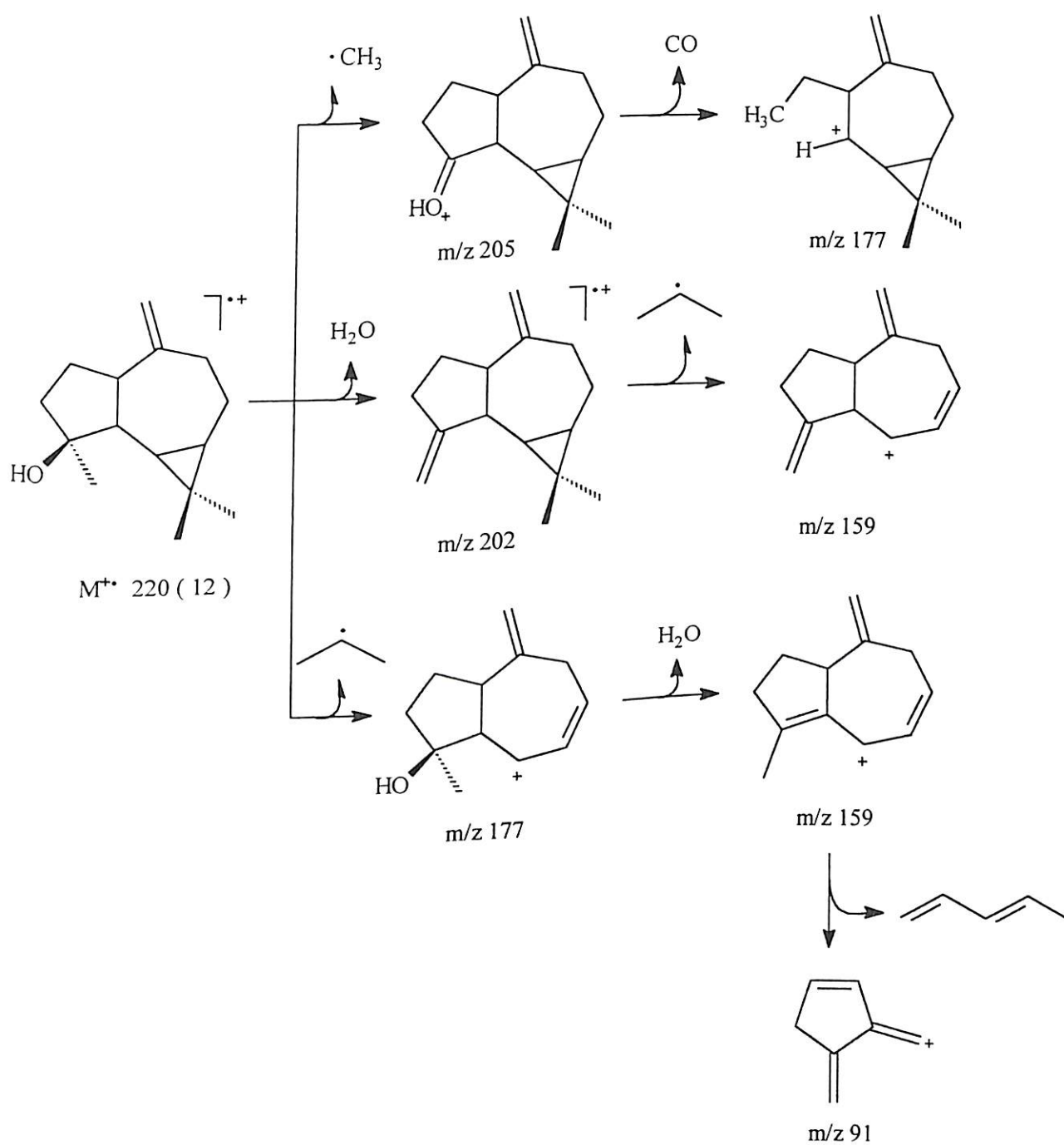


Figura 8 : Espectro de massas do sesquiterpeno I



Esquema 2 : Proposta de fragmentação para o sesquiterpeno I

3.2 Determinação Estrutural do Esteróide II

O espectro de infravermelho da substância (Fig. 9, pág. 46) apresentou banda de absorção larga em $3600\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ atribuída a estiramento de grupo OH associado intramolecular. Bandas de absorção entre $2936\text{--}2856\text{ cm}^{-1}$ estão em acordo com estiramento simétrico e assimétrico de grupos CH_3 , CH_2 e CH . Absorções em $1463\text{--}1376\text{ cm}^{-1}$ são compatíveis com deformação no plano de CH_2 e CH , 1646 cm^{-1} referente a estiramento do grupo $\text{C}=\text{C}$ com 802 cm^{-1} estão em concordância com dupla trissubstituída e 1132 cm^{-1} referente à banda de absorção do sistema C-O de álcool secundário.

O espectro de RMN ^1H (Fig. 10, pág. 47) dessa substância apresenta dois sinais em $\delta_{\text{H}} 0,65$ (s) e $\delta_{\text{H}} 0,98$ (s) e outros entre $\delta_{\text{H}} 0,78$ (d, $J = 4,0\text{ Hz}$), $\delta_{\text{H}} 0,79$ (d, $J = 4,0\text{ Hz}$), $\delta_{\text{H}} 0,82$ (t, $J = 5,7\text{ Hz}$) e $\delta_{\text{H}} 0,89$ (d, $J = 6,0\text{ Hz}$) (Tab. 5, pág. 45) que são atribuídos aos grupos metílicos de um esteróide. A presença de um multipeto em $\delta_{\text{H}} 3,51$ é referente à frequência de absorção de um átomo de hidrogênio localizado sob o átomo de carbono $\delta_{\text{C}} 71,1$ (C-3), e um dubleto largo em $\delta_{\text{H}} 5,31$ atribuído ao hidrogênio olefínico ligado ao átomo de carbono com $\delta_{\text{C}} 121,70$ (C-6).

A comparação das frequências de absorção dos átomos de hidrogênio (Fig. 10, pág. 47) e ^{13}C (Fig. 11, pág. 48) com dados de literatura (Tab. 5, pág. 45) e de ponto de fusão ($136\text{--}138\text{ }^{\circ}\text{C}$), permitiu identificar a estrutura da substância como β -sitosterol.

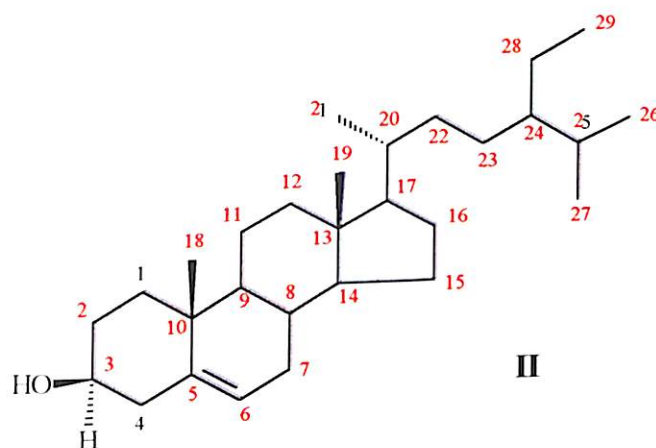


Tabela 5 : Valores de RMH de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , ppm, Hz) e ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , ppm, Hz) da substância **II** e comparação com dados de literatura.

C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H} [28]	δ_{C} [28]
1		37,2		37,2
2		31,6		37,6
3	3,51 (m)	71,7	3,50 (m)	71,7
4	2,25 (m)	42,3	2,25 (m)	42,3
5		140,7		140,7
6	5,31 (d, J = 6,5)	121,7	5,30 (m)	121,7
7	1,51 (m)	31,9	1,51 (m)	31,9
8	1,98 (m)	31,9	1,93	31,9
9		50,1		50,1
10		36,1		36,1
11		21,1		21,1
12		39,8		39,7
13		42,3		42,2
14		56,8	1,04	56,0
15		24,3		24,3
16		28,2		28,2
17		56,0	1,10	56,7
18	0,65 (s)	11,8	0,64 (s)	11,8
19	0,98 (s)	19,4	1,02 (s)	19,4
20		36,5	1,38 (s)	36,5
21		18,8	0,91	18,8
22	0,89 (d, J = 6,0)	33,9		33,9
23		26,0	1,19	26,0
24	0,93 (s)	45,8		45,8
25		29,1	1,73	29,1
26		19,0	0,82	19,4
27	0,79 (d, J = 4,0)	19,2	0,81	19,8
28	0,78 (d, J = 4,0)	23,0	1,26	23,0
29	0,82 (t, J = 5,7)	12,0	0,84	12,0

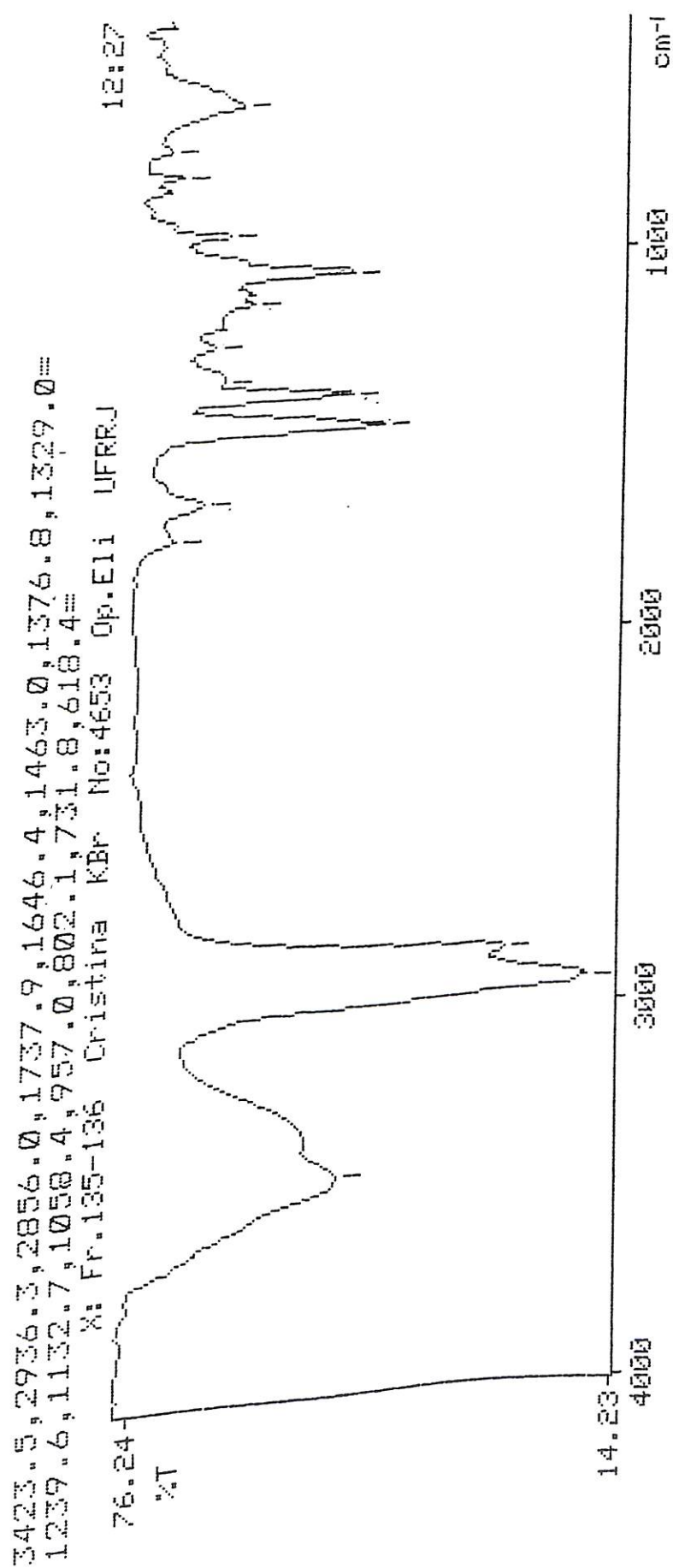


Figura 9 : Espectro de IV do esteróide II

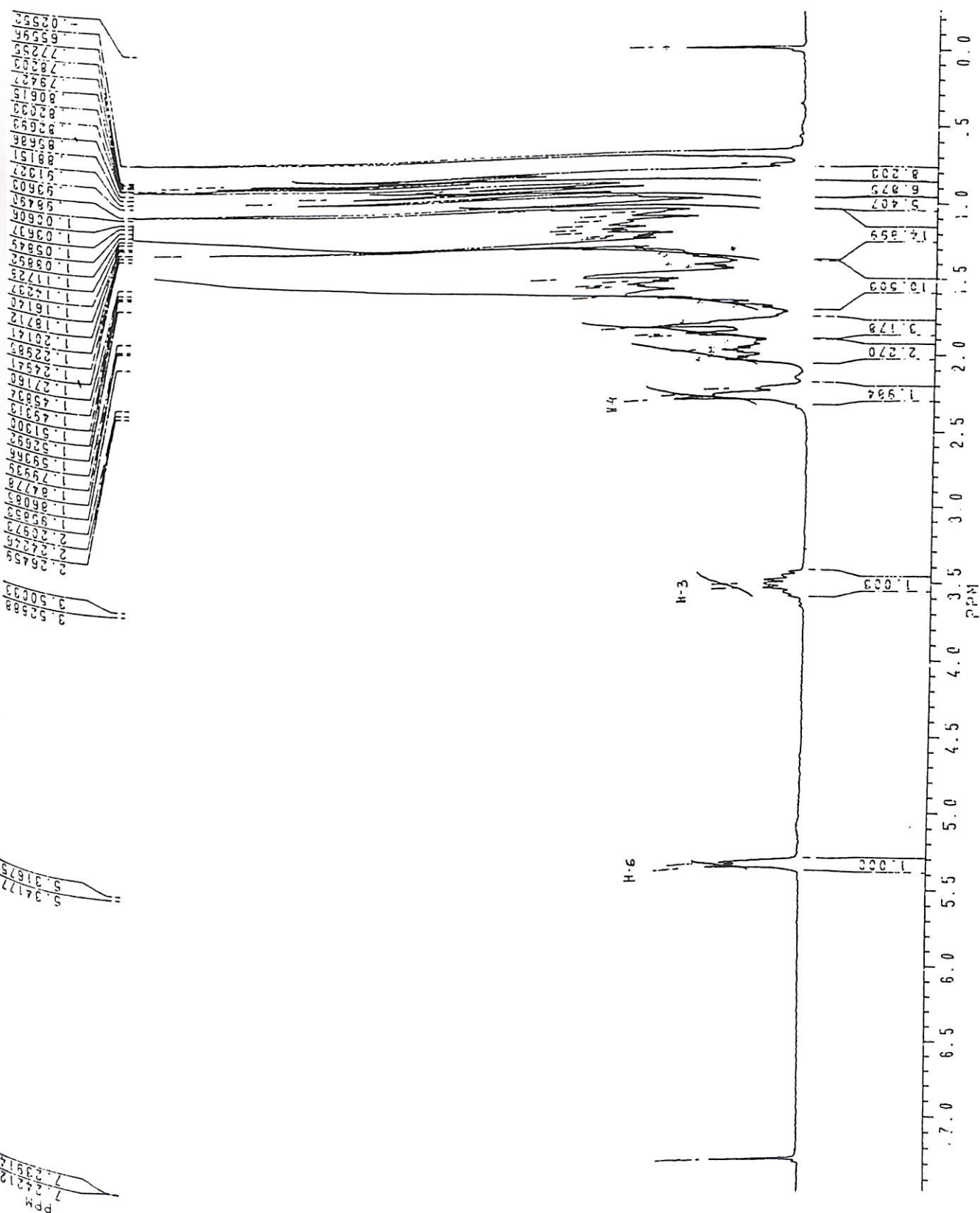


Figura 10 : Espectro de RMN de ^1H do esteroide II (200 MHz, CDCl_3)

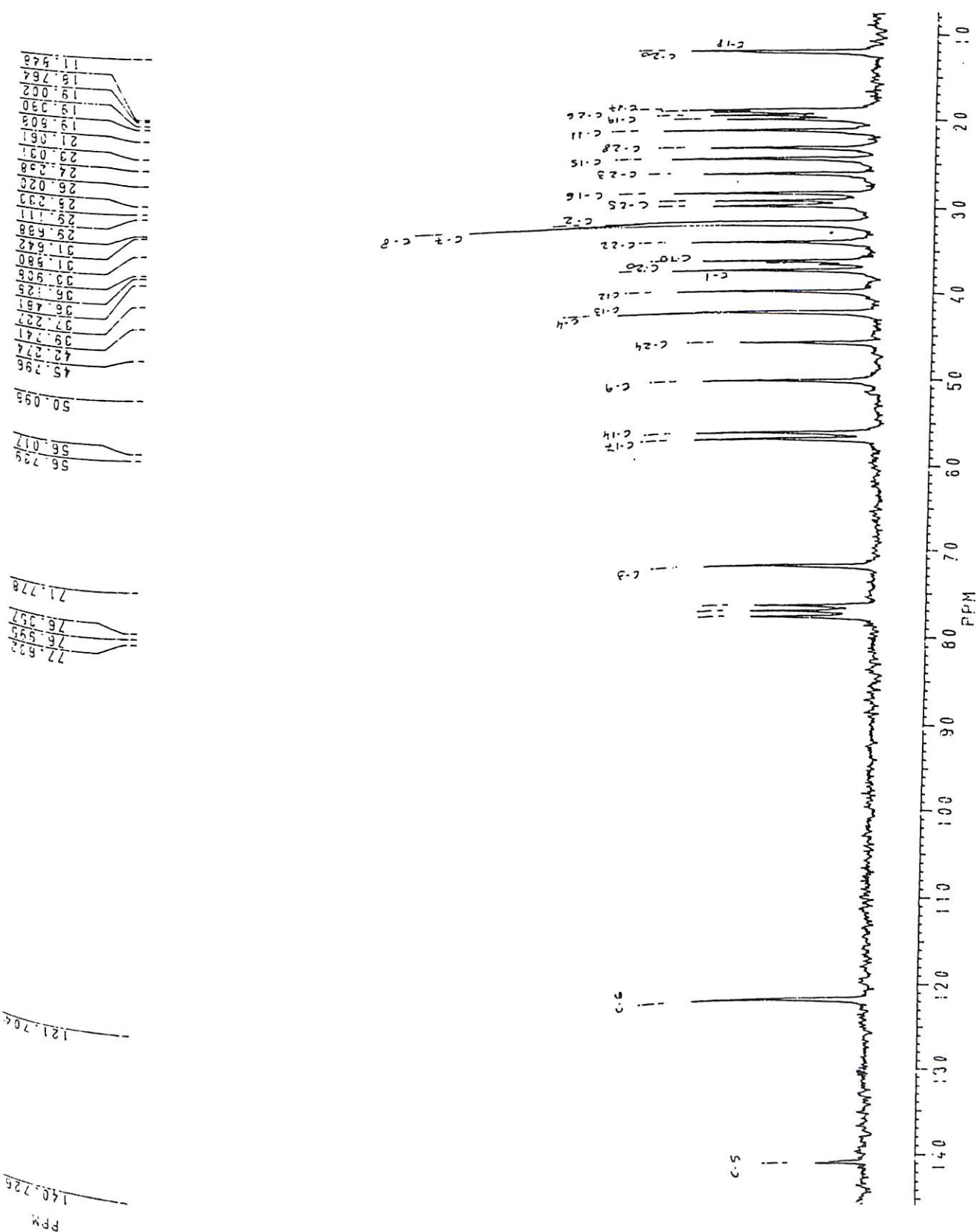


Figura 11 : Espectro de RMN de ^{13}C do esteróide II (50 MHz, CDCl_3)

3.3 Determinação Estrutural das Neolignanas III e IV

O espectro na região do IV (Fig. 12, pág. 60) dessa amostra revelou bandas de absorção em 1594 e 1500 cm^{-1} caracterizando a natureza aromática. Absorções em 964 e 836 cm^{-1} indicaram padrão de substituição do anel aromático tetra e trissubstituído. Bandas de absorção em 1231, 1130 e 1007 cm^{-1} foram atribuídas a estiramento $=\text{C}-\text{O}-\text{C}$ de grupo éter.

Os sinais dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C (Figs 13-17, págs 61-65) e as interações observadas nos espectros bidimensionais $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY; $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC $^1J_{\text{CH}}$ (Figs. 19-22, págs. 67-70), permitiram deduzir os dados espectrais para duas substâncias, **III** e **IV**. A substância **III** apresentou-se como sendo o principal componente da mistura, pela análise dos sinais de integração referente aos átomos de hidrogênio em δ_{H} 6,09 com 71,7 % para **III** e δ_{H} 5,70 com 28,3 % para **IV**. Os dados registrados de RMN ^{13}C - DEPT 135° das substâncias **III** e **IV** (Fig. 18, pág. 66), permitiram assinalar os tipos de átomo de carbono (Tab. 6, pág. 50).

Tabela 6 : Identificação dos carbonos CH₃, CH e C das substâncias **III** e **IV**, através dos espectros de RMN ¹³C e DEPT.

CH ₃		CH		C	
III	IV	III	IV	III	IV
17,86	17,91	45,74	45,01	132,84	131,64
18,05	18,76	93,82	94,98	133,15	(2) 133,55
2 (56,23)	56,00	2 (103,59)	109,35	135,90	144,23
60,89	(2) 56,14	109,35	111,89	138,02	145,04
56,00		113,35	112,58	144,23	146,07 (2)
		123,66	116,39	146,55	
		130,92	120,04	2(153,38)	
			123,66		
			130,92		
(CH ₃) ₂ (OCH ₃) ₄	(CH ₃) ₂ (OCH ₃) ₃	(CH) ₈ (O)	(CH) ₉ (O)	C ₈	C ₇

Esses dados conduziram a duas propostas de fórmula molecular para **III** e **IV**:



Os números de átomos de carbono do esqueleto básico (C₁₈) juntamente com os dados espectrais permitiram classificar os dois isômeros como lignóide (C₆C₃ + C₆C₃).

Pela análise dos espectros de RMN ¹H e ¹H x ¹H COSY (Figs. 13-15,19, pág. 61-63,67), observou-se a presença de hidrogênios carbinólicos em δ_H 5,07 (d, J = 9,2 Hz, H-61-63,67), observou-se a presença de hidrogênios metínicos em δ_H 7), **III** e δ_H 5,22 (d, J = 9,1 Hz, H-7), **IV** que acoplam com os hidrogênios metínicos em δ_H 3,45 (dq, J = 9,2; 6,4 Hz, H-8), **III**; δ_H 3,45 (dq, J = 9,1; 6,6 Hz, H-8), **IV**; sendo que esses acoplam também com os grupos metila representados por dubletos em δ_H 1,39 (d, J = 6,4 Hz, 3H-9), **III** e δ_H 1,46 (d, J = 6,6 Hz, 3H-9), **IV**; O valor da constante de acoplamento entre H-7 e H-8 em J = 9,2 e 9,1 Hz indicou relação *trans* entre eles.

Esses dados estão em acordo com o sistema $-\text{CHOCH}-\text{CH}_3$ de neolignanas diidrobzofurânicas [29].

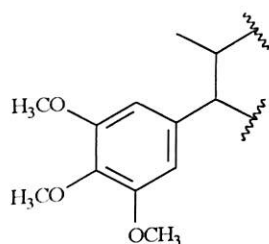
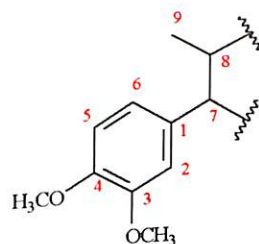
O espectro de 2D de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^n\text{J}_{\text{CH}}$, $n = 2, 3$ (Figs. 23,24, pág. 71,72) reforça esta dedução, quando da análise das interações de acoplamento a longa distância. Nota-se que o átomo de carbono com $\delta_{\text{C}} 93,82$ (C-7) tem interação de acoplamento a três ligações $^3\text{J}_{\text{CH}}$ com átomo de hidrogênio com $\delta_{\text{H}} 1,39$ (d, $J = 6,4$ Hz, 3H-9). O mesmo se observa para o átomo de carbono localizado com $\delta_{\text{C}} 45,74$ (C-8) em interação de acoplamento a duas ligações $^2\text{J}_{\text{CH}}$ com o hidrogênio $\delta_{\text{H}} 1,39$ (3H-9), para a substância **III**. Bem como na análise a três ligações do $\delta_{\text{C}} 94,98$ (C-7) com interação sobre o átomo de hidrogênio localizado com $\delta_{\text{H}} 1,46$ (C-9), e do $\delta_{\text{C}} 45,01$ (C-8) a duas ligações com o hidrogênio em $\delta_{\text{H}} 1,46$ (3H-9) para a substância **IV**.

O espectro de HMBC também expõe a correlação nuclear a três ligações do átomo de carbono com $\delta_{\text{C}} 93,82$ (C-7) com $\delta_{\text{H}} 6,63$ sinal largo que corresponde aos átomos de hidrogênios H-2 e H-6 do anel aromático de **III**. Esta correlação fixa a relação *meta* entre os dois átomos de hidrogênio presentes no anel, levando a colocação das três metoxilas nas posições C-3, C-4 e C-5. O deslocamento químico dos carbonos de duas metoxilas com $\delta_{\text{C}} 56,23$, mostra que estes substituintes ocupam posições equivalentes e no plano do anel aromático em C-3 e C-5. Quando a metoxila encontra-se em posição impedida estericamente, o sinal desloca-se para $\delta_{\text{C}} 60,89$ (C-4) [30].

Essa dedução, encontra-se em acordo com o deslocamento químico de dois carbonos aromáticos em $\delta_{\text{C}} 153,38$ (C-3,5) que apresentam $^2\text{J}_{\text{CH}}$ com os hidrogênios

localizados em H-2 e H-6 respectivamente, e δ_C 138,02 para o carbono que sustenta a metoxila em C-4, $^3J_{CH}$ com os 3H do grupo H_3CO -4 e com os hidrogênios localizados em H-2 e H-6 (Fig. 25, pág. 73), fortalecendo a estrutura parcial **III-a** para a substância **III**.

As bandas de absorção em 964 e 836 cm^{-1} lembram presença de hidrogênios aromáticos isolados, e em posição *orto* respectivamente [31]. Duas metoxilas com deslocamento químico de δ_C 56,14 e δ_H 3,88 (s) foram fixadas em C-3 e C-4 na substância **IV** pela análise dos dados de $^1H \times ^{13}C$ HMQC (Figs. 20;22, págs. 68;70), $^1H \times ^{13}C$ HMBC - nJ , $n = 2$ e 3 (Figs. 23-25, págs. 71-73) e comparação com dados de literatura [32], ficando assim definido o anel aromático da unidade 1 da substância **IV** como 3,4-dimetoxi-benzeno.

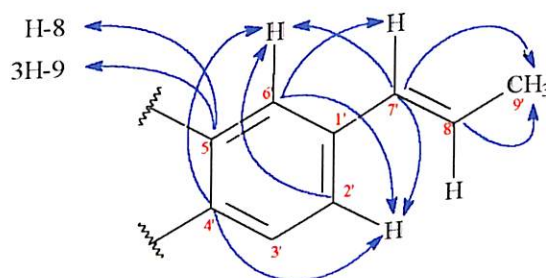
**III-a****IV-a**

As duas outras unidades para cada substância em mistura (C_6C_3) possuem a mesma fórmula molecular $C_{10}H_{10}O_2$, sendo ampliada para $CH_3O[C_6H_2O(CH)_2CH_3]$ com base na análise das fórmulas (a) e (b) e (Tab. 6, pág. 50).

Um sistema AMX_3 com configuração E (trans) foi localizado pelo exame dos sinais com δ_H 1,85 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H-9') atribuído a CH_3 , o deslocamento químico e a constante de acoplamento presente neste sinal revelou sua proximidade com átomo de hidrogênio ligado à carbono sp^2 representado pelo sinal com δ_H 6,09 (dq, $J = 16,2; 6,3$ Hz,

H-8'). A mesma constante de acoplamento é manifestada pelo sinal com δ_H 6,35 (d, $J = 16,2$ Hz, H-7') atribuído à hidrogênio olefinico e vizinho ao grupo arila [33]. O mesmo sistema está presente na substância **IV** com os sinais δ_H 1,91 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H-9'), δ_H 5,70 (dq, $J = 16,5$; $6,6$ Hz, H-8'), e δ_H 6,40 (d, $J = 16,2$ Hz, H-7').

Esse arranjo é fortalecido pela análise do espectro de $^1H \times ^{13}C$ HMBC - nJ , $n = 2$ e 3 (Fig. 23-25, pág. 71-73), onde se nota a interação nuclear a três ligações do átomo de carbono com δ_C 130,92 (C-7') com os hidrogênios com δ_H 1,85 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H-9'), e com os átomos de hidrogênio aromáticos localizados com δ_H 6,78 (s, H-2') e com δ_H 6,75 (s, H-6'), permitindo-se postular a unidade **III-b** presente na neolignana **III**, fato semelhante ocorre para o sistema idêntico presente na substância **IV** (Tab. 10, pág. 59).

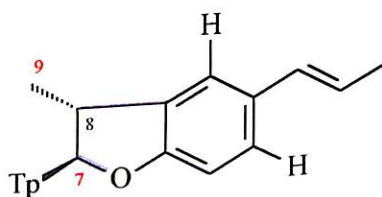


III-b e IV-b

Fortalecendo essa análise para a substância **III**, registra-se a interação heteronuclear simultânea de δ_C 113,55 (C-6') com δ_H 6,78 (s, H-2') e de δ_C 109,35 (C-2') com δ_H 6,75 (s, H-6'). A união entre as duas unidades de cada lignóide pode ser deduzida no exame do mesmo espectro revelando uma interação $^2J_{CH}$ entre δ_C 133,15 (C-5') com o

átomo de hidrogênio da outra unidade em δ_H 3,45 (dq $J = 9,2; 6,4$ Hz, H-8) e a três ligações com δ_H 1,39 (dq, $J = 6,4$ Hz, 3H-9).

O espectro correlação heteronuclear $^nJ_{CH}$ $n = 2, 3$ (Fig. 25, pág. 73) revela um carbono oxigenado em δ_C 146,55 com interação a três ligações com H-2' e H-6' levando-nos a fixar esse átomo de carbono na posição C-4' para **III** e 145,04 para **IV**, mantendo uma relação *meta* aos dois átomos de hidrogênio. Deste modo temos a unidade parcial para a substância **III**, e **IV**.

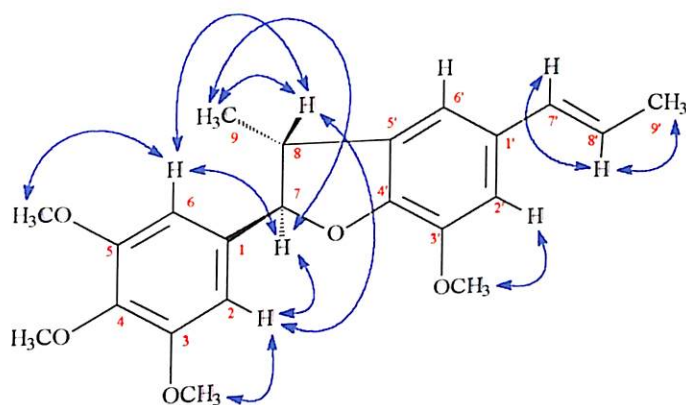


III-b e IV-b

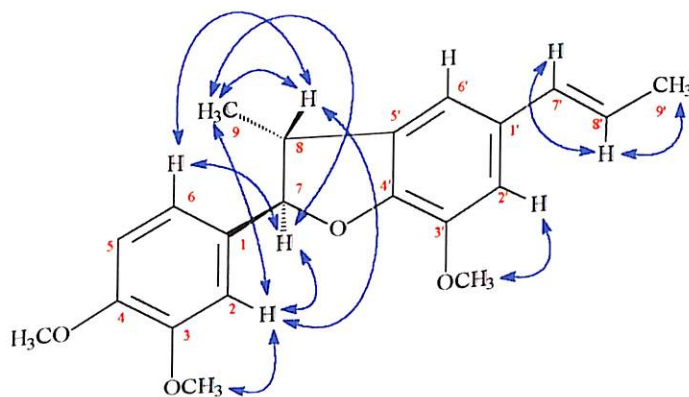
Como as duas unidades **III-b** e **IV-b** são idênticas, o grupo metoxila δ_C 56,00 e δ_H 3,84 (s) para **III** e δ_C 56,00 e δ_H 3,84 (s) para **IV** só pode estar localizado em C-3' posição livre, com base nos espectros de $^1H \times ^{13}C$ HMQC (Fig. 20-21, pág. 68-69), $^1H \times ^{13}C$ HMBC - $^nJ_{CH}$, $n = 2, 3$ (Figs. 23-25, págs. 71-73).

Os espectros de NOESY da amostra (Figs. 26-27, págs. 74-75) resumem todos os efeitos NOE $^1H \times ^1H$ presentes na amostra. O espectro é representado por picos ao longo da diagonal e os picos fora da diagonal representam as interações espaciais $^1H \times ^1H$ próximas. A análise dos espectros permitiu selecionar dentre outros picos transversais,

aqueles que serviram para comprovação das estruturas **III** e **IV** (Figs. 26-27, págs. 74-75 e tabs. 7-8, págs. 56-57).

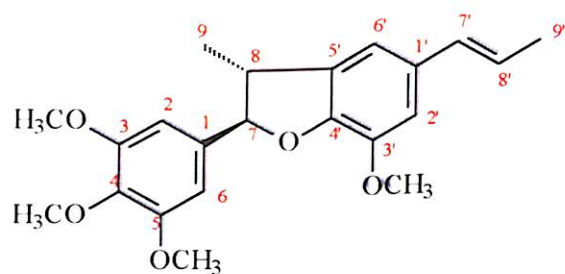


III

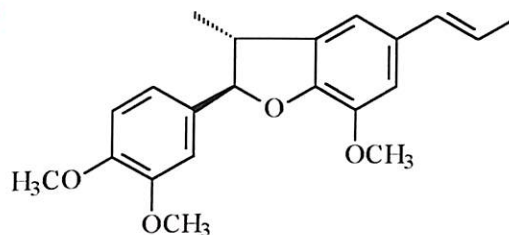


IV

Esses dados conduziram à formulação das duas substâncias como rel-(7R,8R) Δ^7 -3,4,5,3'-Tetrametoxi-7.O.4',8.5'-neolignana (**III**) [14] e rel-(7R,8R)- Δ^7 -3,4,3'-Trimetoxi-7.O.4',8.5'-neolignana (**IV**) [35]. Essas substâncias já se encontram citadas na literatura sendo que este trabalho contribui com novos dados espectrais (Tabs. 9-10, págs. 58-59) para corroboração de suas estruturas.



III



IV

Tabela 7 : Dados de NOE obtidos por experiência 2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY para a substância III*.

CH	δ_{H}	Picos transversais correspondentes a NOE com
2,6	6,63 (s)	H-7; H-8
7	5,07 (d, $J = 9,2$)	2H-2,6; 3H-9
8	3,45 (dq, $J = 9,2; 6,4$)	2H-2,6; 3H-9
2'	6,78 (s)	H ₃ CO-3'
6'	6,75 (s)	-
7'	6,45 (d, $J = 16,2$)	H-8'
8'	6,09 (dq, $J = 16,2; 6,3$)	H-7'
CH ₃		
9	1,39 (d, $J = 6,4$)	H-7; H-8
9'	1,85 (d, $J = 6,3$)	H-8'
MeO-3	3,83 (s)	H-2
MeO-5	3,83 (s)	H-6
MeO-4	3,82 (s)	-
MeO-3'	3,84 (s)	H-2'

* Resultados de experiências 2D de correlação heteronuclear e C-13 [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ COSY - $^nJ_{\text{CH}} n = 1$ (HMQC) e $n = 2, 3$ (HMBC)] foram também usadas nesta análise.

Tabela 8 : Dados de NOE obtidos por experiência 2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY para a substância IV*.

CH	δ_{H}	Picos transversais correspondentes a NOE com
2	6,80 (m)	H-7; H-8; 3H-9
5	6,72 (m)	-
6	6,77 (m)	H-7; H-8
7	5,22 (d, $J = 9,1$)	2H-2,6; 3H-9
8	3,45 (dq, $J = 9,1; 6,6$)	2H-2,6; 3H-9
2'	6,61 (s)	3H-9'; MeO-3'
6'	6,64 (s)	-
7'	6,40 (d, $J = 16,2$)	H-8'
8'	5,70 (dq, $J = 16,5; 6,6$)	H-7'; 3 H-9'
<u>CH₃</u>		
9	1,46 (d, $J = 6,6$)	H-2; H-7; H-8
9'	1,91 (d, $J = 7,1$)	H-8'
MeO-3	3,88 (s)	H-2
MeO-4	3,88 (s)	-
MeO-3'	3,84 (s)	H-2'

* Resultados de experiências 2D de correlação heteronuclear e C-13 [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ COSY - $^nJ_{\text{CH}}$ $n = 1$ (HMQC) e $n = 2, 3$ (HMBC)] foram também usadas nesta análise.

Tabela 9 : Valores de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 ppm, Hz) e de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) correlação, $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC $^1\text{J}_{\text{CH}}$ e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^n\text{J}_{\text{CH}}$, $n = 2, 3$ da substância III e comparação com valores de literatura.

C	HMQC		HMBC		Literatura [14]
	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^n\text{J}_{\text{CH}}$		
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	
1	135,90	-	2H-2,6	-	-
2,6	103,59	6,63 (s)		-	6,65 - 6,50 (m)
3,5	153,38	-	2H-2,6	2MeO-3,5	-
4	138,02	-		2H-2,6; MeO-4	
7	93,82	5,07 (d, J = 9,2)		3H-9; H-6; H-2	4,93 (d, J = 9,1)
8	45,74	3,45 (dq, J = 9,2; 6,4)	3 H-9		3,40-2,80 (m)
9	17,86	1,39 (d, J = 6,4)		H-7	1,40 (d, J = 6,5)
1'	132,84			H-8'	-
2'	109,35	6,78 (s)		H-6'; H-7'	6,65 - 6,50 (m)
3'	144,23	-		MeO-3'	-
4'	146,55	-		H-2'; H-6'	-
5'	133,15	-		3H-9; H-8	-
6'	113,35	6,75 (s)		H-2'; H-7'	6,60 - 6,50 (m)
7'	130,92	6,35 (d, J = 16,2)		H-2'; H-6'; 3H-9'	6,25 (d, J = 15,0)
8'	123,66	6,09 (dq, J = 16,2; 6,3)	3H-9'		5,95 (dd, J = 15,0; 5,5)
9'	18,05	1,85 (d, J = 6,3)			1,85 (d, J = 5,5)
2Me O-3,5	56,23	3,83 (s)			3,86 (s)
Me O-4	60,89	3,82 (s)			3,73 (s)
Me O-3'	56,00	3,84 (s)			3,80 (s)

Tabela 10 : Valores de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 ppm, Hz) e de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) correlação, $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC - $^1\text{J}_{\text{CH}}$ e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^n\text{J}_{\text{CH}}$, $n = 2, 3$ da substância IV e comparação com valores de literatura.

C	HMQC		HMBC		LITERATURA [35]
	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^n\text{J}_{\text{CH}}$		δ_{H}
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	
1	131,65				
2	109,35	6,80 (m)			6,40 - 7,00 (m)
3	146,07				
4	146,07				
5	112,68	6,72 (m)			6,40 - 7,00 (m)
6	120,04	6,77 (m)			6,40 - 7,00 (m)
7	94,98	5,22 (d, $J = 9,1$)		3H-9, H-2,6	5,01 (d, $J = 9,0$)
8	45,01	3,45 (dq, $J = 9,1; 6,6$)	3H-9		3,70 - 3,00 (m)
9	17,91	1,46 (d, $J = 6,6$)			1,36 (d, $J = 7,0$)
1'	133,55				6,60 (s)
2'	111,91	6,61 (s)			
3'	144,23			H-2', H-6'	
4'	145,04		H-8	3H-9'	
5'	133,51				6,62 (s)
6'	116,39	6,64 (s)			6,40 - 7,00 (m)
7'	130,92	6,40 (d, $J = 16,2$)		3H-9'	6,40 - 7,00 (m)
8'	123,66	5,70 (dq, $J = 16,5; 6,6$)	3H-9'		1,85 (dd, $J = 5,0$; ind.)
9'	18,76	1,91 (d, $J = 7,1$)		3H-9	3,86
Me O-3	56,14	3,88 (s)			3,86
Me O-4	56,14	3,88 (s)			3,81
Me O-3'	56,00	3,84 (s)			

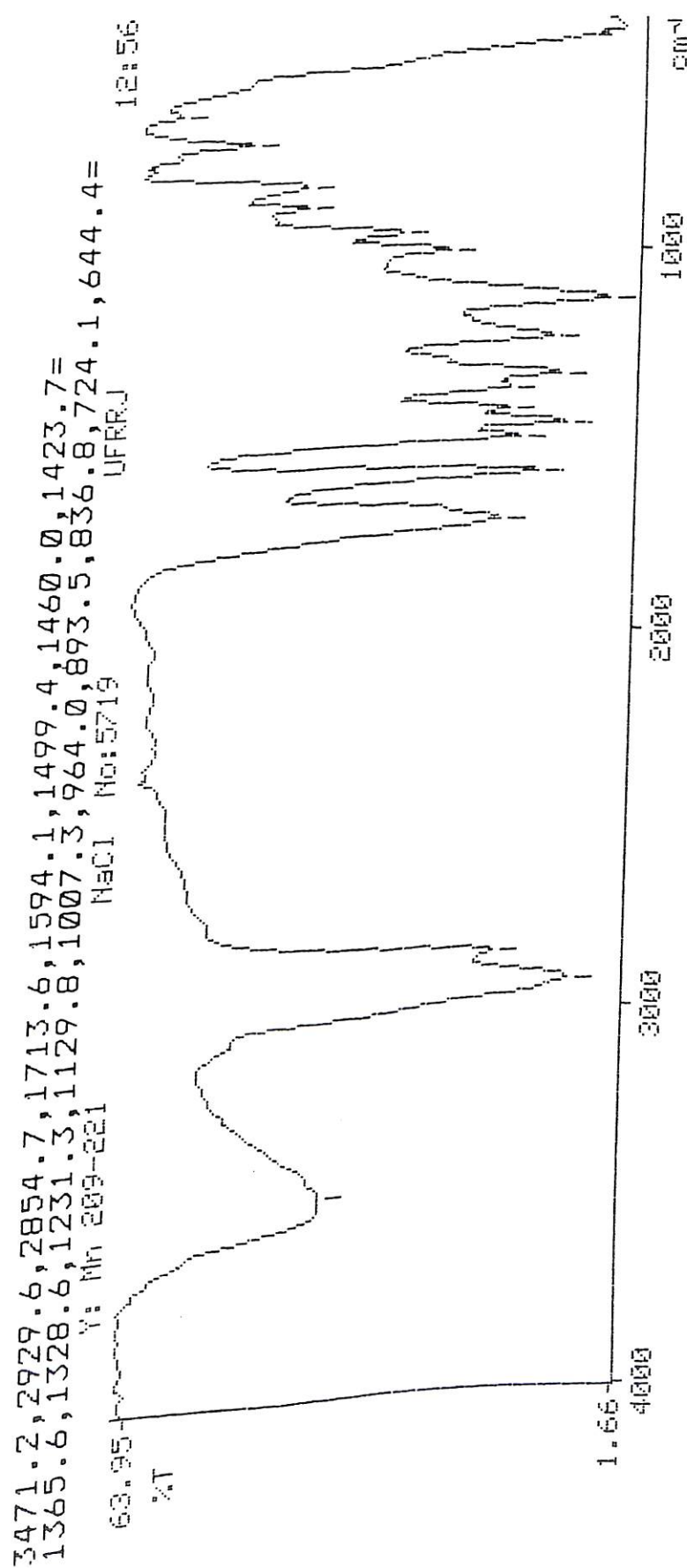
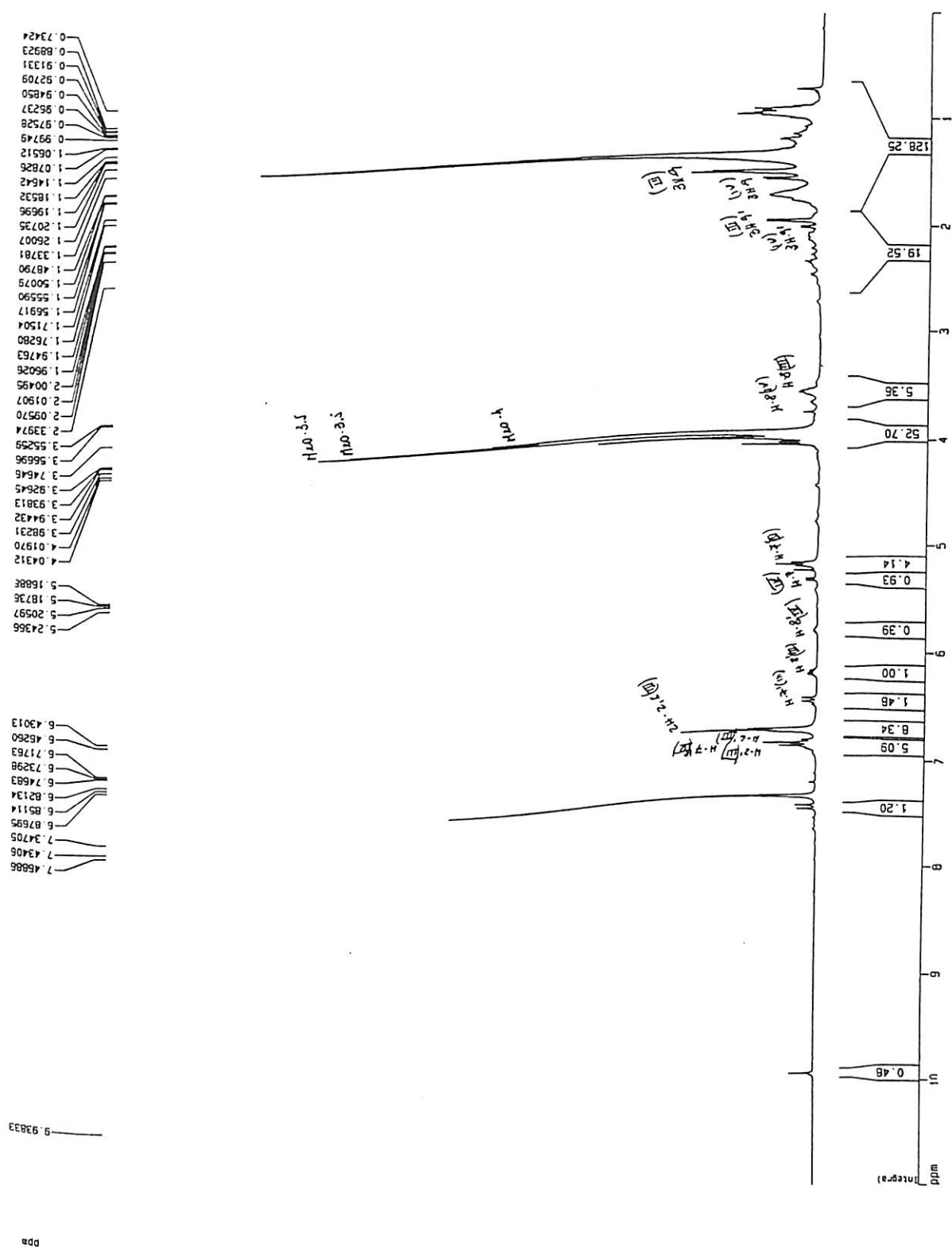


Figura 12 : Espectro de IV das neolignanias III e IV



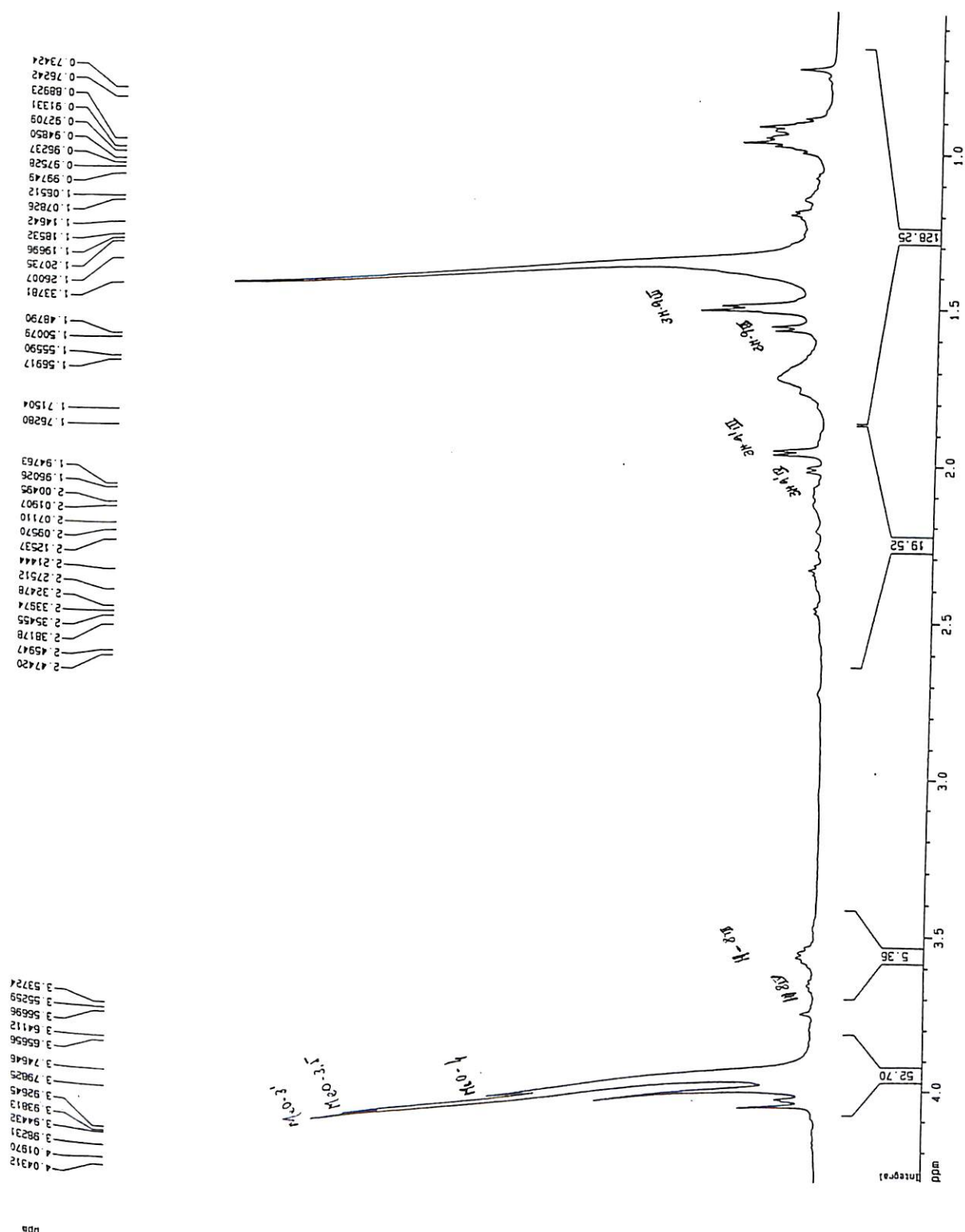


Figura 14: Espectro de RMN de ^1H , região 0,6-4,6 ppm das neolignanas **III** e **IV** (500 MHz, CDCl_3)

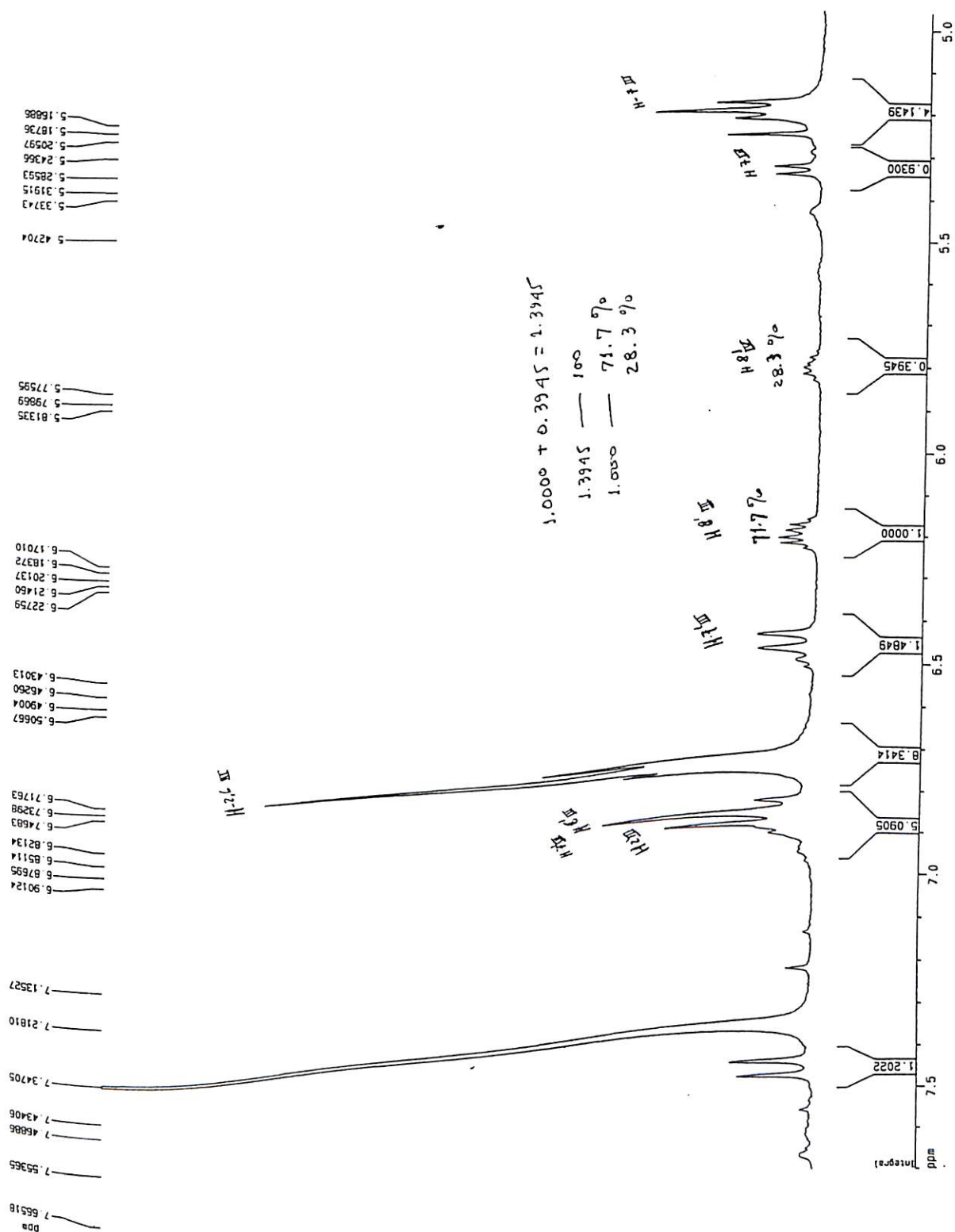


Figura 15: Espectro de RMN de ^1H , região 5,0-7,5 ppm das neolignanas **III** e **IV** (500 MHz, CDCl_3)

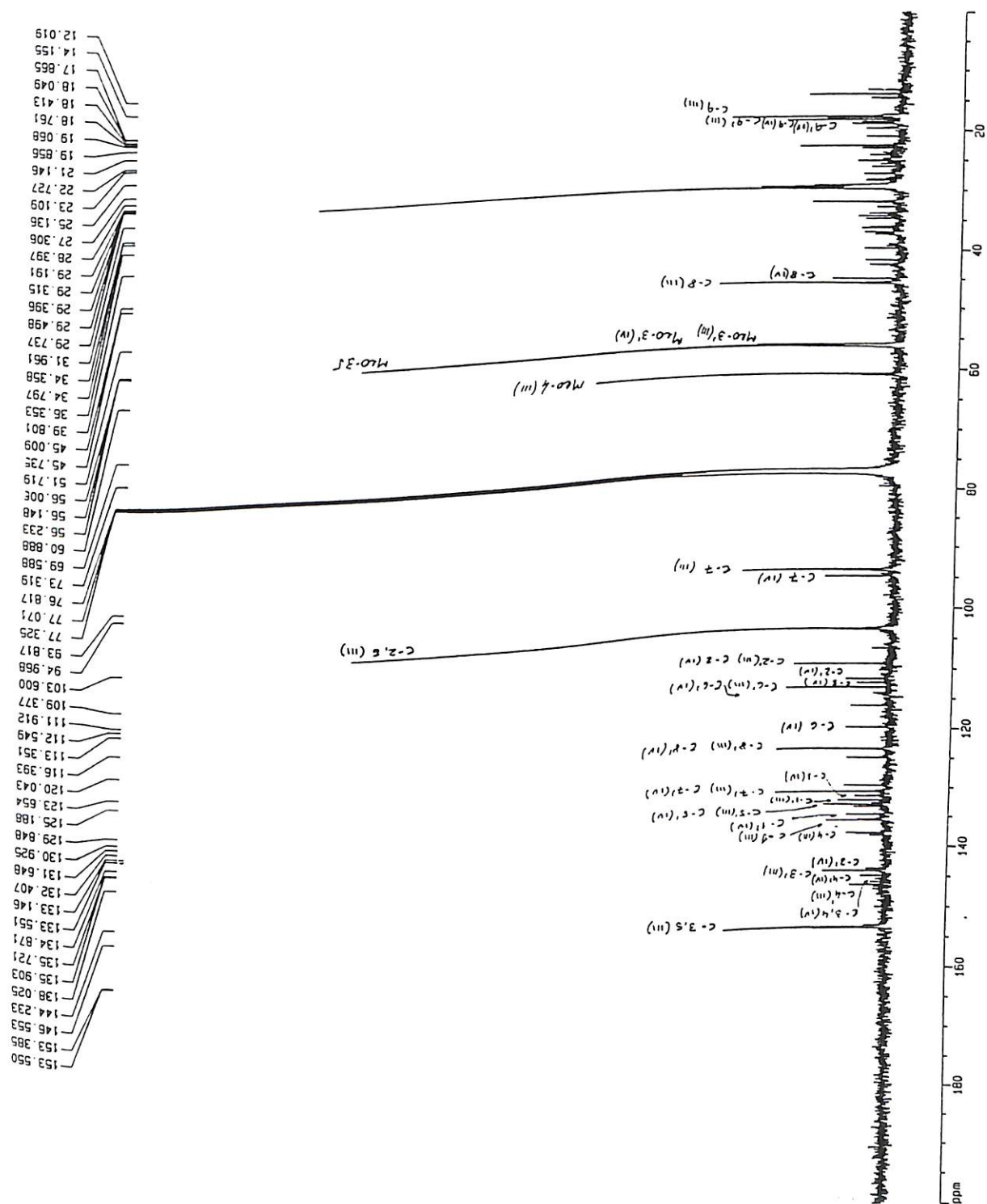


Figura 16 : Espectro de RMN de ^{13}C das neolignanas III e IV (125 MHz, CDCl_3)

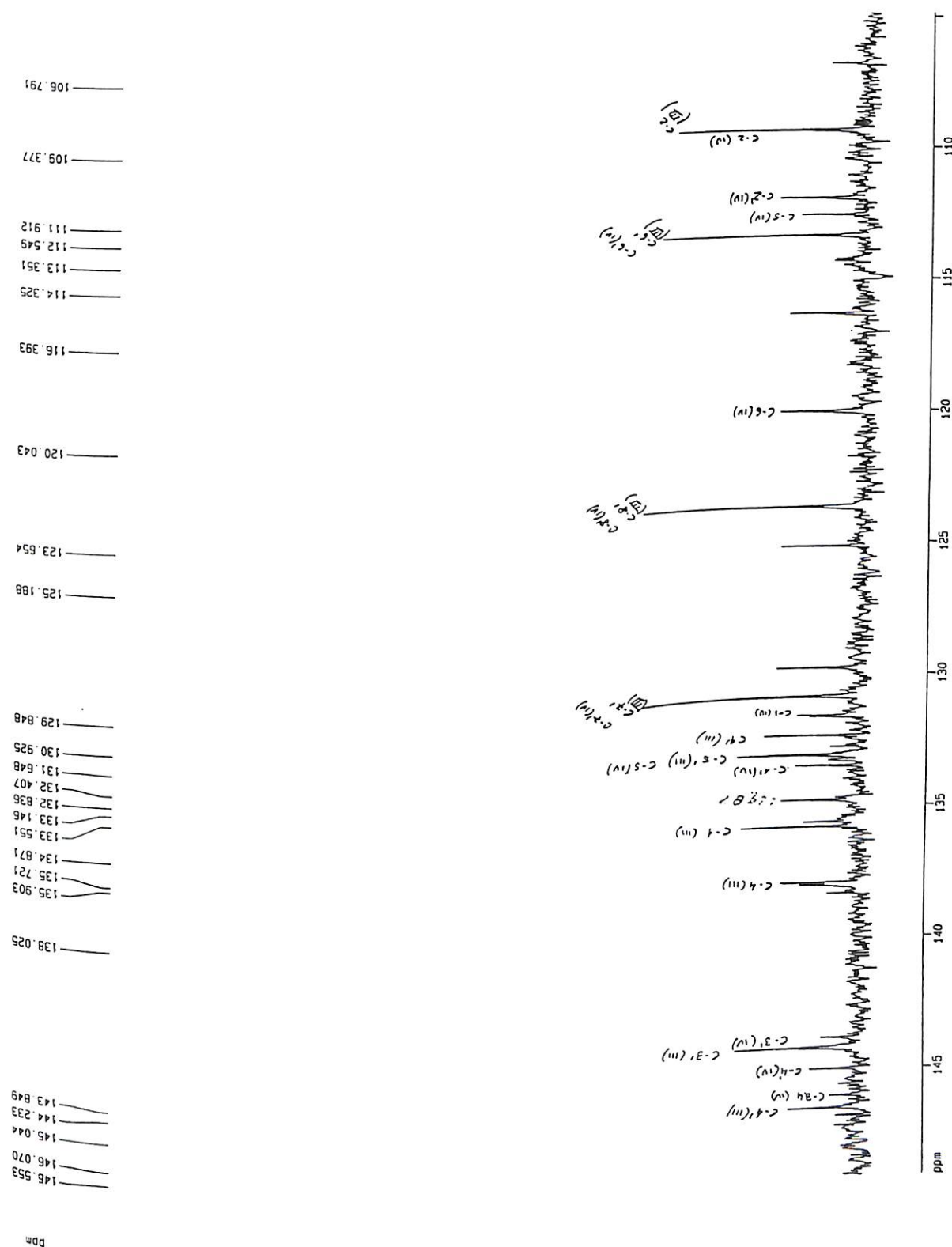


Figura 17 : Espectro de RMN de ^{13}C , região 100,0-150,0 ppm das neolignanas **III** e **IV** (125 MHz, CDCl_3)

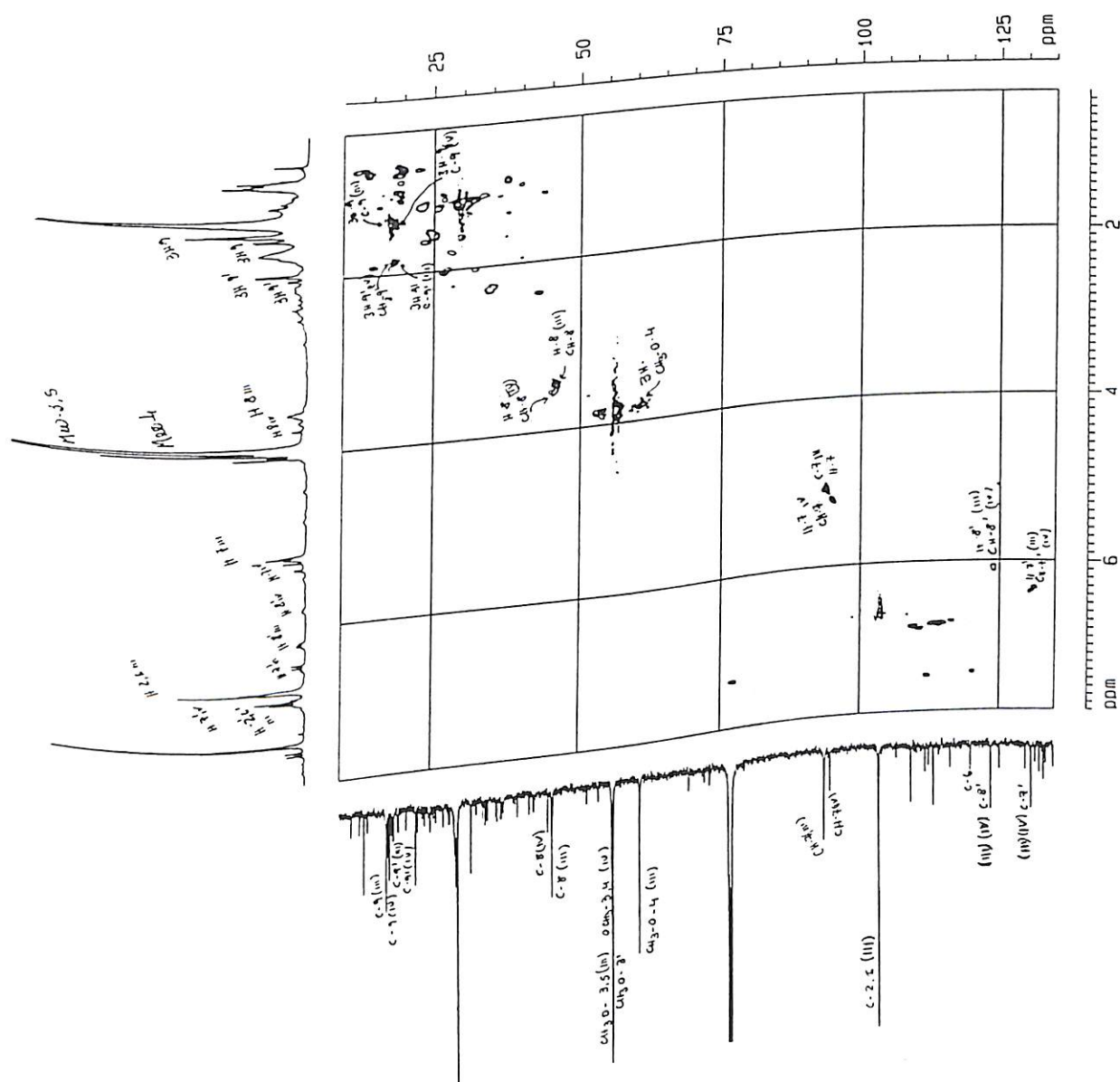


Figura 21 : Espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC, região 0,0-7,0 x 0,0-130,0 das neolignanas **III** e **IV** (125 MHz, CDCl_3)

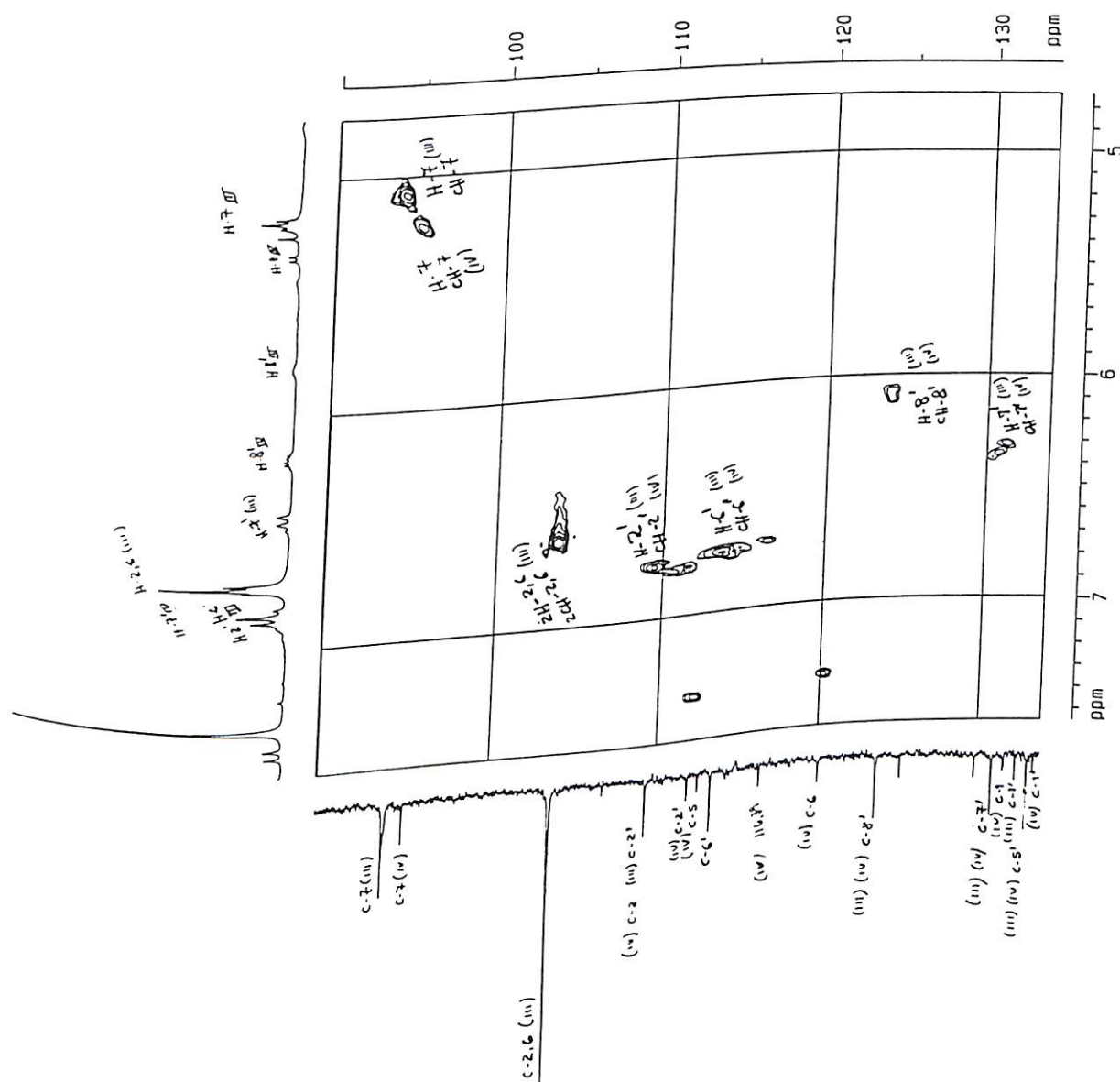


Figura 22 : Espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC, região 4,7-7,5 x 90,0-135,0 das neolignan III e IV (125 MHz, CDCl_3)

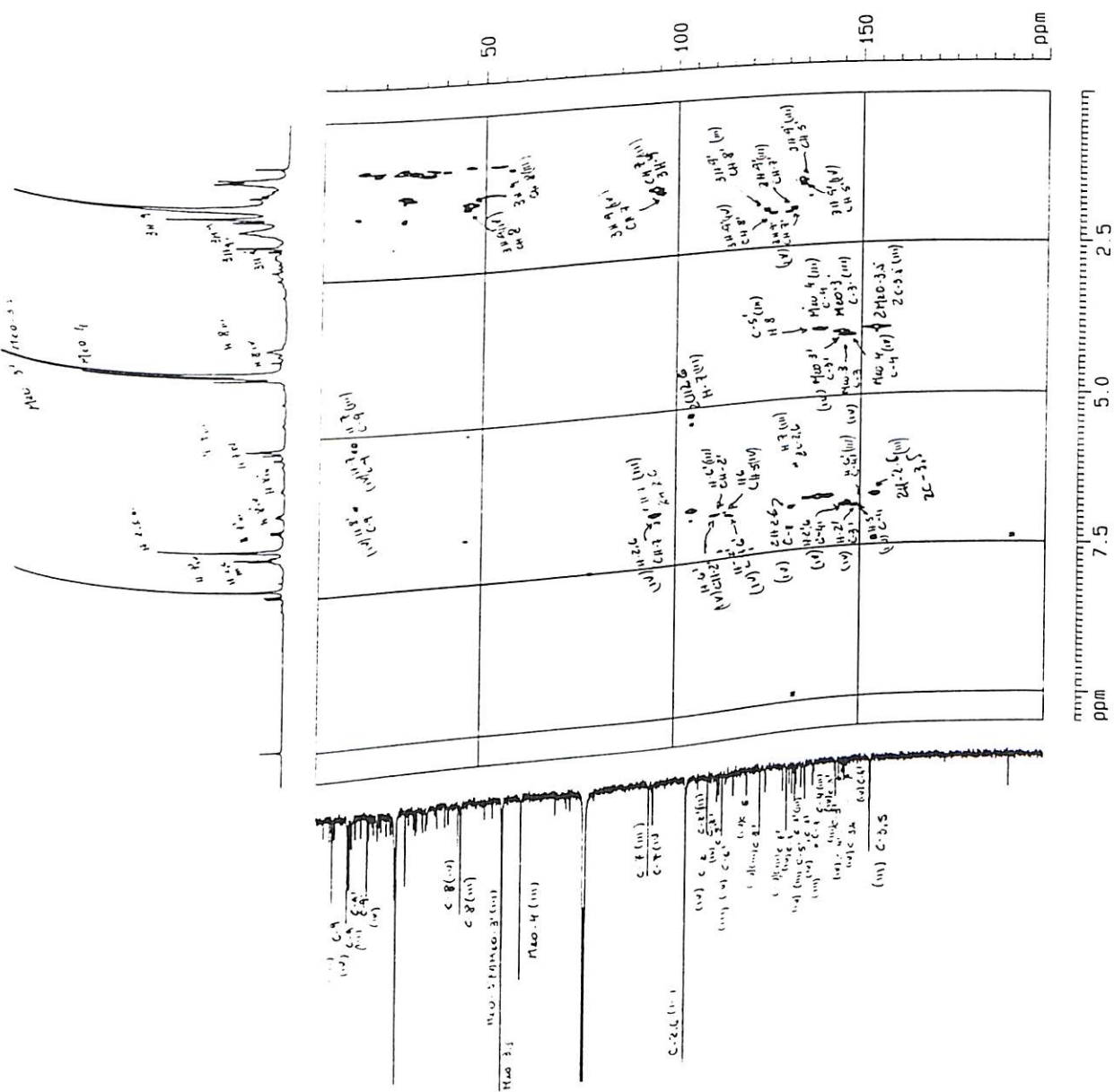


Figura 23 : Espectro de HMBC ^1H x ^{13}C - $^n\text{J}_{\text{CH}}$ n = 2, 3, região 0,0-10,0 x 0,0-200,0 das neolignanas III e IV (125 MHz, CDCl_3)

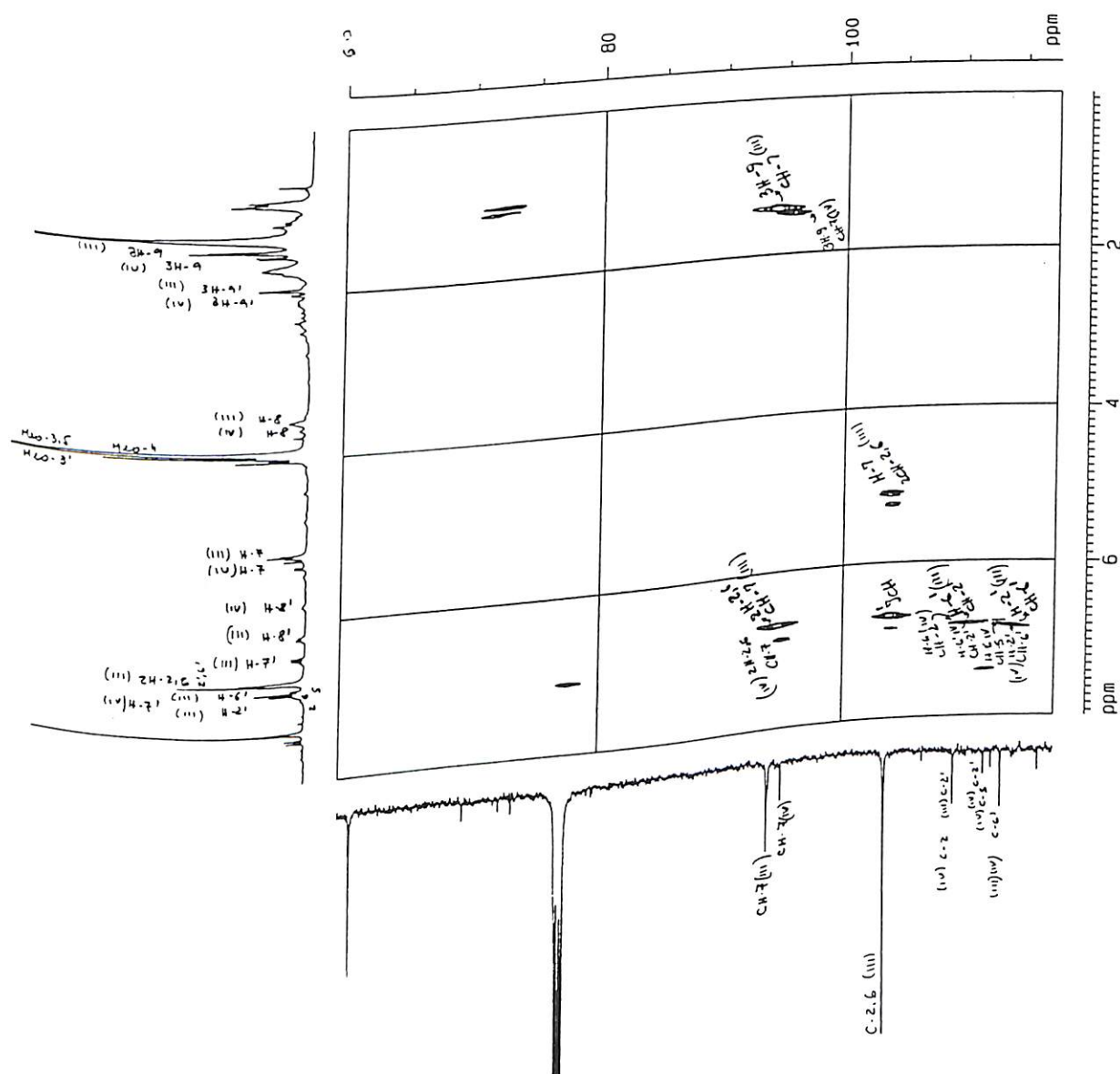


Figura 24 : Espectro de ${}^1\text{H}$ x ${}^{13}\text{C}$ HMBC - ${}^nJ_{\text{CH}}$ n = 2, 3, região 0,0-8,0 x 60,0-115,0 das neolignanas III e IV (125 MHz, CDCl_3)

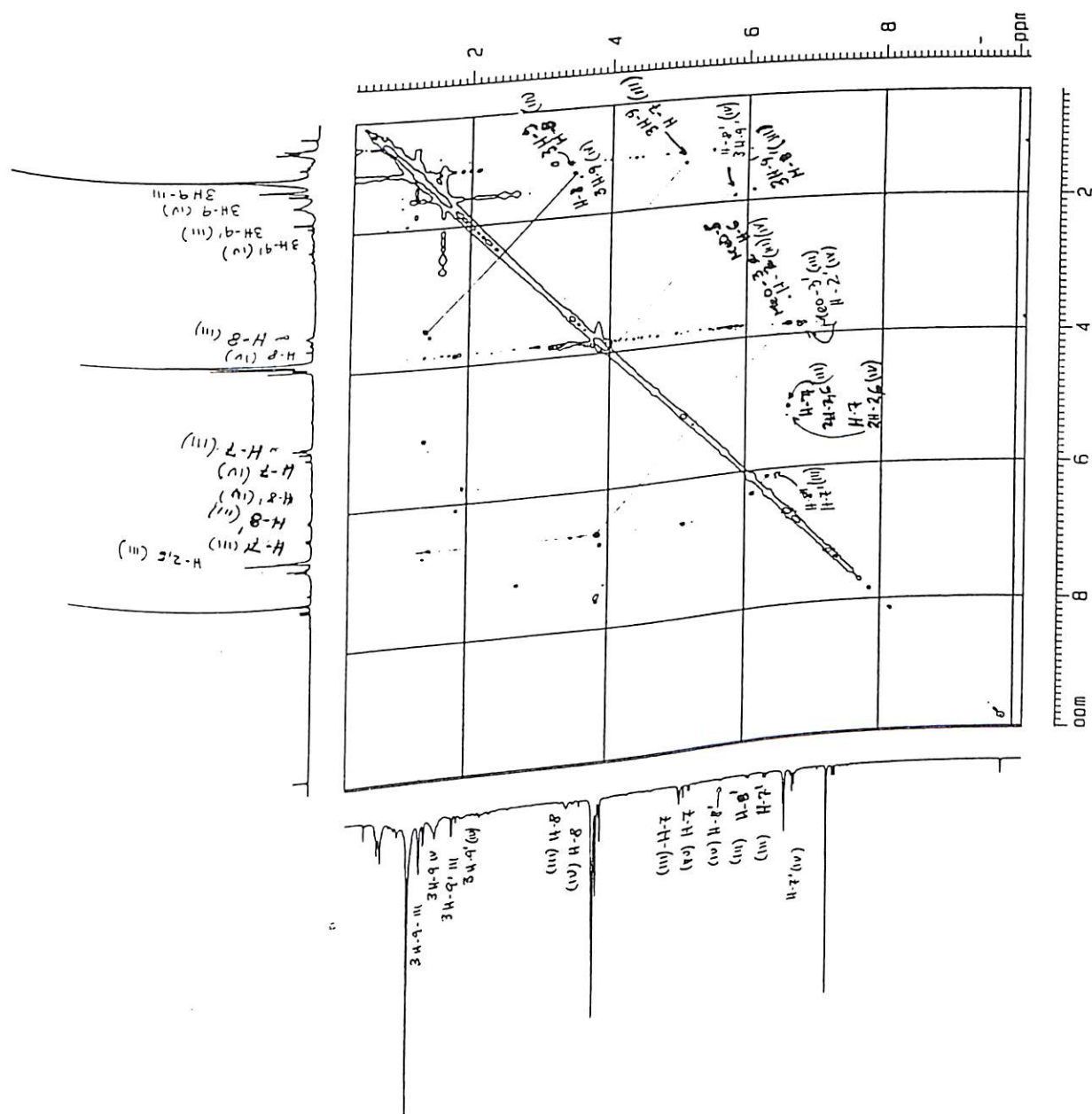


Figura 26 : Espectro de NOESY, região 0,0-10,0 x 0,0-10,0 ppm das neolignanas **III** e **IV** (500 MHz, CDCl_3)

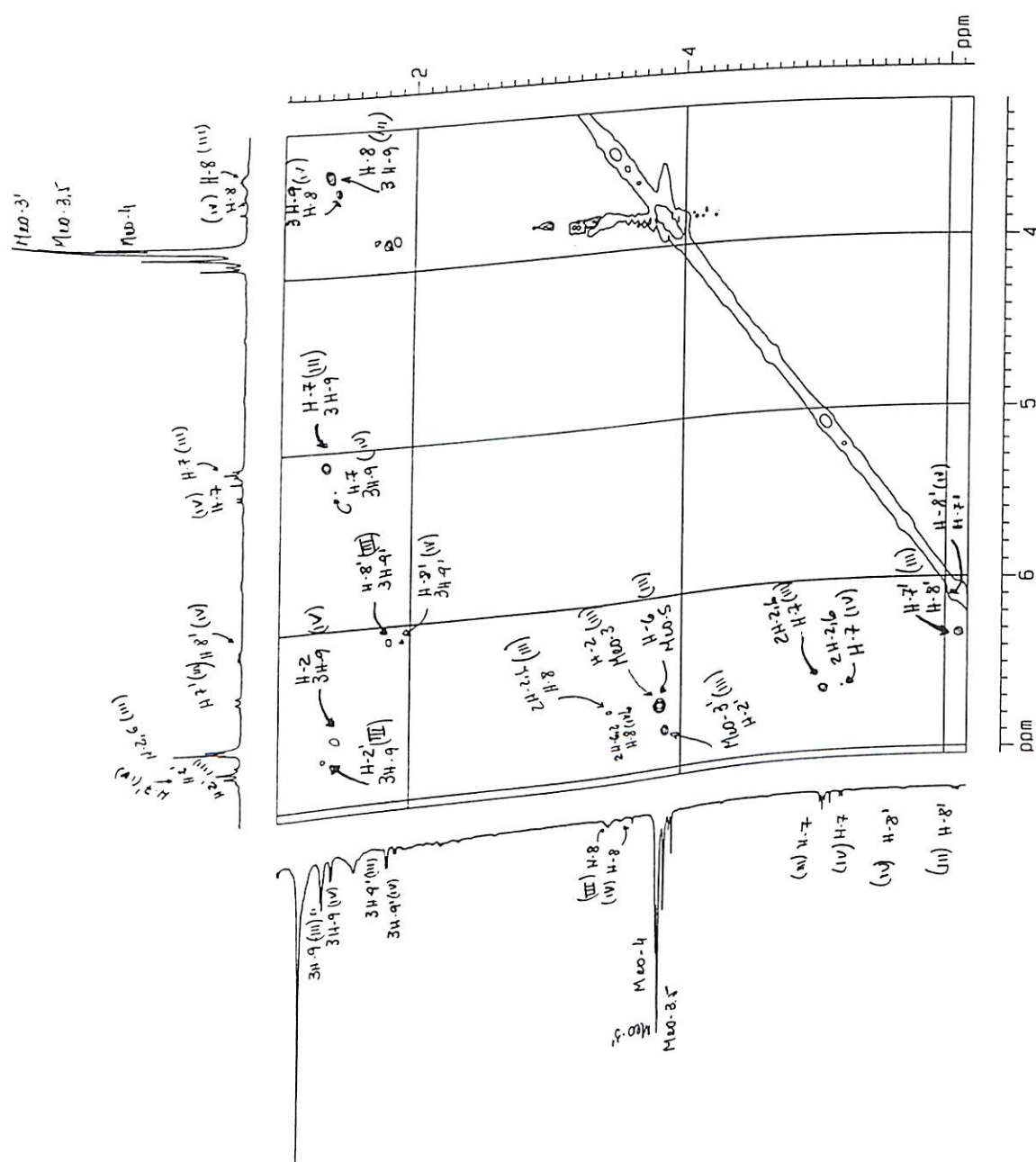


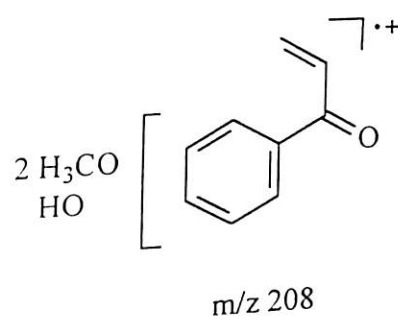
Figura 27 : Espectro de NOESY, região 3,2-7,0 x 1,0-6,0 das neolignanas **III** e **IV** (500 MHz, CDCl₃)

3.4 Determinação Estrutural da Neolignana V

Com base nos espectros de RMN de ^{13}C (Fig. 32;33, pág. 89-90) e DEPT 135° (Fig. 34, pág. 91, tab. 12, pág. 84,) determinou-se o número de átomos de carbono CH_3 , CH e quaternários. Esses dados em conjunto com o sinal do íon molecular presente no espectro de massas em $\text{M}^{+\bullet}$ 356 u.m.a. (Fig. 46, pág. 103) permitiram deduzir a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_5$ para substância V. Tornou-se possível ainda ampliar esta fórmula para $\text{C}_8(\text{CH})_8(\text{CH}_3)_2(\text{OCH}_3)_3\text{OH}$. Subtraindo-se dessa formulação, 3OCH_3 , e um OH resulta em $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{O}$ como esqueleto básico, possibilitando classificar a substância como neolignana.

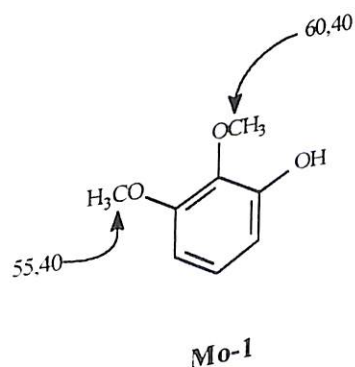
O espectro de infravermelho (Fig. 28, pág. 85) confirmou a natureza aromática da substância pela presença de bandas de absorção em 1607 , 1495 e 891 cm^{-1} presença de hidrogênios aromáticos isolados. Absorção em 1682 e 963 cm^{-1} de ligação dupla, em *trans*, e função éter assimétrico foi assinalada pelas bandas de absorção em 1215 e 1119 cm^{-1} referente ao sistema $=\text{C}-\text{O}-\text{C}-$ respectivamente.

A interpretação do espectro de massas (Esq. 3, pág. 104) mostrou um fragmento em m/z 208 u.m.a. conduzindo à formulação de uma unidade C_6C_3 possuidora de dois grupos metoxila e um grupo hidroxila. Assim a unidade oriunda de dois rearranjos 1,4 de átomo de hidrogênio no espectrômetro de massas pode ser escrita.



Análise dos dados presentes nos espectros de RMN de ^1H (Fig. 29-31, pág. 86-88), ^{13}C (Figs. 32-33, págs. 89-90) e $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (Fig. 35, pág. 92) permitiram identificar três sinais simples largos e atribuídos a quatro hidrogênios aromáticos δ_{H} 6,87, 6,85 e 2H em δ_{H} 6,75. Um sistema $-\text{CHO}-\text{CH}-\text{CH}_3$ foi observado pela análise dos sinais em δ_{H} 5,15 (d, $J = 9,5$ Hz, H-7), δ_{H} 3,55 (dq, $J = 9,5; 6,6$ Hz, H-8) e esse sinal acoplando com um grupo metila adjacente fixado em δ_{H} 1,47 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H-9). A constante de acoplamento observada de 9,5 Hz conduz à colocação dos átomos de hidrogênios H-7 e H-8 na relação *trans*, [29,34].

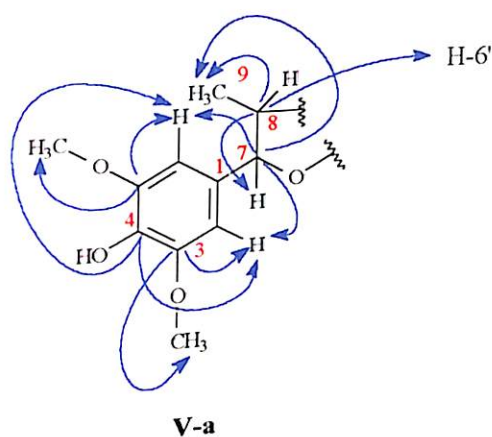
comum em neolignana do tipo diidrobenzofurânicas. O deslocamento químico dos carbonos de duas metoxilas em δ_{C} 56,41 indicam que esses substituintes ocupam posições equivalentes e sem impedimento conforme discutido anteriormente na dedução estrutural das substâncias III e IV.



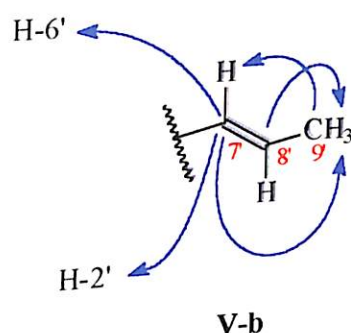
A atribuição do sinal com deslocamento químico em δ_H 3,97 (s) para os átomos de hidrogênio das metoxilas localizadas em C-3 e C-5 foi assegurada pela análise do espectro de correlação heteronuclear $^1H \times ^{13}C$ HMQC - $^1J_{CH}$ (Figs. 36-38, págs. 93-95) que revelou a interação desses átomos de hidrogênio com os carbonos representados pelo sinal em δ_C 56,41, confirmando ausência de metoxila estericamente impedida, como fica demonstrado pelos deslocamentos químicos indicados na substância modelo Mo-1 [30].

Essa dedução apresenta-se em acordo quando, no exame do espectro de $^1H \times ^{13}C$ HMBC - $^nJ_{CH}$, $n = 2$ e 3 (Fig. 42, pág. 99), revelando o deslocamento químico de dois carbonos aromáticos em δ_C 147,08 (C-3,5) que interagem a duas ligações com 2 (dois) hidrogênios em δ_H 6,75 (H-2,6) e a três ligações com os hidrogênios dos grupos H_3CO -3,5. O átomo de carbono oxigenado e quaternário com δ_C 134,83 também apresentou interação a três ligações com os átomos de hidrogênio com δ_H 6,75 (s, 2H-2,6). O carbono metínico em δ_C 45,75 (C-8) também mostra interação heteronuclear a duas ligações com os hidrogênios em δ_H 5,15 (H-7) e δ_H 1,47 (3H-9) e a três ligações com um hidrogênio em δ_H 6,85, provavelmente localizado na outra extremidade da substância (Fig. 40, pág. 97).

O sinal em δ_H 6,75 (s) corresponde deste modo aos hidrogênios localizados em H-2 e H-6 e guardando uma relação *meta*. Essa análise (Fig. 41, pág. 98) foi definida pelo exame da correlação heteronuclear entre o δ_C 94,13 (C-7) a três ligações com o sinal desses dois átomos de hidrogênio δ_H 6,75 (s, H-2,6) e com hidrogênio localizado em δ_H 1,47 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H-9) definindo-se desse modo a unidade estrutural V-a para a estrutura parcial da substância V.

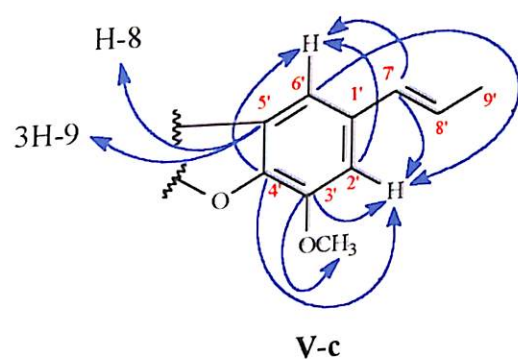


Um sistema propenil benzeno foi evidenciado pela presença do sinal duplo correspondente a três hidrogênios em δ_H 1,95 (d, $J = 6,5$ Hz, $3H-9'$) acoplando com um átomo de hidrogênio olefínico localizado em δ_H 6,19 (dq, $J = 15,5; 6,5$ Hz, $H-8'$) mantendo uma configuração E (*trans*) com átomo de hidrogênio olefínico cujo sinal aparece em δ_H 6,45 (d, $J = 15,5$ Hz, $H-7'$) (Figs. 29-31,35, págs. 86-88,92) [33]. Esse sistema (**V-b**) é confirmado na análise do espectro de $^1H \times ^{13}C$ HMBC - $^nJ_{CH}$ $n = 2$, e 3 (Fig. 42, pág. 99) onde se observam as correlações heteronucleares entre o carbono δ_C 130,94 ($C-7'$) a três ligações com os hidrogênios $3H-9'$ e com os hidrogênios em $2H-2',6'$. Nota-se também a interação heteronuclear do átomo de carbono δ_C 123,61 ($C-8'$) a duas ligações com os hidrogênios $3H-9'$. Esse espectro revelou também uma das ligações entre as duas unidades **V-a** e **V-c** ($8.5'$) através da correlação heteronuclear entre o átomo de carbono δ_C 45,75 ($C-8$) em três ligações com o átomo de hidrogênio em δ_H 6,85 (s, $H-6'$) (Fig. 40, pág. 97). Revelando também a interação do δ_C 18,42 ($C-9'$) em $^2J_{CH}$ com $H-8'$ e em $^3J_{CH}$ com $H-7'$.



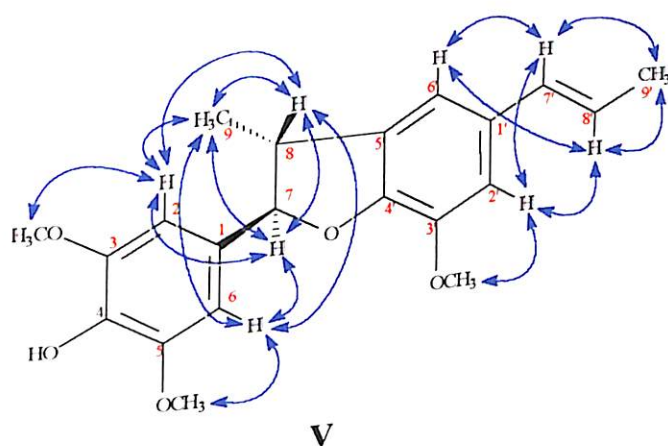
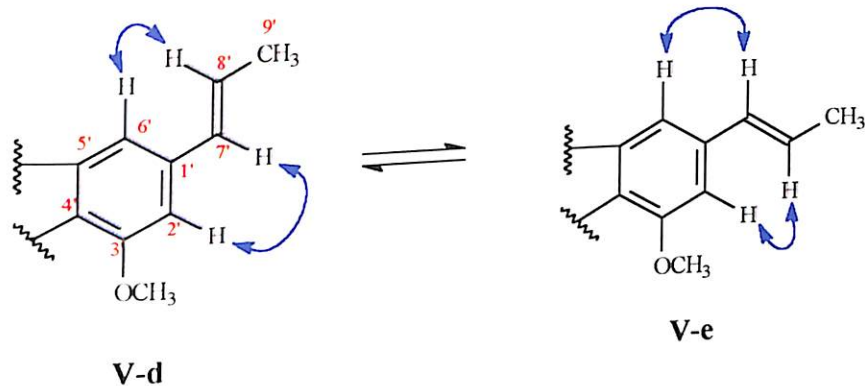
O padrão de substituição do anel benzeno para a segunda unidade aromática (V-c) também se apresenta como tetrassubstituída com fórmula molecular $C_{10}H_{10}O_2$ como em III e IV. Quatro carbonos quaternários, e dois metínicos, sendo esses últimos átomos de hidrogênio possuindo deslocamento químico de δ_H 6,87 (s) e 6,85 (s) sugerindo um acoplamento *meta*. Entre eles esta relação é reforçada pela análise do espectro de $^1H \times ^{13}C$ HMBC - $^3J_{CH}$ (Fig. 41, pág. 98) onde o átomo de carbono aromático com δ_C 109,28 (C-2') está correlacionado com átomo de hidrogênio em δ_H 6,85 (s, H-6') e δ_C 113,32 (C-6') com átomo de hidrogênio em δ_H 6,87 (s, H-2').

As demais interações de acoplamento a longa distância para esta unidade são mostradas nos espectros de $^1H \times ^{13}C$ HMBC e (Fig. 40-42, pág. 97-99 e tab. 12, pág. 84), sendo resumidas na representação estrutural da subunidade V-c. Essas análises corroboram as deduções estruturais para V e também para III e IV.



O padrão de substituição para o anel aromático da unidade **V-c** foi também confirmado pela análise comparativa dos valores de carbono e hidrogênios com dados de literatura para licarina A, B, C e D [14, 33, 35], e com as substâncias **III** e **IV** (Tab. 9-10, pág. 58-59).

Os espectros de NOESY (Figs. 43-45, págs. 100-102) e condensados na estrutura parcial **V**, (Tabela 11, pág 83) confirmaram a estrutura **V**, e revelaram as interações espaciais entre os átomos de hidrogênio 3H-9, H-7, H-8 e destes a longa distância com os hidrogênios aromáticos H-2 e H-6, evidenciando a livre rotação do anel. Os hidrogênios dos dois grupos H_3CO -3,5 ocasionam efeito NOE nos seus vizinhos H-2 e H-6 respectivamente. Observa-se também interação espacial do grupo propenil com os hidrogênios aromáticos e vice-versa, exibindo a rotação entre os carbonos C-1' e C-7' proporcionando a existência das estruturas parciais **V-d** e **V-e** em equilíbrio.



Todos os dados discutidos permitiram postular a estrutura de rel-(7R,8R)- Δ^7 -4-Hidroxi-3,5,3'-trimetoxi-7.O.4',8.5'-neolignana (V) para esta substância encontrada nas folhas *N. membranacea*, ainda não citada na literatura científica.

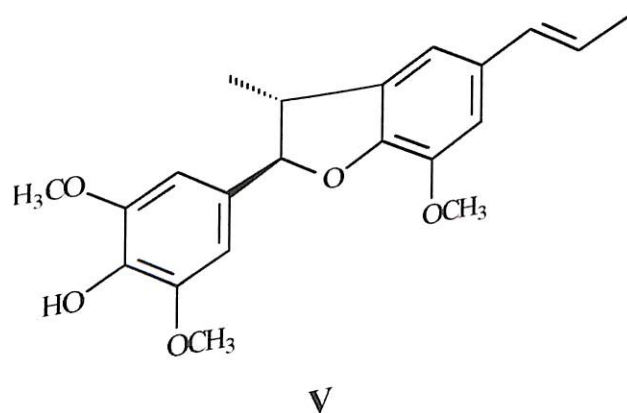


Tabela 11 : Dados de NOE obtidos por experiência 2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY para a substância V*.

CH	δ_{H}	Picos transversais correspondentes a NOE com
2,6	6,75 (s)	H-7; H-8
7	5,15 (d, $J = 9,5$)	2 H-2,6; H-8; 3H-9
8	3,55 (dq, $J = 9,5; 6,6$)	2 H-2,6; 3H-9; H-7
2'	6,87 (s)	H-7'; H-8'; MeO-3'
6'	6,85 (s)	H-7'; H-8'
7'	6,45 (d, $J = 15,5$)	2 H-2',6'
8'	6,19 (dq, $J = 15,5; 6,5$)	2 H-2',6'; H-7'
<u>CH₃</u>		
9	1,47 (d, $J = 6,6$)	2H-2,6; H-7; H-8
9'	1,95 (d, $J = 6,5$)	H-7'; H-8'
MeO-3	3,97 (s)	H-2
MeO-5	3,97 (s)	H-6
MeO-3'	3,98 (s)	H-2'

* Resultados de experiências 2D de correlação heteronuclear e C-13 [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ COSY - $^nJ_{\text{CH}} n = 1$ (HMQC) e $n = 2, 3$ (HMBC)] foram também usadas nesta análise.

Tabela 12 : Valores de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 ppm, Hz) e de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) correlação DEPT, $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC - $^1\text{J}_{\text{CH}}$ e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^n\text{J}_{\text{CH}}$, n = 2 e 3 da substância V.

C	HMQC		HMBC	
	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^n\text{J}_{\text{CH}}$	
	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
	δ_{C}	δ_{H}		
1	131,25	-	H-7	
3,5	147,08	-	2H-2,6	2MeO-3,5
4	134,83	-		2H-2,6
1'	132,33	-	H-2'	MeO-3'
3'	144,21	-	H-2'; H-6'	
4'	147,22	-	H-8	3H-9
5'	133,22	-		
CH				H-7
2,6	103,52	6,75 (s)		2H-2,6; 3H-9
7	94,13	5,15 (d, J = 9,5)	H-7; 3H-9	H-6'
8	45,75	3,55 (dq, J = 9,5; 6,6)		H-6'
2'	109,28	6,87 (s)		H-2'
6'	113,32	6,85 (s)		3H-9'; H-2'; H-6'
7'	130,94	6,45 (d, J = 15,5)	3H-9'	
8'	123,61	6,19 (dq, J = 15,5; 6,5)		
CH ₃				H-7
9	17,61	1,47 (d, J = 6,6)	H-8'	H-7'
9'	18,42	1,95 (d, J = 6,5)		
2MeO-3,5	56,41	3,97 (s)		
MeO-3'	55,97	3,98 (s)		

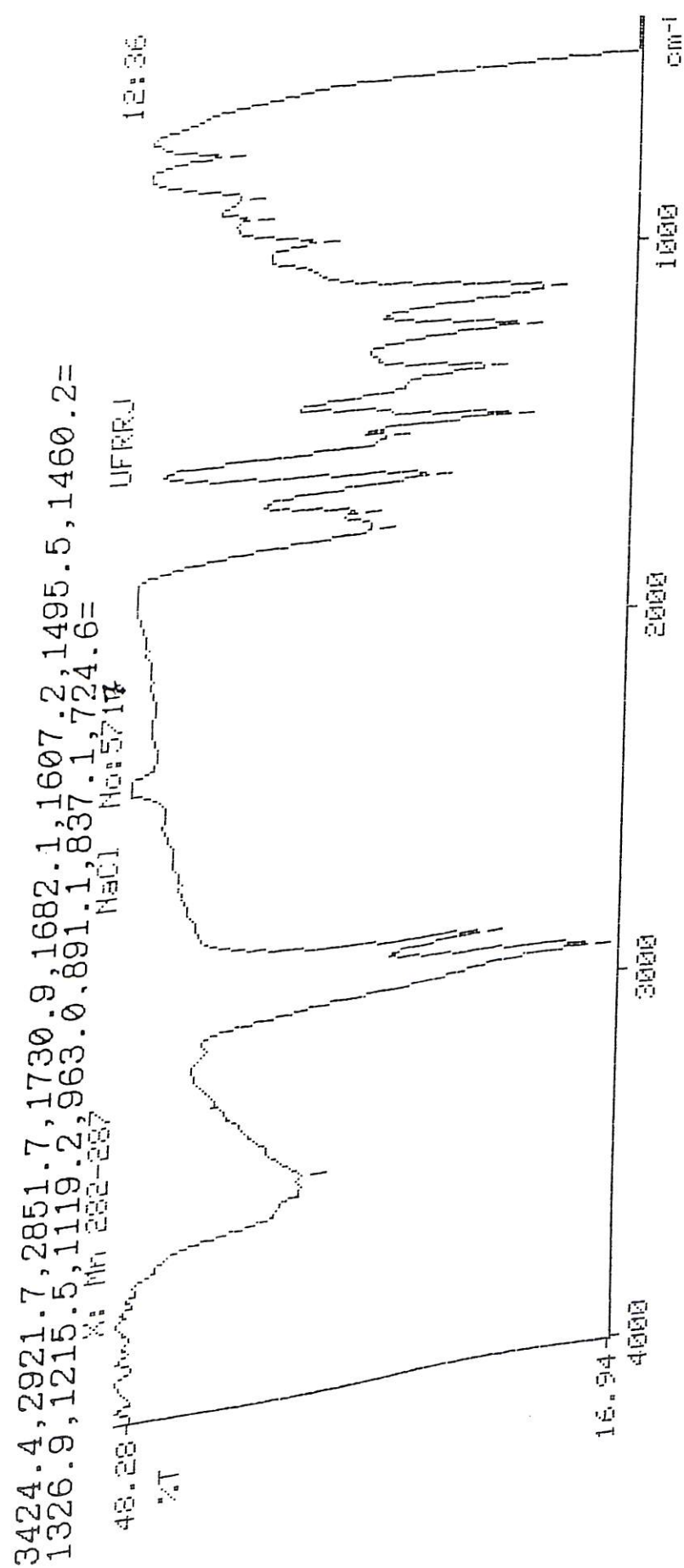


Figura 28 : Espectro de IV da neolignana V.

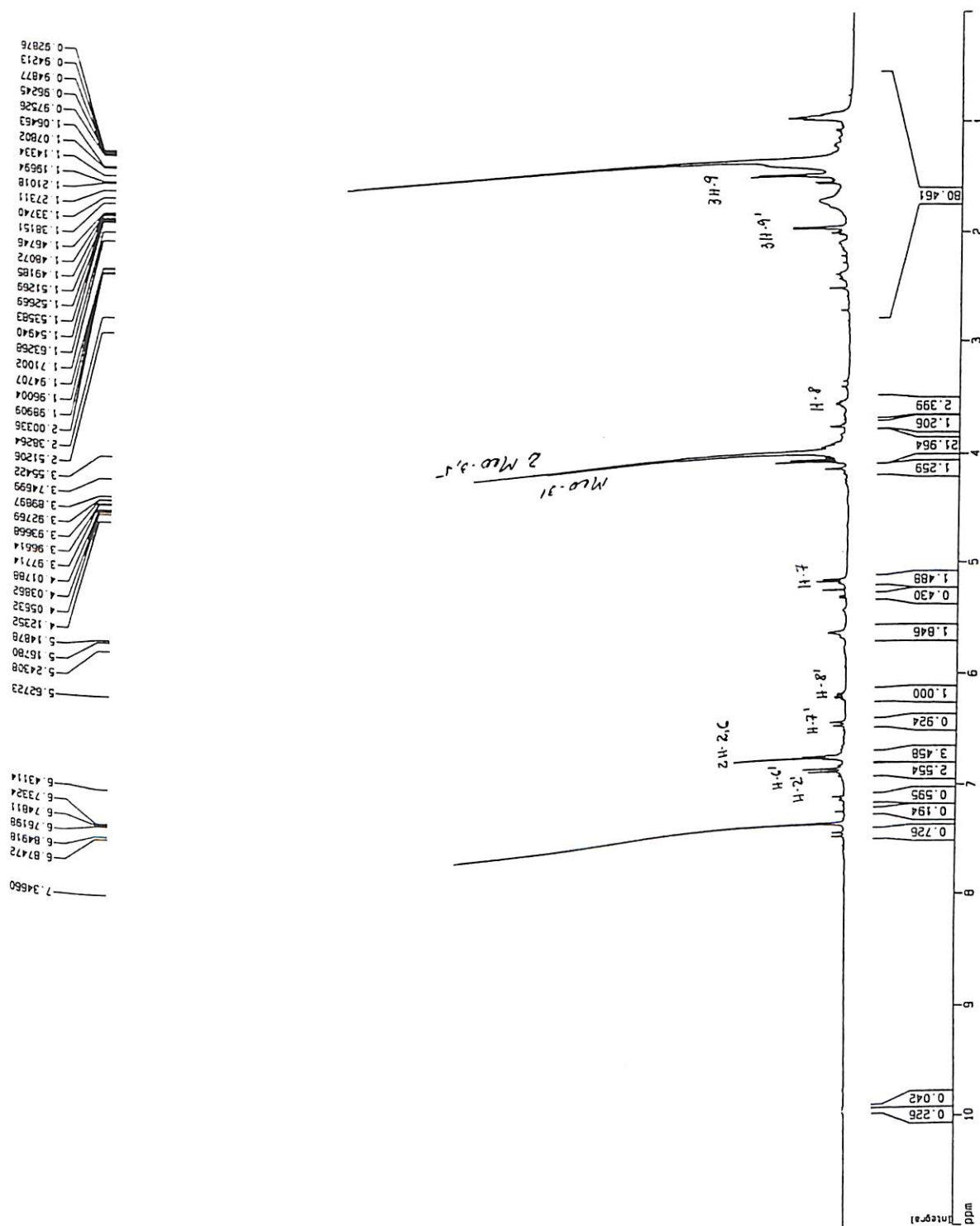
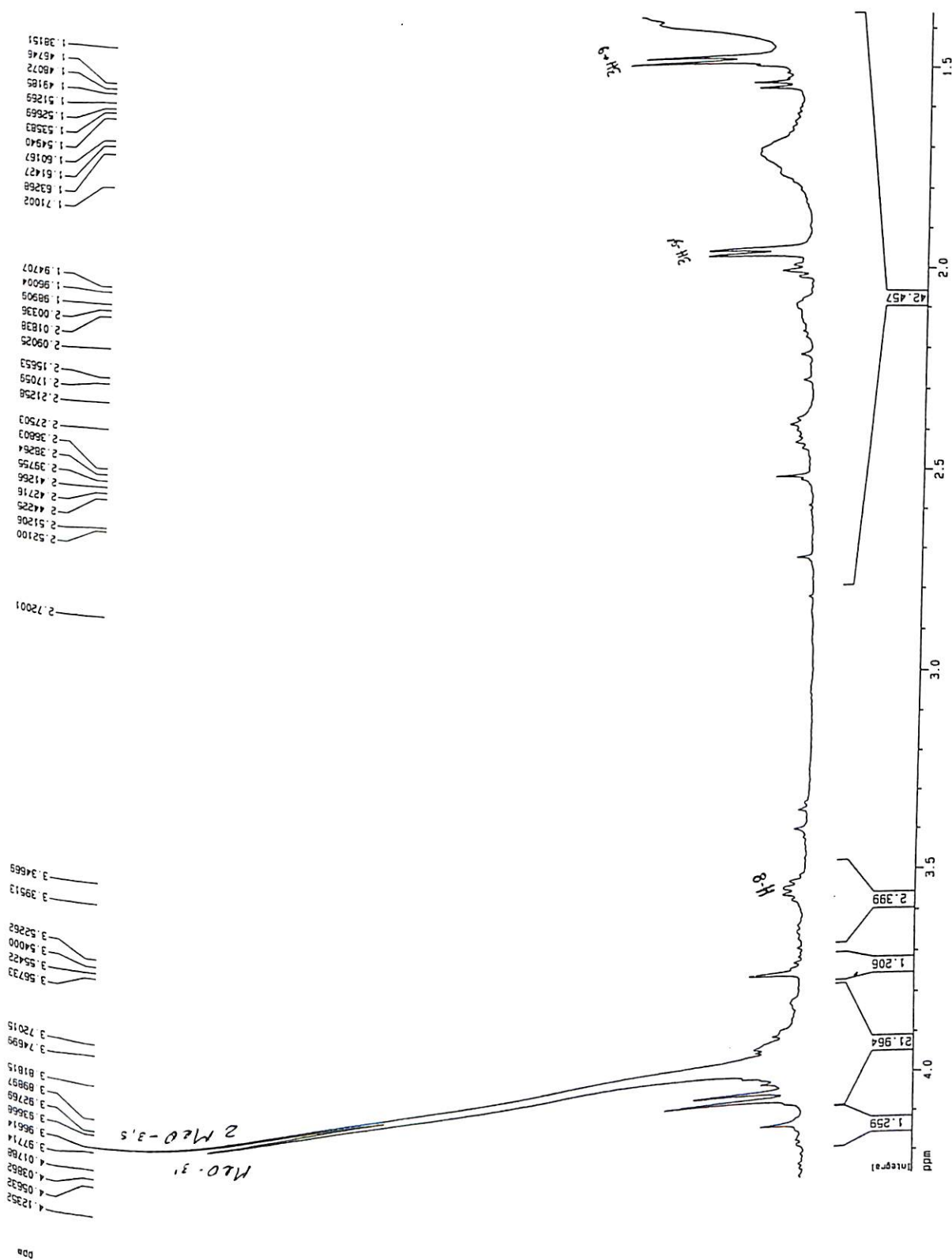


Figura 29 : Espectro de RMN de ^1H da neolignana V (500 MHz, CDCl_3)



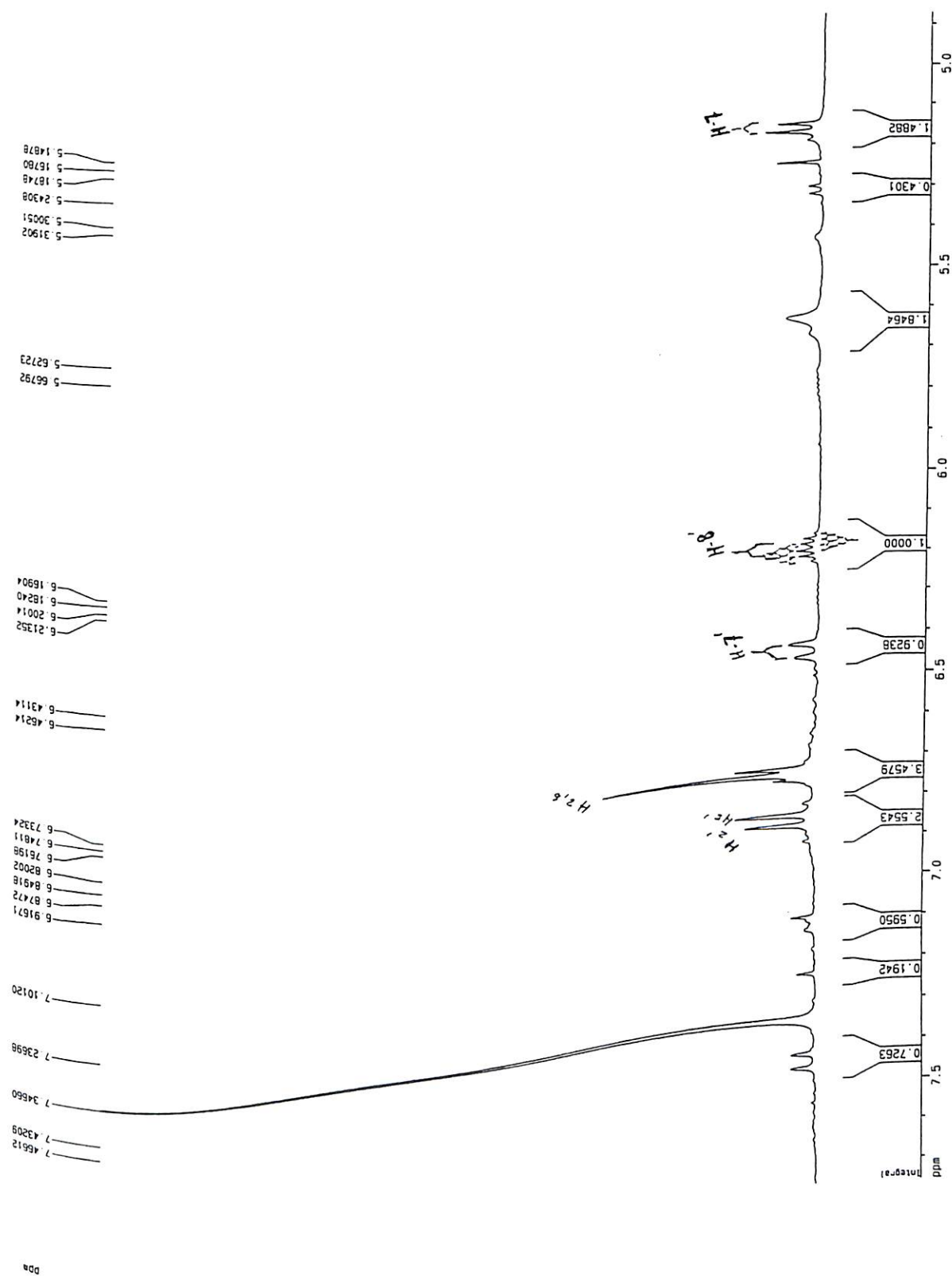


Figura 31 : Espectro de RMN de ^1H , região 4,8-7,8 ppm da neolignana V (500 MHz, CDCl_3)



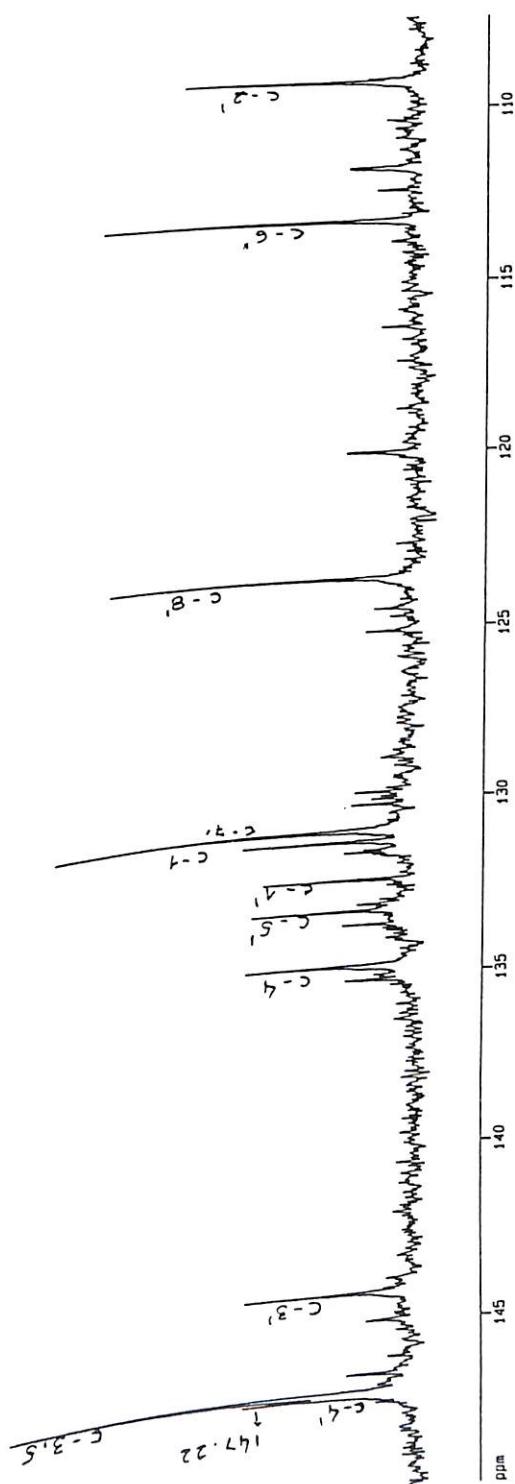


Figura 33 : Espectro de RMN de ¹³C, região 108,0-150,0 ppm da neolignana V (125 MHz, CDCl₃)

147.221	146.557	145.023	144.215
135.232	134.826	133.624	133.223
132.330	131.561	131.249	130.942
130.216	129.866	125.157	124.502
123.612	120.054	116.358	113.319
112.459	111.843	110.434	109.284

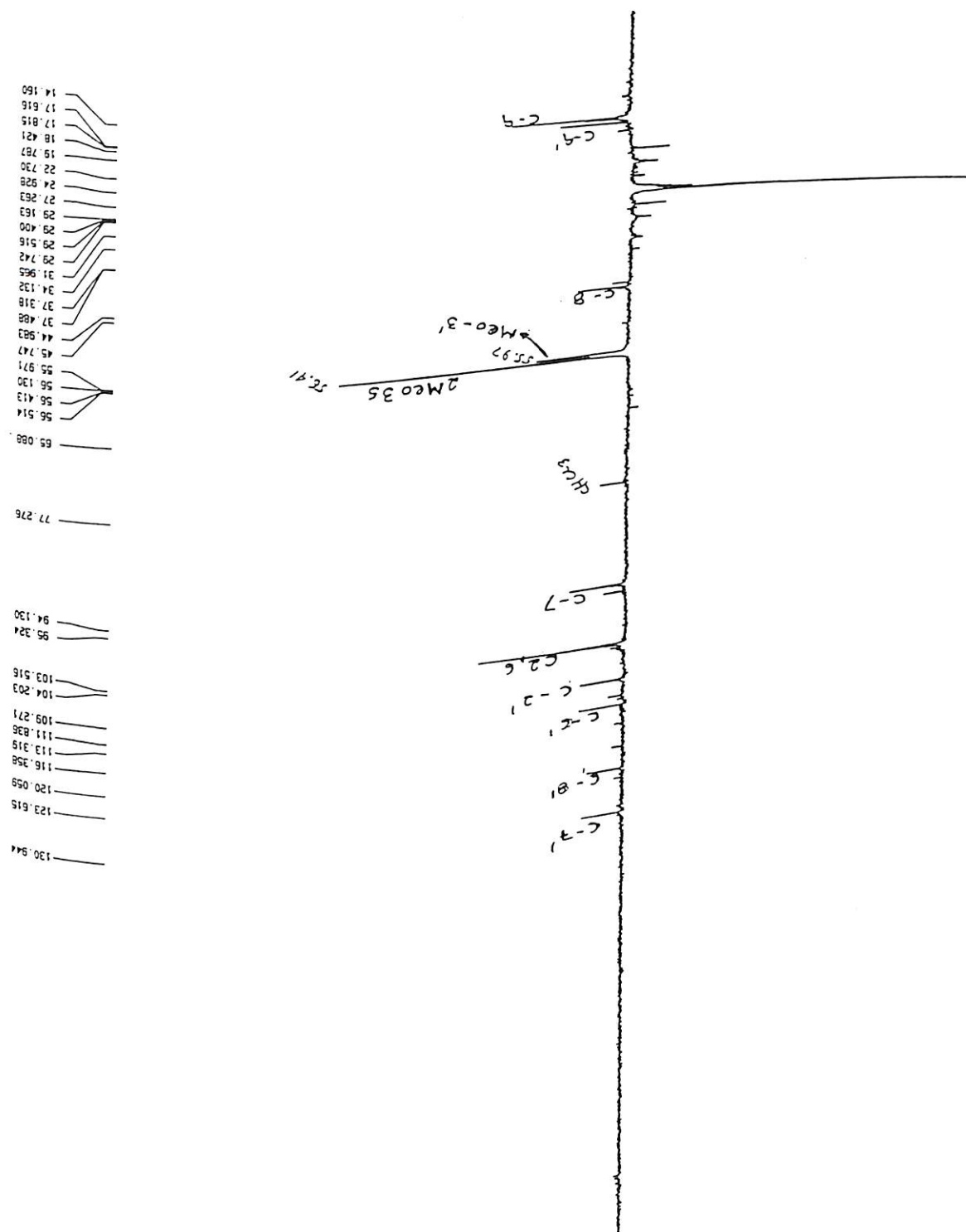


Figura 34 : Espectro de RMN de ^{13}C - DEPT 135° da neolignana V (125 MHz, CDCl_3)

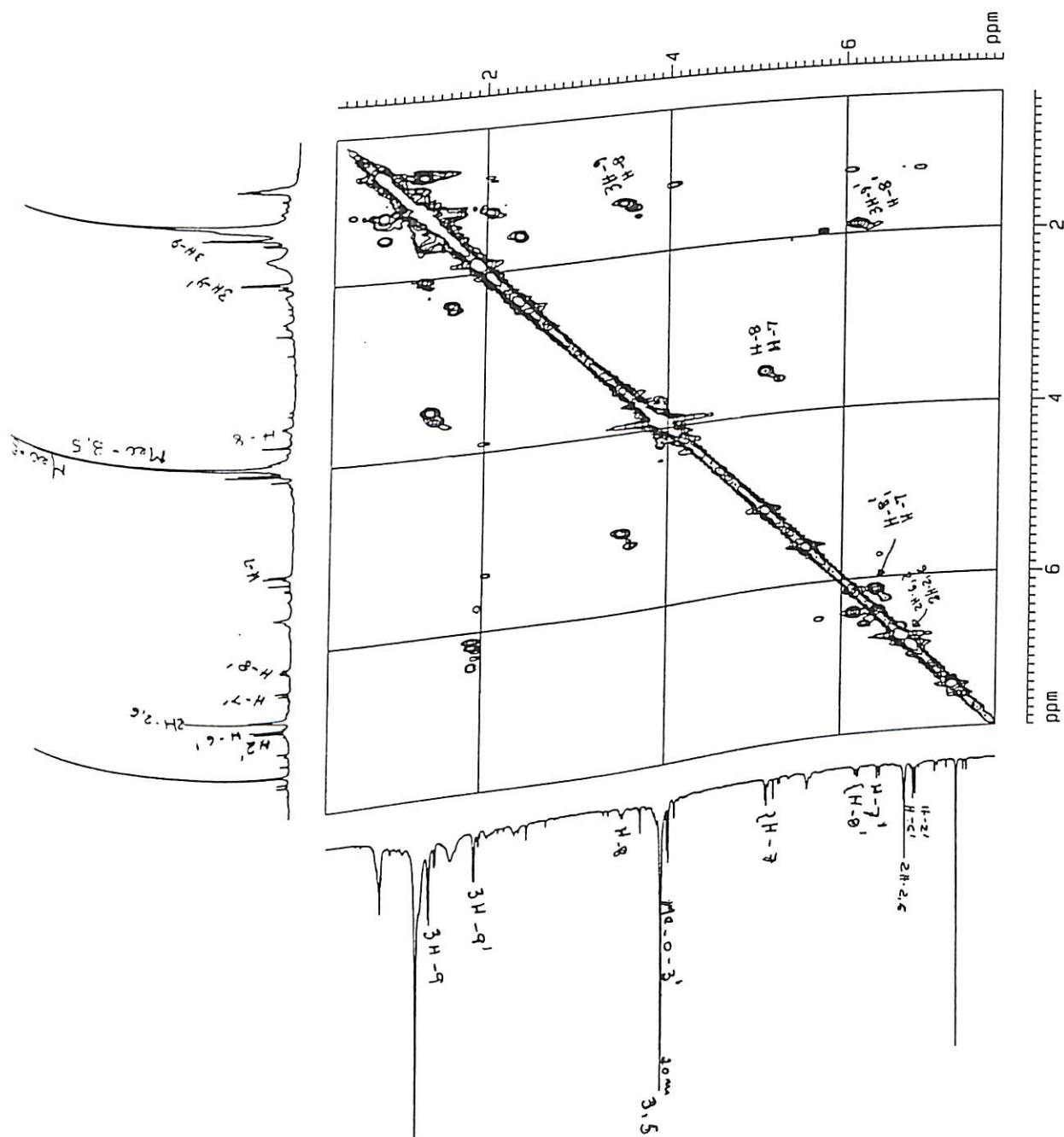


Figura 35: Espectro de RMN 2D HOMOCOSY, região 0,0-8,0 x 0,0-8,0 ppm da neolignana **V** (500 MHz, CDCl₃)

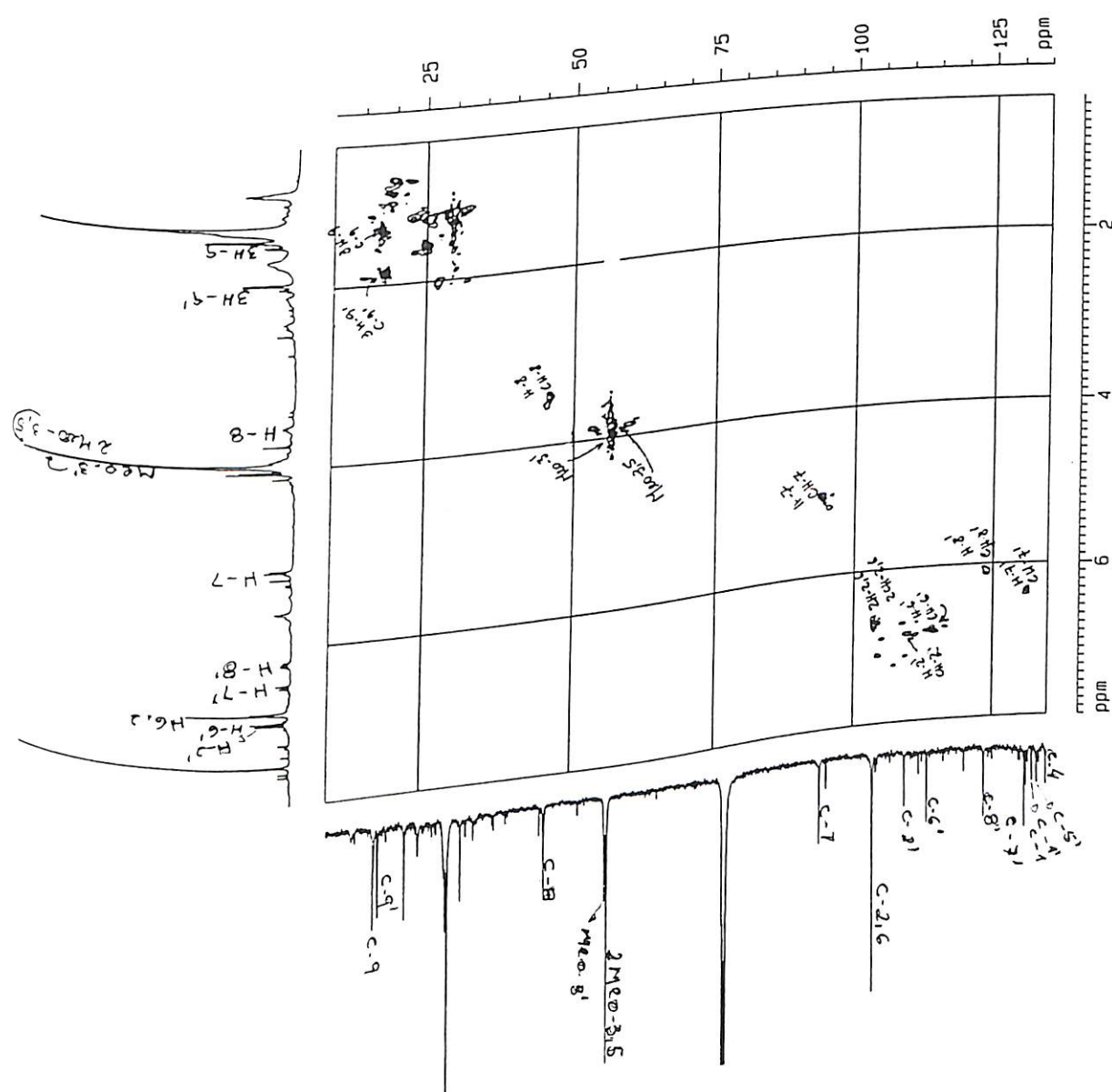


Figura 36 : Espectro de RMN 2D - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC, região 1,0-7,0 x 20,0-135,0 ppm da neolignana V (125 MHz, CDCl_3)

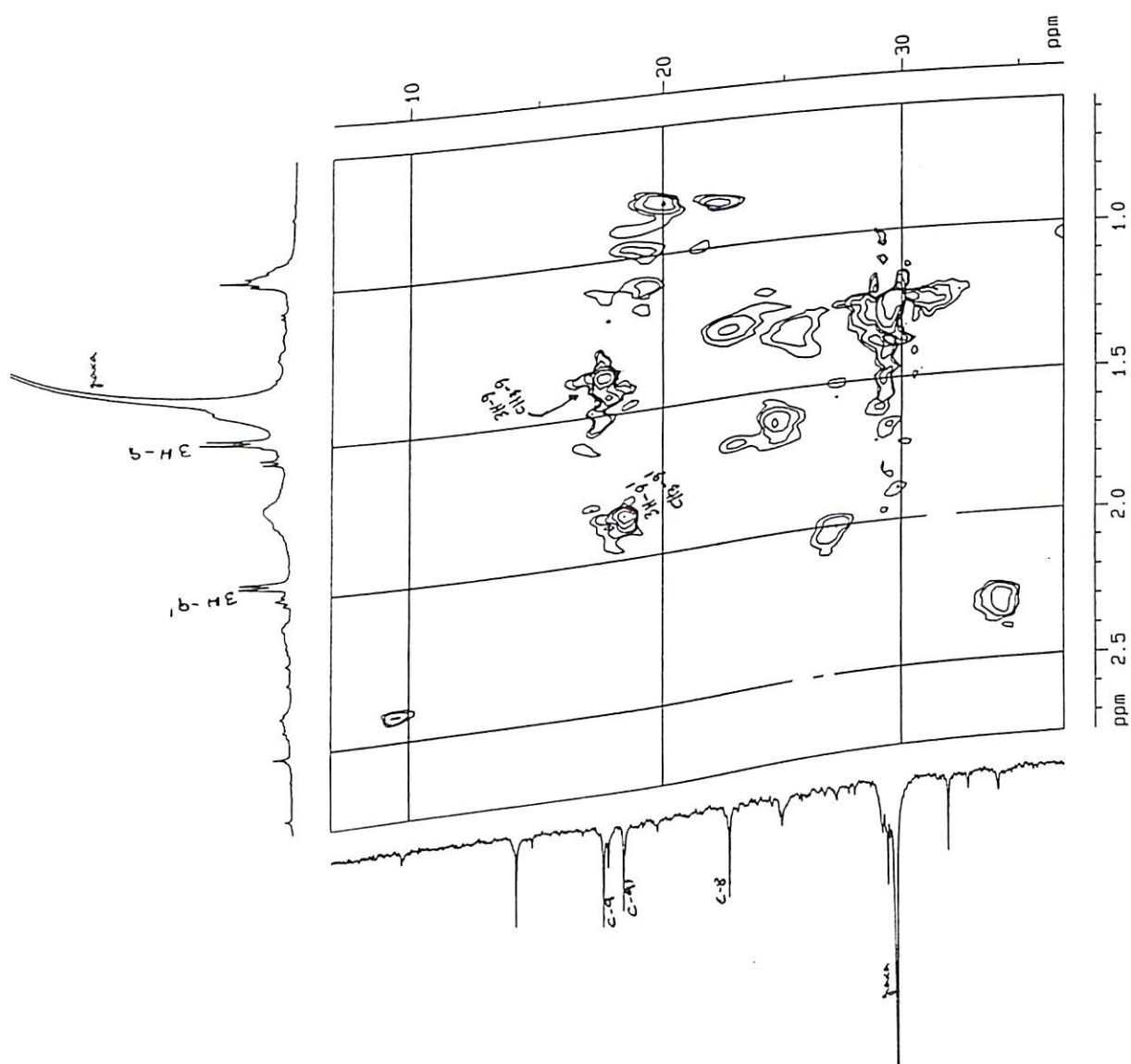


Figura 37 : Espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC, região 0,5-2,7 x 10,0-36,0 ppm da neolignana V (125 MHz, CDCl_3)

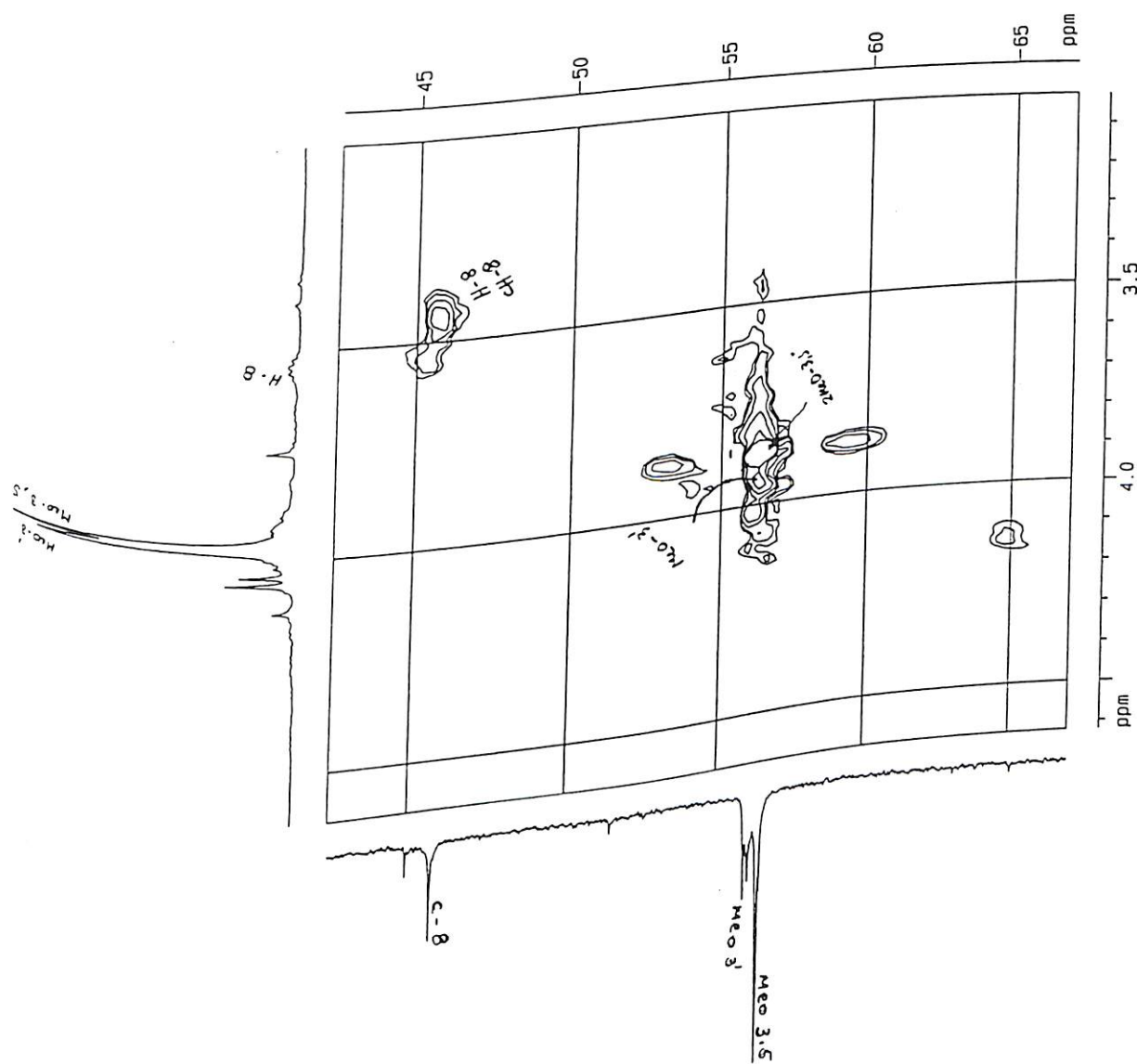
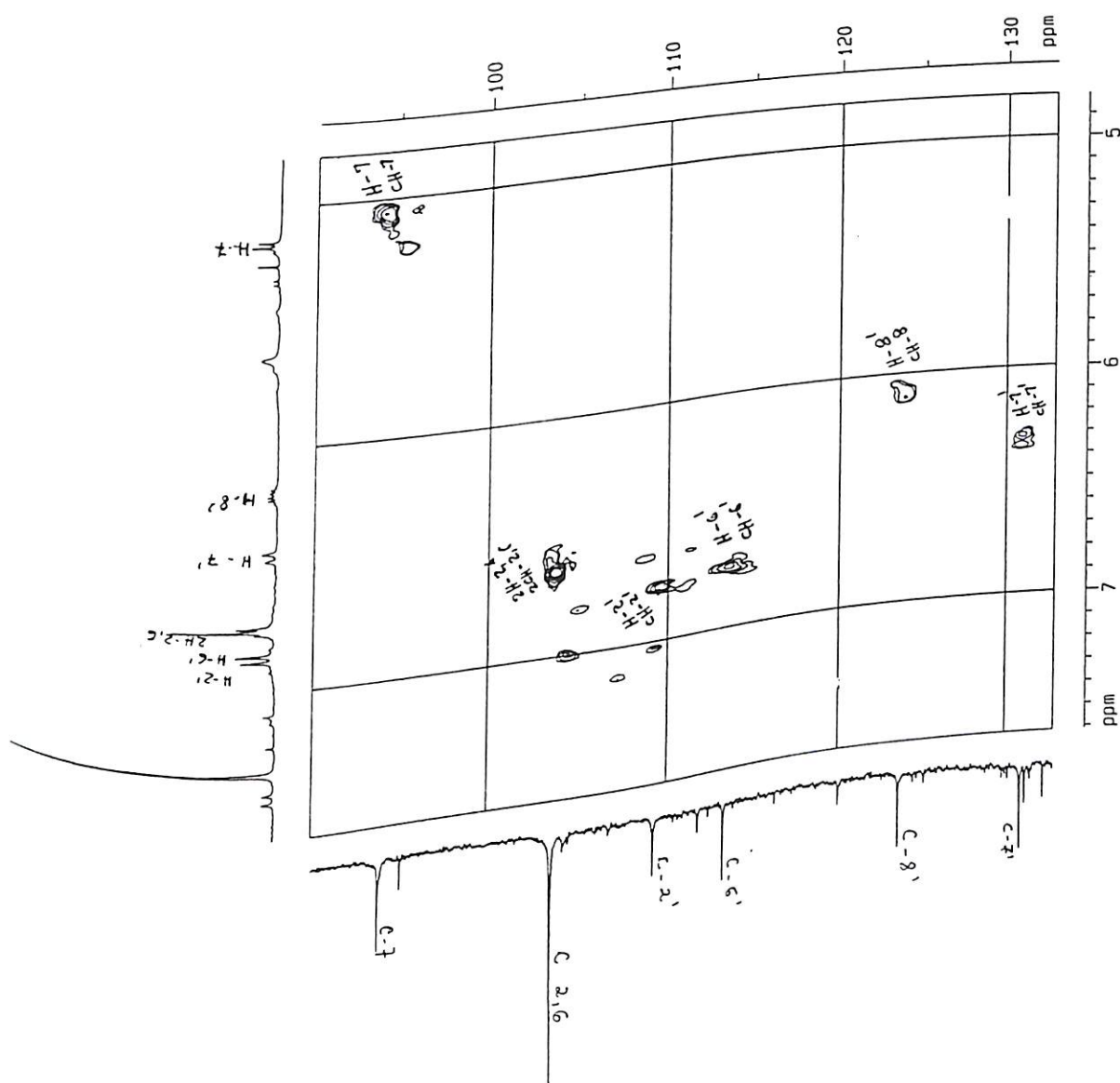


Figura 38 : Espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC, região 3,0-4,6 x 40,0-70,0 ppm da neolignana V (125 MHz, CDCl_3)



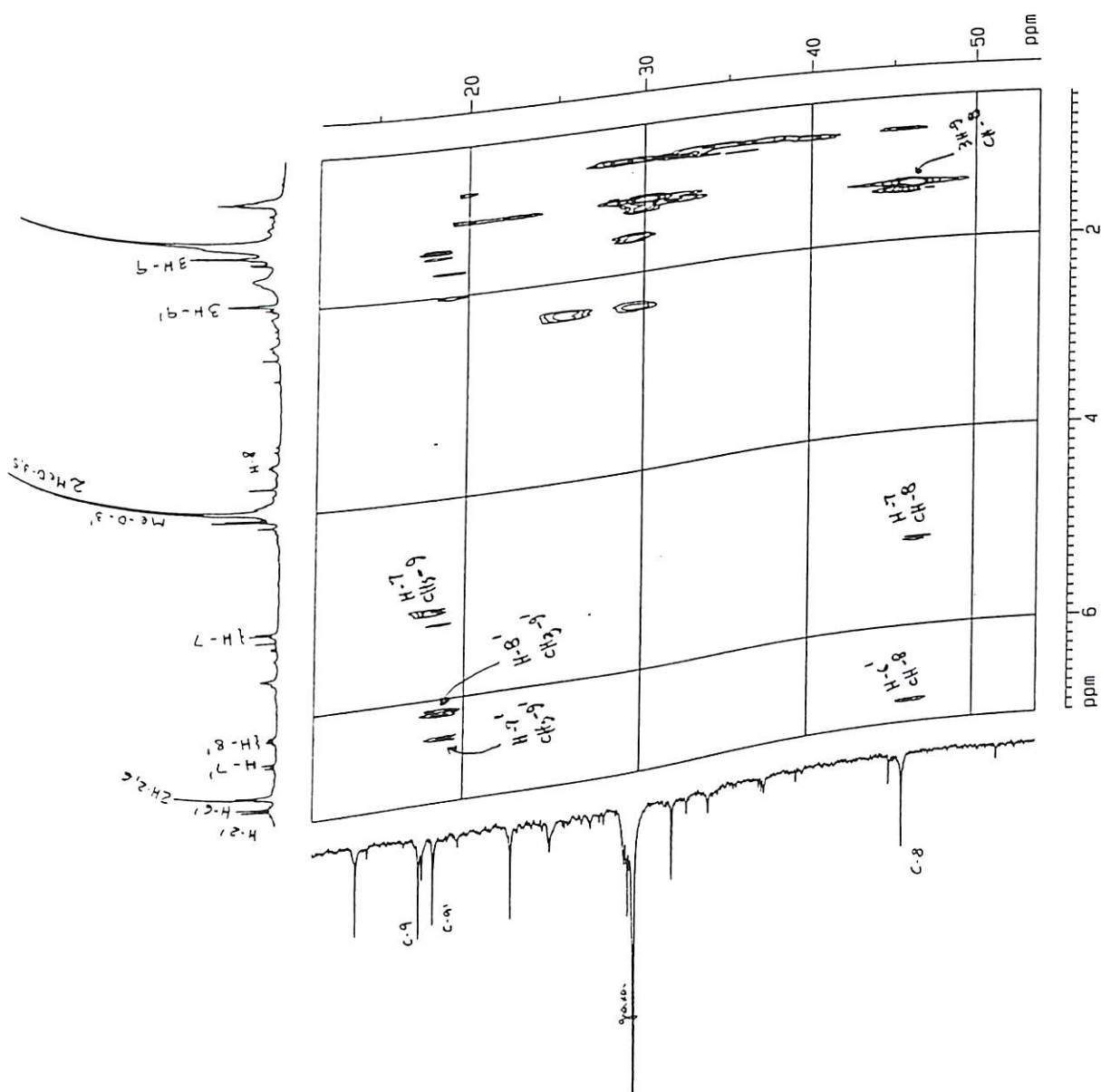
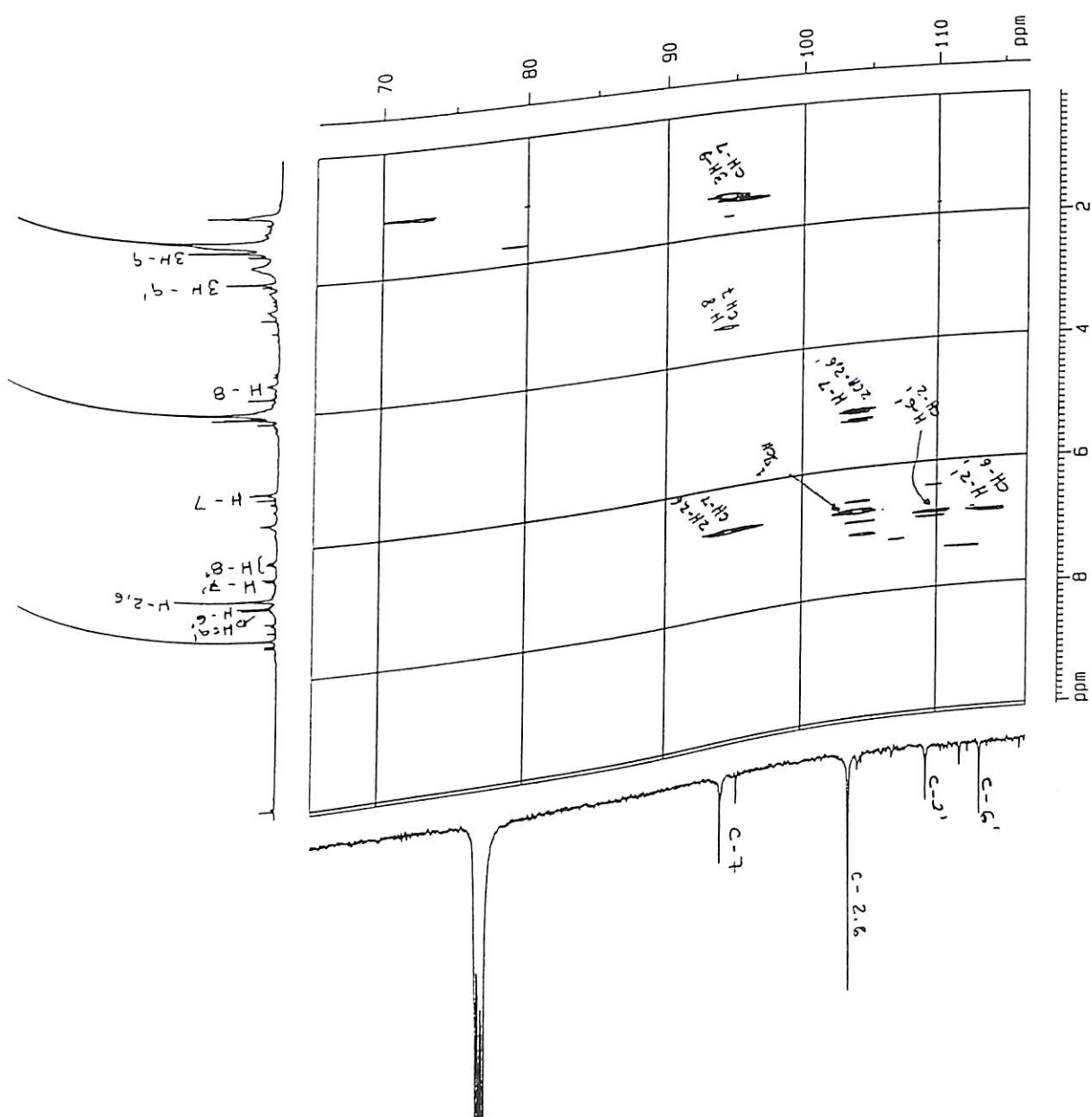


Figura 40 : Espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC, região 0,0-7,0 x 10,0-55,0 ppm da neolignana V (125 MHz, CDCl_3)



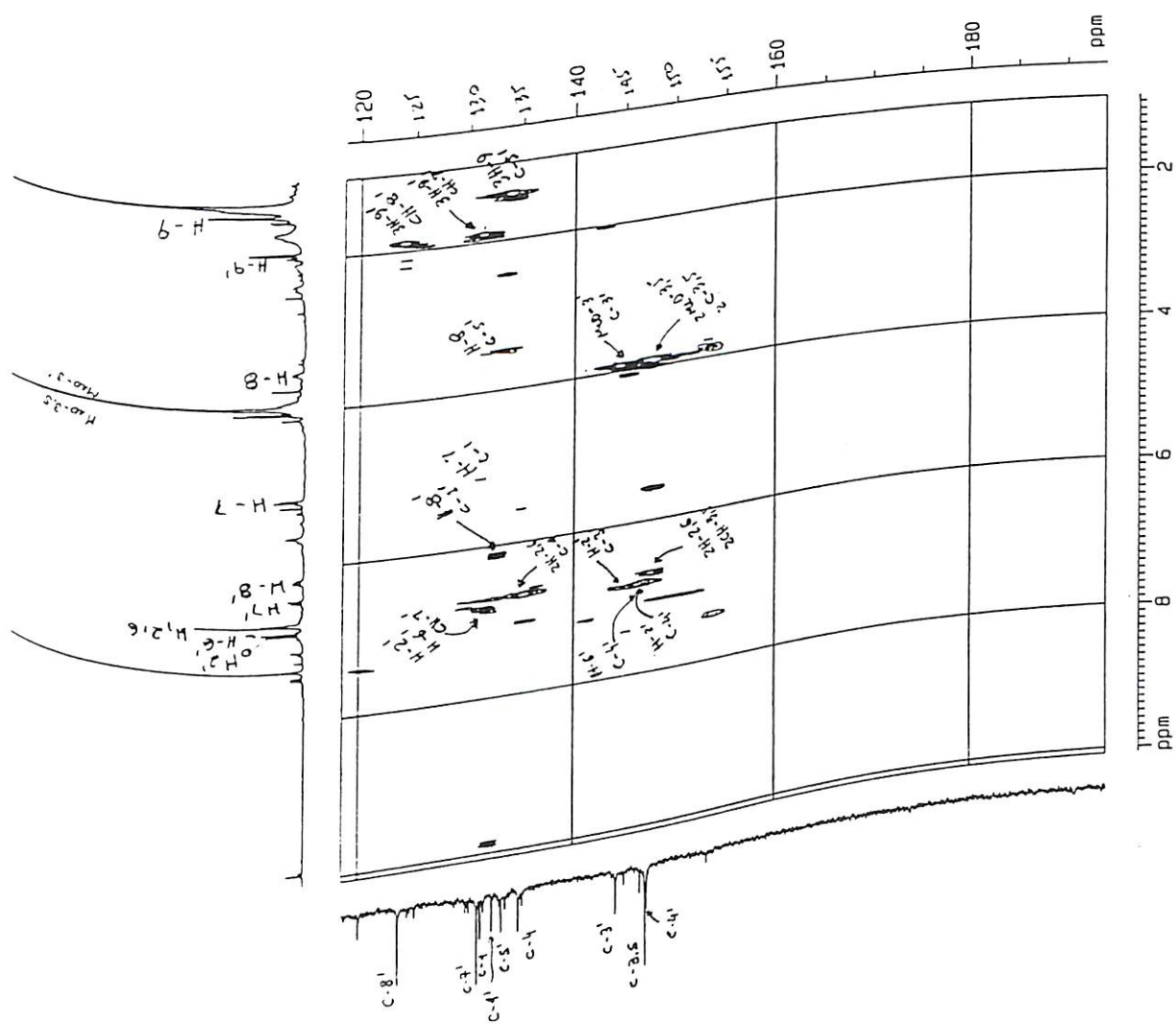


Figura 42 : Espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBN, região 1,5-10,0 x 120,0-195,0 ppm da neolignana V (125 MHz, CDCl_3)

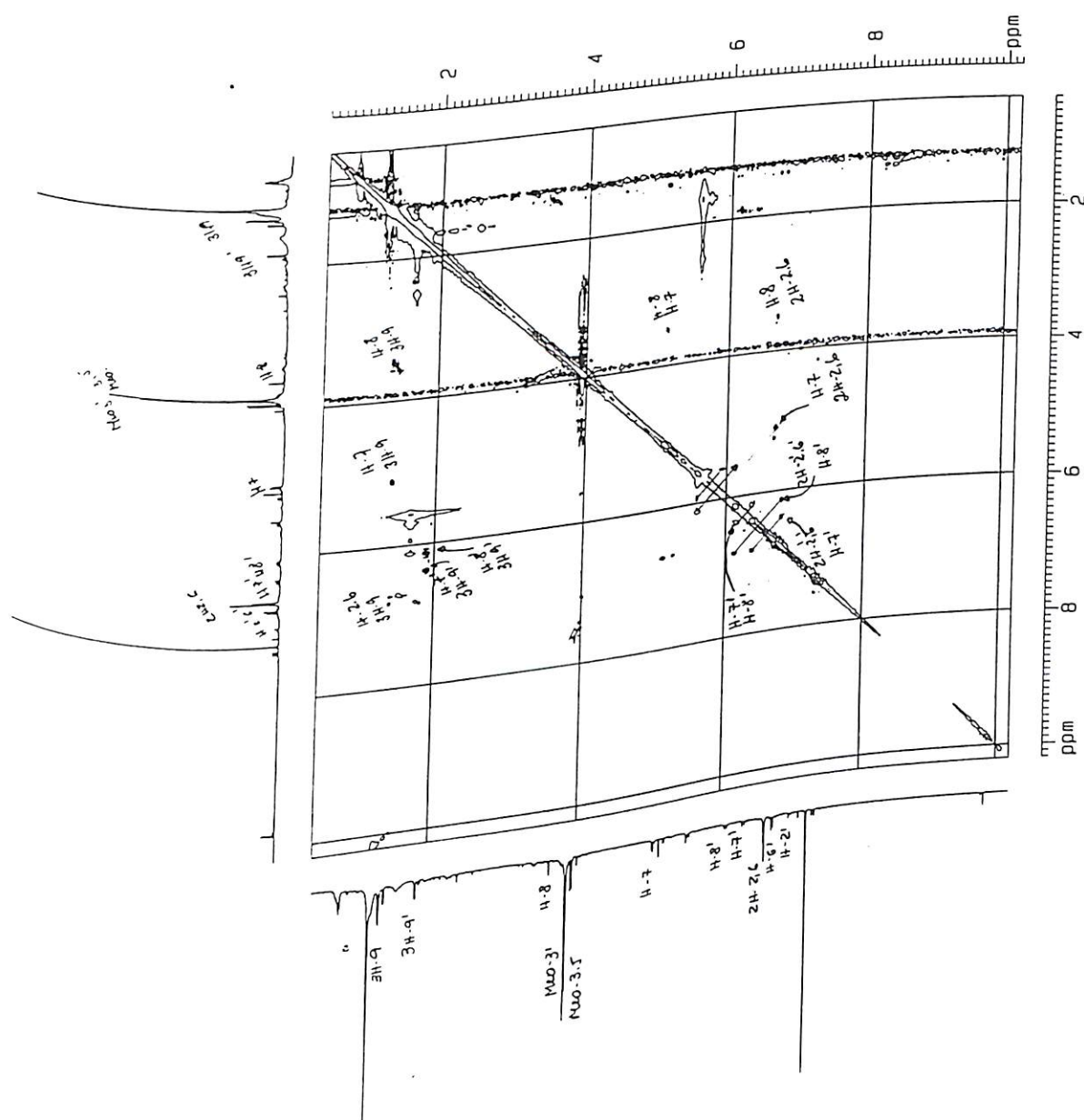


Figura 43 : Espectro de NOESY, região 0,4-10,0 x 0,4-10,0 ppm da neolignana V (500 MHz, CDCl_3)

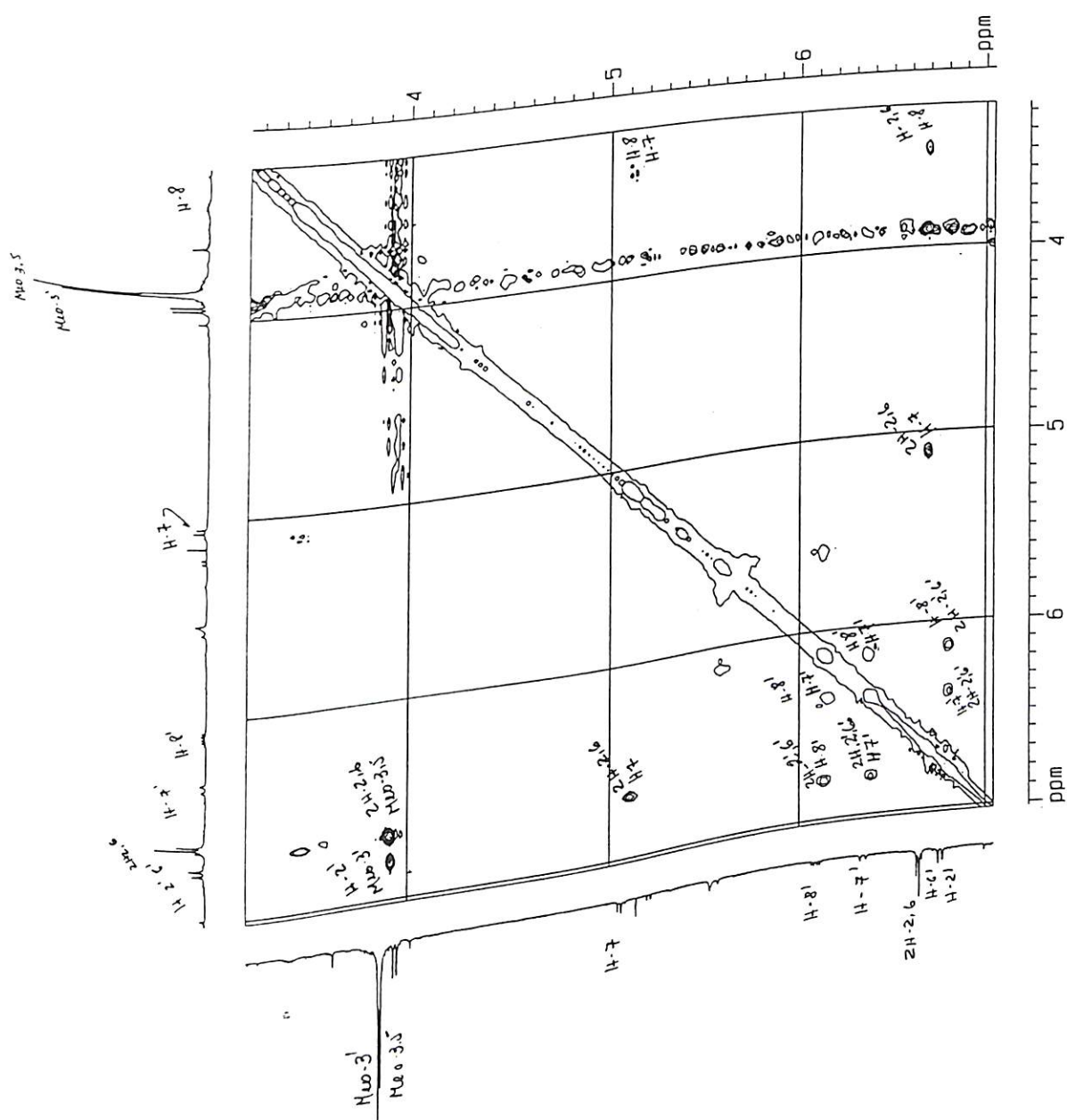


Figura 45 : Espectro de NOESY, região 3,2-7,0 x 3,2-7,0 ppm da neolignana V (500 MHz, CDCl₃)

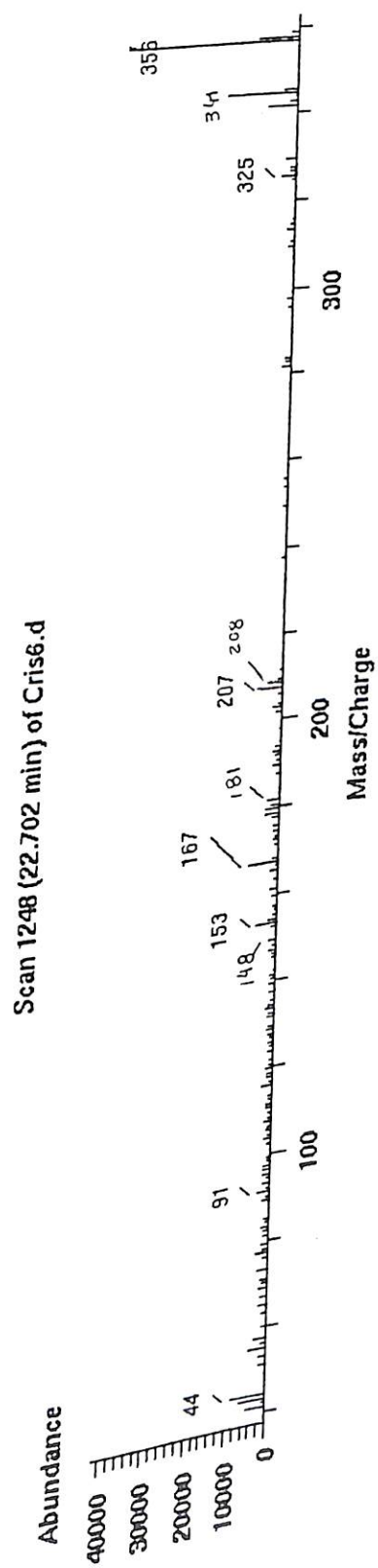
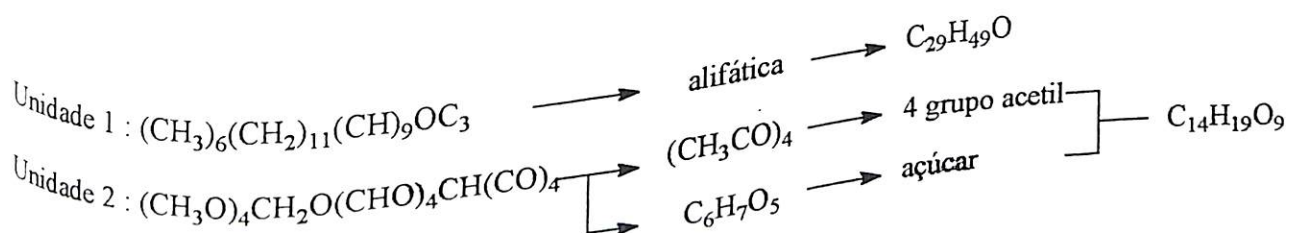


Figura 46 : Espectro de massas da neolignana V

3.5 Determinação Estrutural do Esteróide VI

O espectro de IV (Fig. 47, pág. 113) apresentou bandas de absorção entre 2957 e 2863 cm^{-1} referente ao estiramento simétrico e assimétrico de grupos CH_3 , CH_2 e CH , banda de absorção fraca em 1680 cm^{-1} devido a estiramento de grupo olefina trissubstituído. Absorções em 1163 e 1046 cm^{-1} atribuídos a $\sqrt{\text{C-O-C}}$ alifático de éter assimétrico, absorções em 1751, 1224 e 1104 sugeriram presença de função éster.

Espectro de RMN ^{13}C e DEPT - 135° e 90° (Fig. 53, pág. 119; tab. 13, pág. 111) revelou a multiplicidade dos átomos de carbono, exibindo também sinais que sugeriram presença de unidade açúcar (espectro de RMN ^1H reforçou esta análise). Os dados permitiram deduzir a fórmula molecular para as duas unidades.



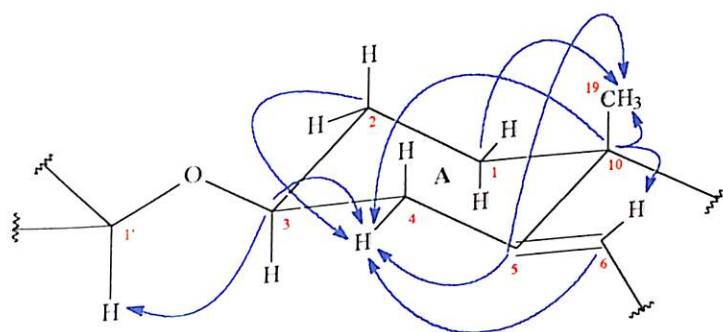
O espectro de RMN ^1H (Figs. 48-49, págs. 114-115) apresentou sinais simples intensos com desdobramento químico em δ_{H} 0,67 (s), 0,81 (d, $J = 7,0$ Hz), 0,83 (d, $J = 6,8$ Hz), 0,84 (t, $J = 7,3$ Hz), 0,92 (d, $J = 6,5$ Hz) e 0,98 (s) que correspondem a seis grupos metila. Um sinal em δ_{H} 3,48 (m) e outro em δ_{H} 5,35 (d, $J = 5,20$ Hz) foram atribuídos a um hidrogênio carbinólico e hidrogênio de uma ligação dupla trissubstituída em conformidade com análise do IV. O deslocamento químico destes sinais e a feição do espectro, foi

compatível com a natureza esteroidal para a substância em estudo. Comparação dos dados obtidos nos espectros de RMN ^1H , ^{13}C (Figs. 48-52, págs. 114-118) para VI com valores citados na literatura (Tab. 14, pág. 112) levou-nos a sugerir a estrutura do β sitosterol para a unidade 1 da substância em estudo.

Esta dedução foi confirmada com o exame dos espectros de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^n\text{J}_{\text{CH}}$ $n = 2, 3$ que permitiu fazer análise das interações de acoplamento ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$) através de duas e três ligações. Assim essa técnica foi usada para auxiliar na união dos fragmentos estruturais constituintes da substância completa.

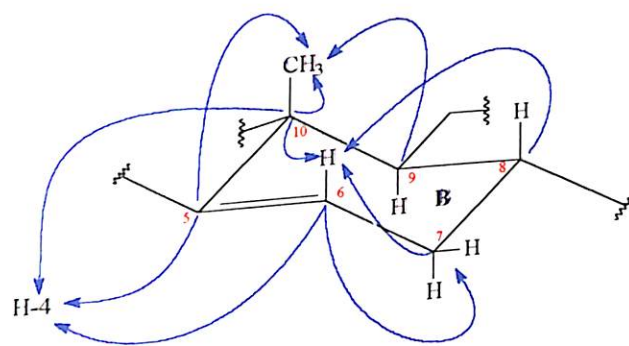
O espectro (Fig. 55, pág. 121) mostra que o átomo de carbono em δ_{C} 37,21 (C-1) possui uma interação a três ligações com o átomo de hidrogênio localizado em δ_{H} 0,98 (s, 3H-19); o carbono localizado em δ_{C} 29,46 (C-2) tem uma interação de acoplamento a três ligações ($^3\text{J}_{\text{CH}}$) com o átomo de hidrogênio indicado em δ_{H} 2,10 (m, 2H-4); o átomo de carbono determinado em δ_{C} 80,05 (C-3) tem uma interação a duas ligações ($^2\text{J}_{\text{CH}}$) com o átomo de hidrogênio determinado em δ_{H} 2,10 (m, 2H-4), e a três ligações ($^3\text{J}_{\text{CH}}$) com o átomo de hidrogênio definido pelo δ_{H} 4,59 (d, $J = 7,9$ Hz, H-1') (Fig. 56, pág. 122) (essa interação evidencia a ligação entre a aglicona e o açúcar); o átomo de carbono definido com δ_{C} 140,37 (C-5) (Figs. 54;57, págs. 120;123) apresenta interações de acoplamento heteronucleares a duas ligações $^2\text{J}_{\text{CH}}$ com o átomo de hidrogênio localizado com δ_{H} 2,10 (m, H-4) e a três ligações ($^3\text{J}_{\text{CH}}$) com os hidrogênios com δ_{H} 0,98 (s, 3H-19); o carbono com δ_{C} 36,12 (C-10) (Fig. 54, pág. 120) apresenta interações em $^2\text{J}_{\text{CH}}$ com os átomos de hidrogênio com δ_{H} 0,98 (s, 3H-19), e a $^3\text{J}_{\text{CH}}$ com os hidrogênios localizados com δ_{H} 5,35 (dl, $J = 5,2$

Hz, H-6), e com δ_H 2,10 (m, H-4), ficando desse modo definido como **VI-a** o anel A do esteróide.



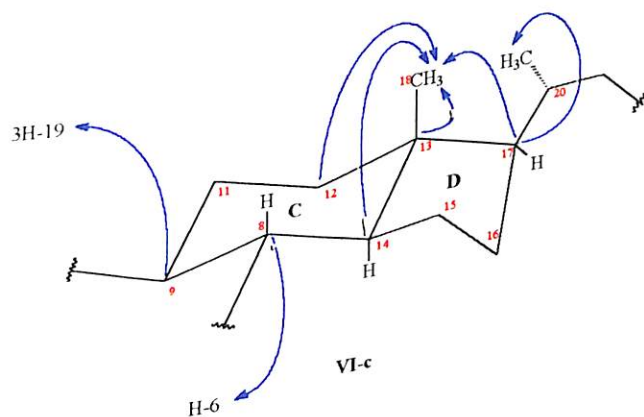
VI-a

Observamos também no espectro de HMBC (Figs. 55-57, págs. 121-123) as correlações entre o átomo de carbono localizado em δ_C 122,14 (C-6) com interação a duas ligações com os átomos de hidrogênio com δ_H 1,40 (m, H-7b), e o hidrogênio com δ_H 1,95 (m, H-7a) e a três ligações ($^3J_{CH}$) com o átomo de hidrogênio com δ_H 2,10 (m, H-4) do anel A; átomo de carbono localizado em δ_C 31,89 (C-7) possuindo interação heteronuclear a duas ligações ($^2J_{CH}$) com o átomo de hidrogênio definido com δ_H 5,35 (dl, $J = 5,2$ Hz, H-6); carbono com δ_C 31,89 (C-8) possuindo uma interação a três ligações ($^3J_{CH}$) com átomo de hidrogênio com δ_H 5,35 (dl, $J = 5,2$ Hz, H-6); carbono localizado com δ_C 50,21 (C-9) com interação heteronuclear a $^3J_{CH}$ com hidrogênio com δ_H 0,98 (s, 3H-19) definindo assim a sequência **VI-b** para o anel B do esteróide.

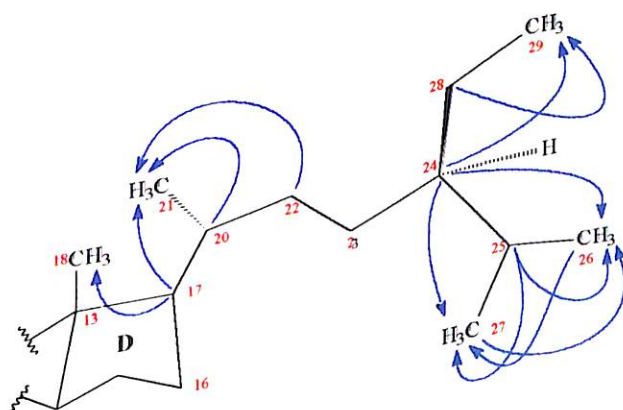


VI-b

A mesma análise (Figs. 54-57, págs. 120-123) (Tab. 13, pág. 111) utilizando os espectros de HMBC, foi realizada para os anéis C, D e parte alifática resultando nas estruturas parciais **VI-c** e **VI-d**.



VI-c



VI-d

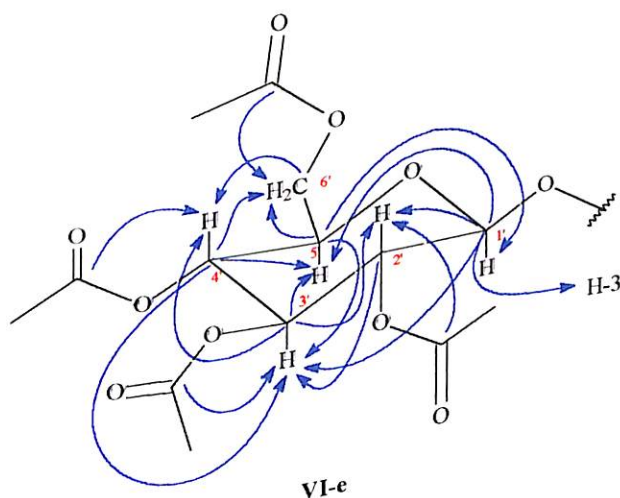
O exame dos dados presentes nos espectros revelou as conectividades entre os anéis A, B, C, D permitindo as atribuições inequívocas dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono (Tab. 13, pág. 111). Os dados estão em acordo com a estrutura do β -sitosterol.

Para unidade açúcar foi proposta a estrutura do tetra-O-acetil-glicopiranosose com base nos dados de RMN ^1H e ^{13}C - DEPT 135° e 90° (Figs. 48-53, págs. 114-119). Comparação dos dados obtidos com valores encontrados na literatura para o derivado acetilado sintético do β -D-glicopiranosil sitosterol confirmou a proposta.

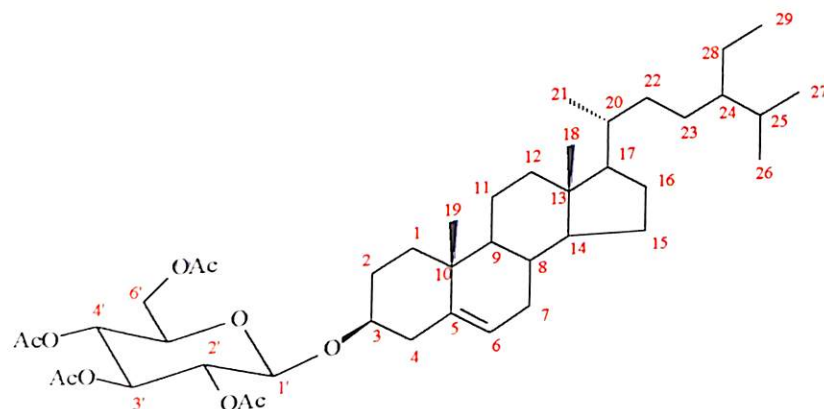
Exame dos espectros de ^1H x ^{13}C HMBC - $^n\text{J}_{\text{CH}}$ $n = 2, 3$ (Figs. 54;56-57, págs. 120;122-123) para unidade II revelou a interação de acoplamento entre o carbono com deslocamento químico δ_{C} 99,64 (C-1') em $^2\text{J}_{\text{CH}}$ com o hidrogênio localizado com δ_{H} 4,95 (dd, $J = 7,9; 9,4$ Hz, H-2') e a três ligações com os sinais de hidrogênio tendo δ_{H} 5,20 (t, $J = 9,4$ Hz, H-3') e δ_{H} 3,67 (m, H-5'); do átomo de carbono localizado em δ_{C} 71,57 (C-2') em $^2\text{J}_{\text{CH}}$ com o hidrogênio situado com δ_{H} 5,20 (t, $J = 9,4$ Hz, H-3') e com δ_{H} 3,67 (m, H-5'). O átomo de carbono situado em δ_{C} 68,64 (C-4') apresenta uma interação de acoplamento a longa distância ($^2\text{J}_{\text{CH}}$) com os hidrogênios com δ_{H} 5,20 (H-3') e com δ_{H} 3,67 (H-5') e a $^3\text{J}_{\text{CH}}$ com os hidrogênios localizados com δ_{H} 4,11 (dd, $J = 12,2; 2,6$ Hz, H-6'b) e com δ_{H} 4,25 (dd, $J = 12,2; 4,9$ Hz, H-6'a). O carbono situado com δ_{C} 71,72 (C-5') apresenta interação a longa distância em $^2\text{J}_{\text{CH}}$ com átomos de hidrogênio em δ_{H} 4,11 (H-6'b) e com δ_{H} 4,25 (H-

6'a) e a $^3J_{CH}$ com o átomo de hidrogênio do carbono anomérico com δ_H 4,59 (d, $J = 7,9$ Hz, H-1') e com o hidrogênio situado com δ_H 5,20 (H-3'). Finalmente o carbono situado em δ_C 62,15 (C-6') mostrou interação de acoplamento em $^3J_{CH}$ com os hidrogênios localizados com δ_H 5,06 (H-4').

Os espectros de HMBC também revelam as interações de acoplamento em $^3J_{CH}$ dos carbonos (carbonila, da função éster) localizados em δ_C 169,22 (C-2'), 170,60 (C-3'), 169,34 (C-4') e 170,26 (C-6') com os átomos de hidrogênio situados em carbonos carbinólicos com δ_H 4,95 (H-2'), δ_H 5,20 (H-3'), δ_H 5,06 (H-4') e com δ_H 4,11 (H-6'b), δ_H 4,25 (H-6'a). A estrutura **VI-e** revela a conectividade entre os átomos de carbono em $^2J_{CH}$ ou $^3J_{CH}$ com átomos de hidrogênio presentes na unidade II.



Essas análises permitiram uma atribuição clara dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono (Tab. 13, pág. 111), dados que estão de acordo com a estrutura de tetra-O-acetil-3 β -D-glicopiranosil sitosterol **VI**.



VI

Tabela 13 : Dados resultantes de experiência de 1D e 2D, RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , ppm, Hz) e ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) - DEPT, e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC e HMBC - $^n\text{J}_{\text{CH}}$ n = 2, 3 com a substância VI.

C	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$		δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
5	140,37		2 H-4	3 H-19	CH_3	11,84	0,67 (s)		
10	36,72		3 H-19	H-6, H-4	18	19,33	0,98 (s)		
13	42,34		3 H-18		19	19,04	0,92 (d, J = 6,5)		3 H-27
CH					21	18,77	0,83 (d, J = 6,8)		3 H-26
3	80,05	3,48 (m)	2 H-4	H-1'	26	19,78	0,81 (d, J = 7,0)		
6	122,14	5,35 (d, 5,2)	H-7a, 7b	2 H-4	27	11,93	0,84 (t, J = 7,3)		
8	31,89			H-6	29			H-2'	H-5'; H-3'
9	50,21			3 H-19	CH	99,64	4,59 (d, J = 7,9)	H-3'	
14	56,77			3H-18	1'	71,57	4,95 (dd, J = 7,9; 9,4)	H-2', H-4'	H-5'
17	56,09			3H-18, 3 H-21	2'	72,96	5,20 (t, J = 9,4)	H-3', H-5'	2 H-6'
20	36,12		3 H-21		3'	68,64	5,06 (t, J = 9,4)	2 H-6'	H-1'; H-3'
24	45,88			3H-29, 3H-26, 3H-27	4'	71,72	3,67 (m)		
25	29,21		3H-26, 3H-27		5'				H-4'
CH_2					CH_2	62,15	4,25 (dd, J = 12,2; 4,9)		
1	37,21		3 H-19		6'a		4,11 (dd, J = 12,2; 2,6)		
2	29,46		2 H-4		6'b				H-2'
4	38,93	2,10 (m)			AcO	169,22			H-3'
7	31,89	1,95 (m) 1,40 (m)	H-6		2'	170,60			H-4'
11	21,04			3 H-18	3'	169,34			2 H-6'
12	39,78				4'	170,26	2,07 (m)		
15	24,27				6'	20,61	2,04 (m)		
16	28,21			3 H-21	CH_3CO	20,67	2,01 (m)		
22	33,97				CH_3CO		1,99 (m)		
23	26,15				CH_3CO				
28	23,10		3 H-29		CH_3CO				

Tabela 14 : Dados de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , ppm, Hz) e ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância VI e comparados com valores citados na literatura (em CDCl_3).

C	δC	δC [36]	δC [37]	δH	δH [37]
1	37,21	37,14	37,28		3,47 (m)
2	29,46	29,40	29,56	3,48 (m)	2,19 (d, $J = 2,0$)
3	80,05	80,40	79,59	2,10 (m)	
4	38,93	38,85	38,91		5,35 (dl, $J = 4,0$)
5	140,37	140,28	140,31	5,35 (d, $J = 5,2$)	
6	122,14	122,14	122,14	a) 1,95 (m)	
7a	31,89	31,81	31,94	b) 1,40 (m)	
7b					
8	31,89	31,81	31,94		
9	50,21	50,10	50,20		
10	36,72	36,67	36,15		
11	21,04	20,66	21,08		
12	39,78	39,67	38,78		
13	42,34	42,25	42,34		
14	56,77	56,68	56,78		
15	24,27	24,26	24,30		
16	28,21	28,22	28,23		
17	56,09	55,97	55,97	0,67 (s)	
18	11,84	11,84	11,94	0,98 (s)	
19	19,33	19,79	19,35		
20	36,12	36,90	36,73	0,92 (d, $J = 6,5$)	
21	19,04	19,36	19,04		
22	33,97	33,88	33,97		
23	26,15	25,94	26,16		
24	45,88	45,76	45,87	0,83 (d, $J = 6,8$)	
25	29,21	29,06	29,19	0,81 (d, $J = 7,0$)	
26	18,77	18,97	18,79		
27	19,78	19,79	19,80	0,84 (t, $J = 7,3$)	4,57 (d, $J = 8,0$)
28	23,10	22,99	23,10	4,59 (d, $J = 7,9$)	4,97 (t, $J = 9,5; 8,0$)
29	11,93	11,84	11,98	4,95 (dd, $J = 7,9; 9,4$)	5,14 (t, $J = 9,5$)
1'	99,64	99,58	99,70	5,20 (t, $J = 9,4$)	5,05 (t, $J = 9,5$)
2'	71,57	71,40	71,70	5,06 (t, $J = 9,4$)	3,65 (m)
3'	72,96	71,62	71,70	3,67 (m)	4,24 (dd, $J = 17,09; 4,52$)
4'	68,64	68,42	68,70	4,25 (dd, $J = 12,2; 4,9$)	4,08 (dd, $j = 17,09; 2,00$)
5'	71,72	72,84	73,00	4,11 (dd, $J = 12,2; 2,6$)	
6'a	62,15	62,03	62,20		
6'b					
AcO-2'		169,29			1,98-2,05
AcO-3'	169,22	170,69			0,65-0,96
AcO-4'	170,60	169,38			
AcO-6'	169,34	170,35			
CH_3CO	170,26				
$(6)\text{CH}_3$	20,67-21,05			1,99-2,07 (m)	

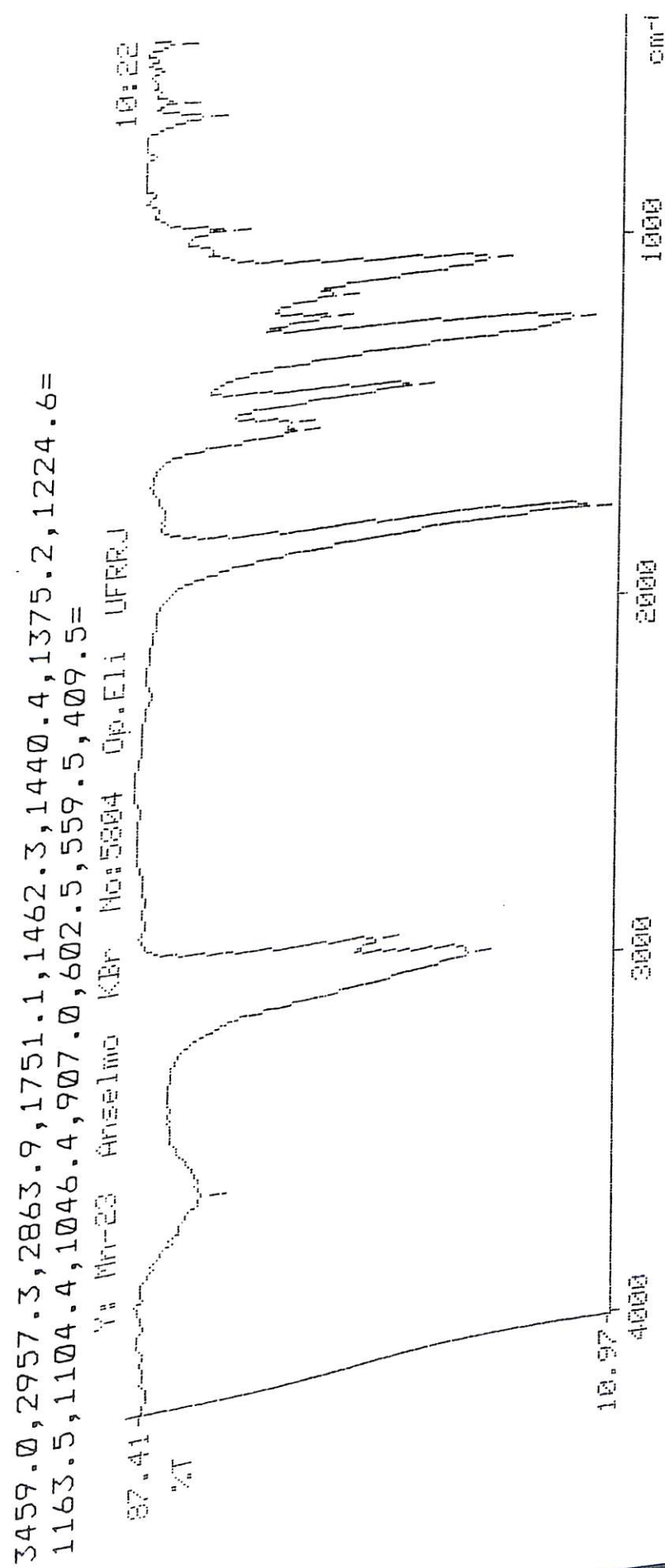


Figura 47 : Espectro de IV do esteroide VI

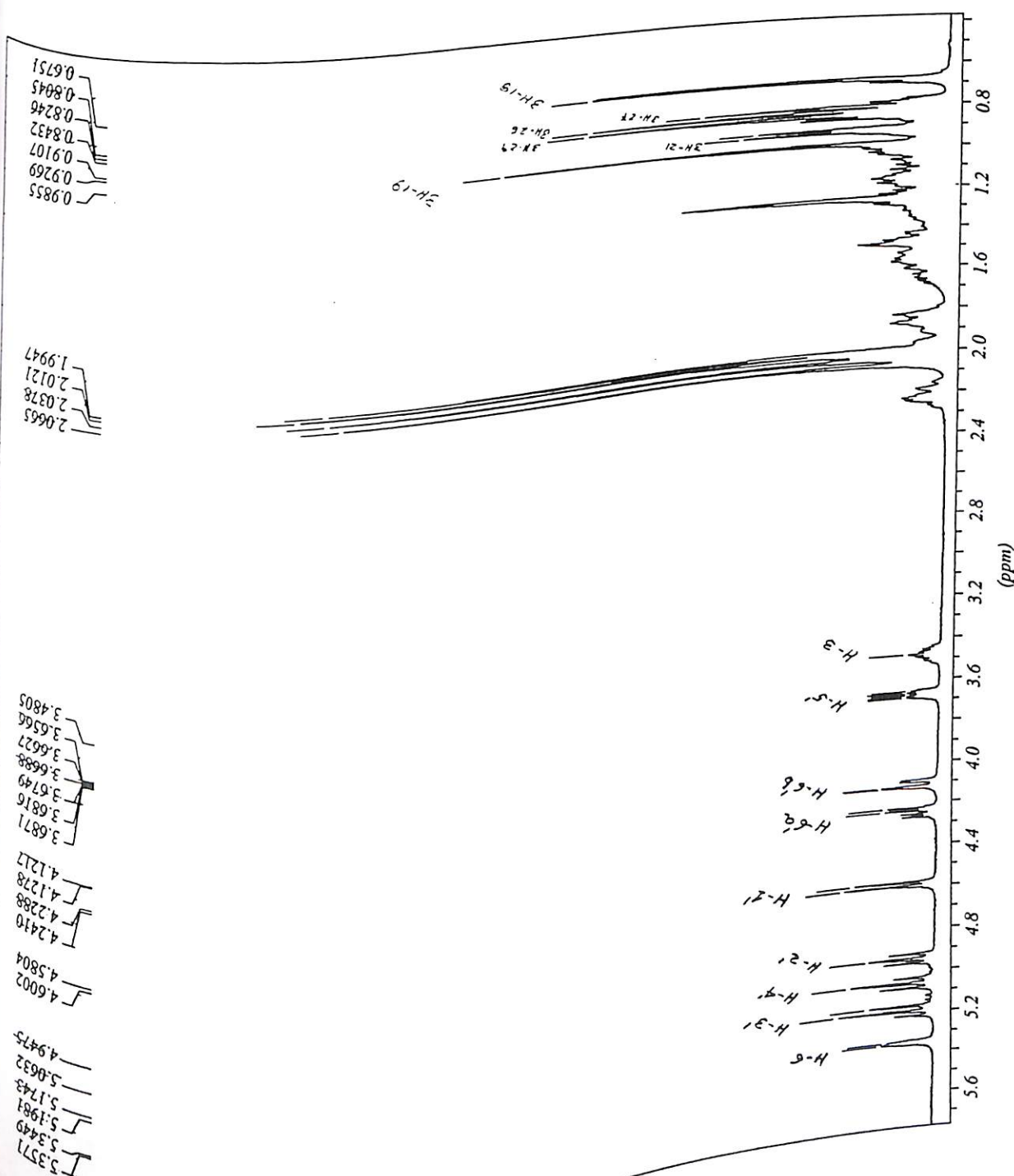


Figura 48 : Espectro de RMN de ¹H do esteroide VI (400 MHz, CDCl₃)

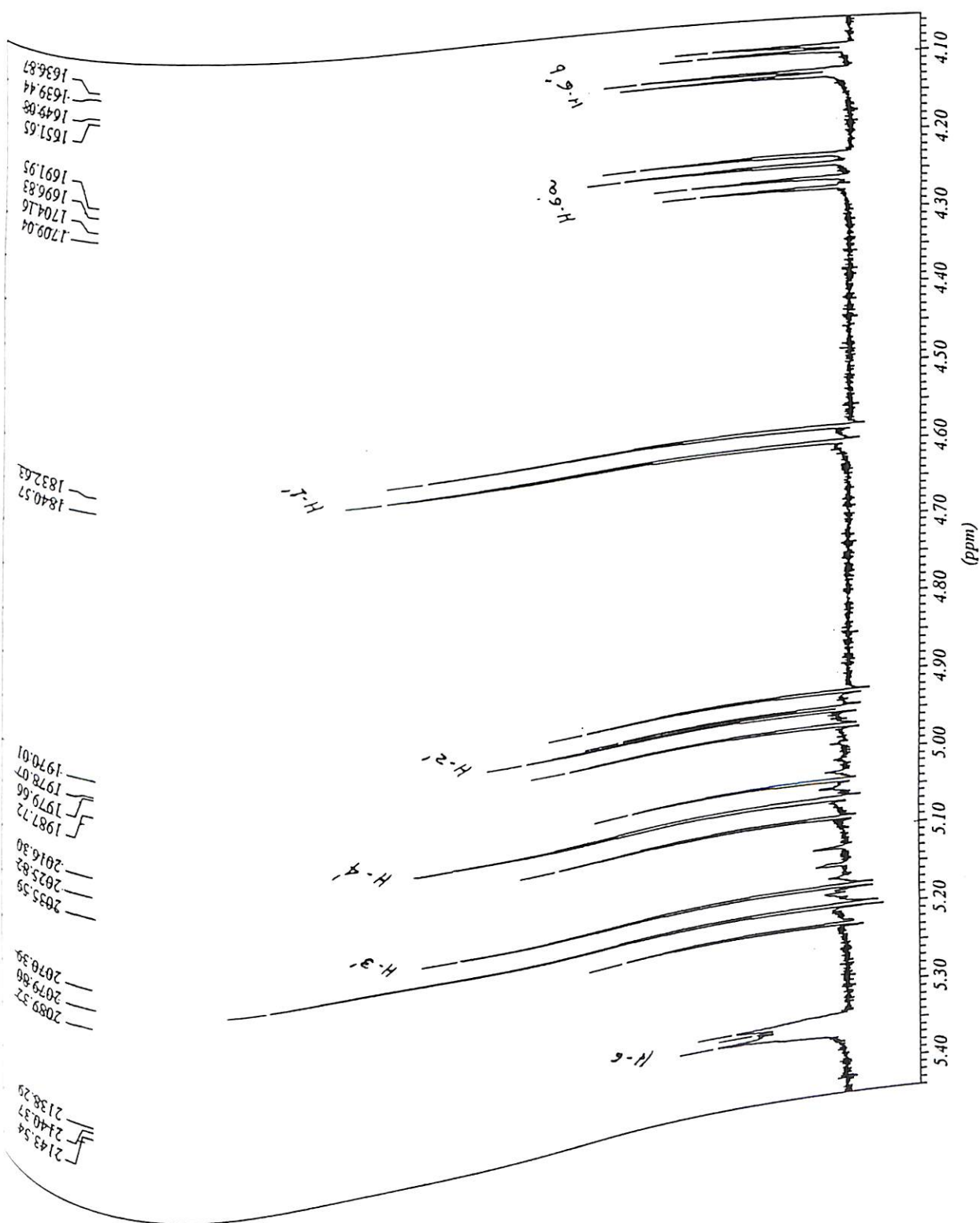


Figura 49 : Espectro de RMN de ^1H , região 4,05-5,45 ppm do esteroide VI (400 MHz, CDCl_3)

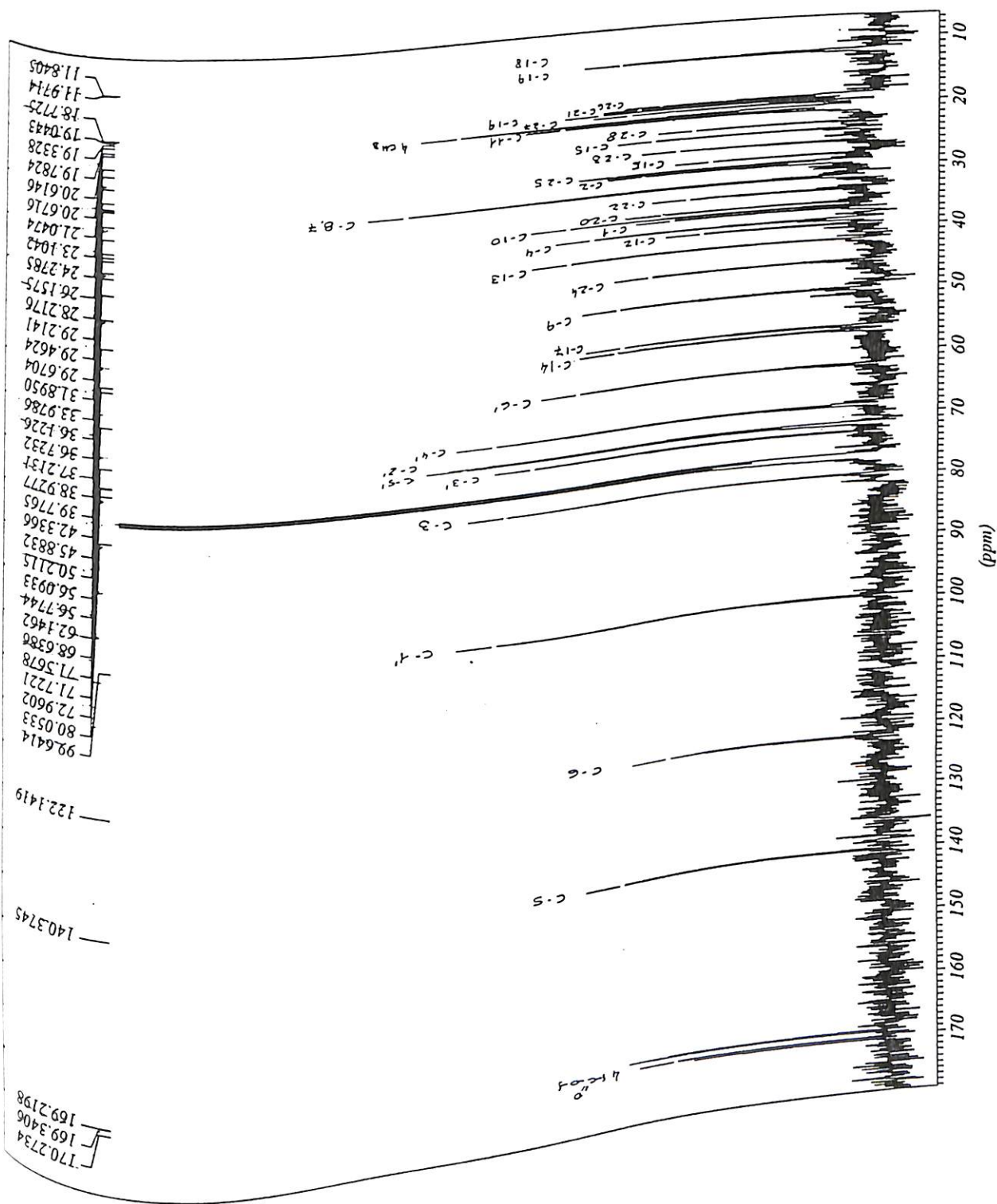


Figura 50 : Espectro de RMN de ^{13}C , região 0,7-180,0 ppm do esteróide VI (100 MHz, CDCl_3)

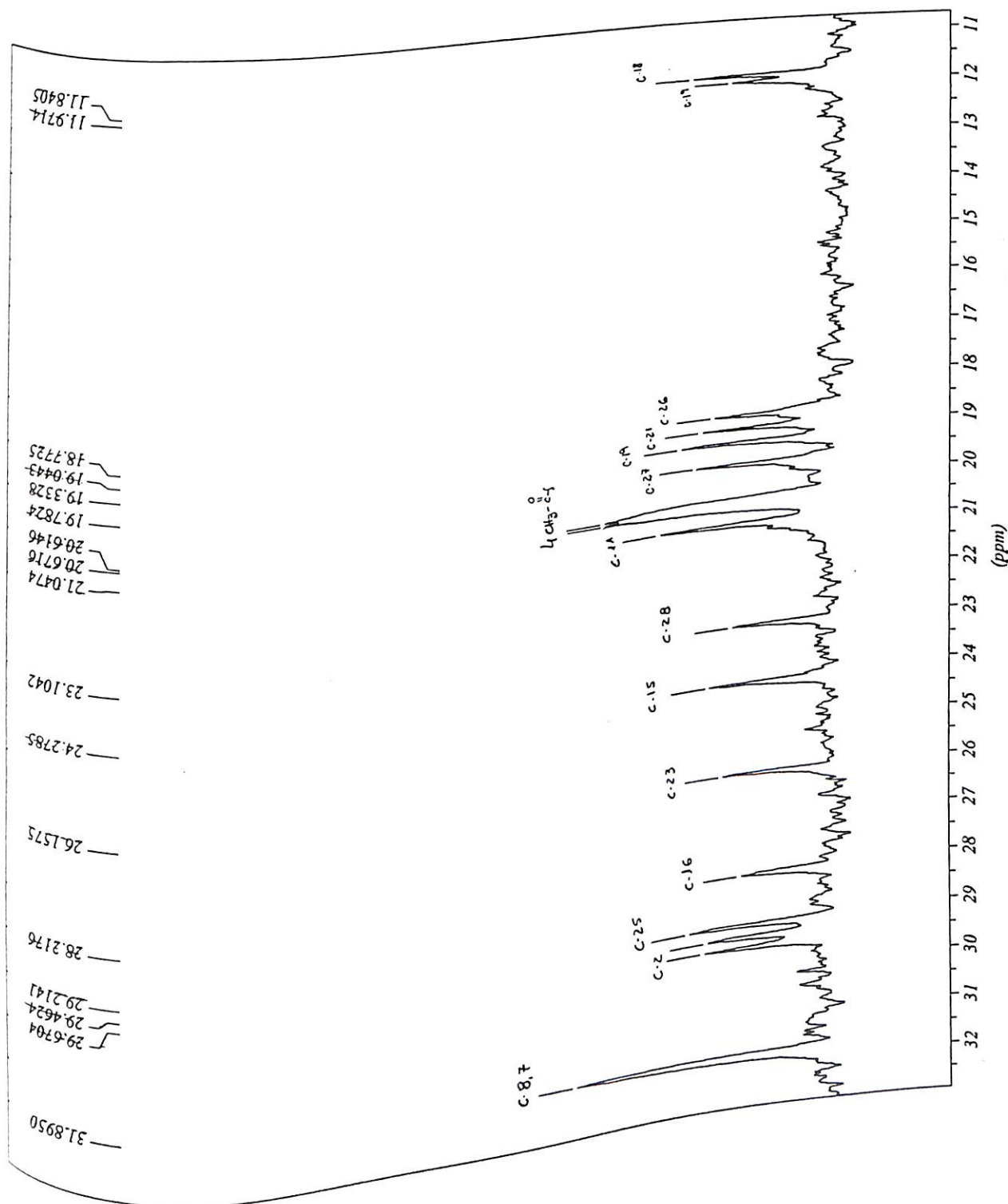


Figura 51 : Espectro de RMN de ^{13}C , região 11,0-33,0 ppm do esteroide VI (100 MHz, CDCl_3)

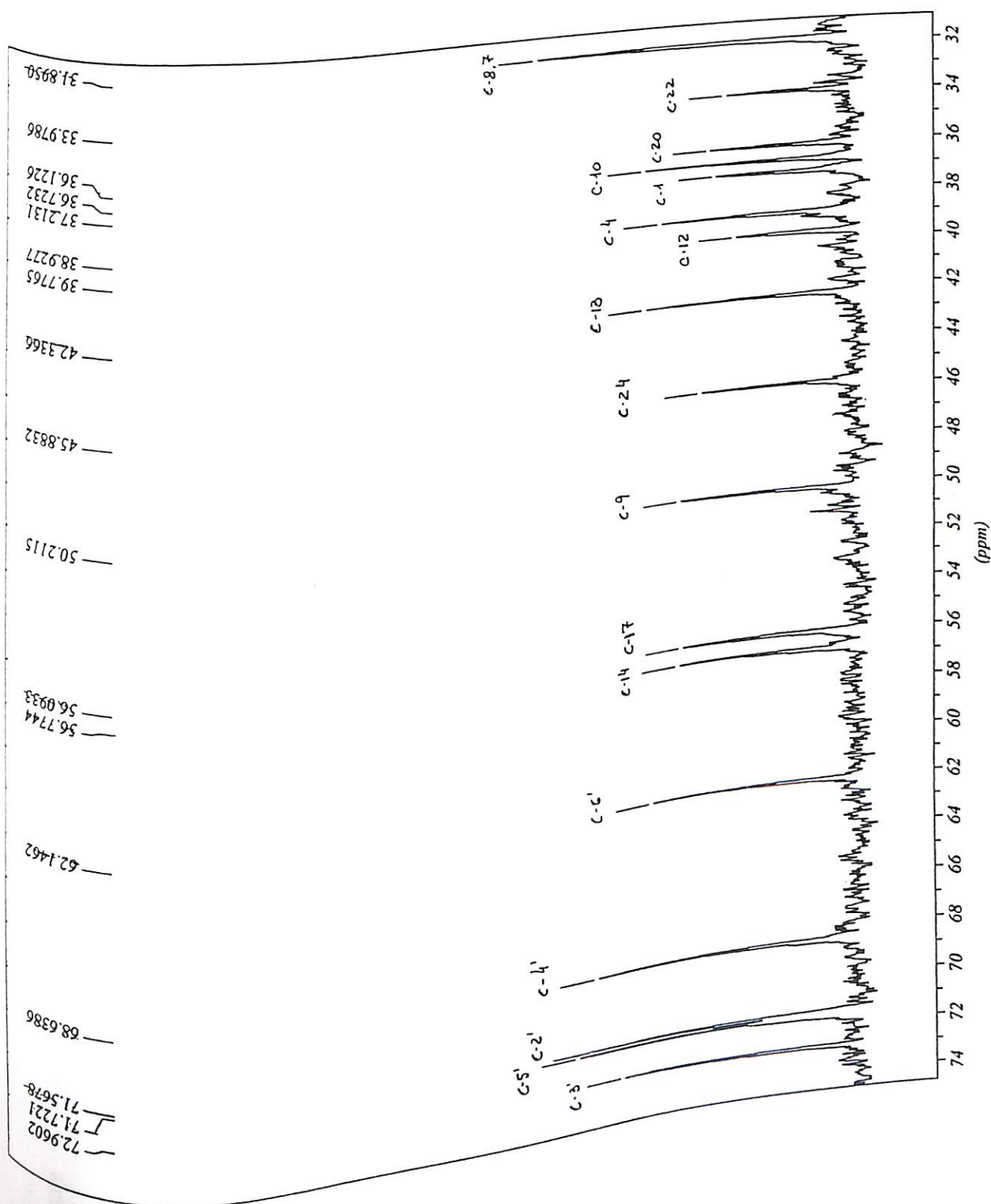


Figura 52 : Espectro de RMN de ^{13}C , região 31,0-74,5 ppm do esteroide VI (100 MHz, CDCl_3)

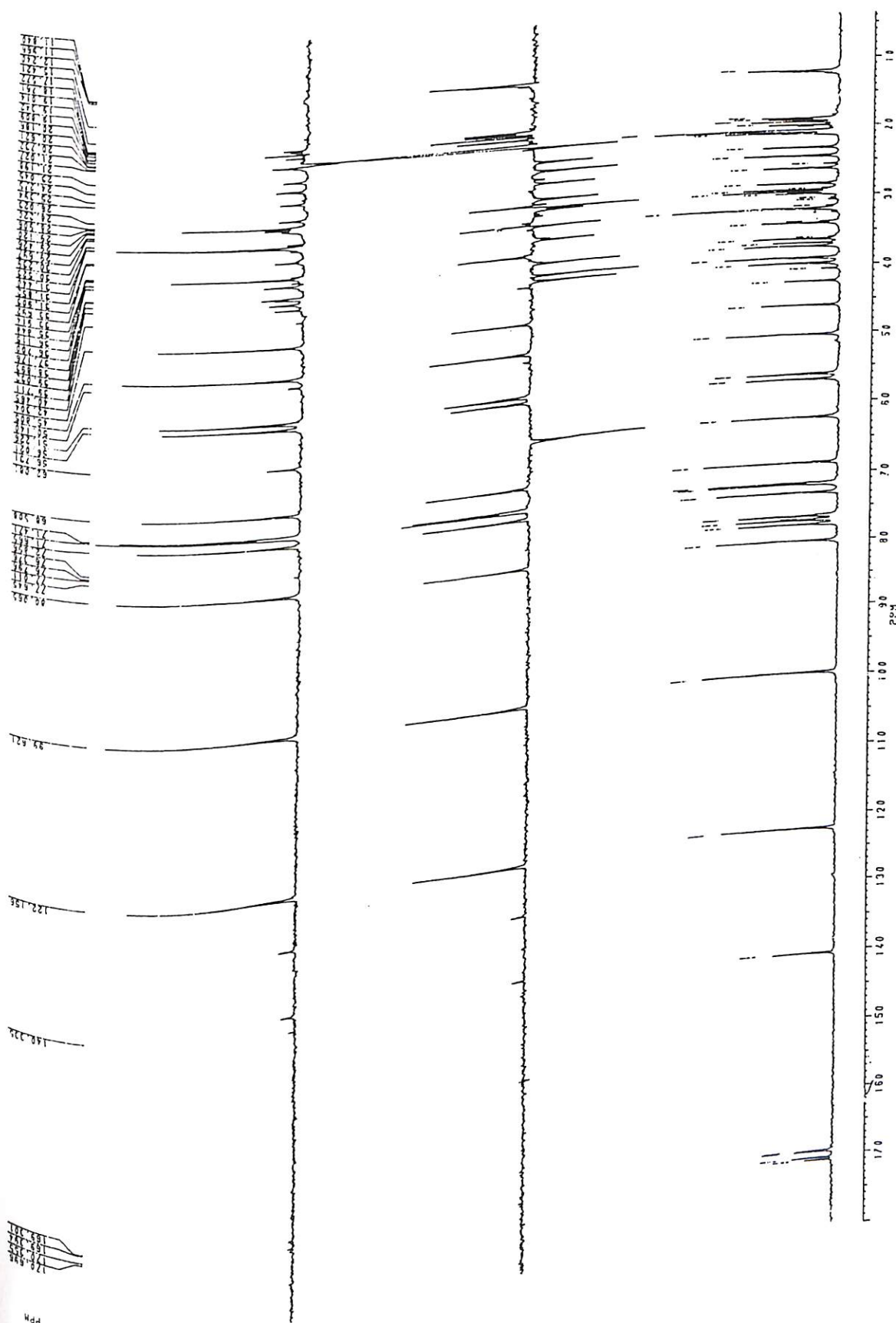


Figura 53 : Espectro de RMN de ^{13}C - DEPT 90° e 135° do esteróide VI (100 MHz, CDCl_3)

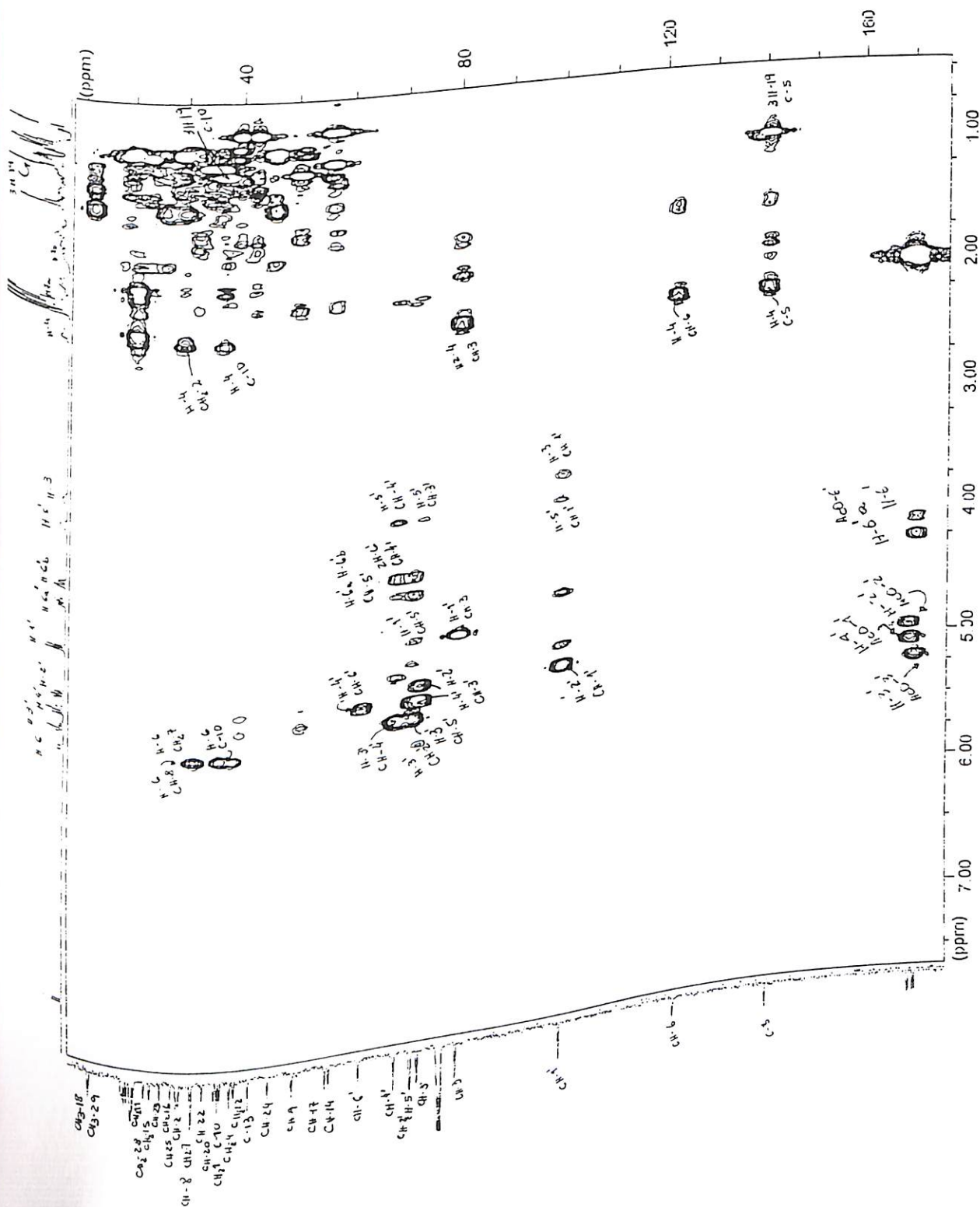


Figura 54 : Espectro de ^1H x ^{13}C HMQC, região 0,5-7,5 x 15,0-170,0 ppm do esteroide VI (100 MHz, CDCl_3)

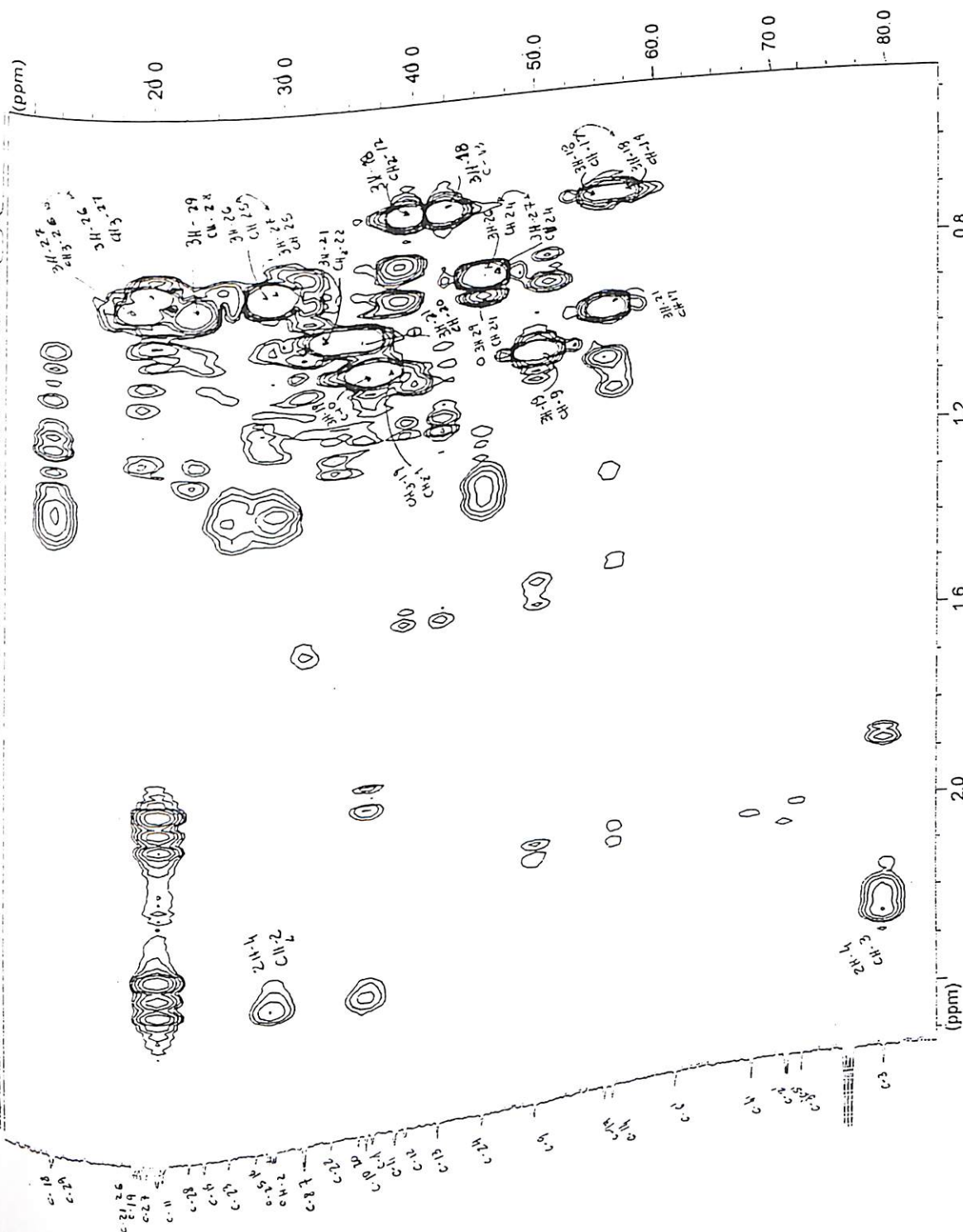


Figura 55 : Espectro de ^1H x ^{13}C HMBC, região 0,3-2,5 x 10,0-85,0 ppm do esteroide **VI** (100 MHz, CDCl_3)

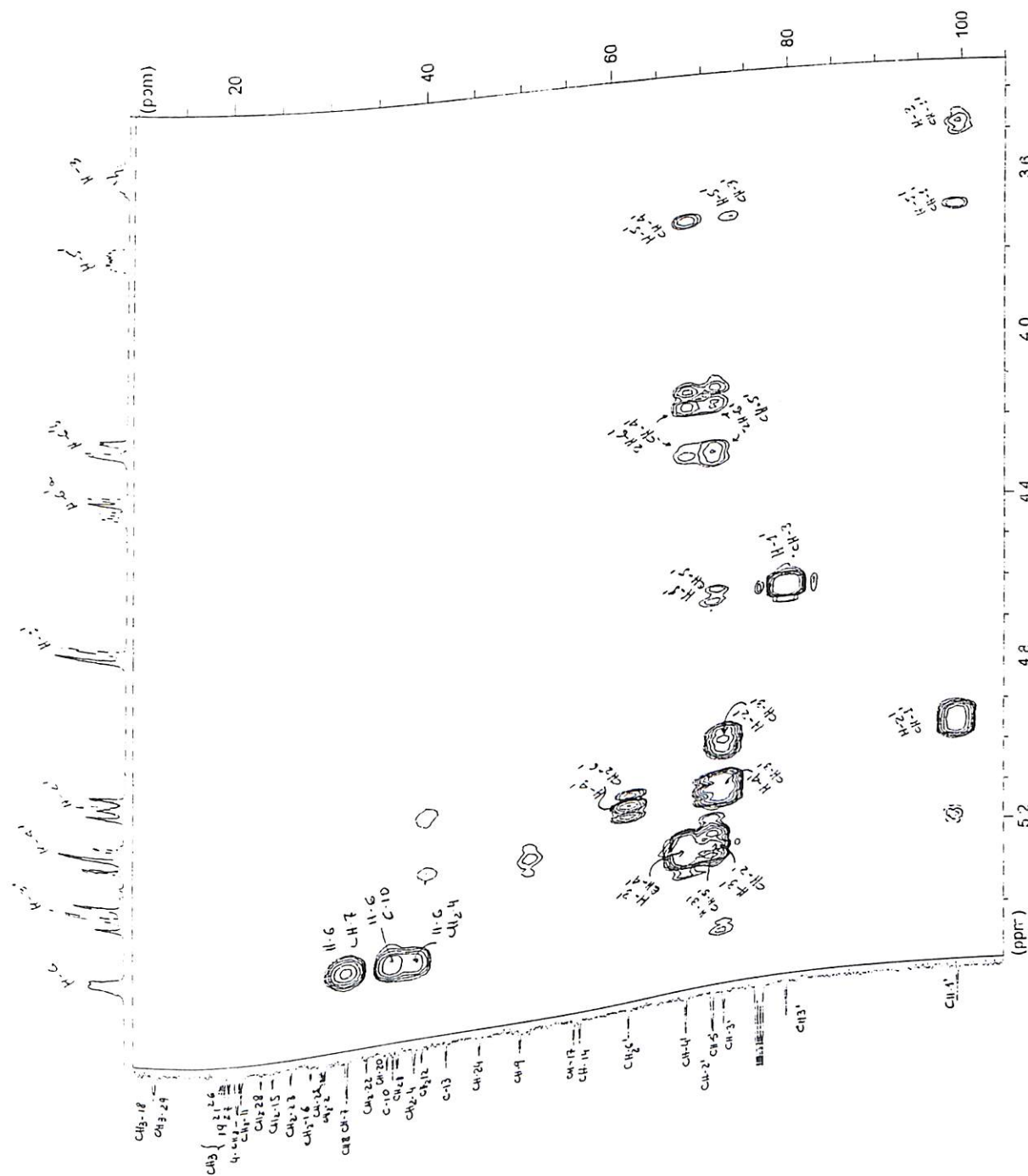


Figura 56 : Espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC, região 3,4-5,6 x 10,0-105,0 ppm do esteróide VI (100 MHz, CDCl_3)

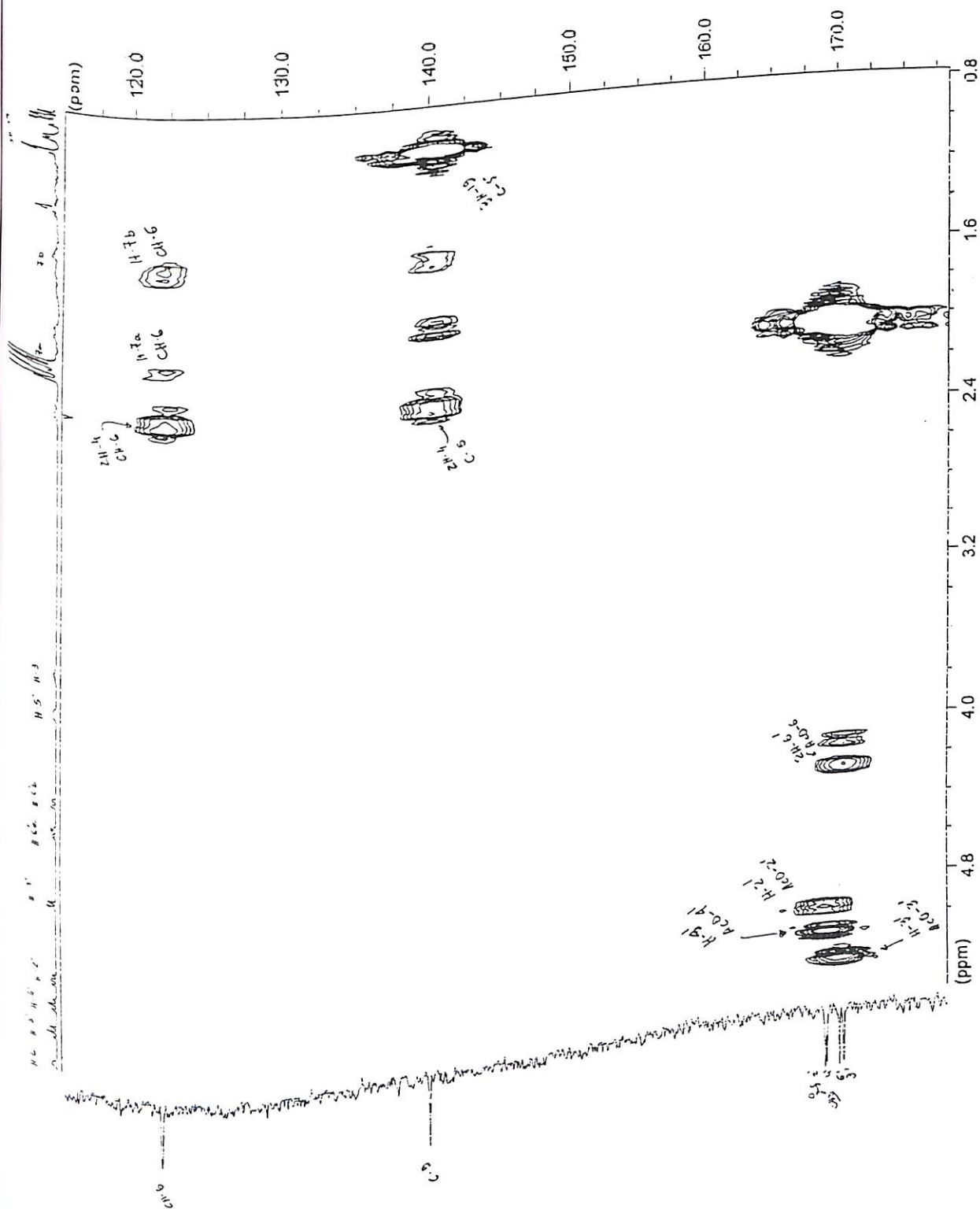


Figura 57 : Espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC, região 0,8-5,2 x 110,0-185,0 ppm do esteroide VI (100 MHz, CDCl_3)

3.6 Determinação Estrutural da Neolignana VII

As bandas de absorção mais informativas tiradas do espectro de IV (Fig. 58, pág. 136) desta substância permitiram assegurar a presença dos seguintes grupos funcionais (Tab.15).

Tabela 15 : Bandas de absorção registradas no espectro de IV da substância VII.

Substância VII	Grupos funcionais
3473	✓-OH
1755	✓-C=O em pentanel
1640, 920	✓ e δ RC=CH ₂
1709, 825	✓ e δ R ₂ C=CHR
1591, 1508	✓ aromático
1240, 1069	✓- C-O-C= alifático, aromático
1126, 1069	✓- C-O alifático

A fórmula molecular C₂₂H₂₈O₆ para a substância VII, foi deduzida a partir da análise do íon molecular M⁺⁺ 388 u.m.a. observada no espectro de massas (Fig. 74, pág. 182). Esta dedução recebeu apoio na análise dos espectros de RMN ¹H (Figs. 59-61, págs. 137-139) e RMN ¹³C (Fig. 62, pág. 140).

Essa fórmula foi ampliada para C₆(C=O)(CH₂)₂(CH)₈(CH₃)(OCH₃)₄(OH) com base na análise comparativa dos espectros de RMN ¹³C e DEPT (Tab. 16, pág. 125) (Figs. 62-63, págs. 140-141). Deduzindo nessa formulação os quatro grupos OCH₃ e um OH obtemos a fórmula C₁₈H₁₅O que condiz com o esqueleto básico de um lignóide, formado por duas unidades C₆C₃. Foi possível observar a presença de um sinal de carbono em δ_c 209,02

relativo a uma carbonila, ratificada no espectro de IV (Fig. 58, pág. 136), que apresenta $\nu_{C=O}$ em 1755 cm^{-1} característico de carbonila de anel de cinco átomos [31].

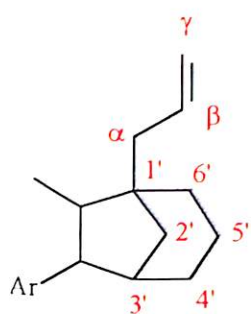
Tabela 16 : Identificação dos carbonos CH_3 , CH_2 , CH e C da substância VII através da análise dos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT.

CH_3	CH_2	CH	C
11,83	35,96	45,29	85,26
52,97	117,46	46,06	136,40
(2) 56,15		58,67	140,35
60,82		76,11	140,54
		(2) 104,21	(2) 153,24
		126,17	209,02
		134,94	
		$(\text{CH})_8\text{OH}$	$\text{C}_6\text{C}=\text{O}$
$\text{CH}_3(\text{CH}_3\text{O})_4$	$(\text{CH}_2)_2$		

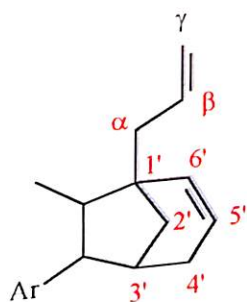
As formulações parciais $\text{C}_4(\text{CH})_4\text{CH}_3(\text{OCH}_3)_3$ unidade aromática e $\text{C}_2(\text{C}=\text{O})(\text{CH})_4(\text{CH}_2)_2(\text{OCH}_3)(\text{OH})$ unidade alifática com duas ligações duplas foram propostas, com base nos dados espectrais em mãos.

Análise adicional dos espectros de massas, RMN ^1H , ^{13}C , COSY, HMQC, HMBC e NOESY permitiram, ainda, a classificação da substância como neolignana biciclo octânica, através de comparação com dados de literatura [38,39].

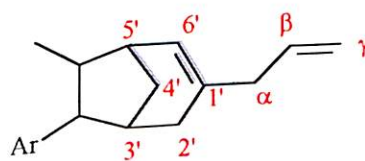
As neolignanas biciclo [3.2.1] octânicas naturais descritas até o momento, são classificadas em três tipos de esqueletos estruturais (1), (2), e (3) (Pág. 126), podendo ter as posições 5', 4' e 2' oxigenadas. O grau de oxigenação pode variar de C-OR ($\text{R} = \text{H}$, Me , Ac) a $\text{C}=\text{O}$.



(1)



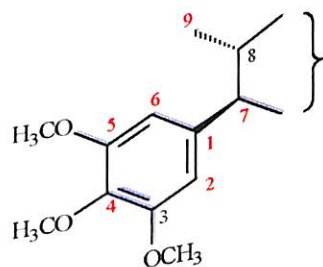
(2)



(3)

A distinção entre esses tipos de esqueletos básicos estruturais, envolvendo dados espectrais e métodos de determinação das estereoquímicas relativa e absoluta, encontram-se descritos na literatura [40].

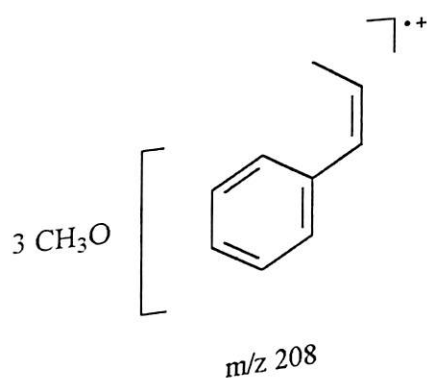
A unidade aromática C_6C_3 , (VII-a) presente na substância VII foi deduzida através dos seguintes dados:



VII-a

- 1) Uma das unidades C_6C_3 do esqueleto bis-arilpropanoídico proposto para VII deve possuir a unidade estrutural VII-a, demonstrada parcialmente no espectro de massas (Fig. 74, pág. 152) com registro do íon de m/z 208 (88 %), o qual com

analogia com dados de literatura e análise dos caminhos de fragmentação (Esq. 4, pág. 153) é representado como:



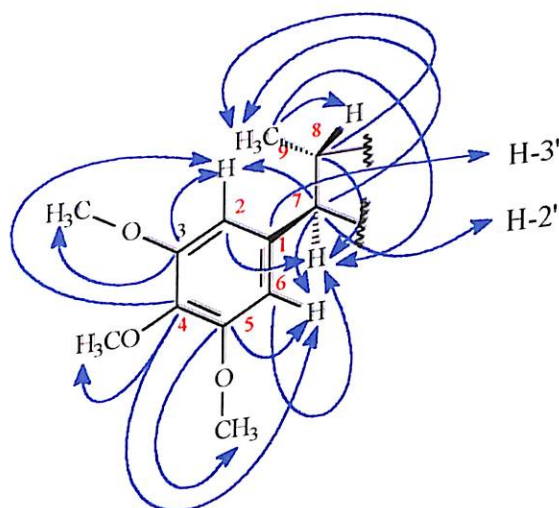
- 2) O grupo metila CH₃-9 representado por um sinal duplo em δ_H 1,10 (d, J = 6,6 Hz) sugeriu a presença de um carbono metínico em sua vizinhança, localizado em δ_H 2,24 (dd, J = 8,4; 6,6 Hz, H-8). A nova constante de acoplamento sugere a vizinhança de um novo hidrogênio metínico e identificado em δ_H 2,90 (d, J = 8,4 Hz, H-7). O valor de J = 8,4 Hz indicou relação *trans* entre os hidrogênios H-7 e H-8 e o valor de δ_H 1,10 para o grupo CH₃-9, apontou para a posição *endo* desse grupo em relação ao sistema bicíclico [21,40].
- 3) Análise do espectro de $^1H \times ^1H$ COSY (Fig. 64, pág. 142) apoia essa dedução, indicando a correlação de acoplamento entre os hidrogênios δ_H 1,10 (d, J = 6,6 Hz, 3 H-9) e δ_H 2,24 (dd, J = 8,4; 6,6 Hz, H-8) e este com o hidrogênio determinado ao sinal em δ_H 2,90 (d, J = 8,4 Hz, H-7). O espectro de $^1H \times ^{13}C$ HMQC (Figs. 65-66, págs. 143-144) correlacionou os átomos de carbono com seus respectivos átomos de hidrogênio ligantes, sendo o carbono com δ_C 45,29 (C-7) com o átomo de

hidrogênio H-7, carbono com δ_H 46,06 (C-8) com o hidrogênio em δ_H 2,24 (dd, $J = 8,4; 6,6$ Hz, H-8), e o átomo de carbono em δ_C 11,83 (C-9) acoplando com o átomo de hidrogênio em δ_H 1,10 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H-9).

4) O espectro de $^1H \times ^{13}C$ HMBC - $^nJ_{CH}$ $n = 2, 3$ definiu o sistema $-CH-CH-CH_3$ pelos exames dos pontos de interseção devido às correlações heteronucleares entre os átomos de carbono e hidrogênios (Fig. 67, pág. 145). O espectro exhibe a correlação a três ligações do átomo de carbono em δ_C 45,29 (C-7) com os hidrogênios com δ_H 1,10 (3 H-9), δ_H 6,28 (s, H-2,6) e com o átomo de hidrogênio com δ_H 4,65 (d, $J = 4,3$ Hz, H-2') constituinte da outra unidade da neolignana VII. O átomo de carbono com δ_H 46,06 (C-8) com interação em $^2J_{CH}$ com δ_H 1,10 (3H-9) e com δ_H 2,90 (H-7), e o átomo de carbono com δ_C 11,83 (C-9) em $^2J_{CH}$ com átomo de hidrogênio H-8 e em $^3J_{CH}$ com H-7.

5) O padrão de substituição do anel aromático foi indicado com base no espectro de $^1H \times ^{13}C$ HMQC (Fig. 65, pág. 143) onde se mostra a correlação de acoplamento do carbono δ_C 104,21 (C-2,6) com os hidrogênios em δ_H 6,28 (s) H-2,6. As metoxilas foram colocadas em C-3, 4 e 5 devido ao fato de que as posições C-2 e C-6 estarem ocupadas com um átomo de hidrogênio cada, resultado da análise de interações heteronucleares a três ligações do C-7 com 2H-2,6 (item 4) além da comparação com dados das substâncias III e V (com mesmos padrões de substituição). O espectro HMQC (Fig. 66, pág. 144) também revela a correlação dos carbonos δ_C 52,97, 56,15 e 60,82 com os três hidrogênios do grupo H_3CO com δ_H 3,46 (s), 3,74 (s) e 3,73 (s) respectivamente. Similarmente obtemos outros

dados nos espectros de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^nJ_{\text{CH}}$ $n = 2, 3$ (Figs. 68-69, págs. 146-147) através da análise dos pontos de ligação heteronuclear entre: δ_{C} 104,21 (C-2,6) em $^3J_{\text{CH}}$ com H-7; do átomo de carbono com δ_{C} 153,24 (C-3,5) em $^2J_{\text{CH}}$ com 2H-2,6 e em $^3J_{\text{CH}}$ com H-7; e do carbono em δ_{C} 136,40 (C-4) em $^3J_{\text{CH}}$ com os 2H-2,6 e em $^3J_{\text{CH}}$ com H_3CO -3,5; e do carbono em δ_{C} 136,40 (C-4) em $^3J_{\text{CH}}$ com os 2H-2,6 e com H_3CO -4 e com 2H-2,6. O diagrama das correlações hidrogênicos do grupo H_3CO -4 e com 2H-2,6. Ficando heteronucleares em $^nJ_{\text{CH}}$ $n = 2$ e 3 está colocado na unidade VII-a abaixo. Ficando assim definida a estrutura VII-a para uma das unidades de VII.



VII-a

O exame dos dados de RMN ^{13}C e DEPT - 135° (Figs. 62-63, págs. 140-141; tab. 16, pág. 125) permitiu ainda assinalar os sinais dos carbonos com δ_{C} 76,11 e 85,26 contendo uma hidroxila e uma metoxila respectivamente [21,27]. Além destes valores foi possível marcar os átomos de carbono monoprotonados sp^3 , com deslocamento químico em

δ_C 58,67 e 76,11 este sendo carbono carbinólico, e sp^2 em δ_C 126,17 e 134,94 além de um carbono metilênico sp^3 em δ_C 35,96.

Um grupo alila presente na unidade não aromática (dedução página 125) foi indicado no espectro de RMN 1H (Figs. 59-61, págs. 137-139) pela presença dos sinais de absorção em δ_H 2,94 (m, 2H-7'), δ_H 5,78 (m, H-8') e pelos sinais em δ_H 5,07 (d, $J = 9,7$ Hz, H-9'b) e δ_H 5,09 (d, $J = 17,2$ Hz, H-9'a). O deslocamento químico em δ_H 2,94 para (2H-7) evidencia sua localização duplamente alílica [40]. Essas análises também foram observadas no exame do espectro de $^1H \times ^1H$ - COSY (Fig. 64, pág. 142) onde temos a correlação de acoplamento entre os hidrogênios δ_H 5,78 (m, H-8') com os hidrogênios em δ_H 5,07 (d, $J = 9,7$ Hz, H-9'b) e com δ_H 5,09 (d, $J = 17,2$ Hz, H-9'a), e de H-8' com os hidrogênios em δ_H 2,94 (m, 2H-7'), revelando também o acoplamento entre os átomos de hidrogênio em δ_H 2,58 (d, $J = 4,3$ Hz, H-3') com o hidrogênio localizado em δ_H 4,65 (d, $J = 4,3$ Hz, H-2'). O sinal simples largo em δ_H 5,54 (sl) foi atribuído ao hidrogênio H-6', sua feição revela a ausência de hidrogênio em carbonos vizinhos sendo o alargamento decorrente do acoplamento alílico, com 2 H-7' e H-2'.

A presença do sinal em δ_H 4,65 foi atribuído a átomo de hidrogênio de um carbono carbinólico δ_C 76,11 (C-2') com base no exame do espectro de $^1H \times ^{13}C$ HMQC (Fig. 65, pág. 143). O valor da constante de acoplamento de $J = 4,3$ Hz e do δ_C 76,11 sugeriu a colocação da hidroxila na posição *endo* em relação ao sistema bicíclico [39].

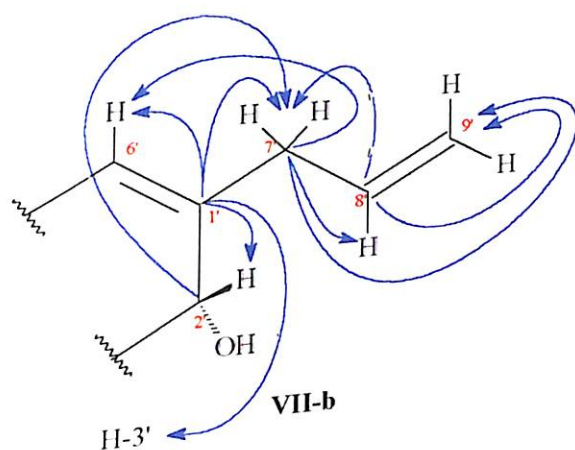
O espectro de $^1H \times ^1H$ NOESY (Fig. 73, pág. 151) revelou ausência de interação entre H-2' e H-7, apresentando os efeitos de interação espacial NOE entre o

átomo de hidrogênio H-2' com H-3' e com 2H-7' confirmando assim a localização da OH *endo* na substância VII.

O espectro de HMQC (Fig. 65, pág. 143) apresentou também a correlação dos sinais com δ_C 126,17 C-6' com δ_H 5,54 (sl, H-6'), do carbono δ_C 58,67 (C-3') com o hidrogênio em δ_H 2,58 (d, $J = 4,3$ Hz, H-3') e para os demais sinais analisados anteriormente (Tab. 18, pág. 135).

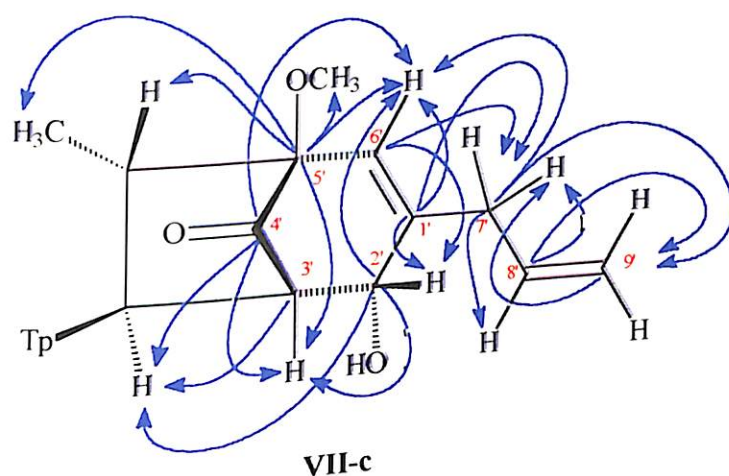
Os espectros de 2D $^1H \times ^{13}C$ HMBC- $^nJ_{CH}$ $n = 2$ e 3 (Figs. 67-69, págs. 145-147) mostram a interação do átomo de carbono em δ_C 35,96 (C-7'), $^2J_{CH}$ com os hidrogênios δ_H 5,78 (m, H-8'), e $^3J_{CH}$ com δ_H 5,54 (sl, H-6') e com δ_H 5,07 (d, $J = 9,7$ Hz, H-9'b) e δ_H 5,09 (d, $J = 17,2$ Hz, H-9'a). Átomo de carbono com δ_C 134,94 (C-8') em 2J com δ_H 2,94 (m, 2H-7') e com δ_H 5,07 e 5,09 correspondendo ao H-9'b e H-9'a, caracterizando a unidade alílica ($CH_2-CH=CH_2$).

A identificação do esqueleto C_6C_3 para a segunda unidade da neolignana VII foi realizada com base na análise das interações de acoplamento a longa distância do átomo de carbono localizado em δ_C 140,31 (C-1') possuindo $^2J_{CH}$ com os hidrogênios determinados em δ_H 2,94 (2H-7') com δ_H 4,65 (H-2') e com o hidrogênio em δ_H 5,54 (H-6') e a três ligações com o hidrogênio em δ_H 2,58 (H-3'). Comprovando a união entre os átomos de carbono C-1' e C-7' da unidade alílica. Estas deduções podem ser resumidas na representação estrutural VII-b, junto com as interações dos carbonos C-7', C-8' e C-9'.

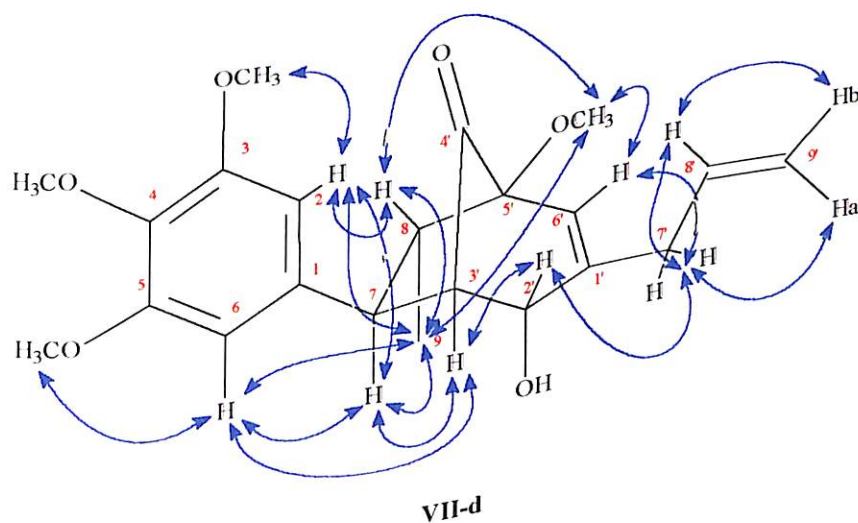


O carbono metínico δ_C 76,11 (C-2') carbinólico mostra uma interação $^2J_{CH}$ com o hidrogênio em δ_H 2,58 (d, $J = 4,3$ Hz, H-3') e $^3J_{CH}$ com o hidrogênio em δ_H 5,54 (s, H-6'), com 2H-7' e com δ_H 2,90 (d, $J = 8,4$ Hz, H-7) corroborando uma das duas ligações C-7-C-3' entre as duas unidades C_3C_6 . O carbono com δ_C 85,26 (C-5') apresenta uma interação heteronuclear em $^2J_{CH}$ com δ_H 2,24 (dd, $J = 8,4; 6,6$ Hz, H-8) (mostrando a segunda ligação C-5'-C-8 entre as duas unidades) e interação em $^3J_{CH}$ com δ_H 2,58 (d, $J = 4,3$ Hz, H-3') com δ_H 1,10 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H-9) e com δ_H 3,46 (s) H_3CO -5'.

A carbonila foi definida para o carbono em C-4' com base nas interações observadas para o átomo de carbono com δ_C 209,02 a duas ligações com δ_H 2,58 (d, $J = 4,3$ Hz, H-3') e a três ligações com o hidrogênio em δ_H 5,54 (sl, H-6') e com o hidrogênio em δ_H 2,90 (d, $J = 8,4$ Hz, H-7) confirmando a ligação entre as duas unidades VII-a e VII-c via C-3' com C-7 (Fig. 68, pág. 146 e Tabela 18, pág. 135). O diagrama espacial VII-c revela algumas correlações heteronucleares em $^2J_{CH}$ e $^3J_{CH}$ presentes nos registros resultantes do uso da técnica de HMBC na substância VII.



Efeitos NOE selecionados entre centros revelados pelos picos transversais observados no espectro de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (Figs. 70-73, pág. 148-151), (Tab. 17, pág. 134) e estrutura **VII-d** foram importantes para a dedução das conformações e das estereoquímicas encontradas na substância, definindo deste modo a estrutura **VII** para esta neolignana.



Análise comparativa dos dados espectrais da substância, com valores de dados na literatura [21], permitiram identificar a substância **VII** como rel-(7S,8S,2'R,3'S,5'S)- $\Delta^{6,8}$ -2'-Hidroxi-3,4,5,5'-tetrametoxi-4'-oxo-8.5',7.3'-neolignana.

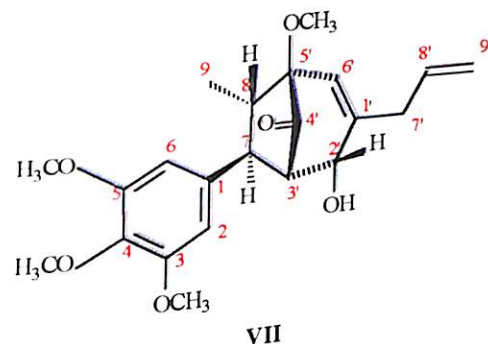


Tabela 17 : Dados de NOE obtidos por experiência 2D ^1H x ^1H - NOESY na substância **VII***.

	δ_{H} (Hz)	Picos transversais correspondentes a NOE com
CH		
2,6	6,28 (s)	2 MeO-3,5; H-3'; H-8; 3 H-9; H-7
7	2,90 (d, J = 8,4)	2 H-2,6; H-8, H-3', 3 H-9
8	2,24 (dd, J = 8,4; 6,6)	2 H-2,6; MeO-5', H-7; 3 H-9
2'	4,65 (d, J = 4,3)	H-3'; 2 H-7'
3'	2,58 (dl, J = 4,3)	2 H-2,6; H-2', H-7
6'	5,54 (sl)	MeO-5'; 2 H-7', 3 H-9
8'	5,78 (m)	2 H-7'; H-9b
CH ₂		
7'	2,94 (m)	H-2'; H-6'; H-8'; H-9b
9'a	5,09 (d, J = 17,2)	2 H-7'
9'b	5,07 (d, J = 9,7)	H-8'
CH ₃		
9	1,10 (d, J = 6,6)	-
MeO-3	3,74 (s)	2 H-2,6; MeO-5'; H-7; H-8; H-6'
MeO-5	3,74 (s)	H-2
MeO-4	3,73 (s)	H-6
MeO-5'	3,46 (s)	H-6'; H-8; 3 H-9

* Resultados de experiências bidimensionais de correlação homo e heteronuclear de hidrogênio e carbono-13, foram também usados nessa análise.

Tabela 18 : Valores de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 ppm, Hz) e ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^n\text{J}_{\text{CH}}$ n = 2, 3 da substância VII e comparação com valores de literatura.

C	HMQC		HMBC		LITERATURA [21]		
	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^1\text{J}_{\text{CH}}$		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^n\text{J}_{\text{CH}}$		δ_{H}	δ_{C}	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$			
1	140,54	-	2H-2,6	H-8; H-3'	6,35 (s)	140,3	
2,6	104,21	6,28 (s)		H-7		104,7	
3,5	153,24	-		2MeO-3,5		153,7	
4	136,40	-		MeO-4; 2H-2,6	H-2'; 3H-9; 2H-2,6	2,90 (dd, J = 8,0; 0,8)	45,4
7	45,29	2,90 (d, J = 8,4)	3H-9; H-7	2,30 (q, J = 7,0)			
8	46,06	2,24 (dd, J = 8,4; 6,6)		H-8	1,05 (d, J = 7)	11,9	
9	11,83	1,10 (d, J = 6,6)		H-3'	11-3'	140,3	
1'	140,35	-		11-6'; 2H-7'; 11-2'			H-6'; H-7; H-7'
2'	76,11	4,65 (d, J = 4,3)	H-3'	H-6'; H-7	2,60 (dd, J = 5,0; 0,8)	58,9	
3'	58,67	2,58 (d, J = 4,3)	11-7				H-6'; H-7
4'	209,02	-	H-3'	MeO-5'; H-3'; 3H-9	5,62 (sl)	126,6	
5'	85,26	-	H-6'; H-8				H-2'; 2H-7'; H-8
6'	126,17	5,54 (sl)	H-8'	H-6'; 2H-9'	5,8-5,95 (m)	135,1	
7'	35,96	2,94 (m)		2H-9'; 2H-7'	2H-7'	5,0-5,25 (m)	117,3
8'	134,94	5,78 (m)				2H-9'; 2H-7'	2H-7'
9'a	117,46	5,09 (d, J = 17,2)		3,81 (s)			
9'b	-	5,07 (d, J = 9,7)	3,79 (s)	60,8			
MeO-3,5	56,15	3,74 (s)	2H-9'; 2H-7'	2H-7'	3,54 (s)		
MeO-4	60,82	3,73 (s)					
MeO-5'	52,97	3,46 (s)					

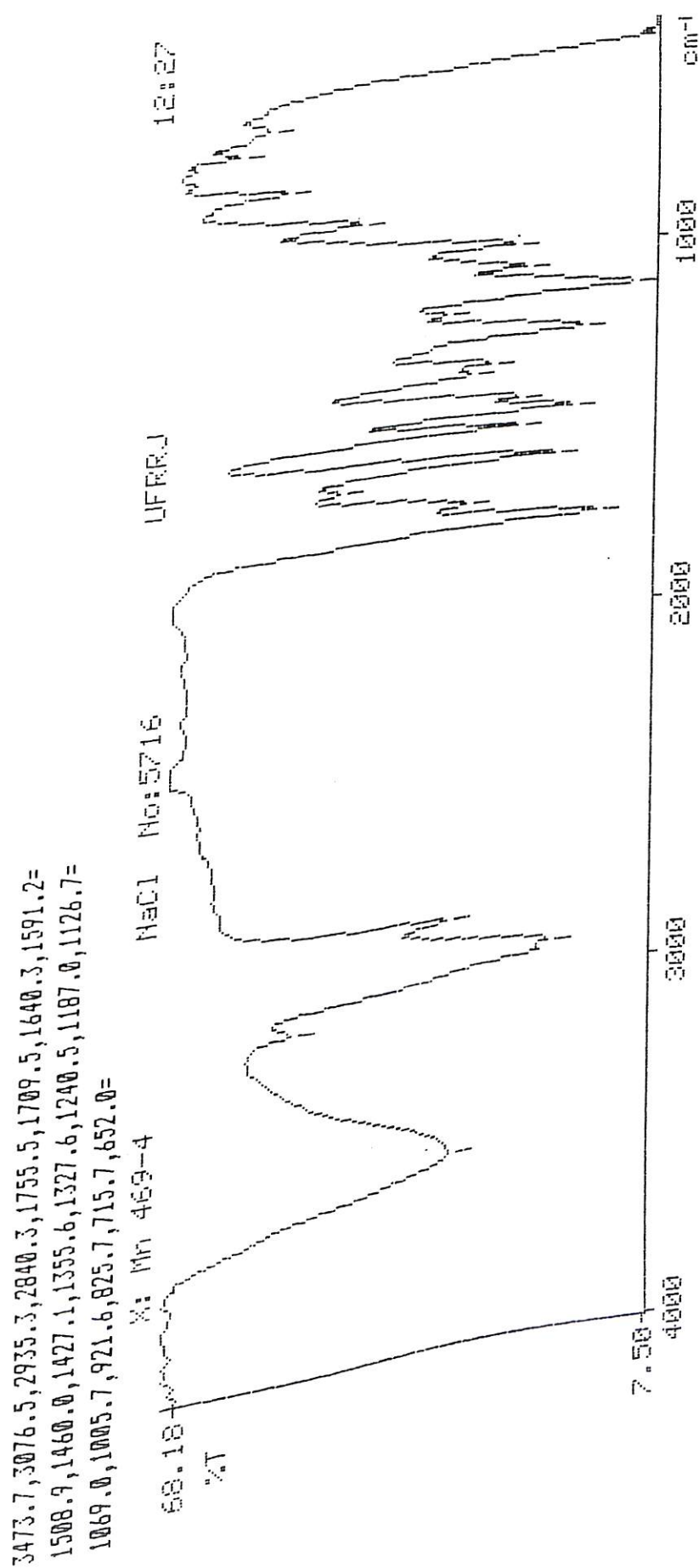


Figura 58 : Espectro de IV da neolignana VII

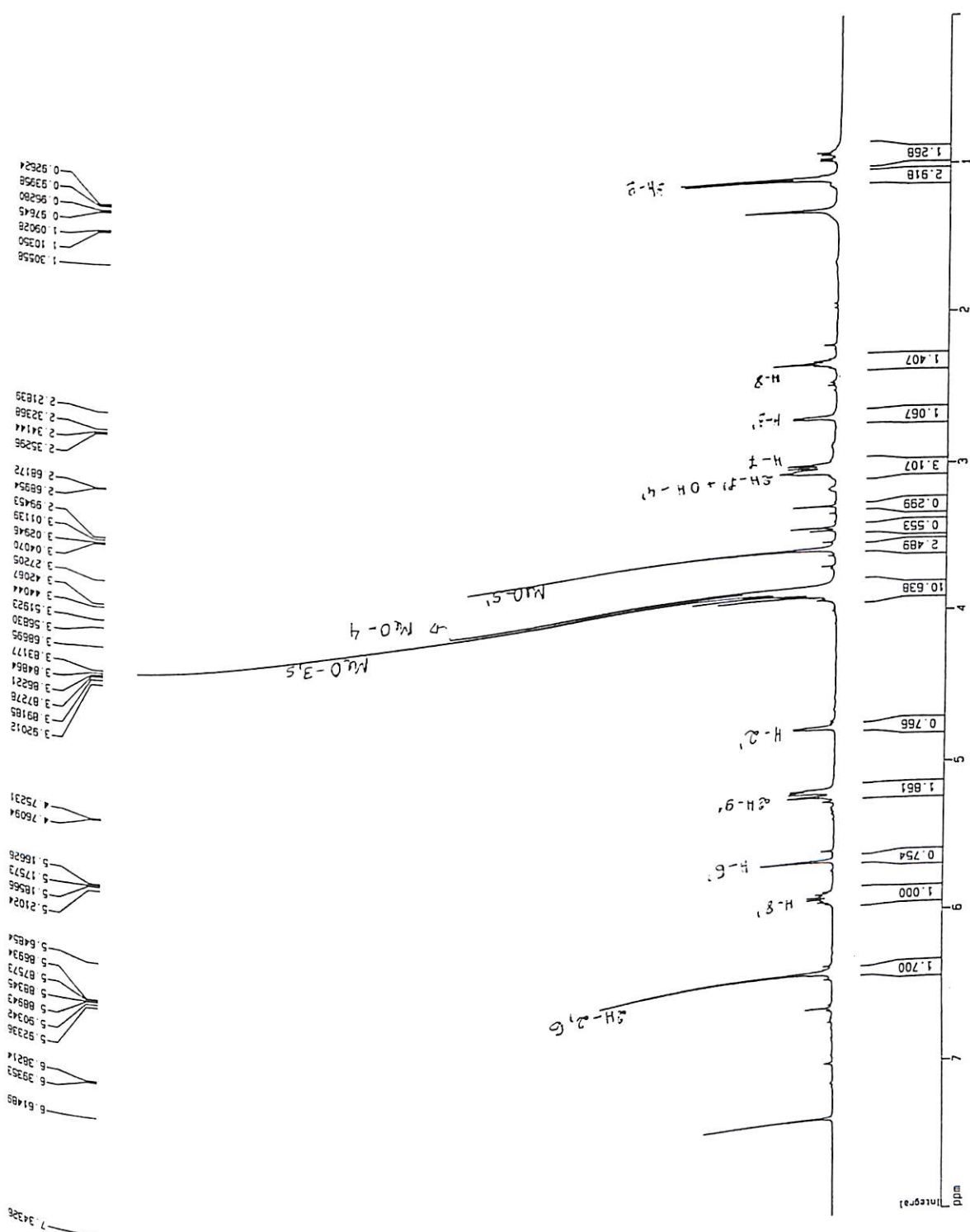


Figura 59 : Espectro de RMN ^1H da neolignana VII (500 MHz, CDCl_3)

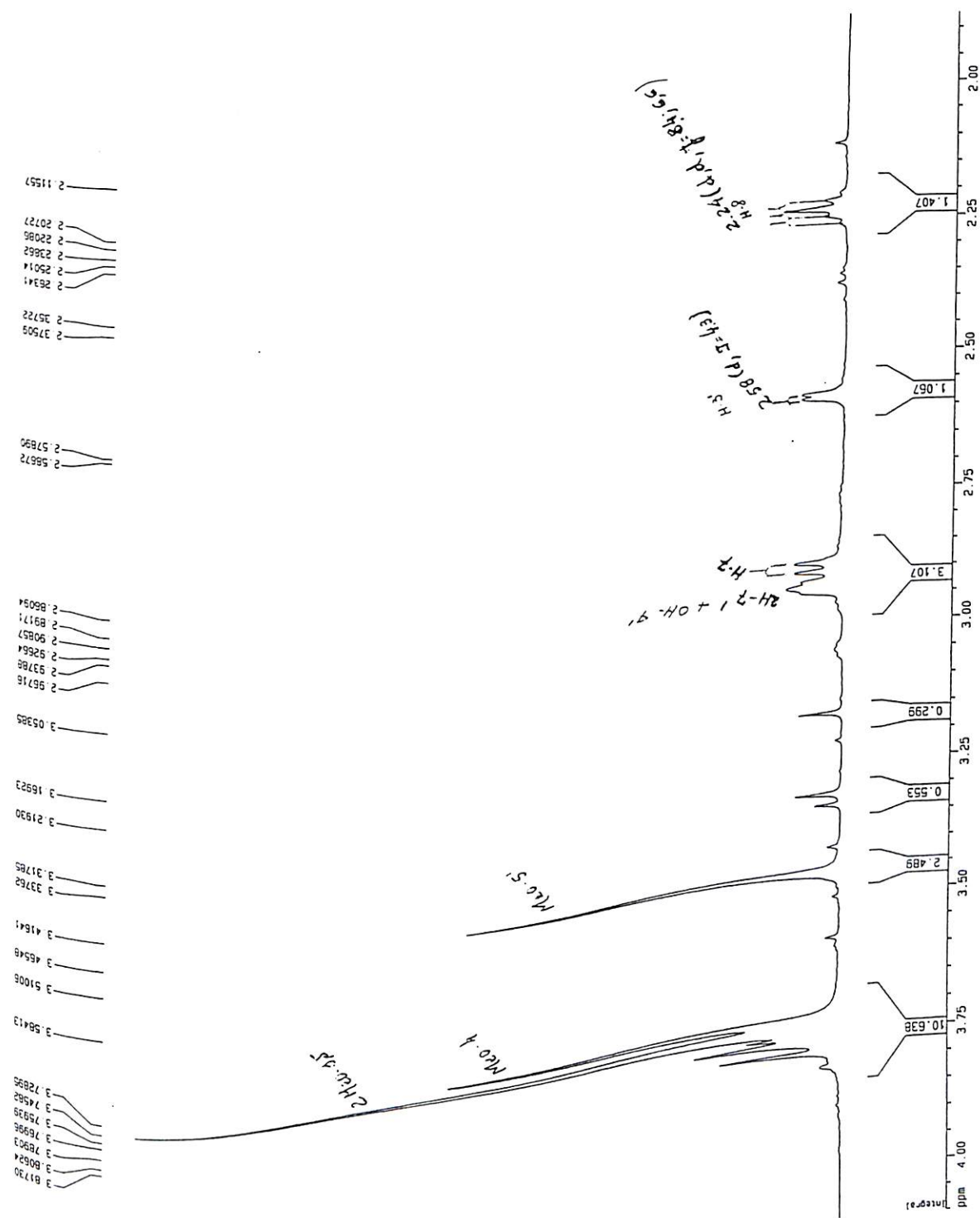


Figura 60 : Espectro de RMN ^1H , região 1,9-4,10 ppm da neolignana **VII** (500 MHz, CDCl_3)

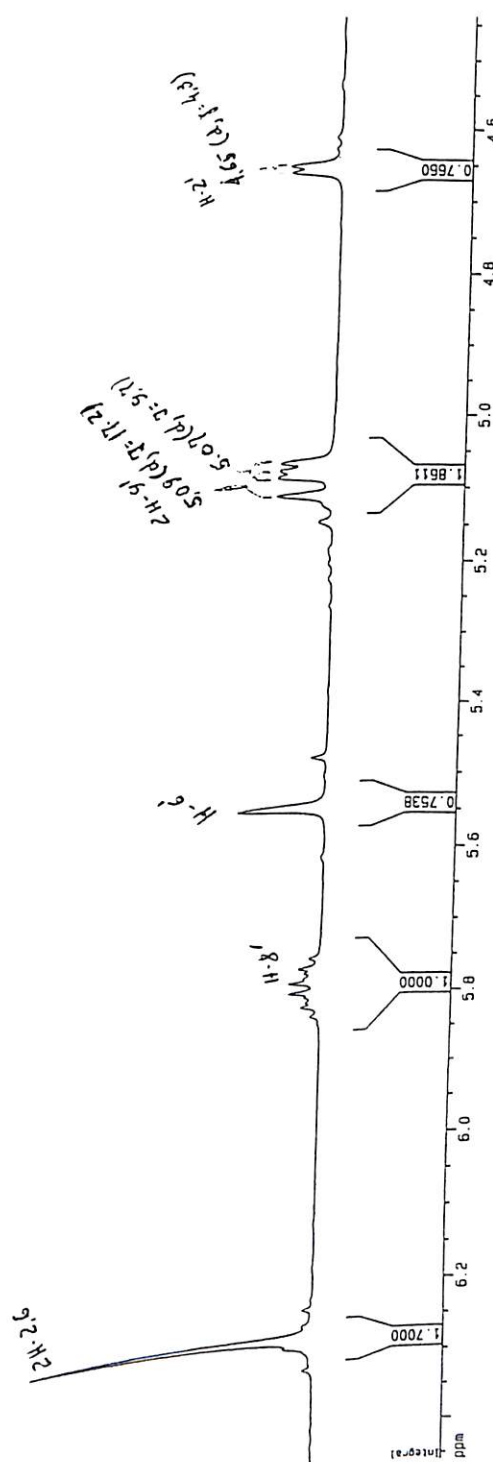


Figura 61 : Espectro de RMN ^1H , região 4,5-6,45 ppm da neolignana VII (500 MHz, CDCl_3)

5.65912
5.64949

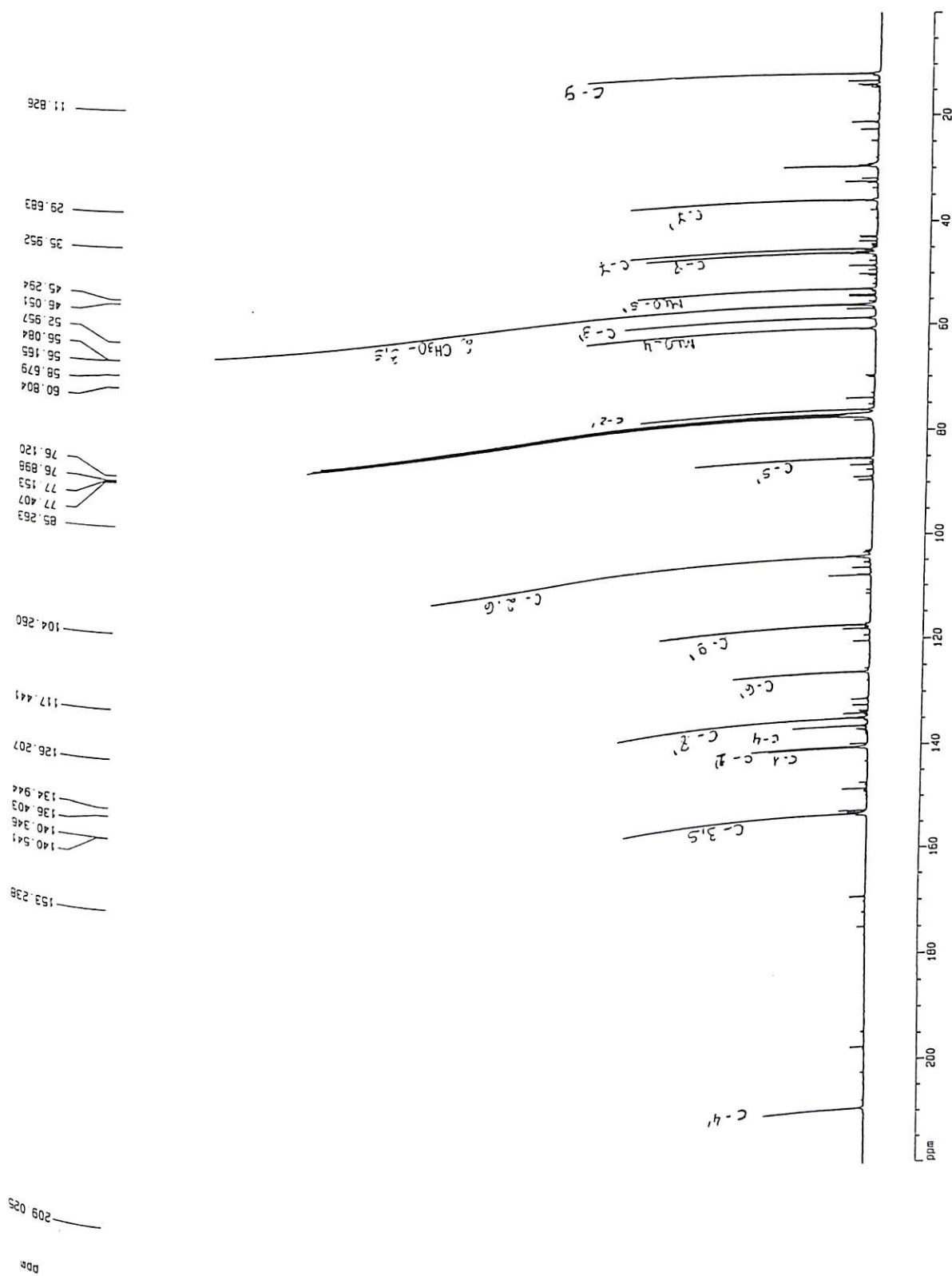
5.10742
5.08284
5.07291
5.06345

5.54572

5.82054
5.80060
5.78661
5.76663
5.77291
5.76653

5.29073
5.27932

0.00



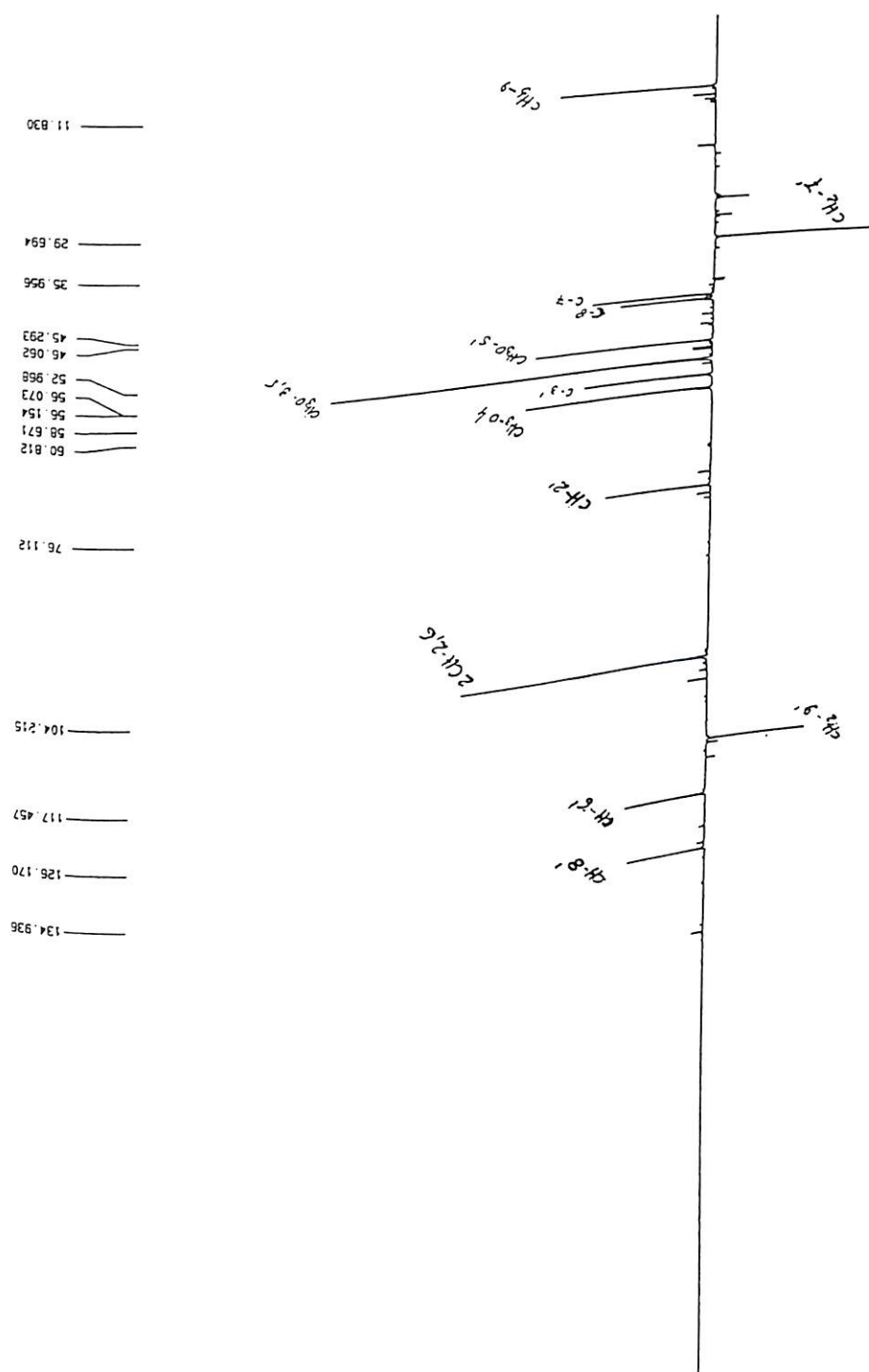


Figura 63 : Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° da neolignana VII (125 MHz, CDCl_3)

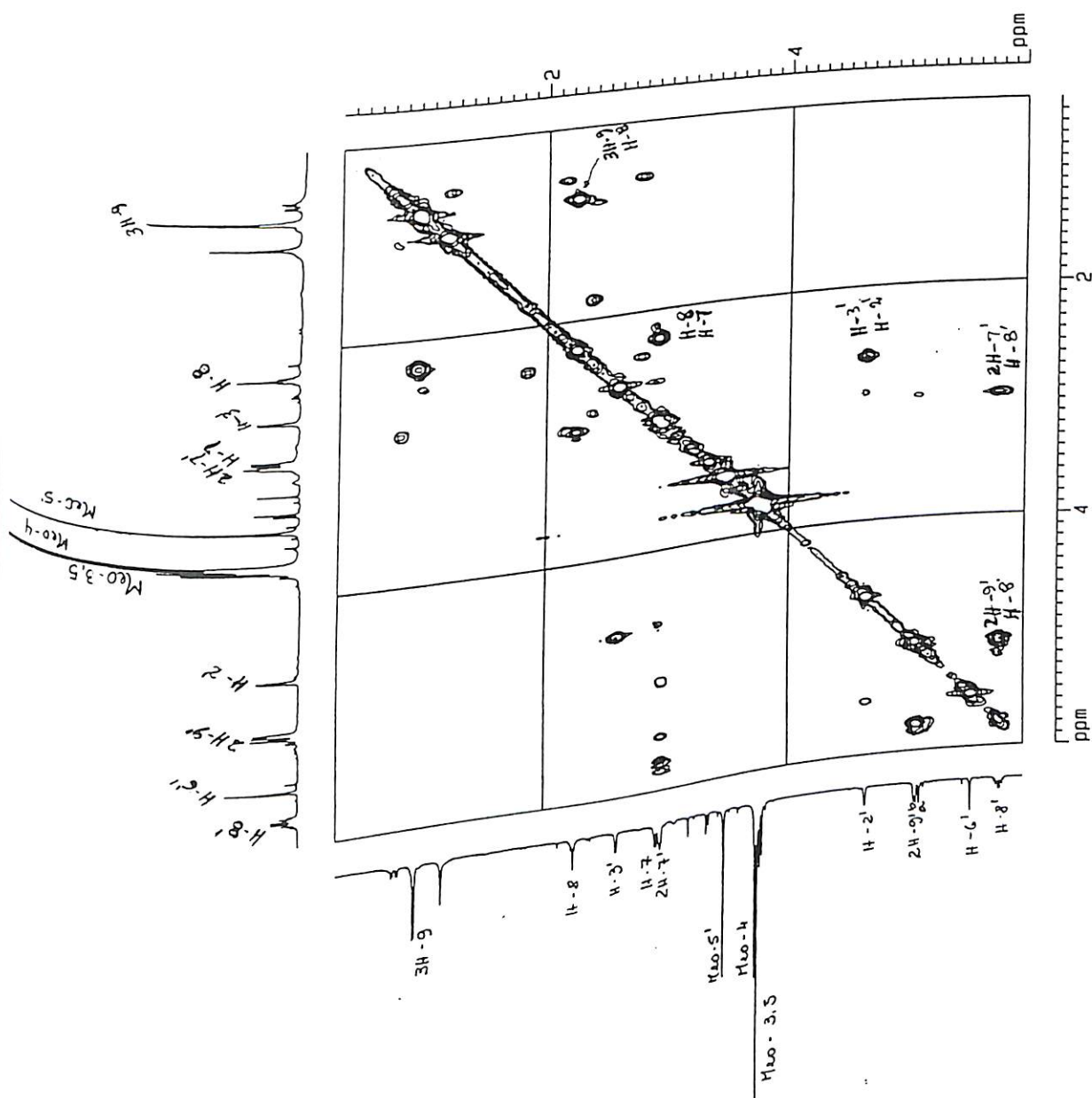


Figura 64 : Espectro de RMN 2D HOMOCOSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$, região 0,5-6,0 x 0,5-6,0 ppm da neolignana VII (500 MHz, CDCl_3)

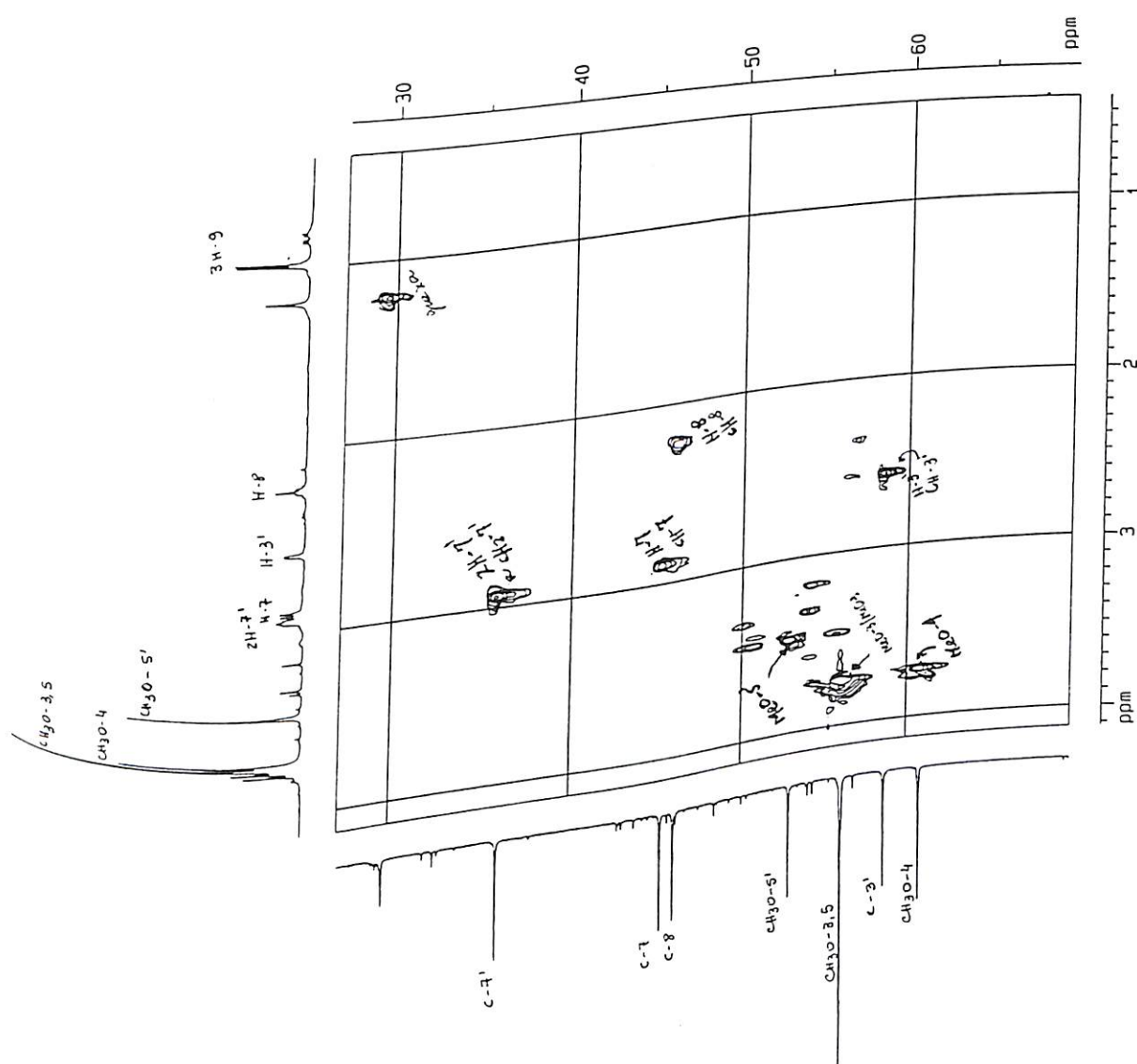


Figura 66 : Espectro de RMN 2D HMQC ^1H x ^{13}C , região 0,5-4,0 x 25,0-70,0 ppm da neolignana **VII** (125 MHz, CDCl_3)

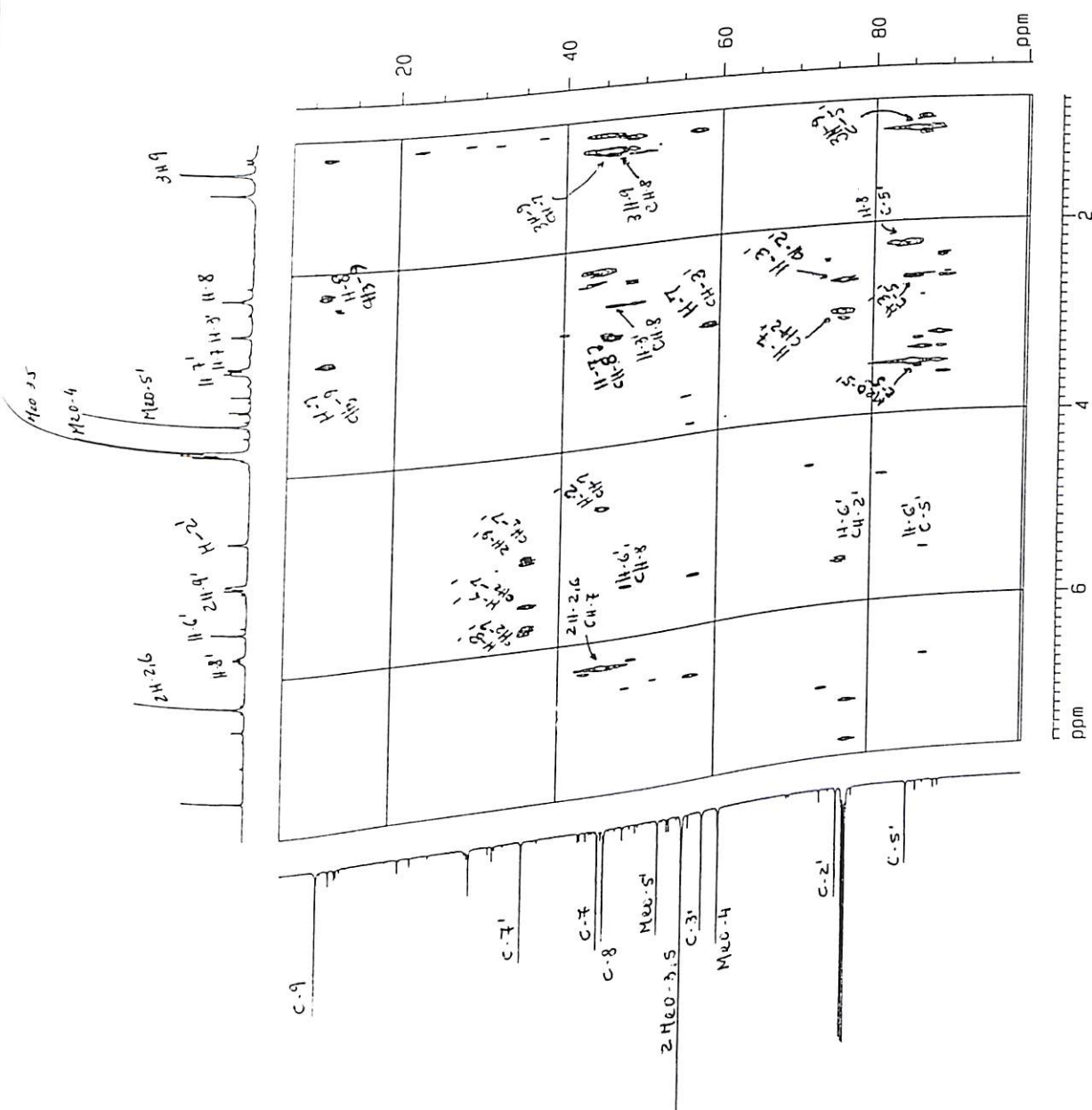


Figura 67 : Espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBN, região 1,0-8,0 x 10,0-100,0 ppm da neolignana VII (125 MHz, CDCl_3)

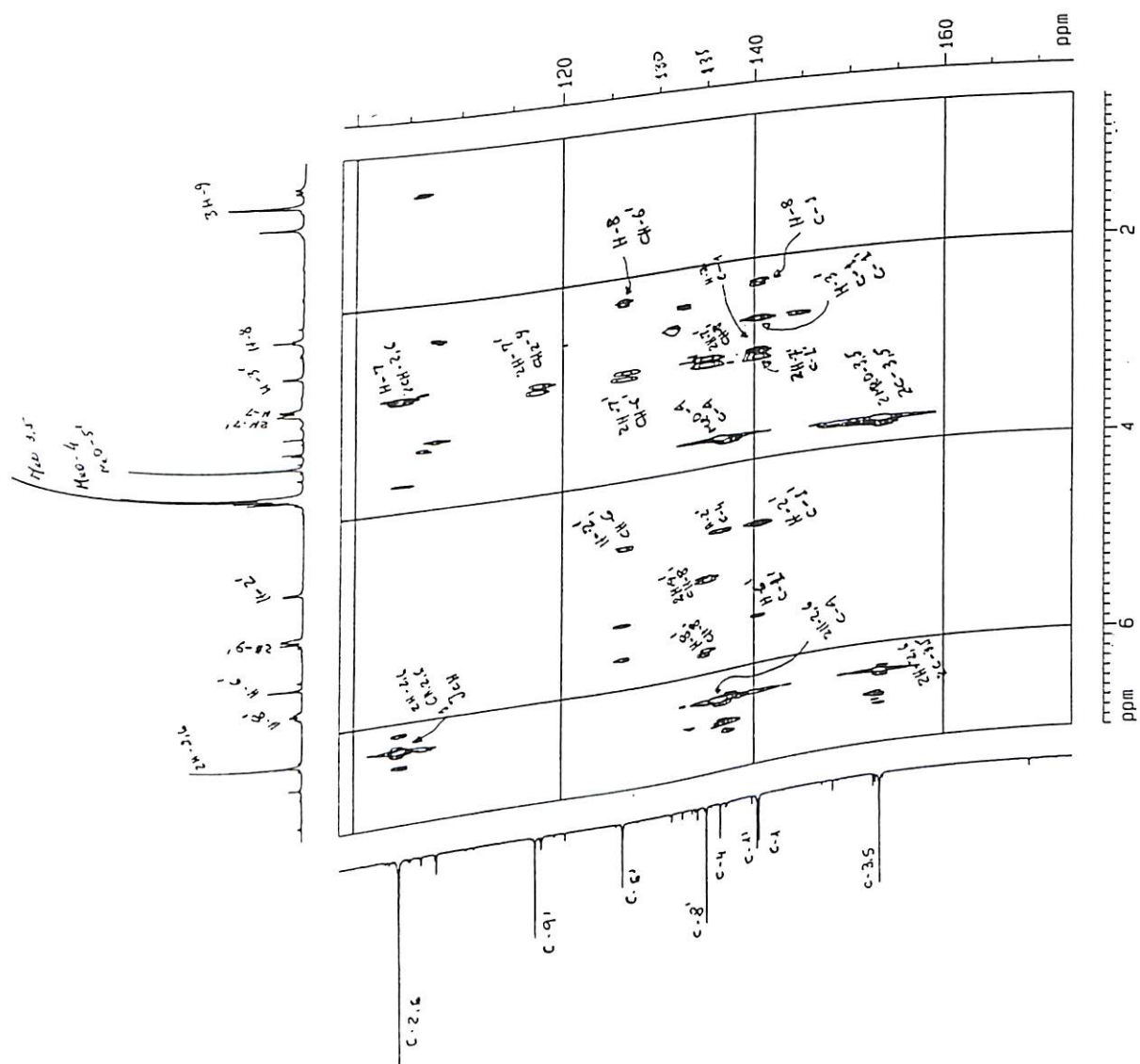


Figura 69 : Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C HMBC, região 0,5-7,0 x 100,0-170,0 ppm da neolignana **VII** (125 MHz, CDCl_3)

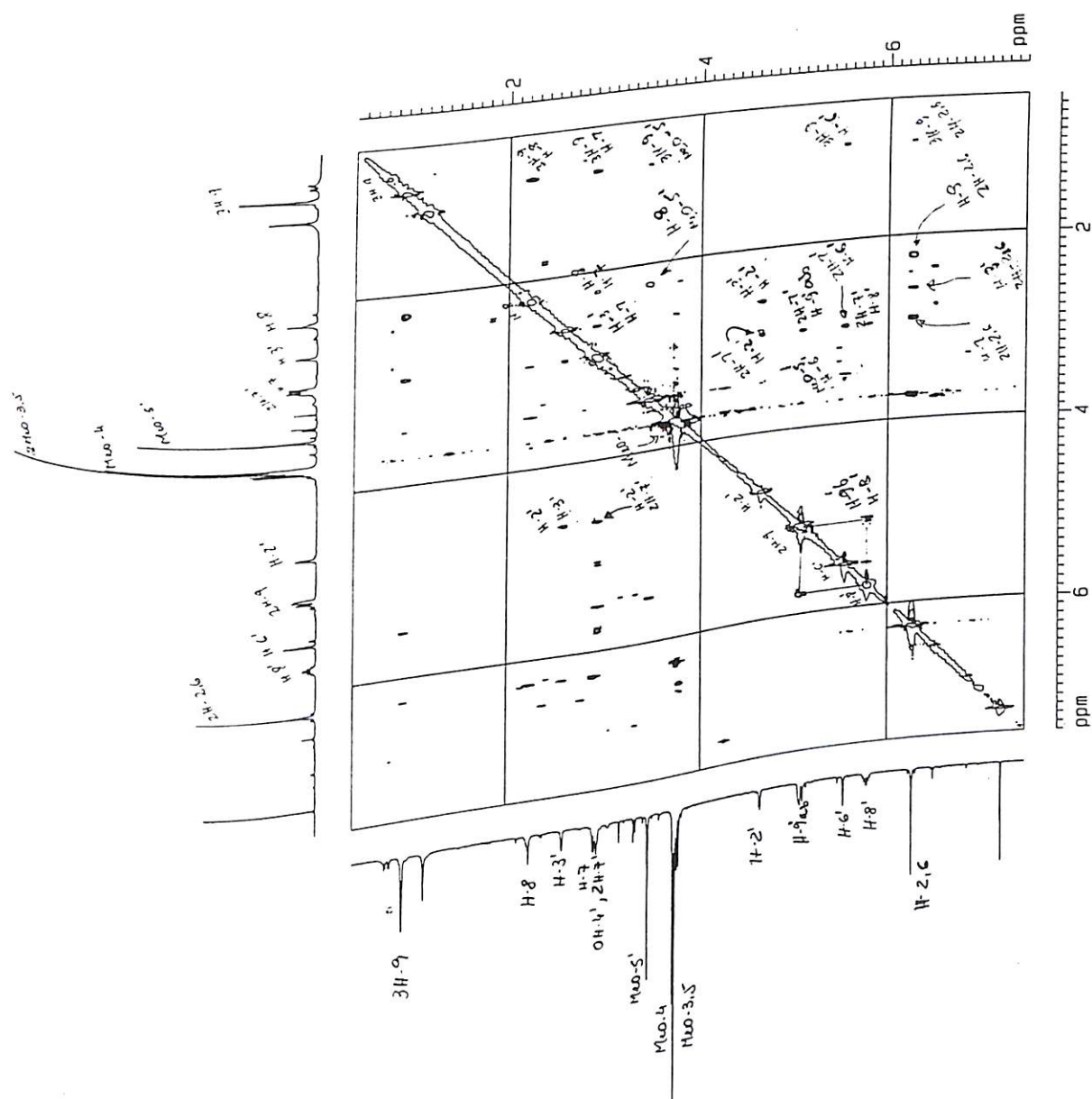


Figura 70 : Espectro de NOESY, região 1,7-7,5 x 0,0-8,0 ppm da neolignana VII (500 MHz, CDCl₃)

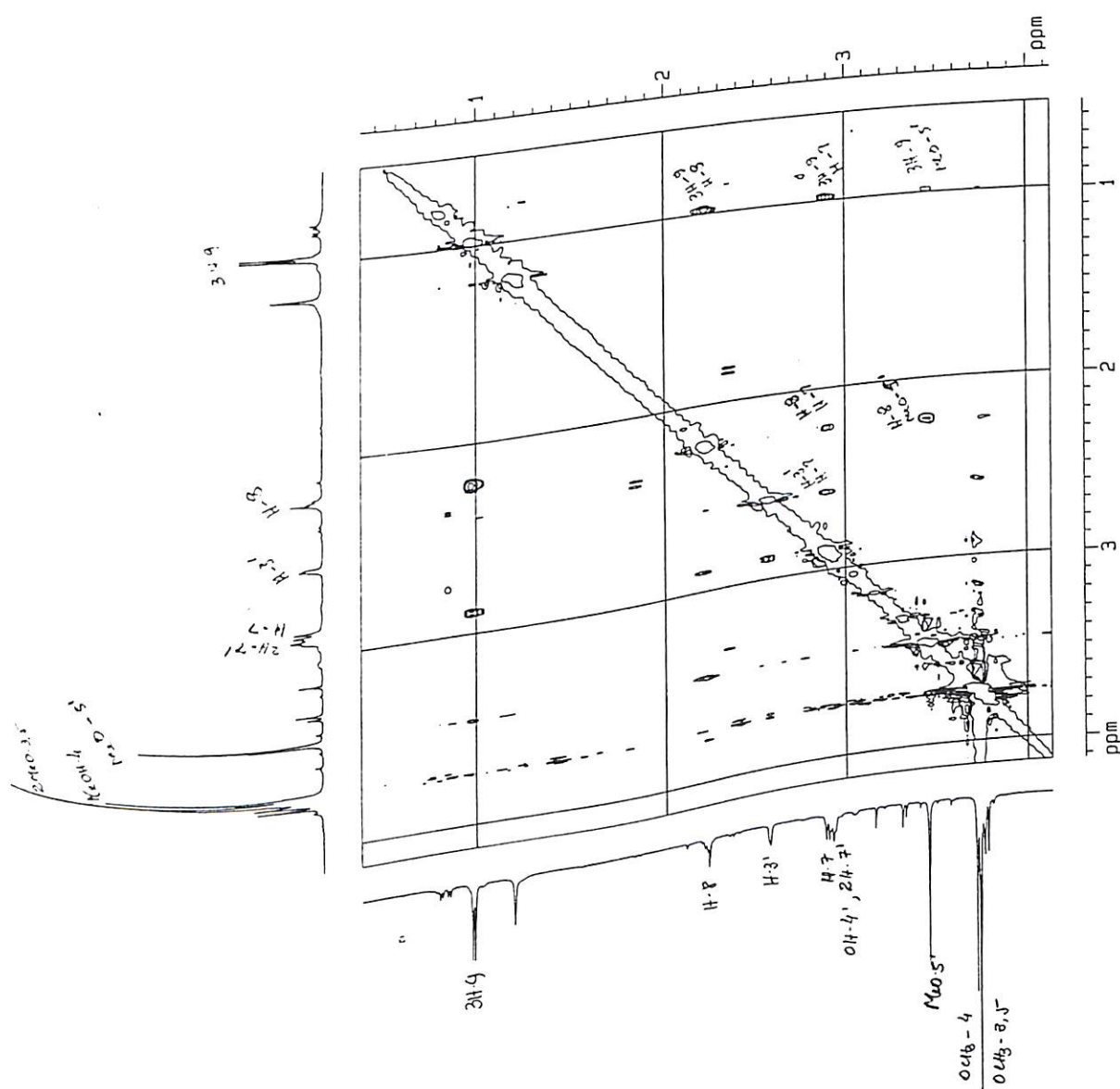


Figura 71 : Espectro de NOESY, região 1,5-4,0 x 0,5-4,0 da neolignana **VII** (500 MHz, CDCl_3)

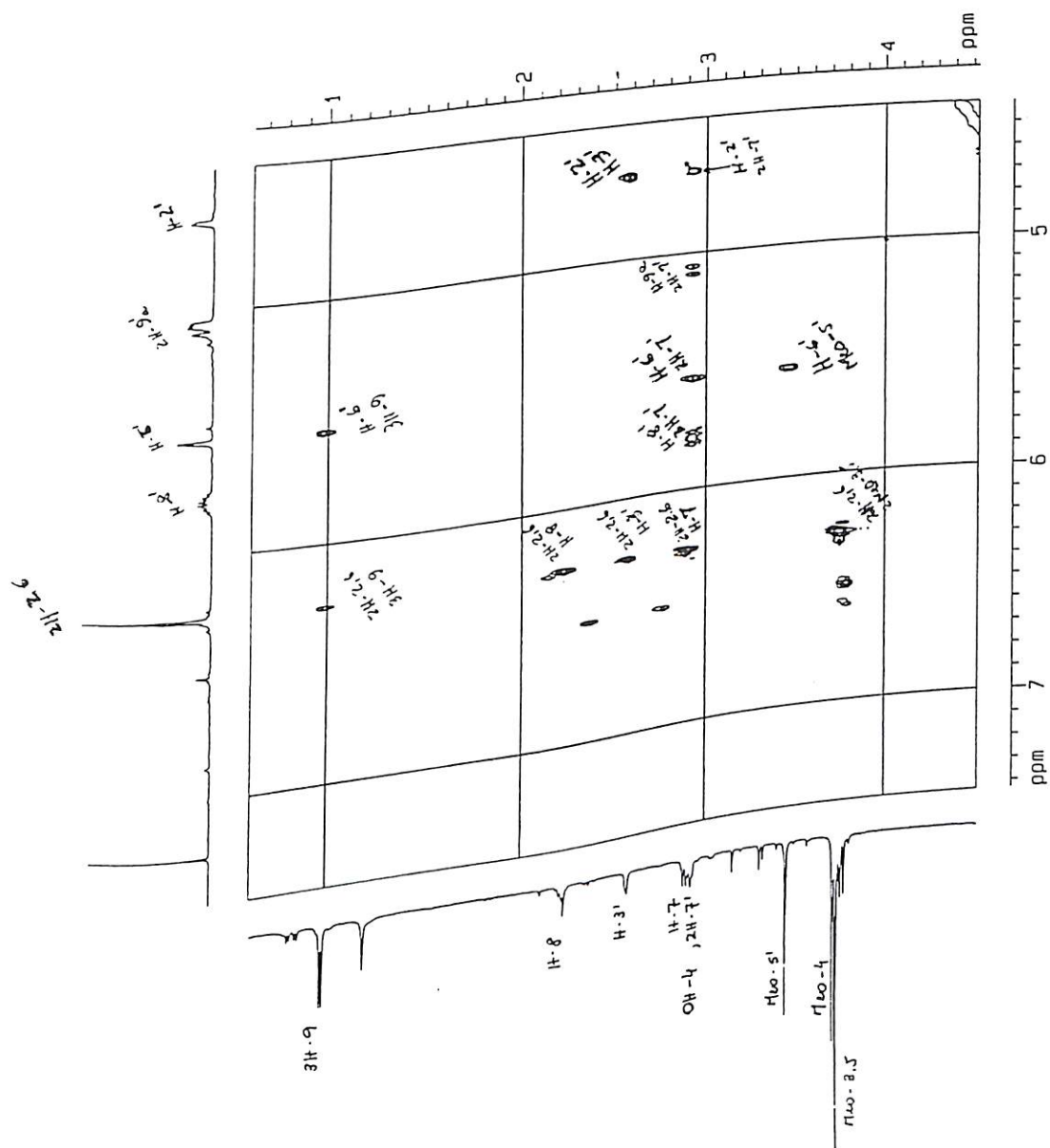


Figura 72 : Espectro de NOESY, região 4,5-7,4 x 0,7-4,5 da neolignana VII (500 MHz, CDCl₃)

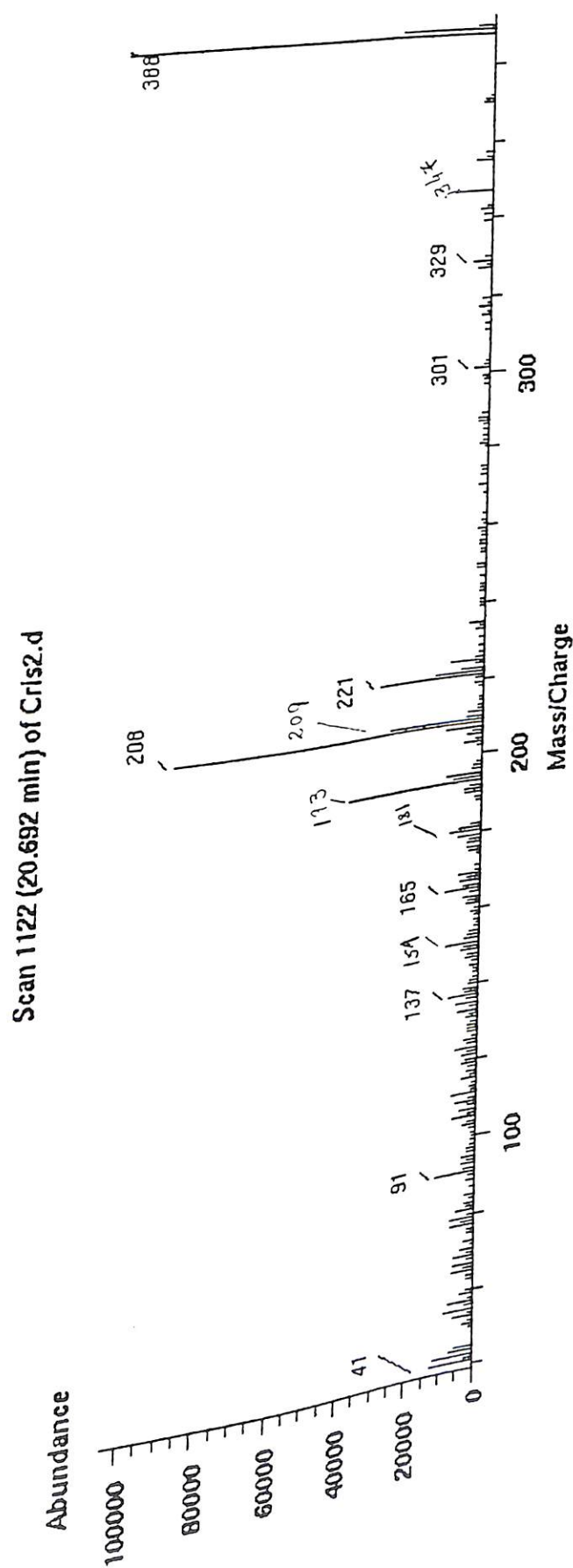
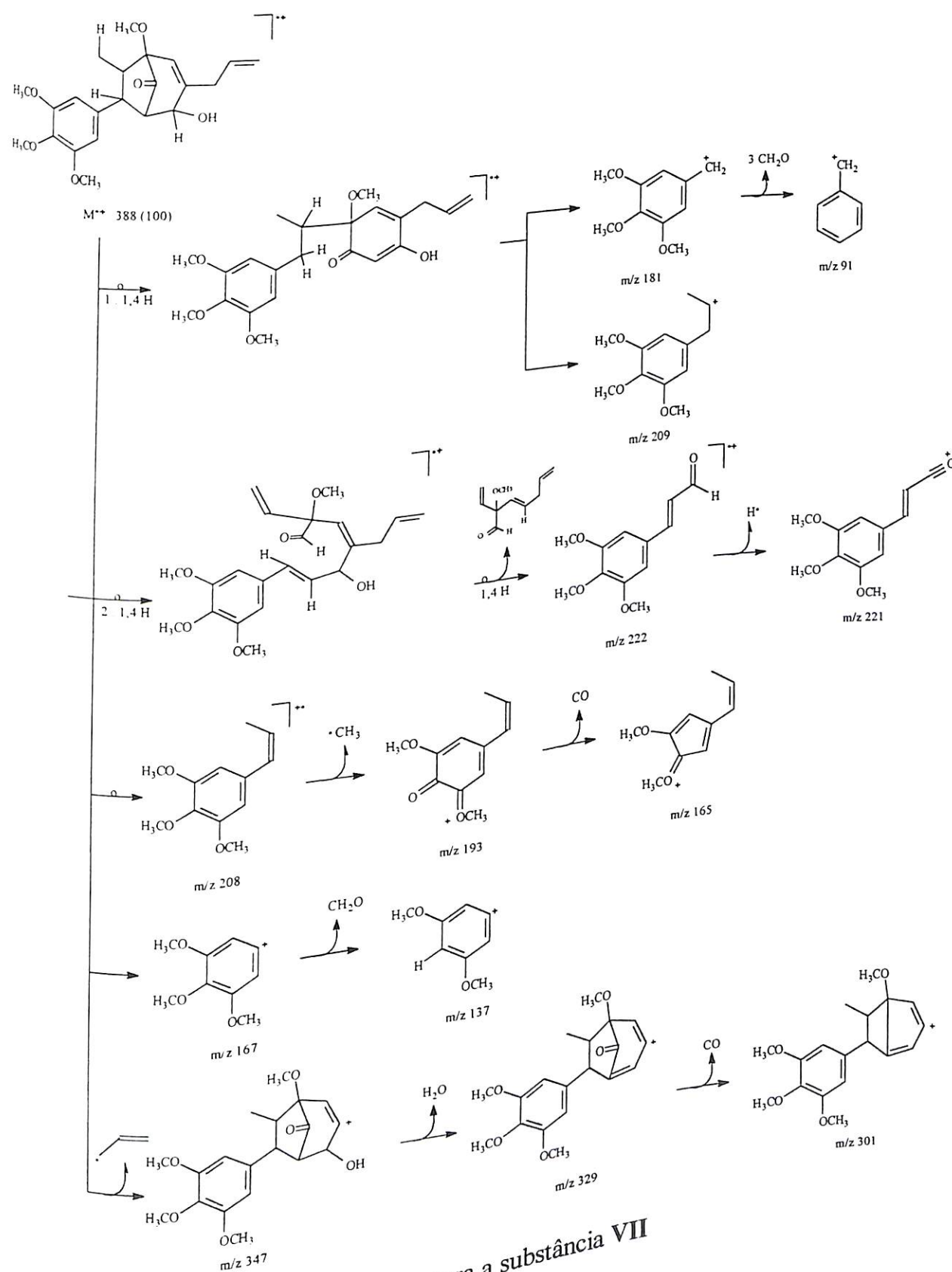


Figura 74 : Espectro de massas da neolignana VII



Esquema 4 : Proposta de fragmentação para a substância VII

3.7 Determinação Estrutural das Neolignanas VIII e IX

O número de átomos de carbonos, com seus respectivos ligantes de hidrogênios (Tabela 19) de VIII e IX foram determinados através da análise do espectro de DEPT 135° (Fig. 80, pág. 174). Esses dados, juntamente com o pico do íon molecular em M^{++} 388 u.m.a. revelado pelos espectros de massas (Fig. 90, pág. 184) permitiram propor a mesma fórmula molecular $C_{22}H_{28}O_6$ para as duas substâncias.

Tabela 19 : Identificação dos carbonos CH_3 , CH_2 , CH e C das substâncias VIII e IX através dos espectros de RMN ^{13}C e DEPT 135°.

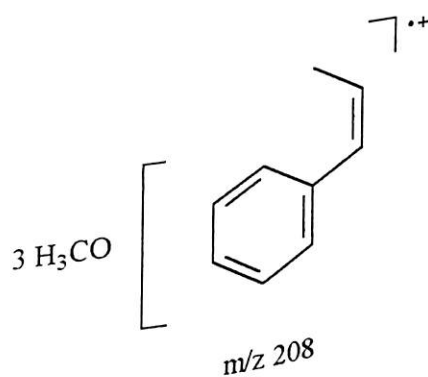
CH_3		CH_2		CH		C	
VIII	IX	VIII	IX	VII	IX	VIII	IX
12,43	12,71	35,39	37,14	46,42	46,02	52,95	85,21
2(56,04)	2(56,15)	117,95	118,03	48,39	48,93	136,60	136,99
60,88	60,85			58,12	57,49	140,25	139,41
55,34	53,36			74,14	80,51	2(159,31)	140,32
				98,62	2(104,13)	153,94	2(153,41)
				2(104,50)	129,48	210,33	213,23
				133,88	134,77		
				$(CH)_8(OH)$	$(CH)_8(OH)$	$C_7(O)$	$C_7(O)$
$(CH_3)(OCH_3)_4$	$(CH_3)(OCH_3)_4$	$(CH_2)_2$	$(CH_2)_2$				

Subtraindo-se o número de átomos correspondentes aos grupos metoxílicos e hidroxila obtém-se $C_{18}H_{15}O$ que representa o esqueleto básico dos dois isômeros.

O número de átomos de carbono do esqueleto básico (C_{18}), juntamente com os dados espectrais de RMN 1H (Figs. 76-78, págs. 170-172), permitiram classificar os dois isômeros como lignóide ($C_6C_3 + C_6C_3$).

Essas deduções receberam apoio na análise dos espectros de 1D e 2D de RMN ^1H e ^{13}C (Figs. 81-84, págs. 175-178) e junto com as interações de acoplamento observadas no espectros de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^nJ_{\text{CH}}$, $n = 2, 3$ (Figs. 85-86, págs. 179-180) permitiram identificar uma mistura das substâncias **VIII** e **IX**. A substância **IX** mostrou ser semelhante à substância anteriormente escrita **VII** (Tab. 18, pág. 135) sendo o principal componente da mistura, pela análise da integração dos sinais em δ_{H} 2,03 (m) com 47,31 % para **VIII** e δ_{H} 2,19 (m) 52,58 % para **IX**.

A ocorrência do pico de m/z 208 u.m.a. nos espectros de massas das substâncias **VIII** e de **IX** levou a postular-se presença desse fragmento comum nas duas substâncias [21].



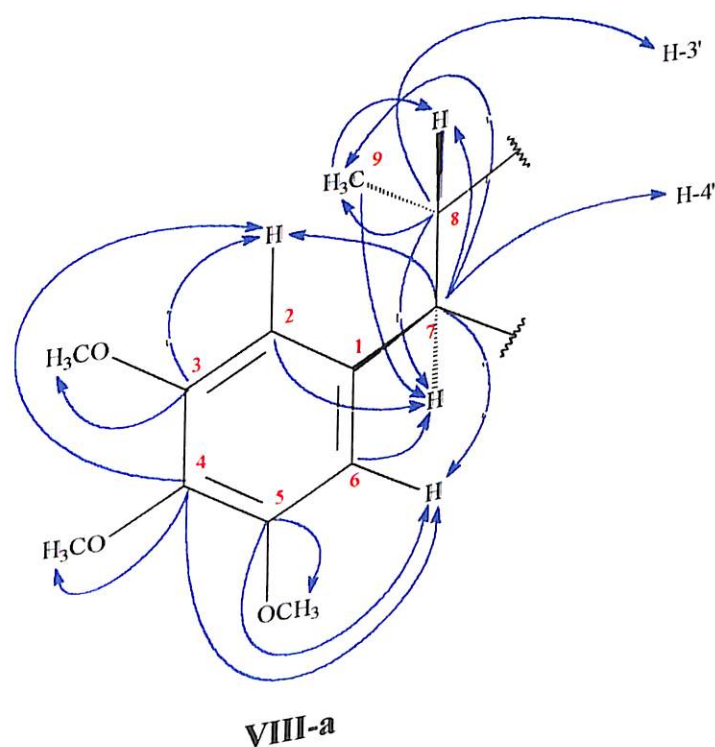
As três metoxilas foram colocadas nos átomos carbonos C-3, C-4 e C-5, baseando-se na comparação com dados espectrais das substâncias **III** e **VII** e análise dos espectros e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC e HMBC (Figs. 83,86, págs. 177;180) (Tabs. 23-24, págs. 167-168) revelando as relações heteronucleares $^1J_{\text{CH}}$ e $^nJ_{\text{CH}}$, $n = 2, 3$ entre os átomos de carbono e átomos de hidrogênio.

Essa dedução foi confirmada pela análise dos espectros de HMBC - $^nJ_{CH}$ $n = 2$ e 3 (Fig. 86, pág. 180) indicando a relação heteronuclear entre os átomos de carbono δ_C 153,31 (C-3,5) a duas ligações com os átomos de hidrogênio em δ_H 6,41 (s, H-2,6) e a três ligações com os hidrogênios em δ_H 3,83 (s, H₃CO-3,5), e do átomo de carbono em δ_C 136,60 (C-4) interagindo a 3J com os hidrogênios em δ_H 6,41 (s, H-2,6) e com δ_H 3,81 (s, H₃CO-4), ficando assim deduzido o padrão de substituição do anel aromático para ambas substâncias como 3,4,5-trimetoxi-benzeno (unidade VIII-a).

Um sistema alifático 3C está presente no espectro $^1H \times ^1H$ COSY (Fig. 81, pág. 175) sendo observado na análise da correlação entre os átomos de hidrogênio que acoplam entre si, citando o hidrogênio com δ_H 3,02 (d, $J = 8,0$ Hz, H-7) com o hidrogênio em δ_H 2,03 (dd, $J = 8,0; 6,5$ Hz, H-8) e este com δ_H 1,13 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H-9) para a substância VIII. O valor da constante de acoplamento de $J = 8,0$ Hz mostra uma relação *trans* entre os grupos CH₃ e 3,4,5-CH₃O-C₆H₂ [22]. Esta correlação é fortalecida pelo exame do espectro de 2D HMQC $^1J_{CH}$ (Figs. 82-83, págs. 176-177) mostrando a correlação dos átomos de carbono com seus respectivos átomos de hidrogênio substituintes; o átomo de carbono carbinólico δ_C 46,42 (C-7) com o átomo de hidrogênio em δ_H 3,02 (d, $J = 8,0$ Hz, H-7), do átomo de carbono em δ_C 48,39 (C-8) com δ_H 2,03 (dd, $J = 8,0; 6,5$ Hz, H-8), e do átomo de carbono em δ_C 12,34 (C-9) com os três átomos de hidrogênio em δ_H 1,13 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H-9). Essas análises se estendem para a substância IX.

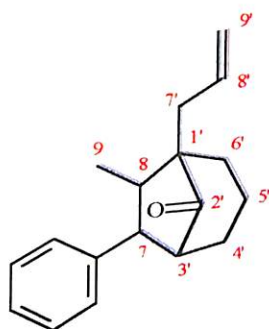
Esse sistema é confirmado no exame do espectro de 2D HMBC - $^nJ_{CH}$ $n = 2$ e 3 (Fig. 85, pág. 179) onde se observa as devidas correlações heteronucleares à distância de duas e três ligações. O átomo de carbono com sinal em δ_C 46,42 (C-7) com interação a duas

ligações com o átomo de hidrogênio em δ_H 2,03 (dd, $J = 8,0; 6,5$ Hz, H-8) e a três ligações com os hidrogênios sinalizados em δ_H 6,41 (s, H-2,6), e δ_H 1,13 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H-9) e abrangendo também o sinal duplo localizado em δ_H 4,72 atribuído ao hidrogênio H-4' constituente da outra unidade pertencente a neolignana **VIII**. O átomo de carbono localizado em δ_C 48,39 (C-8) conta com uma interação $^2J_{CH}$ com δ_H 3,02 (d, $J = 8,0$ Hz, H-7) e com o sinal em δ_H 1,13 (d, $J = 6,5$ Hz, 3 H-9) e a $^3J_{CH}$ com o sinal revelado em δ_H 2,78 (d, $J = 5,1$ Hz), atribuído ao hidrogênio H-3' constituente da segunda unidade da substância **VIII**. As interações a longa distância entre os átomos C-7 com H-4' e C-8 com H-3' revelam uma das ligações entre as unidades **VIII-a** e **VIII-d**. Os dados descritos confirmam a presença da unidade **VIII-a** na substância **VIII**. O espectro mostra outras correlações atribuídas para a substância **IX** (Tab. 24, pág. 168).

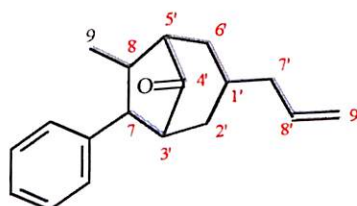


Deduções anteriores (Tab. 19, pág. 154) levaram-nos a postular a fórmula molecular “expandida” para a segunda unidade da neolignana como $C_{10}H_{12}O_3$, $(CH_3O)(OH)(CH_2)_2(CH)_4C_2C=O$, para ambas substâncias.

Presença de uma carbonila em anel pentacíclico, 1750 cm^{-1} e $\delta_C\ 210,33$ [27,31] levou-nos a cogitar uma unidade (C_6C_3) alifática como (4) e (5) constituinte de neolignanas bicíclicas, como em VII. Análise dos espectros de 2D sugeriu a presença dos dois sistemas



(4)

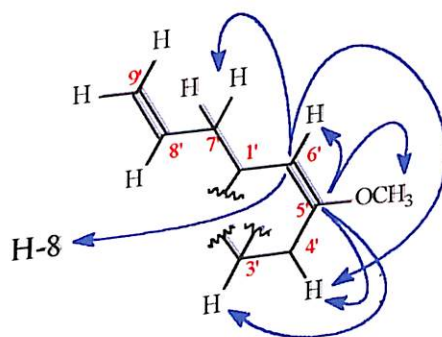


(5)

A presença de um grupo $-CH_2-CH=CH_2$ foi observado no exame dos espectros de $^1H \times ^1H$ COSY (Fig. 81, pág. 175) e $^1H \times ^{13}C$ HMQC (Figs. 82;84, págs. 176;178) revelando as correspondentes interações entre os átomos que acoplam entre si, seja $^1H \times ^1H$ ou $^1H \times ^{13}C$. Assim podemos observar os pontos de interação entre os átomos de hidrogênio localizados em $\delta_H\ 2,39$ (dd, $J = 14,2; 8,8$ Hz, H-7'a) com $\delta_H\ 2,28$ (dd, $J = 14,2; 6,2$ Hz, H-7'b) e esses com o átomo de hidrogênio em $\delta_H\ 5,91$ (m, H-8') e esse com $\delta_H\ 5,08$ (d, $J = 9,0$ Hz, H-9'b) e $\delta_H\ 5,10$ (d, $J = 15,7$ Hz, H-9'a).

outro com δ_H 2,39 (dd, $J = 14,2; 8,8$ Hz, H-7'a) e com átomo de hidrogênio da outra unidade em δ_H 2,03 (dd, $J = 8,0; 6,5$ Hz, H-8) conduzindo a representação parcial **VIII-c**.

Análises semelhantes podem ser feitas para **IX**, (Tabela 24).



VIII-c

Tabela 20 : Análise comparativa dos átomos de hidrogênio e carbono da segunda unidade (alifática) e CH-7, CH-8 da substância **VIII** com valores encontrados na literatura.

C/H	δ_H VIII	δ_H [38]	δ_H [41]	δ_C VIII	δ_C [38]	δ_C [41]
1'	-	-	-	52,95	51,4	52,7
2'	-	-	-	210,33	213,0	210,0
3'	2,78 (d, $J = 5,1$)	2,55 (dd, $J = 3,5; 1,9$)	2,68 (dd, $J = 5,2; 1,7$)	58,12	57,7	58,2
4'	4,72 (d, $J = 5,1$)	4,52 (d, $J = 3,5$)	4,66 (d, $J = 5,2$)	74,17	79,1	74,0
5'	-	-	-	153,94	154,8	153,8
6'	4,46 (s)	4,49 (s)	4,41 (s)	98,62	100,8	98,5
7'a	2,39 (dd, $J = 14,2; 8,8$)	2,05-2,41 (m)	2,32 (dd, $J = 15,6; 7,6$)	35,39	35,4	35,2
7'b	2,28 (dd, $J = 14,2; 6,2$)	5,75-6,07 (m)	2,24 (dd, $J = 15,6; 7,6$)	133,88	134,1	133,9
8'	5,91 (m)	-	5,87 (m)	-	-	-
9'a	5,10 (d, $J = 15,7$)	4,93-5,12 (m)	5,09 (m)	117,95	118,1	117,7
9'b	5,08 (d, $J = 9,0$)	2,05-2,41 (m)	3,0 (dd, $J = 8,2; 1,7$)	46,42	47,9	45,6
7	3,02 (d, $J = 8,0$)	1,80 (dq, $J = 7,2; 6,6$)	1,98 (dq, $J = 8,2; 6,6$)	48,39	49,8	48,2
8	2,03 (dd, $J = 8,0; 6,5$)	-	-	-	-	-

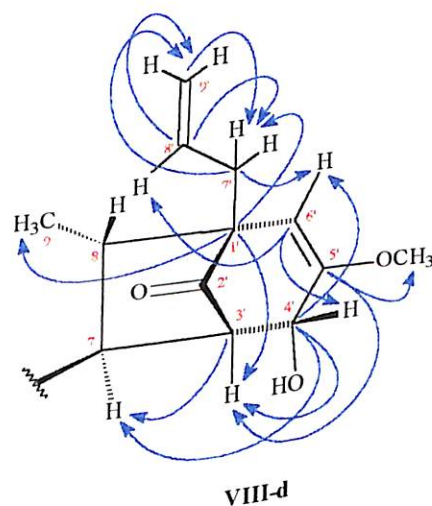
O valor de δ_C 74,17 para C-4' indica ser carbono carbinólico como observado na tabela 20, que correlaciona valores de **VIII** com duas neolignanas possuidoras do mesmo

padrão de substituição na unidade alifática, contendo grupo OH em C-4' *endo* [41] e *exo* ao sistema bicíclico [38].

Os espectros de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (Fig. 81, pág. 175) e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (Fig. 83, pág. 177) revelou a interação de acoplamento do δ_{H} 2,78 (d, $J = 5,1$ Hz, H-3') e δ_{C} 58,12 (C-3') com o hidrogênio localizado em δ_{H} 4,72 (d, $J = 5,1$) e δ_{C} 74,17 (C-4'). O valor da constante de acoplamento de $J = 5,1$ Hz entre os átomos revela um ângulo de aproximadamente de 40° entre os dois átomos de hidrogênio indicando a relação *cis*. A localização do átomo de hidrogênio H-4' *endo* em relação ao sistema biciclo levaria a um ângulo mais próximo a 90° e o valor da constante de acoplamento menor [31,41]. Como em **VII**, o valor de δ_{C} 74,17 para C-4' em **VIII** também sugere a localização do grupo OH em *endo*. Essas análises se coadunam com a comparação dos valores na unidade alifática da substância **VIII** (Tab. 20) com dados encontrados para neolignanas possuidoras do mesmo padrão de substituição na unidade e isolada de *Piper clarkii*, tabela 20 [41] e de *Aniba sp.*, tabela 23 [39]. Finalmente o espectro de NOESY (Figs. 87;89, págs. 181;183) não apresentou a interação espacial entre hidrogênio H-4' e H-7, mostrando entretanto o efeito NOE de H-4' somente com H-3'; ficando indubitavelmente localizada a hidroxila na posição *endo*.

As análises descritas para a unidade **VIII-c** foram confirmadas no exame do espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^nJ_{\text{CH}}$ $n = 2, 3$ (Figs. 85;86, págs. 179;180) onde se apresentam as interações entre o carbono em δ_{C} 74,17 (C-4') a duas ligações com o átomo de hidrogênio em δ_{H} 2,78 (d, $J = 5,1$ Hz, H-3') e a três ligações com δ_{H} 4,46 (s, H-6') e com o átomo de hidrogênio fixado em δ_{H} 3,02 (d, $J = 7,0$ Hz, H-7). Essa última interação

heteronuclear exhibe a ligação entre as duas unidades da neolignana via C-3' com C-7, corroborada pela interação do átomo de carbono com δ_C 58,12 (C-3') duas ligações com o átomo de hidrogênio em δ_H 3,02 (d, $J = 8,0$ Hz, H-7) e com H-4'. A fixação do átomo de hidrogênio em δ_H 2,78 (d, $J = 5,1$ Hz) é confirmada pela interação heteronuclear a $^3J_{CH}$ com o carbono quaternário δ_C 52,95 (C-1'). Estas interações e outras estão representadas na estrutura parcial **VIII-d**. Outras interações atribuídas a **IX** constam da tabela 24, pág. 168.

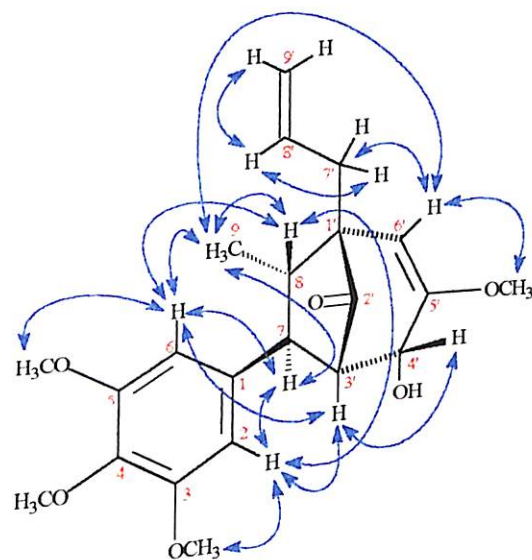


Desse modo resta ao carbono carbonílico determinado em δ_C 210,33 a posição (C-2'), para a substância **VIII**.

Os espectros de NOESY (Figs. 87-89, págs. 181-183) revelou todas as interações espaciais entre os átomos de hidrogênio e grupos possíveis de efeitos NOE. As tabelas 21-22, págs. 164;166, mostram os NOEs selecionados entre outros revelados pelos picos transversais para **VIII** e **IX** observados nos espectros da amostra.

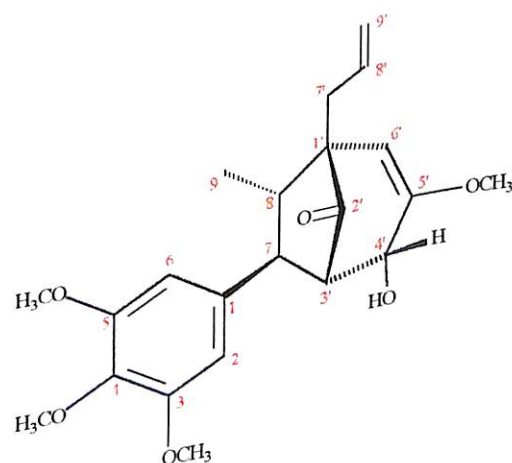
Observa-se no exame da (Tab. 21, pág. 164) e estrutura **VIII-e**, que estes

resultados estão em concordância com as disposições espaciais dos átomos na molécula da substância **VIII**,



VIII-e

ficando assim definida a estrutura **VIII** como rel-(7S,8S,1'R,3'S,4'R)- $\Delta^{5',8'}$ -4'-Hidroxi-3,4,5,5'-tetrametoxi-2'-oxo-8.1',7.3'-neolignana para esta substância ainda não citada na literatura científica até o momento.



VIII

Tabela 21 : Dados de NOE obtidos por experiências de 2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY na amostra, e registrado para VIII*.

CH	δ_{H}	Picos transversais correspondentes a NOE com
2,6	6,41 (s)	2 MeO-3,5; H-3'; H-8; 3 H-9; H-7
7	3,02 (d, J = 8,0)	2 H-2,6; H-8; 3H-9
8	2,03 (dd, J = 8,0; 6,5)	H-7; 2 H-2,6; 3H-9
3'	2,78 (d, J = 5,1)	2 H-2,6; H-4'
4'	4,72 (d, J = 5,1)	H-3'
6'	4,46 (s)	MeO-5'; 3 H-9; 2 H-7'
8'	5,91 (m)	2 H-9'; H-7'a
CH ₂		H-6'; H-8'
7'a	2,39 (dd, J = 14,2; 6,2)	H-6'
7'b	2,28 (dd, J = 14,2; 6,2)	H-8'
9'a	5,10 (d, J = 15,7)	
9'b	5,08 (d, J = 9,0)	
CH ₃		2 H-2,6; H-7'b; H-7; H-6'; H-8
9	1,13 (d, J = 6,5)	H-2
MeO-3	3,83 (s)	H-6
MeO-5	3,83 (s)	-
MeO-4	3,81 (s)	H-6', 2H-2,6
MeO-5'	3,64 (s)	

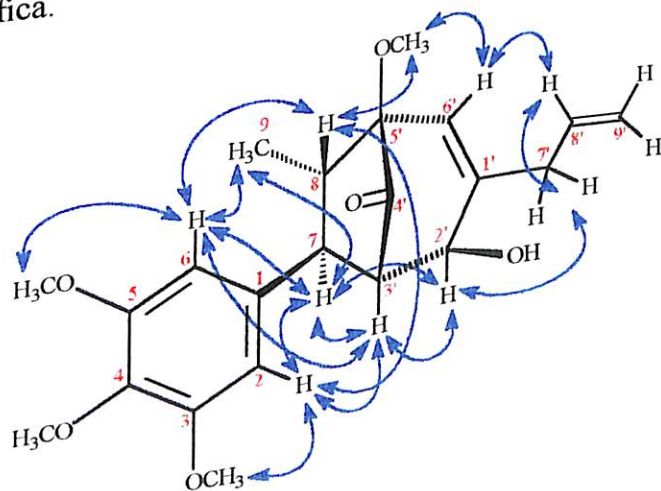
* Resultados de experiências bidimensionais de correlação homo e heteronuclear de hidrogênio e carbono-13, foram também usados nessa análise.

O espectro NOESY (Figs. 87-89, págs. 181-183) para a substância IX, tabela 22, e resumido na estrutura IX-a, revela a presença do efeito NOE entre H-2' e H-7 ausentes em VII e VIII. Esse fato fixa a posição do grupo OH em *exo* ao sistema bicíclico. Essa afirmativa pode ser corroborada por algumas observações e análise na tabela 20, pág. 160.

a) O próton H-7 em IX encontra-se mais protegido δ_{H} 2,28 (d, J = 7,7 Hz) do que em VII e VIII, δ_{H} 2,90 e 3,02 respectivamente não sentindo a presença do grupo OH em suas vizinhanças (posição *exo*).

- b) O valor de δ_c 80,61 (C-2') para **IX** está em concordância com o observado por Lordello e col. [27] que encontrou valores maiores que δ_c 78,00 para OH em *exo* e δ_c 72,00 para quando OH se situa em *endo*. Como em **VII** e **VIII**, δ_c 76,11 e 74,17 respectivamente.
- c) O valor da carbonila de δ_c 213,22 (C-4') em **IX** só pode ser justificado pela localização do grupo OH na posição *exo* [38] quando OH se situa em *endo* como em **VII** e **VIII** a carbonila se localiza em δ_c 209,02 e 210,53 respectivamente.
- d) A constante de acoplamento observada com valor de $J = 3,5$ Hz para H-2' e H-3' revela um ângulo diedro entre os hidrogênios, próximo de 60° indicando relação *trans* entre ambos [41].

Deste modo, a hidroxila está localizada na substância, no C-2' na posição *exo* ao sistema bicíclico, constituindo **IX** de um epímero em C-2' da substância **VII**. Levantamento bibliográfico, mostrou tratar-se de substância ainda não citada na literatura científica.

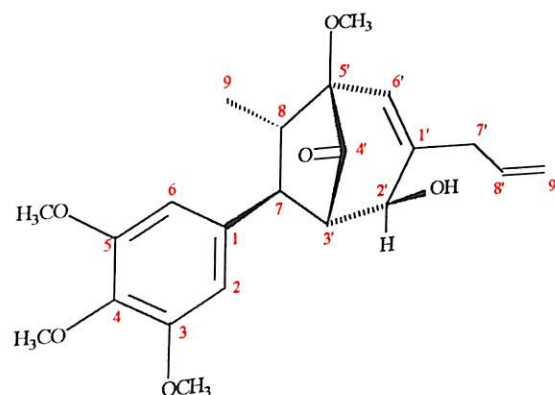


IX-a

Ficando assim definida a estrutura desta nova substância como: rel-

(7S,8S,2'S,3'S,5'S)- $\Delta^{6',8'}$ -4'-Hidroxi-3,4,5,5'-tetrametoxi-4'-oxo-8.5',7.3'-

neolignana.



IX

Tabela 22 : Dados de NOE obtidos por experiências de 2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY na amostra, e registrados para IX*.

CH	δ_{H}	Picos transversais correspondentes a NOE com
2,6	6,37 (s)	2MeO-3,5; H-3'; H-7; H-8; 3H-9
7	2,28 (d, J = 7,7)	2H-2,6; H-2'; H-3'; 3H-9
8	2,19 (m)	MeO-5; 2 H-2,6; 3H-9
2'	4,60 (d, J = 3,5)	2H-7'; H-3'; H-7
3'	2,59 (d, J = 3,5)	2H-2,6; H-2'; H-7
6'	5,72 (s)	MeO-5'; 3H-9
8'	5,88 (m)	2H-7'; 2H-9'
CH ₂		H-2'; H-6'; H-8'
7'a	2,99 (m)	H-8'
9'a	5,21 (d, J = 17,5)	
9'b	5,20 (d, J = 9,6)	2H-2,6; H-6'; H-7; H-8
CH ₃		H-2
9	1,12 (d, J = 6,5)	H-6
MeO-3	3,84 (s)	-
MeO-5	3,84 (s)	2H-2,6; H-6'; H-8
MeO-4	3,82 (s)	
MeO-5'	3,57 (s)	

* Resultados de experiências bidimensionais de correlação homo e heteronuclear de hidrogênio e carbono-13, foram também usados nessa análise.

Tabela 23 : Valores de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 , ppm, Hz) e ^{13}C (125 MHz, CDCl_3), correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^nJ_{\text{CH}}$ n = 2, 3 da substância VIII e comparação com valores e literatura

C	HMQC		HMBC		LITERATURA [39]	
	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{COSY} - ^1J_{\text{CH}}$		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^nJ_{\text{CH}}$		δ_{H}	δ_{C}
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$		
1	140,25	-	2 H-2,6; H-7	H-8; H-3'	6,75 (d, J = 8,0)	137,1
3	153,31	-	2 H-2,6	2 MeO-3,5		148,9
5	153,31	-	2 H-2,6	2 MeO-3,5		111,3
4	136,60	-		2 H-2, 6; MeO-4		147,5
1'	52,95	-	2 H-7'	3 H-9; H-3'		52,95
2'	210,33	-		MeO-5'; H-3'		210,4
5'	153,94	-	H-6'; H-4'			153,9
CH						
2, 6	104,50	6,41 (s)	H-8 H-7; 3 H-9 H-4'; H-7 H-3'	H-7	6,61-6,68 (m)	110,8
7	46,42	3,02 (d, J = 8,0)		H-4'; 2 H-2,6; 3 H-9	3,02 (dd, J = 8,7; 1,7)	45,5
8	48,39	2,03 (dd, J = 8,0; 6,5)		H-3'	1,99 (dq, J = 8,7; 6,6)	48,3
3'	58,12	2,78 (d, J = 5,1)			2,72 (dd, J = 7,7; 5,2)	58,3
4'	74,17	4,72 (d, J = 5,1)		H-6'; H-7	4,67 (d, J = 3,2)	74,1
6'	98,62	4,46 (s)	2 H-7'; 2 H-9'	H-4'; H-8; 2H-7'	4,43 (s)	98,6
8'	133,88	5,91 (m)			5,90 (ddd, J = 17,0; 7,3; 2,8)	134,0
CH ₂						
7'a	35,39	2,39 (dd, J = 14,2, 8,8)	H-8	H-6'; 2 H-9'	2,37 (dd, J = 14,1; 7,0)	35,3
7'b	-	2,28 (dd, J = 14,2, 6,2)		2 H-7'	2,24 (dd, J = 14,1; 7,0)	
9'a	117,95	5,10 (d, J = 15,7)			5,02 - 5,10 (m)	117,8
9'b	-	5,08 (d, J = 9,0)				
CH ₃				H-7	1,0 (d, J = 6,6)	12,1
9	12,34	1,13 (d, J = 6,5)				55,8
MeO-3	56,04	3,83 (s)			3,82 (s)	
MeO-4	60,88	3,81 (s)			3,61 (s)	55,2
MeO-5	56,04	3,83 (s)				
MeO-5'	55,34	3,64 (s)				

Tabela 24 : Valores de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 , ppm, Hz) e ^{13}C (125 MHz, CDCl_3), correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC - $^nJ_{\text{CH}}$ n = 2, 3 da substância IX.

C	HMQC		HMBC	
	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{COSY} - ^1J_{\text{CH}}$		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - ^nJ_{\text{CH}}$	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1	139,08	-	2H-2,6; H-7	H-8; H-3'
3,5	153,46	-	2H-2,6	2 MeO-3,5
4	136,98	-	-	2 H-2,6; MeO-4
1'	140,32	-	H-2'; 2H-7'; H-6'	H-3'
4'	213,22	-	H-8	H-3'; 3 H-9; MeO-5'
5'	85,21	-		
CH				H-7
2,6	104,13	6,37 (s)	H-8	2 H-2,6; 3 H-9
7	48,93	2,28 (d, J = 7,7)	H-7, 3 H-9	
8	46,02	2,19 (m)	H-3'	H-6'; 2 H-7'; H-7
2'	80,61	4,60 (d, J = 3,5)	H-7; H-2'	
3'	57,49	2,59 (d, J = 3,5)		H-2'; H-8; 2H-7'
6'	129,48	5,72 (s)		
8'	134,77	5,88 (m)	2H-7'; 2H-9'	
CH ₂				H-6'; 2 H-9'
7'	37,14	2,99 (m)		2 H-7'
9'a	118,03	5,21 (d, J = 17,5)		
9'b	-	5,20 (d, J = 9,6)		
CH ₃			H-8	H-7
9	12,71	1,12 (d, J = 6,5)		
2MeO-3,5	56,15	3,84 (s)		
MeO-4	60,85	3,82 (s)		
MeO-5'	53,35	3,57 (s)		

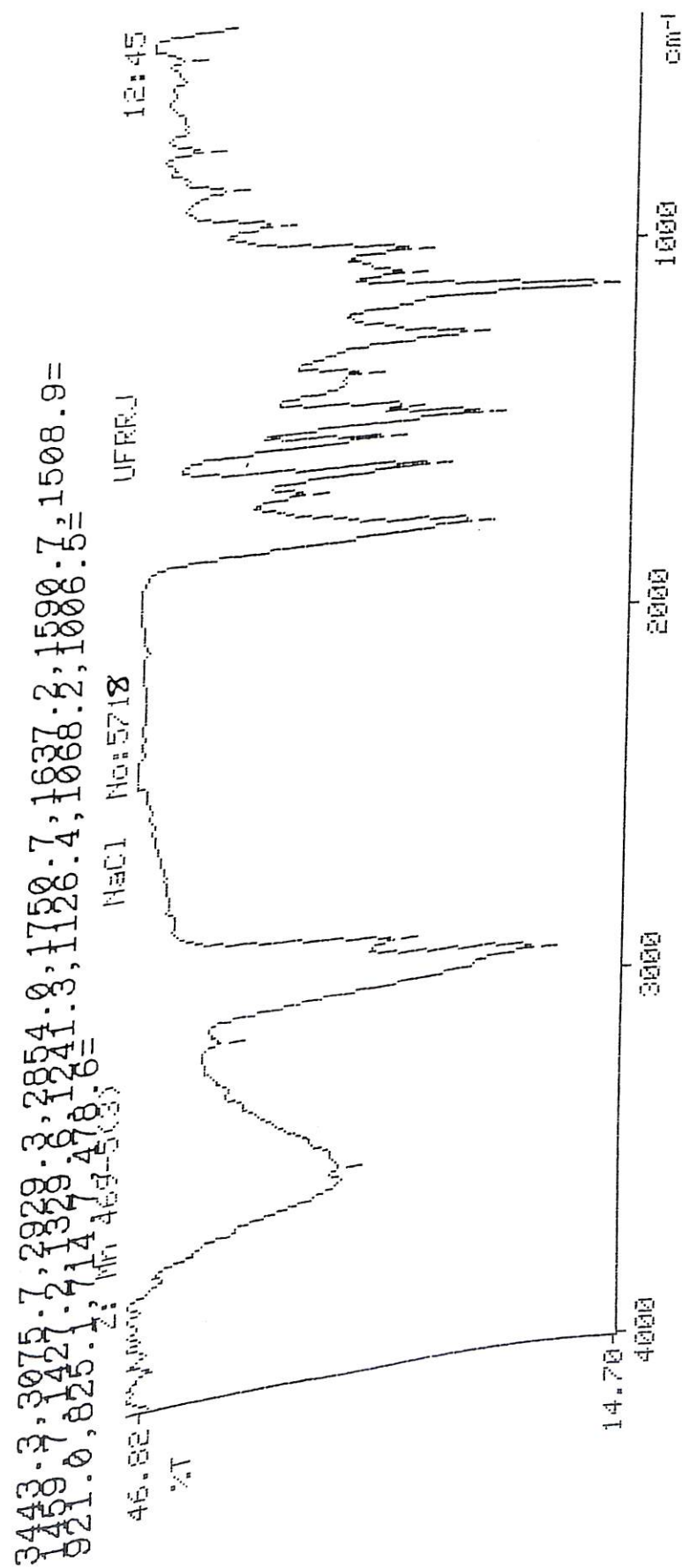
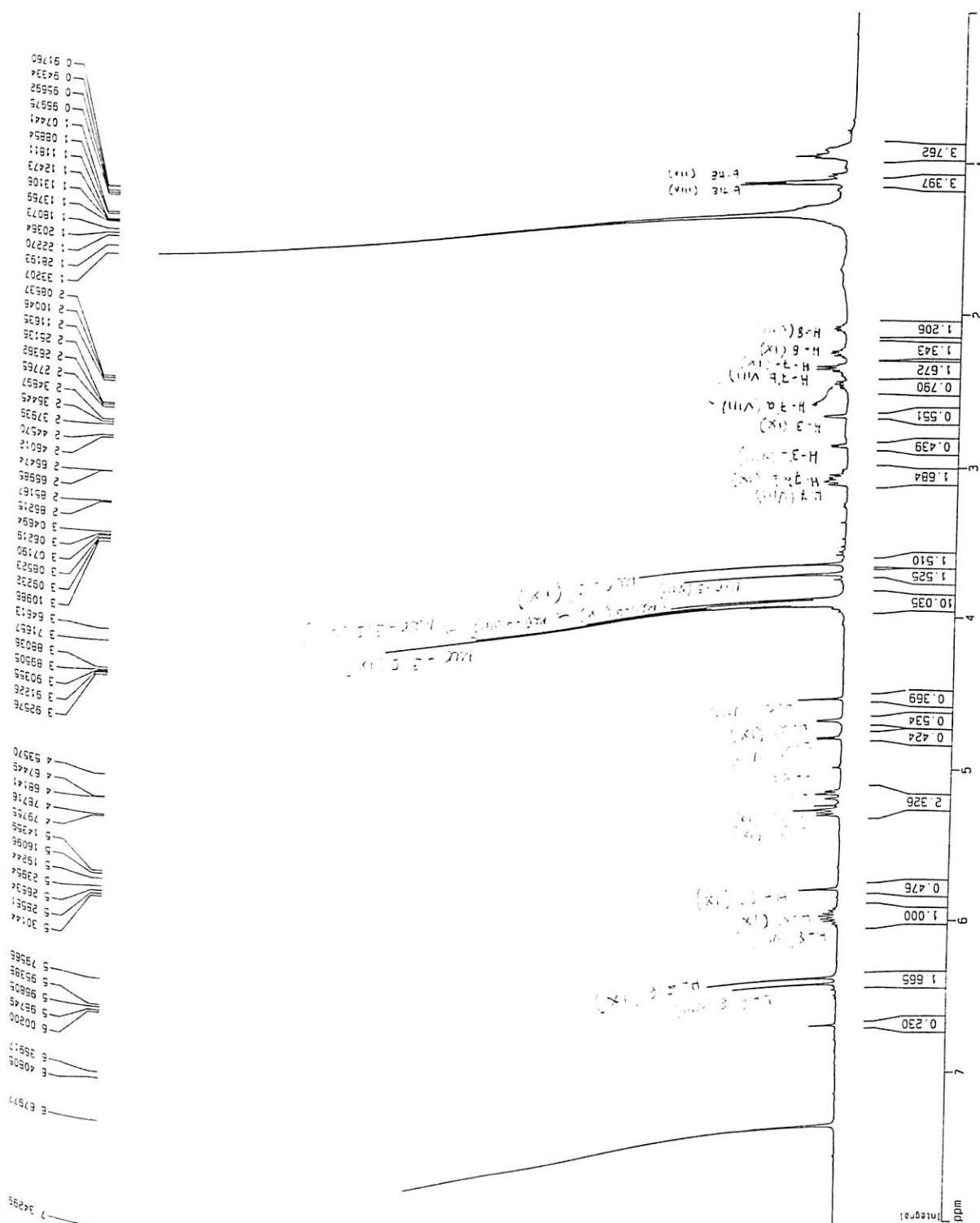


Figura 75 : Espectro de IV das neolignanas VIII e IX



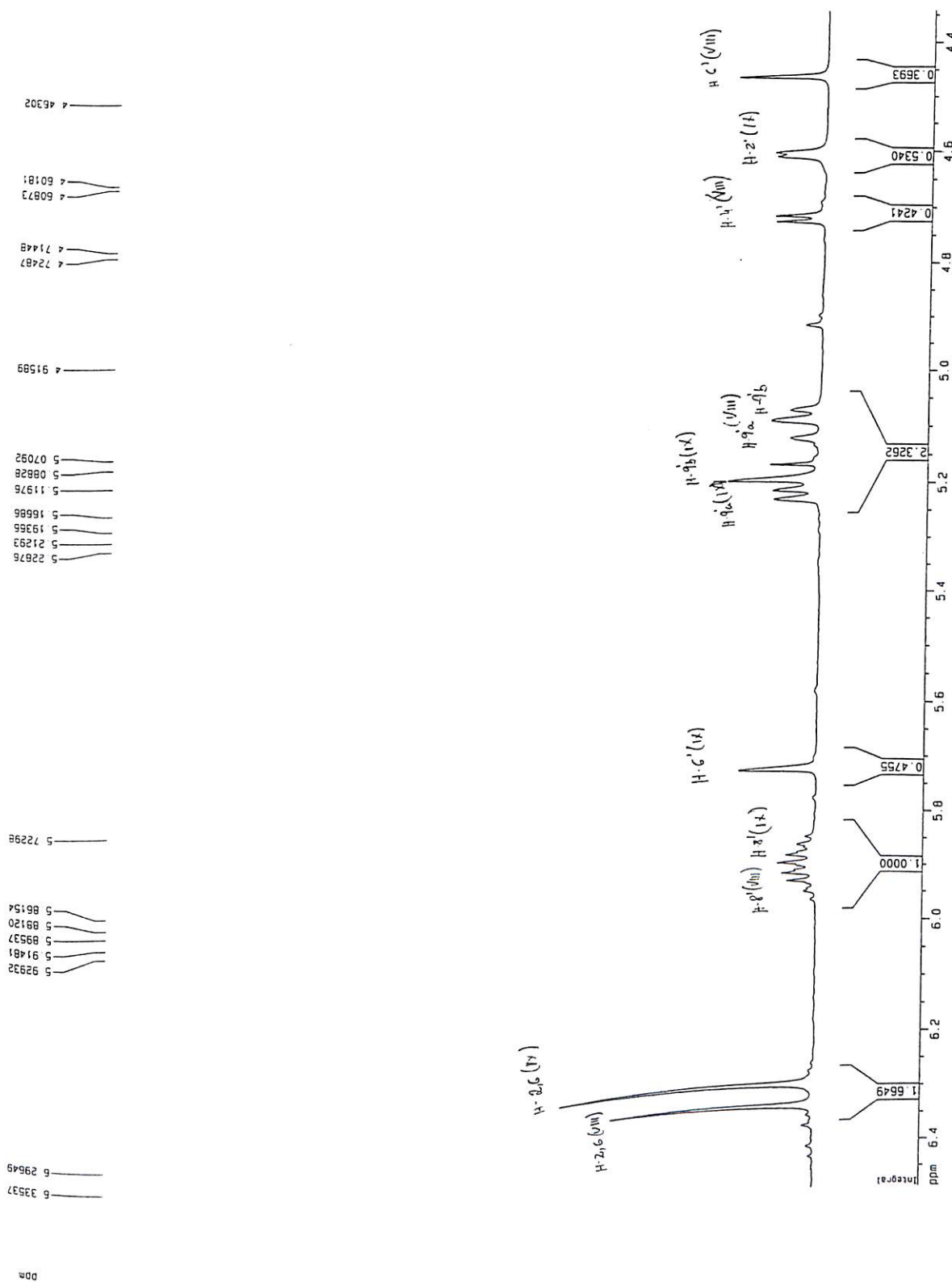


Figura 78 : Espectro de RMN de ^1H região 4,0-6,4 ppm das neolignan VIII e IX (500 MHz, CDCl_3)

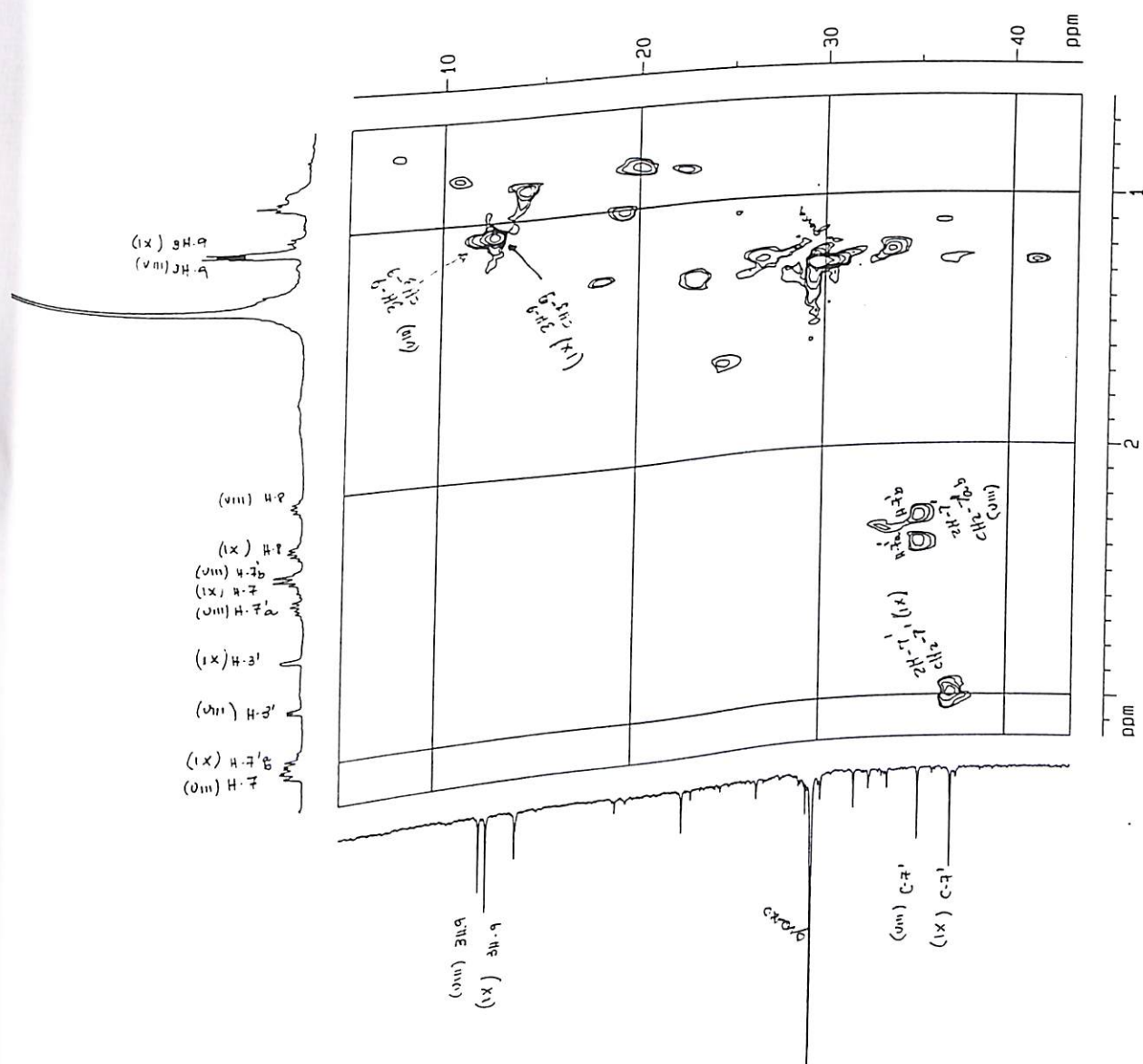
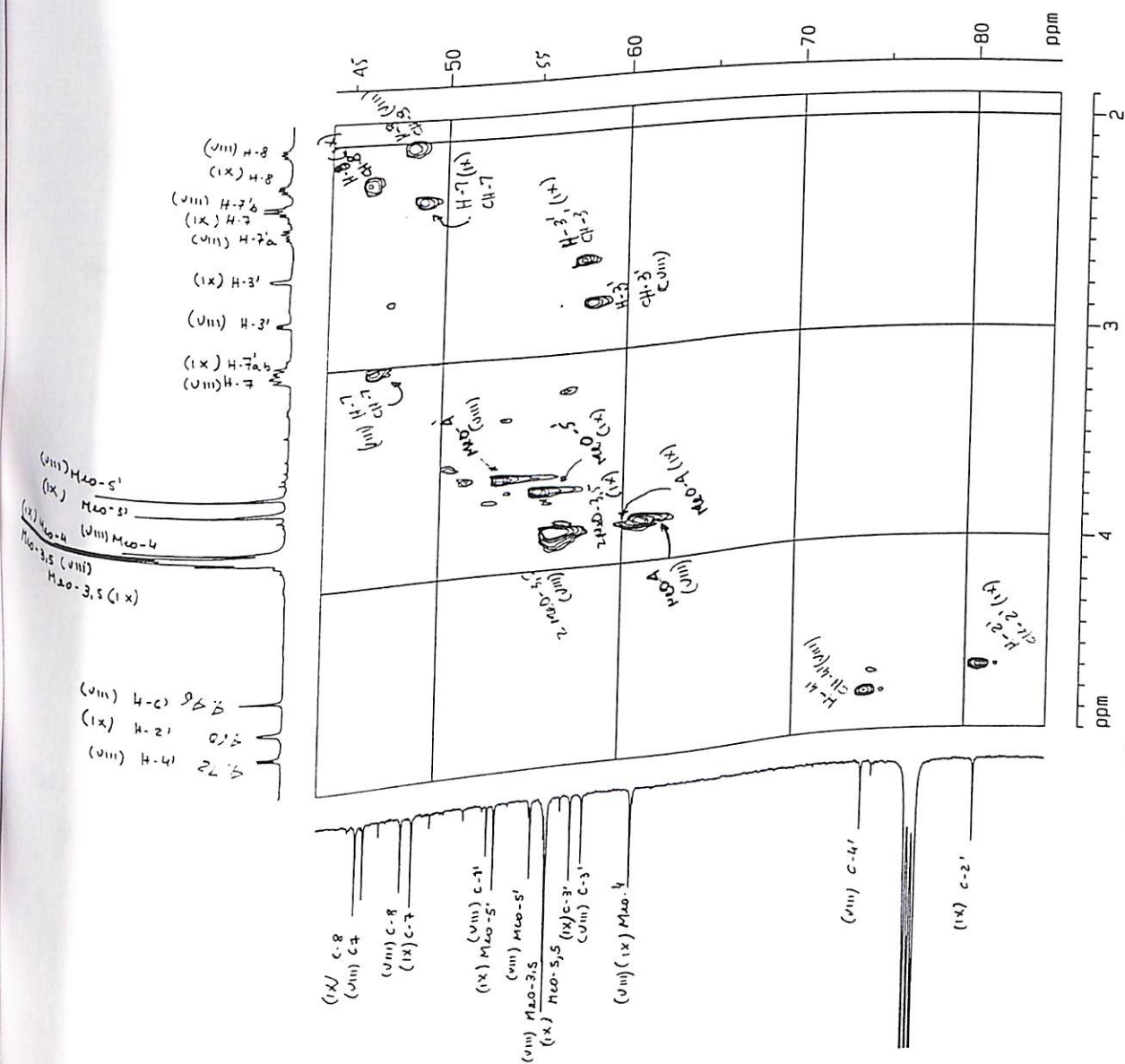


Figura 82 : Espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC, região 1,6-3,0 x 5,0-45,0 ppm das neolignan VIII e IX (125 MHz, CDCl_3)



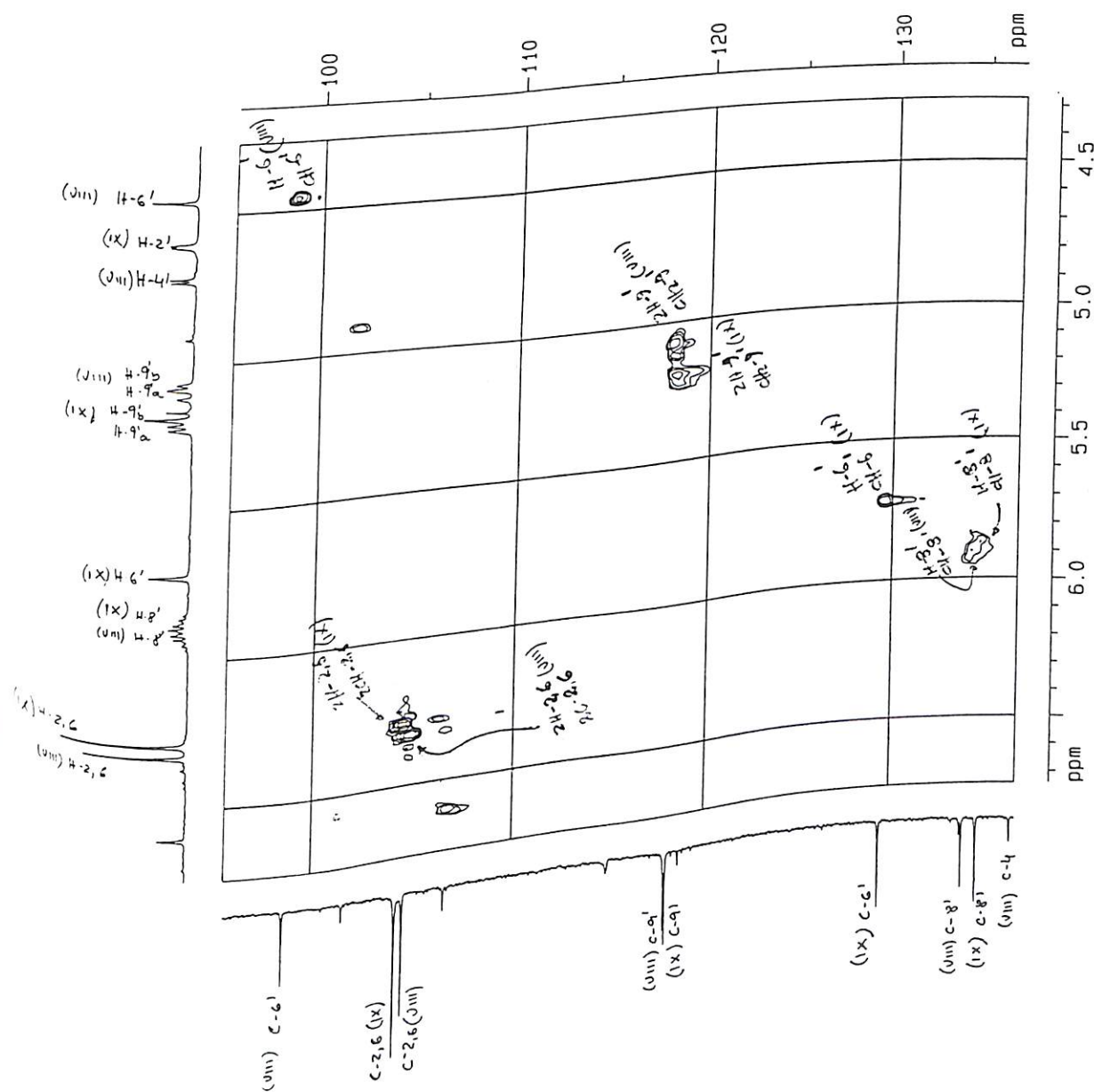


Figura 84 : Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C HMQC, região 4,3-6,6 x 95,0-135,0 ppm das neolignanas VIII e IX (125 MHz, CDCl_3)

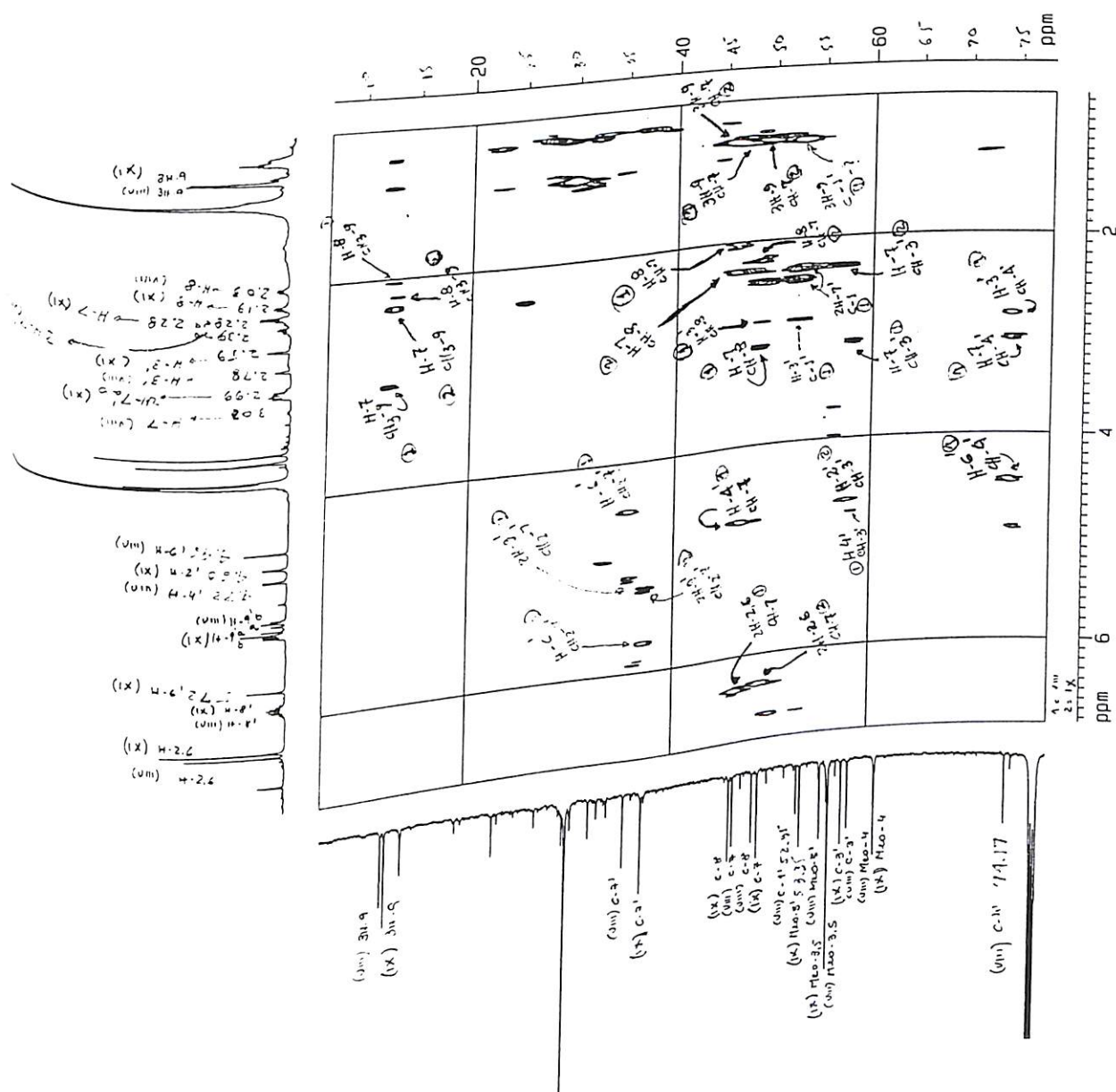
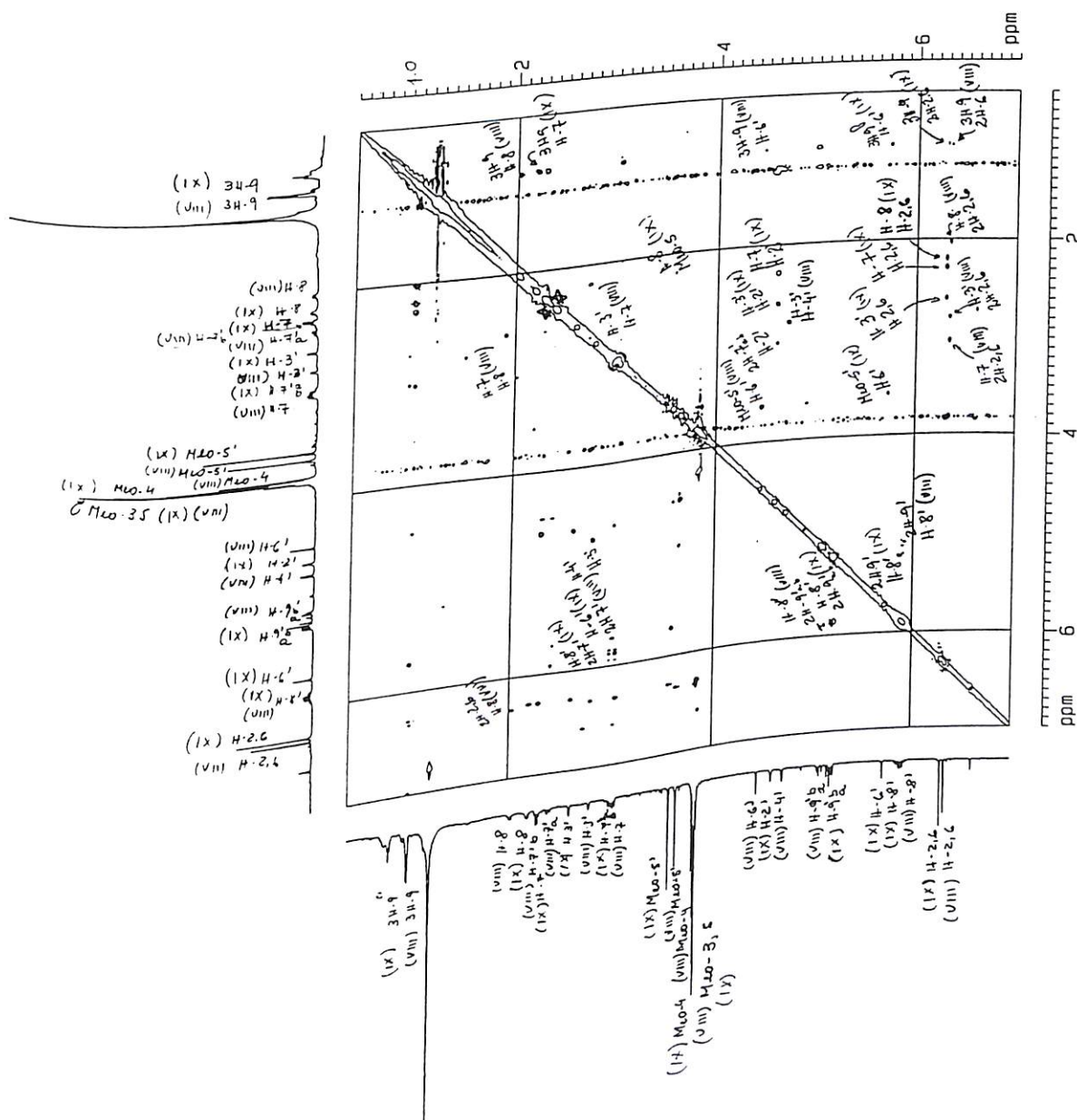


Figura 85 : Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C HMQC, região 0,7-6,8 x 10,0-75,0 ppm das neolignanas VIII e IX (125 MHz, CDCl_3)



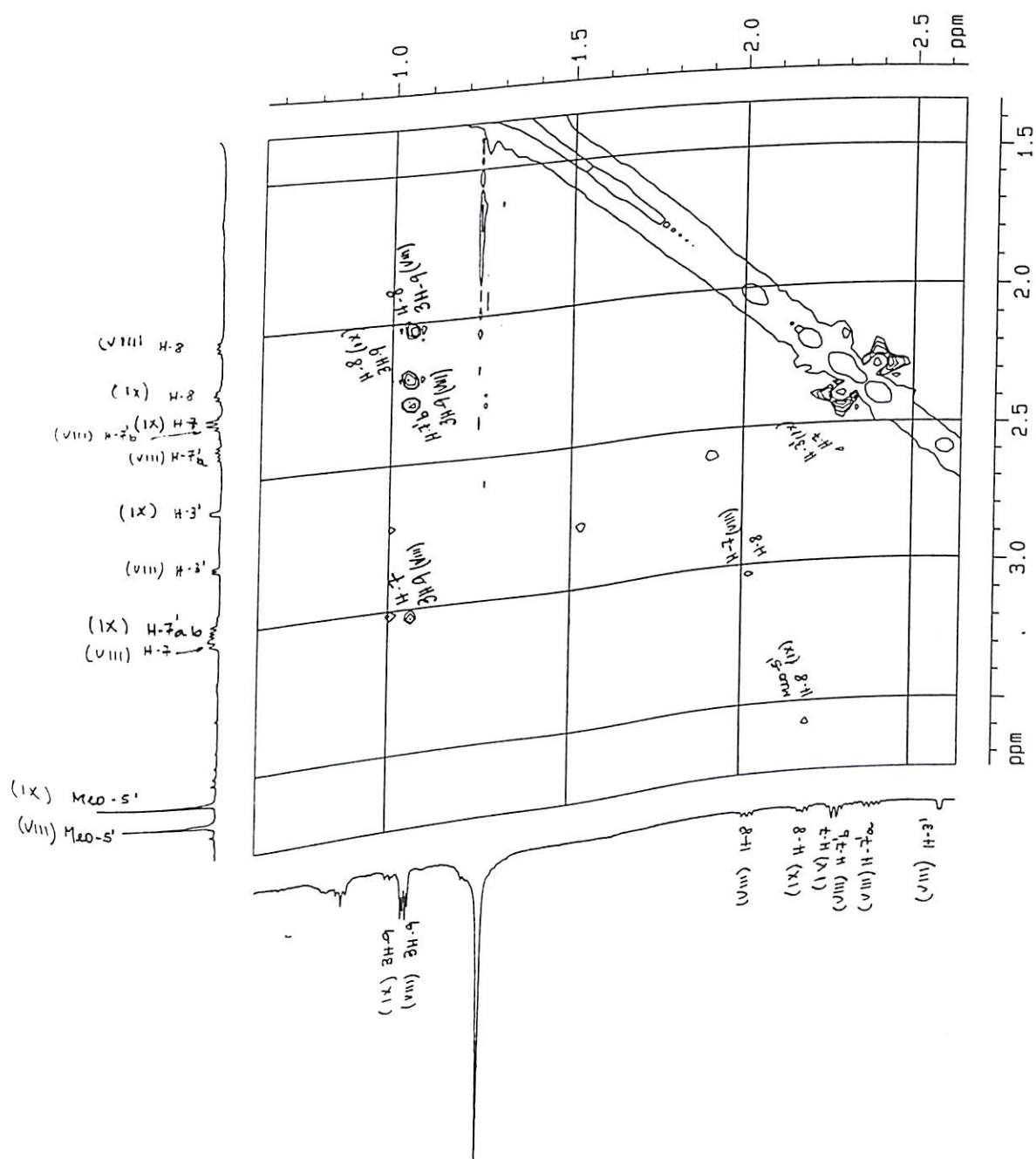


Figura 88 : Espectro de NOESY, região 1,5-3,6 x 0,8-2,5 ppm das neolignan VIII e IX (500 MHz, CDCl₃)

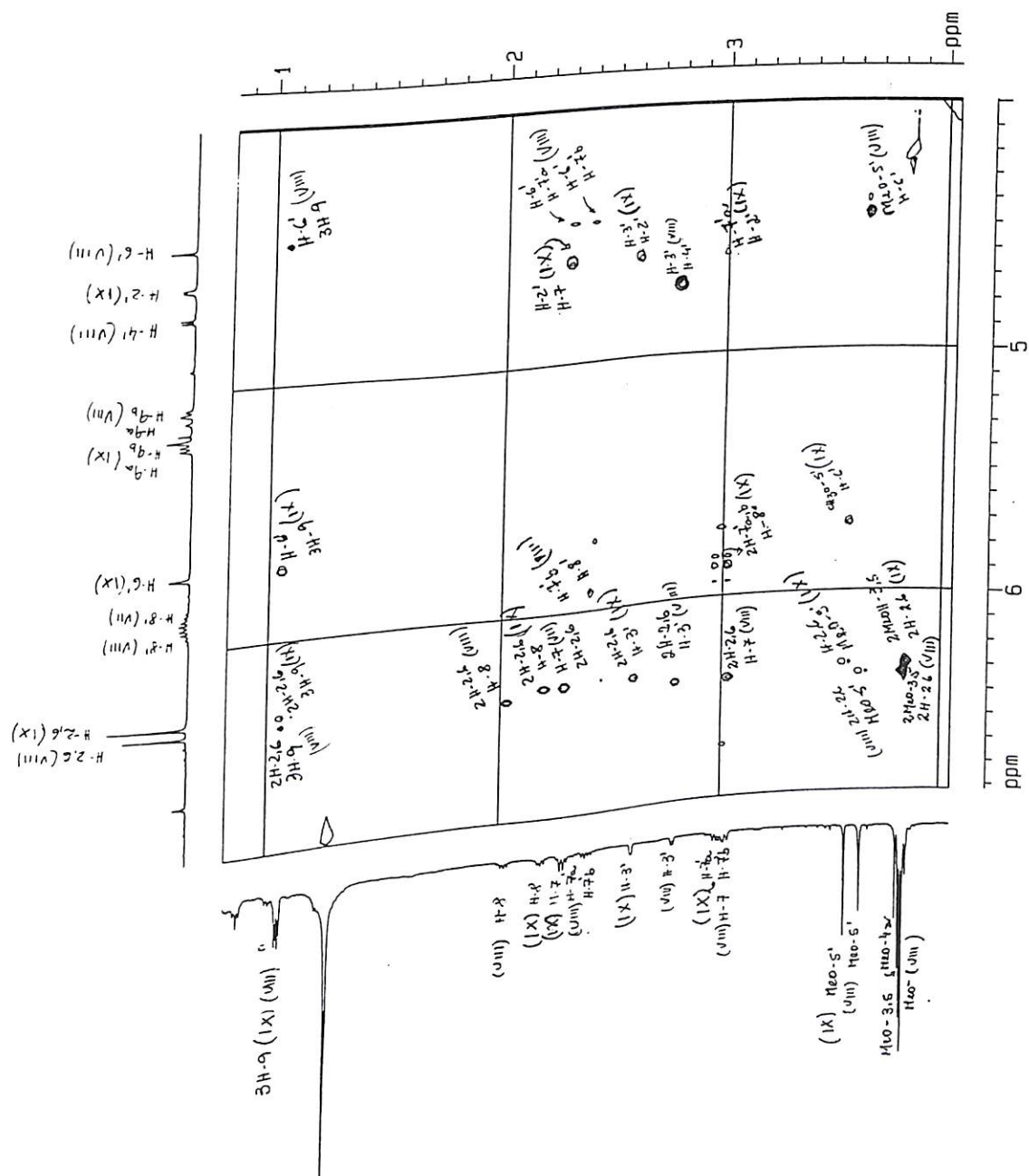


Figura 89 : Espectro de NOESY, região 4,0-6,8 x 1,0-4,0 ppm das neolignanas VIII e IX (500 MHz, $CDCl_3$)

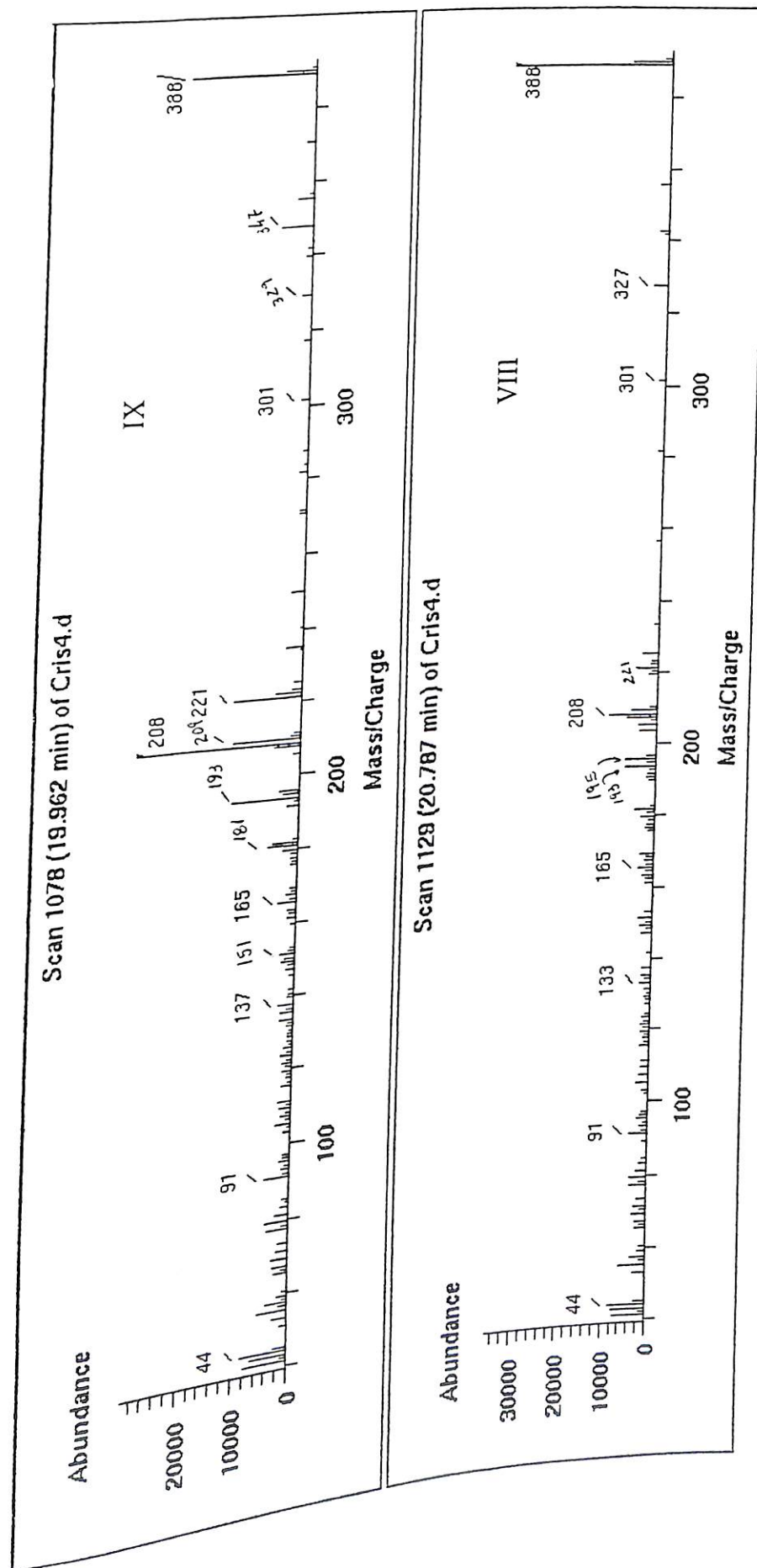
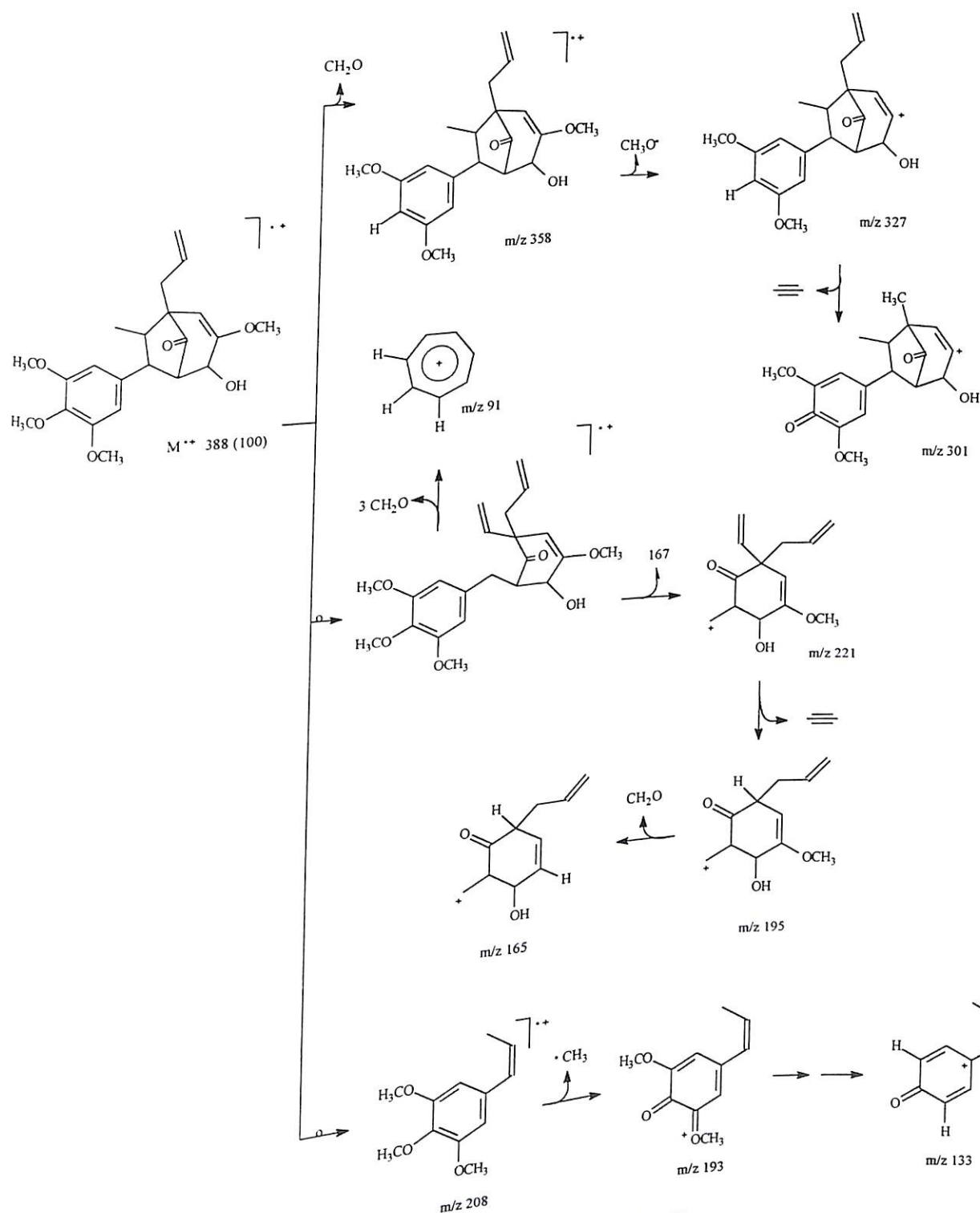


Figura 90 : Espectro de massas das neolignanas VIII e IX.



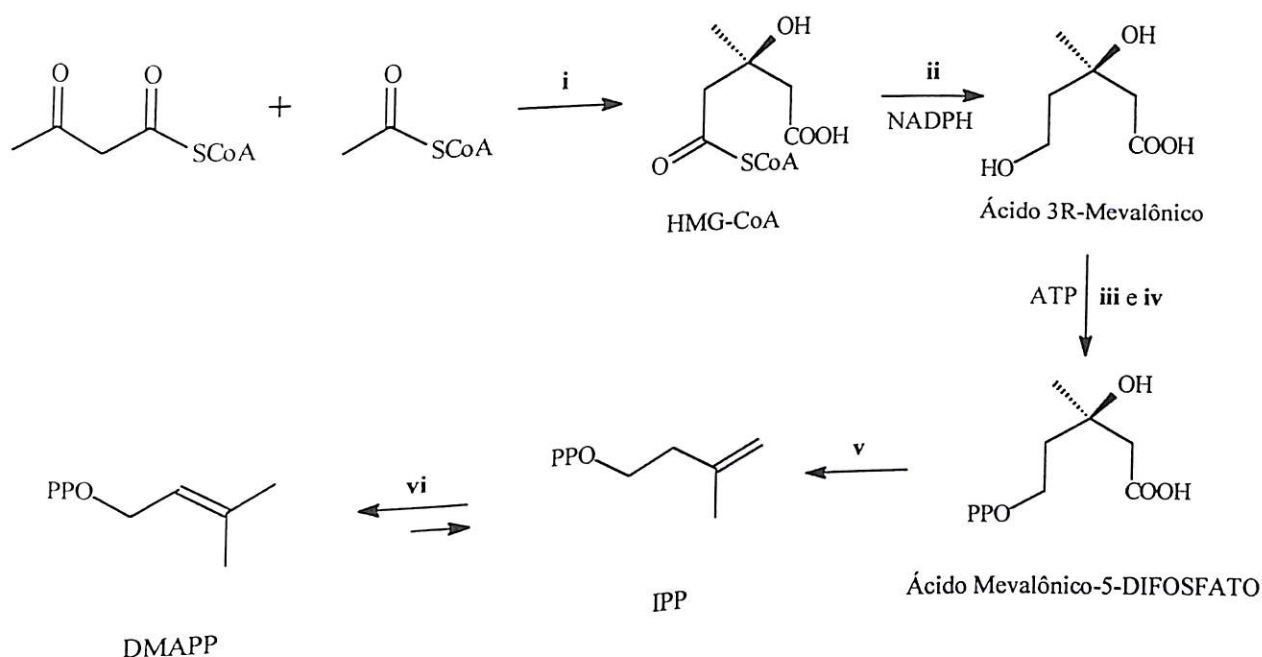
Esquema 5 : Proposta de fragmentação para a substância VIII.

4. BIOSÍNTESE

4.1 Origem Biossintética das Unidades dos Compostos Triterpênicos

A elaboração de rotas biossintéticas para os produtos naturais oriundos do metabolismo secundário de plantas, nos últimos anos tem sido feita principalmente por meio do isolamento de enzimas catalisando e promovendo as etapas que levam a substâncias específicas, auxiliada, algumas vezes, por estudos com precursores marcados isotopicamente.

As substâncias sesquiterpênicas e triterpênicas têm como origem o ácido mevalônico que é formado pela condensação de Claisen de 3 (três) moléculas de acetilSCoA. A formação dessas substâncias, incluem numerosos produtos naturais de diferentes estruturas. Todos os esqueletos carbônicos são derivados da condensação do dimetil-alil pirofosfato (DMAPP) com o isopentenil pirofosfato (IPP), (Esquema 6).



Reações :

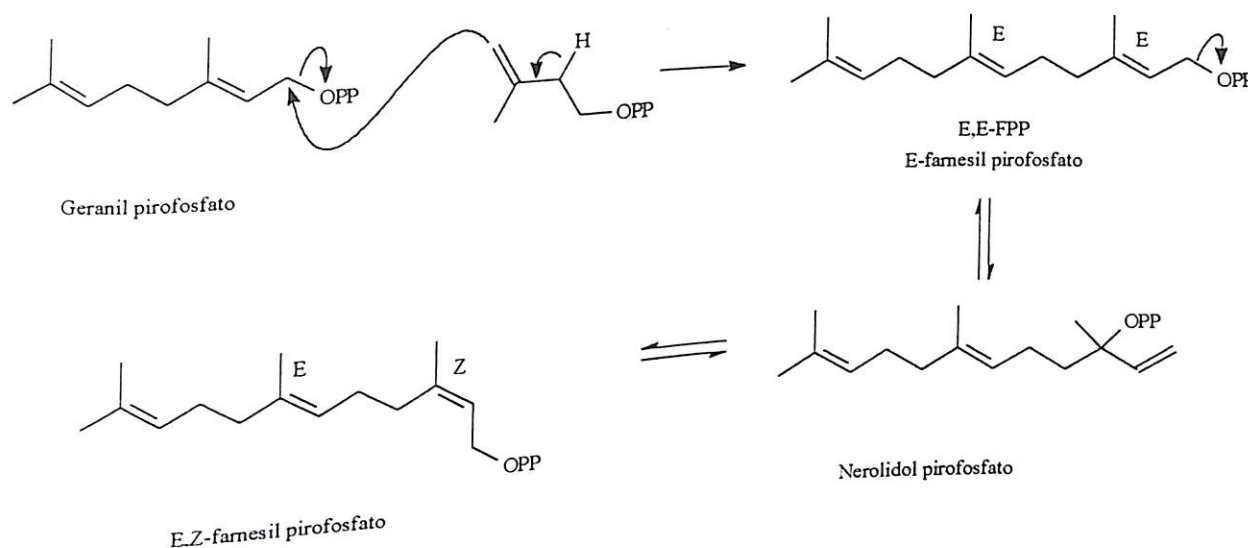
- i - Condensação de acetil e acetoacetil coenzima A por HMG-CoA sintase
- ii - Redução por meio de NADPH e HMG-CoA redutase
- iii e iv - Fosforilação do ácido mevalônico pelas enzimas mevalonato quinase e fosfomevalonato quinase em presença de ATP
- v - Descarboxilação e concomitante perda de água catalisada por mevalonato 5-difosfato descarboxilase
- vi - Isomerização de IPP a DMAPP pela enzima IPP isomerase

Esquema 6 : Formação das unidades IPP e DMAPP através do ácido mevalônico.

4.1.1 Proposta biossintética para formação do sesquiterpeno.

Para formação de sesquiterpenos tem-se como principal precursor o farnesil pirofosfato (FPP) oriundo da reação do geranil pirofosfato com uma unidade IPP ou DMAPP. Duas unidades de isopreno unem-se através da eliminação de pirofosfatos e forma-se E,E-farnesil-pirofosfato que por isomerização conduz à formação do nerolidolpirofosfato, este sofre uma isomerização enzimática e conduz ao isômero Z,E-farnesil-pirofosfato. Os

três isômeros por diversos caminhos biogênicos conduzem aos diversos esqueletos de sesquiterpenos encontrados em plantas.

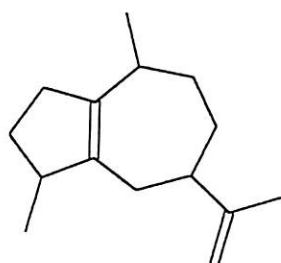


Esquema 7 : Formação das unidades farnesil e nerolidol pirofosfato.

Os esqueletos carbônicos dos sesquiterpenos podem derivar da ciclização dos isômeros do farnesil pirofosfato (FPP). Enzimas específicas catalisam a formação de produtos com estereoquímicas diferentes.

Na ciclização do farnesil pirofosfato é possível existir dois carbocátions intermediários, dependendo se o precursor é Z,E ou E,E [42,43].

Através de estudos envolvendo enzimas específicas, propõem-se uma rota biossintética para alguns compostos. Dentre vários tipos de esqueleto carbônico (C₁₅) estamos interessados em relatar o tipo guaiano. Este tipo de sesquiterpeno tem conhecida sua rota sintética .

 α -guaieno

A substância isoledeno assemelha-se estruturalmente ao tipo guaieno. A estrutura do isoledeno é formada pelo rearranjo que ocorre após a ciclização inicial do E,E FPP que situa a carga positiva do intermediário em C-11, com o rearranjo, a ligação dupla C-6,7 desloca-se para a posição 1,2. O ataque nucleofílico da extremidade do átomo de carbono C-6 da ligação dupla $\Delta^{6,7}$ ao carbono C-2 e do C-1 ao C-11 leva à formação de uma estrutura que sustenta carga positiva em átomo de carbono C-7. Rearranjos posteriores e perda de hidrogênio conduzem à formação do isoledeno que é o precursor para o espatulenol. Logo após a formação do isoledeno a ligação dupla migra para os carbonos C-2 e C-3 por meio de rearranjo. A seguir ocorre perda sucessiva de hidrogênio por ação de NADP assim ocorrendo a formação da ligação dupla. A etapa final é marcada pelo ataque *syn* de uma molécula de água para dar origem ao espatulenol [42].

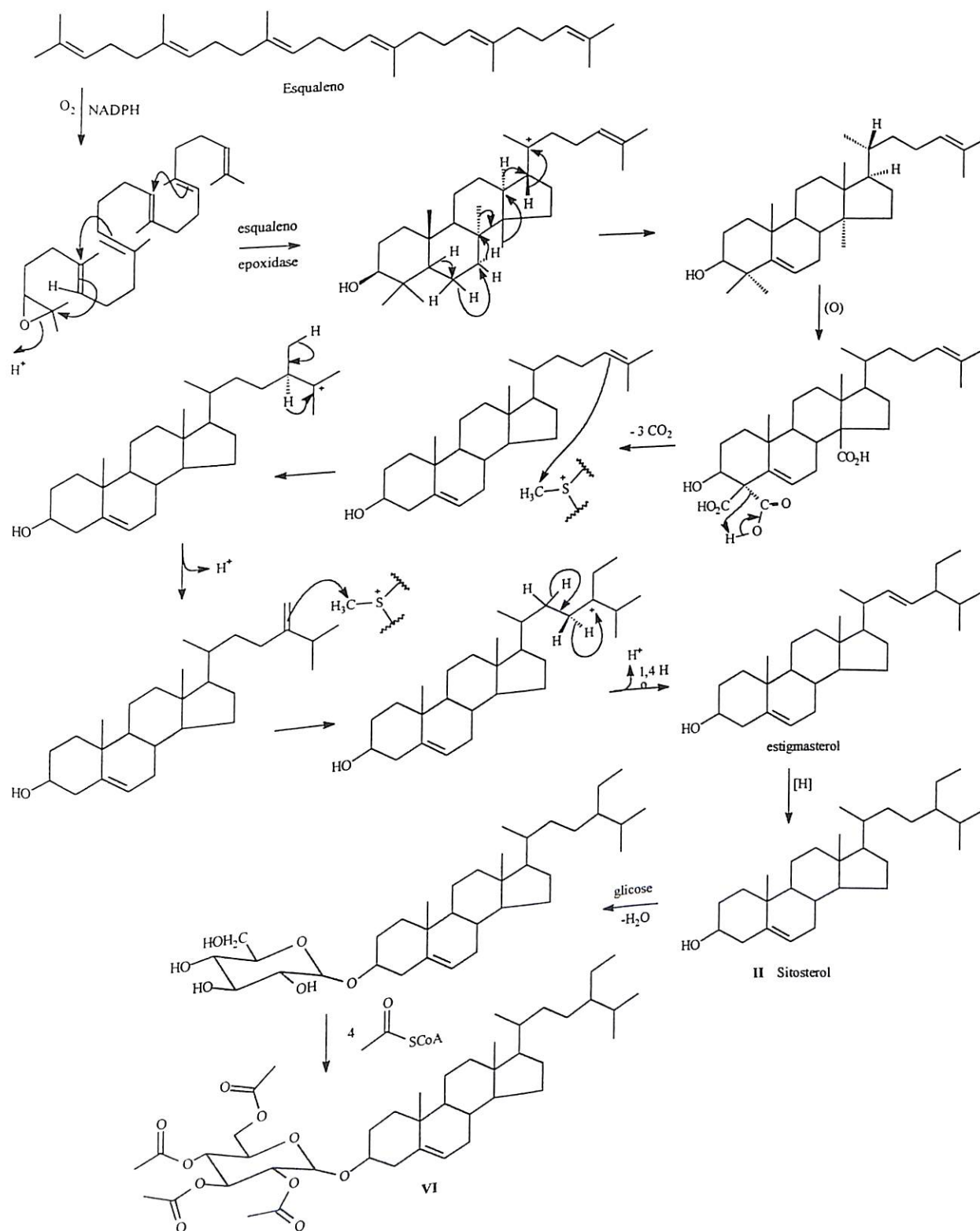
4.1.2 Proposta biossintética para formação dos triterpenos

A biossíntese de triterpenos envolve duas unidades de farnesil (FPP), para a formação do esqualeno precursor dos triterpenos e dos esteróides. A união cabeça a cabeça de duas moléculas E,E FPP para produzir esqualeno, é promovida pela enzima esqualeno sintase, que utiliza o NADPH como cofator, (Esquema 9).

A ciclização enzimática do esqualeno e do óxido esqualeno, consiste em algumas etapas na biossíntese de vários tipos de esqueletos de triterpenos e esteróides.

A ciclização do esqualeno via intermediário 2,3-óxido-esqualeno é realizada através da reação catalisada por flavoproteína, requerendo O_2 e NADPH como cofatores.

O óxido esqualeno sofre deslocalização de elétrons π , levando ao cátion 20 (protosterol) que através de uma série de reações, seja de oxidação, descarboxilação, metilação e rearranjos de hidrogênio formam β -sitosterol **II**. Este fixa-se na molécula de glicose sendo posteriormente acetilada com acetilSCoA conduzindo a substância **VI** [44].



Esquema 9 : Proposta biossintética para formação das substâncias II e VI.

4.2 Aspectos Referentes à Biossíntese de Lignóide

Lignóides são micromoléculas da via biossintética do chiquimato cujo esqueleto é formado pelo grupo fenilpropânico $(C_6-C_3)_n$, sendo n , restrito a poucas unidades. A classe dos lignóides é dividida em lignanas, ligninas e neolignanas. De acordo com Haworth (1942), lignanas são produtos vegetais caracterizados por esqueletos carbônicos nos quais duas unidades n -propilbenzênicas (C_3C_6) estão ligadas pelos carbonos β de suas cadeias laterais. Na época dessa publicação, praticamente todos os bisfenilpropanóides apresentavam esse tipo de esqueleto. Desde então reconheceu-se a existência de esqueletos adicionais, nos quais a união das unidades precursoras são feitas em posições diferentes.

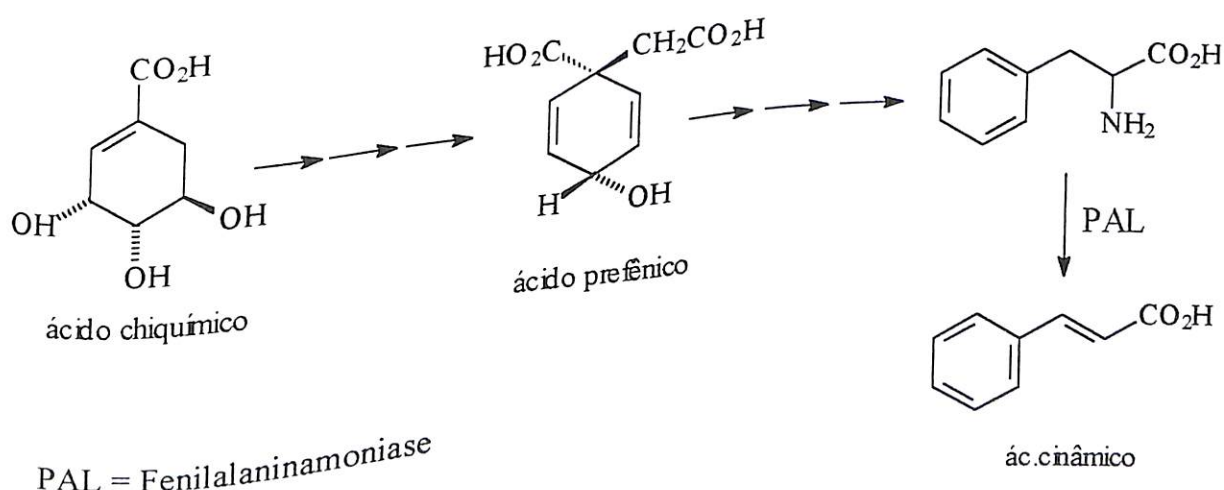
A definição de Haworth baseada em critérios estruturais, atribui aos dímeros isentos de ligação $C\beta-C\beta'$ a designação de neolignanas. Entretanto, por analogia da biossíntese de outros grupos de produtos naturais, essa definição estrutural deve ser substituída por uma definição biogenética, apesar das poucas evidências experimentais. Tal procedimento, no campo dos lignóides, conduz a duas classes biossinteticamente independentes. Para a primeira, manteve-se o termo lignana, que engloba os derivados do acoplamento oxidativo de álcoois cinâmílicos entre si ou com ácidos cinâmicos. A segunda classe pertencem os derivados do acoplamento oxidativo de propenil fénois e alilfenóis denominadas neolignanas [11]. Os carbonos γ das cadeias laterais (C_3) são, por isso, oxigenados nas lignanas e isentos de oxigenação nas neolignanas. A independência biossintética entre lignanas e neolignanas é apoiada pelas seguintes evidências:

- A diversidade de esqueletos bem como a reatividade de lignanas e neolignanas classificadas segundo o critério biogenético, são bastante diferenciadas. Rearranjos são reações comuns de neolignanas.
- Enquanto lignanas aparecem em gimnospermas nos blocos primitivos e também nos mais evoluídos de angiospermas, neolignanas restringem-se a Magnoliiflorae, Nymphaiflorae.

[4,11]

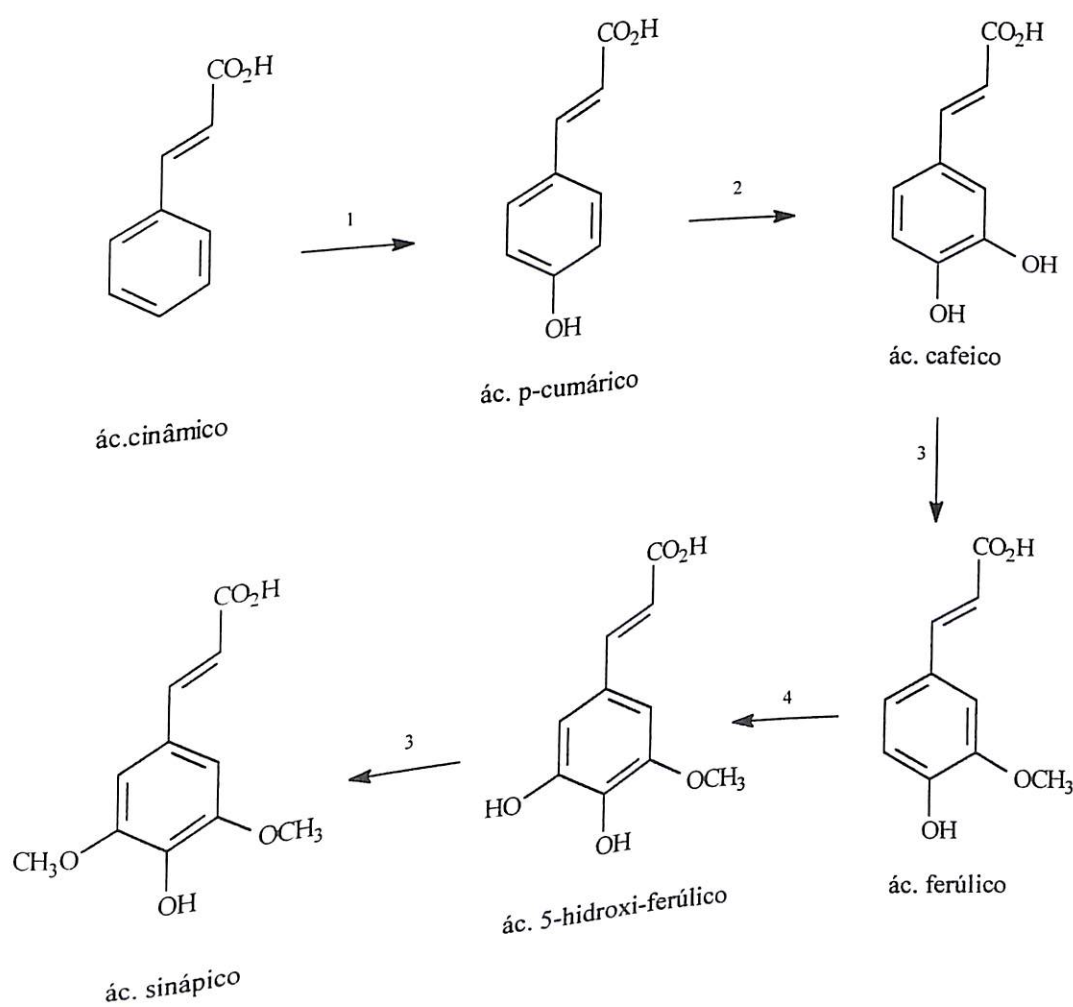
4.2.1 Origem das unidades precursoras dos compostos lignóides

Trabalhos de Davis e Sprinson (1958), demonstraram a conversão de carboidratos em ácido chiquímico, com subsequente derivação para fenilalanina. A principal via que leva à formação de lignanas e lignóides envolve a fenilalanina, que também é precursora de alcalóides benzilisoquinolínicos [43].



4.2.2 Conversão do ácido cinâmico em derivados de ácido cinâmico

Experimentos subsequentes demonstraram a seqüência de transformação que leva aos ácidos cinâmicos hidroxilados e metoxilados. Esses compostos tidos como intermediários biossintéticos de lignanas, originam-se através de reações químicas catalisadas por enzimas [45,46].



- 1 = cinamato-4-hidroxilase
 2 = p-cumarato-3-hidroxilase
 3 = catecol-O-metiltransferase (hipotética)
 4 = ferulato-5-hidroxilase (hipotética)

Os ácidos ferúlico e sinápico são formados pela metilação da hidroxila em posição *meta* dos seus respectivos precursores. Essas reações são catalisadas por catecol-O-metiltransferase *meta* específicas, que utilizam S-Adenosil-L-metionina como doadoras do grupo metila.

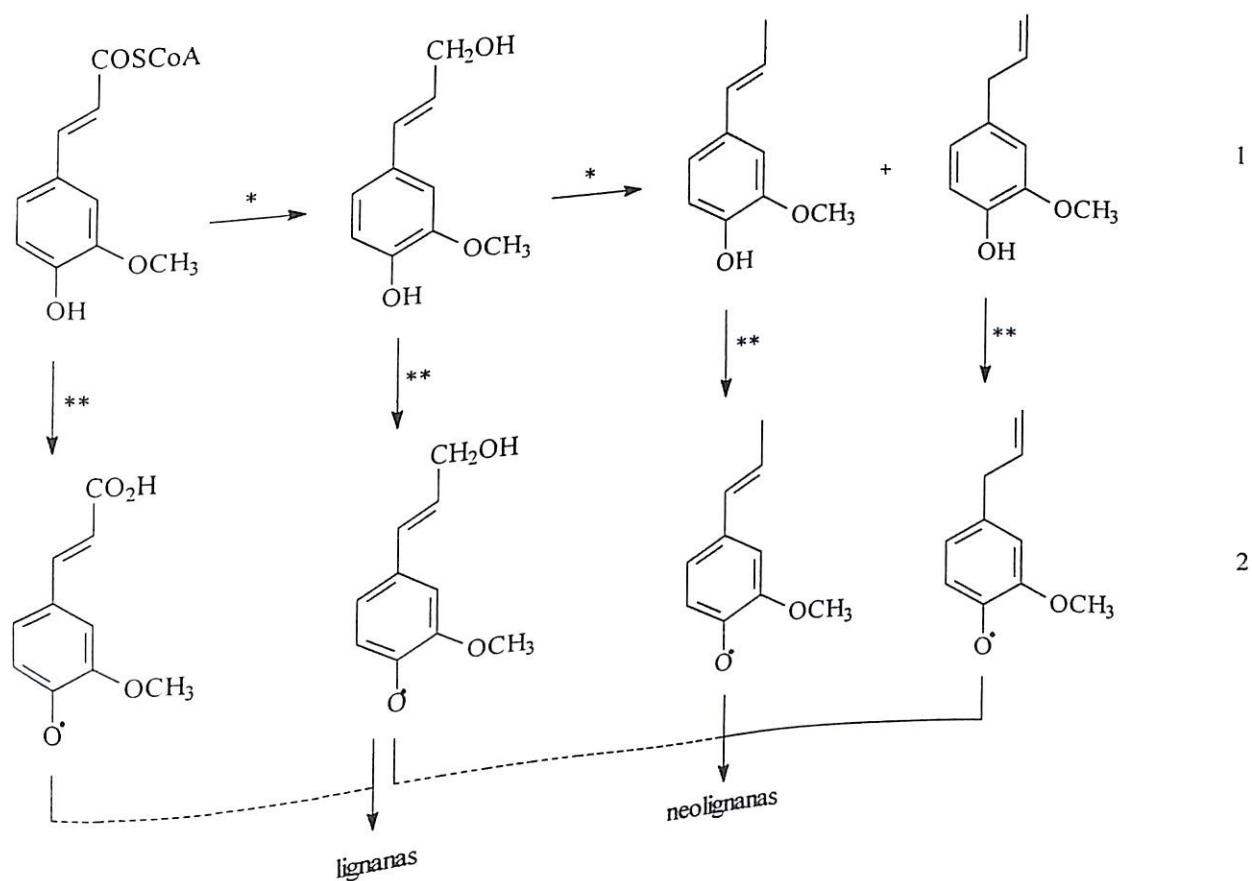
4.2.3 Ácido cinâmicos ativados

Estudos experimentais sugerem que os ácidos cinâmicos não sejam incorporados diretamente em lignóides mas após sua redução aos álcoois correspondentes. Tal redução foi demonstrada *in vivo* por Higuchi e Brow, (1963) através da administração de ácido ferúlico com marcação isotópica em C-9 à cultura de tecido de *Pinus strobus*. Tanto o álcool coniferílico como aldeído coniferílico marcados foram obtidos.

Gross e col. (1973) trabalhando com extratos de células de *Forsythia* verificaram que essa etapa de redução requer a participação das enzimas cinamoil-SCoA: NADPH oxidoreductase e cinamil álcool desidrogenase, que catalisam a formação do aldeído para álcool. Posteriormente trabalho de Gross e col. (1975) constataram que o éster feruloil-SCoA presente em tecidos de *Forsythia* produzem preferencialmente o álcool coniferílico [47,48].

4.2.4 Biossíntese de lignóides

A biossíntese de lignanas e neolignanas envolve os metabólitos derivados do ácido cinâmico ativados, através de reações de redução e oxidação, esquematizado da seguinte forma:



* NADPH/ATP
 ** Fenol oxidase

A eliminação do grupo hidroxílico dos álcoois cinâmicos, novamente por ação enzimática, ocorre através de ataque nucleofílico de hidreto no carbono carbinólico C-9 formando propenil fenóis, ou no carbono olefínico (C- α), formando alilpropanóides.

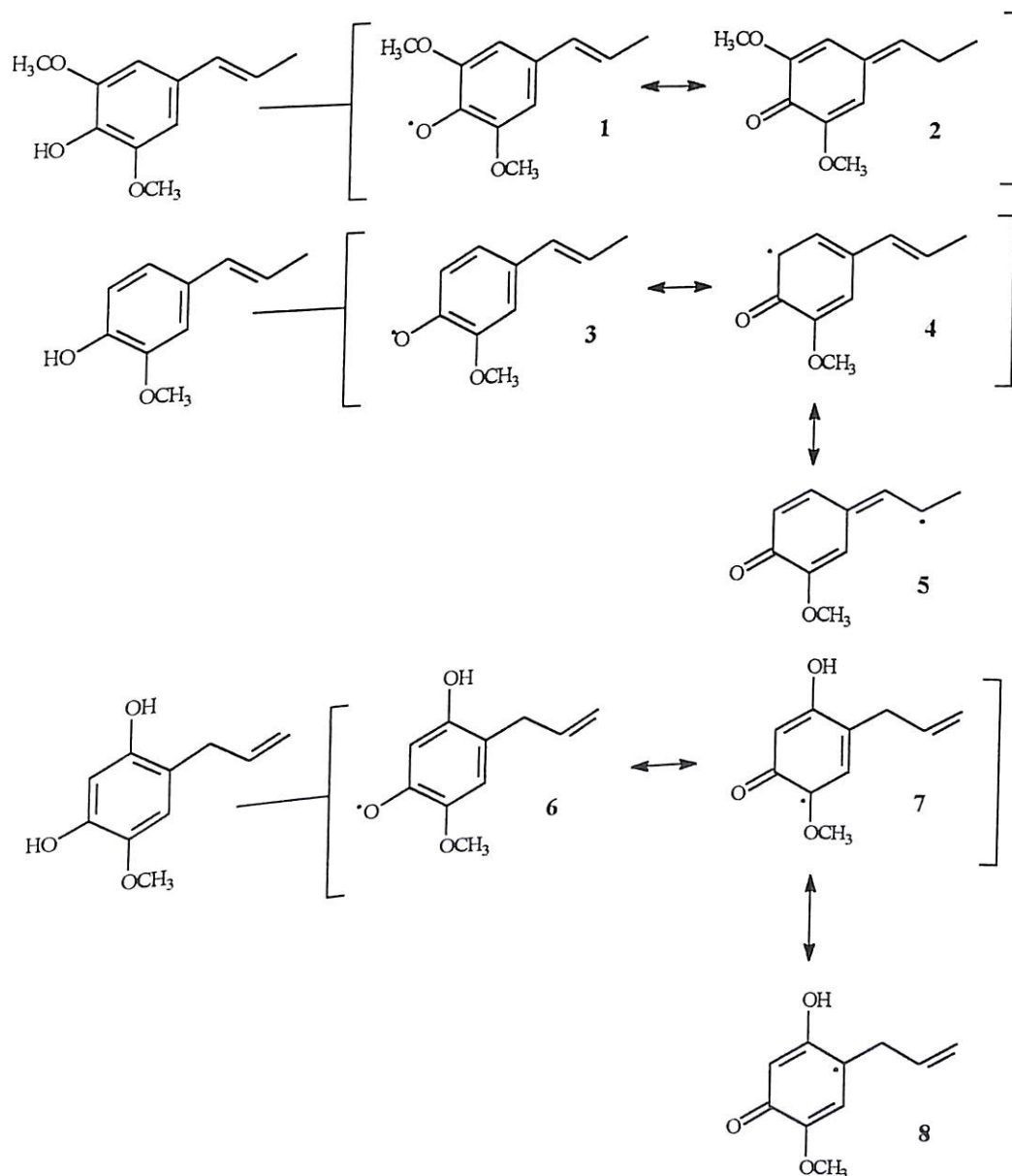
É significativo o fato de que a primeira redução ocorre com todos os substratos naturais que conduzem tanto as ligninas, lignanas ou neolignanas. Sugeriu-se que o deslocamento do grupo hidroxílico requer a presença de grupos doadores de elétrons nas posições *orto* ou *para* em relação à cadeia lateral.

Esses precursores são seletivamente oxidados e transformados em radicais fenóxido (linha 2). Esses fenômenos ocorrem ainda dentro da célula, no sítio ativo da enzima. O radical existente nos derivados fenólicos pode então por efeito de deslocamento de elétrons fornecer o radical nas posições C-3, C-5, C-1 e C-8, acoplando entre si ou com derivados formando os dímeros quirais que são as lignanas ou neolignanas [43].

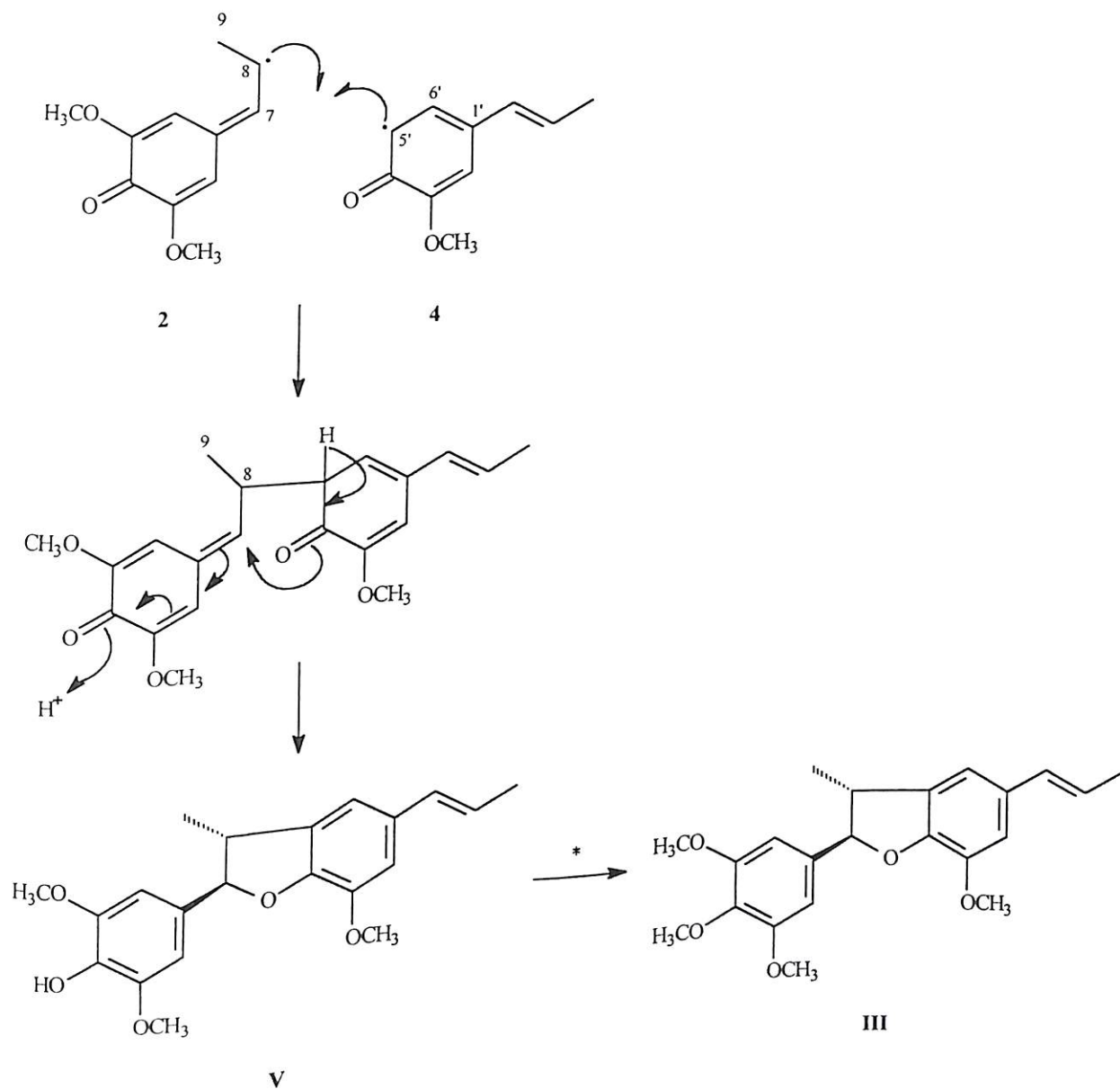
O esquema 10 revela possibilidades estruturais radicalares formadas a partir de alguns derivados do ácido cinâmico, utilizando como substratos ativos, somente aqueles precursores das neolignanas encontradas na planta.

Os esquemas 11 e 12 mostram o provável caminho biossintético que conduzem à formação das neolignanas, mostra o acoplamento entre duas unidades radicalares possíveis de serem formados na planta. As duas unidades são ligadas através de acoplamento dos radicais nos carbonos C-8 e C-5', eliminação de hidrogênio e ataque nucleofílico sobre o carbono C-7. A neutralização do fenóxido formado conduz à substância natural V, posteriormente metilação da hidroxila conduz às substâncias III e IV.

As neolignanas bicíclicas [3.2.1], são formadas por duas unidades C_6C_3 de alil e propenil fenóis entre si, envolvendo o acoplamento oxidativo de radicais e formação da ligação entre C- β de uma unidade e o carbono que sustenta o radical da outra unidade, (Esquemas 13 e 14)

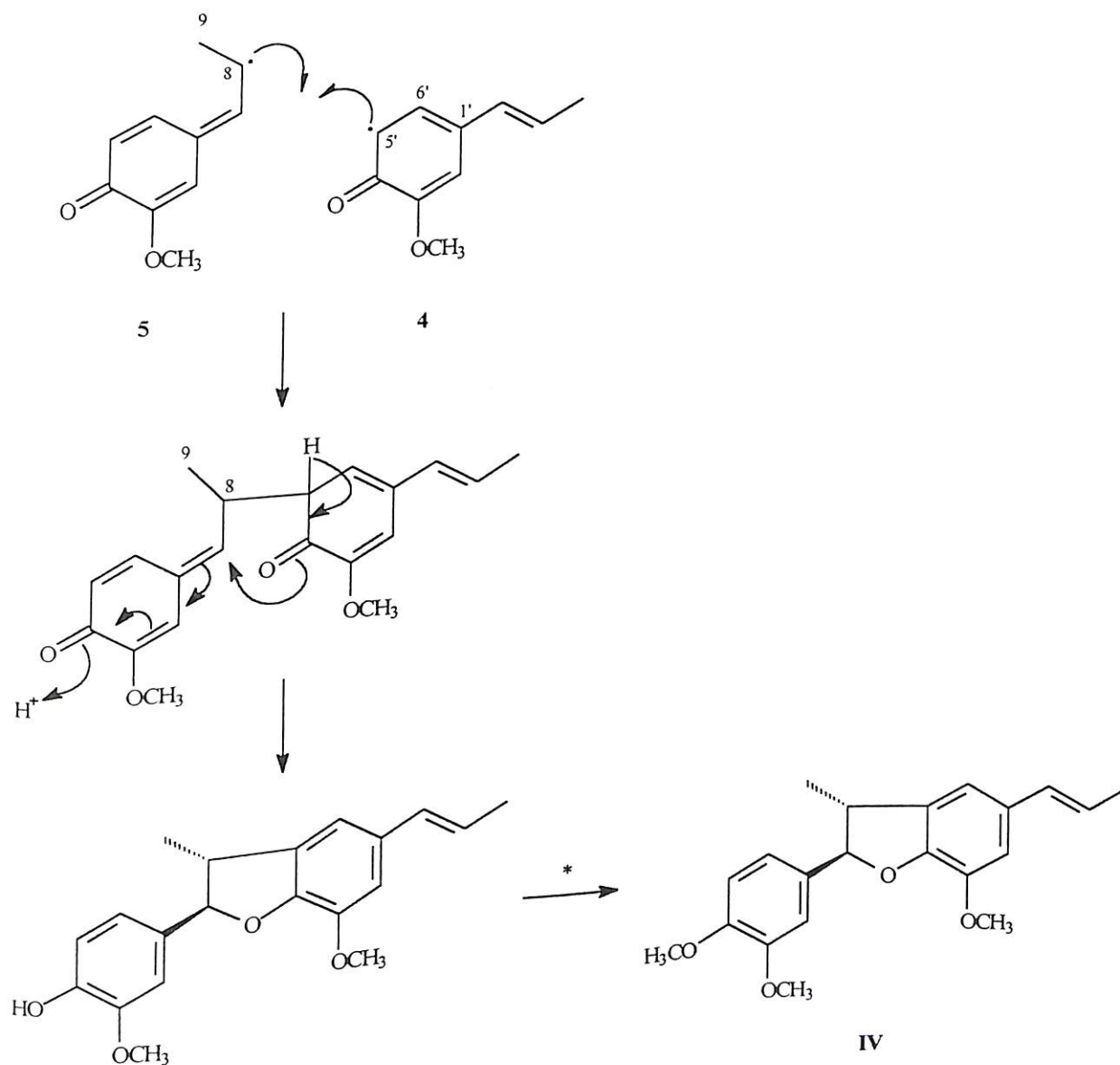


Esquema 10 : Formação de radicais de alil (6, 7 e 8) propenil fenol (1, 2, 3, 4 e 5) em neolignanas



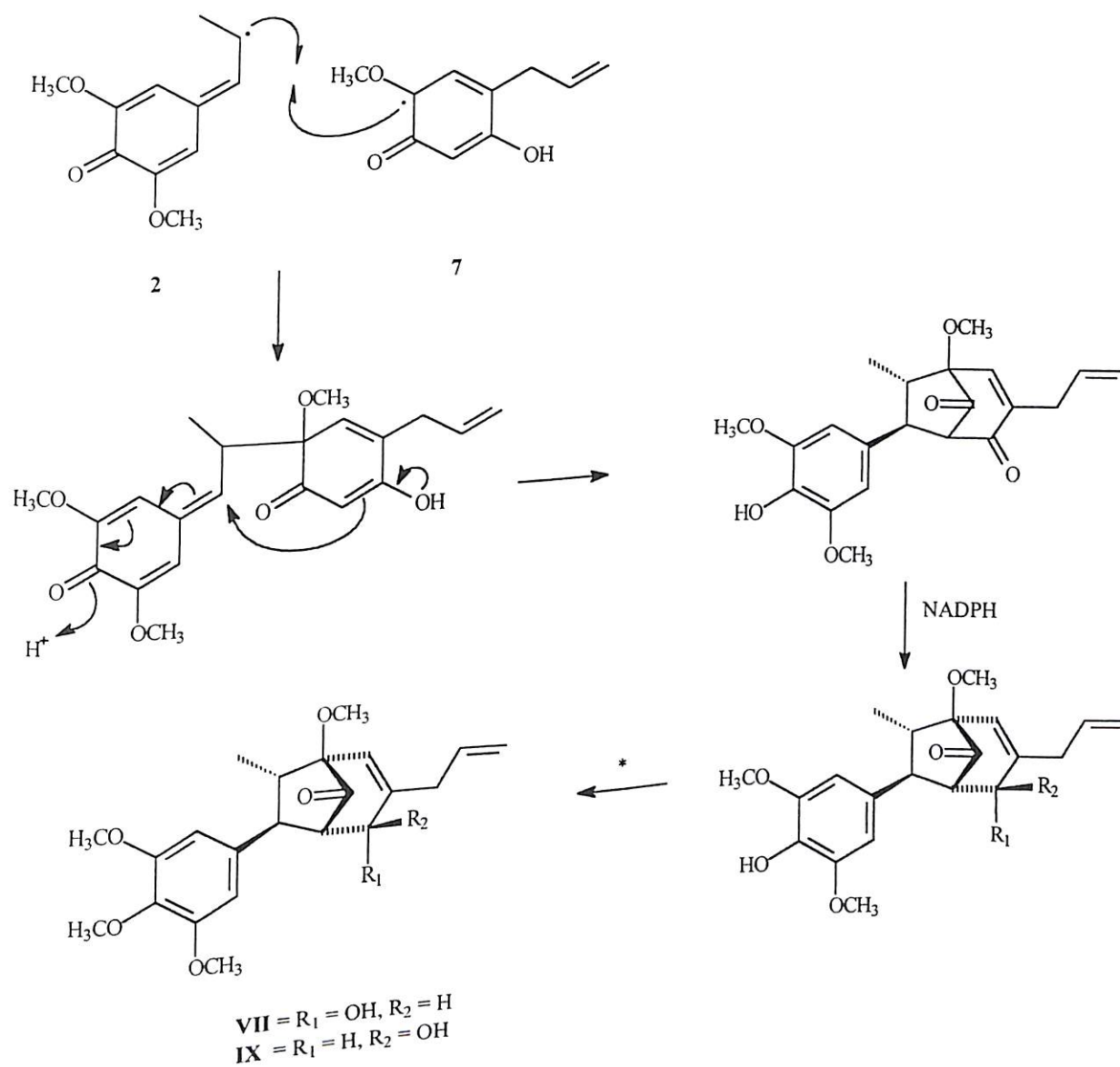
* S-Adenosil-L-metionina

Esquema 11 : Proposta biossintética para a formação das substâncias III e V através do acoplamento oxidativo entre as unidades (2 e 4) esqueleto 8.5'



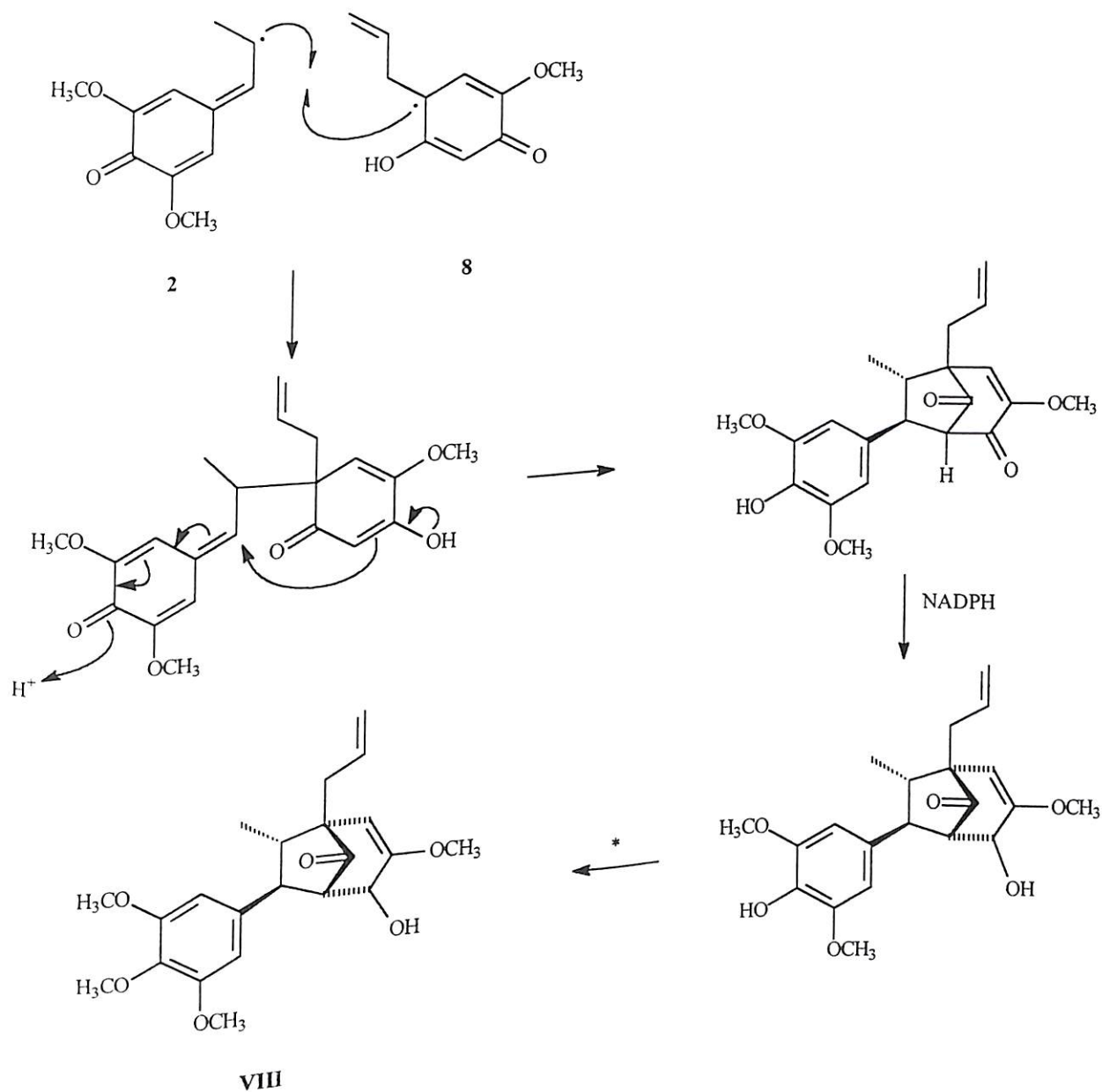
* S-Adenosil-L-metionina

Esquema 12 : Proposta biossintética para a formação da substância IV, através do acoplamento oxidativo entre as unidades (5 e 4), esqueleto 8.5'.



* S-Adenosil-L-metionina

Esquema 13 : Proposta biossintética para a formação da substância **VII** e **IX**, através do acoplamento oxidativo entre as unidades (2 e 7) esqueleto 8.5'.



* S-Adenosil-L-metionina

Esquema 14 : Proposta biossintética para a formação da substância **VIII**, através do acoplamento oxidativo entre as unidades (2 e 8) esqueleto 8.1'.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BERNARDI, L. Lauraceae. Talleres Gráficos universitários; Méridas, 1962. 355. p. 1-197.
- 2 - GOTTLIEB, O. R. Review Article Chemosystematics of the Lauraceae. Phytochemistry, 1972. 11. p. 1537-1570.
- 3 - KOSTERMANS, A. J. G. H. Lauraceae Reinwardtia, 1957. 4. p. 193-256.
- 4 - DAHLGREN, R. M. T. A revised system of classification on the angiosperms. Botanical Journal of the Linnean Society, 1980. 2. p. 91-124.
- 5 - WERFF, H. VANDER; RICHTER, H. G. Toward an Improved Classification of Lauraceae ANN. Missouri Bot. Gard., 1996. 83. p. 409-418.
- 6 - ROHWER, J. G. Lauraceae in K. Kubitzki. J. G. Rohwer & V. Bittrich (editors), The families and genera of vascular plants II. Springer - Verlag, Berlin 1993b. p. 366-391.
- 7 - ROHWER, J. G. Lauraceae: Nectandra. Flora Neotropica, 1993. 60. p. 1-333.

- 8 - GRUNDON, M. F.; MCGARVEY, J. E. B. Alkaloids from Greenheart. J. Chem. Soc., 1962. p. 2077
- 9 - FERRARI, G.; FERVIDI, O. Occurrence of Isoboldine in *Nectandra pichurim*. Phytochemistry, 1971. **10**. p. 465-466.
- 10 - COCKER, E.; COCKER, W. An anthocyanidin of louro inamui (*Nectandra elaiophora*) J. Chem. Soc., 1952. p. 5035.
- 11 - GOTTLIEB, O. R.; YOSHIDA, M. Lignóides com atenção especial à Química das Neolignanas. Química Nova, 1984. **7**. p. 250-273.
- 12 - BARBOSA-FILHO, J. M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. Lignoids from *Nectandra amazonum* and *N. glabrescens*. Phytochemistry, 1989. **28**. p. 1989-1991.
- 13 - SEIL, H. Nectandra, as adulterant of *Guarea rusbyi*. Am. Pharm. Assoc., 1922. **11**. p. 904.
- 14 - AIBA, C. J.; GOTTLIEB, O. R.; PAGLIOSA, F. M.; YOSHIDA, M.; MAGALHÃES, M. T. Neolignans from *Nectandra miranda*. Phytochemistry, 1977. **16**. p. 745-748.
- 15 - FILHO, D. dos S.; GILBERT, B. The alkaloids of *Nectandra megapotamica*. Phytochemistry, 1975. **14**. p. 821-822.
- 16 - SUAREZ, M.; BONILA, J.; DIAS, A. M. P. de ACHENBACH. Dehydrodieugenols from *Nectandra polita*. Phytochemistry, 1983. **22**. p. 609.
- 17 - MORO, J. C.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB J.R.; GOTTLIEB, H. E. Neolignans from *Nectandra puberula*. Phytochemistry, 1987. **26**. p. 269-272.

- 18 - QUESNELE, P. W.; LARRAHOND, J. E.; RAFFAUF, R. F. Antitumor plants. X. Constituents of *Nectandra rigida*. *J. Nat. Prods.*, 1980. **43**. p. 353-359.
- 19 - FRANCA, N. C.; GOTTLIEB, O. R.; COSCON, D. T. Chemical Constituents of *Nectandra rubra*. *Phytochemistry*, 1977. **16**. p. 257.
- 20 - BORALLE, F.; BUSH, A.; VERNENGO, J. J.; KICK, A. M. *Lloydia*, 1972. **35**. p. 300.
- 21 - FIGLIUOLO, R. 'Neolignanas Hidrobenzofurânicas e biciclo [3.2.1] octânicas - Determinação estrutural e Sistemática'. Tese de mestrado. Instituto de Ciências Exatas. Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1978.
- 22 - CARVALHO de, M. G. Lignóides de *Nectandra turbacensis* e *Ocotea porosa*. Tese de doutoramento. Instituto de Química. Universidade de São Paulo, 1986.
- 23 - MORENO, P. R. H.; POSER, G. L.; RATES, S. N. K.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. Constituents and antitumor activity of *Nectandra grandiflora*. *Int - J. Pharm.*, 1993. **31**. p. 189-192.
- 24 - BOHLKE, M.; GUINAUDEAU, H.; ANGERHOFER, C. K.; WONGPANICH, V.; Soejarto, D. D.; FARNSWORTH, N. R. Costaricine, a new Antiplasmodial Bisbenzylisoquinoline Alkaloid from *Nectandra salicifolia* Trunk Bark, *J. Nat. Prods.*, 1996. **59**. p. 576-580.
- 25 - CASTRO, O.; RODRIGUEZ, G.; POVEDA, L. Proaporphine and aporphine alkaloids of *Nectandra membranacea*. *Fitoterapia*, 1989. **60**. p. 474.

- 26 - PACIORNIK, E. F. Tendências evolutivas em Lauraceae Class. Juss. Tese de doutoramento. Departamento de Genética. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1996.
- 27 - LORDELLO, A. L. L. Constituintes químicos de folhas e de cultura de células e tecidos de Ocotea catharinensis Mez (Lauraceae). Tese de doutoramento vol. 1. Instituto de Química. Universidade de São Paulo, 1996.
- 28 - CARVALHO de, G. J. A. Estudo químico de Lafoensia glyptocarpa (Litraceae) e Wedelia paludosa (Compositae). Tese de mestrado. Instituto de Ciências Exatas. Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 1994.
- 29 - VEGA, M. R. G. Estudo químico de Piper fulvescens C. DC (Piperaceae). Tese de mestrado. Instituto de Ciências Exatas. Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1997.
- 30 - DIAS dos SANTOS, P. R. Estudo Químico de Annona dioica (St. Hill Annonaceae). Tese de mestrado. Instituto de Ciências Exatas. Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1993.
- 31 - SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C; TERENCE, C. M. Identificação espectrométrica de Compostos Orgânicos. Quinta edição. 1991.
- 32 - MARQUES, M. O. M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. Neolignans from fruits of *Virola pavanis*. Phytochemistry, 1992. 31. p. 4380-4381.

- 33 - CORRÊA, R. G. C. Neolignanas de *Licaria aritu*. Tese de mestrado. Instituto de Ciências Exatas. Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 1975.
- 34 - ACHENBACH, H.; GIROB, J.; DOMINGUES, X. A.; CANO, G.; STAR, J. V.; BRUSSOLO, L. D. C.; MUNOZ, G.; SALGADO, F.; LOPES, L. Lignans, Neolignans, and Norneolignans from *Krameria cystisoides*. Phytochemistry, 1987. 26. p. 1159-1166.
- 35 - FERNANDES, J. B.; GOTTLIEB, O. R. Neolignans from an *Aniba species*. Phytochemistry, 1976. 15. p. 1033-1036.
- 36 - OLIVEIRA de, M. C. C. Estudo fitoquímico de *Stiffitia chrysantha* Mikan. Tese de mestrado. Instituto de Ciências Exatas. Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1994.
- 37 - ITOH, T.; YOSHIDA, K.; TAMURA, T.; MATSUNATO, T. Phytochemistry, 1982. 21. p. 727.
- 38 - DAVID, J. M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. Neolignans from Bark and leave of *Ocotea porosa*. Phytochemistry, 1994. 36. p. 491-499.
- 39 - ROSSI, M. H.; YOSHIDA, M.; MAIA, J.G. S. Neolignans, Styrylpyrones and Flavonoids from an *Aniba species*. Phytochemistry, 1997. 45. p. 1263-1269.
- 40 - ALEGRIO, L. V. Estudo químico de *Licaria armeniaca* (Nees) Kostermans. Tese de Mestrado. Instituto de Ciências Exatas. Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1980.

- 41 - JENSEN, S.; OLSEN, C. E.; TYAGI, O. D.; BOLL, P. M.; HUSSAINI, F. A.; GUPTA, S.; BISHT, K. S.; PARMAR, V. S. Neolignans and Isoprenylated Phenol from *Piper clarkii*. Phytochemistry, 1994. **36**. (3). p. 789-792.
- 42 - MARTINS, R. C. C. Estudo da Constituição Química do Óleo Essencial de *Eugenia nitida* Camb. (Myrtaceae) Manga do Brejo. Tese de Mestrado. Instituto de Ciências Exatas. Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1998.
- 43 - TORSELL, K. B. G. A mechanistic and Biosynthetic Approach to Secondary Metabolism. Natural Product Chemistry. John Wiley & Sons Limited, 1983.
- 44 - DEWICK, P. M. A Biosynthetic Approach. Medicinal Natural Products. John Wiley & Sons Limited, 1998.
- 45 - HIGUCHI, T., BROW, S. A. Studies of lignin biosynthesis using isotopic carbon XII. The biosynthesis and metabolism of sinapic acid. Can. J. Bioch. Physio., 1963. **41** p. 613-620.
- 46 - McCALLA, D. R.; NEISH, A. C. Metabolism of Phenylpropanoid Compounds in *Salvia*. Can. J. Biochem. Physiol., 1959. **37**. p. 537-547.