



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS**

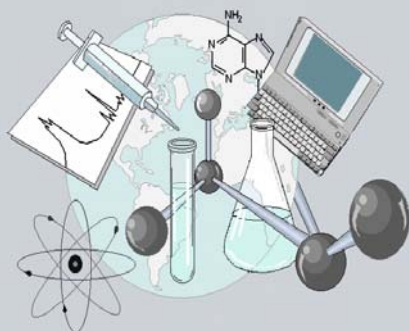
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Contribuição ao estudo químico das espécies vegetais *Palicourea rigida* e *Palicourea coriacea* e avaliação das atividades antioxidante, antiinflamatória e moluscicida de *Palicourea rigida*.**

Tese apresentada por **Elisa Aguayo da Rosa** ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Maringá como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

C  
C  
E



**Centro de  
Ciências Exatas**

**MARINGÁ, MAIO/2009**

Catálogo na Publicação  
Biblioteca Central da UNICENTRO, Campus Guarapuava

Rosa, Elisa Aguayo da  
R788c Contribuição ao estudo químico da espécies vegetais *Palicourea rigida* e *Palicourea coriacea* e avaliação das atividades antioxidante, antiinflamatória e moluscicida de *Palicourea rigida* / Elisa Aguayo da Rosa. -- Maringá, 2009  
xvii, 216 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-Graduação em Química de Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da UEM, área de concentração em Química, 2009

Orientadora: Cleuza Conceição da Silva

Co-orientadora: Cecília M. A. de Oliveira

Banca examinadora: Maria Helena Sarragiotto, Yohandra Reyes Torres, Lucilia Kato, Rosane Marina Peralta

#### Bibliografia

1. Química. 2. Rubiaceae. 3. Rubioideae. 4. Palicourea. 5. Iridóide. 6. Alcalóide. 7. Flavonóide. 8. Antraquinona. 9. Cumarina. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Química.

CDD 547



Universidade Estadual de Maringá

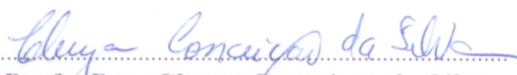
Centro de Ciências Exatas

Departamento de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

Este é o exemplar definitivo da Tese apresentada por **Elisa Aguayo da Rosa**, perante a Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Química em 11 de maio de 2009.

**COMISSÃO JULGADORA:**

  
-----  
**Profa. Dra. Cleuza Conceição da Silva**  
PRESIDENTE - DQI/UEM

  
-----  
**Profa. Dra. Maria Helena Sarragiotto**  
MEMBRO - DQI/UEM

  
-----  
**Profa. Dra. Yohandra Reyes Torres**  
MEMBRO - UNICENTRO

  
-----  
**Prof. Dr. Lucilia Kato**  
MEMBRO - UFG

  
-----  
**Profa. Dra. Rosane Marina Peralta**  
MEMBRO - DBQ/UEM

Ao meu marido Marcos.

## **Agradecimentos**

À Profa. Dra. Cleuza C. da Silva por ter aceitado a orientação e pelos ensinamentos realizados;

À Profa. Dra. Cecília pela co-orientação e conhecimentos compartilhados;

Ao meu marido Marcos pela paciência, compreensão e estímulo;

Aos meus pais e irmão, principalmente minha mãe Ivone, pelas palavras de incentivo;

A minha sogra Iracy pela hospedagem e bom convívio.

Aos professores da pós-graduação (UEM) Ernani, Silvana, Clara, Cleuza, Jesuí, Maria Helena, Arildo e Regina, pela formação proporcionada; bem como Ciomar, Maria Lucília e Rosane pela orientação nas atividades biológicas;

Aos meus colegas de pesquisa no laboratório FitoSin: Fran, Michele, Fábio; Paulo, Júlio, Rafão, Lilian, Rafael Rato, Bia, Manuele, Paulo Côco, Ana Paula, Vanessinha, Simone, Narcimário, Thiago, Alan, Sabrina, Gláucio e Alan, pela troca de idéias, pelo companheirismo e pelas gargalhadas;

Especialmente, a todos os alunos de iniciação científica que passaram pela “minha bancada”: Vanessinha, Alessandro, Jucilene, Thiago, Rato, Bia, Manu e Côco, meus sinceros agradecimentos pela ajuda e dedicação;

Às Profas. Silvana e Clara pelas sugestões e disponibilidade;

À Ivânia pelos espectros de Ressonância Magnética Nuclear realizados e, principalmente, pelo auxílio fornecido;

À Profa. Yohandra da UNICENTRO pela orientação no uso do Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência;

À Ana pelo espectro de Infravermelho;

Ao Prof. Willian e Edson pelo cromatograma e espectro de massas (CG/MS);

Aos funcionários do programa de pós-graduação;

À UNICENTRO pelo afastamento concedido e, assim, tornar possível a realização deste curso.

## RESUMO

**Palavras-Chave:** Rubiaceae, Rubioideae, *Palicourea*, iridóide, alcalóide, flavonóide, antraquinona, cumarina.

O gênero *Palicourea*, pertence à família Rubiaceae e possui aproximadamente 230 espécies, sendo que um grande número destas é encontrado no cerrado brasileiro. A espécie vegetal *Palicourea rigida*, conhecida como douradão, tem uso na medicina popular como depurativo nas doenças renais e nas inflamações do aparelho reprodutor feminino. Na literatura, estudos químicos relatam o isolamento de triterpenos, iridóides e alcalóide para a espécie. A *Palicourea coriacea*, douradinha, é utilizada pela população como agente diurético e na literatura também há relatos de isolamento de alcalóides, esteróides e derivados dos ácidos benzóico e cinâmico para a espécie. Com base nestas informações e observando a variedade e o potencial de constituintes químicos já isolados no gênero *Palicourea*, o presente trabalho objetivou dar continuidade ao estudo químico das espécies vegetais *P. rigida* e *P. coriacea*, visando isolar e identificar os principais constituintes das folhas e flores destas espécies e avaliar o potencial moluscicida, antioxidante e antiinflamatório de *P. rigida*. Os extratos das plantas mencionadas foram submetidos à partição e o estudo cromatográfico, em colunas de Sílica-Gel e/ou Sephadex LH-20 e/ou Diaion HP20S e/ou cromatografia em camada delgada preparativa, conduziram ao isolamento dos iridóides inéditos no gênero: swerosideo, secoxiloganina, bem como 6-O-cafeoil-swerosideo; dos alcalóides: calicantina, ácido strictosidínico e um suposto derivado da calistegina-N; dos flavonóides inéditos no gênero: quercetina 3-O- $\beta$ -D-glicosídeo, isoraminetina-3-glicosídeo, quercetina 3-O-soforosídeo e rutina; da antraquinona inédita no gênero 7-hidroxi-tectoquinona; da cumarina escopoletina, dos terpenos: fitol, inédito no gênero, ácido oleanóico e ácido ursólico; e da mistura dos esteróides campesterol, stigmasterol e sitosterol. A elucidação das estruturas foi realizada mediante análise de dados espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  e de técnicas bidimensionais (COSY, HMQC e HMBC) e por comparação com os dados

relatados na literatura. Na avaliação da atividade moluscicida, os caramujos *Biomphalaria glabrata* não tiveram os batimentos cardíacos alterados com extrato bruto de *P. rigida*, enquanto que na avaliação da atividade antiinflamatória das folhas desta espécie a fração hexânica provocou uma significativa redução do edema de orelha induzido pelo óleo de cróton. Na avaliação da atividade antioxidante e determinação de fenólicos totais do extrato bruto e frações polares de *P. rigida*, existiu uma maior concentração de fenólicos na fração acetato de etila, que foi fonte dos flavonóides isolados, o que pode ter contribuído para a atividade antioxidante demonstrada.

## Abstract

**Keywords:** Rubiaceae, Rubioideae, Palicourea, iridoid, alkaloid, flavonoid, coumarin, anthraquinone.

*Palicourea* belongs to the Rubiaceae family which comprises about 230 species the majority of them occurring in Cerrado region, Brazil. *Palicourea rigida*, known by name douradão, it's used in popular medicine as purifying in renal diseases and in inflammations of the feminine reproductive apparel. Recents works have reported the presence of iridoids, alkaloids and triterpenoids in *P. rigida*. *Palicourea coriacea*, popularly called douradinha, is well known in folk medicine as a potent diuretic and earlier works have revealed have the occurrence of alkaloids, steroids, cinnamic and benzoic acids derivatives in *P. coriacea* leaves. Taking into account the chemical importance of *Palicourea* genus the present work aimed to continue *P. rigida* and *P. coriacea* chemical study seeking to isolate and identify the main constituents of the leaves and flowers from these species and the evaluation of the molluscicidal, antioxidant and anti-inflammatory activities of *P. rigida*. The *Palicourea*s extracts were partitioned with solvents and the chromatography studies with column on silica gel or Sephadex LH-20 or Diaion HP20S or preparative TLC were used for the isolation of the iridoids, unpublished in genus: sweroside; 6-O-caffeoyl-sweroside and secoxyloganine; the alkaloids calicantine, strictosidinic acid and a supposed calystegin N1 derivative; the flavonoids unpublished in genus: quercetin 3-O- $\beta$ -D-glicoside, isorhamnetin-3-glicoside; quercetin 3-O-sophoroside and rutine; the anthraquinone, unpublished in genus, 7-hidroxy-tectoquinone; the coumarin scopoletin, the terpenoids phytol, unpublished in genus, oleanic and ursolic acids and the steroids campesterol, stigmasterol and sitosterol. The compounds were identified by spectroscopy analysis of their  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  and bidimensional NMR spectral data and by comparing spectroscopy data with those reported in literature. In the evaluation of the molluscicidal, the clams didn't have their heart beats altered by *P. rigida* crude extract, while the evaluation of the anti-inflammatory activity from leaves of this specie showed that hexane fraction



provoked a significant reduction of the ear edema induced by croton oil. In antioxidant assay and total phenolic determination of the crude extract, polar and apolar fractions from *P. rigida*, a larger phenolic concentration was observed in ethyl acetate fraction, which was also the source of the isolated flavonoids. This fact could have contributed to the demonstrated antioxidant activity.

## Sumário

Lista de Tabelas.....	viii
Lista de Figuras.....	xiii
Lista de Esquemas.....	xvi
Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	xvii
1. Introdução.....	01
1.1. A família Rubiaceae.....	02
1.2. A subfamília Rubioideae.....	08
1.3. O gênero <i>Palicourea</i> .....	10
1.4. A espécie vegetal <i>Palicourea rigida</i> .....	15
1.5. A espécie vegetal <i>Palicourea coriacea</i> .....	19
2. Objetivos.....	23
3. Parte experimental.....	24
3.1. Materiais e Métodos.....	24
3.2. Estudo químico das folhas e talos de <i>Palicourea coriacea</i> .....	26
3.2.1. Coleta, obtenção do extrato bruto das folhas e talos e fracionamento...26	
3.2.2. Estudo da fração PCHM.....	27
3.2.3. Estudo da fração PCH.....	29
3.3. Estudo químico das flores de <i>Palicourea coriacea</i> .....	31
3.3.1. Coleta, obtenção do extrato bruto das flores e fracionamento.....	31
3.3.2. Estudo da fração PCAF.....	32
3.4. Estudo químico das folhas de <i>Palicourea rigida</i> .....	34
3.4.1. Coleta, obtenção do extrato bruto das folhas e fracionamento.....	34
3.4.2. Estudo da fração PRHM.....	35
3.4.2.1. Estudo da fração PRMM 2-3.....	37
3.4.2.2. Estudo da fração PRM 2-3(2-3)5-6 em CLAE.....	38
3.4.3. Estudo da fração PRMA.....	39
3.4.3.1. Estudo da fração PRMA 3.....	41
3.4.4. Estudo da fração PRA.....	42
3.4.4.1. Estudo da fração PRA 11.....	44
3.4.4.1.a. Estudo da fração PRA 11(10).....	45
3.4.4.1.b. Estudo da fração PRA 11(11).....	46

3.4.4.2. Estudo da fração PRA 14.....	47
3.4.4.2.a. Estudo da fração PRA 14(11-12).....	48
3.4.4.2.b. Estudo da fração PRA 14(13).....	49
3.4.5. Estudo da fração PRC.....	50
3.4.5.1. Estudo da fração PRC 32-42.....	52
3.4.6. Estudo da fração PRH.....	53
3.4.6.1. Estudo da fração PRH 5-6.....	55
3.4.6.1.a. Estudo da fração PRH 5-6(3-4).....	56
3.4.6.1.a.1. Estudo da fração PRH 5-6(3-4)6-7.....	57
3.4.6.1.b. Estudo da fração PRH 5-6(5).....	58
3.5. Estudo químico das flores de <i>Palicourea rígida</i> .....	59
3.5.1. Coleta, obtenção do extrato bruto das flores e fracionamento.....	59
3.5.2. Estudo da fração PRHMF.....	60
3.5.2.1. Estudo da fração PRHMF 3-7.....	62
3.5.3. Estudo da fração PRAF.....	63
3.5.4. Estudo da fração PRCF.....	65
3.6. Avaliação das atividades moluscicida, antioxidante e antiinflamatória de <i>Palicourea rigida</i> .....	67
3.6.1. Avaliação da atividade moluscicida.....	67
3.6.2. Avaliação da atividade antioxidante.....	68
3.6.3. Determinação de compostos fenólicos.....	69
3.6.4. Avaliação da atividade antiinflamatória.....	70
4. Resultados e discussões.....	71
4.1. Alcalóides.....	71
4.1.1. Composto P16.....	71
4.1.2. Composto P15.....	83
4.1.3. Composto P1.....	94
4.2. Iridóides.....	102
4.2.1. Composto P5.....	102
4.2.2. Composto P6.....	110
4.2.3. Composto P17.....	120
4.3. Flavonóides.....	129
4.3.1. Mistura P7+P8.....	129
4.3.2. Composto P9.....	141

4.3.3. Composto P4.....	147
4.4. Antraquinona.....	156
4.4.1. Composto P10.....	156
4.5. Cumarina.....	164
4.5.1. Composto P18.....	164
4.6. Terpenos.....	172
4.6.1. Mistura P2+P3.....	172
4.6.2. Composto P14.....	177
4.7. Esteróides.....	181
4.7.1. Mistura P11+P12+P13.....	181
4.8. Avaliação da atividade antioxidante e determinação dos fenólicos totais das folhas e flores de <i>Palicourea rigida</i> .....	186
4.9. Avaliação da atividade antiinflamatória das folhas e flores de <i>P. rigida</i> ...	189
4.9.1. Avaliação da atividade antiinflamatória das folhas de <i>P. rigida</i> .....	189
4.9.2. Avaliação da atividade antiinflamatória das flores de <i>P. rigida</i> .....	191
4.10. Avaliação da atividade moluscicida.....	192
5. Conclusão.....	193
6. Referências bibliográficas.....	195
7. Anexos.....	212

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1:</b> Compostos isolados em algumas espécies do gênero <i>Palicourea</i> ...	11
<b>Tabela 2:</b> Classificação botânica de <i>Palicourea rigida</i> .....	16
<b>Tabela 3:</b> Compostos isolados na espécie <i>Palicourea rigida</i> .....	16
<b>Tabela 4:</b> Compostos isolados na espécie <i>Palicourea coriacea</i> .....	20
<b>Tabela 5:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PCMB.....	27
<b>Tabela 6:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PCH.....	30
<b>Tabela 7:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PCAF.....	33
<b>Tabela 8:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PCAF 1.7.....	33
<b>Tabela 9:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRMM.....	35
<b>Tabela 10:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRMM 2.3.....	37
<b>Tabela 11:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRM 2.3 (2.3).....	37
<b>Tabela 12:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRMA.....	40
<b>Tabela 13:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRMA3.....	41
<b>Tabela 14:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRA.....	42
<b>Tabela 15:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRA 11.....	44
<b>Tabela 16:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRA 11(10).....	45
<b>Tabela 17:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRA 11(14).....	46

<b>Tabela 18:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRA 14.....	47
<b>Tabela 19:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRA 14(11.12).....	48
<b>Tabela 20:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRA 14(13).....	49
<b>Tabela 21:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRC.....	51
<b>Tabela 22:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRC 32.42.....	52
<b>Tabela 23:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRH.....	53
<b>Tabela 24:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRH 5.6.....	55
<b>Tabela 25:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRH 5.6 (3.4).....	56
<b>Tabela 26:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRH 5.6 (3.4) 6.7.....	57
<b>Tabela 27:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRH 5.6(5).....	58
<b>Tabela 28:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRHMF.....	61
<b>Tabela 29:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRMF 3.7.....	62
<b>Tabela 30:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRAF.....	64
<b>Tabela 31:</b> Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRCF.....	66
<b>Tabela 32:</b> Principais correlações homonucleares $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ observadas no mapa de contornos COSY para <b>P16</b> .....	76
<b>Tabela 33:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMQC para <b>P16</b> .....	77
<b>Tabela 34:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMBC para <b>P16</b> .....	79

<b>Tabela 35:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e RMN de $^{13}\text{C}$ para o composto <b>P16</b> e para calistegina N1.....	81
<b>Tabela 36:</b> Principais correlações homonucleares $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ observadas no mapa de contornos COSY para <b>P15</b> .....	87
<b>Tabela 37:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMQC para <b>P15</b> .....	89
<b>Tabela 38:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMBC para <b>P15</b> .....	91
<b>Tabela 39:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e RMN de $^{13}\text{C}$ para o composto <b>P15</b> e para o ácido 3 <i>epi</i> -strictosidínico.....	93
<b>Tabela 40:</b> Principais correlações homonucleares $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ observadas no mapa de contornos COSY para <b>P1</b> .....	97
<b>Tabela 41:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMQC para <b>P1</b> .....	98
<b>Tabela 42:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMBC para <b>P1</b> .....	99
<b>Tabela 43:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e RMN de $^{13}\text{C}$ para o composto <b>P1</b> e para calicantina.....	101
<b>Tabela 44:</b> Principais correlações homonucleares $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ observadas no mapa de contornos COSY para <b>P5</b> .....	105
<b>Tabela 45:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMQC para <b>P5</b> .....	106
<b>Tabela 46:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMBC para <b>P5</b> .....	107
<b>Tabela 47:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e RMN de $^{13}\text{C}$ para o composto <b>P5</b> e para swerosideo.....	109
<b>Tabela 48:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ para a unidade cafeoil do composto <b>P6</b> e do 3-cafeoil-swerosideo.....	113
<b>Tabela 49:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMQC para <b>P6</b> .....	113
<b>Tabela 50:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMBC para <b>P6</b> .....	115
<b>Tabela 51:</b> Dados espectrais adicionais observados para <b>P6</b> .....	118

<b>Tabela 52:</b> Dados de RMN $^1\text{H}$ e RMN de $^{13}\text{C}$ para a unidade de adicional de açúcar de <b>P6</b> e para a unidade frutopiranosose.....	119
<b>Tabela 53:</b> Principais correlações homonucleares $^1\text{H}$ x $^1\text{H}$ observadas no mapa de contornos COSY para <b>P17</b> .....	123
<b>Tabela 54:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H}$ x $^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMBC para <b>P5+P17</b> .....	124
<b>Tabela 55:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H}$ x $^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMQC para <b>P5+P17</b> .....	127
<b>Tabela 56:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e RMN de $^{13}\text{C}$ para o composto <b>P17</b> e para secoxiloganina.....	132
<b>Tabela 57:</b> Principais correlações homonucleares $^1\text{H}$ x $^1\text{H}$ observadas no mapa de contornos COSY para <b>P7+P8</b> .....	132
<b>Tabela 58:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H}$ x $^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMBC para <b>P7</b> e/ou <b>P8</b> .....	135
<b>Tabela 59:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H}$ x $^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMQC para <b>P7+P8</b> .....	138
<b>Tabela 60:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e RMN de $^{13}\text{C}$ para o composto <b>P7</b> e para quercetina 3-O- $\beta$ -D-glicosídeo.....	139
<b>Tabela 61:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e RMN de $^{13}\text{C}$ para o composto <b>P8</b> e para isoraminetina-3-glicosídeo.....	140
<b>Tabela 62:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H}$ x $^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMBC para <b>P9</b> .....	142
<b>Tabela 63:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H}$ x $^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMQC para <b>P9</b> .....	144
<b>Tabela 64:</b> Principais correlações homonucleares $^1\text{H}$ x $^1\text{H}$ observadas no mapa de contornos COSY para <b>P9</b> .....	145
<b>Tabela 65:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e RMN de $^{13}\text{C}$ para <b>P9</b> e para quercetina 3-O-soforosídeo.....	146
<b>Tabela 66:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H}$ x $^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMBC para <b>P4</b> .....	149
<b>Tabela 67:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H}$ x $^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMQC para <b>P4</b> .....	151
<b>Tabela 68:</b> Principais correlações homonucleares $^1\text{H}$ x $^1\text{H}$ observadas no mapa de contornos COSY para <b>P4</b> .....	152



<b>Tabela 69:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e RMN de $^{13}\text{C}$ para o composto <b>P8</b> e para rotina.....	154
<b>Tabela 70:</b> Principais correlações homonucleares $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ observadas no mapa de contornos COSY para <b>P10</b> .....	160
<b>Tabela 71:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMQC para <b>P10</b> .....	161
<b>Tabela 72:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e RMN de $^{13}\text{C}$ para o composto <b>P10</b> e para tectoquinona.....	163
<b>Tabela 73:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMQC para <b>P18</b> .....	168
<b>Tabela 74:</b> Principais correlações heteronucleares $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ observadas no mapa de contornos HMBC para <b>P18</b> .....	169
<b>Tabela 75:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e RMN de $^{13}\text{C}$ para o composto <b>P18</b> e para escopoletina.....	171
<b>Tabela 76:</b> Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ para <b>P2+P3</b> e para os ácidos ursólico e oleanólico.....	175
<b>Tabela 77:</b> Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ para <b>P11, P12 e P13</b> e para os compostos campesterol, estigmasterol e sitosterol.....	179
<b>Tabela 78:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e RMN de $^{13}\text{C}$ para o composto <b>P13</b> e para o fitol.....	184
<b>Tabela 79:</b> Dados sobre a determinação de fenólicos totais e atividade sequestrante DPPH em <i>P. rigida</i> .....	187

## Lista de Figuras

<b>Figura 1:</b> Foto da espécie vegetal <i>Palicourea rigida</i> .....	15
<b>Figura 2:</b> Foto da espécie vegetal <i>Palicourea coriacea</i> .....	19
<b>Figura 3:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ para <b>P16</b> .....	72
<b>Figura 4:</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT para <b>P16</b> .....	73
<b>Figura 5 :</b> Espectro no IV para <b>P16</b> .....	74
<b>Figura 6:</b> Mapa de contornos COSY para <b>P16</b> .....	76
<b>Figura 7:</b> Mapa de contornos HMQC para <b>P16</b> .....	78
<b>Figura 8:</b> Mapa de contornos HMBC para <b>P16</b> .....	80
<b>Figura 9:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ para <b>P15</b> .....	84
<b>Figura 10:</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT para <b>P15</b> .....	86
<b>Figura 11:</b> Mapa de contornos COSY para <b>P15</b> .....	88
<b>Figura 12:</b> Mapa de contornos HMQC para <b>P15</b> .....	90
<b>Figura 13:</b> Mapa de contornos HMBC para <b>P15</b> .....	92
<b>Figura 14:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ para <b>P1</b> .....	95
<b>Figura 15:</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT para <b>P1</b> .....	96
<b>Figura 16:</b> Mapa de contornos COSY para <b>P1</b> .....	97
<b>Figura 17:</b> Mapa de contornos HMQC para <b>P1</b> .....	99
<b>Figura 18:</b> Mapa de contornos HMBC para <b>P1</b> .....	100
<b>Figura 19:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ para <b>P5</b> .....	103
<b>Figura 20:</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT para <b>P5</b> .....	104
<b>Figura 21:</b> Mapa de contornos COSY para <b>P5</b> .....	105
<b>Figura 22:</b> Mapa de contornos HMQC para <b>P5</b> .....	107
<b>Figura 23:</b> Mapa de contornos HMBC para <b>P5</b> .....	108
<b>Figura 24:</b> Espectros de RMN de $^1\text{H}$ para <b>P5</b> (a) e <b>P6</b> (b).....	110
<b>Figura 25:</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ para <b>P5</b> (a) e <b>P6</b> (b).....	111
<b>Figura 26:</b> Mapa de contornos COSY para <b>P6</b> .....	112
<b>Figura 27:</b> Mapa de contornos HMQC para <b>P6</b> .....	114
<b>Figura 28:</b> Mapa de contornos HMBC para <b>P6</b> .....	116
<b>Figura 29:</b> Expansão do mapa de contornos HMBC para <b>P6</b> .....	117
<b>Figura 30:</b> Expansão do mapa de contornos HMBC para <b>P6</b> .....	119
<b>Figura 31:</b> Espectros de RMN de $^1\text{H}$ para <b>P5</b> (a) e <b>P5+P17</b> (b).....	121

<b>Figura 32:</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ para <b>P5</b> (a) e <b>P5+P17</b> (b).....	122
<b>Figura 33:</b> Mapa de contornos COSY para <b>P17</b> .....	123
<b>Figura 34:</b> Mapa de contornos HMBC para <b>P17</b> .....	125
<b>Figura 35:</b> Mapa de contornos HMQC para <b>P17</b> .....	126
<b>Figura 36:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ para <b>P7+P8</b> .....	131
<b>Figura 37:</b> Mapa de contornos COSY para <b>P7+P8</b> .....	132
<b>Figura 38:</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT para <b>P7+P8</b> .....	134
<b>Figura 39:</b> Mapa de contornos HMBC para <b>P7+P8</b> .....	136
<b>Figura 40:</b> Espectro de NOE para <b>P8</b> .....	137
<b>Figura 41:</b> Mapa de contornos HMQC para <b>P7+P8</b> .....	138
<b>Figura 42:</b> Espectros de RMN de $^1\text{H}$ para <b>P7+P8</b> (a) e <b>P9</b> (b).....	141
<b>Figura 43:</b> Mapa de contornos HMBC para <b>P9</b> .....	142
<b>Figura 44:</b> Espectro de NOE para <b>P9</b> .....	143
<b>Figura 45:</b> Mapa de contornos HMQC para <b>P9</b> .....	144
<b>Figura 46:</b> Mapa de contornos COSY para <b>P9</b> .....	145
<b>Figura 47:</b> Espectros de RMN de $^1\text{H}$ para <b>P9</b> (a) e <b>P4</b> (b).....	147
<b>Figura 48:</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ para <b>P9</b> (a) e <b>P4</b> (b).....	148
<b>Figura 49:</b> Mapa de contornos HMBC para <b>P4</b> .....	150
<b>Figura 50:</b> Mapa de contornos HMQC para <b>P4</b> .....	152
<b>Figura 51:</b> Mapa de contornos COSY para <b>P4</b> .....	153
<b>Figura 52:</b> Espectros de RMN de $^1\text{H}$ para <b>P10</b> .....	157
<b>Figura 53:</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT para <b>P10</b> .....	159
<b>Figura 54:</b> Mapa de contornos COSY para <b>P10</b> .....	160
<b>Figura 55:</b> Mapa de contornos HMQC para <b>P10</b> .....	161
<b>Figura 56:</b> Espectro de NOE para <b>P10</b> .....	162
<b>Figura 57:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ para <b>P18</b> .....	165
<b>Figura 58:</b> Mapa de contornos COSY para <b>P18</b> .....	166
<b>Figura 59:</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT para <b>P18</b> .....	167
<b>Figura 60:</b> Mapa de contornos HMQC para <b>P18</b> .....	168
<b>Figura 61:</b> Mapa de contornos HMBC para <b>P18</b> .....	170
<b>Figura 62:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ para <b>P2+P3</b> .....	173
<b>Figura 63:</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT para <b>P2+P3</b> .....	174
<b>Figura 64:</b> Espectros de RMN de $^1\text{H}$ para <b>P14</b> .....	177
<b>Figura 65:</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT para <b>P14</b> .....	178

<b>Figura 66:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ para <b>P11+P12+P13</b> .....	182
<b>Figura 67:</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ e DEPT para <b>P11+P12+P13</b> .....	183
<b>Figura 68:</b> Atividade sequestrante de radicais DPPH do extrato bruto e das frações acetato de etila e metanólica de <i>Palicourea rigida</i> .....	186
<b>Figura 69:</b> Efeito do extrato bruto ( <b>EB</b> ) e das frações metanólica ( <b>FMet</b> ), clorofórmica ( <b>FCI</b> ) e hexânica ( <b>FHex</b> ) das <b>folhas</b> da espécie vegetal <i>Palicourea rigida</i> sobre o edema de orelha induzido pelo óleo de cróton ( <b>C</b> ) em camundongos. A indometacina ( <b>I</b> ) foi utilizada como antiinflamatório de referência (controle positivo) e a acetona 70% utilizada como veículo ( <b>V</b> ) Cada barra representa o peso médio das orelhas $\pm$ E.P.M., 6 h após aplicação de óleo de cróton. As massas indicadas referem-se às concentrações utilizadas de cada amostra (5,0; 2,5 e 1,25 mg/orelha). *P<0,01, comparado ao grupo C (ANOVA seguida do teste de Tukey).	
<b>Obs.</b> a fração acetato não foi avaliada, pois houve dificuldade de solubilização no momento do ensaio.....	189
<b>Figura 70:</b> Efeito do extrato bruto ( <b>EB</b> ) e das frações acetato de etila ( <b>FAc</b> ), metanólica ( <b>FM</b> ), hexânica ( <b>FHex</b> ) e clorofórmica ( <b>FCI</b> ) das <b>flores</b> espécie vegetal <i>Palicourea rigida</i> sobre o edema de orelha induzido pelo óleo de cróton ( <b>C</b> ) em camundongos. A indometacina ( <b>I</b> ) aplicada por via tópica, 1 mg, foi utilizada como antiinflamatório de referência (controle positivo) e a acetona 70% utilizada como veículo ( <b>V</b> ) Cada barra representa o peso médio das orelhas $\pm$ E.P.M., 6 h após aplicação de óleo de cróton. Todas as amostras foram testadas na concentração de 5,0 mg/orelha. *P<0,01, comparado ao grupo C (ANOVA seguida do teste de Tukey).....	191

## Lista de Esquemas

<b>Esquema 1:</b> Procedimento utilizado no fracionamento do extrato bruto das folhas e talos de <i>Palicourea coriacea</i> .....	26
<b>Esquema 2:</b> Procedimento utilizado no estudo da fração hidrometanólica das folhas e talos de <i>Palicourea coriacea</i> .....	28
<b>Esquema 3:</b> Procedimento utilizado no estudo da fração butanólica das folhas e talos de <i>Palicourea coriacea</i> .....	29
<b>Esquema 4:</b> Procedimento utilizado no fracionamento extrato bruto das flores de <i>Palicourea rigida</i> .....	31
<b>Esquema 5:</b> Procedimento utilizado no estudo da fração acetato de etila das flores de <i>Palicourea coriacea</i> .....	32
<b>Esquema 6:</b> Procedimento utilizado no fracionamento do extrato bruto das folhas de <i>Palicourea rigida</i> .....	34
<b>Esquema 7:</b> Procedimento utilizado no estudo da fração PRMM das folhas de <i>Palicourea rigida</i> .....	36
<b>Esquema 8:</b> Procedimento utilizado no estudo da fração PRMA das folhas de <i>Palicourea rigida</i> .....	39
<b>Esquema 9:</b> Procedimento utilizado no estudo da fração acetato de etila das folhas de <i>Palicourea rigida</i> .....	43
<b>Esquema 10:</b> Procedimento utilizado no estudo da fração clorofórmica das folhas de <i>Palicourea rigida</i> .....	50
<b>Esquema 11:</b> Procedimento utilizado no estudo da fração hexânica das folhas de <i>Palicourea rigida</i> .....	54
<b>Esquema 12:</b> Procedimento utilizado no fracionamento do extrato bruto das flores de <i>Palicourea rigida</i> .....	59
<b>Esquema 13:</b> Procedimento utilizado no estudo da fração hidrometanólica das flores de <i>Palicourea rigida</i> .....	60
<b>Esquema 14:</b> Procedimento utilizado no estudo da fração acetato de etila das flores de <i>Palicourea rigida</i> .....	63
<b>Esquema 15:</b> Procedimento utilizado no estudo da fração clorofórmica das flores de <i>Palicourea rigida</i> .....	65

## Lista de Abreviaturas e Símbolos

$\delta$	deslocamento químico (em ppm)
<b>CC</b>	coluna cromatográfica
<b>CCD</b>	cromatografia em camada delgada
<b>CCDP</b>	cromatografia em camada delgada preparativa
<b>CLAE</b>	cromatografia líquida de alta eficiência
<b>IC</b>	concentração inibitória
<b>COSY</b>	correlation spectroscopy; correlação $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$
<b>d</b>	duplete
<b>dd</b>	duplo duplete
<b>ddd</b>	duplete de duplete de duplete
<b>DEPT</b>	distortionless enhancement by polarization transfer
<b>DMSO</b>	dimetilsulfóxido
<b>HMBC</b>	heteronuclear multiple bond coherence
<b>HMQC</b>	heteronuclear multiple quantum coherence
<b>Hz</b>	hertz
<b>IV</b>	infravermelho
<b>J</b>	constante de acoplamento
<b>m</b>	multiplete
<b>MHz</b>	megahertz
<b>NOE</b>	efeito nuclear Overhauser
<b>ppm</b>	parte por milhão
<b>RMN</b>	ressonância magnética nuclear
<b>s</b>	singleto
<b>q</b>	quarteto
<b>td</b>	tripleto de dupletos
<b>UV</b>	ultravioleta
<b>VIS</b>	visível

## 1. Introdução

“Que o teu alimento seja o teu remédio e que o teu remédio seja o teu alimento”

(citação atribuída a Hipócrates; Guia de Plantas, 2005)

A procura na natureza por plantas que curam é apontada na literatura como sendo um ato extremamente antigo. As civilizações Egípcias e Assírias, por exemplo, há cerca de 3500 anos, deixaram legado em hieróglifos de fórmulas vegetais indicando seu emprego terapêutico (Ribeiro, 1992) e Galeno (129-199 a.C.), fundador da Farmácia, também explorou os extratos vegetais para cura de diversos males, divulgando as conhecidas “fórmulas galênicas” (Barreiro, 2001).

Graças aos muitos exploradores em expedições navegantes, a humanidade conheceu ervas, raízes e outras especiarias na forma de chás, essências, corantes e até venenos. São exemplos: o bálsamo de copaíba; o curare em flechas envenenadas; a brazileína: corante oriundo do lenho do pau-brasil (Pinto, 1995); o ópio originado de *Papaver somniferum* (Barreiro, 2001); entre outros que fazem parte de um grande arsenal terapêutico de origem vegetal até hoje indispensável à medicina.

As primeiras substâncias puras do reino vegetal foram isoladas no século XVIII, como a morfina e a estriquinina, e após séculos de empenho de pesquisadores em diferentes áreas, de contribuições provenientes do emprego de carbono  $^{14}\text{C}$ , de investigações biossintéticas e da introdução de métodos espectroscópicos e cromatográficos (Pinto, 2002), os estudos das substâncias naturais expandiram, aliados às ciências químicas, biológicas e farmacêuticas. Por meio destes, hoje é possível orientar a população dependente da medicina caseira no uso correto de produtos naturais, validar plantas medicinais como fitoterápicos, elucidar as substâncias ativas para obtenção de fármacos, dar suporte à classificação botânica das espécies vegetais e, ainda, fornecer modelos para síntese.

Neste contexto, o Grupo de Pesquisa em Síntese Orgânica e Produtos Naturais do Departamento de Química (DQI/UEM) e do Instituto de Química da

Universidade Federal de Goiânia (IQ/UFG), em conjunto com pesquisadores das áreas de Botânica e Farmacologia da UEM, vêm consolidando a investigação de espécies vegetais, com o intuito de ampliar o estudo químico e biológico de algumas plantas e qualificar a utilização das mesmas, já que várias espécies ainda são utilizadas na forma de chás pela população.

Especificamente as espécies vegetais *Palicourea rigida* e *Palicourea coriacea* investigadas neste trabalho têm ampla aceitação popular como diurético e, especificamente a *Palicourea coriacea*, já é comercializada em lojas de produtos naturais na região de Goiânia-GO. Assim, este trabalho ampliará o conhecimento do perfil químico e biológico das espécies citadas.

### **1.1. A família Rubiaceae**

A família Rubiaceae tem as regiões tropicais de clima quente como os principais centros de dispersão (Barroso *et al.*, 1991) e é constituída por 4 subfamílias, 44 tribos, cerca de 637 gêneros e aproximadamente 10.700 espécies (Robbrecht, 1988), sendo que a América do Sul apresenta aproximadamente 1200 espécies.

Bolzani e colaboradores (2001) citam que esta família está distribuída nos principais ecossistemas do Brasil: Amazônia, Cerrado e Floresta Atlântica, e que no país há muitas plantas que não foram estudadas, inclusive um grande número de espécies de Rubiaceae que ainda permanecem sem qualquer estudo químico e biológico.

A importância da família foi descrita por Coelho e colaboradores (2006) em um estudo com as folhas de *Tocoyena formosa*:

“Rubiaceae possui espécies de grande importância econômica, que são exploradas como alimentícias (*Coffea arabica* L. e *Genipa americana* L.), ornamentais (*Ixora* spp., *Mussaenda* spp., *Gardênia* spp. etc.), e também na indústria farmacêutica, como por exemplo, *Cinchona pubescens* Vahl., produtora de quinina, empregada no tratamento da malária. Além disso, várias espécies são



referidas popularmente como medicinais e/ou tóxicas, dentre as quais destacam-se *Coutarea hexandra* (Jacq.) K. Schum. E diversas espécies dos gêneros *Borreria*, *Cinchona*, *Richardia*, como medicinais; *Palicourea* e *Psychotria*, popularmente conhecidas como “mata-ratos”, que são consideradas venenosas.”

Young e colaboradores (1996) descrevem as Rubiaceas como uma das maiores famílias entre as Angiospermas e que têm sido alvo de classificações em diferentes subfamílias e tribos baseadas essencialmente em parâmetros morfológicos. Segundo esses autores, foi Robbrecht (1988) quem introduziu outras características como placentação, morfologia e anatomia dos frutos e sementes para dividir o grupo Rubiaceae em quatro subfamílias: Ixoroideae, Cinchonoideae, Antirheoideae e Rubioideae.

Tendo em vista trabalhos anteriores (Cardoso *et al.*, 2008; Lopes *et al.*, 2004; Bolzani *et al.*, 2001) a elucidação do perfil químico das espécies vegetais vêm se tornando crucial para auxiliar o posicionamento dos gêneros em suas tribos e subfamílias e embasar a classificação taxonômica proposta por Robbrecht; afinal, como citam esses estudiosos, o uso puramente dos parâmetros morfo-anatômicos na classificação vegetal é problemático diante da falta de informação sobre a distribuição geográfica e sobre as próprias características morfo-anatômicas das espécies vegetais.

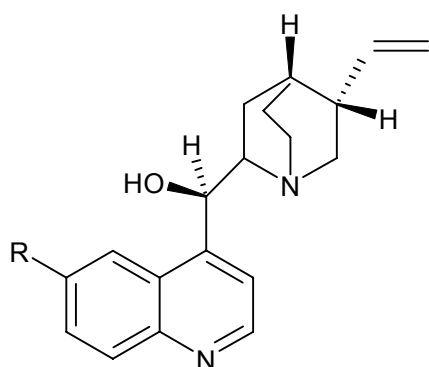
Neste contexto, são vários os estudos quimiotaxonômicos na família Rubiaceae encontrados na literatura, como por exemplo:

- (i) Inouye *et al.* (1988): sobre a presença marcante de iridóides glicosilados em plantas da família Rubiaceae;
- (ii) Young *et al.* (1996): sobre a notável distinção dos perfis químicos para as subfamílias, como a Ixoroideae que contém exclusivamente iridóides; a Cinchonoideae na qual são encontrados geralmente os alcalóides indólicos e a Rubioideae que contém predominantemente antraquinonas;

- (iii) Bolzani *et al.* (2001): sobre o isolamento de iridóides, derivados fenólicos, alcalóides e triterpenos em rubiáceas brasileiras; bem como de compostos antifúngicos nos gêneros *Alibertia*, *Tocoyena*, *Chiococca*, *Uncaria*, *Chimarris*, *Palicourea* e *Rudgea*.
- (iv) Lopes *et al.* (2004): sobre espécies brasileiras do gênero *Psychotria*, *Rudgea* e *Palicourea*, cujos resultados reforçam a hipótese de que *Psychotria* e *Palicourea* poderiam ser unidas para formar o gênero *Heteropsychotria* devido à presença do iridóide loganina em *Palicourea rigida* e a produção de alcalóides polindólicos e/ou indólicos monoterpênicos glicosilados em ambos os gêneros, sugerindo, assim, o uso da mesma rota biossintética: a condensação da triptamina com a secologanina;

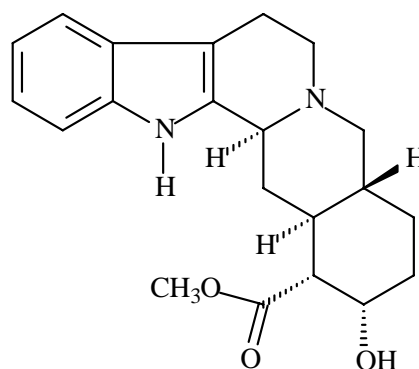
No nosso grupo de pesquisa uma série de espécies vegetais da família Rubiaceae já teve seu perfil químico investigado, como por exemplo: *Cephalantus grabatus* (Jorge, 2005); *Chomelia obtusa* (Barros *et al.*, 2008); *Coussarea plathyphylla* (Vieira, 2008); *Galianthe brasiliensis* (Moura *et al.*, 2006); *Machaonia brasiliensis* (Santos *et al.*, 2004); *Guettarda pohliana* (Oliveira *et al.*, 2008); *Palicourea crocea* (Dusman *et al.*, 2004); *Randia hebecarpa* (Nazari *et al.*, 2006). Nestes estudos foram isolados terpenos, esteróides, saponinas, flavonóides, derivados do ácido clorogênico, iridóides e alcalóides, que revelam a grande diversidade de metabólitos secundários na família.

Uma vez que a família Rubiaceae é conhecida pela produção de alcalóides, iridóides e antraquinonas, marcadores quimiotaxonômicos da família (Young *et al.*, 1996), a presença destas classes implica em uma grande variedade de atividades biológicas (Anexo 2). É o caso dos alcalóides antimaláricos (cinconidina e quinina) isolados de *Cinchona ledgeriana* (Robbers, 1997); alcalóides indólicos de ação vasodilatadora, como a ioimbina de *Corynanthe yohimbe* (Schripsema *et al.*, 2004) e metilxantinas estimulantes do sistema nervoso central como a cafeína, característica do gênero *Coffea* (Simões, 2003).

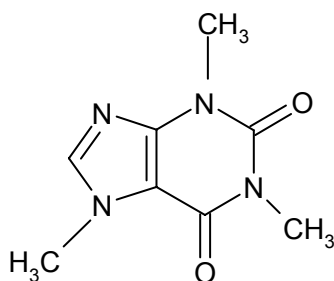


R=H (cinconidina)

R=OCH<sub>3</sub> (quinina)

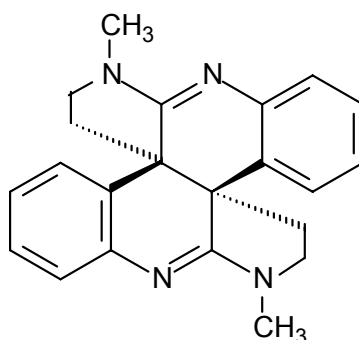


ioimbina



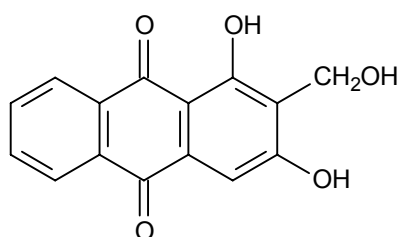
cafeína

As espécies do gênero *Psychotria* também são bastante conhecidas na família, principalmente pela produção de alcalóides. Das folhas de *Psychotria forsteriana*, por exemplo, foram isolados alcalóides poliindólicos que demonstraram potente citotoxicidade contra células de “hepatoma” (HTC) em culturas de ratos (Roth, A. *et al.*, 1986). No estudo de *Psychotria colorata* (Verotta *et al.*, 1998), o extrato alcaloidal apresentou atividade analgésica e presença de compostos pirrolidínicos como o (8-8a),(8'-8'a)-tetraidroisocalicantina 3a(R),3'a(R).

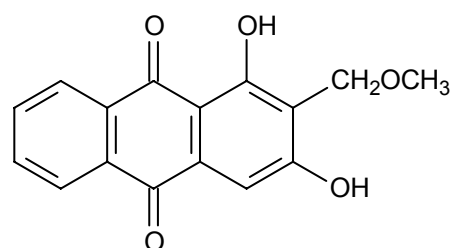


(8-8a),(8'-8'a)-tetradeidroisocalicantina  
3a(R),3'a(R)

Na família Rubiaceae ainda há espécies cujos constituintes são mutagênicos, como relatado por Kawasaki e colaboradores (1992) numa investigação com a espécie vegetal *Rubia tinctorum*. Desta planta foram isoladas as antraquinonas lucidina e 1-metoxi-metil-antraquinona, entre várias outras, que apresentaram potente atividade mutagênica para certas linhagens de *Salmonella typhimurium*. Os autores concluíram que o uso medicinal de extratos de algumas rubiáceas, como estes da *Rubia* que têm uso comercial como corantes alimentícios, deveria ser reexaminado uma vez que pode existir risco carcinogênico.



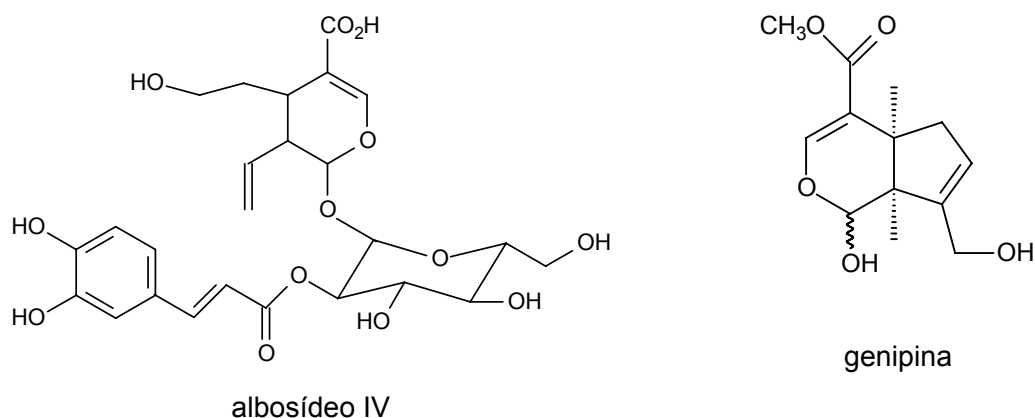
lucidina



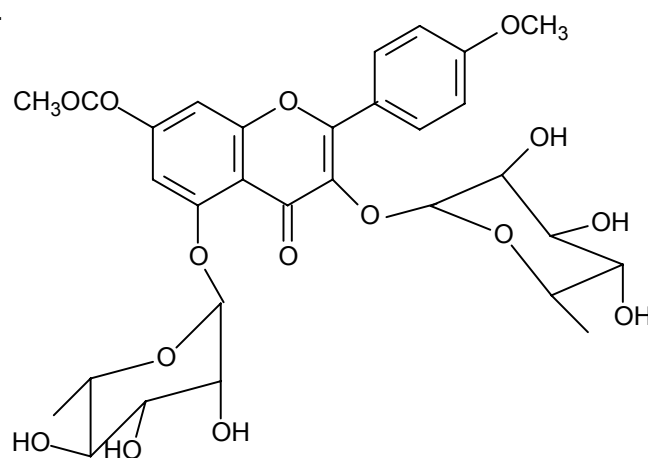
1-metoxi-metil-antraquinona

No estudo com a espécie *Chiococca alba* o iridóide isolado albosídeo IV indicou potencial antitumoral contra o mutante RS321 de *Saccharomyces cerevisiae* (Bolzani *et al.*, 2001). Um outro iridóide que tem destaque em rubiácea, e que foi intensamente utilizado pelos índios como corante preto em tatuagens, é

a genipina. Este composto incolor foi isolado de *Genipa americana* e produz a coloração preta após reagir com as proteínas da pele (Pinto, 1995).

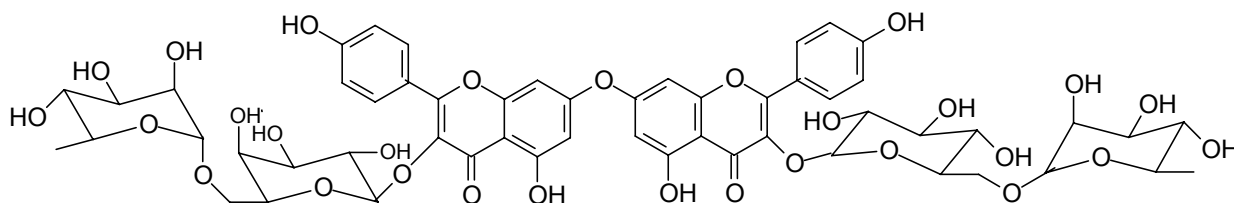


Ainda no gênero *Chiococca*, porém na espécie *Chiococca branquiata*, também foi isolado o flavonol 4'-metoxicanferol-7-(acetiloxi)-3,5-O- $\alpha$ -L-ramnosídeo (Lopes *et al.*, 2004).



4'-metoxicanferol-7-(acetiloxi)-3,5-O- $\alpha$ -L-ramnosídeo

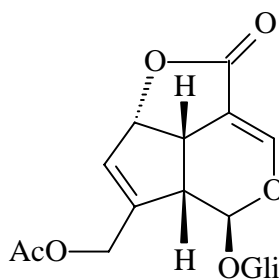
Outros flavonóides glicosilados, derivados do canferol, da quercetina e da catequina, também foram isolados das folhas de *Chimarris turbinata*, sendo que alguns deles apresentaram forte atividade antioxidante (Cardoso *et al.*, 2005). No estudo desta espécie, porém, o destaque ficou para o biflavonol denominado chimarrosideo.



Chimarrosídeo

## 1.2. A subfamília Rubioideae

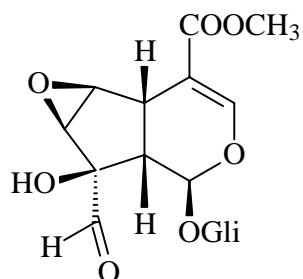
Em pesquisa na literatura sobre a subfamília Rubioideae, os iridóides glicosilados foram os metabólitos que mais se destacaram. Nesta subfamília, o asperulosídeo foi encontrado em várias espécies vegetais investigadas, como por exemplo, em *Borreria verticillata* (Vieira *et al.*, 1999); *Galianthe brasiliensis* (Moura *et al.*, 2006), *Putoria calabrica* (Tundis *et al.*, 2002) e *Lasianthus wallichii* (Takeda *et al.*, 2002). Os derivados de asperulosídeo também aparecem em algumas destas espécies.



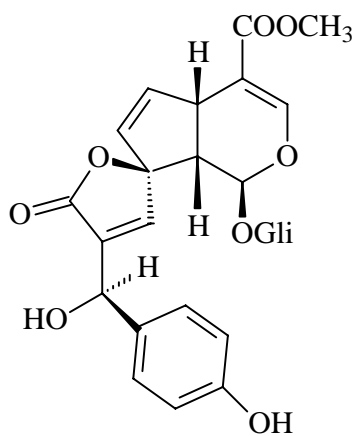
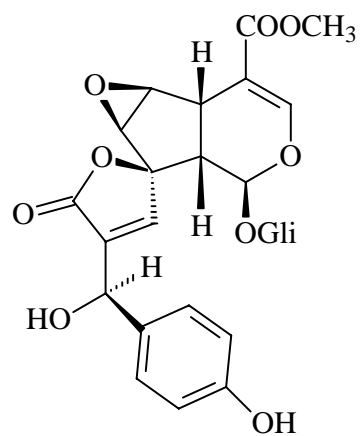
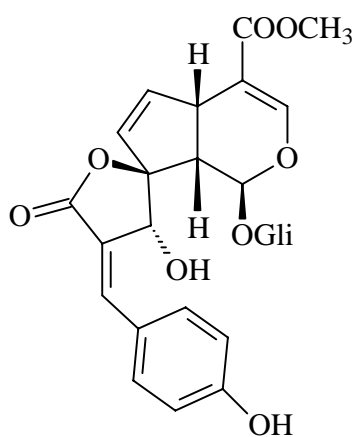
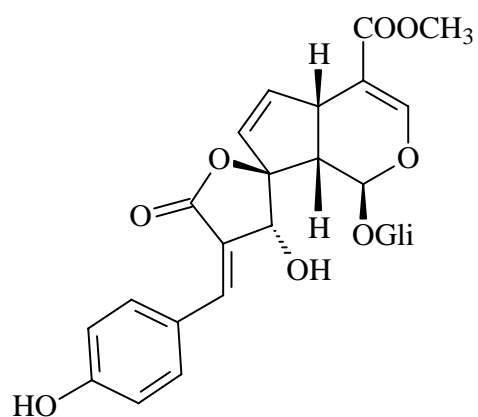
asperulosídeo

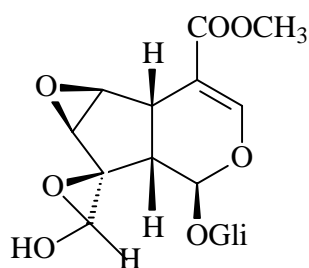
Outros iridóides chamam atenção em *Pentas lanceolata* (Shripsema *et al.*, 2007). No trabalho realizado com esta espécie, o autor destaca que em 1897 *Pentas* pertencia à subfamília Cinchonoideae, porém em 1958 foi transferida para a subfamília Rubioideae por Verdcourt, onde permanece até hoje. Os iridóides

isolados foram o tudosideo, 13*R*-*epi*-gaertnerosideo, 13*R*-*epi*-epoxigaertnerosideo, a mistura *E*-uenfosideo e *Z*-uenfosideo e epímeros de citrifolinina.

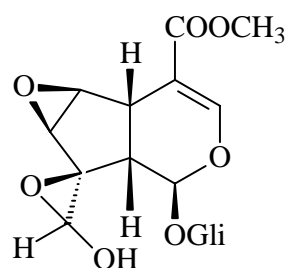


tudosideo

13*R*-*epi*-gaertnerosideo13*R*-*epi*-epoxigaertnerosideo*E*-uenfosideo*Z*-uenfosideo

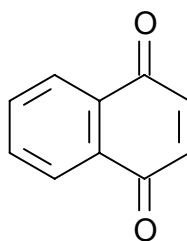


citrifolinina  
(epímero a)



citrifolinina  
(epímero B)

Oliveira e colaboradores (2007) ainda citam que as antraquinonas e naftoquinonas são metabólitos que caracterizam quimicamente a subfamília Rubioideae e descrevem o isolamento de 1,4-naftohidroquinona em suspensões celulares de *Rudgea jasminoides*.



1,4-naftohidroquinona

### 1.3. O gênero *Palicourea*

O gênero *Palicourea* inclui aproximadamente 230 espécies dispersas em grande extensão na América do Sul e, especificamente no Brasil, no Cerrado (Nascimento *et al.*, 2005) e Amazônia, podendo se apresentar como arbustos e árvores de pequeno porte.

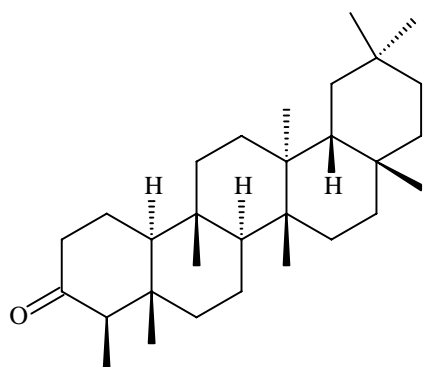
Os estudos fitoquímicos realizados com espécies de *Palicourea* registram o isolamento de uma grande variedade de classes metabólicas, como por exemplo: cumarinas, ácidos benzóicos, terpenóides, alcalóides, entre outras, destacadas na

**Tabela 1.**

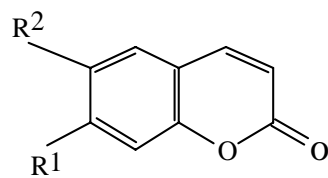


**Tabela 1: Compostos isolados em algumas espécies do gênero *Palicourea*.**

<b>Classe</b>	<b>Espécie Vegetal</b>	<b>Referência</b>
<b>Compostos</b>		
<b>Terpeno</b>		
3-friedelanona (1)	<i>P. demissa</i>	El-Seedi; 1999
<b>Cumarinas</b>		
escopoletina (2) isoescopoletina (3) umbeliferona (4)	<i>P. demissa</i>	El-Seedi; 1999
<b>Alcalóides</b>		
calicantina (5)	<i>P. alpina</i> <i>P. fendlerii</i>	Woo-Ming <i>et al.</i> , 1975 Nakano <i>et al.</i> , 1976
chimonantina (6)	<i>P. domingensis</i> <i>P. fendlerii</i>	Ripperger, 1982 Nakano <i>et al.</i> , 1976
croceaina A (7) croceaina B (8)	<i>P. crocea</i>	Dusman <i>et al.</i> , 2004
lialosídeo (9) tetra-(O)-acetil-lialosídeo (10) (E)-O-(6')-cinamoil-4''-hidróxi-3''- metoxi-lialosídeo (11) (E)-tetra-(O-acetil)-O-(6')-cinamoil- 4''-hidróxi-3''-metoxi-lialosídeo (12) (E)-O-(6')-cinamoil-4''-hidróxi-3'',5''- dimetoxi-lialosídeo (13) (E)-tetra-(O-acetil)-O-(6')-cinamoil- 4''-hidróxi-3'',5''-dimetoxi-lialosídeo (14)	<i>P. adusta</i>	Valverde <i>et al.</i> , 1999.
2-metiltetraidro- $\beta$ -carbolina (15)	<i>P. marcgravii</i>	Kemmerling, 1996.
palicosídeo (16)	<i>P. marcgravii</i>	Morita <i>et al.</i> , 1989
<b>Outros</b>		
N-metiltiramina (17)	<i>P. marcgravii</i>	Kemmerling, 1996.
palicoureína (18)	<i>P. condensata</i>	Bokesch <i>et al.</i> , 2001
vomifoliol (19)	<i>P. alpina</i>	Stuart <i>et al.</i> , 1975



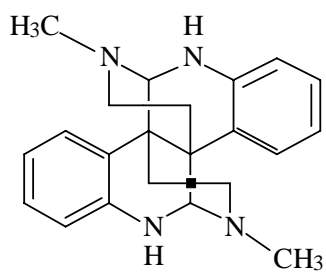
(1)



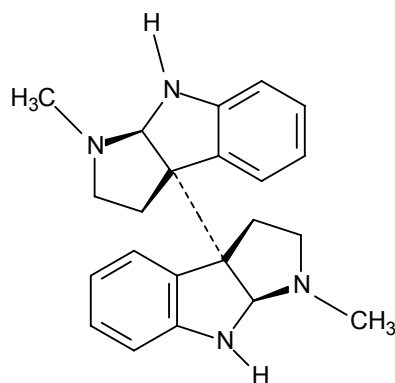
$R^1=OH$ ;  $R^2=OCH_3$  (2)

$R^1=OCH_3$ ;  $R^2=OH$  (3)

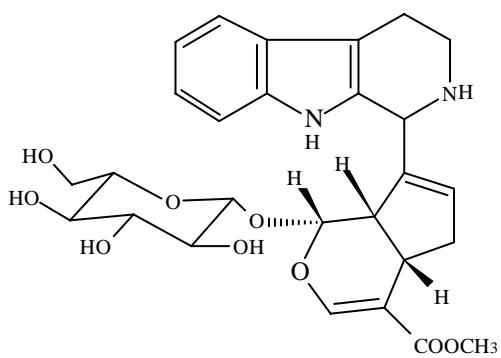
$R^1=OH$ ;  $R^2=H$  (4)



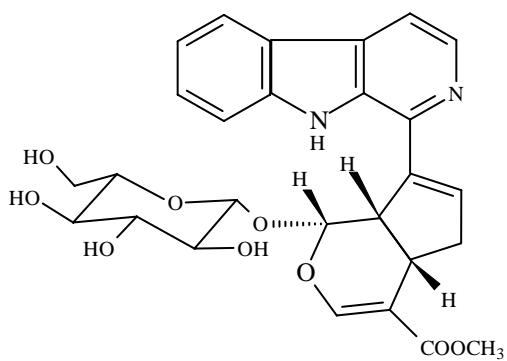
(5)



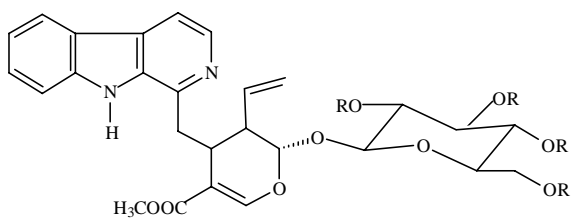
(6)



(7)

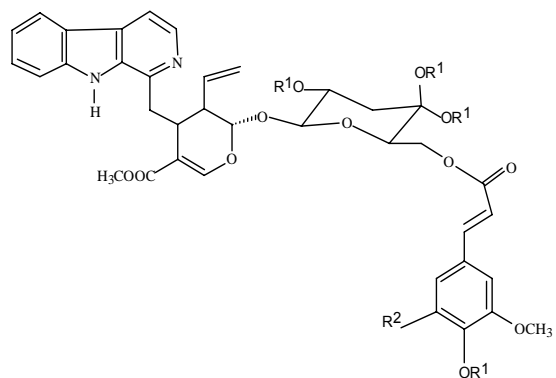


(8)



$\text{R}=\text{H}$  (9)

$\text{R}=\text{Ac}$  (10)

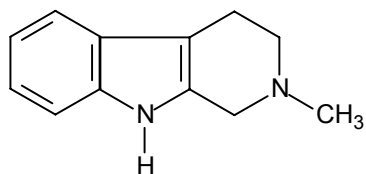


$\text{R}^1; \text{R}^2=\text{H}$  (11)

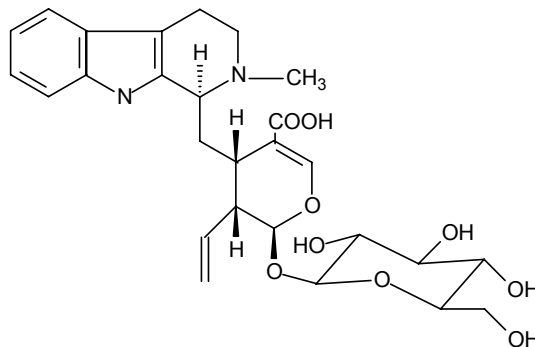
$\text{R}^1=\text{Ac}; \text{R}^2=\text{H}$  (12)

$\text{R}^1=\text{H}; \text{R}^2=\text{OCH}_3$  (13)

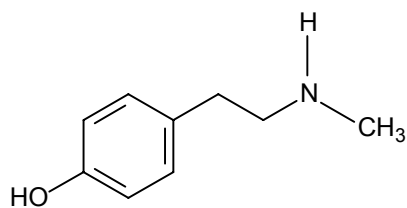
$\text{R}^1=\text{Ac}; \text{R}^2=\text{OCH}_3$  (14)



(15)



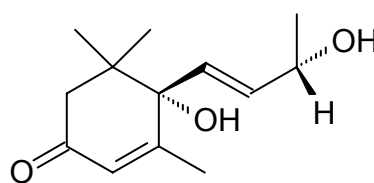
(16)



(17)



(18)



(19)

Com relação às atividades biológicas do gênero *Palicourea*, a literatura aponta que um número significativo de plantas deste gênero apresenta potencial citotóxico de seus extratos e frações (Cragg *et al.*; 2006).

Algumas espécies também ficaram conhecidas por serem tóxicas para o gado, como a *Palicourea corymbifera*, *Palicourea marcgravii*, *Palicourea grandiflora* e *Palicourea juruana* (Assis *et al.*, 2006). Kemmerling (1996) atribuiu o efeito da toxicidade de *Palicourea marcgravii* aos fluoracetatos e aos compostos N-metiltiramina (**17**) e 2-metiltetraidro- $\beta$ -carbolina (**15**) isolados desta planta.

Além disso, um estudo sobre a atividade moluscicida de algumas espécies vegetais da flora brasileira, demonstrou que a espécie *Palicourea nicotianaefolia* apresentou ação moluscicida contra caramujos de *Biomphalaria glabrata* na concentração de 100 ppm (Mendes *et al.*, 1984).

Já em investigação com *Palicourea condensata*, o peptídeo palicoureína (**18**) isolado da espécie inibiu os efeitos citopáticos causados pelo vírus HIV (Bokesch *et al.*, 2001); enquanto que o extrato bruto de *Palicourea demissa* demonstrou atividade antiinflamatória e antiviral.

Na literatura também podem ser encontradas uma série de investigações com Palicoureas, porém mais direcionadas à área de pesquisa em biologia já que exploram o fluxo de pólen em *Palicourea fendleri* (Bosque *et al.*, 2003); conflitos reprodutivos em *Palicourea padifolia* (Contreras *et al.*, 1999), entre outros.

Neste contexto, o gênero *Palicourea* evidenciou ter um amplo espectro de atividades biológicas, sendo este um dos motivos que despertou o interesse pelo estudo das espécies vegetais *Palicourea rigida* e *Palicourea coriacea* descritas a seguir.

#### 1.4. A espécie vegetal *Palicourea rigida*

A planta *Palicourea rigida* é caracterizada como uma árvore típica de regiões de cerrado e pode ser encontrada desde o México até a Argentina. Apresenta flores amarelas, é conhecida como gritadeira ou douradão e as partes aéreas da planta tem uso na medicina popular para o tratamento de desordens urinárias (Bolzani *et al.*, 1992; Vencato *et al.*, 2006).



**Figura 1:** Foto da espécie vegetal *Palicourea rigida*.

A classificação botânica para *Palicourea*, segundo Engler (1964), é apresentada na **Tabela 2**.

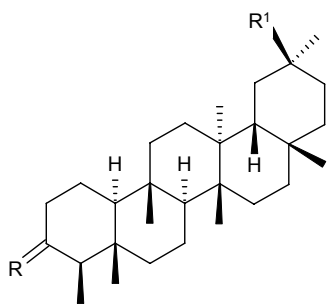
**Tabela 2: Classificação botânica de *Palicourea rigida*.**

Classificação	
Divisão	Angiosperma
Classe	Dicotiledônea
Ordem	Gentianales
Família	Rubiaceae
Subfamília	Rubioideae
Tribo	Psychotrieae
Gênero	<i>Palicourea</i>
Espécie	<i>Palicourea rigida</i>


Para a espécie, há relatos na literatura de isolamento de triterpenos, iridóide e alcalóide indólico como descritos na **Tabela 3**.

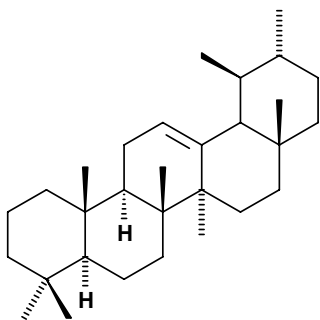
**Tabela 3: Compostos isolados na espécie *Palicourea rigida*.**

Composto	Referência
3-friedelanona (1) 30-hidroxifriedelan-3-ona (20) 3 $\beta$ -hidroxifriedelanona (21) $\alpha$ -amirina (22) $\beta$ -amirina (23) estigmasterol (24) estigmastenona (25) 3 $\beta$ -D-glicose-sitosterol (26) lupeol (27)	Bolzani <i>et al.</i> , 1992
loganina (28)	Lopes <i>et al.</i> ; 2004
vallesiachotamina (29)	Vencato <i>et al.</i> ; 2006

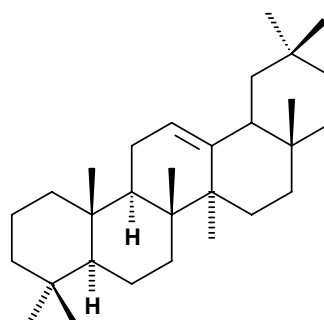


R=O; R<sup>1</sup>=CH<sub>2</sub>OH (20)

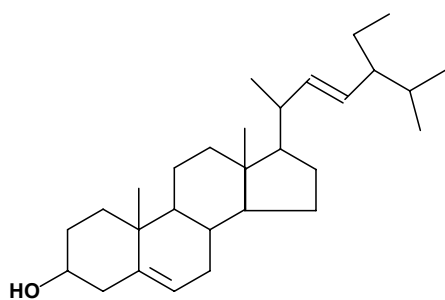
R=  ; R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub> (21)



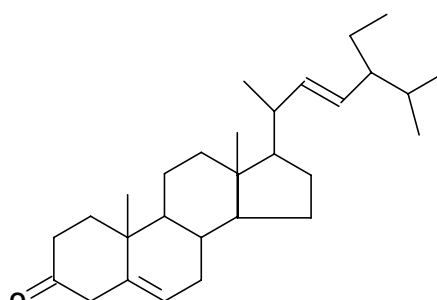
(22)



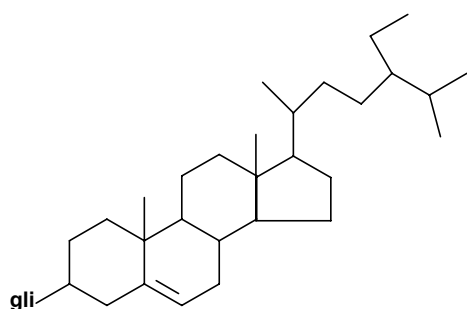
(23)



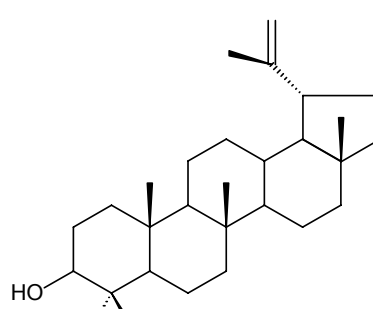
(24)



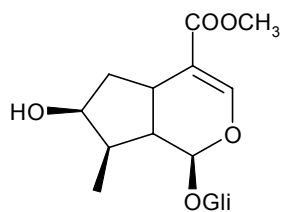
(25)



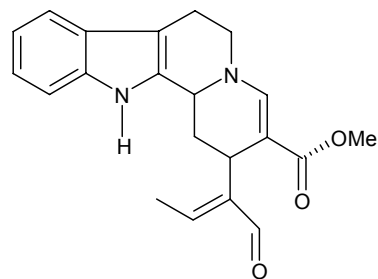
(26)



(27)



(28)



(29)

Alguns ensaios biológicos realizados em *P. rigida* já foram citados na literatura, como a atividade antimicrobiana (Silva *et al.*; 2005; Correa *et al.*; 2005) e a atividade citotóxica. Destacando esta última, o extrato bruto e a fração básica acetato de etila das folhas de *P. rigida* exibiram relevante atividade contra as células de melanoma humano SK MEL 37, sendo que o alcalóide vallesiachotamina (30) foi sugerido ser o responsável por essa atividade com valores de IC<sub>50</sub> de 16 µg/mL (Silva *et al.*, 2006).



### 1.5. A espécie vegetal *Palicourea coriacea*

*Palicourea coriacea* é uma planta conhecida popularmente como douradinha e comumente utilizada na medicina tradicional como diurético e no tratamento de cálculo renal (Gomes *et al.*, 2005).

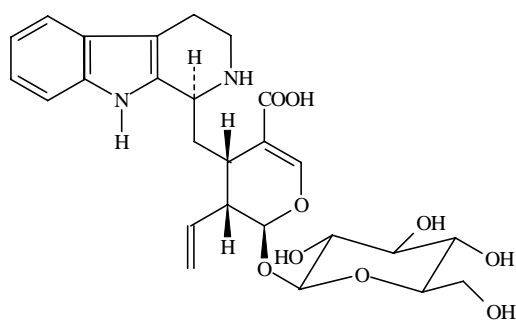


**Figura 2:** Foto da espécie vegetal *Palicourea coriacea*.

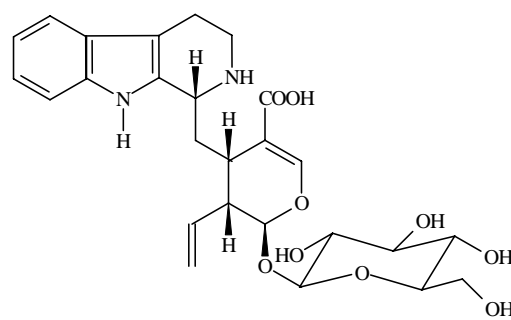
A classificação botânica para a espécie é semelhante à mencionada anteriormente e desta já foram isolados metabólitos alcaloídicos e terpenóides, bem como esteróides e derivados de ácidos benzóico e cinâmico, representados a seguir.

Tabela 4: Compostos isolados na espécie *Palicourea coriacea*.

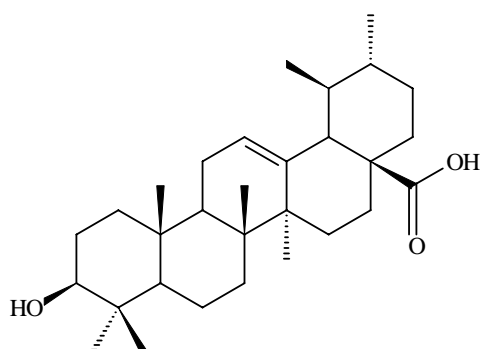
Composto	Referência
ácido strictosidínico (30) ácido 3-epi-strictosidínico (31)	Nascimento <i>et al.</i> ; 2006
calicantina (5) ácido ursólico (32) campesterol (33) estigmasterol (24) sitosterol (34)	Gomes <i>et al.</i> ; 2005
ácido (E)-3,4,5-trimetoxicinâmico (35) ácido (E) 3,4-dimetoxicinâmico (36) ácido (E) 4-metoxicinâmico (37) ácido 3,4,5-trimetóxi-benzóico (38) 4-metóxi-benzoato de metila (39) (E) 4-metoxicinamato de metila (40) (Z) 4-metoxicinamato de metila (41)	Silva <i>et al.</i> ; 2008
ácido 4'-O-3''-sucrose-strictosidínico (42)	Nascimento <i>et al.</i> ; 2008



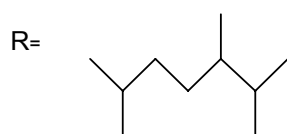
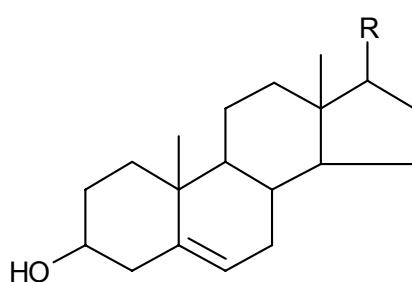
(30)



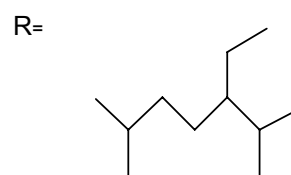
(31)



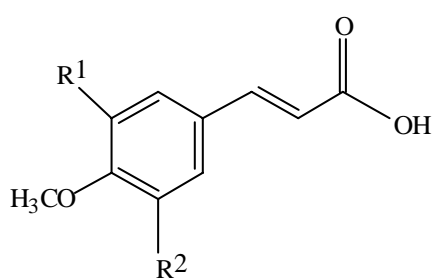
(32)



(33)



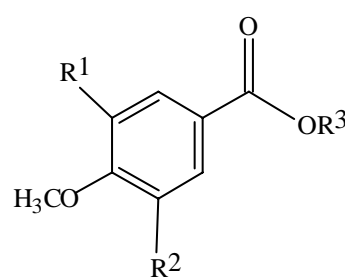
(34)



$R^1=R^2=\text{OCH}_3$  (35)

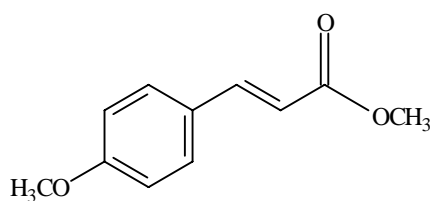
$R^1=\text{H}; R^2=\text{OCH}_3$  (36)

$R^1=R^2=\text{H}$  (37)

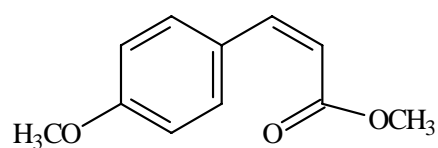


$R^1=R^2=\text{OCH}_3; R^3=\text{H}$  (38)

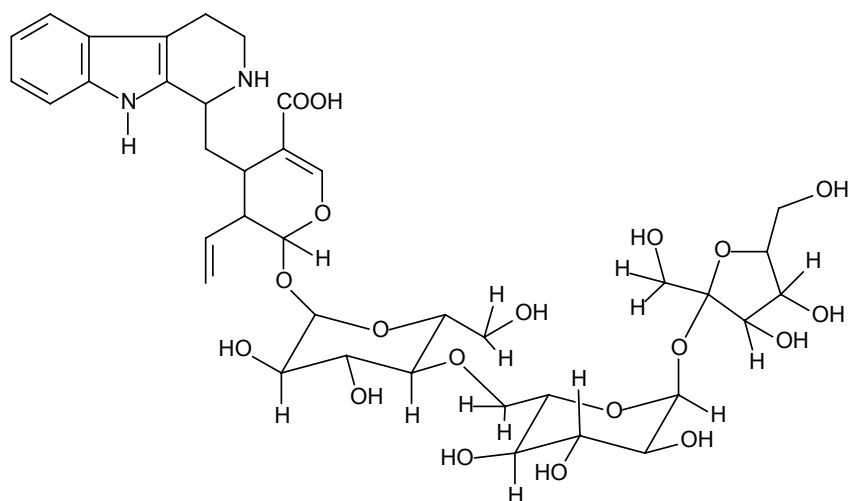
$R^1=R^2=\text{H}; R^3=\text{OCH}_3$  (39)



(40)



(41)



(42)

Na literatura há relato de que o extrato bruto de *Palicourea coriacea* demonstrou ser atóxico para camundongos Swiss machos (Pereira *et al.*; 2006). Em estudos anteriores sobre a atividade antimicrobiana realizada com esta espécie, o ácido ursólico (21) foi considerado altamente ativo contra a bactéria gram positiva *Micrococcus luteus* (Kato *et al.*; 2006).

## 2. Objetivos

Considerando que as espécies do gênero *Palicourea* são farmacologicamente potentes e que não há estudo químico referente às flores de *Palicourea rigida*, este trabalho tem como objetivo dar continuidade ao isolamento e identificação estrutural dos principais metabólitos secundários presentes nos extratos de *P. rigida* e *P. coriacea* e, neste contexto, investigar a possível ocorrência de marcadores quimiotaxonômicos no gênero. É pretendido, também, avaliar o potencial moluscicida, antioxidante e antiinflamatório de extratos e frações de *P. rigida*.

### 3. Parte Experimental

Neste item serão apresentados os procedimentos experimentais realizados no estudo químico das espécies vegetais *Palicourea rigida* e *Palicourea coriacea* e no estudo farmacológico de *Palicourea rigida*.

#### 3.1. Materiais e métodos

Para a elucidação estrutural dos compostos isolados, foram utilizados os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  que foram obtidos em espectrômetro Mercury Plus da Varian operando a 300 MHz para  $^1\text{H}$  e 75,45 MHz para  $^{13}\text{C}$ . Os deslocamentos químicos foram dados em ppm, tendo como referência interna o tetrametilsilano ( $\delta = 0,0$  ppm). Os solventes deuterados utilizados foram  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{CDCl}_3$  e  $\text{CD}_3\text{OD}$ , Aldrich ou Isotec.

Analogamente, foram obtidos espectros pela técnica DEPT e as correlações bidimensionais foram confirmadas com o auxílio dos mapas de contornos COSY, HMQC e HMBC. A detecção de Efeito Nuclear Overhauser (NOE) entre prótons foi verificado através dos espectros NOEDIF.

No processo de separação dos componentes de extratos e frações foram utilizadas colunas cromatográficas de vidro com fase estacionária de sílica-gel 60 (70-230 mesh) da Merck ou Fluka. As fases estacionárias utilizadas foram de Sílica-gel, Sílica-C18, Sephadex LH-20 e Resina Diaion HP 20S. O acompanhamento das cromatografias em coluna foi feito através de cromatografia em camada delgada (CCD), sendo que as placas cromatográficas de vidro (5,0 x 20,0 cm ou 20,0 x 20,0 cm) foram preparadas com fase estacionária sílica-gel 60 G e sílica-gel 60 GF, com 0,25 mm de espessura (ou 1,0 mm para cromatografia em camada delegada preparativa ou CDDP).

Os espectros de absorção no I.V. foram registrados em espectrofotômetro FTIR-BOMEM Hatmann & Braun Série MB-100; o ensaio para avaliação da atividade antioxidante foi realizado no espectrofotômetro da Varian Casy 50 Bio

UV-Visible (cubeta quartzo) à  $\lambda=515\text{nm}$  e para a determinação dos compostos fenólicos foi utilizado o espectrofotômetro B 380 da Micronal à  $\lambda=725\text{nm}$ .

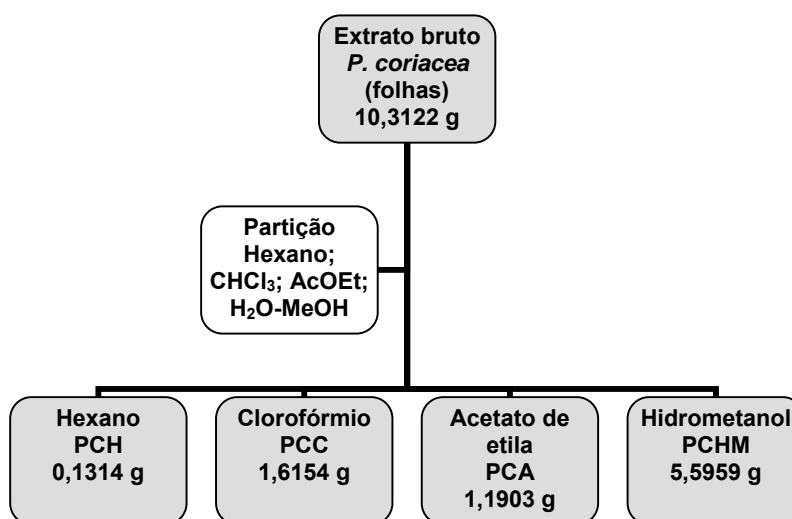
O cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) empregado foi da Waters-600 com detector de fotodiodo Waters 2996, coluna cromatográfica de guarda 2PK  $\mu\text{Bondapak}^{\text{TM}}$  ( $10\mu\text{m}$ ;  $3,9 \times 20 \text{ mm}$ ) e colunas cromatográficas analítica Waters C-18 ( $10\mu\text{m}$ ;  $125^{\circ}\text{A}$ ;  $3,9 \times 300 \text{ mm}$ ) e semi-preparativa Waters S10 C8 ( $10 \times 250 \text{ mm}$ ).

As substâncias separadas nas placas cromatográficas foram visualizadas através do uso do revelador anisaldeído para terpenos e Dragendorff para alcalóides. Os solventes orgânicos (hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol), utilizados como eluentes nas cromatografias, apresentavam grau de pureza P.A. ou foram destilados. O processo de evaporação de solventes foi realizado à pressão reduzida em evaporador rotativo.

### 3.2. Estudo químico das folhas e talos de *Palicourea coriacea*

#### 3.2.1. Coleta, obtenção do extrato bruto e fracionamento das folhas e talos.

As folhas, misturadas aos talos, da planta *Palicourea coriacea* foram adquiridas em loja comercial da cidade de Goiânia sob o rótulo de lote: 00012 (Douradinha; Talos e Folhas; 50 g; Casa de Raízes; Importadora e Exportadora Guriri LTDA; Av. Bota Fogo, Qd.47, Lt.11, St. Pedro Ludovico; Goiânia Goiás; 3242-0116). O material vegetal foi moído e, em seguida, submetido à extração exaustiva em metanol. Após eliminação do solvente em rotaevaporador, parte do extrato bruto (m=10,3122g) foi solubilizado em metanol:água (1:1) e particionado em hexano, clorofórmio e acetato de etila, resultando nas frações: hexano (260mL; 0,1314 g; **PCH**), clorofórmio (390mL; 1,6154g; **PCC**); acetato de etila (450 mL; 1,1903g; **PCA**) e hidrometanólica remanescente (5,5959g; **PCHM**), conforme **Esquema 1**. Todas as frações foram estudadas, porém apenas as que conduziram ao isolamento de compostos estão descritas a seguir.



**Esquema 1:** Procedimento utilizado no fracionamento do extrato bruto das folhas e talos de *Palicourea coriacea*.

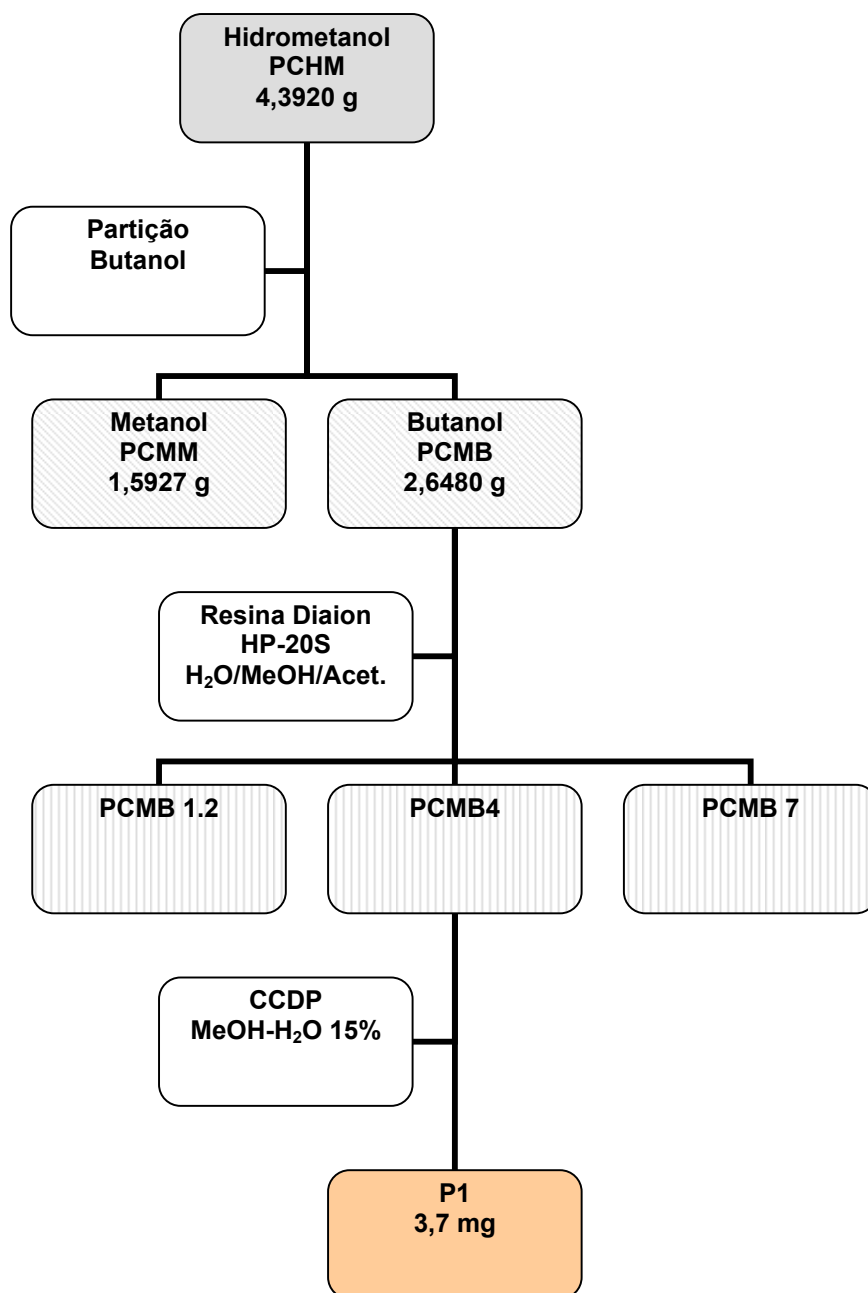


### 3.2.2. Estudo da fração PCHM

Inicialmente, a fração PCHM foi analisada em CCD com reagente Dragendorff (eluente acetato de etila-metanol 20%) e revelou a presença de alcalóides. Parte da fração (4,3920 g) foi solubilizada em metanol:água (1:1) e submetida a uma nova partição com butanol (200 mL). Parte da fração butanólica (239,8 mg), codificada como PCMB, foi submetida a uma filtração em resina HP-20S, conforme **Tabela 5**. A fração 4 (88,6 mg) mostrou mancha de coloração laranja, após revelação da placa de CCD com o reagente de Dragendorf, e foi submetida a uma CCDP com o eluente metanol:água15%. Este procedimento conduziu ao isolamento do composto codificado como **P1**, conforme **Esquema 2**.

**Tabela 5: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PCMB.**

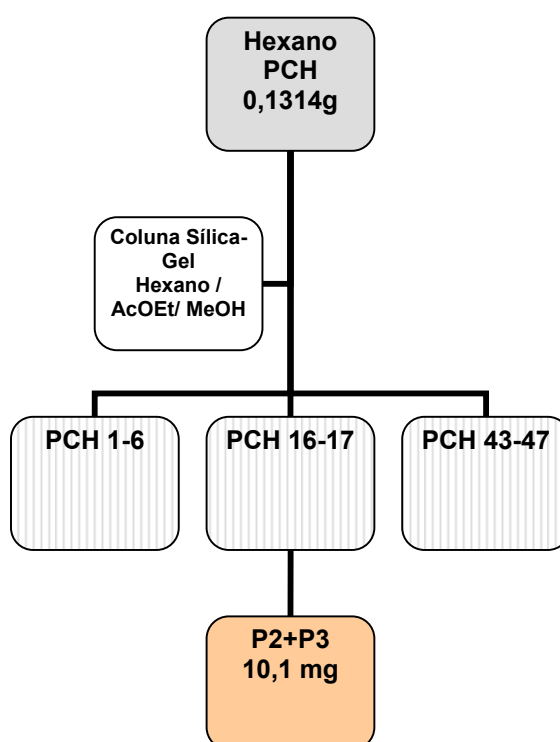
<b>Frações</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Eluente</b>	<b>Composto isolado</b>
1-2	15	Água	
3	9	Metanol-Água (1:1)	
4	9	Metanol	<b>PCMB 4</b> <b>P1</b>
5-6	9	Metanol-Acetona (1:1)	
7	9	Acetona	



**Esquema 2:** Procedimento utilizado no estudo da fração hidrometanólica das folhas e talos de *Palicourea coriacea*.

### 3.2.3. Estudo da fração PCH

A fração hexânica PCH de *P. coriacea* (0,1314 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica de sílica-gel ( $\theta = 1,5$  cm) eluída com os solventes hexano, acetato de etila e metanol em gradiente de polaridade, resultando em 47 frações que foram reunidas após análise em CCD (**Tabela 6**). O tratamento destinado à fração PCH está representado no **Esquema 3**.



**Esquema 3:** Procedimento utilizado no estudo da fração hexânica das folhas e talos de *Palicourea coriacea*.

**Tabela 6: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PCH.**

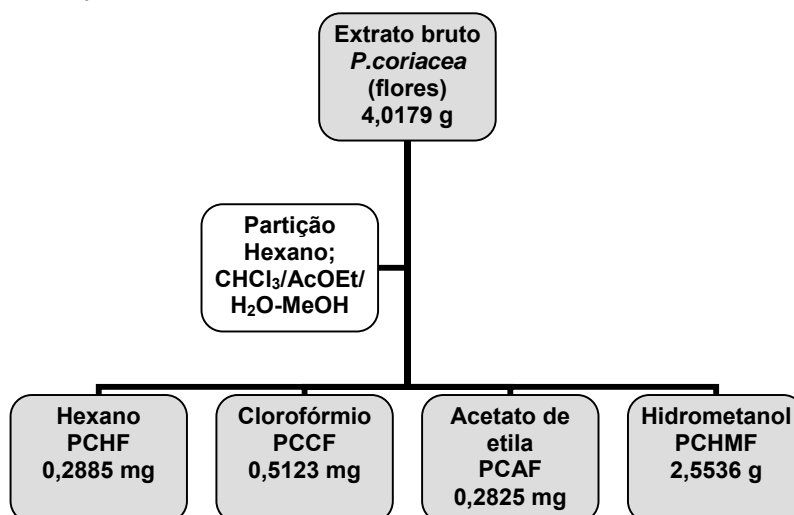
<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Mistura isolada</b>
Hexano 100%	100	1-6	4,0	
Hexano-AcOEt 10%	100	7-8	16,9	
		9	16,7	
		10-11	2,5	
		12-14	8,9	
Hexano-AcOEt 20%	100	15-17	11,2	<b>PCH 15-17</b>
		18-19	8,0	<b>P2+P3</b>
		20-21	11,2	
Hexano-AcOEt 30%	70	22-24	14,0	
Hexano-AcOEt 40%	50	25	1,3	
Hexano-AcOEt 50%	100	26	3,5	
Hexano-AcOEt 60 a 80%	130	27-32	8,4	
Hexano-AcOEt 80% _	180	33-42	4,3	
AcOEt–MeOH 70%				
AcOEt–MeOH 80%	30	43-47	2,5	

A fração combinada PCH 15-17 foi lavada com hexano resultando em 10,1 mg da mistura **P2+P3**.

### 3.3. Estudo químico das flores de *Palicourea coriacea*

#### 3.3.1. Coleta, obtenção do extrato bruto das flores e fracionamento

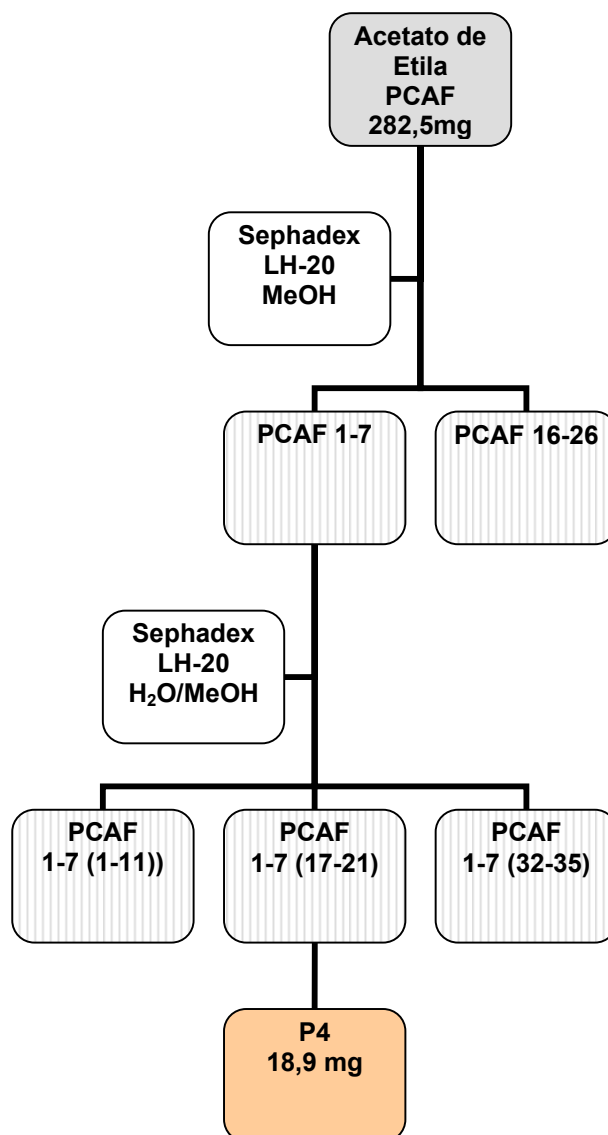
As flores da espécie vegetal *Palicourea coriacea* foram coletadas no cerrado goiano (exsicata #27153), secas e moídas e foram submetidas à extração exaustiva em metanol. O extrato bruto (4,0179g) foi solubilizado em metanol:água (1:1) e particionado em hexano, clorofórmio e acetato de etila, resultando nas frações hexano (100 mL; 288,5 mg; **PCHF**), clorofórmio (150 mL; 512,3 mg; **PCCF**), acetato de etila (480 mL; 282,5 mg; **PCAF**) e hidrometanólica remanescente (2,5536 g; **PCHMF**), sendo o procedimento geral descrito no **Esquema 4**. A fração hexânica foi estudada e levou ao isolamento da substância **P2** já mencionada anteriormente e, portanto, não será relatada. As frações clorofórmica e hidrometanólica também foram investigadas, porém resultou em frações de pouca massa e/ou muito impuras no decorrer das cromatografias realizadas e, dessa maneira, não foi possível o isolamento de substâncias. Já a fração acetato de etila conduziu ao isolamento de um composto, conforme **Esquema 5** na sequência.



**Esquema 4:** Procedimento utilizado no fracionamento do extrato bruto das flores de *Palicourea coriacea*.

### 3.3.2. Estudo da fração PCAF

A fração acetato de etila PCAF (282,5 mg) foi submetida a uma filtração com metanol (80 mL) em Sephadex LH-20 totalizando em 26 sub-frações que foram reunidas de acordo com o perfil cromatográfico observado em CCD (**Tabela 7**). O tratamento realizado com a fração PCAF segue representado no **Esquema 5**.



**Esquema 5:** Procedimento utilizado no estudo da fração acetato de etila das flores de *Palicourea coriacea*.

**Tabela 7: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PCAF.**

<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Código</b>
1-7	162,7	<b>PCAF 1-7</b>
8-10	15,6	
11-15	10,3	
16-26	3,4	

A amostra PCAF 1-7 (162,7 mg) apresentou massa suficiente para dar continuidade ao estudo cromatográfico e, assim, foi submetida a uma filtração com água e metanol em Sephadex LH-20. As frações foram reunidas conforme CCD, sendo que a fração PCAF 1-7(17-21) resultou no isolamento do composto **P4** (Tabela 8).

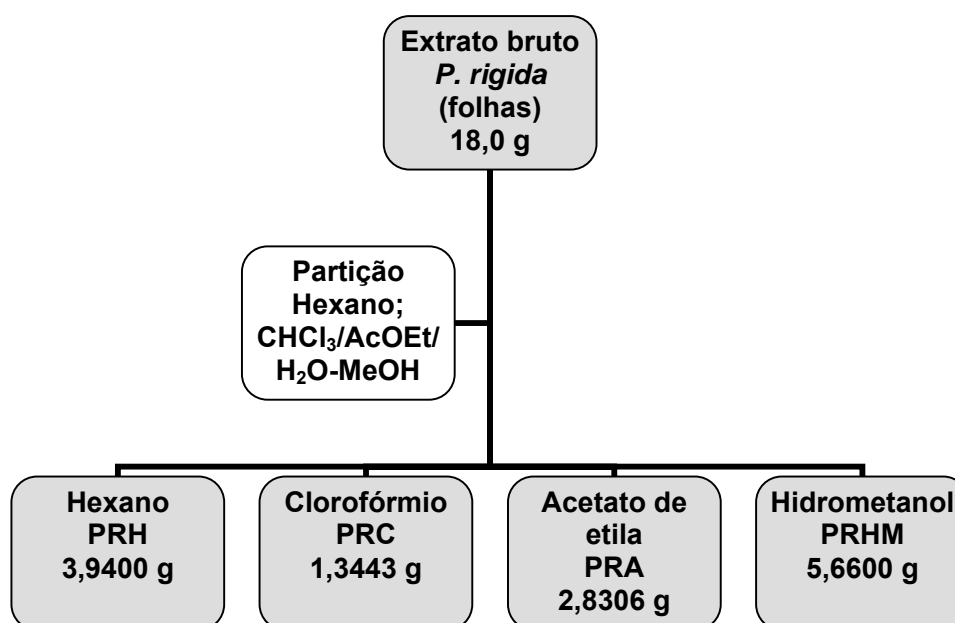
**Tabela 8: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PCAF 1.7.**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Composto Isolado</b>
Água 100%	30	1-11	56,4	
Água-Metanol 25%	10	12-16	11,7	
Água-Metanol 50%	40	17-21	18,9	<b>PCAF 1-7(17-21)</b> <b>P4</b>
Água-Metanol 75%	20	22-26	7,8	
		27-31	4,3	
Metanol 100%	100	32-35	5,5	

### 3.4. Estudo químico das folhas de *Palicourea rigida*

#### 3.4.1. Coleta, obtenção do extrato bruto das folhas e fracionamento.

As folhas da espécie vegetal *Palicourea rigida* foram coletadas no cerrado goiano, Bairro Itanhangá, pelo professor Dr. Heleno Dias Ferreira do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Goiás e uma exsicata foi depositada no Herbário ICB/UFG sob o número #27148. As folhas foram secas, moídas e submetidas à extração exaustiva em etanol 96%. Em seguida, o extrato bruto (18,4800g) foi solubilizado em metanol:água (1:1) e particionado em hexano, clorofórmio e acetato de etila, resultando nas frações hexano (600 mL; 3,940 g; **PRH**), clorofórmio (600 mL; 1,3443g; **PRC**), acetato de etila (600 mL; 2,8306g; **PRA**) e hidrometanólica remanescente (5,660g; **PRHM**), conforme **Esquema 6**.



**Esquema 6:** Procedimento utilizado no fracionamento do extrato bruto das folhas de *Palicourea rigida*.



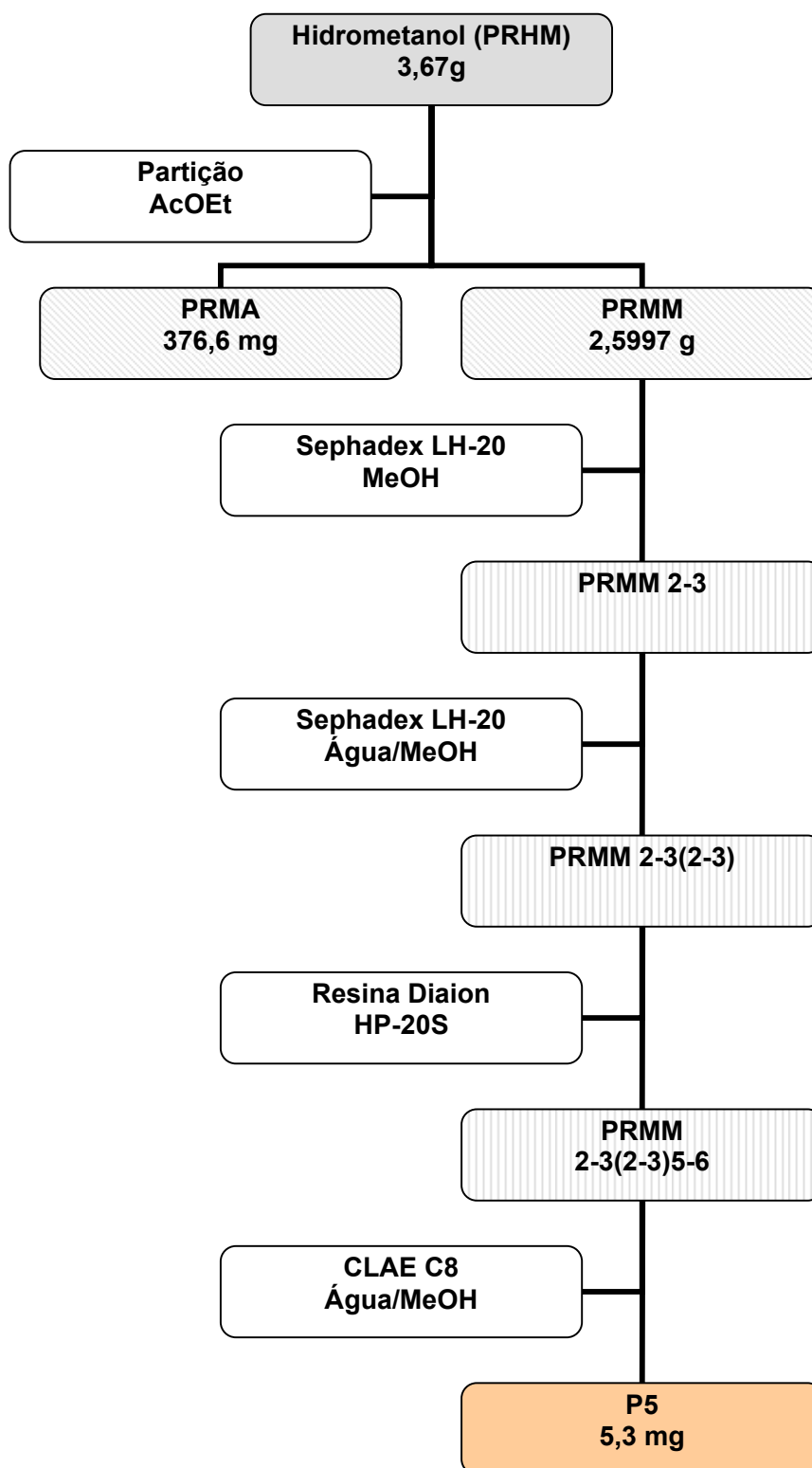
### 3.4.2. Estudo da fração PRHM

Parte da fração hidrometanólica remanescente (3,6700g) foi submetida a uma outra partição em acetato de etila (200mL; 376,6 mg; PRMA). A nova fração hidrometanólica remanescente (PRMM) resultou numa massa de 2,5997 mg e, parte desta fração (229,7 mg), foi submetida à filtração com metanol (80 mL) em Sephadex LH-20, fornecendo 6 frações. As frações foram combinadas de acordo com o perfil cromatográfico observado em CCD (**Tabela 9**). O tratamento destinado à PRMM está representado no **Esquema 7**.

**Tabela 9: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRMM.**

Fração reunida	Massa (mg)	Código
1	1,0	
2-3	201,8	<b>PRMM 2-3</b>
4	5,0	
5	1,8	
6	3,3	

A fração PRMM 2-3 apresentou massa suficiente para ter o estudo químico continuado, como descrito na seqüência.



**Esquema 7:** Procedimento utilizado no estudo da fração PRMM das folhas de *Palicourea rigida*.

### 3.4.2.1. Estudo da fração PRMM 2-3

Parte da fração PRMM 2-3 (193,8 mg) foi submetida a uma filtração em Sephadex LH-20, utilizando água e metanol, conforme **Tabela 10**.

**Tabela 10: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRMM 2-3.**

Fração	Volume (mL)	Solvente
1-2	10	Água
3	10	Água-Metanol 25%
4	10	Água-Metanol 50%
5	10	Água-Metanol 75%
6	20	Metanol

Por CCD, as únicas frações que revelaram em anisaldeído foram a 2 e a 3 que foram reunidas por serem semelhantes, resultando em uma massa de 101,4 mg. Esta fração foi, então, submetida a uma coluna cromatográfica hidrofóbica (Resina HP-20S) para eliminação de açúcares, de acordo com os dados descritos na **Tabela 11**.

**Tabela 11: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRMM 2-3 (2-3)**

Eluente	Volume (mL)	Frações reunidas	Massa (mg)	Código
Água	15	1-2	1,3	
Água:MeOH (1:1) a MeOH	9	3-4	17,6	
MeOH: Acetona (1:1)	18	5-6	26,9	<b>PRMM</b>
		7-8	1,4	<b>2-3(2-3)5-6</b>
Acetona	9	9	0,7	

A fração PRMM 2-3(2-3)5-6 foi enviada para análise de RMN de  $^1\text{H}$  e mostrou-se impura. Devido a pouca massa, o estudo cromatográfico desta fração teve continuidade em CLAE.

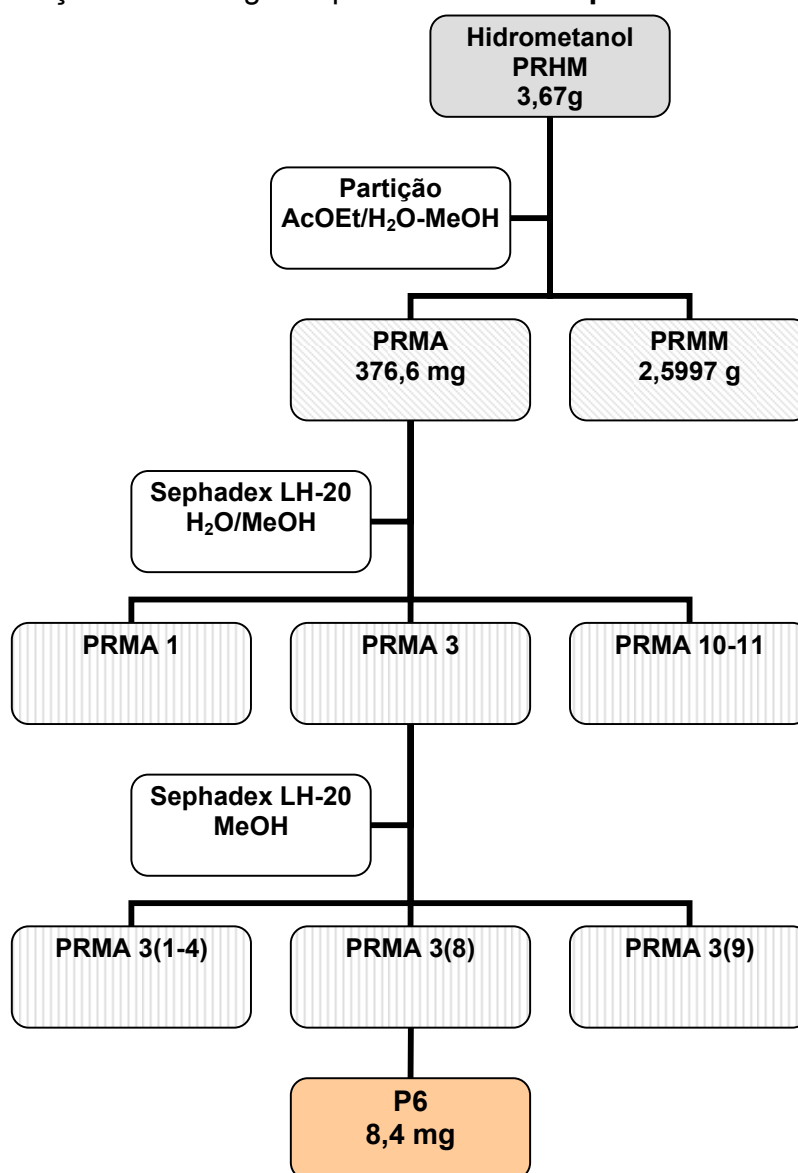
#### **3.4.2.2. Estudo da fração PRMM 2-3(2-3)5-6 em CLAE**

A fração PRMM 2-3(2-3)5-6 foi submetida a uma coluna C18 analítica em metanol 30%-água70%, com fluxo 1,5 mL/min e tempo de corrida de 30 minutos. Esta condição se repetiu para a coluna C8 semi-preparativa, para um volume de injeção de 50  $\mu\text{L}$  de amostra. O estudo cromatográfico foi monitorado nos comprimentos de onda  $\lambda=250\text{ nm}$  e  $\lambda=335\text{ nm}$ .

Este procedimento conduziu ao isolamento do composto **P5**.

### 3.4.3. Estudo da fração PRMA

Parte da fração PRMA (261,4 mg) foi submetida a uma filtração com água e metanol em Sephadex LH-20. As 11 frações resultantes foram reunidas de acordo com o perfil observado em CCD (**Tabela 12**). O procedimento adotado no estudo da fração PRMA segue representado no **Esquema 8**.



**Esquema 8:** Procedimento utilizado no estudo da fração PRMA das folhas de *Palicourea rigida*.

**Tabela 12: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRMA**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Código</b>
Água 100%	80	1	25,2	<b>PRMA 3</b>
		2	85,0	
		3	49,8	
Água-MeOH 25%	50	4	15,0	
		5	14,4	
Água-MeOH 50%	50	6	5,3	
		7	3,6	
Água-MeOH 75%	30	8-9	1,2	
MeOH 100%	100	10-11	1,0	

O estudo químico da fração PRMA 3 teve continuidade por se apresentar menos complexa em CCD.

### 3.4.3.1. Estudo da fração PRMA 3

A fração PRMA 3 foi submetida a filtração com metanol (30 mL) em Sephadex LH-20 de maneira que foram adquiridas 9 frações de aproximadamente 3,5 mL. Estas foram combinadas de acordo com análise em CCD, resultando no isolamento de P6, de acordo com a **Tabela 13**.

**Tabela 13: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRMA3.**

<b>Fração</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Composto isolado</b>
1-4	3,2	
5	10,0	
6-7	20,6	
8	8,4	<b>PRMA 3(8)</b>
		<b>P6</b>
9	1,5	

### 3.4.4. Estudo da fração PRA

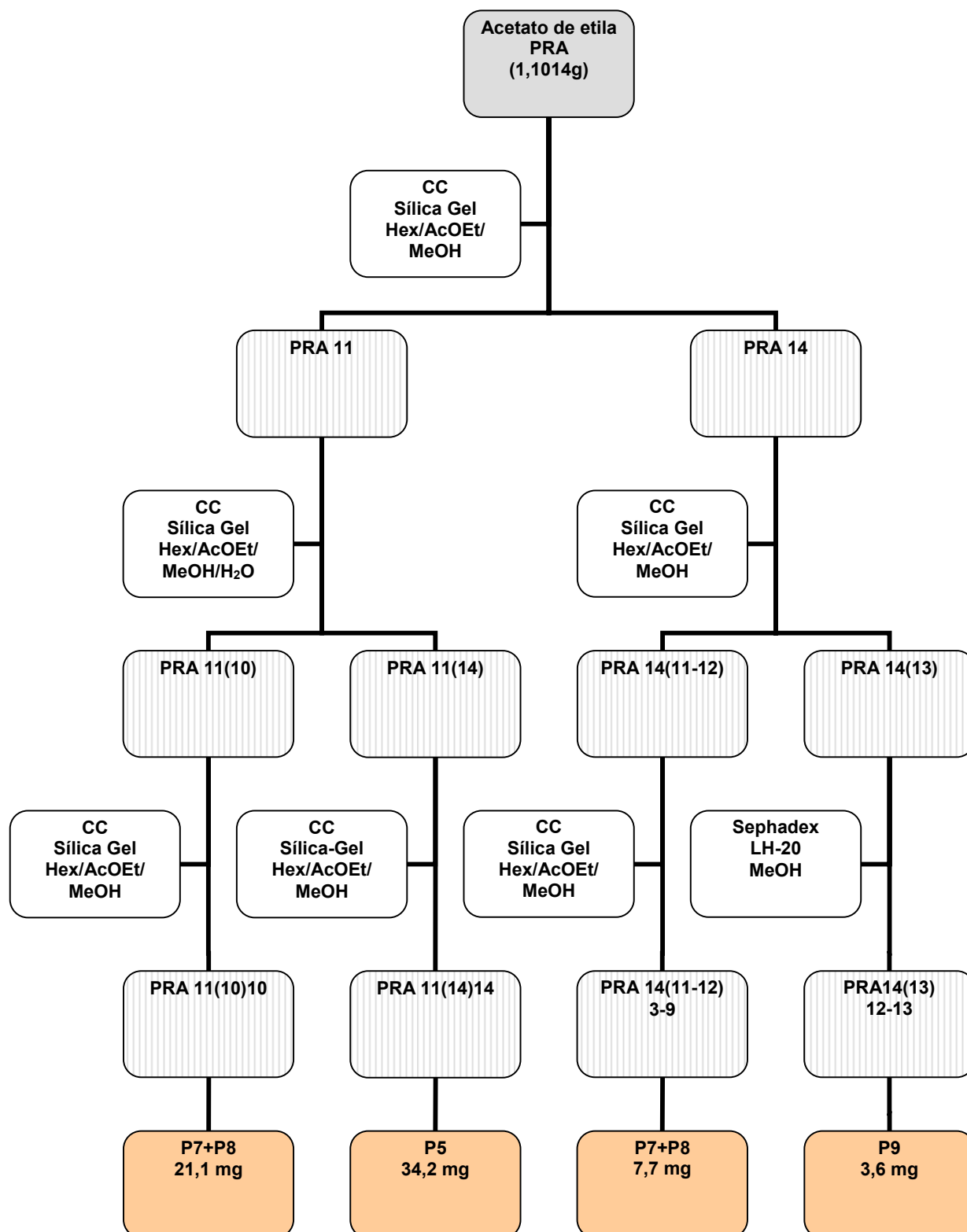
Parte da fração acetato de etila PRA (1,1014g) foi submetida à coluna cromatográfica de sílica-gel ( $\theta = 1,5$  cm), utilizando hexano, acetato de etila e metanol, resultando em 53 frações que foram reunidas pela semelhança cromatográfica observada em CCD (**Tabela 14**). O tratamento destinado a esta fração está representado no **Esquema 9**.

**Tabela 14: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRA.**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Código</b>
Hexano-AcOEt 50% a	280	1	9,0	PRA 1
Hexano-AcOEt 60%		2-4	4,8	PRA 4
Hexano-AcOEt 70% a	150	5-7	3,4	PRA 7
Hexano-AcOEt 80%				
AcOEt 100%	100	8-11	621,8	<b>PRA 11</b>
AcOEt-MeOH 10% a	150	12-14	92,5	<b>PRA 14</b>
AcOEt-MeOH 20%				
AcOEt-MeOH 30% a	150	15-19	67,7	PRA 19
AcOEt-MeOH 50%				
AcOEt-MeOH 60% a	200	20-53	98,9	PRA 53
MeOH 100%				

O estudo químico teve continuidade com as frações que apresentaram maior massa PRA11, PRA14, PRA19 e PRA53, porém apenas as frações PRA11 e PRA14 conduziram ao isolamento de substâncias, conforme dados apresentados na seqüência.





**Esquema 9:** Procedimento utilizado no estudo da fração acetato de etila das folhas de *Palicourea rigida*.

### 3.4.4.1. Estudo da fração PRA 11

A fração PRA 11 (621,8 mg) foi submetida à coluna cromatográfica de sílica-gel ( $\theta = 1,5$  cm), eluída com hexano, acetato de etila, metanol e água, e a combinação das frações pela análise em CCD forneceu as massas contidas na **Tabela 15**.

**Tabela 15: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRA 11**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Código</b>
Hexano-AcOEt 50%	150	1-2	17,2	
Hexano-AcOEt 60%	100	3-4	0,8	
Hexano-AcOEt 70%	70	5-6	0,8	
Hexano-AcOEt 80%	70	7-9	6,2	
AcOEt 100%	150	10	108,6	<b>PRA 11(10)</b>
		11-14	213,8	<b>PRA 11(11-14)</b>
AcOEt-MeOH 5% a	180	15-17	94,3	
AcOEt-MeOH 15%		18	1,6	
AcOEt-MeOH 20% a	250	19-22	28,4	
AcOEt-MeOH 50%		23	1,9	
AcOEt-MeOH 60% a	150	24-28	18,8	
MeOH 100%				
MeOH-Água 10%	50	29-31	2,4	
		32-35	6,9	

As frações que apresentaram maior massa, PRA 11(10) e PRA 11(11-14), foram cromatografadas conforme dados descritos em seqüência.

### 3.4.4.1.a. Estudo da fração PRA 11(10)

A fração PRA 11(10), de massa 108,6 mg, foi cromatografada em coluna de sílica-gel ( $\theta=1\text{cm}$ ) eluída com hexano, acetato de etila e metanol, e as frações foram combinadas de acordo com o perfil químico observado em CCD, resultando nas massas apresentadas na **Tabela 16**.

**Tabela 16: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRA 11(10).**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Mistura Isolada</b>
Hexano-AcOEt 50% a	200	1	1,4	
Hexano-AcOEt 70%		2-4	4,0	
Hexano-AcOEt 80% a	100	5-6	1,4	
AcOEt 100%		7-9	5,2	
AcOEt-MeOH 10%	100	10	58,7	<b>PRA 11(10)10 P7+P8</b>
AcOEt-MeOH 20% a	180	11-15	24,8	
AcOEt-MeOH 50%				
AcOEt-MeOH 60% a	100	16-23	4,3	
AcOEt-MeOH 90%		24-25	2,1	
MeOH 100%	50	26	1,0	

A fração PRA 11(10)10 (58,7g) foi filtrada em Shephadex LH-20 com metanol (100 mL). Uma das cinco frações (21,1mg) resultou na mistura **P7+P8**.

### 3.4.4.1.b. Estudo da fração PRA 11(14)

A partir de 213,8 mg da fração PRA 11(14) foi realizada uma coluna cromatográfica de sílica-gel ( $\theta = 1$  cm), eluída com hexano, acetato de etila e metanol, sendo que as frações foram combinadas de acordo com o perfil cromatográfico observado em CCD (**Tabela 17**).

**Tabela 17: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRA 11(14)**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Composto isolado</b>
Hexano-AcOEt 20% a Hexano-AcOEt 40%	120	1-3	1,4	
Hexano-AcOEt 50% a Hexano-AcOEt 60%	80	4-6	1,8	
Hexano-AcOEt 70% a Hexano-AcOEt 90%	120	7-9	1,5	
AcOEt 100%	50	10-11	3,0	
AcOEt-MeOH 10%	40	12	57,4	
		13	36,3	
AcOEt-MeOH 20%	40	14	34,2	<b>PRA 11(14)14 P5</b>
AcOEt-MeOH 50%	50	15-18	36,5	
AcOEt-MeOH 60% a AcOEt-MeOH 80%	100	19-22	4,1	
MeOH 100%	50	23-25	1,6	

A fração PRA 11(14)14 resultou no composto **P5** já isolado anteriormente.

### 3.4.4.2. Estudo da fração PRA 14

A partir de 92,5 mg da fração PRA 14 foi realizada uma coluna cromatográfica de sílica-gel ( $\theta = 1$  cm), eluída com hexano, acetato de etila e metanol, coletando 24 frações que foram reunidas após análise em CCD (**Tabela 18**).

**Tabela 18: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRA 14.**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Código</b>
Hexano-AcOEt 50% a	150	1	0,1	
Hexano-AcOEt 60%		2-6	0,5	
Hexano-AcOEt 70%	40	7-10	1,1	
Hexano-AcOEt 80% a	80	11-12	43,2	<b>PRA 14</b>
AcOEt 100%				<b>(11-12)</b>
AcOEt-MeOH 10%	40	13	26,0	<b>PRA 14(13)</b>
AcOEt-MeOH 20% a	60	14-16	13,5	
AcOEt-MeOH 30%				
AcOEt-MeOH 50% a	150	17-21	2,2	
AcOEt-MeOH 80%				
MeOH 100%	80	22	1,3	
		23	1,1	
		24	2,1	

O estudo das frações PRA 14(11-12) e PRA 14(13) teve continuidade por se apresentarem menos complexas em CCD.

### 3.4.4.2.a. Estudo da fração PRA 14(11-12)

A fração PRA 14(11-12) foi analisada em CCD e apresentou uma mancha cinza-esverdeada quando revelada em anisaldeído, porém a análise espectroscópica de RMN <sup>1</sup>H revelou que a amostra estava impura. A partir de 43,2 mg da fração PRA 5.4 foi realizada uma coluna cromatográfica de sílica-gel ( $\theta = 1$  cm), eluída com hexano, acetato de etila e metanol, e as frações foram combinadas conforme análise realizada em CCD (**Tabela 19**).

**Tabela 19: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração 14(11-12)**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Mistura Isolada</b>
Hexano-AcOEt 50%	100	1-2	0,2	
Hexano-AcOEt 60% a AcOEt-MeOH 20%	270	3-9	34,8	<b>PRA 14(11-12)3-9 P7+P8</b>
AcOEt-MeOH 30% a AcOEt-MeOH 60%	60	11-13	2,4	
AcOEt-MeOH 80%	40	14-15	1,5	
MeOH 100%	100	16-17 18-20	3,0 0,1	

A fração PRA 14(11-12)3-9 foi submetida a uma filtração em Sephadex LH20 eluída com metanol (100 mL). Uma das seis frações resultantes (7,7 mg) foi lavada com acetona resultando na mistura **P7+P8** já isolada anteriormente.

### 3.4.4.2.b. Estudo da fração PRA 14(13)

Na fração PRA 14(13) foi evidenciada uma mancha esverdeada em CCD, quando revelada com anisaldeído, e esta foi encaminhada para análise de RMN  $^1\text{H}$ . Uma vez que o espectro resultou em sinais de impureza, a amostra foi filtrada em coluna Sephadex LH-20, utilizando água e metanol, conforme **Tabela 20**.

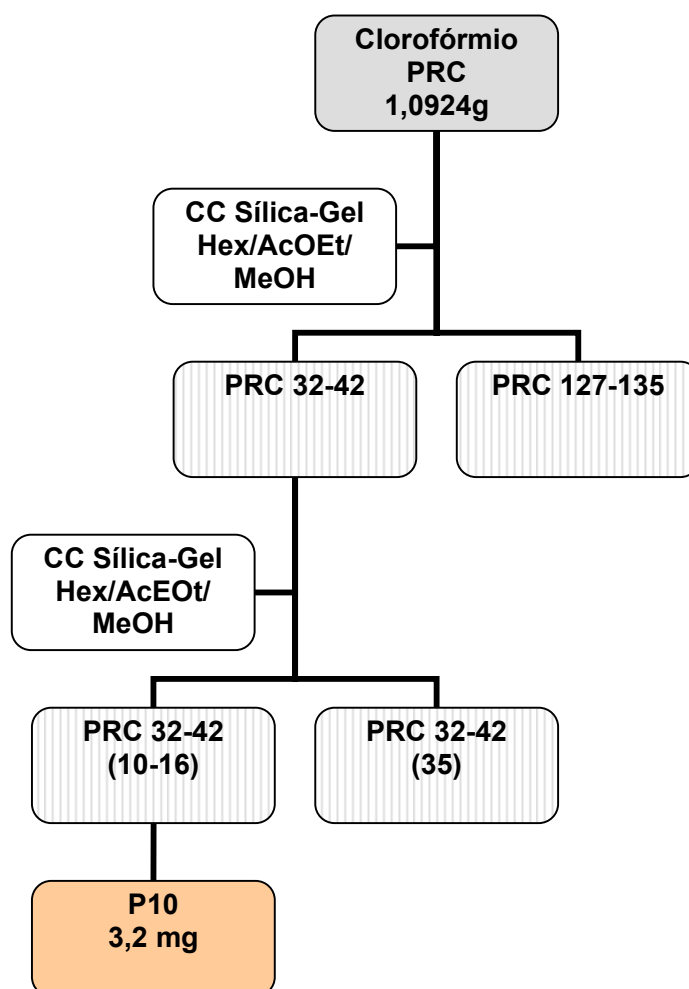
**Tabela 20: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRA 14(13)**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Composto Isolado</b>
Água	210	1-7	0,2	
		8-10	1,4	
		11	0,8	
Água-MeOH 25%	30	12-13	3,6	<b>PRA 14(13) 12-13 P9</b>
		14-17	1,9	
		18	1,4	
		19	1,2	
Água-MeOH 50%	40	20	0,2	
		21-24	0,5	
MeOH 100%	40	25-26	0,3	
		27-29	1,2	

A fração PRA 14(13)12-13 resultou no composto **P9**.

### 3.4.5. Estudo da fração PRC

Parte da fração clorofórmica PRC (1,0924g) foi submetida à coluna cromatográfica de sílica-gel ( $\theta = 2$  cm), eluída com hexano, acetato de etila e metanol, e as frações obtidas foram combinadas de acordo com o perfil cromatográfico observado em CCD (**Tabela 21**). O procedimento utilizado no estudo desta fração segue representado no **Esquema 10**.



**Esquema 10:** Procedimento utilizado no estudo da fração clorofórmica das folhas de *Palicourea rigida*.



**Tabela 21: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRC**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Código</b>
Hexano 100% a	450	1-27	9,2	
Hexano-AcOEt 10%				
Hexano-AcOEt 12% a	230	28-31	4,8	
Hexano-AcOEt 35%		32-42	22,6	<b>PRC 32-42</b>
Hexano-AcOEt 40% a	440	43-78	337,5	
Hexano-AcOEt 75%				
Hexano-AcOEt 80% a	260	79-96	357,3	
AcOEt-MeOH 10%				
AcOEt-MeOH 12% a	260	97-126	179,7	
AcOEt-MeOH 50%				
AcOEt-MeOH 80% a	160	127-135	40	
Metanol 100%				

As frações que apresentaram massa suficiente foram estudadas quimicamente, porém apenas a PRC 32-42 conduziu ao isolamento de um composto, conforme seqüência.

### 3.4.5.1. Estudo da fração PRC 32-42

A fração PRC 32-42 (22,6 mg) foi submetida à coluna cromatográfica de sílica-gel ( $\theta = 0,6$  cm) eluída com hexano, acetato de etila e metanol. A combinação das frações pela análise em CCD revelou os seguintes dados apresentados na **Tabela 22**.

**Tabela 22: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRC 32-42**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Composto Isolado</b>
Hexano 100% a Hexano- AcOEt 5%	95	1-6	< 1	
Hexano-AcOEt 7%	20	8-9	1,8	
Hexano-AcOEt 8% a Hexano-AcOEt 12%	70	10-16	8,1	<b>PRC 32-42 (10-16) P10</b>
Hexano-AcOEt 14% a Hexano-AcOEt 18%	30	17-19	2,4	
Hexano-AcOEt 20% a Hexano-AcOEt 80%	120	20-31	2,7	
AcOEt 100% a	30	32-33	< 1	
AcOEt-MeOH 5%		34	3,3	
		35	3,1	

A fração PRC 32-42(10-16) apresentou-se como um sólido amarelado que foi lavado com acetona. O sobrenadante foi separado (3,2 mg) e resultou em **P10**.

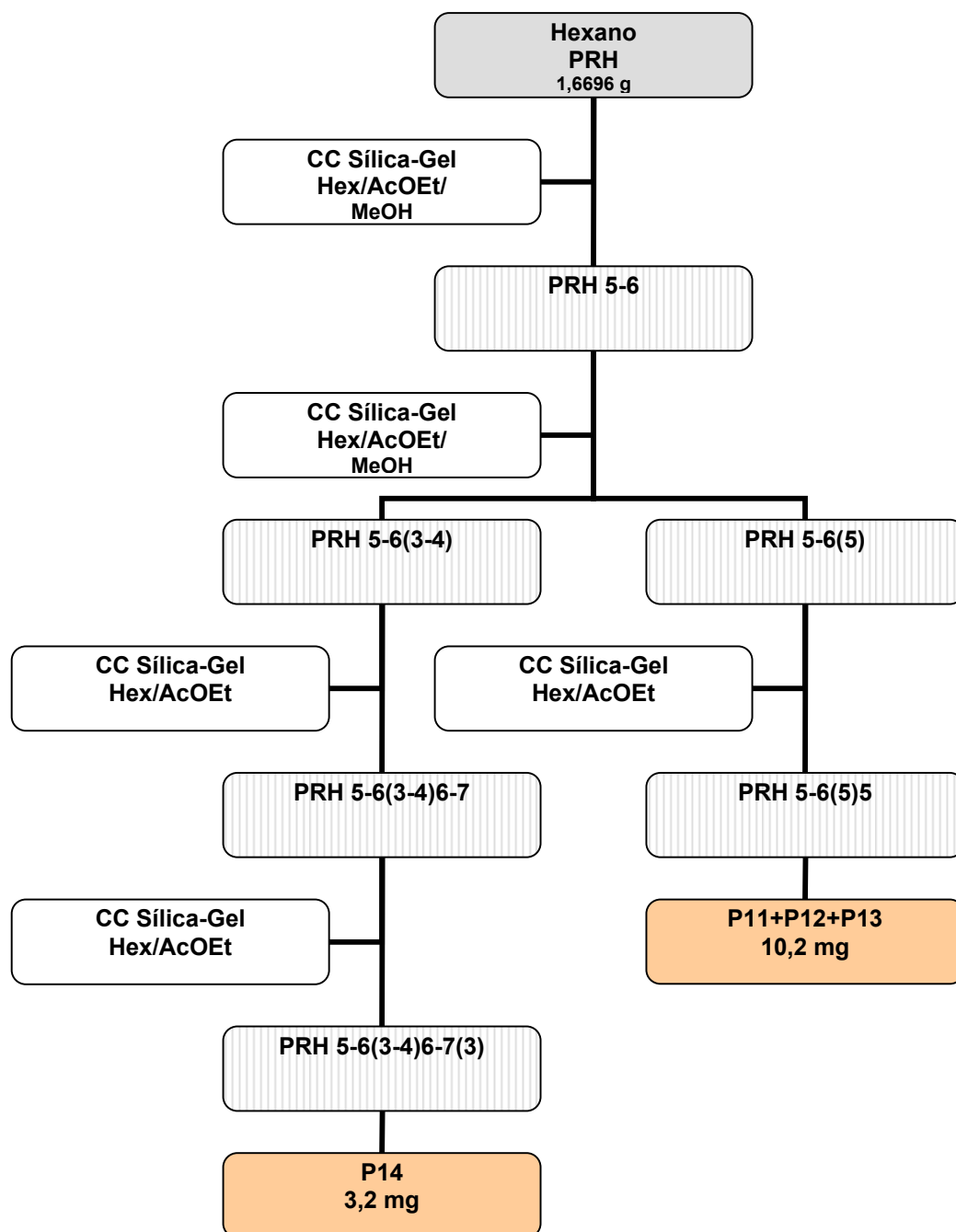
### 3.4.6. Estudo da fração PRH

Parte da fração hexânica PRH (1,6696g) foi submetida à coluna cromatográfica de sílica-gel ( $\theta = 1,5$  cm), eluída com hexano, acetato de etila e metanol, e as frações foram combinadas de acordo com a semelhança observada em CCD. O resultado encontra-se na **Tabela 23** e o tratamento destinado à fração PRH está representado no **Esquema 11** a seguir.

**Tabela 23: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRH**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Código</b>
Hexano 100%	150	1-4	158,7	
Hexano-AcOEt 10%	70	5-6	373,7	<b>PRH 5-6</b>
Hexano-AcOEt 20% a	210	7-10	218,0	
Hexano-AcOEt 30%				
Hexano-AcOEt 35%	80	11	19,3	
		12	22,5	
Hexano-AcOEt 40%	110	13-16	54,8	
Hexano-AcOEt 50%	160	17	27,6	
		18-20	27,2	
Hexano-AcOEt 60% a	130	21-26	40,1	
Hexano-AcOEt 70%				
Hexano-AcOEt 80% a	160	27	3,7	
Hexano-AcOEt 90%		28-36	42,5	
AcOEt 100%	100	37-41	26,4	
AcOEt-MeOH 10%	100	42	14,5	
		43	18,0	
		44-45	52,3	
		46	69,1	
		47-55	122,2	

A fração PRH 5-6 teve seu estudo químico continuado. As demais frações com maiores massas PRH 1-4, PRH 7-10 e PRH 47-55 foram estudadas, mas não resultaram em isolamento de compostos.



**Esquema 11:** Procedimento utilizado no estudo da fração hexânica das folhas de *Palicourea rigida*.

### 3.4.6.1. Estudo da fração PRH 5-6

A partir de 373,7 mg da fração PRA 5-6 foi realizada uma coluna cromatográfica de sílica-gel ( $\theta = 1,0$  cm) eluída com hexano, acetato de etila e metanol, que resultou nos dados apresentados na **Tabela 24**.

**Tabela 24: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRH 5-6**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Código</b>
Hexano 100%	130	1-2	0,1	<b>PRH 5-6 (3-4) PRH 5-6(5)</b>
Hexano-AcOEt 10%	150	3-4	160,1	
		5	53,4	
		6	29,3	
		7-8	2,4	
Hexano-AcOEt 20%	100	9	16,3	
		10	3,0	
Hexano-AcOEt 30% a	250	11-16	4,2	
AcOEt 100%				
AcOEt-MeOH 10%	50	17-18	9,7	

As frações PRH 5-6(3-4) e PRH 5-6(5) apresentaram massa suficiente para dar continuidade ao estudo cromatográfico, em seqüência.

### 3.4.6.1. a. Estudo da fração PRH 5-6 (3-4)

A fração PRH 5-6(3-4) (160,1 mg) foi submetida à coluna cromatográfica de sílica-gel ( $\theta = 1,0$  cm) eluída com os solventes especificados abaixo. As frações foram combinadas de acordo com o perfil cromatográfico observado em CCD (**Tabela 25**).

**Tabela 25: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRH 5-6(3-4)**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Fração reunida</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Código</b>
Hexano 100%	100	1-2	1,0	<b>PRH 5-6(3-4) 6-7</b>
		3-4	18,5	
Hexano-AcOEt 10%	50	5	73,5	
		6-7	32,6	
Hexano-AcOEt 20%	30	8-11	16,2	
		12	4,8	
		13-14	11,5	
Hexano-AcOEt 35%	30	15-16	4,1	
		17-18	15,2	
Hexano-AcOEt 50%	70	19-24	14,6	

### 3.4.6.1. a.1. Estudo da fração PRH 5-6(3-4)6-7

A fração PRH 5-6(3-4)6-7 (32,6 mg) foi submetida à coluna cromatográfica de sílica-gel ( $\theta = 1,0$  cm), eluída com hexano e acetato de etila, resultando nos dados da **Tabela 26**.

**Tabela 26: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRH 5-6(3-4)6-7**

Eluente	Volume (mL)	Frações reunidas	Massa (mg)	Composto isolado
Hexano	50	1	3,8	
Hexano-AcOEt 5%	50	2	2,2	
Hexano-AcOEt 10%	50	3	3,2	PRH 5-6(3-4) 6-7(3) <b>P14</b>
		4	0,7	
		5-6	0,1	
Hexano-AcOEt 50%	20	7-8	1,8	

A fração PRH 5-6(3-4)6-7(3) mostrou uma única mancha rosa em CCD quando revelada em anisaldeído, resultando em **P14**.

### 3.4.6.1. b. Estudo da fração PRH 5-6(5)

A partir de 53,4 mg da fração PRA 5-6(5) foi realizada uma coluna cromatográfica de sílica-gel ( $\theta = 1$  cm), eluída com hexano e acetato de etila, que resultou nos dados apresentados na **Tabela 27**.

**Tabela 27: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRH 5.6(5)**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Mistura isolada</b>
Hexano	50	1-3	0,0	
Hexano-AcOEt 10%	50	4	17,9	
		5	25,8	PRH 5-6(5)5 <b>P11+P12+P13</b>
Hexano-AcOEt 20%	50	6-7	2,7	
Hexano-AcOEt 50%	40	8	1,9	
		9	0,4	
		10	1,6	

A fração reunida de número 5 (25,8 mg) foi lavada com hexano e a fração remanescente (10,2 mg) forneceu a mistura **P11+P12 +P13**.

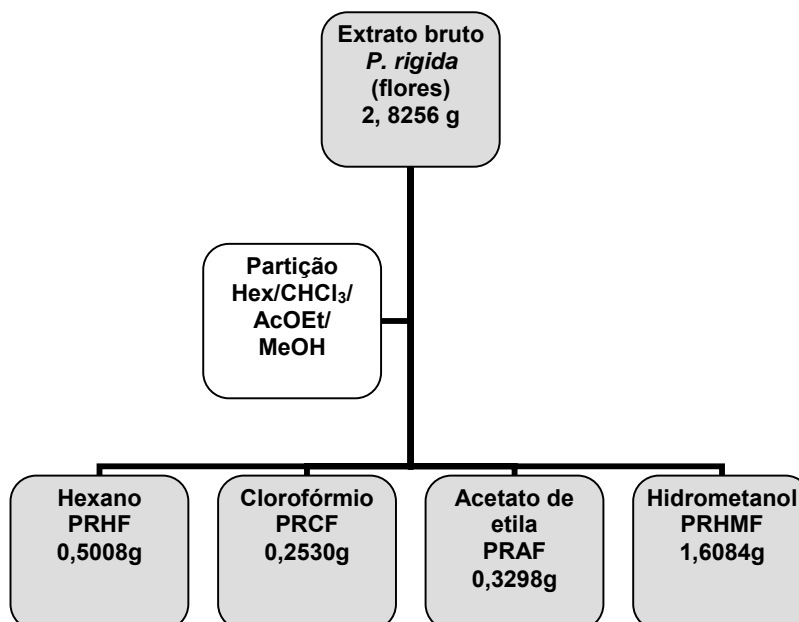


### 3.5. Estudo químico das flores de *Palicourea rigida*

#### 3.5.1. Coleta, obtenção do extrato bruto das flores e fracionamento.

As flores de *P. rigida* (m=50,58g) foram coletadas no cerrado goiano (exsicata #27148). Em seguida, as flores foram secas, moídas e submetidas à extração exaustiva em metanol.

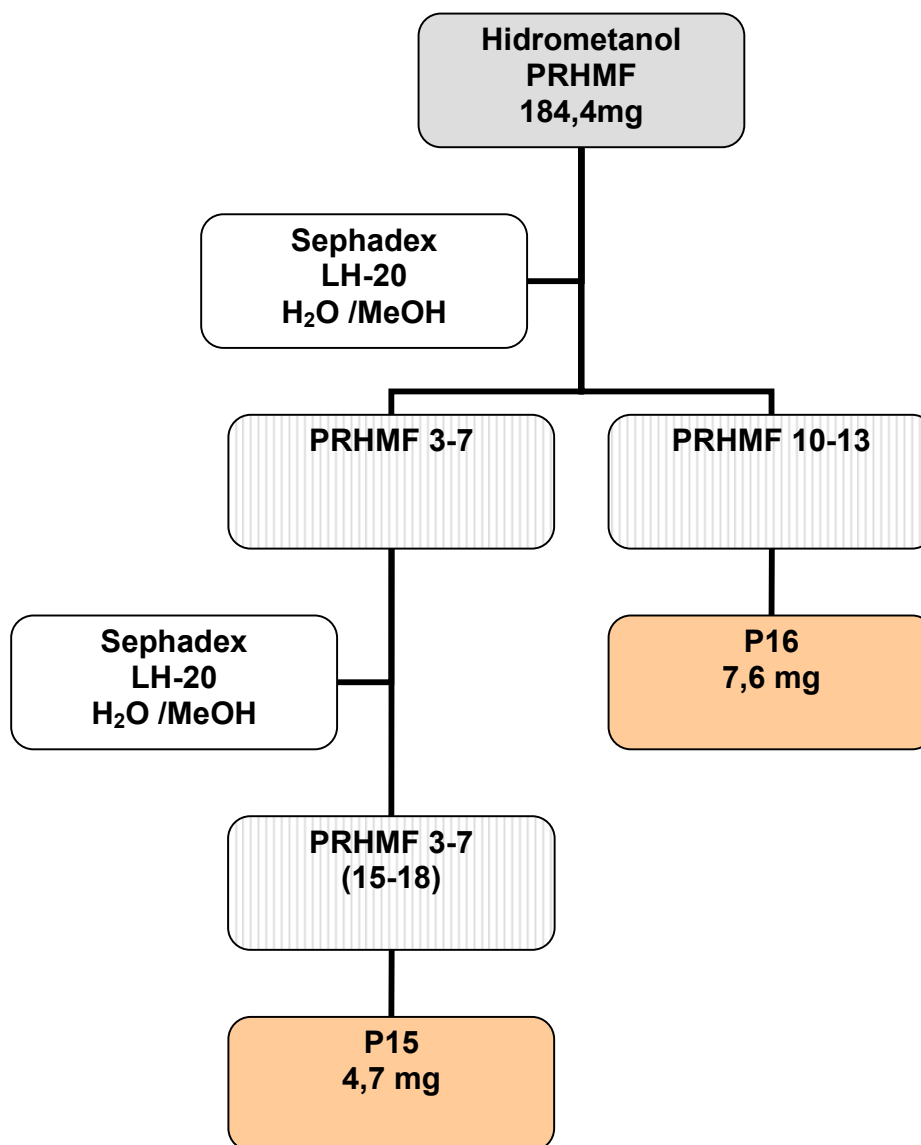
Parte do extrato bruto obtido (2,8256.g) foi solubilizado em metanol:água (1:1) e particionado em hexano, clorofórmio e acetato de etila, resultando nas frações hexano (160 mL; 0,5008 g; **PRHF**); clorofórmio (160 mL; 0,2530 g; **PRCF**); acetato de etila (190 mL; 0,3298 g; **PRAF**) e hidrometanólica remanescente (1,6084 g; **PRHMF**) de acordo com o **Esquema 12**. A fração hexânica não foi estudada porque, nesta ocasião, foi priorizada a busca pelos constituintes mais polares da planta.



**Esquema 12:** Procedimento utilizado no fracionamento do extrato bruto das flores de *Palicourea rigida*.

### 3.5.2. Estudo da fração PRHMF

Parte da fração PRHMF (184,4 mg) foi submetida a uma filtração em Sephadex LH-20 utilizando água e metanol conforme **Tabela 28**. O tratamento realizado com a fração PRHMF está representado no **Esquema 13**.



**Esquema 13:** Procedimento utilizado no estudo da fração hidrometanólica das flores de *Palicourea rigida*.

Tabela 28: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRHMF

Eluente	Volume (mL)	Frações reunidas	Massa (mg)	Código
Água	20	1-2	0,1	
		3-7	81,3	<b>PRHMF 3-7</b>
		8-9	5,1	
Água-MeOH 25%	10	10-13	7,6	<b>PRHMF 10-13</b>
				<b>P16</b>
		14-17	1,8	
Água-MeOH 50%	10	18-20	0,7	
Água-MeOH 75% a MeOH 100%	10	21-22	2,1	

A fração combinada PRHMF 10-13 foi analisada em CCD e apresentou uma única mancha em CCD quando revelada em Dragendorff, conduzindo ao isolamento do composto **P16**.

O estudo da fração PRHMF 3-7 está descrito a seguir.

### 3.5.2.1 Estudo da fração PRHMF 3-7

A fração PRHMF 3-7 (81,3 mg) foi submetida a uma filtração em Sephadex LH-20, utilizando água e metanol, sendo que trinta e três frações foram coletadas e reunidas após análise em CCD (**Tabela 29**).

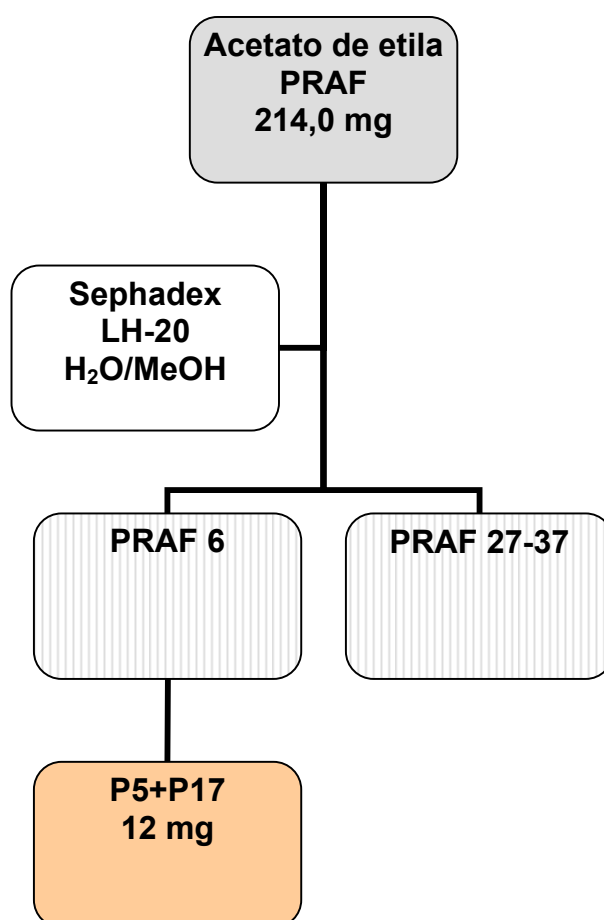
**Tabela 29: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRMF 3-7**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Composto isolado</b>
Água	10	1-7	3,7	
Água-MeOH 25%	15	8-9	11,1	
		11-14	19,5	
Água-MeOH 50%	10	15-18	4,7	<b>PRMF 3-7(15-18) P15</b>
Água-MeOH 75%	10	19-26	1,2	
MeOH 100%	25	27	5,3	
		28-29	1,0	
		30-33	3,7	

A fração PRMF 3-7(15-18) revelou uma mancha em Dragendorff e resultou no composto **P15**.

### 3.5.3. Estudo da fração PRAF

Parte da fração PRAF (214 mg) foi submetida a uma filtração em Sephadex LH-20 utilizando como solvente água e metanol e, após análise do perfil cromatográfico em CCD, as frações obtidas foram reunidas (**Tabela 30**). O tratamento destinado à fração PRAF está representado no **Esquema 14**.



**Esquema 14:** Procedimento utilizado no estudo da fração acetato de etila das flores de *Palicourea rigida*.

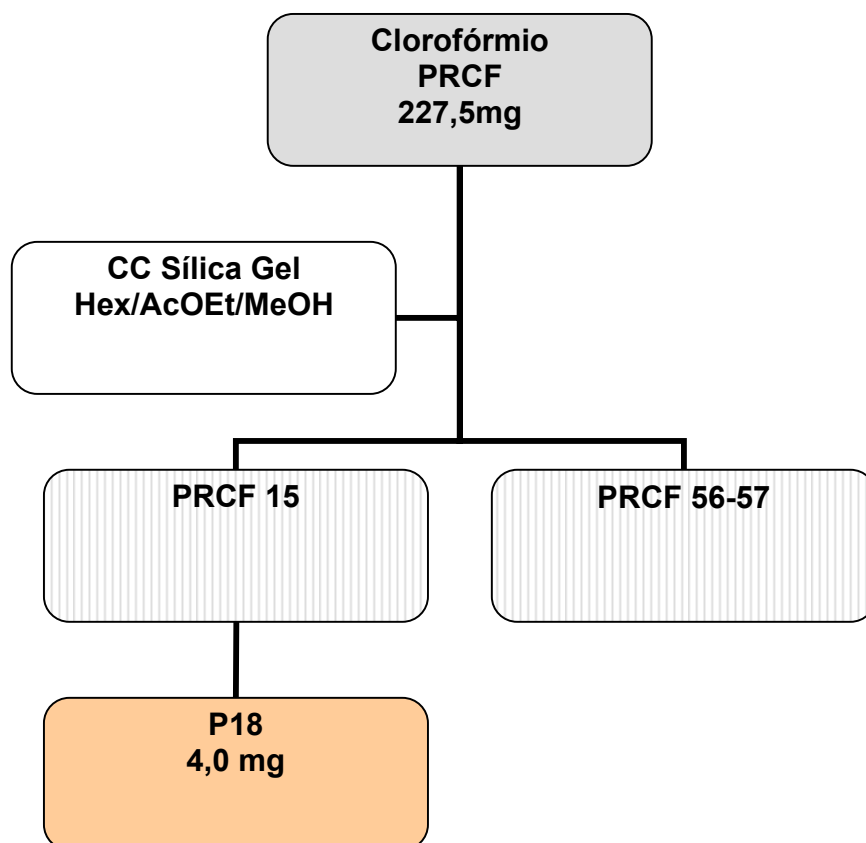
Tabela 30: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRAF

Eluente	Volume (mL)	Frações reunidas	Massa (mg)	Mistura isolada
Água 100%	10	1-2	0,1	<b>PRAF 6</b> <b>P5+P17</b>
		3-5	22,3	
		6	12,0	
Água-MeOH 25%	15	7-8	12,8	
		9-12	10,8	
		13-14	5,6	
Água-MeOH 50%	10	15-18	6,3	
Água-MeOH 75%	15	19-26	8,7	
MeOH 100%	40	27-37	1,6	

A fração PRAF 6 resultou na mistura **P5+P17**. Demais frações foram estudadas, porém não conduziram ao isolamento de compostos.

### 3.5.4. Estudo da fração PRCF

Parte da fração PRCF (227,5 mg) foi submetida à coluna cromatográfica de sílica-gel ( $\theta=2,0$  cm), eluída com hexano, acetato de etila e metanol, e as frações resultantes foram combinadas de acordo com o perfil cromatográfico observado em CCD (**Tabela 31**). O procedimento realizado com a fração PRCF está representado no **Esquema 15**.



**Esquema 15:** Procedimento utilizado no estudo da fração clorofórmica das flores de *Palicourea rigida*.

**Tabela 31: Dados sobre a cromatografia em coluna no estudo da fração PRCF**

<b>Eluente</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Frações reunidas</b>	<b>Massa (mg)</b>	<b>Composto isolado</b>
Hexano a Hexano-AcOEt 20%	210	1-10	5,90	
Hexano-AcOEt 30%	70	11-14	5,3	
Hexano-AcOEt 40%	70	15	5,0	<b>PRCF 15</b>
				<b>P18</b>
Hexano-AcOEt 50%	70	16-19	6,0	
		20-21	5,5	
Hexano-AcOEt 60% a	140	22-24	65,0	
Hexano-AcOEt 70%				
Hexano-AcOEt 80%	70	25-29	6,0	
Hexano-AcOEt 90% a	140	30-39	48,0	
AcOEt 100%				
AcOEt-MeOH 10% a	140	40-50	13,0	
AcOEt-MeOH 20%				
AcOEt-MeOH 30% a	140	50-55	8,6	
AcOEt-MeOH 40%				
AcOEt-MeOH 50% a	140	56-57	16,7	
AcOEt-MeOH 60%				

A fração PRCF15 apresentou cristais que resultaram no composto **P18**. Demais frações não foram estudadas por apresentarem massa insuficiente e/ou complexidade em CCD quando revelada com anisaldeído.



### **3.6. Avaliação das atividades moluscicida, antioxidante e antiinflamatória de *Palicourea rigida***

#### **3.6.1. Avaliação da atividade moluscicida**

O bioensaio para determinação da atividade moluscicida frente ao caramujo *Biomphalaria glabrata* foi realizado no Departamento de Farmácia e Farmacologia da UEM, sob orientação da Professora Doutora Maria Lucília Motinha Zamuner de acordo com a metodologia descrita por Hostettmann *et al.* (1982). O procedimento foi iniciado transferindo 200 µL de DMSO em 40 mg de extrato vegetal, seguida da diluição em 100 mL de água do aquário (água do local de manutenção dos caramujos). Essa solução foi dividida em igual volume para dois béqueres e, em cada um deles, foram adicionados dois caramujos. Após 24 horas em contato com a solução teste foram verificados os batimentos cardíacos dos moluscos (via microscópio) que, em seqüência, foram transferidos para um recipiente com água de aquário. Após 24 horas, o procedimento foi repetido. O controle (branco) foi realizado nas mesmas condições, porém isento do extrato, e o teste é considerado positivo quando os caramujos demonstram alteração em seus batimentos cardíacos, incluindo a morte.

### 3.6.2. Avaliação da atividade antioxidante.

O ensaio para avaliar a atividade antioxidante foi realizado de acordo com a metodologia descrita em Thaipong *et al.* (2006), no Departamento de Bioquímica da UEM, sob coordenação da Professora Doutora Rosane Marina Peralta.

Para a realização do teste foram preparadas as seguintes soluções:

- solução estoque: solução metanólica de 2,2-difenil-1-picril-hidrazil, DPPH, (0,024g/100mL);
- solução trabalho: 10 mL da solução estoque e 45 mL de metanol;
- solução controle: 150 µL água destilada e 2850 µL de solução trabalho
- controle positivo (butilidroxitolueno, BHT, 0,02%): 150 µL de BHT e 2850 µL de solução trabalho
- soluções da amostra de **extrato bruto** em diferentes concentrações (100; 250; 500; 750; 1000 µg/mL), onde 150 µL de cada amostra foram adicionados em 2850 µL de solução trabalho;
- soluções da amostra da **fração acetato** em diferentes concentrações (50; 100; 250; 500 µg/mL), onde 150 µL da amostra foram adicionados em 2850 µL de solução trabalho;
- soluções da amostra da **fração metanólica** em diferentes concentrações (150; 200; 250; 300; 350; 400 µg/mL), onde 150 µL da amostra foram adicionados em 2850 µL de solução trabalho;

Após as adições referidas acima, a quantificação da descoloração foi obtida pela leitura no espectrofotômetro UV-VIS, a 515 nm, após 24 h de reação no escuro à temperatura ambiente. A concentração da amostra necessária para atingir 50% de atividade sequestradora de radicais DPPH, IC<sub>50</sub>, foi calculada pela equação: (%)=[(1-A)÷A<sub>C</sub>] x 100, onde A é o valor de absorbância da amostra e A<sub>C</sub> é o valor de absorbância da solução controle.

### 3.6.3. Determinação de compostos fenólicos.

A determinação de compostos fenólicos foi realizada segundo Método de Folin-Ciocalteu's (Singleton e Rossi, 1965), com o extrato de *P. rigida* e as mesmas frações mencionadas anteriormente. Esta avaliação também ocorreu no Departamento de Bioquímica da UEM, sob orientação da Professora Doutora Rosane Marina Peralta.

Uma alíquota da amostra foi diluída para um volume final de 2 mL em água destilada e, posteriormente, foi adicionado 0,3 mL de carbonato de sódio 1,9 M e 0,1 mL de reagente Folin Ciocalteu 1N. As soluções permaneceram em repouso por 1 hora no escuro e, em seguida, as absorbâncias foram determinadas a 725 nm. Os compostos fenólicos totais foram determinados seguindo a relação:  $Abs \times f$  x diluição, sendo Abs a absorbância e *f* o fator de calibração da catequina.

### 3.6.4. Avaliação da atividade antiinflamatória

A atividade antiinflamatória foi realizada de acordo com a metodologia descrita em Van Harman (1974), no Departamento de Farmácia e Farmacologia da UEM, sob responsabilidade da Professora Doutora Ciomar A. Bersani Amado.

Para realização do teste antiinflamatório de Edema de Orelha Induzido foram utilizados grupos de camundongos Swiss (n=6) machos, adultos, pesando entre 25-35 g.

Os extratos e frações da espécie vegetal *P. rigida* foram aplicados topicamente nas orelhas (n=6); 5mg; 2,5 mg ou 1,25 mg/orelha; imediatamente após a aplicação do óleo de cróton (200 µg). A indometacina (Indo), aplicada por via tópica (1 mg), foi utilizada como antiinflamatório de referência (controle positivo) e a acetona 70% utilizada como veículo. Após 6 horas, os animais foram sacrificados e, de cada orelha, foram retirados discos de 7mm de diâmetro para posterior pesagem em balança analítica. O edema foi medido pela subtração do peso da orelha que recebeu apenas o veículo daquele que recebeu o agente irritante.

Neste ensaio foram avaliados o extrato bruto e as frações hexânica, clorofórmica e metanólica das folhas de *P. rigida*. A fração acetato de etila desta espécie não foi avaliada, pois houve dificuldade de solubilização da amostra no momento do ensaio. Diante de tal fato, é possível que a amostra tenha degradado ou polimerizado. Para as flores de *P. rigida*, o ensaio foi realizado com o extrato bruto e frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e metanólica.

## 4. Resultados e discussão

O estudo químico de *Palicourea rigida* resultou no isolamento de oito compostos e três misturas, sendo pertencentes à classe dos alcalóides (**P15**; **P16**); iridóides (**P5**; **P6**; **P5+P17**); flavonóides (**P9**; **P7+P8**); antraquinonas (**P10**); cumarinas (**P18**); esteróides (**P11+P12+P13**) e terpenóides (**P14**).

Analogamente, o estudo químico de *Palicourea coriacea* resultou no isolamento de dois compostos, sendo um alcalóide (**P1**) e um flavonóide (**P4**) e uma mistura de terpenóides (**P2+P3**).

### 4.1. Alcalóides

#### 4.1.1. Composto P16

O composto **P16** foi isolado da fração metanólica das flores de *P. rigida*, como um constituinte majoritário de uma mistura.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para **P16** foram observados um duplo duplete em  $\delta$  3,52 (8,4 e 3,3 Hz) e um triplo duplete em  $\delta$  3,97 (8,4 e 4,8 Hz), conforme **Figura 3** abaixo.

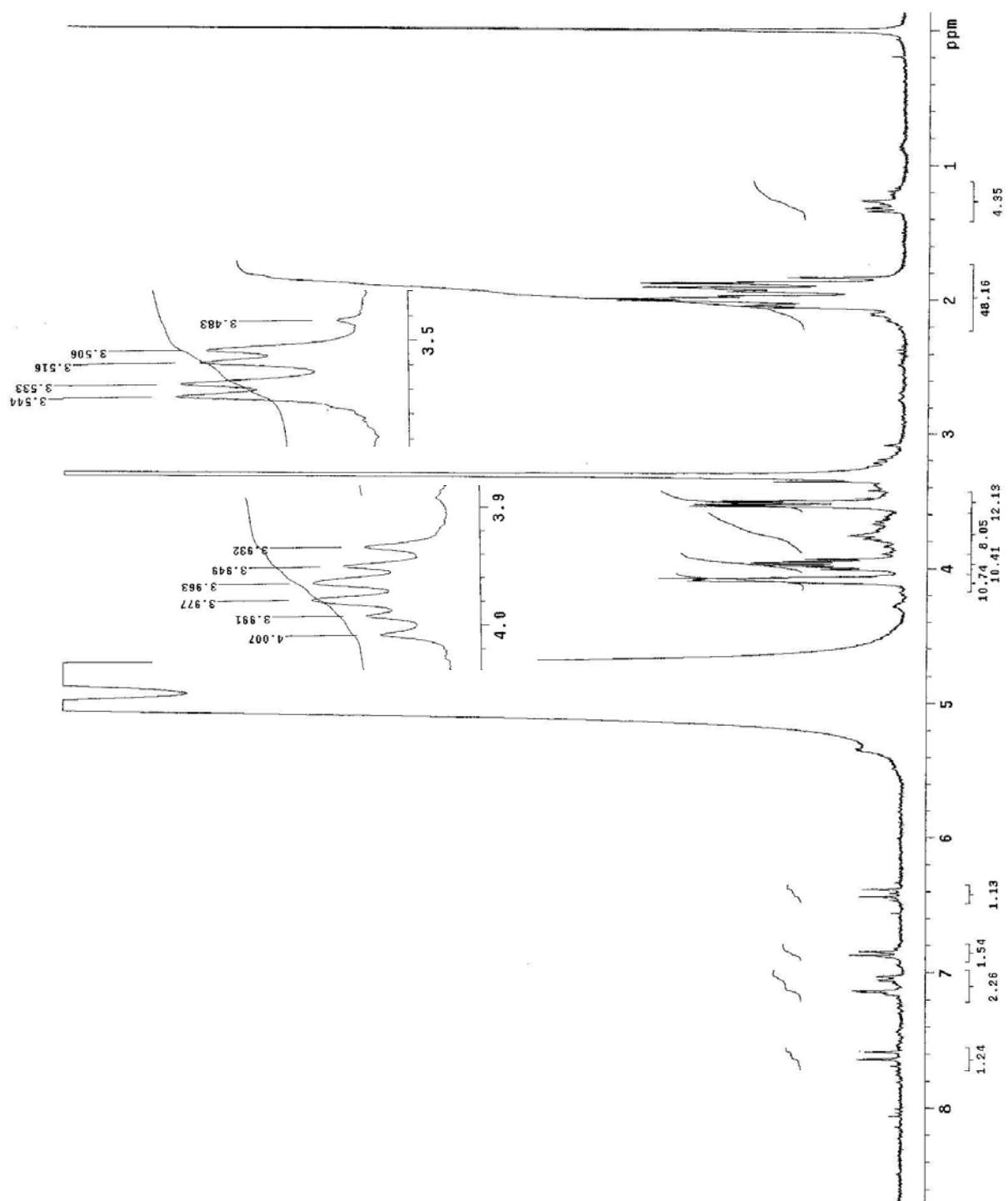
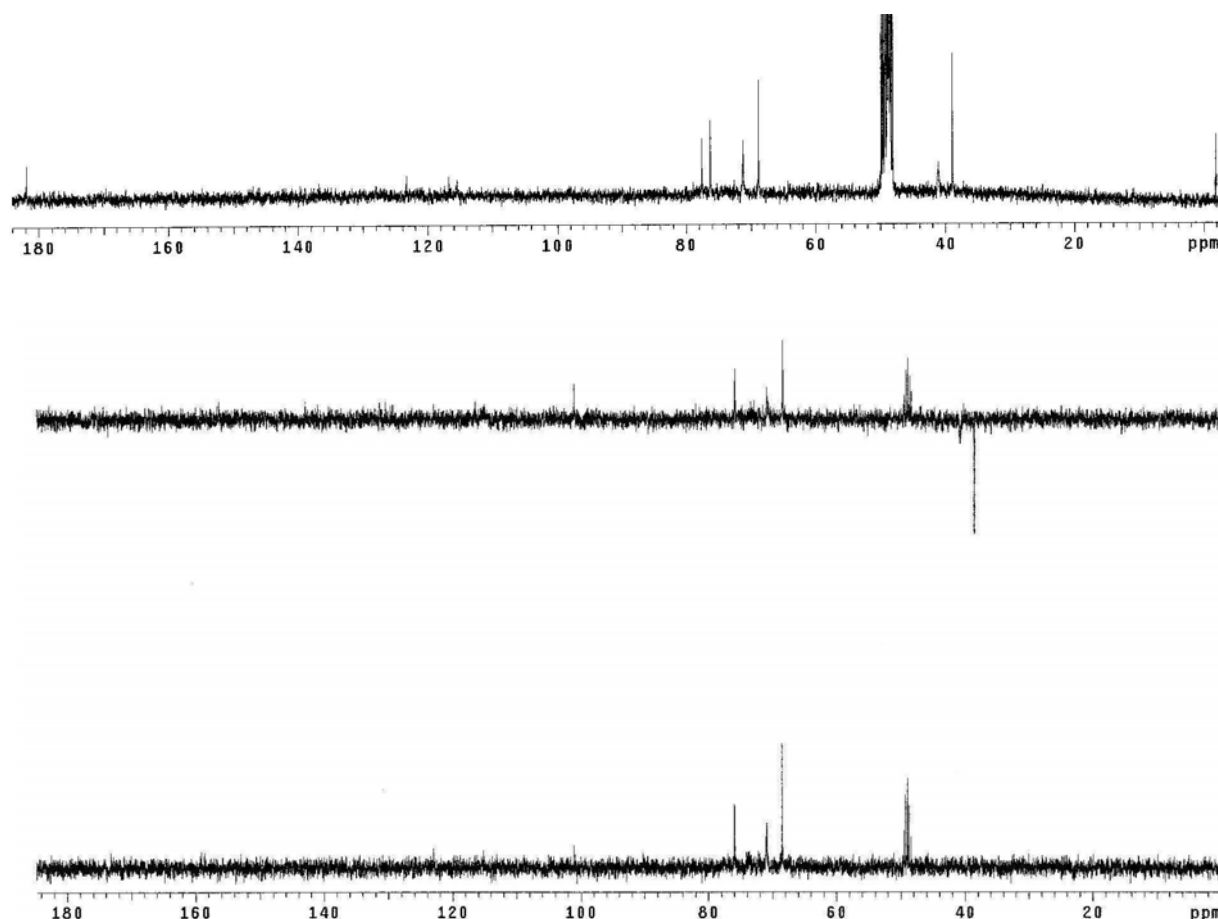


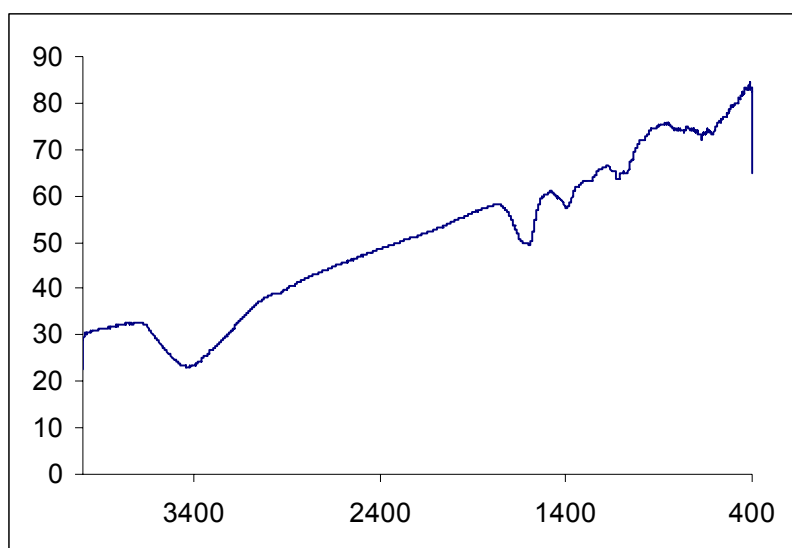
Figura 3: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para P16.

Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT (**Figura 4**) foram observados três sinais de carbonos metínicos em  $\delta$  76,3; 68,6 e 71,3; dois sinais de carbonos metilênicos em  $\delta$  41,1 e 38,9; além de dois sinais de carbonos não ligados a hidrogênio em  $\delta$  77,6 e 181,9. Especificamente o sinal em  $\delta$  41,1 evidenciava a presença de carbono ligado a nitrogênio e o sinal em  $\delta$  181,9 indicava a presença de um grupo carbonílico.



**Figura 4:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT para P16.

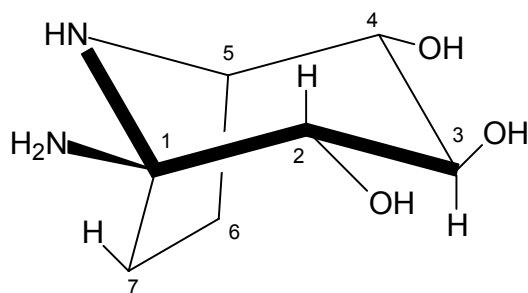
Desta maneira, os sinais mencionados indicavam a presença de um núcleo pirrolizidinona para o composto **P16**. No entanto, o espectro no I.V. (**Figura 5**) não apresentava a banda característica de grupo carbonílico. Neste espectro foram observadas as bandas de absorção  $\nu_{\text{máx.}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) em 3439; 1595,3; 1640,0; 1450,0; 1394,0; 1273,3; 1120,3; 1148,0; 1076,0 e 700,0. A banda de absorção fraca em  $3439 \text{ cm}^{-1}$  foi associada à deformação axial N-H, bem como a banda em  $1640 \text{ cm}^{-1}$  à deformação angular N-H. As bandas 1120,3 e 1273,3 podem ser referentes às deformações axiais do grupo C-N que geralmente aparecem em  $1250 \text{ cm}^{-1}$  e  $1020 \text{ cm}^{-1}$ .



**Figura 5:** Espectro no IV para **P16**.

Após a realização de uma extensa pesquisa bibliográfica na literatura, foi encontrado o alcalóide nortropânico calistegina N1 que foi usado como modelo (Asano *et al.*, 1996).

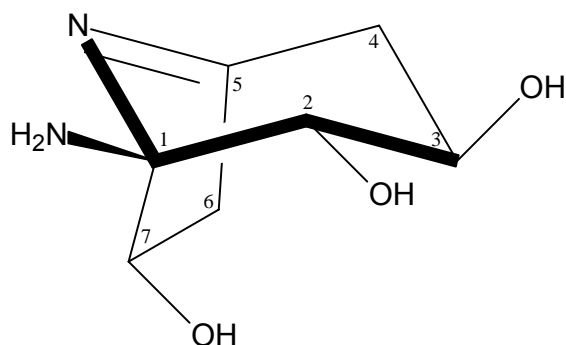




Para a calistegina N1, é característica uma magnitude em torno de 8,0 Hz de constante de acoplamento entre os hidrogênios H2 e H3 evidenciando um acoplamento *trans* axial-axial e uma magnitude de aproximadamente 3,0 Hz referente ao acoplamento em W à longa distância entre os hidrogênios H2 e H7. Para o composto **P16**, no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , foram observadas as constantes de 8,4 Hz e 3,3 Hz que foram associadas aos hidrogênios H2 e H3.

Asano e colaboradores (1996) ainda comentam em seu trabalho que o carbono C1 não ligado a hidrogênio em  $\delta$  78,3 da calistegina N1 a difere significativamente de outras calisteginas que apresentaram C1 em  $\delta$  93-94; sendo que o composto **P16** apresentava sinal semelhante em  $\delta$  78,3. Ademais, os sinais de carbonos metínicos em  $\delta$  76,3; 68,6 e 71,3 para **P16** foram atribuídos aos carbonos carbinólicos enquanto que o sinal em  $\delta$  181,9 foi atribuído a um carbono insaturado ligado a nitrogênio, o que explica sua desblindagem.

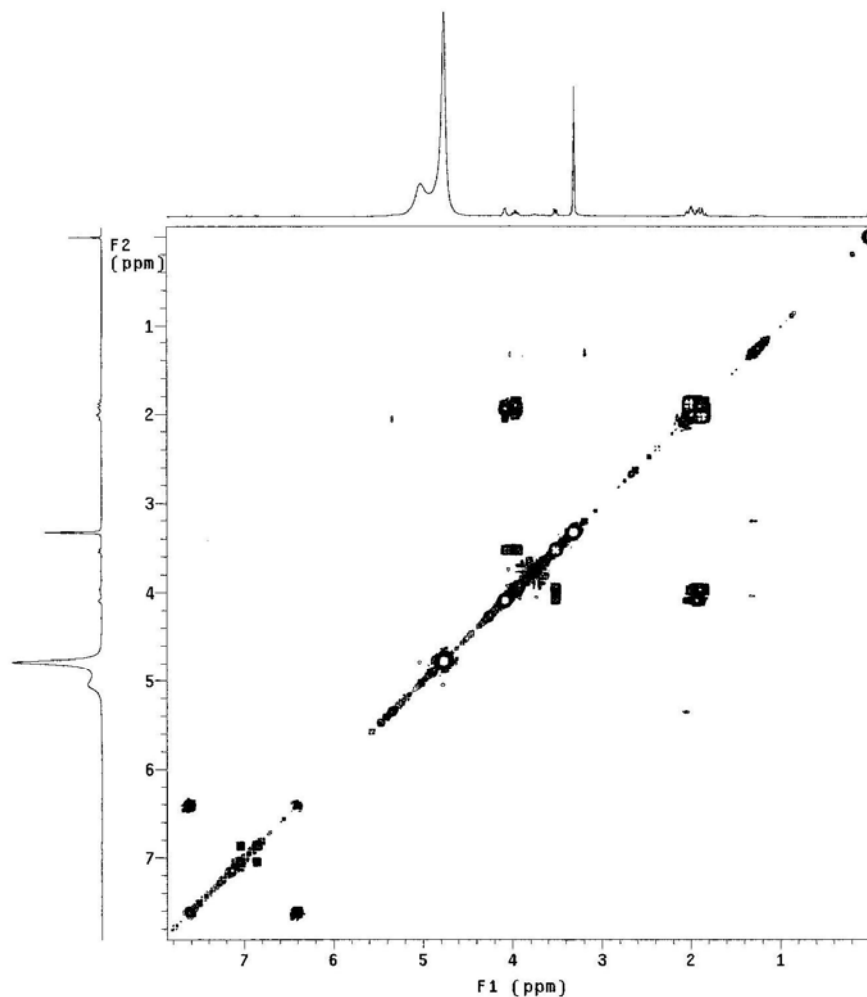
As semelhanças e diferenças entre os sinais da calistegina N1 e do composto **P16** foram consideradas e, assim, foi proposta a seguinte estrutura para **P16**.



No mapa de contornos  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  COSY (**Figura 6; Tabela 32**) foram observadas as correlações entre o hidrogênio H2 em  $\delta$  3,52 e o hidrogênio H3 em  $\delta$  3,97, bem como entre hidrogênio H7 em  $\delta$  4,09 e o hidrogênio H6 em  $\delta$  2,01. Ainda foi revelada a correlação entre o H3 e os hidrogênios H4 em  $\delta$  1,87 e 2,00.

**Tabela 32:** Principais correlações homonucleares  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  observadas no mapa de contornos COSY para **P16**.

$\delta$ $^1\text{H}$ (mult.; J em Hz; H)	$\delta$ $^1\text{H}$ (mult.; J em Hz; H)
3,52 (dd; 8,4; 3,3; H2)	3,97 (td; 8,4; 4,8; H3) e 4,09 (m; H7)
3,97 (td; 8,4; 4,8; H3)	1,87 (m; H4) e 2,00 (m; H4)
4,09 (H7)	1,90 (m; H6) e 2,01 (m; H6)



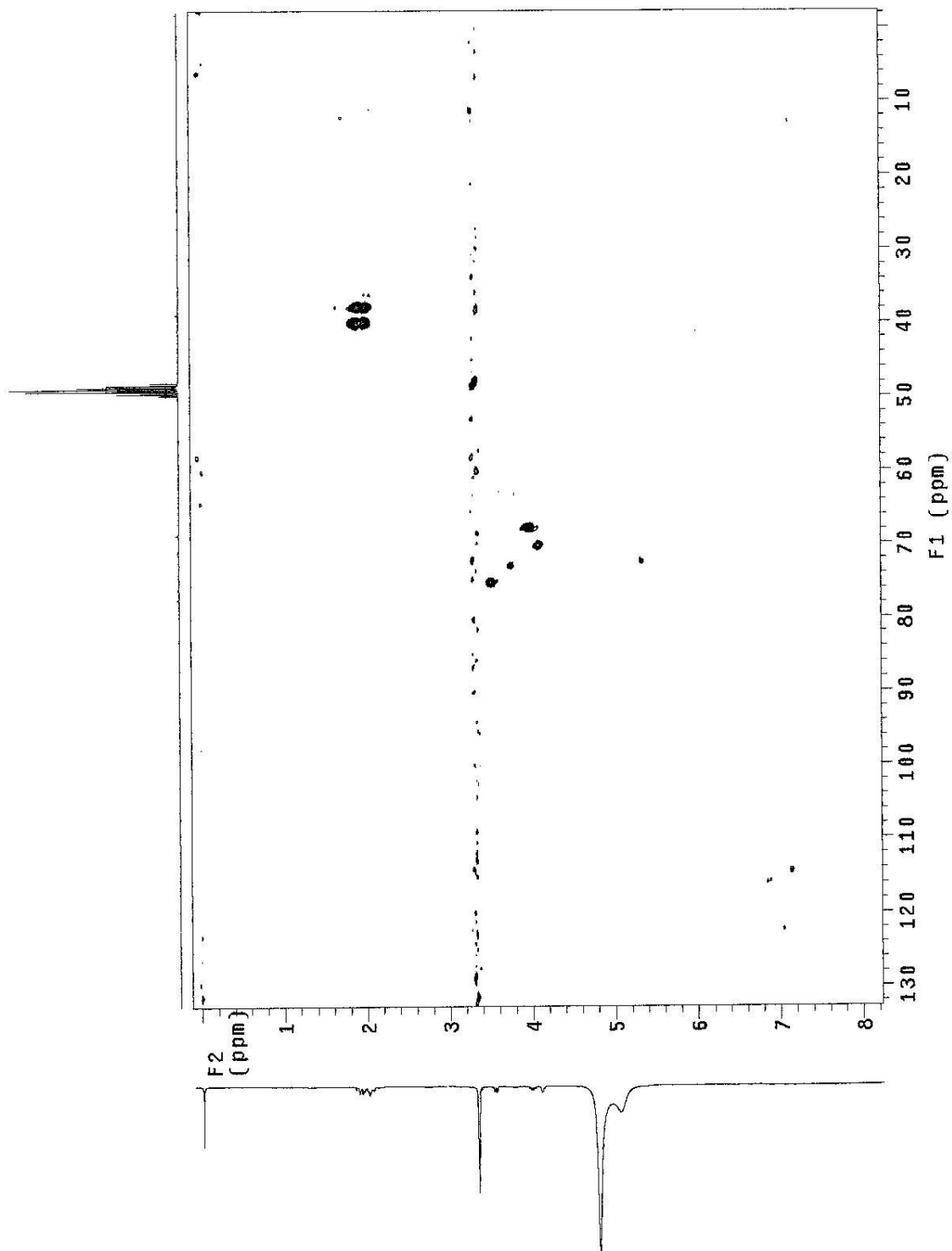
**Figura 6:** Mapa de contornos COSY para **P16**.

O mapa de contornos HMQC (**Figura 7, Tabela 33**) apresentou as correlações heteronucleares condizentes com a estrutura proposta.

**Tabela 33:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMQC para **P16**.

<b>C</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2	3,52	76,3
3	3,97	68,8
4	1,87 e 2,00	41,1
6	1,90 e 2,01	38,9
7	4,09	71,3

No mapa de contornos HMBC (**Figura 8**) foram observadas as correlações entre o carbono C2 em  $\delta$  76,3 e os hidrogênios H4 em  $\delta$  1,87 e 2,00, entre o carbono C1 em  $\delta$  77,6 e o hidrogênio H6 em  $\delta$  1,90, bem como entre o carbono C4 em 41,1 e o hidrogênio H6 em  $\delta$  1,90. Demais correlações estão apresentadas na **Tabela 34**.



**Figura 7:** Mapa de contornos HMQC para P16.

No mapa de contornos HMBC (**Figura 8**) foram observadas as correlações entre o carbono C2 em  $\delta$  76,3 e os hidrogênios H4 em  $\delta$  1,87 e 2,00, entre o carbono C1 em  $\delta$  77,6 e o hidrogênio H6 em  $\delta$  1,90, bem como entre o carbono C4 em 41,1 e o hidrogênio H6 em  $\delta$  1,90. Demais correlações estão apresentadas na **Tabela 34**.

**Tabela 34:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMBC para **P16**.

$\delta_{\text{H}}$ (H)	$\delta_{\text{C}}$ (C)
1,90 e 2,01 (H6)	77,6 (C1)
1,87 e 2,00 (H4)	76,3 (C2)
3,97 (H3)	
1,87 e 2,00 (H4)	68,8 (C3)
3,52 (H2)	
1,90 (H6)	41,1 (C4)
1,87-2,01 (H4 ou H6)	181,9 (C5)
2,00 (H4)	38,9 (C6)
1,90 (H6)	71,3 (C7)

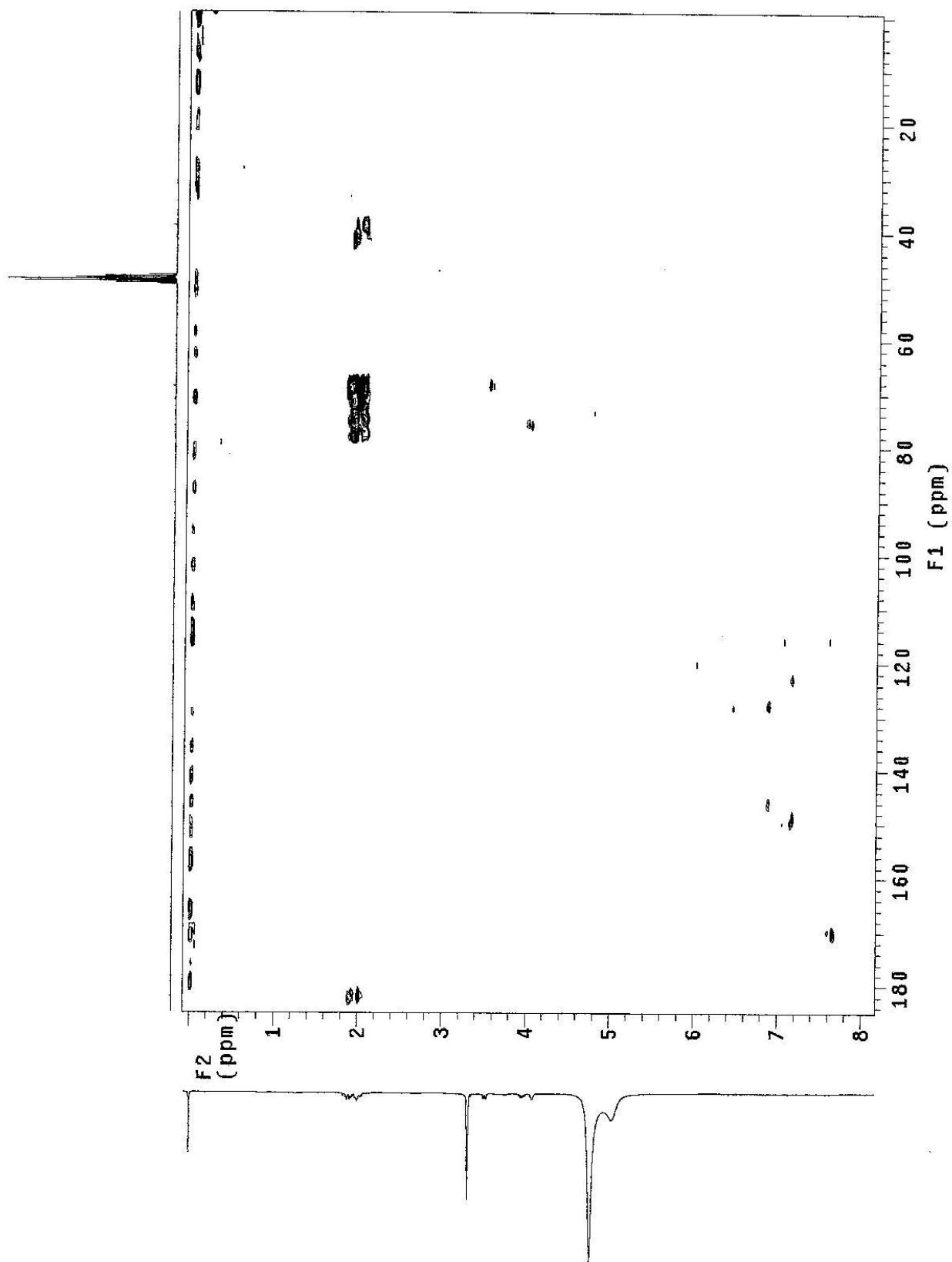


Figura 8: Mapa de contornos HMBC para P16.

Assim, com base nos dados espectrais obtidos, foi concluído que **P16** poderia tratar-se de um composto derivado da calistegina N1. (**Tabela 35**).

**Tabela 35:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de RMN de  $^{13}\text{C}$  para o composto **P16** e para a Calistegina N1

C	P16		Calistegina N1	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (DEPT)	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)*	$\delta_{\text{C}}$ (DEPT)
1		77,6 (C)		78,3 (C)
2	3,52 (dd; 8,4; 3,3)	76,3(CH)	3,23 (dd; 8,5; 1,5)	80,7(CH)
3	3,97 (td; 8,4 ;4,8)	68,8(CH)	3,28 (t; 8,5)	77,7(CH)
4	1,87 (m) 2,00 (m)	41,1(CH <sub>2</sub> )	3,51 (dd; 8,5; 4,0)	77,5 (CH)
5		181,9(C)	3,26 (dd; 7,0; 4,0)	59,5 (CH)
6	1,90 (m) 2,01 (m)	38,9(CH <sub>2</sub> )	1,73 (m) 1,85 (m)	25,8(CH <sub>2</sub> )
7	4,09 (m)	71,3(CH)	1,34 (m) 1,91 (m)	32,9 (CH <sub>2</sub> )

( $\delta$ -ppm; 300 e 75,5 MHz; CD<sub>3</sub>OD; \*D<sub>2</sub>O)

As calisteginas estão associadas às atividades de inibição de enzimas glicosidases (Asano *et al.*, 1995 e 1996). Para Asano, as calisteginas são bastante úteis para investigação do mecanismo de ação e função destas enzimas e, desta forma, o derivado isolado **P16** passaria a ser mais um metabólito viável para realização de pesquisa com este objetivo.

Não foram encontrados relatos de alcalóides nortropânicos em Rubiáceas, sendo este tipo de estrutura mais comum em espécies das famílias Convolvulaceae, Moraceae e Solanaceae (Asano, 1996). Segundo Dräger (2003), os alcalóides tropânicos, em geral, estão mais distribuídos entre as plantas Angiospermas, o que é o caso das Palicoureas. Dräger ainda descreve que a biossíntese das calisteginas ocorre inicialmente a partir da tropinona e de enzimas redutases e que, também, esta classe de compostos é altamente hidrofílica, sendo que **P16** foi isolado de uma fração hidrometanólica. Há suspeitas de que as

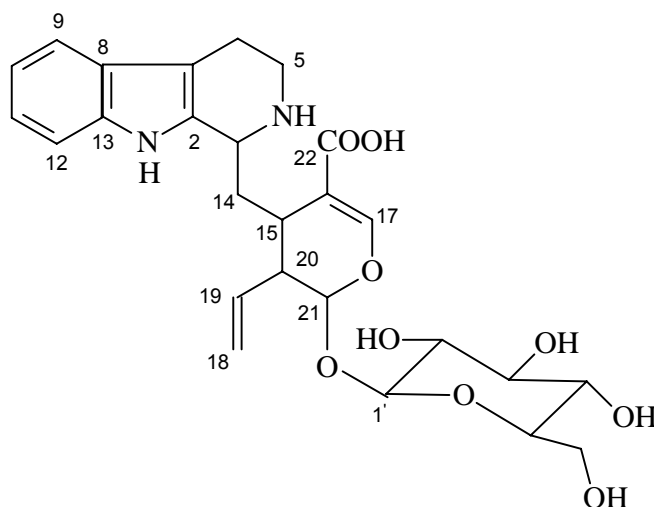
calisteginas podem causar intoxicações, porém mais estudos são necessários para provar esta ação (Dräger, 2003).

E embora a estrutura proposta seja coerente com os dados espectrais apresentados, a montagem do modelo molecular revelou uma alta tensão devido à ligação dupla em cabeça de ponte. Este fato inviabiliza a proposta estrutural que deve ser revista.

De qualquer maneira, o isolamento de **P16** enriquece o perfil químico do gênero *Palicourea* e confirma mais uma vez a presença da classe alcalóides na espécie *P. rigida*, bem como sua correta classificação botânica.



#### 4.1.2. Composto P15



O alcalóide acima foi isolado da fração metanólica das flores de *P. rigida*.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 9**) foram observados sinais de hidrogênios de sistema aromático em  $\delta$  7,45 (d; 7,6 Hz; H9); 7,03 (td; 7,6; 1,0 Hz; H10); 7,12 (td; 7,6; 1,0 Hz; H11); 7,30 (d; 7,6 Hz; H12), bem como sinais de hidrogênios metilênicos em  $\delta$  3,68 (m; H5a); 3,74 (m; H5b); 3,00 (m; H6); 2,11 (td; 13,3; 4,2 Hz; H14a) e 2,36 (t; 13,3 Hz; H14b). Os sinais em  $\delta$  4,44 (dl; 10,8 Hz); 2,90-3,00 (m); 2,62-2,74 (m) e 5,82 (d; 9,3 Hz) foram atribuídos, respectivamente, aos hidrogênios metínicos H3, H15, H20 e H21 enquanto que os hidrogênios olefínicos foram evidenciados em  $\delta$  7,57 (sl; H17); 5,20 (d; 10,8 Hz; H18a); 5,30 (d; 17,4 Hz; H18b) e 5,78-5,90 (m; H19).

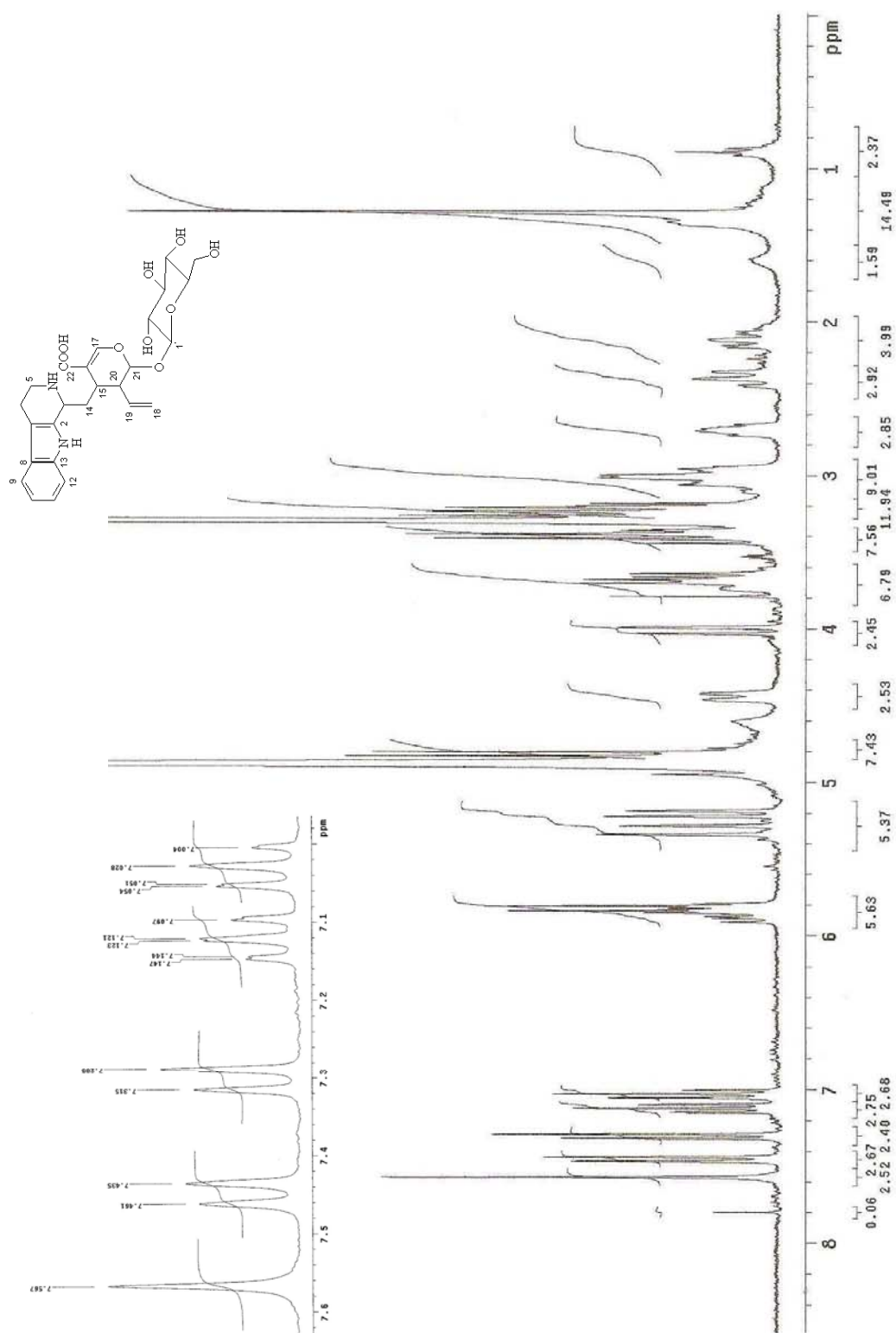


Figura 9: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para P15.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT (**Figura 10**), os sinais de carbono em  $\delta$  107,4 (C7); 112,4 (C12); 119,1 (C9); 120,7 (C10); 123,5 (C11) 127,7 (C8); 130,7 (C2) e 138,4 (C13) mostraram ser de um composto indólico dissustituído. Os sinais em  $\delta$  34,2 (C15); 45,9 (C20); 52,5 (C3) e 96,7 (C21) foram associados aos carbonos metínicos e os sinais em  $\delta$  153,6 (C17); 119,2 (C18); 136,4 (C19) foram atribuídos aos carbonos olefínicos. Ainda foram observados sinais de uma carbonila em  $\delta$  175,9 e de três carbonos metilênicos em  $\delta$  43,2 (C5); 19,8 (C6) e 35,3 (C14).

O sinal em  $\delta$  100,5 indicou a presença de um carbono anomérico e, portanto, de uma unidade de açúcar, que foi confirmada pelo sinal de hidrogênio em 4,80 (d; 7,8 Hz) no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ . A constante de acoplamento 7,8 Hz sugeriu a configuração  $\beta$  para esta unidade e o sinal de carbono metilênico em  $\delta$  63,2 evidenciou que a unidade é a glicose.

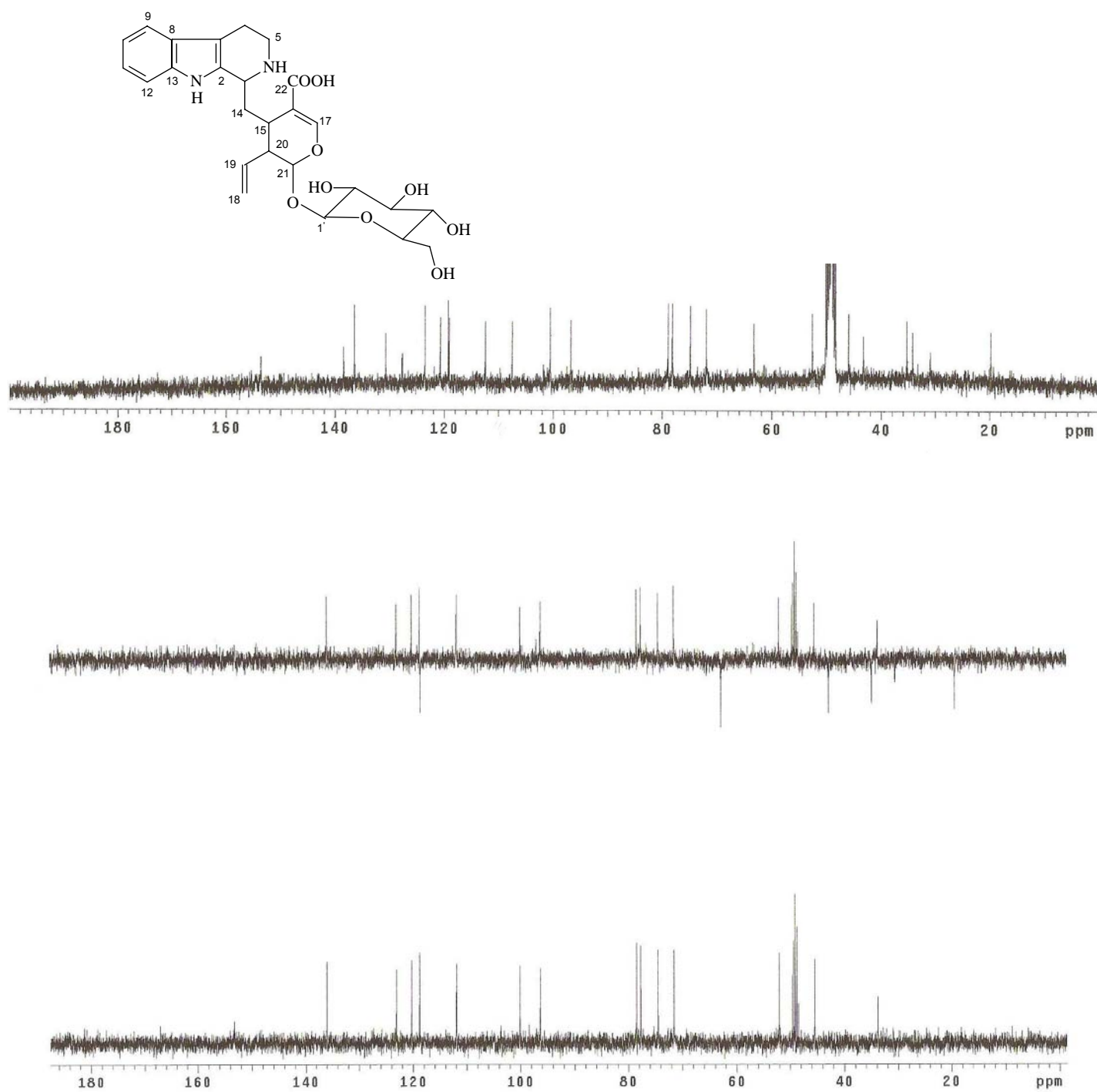
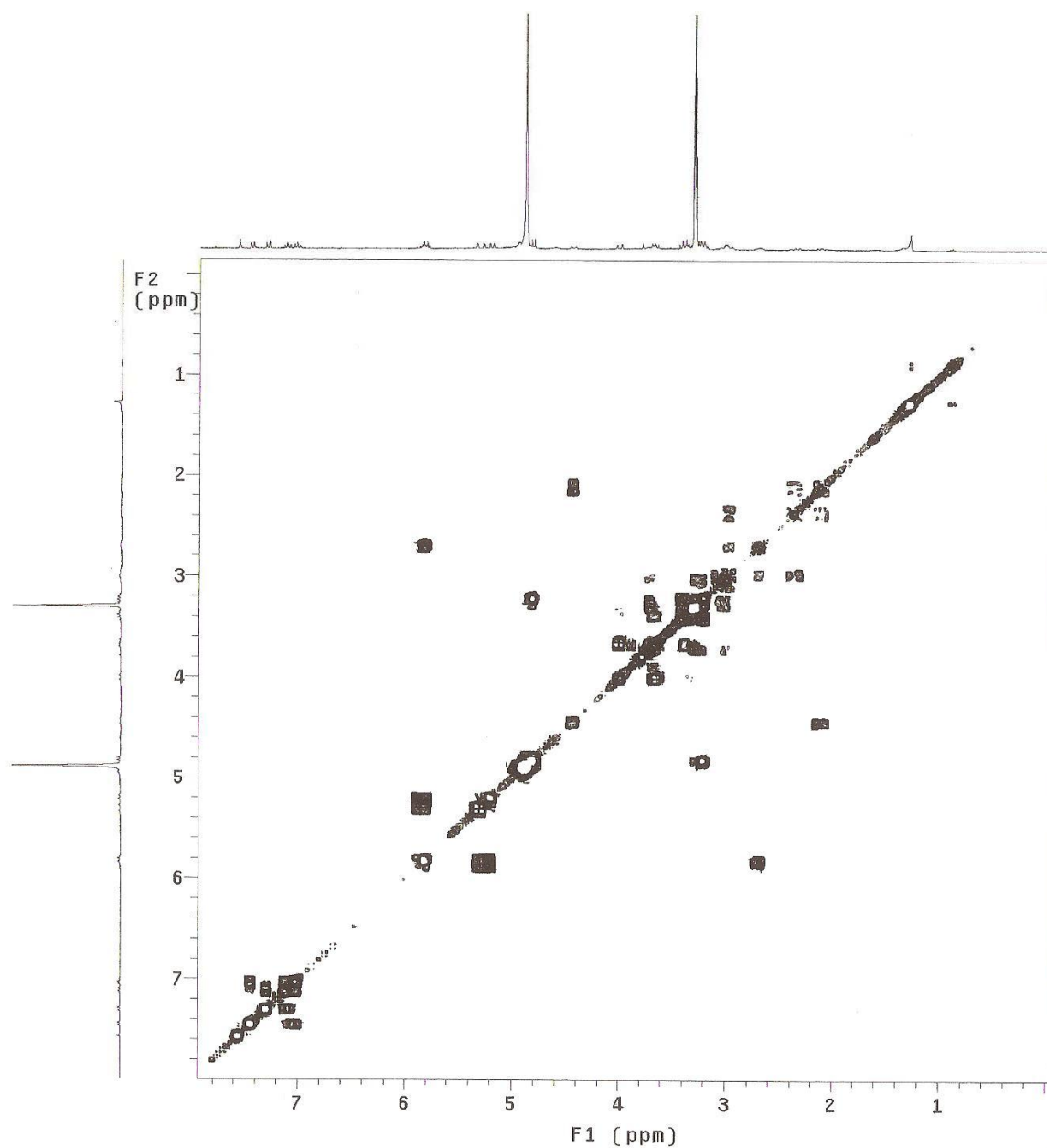


Figura 10: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT para P15.

No mapa de contornos  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  COSY para **P15 (Figura 11)** as principais correlações observadas foram entre H-20 em  $\delta$  2,62-2,74 e H19 em 5,78-5,90 (e/ou H21 em  $\delta$  5,82); H18 em  $\delta$  5,20 e 5,30 e H19 em 5,78-5,90; H5 em  $\delta$  3,68 e 3,74 e H6 em  $\delta$  3,00, entre H3 em  $\delta$  4,44 e H14a em  $\delta$  2,11 e entre o H14b em  $\delta$  2,36 e H15 em  $\delta$  2,90-3,00. As correlações entre os hidrogênios aromáticos também foram evidentes e seguem na **Tabela 36**.

**Tabela 36:** Principais correlações homonucleares  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  observadas no mapa de contornos COSY para **P15**.

$\delta$ $^1\text{H}$ (mult.; J em Hz; H)	$\delta$ $^1\text{H}$ (mult.; J em Hz; H)
7,03 (td; 7,6; 1,0; H10)	7,45 (d; 7,6; H9)
	7,12 (td; 7,6; 1,0; H11)
7,12 (td; 7,6 ;1,0; H11)	7,30 (d; 7,6; H12)
2,62-2,74 (m; H20)	5,78-5,90 (m; H19)
	5,82 (d; 9,3; H21)
5,20 (d; 10,8 Hz; H18)	5,78-5,90 (m; H19)
5,30 (d; 17,4 Hz; H18)	
3,68 (m; H5)	3,0 (m; H6)
3,74 (m; H5)	
4,44 (dl; 10,8; H3)	2,11 (td; 13,3; 4,2; H14)
2,90-3,0 (m; H15)	2,36 (t; 13,3; H14)

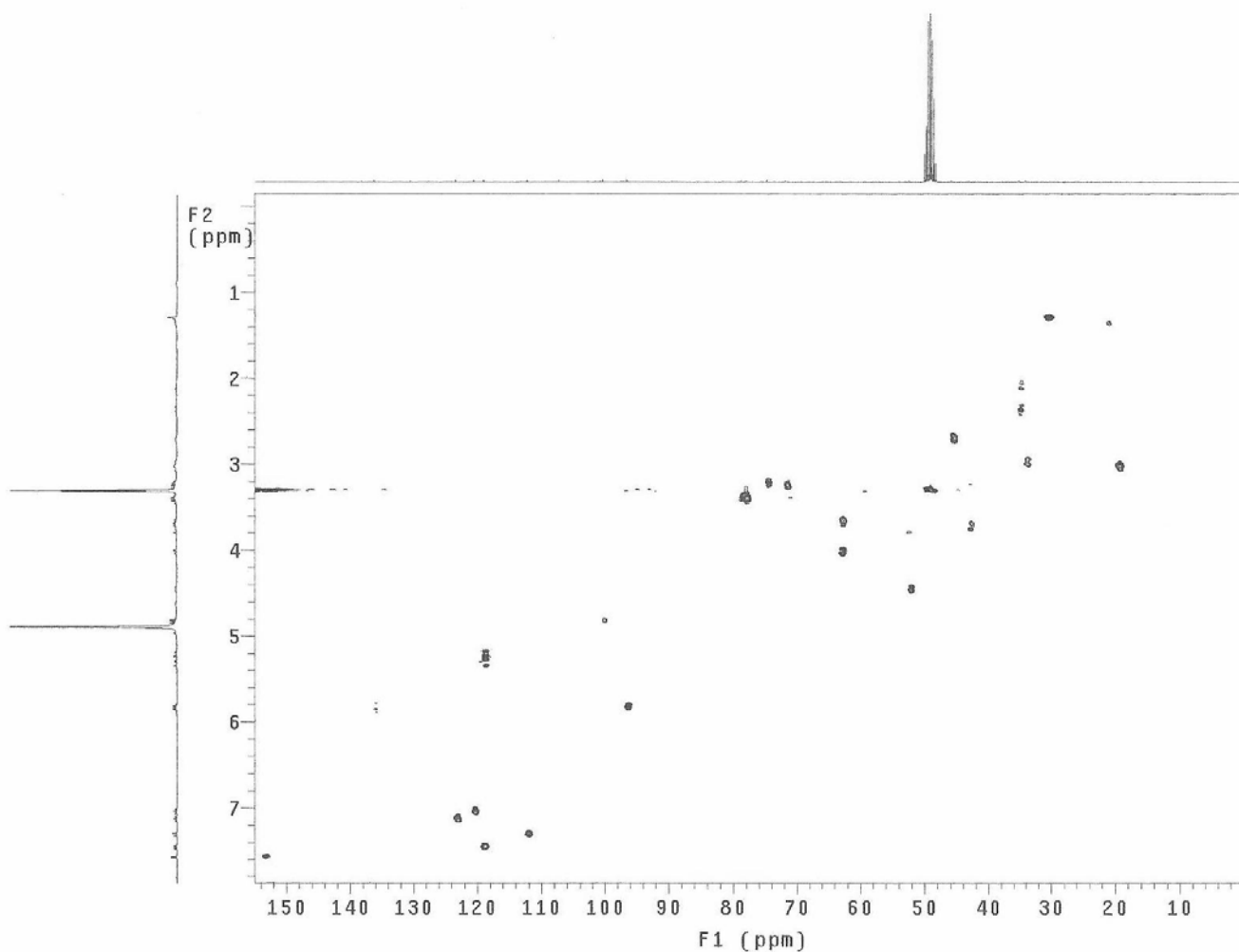


**Figura 11:** Mapa de contornos COSY para **P15**.

Pela análise do mapa de contornos HMQC (**Figura 12; Tabela 37**) de **P15** foram observadas as correlações entre carbonos e hidrogênios característico de núcleo indólico monoterpênico glicosilado, consolidando todas as atribuições descritas anteriormente.

**Tabela 37:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMQC para **P15**.

<b>C</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
3	4,44	52,5
5	3,68	43,2
	3,74	
6	3,0	19,8
9	7,45	119,1
10	7,03	120,7
11	7,12	123,5
12	7,30	112,4
14	2,11	35,3
	2,36	
15	2,90-3,00	34,2
17	7,57	153,6
18	5,20	119,2
	5,30	
19	5,78-5,90	136,4
20	2,62-2,74	45,9
21	5,82	96,7
1'	4,80	100,5
2'	3,24	74,9
3'	3,26-3,44	78,1
4'	3,18-3,28	71,9
5'	3,26-3,44	78,9
6'	4,01	63,2
	3,67	



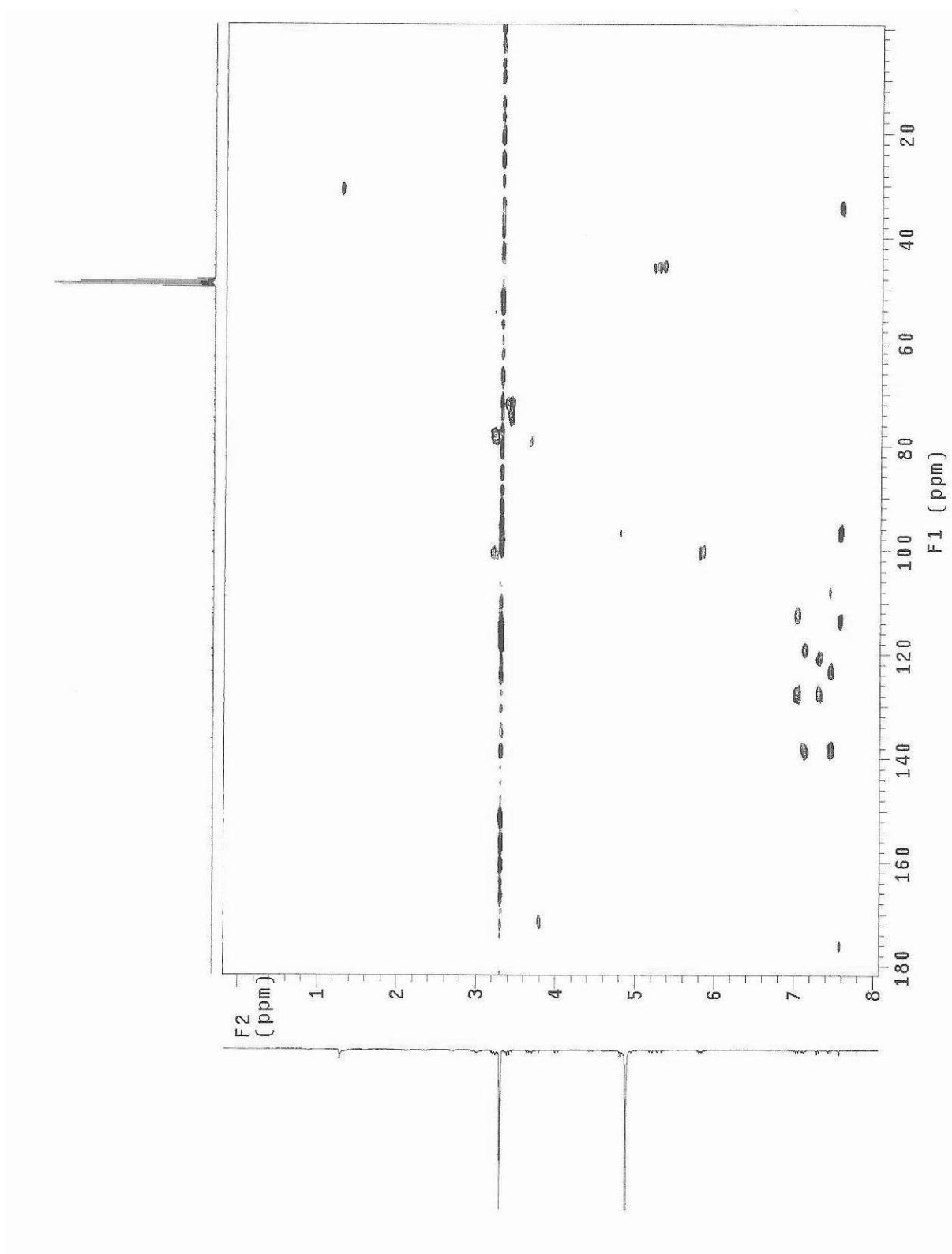
**Figura 12:** Mapa de contornos HMBC para **P15**

No mapa de contornos HMBC (**Figura 13**) destacam-se as correlações entre o sinal em  $\delta$  107,4 do carbono C7 e o hidrogênio H9 em  $\delta$  7,45; entre  $\delta$  112,4 do carbono C12 e o hidrogênio H10 em  $\delta$  7,03; bem como entre o carbono carbonílico C22 em  $\delta$  175,9 e o hidrogênio vinílico H17 em  $\delta$  7,57; entre o carbono metínico C20 em  $\delta$  45,9 e os hidrogênios metilênicos H18 em  $\delta$  5,20 e 5,30 e também entre o carbono anomérico C1' em 100,5 e o hidrogênio H21 em  $\delta$  5,82. Estas e demais correlações seguem apresentadas na **Tabela 38** e confirmam a estrutura proposta.



**Tabela 38:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos de HMBC para **P15**.

$\delta_{\text{H}}$ (H)	$\delta_{\text{C}}$ (C)
7,45 (H9)	107,4 (C7)
	123,5 (C11)
	138,4 (C13)
7,03 (H10)	112,4 (C12)
	127,7 (C8)
7,30 (H12)	127,7 (C8)
7,12 (H11)	138,4 (C13)
7,57 (H17)	175,9 (C22)
	96,7 (C21)
	34,2 (C15)
5,20 e 5,30 (H18)	45,9 (C20)
5,82 (H21)	100,5 (C1')



**Figura 13:** Mapa de contornos HMBC para P15.

A análise dos dados acima em comparação com os dados publicados na literatura para o ácido 3 *epi*-strictosidínico (Nascimento *et al.*; 2006) resultou que **P15** era o alcalóide o ácido strictosidínico (**Tabela 39**).

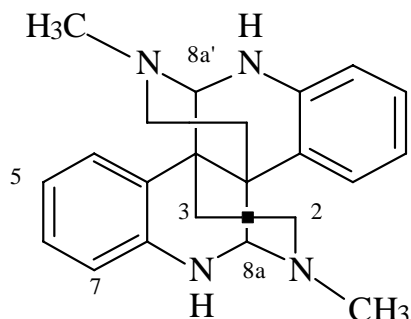
**Tabela 39:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  para o composto **P15** e para o ácido 3-*epi*-strictosidínico.

C	P15		ácido 3 <i>epi</i> -strictosidínico	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; <i>J</i> em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; <i>J</i> em Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2	-	130,7	-	129,5
3	4,44 (dl; 10,8)	52,5	4,54 (brs)	59,5
5	3,68 (m)	43,2	3,40 (m)	51,0
	3,74 (m)		3,60 (m)	
6	3,00 (m)	19,8	3,02 (m)	17,3
7		107,4		106,0
8		127,5		127,5
9	7,45 (d; 7,7)	119,1	7,46 (d; 7,8)	119,0
10	7,03 (td; 7,7; 1,0)	120,7	7,05 (td; 7,8; 0,9)	120,6
11	7,12 (td; 7,7; 1,0)	123,5	7,12 (td; 7,8; 0,9)	123,3
12	7,30 (d; 7,7)	112,4	7,32 (d; 7,8)	112,3
13		138,4		138,3
14	2,11 (td; 13,3; 4,2)	35,3	2,25 (td; 11,4; 4,2)	33,0
	2,36 (td; 13,3)			
15	2,90-3,00 (m)	34,2	2,94 (m)	33,6
16		n.d.		114,5
17	7,57 (sl)	153,6	7,48 (br s)	152,4
18	5,20 (d; 10,8)	119,2	5,22 (d; 10,5)	119,0
	5,30 (d; 17,4)		5,30 (d; 17,4)	
19	5,78-5,90 (m)	136,4	5,85 (ddd; 17,4; 10,5; 7,8)	136,5
20	2,62-2,74 (m)	45,9	2,68 (m)	45,8
21	5,82 (d; 9,3)	96,7	5,72 (d; 8,1)	96,8
22		175,9		175,0
1	4,80 (d; 7,8)	100,5	4,76 (d; 7,8)	100,3
2	3,24 (dd; 7,8; 8,1)	74,9	3,20 (m)	74,7
3	3,26-3,44 (m)	78,1	3,40 (m)	77,9
4	3,18-3,28 (m)	71,9	3,24 (m)	71,8
5	3,26-3,44 (m)	78,9	3,36 (m)	78,6
6	4,01 (dd; 11,7; 1,8)	63,2	3,96 (brd; 10,5)	63,1
	3,67 (dd; 11,7; 6,9)		3,66 (m)	

(P2:  $\delta$ -ppm; 300 e 75,5 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ; n.d.=não detectado)

O ácido strictosidínico apresenta as atividades analgésicas e antipiréticas (Nascimento, 2005).

### 4.1.3. Composto P1



O composto **P1** foi isolado da fração butanólica das folhas de *P. coriacea*.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 14**) apresentou sinais na região de hidrogênios de sistema aromático em  $\delta$  6,30 (d;  $J=7,8\text{Hz}$ ; H7);  $\delta$  7,05 (d;  $J=7,8\text{Hz}$ ; H4);  $\delta$  6,78 (t;  $J=7,8\text{ Hz}$ ; H6) e  $\delta$  6,50 (t;  $J=7,8\text{ Hz}$ ; H5). O singleto em  $\delta$  2,54 revelou a presença de hidrogênios metílicos vizinhos ao nitrogênio (N-CH<sub>3</sub>) e o singleto em  $\delta$  4,71 foi atribuído ao H8a entre os dois átomos de nitrogênio.

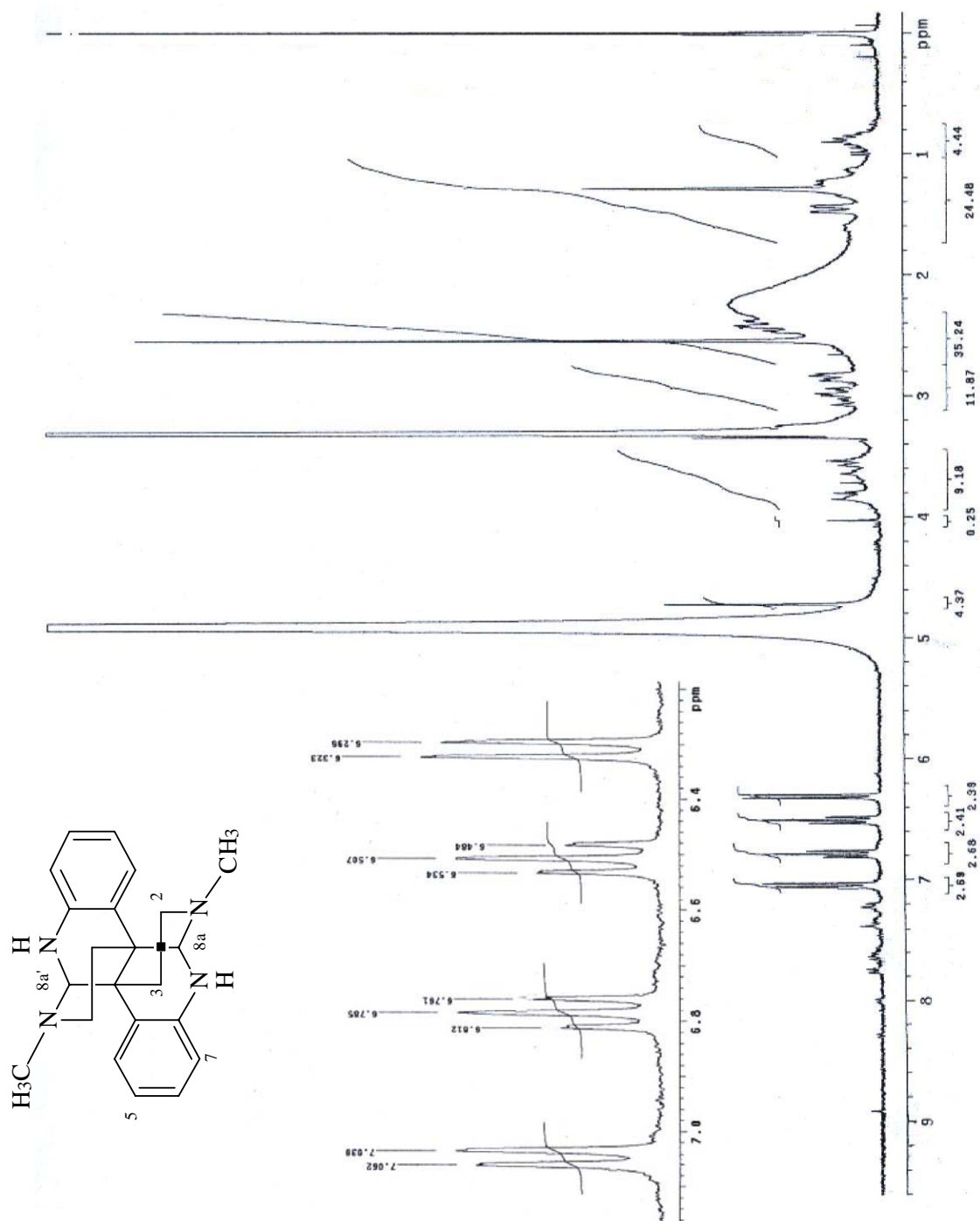
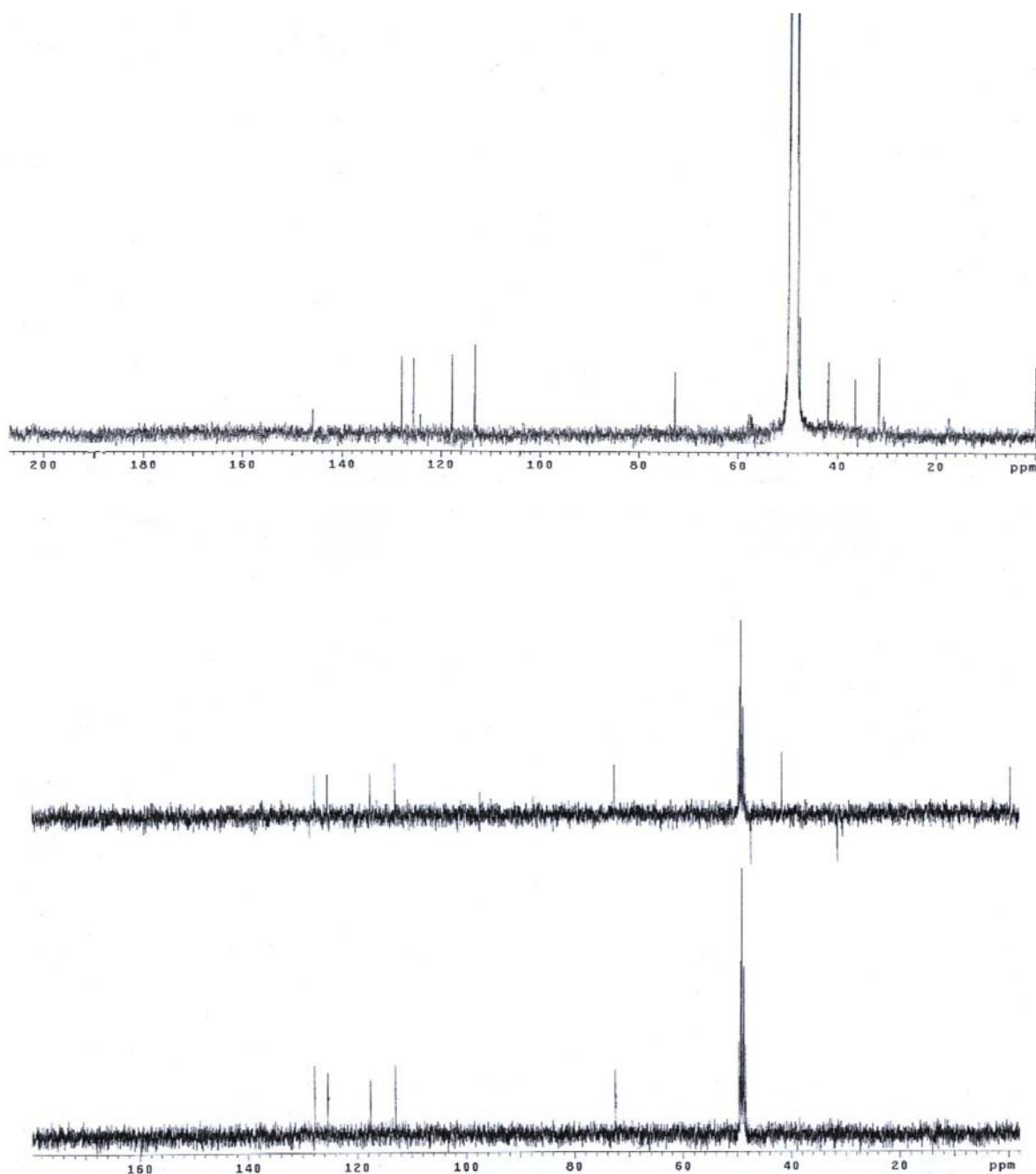


Figura 14: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para P1.

Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT (**Figura 15**) foi possível observar o sinal em  $\delta$  41,9 referente ao grupo metila ligado ao nitrogênio, dois carbonos metilênicos em  $\delta$  31,7 (C3) e  $\delta$  47,6 (C2) e um carbono metínico entre dois nitrogênios em  $\delta$  72,8 (C8a).

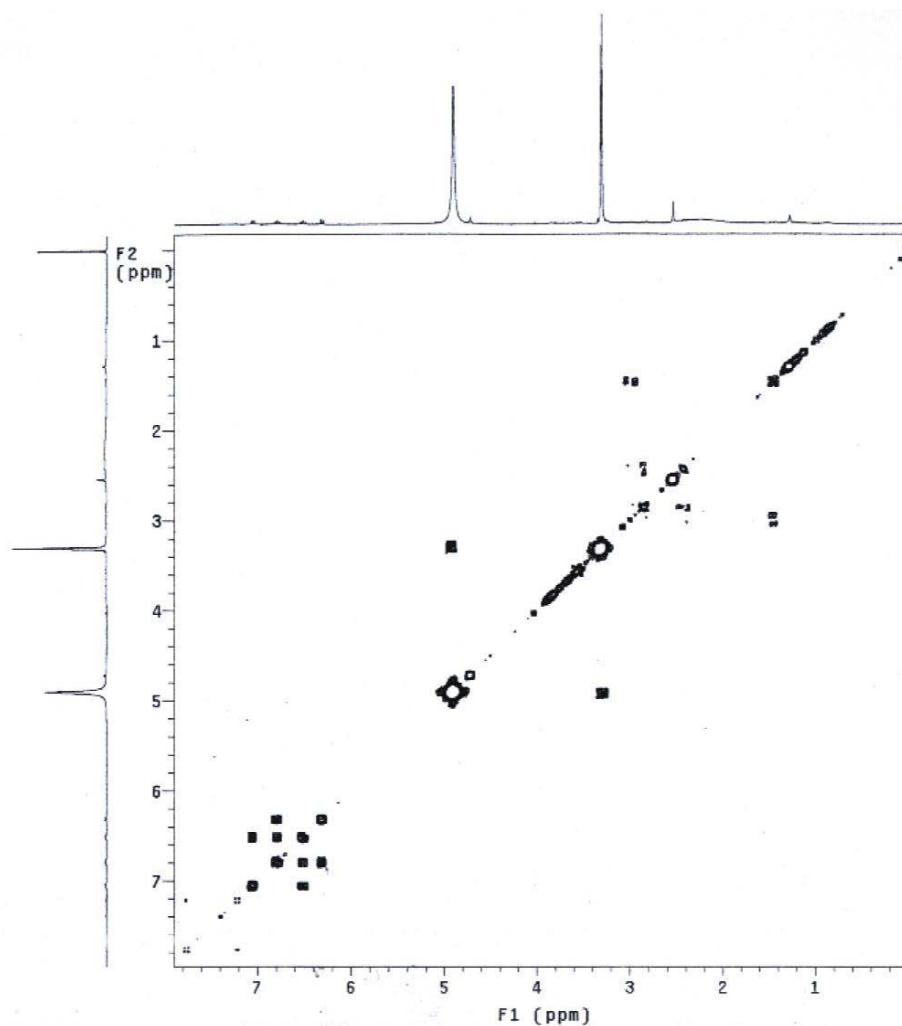


**Figura 15:** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT para P1.

A análise do espectro bidimensional de  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  COSY (**Figura 16**) revelou a correlação do sinal em  $\delta$  6,30 (H7) com  $\delta$  6,78 (H6) entre outras apresentadas na **Tabela 40**.

**Tabela 40:** Principais correlações homonucleares  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  observadas no mapa de contornos COSY para **P1**.

$\delta$ $^1\text{H}$ (mult.; $J$ em Hz; H)	$\delta$ $^1\text{H}$ (mult.; $J$ em Hz; H)
6,30 (d; 7,8; H7)	6,78 (t; 7,8; H6)
6,50 (t; 7,8; H5)	6,78 (t; 7,8; H6)
	7,05 (d; 7,8; H4)
2,42 (ddd; 13,8; 12,0; 3,9; H2)	1,45 (dd; 13,8; 2,5; H3)



**Figura 16:** Mapa de contornos COSY para **P1**.

Algumas das correlações observadas no mapa de contornos HMQC (**Figura 17; Tabela 41**), como por exemplo  $\delta_H$  4,71 com  $\delta_C$  72,8 (8a);  $\delta_H$  2,54 com  $\delta_C$  41,9 (N-CH<sub>3</sub>), foram importantes para a caracterização da substância P1.

**Tabela 41:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMQC para **P1**.

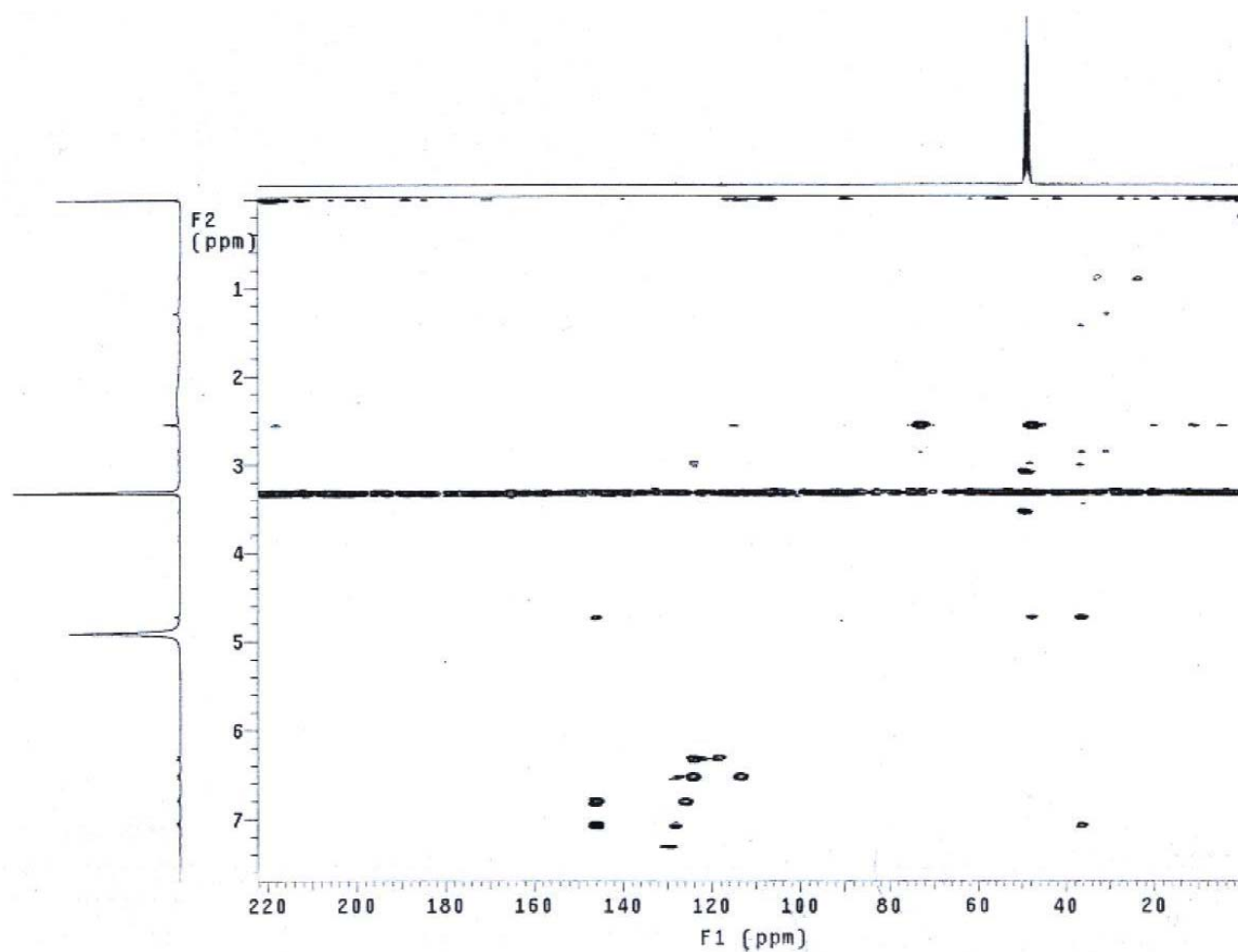
<b>C</b>	$\delta_H$	$\delta_C$
2	2,42 e 2,84	47,6
3	1,45	31,7
4	7,05	125,6
5	6,50	117,8
6	6,78	128,0
7	6,30	113,3
8 <sup>a</sup>	4,71	72,8
	2,54	41,9

Demais atribuições foram feitas com base nas correlações observadas no espectro de HMBC (**Figura 18; Tabela 42**).

**Tabela 42:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMBC para **P1**.

$\delta_H$ (H)	$\delta_C$ (C)
6,78 (H6); 7,05 (H4); 4,71 (H8a)	145,8 (C7a)
6,50 (H5)	113,3 (C7)
6,30 (H7)	117,8 (C5)
6,78 (H6)	125,6 (C4)
7,05 (H4)	128,0 (C6)





**Figura 17:** Mapa de contornos HMQC para **P1**.

Demais atribuições foram feitas com base nas correlações observadas no espectro de HMBC (**Figura 18; Tabela 42**).

**Tabela 42:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMBC para **P1**.

$\delta_{\text{H}}$ (H)	$\delta_{\text{C}}$ (C)
6,78 (H6); 7,05 (H4); 4,71 (H8a)	145,8 (C7a)
6,50 (H5)	113,3 (C7)
6,30 (H7)	117,8 (C5)
6,78 (H6)	125,6 (C4)
7,05 (H4)	128,0 (C6)

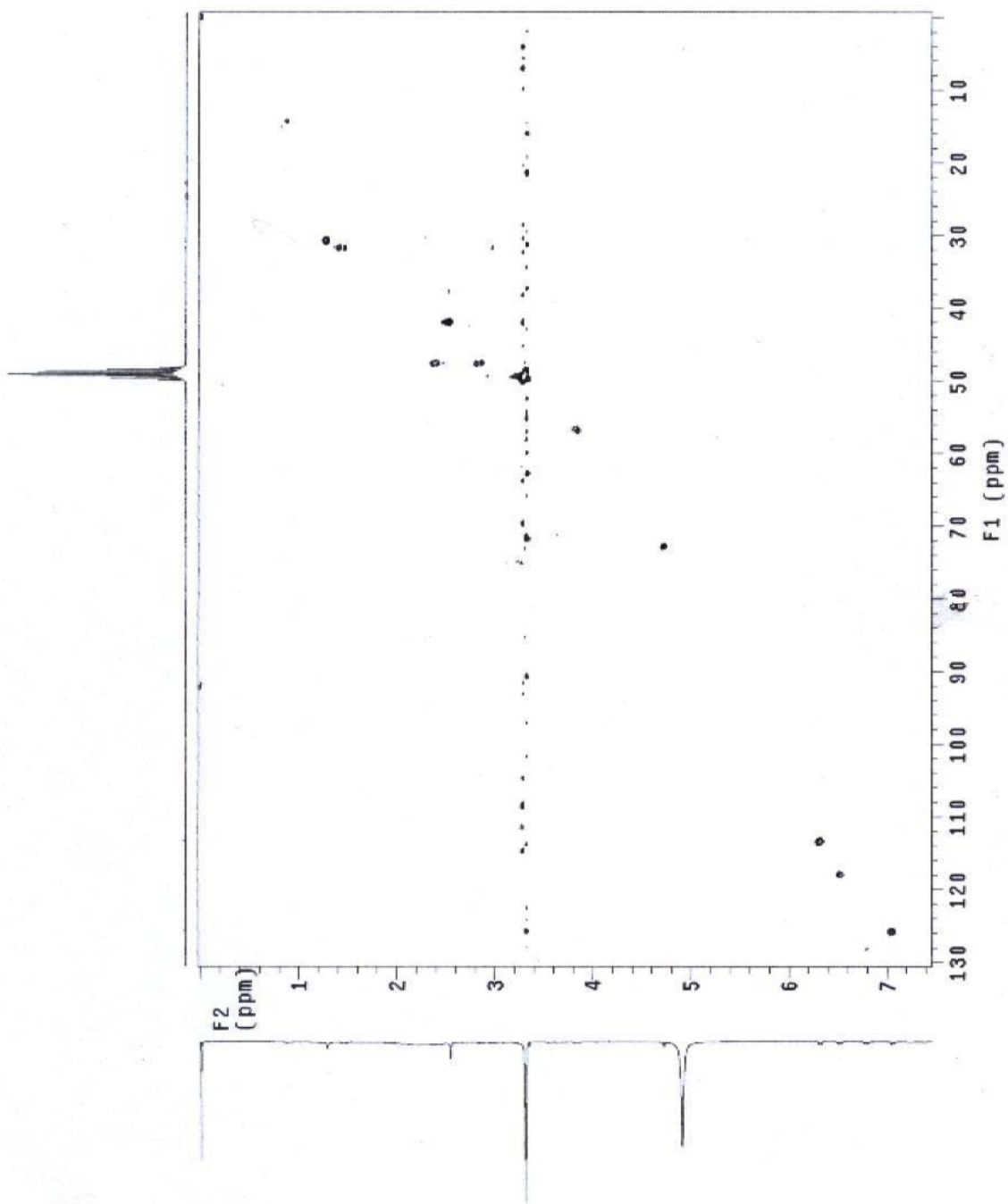


Figura 18: Mapa de contornos HMBC para P1.

A concordância dos dados relatados acima com os dados da literatura (Vencato; 2004; Adjibade, 1992) para a calicantina (**Tabela 43**) confirmou a estrutura proposta.

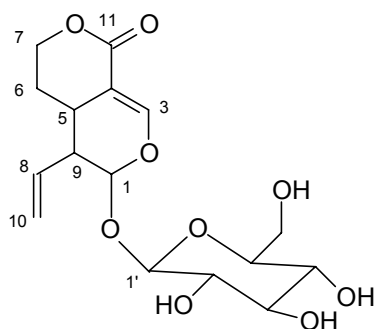
**Tabela 43:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  para a o composto **P1** e para calicantina

C	P1		Calicantina <sup>a</sup>		Calicantina <sup>b</sup>	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2	2,42 (ddd; 13,8; 12,0; 4,0) 2,84 (dd; 12,0; 4,0)	47,6	2,26 (ddd; 13,2; 11,7; 3,9) 2,60 (ddd; 12,9; 6,6; 1,2)	46,5	2,26 (ddd; 13,2; 11,6; 4,0) 2,62 (ddd; 11,6; 4,0; 1,4)	47,3
3	1,45 (dd; 13,8; 2,5)	31,7	1,30 (ddd; 13,2; 3,9; 1,5)	31,6	1,29 (ddd; 13,2; 4,0; 1,4)	32,5
4	7,05 (d; 7,8)	125,6	6,99 (td; 7,8; 1,2)	116,3		117,1
5	6,50 (t; 7,8)	117,8	6,53 (td; 7,8; 1,2)	125,0		125,2
6	6,78 (t; 7,8)	128,0	6,81 (td; 7,8; 1,2)	126,5		127,3
7	6,30 (d; 7,8)	113,3	6,26 (dd; 7,8; 1,2)	112,0		112,8
3 <sup>a</sup>		36,4	3,12 (td; 13,2; 5,7)	35,9	3,13 (td; 13,2; 5,6)	36,8
4 <sup>a</sup>		124,2		124,4		125,9
7 <sup>a</sup>		145,8		145,0		146,2
8 <sup>a</sup>	4,71 (s)	72,8		71,0	4,31 (s)	71,8
CH <sub>3</sub>	2,54 (s)	41,9	2,40 (s)	42,5	2,41 (s)	43,4

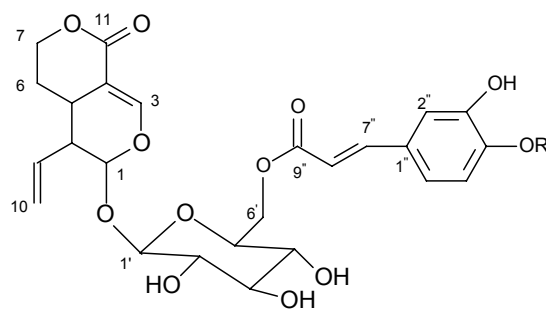
( $\delta$ -ppm; 300 e 75,5 MHz; CD<sub>3</sub>OD); (<sup>a</sup>Vencato; 2004; <sup>b</sup>Adjibade, 1992)

Dentre as atividades biológicas associadas à calicantina é bastante conhecida sua ação convulsivante (Chebib *et al.*, 2003).

## 4.2. Iridóides

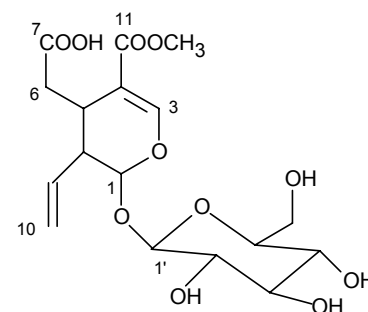


**P5**



R=H (**P6**)

R=frutopiranoose (**P6'**)



**P17**

Os compostos **P5** e **P6** foram isolados, ambos, da fração metanólica das folhas de *P. rigida*, enquanto a mistura **P5+P17** foi proveniente da fração acetato de etila das flores desta mesma espécie. O composto **P5** também foi isolado da fração acetato de etila das folhas de *P. rigida*.

### 4.2.1. Composto P5

A partir dos dados de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 19**) para o composto **P5** foi possível evidenciar o sinal em  $\delta$  7,59 referente ao hidrogênio olefínico do éter enólico H3, bem como o duplete em  $\delta$  5,54 ( $J=1,5\text{Hz}$ ) associado ao hidrogênio do sistema acetal H1. Os duplos dupletos em  $\delta$  5,25 e 5,33 foram atribuídos aos hidrogênios do grupo metilênico (H10).

O sinal em  $\delta$  4,68 (d,  $J=7,8\text{Hz}$ ) foi identificado como sendo do hidrogênio anomérico H1', confirmando a presença de uma unidade glicosídica. A magnitude da constante de acoplamento indicou a configuração  $\beta$  para essa unidade. Outros sinais de hidrogênios glicosídicos foram observados na região de  $\delta$  3,1-3,9.

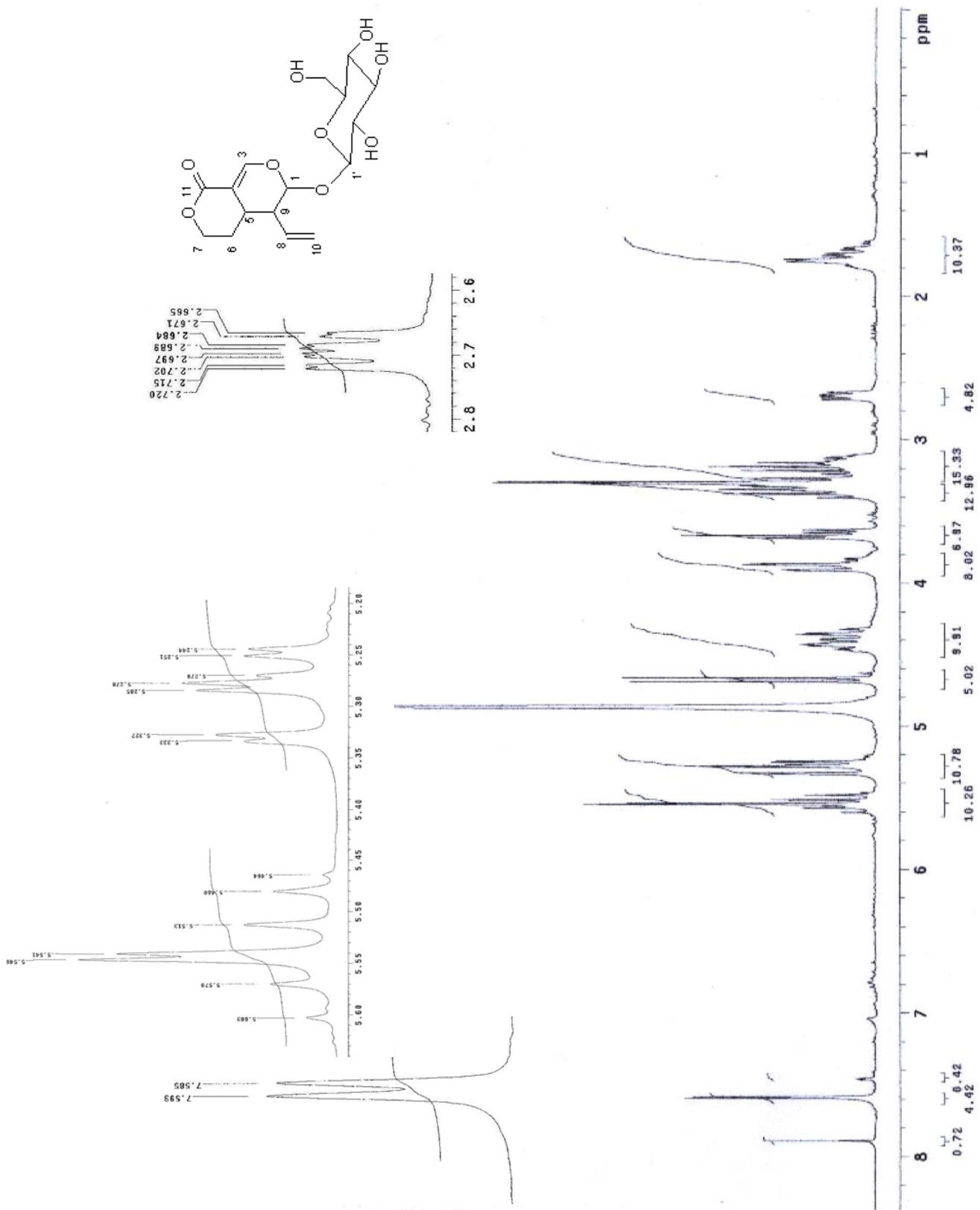
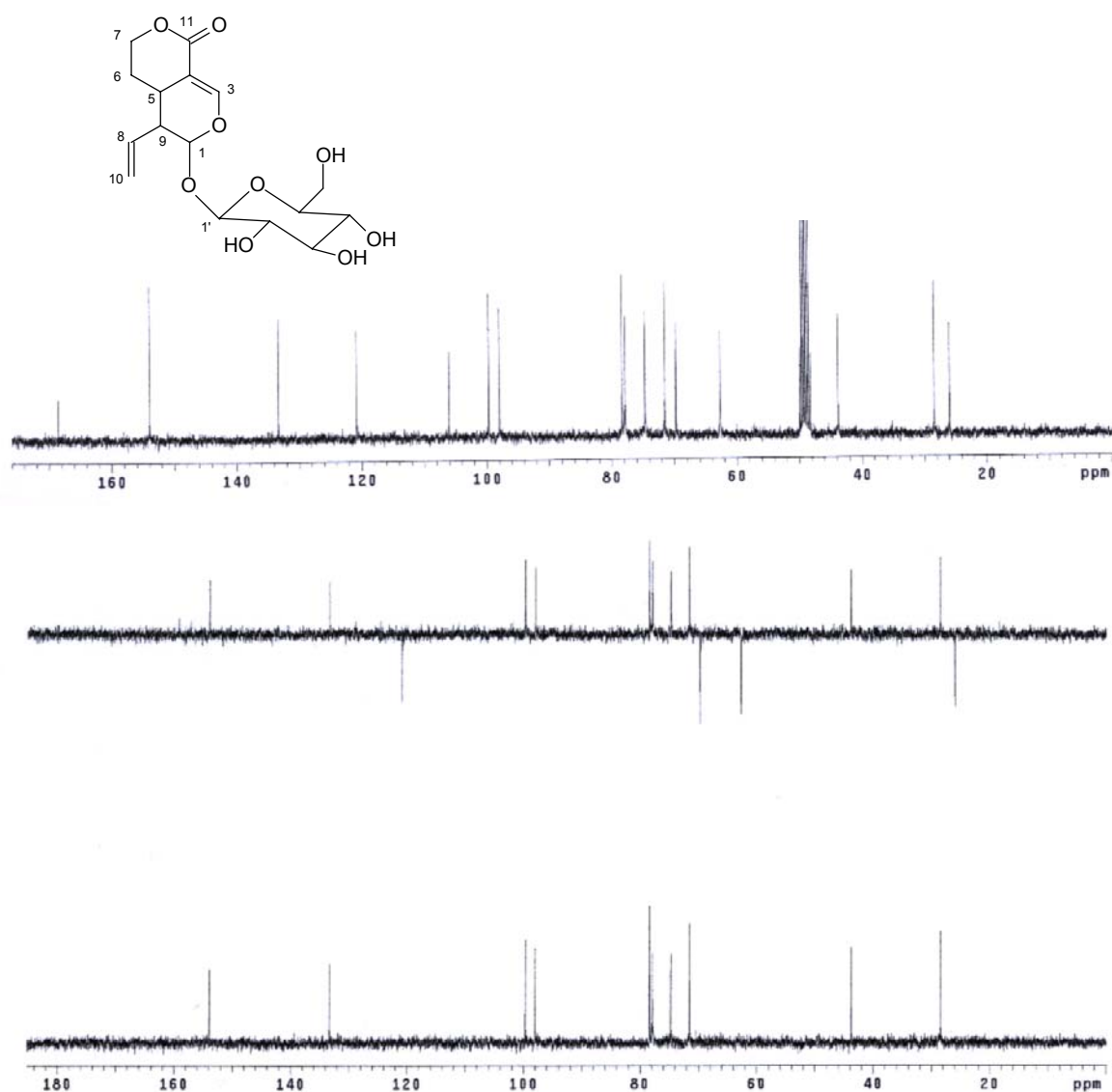


Figura 19: Espectro de RMN de <sup>1</sup>H para P5.

Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT (**Figura 20**) para **P5** ficaram evidenciados os sinais de carbonos olefínicos em  $\delta$  106,0; 120,8; 133,3 e 153,9. O sinal em  $\delta$  168,5 indicou a presença de carbonila lactônica C11, da mesma maneira que o sinal em  $\delta$  62,6 confirmou a existência de um grupo metilênico atribuído à unidade glicosídica. Ainda foram observados os sinais em  $\delta$  97,9 associado ao carbono C1 e em  $\delta$  99,7 referente ao carbono C1'.

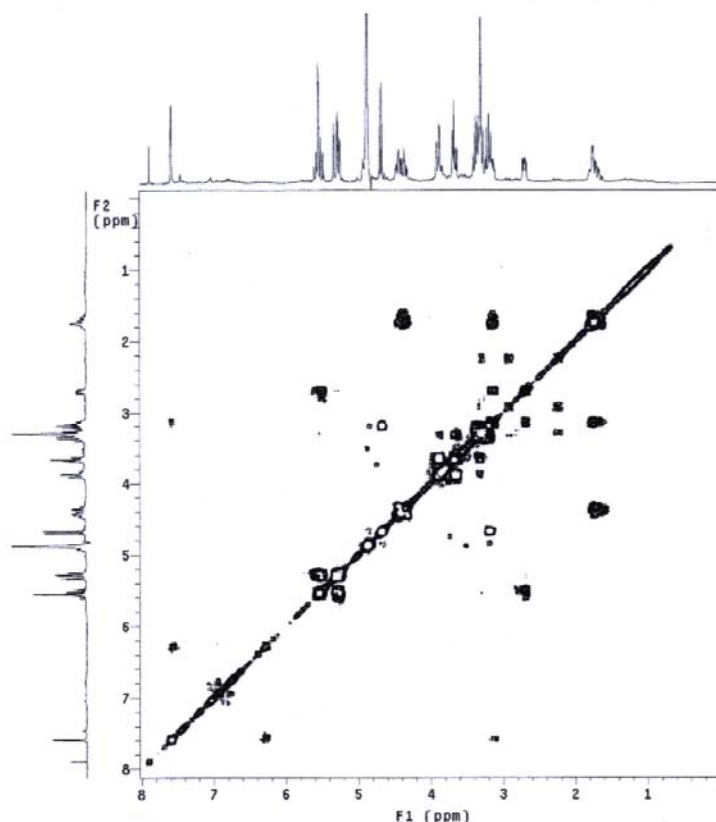


**Figura 20:** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT para **P5**.

No mapa de contornos  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  COSY (**Figura 21**) foram observadas correlações concordantes com a estrutura apresentada para **P5**, como por exemplo, as correlações entre H6 em  $\delta$  1,72 e H7 em  $\delta$  4,3-4,5; entre H9 em  $\delta$  2,68 e H5 em  $\delta$  3,14 ou ainda entre H9 em  $\delta$  2,68 e H8  $\delta$  5,54. Algumas outras correlações observadas constam na **Tabela 44** abaixo.

**Tabela 44:** Principais correlações homonucleares  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  observadas no mapa de contornos COSY para **P5**

$\delta$ $^1\text{H}$ (mult.; J em Hz; H)	$\delta$ $^1\text{H}$ (mult.; J em Hz; H)
4,3-4,5 (m; H7)	1,72 (m; H6)
2,68 (m; H9)	3,14 (m; H5)
2,68 (m; H9)	5,54 (dd; 17,1; 9,4; H8)
4,68 (d; 7,8; H1')	3,18 (m; H2')
3,87 (m; H6')	3,30 (m; H5')



**Figura 21:** Mapa de contornos COSY para **P5**.

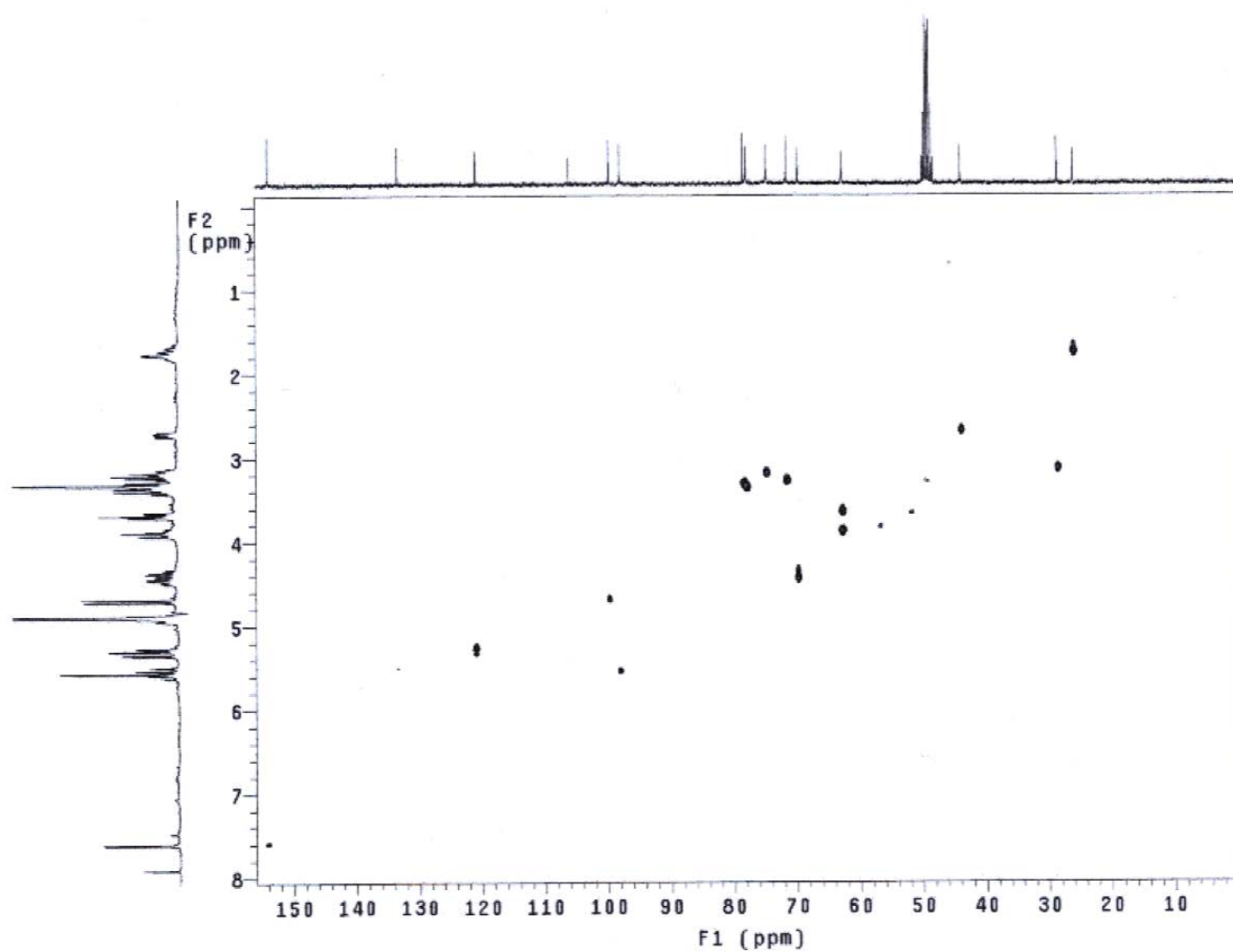
Pela análise do mapa de contornos HMQC de **P5 (Figura 22; Tabela 45)** as atribuições descritas anteriormente foram confirmadas.

**Tabela 45:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMQC para **P5**.

<b>C</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	5,54	97,9
3	7,59	153,9
5	3,14	28,4
6	1,72	25,9
7	4,30-4,50	69,7
8	5,54	133,3
9	2,68	43,8
10	5,25	120,8
	5,33	
1'	4,68	99,7
6'	3,67	62,6
	3,87	

A posição da unidade glicosídica foi determinada pelo mapa de contornos HMBC (**Figura 23**), sendo que foi observada a correlação do sinal em  $\delta_{\text{H}}$  5,54 (H1) com  $\delta_{\text{C}}$  99,7 (C1') e, conforme mencionado anteriormente, a magnitude da constante de acoplamento indicou a configuração  $\beta$  para esta unidade. Outras correlações estão descritas na **Tabela 46**.





**Figura 22:** Mapa de contornos HMQC para **P5**.

**Tabela 46:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMBC para **P5**.

$\delta_{\text{H}}$ (H)	$\delta_{\text{C}}$ (C)
5,54 (H1)	99,7 (C1)
7,60 (H3)	97,9 (C1)
	168,5 (C11)
2,68 (H9)	120,8 (C10)

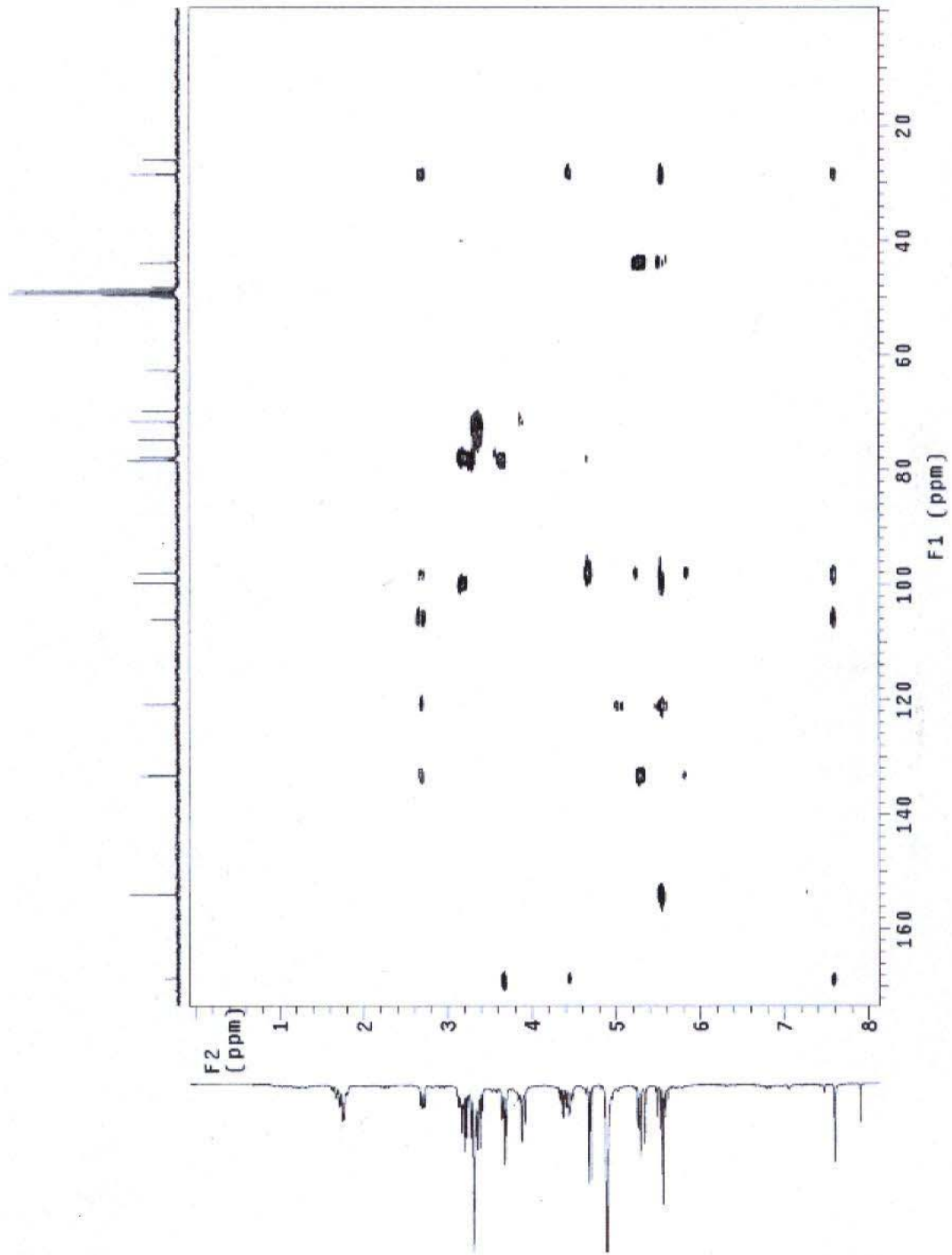


Figura 23: Mapa de contornos HMBC para P5.

Os sinais analisados foram concordantes aos da literatura (Takeda *et al.*, 1999; Prasad *et al.*, 2000) para o swerosideo, o que permitiu concluir que o composto isolado era este iridóide (**Tabela 47**).

**Tabela 47** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  para o composto **P5** e para swerosideo.

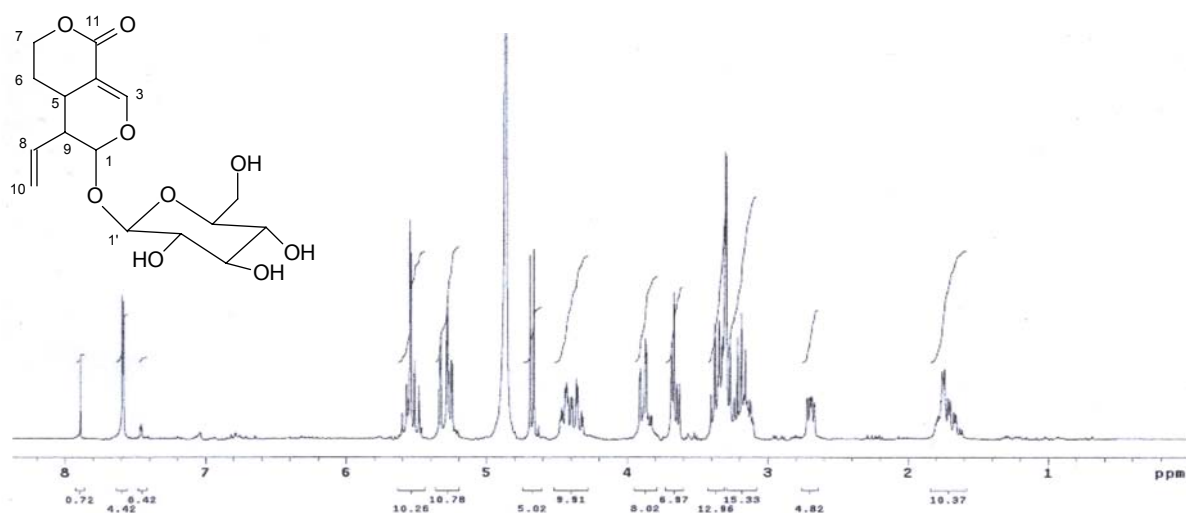
C	P5		Swerosideo <sup>a</sup>		Swerosideo <sup>b</sup>	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	5,54 (d; 1,5)	97,9	5,48 (d; 1,5)	98,0	5,43 (d; 1,2)	98,1
3	7,59 (d; 2,4)	153,9	7,48 (d; 2,4)	154,0	7,56 (d; 2,4)	154,3
4		106,0		106,0		105,3
5	3,14 (m)	28,4	2,88 (m)	28,4	3,11 (m)	27,3
6	1,72 (m)	25,9	1,61 (m)	25,9	1,71 (m)	25,1
7	4,30-4,50 (m)	69,7	4,16 (br t; 11,0) 4,32 (br dd; 11; 2)	69,7	4,41 (m)	70,1
8	5,54 (ddd; 15,8; 9,4; 9,7)	133,3	5,48 (ddd; 17,1; 10,1; 6,8)	133,3	5,56 (m)	132,1
9	2,69 (ddd; 9,4; 5,4; 1,5)	43,8	2,66 (br dd; 9,3; 6,8)	43,8	2,72 (m)	42,6
10	5,25 (dd; 9,7; 2,0) 5,33 (dd; 15,8; 2,0)	120,8	5,25 (dd; 10,1; 2,0) 5,33 (dd; 17,1; 2,0)	120,9	5,25 (dd; 9,0; 2,0) 5,33 (dd; 16,8; 2,0)	121,2
11		168,5		168,5		169,7
1'	4,68 (d; 7,8)	99,7		99,7		99,4
2'	3,18; m	74,7		74,7	3,22 (dd; 8,0; 8,8)	73,7
3'	3,37; m	77,8		77,8	3,71 (t; 8,8 Hz)	76,2
4'	3,27; m	71,5		71,5	3,31 (m)	70,2
5'	3,30; m	78,3		78,3	3,44 (m)	72,1
6'	3,67 (dd; 12,0; 6,0) 3,87 (dd; 12,0; 2,0)	62,6		62,6	3,65 (dd; 12,0; 6,0) 4,02 (dd; 12,0; 6,4)	61,0

( $\delta$ -ppm; 300 e 75,5 MHz; CD<sub>3</sub>OD); (<sup>a</sup>Takeda *et al.*, 1999; <sup>b</sup>Prasad *et al.*, 2000)

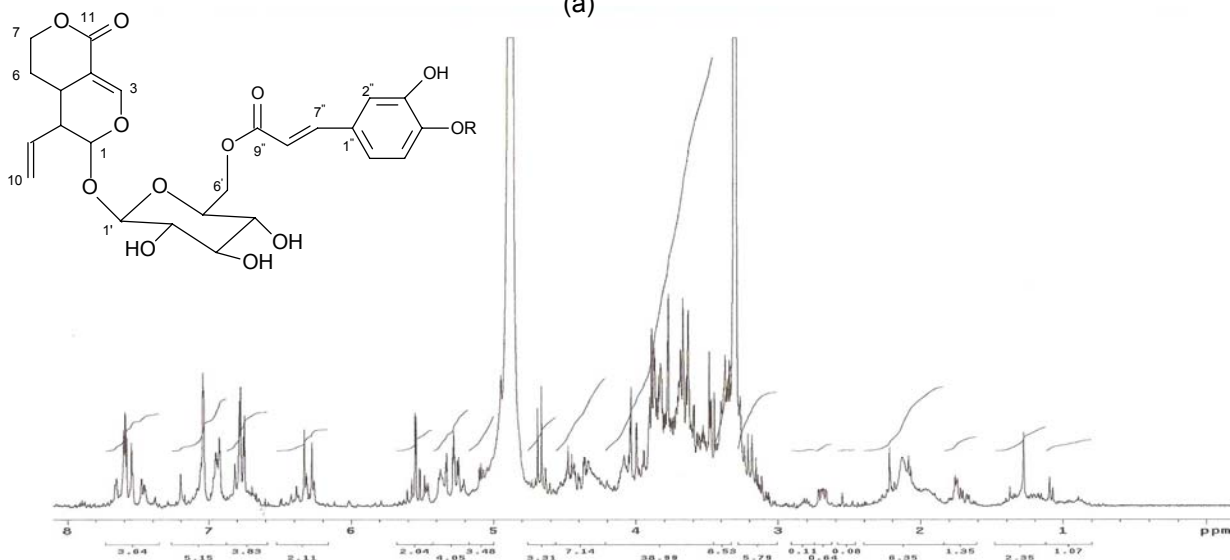
Este composto também foi isolado no estudo da fração PRM 2.3(2.3)5.6 em CLAE, sendo que os cromatogramas seguem em anexo.

#### 4.2.2. Composto P6

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 24), para o composto **P6**, foram observados sinais semelhantes aos do swerosideo, porém com sinais adicionais de dois hidrogênios olefínicos *trans* em  $\delta$  6,31 (d; 15,9 Hz) e 7,57 (d; 15,9) e três hidrogênios de sistema aromático trissubstituído em  $\delta$  6,76 (d; 8,1 Hz); 6,93 (dd; 8,1 e 1,8 Hz) e 7,04 (d; 1,8 Hz) que sugeriram a presença de uma unidade cafeoil.



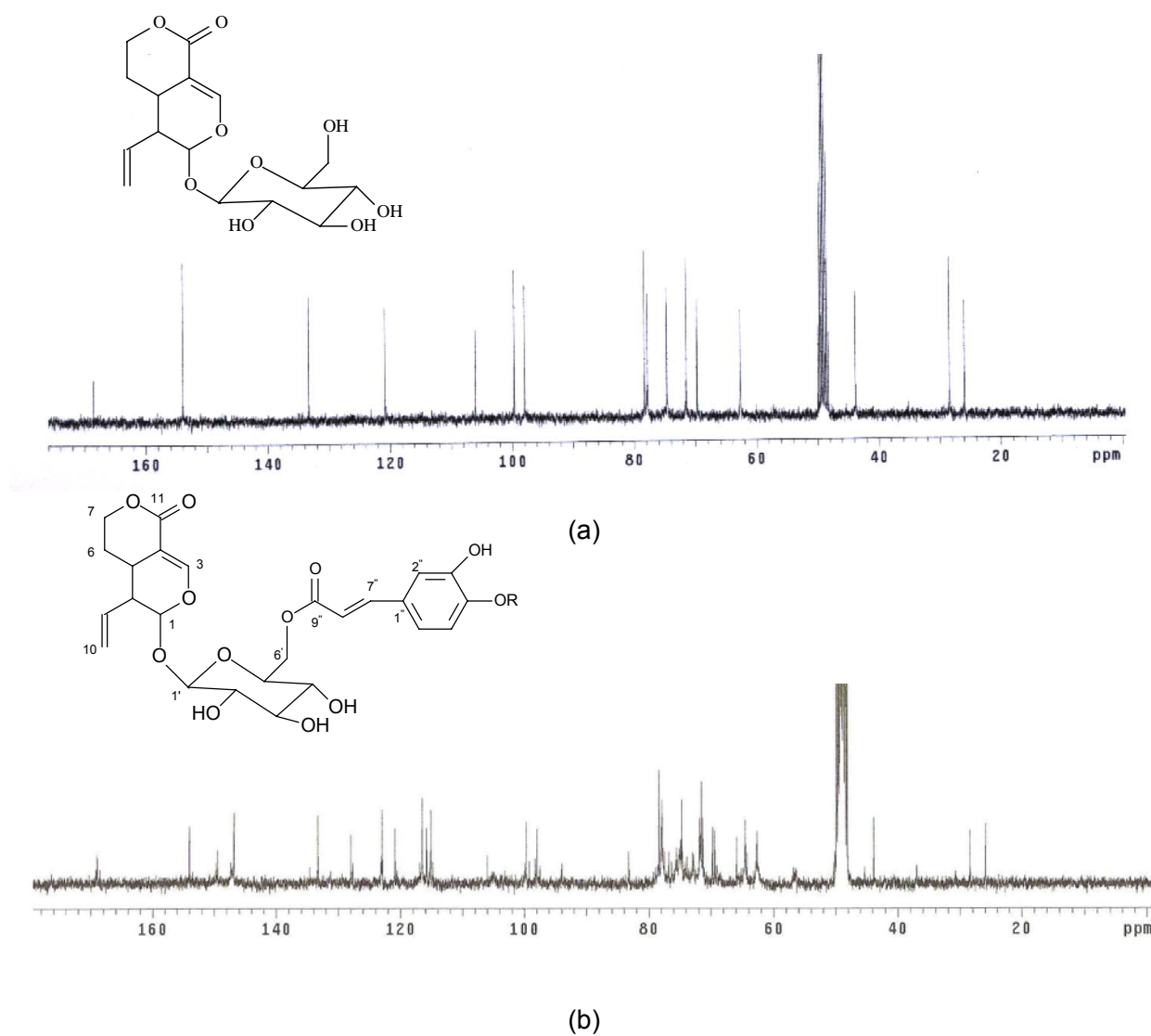
(a)



(b)

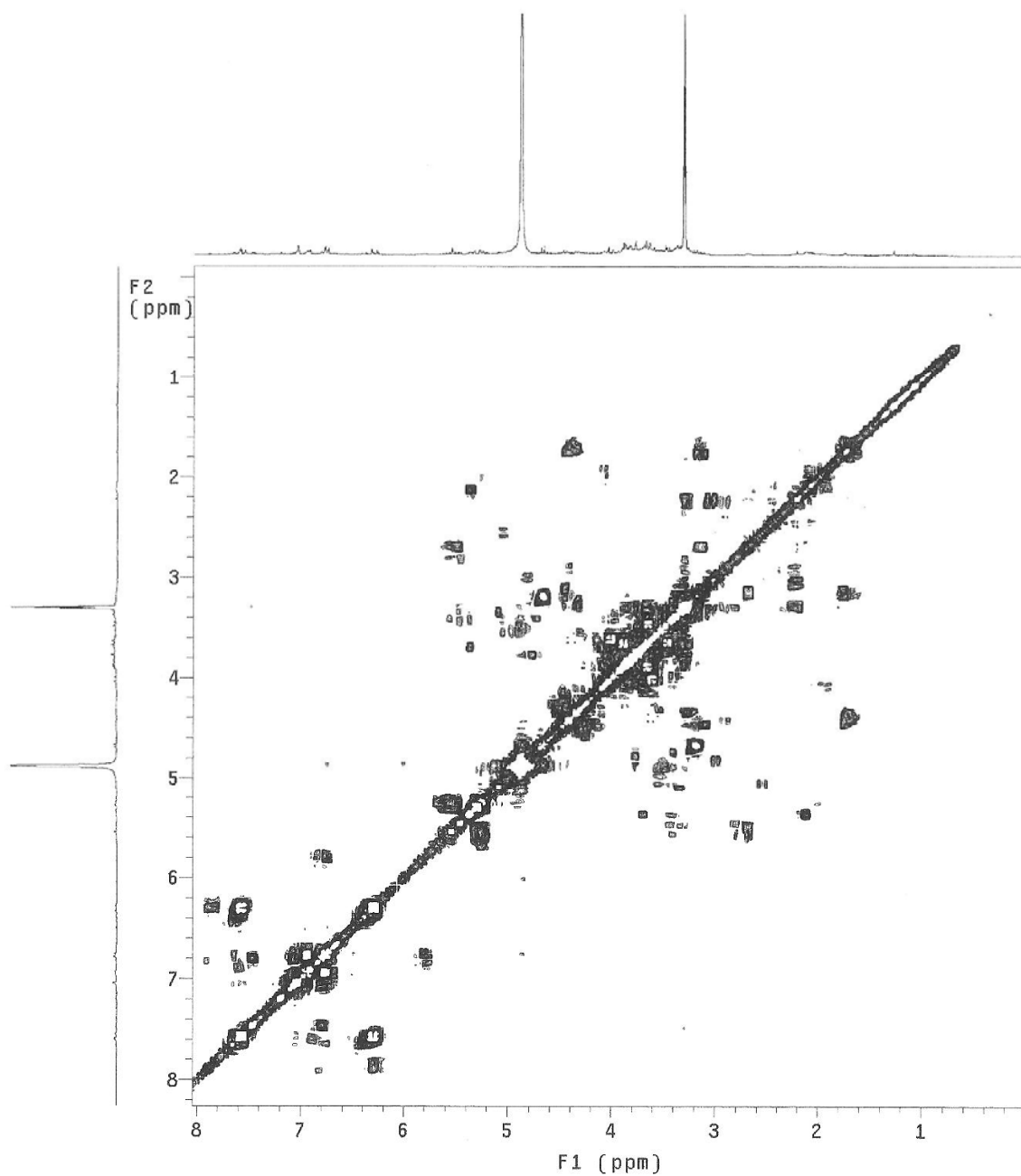
Figura 24: Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para **P5** (a) e **P6** (b).

Alguns sinais apresentados no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (**Figura 25**) confirmaram a presença da unidade cafeoil devido aos sinais de carbonos olefínicos em  $\delta$  115,8 e 146,8; de carbonos não ligados ao hidrogênio em  $\delta$  149,4 e 149,7; de carbonos metínicos em  $\delta$  115,1; 116,5 e 122,9; bem como sinal de grupo carbonila em  $\delta$  168,6.



**Figura 25:** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  para **P5** (a) e **P6** (b).

No mapa de contornos  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  COSY (**Figura 26**) para **P6** ainda foram observadas as correlações entre H8'' em  $\delta$  6,31 e H7'' em 7,57 e entre H5'' em  $\delta$  6,76 e H6'' em 6,93, concordantes com a estrutura de uma unidade cafeoil.



**Figura 26:** Mapa de contornos COSY para **P6**.

Em comparação com dados da literatura (Kitagawa *et al.*, 1996), a unidade cafeoil foi mais uma vez confirmada (**Tabela 48**).

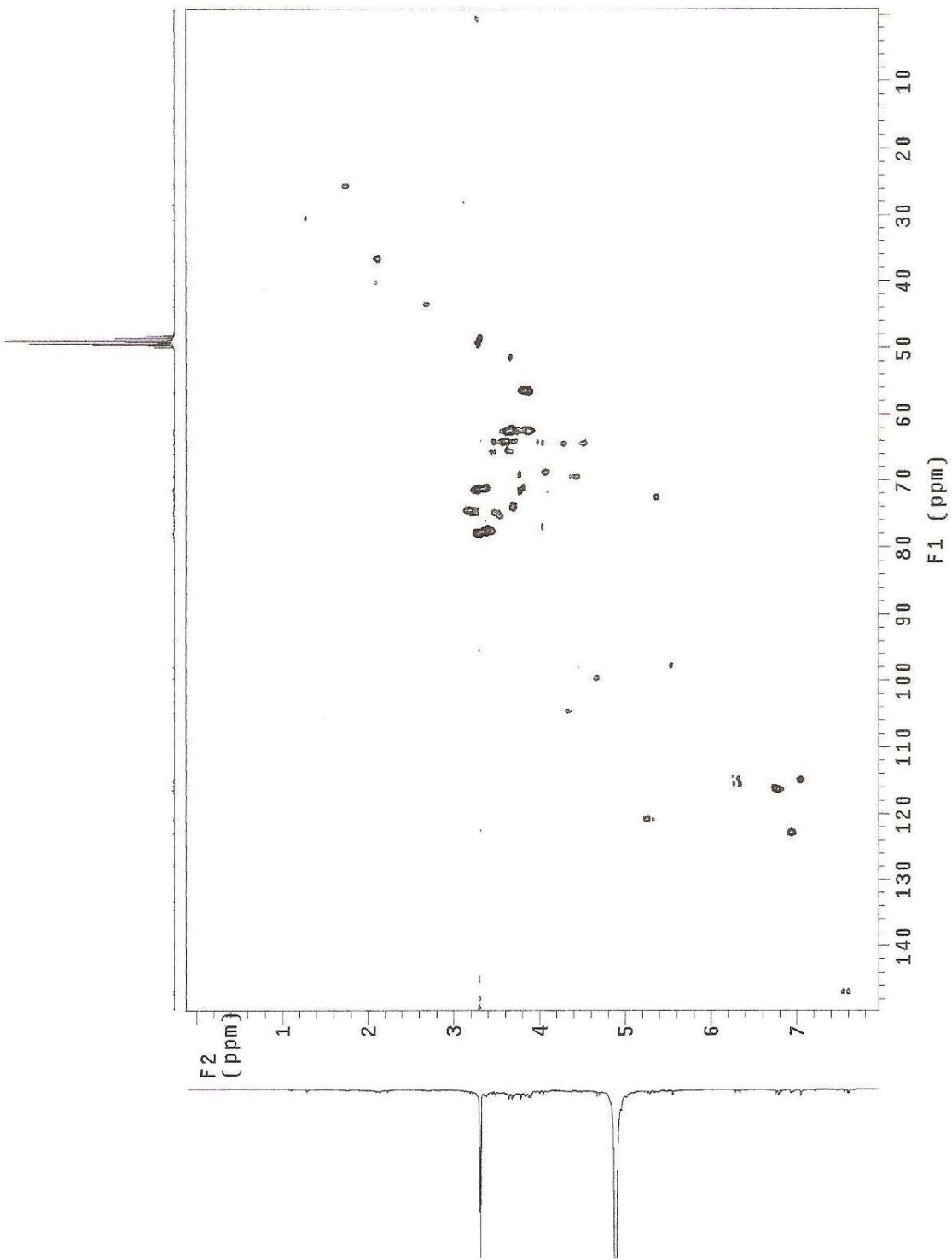
**Tabela 48:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  para a unidade cafeoil do composto **P6** e do 3-cafeoil-swerosideo

	<b>X-cafeoil-swerosideo (P6)</b> $\delta^{13}\text{C}$ ( $\delta^1\text{H}$ ; mult.; J em Hz)	<b>3-cafeoil-swerosideo</b> $\delta^{13}\text{C}$ ( $\delta^1\text{H}$ ; mult.; J em Hz)
1" C	128,0	128,6
2" CH	115,1 (7,04; d; 1,8)	115,1 (7,0; d; 2,0)
3" C	149,4	147,6
4" C	149,7	150,3
5" CH	116,5 (6,76; d; 8,1)	117,3 (6,73; d; 8,2)
6" CH	122,9 (6,93; dd; 8,1 e 1,8)	123,7 (6,90; dd; 8,2 e 2,0)
7" CH	146,8 (7,57; d; 15,9)	147,8 (7,54; d; 15,9)
8" CH	115,8 (6,31; d; 15,9)	116,1 (6,30; d; 15,9)
9" C	168,9	169,8

Pelos mapas de contornos HMQC (**Figura 27**) as atribuições mencionadas foram consolidadas (**Tabela 49**).

**Tabela 49:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMQC para **P6**.

<b>C</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	5,54	98,0
3	7,59	154,0
5	3,10	28,4
6	1,67-1,77	25,9
7	4,31	69,7
	4,35	
8	5,55	133,3
9	2,70	43,8
10	5,23	120,8
	5,31	
1'	4,68	99,7
2'	3,18	74,7
3'	3,37	77,9
4'	3,34	71,5
5'	3,28	78,4
6'	4,32	64,5
	4,45	
2"	7,04	115,1
5"	6,76	116,5
6"	6,93	122,9
7"	7,57	146,8
8"	6,31	115,8



[REDACTED]



Ao comparar os sinais espectrais da unidade glicosídica do swerosídeo com os da glicose do composto **P6**, foi observado um maior deslocamento químico para o carbono e o hidrogênio 6'. O grupo cafeoil poderia, assim, estar conectado em 6', justificando a deslindagem provocada pelo sistema carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado presente neste grupo.

Pelo mapa de contornos HMBC (**Figuras 28 e 29**), foi evidenciada a correlação entre o carbono carbonílico C9'' do grupo cafeoil em  $\delta$  168,9 com os hidrogênios em  $\delta$  4,32 e 4,45 (H6'). Esta correlação confirma a conectividade do grupo carbonila da unidade cafeoil no carbono 6'. As principais correlações observadas seguem na **Tabela 50**.

**Tabela 50:** Principais correlações heteronucleares  $^3\text{C} \times ^1\text{H}$  observadas no mapa de contornos HMBC para **P6**.

$\delta_{\text{C}}$ (C)	$\delta_{\text{H}}$ (H)
98,0 (C1)	4,68 (H1')
154,0 (C3)	5,54 (H1)
28,4 (C5)	7,59 (H3)
	5,54 (H1)
43,8 (C9)	5,23 (H10)
	5,31 (H10)
128,0 (C1'')	6,31 (H8'')
122,9 (C6'')	7,04 (H2'')
168,9 (C9'')	4,32 (H6')
	4,45 (H6')

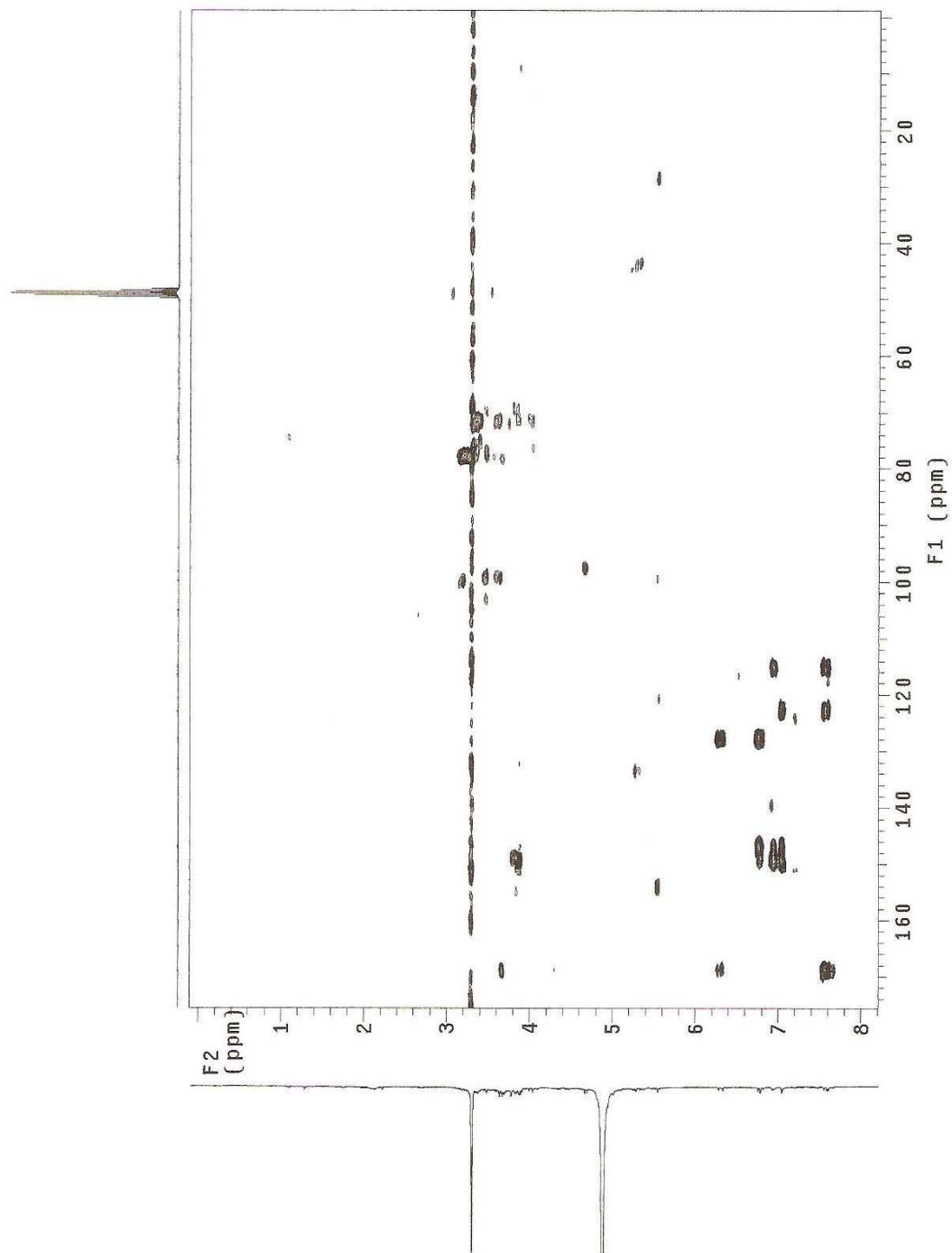


Figura 28: Mapa de contornos HMBC para P6.

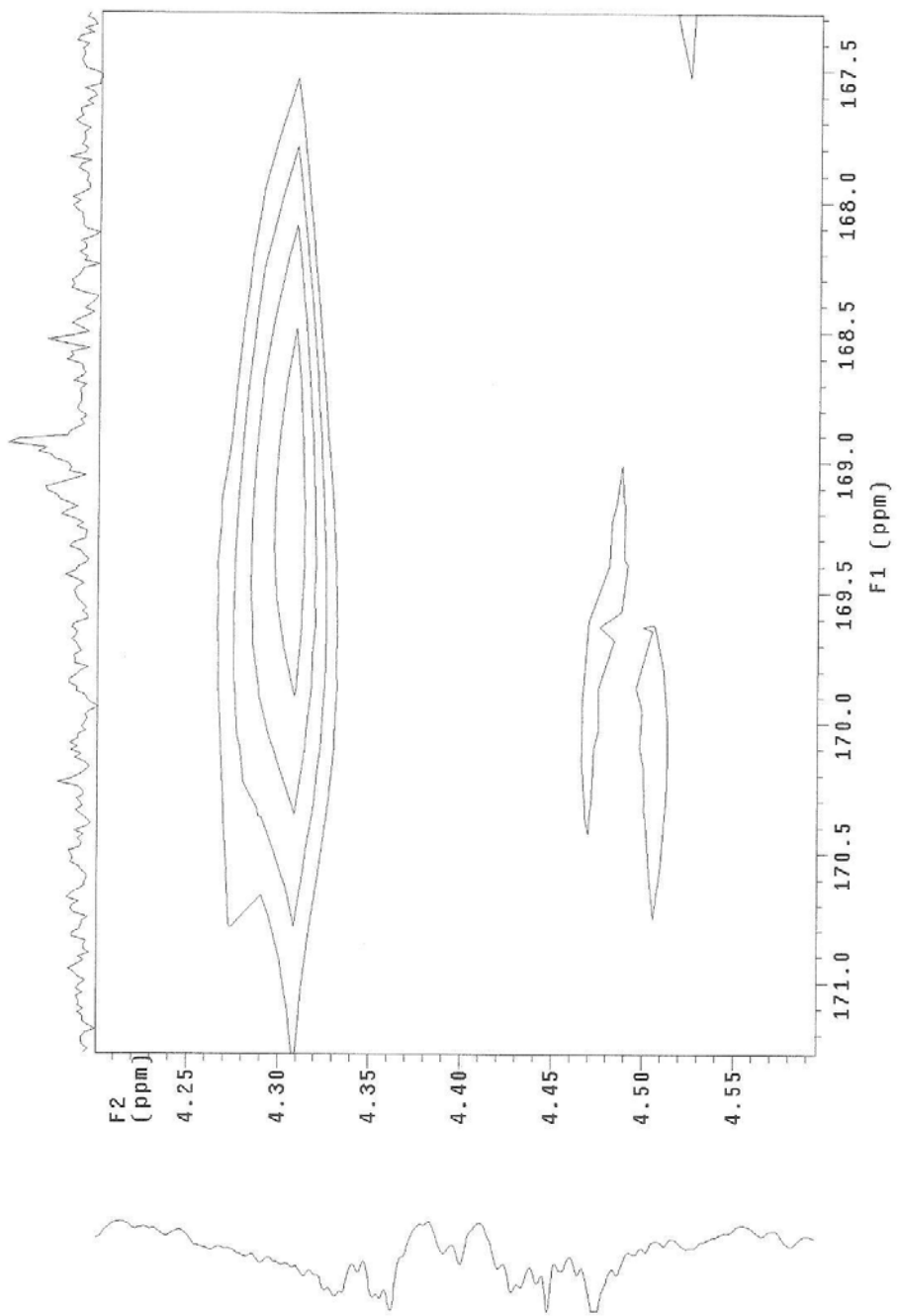


Figura 29: Expansão do mapa de contornos HMBC para P6.

No entanto, ainda foram observados nos espectros e mapas de contornos para **P6**, sinais adicionais de uma outra unidade glicosídica apresentados na **Tabela 51** a seguir.

**Tabela 51:** Dados espectrais adicionais observados para **P6**.

N <sup>o</sup>	RMN <sup>13</sup> C (DEPT) δ <sub>c</sub>	HMQC δ <sub>H</sub>	COSY δ <sub>H</sub>	HMBC δ <sub>H</sub>
1 <sup>'''</sup>	62,7 (CH <sub>2</sub> )	3,66 (m) 3,88 (m)	3,88 3,66	
2 <sup>'''</sup>	99,2 (C)			3,47 3,65
3 <sup>'''</sup>	69,4 (CH)	3,78 (m)		3,83 3,88
4 <sup>'''</sup>	71,8 (CH)	3,78 (m)		
5 <sup>'''</sup>	71,3 (CH)	3,83 (m)		
6 <sup>'''</sup>	65,9 (CH <sub>2</sub> )	3,47 (m) 3,65 (m)	3,65 3,47	4,31

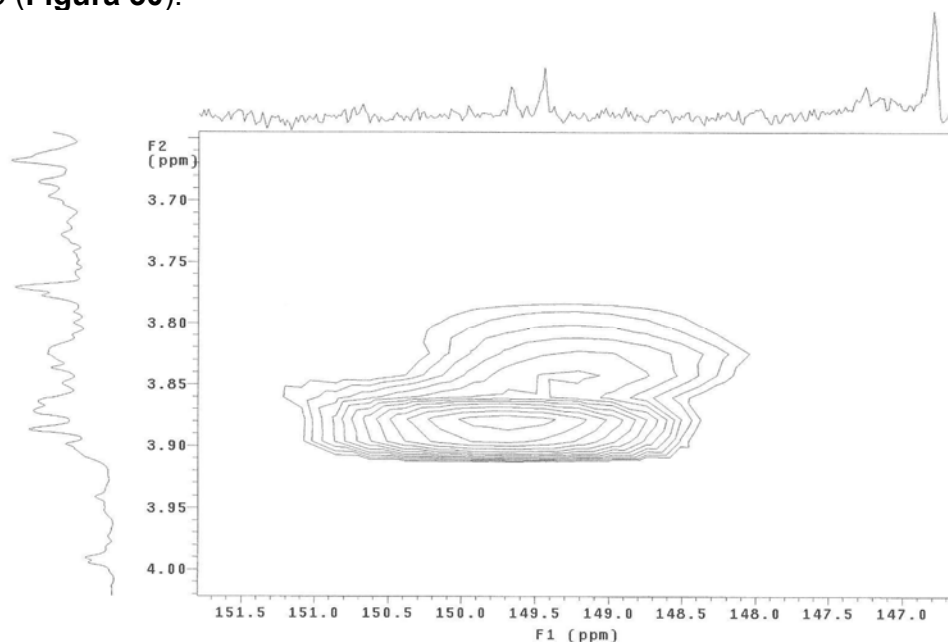
Estes sinais evidenciaram a presença de uma frutopiranosose, sendo que os deslocamentos químicos dos carbonos desta unidade foram comparados com os da literatura (Duquesnoy *et al.*, 2008), e mostraram semelhança conforme **Tabela 52**.

**Tabela 52:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  para a unidade adicional de açúcar de **P6** e para a unidade frutopiranosose.

	Unidade de açúcar (P6)	Frutopiranosose (livre)
	$\delta^{13}\text{C}$ ( $\delta^1\text{H}$ ; mult.; $J$ em Hz)	$\delta^{13}\text{C}^*$
1 <sup>'''</sup> (CH <sub>2</sub> )	62,7 (3,66; m) (3,88; m)	64,3
2 <sup>'''</sup> (C)	99,2	99,2
3 <sup>'''</sup> (CH)	69,4 (3,78; m)	68,6
4 <sup>'''</sup> (CH)	71,8 (3,78; m)	71,0
5 <sup>'''</sup> (CH)	71,3 (3,83; m)	70,4
6 <sup>'''</sup> (CH <sub>2</sub> )	65,9 (3,47; m) (3,65; m)	63,8

\* DMSO

Inclusive, esta unidade frutopiranosose pode estar conectada em C4<sup>'''</sup> do grupo cafeoil (**P6'**), conforme a correlação deste sinal em  $\delta$  149,7 (C4<sup>'''</sup>) com o hidrogênio H1<sup>'''</sup> da frutopiranosose em  $\delta$  3,88 observada no mapa de contornos HMBC (**Figura 30**).



**Figura 30:** Expansão do mapa de contornos HMBC para **P6'**.

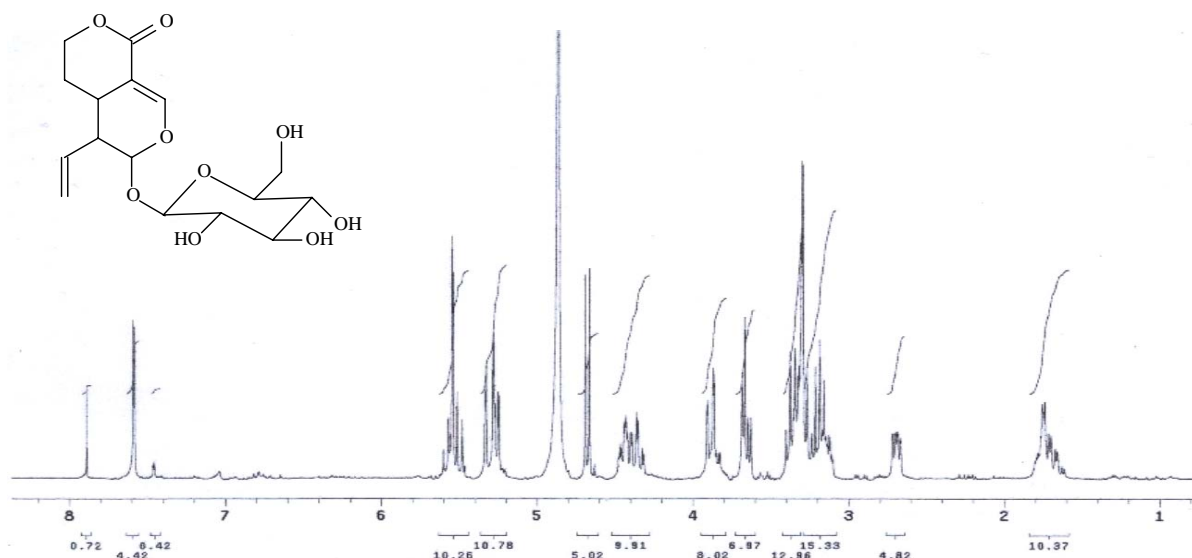
Assim, como os espectros apresentados evidenciam a presença de uma mistura, ainda existe a possibilidade da unidade frutopiranoose pertencer a um outro composto minoritário, ou seja, o composto **P6** pode estar misturado a compostos, como por exemplo, ácidos cafeico que contenham a fructopiranoose.

De qualquer maneira, os compostos **P6** ou **P6'** podem ser inéditos, bem como ácidos cafeico conectados a frutopiranoose conforme hipótese acima. Na literatura, em comparação com **P6'**, há relato de isolamento de iridóides pricosídeos que contém a mesma estrutura principal de **P6'** porém com uma unidade de *glicose* conectada ao C4'' ou C2'' do grupo cafeoil (Zou *et al.*, 2008) e não de uma *frutopiranoose* em C4'' como proposto. Para **P6**, há relato de unidade cafeoil conectada ao carbono C3' de um iridoide do tipo swerosideo (Kitagawa, 1996) e não ao carbono C6' como proposto.

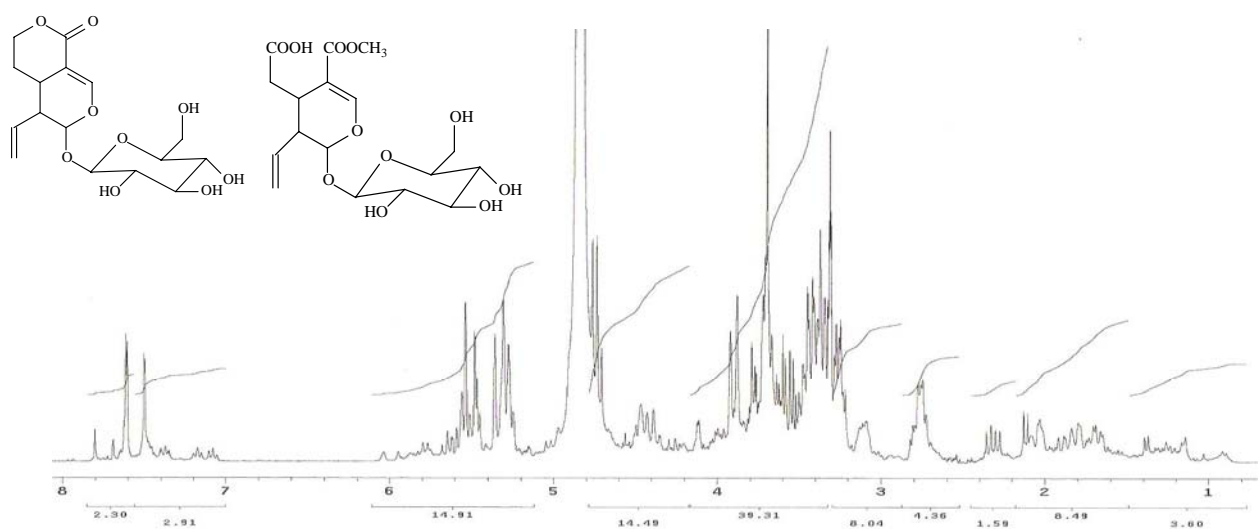
A determinação conclusiva da estrutura para o composto isolado **P6** ou **P6'** será realizada por Espectrometria de Massas de Alta Resolução.

#### 4.2.3. Composto P17

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 31**), para o composto **P17**, foram verificados sinais espectrais semelhantes ao swerosideo **P5**, além de sinal de hidrogênio metilênico H6 na região de  $\delta$  2,08 e sinal em  $\delta$  3,70 (s) atribuído aos hidrogênios metílicos.



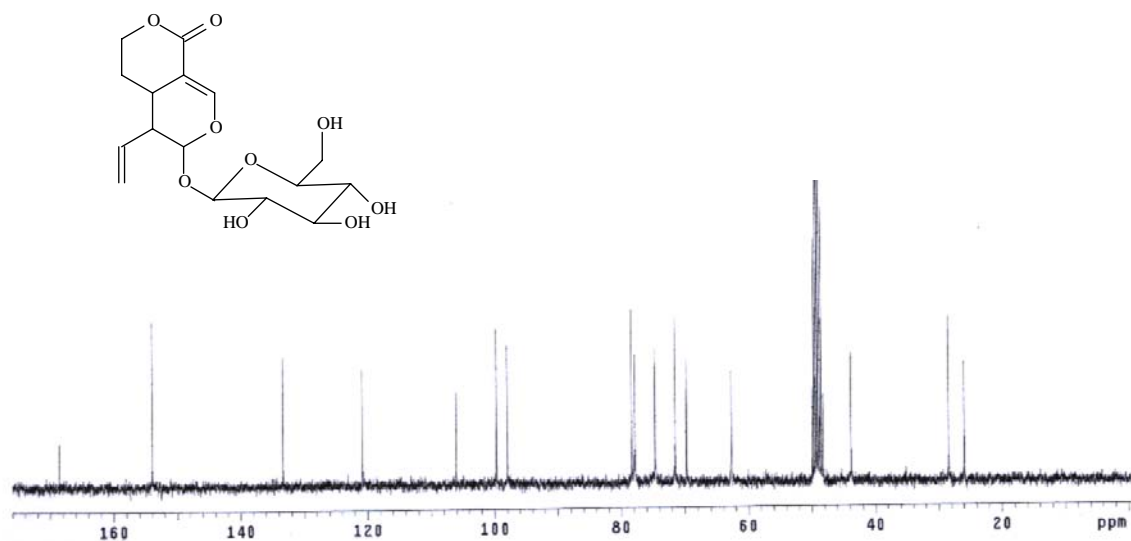
(a)



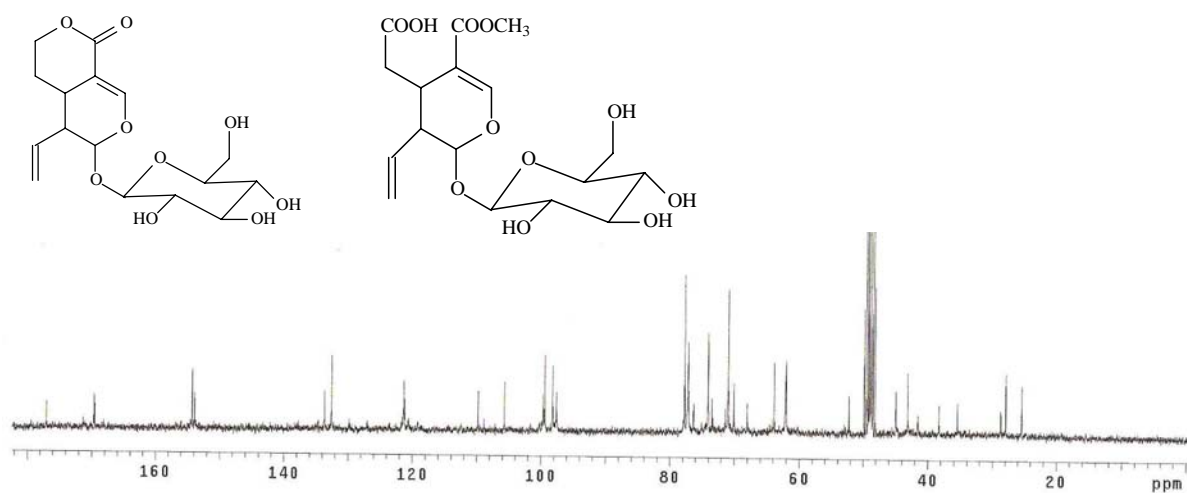
(b)

**Figura 31:** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para **P5** (a) e **P5+P17** (b).

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (**Figura 32**) o grupo metila foi associado ao sinal em  $\delta$  52,3, enquanto que os sinais em  $\delta$  169,6 e 176,9 evidenciaram a existência de duas carbonilas. A presença de um grupo metilênico em  $\delta$  38,3, não presente no swerosídeo **P5**, evidencia a existência de um outro composto. Este sinal, adiante, foi atribuído ao C6.



(a)

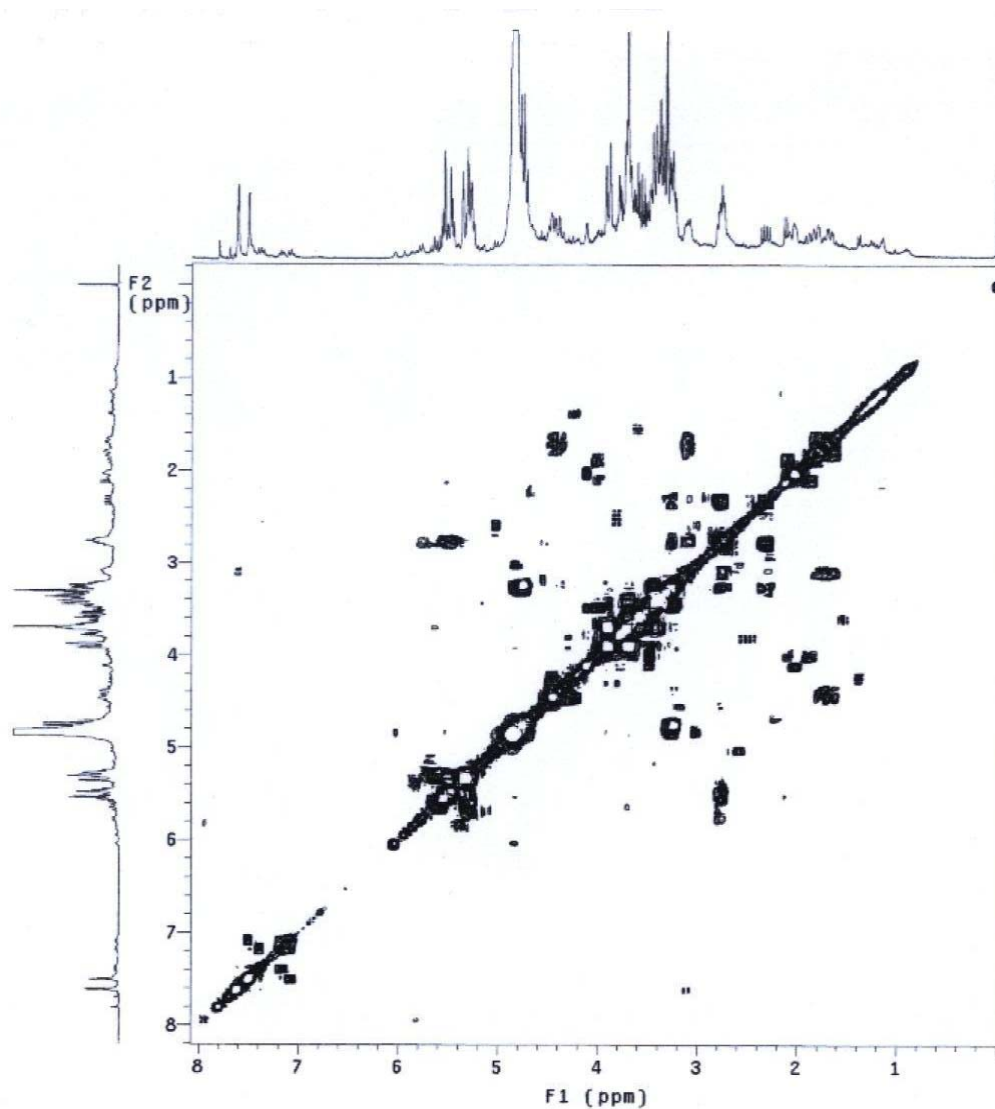
**Figura 32:** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  para **P5** (a) e **P5+P17** (b).

No mapa de contornos  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  COSY (**Figura 33**) as principais correlações observadas foram entre H1 em  $\delta$  5,47 e H9 em  $\delta$  2,75; entre H8 em  $\delta$  5,50 e H9 em  $\delta$  2,75 e também entre H10 em  $\delta$  5,25-5,39 e H8 em  $\delta$  5,50, apresentadas na **Tabela 53**.



**Tabela 53:** Principais correlações homonucleares  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  observadas no mapa de contornos COSY para **P17**

$\delta ^1\text{H}$ (mult.; J; H)	$\delta ^1\text{H}$ (mult.; J; H)
5,47(m; H1)	2,75 (m; H9)
5,50 (m; H8)	2,75 (m; H9)
	5,35 e 5,29 (m; H10)



**Figura 33:** Mapa de contornos COSY para **P5+P17**.

Pelo mapa de contornos HMBC (**Figura 34**) foi possível detectar as correlações entre a carbonila C11 em  $\delta$  169,6 e os hidrogênios metílicos em  $\delta$  3,70 e entre a mesma carbonila e o hidrogênio vinílico H3 em  $\delta$  7,50. Ainda foi observada a correlação entre o sinal em  $\delta$  28,7 referente ao C5 e o sinal em  $\delta$  5,50 do H-8. A conexão do C1' de unidade glicosídica no C1 da aglicona foi confirmada pela correlação entre o sinal em  $\delta$  97,6 (C1) e o hidrogênio em  $\delta$  4,75 (H1'). A magnitude da constante de acoplamento (8,1 Hz) indicou a configuração  $\beta$  para a glicose. As correlações descritas estão organizadas na **Tabela 54** abaixo.

**Tabela 54:** Principais correlações heteronucleares  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$  observadas no mapa de contornos HMBC para **P5+P17**.

$\delta_{\text{C}}$ (C)	$\delta_{\text{H}}$ (H)
169,6 (C11)	3,70 (CH <sub>3</sub> )
	7,50 (H3)
28,7 (C5)	5,50 (H8)
97,6 (C1)	4,75 (H1')

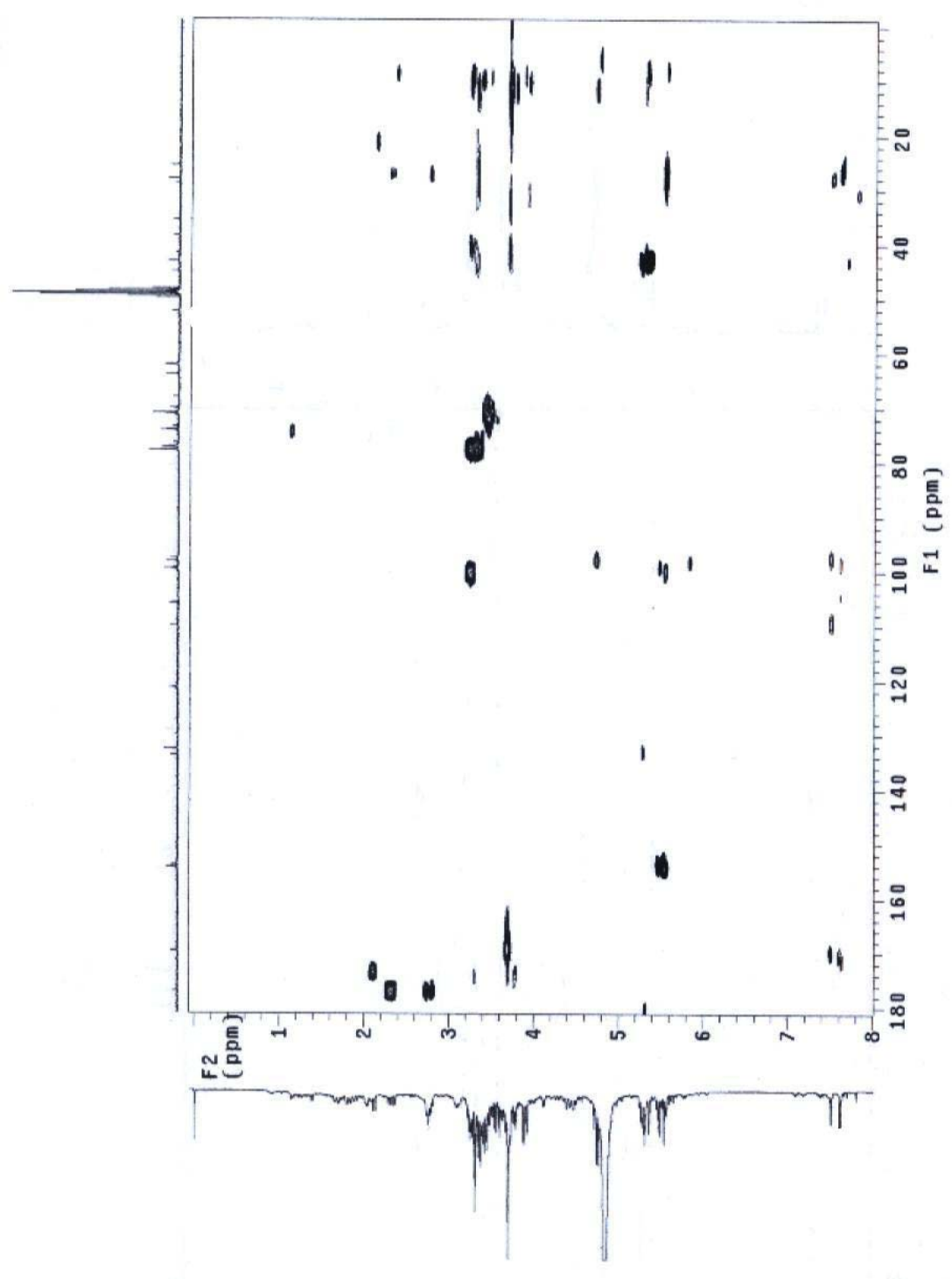
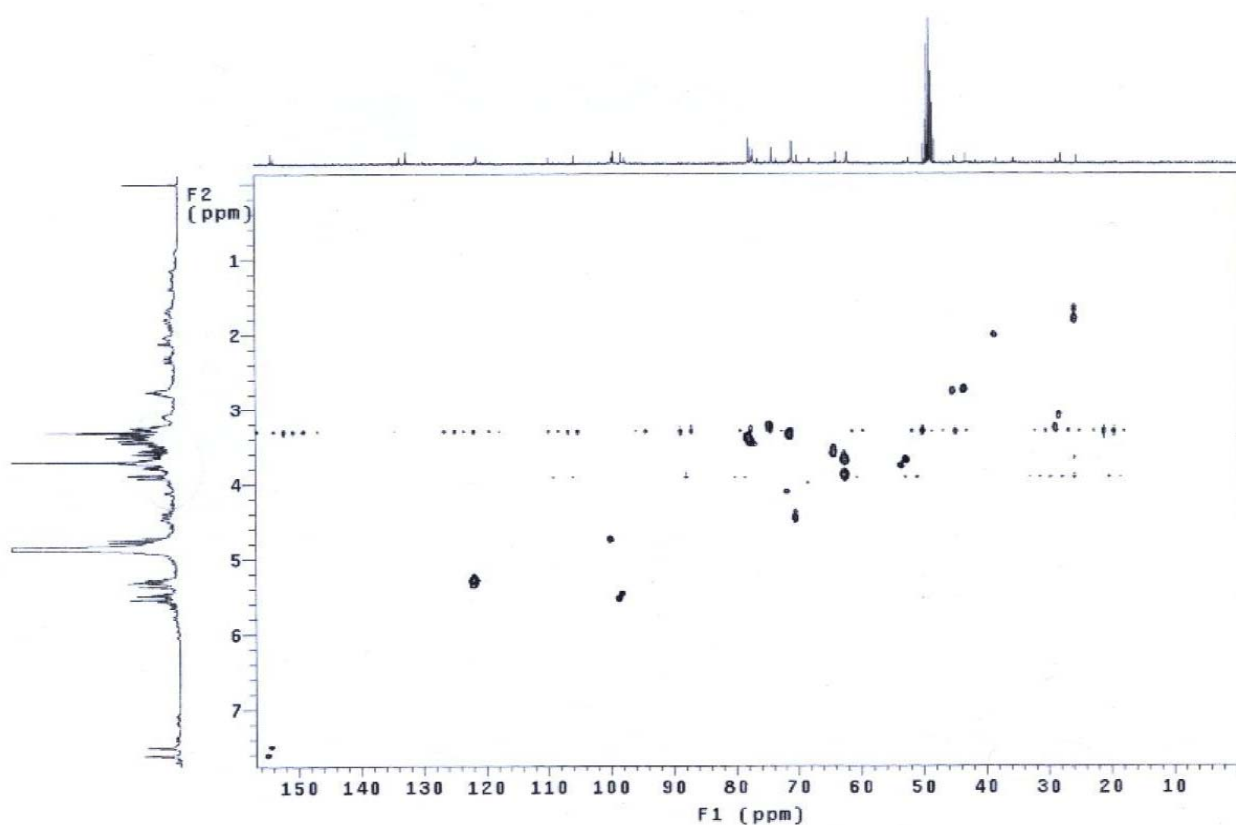


Figura 34: Mapa de contornos HMBC para P5+P17.

Demais atribuições foram feitas com base nas correlações observadas no espectro de HMQC (**Figura 35; Tabela 55**).

**Tabela 55:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMQC para **P5+P17**.

C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	5,47	97,6
3	7,50	153,8
5	3,20	28,7
6	2,00	38,3
9	2,75	44,9
10	5,35	120,2
	5,29	
CH <sub>3</sub>	3,70	52,3
1'	4,75	99,4
6'	3,89	62,1
	3,67	



**Figura 35:** Mapa de contornos HMQC para **P5+P17**.

Os sinais analisados foram comparados aos da literatura (Boros *et al.*, 1991) para a secoxiloganina, o que permitiu concluir que o composto isolado era este iridóide (**Tabela 56**).

**Tabela 56:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  para o composto **P17** e para secoxiloganina

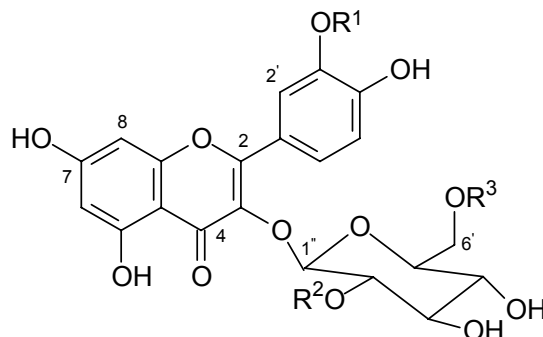
C	P17		secoxiloganina	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)*	$\delta_{\text{C}}$
1	5,47 (d; 4,5)	97,6	5,55 (d; 4,4)	97,7
3	7,50 (d; 1,2)	153,8	7,54 (d; brs)	153,6
4		109,8		110,8
5	3,20 (m)	28,7	3,24 (m)	29,3
6	2,0 (m)	38,3	2,63 (dd; 16,0; 4,0) 2,36 (dd; 16,0; 7,5)	36,9
7		176,9		176,6
8	5,50 (ddd; 16,1; 9,3; 10,2)	132,6	5,71 (ddd; 16,6; 9,5; 9,5)	134,7
9	2,75 (m)	44,9	2,79 (m)	45,4
10	5,35 (d; 16,1) 5,29 (d; 10,2)	120,2	5,36 (d; 16,6) 5,31 (d; 9,5)	120,5
11		169,6		169,2
OCH <sub>3</sub>	3,70 (s)	52,3	3,75 (s)	51,8
1'	4,75 (d; 8,1)	99,4	4,85 (d; 7,7)	99,9
2'		74,1		74,7
3'		77,7		77,9
4'		70,9		71,6
5'		77,2		78,4
6'	3,89 (d; 11,7) 3,67 (m)	62,1	3,95 (d; 12,4) 3,75	62,8

( $\delta$ -ppm; 300 e 75,5 MHz; CD<sub>3</sub>OD; \* D<sub>2</sub>O)

Conforme mencionado nos objetivos deste trabalho, na literatura existe apenas um único relato de isolamento de iridóide no gênero *Palicourea* (Lopes *et al.*, 2004) e, neste contexto, os compostos acima isolados ampliaram o perfil químico do gênero.

Com relação às atividades biológicas, segundo Ling *et al.* (2002), os iridóides glicosilados apresentam um amplo espectro de atividades, como por exemplo: antitumoral, sedativa, analgésica, antiinflamatória, purgativa, vasoconstritiva, colerética, antimicrobiana e inibitória das enzimas lipoxigenase e hialuronidase. Especificamente para o swerosideo, há relato na literatura de atividade antibacteriana moderada (Horn *et al.*, 2000).

### 4.3. Flavonóides



- P7:** R<sup>1</sup>=H; R<sup>2</sup>=H; R<sup>3</sup>=H  
**P8:** R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>; R<sup>2</sup>=H; R<sup>3</sup>=H  
**P9:** R<sup>1</sup>=H; R<sup>2</sup>=glicose; R<sup>3</sup>=H  
**P4:** R<sup>1</sup>=H; R<sup>2</sup>=H; R<sup>3</sup>=ramnose

A mistura **P7+P8** e o composto **P9** foram isolados da fração acetato de etila das folhas de *Palicourea rigida* enquanto **P4** foi obtido da fração acetato de etila das flores de *Palicourea coriácea*, como um componente majoritário de uma mistura.

#### 4.3.1. Mistura P7+P8

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H para a mistura **P7+P8** (**Figura 36**) foi observado o sinal de hidrogênio de sistema aromático em  $\delta$  6,19 (d; 2,1 Hz) atribuído ao H6, da mesma forma que o sinal em  $\delta$  6,38 (d; 2,1 Hz) foi associado ao H8, confirmando as constantes de acoplamento de 2,1 Hz características de padrão meta. Analogamente, os dupletos em  $\delta$  7,70 (2,1 Hz) para **P7** e  $\delta$  7,90 (2,1 Hz) para **P8** revelaram a presença dos hidrogênios do sistema aromáticos H2', bem como, em  $\delta$  6,86 (8,4 Hz) do hidrogênio H5'. Já o sinal de H6' ficaria evidente, segundo Melos e colaboradores. (2007) como um duplo duplete em  $\delta$  7,56. No espectro há sinais na região  $\delta$  7,56-7,59 que sugerem a presença deste hidrogênio. Assim, ao considerar os sinais de maior intensidade desta região, foi

possível verificar um sinal com deslocamento químico de  $\delta$  7,60 (dd; 2,1 e 8,4 Hz) para H6'. Os sinais de hidrogênios carbinólicos em  $\delta$  3,2-3,9 evidenciaram a presença de uma unidade de açúcar com o deslocamento químico de hidrogênio anomérico em  $\delta$  5,25 (d; 7,5 Hz). A constante de acoplamento de 7,5 Hz indicou a configuração  $\beta$  para esta unidade. Especificamente para o composto **P8**, também ficou evidenciado a presença de um sinal de grupo metila em  $\delta$  3,93 (s). Os sinais acima apresentados mostraram ser característicos de flavonóide glicosilado.



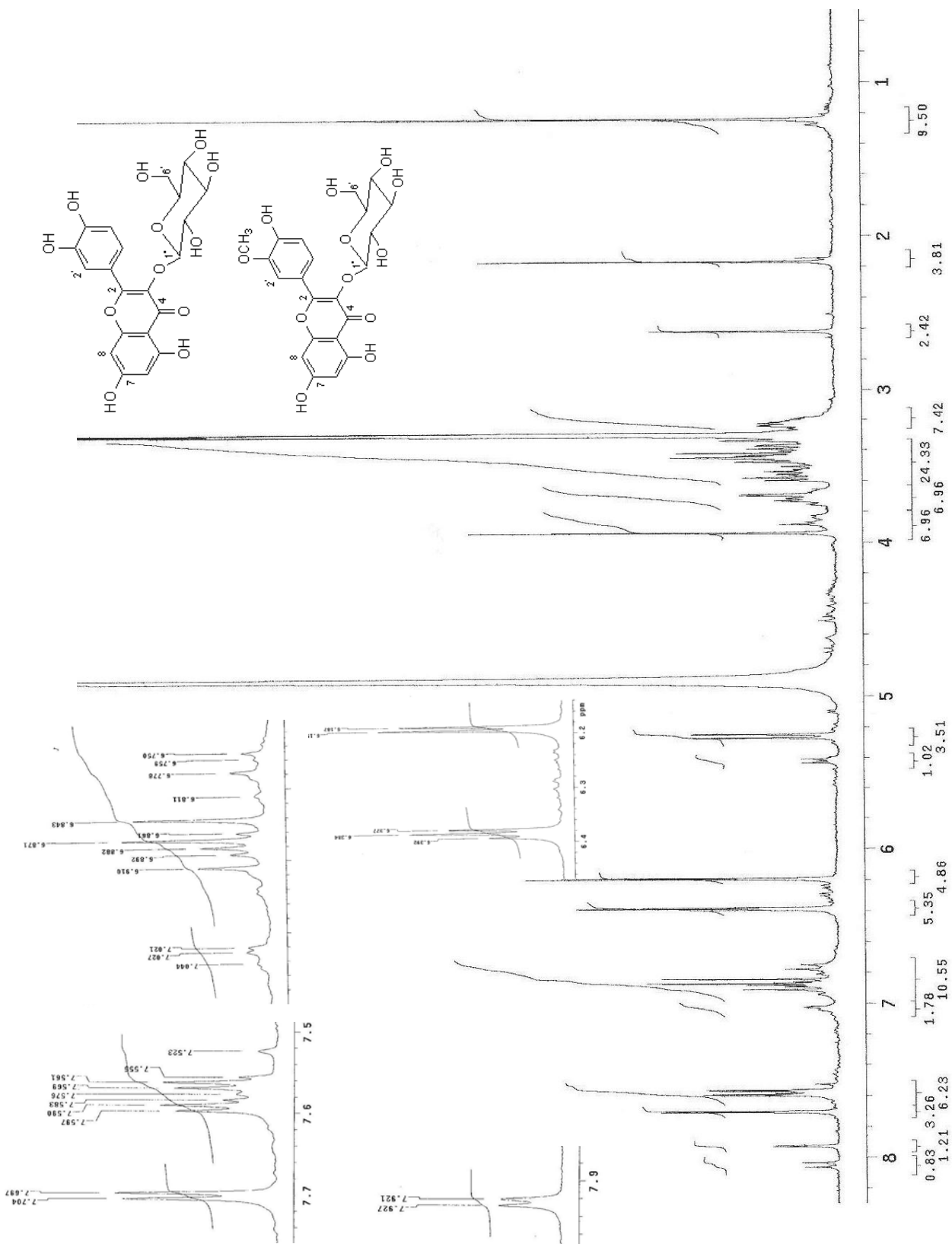
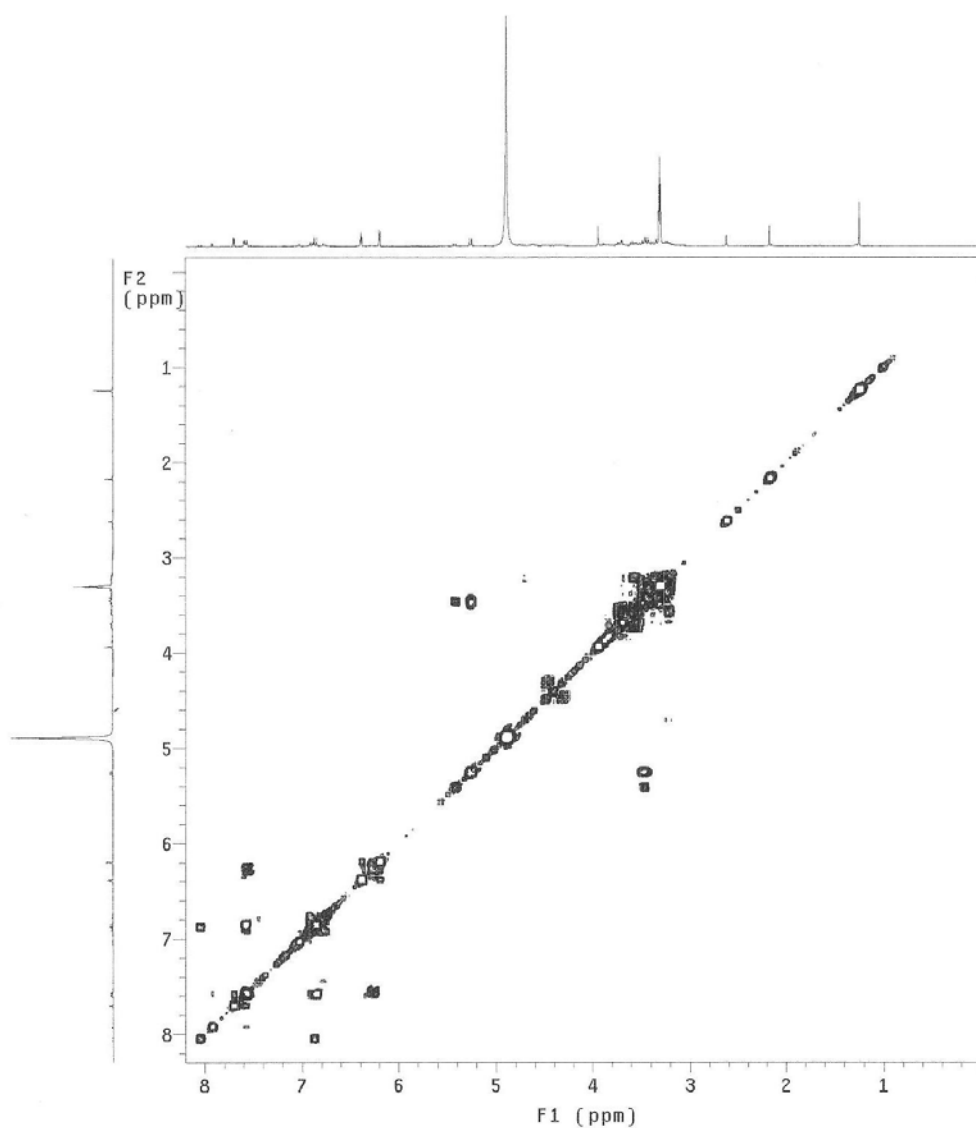


Figura 36: Espectro de RMN de <sup>1</sup>H para P7+P8.

No mapa de contornos  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  COSY (**Figura 37**) foram observadas correlações concordantes com a estrutura, principalmente entre o  $\text{H6}'$  em  $\delta$  7,60 e  $\text{H5}'$  em  $\delta$  6,86 (**Tabela 57**).

**Tabela 57:** Principais correlações homonucleares  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  observadas no mapa de contornos COSY para **P7+P8**.

$\delta$ $^1\text{H}$ (mult.; $J$ em Hz; H)	$\delta$ $^1\text{H}$ (mult.; $J$ em Hz; H)
6,86 (d; 8,4; H5')	7,60 (dd; 2,2; 8,5; H6')
5,25 (d; 7,5; H1'')	3,45 (m; H2'')



**Figura 37:** Mapa de contornos COSY para **P7+P8**.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  para a mistura **P7+P8** (**Figura 38**) confirmou a presença de sinais de carbonos carbinólicos em  $\delta$  158,4 (C2); 135,6 (C3); 163,0 (C5); 166,0 (C7); 159,0 (C9); 145,9 (C3') e 149,8 (C4') com destaque para o sinal em  $\delta$  179,5 referente ao carbono carbonílico. Na unidade de açúcar, o sinal em  $\delta$  104,2 foi atribuído ao carbono anomérico C1'', bem como o sinal em  $\delta$  62,5 ao carbono metilênico C6'', revelando que a unidade em questão era uma glicose.

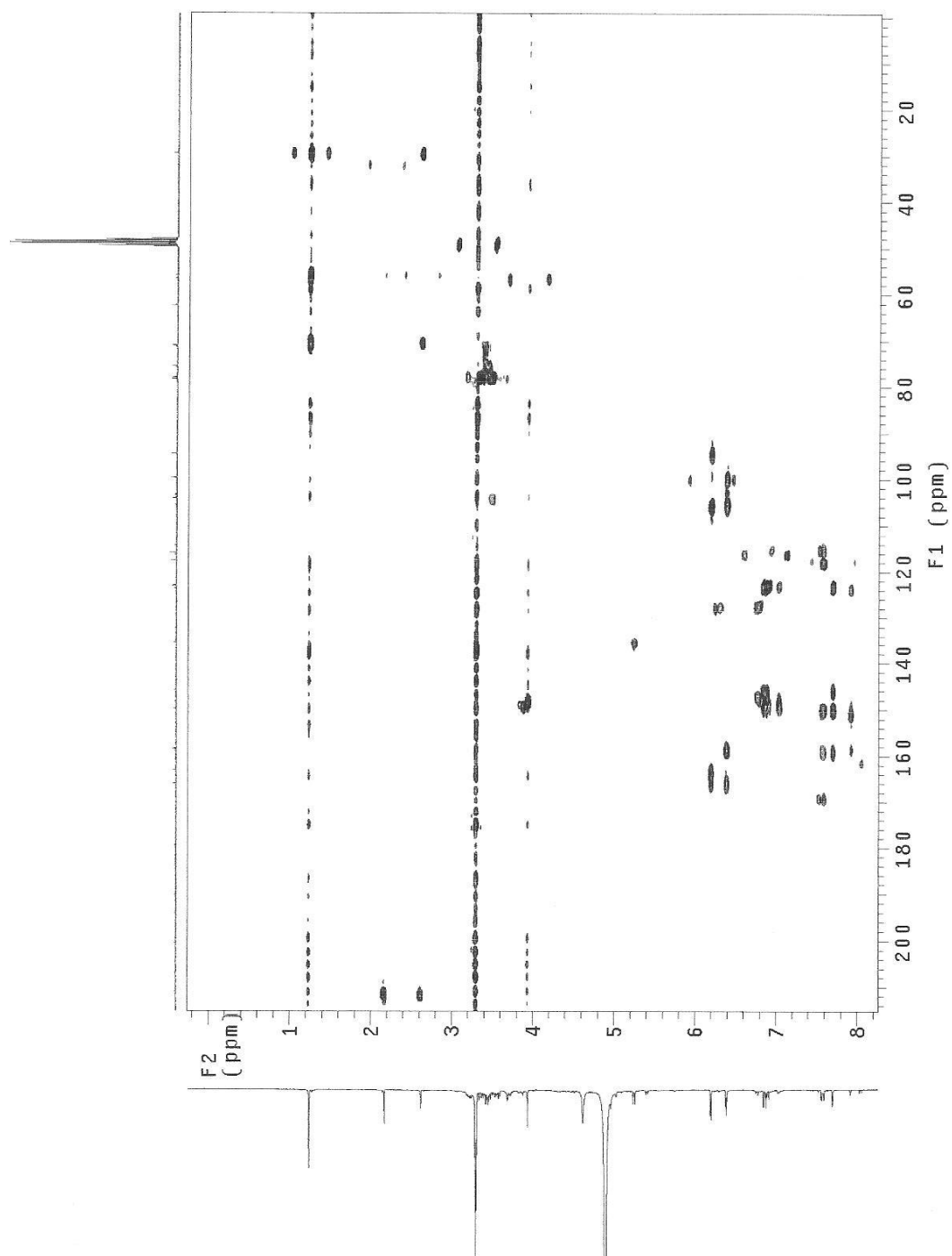
Especificamente para o composto **P8** ficou evidenciada a presença de um sinal de grupo metila em  $\delta$  56,7. Vale lembrar que o composto foi lavado com acetona antes de ser enviado para análise espectroscópica, de maneira que também há presença de sinais de grupo metila do solvente nos espectros.



A posição da glicose para **P7+P8** foi confirmada no mapa de contornos de HMBC (**Figura 39**) que revelou a correlação do carbono C3 em  $\delta$  135,6 com o hidrogênio anomérico em  $\delta$  5,25. Outras correlações observadas em HMBC estão apresentadas na **Tabela 58**.

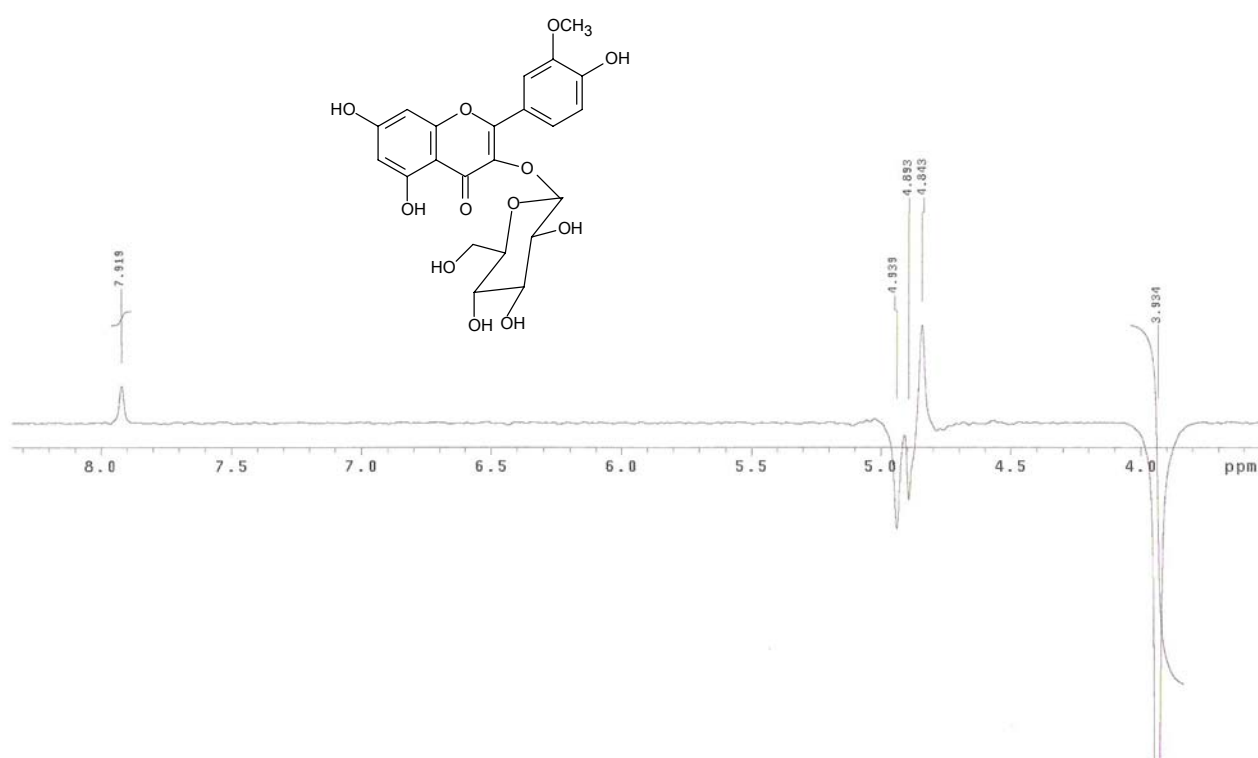
**Tabela 58:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMBC para **P7** e/ou **P8**.

$\delta_{\text{H}}$ (H)	$\delta_{\text{C}}$ (C)
6,38 (H8); P7+P8	99,8 (C6)
6,19 (H6); P7+P8	94,7 (C8)
7,90 (H2'); P8	123,0 (C6')
7,70 (H2'); P7	123,2 (C6')
6,86 (H5'); P7+P8	123,0 (C6')
	123,2 (C6')
7,60 (H6'); P7+P8	115,9 (C5')
5,25 (H1''); P7+P8	135,6 (C3)
	147,3 (C3)



**Figura 39:** Mapa de contornos HMBC para P7+P8.

Ainda no mapa de contornos de HMBC (**Figura 39**) é possível evidenciar a correlação entre o sinal em  $\delta$  147,3 (C3') e os hidrogênios metílicos em  $\delta$  3,93 para **P8**. A posição do grupo metoxila em C3' foi confirmada pela técnica de diferença de NOE (**Figura 40**) que apresentou um ganho de intensidade no sinal em  $\delta$  7,9 (H2') quando irradiado os hidrogênios metílicos.

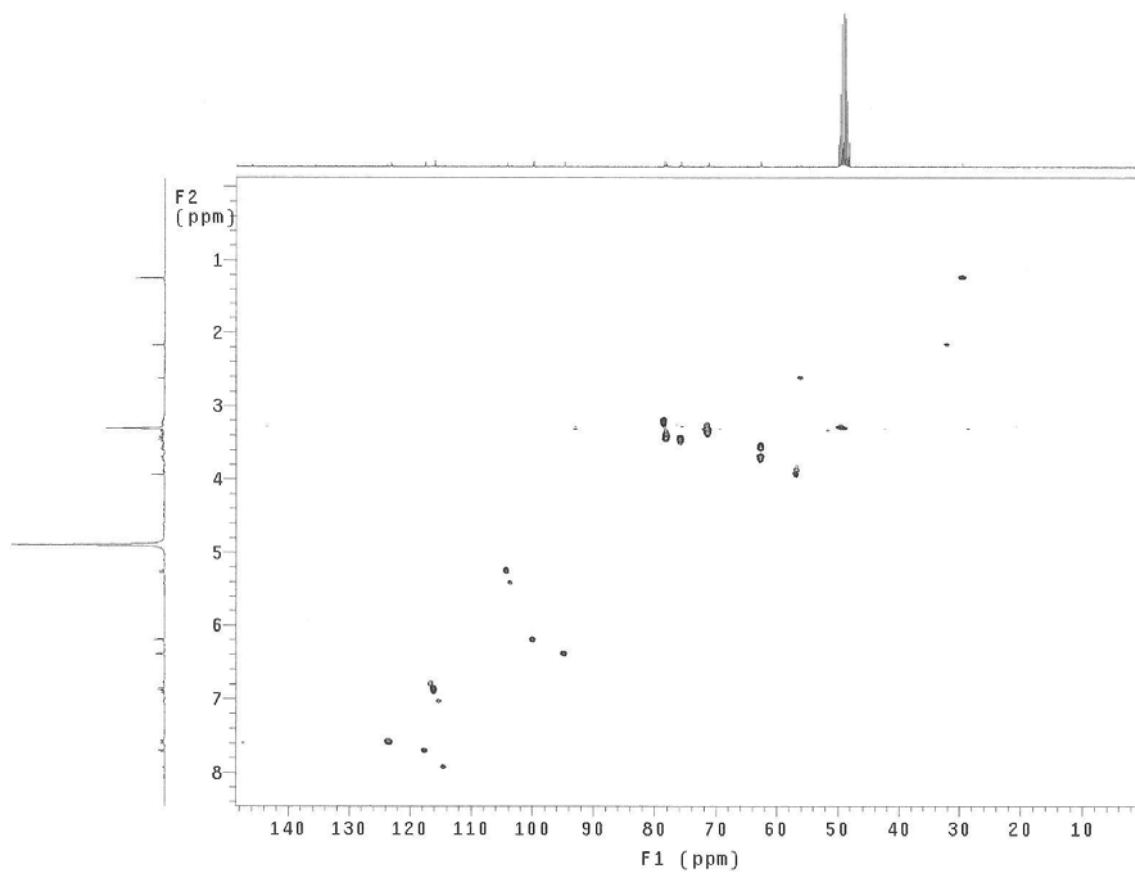


**Figura 40:** Espectro de diferença de NOE para **P8**.

O mapa de contornos HMQC (**Figura 41; Tabela 59**), que também auxiliou na identificação desta mistura, segue abaixo.

**Tabela 59:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMQC para **P7+P8**.

<b>C</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
6	6,19	99,8
8	6,38	94,7
5	6,86	115,9
2 (P5)	7,70	117,5
2 (P6)	7,90	114,3
6'	7,60	123,0
1''	5,25	104,2
2''	3,45	75,7
3''	3,20	78,4
4''	3,25-3,40	71,2
5''	3,40	78,1
6''	3,60	62,5
	3,72	
CH <sub>3</sub> (P6)	3,93	56,7



**Figura 41:** Mapa de contornos HMQC para **P7+P8**.



Os dados espectroscópicos mencionados anteriormente para **P7+P8** foram comparados aos já existentes na literatura, confirmando que o composto **P7** era a quercetina 3-O- $\beta$ -D-glicosídeo (Melos *et al.*; 2007), **Tabela 60**, e que **P8** era a isoraminetina-3-glicosídeo (Lee *et al.*; 2005), **Tabela 61**.

**Tabela 60:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  para o composto **P7** e para quercetina 3-O- $\beta$ -D-glicosídeo.

	<b>P7</b>		<b>quercetina 3-O-<math>\beta</math>-D-glicosídeo</b>	
<b>C</b>	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; <i>J</i> em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; <i>J</i> em Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2		158,4		158,4
3		135,6		135,8
4		179,5		179,5
5		163,0		163,0
6	6,19 (d; 2,1)	99,8	6,17 (d; 2,0)	99,8
7		166,0		166,0
8	6,38 (d; 2,1)	94,7	6,38 (d; 2,0)	94,7
9		159,0		159,0
10		105,7		105,7
1'		123,2		123,0
2'	<b>7,70 (d; 2,1)</b>	<b>117,5</b>	7,70 (d; 2,0)	116,0
3'		<b>145,9</b>		145,9
4'		149,8		149,8
5'	6,86 (d; 8,4)	115,9	6,85 (d; 8,5)	117,5
6'	7,60 (dd; 2,1; 8,4)	123,2	7,56 (dd; 2,0; 8,5)	123,1
1''	5,25 (d; 7,5)	104,2	5,24 (d; 7,3)	104,2
2''	3,45 (m)	75,7		75,2
3''	3,20 (m)	78,4		78,4
4''	3,25-3,40 (m)	71,2		71,2
5''	3,40 (m)	78,1		78,1
6''	3,60 (m)	62,5		62,5
	3,72 (m)			

( $\delta$ -ppm; 300 e 75,5 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

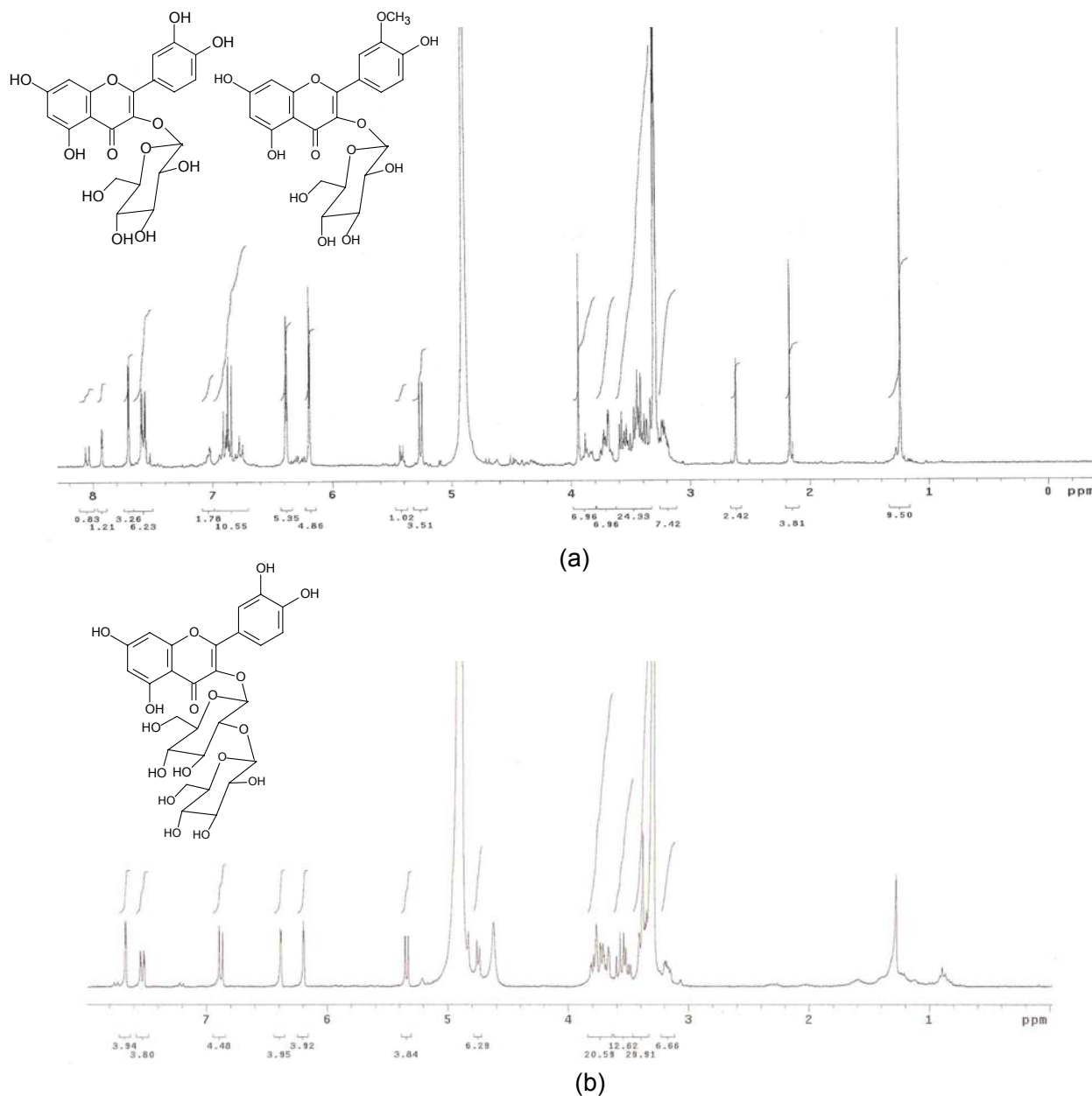
**Tabela 61:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  para o composto **P8** e para isoraminetina-3-glicosídeo

<b>P8</b>		<b>isoraminetina-3-glicosídeo</b>		
<b>C</b>	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz) <sup>*</sup>	$\delta_{\text{C}}$
2		158,5		156,4
3		132,3		133,0
4		179,5		177,4
5		163,0		161,2
6	6,19 (d; 2,1)	99,8	6,20 (d; 2,0)	98,7
7		166,0		164,3
8	6,38 (d; 2,1)	94,7	6,44 (d; 2,0)	93,7
9		159,0		156,3
10		105,7		104,0
1'		123,2		121,1
2'	<b>7,90 (d; 2,1)</b>	<b>114,3</b>	7,94 (d; 2,0)	113,4
3'		<b>147,3</b>		146,9
4'		149,8		149,4
5'	6,86 (d; 8,4)	115,9	6,91 (d; 8,4)	115,2
6'	7,60 (dd; 2,1; 8,4)	123,0	7,49 (dd; 2,0; 8,4)	122,0
1''	5,25 (d; 7,5)	104,2	5,24 (d; 7,3)	100,8
2''	3,45 (m)	75,7		74,3
3''	3,20 (m)	78,4		77,5
4''	3,25-3,40 (m)	71,2		69,8
5''	3,40 (m)	78,1		76,4
6''	3,60 (m)	62,5		60,6
	3,72 (m)			
OCH <sub>3</sub>	<b>3,93(s)</b>	<b>56,7</b>	3,83(s)	55,7

( $\delta$ -ppm; 300 e 75,5 MHz; CD<sub>3</sub>OD; <sup>\*</sup>DMSO)

### 4.3.2. Composto P9

Para **P9**, no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 42**) foram observados, especificamente para a aglicona, sinais semelhantes aos atribuídos anteriormente para **P7**, no entanto, os dados espectrais revelaram uma unidade glicosídica a mais, devido à presença de um outro hidrogênio anomérico em 4,75 (d; 7,2 Hz).

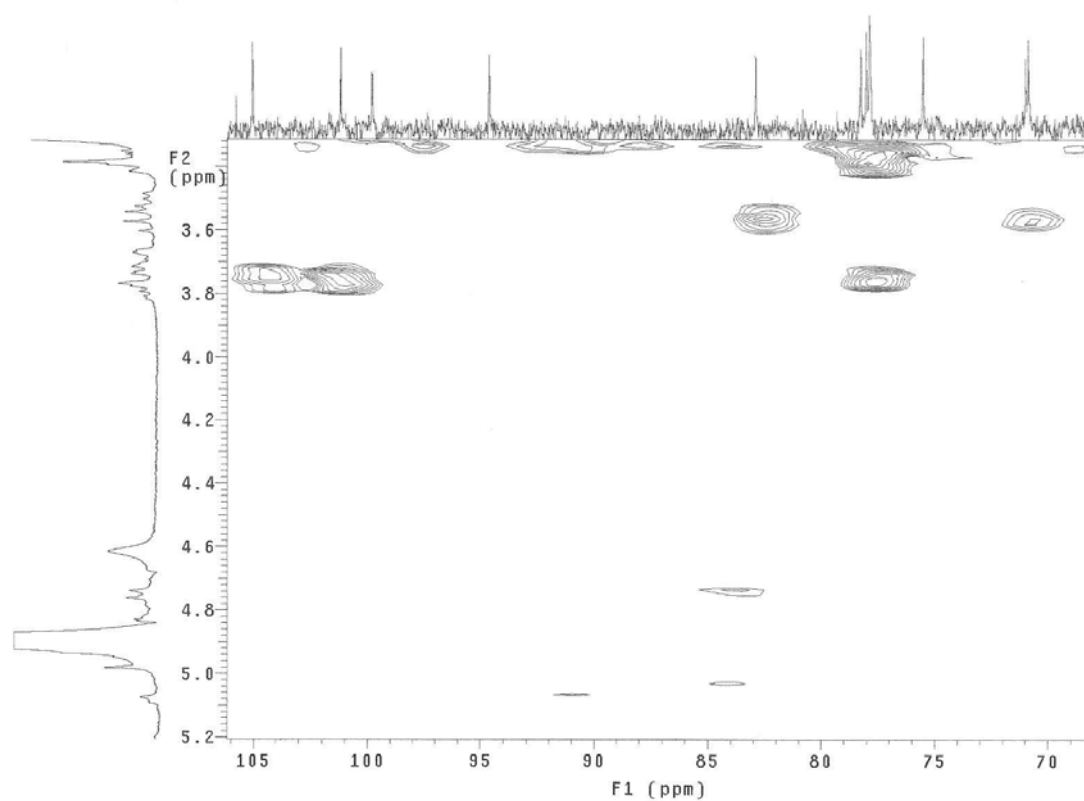


**Figura 42:** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para **P7+P8** (a) e **P9** (b).

A unidade glicosídica foi determinada na posição C2'', uma vez que o mapa de contornos HMBC (**Figura 43, Tabela 62**) apresentou a correlação entre C2'' em  $\delta$  82,9 e H1''' em  $\delta$  4,75. É relevante ressaltar que a presença dos sinais em  $\delta$  62,3 (C6'') e 62,4 (C6''') indicava que os grupos metilênicos das unidades de açúcar estavam livres, ou seja, não havia conectividades a partir destes carbonos.

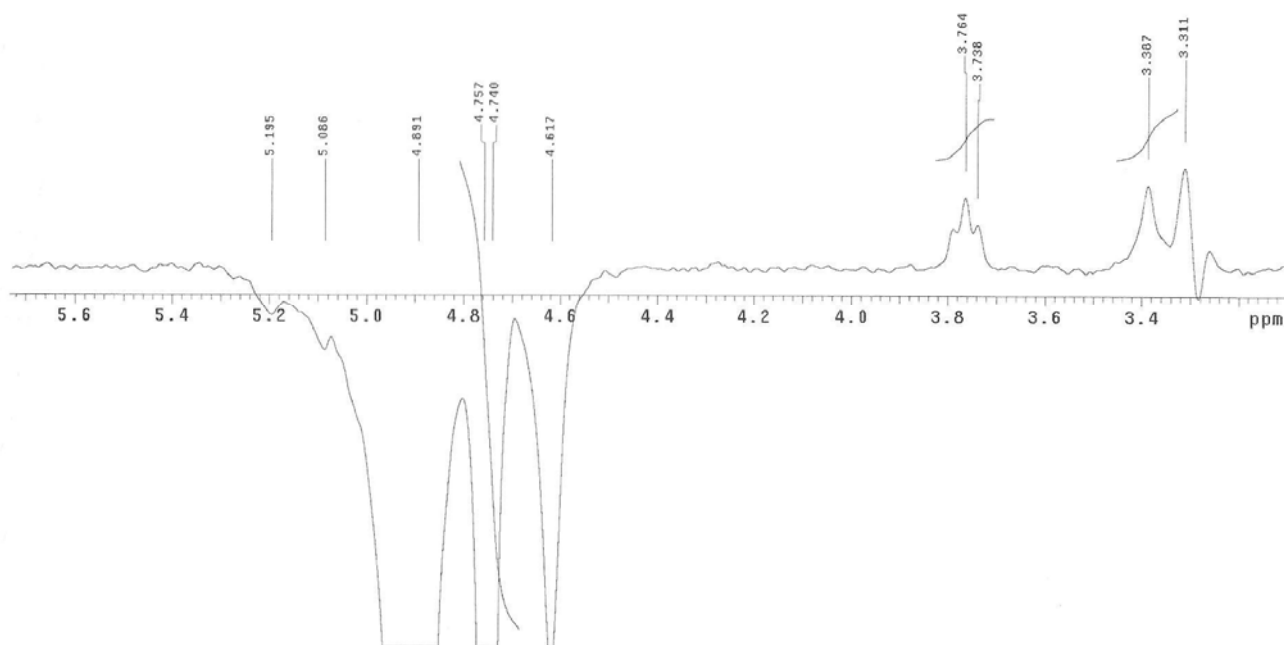
**Tabela 62:** Principais correlações heteronucléares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMBC para **P9**.

$\delta_{\text{H}}$ (H)	$\delta_{\text{C}}$ (C)
6,19 (H6)	105,8 (C10)
6,38 (H8)	99,8 (C6)
7,66 (H2')	123,0 (C6')
6,88 (H5')	123,0 (C1')
4,75 (H1''')	82,9 (C2'')



**Figura 43:** Mapa de contornos HMBC para **P9**.

A técnica de diferença de NOE (**Figura 44**) também comprova as conectividades entre as unidades de açúcar, pois houve um ganho de intensidade de sinal na região de  $\delta$  3,7-3,8 (H2'') ao irradiar H1''.

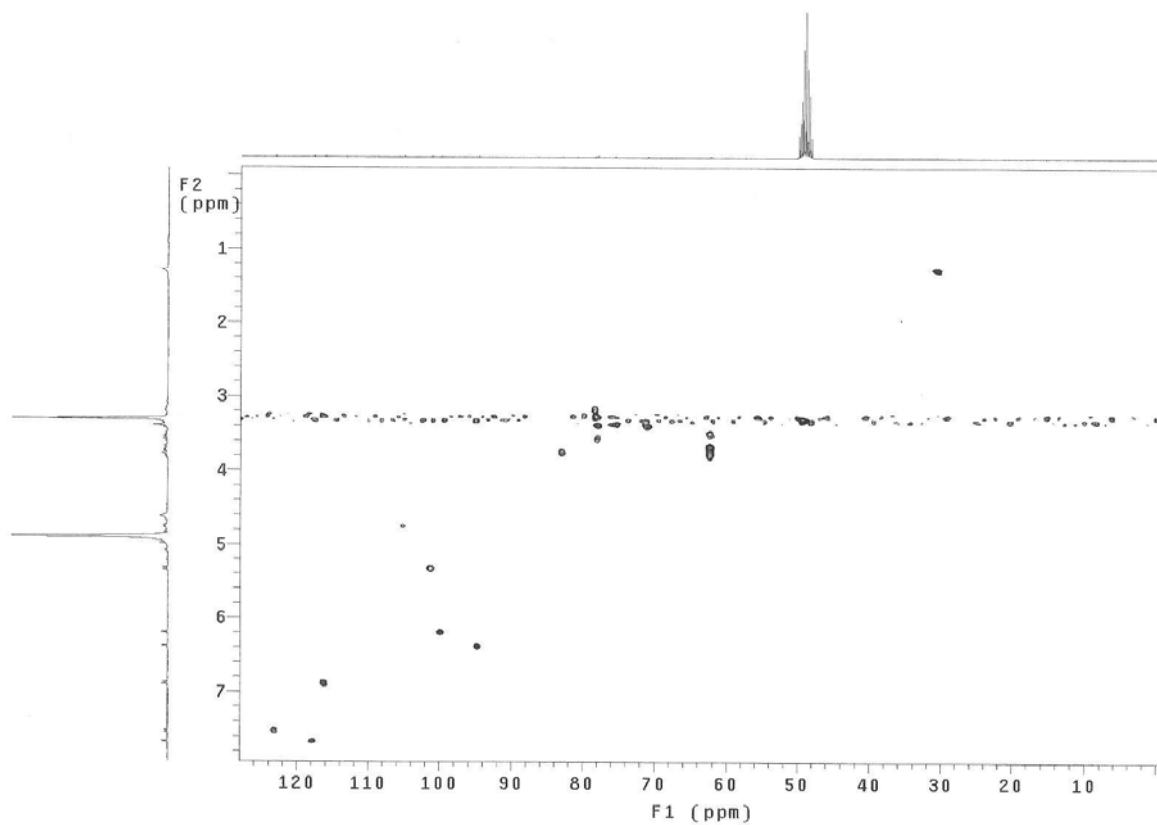


**Figura 44:** Espectro de diferença de NOE para **P9**.

Demais atribuições foram feitas com base nas correlações observadas no espectro de HMQC (**Figura 45; Tabela 63**) e COSY (**Figura 46; Tabela 64**)

**Tabela 63:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMQC para **P9**

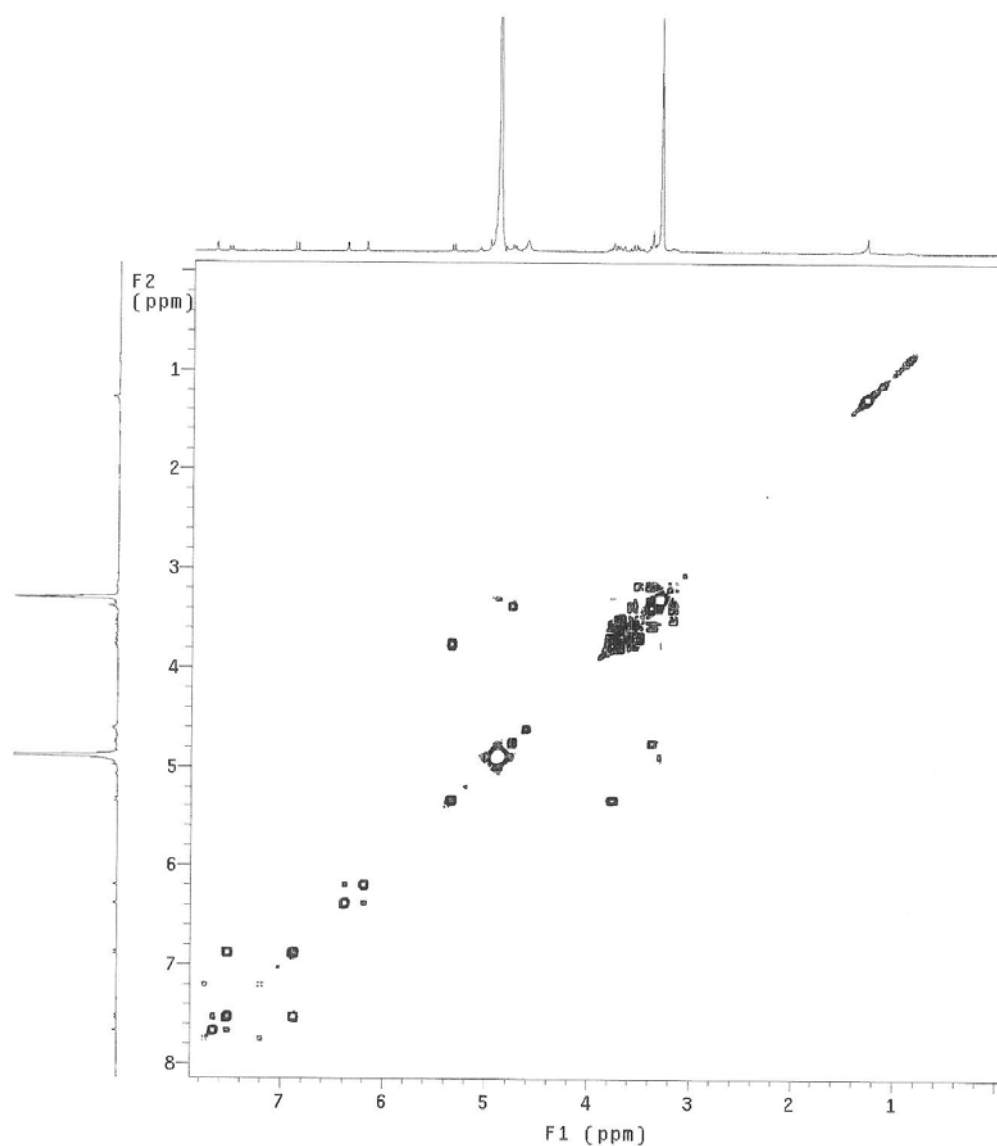
C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
6	6,19	99,8
8	6,38	94,6
2'	7,66	117,7
5'	6,88	116,1
6'	7,52	123,0
1''	5,34	101,2
2''	3,7-3,8	82,9
4''	3,30-3,44	71,0
5''	3,12-3,30	78,3
6''	3,46-3,54	62,3
	3,60-3,80	
1'''	4,75	105,0
2'''	3,28-3,36	75,6
4'''	3,30-3,44	70,9
6'''	3,46-3,54	62,4
	3,60-3,80	



**Figura 45:** Mapa de contornos HMQC de **P9**.

**Tabela 64:** Principais correlações homonucleares  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  observadas no mapa de contornos COSY para **P9**.

$\delta ^1\text{H}$ (mult.; J, Hz; H)	$\delta ^1\text{H}$ (mult.; J, Hz; H)
6,88 (d; 8,4; H5)	7,52 (dd; 2,1; 9,0; H6)
5,34 (d; 7,5; H1'')	3,70-3,80 (m; H2'')
3,12-3,30 (m; H5'')	3,30-3,44 (m; H4'')
	3,46-3,54 (m; H6'')
4,75 (d; 7,2; H1''')	3,28-3,36 (m; H2''')



**Figura 46:** Mapa de contornos COSY de **P9**.

Os dados espectroscópicos para **P9** foram comparados aos relatados na literatura, **Tabela 65**, confirmando que este composto era a quercetina 3-O-soforosídeo (Tang *et. al.*,2007; Price *et. al.*, 1998).

**Tabela 65:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  para **P9** e para quercetina 3-O-soforosídeo.

C	P9		quercetina 3-O-soforosídeo	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)*	$\delta_{\text{C}}$
2		158,5		154,98
3		135,1		132,45
4		179,8		176,90
5		163,1		160,72
6	6,19 (d; 2,1)	99,8	6,20 (d; 1,8)	97,98
7		165,9		163,45
8	6,38 (d; 2,1)	94,6	6,40 (d; 1,8)	92,87
9		158,9		155,68
10		105,8		103,39
1'		123,0		120,58
2'	7,66 (d; 2,1)	117,7	7,56 (s)	115,51
3'		145,9		144,27
4'		149,8		147,95
5'	6,88 (d; 8,4)	116,1	6,84 (d; 9,0)	115,27
6'	7,52 (dd; 2,1; 8,4)	123,0	7,61 (d; 8,4)	121,30
1''	5,34 (d; 7,5)	101,2	5,48 (d; 7,2)	97,45
2''	3,7-3,8 (m)	<b>82,9</b>		82,20
3''		78,1		75,99
4''	3,30-3,44 (m)	71,0		69,39
5''	3,12-3,30 (m)	78,3		76,98
6''	3,46-3,54 (m)	62,3		60,08
	3,60-3,80 (m)			
1'''	4,75 (d; 7,2)	105,0	4,58 (d; 7,2)	103,66
2'''	3,28-3,36 (m)	75,6		73,85
3'''		77,8		75,99
4'''	3,30-3,44 (m)	70,9		69,04
5'''		77,9		78,1
6'''	3,46-3,54 (m)	62,4		62,5
	3,60-3,80 (m)			

( $\delta$ -ppm; 300 e 75,5 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ); \*DMSO



### 4.3.3. Composto P4

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **P4** (Figura 47) foram observados sinais semelhantes ao de **P9**, porém ficou evidente um duplete em  $\delta$  1,10 (6,0 Hz) característico de açúcar ramnose.

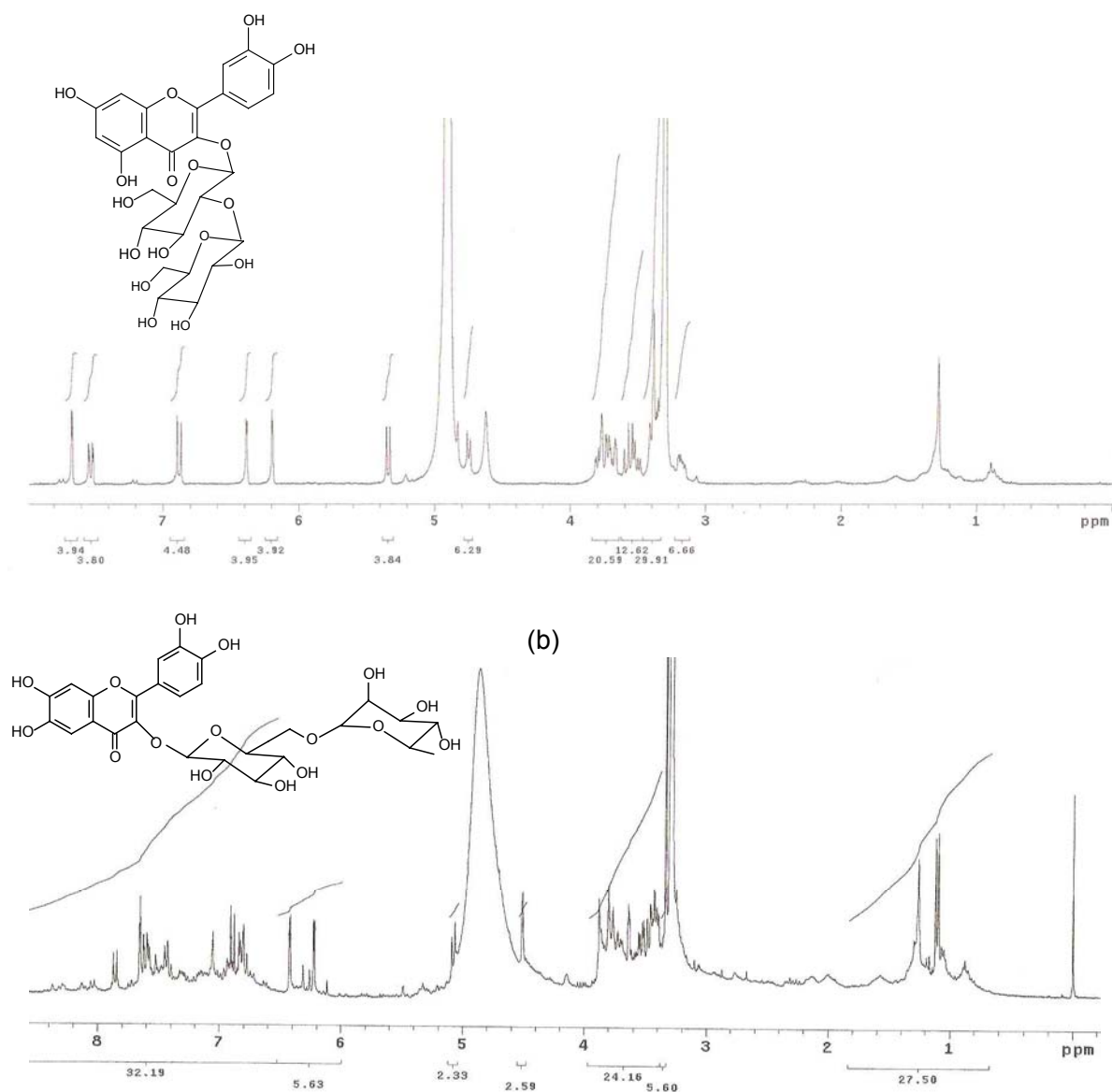
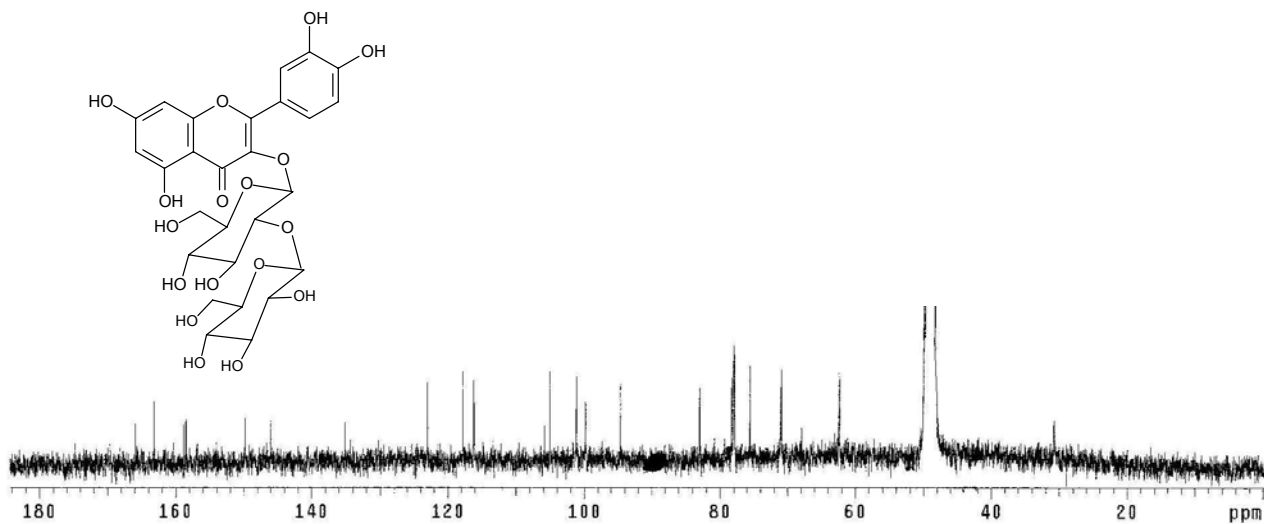
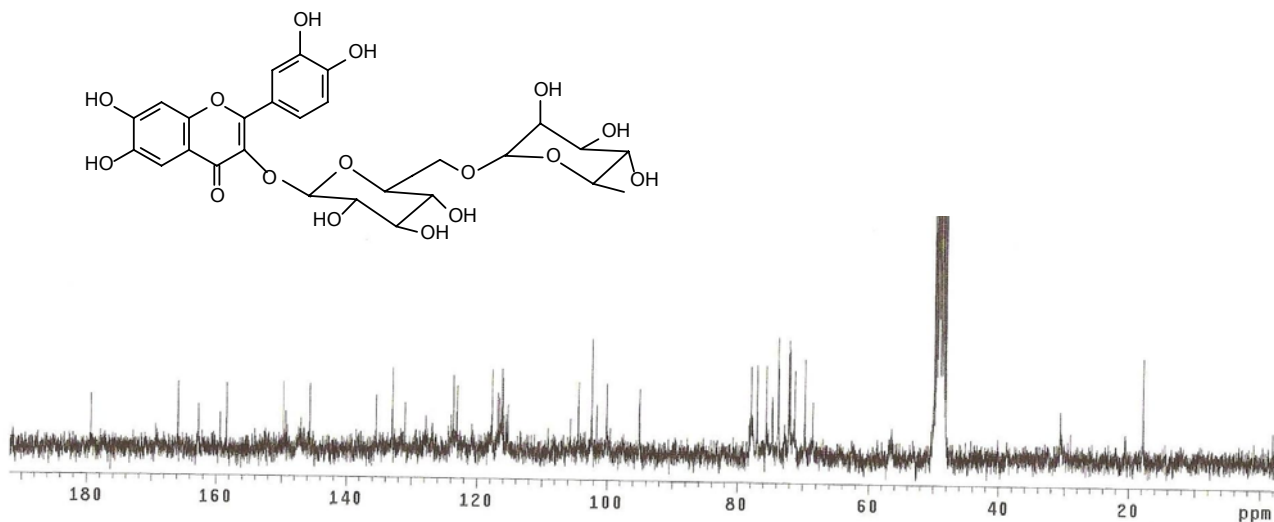


Figura 47: Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para **P9** (a) e **P4** (b).

Esta unidade de açúcar foi comprovada no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (**Figura 48**) pela presença do sinal em  $\delta$  17,8 referente ao grupo metila.



(a)



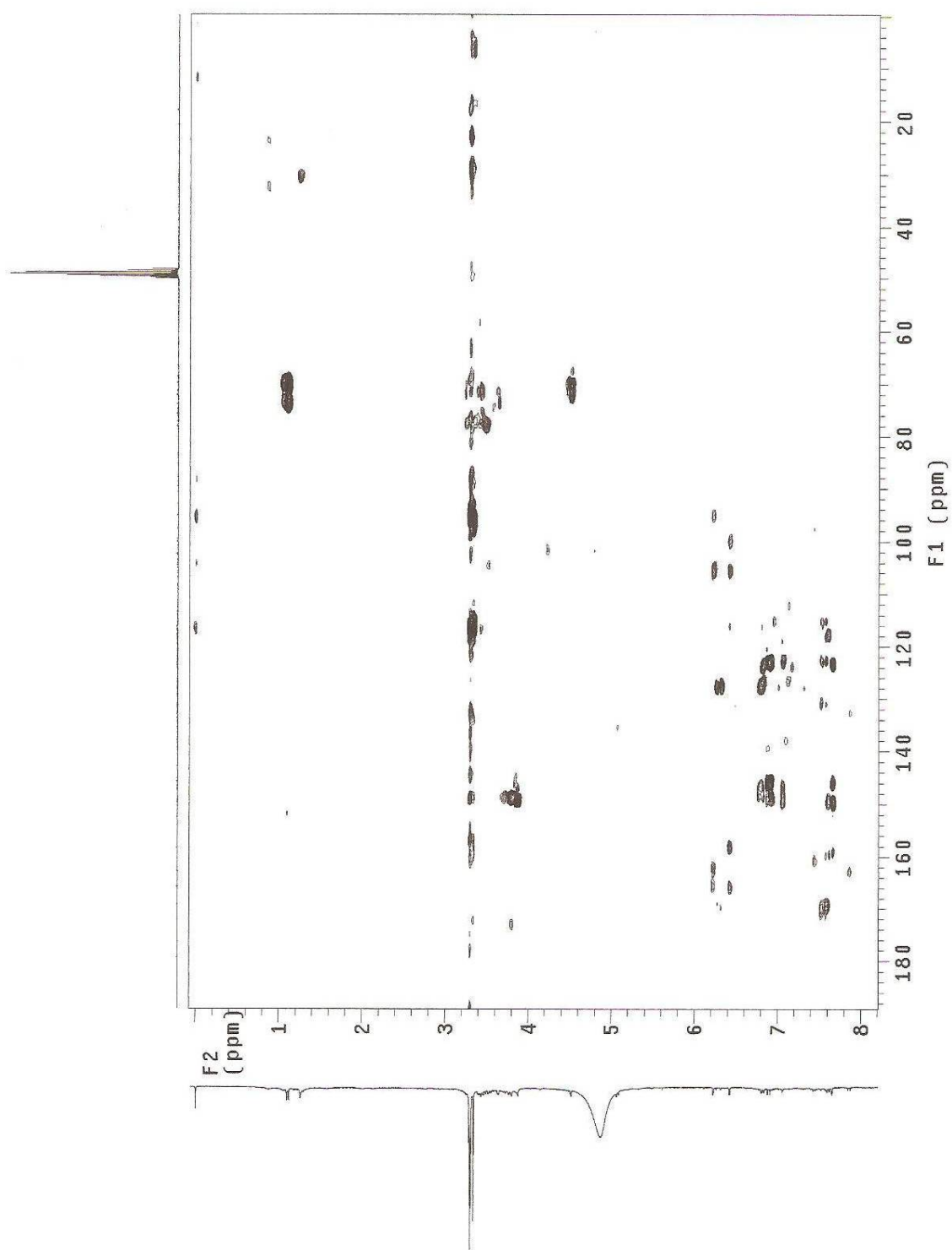
(b)

**Figura 48:** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  para P9 (a) e P4 (b).

A conexão da ramnose na glicose foi visualizada no mapa de contornos HMBC (**Figura 49; Tabela 66**) pela correlação do sinal em  $\delta$  68,5 do carbono C6'' da glicose com o sinal em  $\delta$  4,51 referente ao H1''' da ramnose.

**Tabela 66:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMBC para **P4**.

$\delta_{\text{H}}$ (H)	$\delta_{\text{C}}$ (C)
5,10 (H1'')	123,9 (C1')
4,51 (H1''')	68,5 (C6'')
	72,1 (C3''')
	78,1 (C5''')
7,65 (H2')	123,6 (C6')
6,42 (H8)	100,0 (C6)

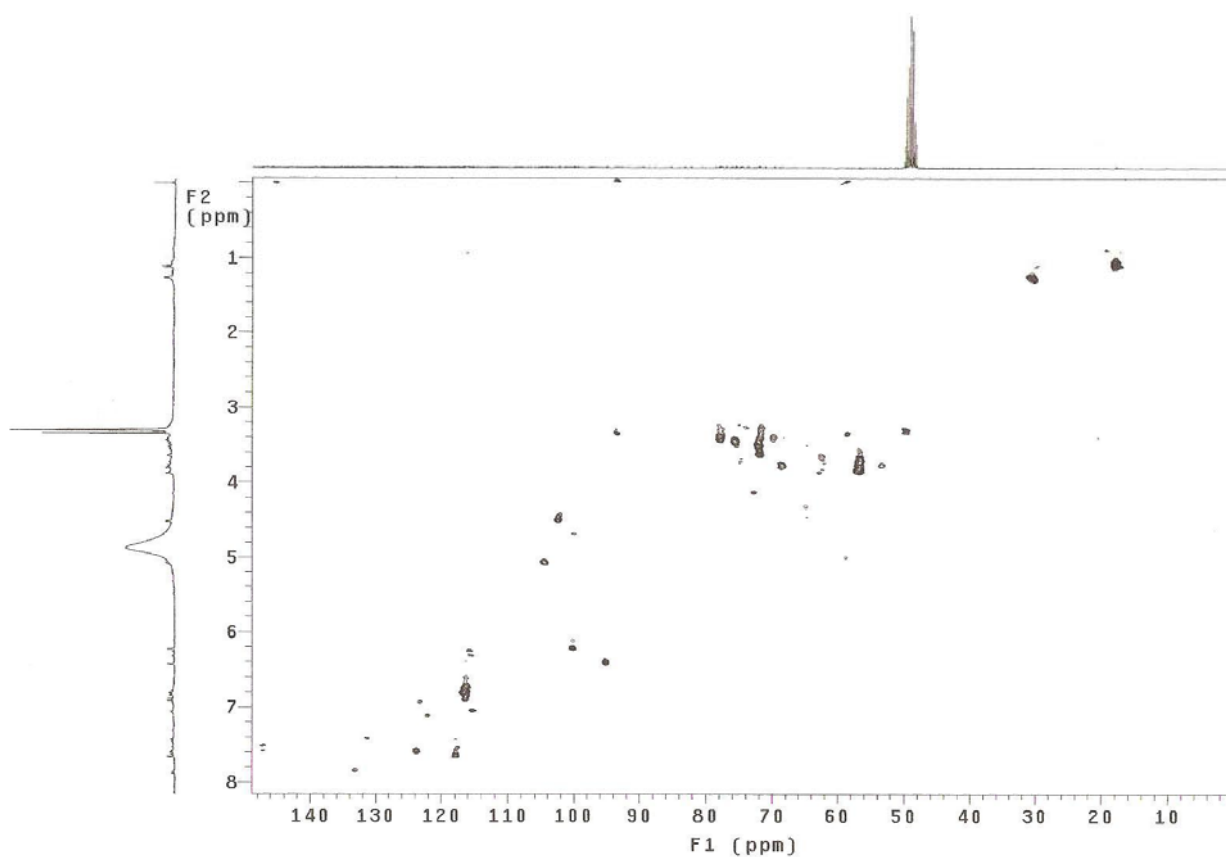


**Figura 49:** Mapa de contornos HMBC para **P4**.

Os dados referentes ao mapa de contornos HMQC (**Figura 50; Tabela 67**) e COSY (**Figura 51; Tabela 68**) que auxiliaram na identificação de **P4**, seguem abaixo.

**Tabela 67:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMQC para **P4**

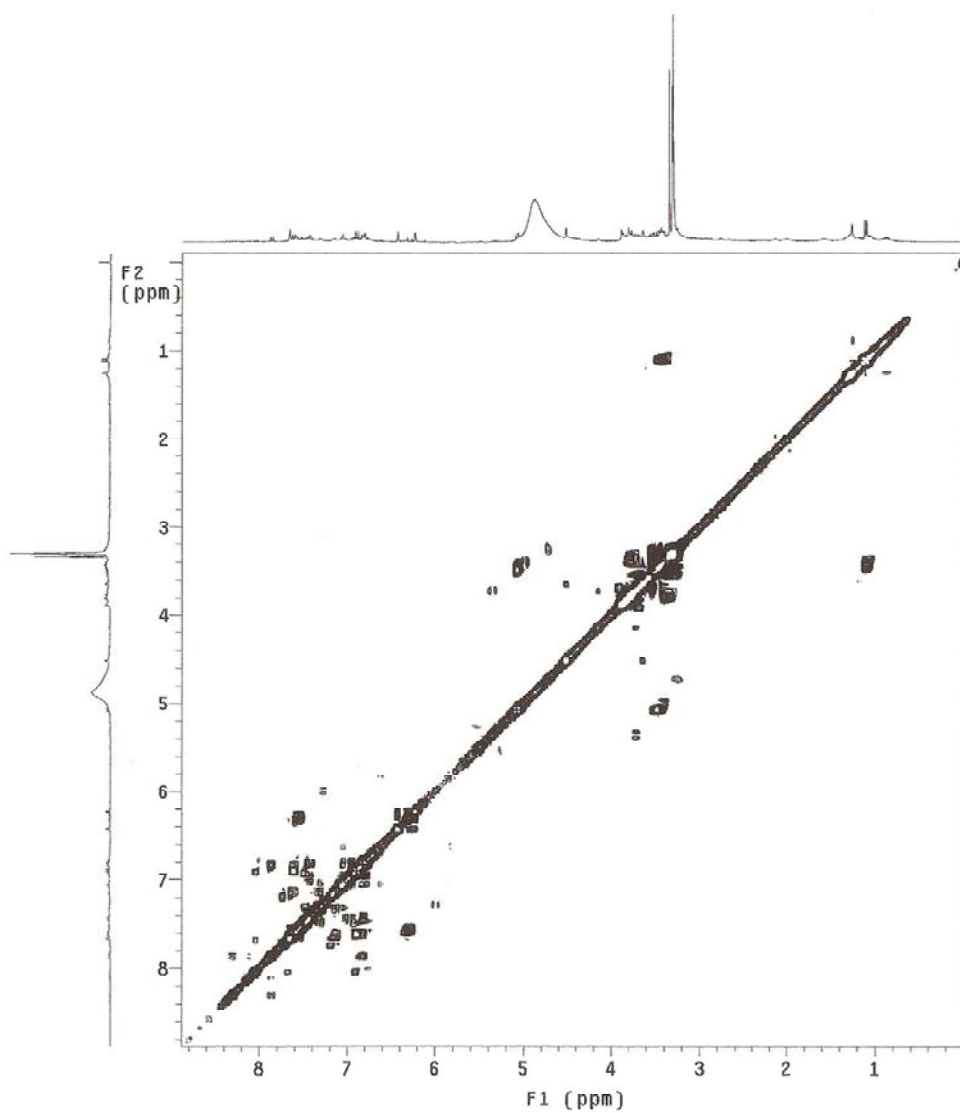
<b>C</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
6	6,22	100,0
8	6,42	95,0
2'	7,65	117,7
5'	6,88	116,2
6'	7,20	123,6
1''	5,10	104,4
2''	3,40-3,50	75,5
3''	3,26-3,46	77,9
4''	3,20-3,36	71,2
5''	3,26-3,46	78,1
6''	3,3-3,40	68,5
	3,70-3,80	
1'''	4,51	102,3
2'''	3,20-3,60	71,9
3'''	3,20-3,60	72,1
4'''	3,20-3,32	73,7
5'''	3,34-3,46	69,7
6'''	1,10	17,8



**Figura 50:** Mapa de contornos HMBC de **P4**.

**Tabela 68:** Principais correlações homonucleares  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  observadas no mapa de contornos COSY para **P4**.

$\delta ^1\text{H}$ (mult.; $J$ em Hz; H)	$\delta ^1\text{H}$ (mult.; $J$ em Hz; H)
6,88 (d; 8,4; H5)	7,20 (m; H6)
5,10 (d; 7,5; H1'')	3,40-3,50 (m; H2'')
3,20-3,32 (m; H4''')	3,34-3,46 (m; H5''')
1,10 (d; 6,0; H6''')	3,34-3,46 (m; H5''')



**Figura 51:** Mapa de contornos COSY para **P4**.

Os dados espectroscópicos para **P4** resultaram semelhantes aos já existentes na literatura, **Tabela 69**, confirmando que um dos compostos da mistura era a rutina (Guvenalp *et al.*; 2006).

**Tabela 69:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  para o composto **P4** e para rutina

<b>P4</b>		<b>rutina</b>		
<b>C</b>	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; <i>J</i> em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; <i>J</i> em Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2		158,4		158,5
3		135,4		135,6
4		179,3		179,4
5		163,0		162,5
6	6,22 (d; 2,1)	100,0	6,20 (d; 1,8)	99,9
7		165,8		166,0
8	6,42 (d; 2,1)	95,0	6,39 (d; 2,2)	94,8
9		159,4		159,3
10		105,8		105,6
1'		123,9		123,1
2'	7,65 (d; 2,1)	117,7	7,66 (d; 1,8)	117,6
3'		145,6		145,8
4'		149,6		149,7
5'	6,88 (d; 8,4)	116,2	6,86 (d; 8,0)	116,1
6'	7,20 (m)	123,6	7,60 (dd; 8,0; 1,8)	123,5
1''	5,10 (d; 7,5)	104,4	5,09 (d; 7,8)	104,7
2''	3,40-3,50	75,5		75,7
3''	3,26-3,46	77,9	3,25-3,47	77,2
4''	3,20-3,36	71,2		71,4
5''	3,26-3,46	78,1		78,1
6''	3,30-3,40 (m)	68,5	3,38 (m)	68,6
	3,70-3,80 (m)		3,80 (d; 10,5)	
1'''	4,51 (sl)	102,3	4,51 (d; 1,8)	102,4
2'''	3,20-3,60	71,9	3,63 (dd; 3,5; 1,5)	72,0
3'''	3,20-3,60	72,1	3,53 (dd; 9,5; 3,5)	72,2
4'''	3,20-3,32 (m)	73,7	3,28 (m)	73,9
5'''	3,34-3,46 (m)	69,7	3,44 (m)	69,7
6'''	<b>1,10 (d; 6,0)</b>	<b>17,8</b>	1,11 (d; 6,0)	17,9

( $\delta$ -ppm; 300 e 75,5 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}$ )



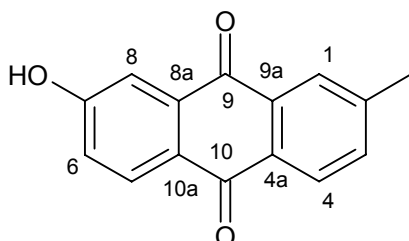
De acordo com a literatura há um grande número de pesquisas que apontam atividade antioxidante dos compostos acima isolados: Fiorentino, A. *et al* (2007); Tachakittirungrod, S. *et al* (2007); Suzgeç, S. *et al* (2005); Miliauskas, G. *et al* (2004); Mastuda, H. *et al* (2002); Cioffi, G. *et al* (2002); entre outros. Também há relatos de atividade antibroncoespasmática para estes compostos (Circosta, C. *et al.*, 1992), enquanto que a rutina é comercializada em países europeus e nos Estados Unidos como anti-hemorragico e para melhoramento das funções capilares (Zuanazzi *et al.*, 2004)

Fórmica e colaboradores (1995), em um estudo com bioflavonóides, apontam à contribuição da quercetina em efeitos antiproliferativos e antitumorais. Esta classe de compostos também tem despertado interesse como agentes antiinflamatórios (Alcaraz *et al.*, 2004).

A presença de flavonóides em *P. rigida* e *P. coriacea* contribui significativamente para o conhecimento químico do gênero, sendo que este é o primeiro relato de isolamento desta classe de compostos em Palicoureas.

## 4.4. Antraquinona

### 4.4.1. Composto P10



O composto **P10** foi isolado da fração clorofórmica no estudo das folhas de *P. rigida*.

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 52**) da substância isolada permitiu caracterizar os sinais relativos de átomos de hidrogênio em anel aromático entre  $\delta$  7,17 e  $\delta$  8,13. Foram observados três sinais típicos de um sistema de acoplamento AMX em  $\delta$  8,04 (s); 8,11 (d; 8,0 Hz) e 7,63 (dd; 8,0 Hz e 1,2 Hz) sendo os dois primeiros sinais atribuídos, respectivamente, aos átomos de hidrogênio H1 e H4 *peri* aos grupos carbonila. O duplete em  $\delta$  7,55 (2,4 Hz; H8) revelou um padrão de acoplamento *meta* com H6. O outro duplete em  $\delta$  8,13 (8,6 Hz; H5) demonstrou um padrão de acoplamento *orto* com H6 confirmado com o duplo duplete em  $\delta$  7,17 (8,6 Hz e 2,4 Hz; H6) que ainda indica o acoplamento *meta* com H8. Na região de alifáticos foi observado apenas um singlete (3H) em  $\delta$  2,51 atribuído a um metila ligado a carbono de anel aromático, o que foi confirmado nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT (**Figura 53**) pelo sinal em  $\delta$  20,7.

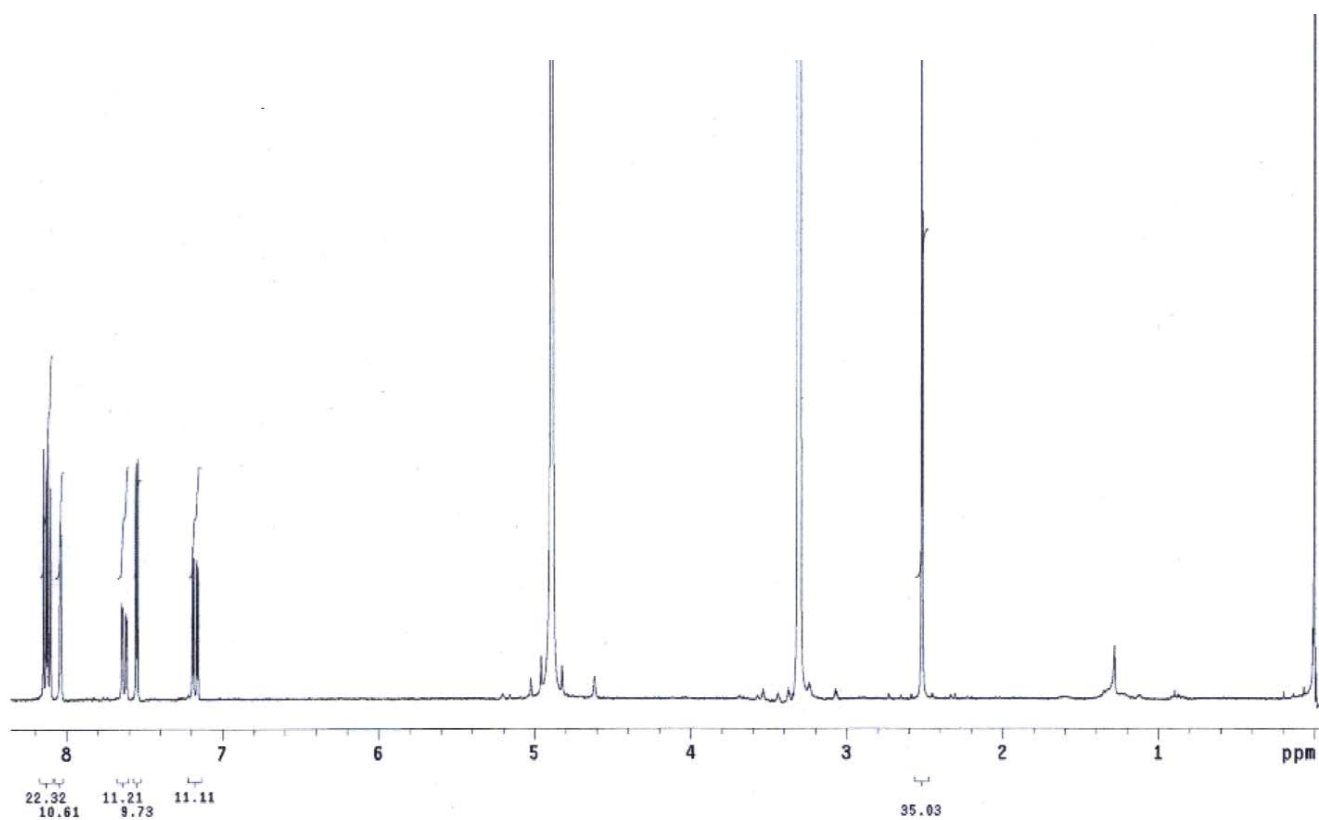
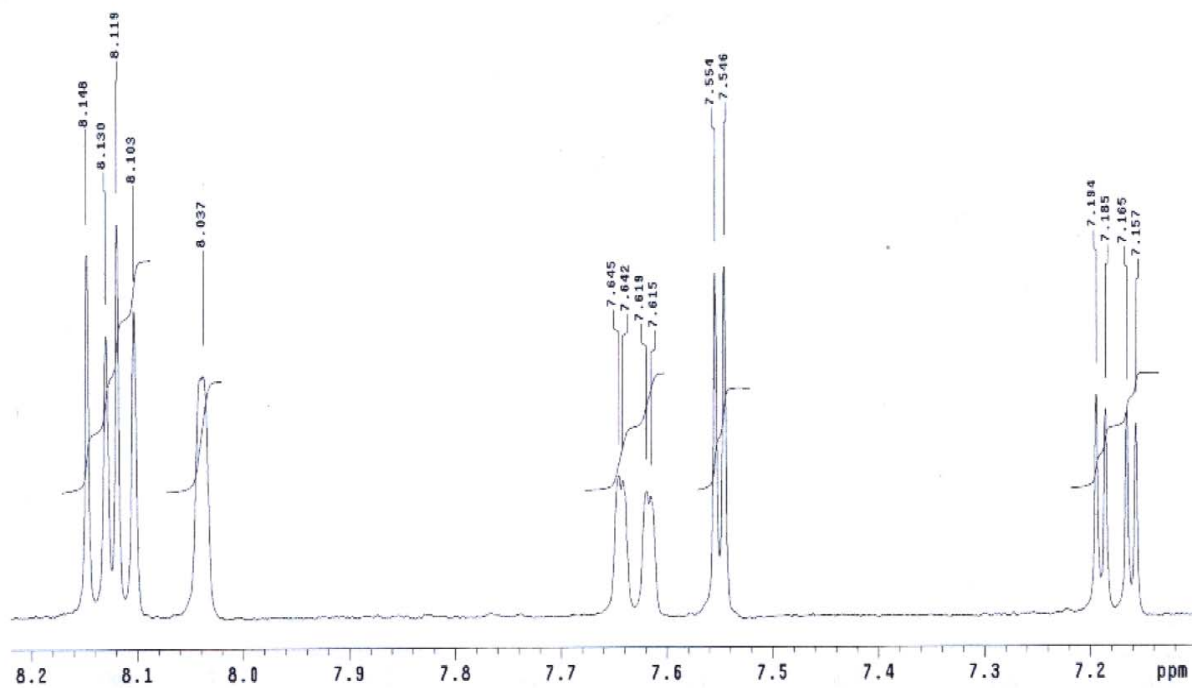
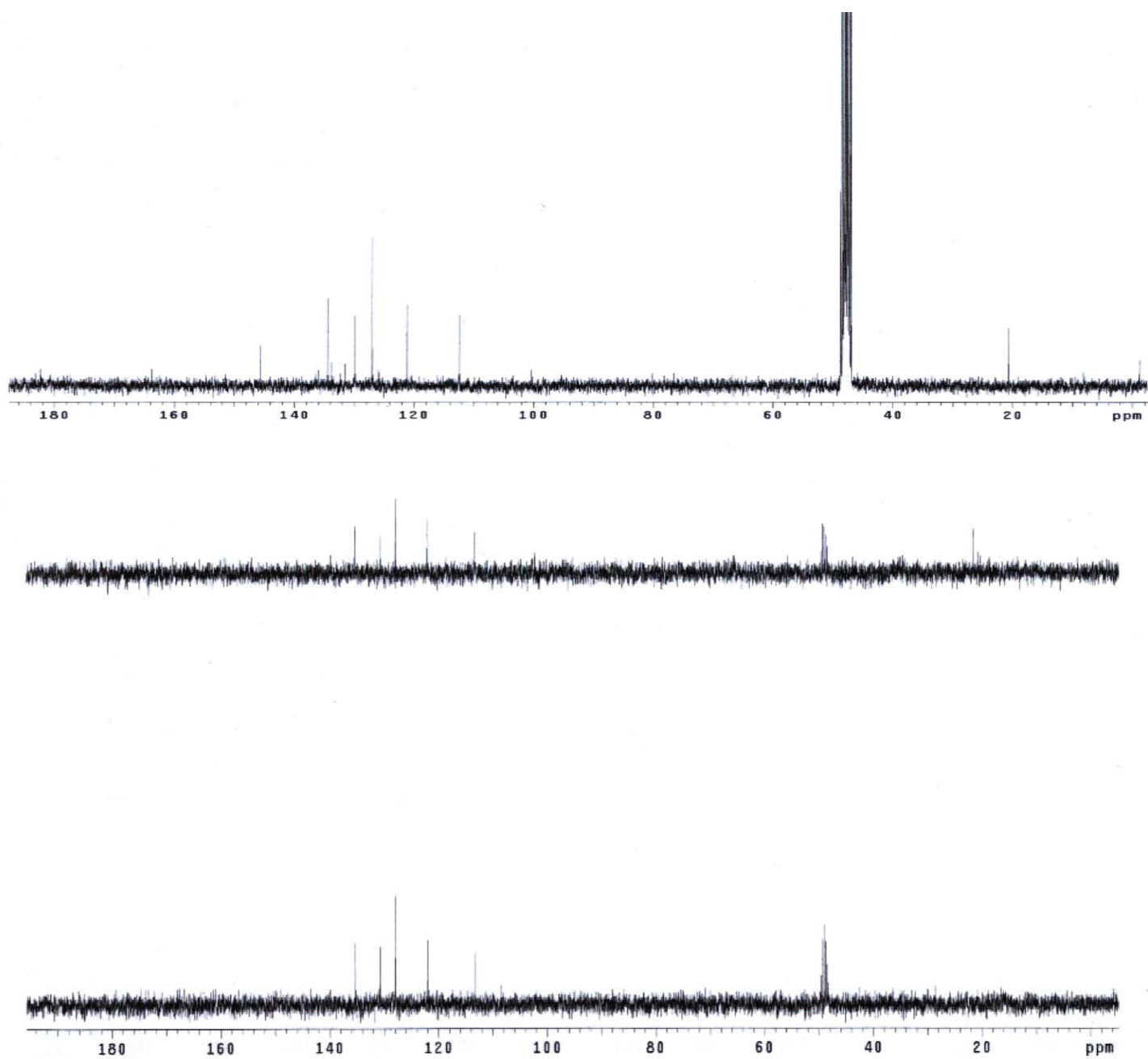


Figura 52: Espectro de RMN <sup>1</sup>H para P10.

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT (**Figura 53**) apresentaram também sinais típicos de grupos carbonila em  $\delta$  183,1 e 182,3 caracterizando um núcleo antraquinônico. Demais sinais indicaram presença de átomos de carbonos metínicos do sistema aromático em  $\delta$  112,3; 121,1; 127,0; 129,8; 134,4, e ainda átomos de carbonos não ligados ao hidrogênio em  $\delta$  145,6; 131,5; 133,7. O sinal em  $\delta$  163,7 foi associado ao átomo de carbono C7 ligado a um grupo hidroxila.

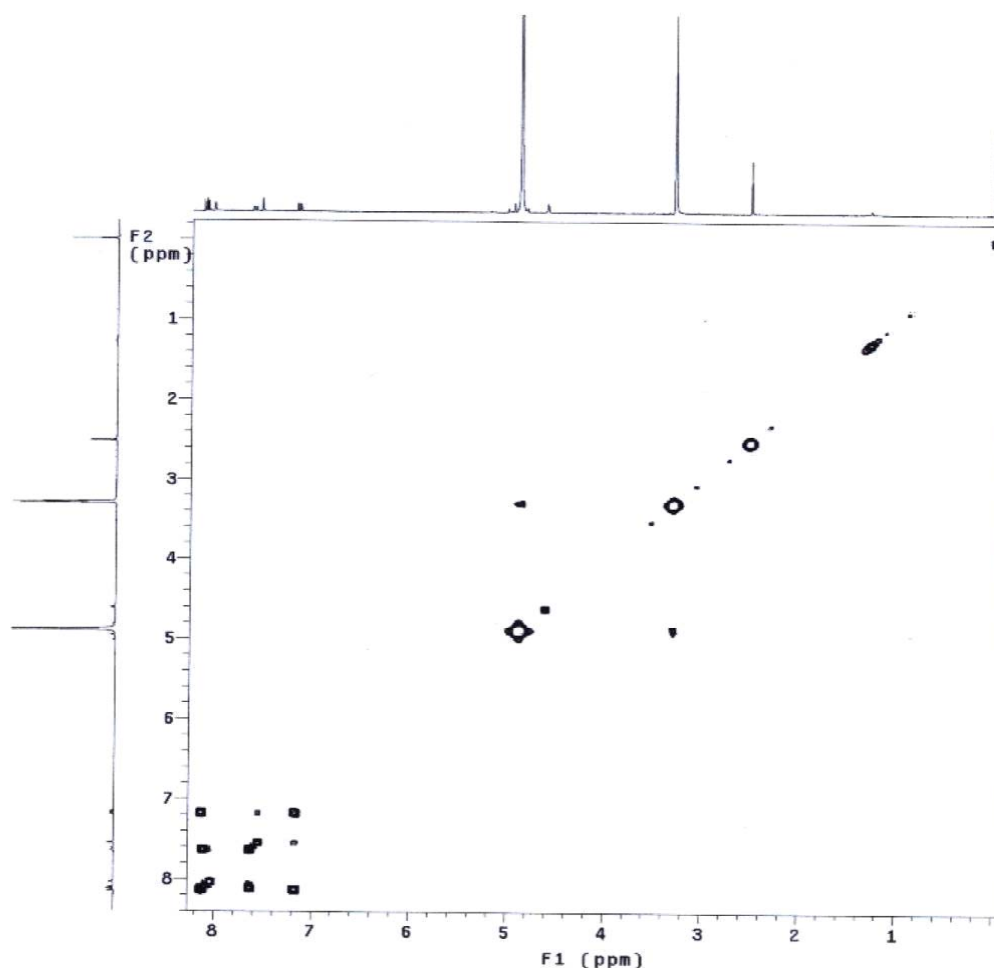


**Figura 53:** Espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT para P10.

O mapa de contornos COSY (**Figura 54**) permitiu observar as correlações entre o átomo de hidrogênio em  $\delta$  7,17 (H6) com o H5 em  $\delta$  8,13 e também com o H8 em  $\delta$  7,55. Ainda foram verificadas as correlações entre o H3 em  $\delta$  7,63 com o H4 em  $\delta$  8,11 e com o H1 em  $\delta$  8,04 (**Tabela 70**). Essas correlações confirmam os padrões de acoplamento mencionados anteriormente.

**Tabela 70:** Principais correlações homonucleares  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  observadas no mapa de contornos COSY para **P10**.

$\delta^1\text{H}$ (mult.; $J$ em Hz; H)	$\delta^1\text{H}$ (mult.; $J$ em Hz; H)
7,17 (dd; 8,6; 2,4; H6)	8,13 (d; 8,6; H5)
	7,55 (d; 2,4; H8)
7,63 (dd; 8,0; 1,2; H3)	8,11 (d; 8,0; H4)
	8,04 (s; H1)

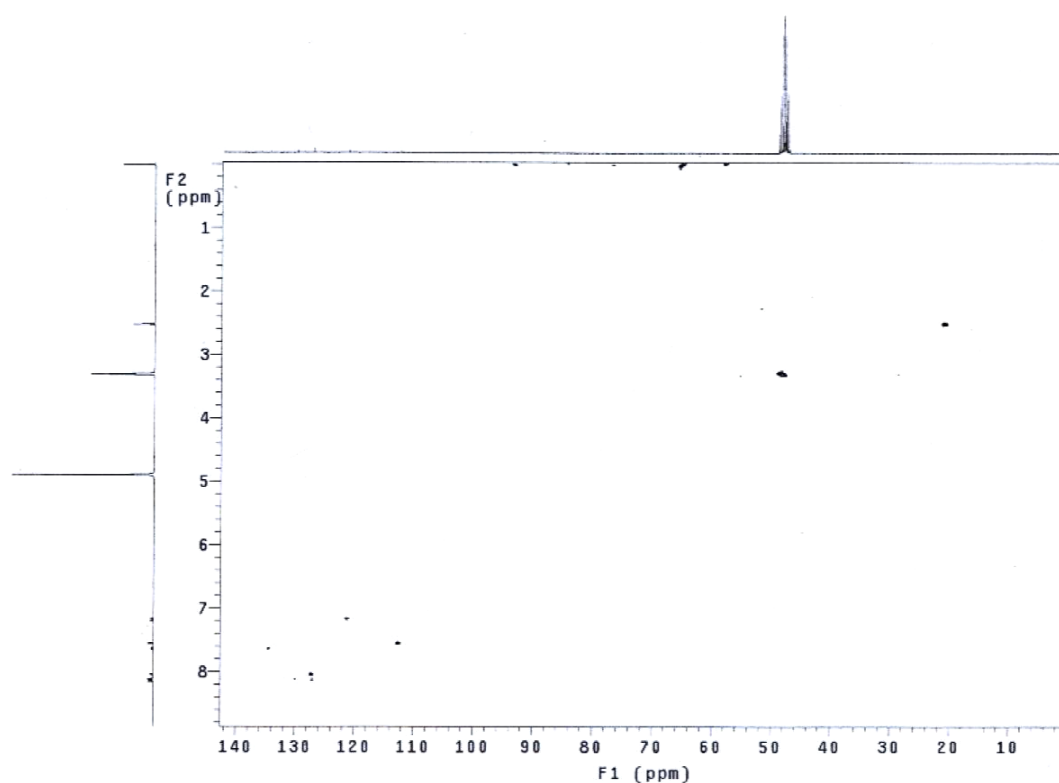


**Figura 54:** Mapa de contornos COSY para **P10**.

No mapa de contornos HMQC (**Figura 55; Tabela 71**) ficou evidenciada a correlação entre os átomos de carbonos metínicos e seus respectivos átomos de hidrogênio, ou seja: entre o carbono C6 em  $\delta$  121,1 e o hidrogênio em  $\delta$  7,17; entre o átomo de carbono em  $\delta$  127,0 e o átomo de hidrogênio em 8,11 (H4); entre o C5 em  $\delta$  129,8 e o hidrogênio em  $\delta$  8,13; entre o C8 em  $\delta$  112,3 e o hidrogênio em  $\delta$  7,55 e, por fim, entre o C3 em  $\delta$  134,4 e o hidrogênio em  $\delta$  7,63.

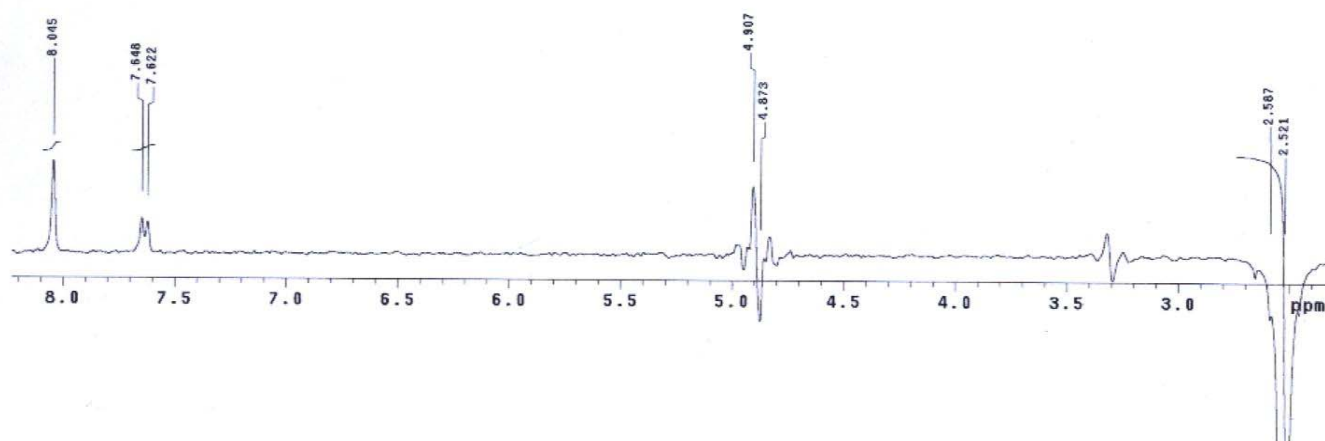
**Tabela 71:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMQC para **P10**.

C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	8,04	127,0
3	7,63	134,4
4	8,11	127,0
5	8,13	129,8
6	7,17	121,1
8	7,55	112,3
CH <sub>3</sub>	2,51	20,7



**Figura 55:** Mapa de contornos HMQC para **P10**

A técnica de diferença de NOE (**Figura 56**) mostrou um ganho de intensidade em  $\delta$  8,04 (H1) e em  $\delta$  7,63 (H3) quando foi irradiado o pico em  $\delta$  2,51(CH<sub>3</sub>). Assim, foi concluído que os átomos de hidrogênio H1 e H3 estão no mesmo anel e estão posicionados proximamente ao grupo metila. Esse dado, juntamente com os dados de padrão de acoplamento, permite deduzir que o grupamento metila está ligado ao carbono C2.



**Figura 56:** Espectro de NOE para **P10**.

Os dados espectrais foram comparados com os da literatura para o composto tectoquinona (Moreira *et al.*, 2006), mostraram-se próximos com exceção do carbono C7 em  $\delta$  163,7, indicativo de carbono ligado ao oxigênio, e dos carbonos vizinhos (C6 e C8), o que permitiu concluir que o composto isolado continha uma hidroxila e era a 7-hidroxi-tectoquinona ou 7-hidroxi-2-metil-antraquinona (**Tabela 72**).



**Tabela 72:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de RMN de  $^{13}\text{C}$  para o composto **P10** e para tectoquinona.

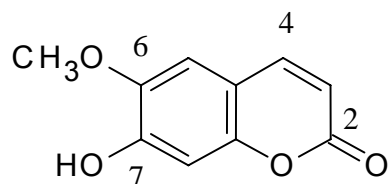
C	P10		tectoquinona	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)*	$\delta_{\text{C}}$
1	8,04 (s)	127,0	8,11 (d; 1,3)	127,4
2		145,6		145,2
3	7,63 (dd; 8,0; 1,2)	134,4	7,60 (d; 8,0)	134,9
4	8,11 (d; 8,0)	127,0	8,20 (dd; 8,0; 1,3)	127,5
5	8,13 (d; 8,6)	129,8	8,31 (m)	127,1
6	7,17 (dd; 8,6; 2,4)	121,1	7,79 (m)	133,9
7		163,7	7,79 (m)	134,0
8	7,55 (d; 2,4)	112,3	8,31 (m)	127,1
9		183,1		183,4
10		182,3		183,0
4a		131,5		131,3
8a		133,8		133,6
9a		133,7		133,4
10a		133,8		133,6
CH <sub>3</sub>	2,51 (s)	20,7	2,54 (s)	21,9

( $\delta$ -ppm; 300 e 75,5 MHz; CD<sub>3</sub>OD; \*CDCl<sub>3</sub>)

Há relato na literatura de isolamento deste composto na espécie vegetal *Rubia tinctorum* (Rubiaceae) e de ação mutagênica com *Salmonella typhimurium* TA 98 e TA100 para este composto (Kawasaki *et al.*, 1992).

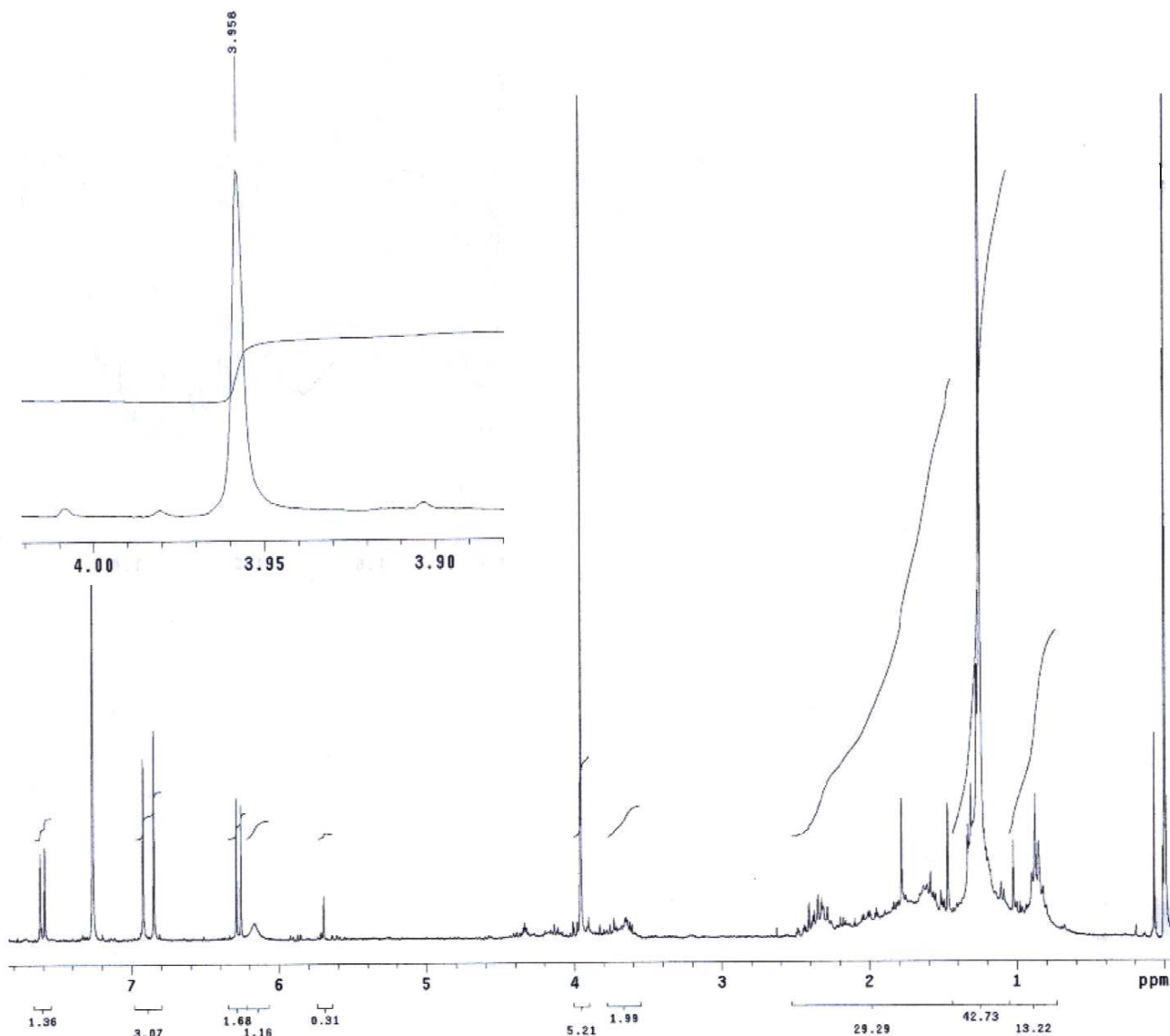
## 4.5. Cumarina

### 4.5.1. Composto P18



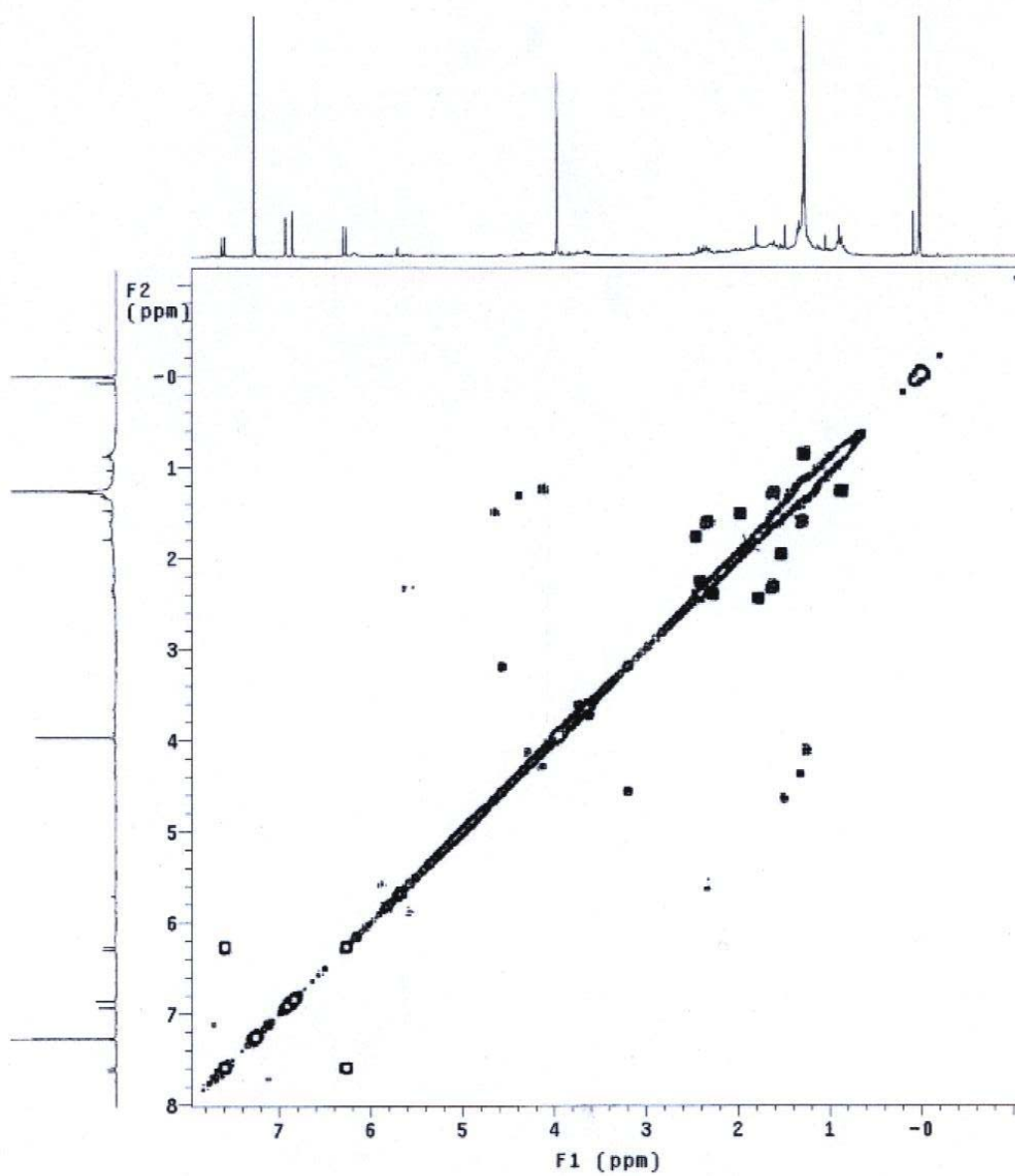
O composto **P18** foi isolado, como uma mistura, da fração clorofórmica das flores de *P. rigida*.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 57**) do composto **P18** apresentou dois singletos em  $\delta$  6,92 (H8) e 6,85 (H5) e, ainda, dois dupletos em  $\delta$  6,27 (9,3 Hz; H3) e 7,60 (9,3 Hz; H4). A presença de hidrogênios metílicos também ficou evidenciada em  $\delta$  3,96.



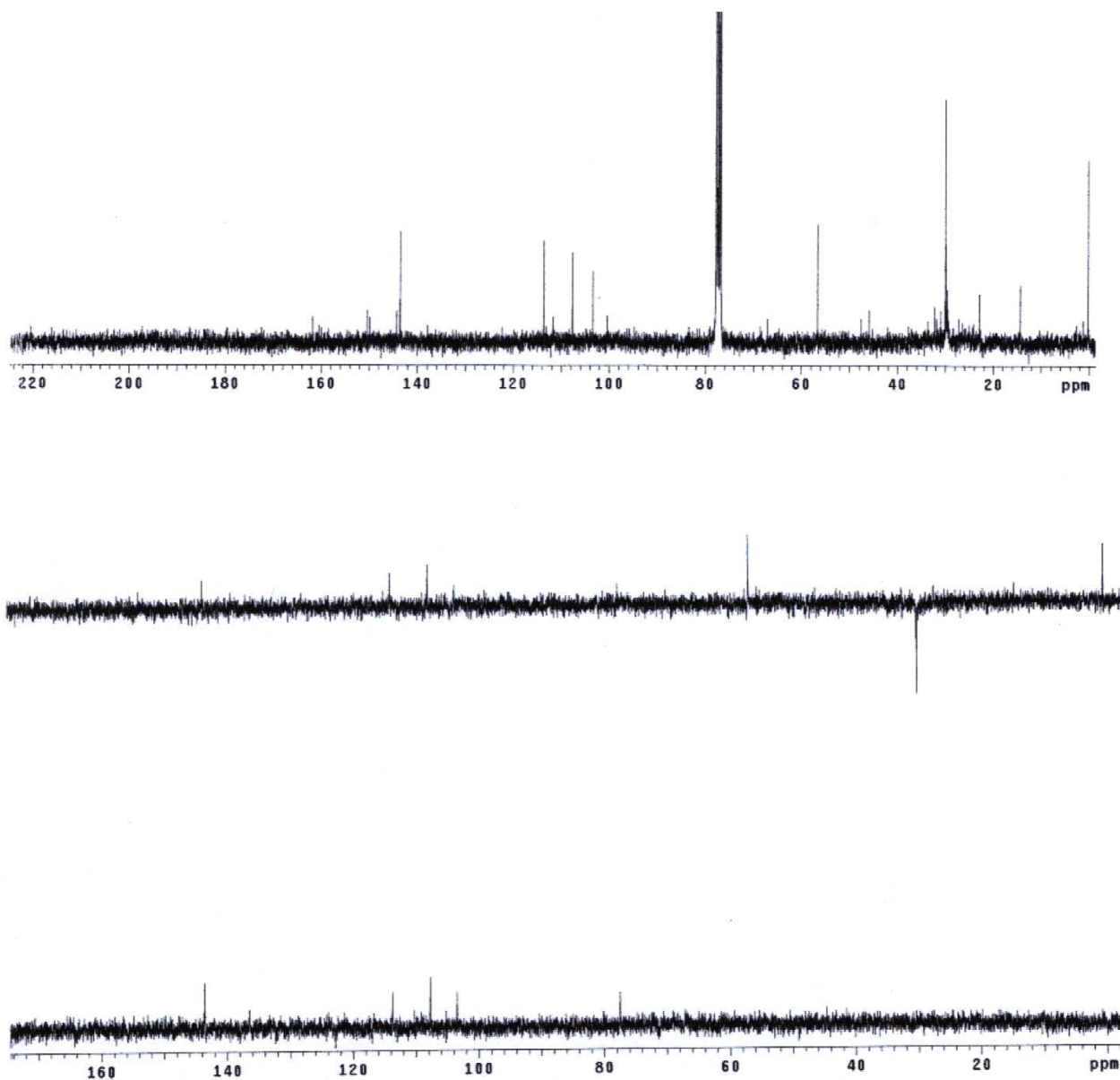
**Figura 57:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para **P18**.

A análise das correlações  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$  observadas no mapa de contornos COSY (**Figura 58**) confirmou o acoplamento entre o hidrogênio H3 em  $\delta$  6,27 e H4 em  $\delta$  7,60 e, a longa distância, entre H4 e H5 em  $\delta$  6,85.



**Figura 58:** Mapa de contornos COSY para P18.

Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT (**Figura 59**) ficaram evidenciados os sinais de carbonos metínicos em  $\delta$  143,5 (C4); 113,6 (C3); 107,7 (C5) e  $\delta$  103,4 (C8). O sinal em  $\delta$  56,6 comprovou a presença do grupo metoxila, bem como os sinais em  $\delta$  161,7 (C2); 149,9 (C6); 150,5 (C7); 144,2 (C9) e 111,7 (C10) caracterizaram os carbonos não ligados ao hidrogênio.

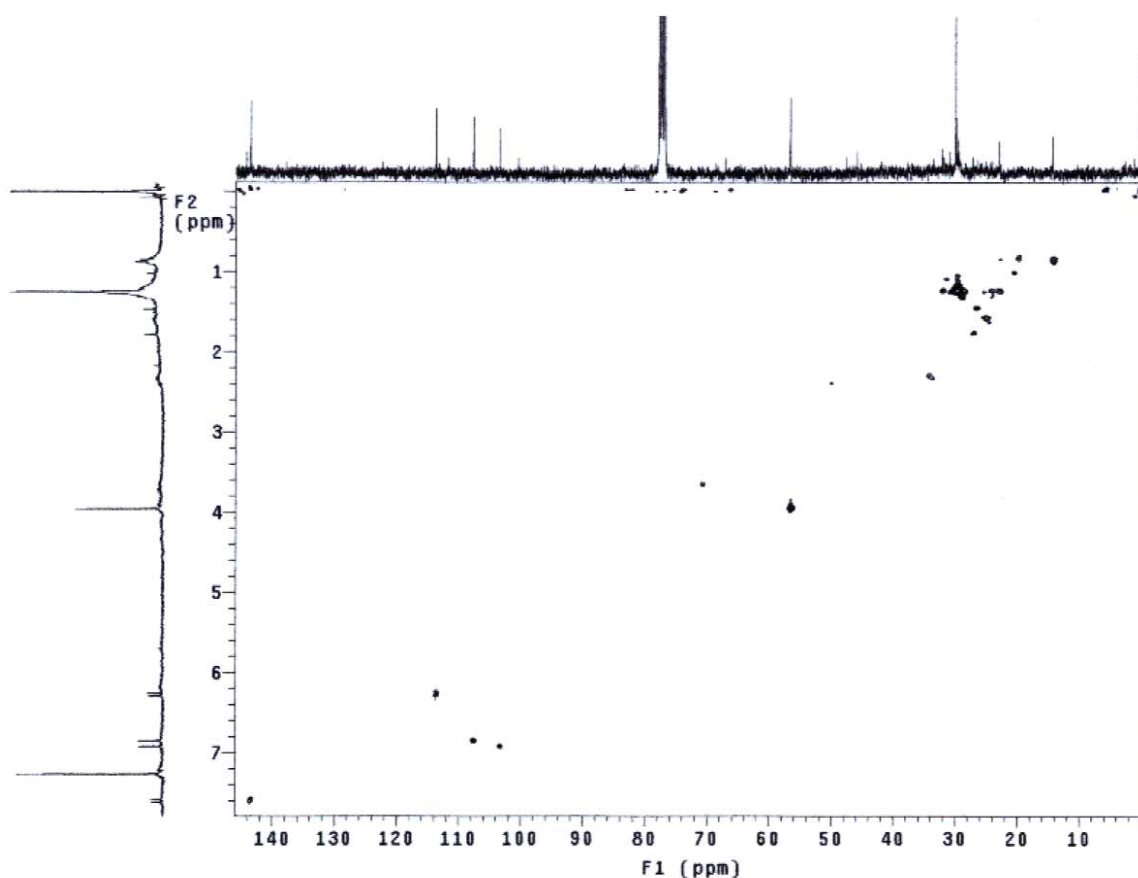


**Figura 59:** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT para **P18**.

As atribuições dos hidrogênios e dos carbonos de **P18** foram baseadas nas correlações observadas nos mapas de contornos HMQC (**Figura 60; Tabela 73**) e HMBC (**Figura 61; Tabela 74**) apresentadas na sequência.

**Tabela 73:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMQC para **P18**.

C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
3	6,27	113,6
4	7,60	143,5
5	6,85	107,7
8	6,92	103,4
CH <sub>3</sub>	3,96	56,6



**Figura 60:** Mapa de contornos HMQC para **P18**.

**Tabela 74:** Principais correlações heteronucleares  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$  observadas no mapa de contornos HMBC para **P18**.

$\delta_{\text{H}}$ (H)	$\delta_{\text{C}}$ (C)
7,60 (H4)	107,7 (C5)
	161,7 (C2)
6,85 (H5)	150,5 (C7)
	149,9 (C6)
6,27 (H3)	111,7 (C10)

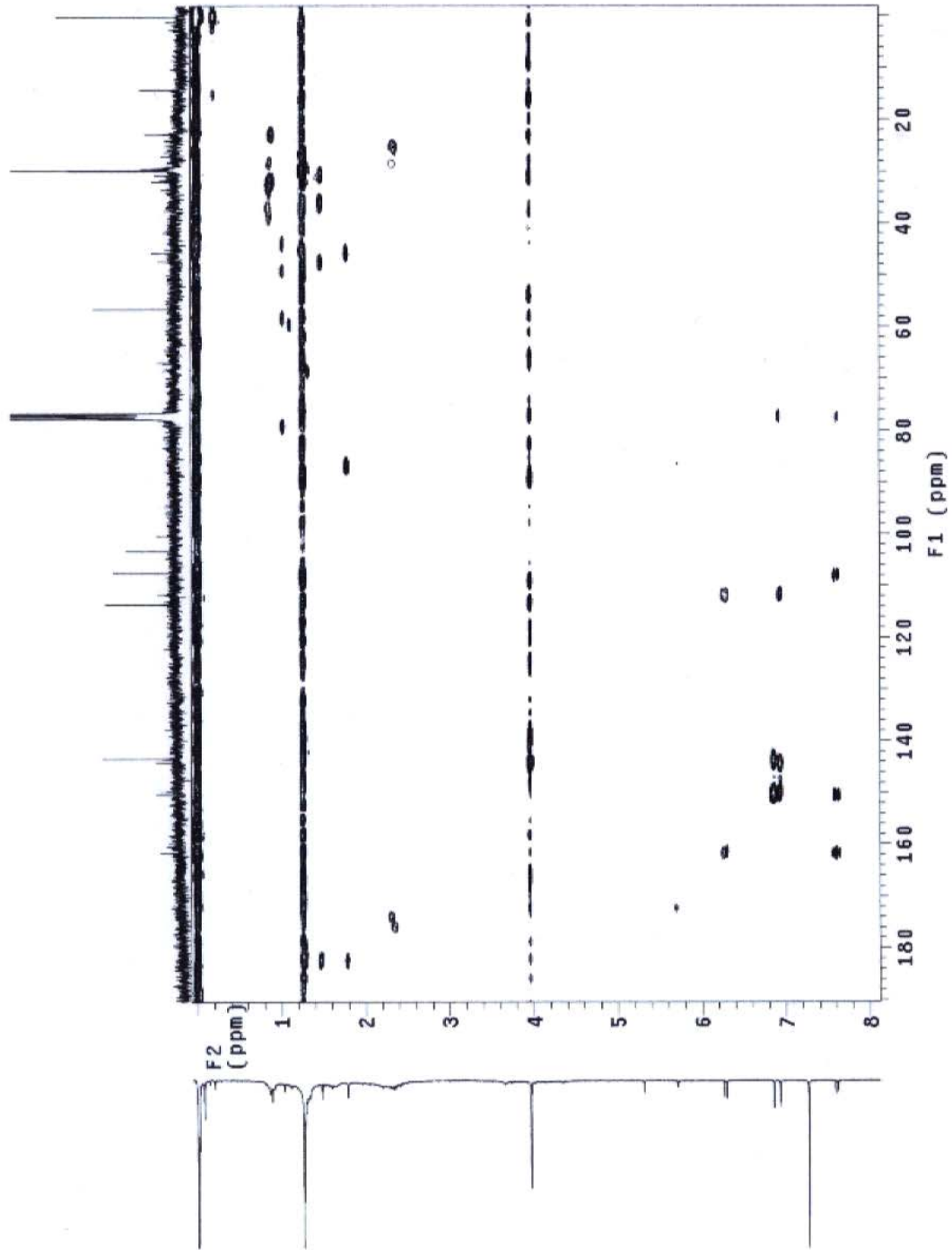


Figura 61: Mapa de contornos HMBC para P18.



Os sinais analisados foram concordantes aos da literatura (Carvalho, 2006) para a 7-hidroxi-6-metoxi-2H-1-benzopiron-2-ona ou escopoletina, o que permitiu concluir que o composto isolado era esta cumarina (**Tabela 75**).

**Tabela 75:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de RMN de  $^{13}\text{C}$  para o composto **P18** e para escopoletina

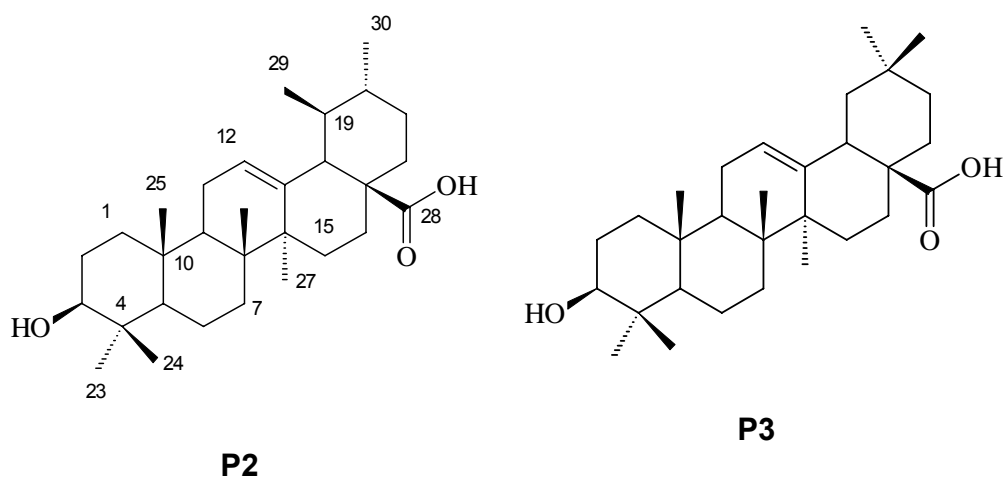
<b>P18</b>		<b>Escopoletina*</b>		
<b>C</b>	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; <i>J</i> em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; <i>J</i> em Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2		161,7		161,5
3	6,27 (d; 9,3)	113,6	6,20 (d; 9,3)	113,3
4	7,60 (d; 9,3)	143,5	7,80 (d; 9,3)	144,0
5	6,85 (s)	107,7	6,75 (s)	107,4
6		149,9		149,7
7		150,5		150,0
8	6,92 (s)	103,4	7,09 (s)	103,2
9		144,2		143,8
10		111,7		111,0
CH <sub>3</sub>	3,96 (s)	56,6	3,89 (s)	56,4

( $\delta$ -ppm; 300 e 75,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>;  $^1\text{CD}_3\text{OD}$ )

Na literatura é descrita uma atividade antiinflamatória considerável para a escopoletina (Silván *et al.*, 1996).

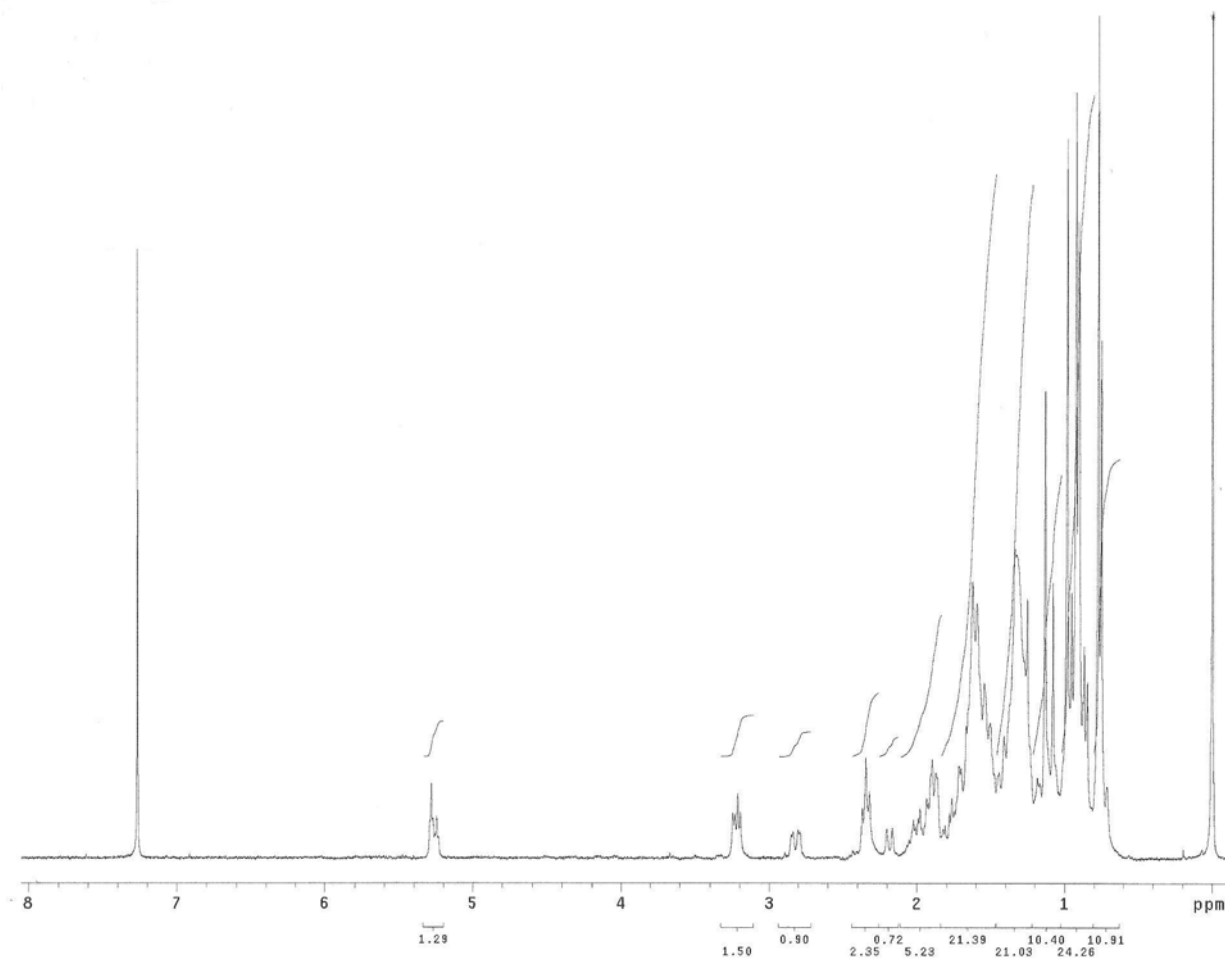
## 4.6. Terpenos

### 4.6.1. Mistura P2+P3



A mistura **P2+P3** foi isolada da fração hexânica das folhas de *P. coriacea*.

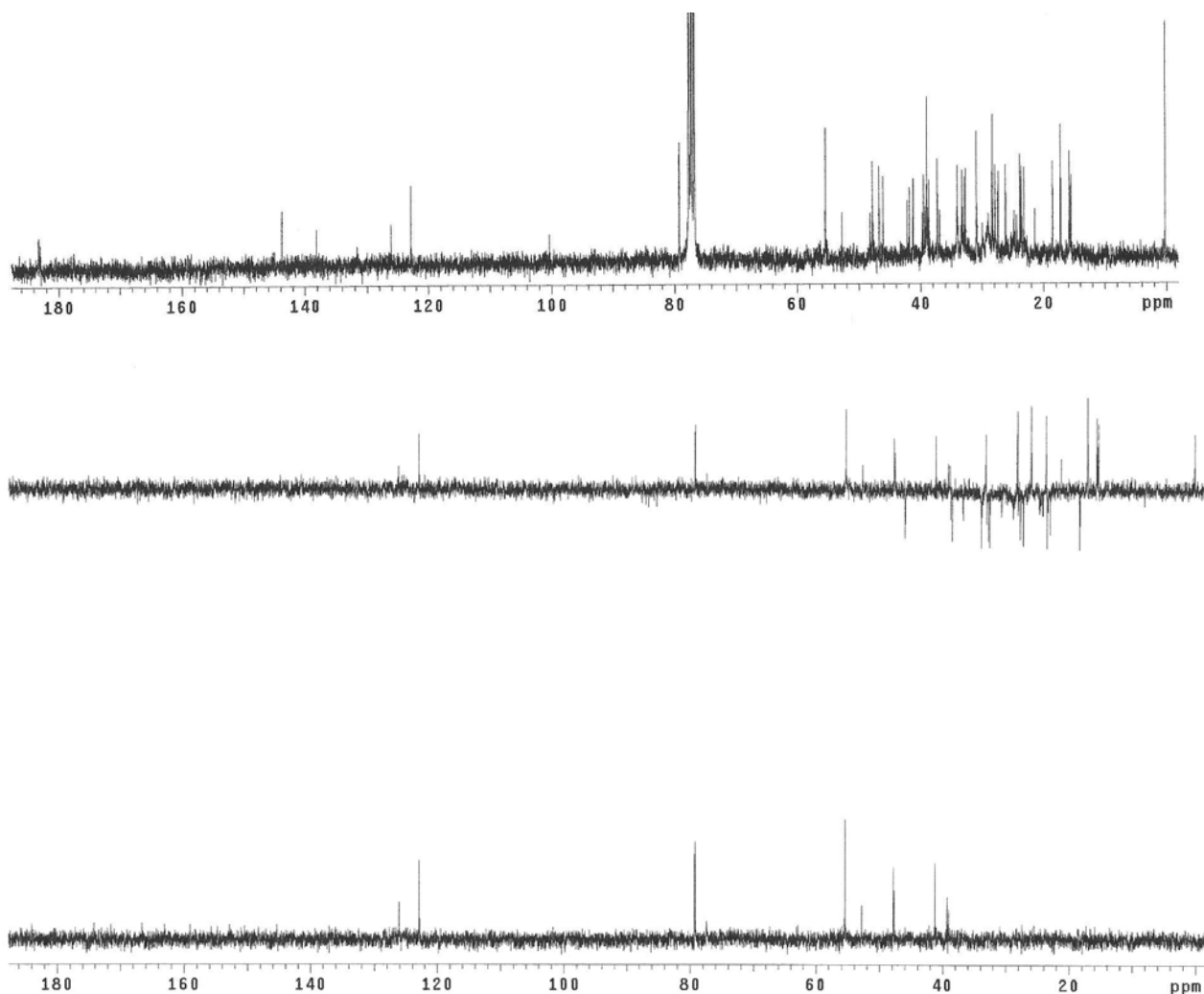
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 62**) da mistura **P2+P3** apresentou sinais de hidrogênios vinílicos H12 em  $\delta$  5,28 (t) e 5,24 (t), sinais na região de  $\delta$  3,19-3,25 correspondentes aos hidrogênios carbinólicos H3 e sinais de  $\delta$  0,71 a  $\delta$  2,89 que foram atribuídos aos grupos metilas.



**Figura 62:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para **P2+P3**.

Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT (**Figura 63**) para **P3** foram observados os sinais de carbonos da ligação dupla em  $\delta$  122,9 (C12) e 143,7 (C13), de carbono de carbonila em  $\delta$  183,2 (C28) e de carbono carbinólico em  $\delta$  79,3 (C3). Já os sinais da região  $\delta$  15,5 a 33,1 foram atribuídos aos grupos metilas (C23 a C27, C29 e C30) e, assim, os dados apontaram para a presença de um triterpeno de esqueleto oleânico **P3**. Os sinais em  $\delta$  126,1 (C12) e 17,2 (C29)

confirmam que um triterpeno de esqueleto ursânico **P2** também estava presente. A diferença entre estes triterpenos está na posição do grupo metila C29 que nos esqueletos oleânicos são conectados ao carbono C20 e, nos ursânicos, ao carbono C19; por isso a diferença de deslocamentos químicos para estes átomos.



**Figura 63:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT para **P2+P3**.

Diante desses dados e comparando os valores de deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto com os encontrados na literatura para triterpenos (Falcão, 2003), foi concluído que **P3** é o ácido oleanóico e **P2** é o ácido ursólico, conforme **Tabela 76** abaixo.

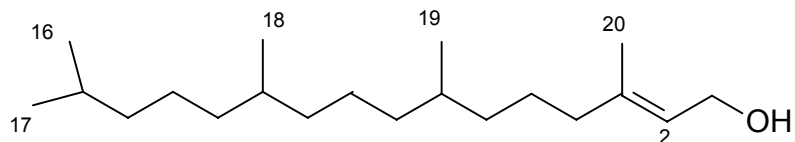
**Tabela 76:** Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  para **P2** e **P3** e para os ácidos ursólico e oleanóico

	<b>P2</b>	<b>Ácido Ursólico</b>	<b>P3</b>	<b>Ácido Oleanóico</b>
<b>C</b>	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	38,6	38,8	38,6	38,5
2	27,4	27,3	27,4	27,4
3	79,3	78,8	79,3	78,7
4	39,0	38,8	39,0	38,7
5	55,4	55,4	55,4	55,2
6	18,5	18,4	18,5	18,3
7	32,6	33,0	32,6	32,6
8	39,5	39,6	39,5	39,3
9	47,8	47,5	47,8	47,6
10	37,2	37,0	37,2	37,0
11	23,1	23,3	23,1	23,1
12	126,1	125,5	122,9	122,1
13	138,1	138,0	143,7	143,4
14	41,8	42,0	41,8	41,6
15	28,2	28,2	27,9	27,7
16	23,6	24,3	23,6	23,4
17	48,1	48,1	46,7	46,6
18	52,8	52,8	41,2	41,3
19	39,2	39,1	46,1	45,8
20	39,0	38,8	29,9	30,6
21	30,9	30,7	34,0	33,8
22	36,9	36,7	32,6	32,3
23	28,5	28,2	28,5	28,1
24	15,7	15,5	15,7	15,6
25	15,5	15,7	15,5	15,3
26	15,8	16,9	15,8	16,8
27	23,8	23,6	26,1	26,0
28	183,0	180,0	183,2	181,0
29	17,2	16,9	33,3	33,1
30	21,4	21,2	23,8	23,6

( $\delta$ -ppm; 75,5 MHz;  $\text{CDCl}_3$ )

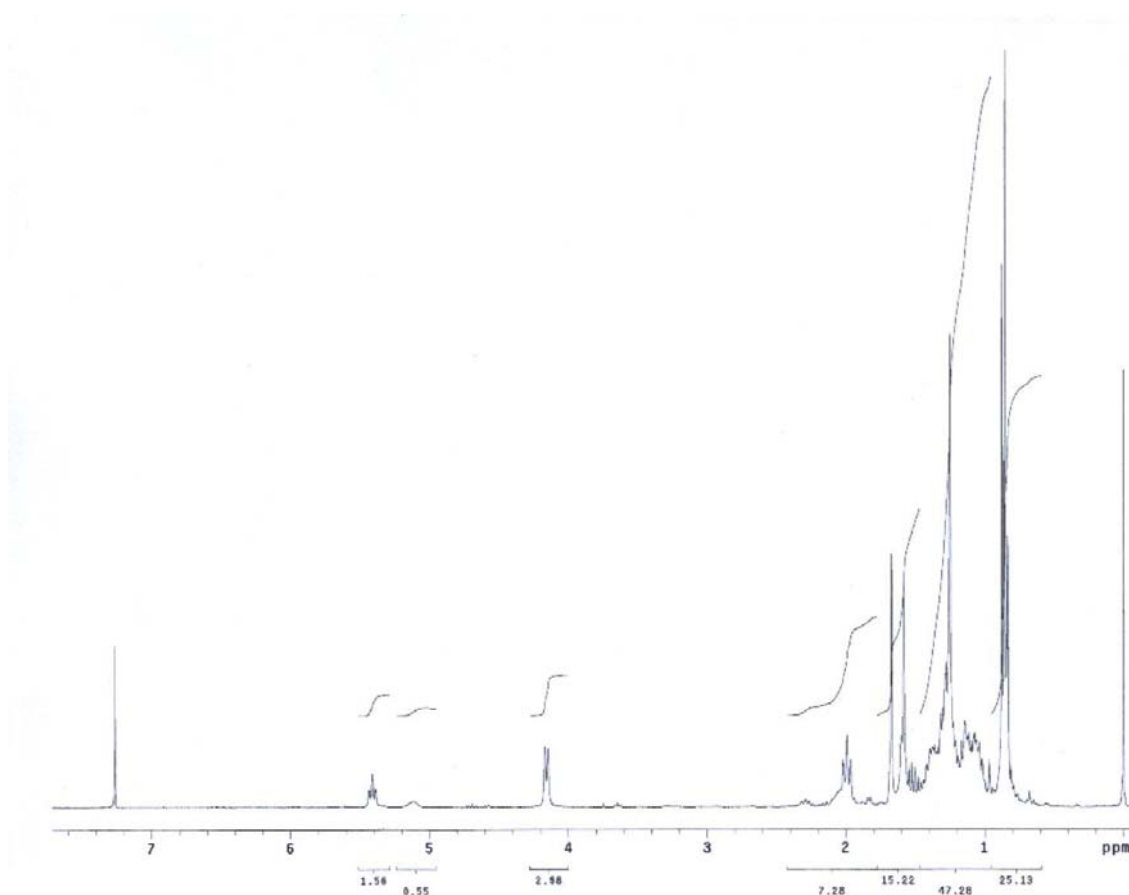
Segundo a literatura há inúmeras atividades biológicas atribuídas ao ácido oleanólico, destacando a antileishmania (Torres-Santos *et al.*, 2004), antiinflamatória, antitumoral, antibacteriana e antifúngica (Liu, 1995). Analogamente, para o triterpeno ácido ursólico destacam-se as atividades antiinflamatória, antitumoral, antibacteriana, antifúngica (Liu, 1995) e, ainda, tripanocida (Leite *et al.*; 2001).

#### 4.6.2. Composto P14



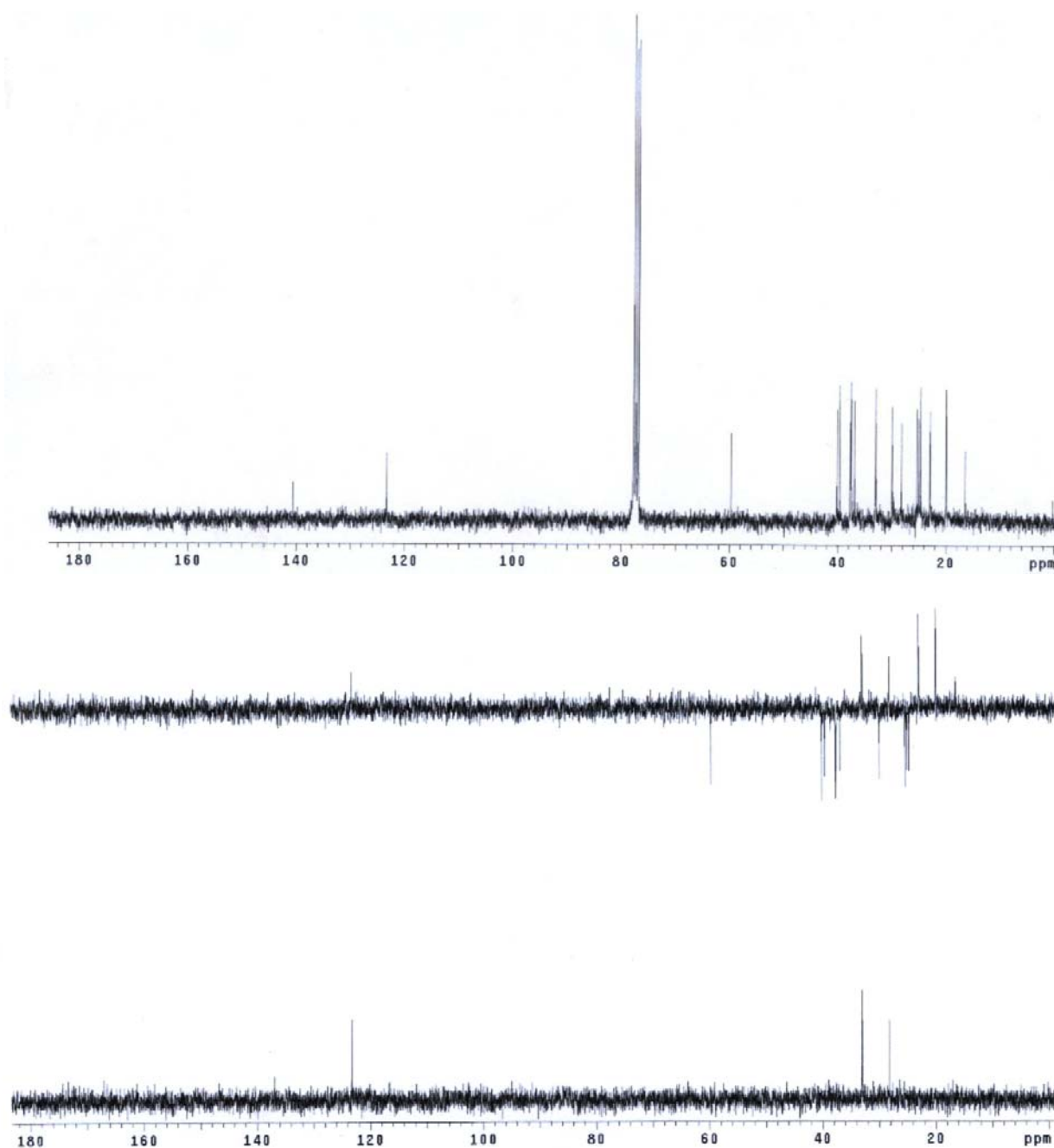
O composto **P14** foi isolada da fração hexânica das folhas de *P. rigida*.

Ao analisar o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **P14** (**Figura 64**) foi observado um duplete em  $\delta$  4,16 (6,9 Hz; H1), um tripleto em  $\delta$  1,99 (7,6 Hz; H4), um outro tripleto em  $\delta$  5,4 (6,9 Hz; H2) e um singlete em  $\delta$  1,67 (H20).



**Figura 64:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para **P14**.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT (**Figura 65**) ficou evidenciado o sinal de carbono oximetilênico em  $\delta$  59,6 (C1), carbono vinílico em  $\delta$  123,3 (C2), carbono não ligado a hidrogênio em  $\delta$  140,5 (C3), além de carbonos metílicos C16 à C20 em  $\delta$  22,9; 22,8; 20,0; 20,0 e 16,4, respectivamente.



**Figura 65:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT para P14.



Diante desses dados e comparando os valores de deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  de **P14** com os encontrados na literatura (Melos *et al.*, 2007) para terpenóides foi concluído que o composto era o fitol (**Tabela 77**).

**Tabela 77:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  para o composto **P14** e para o fitol

C	P14		Fitol	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	4,16 (d; 6,9)	59,7	4,12 (d; 6,7)	59,4
2	5,40 (t; 6,9)	123,3	5,36 (t; 6,7)	123,1
3		140,5		140,1
4	1,99 (t; 7,6)	39,6	1,94 (t; 7,5)	39,8
5		25,4		25,1
6		36,9		36,6
7		33,0		32,7
8		37,5		37,2
9		24,7		24,5
10		37,6		37,3
11		32,9		32,6
12		37,7		37,3
13		25,0		24,7
14		39,6		39,3
15		28,2		27,9
16		23,0		22,7
17		22,9		22,6
18		20,0		19,7
19		20,0		19,7
20	1,67 (s)	16,4	1,64 (s)	16,1

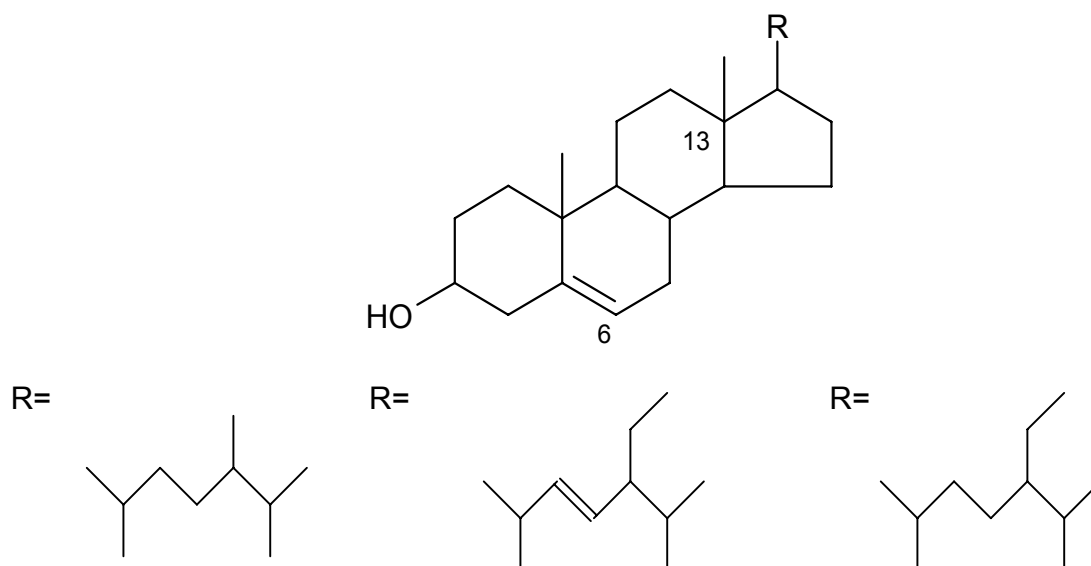
( $\delta$ -ppm; 300 e 75,5 MHz;  $\text{CDCl}_3$ )

Segundo a literatura, o fitol é considerado um inibidor de enzimas, como a succinato desidrogenase SSADH (Myun-Ho *et al.*, 2002) e a 15-lipoxigenase (Bing

Bing *et al.*, 1993) e, segundo Pongprayoon *et al* (1992), há evidências de atividade antiespasmódica deste composto. O fitol também contribui para a inibição do crescimento das células humanas cancerígenas de cólon, MG-6 osteosarcoma e A7-521 gástricas (Kyeoung-Im, 1999).

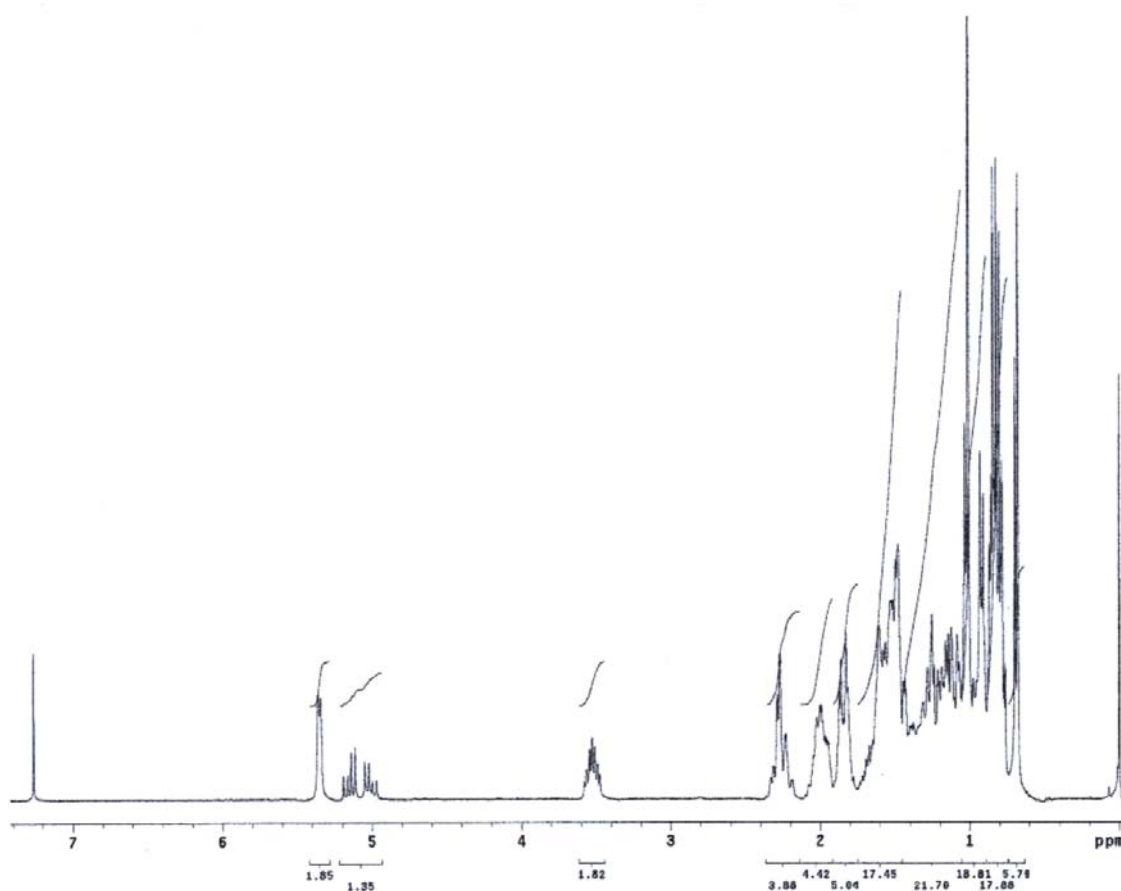
## 4.7. Esteróides

### 4.7.1. Mistura P11+P12+P13



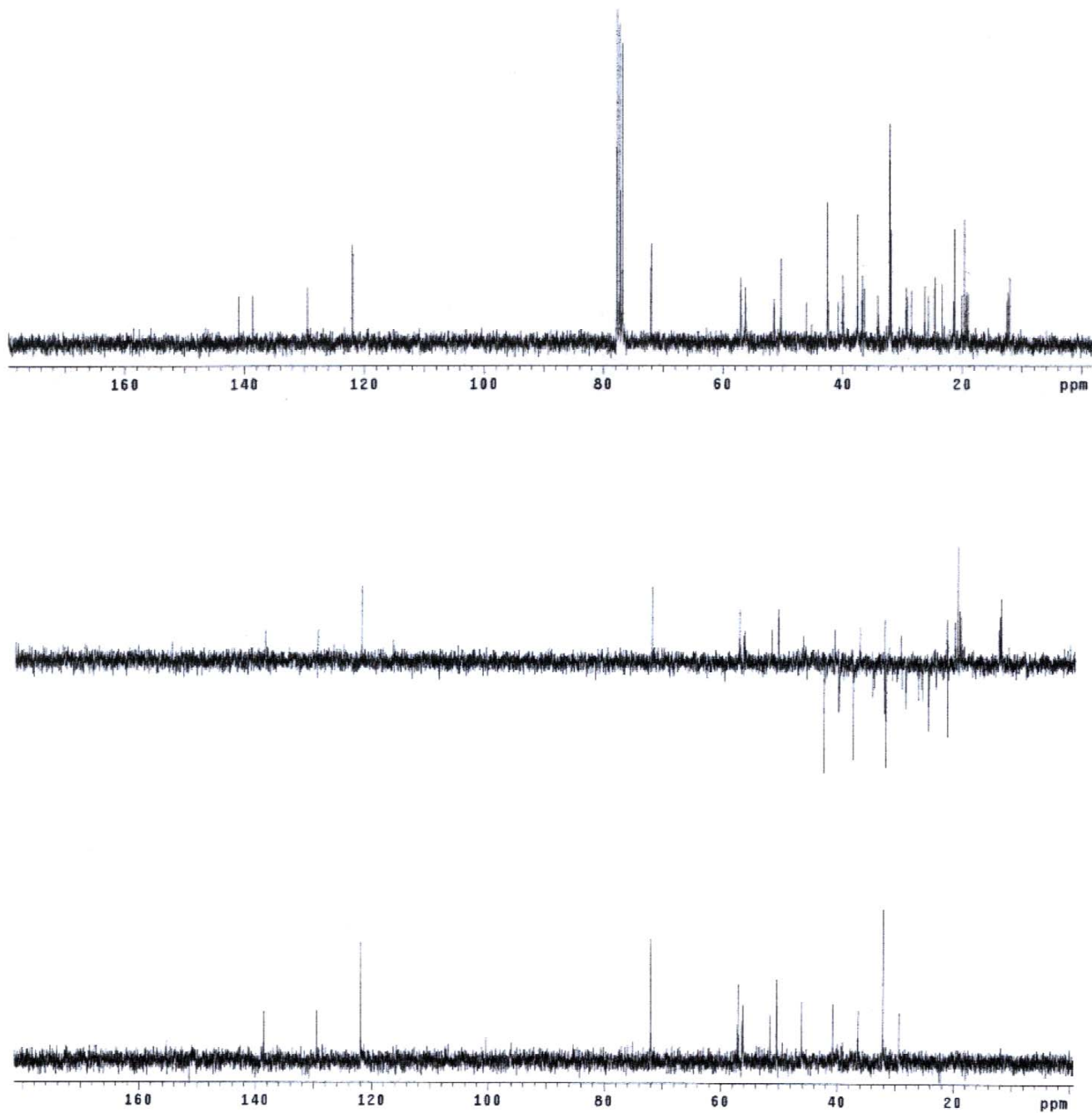
A mistura **P11+P12+P13** foi isolada da fração hexânica das folhas de *P. rigida*.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 66**) da mistura obtida apresentou sinais na região de hidrogênios olefínicos, sendo a região entre  $\delta$  5,34 e 5,36 atribuído ao H6 e a região entre  $\delta$  4,97 e 5,19 atribuída aos átomos de hidrogênio H22 e H23. O multiplete em  $\delta$  3,47 a 3,57 corresponde ao hidrogênio carbinólico H3 e os sinais entre  $\delta$  0,67 a 1,03 são característicos de grupos metilas.



**Figura 66:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para **P11+P12+P13**.

Os deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT (**Figura 67**) foram comparados com os dados já existentes na literatura para esteróides (Goulart *et al.*, 1993). A partir da análise dos dados obtidos (**Tabela 78**) foi possível perceber que a mistura isolada continha os esteróides:  $24\alpha$ -etil-colest-5-enol (sitosterol) **P13**,  $24\alpha$ -etil-colest-5,22-dienol (estigmasterol) **P12** e  $24\alpha$ -metil-colest-5-enol (campesterol) **P11**.



**Figura 67:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  para P11+P12+P13.

**TABELA 78:** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  para a mistura **P11**, **P12** e **P13** e para os compostos campesterol, estigmasterol e sitosterol.

	<b>P11</b>	<b>P12</b>	<b>P13</b>	<b>Campesterol</b>	<b>Estigmasterol</b>	<b>Sitosterol</b>
<b>C</b>	$\delta_c$	$\delta_c$	$\delta_c$	$\delta_c$	$\delta_c$	$\delta_c$
1	37,46	37,46	37,46	37,24 (CH <sub>2</sub> )	37,25 (CH <sub>2</sub> )	37,25 (CH <sub>2</sub> )
2	31,88	31,88	31,88	31,64 (CH <sub>2</sub> )	31,64 (CH <sub>2</sub> )	31,64 (CH <sub>2</sub> )
3	72,02	72,02	72,02	71,80 (CH)	71,89 (CH)	71,89 (CH)
4	42,42	42,42	42,42	42,27 (CH <sub>2</sub> )	42,29 (CH <sub>2</sub> )	42,29 (CH <sub>2</sub> )
5	140,97	140,97	149,97	140,74 (C)	140,73 (C)	140,73 (C)
6	121,95	121,95	121,95	121,71 (CH)	121,72 (CH)	121,72 (CH)
7	31,88	31,88	31,88	31,90 (CH <sub>2</sub> )	31,89 (CH <sub>2</sub> )	31,89 (CH <sub>2</sub> )
8	32,10	32,10	32,10	31,88 (CH)	31,89 (CH)	31,89 (CH)
9	50,33	50,33	50,33	50,12 (CH)	50,12 (CH)	50,12 (CH)
10	36,72	36,72	36,72	36,50 (C)	36,40 (C)	36,40 (C)
11	21,30	21,30	21,30	21,08 (CH <sub>2</sub> )	21,08 (CH <sub>2</sub> )	21,08 (CH <sub>2</sub> )
12	39,89	39,89	39,98	39,89 (CH <sub>2</sub> )	39,68 (CH <sub>2</sub> )	39,78 (CH <sub>2</sub> )
13	42,52	42,52	42,52	42,20 (C)	42,29 (C)	42,29 (C)
14	56,97	56,97	56,97	56,75 (CH)	56,87 (CH)	56,75 (CH)
15	24,27	24,58	24,52	24,29 (CH <sub>2</sub> )	24,38 (CH <sub>2</sub> )	24,30 (CH <sub>2</sub> )
16	28,47	28,47	28,47	28,24 (CH <sub>2</sub> )	28,24 (CH <sub>2</sub> )	28,24 (CH <sub>2</sub> )
17	56,25	56,25	56,25	56,04 (CH)	55,93 (CH)	56,05 (CH)
18	12,08	12,08	12,08	11,84 (CH <sub>3</sub> )	11,87 (CH <sub>3</sub> )	11,87 (CH <sub>3</sub> )
19	19,24	19,24	19,24	19,38 (CH <sub>3</sub> )	19,38 (CH <sub>3</sub> )	19,38 (CH <sub>3</sub> )
20	36,36	40,7	36,36	36,13 (CH)	40,50 (CH)	36,16 (CH)
21	18,99	21,44	19,19	18,97 (CH <sub>3</sub> )	21,20 (CH <sub>3</sub> )	19,03 (CH <sub>3</sub> )
22	33,92	138,55*	33,92	33,69 (CH <sub>2</sub> )	138,40 (CH)	33,94 (CH <sub>2</sub> )
23	28,47	129,48*	39,89	28,91 (CH <sub>2</sub> )	129,27 (CH)	39,12 (CH <sub>2</sub> )
24	56,15	56,25	46,04	56,08 (CH)	51,23 (CH)	45,83 (CH)
25	29,34	31,11	29,35	29,69 (CH)	31,89 (CH)	26,03 (CH)
26	18,99	19,19	18,99	18,76 (CH <sub>3</sub> )	19,00 (CH <sub>3</sub> )	18,76 (CH <sub>3</sub> )
27	20,05	19,62	20,05	19,81 (CH <sub>3</sub> )	19,00 (CH <sub>3</sub> )	19,81 (CH <sub>3</sub> )
28	21,30	26,64	21,44	18,24 (CH <sub>2</sub> )	25,42 (CH <sub>2</sub> )	23,06 (CH <sub>3</sub> )
29	-	12,26	12,08	-	12,27 (CH <sub>3</sub> )	11,99 (CH <sub>3</sub> )

( $\delta$ -ppm; 300 e 75,5 MHz; CDCl<sub>3</sub>)

Os compostos sitosterol e estigmasterol são bastante conhecidos na literatura devido suas propriedades antiinflamatórias (Filho, 2000). Uma investigação realizada com estes triterpenos evidencia, também, a ação destes compostos na neutralização de veneno de cobra (Gomes *et al.*, 2007) e, segundo Toma *et al.* (2003), o sitosterol, estigmasterol e campesterol, podem ter contribuído para a atividade analgésica apresentada pelo extrato hexânico de *Quassia amara*. Ainda em estudo realizado com o sitosterol e estigmasterol, Chandler e colaboradores (2006) concluíram que a presença da insaturação no carbono C-22 no estigmasterol conferiu atividade antihipercolesterolêmica mais significativa do que o sitosterol.

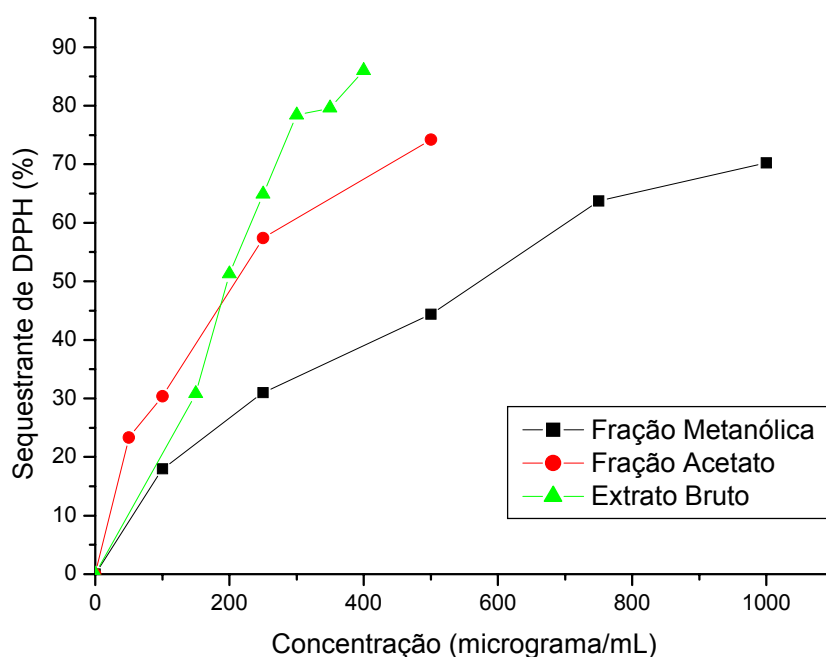
Especificamente para o sitosterol, há relatos de atividade antibacteriana (Virtuoso *et al.*, 2005) e, para o campesterol, efeito anticarcinogênico e potencial antiangiogênico (Choi *et al.*, 2007).

#### 4.7. Avaliação da atividade antioxidante e determinação dos fenólicos totais das folhas de *P. rigida*.

Uma vez que o estudo químico das folhas de *Palicourea rigida* levou ao isolamento de flavonóides e iridóides, e sabendo que há relatos na literatura sobre a atividade antioxidante significativa destas classes de compostos (Alves *et al.*, 2007), o ensaio foi realizado com o extrato bruto e com as frações mais polares, acetato de etila e metanólica, das folhas de *P. rigida*.

Por meio deste teste é possível avaliar a ação que compostos presentes em extratos brutos e/ou parcialmente purificados possuem para seqüestrar o radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH). A atividade antioxidante foi medida através da capacidade do extrato (ou fração) de descolorir soluções diluídas do radical DPPH.

Os dados obtidos da avaliação da atividade antioxidante (**Figura 68**) e da determinação dos fenólicos totais seguem apresentados na **Tabela 81**.



**Figura 68:** Atividade sequestrante de radicais DPPH do extrato bruto e das frações acetato de etila e metanólica de *Palicourea rigida*.



**Tabela 79:** Dados sobre a determinação de fenólicos totais e atividade sequestrante em *P. rigida*.

	<b>Fenólicos Totais (µg/mL)</b>	<b>IC<sub>50</sub> (µg/mL)</b>
<b>Extrato bruto</b>	469,8	523,20
<b>Fração acetato de etila</b>	933,25	192,77
<b>Fração metanólica</b>	159,40	198,44

De acordo com os resultados acima, existe uma maior concentração de fenólicos na fração acetato de etila, que foi fonte dos flavonóides isolados, o que pode ter contribuído para a atividade antioxidante demonstrada. De acordo com a literatura, há um grande número de pesquisas que apontam atividade antioxidante para estes flavonóides (quercetina 3-O-β-D-glicosídeo, isoraminetina 3-glicosídeo e quercetina 3-O-soforosídeo): Fiorentino, 2007; Suzgeç, 2005; Miliauskas, 2004; Cioffi, 2002; Plumb, 1997. A atividade para estes tipos de compostos é comumente atribuída à presença de grupos hidroxilas, principalmente em C-3' e C-4' do anel B (Furusawa, 2005; Wolfe, 2008).

Por sua vez, a fração metanólica apresentou atividade antioxidante semelhante, mas provavelmente os compostos fenólicos não foram os maiores responsáveis pela atividade. Pode haver nesta fração a presença de outros tipos de compostos polares, como os iridóides, com capacidade para doar um átomo de hidrogênio livre, que conferiram a atividade semelhante.

Por outro lado, segundo Ramalho e colaboradores (2006), existem compostos que podem ser classificados como antioxidantes sinergistas, ou seja, aqueles que possuem pouca ou nenhuma atividade antioxidante, mas que podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários quando usada em combinação adequada com eles. Assim, a fração metanólica pode ser um exemplo de fração que contém antioxidantes sinergistas.

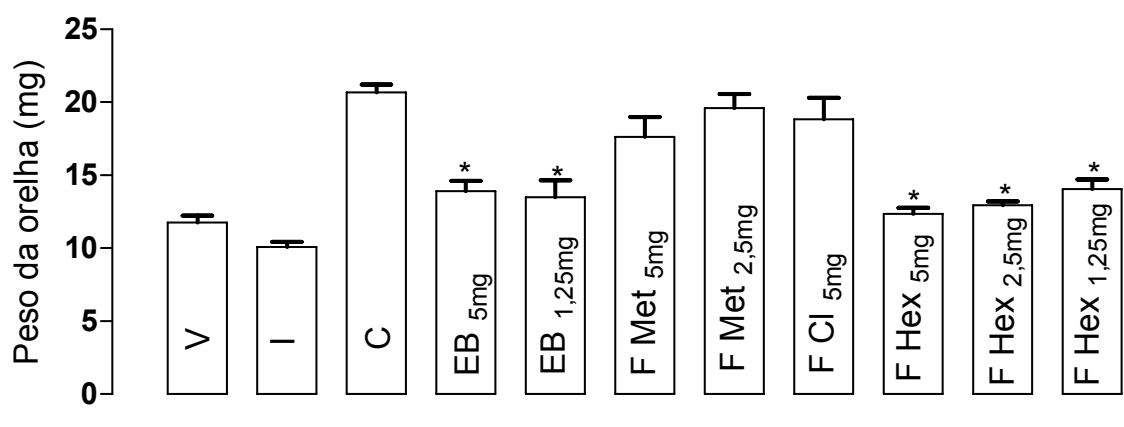
Também é relevante comentar que, segundo Alves *et al.* (2007), a presença de unidades de açúcares na estrutura dos flavonóides diminui a atividade seqüestradora de radicais, pois há perda da coplanaridade devido à presença de grupos volumosos. Neste contexto, como foram isolados flavonóides com até duas

unidades de açúcar na fração acetato, isso pode ter contribuído para uma atividade não tão pronunciada quanto a de um padrão puro como o BHT. Este pode apresentar valores de IC<sub>50</sub> inferiores a 65 µg/mL, como relatado na literatura: 62,50 µg/mL (Cardoso *et al.*, 2005) e 16,90 µg/mL (Barros *et al.*, 2008).

#### 4.8. Avaliação da atividade antiinflamatória das folhas e flores de *P. rigida*.

Analogamente, como o estudo químico de *Palicourea rigida* levou ao isolamento de alcalóides e iridóides, que apresentam significativa atividade antiinflamatória relatada na literatura (Anexo), o ensaio foi realizado com o extrato bruto e frações das folhas e flores de *P. rigida*.

##### 4.8.1. Avaliação da atividade antiinflamatória para as folhas de *P. rigida*



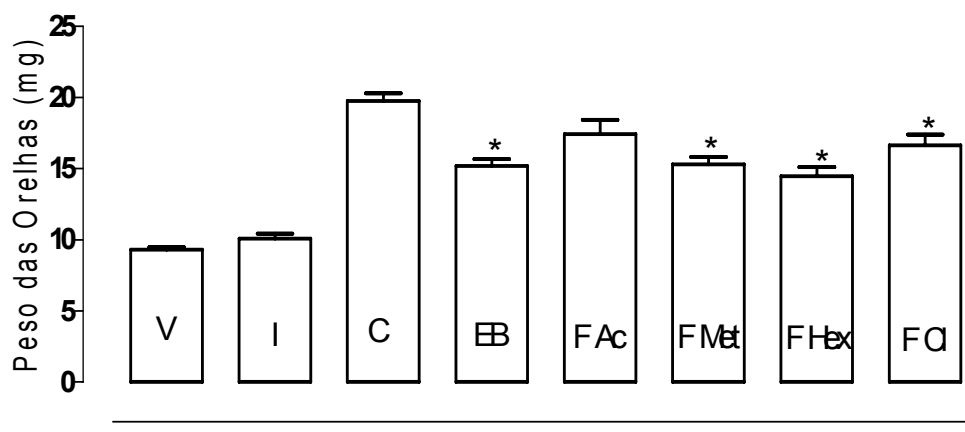
**Figura 69:** Efeito do extrato bruto (EB) e das frações metanólica (F Met), clorofórmica (F Cl) e hexânica (F Hex) das folhas da espécie vegetal *Palicourea rigida* sobre o edema de orelha induzido pelo óleo de cróton (C) em camundongos. A indometacina (I) aplicada por via tópica, 1mg, foi utilizada como antiinflamatório de referência (controle positivo) e a acetona 70% utilizada como veículo (V) Cada barra representa o peso médio das orelhas  $\pm$  E.P.M., 6 h após aplicação de óleo de cróton. As massas indicadas referem-se às concentrações utilizadas de cada amostra (5,0; 2,5 e 1,25 mg/orelha). \* $P < 0,01$ , comparado ao grupo C (ANOVA seguida do teste de Tukey).

**Obs.** a fração acetato de etila não foi avaliada, pois houve dificuldade de solubilização no momento do ensaio.

De acordo com o resultado acima, é possível observar que o extrato bruto e a fração hexânica das folhas de *P. rigida* apresentaram uma maior redução do edema de orelha do que as demais frações testadas. No caso da fração hexânica, a atividade antiinflamatória foi mais significativa na concentração 5 mg/orelha, quando comparada a concentrações menores (2,5 e 1,25 mg/orelha), indicando que a fração é dependente da dose; enquanto que o extrato bruto reduziu igualmente o edema de orelha nas concentrações 5 mg e 1,25 mg/orelha, porém de maneira menos efetiva que a fração hexânica.

Diante deste resultado, foi concluído que os metabólitos apolares podem ser os maiores responsáveis para a redução do edema, como por exemplo, os compostos isolados na fração hexânica: o diterpeno fitol e os esteróides campesterol, estigmasterol e sitosterol. Na literatura, há relatos de propriedades antiinflamatórias para o fitol (Shimizu *et al.*, 1994) e para o estigmasterol (Conforti *et al.*, 2008).

#### 4.8.2. Avaliação da atividade antiinflamatória para as flores de *P. rigida*



**Figura 70:** Efeito do extrato bruto (EB) e das frações acetato de etila (FAc), metanólica (FM), hexânica (FHex) e clorofórmica (FCI) das flores espécie vegetal *Palicourea rigida* sobre o edema de orelha induzido pelo óleo de cróton (C) em camundongos. A indometacina (I) aplicada por via tópica, 1 mg, foi utilizada como antiinflamatório de referência (controle positivo) e a acetona 70% utilizada como veículo (V) Cada barra representa o peso médio das orelhas  $\pm$  E.P.M., 6 h após aplicação de óleo de cróton. Todas as amostras foram testadas na concentração de 5,0 mg/orelha. \* $P < 0,01$ , comparado ao grupo C (ANOVA seguida do teste de Tukey).

De acordo com a **Figura 70** é possível observar que o extrato bruto e as frações hexânica, metanólica e clorofórmica das flores de *P. rigida* reduziram o edema de orelha mais significativamente do que a fração acetato de etila. Neste caso, parece que um amplo espectro de metabólitos, de diferentes polaridades, está contribuindo para uma certa atividade antiinflamatória.

De maneira geral, quando comparados os resultados entre as flores e as folhas (item anterior) de *P. rigida*, na mesma concentração de 5 mg/orelha, observamos que há um maior número de frações das flores que reduziu o edema, porém nenhuma de forma tão significativa quanto à fração hexânica das folhas.

Dessa maneira, as folhas de *P. rigida* e principalmente a fração hexânica, podem constituir um alvo potencial para uso em terapias da inflamação.

#### 4.9. Avaliação da atividade moluscicida

As substâncias moluscicidas são cruciais para o controle do vetor dos parasitas causadores da esquistossomose. Neste contexto, e segundo Mendes *et al.* (1984), estudiosos vêm se dedicando à pesquisa de obtenção de plantas com ação moluscicida.

Uma vez que extratos etanólicos da espécie vegetal *Palicourea nicotianaefolia* (Rubiaceae) apresentaram-se parcialmente ativos (100 ppm) sobre caramujos adultos e desovas de *B. glabrata* (Mendes *et al.*; 1984), foi considerado razoável a iniciativa de avaliar a atividade moluscicida da espécie vegetal *P. rigida*. Além disso, neste trabalho foi isolada uma quinona de *P. rigida* (Rosa *et al.*; 2007) e há relato na literatura de quinonas com atividade moluscicida (Lima *et al.*, 2002). Este resultado também colaborou na decisão de realizar a atividade em questão.

No entanto, os extratos brutos das folhas de *P. rigida* não demonstraram atividade moluscicida, ou seja, não provocaram alteração nos batimentos cardíacos dos caramujos *Biomphalaria glabrata*.

## 5. Conclusão

O estudo químico de *Palicourea rigida* conduziu ao isolamento dos iridóides swerosideo, secoxiloganina e, caso confirmado pelo Espectro de Massa de Alta Resolução, do composto inédito 6-O-cafeoil-swerosideo, sendo que na literatura, para esta espécie, foi relatado o isolamento de um único iridóide, a loganina (Lopes, 2004). A presença destes iridóides dá suporte à quimiotaxonomia do gênero *Palicourea* na subfamília Rubioideae.

Analogamente, o estudo resultou no isolamento de alcalóides, como o alcalóide nortropânico derivado da calistegina N1, que é uma classe inédita em Rubiaceae, bem como um composto inédito na literatura, caso comprovada sua estrutura em Espectro de Massa de Alta Resolução. Ainda foi isolado o ácido strictosidínico, confirmando a presença de alcalóides em *P. rigida*, afinal, havia apenas o relato da vallesiocotamina para esta planta. Ambos os alcalóides isolados foram provenientes das flores de *P. rigida*, revelando o quanto é importante esgotar o estudo de uma planta, explorando todas as partes do material vegetal. A calicantina, isolada em *P. coriacea*, já é bastante conhecida em outros estudos com a mesma espécie.

Confirmando a presença de flavonóides na família Rubiaceae, foram isolados: a rutina em *P. coriacea* e a quercetina 3-O- $\beta$ -D-glicosídeo, a isoraminetina-3-glicosídeo e a quercetina 3-O-soforosídeo em *P. rigida*. É possível concluir que a espécie *P. rigida* teve uma significativa produção de metabólitos desta classe e, sendo assim, a rota biossintética das quercetinas 3-O-glicosiladas teve presença marcante na espécie. Estes flavonóides são inéditos no gênero.

A antraquinona 7-hidroxi-tectoquinona, isolada em *P. rigida* é inédita no gênero, sendo que outra antraquinona muito semelhante, 2-hidroxi-3-metilantraquinona, foi isolada em *P. coriacea*. A presença desta classe de compostos também consolida a correta classificação botânica das Palicoureas na subfamília Rubioideae..

Em *P. rigida* ainda foram isolados a cumarina escopoletina, já conhecida em *Palicourea demissa*; o terpeno fitol e a mistura dos esteróides campesterol,

stigmasterol e sitosterol. Na literatura já existe o relato de isolamento do estigmasterol e do sitosterol na espécie, porém não foi encontrado até o momento um estudo que mencione o isolamento do fitol no gênero *Palicourea*. Esses mesmos esteróides foram encontrados no trabalho de pesquisa de Gomes (2005), porém com a espécie *P. coriacea*.

Ainda no estudo com *P. coriacea*, foram isolados os ácidos oleanóico e ursólico, sendo que o primeiro é inédito no gênero, ao contrário do ácido ursólico já conhecido na espécie.

O ensaio para a avaliação da atividade moluscicida mostrou que os caramujos *Biomphalaria glabrata* não tiveram os batimentos cardíacos alterados nos extratos brutos de *P. rigida* e *P. coriacea*, apesar do relato de outros pesquisadores sobre a atividade moderada da espécie *Palicourea nicotianaefolia*, conforme mencionado anteriormente.

Na avaliação da atividade antiinflamatória das folhas de *P. rigida*, há evidências de que os metabólitos apolares isolados, fitol e a mistura campesterol, estigmasterol e sitosterol, podem ser os maiores responsáveis pela redução do edema de orelha induzido pelo óleo de cróton.

Já na avaliação da atividade antioxidante do extrato bruto e frações polares de *P. rigida*, existe uma maior concentração de fenólicos na fração acetato de etila, que foi fonte dos flavonóides isolados, o que pode ter contribuído para a atividade antioxidante demonstrada.

O estudo fitoquímico de *P. rigida* revelou a diversidade de metabólitos secundários presentes na espécie, inclusive de diferentes classes de compostos, como alcalóides e iridóides que apresentam grande importância taxonômica para a família Rubiaceae. Concluímos que os objetivos deste trabalho foram contemplados e que, desta maneira, pudemos contribuir para o estudo químico das espécies vegetais *P. rigida* e *P. coriacea*. Esperamos que os resultados descritos possam auxiliar de alguma forma na realização de outros estudos fitoquímicos ou áreas afins.



## 6. Referências Bibliográficas

Adjibade, Y.; Weniger, B.; Quirion, J.C.; Kuballa, B.; Cabalion, P.; Anton, R. **Dimeric alkaloids from *Psychotria foisteriana***. *Phytochemistry*, 31(1): 317-319, 1992.

Alcaraz, M. J.; Carvalho, J. C. T. **Flavonóides como agentes antiinflamatórios**. In: Carvalho, J. C. T. (org) *Fitoterápicos anti-inflamatórios. Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas*. Ribeirão Preto: Editora Tecmedd, 79-100, 2004.

Alves, C.Q.; Brandão, H.N.; David, J.M.; David, J.P.; Lima, L.S. **Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides**. *Diálogos & Ciência – Revista da Rede de Ensino FTC*, 12, 2007.

Asano, N.; Kato, A.; Yokoyama, Y.; Miyauchi, M.; Yanamoto, M.; Kizu, H.; Matsui, K. **Calystegin N1, a novel nortropone alkaloid with a bridge amino group from *Hyoscyamus niger*: structure determination and glycosidase inhibitory activities**. *Carbohydrate Research*, 284: 169-178, 1996.

Asano, N.; Kato, A.; Oseki, K.; Kizu, H.; Matsui, K. **Calystegins of *Physalis alkekengi* var. *francheti* (Solanaceae) Structure determination and their glycosidase inhibitory activities**. *European Journal of Biochemistry*, 229: 369-376, 1995.

Assis, J. C. S. R.; Suffredini, I. B.; Moreno, P. R. H.; Young, M. C.; Varella, A. D.; Younes, R. N.; Bernardi, M. M. **Analysis of the toxic potential of *Palicourea corymbifera* (Mull. Arg.) Standl. in laboratory animals**. *Research in Veterinary Science*, 80: 209-217, 2006.

Barreiro, E.J. **Sobre a química dos remédios, dos fármacos e dos medicamentos.** *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola*, 3: 4-9, 2001.

Barros, M. P., Santin, S. M. O.; Da Costa, W. F.; Vidotti, G. J.; Sarragiotto, M. H.; Souza, M. C.; Bersani-Amado, C. A. **Constituintes químicos e avaliação do potencial antiinflamatório e antioxidante de extratos das folhas de *Chomelia obtusa* Cham. & Schltdl. (Rubiaceae).** *Química Nova*, 31(8): 1987-1989, 2008.

Barroso, G. M.; Guimarães, E. F.; Ichasoc, L. F.; Costa C. G., Peixoto, A. L.; Lim, H. C. **Rubiaceae: sistemática de dicotiledôneas.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 189-229, 1986.

Bing Bing, L.; Yun Shan, L. **Selective inhibition activity on 15-lipoxygenase of trans-phytol isolated from *Oxalis corniculata* L.** *Chemistry Express*, 8(1): 21-4, 1993.

Bokesch, H. R.; Pannell, L. K.; Cochran, P. K.; Sowder, R. C.; McKee, T.C.; Boyd, M. R. **A novel anti-HIV macrocyclic from *Palicourea condensata*.** *Journal of Natural Products*, 64: 249-250, 2001.

Bolzani, V. S.; Trevisan, L. M. V.; Young, M. C. M. **Triterpenes of *Palicourea rigida* H. B. K.** *Revista Latinoamericana de Química*, 23(1): 20-21, 1992.

Bolzani, V.S.; Young, M. C. M.; Furlan, M.; Cavalheiro, A. J.; Araújo, A. R.; Silva, D. H. S.; Lopes, M. N. **Secondary metabolites from brazilian rubiaceae plant species: chemotaxonomical and biological significance.** *Recent Research Development Phytochemistry*, 5: 19-31, 2001.

Boros, C. A.; Stermitz, F. R. **Iridoids. An Update Review, Part. II;** *Journal of Natural Products*, 54(5): 1173-1246; 1991.

Bosque, C.; Lau, P. **Pollen flow in the distylous *Palicourea fendleri* (Rubiaceae): an experimental test of the disassortative pollen flow hypothesis.** *Oecologia*, 135: 593-600, 2003.

Brandt, V.; Tits, M.; Geerlings, A.; Frédérich, M.; Penelle, J.; Delaude, C.; Verpoorte, R.; Angenot, L.  **$\beta$ -Carboline glucoalkaloids from *Strychnos mellodora*.** *Phytochemistry*, 51:1171-1176; 1999.

Cardoso, C. L.; Silva, D. H. S.; Castro-Gamboa, I.; Bolzani, V. S. **New biflavonoid and other flavonoids from leaves of *Chimarrhis turbinata* and their antioxidant activities.** *Journal of Brazilian Chemical Society*, 16:6B, 1353-1359, 2005.

Carvalho, M. G.; Alves, C. F.; Werle, A. A.; Braz-Filho, R. **Metabólitos especiais isolados de *Laseguea erecta* (Apocynaceae);** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16(4): 497-500, 2006.

Chandler, R. F.; Hooper, S. N.; Ismail, H. A. **Antihypercholesterolemic studies with:  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68(2): 245-247, 2006.

Chebib, M.; Duke, R.K.; Connor, M.; Mewett, K.N.; Johnston, G.A.R. **Convulsant action of calycanthine.** *Toxicology and applied pharmacology*, 190: 58-64; 2003.

Choi, J-M.; Lee, H-J.; Kim, K-H.; Ahn, K-S.; Shim, B-S.; Kim, N-II.; Song M-C.; Baek, N-I.; Kim, S-H. **Identification of campesterol from *Chrysanthemum coronarium* L. and its antiangiogenic activities.** *Phytotherapy Research*, 21(10): 954-959, 2007.

Cioffi, G.; D' Auria, M., Braca, A.; Mendez, J.; Castillo, A.; Morelli, I.; De Simone, F.; De Tommasi, N. **Antioxidant and free-radical scavenging activity of constituents of the leaves of *Tachigalia paniculata***. *Journal of Natural Products*, 65: 1526-1529, 2002.

Circosta, C.; Limardi, F.; Occhiuto, F. **Antibronchospastic activity glycosides os different extracts od different extracts from *Parietaria officinalis* L.** *Rivista Italiana*, 3(7): 42-48, 1992.

Conforti, F.; Sosa, S.; Marrelli, M.; Menichini, F.; Statti, G.A.; Uzunov, D.; Tubaro, A.; Menichini, F.; Loggia, R.D. ***In vivo* anti-inflammatory and *in vitro* antioxidant activities of Mediterranean plants.** *Journal Ethno-Pharmacology*, 116: 144-151, 2008.

Cragg, G. M., Newman, D. J., Yang, S. S. **Natural Product extracts of plant and marine origin having antileukemia potential. The NCI experience.** *Journal of Natural Products*, 69 (3): 488 -498, 2006.

Coelho, V. P. M.; Agra, M. F.; Barbosa, M. R. V. **Estudo farmacobotânico das folhas de *Tocoyena formosa* (Cham. & Schldl.) K. Schum. (Rubiaceae).** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16(2): 170-177, 2006.

Contreras, P. S.; Ornelas, J. F. **Reproductive conflicts of *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) a distylous shrub of a tropical cloud forest in México.** *Plant Systematics and Evolution*, 219: 225-241, 1999.

Correa, G.R.; Oliveira, A.C.M. **Avaliação Química e biológica de espécies natives do cerrado-GO frente a bactérias, utilizando-se Bioautografia como método de detecção.** Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão da UFG; XIII Seminário de Iniciação Científica; Anais eletrônico, 2005.

Da Silva, M. N.; Ferreira, V.F.; De Souza, M. C. B. V. **Um panorama atual da química e da farmacologia de naftaquinonas, com ênfase na  $\beta$ -lapachona e derivados.** *Química Nova*, 26(3): 407-416, 2003.

Dräger, B. **Chemistry and biology of calystegines.** *Natural Product Reports*, 21: 211-223, 2003.

Dusman, L. T.; Jorge, T. C. M.; Souza, M. C.; Eberlin, M. N.; Meurer, E. C.; Bocca, C. C.; Basso, E. A.; Sarragiotto, M. H. **Monoterpene Índole Alkaloids from *Palicourea crocea*.** *Journal of Natural Products*, 67: 1886-1888, 2004.

Duquesnoy, E.; Castola, V.; Casanova, J. **Identification and quantitative determination of carbohydrates in ethanolic extracts of two conifers using  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy.** *Carbohydrate Research*, 343:893-902, 2008.

El-Seedi, H. **Coumarins, benzoic acids and terpenoids from *Palicourea demissa*.** *Revista Latinoamericana de Química*, 27/1 e 22/4: 15-16, 1999.

Engler'S, A. **Syllabus der Pflanzenfamilien.** Berlin: Gebrucher Borntraeger, 2:418-421, 1964.

Falcão, D.Q.; Fernandes, S.B.O.; Menezes, F.S. **Triterpenos de *Hyptis fasciculata* Benth.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 13: 81-83, 2003.

Filho, V.C. **Principais avanços e perspectivas na área de produtos naturais ativos: estudos desenvolvidos no NIQFAR/UNIVALI.** *Química Nova*, 23(5): 680-685, 2000.

Fiorentino, A.; D' Abrosca, B.; Pacifico,S.; Golino, A.; Mastellone, P. O.; Monaco, P. **Reactive oxygen species scavenging activity of flavone glycosides from *Melilotus neapolitana*.** *Molecules*, 12: 263-270, 2007.

Formica, J. V.; Regelson, W. **Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids.** *Food Chemical Toxicology*, 33(12): 1061-1080, 1995.

Furusawa, M.; Tanaka, T.; Ito, T.; Nishikawa, A.; Yamasaki, N.; Nakaya, K.; Matsura, N.; Tsuchiya, H.; Nagayama, M.; Inuma, M. **Antioxidant activity of hydroxyflavonoid.** *Journal of Health Science*, 51(3): 376-378, 2005.

Guia de Plantas Mediciniais 2005, Ano 1; n.1; On Line Editora.

Gomes, A.; Saha, A.; Chatterjee, I.; Chakravarty, A.K. **Viper and snake venom neutralization by  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol isolated from the root extract of *Pluchea indica* Less. (Asteraceae).** *Phytomedicine*, 14(9): 637-643, 2007.

Gomes, M.S.; Lião, L.M. **Estudo fitoquímico e atividade biológica de *Palicourea coriacea* (Rubiaceae).** Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão da UFG; XIII Seminário de Iniciação Científica; Anais eletrônicos, 2005.

Goulart, M. O. F., Sant'ana, A. E. G., Lima, R. A., Cavalcante, S. **Fitoconstituintes químicos isolados de *Jatropha elliptica*. Atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono e hidrogênio dos diterpenos jatrofolanos A e B.** *Química Nova*, 16 (2): 95-100, 1993.

Guvenalp, Z.; Kiliç, N.; Kazaz, C.; Kaya, Y.; Demirezer, L.O. **Chemical constituents of *Galium tortumense*.** *Turkish Journal Chemistry*, 30: 515-523, 2006.

Hartwell, J. L. **Plants used against cancer.** *Lloydia*, 34(1):103-160, 1971.

Hostettmann, K.; Kizu, H.; Tominou, T. **Molluscicidal propriets of various saponins.** *Planta Medica*, 44: 33-35; 1982.

Horn, M.M.; Drewer, S.E.; Brown, N.J.; Munro, O.Q.; Marion Meyer, J.J.; Mathekga, A.D.M. **Transformation of naturally-occurring 1,9-trans-9,5-cis sweroside to all trans sweroside during acetylation of sweroside aglycone.** *Phytochemistry*, 57: 51-56, 2001.

Inouye, H.; Takeda, Y.; Nishimura, H.; Kanomi, A.; Okuda, T.; Puff, C. **Chemotaxonomic studies of Rubiaceae plants containing iridoid glycosides.** *Phytochemistry*, 27(8): 2591-2598, 1988.

Jorge, T. C. M.; **Estudo químico e farmacológico de duas espécies da família Rubiaceae: *Cephalanthus glabratus* e *Palicourea crocea***, Tese de doutorado, UEM, 2005.

Kato, L.; Oliveira, C.M.A.; Nascimento, C.A.; Lião, L.M. **Atividade antimicrobiana de *Palicourea coriacea* (Cham.) K.Schum.** 29<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Anais eletrônicos, 2006.

Kawasaki, Y.; Goda, Y.; Yoshihira, K. **The mutagenic constituents of *Rubia tinctorum*.** *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 40(6): 1504-1509, 1992.

Kemmerling, W. **Toxicity of *Palicourea marcgravii*: combined effects of fluoracetate, N-methyltyramine and 2-methyltetrahydro- $\beta$ -carboline.** *Z. Naturforsch. Teil. B Anorg. Chemical Organic Chemistry*, 51: 59-64, 1996.

Kitagawa, I.; Wei, H.; Nagao, S.; Mahmud, T.; Hori, K.; Kobayashi, M.; Uji, T.; Shibuya, H. **Characterization of 3'-O-caffeoylsweroside, a new secoiridoid glucoside, and kelampayosides A e B, two new phenolic apioglucosides from the bark of *Anthocephalus chinensis* (Rubiaceae).** *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 44(6): 1162-1176, 1996.

Kyeoung-Im, L.; Sook-Hee, R.; Kun-Young, P. **Anticancer activity of phytol and eicosatrienoic acid identified from *Perilla leaves***. *Han'guk Sikp'um Yongyang Kwahak Hoechi*, 28(5): 1107-1112, 1999.

Lee, Y.S.; Lee, S.; Lee, H.S.; Kim, B-K; Ohuchi, K.; Shin, K.H. **Inhibitory effects of isorhamnetin-3-O- $\beta$ -D-glucoside from *Salicornia herbacea* on rat lens aldose reductase and sorbitol accumulation in streptozotocin-induced diabetic rat tissues**. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 28(5): 916-918, 2005.

Leite, J. P. V.; Lombardi, J. A.; Chiari, E.; Oliveira, A. B. **Isolamento biomonitorado de uma substância tripanossomicida de *Arrabidaea triplinervia* (Bignoniaceae), o ácido ursólico**. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 11(2): 77-87, 2001.

Lima, N. M. F.; Correia, C. S.; Ferraz, P. A. L; Pinto, A. V.; Pinto, M. C. R. F.; Santana, A. E. G.; Goulart, M. O. F. **Molluscicidal hydroxynaphthoquinones and derivatives: correlation between their redox potentials and activity against *Biomphalaria glabrata***. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 13(6): 822-829, 2002.

Ling, S-K; Tanaka, T.; Kouno, I. **Effects of iridoids on lipoxygrnase and hyaluronidase activities and their activation by  $\beta$ -glucosidase in the presence of amino acids**. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 26(3), 352-356, 2003.

Liu, J. **Pharmacology of oleanoic and ursolic acid**. *Journal of Ethnopharmacology*, 49: 57-68, 1995.

Lopes, M. N.; Oliveira, A. C.; Young, M. C. M.; Bolzani, V. S. **Flavonoids from *Chiococca branquiata* (Rubiaceae)**. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 15(4): 468-471, 2004.



Lopes, S.; Poser, G. L.; Kerber, V. A.; Farias, F. M., Konrath, E. L.; Moreno, P.; Sobral, M. E.; Zuanazzi, J. A. S.; Henriques, A. T. **Taxonomic significance of alkaloids and iridoid glucosides in the tribe Psychotrieae (Rubiaceae)**, *Biochemical systematics and ecology*, 32: 1187-1195, 2004.

Mandal, S.; Jain, R.; Mukhopadhyay, S. **Naturally occurring iridoids with pharmacological activity**, *Indian Journal Pharmacology Science*, 60(3): 123-127; 1997.

Mastuda, H.; Morikawa, T.; Ueda, K.; Managi, H.; Yoshikawa, M. **Structural requirements of flavonoids for inhibition of antigen-induced degranulation, TNF- $\alpha$  and IL-4 production from RBL-2H3 cells**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10: 3123-3128; 2002.

Matsuda, H.; Wang, T.; Managi, H.; Yoshikawa, M. **Structural requirements of flavonoids for inhibition of protein glycation and radical scavenging activities**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11: 5317-5323, 2003.

Mendes, N.M.; Pereira, J.P.; Souza, C.P.; Oliveira, M.L.L.; **Ensaio preliminar em laboratório para verificar a ação moluscicida de algumas espécies da flora brasileira**. *Revista Saúde Pública*, 18: 348-354; 1984.

Melos, J.L.R.; Honda, N.K. **Constituintes químicos e avaliação do potencial alelopático de *Adiantum tetraphyllum* HUMB. & BONPL. EX. WILLD (Pteridaceae)**. *Química Nova*, 30(2): 292-297, 2007.

Miliauskas, G.; Van Beek, T. A.; Venskutonis, P. R.; Linsen, J. P.H.; Waard, P. **Antioxidative activity of *Geranium macrorrhizum***. *European Food Research and Technology*, 218: 253-261, 2004.

Moreira, R. Y. O.; Arruda, M. S. P.; Arruda, A. C.; Santos, L. S.; Muller, A. H.; Guilhon, G. M. S. P.; Santos, A. S.; Terezo, E. **Antraquinonas e naftoquinonas do caule de um espécime de reflorestamento de *Tectona grandis* (Verbenaceae)**. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16(3): 392-396, 2006.

Morita, H.; Ichihara, Y.; Takeda, K.; Watanabe, K.; Itokawa, H.; Motidome, M. **A new indole alkaloid glycoside from the leaves of *Palicourea marcgravii***, *Planta Medica*, 55: 288-289, 1989.

Moura, V. M.; Santos, D. P.; Santin, S. M. O.; Carvalho, J. E.; Foglio, M. A. **Constituintes químicos de *Galianthe brasiliensis* (RUBIACEAE)**. *Química Nova*, 29(3): 452-455, 2006.

Myun-Ho, B.; Soo Young, C.; Tae-O, J.; Sang Kook, K.; Oh-Shin, K.; Tae-Cheon, K.; Moo Ho, W.; Jinseu, P.; Nam-In, B. **Phytol , SSADH inhibitory diterpenoid of *Lactuca sativa***. *Pharmacol Research*, 25(5): 643-646, 2002.

Nakano, T.; Martin, A. **Studies on the alkaloids of *Palicourea fendleri***, *Planta Medica*, 30(2): 186-188, 1976.

Nakatani, N.; Kayano, S.; Kikuzaki, H.; Sumino, K.; Katagiri, K.; Mitani, T. **Identification, quantitative determination, and antioxidative activities of chlorogenic acid isomers in Prune (*Prunus domestica* L.)**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 5512-5516; 2000.

Nascimento, C.A.; Lião, L.M.; Morais, L.; Kato, L.; Oliveira, C.M.A.; **Alcalóides indólicos monoterpênicos glicosilados de *Palicourea coriacea* (Rubiaceae)**. Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão da UFG; XII Seminário de Pesquisa e Pós-graduação da UFG; Anais eletrônicos, 2005.

Nascimento, C. A.; Kato, L.; Da Silva, C. C.; Tanaka, C. M. A. **Alkaloids from *Palicourea coriacea* (Cham.) K. Schum.** *Z. Naturforsch*, 61b: 1443-1446, 2006.

Nascimento, C.A.; Lião, L.M.; Kato, L.; Silva, C.C.; Tanaka C.M.A.; Schuquel, I.T.A.; Oliveira, C.M.A. **A  $\beta$ -carbonile trisaccharide from *Palicourea coriacea* (Cham.) K. Schum.** *Carbohydrate Research*, 343: 1104-1107, 2008.

Nazari, A. S.; Dias, S. A.; Da Costa, W. F.; Bersani-Amado, C. A.; Vidotti, G. J.; De Souza, M. C.; Sarragiotto, M. H.; **Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Randia hebecarpa* and major constituents.** *Pharmaceutical Biology*, 44(1): 7-9, 2006.

Oliveira, M. C.; Negri, G.; Salatino, A.; Braga, M. R. **Detection of anthraquinones and identification of 1,4-naphthoquinone in cell suspension cultures of *Rudgea jasminoides* (Cham.) Müll. Arg. (Rubiaceae).** *Revista Brasileira de Botânica*, 30(1):167-172, 2007.

Oliveira, P. R. N.; Testa, G.; Costa, W. F.; Sarragiotto, M. H.; Santin, S.M. O. **Saponinas triterpênicas das raízes de *Guettarda pohliana* Müll. Arg. (RUBIACEAE).** *Química Nova*, 31(4): 755-758, 2008.

Pereira, N.R.; Ribeiro, A.L.T.; Barbosa, C.E.S; Kato, L.; Lacerda, E.P.S.; **Avaliação da toxicidade aguda de *Palicourea coriacea* (Cham) K. Schum em camundongo Swiss.** *Revista Eletrônica de Farmácia*, Suplemento 3(2): 56-58, 2006.

Phillipson, J. D.; Hemingway, S. **Indole e oxindole alkaloids from *Cephalanthus occidentalis*.** *Phytochemistry*, 13: 2621-2622, 1974.

Pinto, A.C. **O Brasil dos viajantes e dos exploradores e a química de produtos naturais brasileira.** *Química Nova*, 18 (6): 608-615, 1995.

Pinto, A.C.; Silva, D.H.S.; Bolzani, V.S.; Lopes, N. P.; Epifanio, R.A. **Produtos Naturais: Atualidade, Desafios e Perspectivas**, *Química Nova*, 25 (1): 45-59, 2002.

Plumb, G. W.; Price, K. R.; Rhodes, M. J.; Williamson, G. **Antioxidant properties of the major polyphenolic compound in broccoli**. *Free Radical Research*, 27(4): 429-435, 1997.

Pongprayoon, U.; Baeckstroem, P.; Jacobsson, U.; Lindstroem, M.; Bohlin, L. **Antispasmodic activity of  $\beta$ -damascenone and E-phytol isolated from *Ipomoea pescaprae***. *Planta Medica*, 58(1): 19-21, 1992.

Prasad, D.; Juyal, V.; Singh, R.; Singh, V.; Pant, G.; Rawat, M. S. M. **A new secoiridoid from *Lonicera angustifolia***. *Fitoterapia*, 71: 420-424, 2000.

Price, K.R.; Casascelli, F.; Colquhoun, I.J.; Rhodes, M.J.C. **Composition and content of flavonol glycosides in Broccoli Florets (*Brassica olearacea*) and their fate during cooking**. *Journal of the Science of Food and Agriculture*; 77: 468-472, 1998.

Ramalho, V. C.; Jorge, N. **Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos**. *Química Nova*, 24(4): 755-760, 2006.

Ribeiro, E. **Plantas Medicinais e Complementos Bioterápicos**. *Publicações Europa-América*, 40, 1992.

Ripperger, H. **Chimonathin aus *Palicourea domingensis***, *Pharmazie*, 37(12): 867, 1982.

Robbers, J. E.; Speedie, M. K.; Tyler, V. E. **Farmacognosia-Biotecnologia**. Editorial Premier, São Paulo, 205, 1997.

Robbrecht, E. **Tropical woody Rubiaceae**. *Opera Botanica Belgica*, 1: 1-271, 1988.

Rosa, E.A.; Silva, C.C.; Tanaka, C.M.A.; Oliveira, C.M.A.; Kato, L.; Ferreira, H.D. **Antraquinona de *Palicourea rigida***. 30<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Anais eletrônicos, 2007.

Roth, A.; Kuballa, B.; Bounthanh, C.; Cabalion, P.; Sévenet, T.; Beck, J.P.; Anton, R. **Cytotoxic activity of polyindoline alkaloids of *Psychotria forsteriana* (Rubiaceae)**. *Planta Medica*, 450-453, 1986.

Santos, A. R.; Barros, M. P.; Santin, S. M. O.; Sarragiotto, M. H.; Souza, M. C.; Eberlin, M. N.; Meurer, E. C. **Constituintes polares das folhas de *Machaonia brasiliensis* (RUBIACEAE)**. *Química Nova*, 27(4): 525-527, 2004.

Schiripsema, J.; Dagnino, D.; Gosmann, G. **Alcalóides indólicos**, *Farmacognosia da planta ao medicamento*. In: Simões, C. M. O [et al.] (org), Editora UFRGS, 819-846, 2004.

Schiripsema, J; Caprini, G. P.; Heijden, R. van der; Bino, R.; Vos, R.; Dagnino, D. **Iridoids from *Pentas lanceolata***. *Journal of Natural Products*, 70:1495-1498, 2007.

Shimizu, M.; Tomoo, T. **Anti-inflammatory constituents of topically applied crude drugs**. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 17(5): 665-667, 1994.

Silva, F. M.; Oliveira, C. M. A.; Kato, L.; Tanaka, C. M. A.; Silva, C. C.; Soares, P. R. O.; Guillo, L. A.; **Vallesiachotamina e atividade citotóxica de *Palicourea rigida* Kunth**, 29<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Anais eletrônicos, 2006.

Silva, F. M.; Oliveira, C. M. A.; Kato, L., Ferreira, H.D.; Correa, R.G.; Silva, C.C. **Estudo fitoquímico e atividade antibacteriana de *Palicourea rigida* (Rubiaceae)**. Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão da UFG; XIII Seminário de Iniciação Científica; Anais eletrônicos, 2005.

Silva, V.C.; Alves, A.N.; Carvalho, M.G. **Chemical constituents from leaves of *Palicourea coriacea* (Rubiaceae)**. *Journal of Natural Medicines*, 62: 356-357, 2008.

Silva, V.C.; Alves, A.N.; Carvalho, M.G. **Derivados dos ácidos benzóico e cinâmico isolados de *Palicourea coriacea* (Rubiaceae)**, 29<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Anais eletrônicos, 2006.

Silván, A.M.; Abad, M.J.; Bermujo, P.; Sollhuber, M.; Villar, A. **Antiinflammatory activity of coumarins from *Santolina oblongifolia***. *Journal of Natural Products* 59: 1183-1185, 1996.

Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**, Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2003.

Singleton, U. L.; Rossi, J. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent**. *American Journal Enology and Viticulture*, 16(3):144-158, 1965.

Stuart, K. L.; Woo-Ming, R.B. **Vomifoliol in *Croton* and *Palicourea* species**, *Phytochemistry*, 14(2): 594-595, 1975.

Suzgeç, S.; Meriçli, A. H.; Houghton, P.J.; Çubukçu, B.; **Flavonois of *Helichrysum compactum* and their antioxidant and antibacterial activity**. *Fitoterapia*, 76: 269-272, 2005.

Tachakittirungrod, S.; Ikegami, F.; Okonogi, S. **Antioxidant active principles isolated from *Psidium guajava* grown in Thailand**, *Scientia Pharmaceutica*, 75: 179-193, 2007.

Tang, J.; Li H-L; Li Y-L; Zhang, W-D, **Flavonoids from Rhizomes of *Veratum dahuricum***, *Chemistry of Natural Compounds*, 43(6): 696-697, 2007.

Taylor, C.M. ***Palicourea* Aubl. (Rubiaceae:Psychotriaceae)** Missouri Botanical Garden, P.O. BOX 299; St. Louis, MO 63166, [[www.mobot.org/mobot/research/taylor/palicourea.shtml](http://www.mobot.org/mobot/research/taylor/palicourea.shtml)].

Takeda, Y.; Shimidzu, H.; Mizuno, K.; Inouchi, S.; Masuda, T.; Hirata, E.; Shinzato, T.; Aramoto, M.; Otsuka, H. **An iridoid glucoside dimer and a non-glycoside iridoid from the leaves of *Lasianthus wallichii***. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 50 (10): 1395-1397, 2002.

Takeda, Y.; Masuda, T.; Honda, G.; Takaishi, Y; Ito, M.; Ashurmetov, O.; Khodzhimatov, O.K. e Otsuka, H. **Secoiridoid glycosides from *Gentiana olivieri***. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 47 (9): 1338-1340, 1999.

Thaipong, K.; Boonprakob, U.; Crosby, K.; Cisneros-Zevallos, L.; Byrne, D.H.; **Comparasion of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts**. *Journal of Food Composition and Analysis*; 19: 669-675, 2006.

Toma, W.; Gracioso, J. S.; Hiruma-Lima, C.A.; Andrade, F. D. P.; Vilegas, W.; Souza Brito, A. R. M. **Evaluation of the analgesic and antiedematogenic activities of *Quassia amara* bark extract.** *Journal of Ethnopharmacology*, 85: 19-23, 2003.

Torres-Santos, E.C.; Lopes, D.; Oliveira, R.R.; Carauta, J.P.P.; Falcão, C.A.B.; Kaplan, M.A.C.; Bergmann, B.R. **Antileishmanial activity of isolated triterpenoids from *Pourouma guianensis*.** *Phytomedicine*, 11: 114, 2004.

Tundis, R.; Deguin, B.; Menechini, F.; Tillequin, F. **Iridoids from *Putoria calabrica*.** *Biochemical systematics and ecology*, 30: 689-691, 2002.

Valverde, J.; Tamayo, G.; Hesse, M.  **$\beta$ -carboline monoterpene glucosides from *Palicourea adusta*,** *Phytochemistry*, 52(8): 1485-1489, 1999.

Van Arman, G.C. **Anti-inflammatory drugs.** *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 16: 900-904, 1974.

Vencato, I.; Silva, F. M.; Oliveira, C. M. A.; Kato, L.; Tanaka, C. M. A.; Silva, C. C.; Sabino, J. R. **Vallesiachotamine.** *Acta Crystallographica*, E., 62: 429-430, 2006.

Verotta, L.; Pilati, T.; Tatò, M.; Elisabetsky, E.; Amador, T. A.; Nunes, D.S. **Pyrrrolidinoindoline alkaloids from *Psychotria colorata*.** *Journal of Natural Products*, 61: 392-396, 1998.

Von Poser, G. L.; Mentz, L. A. **Diversidade biológica e sistemas de classificação.** In: Simões, C. M. O [et al.] (org) *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 75-89, 2004.



Vieira, F. C. **Estudo químico e avaliação de atividade moluscicida e anticâncer da espécie vegetal *Coussarea platyphylla* (Rubiaceae)**, Dissertação de mestrado, UEM, 2008.

Vieira, I. J. C.; Mathias, L.; Braz-Filho, R.; Schripsema, J. **Iridoids from *Borreria verticillata***. *Organic Letters*, 1(8): 1169-1171, 1999.

Virtuoso, S.; Davet, A.; Dias, J. F. G.; Cunico M. M.; Miguel M.D.; Oliveira, A. B.; Miguel O. G. **Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae)**. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 15(2): 137-142, 2005.

Zou, L. C.; Zhu, T. F.; Gan, S. C.; Wang, D. C.; Zhang, Y.; Deng, X. M. **Two new secoiridoid glycosides from the roots of *Picrorhiza scrophulariiflora***. *Chinese Chemical Letters*, 19: 1224-1277, 2008.

Zuanazzi, J. A. S.; Montanha, J. A. **Flavonóides**. In: Simões, C. M. O [et al.] (org) *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 75-89, 2004.

Wolfe, K. L.; Liu, R. H. Structure-activity relationships of flavonoids in the cellular antioxidant activity assay, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 8404-8411, 2008.

Woo-Ming, R. B.; Stuart, K. L.; **Calicanthine from *Palicourea alpina***, *Phytochemistry*, 14: 2529; 1975.

Young, M. C. M.; Braga, M. R.; Dietrich, S. M. C.; Bolzani, V. S. ; Trevisan, L. M. V.; Gottlieb, O. R. **Chemosystematic markers of Rubiaceae**, *Opera Botanica Belgica*, 7: 205-212, 1996.

## **ANEXOS**

## ANEXO 1

**Tabela A:** Concentração Inibitória Mínima dos extratos e frações de *P. coriacea* ( $\mu\text{g/mL}$ ).

<i>MICROORGANISMOS (1,0 x 10<sup>4</sup> UFC/mL)</i>				
	<b>S. aureus</b> ATCC 29737	<b>B. subtilis</b> ATCC 6633	<b>E. coli</b> ATCC 8739	<b>M. luteus</b> ATCC 9341
<b>FOLHAS/CAULES</b>				
Extrato etanólico (PCFE)	>1000	500-1000	*	>1000
<b>Tratamento ácido-base</b>			*	
Fração diclorometânica ácida (PCFDA)	>1000	>1000	*	>1000
Fração diclorometânica básica (PCFDB)	500-1000	500-1000	>1000	500-1000
Fração acetato de etila básica (PCFAB)	>1000	>1000	>1000	>1000
<b>Particionamento líquido-líquido</b>				
Fração diclorometânica (PCFD)	>1000	500-1000	*	500-1000
Fração acetato de etila (PCFA)	>1000	500-1000	*	500-1000
Fração n-butanólica (PCFN)	>1000	500-1000	*	>1000
<b>RAÍZES</b>				
Extrato etanólico (PCRE)	500-1000	>1000	*	>1000
Extrato metanólico (PCRM)	500-1000	500-1000	*	>1000
Cloranfenicol	6,2-3,1	7,8-3,9	3,9-1,9	1,6-0,8

\* não ativos nos ensaios bioautográficos.

**Tabela B:** Concentração Inibitória Mínima da calicantina e do ácido ursólico em  $\mu\text{g/mL}$ .

<i>MICROORGANISMOS (1,0 x 10<sup>4</sup> UFC/mL)</i>				
	<b>S. aureus</b> ATCC 29737	<b>B. subtilis</b> ATCC 6633	<b>E. coli</b> ATCC 8739	<b>M. luteus</b> ATCC 9341
Calicantina	500-1000	>1000	>1000	500-1000
Ácido ursólico	125,0-62,5	500-1000	>1000	6,2-3,1
Cloranfenicol	6,2-3,1	7,8-3,9	3,9-1,9	1,6-0,8

## Anexo 2

**Tabela C: algumas atividades biológicas associadas aos iridóides, alcalóides, quinonas e flavonóides.**

<b>Classe</b>	<b>Algumas Atividades*</b>	<b>Referência</b>
Iridóides	antiinflamatória; antileishmania; antiviral; anticâncer; antiespasmódica; antiúlceras; antimicrobiana; hepatoprotetiva; imunoestimulante	Mandal, S. <i>et al.</i> ; 1997
Alcalóides	antimalárico; anti-hipertensivo; antiinflamatória; antitumoral; antiviral; antibacteriana; estimulante SNC; diurética; hipnoanalgésica; miorelaxante; tratamento do mal de Alzheimer; anestésica; antiespasmódica; alucinógena; vasodilatadora	Simões, C.M.O. <i>et al.</i> , 2004.
Quinonas	antibacteriana, antifúngica; antitumoral; laxante; alelopática; antibiótica; tripanossomicida; antileucêmica; antiviral; mutagênica	
Flavonóides	antiviral; antioxidante; antiinflamatória; antitumoral; antiespasmódica; antimicrobiana; antimutagênica; estrogênica; tripanossomicida; antiúlceras	
	antialérgico	Mastuda, H. <i>et al.</i> (2002)
	inibição da proteína AGE associada com o desenvolvimento de complicações diabéticas	Matsuda, H <i>et al.</i> (2003)

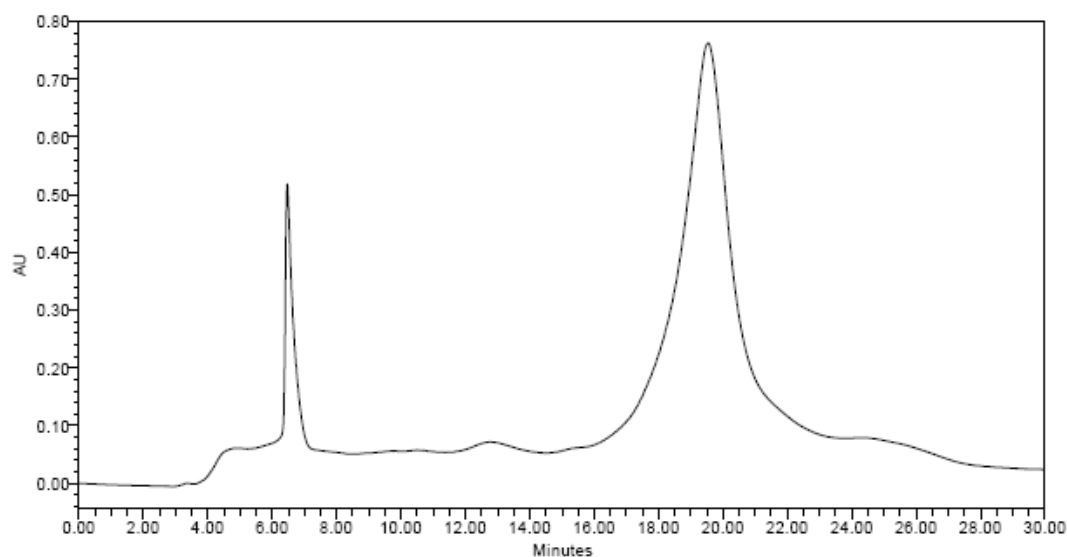
\* para diferentes espécies vegetais e famílias

## Anexo 3

Cromatograma da amostra PRM 2.3 (2.3) 5.6 ( $\lambda=250$  nm)

## LC Default Individual Report

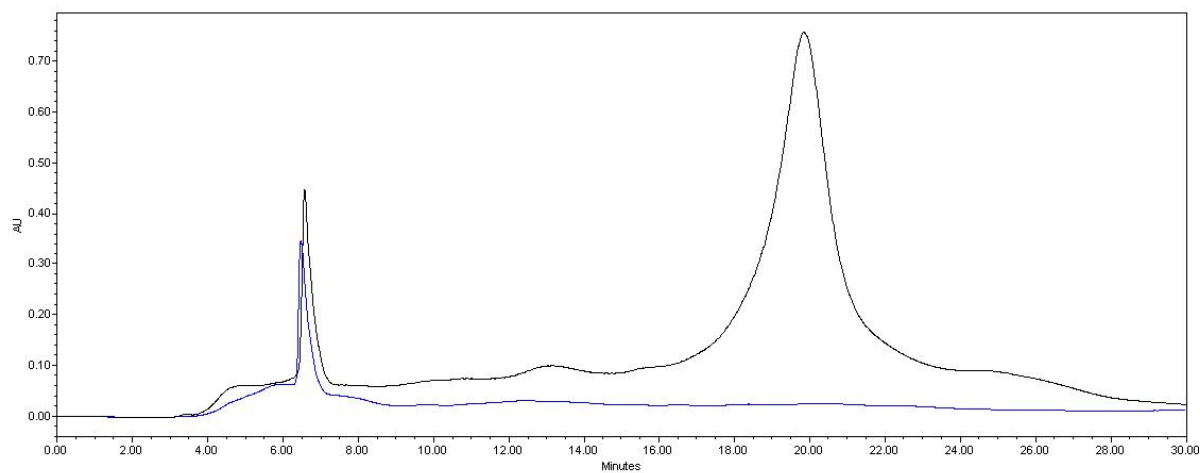
SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PRMA_E(MeOH/ag3:7) 1.5	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	1	Acq. Method Set:	PRMA
Injection #:	2	Processing Method:	****
Injection Volume:	50.00 ul	Channel Name:	****
Run Time:	30.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	****
Date Acquired:	10/30/2008 10:35:40 AM BRST		
Date Processed:	****		

Error Log

Basic LC Peaks Table group contains information that doesn't match the data being reported.

Reported by User: System  
 Report Method: LC Default Individual Repor  
 Report Method ID 1013  
 Page: 1 of 1

Project Name: Março\_2008\IEEP95  
 Date Printed:  
 10/31/2008  
 5:27:23 PM America/Sao\_Paulo



**Figura 71: Cromatograma monitorado em  $\lambda=250$  nm (superior) e  $\lambda=335$  nm (inferior)**