

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO
DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICA CURSO DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM FÍSICO-QUÍMICA**

**ISOLAMENTO, IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS
QUÍMICOS E TESTES FARMACOLÓGICOS PRELIMINARES
DA ESEMBÉCKIA GRANDIFLORA.**

**TESE SUBMETIDA A UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA
CATARINA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE "MESTRE EM
CIÊNCIAS"**

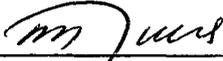
CÉSAR AUGUSTO GIACOMOZZI

**FLORIANÓPOLIS
SANTA CATARINA-BRASIL
ABRIL 1991**

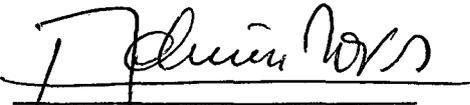
**ISOLAMENTO, IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS
E TESTES FARMACOLÓGICOS PRELIMINARES DA
ESEMBÉCKIA GRANDIFLORA.**

CÉSAR AUGUSTO GIACOMOZZI

**ESTA TESE FOI JULGADA E APROVADA EM SUA
FORMA FINAL PELO ORIENTADOR E OS MEMBROS DA
BANCA EXAMINADORA**



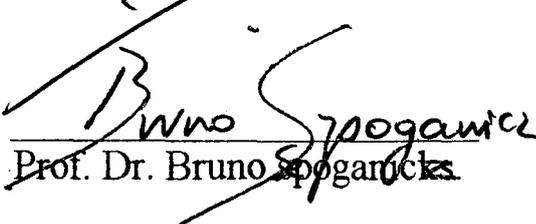
Prof. Dr. Rosendo Augusto Yunes
Orientador



Prof. Ademir Neves
Coordenador



Prof Dr. Ricardo Nunes



Prof. Dr. Bruno Spogantek

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

Ao Professor Dr. Rosendo Augusto Yunes pela Orientação neste trabalho, e pelo companherismo no decorrer deste curso.

Ao Professor Dr. Franco Dellemonache do Instituto Nacional de Pesquisas de Roma, pela valorosa contribuição para a conclusão deste trabalho.

Aos professores do departamento de química da Universidade Federal de Santa Catarina que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Dr. João Batista Calixto pelo apoio na parte farmacológica.

Ao primo Antônio Carlos da Silva pela contribuição na parte tipografica deste trabalho.

E a todos os colegas pela amizade e companherismo demonstrados no decorrer do trabalho.

INDICE GERAL

ListadeFiguras	VI
Lista deTabelas	I
Resumo	VI
Abstract	IX
	X

CAPITULO I

INTRODUÇÃO

1.1 Introdução	01
1.2 A planta	08
1.3 Generalidades sobre Dihidrochalconas	09
1.4 Objetivo	12

CAPITULO II

RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1 Resultados e discussão	13
2.1.1 Novas dihidrochalconas da <i>E. grandiflora</i> .	13
2.1.2 Fragmentação das dihidrochalconas da <i>E. grandiflora</i>	15
2.1.3 Ciclização da dihidrochalcona F-2	16
2.1.4 Cumarinas da <i>E. grandiflora</i> .	18
2.1.5 Outros compostos	21

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Parte experimental	58
3.2 Equipamentos utilizados	58
3.3 Separação da fração solúvel em acetato de etila (folhas)	61
3.4 Metilação	61
3.5 Separação da fração solúvel em acetato de etila (ramos)	62
3.6 Ciclização da fração F-2.	64
3.7 Novas cumarinas..	66
3.8 Hidrolise ácida das cumarinas A e B	68
3.9 Identificação dos flavonóides	68
3.10 Identificação das furocumarinas	70
3.11 Identificação das furoquinolinas	70

CAPITULO IV

CONCLUSÃO

4.1 Conclusão	71
4.2 Cálculo dos rendimentos	73
4.3 Farmacologia	74
4.2 Bibliografia	77

INDICE DE TABELAS

Tabela 1	Metabólitos secundários da <i>E. grandiflora</i>	22
Tabela 2	Dados de HRMN das dihidrochalconas 38-42	23
Tabela 3	Dados de CRMN das dihidrochalconas 38-42	24
Tabela 4	Fórmula bruta das dihidrochalconas	25
Tabela 5	Principais fragmentos de Ms das dihidrochalconas	26
Tabela 6	Dados de CRMN dos produtos da ciclização da dihidrochalconas F-2...	27
Tabela 7	Dados de HRMN dos produtos da ciclização da dihidrochalconas F-2	28
Tabela 8	Dados HRMN das cumarinas	29
Tabela 9	Dados CRMN das cumarinas	30
Tabela 10	Dados HRMN das furoquinolinas	31

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1	Alcalóides isolados da <i>Esembéckia ssp</i>	02
FIGURA 2	Cumarinas e limonóides isolados da <i>Esembéckia ssp</i>	03
FIGURA 3	Componentes da <i>Esembéckia leiocarpa</i>	04
FIGURA 4	Alcalóides da <i>Esembéckia leiocarpa</i>	05
FIGURA 5	Compostos da <i>Esembéckia leiocarpa</i>	06
FIGURA 6	Componentes da <i>Esembéckia leiocarpa</i>	07
FIGURA 7	Principais fragmentos de Ms	11

FIGURA 7.1 Esqueleto de uma chalcona	09
FIGURA 8 Novas dihidrochalconas da.. <i>E.grandiflora</i>	32
FIGURA 10 Espectro de HRMN da Dihidrochalcona 39	33
FIGURA 10A Espectro de CRMN da Dihidrochalcona 39	34
FIGURA 10B Espectro de HRMN da Dihidrochalcona 41	35
FIGURA 10C Espectro de HRMN da Dihidrochalcona 40	36
FIGURA 10D Espectro de HRMN da Dihidrochalcona 42	37
FIGURA 10E Espectro de CRMN da dihidrochalcona 42	38
FIGURA 11..Principais Fragmentos de Ms das dihidrochalconas	39
FIGURA 12..Mecanismo de ciclização	40
FIGURA 13..Produtos de ciclização	41
FIGURA 14 Mecanismo de ciclização.de comp. geranilados	42
FIGURA 15..Cumarinas da <i>Esembéckia grandiflora</i> .	43
FIGURA 16..Novas cumarinas dae <i>esembéckia grandiflora</i>	44
FIGURA 17 Espectro de HRMN do Xeniciol Xantotosina	45
FIGURA 18 Espectro de HRMN da Isochalepina	46
FIGURA 19A Espectro de HRMN da Cumarina A	47
FIGURA 20 Espectro de HRMN da Cumarina B	48
FIGURA 20B Espectro de CRMN da DCumarina B	49
FIGURA 20C Espectro de HRMN do (-) Heraclenol	50

FIGURA 20D Espectro de CRMN do (-) Heraclenol	51
FIGURA 21..Compostos isolados das folhas	52
FIGURA 21A Espectro de HRMN do Kanferol	53
FIGURA 21B Espectro de CRMN do Kanferol	54
FIGURA 21C Espectro de HMN da Quercitina	55
FIGURA 21D Espectro de CRMN da Quercitina	56
FIGURA 21E Espectro de HRMN da (-) Epi-Galocatequina	57
Esquema1 Fluxograma de extração para as folhas	59
Esquema1 Fluxograma de extração para os ramos	60

RESUMO

O gênero *Esembéckia* pertence a família das Rutáceas, notável fonte de alcalóides, cumarinas e limonóides. Das seis espécies estudadas até hoje foram isolados e identificados onze alcalóides, seis cumarinas e três limonóides. No gênero, os alcalóides foram isolados das raízes e do caule, as cumarinas das cascas e os limonóides das sementes.

De particular interesse quimiotaxonômico foram isolados dez alcalóides indólicos nunca encontrados antes no gênero *Esembéckia* e raramente na família das Rutáceas. Ocorre porém que os estudos anteriores sobre o gênero, foram realizados com as frações mais polares, portanto, presos à alcalóides mais solúveis em ácido. Por outro lado os derivados indólicos são pouco polares e não extraíveis com ácido; por isso não se podia imaginar que os derivados indólicos fossem constituintes do gênero *Esembéckia*.

Para verificar isto propomo-nos ao estudo de uma segunda espécie; *Esembéckia grandiflora*, que é o objetivo desta tese.

ABSTRACT

The *Esembéckia* order belongs to Rutaceas family notable spring of alkaloids, cumarins and limonoids. The six kinds' studies until today were isolate and identify twelve alkaloids, six cumarins and three limonoids. In the order the alkaloids were isolate from the root and stalk, the cumarins from the shush and the limonoids from de seed.

Quimictaxomic interests were isolate ten indolic alkaloids never found in the *Esembéckia* orders and rarity on the Rutaceas family. About the order the study had made with the fraction most acid solubility, therefore could not to imagine the indolic alkaloids were constituents of the *Esembéckia* order.

To verify this problem we suggest to study a second order, *Esembéckia grandiflora*

CAPITULO I

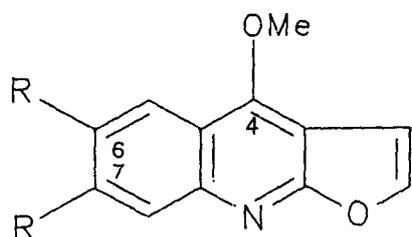
1.1. INTRODUÇÃO

O gênero *Esenbéckia* pertence a família das Rutáceas, notável fonte de alcalóides, cumarinas e limonóides [1].

Das seis espécies estudadas e cujos resultados estão publicados na literatura [2-5], foram isolados os alcalóides mostrados na figura 1; as cumarinas e os limonóides são mostrados na figura 2.

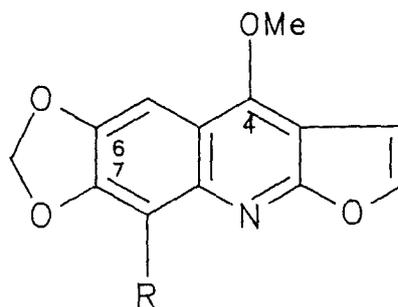
No gênero, os alcalóides foram isolados das raízes e do caule, as cumarinas da casca e os limonóides das sementes.

Recentemente no laboratório de pesquisa do C.N.R. (Conselho nacional de pesquisa) da Itália foram feitos estudos com raízes da *Esenbéckia* leiocarpa, da qual foram isolados ao todo 23 compostos: os alcalóides furoquinolinicos, dictamina (1), kokusaginina (2), maculina (3) flindersiamina (4); a chinolina (21) e a correspondente N-metil-4-chinolina (22) (figura 3); os alcalóides indólicos (23-24) (figura 4-5); a amida (34) e o metilcinnamato (35) (figura 3); as lignanas (36-38) e a cumarina (39) (figura 6).

Alcalóides isolados da *Esembéckia ssp.* (2-5)

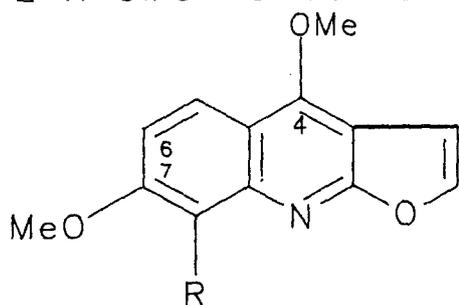
1 R=H DICTAMINA

2 R=OMe KOKUSAGININA



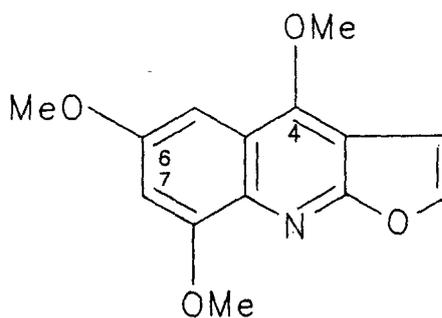
3 R=H MACULINA

4 R=OMe FLINDERSIAMINA

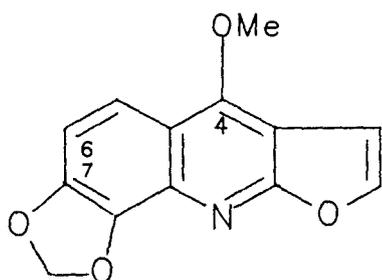


5 R=H EVOLITRINA

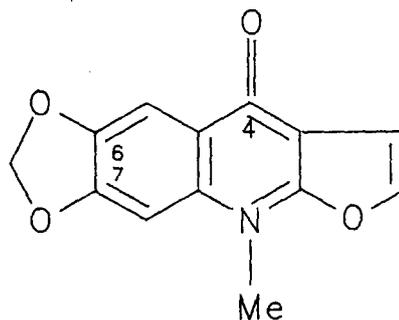
6 R=OMe SKIMMIANINA



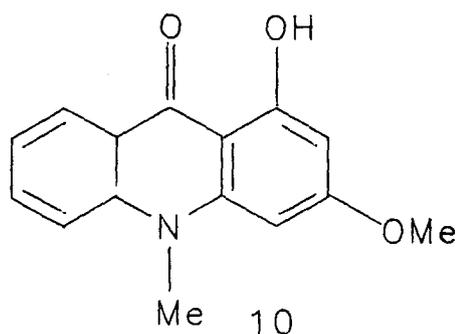
7 MACULOSIDINA



8 KOKUSAGINA

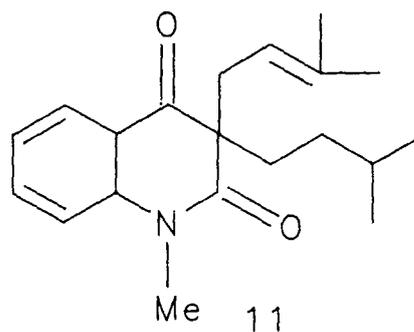


9 ISOMACULINA



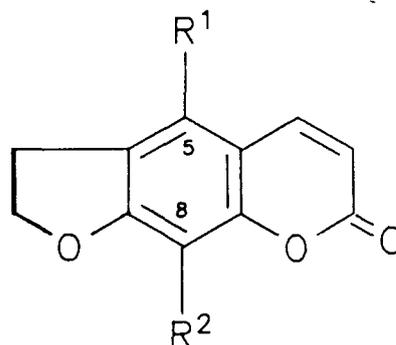
10

FIGURA 1

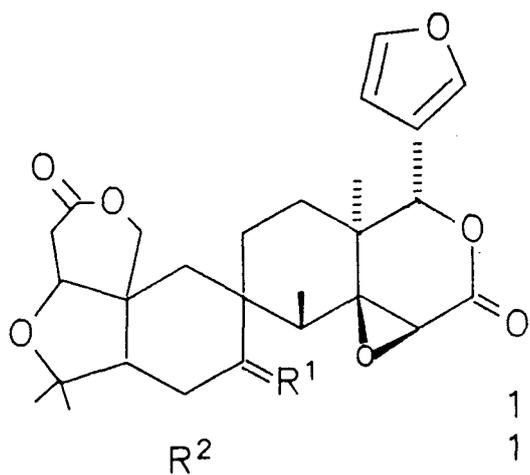


11

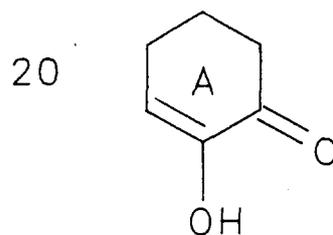
Cumarinas e limonóides isolados da *Esembéckia ssp*



	R ¹	R ²	
12	OMe	H	BERGAPTENE
13	OMe	OH	8-OH BERGAPTENE
14	OMe	OMe	ISOBINELINA
15	H		IMPERATORINA
16		OH	ALLOIMPERATORINA
17	OMe		FELLOPTERINA



18-	R ¹ = O	R ² =	RUTAERVINA
19-	R ¹ = H ₂	R ² =	LIMONINA



LIMONINA
DIOSFENOL

FIGURA 2

FIGURA 2

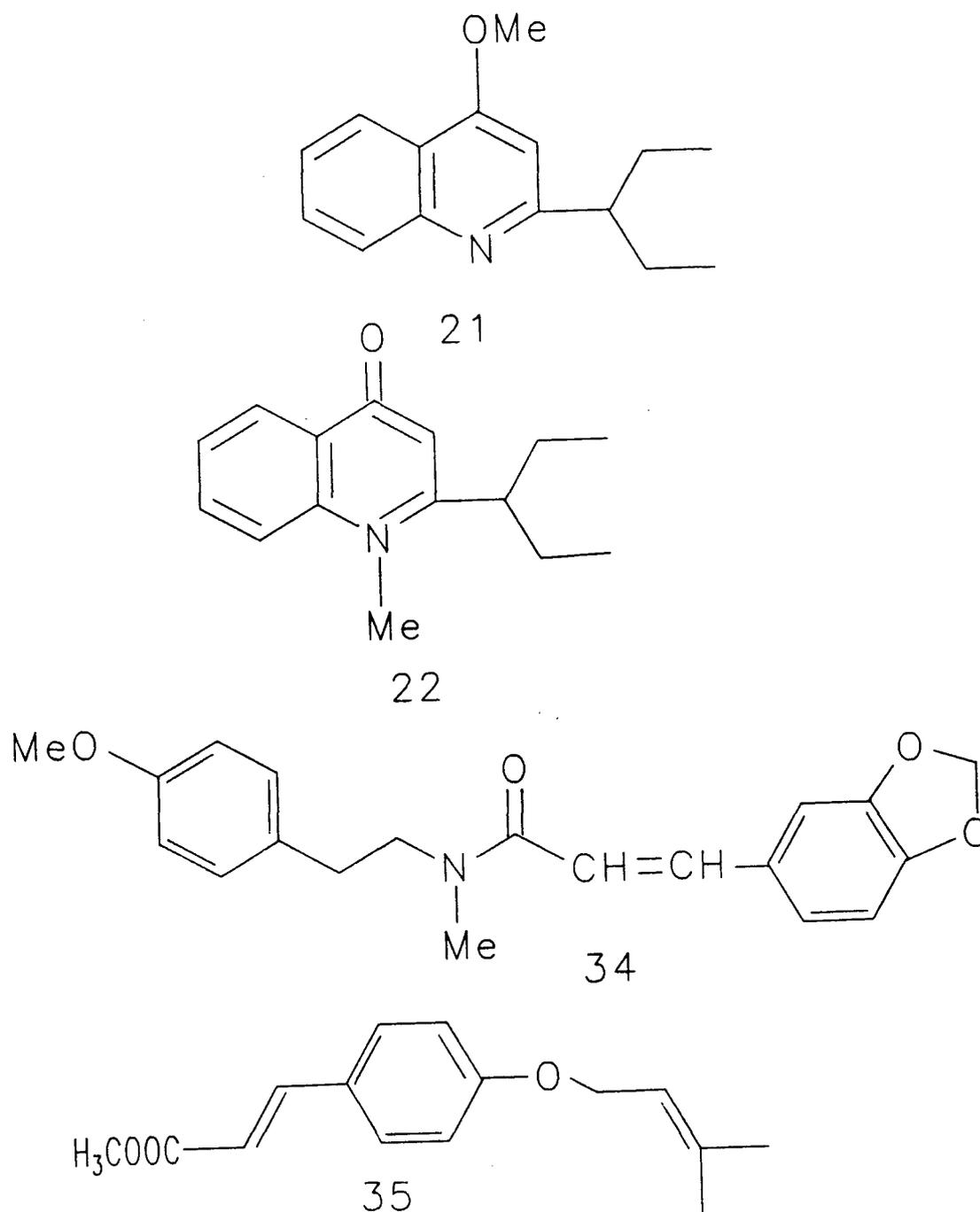
Compostos da *Esembéckia leiocarpa*

FIGURA 3

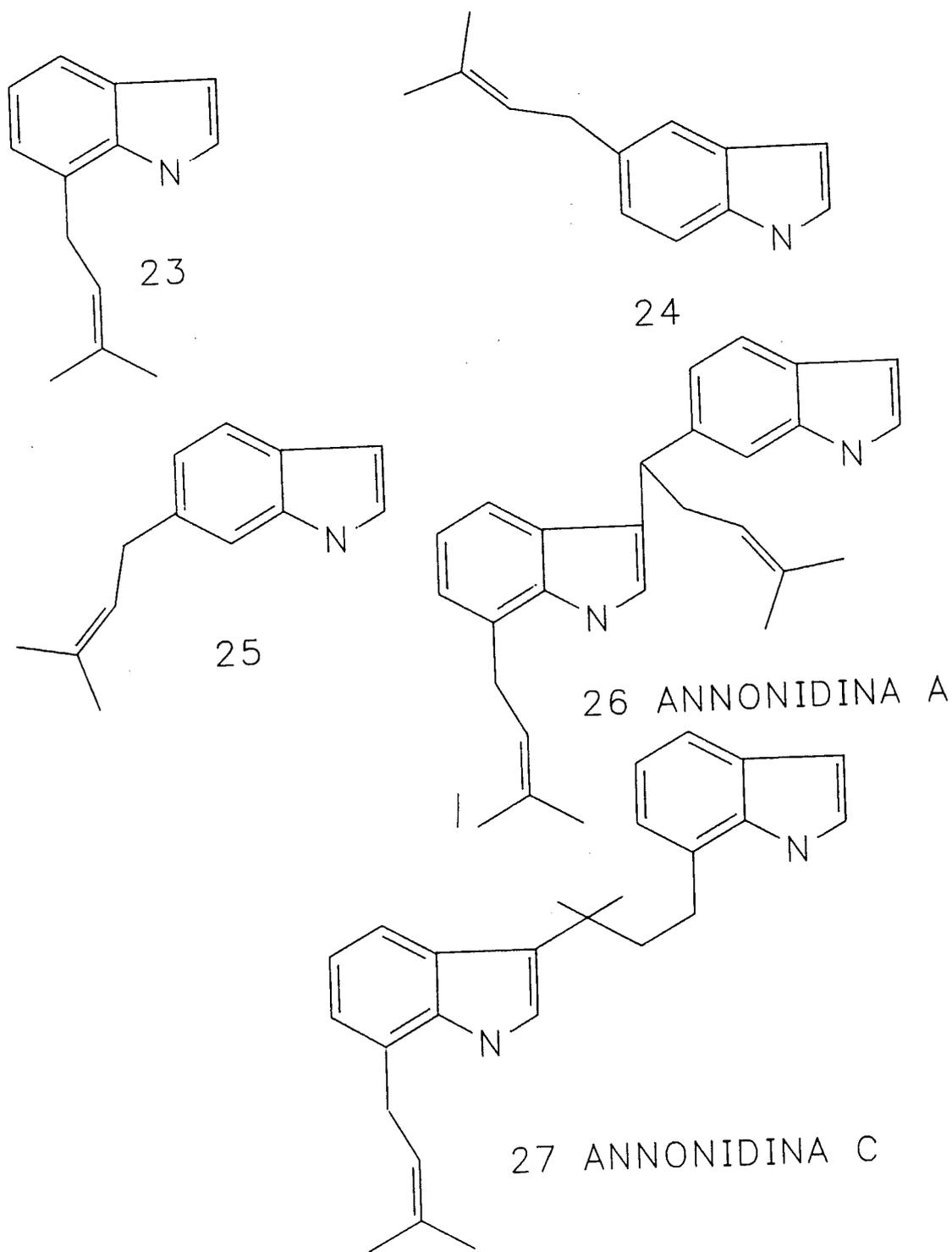
Alcalóides indólicos da *Esembéckia leiocarpa* (6)

FIGURA 4

Compostos da *Esembéckia leiocarpa*

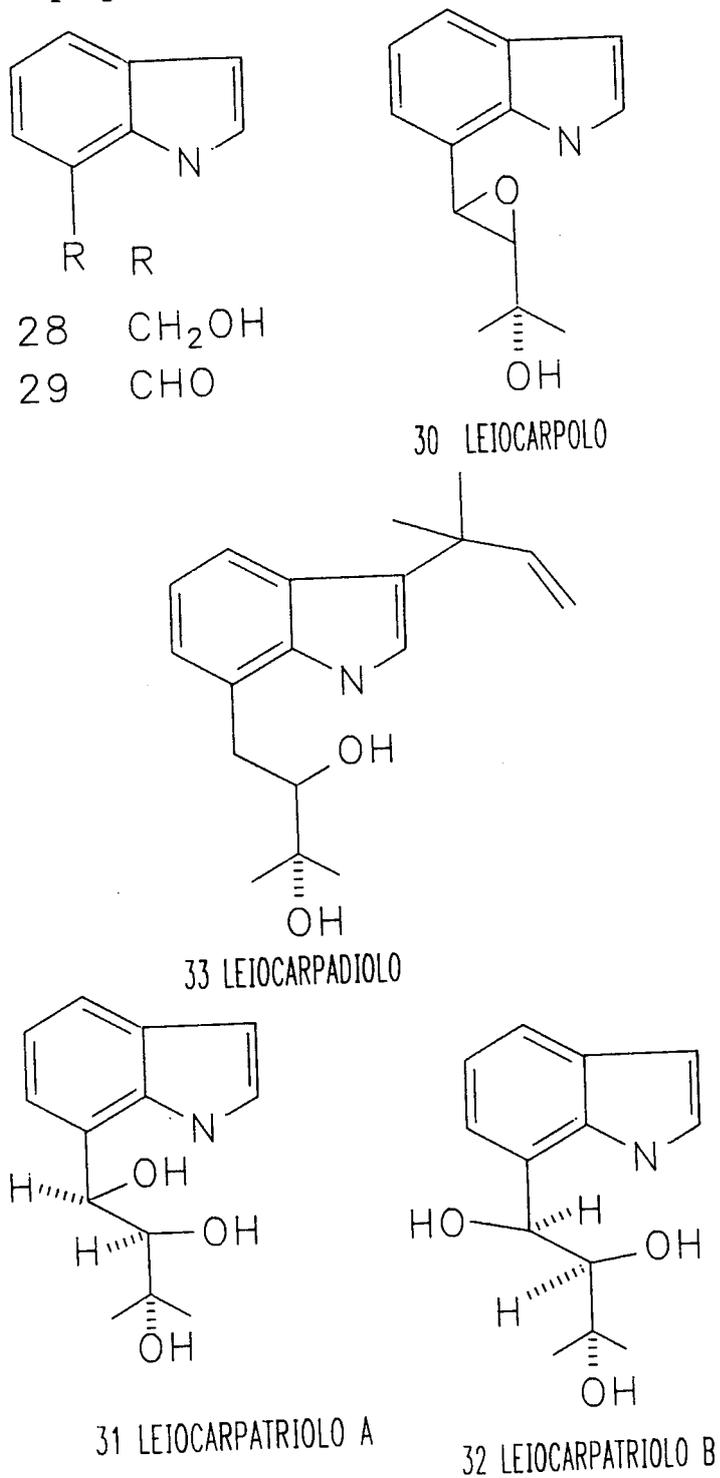


FIGURA 5

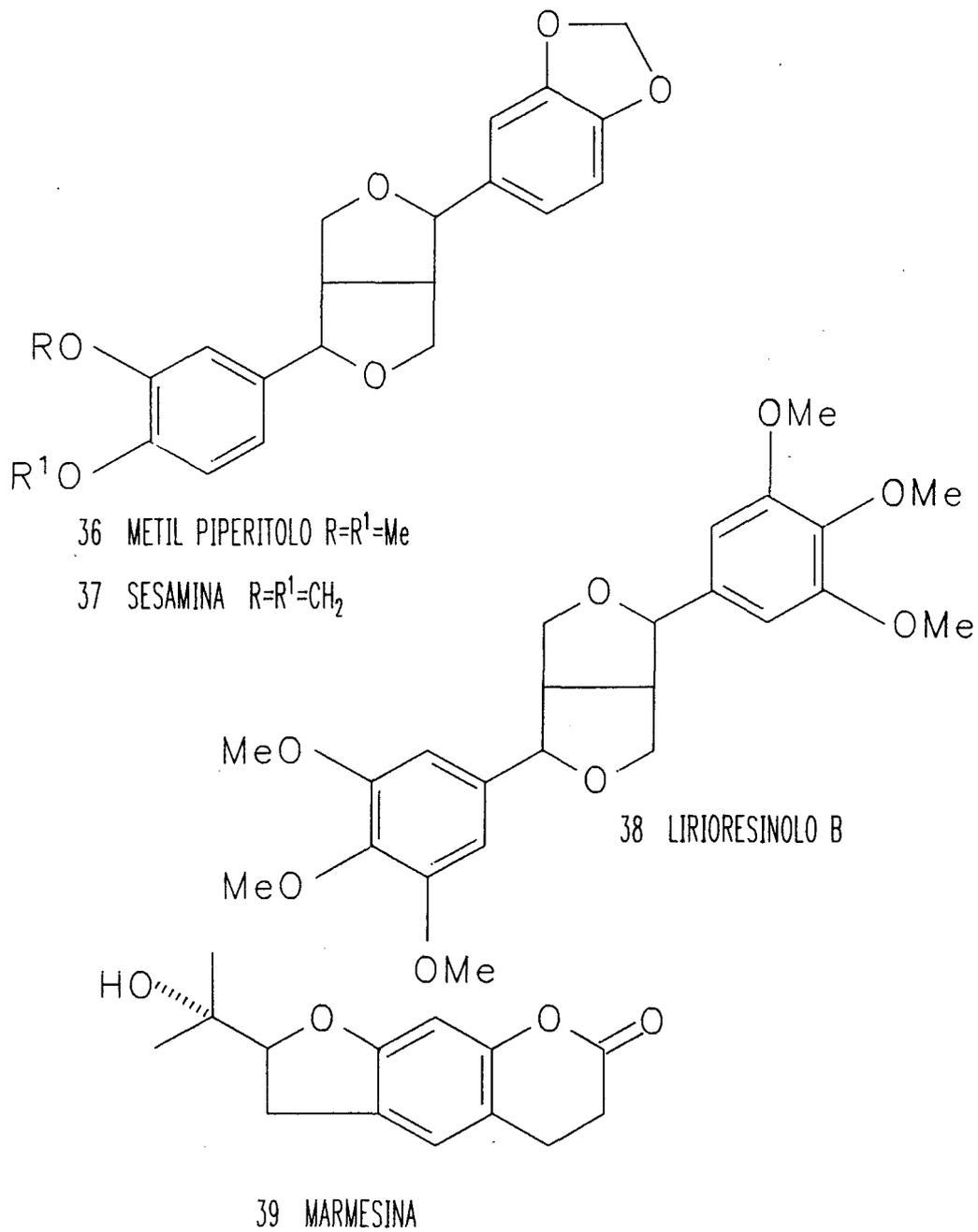
Componentes da *Esembéckia leiocarpa* (6)

FIGURA 6

1.2. A PLANTA

Esenbäckia grandiflora é um pequeno arbusto de 1-2m de altura, que cresce nas zonas tropicais da América do Sul. Foram coletados folhas e ramos no interior da ilha de Santa Catarina no município de Florianópolis estado de Santa Catarina em janeiro de 1988.

O extrato da amostra coletada em Santa Catarina apresentou composição diferente de uma amostra coletada em Maceió, estado de Alagoas, em outubro de 1986, principalmente nos metabólitos secundários, como é mostrado na tabela 1. É de interesse uma nova dihidrochalcona, apresentando uma oxigenação diversificada. Diversificação esta que pode ser atribuída a mais de um, dos seguintes fatores:

- a) época de coleta do material botânico;
- b) diferença climática (árida em Maceió, e úmida em Santa Catarina);
- c) existência de duas variedades ou híbridos ;
- d) erro na identificação botânica das amostras.

1.3. GENERALIDADES SOBRE DIHIDROCHALCONAS

As dihidrochalconas são compostos similares as chalconas, e que podem ser obtidas por redução da dupla ligação das lignanas. Como para as chalconas, o anel **A** deriva da acetilcoenzima **A** e por isso apresenta uma oxigenação do tipo floroglucinico, mais raramente do tipo resorsínico. O anel **B** deriva do precursor shikimato e apresenta uma oxigenação 4 ou 3-4. A enumeração dos carbonos é igual as chalconas (FIGURA 7.1).

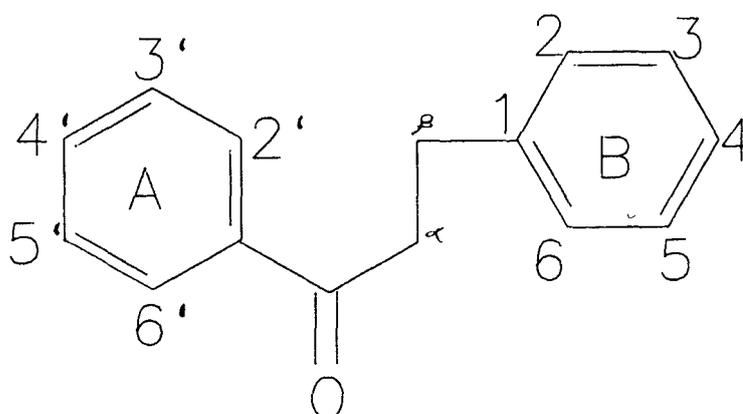


FIGURA 7.1

As dihidrochalconas são pouco difusas na natureza. Atualmente se conhece em torno de 5 dezenas [7], algumas sob a forma de glicosídeos. Só recentemente foram isoladas dihidrochalconas como constituintes prenílicos, das famílias Leguminosa e Composita [7], mas nenhuma da família das rutáceas [8]

Do ponto de vista espectroscópico, as dihidrochalconas pela ausência de conjugações, apresentam um único máximo de absorvância no U,V. (270-290)nm devido ao cromóforo benzoílo (anel A). No espectro de $^1\text{HMRN}$ são características dois tripletes ($J=7\text{Hz}$) com δ 2.80-2.70 e δ 3.30-3.20 devido aos metilenos em α e β , respectivamente [9]. Por outro lado no espectro de $^{13}\text{CRMN}$, poucos dados são disponíveis em literatura, mas um diagnóstico são os sinais correspondentes a carbonila encontrados em δ 200 -205, e o C- α em 39 - 40 e o C- β em 29 - 30 ppm [10]. Na fragmentação no espectro de massa das dihidrochalconas predomina na ruptura α a carbonila que produz os dois íons **a** e **b** (figura 7). A intensidade dos dois íons é determinada pelos substituintes, em particular pela oxigenação. Um terceiro íon **c** produto da ruptura β a carbonila deve-se a estabilidade de uma estrutura do tipo tropílio (FIGURA 7).

Principais fragmentos de massa

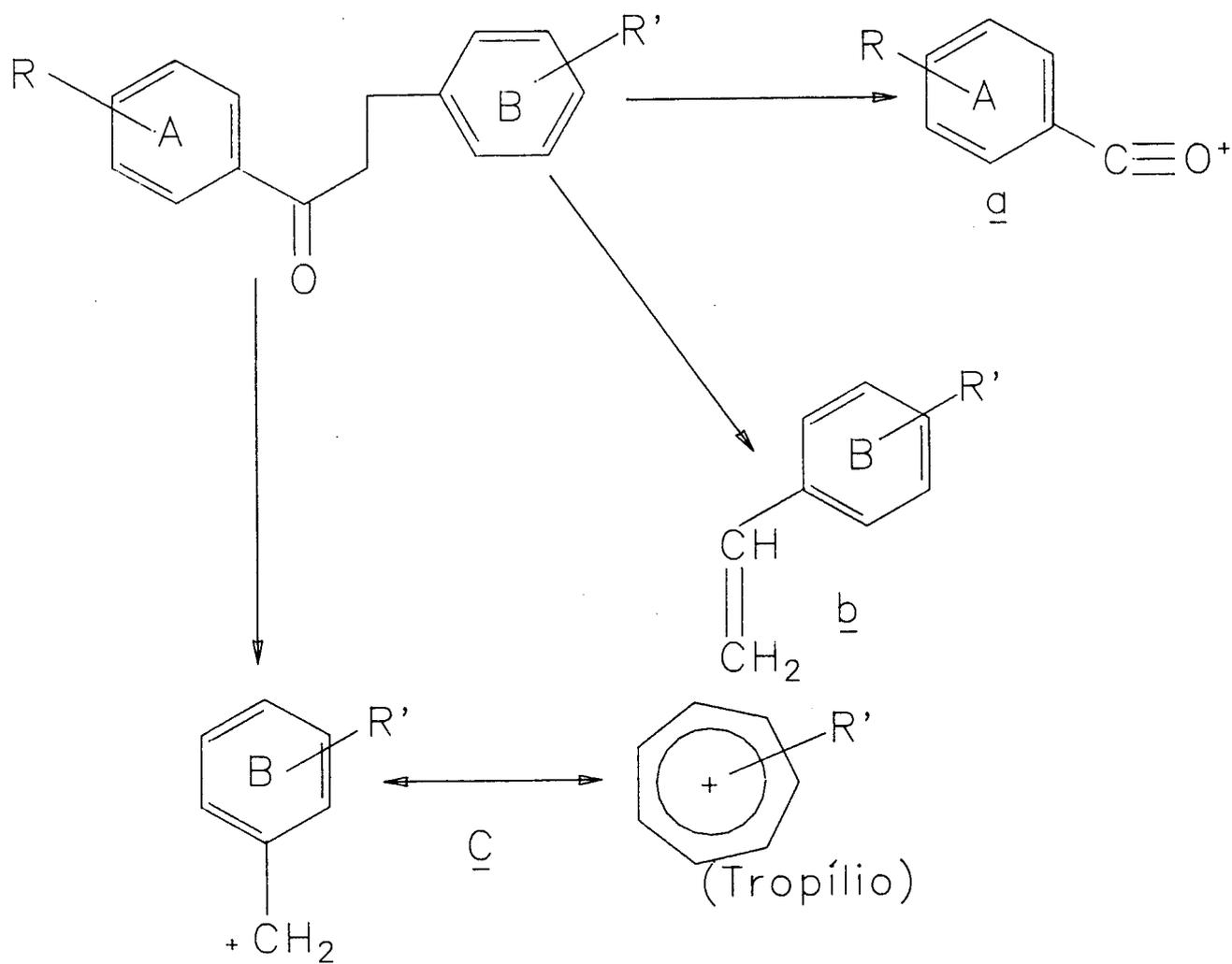


FIGURA 7

1.4. OBJETIVO

De particular interesse quimiotaxonômico são os alcalóides indólicos isolados (23-24), figura 4 que nunca foram encontrados antes no gênero *Esembéckia* e raramente na família das Rutáceas [1]. Ocorre porém que os estudos anteriores [2-5] sobre o gênero, foram realizados com as frações mais polares, portanto, com os à alcalóides mais solúveis em ácido. Por outro lado os derivados indólicos (23-24) figura 4, são pouco polares e não extraídos com ácido; por isso não se podia imaginar que os derivados indólicos fossem constituintes do gênero *Esembéckia*.

Para verificar isto propomo-nos ao estudo de uma segunda espécie; *Esembéckia grandiflora*, que é o objetivo desta tese.

CAPITULO II

2.1.RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1.1. NOVAS DIHIDROCHALCO NAS DA *ESENBÉCKIA GRANDIFLORA*

Das folhas da *E. Grandiflora* foram isolados 3 novas dihidrochalconas, (40), (41) e (42) às quais foram atribuídas as estruturas 40 41 42.

Com os dados de $^{13}\text{CRMN}$ (Tabela 3), $^1\text{HRMN}$ (Tabela 2) e com o valor do íon molecular do espectro de massa, pode-se atribuir a fórmula mínima indicada na Tabela 4. Por outro lado, com base nos dados de U.V. (Tabela 4), $^1\text{HRMN}$ (Tabela 2; 2 tripletes a δ 2.80 - 2.89 e δ 3.34) e $^{13}\text{CRMN}$ (Tabela 3; 2 metilenos a δ 46.9 - 46.7 e δ 31 - 29.7) pode-se atribuir aos três compostos uma estrutura comum, com substituintes diferentes.

Da coleta feita em Maceió foram isoladas e identificadas, em Roma na Itália, as dihidrochalconas 38 e 39, que serviram de referência para que pudéssemos identificar os compostos isolados da coleta feita em Florianópolis.

A dihidrochalcona mais simples ($39 \text{ C}_{30}\text{H}_{38}\text{O}_5$) mostra na região aromática do espectro $^1\text{HRMN}$ (Figura 9) o sinal de um próton isolado (δ 6.70) e de 4 prótons acoplados orto ($J= 8.1 \text{ Hz}$) atribuídos aos prótons 2, 6 (δ 7.09) e 3, 5 (δ 6.3 - 5) de um anel B oxigenado na posição 4. A presença de 4 hidroxilas fenólicas, das quais uma quelada (δ 14) a carbonila, sugerida pelo espectro $^1\text{HRMN}$, confirmada por metilação com diazometano, que levou a formação de um tetrametil derivado

$C_{25}H_{26}O(OMe)_3$, e de um trimetil derivado, $C_{25}H_{26}O(OMe)_4$, contendo ainda um OH "quelado".

A natureza do último substituinte (10 átomos de carbono) foi estabelecida como sendo um geranila, com base nos dados de ^{13}C RMN (Figura 10) e 1H RMN confrontados com os dados da literatura para tais cadeias [11.12].

Com relação a disposição dos substituintes no anel A (3 hidroxilas e um geranila) os dados de ^{13}C RMN indicam uma oxigenação do tipo floroglucínico, em quanto os três carbonos aromáticos ligados ao oxigênio tem valores (δ 160-155) que eliminam qualquer outro tipo de oxigenação, que signifique dois grupos hidroxilas vizinhos, que teriam valores de (δ 145-140). Portanto a dihidrochalcona M-2 tem a estrutura 39 mostrada na

Figura 8

A dihidrochalcona M-1, $C_{30}H_{38}O_5$, difere da M-2 (39), $C_{25}H_{30}O_5$, por um C_5H_8 que pode ser assinalado como uma cadeia prenílica (3-metil-2-butenila) com base nos dados de 1H RMN (Tabela 2) e ^{13}C RMN (Tabela 3). A estreita coincidência dos dados de C para M-1 e M-2 dos carbonos do anel **A** (1"-6") e do geranila (1"-10") sugere que a cadeia prenílica de M-1 deve estar localizada no anel **B**, como veio a ser confirmado pelo espectro de massa. O espectro de 1H RMN mostra de fato para tal anel só os sinais de tres prótons aromáticos, acoplados orto. orto-meta e meta. A localização da cadeia prenílica sobre C-3 deriva do espctro de ^{13}C RMN, no qual existe um único carbono ligado a prótons (C-5, δ 115.5) e orto ao C-4 OH. Portanto a dihidrochalcona M-1 foi atribuída a estrutura 38

A dihidrochalcona F-2 $C_{30}H_{38}O_6$ tem uma hidroxila a mais em relação a dihidrochalcona 39. No entanto apresenta a mesma substituição no anel A ($^{13}CRMN$ Tabela 3, Carbonos 1'-6', 1'''-10'''). Pela presença de sinais devido a dois prótons acoplados meta (H-2 δ 6.64; H-6 δ 6.53), e no espectro de $^{13}CRMN$ sinais devido a dois carbonos oxigenados em posição orto um ao outro (C-4 δ 141,7, C-5 δ 145,0); foi atribuída a estrutura 41 Figura 8.

A dihidrochalcona F-1 $C_{30}H_{36}O_6$ se comparada com F-2 observamos que possui 2 prótons a menos. No espectro de 1HRMN (Tabela 2) o sinal de um anel cromênico (dois dubletos, $J=9.9$ Hz, a δ 6.33 e 5.69; singlete pelas duas metilas a δ 1.18) substitui aqueles dos substituintes prenílicos. Diferença análoga foi encontrada nos dados de $^{13}CRMN$ (Tabela 3), como os outros sinais são coincidentes, indicando o mesmo tipo de substituinte no anel B (carbonos 1''-5'' e C-3). Isto nos leva a estrutura 40, confirmada pelo estudo do espectro de massa.

A dihidrochalcona F-3 $C_{25}H_{30}O_6$, foi finalmente atribuída a estrutura 42. Diferenciando-se da dihidrochalcona F-2 41 pela presença dos sinais devido ao substituinte no carbono 2 do anel A, constituindo-se de uma cadeia prenílica (3-metil-2-butenílica) ao invés da geranílica.

2.1.2. FRAGMENTAÇÃO DAS DIHIDROCHALCONAS DA *ESEMBÉQUIA GRANDIFLORA*.

A presença das cadeias prenílica e geranílicas nas dihidrochalconas 40 41 42 não modifica substancialmente a fragmentação prevista para esta classe de compostos (fig. 7), mas a enriquece, com a presença de ions, produtos da perda destes

substituintes. Veja os ions do tipo a, b e c que resultam e a, b e c Figura 11. Os principais ions da fragmentação das dihidrochalcona da *E. grandiflora* estão na Tabela 5 enquanto que o espectro de massa completo está na parte experimental.

O estudo da Tabela 5 coloca em evidência a possibilidade de atribuir um determinado substituinte a um anel ou ao outro. Por exemplo na dihidrochalcona F-2 41 o substituinte gerânico pode estar no anel A pela presença do ion a a m/z 289 (ao invés que a m/z 221 como na F-3, 42) enquanto os ions derivados do anel B são os mesmos para ambos. Para a dihidrochalcona F-1 40 a perda de uma das metilas da cromona leva a formação de um ion oxônio e direciona a fragmentação segundo b" (Figura 11).

A certeza nas atribuições das estruturas pode ser verificada observando-se os deslocamentos nos metil derivados. Por exemplo no trimetil derivado da dihidrochalcona 38 os ions a e a são deslocados de 28 μ (42 μ para o tetrametil derivado), enquanto que os derivados do anel B (b, b, c e c) são deslocados de 14 μ .

Concluindo, a fragmentação do espectro de massa constitui-se numa prova para confirmar as estruturas propostas 40,41 e 42.

2.1.3. CICLIZAÇÃO DA DIHIDROCHALCONA 41

Em ambiente ácido um prenilo adjacente a um OH fenólico cicliza para dar o correspondente cromano, enquanto que se não há o OH adjacente adiciona-se água a dupla ligação (Figura 12). Esta reação é considerada de alto valor diagnóstico, e é largamente

utilizada na determinação da estrutura de produtos naturais fenólicos e prenilados.

Uma cadeia geranilica deverá comportar-se de maneira análoga. Produtos fenólicos contendo um substituinte geranílico, como flavonóides [7], cumarinas [13] e xantonas [14], são mais raros na natureza e, a reação de ciclização para determinação da estrutura pouco usada conseqüentemente os produtos de ciclização pouco descritos [15,16]. Portanto seria muito interessante estudar-se mais profundamente a ciclização de uma das dihidrochalconas com substituintes geranílicos.

O tratamento da dihidrochalcona F-2 41 com ácido trifluoracético levou a formação de 4 compostos F2-A1 43, F2-A2 44, F2-B1 45, F2-B2 46 (Figura 13)

A atribuição das estruturas deriva das seguintes considerações:

- a) O pico molecular no espectro de massa permite distinguir entre 43-44 (M 494) e 45-46 (M 512);
- b) O deslocamento batocrômico do máximo no espectro de UV pela adição de acetato de sódio, indicativo [17] da presença (ou ausência) de uma oxidrila fenólica livre na posição para à carbonila, permite distinguir entre 44 e 46 (deslocamento batocrômico de 37 nm), e 43, 45 (nenhum deslocamento batocrômico);
- c) Dados de $^{13}\text{CRMN}$, baseados no experimento ATP (Tabela 6), são particularmente significativo; os compostos 45, 46 apresentam o sinal de um terceiro carbono alifático oxigenado (C-8'') e de um CH (C-2'') a δ 19.2, enquanto os compostos 45 46 apresentam um sinal de um CH (C-2'') a $\delta=47$. Ajudam no diagnóstico, também, os valores relativos as metilas 4'', 9'' e 10'' (Tabela 6)

d) ao contrário, os dados de $^1\text{HRMN}$ (Tabela 7) são menos indicativos, exceto o sinal (δ 3.2) devido a oxidrila alcoólico nos compostos 45, 46.

O mecanismo de ciclização se trata de uma adição eletrofílica a uma dupla ligação em meio ácido. Esta reação ocorre em três etapas: 1) Ataque de uma espécie eletrofílica, no nosso caso H^+ ;

2) Formação de um carbocátion;

3) Combinação do carbocátion com um nucleófilo.

O ataque do H se dá de tal forma a favorecer a formação do carbocátion mais estável, isto é, o carbocátion terciário. A espécie nucleofílica poderia ser a H_2O presente no meio, assim como os OH fenólicos em orto ao geranila, muito mais favorável por ser adjacente.

No caso de compostos geranilados ao invés de um simples carbocátion terciário, como ocorre com substâncias preniladas, é possível que o ataque ocorra de duas maneiras (Figura 14).

1) Protonação do geranila e adição do HO em orto, nos levará a compostos do tipo 45 e 46 (Figura 14a).

2) Ciclização preliminar, com uma transposição do carbocátion, que interagirá com o OH fenólico em orto fornecendo os compostos 43 e 44 (Figura 14b), que de fato não apresentam nenhuma variação no peso molecular.

2.1.4 CUMARINAS DA *ESEMBÉCKIA GRANDIFLORA*

Das raízes foram isoladas seis cumarinas, 14, 15, 47 e 48 das quais duas nunca isoladas anteriormente 49 e 50.

As primeiras quatro foram identificadas como pinpinelina (47), isopipinelina (14), imperatorina (15) e xantotosina (48) (Figura

15), baseando-se nos dados de $^1\text{HRMN}$ (Tabela 8) e o confronto cromatográfico com amostras autênticas.

A primeira cumarina 49 $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_5$, apresenta no espectro $^1\text{HRMN}$ (Figura 17) os mesmos sinais da xantotossina 48 (Tabela 8), $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{O}_4$, exceto aquele atribuído a H-5. Nesta posição pode-se razoavelmente colocar o substituinte $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}$. A natureza do substituinte foi esclarecida por $^{13}\text{CRMN}$ (Tabela 9), que mostra ademais os sinais da xantotossina, uma carbonila (δ 191.2), um C insaturado trissubstituído (δ 125.6), de um carbono tetrasubstituído (δ 151) e de duas metilas (δ 28.4 e 21.4). Os sinais de $^1\text{HRMN}$ (Figura 17) atribuídos a tal estrutura $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}$ (δ 6,5, 1H; δ 2.29 e δ 2.06, 3H cada um) estão de acordo com a literatura [19-20] para um grupo seneciólico, que se encontra somente em outras três cumarinas.

A segunda cumarina 50, $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_4$ mostra no espectro $^1\text{HRMN}$ (Figura 18) muitos sinais em comum com os sinais do espectro da chalepina, 51 [21]. A única diferença está nos sinais dos prótons aromáticos, que se apresentam como dois singletes ($\delta=7.13$ H-5, $\delta=6.68$ H-6) com acoplamento orto ($J=8.5$ Hz) em 50 (Figura 18). Diferença análoga se encontra nos dados de $^{13}\text{CRMN}$ (Tabela 9) em particular nos carbonos C-5, C-6 e C-8). Portanto a cumarina 50 das raízes da *E. grandiflora* é um isômero angular da chalepina.

Dos ramos foram isolados duas cumarinas até então desconhecidas e uma conhecida, para as quais foram atribuídas as estruturas 52, 53 e 54 (Figura 16).

As duas cumarinas **A** (52) e **B** (53) por hidrólise ácida produzem facilmente a umbeliferone (7-hidroxycumarina). Analogamente no espectro de massa o íon mais intenso se encontra em

$m/z=161$ (que corresponde a ion molecular da umbeliferone). No espectro de $^{13}\text{CRMN}$ (Tabela 9), por outro lado aparecem dez sinais a mais.

Pela facilidade com que a molécula perde o substituinte no espectro de massa, as duas cumarinas 53 52 podem ser consideradas derivados O-geranílicos oxigenados da umbeliferone.

No espectro de $^1\text{HRMN}$ (Figura 19) a cumarina **A** (52) mostra os seguintes sinais para a cadeia O-geranilica: tripleto (1H, $J=6.6$ Hz) a $\delta=4.62$; duplete (1H, $J=7.5$) a $\delta=5.18$; duplete (2H, $J=6.6$ Hz) a $\delta=4.62$; multiplete (1H) a $\delta=4.52$; multiplete (2H) a $\delta=2.25$; e tres singletos (3H) $\delta=1.82$, 1.71 e 1.69 . Por irradiação do multiplete a $\delta=4.52$ o sinal a $\delta=5.18$ se transforma em um singlete, e o sinal a $\delta=2.25$ em duplo duplete. Com base nestes dados e também nos valores dos carbonos 1 a 10" (Tabela 9), à cumarina **A** pode-se atribuir a estrutura 52.

No espectro de $^1\text{HRMN}$ (Figura 20) a cumarina **B** (53) mostra os seguintes sinais para a cadeia O-geranilica: duplete (1H, $J=15.6$ Hz) a $\delta=5.57$; duplo dublete (1H), $J=5.5$ e 15.6 Hz) a $\delta=5.51$; tripleto (1H, $J=6.3$ Hz) a $\delta=5.39$; duplete (2H, $J=6.3$ Hz) a $\delta=4.60$; duplete (2H, $J=5.5$ Hz) a $\delta=2.78$; singlete (3H) a $\delta=1.74$; singlete largo (1H) deslocável com D_2O , a $\delta=1.60$; e um singlete (6H) a $\delta=1.32$. Por irradiação do sinal a $\delta=2.78$, o sinal a $\delta=5.51$ se transforma em um dublete ($J=15.6$ Hz, trans). Com base nestes dados e nos valores para os carbonos de 1''' a 10''' (Tabela 9) à cumarina **B** pode-se atribuir a estrutura 53.

As características espectrais da terceira cumarina 54 (veja parte experimental) extraída dos ramos são coincidentes com os

publicados [24-26] par o (+)heraclenol. Levando-se em consideração o valor negativo do poder rotatório, o composto 54 foi identificado como (-)heraclenol, até agora nunca citado na literatura [13].

2.1.5. OUTROS COMPOSTOS

Outros compostos foram isolados da planta; das folhas foram isolados kanferol-3-raminosina, 55, quercitina-3-raminosina, 6 (-) epigallocatequina, 57, (Figura 21). Das raízes foram isolados os seguintes alcalóides furoquinolínicos: kokusagenina, 2, maculina, 3, flindersiamina, 4, (Figura 1), skimmianina, 58 γ -fagarina, 59 (Figura 15).

Tabela 1. Metabólitos secundário isolados da *E. grandiflora*

Dihidrochalconas	F-1	40
	F-2	41 4, 5, 2", 4", 6"
	F-3	42
Outros flavonóides	Kanferol-3-Raminoside	55
	Quercitina-3-Raminoside	56
Cumarinas	Cumarina A	52
	Cumarina B	53
	Umbilliferone	

Tabela 2. Dados de $^1\text{HRMN}$ das dihidrochalcona 38-42

^1H	38	39	F-1 (40)	F-2(41)	(F-342)
5'	6,07 (s)	6,07(s)	6,08(s)	6,08(s)	6,06(s)
2	7,0 (d;2,1)	7,09(d;8,1)	6,66(d;1,8)	6,64(d;1,8)	6,6(d;2,0)
3		6,75(d)			
5	6,74(d;8,1)	6,75(d)			
6	6,91(dd)	7,09(d)	6,48(d)	6,53(d)	6,51(d)
1"	3,30(d;7,5)		6,33(d;9,9)	6,36-3,26(m)	6,34-3,32(m)
2"	5,36(t)		5,69(d)	5,32(t;7,5)	5,30(t)
1'''	3,25(d;7,5)	3,26(d;8,2)	3,26(d;7,2)	3,36-3,26(m)	3,34-3,2(m)
2'''	5,23(t)	5,27(t)	5,25(t)	5,26(t;7,5)	5,22(t)
5''',6'''	2,15-2,0(m)	2,10-1,92(m)	2,14-1,95(m)	2,10-1,93(m)	
7'''	5,11(t)	5,10(t)	5,08(t)	5,09(t)	
Me	1,74;1,71 1,63(x2) 1,57	1,76; 1,62 1,56	1,76;1,62 1,56;1,38 (x2)	1,77;1,70 (x2)1,62; 1,56	1,73;1,68 (x2) 1,61
α	2,87(t;2,8)	2,89(t;8,4)	2,83(t;8,0)	2,82(t;7,8)	2,80(t;7,5)
β	3,34(t)	3,34(t)	3,34(t)	3,36-3,26(m)	3,34-3,20(m)
OH	14,0; 9,95 9,10; 8,0	14,0; 9,56 9,11; 8,13	13,8; 9,58 9,1; 7,5	13,8; 9,58 9,10;8,17 6,87	13,75; 9,54 9,09; 8,15 6,87

Tabela 3. Dados de ^{13}C RMN das dihidrochalconas 38-42

Carbono	38	39	40(F-1)	41(F-2)	42(F-3)
1	131,6	131,1	130,4	130,3	130,6
2	127,3	130,1	123,2	121,2	121,2
3	128,4	115,9	118,0	128,7	128,7
4	153,7	156,2	142,4	141,7	141,7
5	115,5	115,9	146,2	145,0	145,6
6	130,3	130,1	116,6	113,6	113,6
1'	105,0	105,0	105,0	105,0	105,0
2'	162,6	162,6	162,2	162,4	162,4
3'	107,9	107,8	107,8	107,8	107,8
4'	160,4	160,4	160,3	160,3	160,3
5'	94,9	94,9	95,0	94,9	95,0
6'	165,0	165,0	165,0	165,0	164,9
1"			131,7	21,8	21,9
2"			117,9	123,9a	123,9a
3"			76,9	131,4b	131,8b
4" Me			27,7	17,7	17,8
5" Me			27,7	25,7	25,8
1'''	27,3	27,4	27,4	27,3	29,0
2'''	124,1a	124,1a	124,1a	124,0a	124,1a
3'''	134,4b	134,4	135,2b	134,5b	133,6b
4''' Me	16,1	16,2	16,2	16,2	17,8
5'''	40,4	40,5	40,5	40,4	25,8
6'''	28,9	30,1	29,0	29,0	
7'''	125,1a	125,1a	125,2a	125,1a	
8'''	133,5	133,5	135,5b	133,6b	
9''' Me	17,7c	17,7	17,7	17,7c	
10''' Me	25,8d	25,8	25,8	25,8	
α	46,9	46,8	46,7	46,7	46,7
β	30,8	30,7	31,0	30,9	30,9
C=O	205,6	205,5	205,5a	205,5a	205,5a

Espectro em acetona- d_6 75 MHz (sinais baseados no ATP)

Tabela 4. Fórmula bruta das dihidrochalconas

		M ⁺	λ _{max}
M-1,38	C ₃₀ H ₃₈ O ₅	478	289
M-2,39	C ₂₅ H ₃₈ O ₅	410	289
F-1, 40	C ₃₀ H ₃₆ O ₆	492	281
F-2, 41	C ₃₀ H ₃₈ O ₆	494	289
F-3,42	C ₂₅ H ₃₀ O ₆	426	280

Tabela 5 Principais fragmentos de MS das dihidrochalconas

Íon	38	39	40 F-1	41 F-2	42 F-3
M ⁺	478 (100)	410 (22)	494 (39)	426 (100)	492 (50)
a	289 (4)	289 (4)	289 (12)	221 (38)	289 (5)
b	188 (8)	120 (11)	204 (43)	204 (59)	202 (25)
c	175 (28)	107 (100)	191 (100)	191 (86)	189 (45)
a'	165 (61)	165 (20)	165 (69)	165 (76)	165 (70)
b'	133 (11)		149 (31)	149 (24)	
c'	119 (6)		143 (24)	135 (14)	
b''					187 (100)

Tabela 6. Dados de ^{13}C RMN dos produtos de ciclização

Carbono	F2-A1(43)	F2-A2(44)	F2-B1(45)	F2-B2(46)
1	133.0	132.8	133.9	133.5
2	112.0	111.8	113.8	113.3
3	120.8	120.7	121.7	121.5
4	139.1	139.0	140.5	140.4
5	144.7	144.6	146.7	146.5
6	120.1	119.8	120.4	120.1
1'	104.1	105.8	105.0	106.1
2'	158.1a	156.7a	160.3a	158.0a
3'	102.9	101.6	101.6	100.9
4'	159.7a	161.0a	161.6a	162.9a
5'	95.5	95.0	95.8	95.6
6'	163.6	164.5	165.0	166.0
1"	30.4	30.1	29.8b	29.7b
2"	22.0	22.0	22.8	22.8
3"	75.0	75.2	75.1	75.0
4" Me	26.9	26.8	27.3	26.9
5" Me	26.9	26.8	27.3	26.9
1'''	33.0b	33.0b	30.5b	30.6b
2'''	47.7	46.9	19.1	19.3
3'''	79.1	79.2	78.6	79.2
4''' Me	32.0	31.8	24.7	24.3
5'''	41.4	41.3	41.0	41.3
6'''	17.0	17.4	16.5	16.9
7'''	39.6	39.7	45.1	44.8
8'''	19.7	19.6	70.2	70.3
9''' Me	20.6	20.4	29.5	29.6
10''' Me	19.8	19.8	29.5	29.6
α	45.8	45.3	46.8	46.3
β	33.6b	33.3b	33.7b	33.6b
C=O	205.0	205.3	205.1	205.4

Espectros em CDCl_3 (43,44) em acetona- d_6 (45,46) a 75 MHz.

Atribuições baseadas no experimento de (ATP).

Os valores **a** e **b** na mesma coluna podem se intercambiados.

Tabela 7. Dados de $^1\text{HRMN}$ dos produtos de ciclização de F-2

Próton	F2-A1(43)	F2-A2(44)	F2-B1(45)	F2-B2(46)
5'	5.75 s	6.0 s	5.89 s	5.96 s
2	6.66 d	6.65 d	6.57 d	6.59 d
6	6.49 d	6.49 d	6.46 d	6.45 d
1''	2.70 t	2.72 t	2.71 t	2.71 t
2''	1.80 t	1.81 t	1.79 t	1.78 t
4'',5'' Me	1.33 s	1.34 s	1.28 s	1.28 s
1'''	2.66 m	2.65 m	2.54 t	2.58 t
2'''	2.20 dd(1H)	2.55 dd(1H)	1.90-1.40 m	1.90-1.40 m
5''',6''',7'	1.95-1.62 m	2.0-1.45 m		
4''' Me	1.21 s	1.25 s	1.30 s	1.32 s
9''',10''' Me	1.0 s	1.0 s	1.16 s(6H)	1.13 s(6H)
α	3.33 t	3.33 t	3.33 t	3.34 t
β	2.87 t	2.87 t	2.82 t	2.81 t
OH	13.5	13.5	14.0	13.8
	6.9	7.5	9.65	9.5
	5.5	5.7	7.1	7.2
			3.2	3.2

Tabela 8. Dados d $^1\text{HRMN}$ das cumarinas

Próton	15	47	14	48
H-3, d, J=10Hz	6.36	6.36	6.25	6.35
H-4 d, J=10Hz	7.76	8.07	8.10	7.77
H-5, s	7.35			7.33
H- α , d, J=2.4Hz	6.81	7.05	7.0	6.80
H- β , d, J=2.4Hz	7.68	7.65	7.60	7.66
O-Me, s		4.12 4.0	4.12 (x2)	4.26
O-prenil	5.0 d(2H) 5.60 t(1H) 1.73 s(3H) 1.71 s(3H)			

Espectro em CDCl_3

Tabela 9. Dados de ^{13}C RMN das cumarinas

carb.	48	49	50	51	52	53	Umbelli ferone
2	160.4	159.7	150.8	160.0	161.1	161.3	160.7
3	114.5	115.8	130.8	130.5	113.2a	113.0a	11.5
4	144.4	141.9	138.2	137.9	143.1	143.4	144.3
5	113.1	124.6a	128.4	123.1	128.9	128.7	129.3
6	126.2	125.3a	106.3	124.5	113.5a	113.0a	113.3
7	147.6	146.3	162.8	162.1	162.1	162.0	161.1
8	132.7	134.2	113.1a	96.8	101.7	101.6	102.5
9	142.9	143.2	150.4	152.2	156.1	156.0	155.7
10	116.5	114.8	113.4a	112.6	112.5	112.5	111.5
α	106.8	106.8					
β	146.6	147.2					
1'''		191.2	27.6	29.5	65.2	65.4	
2'''		125.6	91.1	90.8	121.9	123.8	
3'''		151.0	71.8	71.6	139.0	141.0	
4'''		28.2	25.8	24.3	16.5	16.7	
5'''		21.4	23.8	24.3	47.7	42.1	
6'''			40.3	40.2	66.3	119.3	
7'''			145.5	145.4	127.3	140.4	
8'''			112.1	111.9	136.0	63.9	
9'''			26.1	26.1	17.4	29.8	
10'''			26.1	26.1	25.4	29.7	
OMe	61.2	61.3					

Espectros em CDCl_3 a 75MHz.

Os valores de a na mesma coluna podem ser intercambiados.

Tabela 10. Dados $^1\text{HRMN}$ das furoquinolinas

Próton	2	3	4	6	58
H-2,d,a	7.52	7.48	7.53	7.60	7.66
H-3,d,a	6.95	6.93	7.03	7.06	7.11
H-5	7.38 s	7.40 s	7.23 s	8.03 d,e	7.85 dd,b
H-6				7.25 d,e	7.37 dd,c
H-7					7.07 dd,d
H-8	7.30 s	7.22 s			
Dioxi- metleno		6.02 s	6.08 s		
O-Me	4.30 s	4.30 s	4.37 s	4.45 s	4.45 s
	4.0 s		4.20 s	4.12 s	4.20 s
	3.98 s			4.04 s	

Espectro em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, 9/1.

a. $J=2.7\text{Hz}$

b. $J=8.8$ e 1.2Hz

c. $J=8.4$ e 7.8Hz

d. $J=7.8$ e 1.2Hz

e. $J=9.3\text{Hz}$

Novas dihidrochalconas da *Esenbékia grandiflora*

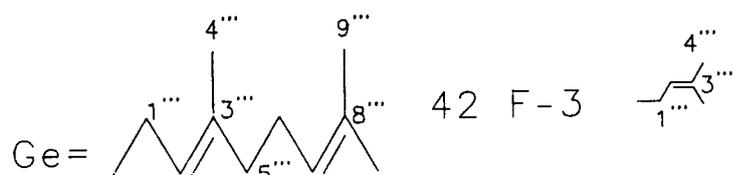
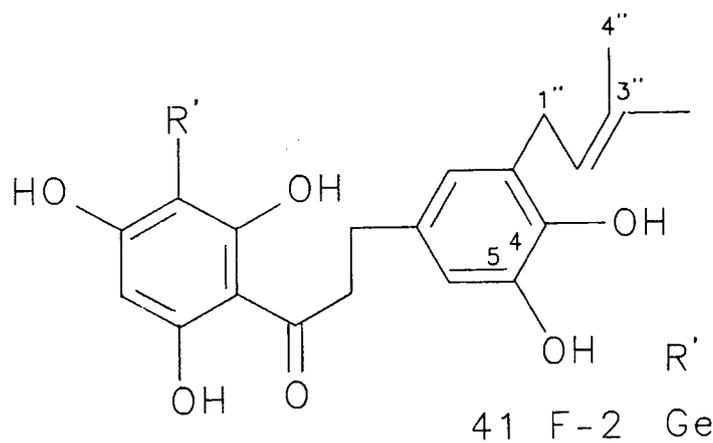
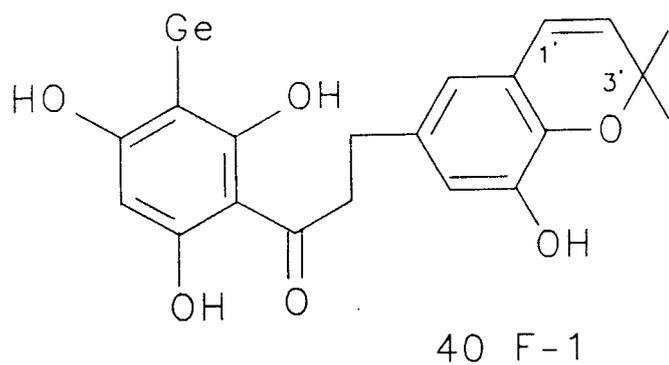
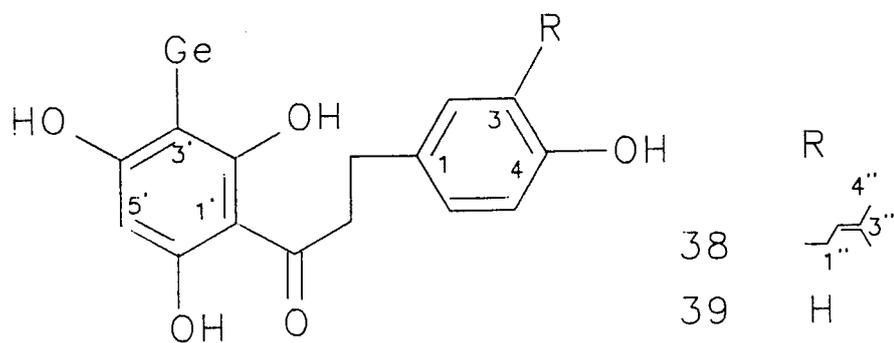


FIGURA 8

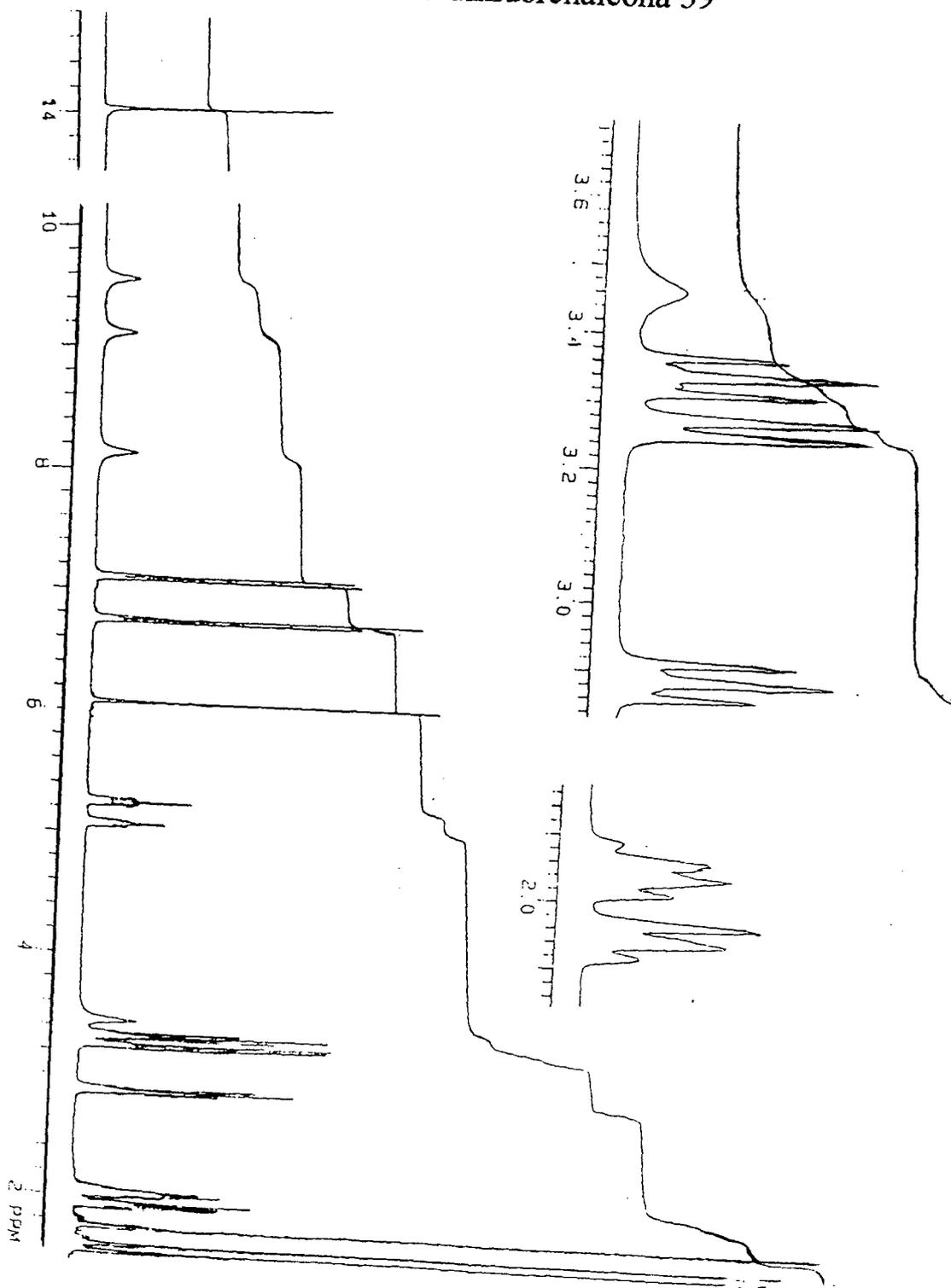
Espectro $^1\text{HMRN}$ da dihidorchalcona 39

FIGURA 10

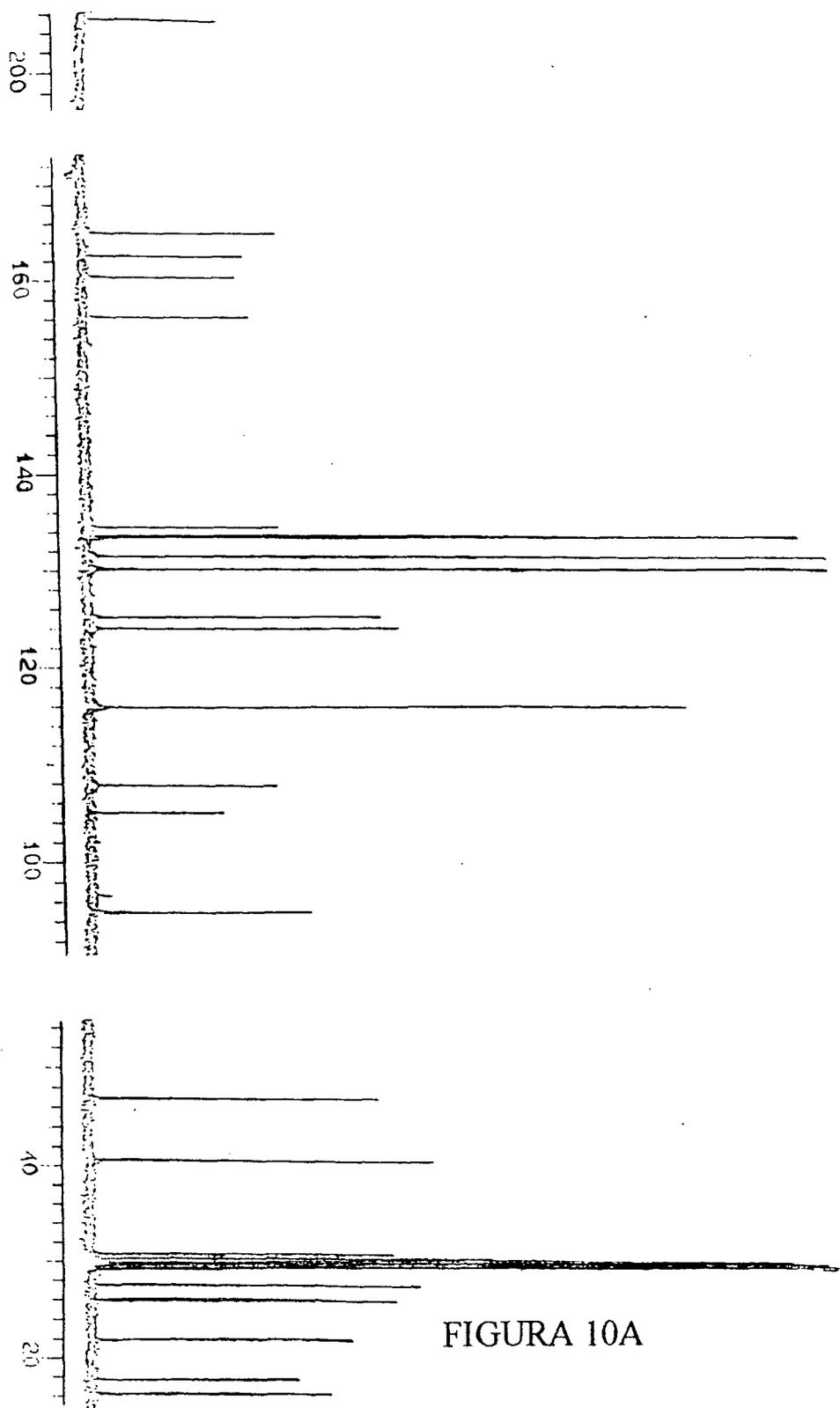
Espectro de ^{13}C RMN da dihidrochalcona 39

FIGURA 10A

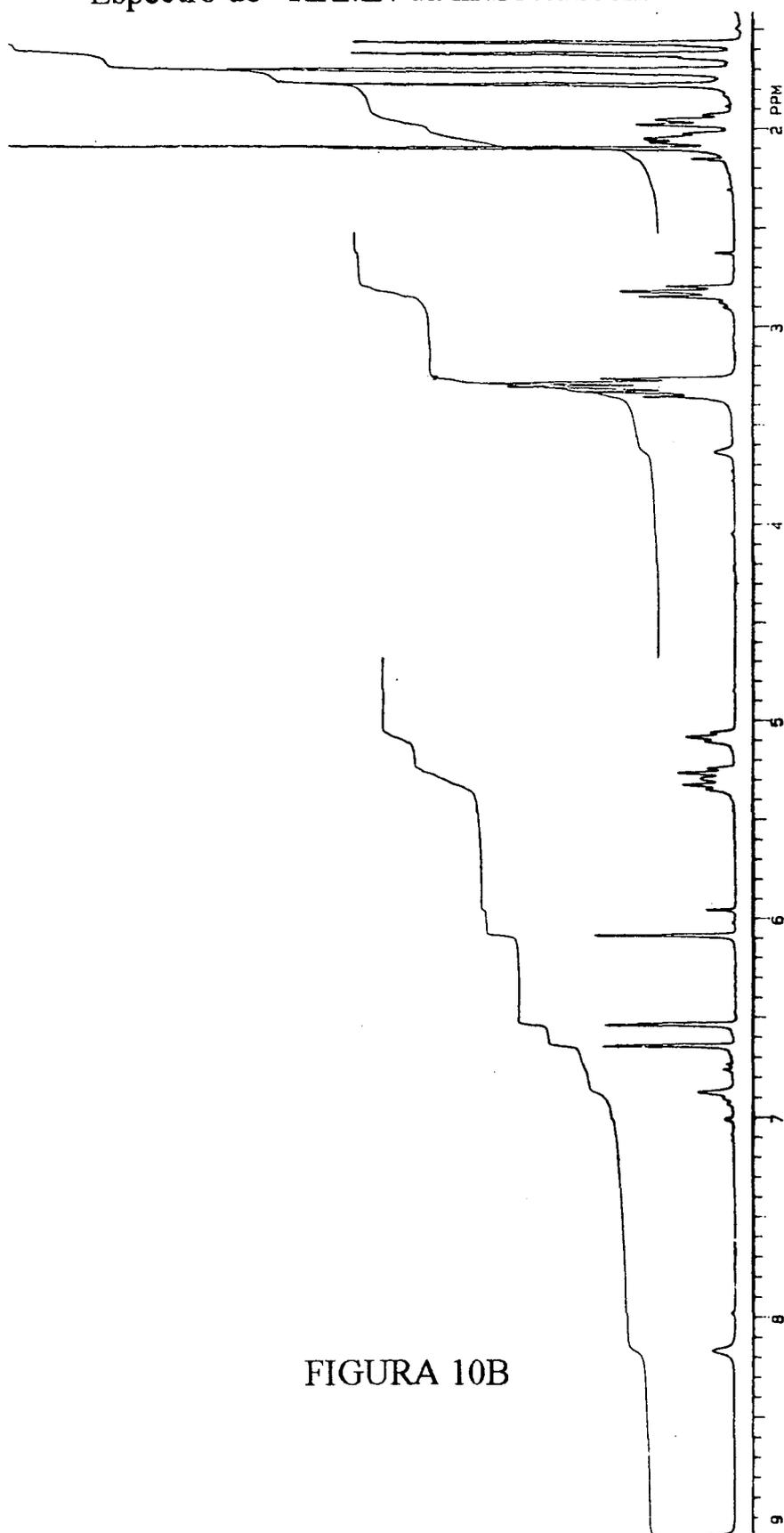
Espectro de ^1H RMN da hidrochalcona 41

FIGURA 10B

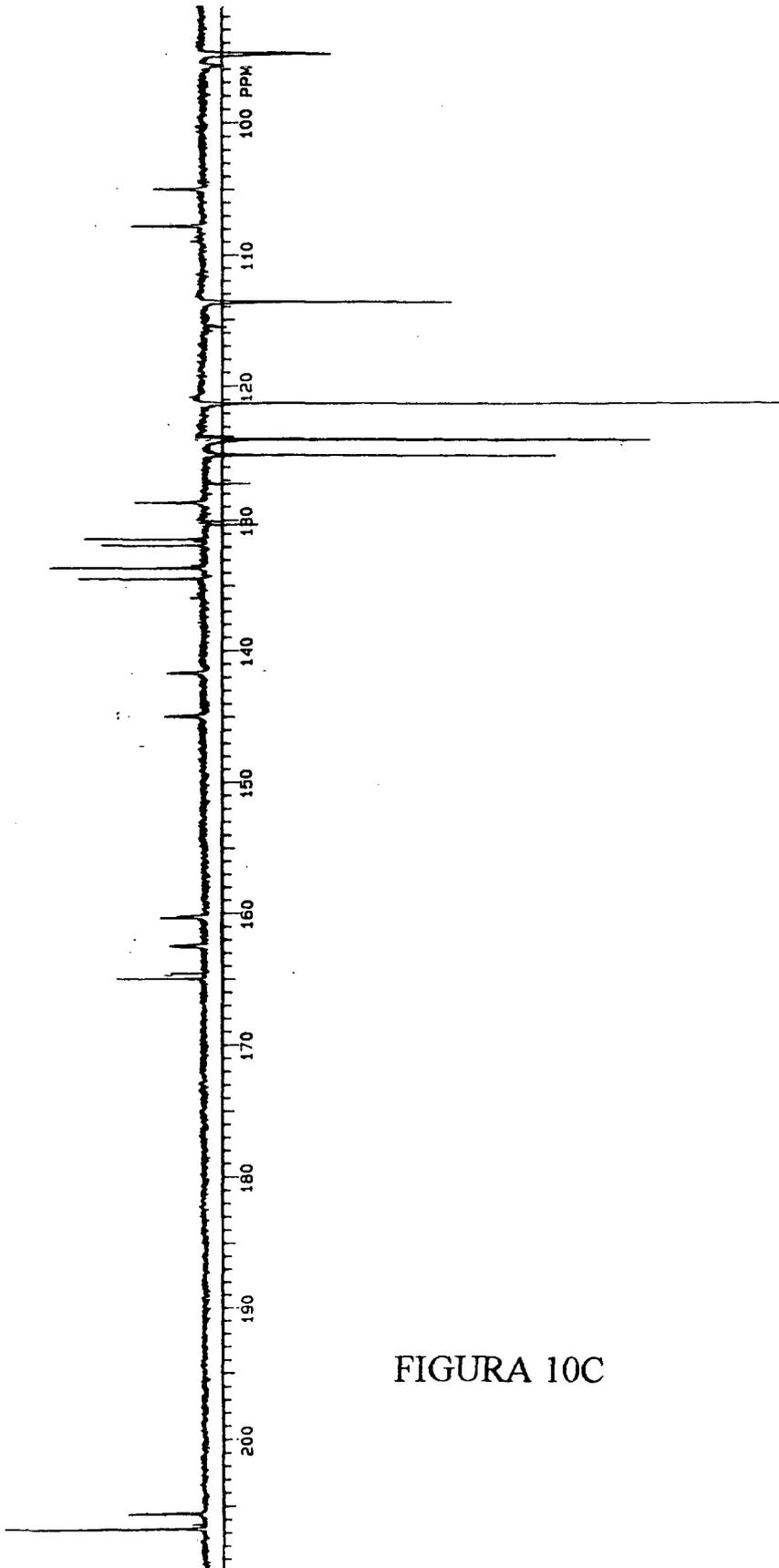
Espectro de ^{13}C RMN da hidrochalcona 40

FIGURA 10C

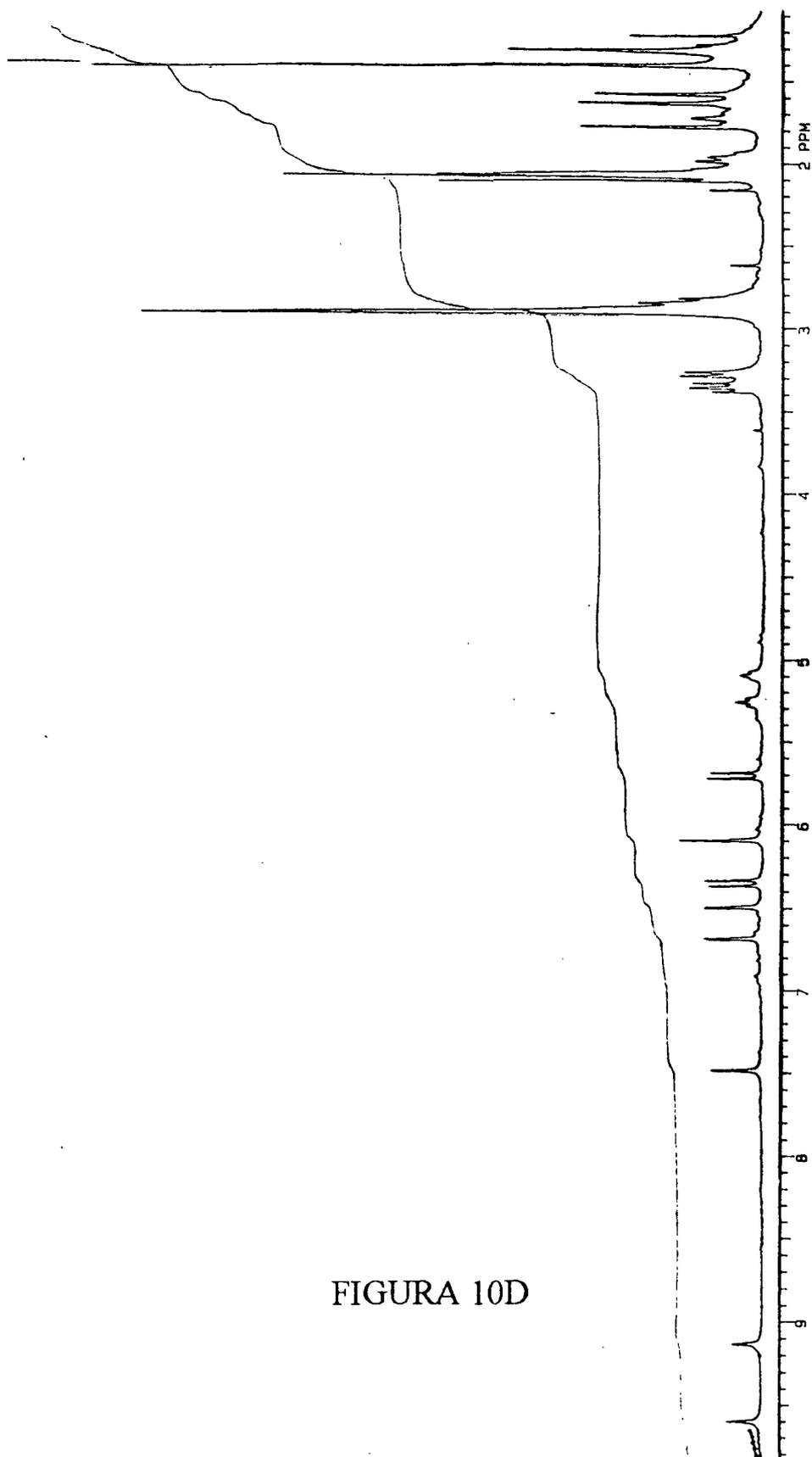
Espectro de ^1H RMN da dihidrochalcona 42

FIGURA 10D

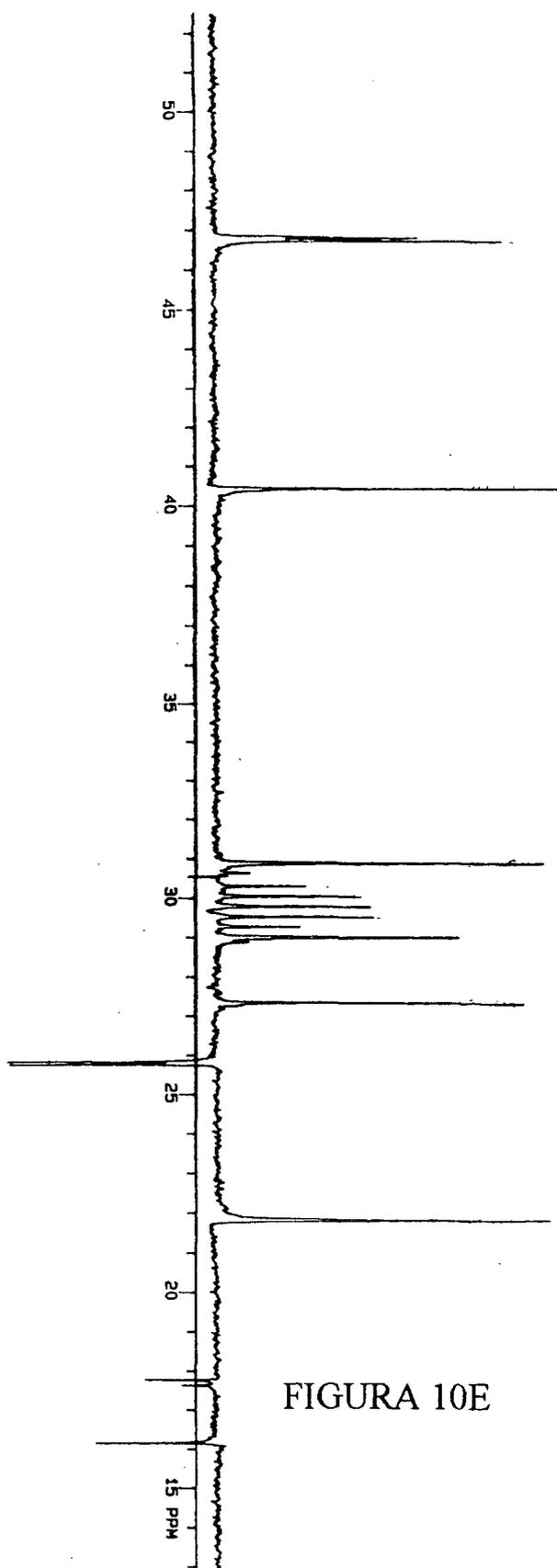
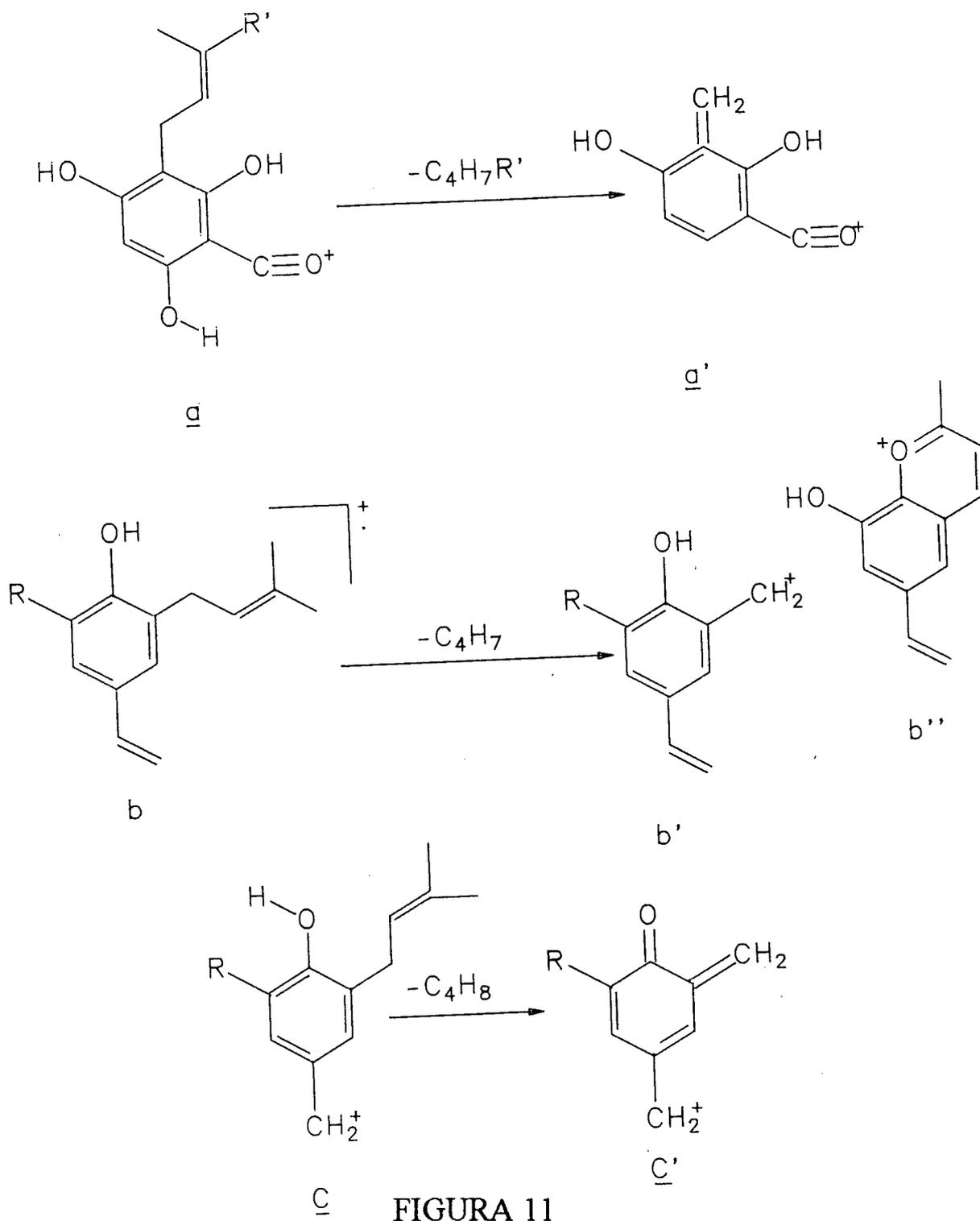
Espectro de ^{13}C RMN da dihidrochalcona 42

FIGURA 10E

Principais fragmentos de Ms das dihidrochalconas



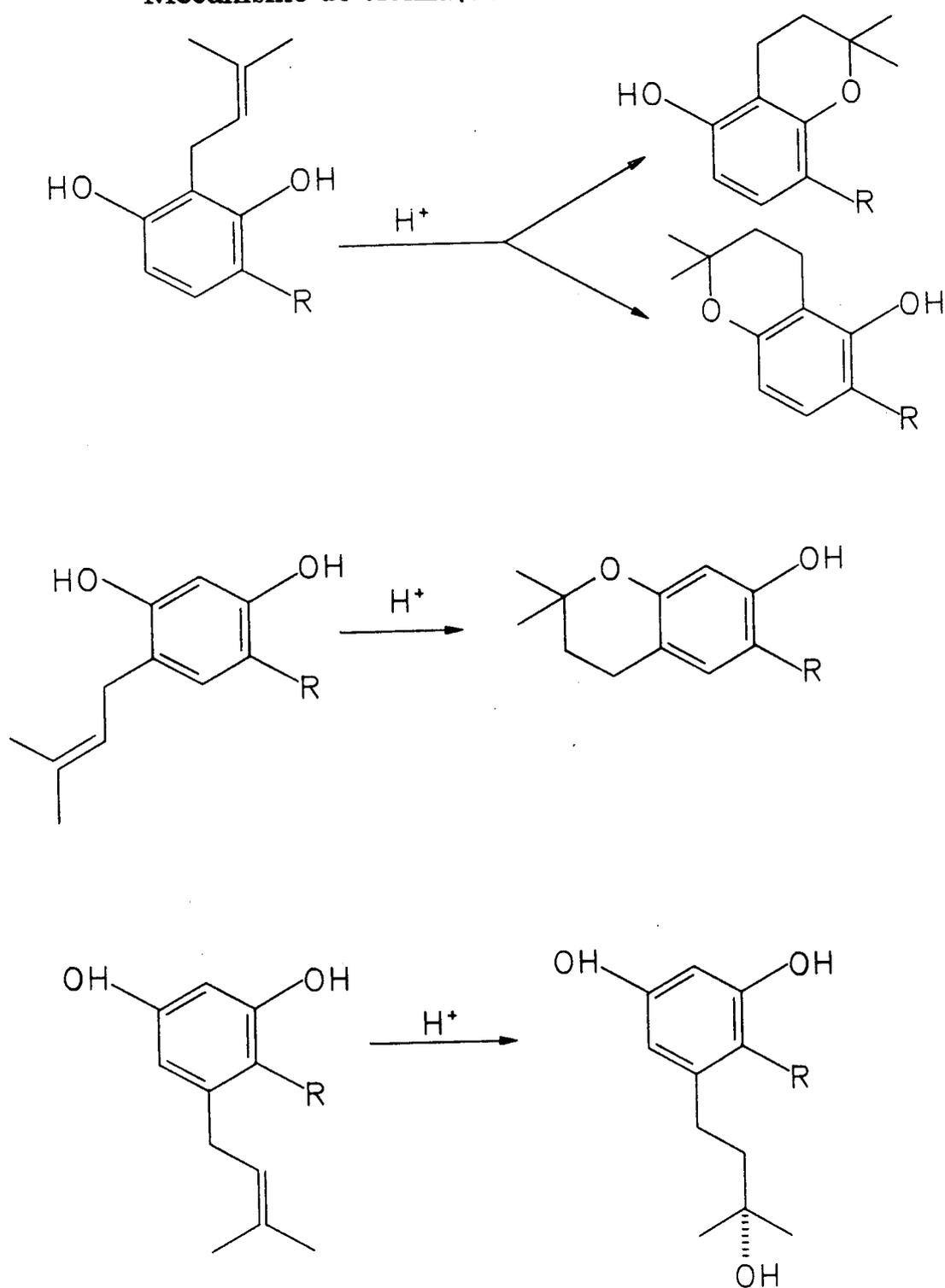
Mecanismo de ciclização das hidrochalconas

FIGURA 12

Produtos de ciclização das dihidrochalconas

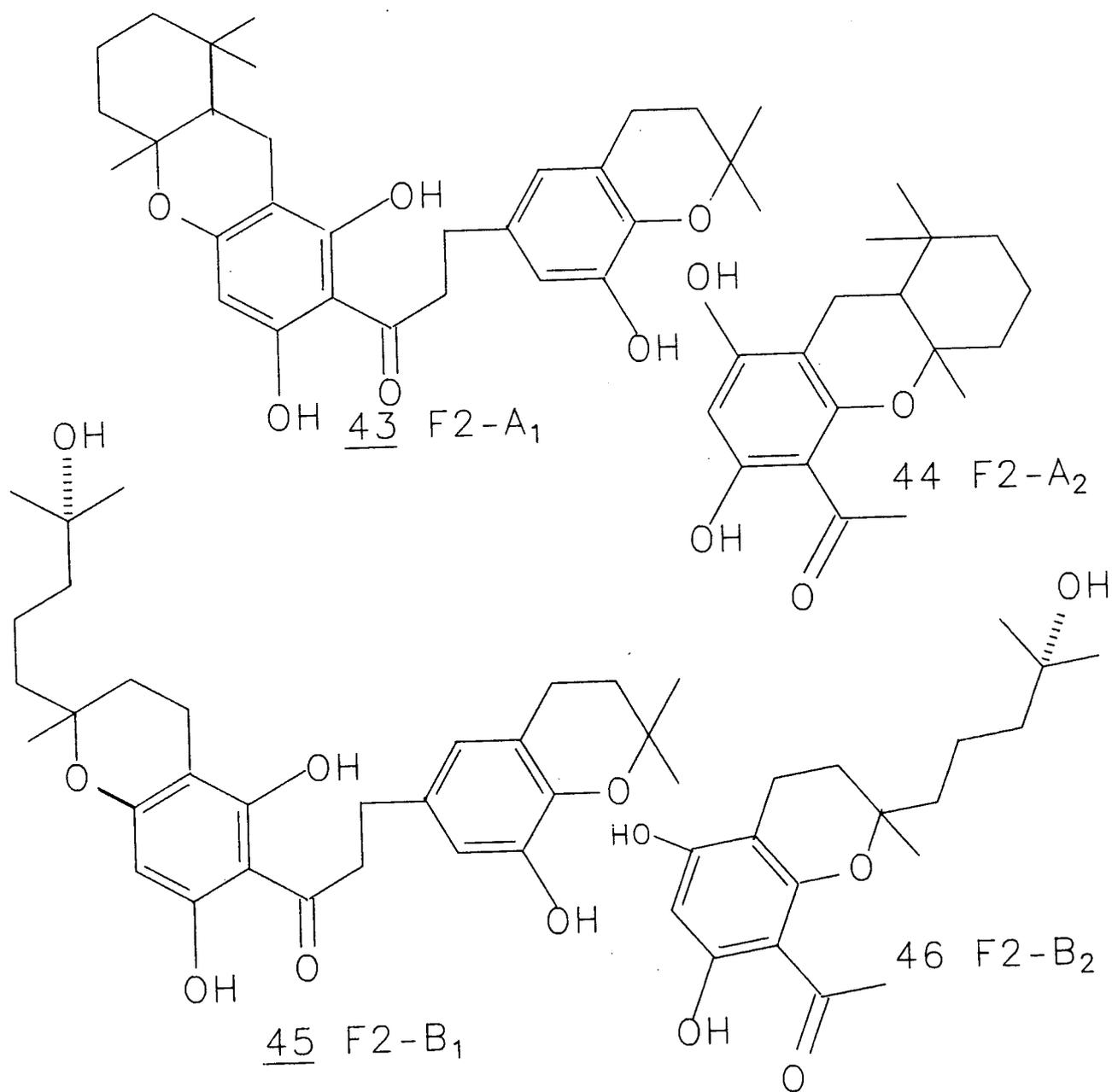


FIGURA 13

Mecanismo de ciclização de compostos geranílicos

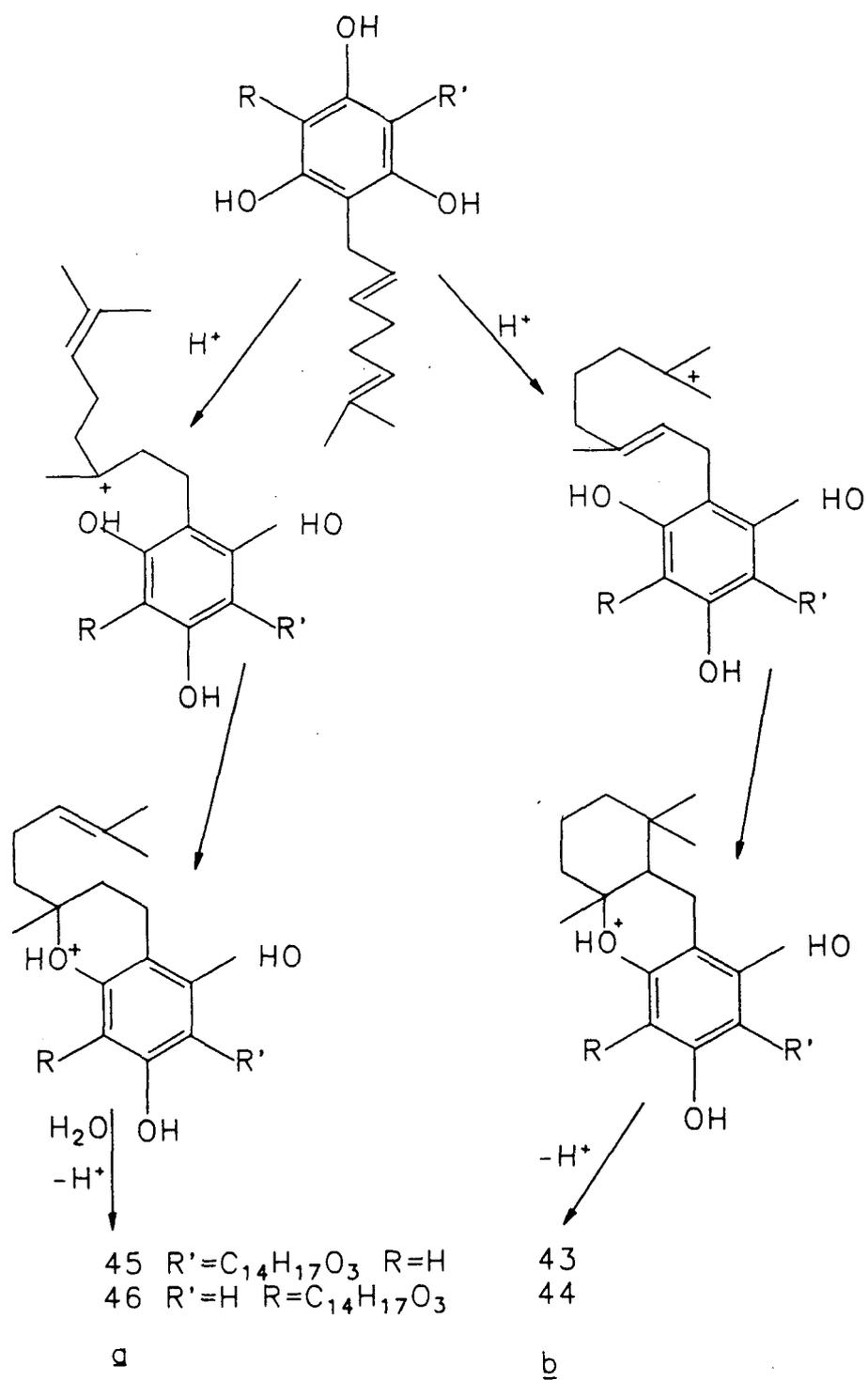


FIGURA 14

Cumarinas da *Esembéckia grandiflora*

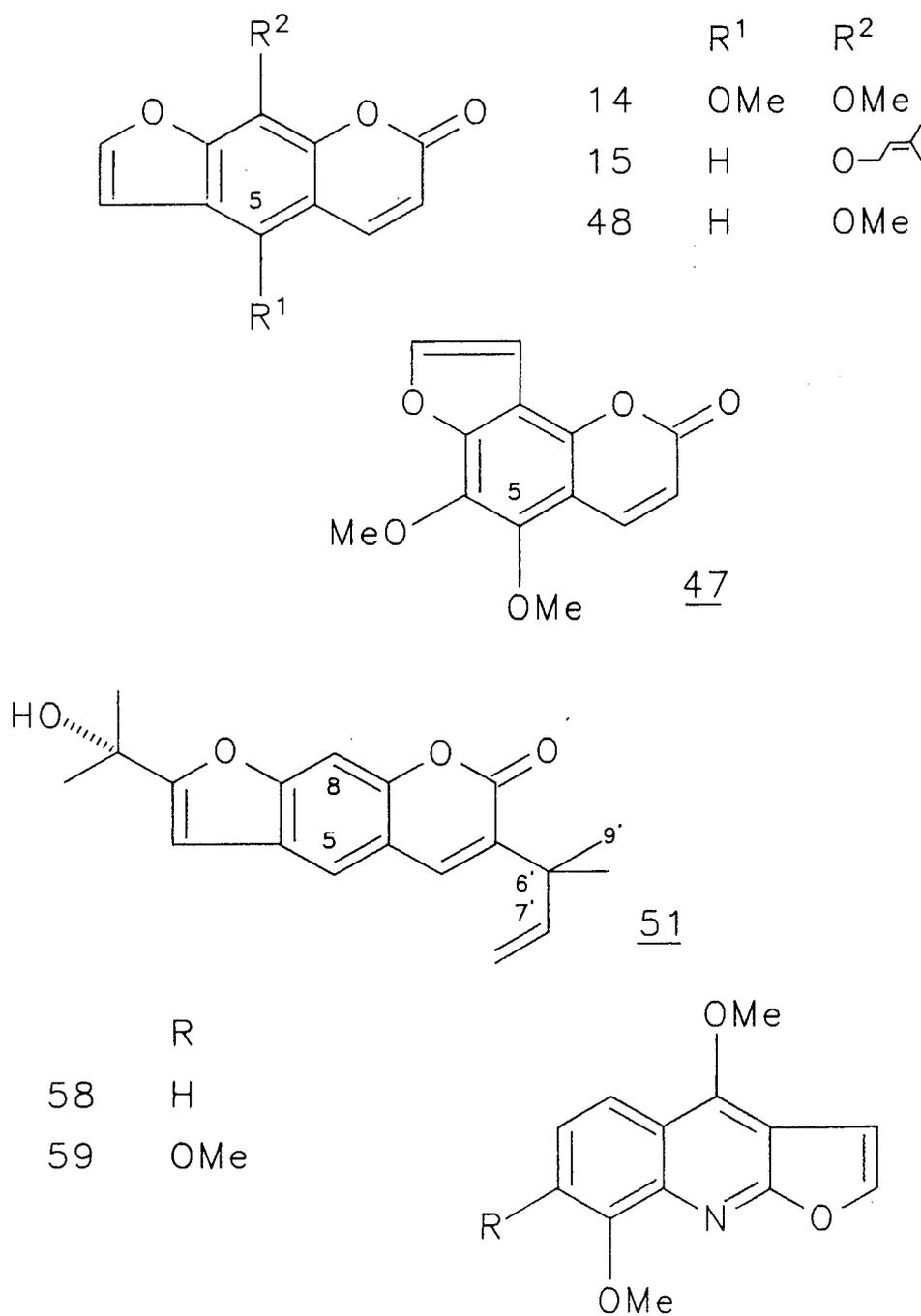
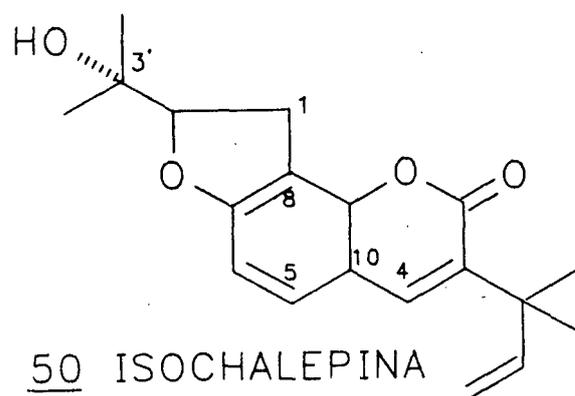
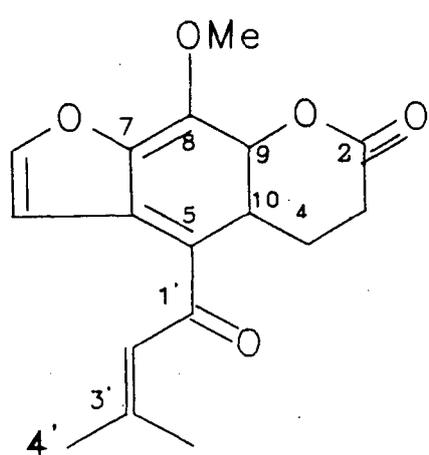
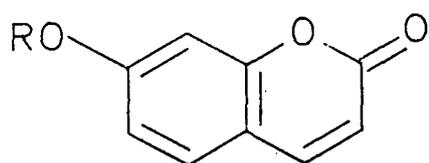


FIGURA 15

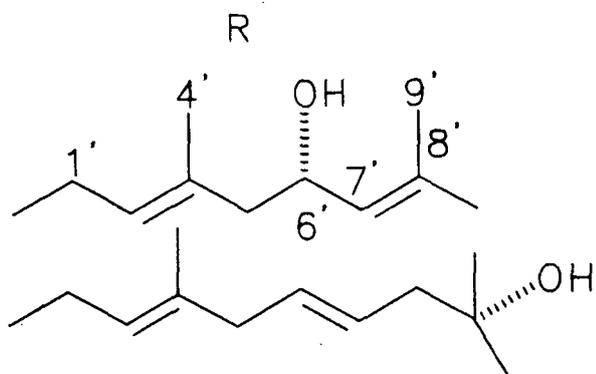
Novas cumarinas da *Esembéckia grandiflora*



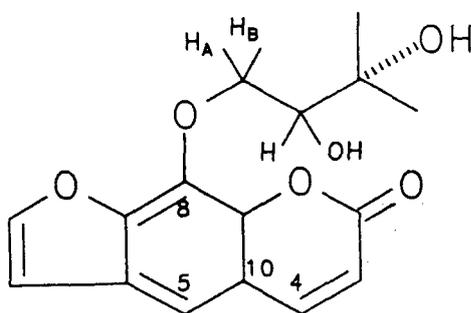
49 5-SENECIOL-XANTOTOSINA



52 CUMARINA A



53 CUMARINA B



54 (-) HERACLENOL

FIGURA 16

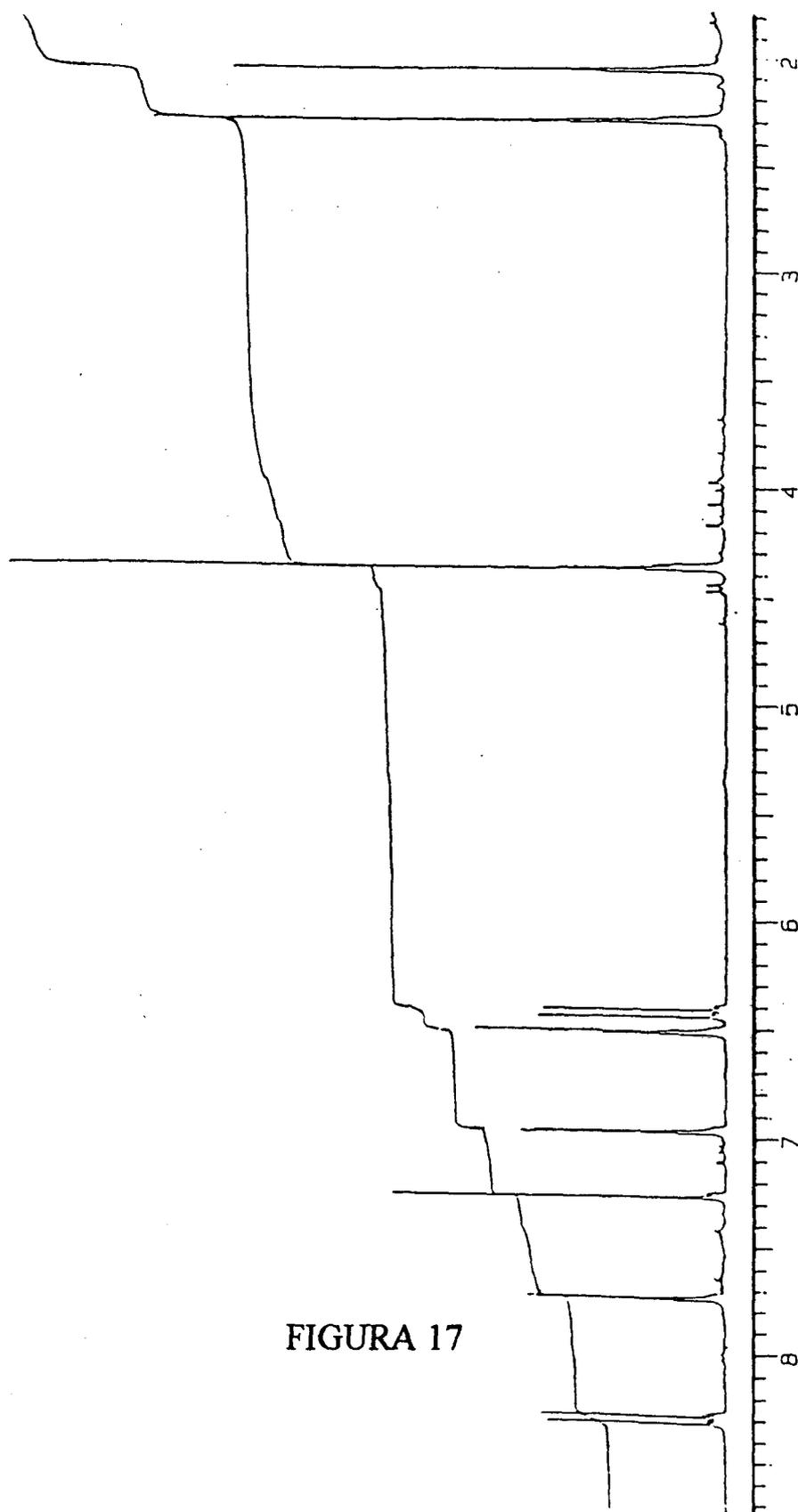
Espectro de ^1H RMN da Xeneciol xantotossina

FIGURA 17

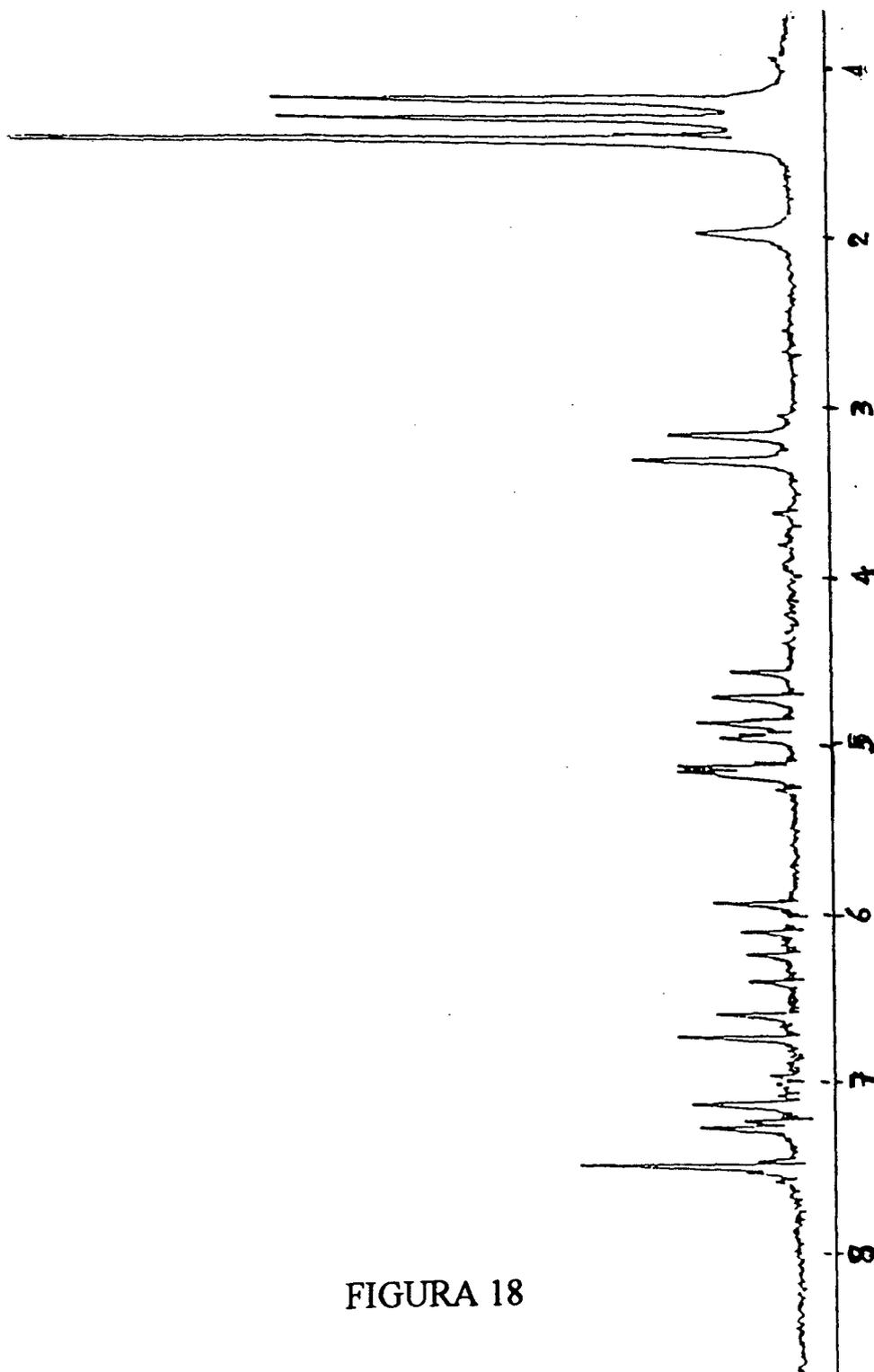
Espectro de ^1H RMN da Isochalepina

FIGURA 18

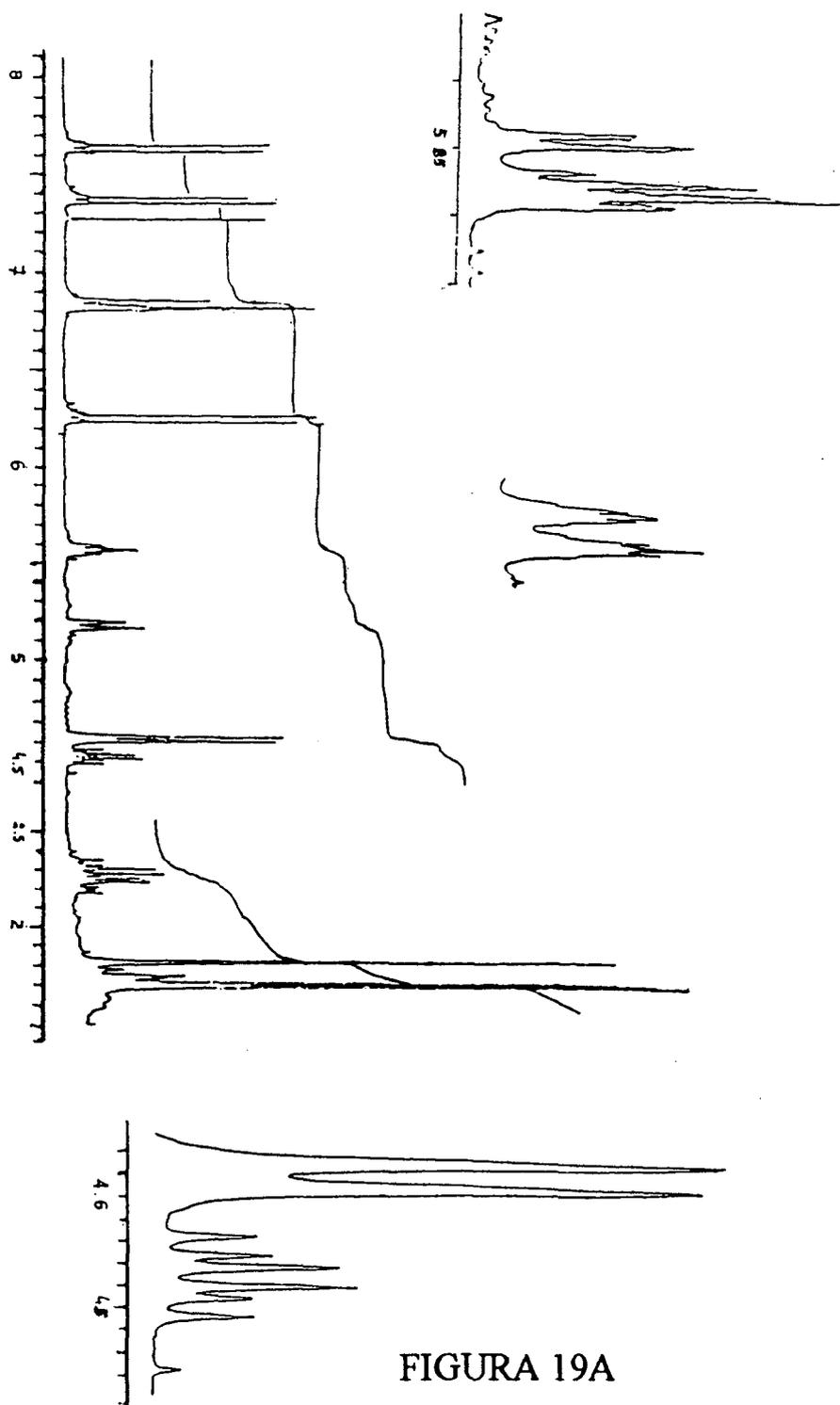
Espectro de ^1H RMN da Cumarina A

FIGURA 19A

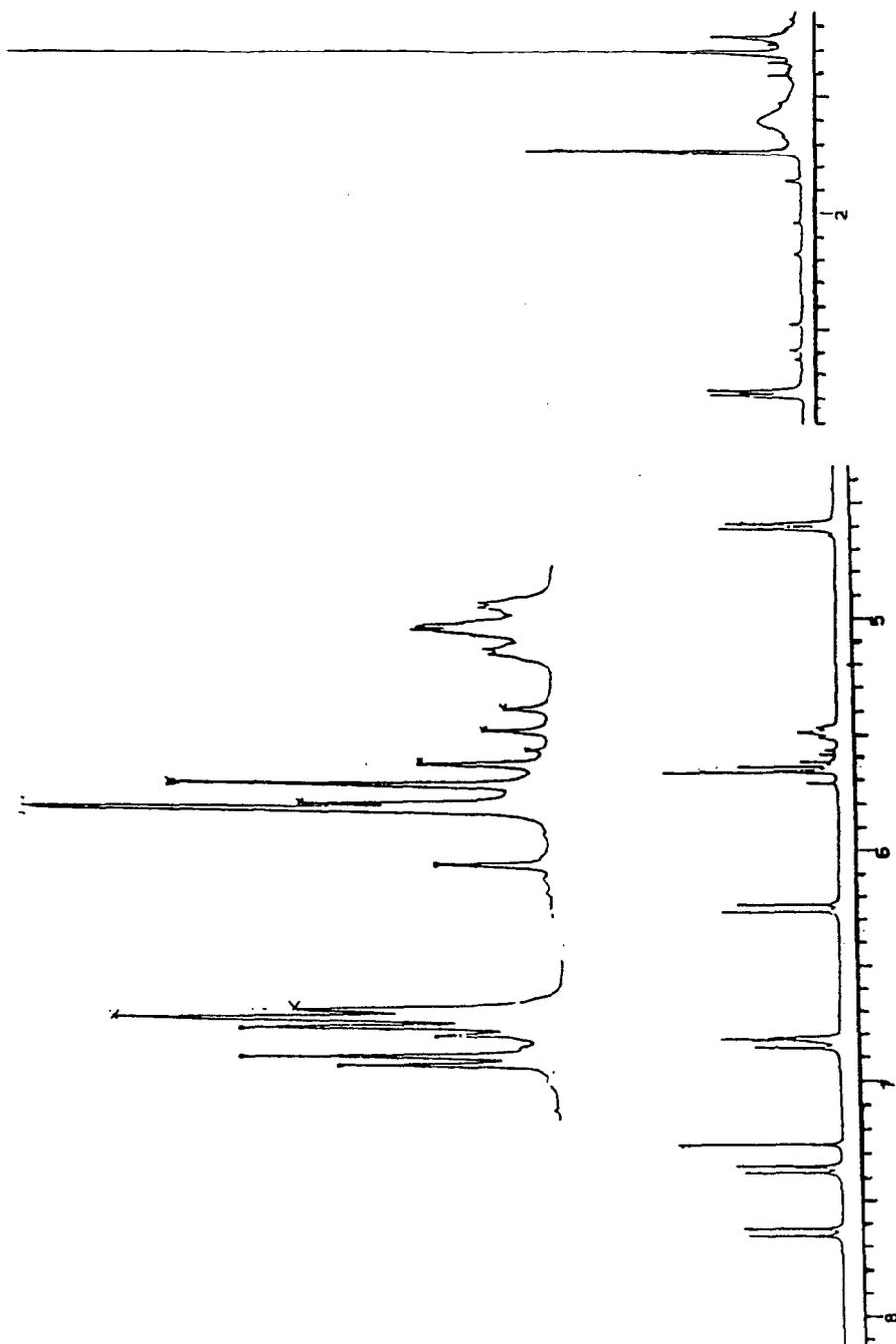
Espectro de ^1H RMN da Cumarina **B**

FIGURA 20

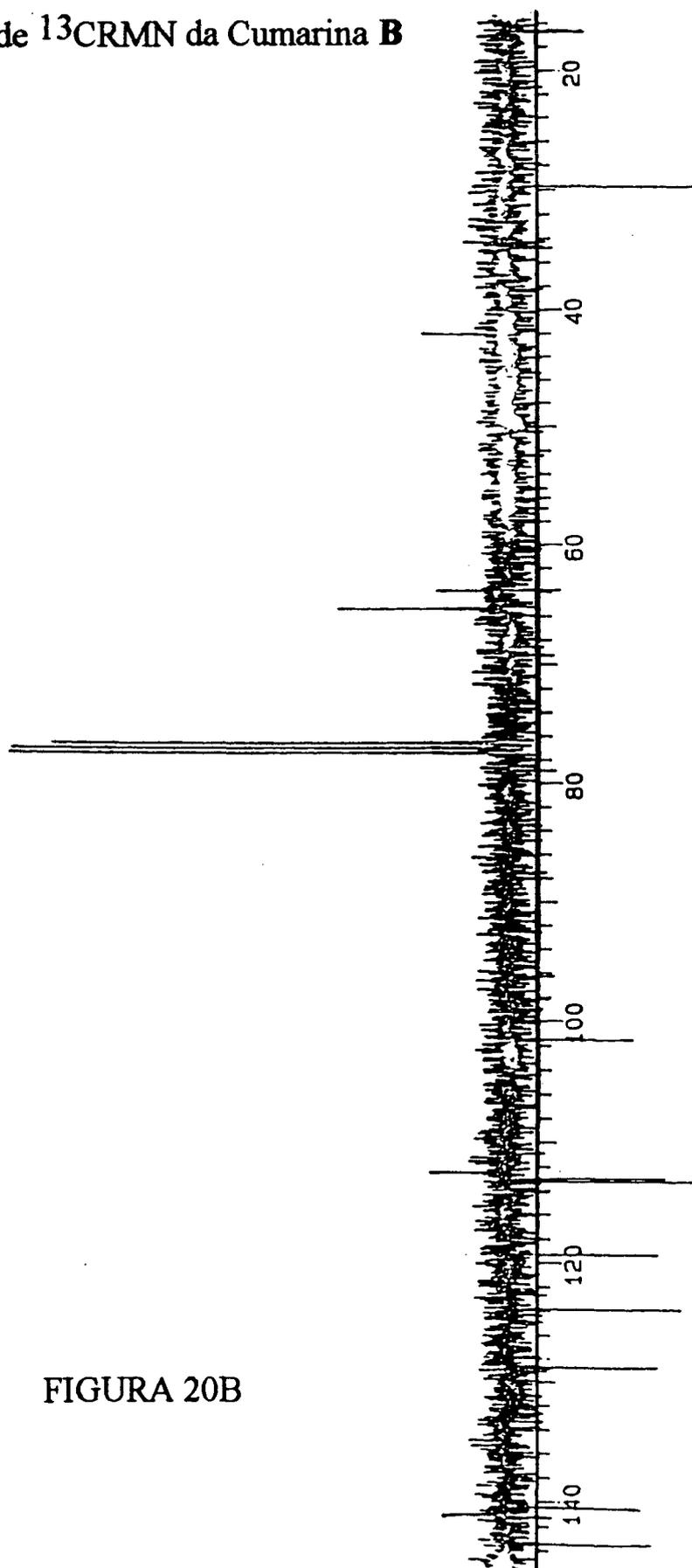
Espectro de ^{13}C RMN da Cumarina **B**

FIGURA 20B

Espectro de ^1H RMN do (-)-Heraclenol

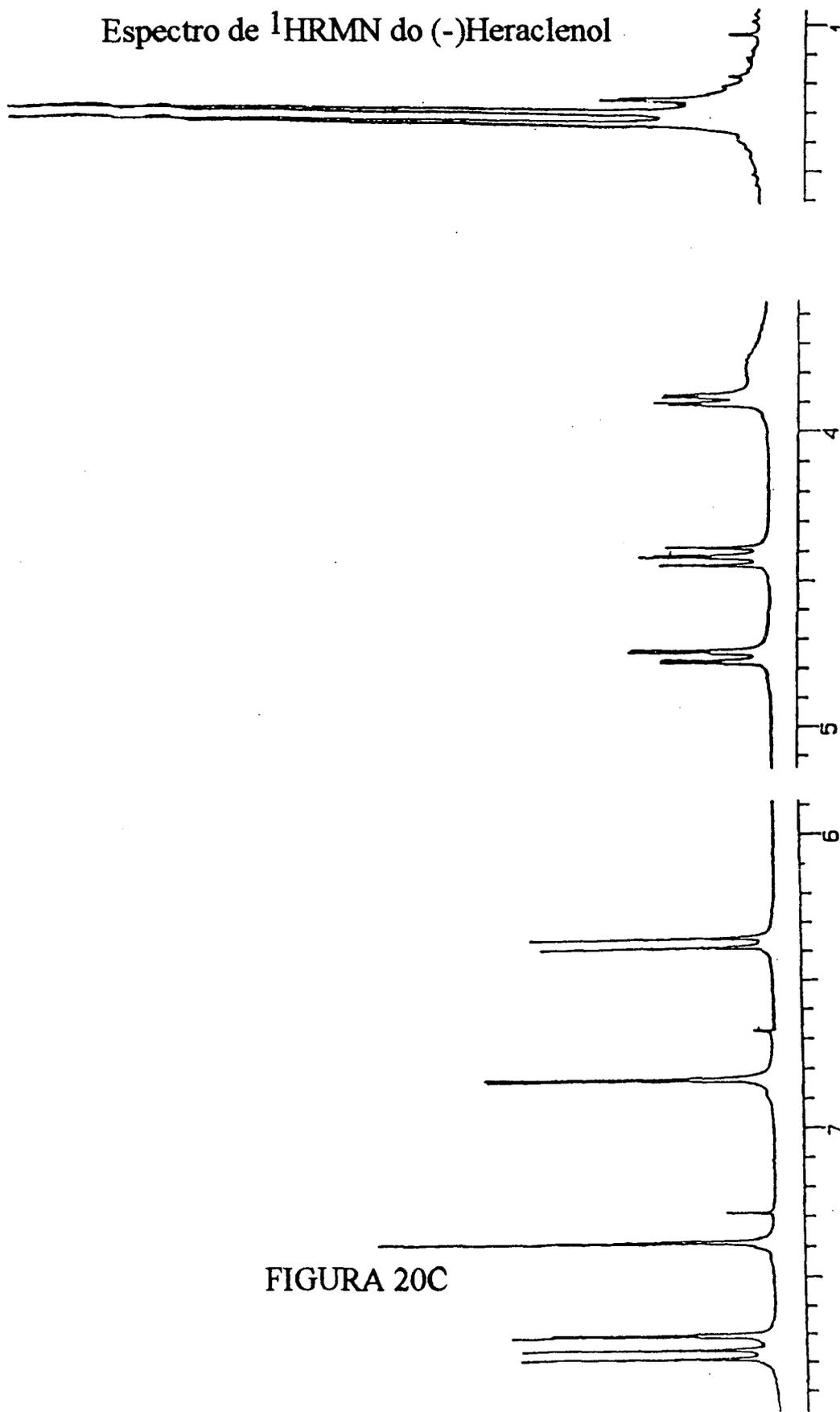


FIGURA 20C

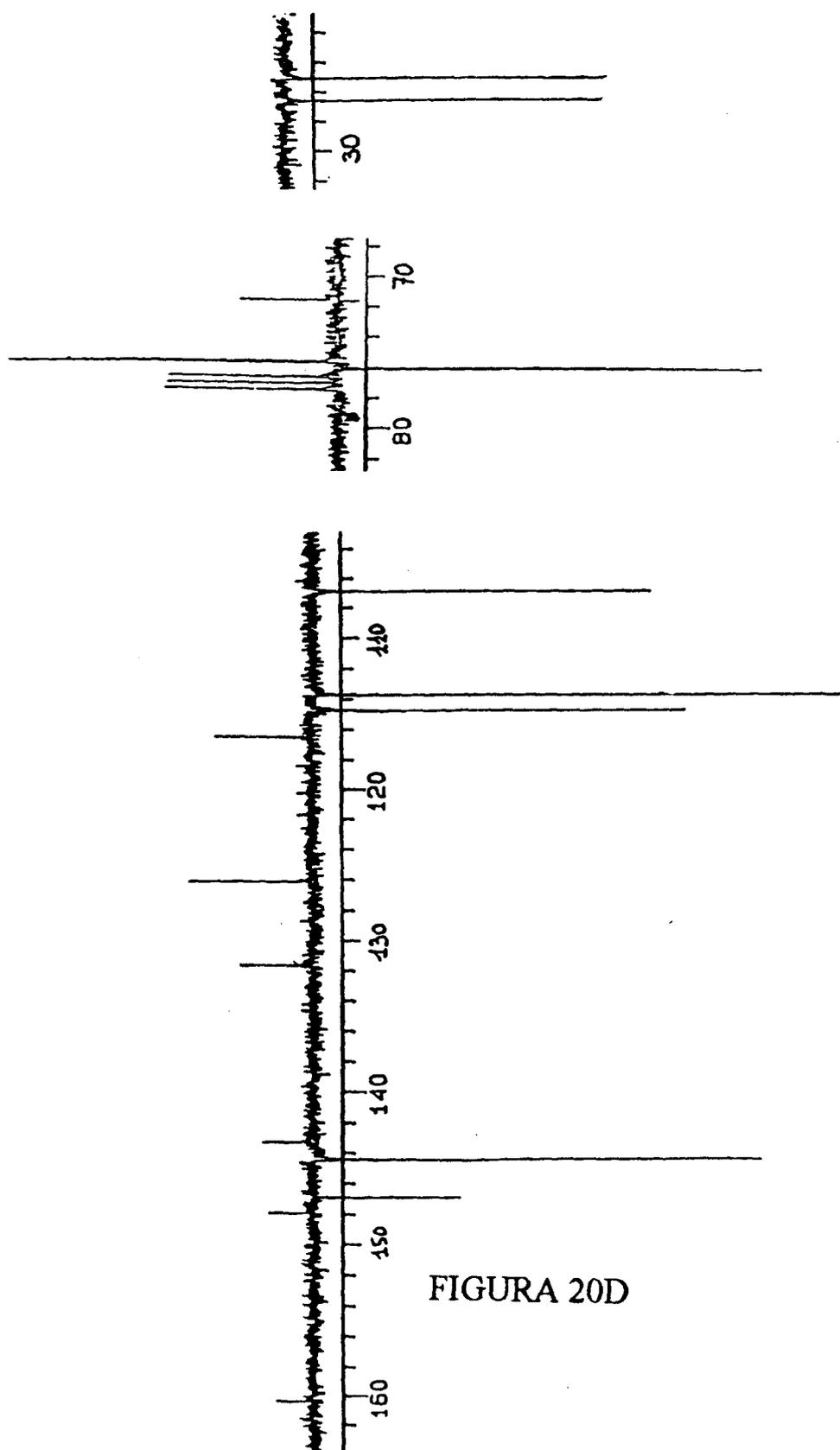
Espectro de ^{13}C RMN do (-)-Heraclenol

FIGURA 20D

Compostos Isolados das folhas

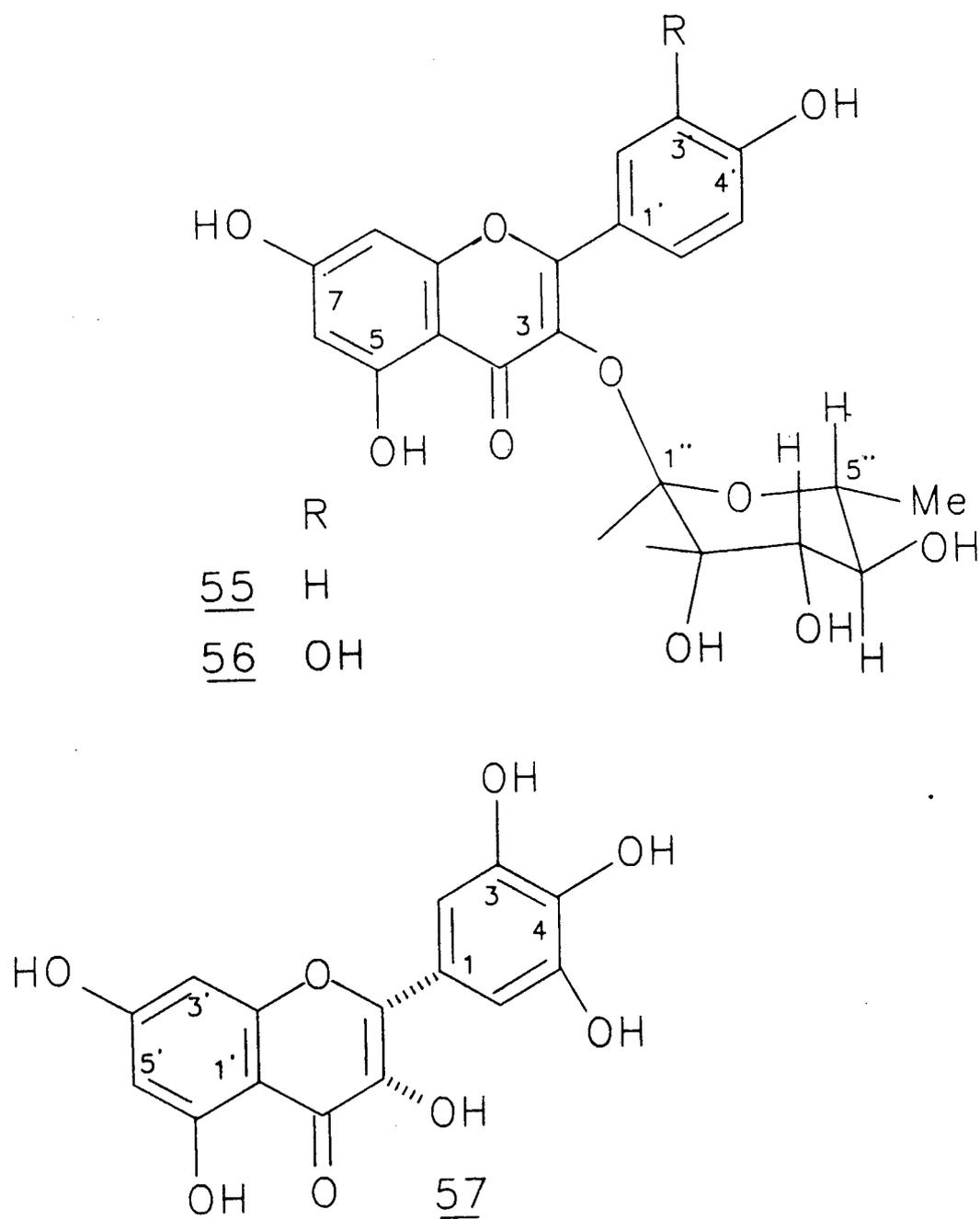


FIGURA 21

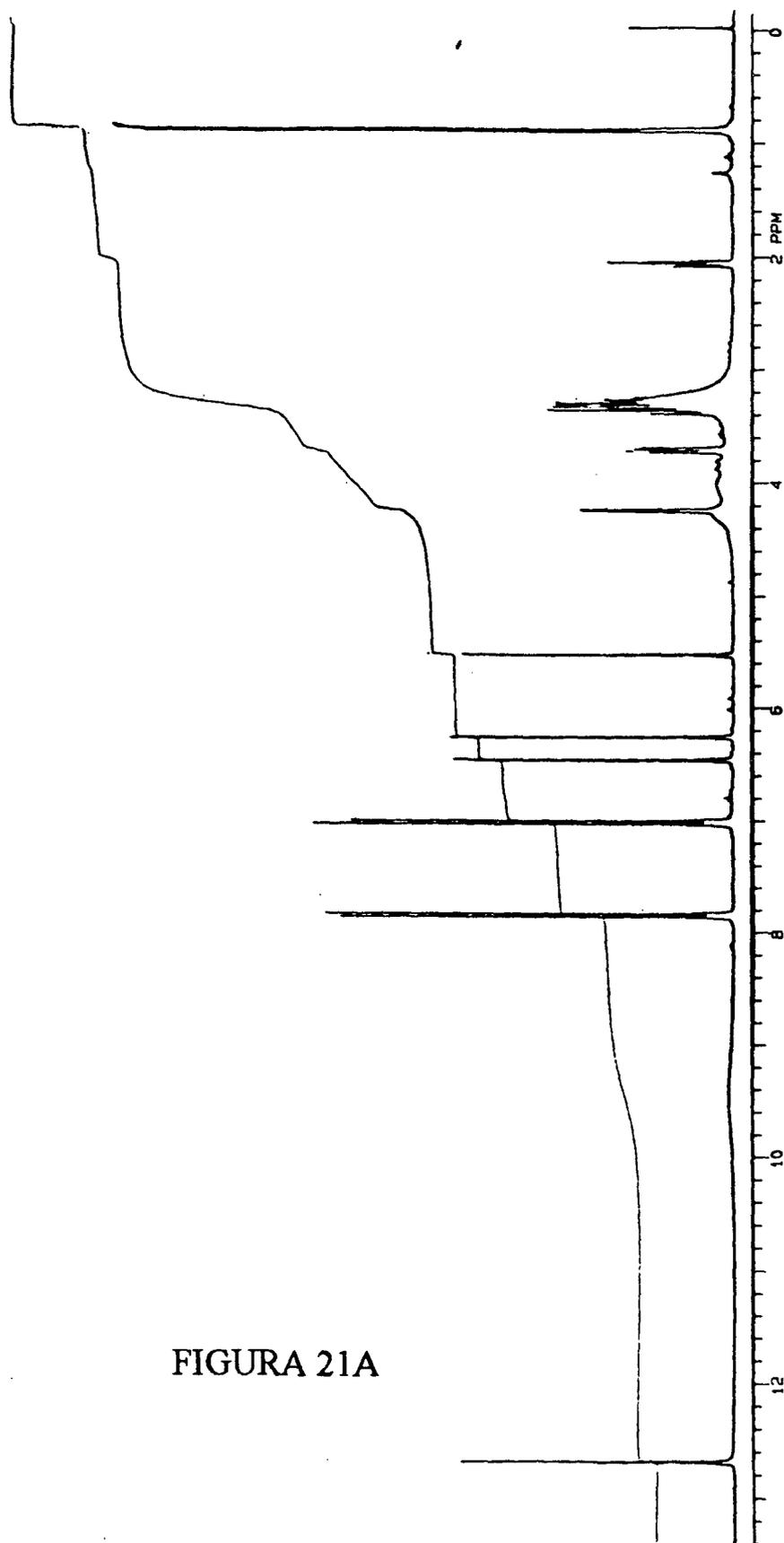
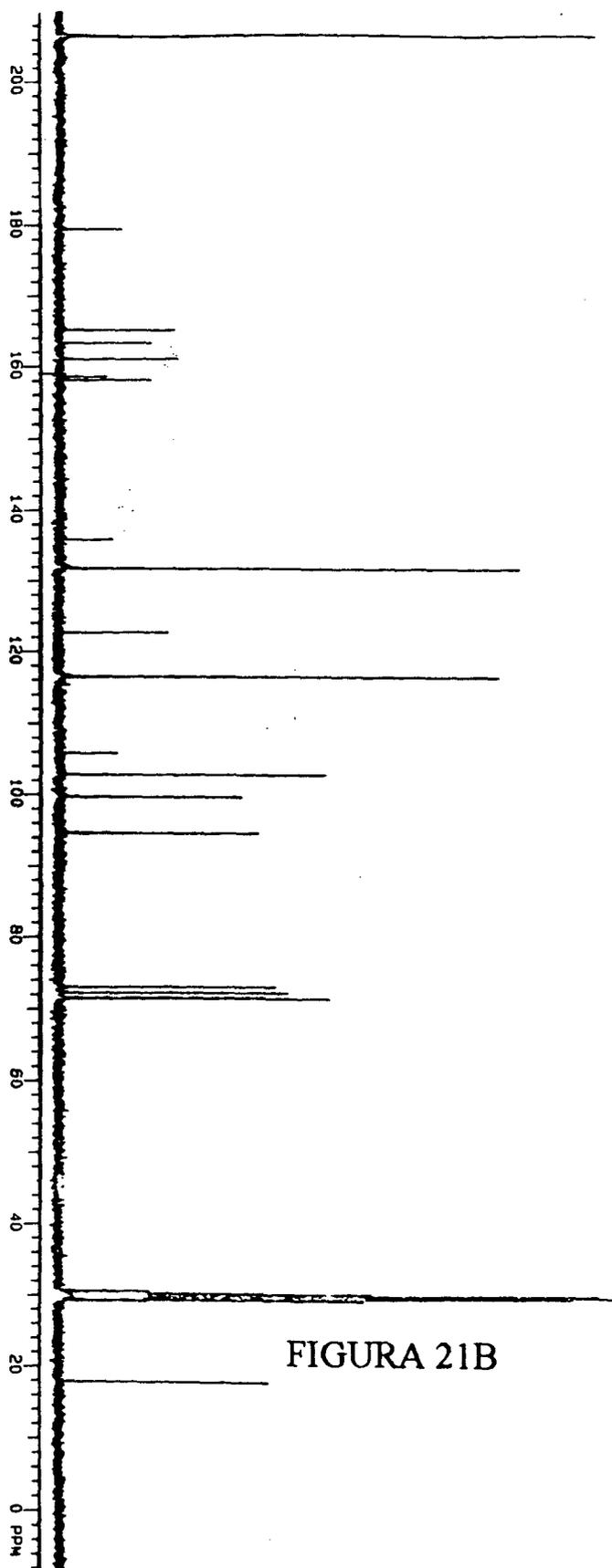
Espectro de ^1H RMN do Kanferol

FIGURA 21A

Espectro de $^{13}\text{CRMN}$ do Kanferol

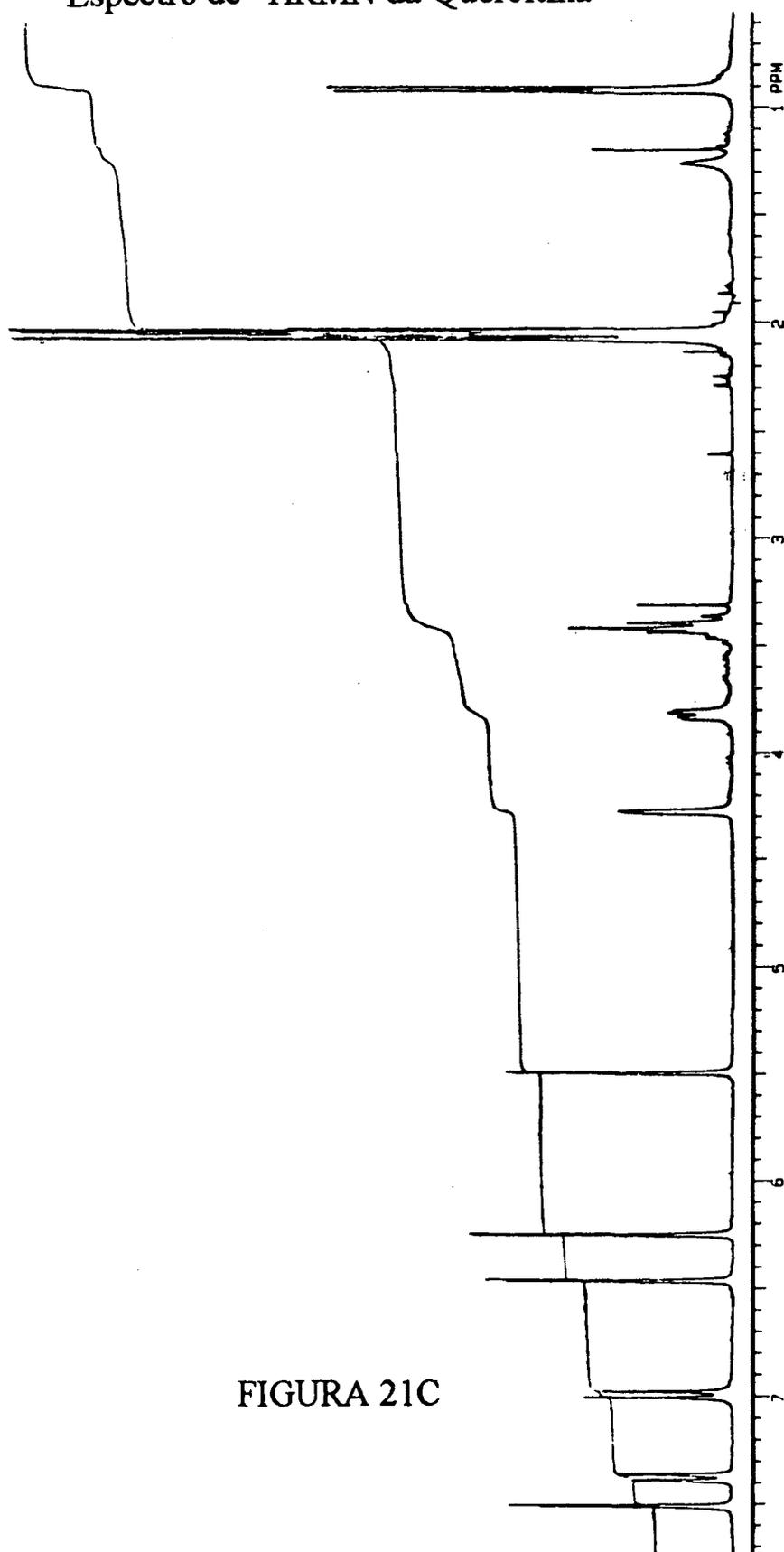
Espectro de ^1H RMN da Quercitina

FIGURA 21C

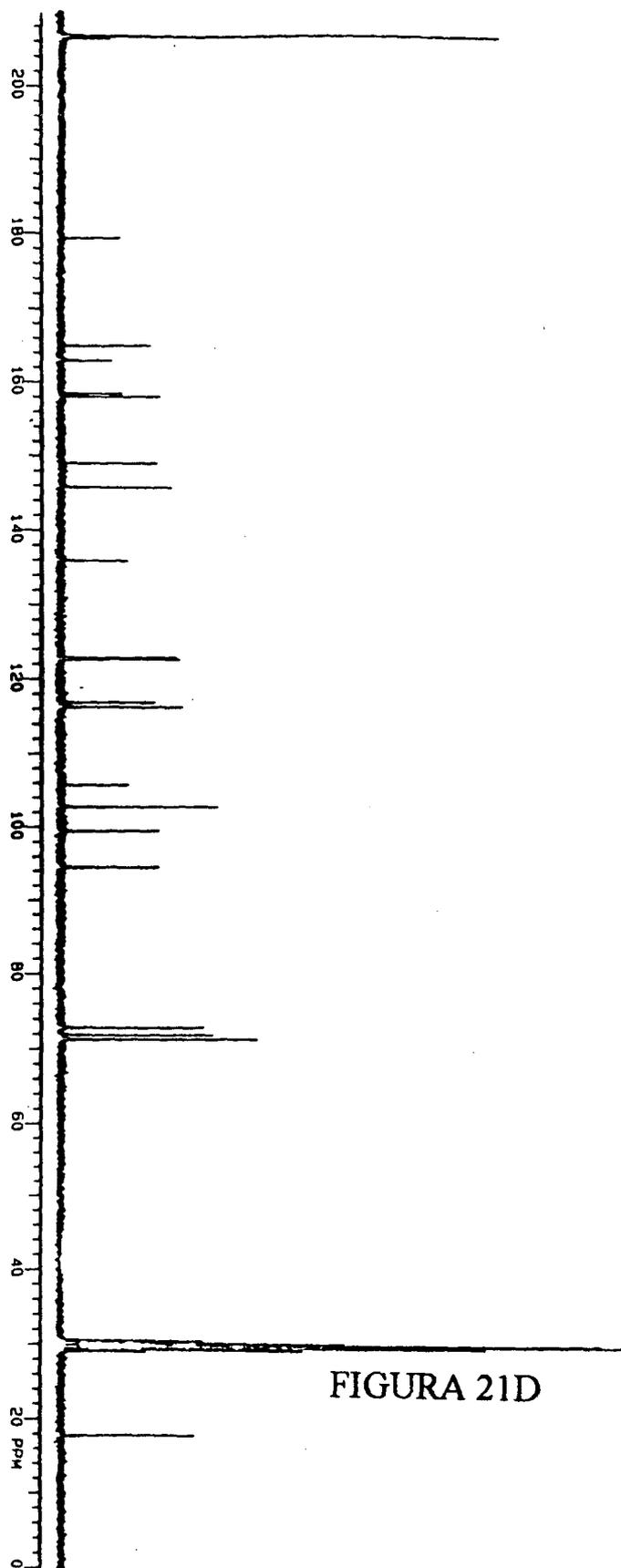
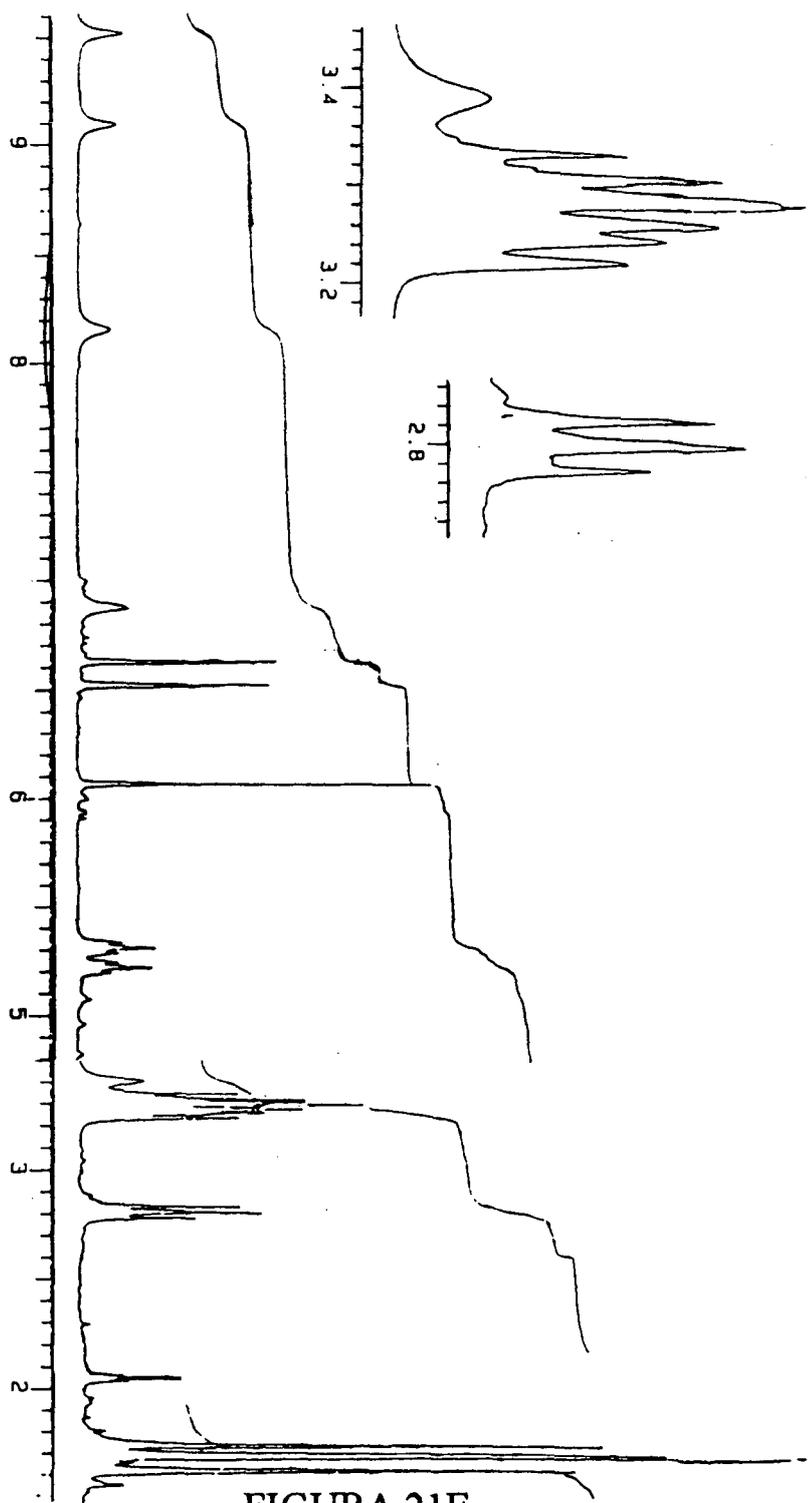
Espectro de ^{13}C RMN da Quercitina

FIGURA 21D

Espectro de ^1H RMN da (-)Epi-Galocatequina

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

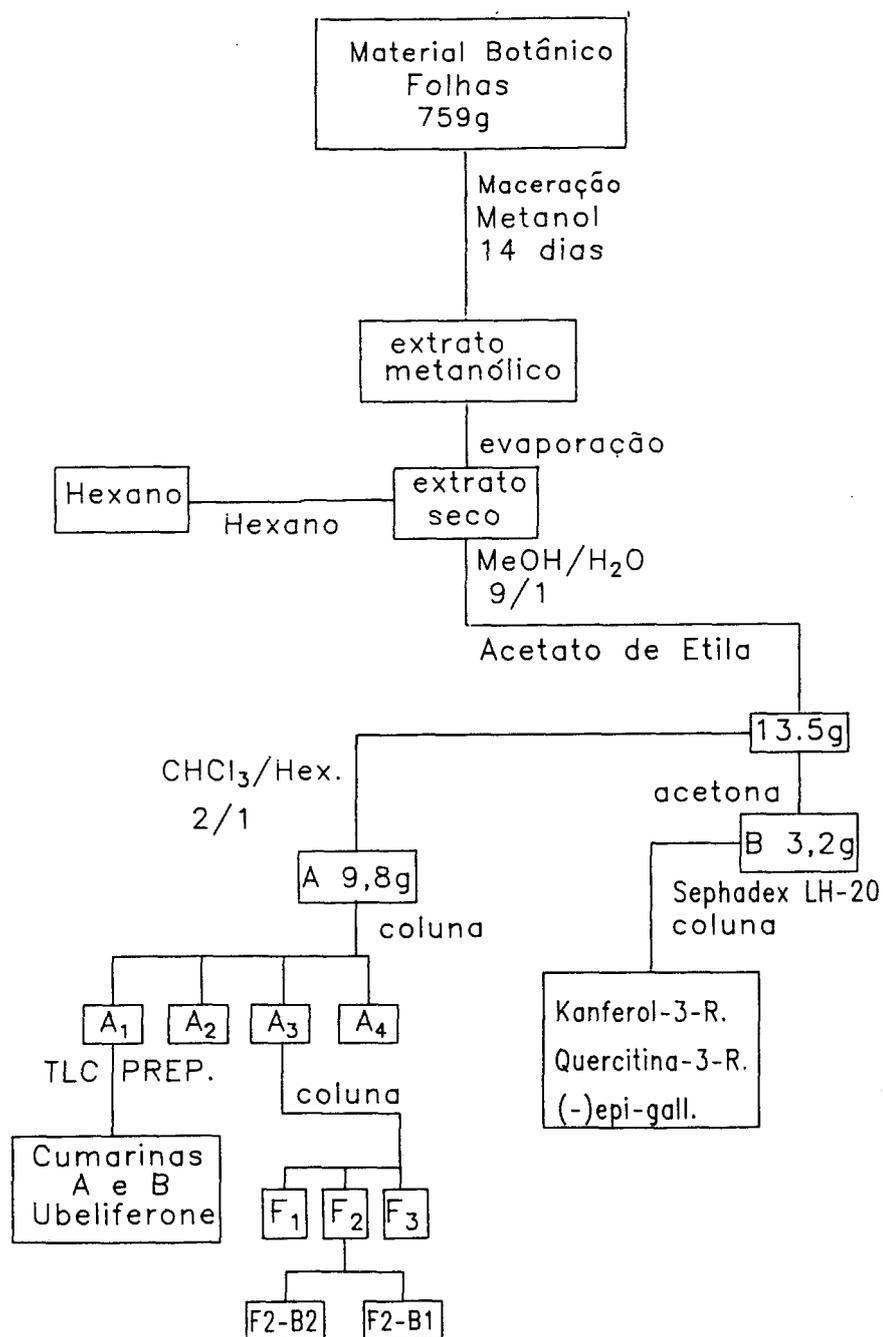
3.1. EXTRATO BRUTO

A planta foi coletada no interior da ilha de Santa Catarina no município de Florianópolis, (750g) de folhas e (2.9 kg) galhos em janeiro de 1988. A planta foi identificada como sendo *Esembéckia grandiflora* Mart (Rutáceae) pelo botânico D. B. Falkenberg (Florianópolis). Após a coleta, o material botânico foi moído e macerado por quatorze dias, tendo como solvente metanol. Decorridos quatorze dias, o extrato foi filtrado, e o material botânico foi submetido a uma nova maceração também com metanol. As duas macerações foram juntadas, e evaporadas em evaporador rotatório a pressão reduzida e temperatura entre 30 e 40°C., até secura. O resíduo foi redissolvido em metanol/água 9/1 e repetidamente extraído com hexano (fração solúvel em hexano), acetato de etila (fração solúvel em acetato) e butanol (fração solúvel em butanol). Veja esquemas 1 e 2.

3.3. EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

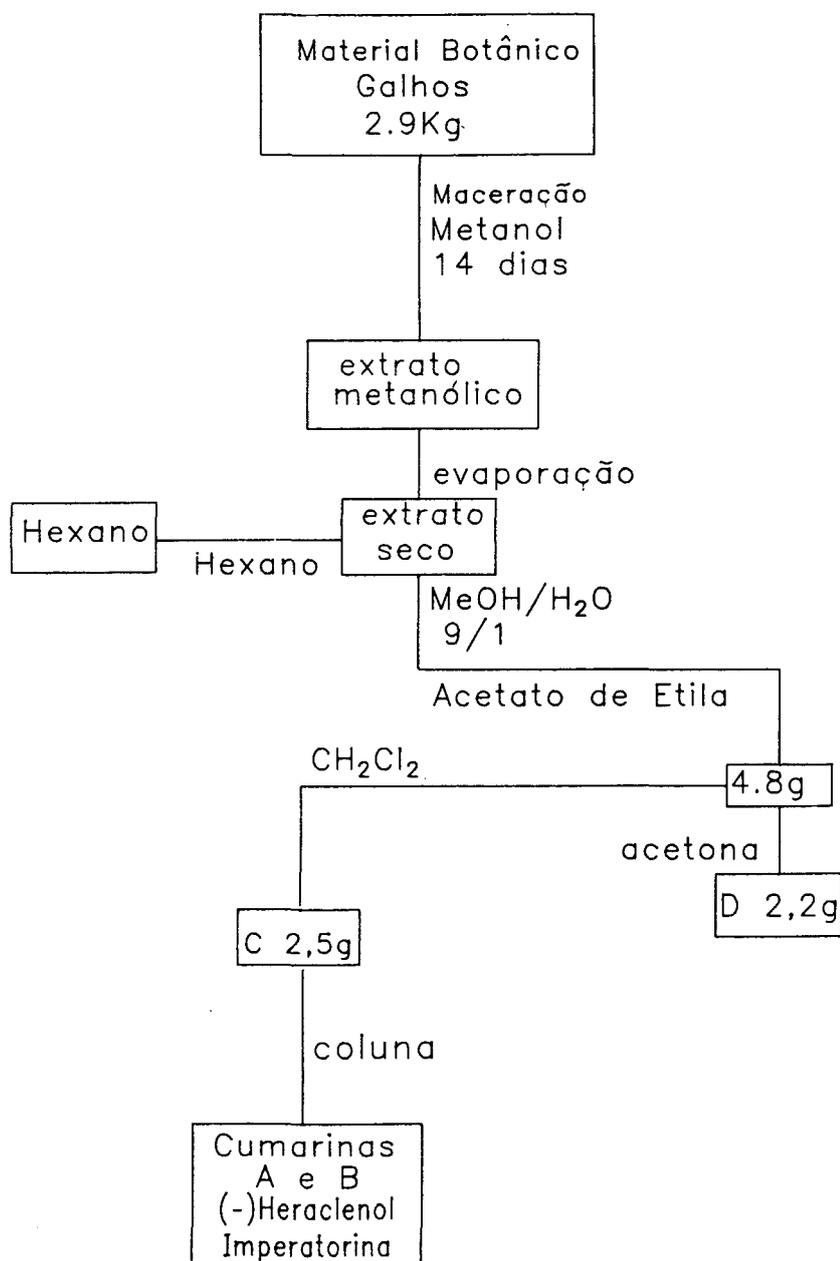
Para a obtenção dos espectros de ressonância nuclear magnética de próton e carbono utilizamos um equipamento Varain de 300Mhz. Os espectros de infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro de infravermelho Perkin elmer modelo 338. E os dados de ultravioleta foram obtidos em um espectrofotômetro de ultravioleta e visível varian modelo DMS80.

Fluxograma para extração das folhas



Esquema 1

Fluxograma para extração dos ramos



Esquema 2

3.3. SEPARAÇÃO DA FRAÇÃO SOLÚVEL EM ACETATO DE ETILA DO EXTRATO METANÓLICO DAS FOLHAS

A fração acetato de etila (13.3g de 750g de folhas) foi dividida em frações solúveis em clorofórmio/hexano 2/1 (A, 9.8g) e em fração solúvel em acetona (B 3.2g). A fração A 6g, foram cromatografada em coluna de sílica gel com clorofórmio contendo quantidades crescentes de metanol (0-6%), resultando nas frações A1 (350mg) A2 (300mg) A3 (4.2g) e A4 (300mg). Uma posterior purificação cromatográfica de A1 seguida de TLC preparativa forneceu a CUMARINA A, a CUMARINA B e Umbeliferon. A purificação da fração A3, em coluna de sílicagel, tendo como eluente clorofórmio/acetato de etila (4/1), forneceu as dihidrochalconas F1(20mg), F2(1.5g) e F3(10mg). A purificação da fração B em coluna de Sephadex LH-20, tendo como eluente metanol, seguida da separação em coluna de sílica com clorofórmio/metanol 4/1, forneceu o kamferol-3-ramnosideo (230mg), quercitina-3-ramnosideo (410mg) e (-)epigallocatequina (70mg).

3.4. METILAÇÃO

A uma solução de 1 g de Diazald (N-nitroso-toluol-4-sulfometilamida) em 20 ml de éter etílico, mantido refrigerado em banho de gelo, foram adicionados 3 ml de uma solução a 4% de KOH em etanol 96%. O éter etílico foi destilado em banho-maria a 50 °C, em um Kit de destilação Aldrich apropriado, gerando um destilado amarelo (solução etérea de diazometano), que foi coletado sob um

banho de gelo seco-acetona. Esta solução foi adicionada diretamente a cada um dos compostos a serem metilados, lentamente, a temperatura ambiente, até persistir a coloração amarelada do diazometano e cessar o desprendimento de hidrogênio. O excesso de reagente foi destruído, adicionando-se gotas de ácido acético. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida, fornecendo os metilderivados.

3.5. SEPARAÇÃO DA FRAÇÃO SOLÚVEL EM ACETATO DE ETILA DO EXTRATO METANÓLICO DOS RAMOS

A fração acetato de etila (4.8g), foi dividida em fração solúvel em diclorometano (C 2.5g) e fração solúvel em acetona (D 2.2g não estudada). A purificação da fração C em coluna de sílica gel resultou na imperatorina, na CUMARINA A e B e (-) HERACLENOL(77mg).

DIHIDROCHALCONA-40 Sólido amorfo UV (MeOH), λ_{\max} (log ϵ) nm: 281 (4.14); +AlCl₃:312; ¹HRMN, δ :6.08 (H-5" s), 6.66 (H-2;d, J=1.8 Hz), 6.48 (H-6; d), 3.33 (H-1"; d), 5.69 (H-2";t, J=7.5 Hz), 3.26 (H-1""; d) 5.26 (H-2"";t, J=7.5 Hz) 2.14-1.95 (H-5"";6"" m) 5.08 (H-7""; t), 1.77 , 1.62, (Mex2) 1.56-1.38 (Me), 2.82 (H- α ; J= 8Hz), 3.34 (H- β ;t), 13.8, 9.58, 9.10, 7.5, (OH). ¹³CRMN (75 MHz, acetona-d₆) . δ : 130.3 (C-1), 123.2 (C-2), 118.7 (C-3),142.7 (C-4), 146.0, (C-5), 116.6 (C-6), 105.0 (C-1'), 162.2 (C-2'), 107.8 (C-3'), 160.3(C-4'), 94.9 (C-5'),165.0 (C-6'), 131.7 (C-1"), 117.9 (C-2"), 76.9 (C-3"),27.8 (C-4" Me), 27.7 (C-5" Me), 27.3 (C-1""), 124.0 (C-2""), 135.2 (C-3""),16.2 (C-4""Me), 40.4 (C-5""),29.0 (C-6"") 125.1 (C-7"") 134.5 (C-8""), 17.7 (C-9"" Me), 25.8 (C-10"" Me), 46.7 (C- α), 30.9 (c- β),

205.5 (C=O) EIMS (probe) 70eV; m/z (%): 494 (39) [M]⁺, 409 (27), 371 (10), 353 (12), 289 (12), 231 (25), 219 (40), 204 (43), 191 (100), 177 (32), 165 (69), 149(31), 139 (31), 135(24).

DIHIDROCHALCONA-41 Sólido amorfo UV (MeOH), λ_{\max} (log ϵ) nm: 289 (4.47); +AlCl₃:309. ¹HRMN, δ :6.08 (H-5 s), 6.74 (H-2;d, J=1.8 Hz), 6.53 (H-6; d), 3.36-3.26 (H-1";m), 5.32 (H-2";t, J=7.5 Hz), 3.36-3.26 (H-1"; m) 5.26 (H-2";t, J=7.5 Hz) 2.10-1.93 (H-5"',6"' m) 5.08 (H-7"; t), 1.77, 1.70, (Mex2) 1.62-1.56 (Me), 2.82 (H- α ; J= 77.8Hz), 3.36-3.26 (H- β ;m), 13.5, 9.54, 9.10, 8.17, 6.87 (OH). ¹³CRMN (75 MHz, acetona-d₆). δ : 130.3 (C-1), 121.2 (C-2), 128.7 (C-3),147.7 (C-4), 145.0, (C-5), 113.6 (C-6), 105.0 (C-1'), 162.4 (C-2'), 107.8 (C-3'), 160.3(C-4'), 94.9 (C-5'), 165.0 (C-6'), 21.8 (C-1"), 123.9 (C-2"), 131.4(C-3"),17.8 (C-4" Me), 25.8 (C-5" Me), 27.3 (C-1""), 124.0 (C-2""), 134.5 (C-3""),16.2 (C-4"" Me),40.4 (C-5 ""),29.0 (C-6""125.1(C-7"")) 133.6 (C-8""), 17.7 (C-9"" Me), 25.8 (C-10"" Me), 46.3 (C- α), 30.9 (c- β), 205.5 (C=O) EIMS (probe) 70eV; m/z (%): 494 (39) [M], 409 (27), 371 (10), 353 (12), 289 (12), 231 (25), 219 (40), 204 (43), 191 (100), 177 (32), 165 (69), 149(31), 139 (31), 135(24).

DIHIDROCHALCONA-42 Sólido amorfo UV (MeOH), λ_{\max} (log ϵ) nm: 280 (4.18); +AlCl₃:301; ¹HRMN δ : 6.06 (H-5"'s), 6.62 (H-2; d, J=2.0Hz), 6.51 (H-6; d), 3.34-3.20 (H-1";m), 5.30 (H-2";t, J=7.5 Hz), 3.34-3.20 (H-1";m) 5.22 (H-2";t, J=7.5 Hz), 1.73, 1.68 (Mex2) 1.61 (Me), 2.80 (H- α ;t, J=77.5Hz), 3.34-3.20 (H- β ;m), 13.75, 9.54, 9.09, 8.15, 6.87(OH). ¹³CRMN (75 MHz, acetona-d₆). δ : 130.6 (C-1), 121.2 (C-2), 128.7 (C-3), 147.7 (C-4), 145.0, (C-5), 113.6 (C-6), 105.0 (C-1'), 162.4 (C-2'), 107.8 (C-3'), 160.3(C-4'), 94.9 (C-

5'), 165.0 (C-6'), 21.8 (C-1''), 123.9 (C-2''), 131.8 (C-3''), 17.8 (C-4" Me), 25.8 (C-5" Me), 29.0 (C-1'''), 124.1 (C-2'''), 133.6 (C-3'''), 17.8 (C-4''' Me), 25.8 (C-5'''), (C- α), 30.9 (c- β), 205.5 (C=O). EIMS (probe) 70eV; m/z (%) 426 (100) [M]⁺, 370 (8), 358 (6), 221 (38), 204 (59), 191 (86), 165 (76), 149 (42), 148 (20), 139 (22), 136 (14)

3.6. CICLIZAÇÃO DA FRAÇÃO F-2

A dihidrochalcona 41(1.1 g) foi tratada com ácido trifluoracético (15ml) durante uma noite. A solução foi filtrada e o resíduo foi cromatografado em coluna de sílica com hexano/acetato (4/1), recolhendo-se 3 frações (as principais). A recristalização das duas primeiras forneceu os compostos F2-A₁ (30 mg) e F2-A₂ (153mg). A terceira fração (470 mg) foi recromatografada em coluna de sílica com hexano/acetato (7/3) fornecendo dois compostos: F2-B₁ (95 mg) e F2-B₂ (125 mg).

COMPOSTO 43 Pf. 132 - 134°C; UV (MeOH), λ_{max} , nm: 292; +AcONa: 292; +AlCl₃: 316. EIMs (probe) 70eV: m/z (%): 494 (100), [M]⁺, 289 (21; a), 262 (12), 232 (13), 204 (58; b), 191 (55; c), 165 (43; a), 149 (25; b), 139 (15), 135 (10; c). ¹HRMN δ : 5.57 (H-5'''s), 6.66 (H-2; d, J=2.0Hz), 6.49 (H-6; d), 2.70 (H-1''; t), 1.80 (H-2''; t, J=7.5 Hz), 1.33 (H-4" ,5"Me), 2.66 (H-1'''; m) 2.20 (1H-2'''), 1.95-1.72 (6H; m) 1.21 (4''' Me; s), 1.0 (H-9''', 10'''; s), 3.33 (H- α ; t), 2.87 (H- β ; t), 13.5, 6.9, 5.5 (OH). ¹³CRMN (75 MHz, CDCl₃). δ : 133.0 (C-1), 12.0 (C-2), 120.8 (C-3), 139.1 (C-4), 144.7, (C-5), 120.1 (C-6), 104.1 (C-1'), 158.1 (C-2'), 102.9 (C-3'), 159.7 (C-4'), 95.5 (C-5'), 163.6 (C-6'), 30.4 (C-1''), 22.0 (C-2''), 75.0 (C-3''), 26.9 (C-4" Me), 26.9 (C-5"

Me), 33.0 (C-1'''), 47.7 (C-2'''), 79.1(C-3'''), 32.0 (C-4''' Me), 41.1 (C-5'''), 17.0 (C-6'''), 39.6 (C-7''') 19.7 (C-8'''), 20.6 (C-9''' Me), 19.8 (C-10''' Me), 45.8 (C- α), 33.6 (C- β), 205.0 (C=O).

COMPOSTO 44 Pf. 190-191°C; UV (MeOH), λ_{\max} , nm: 291; +AcONa: 328; +AlCl₃: 316. EIMS (probe) 70eV: m/z (%): 494 (100), [M]⁺, 289 (20; a), 262 (11), 232 (8), 204 (75; b), 191 (58; c), 165 (45; a), 149 (23; b), 139 (15), 135 (10;c). ¹HRMN: 6.00 (H-5''' s), 6.65 (H-2; d, J=2.0Hz), 6.49 (H-6; d), 2.72 (H-1''; t), 1.81 (H-2'';t, J=7.5 Hz), 1.34 (H-4'',5 Me), 2.65(H-1'''; m) 2.25 (H-2'''), 2.00-1.45 (H-5''',6''',7''';m 6H)1.25 (H-4''' Me; s), 1.0 (H-9''',10''';s), 3.33(H- α ;t), 2.87 (H- β ;t),13.5, 7.5,5.7 (OH). ¹³CRMN (75 MHz, CDCl₃). δ : 132.8 (C-1'), 111.8 (C-2'), 120.7 (C-3'), 139.0 (C-4'), 144.6, (C-5'), 119.8 (C-6'), 105.8 (C-1''), 156.7(C-2''), 101.6(C-3''), 161.0 (C-4''), 95.0 C-5''), 164.5 (C-6''), 30.1 (C-1'''), 22.0(C-2'''), 75.2(C-3'''), 26.8 (C-4''' Me), 26.8 (C-5''' Me), 33.0 (C-1'''), 46.9 (C-2'''), 79.2(C-3'''), 31.8 (C-4''' Me), 41.3 (C-5'''), 17.4 (C-6'''), 39.7 (C-7''') 19.6 (C-8'''), 20.4 (C-9'''Me), 19.8 (C-10''' Me), 45.3 (C- α), 33.3 (C- β), 205.3 (C=O).

COMPOSTO 45 Sólido amorfo UV (MeOH), λ_{\max} (log ϵ) nm: 291; +AcONa: 291; +AlCl₃:315 EIMS (probe) 70eV ; m/z (%) 512 (35) [M]⁺, 494 (44), [M-HO] , 409 (15), 371 (10), 289 (11; a), 233 (20), 204 (100; b), 191 (100; c), 165 (55; a), 149 (46; b), 139 (30), 135 (18; c). ¹HRMN δ : 5.89 (H-5'''s), 6.57 (H -2; d, J=2.0Hz), 6.46 (H-6; d), 2.71 (H-1''; t), 1.79 (H-2'';t,J=7.5 Hz), 1.28 (H-4'',5 Me), 2.54(H-1''';t), 1.90-1.40(8) (H-2'''), ,1.30 (H-4''' Me; s), 1.16 (6H 9''',10''' Me; s), 3.33(H- α ;t), 2.82 (H- β ;t), 14.0, 9.65, 7.1, 3.2 (OH). ¹³CRMN (75 MHz, CDCl₃). δ : 133.9 (C-1), 113.8 (C-2), 121.7 (C-

3), 140.5 (C-), 146.7, (C-5), 120.4 (C-6), 105.0 (C-1'), 160.3(C-2'), 101.6(C-3'), 61.6 (C-4'), 95.8 (C-5'), 165.0 (C-6'), 29.8 (C-1"), 22.8(C-2"), 75.1(C-3"), 27.3 (C-4" Me), 27.3 (C-5"Me), 30.5 (C-1""), 19.1 (C-2""), 78.6(C-3""), 24.7 (C-4"" Me), 41.0 (C-5""), 16.5 (C-6""), 45.1 (C-7""), 70.2 (C-8""), 29.5 (C-9"" Me), 29.5 (C-10"" Me), 46.8 (C- α), 33.7 (C- β), 205.1 (C=O).

COMPOSTO 46 Sólido amorfo UV (MeOH), λ_{\max} (log ϵ) nm: 281 +AcONa: 319;+AlCl₃:305. EIMS (probe) 70eV ; m/z (%) 512 (80) [M]⁺, 494 35), 409 (14), 371 (19), 289 (15; a), 233 (24), 204 (100; b), 191 (95; c), 165 5; a), 149 (46; b), 139(30), 135 (18; c). ¹HRMN δ : 5.96 (H-5" s), 6.59 (H-2; d, J=2.0Hz), 6.45 (H-6; d), 2.71 (H-1";t), 1.78 (H-2";t, J=7.5 Hz), 1.28 (H-4",5" Me), 2.58 (H-1"";m), 1.90-1.40 (H-2"" 8H;m) ,1.32 (H-4"" Me; s), 1.13 (6H H-9"",10"" Me;s), 3.34(H- α ;t), 2.81 (H- β ;t), 13.8, 9.5, 7.2, 3.2 (OH). ¹³CRMN (75 MHz, CDCl₃). δ : 133.5 (C-1), 113.3 (C-2), 121.5 (C-3), 140.4 (C-4), 146.5, (C-5), 120.1 (C-6), 106.1 (C-1'), 158.0(C-2'), 100.9(C-3'), 162.9 (C-4'), 95.6 (C-5'), 166.0 (C-6'), 29.7 (C-1"), 22.8(C-2"), 75.0(C-3"), 26.9 (C-4" Me), 26.9 (C-5" Me), 30.6 (C-1""), 19.3 (C-2""), 79.2(C-3""), 24.3 (C-4"" Me), 41.3 (C-5""), 16.9 (C-6""), 44.8 (C-7""), 70.3 (C-8""), 29.6 (C-9"" Me), 29.6 (C-10"" Me), 46.3 (C- α), 33.6 (C- β), 205.4 (C=O).

3.7. NOVAS CUMARINAS

CUMARINA A, 52 Sólido amorfo.[α]_D +5.3 (CHCl₃). UV (MeOH), λ_{\max} (log ϵ) nm: 321 (3.91). IR (CHCl₃) cm⁻¹ :3400, 1720, 1610. ¹HRMN (300 MHz, CDCl₃), δ : 7.64 (H-4; d, J=9.8 Hz), 7.36

(H-5; d, J=8.4 Hz), 6.84 (H-6; dd, J=8.4 e 2 Hz), 6.81 (H-8; d, J=2 Hz), 6.25 (H-3; d, J=9.8 Hz), 5.57 (H-2'''; t, J=6.6 Hz), 5.18 (H-7''';d, J=7.5 Hz), 4.62 (H-1''';d, J=6.6 Hz), 4.52 (H-6''';m), 2.35-2.15 (H-5'''; m), 1.82 , 1.71, 1.69 (Me x 3) $^{13}\text{CRMN}$ 75 MHz em CDCl_3 :161.1 (C-2), 113.2 (C-3), 143.1 (C-4), 128.9 (C-5), 113.5 (C-6), 162.1 (C-7), 101.7 (C-8), 156.1 (C-9), 112.5 (C-10), 65.2 (C-1'''), 121.9 (C-2'''), 139.0 (C-3'''), 16.5 (C-4'''), 47.7 (C-5'''), 66.3 (C-6'''), 127.3 (C-7'''), 136.0 (C-8'''), 17.1 (C-9'''), 25.4 (C-10'''). EIMS (probe) 70eV; m/z (%) 314 (não observado) $[\text{M}]^+$;162 (100) $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2]$, 134 (62) $[\text{162}-\text{CO}]$.

CUMARINA B, 53 Sólido amorfo. $[\alpha]_D +5.3$ (CHCl_3). UV (MeOH), λ_{max} (log ϵ) nm: 321 (3.91). IR (CHCl_3) cm^{-1} :3400, 1720, 1610. $^1\text{HRMN}$ (300 MHz, CDCl_3), δ : 7.64 (H-4; d, J=9.8 Hz), 7.36 (H-5; d, J=8.4 Hz), 6.84 (H-6; dd, J=8.4 e 2 Hz), 6.81 (H-8; d, J=2 Hz), 6.25 (H-3; d, J=9.6 Hz), 5.57 (H-2'''; t, J=6.6 Hz), 5.18 (H-7''';d, J=7.5 Hz), 4.62 (H-1''';d, J=6.6 Hz), 4.52 (H-6''';m), 2.35-2.15 (H-5'''; m), 1.82 , 1.71, 1.69 (Me x 3) $^{13}\text{CRMN}$ 75 MHz em CDCl_3 :161.1 (C-2), 113.2 (C-3), 143.1 (C-4), 128.9 (C-5), 113.5 (C-6), 162.1 (C-7), 101.7 (C-8), 156.1 (C-9), 112.5 (C-10), 65.2 (C-1'''), 121.9 (C-2'''), 139.0 (C-3'''), 16.5 (C-4'''), 47.7 (C-5'''), 66.3 (C-6'''), 127.3 (C-7'''), 136.0 (C-8'''), 17.1 (C-9'''), 25.4 (C-10'''). EIMS (probe) 70eV; m/z (%) 314 (não observado) $[\text{M}]^+$;162 (100) $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2]$, 134 (62) $[\text{162}-\text{CO}]$.

3.8. HIDRÓLISE ÁCIDA DAS CUMARINAS A, B E UMBILIFERONE

A hidrólise ácida das cumarinas A e B com (MeOH/HCl, 2N) a temperatura ambiente, produziu a umbeliferone que foi isolada também do extrato bruto.

(-)HERACLENOL 54 Pf.115-116°C; $[\alpha]_D^{20}$ (CHCl₃); -15°(piridina). Ref.[27].(+)heraclenol; pf. 116-117°C; $[\alpha]_D$ +16.5° (piridina).UV(MeOH), λ_{max} (log ϵ) nm: 248 (4.43), 299 (4.14). ¹HRMN (300 MHz, CDCl₃), δ : 7.77 (H-4; d, J=9.9 Hz), 7.70 (H- β ; d, J=2.4 Hz), 7.38 (H-5; s), 6.83 (H - α ; d, J=2.4 Hz), 6.37(H-3; d, J= 9.9 Hz), 4.76 (H-1_A'''; dd, J=10.2 e 2.7 Hz), 4.42 (H-1_B''';dd, J=10.2 e 7.8 Hz), 3.89 (H-2''';dd, J=7.8 e 2.7 Hz),3.75 (OH), 2.85 (OH), 1.34 ,1.30 (Me-4''', Me-5'''; s x 2). ¹³CRMN 75 MHz em CDCl₃ δ :160.7 (C-2), 111.5 (C-3), 144.3 (C-4), 129.3 (C-5), 113.3 (C-6), 161.6 (C-7),102.5 (C-8),155.7 (C-9), 111.5 (C-10), EIMS (probe) 70eV; m/z (%) 304 (15) [M]⁺, 297 (5) [M-Me]⁺, 202 (100) [M-C₅H₁₀O₂], 174 (45).

3.9. IDENTIFICAÇÃO DOS FLAVONÓIDES

KANFEROL-3-RAMNOSIDE (Afzelina), 55.Pf. 170-172°C (Ref.[28] 172-174°C). UV(MeOH), λ_{max} (log ϵ) nm: 265 (4.09), 342 (3.93);+MeONa: 273, 324, 389; +AcONa:273, 364; +AlCl₃:263, 303, 348, 397; ¹HRMN (300 MHz, acetona-d₆), δ : 12.69 (OH-5; s), 7.84 (H-2''', H-6 ;d, J=8.4 Hz), 7.01 (H-3''', H-5'''; d, J=8. Hz), 6.45 (H-8'''; d, J=2.1 Hz), 5.52 (H-1''),4.23 (H-2''), 3.70 (H-5''), 3.39-3.26

(H-3'',H-4''), 0.88 (Me-6; d, J=6.3 Hz). $^{13}\text{CRMN}$ (75 MHz, acetona- d_6); δ : 179.21 (C=O), 164.95 (C-7), 163.11 (C-9), 160.83 (C-4'''), 158.40, 157.93 (C-2, C-5), 135.68 (C-3), 131.62 (C-2''',C-6'''), 122.45 (C-1'''), 116.26 (C-3''',C-5'''), 105.73 (C-10), 102.63 (C-1''), 99,51 (C-6), 94.50 (C-8), 72.92, 72.09, 71.44, 71.30 (C-2'', C-3'', C-4'', C-5''), 17.71 (Me-6'').

QUERCITINA-3-RAMNOSEDE (Quercitina), 56.Pf. 180-181°C (Ref. [29] 179 -180°C). UV (MeOH), λ_{max} (log ϵ) nm: 256 (4.65), 349 (4.52); +AcONa:271, 378; +AlCl₃:274, 430; +AlCl₃/HCl: 269, 353,390.; $^1\text{HRMN}$ (300 MHz, acetona- d_6), δ : 12.50 (OH-5; s), 7.51 (H-2''', d, J=2.1 Hz), 7.37 (H-6''';dd J=8.4 e 2.1 Hz, 6.99 (H-5'''; d, J=8.4 Hz), 6.45 (H-8; d, J=2.1 Hz), 6.25 H-6;d, J=2.1 Hz), 5.49 (H-1''), 4.27 (H-2''), 3.81 (H-5''), 3.45 -3.32 (H-3'',H-4''), 0.91 (Me-6''). $^{13}\text{CRMN}$ (75 MHz, acetona- d_6); δ :179.1 (C=O), 164.8 (C-7), 162.7(C-9), 158.3, 157.8 (C-2, C-5), 148.8(C-3'''), 145.6 (C-4''') 135.8 (C-3) 122.7, 122.5 (C-1''',C-6'''), 116.1, 116.1 (C-2''', C-5'''), 105.6 (C-10'''), 102.6 (C-1''), 99,4 (C-6), 94.50 (C-8), 72.8, 71.9, 71.3, 71.30 (C-2'',C-3'',C-4'',C-5''), 17.71 (Me-6'')

(-)-EPI-GALLOCATECHINA, 57 Pf. 218-220°C. $[\alpha]_{\text{D}}-62$ (EtOH). $^1\text{HRMN}$ (60 MHz, acetona- d_6), δ : 6.58 (H-2''',H-6''';s), 6.0 (H-8; d, J=2.5 Hz), 5.90 (H-6; d, J=2.5), 4.80 (H-2; s largo), 4.20 (H-3;t largo),2.77 (H-4; d, largo). Identificação confirmada por metilação com (CH₂N₂) e comparação direta do pf,TLC e $^1\text{HRMN}$ com padrão.[30] de pentametil-
(-)-gallocatechina.

3.10. IDENTIFICAÇÃO DAS FUROCUMARINAS

Iperatorina 15, Pf. 101-102°C; (Ref. [13] 102-103°C), pimpinellina 47, Pf. 118-119°C; (Ref. [13] 117-119 °C), isopimpenellina 14, Pf. 149-150°C; (Ref. [13] 148-151°C) e xantotossina 48, Pf. 146-147°C; (Ref. [13] 145-146°C) foram identificados com base nos dados de ¹HRMN (Tabela 8) e confirmada confrontando-se o ponto de fusão em miscela e TLC com padrão.

3.11. IDENTIFICAÇÃO DAS FUROQUINOLINAS

Maculina (3), flindersimina (4), γ -fagarina (58), kokusaginina (2) e skimmianina (59) foram indentificadas com base nos dados de ¹HRMN (Tabela 10) e por comparação direta com padrões em TLC.

CAPITULO IV

4.1. CONCLUSÃO

Considerando os resultados experimentais do presente trabalho, podemos concluir que:

1. Das folhas da *E. grandiflora*, foram identificados nove compostos, que, foram isolados e purificados por cromatografia de coluna, seguida de cromatografia em camada preparativa.

2. Dos ramos da *E. grandiflora* foram identificados quatro compostos que foram isolados e purificados por cromatografia de coluna, seguida de cromatografia em camada preparativa.

A caracterização dos compostos baseou-se numa completa análise espectral (UV, $^1\text{HRMN}$ $^{13}\text{CRMN}$ e MS).

Dos compostos isolados das folhas da *E. grandiflora*, as três dihidrochalconas 40,41 e 42 nunca tinham sido isoladas antes na família das rutáceas.

A dihidrochalcona 41 quando tratada com durante uma noite com ácido trifluoracético produziu os quatro compostos 43,44,45 e 46.

Das folhas e dos ramos da *E. grandiflora* foram identificadas duas novas cumarinas 52 e 53 que quando tratadas com Me/HCl 2N produziu a ubiliferone, que também está presente no extrato bruto dos ramos.

Das folhas da *E. grandiflora* foram isolados os flavonóides 55,56 e 57

Além dos compostos acima citados foram isolados e identificados os compostos 2, 3, 4, 14, 15, 47, 48, 58, 59.

O fato do extrato bruto não apresentar efeito farmacológico no "screnem" utilizado, não descarta definitivamente a possibilidade de apresentar algum efeito farmacológico em outros "screnem".

4.2. CÁLCULO DO RENDIMENTOS

Da extração feita das folhas obteve-se os seguintes rendimentos:

Fração de acetato de etila	13.5g	1.800%
Fração A	9.9g	1.306%
Fração B	3.2g	0.467%
Fração A ₁	517mg	0.070%
Fração A ₂	490mg	0.065%
Fração A ₃	4.2g	0.910%
Fração A ₄	490mg	0.065%
Fração F ₁	20mg	0.004%
Fração F ₂	1.5g	0.320%
Fração F ₃	110mg	0.024%
Fração F ₂ A ₁	30mg	0.006%
Fração F ₂ A ₂	135mg	0.029%
Fração F ₃ A ₃	470mg	0.100%
Fração F ₂ B ₁	95mg	0.029%
Fração F ₂ B ₂	125mg	0.030%
Kanferol-3-raminoside	320mg	
Quercitina-3-raminoside	410mg	
(-)epi-galocatequina	70mg	

Da extração feita dos galhos obteve-se os seguintes rendimentos:

Fração acetato de etila	4.8g	0.1655%
Fração C	2.5g	0.0862%
Fração D	2.2g	0.0759%
(-)Heracllenol	77mg	0.0027%

4.3. FARMACOLOGIA

Para realizar os testes farmacológicos, foi feita uma extração hidroalcolica , concentrado em evaporador rotatório a pressão reduzida, até se obter uma concentração entorno de 20%. Este foi então testado farmacologicamente.

Os resultados preliminares indicaram que no "screenem" o extrato bruto não possui ação farmacológica. Porém os ensaios foram realizados somente com extrato bruto, as frações purificadas não foram testadas. E isto faz com que acreditemos que possa existir algum tipo de efeito.

BIBLIOGRAFIA

1. P.G. Waterman, M.F. Grundon Editors in "Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales". Academic Press, London 1983.
2. J.C. Vitagliano, J. Comin: An. Ass. Quim. Argent. 58, 59 (1970); 58,273 (1970).
3. D.L. Dreyer, M.V. Pichering, P. Cohan: Phytochem. 11,705 (1972).
4. D.L. Dreyer: Phytochem 19, 941 (1980).
5. F. Bevalot, A. Fournet, C. Moretti, J. Vaquette: Planta Medica 50, 522 (1984).
6. F. Delle Monache, G. Delle Monache, M.A. de Moraes, M.S.B. Cavalcanti, A. Chiappeta: Phytochem. em publicação.
7. J.B. Harborne, T.J. Mabry Editors in "The flavonoids Advances in Reserch". Chapman-Hall 1922: p. 340-2.
8. J.B. Harborne; Ref.1, cap. 5.
9. S.R. Jensen, B.J. Nielsen, V. Norn: Phytochem. 16, 2036 (1977).
10. P.K. Agraval, R.P. Rastogi: Heterocycles 16, 2181 (1981).
11. E. Breitmaier, W. Voelter in " C RMN Spectroscopy" VHC Verlagsgesellschaft 1987.
12. F. Delle Monache, B. Botta, G. Delle Monache, G.B. Marini Bettolo: Phytochem. 24, 1855 (1985).

13. R.D.H. Murray, J. Mendez, S.A. Brown in "The Natural Cumarins. Occurrence, Chemistry and Biochemistry". J. Willey & Sons LTD, New York, 1982.
- 14 M.U.S. Sultanbawa: Tetrahedron 36, 1465 (1980).
15. J.P. de Dias, O.R. Gottlieb, A.L. Mesquita: Phytochem. 13, 1953 (1974).
16. Y. Asakawa, M. Tiyota, T. Takemoto: Phytochem 17, 2005 (1978).
17. T.J. Mabry, K.R. Markham. M.B. Thomas in "The Systematic Identification of Flavonoids". Springer-Verlag, Berlin, 1970.
18. M.H.A. Elgamal, N.H. Elewa, E.A.M. Elkhisy, H. Duddeck: Phytochem. 18, 139 (1979).
19. d. Movat, R.D.H. Murray: Tetrahedron 29, 2943 (1973).
20. X. Dominguez, G. Cano, I. Luma , A. Dieck: Phytochem. 16, 1096 (1977).
21. F. Delle Monache, G.C. Valera, G.B. Marini Bettolo, J.F., de Mello, O.G. de Lima ; Gazz. Chim. Ital. 107, 399 (1977).
22. M. Nicoletti, F. Delle Monache, G.B. Marini Bettolo: Planta Medica 45, 251 (1982).
23. A. Pelter, R.S. Ward, T.I. Gray: J. Chem. Soc. Perkin I, 2475 (1976).
24. B. E. Nielsen, J. Lemmich: Acta Chem Scand. 23, 962 (1966).
25. N. Adityachandhry. d. Ghosh, A.choudhuri, Y. Yuan-Fen, F. Jian: Acta Pharm. Sinica 17,835 (1982).

27. Y.N. Sharma, R.C. Sharma, A. Zamann, A.R. Kidwai: *Naturwissen.* 22, 537 (1964).
28. F.E. King, R.M. Acheson: *J.Chem. Soc.* 168 (1950).
29. R.G. Cooke, H.F. Haynes: *Aust. J. Chem.* 13, 150 (1960).
- 30 F.Delle Monache, I.L. D'Albuquerque, F. Ferrari, G.B. Marini Bettolo: *Tet. Lett.* 4211 (1977).