

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
TESE DE DOUTORAMENTO EM QUÍMICA

**“ESTUDOS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E FARMACOLÓGICOS
COM *VOCHYSIA DIVERGENS* POHL (VOCHYSIACEAE) E COM
OCOTEA SUAVEOLENS (MEISSN.) HASSLER (LAURACEAE)”**

Sônia Corina Hess

ORIENTADOR: PROF. DR. ROSENDO A. YUNES

Florianópolis, dezembro de 1995.

**"ESTUDOS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E FARMACOLÓGICOS
COM *VOCHYSIA DIVERGENS* POHL (*VOCHYSTACEAE*) E COM
OCOTEA SUAVEOLENS (MEISSN.) HASSLER (*LAURACEAE*).**

SÔNIA CORINA HESS

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



PROF. DR. ROSENDO AUGUSTO YUNES

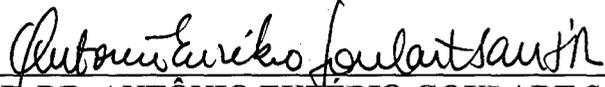
Orientador



PROF. DR. ADILSON CURTIUS

Coordenador

BANCA EXAMINADORA:



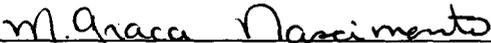
PROF. DR. ANTÔNIO EUZÉBIO GOULART SANT'ANA

Universidade Federal de Alagoas



PROF. DR. PAULO MITSUO IMAMURA

Universidade Estadual de Campinas



PROFa. DRa. MARIA DA GRAÇA NASCIMENTO

Universidade Federal de Santa Catarina



PROFa. DRa. VILMA EDITE FONSECA HEINZEN

Universidade Federal de Santa Catarina



Vochysia divergens Pohl

*À natureza, por
seus maravilhosos
segredos*

AGRADECIMENTOS

Pelo grande apoio e colaboração na realização do presente trabalho, recebam meus agradecimentos :

- _ Professor Rosendo A. Yunes;
- _ Professoras Rosenei L. Brum, Neli K. Honda e Izilda B. Devincenzi (DQI/CCET/UFMS);
- _ Professores Geraldo A. Damasceno Jr., Ieda Maria Bortolotto, e demais professores e funcionários do DAM/CEUC/UFMS;
- _ Professores Henrique e Magda Mongelli (DEX/CEUC/UFMS);
- _ Professores Amauri de Souza e Gilberto Luís Alves (PROPP/UFMS);
- _ Professores e funcionários do DQI/CCET/UFMS;
- _ Manoel do Amaral, ex-aluno do Curso de Ciências Biológicas do DAM/CEUC/UFMS, pela primeira coleta do material vegetal (em um barco, sob 42°C, no pantanal matogrossense);
- _ Professores Moacir, Inês e Vilma, do laboratório 307 da Química/UFSC;
- _ Professora Maria da Graça Nascimento (UFSC);
- _ Professor Valdir Cechinel Filho (UNIVALI), e demais colegas da pós-graduação em Química da UFSC;
- _ Professores Adair R. S. Santos (UNIVALI), e João B. Calixto (UFSC);
- _ Professores Alexandre B. Cruz e Eliane Moretto (UFSC);
- _ Professora Edeltrudes O. Lima (UFPB).
- _ Professores Irene Messana, Franco Ferrari e Franco D. Monache (Itália);

- _ Pesquisador Arnildo Pott (CPAP/EMBRAPA);
- _ Marisa, Márcia, Jadir, Graça e outros funcionários do Departamento de Química da UFSC;
- _ Professores Miguel B. Caro e Luís Madureira, e funcionários Vanilde, Marcelene, Dagoberto, e demais funcionários da Central Analítica da UFSC;
- _ Funcionárias da Biblioteca Setorial da Química (UFSC);
- _ Minha família;
- _ Antônio dos Anjos;
- _ Deus.

ÍNDICE GERAL

	Página
CAPÍTULO 1	
1 - INTRODUÇÃO	
1.1 - Introdução à Fitoquímica	1
1.2 - Fitoquímica e Patologia , Ecologia , Taxonomia e Fisiologia Vegetal	4
1.3 - Metabólitos Secundários como Produtos Farmacêuticos	7
1.4 - Atividade Antibacteriana e Atividade Antifúngica	19
1.5 - Atividade Antinociceptiva - Método da Formalina	21
CAPÍTULO 2	
2 - OBJETIVOS DA TESE	22
CAPÍTULO 3	
3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
3.1 - <i>Vochysia divergens</i> Pohl (Vochysiaceae)	
3.1.1 - Sinopse da Família Vochysiaceae A. St. Hil.	23
3.1.2 - Posição Sistemática de <i>Vochysia divergens</i> Pohl	24
3.1.3 - <i>Vochysia divergens</i> Pohl - Características e Distribuição Geográfica	24
3.1.4 - Estudos Químicos com Plantas do Gênero <i>Vochysia</i>	25

3.2 - <i>Ocotea suaveolens</i> (Meissn.) Hassler (Lauraceae)	
3.2.1 - Sinopse da Família Lauraceae Lindl.	28
3.2.2 - <i>Ocotea suaveolens</i> (Meissn.) Hassler - Características e Distribuição Geográfica	28
3.2.3 - Posição Sistemática de <i>Ocotea suaveolens</i> (Meissn.) Hassler	29
3.2.4 - Estudos Químicos com Plantas do Gênero <i>Ocotea</i>	30

CAPÍTULO 4

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Introdução	31
4.2 - β-Sitosterol, Campesterol e Estigmasterol	39
4.3 - Ácido Betulínico	46
4.4 - Ácido Serícico	54
4.5 - Ácido 24-hidroxitormêntico	66
4.6 - Mistura de Ácido Serícico e Ácido 24- hidroxitormêntico	72
4.7 - Derivados do Ácido Serícico e do Ácido 24- hidroxitormêntico	
4.7.1 - Reações envolvendo os grupos hidroxila	
4.7.1.1 - Acetilação	79
4.7.1.2 - Oxidação	93
4.7.2 - Reações envolvendo o grupo carboxila	
4.7.2.1 - Metilação	101
4.7.2.2 - Reações de esterificação com 1- bromo-2-fenil-etanona, e com 1- bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona	107

4.7.3 - Reações mal sucedidas	117
4.8 - Atividade antibacteriana	118
4.9 - Atividade antifúngica	120
4.10 - Atividade antinociceptiva	121

CAPÍTULO 5

5 - MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 - Procedimentos Experimentais Gerais	126
5.2 - Os Materiais Vegetais	
5.2.1 - <i>Vochysia divergens</i> Pohl (Vochysiaceae)	127
5.2.2 - <i>Ocotea suaveolens</i> (Meissn.) Hassler (Lauraceae)	127
5.3 - Extração e Isolamento	
5.3.1 - <i>Vochysia divergens</i> Pohl	128
5.3.2 - <i>Ocotea suaveolens</i> (Meissn.) Hassler	130
5.4 - Derivados do Ácido Serícico e do Ácido 24- hidroxitormênico	
5.4.1 - Reações envolvendo os grupos hidroxila	
5.4.1.1 - Acetilação	131
5.4.1.2 - Oxidação	132
5.4.2 - Reações envolvendo o grupo carboxila	
5.4.2.1 - Metilação	133
5.4.2.2 - Reação de esterificação com 1- bromo-2-fenil-etanona	134
5.4.2.3 - Reação de esterificação com 1- bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona	135
5.5 - Atividade Antibacteriana	135
5.6 - Atividade Antifúngica	136

5.7 - Atividade Antinociceptiva

137

CAPÍTULO 6**6 - CONCLUSÕES**

139

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

143

ÍNDICE DAS FIGURAS

- FIGURA 1**-Espectro no Infravermelho do β -Sitosterol em pastilha de KBr. 43
- FIGURA 2**-Espectro de ^1H -RMN (200 MHz) do β -Sitosterol em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência. 44
- FIGURA 3**-Espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz) do β -Sitosterol em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência. 45
- FIGURA 4**-Espectro no Infravermelho do Ácido Betulínico em pastilha de KBr. 49
- FIGURA 5**-Espectro de ^1H -RMN (300 MHz) do Ácido Betulínico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência. 50
- FIGURA 6**-Espectro de ^{13}C -RMN (75 MHz) do Ácido Betulínico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência. 51
- FIGURA 7**-Espectro II de ^{13}C -RMN (75 MHz) do Ácido Betulínico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência. 52
- FIGURA 8**-Espectro de ^{13}C -RMN/DEPT (50 MHz) do Ácido Betulínico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência. 53
- FIGURA 9** -Espectro de massa (35 eV, probe) do Ácido Serícico 59
- FIGURA 10**-Espectro no Infravermelho do Ácido Serícico em pastilha de KBr. 60
- FIGURA 11**-Espectro de ^1H -RMN (300 MHz) do Ácido Serícico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência. 61
- FIGURA 12**-Espectro II de ^1H -RMN (300 MHz) do Ácido Serícico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência. 62

- FIGURA 13**-Espectro de ^{13}C -RMN (75 MHz) do Ácido Serícico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência. 63
- FIGURA 14**-Espectro II de ^{13}C -RMN (75 MHz) do Ácido Serícico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência. 64
- FIGURA 15**-Espectro de ^{13}C -RMN/DEPT (50 MHz) do Ácido Serícico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência. 65
- FIGURA 16**-Espectro no Infravermelho do Ácido 24-Hidroxitormêntico em pastilha de KBr. 69
- FIGURA 17**-Espectro de ^1H -RMN (300 MHz) do Ácido 24-Hidroxitormêntico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência. 70
- FIGURA 18**-Espectros de ^{13}C -RMN e de ^{13}C -RMN/APT (75 MHz) do Ácido 24-Hidroxitormêntico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência. 71
- FIGURA 19**-Espectro de ^1H -RMN (200 MHz) da mistura de Ácido serícico e Ácido 24-Hidroxitormêntico obtida de *V. divergens*. TMS como padrão interno de referência, e d^5 -piridina como solvente. 75
- FIGURA 20**-Espectro II de ^1H -RMN (200 MHz) da mistura de Ácido Serícico e Ácido 24-Hidroxitormêntico obtida de *V. divergens*. TMS como padrão interno de referência, e d^5 -piridina como solvente. 76
- FIGURA 21**-Espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz) da mistura de Ácido Serícico e Ácido 24-Hidroxitormêntico obtida de *V. divergens*. TMS como padrão interno de referência, e d^5 -piridina como solvente. 77

- FIGURA 22**-Espectro de ^{13}C -RMN/DEPT (50 MHz) da mistura de **78**
Ácido Serícico e Ácido 24-Hidroxitormêntico obtida de
V. divergens. TMS como padrão interno de referência,
e d^5 -piridina como solvente.
- FIGURA 23**-Espectro no Infravermelho em pastilha de KBr, da **85**
mistura dos Compostos Triacetilados **57** e **58**,
derivados do Ácido Serícico e do Ácido 24-
Hidroxitormêntico.
- FIGURA 24**-Espectro no Infravermelho em pastilha de KBr, da **86**
mistura dos Compostos Diacetilados **59** e **60**, derivados
do Ácido serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico.
- FIGURA 25**-Espectro de ^1H -RMN (200 MHz) da mistura dos **87**
Compostos Triacetilados **57** e **58**, derivados do Ácido
Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em CDCl_3 ,
TMS como padrão interno de referência.
- FIGURA 26**-Espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz) da mistura dos **88**
Compostos Triacetilados **57** e **58**, derivados do ácido
serícico e do ácido 24-hidroxitormêntico, em CDCl_3 ,
TMS como padrão interno de referência.
- FIGURA 27**-Espectro de HETCOR da mistura dos Compostos **89**
Triacetilados **57** e **58**, derivados do Ácido Serícico e do
Ácido 24-Hidroxitormêntico, em CDCl_3 , TMS como
padrão interno de referência.
- FIGURA 28**-Espectro de ^1H -RMN (200 MHz) da mistura dos **90**
Compostos Diacetilados **59** e **60**, derivados do Ácido
Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em CDCl_3 ,
TMS como padrão interno de referência.

- FIGURA 29-**Espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz) da mistura dos Compostos Diacetilados **59** e **60**, derivados do Ácido Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência. 91
- FIGURA 30-** Espectro de ^{13}C -RMN/DEPT (50 MHz) da mistura dos Compostos Diacetilados **59** e **60**, derivados do Ácido Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência. 92
- FIGURA 31-**Espectro no Infravermelho em pastilha de KBr da mistura dos Compostos **62** e **63**, produtos da oxidação do Ácido Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico. 97
- FIGURA 32-**Espectro de ^1H -RMN (200 MHz) da mistura dos Compostos **62** e **63**, produtos da oxidação do Ácido Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência. 98
- FIGURA 33-**Espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz) da mistura dos Compostos **62** e **63**, produtos da oxidação do Ácido Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em mistura de CDCl_3 e d^6 -acetona, TMS como padrão interno de referência. 99
- FIGURA 34-** Espectro de ^{13}C -RMN/DEPT (50 MHz) da mistura dos Compostos **62** e **63**, produtos da oxidação do Ácido Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em mistura de CDCl_3 e d^6 -acetona, TMS como padrão interno de referência. 100
- FIGURA 35-**Espectro no Infravermelho em pastilha de KBr da mistura dos Compostos **65** e **66**, produtos da metilação do Ácido Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico. 104

- FIGURA 36**-Espectro de ^1H -RMN (200 MHz) da mistura dos Compostos **65** e **66**, produtos da metilação do Ácido Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência. 105
- FIGURA 37**-Espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz) da mistura dos Compostos **65** e **66**, produtos da metilação do Ácido Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência. 106
- FIGURA 38**-Espectro no Infravermelho em pastilha de KBr do Composto **67**, produto da esterificação do Ácido Serícico com 1-Bromo-2-fenil-etanona. 111
- FIGURA 39**-Espectro no Infravermelho em pastilha de KBr do Composto **68**, produto da esterificação do Ácido Serícico com 1-Bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona. 112
- FIGURA 40**-Espectro de ^1H -RMN (200 MHz) do Composto **67**, produto da esterificação do Ácido Serícico com 1-Bromo-2-fenil-etanona, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência. 113
- FIGURA 41**-Espectro de ^1H -RMN (200 MHz) do Composto **68**, produto da esterificação do Ácido Serícico com 1-Bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência. 114
- FIGURA 42**-Espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz), do Composto **67**, produto da esterificação do Ácido Serícico com 1-Bromo-2-fenil-etanona, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência. 115

FIGURA 43-Espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz), do Composto **68**, 116
produto da esterificação do Ácido Serícico com
1-Bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona, em CDCl_3 , TMS
como padrão interno de referência.

ÍNDICE DAS TABELAS

- Tabela 1** - Dados de ^1H -RMN (200 MHz) e de ^{13}C -RMN (50 MHz) do β -sitosterol (**48**), campesterol (**49**) e estigmasterol (**50**) em clorofórmio deuterado, TMS como padrão interno de referência. 42
- Tabela 2** - Dados de ^1H -RMN (300 MHz) e de ^{13}C -RMN (75 MHz) do ácido betulínico em piridina deuterada, TMS como padrão interno de referência. 47
- Tabela 3** - Dados de ^1H -RMN (300 MHz) e de ^{13}C -RMN (75 MHz) do ácido séríco (**51**), do ácido 24-hidroxitormêntico (**55**) e da arjungenina (**56**) em piridina deuterada, TMS como padrão interno de referência. 57
- Tabela 4** - Dados de ^1H -RMN (300 MHz) e de ^{13}C -RMN (75 MHz) do ácido 24-hidroxitormêntico em piridina deuterada, TMS como padrão interno de referência. 68
- Tabela 5** - Dados espectrais de ^{13}C -RMN (50 MHz) do ácido séríco (**51**), do ácido 24-hidroxitormêntico (**55**), e da mistura dos dois, obtida a partir de *Vochysia divergens*. TMS como padrão interno de referência, e piridina deuterada como solvente. 74
- Tabela 6** - Dados de ^1H -RMN (200 MHz) e de ^{13}C -RMN (50 MHz) das misturas de ácido séríco e ácido 24-hidroxitormêntico (**51 + 55**) e dos seus derivados triacetilados (**57 + 58**), TMS como padrão interno de referência. 83

- Tabela 7** - Dados de ^1H -RMN (200 MHz) e de ^{13}C -RMN (50 MHz) 84
das misturas de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico
(51 + 55) e dos seus derivados diacetilados (59 + 60), TMS
como padrão interno de referência.
- Tabela 8** - Dados de ^1H -RMN (200 MHz) e de ^{13}C -RMN (50 MHz) 96
das misturas de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico
(51 + 55) e dos seus derivados por oxidação (62 + 63) ,
TMS como padrão interno de referência.
- Tabela 9** - Dados de ^1H -RMN (200 MHz) e de ^{13}C -RMN (50 MHz) 103
das misturas de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico
(51 + 55) e dos seus derivados metilados (65 + 66) , TMS
como padrão interno de referência.
- Tabela 10** - Dados de ^1H -RMN (200 MHz) e de ^{13}C -RMN (50 MHz) 109
do ácido serícico (51) e dos seus derivados 67 e 68 , TMS
como padrão interno de referência.
- Tabela 11** - Concentração Inibitória Mínima (CMI) em mg/mL, para 118
Extratos e Compostos Isolados da Casca do Caule de *V.*
divergens.
- Tabela 12** - Atividade Antifúngica do Ácido Serícico - Resultados 121
expressos como diâmetro médio da zona de inibição
(mm), em ensaios de difusão em agar.
- Tabela 13** - Atividade analgésica do ácido serícico (51), do ácido 122
24-hidroxitormêntico (55) e de seus derivados no modelo
de dor causada pela formalina em camundongos, na dose
de 10 mg/Kg, via intraperitoneal.

ABREVIATURAS

IV - Infravermelho

^1H -RMN - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Próton

^{13}C -RMN - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13

TMS - Tetrametilsilano

^{13}C -RMN/APT - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 com “Teste de Próton Ligado”

^{13}C -RMN/DEPT - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 com “Enriquecimento por Transferência de Polarização, sem Distorção”

HETCOR - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Correlação Carbono-13/Próton

CG/AR - Cromatografia Gasosa de Alta Resolução

RESUMO

As investigações químicas com a casca do caule de *Vochysia divergens* Pohl (Vochysiaceae) (usada na medicina popular no combate à asma e às infecções respiratórias) levaram à obtenção de β -sitosterol, ácido betulínico, ácido serícico, e uma mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico. O ácido serícico puro foi submetido a reações de esterificação com 1-bromo-2-fenil-etanona, e com 1-bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona, enquanto a mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico foi submetida a reações de acetilação, esterificação com diazometano, e oxidação com periodato de sódio.

Da casca do caule de *Ocotea suaveolens* (Meissn.) Hassler (Lauraceae) (usada na medicina folclórica como descongestionante e fortificante) foi obtida uma mistura dos esteróides β -sitosterol, campesterol e estigmasterol, além de ácido 24-hidroxitormêntico puro.

Foram realizados testes biológicos e farmacológicos com compostos puros e misturas obtidas a partir dos dois vegetais, e também com seus derivados.

Foi confirmado o efeito antiinfecioso de *Vochysia divergens* Pohl, tendo presente que o ácido serícico é ativo contra as bactérias patogênicas: *Staphylococcus aureus*; *Shigella flexinere*; *Salmonella typhimurium*; e contra *Streptococcus sp* ; enquanto a mistura de ácido serícico e de ácido 24-hidroxitormêntico, isolada da mesma planta, também mostrou atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhimurium*.

O ácido serícico foi eficiente, também, em combater os fungos patogênicos *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Penicillium*.

O ácido serícico, o ácido 24-hidroxitormêntico, e os compostos sintetizados a partir deles, foram submetidos a testes de atividade analgésica no

modelo de dor causada pela injeção intraplantar de formalina em camundongos, sendo que todos inibiram de forma significativa tanto a dor de origem neurogênica (primeira fase), quanto a dor de origem inflamatória (segunda fase), induzidas pela formalina.

As atividades antimicrobianas e analgésicas descritas para o ácido serícico e para o ácido 24-hidroxitormêntico, justificam o uso de *Vochysia divergens* e de *Ocotea suaveolens* na medicina popular.

ABSTRACT

From the stem barks of *Vochysia divergens* Pohl (Vochysiaceae) it was obtained β -sitosterol, betulinic acid, sericic acid, and a mixture of sericic acid and 24-hydroxytormentic acid. Pure sericic acid was esterified with 1-bromo-2-phenyl-ethanone and with 1-bromo-(4'-bromophenyl)-ethanone, and the mixture of sericic acid and 24-hydroxytormentic acid was submitted to reactions of acetylation, sterification with diazomethane, and oxidation with sodium periodate.

From the stem barks of *Ocotea suaveolens* (Meissn.) Hassler (Lauraceae), were obtained pure 24-hydroxytormentic acid, and a mixture of β -sitosterol, campesterol and stigmasterol.

The pure compounds and the mixtures of substances obtained from the two plants, as well as their derivatives, were submitted to tests for the determination of biological and pharmacological activities.

Sericic acid, obtained from *Vochysia divergens*, was active against the pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus*; *Shigella flexinere*; *Salmonella typhimurium*; and *Streptococcus sp.* It was also active against the fungii *Candida albicans*, *Candida tropicalis* and *Penicillium*.

Sericic acid, 24-hydroxytormentic acid, and the compounds obtained from them, were tested for antinociceptive activity in the model of pain caused by the intraplantar injection of formalin in mice. All the tested substances inhibited the neurogenic pain (first phase) and the inflammatory pain (second phase) caused by formalin.

The antimicrobial and analgesic properties described for sericic acid and 24-hydroxytormentic acid justify the use of *Vochysia divergens* and *Ocotea suaveolens* in folk medicine.

CAPÍTULO 1

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Introdução à Fitoquímica

Os produtos naturais foram divididos em dois grupos: metabólitos primários e metabólitos secundários. Esta subdivisão leva em conta os seguintes fatores, que caracterizam os dois grupos:¹

Metabólito Primário:

- 1 - Produto do metabolismo geral;
- 2 - Amplamente distribuído em plantas e microorganismos. Ex: aminoácidos de proteínas comuns, monossacarídeos, ácidos carboxílicos do ciclo de Krebs, lipídeos, glicéridos, etc.

Metabólito Secundário

- 1 - Produto de metabolismo específico, relacionado a processos adaptativos;
- 2 - Biossintetizado a partir de metabólitos primários;
- 3 - Com distribuição restrita a certas plantas e microorganismos (às vezes, característico de um dado gênero ou espécie). Ex: alcalóides, terpenóides, flavonóides, oligossacarídeos, etc.

Os metabólitos primários compreendem as substâncias de ampla difusão na natureza, e que se encontram em todos os organismos vivos, sendo portanto metabolicamente essenciais. Um grupo reduzido destes

metabólitos primários serve como precursores de todas as outras substâncias que não pertencem a esta categoria, os metabólitos secundários.¹

A linha divisória entre metabolismo primário e secundário é bastante flexível: há muitos aminoácidos que são definitivamente metabólitos secundários, enquanto muitos álcoois esteroidais (esteróis) têm um papel estrutural essencial na maioria dos organismos, devendo assim ser considerados como metabólitos primários. Além disso, os dois tipos de metabolismo estão interconectados, já que o metabolismo primário fornece várias moléculas pequenas que são utilizadas como matérias-primas para todas as etapas importantes do metabolismo secundário, havendo três matérias-primas principais para o metabolismo secundário:²

(a) **Ácido chiquímico**, que é o precursor de muitos compostos aromáticos incluindo os aminoácidos aromáticos, ácidos cinâmicos e certos polifenóis;

(b) **Aminoácidos**, levando a alcalóides e antibióticos peptídicos incluindo as penicilinas e cefalosporinas;

(c) **Acetato**, precursor dos poliacetilenos, prostaglandinas, antibióticos macrocíclicos, polifenóis, e dos isoprenóides (terpenos, esteróides e carotenóides), via duas etapas biossintéticas completamente separadas.

Em cada caso o precursor dos metabólitos secundários também é usado na biossíntese de certas classes de metabólitos primários, como proteínas, ácidos graxos, etc.²

A característica mais importante de muitos metabólitos secundários é a sua distribuição relativamente restrita na natureza, que em alguns casos se limita a espécies ou subespécies únicas; conseqüentemente, são uma manifestação da individualidade do organismo que os contém, e geralmente não se conhece a natureza de seu significado bioquímico.³

Dois exemplos de produtos naturais, ou metabólitos secundários, poderão ajudar a esclarecer: a morfina só ocorre em duas espécies de papoula, *Papaver somniferum* e *P. setigerum*, e embora seja amplamente usada e abusada pelo homem, não tem função conhecida nestas plantas. Da mesma maneira, as penicilinas são produzidas por algumas poucas espécies de fungos, e nenhum outro organismo. Elas têm grande valor como antibióticos a serviço do homem, mas não parecem ter algum propósito valoroso nos microorganismos que as produzem.⁴

O homem primitivo usava extratos vegetais como medicamentos no alívio da dor ou do sintoma de doenças; como venenos para uso em batalhas, caça e pesca; como agentes eficientes para eutanásia e condenações; e como narcóticos, alucinógenos ou estimulantes para alívio do tédio, fadiga ou fome. Ele também deve ter usado os compostos aromáticos para ocultar odores desagradáveis, e temperos para disfarçar o sabor de alimentos deteriorados.⁵

Nos últimos anos descobriu-se que em muitos casos os metabólitos secundários têm uma função no organismo que os origina. Até então eles eram considerados como detritos: compostos sem utilidade, mas estruturalmente interessantes. Agora é reconhecido que muitos deles têm papéis vitais como mediadores em interações ecológicas; ou seja, eles têm uma função na sobrevivência de organismos particulares, frequentemente em um ambiente hostil onde muitos organismos estão competindo entre si. Eles aumentam, assim, a competitividade destes organismos.⁶

1.2 - Fitoquímica e Patologia , Ecologia , Taxonomia e Fisiologia Vegetal

Técnicas fitoquímicas são primariamente importantes para o patologista, para a caracterização das fitotoxinas (produtos da síntese microbiana produzidos em plantas superiores quando invadidas por bactérias ou fungos) e de fitoalexinas (produtos do metabolismo de plantas superiores formados em resposta ao ataque microbiano). Há duas áreas de pesquisa onde os constituintes secundários de plantas são importantes na ecologia vegetal : as interações planta-planta; e planta-animal. Os problemas analíticos nos dois casos são difíceis devido às quantidades limitadas de material biológico à disposição do fitoquímico.⁷

Compostos até aqui conhecidos como envolvidos em interações planta-animal são primariamente alcalóides e glicosídeos cardíacos, cianogênicos, esteróides, terpenos voláteis ou glicosídeos de óleo de mostarda. Os compostos vegetais podem variavelmente agir como atraentes ou repelentes de alimentação, ter efeitos hormonais sobre os insetos, ou fornecer aos insetos um mecanismo útil de defesa contra predação. Quanto ao aspecto evolutivo, na sequência samambaias-gimnospermas-angiospermas lenhosas-angiospermas herbáceas, há uma tendência ao aumento da complexidade das substâncias de repelência. As principais etapas biossintéticas (terpenóide, fenólica e do nitrogênio), e outras, podem ser colocadas em operação para produzir tais compostos.⁸

Interações planta-planta envolvem as chamadas substâncias alelopáticas, que uma planta exsuda de suas raízes ou folhas para evitar o crescimento de outras espécies de plantas em suas vizinhanças. Os compostos são terpenos voláteis ou ácidos fenólicos simples, dependendo da

planta estar crescendo em um clima semi-tropical ou temperado. O estudo fitoquímico da alelopatia pode ser difícil, já que requer determinações de extratos completos de folhas, exsudados naturais de folhas, e de amostras de solo também. A rápida transformação de substâncias ativas no solo também oferece riscos analíticos.⁹⁻¹⁰

Aspectos aplicados na pesquisa de interações planta-animal incluem o controle de predação de plantações por insetos, pelo uso de pesticidas naturais ou sintéticos, e análises fitoquímicas podem ser necessárias para acompanhar o desaparecimento destes pesticidas no ambiente.⁸

Com relação às interações planta superior-planta inferior e micróbios deve ser enfatizado que a suscetibilidade a doenças, frequentemente observada em plantas cultivadas, é realmente uma exceção, e não a regra. A maioria das plantas superiores, especialmente aquelas que crescem em comunidades naturais, ou são resistentes ao ataque microbiano, ou co-existem em uma relação simbiótica com os parasitas, sem a produção de quaisquer sintomas visíveis. A experiência mostra que, enquanto as plantas cultivadas são suscetíveis a várias doenças, a maioria das espécies selvagens semelhantes são relativamente imunes, e o conhecimento dos fatores que levam à resistência podem auxiliar no controle de doenças de plantas cultivadas, em bases mais racionais e científicas. Foi elaborada uma classificação dos fatores de resistência a doenças em plantas superiores, que foram agrupados em quatro tipos:⁸

Compostos pré-infecção

- a) **Pré-inibitinas** - metabólitos que reduzem ou barram completamente o desenvolvimento de microorganismos *in vivo*;
- b) **Inibitinas** - Metabólitos que aumentam após a instalação da infecção, para expressarem sua toxidez completa;

Compostos pós-infecção

- a) **Pós-inibitinas** - Metabólitos formados pela hidrólise ou oxidação de substratos pré-existentes, não-tóxicos;
- b) **Fitoalexinas** - Metabólitos formados *de novo* após invasão, por derrepressão de gens ou ativação de um sistema enzimático latente.

Há um forte elemento taxonômico na produção de fitoalexinas por plantas, e em algumas famílias, um tipo particular é provável de ser formado na maioria das espécies. Isto é verdadeiro para as Solanaceae, onde todas as plantas testadas forneceram sesquiterpenóides, como fitoalexinas. À medida em que as plantas estão evoluindo, por seleção natural, para produção de fitoalexinas mais eficientes para combater o ataque de microorganismos, os microorganismos também estão produzindo mecanismos de defesa que inativam esses agentes antimicrobianos, em um processo co-evolutivo.¹¹

Para a fisiologia vegetal, as maiores contribuições dos estudos fitoquímicos são, sem dúvida, na determinação das estruturas químicas, as origens biossintéticas, e os modos de ação de hormônios naturais de crescimento. O resultado de anos de trabalho conjunto entre fitoquímicos e fisiologistas foi o reconhecimento de cinco classes de reguladores de crescimento: as auxinas, as citocininas, as giberelinas, o ácido abscísico e o etileno.¹²

Um dos campos de desenvolvimento mais rápido na fitoquímica atualmente é a disciplina híbrida entre a química e a taxonomia, conhecida como sistemática bioquímica ou quimiotaxonomia. Basicamente, ela trata do estudo químico de grupos restritos de plantas, principalmente quanto a metabólitos secundários, e quanto a macromoléculas, aplicando os dados obtidos na classificação das plantas. Talvez a classe mais útil de compostos em tais estudos sejam os flavonóides, embora levantamentos de muitas

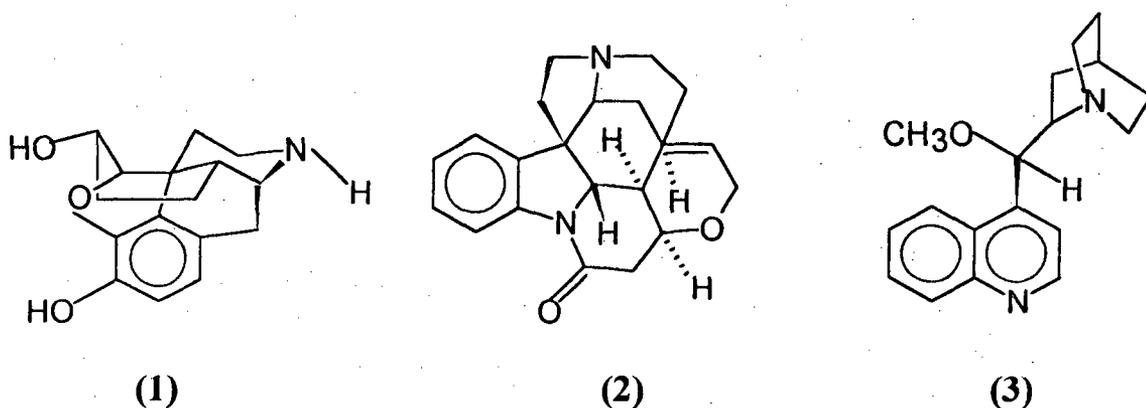
outras classes de compostos (alcalóides, aminoácidos não-proteicos, terpenos, compostos sulfurosos, etc) também tenham rendido novas informações potencialmente úteis para propósitos taxonômicos. Métodos precisos são essenciais, tanto na triagem preliminar, quanto na análise dos componentes individuais das plantas.⁷

1.3 - Metabólitos Secundários como Produtos Farmacêuticos

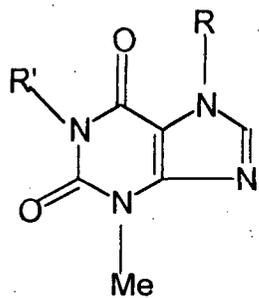
O uso de plantas medicinais como fonte de alívio para enfermidades é relatado a mais de cinco mil anos, com início nas antigas civilizações da China, Índia e Oriente próximo, mas com certeza é uma atividade tão antiga quanto a humanidade. Mesmo hoje, as plantas são a fonte quase exclusiva de drogas para a maioria da população mundial. Nos países industrializados, a pesquisa com plantas medicinais teve seus altos e baixos durante as últimas décadas. Apesar disso, pesquisas revelam que, nos Estados Unidos, substâncias derivadas de plantas superiores constituem aproximadamente 25% dos medicamentos prescritos.¹³

Depois de séculos de uso empírico de preparados de ervas, os primeiros princípios ativos isolados foram os alcalóides morfina (1), estriquinina (2), quinina (3), etc, sendo que nos primórdios do século dezoito teve início uma nova era no uso de plantas medicinais, com o começo da pesquisa médica moderna nesta área. Entretanto, após 1945 a ênfase se afastou das drogas derivadas de plantas devido ao grande desenvolvimento da química farmacêutica sintética, e da fermentação microbiana. Durante este período, os metabólitos vegetais foram investigados principalmente sob um ponto de vista fitoquímico e quimiotaxonômico. Na última década, entretanto, o interesse por drogas de origem vegetal tem crescido muito. O

consumo de plantas medicinais quase duplicou na Europa ocidental durante este período. As principais razões para esta renovação podem ter sido a preocupação ecológica, e a busca de terapias não-clássicas. Assim, as grandes empresas farmacêuticas estão demonstrando interesse renovado por plantas superiores como fontes de novos medicamentos.¹⁴



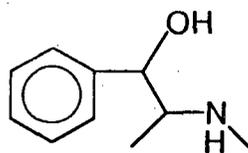
Certos metabólitos secundários biologicamente ativos (a maioria, toxinas derivadas de plantas) têm encontrado aplicação medicinal como drogas ou compostos-modelo (templatos) para a síntese e semi-síntese de drogas. Compostos naturais de importância farmacêutica que foram obtidos inicialmente de plantas superiores, mas que agora são produzidos sinteticamente incluem cafeína (4), teofilina (5), teobromina (6), efedrina (7), pseudoefedrina (8), emetina (9), papaverina (10), L-dopa (11), ácido salicílico (12), e tetrahydrocannabinol (13). Além disso, o β -caroteno (14), um metabólito primário vegetal que pode ser útil na prevenção ou tratamento de certos tipos de câncer, é atualmente produzido sinteticamente.¹⁵



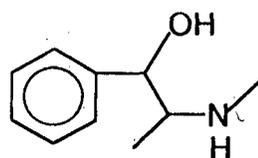
(4) Cafeína : R = R' = Me

(5) Teofilina : R = H; R' = Me

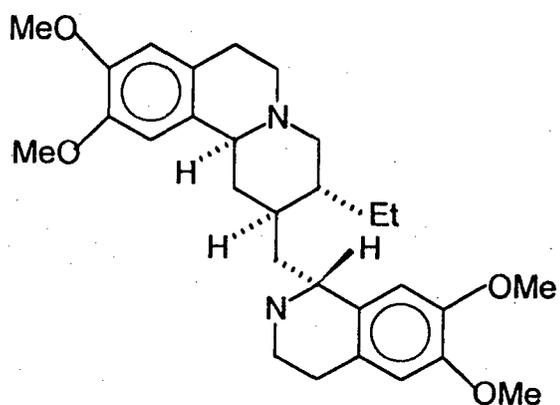
(6) Teobromina : R = Me; R' = H



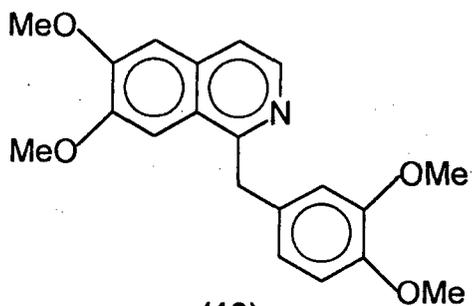
(7)



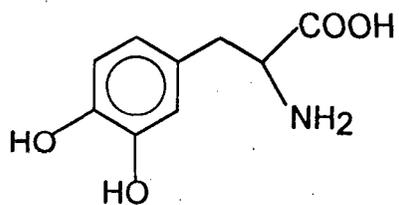
(8)



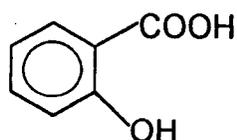
(9)



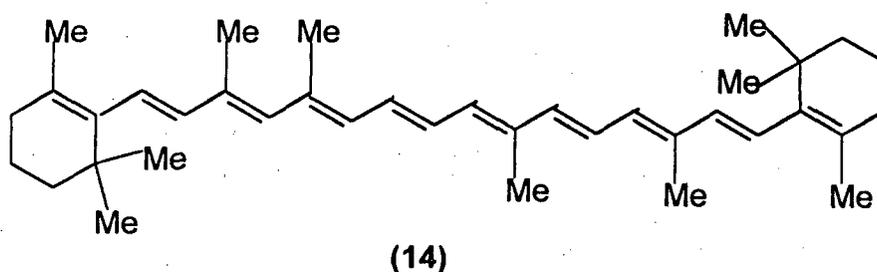
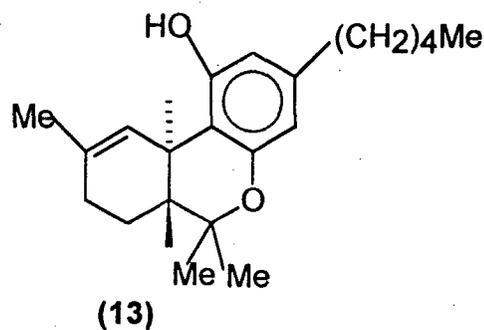
(10)



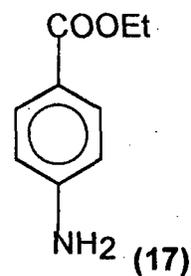
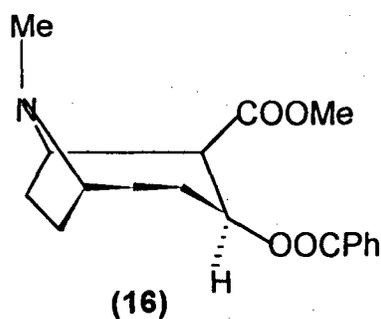
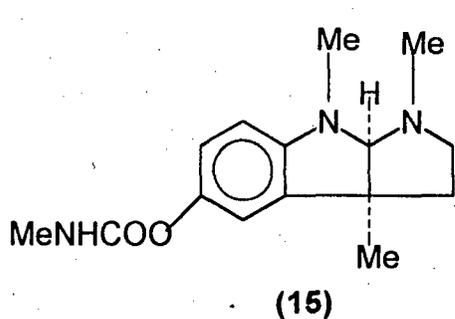
(11)

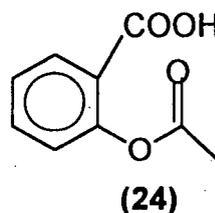
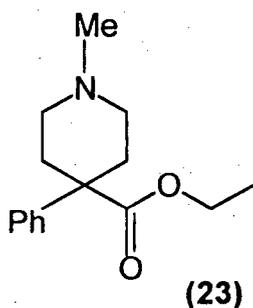
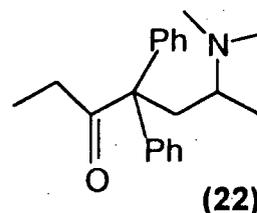
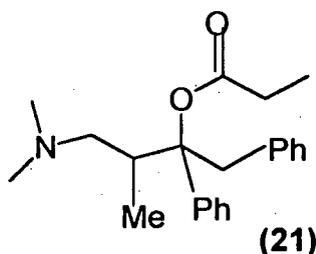
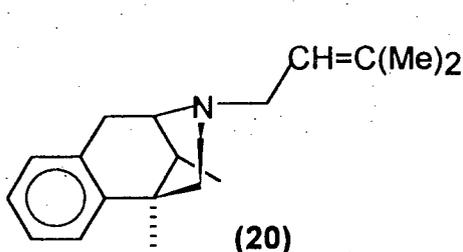
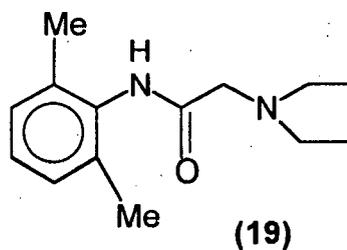
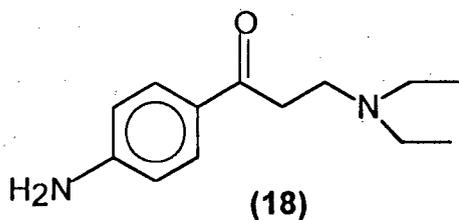


(12)



Os alcalóides da belladona, a fisostigmina (15), a quinina (3), a cocaína (16), os opióides, e o ácido salicílico (12) serviram de modelos para a síntese de anti-colinérgicos, anti-colinesterases, drogas anti-malária, benzocaína (17), procaína (18), lidocaína (19), e outros anestésicos locais, além de pentazocina (20), propoxifeno (21), metadona (22), meperidina (23), e ácido acetil-salicílico (24).¹⁶

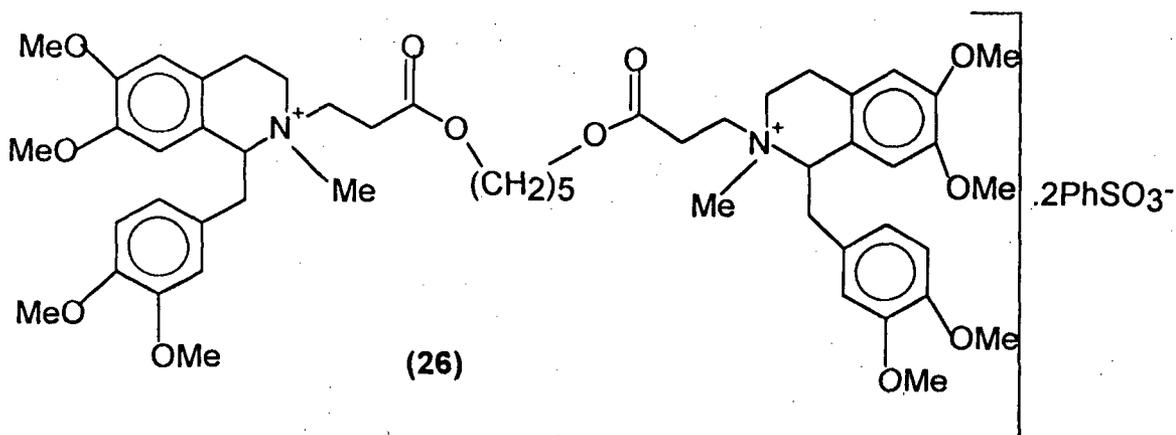
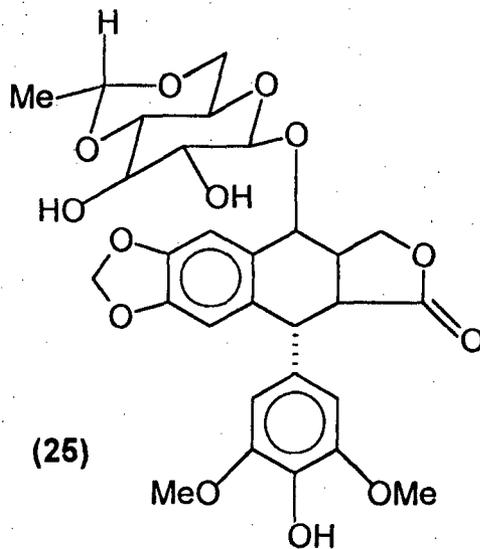




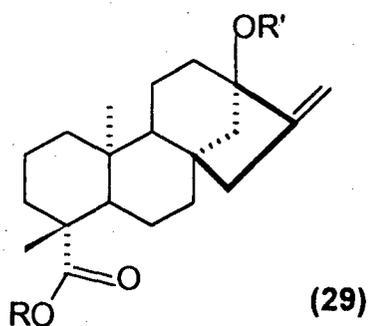
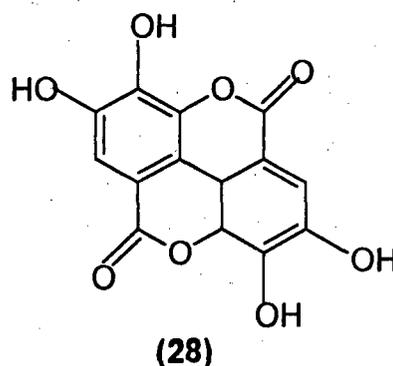
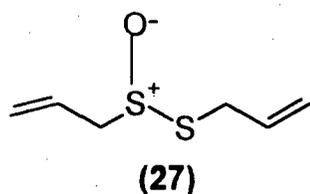
O valor comercial de medicamentos ainda obtidos diretamente de plantas superiores é considerável. Por exemplo, em 1980 os consumidores americanos pagaram em torno de US\$ 8 bilhões por medicamentos obtidos diretamente de plantas superiores, e as plantas continuam sendo fontes importantes de novos medicamentos, como evidenciam as recentes aprovações (1983-86), nos Estados Unidos, de várias novas drogas obtidas diretamente de plantas, ou baseadas em compostos secundários de plantas.¹³

Como exemplos de drogas obtidas diretamente de plantas tem-se o etoposídeo (VP-16-213) (25), que é um novo agente antineoplásico semi-sintético obtido de *Podophyllum peltatum* e *P. enodi*, descrito como útil no

tratamento quimioterapêutico de carcinomas testiculares refratários, leucemias não-linfocíticas, e linfomas (com excessão dos linfomas de Hodgkin); o besilato de atracurium (26), que é um relaxante muscular sintético relativamente novo, estrutural e farmacologicamente relacionado com os alcalóides curare; o tetrahydrocannabinol (13) sintético e alguns de seus análogos, que foram recentemente aprovados nos Estados Unidos para o tratamento de glaucoma e da náusea associada com a quimioterapia do câncer. Os canabinóides também estão sendo desenvolvidos para uso em desordens neurológicas (epilepsia, distonia, etc) e como anti-hipertensivos (agentes cardiovasculares), anti-asmáticos (broncodilatadores), e potentes analgésicos.¹⁷

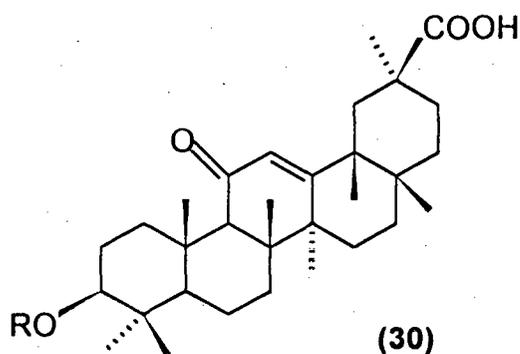


Os compostos organo-sulfurosos da cebola e do alho, como a alicina (27), estão sendo investigados para uso como agentes cardiovasculares; o ácido elágico (28) está sendo testado como modelo de agente antimutagênico e preventivo do câncer; e o esteviosídeo (29) e a glicirrizina (30) são metabólitos secundários vegetais intensamente adoçantes, já utilizados Europa e Japão.¹⁴



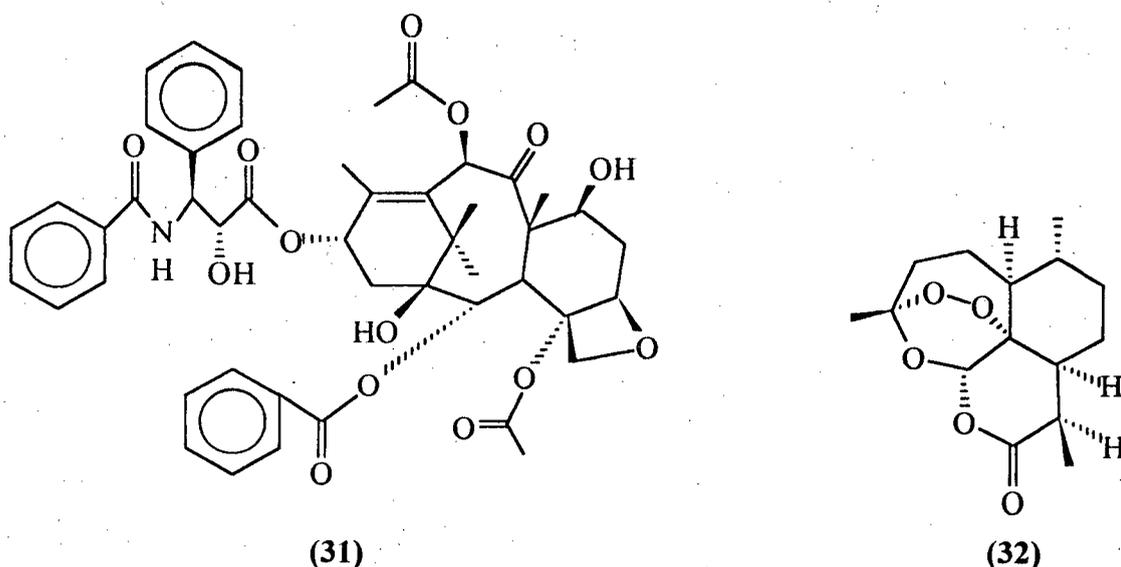
R = beta-D-glucopiranosil

R' = 2-O-beta-D-glucopiranosil-alfa-D-glucopiranosil

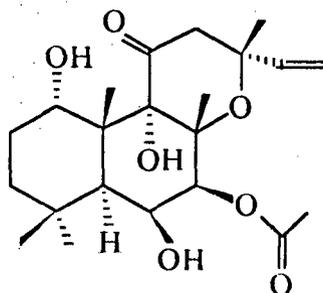


R = 2-O-beta-D-glucuronopiranoze

O diterpenóide taxol (31) é um dos compostos-modelo mais promissores que têm surgido da pesquisa em busca de agentes antitumor a partir de produtos naturais. Isolado pela primeira vez por Wall e colaboradores no Instituto de Pesquisas Triângulo, a partir da casca do caule de *Taxus brevifolia* Nutt. (Taxaceae), o composto também foi encontrado em outras espécies de *Taxus*, como *T. baccata*. Já o composto anti-malária mais promissor descoberto até hoje é a artemisinina (32), uma lactona sesquiterpênica com um grupo endoperóxido essencial à sua atividade, isolada em 1972 por cientistas chineses da planta medicinal *Artemisia annua* L. (Asteraceae). Esta planta tem sido usada por mais de 2.000 anos na China como antifebrífugo e no tratamento da malária.¹⁸



Na busca por novas drogas cardiovasculares de origem vegetal, dois grupos de pesquisa indianos descobriram, independentemente, o efeito hipotensivo e antiespasmódico de *Coleus forskolii* (Lamiaceae). Os dois grupos subsequentemente isolaram o princípio ativo, a forskolina (33).¹⁴



(33)

As plantas medicinais são usadas basicamente em duas formas diferentes: como misturas contendo vários constituintes (infusões, óleos essenciais, tinturas, extratos, etc); ou como princípios ativos puros e quimicamente definidos. Os compostos puros são empregados quando os princípios ativos de uma planta medicinal exibem atividade forte e específica e/ou têm um pequeno índice terapêutico, requerendo dosagens precisas e reprodutíveis. Por outro lado, o uso de extratos, tinturas, etc. é apropriado para plantas que exibem atividades farmacológicas menos específicas e/ou mais fracas, e se os princípios ativos de uma planta medicinal são ainda desconhecidos. Estes preparados fitofarmacêuticos são muito populares em países onde há forte tradição no uso de medicamentos vegetais, e dispositivos legais para o registro de tais preparados, como na Alemanha, França e Suíça.¹⁷

O potencial de plantas superiores como fontes de novas drogas ainda está muito inexplorado. Entre as 850.000 espécies de plantas estimadas, somente um pequeno porcentual foi investigado fitoquimicamente, e a fração submetida à investigação biológica ou farmacológica é ainda menor. Embora, por exemplo, o Instituto Nacional do Câncer (NCI) dos Estados Unidos tenha investigado em torno de 35.000 espécies de plantas quanto à atividade antitumor de 1957 a 1981, e esteja atualmente adquirindo em torno de 20.000 espécies da América Latina, África e sudoeste da Ásia, estas

plantas ainda não serão consideradas investigadas com respeito a qualquer outra atividade farmacológica.¹⁶

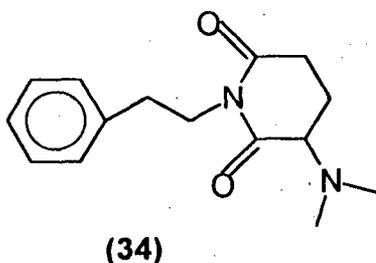
As principais áreas da pesquisa atual em plantas bioativas são: tratamento do câncer; atividade antiinfecção; controle de doenças tropicais; regulação da fertilidade; inflamação e alergia; imunomodulação e atividade adaptogênica; hepatoproteção; e atividade sobre o sistema nervoso central. A busca por compostos antivirais tem sido estimulada pela rápida disseminação da AIDS. Na área das doenças tropicais, estão sendo desenvolvidos programas para avaliação de uma grande quantidade de atividades biológicas. Estes incluem antiprotozoários (malária, amebíase, leishmaniose, tripanossomíase), moluscidas, cercaricidas e esquistomicidas, larvicidas e inseticidas. Programas de pesquisa sobre a regulação da fertilidade, desenvolvidos na Índia e na República Popular da China, buscam substâncias capazes de inibir a espermatogênese e a maturação dos espermatozoides; com atividade espermicida; ou inibidoras do sistema enzimático dos espermatozoides. Quanto à regulação da fertilidade feminina busca-se a inibição da ovulação e da implantação.¹⁷

Complementada pela informação botânica, a informação popular sobre o uso das plantas se constitui no mais importante critério de seleção de material para estudo químico, visando sua aplicação medicinal. Numerosas plantas têm sido usadas, muitas vezes com êxito, principalmente no meio rural. Lamentavelmente, esse tipo de informação tende a desaparecer por influência das comunidades mais evoluídas, cujos costumes, levados ao meio rural através dos meios de comunicação de massa, substituem progressivamente os velhos hábitos.¹⁸

Levantamentos realizados junto à população brasileira demonstram que muitas plantas são utilizadas para fins terapêuticos.¹⁹⁻³⁰

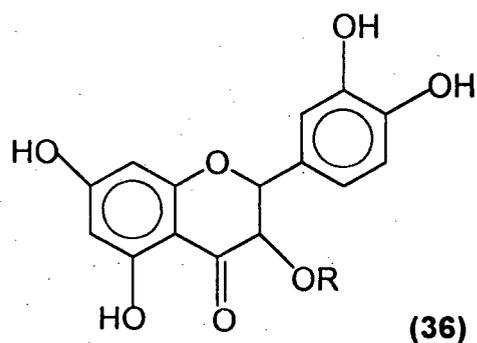
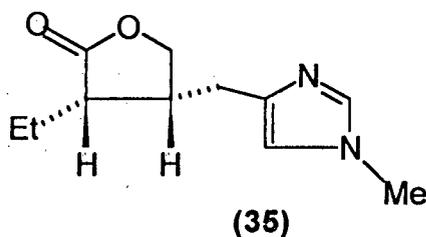
Calcula-se que o Brasil disponha entre 60.000 e 250.000 espécies vegetais, e provavelmente 40% delas devem conter propriedades terapêuticas.¹⁶

Há um crescente interesse de instituições brasileiras de pesquisa pelo estudo de plantas medicinais. Por exemplo, um grupo de pesquisadores da Universidade Federal de Santa Catarina, sob a coordenação dos professores Rosendo A. Yunes e João B. Calixto, tem desenvolvido trabalhos com plantas do gênero *Phyllanthus* (Euforbiaceae), conhecidas popularmente como quebra-pedra, e usadas na medicina popular contra males da bexiga e dos rins. Tais estudos revelaram que o extrato hidroalcoólico de *P. urinaria*, *P. tenellus*, *P. niruri*, *P. corcovadensis*, e de *P. sellowianus* têm potente atividade antinociceptiva³¹⁻³⁴, e o extrato hidroalcoólico de *P. urinaria* apresentou atividade antibacteriana.³⁵ Além disso, a filantimida (34), um alcalóide obtido a partir de *P. sellowianus* mostrou atividade antiespasmódica³⁶⁻³⁷, e esteróides obtidos a partir de *P. corcovadensis* mostraram potente ação analgésica.³⁸



Entre as plantas em estudo no Brasil, que já estão em estágio adiantado de testes para aplicação terapêutica estão: *Melissa officinalis*, conhecida como erva-cidreira, utilizada popularmente como calmante; *Lippia alba*, conhecida como melissa, também utilizada popularmente como calmante; *Casaeria sylvestris* (guaçatonga ou erva-de-bugre), *Eclipta*

prostata (erva-botão), e *Apuleia leocarpa*, todas com testes positivos contra veneno de jararaca; *Vernônia condensata* (boldo-da-terra ou alumã), com forte efeito analgésico e antiinflamatório; *Maytenus ilicifolia* (espinheira-santa), que já foi aprovada pela CEME para uso contra males digestivos em geral (úlceras, gastrites, etc); *Pilocarpus microphyllus* (jaborandí), cujas folhas contém pilocarpina (35), um eficiente medicamento contra glaucoma; *Cordia verbenaceae* (erva-baleeira), com atividades antiinflamatórias e analgésicas; e *Dimorphanda gardineriana* (fava d'anta), de onde a Merck extrai rutina (36), um composto ativo contra distúrbios circulatórios, já utilizado em medicamentos.¹⁶



R = 6-O-(6-deoxi-alfa-L-manopiranosil)
-D-glucose (=rutinose)

As dificuldades observadas na utilização prática de substâncias naturais dependem de vários fatores, podendo-se destacar, além de outros aspectos técnicos e científicos: a) a solubilidade e as quantidades relativamente pequenas bioproduzidas pelos organismos vivos; b) o reduzido número de pesquisadores dedicados aos trabalhos de investigação,

especialmente no Brasil; c) dificuldades sintéticas e de viabilidade econômica, principalmente quando as moléculas naturais apresentam-se dotadas de vários centros quirais; d) ausência de uma política consistente para a educação, ciência e tecnologia no país; e) interação interdisciplinar apenas incipiente; f) competição com indústrias que aplicam altos investimentos almejando lucros exorbitantes e controle de mercado consumidor.¹⁸

Enquanto as instituições brasileiras enfrentam problemas financeiros para desenvolverem pesquisas na área de fitoquímica, várias instituições estrangeiras levam nossas plantas em grande quantidade para o exterior, para a extração dos princípios ativos.¹⁶

A humanidade precisa explorar racionalmente o repertório químico oferecido pelos organismos vivos, aprendendo, copiando e imitando a natureza pela potencialidade e diversidade estrutural oferecidas pelos “laboratórios químicos” celulares. A aprendizagem do dinamismo químico adotado pelos organismos da flora e da fauna servirá inquestionavelmente para o avanço científico das nações, além de proporcionar contribuição para a proteção e sobrevivência da vida, e para compreensão e conservação das condições ambientais do planeta Terra.¹⁸

1.4 - Atividade Antibacteriana e Atividade Antifúngica

Agentes antimicrobianos ainda são ativamente procurados por laboratórios de fitoquímica, e busca-se compostos com espectros de atividade complementares às drogas existentes. As investigações em busca de drogas antifúngicas tem recebido atenção recentemente devido ao aumento da incidência de micoses oportunistas associadas com a AIDS e

com tratamentos com drogas imunodepressoras. Atualmente há poucos agentes antifúngicos indicados para o tratamento de micoses sistêmicas, e sua eficiência é bastante limitada. Além disso, a investigação de plantas usadas na medicina tradicional contra problemas de pele poderia também fornecer novos antissépticos tópicos, urgentemente necessários nos países do Terceiro Mundo.¹⁷

Os ensaios antibacterianos podem ser classificados em três grupos: métodos de difusão; diluição; e bioautográficos. Para a avaliação de extratos vegetais em uma bateria de microorganismos, o método de diluição em agar em placa de Petri com inoculação multiponto é a técnica mais adequada. Não é necessária infraestrutura sofisticada, e a confiabilidade por amostra é elevada. A bioautografia, por outro lado, combina a cromatografia em camada delgada com um bioensaio *in situ*, permitindo a localização de constituintes ativos em uma matriz complexa.³⁹

Os ensaios utilizados para detecção de atividade antifúngica são semelhantes aos utilizados para bactérias. Para fungos produtores de esporos como *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Candida albicans* têm sido publicados procedimentos bioautográficos diretos. Placas de cromatografia em camada delgada são borrifadas com uma suspensão de esporos, e incubadas por dois ou três dias em uma atmosfera úmida. As zonas de inibição são diretamente visualizadas através dos esporos coloridos produzidos pelos fungos que cresceram naquele espaço de tempo.⁴⁰

1.5 - Atividade Antinociceptiva - Método da Formalina

O teste de dor induzida pela injeção intraplantar de formalina (solução aquosa de formaldeído a 0,92%) permite avaliar dois tipos de dor: a de origem neurogênica, com estimulação direta dos neurônios nociceptivos; e a dor inflamatória (caracterizada pela liberação de mediadores inflamatórios). Esse modelo evidencia, então, duas fases de sensibilidade dolorosa: a primeira, que ocorre durante os primeiros 5 minutos após a injeção de formalina (dor de origem neurogênica); e a segunda, que ocorre entre 15 a 30 minutos após a injeção, representando a resposta tônica à dor, acompanhada de uma manifestação inflamatória.⁴¹

Resultados experimentais indicaram que a substância P e a bradicinina participam da primeira fase, enquanto da fase seguinte participam a histamina, a serotonina, as prostaglandinas e a bradicinina. Este tipo de evidência sugere que processos inflamatórios, periféricos, estão envolvidos na segunda fase. Além disso, de acordo com outras evidências, processos espinhais também são importantes para o desenvolvimento da segunda fase da resposta. Então, conclui-se que os processos na medula espinhal induzidos pela primeira fase, bem como as mudanças inflamatórias locais durante a segunda fase são necessários à completa manifestação da segunda fase. A inflamação sozinha parece insuficiente para elicitar o comportamento observado na segunda fase, já que estímulos inflamatórios que induzem um grau maior de inflamação, como carragenina, produzem pouco comportamento característico de dor em ratos. Em roedores, as duas fases distintas das respostas do teste da formalina podem ser usadas para avaliar-se diferentes aspectos da nocicepção, e este teste pode ter maior relevância em situações clínicas que outros testes, que empregam a medida de reflexos nociceptivos.⁴²

CAPÍTULO 2

2 - OBJETIVOS DA TESE

O uso de *Vochysia divergens* Pohl no combate à asma e às infecções do trato respiratório; e de *Ocotea suaveolens* (Meissn.) Hassler como descongestionante e fortificante na medicina popular, e a ausência de referências na literatura consultada (Chemical Abstracts, Pharmacological Abstracts e Biological Abstracts) de estudos químicos, biológicos ou farmacológicos com estas plantas, foram os estímulos iniciais para desenvolver os trabalhos de investigação aqui propostos, cujos principais objetivos são:

- a) Isolamento de compostos presentes nos extratos de *Vochysia divergens* e de *Ocotea suaveolens*;
- b) Determinação da estrutura química dos compostos isolados;
- c) Realização de testes biológicos e farmacológicos com os extratos e compostos puros obtidos, para a identificação de, pelo menos, um dos componentes responsáveis pela(s) atividade(s) encontrada(s);
- d) Realização de modificações químicas na estrutura de, pelo menos, um composto ativo obtido, com o objetivo de obter dados que levem a compostos mais potentes e seletivos.

CAPÍTULO 3

3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 - *Vochysia divergens* Pohl (Vochysiaceae)

3.1.1 - Sinopse da Família Vochysiaceae A. St. Hil.

A família Vochysiaceae abrange sete gêneros e cerca de duzentas espécies tropicais, sem representantes nas regiões temperadas. Na América ocorrem seis gêneros. O núcleo de distribuição de suas espécies encontra-se na região Guiano-Amazônica, e no Planalto Central Brasileiro, de onde se irradiam para as demais regiões. O único gênero não americano é o *Erismadelphus*, que ocorre na África Central Ocidental.⁴³

São gêneros americanos tradicionalmente considerados na família Vochysiaceae: *Callisthene*, *Erisma*, *Qualea*, *Salvertia* e *Vochysia*. Ultimamente, foi criado um novo gênero, *Ruizterania*, que reúne algumas espécies do gênero *Qualea*.⁴³

Os dois gêneros mais numerosos são *Vochysia* (cem espécies) e *Qualea* (sessenta e cinco espécies).⁴⁴

Do ponto de vista econômico, as espécies dos gêneros *Vochysia*, *Erisma*, *Qualea* e *Callisthene* produzem madeiras que não têm, entretanto, grande valor.⁴⁴

As plantas da família Vochysiaceae são árvores, trepadeiras ou vinhas lenhosas, raramente ervas.⁴⁴ A casca de algumas delas exsuda uma resina

que se parece com a goma arábica.⁴⁵ Frequentemente, também acumulam alumínio.⁴⁴

3.1.2 - Posição Sistemática de *Vochysia divergens* Pohl⁴⁴

Grupo	Angiospermae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnolitaе (Dicotiledonae)
Subclasse	Rosidae
Ordem	Polygalales
Família	Vochysiaceae A. St. Hil.
Gênero	<i>Vochysia</i>
Espécie	<i>Vochysia divergens</i> Pohl
Sinonímia Vulgar	Cambará

3.1.3 - *Vochysia divergens* Pohl - Características e Distribuição

Geográfica

A *Vochysia divergens* Pohl (Vochysiaceae) é uma árvore muito grande e frondosa; com ramos divaricados e angulosos; folhas longo-pecioladas, 3-4-verticiliadas, oblongas ou oblongo-elípticas, arredondadas ou obtusas no ápice, até 12 cm de comprimento, coriáceas, amarelo-esverdeadas, luzidias e glabras na página superior, e opacas na inferior; flores amarelas dispostas em ráculos terminais; e fruto cápsula trigona.

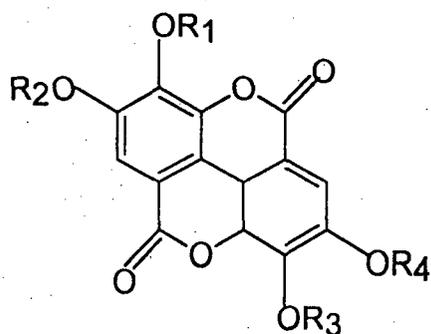
Vegeta em terrenos frescos e úmidos de Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul²⁰, sendo abundante no Pantanal.

A *V. divergens* é conhecida popularmente como Cambará, e o chá das folhas e da casca do caule é utilizado na medicina popular, no combate à asma e às infecções do trato respiratório.²⁵

3.1.4 - Estudos Químicos com Plantas do Gênero *Vochysia*

Estudos químicos realizados com plantas do gênero *Vochysia* levaram ao isolamento de várias classes de compostos.

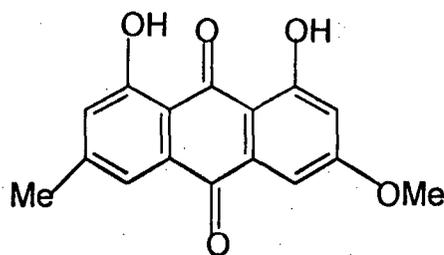
Da madeira de *Vochysia acuminata* e *V. tyrsoides* foram isolados ácidos elágicos: (28) e (37) de *V. acuminata*, e (37) e (38) de *V. tyrsoides*; além de physcion (39) e 2,6-dimetoxi-1,4-benzoquinona.⁴⁶



(28) $R_1=R_2=R_3=R_4=H$

(37) $R_1=R_2=R_3=Me$; $R_4=H$;

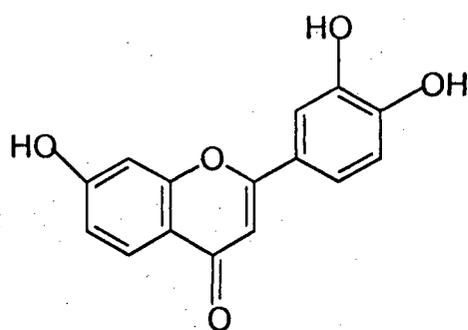
(38) $R_1=R_2=R_3=R_4=Me$



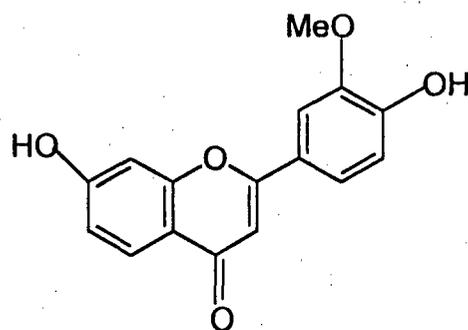
(39)

O ácido elágico (28) é um potente antagonista da mutagenicidade de dióis epóxidos de vários hidrocarbonetos aromáticos, e de metabólitos carcinogênicos de benzo(a)pireno.⁴⁷

Das folhas de *V. cinnamomea* foram isolados 7,3',4'-tridroxiflavona (40) e 3'-metoxi-7,4'-diidroxiflavona (41). Das folhas de *V. tucanorum* isolou-se apenas o composto (40).⁴⁸

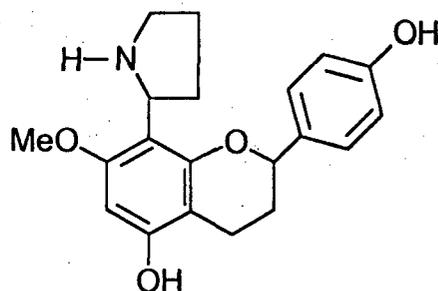


(40)



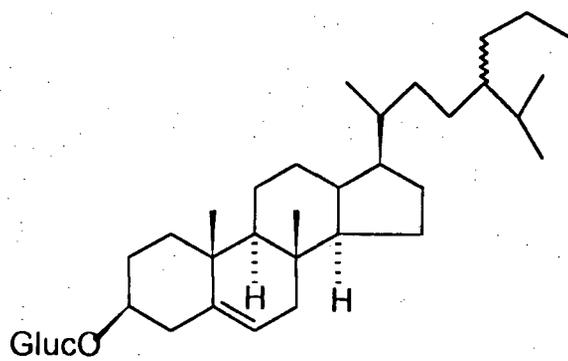
(41)

Dos frutos de *V. guianensis* foi isolada a voquisina (42), uma pirrolidinoflavona.⁴⁹

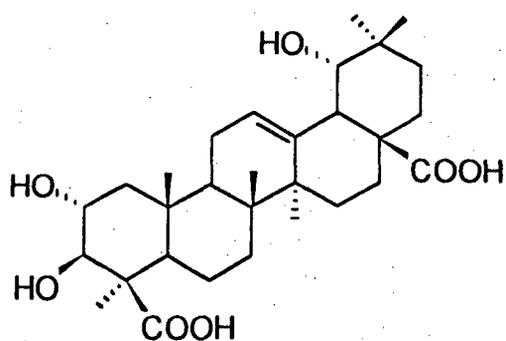


(42)

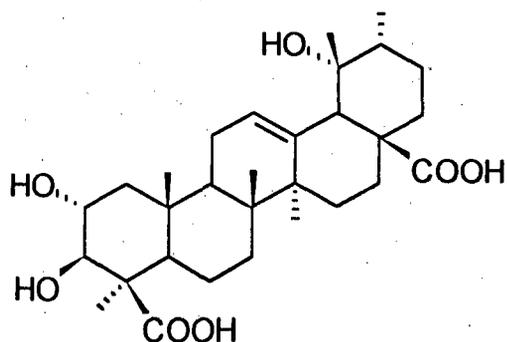
Da madeira de *V. vismiaefolia* foram isolados 3-O- β -glucopiranosil- β -sitosterol (43), ácido bartogênico (44) e ácido vismiaefólico (45), sendo esses os primeiros triterpenóides isolados de plantas da família Vochysiaceae.⁵⁰



(43)

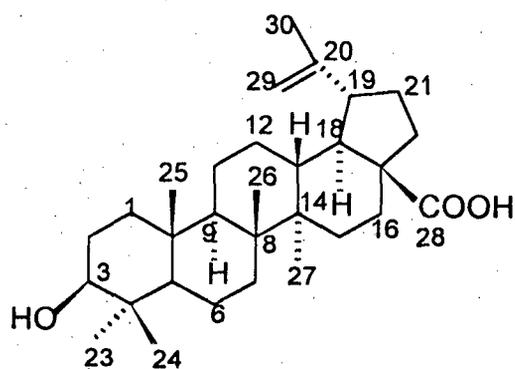


(44)

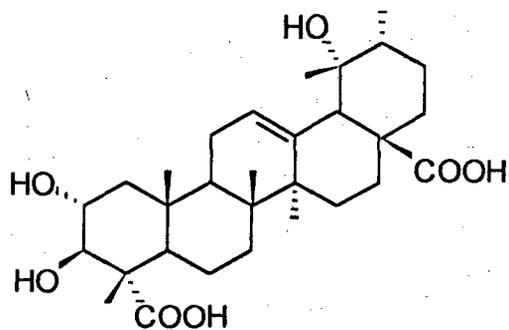


(45)

Recentemente, da madeira de *V. pyramidalis* foram isolados β -sitosterol, ácido betulínico (46), e um estereoisômero do composto (45), o triterpenóide (47).⁵¹



(46)



(47)

3.2 - *Ocotea suaveolens* (Meissn.) Hassler (Lauraceae)

3.2.1 - Sinopse da Família Lauraceae Lindl.

As plantas da família Lauraceae são árvores ou arbustos, com excessão do gênero *Cassytha*, que se apresentam como trepadeiras de caule filiforme.⁴³

A família compreende entre 30 e 50 gêneros, e mais de 2000 espécies. Os dois maiores centros onde vegetam são sudoeste da Ásia e Brasil. Cerca de dois terços das espécies pertencem a somente 6 gêneros: *Ocotea* (400 espécies ou mais); *Litsea* (250 espécies ou mais); *Persea* (200 espécies); *Cinnammomum* (200 espécies); *Cryptocaria* (200 espécies); e *Bilschmiedia* (150 espécies).⁴⁴

São plantas aromáticas e sempre verdes, às vezes contendo carboidratos como inulina; taníferos; proantocianidinas; e comumente produzem alcalóides benzilisoquinolínicos e/ou aporfínicos. Contém células oleosas esféricas, com óleos fixos e essenciais no interior; ou células de mucilagem nos tecidos parenquimatosos. Apresentam eventualmente pequenos cristais de oxalato de cálcio em algumas células do parênquima.⁴⁴

3.2.2 - *Ocotea suaveolens* (Meissn.) Hassler- Características e Distribuição Geográfica

A *Ocotea suaveolens* (Meissn.) Hassler (Lauraceae) é uma árvore que alcança entre 10 e 20 metros de altura, e entre 20 e 70 centímetros de diâmetro no tronco. Tem folhas alternas, com lâmina coriácea de 4-14

centímetros de comprimento, e 1-5 centímetros de largura; lanceoladas e elípticas, base decorrente, ápice agudo, levemente apiculado ou acuminado; margem inteira, ondeada, ligeiramente revoluta. Face ventral de olivácea a castanho-esverdeado clara, brilhante, glabérrima nas folhas adultas.⁵²

As inflorescências são axilares; panículas tirsiformes, piramidadas, variando de muito até pouco ramificadas nos exemplares femininos, multifloras a mais ou menos paucifloras, 2,5 a 11,5 centímetros de altura. Flores unissexuais, 3-3,5 milímetros de comprimento e 2-3,5 cm de diâmetro.⁵²

A *Ocotea suaveolens* é encontrada no Paraguai, Argentina, e no Brasil nas regiões sul, sudeste e centro-oeste, sendo comum em áreas de mata ciliar do pantanal matogrossense. É conhecida popularmente como Canela-Preta, e o chá das folhas e da casca do caule é utilizado na medicina popular, como descongestionante e fortificante.²⁵

3.2.3 - Posição Sistemática de *Ocotea suaveolens* (Meissn.) Hassler⁴⁴

Grupo	Angiospermae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnolitae (Dicotyledonae)
Subclasse	Magnoliidae
Ordem	Magnoliales
Família	Lauraceae Lindl.
Gênero	<i>Ocotea</i>
Espécie	<i>Ocotea suaveolens</i> (Meissn.) Hassler
Sinonímia vulgar	Canela preta

3.2.4 - Estudos Químicos com Plantas do Gênero *Ocotea*

Há muitos relatos na literatura de estudos químicos realizados com plantas do gênero *Ocotea*, que levaram ao isolamento de várias classes de compostos, entre eles alcalóides⁵³⁻⁸⁶, neolignanas⁸⁷⁻⁹⁹, alil-fenóis¹⁰⁰, cumarinas¹⁰¹⁻¹⁰², terpenóides¹⁰³⁻¹¹¹, e uma sesquiterpenlactona.¹¹² Não foram encontradas referências sobre o isolamento de triterpenóides a partir de plantas deste gênero.

CAPÍTULO 4

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Introdução

O **Esquema 1** mostra os procedimentos gerais realizados para o isolamento dos constituintes da casca do caule de *V. divergens*.

As investigações químicas com a casca do caule de *Vochysia divergens* Pohl (Vochysiaceae) levaram à obtenção de β -sitosterol, ácido betulínico, ácido serícico, e uma mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico. O ácido serícico puro foi submetido a reações de esterificação com 1-bromo-2-fenil-etanona, e com 1-bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona, enquanto a mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico foi submetida a reações de acetilação, esterificação com diazometano, e oxidação com periodato de sódio.

O **Esquema 2** mostra os procedimentos gerais realizados para o isolamento dos constituintes da casca do caule de *O. suaveolens*.

Da casca do caule de *Ocotea suaveolens* (Meissn.) Hassler (Lauraceae) foi obtida uma mistura dos esteróides β -sitosterol, campesterol e estigmasterol, além de ácido 24-hidroxitormêntico puro.

Foram realizados testes biológicos e farmacológicos com compostos puros e com as misturas obtidas a partir dos dois vegetais, e também com seus derivados.

Esquema 1 - Procedimentos executados para o isolamento de compostos a partir de *Vochysia divergens* Pohl

Vochysia divergens

4000 g de pó da casca do caule
Umidade 16,0 %
Extração com 4 x 7 litros de etanol

778,2 g de extrato bruto
Umidade 16,0 %

351,2 g

Percolação sobre leito de sílica
(exaustiva para cada solvente)
Coluna: 18,0 x 9,0 cm
200,0 g de sílicagel 60 Merck

**Fração de
Diclorometano
(FDCI)**
Umidade 14,0 %
16,2 g

**Fração de Acetato
de Etila
(FAcOEt)**
Umidade 8,9 %
91,0 g

**Fração de Etanol
(FEt)**
Umidade 13,0 %
143,4 g

FDCI

↓ 15 g

Cromatografia em coluna
Coluna: 70,0 x 3,9 cm
367,2 g de silicagel 60
Merck
Frações de 125 mL

Frações Solvente
(Hexano/Acetona)

1-30 95/5
31-54 92/8
55-62 90/10
63-72 0/100

Frações 14-17 reunidas
836,0 mg

↓ 489,1 mg

Lavagem com éter de
petróleo

B-sitosterol
33,0 mg

Frações 31-53 reunidas
505,2 mg

↓ 505,2 mg

Lavagem com hexano e
acetona

Ácido Betulínico
220,8 mg

Frações 55-72 reunidas
934,1 mg

↓ 934,1 mg

Cromatografia em coluna
Coluna 60,0 x 3,5 cm
130,0 g de silicagel 60
Merck

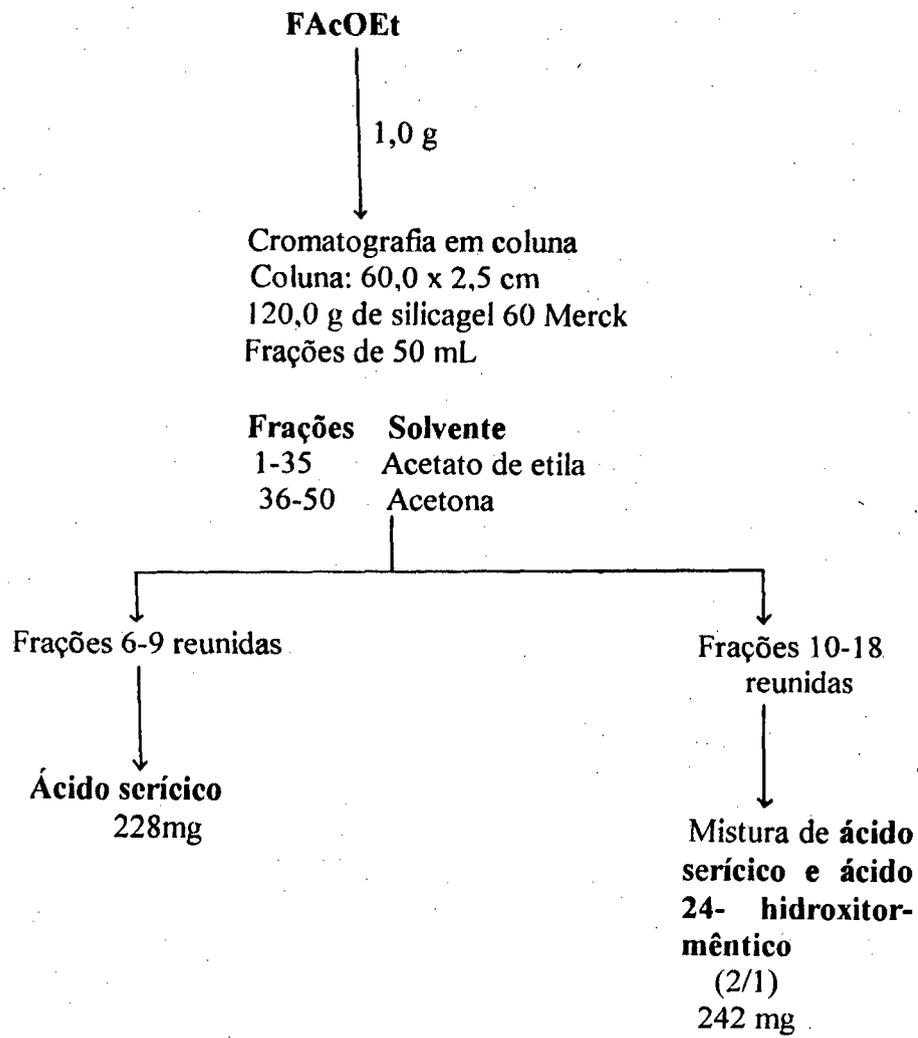
Frações Solvente Vol
(Hexano/Acetona) mL

1-24	90/10	50
25-31	88/12	75
32-57	85/15	50
58-63	85/15	75
64-82	82/18	75
83-86	0/100	100

↓
Frações 31-51 reunidas
130,0 mg

↓
Lavagem com hexano e
acetona

↓
Ácido Betulínico
114,9 mg



FET↓
1,0 g

Cromatografia em coluna
Coluna: 40,0 x 3,5 cm
150,0 g de silicagel 60 Merck
Frações de 40 mL

↓
Frações **Solvente**
1-35 Acetato de etila

↓
Frações 6-18 reunidas

↓
Mistura de ácido serícico e ácido
24-hidroxitormêntico
(3/1)
128,7 mg

Esquema 2 - Procedimentos executados para o isolamento de compostos a partir de *Ocotea suaveolens* (Meissn.) Hassler

Ocotea suaveolens

CASCA DO CAULE

Limpeza
Secagem ao ar
Moagem
2288g (15,0% umidade)

Extração com hexano

5 x 3 litros

Fração hexânica (FH)

7,61g (13,0% umidade)

Pó total

Secagem
(15,0% umidade)

Extração com acetato de etila

6 x 3 litros

Fração em acetato de etila (FAC)

16,11g (10,0% umidade)

Pó total

Secagem
(15,0% umidade)

Extração com etanol

3 x 3 litros

Fração etanólica (FE)

169,3 g (12,0% umidade)

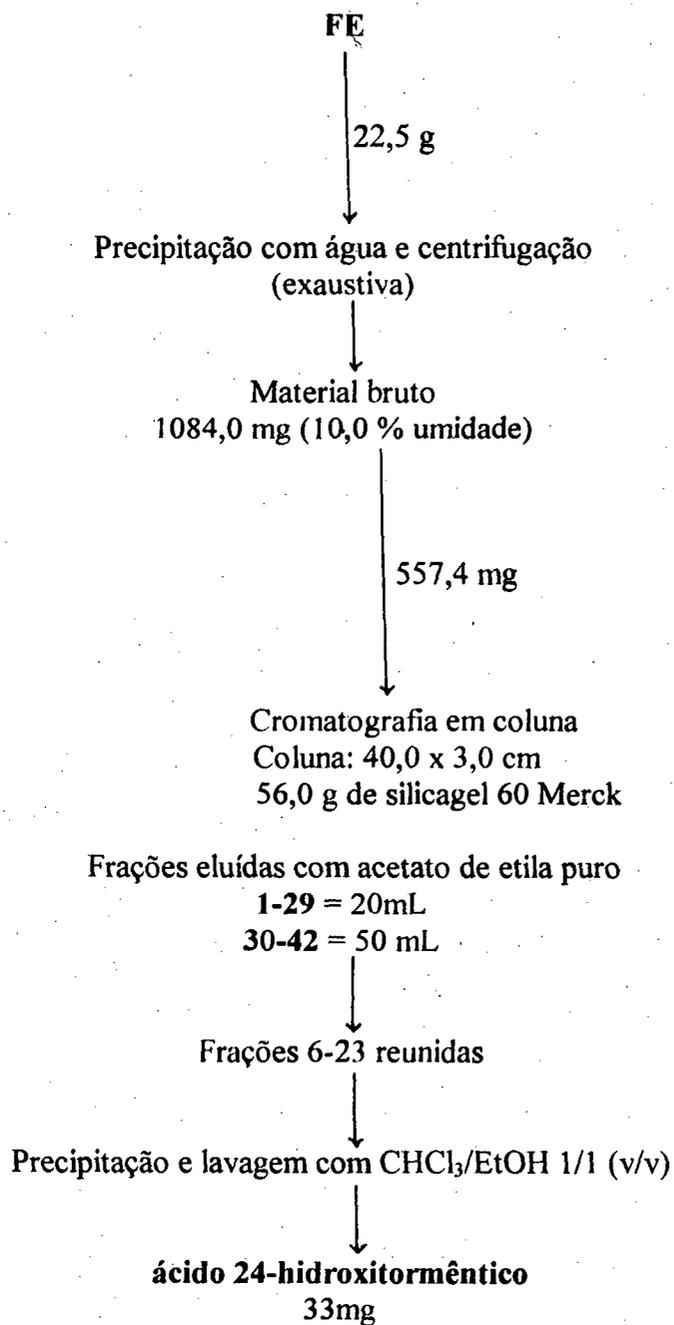
FH

↓ 7,61 g

Cromatografia em coluna
Coluna: 70,0 x 5,0 cm
400,0 g de silicagel 60 Merck
Frações de 200 mL

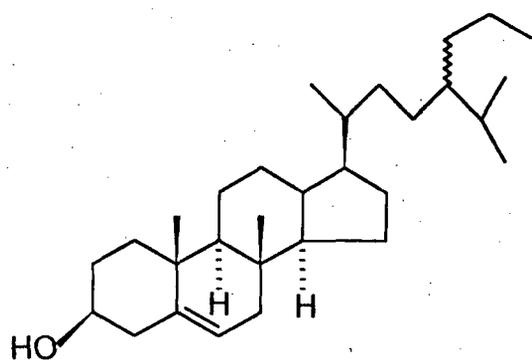
Frações	Solvente
1-38	Hexano puro
39-48	Hexano/Acetona (95/5v/v)
49-55	Hexano/Acetona (92/8v/v)
56-57	Hexano/Acetona (85/15v/v)
58-61	Hexano/Acetona (36/64v/v)
62-66	Acetona pura

↓
Frações 48 e 49 reunidas
435,4 mg↓
Precipitação e lavagem com etanol e acetona↓
Mistura de β -sitosterol, campesterol e estigmasterol
54,4 mg

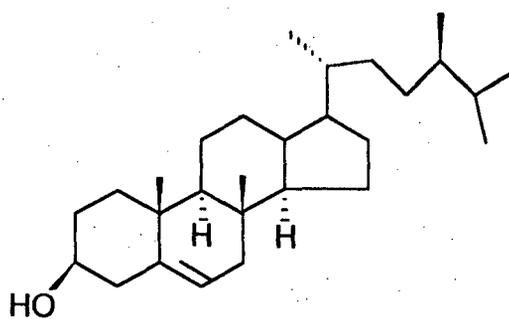


4.2 - β -Sitosterol, Campesterol e Estigmasterol

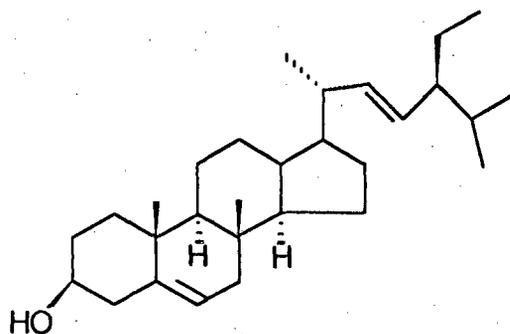
O β -sitosterol ((3 β)-estigmast-5-en-3-ol) (48) é o esteróide mais difundido entre as plantas superiores, e é geralmente acompanhado por proporções variáveis de campesterol ((24S)-24-metilcolesta-5-en-3 β -ol)(49). O estigmasterol (3 β , 22E)-estigmast-5,22-dien-3-ol)(50) também é amplamente distribuído em muitas plantas, acompanhando os compostos 48 e 49. Eles frequentemente não ocorrem livres, mas como derivados mais complexos.¹¹³ Dificilmente se obtém β -sitosterol puro a partir de uma planta, e quando este ocorre misturado com campesterol e estigmasterol, sua purificação é extremamente complexa.



(48)



(49)



(50)

O β -sitosterol não é significativamente absorvido pelo homem, e apresenta efeito de combater a hiperlipoproteinemia, inibindo competitivamente a absorção de colesterol, pelo aumento do catabolismo das lipoproteínas de baixa densidade.¹⁵

Há referências da atividade do β -sitosterol como agente antitumor¹¹⁴, e recentemente foi demonstrado que o β -sitosterol e o estigmasterol têm potente atividade antinociceptiva.^{38, 115-116}

Para a identificação dos esteróides obtidos a partir dos extratos de *V. divergens* e de *O. suaveolens* foram realizados experimentos de cromatografia gasosa de alta resolução, e de ¹H- e ¹³C-RMN.

Os experimentos de CG/AR foram realizados utilizando-se um aparelho marca Shimadzu, modelo A-14, com detector de ionização de chama; coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária OV1 (espessura do filme 0,25 μ m), de 25 metros de comprimento, e 0,25 milímetros de d.i.; temperatura do detector 320°C; temperatura do injetor 310°C; temperatura da coluna programada de 80 a 290°C a uma taxa de aquecimento de 10°C/min, e isoterma a 290°C por 20 minutos; gás de arraste hidrogênio, com velocidade linear de 20cm/min. Para comparação, foi feita a coinjeção de amostras de padrões dos compostos 48, 49 e 50 obtidos comercialmente, com as amostras dos esteróides obtidos a partir dos vegetais.

O β -sitosterol foi obtido puro a partir de *V. divergens*, com um rendimento de $4,0 \times 10^{-3}$ % em relação ao peso seco do material vegetal. A figura 1 mostra o espectro no infravermelho (pastilha de KBr), a figura 2 o espectro de ¹H-RMN (200 MHz) e a figura 3 o espectro de ¹³C-RMN (50

MHz) do composto **48**, em clorofórmio deuterado, TMS como padrão interno de referência.

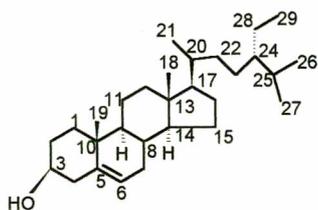
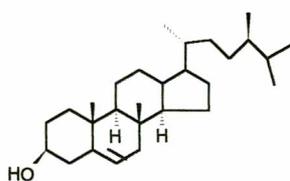
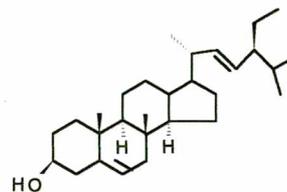
A partir de *O. suaveolens* obteve-se uma mistura de β -sitosterol (72,2%), estigmasterol (14,6%) e campesterol (13,2%). O % de cada componente na mistura foi determinado por CG/AR. O rendimento para a mistura foi de $2,8 \times 10^{-3}$ % em relação ao peso seco do material vegetal.

A tabela 1 mostra a atribuição dos sinais dos espectros de ^1H - e de ^{13}C -RMN obtidos para o β -sitosterol e para a mistura dos compostos **48**, **49** e **50**. Todos os dados estão de acordo com o encontrado na literatura.¹¹⁷⁻¹²¹

No espectro do β -sitosterol no infravermelho (Figura 1) observa-se bandas intensas a 3448 e a 2938 cm^{-1} indicando, respectivamente, a presença de grupos -OH e -CH. Já o espectro de ^1H -RMN do composto **48** (Figura 2) mostra a 5,3 ppm um sinal de próton olefinico (H-6), e a 3,5 ppm um multiplete relativo ao próton H-3, ligado a carbono com hidroxila. O espectro de ^{13}C -RMN do composto **48** também está de acordo com a estrutura proposta.

Tabela 1 - Dados de ^1H -RMN (200 MHz) e de ^{13}C -RMN (50 MHz) do β -sitosterol (**48**), campesterol (**49**) e estigmasterol (**50**) em clorofórmio deuterado, TMS como padrão interno de referência.

Carbono	48	49	50
1	37,3	37,3	37,3
2	31,7	31,7	31,7
3	71,8 (m; 1H; 3,5)	71,8 (m; 1H; 3,5)	71,8 (m; 1H; 3,5)
4	42,3	42,4	42,3
5	140,8	140,7	140,8
6	121,7 (m; 1H; 5,3)	121,7 (m; 1H; 5,3)	121,7 (m; 1H; 5,3)
7	31,9	31,9	31,9
8	31,9	31,9	31,9
9	50,1	50,2	50,2
10	36,5	36,5	36,5
11	21,1	21,1	21,1
12	39,8	39,8	39,7
13	42,3	42,4	42,3
14	56,7	56,8	56,9
15	24,3	24,8	24,3
16	28,2	28,2	28,9
17	56,1	56,1	56,0
18	11,9 (s; 3H; 0,68)	11,9 (s; 3H; 0,67)	12,0 (s; 3H; 0,69)
19	19,4 (s; 3H; 1,00)	19,4 (s; 3H; 1,00)	19,4 (s; 3H; 1,01)
20	36,2	35,9	40,5
21	18,8 (d; 3H; 0,92; J=6,5 Hz)	18,9 (d; 3H; 0,91; J=6,6 Hz)	21,1 (d; 3H; 1,02; J=6,6 Hz)
22	33,9	33,8	138,3 (m; 1H; 5,7)
23	26,1	30,3	129,3 (m; 1H; 5,6)
24	46,0	39,1	51,2
25	28,9	31,5	31,9
26	19,8 (d; 3H; 0,83; J= 6,8 Hz)	20,2 (d; 3H; 0,85; J= 6,7 Hz)	21,2 (d; 3H; 0,84; J= 6,6 Hz)
27	19,0 (d; 3H; 0,81; J= 6,8 Hz)	20,5 (d; 3H; 0,80; J= 7,0 Hz)	19,0 (d; 3H; 0,79; J= 6,6 Hz)
28	23,1	15,5 (d; 3H; 0,77; J= 6,8 Hz)	25,4
29	12,3 (t; 3H; 0,84; J=7,2 Hz)	-----	12,3 (t; 3H; 0,80; J=7,9 Hz)

**(48)****(49)****(50)**

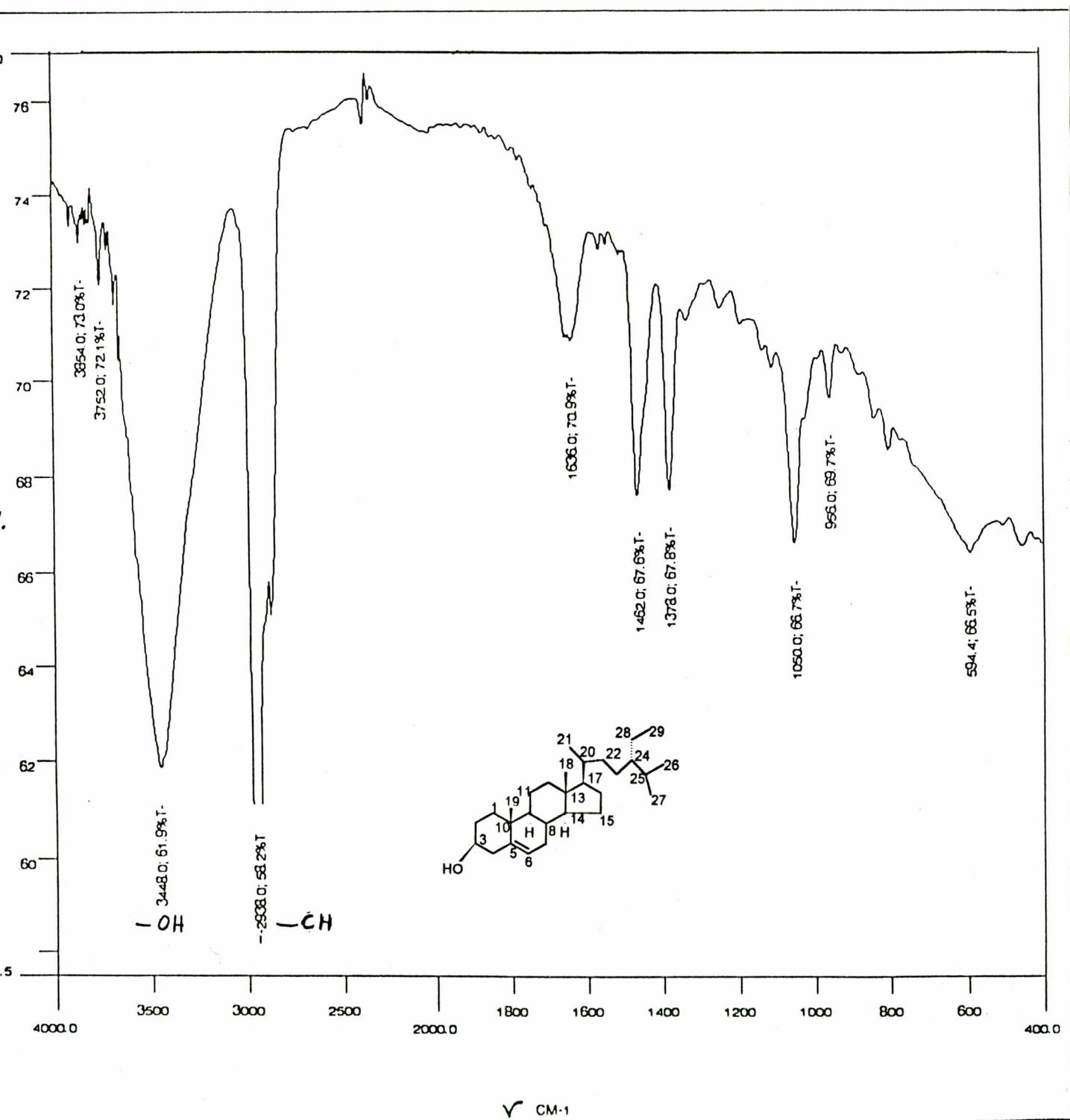


FIGURA 1 - Espectro no Infravermelho do β -Sitosterol em pastilha de KBr

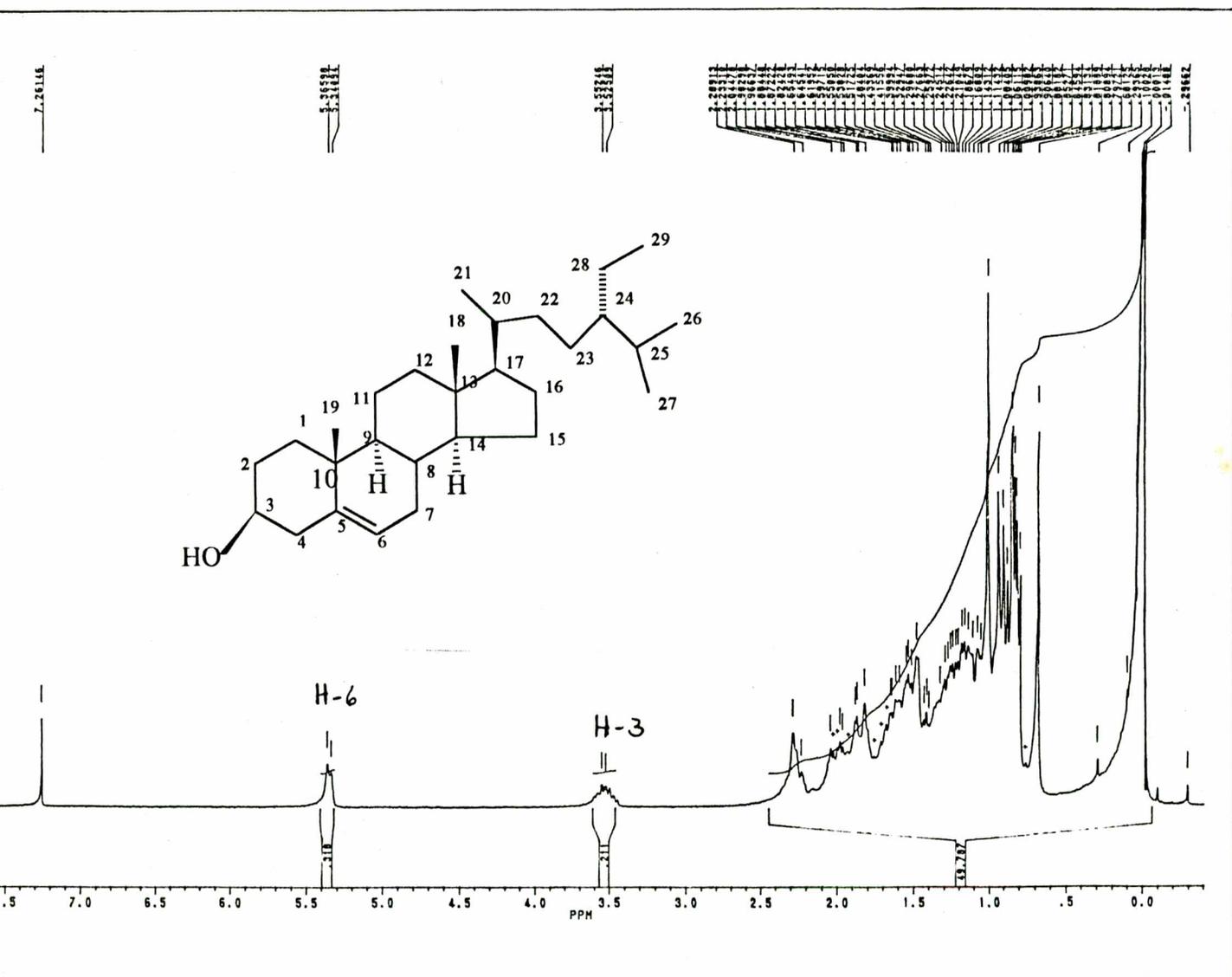


FIGURA 2 - Espectro de $^1\text{H-RMN}$ (200 MHz) do β -Sitosterol em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência.

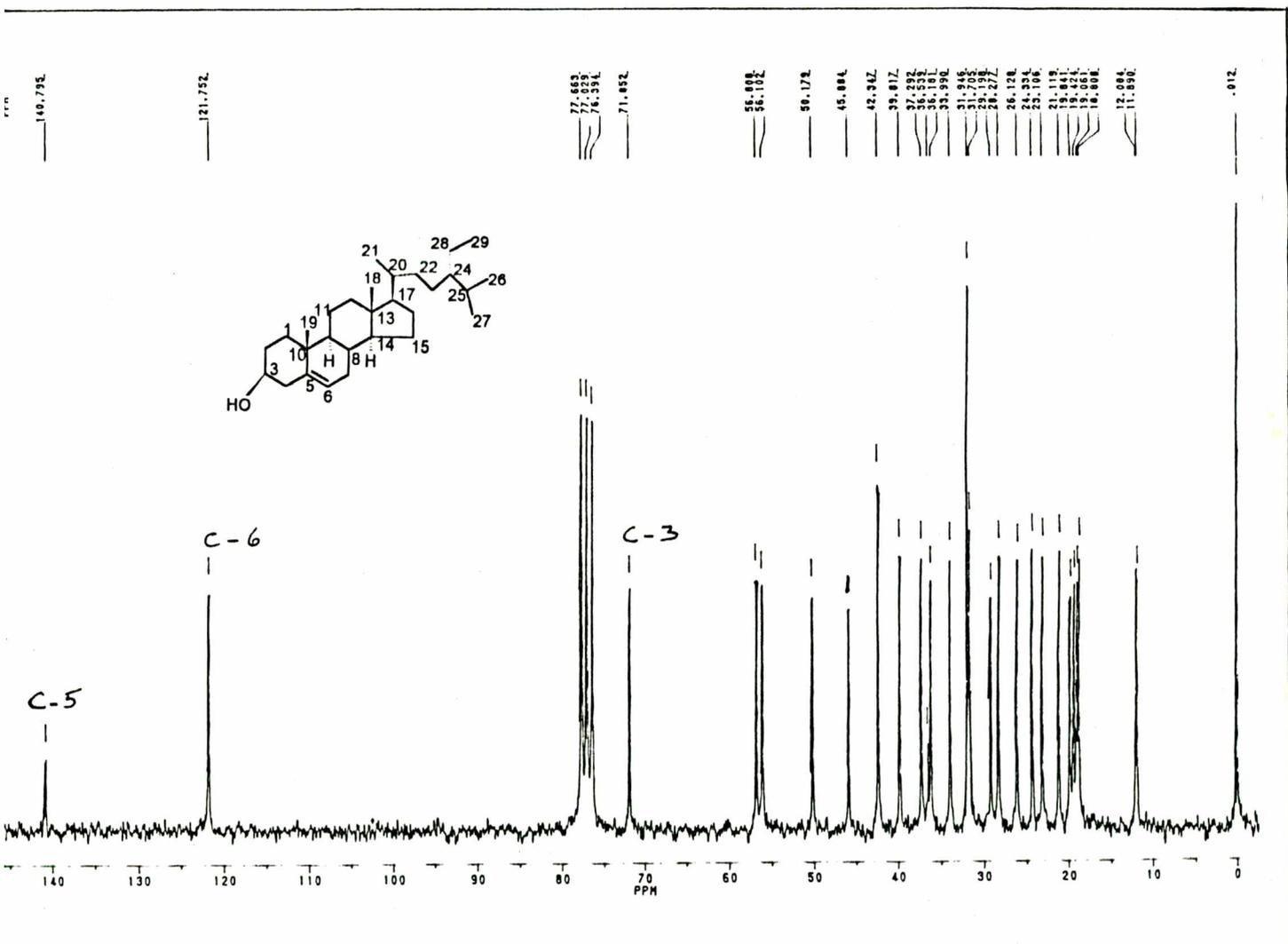


FIGURA 3 - Espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz) do β -Sitosterol em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência.

4.3 - Ácido Betulínico

O ácido betulínico (ácido 3 β -hidroxi-20(29)-lupen-28-óico) (**46**), segundo constatou-se por consulta ao Chemical Abstracts, tem sido isolado a partir de muitas plantas, e há várias referências que relatam importantes atividades do composto **46** como inibidor de tumores^{114,123-126}, agente antiinflamatório¹²⁷, agente antiviral¹²⁸, e recentemente como agente anti-AIDS.¹²⁹

O ácido betulínico foi identificado por comparação de seus dados espectrais de IV, ¹H-RMN e ¹³C-RMN com uma amostra autêntica, e com dados da literatura.^{118, 130-132}

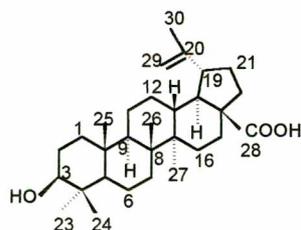
A figura 4 mostra o espectro no infravermelho (pastilha de KBr), a figura 5 o espectro de ¹H-RMN (300 MHz) , as figuras 6 e 7 espectros de ¹³C-RMN(75 MHz), e a figura 8 o espectro de ¹³C-RMN/DEPT(50 MHz) do ácido betulínico em piridina deuterada, TMS como padrão interno de referência.

A tabela 2 mostra a atribuição dos sinais dos espectros de ¹H- e ¹³C-RMN do ácido betulínico, baseada em dados da literatura¹³⁰⁻¹³², e nos dados fornecidos pelo espectro de ¹³C-RMN/DEPT(50 MHz), mostrado na Figura 8.

No espectro do ácido betulínico no infravermelho (Figura 4), observa-se bandas intensas a 3448, 2942, 2870 e 1688 cm⁻¹ indicando, respectivamente, a presença de grupos -OH, -CH, -CH₂ e -COOH. Já no espectro de ¹H-RMN do composto **46** em piridina deuterada (Figura 5) aparecem os dois dubletes a 4,7 e 4,9 ppm (J=2 Hz) dos prótons olefínicos ligados ao carbono 29; e a 3,6 ppm o duplo dublete (J=2 e 7,6 Hz) referente

Tabela 2 - Dados de ^1H -RMN (300 MHz) e de ^{13}C -RMN (75 MHz) do ácido betulínico em piridina deuterada, TMS como padrão interno de referência.

Carbono	δ (ppm)
1	39,2
2	28,2
3	78,0 (dd; 1H; 3,48; J= 2 e 7,6 Hz)
4	39,4
5	55,8
6	18,7
7	34,7
8	41,0
9	50,8
10	37,5
11	21,1
12	26,0
13	38,5
14	42,7
15	31,1
16	32,8
17	56,5
18	47,7 (dd; 1H; 2,7; J= 2 e 9 Hz)
19	49,6 (ddd; 1H; 3,5; J= 3; 3; e 9 Hz)
20	151,3
21	30,1
22	37,5
23	28,6
24	16,1
25	16,4
26	16,3
27	14,8
28	178,8
29	109,9 (2d; 1H cada; 4,6 e 4,7; J= 2 Hz)
30	19,4 (s; 3H; 1,8)



(46)

ao próton ligado ao carbono 3 (hidroxilado). Os prótons ligados aos carbonos 18 e 19 aparecem, respectivamente, a 2,7 e a 3,5 ppm, enquanto os singletes relativos aos 6 grupos metila ligados a carbono quaternário aparecem a 0,85; 1,0; 1,1; 1,2; 1,4 e 1,8 ppm. No espectro de ^{13}C -RMN do ácido betulínico em piridina deuterada (Figura 7), o sinal do carbono 28 (-COOH) aparece a 178,8 ppm; os carbonos olefinicos 20 e 29 aparecem, respectivamente, a 151,3 e a 109,9 ppm; e o carbono 3, ligado à hidroxila, aparece a 78,0 ppm.

Considerando a quantidade de ácido betulínico isolado a partir de *V. divergens*, este está presente, pelo menos, na proporção de $2,4 \times 10^{-2}$ % do peso seco da casca do caule da planta.

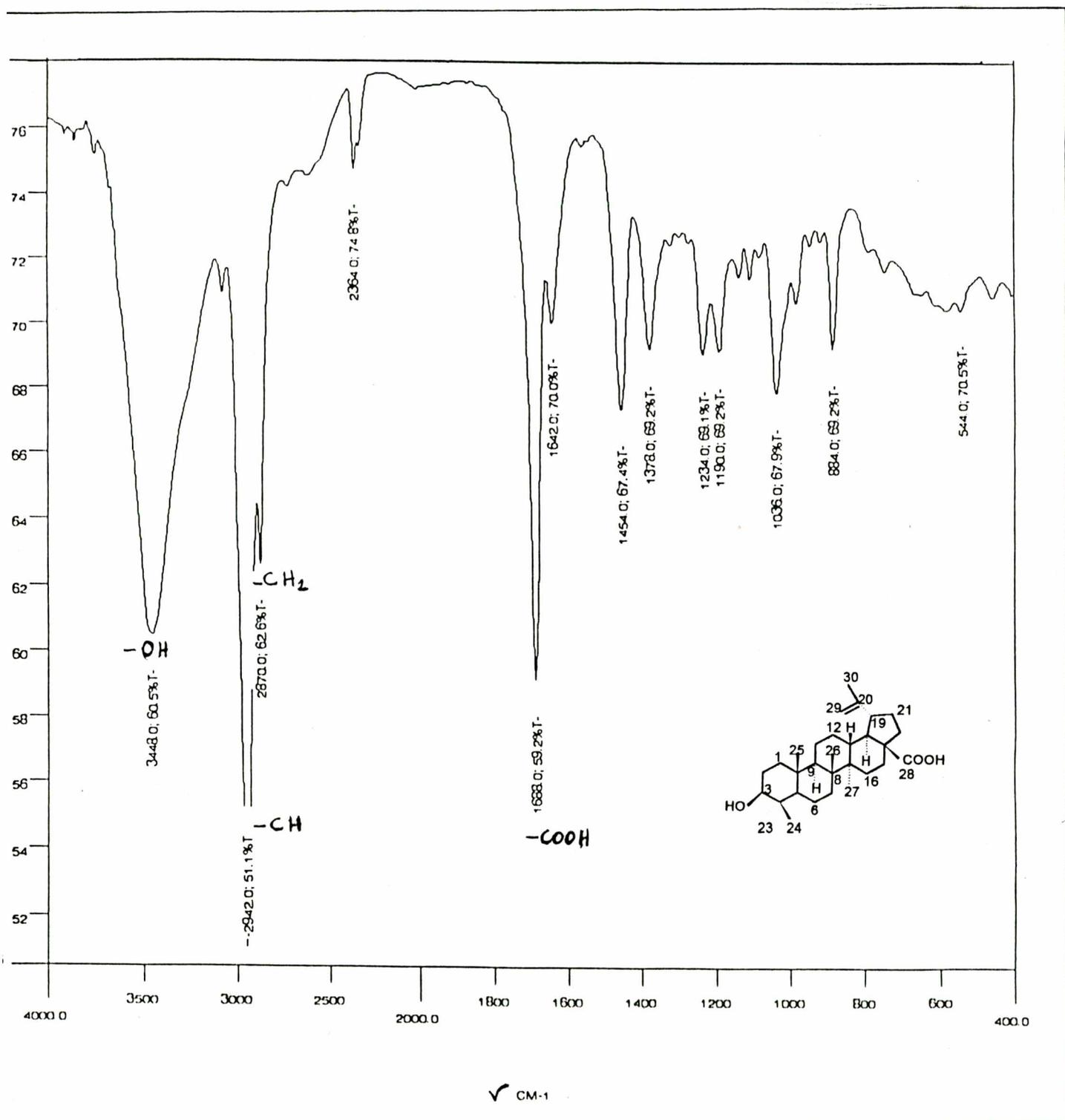


FIGURA 4 - Espectro no Infravermelho do Ácido Betulínico em pastilha de KBr

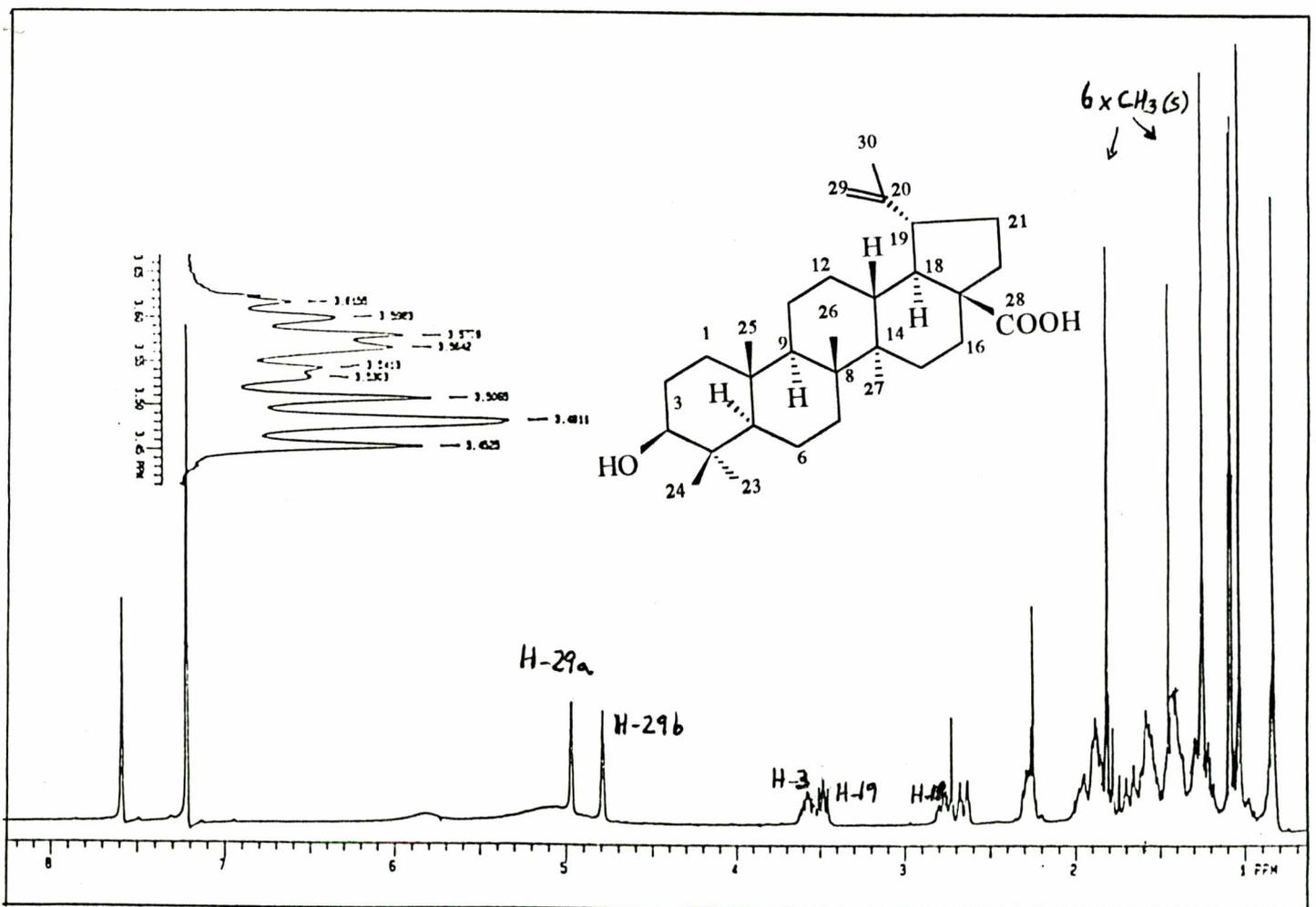


FIGURA 5 - Espectro de $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz) do Ácido Betulínico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência.

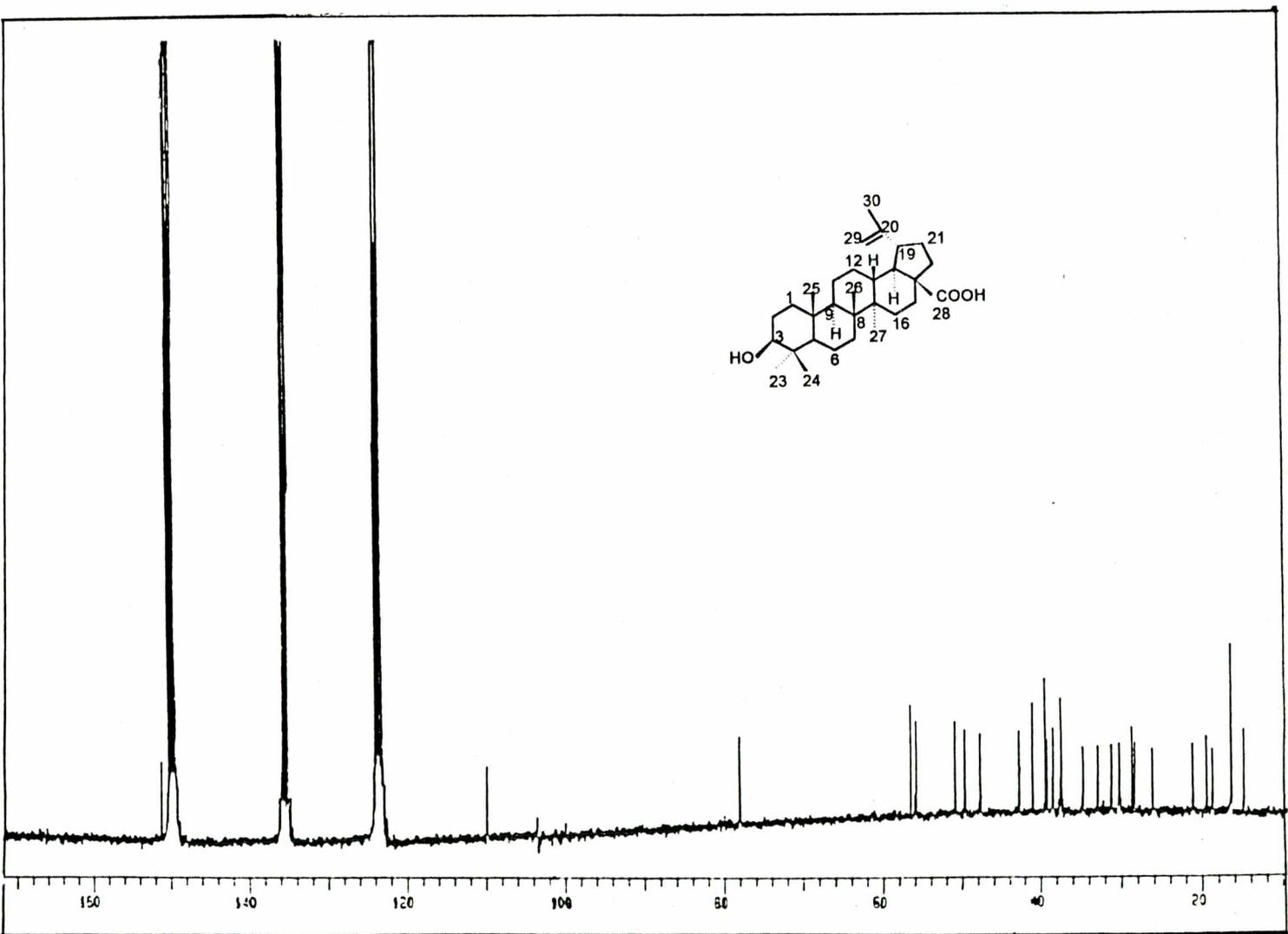


FIGURA 6 - Espectro de ^{13}C -RMN (75 MHz) do Ácido Betulínico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência.

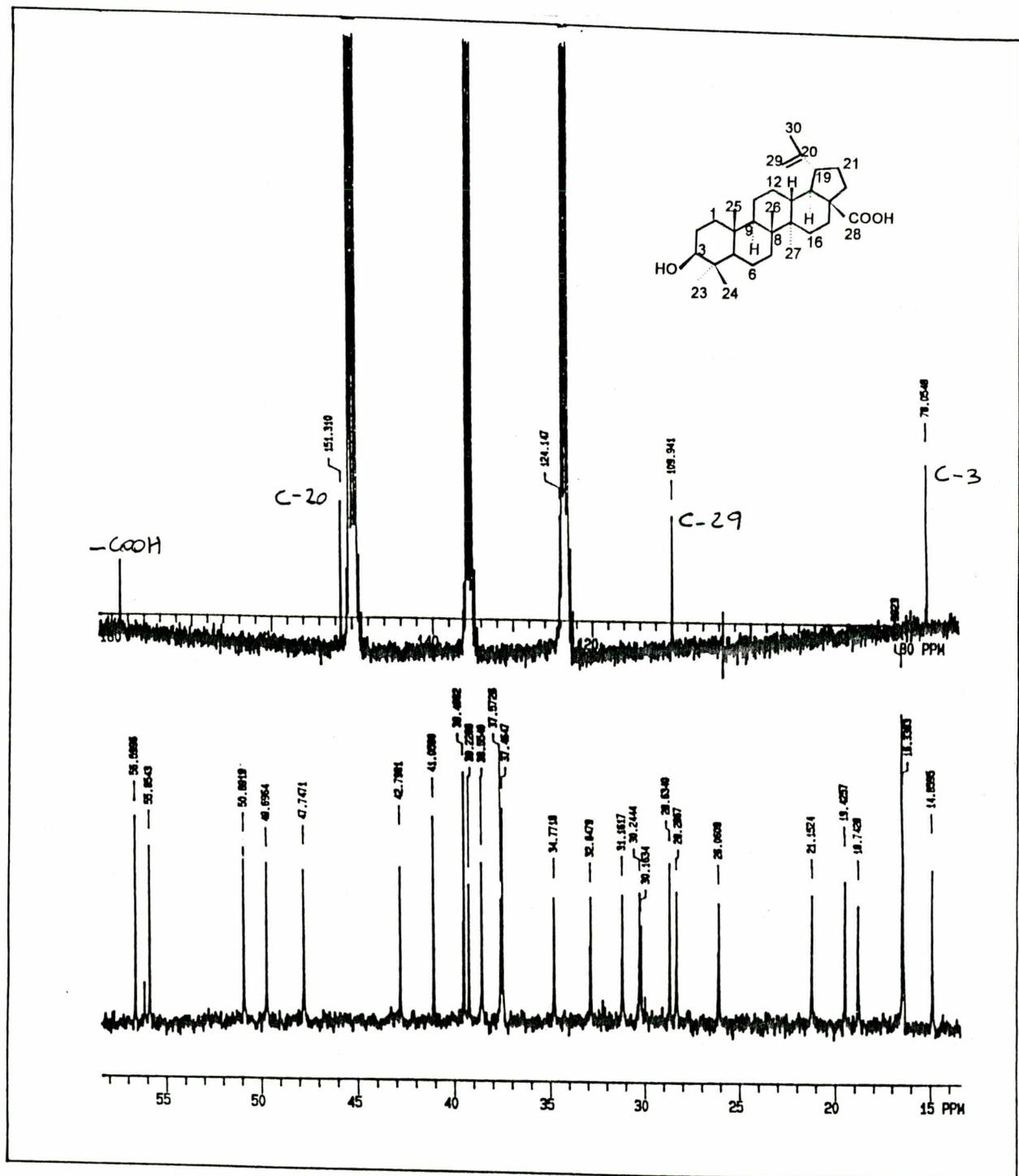


FIGURA 7 - Espectro II de ^{13}C -RMN (75 MHz) do Ácido Betulínico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência.

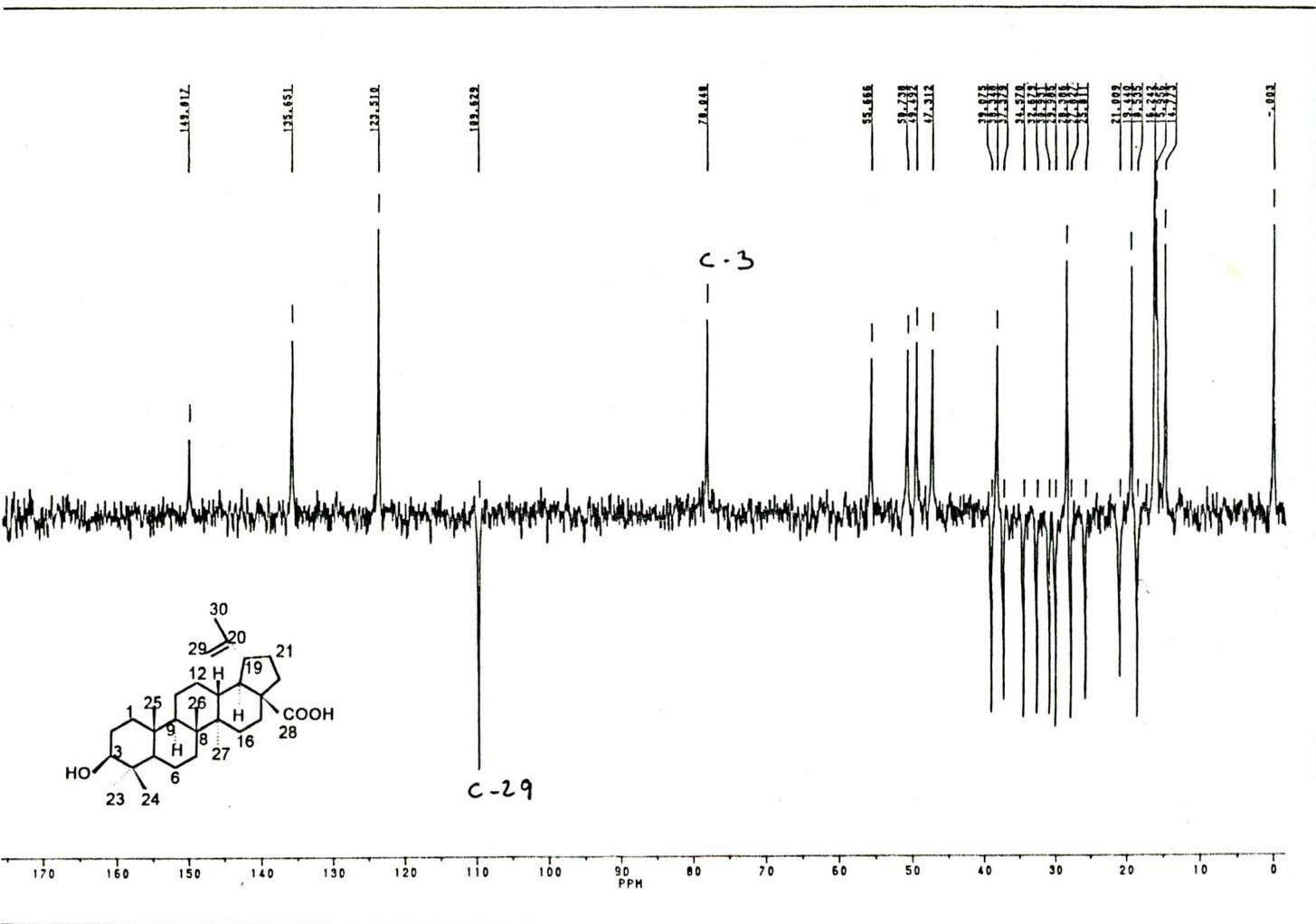
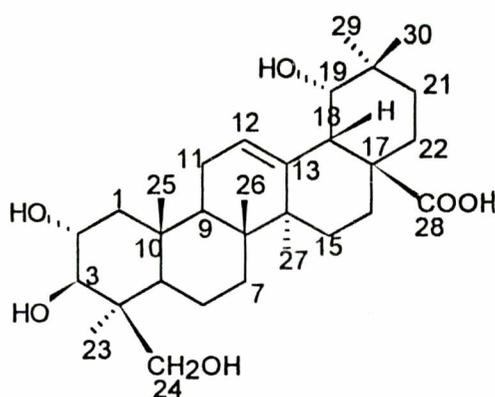


FIGURA 8 - Espectro de ^{13}C -RMN/DEPT (50 MHz) do Ácido Betulínico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência.

4.4 - Ácido Serílico

O ácido serílico (ácido 2 α , 3 β , 19 α , 24-tetraidroxiolean-12-en-28-óico) (**51**) foi isolado anteriormente a partir de três plantas: *Terminalia sericea*¹³³ (Combretaceae), *T. ivorensis*¹³⁴, e *Quercus ilex*¹³⁵ (Cupuliferae), sendo inédito, portanto, na família Vochysiaceae.



(51)

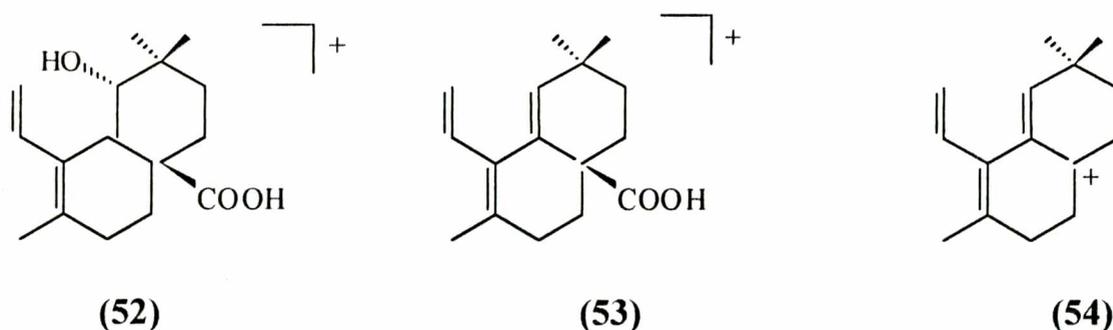
Há relatos na literatura de importantes propriedades farmacológicas para o ácido serílico, incluindo atividades antiúlcera (segundo o método de Shay)¹³⁶; antiinflamatória (segundo o método de edema induzido por carragenina)^{133-134, 136}; cicatrizante (segundo o método de Morton e Malone)¹³⁶, e antiartrítica.¹³⁴

O ácido serílico e muitos de seus derivados foram patenteados¹³⁶ para uso clínico, incluindo os compostos com substituintes alquílicos, arílicos, alquílicos substituídos e arílicos substituídos nos grupos hidroxila e carboxila, além do grupo glicosil na carboxila e dos sais de sódio, potássio, cálcio, magnésio, alumínio, etc. O derivado do ácido serílico com um grupo

carbonila no carbono 19, e seus derivados com substituintes nos grupos hidroxila e carboxila semelhantes àqueles descritos para os compostos derivados de **51** também foram patenteados.¹³⁶

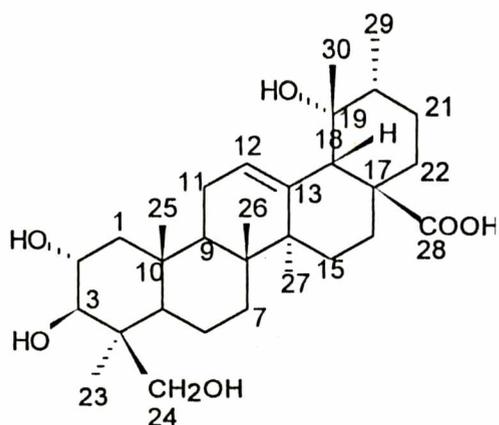
A estrutura do ácido serícico foi determinada através de dados espectrais de massa, infravermelho, ¹H- e ¹³C-RMN.

A figura 9 mostra o espectro de massa (35 eV, probe) do ácido serícico, que exibiu a fragmentação retro Diels-Alder típica do anel C, característica do esqueleto β-amirina com dupla ligação nos carbonos 12-13. O pico molecular está ausente. Os sinais intensos a m/e 264 (**52**) ; 246 (**53**) (= 264⁺ - H₂O); 219 (= 264⁺ - COOH) e 201 (**54**) (= 264⁺ - COOH - H₂O), correspondentes aos fragmentos **52-54**, indicam a presença de um grupo hidroxila e um grupo carboxila no sistema de anel D/E. O sinal a m/e 240 é atribuído a um sistema de anel A/B contendo três grupos hidroxila, e o pico a m/e 173 corresponde à perda de duas moléculas de água e de um grupo CH₂OH pelo sistema A/B. Os dados do espectro de massa do ácido serícico estão de acordo com a literatura^{133,137}

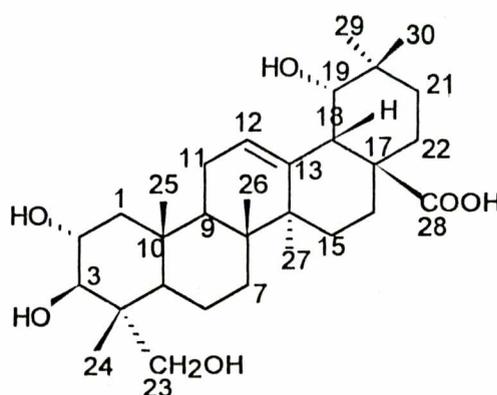


A figura 10 mostra o espectro no infravermelho (pastilha de KBr), as figuras 11 e 12 espectros de ¹H-RMN (300 MHz), as figuras 13 e 14 espectros de ¹³C-RMN (75 MHz), e a figura 15 o espectro de ¹³C-RMN/DEPT (50 MHz), do ácido serícico em piridina deuterada, TMS como padrão interno de referência.

A tabela 3 mostra a atribuição dos sinais dos espectros de ^1H - e ^{13}C -RMN do ácido serícico. A atribuição dos sinais do espectro de ^1H -RMN do ácido serícico foi baseada em dados da literatura.^{133,135} Como não há na literatura consultada dados de ^{13}C -RMN para o ácido serícico, a atribuição dos sinais foi baseada em dados da literatura para compostos semelhantes. Sendo assim, os dados de ^{13}C -RMN (em d^5 -piridina) referentes aos carbonos 1-10 e 23-26 do ácido serícico foram comparados com os mesmos dados para o ácido 24-hidroxitormêntico (**55**)¹³⁸⁻¹⁴⁰, e os sinais referentes aos carbonos 11-22 e 27-30 foram comparados com os mesmos dados para a arjungenina^{121,130-1} (**56**). Em todos os casos, houve boa concordância entre os dados comparados. Na atribuição dos sinais do espectro de ^{13}C -RMN do ácido serícico também foram úteis os dados fornecidos pelo espectro de ^{13}C -RMN/DEPT, mostrado na figura 15.



(55)



(56)

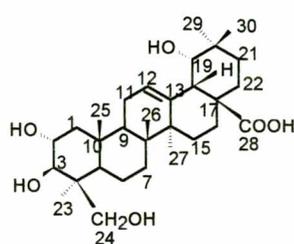
No espectro do ácido serícico no infravermelho (Figura 10), observa-se bandas intensas a 3424 , 2936 e 1690 cm^{-1} indicando, respectivamente a presença de grupos $-\text{OH}$, $-\text{CH}$ e $-\text{COOH}$. No espectro de ^1H -RMN do composto **51** em piridina deuterada (Figuras 11 e 12), observa-se a $5,5$ ppm o sinal do próton olefínico ligado ao carbono 12; a $4,5$ e a $3,7$ ppm os

Tabela 3 - Dados de ^1H -RMN (300 MHz) e de ^{13}C -RMN (75 MHz) do ácido serícico (**51**), do ácido 24-hidroxitormêntico (**55**) e da arjungenina (**56**) em piridina deuterada, TMS como padrão interno de referência.

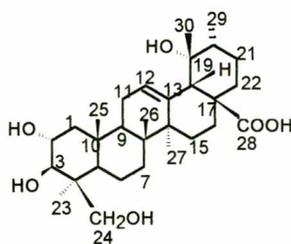
Carbono	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)
	51	55^a	56^b
1	47,3	47,8	47,4
2	68,6 (ddd; 1H; 4,3; J= 4;9; 10,5 Hz)	68,7	68,9
3	85,7 (d; 1H; 3,5; J=10,5 Hz)	85,8	78,4
4	43,9	44,0	43,6
5	56,5(ddd; 1H; 2,8; J= 4; 11 Hz)	56,6	48,2
6	19,3	19,4	18,8
7	33,5	33,8	33,6
8	40,0	40,4	40,1
9	48,4	47,9	48,5
10	38,4	38,3	38,6
11	24,4	24,4	28,8
12	123,3 (m; 1H; 5,5)	127,9	123,5
13	144,9	140,0	144,9
14	42,0	42,1	42,2
15	29,0	29,3	29,2
16	28,3	26,9	24,3
17	46,0	48,3	46,0
18	44,7 (d; 1H; 3,6; J= 3 Hz)	54,6	44,8
19	81,1 (d; 1H; 3,6; J= 3 Hz)	72,7	81,3
20	35,7	42,4	35,7
21	29,0	26,4	28,4
22	33,5	38,5	33,1
23	24,1	24,2	66,8
24	65,6 (2d; 1Hcada; 4,5 e 3,7; J=10,5Hz)	65,7	14,2
25	17,3	17,3	17,7
26	17,1	17,1	17,3
27	24,7	24,6	24,9
28	180,8	180,7	180,8
29	28,8	16,8	29,2
30	24,7	27,1	24,9

^a Dados extraídos da referência 140.

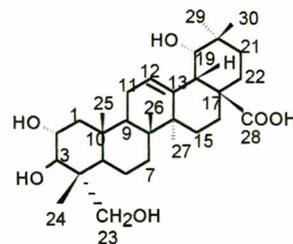
^b Dados extraídos da referência 142.



(51)



(55)



(56)

dubletes ($J=10,5$ Hz) referentes aos prótons ligados ao carbono 24; a 4,3 ppm o duplo dublete de dublete ($J=4;9;10,5$ Hz) referente ao próton ligado ao carbono 2; a 3,6 ppm os dubletes ($J=3$ Hz) dos prótons ligados aos carbonos 18 e 19; a 3,5 ppm o dublete ($J=10,5$ Hz) do próton ligado ao carbono 3; e os sinais referentes aos 6 grupos metila ligados a carbonos quaternários, a 1,6; 1,6; 1,2; 1,1; 1,0 e 1,0 ppm. Os dados fornecidos pelos espectros de ^{13}C -RMN do ácido serícico confirmam a estrutura proposta.

Considerando a quantidade de ácido serícico obtido, puro e em mistura com o ácido 24-hidroxitormêntico, a partir da casca do caule de *Vochysia divergens*, este está presente em uma proporção de, pelo menos, 3,3 % em peso seco do material vegetal.

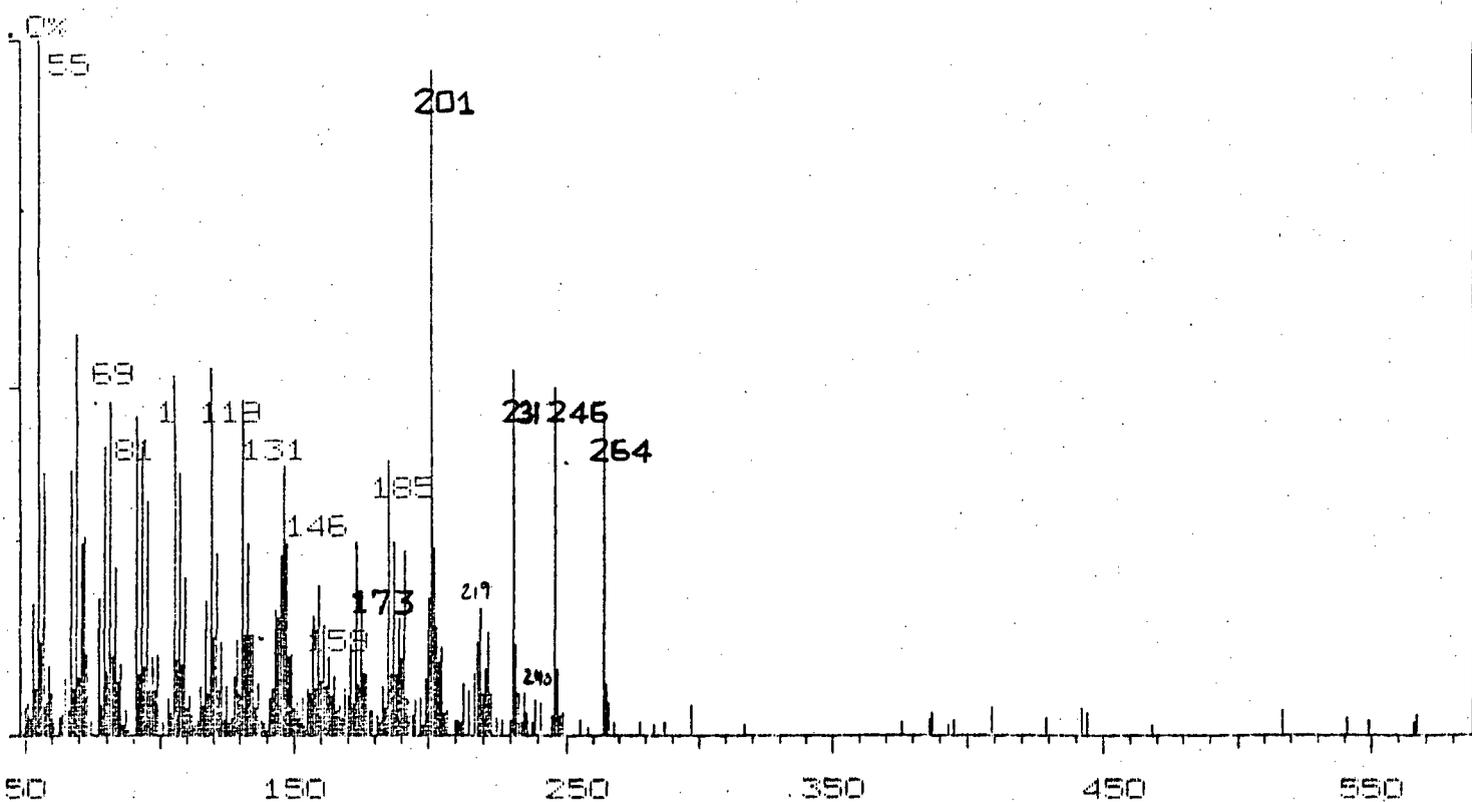
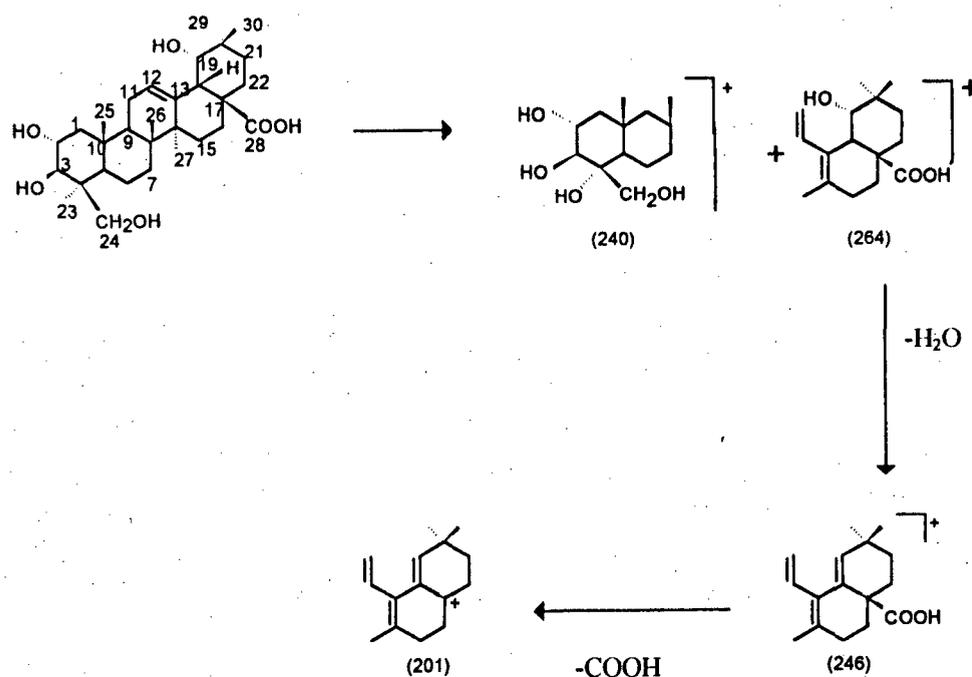


FIGURA 9 - Espectro de massa (35 eV, probe) do Ácido Serícico

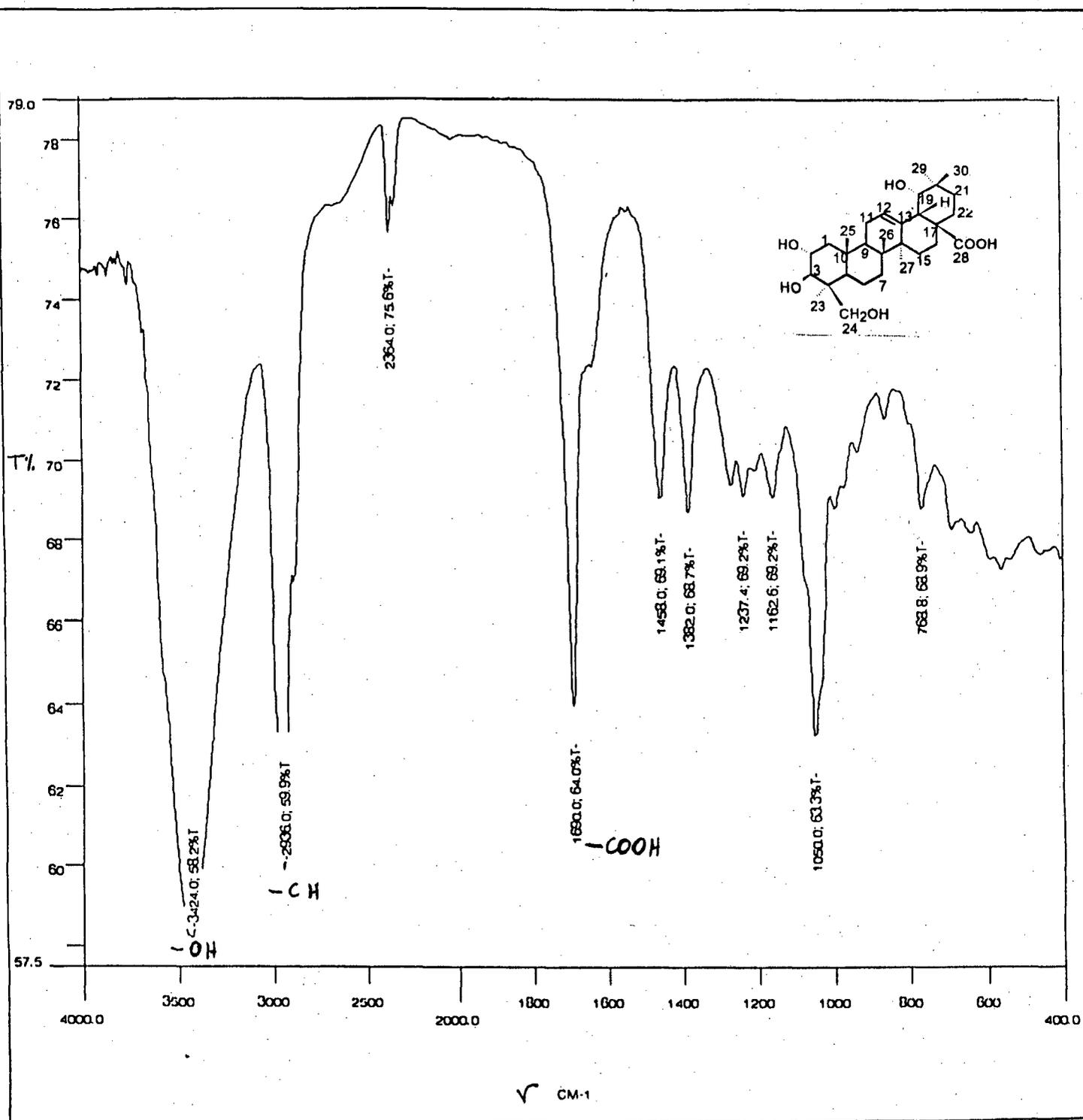


FIGURA 10 - Espectro no Infravermelho do Ácido Serílico em pastilha de KBr

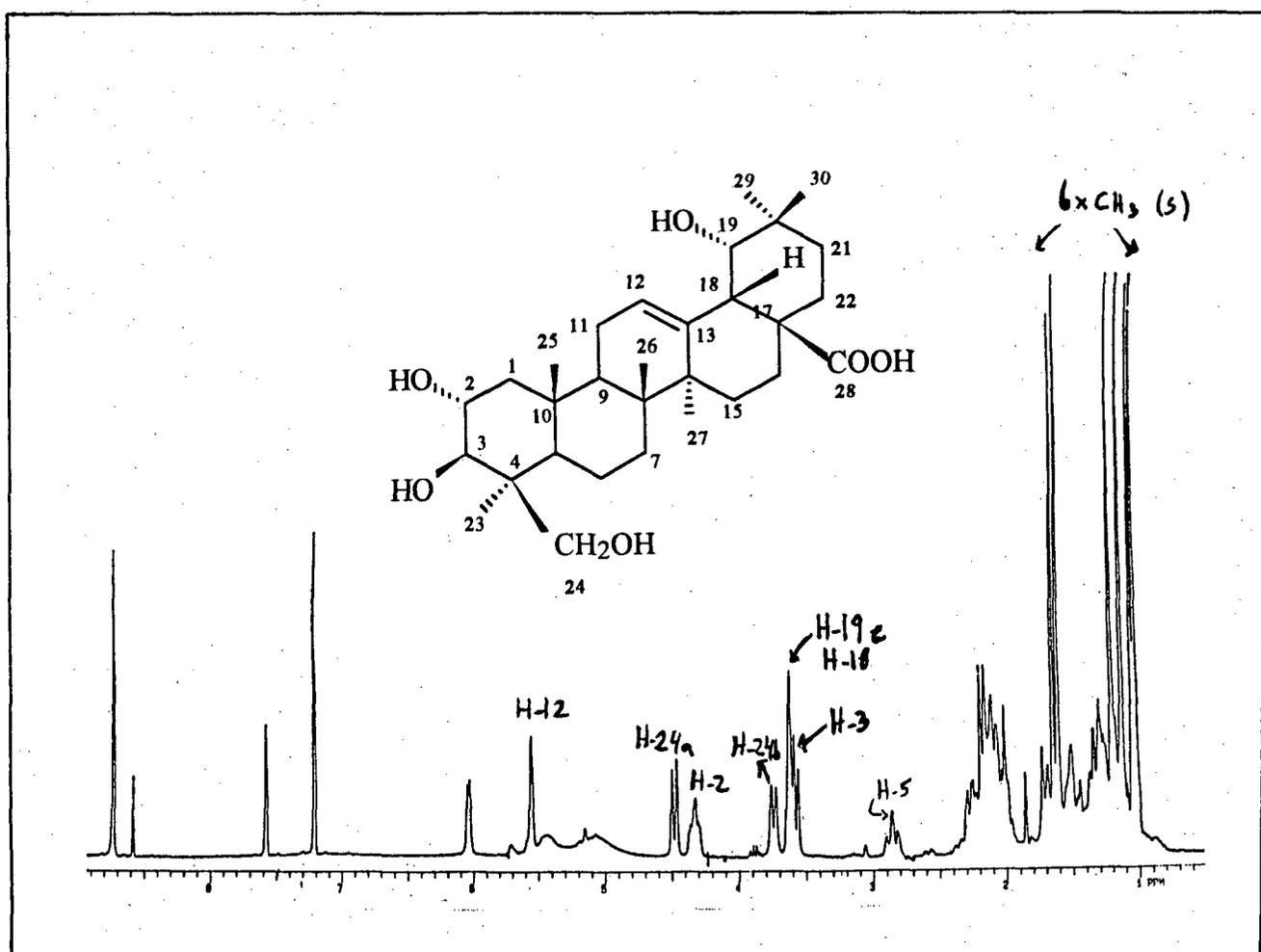


FIGURA 11 - Espectro de ¹H-RMN (300 MHz) do Ácido Sericico em d⁵-piridina, TMS como padrão interno de referência.

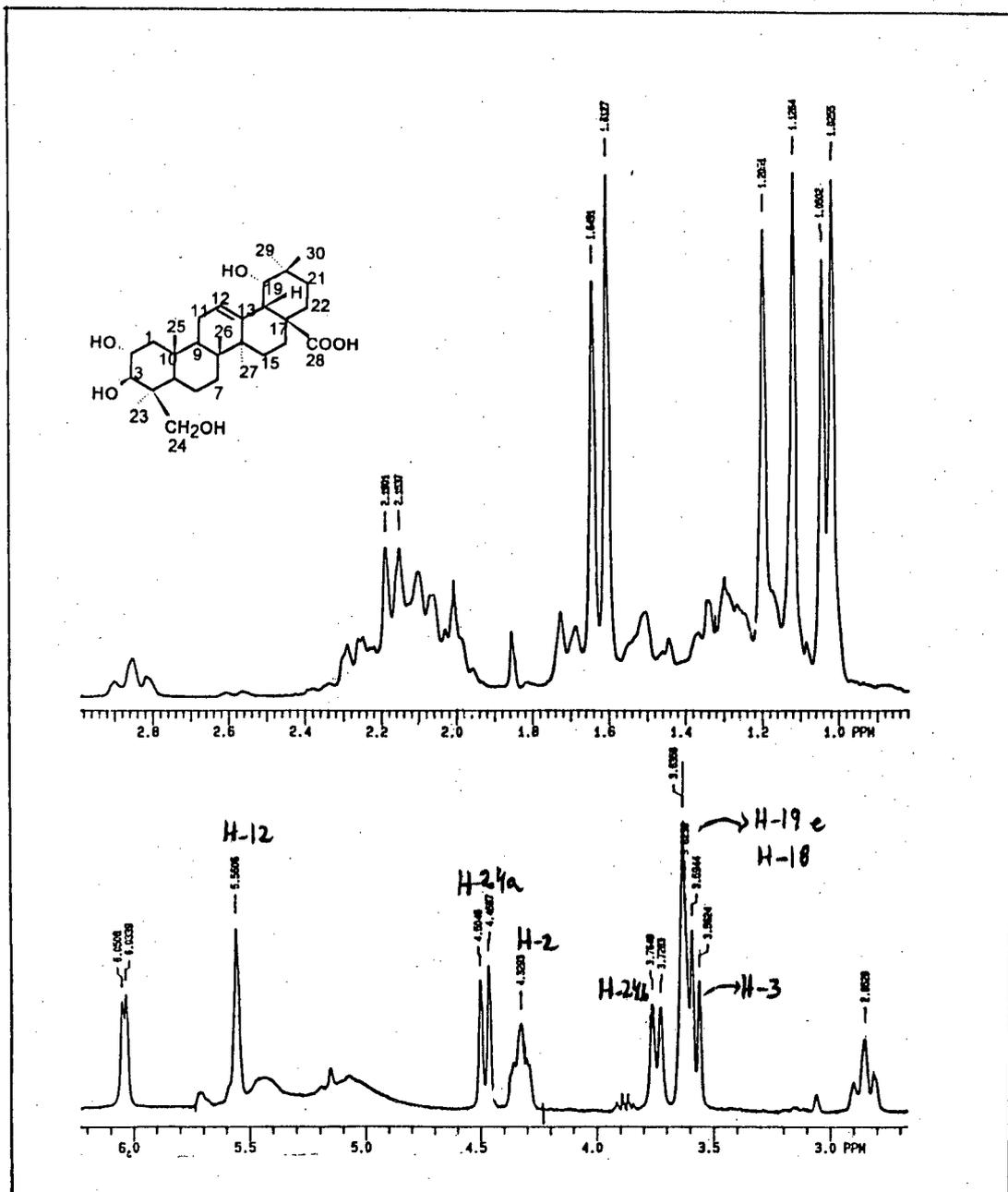


FIGURA 12 - Espectro II de $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz) do Ácido Serícico em $\text{d}^5\text{-piridina}$, TMS como padrão interno de referência.

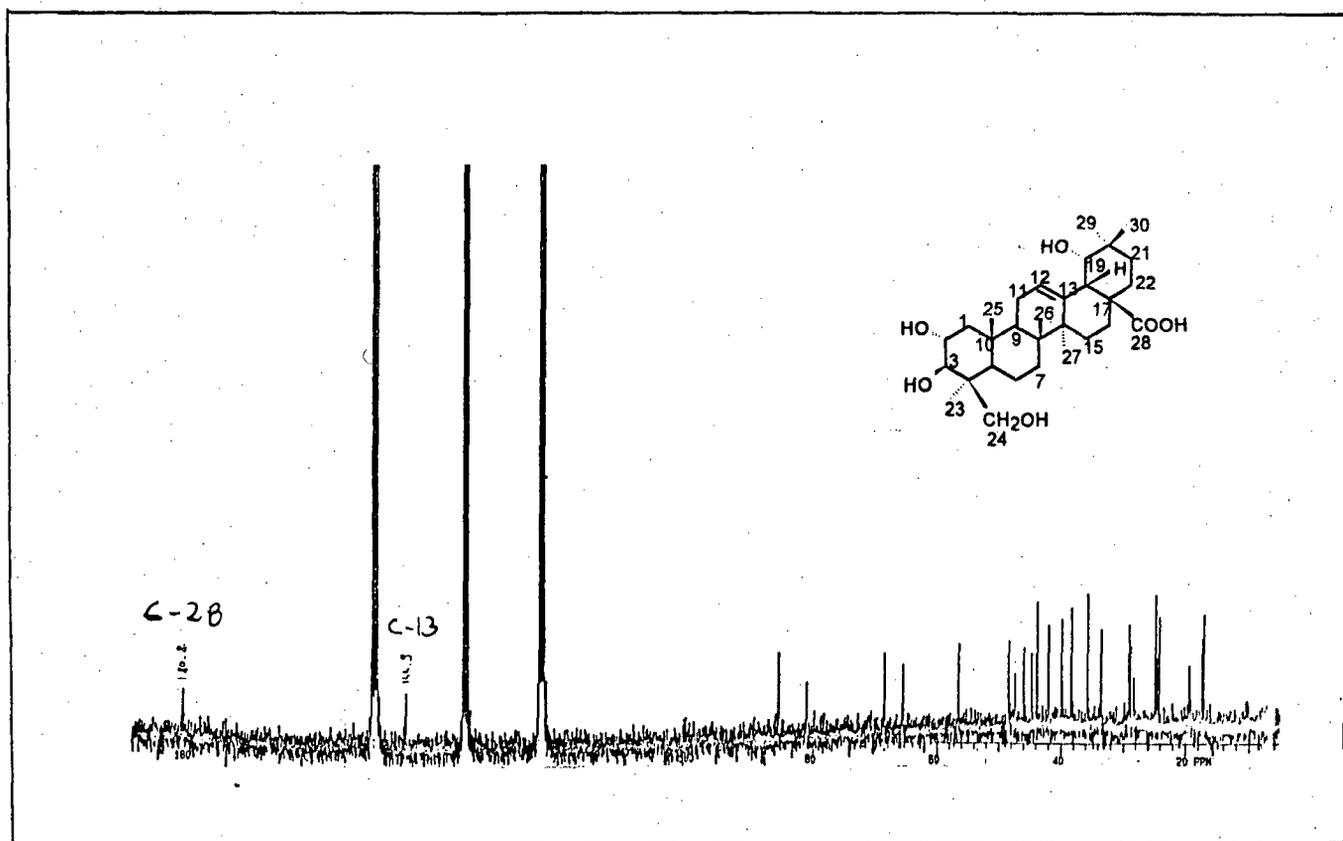


FIGURA 13 - Espectro de ^{13}C -RMN (75 MHz) do Ácido Serícico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência.

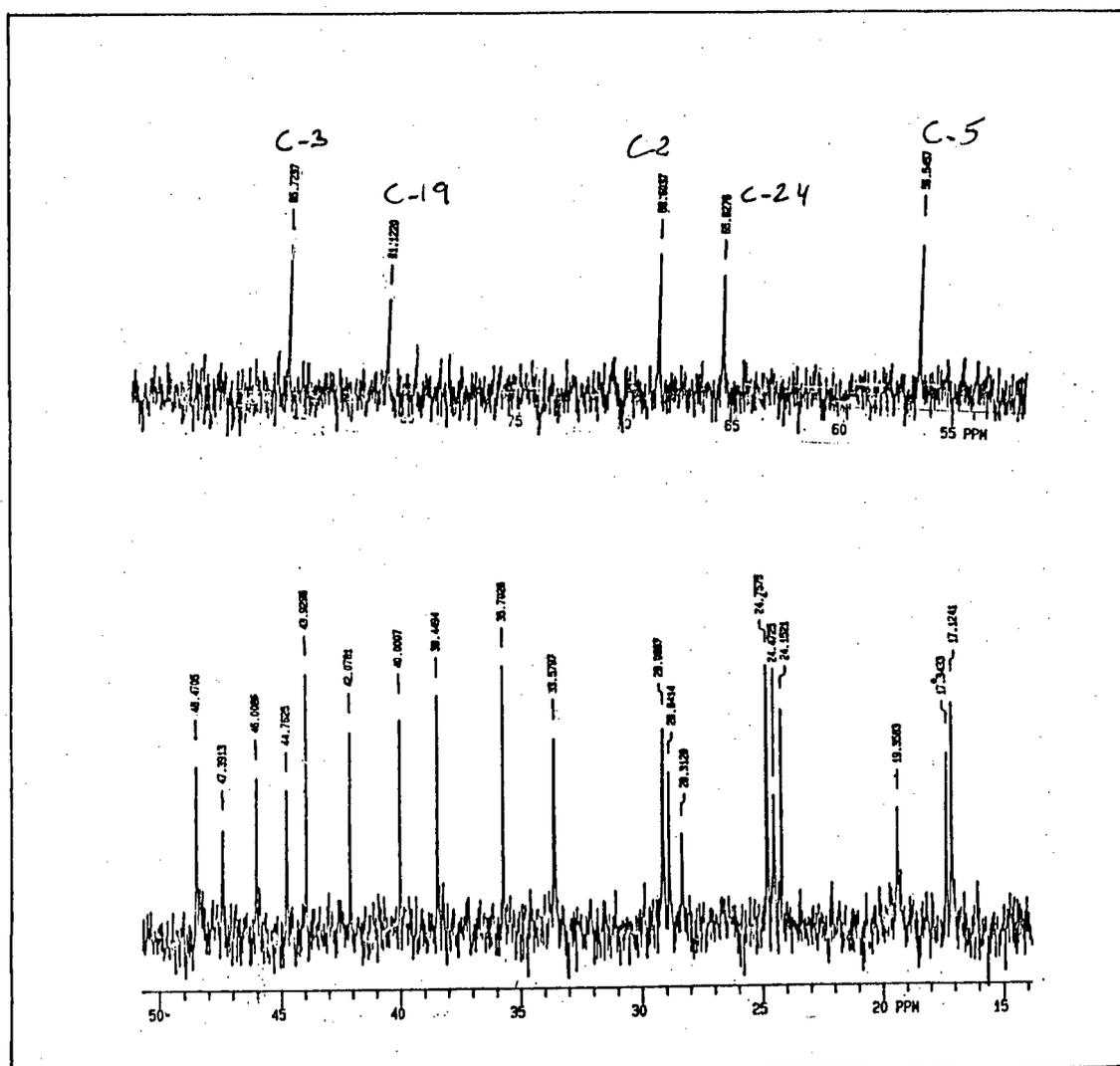
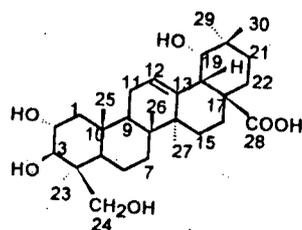


FIGURA 14 - Espectro II de ^{13}C -RMN (75 MHz) do Ácido Serílico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência.

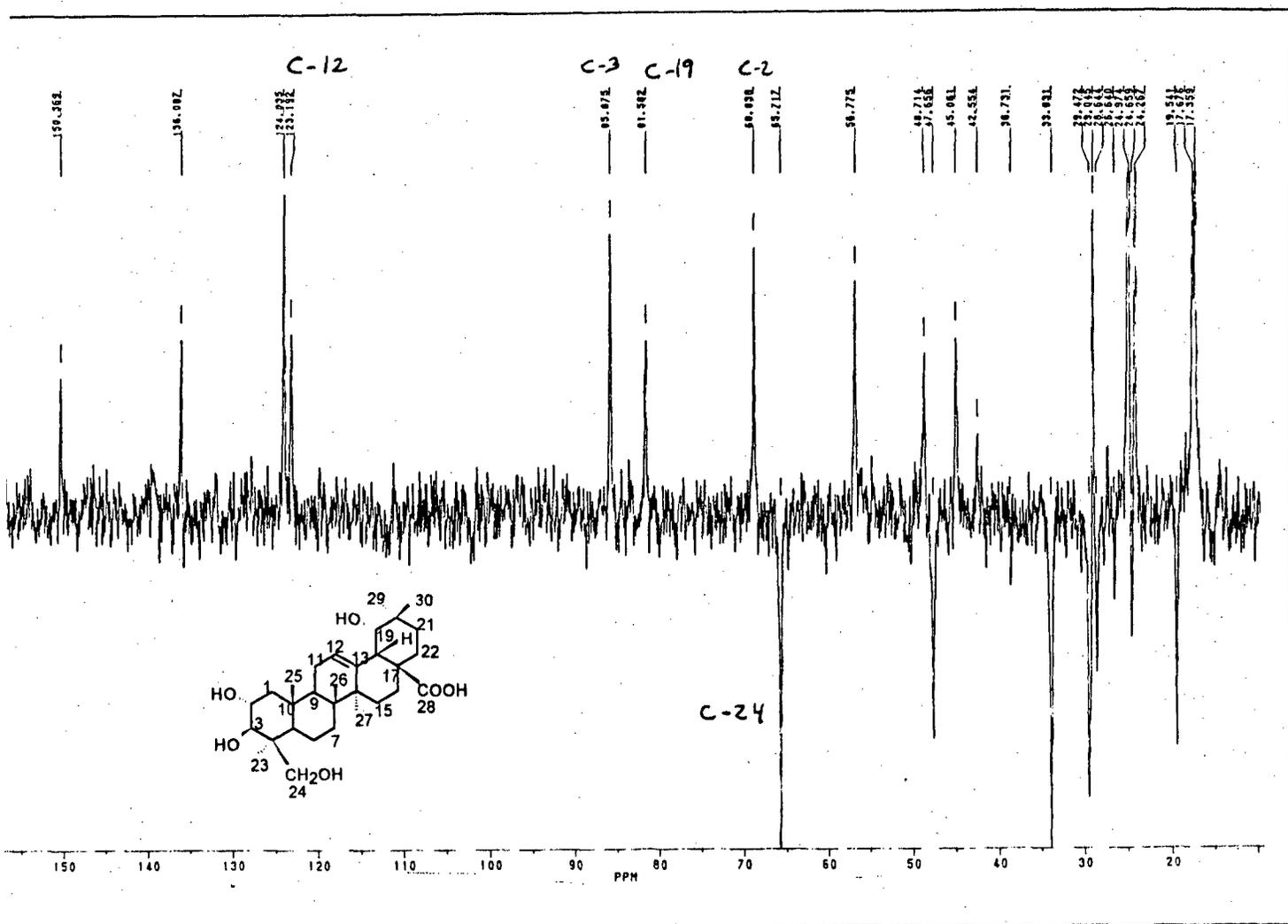
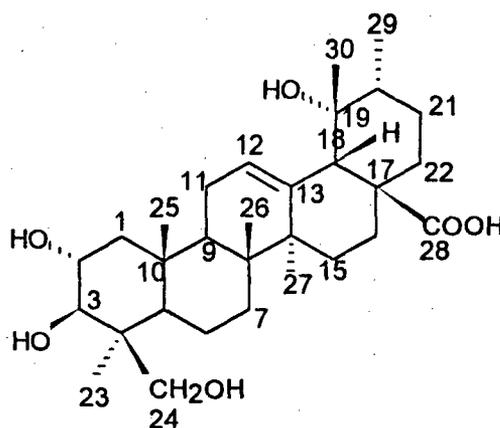


FIGURA 15 - Espectro de ^{13}C -RMN/DEPT (50 MHz) do Ácido Sericico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência.

4.5 - Ácido 24-hidroxitormêntico

No presente trabalho, o ácido 24-hidroxitormêntico (ácido $2\alpha, 3\beta, 19, 24$ -tetraidroxiurs-12-en-28-óico) (**55**) foi obtido puro a partir da casca do caule de *Ocotea suaveolens* (Lauraceae), e em mistura com o ácido serícico a partir da casca do caule de *Vochysia divergens* (Vochysiaceae). Anteriormente, o ácido 24-hidroxitormêntico foi isolado de *Desfontainia spinosa* (Loganiaceae)¹³⁸, e de *Hyptis capitata* (Labiatae)¹³⁹, sendo inédito, portanto, nas famílias Lauraceae e Vochysiaceae. Também não há relatos na literatura sobre estudos biológicos ou farmacológicos com o composto **55**.



(55)

O ácido 24-hidroxitormêntico foi identificado por comparação de seus dados espectrais de IV, ^1H - e ^{13}C -RMN com dados da literatura.¹³⁸⁻¹⁴⁰

A figura 16 mostra o espectro no infravermelho do ácido 24-hidroxitormêntico em pastilha de KBr (cm^{-1}): 3446; 2938; 1688; 1650; 1458; 1382; 1270; 1236; 1158; 1052. As bandas intensas a 3446, 2938 e 1688 cm^{-1} indicam, respectivamente, a presença de grupos -OH, -CH e -COOH.

A figura 17 mostra o espectro de ^1H -RMN (300 MHz), e a figura 18 os espectros de ^{13}C -RMN e de ^{13}C -RMN/APT (75 MHz) do ácido 24-

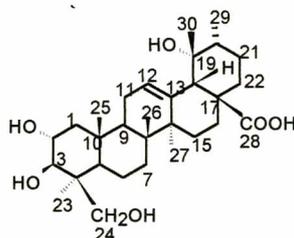
hidroxitormêntico em piridina deuterada, TMS como padrão interno de referência. No espectro mostrado na Figura 17 observa-se a 4,9 ppm o sinal do próton olefínico ligado ao carbono 12; a 4,3 e a 3,5 ppm os dubletes ($J=10,5$ Hz) dos prótons ligados ao carbono 24; a 4,1 ppm o duplo dublete de dublete ($J=4;9;10,5$ Hz) referente ao próton ligado ao carbono 2; a 3,3 ppm o dublete ($J=10,5$ Hz) referente ao próton ligado ao carbono 3; a 2,9 ppm o duplo dublete ($J=4;11$ Hz) referente ao próton ligado ao carbono 5; e a 2,8 ppm o singlete referente ao próton ligado ao carbono 18. Como era esperado, os sinais dos prótons ligados aos carbonos 2, 3, 5 e 24 são idênticos nos espectros de ^1H -RMN do ácido serícico e do ácido 24-hidroxitormêntico. As principais diferenças entre os dois espectros são relativas aos prótons ligados aos carbonos 12 (a 5,5 ppm no espectro do composto **51**, e a 4,9 ppm no espectro de ^1H -RMN do composto **55**, em piridina deuterada); 18 (um dublete a 3,6 ppm no espectro do composto **51**, e um singlete a 2,8 ppm no espectro de ^1H -RMN do composto **55**, em piridina deuterada), e 29 (um singlete no espectro do composto **51**, e um dublete ($J=7$ Hz) a 0,9 ppm no espectro de ^1H -RMN do composto **55**, em piridina deuterada). Os dados fornecidos pelos espectros de ^{13}C -RMN do ácido 24-hidroxitormêntico confirmam a estrutura proposta.

Considerando a quantidade de ácido 24-hidroxitormêntico isolada a partir de *O. suaveolens*, este está presente em, pelo menos, $2,5 \times 10^{-2}$ % do peso seco da casca do caule do vegetal. Na casca do caule de *V. divergens* o ácido 24-hidroxitormêntico está presente em, pelo menos, 0,8 % do peso seco do material vegetal.

A tabela 4 mostra a atribuição dos sinais dos espectros de ^1H - e de ^{13}C -RMN do ácido 24-hidroxitormêntico, baseada em dados da literatura¹³⁸⁻¹⁴⁰.

Tabela 4 - Dados de ^1H -RMN (300 MHz) e de ^{13}C -RMN (75 MHz) do ácido 24-hidroxitormêntico em piridina deuterada, TMS como padrão interno de referência.

Carbono	δ (ppm)	Carbono	δ (ppm)
1	47,5	16	26,7
2	68,4 (ddd; 1H; 4,1; J= 4; 9; 10,5 Hz)	17	48,0
3	85,5 (d; 1H; 3,3; J= 10,5 Hz)	18	54,3 (s; 1H; 2,8)
4	43,7	19	72,4
5	56,3(ddd; 1H; 2,9; J= 4; 11 Hz)	20	42,1 (m; 1H; 3,6)
6	19,1	21	26,1
7	33,6	22	38,2
8	40,1	23	23,9
9	47,6	24	65,4 (2d; 1H cada; 4,3 e 3,5; J= 10,5 Hz)
10	38,0	25	17,0
11	24,1	26	16,8
12	127,5 (m; 1H; 4,9)	27	24,4
13	139,7	28	180,4
14	41,8	29	16,5 (d; 3H; 0,9; J= 7 Hz)
15	29,0	30	26,8



(55)

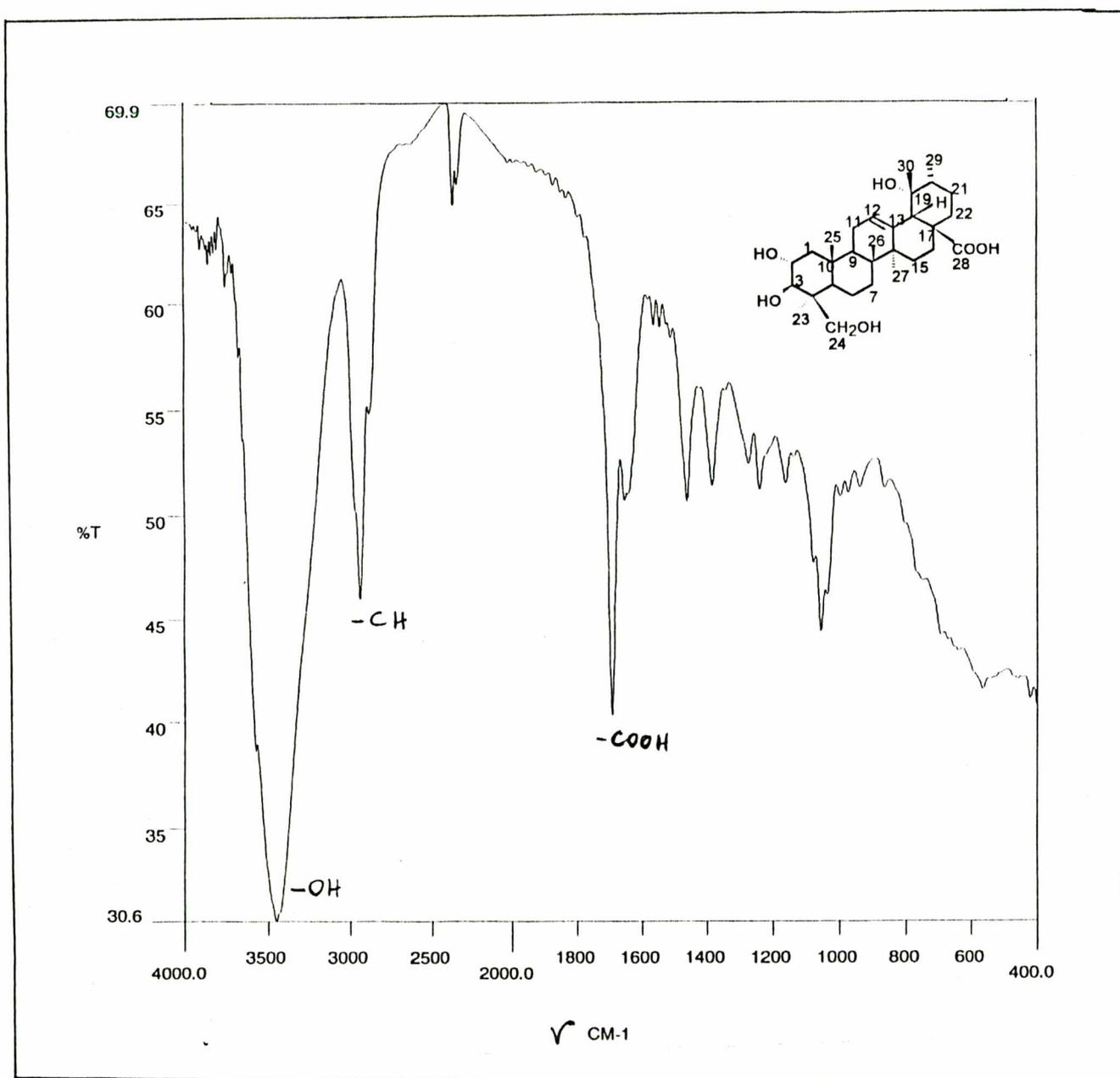


FIGURA 16 - Espectro no Infravermelho do Ácido 24-Hidroxitormêntico em pastilha de KBr.

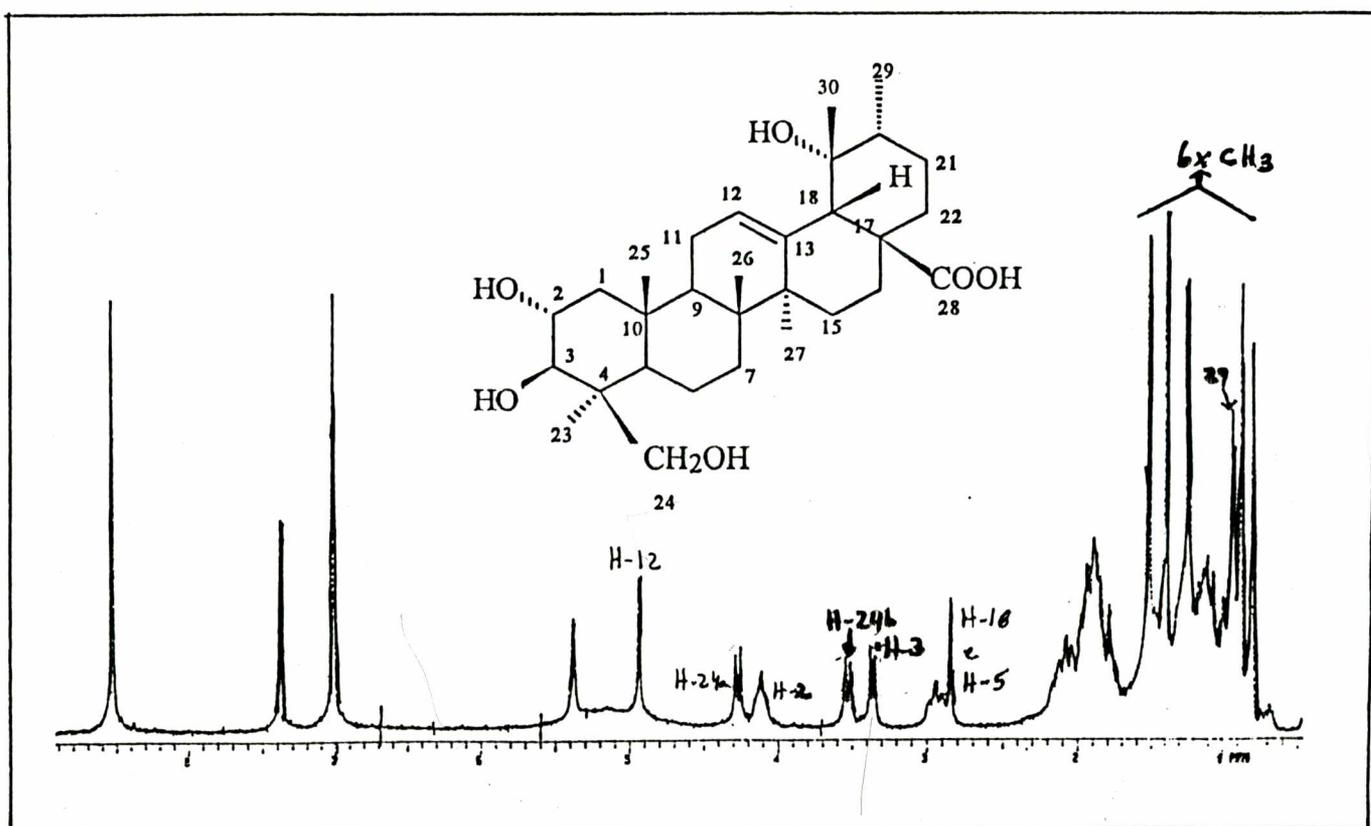


FIGURA 17 - Espectro de $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz) do Ácido 24-Hidroxitormêntico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência.

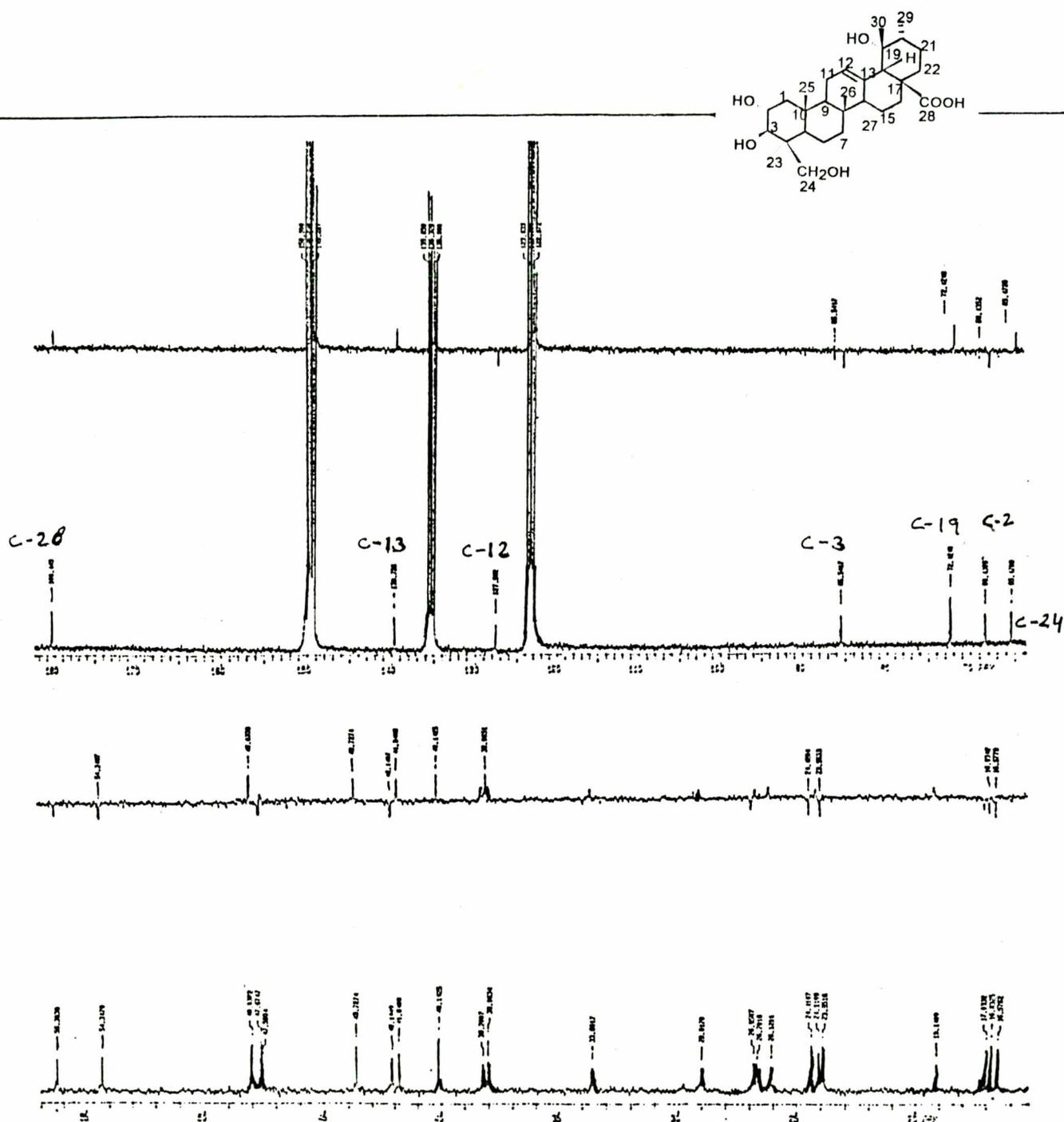
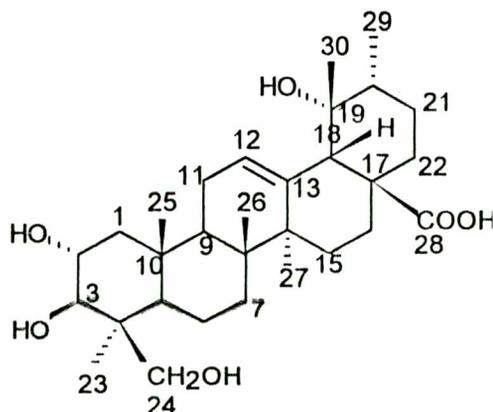
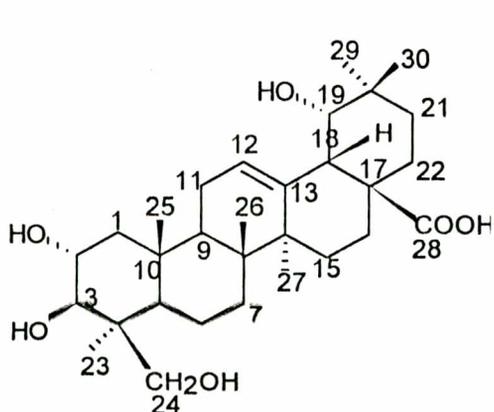


FIGURA 18 - Espectros de ^{13}C -RMN e de ^{13}C -RMN/APT (75 MHz) do Ácido 24-Hidroxitormêntico em d^5 -piridina, TMS como padrão interno de referência.

4.6 - Mistura de Ácido Serícico e Ácido 24-hidroxitormêntico

A mistura de ácido serícico (**51**) e ácido 24-hidroxitormêntico (**55**) obtida a partir da casca do caule de *Vochysia divergens* foi identificada por comparação de seus dados espectrais de ^1H - e ^{13}C -RMN com os espectros dos respectivos compostos puros.

As figuras 19 e 20 mostram espectros de ^1H -RMN (200 MHz), a figura 21 o espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz), e a figura 22 o espectro de ^{13}C -RMN/DEPT (50 MHz) da mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico obtida a partir de *V. divergens*, em piridina deuterada, TMS como padrão interno de referência. Nos espectros mostrados nas figuras 19 e 20 é possível observar a sobreposição dos sinais referentes aos prótons ligados aos carbonos **2** (ddd; $J=4;9;10,5$ Hz; 4,2 ppm), **3** (d; $J=10,5$ Hz; 3,5 ppm); **24** (2d; 1H cada; $J=10,5$ ppm; 4,4 e 3,7 ppm); e **5** (dd; $J=4;11$ Hz; 3,0 ppm); que são iguais para os compostos **51** e **55**. Já os sinais referentes aos prótons olefinicos (ligados ao carbono **12**) aparecem a 5,5 ppm e a 4,8 ppm, respectivamente, para os compostos **51** e **55**. Através das áreas relativas dos sinais dos respectivos prótons olefinicos é possível calcular que a proporção em peso de ácido serícico/



ácido 24-hidroxitormêntico naquela mistura é de aproximadamente 2/1. Os sinais dos prótons ligados aos carbonos **18** e **19** no composto **51** aparecem a 3,6 ppm (2d; J=3 Hz); enquanto o sinal do próton ligado ao carbono **18** no composto **55** aparece a 2,9 ppm (singlete).

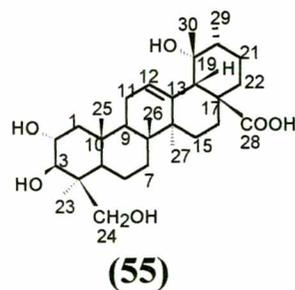
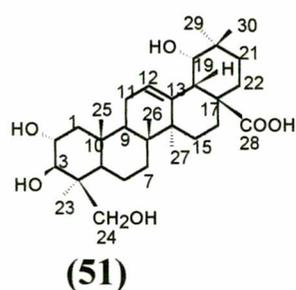
A tabela 5 mostra a atribuição dos sinais do espectro de ^{13}C -RMN dos ácidos serícico e 24-hidroxitormêntico puros, e da mistura dos dois, obtida a partir da casca do caule de *V. divergens*.

Tabela 5 - Dados espectrais de ^{13}C -RMN (50 MHz) do ácido serícico (**51**), do ácido 24-hidroxitormêntico (**55**), e da mistura dos dois, obtida a partir de *Vochysia divergens*. TMS como padrão interno de referência, e piridina deuterada como solvente.

Carbono	δ (ppm)			Carbono	δ (ppm)		
	51	55 ^a	(51+55) ^b		51	55 ^a	(51+55) ^b
1	47,3	47,8	47,9(51) + 48,3(55)	16	24,7	26,9	25,2(51) + 27,4(55)
2	68,6	68,7	69,1 (51+55)	17	46,0	48,3	46,5(51) + 48,8(55)
3	85,7	85,8	86,2 (51+55)	18	44,7	54,6	45,2(51) + 55,0(55)
4	43,9	44,0	44,4 (51+55)	19	81,1	72,7	81,6(51) + 73,1(55)
5	56,5	56,6	57,0 (51+55)	20	35,7	42,4	36,2(51) + 42,8(55)
6	19,3	19,4	19,8 (51+55)	21	28,3	26,4	28,8(51) + 26,8(55)
7	33,5	33,8	34,1(51) + 34,3(55)	22	33,5	38,5	34,1(51) + 38,9(55)
8	40,0	40,4	40,5(51) + 40,8(55)	23	24,1	24,2	24,6 (51+55)
9	48,4	47,9	48,9(51) + 48,5(55)	24	65,6	65,7	66,1(51+55)
10	38,4	38,3	38,9 (51+55)	25	17,3	17,3	17,8 + 17,7 (51 e 55)
11	28,3	24,4	28,8(51) + 24,8(55)	26	17,1	17,1	17,5 + 17,6 (51 e 55)
12	123,3	127,9	123,7(51) + 128,3(55)	27	24,4	24,6	24,9(51) + 25,1(55)
13	144,9	140,0	145,4(51) + 140,4(55)	28	180,8	180,7	181,1 (51 e 55)
14	42,0	42,1	42,5 (51+55)	29	28,8	16,8	29,3(51) + 17,2 (55)
15	29,0	29,3	29,6 (51+55)	30	24,7	27,1	25,2(51) + 27,5 (55)

^aExtraído da referência 140.

^bTodo o espectro deslocado em +0,5 ppm.



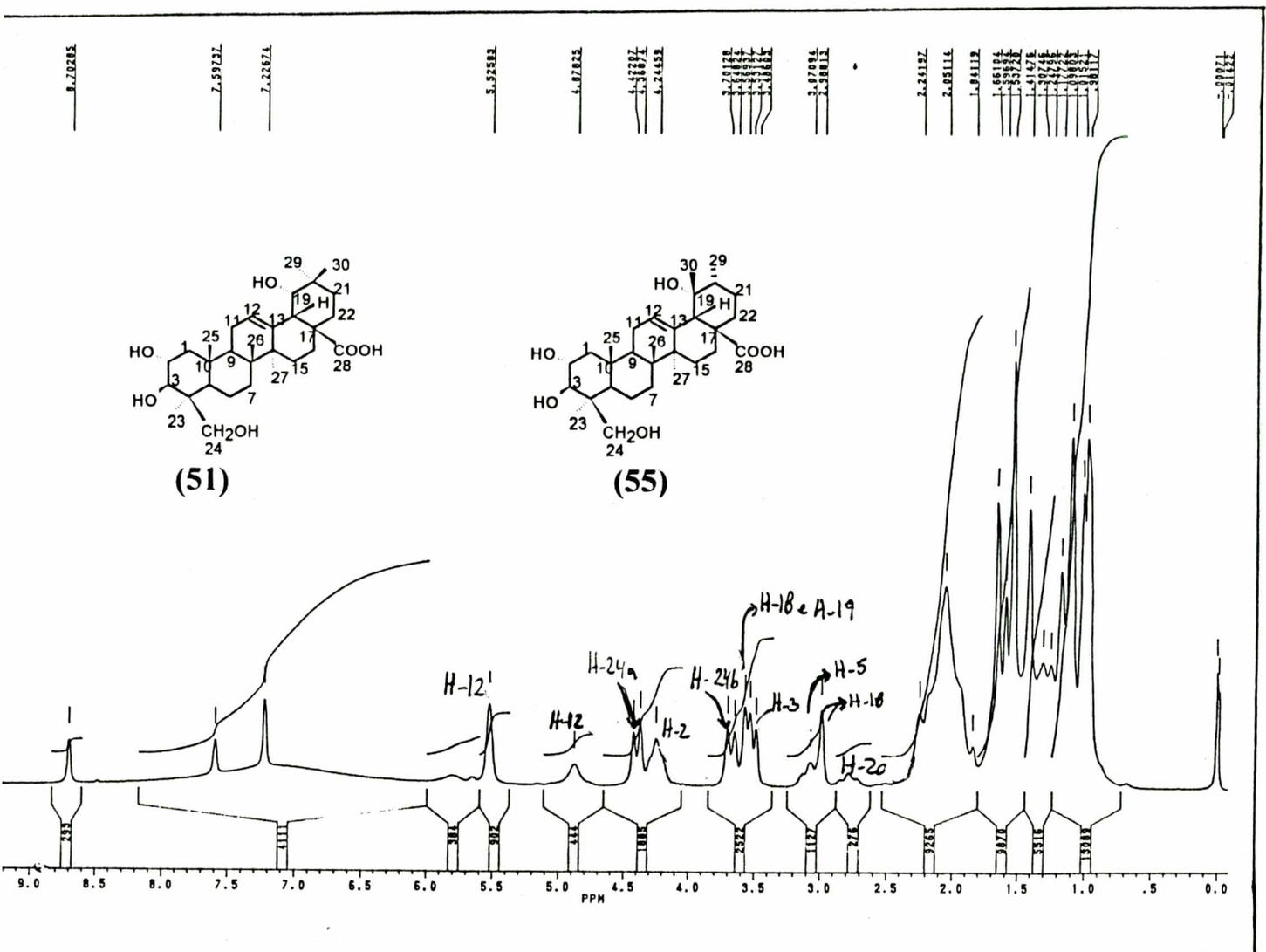


FIGURA 19 - Espectro de $^1\text{H-RMN}$ (200 MHz) da mistura de Ácido serfício e Ácido 24-Hidroxitormêntico obtida de *V. divergens*. TMS como padrão interno de referência, e d^5 -piridina como solvente.

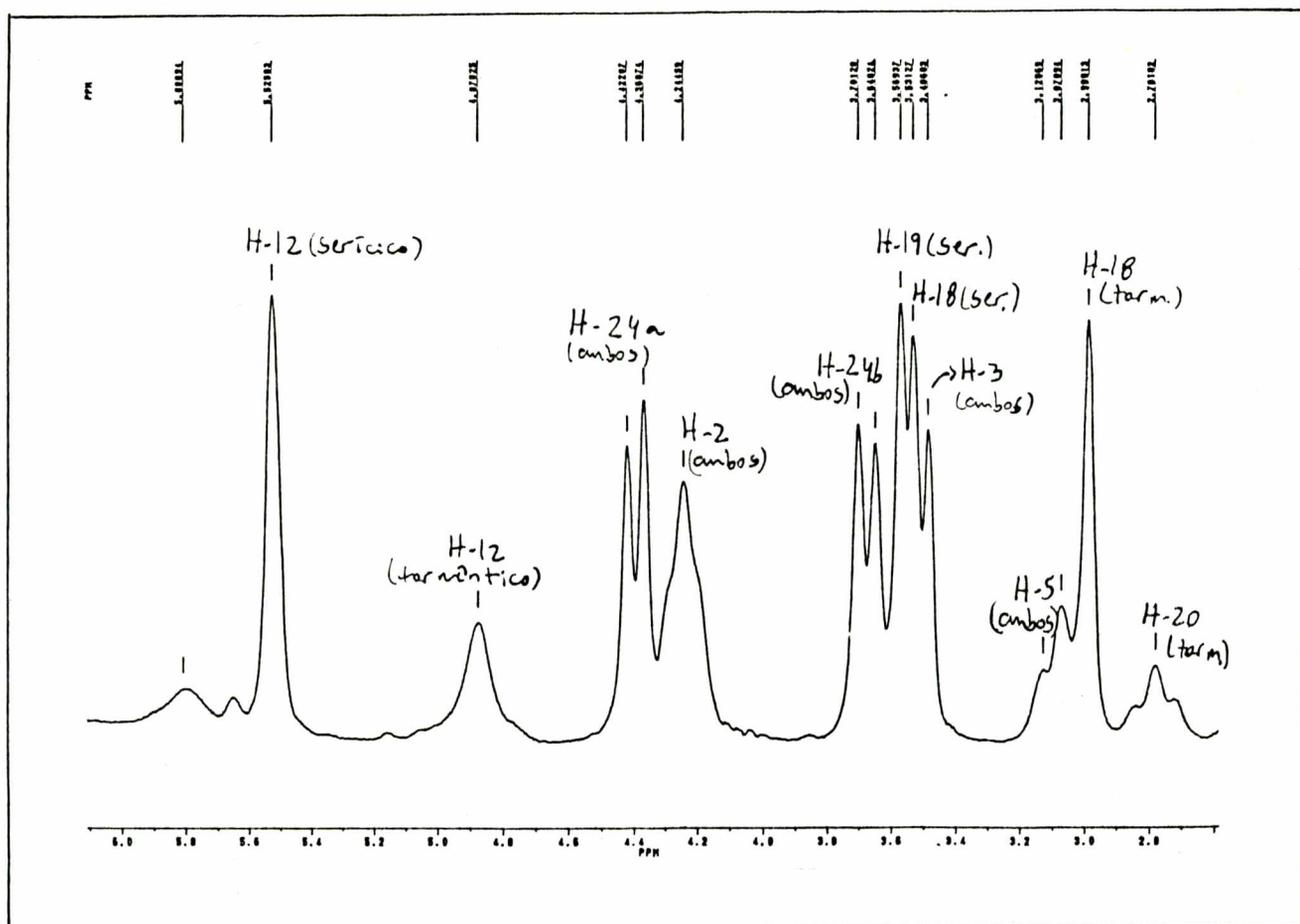
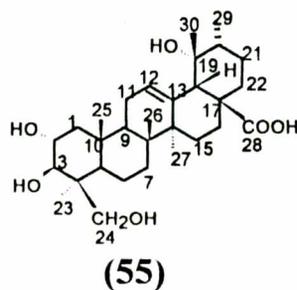
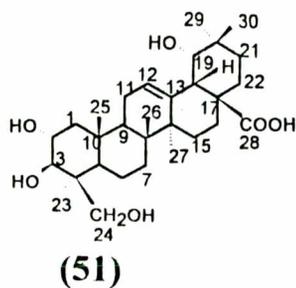


FIGURA 20 - Espectro II de ^1H -RMN (200 MHz) da mistura de Ácido Serícico e Ácido 24-Hidroxitormênico isolada de *V. divergens*. TMS como padrão interno de referência, e d^5 -piridina como solvente.

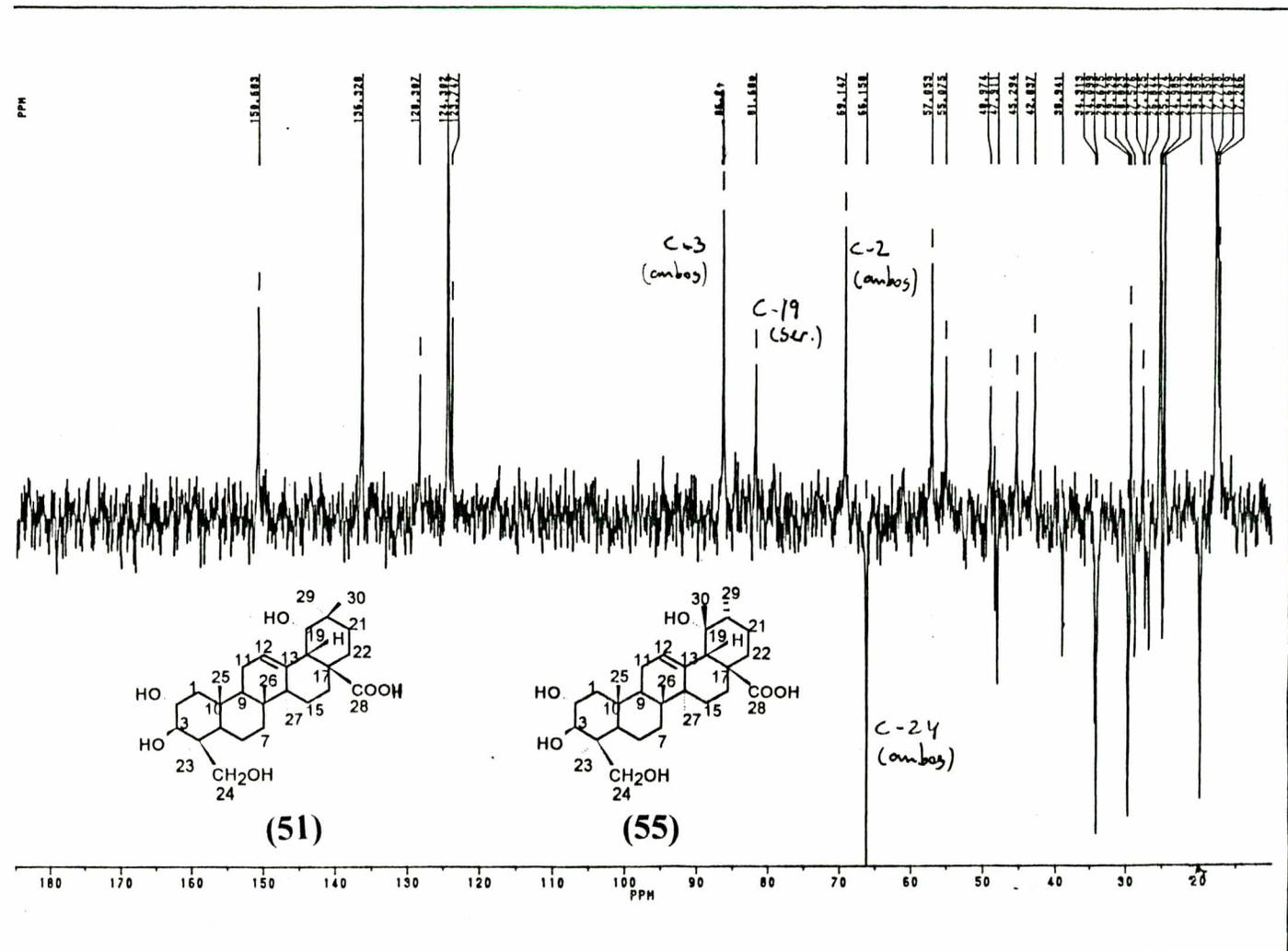


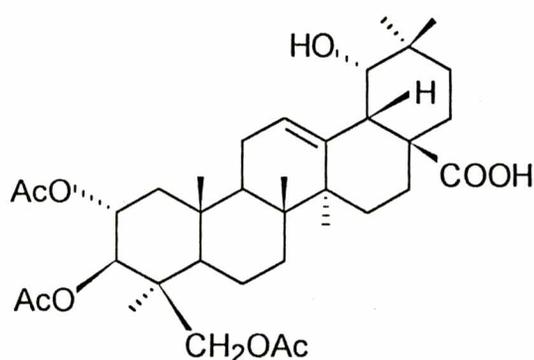
FIGURA 22 - Espectro de ^{13}C -RMN/DEPT (50 MHz) da mistura de Ácido Sericico e Ácido 24-Hidroxitormântico isolada de *V. divergens*. TMS como padrão interno de referência, e d^5 -piridina como solvente.

4.7 - Derivados do Ácido Serícico e do Ácido 24-hidroxitormêntico

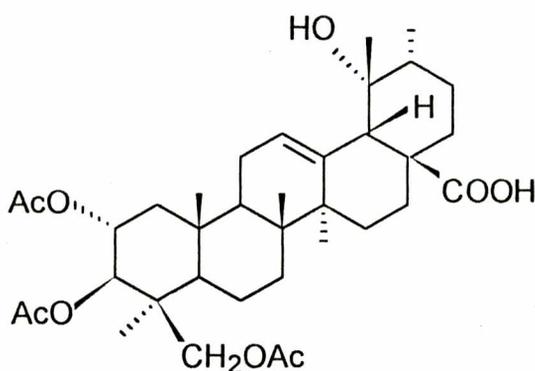
4.7.1 - Reações envolvendo os grupos hidroxila

4.7.1.1 - Acetilação

Uma mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico obtida a partir de *V. divergens* foi acetilada por reação com anidrido acético em piridina, rendendo uma mistura de produtos que foi purificada por cromatografia em coluna. Obteve-se duas misturas contendo dois produtos cada uma. Uma mistura continha os compostos ((57) e (58)) resultantes da acetilação dos grupos hidroxila em 2 α , 3 β e 24 (triacetilação) do ácido serícico e do ácido 24-hidroxitormêntico, respectivamente.

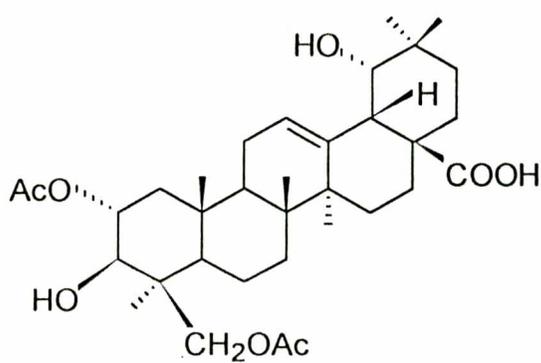


(57)

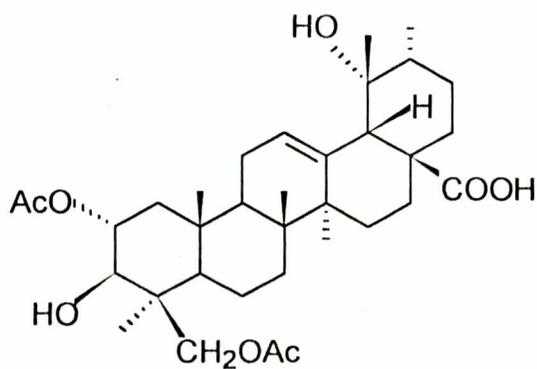


(58)

A outra mistura continha os compostos ((59) e (60)) resultantes da acetilação dos grupos hidroxila em 2 α e 24 (diacetilação) do ácido serícico e do ácido 24-hidroxitormêntico, respectivamente.



(59)



(60)

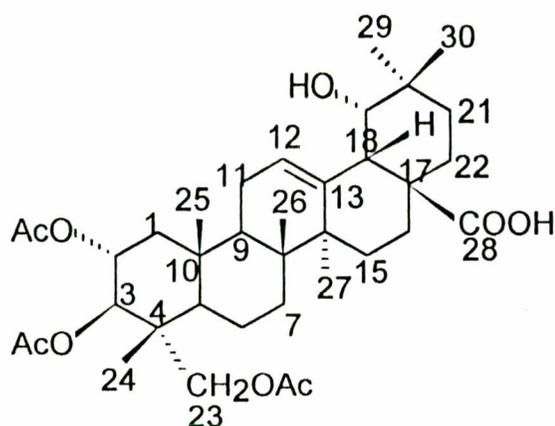
Os compostos **57**, **58**, **59** e **60** foram identificados através de dados espectrais de IV, ^1H - e ^{13}C -RMN.

A figura 23 mostra o espectro no infravermelho (pastilha de KBr) da mistura dos compostos **57** e **58**, e a figura 24 o espectro no infravermelho da mistura dos compostos **59** e **60**. As bandas intensas a 3452, 2940 e 1740 cm^{-1} , na figura 23, e a 3454, 2938 e 1724 cm^{-1} na figura 24 indicam, respectivamente, a presença de grupos -OH, -CH e -COOR.

A figura 25 mostra o espectro de ^1H -RMN (200 MHz), a figura 26 o espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz), e a figura 27 o espectro de HETCOR (200 MHz) da mistura dos compostos **57** e **58** em clorofórmio deuterado, TMS como padrão interno de referência. Na figura 25 aparecem os sinais referentes aos prótons ligados aos carbonos **2** (ddd; $J=4;10,5;11,5$ Hz; 5,1 ppm); **24** (s; 4,2 ppm); **3** (d; $J=10,5$ Hz; 4,8 ppm); e metilas dos grupos acetil (1,97 e 2,05 ppm) dos compostos **57** e **58**. Nos espectros de ^1H -RMN da mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico (figuras 19 e 20), os sinais referentes aos prótons ligados a alguns carbonos hidroxilados aparecem a campos mais altos (**H-2** = 4,2 ppm; **H-3** = 3,4 ppm; **H-24** = 3,7 e 4,3 ppm), indicando que **57** e **58** são compostos trihidroxilados, o que foi confirmado pelos espectros mostrados nas figuras 26 e 27.

A figura 28 mostra o espectro de ^1H -RMN (200 MHz), a figura 29 o espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz), e a figura 30 o espectro de ^{13}C -RMN/DEPT (50 MHz), da mistura dos compostos **59** e **60** em clorofórmio deuterado, TMS como padrão interno de referência. Na figura 28 aparecem os sinais referentes aos prótons ligados aos carbonos **2** (ddd; $J=4;10,5;11,5$ Hz; 5,0 ppm); **24** (2d; $J=12$ Hz; 4,25 e 4,14 ppm); **3** (d; $J=10,5$ Hz; 3,3 ppm); e metilas dos grupos acetil (2,08 e 2,06 ppm) dos compostos **59** e **60**. Nos espectros de ^1H -RMN da mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico (figuras 19 e 20), os sinais referentes aos prótons ligados a alguns carbonos hidroxilados aparecem a campos mais altos (**H-2** = 4,2 ppm; **H-24** = 3,7 e 4,3 ppm), enquanto o sinal referente ao próton **H-3** (= 3,4 ppm) não mudou, indicando que **59** e **60** são compostos dihidroxilados, o que foi confirmado pelos espectros mostrados nas figuras 29 e 30.

A tabela 6 mostra a atribuição de sinais dos espectros de ^1H - e de ^{13}C -RMN das misturas de ácido serícico (**51**) e ácido 24-hidroxitormêntico (**55**), e da mistura dos compostos triacetilados **57** e **58**. A atribuição dos sinais foi baseada em dados da literatura para os compostos **57**¹³³⁻¹³⁵ e **58**¹³⁸⁻¹⁴⁰. Como não havia na literatura consultada dados de ^{13}C -RMN para o composto **57**, os dados de ^{13}C -RMN dos carbonos 11-22 e 27-30 do derivado triacetilado do ácido serícico foram comparados com os mesmos dados para o derivado triacetilado da arjungenina (**61**)^{121,141-142}, havendo boa concordância entre os dados comparados. Além disso, na atribuição dos sinais também foram úteis os dados fornecidos pelo espectro de HETCOR da mistura dos compostos **57** e **58**, mostrado na figura 27.



(61)

A tabela 7 mostra a atribuição de sinais dos espectros de ^1H - e de ^{13}C -RMN das misturas de ácido serícico (**51**) e ácido 24-hidroxitormêntico (**55**), e da mistura dos compostos diacetilados **59** e **60**. Como não havia dados espectrais de ^1H - e de ^{13}C -RMN para os compostos **59** e **60** na literatura consultada, a atribuição dos sinais foi feita por comparação com os dados obtidos para os compostos **51**, **55**, **57** e **58**, e também através da análise dos dados fornecidos pelo espectro de ^{13}C -RMN/DEPT, mostrado na figura 30.

Considerando a quantidade de mistura dos compostos **57** e **58** obtida (50 mg, após purificação) da reação de acetilação da mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico (103 mg), o rendimento da triacetilação foi de 39%. Já a reação de diacetilação, que rendeu a mistura dos compostos **59** e **60** (34 mg, após purificação), teve um rendimento de 28%.

Tabela 6 - Dados de ^1H -RMN (200 MHz) e de ^{13}C -RMN (50 MHz) das misturas de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico (**51** + **55**) e dos seus derivados triacetilados (**57** + **58**), TMS como padrão interno de referência.

Carbono	δ (ppm)			
	(51 + 55) ^{a,b}		(57 + 58) ^c	
2	69,1 (ddd 1H; 4,2; J=4; 9;10,5 Hz)	(51+55)	69,3 (ddd; 1H; 5,1; J= 4; 10,5; 11,5 Hz)	(57+58)
3	86,2(d; 1H; 3,4; J= 10,5 Hz)	(51+55)	79,8(d; 1H; 4,8; J= 10,5 Hz)	(57+58)
12	123,7(m;1H;5,5)(51) e	128,3(m;1H;4,8)(55)	124,4(m;1H;5,4) (57) e	128,5(m;1H;5,3)(58)
13	145,4 (51) e	140,4 (55)	142,7 (57) e	138,0 (58)
18	45,2(d;1H;3,6;J=3 Hz) (51) e	55,0 (s;1H;2,9) (55)	43,3(d; 1H; 3,1;J=3 Hz) (57) e	52,8 (s; 1H; 2,6) (58)
19	81,6(d; 1H; 3,6; J= 3 Hz) (51) e	73,1 (55)	81,5(d;1H; 3,3; J=3 Hz) (57) e	73,0 (58)
24	66,1(2d;1Hcada;3,7 e 4,3; J=10,5Hz)	(51+55)	65,3(s; 2H; 4,2) (57+58)	
28	181,1 (51+55)		184,1(57 e 58)	
OCOCH ₃	-----	-----	21,0; 21,0; 21,0 (s; 3H cada ; 1,97;1,97; 2,05)	(57+58)
OCOCH ₃	-----	-----	170,3;170,6;170,7	(57+58)

^aVer tabela 5. Dados de ^{13}C -RMN deslocados em +0,5 ppm.

^bSolvente: piridina deuterada;

^cSolvente: clorofórmio deuterado.

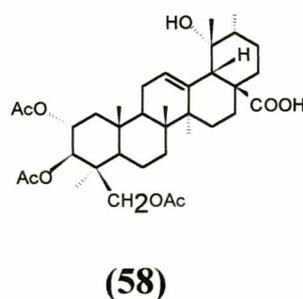
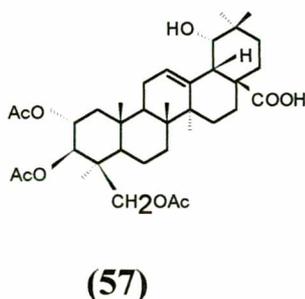
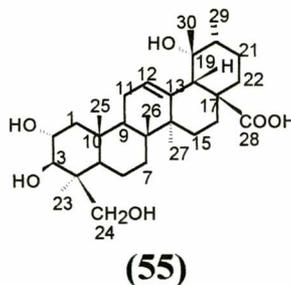
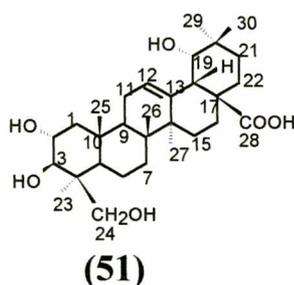


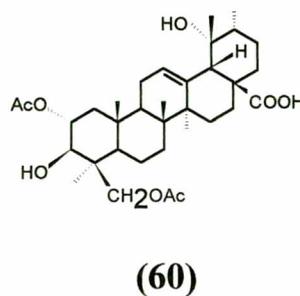
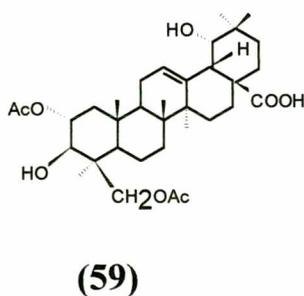
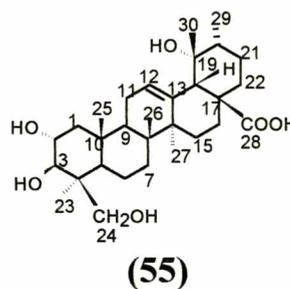
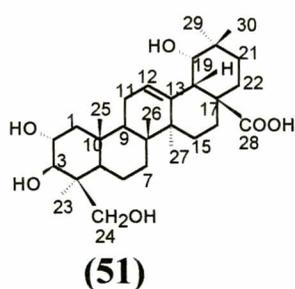
Tabela 7 - Dados de ^1H -RMN (200 MHz) e de ^{13}C -RMN (50 MHz) das misturas de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico (**51** + **55**) e dos seus derivados diacetilados (**59** + **60**), TMS como padrão interno de referência.

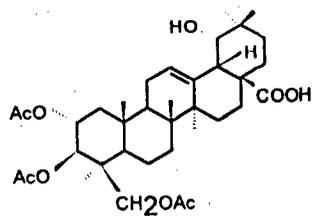
Carbono	δ (ppm)			
	(51 + 55) ^{a,b}		(59 + 60) ^c	
2	69,1 (ddd 1H; 4,2; J=4; 9;10,5 Hz)	(51+55)	72,4 (ddd; 1H; J=4; 10,5 ; 11,5Hz)	(59 + 60)
3	86,2(d; 1H; J= 10,5 Hz)	(51+55)	81,0 (d; 1H; J= 10,5 Hz)	(59 + 60)
12	123,7(m;1H;5,5)(51) e	128,3(m;1H;4,8)(55)	124,7 (m; 1H;5,4) (59) e	128,8(m;1H;5,3)(60)
13	145,4 (51) e	140,4 (55)	142,8 (59) e	138,1 (60)
18	45,2(d;1H;3,6;J=3 Hz) (51) e	55,0 (s;1H;2,9) (55)	43,2(d; 1H;3,1; J=3 Hz) (59) e	52,9(s;1H; 2,6) (60)
19	81,6(d; 1H; J= 3 Hz) (51) e	73,1 (55)	81,6(d;1H; 3,3; J=3Hz) (59) e	73,0 (60)
24	66,1(2d;1Hcada;4,3; J=10,5Hz)	(51+55)	65,8 (2d; 1H cada; 4,14 e 4,25; J= 12 Hz)	(59 + 60)
28	181,1 (51+55)		184,2 (59 + 60)	
OCOCH ₃	-----	-----	21,1; 21,4 (s; 3H; 2,06 a 2,08)	(59 + 60)
OCOCH ₃	-----	-----	170,9 e 171,5 (59 e 60)	

^aVer tabela 5. Dados de ^{13}C -RMN deslocados em +0,5 ppm;

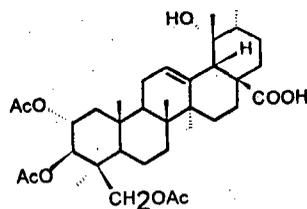
^bSolvente: piridina deuterada;

^cSolvente: clorofórmio deuterado.





(57)



(58)

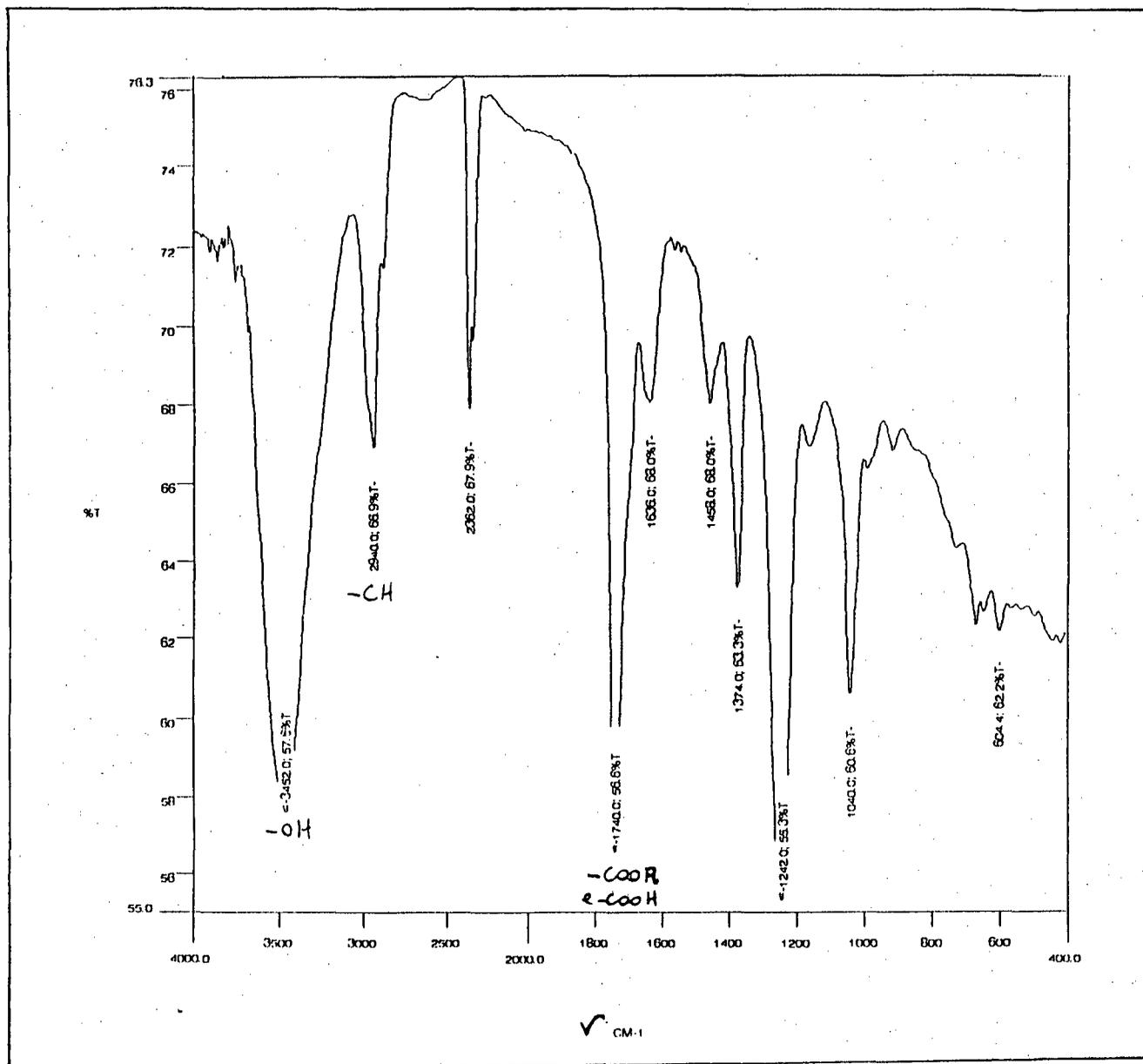


FIGURA 23 - Espectro no Infravermelho em pastilha de KBr, da mistura dos Compostos Triacetilados 57 e 58, derivados do Ácido Sericico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico.

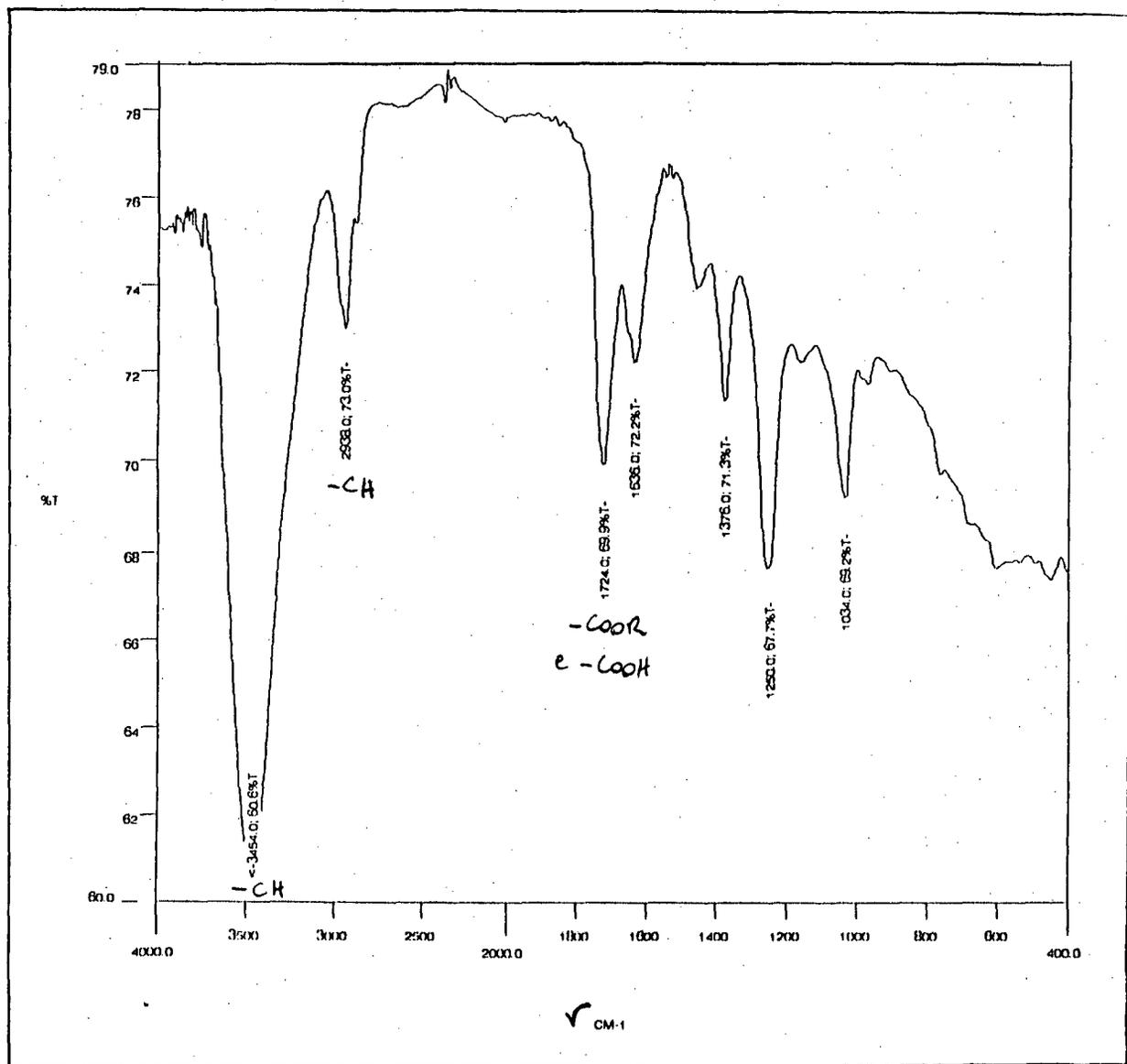
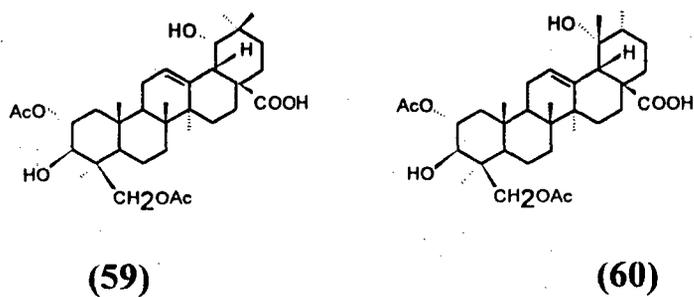
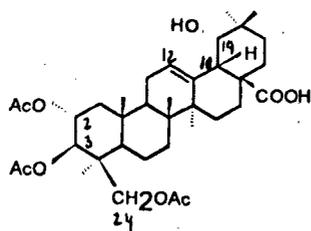
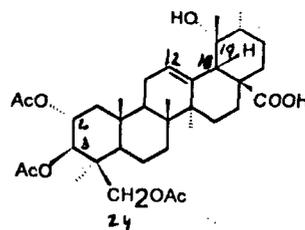


FIGURA 24 - Espectro no Infravermelho em pastilha de KBr, da mistura dos Compostos Diacetilados **59** e **60**, derivados do Ácido Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico.



(57)



(58)

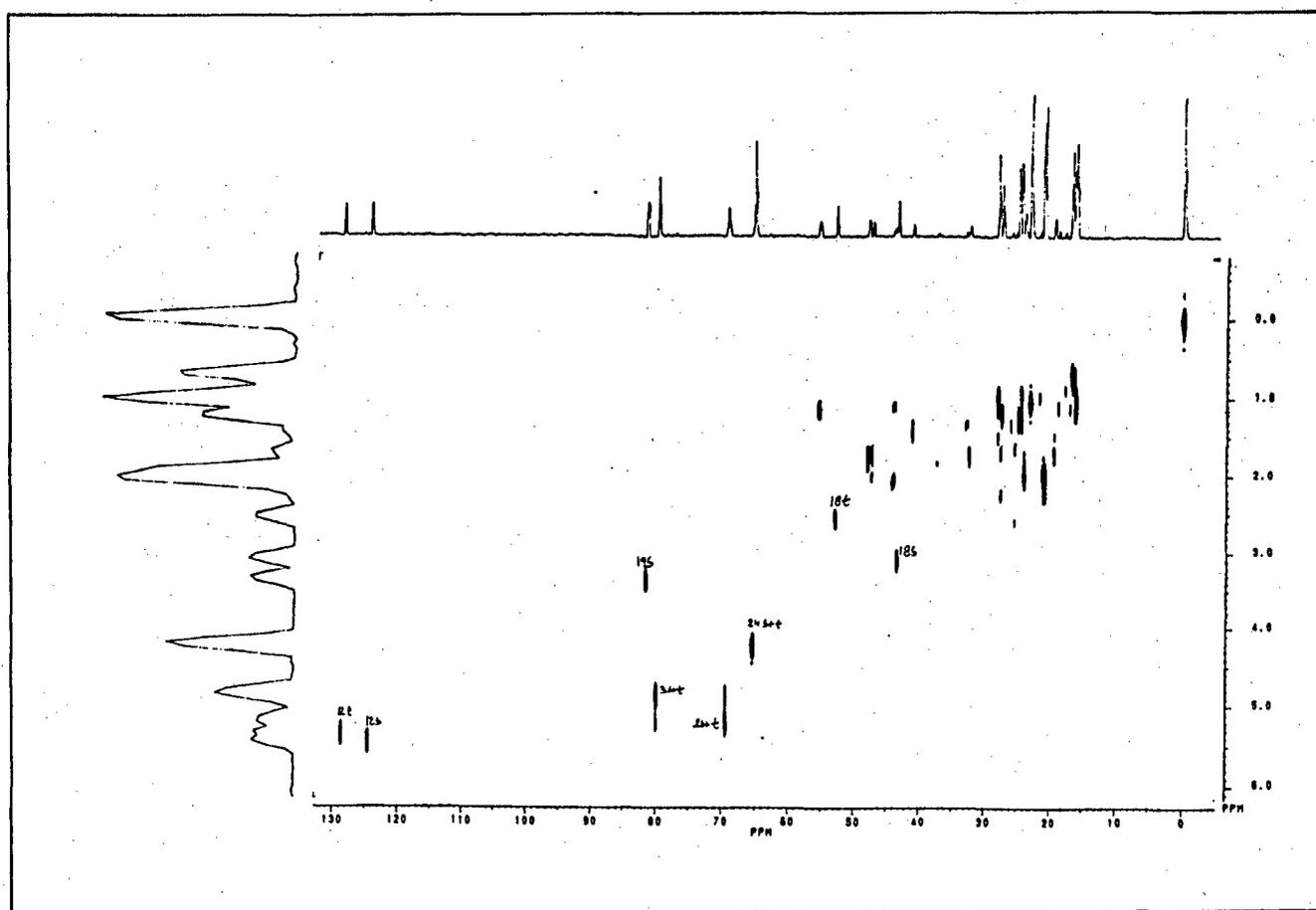


FIGURA 27 - Espectro de HETCOR da mistura dos Compostos Triacetilados **57** e **58**, derivados do Ácido Séricico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência.

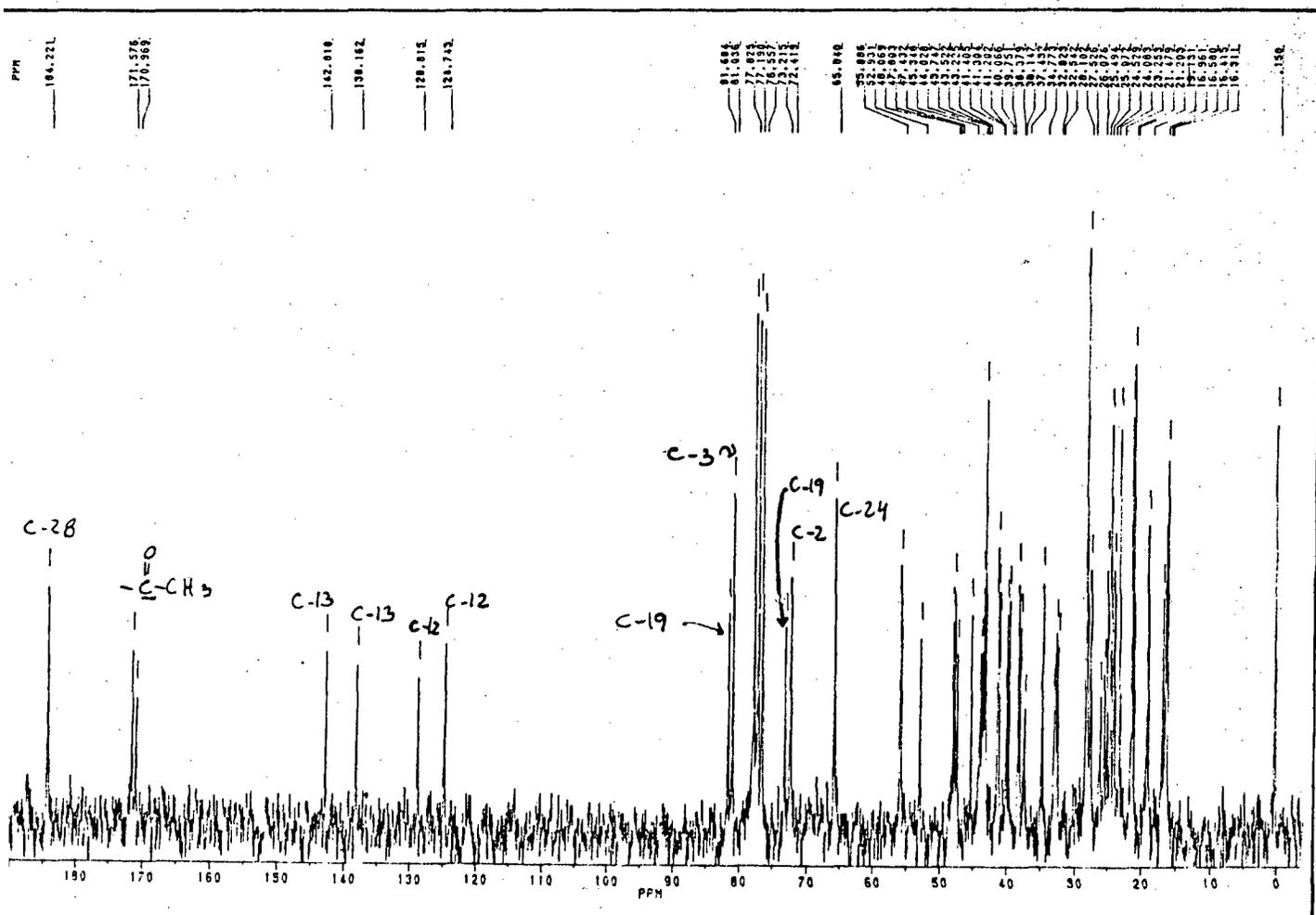
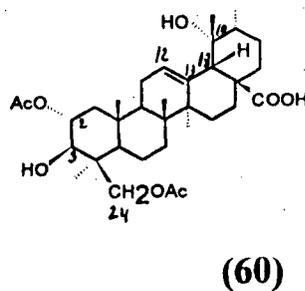
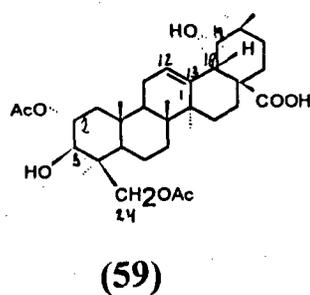
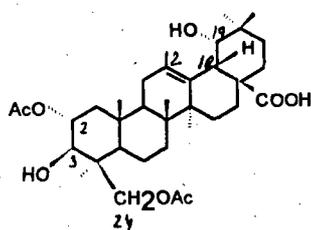
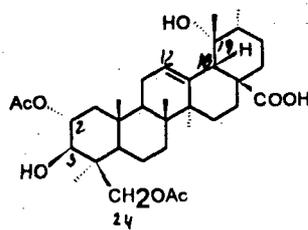


FIGURA 29 - Espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz) da mistura dos Compostos Diacetilados **59** e **60**, derivados do Ácido Séricico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência.



(59)



(60)

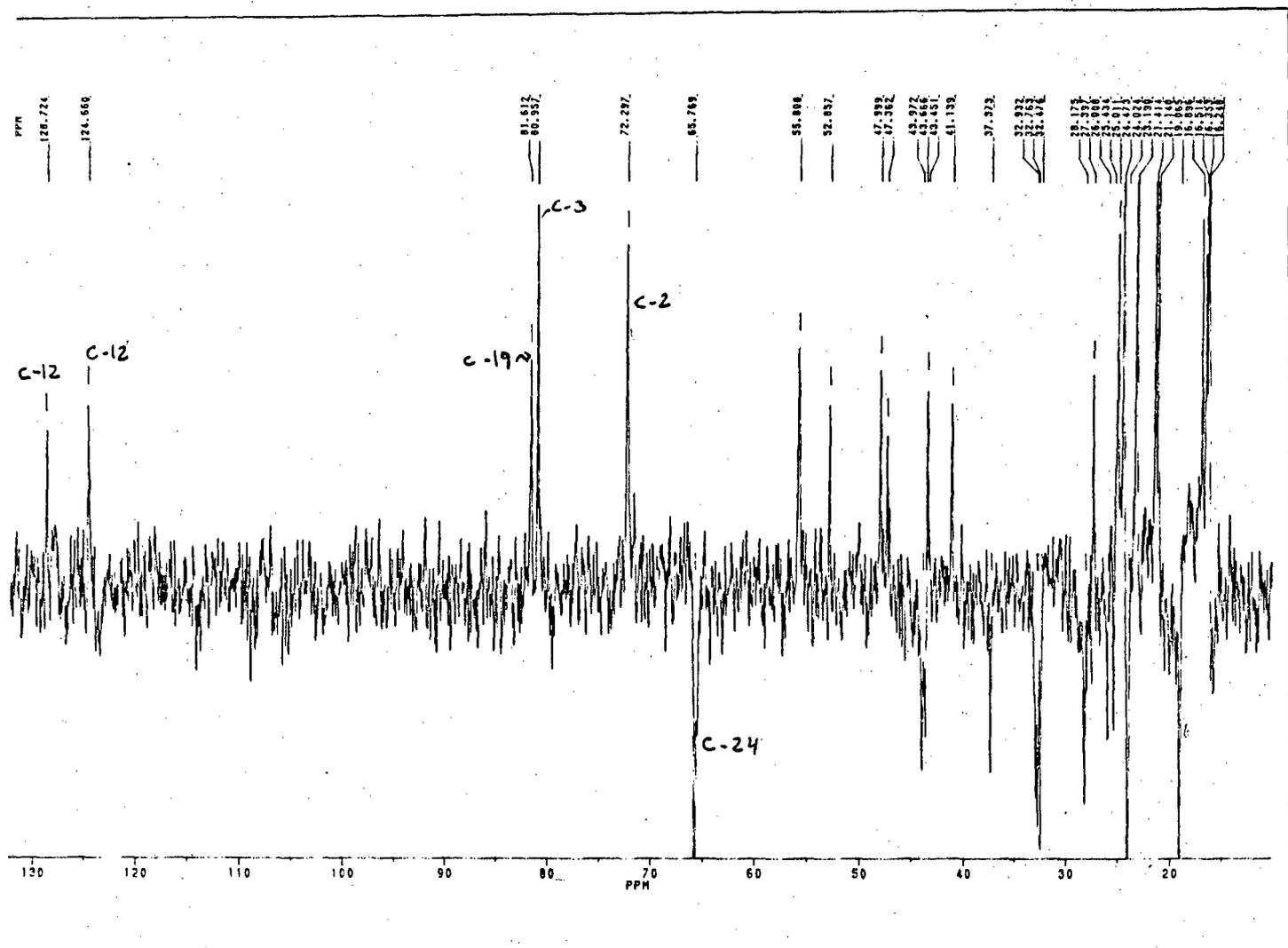
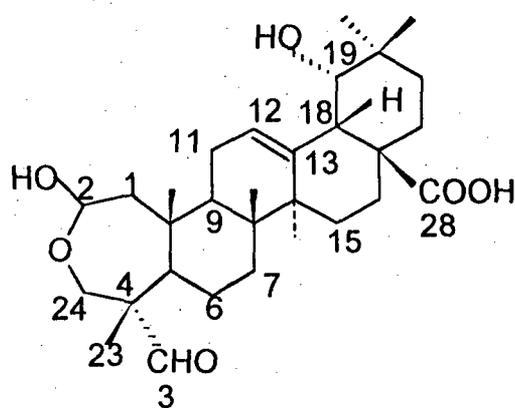


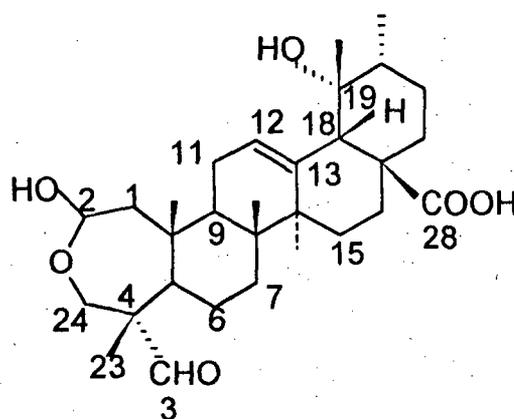
FIGURA 30- Espectro de ^{13}C -RMN/DEPT (50 MHz) da mistura dos Compostos Diacetilados 59 e 60, derivados do Ácido Sericico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência.

4.7.1.2 - Oxidação

A reação da mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico com periodato de sódio produziu várias substâncias que foram separadas por cromatografia em coluna, obtendo-se uma mistura dos produtos da oxidação do ácido serícico, o composto **62**, e do ácido 24-hidroxitormêntico, o composto **63**.



(62)



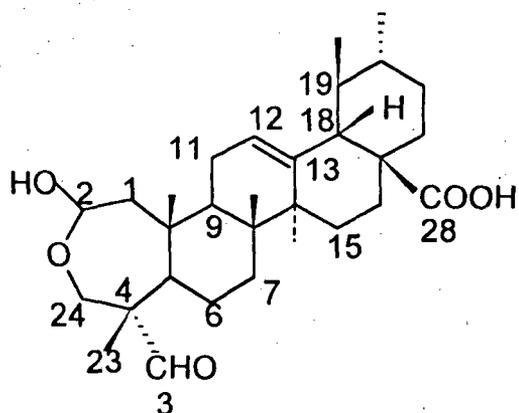
(63)

Os compostos **62** e **63** foram identificados, misturados, através da análise de seus dados espectrais de IV, ^1H - e ^{13}C -RMN. O composto **62** foi sintetizado anteriormente¹³³, mas não há referências na literatura sobre o composto **63**. Também não há na literatura dados espectrais dos compostos **62** ou **63**.

A figura 31 mostra o espectro no infravermelho da mistura dos compostos **62** e **63** em pastilha de KBr, (cm^{-1}): 3470; 2938; 1712; 1454; 1382; 1162; 1076; 1034; 742. As bandas a 3470, 2938 e 1712 cm^{-1} indicam, respectivamente, a presença de grupos -OH, -CH e -CHO.

A figura 32 mostra o espectro de ^1H -RMN (200 MHz) em clorofórmio deuterado, a figura 33 o espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz), e a figura 34 o espectro de ^{13}C -RMN/DEPT (50 MHz) em uma solução de clorofórmio deuterado e acetona deuterada, da mistura dos compostos **62** e **63**, TMS como padrão interno de referência. A figura 32 mostra os sinais correspondentes aos prótons ligados aos carbonos **2** (dd; $J=4$; 11,5 Hz; 5,1 ppm); **3** (s; 9,4 ppm, próton aldeídico); e **24** (2d; $J=12,5$ Hz; 3,1 e 4,1 ppm), nos compostos **62** e **63**. Nos espectros de ^1H -RMN da mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico (figuras 19 e 20), os sinais referentes aos prótons ligados aos carbonos hidroxilados aparecem em campos bem diferentes (**H-2** = 4,2 ppm; **H-3** = 3,4 ppm; **H-24** = 3,7 e 4,3 ppm), indicando que **62** e **63** são compostos que contém um grupo aldeídico livre e um grupo hemiacetal, e as estruturas propostas foram confirmadas pelos espectros mostrados nas figuras 33 e 34.

A tabela 8 mostra a atribuição de sinais dos espectros de ^1H - e de ^{13}C -RMN da mistura dos compostos **62** e **63**, e da mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico. Como não havia dados espectrais de ^1H - e de ^{13}C -RMN para os compostos **62** e **63** na literatura consultada, a atribuição dos sinais foi feita por comparação: com os dados de ^1H -RMN descritos na literatura para o composto **64**¹⁴³ (prótons ligados aos carbonos 1-10); com os dados obtidos para os compostos **51** e **55**; e com dados da literatura para aldeídos e hemiacetais¹⁴⁴⁻¹⁴⁵. Também foram úteis os dados fornecidos pelo espectro de ^{13}C -RMN/DEPT, mostrado na figura 34.



(64)

Considerando a quantidade de mistura dos compostos **62** e **63** (73 mg, após purificação) obtida na reação de oxidação da mistura de ácido serfício e ácido 24-hidroxitormêntico (103,7 mg), com periodato de sódio, o rendimento foi de 71%.

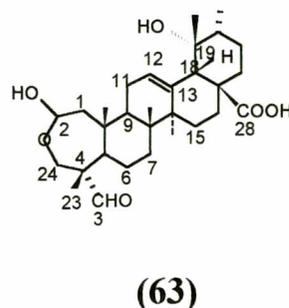
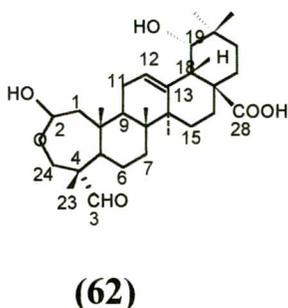
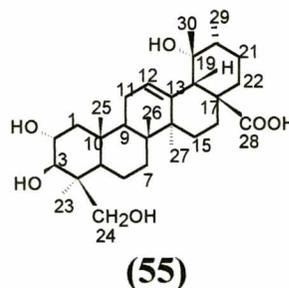
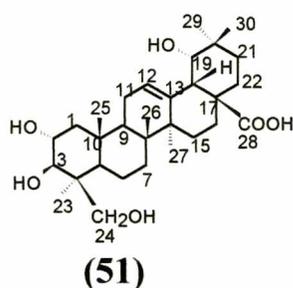
Tabela 8 - Dados de ^1H -RMN (200 MHz) e de ^{13}C -RMN (50 MHz) das misturas de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico (**51** + **55**) e dos seus derivados por oxidação (**62** + **63**), TMS como padrão interno de referência.

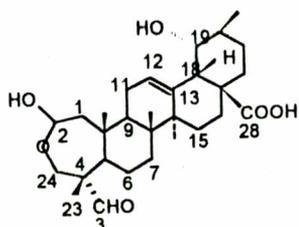
Carbono	δ (ppm)			
	(51+55) ^{a,b}		(62+63) ^c	
2	69,1 (ddd 1H; 4,2; J=4; 9; 10,5 Hz)	(51+55)	94,2 (dd; 1H; 5,1; J=4; 11,5Hz)	(62+63)
3	86,2(d; 1H; 3,4; J= 10,5 Hz)	(51+55)	206,1 (s; 1H; 9,4)	(62+63)
12	123,7(m; 1H; 5,5)(51) e	128,3(m; 1H; 4,8)(55)	124,4(m; 1H; 5,4)(62) e	128,8(m; 1H; 5,3)(63)
13	145,4 (51) e	140,4 (55)	143,4 (62) e	138,5 (63)
18	45,2(d; 1H; 3,6; J=3 Hz) (51) e	55,0 (s; 1H; 2,9) (55)	44,2(d; 1H; 3,1; J=3 Hz) (62) e	53,9(s; 1H; 2,5) (63)
19	81,6(d; 1H; 3,6; J= 3 Hz) (51) e	73,1 (55)	81,6(d; 1H; 3,3; J=3 Hz) (62) e	72,5 (63)
24	66,1(2d; 1H cada; 3,7 e 4,3; J=10,5Hz)	(51+55)	63,5 (2d; 1H cada; 3,0 e 4,0 ; J= 12,5Hz)	(62+63)
28	181,1 (51+55)		179,7 (62+63)	

^aVer tabela 5. Dados de ^{13}C -RMN deslocados em +0,5 ppm.

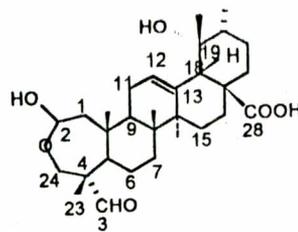
^bSolvente: piridina deuterada;

^cSolvente: mistura de clorofórmio deuterado com acetona deuterada.





(62)



(63)

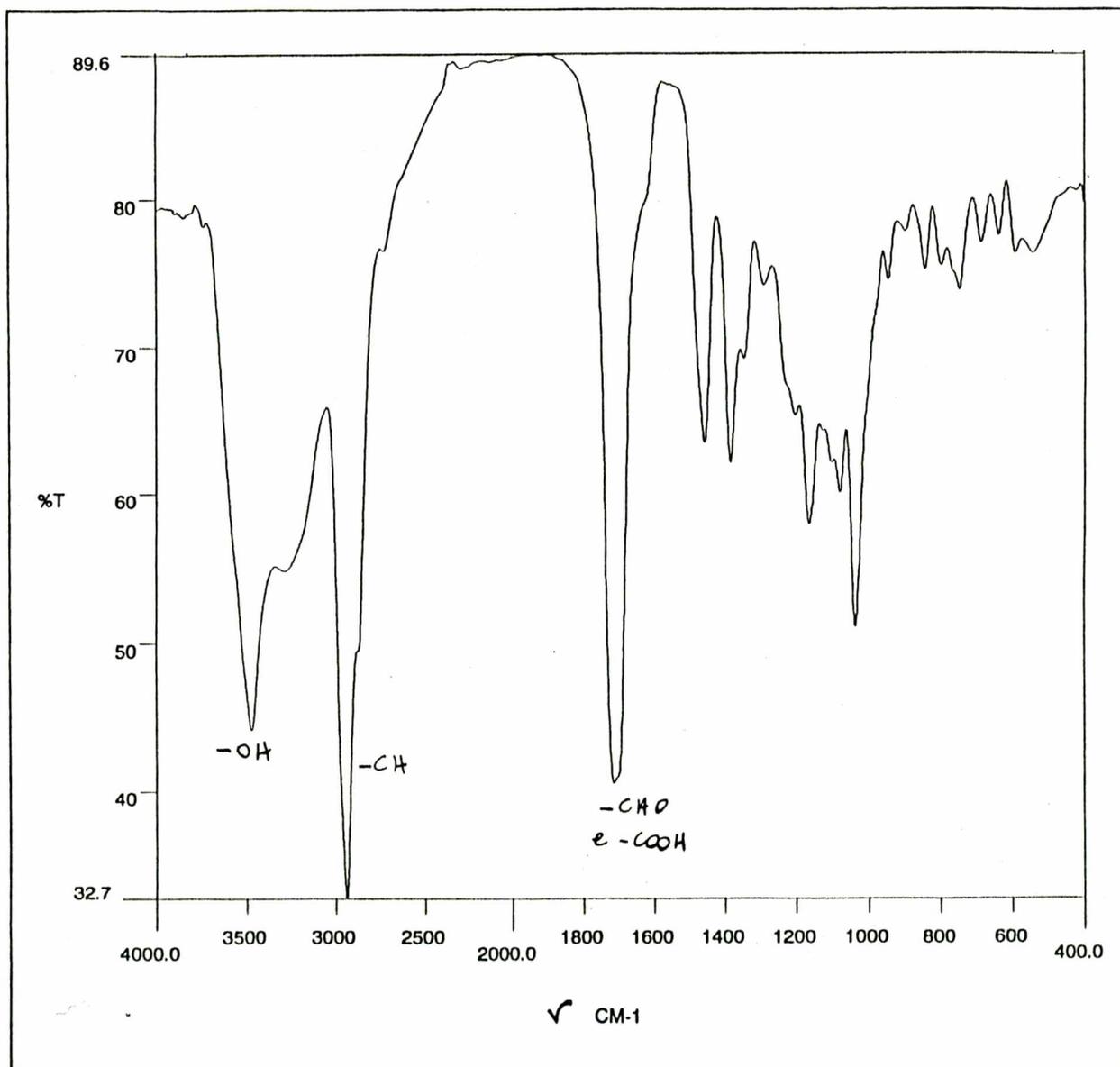
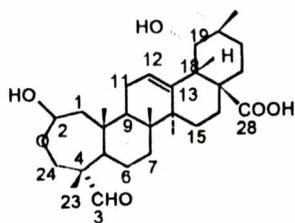
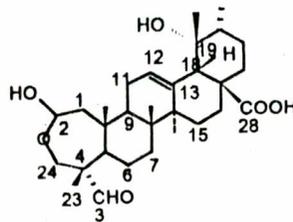


FIGURA 31 - Espectro no Infravermelho em pastilha de KBr da mistura dos Compostos **62** e **63**, produtos da oxidação do Ácido Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico.



(62)



(63)

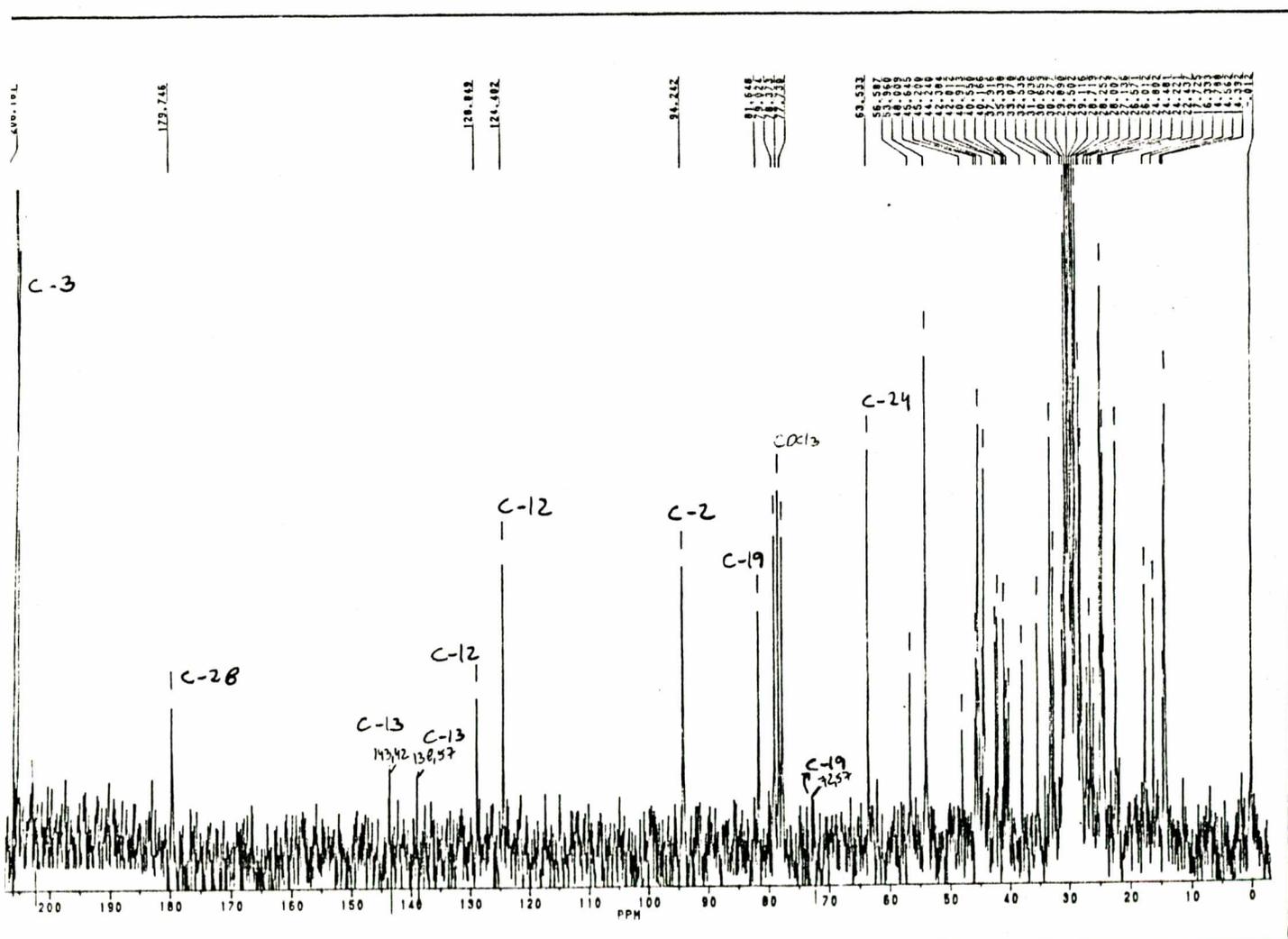
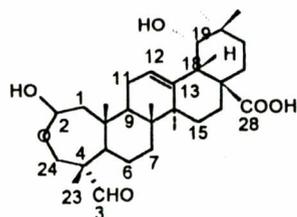
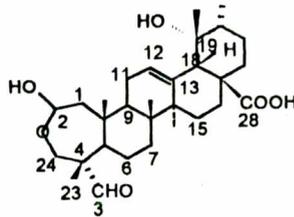


FIGURA 33 - Espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz) da mistura dos Compostos 62 e 63, produtos da oxidação do Ácido Serfêico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em mistura de CDCl_3 e d^6 -acetona, TMS como padrão interno de referência.



(62)



(63)

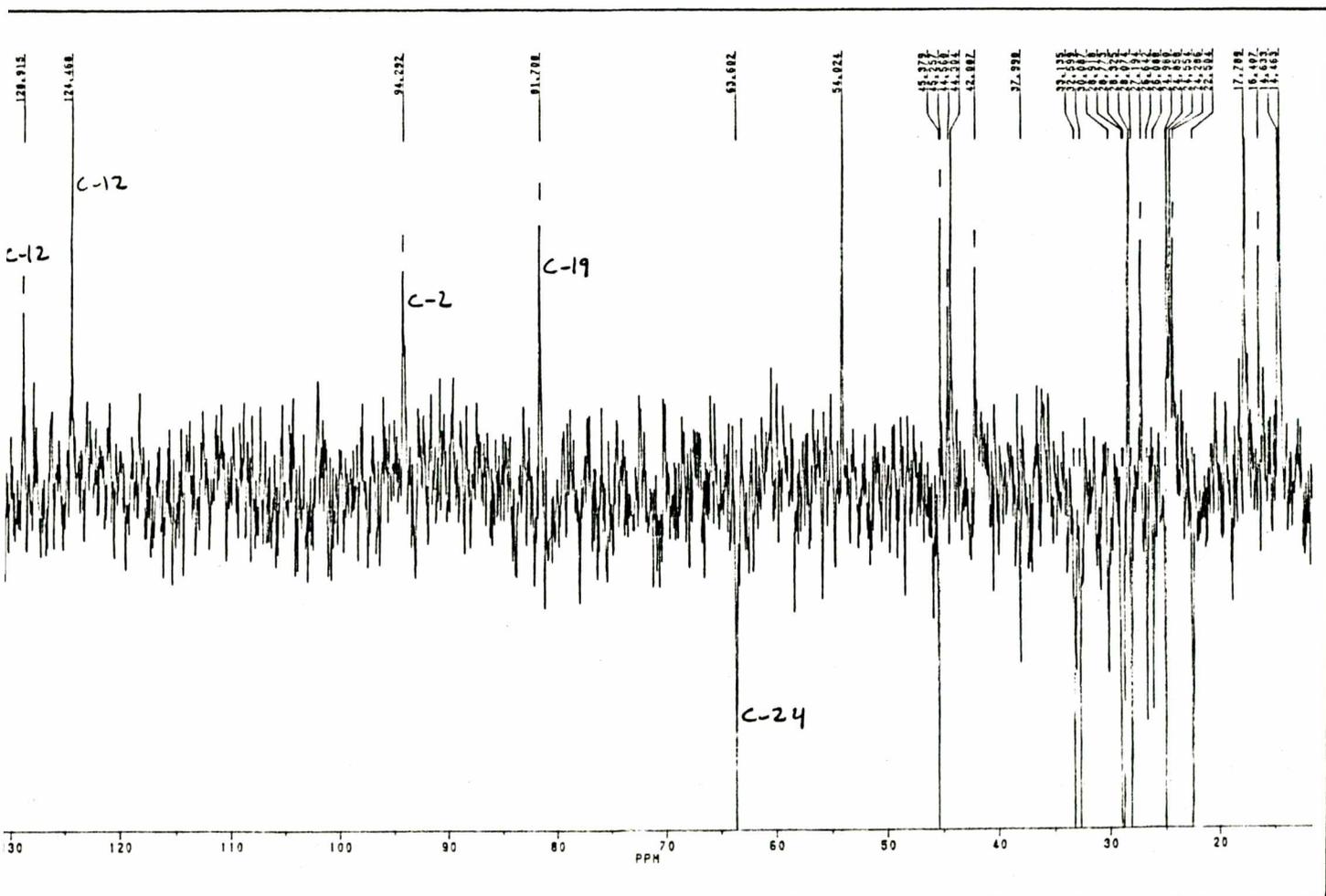
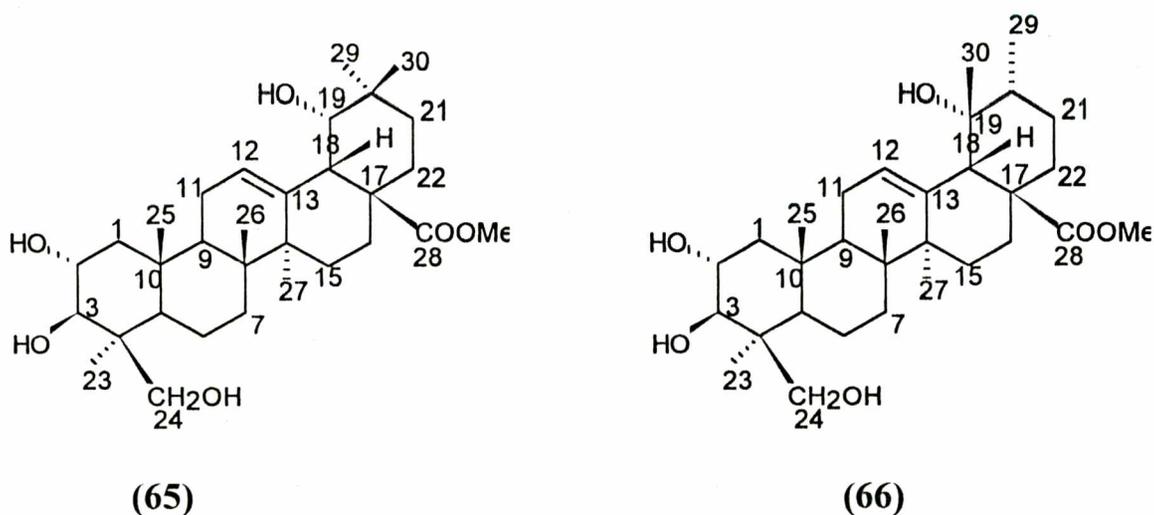


FIGURA 34- Espectro de ^{13}C -RMN/DEPT (50 MHz) da mistura dos Compostos **62** e **63**, produtos da oxidação do Ácido Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em mistura de CDCl_3 e d^6 -acetona, TMS como padrão interno de referência.

4.7.3 - Reações envolvendo o grupo carboxila

4.7.2.1 - Metilação

A reação da mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico (obtida a partir da casca do caule de *Vochysia divergens*) com diazometano em éter etílico rendeu uma mistura de produtos, que foi separada por cromatografia em coluna. Obteve-se então uma mistura dos compostos **65** e **66**, que são os respectivos ésteres metílicos do ácido serícico e do ácido 24-hidroxitormêntico.



Os compostos **65** e **66**, misturados, foram identificados através da análise e comparação de seus dados espectrais de IV, ^1H - e ^{13}C -RMN com os dados da mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico. O composto **65** foi sintetizado anteriormente¹³³, mas não há na literatura referências sobre o composto **66**. Também não há na literatura dados espectrais dos compostos **65** ou **66**.

A figura 35 mostra o espectro no infravermelho em pastilha de KBr, a figura 36 o espectro de ^1H -RMN (200 Mhz), e a figura 37 o espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz) em clorofórmio deuterado, da mistura dos compostos **65** e **66**, TMS como padrão interno de referência. O espectro mostrado na figura 35 tem bandas intensas a 3448, 2938 e 1720 cm^{-1} , indicando a presença de grupos -OH, -CH e -COOR. No espectro mostrado na figura 36 observa-se o singlete a 3,6 ppm referente aos prótons do grupo metoxila, introduzido através da reação de metilação da mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico. Uma comparação entre os espectros de ^{13}C -RMN das misturas de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico (figuras 19 e 20), e dos compostos **65** e **66** (figura 37) confirma que ocorreu a reação de metilação, observando-se a substituição do sinal de grupo carboxila a 181,1 ppm pelos sinais de carbonila de éster a 178,4 e a 178,5 ppm; e pelo aparecimento dos sinais referentes aos grupos metoxila introduzidos, a 51,6 e a 51,7 ppm.

A tabela 9 mostra a atribuição de sinais dos espectros de ^1H - e de ^{13}C -RMN da mistura dos compostos **65** e **66**, e da mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico. Como não havia dados espectrais de ^1H - e de ^{13}C -RMN para os compostos **65** e **66** na literatura consultada, a atribuição dos sinais foi feita por comparação com os dados obtidos para os compostos **51** e **55**.

Considerando a quantidade de mistura dos compostos **65** e **66** (73 mg, após purificação) obtida na reação de metilação da mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico (200,0 mg), o rendimento foi de 36%.

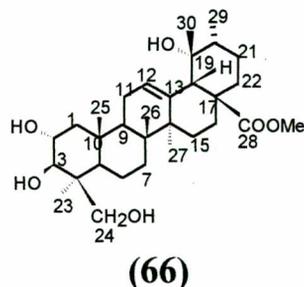
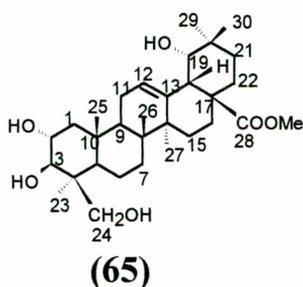
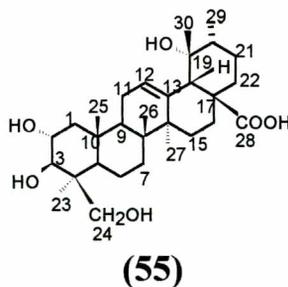
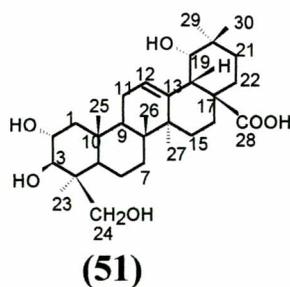
Tabela 9 - Dados de ^1H -RMN (200 MHz) e de ^{13}C -RMN (50 MHz) das misturas de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico (**51** + **55**) e dos seus derivados metilados (**65** + **66**), TMS como padrão interno de referência.

Carbono	δ (ppm)			
	(51 + 55) ^{a,b}		(65 + 66) ^c	
2	69,1 (ddd; 1H; 4,2; J=4; 9;10,5 Hz)	(51+55)	69,0 (ddd; 1H; 3,8; J=4; 9;10,5 Hz)	(65+66)
3	86,2(d; 1H; 3,4; J= 10,5 Hz)	(51+55)	85,3 (d; 1H; 3,1; J=10,5Hz)	(65+66)
12	123,7(m;1H;5,5)(51) e	128,3(m;1H;4,8)(55)	124,6(m;1H;5,4)(65) e	128,6(m;1H;5,3)(66)
13	145,4 (51) e	140,4 (55)	142,8 (65) e	138,2 (66)
18	45,2(d;1H;3,6;J=3 Hz) (51) e	55,0 (s;1H;2,9) (55)	43,1(d; 1H;3,1; J=3 Hz) (65) e	53,1(s; 1H; 2,5) (66)
19	81,6(d; 1H; 3,6; J= 3 Hz) (51) e	73,1 (55)	81,6(d; 1H; 3,3;J=3 Hz) (65) e	73,1 (66)
24	66,1(2d;1Hcada;3,7 e 4,3; J=10,5Hz)	(51+55)	65,5 (2d; 1H cada; 3,3 e 4,1; J = 10,5Hz)	(65+66)
28	181,1 (51+55)		178,4 e 178,5 (65 e 66)	
COOCH ₃	-----	-----	51,7 e 51,6(s; 3H; 3,6)	(65 e 66)

^aVer tabela 5. Dados de ^{13}C -RMN deslocados em +0,5 ppm.

^bSolvente: piridina deuterada;

^cSolvente: clorofórmio deuterado



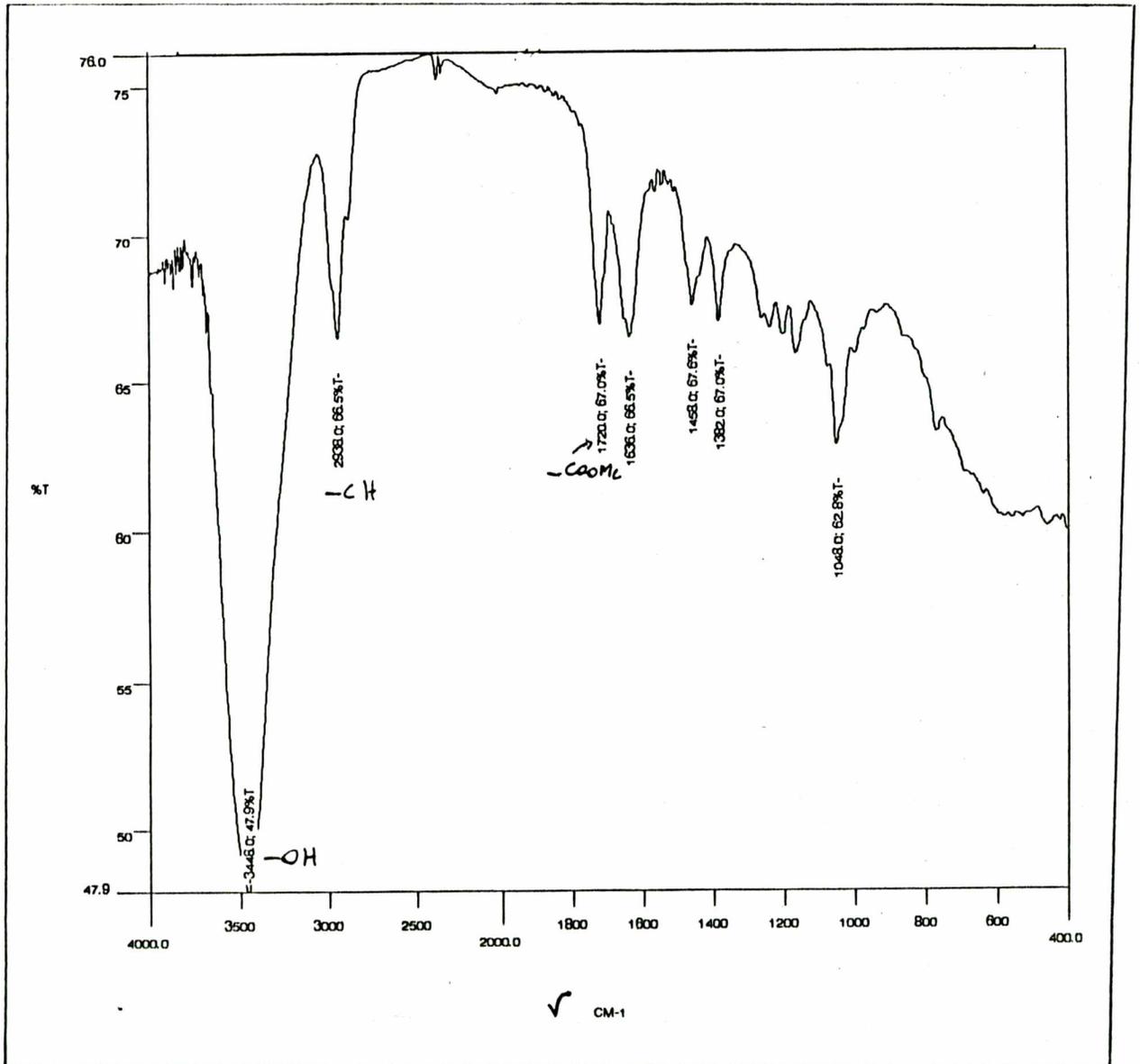
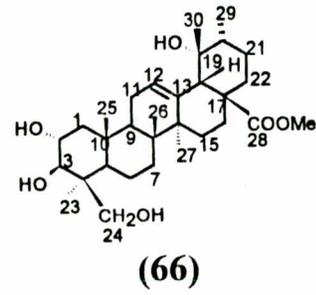
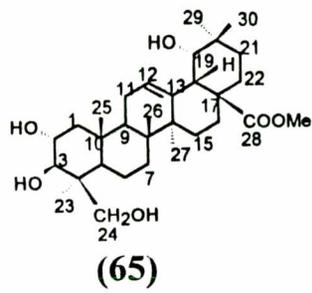


FIGURA 35 - Espectro no Infravermelho em pastilha de KBr da mistura dos Compostos 65 e 66, produtos da metilação do Ácido Serícico e do Ácido 24-Hidroxitormênico.

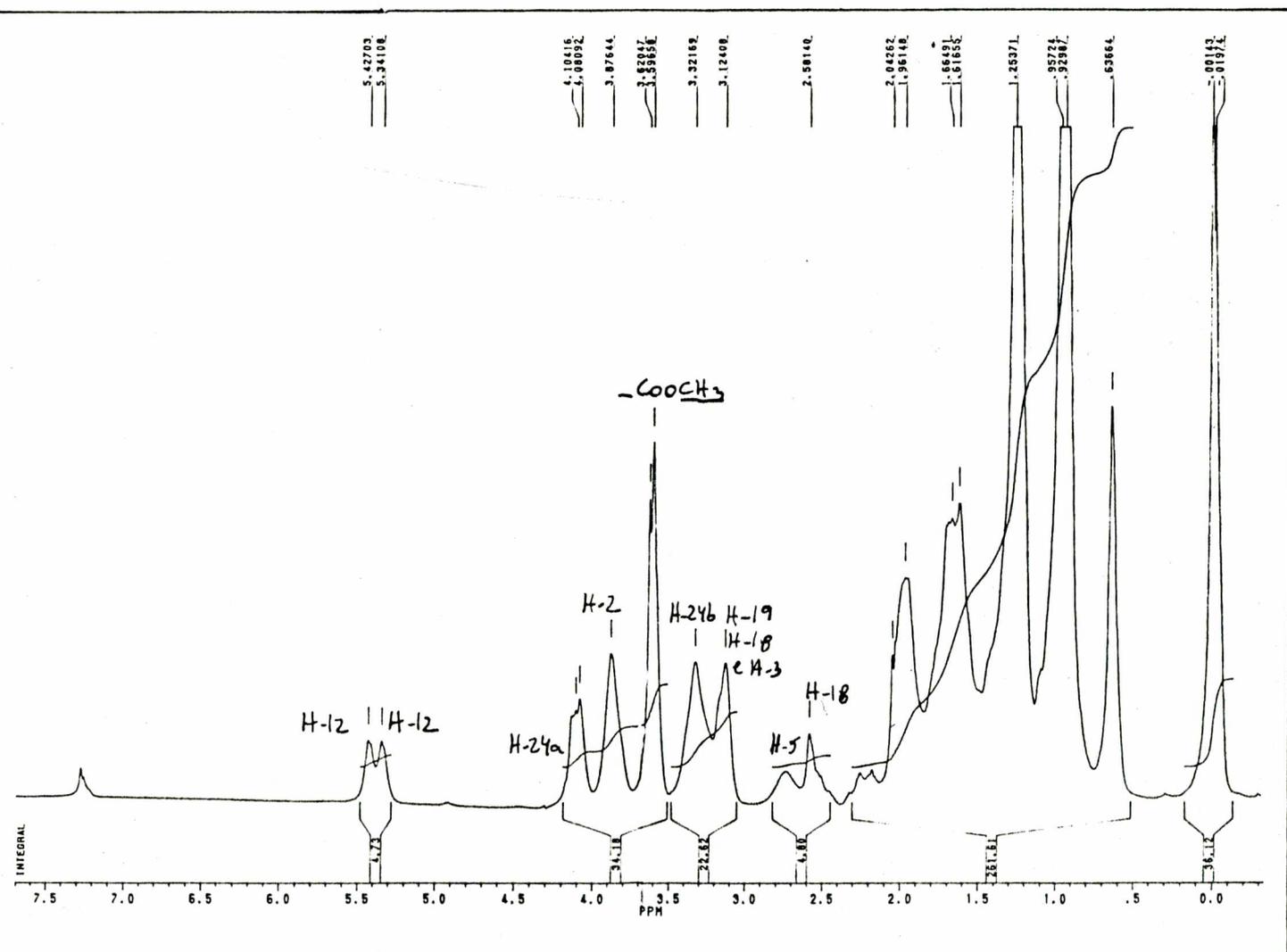
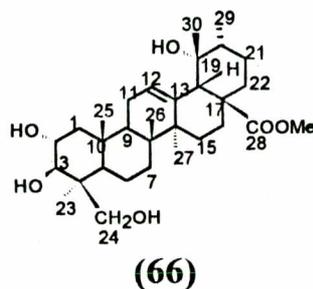
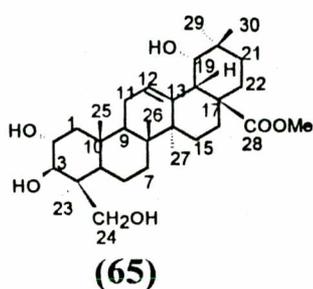


FIGURA 36 - Espectro de ^1H -RMN (200 MHz) da mistura dos Compostos **65** e **66**, produtos da metilação do Ácido Sericeico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência.

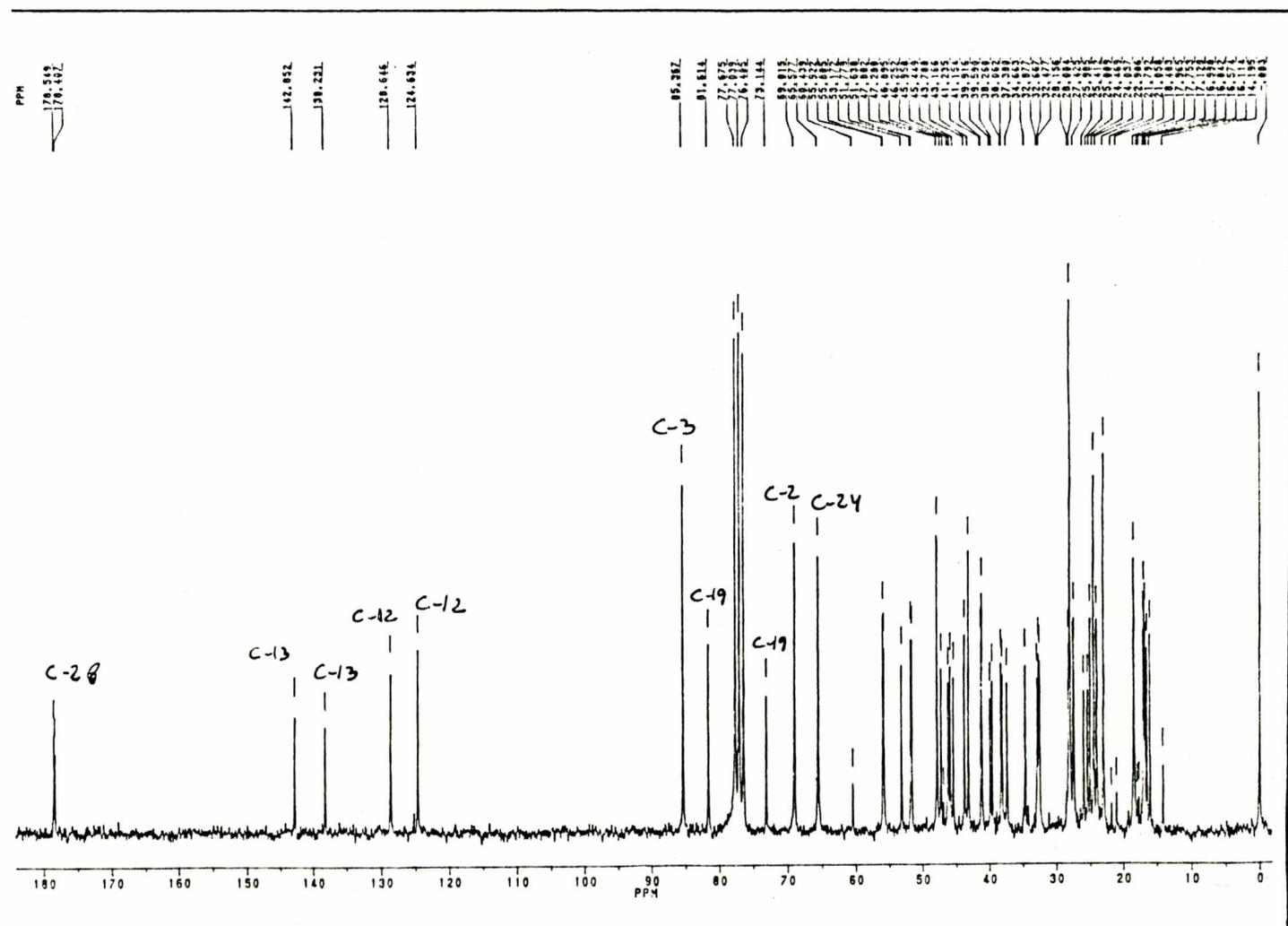
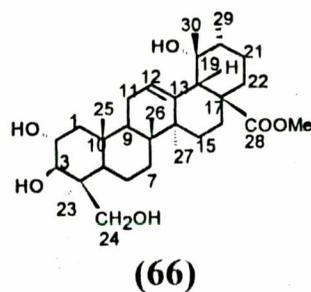
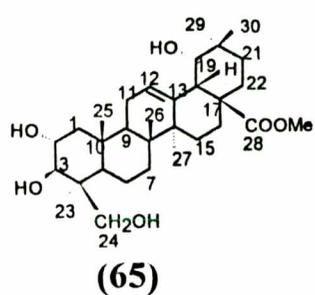
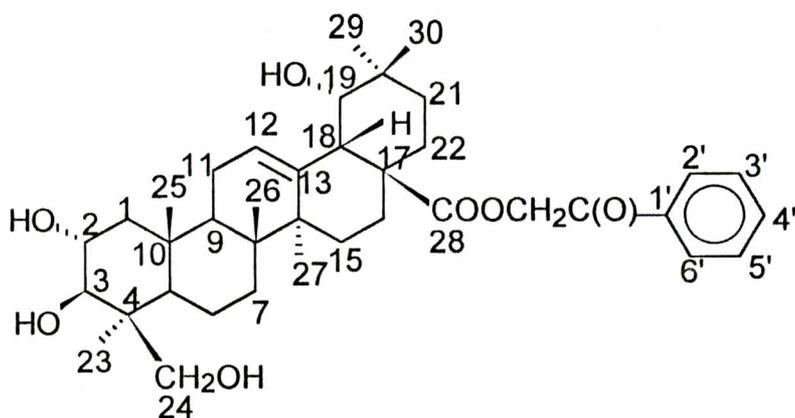


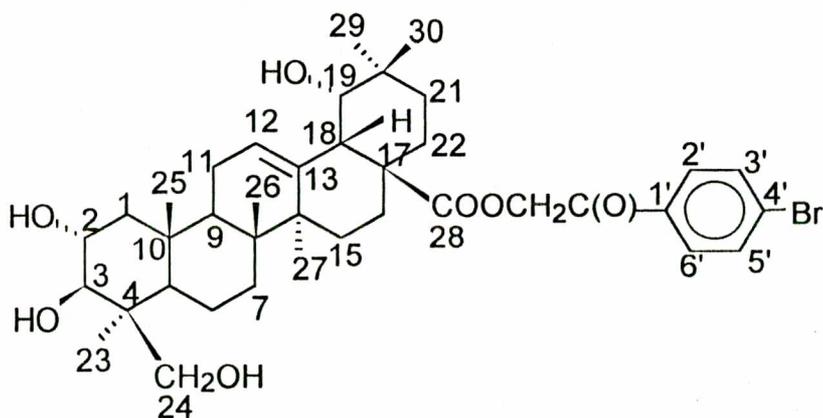
FIGURA 37 - Espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz) da mistura dos Compostos **65** e **66**, produtos da metilação do Ácido Seráfico e do Ácido 24-Hidroxitormêntico, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência.

4.7.2.2 - Reações de esterificação com 1-bromo-2-fenil-etanona, e com 1-bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona

A reação de ácido séricico com 1-bromo-2-fenil-etanona rendeu uma mistura de produtos que, após purificação, rendeu o composto **67**. Já a reação de ácido séricico com 1-bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona rendeu uma mistura de produtos que, após separação, forneceu o composto **68**, sendo os compostos **67** e **68** resultantes da esterificação do ácido séricico.



(67)



(68)

Os compostos **67** e **68** foram identificados através da análise e comparação de seus dados espectrais de IV, ^1H - e ^{13}C -RMN com os dados

do ácido serícico. Não há na literatura descrições de sínteses ou quaisquer dados dos compostos **67** ou **68**.

A figura 38 mostra o espectro no infravermelho do composto **67** em pastilha de KBr (cm^{-1}): 3434; 2938; 1728; 1704; 1638; 1452; 1380; 1194; 752; 690. Os sinais a 3434, 2938 e a 1728 cm^{-1} indicam, respectivamente, a presença de grupos -OH, -CH e -COOR.

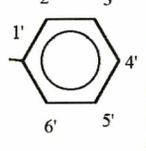
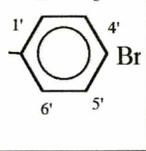
A figura 39 mostra o espectro no infravermelho do composto **68** em pastilha de KBr, (cm^{-1}): 3398; 2938; 1730; 1586; 1454; 1396; 1160; 1048; 1030; 764; 638. Os sinais a 3398, 2938 e a 1730 cm^{-1} indicam, respectivamente, a presença de grupos -OH, -CH e -COOR.

A figura 40 mostra o espectro de ^1H -RMN (200 MHz) do composto **67**, e a figura 41 o espectro de ^1H -RMN (200 MHz) do composto **68** em clorofórmio deuterado, TMS como padrão interno de referência.

A figura 42 mostra o espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz) do composto **67**, e a figura 43 o espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz) do composto **68** em clorofórmio deuterado, TMS como padrão interno de referência.

A tabela 10 mostra a atribuição de sinais dos espectros de ^1H - e de ^{13}C -RMN dos compostos **67** e **68**, e do ácido serícico. Como não havia dados espectrais de ^1H - e de ^{13}C -RMN para os compostos **67** e **68** na literatura consultada, a atribuição dos sinais foi feita por comparação com os dados obtidos para o ácido serícico, e para a atribuição dos sinais de ^1H - e ^{13}C -RMN dos prótons e carbonos dos anéis aromáticos dos compostos **67** e **68**, foram consultados dados da literatura para a 1-fenil-etanona, e para a 1-fenil-(4'-bromo)-etanona¹⁴⁴⁻¹⁴⁸.

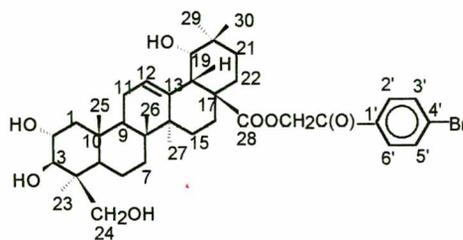
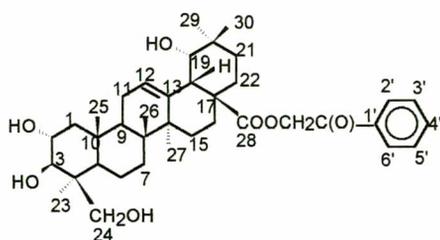
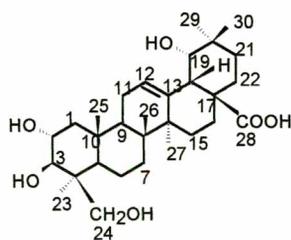
Tabela 10 - Dados de ^1H -RMN (200 MHz) e de ^{13}C -RMN (50 MHz) do ácido serílico (**51**) e dos seus derivados **67** e **68**, TMS como padrão interno de referência.

Carbono	δ (ppm)		
	(51) ^{a,b}	(67) ^c	(68) ^c
2	68,6(ddd; 1H; 4,3;J=4; 9; 10,5 Hz)	69,0(ddd; 1H; 3,8;J=4; 9; 10,5 Hz)	70,0(ddd; 1H; 3,8;J=4; 9; 10,5 Hz)
3	85,7(d; 1H; 3,5; J= 10,5 Hz)	85,4(d; 1H; 3,1; J= 10,5 Hz)	86,3(d; 1H; 3,1; J= 10,5 Hz)
12	123,3(m; 1H; 5,5)	124,6(m; 1H; 5,4)	124,6(m; 1H; 5,4)
13	144,9	142,7	142,7
18	44,7(d; 1H; 3,6; J=3 Hz)	43,2(d; 1H; 3,1; J=3 Hz)	43,2(d; 1H; 3,1; J=3 Hz)
19	81,1(d; 1H; 3,6; J= 3 Hz)	81,7(d; 1H; 3,3; J= 3 Hz)	81,8(d; 1H; 3,3; J= 3 Hz)
24	65,6(2d; 1H cada; 3,7 e 4,5; J=10,5 Hz)	65,6(2d; 1H cada; 3,3 e 4,1; J=10,5 Hz)	65,5(2d; 1H cada; 3,3 e 4,0; J=10,5 Hz)
28	180,8	177,3	178,3
OCH ₂ C(O)-	-----	85,4(2d; 1H cada; 5,1 e 5,2; J=16 Hz)	86,3(2d; 1H cada; 5,1 e 5,2; J=16 Hz)
OCH ₂ C(O)-	-----	192,7	193,7
	-----	1' 134,4 2'+ 6' 128,7 (2d; 1H cada; 7,8; J= 7 Hz) 3'+ 5' 127,7 (2dd; 1H cada; 7,4; J= 7 Hz) 4' 133,7(dd;1H;7,59;J= 1 Hz)	-----
	-----	-----	1' 129,0 2'+ 6' 129,3 (2d; 1H cada; 7,7; J= 8 Hz) 3'+ 5' 132,1 (2d; 1H cada; 7,6; J= 8 Hz) 4' 134,1

^aVer tabela 3.

^bSolvente: piridina deuterada;

^cSolvente: clorofórmio deuterado



Considerando a quantidade de composto **67** (15,3 mg, após purificação) obtida na reação de ácido serícico (37,2 mg) com excesso de 1-bromo-2-fenil-etanona, o rendimento foi de 33%.

Considerando a quantidade de composto **68** (16,5 mg, após purificação) obtida na reação de ácido serícico (39,6 mg) com excesso de 1-bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona, o rendimento foi de 30%.

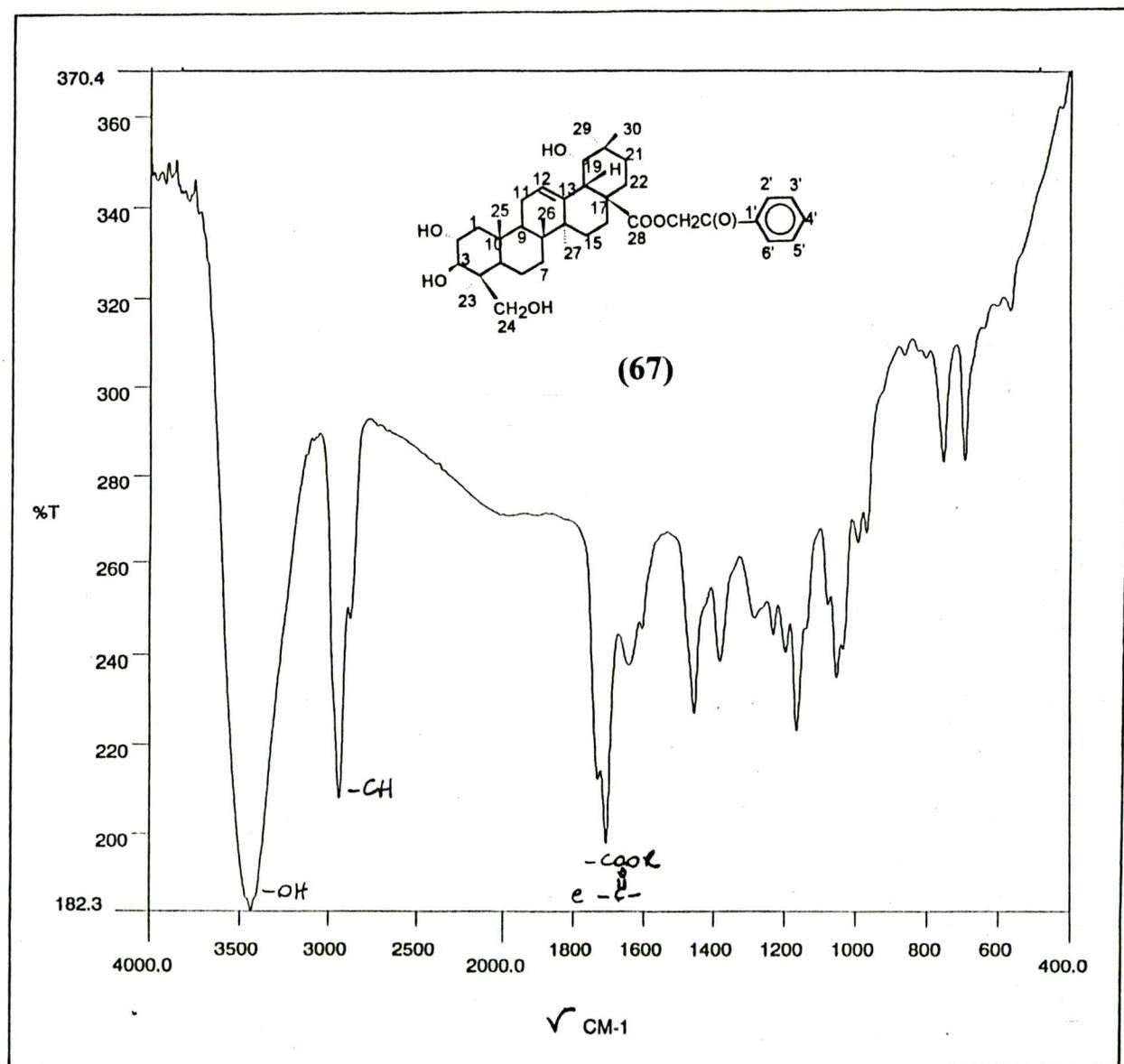


FIGURA 38- Espectro no Infravermelho em pastilha de KBr do Composto 67, produto da esterificação do Ácido Serícico com 1-Bromo-2-fenil-etanona.

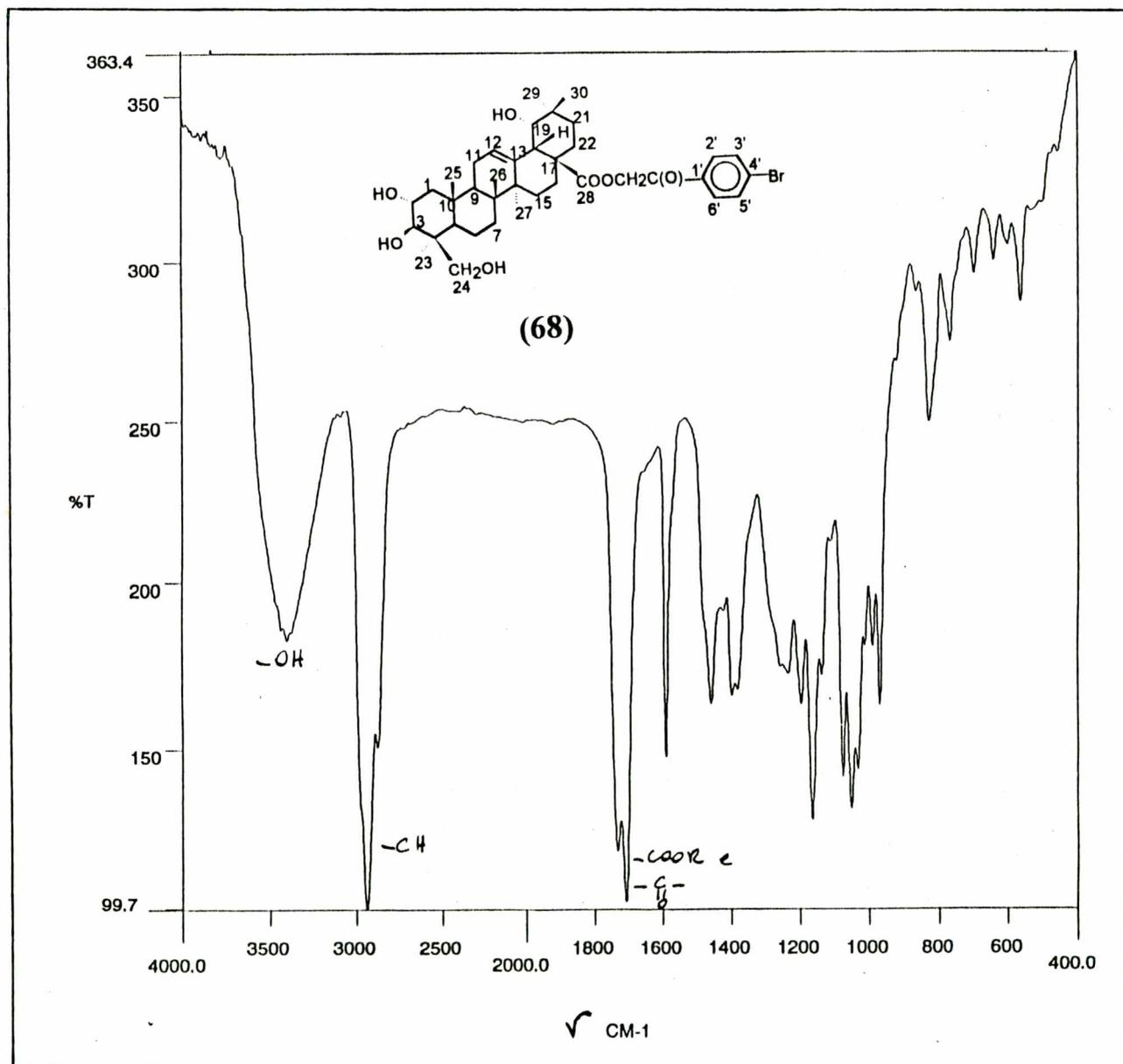


FIGURA 39- Espectro no Infravermelho em pastilha de KBr do Composto **68**, produto da esterificação do Ácido Serícico com 1-Bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona.

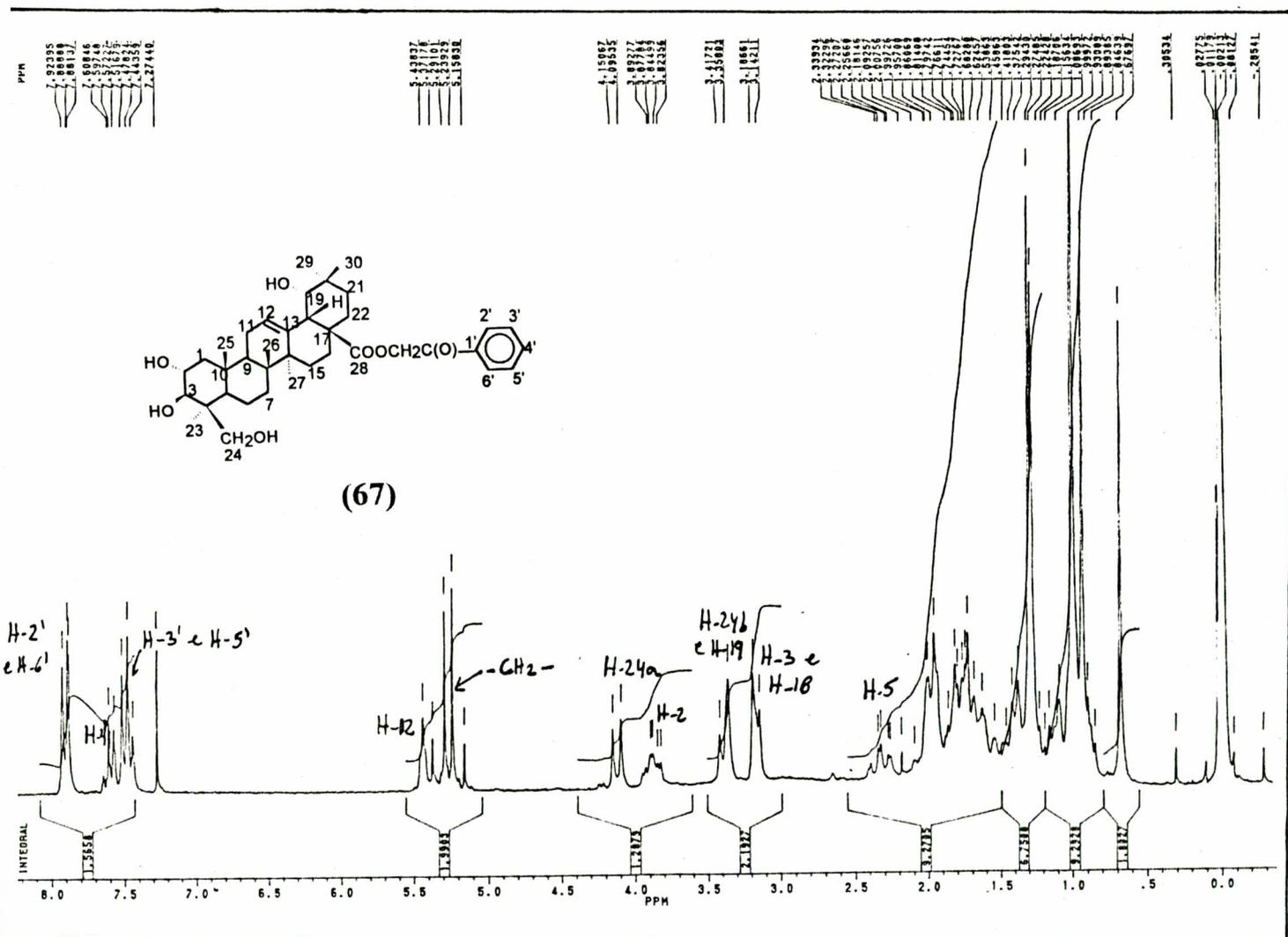
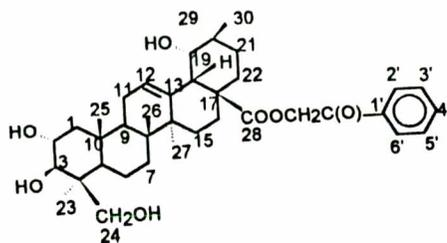


FIGURA 40 - Espectro de ¹H-RMN (200 MHz) do Composto 67, produto da esterificação do Ácido Serícico com 1-Bromo-2-fenil-etanona, em CDCl₃, TMS como padrão interno de referência.



(67)

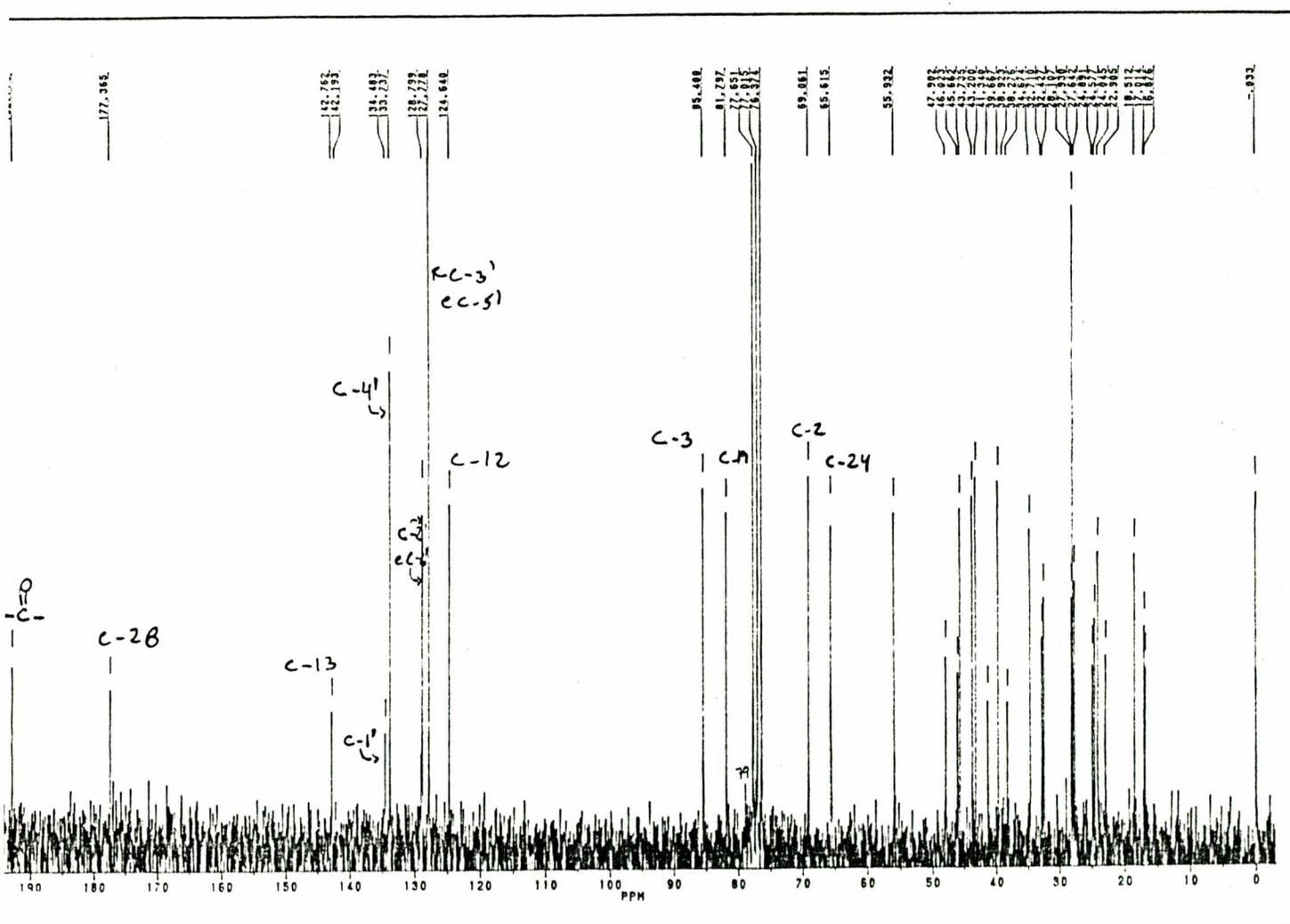
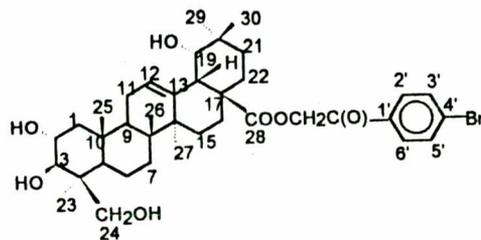


FIGURA 42 - Espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz), do Composto 67, produto da esterificação do Ácido Séricico com 1-Bromo-2-fenil-etanona, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência.



(68)

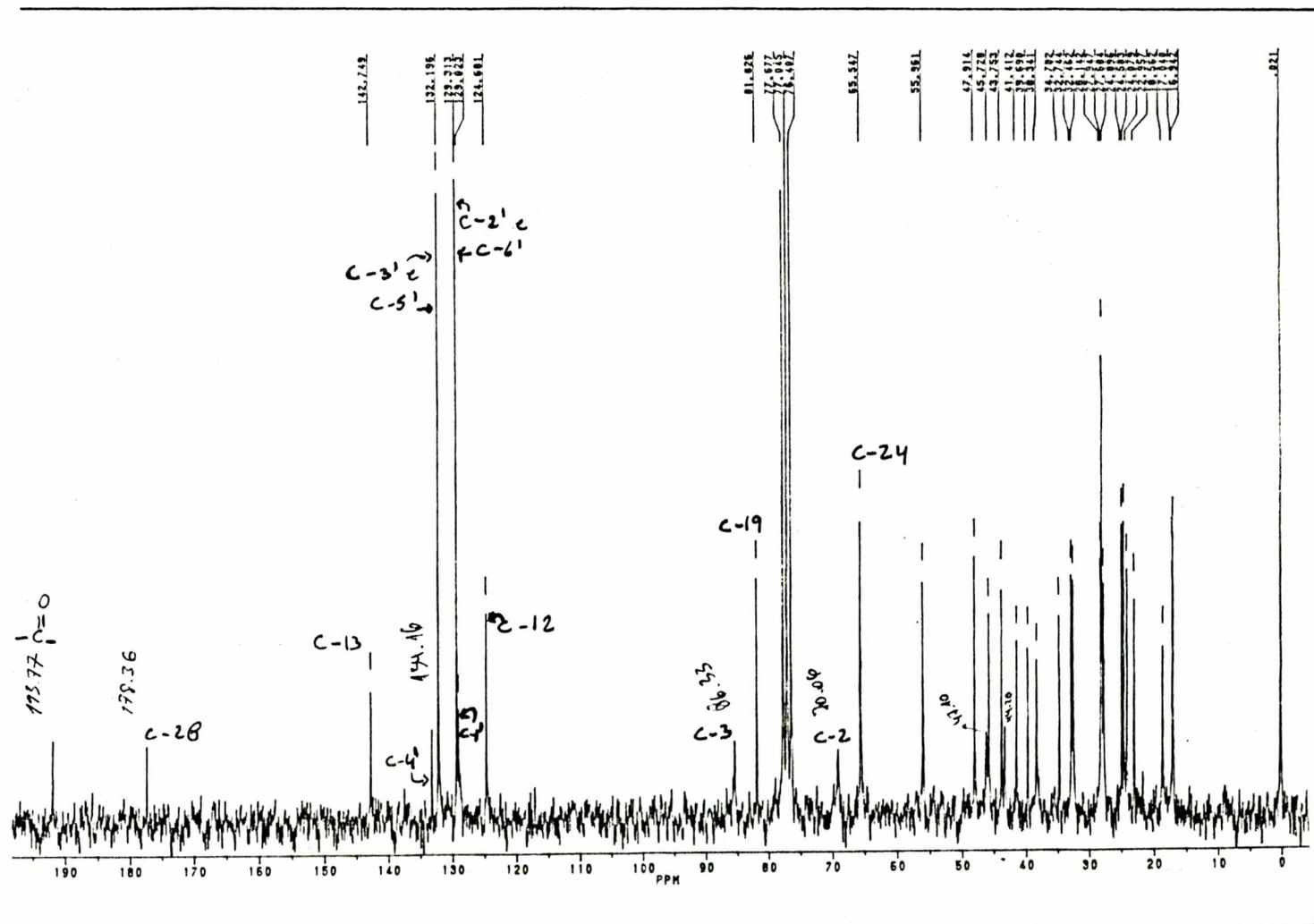
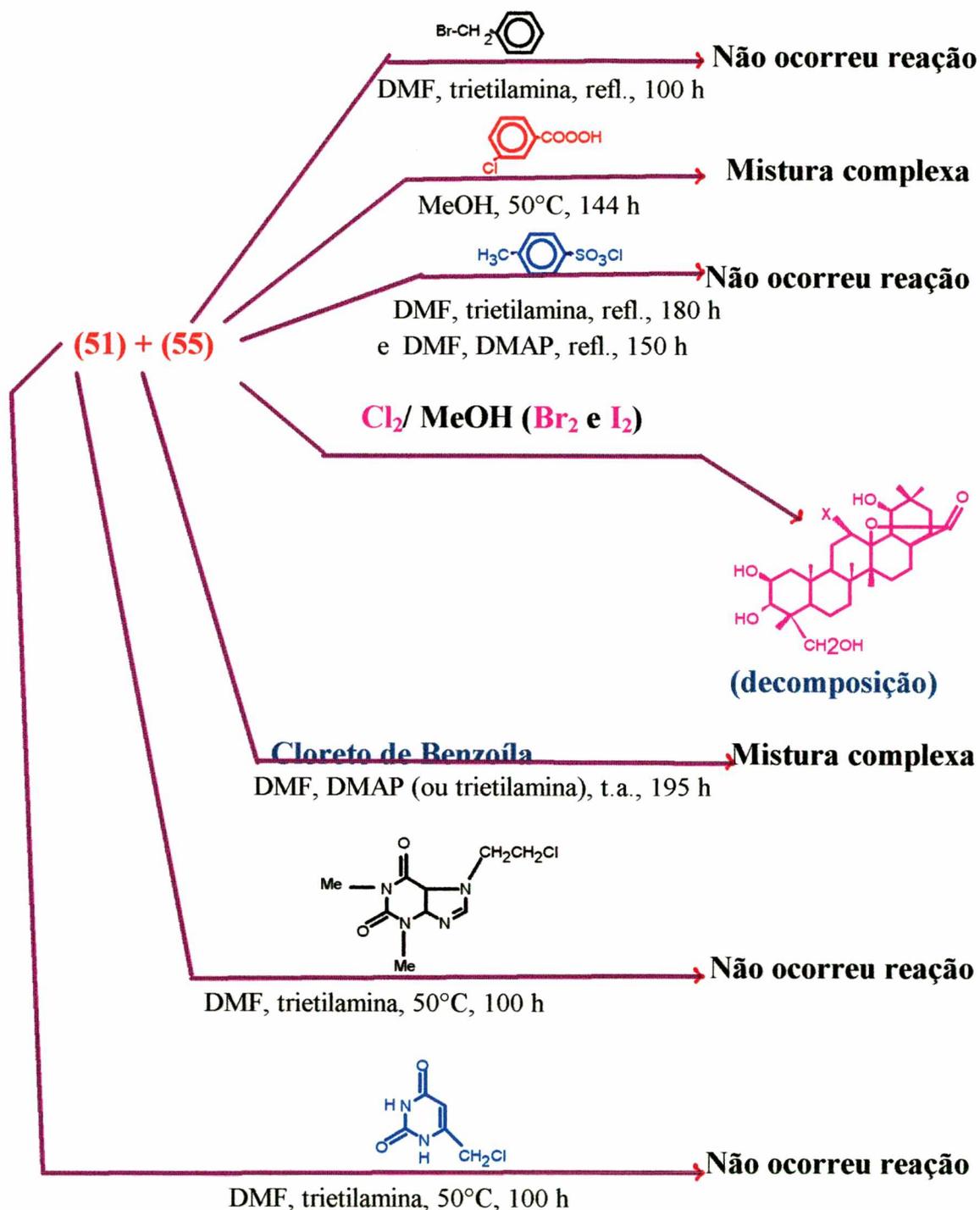


FIGURA 43 - Espectro de ^{13}C -RMN (50 MHz), do Composto 68, produto da esterificação do Ácido Sérico com 1-Bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona, em CDCl_3 , TMS como padrão interno de referência.

4.7.3) Reações Mal Sucedidas



4.8 - Atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico (**E1**), do extrato etanólico bruto (**E2**), da fração do extrato etanólico bruto eluída com acetato de etila na percolação sobre leito de sílica (**FAcOEt**), do ácido betulínico (**46**), do β -sitosterol (**48**), do ácido serícico (**51**), e da mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico (**51 + 55**) (na proporção em peso dos compostos **51/55 = 2/1**), todos obtidos da casca de *V. divergens*, contra algumas bactérias patogênicas¹⁴⁹⁻¹⁵⁰, é mostrada na tabela 11.

Tabela 11 - Concentração Inibitória Mínima (CMI) em mg/mL, para Extratos e Compostos Isolados da Casca do Caule de *V. divergens*

Bactéria	CMI (mg/ mL)				
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Shigella flexinere</i>	<i>Streptococcus sp.</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
Extrato/ Composto					
Extr. hidroalc. ^a	>5	1,5	-	-	-
Extr. etanólico ^b	>5	2,5	-	-	-
Fração AcOEt ^c	>5	2,0	-	-	-
Ác. Betulínico ^d	>5	>5	-	-	-
β -sitosterol ^e	>5	>5	-	-	-
Ác. serícico ^f	>5	0,20	1,25	<0,25	>0,90
Ác. ser.+Ác.24-hidroxitorm. ^g	-	0,30	-	-	1,20

- não testados; ^aextrato hidroalcoólico; ^bextrato etanólico bruto; ^cfração do extrato etanólico bruto eluída com acetato de etila na percolação sobre leito de sílica; ^dácido betulínico; ^e β -sitosterol; ^fácido serícico; ^g mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico (ver texto).

Os resultados mostrados na tabela 11 indicam que todos os extratos testados, o ácido serícico e a mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico exibiram ação contra *S. aureus*, enquanto o β -sitosterol e o ácido betulínico foram inativos até a máxima concentração testada. O ácido serícico também foi testado contra outras bactérias patogênicas¹⁴⁹⁻¹⁵⁰, mostrando boa atividade contra *S. flexinere*, *S. tiphymurium*, e especialmente contra *Streptococcus sp.* A mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico também mostrou boa atividade contra *S. aureus* e *S. tiphymurium*. Já a bactéria *E. coli* foi resistente até a máxima concentração testada de todos os extratos, e compostos puros.

Bactérias gram-positivas do gênero *Staphylococcus* causam infecções do colo do útero, impertigo, septicemias, meningites, furunculose, osteomielite, conjuntivites, etc, e *Staphylococcus aureus* também causa a pneumonia estafilocócica. A maioria das cepas é resistente à penicilina comum.¹⁴⁹⁻¹⁵²

Bactérias gram-positivas do gênero *Streptococcus* causam amidalites, febre reumática, escarlatina, endocardites, hipodermites, erisipela, glomerulonefrite, cervites e outras doenças que podem ser tratadas por penicilina.¹⁴⁹⁻¹⁵³

A bactéria gram-positiva *Shigella flexinere* causa infecções urinárias.¹⁴⁹⁻¹⁵⁰

Bactérias gram-negativas do gênero *Salmonella*, incluindo *S. tiphymurium* causam toxi-infecções alimentares. Estas bactérias invadem a mucosa que envolve o cólon e o íleo, necrosando-a.¹⁵³

Esses resultados sugerem que o ácido serícico e o ácido 24-hidroxitormêntico são ativos tanto contra bactérias gram-positivas como

gram-negativas, sendo úteis no combate a infecções, o que justifica o uso do chá da casca de *Vochysia divergens* na medicina popular.

Os resultados dos testes de atividade antibacteriana aqui descritos foram publicados¹⁵⁵⁻¹⁵⁶, e não há outras referências na literatura sobre a atividade antibacteriana de triterpenos pentacíclicos tetra-hidroxilados, semelhantes aos ácidos serícico e 24-hidroxitormêntico.

4.9 - Atividade antifúngica

A atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico (E1), do extrato etanólico bruto (E2), da fração do extrato etanólico bruto eluída com acetato de etila na percolação sobre leito de sílica (FAcOEt), e do ácido serícico (51), todos obtidos da casca de *V. divergens*, foi testada contra alguns fungos patogênicos.¹⁵⁰ Todos os extratos testados foram inativos na concentração máxima utilizada (1,25 mg/mL), e a atividade do ácido serícico é mostrada na tabela 12.

O ácido serícico exibiu atividade antifúngica contra leveduras e fungos miceliais patogênicos.¹⁵⁰ Na máxima concentração empregada (500 µg/mL), o ácido serícico foi ativo especificamente contra *Candida albicans* FCF-243, *C. albicans* ICB-12, *C. tropicalis* e *Penicillium*.

Fungos do gênero *Candida*, especialmente *C. albicans*, causam vaginites, pitíriase, granulomatoses cutânea ou visceral, e outras micoses.^{149-150,157}

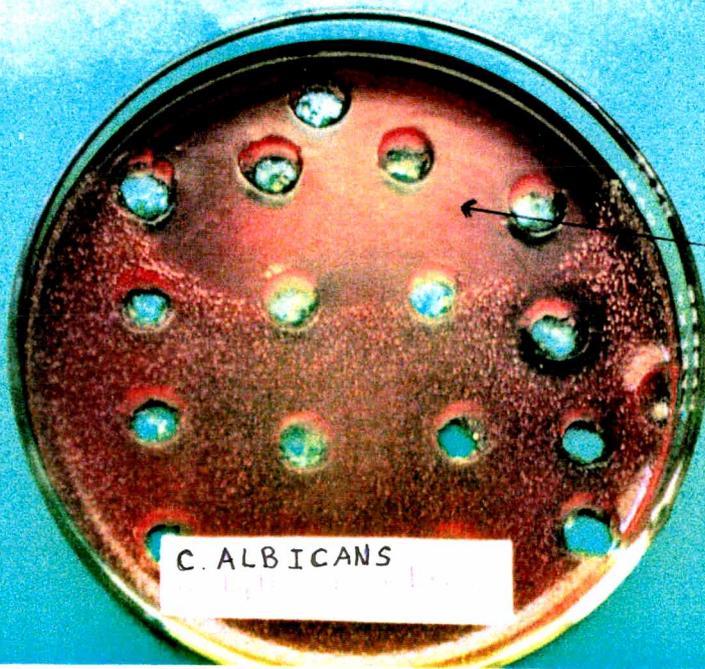
Os resultados dos testes de atividade antifúngica aqui descritos foram publicados¹⁵⁸, e não há outras referências na literatura sobre a atividade



Ac. sericeo



Ac. sericeo



Ac. sericeo

antifúngica de triterpenos pentacíclicos tetra-hidroxilados, semelhantes ao ácido serícico.

Tabela 12 - Atividade Antifúngica do Ácido Serícico - Resultados expressos como diâmetro médio da zona de inibição (mm), em ensaios de difusão em agar.

Fungos	Concentração de ácido serícico ($\mu\text{g/mL}$)		Controle de crescimento cepas-teste	Controle de Susceptibilidade das com Cetoconazol
	500	250		
<i>Rhinosporidium rubra</i>	00	00	+	20
<i>Candida albicans</i> FCF-243	22	20	+	20
<i>Candida albicans</i> IBC-12	21	18	+	21
<i>Candida tropicalis</i>	10	00	+	21
<i>Aspergillus parasiticus</i>	00	00	+	23
<i>Aspergillus flavus</i>	00	00	+	22
<i>Microsporium canis</i> 72T	00	00	+	20
<i>Microsporium canis</i> LM-003	00	00	+	30
<i>Penicillium</i>	15	00	+	30

4.10 - Atividade antinociceptiva

A tabela 13 mostra o efeito analgésico dos compostos analisados no modelo de dor causada pela injeção intraplantar de formalina em camundongos. Observa-se que o ácido serícico, o ácido 24-hidroxitormênico, a mistura de seus derivados acetilados nos grupos hidroxila em 2α , 3β e 24 (**57 + 58**), a mistura de seus derivados acetilados nos grupos hidroxila em 2α e 24 (**59 + 60**), a mistura de seus derivados por oxidação dos grupos hidroxila em 2α e 3β (**62 + 63**), a mistura de seus derivados metilados (**65 + 66**), e o derivado do ácido serícico por

esterificação com 1-bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona (**68**), administrados por via intraperitoneal na dose de 10 mg/Kg, causaram significativo efeito analgésico.

No teste da formalina a primeira fase corresponde à dor de origem neurogênica, e a segunda fase à dor de origem inflamatória.⁴¹ Como pode ser observado na tabela 13, o ácido serícico, o ácido 24-hidroxitormêntico e todos os seus derivados testados foram eficazes em inibir tanto a dor de origem neurogênica (primeira fase), quanto a dor de origem inflamatória (segunda fase).

Tabela 13 - Atividade analgésica do ácido serícico (**51**), do ácido 24-hidroxitormêntico (**55**), e de seus derivados, no modelo de dor causada pela formalina em camundongos, na dose de 10 mg/Kg, via intraperitoneal.

Composto	Dose ($\mu\text{mol/kg}$)	% Inibição	
		1 ^a fase	2 ^a fase
Ác. serícico ^a	19,8	50,6	52,0
Ác. 24-hidr.torm. ^b	19,8	45,5	54,6
(57+58)(triacetil) ^c	15,8	11,9	5,4
(59+60)(diacetil.) ^d	17,0	40,5	74,2
(62+63)(hemiac.) ^e	19,9	26,2	74,2
(65+66)(ést.met.) ^f	19,3	38,1	61,3
68 (éster) ^g	14,3	19,1	6,5
Aspirina	55,5	17,3	38,7
Acetaminofeno	66,2	9,0	37,8

^a ácido serícico; ^b ácido 24-hidroxitormêntico; ^c mistura dos derivados acetilados nos grupos hidroxila em 2 α , 3 β e 24 do ácido serícico e do ácido 24-hidroxitormêntico; ^d mistura dos derivados acetilados nos grupos hidroxila em 2 α e 24 do ácido serícico e do ácido 24-hidroxitormêntico; ^e mistura dos derivados por oxidação dos grupos hidroxila em 2 α e 3 β do ácido serícico e do ácido 24-hidroxitormêntico; ^f mistura dos derivados metilados do ácido serícico e do ácido 24-hidroxitormêntico; ^g derivado do ácido serícico por esterificação com 1-bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona.

Como mostra a tabela 13, na dosagem de 10 mg/Kg, a aspirina e o acetaminofeno, que são duas drogas tradicionalmente usadas clinicamente, são menos eficazes que o ácido serícico, o ácido 24-hidroxitormêntico, e que as misturas de seus derivados (59 + 60)(diacetilados), (62 + 63)(hemiacetais), e (65 + 66)(ésteres metílicos), em inibir a dor de origem neurogênica (primeira fase) e a dor inflamatória (segunda fase) elicitadas pela injeção intraplantar de formalina em camundongos. Entretanto, enquanto a aspirina e o acetaminofeno são efetivos em inibir o edema de pata causado pela formalina, o ácido serícico, o ácido 24-hidroxitormêntico, e todos os seus derivados, não apresentaram este efeito.

É relevante observar que, na dosagem de 10 mg/Kg, enquanto a mistura dos compostos diacetilados 59 e 60 apresentou atividade menor que o ácido serícico na inibição da dor de origem neurogênica, a mesma mistura foi mais eficaz que o referido composto em inibir a dor de origem inflamatória. Por outro lado, a mistura dos compostos triacetilados 57 e 58 foi menos eficaz que o ácido serícico em inibir tanto a dor de origem neurogênica, quanto a dor de origem inflamatória, o que indica que é fundamental para a atividade analgésica destes compostos a presença de um grupo hidroxila livre na posição 3 β .

Na dosagem de 10 mg/Kg, a mistura dos compostos metilados 65 e 66 foi menos eficaz que o ácido serícico em inibir a dor de origem neurogênica, mas foi mais eficaz que este em inibir a dor de origem inflamatória. Já o composto 68, derivado do ácido serícico por esterificação com 1-bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona, foi menos eficaz que o ácido serícico em inibir tanto a dor de origem neurogênica, quanto a dor de origem inflamatória. Estes resultados indicam que a esterificação do grupo carboxila do ácido serícico com grupos volumosos diminui muito a atividade analgésica em relação ao composto inicial, enquanto a esterificação com um

grupo pequeno pode aumentar a atividade do composto em inibir a dor de origem inflamatória.

A mistura dos compostos **62** e **63**, derivados oxidados, na dosagem de 10 mg/Kg, foi menos eficaz que o ácido serícico em inibir a dor de origem neurogênica, mas foi mais eficaz que este em inibir a dor de origem inflamatória, o que indica que a presença de um grupo hemiacetal, e de um grupo aldeídico livre, nos carbonos 2, 3 e 24 dos derivados dos ácidos serícico e 24-hidroxitormêntico, onde havia três grupos hidroxila livres, leva a uma diminuição da eficácia em inibir a dor de origem neurogênica, mas melhora a eficiência em inibir a dor de origem inflamatória.

O fato dos compostos testados terem sido efetivos em inibir a dor de origem neurogênica, e a dor de origem inflamatória no teste da formalina, mas não terem afetado significativamente o edema de pata causado pela formalina é interessante porque, segundo literatura recente³¹, os analgésicos e antiinflamatórios não-esteroidais inibem apenas a dor de origem inflamatória causada pela formalina (segunda fase), e este efeito sempre está associado à inibição do edema de pata. Por outro lado, as drogas do grupo da morfina (opióides) são muito efetivas em inibir ambas as fases da dor causada pela formalina.¹⁵⁹⁻¹⁶⁰

Deve-se ressaltar que é muito importante a descoberta de drogas com efeito analgésico e que não apresentem propriedades antipiréticas ou antiinflamatórias, porque em muitos casos clínicos (cirurgias, ferimentos, etc) a inflamação e a febre são indicadores do estado de recuperação do paciente, não devendo ser eliminados completamente.

Considerando que poucas drogas disponíveis no mercado são efetivas em inibir a dor de origem neurogênica³¹, é relevante a descoberta desta atividade para triterpenos pentacíclicos tetra-hidroxilados de origem natural,

como o ácido serícico e o ácido 24-hidroxitormêntico. Além disso, a atividade analgésica aqui descrita para estes dois compostos justifica, em parte, o uso de *Vochysia divergens* na medicina popular.

O mecanismo de ação antinociceptiva do ácido serícico, do ácido 24-hidroxitormêntico, e de seus derivados, ainda não está esclarecido, mas estão sendo realizados estudos na tentativa de elucidá-lo.

Parte dos resultados aqui relatados, referentes à atividade analgésica do ácido serícico, foram publicados.¹⁶¹

CAPÍTULO 5

5 - MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 - Procedimentos Experimentais Gerais

Os pontos de fusão foram determinados usando um aparelho de chapa quente tipo Kofler, marca Microquímica AP-300, e não foram corrigidos.

Os espectros de infravermelho foram medidos em um espectrômetro Perkin-Elmer FT-16 PC, em pastilha de KBr.

Os espectros de ^1H e ^{13}C -RMN foram feitos em espectrômetros Bruker 200 ou Varian XL 300, utilizando-se solventes deuterados adquiridos comercialmente, e tetrametilsilano como padrão interno de referência.

Para a avaliação preliminar do grau de pureza dos produtos isolados e dos sintetizados, foi empregada cromatografia em camada delgada com placas de vidro (4 x 7 cm), usando como adsorvente silicagel 60 de procedência Merck e como eluentes solventes puros ou misturas de solventes de grau de pureza analítica, de procedência "Merck", "Reagen" ou "Grupo Química". A revelação dos cromatogramas foi realizada por aspersão de revelador metanol/ácido sulfúrico 100/10 (v/v), com posterior aquecimento a 110 °C por 10 minutos em chapa quente. O grau de pureza dos compostos isolados e sintetizados também foi verificado através de experimentos de cromatografia gasosa, e por avaliação de seus espectros de massa, ^1H e ^{13}C -RMN.

Os espectros de massa foram obtidos em um espectrômetro Shimadzu CG/MS - QP 200A.

5.2 - Os Materiais Vegetais

5.2.1 - *Vochysia divergens* Pohl (Vochysiaceae)

Cascas do caule de *Vochysia divergens* Pohl foram coletadas às margens do Rio Paraguai em Corumbá, MS, e a espécie vegetal identificada pelos botânicos Geraldo Alves Damasceno Júnior (DAM/CEUC/UFMS) e Arnildo Pott (CPAP/EMBRAPA). Uma excicata foi depositada no herbário do Centro Universitário de Corumbá (COR/CEUC/UFMS) (De Paula e Conceição, 0500).

5.2.2 - *Ocotea suaveolens* (Meissn.) Hassler (Lauraceae)

Cascas do caule de *Ocotea suaveolens* (Meissn.) Hassler foram coletadas às margens do Rio Paraguai em Corumbá, MS, e a espécie vegetal identificada pelo botânico Geraldo Alves Damasceno Júnior (DAM/CEUC/UFMS). Uma excicata foi depositada no herbário do Centro Universitário de Corumbá (COR/CEUC/UFMS) (Damasceno Jr. G. A., 3727).

5.3 - Extração e Isolamento

5.3.1 - *Vochysia divergens* Pohl

O extrato hidroalcoólico (E1) (5,5 g; 16,0% umidade) foi obtido por extração do material vegetal previamente seco ao ar e pulverizado (200,0 g; 16,0% umidade) com uma mistura de etanol/água 1/1 (v/v), tendo sido utilizadas 3 porções de 600 mL de solvente.

O material vegetal (casca do caule) seco ao ar e pulverizado (4,0 Kg; 16% umidade) foi extraído 4 vezes com 7 litros de etanol, e o extrato etanólico (E2) foi concentrado sob vácuo, fornecendo um sólido marrom-avermelhado (778,2 g; 16,0% umidade). Este material (351,2 g) foi submetido a percolação sobre leito de sílica em uma coluna (18,0 x 9,0 cm) de silicagel 60 (200,0 g), usando diclorometano, acetato de etila e etanol, sucessivamente e de forma exaustiva, como eluentes. A fração eluída com diclorometano (FDCI) (16,2 g; 14,0% umidade) foi cromatografada (15,0 g) sobre uma coluna (70,0 x 3,9 cm) de silicagel 60 (367,2 g) eluída com n-hexano gradualmente enriquecido com acetona, coletando-se frações 125 mL. As frações 14-17 foram reunidas, o solvente evaporado, e o sólido resultante lavado com éter de petróleo, obtendo-se β -sitosterol (48) (33,0 mg). As frações 31-53 foram reunidas, o solvente evaporado, e o sólido resultante lavado com hexano e acetona, obtendo-se ácido betulínico (46) (220,8 mg). As frações 55-72 foram reunidas, o solvente evaporado, e o sólido resultante foi cromatografado de forma idêntica à descrita para FDCI. As frações 31-51 da nova coluna foram reunidas, o solvente evaporado, e o sólido resultante lavado com hexano e acetona, obtendo-se mais composto 46 (114,9 mg).

Dados adicionais do β -sitosterol: fórmula molecular $C_{29}H_{50}O$; peso molecular 414,69 g/mol; ponto de fusão 138-40°C; solubilidade: éter de petróleo, hexano e clorofórmio.

Dados adicionais do ácido betulínico: fórmula molecular $C_{30}H_{48}O_3$; peso molecular 456,71 g/mol; ponto de fusão 275-8°C (dec.); solubilidade: metanol, piridina, dimetilsulfóxido.

A fração eluída com acetato de etila (FAcOEt) (91,0 g; 8,9% umidade) foi cromatografada (1,0 g) em uma coluna (60,0 x 2,5 cm) de silicagel 60 (120,0 g) e eluída primeiro com acetato de etila puro (frações 1-35; 50 mL), e depois com acetona pura (frações 36-50; 50 mL). As frações 6-9 foram reunidas e, após evaporação do solvente, forneceram 228,0 mg de ácido serícico (51) puro. As frações 10-18 foram reunidas e, após evaporação do solvente, forneceram 242,0 mg de uma mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico (55) na proporção em peso de 51/55 = 2/1.

Dados adicionais do ácido serícico: fórmula molecular $C_{30}H_{48}O_6$; peso molecular 504 g/mol; ponto de fusão 282°C; solubilidade: metanol, piridina, dimetilsulfóxido e etanol.

A fração eluída com etanol (FEt) (143,4 g; 13,0% umidade) foi cromatografada (1,0 g) em uma coluna (40,0 x 3,5 cm) de silicagel 60 (150,0 g) eluída com acetato de etila puro, coletando-se frações de 40 mL. As frações 6-18 foram reunidas e, após evaporação do solvente, forneceram 128,7 mg de uma mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico na proporção em peso de 51/55 = 3/1.

5.3.2 - *Ocotea suaveolens* (Meissn.) Hassler

O material vegetal (casca do caule) seco ao ar e pulverizado (2288 g ; 15,0% umidade) foi extraído inicialmente com hexano (5 x 3 litros), e o extrato hexânico foi concentrado sob vácuo, fornecendo um sólido (FH) (7,61 g; 13,0% umidade). O material vegetal foi novamente seco ao ar (15,0% umidade), extraído com acetato de etila (6 x 3 litros), e o extrato foi concentrado sob vácuo, fornecendo outro sólido (FAC) (16,11 g; 10,0% umidade). Após nova secagem ao ar, o material vegetal foi (15,0% umidade), foi extraído com etanol (6 x 3 litros) , fornecendo novo material (FE) (169,3 g; 12,0% umidade).

A fração FH foi cromatografada (7,61 g) em uma coluna (70,0 x 5,0 cm) de silicagel 60 (400,0 g), eluída com misturas de hexano e acetona de polaridade crescente, coletando-se frações de 200 mL. As frações 48-9 foram reunidas e, após evaporação do solvente, forneceram 435,4 mg de um material que, após precipitação e lavagem com etanol e acetona, rendeu uma mistura (54,4 mg) dos esteróides β -sitosterol (48), campesterol (49) e estigmasterol (50).

Dados adicionais da mistura de esteróides obtida a partir de *O. suaveolens*: Ponto de fusão 136-40°C; solubilidade: éter de petróleo, hexano e clorofórmio.

A fração FE foi pré-purificada (22,5 g) por lavagem exaustiva com água e centrifugação. O material bruto assim obtido (1084,0 mg; 10,0% umidade) foi então cromatografado (557,4 mg) em uma coluna (40,0 x 3,0 cm) de silicagel 60 (56,0 g) eluída com acetato de etila puro (frações 1-29 = 20 ml; 30-42 = 50 mL). As frações 6-23 foram reunidas e, após evaporação do solvente, forneceram uma mistura que, após precipitação e

lavagem com uma solução de clorofórmio e etanol a 1/1 (v/v), rendeu ácido 24-hidroxitormêntico puro (33mg).

Dados adicionais do ácido 24-hidroxitormêntico: fórmula molecular $C_{30}H_{48}O_6$; peso molecular 504 g/mol; ponto de fusão 280°C; solubilidade: metanol, dimetilsulfóxido, etanol, piridina.

5.4 - Derivados do Ácido Serícico e do Ácido 24-hidroxitormêntico

5.4.1 - Reações envolvendo os grupos hidroxila

5.4.1.1 - Acetilação

Em um balão de fundo redondo (50 mL) foram colocados piridina (5mL); uma mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico isolada a partir de *V. divergens* (103,0 mg); e anidrido acético (1 mL). A mistura foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 24 horas. Depois desse período, a mistura foi jogada em água com gelo e ácido acético, e extraída com éter etílico (3 x 15 mL). A solução etérea foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada, e o solvente evaporado no rotavapor. O sólido resultante foi cromatografado em uma coluna (26,0 x 2,0 cm) de silicagel 60 (10,0 g), eluída com misturas de hexano e acetato de etila de polaridade crescente (iniciando com hexano puro, e aumentando o porcentual de acetato de etila em 5 % (v/v) a cada 2 frações), coletando-se frações de 20 mL. As frações 34-5 foram reunidas e, após evaporação do solvente, forneceram uma mistura dos produtos acetilados **57** e **58** (50,0 mg), derivados do ácido serícico e do ácido 24-hidroxitormêntico,

respectivamente, por acetilação dos grupos hidroxila nas posições 2 α , 3 β e 24 (triacetilação). As frações 37-8 foram reunidas e, após evaporação do solvente, forneceram uma mistura dos produtos acetilados **59** e **60** (34,0 mg), derivados do ácido serícico e do ácido 24-hidroxitormêntico, respectivamente, por acetilação dos grupos hidroxila nas posições 2 α e 24 (diacetilação).

Dados adicionais: fórmula molecular dos compostos **57** e **58** C₃₆H₅₇O₉; peso molecular dos compostos **57** e **58** = 633 g/mol; ponto de fusão da mistura dos compostos **57** e **58** = 165-7° C; solubilidade da mistura dos compostos **57** e **58**: clorofórmio e acetona; fórmula molecular dos compostos **59** e **60** C₃₄H₅₄O₈; peso molecular dos compostos **59** e **60** = 590 g/mol; ponto de fusão da mistura dos compostos **59** e **60** = 175-7° C; solubilidade da mistura dos compostos **59** e **60**: clorofórmio e acetona.

5.4.1.2 - Oxidação

Em um balão de fundo redondo (50 mL) foram colocados uma solução de etanol e acetato de etila a 1/1 (v/v) (15mL); uma mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico isolada a partir de *V. divergens* (103,7 mg); e uma solução de periodato de sódio em água (10 mL de solução a 22,3 mg/mL). A mistura foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 15 horas. Depois desse período, o solvente foi evaporado no rotavapor, e ao sólido resultante acrescentou-se água. Então, procedeu-se à extração com clorofórmio (3 x 30 mL). A solução clorofórmica foi evaporada no rotavapor, e o sólido resultante cromatografado em uma coluna (15,0 x 2,5 cm) de silicagel 60 (10,0 g), eluída com clorofórmio puro, coletando-se frações de 30 mL. As frações 2-7 foram reunidas e,

após evaporação do solvente, forneceram uma mistura dos produtos **62** e **63** (73,0 mg), derivados do ácido serícico e do ácido 24-hidroxitormêntico, respectivamente, por oxidação dos grupos hidroxila nas posições 2 α e 3 β .

Dados adicionais: fórmula molecular dos compostos **62** e **63** $C_{30}H_{46}O_6$; peso molecular dos compostos **62** e **63** = 502 g/mol; ponto de fusão da mistura dos compostos **62** e **63** = 212-4° C; solubilidade da mistura dos compostos **62** e **63**: clorofórmio e acetona.

5.4.2 - Reações envolvendo o grupo carboxila

5.4.2.1 - Metilação

Em um balão de fundo redondo (50 mL) foram colocados éter etílico (10 mL); uma mistura de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico isolada a partir de *V. divergens* (200,0 mg); e uma solução de diazometano em éter etílico (10 mL). A mistura foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 2 horas. Depois desse período, o solvente foi evaporado no rotavapor. O sólido resultante foi cromatografado em uma coluna (18,0 x 12,0 cm) de silicagel 60 (10,0 g), eluída com misturas de hexano e acetato de etila de polaridade crescente (frações 1-2 com acetato/hexano = 1/1 (v/v); frações 3-12 com acetato/hexano = 2/1 (v/v); e frações 13-5 com acetato de etila puro), coletando-se frações de 20 mL. As frações 9-15 foram reunidas, fornecendo uma mistura produtos **65** e **66** (73,0 mg), derivados do ácido serícico e do ácido 24-hidroxitormêntico, respectivamente, por formação do éster metílico.

Dados adicionais: fórmula molecular dos compostos **65** e **66** $C_{31}H_{50}O_6$; peso molecular dos compostos **65** e **66** = 518 g/mol; ponto de fusão da mistura dos compostos **65** e **66** = 155-8° C; solubilidade da mistura dos compostos **65** e **66**: clorofórmio e acetona.

5.4.2.2 - Reação de esterificação com 1-bromo-2-fenil-etanona

Em um balão de fundo redondo (50 mL) foram colocados dimetilformamida (5mL); ácido serícico isolado a partir de *V. divergens* (37,2 mg); e trietilamina (144,3 mg). Esta mistura foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 10 minutos. Então, a ela acrescentou-se 1-bromo-2-fenil-etanona (93,0 mg). A mistura foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 72 horas. Depois desse período, foi jogada em água com gelo e ácido acético, e extraída com éter etílico (3 x 15 mL). A solução etérea foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada, e o solvente evaporado no rotavapor. Ao sólido resultante acrescentou-se clorofórmio, e depois de filtração para retirada de ácido serícico não reagido, o produto foi purificado por lavagens sucessivas com mistura de hexano/acetona a 1/1 (v/v). Obteve-se assim o composto **67** puro (15,3 mg), resultante da esterificação do grupo carboxila do ácido serícico com 1-bromo-2-fenil-etanona.

Dados adicionais do composto **67**: fórmula molecular $C_{38}H_{54}O_7$; peso molecular = 622 g/mol; ponto de fusão = 139-40° C; solubilidade: clorofórmio e acetona.

5.4.2.3 - Reação de esterificação com 1-bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona

Em um balão de fundo redondo (50 mL) foram colocados dimetilformamida (5mL); ácido serícico isolado a partir de *V. divergens* (39,6 mg); e trietilamina (145,0 mg). Esta mistura foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 10 minutos, então acrescentou-se 1-bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona (148,7 mg). A mistura foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 48 horas. Depois desse período, foi jogada em água com gelo e ácido acético, e extraída com éter etílico (3 x 15 mL). A solução etérea foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada, e o solvente evaporado no rotavapor. O sólido resultante foi cromatografado em uma coluna (15,0 x 2,5 cm) de silicagel 60 (10,0 g), eluída com uma mistura de acetato de etila/clorofórmio a 1/1 (v/v), coletando-se frações de 50 mL. As frações 3 e 4 foram reunidas e, após evaporação do solvente, forneceram o composto **68** puro (16,5 mg), resultante da esterificação do grupo carboxila do ácido serícico com 2-bromo-(4'-bromo)-1-fenil-etanona.

Dados adicionais do composto **68**: fórmula molecular $C_{38}H_{53}O_7Br$; peso molecular =701 g/mol; ponto de fusão=155-6° C; solubilidade: clorofórmio e acetona.

5.5 - Atividade Antibacteriana

Os testes biológicos para verificar a atividade antibacteriana dos compostos e extratos em estudo foram realizados no Departamento de

Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina pelo MsC. Alexandre Bella Cruz, orientado pela professora Dra. Eliane Moretto.

Os extratos e compostos puros foram investigados determinando-se a Concentração Mínima Inibitória (CMI) na presença das bactérias: *Staphylococcus aureus* (SA) ITAL SFCO 001 (obtida do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) em Campinas/SP); *Escherichia coli* (EC) ITAL E. ESCH 001 (obtida do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) em Campinas/SP); *Shigella flexinere* FTPTAT 1483 (obtida da Fundação Tropical André Tosello (FTPTAT) em Campinas/SP); *Streptococcus sp.* UFSCL 013 (obtida do Laboratório de Bromatologia-UFSC/CAL (UFSCL) em Florianópolis/SC); e *Salmonella typhimurium* FTPTAT 1035 (obtida da Fundação Tropical André Tosello (FTPTAT) em Campinas/SP)

Os valores de CMI foram determinados por uma técnica previamente descrita.³⁹

5.6 - Atividade Antifúngica

Os testes biológicos para verificar a atividade antifúngica dos compostos e extratos em estudo foram realizados no Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba, pela equipe da professora Edeltrudes O. Lima.

Os ensaios foram realizados em meio sólido, pela técnica de difusão, processo cavidade-placa.¹⁶² Em placas de Petri, esterilizadas, foi colocado 1 mL da suspensão de cada microorganismo, padronizada para 10 UFC, conforme o tubo 0,5 da Escala de MacFarland, e leitura espectroscópica para 90% de transmitância (530 nm). Em seguida, foi adicionado 21 mL do

meio sólido fundido a 45°C. Após solidificação, foram feitas cavidades com 8 mm de diâmetro. Em cada cavidade foram colocados 50 µL do composto em suas diferentes concentrações. Em paralelo, foram feitos controles para os microorganismos no meio de cultura isento de antimicrobiano, e com antimicrobianos-padrão (cloranfenicol, tetraciclina e cetoconazol).

Os ensaios foram incubados à temperatura de 37 °C durante 24-48 horas, para os ensaios com fungos leveduriformes e à temperatura de 28-30 °C durante 10-14 dias para os fungos filamentosos.

5.7 - Atividade Antinôiceptiva

Os testes farmacológicos para investigação das ações analgésicas dos compostos em estudo foram efetuados no Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina pelo MsC. Adair R. S. Santos, orientado pelo professor Dr. João B. Calixto.

Nos testes foram utilizados camundongos machos (25-30 g). 20 µL de formalina (2,5% s.c.) e salina foram injetados na região dorsal da pata posterior direita e esquerda do animal, respectivamente. Logo após, iniciou-se a observação da reação à dor, cronometrando-se o tempo que o animal permaneceu lambendo ou mordendo a pata, durante 30 minutos, considerando esse período como indicativo de dor. Duas fases de sensibilidade são observadas neste modelo: a primeira fase aparece nos primeiros 5 minutos após a injeção de formalina (dor neurogênica); e a segunda fase ocorre entre 15 e 30 minutos após a formalina, representando a resposta tônica à dor, acompanhada de uma resposta inflamatória relacionada à liberação de mediadores químicos.⁴¹ Os animais foram pré-tratados (via intraperitoneal) com os compostos em estudo, 30 minutos antes

da injeção de formalina. O grupo controle recebeu uma solução de NaCl (0,9%, 10 mL/Kg), utilizada para diluir os compostos. Ao final do tempo de observação, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, e as patas posteriores foram cortadas e pesadas em balança analítica para quantificação do edema. A diferença do peso da pata direita (injetada com formalina) e da pata esquerda (injetada com salina) corresponde ao volume do edema formado.

CAPÍTULO 6

6 - CONCLUSÕES

Estudou-se a *Vochysia divergens* Pohl (Vochysiaceae) e a *Ocotea suaveolens* (Meissn.) Hassler (Lauraceae) com o objetivo de averiguar a presença de compostos com atividades biológicas e farmacológicas; determinar sua estrutura; e realizar modificações químicas na estrutura de, pelo menos, um composto ativo obtido, com o objetivo de obter-se dados que levem a compostos mais potentes e seletivos.

As conclusões obtidas no presente estudo são:

a) β -sitosterol foi obtido puro a partir do extrato etanólico da casca do caule de *V. divergens*, em um rendimento de $4,0 \times 10^{-3}$ % em relação ao peso seco do material vegetal;

b) Uma mistura dos esteróides β -sitosterol (72,2%), estigmasterol (14,6%), e campesterol (13,2%) foi obtida a partir do extrato etanólico da casca do caule de *O. suaveolens*, em um rendimento de $2,8 \times 10^{-3}$ % em relação ao peso seco do material vegetal;

c) Ácido betulínico foi obtido puro a partir do extrato etanólico da casca do caule de *V. divergens*, em um rendimento de $2,4 \times 10^{-2}$ % em relação ao peso seco do material vegetal;

d)Ácido serícico (51) foi obtido puro e em mistura com o ácido 24-hidroxitormêntico (55) (na proporção em peso de (51)/ (55) = 2/1) a partir do extrato etanólico da casca do caule de *V. divergens*, sendo que no total o ácido serícico está presente em, pelo menos, 3,3 % , e o ácido 24-hidroxitormêntico em, pelo menos, 0,8 % do peso seco do material vegetal;

e)Ácido 24-hidroxitormêntico foi obtido puro a partir do extrato etanólico da casca do caule de *O. suaveolens*, em um rendimento de $2,5 \times 10^{-2}$ % em relação ao peso seco do material vegetal.

f)Através de reações com o ácido serícico puro, e com misturas de ácido serícico e ácido 24-hidroxitormêntico, foram sintetizados compostos ainda não descritos na literatura, como: os derivados do ácido serícico (59) e do ácido 24-hidroxitormêntico (60) por acetilação dos grupos hidroxila nas posições 2 e 24; o derivado do ácido 24-hidroxitormêntico (63) por oxidação com periodato de sódio; o derivado do ácido 24-hidroxitormêntico (66) por metilação do grupo carboxila; e os derivados do ácido serícico por esterificação com 1-bromo-2-fenil-etanona (67) e com 1-bromo-(4'-bromo)-2-fenil-etanona (68).

g)EFEITOS MICROBIOLÓGICOS: Foi confirmado o efeito antiinfecioso de *Vochysia divergens* Pohl, tendo presente que o ácido serícico é ativo contra as bactérias patogênicas: *Staphylococcus aureus* (causadora de pneumonia, infecções do colo do útero, septicemias, e outras doenças no homem, e apresentando resistência à penicilina); *Shigella flexinere* (causadora de infecções urinárias); *Salmonella typhimurium* (causadora de toxi-infecções alimentares); e contra *Streptococcus sp*

(causadoras de amigdalites, febre reumática, endocardites e outras doenças graves); enquanto a mistura de ácido serícico e de ácido 24-hidroxitormêntico, isolada da mesma planta, também mostrou atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhimurium*.

O ácido serícico foi eficiente, também, para combater os fungos patogênicos *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Penicillium*.

h) EFEITOS FARMACOLÓGICOS: O ácido serícico, o ácido 24-hidroxitormêntico, e os compostos sintetizados a partir deles, foram submetidos a testes de atividade analgésica no modelo de dor causada pela injeção intraplantar de formalina em camundongos, sendo que todos foram eficazes em inibir tanto a dor de origem neurogênica (primeira fase do teste), quanto a dor de origem inflamatória (segunda fase do teste).

Na dosagem de 10 mg/Kg, a aspirina e o acetaminofeno, que são duas drogas tradicionalmente usadas clinicamente, são menos eficazes que o ácido serícico, o ácido 24-hidroxitormêntico, e que as misturas de seus derivados (59 + 60), (62 + 63), e (65 + 66), em inibir a dor de origem neurogênica (primeira fase) e a dor inflamatória (segunda fase) elicitadas pela injeção intraplantar de formalina em camundongos. Entretanto, enquanto a aspirina e o acetaminofeno são efetivos em inibir o edema de pata causado pela formalina, o ácido serícico, o ácido 24-hidroxitormêntico, e todos os seus derivados, não apresentaram este efeito.

A descoberta de que triterpenos pentacíclicos tetra-hidroxilados de origem natural, como o ácido serícico e o ácido 24-hidroxitormêntico, são eficazes em inibir a dor de origem neurogênica é relevante, considerando que há poucas drogas disponíveis no mercado com esta atividade.

Estão sendo realizados alguns estudos no sentido de esclarecer o mecanismo de ação antinociceptiva do ácido serícico, do ácido 24-hidroxitormêntico, e de seus derivados.

A eficácia dos compostos testados em inibir a dor de origem neurogênica foi diferente da correspondente à dor de origem inflamatória, o que indica que os requisitos em termos de propriedades eletrônicas, estéricas e hidrofóbicas são diferentes para a eficiência em inibir as duas fases da dor. Os diferentes compostos deverão ser empregados para efetuar-se estudos de hidrofobicidade calculada teoricamente, e para cálculos de índices de conectividade de algumas partes da molécula, com o objetivo de realizar-se correlações entre atividade e estrutura. Isto permitirá determinar quais são os parâmetros estruturais mais importantes para a atividade, e com isto possibilitarão a síntese de compostos mais potentes e seletivos

As atividades antimicrobianas e analgésicas aqui descritas para o ácido serícico e para o ácido 24-hidroxitormêntico, justificam o uso de *Vochysia divergens* e de *Ocotea suaveolens* na medicina popular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1)GROSS, E.G.; POMILIO, A.B.; SELDES, A.M. & BURTON, G. **Introduccion al estudio de los productos naturales.** Washington, D.C.: Secretaria General de la OEA. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, 1985.
- 2)UGAZ, O.L. **Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales.** 2.ed. Lima: Pontificia Universidade Catolica del Peru - Fondo Editorial, 1994.
- 3)NAKANISHI, K.; GOTO, T.; ITO, S.; NATORI, S.; NOZOE, S. **Natural products chemistry.** London : Academic Press, 1974.
- 4)MANN, J. **Secondary metabolism.** Oxford : Clarendon Press, 1980.
- 5)ROBINSON, T. **The organic constituents of higher plants.**Their chemistry and interrelationships. 4.ed. North Amherst : Cordus Press, 1980.
- 6)ROWE, J.W. **Natural products of woody plants.** Berlin: Springer-Verlag, 1989.
- 7)HARBORNE, J.B. **Phytochemical methods.** A guide to modern techniques of plant analysis.2.ed. London : Chapman and Hall, 1984.
- 8)HARBORNE, J.B. **Introduction to ecological biochemistry.** 3.ed. London: Academic Press, 1988.
- 9)ALMEIDA, F.S. Saiba o que é alelopatia. **Lavoura Arrozeira.** V. 40, n. 375, p. 13-23, 1987.
- 10)MEDEIROS, A.R.M. Alelopatia: importância e suas aplicações. **Hortisul.** V. 1, n. 3, p. 27-32, 1990.

- 11) ROSENTHAL, G.A. ; JANZEN, D.H. **Herbivores**. Their interaction with secondary plant metabolites. London: Academic Press, 1979.
- 12) MEYER, B.; ANDERSON, D.; BÖHNING, R.; FRATIENNE, D. **Introdução à fisiologia vegetal**. 2.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1983.
- 13) FARNSWORTH, N.R.; MORRIS, R.W. Higher plants - the sleeping giant of drug development. **Am. J. Pharm. Educ.** N. 148, p. 46-52, 1976.
- 14) BAJAJ, Y.P.S. **Biotechnology in agriculture and forestry**. 4.ed. Berlin: Springer-Verlag, 1988.
- 15) SALERNI, O.L. **Natural and synthetic organic medicinal compounds**. Saint Louis : The C.V. Mosby Co., 1976.
- 16) MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: EUFC, 1988.
- 17) HAMBURGER, M. ; HOSTETTMANN, K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry**. V. 30, n. 12, p. 3864-3874, 1991.
- 18) BRAZ FILHO, R. Química de produtos naturais: importância, interdisciplinaridade, dificuldades e perspectivas. A peregrinação de um pacatubano. **Química Nova**. V. 17, n. 5, p. 405-445, 1994.
- 19) VALETTE, C. **Riquezas medicinais da flora brasileira**. São Paulo: Editora Cupolo, 1940.
- 20) CORREA, M.P. **Diccionario das plantas úteis do Brasil, e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: MEC, 1975.

- 21) LAINETTI, R.; BRITO, N.R.S. **A saúde pelas plantas e ervas do mundo inteiro**. Rio de Janeiro: Ed. Tecnoprint, 1980
- 22) VAN DEN BERG, M.E. **Plantas medicinais na Amazônia**. Contribuição ao seu conhecimento sistemático. Belém: CNPq/MPEG, 1982.
- 23) CAMARGO, M.T.L.A. **Medicina popular**. São Paulo: Ed. Almed, 1985.
- 24) FERNANDES, A. **Noções de toxicologia e plantas tóxicas**. 2.ed. Fortaleza: BNB, 1985.
- 25) POTT, A. ; POTT, V.J. **Plantas comestíveis e medicinais da Nhecolândia, Pantanal**. Corumbá: EMBRAPA /CPAP, 1986.
- 26) LOPES, J. **Erva fé**. Anápolis: Editora Walt Disney, 1988.
- 27) GRANDI, T.S.M.; TRINDADE, J.A.; PINTO, M.J.F.; FERREIRA, L.L. ; CATELLA, A.C. **Plantas medicinais de Minas Gerais, Brasil**. *Acta Bot. Bras.* V. 3, n. 2 (supl), p. 184-221, 1989.
- 28) MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais**. Guia de seleção e emprego de plantas medicinais do nordeste do Brasil. Fortaleza: IOCE, 1989.
- 29) SALLES, A.H.; REIS, G.M.C.L.; ZURLO, M.A. **Horto medicinal do cerrado**. Brasília: Jardim Botânico de Brasília/SBB, 1989.
- 30) OLIVEIRA, M.; ADEODATO, S.; MODERNELL, R. **O Brasil descobre as plantas**. *Globo Ciência*. V. 3, n. 8, p. 32-39, 1992.
- 31) GORSKI, F.; CORREA, C.R.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Potent antinociceptive activity of a hydroalcoholic extract of *Phyllanthus corcovadensis***. *J. Pharm. Pharmacol.* V. 45, p. 1046-1049, 1993.

- 32) SANTOS, A.R.S.; CECHINEL FILHO, V.; NIERO, R.; VIANA, A.M.; MORENO, F.N.; CAMPOS, M.M.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Analgesic effects of callus culture extracts from selected species of *Phyllanthus* in mice. **J. Pharm. Pharmacol.** V. 46, p. 755-759, 1994.
- 33) SANTOS, A.R.S.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Further studies on the antinociceptive action of the hydroalcoholic extract from plants of the genus *Phyllanthus*. **J. Pharm. Pharmacol.** V. 47, p. 66-71, 1995.
- 34) SANTOS, A.R.S.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Analysis of the mechanisms underlying the antinociceptive effect of the extracts of plants of the genus *Phyllanthus*. **General Pharmacol.** (aceito)
- 35) CRUZ, A.B.; MORETTO, E.; CECHINEL FILHO, V.; NIERO, R.; MONTANARI, J.L.; YUNES, R.A. Antibacterial activity of *Phyllanthus urinaria*. **Fitoterapia.** V. 65, n. 5, p. 461-462, 1994.
- 36) CALIXTO, J.B.; YUNES, R.A.; NETO, A.S.O.; VALLE, R.M.R.; RAE, G.A. Smooth muscle antiespasmotic effects of an alkaloid extracted from *Phyllanthus sellowianus* - a comparative study with papaverine. **Braz. J. Med. Biol. Res.** V. 17, p. 317-321, 1984.
- 37) TEMPESTA, M.S.; CORLEY, D.C.; BEUTLER, J.A.; METRAL, C.J.; YUNES, R.A.; GIACOMOZZI, C.A.; CALIXTO, J.B. Phyllanthimide, a new alkaloid from *Phyllanthus sellowianus*. **J. Nat. Prod.** V. 51, p. 617-618, 1988.

- 38) SANTOS, A.R.S.; NIERO, R.; CECHINEL FILHO, V.; PIZZOLATTI, M.G.; YUNES, R.A.; MONACHE, F.D.; CALIXTO, J.B. Antinociceptive properties of steroids isolated from *Phyllanthus corcovadensis*. **Planta Med.** (aceito)
- 39) MITSCHEN, L.A.; LEU, R.P.; BATHOLA, M.S.; WU, W.N.; BEAL, J.L.; WHITE, R. Antimicrobial agents from higher plants. 1: Introduction to rationale on methodology. **Lloydia**. V. 35, p. 157-166, 1972.
- 40) MC GUINNESS, M.R. **Laboratory handbook of medicinal mycology**. p. 411-446. New York: Academic Press, 1980.
- 41) TJOLSEN, A.; BERGE, O.G.; HUNSKAAR, S.; ROSLAND, J.H.; HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**. V. 51, p. 5-17, 1992.
- 42) HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**. V. 30, p. 103-114, 1987.
- 43) BARROSO, G.M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. V. 2. Viçosa: UFV/ Imprensa Univ., 1991.
- 44) CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981.
- 45) ZAMUR, J.; BERTUZZI, H.J.; BRAZZACH, M.L. Goma de *Vochysia bifalcata* W. como aglutinante em comprimidos. I. Princípio ativo solúvel (dipirona). **Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo**. V. 17, n. 1, p. 74-85, 1981.

- 46)CORREA, D.B.; BIRCHAL, E.; AGUILAR, J.E.V.; GOTTLIEB, O.R.
Ellagic acids from Vochysiaceae. **Phytochemistry**. V.14, p.
1138-1139, 1975.
- 47)BUDAVARIS, S.; O'NEIL, M.J.; SMITH, A.; HECKELMAN, P.E. **The
Merck Index**. 11.ed. Rahway: Merck & Co., Inc., 1989.
- 48)LOPES, J.L.C.; LOPES, J.N.C.; LEITÃO FILHO, H.F. 5-deoxyflavones
from the Vochysiaceae. **Phytochemistry**.V. 18, p. 362, 1979.
- 49)BAUDOUIN, G.; TILLEQUIN, F.; KOCH, M. Isolement, structure et
synthèse de la vochysine, pyrrolidinoflavanne de *Vochysia
guianensis*. **J. Nat. Prod.** V. 46, n. 5, p. 681-687, 1983.
- 50)ARAÚJO, F.W.L.; SOUZA, M.P. Vismiaefolic acid, a new triterpene
from *Vochysia vismiaefolia*. **J. Nat. Prod.** V. 53, n. 6, p. 1436-
1440, 1990.
- 51)MILITÃO, J.S.L.T.; MORAIS, S.M.; MATOS, F.J.A.; BRAZ FILHO,
R. Estudo químico de *Vochysia pyramidalis*. **Anais da 17ª
Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. PN 44.
Caxambú, 1994.
- 52)TEIXEIRA, B. C. Lauráceas do gênero *Ocotea*, do Estado de São Paulo.
Rodriguésia. V. 32, n. 52, p. 120-121, 1980.
- 53)GOTTLIEB, O.R.; MAGALHÃES, M.T. Isolation of piperonyl acid
from *Ocotea pretiosa*. **Nature**. V. 182, p. 742-743, 1958.
- 54)GOODWIN, S.; SMITH, A.F.; HORNING, E.C. Leucoxine and
leucoxylinone. **Chem. and Ind.** p. 691-692, 1960.
- 55)GRUNDON, M.F.; MC GARVEY, J.E.B. Alkaloids from greenheart. I.
Isolation of alkaloids, and the structure of sepeerine. **J. Chem.
Soc.** p. 2739-2745, 1960.

- 56)GRUNDON, M.F.; MC GARVEY, J.E.B. Alkaloids from greenheart. II. Sepeerine. **J. Chem. Soc.** p. 2077-2078, 1962.
- 57)GILBERT, B.; GILBERT, M.E.A.; OLIVEIRA, M.M.; RIBEIRO, O.; WENKERT, E.; WICKBERG, B.; HOLLSTEIN, U.; RAPAPORT, H. The aporphine and isoquinoline dienone alkaloids of *Ocotea glaziovii*. **J. Am. Chem. Soc.** V. 86, n. 4, p. 694-696, 1964.
- 58)HEARST, P.Greenheart alkaloids. II. Isolation and characterization of seven alkaloids. **J. Org. Chem.** V. 29, n. 2, p. 466-470, 1964.
- 59)GRUNDON, M.F.; MC GARVEY, J.E.B. Alkaloids from greenheart. III. The structure of rodiasine. Mass spectra of bisbenzylisoquinoline alkaloids. **J. Chem. Soc. C.** p. 1082-1085, 1966.
- 60)CHAN, K.C.; EVANS, M.T.A.; HASSALL, C.H.; SANGSTER, A.M.W. Biosynthesis of phenols. XIII. Structural relationships of alkaloids of Denerara greenheart. **J. Chem. Soc. C.** V. 23, p. 2479-2488, 1967.
- 61)CAVA, M.P.; WATANABE, Y.; BESSHO, K.; MITCHELL, M.J.; ROCHA, A.I. *Ocotea* alkaloids. The characterization and structures of four new aporphine bases. **Tetrahedron Lett.** N. 20, p. 2437-2442, 1968.
- 62)CHARUBALA, R.; PAI, B.R.; GOVINDACHARI, T.R.; VISWANATHAN, N. Predicentrin synthesis. **Chem. Ber.**V. 101, n. 8, p. 2665-2668, 1968.
- 63)HEARST, P.J. Greenheart alkaloids. III. Sepeerine (Ocoteamine) and demerarine. **J. Org. Chem.**V. 33, n. 3, p. 1229-1231, 1968.

- 64)KOSTERMANS, A.J.; PINKLEY, H.V.; STERN, W.L. New amazonian arrow poison; *Ocotea venenosa*. **Bot. Mus. Leafl. Harvard Univ.** V. 22, n. 7, p. 241-252, 1969.
- 65)SIPHAR S.A. Antiasthenic composition from an alkaloid extracted from a plant of the *Ocotea* family. **Fr. M.** 6737 (Cl. A 61 K, D07g), 07 Apr. 1969, Belg. Appl. 25 nov. 1966.
- 66)SIPHAR S.A. Antidepressant glaziovine from *Ocotea glaziovii*. **Brit.** 1, 167, 929 (Cl. C 07g), 22 Oct. 1969, Belg. Appl. 25 Oct. 1966.
- 67)CAVA, M.P.; VENKATESWARLU, A. Dehydroocopodine, dicentrinone and other alkaloids from *Ocotea macropoda* and *Hernandia jamaicensis*. **Tetrahedron.** V. 27, n. 13, p. 2639-2643, 1969.
- 68)SAENZ, R.J.A.; NASSAR, M.C. Phytochemical screening of Costa Rican plants. IV. Alkaloid analysis. **Rev. Biol. Trop.** V. 18, n. 12, p. 129-138, 1970.
- 69)BARALLE, F.; SCHVARZBERG, N.; VERNENGO, M.; COMIN, J. Dehydroocoteine and didehydroocoteine from *Ocotea puberula*. **Experientia.** V. 28, n. 8, p. 875-876, 1972.
- 70)CAVA, M.P.; BEHROROUZ, M.; MITCHELL, M.J. *Ocotea* alkaloids. Variabiline, a novel aminoaporphine. **Tetrahedron Lett.** N. 46, p. 4647-4649, 1972.
- 71)VANKATESWARLU, A. Alkaloids of *Ocotea macropoda*. Alkaloids of *Hernandia jamaicensis*. **Diss. Abstr. Int. B.** V. 32, n. 11, p. 6314, 1972.

- 72)BARALLE, F.; SCHVARZBERZ, N.; VERNENGO, M.J. Thaliminine from *Ocotea puberula*. **Phytochemistry**. V. 12, n. 4, p. 948-949, 1973.
- 73)FERRARI, G.; CASAGRANDE, C. Extraction of the *Ocotea* alkaloid glaziovine. US. 3, 711, 485 (Cl. 260-289, C 07d), 16 Jan. 1973, Appl. 676, 054, 18 Oct. 1967.
- 74)CASAGRANDE, C.; FERRARI, G. Proaporphine and aporphine alkaloids. IV. Minor alkaloids of *Ocotea glaziovii*. **Farmaco, Ed. Sci.** V. 30, n. 6, p. 479-490, 1975.
- 75)EDIE, D.L. Alkaloids of *Ocotea pulchella*. Oxidation of aporphine alkaloids. **Diss. Abstr. Int. B.** V. 35, n.8, p. 3827, 1975.
- 76)FERRARI, G.; CASAGRANDE, C. *Ocotea* alkaloid for relief of anxiety. US. 3, 900, 564. (Cl. 424-258; A61K), 19 Aug. 1975, Appl. 676, 054, 18 Oct. 1967. Divisão de US 3, 711, 485.
- 77)FRANCA, N.C.; GIESBRECHT, A.M.; GOTTLIEB, O.R.; MAGALHÃES, A.F.; MAGALHÃES, E.G.; MAIA, J.G.S. Benzylisoquinolines from *Ocotea* species. **Phytochemistry** V. 14, n. 7, p. 1671-1672, 1975.
- 78)VECCHIETTI, V.; CASAGRANDE, C.; FERRARI, G. Ocobotrine and 14-episinomenine. New trans-morphinane alkaloids of *Ocotea brachybotra*. **Tetrahedron Lett.** N. 19, p. 1631-1634, 1976.
- 79)AHMAD, R.; CAVA, M.P. Leucoxytonine and ocoxytonine - hexaoxygenated aporphines from *Ocotea leucoxyton*. **Heterocycles** V. 7, n. 2, p. 927-931, 1977.

- 80) VECCHIETTI, V.; CASAGRANDE, C.; FERRARI, G. Alkaloids of *Ocotea brachybotra*. **Farmaco, Ed. Sci.** V. 32, n. 11, p. 767-779, 1977.
- 81) VECCHIETTI, V.; CASAGRANDE, C.; FERRARI, G.; RICCA, G.S. New aporphine alkaloids of *Ocotea minarum*. **Farmaco, Ed. Sci.** V. 34, n. 10, p. 829-840, 1979.
- 82) SOARES, L.E.C. Hydroxytobain and reticuline from *Ocotea caparrapi*. **Rev. Latinoam. Quim.** V. 11, n. 3-4, p. 110-111, 1980.
- 83) NARANJO, P.; KIJJOA, A.; GIESBRECHT, A.M.; GOTTLIEB, O.R. *Ocotea quixos*, american cinnamon. **J. Ethnopharm.** V. 4, n. 2, p. 233-236, 1981.
- 84) VECCHIETTI, V.; CASAGRANDE, C.; FERRARI, G.; DANIELI, B.; PALMISANO, G. Alkaloids of *Ocotea acutangula*. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.** V. 2, p. 578-581, 1981.
- 85) ROENSCH, H.; PREISS, A.; SCHREIBER, K.; CORDOBA, H.F. Structure elucidation and carbon-13 NMR of the new aporphine alkaloid 3- hydroxyglaucine. **Liebigs Ann. Chem.** V. 5, p. 744-752, 1983.
- 86) VILEGAS, J. H. Y.; GOTTLIEB, O.R.; KAPLAN, M.A.C.; GOTTLIEB, H.E. Aporphine alkaloids from *Ocotea caesia*. **Phytochemistry** V. 28, n. 12, p. 3577-3578, 1989.
- 87) AIBA, C.J.; BRAZ FILHO, R.; GOTTLIEB, O.R. Porosin: a neolignan from *Ocotea porosa*. **Phytochemistry** V. 12, n. 2, p. 413-416, 1973.

- 88) AHMED, R.; SCHREIBER, F.G.; STEVENSON, R. ; WILLIAMS, J.R.; YEO, H.M. Oxidative coupling of bromo- and iodo-ferulic acid derivatives. Synthesis of veraguensin. **Tetrahedron** V 32, n. 12, p. 1339-1344, 1976.
- 89) KUPCHAN, S.M.; STEVENS, K.L.; ROHLFING, E.A.; SICKLES, B.R.; SNEDEN, A.T.; MILLER, R.W.; BRYAN, R.F. New cytotoxic neolignans from *Aniba megaphylla* Mez. **J. Org. Chem.** V. 43, n. 4, p. 586-590, 1978.
- 90) GOMES, M.C.C.P.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O.R.; MARTINEZ, J.C.V.; GOTTLIEB, H.E. Bicyclo (3.2.1) octane neolignans from an *Ocotea* species. **Phytochemistry**. V. 22, n. 1, p. 267-273, 1983.
- 91) HARAGUCHI, M.; MOTIDOME, M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O.R. Neolignans from *Ocotea catharinensis*. **Phytochemistry** V 22, n. 2, p. 561-563, 1983.
- 92) DIAS, D.A.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O.R. Further neolignans from *Ocotea porosa*. **Phytochemistry** V. 25, n. 11, p. 2613-2616, 1986.
- 93) FELÍCIO, J.D.; MOTIDOME, M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O.R. Further neolignans from *Ocotea aciphylla*. **Phytochemistry** V. 25, n. 7, p. 1707-1710, 1986.
- 94) DODSON, C.D.; STERMITZ, F.R.; CASTRO, D.; JANZEN, D.H. Neolignans from fruits of *Ocotea veraguensis*. **Phytochemistry** V. 26, n. 7, p. 2037-2040, 1987.

- 95) KHAN, M.R.; GRAY, A.I.; WATERMAN, P.G. Neolignans from stem bark of *Ocotea veraguensis*. *Phytochemistry* V. 26, n. 4, p. 1155-1158, 1987.
- 96) CARVALHO, M.G.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O.R.; GOTTLIEB, H.E. Bicyclooctanoid, carinatone and megaphone type neolignans from *Ocotea porosa*. *Phytochemistry* V. 27, n. 7, p. 2319-2323, 1988.
- 97) SILVA, W.D.; BRAZ FILHO, R.; GOTTLIEB, O.R. Bicyclooctanoid neolignans from *Ocotea costulatum*. *Phytochemistry* V. 28, n. 2, p. 661-662, 1989.
- 98) ISHIGE, M.; MITIDOME, M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O.R. Neolignans from *Ocotea catharinensis*. *Phytochemistry* V. 30, n. 12, p. 4121-4128, 1991.
- 99) MARQUES, M.O.M.; GOMES, M.C.C.P.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O.R. Bicyclo (3.2.1) octanoid neolignans from *Ocotea porosa*. *Phytochemistry* V. 31, n. 1, p. 275-277, 1992.
- 100) ANDREI, C.C.; BRAZ FILHO, R.; GOTTLIEB, O.R. Allylphenols from *Ocotea cymbarum*. *Phytochemistry* V. 27, n. 12, p. 3992-3993, 1988.

- 101)ALVARENGA, M.A.; BRAZ FILHO, R.; GOTTLIEB, O.R.; DIAS, J.P.P.; MAGALHÃES, A.F.; MAGALHÃES, E.G.; MAGALHÃES, G.C.; MAGALHÃES, M.T.; MAIA, J.G.S.; MARQUES, R.; MARSAIOLI, A.J.; MESQUITA, A.L.; MORAES, A.A.; OLIVEIRA, A.B.; OLIVEIRA, G.G.; PEDREIRA, G.; PEREIRA, S.A.; PINHO, S.L.V.; SANT'ANA, A.E.G.; SANTOS, C.C. Dihydroisocoumarins and phtalide from wood samples infested by fungi. **Phytochemistry** V. 17, n. 3, p. 511-516, 1978.
- 102)MARQUES, M.O.M.; YOSHIDA, M. Estrutura da propacina. **Química Nova**. V. 13, n. 4, p. 245-246, 1990.
- 103)CASTILHO, J.B.; BROOKS, C.J.W.; CAMPBELL, M.M. Caparrapidiol and caparrapitriol. Two new acyclic sesquiterpene alcohols. **Tetrahedron Lett.** N. 31, p. 3731-3736, 1955.
- 104)MORS, W.B.; MAGALHÃES, M.T.; GOTTLIEB, O.R. Physiological varieties of *Ocotea pretiosa*. **Perfumery Ess. Oil Rec.** V. 50, p. 26-27, 1959.
- 105)GOTTLIEB, O.R.; MAGALHÃES, M.T. Physiological varieties of *Ocotea pretiosa*. II. **Bot. Inst. Quim. Agr.** V. 60, p. 7-14, 1960.
- 106)GOTTLIEB, O.R.; FINEBERG, M.; MAGALHÃES, M.T. Physiological varieties of *Ocotea pretiosa*. III. Presence of camphor and methyl eugenol in brazilian sassafras oil. **Perfumery Ess. Oil Rec.** V. 53, p. 219-221, 1962.

- 107)GOTTLIEB, O.R.; FINEBERG, M.; MAGALHÃES, M.T.
Physiological varieties of *Ocotea pretiosa*. IV. Additional data on specimens containing nitrophenylethane. **Perfumery Ess. Oil Rec.** V. 53, p. 299-301, 1962.
- 108)BROOKS, C.J.W.; CAMPBELL, M.M. Caparrapi oxide, a sesquiterpenoid from caparrapi oil. **Phytochemistry** V. 8, n. 1, p. 215-218, 1969.
- 109)WEYERSTAHL, P.; ZUMMACK, W. Synthesis of caparrapidiol. **Chem. Ber.** V. 108, n. 1, p. 377-378, 1978.
- 110)DIAZ, A.M.P.; GOTTLIEB, H.E.; GOTTLIEB, O.R.
Dehydrodieugenols from *Ocotea cymbarum*. **Phytochemistry** V. 19, n. 4, p. 681-682, 1980.
- 111)GOTTLIEB, O.R.; MIDORI, K.; MAGALHÃES, M.T.; MAIA, J.G.S.; MENDES, P.H.; ROCHA, A.I.; SILVA, M.L.; WILBERG, V.C.
Essential oils from the Amazon. VII. **Acta Amazonica**. V. 11, n. 1, p. 143-148, 1981.
- 112)ROQUE, N.F.; FERREIRA, Z.S.; GOTTLIEB, O.R.; STEVENS, R.L.; WENKERT, E. The chemistry of brazilian Lauraceae. L. The structure of ocotealactol, a new eudesmamolide. **Rev. Latinoam. Quim.** V. 9, n. 1, p. 25-27, 1978.
- 113)PRIDHAM, J.B. **Terpenoids in plants**. London: Academic Press, 1967.

- 114) YASUKAWA, K.; TAKIDO, M.; MATSUMOTO, T.; TAKEUCHI, M.; NAKAGAWA, S. Sterol and triterpene derivatives from plants inhibit the effects of a tumor promoter, and sitosterol and betulinic acid inhibit tumor formation in mouse skin two-stage carcinogenesis. *Oncology*. V. 48, n. 1, p. 72-76, 1991.
- 115) SANTOS, A.R.S.; NIERO, R.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A.; DELLE MONACHE, S.; CALIXTO, J.B. Atividade analgésica de frações e compostos obtidos de *Phyllanthus corcovadensis*. *Anais da 8ª Reunião Anual da FESBE*. 6.32. Caxambu, 1993.
- 116) SANTOS, A.R.S.; DIAS, M.A.; NIERO, R.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Estudos farmacológicos pré-clínicos e químicos de plantas do gênero *Phyllanthus*. *Anais do 1º Congresso Brasileiro de Medicina e Terapias Naturais*. Brasília, 1994.
- 117) WEAST, R.C.E.; ASTLE, M.J. *CRC handbook of data on organic compounds*. V. 2. Florida: CRC Press, Inc., 1987.
- 118) POUCHERT, C.J. *The aldrich library of infrared spectra*. 3.ed. Wisconsin: Aldrich Chemical Co., 1981.
- 119) WRIGHT, J.L.C.; MC INNES, A.G.; SHIMIZU, S.; SMITH, D.G.; WALTER, J.A.; IDLER, D.; KHALIL, W. Identification of C-24 alkyl epimers of marine sterols by ^{13}C - nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Can. J. Chem.* V. 56, p. 1898-1903, 1978.

- 120) SICA, D.; PICCIALI, V.; MASULLO, A. Configuration at C-24 of sterols from the marine phanerogams *Posidonia oceanica* and *Cymodocea nodosa*. **Phytochemistry** V. 23, n. 11, p. 2609-2611, 1984.
- 121) FURUYA, T.; ORIHARA, Y.; HAYASHI, C. Triterpenoids from *Eucalyptus perriniana* cultured cells. **Phytochemistry** V. 26, n. 3, p. 715-719, 1987.
- 122) CHAURASIA, N.; WICHTL, M. Sterols and steryl glycosides from *Urtica dioica*. **J. Nat. Prod.** V. 50, n. 5, p. 881-885, 1987.
- 123) SHETH, K.; JOLAD, S.; WIEDHPF, R.; COLE, J.R. Tumor inhibitory agent from *Hyptis emoryi*. **J. Pharm. Sci.** V. 61, n. 11, p. 1819, 1972.
- 124) MILES, D.H.; KOKPOL, U.; ZALKOW, L.H.; STEINDEL, S.J.; NABORS, J.B. Tumor inhibitors. I. Antitumor activity of *Larracenia flava*. **J. Pharm. Sci.** V. 63, n. 4, p. 613-615, 1974.
- 125) TOMAS-BARBERAN, F.A.; HOSTETTMANN, K. A cytotoxic triterpenoid and flavonoids from *Crossopteryx febrifuga*. **Planta Med.** V. 54, n. 3, p. 266-267, 1988.
- 126) CHEN, R.; FANG, S.; XU, C.; WEI, K. Triterpenoids of *Bischofia javanica*. II. **Zhongcaoyao.** V. 20, n. 6, p. 247-249, 1989.
- 127) OTSUKA, H.; FUJIOKA, S.; KOMIYA, T.; GOTO, M.; HIRAMATSU, Y.; FUJIMURA, H. Studies on antiinflammatory agents. V. A new antiinflammatory constituent of *Pyracantha crenulata* Roem. **Chem. Pharm. Bull.** V. 29, n. 11, p. 3099-3104, 1981.

- 128) RYU, S.Y.; LEE, C.K.; LEE, C.O.; KIM, H.S.; ZEE, O.P. Antiviral triterpenes from *Prunella vulgaris*. **Arch. Pharmacol. Res.** V. 15, n. 3, p. 242-245, 1992.
- 129) JUNGES, M.J.; FERNANDES, J.B.; RODRIGUES FILHO, E.; VIEIRA, T.C.; SILVA, M.S. DAS G.S. **Anais do 13º Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil.** P. 135. Fortaleza, 1994.
- 130) BUCKINGHAM, J.; DONAGHY, S.M. **Dictionary of organic compounds.** 5.ed. B-0952. Pergamon Press: New York, 1982.
- 131) SHOLICHIN, M.; YAMASAKI, K.; KASAI, R.; TANAKA, O. ¹³C nuclear magnetic resonance of lupane-type triterpenes, lupeol, betulin and betulinic acid. **Chem. Pharm. Bull.** V. 28, n. 3, p. 1006-1008, 1980.
- 132) KOJIMA, H.; TOMINAGA, H.; SATO, S.; OGURA, H. Pentacyclic triterpenoids from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry** V. 26, n. 4, p. 1107-1111, 1987.
- 133) BOMBARDELLI, E.; BONATI, A.; GABETTA, B.; MUSTICH, G. Triterpenoids of *Terminalia sericea*. **Phytochemistry** V. 13, n. 10, p. 2559-2562, 1974.
- 134) IWU, M.M.; ANYANWU, B.N. Antiinflammatory and antiarthritic properties of *Terminalia ivorensis*. **Fitoterapia** V. 53, n. 1-2, p. 302-304, 1982.
- 135) ROMUSSI, G.; PARODI, B.; FALSONE, G. Minor triterpenoids from *Quercus ilex L.*: seric acid and sericoside. Part 7: Constituents of Cupuliferae. **Pharmazie.** V. 38, n. 11, p. 787-788, 1983.
- 136) MUSTICH, G. Terpenes. **Ger. offen.** 2, 503, 135 (Cl. C07C, A61K), 31 Jul 1975, Brit. Appl. 4042/74, 29 Jan 1974; 35 pp.

- 137) BUDZIKIEWICZ, H.; WILSON, J.M.; DJERASSI, C. Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. XXXII. Pentacyclic triterpenes. *J. Am. Chem. Soc.* V. 85, p. 3688-3699, 1963.
- 138) HOUGHTON, P.J.; LIAN, L.M. Triterpenoids from *Desfontainia spinosa*. *Phytochemistry* V. 25, n. 8, p. 1939-1944, 1986.
- 139) YAMAGISHI, T.; ZHANG, D.C.; CHANG, J.J.; MC PHAIL, D.R.; MC PHAIL, A.T.; LEE, K.H. The cytotoxic principles of *Hyptis capitata* and the structure of the new triterpenes hyptatic acid A and B. *Phytochemistry* V. 27, n. 10, p. 3213-3216, 1988.
- 140) ZHOU, X.H.; KASAI, R.; OHTANI, K.; TANAKA, O.; NIE, R.L.; YANG, C.R.; ZHOU, R.; YAMAZAKI, K. Oleanane and ursane glucosides from *Rubus* species. *Phytochemistry* V. 31, n. 10, p. 3642-3644, 1992.
- 141) HIGUCHI, R.; KAWASAKI, T.; BISWAS, M.; PANDEY, V.; DASGUPTA, B. Triterpenoid saponins from the stem bark of *Symplocos spicata*. *Phytochemistry* V. 21, n. 4, p. 907-910, 1982.
- 142) NANDY, A.K.; PODDER, G.; SAHU, N.P.; MAHATO, S.B. Triterpenoids and their glucosides from *Terminalia bellerica*. *Phytochemistry* V. 28, n. 10, p. 2769-2772, 1989.
- 143) SINGH, B.; RASTOGI, R.P. A reinvestigation of the triterpenes of *Centella asiatica*. *Phytochemistry* V. 8, n. 4, p. 917-921, 1969.
- 144) SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRILL, T.C. *Spectrometric identification of organic compounds*. 4.ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.

- 145)RAHMAN, A.U. **Nuclear magnetic resonance**. Basic principles. New York: Springer-Verlag, 1986.
- 146)BEISTEL, D.W.; CHAPPELL, G.; EDWARDS, W.D. Proton shift additivity and substituent interaction parameters. **J. Am. Chem. Soc.** V. 99, n. 5, p. 1309-1311, 1977.
- 147)GOETHALS, G.; UZAN, R.; NADJO, L.; DOUCET, J.P. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of ortho substituted acetophenones: enhanced substituent effects on the carbonyl group. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.** N. 8, p. 885-888, 1982.
- 148)GUILLAUME, F.; SEGUIN, J.P.; NADJO, L.; UZAN, R.; MEMBREY, F.; DOUCET, J.P. Substituent-substituent chemical shifts of phenols and phenoxides. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.** N. 7, p. 1139-1144, 1984.
- 149)ANDRIOLE, V.T. **Infecções do trato urinário**. Rio de Janeiro: Interlivros, 1987.
- 150)DAVIS, B.D.; DULBECCO, R.; EISEN, H.N.; GINSBERG, H.S.; WOOD JR., W.B. **Microbiologia**. Infecções bacterianas e micóticas. 3.ed.. São Paulo: EDART/MEC, 1973.
- 151)BIER, O. **Bacteriologia e imunologia**. São Paulo: Edgard Blucher, 1966.
- 152)RATTO, O.R. Como eu trato pneumonias. **Atualidades médicas.** V. 7, p. 9-12, 1972.
- 153)ALCÂNTARA, P.; MARCONDES, E. **Pediatria básica**. São Paulo: EDART/MEC, 1970.

- 154)LIVOLSI, V.A.; BROOKS, J.S.J.; MERINO, M.J.; SAUL, S.H.; TOMASZEWSKI, J.E. **Pathology**. 2.ed. Pennsylvania: John Wiley & Sons, 1989.
- 155)HESS, S.C.; BRUM, R.L.; HONDA, N.K.; CRUZ, A.B.; MORETTO, E.; CRUZ, R.B.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A. Estudos químicos e biológicos com *Vochysia divergens* (Vochysiaceae). **Anais do 13º Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**. p. 113. Fortaleza, 1994.
- 156)HESS, S.C.; BRUM, R.L.; HONDA, N.K.; CRUZ, A.B.; MORETTO, E.; CRUZ, R.B.; MESSANA, I.; FERRARI, F.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A. Antibacterial activity and phytochemical analysis of *Vochysia divergens* (Vochysiaceae). **J. Ethnoph.** V. 47, p. 97-100, 1995.
- 157)LACAZ, C.S. **Compêndio de micologia médica**. São Paulo: Domus, 1967.
- 158)HESS, S.C.; BRUM, R.L.; HONDA, N.K.; LIMA, E.O.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A. "In Vitro" antifungal activity of sericic acid isolated from *Vochysia divergens* Pohl (Vochysiaceae). **Fitoterapia** (aceito para publicação em fevereiro/95).
- 159)LIPPI, J. Possible mechanisms of morphine analgesia. **Clin. Neuropharmacol.** V. 14, p. 131-147, 1991.
- 160)CORREA, C.R.; CALIXTO, J.B. Evidence for participation of B1 and B2 kinin receptors in formalin-induced nociceptive response in the mouse. **Brit. J. Pharmacol.** V. 110, p. 193-198, 1993.

- 161) HESS, S.C.; BRUM, R.L.; HONDA, N.K.; SANTOS, A.R.S.; CALIXTO, J.B.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A. Estudos químicos e farmacológicos de *Vochysia divergens* Pohl (Vochysiaceae). Efeitos analgésicos do ácido serícico. **Anais da 18ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. PN 125. Caxambu, 1995.
- 162) GROVE, D.C.; RANDALL, W.S. **Assay methods of antibiotics**. New York: Medical encyclopedia, 1985.