



PgPNSB

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS
BIOATIVOS**

CONSTITUINTES QUÍMICOS DE

***Paliavana tenuiflora* Mansf. (GESNERIACEAE)**

KAIO ARAGÃO SALES

JOÃO PESSOA - PB

2015

KAIO ARAGÃO SALES

CONSTITUINTES QUÍMICOS DE

***Paliavana tenuiflora* Mansf. (GESNERIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de concentração: Farmacoquímica.

ORIENTADOR- Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva

CO-ORIENTADOR- Prof. Dr. Josean Fechine Tavares

JOÃO PESSOA - PB

2015

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S163c Sales, Kaio Aragao.

Constituintes Químicos de *Paliavana tenuiflora* Mansf.
(Gesneriaceae) / Kaio Aragao Sales. - João Pessoa,
2015.

105 f. : il.

Orientação: Marcelo Sobral da Silva.

Coorientação: Josean Fachine Tavares.

Dissertação (Mestrado) - UFPE/CCS.

1. Gesneriaceae. 2. *Paliavana tenuiflora*. 3. Quinonas.
4. Terpenoides. I. Silva, Marcelo Sobral da. II.
Tavares, Josean Fachine. III. Título.

UFPE/BC

KAIO ARAGÃO SALES

CONSTITUINTES QUÍMICOS DE

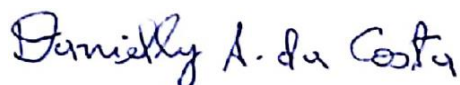
***Paliavana tenuiflora* Mansf. (GESNERIACEAE)**

Dissertação aprovada em 30 / 11 / 2015

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva
(Universidade Federal da Paraíba)
Orientador



Profª. Drª. Danielly Albuquerque da Costa
(Universidade Federal de Campina Grande)
Examinadora Externa



Prof. Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha
(Universidade Federal da Paraíba)
Examinador Interno

JOÃO PESSOA – PB

2015

DEDICATÓRIA

À minha mãe, Iracy do Aragão Araújo, e ao meu pai, Mário José Sales Gomes, por terem, eles, verdadeiramente se dedicado para minha formação pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Iracy do Aragão Araújo, por me criar sempre com tanto amor e carinho, não medindo esforços para isso. Por me aconselhar e me guiar desde o início da minha vida, por sempre acreditar em mim e por investir suas energias para minha formação escolar.

Ao meu pai, Mário José Sales Gomes, por ser fundamental na minha formação como pessoa, ensinando alguns dos princípios que regem a minha vida, pelos conselhos, sermões e pelo apoio e incentivo nos momentos de dúvida.

À minha namorada, Paloma Freire de Queiroz e Silva, pelo apoio e ajuda durante essa jornada, abdicando de seu tempo em um momento precioso para me socorrer, pela paciência em me aturar nos momentos de nervosismo e por ser tão maravilhosa comigo.

Aos demais familiares, Ivo, Anita, meus tios e tias, por serem companheiros(as) e torcerem por minhas conquistas.

Ao Professor Marcelo Sobral da Silva, por aceitar me orientar mesmo sem ter referência sobre mim e por ter sido fundamental para a conclusão desta etapa.

Ao Professor Josean Fachine Tavares, pelas dicas e sugestões, pelo discernimento para mudar detalhes imprescindíveis no projeto e pela orientação durante o mestrado.

Aos amigos Leonardo e Ingrid pelo apoio e por terem me incentivado a ingressar no mestrado.

À amiga de longa data Raíssa pelo apoio e ajuda nos momentos em que precisei.

Aos colegas do DSEI pela paciência nos momentos em que estive ausente. Agradeço em especial a Adriano Simões Andrade e Eliane de Ângelis por permitirem algumas adaptações de horários e ausência para que pudesse estar na Universidade. Agradeço ainda às amigas Jaira, Sarah e Vanessa, e aos amigos Bruno e Corrêa pelo apoio e incentivo.

Aos amigos e amigas de mestrado Márcio, Cris, Diego, Ayala e Rose, pelo companheirismo e ajuda desde o início da pós-graduação.

Aos companheiros(as) e amigos(as) de laboratório Yuri, Andreza, Laiane, Susy, Sallet e Denise por compartilharem seus conhecimentos, emprestarem seus materiais e ajudarem nos procedimentos de laboratório.

Aos amigos Vicente e Evandro, não só pela contribuição como técnicos do Programa, mas principalmente por todo incentivo, apoio, ajuda e orientação.

Ao amigo Pedro pela dedicação, companheirismo e ajuda fundamentais para execução dos procedimentos laboratoriais, como também pelo apoio e incentivo nos momentos difíceis.

Aos demais alunos de Iniciação Científica pelo apoio e torcida.

Aos técnicos Nonato e Alexsandro por ajudarem nos procedimentos laboratoriais.

Ao professor Marcus Tullius Scotti por sua colaboração com as análises de quimioinformática.

Aos professores(as) Bagnólia Costa, Demétrius Araújo, Eduardo Oliveira, Emídio Cunha, José Maria Barbosa, Josean Tavares, Luis César, Maria de Fátima Vanderlei e Marianna Sobral pelos ensinamentos compartilhados nas disciplinas cursadas.

A todos os outros colegas de Pós-Graduação que direta ou indiretamente contribuíram para conclusão desse projeto.

RESUMO

RESUMO

SALES, K. A. CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Paliavana tenuiflora* Mansf. 105 p., Dissertação de Mestrado (Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Farmacoquímica), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

Paliavana tenuiflora Mansf. é uma espécie da família Gesneriaceae, sendo esta composta por cerca de 150 gêneros e 3.200 espécies, entre ervas, arbustos e pequenas árvores. As espécies de Gesneriaceae são encontradas nos trópicos de todos os continentes, apresentando ampla distribuição no Brasil, principalmente na Mata Atlântica no Sudeste e Nordeste, totalizando 211 espécies em 27 gêneros encontrados no país. Há relatos de metabólitos secundários de diversas classes isolados na família, destacando-se os flavonoides, terpenoides, quinonas e compostos fenólicos. *Paliavana tenuiflora* é encontrada nos campos rupestres, em mata ciliar e nos afloramentos rochosos de mata úmida na Bahia, Minas Gerais, Paraíba e Pernambuco. Por haver apenas um relato de estudo fitoquímico, buscou-se no presente trabalho isolar metabólitos secundários ainda não relatados na espécie, podendo desta forma contribuir com o conhecimento da sua quimiotaxonomia e possibilitar a realização de estudos de atividade biológica com os compostos obtidos. Para isso, o material vegetal, coletado em Fagundes-PB, após secagem e pulverização, foi submetido a processos de extração, partição e cromatografia para isolamento dos constituintes químicos. As estruturas químicas dos compostos isolados foram determinadas pelo método espectroscópico de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C e comparação com dados de modelos relatados na literatura. O estudo levou ao isolamento e caracterização estrutural da mistura de β -sitosterol e estigmasterol, do sesquiterpeno presilfiperfolano-9-ol, da antraquinona tectoquinona e de duas naftoquinonas, a 7-metoxi-8-hidroxi- α -dunniona e o tenuiflorol, sendo esta relatada pela primeira na literatura e as demais substâncias pela primeira vez no gênero *Paliavana*, contribuindo, portanto, com sua quimiotaxonomia.

Palavras-chave: Gesneriaceae, *Paliavana tenuiflora*, quinonas, terpenoides.

ABSTRACT

ABSTRACT

SALES, K. A. CHEMICAL CONSTITUENTS FROM *Paliavana tenuiflora* Mansf. 105 p., Dissertation (Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Farmacoquímica), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

Paliavana tenuiflora is a species of the Gesneriaceae family, being composed of about 150 genera with 3.200 species, among herbs, shrubs and small trees. Gesneriaceae species are found in the tropics of all continents, with wide distribution in Brazil, mainly in the Atlantic Forest in the southeast and northeast, totaling 211 species in 27 genera found in the country. There are reports of several classes of secondary metabolites isolated in the family, standing out above all others flavonoids, terpenoids, quinones and the phenolic compounds. *Paliavana tenuiflora* is found in humid forests on rocky outcrops in Bahia, Minas Gerais, Paraíba e Pernambuco. Due to the existence of only one phytochemical study report with this plant, the present study aimed at searching for secondary metabolites which were not reported yet in this specie, thus contributing with its chemotaxonomy knowledge and enabling the biological activity studies of the compounds found. For this purpose the plant material was collected in Fagundes-PB, and then it was sequentially dried and pulverized, subjected to extraction processes, partition and chromatography techniques to isolate chemical constituents. The chemical structures of the isolated compounds were determined by ¹H-NMR and ¹³C-NMR and by comparison with models reported in the literature. The study led to the isolation and structural characterization of the β-sitosterol and stigmasterol mixture, the presilphiperfolan-9-ol sesquiterpene, the tectoquinone anthraquinone and two naphthoquinones, 7-methoxy-8-hydroxy-α-dunnione and tenuiflorol, which is first reported in the literature and the others substances reported for the first time in the genus *Paliavana*, contributing thus to its chemotaxonomy.

Keywords: Gesneriaceae, *Paliavana tenuiflora*, quinones, terpenoids.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

AcOEt	Acetato de etila
APT	<i>Attached Proton Test</i>
BB	<i>Broadband</i>
C	Carbono
¹³C	Carbono 13
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CDCl₃	Clorofórmio deuterado
(CD₃)₂CO	Acetona deuterada
CH₂Cl₂	Diclorometano
CoA	Co-enzima A
COT	2-carboxi-4-oxo-1-tetralona
<i>d</i>	Dubleto
<i>dd</i>	Duplo dubleto
<i>ddd</i>	Duplo duplo dubleto
<i>dl</i>	Dubleto largo
DMAPP	Difosfato de dimetilalila (Dimetilalil pirofosfato)
EEB	Extrato Etanólico Bruto
EtOH	Etanol
FPP	Farnesil pirofostato
g	Grama
GPP	Geranil pirofosfato
¹H	Hidrogênio
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
Hz	Hertz
H₂O	Água
IPP	Difosfato de isopentenila (Isopentenil pirofosfato)
<i>J</i>	Constante de acoplamento
Kg	Quilograma
<i>m</i>	Multiplete
MeOH	Metanol

mg	Miligrama
MHz	Megahertz
mL	Mililitro
NH₄OH	Hidróxido de amônio
Na₂SO₄	Sulfato de Sódio
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
OSB	Ácido O-succinilbenzóico
ppm	Partes por milhão
q	Quarteto
QPN	Química de Produtos Naturais
R_f	Fator de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	Singleto
s/	Singleto Largo
t	Tripleto
TPP	Tiamina difosfato
UV	Ultravioleta
WHO	<i>World Health Organization</i>
δ	Deslocamento químico
μm	Micrômetro

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Etapas dos procedimentos de obtenção do Extrato Etanólico Bruto de <i>Paliavana tenuiflora</i> Mansf. e seu particionamento.....	49
Esquema 2. Fracionamento da fase hexânica de <i>Paliavana tenuiflora</i> Mansf.....	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição de espécies da família Gesneriaceae no planeta, representada pela coloração esverdeada (Tropicos.org, 2015).....	30
Figura 2. Distribuição de espécies da família Gesneriaceae no Neotrópico representada pela coloração amarela a vermelha (PERRET et al, 2013).....	30
Figura 3. Espécies ornamentais da família Gesneriaceae: 3A - <i>Sinningia barbata</i> ; 3B - <i>Episcia cupreata</i> ; 3C - <i>Aeschynanthus micranthus</i> ; 3D - <i>Columnnea microphylla</i> (Brazilplants.com, 2015a).	32
Figura 4. Metabólitos secundários isolados de espécies da família Gesneriaceae.....	33
Figura 5. Espécies do gênero <i>Paliavana</i> . 5A - <i>Paliavana prasinata</i> ; 5B - <i>Paliavana sericiflora</i> (Brazilplants.com, 2015b).	34
Figura 6. Distribuição do gênero <i>Paliavana</i> , representada pela coloração amarela a vermelha. Adaptado de Araujo e Chautems (2015a).	35
Figura 7. Distribuição da espécie <i>Paliavana tenuiflora</i> , representada pela coloração amarela a vermelha. Adaptado de Araujo e Chautems (2015b).....	37
Figura 8. Espécie <i>Paliavana tenuiflora</i> em floração. (Wikimedia.org, 2015).	37
Figura 9. Metabólitos secundários isolados da espécie <i>Paliavana tenuiflora</i> (SILVA, 2014).	38
Figura 10. Formação de unidades isoprênicas via ácido mevalônico (EISENREICH et al., 1998).	40
Figura 11. Biossíntese dos precursores dos mono e sesquiterpenos (QUEIROZ, 2009).	40
Figura 12. Biossíntese de colesterol e fitosteróis (QUEIROZ, 2009).	41
Figura 13. Biossíntese de precursores de antraquinonas e naftoquinonas pela via do chiquimato (DEWICK, 2009).	42
Figura 14. Proposta de biossíntese de antraquinonas e naftoquinonas na espécie <i>Streptocarpus dunnii</i> , por meio de prenilação de 2-carboxi-4-oxo-1-tetralona (COT) (10) e ácido 1,4-dihidroxi-2-naftóico (14) para formar 2-prenil-1,4-naftohidroquinona (13) e produzir, ao final, derivados antraquinônicos; e rearranjo de 2-prenileter-lausona (16) para formar 2-hidroxi-3-(1,1-dimetilalil)-1,4-naftoquinona (15) e derivados naftoquinônicos do tipo dunniona (1) e α -dunniona (3) (INOUE et al., 1984).	44
Figura 15. Biossíntese de sesquiterpenos presilfiperfolan e derivados. Adaptado de Hong e Stoltz (2014).	46
Figura 16. Estruturas químicas das substâncias isoladas de <i>Paliavana tenuiflora</i> neste estudo.	58
Figura 17. Núcleo esteroidal do tipo estigmasteno.....	59
Figura 18. Estruturas químicas de <i>Pt-1a</i> (β -sitosterol) e <i>Pt-1b</i> (estigmasterol).....	60
Figura 19. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-1</i> (a/b).	62
Figura 20. Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-1</i> (a/b), região 0.6-2.4 ppm.	62

Figura 21. Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-1</i> (a/b), região 3.2-5.6 ppm.	63
Figura 22. Espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-1</i> (a/b).....	63
Figura 23. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-1</i> (a/b), região 70-142 ppm.....	64
Figura 24. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-1</i> (a/b), região 10-60 ppm.....	64
Figura 25. Estrutura química de <i>Pt-2</i>	65
Figura 26. Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-2</i>	67
Figura 27. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-2</i> , região 40-80 ppm.	67
Figura 28. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-2</i> , região 15-35 ppm.	68
Figura 29. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-2</i>	68
Figura 30. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-2</i> , região 0,8-1,9 ppm.	69
Figura 31. Proposta de biossíntese de <i>Pt-2</i> (presilfiperfolano-9-ol).....	70
Figura 32. Estrutura química de <i>Pt-3</i>	71
Figura 33. Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-3</i>	73
Figura 34. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-3</i> , região 127-146 ppm.	73
Figura 35. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-3</i>	74
Figura 36. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-3</i> , região 7,5-8,5 ppm.	74
Figura 37. Estruturas químicas de <i>Pt-4</i> , 6,8-diidroxi- α -dunniona (ZHONG et al., 2013), M1 e M2	77
Figura 38. Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-4</i>	80
Figura 39. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-4</i> , região 93-186 ppm.	80
Figura 40. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-4</i> , região de 8-63 ppm.	81
Figura 41. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-4</i>	81
Figura 42. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-4</i> , região 7-12,5 ppm.	82
Figura 43. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-4</i> , região 1,1-4,0 ppm.	82
Figura 44. Espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-4</i>	83
Figura 45. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de <i>Pt-4</i> , região (105-160 ppm) x (10,8-12,6 ppm).	83

Figura 46. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de <i>Pt-4</i> , região (10-160 ppm) x (2,9-4,1 ppm).	84
Figura 47. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de <i>Pt-4</i> , região (115-195 ppm) x (6,4-8,2 ppm).	84
Figura 48. Espectro NOESY (500 MHz, CDCl ₃) de <i>Pt-4</i>	85
Figura 49. Expansão do espectro NOESY (500 MHz, CDCl ₃) de <i>Pt-4</i> , região (1,1-3,3 ppm) x (1,1-3,4 ppm).	85

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Gêneros da Família Gesneriaceae encontrados no Brasil (ARAÚJO; CHAUTEMS; FERREIRA, 2015a)	31
Quadro 2. Espécies do Gênero <i>Paliavana</i> . Fonte: (ARAUJO; CHAUTEMS, 2015a)	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Método utilizado para fracionamento da fase hexânica de <i>Paliavana tenuiflora</i> ...	53
Tabela 2. Dados de RMN de <i>Pt-1</i> (a/b) (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 200 e 50 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, CDCl_3) comparados com os da literatura (TOMAZ et al, 2008).	61
Tabela 3. Dados de RMN de <i>Pt-2</i> (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, CDCl_3) comparados com dados da literatura (MARCO et al., 1996).....	66
Tabela 4. Dados de RMN de <i>Pt-3</i> (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, CDCl_3) comparados com dados da literatura (SCHARF, 2014).....	72
Tabela 5. Dados de RMN 1D e 2D de <i>Pt-4</i> (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, CDCl_3) comparados com os da literatura (ZHONG et al., 2013) e com os calculados de M1 e M2.	78
Tabela 6. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de M1 e M2 calculados no programa Spartan 16	79
Tabela 7. Dados de RMN 1D e 2D de <i>Pt-5</i> (<i>J</i> em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, CDCl_3) comparados com dados da literatura (ZHONG et al., 2013). .	88

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	24
2 OBJETIVOS	27
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	29
3.1 Considerações sobre a família Gesneriaceae	29
3.2 Considerações sobre o gênero <i>Paliavana</i> Vell. ex. Vand.	34
3.3 Considerações sobre a espécie <i>Paliavana tenuiflora</i> Mansf.	36
3.4 Considerações sobre os constituintes químicos isolados de <i>Paliavana tenuiflora</i> Mansf. e biossíntese relacionada	39
3.4.1 Considerações sobre esteroides	39
3.4.2 Considerações sobre quinonas: antraquinonas e naftoquinonas	42
3.4.3 Considerações sobre sesquiterpenos do tipo presilfiperfolano	44
4 MATERIAIS E MÉTODOS	48
4.1 ESTUDO FITOQUÍMICO DE <i>Paliavana tenuiflora</i> Mansf.	48
4.1.1 Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto (EEB)	48
4.1.2 Isolamento e purificação dos constituintes químicos	50
4.1.3 Caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados	55
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1 Determinação estrutural de <i>Pt-1</i>	59
5.2 Determinação estrutural de <i>Pt-2</i>	65
5.3 Determinação estrutural de <i>Pt-3</i>	71
5.4 Determinação estrutural de <i>Pt-4</i>	75
5.5 Determinação estrutural de <i>Pt-5</i>	86
6 CONCLUSÕES	97
REFERÊNCIAS	99

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Existe uma enorme variedade de plantas ao redor do mundo, estimada em quase 300 mil espécies vegetais conhecidas. E boa parte dessa riqueza é encontrada no Brasil, país detentor de grande extensão litorânea e da maior floresta equatorial e tropical úmida. Conhecido por possuir ampla diversidade biológica, a maior em nível mundial, se destaca, inclusive, entre os países mais biodiversos (PEIXOTO; MORIM, 2003; PINTO et al., 2002). Além disso, há no Brasil extenso uso de plantas com propósito medicinal, cosmético, inseticida, entre outros, principalmente por povos tradicionais e indígenas, o que, aliado à variedade vegetal, suscita uma abrangente área a ser explorada cientificamente (FUNARI; FERRO, 2005).

Diante de tão grande riqueza, natural e cultural, existe, porém, uma escassez de conhecimento científico, como, por exemplo, a existência de inúmeras plantas sem qualquer estudo sobre sua constituição química. Assim, uma diversidade de compostos orgânicos certamente associados à variedade da flora brasileira permanece oculta ou pouco estudada (BRAZ-FILHO, 2010).

O uso tradicional de plantas medicinais no Brasil é feito quase completamente de forma empírica, por meio do conhecimento e valores populares, muitas vezes reservado a contextos específicos, dependendo da região e condição social. Ou seja, em geral, tal uso não é baseado em evidência científica. Assim, não existe, em muitos casos, garantia de eficácia e segurança no uso de tais preparações, o que pode não só não tratar determinadas enfermidades para qual são utilizadas, como causar problemas maiores por conta do risco de intoxicações (LEITÃO et al., 2014; MOREIRA et al., 2014).

A medicina tradicional, de comprovada qualidade, segurança e eficácia contribui com o objetivo de assegurar que todas as pessoas tenham acesso a cuidados. Muitos países passaram a reconhecer a necessidade de desenvolver uma abordagem coerente e integrada aos cuidados à saúde de forma a permitir que governos, profissionais de saúde e, sobretudo, os usuários de serviços de saúde tenham acesso à medicina tradicional de maneira segura, sustentável, efetiva e com boa relação custo-benefício (WHO, 2013).

Compostos químicos de origem natural são utilizados há muitos anos pelo homem e, além da medicina tradicional, grande parte dos produtos fabricados hoje deriva direta ou indiretamente de vegetais, micro-organismos, organismos marinhos,

vertebrados e invertebrados terrestres. Uma análise dos medicamentos disponíveis entre 1981 e 2002 mostra que 28% possui princípios ativos de origem natural ou semissintéticos, e que 24% são sintéticos com grupos farmacofóricos baseados em estruturas de produtos naturais. Assim, mais de 50% dos medicamentos comercializados nesse período provém de produtos naturais (BRANDÃO et al., 2010).

Apesar dos desafios enfrentados nos últimos anos, a Química de Produtos Naturais (QPN) tem avançado de forma importante, com a convergência com áreas afins, como Bioquímica, Biologia Molecular, Etnofarmacologia, Imunologia, e uso de tecnologias inovadoras de análise e elucidação estrutural como a ressonância magnética nuclear e espectroscopia de massas (FERREIRA; PINTO, 2010).

De acordo com Braz-Filho (2010), a fitoquímica, responsável pelo isolamento, determinação e elucidação estrutural, investigações biossintéticas e averiguação das propriedades de compostos químicos de origem vegetal, pode contribuir de forma impactante para a QPN, por meio do estudo “da flora e seu quimismo, da divulgação e geração de novos conhecimentos e da formação de recursos humanos qualificados”.

Assim, mesmo com os avanços, observa-se a necessidade de maior esforço na investigação científica do vasto elenco de espécies vegetais existente. E a pesquisa de compostos orgânicos derivados do metabolismo secundário desses organismos representa um passo importante para área de produtos naturais, podendo adicionalmente contribuir com informações fundamentais para outras áreas do conhecimento (ALBUQUERQUE et al., 2014).

Portanto, devido à importância dos estudos fitoquímicos e considerando a carência destes aplicados às espécies da família Gesneriaceae, optou-se neste trabalho por ampliar o conhecimento sobre a espécie *Paliavana tenuiflora*, buscando-se identificar substâncias químicas com propósito de descobrir possíveis novos fármacos, como também contribuir para o conhecimento da quimiotaxonomia de espécies vegetais.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Contribuir com o conhecimento sobre a família Gesneriaceae, por meio do estudo fitoquímico da espécie *Paliavana tenuiflora* Mansf.

2.2. Objetivos específicos

- Extrair, isolar e purificar metabólitos secundários de *Paliavana tenuiflora* Mansf. utilizando técnicas laboratoriais, principalmente os métodos cromatográficos de separação.
- Identificar e/ou elucidar a estrutura química dos constituintes isolados por técnicas espectroscópicas de análise.
- Disponibilizar extratos, fases, frações e substâncias isoladas para estudos em ensaios farmacológicos.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Considerações sobre a família Gesneriaceae

A família Gesneriaceae Rich. & Juss. ex DC. compreende cerca de 150 gêneros e 3.200 espécies, entre ervas, arbustos e pequenas árvores (PERRET et al., 2013). É encontrada nos trópicos de todos os continentes, ou seja, possui distribuição pantropical (Figura 1, pág. 29) (VERDAN; STEFANELLO, 2012). Mostra-se, porém, com pouca representação na África e Europa, enquanto na região tropical das américas são encontradas cerca de 1.300 espécies distribuídas em 60 gêneros (BLASER; SALIMENTA; CHAUTENS, 2012). A maior diversidade de espécies é encontrada no noroeste da América do Sul, na região onde se localizam a Colômbia e o Equador, podendo-se considerar a Mata Atlântica do sudeste brasileiro como um segundo centro de diversidade (Figura 2, pág. 29) (ARAÚJO; SOUZA; CHAUTEMS, 2005; LOPES; ANDREATA; CHAUTEMS, 2007). Apesar disso, Gesneriaceae apresenta-se distribuída por todo Brasil, destacando-se também a Região Norte e a Mata Atlântica nordestina, totalizando 211 espécies em 27 gêneros encontrados no país (ARAÚJO; CHAUTEMS; FERREIRA, 2015).

Pertencente à Ordem Lamiales (BARROS; MANSANO; CHAUTEMS, 2010), era anteriormente dividida em duas subfamílias: Cyrtandroideae e Gesnerioideae, sendo a primeira encontrada no Velho Mundo, enquanto a última tem distribuição neotropical e é representada por 56 gêneros com aproximadamente 1.800 espécies (ARAÚJO; SOUZA; CHAUTEMS, 2005; LOPES; ANDREATA; CHAUTEMS, 2007).

Recentemente, uma reclassificação incluiu em Gesneriaceae uma nova subfamília monotípica chamada Sanangoideae, representada pela espécie *Sanango racemosum*, encontrada nos Andes, no Peru e Sudeste do Equador. Previamente sugeriu-se que a família possuía entre 58 e 45 milhões de anos e a inclusão de Sanangoideae alterou sua origem para a Época Paleocênica, entre 63 e 58 milhões de anos atrás (WEBER; CLARK; MÖLLER, 2013).



Figura 1. Distribuição de espécies da família Gesneriaceae no planeta, representada pela coloração esverdeada (Tropicos.org, 2015).

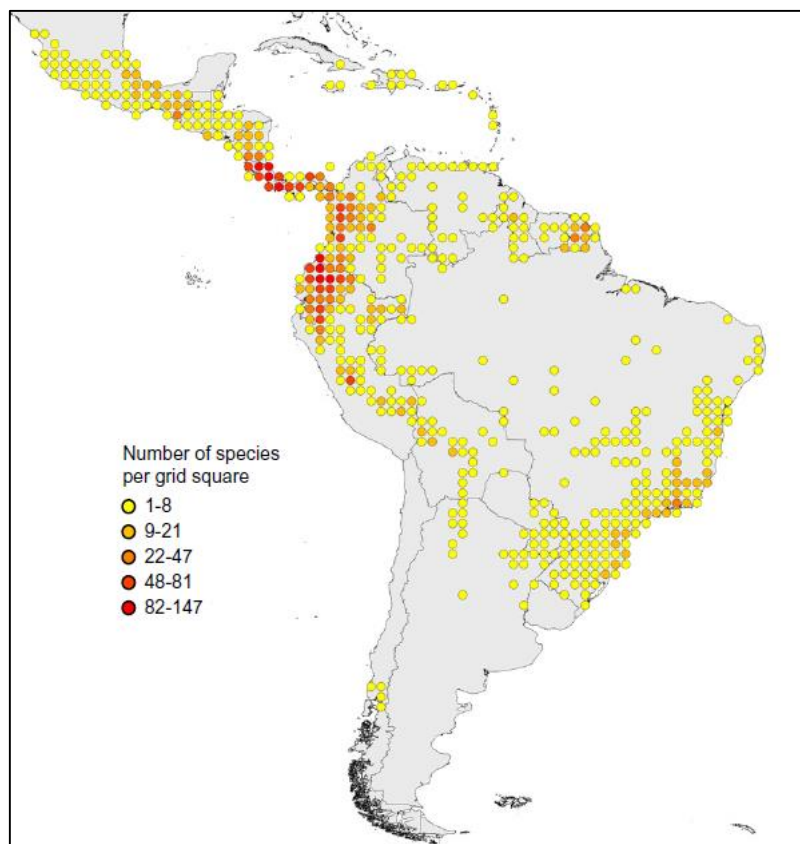


Figura 2. Distribuição de espécies da família Gesneriaceae no Neotrópico representada pela coloração amarela a vermelha (PERRET et al, 2013).

A subfamília Gesnerioideae, por sua vez, contém as tribos Beslerieae Bartl., Coronanthereae Fritsch, Episcieae Endl., Gesnerieae Dumort., Gloxinieae Sweet, Napeantheae Wiehler, Sinningieae Fritsch, Sphaerorrhizeae Roalson & Boggan e Titanotricheae Yamaz. ex Wang. (WEBER; CLARK; MÖLLER, 2013). A tribo Sinningieae é amplamente distribuída no Brasil, principalmente no Sudeste, e compreende os gêneros *Sinningia* Ness., *Vanhouttea* Lem. e *Paliavana* Vell. ex Vand., com cerca de 80 espécies. A maior parte destas pertence a *Sinningia*, o qual é encontrado em praticamente todos os países neotropicais (SANMARTIN-GAJARDO; SAZIMA, 2005a e b).

Quadro 1. Gêneros da Família Gesneriaceae encontrados no Brasil (ARAÚJO; CHAUTEMS; FERREIRA, 2015a)

GÊNEROS DA FAMÍLIA GESNERIACEAE	
<i>Anetanthus</i> Hiern ex Benth. & Hook.f.	<i>Mandirola</i> Decne.
<i>Besleria</i> Plum. ex L.	<i>Monopyle</i> Moritz ex Benth.
<i>Chautemsia</i> A.O.Araujo & V.C.Souza	<i>Napeanthus</i> Gardner
<i>Chrysothemis</i> Decne.	<i>Nautilocalyx</i> Linden
<i>Codonanthe</i> (Mart.) Hanst.	<i>Nematanthus</i> Schrad.
<i>Codonanthopsis</i> Mansf.	<i>Paliavana</i> Vell. ex Vand.
<i>Columnea</i> L.	<i>Paradrymonia</i> Hanst.
<i>Corytoplectus</i> Oerst.	<i>Phinaea</i> Benth.
<i>Diastema</i> Benth.	<i>Seemannia</i> Regel
<i>Drymonia</i> Mart.	<i>Sinningia</i> Nees
<i>Episcia</i> Mart.	<i>Sphaerorrhiza</i> Roalson & Boggan
<i>Gloxinia</i> L'Hér.	<i>Tylopsacas</i> Leeuwenb.
<i>Goyazia</i> Taub.	<i>Vanhouttea</i> Lem.
<i>Lesia</i> J.L.Clark & J.F.Smith	

Diversas espécies de Gesneriaceae são empregadas como ornamentação (Figura 3, pág. 31), devido à beleza de suas flores, havendo ainda emprego medicinal de algumas delas (LOPES; ANDREATA; CHAUTEMS, 2007). Destacam-se como ornamentais algumas dos gêneros *Sinningia* Nees., *Episcia* Mart., *Aeschynanthys* Jack. e *Columnea* L. (BARROS; MANSANO; CHAUTEMS, 2010). Com relação ao uso

na medicina tradicional, pode-se citar como exemplos o emprego de *Besleria laxifolia*, *Columnnea guttata* e *Drymonia macrophylla* para alívio da febre; *Chirita eburnea* para tosse com presença de sangue e para tratar doenças relacionadas a imunidade; e *Sinningia allagophylla* como diurético (VERDAN; STEFANELLO, 2012).



Figura 3. Espécies ornamentais da família Gesneriaceae: 3A - *Sinningia barbata*; 3B - *Episcia cupreata*; 3C - *Aeschynanthus micranthus*; 3D - *Columnnea microphylla* (Brazilplants.com, 2015a).

Apesar da escassez de estudos fitoquímicos em espécies de Gesneriaceae, observa-se um aumento no interesse da química desta família nos últimos anos, com o aumento do número de metabólitos secundários isolados. Destacam-se entre eles os flavonoides, com mais de 80 identificados em diversos gêneros, terpenoides, somando mais de 60 compostos isolados, e ainda quinonas, glicosídeos fenólicos, compostos fenólicos simples e xantonas. Alguns dos constituintes obtidos podem ser observados na Figura 4, pág. 32 (VERDAN; STEFANELLO, 2012).

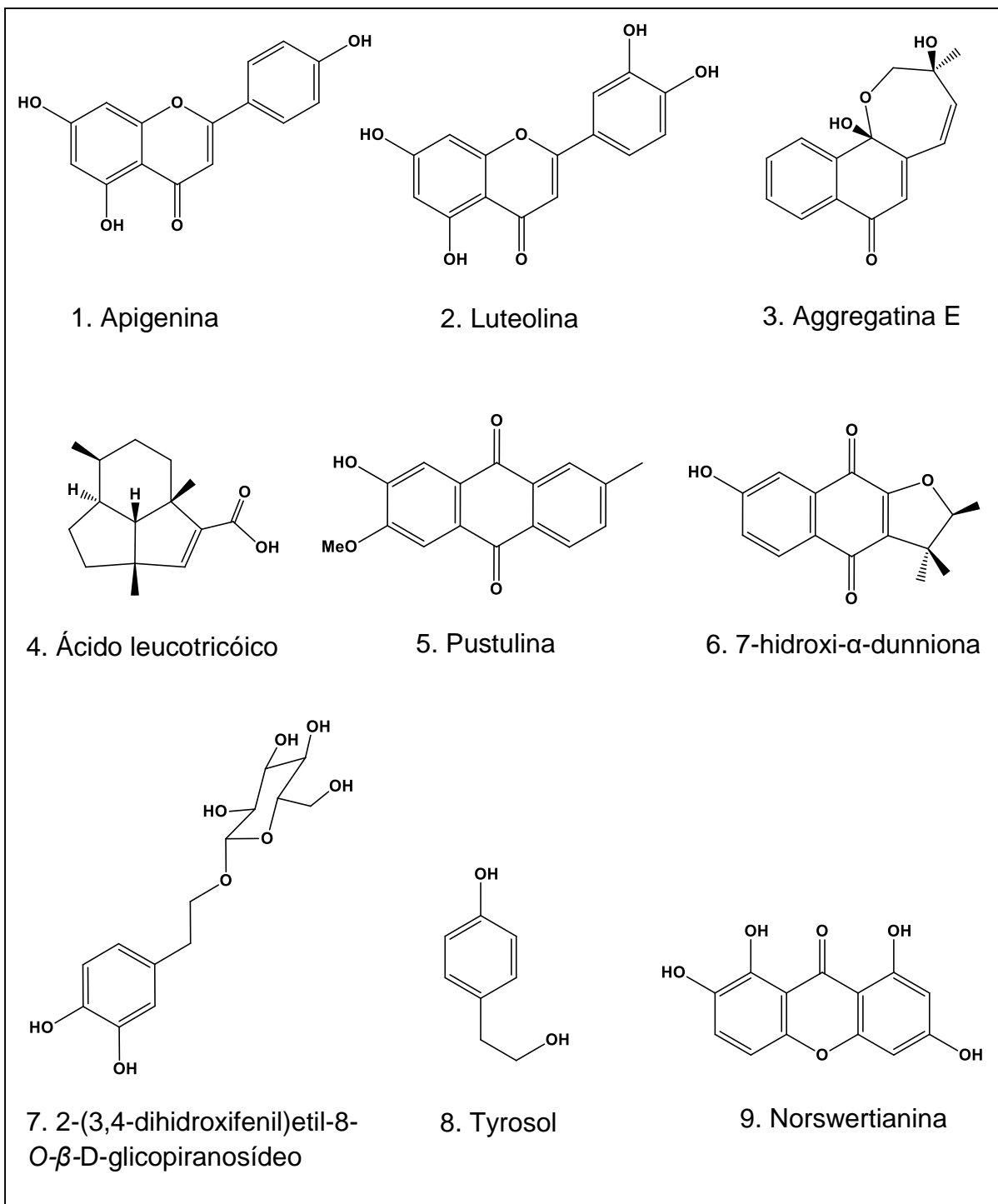


Figura 4. Metabólitos secundários isolados de espécies da família Gesneriaceae.

Composto 1 – *Aeschynanthus superbus*; Composto 2 – *Columnea hybrida* (VERDAN; STEFANELLO, 2012); Compostos 3 e 5 – *Sinningia aggregata* (VERDAN et al., 2015a); Composto 4 – *Sinningia leucotricha* (VERDAN et al., 2013); Composto 6 – *Sinningia leucotricha* (VERDAN et al., 2015b); Composto 7 e 8 - *Aeschynanthus bracteatus*; Composto 9 - *Orphium frutescens* (VERDAN; STEFANELLO, 2012).

Apesar dos poucos estudos realizados, foram relatadas atividades farmacológicas de algumas espécies da família Gesneriaceae, como a antibacteriana e antifúngica do óleo essencial de *Didymocarpus pedicellata* e a atividade contra *Heliobacter pylori* do extrato metanólico de *Kohleria deppeana*, podendo ser utilizado no tratamento de doenças gastrointestinais. O extrato metanólico de *K. deppeana* apresentou ainda atividade anti-inflamatória, a qual também foi observada com o extrato acetato de etila da espécie. Ademais, foi relatada atividade antioxidante dos extratos de *Chirita eburnea*, *Didymocarpus pedicellata* e também *K. deppeana*. (VERDAN; STEFANELLO, 2012).

3.2 Considerações sobre o gênero *Paliavana* Vell. ex. Vand.

Previamente pertencente à tribo Gloxinieae, o gênero *Paliavana* foi removido desta, juntamente com *Sinningia* e *Vanhouttea*, e passou a integrar a tribo Sinningieae (PERRET et al, 2003). *Paliavana* apresenta-se como arbustos lenhosos, raramente como pequenas árvores, sem tubérculos, nem rizomas, com folhas opostas ou verticiladas, pecíolo de tamanho variado ou ausente. As flores ficam dispostas na axila da folha ou bráctea, com corola campanulada ou cilíndrica, geralmente verde a amarelada com pintas vináceas, as vezes púrpura com pintas avermelhadas (Figura 5, abaixo) (ARAÚJO; SOUZA; CHAUTEMS, 2005).

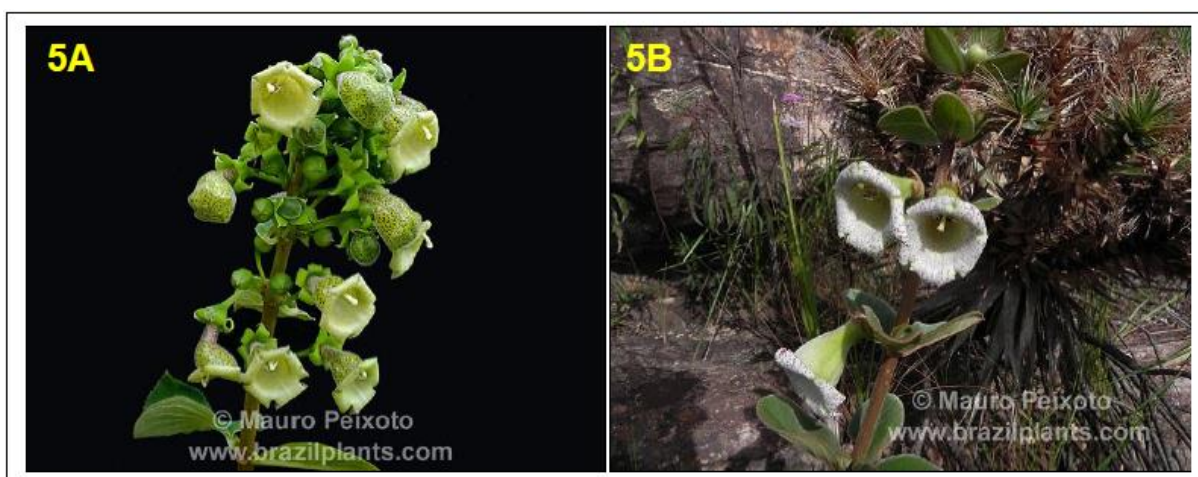


Figura 5. Espécies do gênero *Paliavana*. 5A - *Paliavana prasinata*; 5B - *Paliavana sericiflora* (Brazilplants.com, 2015b).

O gênero é endêmico do Brasil e abrange seis espécies (Quadro 2, abaixo), ocorrendo principalmente em afloramentos rochosos em campos rupestres no interior da Mata Atlântica, entre o nível do mar e 2.000 m de altitude, com exceção de *P. prasinata*, que é encontrada no interior da floresta úmida de encosta. Ocorre na região sudeste, nos estados do Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro, e nordeste, nos estados de Alagoas, Bahia, Paraíba e Pernambuco (Figura 6, abaixo) (ARAÚJO; CHAUTEMS, 2015a; PERRET et al, 2003).

Quadro 2. Espécies do Gênero *Paliavana*. Fonte: (ARAÚJO; CHAUTEMS, 2015a)

ESPÉCIES DO GÊNERO <i>PALIAVANA</i>	
<i>Paliavana gracilis</i> (Mart.) Chautems	<i>Paliavana sericiflora</i> Benth.
<i>Paliavana plumerioides</i> Chautems	<i>Paliavana tenuiflora</i> Mansf.
<i>Paliavana prasinata</i> (Ker Gawl.) Benth.	<i>Paliavana werdermannii</i> Mansf.

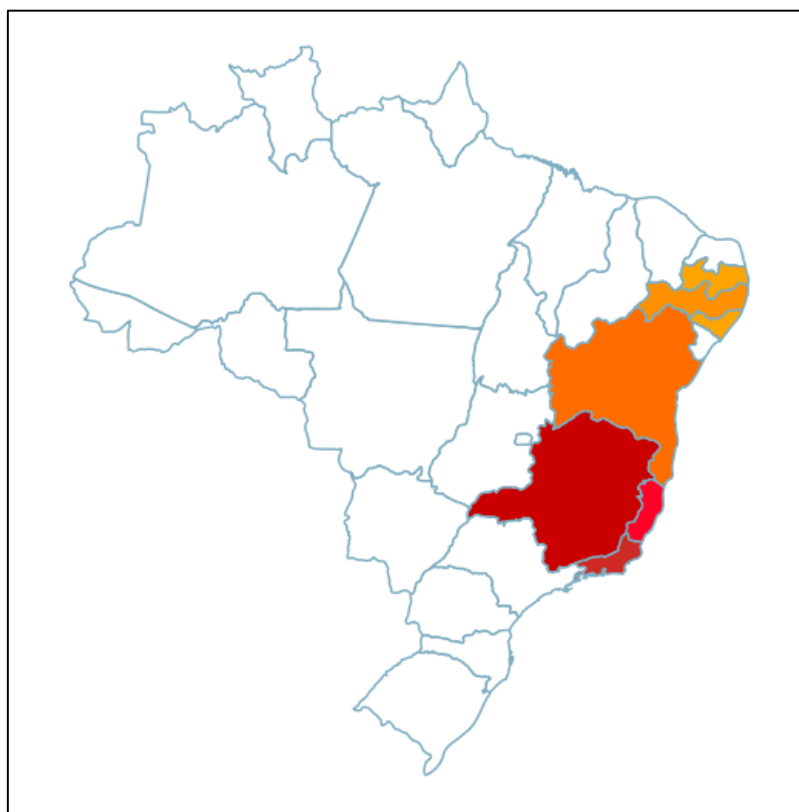


Figura 6. Distribuição do gênero *Paliavana*, representada pela coloração amarela a vermelha. Adaptado de Araujo e Chautems (2015a).

Devido à semelhança botânica e principalmente com base em dados moleculares relacionados com informações genéticas, alguns autores defendem que os gêneros *Paliavana* e *Vanhouttea* devam ser fundidos com *Sinningia* (PERRET et al., 2001, 2003; SMITH et al., 1997; ZIMMER et al., 2002).

Além da ocorrência como saxícola, ou seja, crescimento em afloramentos rochosos, as espécies de *Paliavana* podem ainda se desenvolver, com considerável frequência, na forma de epífitas, vivendo sobre outras plantas sem retirar destas seus nutrientes (PERRET et al., 2001).

Enquanto a maioria das espécies da tribo Sinningieae apresenta síndrome predominantemente ornitófila (polinização por aves), as espécies de *Paliavana* são polinizadas também por abelhas e morcegos. Sugere-se que a causa dessa variedade de polinização deve estar associada a algumas características do gênero, incluindo a concentração reduzida de sacarose no néctar das flores em comparação com outras espécies da família Gesneriaceae (FERREIRA; VIANA, 2010; SANMARTIN-GAJARDO; SAZIMA, 2005a; PERRET et al, 2001).

Até o presente momento os dados fitoquímicos no gênero *Paliavana* são raros, limitando-se aos obtidos recentemente de *P. tenuiflora* (SILVA, 2014).

3.3 Considerações sobre a espécie *Paliavana tenuiflora* Mansf.

A espécie *Paliavana tenuiflora* é encontrada nos campos rupestres, em mata ciliar e nos afloramentos rochosos de mata úmida na Bahia, Minas Gerais, Paraíba e Pernambuco (Figura 7, pág. 36), sendo comumente encontrada em áreas de altitude (ARAÚJO; SOUZA; CHAUTEMS, 2005; ARAÚJO; CHAUTEMS, 2015b; PERRET et al., 2006). Apresenta-se geralmente como arbusto e possui flores campanulares púrpuras, azuis ou violetas com pintas avermelhadas e duração de aproximadamente seis dias (Figura 8, pág. 36) (ARAÚJO; SOUZA; CHAUTEMS, 2005; FERREIRA; VIANA, 2010).

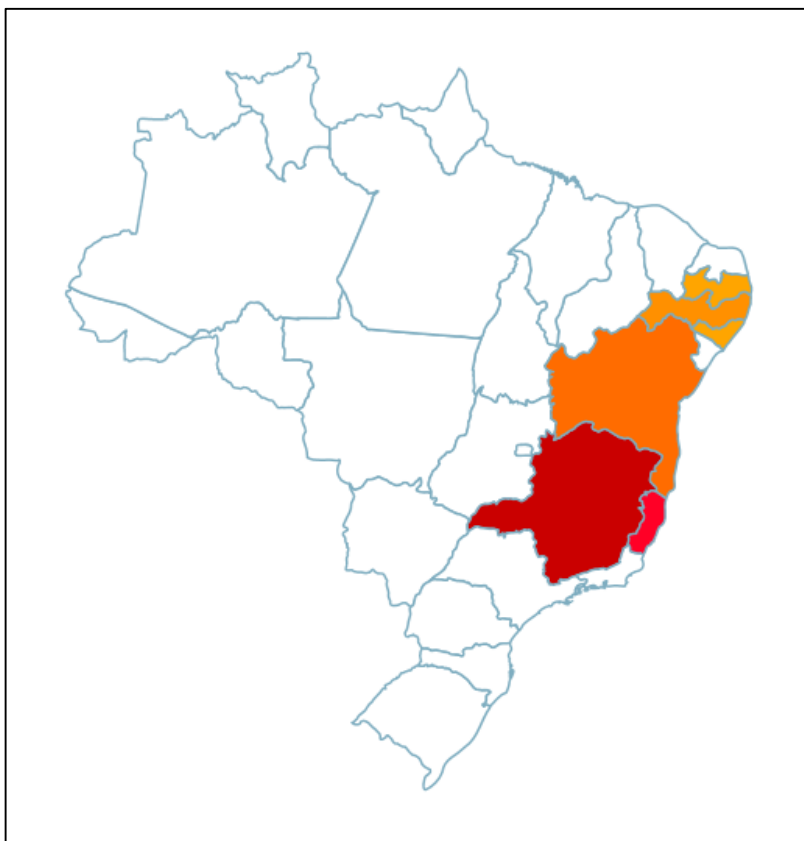


Figura 7. Distribuição da espécie *Paliavana tenuiflora*, representada pela coloração amarela a vermelha. Adaptado de Araujo e Chautems (2015b).



Figura 8. Espécie *Paliavana tenuiflora* em floração. (Wikimedia.org, 2015).

Ferreira e Viana (2010) relatam que as características das flores desta espécie (cor e forma da corola, longevidade da flor, produção de grande quantidade de néctar concentrado) atraem diferentes agentes polinizadores, como abelhas, beija-flores e morcegos, e que muitos destes (senão todos) poderiam ser importantes para o sucesso reprodutivo dessa planta. Porém, em seu trabalho, as pesquisadoras só puderam evidenciar a melitofília, ou seja, polinização por abelhas, e o beija-flor da espécie *Phaethornis pretrei* foi considerado um polinizador ocasional.

O único estudo fitoquímico de *P. tenuiflora* relatado até então havia sido realizado por Silva (2014). Em seu trabalho foi possível isolar e elucidar as estruturas químicas dos esteroides e compostos fenólicos mostrados na Figura 9, abaixo.

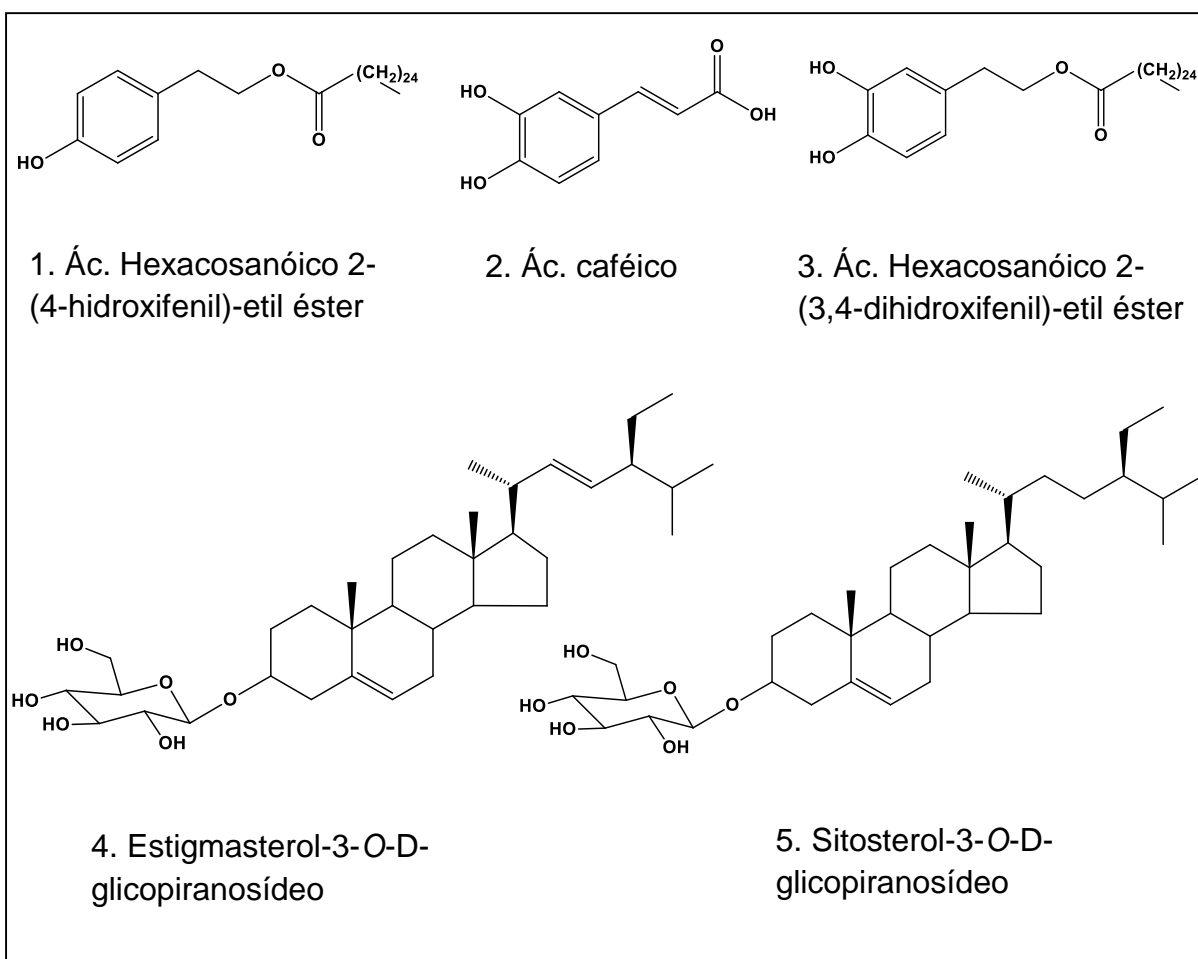


Figura 9. Metabólitos secundários isolados da espécie *Paliavana tenuiflora* (SILVA, 2014).

3.4 Considerações sobre os constituintes químicos isolados de *Paliavana tenuiflora* Mansf. e biossíntese relacionada

3.4.1 Considerações sobre esteroides

Esteroides de origem natural são classificados como terpenoides, sendo esta uma grande classe de produtos naturais, contendo mais de 35.000 diferentes substâncias conhecidas e estruturalmente diversificadas. Os terpenoides são derivados de unidades isoprênicas (C_5) após a formação de ligações do tipo cabeça-cauda entre elas. Estruturas típicas contendo esqueletos carbônicos formados a partir dessas unidades (C_5) são classificadas como monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), sesterpenos (C_{25}), triterpenos (C_{30}) e tetraterpenos (C_{40}) (DEWICK, 2009; SIMÕES et al., 2010).

As unidades isoprênicas têm origem biossintética a partir do ácido mevalônico, o qual, por sua vez, é formado inicialmente a partir da condensação de moléculas de acetil-CoA. Apesar do isopreno ser um produto natural ele não está envolvido com a formação dos terpenos, mas sim suas formas de éster difosfato (pirofosfato) bioquimicamente ativas: difosfato de dimetilalila (DMAPP) e difosfato de isopentenila (IPP). Este é produto do 3-fosfo-5-pirofosfomevalonato após eliminação de fosfato e CO_2 , enquanto o DMAPP origina-se após isomerização do IPP (Figura 10, pág. 39) (DEWICK, 2009; EISENREICH et al., 1998).

Mais recentemente foi proposta uma outra via de formação de unidades isoprênicas, por meio do fosfato de deoxixilulose. Esta via sugere que IPP e DMAPP são formados a partir de ácido pirúvico e D-gliceraldeído, ambos produtos da glicose, por meio de um processo mediado pela coenzima tiamina difosfato (TPP) (EISENREICH et al., 1998; LOBO; LOURENÇO, 2007).

A cadeia de geranyl pirofosfato (GPP), formada pela condensação cabeça-cauda entre unidades DMAP e IPP catalisada por preniltransferase, é a precursora dos monoterpenos. A condensação de GPP com uma nova unidade de IPP produz farnesil pirofosfato (FPP) (C_{15}), o qual se condensa com outra de sua cadeia para formar os triterpenos e esteroides (Figuras 11 e 12, pág. 39 e 40, respectivamente) (DEWICK, 2009; LOBO; LOURENÇO, 2007).

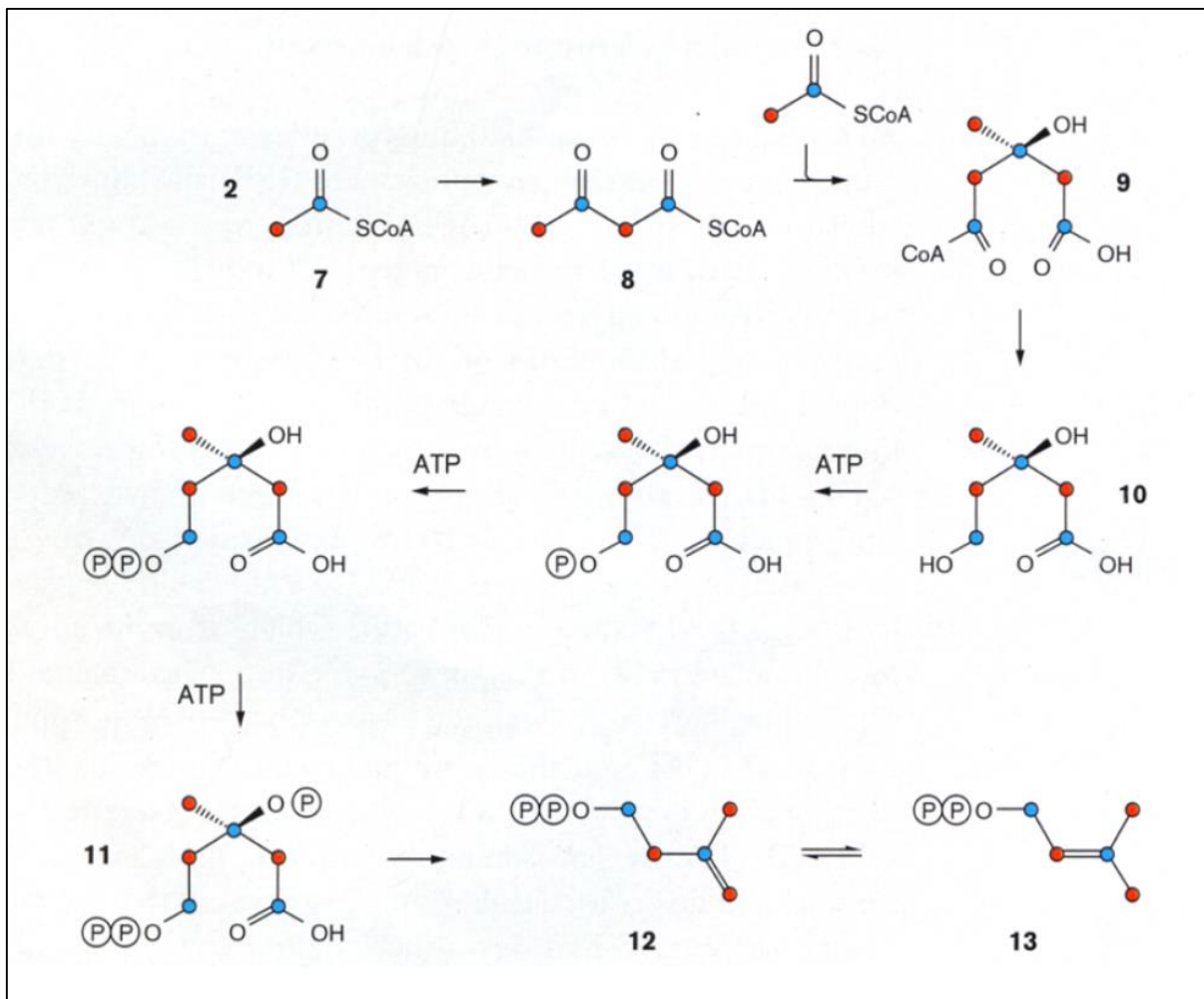


Figura 10. Formação de unidades isoprênicas via ácido mevalônico (EISENREICH et al., 1998).

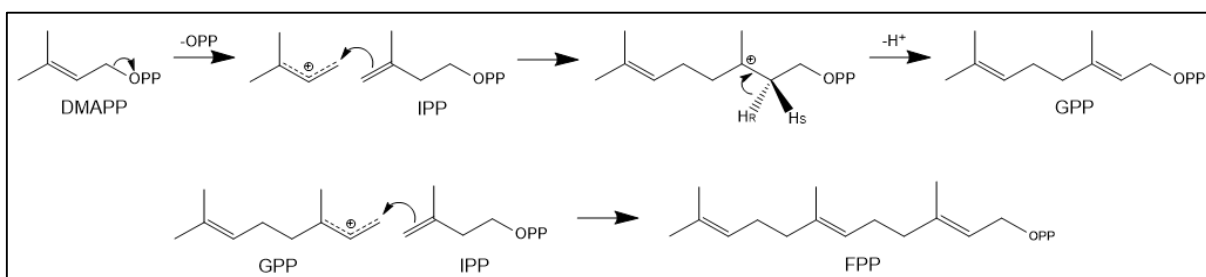


Figura 11. Biossíntese dos precursores dos mono e sesquiterpenos (QUEIROZ, 2009).

Os esteroides são triterpenos modificados derivados do lanosterol, após eliminação de três grupos metila de sua estrutura, nos carbonos C-4 e C-14. O colesterol, membro importante nesta classe de substâncias, é formado após perda das metilas e redução da dupla ligação presente na cadeia lateral. É precursor de uma variedade de compostos orgânicos biologicamente importantes, como hormônios

adrenocorticoides, hormônios sexuais de mamíferos e ácidos biliares; e de produtos naturais como saponinas e glicosídeos cardiotônicos (DEWICK, 2009; LOBO; LOURENÇO, 2007).

Fitosteróis ou fitosteroides são esteroides presentes em plantas, tendo como característica química um esqueleto contendo geralmente 28 ou 29 átomos de carbono (C₂₈ e C₂₉), com essa quantidade variando apenas na cadeia lateral, ligada ao C-24 (DEWICK, 2009).

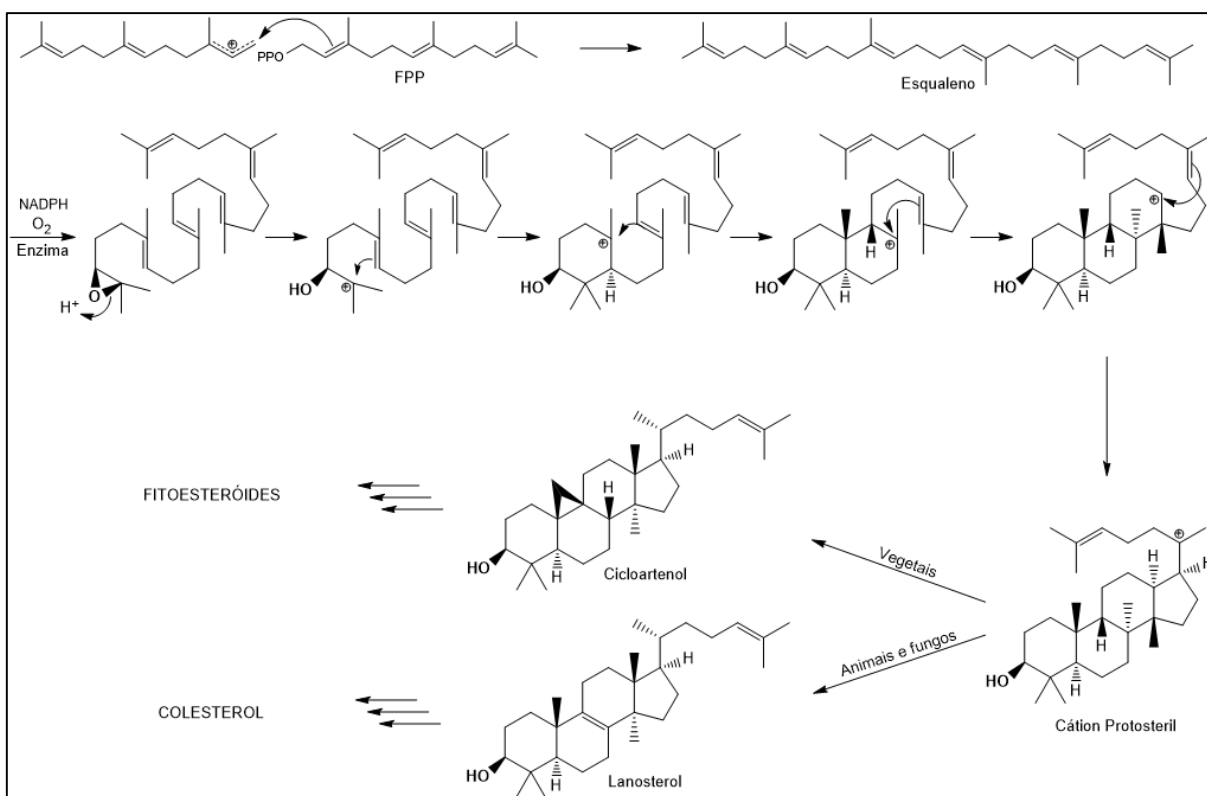


Figura 12. Biossíntese de colesterol e fitosteróis (QUEIROZ, 2009).

O β-sitosterol e o estigmasterol são fitosteróis geralmente presentes em vegetais, fazendo parte da composição de suas membranas celulares. Biossinteticamente propõe-se que suas unidades isoprênicas são predominantemente originadas por meio da via mevalônica (DE-EKNAMKUL; POTDUANG, 2003).

3.4.2 Considerações sobre quinonas: antraquinonas e naftoquinonas

De forma geral, quinonas podem ser considerados compostos orgânicos derivados da oxidação de fenóis. Apresentam como característica básica a presença de dois grupamentos carbonilas formando um sistema conjugado com no mínimo duas ligações duplas C-C. Podem ser classificadas em três grupos principais: benzoquinonas, naftoquinonas e antraquinonas (DEWICK, 2009; SIMÕES et al., 2010).

Nas plantas as quinonas podem ser biossintetizadas por meio das rotas metabólicas do acetato e/ou do chiquimato. Na primeira via, a formação ocorre a partir de acetil- ou malonil-CoA, com a dobradura de uma cadeia policetídica para formação do esqueleto carbônico das quinonas, mais especificamente, das antraquinonas. Na via chiquímica há a formação do ácido O-succinilbenzóico (OSB), após reação do naftoquinonas (DEWICK, 2009; INOUE et al., 1983; SIMÕES et al., 2010).

Inoue et al. (1984) estudaram a biossíntese dos metabólitos secundários de *Streptocarpus dunnii*, espécie da família Gesneriaceae, mediante administração de precursores marcados com ^2H e ^{13}C , e concluíram que as antraquinonas e naftoquinonas desta planta são produzidas pela via do chiquimato (Figura 13, abaixo).

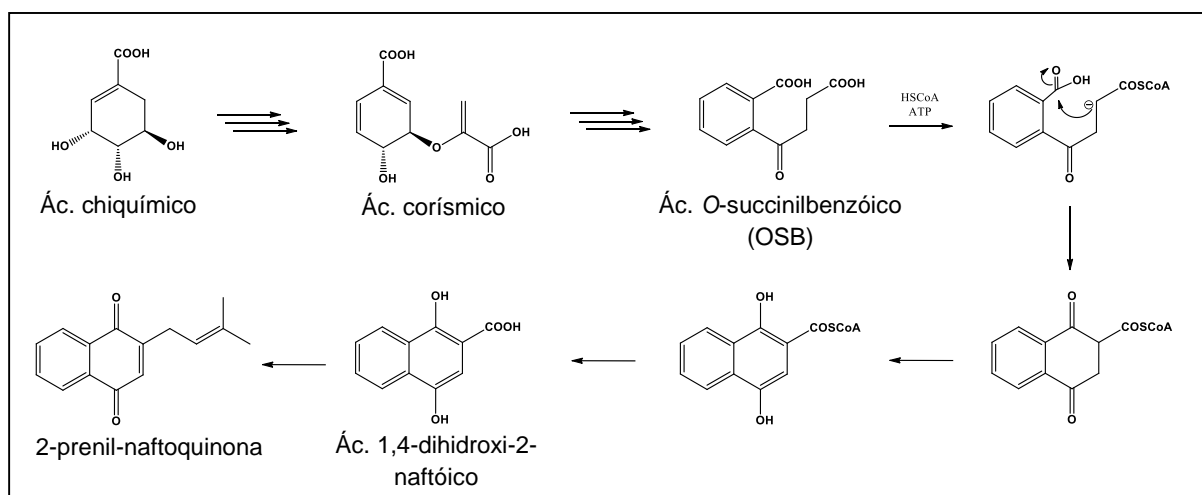


Figura 13. Biossíntese de precursores de antraquinonas e naftoquinonas pela via do chiquimato (DEWICK, 2009).

Em seu trabalho, Inoue et al. (1984) demonstraram que as antraquinonas de *S. dunni* são biossintetizadas após prenilação, no C-2, da 2-carboxi-4-oxo-1-tetralona (COT) ou do ácido 1,4-dihidroxi-2-naftóico, para nos dois casos formar o precursor 2-prenil-1,4-naftohidroquinona. Nos caso das naftoquinonas, os pesquisadores propõem que são produzidas via 2-hidroxi-3-(1,1-dimetilalil)-1,4-naftoquinona, formada após alquilação do precursor lausona, formando 2-prenileter-lausona, a qual sofre um rearranjo e se converte em derivados do tipo dunniona e α -dunniona (Figura 14, pág. 43).

As antraquinonas vegetais são formadas comumente após auto-oxidação de antronas livres, que produzem primeiramente antranóis, para em seguida sofrer oxidação à quinona, num processo reversível de oxido-redução; podendo ocorrer também por ação enzimática. A forma oxidada é mais estável, encontrada com mais frequência em material vegetal seco e menos na planta fresca. É comum a presença de hidroxilas em C-1 e C-8, estando com frequência na forma de O-glicosídeo, com a unidade osídica ligada a estas substituições. Geralmente possuem a forma cristalina, com coloração variando entre amarelo e vermelho (SIMÕES et al., 2010).

Em ensaios farmacológicos, antraquinonas obtidas como produtos naturais apresentaram ampla variedade de atividades. Já foram relatadas propriedades antiviral, antibacteriana, antifúngica, antiplasmódica, citotóxica e antioxidante, por exemplo. Foi também atribuída propriedade laxante a antraquinonas isoladas de algumas plantas utilizadas na medicina tradicional em vários continentes (ENDALE et al., 2012; SIMÕES et al., 2010; VERDAN; STEFANELLO, 2012).

Estudos têm mostrado, assim como ocorre com antraquinonas, que as naftoquinonas apresentam grande diversidade de propriedades biológicas. Foram relatadas atividades bactericida, fungicida e citotóxica. Destaca-se que ambas as classes de quinonas apresentam potencial atividade alelopática e pesticida (CESPEDES et al., 2015; KHAMBAY et al., 2003; SHERIDAN et al., 2011; XIAO et al., 2011).

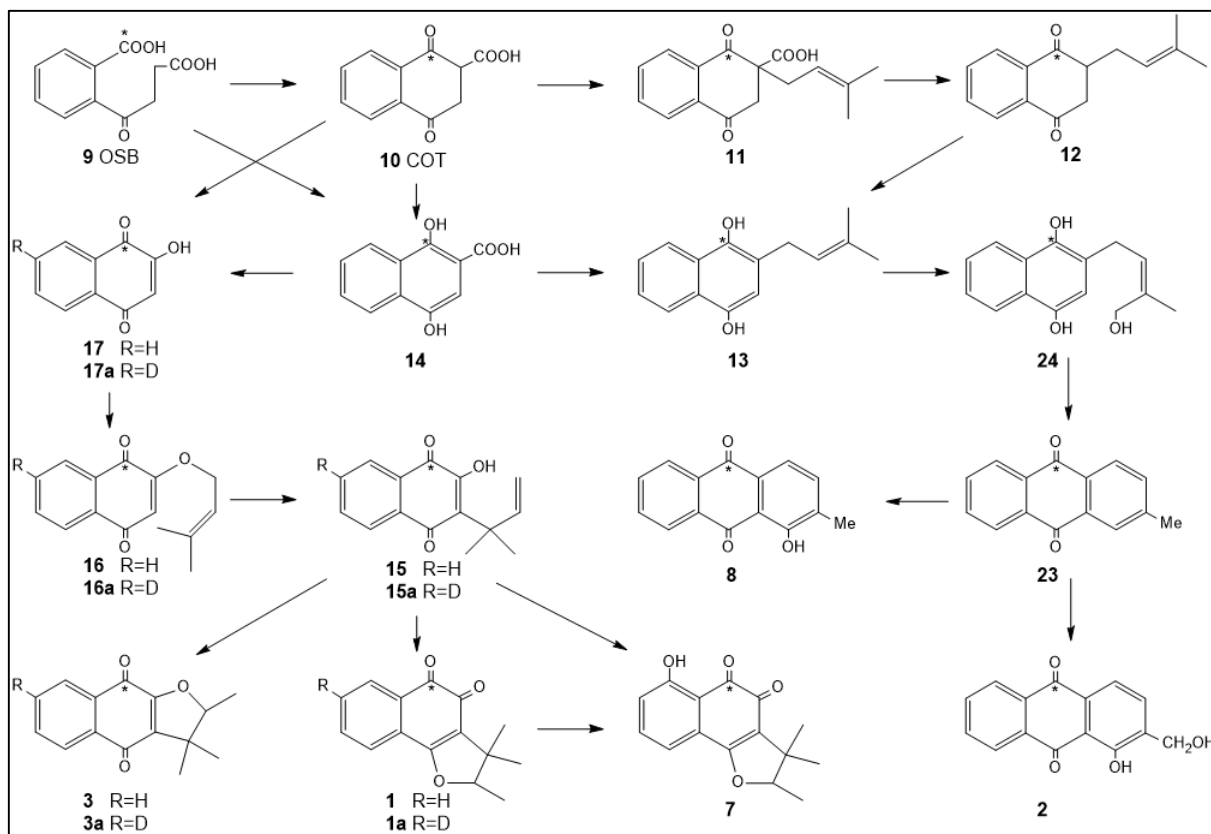


Figura 14. Proposta de biossíntese de antraquinonas e naftoquinonas na espécie *Streptocarpus dunnii*, por meio de prenilação de 2-carboxi-4-oxo-1-tetralona (COT) (10) e ácido 1,4-dihidroxi-2-naftóico (14) para formar 2-prenil-1,4-naftohidroquinona (13) e produzir, ao final, derivados antraquinônicos; e rearranjo de 2-prenileter-lausona (16) para formar 2-hidroxi-3-(1,1-dimetilalil)-1,4-naftoquinona (15) e derivados naftoquinônicos do tipo dunniona (1) e α -dunniona (3) (INOUE et al., 1984).

3.4.3 Considerações sobre sesquiterpenos do tipo presilfiperfolano

Sesquiterpenos são compostos orgânicos formados por três unidades isoprênicas, somando 15 átomos de carbono (C₁₅). Sua terminologia vem do latim, com o prefixo sesqui significando “um e meio”. São biossintetizados pela via mevalonato, cuja adição de uma unidade IPP (C₅) ao geranyl pirofosfato (GPP) (C₁₀) produz o precursor fundamental dos sesquiterpenos: farnesil pirofosfato (FPP) (C₁₅). Devido ao tamanho da cadeia e quantidade de duplas ligações, há uma variedade de opções de ciclização. A maioria dos esqueletos químicos conhecidos nesta classe são gerados por reações padrões dos carbocátions terpênicos. Bisaboleno, cariofileno, eudesmano e humuleno são exemplos de sesquiterpenos comumente encontrados como produtos naturais, constituindo com frequência óleos essenciais obtidos de plantas (DEWICK, 2009; SIMÕES et al., 2010).

Presilfiperfolano constitui uma importante família de sesquiterpenos, que podem se rearranjar para formar variados esqueletos. Foi primeiramente isolado como produto natural da planta *Eriophyllum staechadifolium*, espécie de origem norte-americana. Bohlmann et al. (1981) sugeriram que o composto isolado, 8 α -hidroxipresilfiperfolano, teria como origem biossintética o α -humuleno, o qual produz o intermediário cátion presilfiperfolano (BOHLMANN et al., 1981; MELCHING; KÖNIG, 1999).

Hong e Stoltz (2014) analisaram recentemente a biossíntese desses sesquiterpenos. Eles relataram que presilfiperfolanos, triquinanos e β -cariofileno eram frequentemente isolados concomitantemente como produtos naturais, sugerindo que essas três classes de sesquiterpenos policíclicos estão conectados por uma via biossintética comum. Corroborando com o trabalho de Bohlmann et al. (1980,1981), evidenciaram que após polícliclização enzimática do cátion cariofileno, seguida de expansão do anel ciclobutano e ciclização do cátion alceno, ocorre a formação do cátion C8-presilfiperfolanil (Figura 15, pág. 45).

Acredita-se que presilfiperfolanos são precursores biossintéticos para esqueletos terpênicos silfiperfolanos, silfinanos, isocomanos, modhefanos, terreciclanos, prenopsanos, nopsanos e cameroonanos (HONG; STOLTZ, 2014).

Recentemente foram isolados sesquiterpenos dessa classe em espécies do gênero *Sinningia* (Gesneriaceae) (VERDAN et al., 2013, 2015b).

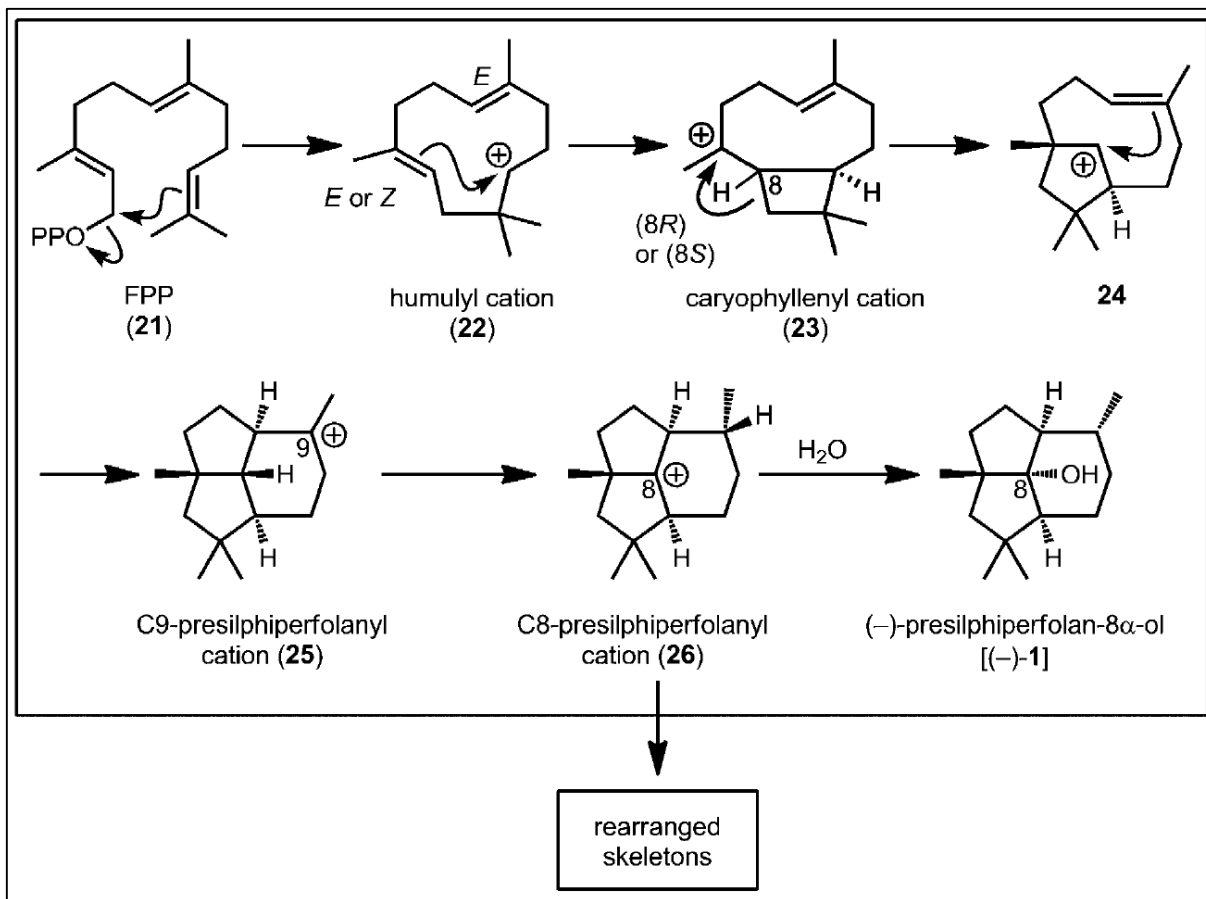


Figura 15. Biossíntese de sesquiterpenos presilfiperfolan e derivados. Adaptado de Hong e Stoltz (2014).

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ESTUDO FITOQUÍMICO DE *Paliavana tenuiflora* Mansf.

4.1.1 Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto (EEB)

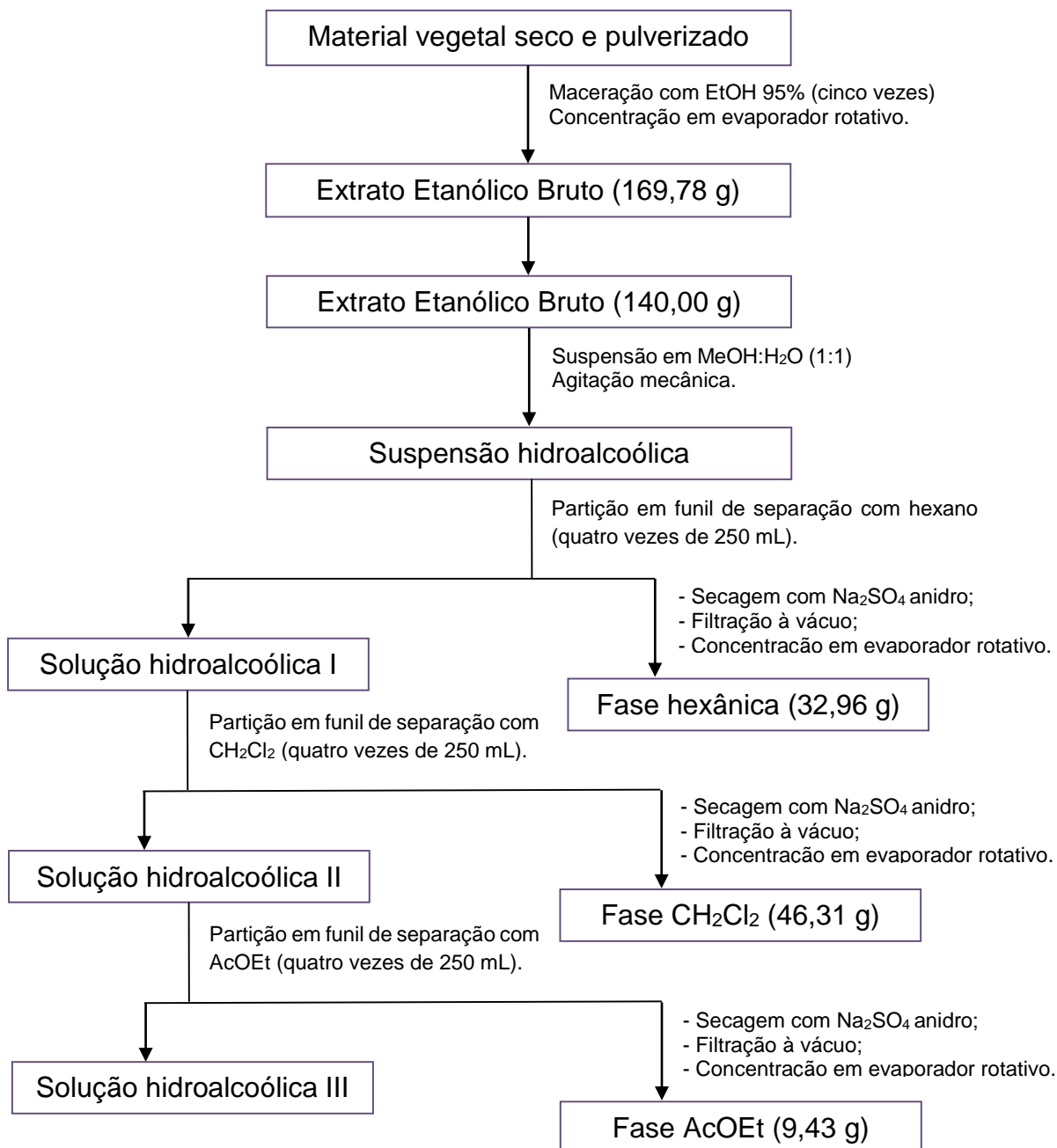
Foram coletadas as partes aéreas da espécie *Paliavana tenuiflora* na Pedra de Santo Antônio (município de Fagundes, estado da Paraíba) no ano de 2004. A coleta e identificação botânica foi realizada pela Professora Doutora Maria de Fátima Agra, sendo uma exsicata depositada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB) do Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, com registro M.F. Agra 6090.

O material vegetal foi desidratado em estufa de ar circulante à temperatura de 40 °C por um período de 72 horas, em seguida triturado e moído com auxílio de moinho mecânico. O pó seco obtido, pesando 2,235 kg, foi submetido ao processo de maceração utilizando-se o solvente etanol (EtOH) a 95% por três dias contínuos em recipiente de aço inoxidável. Repetido o processo de extração por cinco vezes, as soluções extrativas obtidas foram concentradas em evaporador rotativo a temperatura de 40 °C, originando, então, o Extrato Etanólico Bruto (EEB) (Esquema 1, pág. 48).

Após concentrada, a solução extrativa resultou em 169,78 g de EEB, obtendo-se um rendimento de 7,59% em relação ao peso seco do material vegetal. Para os procedimentos de isolamento das substâncias, uma alíquota do EEB (140,00 g) foi adicionada a uma solução metanol:água (1:1) e homogeneizada em agitação mecânica por sessenta minutos, obtendo-se uma suspensão aquosa. Em seguida, esta foi submetida a um procedimento de partição líquido-líquido utilizando-se os solventes hexano, diclorometano e acetato de etila, nesta ordem, dando origem, respectivamente, às fases hexânica, diclorometânica e acetato de etila (Esquema 1, pág. 48).

As fases foram tratadas com sulfato de sódio anidro para desidratação, em seguida foram filtradas e por fim concentradas em evaporador rotativo à 40 °C. Após esses procedimentos obteve-se: 32,96 g de fase hexânica, 46,31 g de fase diclorometano e 9,43 g de fase acetato de etila.

Esquema 1. Etapas dos procedimentos de obtenção do Extrato Etanólico Bruto de *Paliavana tenuiflora* Mansf. e seu particionamento.



4.1.2 Isolamento e purificação dos constituintes químicos

O isolamento, a purificação e a análise dos constituintes químicos da planta foram procedidos utilizando-se cromatografias em coluna (CC) e em camada delgada analítica (CCDA).

Para todas as CC foi empregada a mesma metodologia: foram realizadas com sílica gel (G60 da Silicycle, de partículas com dimensões entre 60 – 200 µm e 70 – 230 mesh) como fase estacionária e colunas de vidro. Os comprimentos e diâmetros das colunas, assim como a quantidade de sílica gel utilizada, variaram dependendo da quantidade das amostras utilizadas. Para o procedimento, as colunas foram montadas e as amostras, após adsorvidas em sílica, foram colocadas na parte superior da fase estacionária. Apenas nas cromatografias de purificação as amostras foram solubilizadas em solvente apropriado e aplicadas na parte superior da fase estacionária, sem necessidade de adsorção em sílica. Após aplicação das amostras, foram realizadas as eluições, usando como fases móveis os solventes comerciais hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade.

As CCDAs foram realizadas para análise das frações obtidas por CC, utilizando-se, para tal, placas cromatográficas comerciais (Whatman AL SIL G/UV) e os mesmos solventes da CC, ou seja, hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias. As substâncias separadas foram reveladas por meio da exposição das placas à luz ultravioleta (UV) com comprimento de onda 254 e 366 nm, em aparelho MINERALIGHT (modelo UVGL-58). Algumas placas foram também expostas a reagentes específicos para revelação de determinadas substâncias. O hidróxido de amônio (NH₄OH) promoveu a oxidação das quinonas reduzidas, geralmente incolores, para a forma oxidada, laranja ou vermelha; e o vapor de iodo permitiu a observação de algumas manchas não visualizadas pelos outros métodos (SIMÕES et al., 2010).

As frações semelhantes foram reunidas, após análise das cromatoplasmas, de acordo com a similaridade de eluição das manchas, e encaminhadas para espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio.

l) Fracionamento da fase hexânica

Uma parte da fase hexânica (10,11 g) foi submetida à CC, utilizando-se sílica gel como fase estacionária e os solventes hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, como fases móveis, divididas em 21 sistemas, originando 175 frações de 250 mL (Tabela 1, pág. 52), que após coletadas foram concentradas em evaporador rotativo.

As 175 frações foram monitoradas por CCDA e reunidas, resumindo-se ao final em 38 grupos de frações (Tabela 1, pág. 52 e Esquema 2, pág. 53). Estes foram codificados utilizando-se o código da primeira fração original de cada grupo de frações, ou seja, no caso da fração reunida 01, por exemplo, trata-se das frações originais 01 e 02.

A fração 40 (344,90 mg) foi submetida a CC, obtendo-se 97 frações de 50 mL, as quais foram monitoradas por CCDA. A fração 40.10 (61,00 mg) apresentou-se como um sólido cristalino branco, foi codificada como *Pt-1*, e analisada por espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C .

A fração 28 (464,80 mg) foi submetida a CC, originando 93 frações de 25 mL. A fração 28.18 (93,80 mg) foi também submetida a CC, obtendo-se dela 51 frações de 20 mL. A fração 28.18.03 apresentou-se como um óleo de coloração escura e foi encaminhada para análise por espectroscopia de RMN de ^1H . Em seguida, foi então submetida a uma CC de purificação, obtendo-se a fração 28.18.03.02 (32,70 mg) como um óleo transparente de coloração levemente marrom-avermelhado, a qual foi codificada como *Pt-2*, e analisada por RMN ^1H e ^{13}C . As frações obtidas das três CC foram monitoradas por CCDA.

A fração 10 (130,50 mg) foi submetida a CC, gerando 53 frações de 25 mL, as quais foram monitoradas por CCDA. A fração 10.36 (10,30 mg) apresentou-se como um sólido amarelado e foi encaminhada para análise em espectroscopia por RMN de ^1H .

A fração 11 (304,20 mg) foi cromatografada por CC, dividindo-se em 69 frações de 25 mL, que foram monitoradas por meio da CCDA. A fração 11.36 (3,70 mg), após evaporação do solvente, mostrou-se como um sólido amarelado e foi encaminhada para análise em espectroscopia por RMN de ^1H .

Devido às semelhanças em CCDA e em espectroscopia de RMN de ^1H , as frações 10.36 e 11.36 foram reunidas na fração 10-11.36 (14,00 mg) e submetida a uma CC de purificação, promovendo-se sua separação em 34 frações, as quais foram monitoradas por CCDA. A fração 10-11.36.05 (5,60 mg) apresentou-se como um sólido amarelado, foi codificada como *Pt-3*, e analisada por espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C .

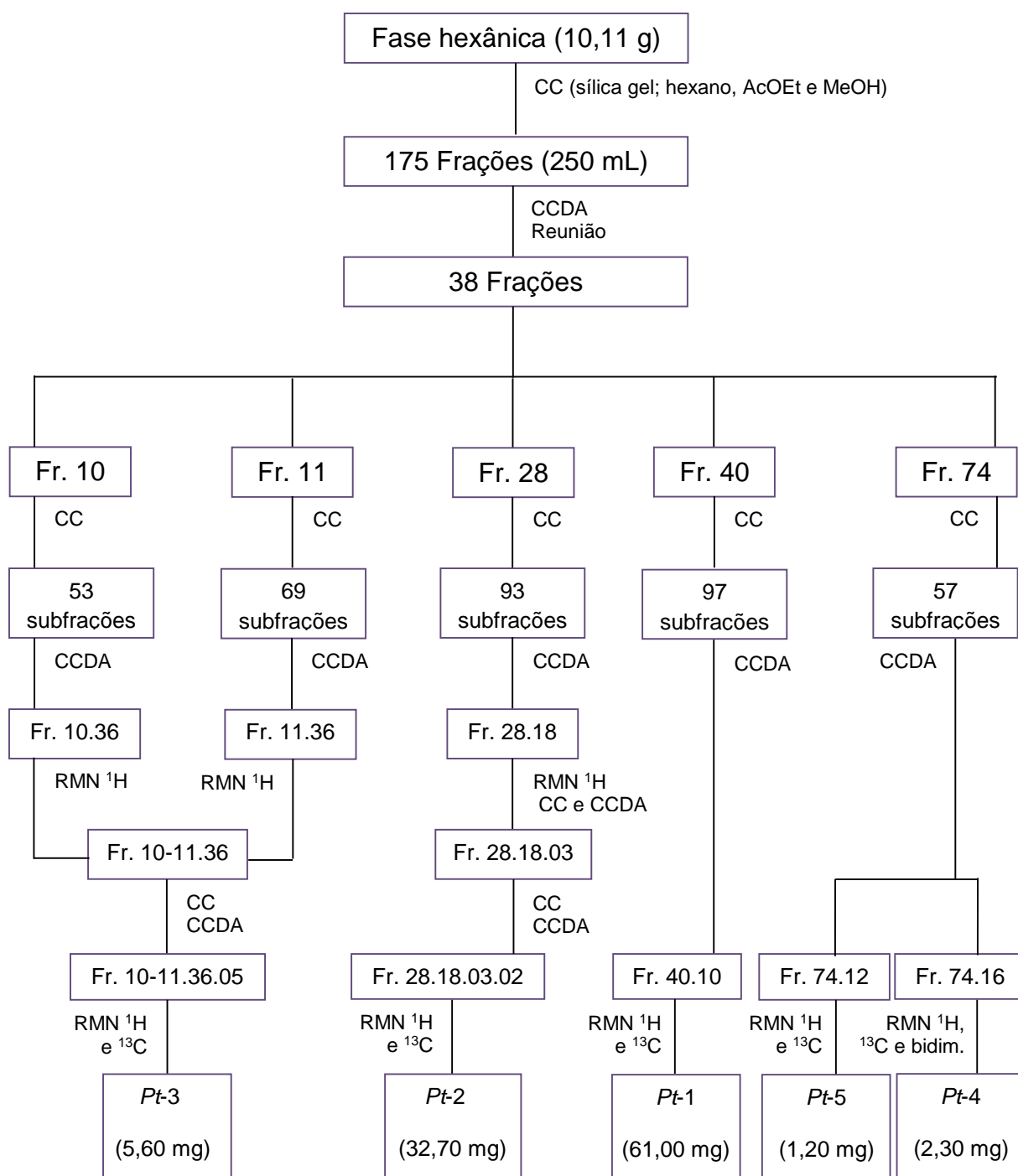
A fração 74 (191,10 mg) foi submetida a CC, obtendo-se após o procedimento 57 frações de 50mL, as quais foram monitoradas por CCDA. As frações 74.12 (1,20 mg) e 74.16 (2,30 mg) apresentaram-se como sólidos de coloração laranja, foram codificadas, respectivamente, como *Pt-5* e *Pt-4*, e analisadas por espectroscopia em RMN de ^1H e ^{13}C , utilizando-se ainda as técnicas bidimensionais de correlação HMBC e NOESY.

Observa-se que apesar da ordem de isolamento (Esquema 2, pág. 53), optou-se por codificar as substâncias isoladas conforme a classe de metabólito secundário, objetivando apresentar de forma mais clara os resultados obtidos, não misturando assim as diferentes classes.

Tabela 1. Método utilizado para fracionamento da fase hexânica de *Paliavana tenuiflora*

	Sistema eluente	Frações coletadas	Frações reunidas
1	Hexano 100%	01 - 07	01 (01-02); 03 (03-07)
2	Hexano 95:5 AcOEt	08 - 32	08 (08-09); 10 ; 11 (11-13); 14 (14-19); 20 (20-27); 28 (28-37)
3	Hexano 9:1 AcOEt	33 - 52	38 (38-39); 40 (40-42); 43 ; 44 (44-49); 50 (50-57)
4	Hexano 85:15 AcOEt	53 - 117	58 ; 59 (59-61); 62 (62-73); 74 (74-80); 81 ; 82 ; 83 (83-87); 88 (88-95); 96 (96-108); 109 (109-116); 117 (117-122)
5	Hexano 7:3 AcOEt	118 - 121	
6	Hexano 1:1 AcOEt	122 - 125	123 (123-124); 125 ; 126 (126-127)
7	Hexano 3:7 AcOEt	126 - 130	128 ; 129 ; 130
8	Hexano 1:9 AcOEt	131 - 139	131 (131-138); 139 (139-152)
9	AcOEt 100%	140 - 146	
10	AcOEt 99:01 MeOH	147 - 148	
11	AcOEt 97:03 MeOH	149 - 155	153 (153-154); 155 (155-158)
12	AcOEt 95:05 MeOH	156 - 157	
13	AcOEt 9:1 MeOH	158 - 159	159 (159-168)
14	AcOEt 8:2 MeOH	160 - 161	
15	AcOEt 7:3 MeOH	162 - 163	
16	AcOEt 6:4 MeOH	164 - 165	
17	AcOEt 1:1 MeOH	166 - 167	
18	AcOEt 4:6 MeOH	168 - 169	169 (169-170)
19	AcOEt 3:7 MeOH	170 - 171	171
20	AcOEt 2:8 MeOH	172 - 173	172 (172-175)
21	AcOEt 1:9 MeOH	174 - 175	

Esquema 2. Fracionamento da fase hexânica de *Paliavana tenuiflora* Mansf.



4.1.3 Caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados

A determinação das estruturas químicas das substâncias isoladas da planta foi efetuada por meio de técnicas espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear e experimentos de rotação óptica.

I) Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

As amostras analisadas foram previamente preparadas dissolvendo-as no solvente clorofórmio deuterado (CDCl₃) comercial da marca Cambridge Isotope Laboratories. Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C foram obtidos em espectrômetros VARIAN-NMR-SYSTEM 200MHz e VARIAN-NMR-SYSTEM 500MHz.

As multiplicidades dos picos nos espectros de RMN de ¹H foram indicadas conforme as conveções: *s* (singleto), *sl* (singleto largo), *d* (dubleto), *dl* (dubleto largo), *dd* (duplo dubleto), *ddd* (duplo-duplo dubleto), *t* (tripleto), *q* (quarteto) e *m* (multipeto).

Os espectros de RMN de ¹³C foram obtidos pelas técnicas APT e Broadband. Na técnica APT, os picos foram convencionados como: sinais de carbonos não hidrogenados (C) e metilênicos (CH₂) dispostos acima da linha de base e os sinais de carbonos metínicos (CH) e metílicos (CH₃) dispostos abaixo da linha de base.

Foram ainda utilizadas as técnicas espectrais bidimensionais de correlação heteronuclear HMBC, para elucidação estrutural de *Pt-4* e *Pt-5*, e homonuclear NOESY, para observação espacial entre os hidrogênios de *Pt-4*.

As informações espectrais foram comparadas com dados descritos na literatura, quando disponíveis, auxiliando na caracterização estrutural das substâncias analisadas.

II) Rotação óptica ([α]_D)

A rotação óptica do composto isolado *Pt-4* foi determinada no polarímetro JASCO P-2000, em clorofórmio, e mediu-se o ângulo de desvio da luz polarizada, expressando-se o resultado em rotação óptica ([α]_D), calculado por meio da fórmula:

$$[\alpha]_D^{25} = \frac{\text{rotação em graus} \times 100}{\text{comprimento da cubeta (cm)} \times \text{concentração (g/100 mL)}}$$

III) Modelagem molecular

Para confirmação da estrutura química de *Pt-4*, foram realizados cálculos de predição de dados de RMN.

Os modelos analisados foram desenhados no programa Marvin 16.1.11.0, 2016, ChemAxon (chemaxon.com). O programa Standardizer, JChem 16.1.11.0, 2016, ChemAxon (chemaxon.com), foi utilizado para canonizar as estruturas. Esse processo converte uma estrutura química escolhida arbitrariamente em uma notação única, adiciona hidrogênios e limpa o gráfico molecular em três dimensões. O processo usa uma abordagem de divisão-e-conquista. A estrutura é dividida em pequenos fragmentos os quais são organizados em uma árvore usando informações de conectividade. Confôrmers gerados para a estrutura inicial (representada pelo nó raiz na árvore) são otimizados. O processo de construção de árvores usa uma versão estendida do campo de força Dreiding (IMRE et al., 2003).

A otimização da geometria e análise conformacional foi realizada utilizando o programa Spartan 16 para Windows (WAVEFUNCTION, INC., 1991). A geometria das estruturas químicas foi inicialmente otimizada pelo campo de força Merck Molecular Force Field (MMFF) (HALGREN, 1996), e posteriormente uma nova otimização geométrica foi realizada com base no método semi-empírico Austin Model 1 (AM1) (DEWAR et al., 1985). Foi utilizado um método de busca sistemática, o qual analisou os confôrmers e selecionou aqueles com a menor energia mínima, usando o AM1 e o algoritmo de Monte-Carlo (METROPOLIS & ULAM, 1949). Após isso, as menores energias mínimas foram selecionadas e otimizadas com base no cálculo vibracional usando a abordagem DFT (density functional theory) (BECKE, 1988).

Os cálculos de DFT foram realizados usando o programa Spartan 16 para Windows (WAVEFUNCTION, INC., 1991) (BECKE, 1988; LIN et al., 2004). Cada estrutura estudada foi examinada no nível EDF2/6-311G* e as estruturas com menores energias foram selecionadas para os cálculos. O mínimo global na superfície de energia potencial foi usado para a determinação de cada geometria e os deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C foram gerados com base no peso de Boltzmann determinado para cada confômero usando valores de energia livre. Assim, os deslocamentos químicos de RMN foram calculados usando o peso de Boltzmann para cada conformação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo fitoquímico resultou no isolamento e caracterização estrutural de cinco substâncias de *Paliavana tenuiflora*: uma mistura de esteroides (*Pt-1a* e *Pt-1b*), um sesquiterpeno (*Pt-2*), uma antraquinona (*Pt-3*) e duas naftoquinonas (*Pt-4* e *Pt-5*), todas mostradas na Figura 16 abaixo.

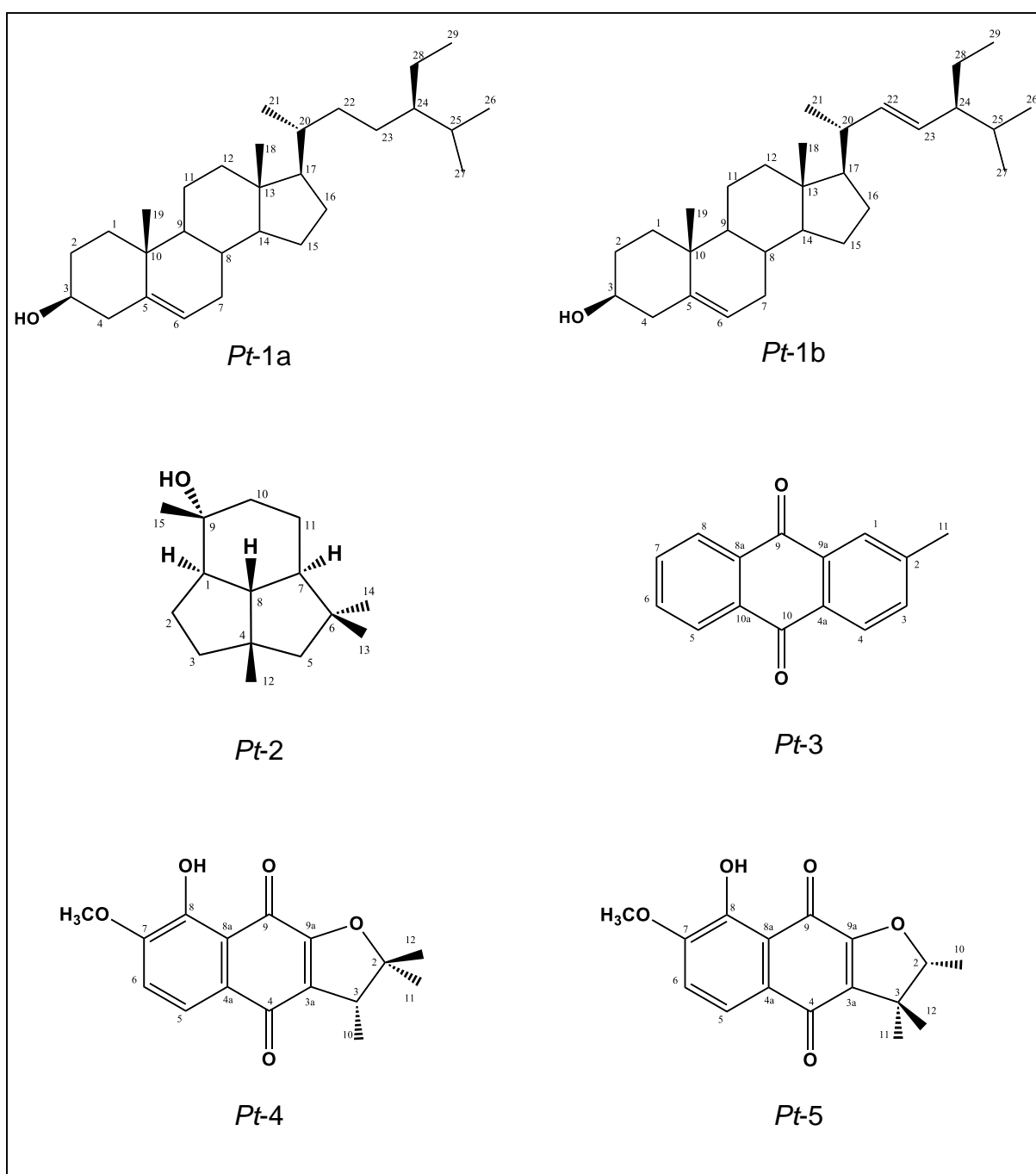


Figura 16. Estruturas químicas das substâncias isoladas de *Paliavana tenuiflora* neste estudo.

5.1 Determinação estrutural de *Pt-1*.

A substância codificada como *Pt-1* foi isolada como um sólido cristalino branco, pesando 61,00 mg, com rendimento de 0,011% em relação ao peso seco do material vegetal.

No espectro de RMN de ^1H (200 MHz em CDCl_3) (Figura 19, pág. 61) foi possível observar um conjunto de sinais com grande multiplicidade em δ_{H} 0,6-2,2, característicos de hidrogênios metínicos, metilênicos e metílicos, compatíveis com esqueleto carbônico de terpenoides (KOJIMA et al., 1990). O multipletto em δ_{H} 3,49 (Figura 21, pág. 62) mostrou-se característico de hidrogênio oximetínico na posição 3 em triterpenos ou esteroides. Observou-se ainda um sinal em δ_{H} 5,32 (dl, $J=4,0$ Hz), e sinais em δ_{H} 4,97 (dd, $J=8,2; 15,3$ Hz) e δ_{H} 5,13 (dd, $J=8,2; 15,3$ Hz), estes acoplando *trans* entre si, o que permitiu sugerir duas unidades olefínicas para *Pt-1*, trissubstituídas em C-6 e dissubstituídas em C-22 e C-23.

Analisando o espectro de RMN de ^{13}C - APT (50 MHz em CDCl_3) (Figura 22, pág. 61) pôde-se observar a presença de alguns sinais intensos ou duplicados, permitindo inferir que *Pt-1* tratava-se de uma mistura de duas substâncias, ambas com o esqueleto carbônico do tipo estigmasteno - C_{29} (Figura 17, abaixo).

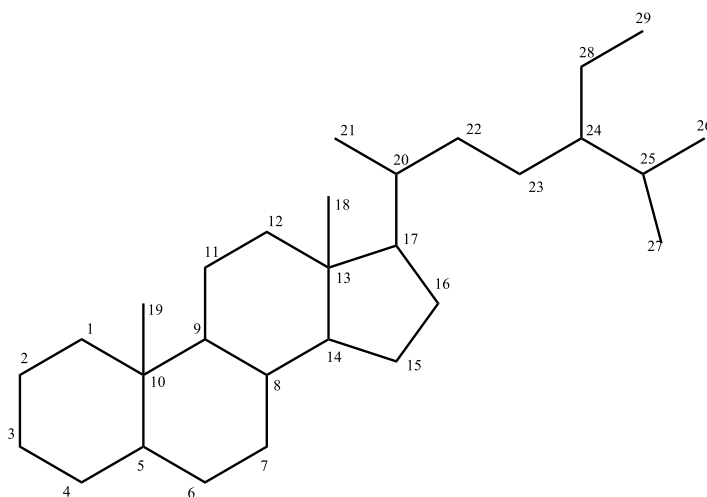


Figura 17. Núcleo esteroidal do tipo estigmasteno.

Observou-se no espectro de RMN de ^{13}C - APT (50 MHz em CDCl_3) (Figura 23, pág. 63) um sinal intenso em δ_{C} 71,7 atribuído a dois carbonos oximetínicos em C-3. E ainda sinais para carbonos sp^2 metínicos em δ_{C} 121,6 (2C) e não hidrogenado em δ_{C} 140,7 (2C), compatíveis com dupla ligação localizada entre C-5 e C-6. Os sinais em δ_{C} 138,3 (1C) e 129,2 (1C) foram atribuídos a carbonos sp^2 metínicos, condizentes com dupla ligação entre C-22 e C-23.

Os deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C de *Pt-1* estão compilados na Tabela 2, pág. 60.

A análise dos dados de RMN e comparação com os da literatura (TOMAZ et al., 2008), permitiu identificar *Pt-1* como uma mistura de β -sitosterol (*Pt-1a*) e estigmasterol (*Pt-1b*) (Figura 18, abaixo), relatados pela primeira vez no gênero *Paliavana* na forma aglicona.

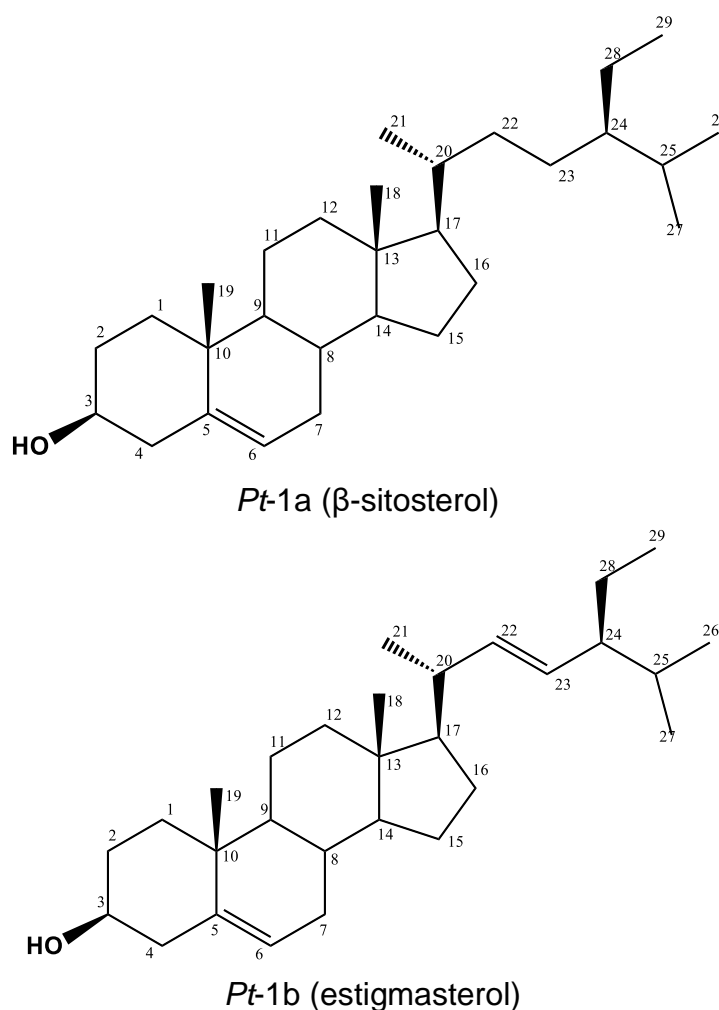
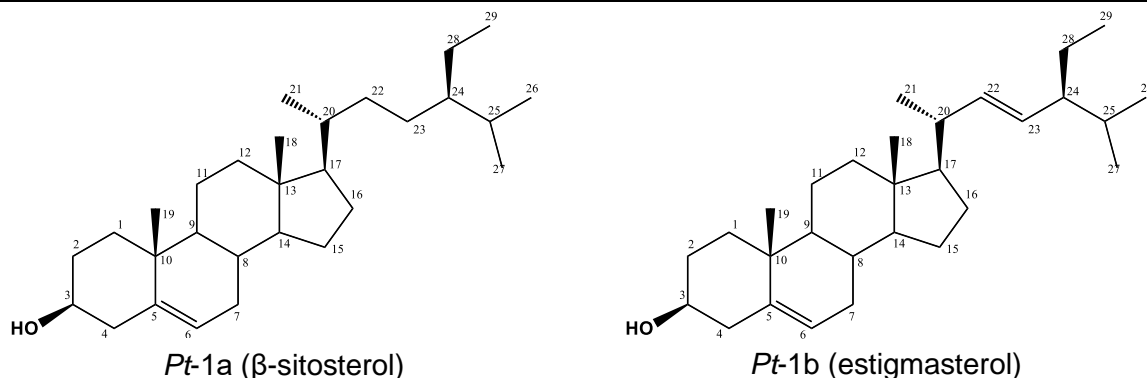


Figura 18. Estruturas químicas de *Pt-1a* (β -sitosterol) e *Pt-1b* (estigmasterol)

Tabela 2. Dados de RMN de *Pt-1* (a/b) (*J* em Hz e δ em ppm, 200 e 50 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, CDCl_3) comparados com os da literatura (TOMAZ et al, 2008).



Posição	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}^*	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}^*
1	-	37,2	37,2	-	37,2	37,2
2	-	31,6	31,4	-	31,6	31,4
3	3,49 (m)	71,7	71,7	3,49 (m)	71,7	71,7
4	-	42,2	42,1	-	42,2	42,1
5	-	140,7	140,7	-	140,7	140,7
6	5,32 (dl, $J=4,0$)	121,6	121,6	5,32 (dl, $J=4,0$)	121,6	121,6
7	-	31,8	31,9	-	31,8	31,9
8	-	31,8	31,8	-	31,8	31,8
9	-	50,1	50,1	-	50,1	50,1
10	-	36,4	36,4	-	36,4	36,4
11	-	21,0	21,0	-	21,0	21,0
12	-	39,7	39,7	-	39,6	39,6
13	-	42,1	42,2	-	42,1	42,2
14	-	56,7	56,7	-	56,8	56,8
15	-	24,2	24,3	-	24,3	24,3
16	-	28,2	28,2	-	28,9	28,9
17	-	56,0	56,0	-	55,9	55,9
18	-	11,8	11,8	-	11,9	11,9
19	-	19,3	19,3	-	19,3	19,3
20	-	36,1	36,1	-	40,5	40,5
21	-	18,9	18,7	-	21,2	21,2
22	-	33,9	34,0	4,97 (dd, $J=8,2$ e $15,3$)	138,3	138,3
23	-	26,0	26,0	5,13 (dd, $J=8,2$ e $15,3$)	129,2	129,2
24	-	45,7	45,7	-	51,2	51,2
25	-	29,0	29,0	-	29,0	29,0
26	-	19,8	19,8	-	21,1	20,1
27	-	19,0	19,0	-	18,7	18,9
28	-	23,0	23,0	-	25,4	25,4
29	-	12,2	12,0	-	12,0	12,2

*Dados da literatura (TOMAZ et al., 2008), em 50 Mhz, CDCl_3 .

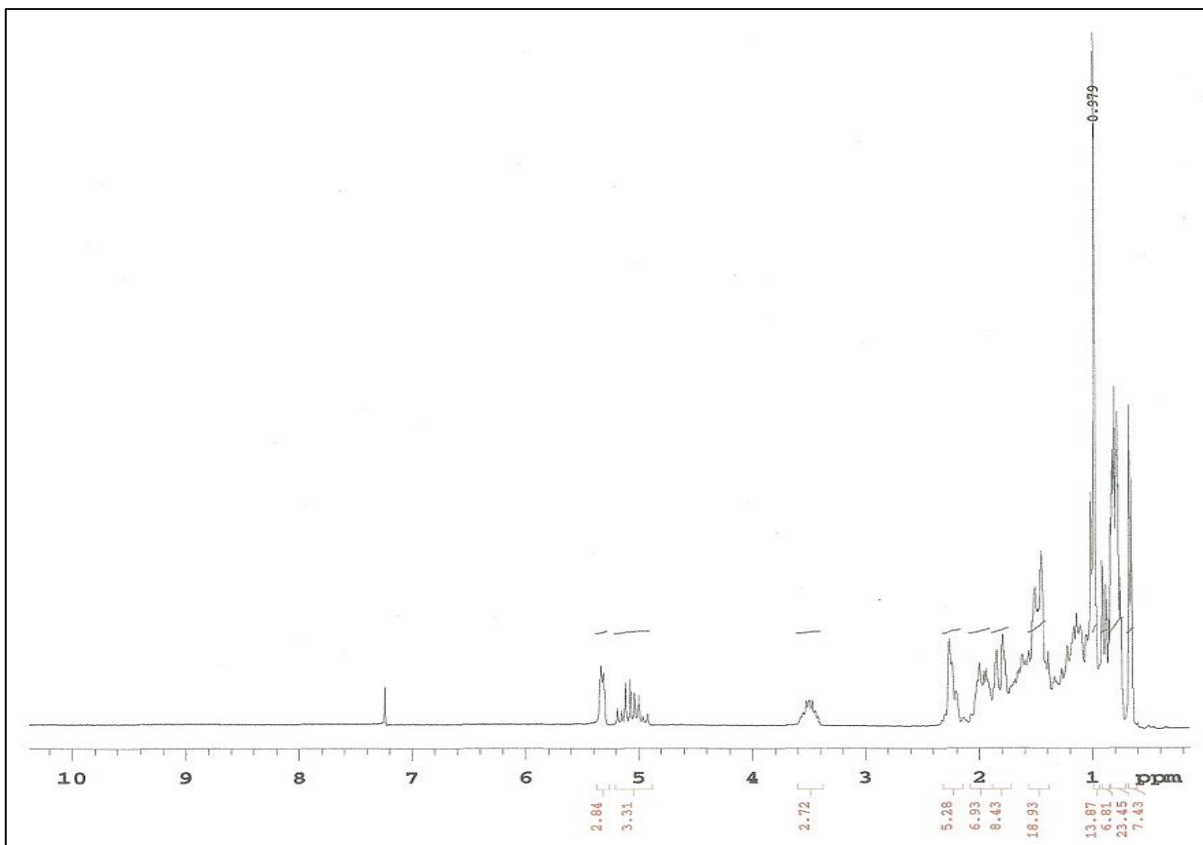


Figura 19. Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) de *Pt-1* (a/b).

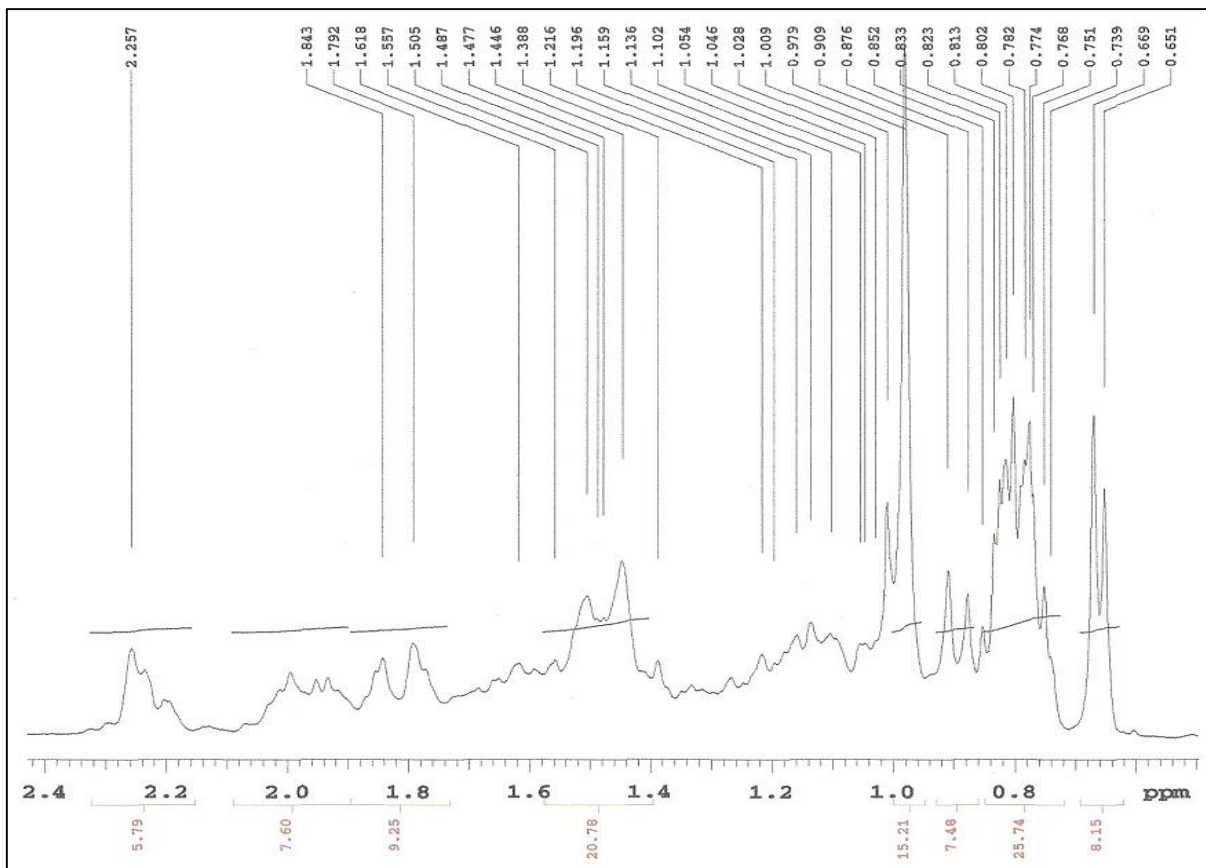


Figura 20. Expansão do espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) de *Pt-1* (a/b), região 0.6-2.4 ppm.

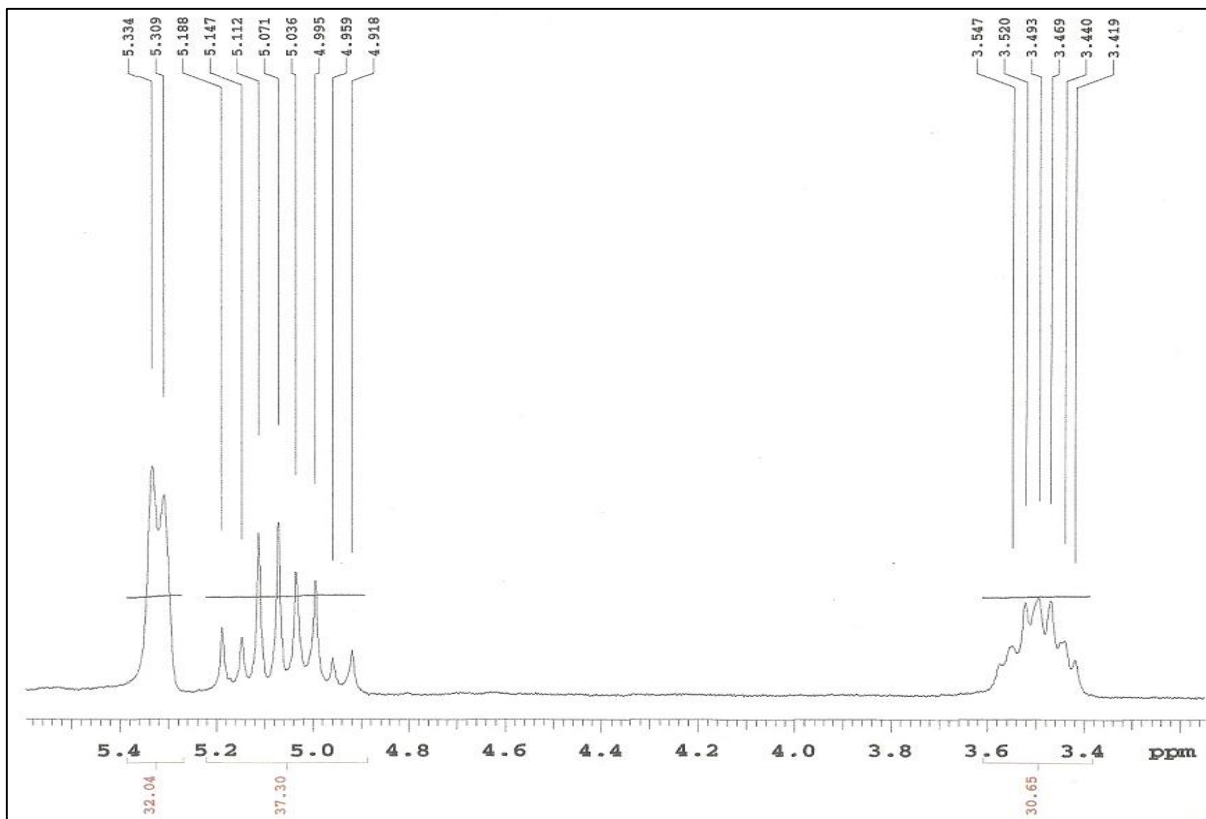


Figura 21. Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de *Pt-1* (a/b), região 3.2-5.6 ppm.

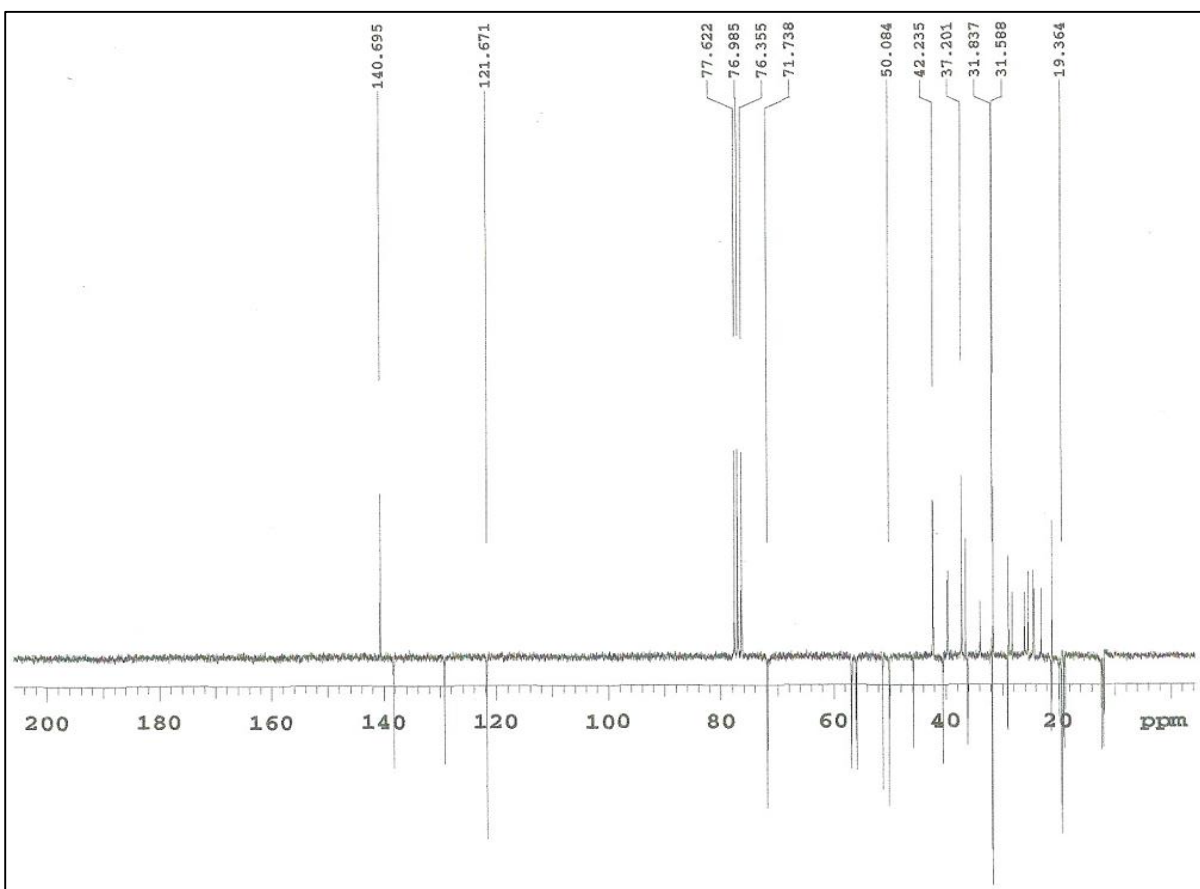


Figura 22. Espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de *Pt-1* (a/b).

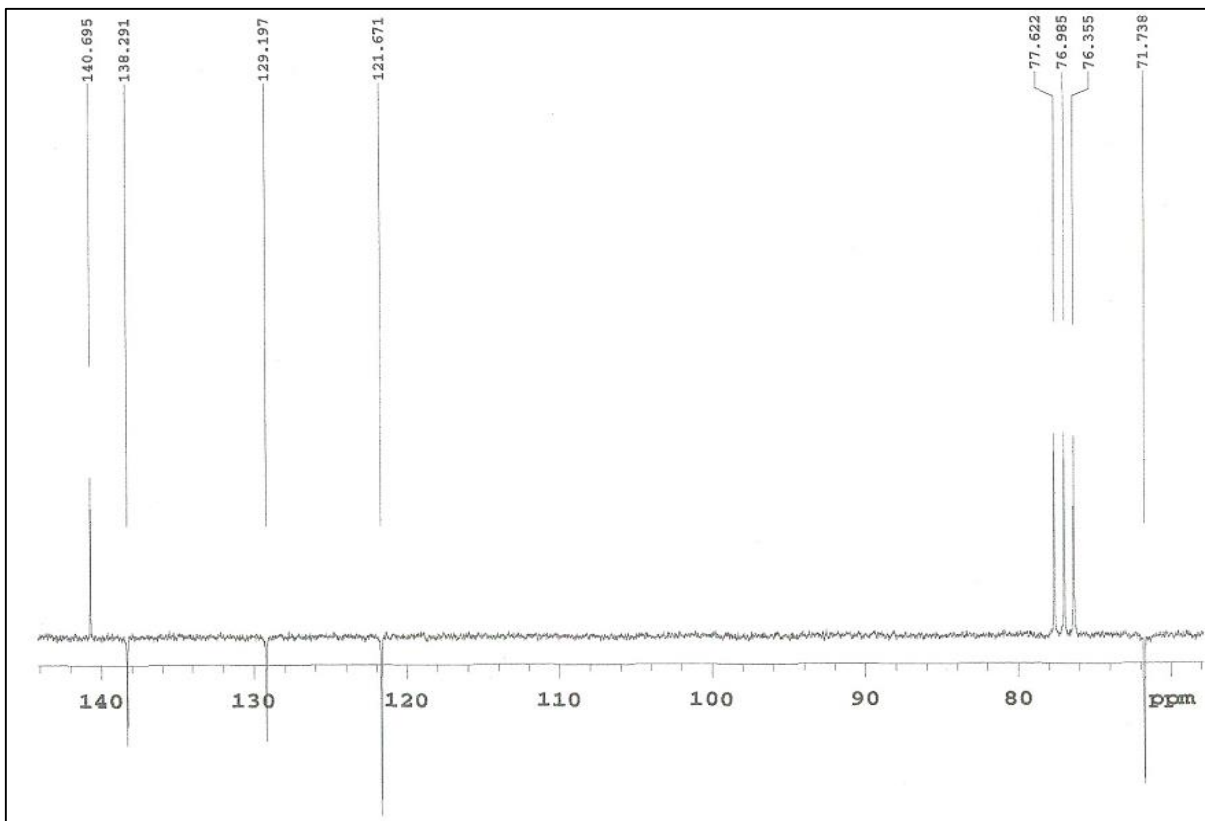


Figura 23. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de *Pt*-1 (a/b), região 70-142 ppm

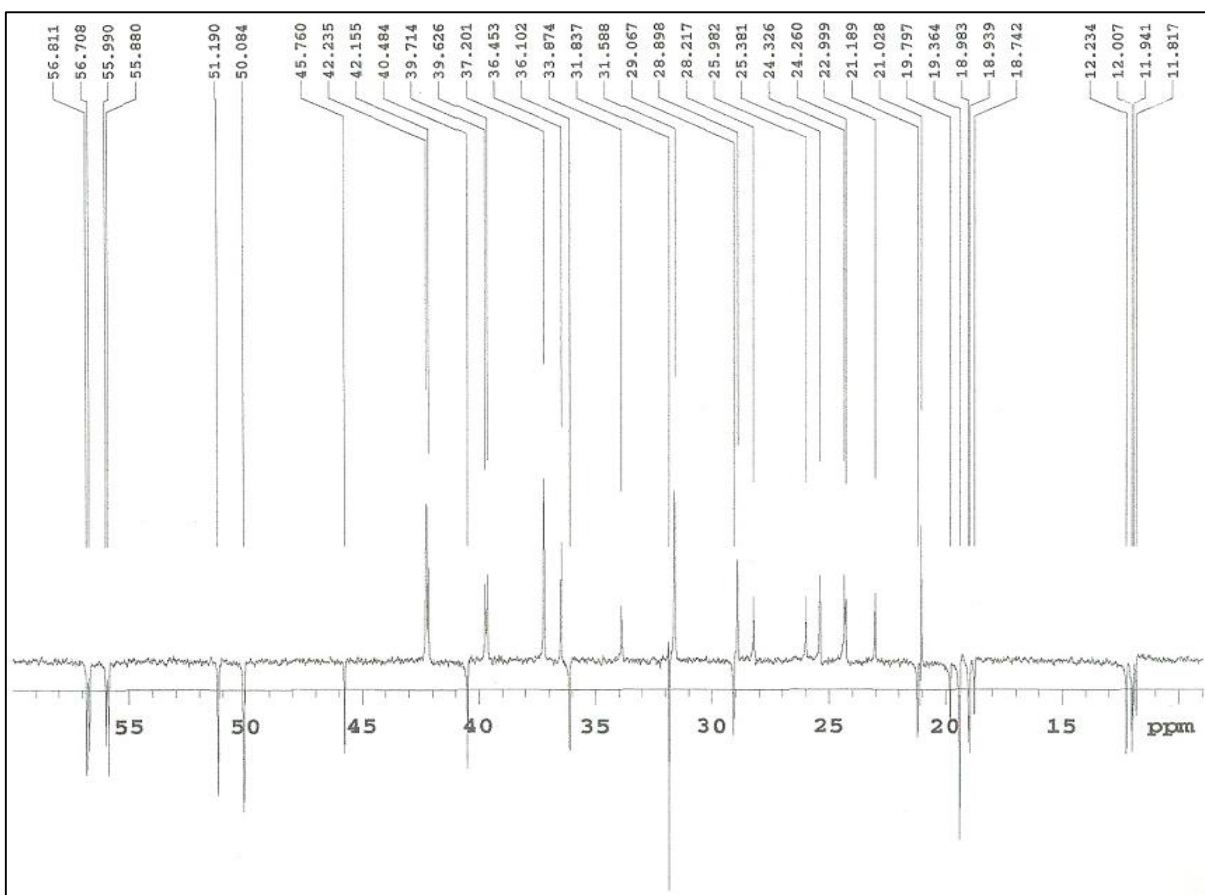


Figura 24. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de *Pt*-1 (a/b), região 10-60 ppm.

5.2 Determinação estrutural de *Pt-2*.

A substância codificada como *Pt-2* foi obtida como um óleo transparente de coloração levemente marrom-avermelhada, pesando 32,70 mg, com rendimento de 0,0058% em relação ao peso seco do material vegetal.

No espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz em CDCl_3) (Figura 26, pág. 66) observou-se a presença de 14 sinais majoritários, referentes a 15 átomos de carbono. Destes, 3 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 3 a metínicos, 5 a metilênicos e 4 a metílicos. Os sinais em δ_{C} 62,1, 60,8 e 63,8 ppm (Figura 27, pág. 66) quando comparados com dados da literatura que relatam sesquiterpenos em Gesneriaceae foram compatíveis com o esqueleto carbônico do tipo presilfiperfolano (MARCO et al., 1996; VERDAN et al., 2015b). Assim, esses deslocamentos químicos foram atribuídos a C-1, C-7 e C-8, respectivamente. Corroborando com a proposta do esqueleto carbônico, observou-se o sinal em δ_{C} 76,2 (Figura 27, pág. 66), atribuído a C-9 e ainda os sinais δ_{C} 30,9, 22,0, 28,7 e 21,7 (Figura 28, pág. 67), atribuídos aos carbonos metílicos C-12, C-13, C-14 e C-15, respectivamente.

No espectro de RMN de ^1H (500 MHz em CDCl_3) (Figura 30, pág.68) observou-se os sinais em δ_{H} 1,04 (s), 0,89 (s), 0,94 (s) e 1,22 (s), atribuídos às metilas 3H-12, 3H-13, 3H-14 e 3H-15, respectivamente. Observou-se ainda o sinal em δ_{H} 1,87 (ddd, $J=13,5, 2, 4$ Hz) atribuído ao H-10.

Os deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C de *Pt-2* estão compilados na Tabela 3, pág. 65.

Após comparação dos dados de RMN de *Pt-2* com dados da literatura, foi possível estabelecer a estrutura como sendo o presilfiperfolano-9-ol, relatado pela primeira vez no gênero *Paliavana*. Esse sesquiterpeno tem ocorrência rara e o mecanismo da Figura 31, pág. 69, mostra sua proposta biossintética.

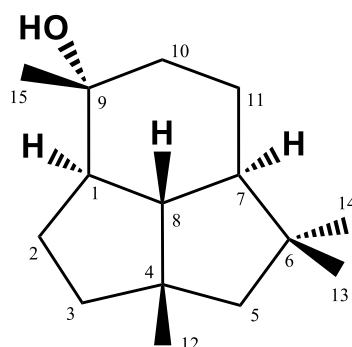
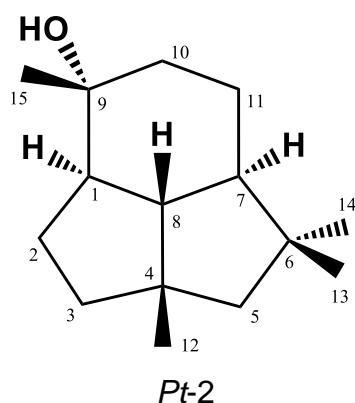


Figura 25. Estrutura química de *Pt-2*

Tabela 3. Dados de RMN de *Pt-2* (*J* em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, CDCl_3) comparados com dados da literatura (MARCO et al., 1996).



Posição	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}^*	δ_{C}^*
1	1,73 (m)	62,1	1,73 (m)	62,2
2	1,73; 1,48 (m)	29,6	1,73; 1,48 (m)	29,7
3	1,60; 1,48 (m)	45,3	1,60; 1,48 (m)	45,3
4	-	42,1	-	42,1
5	1,60 (m)	58,6	1,60 (d, $J=13$) 1,43 (d, $J=13$)	58,7
6	-	46,6	-	46,6
7	1,28 (m)	60,8	1,28 (ddd, $J=10,5, 10,5, 2,5$)	60,8
8	1,34 (m)	63,8	1,34 (dd, $J=10,5, 10,5$)	63,8
9	-	76,2	-	76,0
10	1,48 (m); 1,87 (ddd, $J=13,5, 4, 2$)	45,3	1,48 (m); 1,87 (ddd, $J=13, 4, 2$)	45,4
11	1,20; 1,60 (m)	26,9	1,20; 1,60 (m)	26,9
12	1,04 (s)	30,9	1,03 (s)	30,9
13	0,89 (s)	22,0	0,88 (s)	22,0
14	0,94 (s)	28,7	0,93 (s)	28,8
15	1,22 (s)	21,7	1,22 (s)	21,7

*Dados da literatura (MARCO et al., 1996), em 400 e 100 Mhz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, CDCl_3 .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

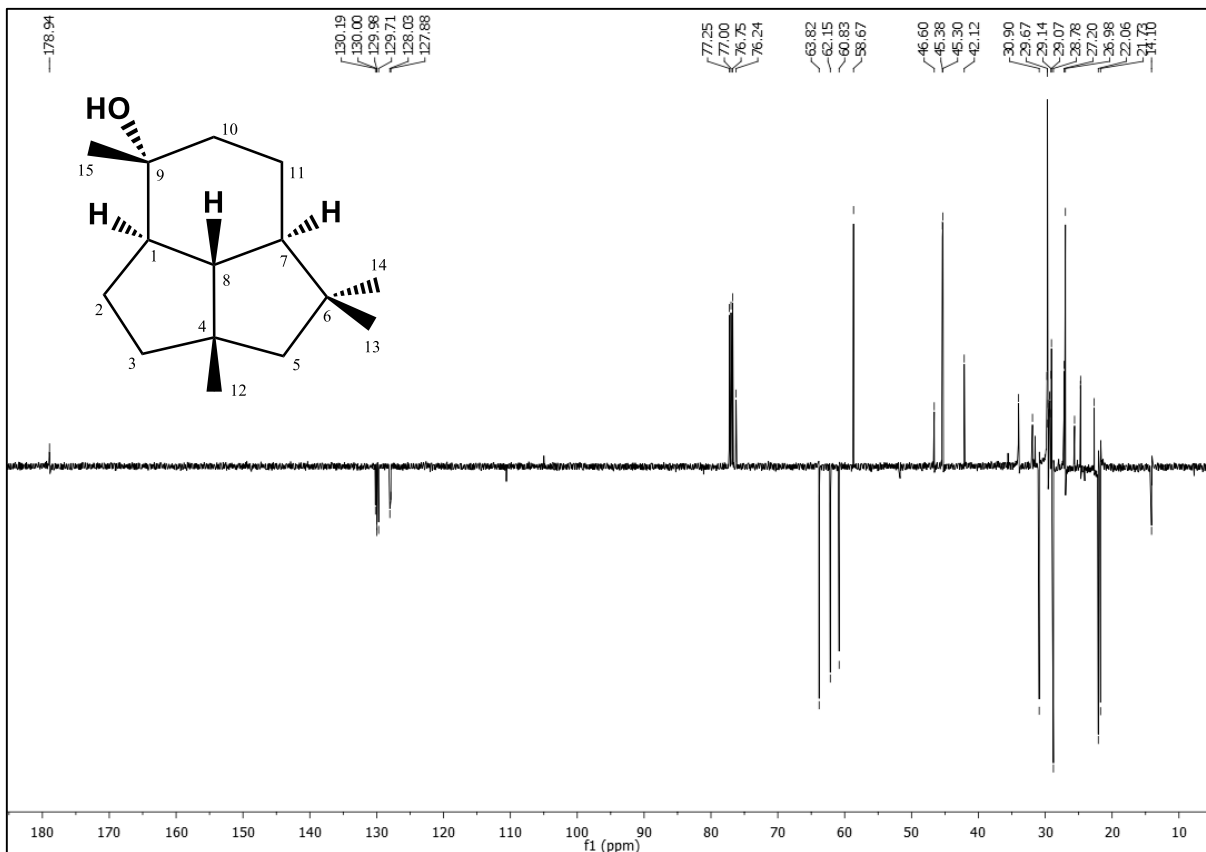


Figura 26. Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de *Pt-2*

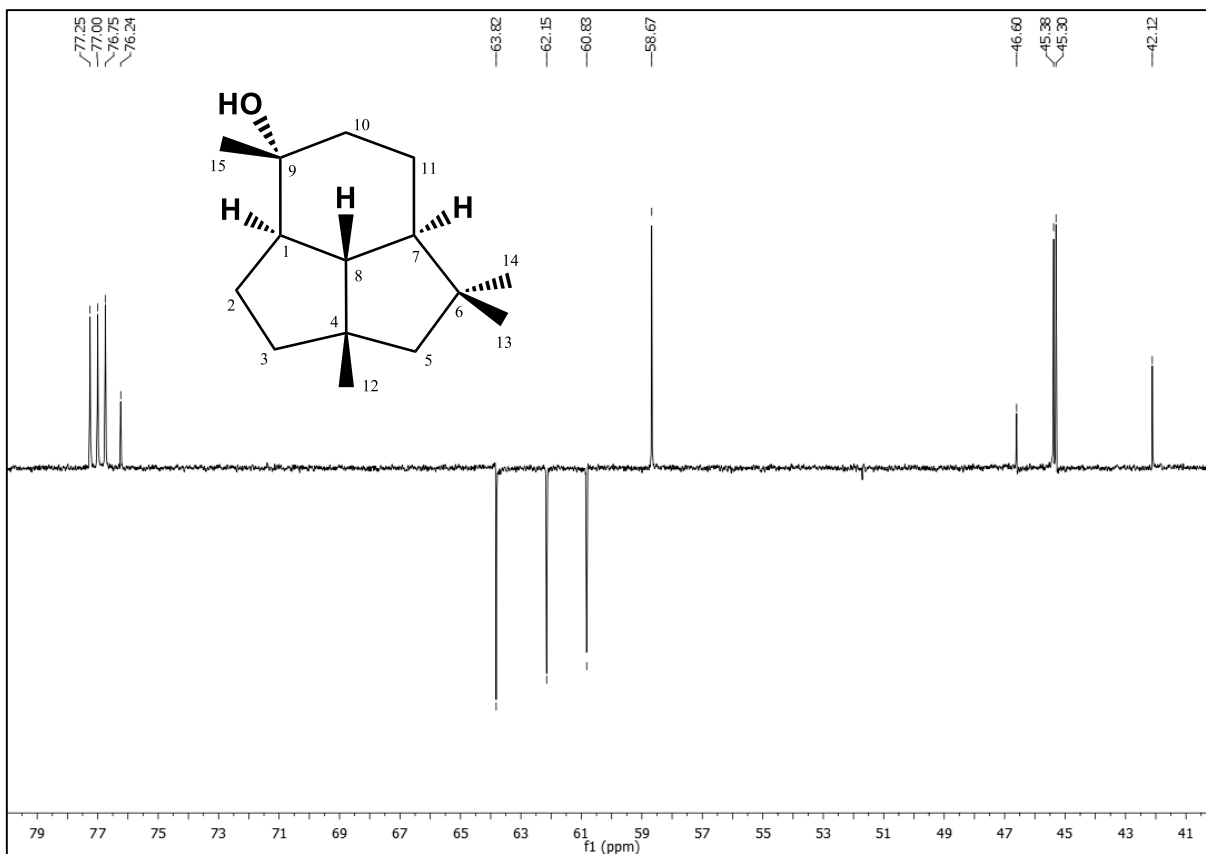


Figura 27. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de *Pt-2*, região 40-80 ppm.

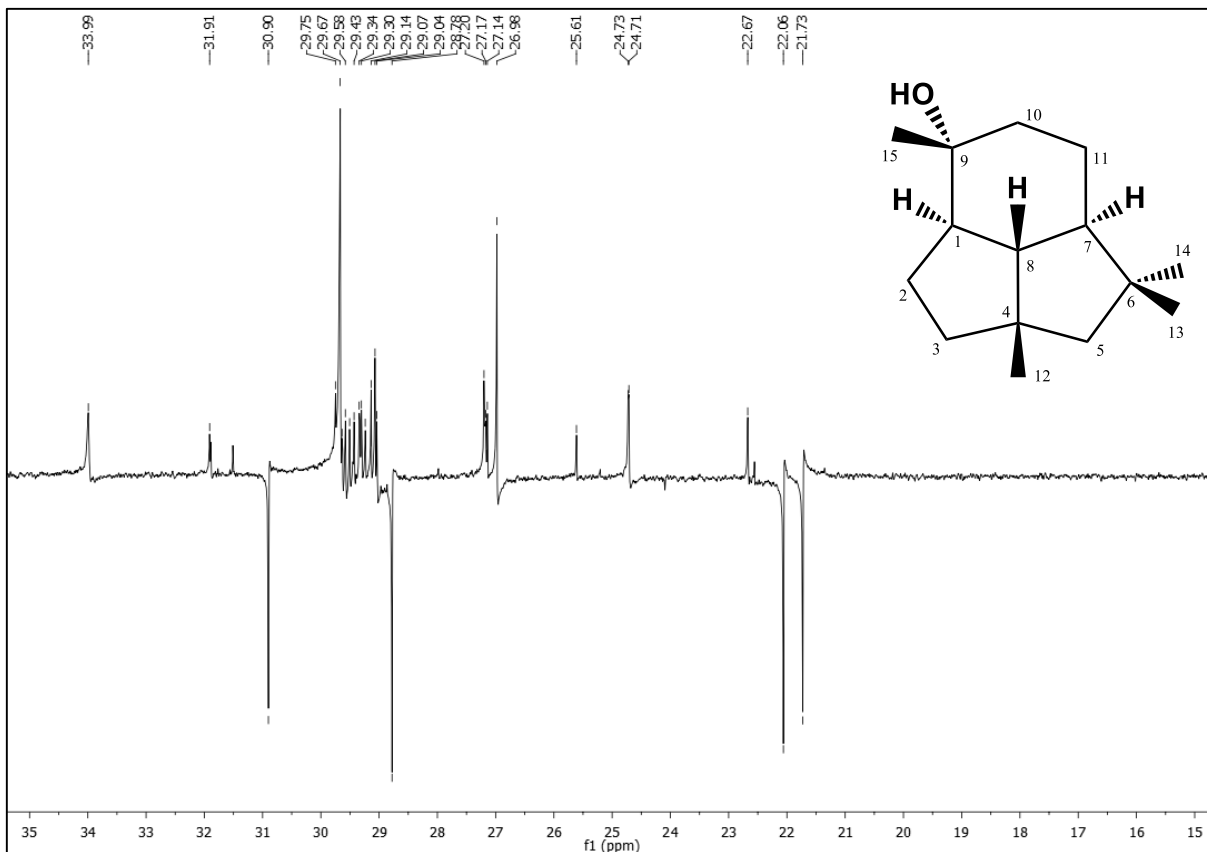


Figura 28. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de *Pt-2*, região 15-35 ppm.

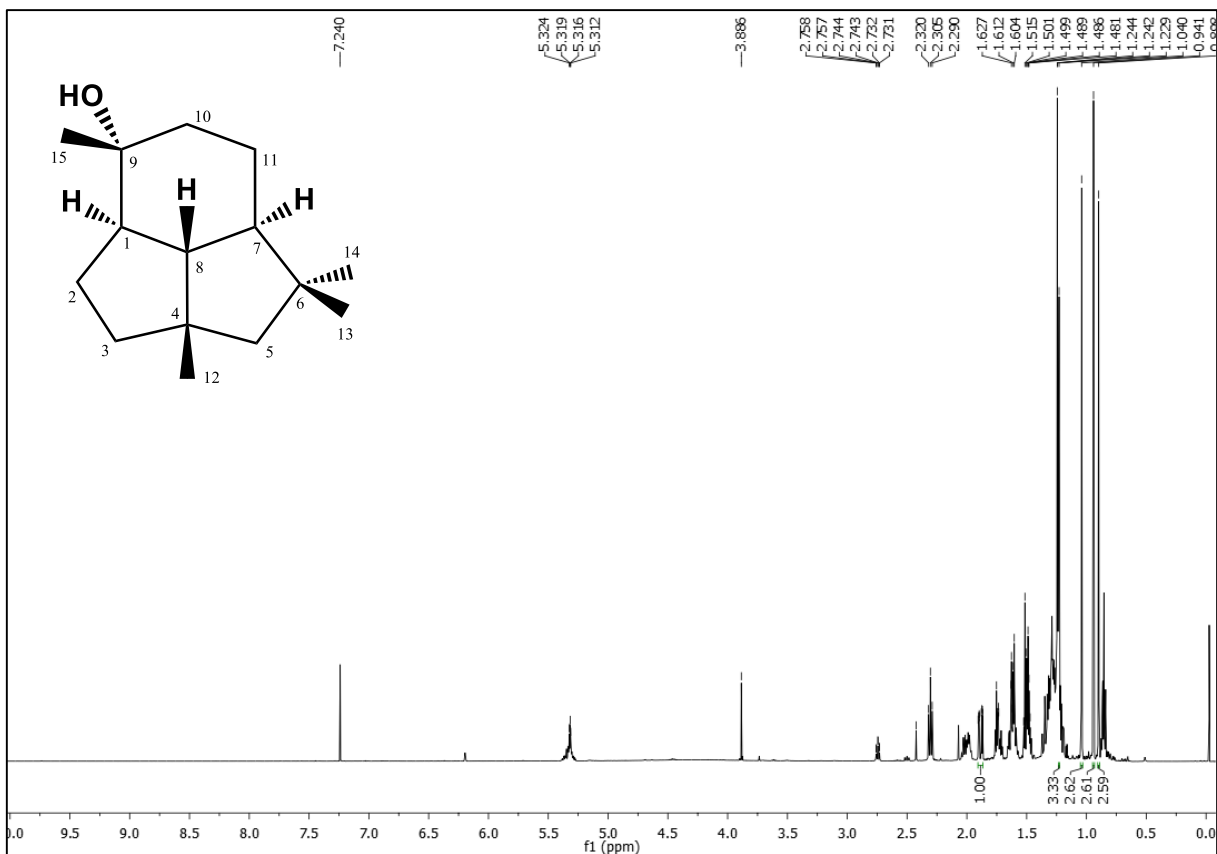


Figura 29. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de *Pt-2*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

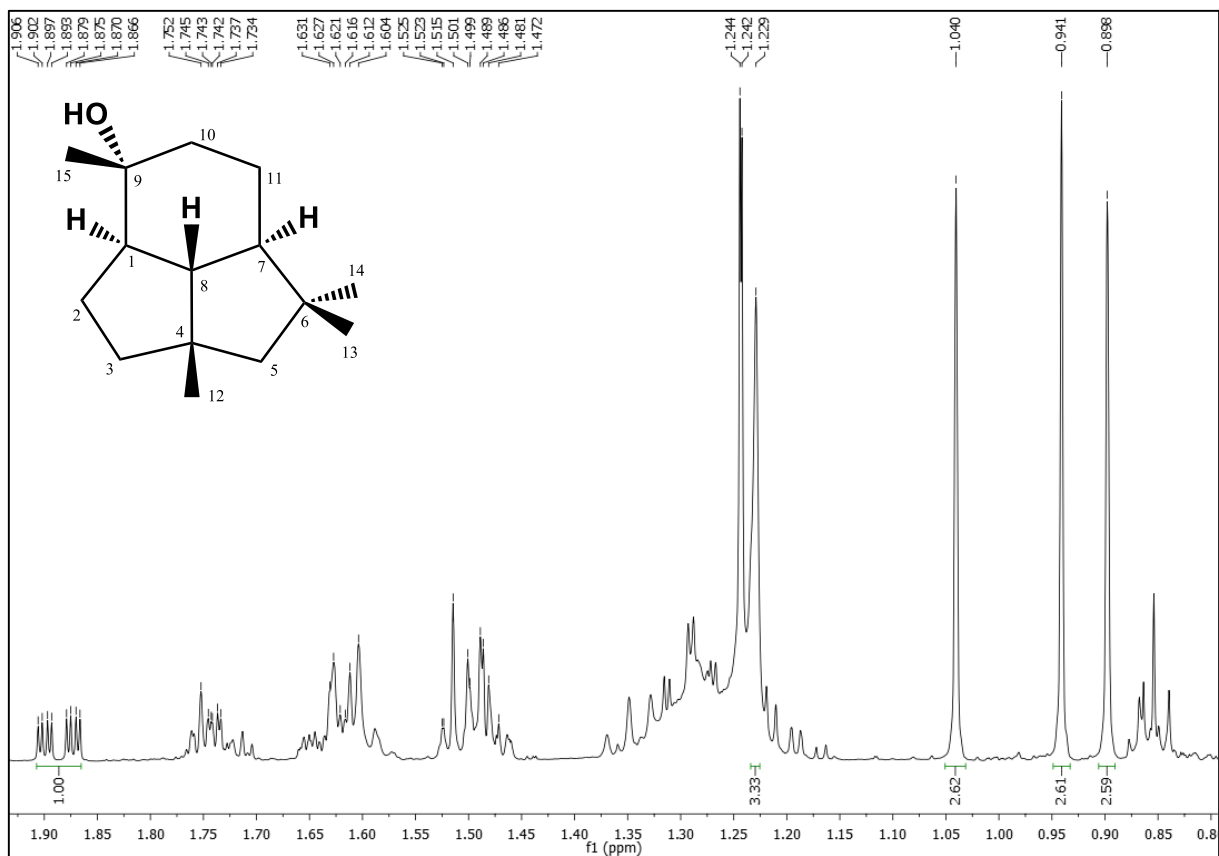


Figura 30. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de *Pt-2*, região 0,8-1,9 ppm.

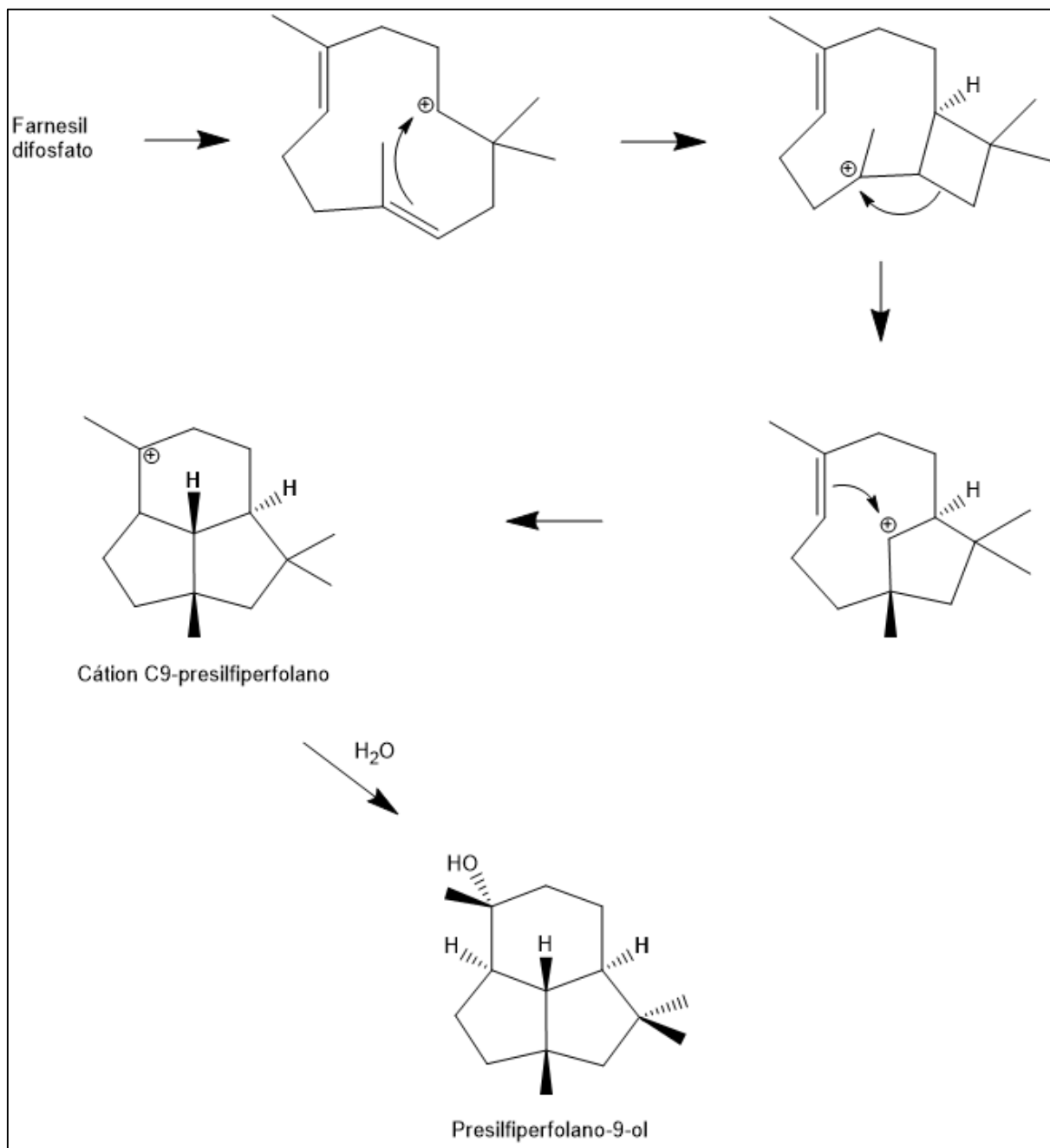


Figura 31. Proposta de biossíntese de *Pt-2* (presiliperfolano-9-ol).

5.3 Determinação estrutural de *Pt-3*.

A substância codificada como *Pt-3* foi isolada na forma de um pó amarelo, pesando 5,6 mg, com rendimento de 0,001% em relação ao peso seco do material vegetal.

No espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz em CDCl_3) (Figuras 33 e 34, pág. 72) observou-se a presença de 15 sinais correspondentes a 15 átomos de carbono. Destes, 7 foram atribuídos a carbonos metínicos sp^2 , 7 a carbonos não hidrogenados sp^2 e um a carbono metílico. Os sinais em δ_{C} 183,4, 183,0 e 21,9, quando comparados com a literatura (MOREIRA et al., 2006), permitiram identificar *Pt-3* como esqueleto carbônico de uma antraquinona. Devido a presença de 7 carbonos metínicos pôde-se inferir que o esqueleto antraquinônico não possui nenhuma substituição por oxigênio.

No espectro de RMN de ^1H (500 MHz em CDCl_3) (Figura 35, pág. 73) foi possível observar sinais característicos de hidrogênios em sistemas aromáticos entre os δ_{H} 7,58 e 8,30, característicos de esqueleto antraquinônico, além de um sinal em δ_{H} 2,51, atribuído à metila ligada a anel aromático. Os sinais em δ_{H} 8,08 (sl) e 8,19 (d, $J=8,0$) (Figura 36, pág. 73) foram atribuídos aos hidrogênios H-1 e H-4, peri às carbonilas. O sinal em δ_{H} 7,58 (d, $J=8,0$) foi atribuído ao H-3 do esqueleto antraquinônico. Observou-se ainda multipletos em δ_{H} 8,28 e 7,76 com integral para dois hidrogênios cada, atribuídos aos demais átomos.

Os dados de deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C de *Pt-3* estão compilados na Tabela 4, pág. 71.

Comparando-se os dados de RMN de ^1H e ^{13}C com dados da literatura foi possível estabelecer a estrutura de *Pt-3* como sendo a tectoquinona (ENDALE et al, 2012; MOREIRA et al., 2006; SCHARF, 2014), relatada pela primeira vez no gênero *Paliavana*.

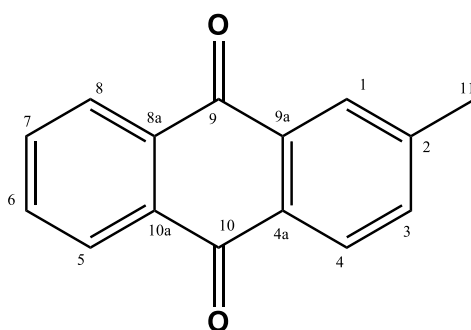
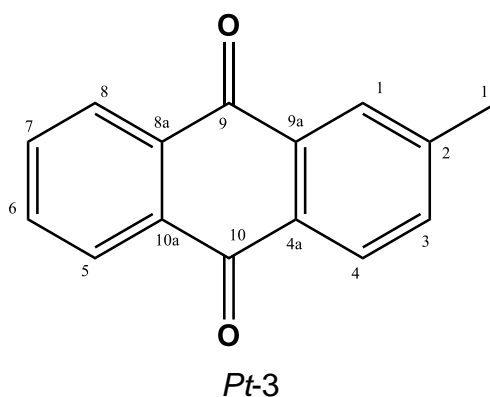


Figura 32. Estrutura química de *Pt-3*.

Tabela 4. Dados de RMN de *Pt-3* (*J* em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, CDCl_3) comparados com dados da literatura (SCHARF, 2014).

Posição	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}^*	δ_{C}^*
1	8,08 (sl)	127,4	8,12 (dq, $J=0,6, 1,9$)	127,5
2	-	145,2	-	145,3
3	7,58 (d, $J=8,0$)	134,9	7,61 (ddq, $J=0,7, 1,9, 8,0$)	134,9
4	8,19 (d, $J=8,0$)	127,5	8,22 (d, $J=8,0$)	127,6
4a	-	131,3	-	131,2
5	8,29 (m)	127,1	8,31 (m)	127,2
6	7,77 (m)	133,9	7,80 (dd, $J=5,6, 3,3$)	134,0
7	7,77 (m)	134,0	7,80 (dd, $J=5,6, 3,3$)	134,0
8	8,29 (m)	127,1	8,31 (m)	127,2
8a	-	133,5	-	133,6
9	-	183,4	-	183,6
9a	-	133,4	-	133,6
10	-	183,0	-	183,0
10a	-	133,6	-	133,6
11	2,51 (s)	21,9	2,54 (s)	21,9

*Dados da literatura (SCHARF, 2014), em 400 e 100 Mhz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, CDCl_3 .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

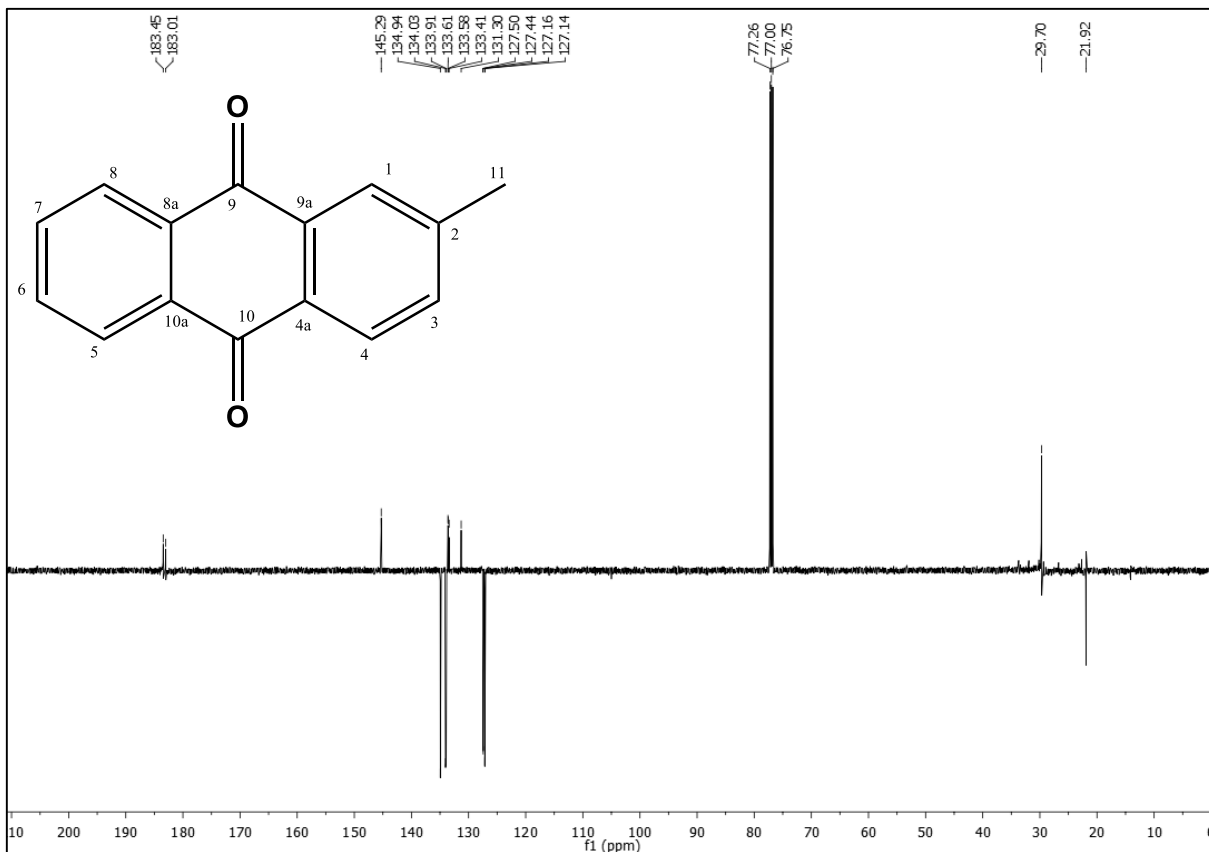


Figura 33. Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Pt-3.

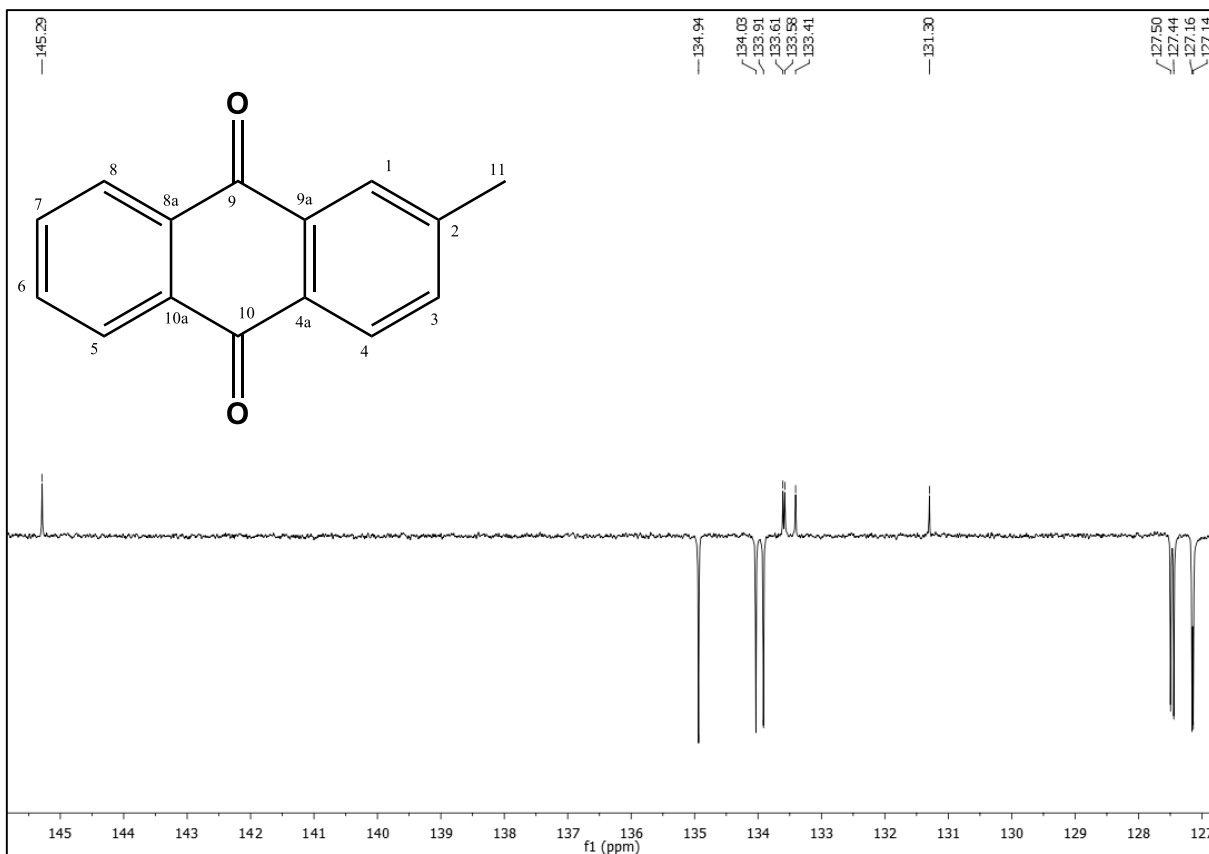


Figura 34. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Pt-3, região 127-146 ppm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

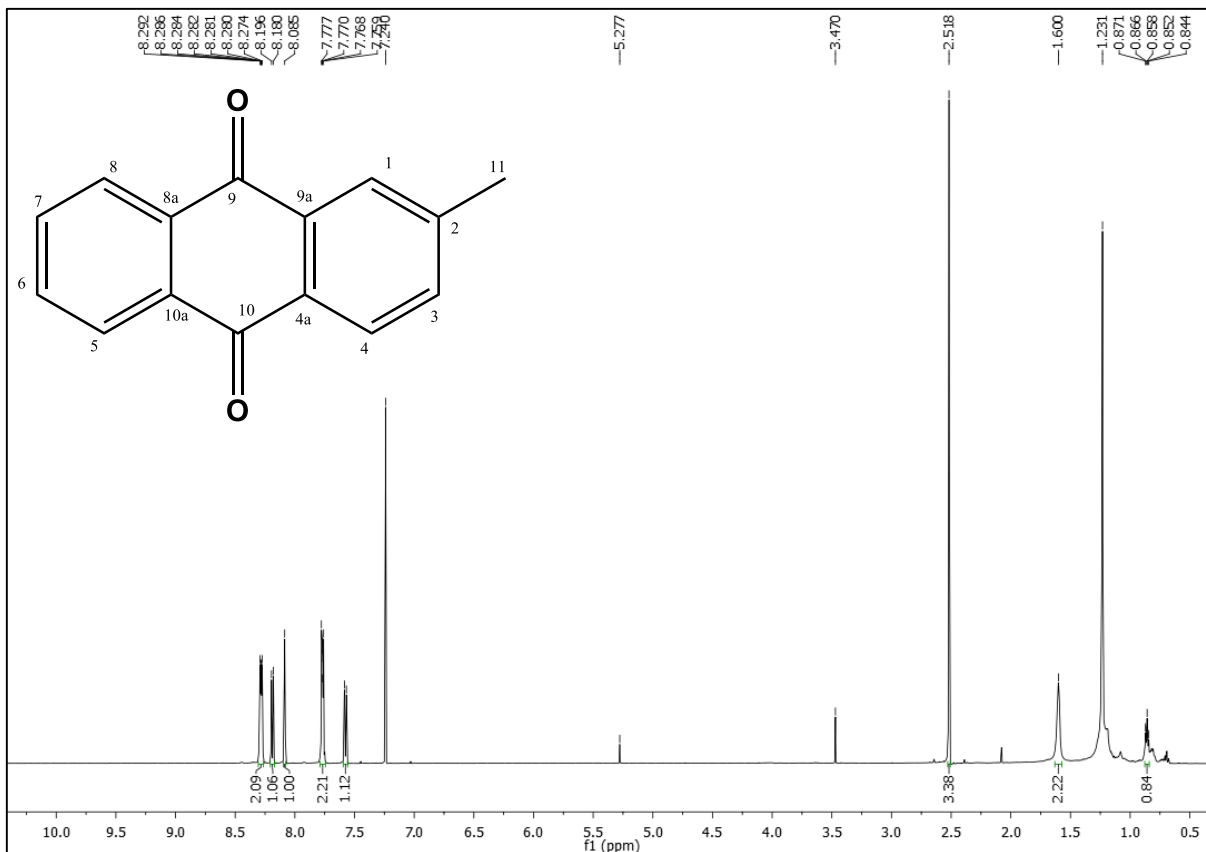


Figura 35. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Pt-3.

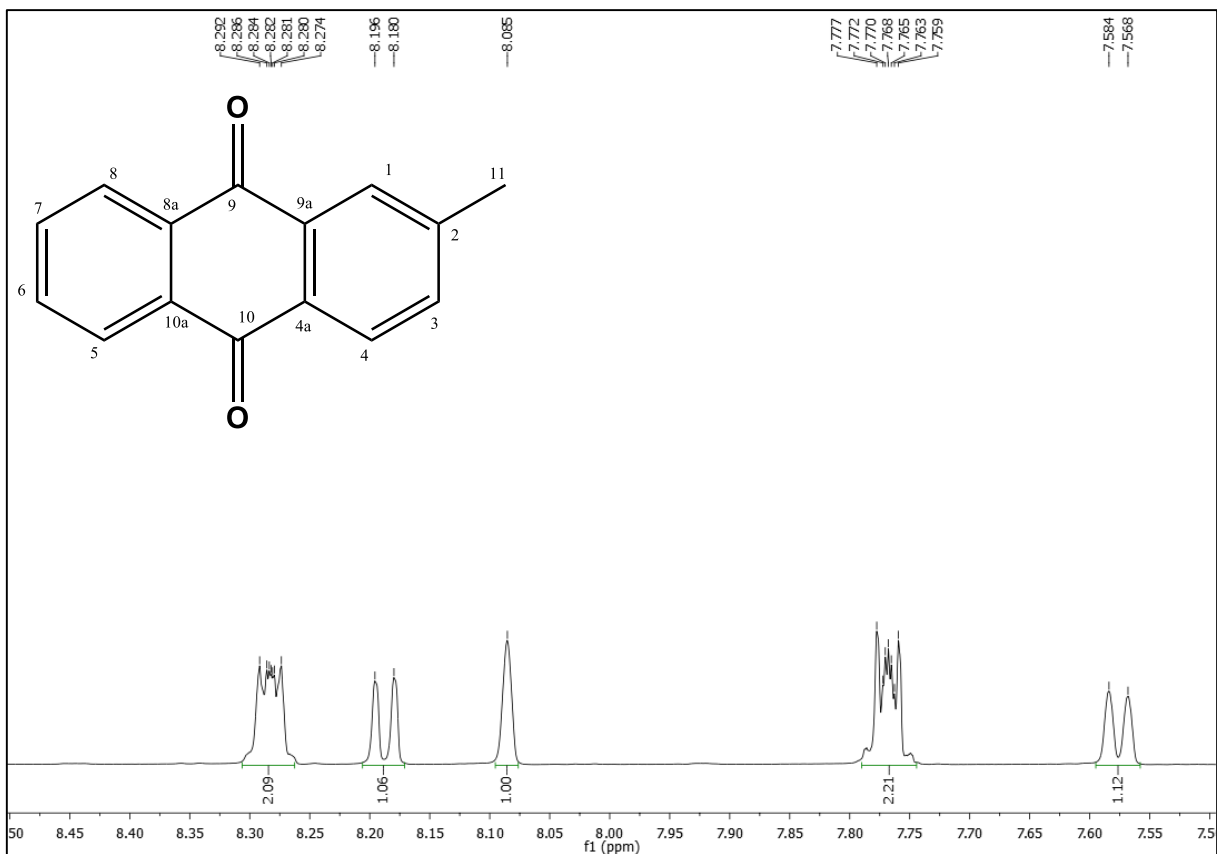


Figura 36. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Pt-3, região 7,5-8,5 ppm.

5.4 Determinação estrutural de *Pt-4*.

A substância codificada como *Pt-4* foi isolada na forma de um pó amorfo laranja, pesando 2,3 mg, com rendimento de 0,0004% em relação ao peso seco do material vegetal.

No espectro de RMN de ^{13}C - APT (125 MHz em CDCl_3) (Figura 38, pág. 79) foi possível observar a presença de 15 sinais correspondentes a 15 átomos de carbono. Destes, 8 foram atribuídos a átomos de carbono não hidrogenados, 3 a carbonos metínicos, 3 a carbonos metílicos e 1 a metoxila. Como informação complementar para dados de carbono foi observado o espectro bidimensional de correlação HMBC. Os deslocamentos químicos observados em δ_{C} 181,2, 183,7, 129,2, 125,2 e 157,6 (Figura 39, pág. 79), somados ao δ_{C} 114,8 observado no espectro HMBC (Figura 45, pág. 82), quando comparados com dados da literatura, foram assinalados para C-4, C-9, C-3a, C-4a, C-9a e C-8a, respectivamente, sugerindo um esqueleto carbônico de naftoquinona para *Pt-4*. Ainda nesse espectro, observou-se que a presença dos sinais de carbonos metínicos em δ_{C} 119,9 e 114,9 sugerem uma dioxigenação no anel aromático, e esses sinais puderam ser atribuídos a C-5 e C-6, respectivamente (CAI et al., 2005, ZHONG et al., 2013). Observou-se ainda o δ_{C} de 5 carbonos sp^3 , sendo um não hidrogenado em δ_{C} 94,0 (Figura 39, pág. 79), um metínico em δ_{C} 44,5 e três metílicos em δ_{C} 14,2, 22,1 e 28,7 (Figura 40, pág. 80). Esses sinais foram atribuídos a C-2, C-3, C-10, C-11 e C-12, respectivamente.

Por meio de comparação com dados da literatura foi possível propor para *Pt-4* uma naftoquinona com o esqueleto da α -dunniona rearranjado (CAI et al., 2005, ZHONG et al., 2013).

No espectro de RMN de ^1H (500 MHz em CDCl_3) foi possível observar dois doubletos em δ_{H} 7,59 (d, $J=8,5$) e 7,01 (d, $J=8,5$) acoplando orto, um sinal em δ_{H} 12,08 (s) (Figura 42, pág. 81) que foi atribuído ao hidrogênio em ponte, além do sinal em δ_{H} 3,95 (s) atribuído à metoxila (Figura 43, pág. 81). Esse padrão de hidrogenação quando comparado com a literatura corrobora com uma naftoquinona contendo uma hidroxila na posição 8 e uma metoxila na posição 7. Na Figura 43 observou-se ainda três sinais correspondentes a metilas em δ_{H} 1,47 (s), 1,45 (s) e 1,27 (d, $J=7,5$), atribuídos a 3H-12, 3H-11 e 3H-10, respectivamente. Esses sinais, juntamente com um quarteto em δ_{H} 3,21 ($J=7,0$), justificam o rearranjo na unidade do isopreno,

diferenciando *Pt-4* do esqueleto da α -dunniona, uma vez que nesta esse sinal por ser oximetínico absorve próximo de δ_H 4,6 (CAI et al., 2005, ZHONG et al., 2013).

Para confirmação dos deslocamentos químicos propostos foi realizado o experimento HMBC (Figura 44, pág. 82). Nesse espectro foram observados os mapas de contornos do sinal em δ_H 12,08 (OH-8) com os carbonos em δ_C 153,5, 152,5 e 114,8 (Figura 45, pág. 82), que foram atribuídos a C-7, C-8 e C-8a. Observou-se mapas de contornos do sinal em δ_H 3,21 (H-3) com os δ_C 94,0, 129,2, 157,6, 14,2, 22,1 e 28,7 (Figura 46, pág. 83), que foram atribuídos a C-2, C-3a, C-9a, C-10, C-11 e C-12, respectivamente. E ainda o mapa de contorno do sinal em δ_H 7,59 (H-5) com o carbono em δ_C 181,2 (Figura 47, pág. 83), que foi atribuído a C-4.

Os dados de deslocamentos químicos de RMN de 1H e ^{13}C de *Pt-4*, assim como as correlações, estão compilados na Tabela 5, pág. 77.

Na análise de rotação óptica, a substância apresentou rotação específica positiva no valor de $1,9^\circ$, e o espectro NOESY (Figuras 48 e 49, pág. 84) mostrou correlação entre o sinal atribuído ao hidrogênio ligado ao carbono assimétrico (C-3) com o sinal atribuído aos hidrogênios da metila CH₃-12.

A estereoquímica e a conformação das metilas da estrutura proposta foram ratificadas pelos dados de modelagem molecular. Conforme informado anteriormente nos tópicos relativos à metodologia, os dados de RMN de 1H e ^{13}C foram gerados com base no peso de Boltzmann para cada confômero. Para isso, foram utilizados os modelos **M1** e **M2** (Figura 37, pág. 76), dos quais os valores computacionais de deslocamento químico calculados para cada confômero são mostrados na Tabela 6, pág. 78. Foram considerados os dados da média de Boltzmann, os quais são mostrados juntamente com os experimentais de *Pt-4* na Tabela 5, pág. 77. Dessa forma, os dados calculados permitiram, por comparação com os experimentais, a determinação de CH₃-10 e CH₃-11 na posição α e CH₃-12 na posição β , sugerindo-se a configuração *R* para *Pt-4*, como também reiteraram os demais valores de deslocamento químico de RMN de 1H e ^{13}C .

Após análise dos dados de RMN, foi possível assinalar todos os deslocamentos químicos e determinar *Pt-4* como sendo uma naftoquinona derivada do esqueleto químico da α -dunniona, porém com a unidade isopreno rearranjada, denominada quimicamente como 8-hidroxi-7-metoxi-2,2,3-trimetil-2,3-diidronafto[2,3-*b*]furan-4,9-

diona, cujo nome atribuído foi tenuiflorol (Figura 37, abaixo), sendo este o primeiro relato dessa substância na literatura.

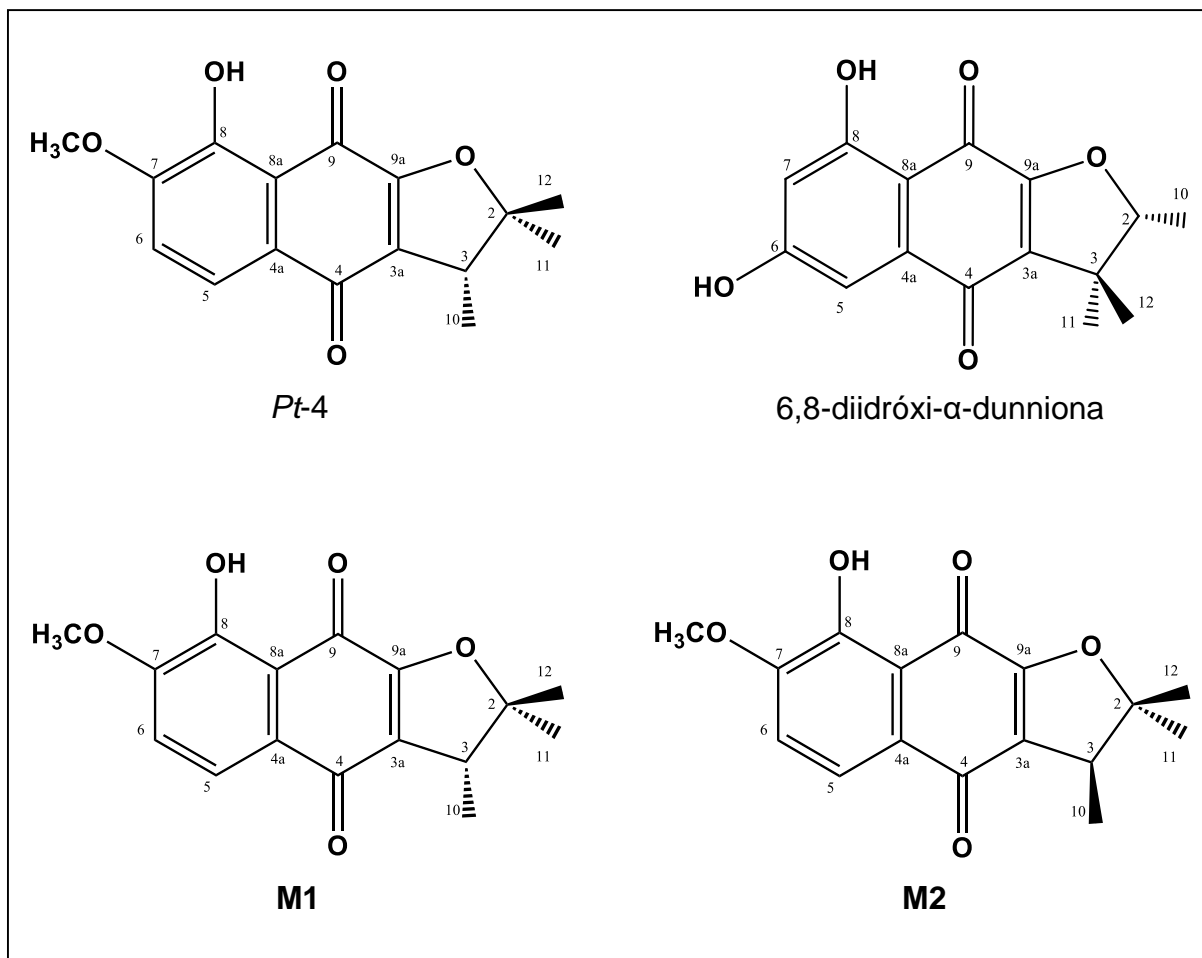


Figura 37. Estruturas químicas de *Pt-4*, 6,8-diidroxi-α-dunniona (ZHONG et al., 2013), **M1** e **M2**.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 5. Dados de RMN 1D e 2D de *Pt-4* (*J* em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, CDCl_3) comparados com os da literatura (ZHONG et al., 2013) e com os calculados de **M1** e **M2**.

Posição	<i>Pt-4</i>			6,8-diidróxi- α -dunniona		M1		M2	
	δ_{H}	δ_{C}	HMBC	δ_{H}^*	δ_{C}^*	δ_{H}^{**}	δ_{C}^{**}	δ_{H}^{**}	δ_{C}^{**}
2	-	94,0	-	4,61 (q, $J=6,8$)	91,4	-	90,9	-	91,0
3	3,21 (q, $J=7,0$ Hz)	44,5	C-2, 3a, 9a, 10, 11, 12	-	44,8	3,34	44,9	3,33	45,0
3a	-	129,2	-	-	130,2	-	127,4	-	127,5
4	-	181,2	-	-	181,0	-	183,0	-	183,2
4a	-	125,2	-	-	136,1	-	124,2	-	124,3
5	7,59 (d, $J=8,5$ Hz)	119,9	C-4, 7, 8a	7,05 (d, $J=2,4$)	108,8	7,59	120,6	7,59	120,6
6	7,01 (d, $J=8,5$ Hz)	114,9	C-4a, 7, 8	-	166,0	6,77	114,3	6,77	114,3
7	-	153,5	-	6,51 (d, $J=2,4$)	106,0	-	153,4	-	153,6
8	-	152,5	-	-	164,5	-	156,5	-	156,7
8a	-	114,8	-	-	108,3	-	115,6	-	115,7
9	-	183,7	-	-	180,8	-	186,8	-	187,0
9a	-	157,6	-	-	159,3	-	158,9	-	159,1
10	1,27 (d, $J=7,5$ Hz)	14,2	C-2, 3, 3a	1,41 (d, $J=6,8$)	13,6	1,40	14,5	1,39	14,5
11	1,45 (s)	22,1	C-2, 3, 12	1,43 (s)	25,1	1,44	22,2	1,46	28,2
12	1,47 (s)	28,7	C-2, 3, 11	1,25 (s)	19,7	1,46	28,4	1,44	22,1
OCH ₃	3,95 (s)	56,3	C-7	-	-	3,84	54,7	3,85	54,7
OH	12,08 (s)	-	C-1, 8, 8a	-	-	12,03	-	12,04	-

*Dados da literatura (ZHONG et al., 2013), em 400 e 100 Mhz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

**Dados calculados no programa Spartan 16. Os dados informados foram obtidos por meio da média de Boltzmann.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 6. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **M1** e **M2** calculados no programa Spartan 16

Posição	M1										M2									
	Peso de Boltzmann								Média de Boltzmann		Peso de Boltzmann								Média de Boltzmann	
	0,015		0,025		0,537		0,422		δ_{H}	δ_{C}	0,027		0,011		0,578		0,384		δ_{H}	δ_{C}
2	-	90,8	-	90,9	-	90,7	-	91,4			-	90,9	-	90,8	-	91,7	-	90,7		
3	3,27	44,5	3,30	44,6	3,27	44,4	3,44	45,6	3,34	44,9	3,29	44,6	3,43	45,7	3,27	44,5	3,43	45,7	3,33	45,0
3a	-	128,4	-	128,0	-	128,6	-	126,1	-	127,4	-	128,1	-	126,1	-	128,5	-	126,1	-	127,5
4	-	182,8	-	183,2	-	183,0	-	183,4	-	183,0	-	183,2	-	183,2	-	183,0	-	183,5	-	183,2
4a	-	124,0	-	125,8	-	124,2	-	124,3	-	124,2	-	125,7	-	124,1	-	124,2	-	124,3	-	124,3
5	7,59	121,9	7,61	121,1	7,59	120,7	7,60	120,6	7,59	120,6	7,60	121,1	7,59	121,9	7,59	120,6	7,60	120,6	7,59	120,6
6	7,01	124,1	7,15	126,8	6,76	113,9	6,76	113,9	6,77	114,3	7,15	126,6	7,02	124,2	6,76	113,8	6,76	113,9	6,77	114,3
7	-	151,5	-	153,5	-	153,6	-	153,6	-	153,4	-	153,4	-	151,5	-	153,6	-	153,6	-	153,6
8	-	154,6	-	157,6	-	156,7	-	156,6	-	156,5	-	157,4	-	154,5	-	156,8	-	156,6	-	156,7
8a	-	116,9	-	116,6	-	115,7	-	115,7	-	115,6	-	116,6	-	116,8	-	115,7	-	115,7	-	115,7
9	-	187,9	-	187,8	-	187,0	-	186,9	-	186,8	-	187,8	-	187,8	-	187,0	-	186,8	-	187,0
9a	-	158,6	-	158,6	-	158,8	-	159,4	-	158,9	-	158,6	-	159,6	-	158,7	-	159,7	-	159,1
10	1,34	15,5	1,36	15,2	1,34	15,6	1,48	13,1	1,40	14,5	1,35	15,6	1,47	12,5	1,34	15,7	1,47	12,7	1,39	14,5
11	1,52	21,7	1,52	21,9	1,52	21,8	1,34	22,7	1,44	22,2	1,41	28,6	1,56	27,6	1,40	28,4	1,55	27,8	1,46	28,2
12	1,40	28,4	1,41	28,7	1,40	28,4	1,54	28,4	1,46	28,4	1,52	21,8	1,32	22,4	1,52	21,8	1,33	22,5	1,44	22,1
OH-8	12,28	-	12,21	-	12,06	-	11,99	-	12,03	-	12,19	-	12,27	-	12,05	-	12,02	-	12,04	-
OCH₃-7	4,41	59,5	4,18	59,7	3,83	54,5	3,83	54,5	3,84	54,7	4,18	59,9	4,41	59,5	3,83	54,5	3,83	54,5	3,85	54,7

RESULTADOS E DISCUSSÃO

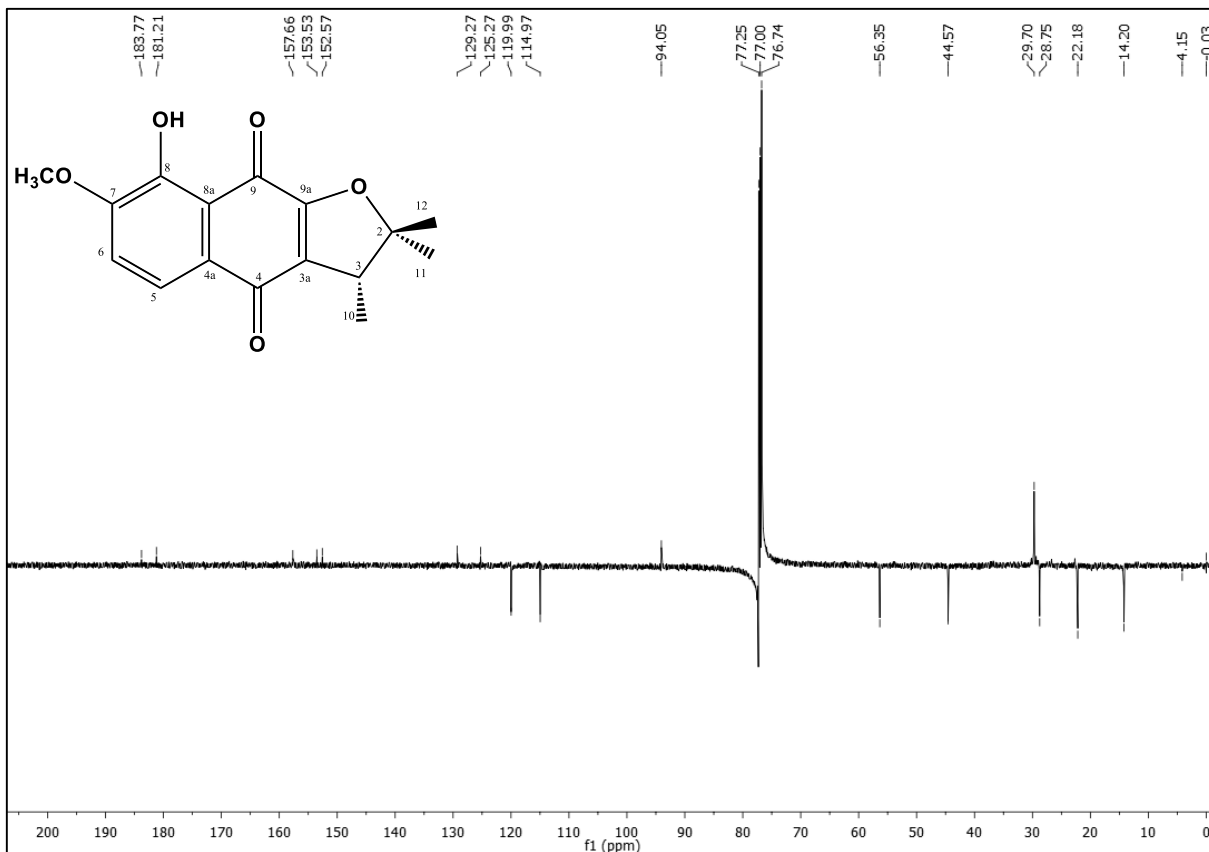


Figura 38. Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de *Pt-4*.

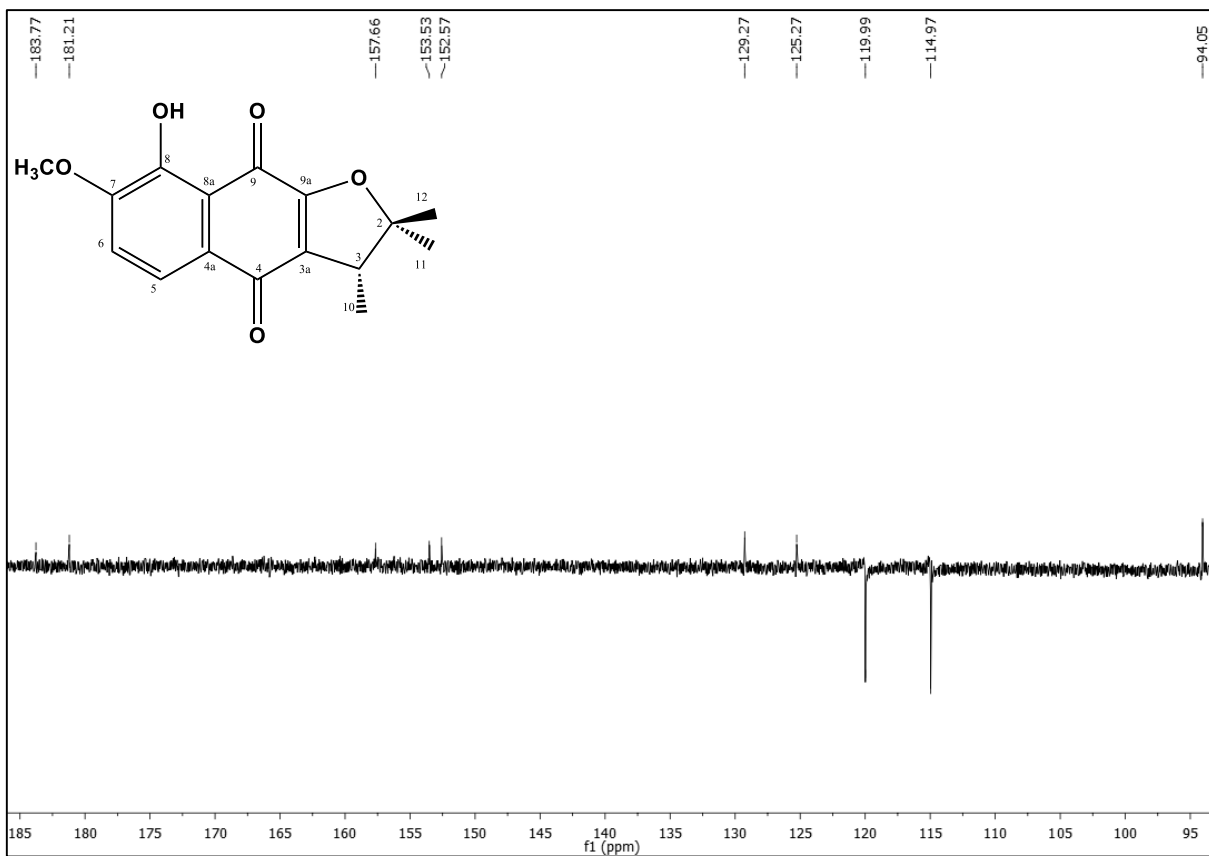


Figura 39. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de *Pt-4*, região 93-186 ppm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

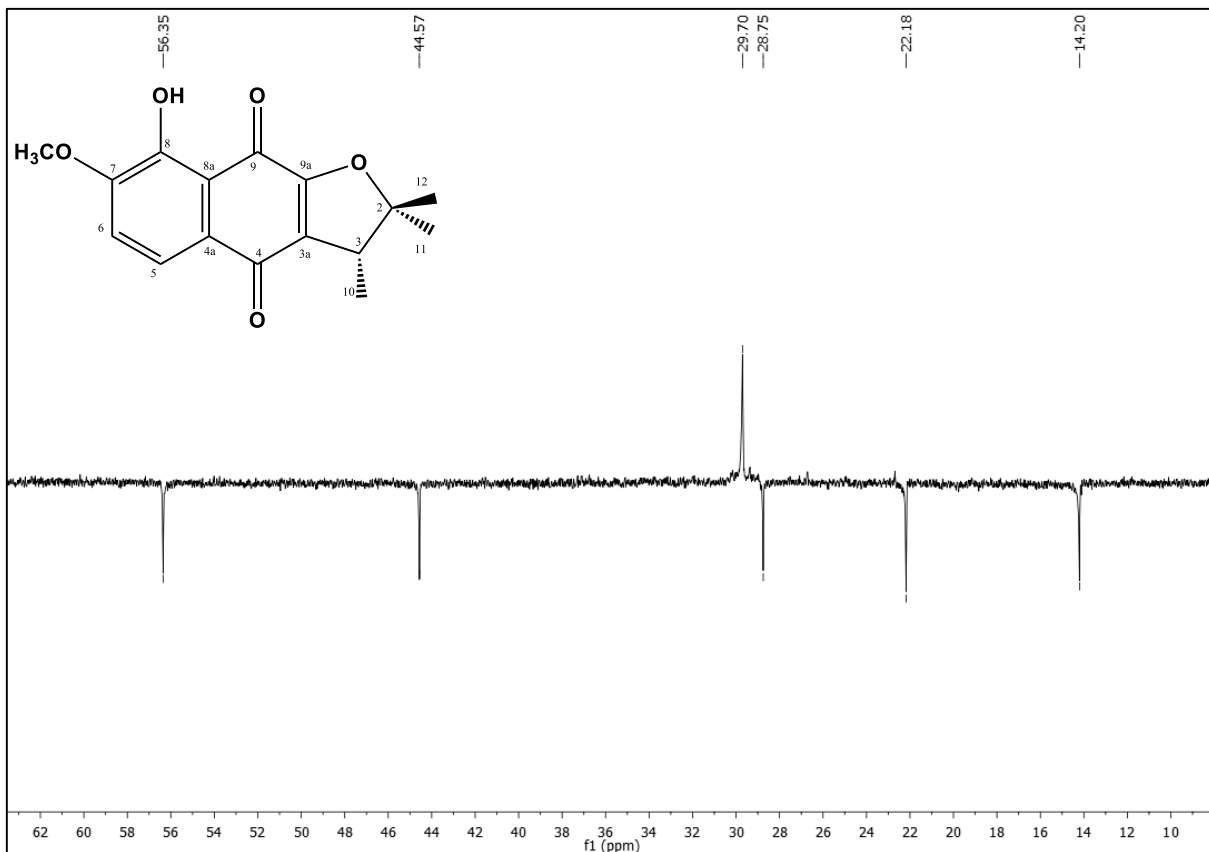


Figura 40. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Pt-4, região de 8-63 ppm.

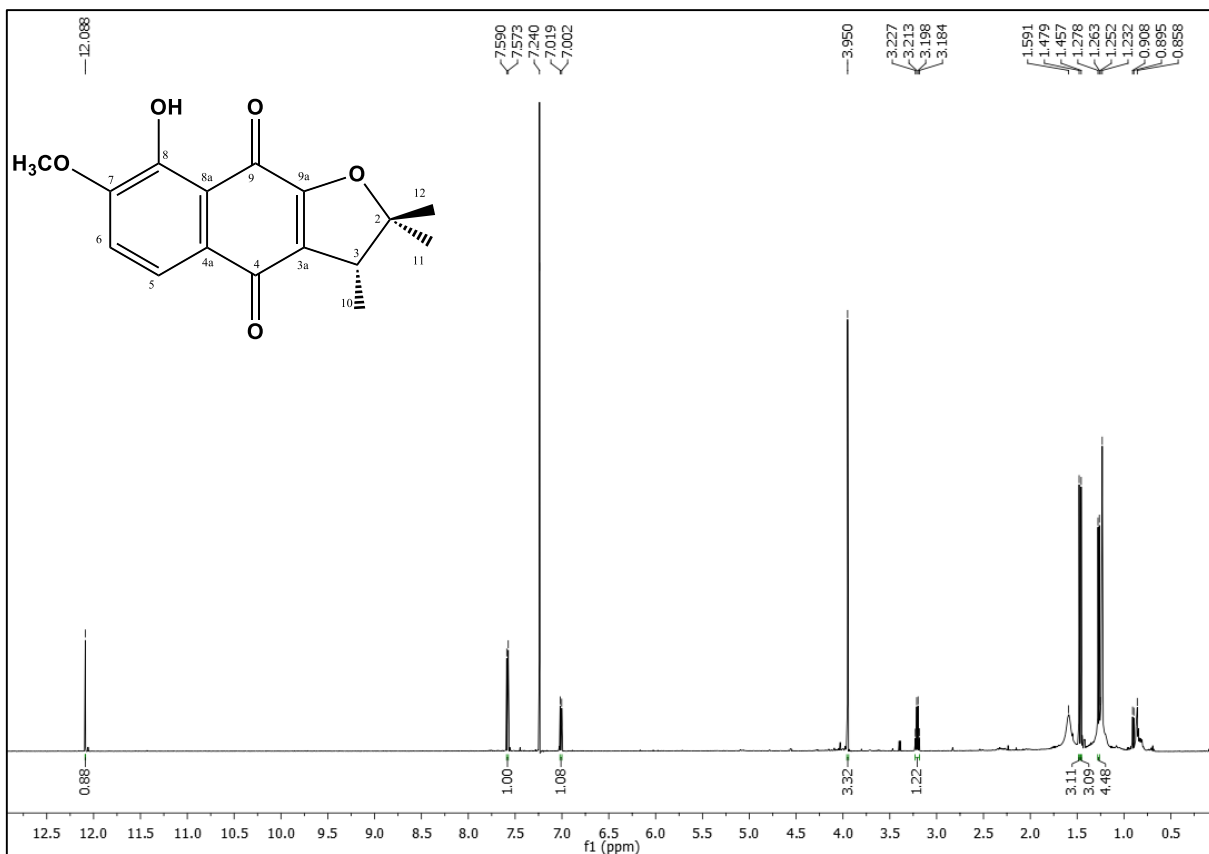


Figura 41. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Pt-4.

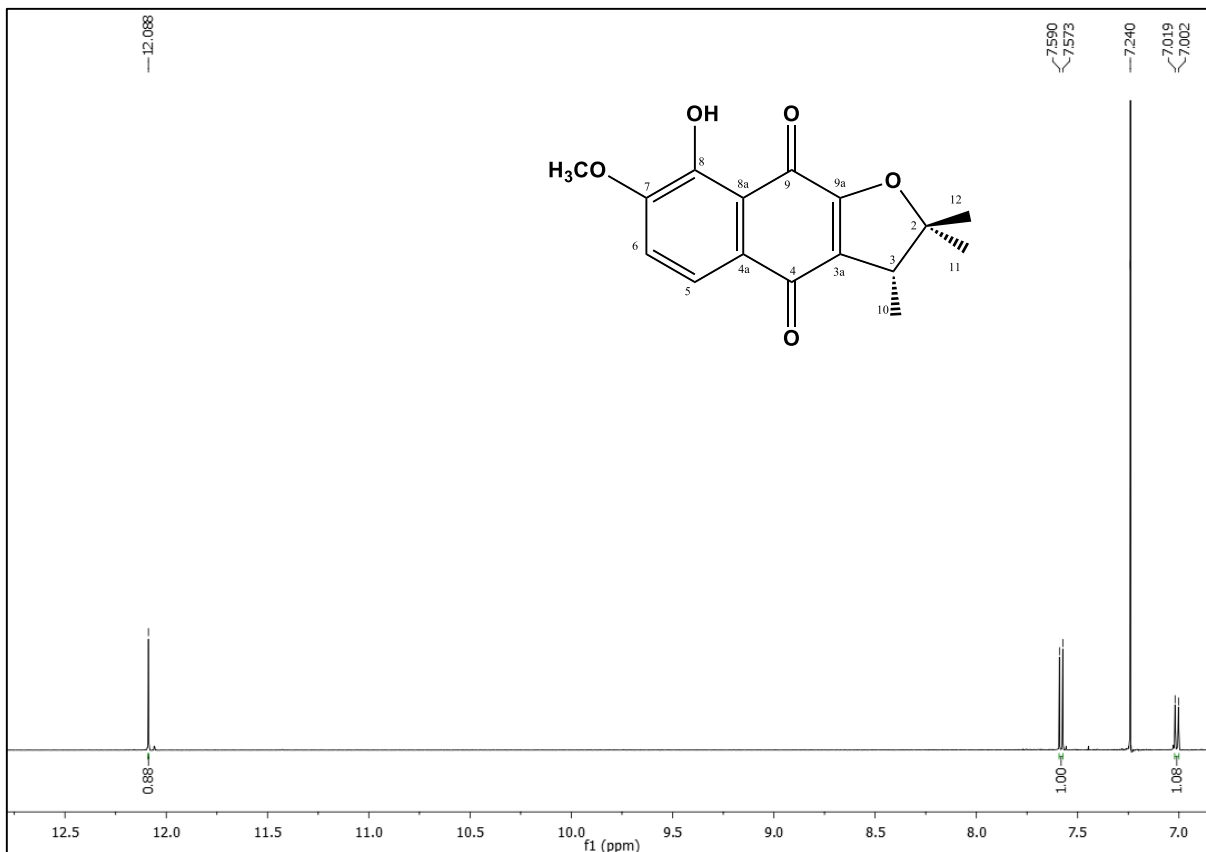


Figura 42. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de *Pt-4*, região 7-12,5 ppm.

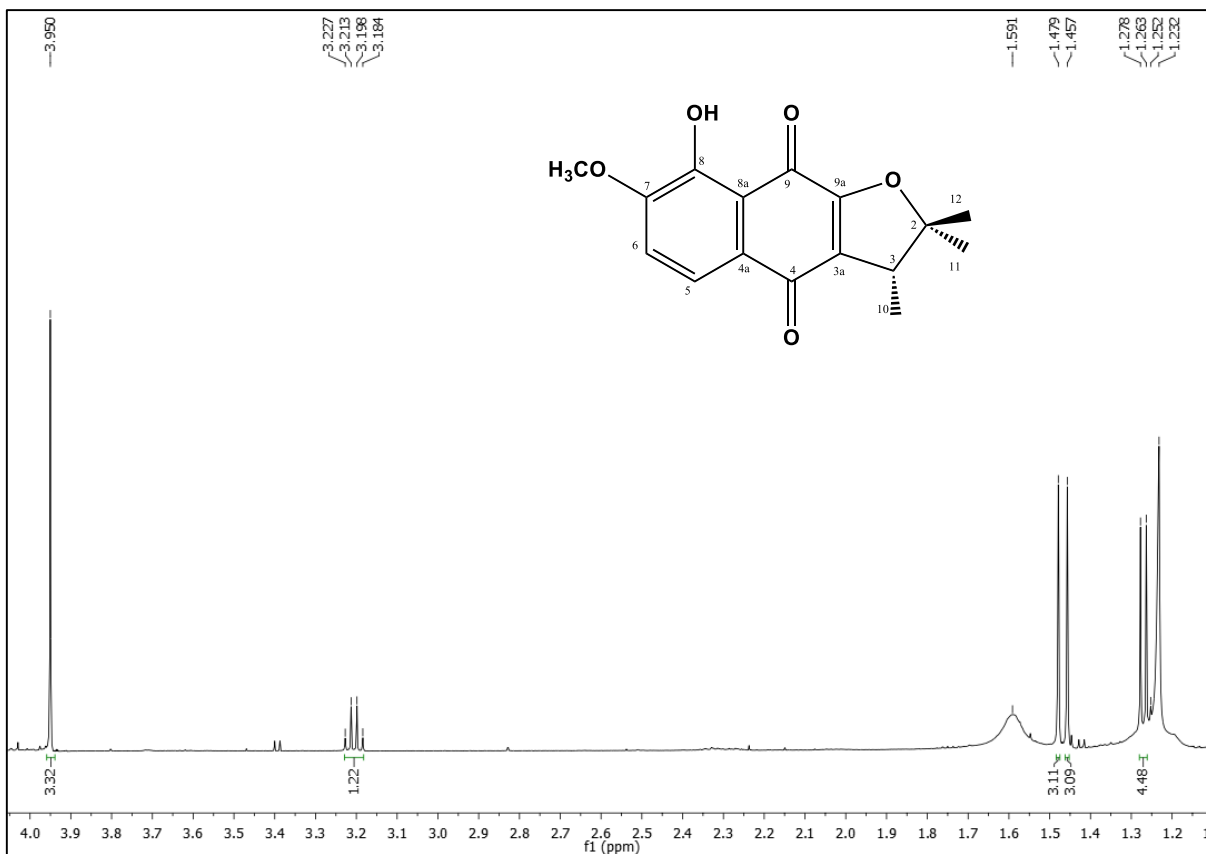


Figura 43. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de *Pt-4*, região 1,1-4,0 ppm.

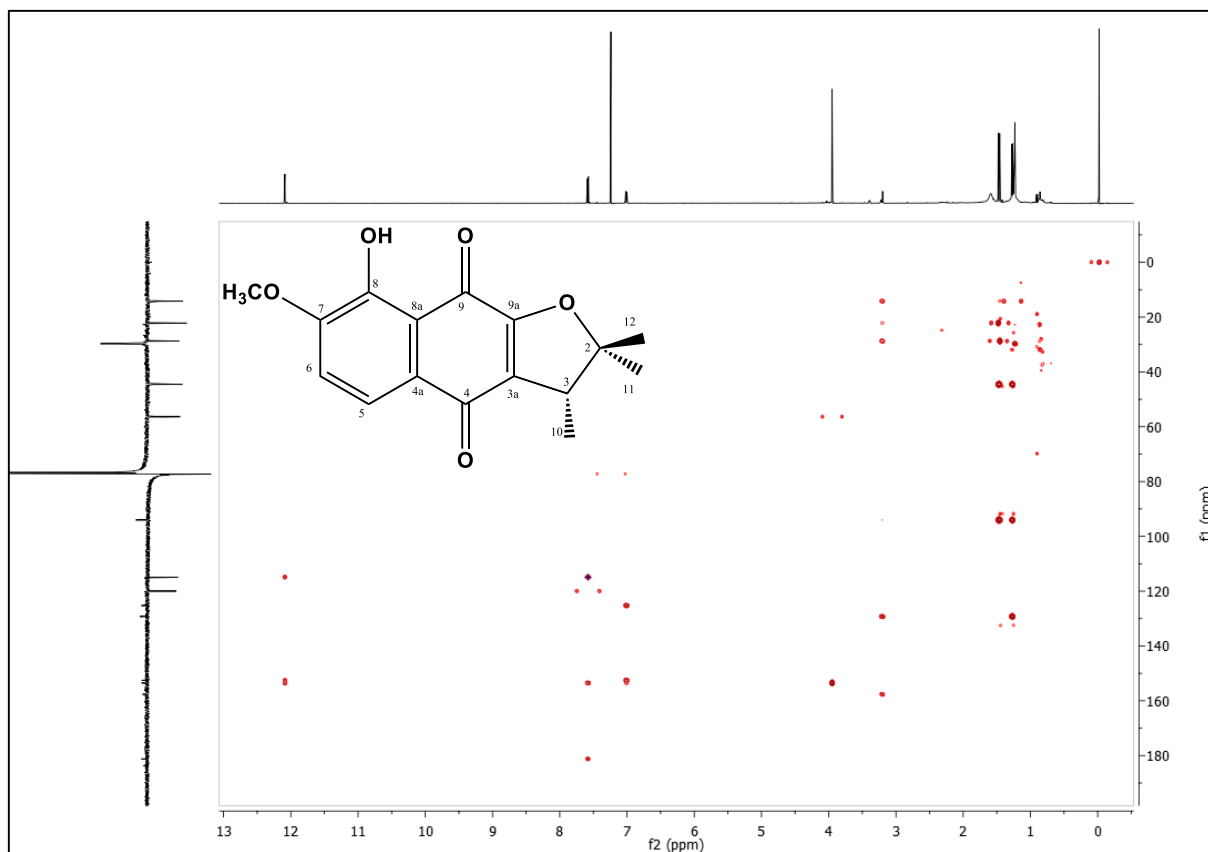


Figura 44. Espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de *Pt-4*.

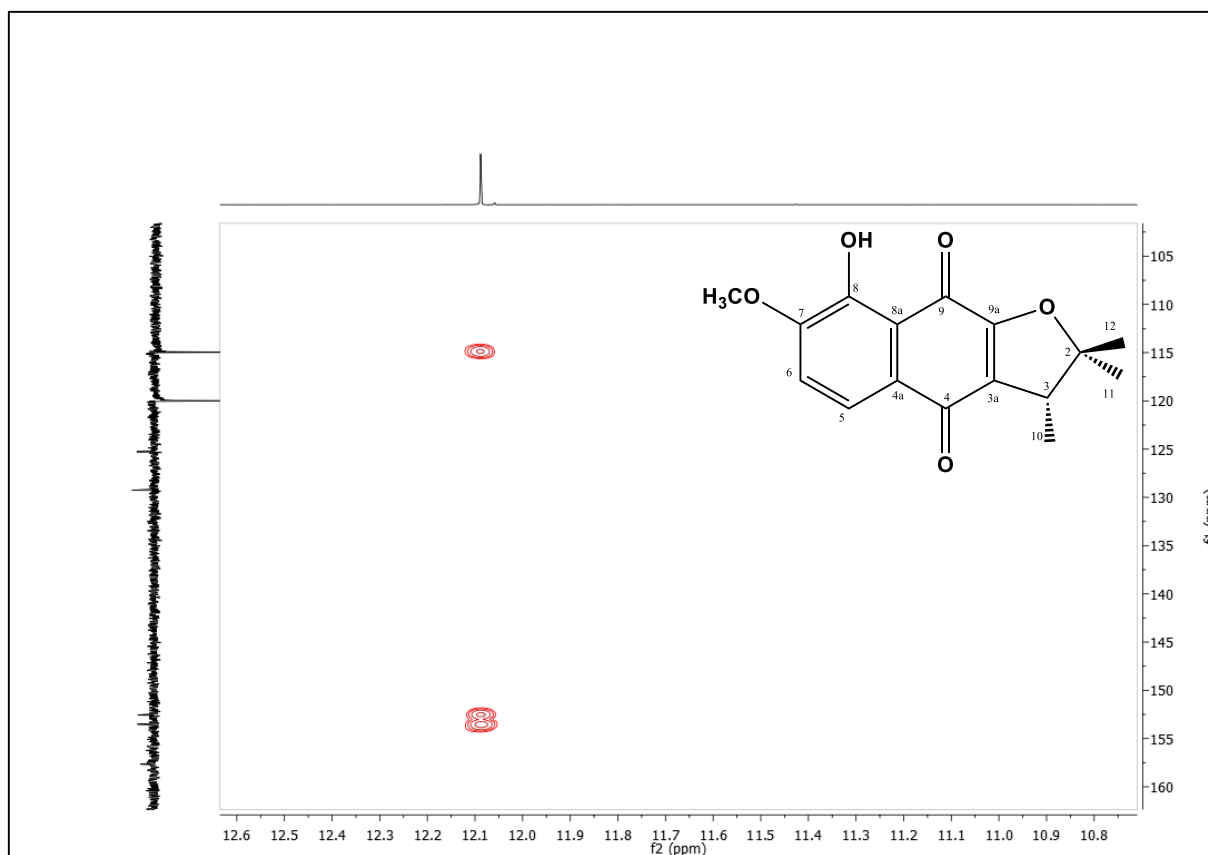


Figura 45. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de *Pt-4*, região (10,8-12,6 ppm) x (10,8-12,6 ppm).

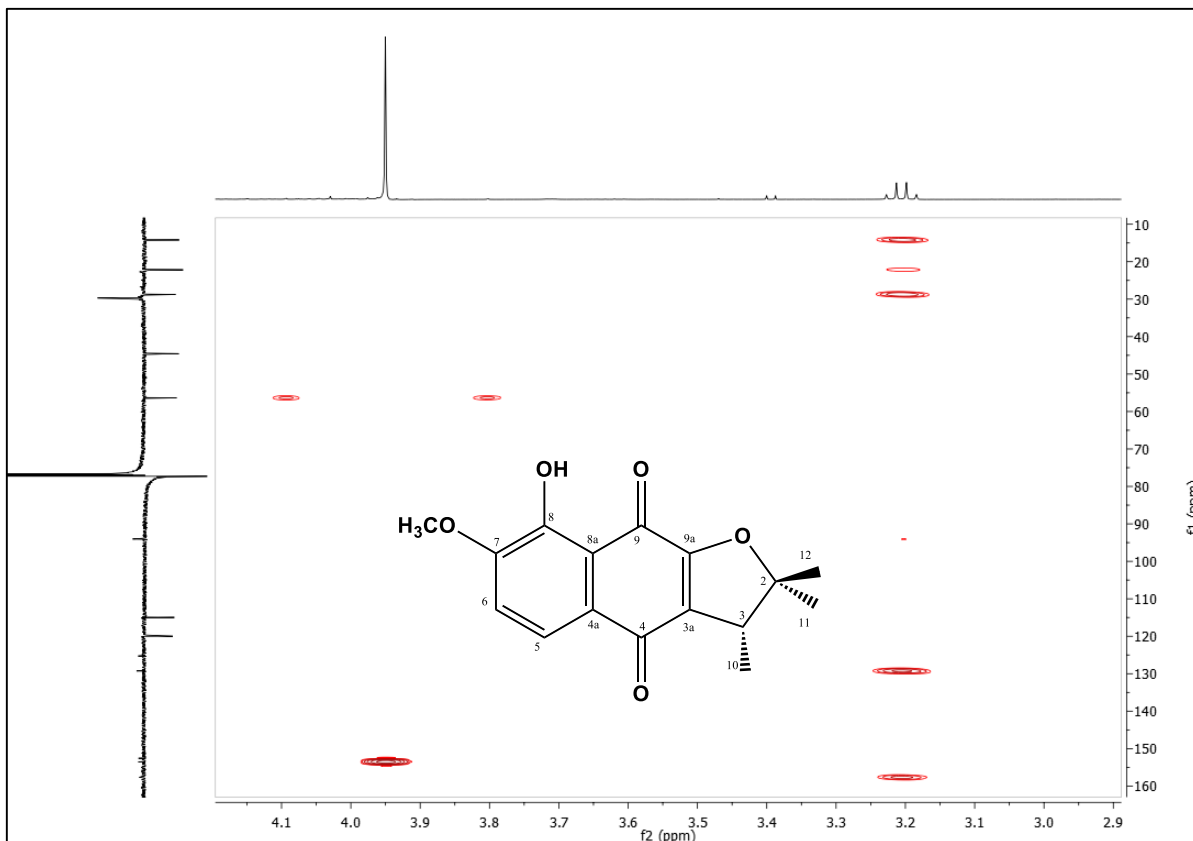


Figura 46. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de *Pt-4*, região (10-160 ppm) x (2,9-4,1 ppm).

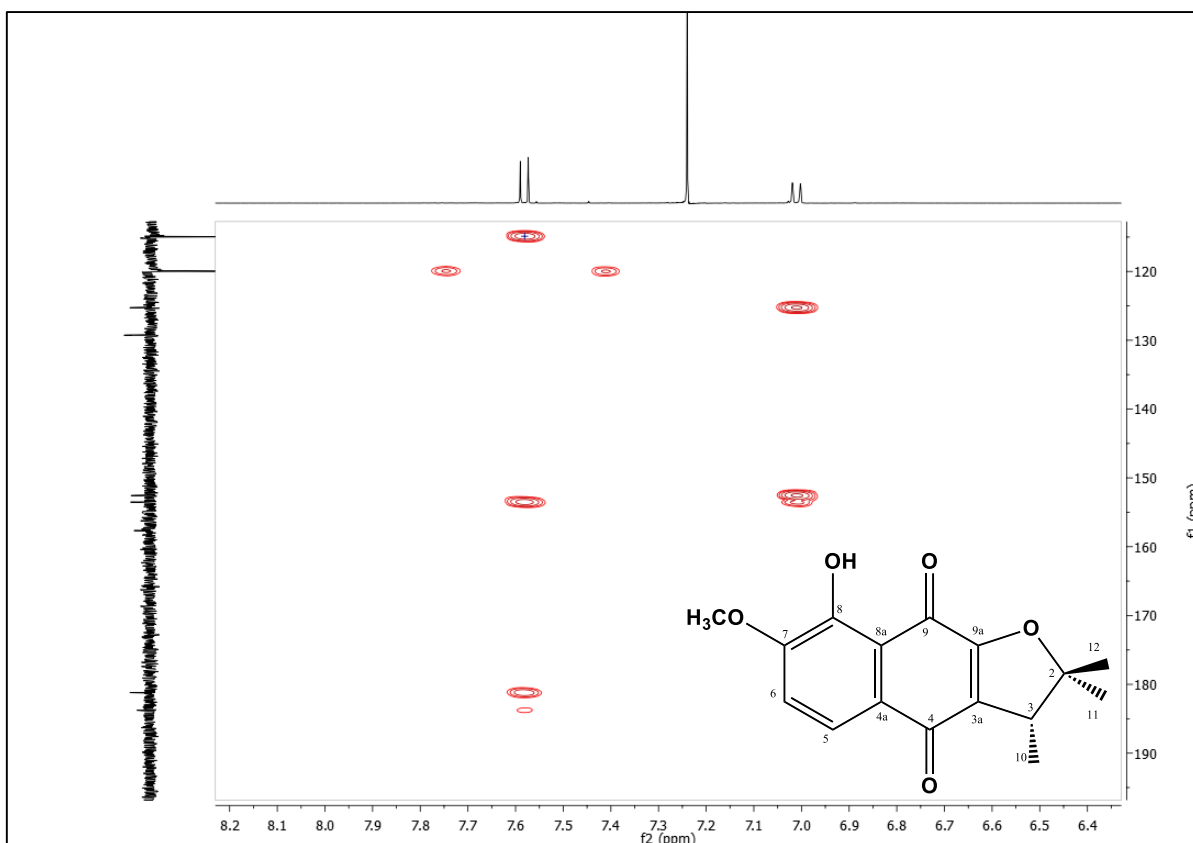


Figura 47. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de *Pt-4*, região (115-195 ppm) x (6,4-8,2 ppm).

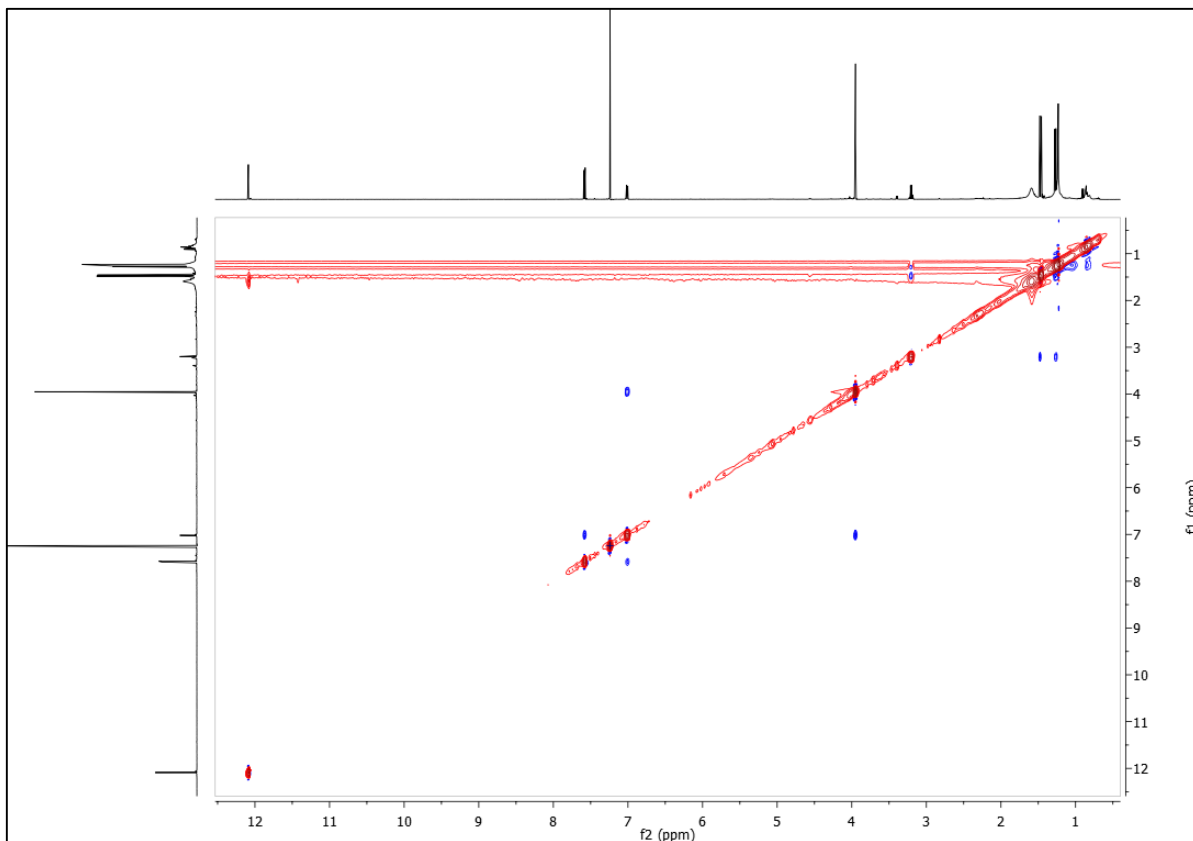


Figura 48. Espectro NOESY (500 MHz, CDCl_3) de *Pt-4*.

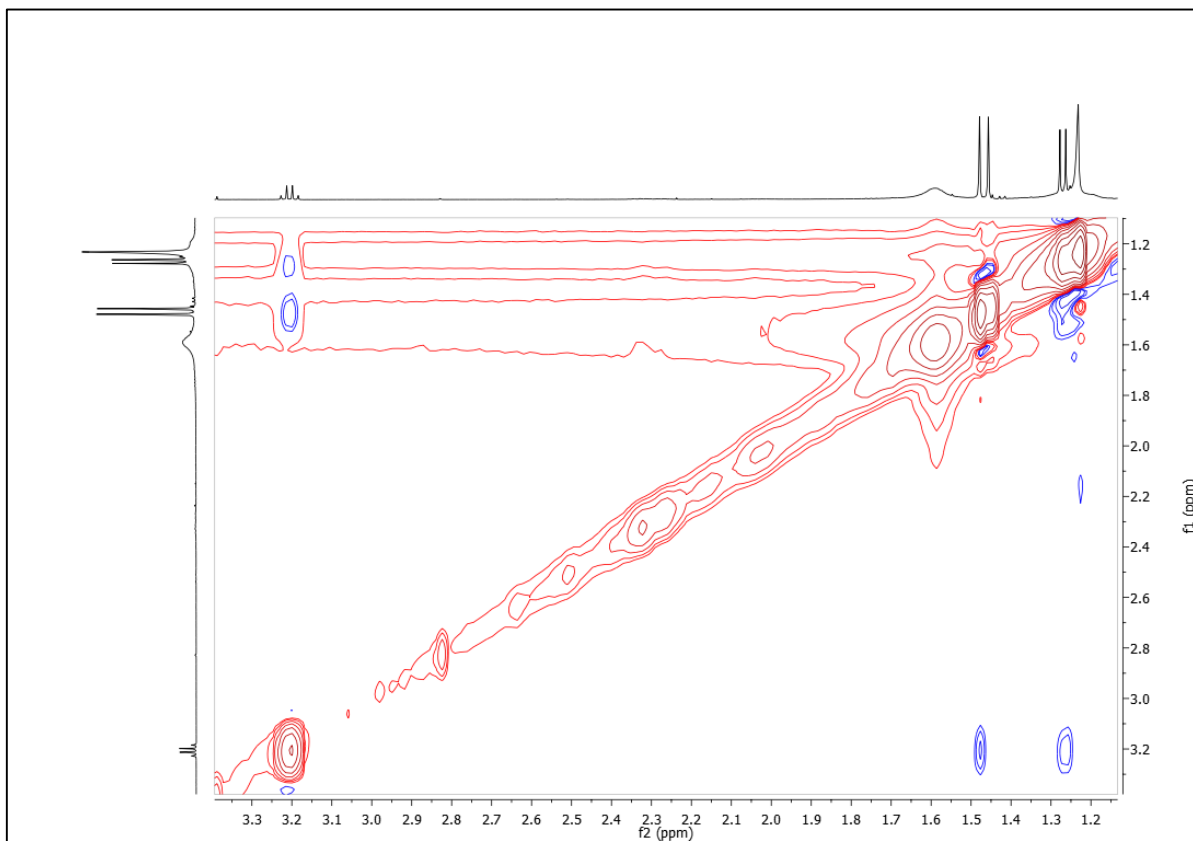


Figura 49. Expansão do espectro NOESY (500 MHz, CDCl_3) de *Pt-4*, região (1,1-3,3 ppm) x (1,1-3,4 ppm).

5.5 Determinação estrutural de *Pt-5*.

A substância codificada como *Pt-5* foi isolada na forma de um pó amorfo laranja, pesando 1,2 mg, com rendimento de 0,0002% em relação ao peso seco do material vegetal.

No espectro de RMN de ^{13}C - APT (500 MHz em CDCl_3) (Figura 51, pág. 88) foi possível observar apenas 8 sinais para átomos de carbono. Como informação complementar para dados de carbono foi observado o espectro bidimensional de correlação HMBC. Os deslocamentos químicos em δ_{C} 14,2, 25,7, 20,5 e 91,7 (Figura 52, pág. 88), somados ao δ_{C} 45,3 observado no espectro HMBC (Figura 57, pág. 91), quando comparados com *Pt-4* e com a literatura, foram assinalados para C-10, C-11, C-12, C-2 e C-3, respectivamente, sugerindo uma unidade isoprênica (C_5), sendo o deslocamento químico em δ_{C} 91,7 atribuído a um CH, e em δ_{C} 45,3 ao carbono não hidrogenado (CAI et al., 2005; ZHONG et al., 2013).

Para assinalamento dos demais carbonos foi observado o experimento HMBC (Figura 56, pág. 90). Os deslocamentos químicos observados em δ_{C} 132,5, 180,9, 125,4, 153,5, 152,4 e 114,8 (Figura 58, pág. 91, Figura 59, pág. 92 e Figuras 61 e 62, pág. 93) quando comparados com *Pt-4* e com a literatura sugerem o esqueleto carbônico de uma naftoquinona e esses valores foram atribuídos a C-3a, C-4, C-4a, C-7, C-8 e C-8a, respectivamente. Observou-se ainda, no espectro de RMN de ^{13}C - APT, a presença dos sinais em δ_{C} 119,9 e 115,0 (Figura 51, pág. 88), sugerindo dioxigenação no anel aromático, sendo esses sinais assinalados para C-5 e C-6, respectivamente (CAI et al., 2005; ZHONG et al., 2013).

Com base nos dados de espectroscopia por RMN de ^{13}C - APT (500 MHz em CDCl_3) e bidimensional de correlação HMBC mostrados acima, foi proposto para *Pt-5* o esqueleto carbônico da α -dunniona (CAI et al., 2005; ZHONG et al., 2013).

No espectro de RMN de ^1H (500 MHz em CDCl_3) (Figuras 53 e 54, pág. 89) foi possível observar dois dubletos em δ_{H} 7,57 (d, $J=8,0$) e 7,02 (d, $J=8,0$) acoplando orto e um sinal em δ_{H} 12,06 (s), que foi atribuído ao hidrogênio em ponte, além do sinal em δ_{H} 3,95 (s) atribuído à metoxila. Esses dados são semelhantes aos de *Pt-4*, confirmando o mesmo padrão de hidrogenação para *Pt-5*. Observou-se ainda três sinais correspondentes a metilas em δ_{H} 1,42 (d, $J=6,5$), 1,44 (s) e 1,25 (s) (Figura 55, pág. 90), atribuídos a 3H-10, 3H-11 e 3H-12, respectivamente. Esses sinais,

juntamente com o quarteto em δ_H 4,57 (H-2; $J=6,5$) (Figura 54, pág. 89), quando comparados com a literatura, reforçam a proposta do esqueleto da α -dunniona (CAI et al., 2005; ZHONG et al., 2013).

Para corroborar com os deslocamentos propostos foram observadas as correlações do experimento HMBC (Figura 56, pág. 90). Neste foram observados os mapas de contorno do sinal em δ_H 12,06 (OH-8) com os carbonos em δ_C 153,5, 152,4 e 114,8 (Figura 59, pág. 92), atribuídos a C-7, C-8 e C-8a, respectivamente. Observou-se mapas de contorno do sinal em δ_H 1,25 (3H-12) com os carbonos em δ_C 91,7, 45,3, 132,5 e 25,7, que foram atribuídos a C-2, C-3, C-3a e C-11, nesta ordem; do sinal em δ_H 1,42 (3H-10) com os carbonos em δ_C 91,7 e 45,3, atribuídos a C-2 e C-3, respectivamente; e do sinal em δ_H 1,44 (3H-11) com os carbonos em δ_C 91,7, 45,3, 132,5 e 20,5, atribuídos a C-2, C-3, C-3a e C-12, respectivamente (Figuras 57 e 58, pág. 91). Observou-se mapas de contorno do sinal em δ_H 4,57 (H-2) com os carbonos em δ_C 25,7 e 20,5, atribuídos a C-11 e C-12, respectivamente (Figura 60, pág. 92). E ainda, o mapa de contorno do sinal em δ_H 7,57 (H-5) com o carbono em δ_C 180,9, atribuído a C-4 (Figura 61, pág. 93).

Os dados de deslocamentos químicos de RMN de 1H e ^{13}C de *Pt-5*, assim como as correlações, estão compilados na Tabela 6, pág. 87.

Após análise dos dados de RMN, e comparações com *Pt-4* e dados da literatura (CAI et al., 2005; ZHONG et al., 2013), foi possível determinar *Pt-5* como sendo 7-metoxi-8-hidroxi- α -dunniona (Figura 50, abaixo), a qual está sendo relatada pela primeira vez no gênero *Paliavana*.

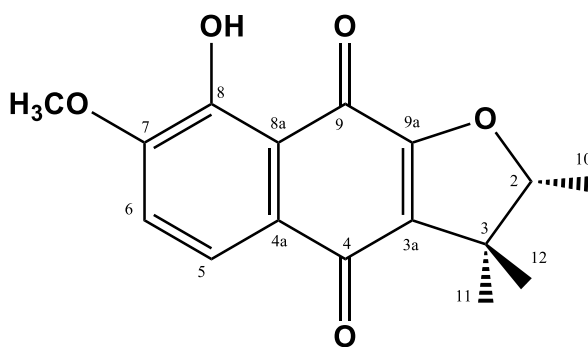
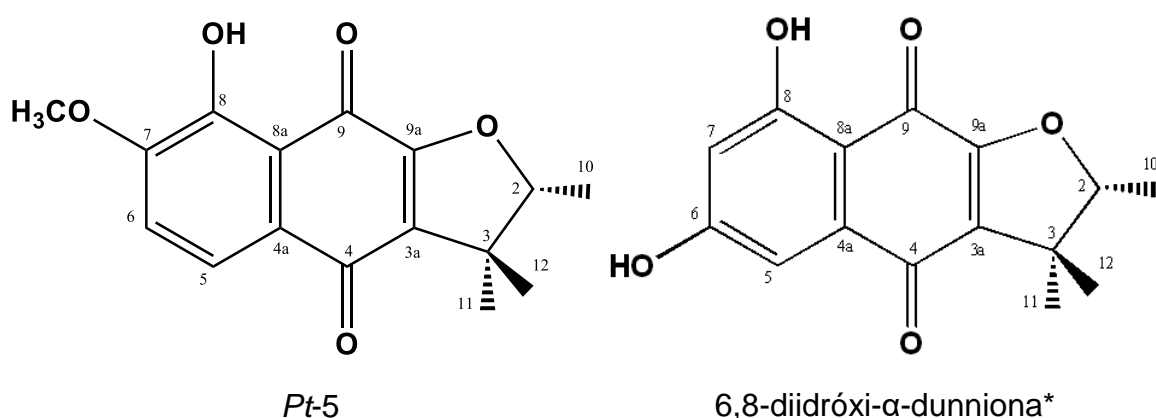


Figura 50. Estrutura química de *Pt-5*.

Tabela 7. Dados de RMN 1D e 2D de *Pt-5* (J em Hz e δ em ppm, 500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, CDCl_3) comparados com dados da literatura (ZHONG et al., 2013).



Posição	δ_{H}	δ_{C}	HMBC	δ_{H}^*	δ_{C}^*
2	4,57 (<i>q</i> , $J=6,5$)	91,7	C-11, C-12	4,61 (<i>q</i> , $J=6,8$)	91,4
3	-	45,3		-	44,8
3a	-	132,5		-	130,2
4	-	180,9		-	181,0
4a	-	125,4		-	136,1
5	7,57 (<i>d</i> , $J=8,0$)	119,9	C-6, C-7, C-4	7,05 (<i>d</i> , $J=2,4$)	108,8
6	7,01 (<i>d</i> , $J=8,0$)	115,0	C-4a, C-8	-	166,0
7	-	153,5		6,51 (<i>d</i> , $J=2,4$)	106,0
8	-	152,4		-	164,5
8a	-	114,8		-	108,3
9	-	-		-	180,8
9a	-	-		-	159,3
10	1,42 (<i>d</i> , $J=6,5$)	14,2	C-2, C-3	1,41 (<i>d</i> , $J=6,8$)	13,6
11	1,44 (<i>s</i>)	25,7	C-2, C-3, C-3a, C-12	1,43 (<i>s</i>)	25,1
12	1,25 (<i>s</i>)	20,5	C-2, C-3, C-3a, C-11	1,25 (<i>s</i>)	19,7
OCH_3	3,95 (<i>s</i>)	56,3	C-7	-	-
OH	12,06 (<i>s</i>)	-	C-7, C-8, C8a	-	-

*Dados da literatura (ZHONG et al., 2013), em 400 e 100 Mhz para ^1H e ^{13}C , respectivamente, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

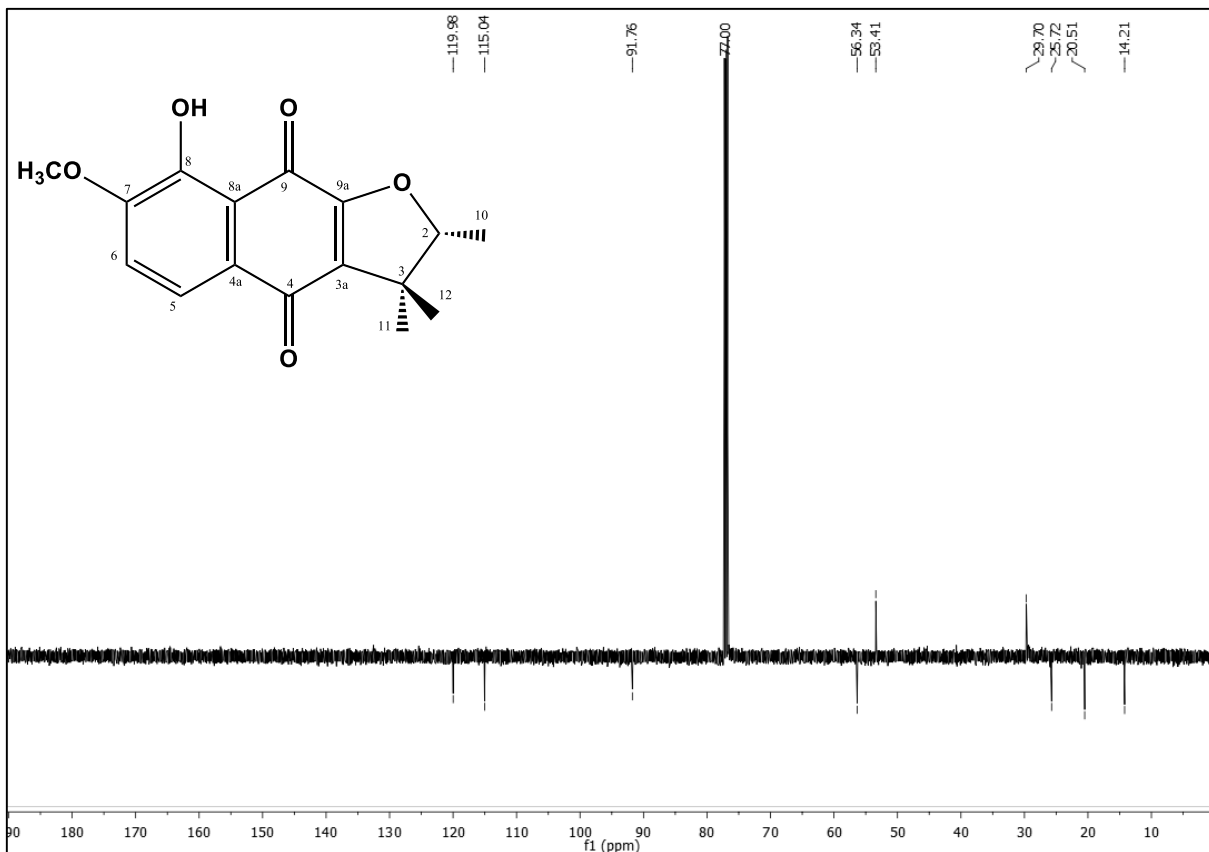


Figura 51. Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de *Pt-5*.

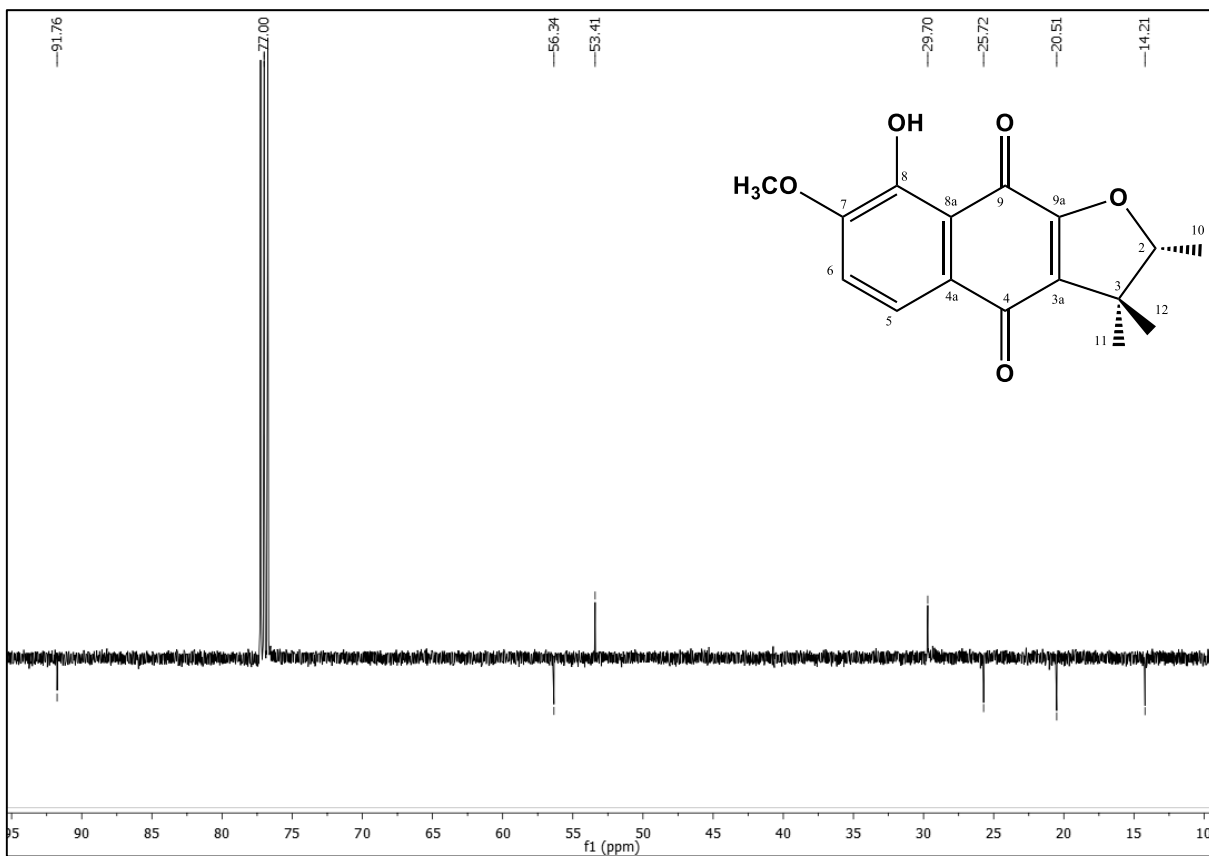


Figura 52. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de *Pt-5*, região 10-95 ppm

RESULTADOS E DISCUSSÃO

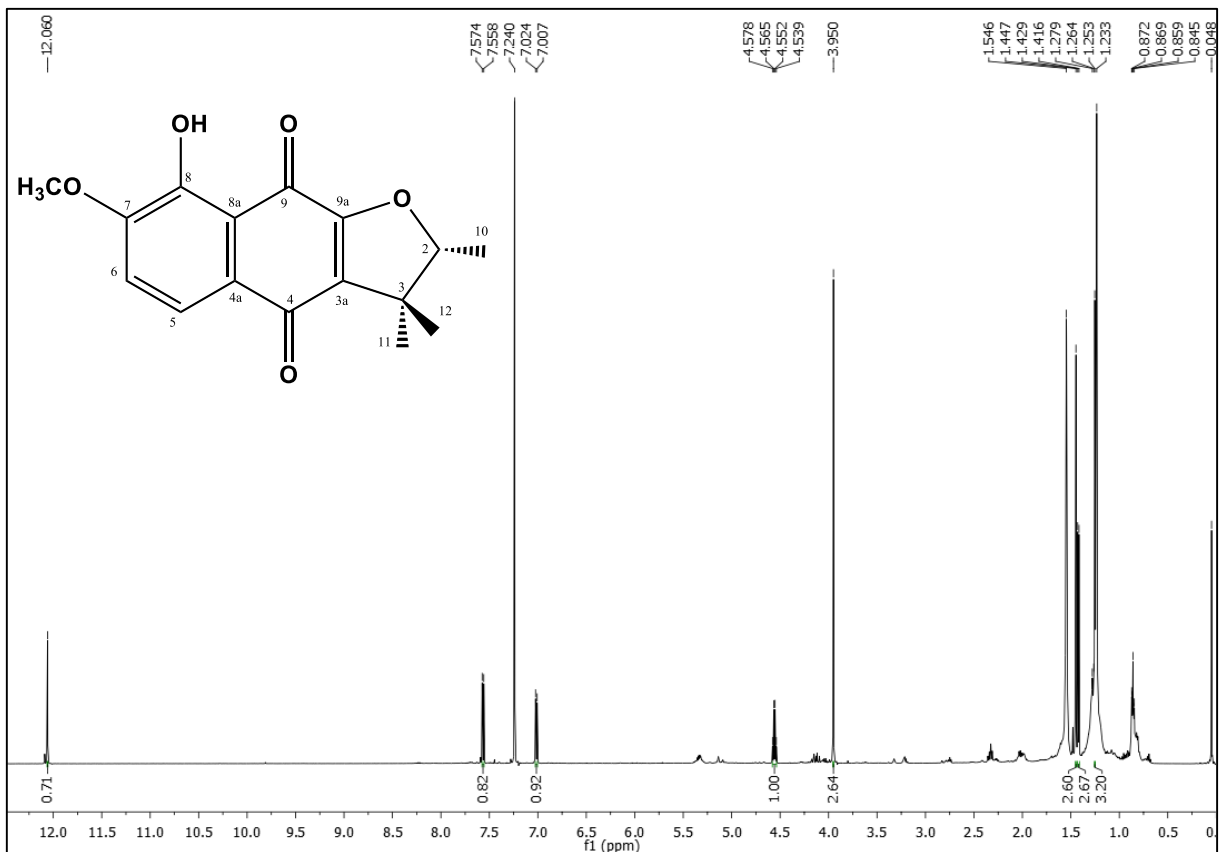


Figura 53. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de *Pt-5*

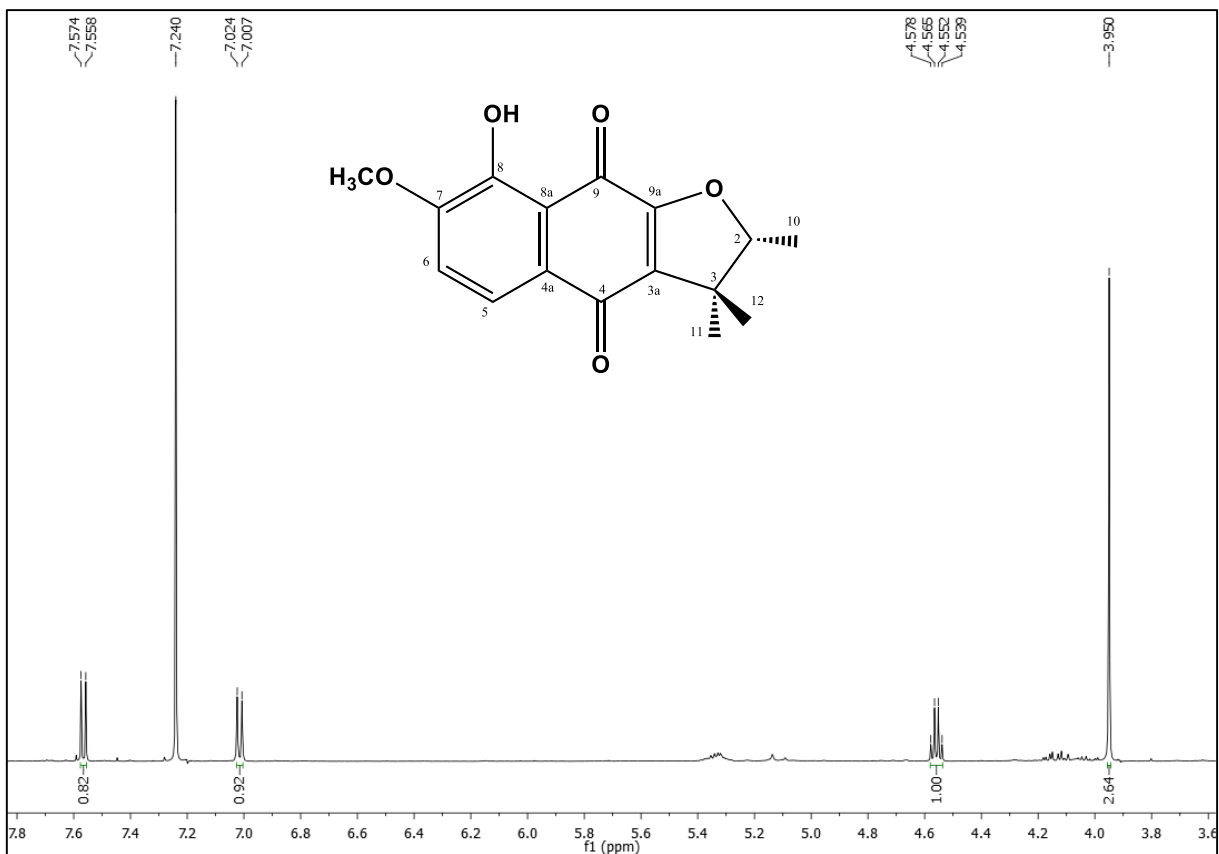


Figura 54. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de *Pt-5*, região de 3,6-7,8 ppm.

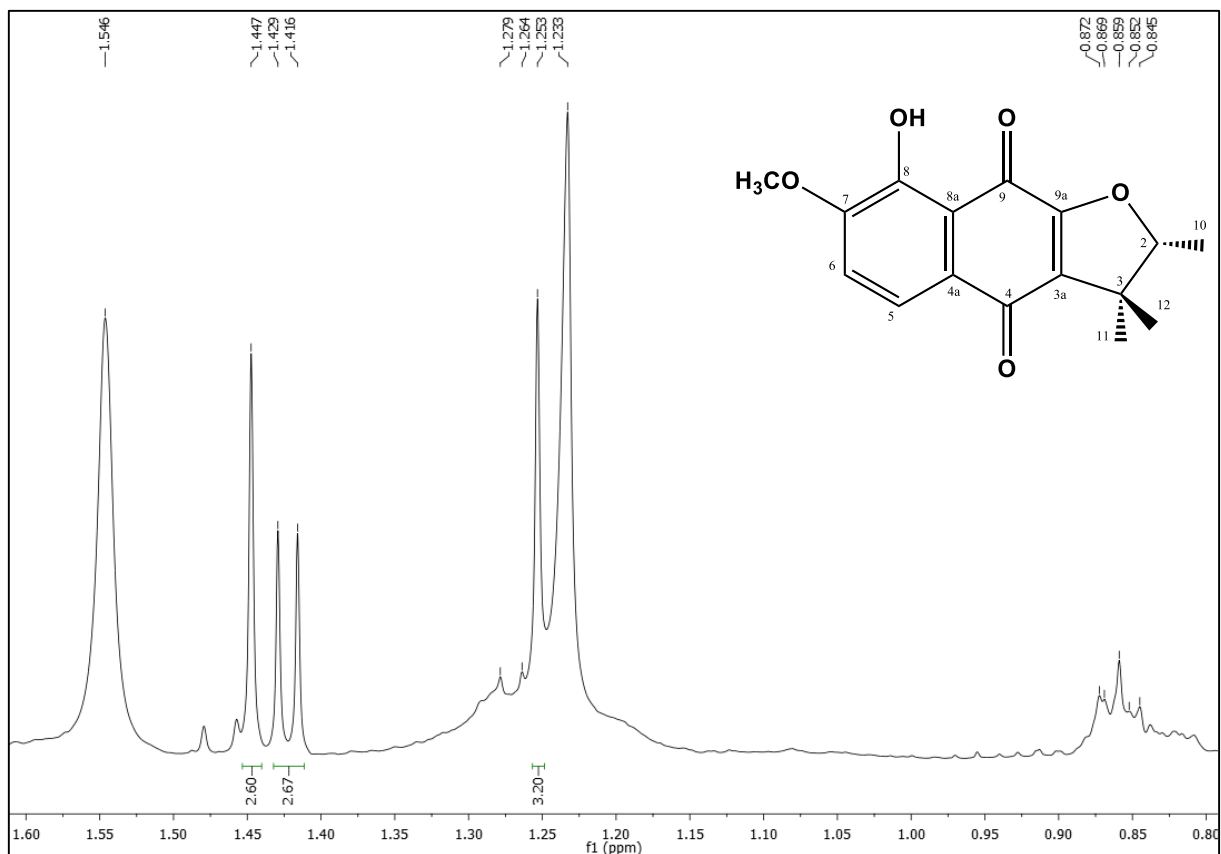


Figura 55. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de *Pt-5*, região 0,8-1,6 ppm.

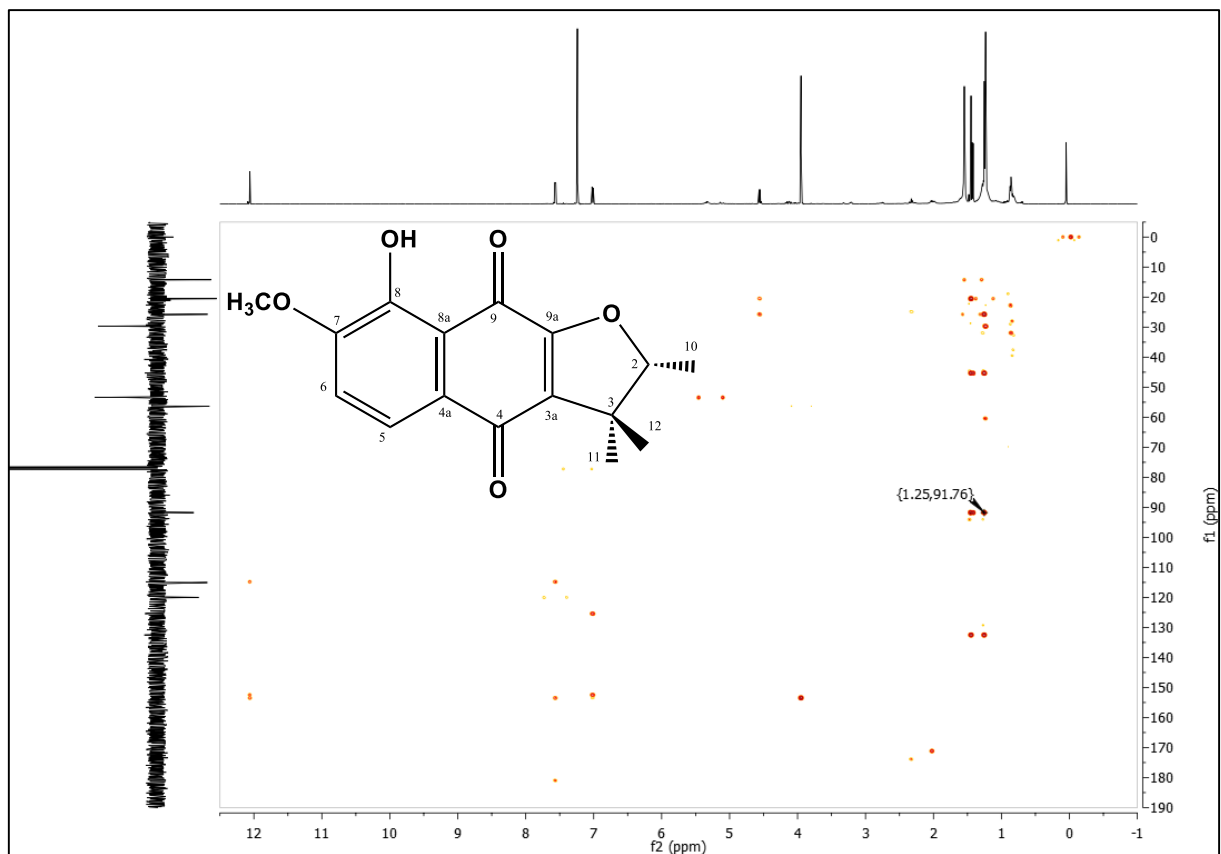


Figura 56. Espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de *Pt-5*.

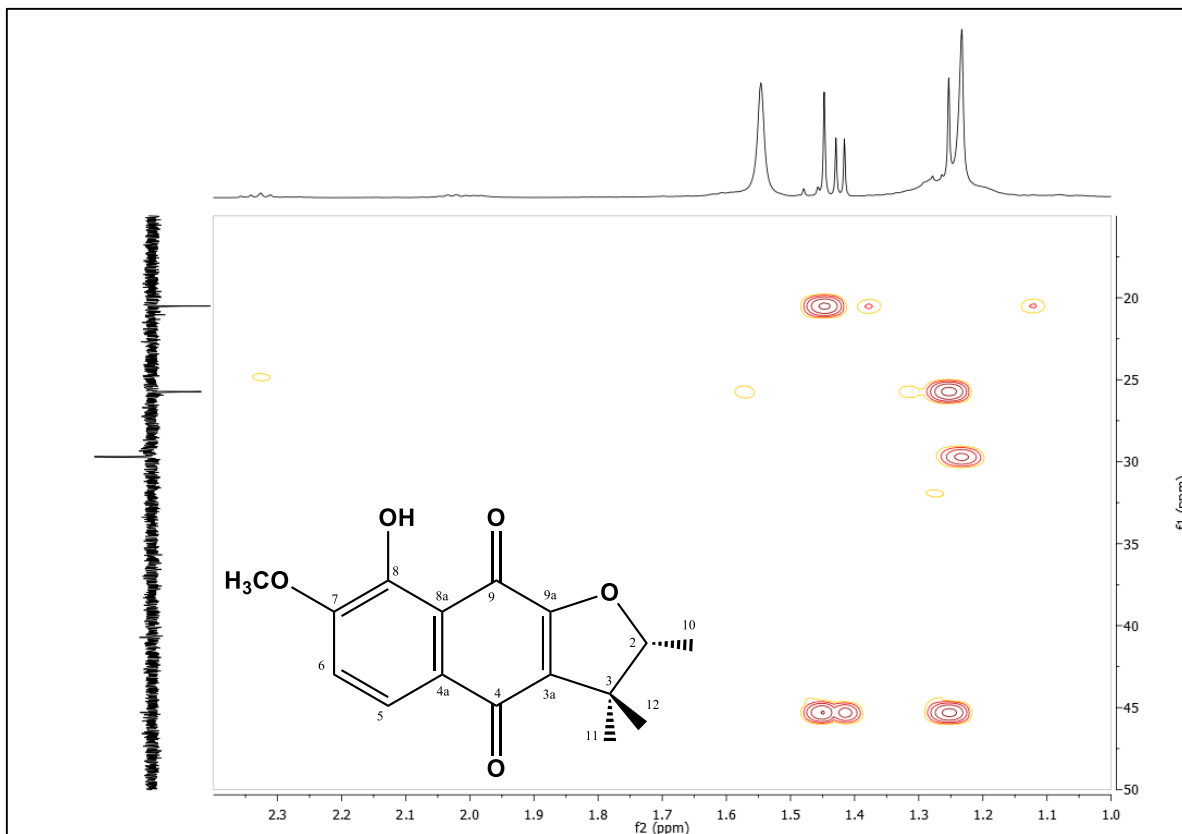


Figura 57. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de *Pt-5*, região (15-50 ppm) x (1-2,4 ppm).

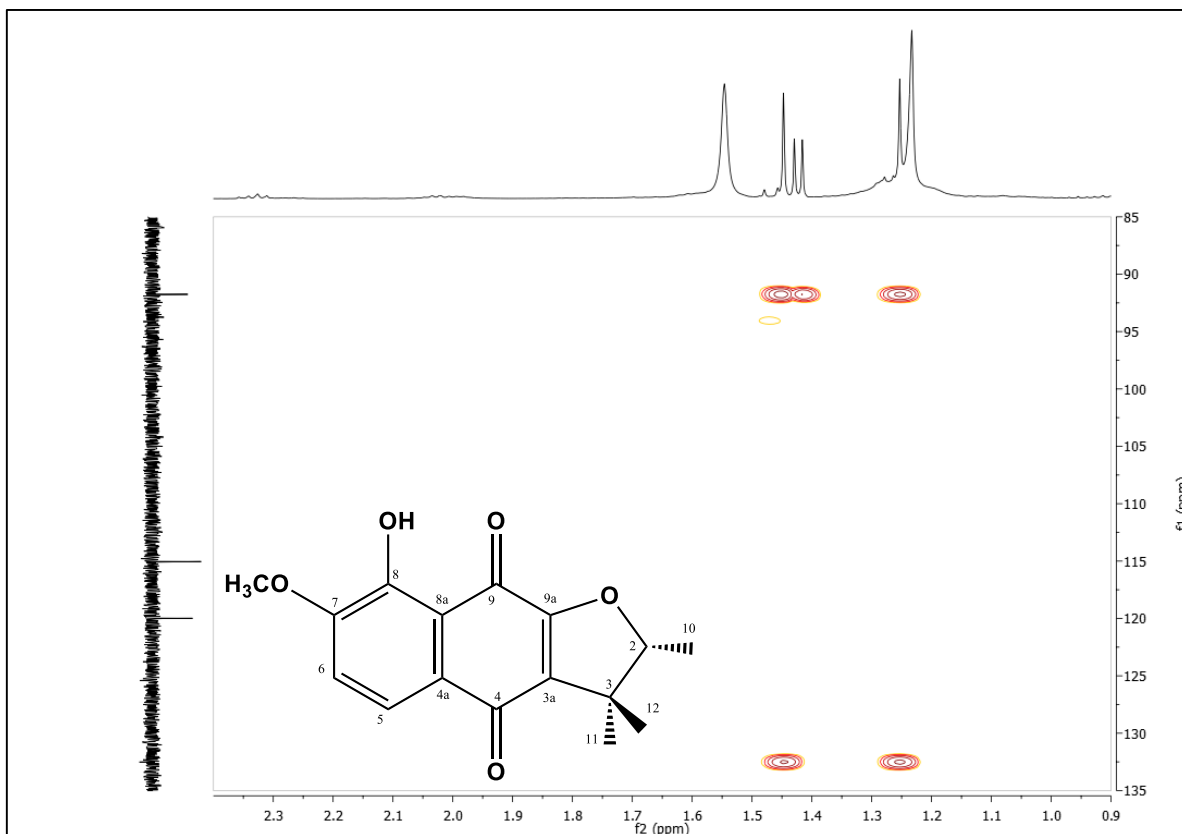


Figura 58. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de *Pt-5*, região (85-135 ppm) x (0,9-2,4 ppm).

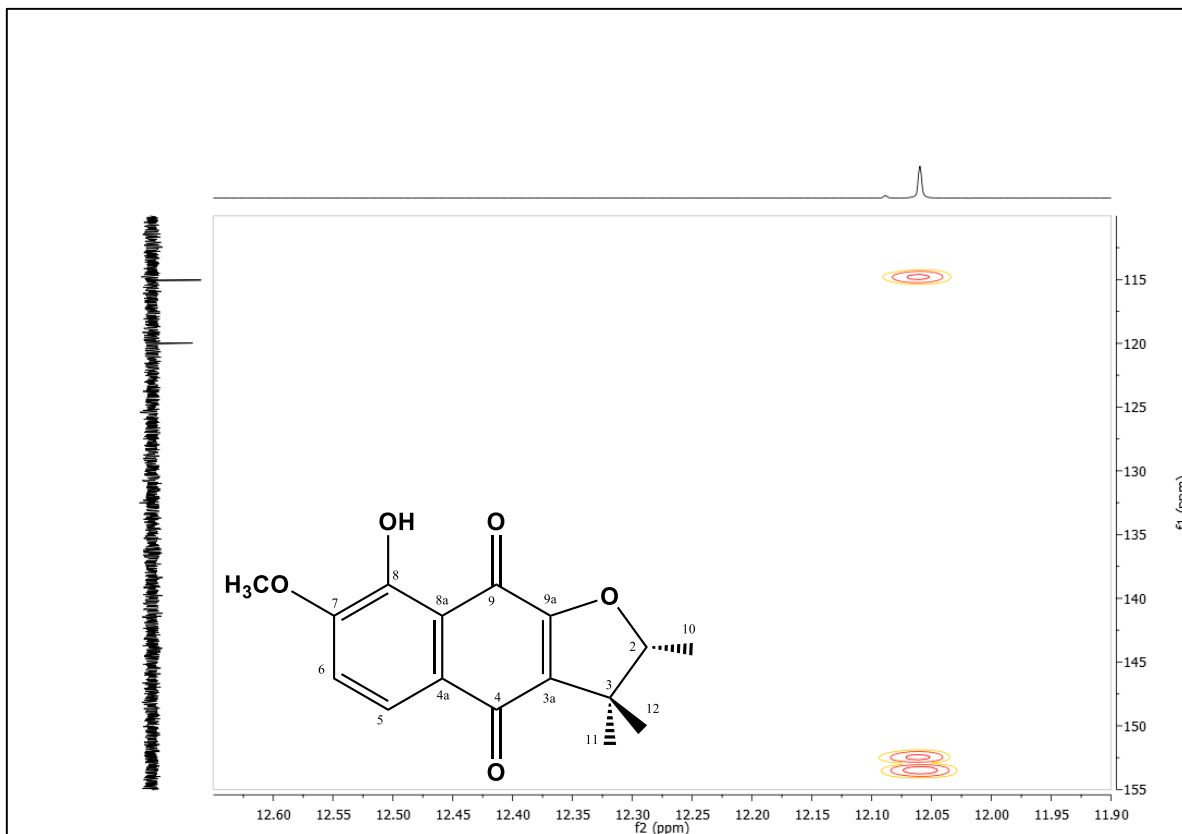


Figura 59. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl₃) de Pt-5, região (110-155 ppm) x (11,9-12,65 ppm).

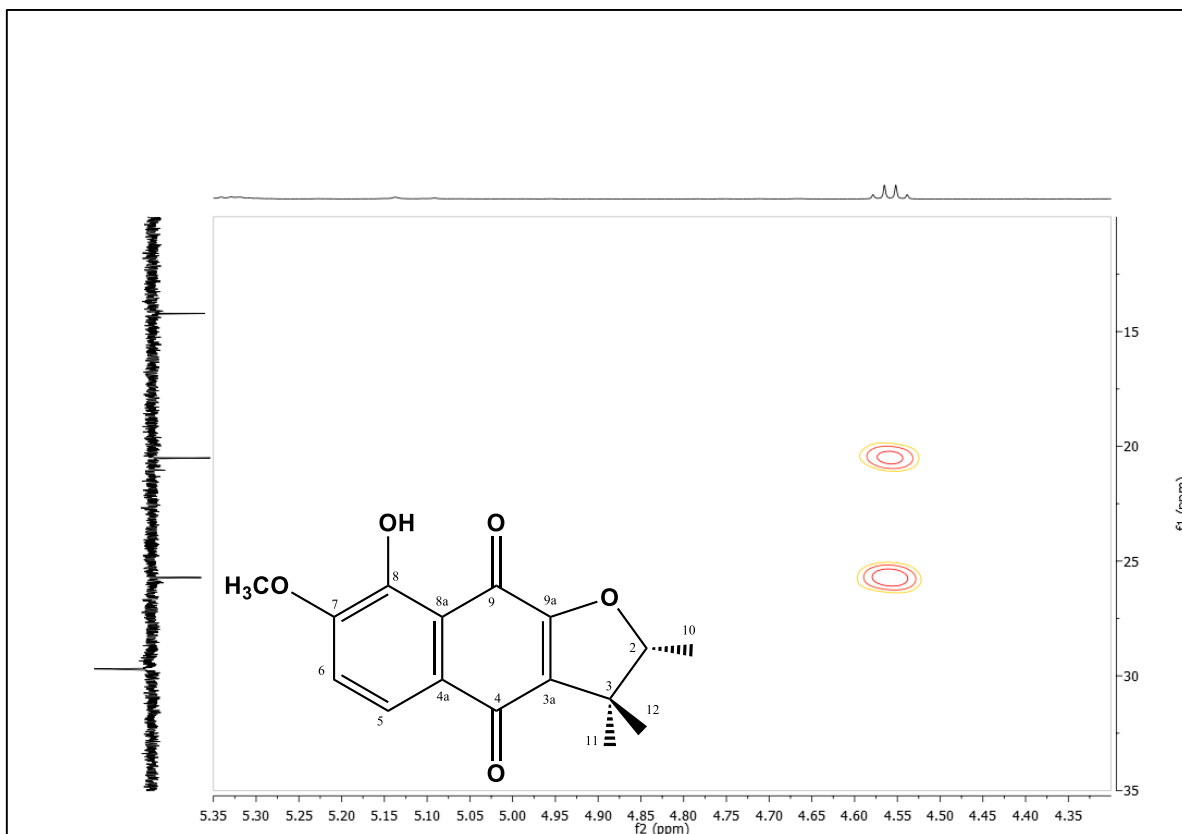


Figura 60. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl₃) de Pt-5, região (10-35 ppm) x (4,3-5,35 ppm).

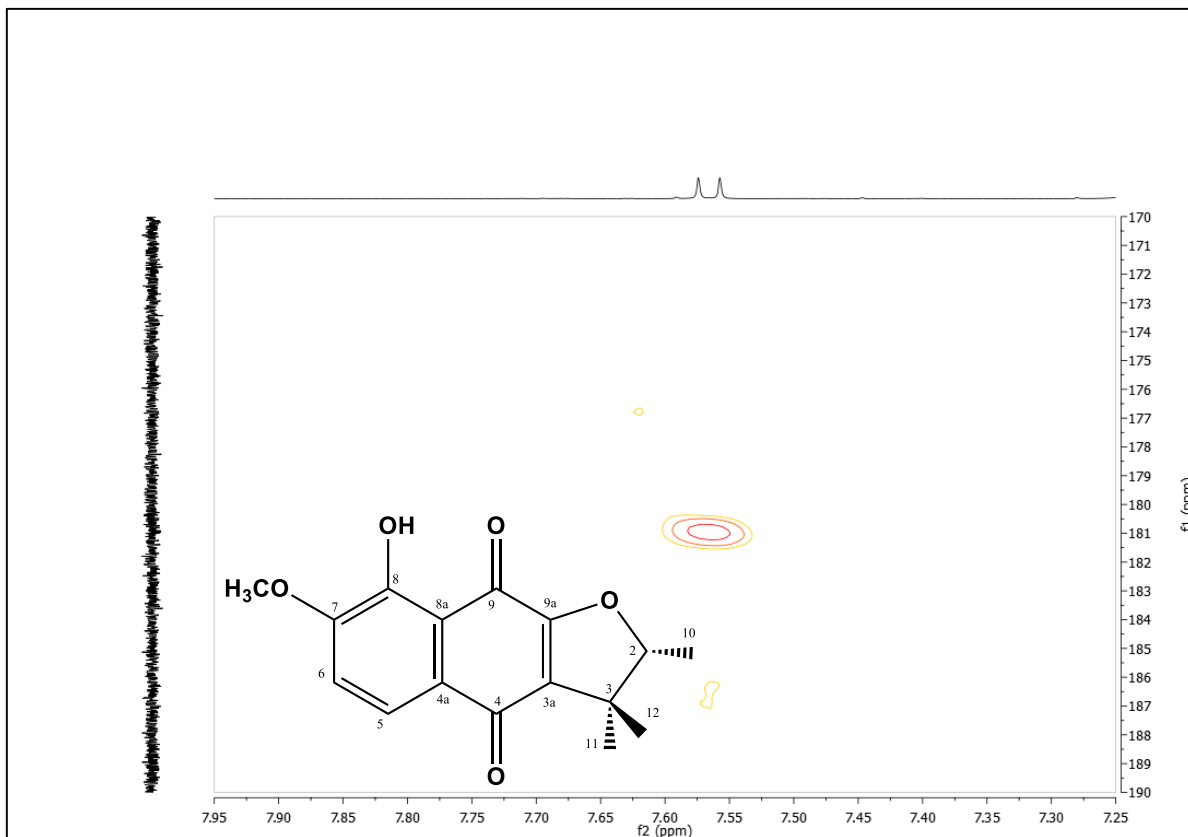


Figura 61. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl₃) de *Pt-5*, região (170-190 ppm) x (7,25-7,95 ppm).

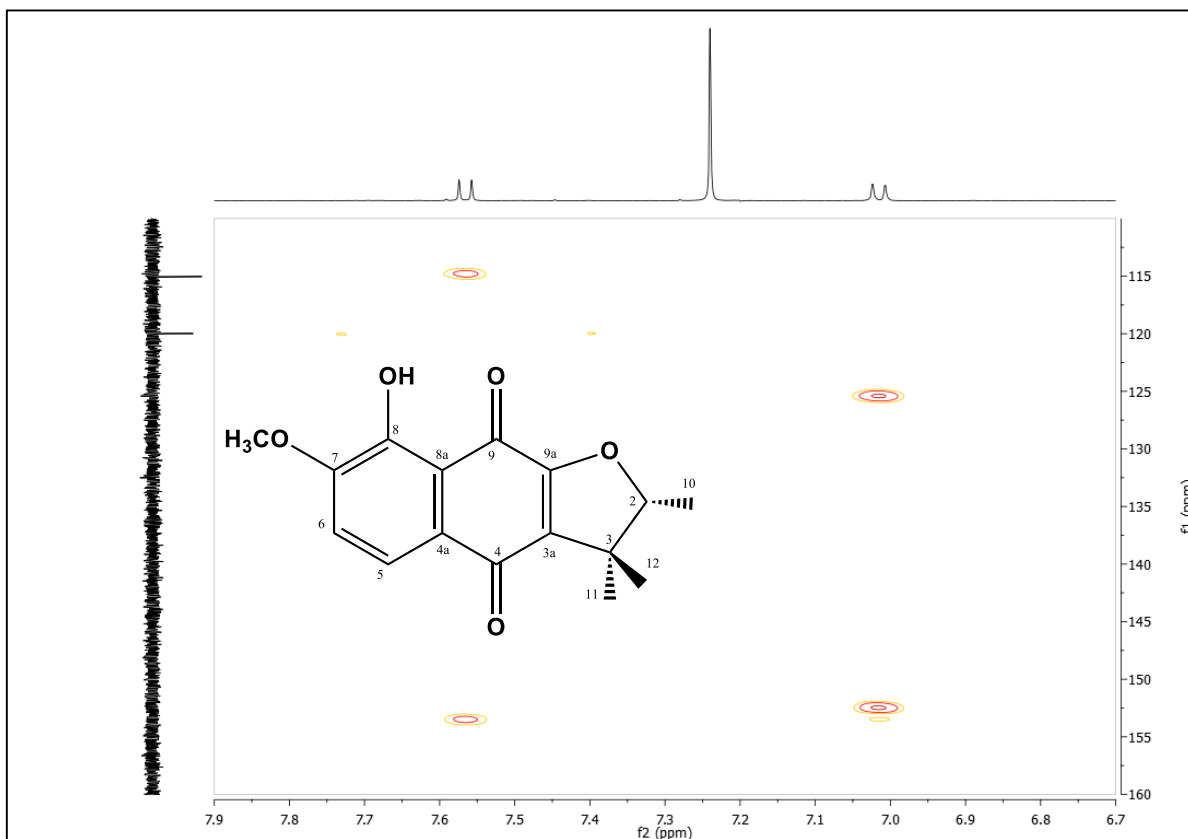


Figura 62. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl₃) de *Pt-5*, região (110-160 ppm) x (6,7-7,9 ppm).



Figura 63. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de *Pf-5*, região (144-164 ppm) x (3,4-4,5 ppm).

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

O presente estudo permitiu, por meio de técnicas cromatográficas, isolar e purificar compostos químicos da espécie vegetal *Paliavana tenuiflora* Mansf, revelando esta como bioprodutora de diferentes classes de metabólitos secundários de interesse para humanidade.

A espécie apresentou em sua constituição química uma mistura de esteroides, o β -sitosterol e o estigmasterol, ambos na forma aglicona; um sesquiterpeno, conhecido como presilfiperfolano-9-ol; a antraquinona tectoquinona; e duas naftoquinonas, o tenuiflorol e a 7-metoxi-8-hidroxi- α -dunniona. Esse é o primeiro relato de isolamento do composto nomeado por tenuiflorol na literatura, e as outras substâncias estão sendo relatadas pela primeira vez no gênero *Paliavana*.

Desta forma, esse trabalho amplia o conhecimento sobre a constituição química dos vegetais, particularmente sobre a espécie objeto do estudo. Com isso, além de contribuir com o conhecimento da quimiotaxonomia da família Gesneriaceae, possibilita o desenvolvimento de novos estudos, particularmente os de atividade biológica das substâncias isoladas, que poderão ser posteriormente realizados.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; RAMOS, M. A.; JÚNIOR, W. S. F.; NASCIMENTO, A. L. B. AVILEZ, W. M. T.; MELO, J. G. Are ethnopharmacological surveys useful for the discovery and development of drugs from medicinal plants?. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.24 (2), p. 110-115, 2014.

ARAUJO, A.O.; CHAUTEMS, A. *Paliavana* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7871>>. Acesso em: 22 Out. 2015a.

ARAUJO, A.O.; CHAUTEMS, A. *Paliavana* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7875>>. Acesso em: 22 Out. 2015b.

ARAUJO, A.O.; CHAUTEMS, A.; FERREIRA, G.E. Gesneriaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB119>>. Acesso em: 18 Out. 2015.

ARAÚJO, A.O.; SOUZA, V.C.; CHAUTEMS, A. Gesneriaceae da Cadeia do Espinhaço de Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, 28 (1), p. 109-135, 2005.

BECKE, A. D. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. **Physical review A**, v. 38, p. 3098, 1988.

BARROS, M. J. G.; MANSANO, V. F.; CHAUTEMS, A. Comparações florísticas e taxonomia da família Gesneriaceae no Parque Nacional do Itatiaia, Brasil. **Hoehnea**, 37(1), p. 131-145, 2010.

BLASER, J.G.; SALIMENA, F. R. G.; CHAUTEMS, A. Gesneriaceae na Serra Negra, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 63 (3), p. 705-714, 2012.

BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. P.; COUTO, D. R.; NASCIMENTO, J. A. P.; DAVID, J. M. Química e Farmacologia de Quimioterápicos Antineoplásicos Derivados de Plantas. **Química Nova**, v. 33 (6), p. 1359-1369, 2010.

REFERÊNCIAS

BRAZILPLANTS.COM. Disponível em: <<http://www.brazilplants.com/gesneriaceae/gesnerihome.html>>. Acesso em: 22 Out. 2015a.

BRAZILPLANTS.COM. Disponível em: <<http://www.brazilplants.com/gesneriaceae/paliavana-vanh/fotopaliavana.html>>. Acesso em: 22 Out. 2015b.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v.33(1), p. 229-239, 2010.

BOHLMANN, F.; JAKUPOVIC, J. Neue Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe mit anomalen kohlenstoffgerüst aus *Silphium*-Arten. **Phytochemistry**, v.19, p.259-265, 1980.

BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; JAKUPOVIC, J.; ROBINSON, H.; KING, R. M. Eriolanolides, eudesmanolides and a rearranged sesquiterpene from *Eriophyllum* species. **Phytochemistry**, v.20(9), p.2239-2244, 1981.

CAI, X.; LUO, X.; ZHOU, J.; HAO, X. Quinones from *Chirita eburnea*. **Journal of natural products**, v.68(5), p.797-799, 2005.

CESPEDES, C. L.; AQUEVEQUE, P. M.; AVILA, J. G.; ALARCON, J.; KUBO, I. New advances in chemical defenses of plants: researches in calceolariaceae. **Phytochemistry Reviews**, v.14(3), p.367-380, 2015.

CHEMAXON.COM. Disponível em: <<http://www.chemaxon.com>>. Acesso em: 15 Abr. 2016.

DE-EKNAMKUL, W; POTDUANG, B. Biosynthesis of β -sitosterol and stigmasterol in *Croton sublyratus* proceeds via a mixed origin of isoprene units. **Phytochemistry**, v.62(3), p.389–398, 2003.

DEWAR, M. J. S.; ZOEBISCH, E. G.; HEALY, E. F.; STEWART, J. J. P. AM1: A New General Purpose Quantum Mechanical Molecular Model. **Journal of American Chemical Society**, v. 107, p. 3902-3909, 1985.

DEWICK, P. M. Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach. 3ª Edição, **John Wiley & Sons Ltd.**, 2009.

REFERÊNCIAS

ENDALE, M.; EKBERG, A.; ALAO, J. P.; AKALA, H. M.; NDAKALA, A.; SUNNERHAGEN, P.; ERDÉLYI, M.; YENESEW, A. Anthraquinones of the Roots of *Pentas micrantha*. **Molecules**, v.18(1), p.311-321, 2012.

EISENREICH, W.; SCHWARZ, M.; CARTAYRADE, A.; ARIGONI, D.; ZENK, M. H.; BACHER, A. The deoxyxylulose phosphate pathway of terpenoid biosynthesis in plants and microorganisms. **Chemistry & Biology**, v.5(9), p.221-233, 1998.

FERREIRA, V.F.; PINTO, A.C. A Fitoterapia no mundo atual. **Química Nova**, v. 33 (9), p. 1829, 2010.

FERREIRA, P. A.; VIANA, B. F. Pollination biology of *Paliavana tenuiflora* (Gesneriaceae: Sinningeae) in Northeastern Brazil. **Acta bot. bras.**, v.24(4), p.972-977, 2010.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Rev. bras. farmacogn.**, v. 5 (2), p. 178-182, 2005.

HALGREN, T. A. Merck Molecular Force Field. I. Basis, Form, Scope, Parameterization, and Performance of MMFF94. **Journal of Computational Chemistry**, v. 17, p. 490-519, 1996.

HONG, A. Y.; STOLTZ, B. M. Biosynthesis and Chemical Synthesis of Presilphiperfolanol Natural Products. **Angewandte Chemie International Edition**, v.53(21), p.5248-5260, 2014.

IMRE, G.; VERESS, G.; VOLFOORD, A.; FARKAS, Ö. Molecules from the Minkowski space: an approach to building 3D molecular structures. **Journal of Molecular Structure**, v. 666, p. 51-59, 2003.

INOUE, K.; UEDA, S.; NAYESHIRO, H.; MORITOME, N.; INOUYET, H. Biosynthesis of naphthoquinones and anthraquinones in *Streptocarpus dunnii* cell cultures. **Phytochemistry**, v. 23(2), p. 313-318, 1984.

INOUE, K.; UEDA, S.; NAYESHIRO, H.; INOUYET, H. Quinones of *Streptocarpus dunnii*. **Phytochemistry**, v.22(3), p.737-741, 1983.

REFERÊNCIAS

KHAMBAY, B. PS.; BATTY, D.; JEWESS, P. J.; BATEMAN, G. L.; HOLLOMON, D. W. Mode of action and pesticidal activity of the natural product dunnione and of some analogues. **Pest Management Science**, v.59(2), p.174-182, 2003.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H.; Sterol glucosides from *Prunellavulgaris*. **Phytochemistry**, v.29(17), p.2351-2355, 1990.

LEITÃO, F.; LEITÃO, S. G.; FONSECA-KRUEL, V. S.; SILVA, I. M. Medicinal plants traded in the open-air markets in the State of Rio de Janeiro, Brazil: an overview on their botanical diversity and toxicological potential. **Rev. bras. farmacogn.**, v. 14 (2), p. 225-247, 2014.

LIN, C. Y.; GEORGE, M. W.; GILL, P. M. W. EDF2: A Density Functional for Predicting Molecular Vibrational Frequencies. **Australian Journal of Chemistry**, v. 57 p. 365-370, 2004.

LOBO, A. M.; LOURENÇO, A. M. Biossíntese de produtos naturais. **Editora IST Press**, Lisboa, 2007.

LOPES, T. C. C.; ANDREATA, R. H. P.; CHAUTEMS, A. Distribuição e conservação do gênero *Besleria* L. (Gesneriaceae) no Brasil: dados preliminares. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 876-878, 2007.

MARCO, J. A.; SANZ-CERVERA, J. F.; MORANTE, V.; GARCÍA-LLISO, J.; VALLÈS-XIRAU, J.; JAKUPOVIC, J. Tricyclic sesquiterpenes from *Artemisia chamaemelifolia*. **Phytochemistry**, v.41(3), p.837-844, 1996.

MELCHING, S.; KÖNIG, W. A. Sesquiterpenes from the essential oil of the liverwort *Conocephalum conicum*. **Phytochemistry**, v.51(4), p.517-523, 1999.

METROPOLIS, N.; ULAM, S. The Monte Carlo Method. **Journal of the American Statistical Association**, v. 44, p. 335-341, 1949.

MOREIRA, D. L.; TEIXEIRA, S. S.; MONTEIRO, M. H. D.; DE-OLIVEIRA, A. C. A. X.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Traditional use and safety of herbal medicines. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 24 (2), p. 248-257, 2014.

MOREIRA, R. Y. O.; ARRUDA, M. S. P.; ARRUDA, A. C.; SANTOS, L. S.; MÜLLER, A. H.; GULHON, G. M. S. P.; SANTOS, A. S.; TEREZO, E. Antraquinonas e

REFERÊNCIAS

naftoquinonas do caule de um espécime de reflorestamento de *Tectona grandis* (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16(3), p.392-396, 2006.

PEIXOTO, A.L.; MORIM, M. P. Coleções botânicas: documentação da biodiversidade brasileira. **Cienc. Cult.**, v. 55 (3), p. 21-24, 2003.

PERRET, M.; CHAUTEMS, A.; SPICHIGER, R. Dispersal-vicariance analyses in the tribe Sinningieae (Gesneriaceae): a clue to understanding biogeographical history of the Brazilian Atlantic Forest. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.93(2), p.340-358, 2006.

PERRET, M.; CHAUTEMS, A.; SPICHIGER, R.; PEIXOTO, M.; SAVOLAINEN, V. Nectar Sugar Composition in Relation to Pollination Syndromes in Sinningieae (Gesneriaceae). **Annals of Botany**, v.87(2), p.267-273, 2001.

PERRET, M.; CHAUTEMS, A.; SPICHIGER, R.; KITE, G.; SAVOLAINEN, V. Systematics and evolution of tribe Sinningieae (Gesneriaceae): evidence from phylogenetic analyses of six plastid DNA regions and nuclear ncpGS. **American Journal of Botany**, v. 90 (3), p. 445-460, 2003.

PERRET, M.; CHAUTEMS, A.; ARAÚJO, A. O.; SALAMIN, N. Temporal and spatial origin of Gesneriaceae in the New World inferred from plastid DNA sequences. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 171, p. 61-79, 2013.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos Naturais: Atualidade, Desafios e Perspectivas. **Química Nova**, v. 25, supl. 1, p. 45-61, 2002.

QUEIROZ, G. S. Análise de esteroides em extratos vegetais e estudo fitoquímico e biológico preliminar de *Brunfelsia uniflora*. **Relatório**, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

SANMARTIN-GAJARDO, I.; SAZIMA, M. Chiropterophily in Sinningieae (Gesneriaceae): *Sinningia brasiliensis* and *Paliavana prasinata* are bat-pollinated, but *P. sericiflora* is not. Not yet? **Annals of Botany**, v.95, p.1097-1103, 2005a.

REFERÊNCIAS

- SANMARTIN-GAJARDO, I.; SAZIMA, M. Espécies de *Vanhouttea* Lem. e *Sinningia* Nees (Gesneriaceae) polinizadas por beija-flores: interações relacionadas ao hábitat da planta e ao néctar. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28(3), p. 441-450, 2005b.
- SHERIDAN, H.; NESTOR, C.; O'DRISCOLL, L.; HOOK, I. Isolation, structure elucidation, and cytotoxic evaluation of furanonaphthoquinones from in vitro plantlets and cultures of *Streptocarpus dunnii*. **Journal of Natural Products**, v.74(1), p.82-85, 2011.
- SHARF, D. R. Identificação de cromenos, naftoquinonas e outros constituintes de *Sinningia allagophylla* (gesneriaceae) e avaliação de suas atividades citotóxica, anti-inflamatória, analgésica e larvicida. **Tese de doutorado**, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.
- SILVA, E. F. Estudo fitoquímico da *Paliavana tenuiflora* Mansf. (Gesneriaceae). **Dissertação de mestrado**, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. **Ed. da UFSC**, 6ª ed., Florianópolis, 2010.
- SMITH, J.F.; WOLFRAM, J. C.; BROWN, K. D.; CARROLL, C. L.; DENTON, D. S. Tribal relationships in the Gesneriaceae: evidence from DNA sequences of the chloroplast gene *ndhF*. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 81(1), p.50-66, 1997.
- TOMAZ, A. C. A.; NOGUEIRA, R. B. S. S.; PINTO, D. S.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V.; DA-CUNHA, E. V. L. Chemical constituents from *Richardia grandiflora* (Cham. & Schlttdl.) Steud. (Rubiaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.18(1), p.47-52, 2008.
- TROPICOS.ORG. Gesneriaceae Rich. & Juss. **Missouri Botanical Garden**. Disponível em: <<http://www.tropicos.org/Name/42000302?tab=maps>>. Acesso em: 22 Out. 2015.
- VERDAN, M. H.; KOOLEN, H. H. F.; SALVADOR, M. J.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A New Naphthoquinone from *Sinningia leucotricha* (Gesneriaceae). **Natural Product Communications**, v. 10 (4), p. 625-626, 2015b.

REFERÊNCIAS

VERDAN, M. H.; SOUZA, L. M.; CARVALHO, J. E.; COSTA, D. B. V.; SALVADOR, M. J.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. Two New Hydronaphthoquinones from *Sinningia aggregata* (Gesneriaceae) and Cytotoxic Activity of Aggregatin D. **Chemistry & Biodiversity**, v. 12 (1), p. 148-152, 2015a.

VERDAN, M. H.; STEFANELLO, M. E. A. Secondary Metabolites and Biological Properties of Gesneriaceae Species. **Chemistry & Biodiversity**, v. 9 (12), p. 2701-2731, 2012.

VERDAN, M. H.; UNEMOTO, L. K.; FARIA, R. T.; SALVADOR, M. J.; SÁ, E. L.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. Leucotrichoic acid, a novel sesquiterpene from *Sinningia leucotricha* (Gesneriaceae). **Tetrahedron Letters**, v.54 (35), p. 4735-4737, 2013.

WAVEFUNCTION, INC. Spartan model homepage for Windows. Disponível em: <http://www.wavefun.com/products/windows/SpartanModel/win_model.html>. Acesso em: 15 Abr. 2016.

WEBER, A.; CLARK, J. L.; MÖLLER, M. A new formal classification of Gesneriaceae. **Selbyana**, v. 31(2), p. 68–94, 2013.

WHO. WHO Traditional Medicine Strategy. Genebra, 2013.

WIKIMEDIA.ORG. Paliavana tenuiflora. Disponível em: <https://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Paliavana_tenuiflora#/media/File:Flickr_-_Jo%C3%A3o_de_Deus_Medeiros_-_Paliavana_tenuiflora.jpg>. Acesso em: 22 Out. 2015.

XIAO, X.; LIN, Y.; XU, G. ; GONG, X.; GU, Y.; TONG, J.; YANG, J.;. Two new cytotoxic naphthoquinones from *Didymocarpus hedyotideus*. **Helvetica Chimica Acta**, v.94(3), p.404-409, 2011.

ZIMMER, E. A.; ROALSON, E. H.; SKOG, L. E.; BOGGAN, J. K.; IDNURM, A. Phylogenetic relationships in the Gesnerioideae (Gesneriaceae) based on nrDNA ITS and cpDNA *trnL-F* and *trnE-T* spacer region sequences. **American Journal of Botany**, v.89(2), p.296–311, 2002.

REFERÊNCIAS

ZHONG, Y.; WEN, Q.; LI, C.; SU, X.; YUAN, Z.; LI, Y. Two New Naphthoquinone Derivatives from *Lysionotus pauciflorus*. **Helvetica Chimica Acta**, v.96(9), p.1750-1756, 2013.