



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



**LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA “PROF. DELBY
FERNANDES DE MEDEIROS”**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS
BIOATIVOS**

PAULA FERREIRA DOS SANTOS

NOVOS DITERPENOS ISOLADOS DAS RAÍZES DE
***Xylopia langsdorffiana* St-Hil & Tul. (ANNONACEAE).**

João Pessoa
2011

PAULA FERREIRA DOS SANTOS

NOVOS DITERPENOS ISOLADOS DAS RAÍZES DE

***Xylopia langsdorffiana* St-Hil & Tul. (ANNONACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento as exigências para obtenção do título de Msc e Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.
Área de concentração: Farmacoquímica

S237n Santos, Paula Ferreira dos.
Novos diterpenos isolados das raízes de *Xylopia langsdorffiana* St-Hil & Tul. (Annonaceae) / Paula Ferreira dos Santos.- João Pessoa, 2011.
176f. : il.
Orientador: Josean Fachine Tavares
Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCS
1. Produtos Naturais. 2. *Xylopia langsdorffiana* (pimenteira da terra). 3. Diterpenos – isolamento. 4. Óleo essencial.

UFPB/BC

CDU: 547.0(043)

ORIENTADOR: Prof. Dr. Josean Fachine Tavares

PAULA FERREIRA DOS SANTOS

NOVOS DITERPENOS ISOLADOS DAS RAÍZES DE
***Xylopia langsdorffiana* St-Hil & Tul. (ANNONACEAE)**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos da Universidade Federal da Paraíba-UFPB, como requisito para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de concentração: Farmacoquímica

Dissertação aprovada em 18/02/2011

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Josean Fechine Tavares
Universidade Federal da Paraíba – Orientador

Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa
Universidade Regional do Cariri – Examinador Externo

Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva
Universidade Federal da Paraíba – Examinador Interno

Dedico este trabalho ao meu querido e eternamente amado pai Antonio Mancel Alves dos Santos (in memoriam), pela confiança, credibilidade, apoio incondicional e por tudo que ele representou e sempre representará em minha vida.

Agradecimentos

A **Deus** por ter soprado o fôlego da vida e por ter feito em mim a Sua vontade.

Ao meu querido e estimado orientador **Prof. Dr. Josean Fechine Tavares**, por ter confiado e apostado em minha pessoa, pela satisfação que demonstrou para comigo, pelo conhecimento acadêmico repassado, e por tornar possível este trabalho.

Ao **Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva**, por sua imensurável contribuição.

A **Prof. Dra. Maria de Fátima Agra** pela identificação da espécie em estudo.

A **Cinthia Silveira Queiroga** pela troca de informações e auxílio nas atividades.

A todos que fazem parte do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica – LTF da Universidade Federal da Paraíba - UFPB, em especial à **Equipe Sobral**.

Ao Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais – LPPN da Universidade Regional do Cariri – URCA, em especial ao **Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa** pelo apoio, disposição e por ter sido o primeiro a me envolver no mundo da pesquisa.

Ao meu querido e sempre amigo **Antônio Carlito** que sempre me incentivou nesta caminhada.

A minha mãe **Maria Socorro Ferreira dos Santos** e ao meu pai **Antônio Manoel Alves dos Santos** (*in memorian*), pelo apoio e incentivo constante.

Aos meus irmãos **Samantha Ferreira dos Santos**, **Felipe Ferreira dos Santos**, **Bruno Ferreira dos Santos**, aos sobrinhos **Bruno Levy**, **Manoel Neto**, **Breno**, **Ricardo Neto**, **Felipe Jr.**, **Ítalo**, **Guilherme**, **Abner** e a minha sobrinha, a princesinha **Giovanna Liz**, a todos da **Família Alves** e da **Família Ferreira** pela importância que exercem em minha vida.

Ao meu noivo **Germano Milfont Esmeraldo**, pelo amor, por ter suportado a distância, pelo companheirismo e por tudo que és para mim.

A todos que participaram direta ou indiretamente da elaboração deste trabalho.

Muito Obrigada!!!

RESUMO

Xylopia langsdorffiana (Annonaceae) é conhecida popularmente como “pimenteira da terra”, sendo considerada uma árvore que pode atingir de 5-7 metros de altura. Estudos fitoquímicos relataram a presença de alcalóides, e terpenóides do tipo traquilobano, atisano, labdano e caurano, em frutos, caule e folhas. Neste trabalho reportaremos o isolamento e elucidação estrutural de diterpenos isolados das raízes de *X. langsdorffiana*. Análises cromatográficas do extrato etanólico bruto das raízes permitiram o isolamento de sete diterpenos: ácido *ent*-7 β -acetoxitraquiloban-18-óico, já relatado na espécie, ácido *ent*-traquiloban-18-óico, *ent*-cauran-16 β -ol, ácido *ent*-caur-16-en-19-óico e *ent*-caur-16-en-19-ol, relatados pela primeira vez na espécie, *ent*-atisan-7 α -acetoxi-16 α -ol e *ent*-atisan-7-oxo-16 α -ol relatado pela primeira vez na literatura, e nomeados trivialmente de *Acetato de Xylodiol* e *Xylopinona*. Os constituintes químicos foram identificados através da análise de dados obtidos por métodos espectroscópicos como Infravermelho, Espectrometria de Massas de alta e baixa resolução, obtido por ESI (HR-ESI-MS), Ressonância Magnética Nuclear de ^1H , ^{13}C unidimensionais e técnicas bidimensionais (COSY, NOESY, HMQC e HMBC), além de comparação com dados descritos na literatura. As raízes também foram submetidas a extração de óleo essencial por hidrodestilação em aparelho tipo cleverger, e caracterizado em CG-EM, sendo possível identificar 89,39% dos constituintes químicos do óleo, que apresentou como constituinte majoritário o trans-isolimoneno (56,63%), e 0,11 % de espatulenol, considerado marcador para o gênero *Xylopia*. Desta forma, os resultados obtidos contribuíram para a ampliação do conhecimento quimiotaxonômico da família Annonaceae, em especial *Xylopia langsdorffiana*.

Palavras-chave: *Xylopia langsdorffiana*, Annonaceae, diterpenos, óleo essencial.

ABSTRACT

Xylopia langsdorffiana (Annonaceae), popularly known pimenteira-da-terra, is a tree that can reach 5-7 m of height. Phytochemical studies reported the presence of alkaloids and terpenoids type trachylobane, atisane, labdane and kaurane of the fruits, stem and leaves. In this work we report the isolation and structural elucidation of terpenes isolated from roots of *X. langsdorffiana*. Chromatographic analysis of the crude ethanolic extract of the roots allowed the isolation of seven diterpenes: *ent*-7 β -acetoxytrachyloban-18-oic acid, reported in the species, *ent*-trachyloban-18-oic acid, *ent*-kauran-16 β -ol, *ent*-kaur-16-en-19-oic acid and *ent*-kaur-16-en-19-ol, first reported in the species, *ent*-atisan-7 α -acetoxy-16 α -ol and *ent*-atisan-7-oxo-16 α -ol first reported in the literature, and trivially named *Acetato de Xylodiol* and *Xylopinona*. The chemical constituents were identified by data analysis obtained for spectroscopic methods as Infrared, high and low resolution Mass Spectrometry obtained by ESI (HR-ESI-MS), ^1H , ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance unidimensional and bidimensional techniques (COSY, NOESY, HMQC e HMBC), and compared with previously reported data. The roots were subjected to essential oil extraction by hydrodistillation in Clevenger apparatus and characterized in GC-MS, was possible identify 89.9% of the chemical constituents oil. The major constituent is the trans-isolimonene (56.63%) and espathulenol 0.11% that is considered the marker of *Xylopia* genus. This way, the obtained results contributed with chemotaxonomic knowledge of Annonaceae family, especially *Xylopia langsdorffiana*.

Keywords: *Xylopia langsdorffiana*, Annonaceae, diterpenes, essential oil.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01. Mapa de distribuição da família Annonaceae no mundo.....	21
Figura 02. Substâncias isoladas de espécies da Família Annonaceae.....	23
Figura 03. Mapa de distribuição do gênero <i>Xylopi</i> a L. no mundo.....	24
Figura 04. <i>Xylopi</i> a <i>langsdo</i> rfiana St-Hil & Tul.....	30
Figura 05. Via de biossíntese dos terpenos, com ênfase em diterpenos.....	35
Figura 06. Ciclização do GGPP e formação do esqueleto dos labdanos e dos <i>ent</i> -labdanos.....	36
Figura 07. Possibilidades de ciclização e formação de vários esqueletos policíclicos	37
Fluxograma 01. Obtenção e particionamento do EEB das raízes de <i>X. langsdo</i> rfiana	46
Fluxograma 02. Fracionamento cromatográfico da fase Hex/AcOEt 8:2 do EEB de <i>X. langsdo</i> rfiana.....	48
Fluxograma 03. Fracionamento cromatográfico da fase Hex/AcOEt 2:8 do EEB de <i>X. langsdo</i> rfiana	49
Figura 08. Estereoquímica relativa do centro quiral em C-16.....	51
Figura 09. <i>ent</i> -cauran-16 β -ol e correlação ^1H x ^1H COSY e ^1H x ^{13}C HMBC	53
Figura 10. Espectro de massas obtido por ESI positivo (HR-ESI-MS) de XLR-1	55
Figura 11. Espectro de IV obtido em KBr de XLR-1.....	56
Figura 12. Espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	57
Figura 13. Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	58
Figura 14. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	59
Figura 15. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	60
Figura 16. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	61
Figura 17. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	62
Figura 18. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	63
Figura 19. Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C gHSQC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	64
Figura 20. Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C gHSQC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	65
Figura 21. Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C gHSQC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	66

Figura 22. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	67
Figura 23. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	68
Figura 24. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	69
Figura 25. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	70
Figura 26. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	71
Figura 27. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	72
Figura 28. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	73
Figura 29. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	74
Figura 30. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3	75
Figura 31. ácido <i>ent</i> -caur-16-en-19-óico	77
Figura 32. Espectro de massas obtido por ESI negativo (HR-ESI-MS), de XLR-2	78
Figura 33. Espectro de IV obtido em KBr de XLR-2.....	79
Figura 34. Espectro de RMN ^{13}C – APT (50 MHz) de XLR-2 em CDCl_3	80
Figura 35. Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (50 MHz) de XLR-2 em CDCl_3 ...	81
Figura 36. Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (50 MHz) de XLR-2 em CDCl_3 ...	82
Figura 37. Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de XLR-2 em CDCl_3	83
Figura 38. Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz) de XLR-2 em CDCl_3	84
Figura 39. <i>ent</i> -caur-16-en-19-ol	86
Figura 40. Espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-3 em CDCl_3	87
Figura 41. Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-3 em CDCl_3	88
Figura 42. Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-3 em CDCl_3	89
Figura 43. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-3 em CDCl_3	90
Figura 44. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-3 em CDCl_3	91
Figura 45. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-3 em CDCl_3	92
Figura 46. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-3 em CDCl_3	93

Figura 47. <i>ent</i> -atisan-7 α -acetoxi-16 α -ol e correlação HMBC, COSY e NOESY	96
Figura 48. Espectro de massas obtido por ESI positivo (HR-ESI-MS), de XLR-4	96
Figura 49. Espectro de IV obtido em KBr de XLR-4.....	98
Figura 50. Espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	99
Figura 51. Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	100
Figura 52. Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	101
Figura 53. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	102
Figura 54. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	103
Figura 55. Espectro de correlação ^1H x ^{13}C gHMQC (500 e 125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	104
Figura 56. Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C gHMQC (500 e 125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	105
Figura 57. Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C gHMQC (500 e 125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	106
Figura 58. Espectro de correlação ^1H x ^{13}C gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	107
Figura 59. Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	108
Figura 60. Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	109
Figura 61. Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	110
Figura 62. Espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	111
Figura 63. Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	112
Figura 64. Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	113
Figura 65. Espectro de correlação ^1H x ^1H NOESY (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	114
Figura 66. Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H NOESY (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	115
Figura 67. Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H NOESY (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	116

Figura 68. Espectro de massas de baixa resolução obtido por ESI (ION TRAP) de XLR-4.....	117
Figura 69. Proposta de fragmentação para XLR-4.....	118
Figura 70. <i>ent</i> -atisan-7-oxo-16 α -ol e correlações $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY e NOESY	120
Figura 71. Espectro de massas obtido por ESI positivo (HR-ESI-MS), de XLR-5	122
Figura 72. Espectro de IV obtido em KBr de XLR-5.....	123
Figura 73. Espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3	124
Figura 74. Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3	125
Figura 75. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-5 em CDCl_3	126
Figura 76. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-5 em CDCl_3	127
Figura 77. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-5 em CDCl_3	128
Figura 78. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMQC (500 e 125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3	129
Figura 79. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMQC (500 e 125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3	130
Figura 80. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMQC (500 e 125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3	131
Figura 81. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3	132
Figura 82. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3	133
Figura 83. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3	134
Figura 84. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	135
Figura 85. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3	136
Figura 86. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de XLR-5 em CDCl_3	137
Figura 87. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de XLR-5 em CDCl_3	138
Figura 88. Espectro de massas de baixa resolução obtido por ESI (ION TRAP) de XLR-5.....	139
Figura 89. Proposta de fragmentação para XLR-5.....	140
Figura 90. Ácido <i>ent</i> -traquiloban-18-óico	143

Figura 91. Espectro de massas obtido por ESI positivo (HR-ESI-MS) de XLR-6	143
Figura 92. Espectro de IV obtido em KBr de XLR-6.....	144
Figura 93. Espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-6 em CDCl_3	145
Figura 94. Espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-6 em CDCl_3	146
Figura 95. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-6 em CDCl_3	147
Figura 96. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-6 em CDCl_3	148
Figura 97. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMQC (500 e 125 MHz) de XLR-6 em CDCl_3	149
Figura 98. Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMQC (500 e 125 MHz) de XLR-6 em CDCl_3	150
Figura 99. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-6 em CDCl_3	151
Figura 100. Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-6 em CDCl_3	152
Figura 101. Ácido <i>ent</i> -7 β -acetoxetraquiloban-18-óico	154
Figura 102. Espectro de massas obtido por ESI positivo (HR-ESI-MS), de XLR-7	155
Figura 103. Espectro de IV obtido em KBr de XLR-7.....	156
Figura 104. Espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-7 em CDCl_3	157
Figura 105. Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-7 em CDCl_3	158
Figura 106. Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-7 em CDCl_3	159
Figura 107. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-7 em CDCl_3	160
Figura 108. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-7 em CDCl_3	161
Figura 109. Cromatograma dos constituintes voláteis das raízes de <i>X.langsdorffiana</i>	162
Figura 110. Estruturas de alguns compostos presentes no óleo essencial das raízes de <i>Xylopi langsdorffiana</i>	165

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Diterpenos isolados de <i>Xylopia</i> L	26
Tabela 02. Constituintes químicos isolados de <i>Xylopia langsdorffiana</i>	31
Tabela 03. Origem biossintética dos metabólitos secundários, com ênfase em terpenóides.....	34
Tabela 04. Dados de RMN de XLR-1 a 500 MHz em CDCl ₃	54
Tabela 05. Dados de RMN de XLR-2 a 200 MHz em CDCl ₃	77
Tabela 06. Dados de RMN de XLR-3 a 500 MHz em CDCl ₃	86
Tabela 07. Dados de RMN de XLR-4 a 500 MHz em CDCl ₃	97
Tabela 08. Dados de RMN de XLR-5 a 500 MHz em CDCl ₃	121
Tabela 09. Dados de RMN de XLR-6 a 500 MHz em CDCl ₃	142
Tabela 10. Dados de RMN de XLR-7 a 500 MHz em CDCl ₃	154
Tabela 11. Composição química do óleo essencial das raízes <i>X. langsdorffiana</i> (CG-EM).....	163
Tabela 12. Compostos presentes no óleo essencial das raízes comuns a frutos e/ou folhas	164

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AcOEt	- Acetato de etila
APT	- Attached Proton Test
CC	- Cromatografia em Coluna
CCDA	- Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CDCl ₃	- Clorofórmio Deuterado
CG-EM	- Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
COSY	- Correlation Spectroscopy
DMAPP	- Dimetilalila Difosfato
<i>d</i>	- Duplete
<i>dd</i>	- Duplo-duplete
<i>ddd</i>	- Duplo-duplo-duplete
δ	- Deslocamento químico
ESI	- Ionização por electron spray
eV	- Eletrovolt
FR	- Fração
GGPP	- Geranilgeranil difosfato
Hex	- Hexano
Hz	- Hertz
gHMBC	- Heteronuclear Multiple Bond Correlation
gHMQC	- Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HR-ESI-MS	- High Resolution Eletron Spray Ionization Mass Spectra
IPP	- Isopenteil Difosfato
IR	- Índice de retenção
IV	- Infravermelho
<i>J</i>	- Constante de acoplamento
KBr	- Brometo de potássio
<i>m</i>	- Multiplete
MHz	- Megahertz
NOESY	- Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
OH	- Hidroxila
ppm	- Partes por milhão
RMN ¹³ C	- Ressonância Magnética Nuclear de carbono treze
RMN ¹ H	- Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
XLR	- <i>Xylopia langsdorffiana</i> raiz
<i>s</i>	- Simpleto
<i>sl</i>	- Simpleto largo
<i>t</i>	- Tripleto

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
2.1 Família Annonaceae Juss.	21
2.2 Gênero <i>Xylopia</i> L.	24
2.3 <i>Xylopia langsdorffiana</i> St-Hil & Tul	30
2.4 Metabólitos Secundários	34
2.4.1 Terpenóides.....	35
2.4.1.1 Diterpenos	36
3. OBJETIVOS.....	39
3.1 Objetivo Geral.....	39
3.2 Objetivos Específicos.....	39
4. METODOLOGIA.....	41
4.1 MÉTODOS DE ANÁLISES.....	41
4.1.1 Métodos Cromatográficos	41
4.1.1.1 Impregnação de Sílica Gel com Nitrato de Prata	42
4.1.2 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear e Infravermelho.....	42
4.1.3 Espectrometria de Massas.....	43
4.1.4 Cromatografia Gasosa	43
4.1.5 Ponto de Fusão.....	44
4.2 ESTUDO FITOQUÍMICO.....	44
4.2.1 Coleta e Identificação do Material Botânico	44
4.2.2 Processamento do Material Vegetal	44
4.2.3 Extração de Óleo Essencial	44
4.2.4 Obtenção e Particionamento do Extrato Etanólico Bruto.....	45
4.2.4.1 Fracionamento da fase hexano:acetato de etila (8:2)	47

4.2.4.2 Fracionamento da fase hexano:acetato de etila (1:1)	49
4.2.4.3 Fracionamento da fase hexano:acetato de etila (2:8)	49
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1 Análise Estrutural das Substâncias Isoladas	51
5.1.1 Determinação estrutural de XLR-1	51
5.1.2 Determinação estrutural de XLR-2.....	76
5.1.3 Determinação estrutural de XLR-3.....	85
5.1.4 Determinação estrutural de XLR-4.....	94
5.1.5 Determinação estrutural de XLR-5.....	119
5.1.6 Determinação estrutural de XLR-6.....	141
5.1.7 Determinação estrutural de XLR-7.....	154
5.2 Composição química do óleo essencial das raízes de <i>Xylopia langsdorffiana</i>	162
6 CONCLUSÕES	166
REFERÊNCIAS	167

Introdução



1 INTRODUÇÃO

A utilização da flora na cura e alívio de diversos estados patológicos data de milhares de anos. Dados arqueológicos e históricos atestam que nestes tempos iniciais as plantas tinham um papel crucial na manutenção do bem-estar do homem. Na obra *Pen Ts'ao* do chinês Shen Nung, de 3000 a.C., há relatos do uso de plantas com finalidades terapêuticas (TYLER, 1996), e em 78 d.C., o botânico grego Pedânio Dioscórides descreveu cerca de 600 plantas medicinais e este tratado permaneceu como fonte de referência por mais de quatorze séculos (ROBBERS et al, 1996; TYLER, 1996). As propriedades terapêuticas de determinadas plantas foram sendo descobertas através da observação e de experimentos pelos povos primitivos, esses conhecimentos foram fazendo parte da cultura popular e propagados de geração em geração (TUROLLA & NASCIMENTO, 2006).

O início do processo de extração de princípios ativos de plantas foi marcado pelo isolamento da morfina a partir da *Papaver somniferum* em 1803 pelo farmacêutico Friedrich Wilhelm Adam Sertürmer. A partir de então, outras substâncias foram isoladas, como por exemplo, a quinina e a quinidina, obtidas da *Cinchona* sp. em 1819, e a atropina da *Atropa belladonna*, em 1831, que passaram a ser utilizadas em substituição aos extratos vegetais (TYLER 1996; SCHULZ, 2001).

A produção de fármacos via síntese química, o crescimento do poder econômico das indústrias farmacêuticas e a ausência de comprovações científicas de eficácia das substâncias de origem vegetal aliada às dificuldades de controle químico, físico-químico, farmacológico e toxicológico dos extratos vegetais até então utilizados, impulsionaram a substituição destes por fármacos sintéticos (RATES, 2001). Após a década de 1960, observou-se, então, um desinteresse das indústrias farmacêuticas e dos institutos de pesquisa pela busca de novas substâncias de origem vegetal, por se acreditar que já haviam sido isoladas as principais substâncias ativas das drogas vegetais conhecidas, bem como já haviam sido realizadas todas as possíveis modificações químicas de interesse destas substâncias (SCHENKEL et al., 2000). Entretanto, a partir dos anos 1980, os avanços técnicos e o desenvolvimento de novos métodos de isolamento de substâncias ativas a partir de fontes naturais, permitiram maior rapidez na identificação de substâncias em amostras complexas, como os extratos vegetais, ressurgindo o interesse pela pesquisa destas substâncias, como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos a partir de plantas medicinais que, segundo Carvalho (2004), são as plantas selecionadas e utilizadas popularmente como remédio no tratamento de doenças.

Assim, mesmo com o desenvolvimento de grandes laboratórios farmacêuticos e dos fármacos sintéticos, as plantas medicinais permaneceram como forma alternativa de tratamento em várias partes do mundo. Observou-se, nas últimas décadas, a revalorização do emprego de preparações fitoterápicas, entendidas como sendo todo medicamento obtido e elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário (CARVALHO, 2004). Assim, alguns grupos farmacêuticos passaram a desenvolver esforços voltados para o aprimoramento de medicamentos fitoterápicos e sua produção em escala industrial. O novo avanço dos medicamentos fitoterápicos, longe de se voltar ao passado, caracteriza-se pela busca de produção em escala industrial, diferentemente das formas artesanais que caracterizaram os estágios iniciais de sua utilização (TUROLLA & NASCIMENTO, 2006).

As preparações oriundas de plantas medicinais são amplamente utilizados em diversos países. Na África, por exemplo, 80% da população dependem do uso dessas preparações, os quais representam alternativas frente ao alto custo dos fármacos sintéticos, (TUROLLA ; NASCIMENTO, 2006).

Nos últimos anos tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. Isto pode ser claramente observado pelo aumento de trabalhos publicados nesta área, tanto em congressos como em periódicos nacionais e internacionais, além do surgimento de novos periódicos específicos sobre produtos naturais ativos, como *Phytomedicine*, *Phytochemical Analysis*, *Natural Product Research*, etc. (MOURA, 2000, MUGNAINI et al., 2004).

Com o surgimento de novas técnicas espectroscópicas, pesquisadores que trabalham com o isolamento de produtos naturais têm conseguido elucidar rapidamente estruturas moleculares complexas, até há pouco tempo difíceis de serem identificadas. A cada momento são relatadas na literatura novas moléculas, algumas de relevante ação farmacológica, como por exemplo o taxol, a forskolina, a artemisinina, etc. Neste contexto é importante mencionar que as plantas, além de seu uso na medicina popular com finalidades terapêuticas, têm contribuído, ao longo dos anos para a obtenção de vários fármacos. Como exemplo, podemos citar a morfina, a emetina, a vincristina, a colchichina, a rutina, etc. Cabe mencionar que dados da literatura indicaram que, em 1980, os consumidores dos Estados Unidos pagaram mais de 8 bilhões de dólares em prescrições com produtos naturais ativos (FARNSWORTH, 1980; MATOS, 1990; CORDELL, 1995; TESKE & TRENTINI, 1995).

O Brasil detém a maior diversidade biológica do mundo, contando com uma rica flora, despertando interesses de comunidades científicas internacionais para o estudo, conservação e utilização racional destes recursos. Outro aspecto a ser ressaltado é a quantidade de plantas existente no planeta, sendo que a maioria é desconhecida sob o ponto de vista científico, onde entre 250-500 mil espécies, somente cerca de 5% têm sido estudadas fitoquimicamente e uma porcentagem menor avaliadas sob os aspectos biológicos (AKERELE, 1992; SOUZA & FELFILI, 2006).

Os vegetais produzem compostos que são agrupados da seguinte forma: os metabólitos primários, tais como carboidratos, aminoácidos e lipídeos; e os metabólitos secundários que são compostos elaborados a partir da síntese dos metabólitos primários, tais como compostos fenólicos, terpenóides, óleos essenciais, alcalóides entre outros. Esses compostos que resultam do metabolismo secundário, são os responsáveis pelos efeitos medicinais, ou tóxicos, das plantas, e eles apresentam grande importância ecológica, uma vez que podem atuar na atração de polinizadores, ou representar uma defesa química contra estresse ambiental (BALADRIN et al., 1985; Di STASI, 1995; PONTES et al., 2007; SILVA et al., 2007; GATTI et al., 2007; VIEGAS JUNIOR, 2003).

Os terpenóides formam uma larga família com estruturas bastante diversificadas e ampla distribuição no gênero *Xylopia* L. (Annonaceae). Dentre os terpenos, podemos destacar os diterpenos, substâncias estas que vem apresentando importantes propriedades biológicas, das quais podemos citar: atividades antiinflamatória (VICIEDO et al, 2008), quimioterapêutica (CAVALCANTI et al, 2010), antitumoral e citotóxica (SANTOS et al, 2009; PITA, 2010), espasmolítica e hipotensiva (FURTADO, et al., 2006), propriedades cardioativas (BHAT et al., 1977, p. 1669), atividade antihipertensiva (KELECOM, 1983), dentre outras.

Com o intuito de contribuir para o estudo fitoquímico da flora paraibana, este trabalho relata o isolamento e a elucidação estrutural de constituintes químicos presentes nas raízes de *Xylopia langsdorffiana* St-Hil & Tul., espécie pertencente à família Annonaceae.

Fundamentação Teórica

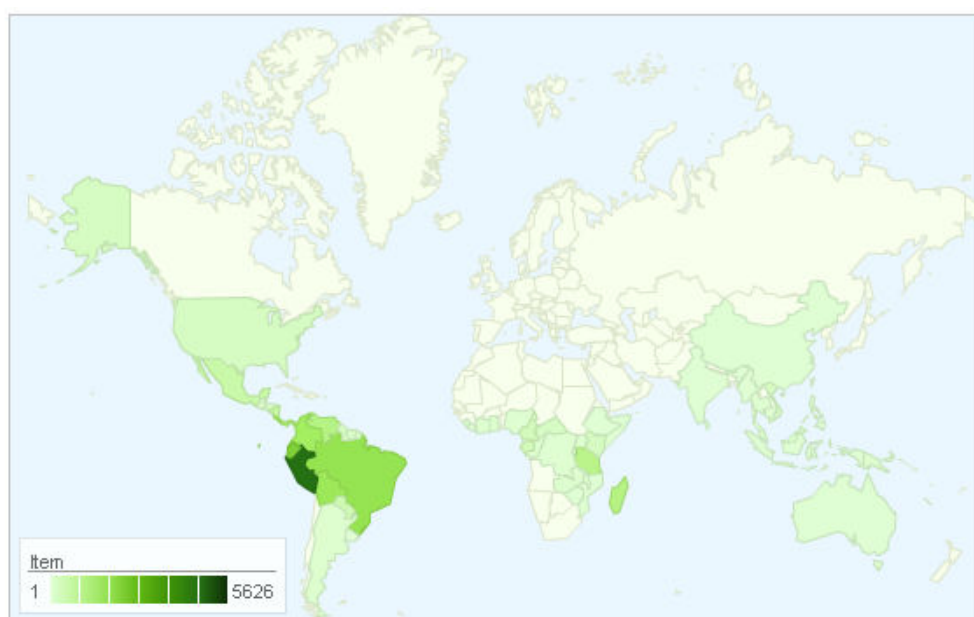


2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Família Annonaceae Juss.

A família Annonaceae foi criada por Jussieu a partir no gênero *Annona*, descrito por Linneau. Corresponde a uma das principais angiospermas, e a maior família da ordem Magnoliales (APG III, 2009), com cerca de 2.500 espécies e 135 gêneros com distribuição pantropical (CHATROU et al., 2004), estando representada no Brasil por 26 gêneros, dos quais sete são endêmicos, e cerca de 260 espécies (ERKENS et al., 2006) (Fig. 01). O Projeto Flora Paraibana (PONTES et al, 2004), que teve como parte de seus objetivos, realizar o estudo taxonômico de Annonaceae Juss. registrou 6 gêneros e 15 espécies para o estado.

Os gêneros mais importantes na família são: *Annona*, *Rollinia* e *Abernona*, nos quais se encontram espécies cultivadas. *Annona*, que em analogia aos saborosos frutos, significa em latim “farta colheita anual”. Sendo este o gênero mais importante economicamente, onde podemos encontrar as frutíferas tais como: cherimóia (*Annona cherimola* Mill.), condessa (*Annona reticulata* L.), graviola (*Annona muricata* L.), ata ou fruta-do-conde (*Annona squamosa*), atemóia (híbrido de *Annona cherimola* x *Annona squamosa*), araticum-do campo (*Annona dióica*), araticum-do-brejo (*Annona paludosa*), cabeça-denegro (*Annona coriacea*) e ilama (*Annona diversifolia*) (MANICA, 1997).



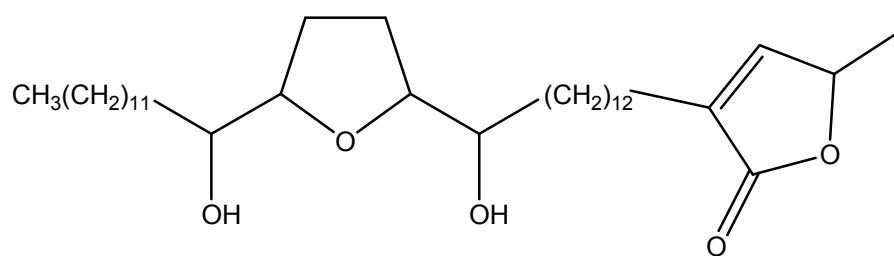
Fonte: Missouri Botanical Garden, 2010.

Figura 01: Mapa de distribuição da família Annonaceae no mundo.

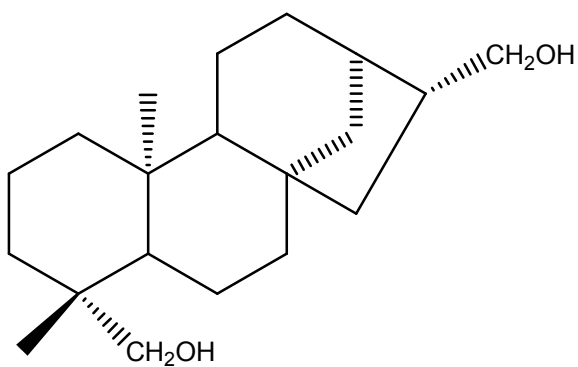
As espécies desta família apresentam, quase que exclusivamente, hábito arborecente, arvoretos ou raramente, na forma de lianas (*Annona haematantha* Miq.), sendo identificadas e se destacando pelo odor forte que apresentam quando seus troncos ou ramos são cortados, e pela presença de fibras longas e resistentes na casca do caule, conhecida popularmente como envira (RIBEIRO et al, 1999). Dentre as angiospermas, é uma das famílias que apresentam os caracteres mais primitivos como gineceu apocárpico, estames livres e numerosos, dispostos espiraladamente em torno do receptáculo floral, e polinização realizada predominantemente por coleópteros (SOUZA & LORENZI, 2005).

No Brasil, as principais espécies nativas e gêneros encontrados são: *Annona coriacea* (cabeça-de-negro), *Annona dióica* (araticum-do-campo), *Annona paludosa* (araticum-do-brejo), *Rollinia silvatica* (araticum-do-mato), *Abernona purpuraceae* (marolo), *Abernona lanceolata* (pindaíba), e os seguintes gêneros: *Guateria*, *Uvaria*, *Anaxagorea*, *Xylopia* e *Bocagea* (SIMÃO, 1998). Comercialmente as mais importantes e cultivadas são: graviola, para indústria de suco e polpa, a fruta-do-conde, a cherimóia, a atemóia e fruta-da-condessa, para consumo *in natura* (MOSCA et al, 2006).

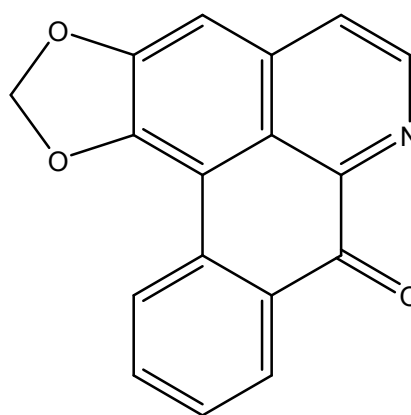
Na década de 80 surgiu um novo estímulo para o estudo fitoquímico da família, isto foi devido ao isolamento de uma nova classe de substâncias naturais bioativas conhecidas como “acetogeninas de anonáceas” (RUPRECHT et al, 1990), que apresentaram uma gama de importantes atividades biológicas tais como: citotóxica, antitumoral, pesticida, vermífida, abortiva, antimicrobiana, imunossupressora, antiemética, inibidora do apetite e antibacteriana (NASCIMENTO et al, 2003; PIMENTA et al, 2005; LIAW et al, 2003; LI et al, 2010). Além das acetogeninas, a família também é caracterizada pela presença de terpenóides, principalmente diterpenos (MIYASSHITA et al, 2010), alcalóides (FEITOSA et al, 2009; SETTE et al, 2000; PINHEIRO et al, 2009), flavonóides (SANTOS & SALATINO, 2000), e óleos essenciais cuja a composição química é predominantemente monoterpenos e sesquiterpenos (COSTA et al, 2008; HUMEIRAH et al, 2010). A seguir podemos encontrar algumas substâncias isoladas de espécies pertencentes a família Annonaceae (Fig. 02).



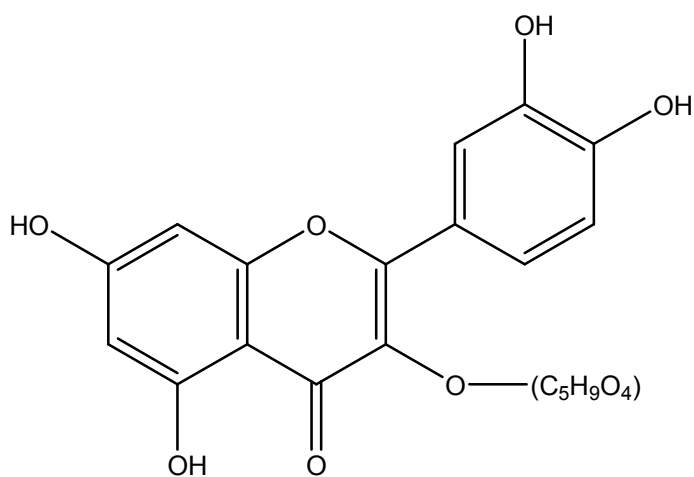
Solamina
(NASCIMENTO et al, 2003)



(16*R*)-ent-kauran-17,19-diol
(MIYASHITA et al, 2010)



Liriodenina
(FEITOSA et al, 2009)



Quercetina-3-*O*-arabinosídeo
(SANTOS & SALATINO, 2000)

Figura 02: Substâncias isoladas de espécies da Família Annonaceae.

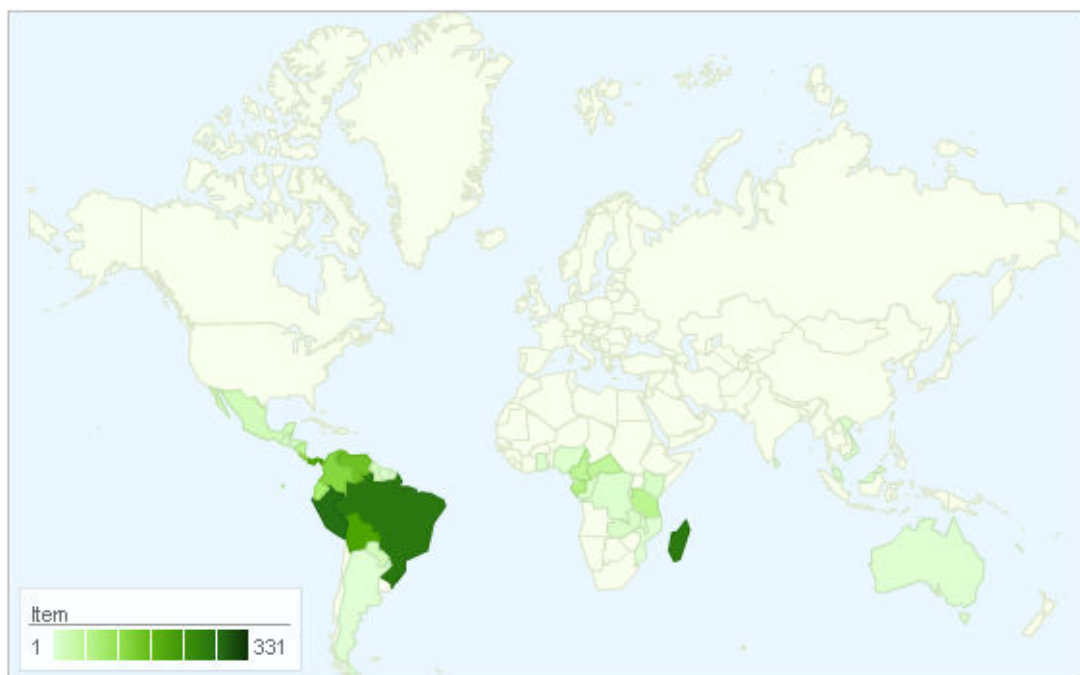
2.2 Gênero *Xylopia* L.

Xylopia L. foi descrita pela primeira vez na obra “Systema Naturae” por Linneau em 1759, e foi baseada em *Xylopia muricata*, nativa da Jamaica (DIAS, 1988). Seu nome tem origem grega e significa “lenho amargo” (MARTIUS, 1967).

O gênero constitui um dos maiores entre a família Annonaceae, com cerca de 160 espécies e distribuição pantropical (CRONQUIST, 1981). Estando representado no Brasil por 25 espécies distribuídas em todo o país, principalmente na região amazônica (DIAS, 1988) (Fig. 03).

As espécies de *Xylopia* são encontradas principalmente na forma de arbustos e árvores com até 7 m, apresentando flores axilares em glomérulos, aos pares ou solitárias, botões florais trígonos, flores trímeras, actinomorfas, periantadas, cálice dialissépalo, corola dialipétala com prefloração valvar, seis pétalas dispostas em dois verticilos, androceu formado por numerosos estames e estaminóides, gineceu apocárpico com vários carpelos (PONTES & MELLO-SILVA, 2005).

As fibras de algumas espécies pertencentes ao gênero são fornecidas para o fabrico de cordas muito resistentes (FRIES, 1959), os frutos de algumas espécies também são utilizados popularmente como condimento por apresentar odor semelhante ao da pimenta-do-reino (*Piper nigrum*), substituindo a mesma (CHADWICH, 1990).

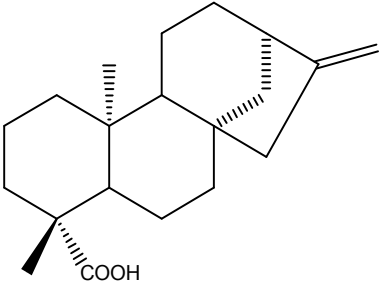
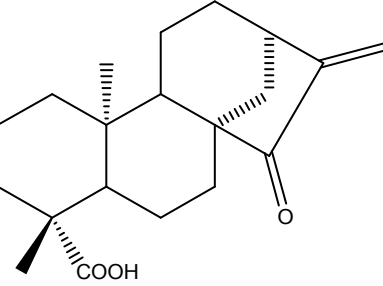


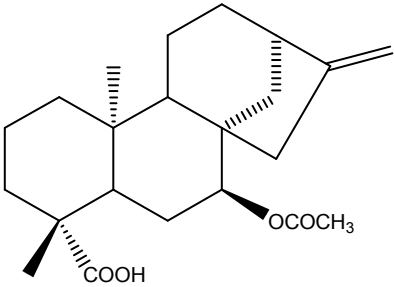
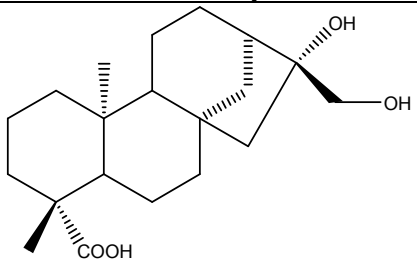
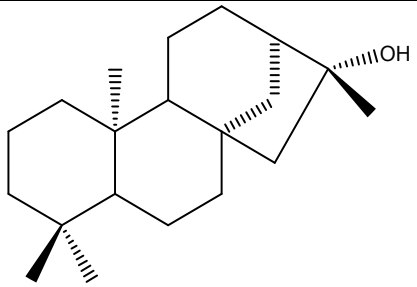
Fonte: Missouri Botanical Garden, 2010.

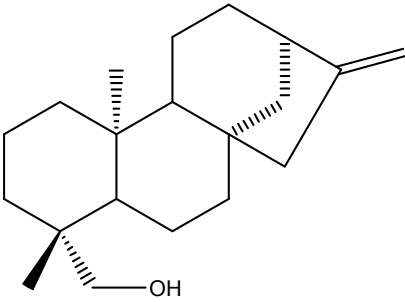
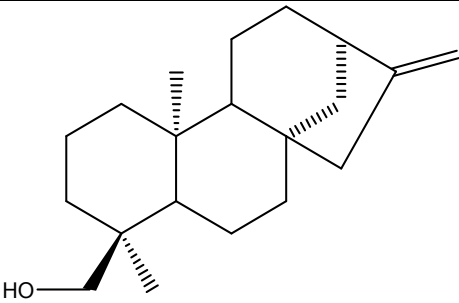
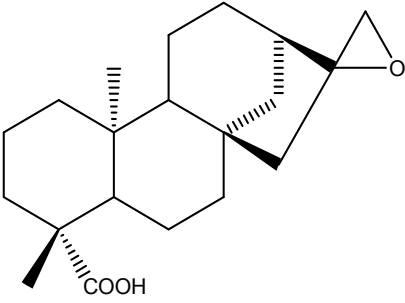
Figura 03: Mapa de distribuição do gênero *Xylopia* L. no mundo.

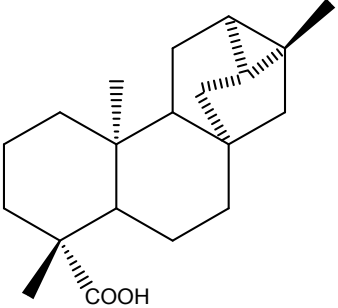
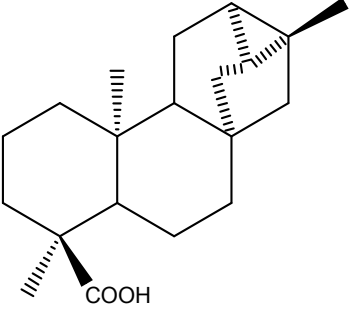
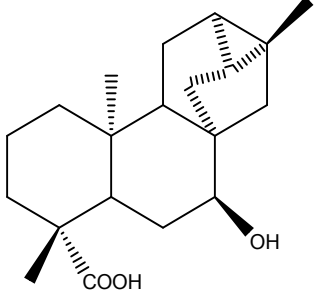
Diversas substâncias naturais com atividade citotóxica, antitumoral e antifúngica já foram relatadas. Vilegas et al (1991) relata que as espécies de *Xylopi* L. apresenta substâncias comuns, os diterpenos, e acredita-se que esses compostos sejam potencialmente, marcadores quimiotaxonômicos do gênero. Na Tabela 01, podemos observar alguns diterpenos isolados de *Xylopi* juntamente com suas atividades biológicas relatadas. Além destes já foram relatados também o isolamento de acetogeninas biologicamente ativas como a xylopiena e a xylomatenina, apresentando atividade citotóxica superior a adramicina para três linhagens de células tumorais (COLMAN-SAIZARITÓRIA et al, 1994), sesquiterpenos (MARTINS et al., 1998), alcalóides (HARRIGAN et al., 1994), lignóides (WAHI et al, 1995) e flavonóides (SANTOS & SALATINO, 2000), e óleos essenciais (SOUSA et al., 2004).

Tabela 01: Diterpenos isolados de *Xylopi* L.

ESPÉCIE	SUBSTÂNCIA	ATIVIDADE
<i>Xylopi</i> <i>aethiopica</i> (DIDEROT et al, 2005) <i>Xylopi</i> <i>cayennensis</i> (ANDRADE et al, 2004) <i>Xylopi</i> <i>brasiliensis</i> (MOREIRA et al, 2005) <i>Xylopi</i> <i>nitida</i> (VIEIRA et al, 2009) <i>Xylopi</i> <i>frutescens</i> (TAKAHASHI et al, 1995)	 Ácido <i>ent</i>-caur-16-en-19-óico	Inibição da Prolil-endopeptidase e Trombina (DIDEROT et al, 2005) Vasodilatdor Coronário e Diurético (SOMOVA et al, 2001) Inibidor da Acetilcolinesterase (JUNG et al, 2009) Inibidor da transcriptase reversa do HIV (CHANG et al, 1998) Inibidor da atividade Na⁺, K⁺-ATPase (NGAMROJNAVANICH et al, 2003) Antinflamatória (VICIEDO et al, 2008) Agente Quimioterapêutico (CAVALCANTI et al, 2010)
<i>Xylopi</i> <i>aethiopica</i> (DIDEROT et al, 2005) <i>Xylopi</i> <i>cayennensis</i> (ANDRADE et al, 2004)	 Ácido <i>ent</i>-caur-16-en-15-ona-19-óico	Vasodilatdor Coronário e Diurético (SOMOVA et al, 2001) Antitumoral (SANTOS et al, 2009)

<i>Xylopiya cayennensis</i> (ANDRADE et al, 2004) <i>Xylopiya frutescens</i> (TAKAHASHI et al, 1995)	 Ácido <i>ent</i>-caur-16-en-7β-acetoxi-19-óico	*Nenhuma atividade relatada
<i>Xylopiya brasiliensis</i> (MOREIRA et al, 2005) <i>Xylopiya frutescens</i> (TAKAHASHI et al, 1995)	 Ácido <i>ent</i>-16β,17-dihidroxi-cauran-19-óico	*Nenhuma atividade relatada
<i>Xylopiya cayennensis</i> (ANDRADE et al, 2004) <i>Xylopiya frutescens</i> (TAKAHASHI et al, 1995)	 <i>ent</i>-cauran-16α-ol	Atividade antibacteriana (LI et al., 2008) Atividade termicida (ARIHARA et al., 2004)

<i>Xylopiya cayennensis</i> (ANDRADE et al, 2004) <i>Xylopiya frutescens</i> (TAKAHASHI et al, 1995)	 ent-caur-16-en-19-ol	*Nenhuma atividade relatada
<i>Xylopiya cayennensis</i> (ANDRADE et al, 2004)	 ent-caur-16-en-18-ol	*Nenhuma atividade relatada
<i>Xylopiya nítida</i> (VIEIRA et al, 2009)	 Ácido16α,17-epóxi-cauran-19-óico	Inibidor da atividade Na⁺, K⁺-ATPase (NGAMROJNAVANICH et al, 2003)

<i>Xylopi aethiopica</i> (DIDEROT et al, 2005) <i>Xylopi nítida</i> (VIEIRA et al, 2009)	 Ácido <i>ent</i>-traquiloban-19-óico	Inibição da Prolil-endoropeptidase e Trombina (DIDEROT et al, 2005) Antinflamatória (VICIEDO et al, 2008)
<i>Xylopi nítida</i> (VIEIRA et al, 2009)	 Ácido <i>ent</i>-traquiloban-18-óico	*Nenhuma atividade relatada
<i>Xylopi aethiopica</i> (NGOUELA et al, 1998)	 Ácido 7α-hidroxi-traquiloban-19β-óico	Indução da contração ulterina (MONTER et al, 1999)

2.3 *Xylopia langsdorffiana* St-Hil & Tul

Xylopia langsdorffiana é conhecida popularmente como pimenteira da terra (Fig. 04), sendo considerada uma árvore que pode atingir de 5-7 metros de altura, com folhas alternas, lanceoladas, inteiras, seríceas, flores roxa e pedunculadas. Sua madeira é fornecida para obras internas, carpintaria e caixotaria (CORREA, 1984).

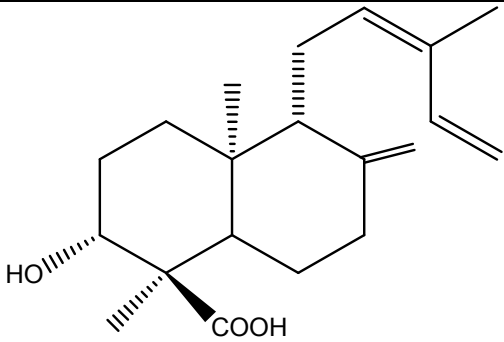
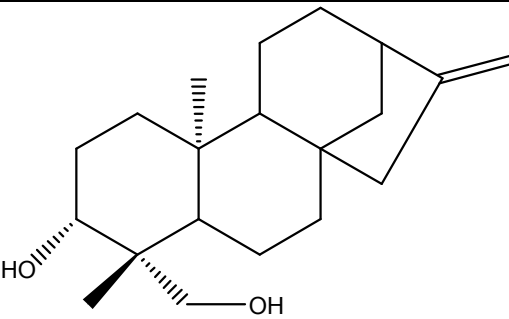
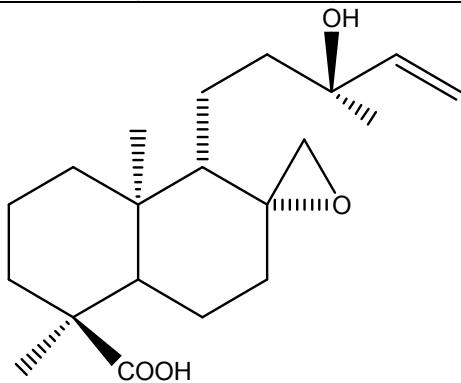
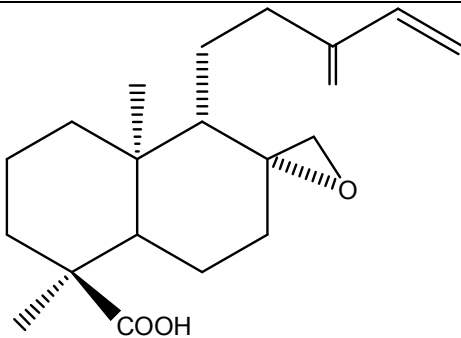
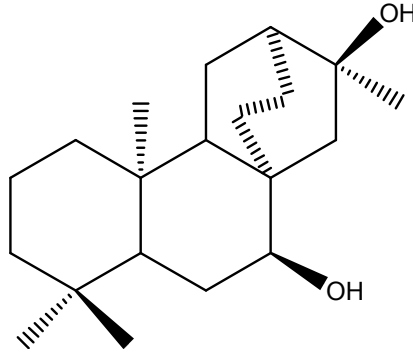
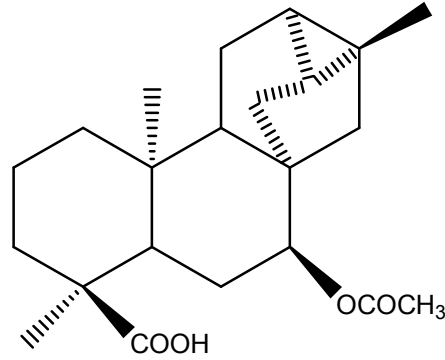
Por se mostrar uma fonte promissora de substâncias bioativas, a espécie vem sendo estudada desde 2002 pelo Programa de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos da Universidade Federal da Paraíba - UFPB. Em estudos anteriores foram relatados isolamentos de alcalóides (TAVARES et al, 2004), terpenóides (TAVARES et al, 2004; TAVARES et al, 2006; TAVARES et al, 2007b, SILVA et al, 2009; DUARTE, 2009), feoforbídeo e flavonóide glicosilado (SILVA et al, 2009), sendo também relatada atividade moluscicida para o óleo essencial das folhas (TAVARES et al, 2007a), atividade espasmolítica em músculo liso de traquéia de cobaia para o ácido 8(17),12*E*,14-labdatrien-18-óico (RIBEIRO et al, 2007) e atividade citotóxica sobre células V79 e hepatócitos de rato para o ácido *ent*-7 α -acetoxitraquiloban-18-óico (TAVARES et al, 2006). Na Tabela 02 podem ser observadas as substâncias isoladas de *Xylopia langsdorffiana*.

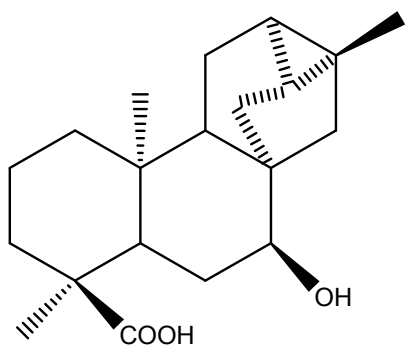


Foto: Nilza C. de Andrade

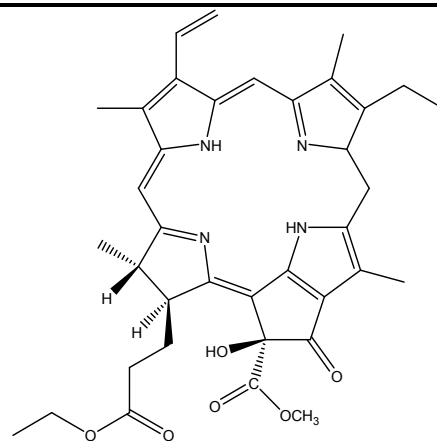
Figura 04: *Xylopia langsdorffiana* St-Hil & Tul.

Tabela 02: Constituintes químicos isolados de *Xylopia langsdorffiana*.

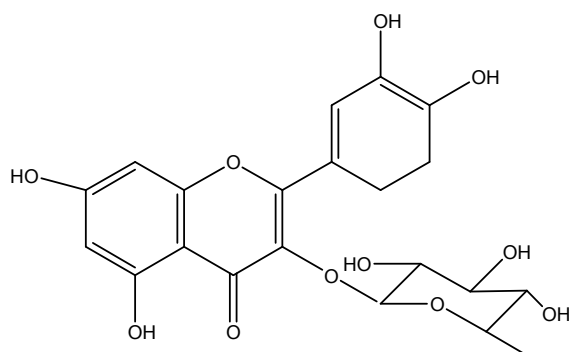
FRUTOS	
 Ácido labdorffianico A Ácido <i>ent</i>-3β-hidroxilabda(8)17,12<i>Z</i>-,14-trien-18-óico (DUARTE, 2009)	 <i>ent</i>-cauran-3β-19β-diol (DUARTE, 2009)
 Ácido labdorffianico B Ácido <i>ent</i>-labda 8(17)epóxi, 14 <i>en</i>-18-óico (DUARTE, 2009)	 Ácido labdorffianico C Ácido <i>ent</i>-labda 8(17) epóxi, 13(16), 14-dien-18-óico (DUARTE, 2009)
FOLHAS	
 Xylodiol <i>ent</i>-atisan-7α,16α-diol (TAVARES et al, 2007)	 ácido <i>ent</i>-7α-acetoxitraquiloban-18-oico (TAVARES et al, 2006)



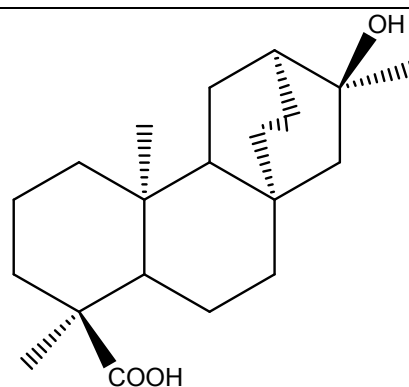
ácido *ent*-7 α -hidroxitraquiloban-18-oico
(TAVARES et al, 2006)



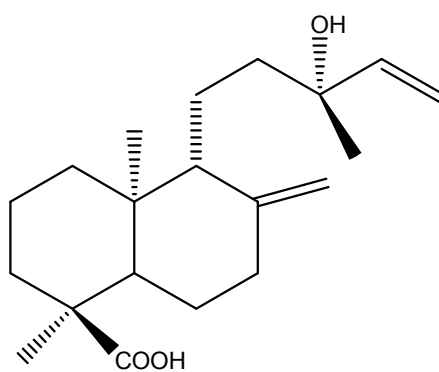
13b (*S*)-hidroxi-17c-etoxifeoforbídeo
(SILVA et al, 2009)



Quercetina-3- α -raminosídeo
(SILVA et al, 2009)

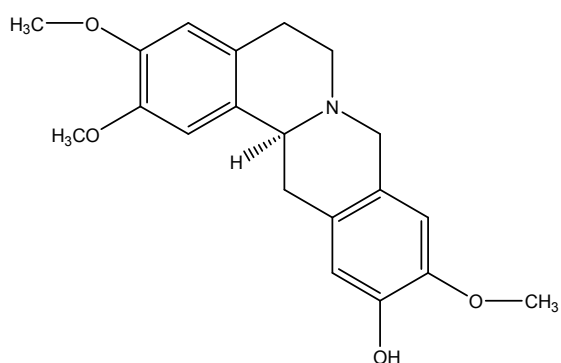


ácido *ent*-16 α -hidroxi-atisan-18-oico
(SILVA et al, 2009)



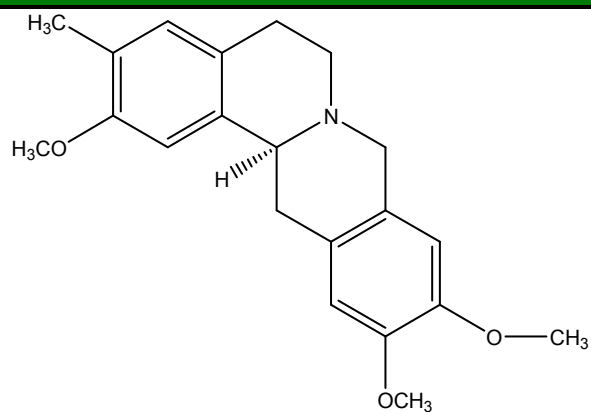
ácido 13-epicuprésico
(TAVARES et al, 2007)

CAULE



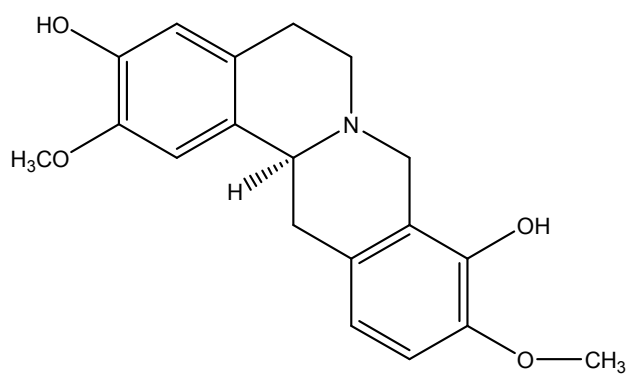
Coritenchina

(SILVA et al, 2009)



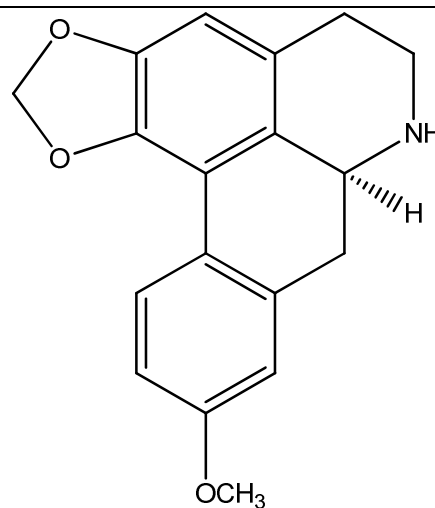
Xylopinina

(SILVA et al, 2009)



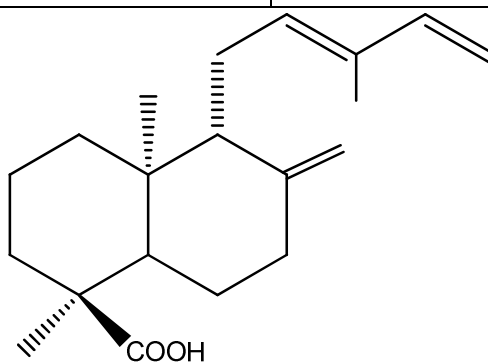
Discretamina

(SILVA et al, 2009)



Xylopinina

(SILVA et al, 2009)



ácido 8(17), 12E, 14-labdatrien-18-oico

(TAVARES et al, 2007)

2.4 Metabólitos Secundários

A atividade metabólica é uma das características dos seres vivos. Este metabolismo nada mais é do que o conjunto de reações químicas que ocorrem no interior das células. Em células vegetais, costuma-se dividir em primário e secundário. No primeiro são produzidas substâncias como lipídeos, proteínas, carboidratos e aminoácidos nucleicos, que estão relacionados com o crescimento e desenvolvimento da planta. No metabolismo secundário são produzidas substâncias que possuem atividades de proteção contra pragas, doenças e atração de polinizadores, sendo assim necessários para a sobrevivência da planta.

Compostos fenólicos, terpenos, esteróides e alcalóides, são consideradas as grandes classes de metabólitos secundários, sendo estes e os demais classificados de acordo com sua via biossintética (HARBORNE, 1989). Como podemos ver na Tabela 03, a origem dos metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais, o ácido chiquímico e o acetato (SIMÕES et al, 2007).

Tabela 03: Origem biossintética dos metabólitos secundários, com ênfase em terpenóides.

GLICOSE	Ácido Chiquímico	Alcalóides Lignanas Ligninas Cumarinas Taninos
	Ácido Chiquímico + Acetil-CoA	Antraquinonas Flavonóides Taninos
	Acetil-CoA	Alcalóides Terpenóides Esteróis Ácidos Graxos Acetogeninas

Fonte: Simões et al, 2007.

2.4.1 Terpenóides

Como uma classe de produtos naturais vegetais, os terpenóides possuem uma imensa diversidade estrutural, incluindo compostos acíclicos, monocíclicos e policíclicos (EISENREICH et al, 2004; CROTEAU et al. 2000). Até o ano 2000, foram catalogados aproximadamente 33.000 diferentes compostos terpênicos, constituindo mais de um terço de todos os metabólitos secundários conhecidos (HEGNAUER et al, 1992; VERPOORTE, 2000).

Na biossíntese os terpenóides provém de unidades de isopreno, que por sua vez, origina-se a partir da condensação do isopentenilalil difosfato (IPP) e do dimetilalil difosfato (DMAPP). A biossíntese do IPP e do DMAPP pode ocorrer por duas vias diferentes. A via clássica, conhecida como via do mevalonato e a via do dimetilalil difosfato (MEP).

Em ambas as vias o IPP se combina com os respectivos precursores formando os hemiterpenos, monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos, triterpenos e tetraterpenos (Fig. 05; AHARONI et al. 2006; CROTEAU et al. 2000; EISENREICH et al, 2004; VERPOORTE, 2000).

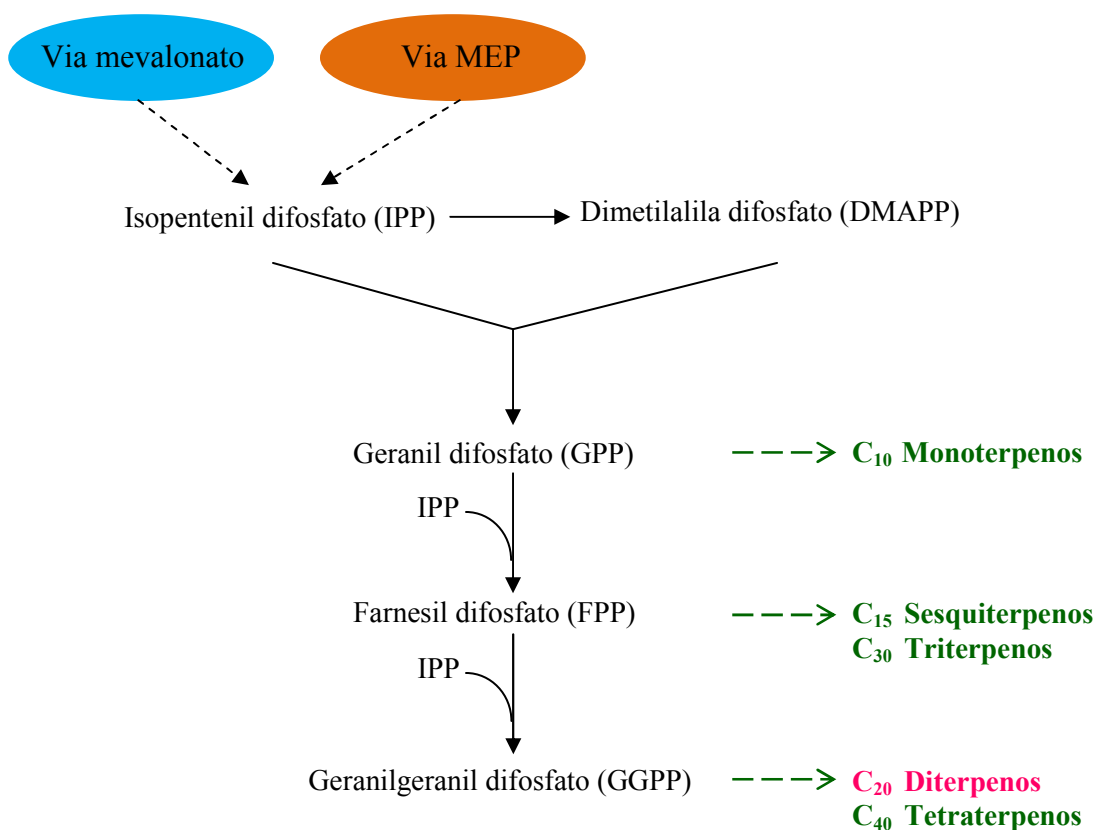


Figura 05: Via de biossíntese dos terpenos, com ênfase em diterpenos.

2.4.1.1 Diterpenos

Os diterpenos são compostos isoprenoides naturais, e tem como precursor direto o geranylgeranila difosfato (GGPP). Apesar de serem constituintes típicos de plantas e fungos, esses terpenóides também podem ser sintetizados por certos organismos marinhos e insetos (COSTA, 2002; DEY et al, 1991).

A ciclização do GGPP pode ocorrer de duas formas: a primeira envolve a biossíntese de diterpenos macrocíclicos e policíclicos (BRUNETON, 1993; MANN, 1992; DEY et al, 1991; DEWICK, 2002; EVANS, 1983); a segunda forma de ciclização, considerada a principal, conduz a formação de compostos bicíclicos. Este tipo de ciclização conduz a duas series enantioméricas, dependendo da configuração dos carbonos 5, 9 e 10: a série dita *normal*, se a fusão dos anéis A/B é semelhante a dos esteróides; e a série *ent* se a mesma fusão ocorre de forma inversa (Fig 06; BRUNETON, 1993).

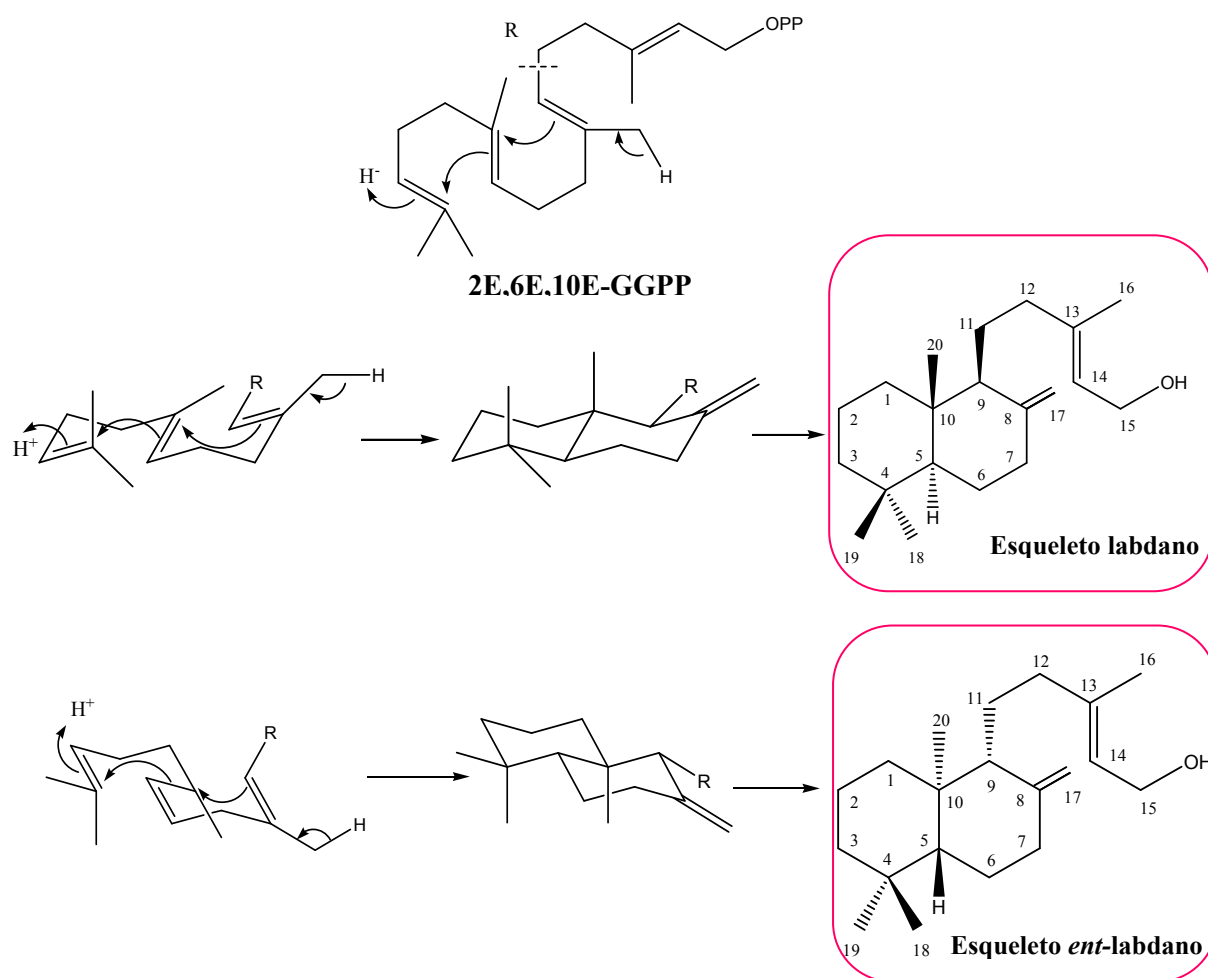


Figura 06: Ciclização do GGPP e formação do esqueleto dos labdanos e dos ent-labdanos.

Ciclizações subsequentes decorrentes da saída do grupo pirofosfato e outros rearranjos no esqueleto inicial estão na origem de uma vasta variedade de diterpenos (Fig. 07; BRUNETON, 1993; DEY *et al*, 1991).

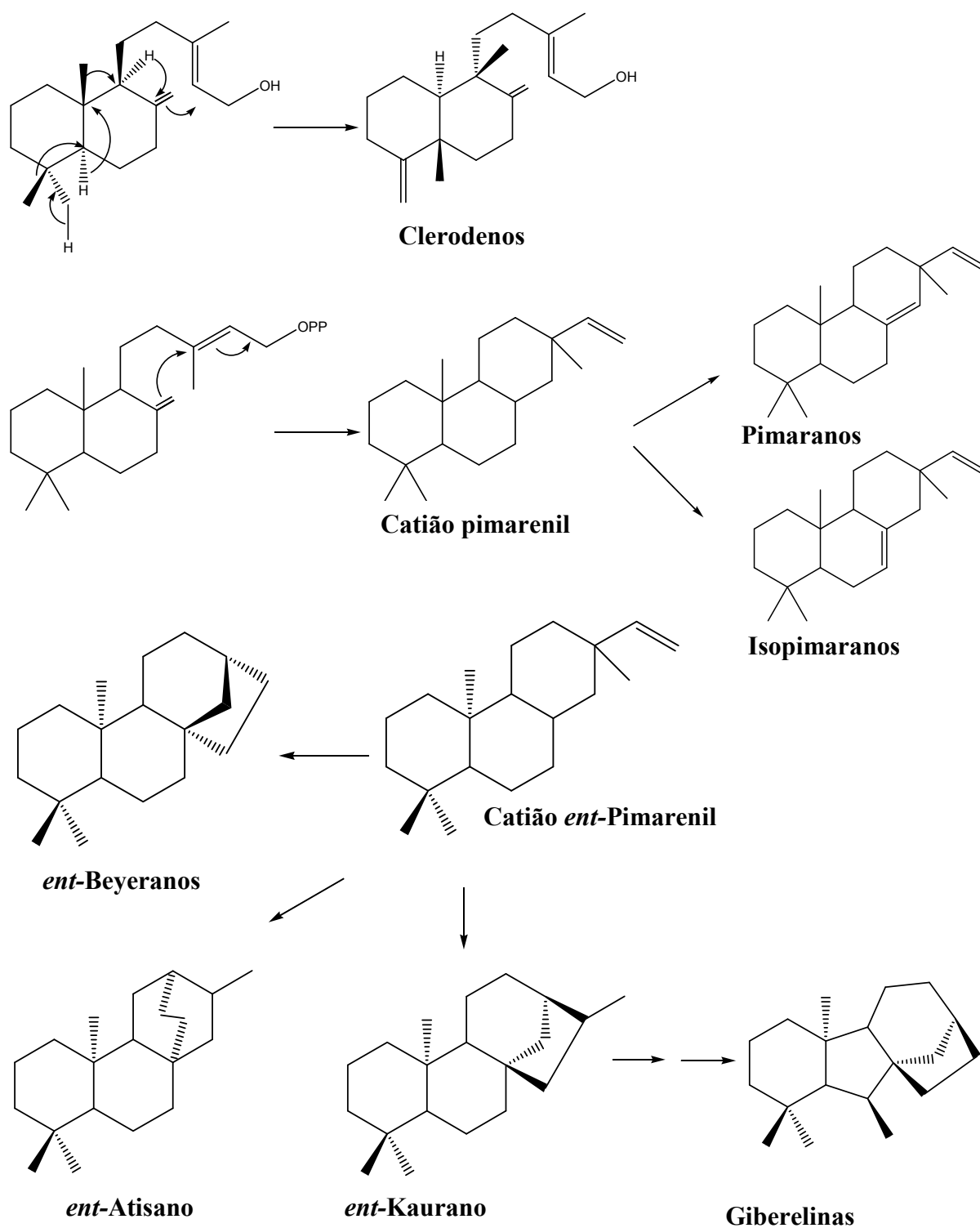


Figura 07: Possibilidades de ciclização e formação de vários esqueletos policíclicos.

Objetivos



3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Contribuir com o estudo fitoquímico de plantas do Nordeste Brasileiro em espécies da família Annonaceae através do isolamento e identificação dos constituintes químicos das raízes de *Xylopia langsdorffiana*.

3.2 Objetivos Específicos

- Isolar constituintes químicos das raízes de *X. langsdorffiana*;
- Identificar e elucidar os constituintes químicos isolados;
- Caracterizar os constituintes do óleo essencial das raízes de *X. langsdorffiana*;
- Disponibilizar extratos, frações, óleo essencial e substâncias isoladas para estudos farmacológicos.

Metodologia



4 METODOLOGIA

4.1 MÉTODOS DE ANÁLISE

4.1.1 Métodos Cromatográficos

Para isolamento e purificação dos compostos presentes na raiz de *Xylopi langsdorffiana* St.-Hil. & Tul foram empregadas cromatografias de adsorção em coluna (CC), utilizando como fase estacionaria sílica gel 60 (70-230 mesh-ASTM, Merck), e para cromatografia flash, sílica gel 60 (230 – 400 mesh-ASTM, Merck). O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com a quantidade das amostras e as quantidades de fases estacionárias a serem utilizadas.

Na cromatografia de camada delgada analítica (CCDA) utilizou-se sílica gel 60 (PF₂₅₄, ART 7749, Merck) suspensa em água destilada na proporção de 1:2, distribuída sobre placas de vidro (20 x 20) por meio de um cursor “Quick fit”, conferindo a camada uma espessura de 0,25 mm. As cromatoplas obtidas eram secas a temperatura ambiente e em seguida ativadas a 100 °C durante 2 horas.

Para extração e sistemas cromatográficos foram utilizados como eluentes, hexano, acetato de etila e metanol, sendo estes solventes de grau comercial, os quais foram destilados no setor de destilação do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF-UFPA), e solventes P.A. adquiridos da Merck e Vetec. Estes eram utilizados puros ou em misturas binárias, seguindo o gradiente crescente de polaridade.

A revelação das substâncias nas cromatoplas analíticas foram executadas pela exposição das mesmas à lâmpada de irradiação ultravioleta (TE-540, Tecnal), com dois comprimentos de onda (254 e 365 nm), sendo ainda utilizada como revelador, uma câmara saturada com vapores de iodo.

A pureza das substâncias foram evidenciadas quando estas se apresentavam como uma única mancha nas cromatoplas analíticas (CCDA), pela variação do ponto de fusão (adotando como critério a diferença de no máximo 3 °C entre o ponto de fusão final e o ponto de fusão inicial), e pela análise dos espectros de RMN ¹H e ¹³C.

4.1.1.1 Impregnação de Sílica Gel com Nitrato de Prata

Para impregnação da sílica gel com nitrato de prata (AgNO_3), pesaram-se 5,0 g de sílica gel 60 (70-230 mesh-ASTM, Merck) em um béquer de forma baixa, e separadamente em ambiente protegido da luz, pesou-se 0,5 mg de AgNO_3 . O AgNO_3 foi então diluído em 2,0 mL de água destilada, sendo em seguida vertido no recipiente que continha a sílica gel. Este recipiente foi protegido da luz com folhas de papel alumínio, deixando em sua parte superior pequenos orifícios para a saída do vapor de água. O material foi mantido em uma estufa por 3 dias a 75 °C para ativação.

Em ambiente sem iluminação direta, uma coluna foi empacotada com a sílica gel impregnada com prata através da suspensão da fase estacionária em hexano. Após compactação a mistura a ser separada foi adicionada na forma de farofa em sílica gel sem nitrato de prata. A coluna foi eluída inicialmente com hexano, aumentando a polaridade com misturas de hexano:acetato de etila.

4.1.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear e Infravermelho

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (RMN ^1H) e Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (RMN ^{13}C), uni e bidimensionais foram obtidos em espectrômetro VARIAN modelo System operando a 500 MHz (^1H), 125 MHz (^{13}C), e espectrômetro VARIAN modelo Mercury operando a 200 MHz (^1H) e 50 MHz (^{13}C).

Para dissolver as amostras utilizou-se como solvente clorofórmio deuterado (CDCl_3 , Cil), referenciados pelos picos característicos pertencentes as frações não deuteradas com sinais em δ_{H} 7,24 e δ_{C} 77,0. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz. As multiplicidades dos sinais em RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: *s* (simpleto), *sl* (simpleto largo), *d* (duplete), *dd* (duplo duplete) e *m* (multiplete).

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro Modelo Bomem Serie 100 MB, na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} , utilizando pastilhas de KBr na proporção 0,5 mg de amostra:100 mg de KBr.

4.1.3 Espectroscopia de Massas

O espectro de massas IES-EM das substâncias XLR-1, XLR-4, XLR-5 e XLR-6 foram obtidos em modo de íons positivos, e XLR-2 e XLR-7 em modo de íons negativos, pela técnica de Ionização por *Eletrospray* utilizando um espectrômetro de massas por tempo de voo (MicrOTOF II-Bruker)

O espectro de massas das fragmentações de XLR-4 e XLR-5, foram obtidos em modo de íons positivo pela técnica de Ionização por *Eletrospray* através do espectrômetro de massas (Ion Trap-Amazonx-Bruker). As amostras foram diluídas em uma solução de água:acetoneitrila (0,1%).

4.1.4 Cromatografia Gasosa

A composição química do óleo essencial foi evidenciada por um cromatógrafo de fase gasosa acoplado a um espectrômetro de massas (CG-EM) Thermo, modelo DSQII equipado com coluna capilar de sílica fundida (30m x 0,25mm d.i.) com fase estacionária DB5-ms (0,25 µm de espessura do filme); gás de arraste hélio, ajustado para fornecer uma velocidade linear de 32 cm/s, (medidos a 100°C); temperatura do injetor 240°C; temperatura da fonte e outras partes 200°C; tipo de injeção: sem divisão de fluxo, 0,1 µL de uma solução 2:1000 de *n*-hexano; temperatura programada para 60°-240°C, com gradiente de 3°C/min. O filtro do quadrupolo varreu a faixa de 39 a 400 daltons a cada segundo. A ionização foi obtida pela técnica de impacto eletrônico, com energia de 70 eV.

Cada constituinte químico foi identificado através da comparação de seu espectro de massas (massa molecular e o padrão de fragmentação) com espectros existentes na literatura (ADAMS, 2007), com espectros avaliados pelo banco de dados (Willey, NIST) do equipamento e, também pela comparação do índice de retenção com aqueles da literatura. Os índices de retenção foram determinados através de uma equação que relaciona o tempo de retenção dos compostos ao tempo de retenção de uma série de hidrocarbonetos homólogos, foi utilizada uma curva de calibração de uma série de *n*-alcanos (C₈-C₂₄) injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras.

4.1.5 Ponto de Fusão

Para determinar o ponto de fusão utilizou-se o aparelho para ponto de fusão digital (Microquímica, MQAPF-302), com bloco de platina em microscópio óptico tipo “Kofler” (Reichert, R3279), com variação de temperatura de 0-350 °C. A substância foi determinada pura quando a diferença entre o ponto de fusão final e o ponto de fusão inicial não fosse maior que 3 °C.

4.2 ESTUDO FITOQUÍMICO

4.2.1 Coleta e Identificação do Material Botânico

As raízes de *Xylopia langsdorffiana* foram coletadas no município de Cruz do Espírito Santo-PB, em junho de 2008. O material botânico foi identificado pela Prof. Dra. Maria de Fátima Agra, do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF/UFPB). Uma amostra do material encontra-se depositada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier, da Universidade Federal da Paraíba (JPB/UFPB), sob número de exsicata AGRA 5541.

4.2.2 Processamento do Material Vegetal

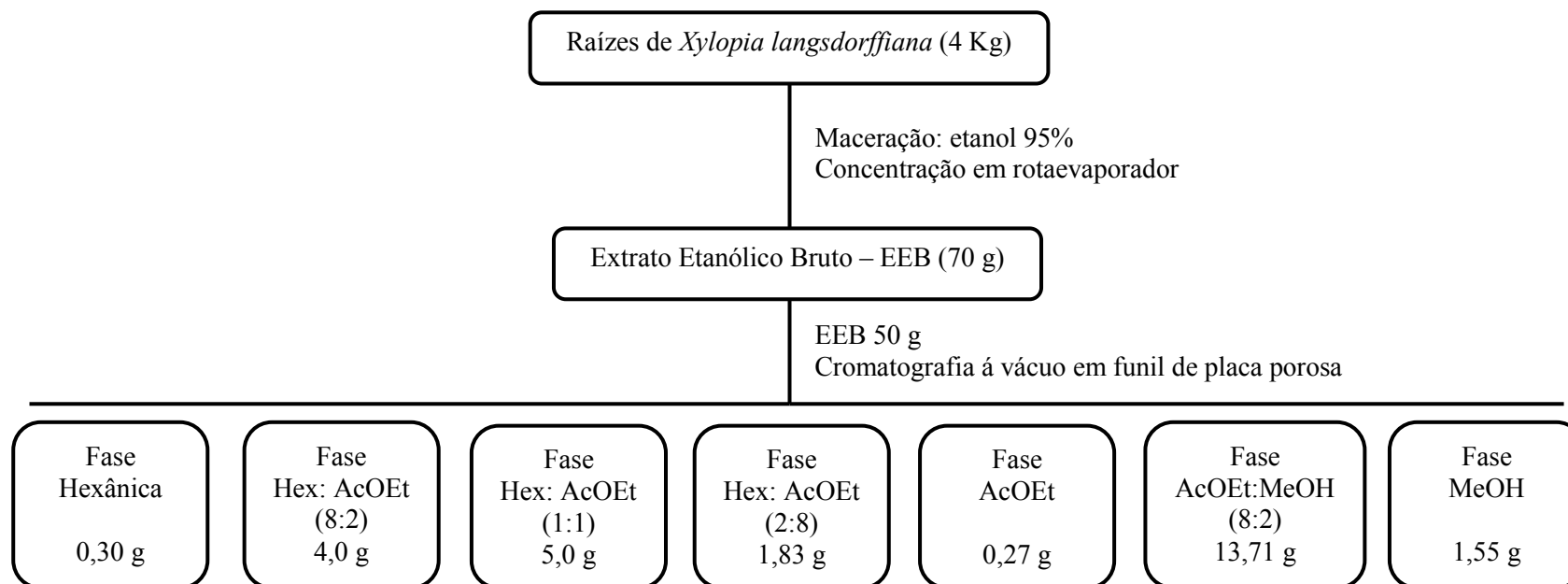
Foram coletadas 5 Kg de raízes de *Xylopia langsdorffiana*, sendo 1 Kg de cascas frescas submetidas a extração de óleo essencial. O restante do material foi seco em estufa com ar circulante à temperatura de 40 °C durante 72 horas, e em seguida triturado em moinho mecânico obtendo-se 4 Kg de pó seco.

4.2.3 Extração de Óleo Essencial

Para extração do óleo essencial, a casca da raiz fresca (1 Kg) foi submetida à técnica tradicional de arraste por vapor d'água, durante 3 horas em aparelho tipo Clevenger. Após o processo de extração a mistura óleo/água foi coletada, seca com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), filtrada e armazenada sob refrigeração até realização de bioensaios e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM).

4.2.4 Obtenção e Particionamento do Extrato Etanólico Bruto

As raízes secas e pulverizadas de *Xylopia langsdorffiana* (4 Kg) foram submetidos a maceração exaustiva com etanol (95%) durante 3 dias consecutivos. A solução extrativa foi concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida a uma temperatura de 40 °C, obtendo-se 70 g do extrato etanólico bruto (EEB). Adquirido o extrato, o mesmo foi submetido a uma cromatografia a vácuo com funil de placa porosa, utilizando sílica gel 60 (70-230 mesh-ASTM, Merck) como fase estacionária e como fase móvel hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias em ordem crescente de polaridade, obtendo-se assim sete fases (Fluxograma 1).

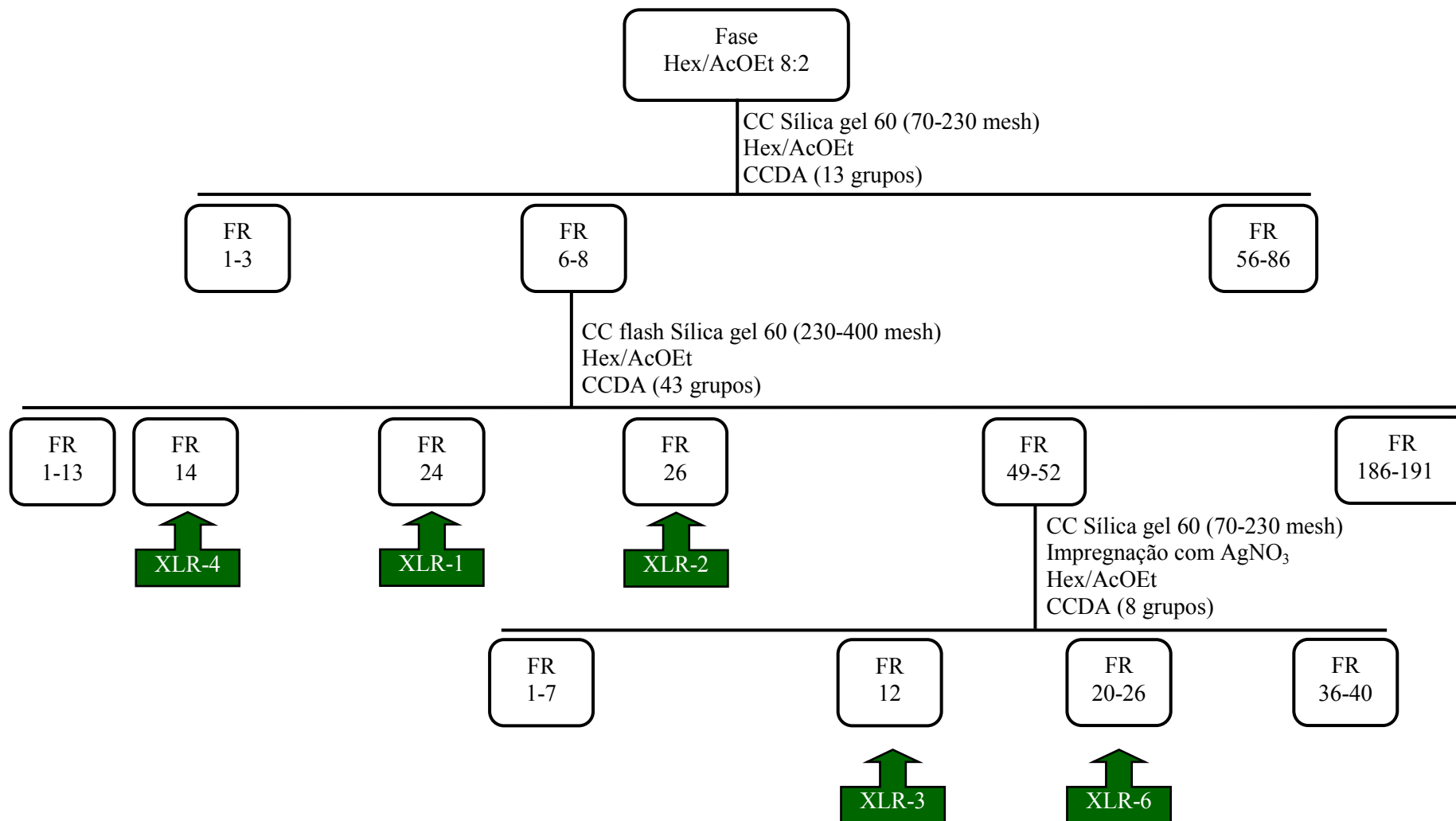


Fluxograma 01: Obtenção e cromatografia do EEB das raízes de *Xylopi langsdorffiana*.

4.2.4.1 Fracionamento da fase hexano:acetato de etila (8:2)

A fase Hexano: Acetato 8:2 (4 g) foi cromatografada em coluna de sílica gel 60 (70-230 mesh-ASTM, Merck®) em gradiente crescente de polaridade Hex/AcOEt obtendo-se 86 frações. Estas foram monitoradas por CCDA e reunidas de acordo com seus perfis cromatográficos originando 13 grupos.

FR 6-8 apresentou-se na forma oleosa, sendo submetida a uma cromatografia flash em coluna com sílica gel 60 (230 – 400 mesh-ASTM, Merck), utilizando como eluentes Hex/AcOEt em gradiente crescente de polaridade, resultando 191 frações. A fração FR-24 e FR-26, apresentaram-se sob forma de cristal e foram codificadas como XLR-1 e XLR-2, respectivamente e a fração FR-14 que se apresentou como um óleo foi codificada como XLR-4. FR 49-52 foi cromatografada em coluna com sílica gel 60 (70-230 mesh-ASTM, Merck) impregnada com nitrato de prata (AgNO_3) e eluida em ordem crescente de polaridade com Hex/AcOEt, originando 40 frações. FR-12 foi codificada como XLR-3 e FR 20-26 codificada como XLR-6 (Fluxograma 02).



Fluxograma 02: Fracionamento cromatográfico da fase Hex/AcOEt 8:2 do EEB de *Xylopia langsdorffiana*.

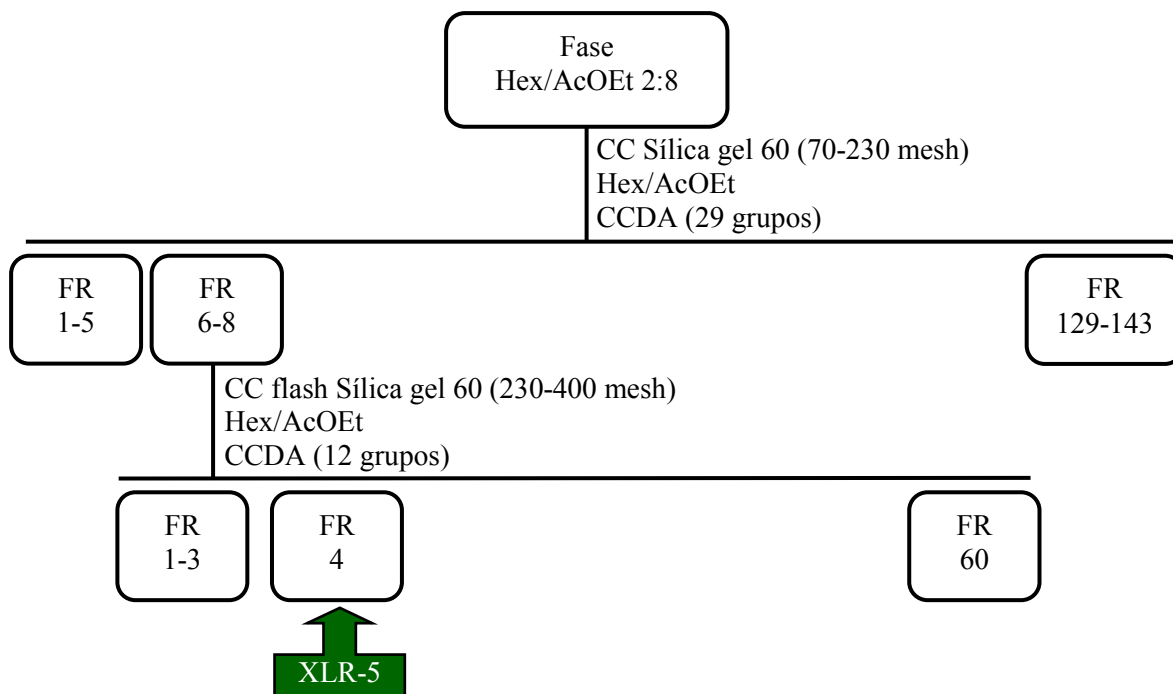
4.2.4.2 Fracionamento da fase hexano:acetato de etila (1:1)

A fase Hexano-Acetato de Etila (1:1) apresentou-se sob forma cristalina, a mesma foi submetida a tratamento de purificação com acetona e foi codificada como XLR-7.

4.2.4.3 Fracionamento da fase hexano:acetato de etila (2:8)

A fase hexano:acetato 2:8 (1,83 g) foi cromatografada em coluna de sílica gel 60 (70-230 mesh-ASTM, Merck), utilizando como fase móvel hexano e acetato de etila, puro ou em misturas binárias, obedecendo o gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 143 frações. Estas foram monitoradas por CCDA e reunidas de acordo com seus perfis cromatográficos originando 29 grupos.

FR 6-8 foi submetida a uma cromatografia flash em coluna com sílica gel 60 (230 – 400 mesh-ASTM, Merck), utilizando como eluentes Hex/AcOEt em gradiente crescente de polaridade, resultando 60 frações. A fração FR-4 apresentou-se sob forma de cristal foi codificada como XLR-5 (Fluxograma 03).



Fluxograma 03: Fracionamento cromatográfico da fase Hex/AcOEt 2:8 do EEB de *Xylopia langsdorffiana*.

Resultados e Discussão



5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise Estrutural das Substâncias Isoladas

5.1.1 Determinação estrutural de XLR-1

A substância codificada como XLR-1 foi isolada na forma de um pó amorfo branco, solúvel em clorofórmio e com ponto de fusão 214-216 °C. O espectro de massas de alta resolução obtido por ESI positivo (HR-ESI-MS) mostrou um pico em m/z 313,2613, indicando o aduto de sódio $[M+Na]^+$, correspondente a fórmula molecular $C_{20}H_{34}O$ (Fig. 10, Pág. 55). O espectro de IV obtido em KBr mostrou absorção em 3334 cm^{-1} , característico de grupo OH de álcool e estiramento CO de álcool terciário em 1180 e 1114 cm^{-1} (Fig. 11, Pág. 56).

No espectro de RMN ^{13}C – APT (Fig. 12, Pág. 57) observou-se a presença de 19 sinais correspondentes a 20 átomos de carbono. Destes, 4 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 3 a carbonos metínicos, 9 a carbonos metilênicos e 4 a carbonos metílicos. Os sinais de carbonos metínicos em δ_c 56,2, 56,9 e 49,0 ppm (Fig. 13, Pág. 58) comparados com a literatura (YANG et al, 2002) sugerem um esqueleto carbônico para diterpenos tetracíclico do tipo caurano.

O deslocamento químico em δ_c 49,0 ppm (C-H), juntamente com o deslocamento químico em δ_c 79,3 ppm (Fig. 13, Pág. 58) infere uma hidroxila em C-16. A estereoquímica relativa do centro quiral em C-16 foi determinada por comparação com a literatura do deslocamento químico da metila C-17 (MORRIS *et al*, 2005; PIREK, 1984), a qual foi atribuído a XLR-1 deslocamento δ_c 24,4 ppm, conferindo orientação β para a hidroxila (Fig. 08).

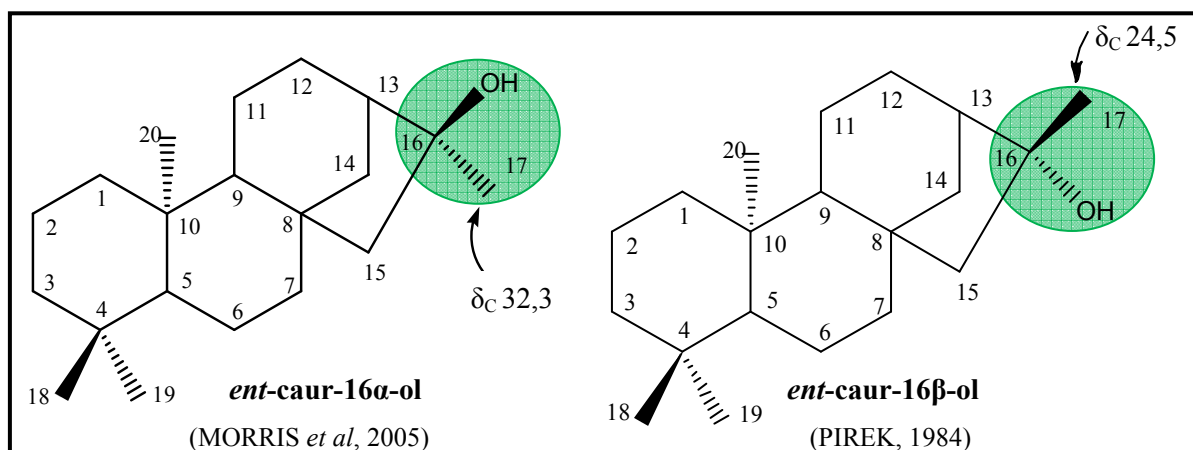


Figura 08: Estereoquímica relativa do centro quiral em C-16.

No espectro de RMN ^1H observou-se um envelope de sinais na região de δ_{H} 0,72 a 1,92 ppm (Fig. 14, Pág. 59) com multiplicidades resolvidas e não resolvidas. Constatou-se a presença de 4 singletos em δ_{H} 0,78, 0,82, 1,00 e 1,33 ppm (Fig. 15-17, Pág. 60-62), correspondentes a quatro metilas, sendo a última ligada a carbono não hidrogenado oxigenado. Verificou-se ainda um sinal em δ_{H} 0,72 ppm (*ddd*, $J_1=3,5$; $J_2=13$; $J_3=3,5$) que foi atribuído a H-1_{ax}, e um sinal em δ_{H} 1,92 ppm (*d*, $J=12$) que foi atribuído a H-7, além do sinal em δ_{H} 1,29 ppm (*dd*, $J_1=3,0$; $J_2=12$) conferido a H-6_{ax} (Fig. 15 e 18, Pág. 60 e 63). As demais multiplicidades e deslocamentos químicos estão compilados na Tabela 04 e sumarizados na Figura 09.

Comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C de XLR-1 com a literatura, possibilitou identificá-la como *ent*-cauran-16 β -ol.

O assinalamento inequívoco de todos os hidrogênios e carbonos do *ent*-cauran-16 β -ol foi realizado por uma extensa análise com técnicas bidimensionais.

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – gHSQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) (Fig. 19, Pág. 64) e suas expansões, pode-se verificar correlações diretas entre os prótons em δ_{H} 0,76; 0,96 e 1,80 ppm com os carbonos em δ_{C} 56,2; 56,9 e 49,0 ppm (Fig. 20, Pág. 65), atribuindo-os a C-5, C-9 e C-13, respectivamente. Deslocamentos químicos em δ_{H} 1,33; 0,82; 0,78 e 1,00 ppm mostraram correlações com δ_{C} 24,4, 33,5, 21,5 e 17,7 ppm (Fig. 21, Pág. 66) sendo atribuídos a C-17, C-18, C-19 e C-20. As demais correlações estão compiladas na Tabela 04 (Pág. 54).

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – gHMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) e suas expansões (Fig. 22, Pág. 67) observamos correlações do próton em δ_{H} 1,00 (*s*), CH₃-20, com os carbonos em δ_{C} 40,3, 56,2, 56,9, 39,3 ppm (Fig. 23-26, Pág. 68-71), atribuindo-os a C-1, C-5, C-9 e C-10, respectivamente. Em diterpenos caurano com metila e hidroxila em C-16, o deslocamento químico de C-15 é aproximadamente δ_{C} 58,0 ppm. Assim, o sinal em δ_{C} 58,1 ppm (CH₂) foi atribuído a C-15. Uma correlação do sinal em δ_{H} 1,33 ppm (*s*) com δ_{C} 58,1 ppm confirmou a atribuição feita a CH₃-17. Observamos também correlação do sinal em δ_{H} 1,92 ppm (H-7) com δ_{C} 58,1 ppm.

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ gCOSY (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 27, Pág. 72) o sinal em δ_{H} 0,76 ppm (H-5) mostrou relação com o sinal em δ_{H} 1,29 ppm que por sua vez correlacionou-se com os sinais em δ_{H} 1,55 ppm e com δ_{H} 1,92 ppm (Fig. 28, Pág. 73), sendo portanto esse último atribuído a H-7.

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 29, Pág. 74) observamos as correlações do sinal em δ_{H} 1,12 ppm (H-3_{ax}) com os sinais em δ_{H} 0,76 e 0,72 ppm (Fig. 30, Pág. 75), correspondentes aos hidrogênios H-5_{ax} e H-1_{ax}, respectivamente.

Dessa forma foi possível corrigir os valores da literatura (PYREK, 1984) e assinalar inequivocamente C-1 e C-7 para o *ent*-cauran-16 β -ol.

Os demais dados estão compilados na Tabela 04 (Pág. 54). Esse é o primeiro relato dessa substância na espécie em estudo e a primeira vez apresentado todos os dados de RMN bidimensionais para a mesma.

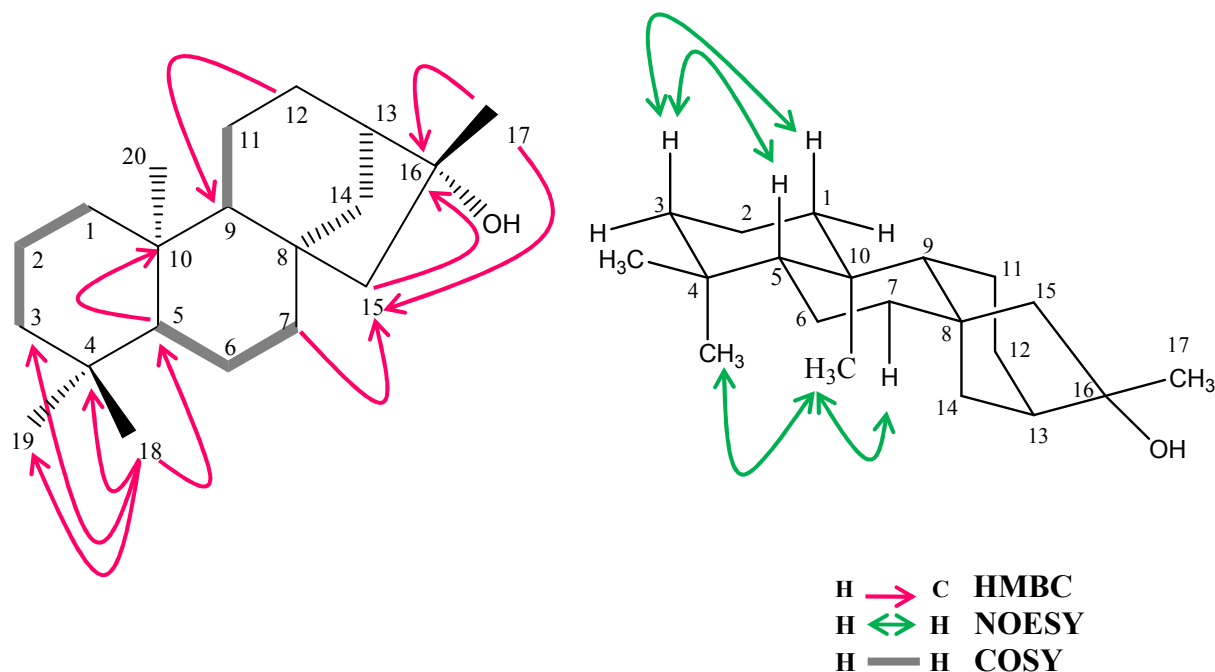


Figura 09: *ent*-cauran-16 β -ol e correlações ¹H x ¹H COSY, NOESY e ¹H x ¹³C HMBC.

Tabela 04: Dados de RMN de XLR-1 a 500 MHz em CDCl₃.

	HMQC		HMBC	COSY	NOESY	PYREK (1984)	MORRIS (2005)
	δ_C	δ_H		$^1H \times ^1H$		δ_C	δ_C
C							
4	33,2	-	-	-		33,5	a
8	45,3	-	-	-		40,6	44,4
10	39,3	-	-	-		39,6	a
16	79,3	-	-	-		79,3	a
CH							
5	56,2	0,76 (<i>dd</i> , $J_1=2,0$; $J_2=12,0$)	C-10	H-6 _{AX}		56,4	56,2
9	56,9	0,96 (<i>d</i> , $J_1=8,0$)	-	H-11		57,1	57,1
13	49,0	1,80 (<i>dd</i> , $J=4,0$)	-	-		49,3	46,9
CH₂							
1*	40,3	0,72 (<i>ddd</i> , $J_1=3,5$; d , $J_2=13$; d , $J_3=3,5$) H _{1ax} 1,77 (<i>qd</i> , $J_1=1,5$; $J_2=3,5$) H _{1eq}	-	H-2		37,8	38,7
2	18,6	1,58; 1,60 (<i>m</i>)	-	-		18,7	18,6
3	42,0	1,12 (<i>ddd</i> , $J_1=4,5$; $J_2=4,5$; $J_3=14$) H _{3ax} 1,35 (<i>m</i>) H _{3eq}	-	H-2, H-3	H-5, H-1 _{ax}	42,2	42,1
6	20,4	1,29 (<i>dd</i> , $J_1=3,0$; $J_2=12$) H _{6ax} / 1,55 (<i>m</i>) H _{6eq}	-	H-7		20,6	20,2
7*	37,7	1,92 (<i>d</i> , $J=12$) H _{7eq} / 1,55 (<i>m</i>) H _{7ax}	C-15			40,6	40,3
11	17,9	1,51 (<i>m</i>)	-	-		18,1	18,4
12	26,9	1,51 (<i>m</i>)	C-9	-		27,0	26,7
14	42,0	1,39; 1,55 (<i>m</i>)	-	-		42,2	42,0 7
15	58,1	1,54 (<i>m</i>)	C-16	-		58,4	57,6
CH₃							
17	24,4	1,33 (<i>s</i>)	C-15, C16	-		24,5	32,3
18	33,5	0,82 (<i>s</i>)	C-3, C-4, C-5, C-19	-		33,6	33,6
19	21,5	0,78 (<i>s</i>)	C-3, C-4, C-5, C-18	-		21,6	21,5
20	17,7	1,00 (<i>s</i>)	C-1, C-5, C-9, C-10	-	Me-19, H-7	17,8	17,6

a: não resolvidos a partir da linha de base devido a pequena quantidade da amostra.

*: Reassinalamento

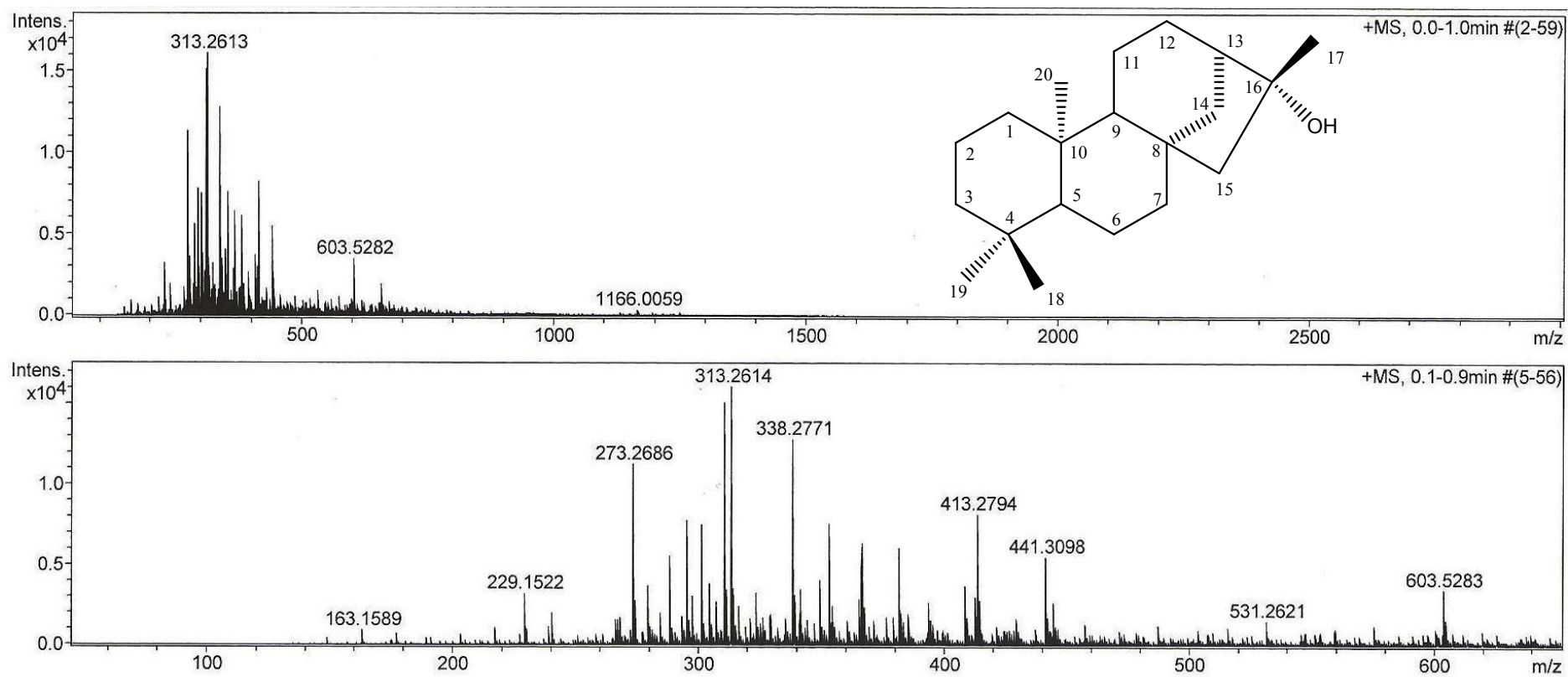


Figura 10: Espectro de massas obtido por ESI positivo (HR-ESI-MS) de XLR-1.

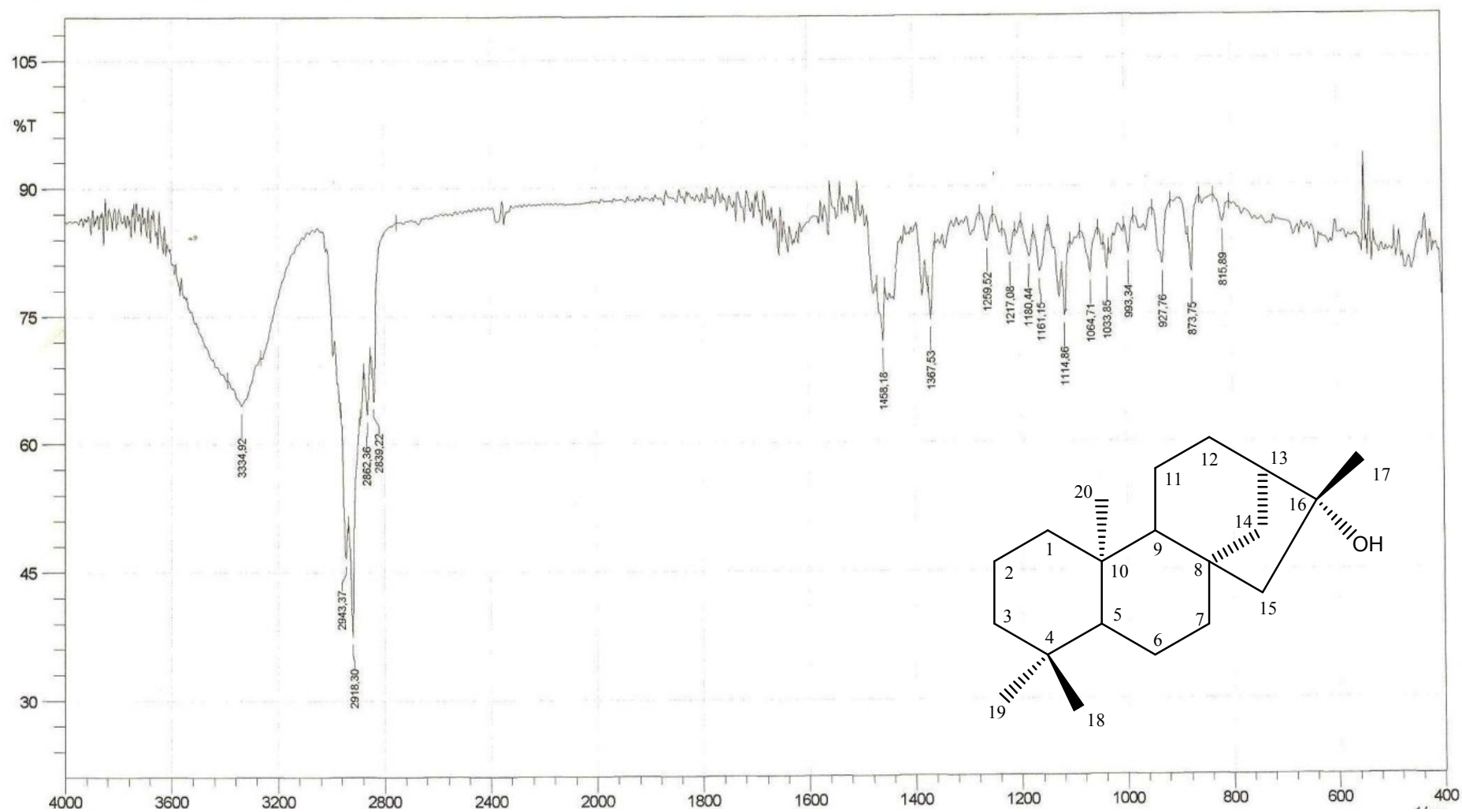


Figura 11: Espectro de IV obtido em KBr de XLR-1.

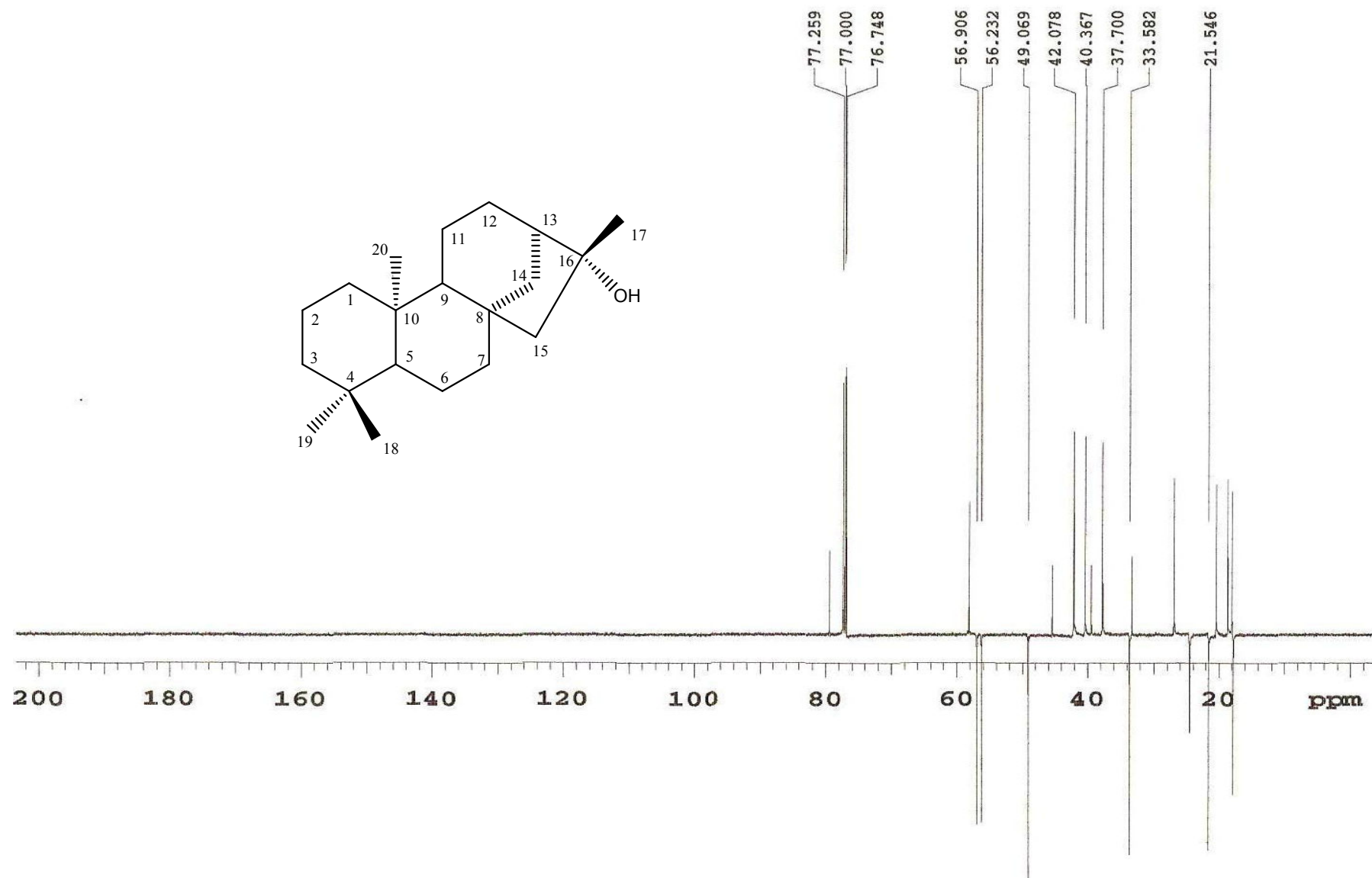


Figura 12: Espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

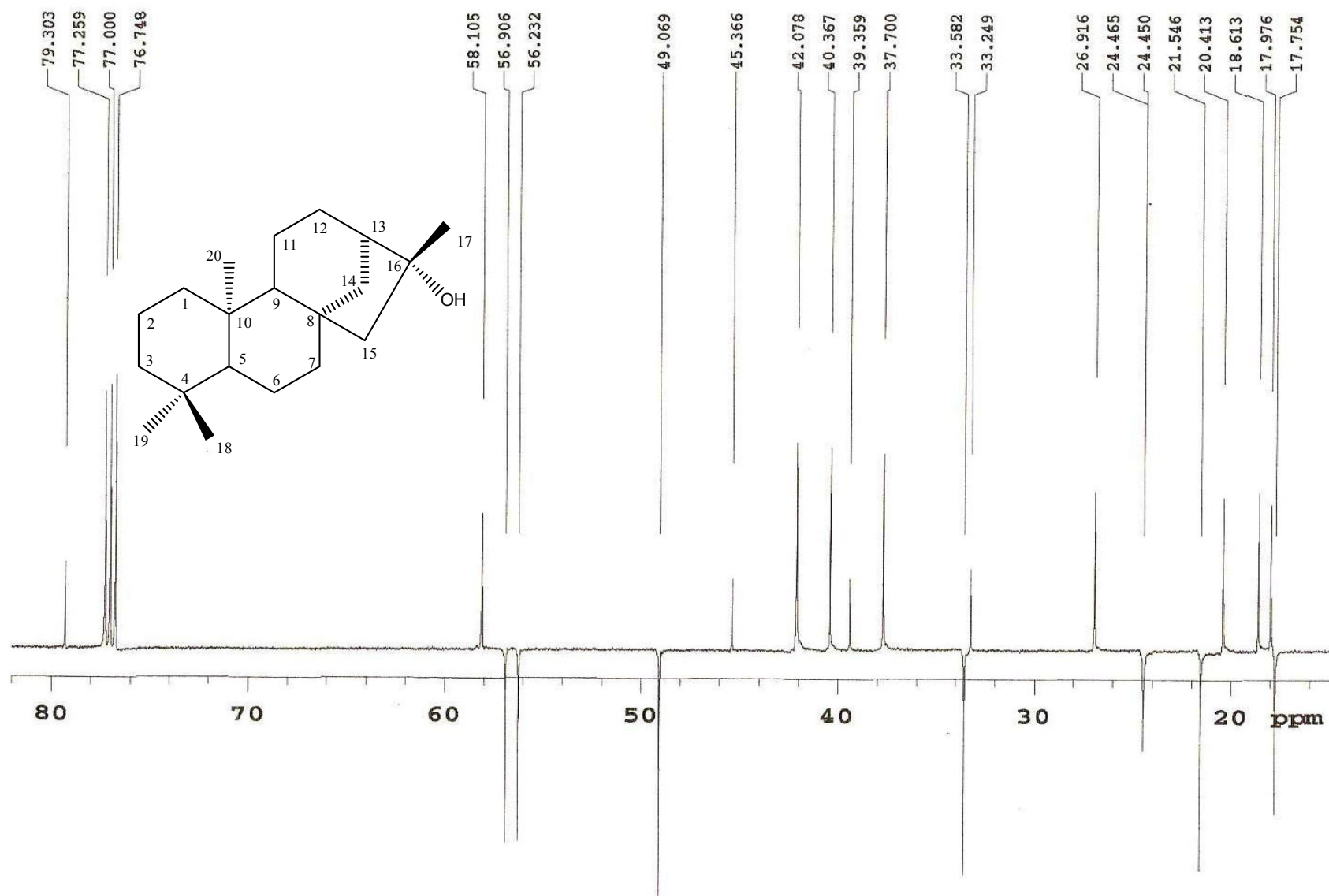


Figura 13: Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

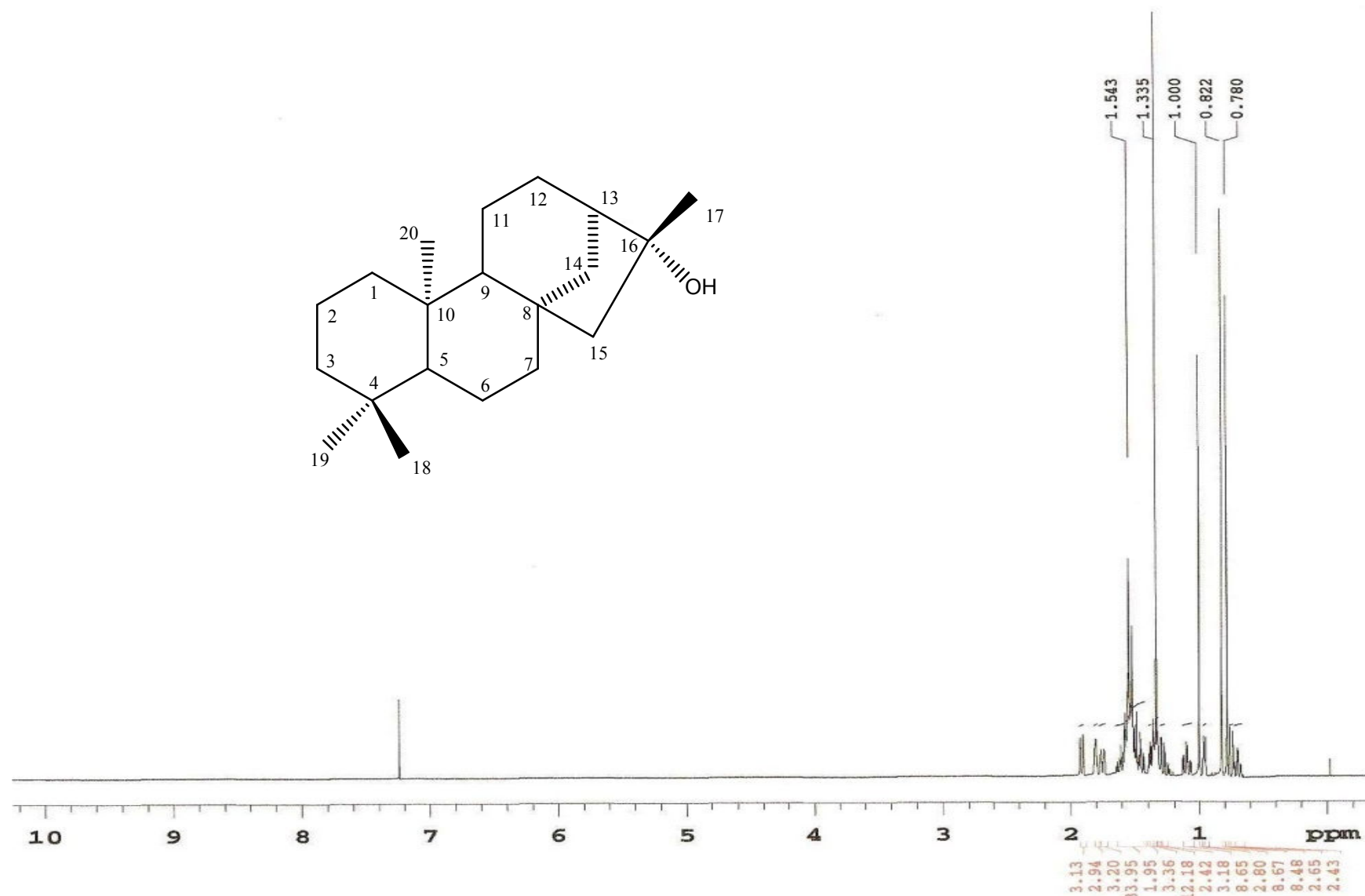


Figura 14: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

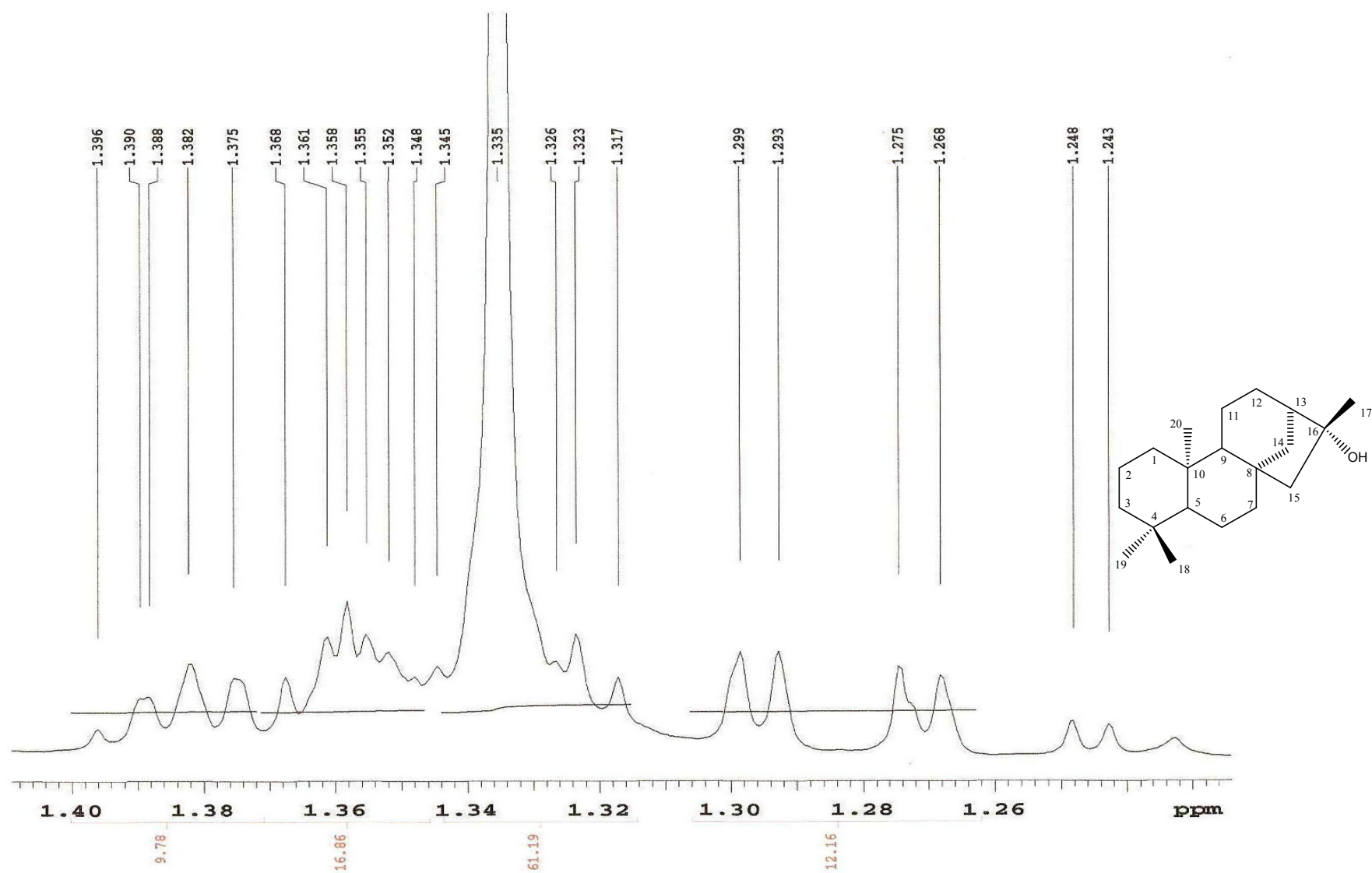


Figura 15: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

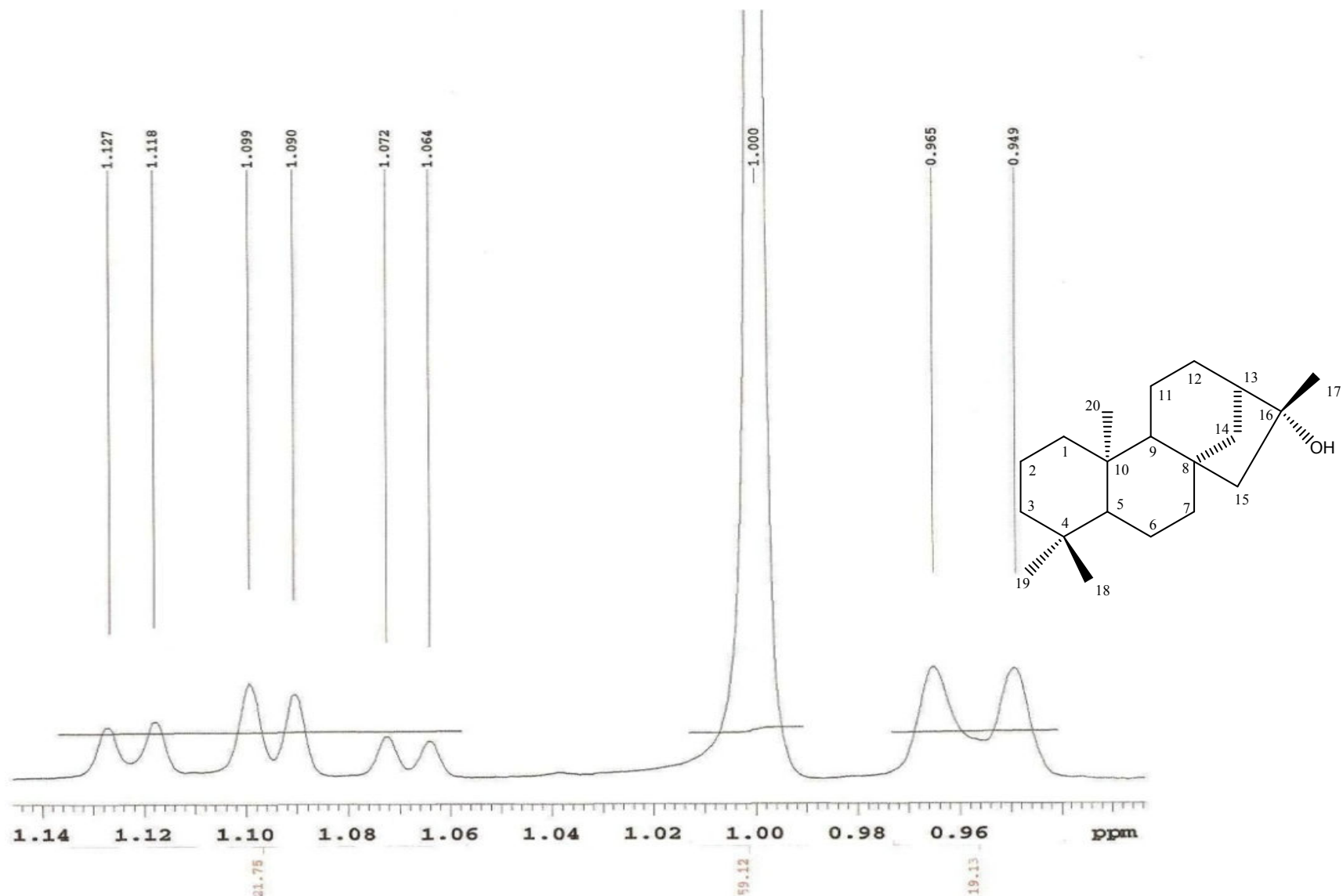


Figura 16: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

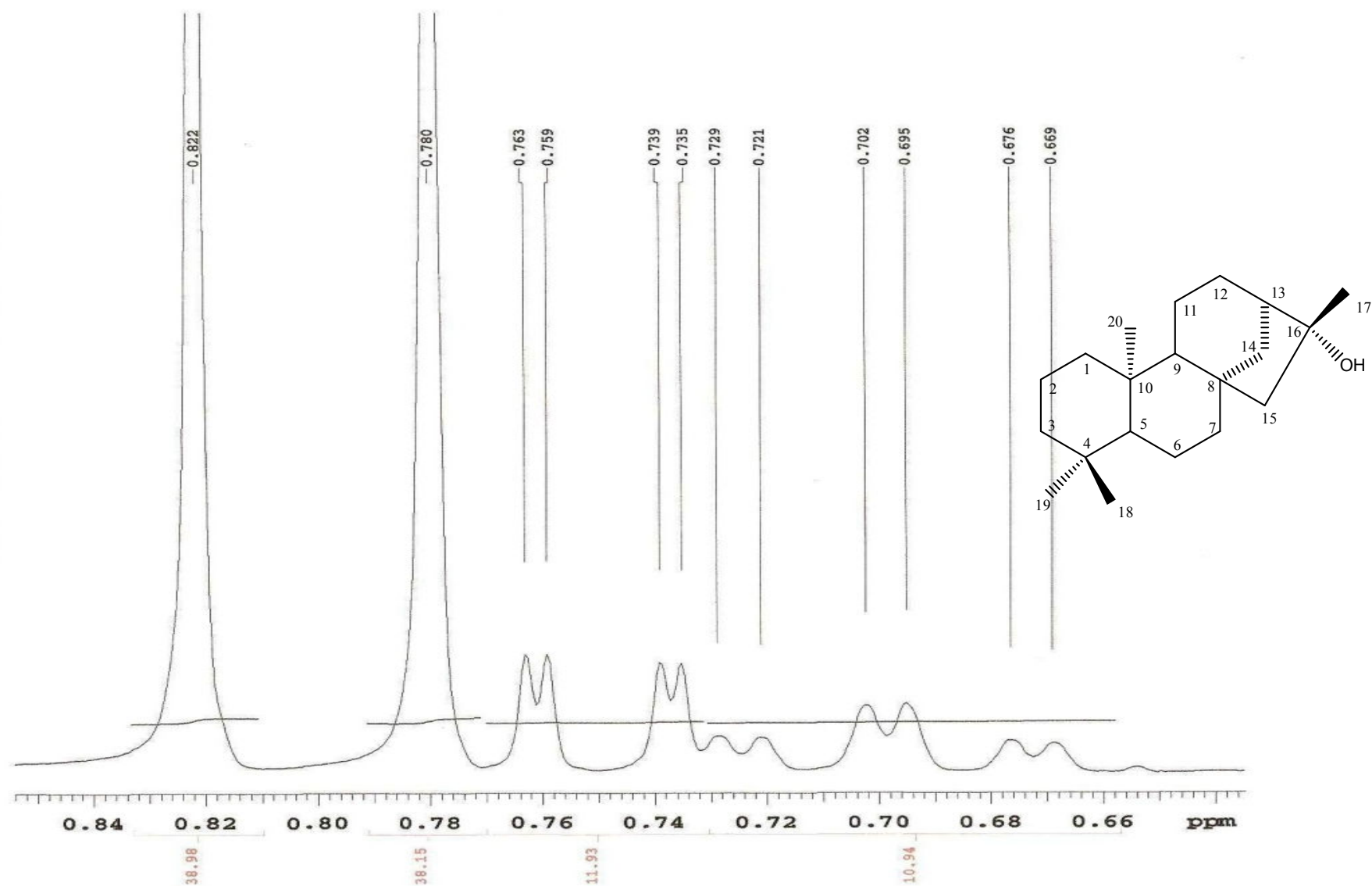


Figura 17: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

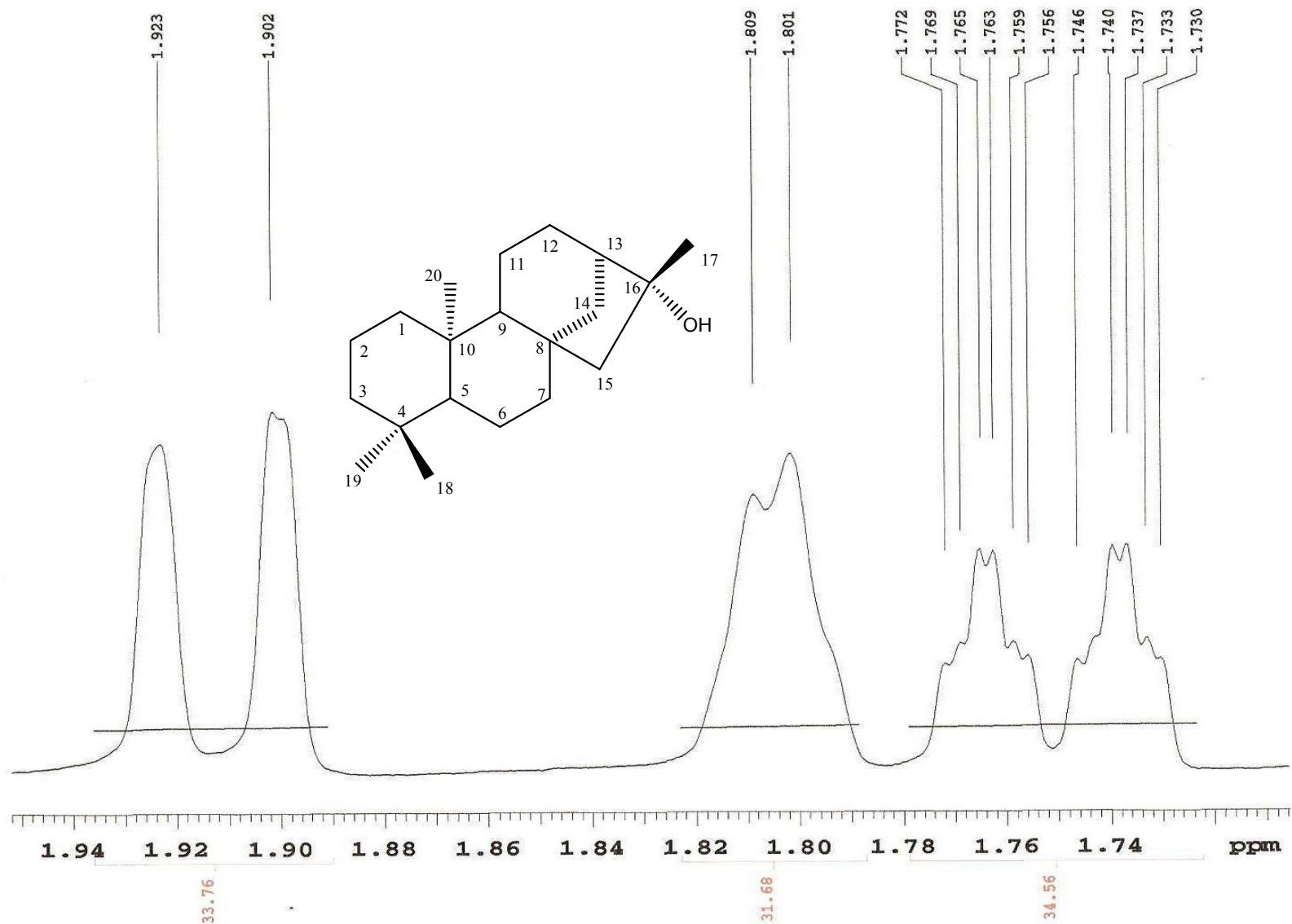


Figura 18: Expansão do espectro de RMN ¹H (500 MHz) de XLR-1 em CDCl₃.

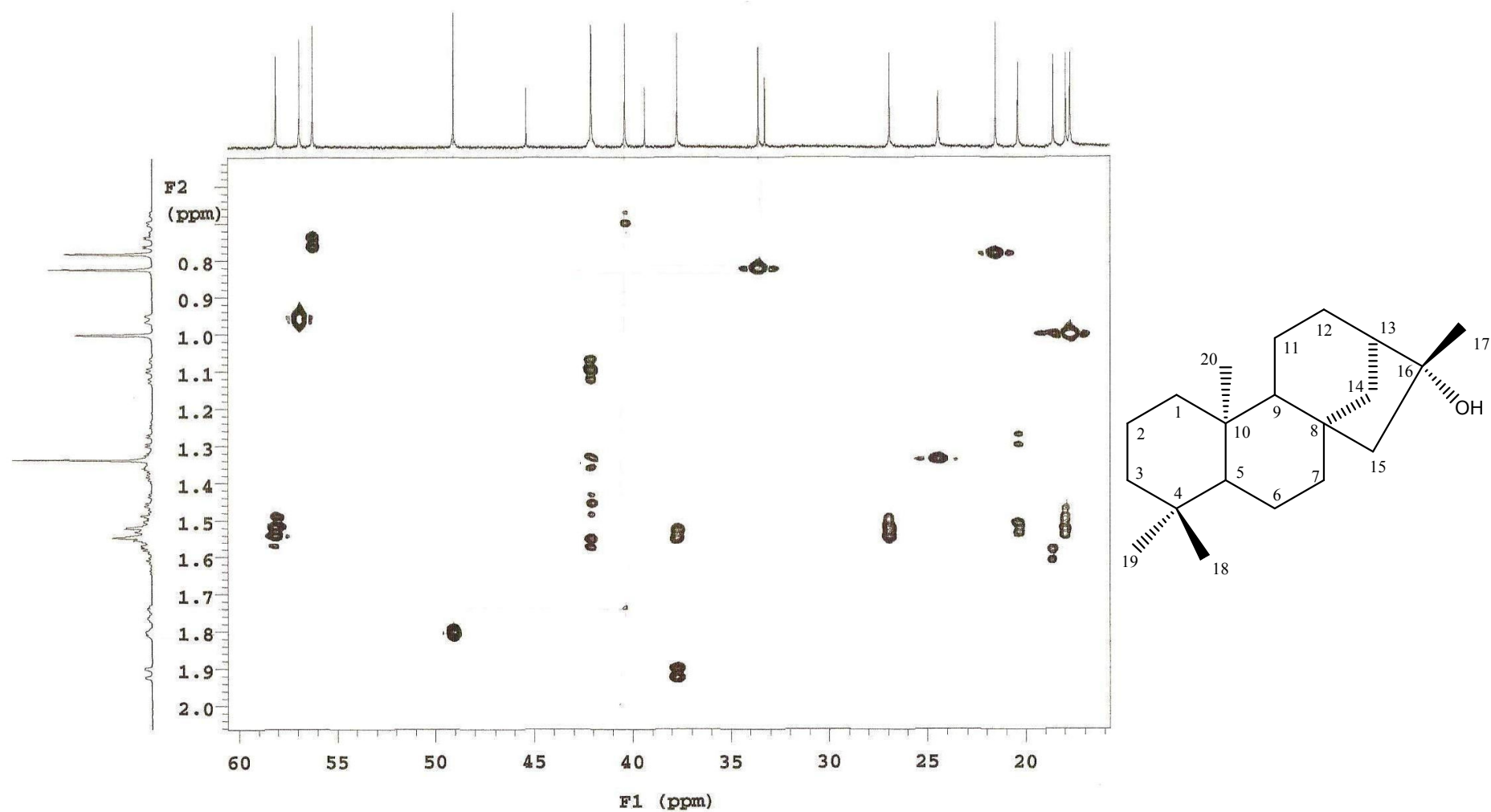


Figura 19: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHSQC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

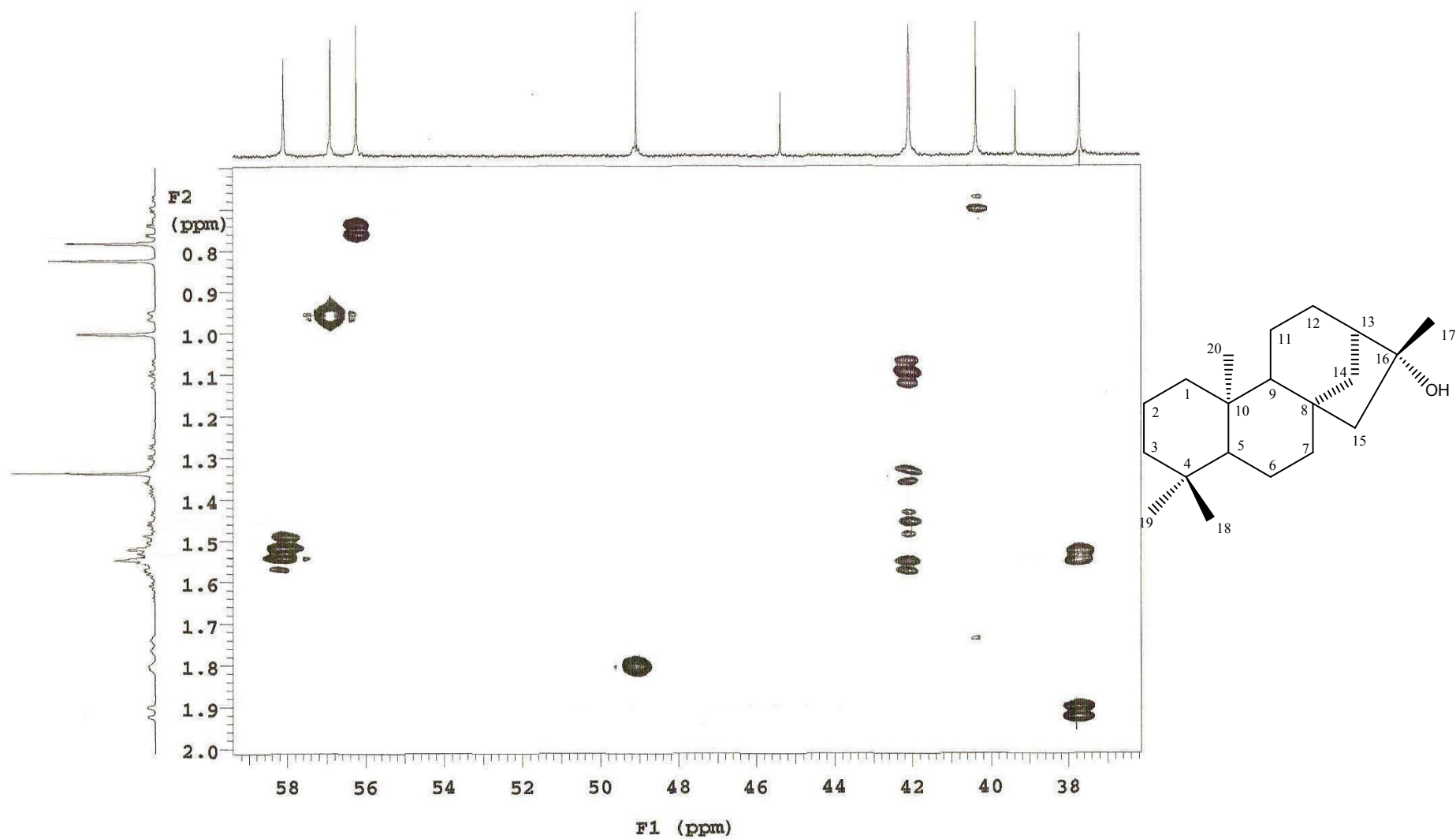


Figura 20: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHSQC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

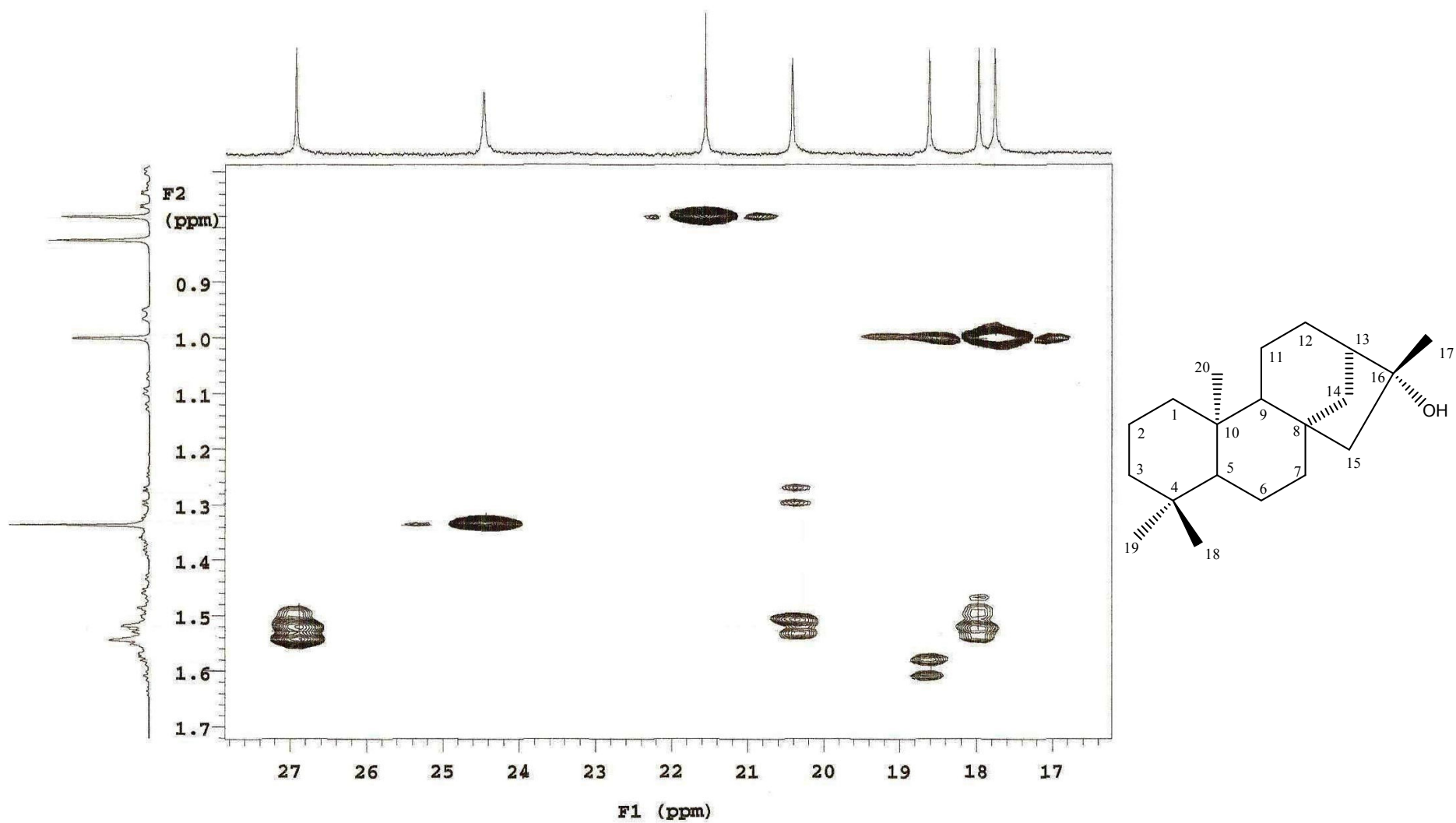


Figura 21: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHSQC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

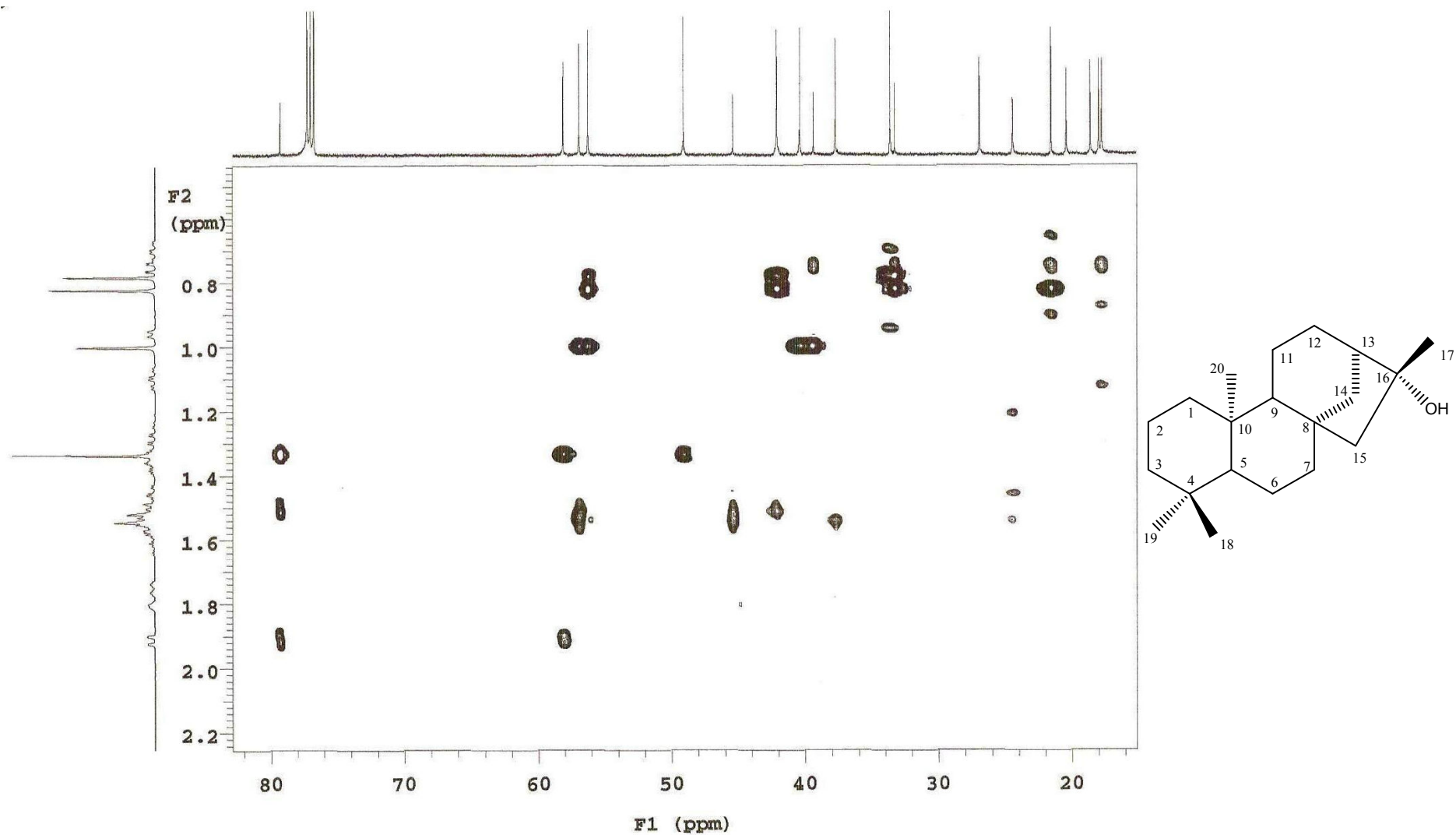


Figura 22: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

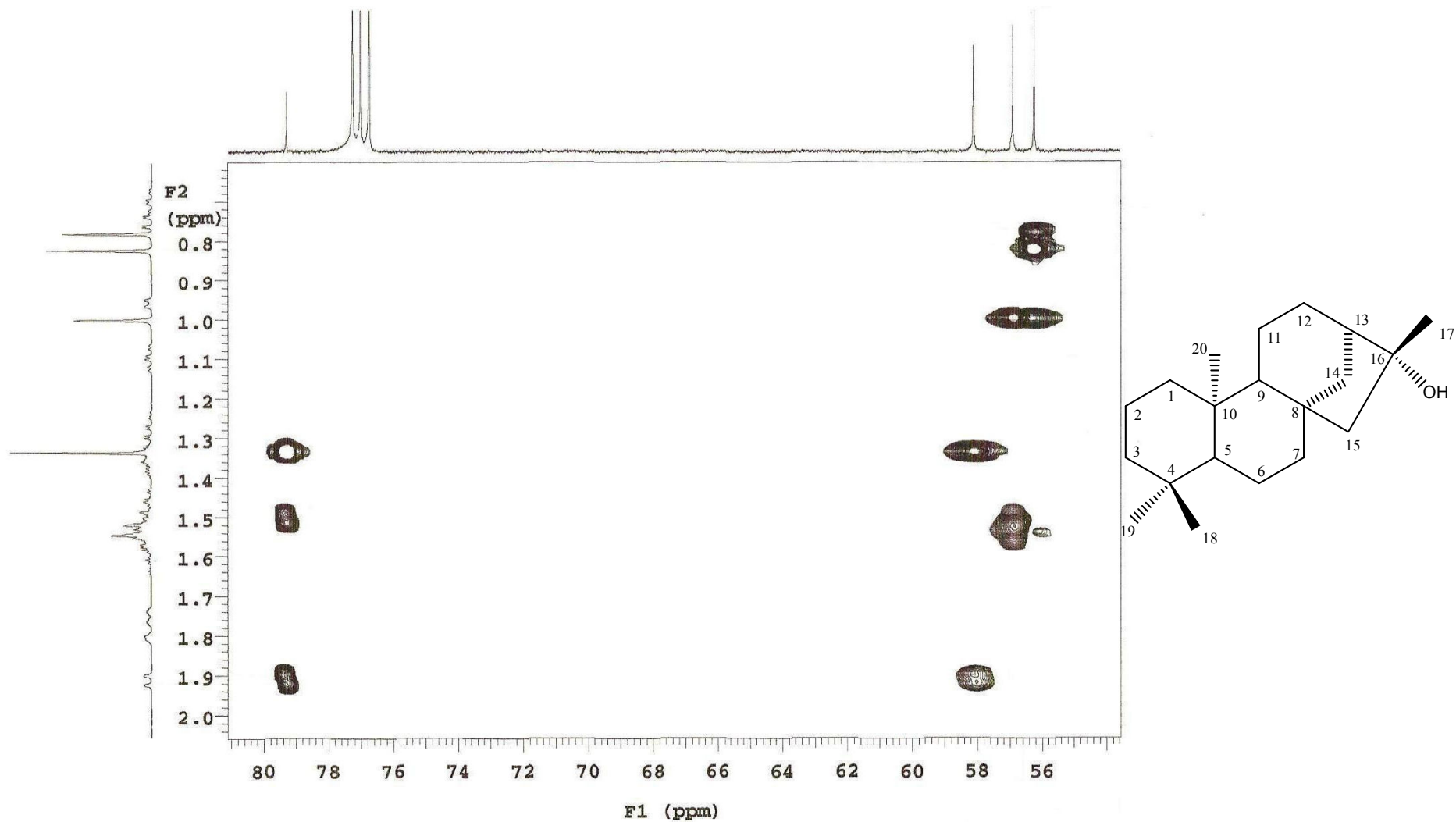


Figura 23: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

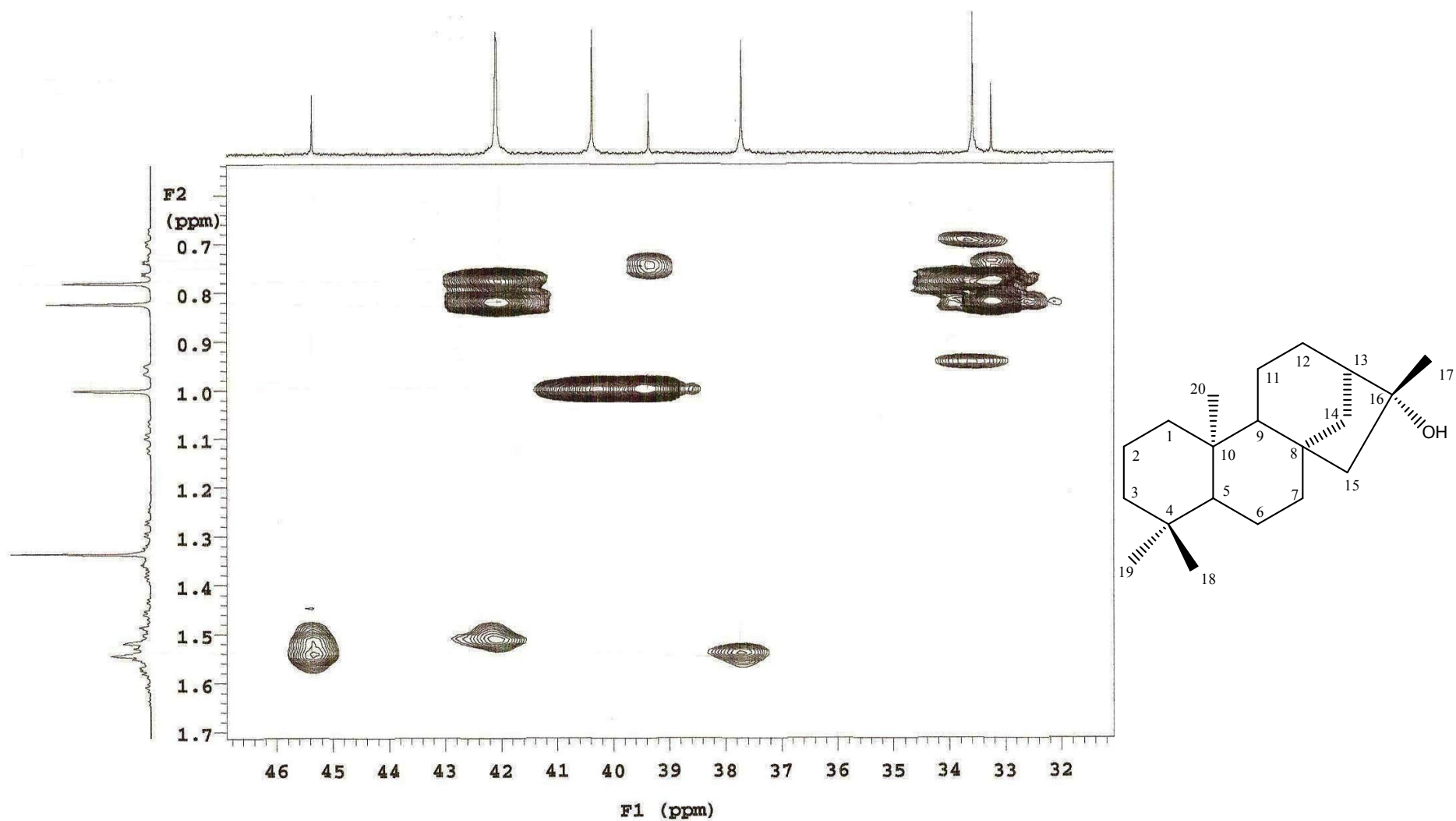


Figura 24: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

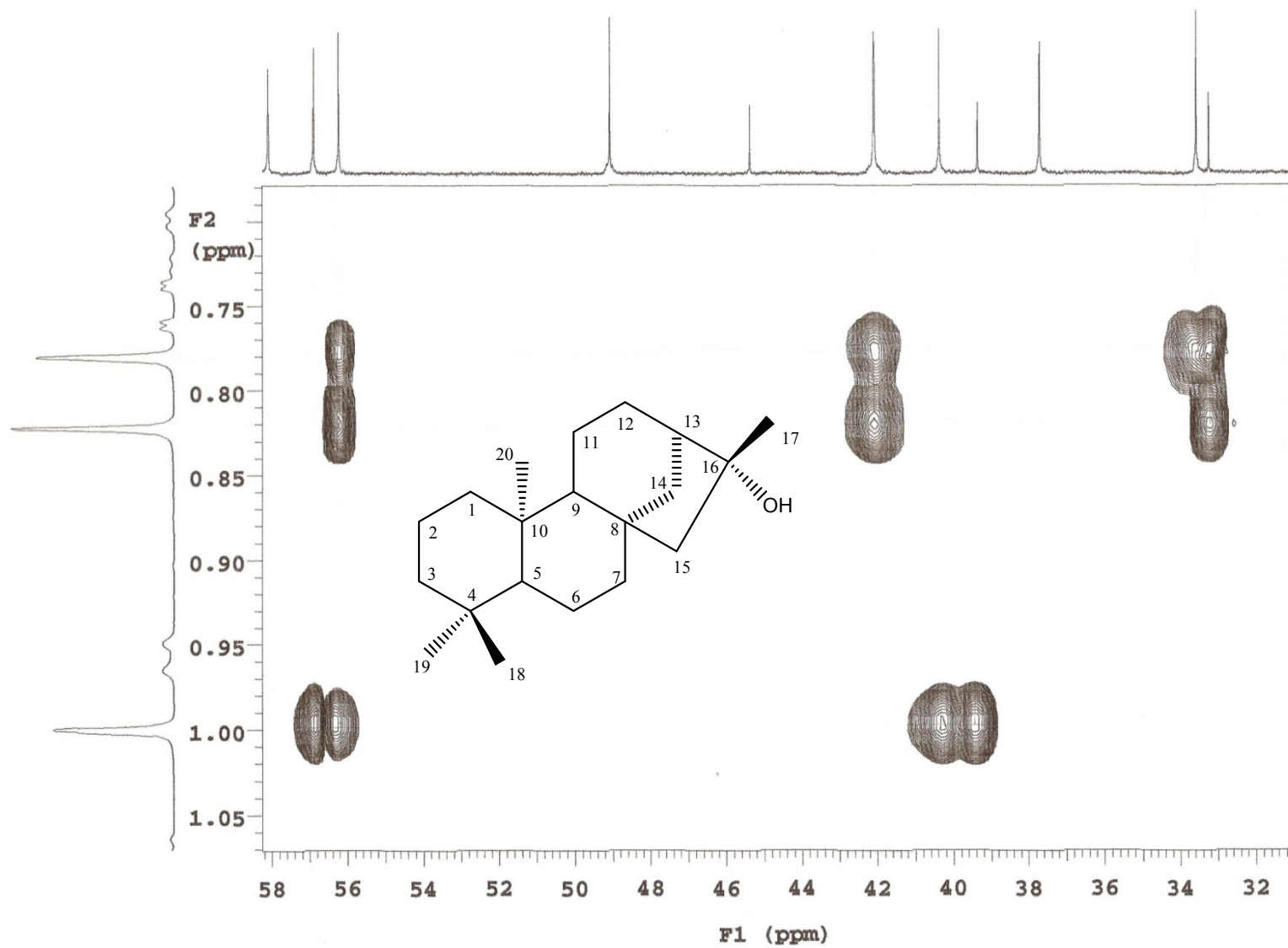


Figura 25: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

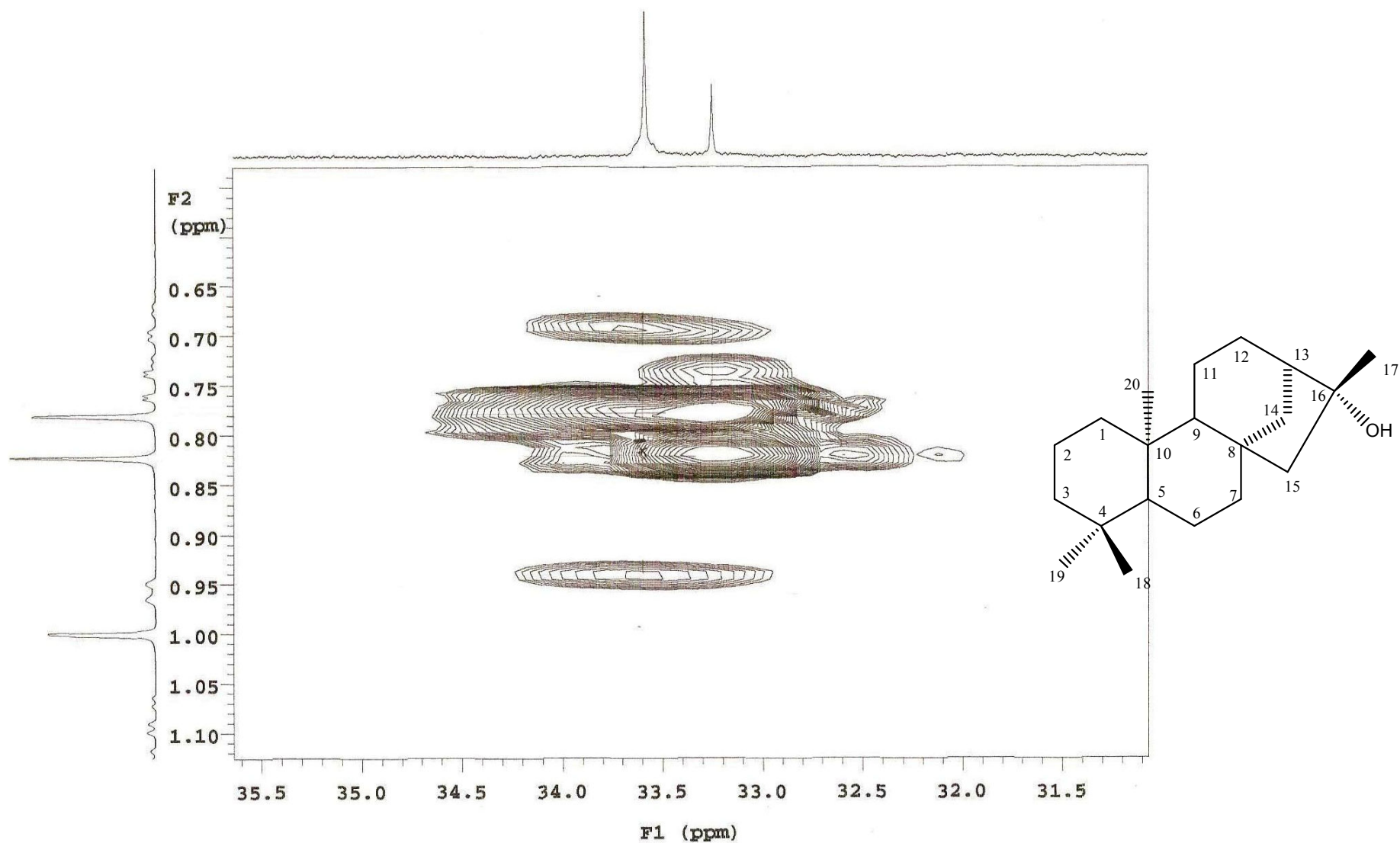


Figura 26: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

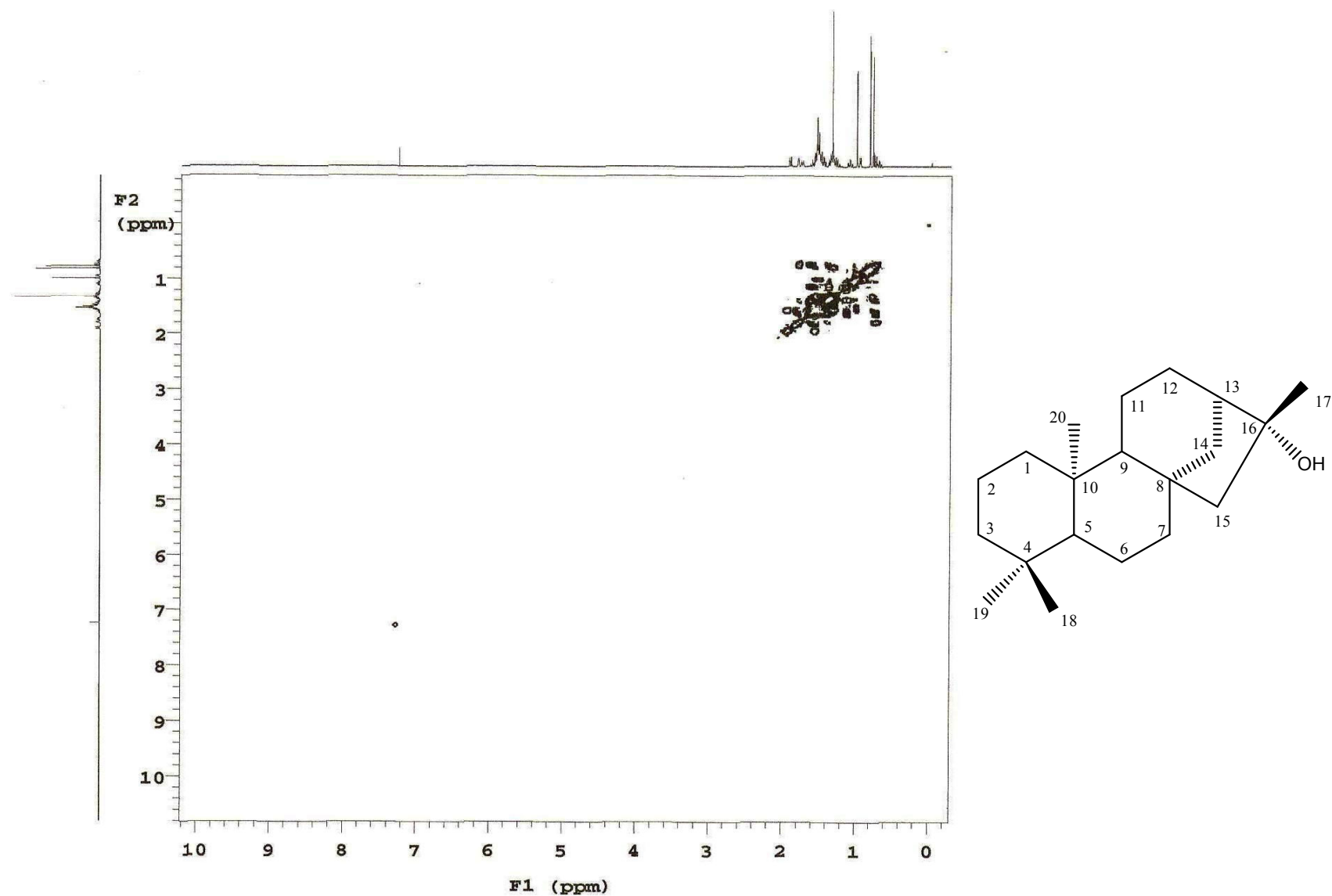


Figura 27: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ gCOSY (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

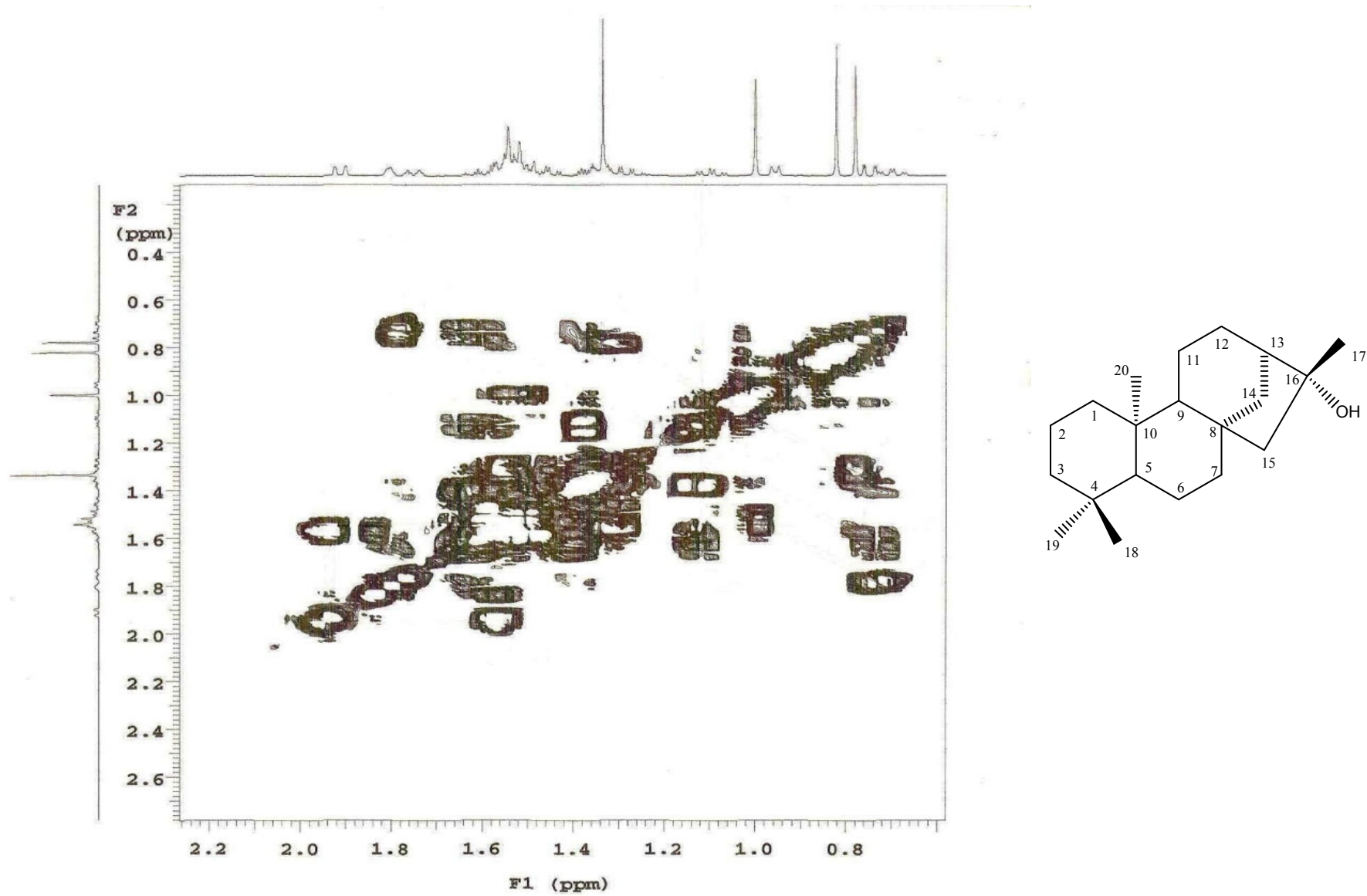


Figura 28: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ gCOSY (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

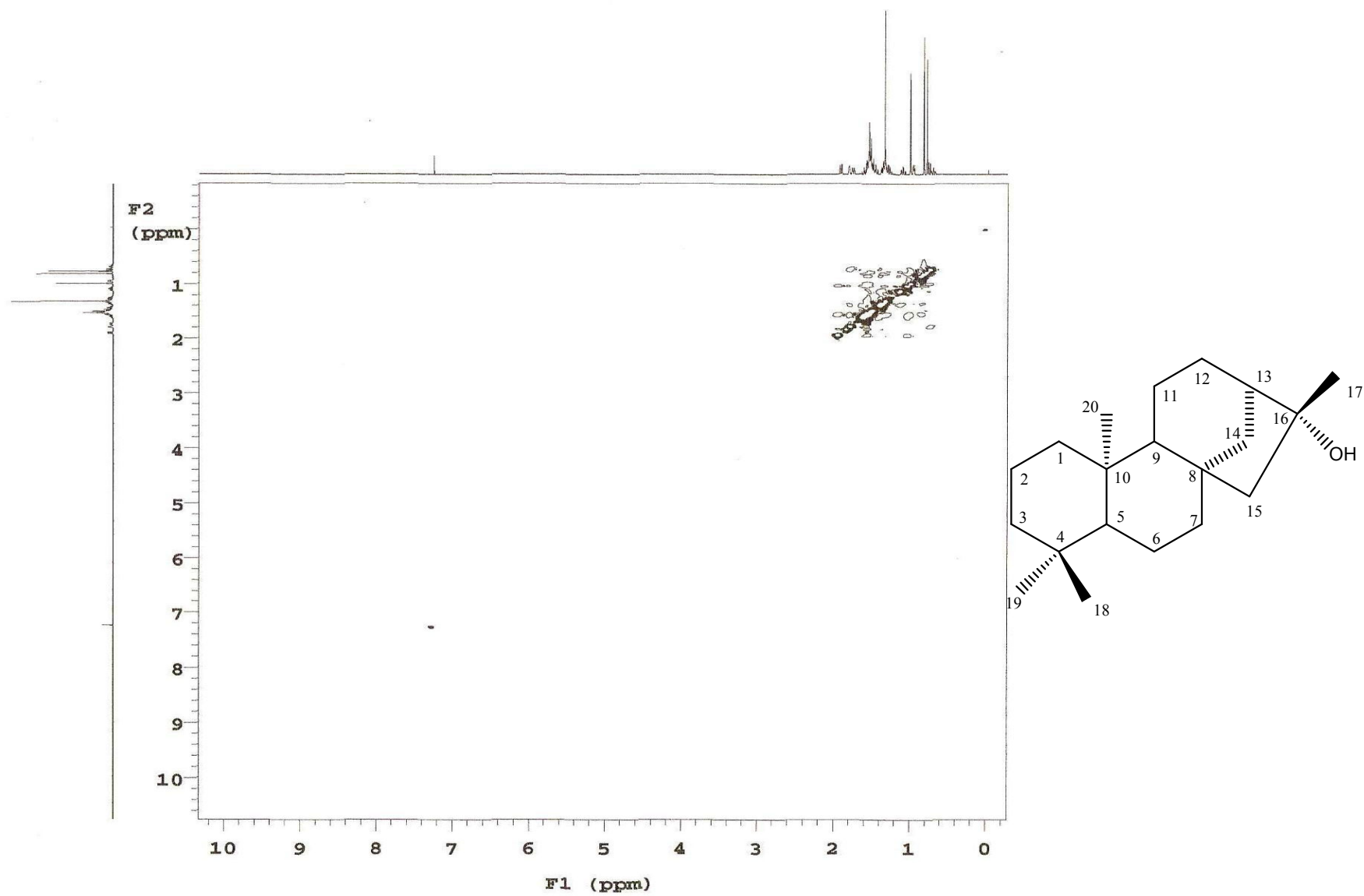


Figura 29: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

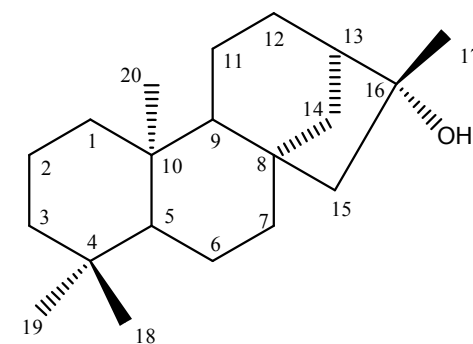
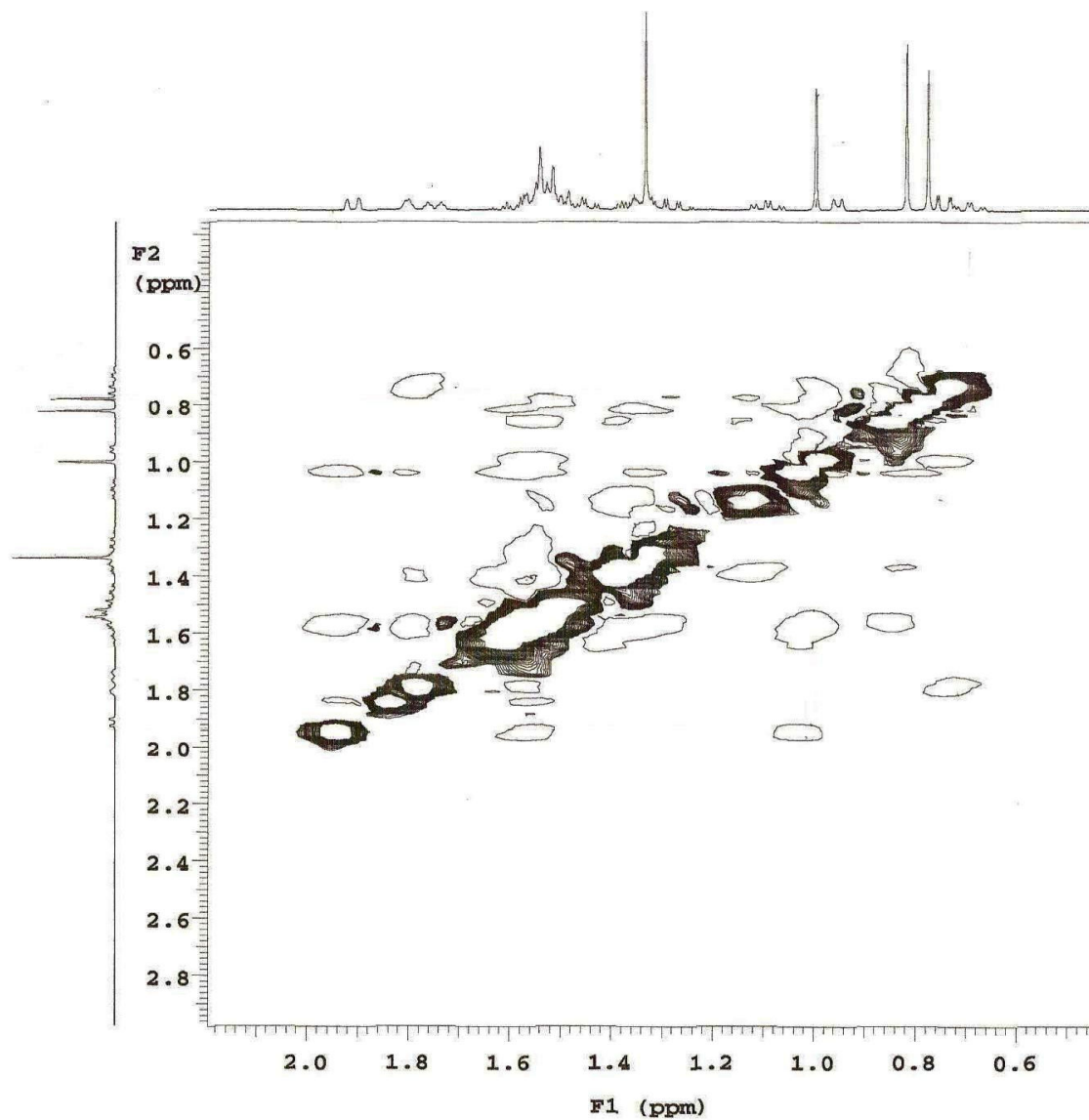


Figura 30: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de XLR-1 em CDCl_3 .

5.1.2 Determinação estrutural de XLR-2

A substância codificada como XLR-2 foi isolada na forma de óleo incolor, solúvel em clorofórmio.

O espectro de massas de alta resolução obtido por ESI negativo HR-IES-EM (Fig. 32, Pág.78) mostrou o pico do íon molecular em m/z 301,2286 $[M-1]^-$, correspondente a fórmula molecular $C_{20}H_{30}O_2$. O espectro de IV obtido em KBr (Fig. 33, Pág. 79) mostrou absorção em 3433 cm^{-1} , 1689 cm^{-1} e 3066 cm^{-1} característico de estiramento de hidroxila, carbonila de ácido carboxílico e estiramento de $C-H\text{ }sp^2$.

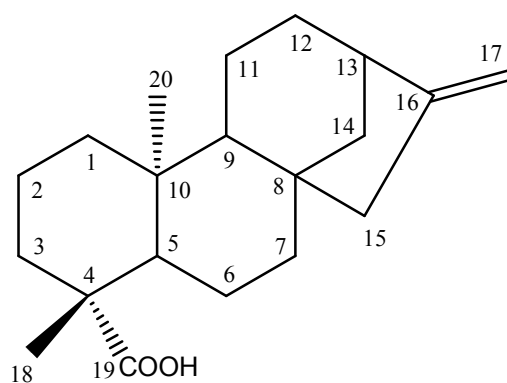
No espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$), (Fig. 34-36, Pág. 80-82) observou-se a presença de 19 sinais correspondentes a 20 átomos de carbono. Destes, 5 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 3 a carbonos metínicos, 10 a carbonos metilênicos e 2 a carbonos metílicos. Os sinais de carbonos metínicos em δ_C 57,0 e 55,0 ppm em comparação com a literatura (ANDRADE, 2004) sugerem um esqueleto carbônico para diterpenos tetracíclicos do tipo caurano.

Comparando os deslocamentos químicos de XLR-2 com XLR-1 observa-se ausência do sinal em δ_C 79,3 ppm e a presença dos sinais em δ_C 155,9 e 102,9 ppm que implica numa desidratação em C-16 gerando um caurano 16-en. Isso é corroborado pelo efeito de proteção em C-13 que em XLR-1 absorve em δ_C 49,1 ppm e em XLR-2 absorve em δ_C 43,8 ppm. Ainda em comparação com XLR-1 observa-se ausência dos sinais em δ_C 33,5 e 21,5 ppm correspondentes a C-18 e C-19, respectivamente e a presença de uma metila em δ_C 28,9 ppm juntamente com o deslocamento químico em δ_C 184,2 ppm corroborando com a presença de ácido carboxílico e metila no centro quiral C-4. O deslocamento químico em δ_C 28,9 ppm juntamente com o deslocamento químico em δ_C 57,0 ppm (C-5) infere a orientação alfa axial do grupo carboxílico.

No espectro de RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) (Fig. 37 e 38, Pág. 83 e 84) observou-se um envelope de sinais na região de δ_H 2,09 a 0,86 ppm com multiplicidade não resolvidas. Observou-se a presença de 2 singletos em δ_H 1,22 e 0,92 ppm correspondente a duas metilas, e um singlete largo em 2,61 que foi atribuído a H-13, corroborando com a proposição de caurano 16-en. As demais multiplicidades e deslocamentos químicos estão compilados na Tabela 05. Após análise dos dados espectrais determinou-se XLR-2 como sendo ácido *ent*-caur-16-en-19-óico (ácido caurenóico) (Fig. 27). Essa substância tem ampla distribuição no gênero *Xylopi*a, porem está sendo relatada pela primeira vez na espécie em estudo.

Tabela 05: Dados de RMN de XLR-2 a 200 MHz em CDCl₃.

	XLR-2		OHNO & MABRY (1979)	MONTE et al (1988)
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_C
C				
4	43,7	-	43,9	47,6
8	44,1	-	44,3	44,4
10	39,6	-	39,8	39,8
16	155,9	-	155,9	155,3
19	184,2	-	185,1	17,8
CH				
5	57,0	1,12(<i>m</i>)	57,2	50,0
9	55,0	1,08(<i>m</i>)	55,3	56,2
13	43,8	2,61 (<i>sl</i>)	43,9	44,0
CH₂				
1	40,6	0,85 (<i>m</i>)/ 1,89 (<i>m</i>)	40,8	39,9
2	19,0	1,46 (<i>m</i>)/ 1,89 (<i>m</i>)	19,2	18,0
3	37,7	1,01(<i>m</i>)/ 2,18 (<i>m</i>)	37,8	37,0
6	21,7	1,81(<i>m</i>)	21,9	23,3
7	41,1	1,43 (<i>m</i>)/ 1,53(<i>m</i>)	41,4	40,7
11	18,4	1,67(<i>m</i>)	18,5	18,0
12	33,0	1,49 (<i>m</i>)/ 1,60 (<i>m</i>)	33,2	33,3
14	39,6	1,15 (<i>m</i>)/ 2,02(<i>m</i>)	39,8	39,5
15	48,9	2,09(<i>m</i>)	49,1	49,1
17	102,9	4,75(<i>s</i>)/ 4,82 (<i>s</i>)	103,1	103,2
CH₃				
18	28,9	1,22 (<i>s</i>)	29,0	185,0
20	15,5	0,92 (<i>s</i>)	15,6	16,1

**Figura 31:** ácido *ent*-caur-16-en-19-óico.

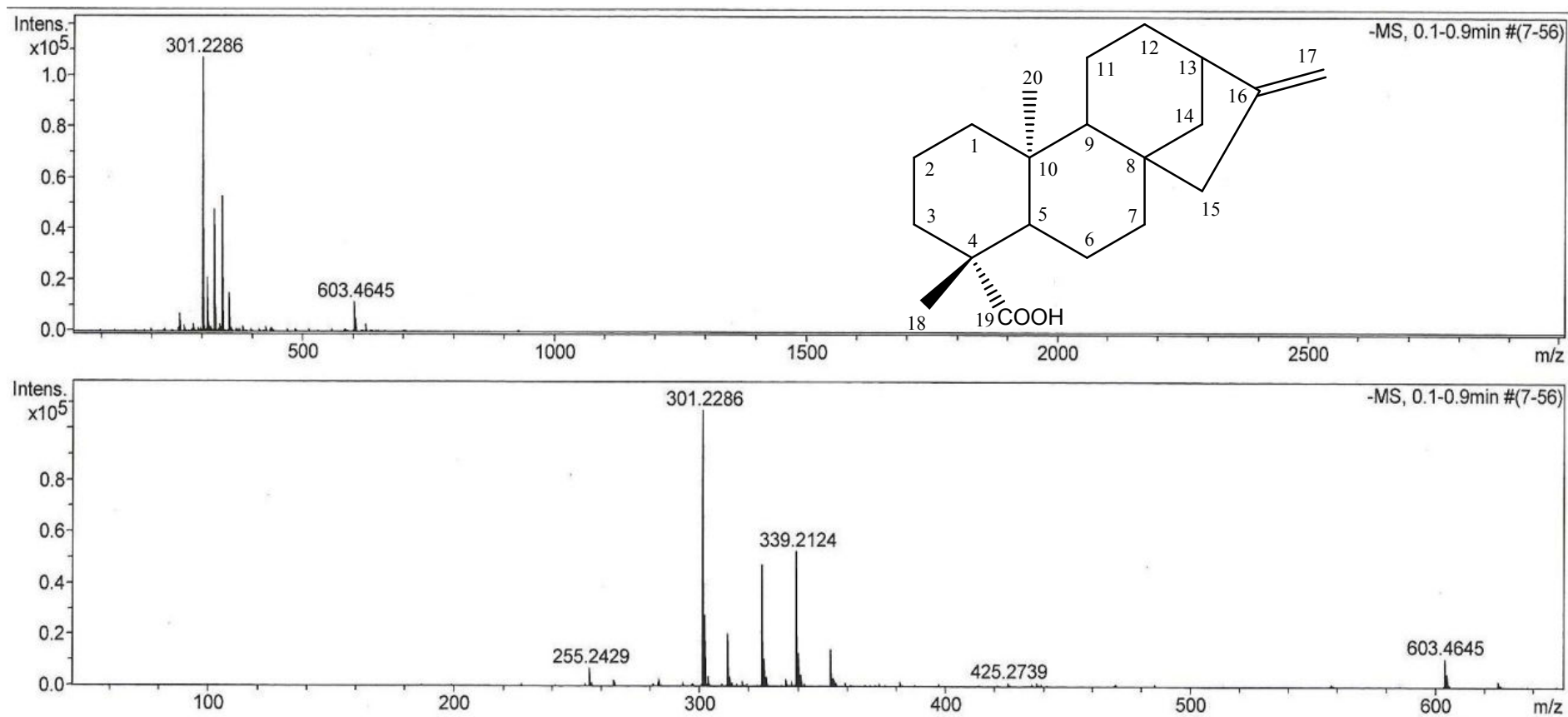


Figura 32: Espectro de massas obtido por ESI negativo (HR-ESI-MS), de XLR-2.

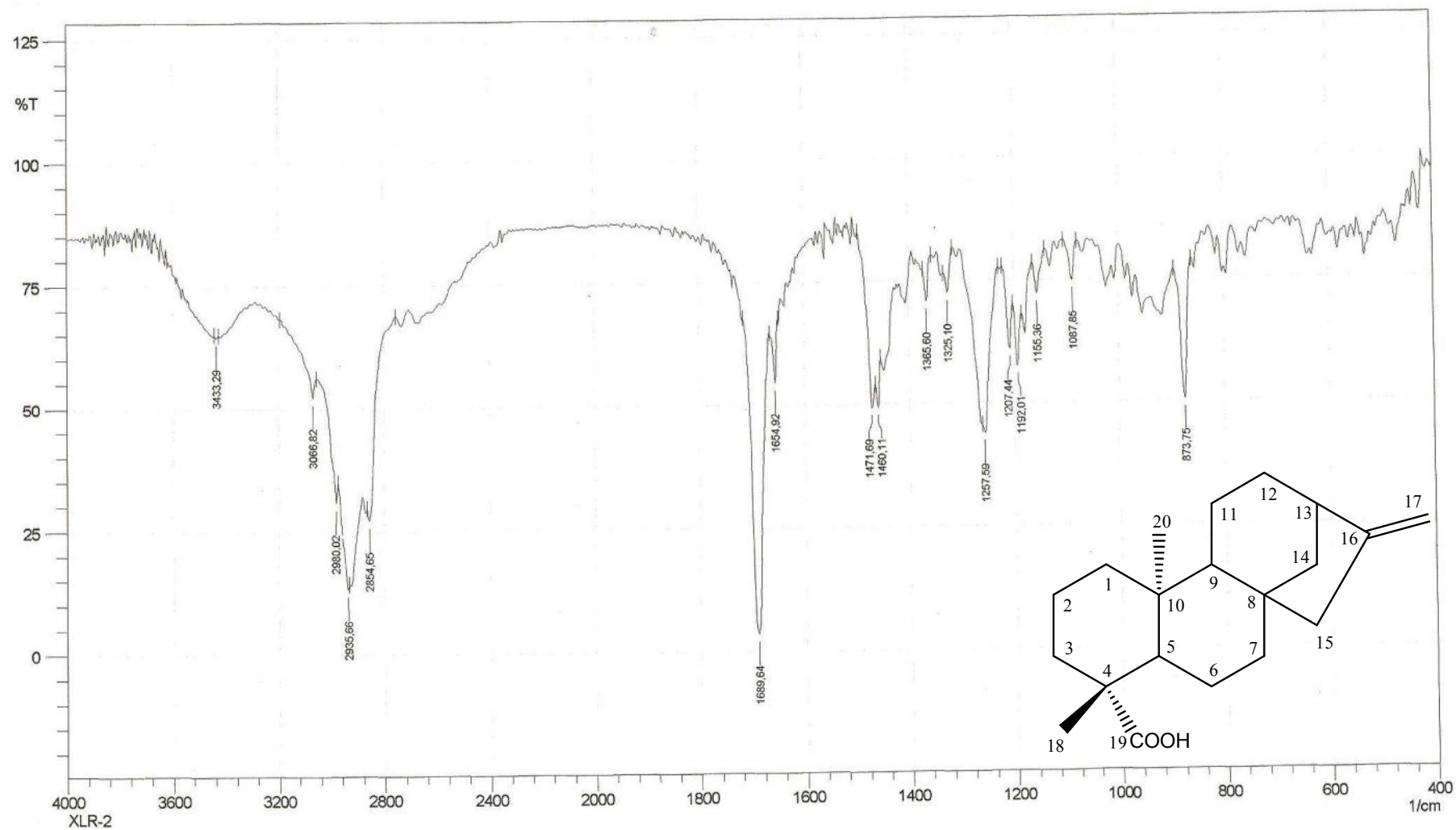


Figura 33: Espectro de IV obtido em KBr de XLR-2.

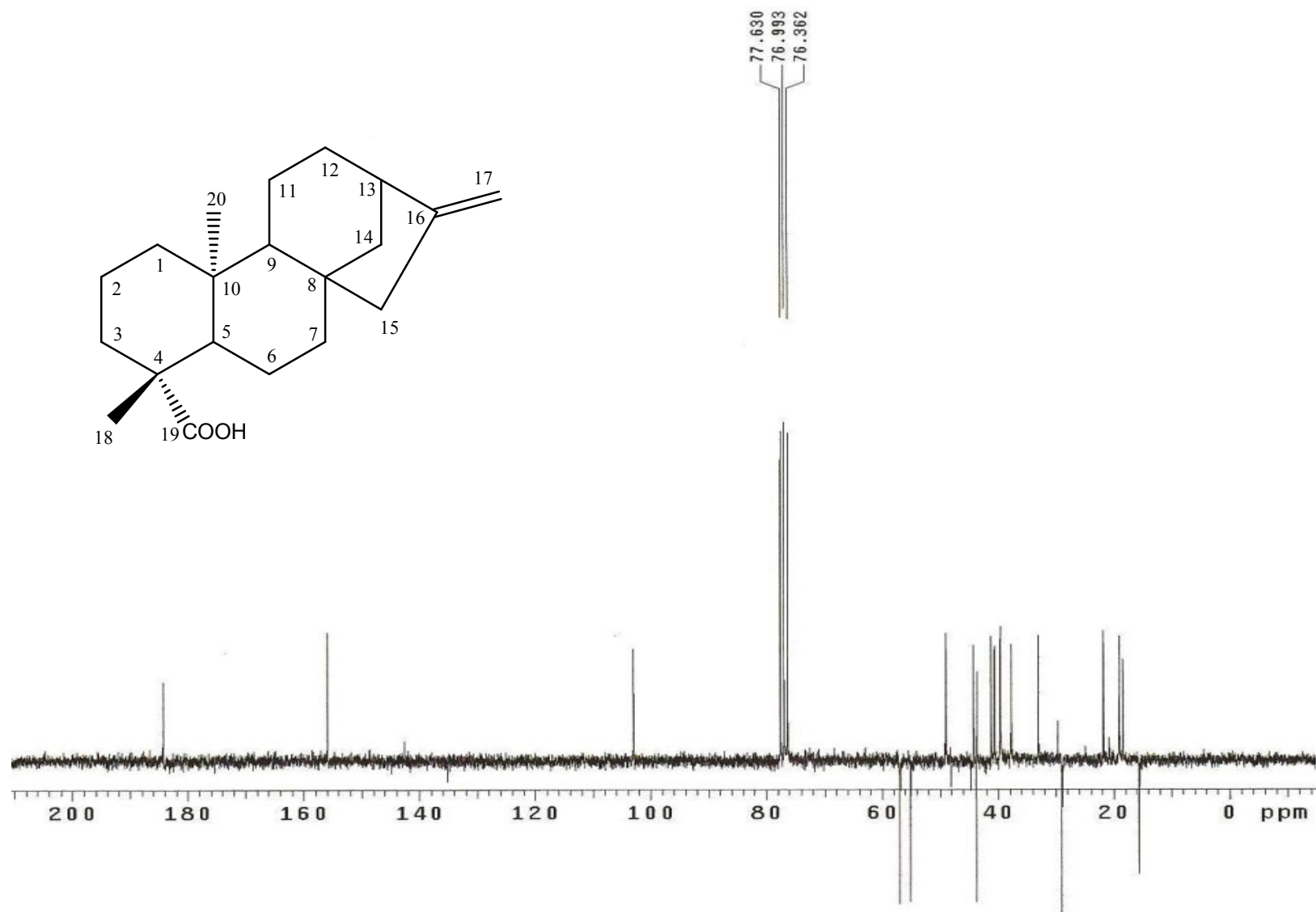


Figura 34: Espectro de RMN ^{13}C – APT (50 MHz) de XLR-2 em CDCl_3 .

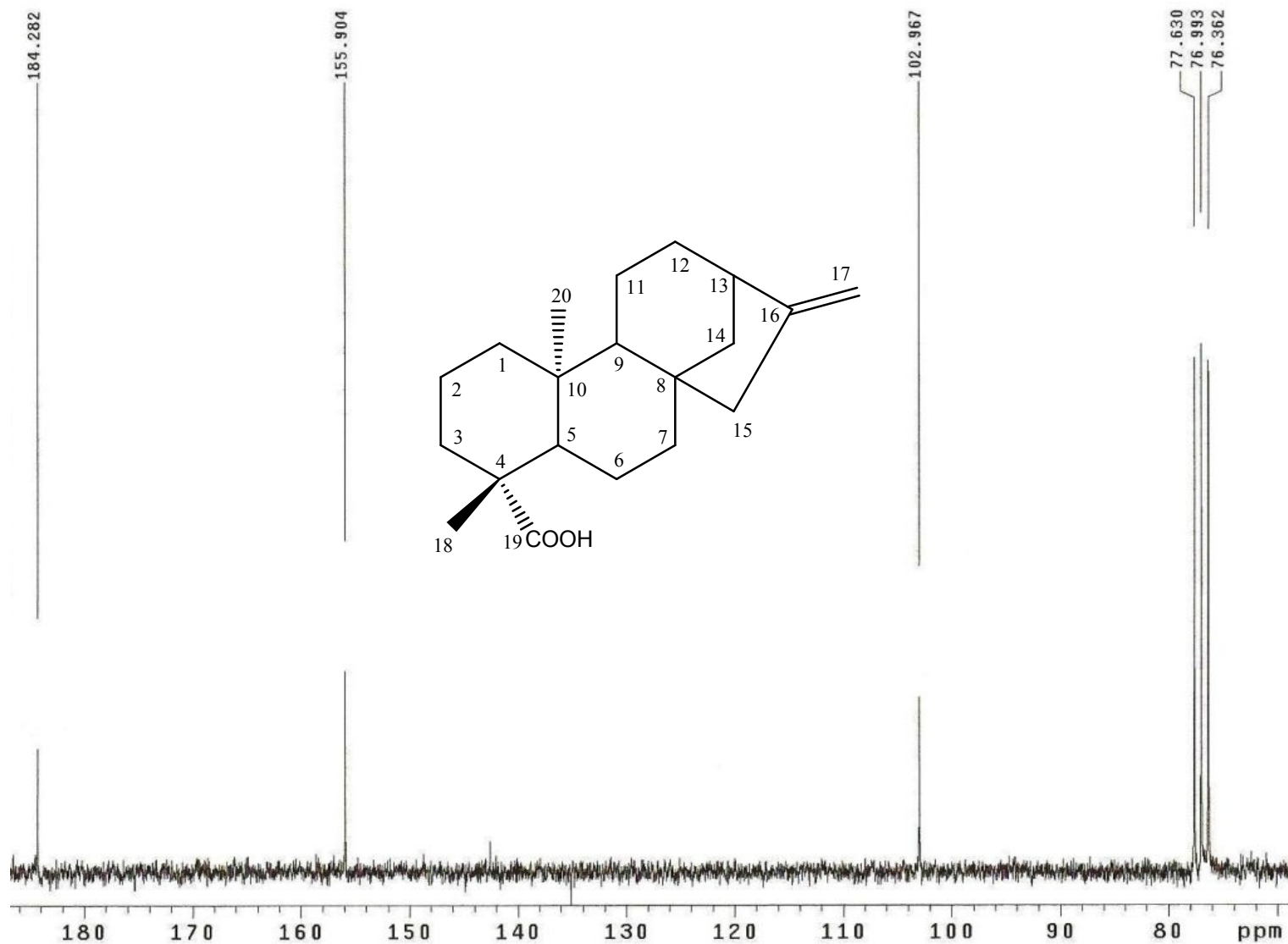


Figura 35: Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (50 MHz) de XLR-2 em CDCl_3 .

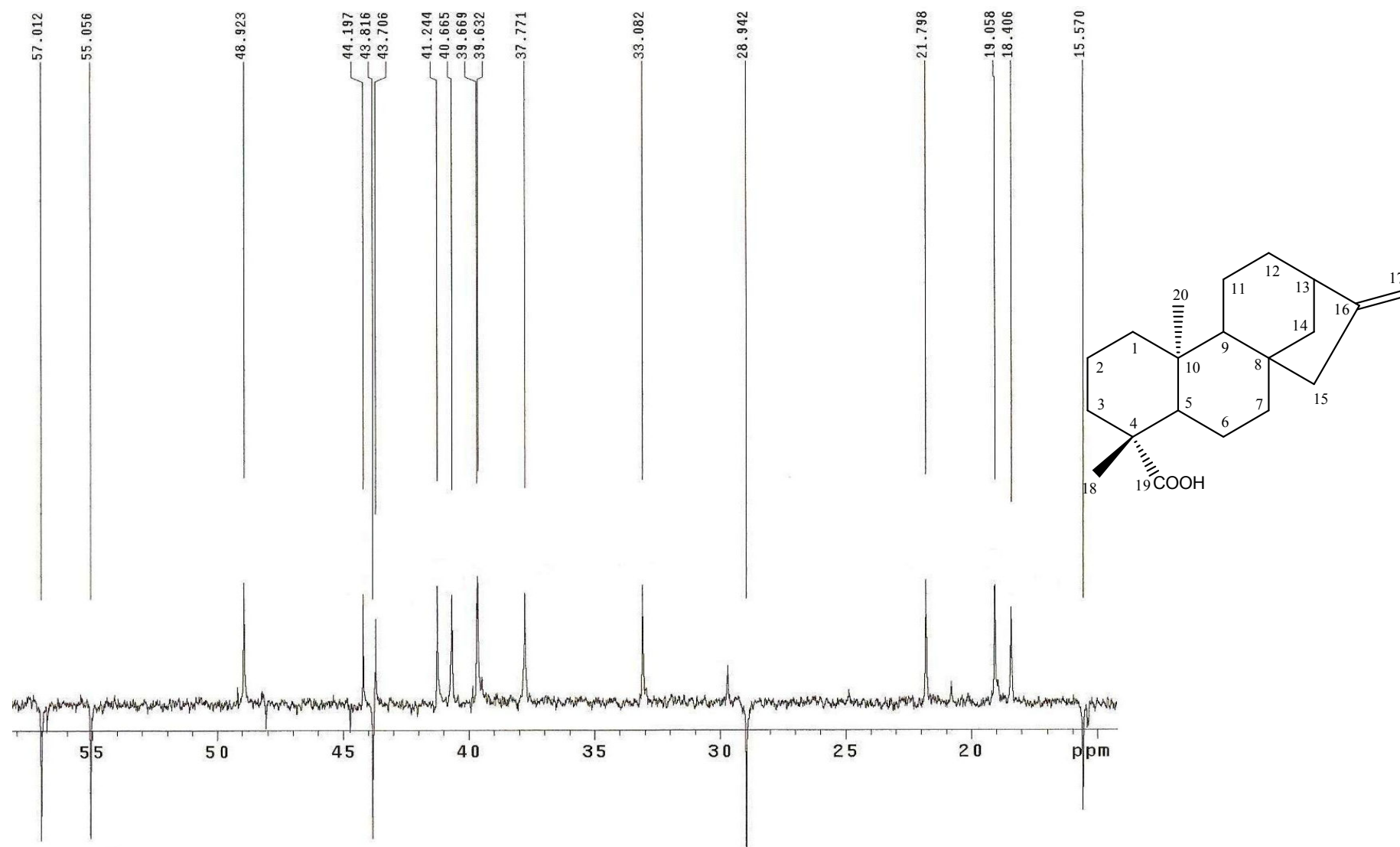


Figura 36: Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (50 MHz) de LR-2 em CDCl_3 .

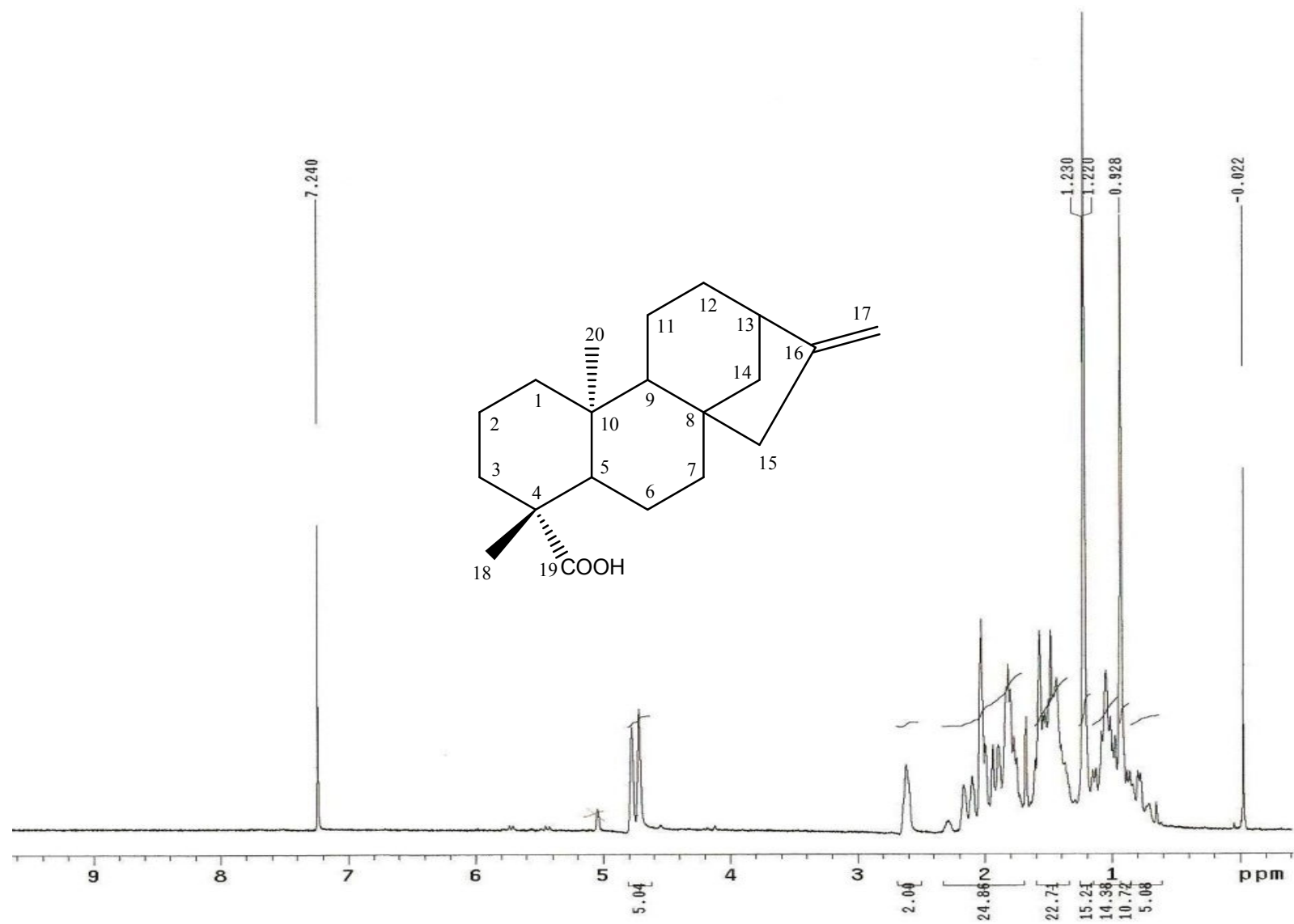


Figura 37: Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de XLR-2 em CDCl_3 .

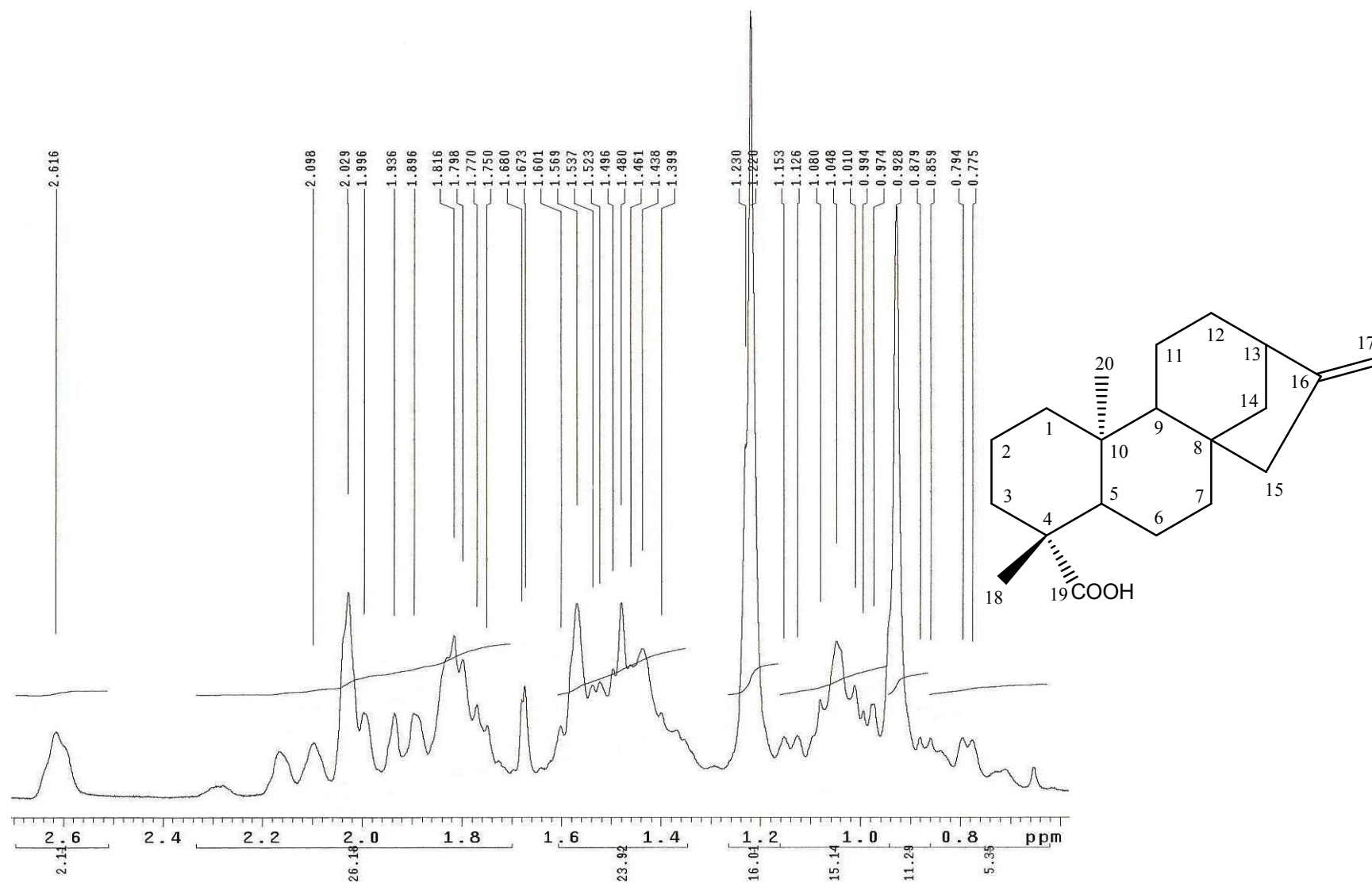


Figura 38: Expansão do espectro de RMN ^1H (200 MHz) de XLR-2 em CDCl_3 .

5.1.3 Determinação estrutural de XLR-3

A substância codificada como XLR-3 foi isolada na forma de óleo incolor, solúvel em clorofórmio.

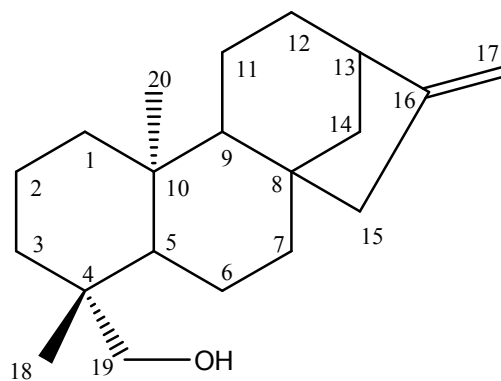
No espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) (Fig. 40, Pág. 87) observou-se a presença de 19 sinais correspondentes a 20 átomos de carbono. Destes, 4 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 3 a carbonos metínicos, 11 a carbonos metilênicos e 2 a carbonos metílicos. Os sinais de carbono metínicos em δ_{C} 56,8, 56,2 e 44,0 ppm (Fig. 41, Pág. 88) comparados com a literatura (YANG *et al*, 2002) sugerem um esqueleto carbônico para diterpenos tetracíclico do tipo caurano.

Comparando os deslocamentos químicos de XLR-3 com XLR-2 observa-se a ausência do sinal em δ_{C} 184,2 ppm e a presença do sinal em δ_{C} 65,6 ppm (CH_2) (Fig. 41, Pág. 88), sugerindo uma OH em C-19.

No espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 43, Pág. 90) observou-se um envelope de sinais na região de δ_{H} 2,08 a 0,92 ppm com multiplicidade não resolvidas. Observou-se a presença de 2 singletos em δ_{H} 0,93 e 0,98 ppm (Fig. 44, Pág. 91) correspondente a duas metilas (C-18, C-20), e um singlete largo em δ_{H} 2,61 ppm (Fig. 45, Pág. 92) que foi atribuído a H-13, e a presença de sinais em δ_{H} 3,44 e 3,73 ppm, correspondente a 2H-19, corroborando com a proposição de caurano 16-en. As demais multiplicidades e deslocamentos químicos estão compilados na Tabela 06. Após análise dos dados espectrais determinou-se XLR-3 como sendo *ent*-caur-16-en-19-ol (Fig. 39). Essa substância tem ampla distribuição no gênero *Xylopi*a, porem está sendo relatado pela primeira vez na espécie em estudo.

Tabela 06: Dados de RMN de XLR-3 a 500 MHz em CDCl₃.

	XLR-3		ROCHA (2009)
	δ_C	δ_H	δ_C
C			
4	38,3	-	38,7
8	44,0	-	44,2
10	39,6	-	39,2
16	155,9	-	155,9
CH			
5	56,2	0,80 (<i>m</i>)	56,2
9	56,8	1,05 (<i>m</i>)	56,8
13	44,0	2,61(<i>sl</i>)	43,9
CH₂			
1	40,5	1,77(<i>m</i>)/ 0,80(<i>m</i>)	40,5
2	18,3	1,42 (<i>m</i>)/ 1,57 (<i>m</i>)	18,3
3	35,6	1,74(<i>m</i>)	35,6
		0,92 (<i>d</i> , <i>J</i> =2)	
6	20,5	1,65 (<i>m</i>)/ 1,28 (<i>m</i>)	20,5
7	41,6	1,52 (<i>m</i>)/ 1,40 (<i>m</i>)	41,6
11	18,2	1,40 (<i>m</i>)/ 1,49 (<i>m</i>)	18,2
12	33,1	1,30 (<i>m</i>)/ 1,54 (<i>m</i>)	33,2
14	39,6	1,84 (<i>m</i>)/ 1,57 (<i>m</i>)	39,6
15	49,0	1,54 (<i>m</i>)	49,1
17	102,9	4,77 (<i>dl</i> , <i>J</i> =0,5)	102,9
		4,71 (<i>sl</i>)	
19	65,6	3,44 (<i>dd</i> , <i>J</i> =1; 11)	65,5
		3,73 (<i>d</i> , <i>J</i> =11)	
CH₃			
18	27,0	0,94 (<i>s</i>)	27,1
20	18,1	0,99 (<i>s</i>)	18,1

**Figura 39:** *ent*-caur-16-en-19-ol.

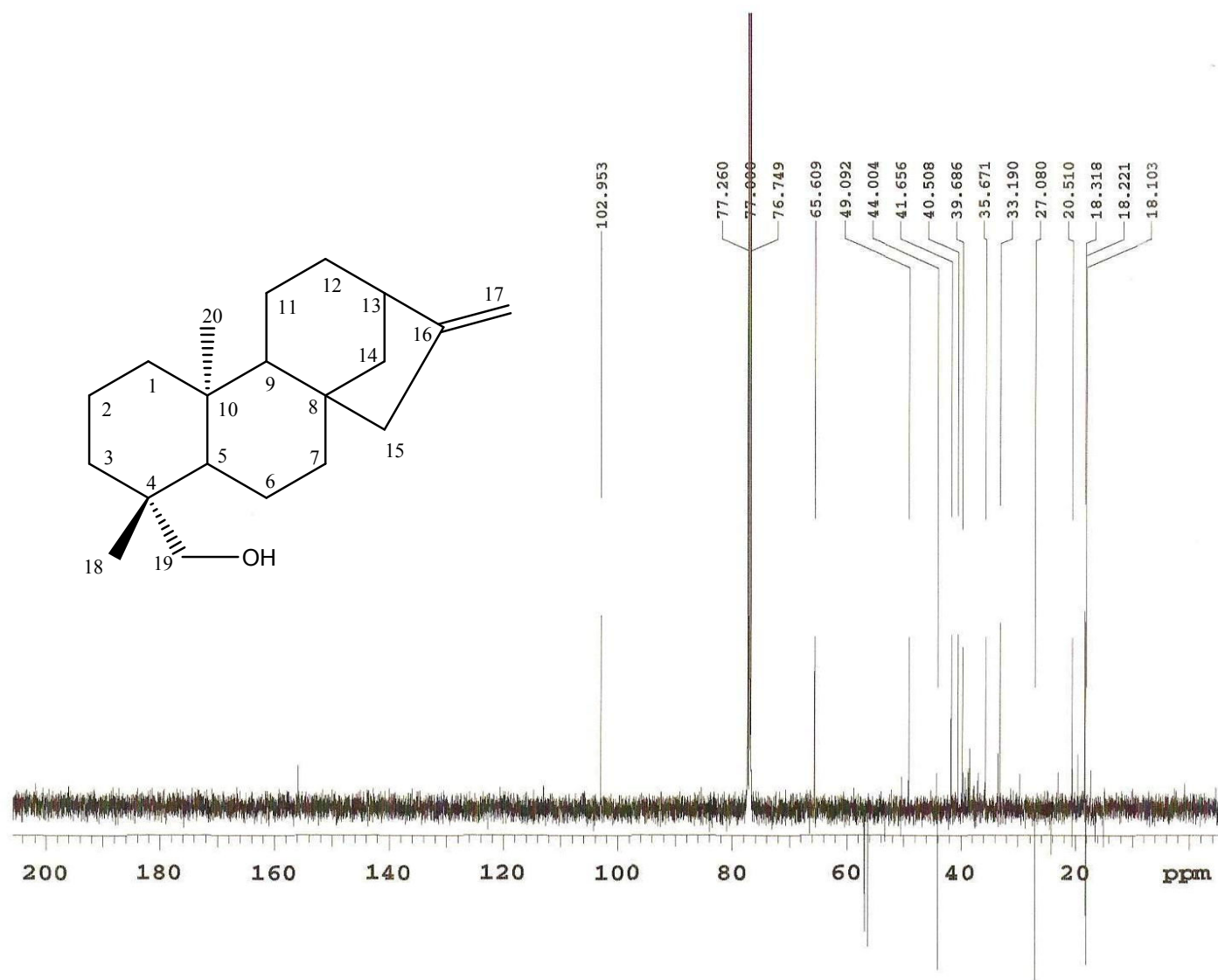


Figura 40: Espectro de RMN ¹³C – APT (125 MHz) de XLR-3 em CDCl₃.

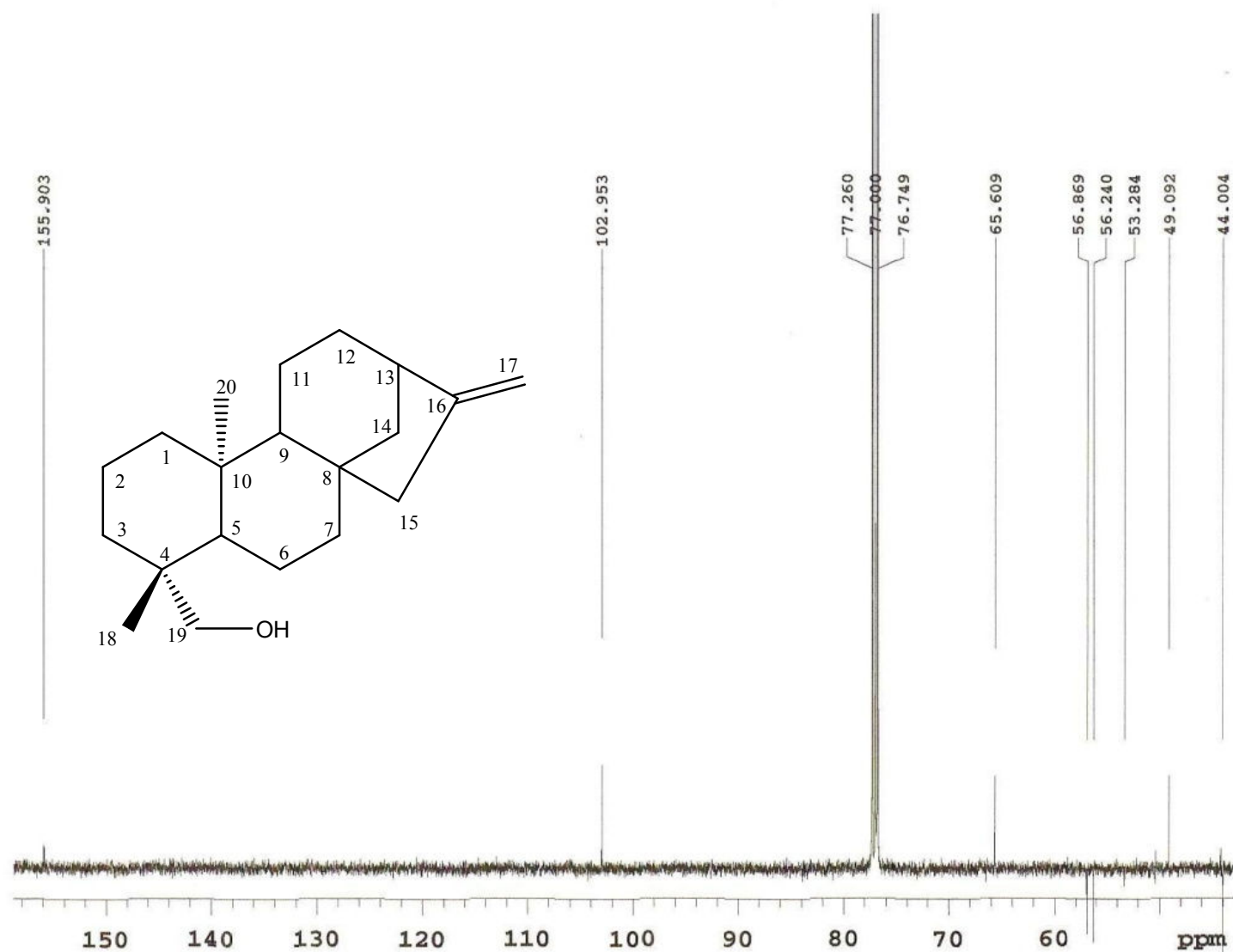


Figura 41: Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-3 em CDCl_3 .

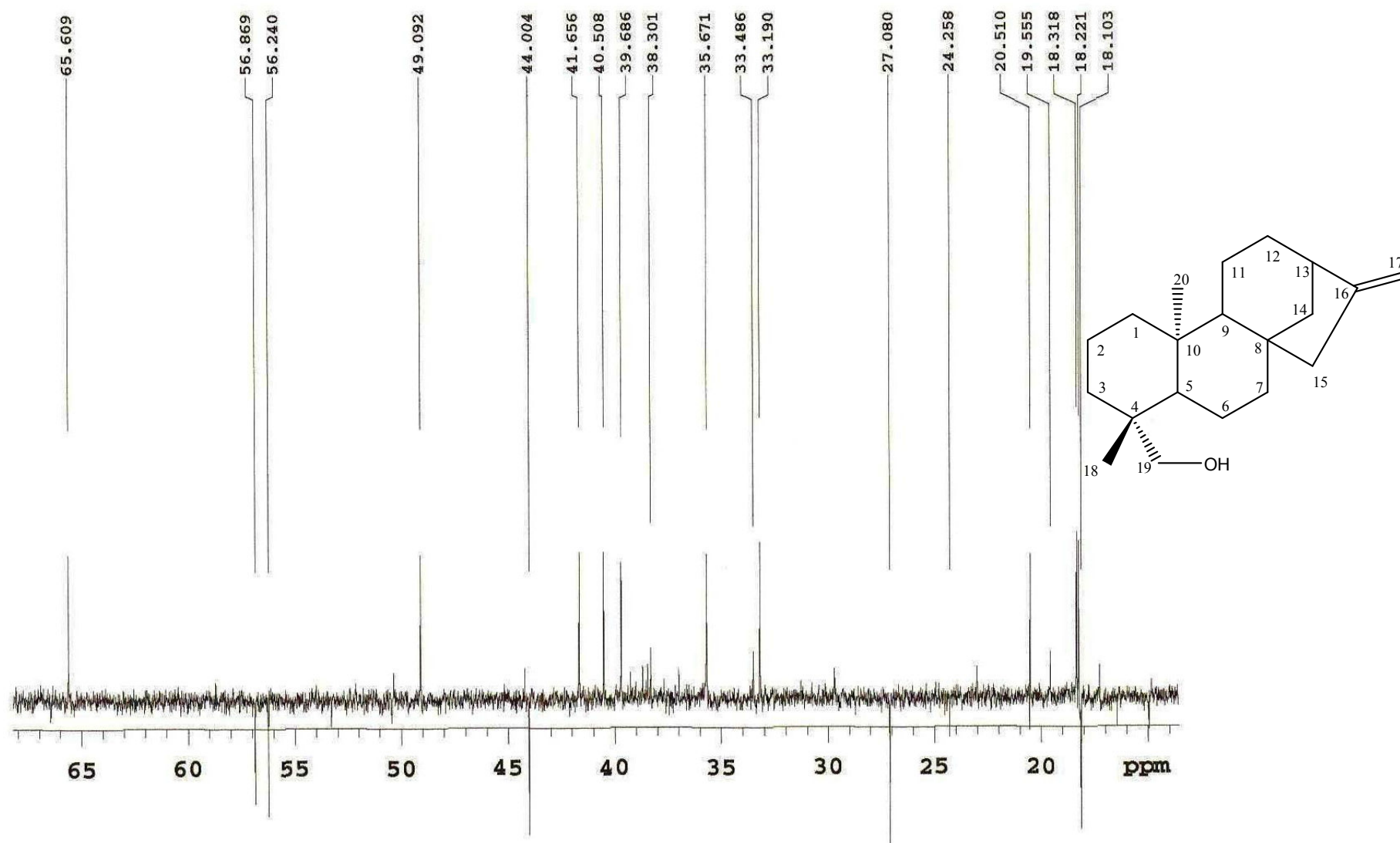


Figura 42: Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-3 em CDCl_3 .

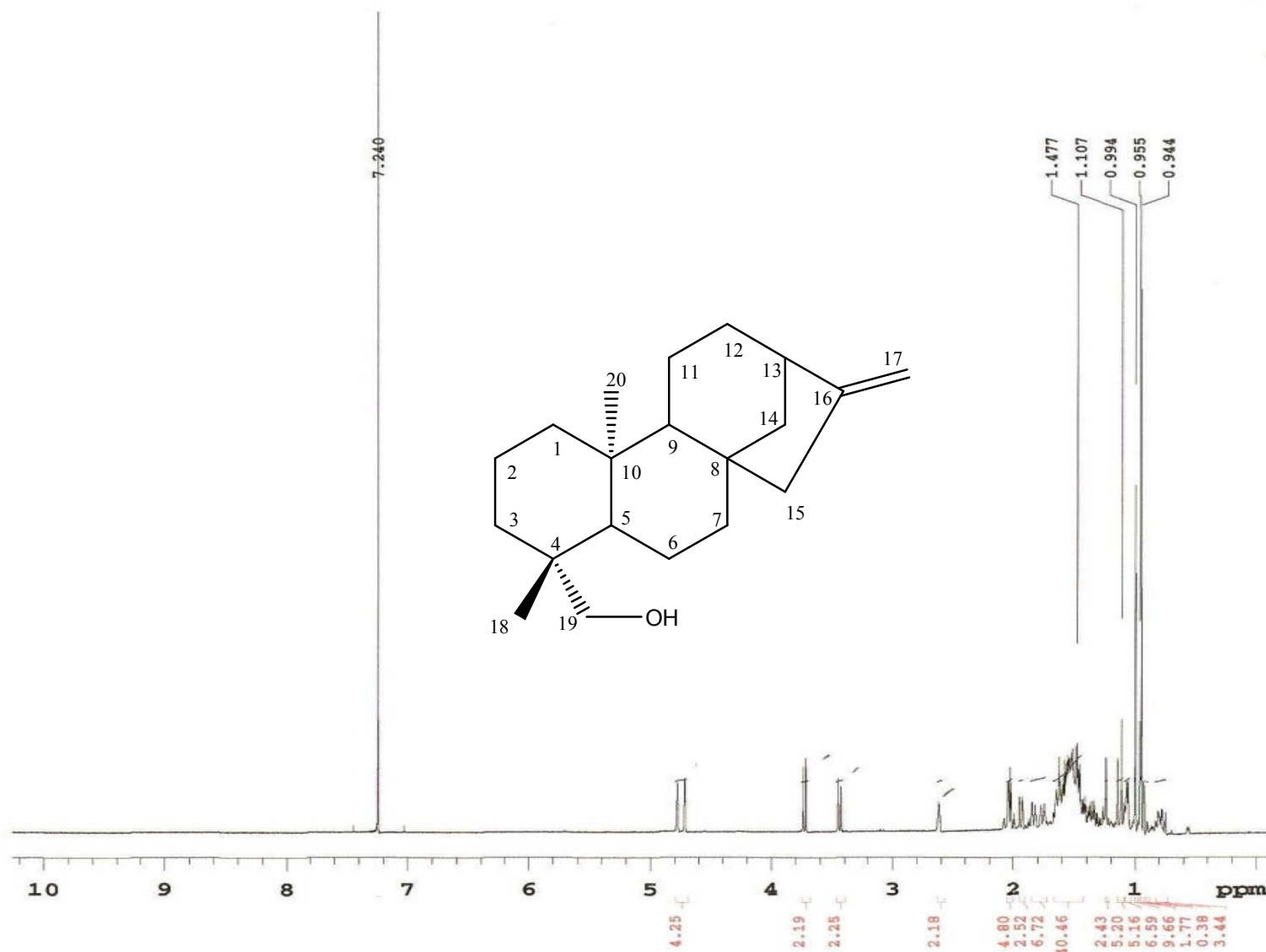


Figura 43: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-3 em CDCl_3 .

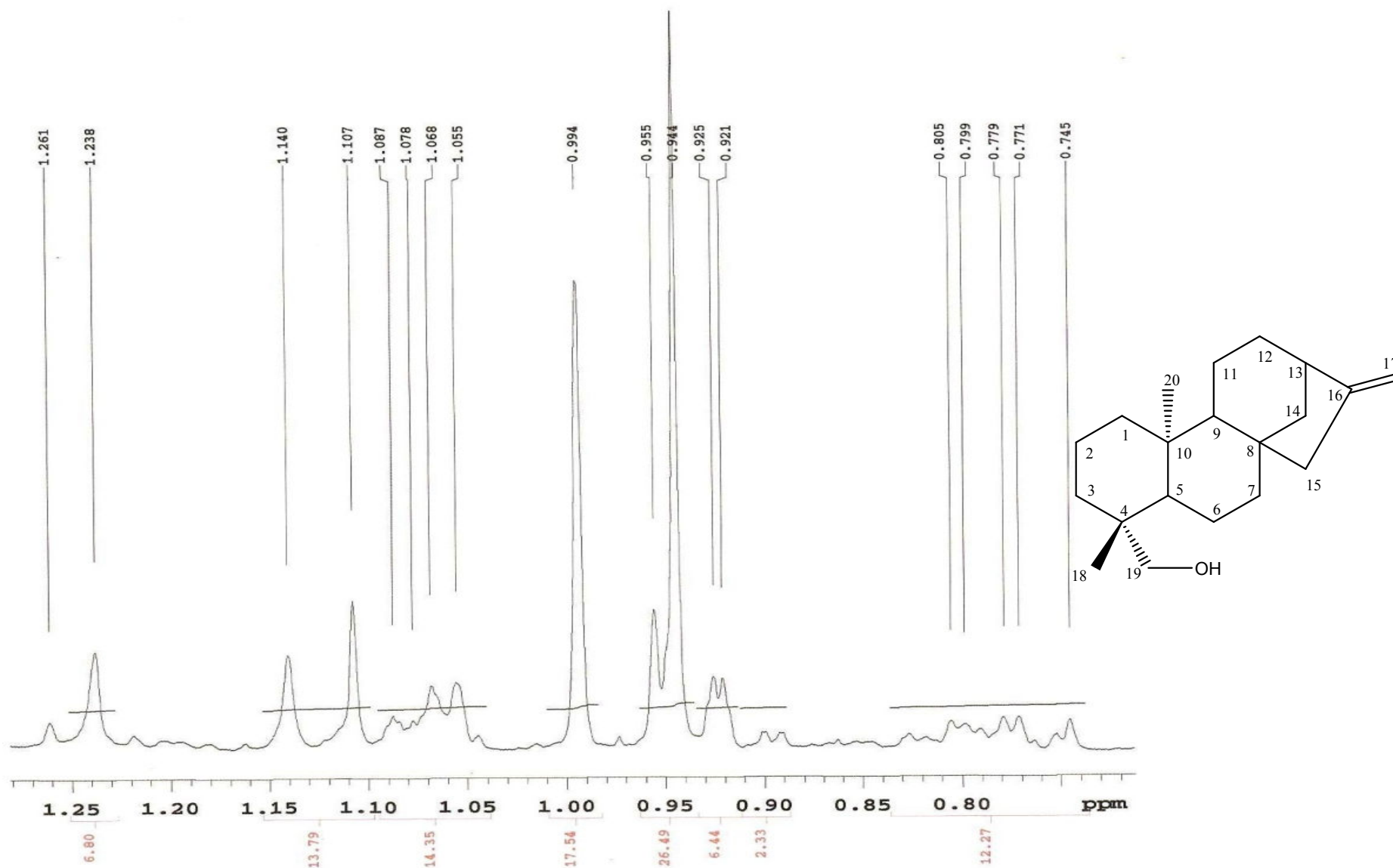


Figura 44: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-3 em CDCl_3 .

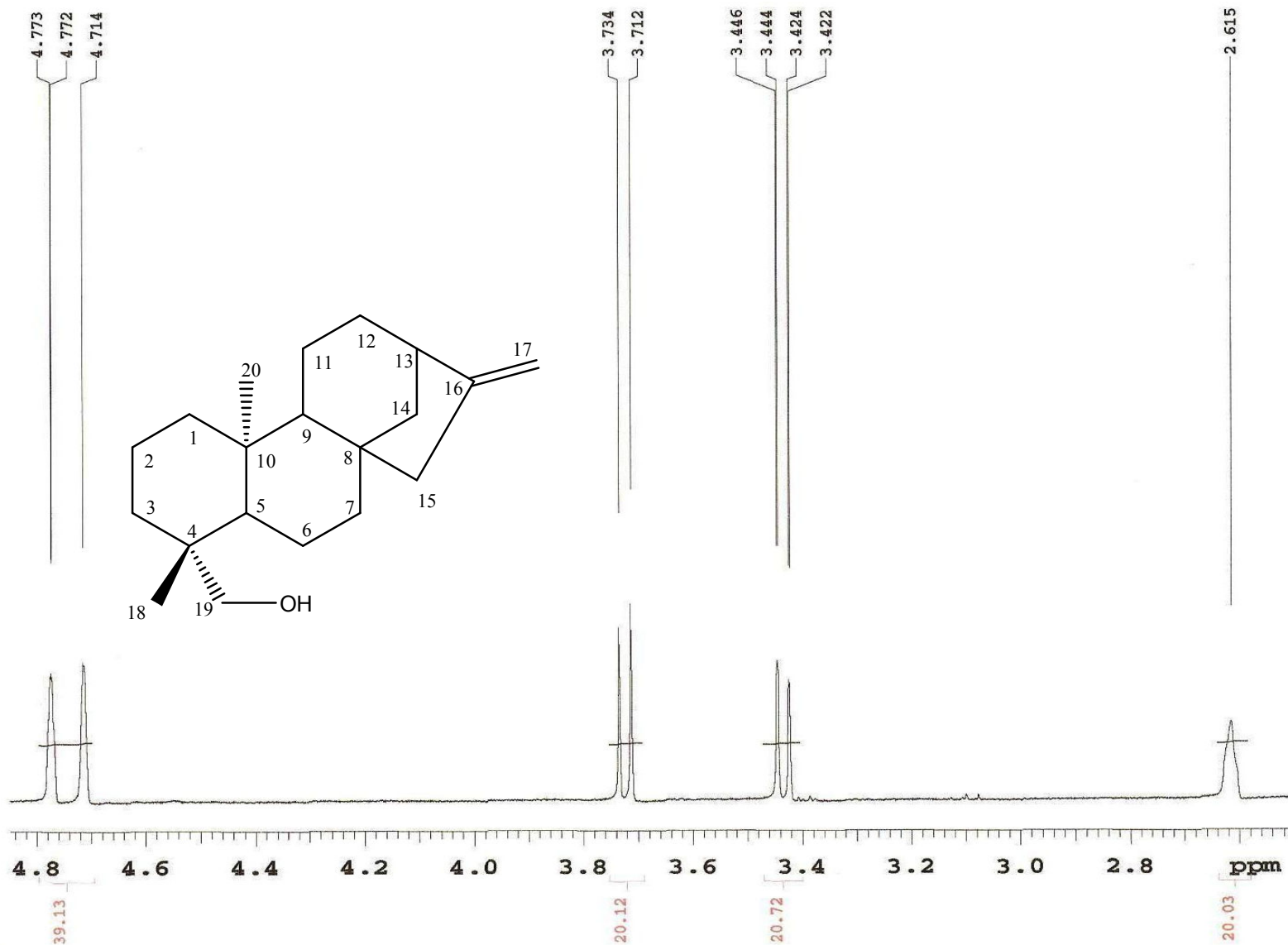


Figura 45: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-3 em CDCl_3 .

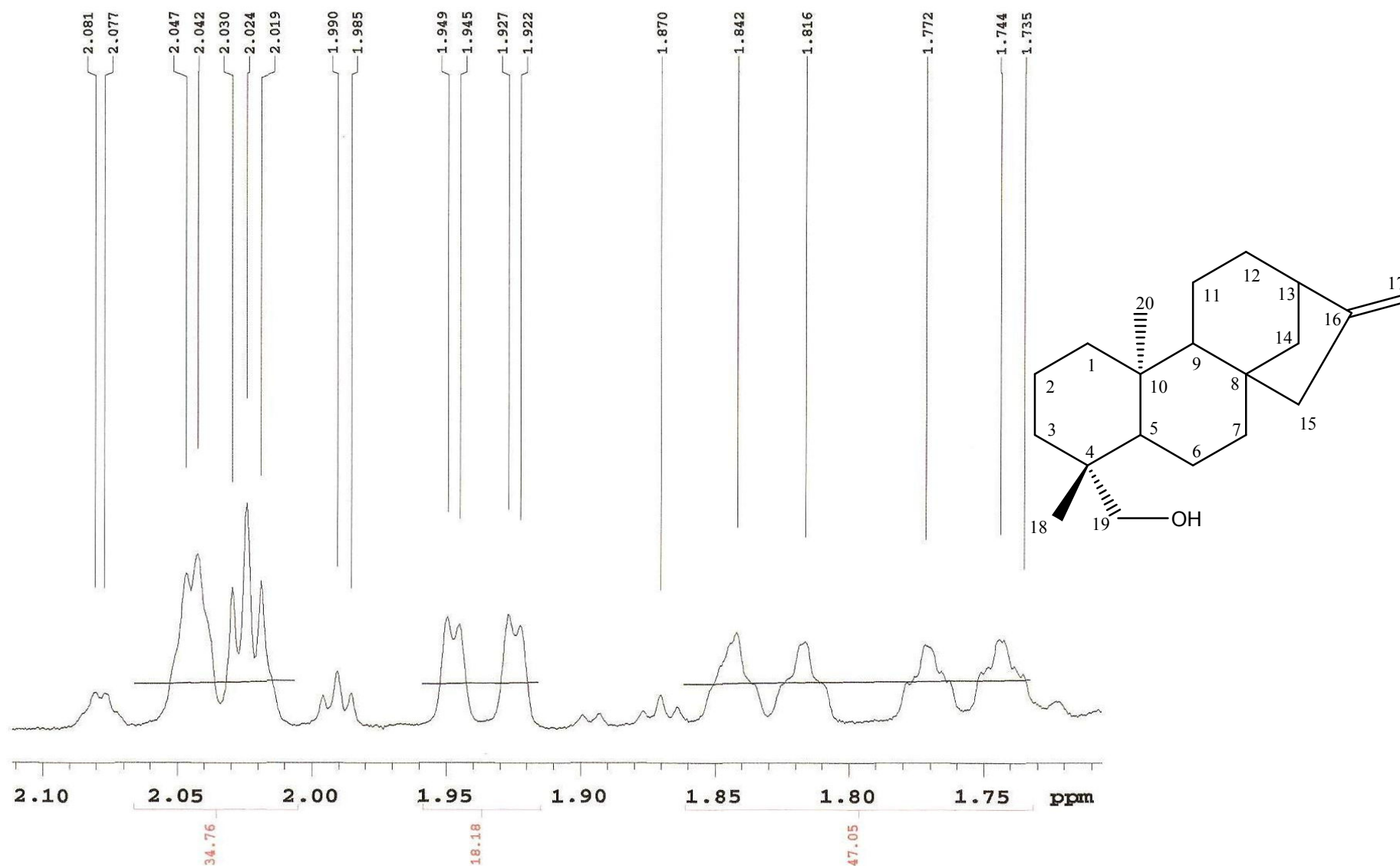


Figura 46: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-3 em CDCl_3 .

5.1.4 Determinação estrutural de XLR-4

A substância codificada como XLR-4 foi isolada na forma de um óleo incolor, solúvel em clorofórmio. O espectro de massas de alta resolução obtido por ESI positivo (HR-ESI-MS) (Fig. 48) mostrou um pico em m/z 371,2553, $[M+Na]^+$, correspondendo a fórmula molecular $C_{22}H_{36}O_3$.

O espectro de IV obtido em KBr (Fig. 49, Pág. 98) mostrou absorção em 3435 e 1734 cm^{-1} , sugerindo a presença de hidroxila de álcool terciário e carbonila de éster, respectivamente.

No espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz, $CDCl_3$) (Fig. 50, Pág. 99) observou-se a presença de 22 sinais. Destes, 5 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 4 a carbonos metínicos, 8 a carbonos metilênicos e 5 a carbonos metílicos. Os sinais de carbonos metínicos em δ_C 48,1, 46,8 e 37,8 ppm (Fig. 51, Pág. 100) comparados com a literatura sugerem um esqueleto carbônico do tipo atisano (DING & JIA, 1991).

O sinal em δ_C 72,0 ppm (Fig. 52, Pág. 101) é atribuído ao C-16 de diterpenos desse tipo, o que os diferenciam de diterpenos do tipo caurano em que o deslocamento químico de C-16 é 79,0 ppm (MARQUES *et al*, 2003).

Os sinais em δ_C 76,2, 170,5 e 21,2 ppm sugerem a presença de um acetoxi em XLR-4. Os deslocamentos químicos dos carbonos em δ_C 48,1 (C-H), 46,8 (C-H) e 50,4 ppm (CH_2) comparados ao diterpeno atisano *Xylodiol* isolado das folhas de *X. langsdorffiana* (TAVARES *et al*, 2007a) infere a localização do grupo acetoxi em C-7, e atribui esses deslocamentos químicos a C-5, C-9 e C-15, respectivamente.

No espectro de RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) (Fig. 53, Pág. 102) observou-se um envelope de sinais na região de δ_H 0,75 a 2,0 ppm com multiplicidades resolvidas e não resolvidas (Fig. 49, Pág. 98). Observou-se a presença de 5 singletos em δ_H 1,26, 0,75, 0,77, 0,94 e 2,0 ppm (Fig. 54, Pág. 103), sendo o primeiro ligado a carbono não hidrogenado oxigenado, e o ultimo característico de metila de grupo acetoxi. Os demais deslocamentos químicos estão compilados na Tabela 07.

Através da comparação dos dados de RMN 1H e ^{13}C de XLR-4 com os dados do *Xylodiol* (TAVARES *et al*, 2007a) foi possível identificá-lo como o seu derivado acetilado. O *ent*-atisan-7 α -acetoxi,16 α -ol cujo nome trivial foi atribuído *Acetato de Xylodiol* (Fig. 44).

O assinalamento inequívoco do *Acetato de Xylodiol* foi feito por uma extensa análise com técnicas bidimensionais.

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) (Fig. 55, Pág. 104), foi possível observar as correlações diretas entre os sinais em δ_{H} 1,26, 0,75, 0,77, 0,94 e 2,0 ppm com os carbonos em δ_{C} 30,5 33,0, 21,4, 13,4 e 21,2 ppm (Fig. 56, Pág. 105) que foram atribuídos a CH_3 -17, CH_3 -18, CH_3 -19, CH_3 -20 e CH_3 -22, respectivamente. Observou-se ainda correlações dos sinais em δ_{H} 1,30, 4,6, 1,59, 1,52 ppm com os carbonos δ_{C} 48,1, 76,2, 46,8 e 37,8 ppm (Fig. 57, Pág. 106) que foram atribuídos a CH-5, CH-7, CH-9 e CH-12, respectivamente (Fig. 51 e 52, Pág. 100 e 101). As demais correlações estão compiladas na Tabela 07.

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) (Fig. 58, Pág. 107) e suas expansões notou-se correlações do sinais em δ_{H} 4,6 ppm (H-7) com os sinais em δ_{C} 48,1 e 46,8 ppm (Fig. 59, Pág. 108) confirmando a inserção do grupo acetoxi em C-7. Pode-se verificar também, correlações do sinal em 0,75 (CH_3 -18) com os sinais em δ_{C} 42,0, 32,4, 48,1 e 21,4 ppm (Fig. 60, Pág. 109) que foram atribuídos a C-3, C-4, C-5 e C-19, respectivamente. E correlações do sinal em δ_{H} 1,26 ppm (CH_3 -17) com sinais em δ_{C} 50,4 e 37,8 ppm (Fig. 61, Pág. 110) que foram atribuídos a C-15 e C-12, respectivamente. As demais correlações estão compiladas na Tabela 04.

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ gCOSY (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 62, Pág. 111) foi possível observar correlações dos sinais em δ_{H} 1,30 (H-5) com δ_{H} 1,58 ppm (Fig. 63 e 64, Pág. 112 e 113) que foi atribuído a H-6, e desse com δ_{H} 2,0 ppm que foi atribuído a H-11.

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 65, Pág. 114), observamos correlações dos sinais em δ_{H} 0,77 (Me-19) e δ_{H} 0,94 ppm (Me-20), com δ_{H} 0,94 (Me-20) e δ_{H} 4,6 ppm (H-7), respectivamente (Fig. 66 e 67, Pág. 115 e 116). Determinando a estereoquímica relativa de Me-19, Me-20 e H-7.

Após análise dos dados de RMN 1D e 2D pode-se concluir que XLR-4 trata-se do *ent*-*atisan-7 α* -acetoxi-16 α -ol (*Acetato de Xylodiol*) sendo esse o primeiro relato dessa substância na literatura (Fig. 47, Pág. 96).

Na Figura 68 e 69 (Pág. 117 e 118) podemos verificar o espectro de massas obtido por ESI (ION TRAP) e a proposta de fragmentação para XLR-4, respectivamente.

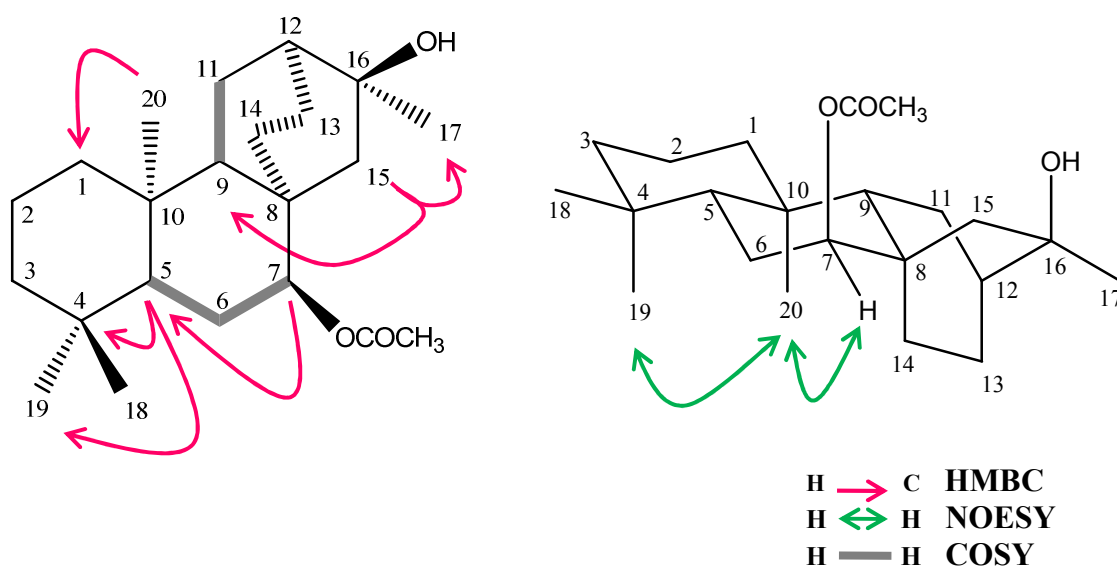


Figura 47: *ent*-atisan-7 α -acetoxi-16 α -ol e correlação HMBC, COSY e NOESY.

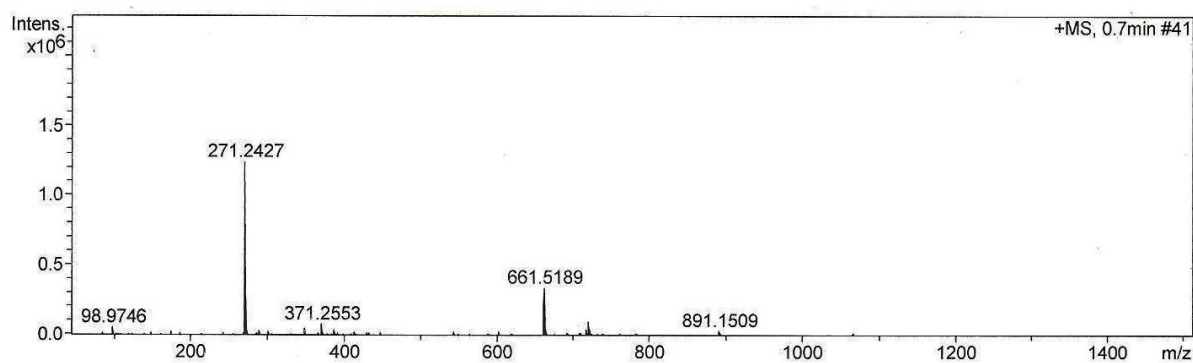


Figura 48: Espectro de massas obtido por ESI positivo (HR-ESI-MS), de XLR-4.

Tabela 07: Dados de RMN de XLR-4 a 500 MHz em CDCl₃.

	HMQC		HMBC	COSY ¹ H x ¹ H	NOESY ¹ H x ¹ H	TAVARES (2007a) δ_c
	δ_c	δ_H				
C						
4	32,4	-				32,5
8	37,9	-				37,7
10	37,6	-				37,7
16	72,0	-				72,2
CH						
5	48,1	1,30 (<i>m</i>)	C-4, C-19	H-6		47,3
7	76,2	4,6 (<i>sl</i>)	C-5, C-9	H-6		73,8
9	46,8	1,59 (<i>m</i>)		H-11		46,0
12	37,8	1,52 (<i>m</i>)				38,1
CH₂						
1	39,1	0,85 (<i>m</i>); 1,52 (<i>m</i>)		H-1		39,1
2	18,0	1,40 (<i>m</i>); 1,58 (<i>m</i>)				18,1
3	42,0	1,17 (<i>m</i>); 1,40 (<i>m</i>)		H-3		42,0
6	24,0	1,58 (<i>m</i>); 1,66 (<i>m</i>)				26,8
11	22,5	2,0 (<i>m</i>)	C-8	H-11		22,4
13	23,4	1,51 (<i>m</i>)				23,5
14	26,5	0,98 (<i>m</i>); 1,70 (<i>m</i>)		H-14		26,7
15	50,4	1,17 (<i>m</i>); 1,59 (<i>m</i>)	C-9, C-17, C-14	H-15		51,3
CH₃						
17	30,5	1,26 (<i>s</i>)	C-15, C-12			30,5
18	33,0	0,75 (<i>s</i>)	C-3, C-4, C-5, C-19			33,1
19	21,4	0,77 (<i>s</i>)			CH ₃ -20	21,6
20	13,4	0,94 (<i>s</i>)	C-1, C-5, C-9, C-10		H-7	13,4
OCOCH ₃	170,5	-				-
OCOCH ₃	21,2	2,0 (<i>s</i>)				-

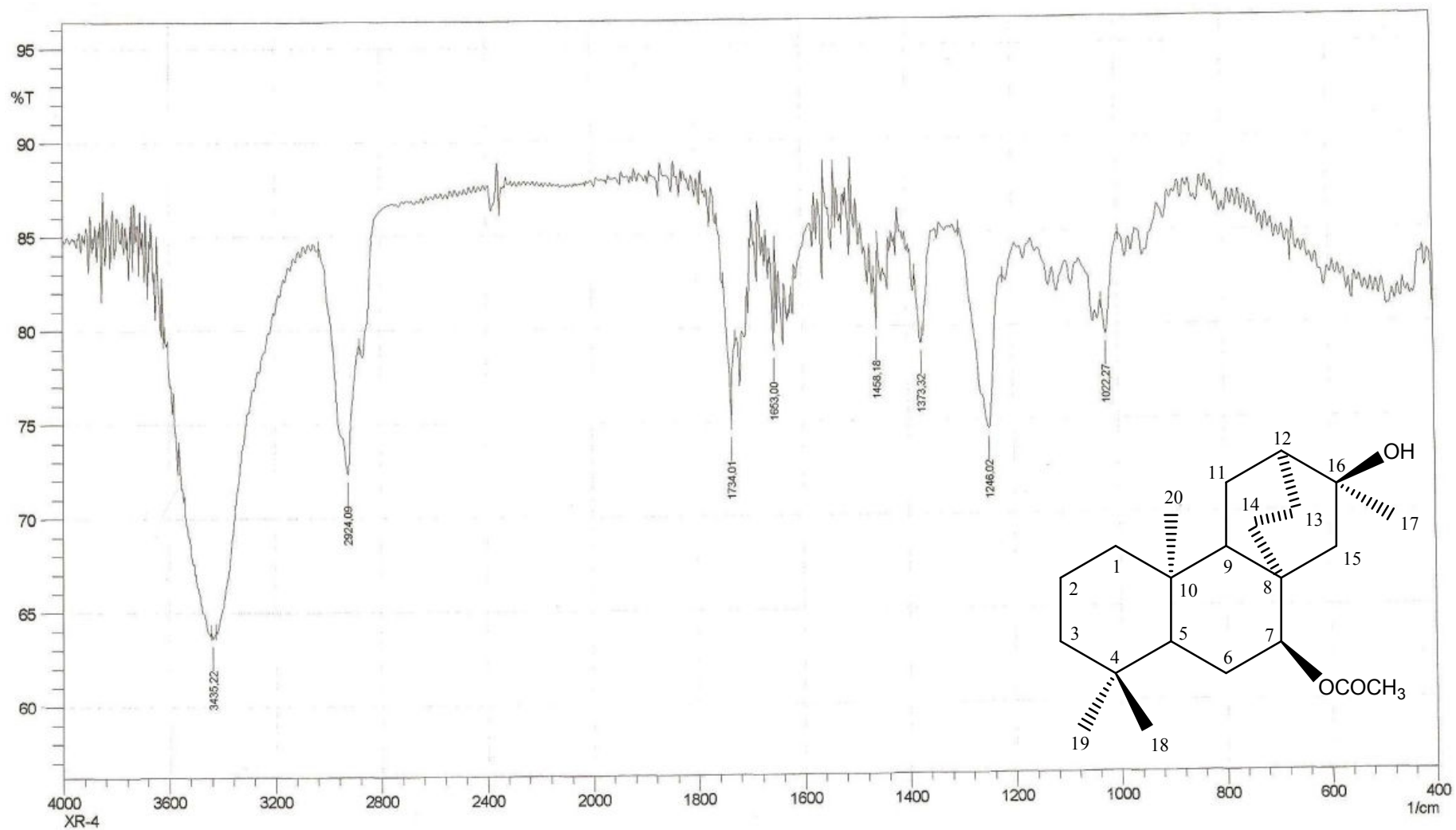


Figura 49: Espectro de IV obtido em KBr de XLR-4.

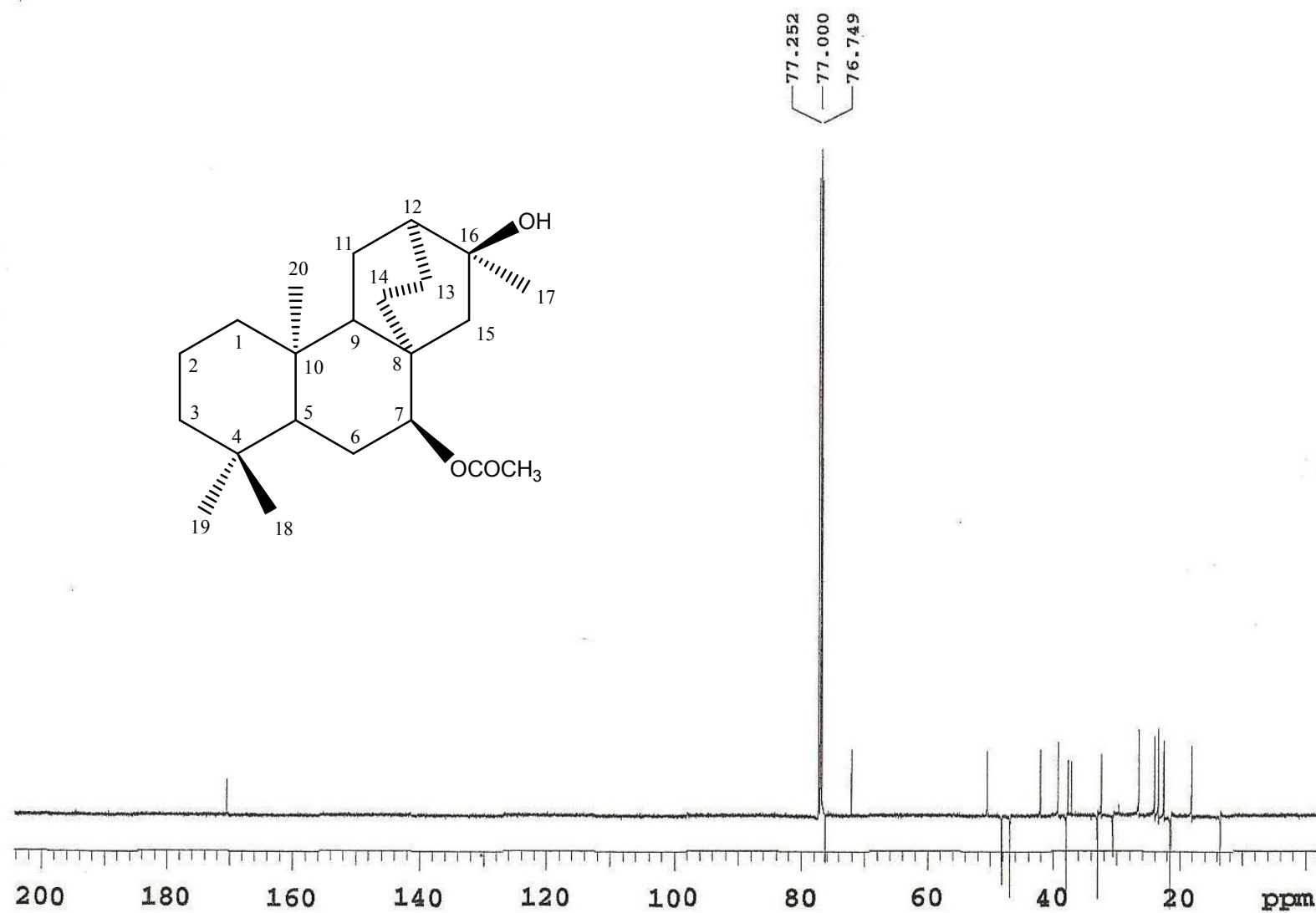


Figura 50: Espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

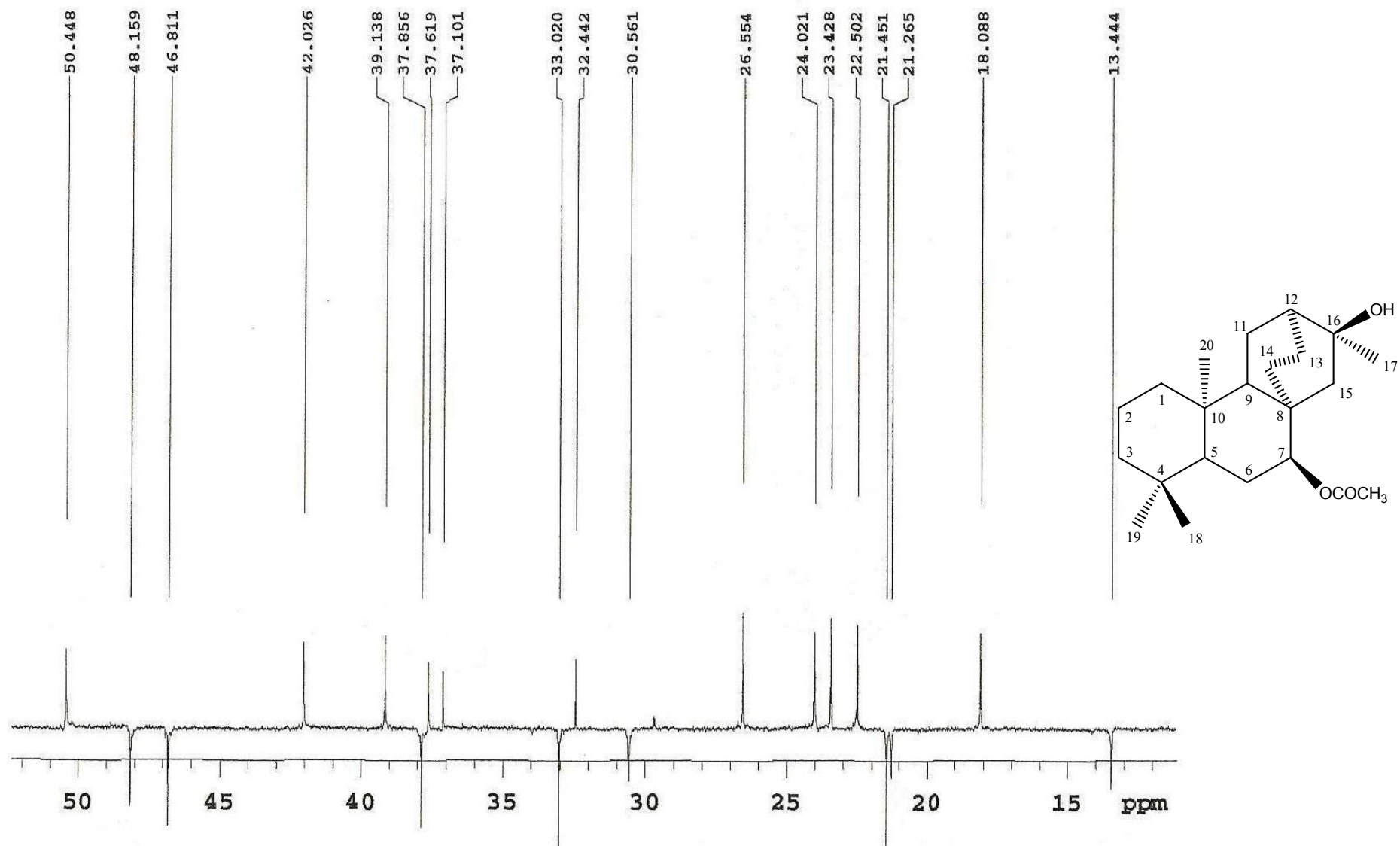


Figura 51: Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

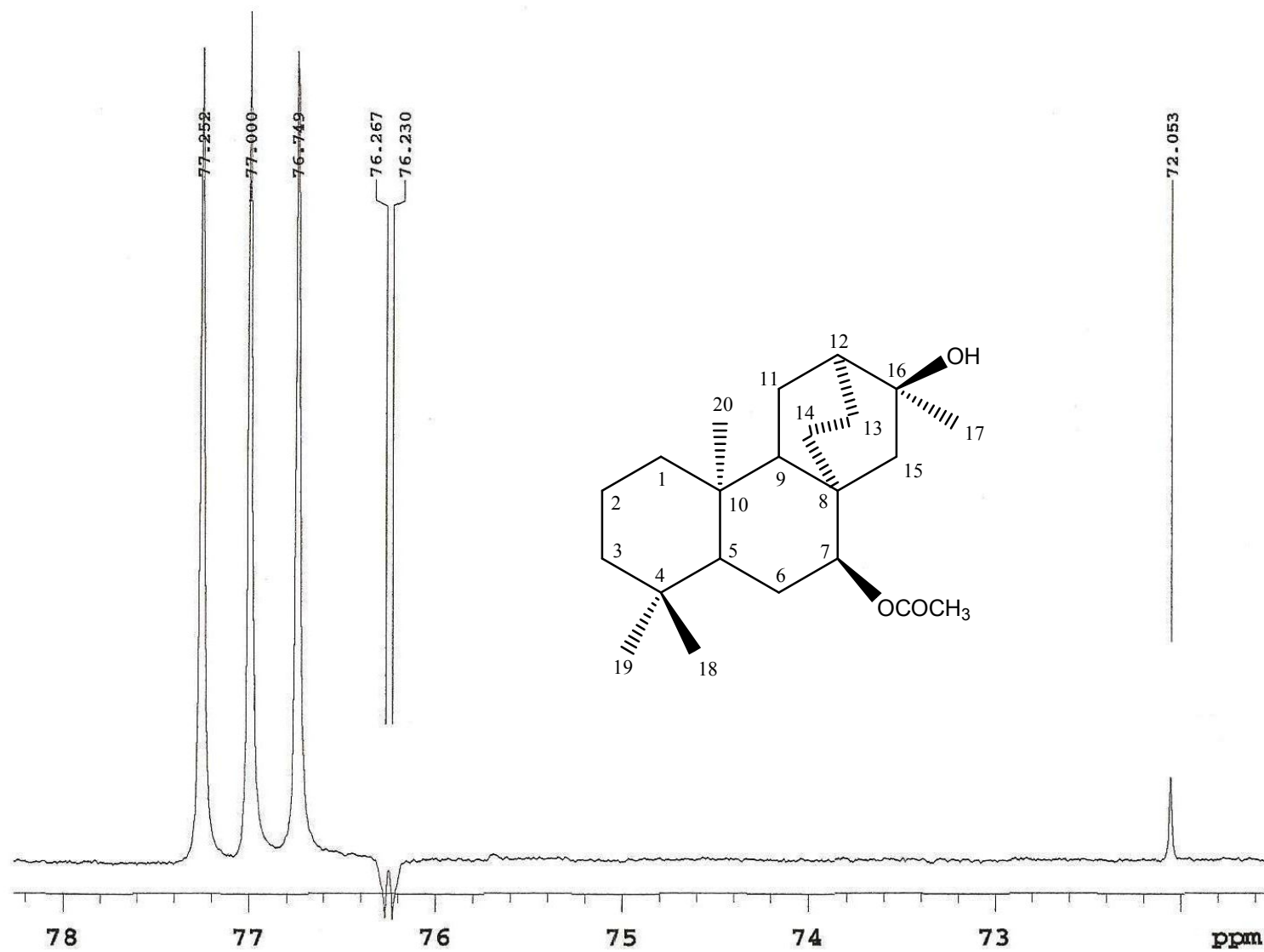


Figura 52: Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

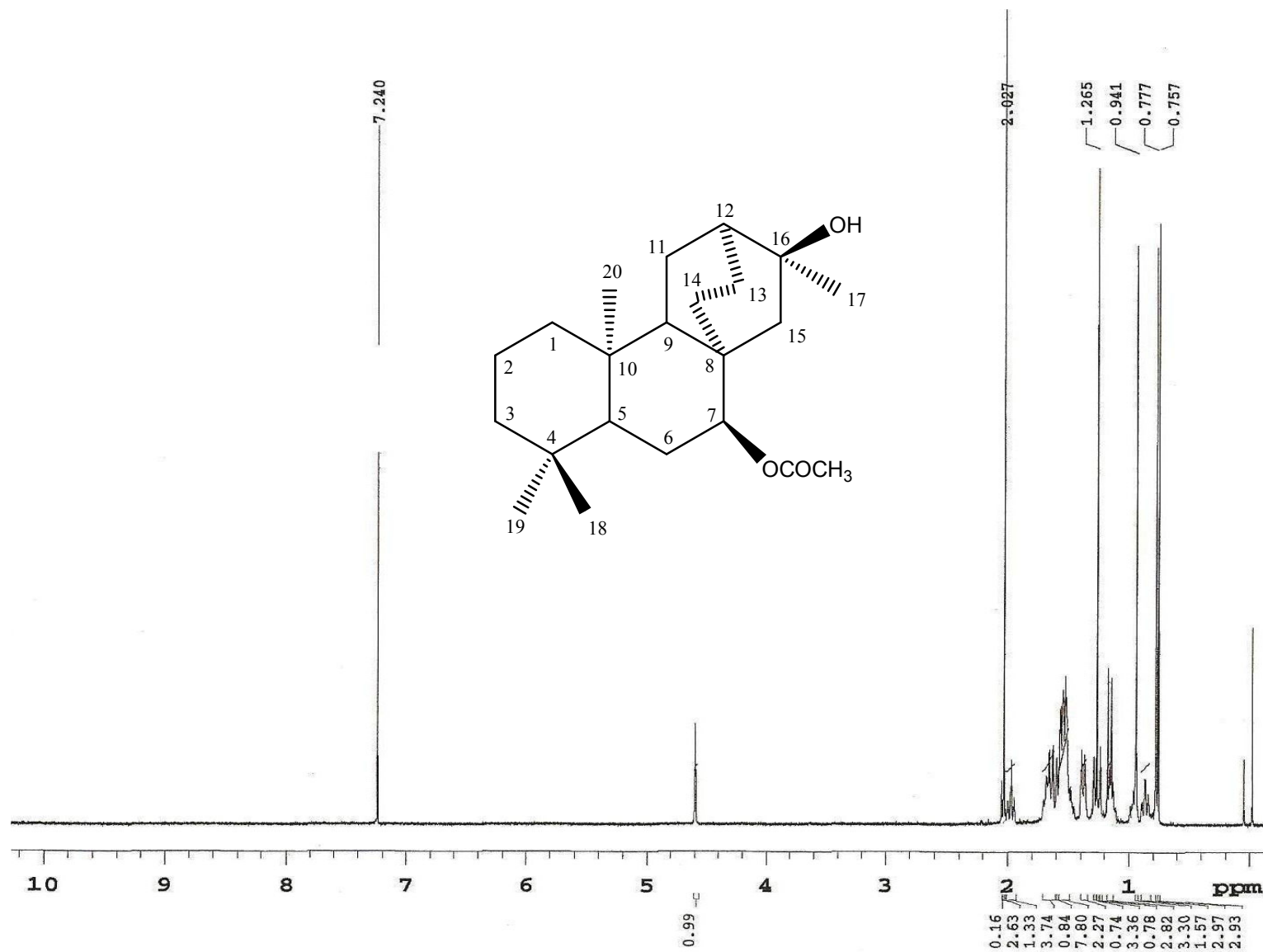


Figura 53: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

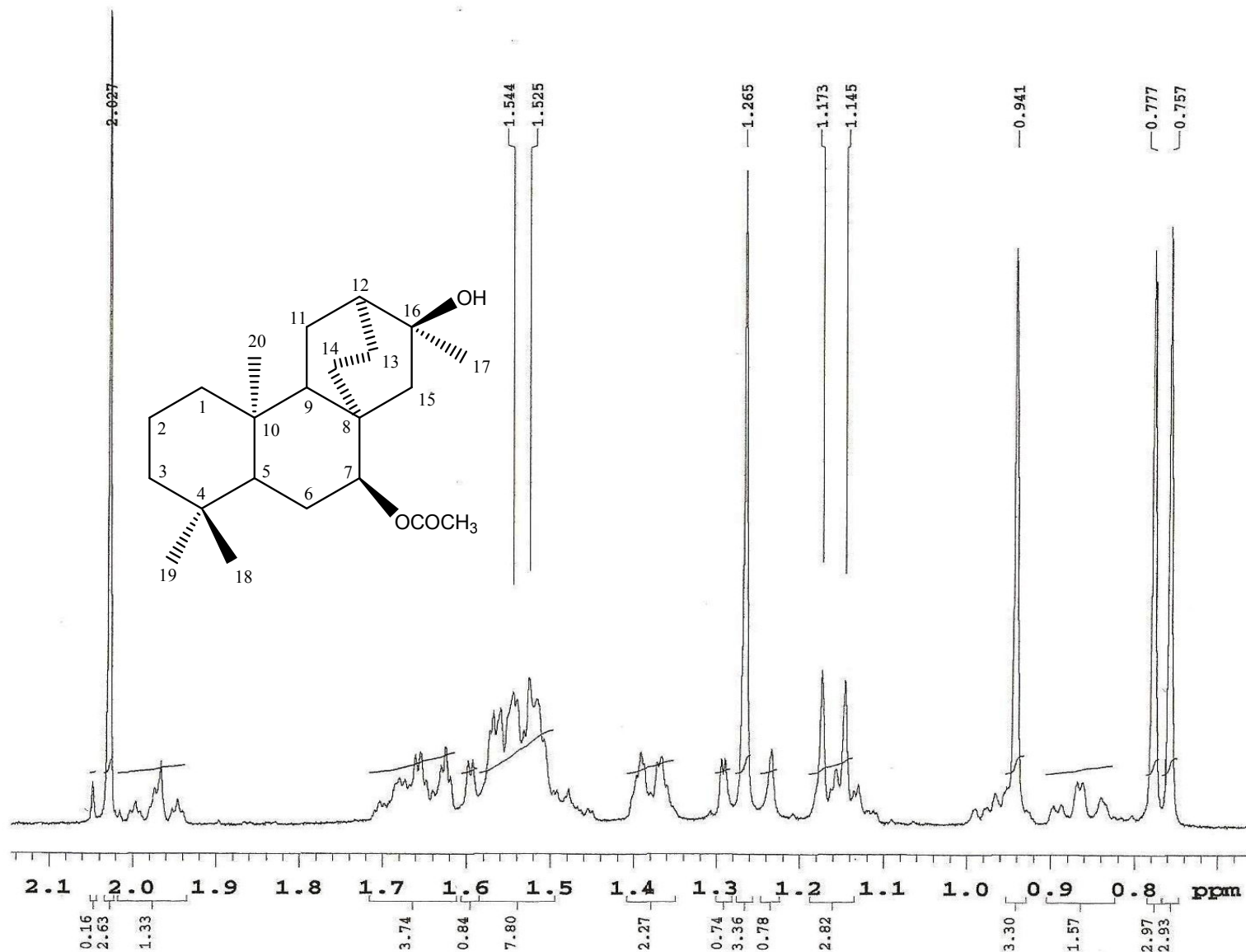


Figura 54: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

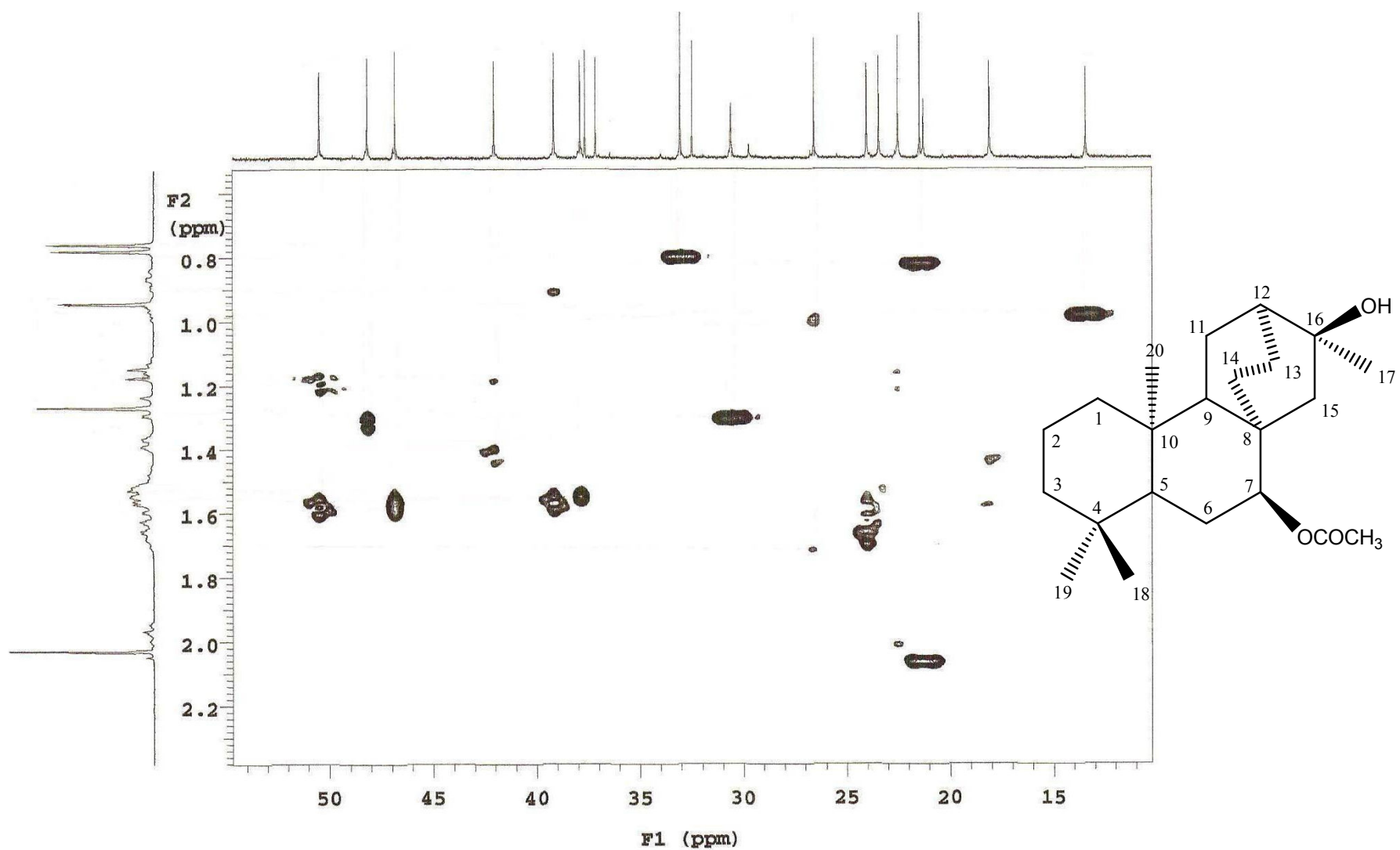


Figura 55: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

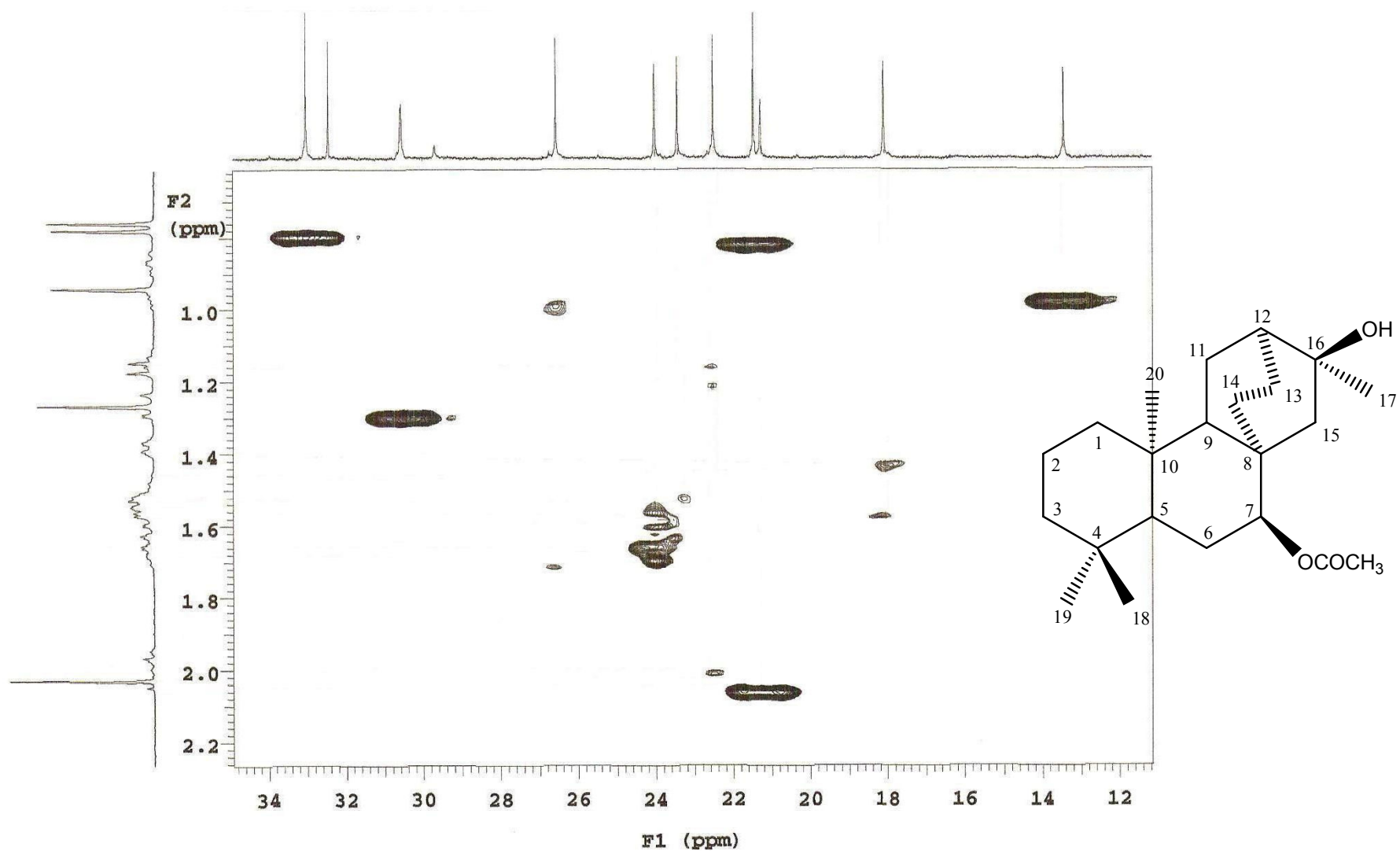


Figura 56: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMQC (500 e 125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

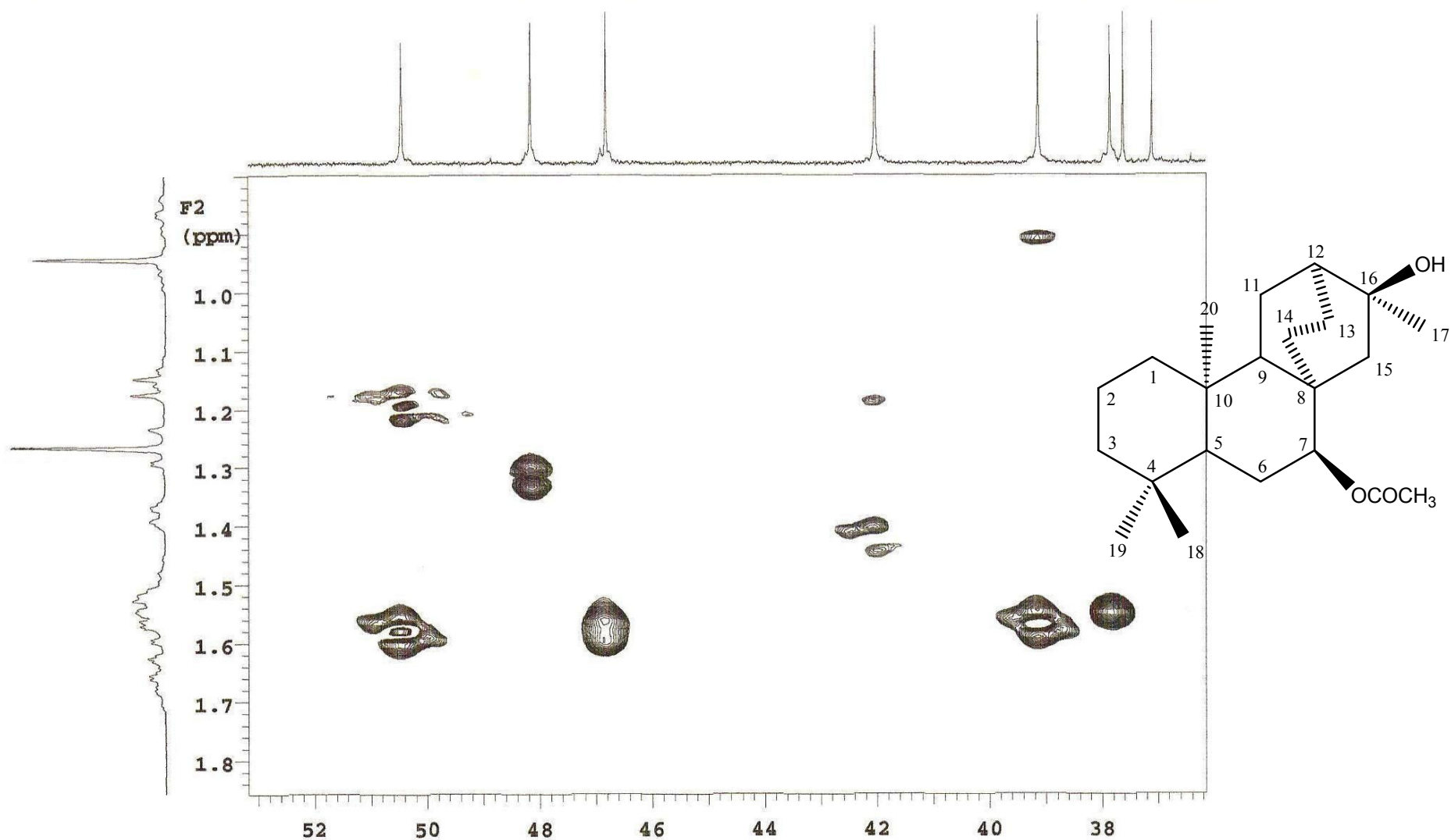


Figura 57: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

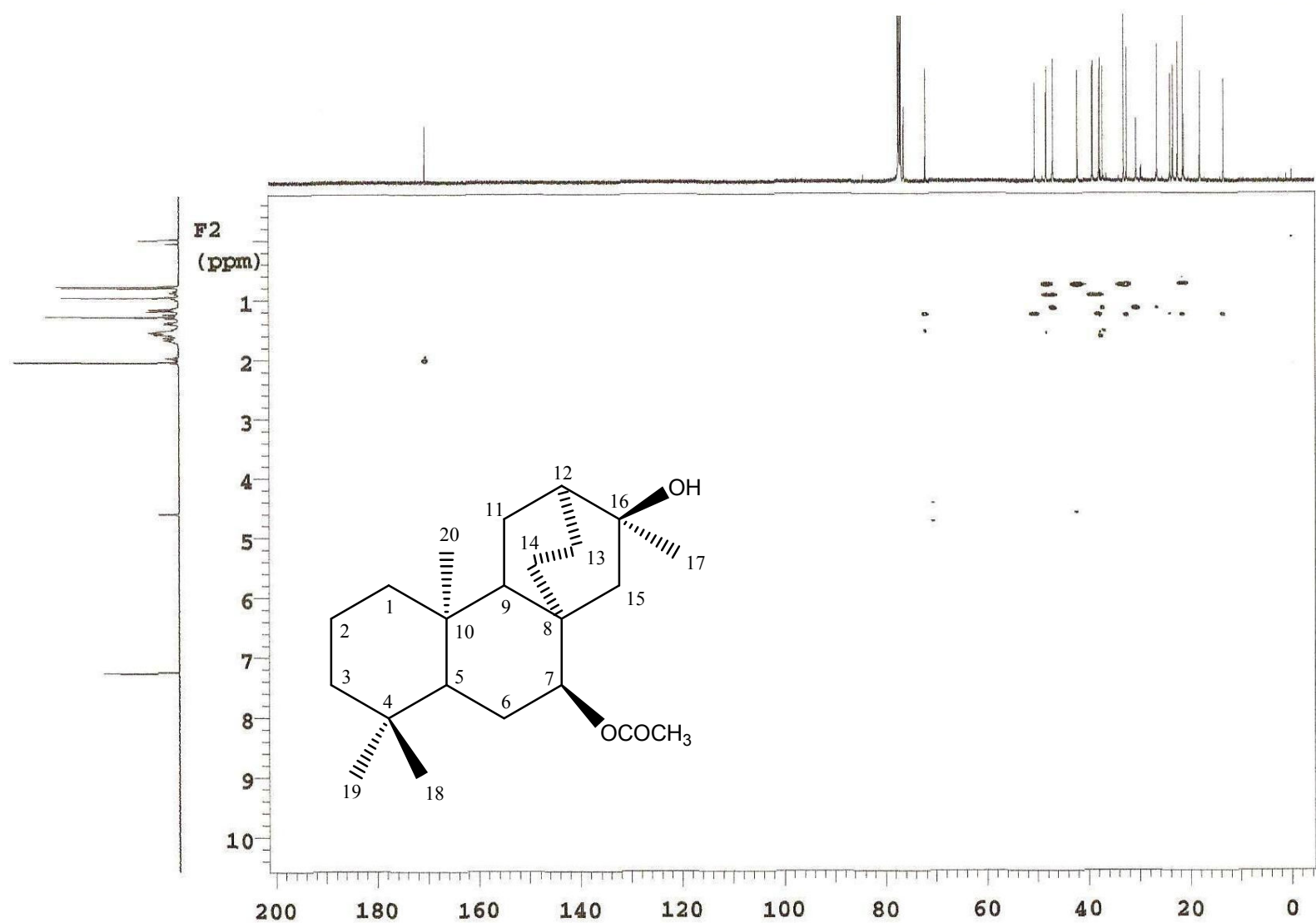


Figura 58: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

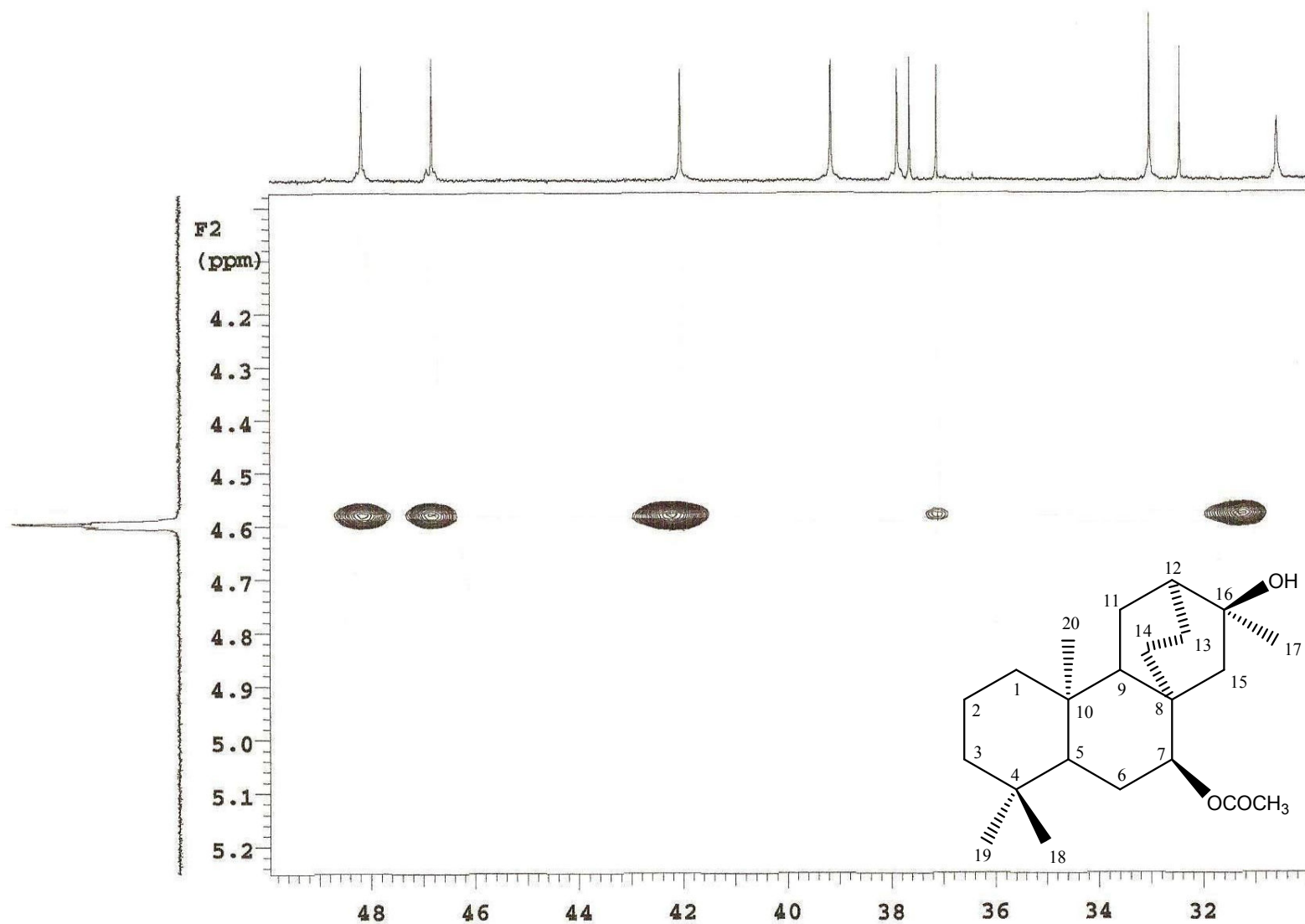


Figura 59: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

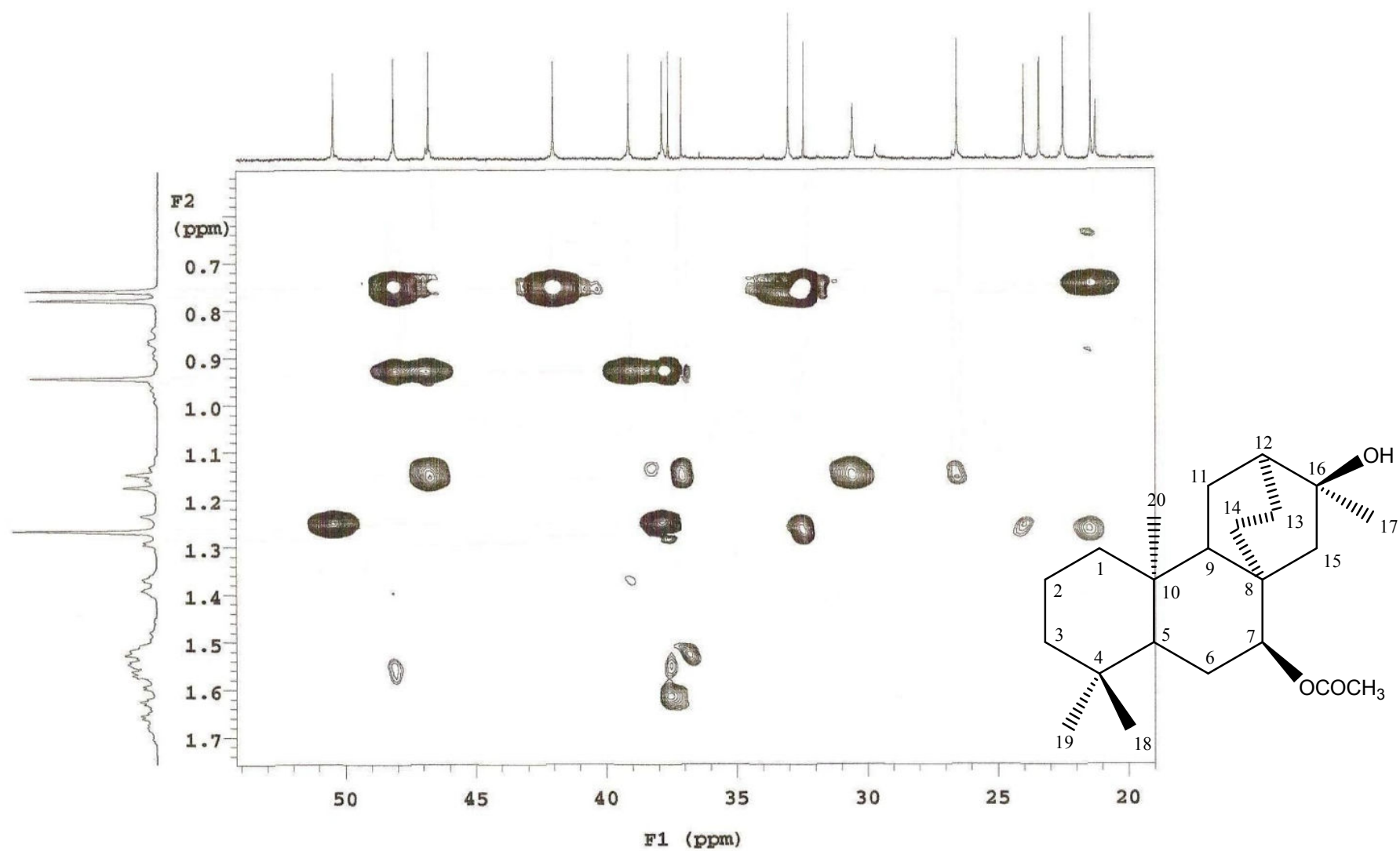


Figura 60: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

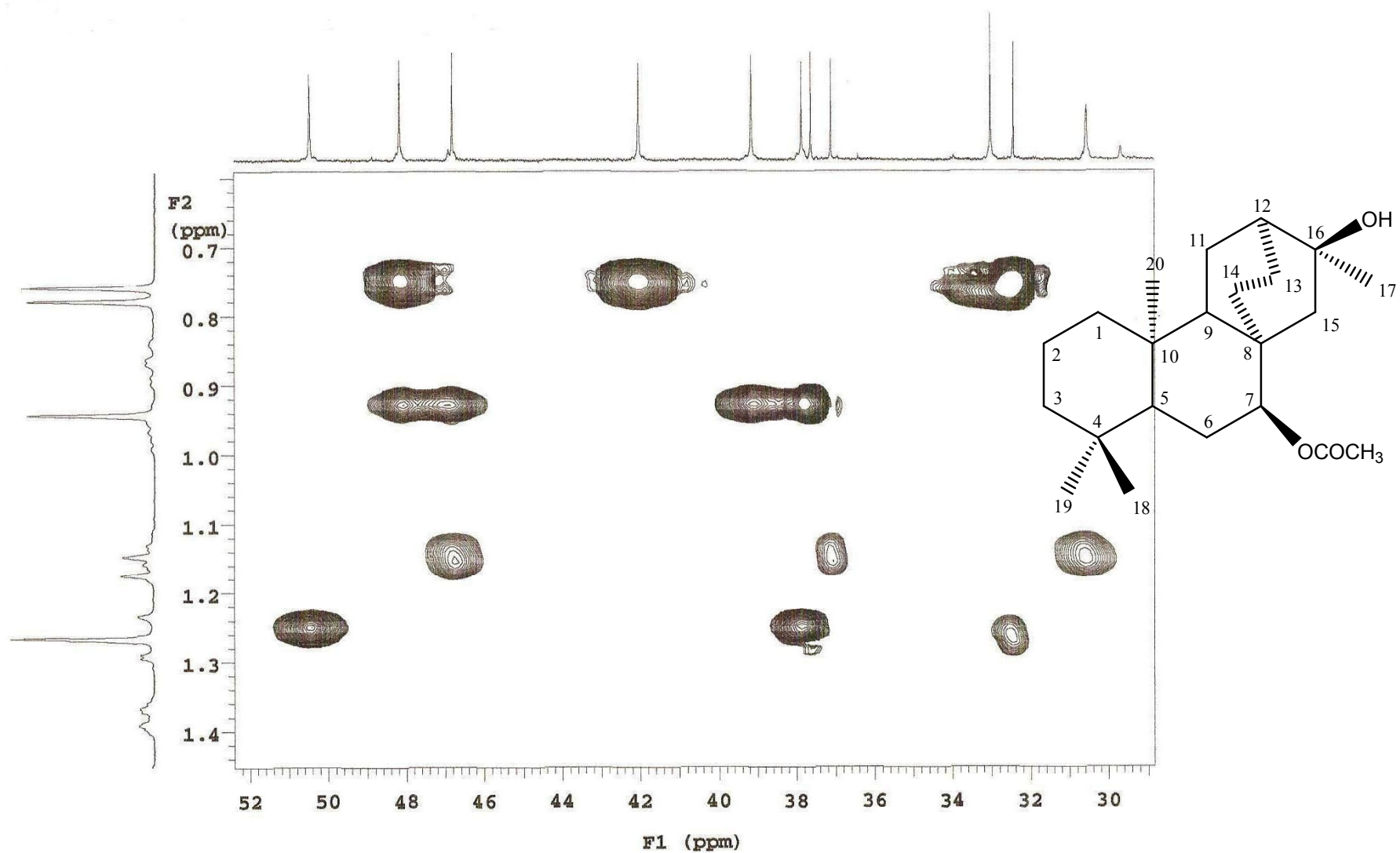


Figura 61: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

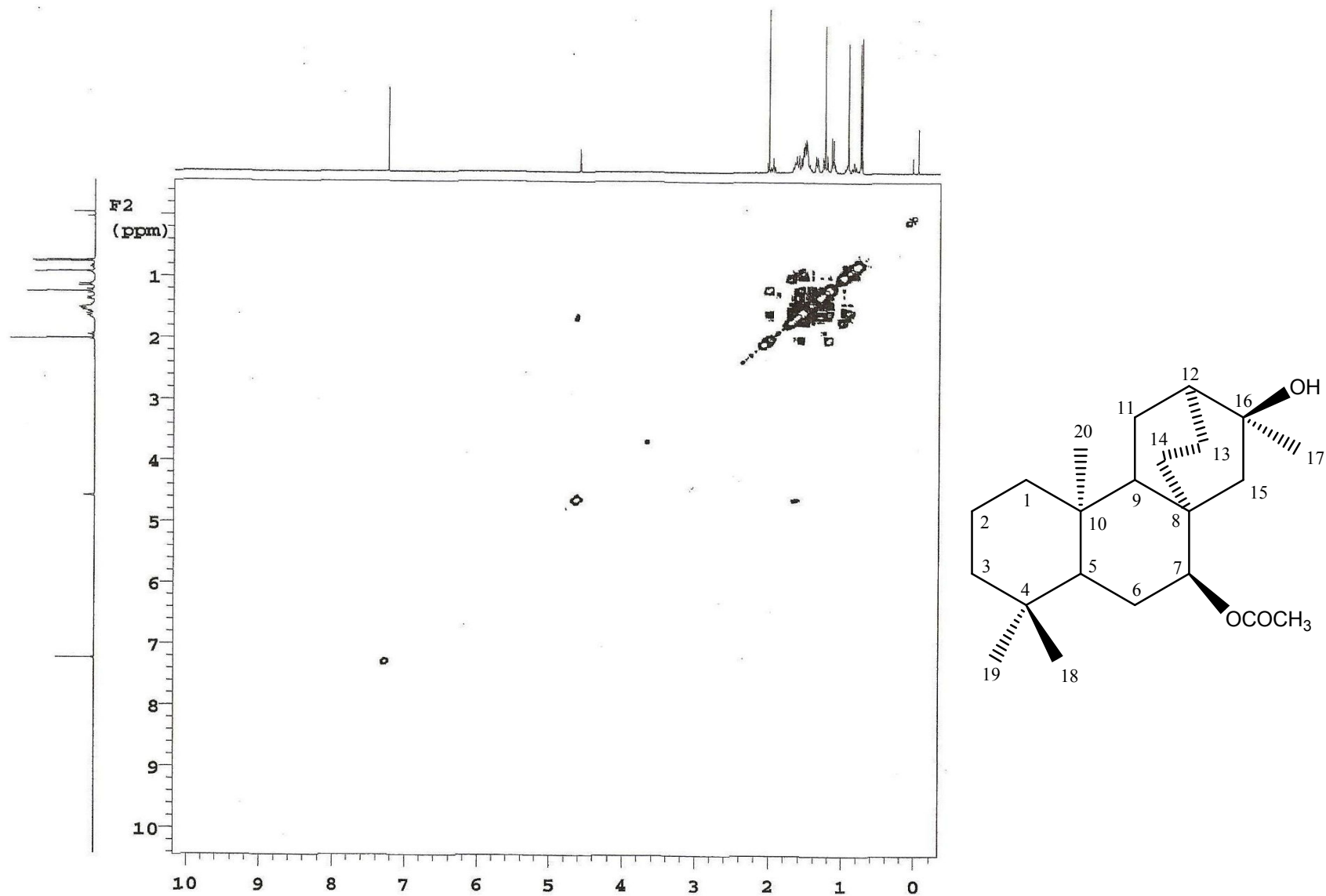


Figura 62: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ gCOSY (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

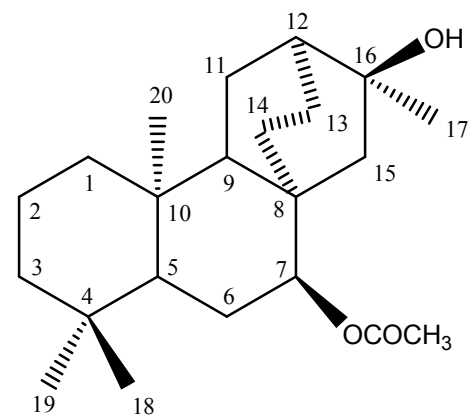
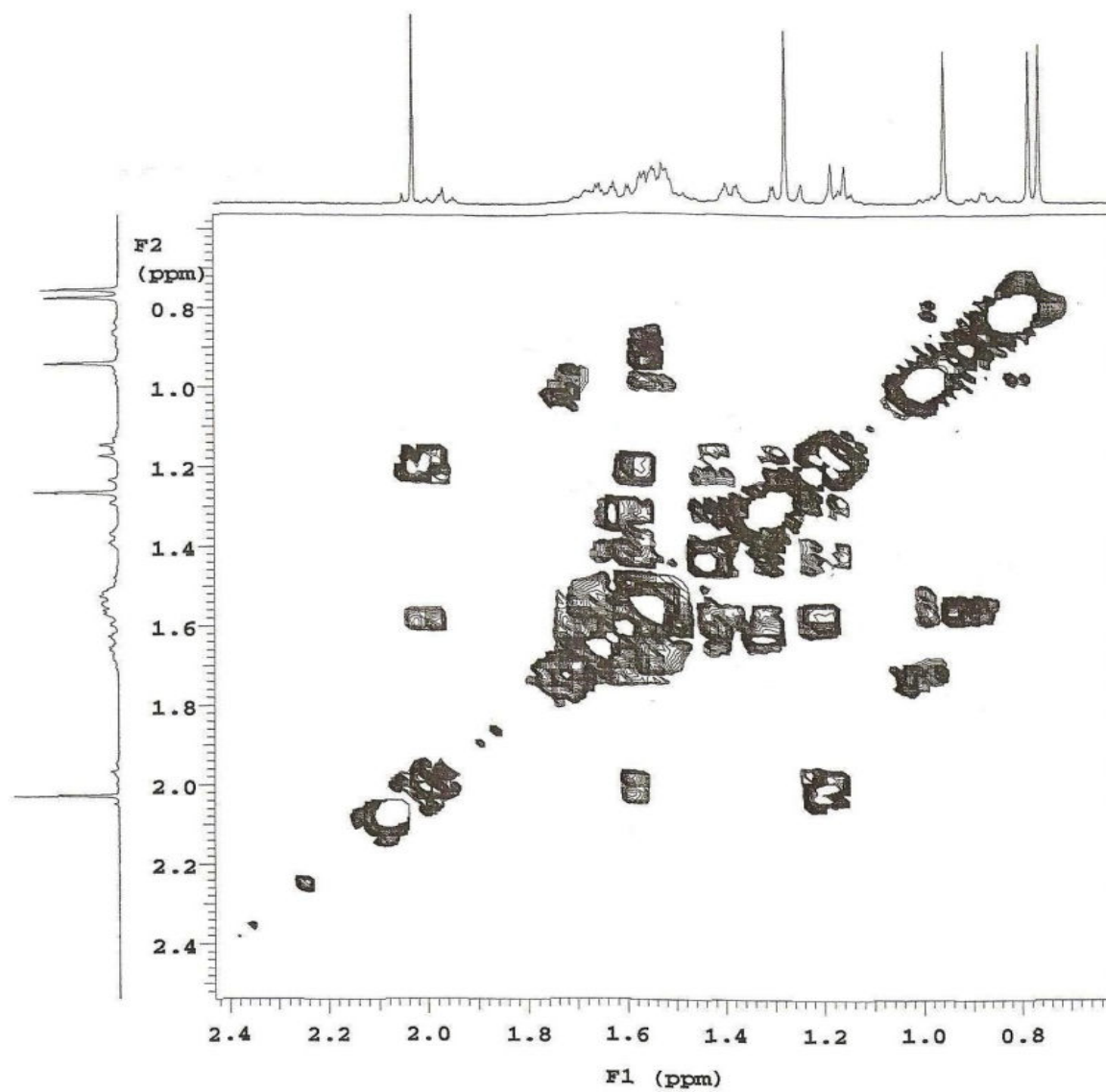


Figura 63: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ gCOSY (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

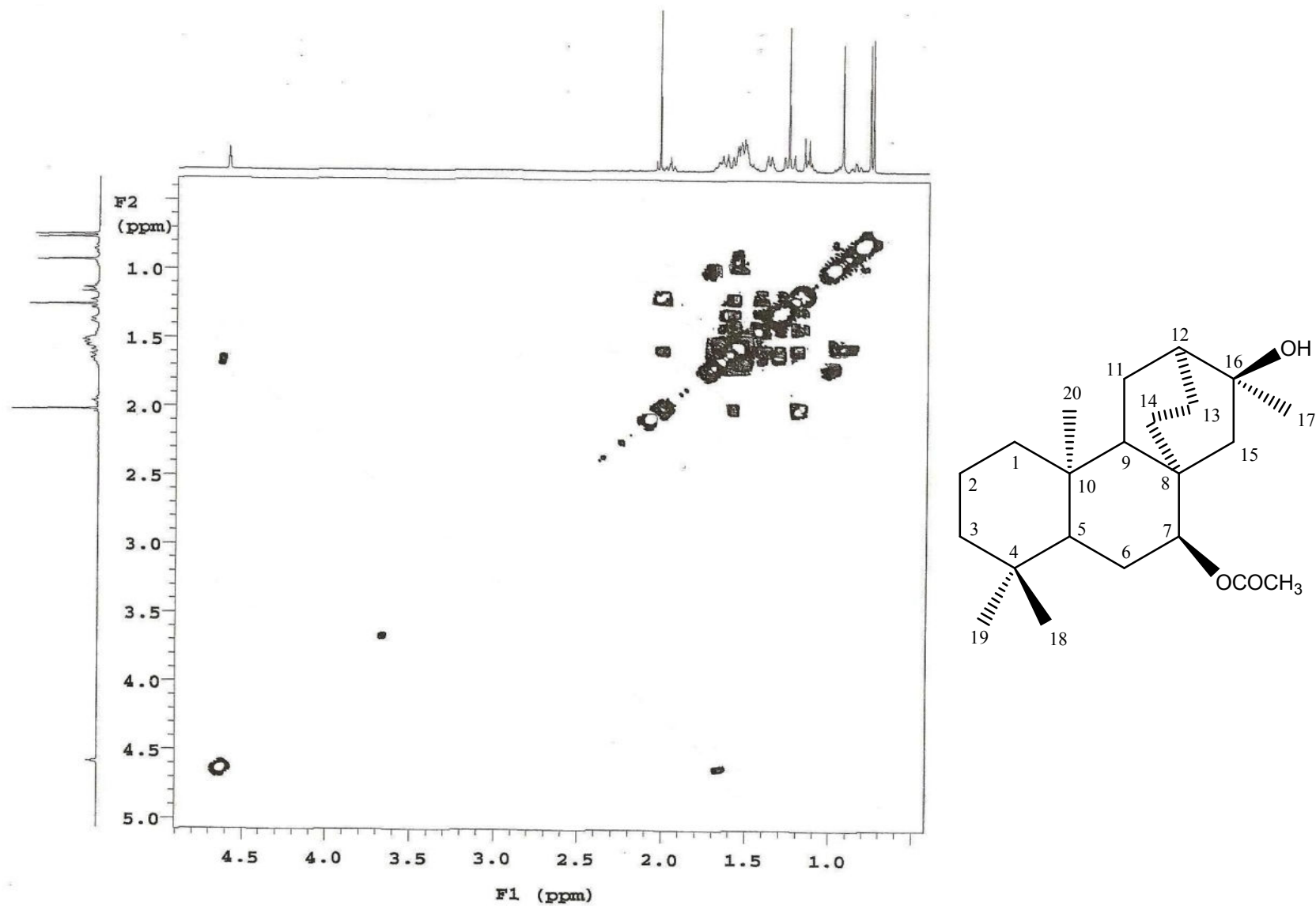


Figura 64: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ gCOSY (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

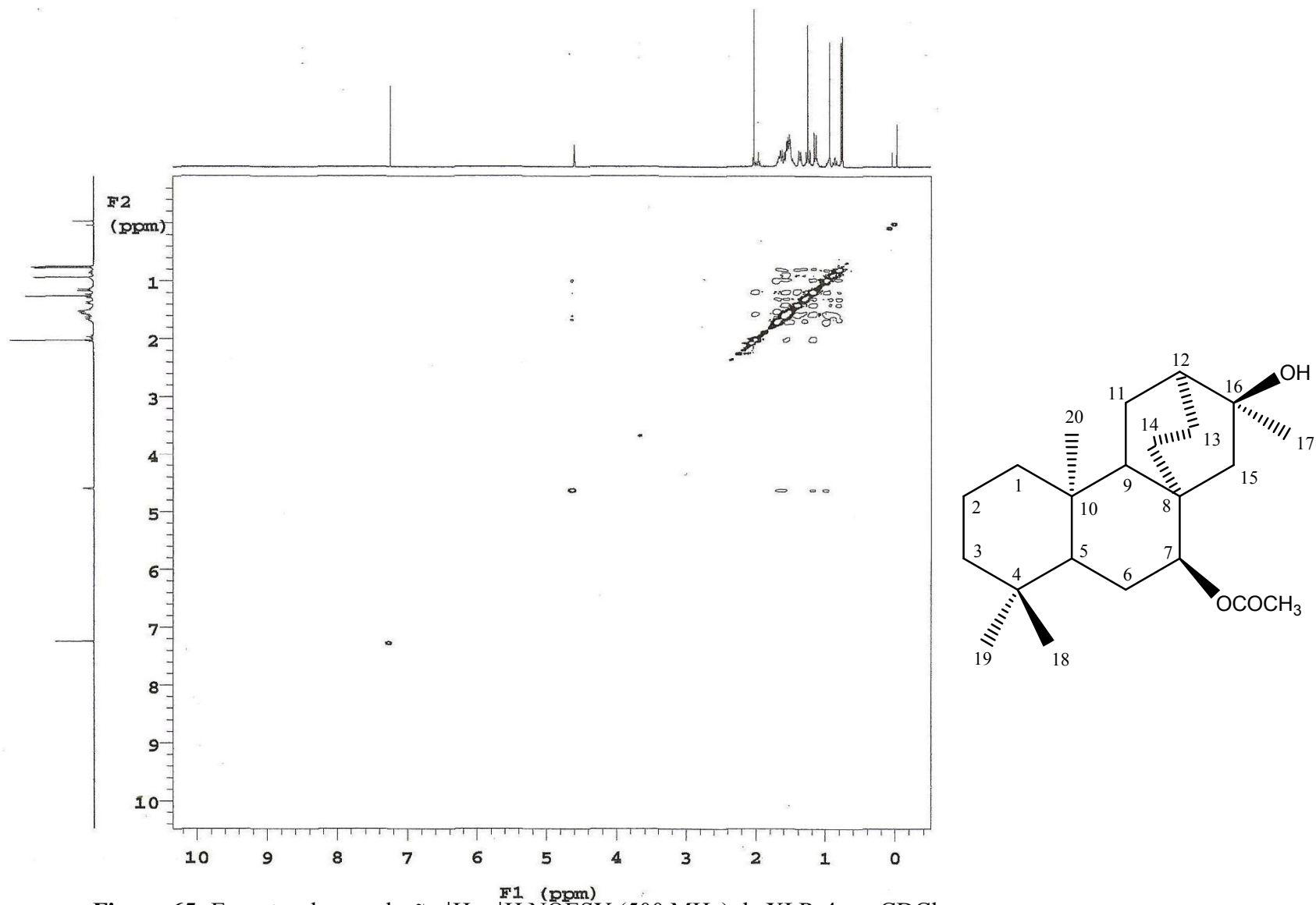


Figura 65: Espectro de correlação ^1H x ^1H NOESY (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

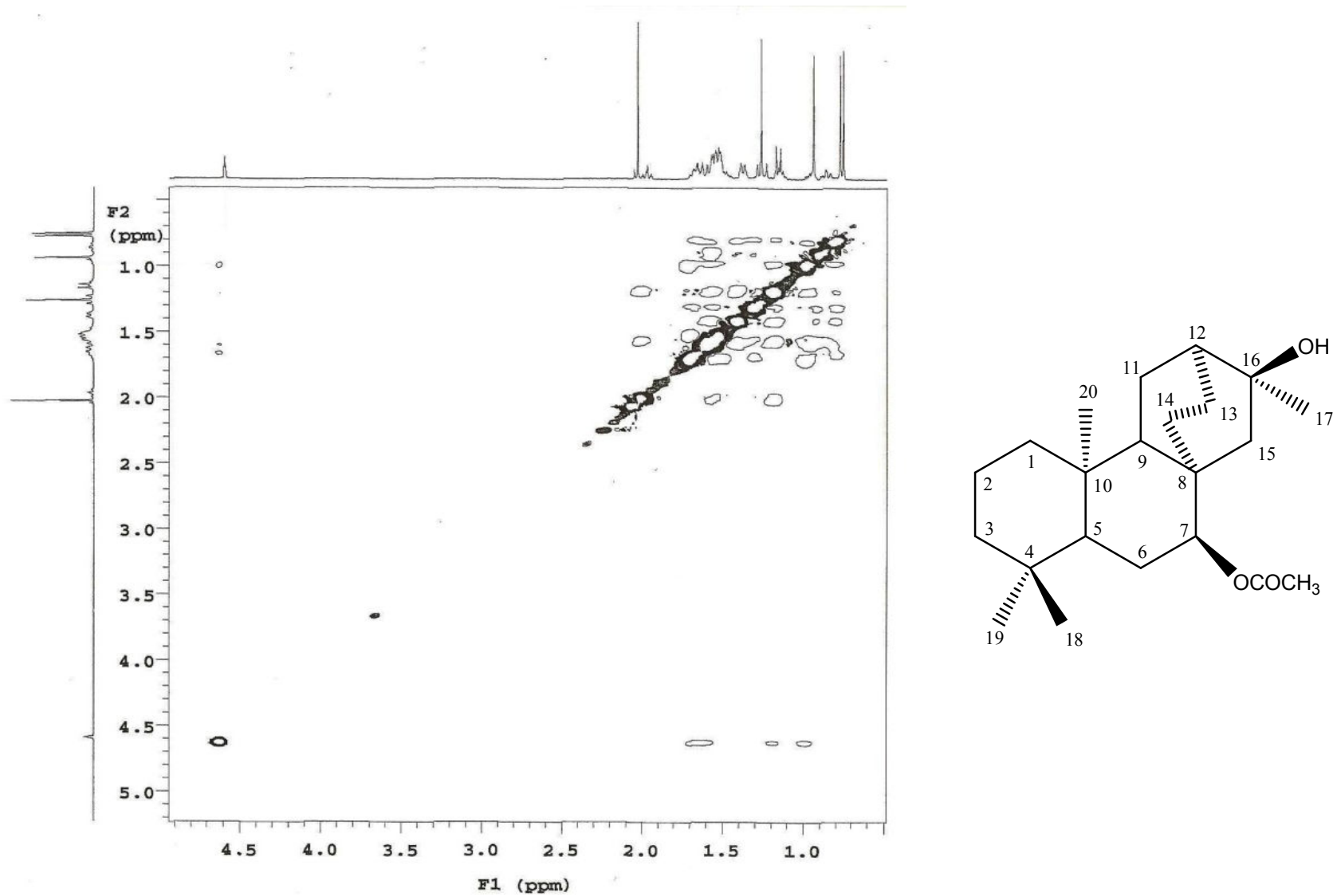


Figura 66: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

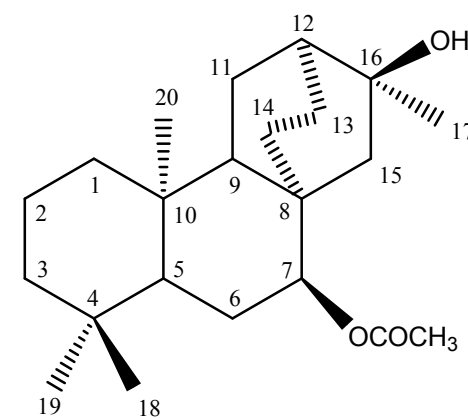
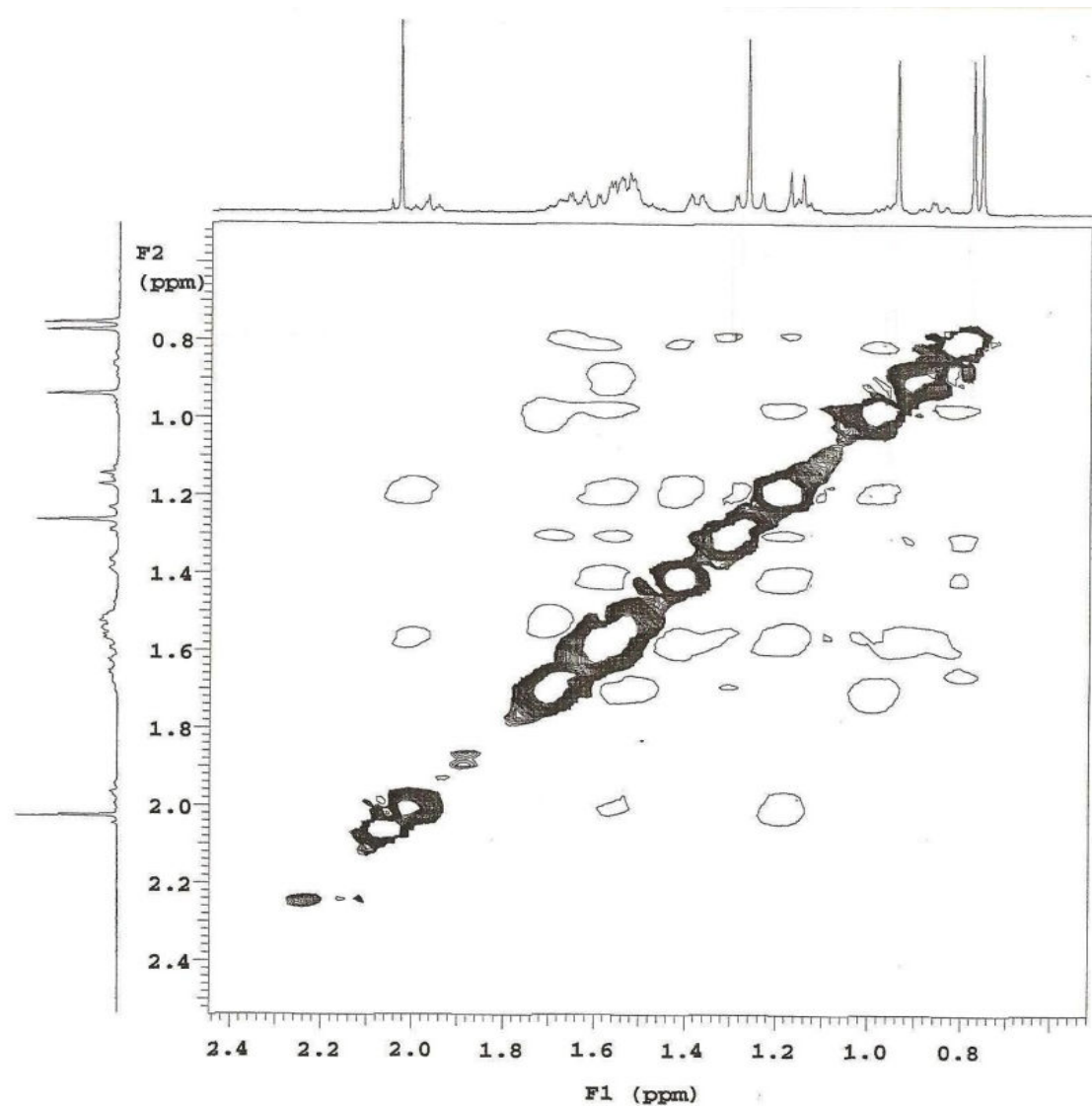


Figura 67: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de XLR-4 em CDCl_3 .

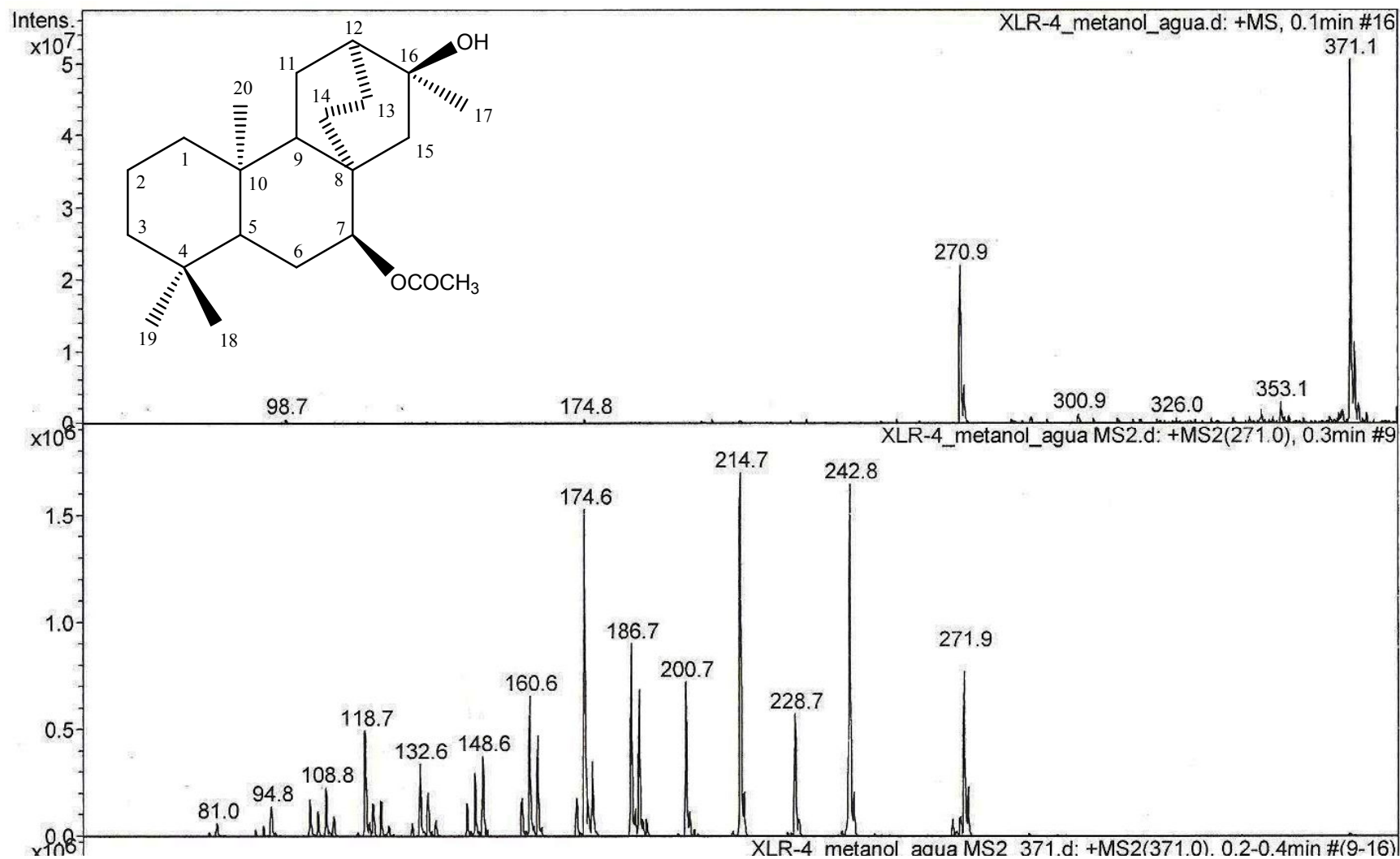


Figura 68: Espectro de massas de baixa resolução obtido por ESI (ION TRAP) de XLR-4.

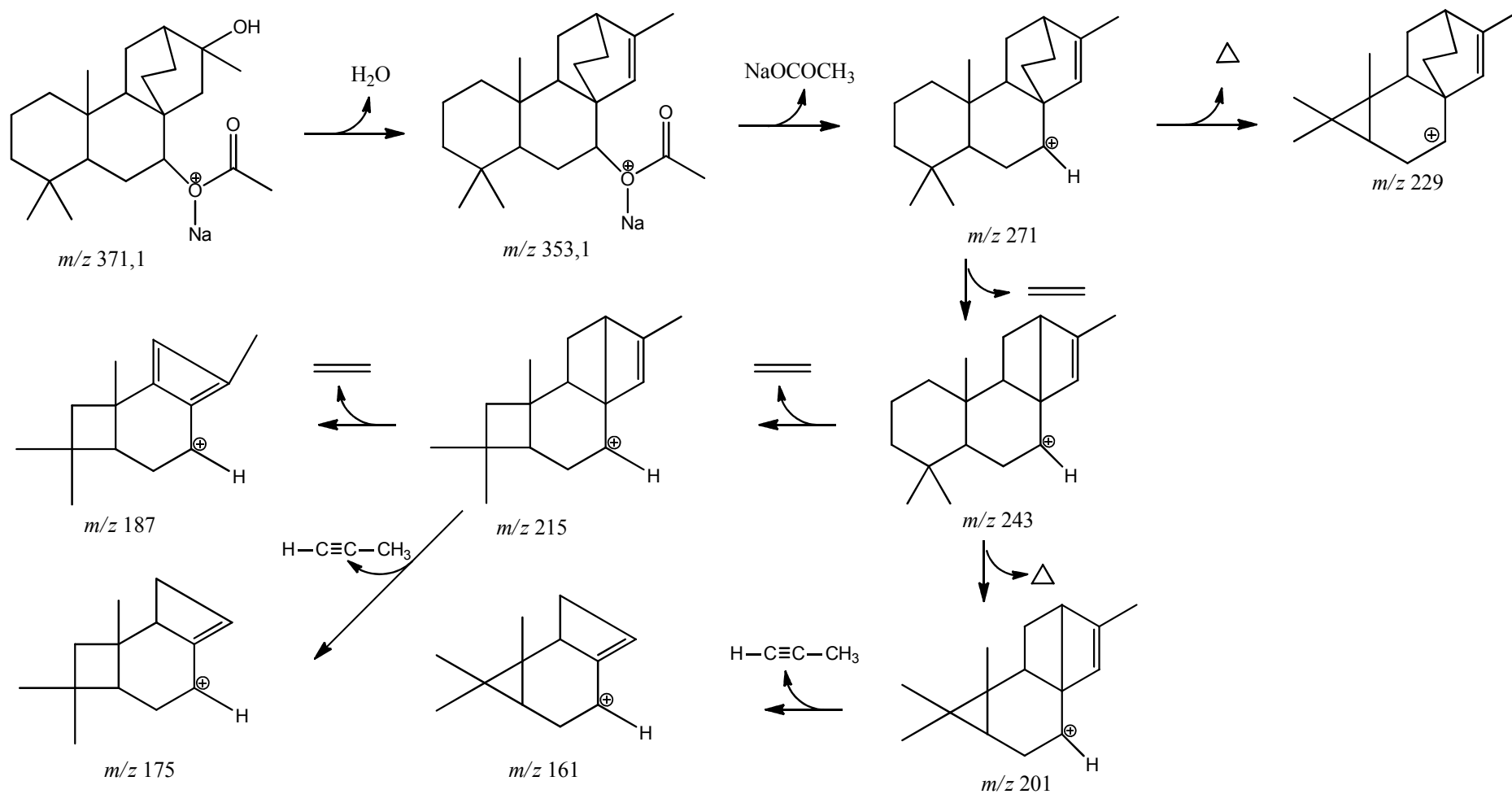


Figura 69: Proposta de fragmentação para XLR-4.

5.1.5 Determinação estrutural de XLR-5

A substância codificada como XLR-5 foi isolada na forma de cristal incolor, solúvel em clorofórmio. O espectro de massas de alta resolução obtido por ESI positivo (HR-ESI-MS) (Fig. 71, Pág. 122) mostrou o pico do íon molecular em m/z 305,2480 $[M+H]^+$, correspondendo a fórmula molecular $C_{20}H_{36}O_3$.

O espectro de IV obtido em KBr mostrou absorção em 3448 e 1678 cm^{-1} , sugerindo a presença de hidroxila de álcool terciário e carbonila de cetona, respectivamente (Fig. 72, Pág. 123).

No espectro de RMN ^{13}C - APT (125 MHz, $CDCl_3$) (Fig. 73, Pág. 124) observou-se a presença de 19 sinais, correspondentes a 20 átomos de carbono. Destes, 5 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 3 a carbonos metínicos, 8 a carbonos metilênicos e 4 a carbonos metílicos. Os sinais em δ_C 53,2; 50,6; e 37,2 ppm (Fig. 74, Pág. 125) comparados com XLR-4 sugerem também um esqueleto carbônico tetracíclico do tipo atisano. O sinal em δ_C 215,9 ppm (Fig. 73, Pág. 124) confirma a presença de carbonila de cetona, e quando comparado os dados de RMN ^{13}C com XLR-4 e *Xylodiol*, infere essa carbonila em C-7.

No espectro de RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) (Fig. 75, Pág. 126) observou-se um envelope de sinais na região de 0,75 a 2,36 com multiplicidades resolvidas e não resolvidas. Observou-se a presença de 4 singletos em δ_H 1,29; 0,82; 0,81 e 1,07 ppm (Fig. 76, Pág. 127), sendo o primeiro sinal característico de metila ligada a carbono não hidrogenado oxigenado. Observou-se ainda dois duplos dubletos em δ_H 2,36 e 2,31 ppm (Fig. 77, Pág. 128), que foram atribuídos a H-6_{ax} e H-6_{eq}, respectivamente. Sinais desblindados por estar alfa a grupo carbonila.

Através da comparação dos dados de RMN 1H e ^{13}C de XLR-5 com XLR-4 e o *Xylodiol* (TAVARES et al, 2007b) foi possível identificá-lo como sendo o *ent*-atisano-7-oxo-16 α -ol, cujo nome trivial foi atribuído de *Xylopinona* (Fig. 70).

O assinalamento inequívoco da *Xylopinona* foi feito por uma extensa análise com técnicas bidimensionais.

No espectro de correlação $^1H \times ^{13}C$ - gHMQC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) (Fig. 78, Pág. 129) foi possível observar as correlações diretas entre os sinais em δ_H 1,29; 0,82; 0,81 e 1,07 ppm, com os carbonos em δ_C 30,1; 32,6; 20,9 e 13,4 ppm (Fig. 79, Pág. 130) que foram atribuídos a CH₃-17, CH₃-18, CH₃-19 e CH₃-20, respectivamente. Observou-se correlações dos sinais em δ_H 1,26; 1,63; 1,61 ppm com os carbonos em δ_C 53,2; 50,6 e 37,2 ppm (Fig. 80,

Pág. 131), que foram atribuídos a C-5, C-9 e C-12, respectivamente. As demais correlações estão compilados na Tabela 08, Pág. 121.

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – gHMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) (Fig. 81, Pág. 132) e suas expansões observou-se correlações do sinal em δ_{H} 0,81 ppm (CH_3 -19) com δ_{C} 53,2 ppm, que foi atribuído a C-5 (Fig. 82, Pág. 133). No espectro de COSY (Fig. 86 e 87, Pág. 137 e 138), observou-se uma correlação de 1,26 ppm (H-5) com 2,36 ppm, que foi atribuído a H-6. Voltando ao HMBC observou-se uma correlação de 2,36 ppm (H-6) com 215,9 ppm, que foi atribuído a C-7. Observou-se ainda correlações do sinal em 1,07 ppm (CH_3 -20) com 53,2; 50,6; 38,7 e 37,2 ppm (Fig. 83, Pág. 134), que foram atribuídos a C-5, C-9, C-1 e C-10, respectivamente. Observou-se correlações do sinal em 1,93 (H-15) com 71,1; 50,6; 47,2 e 26,7 que foram atribuídos a C-16, C-9, C-8 e C-14, respectivamente. As demais correlações estão compilados na tabela 08, pág. 121.

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 84, Pág. 135) foi possível observar correlações dos sinais em δ_{H} 1,93 (H-15) com 1,07 (CH_3 -20) e desse com 2,36 (H-6_{ax}) (Fig. 85, Pág. 136). As demais correlações são mostradas na Tabela 08.

Nas Figuras 88 e 89, Pág. 139 e 140, podemos verificar o espectro de massas de baixa resolução por ESI, e suas propostas de fragmentação para XLR-5, respectivamente.

Após análises dos dados de RMN 1D e 2D pode-se concluir que XLR-5 trata-se do *ent*-atisan-7-oxo-16 α -ol (*Xylopinona*). Esse é o primeiro relato dessa substância na literatura.

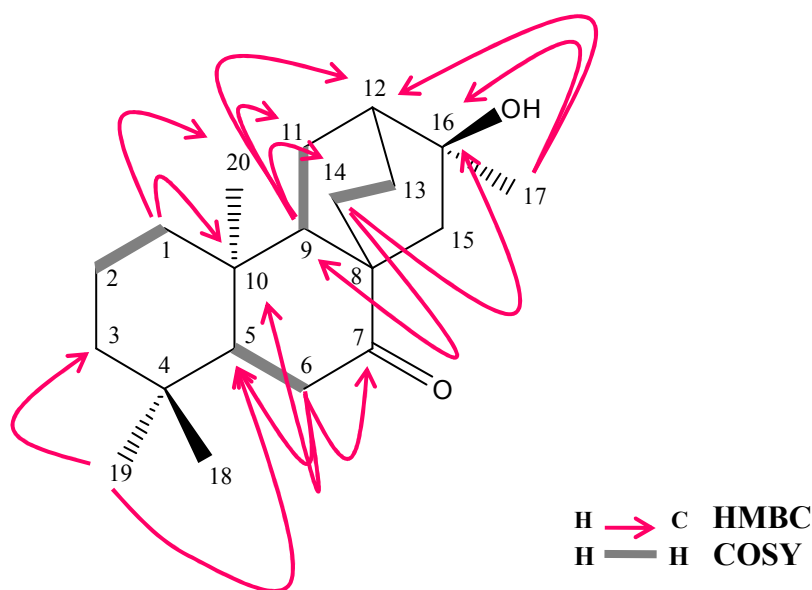
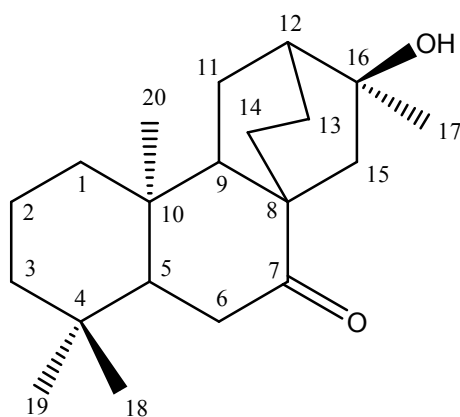


Figura 70: *ent*-atisan-7-oxo-16 α -ol e correlações $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY e NOESY.

Tabela 08: Dados de RMN de XLR-5 a 500 MHz em CDCl₃.

	HMQC		HMBC	COSY	NOESY
	δ_C	δ_H		$^1H \times ^1H$	
C					
4	33,1	-			
7	215,9	-			
8	47,2	-			
10	37,2	-			
16	71,7	-			
CH					
5	53,2	1,26 (<i>m</i>)			
9	50,6	1,63 (<i>m</i>)	C-11, C-14, C-12, C-20	H-11	H-9
12	37,2	1,61 (<i>m</i>)			
CH₂					
1	38,7	1,63 (<i>m</i>); 0,85 (<i>m</i>)	C-10, C-20	H-2	
2	17,8	1,41 (<i>m</i>)			
3	41,7	1,41 (<i>m</i>); 1,18 (<i>m</i>)			
6	36,9	2,36 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 29, <i>J</i> =15) H-6 _{ax} 2,31 (<i>dd</i> , <i>J</i> =3, <i>J</i> =16)H-6 _{eq}	C-7, C-5, C-10	H-5	
11	22,9	1,23 (<i>m</i>)			
13	23,2	1,61 (<i>m</i>); 1,56 (<i>m</i>)		H-14	
14	26,7	1,84 (<i>m</i>); 1,10 (<i>m</i>)	C-16, C-9, C-8, C-14	H-14	CH ₃ -20
15	48,6	1,93 (<i>d</i> , <i>J</i> =14) _{ax} 1,41 (<i>d</i> , <i>J</i> =3) _{eq}		H-15	
CH₃					
17	30,1	1,29 (<i>s</i>)	C-16, C-15, C-12		H-15 _{ax}
18	32,6	0,81 (<i>s</i>)			H-6 _{ax}
19	20,9	0,81 (<i>s</i>)	C-5, C-3, C-4, C-18		H-5
20	13,4	1,07 (<i>s</i>)	C-5, C-9, C-1, C-10		H-6 _{ax}



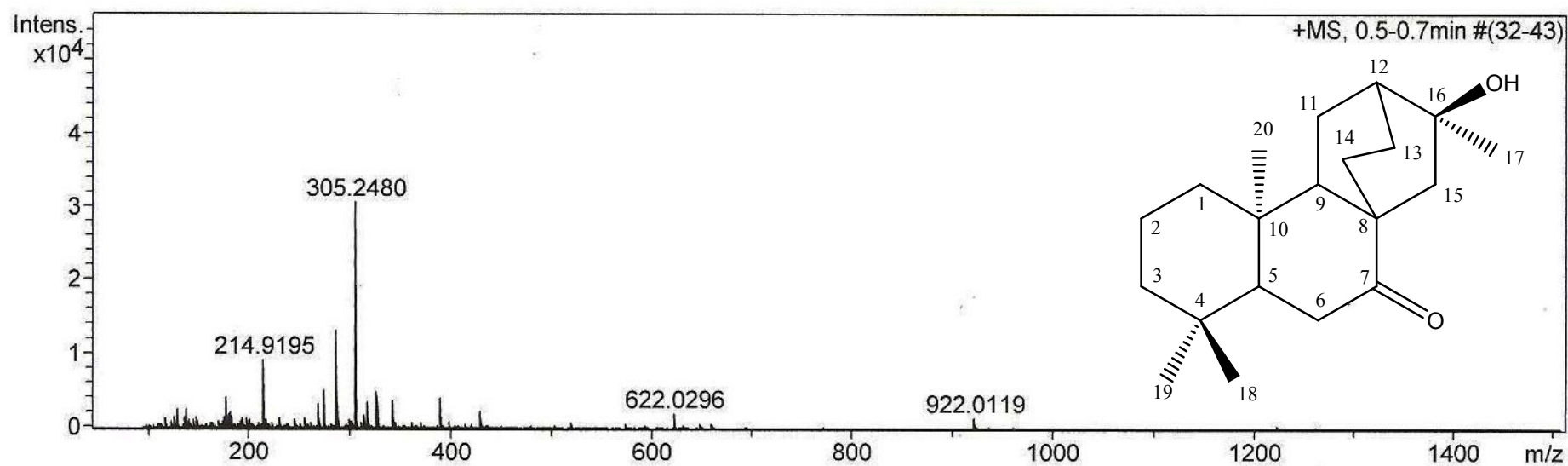


Figura 71: Espectro de massas obtido por ESI positivo (HR-ESI-MS), de XLR-5.

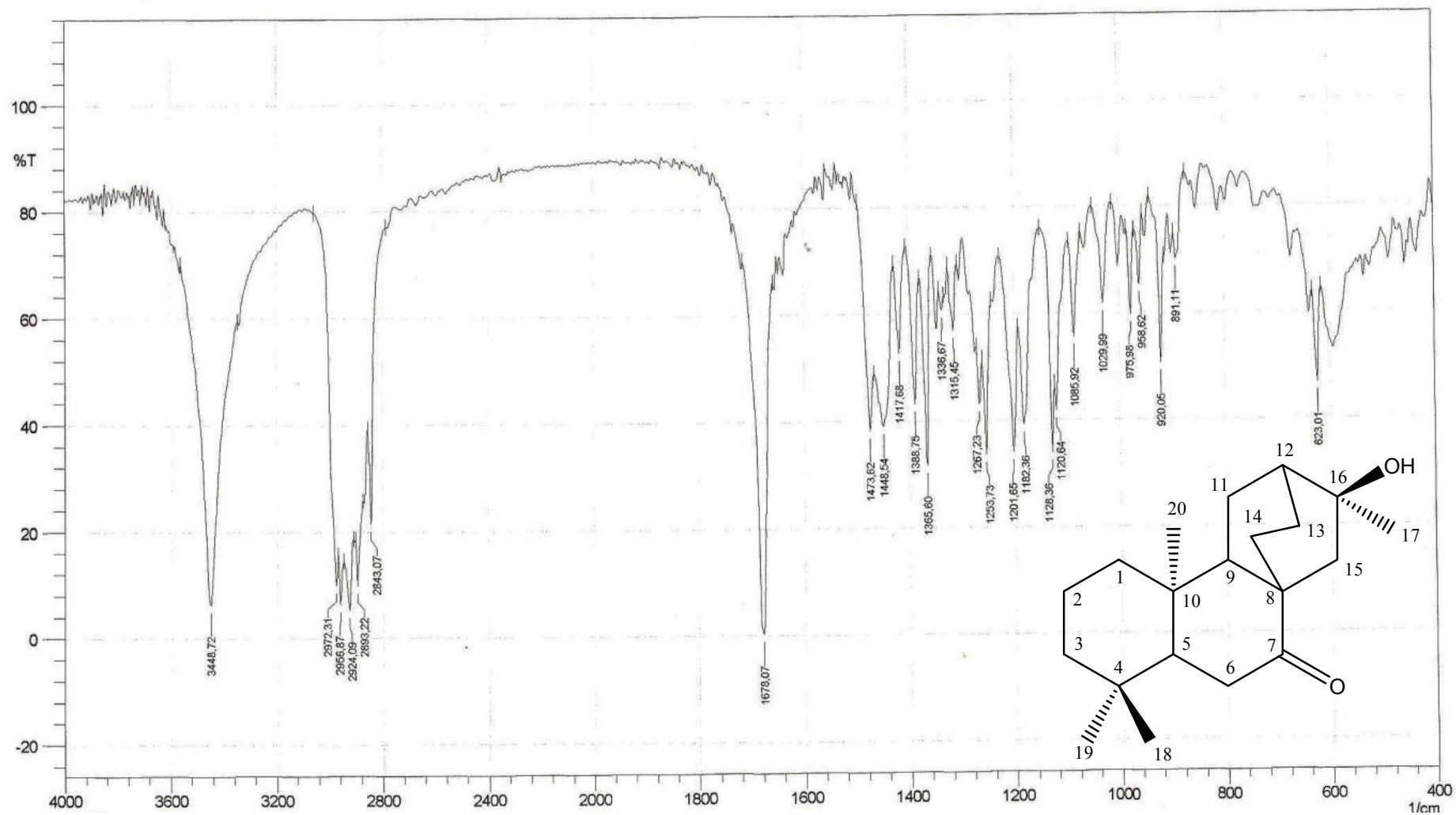


Figura 72: Espectro de IV obtido em KBr de XLR-5.

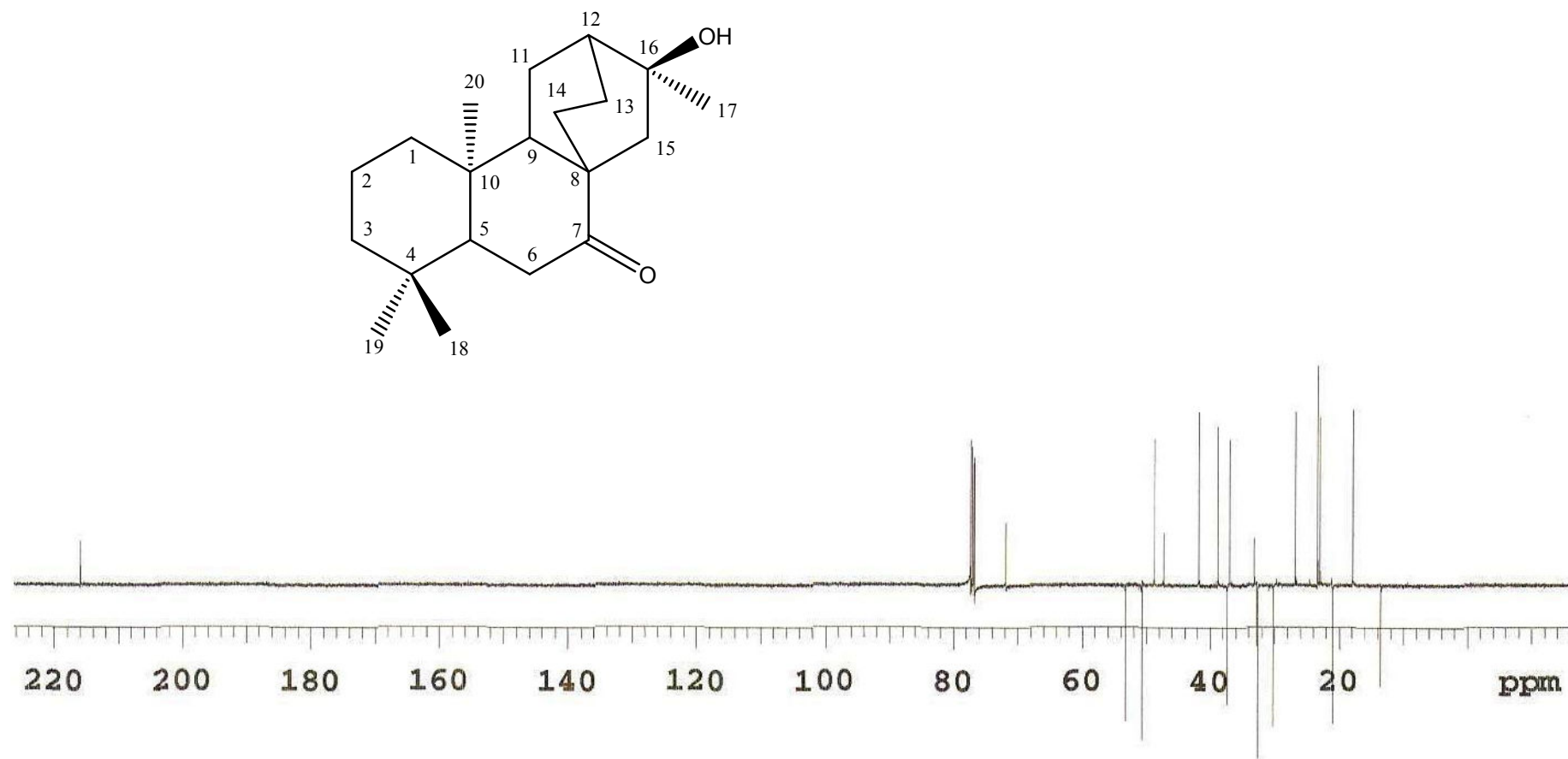


Figura 73: Espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3 .

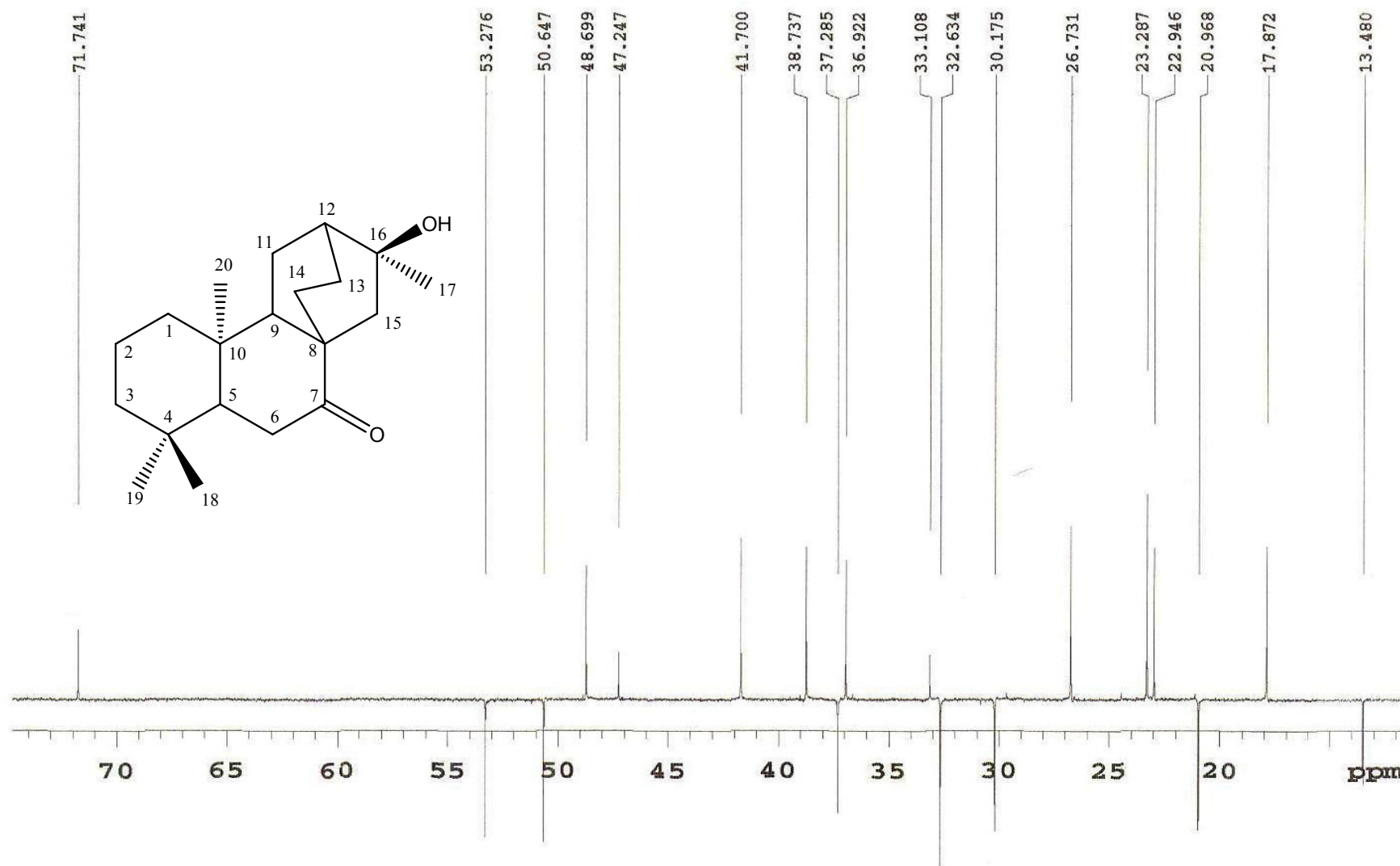


Figura 74: Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3 .

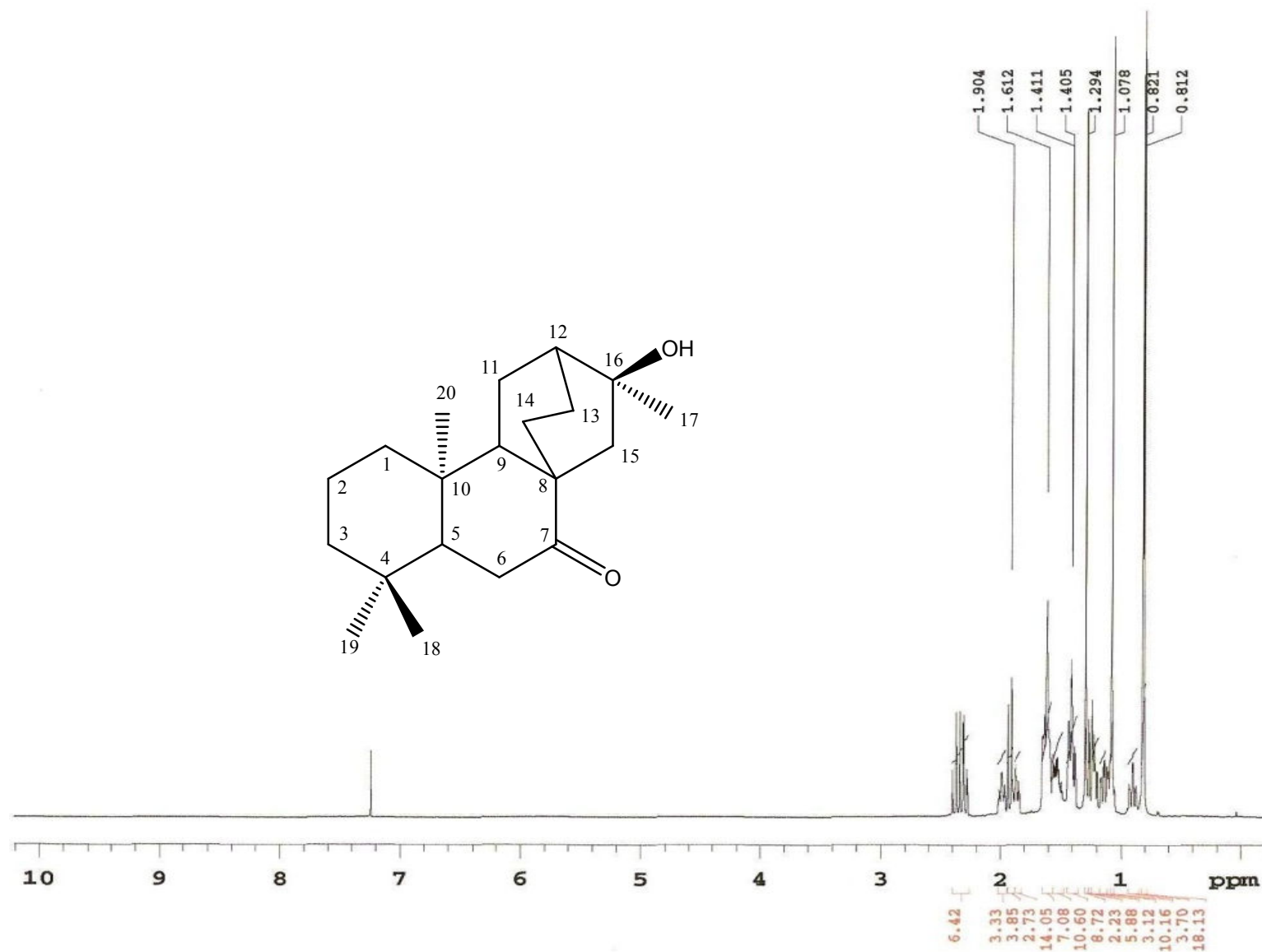


Figura 75: Espectro de RMN ¹H (500 MHz) de XLR-5 em CDCl₃.

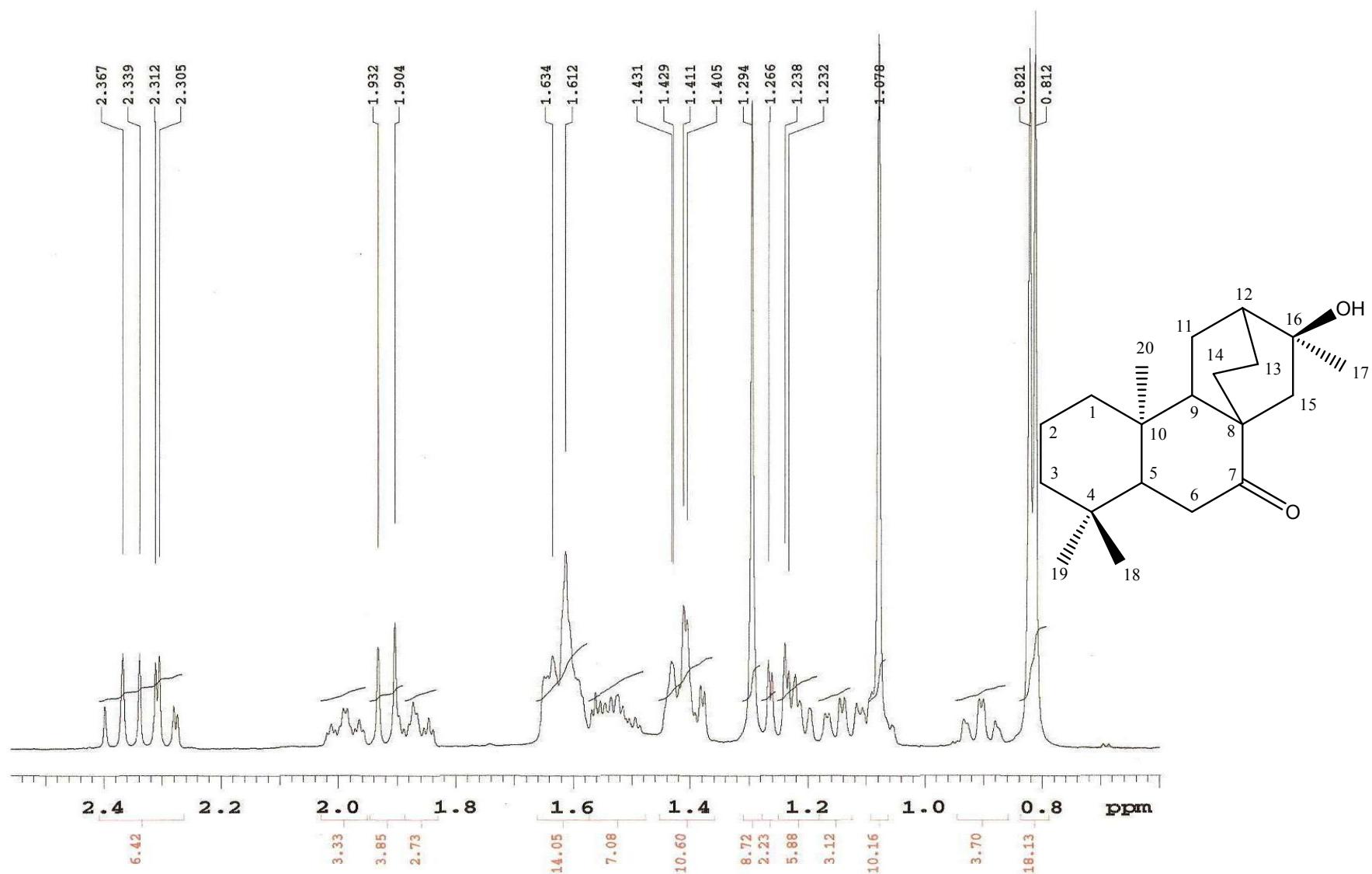


Figura 76: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-5 em CDCl_3 .

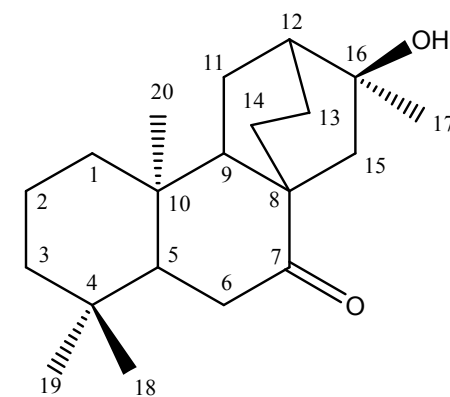
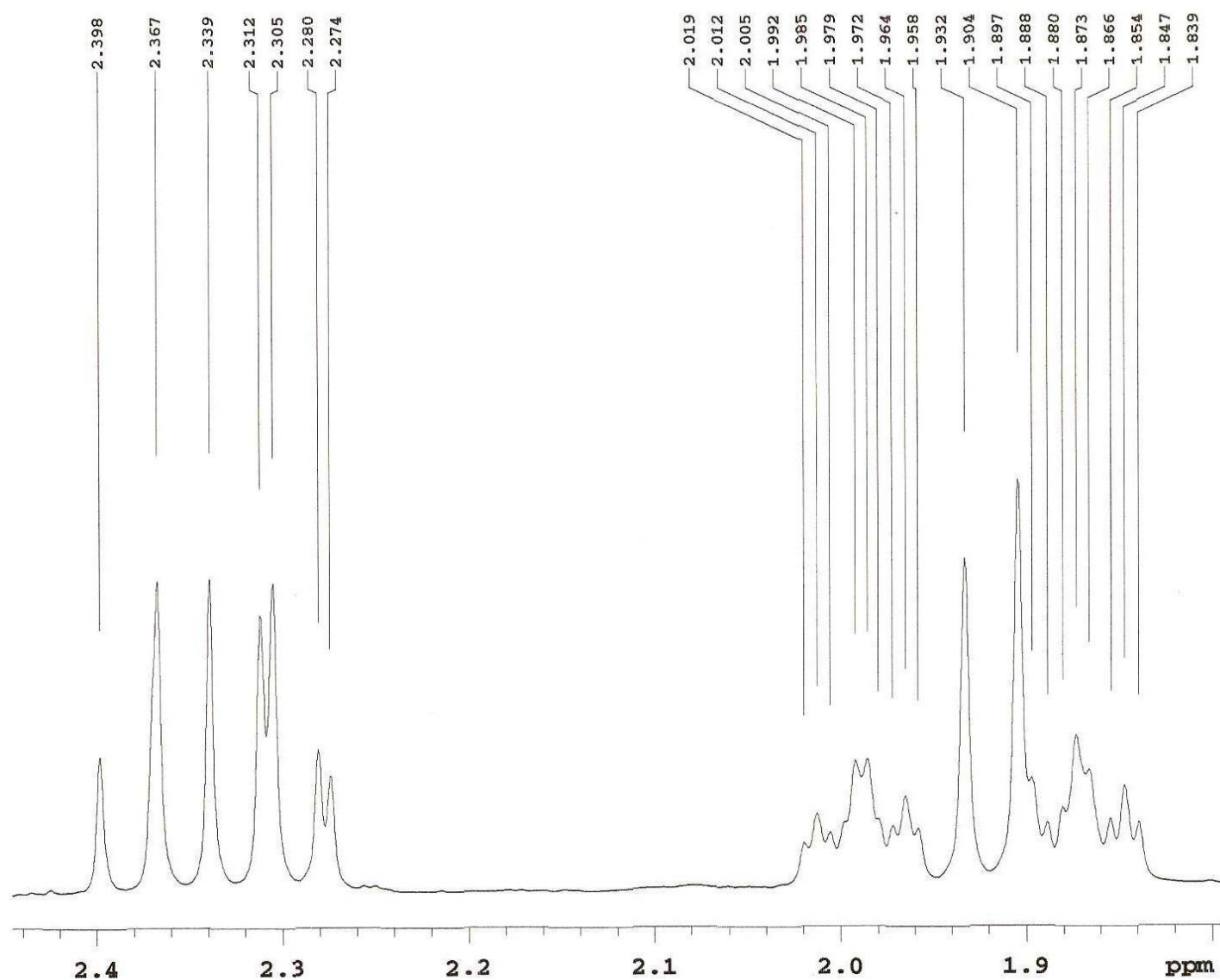


Figura 77: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-5 em CDCl_3 .

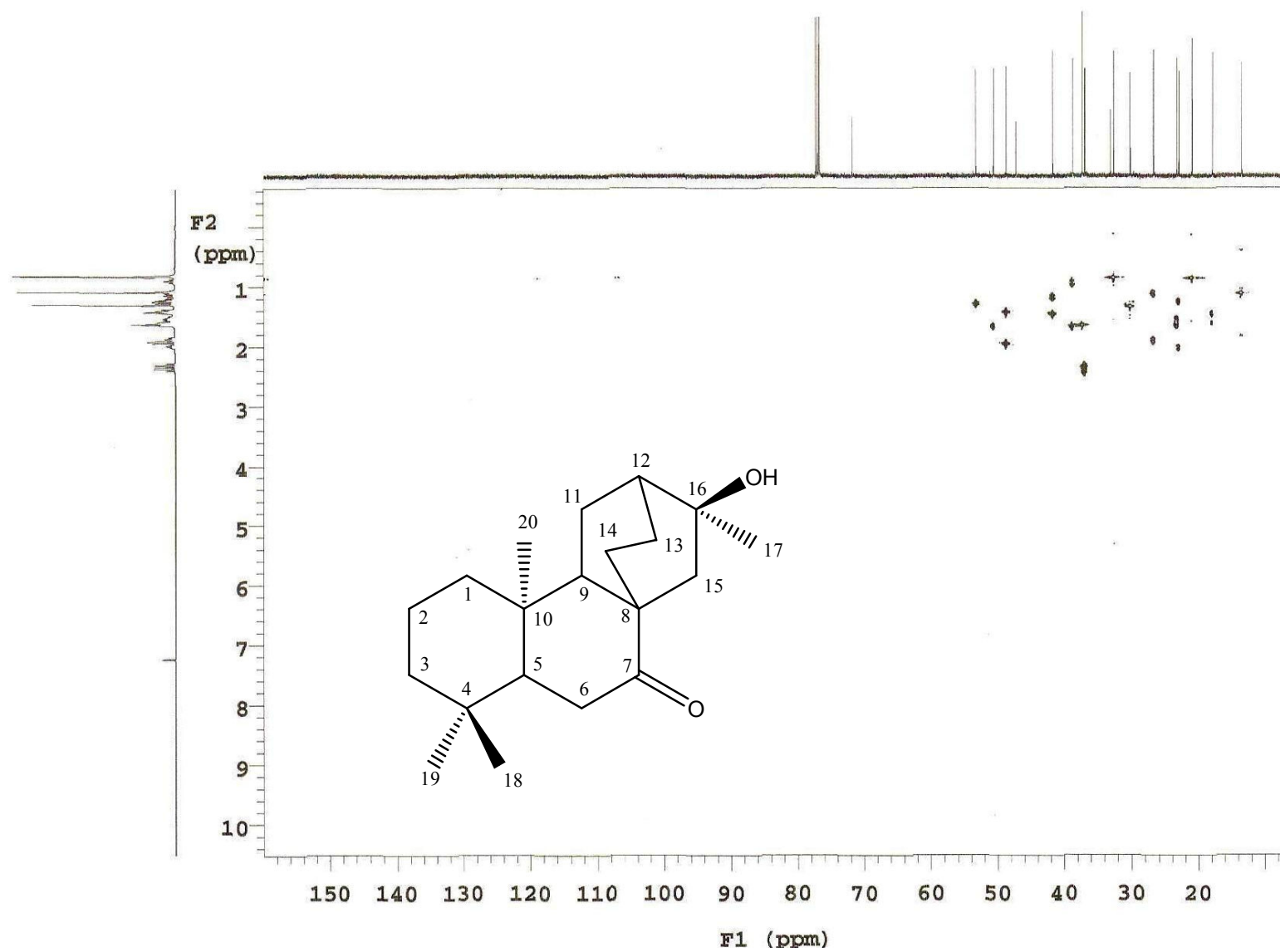


Figura 78: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3 .

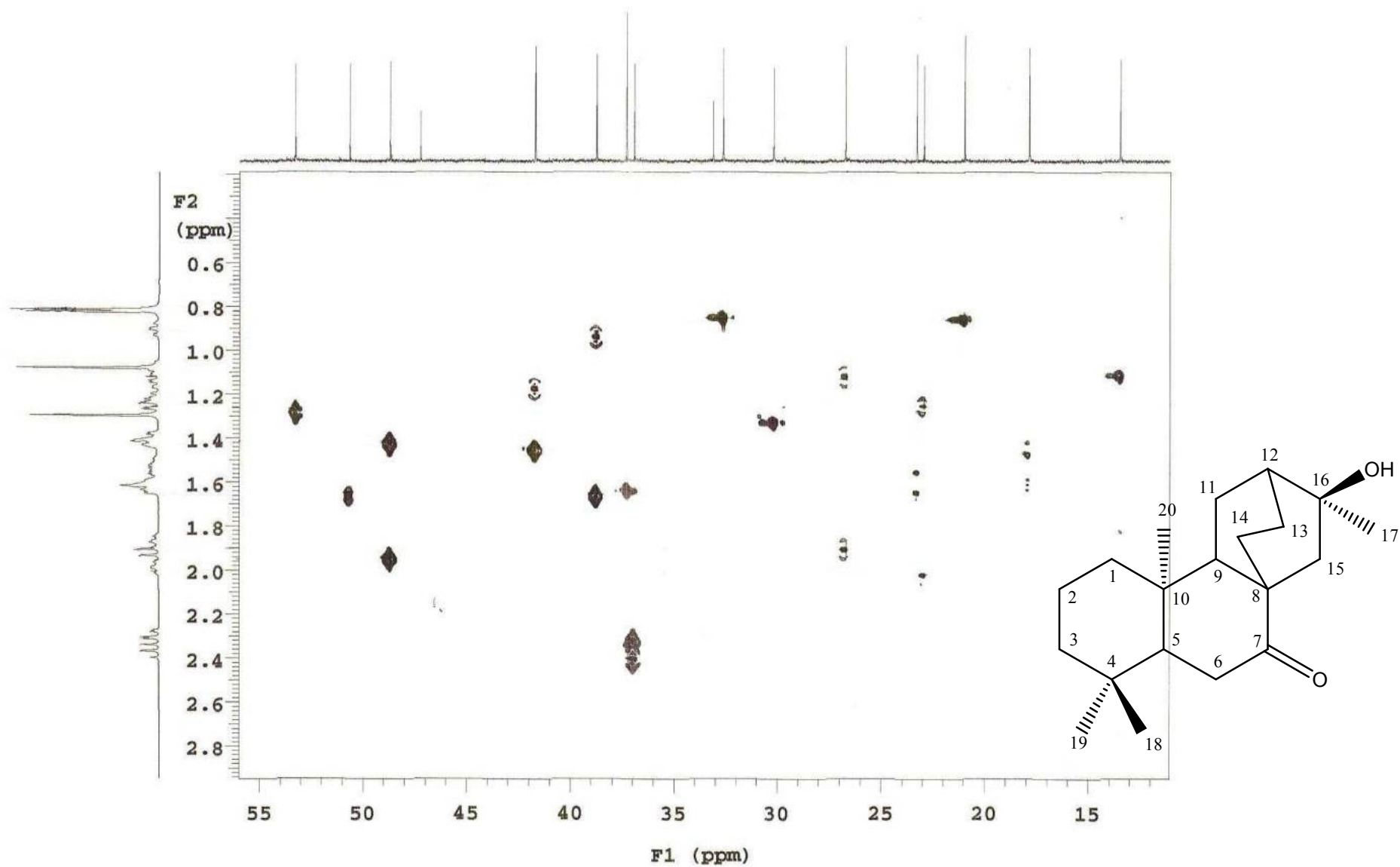


Figura 79: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMQC (500 e 125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3 .

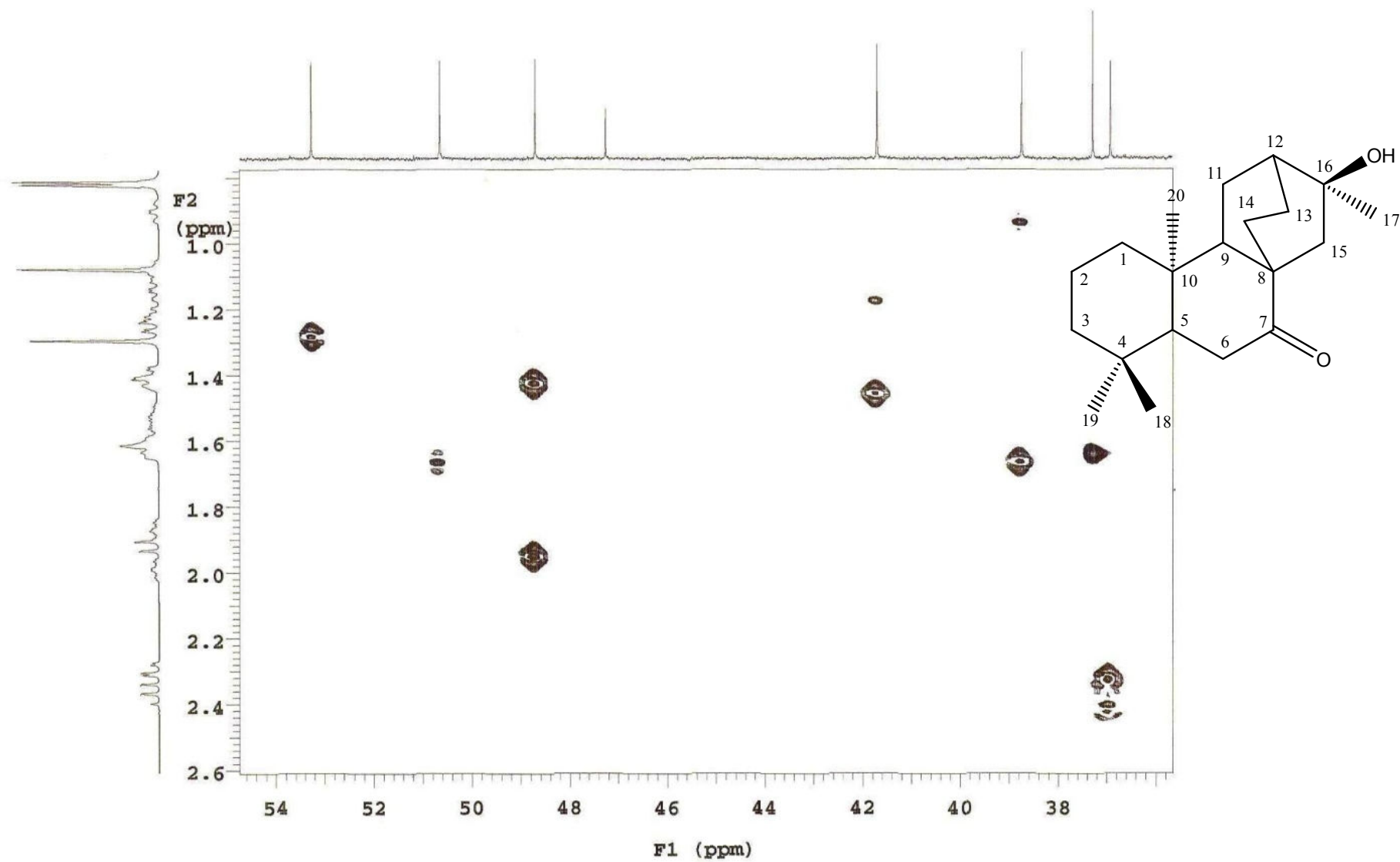


Figura 80: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3

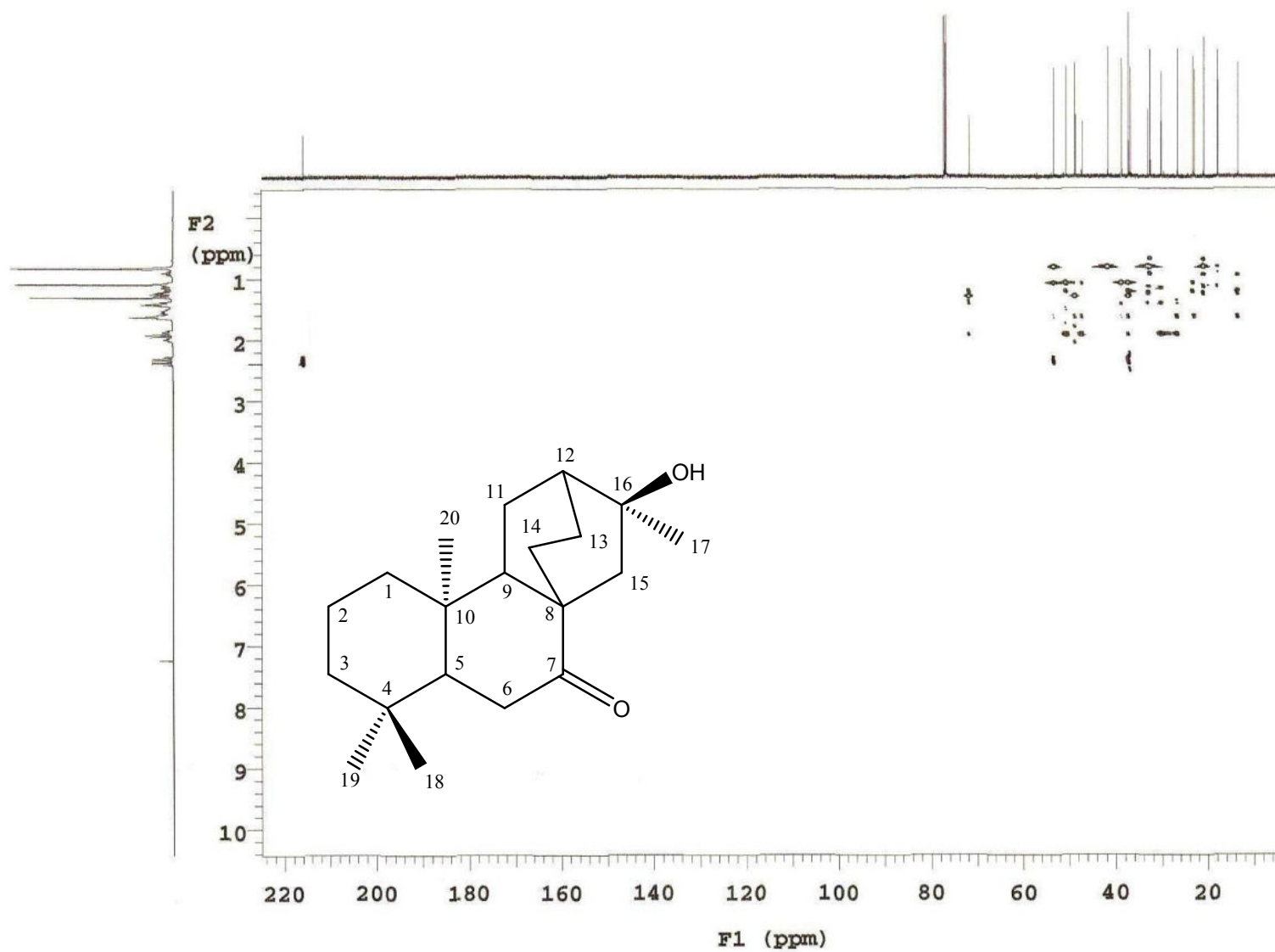


Figura 81: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3 .

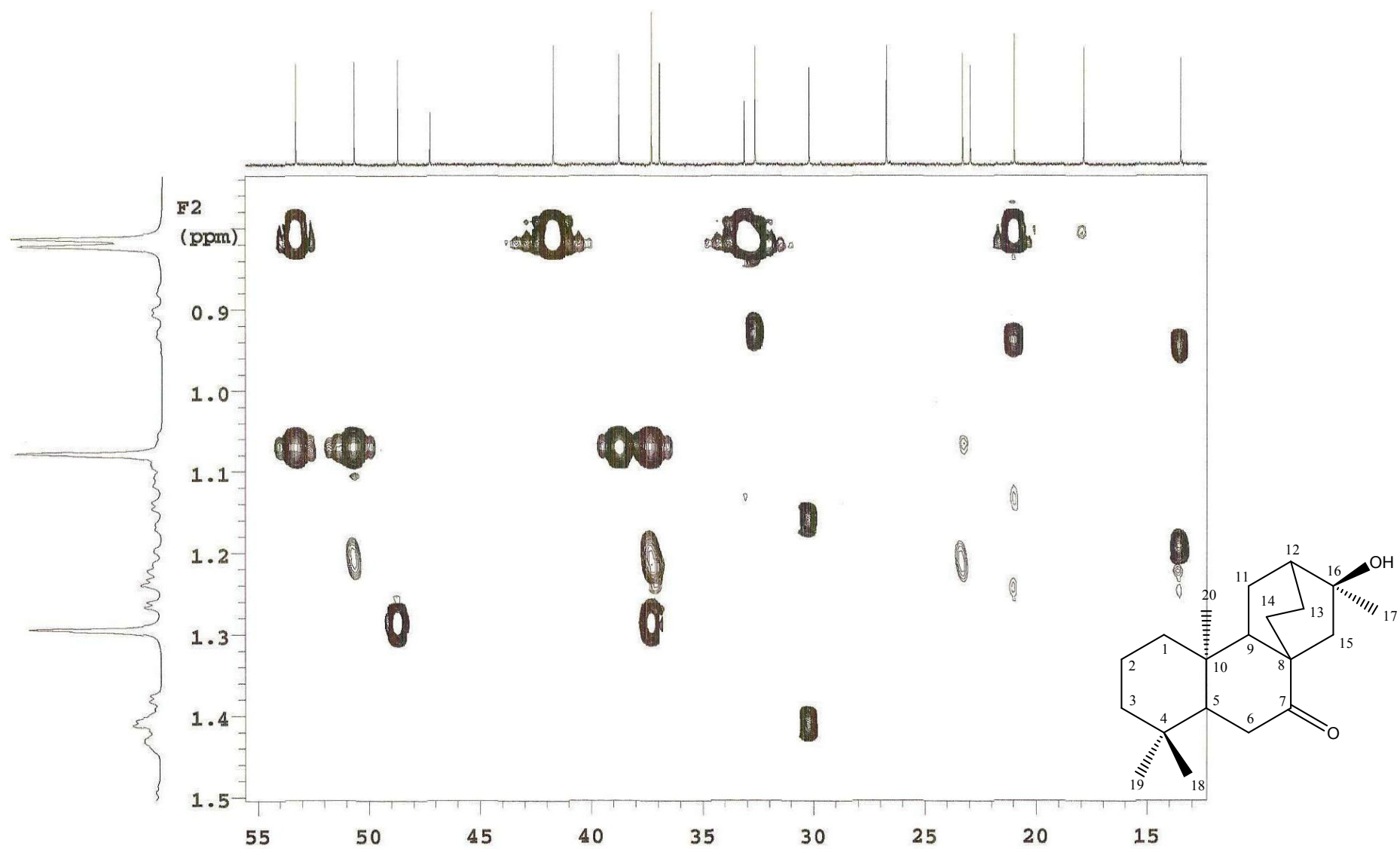


Figura 82: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3 .

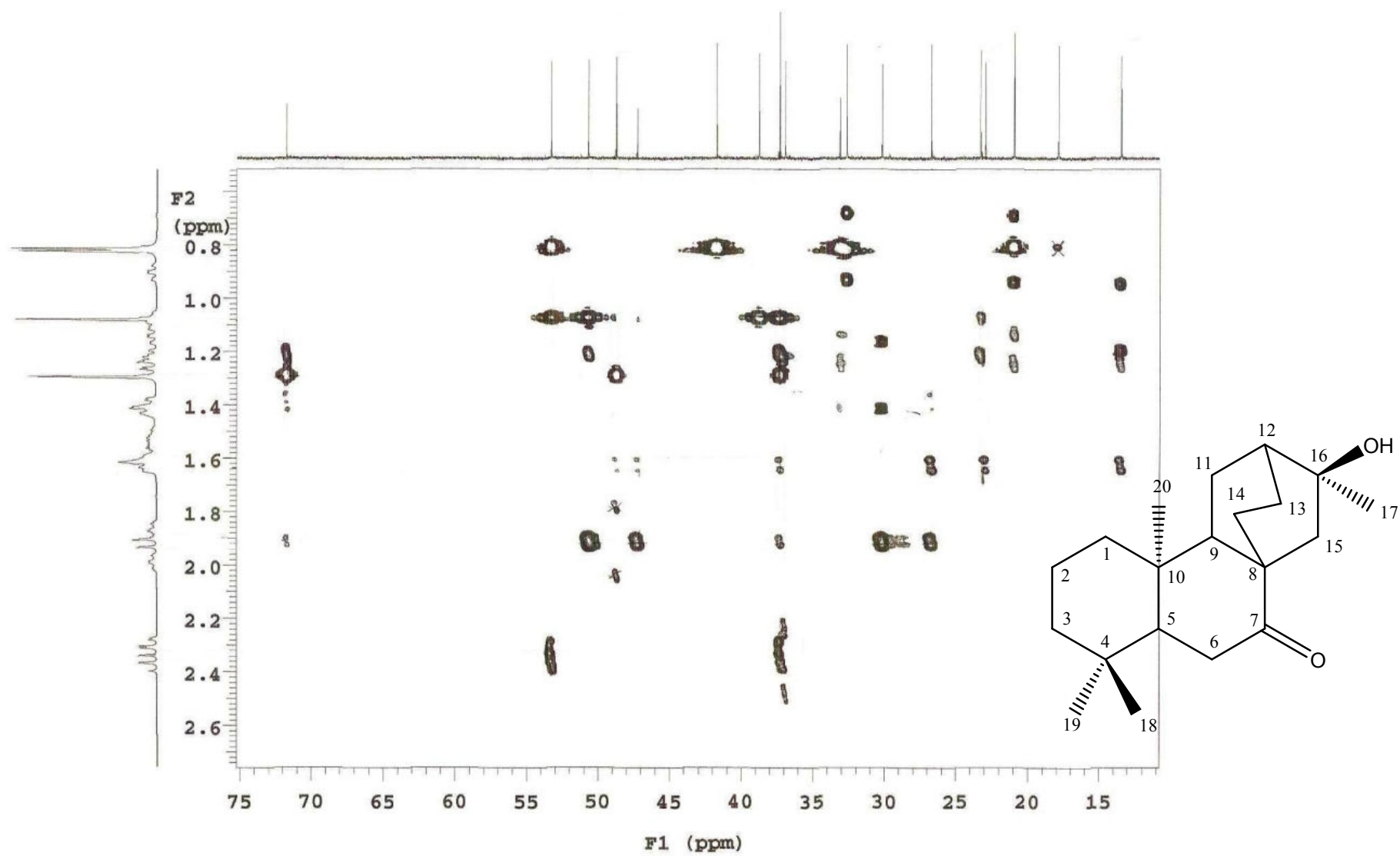


Figura 83: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-5 em CDCl_3 .

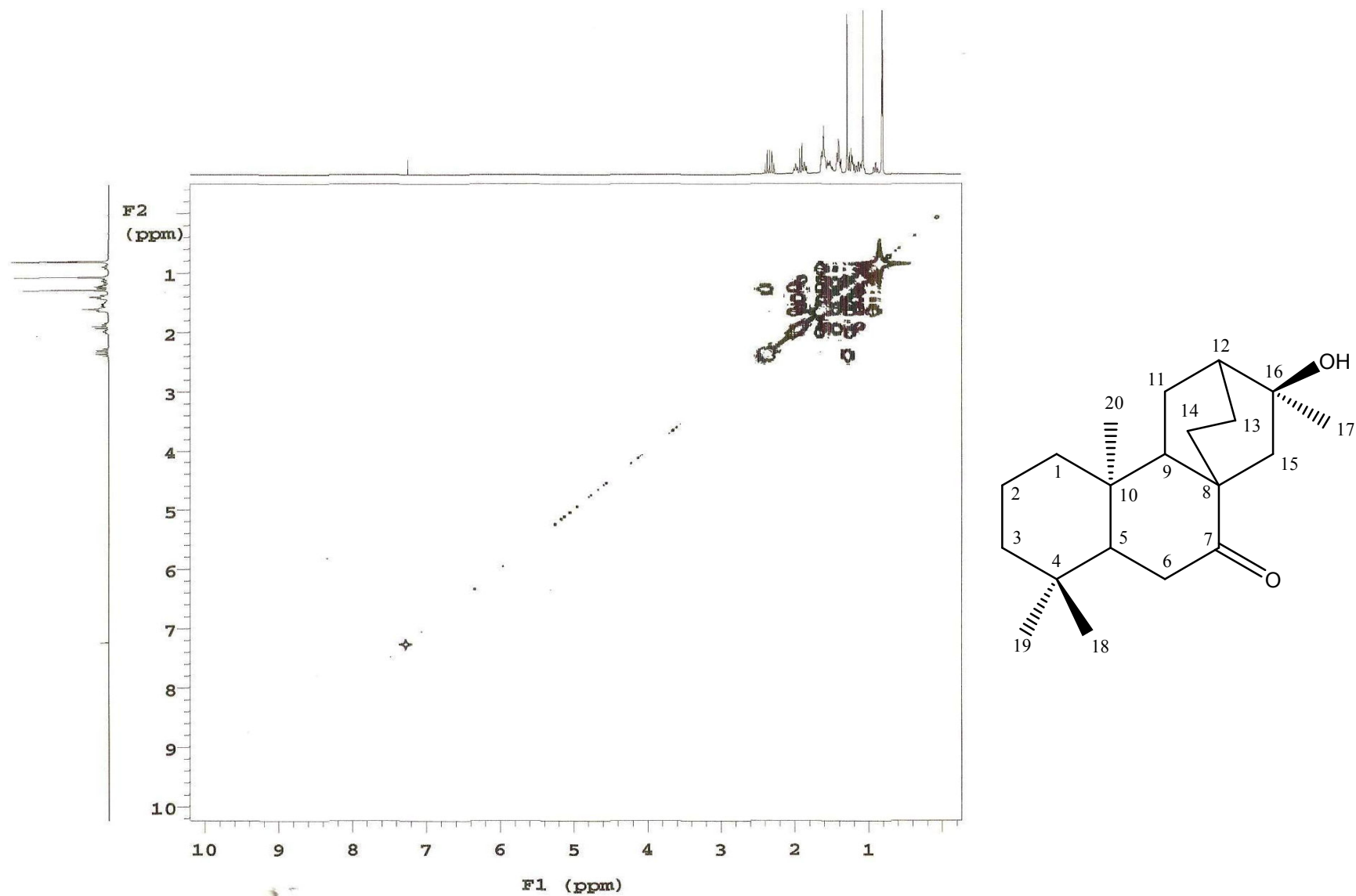


Figura 84: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de XLR-5 em CDCl_3 .

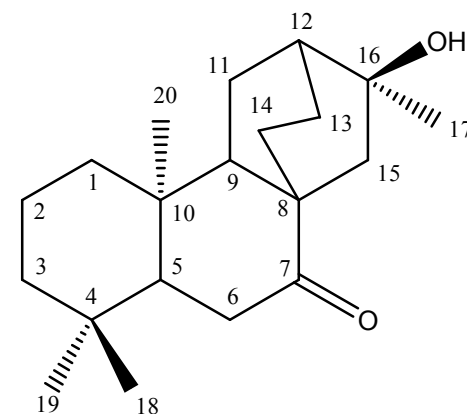
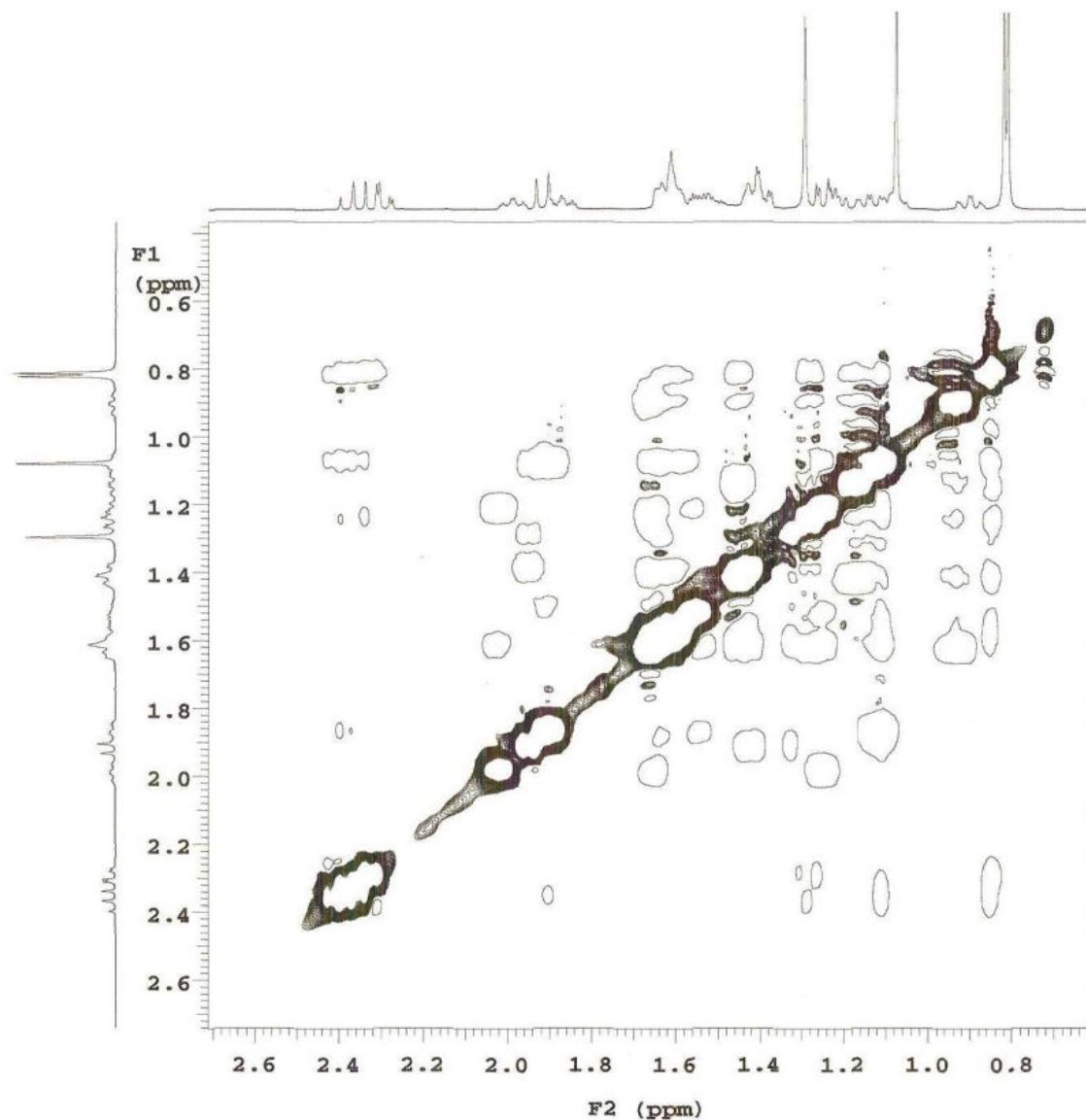


Figura 85: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de XLR-5 em CDCl_3 .

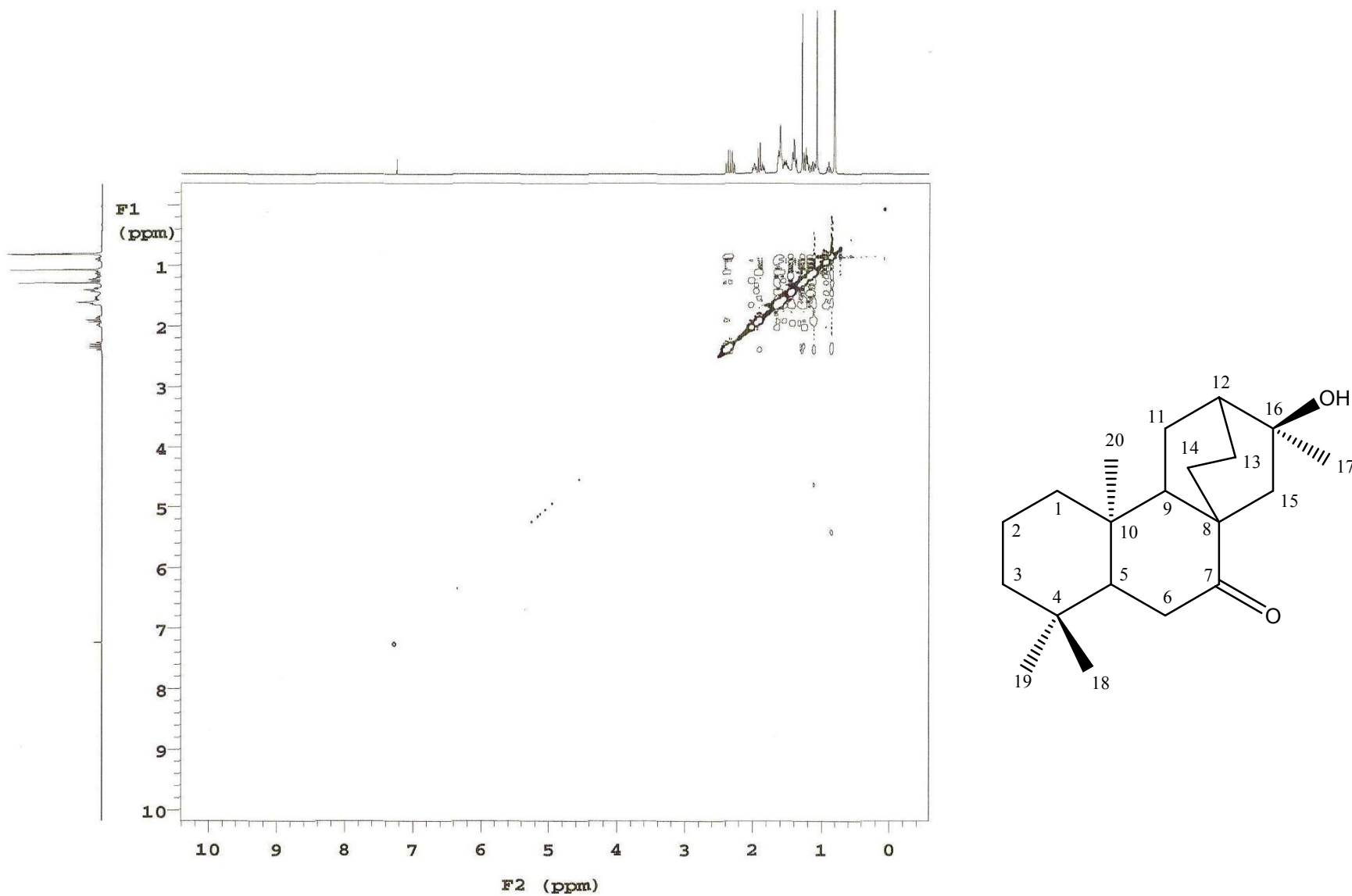


Figura 86: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ gCOSY (500 MHz) de XLR-5 em CDCl_3 .

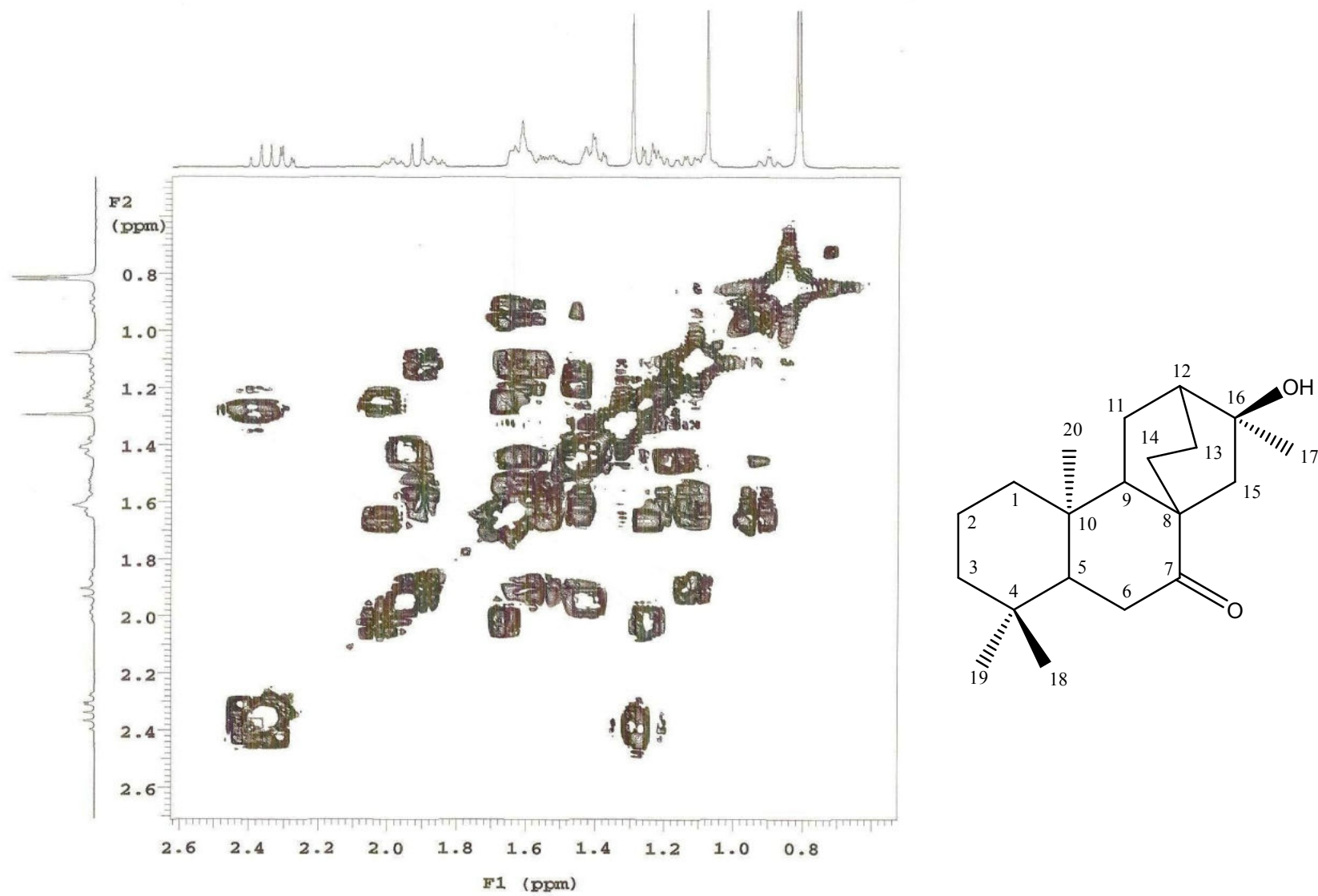


Figura 87: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ gCOSY (500 MHz) de XLR-5 em CDCl_3 .

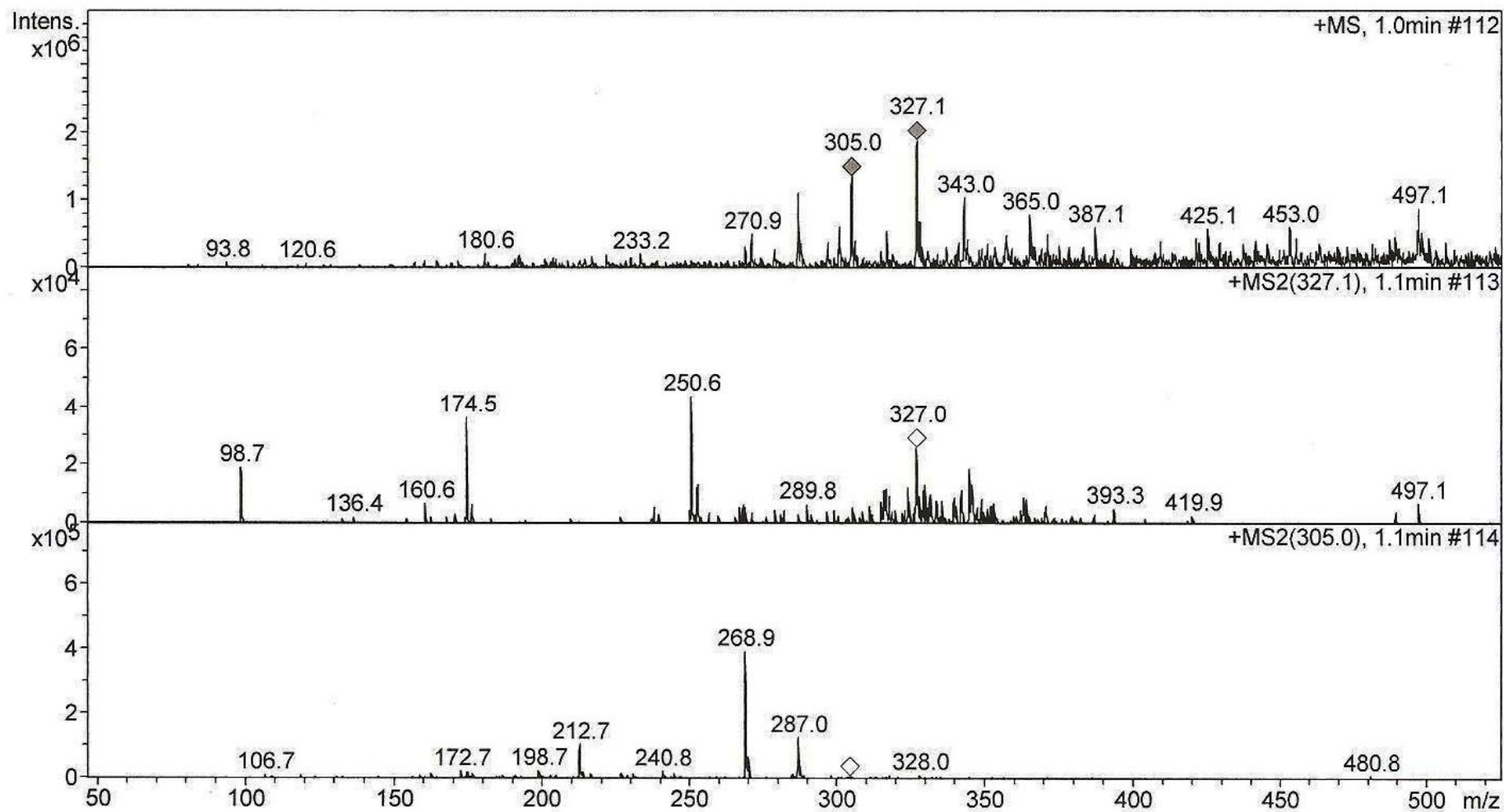


Figura 88: Espectro de massas de baixa resolução obtido por ESI (ION TRAP) de XLR-5.

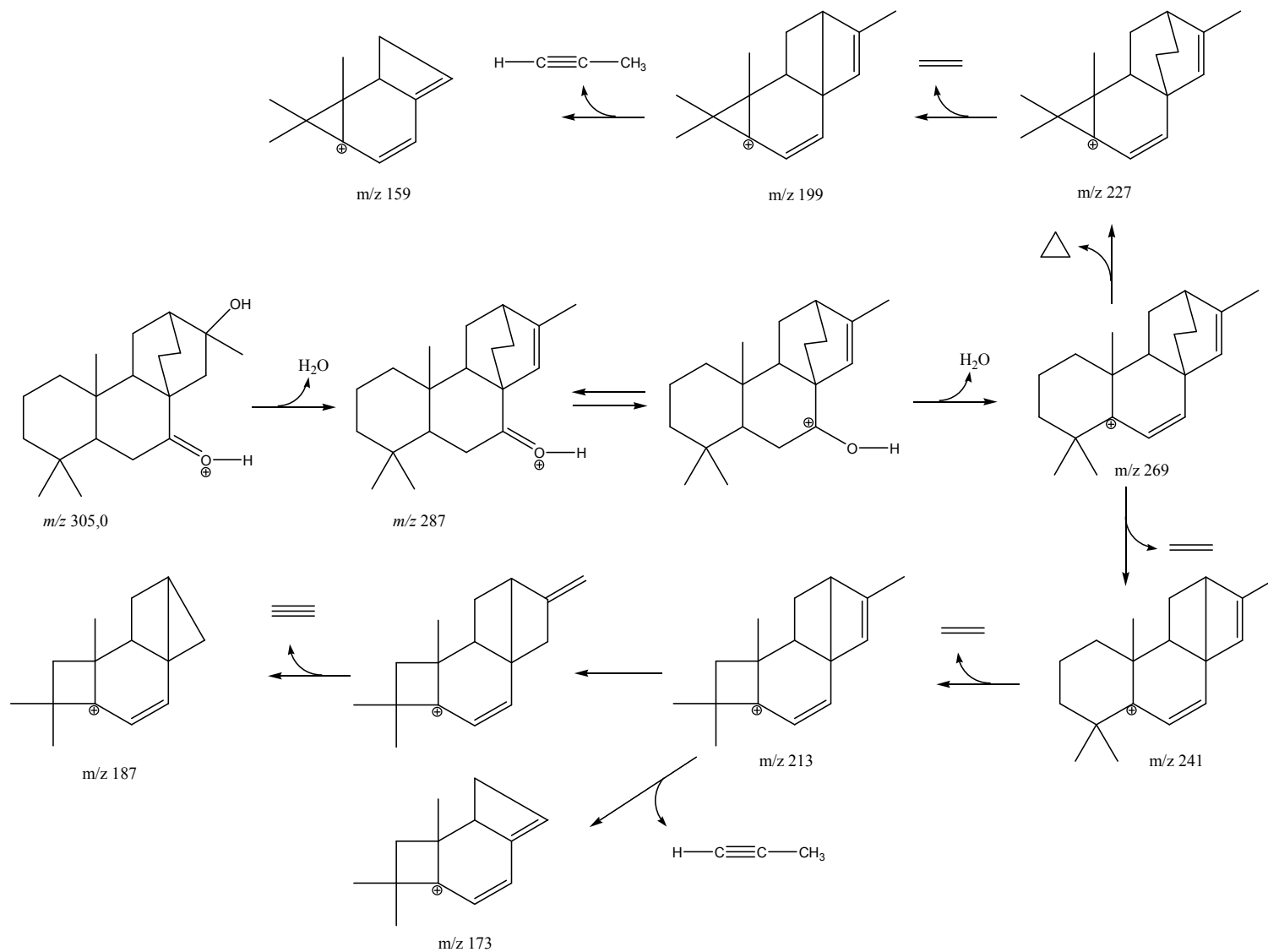


Figura 89: Proposta de fragmentação para XLR-5.

5.1.6 Determinação estrutural de XLR-6

A substância codificada como XLR-6 foi obtida como um pó amorfo branco, solúvel em clorofórmio. O espectro de massas de alta resolução obtido por ESI positivo (HR-ESI-MS) (Fig. 91, Pág. 143) mostrou um pico em m/z 325,2172, $[M+Na]^+$, correspondente a fórmula molecular $C_{20}H_{30}O_2$.

O espectro de IV obtido em KBr (Fig. 92, Pág. 144) mostrou absorção em 3435 cm^{-1} característico de OH de ácido carboxílico e uma absorção na região de 1691 cm^{-1} característico de estiramento de carbonila de ácido carboxílico.

No espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) (Fig. 93, Pág. 145) observou-se a presença de 19 sinais, correspondentes a 20 átomos de carbonos. Destes, 5 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 4 a carbonos metínicos, 8 a carbonos metilênicos e 3 a carbonos metílicos. Os sinais em δ_C 53,2; 50,2 e 20,5 comparados com a literatura (NGAMROJNAVANICH *et al*, 2003) sugerem um esqueleto carbônico de diterpenos. Os sinais em δ_C 20,5; 24,2 e 22,4 ppm (Fig. 94, Pág. 146) (C-12, C-13 e C-16, respectivamente) corroboram com deslocamento químico de anel ciclopropano característico de diterpenos traquilobano.

O sinal em δ_C 184,5 ppm (Fig. 93, Pág. 147), corroboram com a presença de ácido carboxílico e metila no centro quiral C-4. A estereoquímica deste centro quiral, pode ser determinada pelo deslocamento em δ_C 16,2 e 53,2 ppm, característico de C-19 e C-5, quando o ácido carboxílico apresenta orientação alfa, sugerindo assim a inserção deste em C-18 (NGAMROJNAVANICH *et al*, 2003).

No espectro de RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) (Fig. 95, Pág. 148) verificou-se um envelope de sinais na região de δ_H 0,75 a 2,03 ppm com multiplicações resolvidas e não resolvidas. Observou-se também, a presença de 3 singletos em δ_H 1,10; 1,12 e 0,95 ppm (Fig. 96, Pág. 149). Os demais deslocamentos químicos estão compilados na Tabela 09.

No espectro de RMN $^1H \times ^{13}C$ gHMQC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) (Fig. 97, Pág. 150) foi possível observar as correlações diretas entre os sinais em δ_H 1,10; 1,12 e 0,95 ppm com os carbonos em δ_C 20,5; 16,2 e 14,9 ppm (Fig. 98, Pág. 151) que foram atribuídos a CH_3 -17, CH_3 -19 e CH_3 -20, respectivamente. Observou ainda correlações dos sinais em δ_H 1,23; 1,65; 0,56 e 0,80 ppm com os carbonos δ_C 53,2; 50,2; 20,5 e 24,2 ppm (Fig. 98, Pág. 152) que foram atribuídos a CH-5, CH-9, CH-12 e CH-13, respectivamente. As demais correlações estão compiladas na Tabela 09.

No espectro de RMN ^{13}C x ^{13}C gHMBC (Fig. 99 e 100, Pág. xx) verificou-se a correlação dos sinais em δ_{H} 1,37 e 1,58 ppm com os carbonos em δ_{C} 53,2 e 47,1 ppm, que foram atribuídos a C-5 e C-4, respectivamente. Observamos também a correlação do sinal em δ_{H} 1,10 ppm com o sinal em δ_{C} 50,2 e 24,2 ppm que foram atribuídos a C-15 e C-13.

Após análise dos dados de RMN 1D e 2D pode-se concluir que XLR-6 trata-se do ácido *ent*-traquiloban-18-óico, isolado anteriormente de *Xylopiá nitida* (VIEIRA et AL, 2009).

Tabela 09: Dados de RMN de XLR-6 a 500 MHz em CDCl_3 .

	HMQC		HMBC	LEONG (1997)
	δ_{C}	δ_{H}		
C				
4	47,1	-		47,2
8	40,8	-		40,9
10	37,5	-		37,6
16	22,4	-		22,5
18	184,5	-		185,0
CH				
5	53,2	1,23 (<i>d</i> , $J=10,5$ Hz)		53,2
9	50,2	1,65 (<i>m</i>)		50,2
12	20,5	0,56 (<i>d</i> , $J=7,5$ Hz)		20,5
13	24,2	0,80 (<i>m</i>)		24,2
CH				
²				
1	38,4	1,37 (<i>m</i>); 1,44 (<i>m</i>)	C-5	38,4
2	17,2	1,48 (<i>m</i>)		17,2
3	36,9	1,58 (<i>m</i>); 1,71 (<i>m</i>)	C-4	37,0
6	22,9	1,10 (<i>m</i>)		23,0
7	38,2	0,83 (<i>m</i>)		38,3
11	19,5	1,65 (<i>m</i>); 1,86 (<i>m</i>)	C-16, C10	19,6
14	33,4	1,17 (<i>m</i>), 2,03(<i>d</i> , $J=11,5$ Hz)	C-15, C-16	33,5
15	50,2	1,23 (<i>d</i> , $J=10,5$ Hz); 1,37 (<i>m</i>)	C-8, C-7, C-16, C17	50,3
CH				
³				
17	20,5	1,10 (<i>s</i>)	C-15, C-13, C-12, C-16	20,5
19	16,2	1,12 (<i>s</i>)	C-4, C-3	16,2
20	14,9	0,95 (<i>s</i>)	C-5, C-9, C-10	14,9

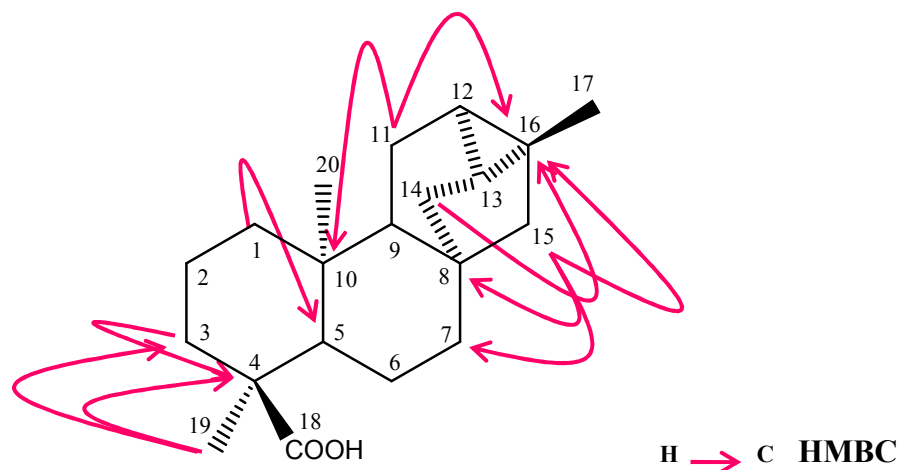


Figura 90: Ácido *ent*-traquiloban-18-óico e correlação ^1H x ^{13}C HMBC.

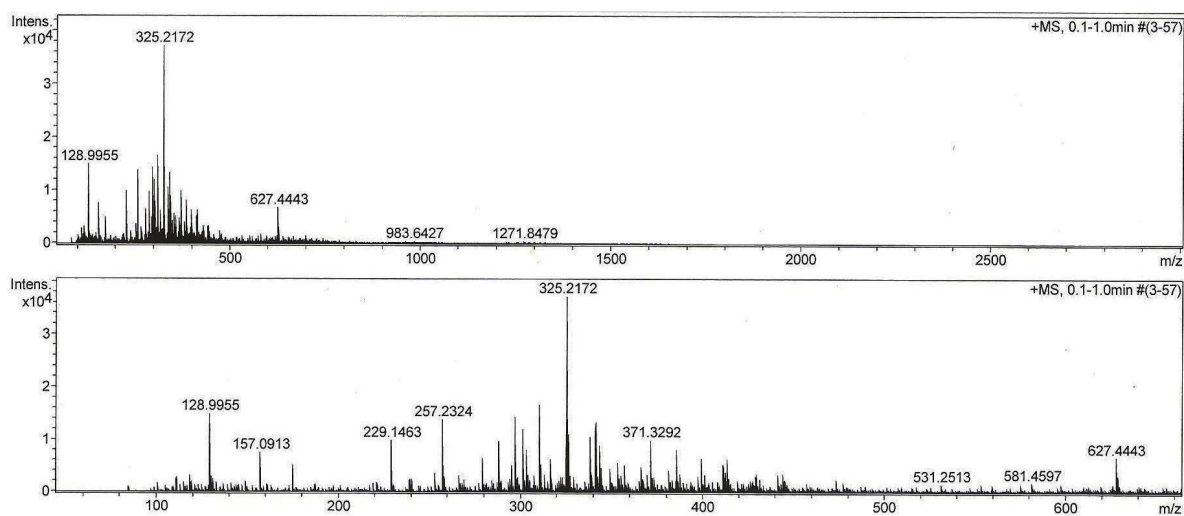


Figura 91: Espectro de massas obtido por ESI positivo (HR-ESI-MS) de XLR-6.

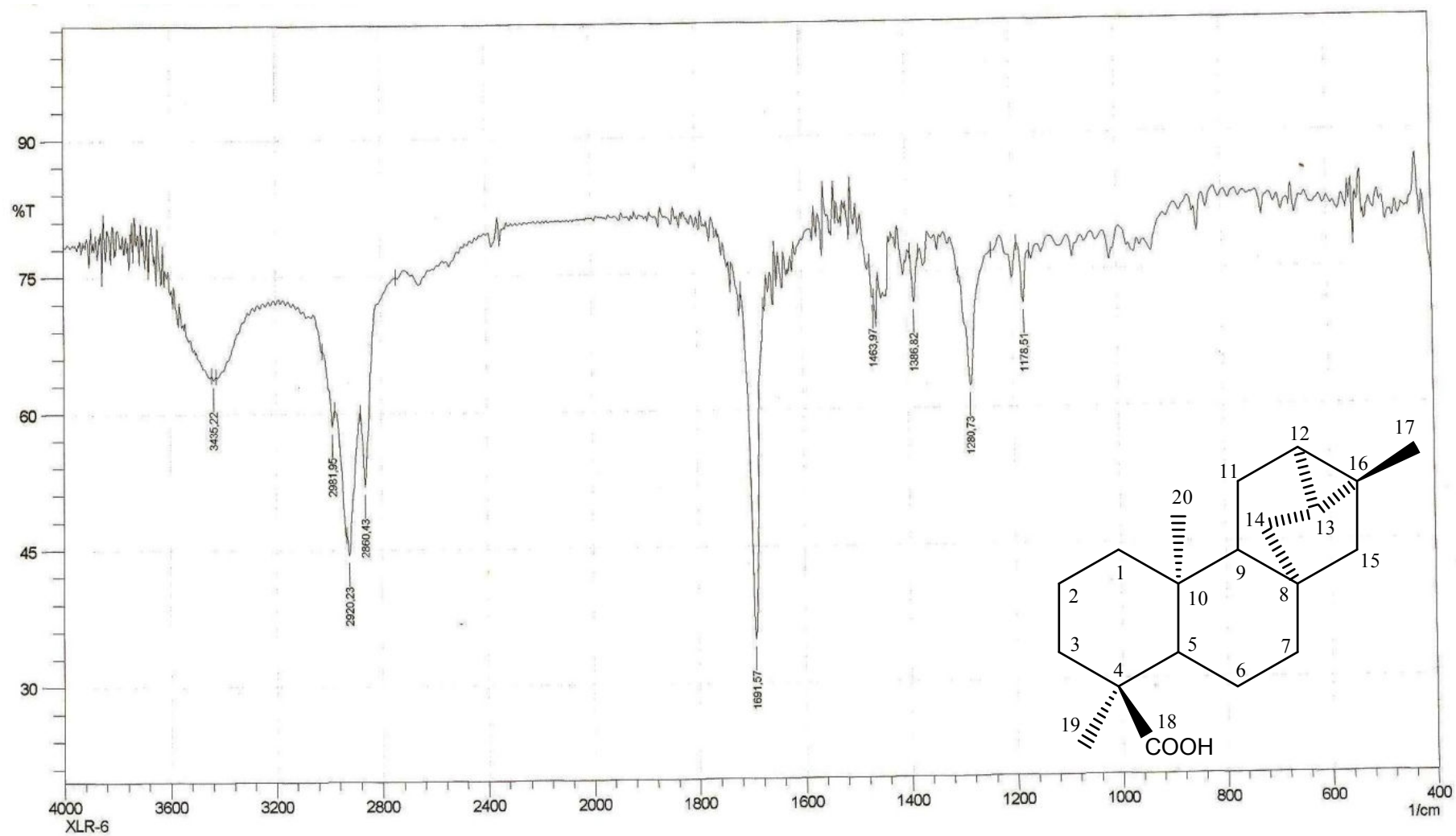


Figura 92: Espectro de IV obtido em KBr de XLR-6.

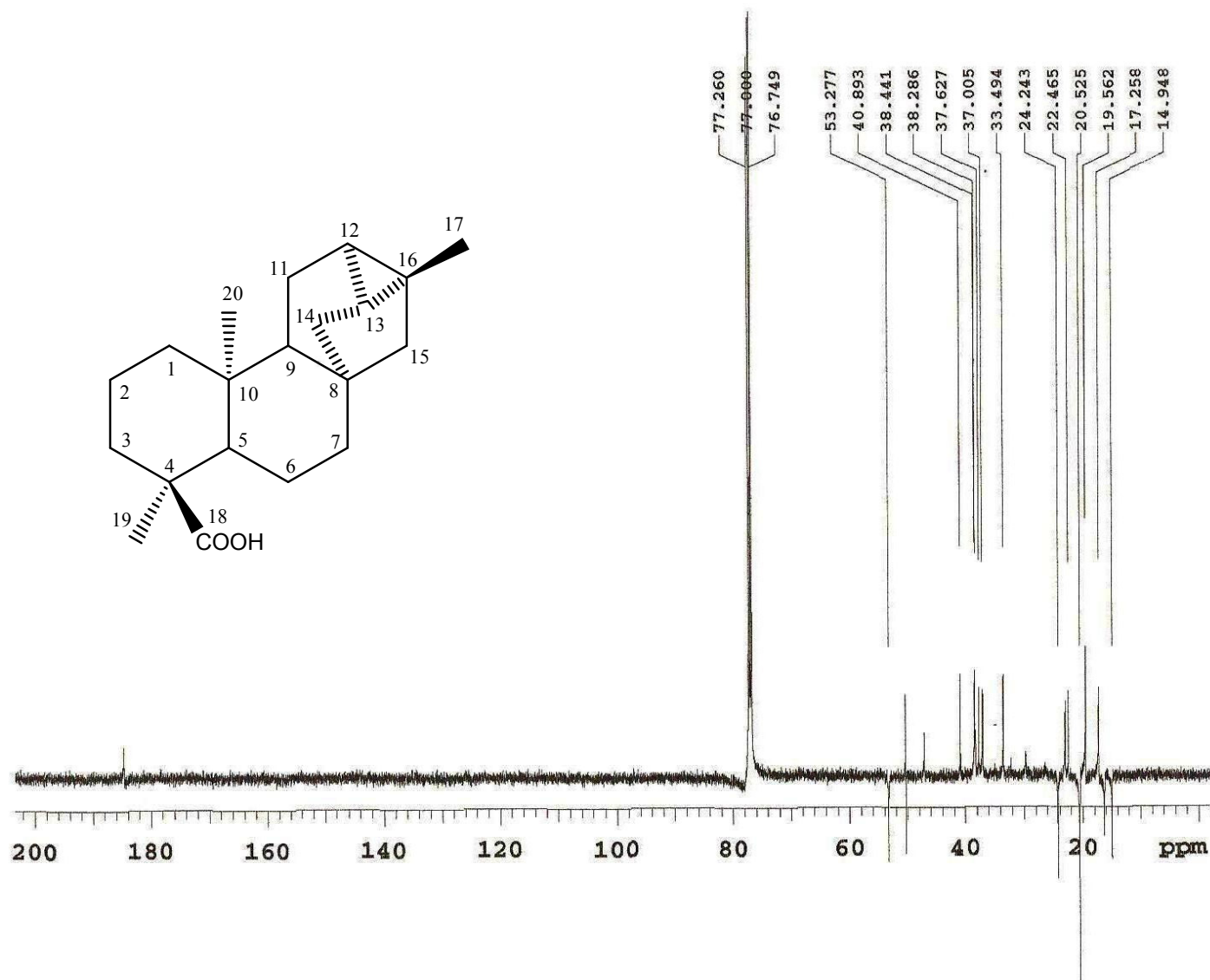


Figura 93: Espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-6 em CDCl_3 .

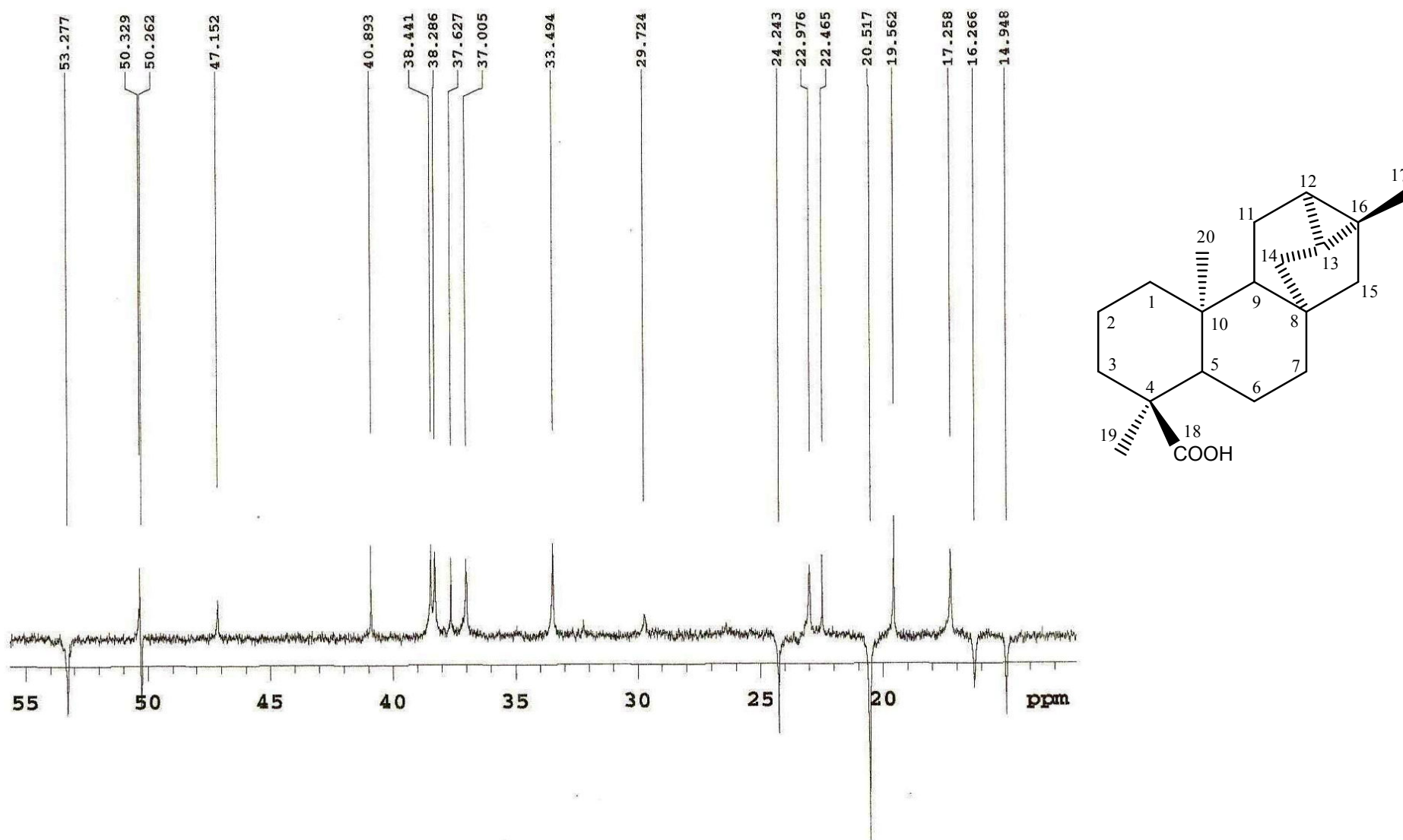


Figura 94: Espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-6 em CDCl_3 .

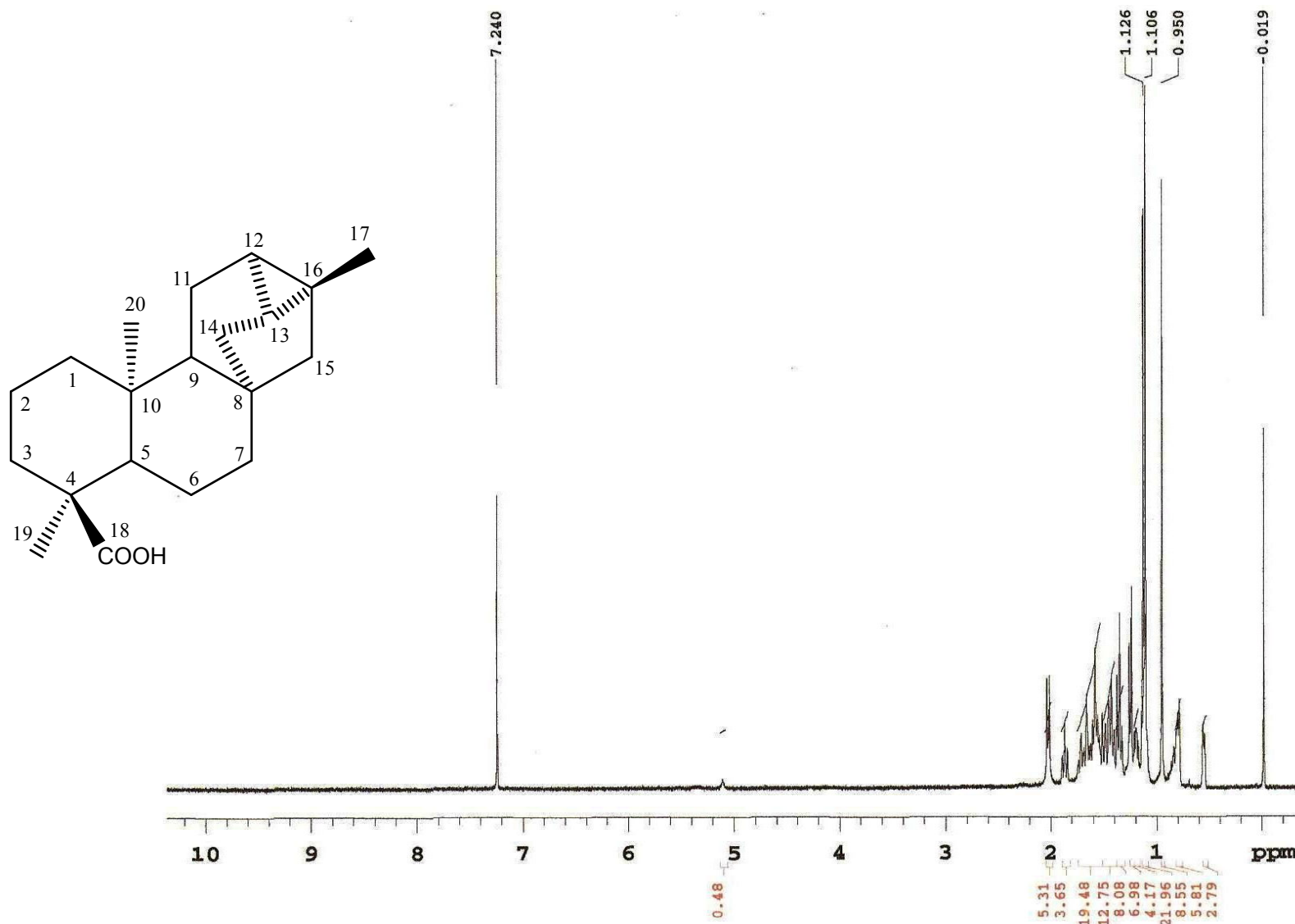


Figura 95: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-6 em CDCl_3 .

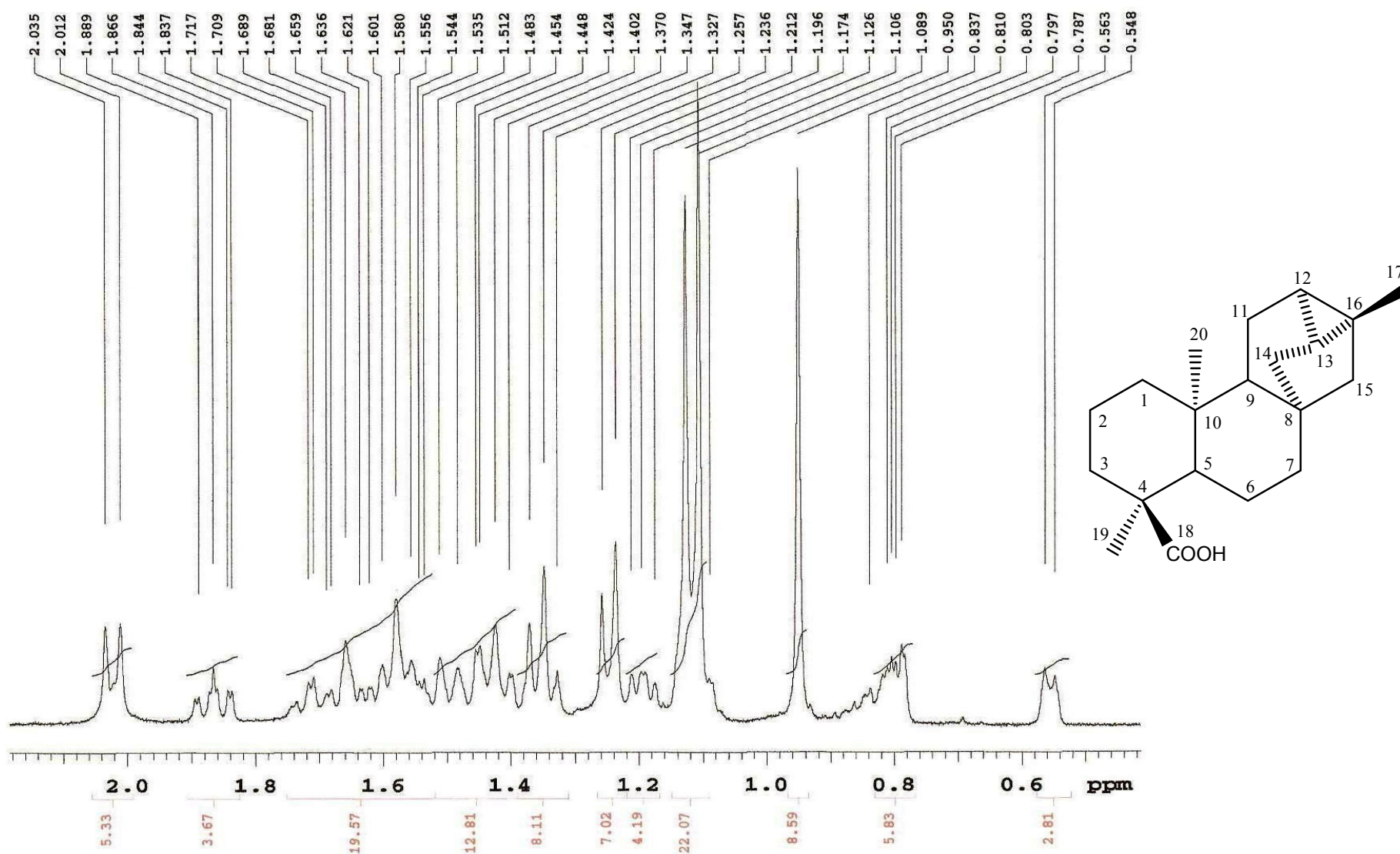


Figura 96: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-6 em CDCl_3 .

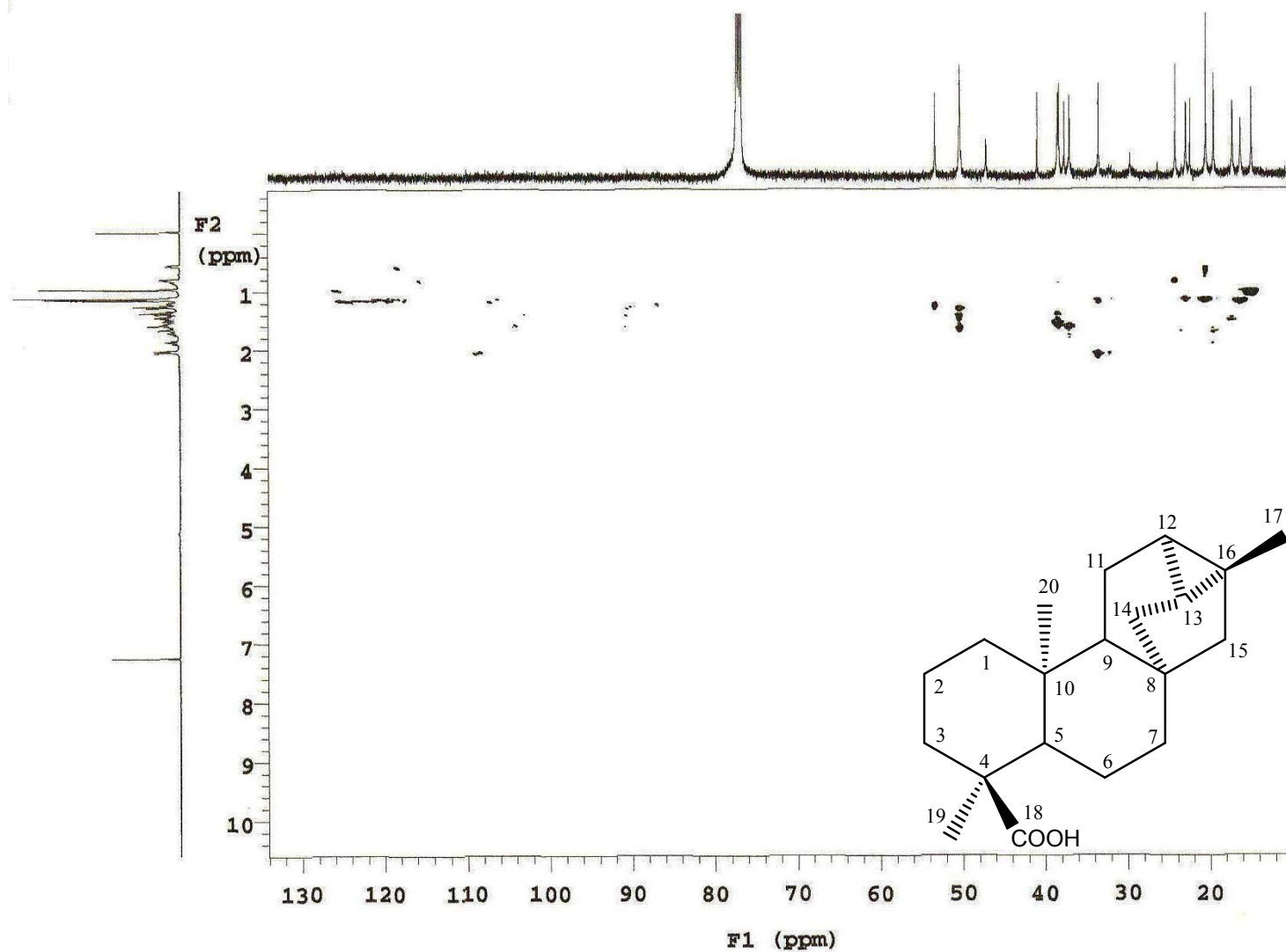


Figura 97: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-6 em CDCl_3 .

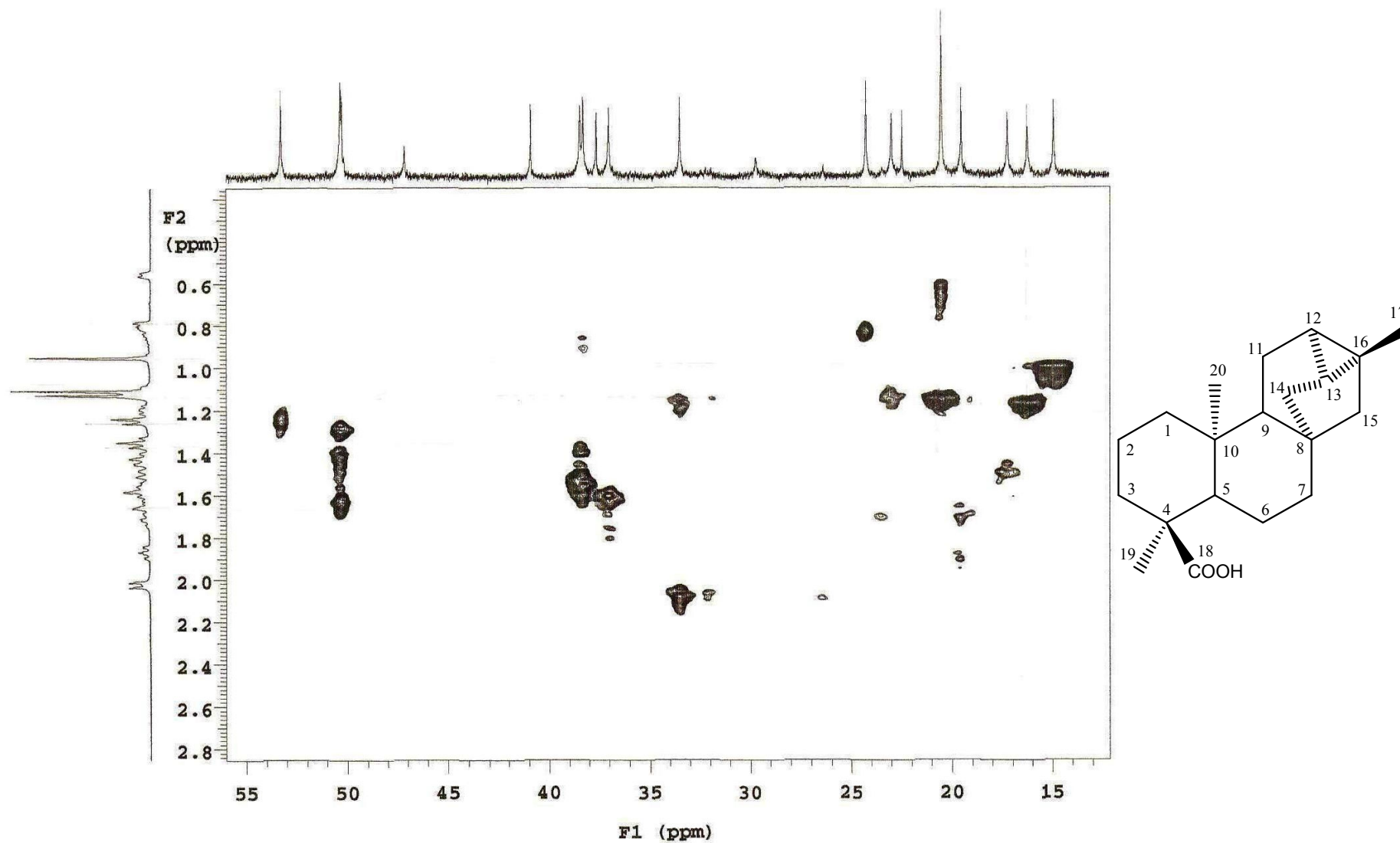


Figura 98: Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-6 em CDCl_3 .

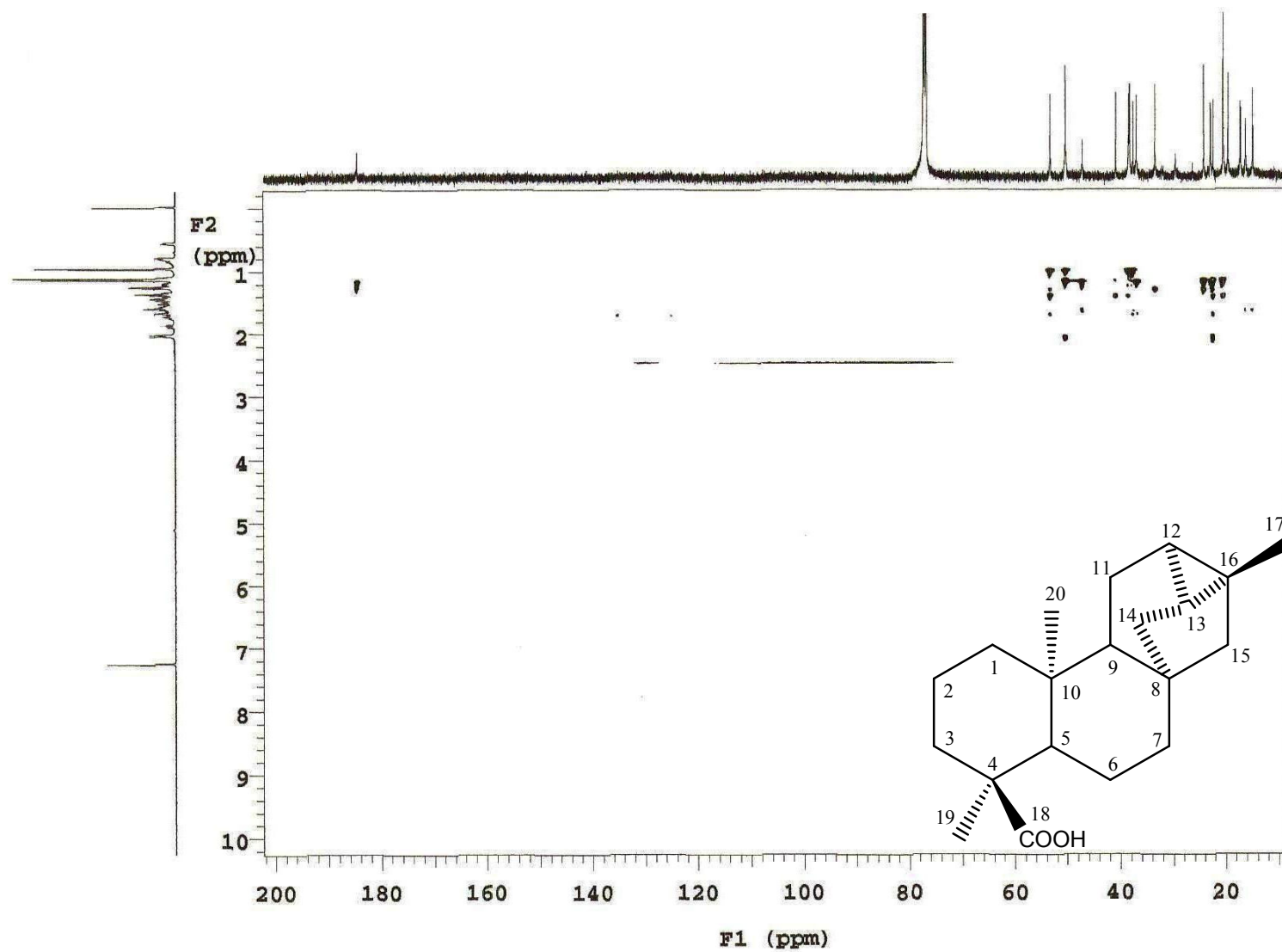


Figura 99: Espectro de correlação ^1H x ^{13}C gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-6 em CDCl_3 .

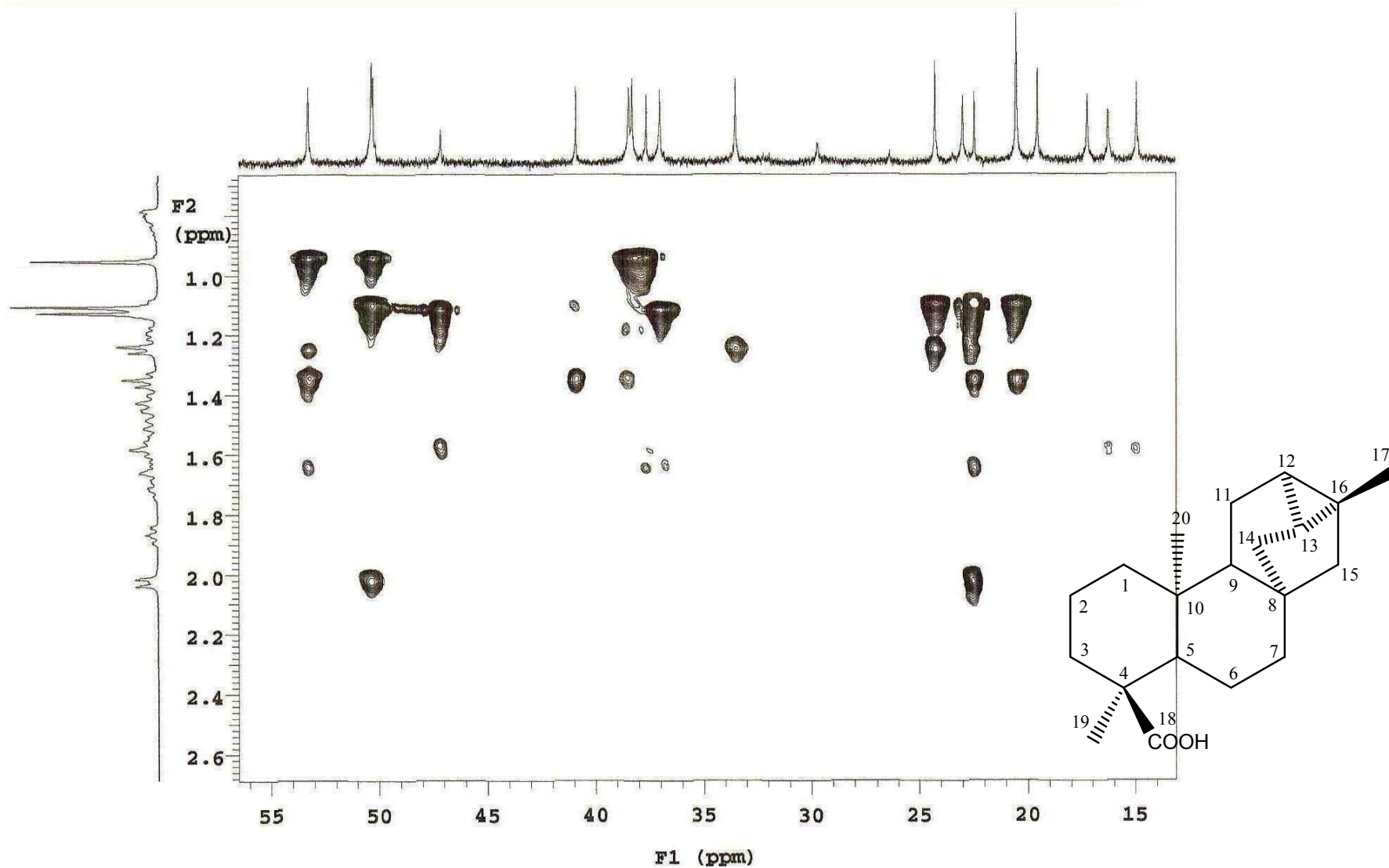


Figura 100: Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ gHMBC (500 e 125 MHz) de XLR-6 em CDCl_3 .

5.1.7 Determinação estrutural de XLR-7

A substância codificada como XLR-7 foi obtida como um pó amorfo branco, solúvel em clorofórmio. O espectro de massas de alta resolução obtido por ESI negativo (HR-ESI-MS) (Fig. 102, Pág. 155) mostrou um pico m/z 359,2191 $[M-H]^-$, correspondente a fórmula molecular $C_{22}H_{32}O_4$.

O espectro de IV obtido em KBr (Fig. 103, Pág.156) mostrou absorção em 3294 cm^{-1} característico de OH de ácido carboxílico, uma absorção na região de 1718 cm^{-1} característico de carbonila de ácido carboxílico, além de uma absorção em 1734 cm^{-1} característica de estiramento de carbonila de éster.

No espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) (Fig. 104, Pág. 157) observou-se a presença de 20 sinais, correspondentes a 22 átomos de carbono. Destes, 6 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 5 a carbonos metínicos, 7 a carbonos metilênicos e 4 a carbonos metílicos. Os sinais em δ_C 20,3; 23,7 e 22,8 ppm, típico de anel ciclopropano, atribui a XLR-7 esqueleto de diterpenos do tipo traquilobano (Fig. 105, Pág. 158).

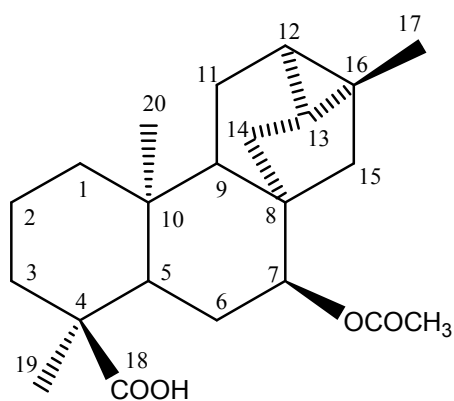
Em comparação com XLR-6, podemos observar em XLR-7, a presença do sinal em δ_C 170,7 ppm (Fig. 106, Pág. 159), atribuído a grupo OCOCH_3 , que pode ser confirmado pelo sinal desblindado em δ_H 1,99 ppm, típico de CH_3 pertencente a este grupo. O efeito de desproteção sofrido por C-6 (δ_C 27,8 ppm), juntamente com levantamento bibliográfico (TAVARES *et al*, 2006), imputa que o grupo OCOCH_3 esta inserido em C-7 (δ_C 78,1 ppm).

No espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 107, Pág. 160) verificou-se um envelope de sinais na região de δ_H 0,85 a 2,13 ppm com multiplicidade resolvida e não resolvida. Observou-se também, a presença de 4 singletos em δ_H 1,99; 1,10; 1,08 e 0,94 ppm (Fig. 108, Pág. 161), atribuídos a OCOCH_3 , CH_3 -17, CH_3 -18 e CH_3 -20, respectivamente. Os demais deslocamentos químicos estão compilados na Tabela 10.

Após análise de RMN ^1H e ^{13}C , infravermelho, espectro de massas, e em comparação com os dados da literatura (TAVARES *et al*, 2006) identificamos XLR-7 como sendo o ácido *ent-7 α -acetoxutraquiloban-18-óico*, já isolado do caule de *Xylopija langsdorffiana*.

Tabela 10: Dados de RMN de XLR-7 a 500 MHz em CDCl₃.

	XLR-7	TAVARES (2006)
	δ_c	δ_c
C		
4	46,5	46,9
8	44,0	44,5
10	37,5	37,9
16	22,8	23,3
18	184,0	185,1
CH		
5	42,4	42,8
7	78,1	78,9
9	48,5	48,9
12	20,3	20,7
13	23,7	24,2
CH₂		
1	38,1	38,6
2	17,1	17,6
3	36,8	37,2
6	27,8	27,8
11	19,0	19,5
14	32,3	32,8
15	45,1	45,5
CH₃		
17	20,3	20,7
19	15,9	16,4
20	14,8	15,2
COCH₃	170,7	171,4
COCH₃	21,1	21,6

**Figura 101:** Ácido *ent*-7 α -acetoxetraquiloban-18-óico.

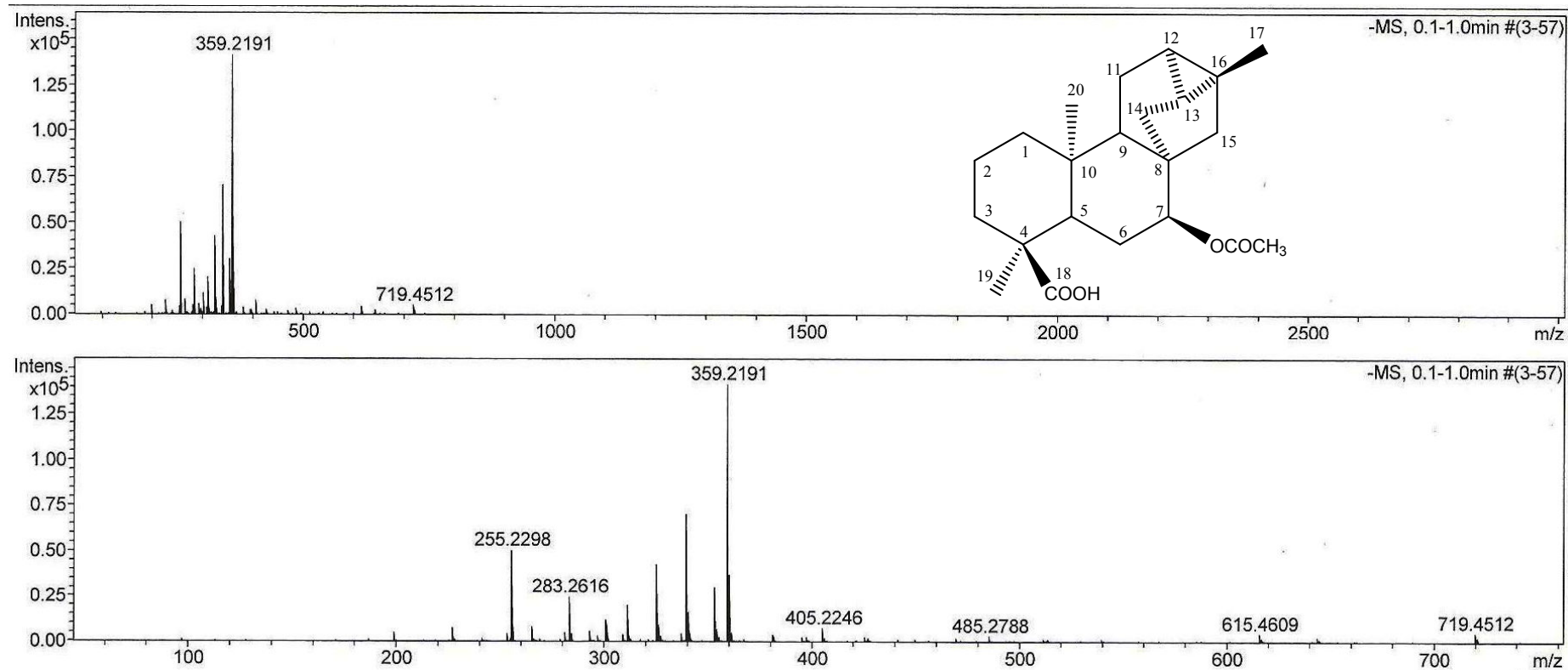


Figura 102: Espectro de massas obtido por ESI positivo (HR-ESI-MS), de XLR-7.

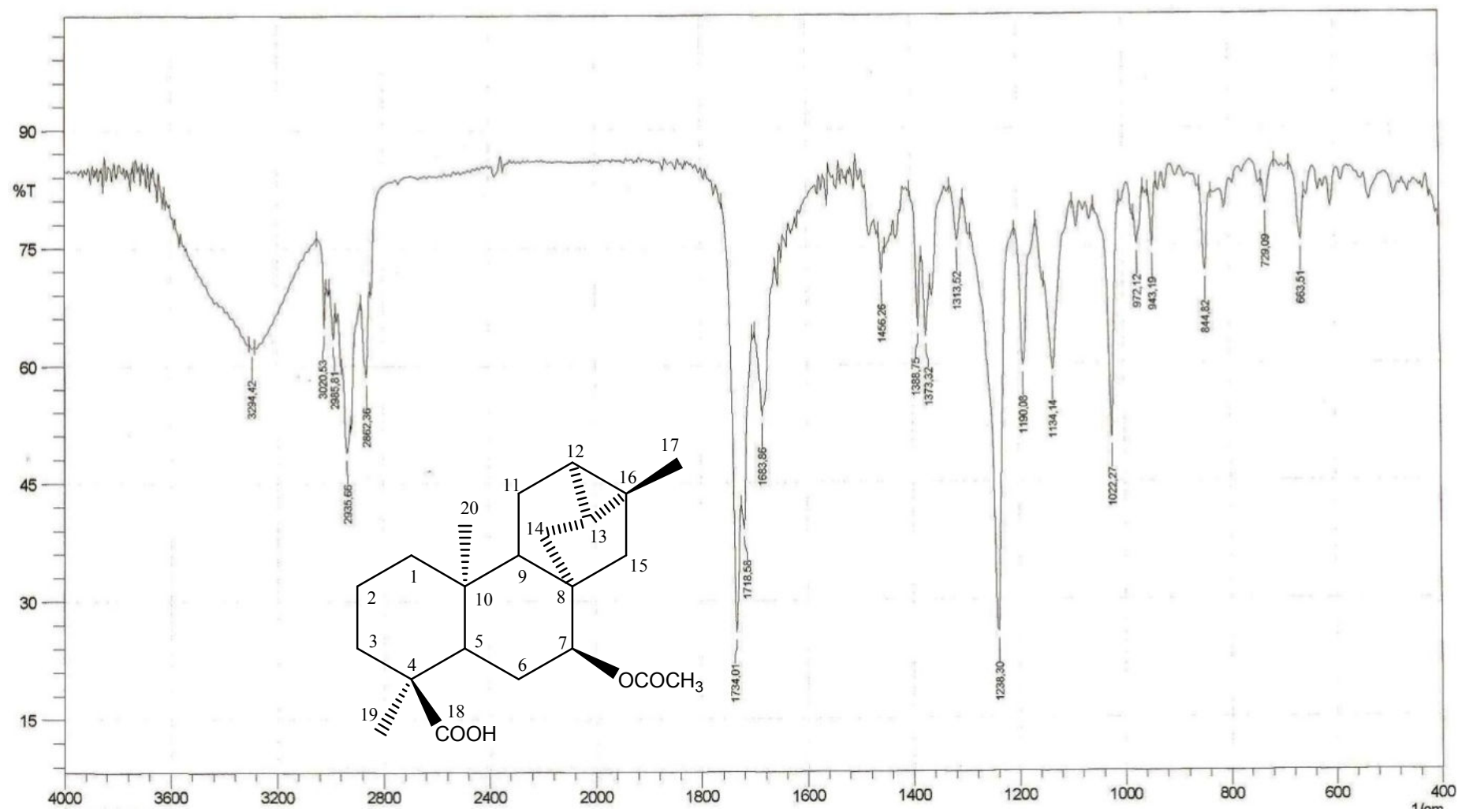


Figura 103: Espectro de IV obtido em KBr de XLR-7.

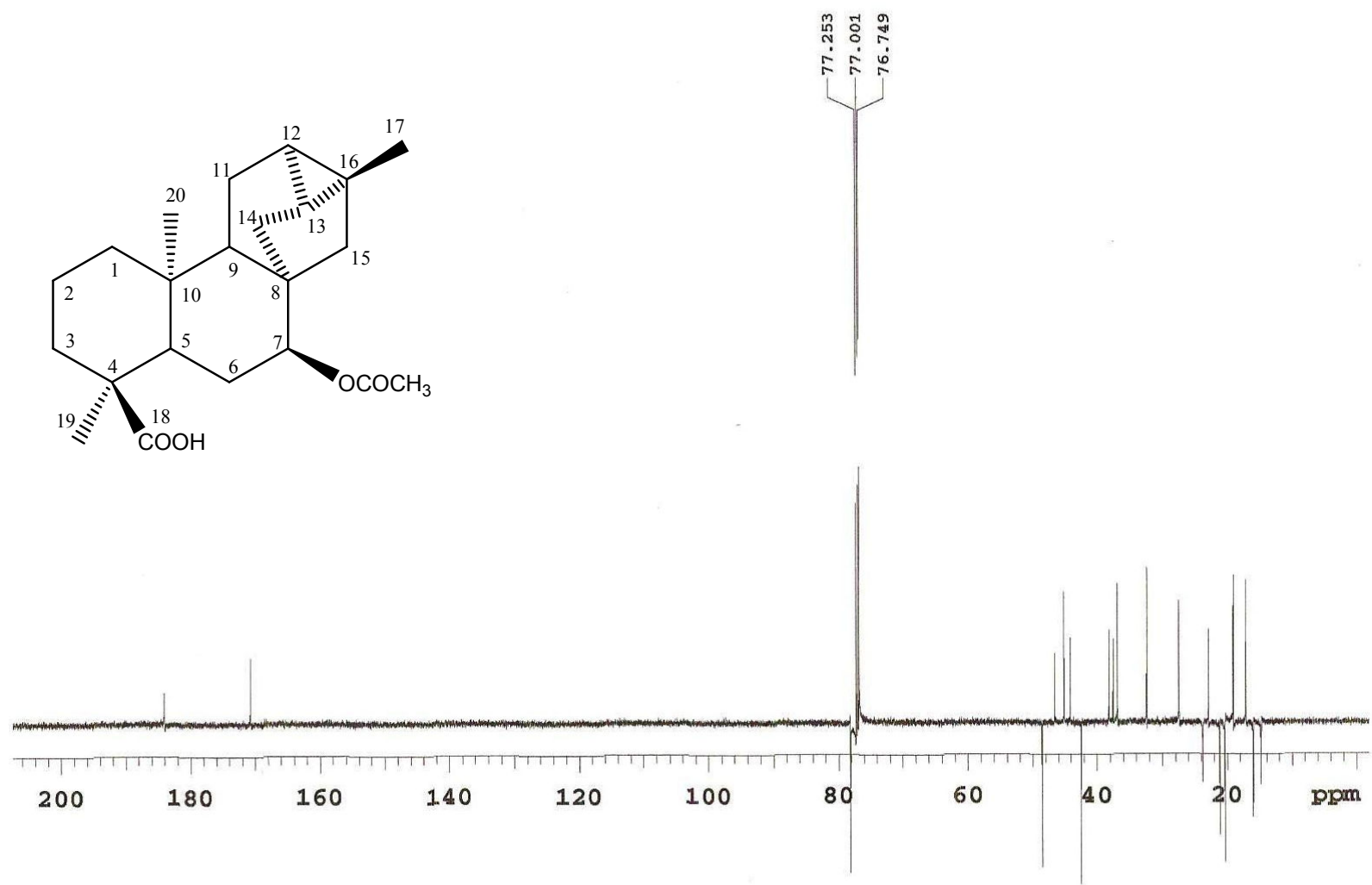


Figura 104: Espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-7 em CDCl_3 .

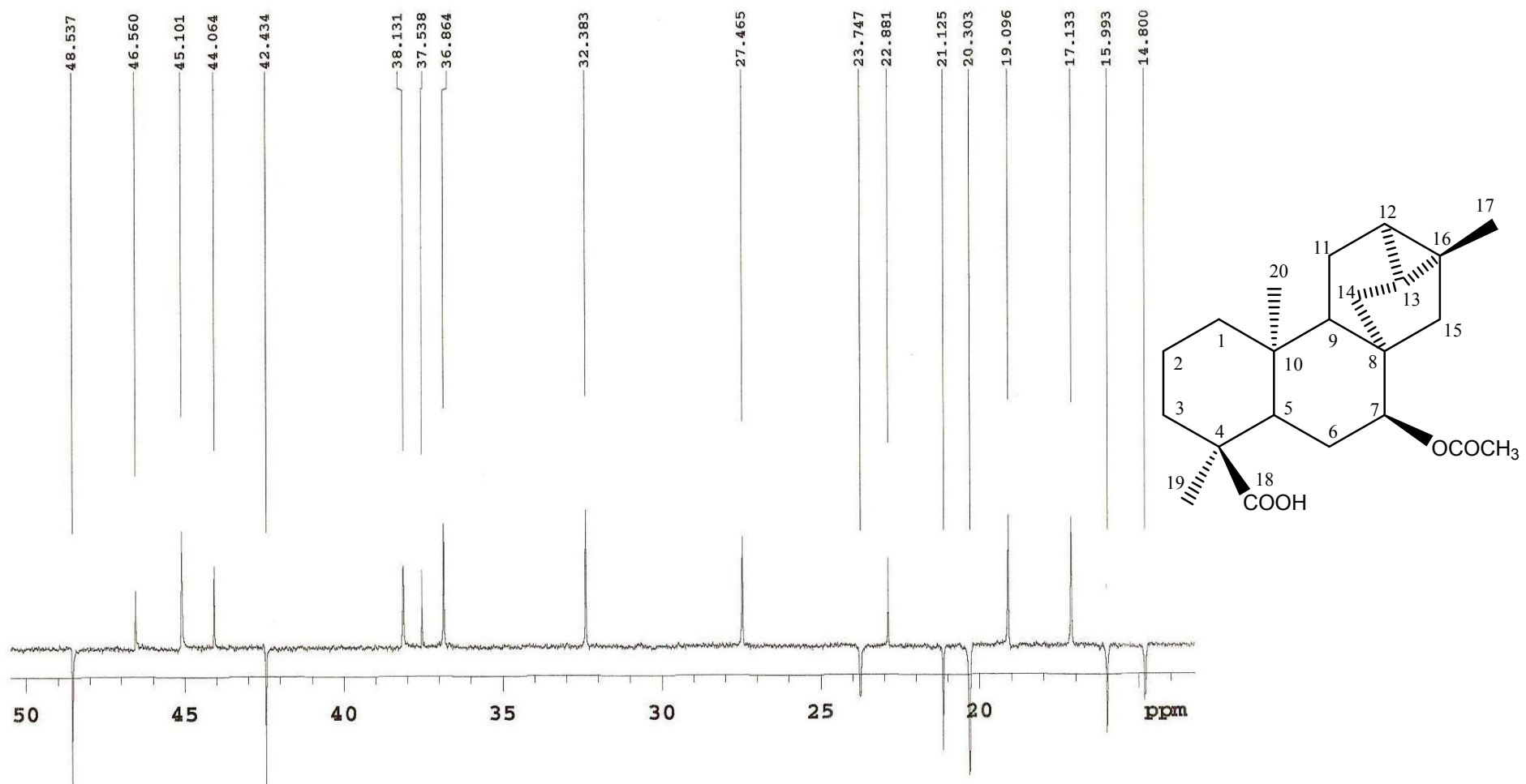


Figura 105: Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-7 em CDCl_3 .

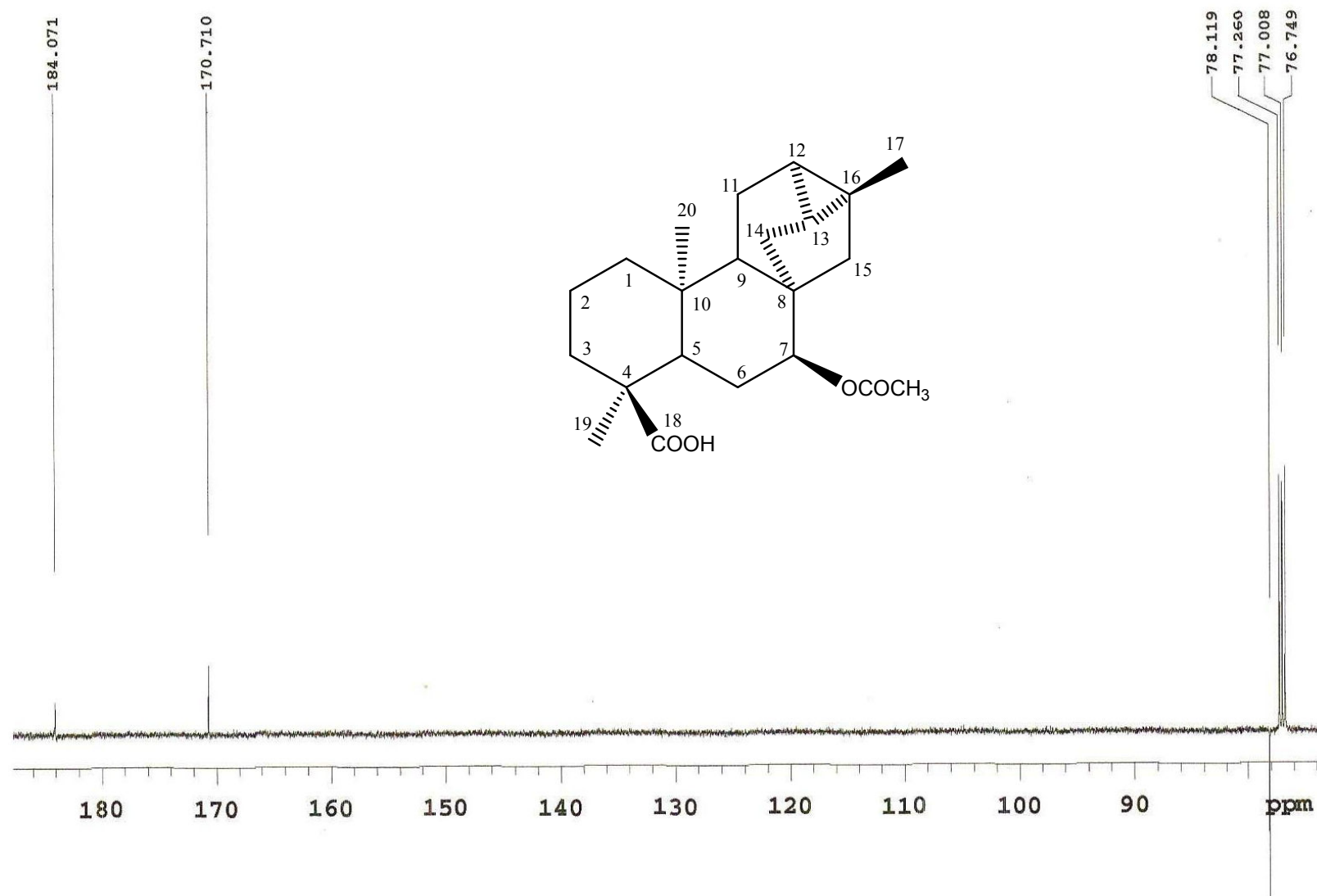


Figura 106: Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT (125 MHz) de XLR-7 em CDCl_3 .

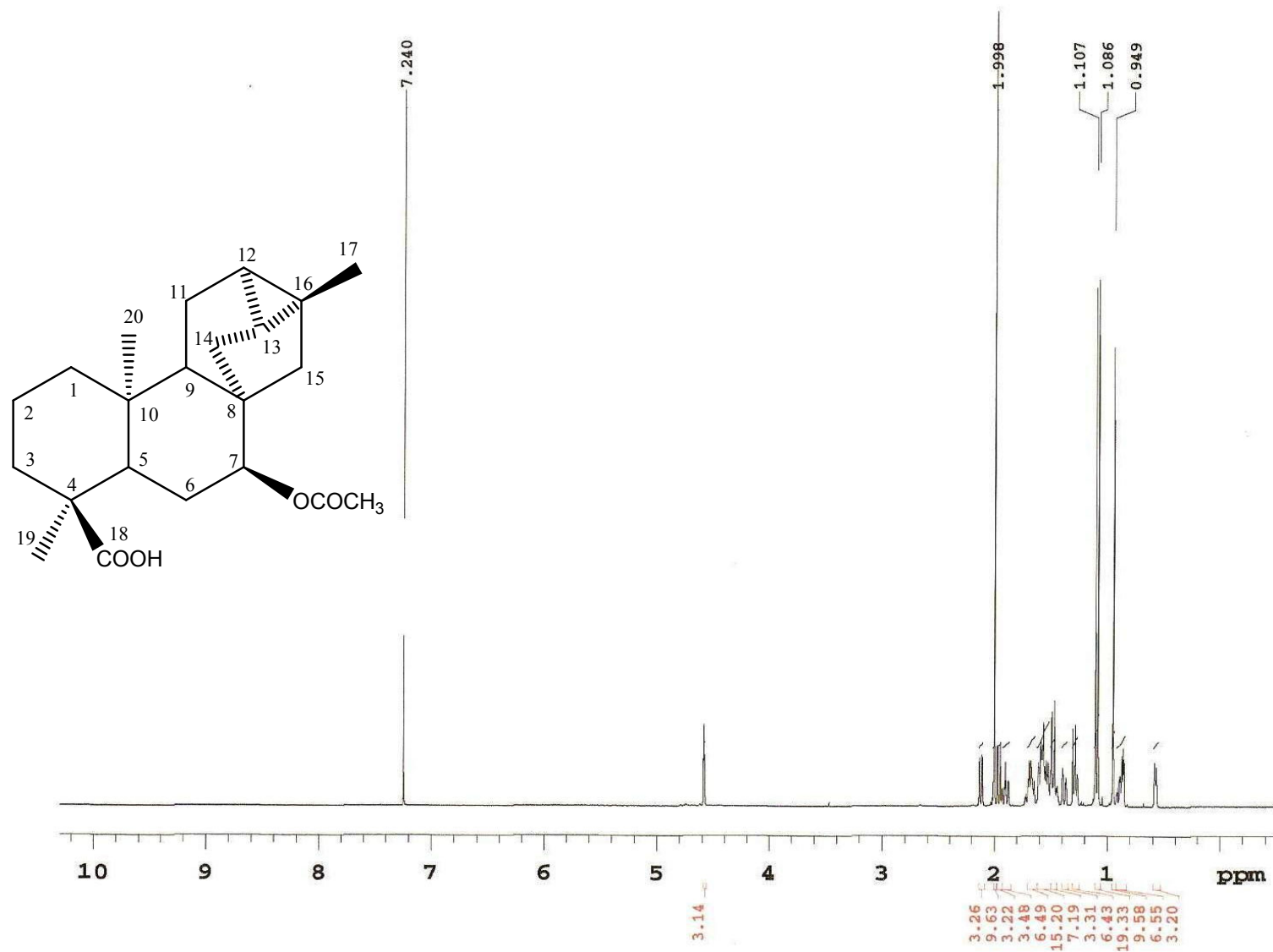


Figura 107: Espectro de RMN ¹H (500 MHz) de XLR-7 em CDCl₃.

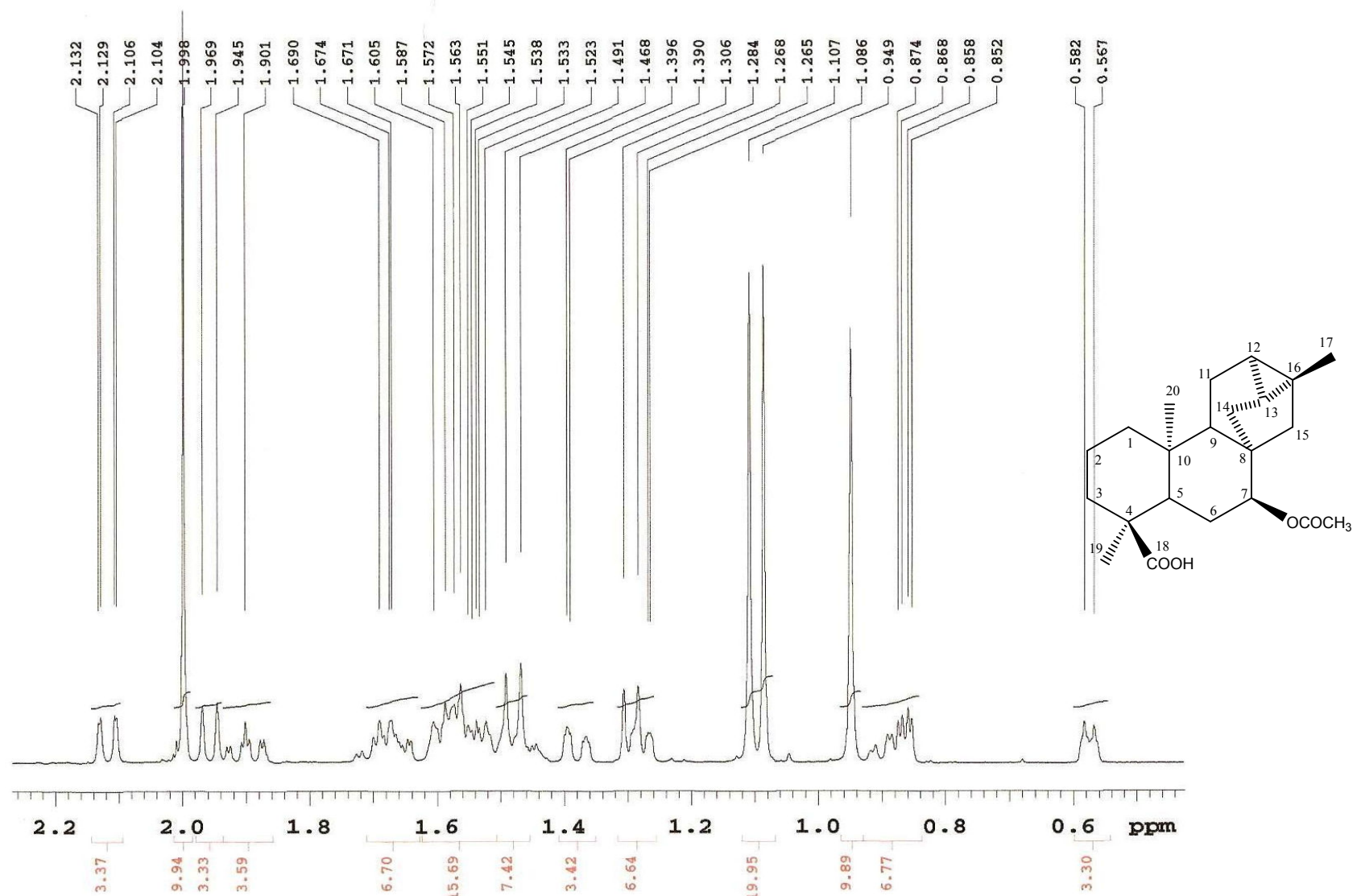


Figura 108: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz) de XLR-7 em CDCl_3 .

5.2 Composição química do óleo essencial das raízes de *Xylopia langsdorffiana*.

O óleo essencial das raízes de *Xylopia langsdorffiana* foi obtido por hidrodestilação com rendimento de 0,26% em relação ao peso do material fresco utilizado. Através de análise em cromatógrafo de fase gasosa acoplado a um espectrômetro de massas (CG-EM) foi possível identificar 35 componentes (Fig. 109), correspondendo a 89,39% do total do óleo. O trans-isolimoneno apresentou-se como constituinte majoritário com 56,63%. Representando 0,11% da composição química do óleo, foi detectada a presença do espatulenol, que é considerado o marcador de óleos essenciais do gênero *Xylopia* (MAIA, 2005). Os demais componentes estão listados na Tabela 11.

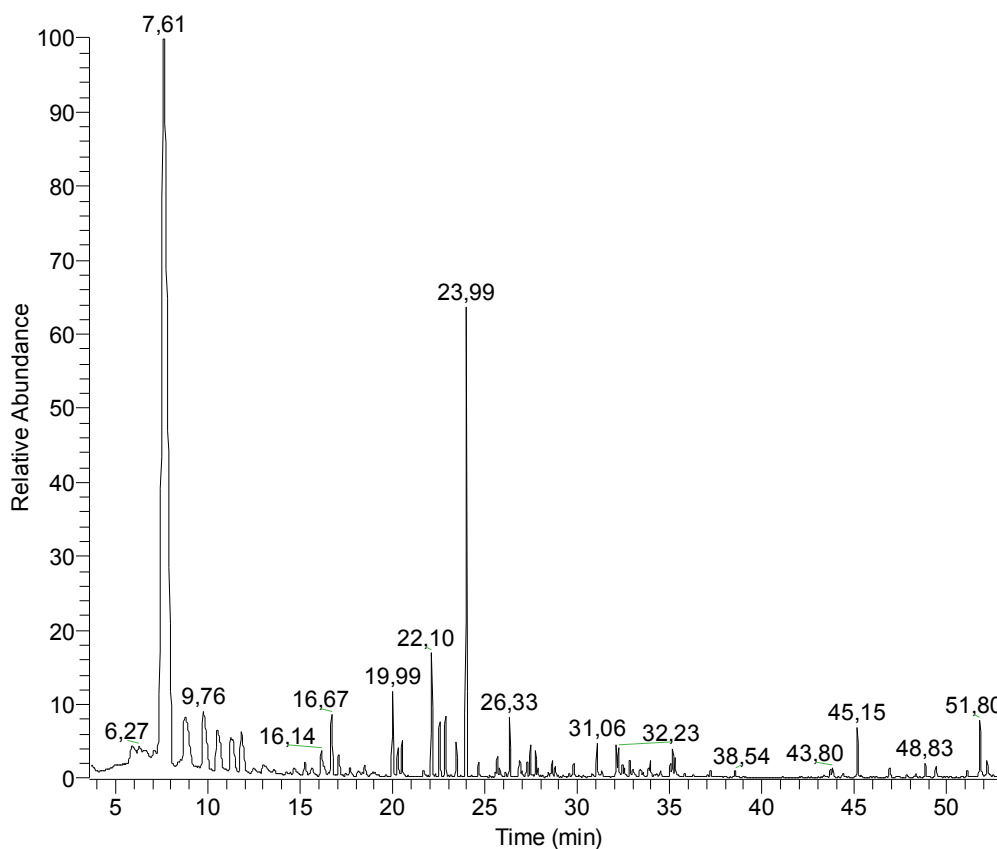


Figura 109: Cromatograma dos constituintes voláteis das raízes de *X. langsdorffiana*.

Tabela 11: Composição química do óleo essencial das raízes de *X. langsdorffiana* (CG-EM).

COMPOSTOS	IR	RT	%
α -pineno	933	5,92	2,12
Canfeno	945	6,27	2,55
β -pineno	972	7,00	1,2
Trans-isolimoneno	994	7,61	56,63
Limoneno	1027	8,75	4,24
β -ciclocitral	1055	9,76	2,91
Butilfenil	1075	10,5	2,14
3,4-dimetil-3-ciclohexen-1-carboxaldeido	1096	11,25	1,8
Oxido de <i>cis</i> -limoneno	1138	12,96	0,44
Karahanaenona	1153	13,58	0,2
Metil timol Éter	1227	16,67	1,34
Metil carvacrol Éter	1236	17,07	0,41
δ -elemeno	1365	22,54	0,84
α -copaeno	1372	22,85	0,8
β -elemeno	1386	23,44	0,49
Cipereno	1399	23,99	6,38
β -cariofileno	1415	24,64	0,2
Z- β -farneseno	1440	25,65	0,41
α -guaieno	1443	25,78	0,14
α -humuleno	1451	26,12	0,11
Rotudona	1457	26,33	0,76
β -selineno	1484	27,45	0,39
α -selineno	1491	27,73	0,32
α -muuroleno	1494	27,87	0,1
δ -amorfenol	1514	28,63	0,21
α -bulneseno	1544	29,8	0,21
Espatuleno	1569	30,78	0,11
Oxido de cariofileno	1576	31,06	0,46
1,10-di-epi-cubebol	1623	32,85	0,23
Cubenol	1639	33,44	0,16
α -cadinol	1650	33,86	0,16
Neo intemediol	1652	33,94	0,29
<i>t</i> -calamenen-10-ol	1658	34,18	0,08
β -bisabolol	1667	34,51	0,17
Ciperotundona	1685	35,16	0,39
TOTAL			89,39%

A diversidade de constituintes presentes no óleo essencial das raízes de *X. langsdorffiana*, é bem maior em relação a quantidade descritas para frutos e folhas. Das raízes foi possível identificar 89,39% da composição química do óleo volátil, correspondendo a 35 constituintes. Duarte (2009), identificou 100% da composição química dos frutos, o que somou 9 compostos, e Tavares et al (2007) relatou a presença de 26 constituintes, correspondendo a 91,58% da composição química do óleo essencial das folhas de *X.*

langsdorffiana. Na Tabela 12 podemos observar substâncias presentes no óleo da raiz, que são comuns aos óleos dos frutos e/ou folhas, com suas respectivas porcentagens.

Tabela 12: Compostos presentes no óleo essencial da raiz comuns a frutos e/ou folhas.

Constituintes	<i>X. langsdorffiana</i>		
	Raiz	Frutos (DUARTE, 2007)	Folhas (TAVARES ET AL, 2007)
α -pineno	2,12%	37,73%	7,30%
Canfeno	2,55%	12,82%	1,30%
β -pineno	1,2%	4,12%	2,77%
Limoneno	4,24%	31,42%	2,04%
α -copaeno	0,8%	-	1,39%
α -humuleno	0,11%	-	1,19%
Espatulenol	0,11%	1,59%	0,69%
Oxido de cariofileno	0,46%	3,20%	-

Já foram relatadas diversas atividades dos óleos essenciais de espécies do gênero *Xylopi*a, como: acaricida (PONTES et al, 2007), inseticida (KOUNINKI et al, 2007; TATSADJIEU et al, 2010; ASAWALAM et al, 2008), antimicrobiana (GARDINI et al, 2009; TATSADJIEU et al, 2010; ASEKUN et al, 2008; FLEISCHER et al, 2008) e antioxidante (KONAN et al, 2009). Em relação ao óleo essencial de *X. langsdorffiana*, Tavares et al (2007), relatou a atividade moluscicida das folhas da espécie, ao qual atribuiu, de modo parcial, ao α -pineno e β -pineno, compostos estes também presentes no óleo essencial das raízes da espécie em questão. Na Figura 110 podemos observar as estruturas químicas de alguns compostos presentes no óleo da raiz de *Xylopi*a *langsdorffiana*.

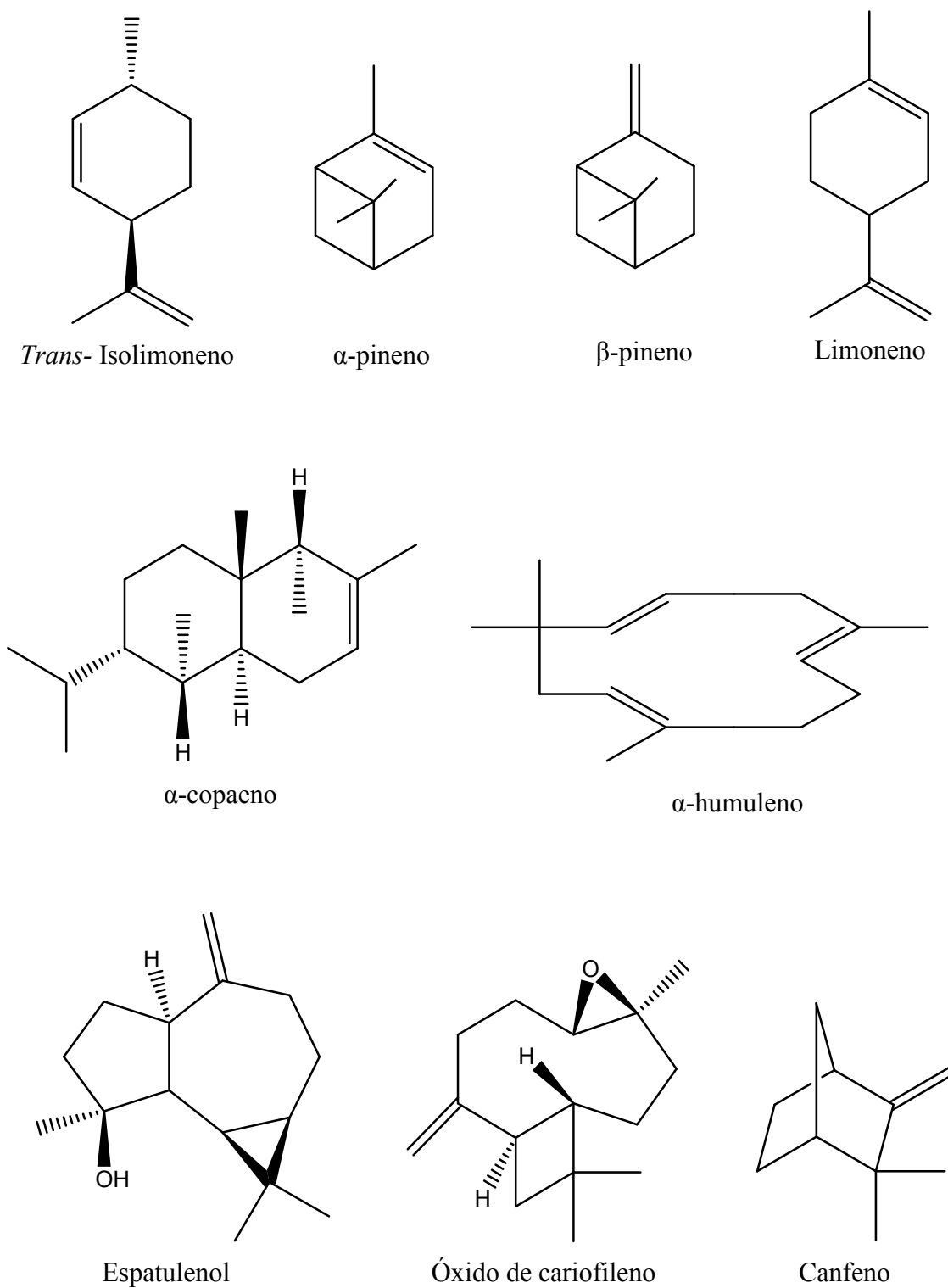


Figura 110: Fórmulas estruturais de alguns compostos presentes no óleo essencial de *Xylopi langsdorffiana*.

6. CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico de *Xylopi langsdorffiana* levou ao isolamento de sete substâncias. As quais foram identificadas por Espectrometria de Massas de alta de baixa resolução, Espectroscopia de Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear ^1H e ^{13}C , incluindo técnicas bidimensionais (HMQC, HMBC, COSY e NOESY).

A espécie *X. langsdorffiana* apresentou em sua constituição química diterpenos do tipo atisano, caurano e traquilobano. Esses tipos de constituintes corroboram com a quimiotaxonomia de Annonaceae, em especial para o gênero *Xylopi*.

Das raízes de *X. langsdorffiana* foram isolados dois novos diterpenos atisano, o *ent*-atisan-7 α -acetoxi-16 α -ol e o *ent*-atisan-7-oxo-16 α -ol, nomeados trivialmente de *Acetato de Xylodiol* e *Xylopinona*, respectivamente. Além de rês diterpenos do tipo caurano, relatados pela primeira vez na espécie, o *ent*-cauran-16 β -ol, ácido *ent*-caur-16-en-19-óico e o *ent*-caur-16-en-19-ol, e dois diterpenos do tipo traquilobano já relatados na espécie, o ácido *ent*-traquiloban-18-óico e o ácido *ent*-7 β -acetoxitraquiloban-18-óico.

O diterpeno *ent*-cauran-16 β -ol teve os valores de C-1 e C-7 corrigidos e pela primeira vez seus dados de RMN bidimensionais são apresentados.

Através da caracterização do óleo essencial das raízes de *X. langsdorffiana* por CG-EM, foi possível identificar 89,39% dos constituintes químicos que apresentou como composto majoritário o trans-isolimoneno (56,63%), e 0,11 % de espatulenol, considerado marcador para o gênero *Xylopi*.

Desta forma, os resultados obtidos contribuíram para a ampliação do conhecimento quimiotaxonômico da família Annonaceae, em especial para *Xylopi langsdorffiana*.

REFERÊNCIAS

- AHARONI, A., JONGSMA, M.A., KIM, T.-Y., RI, M.-B., GIRI, A.P., VERSTAPPEN, F.W.A., SCHWAB, W. & BOUWMEESTER, H.J. Metabolic engineering of terpenoid biosynthesis in plants. **Phytochemistry reviews** 5: 49-58. 2006.
- AKERELE, O. Medicinal plants and primary health care: an agenda for action. **Fitoterapia** 59: 355-363, 1998.
- ALEXANDER, I. C.; PASCOE, O. K.; MARCHAND, P. & WILLIAMS, L. A. D. An insecticidal diterpene from *Croton linearis*. **Phytochemistry** 30(6): 1801-1803, 1991.
- ANDRADE, N.C.; BARBOSA-FILHO, J.M.; SILVA, M.S.; CUNHA, E.V.L. Diterpenes and volatile constituents from the leaves of *Xylopia caynnensis* Mass. **Biochemical Systematics and Ecology** 32: 1055-1058, 2004.
- ANDREÃO, P.S.S.; GIACOMINI, R.A.; STUMBO, A.M.; WALDMAN, W.R.; BRAZ-FILHO, R. Utilização e recuperação de sílica gel impregnada com nitrato de prata. **Química Nova** 33(1): 212-215, 2010.
- APG III. **An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III**. Botanical Journal of the Linnean Society 161: 105–121. 2009.
- ARAÚJO, M.E.M. **Química Analítica Aplicada aos Produtos Naturais**. 2005. Dissertação (Mestrado em Química Analítica Aplicada).
- ASAWALAM, E.F; EMOSAIRUE, S.O; HASSANALI, A. Contribution of different constituents to the toxicity of the essential oil constituents of *Vernonia amygdalina* (Compositae) and *Xylopia aethiopica* (Annonaceae) on maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **African Journal of Biotechnology** 7(16): 2957-2962, 2008.
- ASEKUNA, O.T; ADENIYI, B.A. Antimicrobial and cytotoxic activities of the fruit essential oil of *Xylopia aethiopica* from Nigeria. **Fitoterapia** 75: 368–370, 2004.
- BALADRIN, M.F.; KLOKE, J.A.; WURTELE, E.S. & BOLINGE, W.H. Natural plant chemicals. Source of industrial and medicinal materials. **Science** 228: 1054-1060, 1985.
- BHAT, S.V. Structures and stereochemistry of new labdane diterpeneoids from *Coleus forskohlii* Brinq. **Tetrahedron Letters** 19: 1669-1672, 1977.
- BOLZAN, A.A. **Constituintes de *Senico plantensis* Arech. Isolamento, elucidação estrutural e avaliação da atividade antibacteriana**. Santa Maria, 2007. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Santa Maria.
- BRUNETON, J. **Pharmacognosie: Phytochimie - Plantes Medicinales**. Technique et Documentation – Lavoisier, 2^a Edição, 1993.

- CARVALHO, J.C.T. **Fitoterápicos anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. Tecmed. São Paulo, 2004.
- CAVALCANTI, B.C.; FERREIRA, J.R.O.; MOURA, D.J.; ROSA, R.M.; FURTADO, G.V.; BURBANO, R.R.; SILVEIRA, E.R. LIMA, M.A.S.; CAMARA, C.A.G.; SAFFI, J.; HENRIQUES, J.A.P.; RAO, V.S.N.; LOTUFO, L.V.C.; MORAES, M.O.; PESSOA, C. Structure–mutagenicity relationship of kaurenoic acid from *Xylopia sericeae* (Annonaceae). **Mutation Research** 701: 153-163, 2010.
- CECHINE FILHO, V. & YUNES, R.A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificações estrutural para otimização da atividade. **Química Nova** 21(1), 1998.
- CHADWICK, D. J.; MRSH, J. **Bioactive Compounds from Plants**. John Wiley, New York, 1990.
- CHANG, F.R.; YANG, P.Y.; LIN, J.Y.; LEE, K.H.; WU, Y.C. Bioactive Kaurane Diterpenoids from *Annona glabra*. **Journal of Natural Products**. 61: 437-439, 1998.
- CHARLWOOD, B. V. & BANTHORPE, D. V. **Methods in plant biochemistry - Terpenoids**. Vol. 7. Academic Press, 1991.
- CHATROU, L. W.; RAINER, H. & MAAS, P. J. M. ANNONACEAE (SOURSOP FAMILY). *IN*: SMITH, N.; MORI, S. A.; HENDERSON, A.; STEVENSON, D. W. & HEALD, S. V. (eds.). **Flowering Plants of the Neotropics**. The New York Botanical Garden, New York. Pp. 18-20, 2004.
- COLMAN-SAIZARITORIA, T.; ZAMBRANO, J.; FERRIGNI, N. R. Bioactive Annonaceous acetogenins From the bark of *Xylopia aromatica*. **Journal of Natural Products**. 57(4): 486-493, 1994.
- CORDELL, G. A. Changinng strategies in natural products chemistry. **Phytochemistry**. 40(6): 1585-1612, 1995.
- CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, Vol. 6, 1984.
- COSTA, A.F. **Farmacognosia Vol. I**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1031p., 2002.
- COSTA, V.C.O.; TAVARES, J.F.; AGRA, M.F.; FALCÃO-SILVA, V.S.; FACANALI, R.; VIERA, M.A.R.; MARQUES, M.O.M.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J.P.; SILVA, M.S. Composição química e modulação da resistência bacteriana a drogas do óleo essencial das folhas de *Rollinia leptopetala* R.E. Fries. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 18(2): 245-248, 2008.
- CRONQUIST, A. **Na integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia Univ. Pr. p. 53-55, 1981.

- CROTEAU, R.; KUTCHAN, T.; LEWIS, N. Natural products (secondary metabolism). In: Buchanan, B.B.G.W.; Jones, R.L. [ed], **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Biologists. 1250-1318, 2000.
- DEGANI, A.L.G.; CASS, Q.B.; VIEIRA, P.C. **Cromatografia um breve ensaio**. Química Nova na Escola, Nº 7, p. 21-25. 1998.
- DEGENHARDT, J; GERSHENZON, J; BALDWIN, T; KESSLER, A. Attracting friends to feast on foes: engineering terpene emission to make crop plants more attractive to herbivore enemies. **Current Opinion in biotechnology**, 14(2): 169-176, 2003.
- DEWICK, P.M. **The mevalonate and deoxyxylulose phosphate pathways: Terpenoids and Steroids**. John Wiley & Sons Ltda. Medicinal Natural Products, p. 168, 2002.
- DEY P, HARBORNE J. Methods in plant biochemistry - **Terpenoids**. Academic Press, 1991.
- DI STASI, L.C. 1995. **Plantas Medicinais: Arte e Ciência**. UNESP. Brasil. 230p.
- DIAS, M. C. **Estudos taxonômicos do gênero *Xylopia* L., (Annonaceae) no Brasil extraamazônico**. Dissertação de Mestrado. São Paulo - Universidade Estadual de Campinas. 1988.
- DIDEROT, N.T.; SILVERE, N.; YASIN, A.; ZAREEN, S.; FABIEN, Z.; ETIENNE, T.; CHOUDHARY, M.I.; RAHMAN, A. Prolyl endopeptidase and thrombin inhibitory diterpenoids from the bark of *Xylopia aethiopica*. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, 69 (9): 1763-1766, 2005.
- DING, Y.L. & JIA, Z.J. Tetracyclic diterpenols from *Euphorbia sieboldiana*. **Phytochemistry**. 30(7): 2413-2415, 1991.
- DUARTE, M.C. **Novos diterpenos dos frutos de *Xylopia langsdorffiana***. João Pessoa - Universidade Federal da Paraíba. Dissertação de Mestrado. 2009.
- EISENREICH, W; BACHER, A; ARIGONI, D; ROHDICH, F. Biosynthesis of isoprenoids via the non-mevalonate pathway. **Cell Mol Life Sci.**, 61(12):1401-26, 2004.
- ERKENS, R.H.J., MAAS, P.J.M., CHATROU, L.W., SCHATZ, G.E. & ZAMORA, N. Seven taxonomic discoveries in Annonaceae from southeastern Central America. **Blumea**, 51: 199-220, 2006.
- EVANS, F & TAYLOR, S. Pro-inflammatory, tumor-promoting and anti-tumor diterpenes of the plant families Euphorbiaceae and Thymelaeaceae. **Progress in the Chemistry of Organic Natural Products** 44: 1-99, 1983.
- FARNSWORTH, N.R. The development of pharmacological and research for application to traditional medicine in developing countries. **Journal of Ethnopharmacology** 2(2): 173-181, 1980.

- FEITOSA, E.M.A; ARRIAGA, A.M.C; SANTIAGO, G.M.P; LEMOS, T.L.G; OLIVEIRA, M.C.F; VASCONCELOS, J.N; LIMA, J.Q; MALCHER, G.T. NASCIMENTO, R.F; BRAZ-FILHO, R. Chemical Composition and Larvicidal Activity of *Rollinia leptopetala* (Annonaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society** 20(2): 375-378, 2009.
- FLEISCHER, T.C; MENSAH, M. L. K; MENSAH, A. Y; KOMLAGA, G; GBEDEMA, S.Y;SKALTSA, H. Antimicrobial activity of essential oils of *xylopia aethiopica*. **Afr. J. Trad.** 5 (4): 391 – 393, 2008.
- FRIES, R. E. **Annonaceae**. In: ENGLER, A. & PRANTL, K (eds.) Die Natürlinchen Pflanzenfamilien. 2 ed. Berlin, Dunker & Humblot. v. 17a: 1-171. 1959.
- GARDINIL, F; BELLETTI, N; NDAGIJIMANA, M;GUERZONIL, M.E; TCHOUMBOUGNANG, F; ZOLLO, P.H.A; MICCI, C; LANCIOTTI, R; KAMDEM, S.L.S. Composition of four essential oils obtained from plants from Cameroon, and their bactericidal and bacteriostatic activity against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus*. **African Journal of Microbiology Research** 3(5): 264-271, 2009.
- GATTI, A.B; GUALTIERI, PEREZ, S.C.J.G.A; FERREIRA, A.G. 2007. Avaliação da Atividade Alelopática de Extratos Aquosos de Folhas de Espécies de Cerrado. **Revista Brasileira de Biociências**, 5(2): 174-176.
- H. KOUNINKI, T. HANCE, F. A. NOUDJOU, G. LOGNAY, F. MALAISSE, M. B. NGASSOUM4, P. M. MAPONGMETSEM, L. S. T. NGAMO AND E. HAUBRUGE J. Toxicity of some terpenoids of essential oils of *Xylopia aethiopica* from Cameroon against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Journal Applied Entomology**. 131(4): 269–274, 2007.
- HARBONE, J.B. **Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plant analysis**. London: Chapman and Hall, 1989.
- HARRIGAN, G. G.; GUNATILAKA, A. A. L.; KINGSTON, D. G. I.; CHAN, G. W.; JOHNSON, R. K. Isolation of bioactive and other oxoaporphine alkaloids from two Annonaceous plants, *Xylopia aethiopica* and *X. miliusa* Cf. Banacea. **Journal of Natural Products** 57(1): 68-73, 1994.
- HEGNAUER, R. & HEGNAUER, M. **Chemotaxonomie der Pflanzen. Generalregister**. Birkhäuser Verlag, Basel. 1992.
- HUMEIRAH, A.G.S.; AZAH, M.A.N.; MASTURA, M.; MAILINA, J.; SAIFUL, J.A.; MUHAJIR, H.; PUAD, A.M. Chemical constituents and antimicrobial activity of *Goniothalamus macrophyllus* (Annonaceae) from Pasoh Forest Reserve, Malaysia. **African Journal of Biotechnology** 9(34): 5511-5515, 2010.

- JUNG, H.A.; LEE, E.J, KIM, J.S.; KANG, S.S.; LEE, J.H.; MIN, B.S.; CHOI, J.S. Cholinesterase and BACE1 inhibitory diterpenoids from *Aralia cordata*. **Archives of Pharmacol Research** 32(10): 1399-1408, 2009.
- KARIOTI, A; HADJIPAVLOU-LITINA, D; MENSAH, M.L.K; FLEISCHER, T.C; SKALTSA, HELEN. J. Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oils of *Xylopia aethiopica* (Dun) A. Rich. (Annonaceae) Leaves, Stem Bark, Root Bark, and Fresh and Dried Fruits, Growing in Ghana **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 52: 80944-8098, 2004.
- KELECOM, A. Isolation, structure determination, and absolute configuration of barbatusol, a new bioactive diterpene with a rearranged abietane skeleton from the labiate *Coleus barbatus* **Tetrahedron** 39: 3603- 3608, 1983.
- KONAN, N ; KOUAME, B.A; MAMYRBEKOVA-BEKRO, J.A ; NEMLIN, J; YVES-ALAIN, B. Chemical Composition and Antioxidant Activities of Essential Oils of *Xylopia Aethiopica* (Dunal) a. Rich. **European Journal of Scientific Research** 37(2): 311-318, 2009.
- LI, X.; CHEN, X.L.; CHEN, J.W. SUN, D.D Annonaceous acetogenins from the seeds of *Annona squamosa*. **Chemistry of Natural Compound** 46(1), 2010.
- LIAW, C.C; CHANG, F.R.; WU, M.J.; WU, Y.C. A Novel Constituent from *Rollinia mucosa*, Rollicosin, and a New Approach to Develop Annonaceous Acetogenins as Potential Antitumor Agents. **Journal of Natural Products** 66: 279-281, 2003.
- MANICA, I. **Taxonomia, morfologia e anatomia**. In: São José, A.R. et al. **Anonáceas, produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimólia)**. Vitória da Conquista: UESB. p20-33, 1997.
- MANN, J. **Secondary Metabolism**. Oxford Science Publications, 2ª Edição. 1992.
- MARQUES, C.G; SIMÕES, M.F; DUARTE, A; Rodríguez, B. Labdane and kaurane diterpenoids from *Pæctranthus fruticosus*. **Journal of Natural Products** 66: 491-496. 2003.
- MARTINS, D.; OSSHIRO, E.; ROQUE, N. F.; MARKS, V.; GOTTLIEB, H. E. A sesquiterpene dimer from *Xylopia aromatica*. **Phytochemistry** 48(4): 677-680, 1998.
- MARTIUS, C.F.P. **Flora Brasiliensis**. Vol. XIII, part. I, Ed. Wheldon & Wesley, New York, p. 1-46, 1967.
- MIYASHITA, H.; NISHIDA, M.; OKAWA, M.; NOHARA, T.; YOSHIMITSU, H. Four New *ent*-Kaurane Diterpenoids from the Fruits of *Annona cherimola*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin** 58(5): 765-768, 2010.
- MONTE, F.J.Q.; DANTAS, E.M.G. & BRAZ-FILHO, R. New diterpenoids from *Croton argyrophyllodes*. **Phytochemistry** 27(10): 3209-3212, 1988.

- MONTER, H.P.; CAMPOS, M.G.; AGUILAR, I.; DELGADO, G. Effect of xanthorrhizol, xanthorrhizol glycoside and trachylobanoic acid isolated from cachani complex plants upon the contractile activity of uterine smooth muscle. **Phytotherapy Research** 13: 202-205, 1999.
- MOREIRA, I.C.; LAGO, J.H.G.; ROQUE, N.F. Sesquiterpenes, diterpenes, steroids and alkaloid from branches of *Xylopia brasiliensis* Spreng (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology** 33: 948-951, 2005.
- MORRIS, B.D.; FOSTER S.P.; GRUGEL S.; CHARLET L.D. Isolation of the diterpenoids, ent-kauran-16 α -ol and ent-atisan-16 α -ol, from sunflowers, as oviposition stimulants for the banded sunflower moth, *cochylis hospes*. **Journal of Chemical Ecology** 31(1): 89-102, 2005.
- MOSCA, J.L.; CAVALCANTE, C.E.B.; DANTAS, T.M.D. **Características botânicas das principais anonáceas e aspectos fisiológicos de maturação**. Fortaleza: Embrapa agroindústria tropical, p. 28, 2006.
- MOURA, A.F; A. Inovação tecnológica e o avanço científico: a química em perspectiva. **Química Nova** 23(6): 851-853, 2000.
- MUGNAINI, R; JANNUZZI, P.M; QUONIAM, L. Indicadores bibliométrico da produção científica brasileira: uma análise a partir da base Pascal. **Revista Ciência da Informação** 33(2): 123-131, 2004.
- NAKAMURA, T.U.; NAKAMURA, C.V. Acanthoic Acid and other Constituents from the Stem of *Annona amazonica* (Annonaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society** 20(6): 1095-1102, 2009.
- NASCIMENTO, F.C; BOAVENTURA, M.A.D; ASSUNÇÃO, A.C.S; PIMENTA. Acetogeninas de anonáceas isoladas de folhas de *Rollinia laurifolia*. **Química Nova** 26(3): 319-322, 2003.
- NGAMROJNAVANICH, N.; SIRIMONGKON, S.; ROENGSUMRAN, S.; PETSOM, A.; KAMIMURA, H. Inhibition of Na⁺,K⁺-ATPase activity by (-)-ent-kaur-16-en-19-oic acid and derivatives. **Plant Med** 69: 555-556, 2003.
- NGOUELA, S.; NYASSÉ, B.; TSAMO, E.; BROCHIER, M.C.; MORIN, C. A trachylobane diterpenoid from *Xylopia aethiopica*. **Journal of Natural Products** 61: 264-266, 1998.
- OHNO, N.; MABRY, T.J.; ZABEL, V.; WATSON, W.H. Tetrachyrin, a new rearranged kaurenoid lactone, and diterpene acids from *Tetrachyron orizabaensis* and *Helianthus debilis* **Phytochemistry** 18(10), 1687-1689, 1979.
- OLIVEIRA, A.P; FURTADO, F.F; SILVA, M.S. TAVARES, J.F; MAFRA, R.A; ARAUJO, D.A.M; CRUZ, J.S, MEDEIROS, I.A. Calcium channel blockad as a target for the cardiovascular effects induced by the 8(17), 12E, 14-labdatrien-18-oic acid (labdane-302). **Vascular Pharmacology** 44 (5): 338-344, 2006.

- PACHECO, A.G.; SILVA, T.M.S.; MANFRINI, R.M.; SALLUM, W.S.T.; DUARTE, L.P.; VELOSO, D.P.; ALCÂNTARA, A.F.C. Estudo químico e atividade antibacteriana do caule de *Aristolochia esperanzae* Kuntze (ARISTOLOCHIACEAE). **Química Nova** 33(8): 1649-1652, 2010.
- PIMENTA, L.P.S.; NASCIMENTO, F.C. & BOAVENTURA, M.A.D. Acetogenins from the Leaves of *Rollinia laurifolia*. **Helvetica Chimica Acta**. 88, 2005.
- PINHEIRO, M.L.B; XAVIER, C.M; SOUZA, A.D.L; RABELO, D.M; BATISTA, C.L; BATISTA, R.L; COSTA, E.V; CAMPOS, F.R; BARISON, A; VALDEZ, R.H; NAKAMURA, T.U; NAKAMURA, C.V. Acanthoic Acid and other Constituents from the Stem of *Annona amazonica* (Annonaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society** 20(6): 1095-1102, 2009.
- PITA, J.C.L.R. 2010. *Avaliação da atividade antitumoral e toxicidade do trachylobano-360 de Xylopia langsdorffiana St. Hil. & Tul. (Annonaceae)*. João Pessoa – Universidade Federal da Paraíba. Dissertação de Mestrado.
- PONTES, A. F. & MELLO-SILVA, R. DE. Annonaceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Bol. Bot. Univ. São Paulo**. 23(1): 71-84, 2005.
- PONTES, A.F.; BARBOSA, M.R.V.; MAAS, P.J.M. Flora paraibana: Annonaceae Juss. **Acta Botanica Brasilica** 18 (2): 281-293. 2004.
- PONTES, W.J.T; OLIVEIRA, J.C.S; CÂMARA, C.A.G; GONDIM JÚNIOR, M.G.C; OLIVEIRA, J.V; SCHAWARTZ, M.O.E. Atividade acaricida dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopia sericea* sobre ácaro rajado (*Tetranychus ueticae* KOCH). **Química Nova** 30 (4): 838-841, 2007.
- PYREK, J.S.T. Neutral Diterpenoids of *Helianthus annuus*. **Journal of Natural Products** 47(5): 822-827, 1984.
- RATES, S.M.K. **Plants as source of drugs**. Toxicon, Amsterdam, 39: 603- 613, 2001.
- RIBEIRO, J.E.L.S., HOPKINS, M.J.G; VICENTINI, C. A. SOTHERS, M. S; COSTA, J. M; BRITO, C. F; SOUZA, M. R; MESQUITA & PROCÓPIO, L. C. **Flora da Reserva Ducke. Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central**. 648-651. INPA, Manaus. 1999.
- RIBEIRO, L. A. A; TAVARES, F. A; ANDRADE, N. C; SILVA, M. S; SILVA, B. A. The (8)17,12E,14-labdatrien-18-oic acid (labdane 302), a labdane-type diterpene isolated from *Xylopia langsdorffiana* St. Hil. & Tul. (Annonaceae), relaxes the guinea pig trachea. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 17(2): 197-203, 2007.
- ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. **Pharmacognosy and pharmacobiotechnology**. Baltimore: Willians & Wilkins, p.1-14, 1996.
- ROCHA, D; TAKAHASHI, J.A; BOAVENTURA, M.A.D. Di-and tri-hidroxyated kaurane derivatives from microbial transformation of *ent*-kaur-16-en-19-ol by *Cephalosporium*

- Alphidicola* and their allelopathic activity on *Lactuca Sativa* (Lettuce). **Ecl. Quím.** 34(1): 57-62, 2009.
- RUPRECHT, J. K.; HUI, Y. -H.; MCLAUGHLIN, J. L. Annonaceous Acetogenins: A Review. **Journal of Natural Products** 53(2): 237-278. 1990.
- SANTOS, D. Y. A. C.; SALATINO, M. L. F. Foliar flavonoids of Annonaceae from Brazil: taxonomic significance. **Phytochemistry** 55(6): 567-573, 2000.
- SANTOS, H.S.; BARROS, F.W.A.; ALBUQUERQUE, M.R.J.R.; BANDEIRA, P.N.; PESSOA, C. BRAZ-FILHO, R.; MONTE, F.J.Q.; CARDOSO, J.H.L.; LEMOS, T.L.G. Cytotoxic Diterpenoids from *Croton argyrophylloides*. **Journal of Natural Products** 72: 1884-1887, 2009.
- SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P.R. **Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos.** In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Osmann, G.M.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R., orgs. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 2.ed. Florianópolis. UFSC; Porto Alegre: UFRGS, 2000. cap.15, p.291-320.
- SCHULZ, V.; HÄNSEL, R.; TYLER, V.E. **Medicinal plants, phytomedicines, and phytotherapy.** *Rational phytotherapy: a physician's guide to herbal medicine*. 4.ed. New York, Berlin: Springer, cap.1, p.1-39, 2001.
- SETTE, I.M.F.; CUNHA, E.V.L.; BARBOSA-FILHO, J.M.; AGRA, M.F.; SILVA, M.S. The First tetrahydroprotoberberine alkaloid from the genus *Rollinia*. **Biochemical Systematics and Ecology** 28: 393-394, 2000.
- SILVA, W.C; RIBEIRO, J.D; SOUZA, H.E.M; CORREA, R.S. Atividade inseticida de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae), praga de importância econômica no Amazonas. **Acta amazônica** 37(2): 293 – 298, 2007.
- SILVA, M.S; TAVARES, J.F; QUEIROGA, K.F; AGRA, M.F; BARBOSA-FILHO, J.M. Alcaloides e outros constituintes de *Xylopia langsdorffiana* (ANNONACEAE). **Química Nova** 32(6): 1566-1570, 2009.
- SIMÃO, S. **Tratado de fruticultura.** Piracicaba: FEALQ, p.313-326, 1998.
- SIMÕES, C.M.O; SCHENKEL, E.P; GOSMANN, G; MELLO, J.C.P; MENTZ, L.A; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento** 6ª Ed. Porto Alegre: Editora, Porto UFRGC. Florianópolis: Editora UFSC, 2007.
- SOMOVA, I.L.; SHODE, F.O.; MOODLEY, K.; GOVENDER, Y. Cardiovascular and diuretic activity of kaurene derivatives of *Xylopia aethiopica* and *Alepidea amatymbica*. **Journal of Ethnopharmacology** 77: 165-174, 2001.
- SOUSA, O.V; SOARES JÚNIOR, D.T; DEL-VECHIO, G.; MATTOSINHOS, R.G; GATTASS, C.R; KAPLAN, M.A.C. Atividades antiinflamatória e antinociceptiva do óleo essencial das cascas de *Duguetia lanceolata* St. Hil., Annonaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 14: 14-16, 2004.

- SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região do Alto paraíso de Goiás, O, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** v20, n.1, p. 135-142, 2006.
- TANDON, J. S., DHAR, M.M., RAMAKUMAR, S., VENKATESAN, K. Structure of coleonol, a biologically active diterpene from *Coleus forskohlii* **Indian Journal of Chemistry** 15:880-883, 1977.
- TATSADJIEU, N.L; YAOUBA, A; NUKENINE, E.N; NGASSOUM, M.B; MBOFUNG, C.M.F. Comparative study of the simultaneous action of three essential oils on *Aspergillus flavus* and *Sitophilus zeamais* Motsch. **Food Control** 21: 186–190, 2010.
- TAVARES, J. F. 2004. **Alcalóides de *Xylopia langsdorffiana* A. St. Hil & Tul (Annonaceae)**. João Pessoa – Universidade Federal da Paraíba. Dissertação de mestrado. 2004.
- TAVARES, J. F. **Estudo fitoquímico de *Xylopia langsdorffiana* St.-Hil. & Tul e *Fusaea longifolia* (Aubl.) Saff.: Isolamento, Caracterização Estrutural e Atividade Biológica**. João Pessoa - Universidade Federal da Paraíba. Tese de Doutorado, 2007a.
- TAVARES, J. F; SILVA, M.V.B; QUEIROGA, K.F; DINIZ, M.F.F.M; BARBOSA FILHO, J.M; HAUN, M; MELO, P.S; M; SILVA, M.S. Xylodiol, a new atisane diterpenoid from *Xylopia Langsdorffiana* St.-Hil. & Tul. (Annonaceae). **Z. Naturforsch** 62(5): 742-744, 2007b.
- TAVARES, J. F. QUEIROGA, K.F; SILVA, M.V.B; DINIZ, M.F.F.M; BARBOSA FILHO, J.M; CUNHA, E.V.L; SIMONE, C.A; ARAÚJO JR., J.X; MELO, P.S; HAUN, M; SILVA, M.S. *ent*-Trachylobane diterpenoids from *Xylopia langsdorffiana*. **Journal of Natural Products** 69(6): 960-962, 2006.
- TESKE, M. & TRENTINI, A. M. M. **Compêndio de Fitoterapia**. 2a. ed., Herbarium Lab. Botânico, Curitiba, Paraná, 1995.
- TYLER, V.E. **Natural products and medicine: an overview**. In: Balick, M.J.; Elisabetsky, E.; Laird, S.A., eds. *Medicinal resources of the tropical forest, biodiversity and its importance to human health*. New York: Columbia University Press, p.3-10, 1996.
- TUROLLA, M.S.R.; Nascimento, E. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** 42(2), 2006.
- UMLAUF, D. ZAPP, J; BECKER, H; ADAM, K.P. Biosynthesis of the irregular monoterpene artemisia ketone, the sesquiterpene germacrene D and the other isoprenoids in the *Tanacetum vulgare* L. (Asteraceae). **Phytochemistry** 65(17): 2463-2470, 2004.
- VERPOORTE, R. **Secondary metabolism**. In: R. Verpoorte & A.W. Alfermann (eds.). *Metabolic engineering of plant secondary metabolism*, 1ed. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p. 1-29, 2000.

- VICIEDO, R.D.; HORTELANO, S.; GIRÓN, N.; MASSÓ, J.M.; RODRIGUEZ, B.; VILLAR, A.; HERAS, B. Modulation of inflammatory responses by diterpene acids from *Helianthus annuus* L. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 369: 761-766, 2008.
- VIEGAS JUNIOR, C. 2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova** 26(3): 390-400.
- VIEIRA, M.G.S.; LIMA NETO, M.N.; FREITAS, J.V.B.; COSTA NETO, A.; GOMES, C.L.; GRAMOSA, N.V.; SILVEIRA, E.R. **Diterpenos das raízes de *Xylopia nitida* Dunnal. (Annonaceae).** 32^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2009.
- VILEGAS, W; FELÍCIO, J.D, ROQUE, N. F.; GOTTLIEB, H.E. Diterpenic adducts from *Xylopia* species. **Phytochemistry** 30:1869-1872,1991.
- WAHL, A.; ROBLOT, F.; CAVE, A. Isolation and Structure Elucidation of Xylobuxin: A new neolignan from *Xylopia buxifolia*. **Jurnal of Natural Products** 54(5): 786- 789, 1995.
- WILLIAMS, C.M. & MANDER, L.M.Cromatography with silver nitrate. **Tetrahedron** 57(3): 425-447, 2001.
- YANG, Y.L; CHANG, F.R; WU, C.C; WANG, W.Y; WU, Y.C. New *ent*-kaurano diterpenoids with anti-platelet aggregation activity from *Annona squamosa*. **Journal of Natural Products** 65: 1462-1467, 2002.
- ZELNIK, R.; LAVIE, D.; LEVY, E.C.; WANG, A.H.J.; PAUL, I.C. Barbatusin and cyclobutatusin, two novel diterpenoids from *coleus barbatus* bentham. **Tetrahedron** 33: 1457-67, 1977.