

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

STENO LACERDA DE OLIVEIRA

**Fitoquímica de espécies de *Erythroxylum* do semiárido:
isolamento e determinação estrutural de alcaloides
tropânicos, flavonoides e diterpenos**

João Pessoa – PB

2012

STENO LACERDA DE OLIVEIRA

**Fitoquímica de espécies de *Erythroxylum* do semiárido:
isolamento e determinação estrutural de alcaloides
tropânicos, flavonoides e diterpenos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros” do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutor em Farmacoquímica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva

João Pessoa – PB

2012

STENO LACERDA DE OLIVEIRA

**Fitoquímica de espécies de *Erythroxylum* do semiárido:
isolamento e determinação estrutural de alcaloides
tropânicos, flavonoides e diterpenos**

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva (Orientador)

Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Emidio Vasconcelos Leitão da Cunha (Membro interno)

Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho (Membro Externo)

Universidade Federal da Paraíba

Profª. Dra. Lucia Maria Conserva (Membro Externo)

Universidade Federal de Alagoas

Prof. Dr. Mario Geraldo de Carvalho (Membro Externo)

Universidade Federal do Rio de Janeiro

*“Aprendi que se aprende errando
Que crescer não significa fazer aniversário.
Que o silêncio é a melhor resposta, quando se ouve uma bobagem.
Que trabalhar significa não só ganhar dinheiro.
Que amigos a gente conquista mostrando o que somos.
Que os verdadeiros amigos sempre ficam com você até o fim.
Que a maldade se esconde atrás de uma bela face.
Que não se espera a felicidade chegar, mas se procura por ela
Que quando penso saber de tudo ainda não aprendi nada
Que a Natureza é a coisa mais bela na Vida.”*

Herman Melville

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de força e inspiração para vencer os obstáculos em toda essa caminhada.

Ao Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva pela amizade e pelos ensinamentos e orientação.

Aos professores de graduação e pós-graduação pela participação em minha formação acadêmica.

À Profa. Dra. Maria de Fátima Agra pela identificação do material botânico.

À Vicente Carlos pela obtenção dos espectros de RMN e pela amizade firmada ao longo desta caminhada.

Aos técnicos Welington Navarro e Sócrates Golzio pela obtenção dos espectros de IV e LC-MS e a Raimundo Nonato pelas ajudas constantes na bancada e pela amizade.

Ao Sr. Severino (Seu Bil) pela destilação dos solventes utilizados.

Ao Sr. Gilvan Góes pela coleta do material botânico

A Gil, Crispim, Tânia e Dinho pelo carinho nesta caminhada.

As alunas de Iniciação Científica, pessoas fundamentais no desenvolvimento desse trabalho.

Aos Amigos Marcelo Manso, Hellane, Sócrates, Gabriela, Karol, Cintia, Vivi, Augusto, Camila, Karine, Paula, Denise, Sara, Fabio, Taisa, Ana Lúcia, Ana Silvia, Adriana, Danielly, Egberto, Isis, Fernando pela amizade e pela excelente convivência dentro e fora do laboratório.

Ao meu grande amigo Josean, pela amizade, companhia e ensinamentos.

Em especial aos meus pais Ariovaldo Carneiro e Maria Iraquitânia, pelo incentivo e apoio em todos os momentos e pelo amor que sempre demonstraram e por sempre creditar em mim.

Aos meus irmãos Stéfano e Stanley pelo apoio, carinho, amizade e por sempre acreditar no meu potencial e a minha sobrinha Jéssica pela amizade e grande carinho e minha irmã, Slovênia que foi minha grande incentivadora e que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos dessa caminhada.

A Camila pelo AMOR, amizade, companheirismo durante todo esse período que estamos juntos. Está sempre me incentivando e me fazendo feliz.

A meu tio Idagman e minha tia Nenzinha pelo apoio e amizade quando vim morar aqui em João Pessoa.

Aos amigos de apto. Daniel, João Paulo, Josean, Marcão, Gilberto, Antônio Nei, Willian, Herman, Jileno, Tales e Vanda pela amizade e excelente convivência durante todos esses anos.

Aos meus amigos Gregório, Max, Elane, Charlane, Laura, Nathália, Cristiane, Daniela pela amizade e companhia.

A todos os meus colegas de graduação que conviveram todos esses anos comigo nessa caminhada e aos meus amigos de turma em especial a Adriana, Vivianne, Camila Carolina, Gabriela, Wylly e Danielle pelo apoio, amizade e carinho.

A todos aqueles que, embora não mencionados, fizeram parte do meu convívio durante todos os momentos, o meu reconhecimento e carinhoso muito obrigado!

Ao CNPq pelo apoio financeiro

RESUMO

OLIVEIRA, STENO LACERDA. **Fitoquímica de espécies de *Erythroxylum* do semiárido: isolamento e determinação estrutural de alcaloides tropânicos, flavonoides e diterpenos.** Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Área de Concentração: Farmacoquímica) – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes Medeiros”, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

Este trabalho descreve os resultados dos estudos fitoquímicos de três espécies do gênero *Erythroxylum*: *Erythroxylum caatingae* Plowman, *Erythroxylum subrotundum* A. St.-Hil e *Erythroxylum revolutum* Mart, identificadas pelo setor de botânica do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da UFPB. As espécies foram submetidas a processos de extração e posterior particionamento de seus extratos resultando nas fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila. Do estudo da fase clorofórmica de *Erythroxylum caatingae* foram isolados, através de métodos cromatográficos, quatro alcaloides tropânicos, sendo dois destes alcaloides [3 α ,6 β dibenzoiloxitropano e 3 α -(3',4',5'-trimetoxibenzoiloxi)-6 β -benzoiloxitropano (Catuabina B)], já isolados anteriormente e dois alcalóides inéditos na literatura [3 α -(3',4'-dimetoxi)-6 β -hidroxitropano e 3 α -(*trans*-3',4',5' trimetoxicinamoiloxi)-6 β -benzoiloxitropano]. Da fase acetato de etila de *Erythroxylum subrotundum* foram isolados dois flavonoides: a Quercetina-3-*O*- α -L-raminosídeo e 5,7,4'-trihidroxi-flavona-3-*O*- α -L-raminosídeo. Do estudo da fase hexânica de *Erythroxylum revolutum* foram isolados seis diterpenos: *ent*-cauran-16-eno, 13-hidroxi-8(17),14-labdadieno (Manool), *ent*-caur-16-en-3 β -ol, 3-oxo-13-hidroxi-8(17),14-labdadieno, 3,13,19-trihidroxi-8(17),14-labdadieno e *ent*-cauran-16 β , 17-diol. As espécies tiveram seus constituintes químicos identificados através da análise de dados obtidos por métodos espectroscópicos como Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C uni-bidimensional, além de comparação com dados obtidos na literatura. Assim, os resultados obtidos neste trabalho contribuirão para o estudo químico de espécies da família Erythroxylaceae.

Palavras-Chave: Erythroxylaceae, *Erythroxylum*, Alcaloides tropânicos, Flavonoides e terpenoides.

ABSTRACT

OLIVEIRA, STENO LACERDA. **Fitoquímica de espécies de *Erythroxylum* do semiárido: isolamento e determinação estrutural de alcaloides tropânicos, flavonoides e diterpenos.** Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Área de Concentração: Farmacoquímica) – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes Medeiros”, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

This work describes the results of phytochemical studies from three species of the *Erythroxylum* genus: *Erythroxylum caatingae* Plowman, *Erythroxylum subrotundum* A. St.-Hil and *Erythroxylum revolutum* Mart, which were identified by the botany sector of the Laboratory of Pharmaceutical Technology, UFPB. The species were submitted to extraction process, followed by partition with hexane, chloroform and ethyl acetate, resulting in their respective phases. Four Tropane alkaloids were isolated by chromatography methods from the chloroformic phase of *Erythroxylum caatingae*, in which two were already isolated [3α , 6β dibenzoyloxytropane and 3α -(3',4',5'-trimethoxybenzoiloxi)- 6β -benzoyloxytropane (Catuabine B)] and the other two were reported for the first time in the literature [3α -(3',4'-dimethoxy)- 6β -hydroxytropane and 3α -(*trans*-3',4',5' trimethoxycinnamoyloxy)- 6β -benzoyloxytropane]. From the ethyl acetate phase of *Erythroxylum subrotundum*, two flavonoids were isolated: Quercetin-3-*O*- α -*L*-rhamnoside and 5,7,4'-trihydroxyflavone-3-*O*- α -*L*-rhamnoside. The study of the *Erythroxylum revolutum* hexanic phase resulted in the isolation of six diterpenes: *ent*-kauran-16-ene, 13-hydroxy-8(17),14-labdadien (Manool), *ent*-kaur-16-en-3 β -ol, 3-oxo-13-hydroxi-8(17),14-labdadien, 3,13,19-trihydroxy-8(17),14-labdadien and *ent*-kauran-16 β , 17-diol. All the species had their chemical constituents identified through data analysis obtained from spectroscopic methods such as Infrared and Nuclear Magnetic Resonance of ^1H and ^{13}C with uni-bidimensional techniques, besides comparison with literature data. Therefore, the given results of this work contributed to the chemical study of the species from Erythroxylaceae family.

Keywords: Erythroxylaceae, *Erythroxylum*, tropane alkaloids, flavonoids and terpenoids.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

APT	“Attached Proton Test”
CC	Cromatografia em Coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CCDP	Cromatografia em Camada Delgada Preparativa
COSY	“Correlation Spectroscopy”
<i>d</i>	Dubleto
<i>dd</i>	Duplodubleto
EC	<i>Erythoxylum caatingae</i>
ER	<i>Erythoxylum revolutum</i>
ES	<i>Erythoxylum surotundum</i>
HMBC	“Heteronuclear Multiple Bond Correlation”
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m</i>	Multipleteo
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
ppm	Partes por milhão
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
<i>s</i>	Singleto
<i>sl</i>	Singleto largo
<i>t</i>	Tripleteo

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição do gênero <i>Erythroxylum</i> .	32
Figura 2	Principais constituintes do Gênero <i>Erythroxylum</i> .	33
Figura 3	Alguns alcaloides tropânicos isolados de espécies do gênero <i>Erythroxylum</i> .	34
Figura 4	Alguns diterpenos de espécies do gênero <i>Erythroxylum</i> .	35
Figura 5	Alguns flavonóides de espécies do gênero <i>Erythroxylum</i> .	36
Figura 6	Arbustos de <i>Erythroxylum caatingae</i>	38
Figura 7	Alguns alcalóides fisiologicamente ativos e as plantas que a produzem	42
Figura 8	Biossíntese do anel tropano.	48
Figura 9	Biossíntese geral dos terpenoides.	50
Figura 10	Formação do Geranilgeranilpirofosfato (GGPP).	51
Figura 11	Biossíntese de diterpenos da classe dos labdanos (copalil PP e ladadienil PP).	52
Figura 12	Biossíntese dos diterpenos da classe caurano.	53
Figura 13	Esqueletos básicos de flavonoides	55
Figura 14	Representação esquemática da biossíntese dos flavonoides segundo Dewick (1997) (primeira etapa – rota do ácido chiquímico).	57
Figura 15	Representação esquemática da biossíntese dos flavonoides segundo Dewick (1997) (segunda etapa – rota do acetato polimalonato).	58
Figura 16	Cromatogramas da Fração 37 nas proporções de solventes (50:50 ET ₃ N:MeCN), (40:60 ET ₃ N:MeCN), (30:70 ET ₃ N:MeCN), em pH = 10,0 da fase aquosa.	69
Figura 17	Projeção ORTEP3 confirmando a presença do cloridrato	81

Figura 18	Ligação de hidrogênio e interação entre moléculas de cristais	82
Figura 19	Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EC 3.	85
Figura 20	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região entre δ_{C} 165,0-100,0 ppm.	85
Figura 21	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região entre δ_{C} 75,0-30,0 ppm.	86
Figura 22	Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EC 3.	86
Figura 23	Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região entre δ_{H} 8,0-5,2 ppm.	87
Figura 24	Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região entre δ_{H} 4,2-2,0 ppm.	87
Figura 25	Espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3.	88
Figura 26	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (0,6 – 8,2 ppm) x (145,0 – 105,0 ppm).	88
Figura 27	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (7,3 – 8,1 ppm) x (148,0 – 126,0 ppm).	89
Figura 28	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (1,8 – 6,2 ppm) x (80,0 – 25,0 ppm).	89
Figura 29	Espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3.	90
Figura 30	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (5,2 – 8,2 ppm) x (170,0 – 105,0 ppm).	90
Figura 31	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (7,1 – 8,1 ppm) x (170,0 – 130,0 ppm).	91
Figura 32	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na	91

região de (3,5 – 8,0 ppm) x (170,0 – 100,0 ppm).

Figura 33	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de EC 3 na região de (2,9 – 4,3 ppm) x (76,0 – 54,0 ppm).	92
Figura 34	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de EC 3 na região de (2,0 – 5,4 ppm) x (75,0 – 30,0 ppm).	92
Figura 35	Espectro COSY (500 MHz, CDCl ₃) de EC 3.	93
Figura 36	Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl ₃) de EC 3 na região de (6,0 – 8,0 ppm) x (6,0 – 8,0 ppm).	94
Figura 37	Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl ₃) de EC 3 na região de (2,0 - 6,5 ppm) x (2,0 - 6,5 ppm).	95
Figura 38	Espectro de RMN ¹³ C-APT (125 MHz, DMSO) de EC 4.	99
Figura 39	Expansão do espectro de ¹³ C-APT (125 MHz, DMSO) de EC 4 na região entre δ _H 170-100 ppm	99
Figura 40	Expansão do espectro de ¹³ C-APT (125 MHz, DMSO) de EC 4 na região entre δ _H 80-20 ppm	100
Figura 41	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO) de EC 4.	100
Figura 42	Expansão do espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO) de EC 4 na região entre δ _H 8,6-3,6 ppm	101
Figura 43	Expansão do espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO) de EC 4 na região entre δ _H 4,0-1,2 ppm	101
Figura 44	Espectro de RMN ¹³ C-APT (125 MHz, CDCl ₃) de ER 1.	106
Figura 45	Expansão do espectro de RMN ¹³ C-APT (125 MHz, CDCl ₃) de ER 1 na região entre δ _H 155,0-45,0 ppm.	106
Figura 46	Expansão do espectro de RMN ¹³ C-APT (125 MHz, CDCl ₃) de ER 1 na região entre δ _H 42,0-14,0 ppm.	107

Figura 47	Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 1.	107
Figura 48	Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 1 na região entre δ_{H} 2,9-0,3 ppm.	108
Figura 49	Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 2.	111
Figura 50	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 2 na região entre δ_{H} 150,0-55,0 ppm.	111
Figura 51	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 2 na região entre δ_{H} 42,0-14,0 ppm.	112
Figura 52	Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 2.	112
Figura 53	Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 2 na região entre δ_{H} 6,0-4,4 ppm.	113
Figura 54	Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 2 na região entre δ_{H} 2,4-0,3 ppm.	113
Figura 55	Espectro de IV em pastilhas de KBR de ER 3.	117
Figura 56	Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 3.	117
Figura 57	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região entre δ_{H} 165,0-45,0 ppm.	118
Figura 58	Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região entre δ_{H} 45,0-15,0 ppm.	118
Figura 59	Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 3.	119
Figura 60	Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região entre δ_{H} 4,8-1,8 ppm.	119
Figura 61	Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região entre δ_{H} 1,7 – 0,6 ppm.	120

Figura 62	Espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 3.	120
Figura 63	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 3 na região de (0,5 – 2,8 ppm) x (60,0 – 35,0 ppm).	121
Figura 64	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 3 na região de (0,5 – 2,0 ppm) x (34,0 – 12,0 ppm).	121
Figura 65	Espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 3.	122
Figura 66	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 3 na região de (0,5 – 5,4 ppm) x (110,0 – 10,0 ppm).	122
Figura 67	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 3 na região de (0,6 – 2,2 ppm) x (160,0 – 70,0 ppm).	123
Figura 68	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 3 na região de (0,7 – 1,9 ppm) x (82,0 – 76,0 ppm).	123
Figura 69	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 3 na região de (0,6 – 4,8 ppm) x (60,0 – 15,0 ppm).	124
Figura 70	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 3 na região de (0,5 – 2,3 ppm) x (60,0 – 15,0 ppm).	124
Figura 71	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 3 na região de (3,1 – 3,2 ppm) x (30,0 – 13,0 ppm).	125
Figura 72	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 3 na região de (0,7 – 2,1 ppm) x (36,0 – 14,0 ppm).	125
Figura 73	Espectro COSY (500 MHz, CDCl ₃) de ER 3.	126
Figura 74	Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl ₃) de ER 3 na região de (0,5 – 5,0 ppm) x (0,5 – 5,0 ppm).	127
Figura 75	Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl ₃) de ER 3 na região de (0,5 – 3,2 ppm) x (0,5 – 3,2 ppm).	128

Figura 76	Espectro de IV em pastilhas de KBR de ER 4.	132
Figura 77	Espectro de RMN ¹³ C-APT (125 MHz, CDCl ₃) de ER 4.	132
Figura 78	Expansão do espectro de RMN ¹³ C-APT (125 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região entre δ _H 220,0 – 105,0 ppm.	133
Figura 79	Expansão do espectro de RMN ¹³ C-APT (125 MHz, CDCl ₃) de ER 4 em CDCl ₃ entre δ _H 75,0 – 30,0 ppm.	133
Figura 80	Expansão do espectro de RMN ¹³ C-APT (125 MHz, CDCl ₃) de ER 4 em CDCl ₃ entre δ _H 32,0 – 13,0 ppm.	134
Figura 81	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de ER 4.	134
Figura 82	Expansão do espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região entre δ _H 6,0-3,4 ppm.	135
Figura 83	Expansão do espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região entre δ _H 2,6-1,3 ppm.	135
Figura 84	Expansão do espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região entre δ _H 1,3-0,7 ppm.	136
Figura 85	Espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 4.	136
Figura 86	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região de (0,5 – 6,0 ppm) x (150– 10,0 ppm).	137
Figura 87	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região de (0,7 – 1,6 ppm) x (30,0 – 13,0 ppm).	137
Figura 88	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região de (1,4 – 3,8 ppm) x (58,0 – 32,0 ppm).	138
Figura 89	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região de (4,3 – 5,4 ppm) x (120,0 – 100,0 ppm).	138

Figura 90	Espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 4	139
Figura 91	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região de (0,7 – 1,3 ppm) x (211,0 – 222,0 ppm).	139
Figura 92	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região de (0,8 – 4,8 ppm) x (75,0 – 10,0 ppm)	140
Figura 93	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região de (2,6 – 5,2 ppm) x (75,0 – 35,0 ppm).	140
Figura 94	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região de (0,7 – 1,7 ppm) x (55,0 – 15,0 ppm).	141
Figura 95	Espectro COSY (500 MHz, CDCl ₃) de ER 4.	142
Figura 96	Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região de (0,5 – 7,0 ppm) x (0,5 – 7,0 ppm).	143
Figura 97	Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região de (4,5 – 7,5 ppm) x (4,5 – 7,5 ppm).	144
Figura 98	Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl ₃) de ER 4 na região de (0,0 – 3,0 ppm) x (0,0 – 3,0 ppm).	145
Figura 99	Espectro de IV em pastilhas de KBr de ER 5.	149
Figura 100	Espectro de RMN ¹³ C-APT (125 MHz, CDCl ₃) de ER 5.	149
Figura 101	Expansão do espectro de RMN ¹³ C-APT (125 MHz, CDCl ₃) de ER 5 na região entre δ _H 90,0 – 10,0 ppm.	150
Figura 102	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de ER 5.	150
Figura 103	Expansão do espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de ER 5 na região entre δ _H 3,8-1,7 ppm.	151
Figura 104	Expansão do espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de ER 5 na	151

região entre δ_H 1,7-0,5 ppm.

Figura 105	Espectro HMQC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) de ER 5.	152
Figura 106	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) de ER 5 na região de (0,5 – 8,0 ppm) x (85,0 – 50,0 ppm).	152
Figura 107	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) de ER 5 na região de (0,6 – 3,8 ppm) x (68,0 – 48,0 ppm).	153
Figura 108	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) de ER 5 na região de (0,7 – 2,0 ppm) x (46,0 – 16,0 ppm).	153
Figura 109	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) de ER 5 na região de (0,5 – 2,1 ppm) x (35,0 – 16,0 ppm).	154
Figura 110	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) de ER 5 na região de (1,0 – 2,2 ppm) x (47,0 – 35,0 ppm).	154
Figura 111	Espectro HMBC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) de ER 5.	155
Figura 112	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) de ER 5 na região de (0,5 – 4,0 ppm) x (90,0 – 10,0 ppm).	155
Figura 113	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) de ER 5 na região de (0,6 – 2,0 ppm) x (85,0 – 50,0 ppm).	156
Figura 114	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) de ER 5 na região de (0,7 – 2,0 ppm) x (47,0 – 32,0 ppm).	156
Figura 115	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) de ER 5 na região de (0,6 – 2,1 ppm) x (50,0 – 15,0 ppm).	157
Figura 116	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) de ER 5 na região de (0,6 – 1,6 ppm) x (48,0 – 30,0 ppm).	157
Figura 117	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) de ER 5 na região de (0,6 – 1,6 ppm) x (28,0 – 17,0 ppm).	158

Figura 118	Espectro COSY (500 MHz, CDCl ₃) de ER 5.	159
Figura 119	Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl ₃) de ER 5 na região de (0,6 – 2,6 ppm) x (0,6 – 2,6 ppm).	160
Figura 120	Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl ₃) de ER 5 na região de (0,5 – 4,0 ppm) x (0,5 – 4,0 ppm).	161
Figura 121	Espectro de RMN de ¹³ C-APT de ES 1 (125 MHz, CD ₃ OD).	166
Figura 122	Expansão do espectro de RMN de ¹³ C-APT (125 MHz, CD ₃ OD) de ES 1 na região de 180,0 - 115,0 ppm.	166
Figura 123	Expansão do espectro de RMN de ¹³ C-APT (125 MHz, CD ₃ OD) de ES 1 na região de 105,0 – 70,0 ppm.	167
Figura 124	Espectro de RMN de ¹ H de ES 1 (500 MHz, CD ₃ OD).	167
Figura 125	Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) de ES 1 na região de 7,8 a 5,3 ppm.	168
Figura 126	Expansão do espectro de RMN de ¹ H de ES 1 (500 MHz, CD ₃ OD) na região de 4,5 a 0,5 ppm.	168
Figura 127	Expansão do espectro de RMN de ¹ H de ES 1 (500 MHz, CD ₃ OD) na região de 4,3 a 3,2 ppm.	169
Figura 128	Espectro HMBC (500 e 125 MHz, CD ₃ OD) de ES 1.	169
Figura 129	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CD ₃ OD) de ES 1 na região de (5,0 – 7,8 ppm) x (135,0 – 165,0 ppm).	170
Figura 130	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CD ₃ OD) de ES 1 na região de (5,3 – 7,6 ppm) x (94,0 – 124,0 ppm).	170
Figura 131	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CD ₃ OD) de ES 1 na região de (5,0 – 7,5 ppm) x (90,0 – 170,0 ppm).	171
Figura 132	Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CD ₃ OD) de ES 1 na	171

região de (1,0 – 5,5 ppm) x (10,0 – 75,0 ppm).

Figura 133	Espectro HMQC (500 e 125 MHz, CD ₃ OD) de ES 1	172
Figura 134	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CD ₃ OD) de ES 1 na região de (1,0 – 5,0 ppm) x (10,0 – 75,0 ppm).	172
Figura 135	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CD ₃ OD) de ES 1 na região de (6,8 – 7,9 ppm) x (116,0 – 132,0 ppm).	173
Figura 136	Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CD ₃ OD) de ES 1 na região de (5,0 – 8,5 ppm) x (95,0 – 135,0 ppm).	173
Figura 137	Espectro COSY (500 MHz, CD ₃ OD) de ES 1.	174
Figura 138	Expansão do espectro COSY (500 MHz, CD ₃ OD) de ES 1 na região de (6,9 – 7,8 ppm) x (6,9 – 7,8 ppm).	175
Figura 139	Espectro de RMN de ¹ H de ES 2 (500 MHz, CD ₃ OD).	178
Figura 140	Expansão do espectro de RMN de ¹ H de ES 2 na região de 8,0 a 5,4 ppm (500 MHz, CD ₃ OD).	178
Figura 141	Expansão do espectro de RMN de ¹ H de ES 2 na região de 5,5 a 1,0 ppm (500 MHz, CD ₃ OD).	179
Figura 142	Espectro de RMN de ¹³ C-APT de ES 2 (500 MHz, CD ₃ OD)	179
Figura 143	Expansão do espectro de RMN de ¹³ C de ES 2 na região de 180,0 - 70,0 ppm (500 MHz, CD ₃ OD)	180
Figura 144	Expansão do espectro de RMN de ¹³ C de ES 2 na região de 74,0 – 70,0 ppm (500 MHz, CD ₃ OD)	180

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Obtenção e particionamento do extrato metanólico bruto do caule de <i>Erythroxylum caatingae</i> .	65
Esquema 2	Processo cromatográfico da fase clorofórmica e isolamento de seus constituintes químicos.	67
Esquema 3	Partição líquido/ líquido do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>E. revolutum</i> .	72
Esquema 4	Fracionamento da fase hexânica das partes aéreas de <i>E. revolutum</i> .	73
Esquema 5	Partição líquido/ líquido do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>E. subrotundum</i> .	75
Esquema 6	Fracionamento da fase acetato de etila do extrato etanólico bruto das folhas de <i>Erythroxylum surotundum</i> .	76

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Classificação das espécies de <i>Erythroxylum</i> .	37
Quadro 2	Classificação de alcaloides de acordo com o precursor biogenético	44
Quadro 3	Cromatógrafos e condições utilizadas nos experimentos.	63
Quadro 4	Fracionamento cromatográfico da Fase Clorofórmica.	66
Quadro 5	Alcaloides tropânicos isolados de <i>Erythroxylum caatingae</i>	70
Quadro 6	Diterpenos isolados de <i>Erythroxylum revolutum</i>	74
Quadro 7	Flavonoides isolados de <i>Erythroxylum subrotundum</i>	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais em CDCl_3 a 500 MHz e 125 MHz de EC-3.	84
Tabela 2	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C em DMSO-D_6 a 500 MHz e 125 MHz de EC 4.	98
Tabela 3	Dados de RMN de ^{13}C em CDCl_3 a 500 MHz de ER-1.	105
Tabela 4	Dados de RMN de ^{13}C em CDCl_3 a 500 MHz de ER-2.	110
Tabela 5	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais em CDCl_3 a 500 MHz e 125 MHz de ER-3.	116
Tabela 6	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais em CDCl_3 a 500 MHz e 125 MHz de ER-4.	131
Tabela 7	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais em CDCl_3 a 500 MHz e 125 MHz de ER-5.	148
Tabela 8	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais em CD_3OD a 200 MHz e 50 MHz de ES-1.	165
Tabela 9	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C em CD_3OD a 200 MHz e 50 MHz de ES-2.	177

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FLUXOGRAMAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE TABELAS

1	INTRODUÇÃO	28
2	CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA ERYTHROXYLACEAE	31
2.1	CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO <i>ERYTHROXYLUM</i>	31
2.2	CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA	37
2.2.1	Características botânicas de <i>Erythroxylum caatingae</i>	37
2.2.2	Características botânicas de <i>Erythroxylum revolutum</i>	38
2.2.3	Características botânicas de <i>Erythroxylum subrotundum</i>	39
3	CONSIDERAÇÃO SOBRE ALCALÓIDES	40
3.1	ALCALÓIDES TROPÂNICOS	43
3.2	IMPORTÂNCIA E BIOSÍNTESE DE ALCALÓIDES TROPÂNICOS	43
4	CONSIDERAÇÕES SOBRE TERPENÓIDES	49
4.1	BIOSSÍNTESE DE TERPENOS	49
4.1.1	Biossíntese dos Diterpenos	50
5	CONSIDERAÇÕES SOBRE FLAVONÓIDES	54
5.1	PAPEL BIOLÓGICO E PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DOS FLAVONÓIDES	55
5.2	ASPECTOS BIOSINTÉTICOS DOS FLAVONÓIDES	56
6	OBJETIVOS	60
6.1	OBJETIVO GERAL	60

6.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	60
7	EXPERIMENTAL	62
7.1	MATERIAIS E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS	62
7.2	MATERIAL VEGETAL	63
7.2.1	<i>Erythroxylum caatingae</i> Plowman	63
7.2.2	<i>Erythroxylum revolutum</i> Mart	63
7.2.3	<i>Erythroxylum subrotundum</i> A. St.-Hil.	64
7.3	PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL	64
7.3.1	Obtenção do extrato metanólico bruto do caule de <i>Erythroxylum caatingae</i> (Erythroxylaceae).	64
7.3.2	Particionamento da fase clorofórmica do extrato metanólico bruto do Caule de <i>Erythroxylum caatingae</i> (Erythroxylaceae).	64
7.3.3	Isolamento dos constituintes químicos	66
7.3.4	Desenvolvimento Cromatográfico da Fração 37	67
7.3.5	Substâncias isoladas do caule de <i>Erythroxylum caatingae</i>	70
7.4	Obtenção do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Erythroxylum revolutum</i> (Erythroxylaceae).	71
7.4.1	Particionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Erythroxylum revolutum</i> (Erythroxylaceae).	71
7.4.2	Isolamento dos constituintes químicos	73
7.4.3	Substâncias isoladas de <i>Erythroxylum revolutum</i>	74
7.5	Obtenção do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Erythroxylum subrotundum</i> (Erythroxylaceae)	75
7.5.1	Particionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Erythroxylum subrotundum</i> (Erythroxylaceae).	75
7.5.2	Isolamento dos constituintes químicos	76
7.5.3	Substâncias isoladas de <i>Erythroxylum subrotundum</i>	77

8	RESULTADOS E DISCUSSÕES	79
8.1	IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>E. CAATINGAE</i>	79
8.1.1	Identificação estrutural de EC-3	79
8.1.2	Identificação estrutural de EC-4	96
8.2	IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>E. REVOLUTUM</i>	103
8.2.1	Identificação estrutural de ER-1	103
8.2.2	Identificação estrutural de ER-2	109
8.2.3	Identificação estrutural de ER-3	114
8.2.4	Identificação estrutural de ER-4	129
8.2.5	Identificação estrutural de ER-5	146
8.3	IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>E. SUBROTUNDUM</i>	163
8.3.1	Identificação estrutural de ES 1	163
8.3.2	Identificação estrutural de ES 2	176
9	CONCLUSÃO	181
	REFERÊNCIAS	183
	ANEXOS	191

Introdução

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. O tratamento de enfermidades utilizando as plantas é tão antigo quanto a espécie humana. Ainda hoje nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (MACIEL et al, 2002).

O reino vegetal constitui uma das fontes mais importantes de novas substâncias utilizadas diretamente como agentes medicinais. As plantas medicinais fornecem substâncias químicas que são utilizadas como modelos para modificações estruturais e otimização das propriedades farmacológicas e bioquímicas, servindo, inclusive, para a inspiração de químicos orgânicos, estimulando-os para enfrentar desafios na construção sintética de novas estruturas moleculares naturais (BRAZ-FILHO, 2010).

A medicina alopática mundial utiliza 119 drogas, todas com estruturas definidas, que são extraídas de cerca de 90 espécies de plantas superiores. A utilização de diversas plantas na medicina popular representa uma investigação pré-clínica que não pode ser ignorada ou desprezada. Cerca de 74% dos principais produtos medicinais obtidos de vegetais foram descobertos através de orientação baseada em resultados revelados pela medicina popular, sendo portanto, um dos artifícios utilizados para iniciar um estudo fitoquímico de alguma espécie vegetal. Dispomos, portanto, de um esplêndido acervo natural de vegetais nos ambientes aquáticos e terrestres; um potencial químico adormecido, de grandeza inteiramente desproporcional ao esforço relativamente pequeno das pesquisas desenvolvidas para seu conhecimento e utilização (BRAZ-FILHO, 2010).

Pesquisas etnobotânicas recentes da flora nordestina têm demonstrado o constante uso de plantas medicinais, inclusive por usuários de serviços públicos de áreas urbanas (AMORIM et al., 2003; SILVA e ANDRADE, 2005). A maior facilidade na coleta e comercialização de plantas cultiváveis em áreas urbanas, entretanto, tem contribuído para o uso de plantas medicinais sem comprovação científica, resultando em automedicação e elevação tanto do risco de saúde quanto aos custos operacionais dos serviços de saúde pública (OLIVEIRA, 2006).

No Nordeste brasileiro os curandeiros que utilizam plantas medicinais são conhecidos como “raizeiros”, conhecedores louváveis de plantas medicinais que

crecem em torno de sua área (AGRA et al., 2007 b). A vegetação da caatinga (semiárido) é uma parte integrante da cultura da população que ali habita, abrangendo uma vasta área no nordeste do Brasil, com uma fonte de recursos cada vez mais explorada e ameaçada devido à escassez de espécies, causada principalmente pelo ser humano juntamente com longos períodos de estiagem. O estudo da utilização tradicional de plantas na região Nordeste do Brasil vem aumentando progressivamente durante os últimos anos (AGRA et al. (2007 a, b, c). Com isso, há uma necessidade urgente de estudar essa vegetação, baseando-se na etnofarmacologia e etnobotânica (AGRA et al., 2007 a).

No Brasil, as pesquisas de descoberta de protótipos de fármacos e/ou fitofármacos, além de propiciarem o avanço da pesquisa básica multidisciplinar, podem contribuir também para o desenvolvimento tecnológico nacional, levando em conta que a diversidade dos inúmeros biomas brasileiros é ainda muito pouco explorada como uma fonte de substâncias de interesse farmacológico (BARREIRO; BOLZANI, 2009).

Assim, o isolamento e a determinação estrutural de substâncias orgânicas produzidas pelo metabolismo secundário de organismos vivos representam importância fundamental para o desenvolvimento científico da própria química de produtos naturais e contribuem para avanço de outras atividades científicas e tecnológicas no País (BRAZ-FILHO, 2010).

Para a seleção de espécies vegetais, muitas abordagens têm sido apresentadas na literatura, dentre elas, três tipos são alvos de maiores investigações: a) abordagem randômica - escolha da planta sem qualquer critério, tendo como fator determinante a disponibilidade da planta; b) abordagem quimiotaxonômica ou filogenética – seleção da espécie correlacionada com a ocorrência de uma dada classe química de substâncias em um gênero ou família; c) abordagem etnofarmacológica - seleção da espécie de acordo com o uso terapêutico evidenciado por um determinado grupo étnico (MACIEL et al, 2002).

Devido ao grande potencial farmacológico das substâncias isoladas, a ocorrência de espécies ainda não devidamente exploradas do ponto de vista químico e farmacológico, e reconhecendo a importância do gênero *Erythroxylum*, resolvemos realizar o estudo das espécies *Erythroxylum caatingae*, *E. revolutum* e *E. subrotundum*, coletadas na Paraíba, cujos estudos químicos e farmacológicos não são conhecidos, o que poderá conduzir a descoberta de novas substâncias naturais.

Fundamentação teórica

2 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA ERYTHROXYLACEAE

A família Erythroxylaceae compreende quatro gêneros e cerca de 240 espécies com distribuição pantropical, tendo seus principais centros de diversidade e endemismo na Venezuela, Brasil e Madagascar (DALY, 2004). A maioria das espécies pertence ao gênero *Erythroxylum* P. Browne, que apresenta distribuição ampla sendo encontrado nos quatro continentes, principalmente na América tropical (PLOWMAN, 2001). Os outros três gêneros, *Aneulophus* Benth., *Nectaropetalum* Engl. e *Pinacopodium* Exell & Mendonça, possuem poucas espécies e apresentam distribuição exclusiva na África (PLOWMAN; BERRY, 1999; DALY 2004).

O gênero *Erythroxylum*, com cerca de 230 espécies, é o único gênero representado na região Neotropical, onde aproximadamente 187 espécies são exclusivas (PLOWMAN; HENSOLD, 2004), tendo como principal centro de diversidade e endemismo a América do Sul, especialmente o Brasil e a Venezuela (PLOWMAN; HENSOLD, 2004).

No Brasil, o gênero possui cerca de 74 espécies com distribuição restrita, que corresponde a 40% das espécies da região Neotropical, encontradas nos mais diversos tipos de vegetação do país, ocorrendo desde as florestas úmidas da Amazônia e Atlântica, até as matas secas do Cerrado e da Caatinga (PLOWMAN; HENSOLD, 2004).

Na Paraíba foram registradas 13 (treze) espécies: *E. caatingae* Plowman, *E. citrifolium* A. St.-Hil., *E. nummularia* Peyr., *E. paufferrense* Plowman, *E. passerinum* Mart., *E. pulchrum* A. St.-Hil., *E. pungens* O. E. Schulz, *E. revolutum* Mart., *E. rimosum* O.E. Schulz, *E. simonis* Plowman, *E. suberosum* var *denudatum* O.E. Schulz, *E. subrotundum* A. St.-Hil. e *E. squamatum* Sw., encontradas nas diversas formações do Estado, como as florestas úmidas da Mata Atlântica, Brejos de Altitude, Matas Serranas, Restingas e áreas mais secas da Caatinga, como a da microrregião do Cariri Paraibano (LOIOLA et al., 2007).

2.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO *ERYTHROXYLUM*

De acordo com Zuanazzi et al., (2001), o interesse pelo gênero intensificou-se no século XIX, após a descoberta das atividades farmacológicas apresentadas pelas folhas de *Erythroxylum coca* Lam., que secularmente eram empregadas pelos indígenas da

região andina da América do Sul. Quimicamente, o gênero caracteriza-se pela presença de alcaloides do grupo tropano, dentre os quais se destaca a cocaína, um alcalóide natural produzido por *E. coca* Lam., que foi empregado como anestésico local em pequenas cirurgias (BOHM et al., 1982; GRIFFIN, 2000). Entretanto, a cocaína ganhou notoriedade por sua atividade psicoativa no Sistema Nervoso Central-SNC, tornando-se um dos grandes problemas de saúde pública da atualidade (ALAGILLE et al., 2005). Trata-se do maior gênero da família Erythroxylaceae, com ampla distribuição, nas regiões tropicais da Austrália, Ásia, África e Américas (Figura 1, pág. 32) (LOIOLA, 2007).

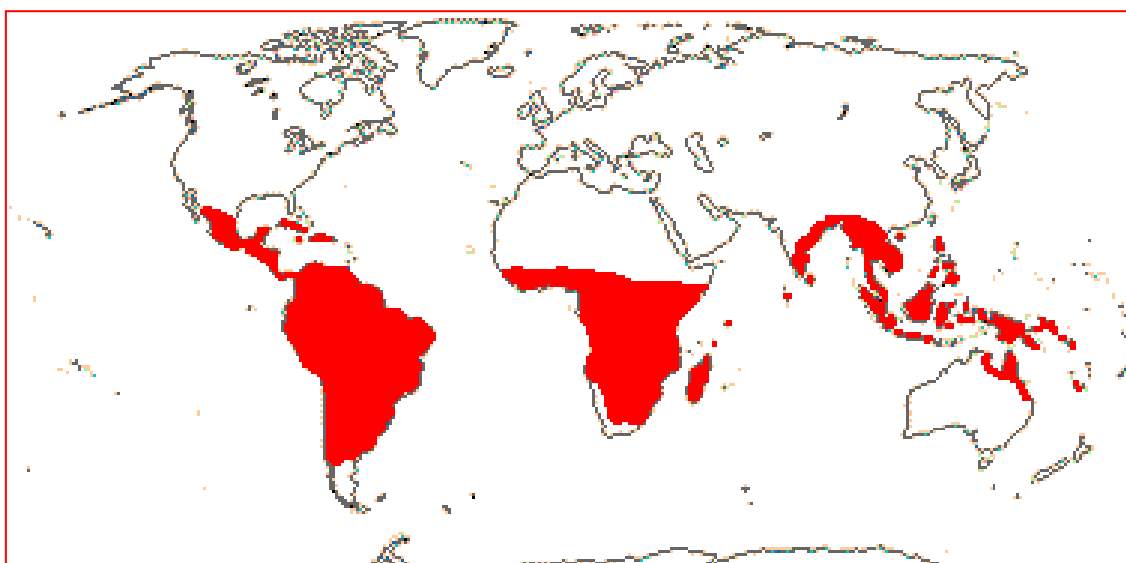


Figura 1. Distribuição do gênero *Erythroxylum*.

Fonte: <http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/welcome.html>. Acessado em 11 de agosto de 2011.

O levantamento bibliográfico realizado no NAPRALERT (Natural Products ALERT, banco de dados da Universidade de Illinois) revelou que das 230 espécies existentes no gênero *Erythroxylum*, apenas 61 foram estudadas no âmbito da sua composição química, resultando no isolamento e caracterização de 449 compostos. As classes de maior ocorrência no gênero são: alcaloides tropanicos, terpenóides e flavonoides (Figura 2, pág. 33).

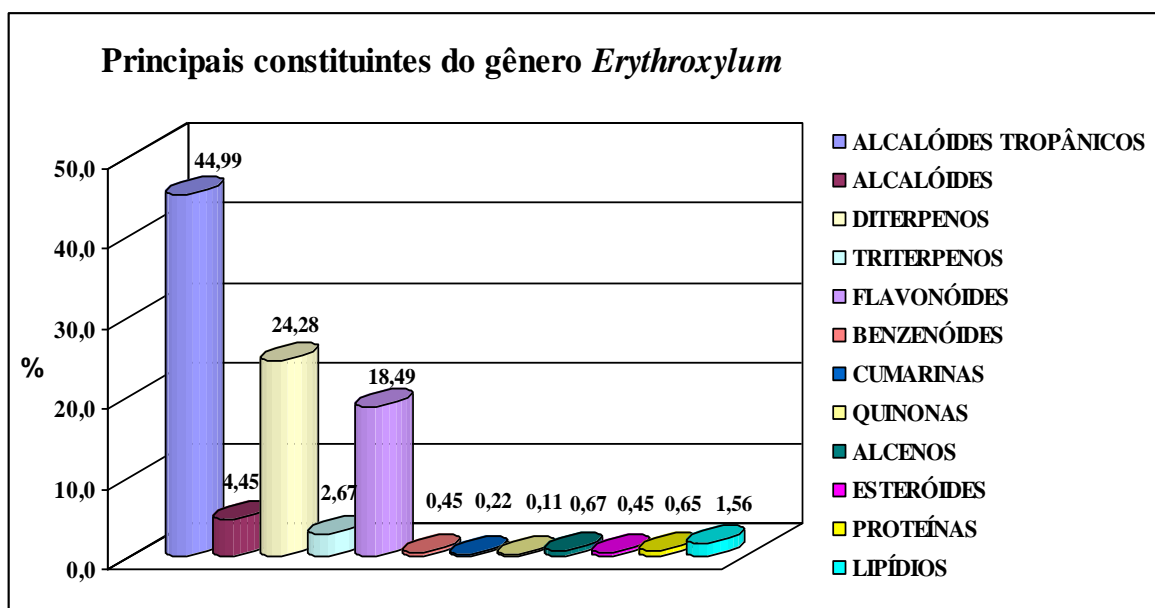
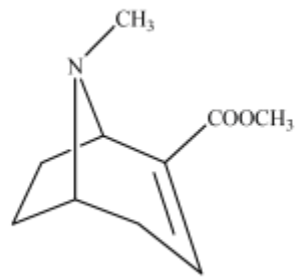


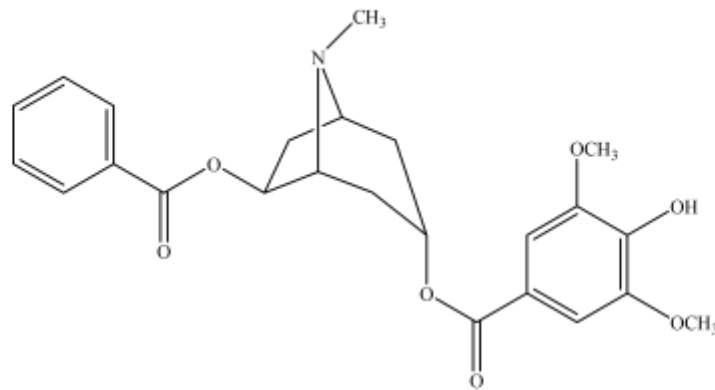
Figura 2. Principais constituintes do gênero *Erythroxylum*.

Fonte: NAPRALERT (Natural PRoducts ALERT)

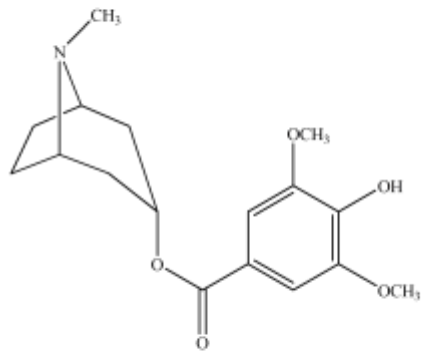
Diversas espécies têm sido investigadas quanto às atividades farmacológicas: *E. vacciniifolium* mostrou efeito anti-HIV e contra infecções oportunas em pacientes com HIV, e forneceu alcaloides tropânicos da série catuabina (A, B e C) (ZANOLARI et al., 2003 a); Pervilleinas A e B (Figura 3, pág. 34), isolados de *E. pervillei*, inibiram o crescimento de carcinoma de pele em células KB-VI (MI et al., 2002), e outros tipos de alcaloides extraídos de *E. rotundifolium* também apresentaram esta mesma atividade (Figura 3, pág. 34) (CHÁVEZ et al., 2002); *E. moonii* apresentou atividade antimicrobiana frente a cepas de bactérias, fungos e leveduras, além de fornecer os alcaloides tropânicos mooniina A e B, (RAHMAN et al., 1998). Outras classes de compostos foram isoladas de espécies de *Erythroxylum* como diterpenos do tipo kaurano, atisano e labdano (Figura 4, pág. 35) e flavonoides glicosilados (Figura 5, pág. 36).



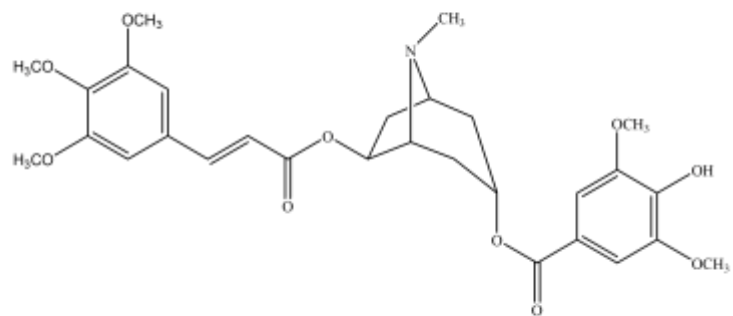
Anidroecgoninato de metila (NISHYAMA et al., 2007)



3 α -(3',5'-dimetoxi-4'-hidroxibenzoiloxi)-6 β -benzoiloxitropano (OLIVEIRA, et al., 2011)



Pungencina (SENA-FILHO et al., 2010)



Pervileina B (QIUWEN et al., 2002)

Figura 3. Alguns alcaloides tropânicos isolados de espécies do gênero *Erythroxylum*.

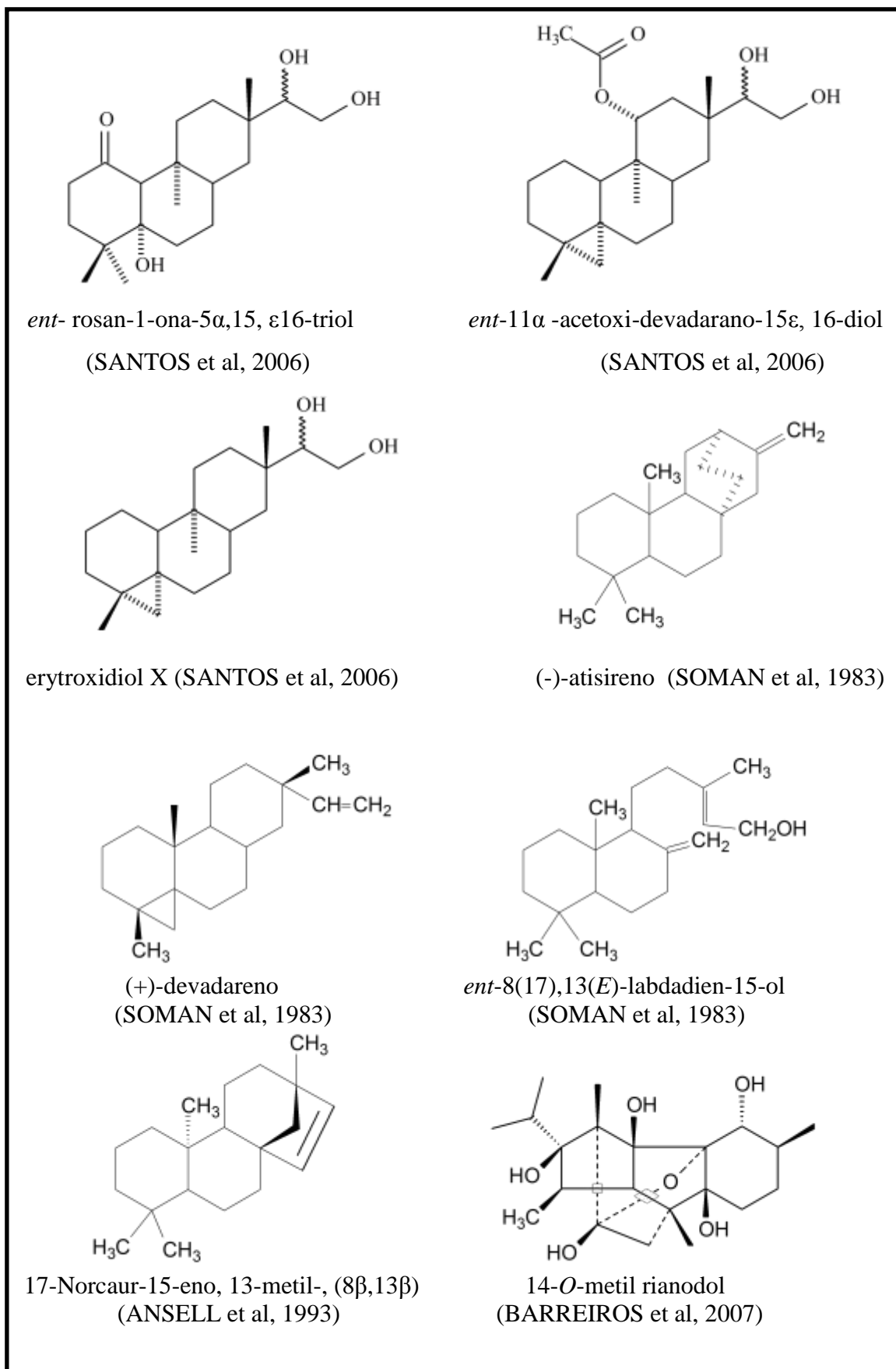
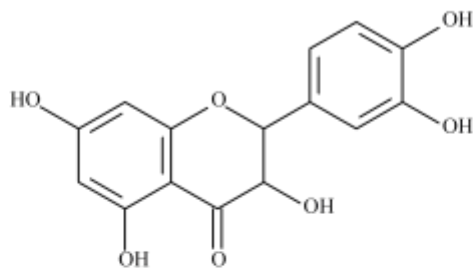
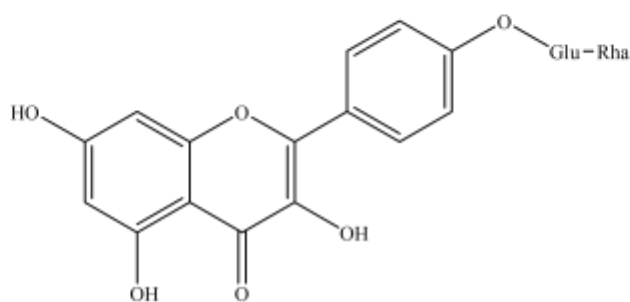


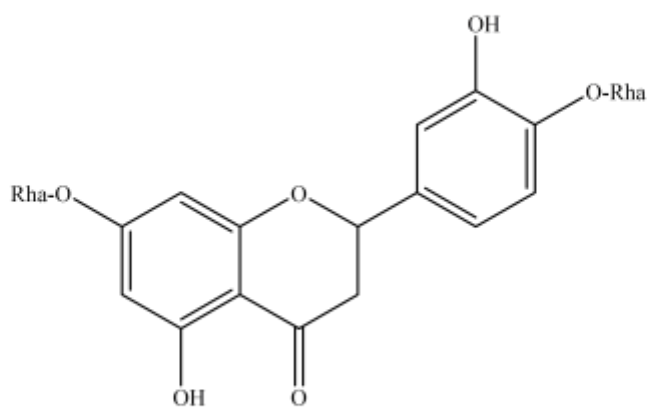
Figura 4. Alguns diterpenos de espécies do gênero *Erythroxylum*.



Taxifolina (BOHM et al, 1981)



Campferol 4'-O-(Ramnosil)-Glucosídeo (JOHNSON et al, 2003)



Tax-3', 3, 5-trihidroxi- 4',7-di-Ramnosil (JOHNSON et al, 2002)

Figura 5. Alguns flavonoides de espécies do gênero *Erythroxylum*.

2.2 CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA

A classificação botânica das espécies *Erythroxylum caatingae*, *Erythroxylum revolutum* e *Erythroxylum subrotundum* segundo CRONQUIST (1988).

Quadro 1. Classificação das espécies de *Erythroxylum*.

Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Malpighiales
Família	Erythroxylaceae
Gênero	<i>Erythroxylum</i>
	<i>Erythroxylum caatingae</i>
Espécies	<i>Erythroxylum revolutum</i>
	<i>Erythroxylum subrotundum</i>

2.2.1 Características botânicas de *Erythroxylum caatingae*

Arbusto a arvoretas, até 3,0 m alt.; ramos não patentes, castanho-avermelhados e com poucas lenticelas quando jovens, esparsas; ramos maduros enegrecidos, com maior densidade de lenticelas. Catafilos menores que as estípulas, adensados na base dos ramos jovens. Estípulas 3-4 mm comprimento, enérveas, estreitamente triangulares, curtamente 2-setulosas, margem inteira, menores que o pecíolo. Folha discolor; pecíolo 6-8 mm comprimento, cilíndricos, pouco maior que as estípulas; lâmina 31-57×21-25 mm, membranácea, quando jovem, e cartácea na maturidade, obovada a oblonga, ápice arredondado a retuso, base cuneada, margem plana; venação secundária finamente reticulada, proeminente na face adaxial, impressa abaxialmente. Flores 4,0-6,0 mm comprimento, pediceladas; lobos do cálice 1,0-1,5×0,9-1,0 mm, triangulares; pétala 1,7-2,2 mm comprimento, esbranquiçada (LOIOLA, et al., 2007).

Erythroxylum caatingae (Figura 6, pág. 38) possui distribuição restrita ao Nordeste do Brasil, somente registrada para os Estados da Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte (PLOWMAN; HENSOLD, 2004). Sua ocorrência na Paraíba está restrita a coletas na caatinga, em área de afloramentos rochosos (LOIOLA, et al., 2007).



Figura 6. Arbustos de *Erythroxylum caatingae* (Foto: JOSEAN FECHINE TAVARES, 2006).

2.2.2 Características botânicas de *Erythroxylum revolutum*

Arbusto a arvoreta, 0,8-3 m alt.; ramos não patentes, estriados longitudinalmente, cinéreos, densamente revestidos por lenticelas amareladas ou alvas, elípticas. Catafilos do mesmo tamanho das estípulas, aleatoriamente distribuídos nos ramos. Estípulas 1,5-3,0 mm comprimento, estriado-nervadas, deltóides, curtamente 3-setulosas, margem inteira, do mesmo tamanho do pecíolo. Folha levemente discolor; pecíolo 2,5-3,5 mm comprimento; lâmina 30-65×14-34 mm, coriácea, oblongo-elíptica a oboval, discolor, ápice agudo a obtuso, base aguda, margens freqüentemente revolutas, venação secundária reticulada, proeminente em ambas as faces. Flores 3,4-4,0

mm, subsésseis; lobos do cálice 1,0-1,2×1,0-1,2 mm, deltóides; pétala 3,0-4,0×1,2-1,5 mm, amarelada a branca, oblonga, côncava; tubo estaminal 1,0–1,2×1,2–1,5 mm, do mesmo tamanho ou menor que os lobos do cálice (LOIOLA, et al., 2007).

Espécie exclusiva do Brasil, com distribuição restrita à região Nordeste encontrada em áreas do semi-árido (caatinga) nos Estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Pernambuco, Piauí e Sergipe. Na Paraíba *E. revolutum* está registrada em apenas duas coletas em áreas de caatinga, constituindo-se em uma nova citação para o Estado. Amostras com flores foram coletadas em fevereiro e março e com frutos em março (LOIOLA, et al., 2007).

2.2.3 Características botânicas de *Erythroxylum subrotundum*

Arvoreta 2,5 m alt.; ramos não patententes, castanho-avermelhados quando jovens; ramos maduros adultos cinéreos, densamente recobertos por lenticelas elípticas, brancas a amareladas; ramos jovens castanho-avermelhados. Catafilos do mesmo tamanho das estípulas, distribuídos densamente na base dos ramos jovens. Estípulas 2-2,5 mm comprimento, semelhantes aos catafilos, enérveas, triangulares, ápice truncado a arredondado. Folha levemente discolor; pecíolo 1,0-2,0 mm comprimento; lâmina foliar 24-48×16-30 mm, membranácea, obovada, ápice arredondado, base aguda, margem plana; verde-claro em ambas as faces, lúcida na face adaxial e opaca na face abaxial; nervura principal subimpressa na face adaxial, proeminente na face abaxial; venação secundária impressa na face adaxial, proeminente na face abaxial. Flores 4,0-6,0 mm comprimento, pediceladas; lobos do cálice 1,0-1,2× 0,8–1,0 mm, triangulares, côncavas; pétala 3,5-4,0× 1,5–2,0 mm, creme a amarelada, elíptica a obovada, plana; tubo estaminal 1,2-1,5×1-1,5 mm, menor que os lobos do cálice (LOIOLA, et al., 2007).

Erythroxylum subrotundum é facilmente reconhecida pelas folhas membranáceas, obovadas a largamente elípticas, às vezes suborbiculares, com ápice arredondado, lúcida na face adaxial e opaca na face abaxial. Tem ocorrência em Alagoas, Bahia, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Rio de Janeiro. Espécie rara na Paraíba, somente conhecida de uma coleta realizada em área de Floresta Serrana, sendo aqui sua primeira citação para o Estado (LOIOLA, et al, 2007).

3 CONSIDERAÇÃO SOBRE ALCALOIDES

As plantas produzem uma grande variedade de metabólitos secundários, que possuem um papel importante na sua sobrevivência em seus ecossistemas. Esses metabólitos estão envolvidos na resistência contra pestes e doenças, na atração dos polinizadores e na interação com os microorganismos simbióticos. Aproximadamente 100.000 metabólitos secundários de plantas já são conhecidos e aproximadamente 4.000 novos estão sendo descobertos a cada ano. O maior grupo de produtos naturais consiste nos isoprenóides, compreendendo mais de um terço de todos os compostos conhecidos. O segundo maior grupo é o formado pelos alcaloides, que compreendem muitas drogas e venenos. Alcaloides são isolados de diversos organismos como rãs, formigas (feromônios), borboletas (defesa), bactérias, esponjas, fungos, aranhas (neurotoxina do veneno), besouros (defesa), e organismos marinhos, embora não esteja ainda descrito se o alcalóide em cada organismo tem origem de uma nova rota biosintética (KUTCHAN, 1995).

Os alcaloides constituem-se num vasto grupo de metabólitos com grande diversidade estrutural, representando cerca de 20% das substâncias naturais descritas. O uso de extratos vegetais contendo alcaloides como medicamentos, venenos e em poções mágicas, pode ser traçada desde os primórdios da civilização (HENRIQUES, et al., 1999). Historicamente, Sócrates morreu em 399 d.C. pelo consumo de extratos contendo conina (Figura 7, pág. 43) (*Conium maculatum*), Cleópatra durante muito tempo no século d.C. fez uso de extratos contendo atropina (*Hyoscyamus muficus*) (Figura 7, pág. 43) para dilatar suas pupilas e desse modo parecer fascinante (KUTCHAN, 1995).

A cocaína (Figura 7, pág. 43) foi isolada por Niemann em 1860. Foi introduzida para uso clínico por Koller em 1884 como anestésicos oftálmico. Verificou-se logo que a cocaína exercia ações sobre o sistema nervoso central, causando acentuada dependência, entretanto, apesar disso, foi amplamente utilizada durante 30 anos, por ser a única droga anestésica local então disponível (KATSUNG, 2006).

Além dos gregos e romanos, muitas outras culturas antigas usavam e ainda usam alcaloides como venenos, principalmente para o envenenamento de flechas empregadas em caçadas e guerras. Exemplos disso são os extratos seco do curare (*Chondodendron tomentosum*), contendo o alcalóide tubocurarina (Figura 7, pág. 43), utilizado pelos

índios da Bacia Amazônica, e a famosa estricnina extraída de *Strychnos nux-vomica* por nativos asiáticos (PERES, 2008).

Os alcaloides possuem um amplo espectro de atividades biológicas reportadas que podem estar relacionado com sua estrutura química. A presença de alcaloides pode ser assinalada em diversas de atividades biológicas investigadas. Assim podemos citar emetina (amebicida e emético), atropina, hiosciamina e escopolamina (anticolinérgico), reserpina e protoveratrina A (antipertensivo), quinina (antimalárico), camptotecina, vinblastina e vincristina (antitumorais), codeína e noscapina (antitussígenos), morfina (hipnoanalgésico), quinidina (depressor cardíaco), cafeína (estimulante do SNC), teobromina e teofilina (diuréticos), colchicina (tratamento da gota), tubocurarina (miorrelaxante), efedrina (simpatomimético), castanospermina (antiviral) entre muitos outros (HENRIQUES et al., 1999).

Muitas atividades biológicas já foram atribuídas aos alcaloides, mesmo assim, tais metabólitos continuam sendo objetos de estudos para muitos pesquisadores. Atualmente, a função natural de muitos metabólitos secundários tem sido reavaliada, reconhecendo que estes são, de fato, essenciais para a existência dos vegetais. Tem sido observado que muitas plantas que produzem alcaloides são evitadas por animais ou insetos em sua dieta, isto certamente devido a sua toxicidade ou ao fato de a maioria dos alcaloides terem gosto amargo (HENRIQUES et al., 1999).

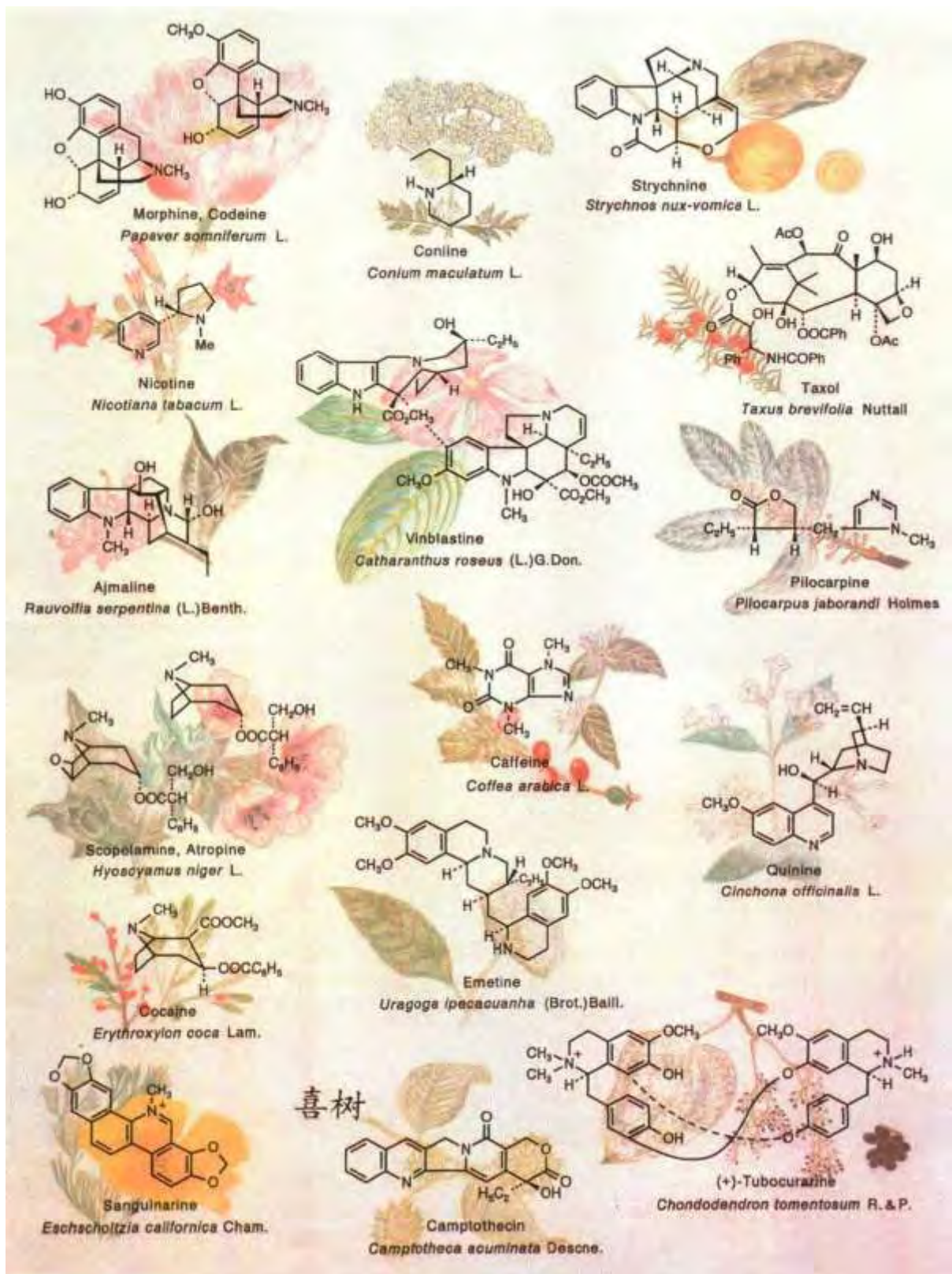
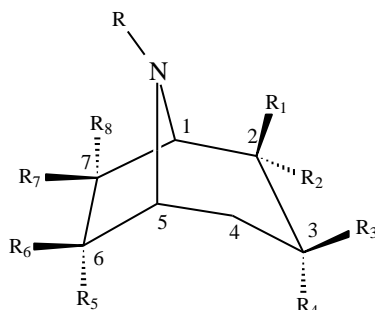


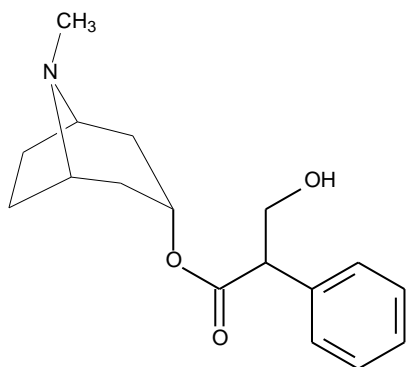
Figura 7. Alguns alcaloides fisiologicamente ativos e as plantas que a produzem (KUTCHAN, 1995).

3.1 ALCALOIDES TROPÂNICOS

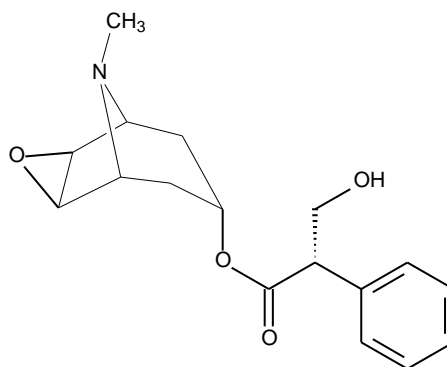
Alcaloides tropânicos apresentam em comum uma estrutura bicíclica, denominada tropano [3,2,1] octano.



O anel tropano é formalmente constituído pelos anéis pirrolidina e piperidina. São conhecidos cerca de 150 alcaloides tropânicos, sendo em sua maioria derivados da pirrolidina como: higrina, cuscohigrina e os principais atropina, hiosciamina, escopolamina e cocaína. Os alcaloides tropânicos ocorrem na família Solanaceae, mas são encontrados também em famílias como a Erythroxylaceae, Convolvulaceae, Proteaceae, e Rhizophoraceae (BRUCE, 2007).



Atropina



Escopolamina

Atropina e escopolamina são potentes agentes anticolinérgicos utilizados na terapêutica na forma do sal sulfato de grande uso oftalmológico e relaxante gastrointestinal.

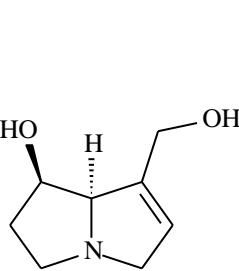
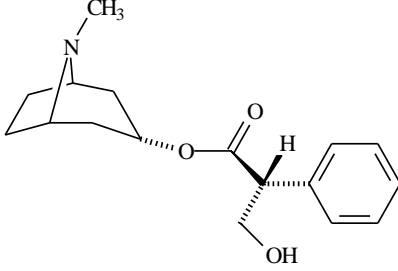
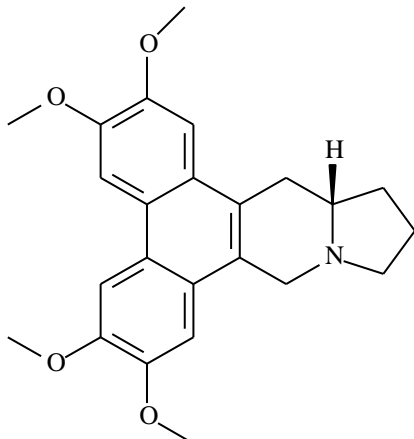
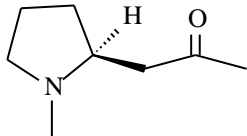
3.2 IMPORTÂNCIA E BIOSÍNTESE DE ALCALOIDES TROPÂNICOS

Medicamentos contendo alcaloides tropânicos são utilizados para diminuição de cólicas nos ureteres e cólicas provocadas por cálculos renais, em espasmos brônquicos, nos casos de asma brônquica. São também utilizados em espasmos do trato

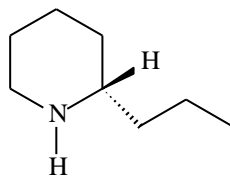
gastrintestinal, portanto contra cólicas e em hipersecreção gástrica. Esse grupo de substâncias também tem uso como anestésico local, por atuar na dessensibilização das terminações nervosas (BACCHI, 2007).

A biossíntese dos alcaloides vem sendo extensivamente estudada e, atualmente, pode-se traçar um esquema da rota de formação para vários deles. Contudo, essas rotas metabólicas não foram ainda completamente delineadas em termos bioquímicos, pois muitas das enzimas envolvidas em diversas etapas não foram ainda isoladas e caracterizadas. A formação do sistema heterocíclico dos alcaloides ocorre, normalmente, através de reações inter/ou intramoleculares simples. Os alcaloides são formados a partir de aminoácidos (alcaloides verdadeiros e protoalcaloides) (Quadro 2) (HENRIQUES et al.,1999).

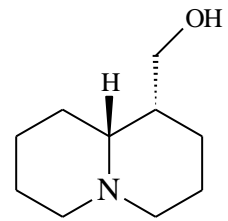
Quadro 2. Classificação de alcaloides de acordo com o precursor biogenético

Precursor biogenético	Exemplo
<p data-bbox="272 954 419 987">L-ornitina</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;">  <p data-bbox="603 1310 762 1344">Retronecina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p data-bbox="1029 1310 1141 1344">Atropina</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;">  <p data-bbox="630 1848 758 1881">Tiloforina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p data-bbox="1101 1848 1204 1881">Higrina</p> </div> </div>

L-lisina

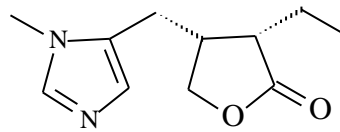


Coniina



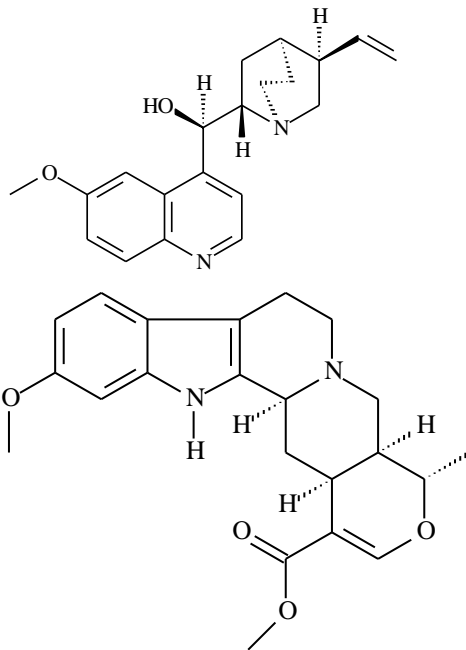
Lupinina

L-histidina



Pilocarpina

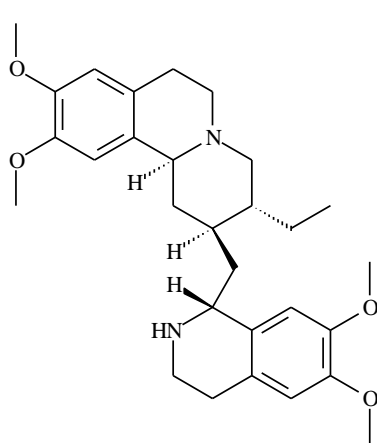
L-triptofano



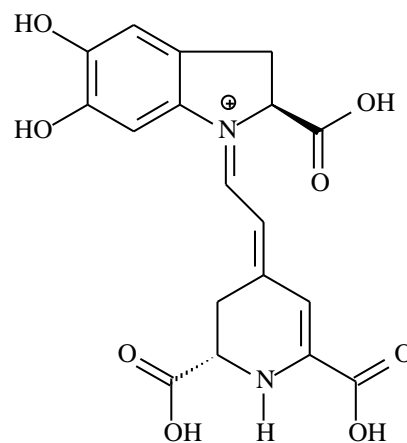
Quinina

Reserpina

L-tirosina

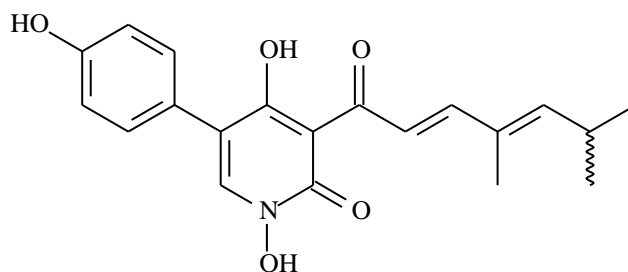


Emetina



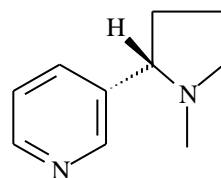
Betanidina

L-fenilalanina



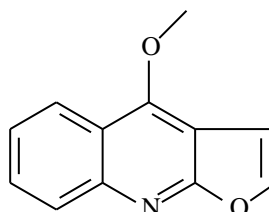
Tenelina

Ácido L-aspártico

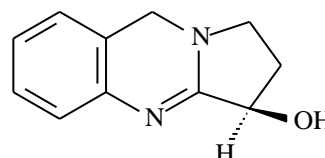


Nicotina

Ácido antranílico

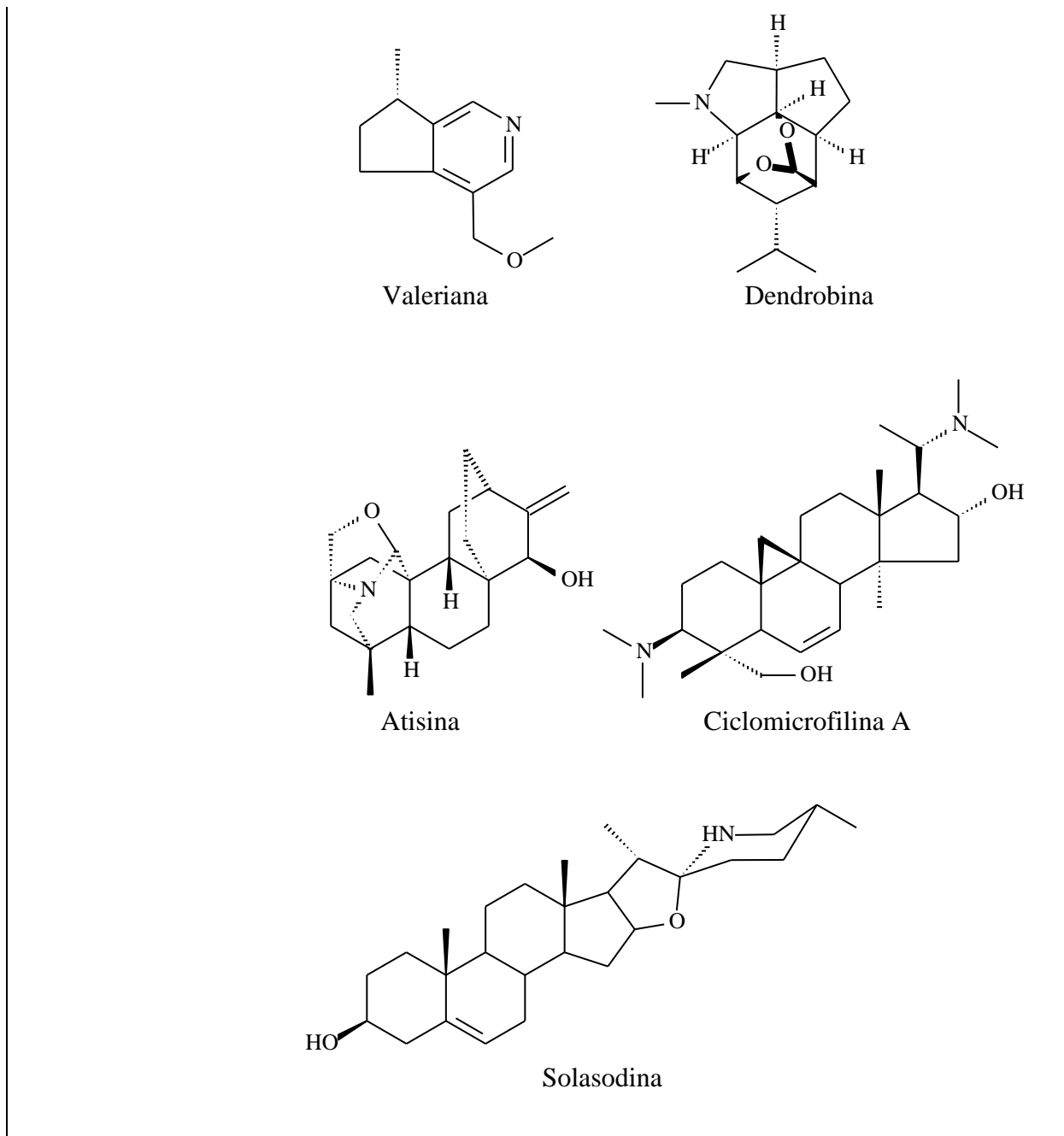


Dictamina



Peganina

Ácido mevalônico



A biossíntese dos alcaloides tropânicos é originada através da formação do íon de N-metil- Δ^1 -pirrolíneo derivado dos aminoácidos ornitina e arginina que também é um intermediário na via de formação da nicotina. O cátion sal N-metil Δ^1 – pirrolíneo se condensa com o acetoacetato para formar posteriormente a higrina que é um precursor do anel tropânico (Figura 8, pág. 49).

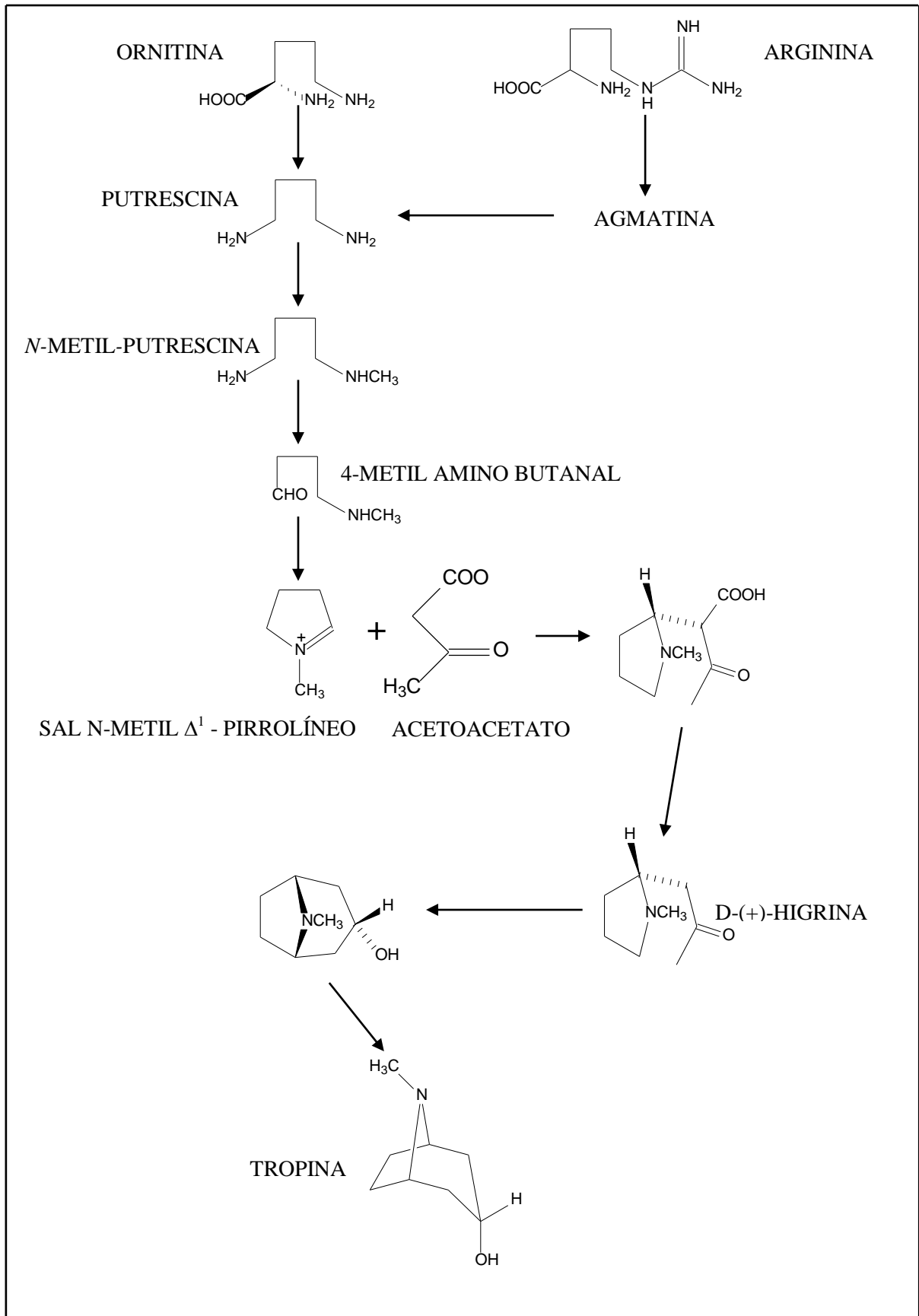


Figura 8. Biossíntese do anel tropano (BACCHI, 2007).

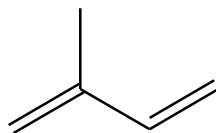
4 CONSIDERAÇÕES SOBRE TERPENÓIDES

Os terpenóides apresentam funções variadas nos vegetais e de modo geral possuem diversas atividades farmacológicas (NIERO; MALHEIROS, 2007).

Os monoterpenos e os sesquiterpenos são os principais constituintes dos óleos voláteis, importantes comercialmente na fabricação de sabões, detergentes, cosméticos e perfumaria, além de serem atrativos dos polinizadores. Os sesquiterpenos, em geral, apresentam funções protetoras contra fungos e bactérias, enquanto muitos diterpenoides dão origem aos hormônios de crescimento vegetal. Os triterpenoides e seus derivados esteroidais apresentam uma gama de funções como proteção contra herbívoros, alguns são antimitóticos, outros atuam na germinação das sementes e na inibição do crescimento da raiz (NIERO; MALHEIROS, 2007).

4.1 BIOSÍNTESE DE TERPENOS

Os terpenoides constituem uma grande classe de produtos naturais com uma enorme variedade estrutural, presente em diversas famílias, sendo este termo, empregado para designar todas as substâncias cuja origem biosintética deriva de unidades de isopreno.



Isopreno

Isopreno é produzido naturalmente, mas não está envolvido na formação destes compostos, e as unidades bioquimicamente ativas do isopreno foram identificadas como o dimetilalilpirofosfato (DMAPP) e o isopentenil pirofosfato (IPP).



IPP

DMAPP

A unidade isoprênica, por sua vez, origina-se a partir do ácido mevalônico (Figura 9, pág. 51). Os esqueletos carbônicos dos terpenóides são formados pela condensação de um número variável de unidades pentacarbonadas (= unidades isoprênicas), através de ligações *cabeça-cauda* entre as moléculas de IPP e seu isômero DMAPP formando o *trans*-geranyl-pirofosfato, a partir dos quais se formam os demais terpenos (Figura 10, pág.52).

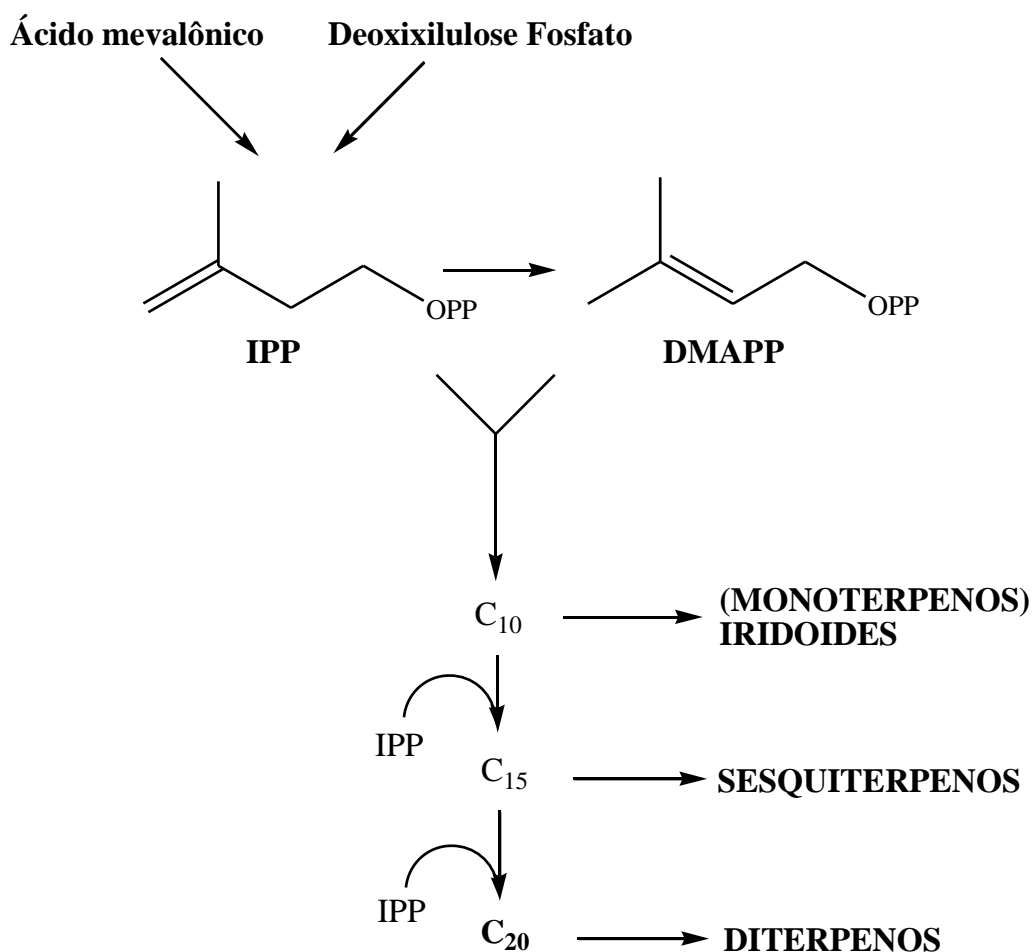


Figura 9. Biossíntese geral dos terpenóides (Adaptado de Dewick, 2002).

4.1.1 Biossíntese dos Diterpenos

Os diterpenos são biossintetizados a partir do geranylgeranilpirofosfato (GGPP) que é formado pela adição de uma molécula de IPP ao farnesilpirofosfato (FPP) (Figura 10, pág. 52).

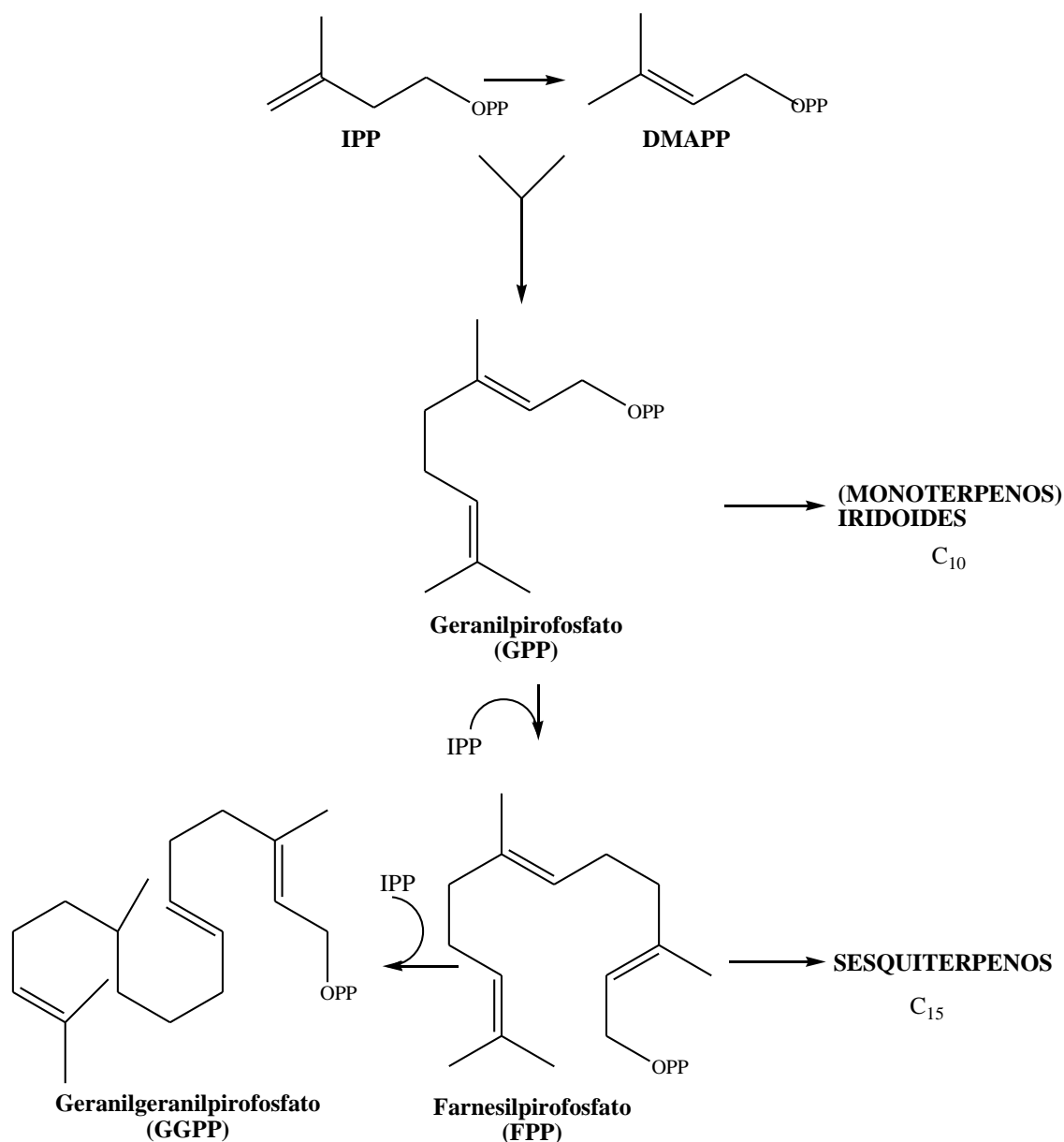


Figura 10. Formação do Geranylgeranilpirofosfato (GGPP) (Adaptado de Dewick, 2002).

A reação de ciclização do (GGPP) é mediada pela formação de carbocátions, seguindo os rearranjos de Wagner-Meerwin, que irá gerar as varias classes de diterpenos. A formação de carbocátions é iniciada por protonação da ligação dupla na cabeça da cadeia levando a uma seqüência de ciclização inicial obtendo a formação do **copalil PP**. A estereoquímica neste composto é controlada enzimaticamente podendo levar a **labdadienil PP**, produto enantiomérico de configuração oposta nos centros quirais recém-formados (Figura 11, pág. 53).

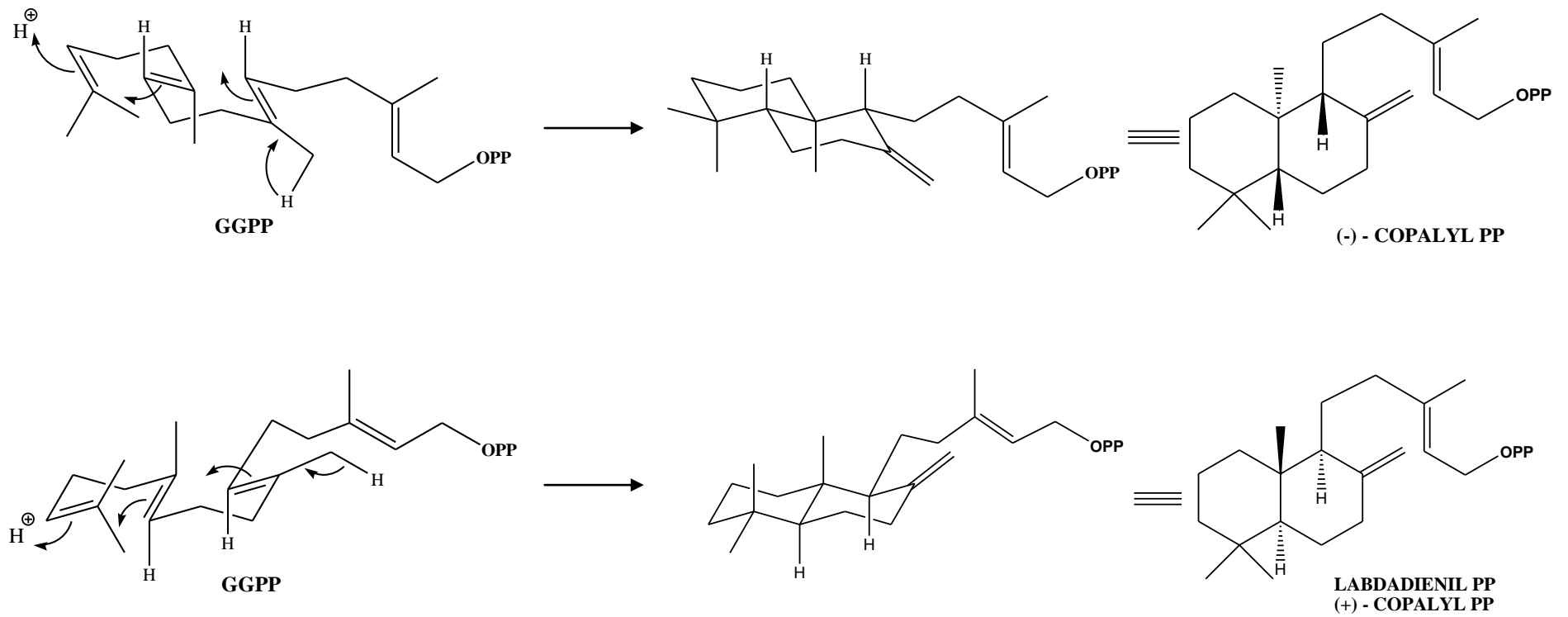


Figura 11. Biossíntese de diterpenos da classe dos labdanos (copalil PP e ladadienil PP) (DEWICK, 2002).

Após formação do copalyl PP, este por sua vez sofre a perda do grupo difosfato permitindo a formação de carbocátion através da ciclização do sistema do terceiro anel, e subsequente produção do quarto anel com formação de um carbocátion secundário. Então segue a migração de Wagner Meerwein, onde um grupamento metila rearranja com mudança de estereoquímica. A perda de um hidrogênios do grupo metila gera a dupla exocíclica de *ent*-caurano e propiciando a saída do carbocátion do sistema. O prefixo *ent* é usado para indicar enantiomerismo; a estereoquímica mais comum que é encontrada em labdadienyl PP e derivados é denominada de série caurano enantiomérica (Figura 12, pág. 54).

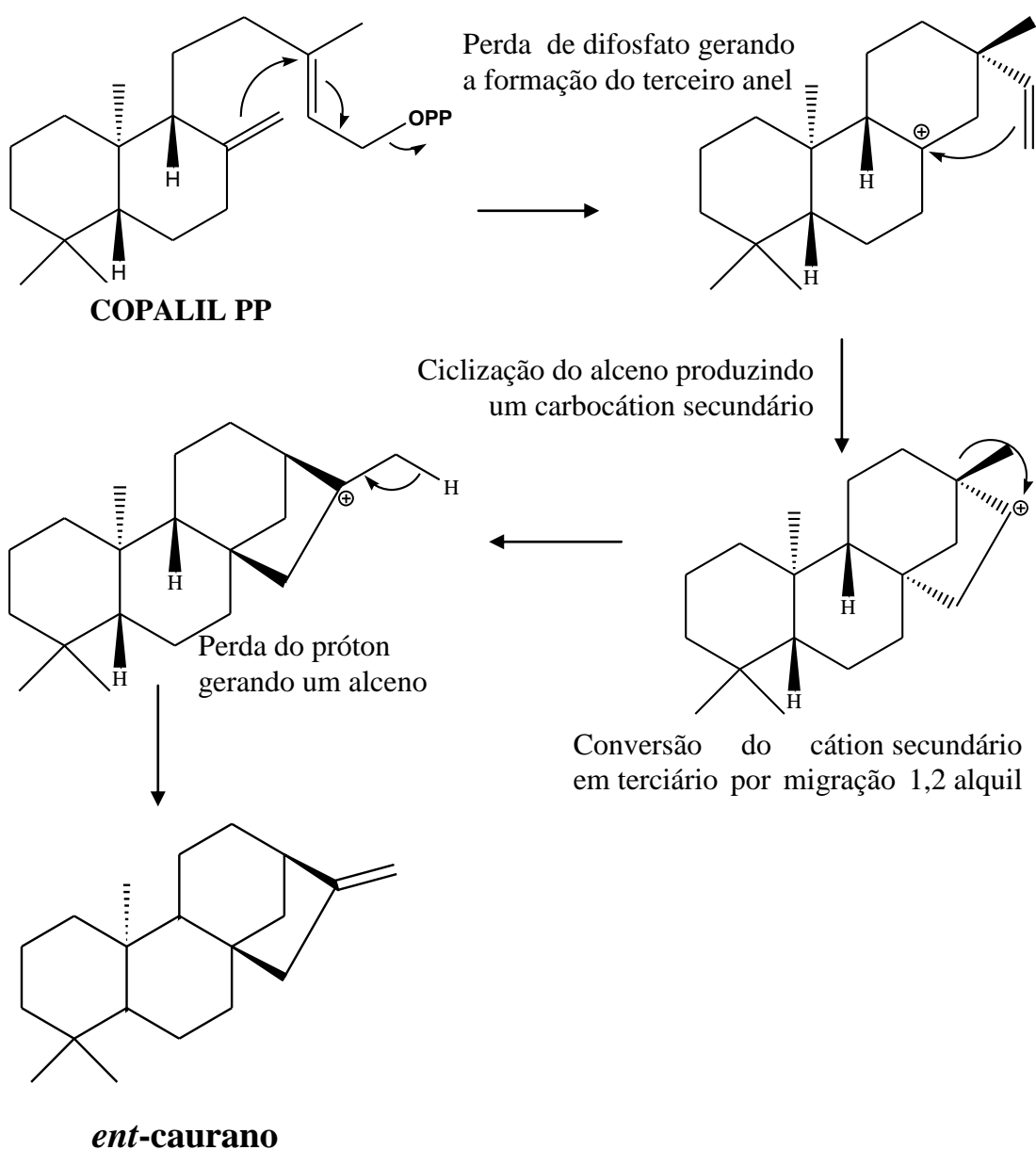
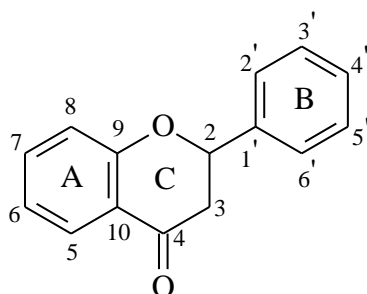


Figura 12. Biossíntese dos diterpenos da classe caurano (DEWICK, 2002).

5 CONSIDERAÇÃO SOBRE FLAVONOIDES

Existindo somente um relato de ocorrência em fungos, quase ausentes em algas e com alguns representantes identificados em briófitas, esta classe de compostos é amplamente distribuída no reino vegetal. Em pteridófitas, também foram encontradas, mas a sua variabilidade estrutural é pequena. Todavia, estão presentes em abundância em angiospermas, apresentando neste grupo uma enorme variedade estrutural (SIMÕES et al., 2007).

Os flavonoides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. São encontrados em frutas, vegetais, sementes, cascas de árvores, raízes, talos, flores e em seus produtos de preparação, tais como os chás e vinhos. Apresentam um núcleo característico com 15 átomos de carbono arranjados em três anéis (C6-C3-C6), que são denominados A, B e C, como consequência da ligação de dois grupos fenila a uma cadeia de três carbonos, ou seja, são derivados difenilpropânicos, sendo biossintetizados a partir das vias do ácido chiquímico e via acetato (COUTINHO et al, 2009).



Esqueleto básico dos flavonoides

A diversidade estrutural dos flavonoides pode ser atribuída ao nível de oxidação e às variações no esqueleto carbônico básico, promovidas por reações de alquilação, glicosilação ou oligomerização. Os flavonoides podem ser encontrados como agliconas ou sob a forma de glicosídeos e/ou derivados metilados e/ou acilados (COUTINHO et al., 2009).

As modificações no anel central dessas substâncias levam à diferenciação em subclasses distintas, tais como: chalconas, flavanonas, flavanonóis, flavonas, flavonóis, isoflavonas, flavan-3-ols e antocianidinas (COUTINHO et al., 2009). As estruturas dos esqueletos básicos de flavonoides são mostradas na Figura 13, pág. 56.

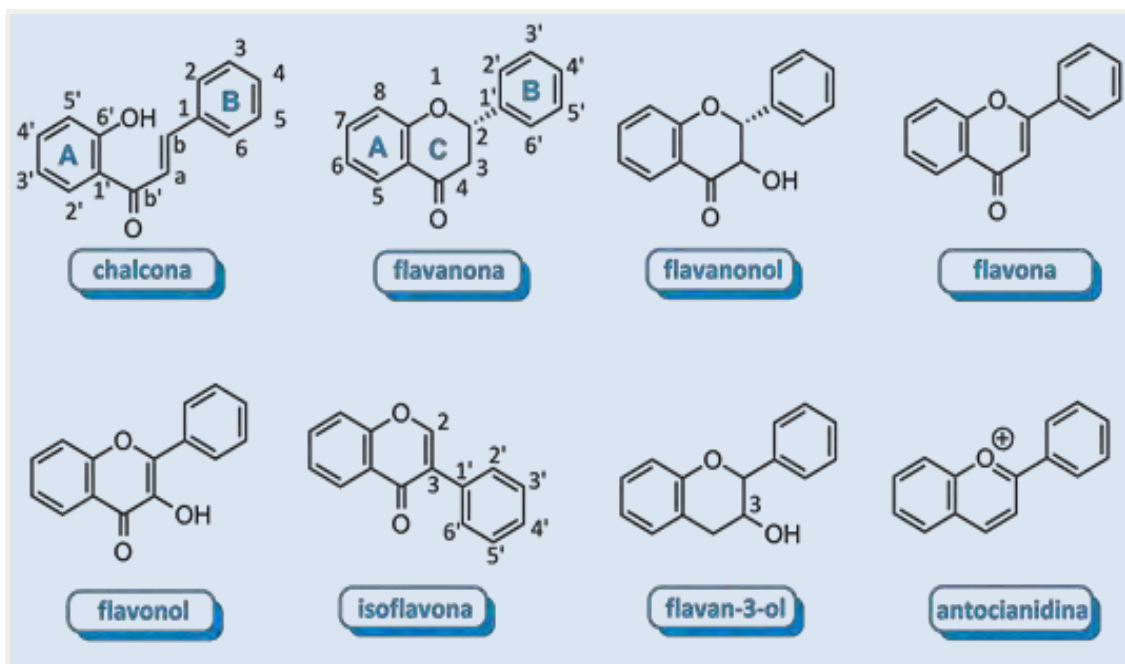


Figura 13. Esqueletos básicos de flavonoides.

5.1 PAPEL BIOLÓGICO E PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DOS FLAVONOIDES

A grande prevalência de flavonoides no reino vegetal não é acidental. Diversas funções nas plantas são atribuídas aos compostos pertencentes a essa classe: protege os vegetais contra a incidência de raios ultravioleta e visível além de agir como antioxidantes; protege contra insetos, fungos, vírus e bactérias por inibir enzimas e precursores de substâncias tóxicas ou atuam como quelantes de metais nocivos; atrai animais com finalidade de polinização por atuar como pigmentos coloridos de flores; está envolvida na transferência de energia, na morfogênese, na ação de hormônios vegetais de crescimento e na expressão de genes (SMITH; BANK, 1986; HARBORNE, 1989).

Animais e humanos ingerem plantas ricas em flavonoides, e há muitos anos estudos farmacológicos que apontam para um grande número de atividades destes compostos em humanos. Por exemplo, eles podem ser utilizados como proteção para a integridade vascular (BERETZ; CAZENAVE, 1988), como agentes antiosteoporóticos (EVANS, 1994) e por suas atividades antihepatotóxicas (SOIKE; PESCHLOW, 1987).

5.2 ASPECTOS BIOSINTÉTICOS DOS FLAVONOIDES

Os flavonoides são biossintetizados via uma combinação das rotas do ácido chiquímico e acetato polimalonato (DI CARLO et al., 1999). Na primeira etapa da biossíntese total do ácido chiquímico (Figura 14, pág. 58) – o fosfoenolpiruvato (PEP) reage com a D-eritrose-4-fosfato, produzindo um açúcar ceto fosforilado com sete carbonos, o ácido 3-desoxi-D-arabinose-heptulosônico-7-fosfato (DAHP). Este composto, pela perda do grupo fosfato, sofre ciclização e converte-se em ácido 3-desidroquínico, que pela perda de uma molécula de água então convertido a seus derivados, como por exemplo, ácido chiquímico. Após fosforilação na posição 3 do ácido chiquímico, origina-se o ácido chiquímico-3-fosfato, que reage com o (PEP) formando o ácido 5-enolpiruvil-chiquímico-3-fosfato (EPSF). Este, por sua vez, origina o ácido corísmico por eliminação de um grupo fosfato e um hidrogênio. O ácido corísmico sofre uma reordenação pericíclica do tipo Claisen levando ao ácido prefênico, que por descarboxilação, origina o ácido pirúvico, precursor da fenilalanina e tirosina. A fenilalanina, pela ação da enzima fenilalanina amônia liase (PAL), perde uma molécula de amônia, originando o ácido cinâmico, o precursor da maioria dos compostos classificados como fenilpropanóides (DEWICK, 2002).

Por intervenção de uma enzima oxigenase, o ácido cinâmico é hidroxilado formando o ácido *p*-cumárico (BRUNETON, 1991). Na segunda etapa da biossíntese – rota do acetato polimalonato (Figura 15, pág. 59) – ocorre condensação de três moléculas de acetato com um derivado do ácido cinâmico (*p*-cumaroil-CoA). Provavelmente, cada molécula de acetilCoA é primeiramente convertida em malonil-CoA, enquanto que a do ácido cinâmico é convertida em *p*-cumaroil-CoA, ambas intermediárias ativas transformadas por uma coenzima-A. Após condensação, forma-se um intermediário de 15 átomos de carbono, que catalisado pela enzima chalcona sintase, sofre ciclização originando a chalcona, o intermediário comum de todos os flavonoides (DEWICK, 2002). A adição de substituintes ocorre posteriormente à ciclização da chalcona (BRUNETON, 1991).

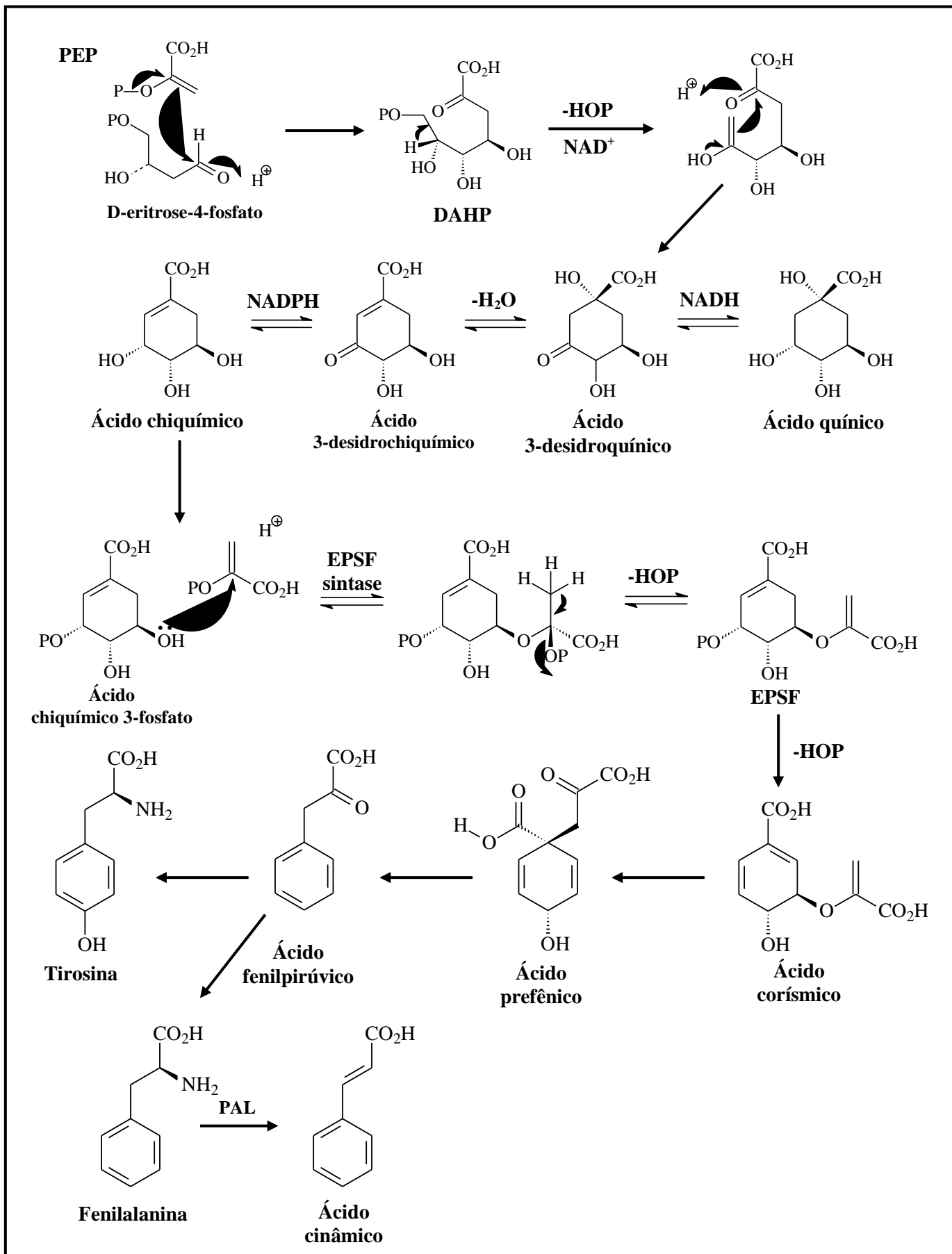


Figura 14. Representação esquemática da biossíntese dos flavonoides segundo Dewick (2002) (primeira etapa – rota do ácido chiquímico).

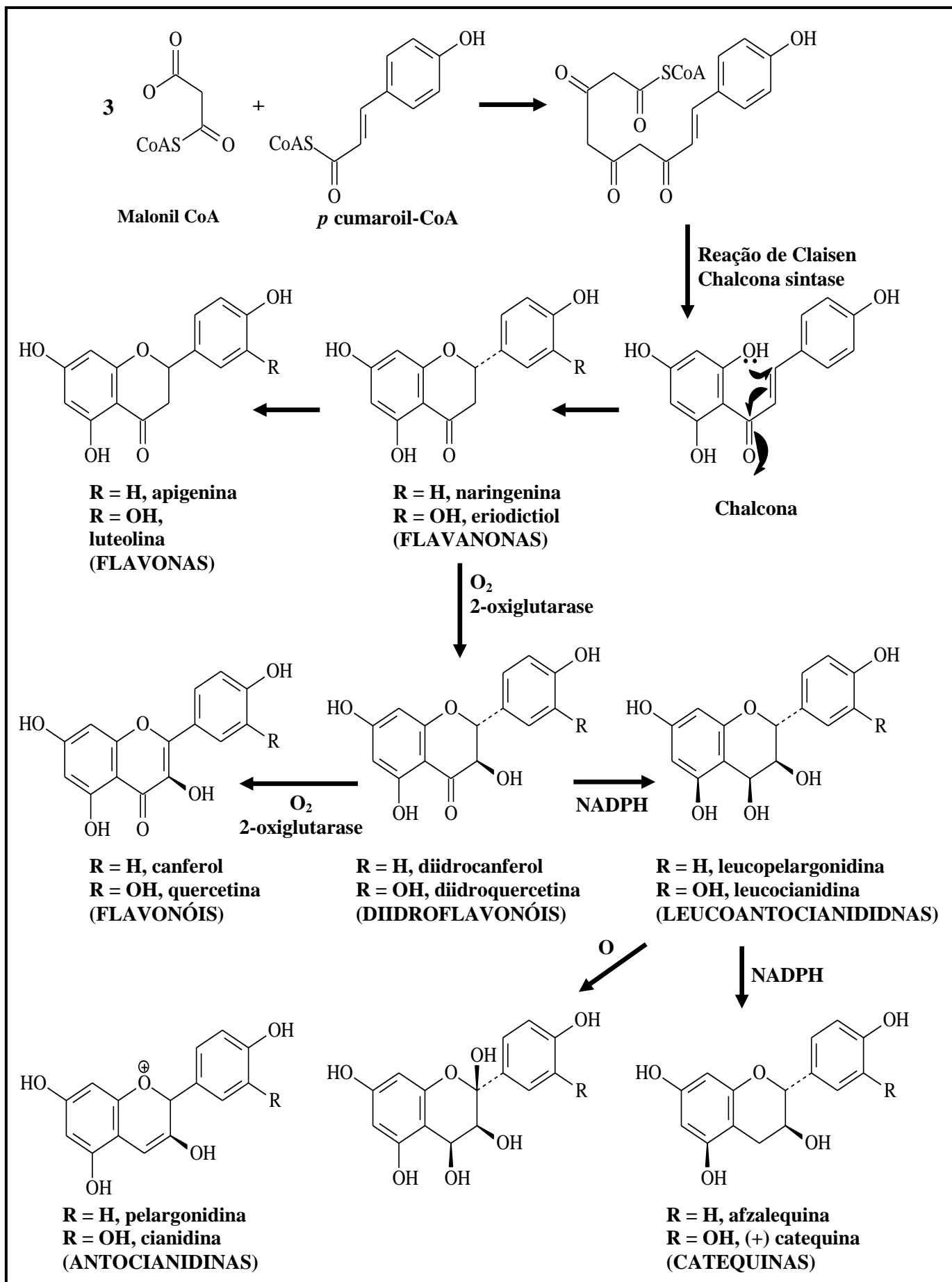


Figura 15. Representação esquemática da biossíntese dos flavonoides segundo Dewick (2002) (segunda etapa – rota do acetato polimalonato).

Objetivos

6 OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GERAL

- Contribuir para o estudo químico e quimiotaxonômico do gênero *Eythroxylum*, através do estudo das espécies *Eythroxylum caatingae* Plowman, *Eythroxylum subrotundum* A. St.-Hil e *Eythroxylum revolutum* Mart.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar constituintes químicos de *Eythroxylum caatingae*, *Eythroxylum subrotundum* e *Eythroxylum revolutum*;
- Identificar ou elucidar a estrutura de seus constituintes químicos através de técnicas de IV, EM e RMN (uni e bidimensionais);
- Contribuir com a quimiotaxonomia das espécies em estudo;
- Disponibilizar extratos, frações e substâncias isoladas para estudos farmacológicos;

Parte Experimental

7 EXPERIMENTAL

7.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

a) Cromatografias de adsorção em colunas foram realizadas em colunas de vidro de comprimentos e diâmetros variados, utilizando como adsorvente sílica gel da Merck, 7734, com partículas 0,063-0,200 mm de diâmetros;

b) Cromatografias em Camada Delgada Analítica e Preparativa (CCDA e CCDP) foram preparadas com sílica gel 60 PF₂₅₄ artigo 7749, Merck, suspensa em água destilada (1:2), espalhada sobre placas de vidro por meio de um cursor “Quick fit” que conferia a camada espessuras de 0,25 e 1,00 mm, respectivamente. As cromatoplasmas obtidas eram secas ao ar livre e, em seguida, ativadas em estufa a 110 °C durante duas horas;

c) As revelações das cromatoplasmas foram realizadas por exposição por luz ultravioleta, por meio do aparelho Mineralight, modelo UVGL-58 com dois comprimentos de onda (254 e 366 nm), para os dois tipos de cromatografia, e reveladas com vapores de iodo e reagente de Dragendorff (tetraiodobismutato de potássio) para as placas analíticas;

d) Os espectros de absorção na região de infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro, MODELO BOMEM SERIE 100MB, na faixa de 4000 a 400 cm⁻¹, utilizando-se pastilhas de KBr (0,5 mg da amostra/ 100 mg de KBr);

e) Os pontos de fusão das amostras foram determinadas em aparelho digital para ponto de fusão, marca Microquímica, modelo MQAPF-302, com bloco de platina em microscópio óptico tipo “Kopfle”, marca REICHERT, modelo R3279, com temperatura que varia de 0 a 350° C. Os valores obtidos não foram corrigidos.

f) Os espectros de RMN foram registrados em espectrômetros VARIAN-NMR SYSTEM, operando a 500 MHz para hidrogênio (RMN ¹H) e a 125 MHz para carbono-13 (RMN ¹³C). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz. As multiplicidades das RMN ¹H foram indicadas segundo a convenção: *s* (singleto), *sl* (singleto largo), *d* (dubleto), *dd* (duplo dubleto), *t* (tripleto), *tl* (tripleto largo) *q* (quadrupleto) e *m* (multiplete);

g) Os solventes utilizados foram hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puro ou em misturas binárias, segundo gradiente crescente de polaridade, utilizando para análises solventes da Merck, Vetec, solventes grau HPLC e solventes deuterados.

h) O Equipamento utilizado para o desenvolvimento cromatográfico foi um CLAE-DAD descrito no Quadro 3.

Quadro 3. Cromatógrafos e condições utilizadas nos experimentos.

Equipamento	Módulos
CLAE-DAD Marca: SHIMADZU Modelo Série 10A vp	Detector: SPD-M10A vp 2 Bombas: LC-6AD Injetor: Rheodyne Interface (Comunicação): SCL-10A vp Coluna: C18 (150 mm X 4,6 mm e 5 µm de tamanho de partícula) ShimPack - Shimadzu Fluxo: 1 mL/min Temperatura: 40 °C

I) Aparelho de Média Pressão BÜCHI Pump Manager C-615/605

7.2 MATERIAL VEGETAL

7.2.1 *Erythroxylum caatingae* Plowman

O caule de *Erythroxylum caatingae* foi coletada no município de Picuí, estado da Paraíba. O material botânico foi identificado pela Prof. Dra. Maria de Fátima Agra, do setor de botânica do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF), uma exsicata da planta está depositada no herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB) da Universidade Federal da Paraíba sob o código AGRA 5666.

7.2.2 *Erythroxylum revolutum* Mart

As folhas de *Erythroxylum revolutum* foram coletadas no município de Serra Branca, estado da Paraíba. O material botânico foi identificado pela Prof. Dra. Maria de Fátima Agra, do setor de botânica do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF),

uma exsicata da planta está depositada no herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB) da Universidade Federal da Paraíba sob o código AGRA 5695.

7.2.3 *Erythroxylum subrotundum* A. St.-Hil.

As folhas de *Erythroxylum subrotundum* foram coletadas no município de Maturéia, estado da Paraíba. O material botânico foi identificado pela Prof. Dra. Maria de Fátima Agra, do setor de botânica do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF), uma exsicata da planta está depositada no herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB) da Universidade Federal da Paraíba sob o código AGRA 4958.

7.3 PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL

Os materiais vegetais foram dessecados em estufa com ar circulante à temperatura de 40 °C durante 72 horas. Após secagem, foi submetido a um processo de pulverização em moinho mecânico, obtendo-se o pó das plantas.

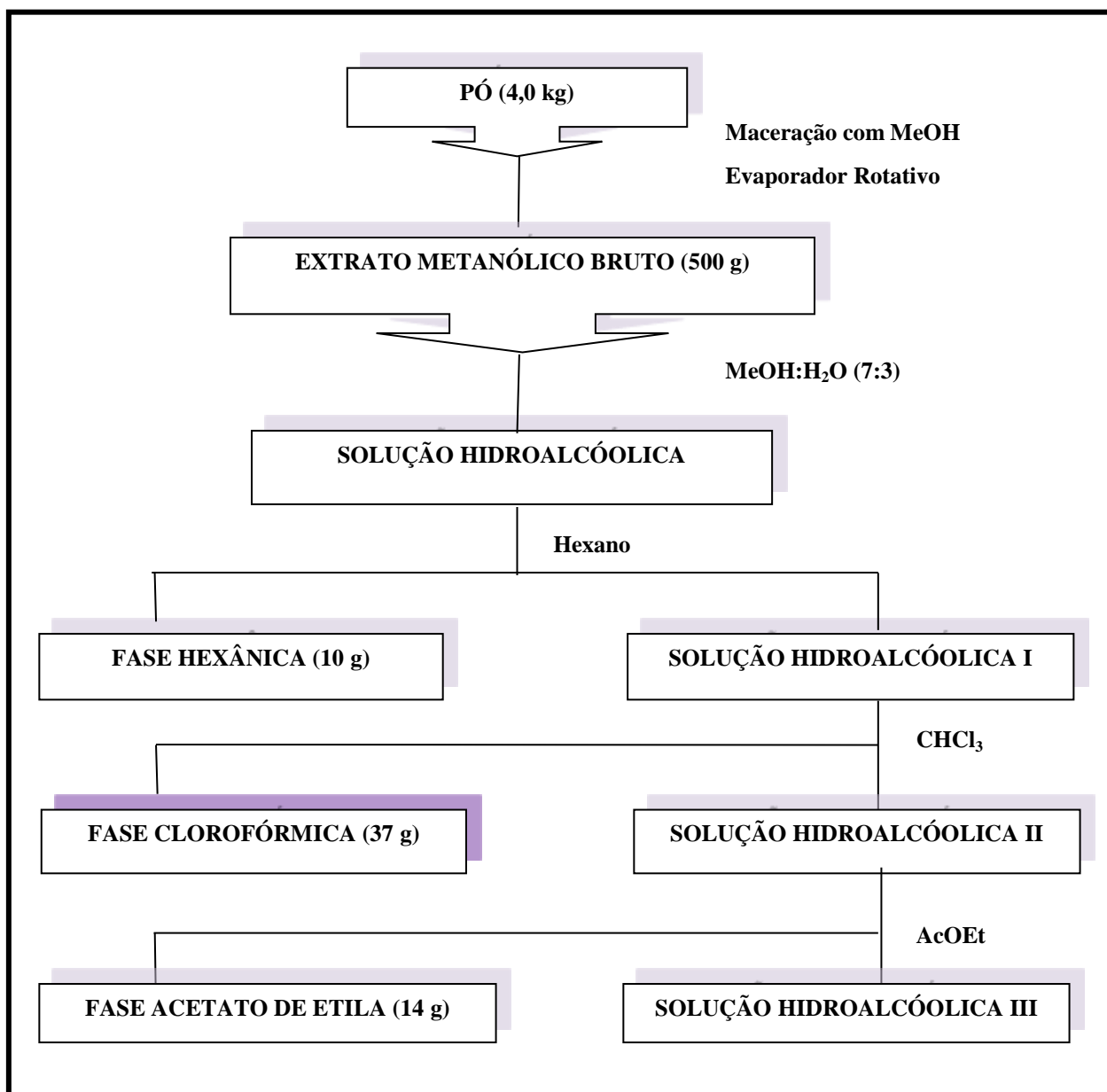
7.3.1 Obtenção do extrato metanólico bruto do caule de *Erythroxylum caatingae* Plowman.

O pó obtido (4 Kg) foi submetido à maceração exaustiva com metanol durante 72 horas. Esse processo de maceração foi repetido 3 vezes, obtendo-se a solução do extrato metanólico bruto (EMB). Após a extração, a solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida e a uma temperatura de 40 °C obtendo-se o extrato metanólico bruto (500 g). Parte deste extrato (200 g) foi suspenso em metanol-água (7:3) e, em seguida, submetido a sucessivas partições líquido/líquido com solventes de diferentes polaridades, fornecendo as frações hexânica (10 g), clorofórmica (37 g) e acetato de etila (14 g), respectivamente (Esquema 1, pág. 66).

7.3.2 Particionamento da Fase Clorofórmica do Extrato Metanólico Bruto do Caule de *Erythroxylum caatingae* Plowman.

Uma alíquota da Fase Clorofórmica (5,0 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica (CC) utilizando sílica gel como adsorvente e como eluentes, hexano,

clorofórmio e metanol, puros ou em misturas binárias em grau crescente de polaridade. Foram obtidas 77 frações de 100 mL cada. (Quadro 4, pág. 67).



Esquema 1. Obtenção e particionamento do extrato metanólico bruto do caule de *Erythroxylum caatingae*.

Quadro 4. Fracionamento cromatográfico da Fase Clorofórmica.

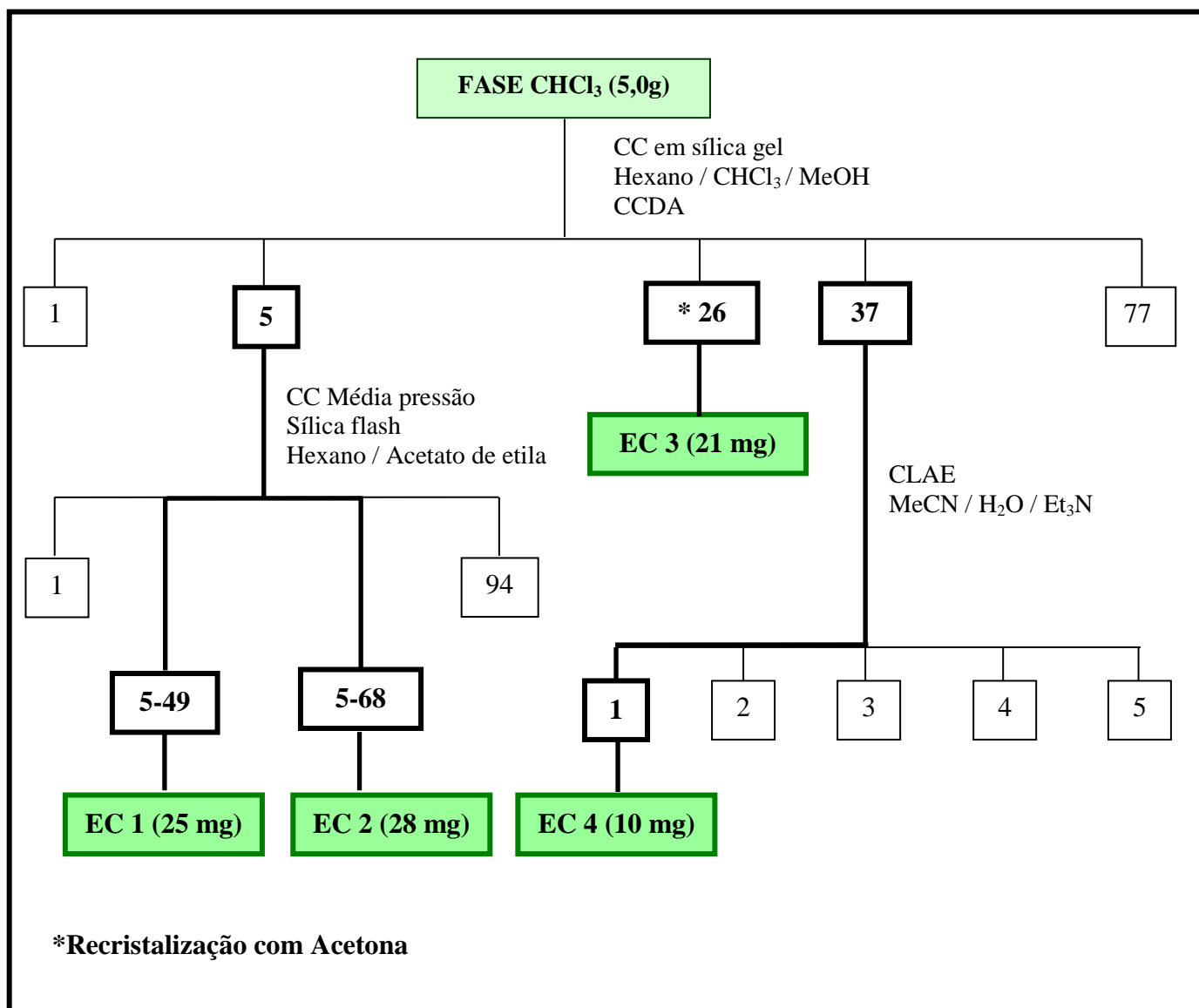
Frações	Solvente	Proporção
1	Hexano	100
2-3	Hexano – CHCl ₃	90: 10
4-8	CHCl ₃ – MeOH	99: 1
9-18	CHCl ₃ – MeOH	98,5: 1,5
19-20	CHCl ₃ – MeOH	98: 2
21-22	CHCl ₃ – MeOH	97,5: 2,5
24-25	CHCl ₃ – MeOH	96,5: 3,5
26-30	CHCl ₃ – MeOH	95: 5
31-35	CHCl ₃ – MeOH	93: 7
38-44	CHCl ₃ – MeOH	91: 9
45	CHCl ₃ – MeOH	88: 12
46-71	CHCl ₃ – MeOH	85: 15
72-74	CHCl ₃ – MeOH	83: 17
75-77	CHCl ₃ – MeOH	80: 20

7.3.3 Isolamento dos constituintes químicos do caule de *E. caatingae*.

A fração 5 (82,3 mg) foi submetida a uma coluna cromatográfica de média pressão, utilizando sílica flash como adsorvente. Foram utilizados hexano e acetato de etila como eluentes puros ou em misturas binárias em grau crescente de polaridade. Obtiveram-se 94 frações que foram monitoradas por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA), eluídas em diversos sistemas de solventes, reveladas com vapor de iodo e reagente de Dragendorff e reunidas de acordo com os seus R_fs. As frações 49 e 68 foram analisadas em CCDA e ambas foram submetidas à Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono Treze (RMN ¹H e ¹³C) para a identificação e identificação estrutural.

A fração 26 (22 mg) apresentou-se na forma de cristais brancos, submetida a recristalização com acetona. Após recristalização a amostra foi submetida à Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono (RMN ¹H e ¹³C) para a identificação estrutural.

A fração 37 (46,1 mg) foi submetida a uma Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) obtendo-se 7 frações. A fração 1 (10 mg) foi submetida a Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono (RMN ^1H e ^{13}C) para identificação estrutural (Esquema 2, pág. 68).



Esquema 2. Processo cromatográfico da Fase Clorofórmica e Isolamento de seus constituintes químicos.

7.3.4 Desenvolvimento Cromatográfico da Fração 37

Após análise da fração 37 através de CCD borrifadas com reagente de dragendorff e RMN ^1H , foi possível identificar a presença de uma mistura de alcaloides na amostra, que posteriormente foi submetida à cromatografia líquida de alta eficiência

– CLAE para purificação. Para o desenvolvimento cromatográfico da fração dos alcaloides tropânicos foi estudado duas formas de eluição: gradiente e isocrático utilizando detector de arranjo de diodos com $\lambda = 255$ nm.

Na eluição por gradiente no CLAE-DAD foi utilizado um sistema de bombeamento a baixa pressão cuja fase móvel foi resultante da mistura binária de H₂O | ET₃N 0,05% e MeCN.

Na eluição isocrática no CLAE-DAD foi utilizado um sistema de bombeamento a baixa pressão cuja fase móvel foi resultante da mistura binária de H₂O | ET₃N 0,05% e MeCN. As corridas analíticas foram feitas nas seguintes proporções: (50:50 | H₂O:MeCN / ET₃N), (40:60 | H₂O:MeCN / ET₃N), (30:70 | H₂O:MeCN / ET₃N), todas com a mesma concentração de ET₃N. As análises foram feitas em 30 min a temperatura de 40°C, fluxo de 1 mL/min em uma Coluna C18 – ACE de 250 mm de comprimento com 4,6 mm de diâmetro interno e 5 µm de tamanho de partícula, pré-coluna C18 com 4,6 mm de diâmetro interno e 5 µm de tamanho de partícula.

Os cromatogramas por sistema de eluição isocrático de solventes, da fração 37 apresentou as seguintes informações: no método (50:50 | Et₃N 0,05%:MeCN) houve o aparecimento de 5 picos com tempo de retenção de 3,8; 4,2; 4,6; 5,3 e 5,7 min; no método (40:60 | Et₃N 0,05%:MeCN) houve o aparecimento de 6 picos com tempo de retenção entre 25-30 min; no método (30:70 | Et₃N 0,05%:MeCN) houve o aparecimento de 5 picos com tempo de retenção de 9,8; 12; 13,2; 16,8; 21 e 28 min (Figura 16, pág. 70).

Os resultados mostrados na figura 16, pág. 70, mostrou a comparação entre os cromatogramas e as proporções de solventes e os sistemas de eluição que apresentou melhor resolução entre os picos foi o método (30:70 | Et₃N 0,05%:MeCN).

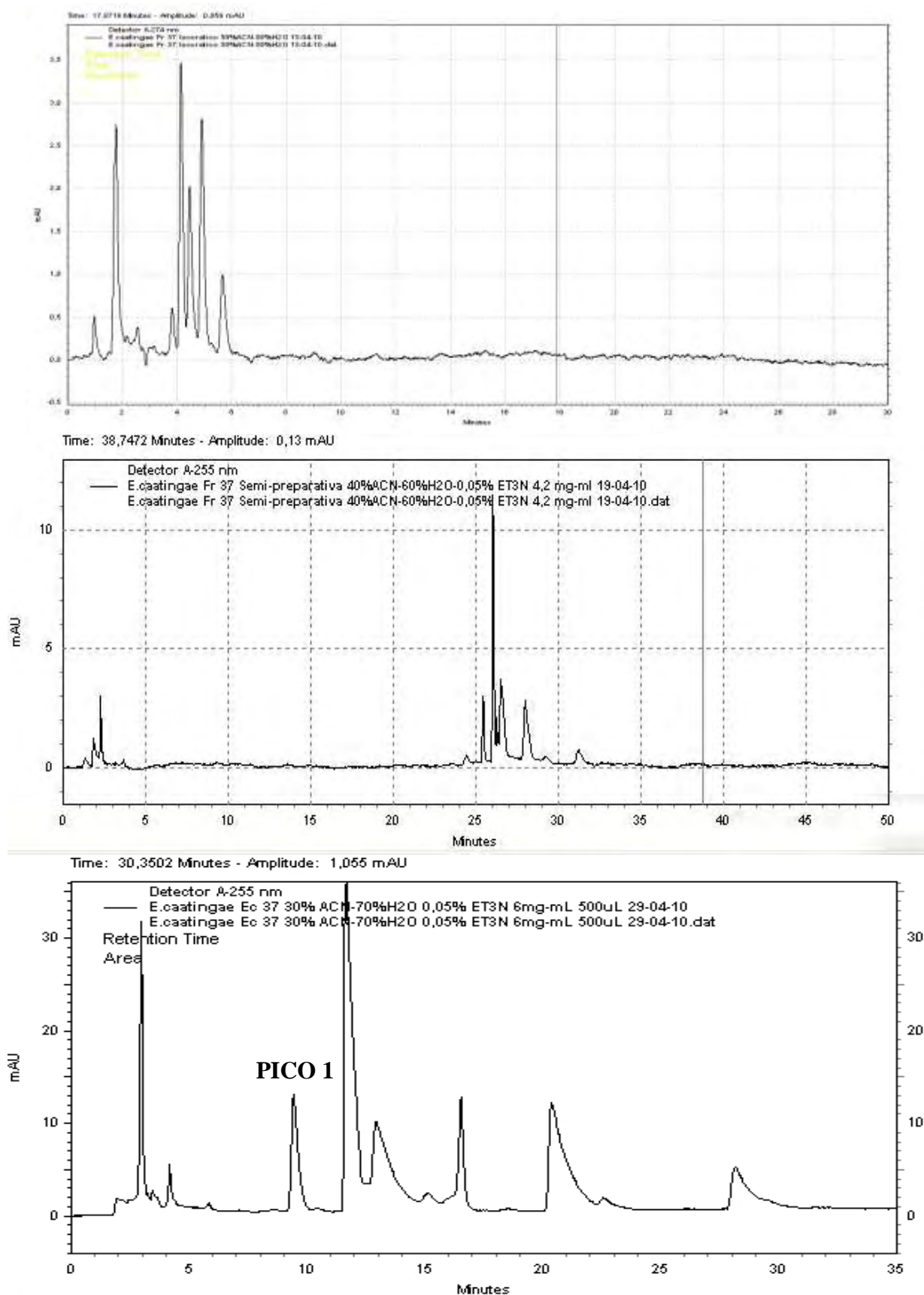
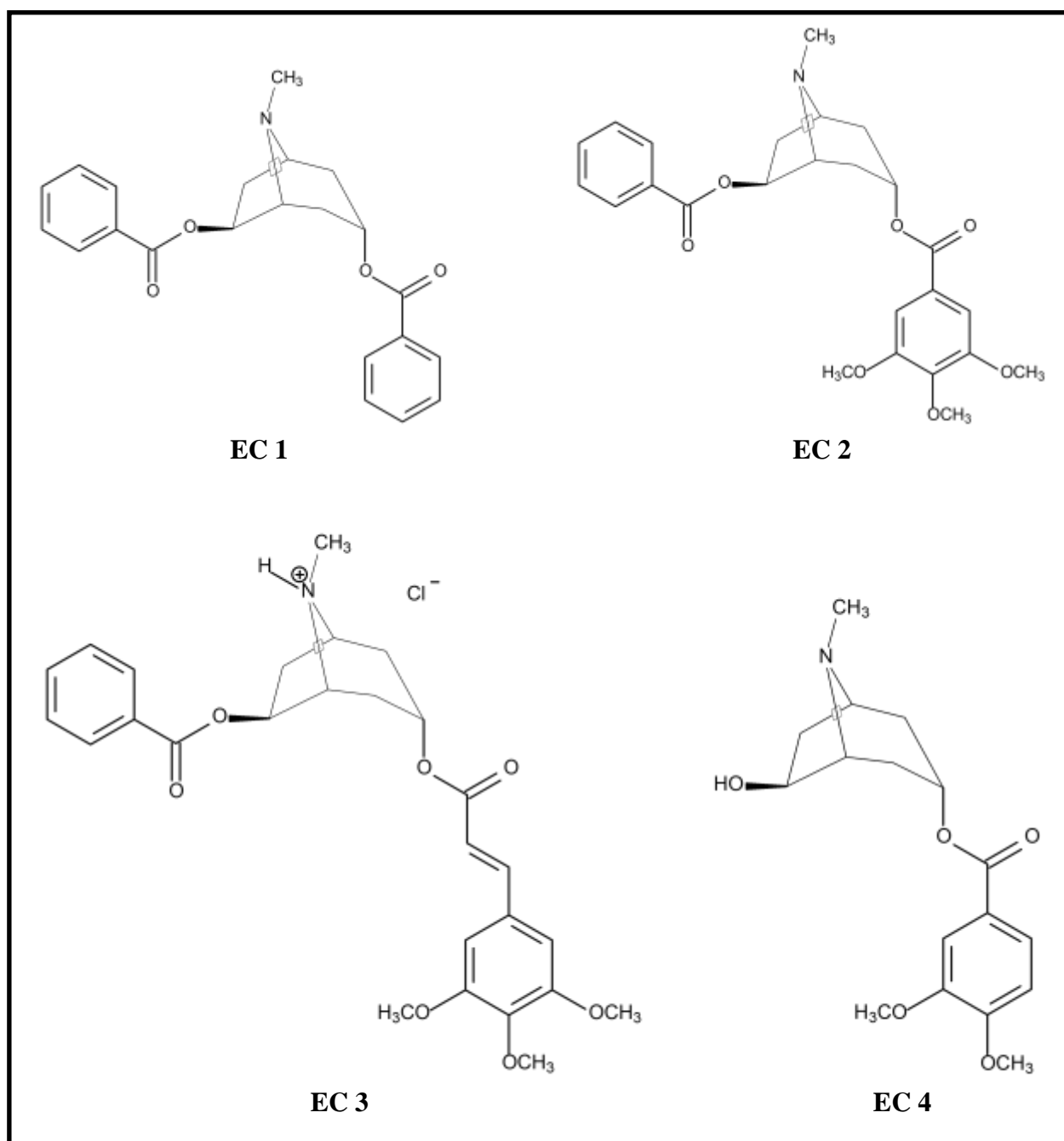


Figura 16. Cromatogramas da Fração 37 nas proporções de solventes (50:50 | $\text{ET}_3\text{N}:\text{MeCN}$), (40:60 | $\text{ET}_3\text{N}:\text{MeCN}$), (30:70 | $\text{ET}_3\text{N}:\text{MeCN}$), em $\text{pH} = 10,0$ da fase aquosa.

7.3.5 Substâncias isoladas do caule de *Erythroxylum caatingae*

O estudo fitoquímico do caule de *Erythroxylum caatingae* resultou no isolamento e identificação estrutural de quatro alcaloides tropânicos 3 α , 6 β dibenzoiloxi (EC 1), catuabina B (EC 2), cloreto 3 α -(3',4',5' trimetoxicinamoiloxi)-6 β -benzoiloxitropano (EC 3) e 3 α -(3',4' dimetoxi)- 6 β -hidroxitropano (EC 4) (Quadro 5).



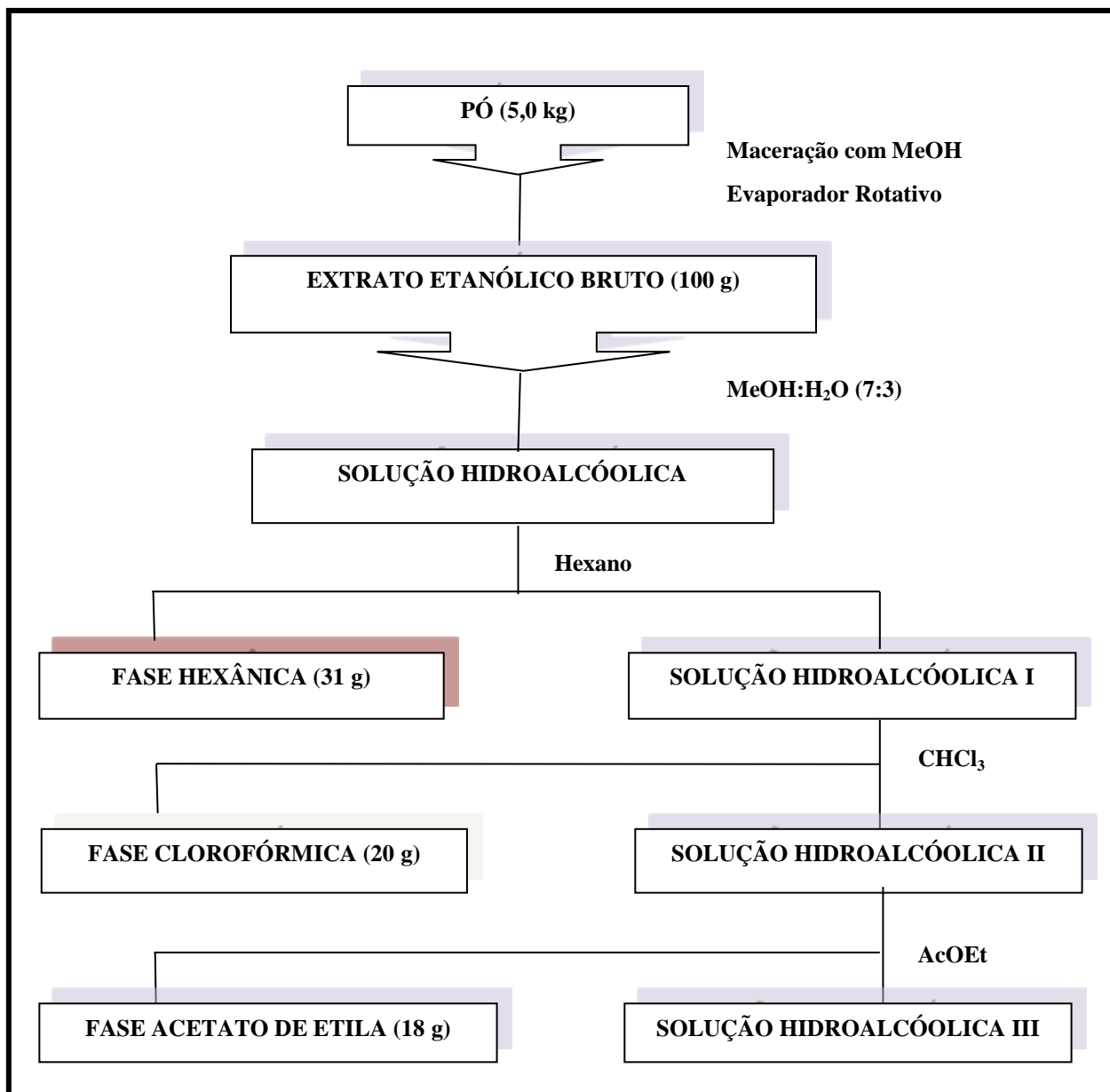
Quadro 5. Alcaloides tropânicos isolados de *Erythroxylum caatingae*.

7.4 Obtenção do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Erythroxylum revolutum*.

O pó obtido (5 Kg) foi submetido à maceração exaustiva com etanol 95% durante 72 horas. Esse processo de maceração foi repetido 3 vezes, obtendo-se a solução do extrato etanólico bruto. Após exaustiva extração, a solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura de 40 °C obtendo-se 650 g de extrato etanólico bruto (EEB).

7.4.1 Particionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Erythroxylum revolutum*.

Uma alíquota do extrato etanólico bruto (100 g) foi dissolvido em metanol-água (7:3) e, em seguida, submetido a sucessivas partições líquido/líquido em ampola de separação com solventes em ordem crescente de polaridade, fornecendo as fases hexânica (31 g), clorofórmica (20 g) e acetato de etila (18 g). (Esquema 3, pág. 73).

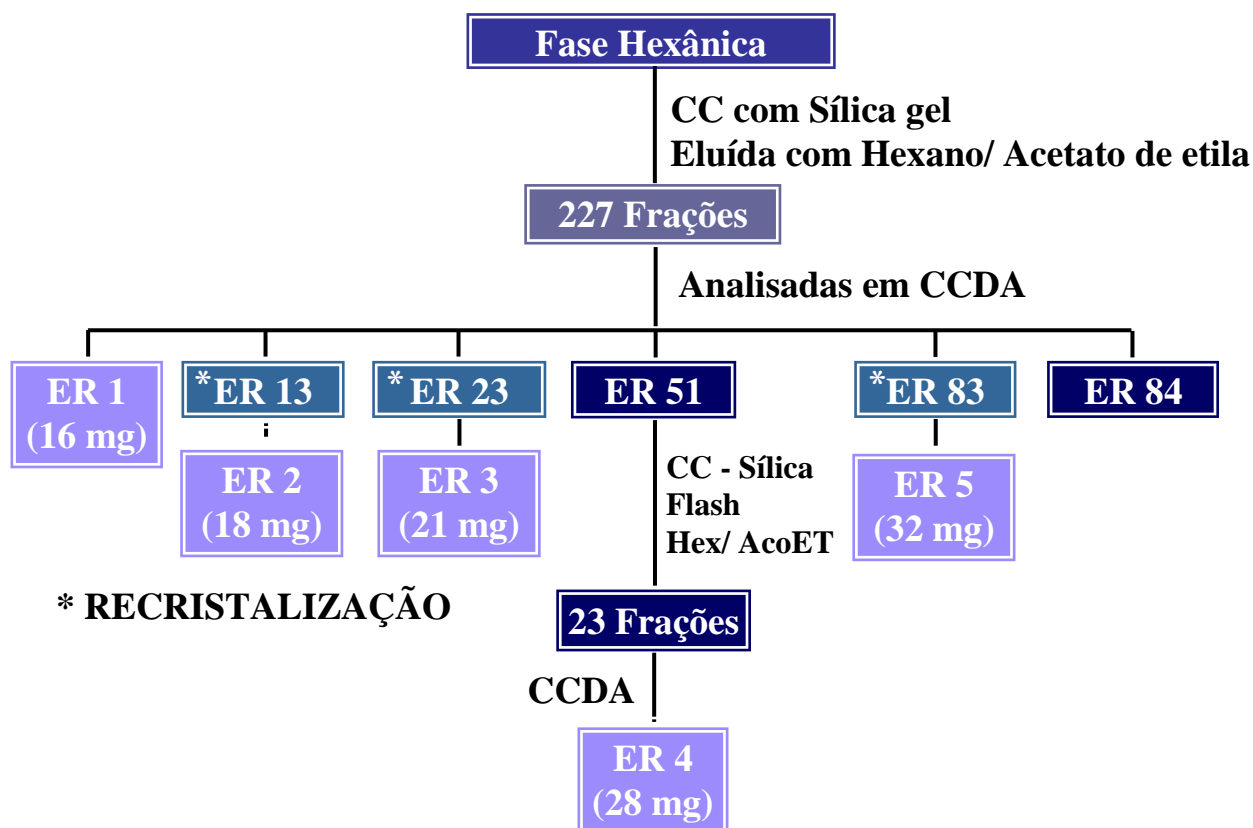


Esquema 3. Partição líquido/líquido de extrato etanólico bruto das partes aéreas de *E. revolutum*.

7.4.2 Isolamento dos constituintes químicos das partes aéreas de *E. revolutum*.

Uma alíquota da Fase Hexânica (4 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica (CC) utilizando sílica gel como adsorvente e, como eluentes, hexano e acetato de etila, puros ou em misturas binárias em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 227 frações de 100 mL cada, que foram concentradas em rotaevaporador. As frações foram analisadas comparativamente através de CCDA utilizando diferentes sistemas de eluição e após análise através de luz UV e impregnação com vapores de iodo as frações forem reunidas de acordo com o padrão de seus Rfs, (Esquema 4, pág. 74). As frações codificadas como ER 1, ER 13, ER 23, ER 83 e ER 84, se apresentaram na forma de um precipitado branco e com um bom grau de pureza e submetidos a RMN de ^1H e ^{13}C uni-bidimensionais.

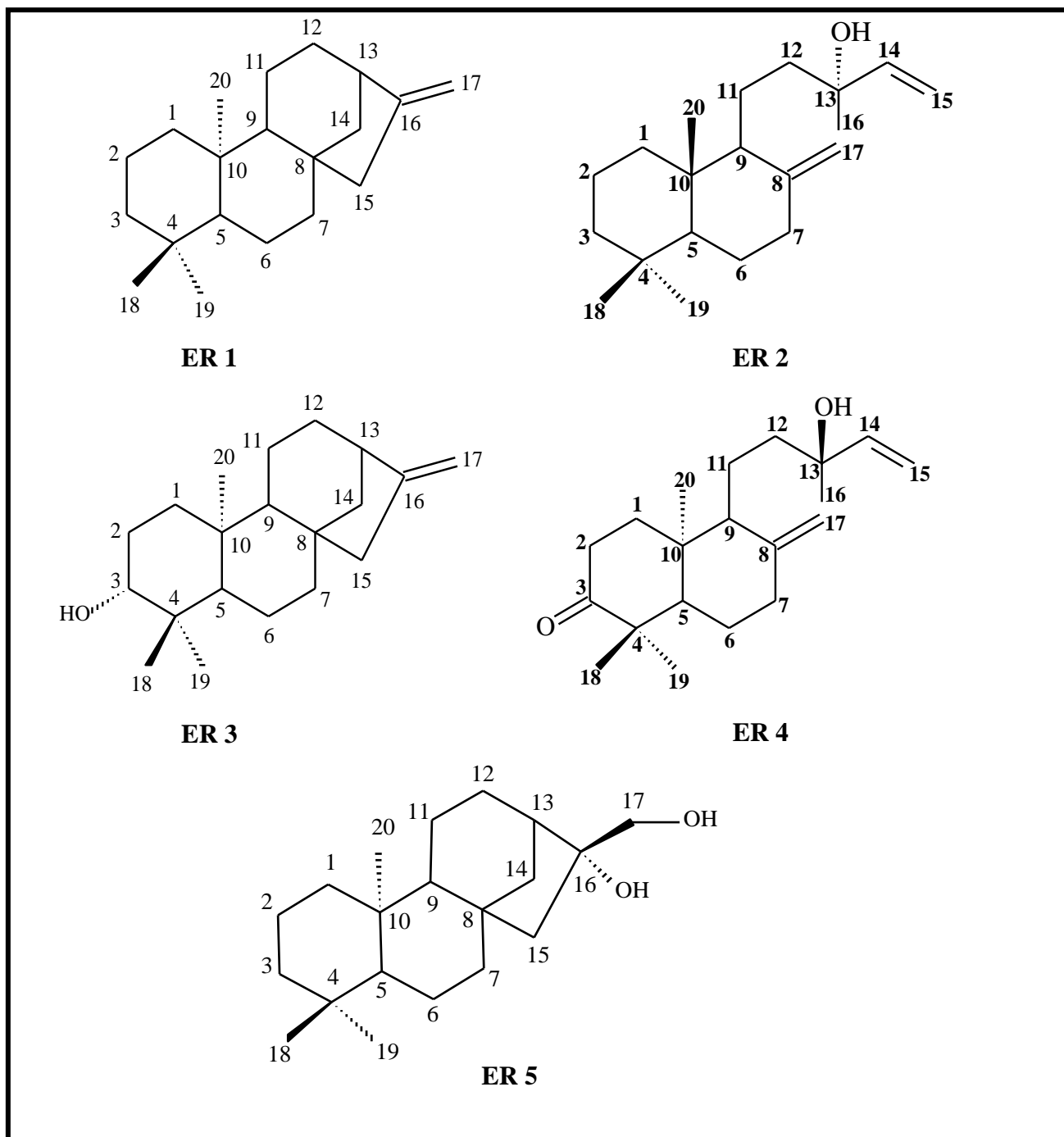
A fração ER 51 foi recromatografada em coluna com sílica flash e eluída com hexano e acetato de etila, puros em misturas binárias em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 23 subfrações que foram analisadas por CCDA e reunidas segundo o padrão de seus Rf. A subfração 4 apresentou-se na forma de cristais brancos sendo então codificada como ER 4 e submetidos a RMN de ^1H e ^{13}C uni-bidimensionais (Esquema 4, pág. 73).



Esquema 4. Fracionamento da Fase Hexânica das partes aéreas de *E. revolutum*.

7.4.3 Substâncias isoladas de *Erythroxyllum revolutum*

O estudo fitoquímico do caule de *Erythroxyllum revolutum* resultou no isolamento e identificação estrutural dos diterpenos *ent*-cauran-16-eno (**ER 1**), 13-hidroxi-8(17),14-labdadieno (**ER 2**), *ent*-cauran-16-en-3 β -ol (**ER 3**), *ent*-3-oxo-13-hidroxi-8(17),14-labdadieno (**ER 4**) e *ent*-cauran-16 β , 17-diol (**ER 5**) (Quadro 6).



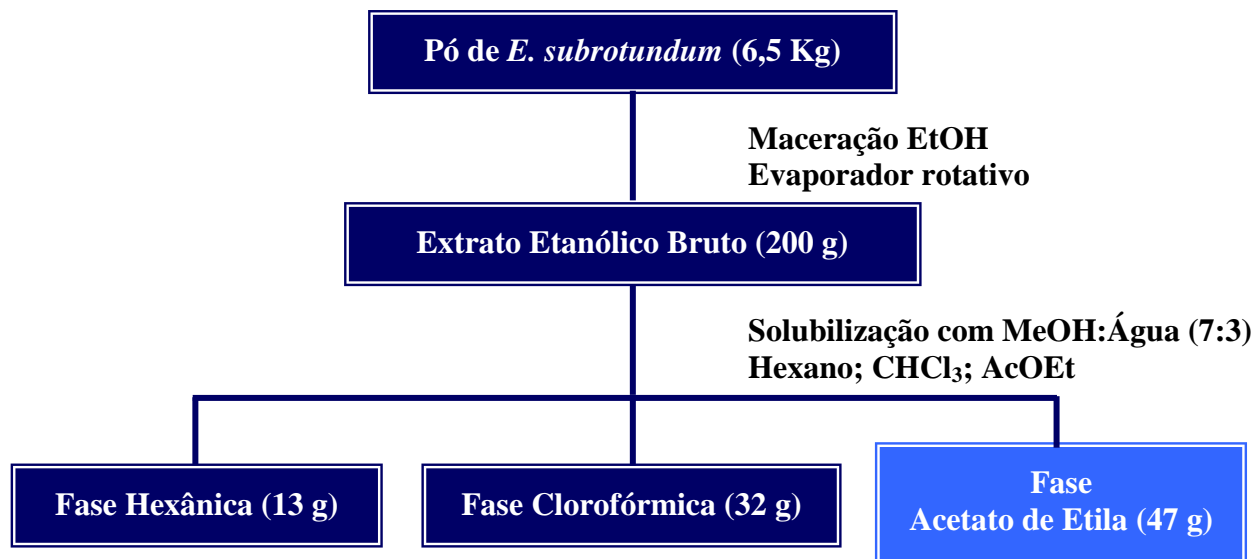
Quadro 6. Diterpenos isolados de *Erythroxyllum revolutum*.

7.5 Obtenção do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Erythroxylum subrotundum*.

O pó obtido (6,5 kg) foi submetido á maceração exaustiva com etanol 95% durante 72 horas. Esse processo de maceração foi repetido 3 vezes, obtendo-se a solução do extrato etanólico bruto. Após exaustiva extração, a solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura de 40 °C obtendo-se 800g do extrato etanólico bruto (EEB).

7.5.1 Particionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Erythroxylum subrotundum*.

O extrato etanólico bruto (200 g) foi dissolvido em metanol-água (7:3) e, em seguida, submetido a sucessivas partições líquido/líquido com solventes em ordem crescente de polaridade, fornecendo as fases hexânica (13 g), clorofórmica (32 g) e acetato de etila (47 g) (Esquema 5, pág. 75).



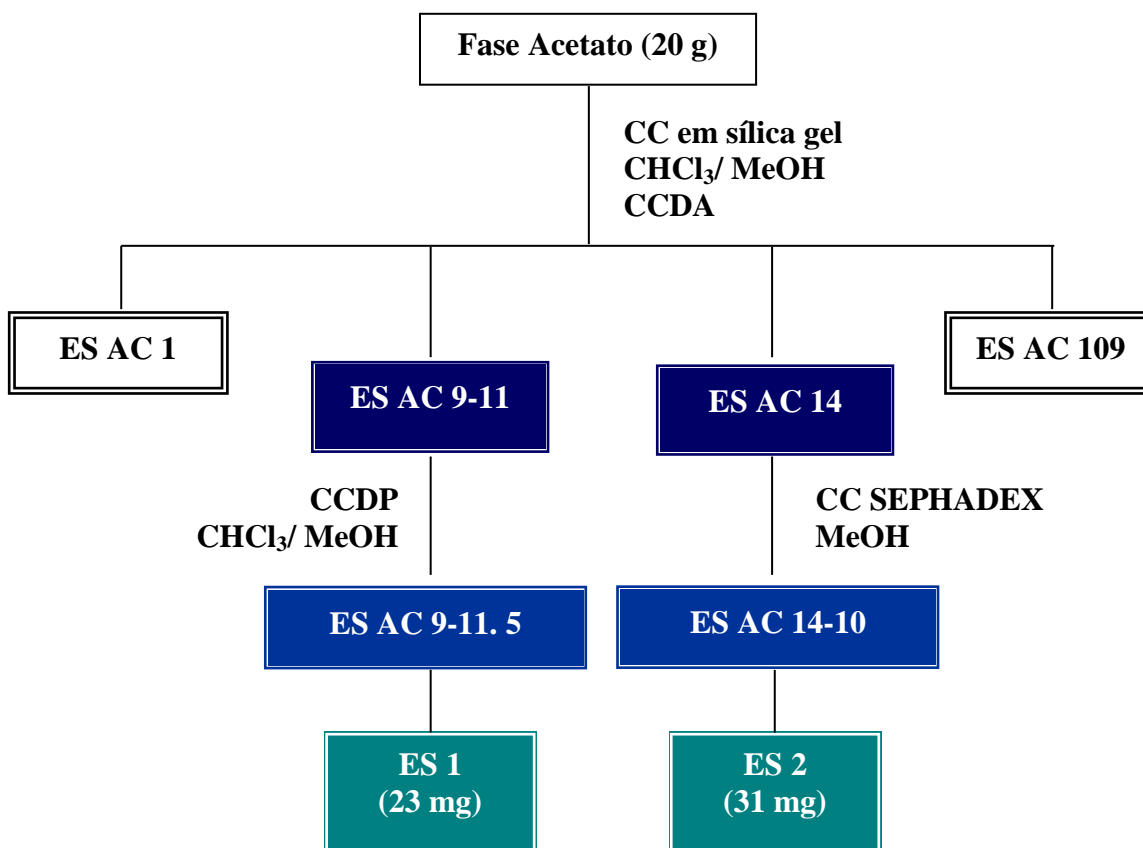
Esquema 5. Partição líquido/líquido de extrato etanólico bruto das partes aéreas de *E. subrotundum*.

7.5.2 Isolamento dos constituintes químicos das partes aéreas de *E. subrotundum*

Uma alíquota da Fase Acetato de Etila (20 g) de *E. subrotundum* foi submetida a uma cromatografia em coluna de suporte de vidro, usando, como adsorvente, sílica gel e como eluentes clorofórmio e metanol, puros ou em misturas binárias em grau crescente de polaridade obtendo-se 109 frações. As 109 frações obtidas foram monitoradas por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA), eluídas em diversos sistemas de solventes em cubas pré-saturadas, reunidas de acordo com os seus R_f s.

A reunião **ES AC 9-11** foi purificada através de uma Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP) eluída em clorofórmio/metanol em grau crescente de polaridade. Foram obtidas 7 subfrações, onde a subfração 5 forneceu o composto codificado como **ES 1**.

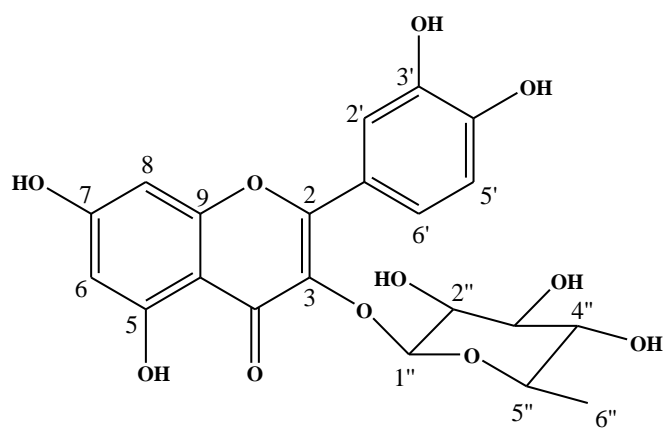
A fração 14, codificada como **ES AC 14** foi cromatografada em coluna com sephadex LH-20, eluída com metanol, obtendo-se 30 subfrações de 10 mL cada (Esquema 6, pág. 77), onde a fração **ES AC 14-10** forneceu o composto codificado como **ES 2**.



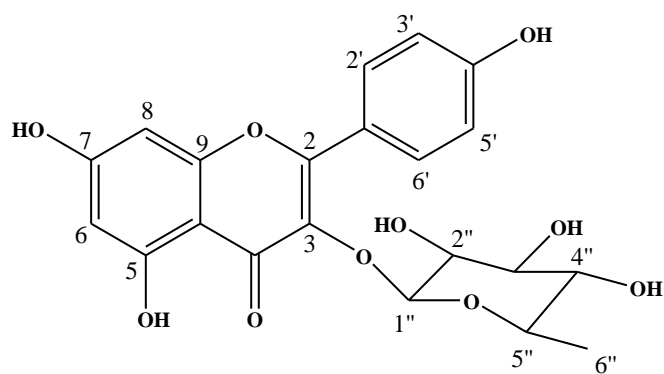
Esquema 6 - Fracionamento da Fase Acetato de etila do Extrato etanólico bruto das Folhas de *Erythroxylum subrotundum*.

7.5.3 Substâncias isoladas de *Erythroxyllum subrotundum*

O estudo fitoquímico das partes aéreas de *Erythroxyllum subrotundum* resultou no isolamento e identificação estrutural dos flavonoides Quercetina-3-*O*- α -L-raminosídeo (**ES 1**) e 5,7,4'-trihidróxi flavona 3-*O*- α -L-raminosídeo (**ES 2**).



ES 1



ES 2

Quadro 7. Flavonoides isolados de *Erythroxyllum subrotundum*.

Erythroxylum caatingae

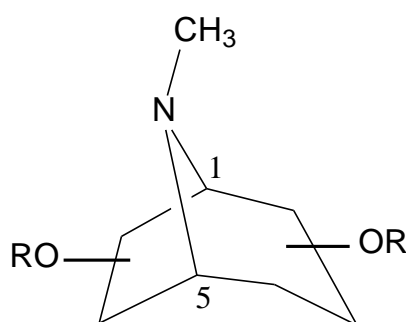
8 RESULTADOS E DISCUSSÕES

8.1 IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *E. CAATINGAE*

Do estudo fitoquímico do caule de *E. caatingae* foram isolados quatro alcaloides tropânicos, sendo EC 1 e EC 2 (OLIVEIRA, 2008), compostos já isolados anteriormente e EC 3 e EC 4 identificados através de RMN ^1H e ^{13}C .

8.1.1 Identificação Estrutural de EC-3

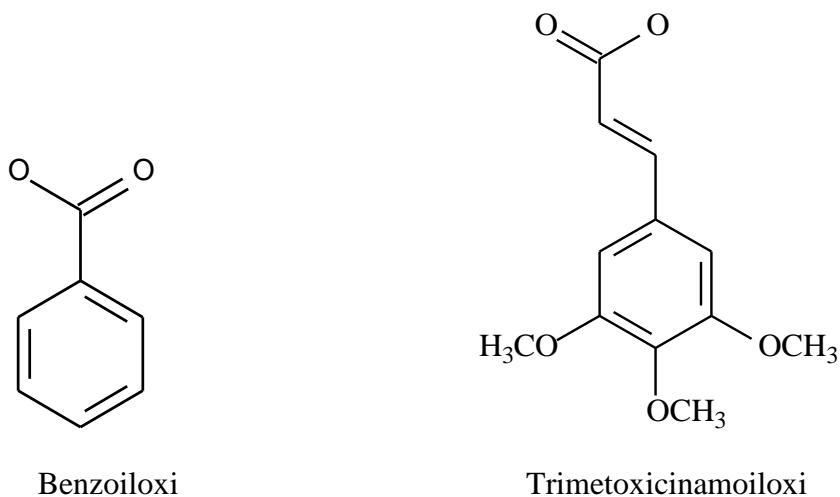
A substância codificada como EC-3 foi isolada na forma de cristais brancos. O espectro de RMN ^{13}C – APT em CDCl_3 a 125 MHz (Figura 19 a 21, pág. 85 a 86) apresentou 22 sinais. Os sinais em δ_{C} 56,2, 105,7, 128,8, 129,4 e 153,5 ppm correspondem a dois carbonos cada, totalizando 27 carbonos. Dos 22 sinais, 9 foram atribuídos a carbonos metínicos sp^2 , 4 metínicos sp^3 , 3 carbonos metilênicos sp^3 , 7 carbonos não-hidrogenados, além de um sinal em δ_{C} 40,16 ppm característico de grupo N-CH_3 e 3 carbonos metoxílicos. Os deslocamentos químicos dos carbonos em δ_{C} 64,2 e 75,3 ppm (oximetínicos) e δ_{C} 63,0 e 68,0 ppm (metínicos, α a nitrogênio), além dos deslocamentos químicos dos carbonos metilênicos sp^3 em δ_{C} 32,8, 34,0 e 35,2 (Figura 21, pág. 86) são compatíveis com os dados descritos na literatura para esqueleto tropânico dioxigenados (CHAVEZ et al., 2002).



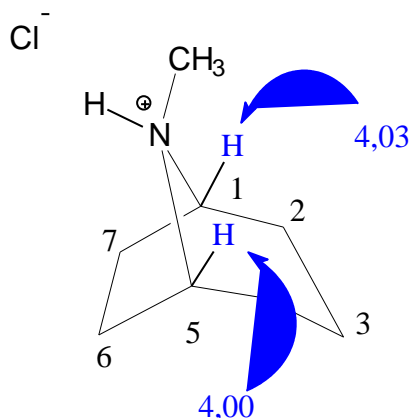
Anel tropânico

Os sinais em δ_{C} 165,0 e 166,5 no espectro APT, foram atribuídos aos carbonos C-7'e C-7''. Os sinais na região entre δ_{C} 105,7-153,5 no espectro APT são

característicos de carbonos de sistema aromático (Figura 20, pág. 85). As absorções em δ_C 56,2 e 60,9 atribuídos a carbonos metoxílicos juntamente com os sinais em δ_C 116,1 e 146,2 (Figura 20, pág. 85) e comparação desses deslocamentos químicos com dados da literatura permitiu caracterizar os substituintes benzoiloxi e trimetoxicinamoiloxi ligados ao anel tropânico (CHAVEZ et al, 2002).



O espectro de RMN ^1H a 500 MHz em CDCl_3 (Figura 22 a 24, pág. 86 e 87) mostrou sinais em δ_H 4,03 e 4,00 ppm, compatíveis com os hidrogênios H-1 e H-5 de alcaloides tropânicos, esses deslocamentos químicos são compatíveis com aqueles do cloreto de cocaína (MUHTADI, AL-BADR, 1986), um alcalóide quaternário, confirmado pela presença do sinal em δ_H 13,00 com integração para um hidrogênio ligado a nitrogênio. Os deslocamentos químicos de H-1 e H-5 mais desprotegidos devido a formação do cloridrato em EC 3, foi confirmada após comparação com dados da literatura (OLIVEIRA, et al., 2011).



(OLIVEIRA, et al., 2011)

A presença do cloridrato foi suportada após análise por cristalografia de raio-X (Figuras 17 e 18, pág. 81 e 82) corroborando as atribuições feitas para esses hidrogênios.

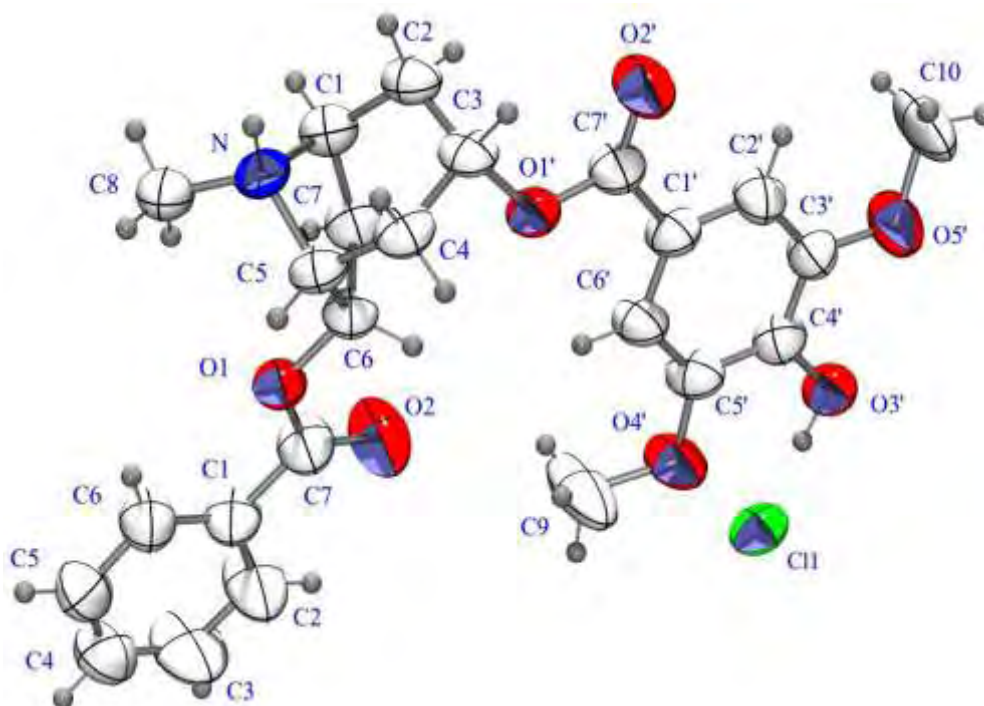


Figura 17. Projeção ORTEP3 de um modelo de alcaloide tropânicos confirmando a presença do cloridrato (OLIVEIRA, et al., 2011).

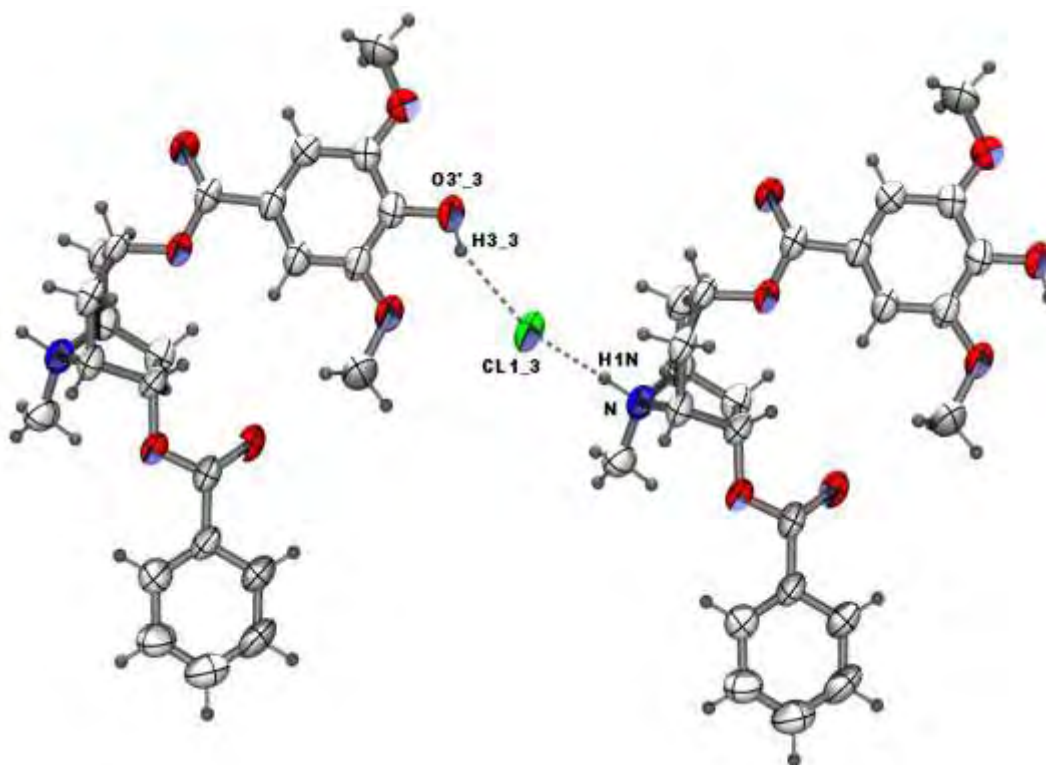
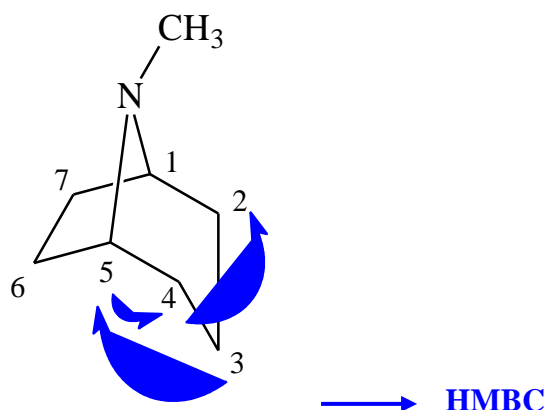


Figura 18. Ligação de hidrogênio e interação entre moléculas de cristais (OLIVEIRA, et al., 2011).

O espectro de correlação heteronuclear – HMQC (Figura 25, pág. 88), confirmou esses assinalamentos pelas correlações com os carbonos em δ_C 63,0 (C-1) e δ_C 68,0 (C-5) respectivamente. Absorções em δ_H 2,08, 3,22 e δ_H 2,29, 3,27 ppm foram atribuídos aos hidrogênios 2H-2 e 2H-4 respectivamente. Essas absorções foram confirmadas pelo espectro HMBC (Figura 33 e 34, pág. 92) que mostrou correlações de H-5 com C-3 a J^3 e H-4 com C-5 a J^2 e uma correlação de H-2 com C-4 a J^3 .



No espectro de RMN ^{13}C -APT (Figura 21, pág. 86), os deslocamentos químicos em δ_C 64,2 e 75,3 ppm são compatíveis com alcaloides tropanicos oxigenados nas posições C-3 e C-6 (ZANOLARI et al., 2003 b). A localização desses substituintes foi

confirmada pelo espectro HMBC (Figura 32, pág. 91), através das correlações de H-3 com C-7' a J^3 e H-1 com C-6 a J^3 . Um duplete em δ_H 6,85 ($J = 16,0$) acoplado com o sinal em δ_H 7,68 ($J = 16,0$) foi atribuído aos hidrogênios vinílicos característicos do grupo cinamoiloxi. O espectro HMBC confirmou esses assinalamentos através da correlação entre o sinal em δ_H 6,29 (H-a) e 7,68 (H-b) a $J^{2,3}$ com o sinal em δ_C 165,5 (C-7') (Figura 31, pág. 91). A localização dos substituintes foi determinada através da correlação entre o sinal em δ_H 7,93 (H-2'' e H-6'') a J^3 com o sinal em δ_C 165,5 (C-7'') (Figura 32, pág. 91).

No espectro de RMN 1H , o tripleto largo (*tl*) referente ao sinal de H-3 em δ_H 5,33 ppm ($J = 5,0$ Hz), indicou orientação α do substituinte em C-3. Por outro lado, o duplo duplete (*dd*) em δ_H 6,04 ppm ($J = 3,0$ e 8,4 Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-6, a ausência de acoplamento desse hidrogênio com o hidrogênio vicinal H-5, justifica sua multiplicidade e define a orientação β do substituinte em C-6 (ZANOLARI et al., 2003 b). Na região de hidrogênios aromáticos o duplo duplete com deslocamento químico em δ_H 7,93 ($J = 1,5$ e 8,5 Hz) com integração para dois hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-2'' e H-6'' e um singlete com integral para dois hidrogênios em δ_H 6,85 foi atribuído a H-2' e H-6'. Já os tripletos em δ_H 7,47 ($J = 8,0$ Hz) e δ_H 7,62 ($J = 8,0$ Hz) com integral para três hidrogênios foram atribuídos a H-3''/ H-5'' e H-4'' respectivamente. Os dados de RMN de 1H e ^{13}C uni e bidimensionais de EC-3 estão compilados na **Tabela 1** (pág. 84). A partir desses dados e comparação com a literatura, foi possível identificar EC-3 como sendo o cloreto 3 α -(3',4',5' trimetoxicinamoiloxi)-6 β -benzoiloxitropano, alcaloide descrito pela primeira vez na literatura. (CHAVES et al., 2002; MUHTADI, AL-BADR, 1986).

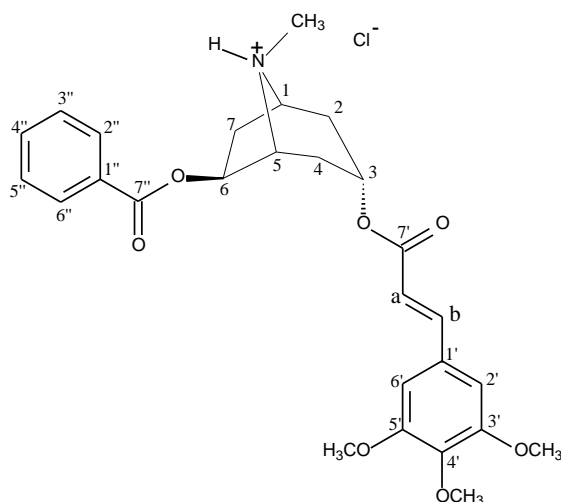
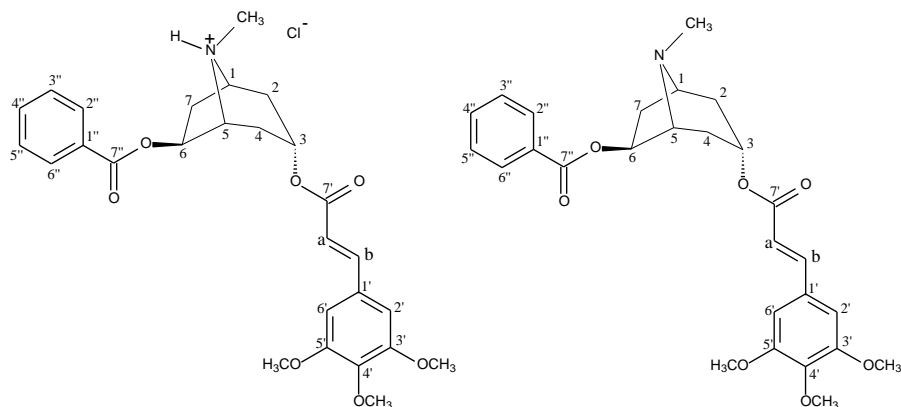


Tabela 1. Dados de RMN de H¹ e C¹³ uni e bidimensionais em CDCl₃ a 500 MHz e 125 MHz de EC-3.



EC-3

MODELO

Posição	$\delta^{13}\text{C}$	HMQC	HMBC	¹ H X ¹ H	MODELO
		$\delta^1\text{H}$		COSY	CHAVES (2002)
1	63,0	4,03 (<i>dl</i> , $J = 5,5$)	N-CH ₃	H-7	60,0
2	34,0	2,08 eq (<i>dl</i> , $J = 16,0$), 3,22 ax (<i>sl</i>)	H-4, H-7		34,6
3	64,2	5,33 (<i>tl</i> , $J = 5,0$)	H-1, H-5		67,0
4	32,8	2,29 eq (<i>dl</i> , $J = 16,0$), 3,27 ax (<i>tl</i> , $J = 4,0$)	H-2		33,2
5	68,0	4,00 (<i>sl</i>)	N-CH ₃ , H-4, H-7	H-6	65,7
6	75,3	6,04 (<i>dd</i> , $J = 3,0$ e 8,4)	H-1	H-7	80,1
7	35,2	2,47 ax (<i>dd</i> , $J = 5,0$ e 14,5), 3,15 eq (<i>m</i>)			36,5
N-CH ₃	40,6	3,06 (<i>s</i>)			40,1
N-H	----	13,00			
a	116,1	6,29 (<i>d</i> , $J = 16,0$)	H-b	H-b	117,4
b	146,2	7,68 (<i>d</i> , $J = 16,0$)	H-2', H-6'	H-a	145,3
1'	128,6	----			129,8
2' e 6'	105,7	6,85 (<i>s</i>)	H-b		105,4
3' e 5'	153,5	----	H-b, H-2', O-CH ₃		153,3
4'	140,6	----	H-2', H-6'		140,0
7'	165,0	----	H-a, H-b, H-3		165,9
1''	129,3	----	H-2'', H-6''	H-3''	130,3
2'' e 6''	129,4	7,93 (<i>t</i> , $J = 8,0$)	H-4''	H-2''	129,5
3'' e 5''	128,8	7,47 (<i>t</i> , $J = 8,0$)	H-5''		128,3
4''	134,0	7,62 (<i>t</i> , $J = 8,0$)	H-2'', H-6''		133,0
7''	165,5	----	H-2'', H-6''		166,4
<i>m</i> -OCH ₃	56,2	3,90 (<i>s</i>)			56,2
<i>p</i> -OCH ₃	60,9	3,86 (<i>s</i>)			60,9

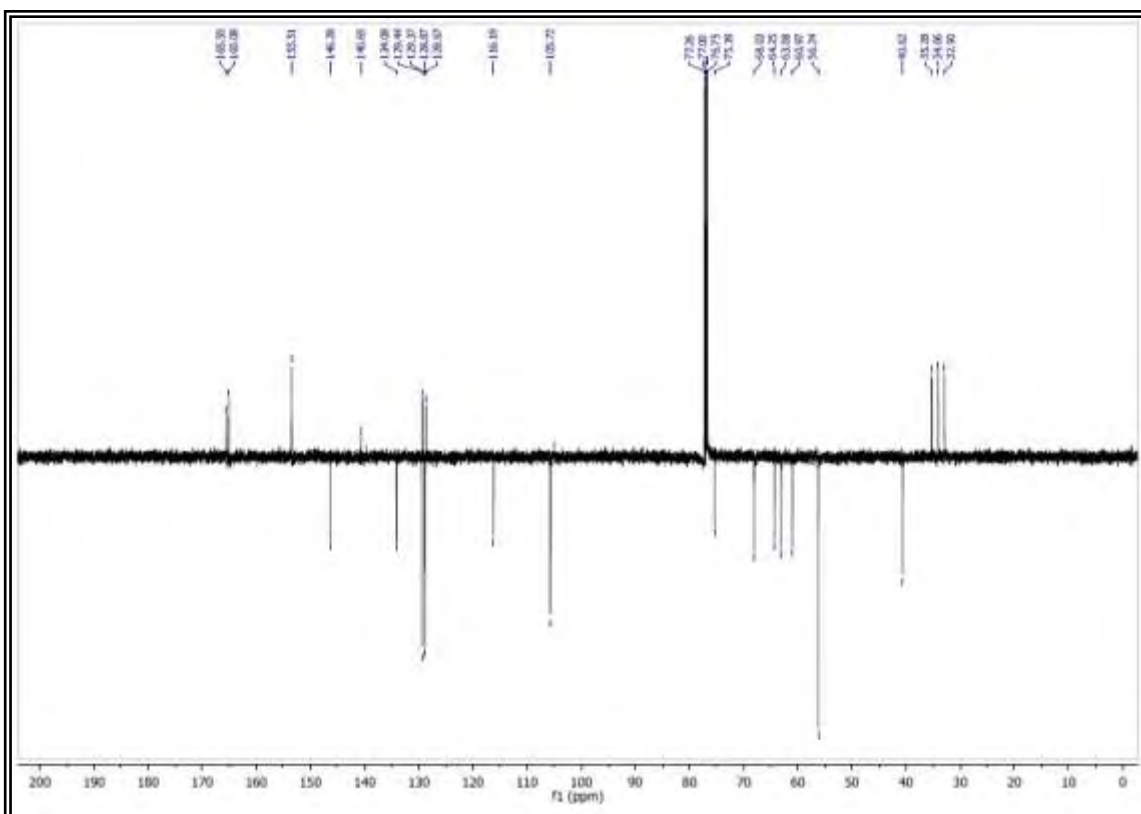


Figura 19. Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EC 3.

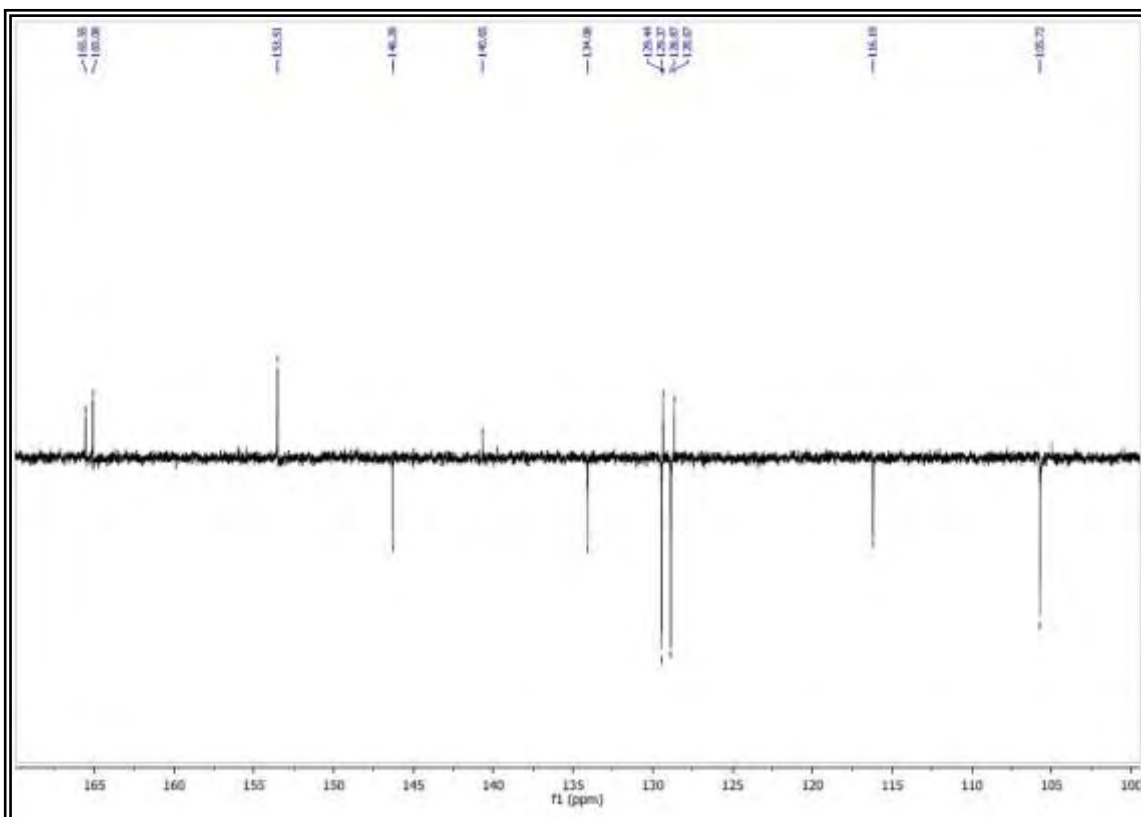


Figura 20. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região entre δ_{C} 165,0-100,0 ppm.

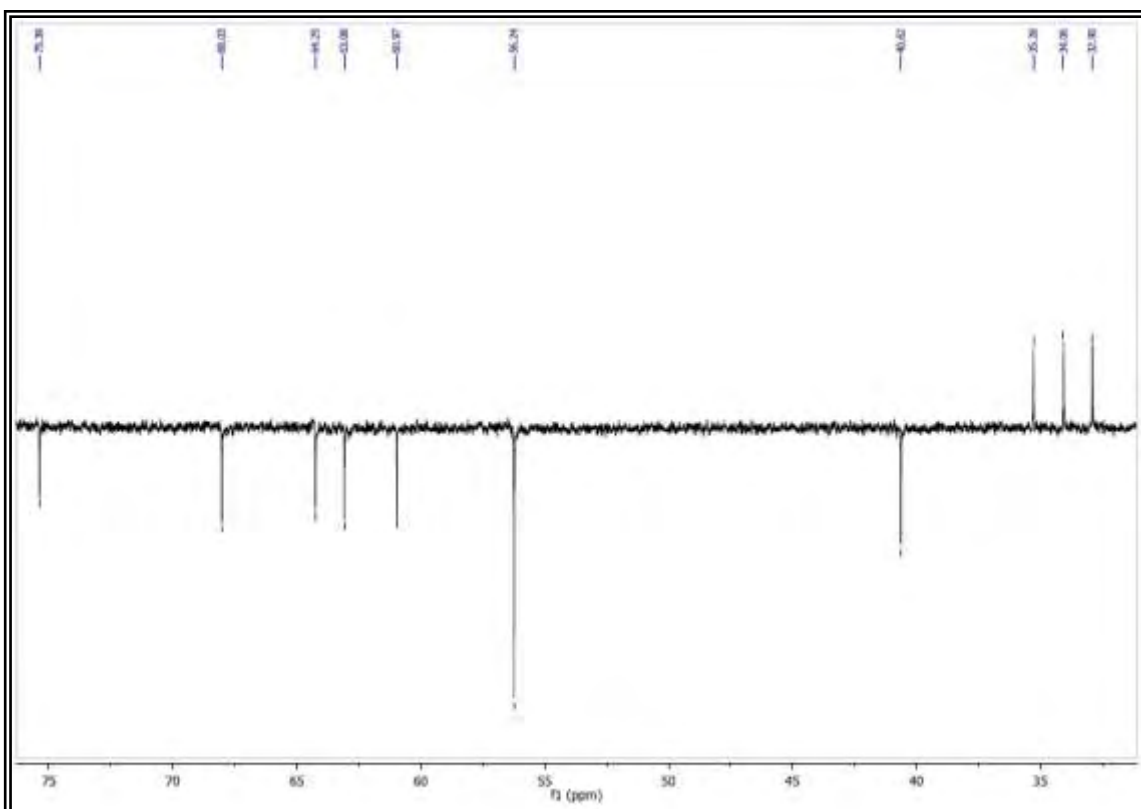


Figura 21. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região entre δ_{C} 75,0-30,0 ppm.

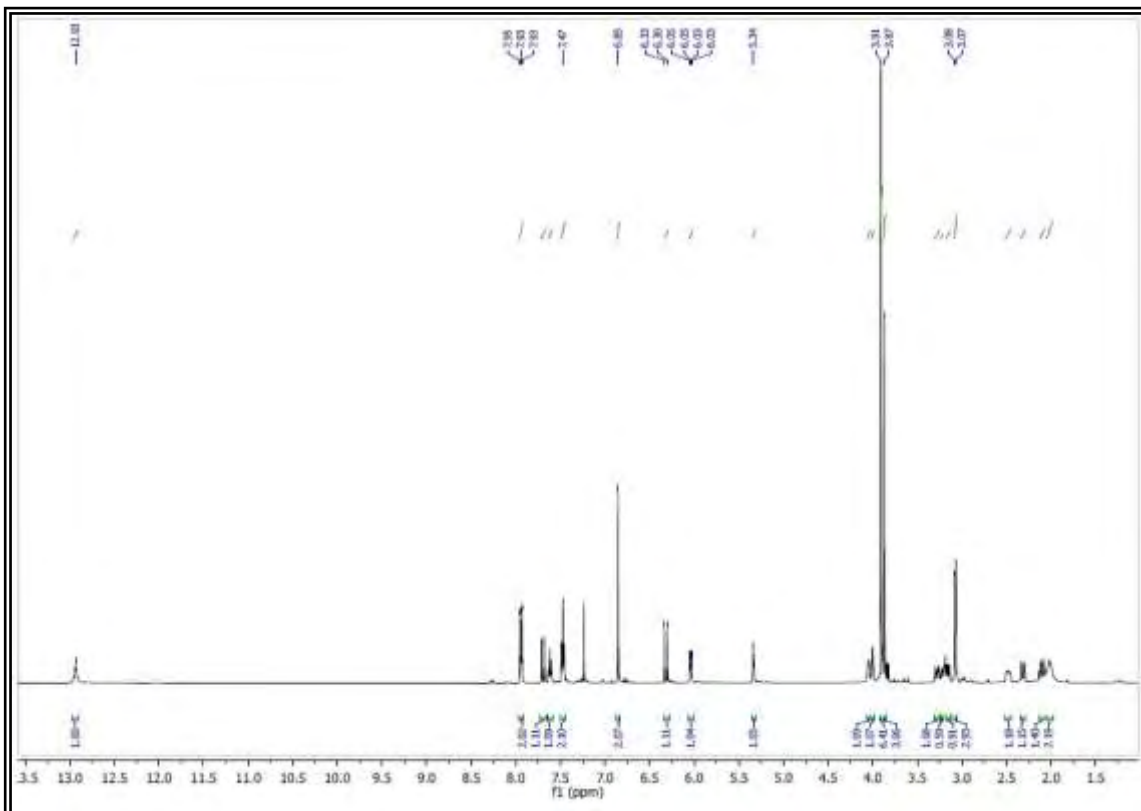


Figura 22. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EC 3.

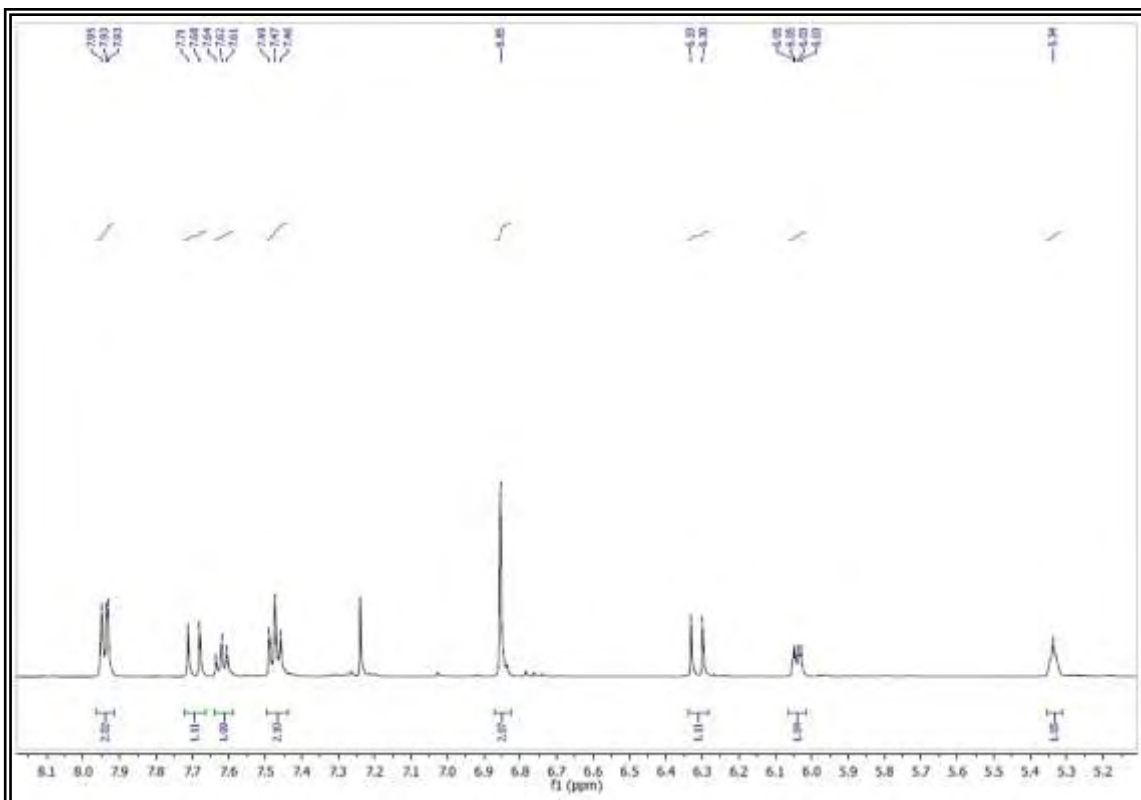


Figura 23. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região entre δ_{H} 8,0-5,2 ppm.

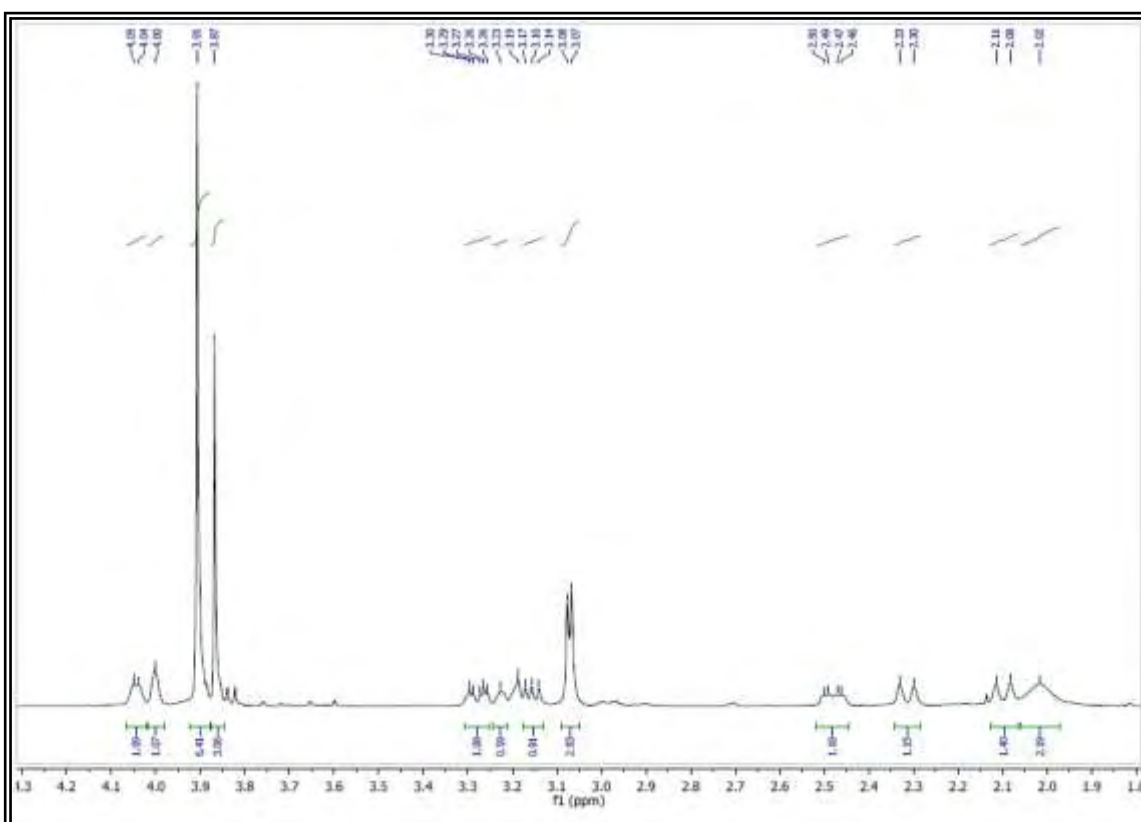


Figura 24. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região entre δ_{H} 4,2-2,0 ppm.

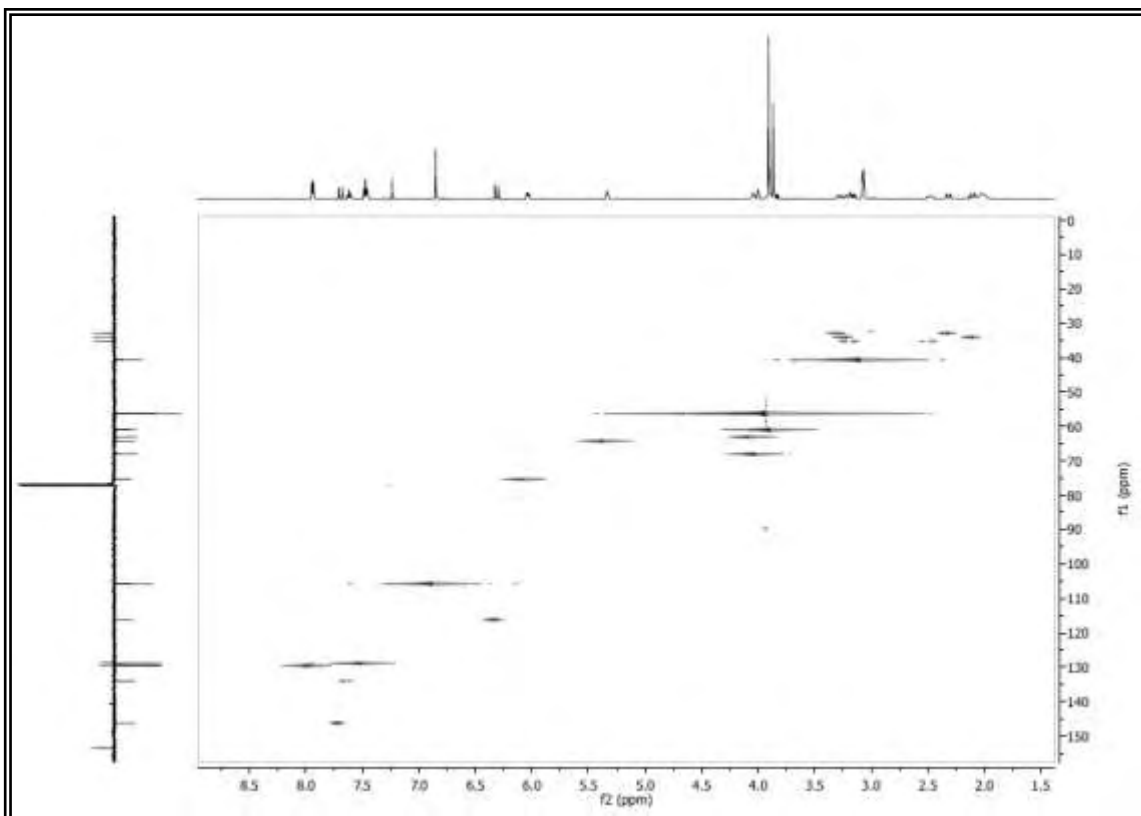


Figura 25. Espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3.

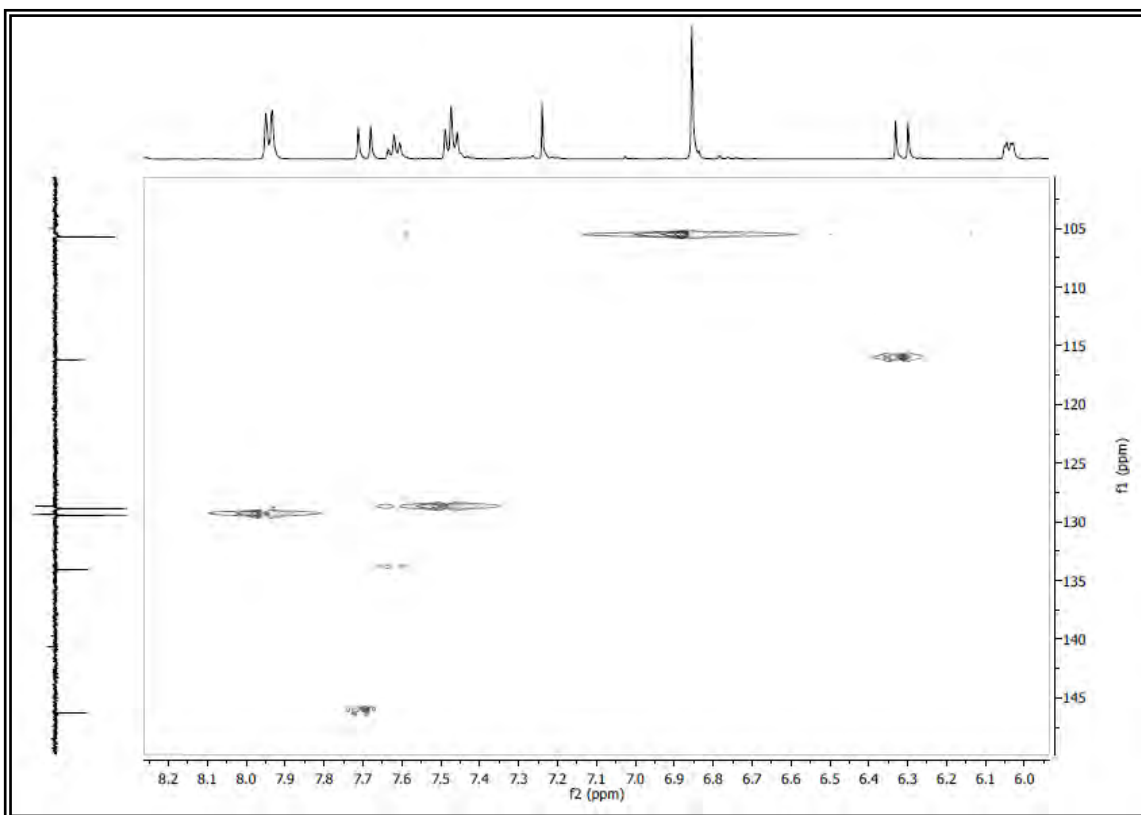


Figura 26. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (6,0 – 8,2 ppm) x (105,0 – 145,0 ppm).

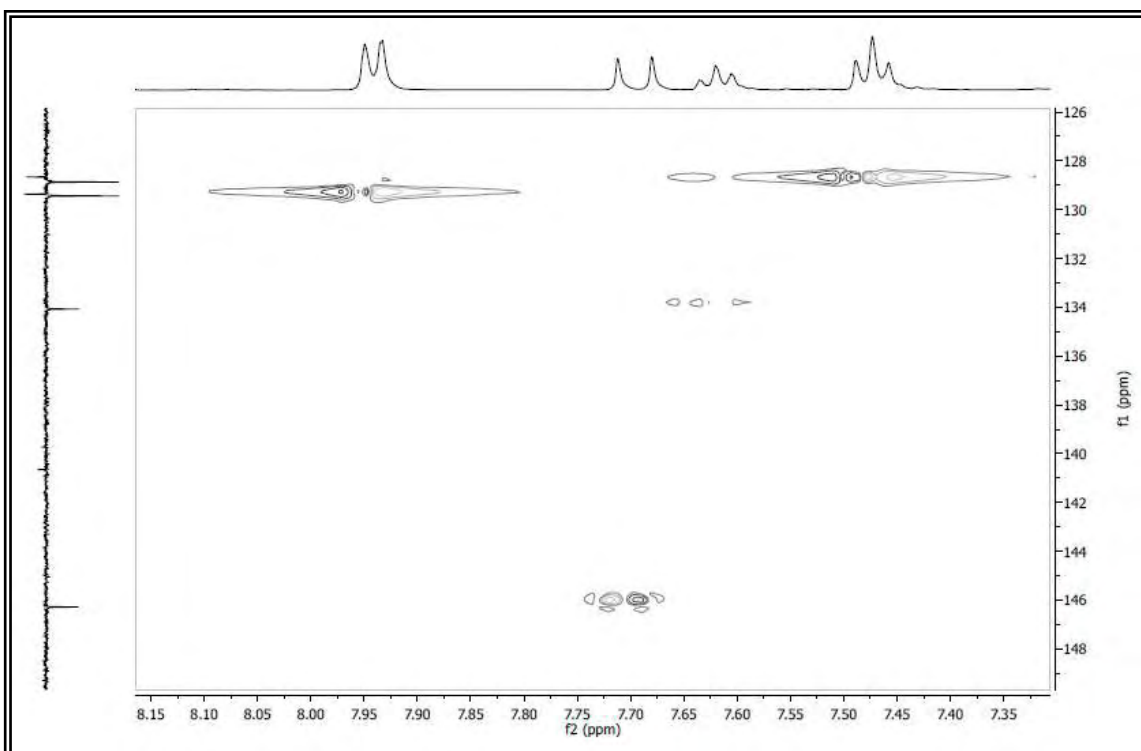


Figura 27. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (7,3 – 8,1 ppm) x (126,0 – 148,0 ppm).

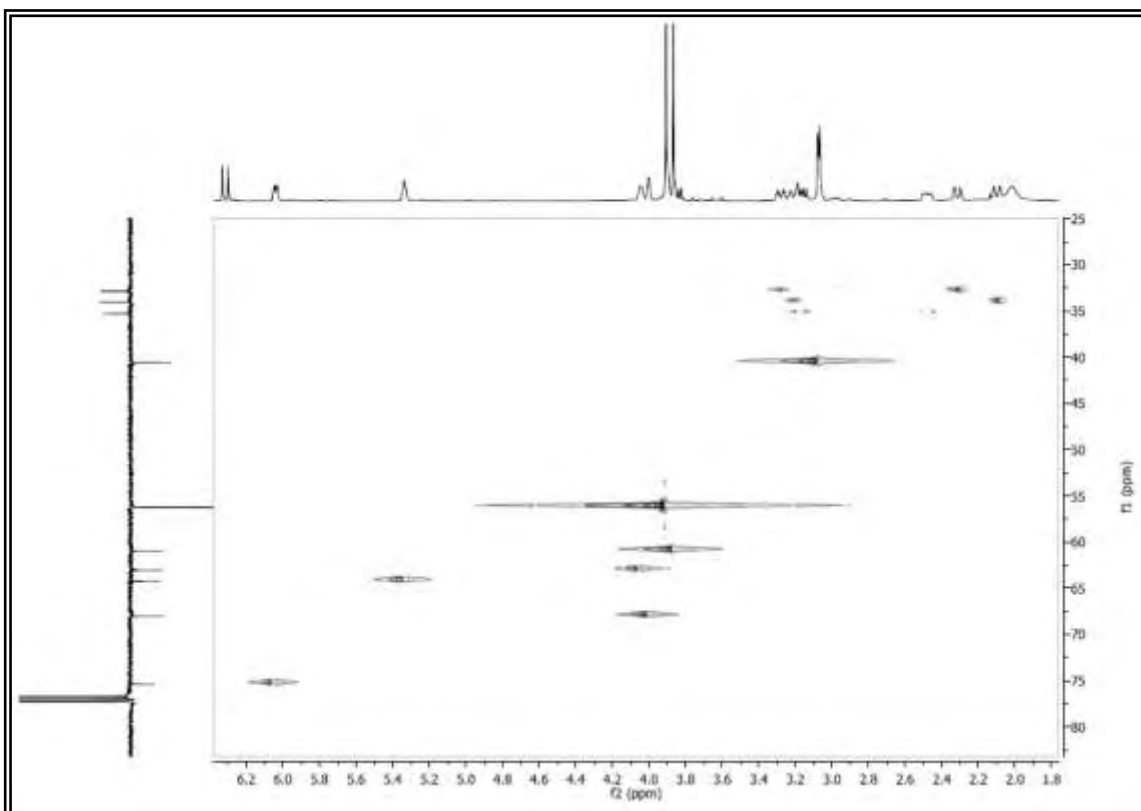


Figura 28. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (1,8 – 6,2 ppm) x (25,0 – 80,0 ppm).

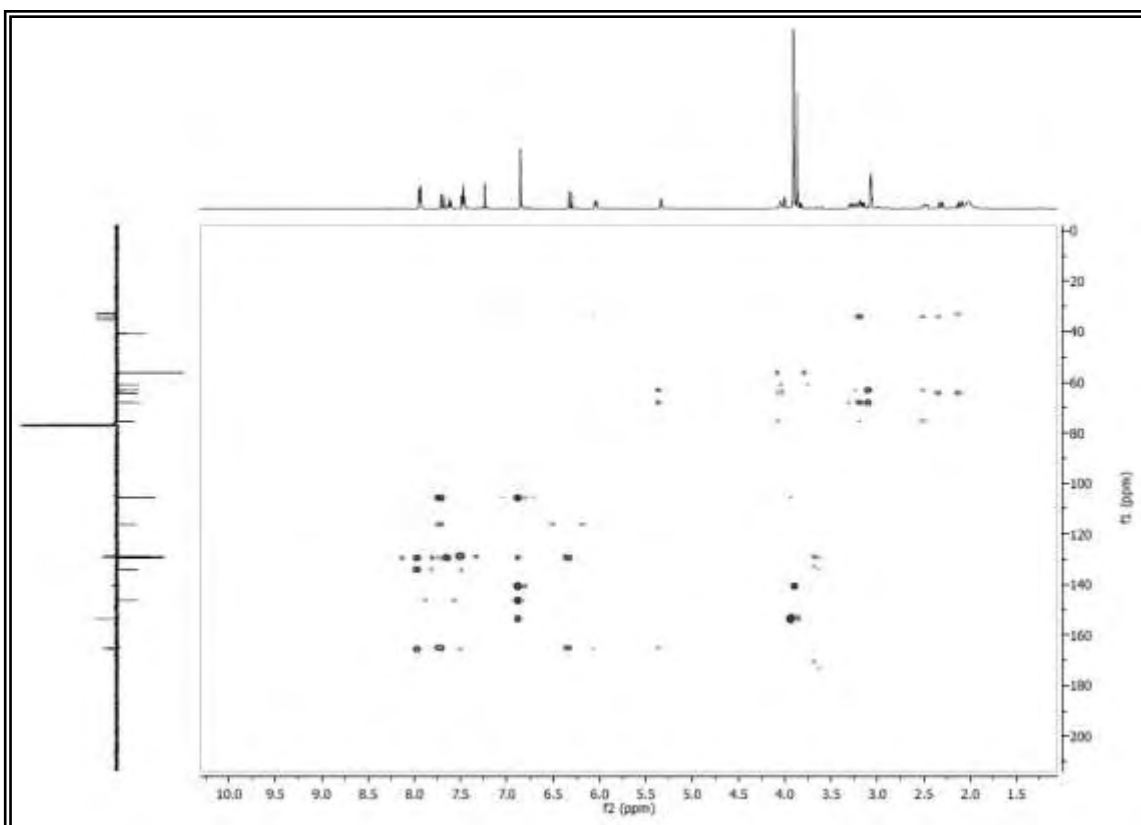


Figura 29. Espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3.

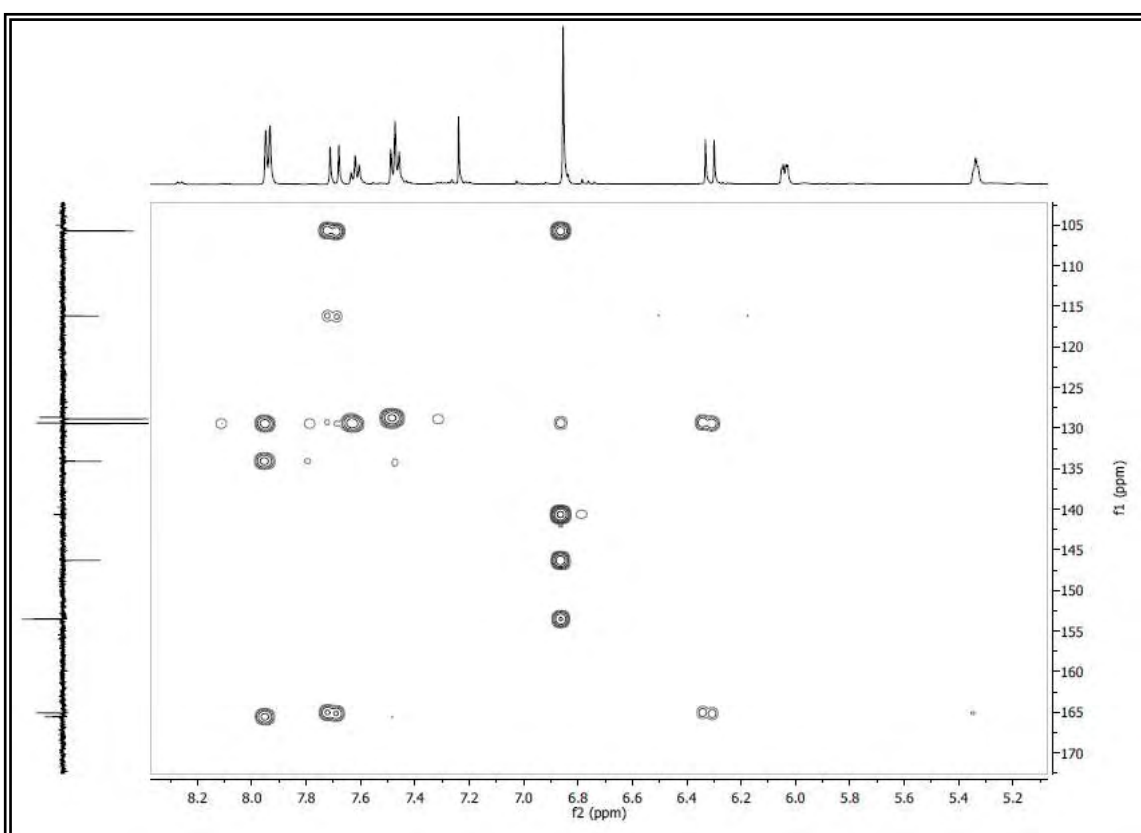


Figura 30. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (5,2 – 8,2 ppm) x (105,0 – 170,0 ppm).

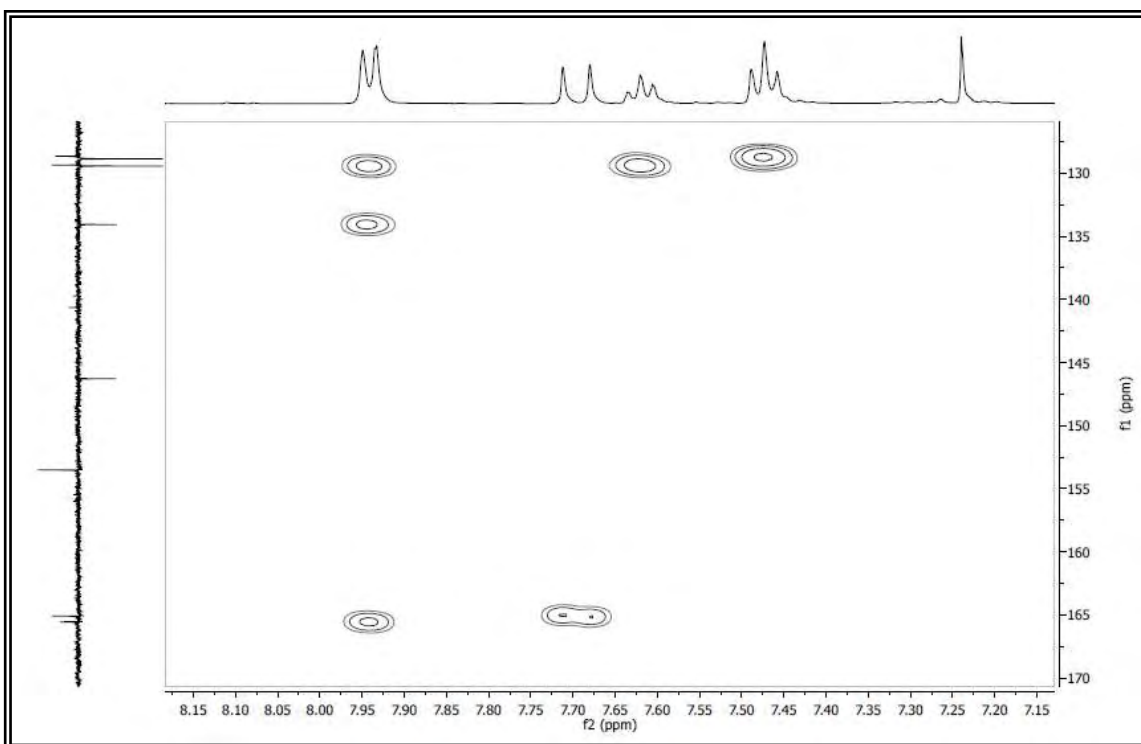


Figura 31. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (7,1 – 8,1 ppm) x (130,0 – 170,0 ppm).

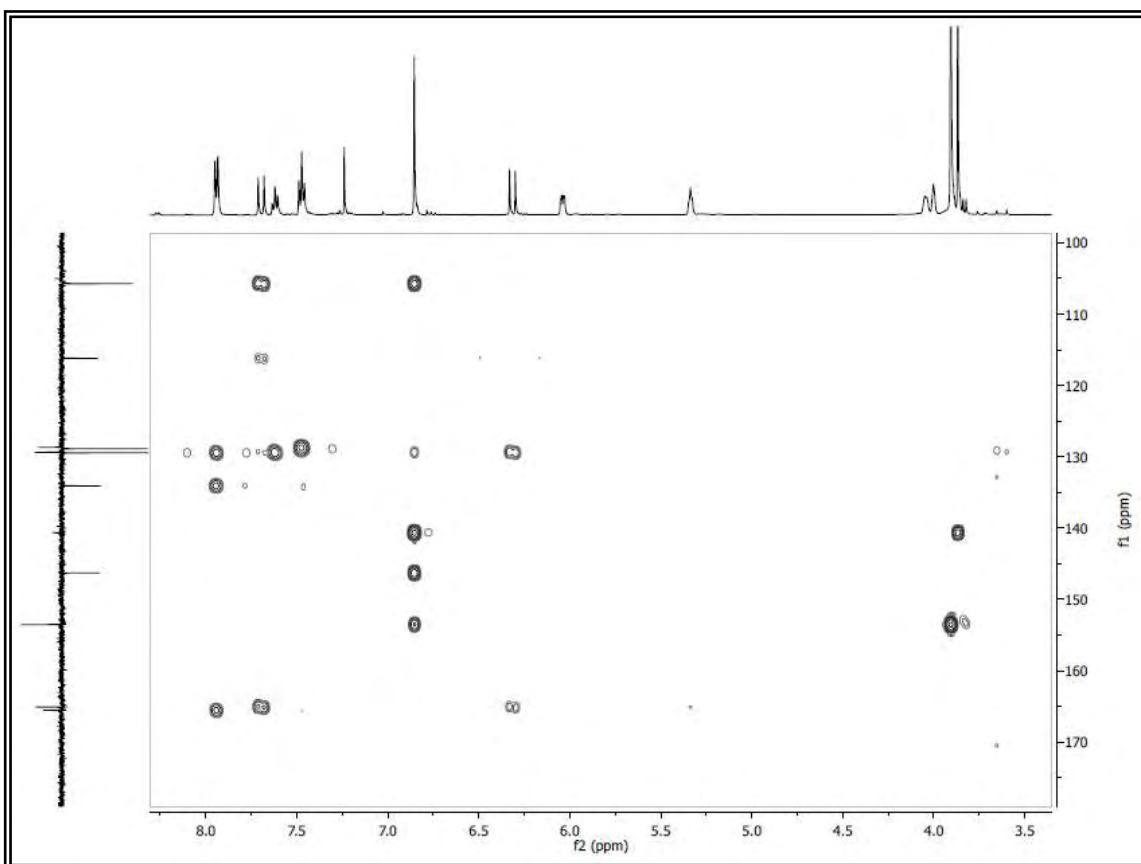


Figura 32. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (3,5 – 8,0 ppm) x (100,0 – 170,0 ppm).

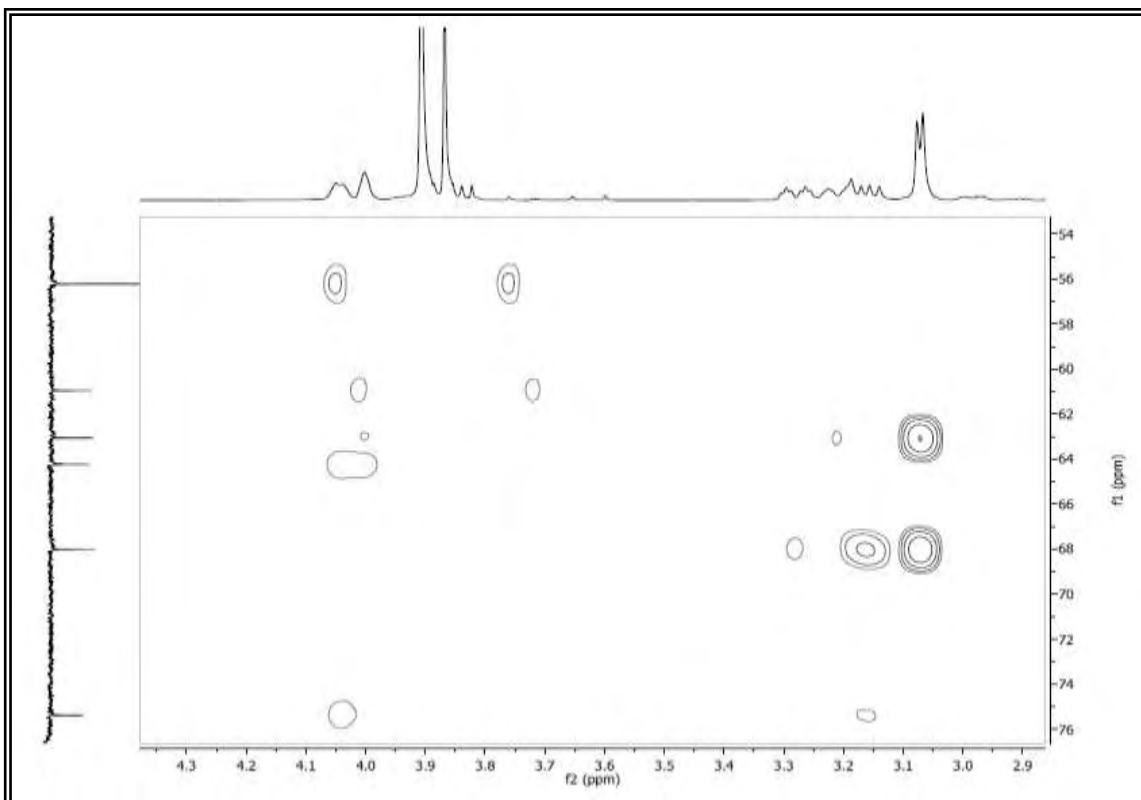


Figura 33. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (2,9 – 4,3 ppm) x (54,0 – 76,0 ppm).

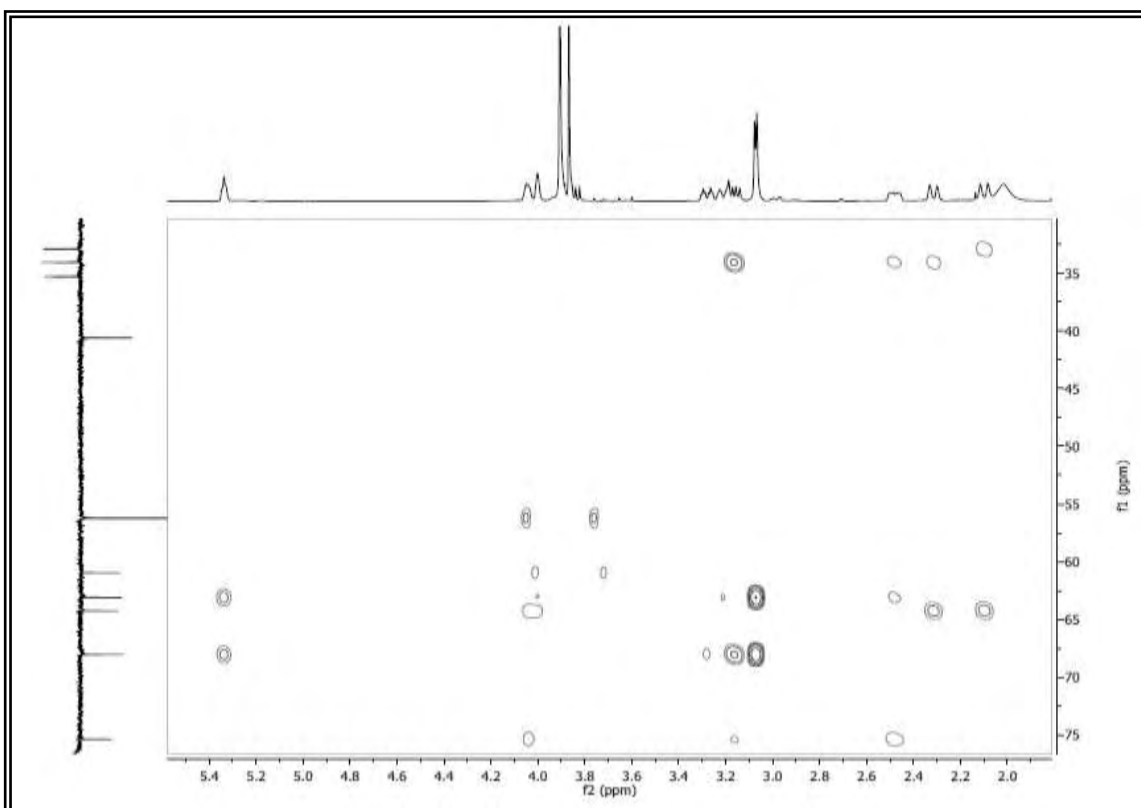


Figura 34. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (2,0 – 5,4 ppm) x (30,0 – 75,0 ppm).

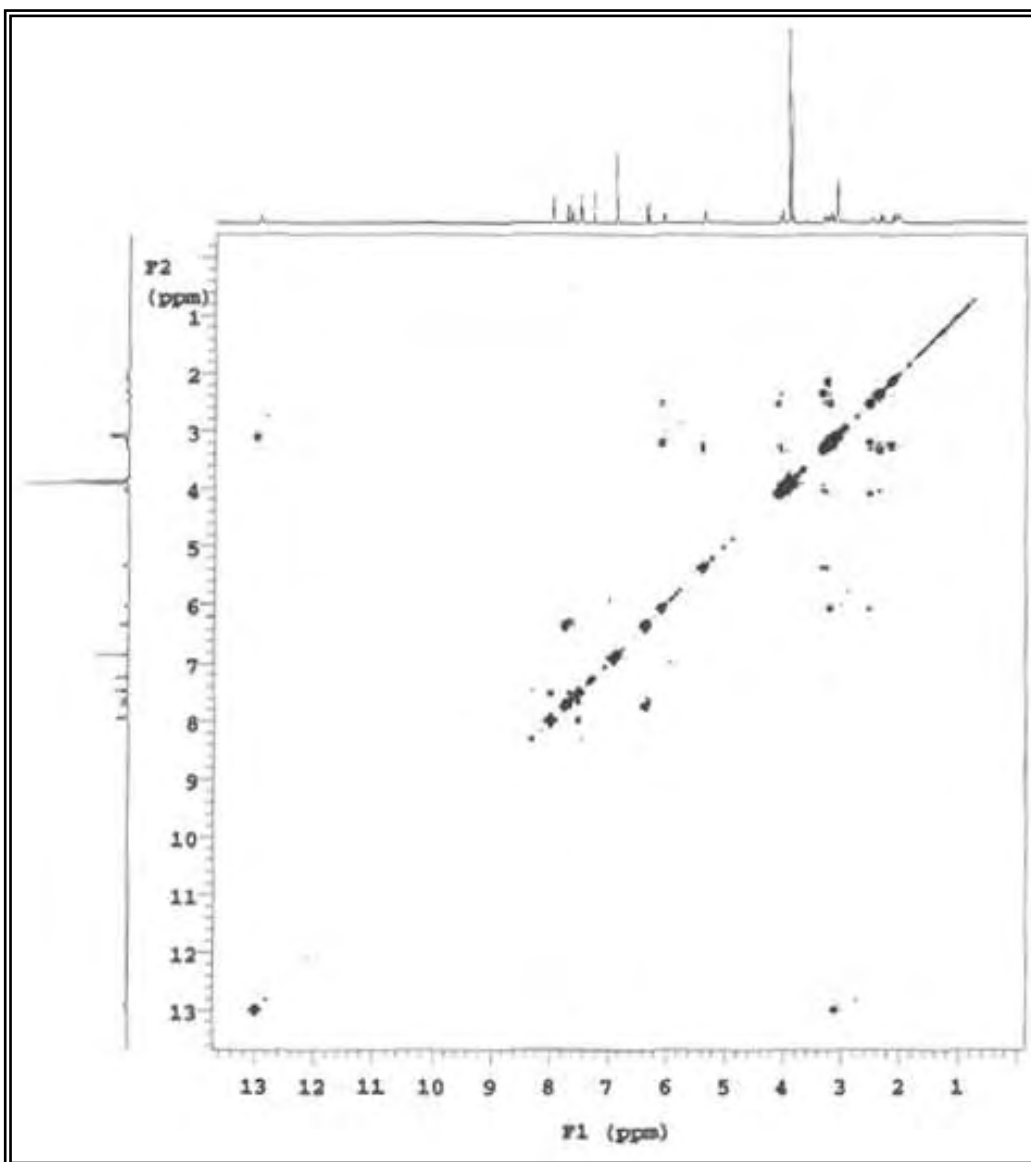


Figura 35. Espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de EC 3.

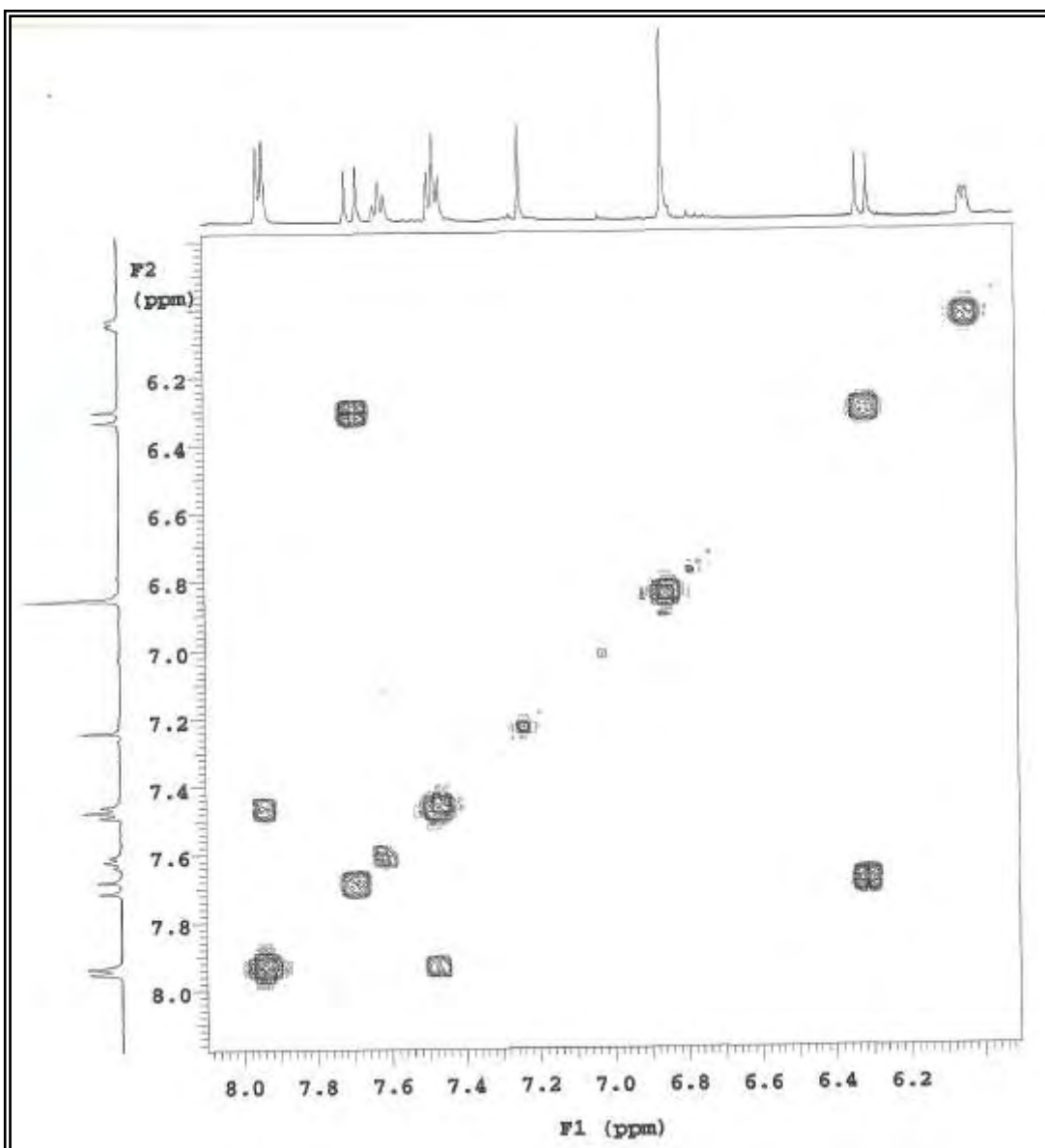


Figura 36. Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (6,0 – 8,0 ppm) x (6,0 – 8,0 ppm).

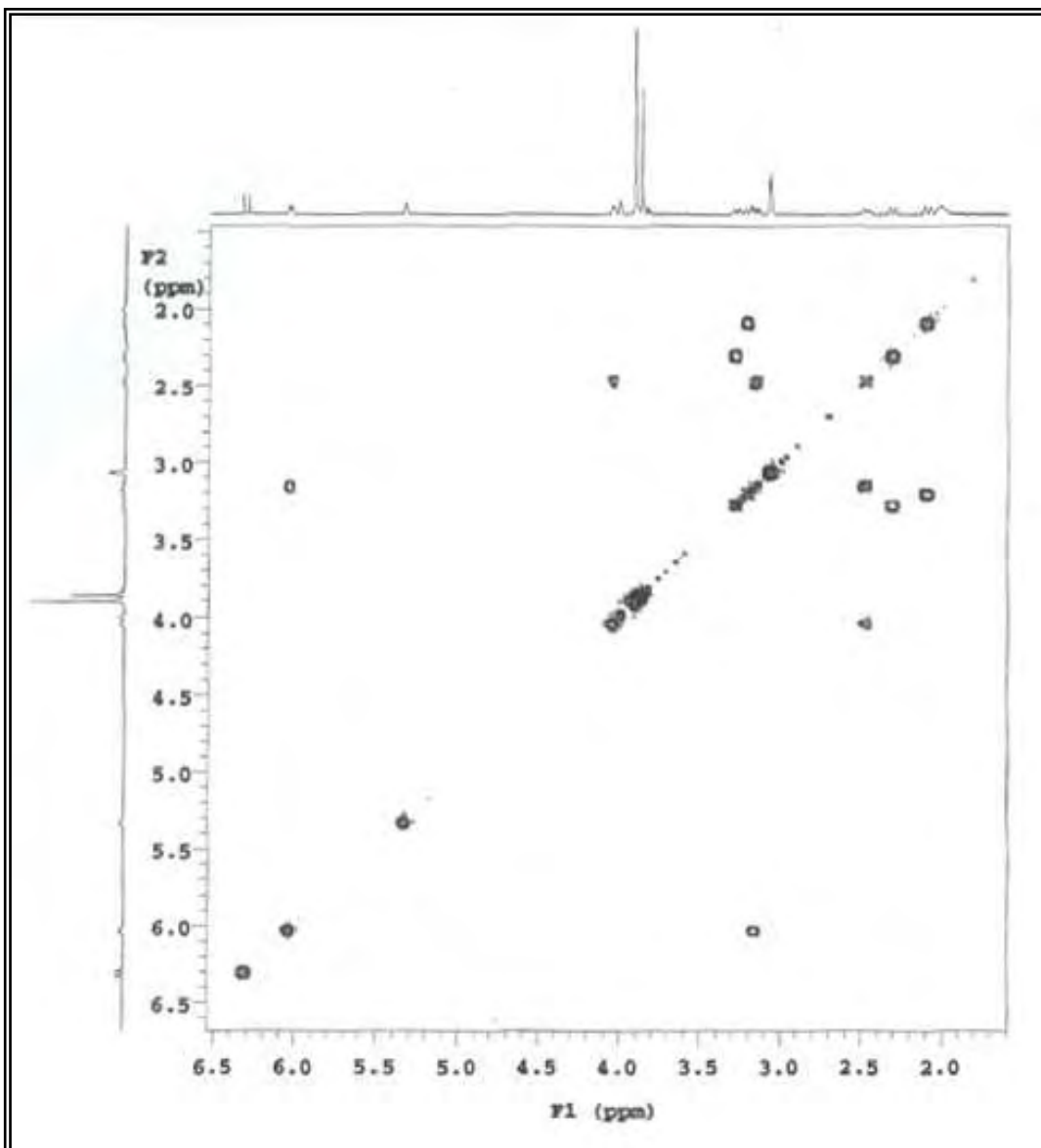
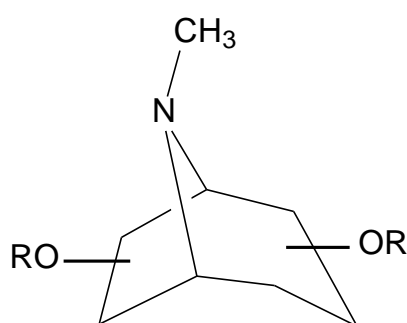


Figura 37. Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de EC 3 na região de (2,0 - 6,5 ppm) x (2,0 - 6,5 ppm).

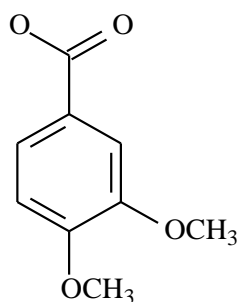
8.1.2 Identificação Estrutural de EC-4

No espectro de RMN ^{13}C – APT em DMSO a 125 MHz (Figura 38, pág. 99) devido à pequena quantidade foi possível observar 17 sinais. Destes, 2 são carbonos metínicos sp^2 , 4 metínicos sp^3 , 2 metilênicos sp^3 , 4 não-hidrogenados, 2 sinais para metoxilas de sistema aromático. Os deslocamentos químicos dos carbonos em δ_{C} 67,5 e 74,7 (oximetínicos) e δ_{C} 59 e 67,4 (metínicos, ligado a nitrogênio) (Figura 40, pág. 100), além dos deslocamentos químicos dos carbonos metilênicos sp^3 em δ_{C} 33,0 e 31,6 são compatíveis, com os dados descritos na literatura para o esqueleto de alcaloides tropanicos dioxigenados (CHAVEZ, et al, 2002).



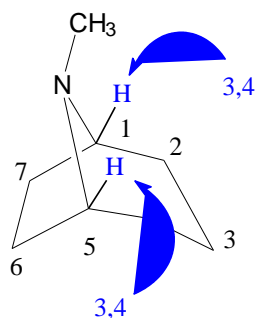
Anel tropanico

Absorções em δ_{C} 55,7 e 55,4 foram atribuídos a carbonos metoxílicos de anéis aromáticos. Na região de hidrogênios de sistema aromático (Figura 42 pág. 101) o duplo dubleto com deslocamento químico em δ_{H} 7,57 ppm com um ($J = 2,0$ e 8,5) foi atribuído a H-6' e dois dubletos em δ_{H} 7,44 ($J = 2,0$) e 7,12 ppm ($J = 8,5$), foram atribuídos a H-2' e H-5' respectivamente. Esse conjunto de sinais permitiram caracterizar o substituinte 3', 4' dimetoxibenzoiloxi no anel tropano.



3',4' dimetoxibenzoiloxi

O espectro de RMN ^1H a 500 MHz em DMSO (Figura 41, pág. 100) mostrou sinais em δ_{H} 3,39 e 3,42 ppm, compatíveis com os hidrogênios H-1 e H-5 de alcaloides tropânicos.

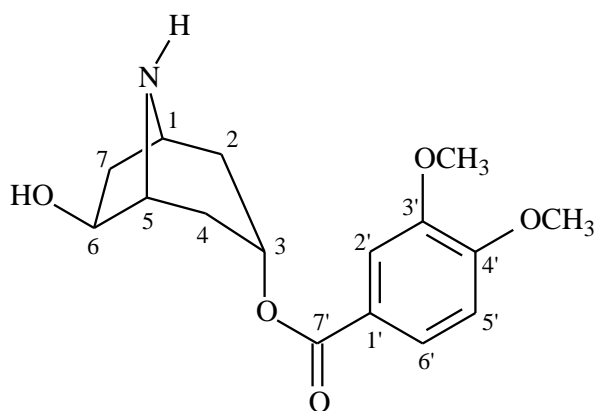


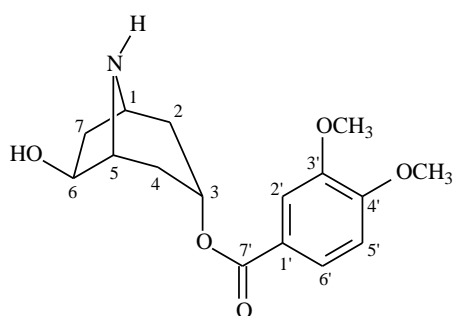
(CHAVEZ et al, 2002).

No espectro de RMN ^{13}C – APT (Figura 38, pág. 99), os deslocamentos químicos em δ_{C} 67 e 74,7 ppm são compatíveis com alcaloides tropânicos oxigenados nas posições C-3 e C-6 (ZANOLARI et al, 2003).

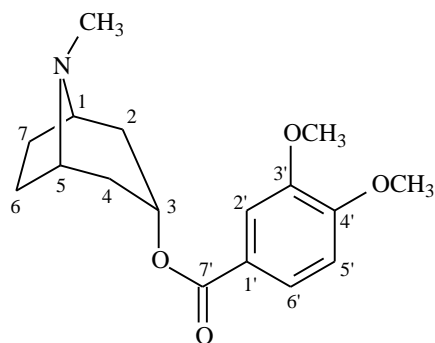
No espectro de RMN ^1H (Figura 42, pág. 101), o tripleto largo (*tl*) referente ao sinal de H-3 em δ_{H} 5,05 ppm ($J = 4,5$ Hz), indicou a orientação α para o substituinte em C-3. Por outro lado, o duplo dubleto (*dd*) em δ_{H} 4,52 ppm ($J = 3,0$ e $7,5$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-6, a ausência de acoplamento desse hidrogênio com o hidrogênio vicinal H-5, justifica sua multiplicidade e define a orientação β do substituinte em C-6 (ZANOLARI et al, 2003 b). Os dados de RMN ^1H e ^{13}C estão compilados na **Tabela 2** (pág. 96).

A partir desses dados e comparação com a literatura, foi possível identificar EC-4 como sendo o alcaloide 3 α -(3',4' dimetoxi)-6 β -hidroxinortropano.





EC 4 - 3 α -(3',4' dimetoxi)-6 β -hidroxitropane



Modelo

Tabela 2. Dados de RMN de H¹ e C¹³ em DMSO-D₆ a 500 MHz e 125 MHz de EC 4.

Posição	EC 4		Modelo (YAGUDAEV, 1986)
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$
1	59,3	3,27 (<i>sl</i>)	59,1
2	33,0	1,68 eq (<i>dl</i> , $J = 15,0$), 2,12 ax (<i>m</i>)	35,8
3	67,4	5,04 (<i>tl</i> , $J = 4,5$)	67,0
4	33,0	2,09 eq (<i>dl</i> , $J = 15,0$), 2,41 ax (<i>m</i>)	35,8
5	59,3	3,32 (<i>sl</i>)	59,1
6	74,7	4,53 (<i>dd</i> , $J = 3,0$ e 7,5)	25,1
7	31,6	1,57 eq (<i>dl</i> , $J = 15,0$), 1,92 ax (<i>m</i>)	25,1
1'	122,3	---	122,7
2'	111,6	7,44 (<i>d</i> , $J = 2,0$)	122,4
3'	148,5	---	111,3
4'	152,9	---	152,2
5'	---	7,12 (<i>d</i> , $J = 8,5$)	148,0
6'	111,3	7,57 (<i>dd</i> , $J = 2,0$ e 8,0)	109,8
7'	164,7	---	164,3
<i>m</i>-OCH₃	55,7	3,83 (<i>s</i>)	55,1
<i>p</i>-OCH₃	55,4	3,81 (<i>s</i>)	55,0
N-H	---	8,25	

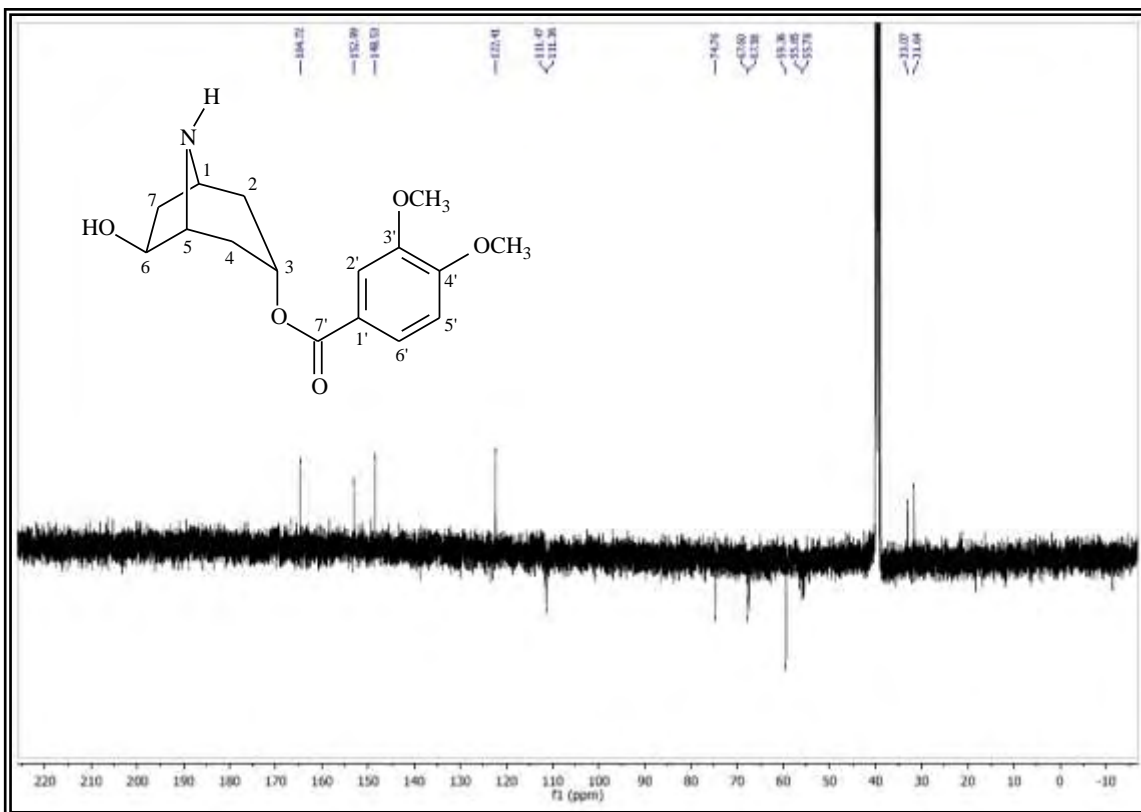


Figura 38. Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, DMSO) de EC 4.

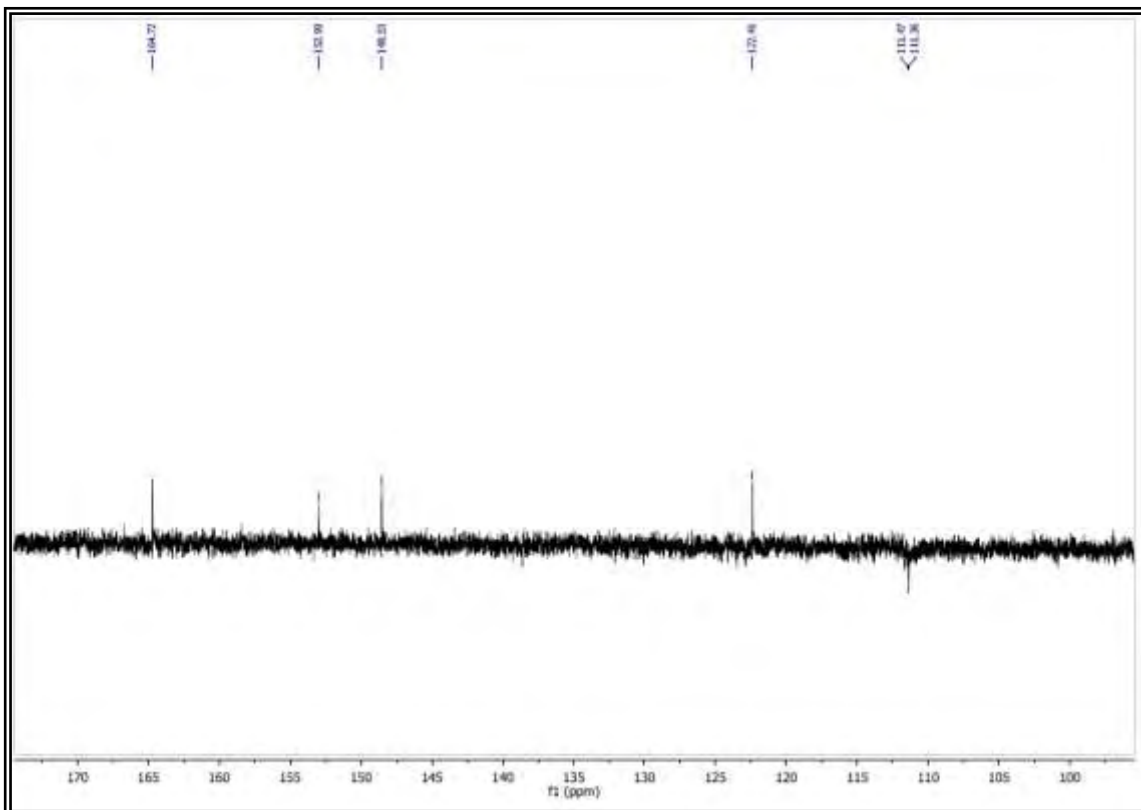


Figura 39. Expansão do espectro de ^{13}C -APT (125 MHz, DMSO) de EC 4 na região entre δ_{H} 170-100 ppm.

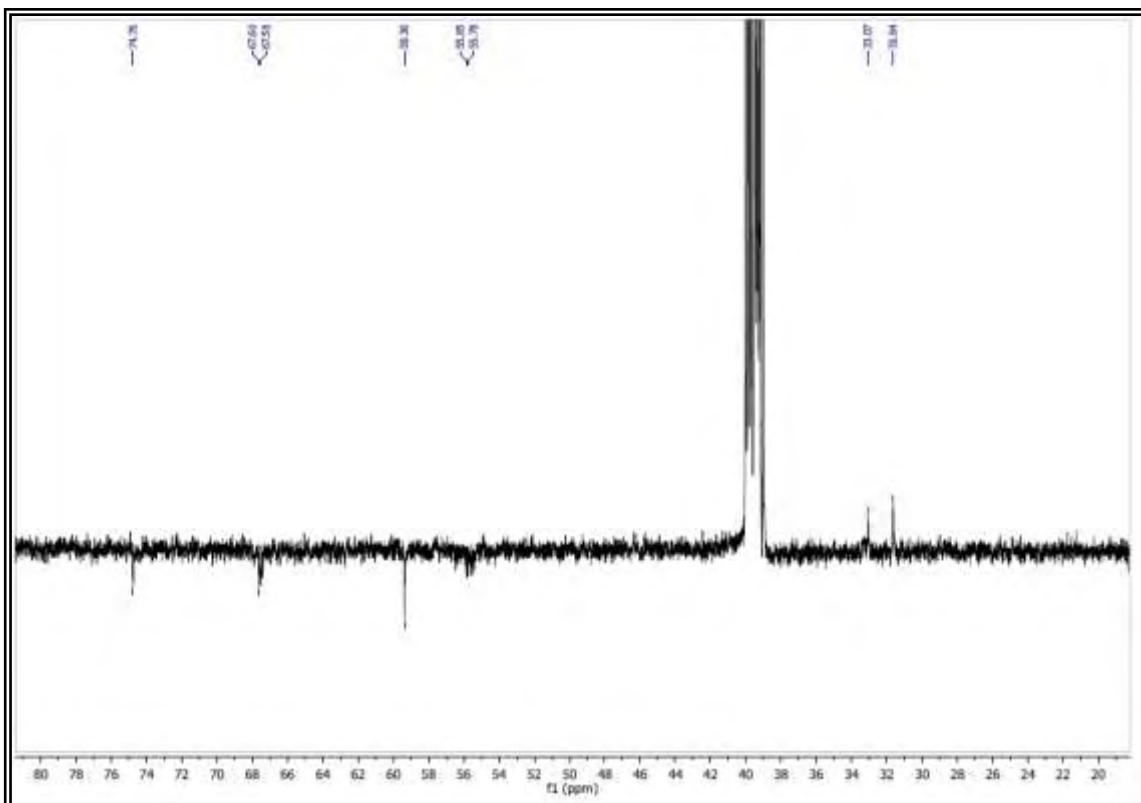


Figura 40. Expansão do espectro de ^{13}C -APT (125 MHz, DMSO) de EC 4 na região entre δ_{H} 80-20 ppm.

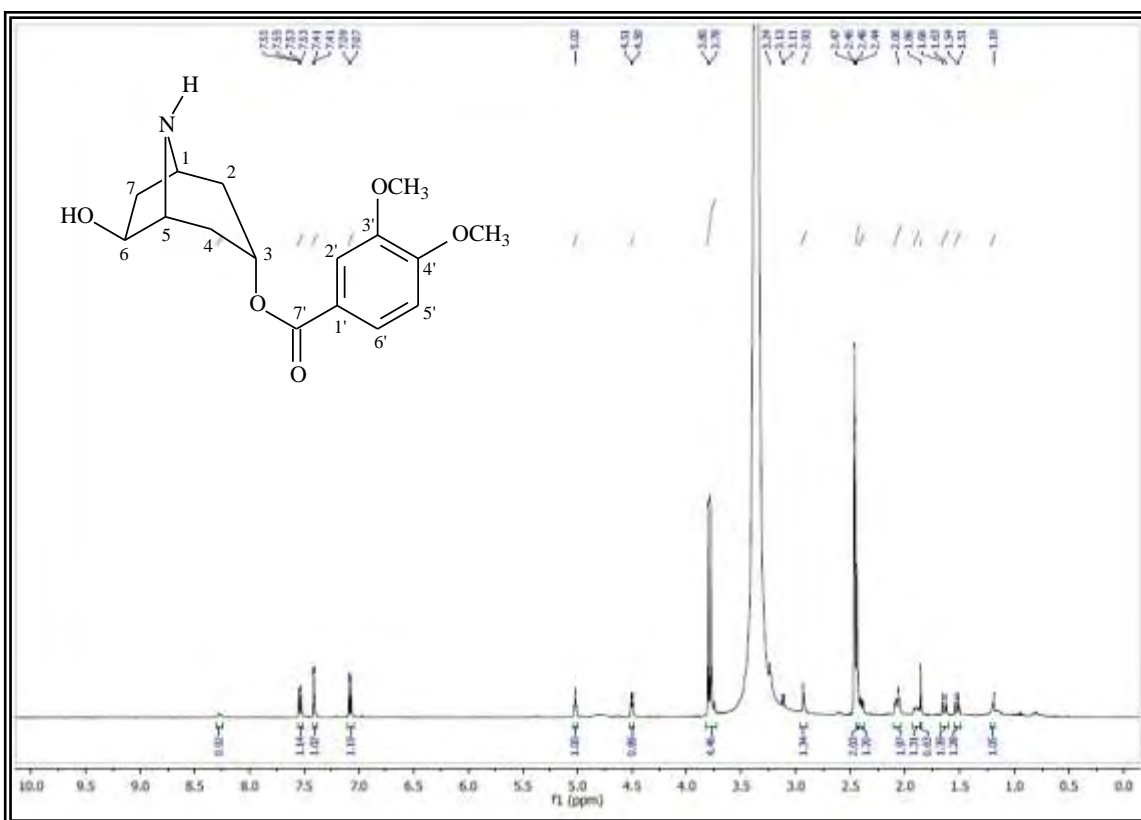


Figura 41. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO) de EC 4.

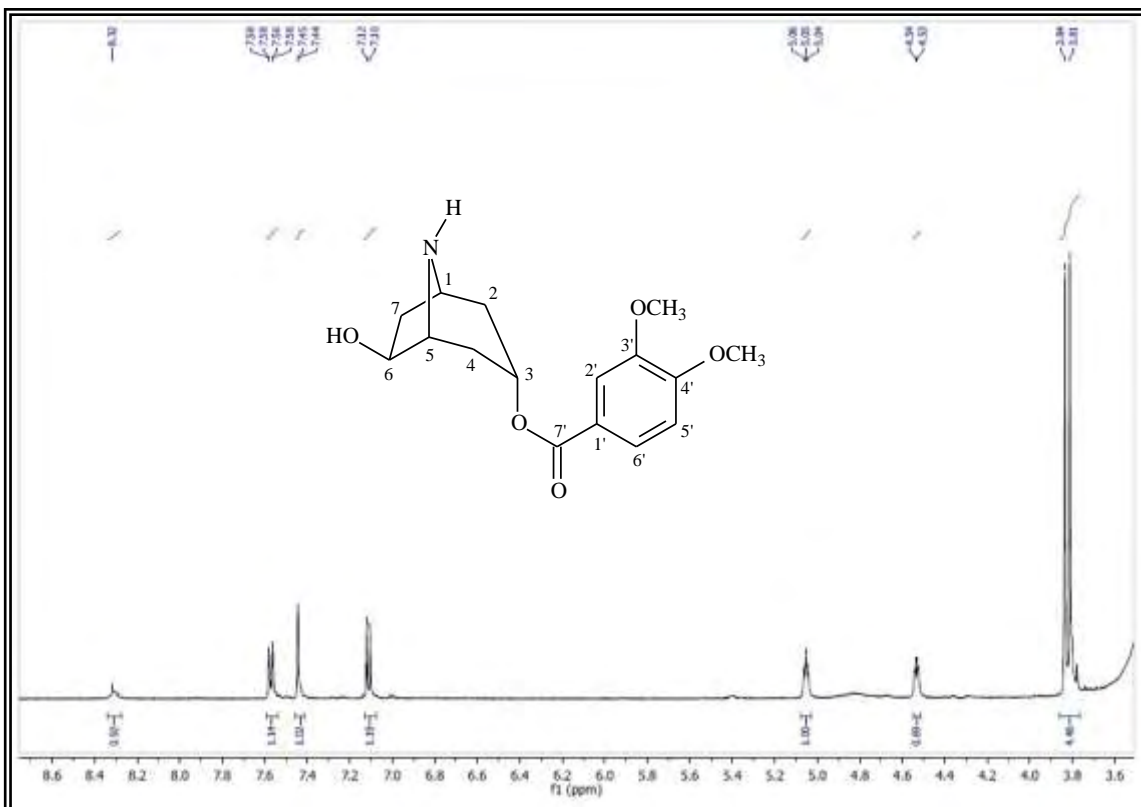


Figura 42. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO) de EC 4 na região entre δ_{H} 8,6-3,6 ppm.

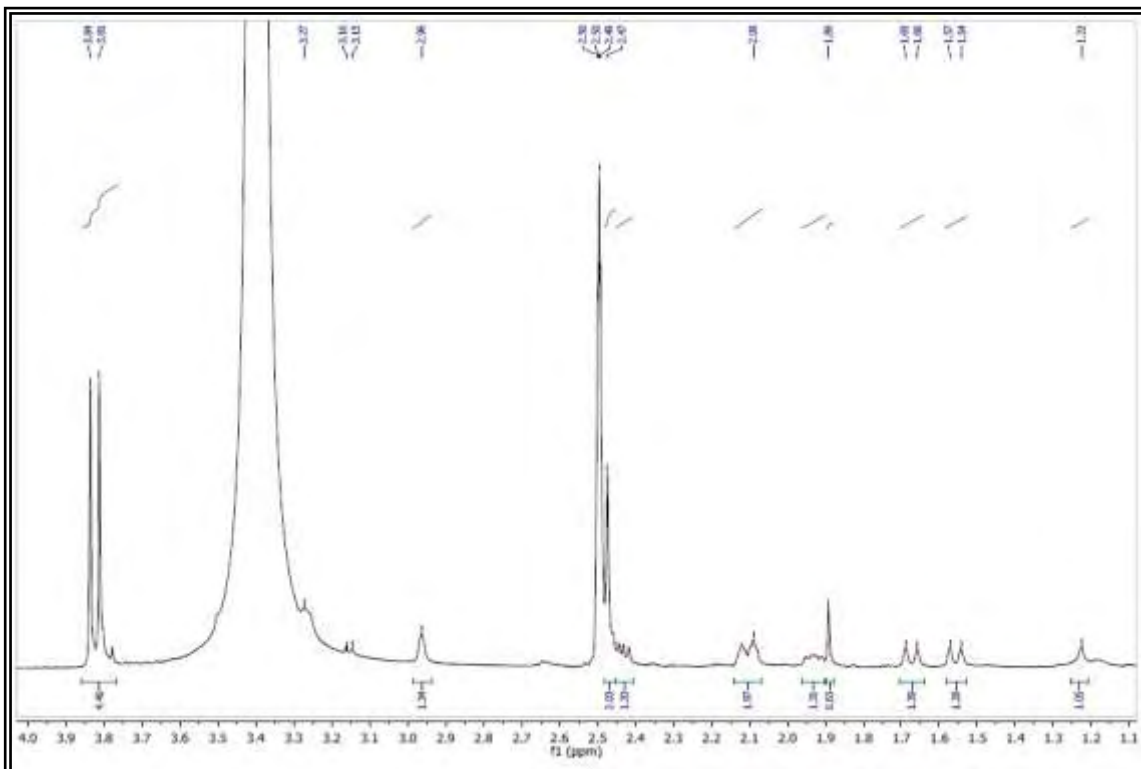


Figura 43. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO) de EC 4 na região entre δ_{H} 4,0-1,2 ppm.

Erythroxylum revolutum

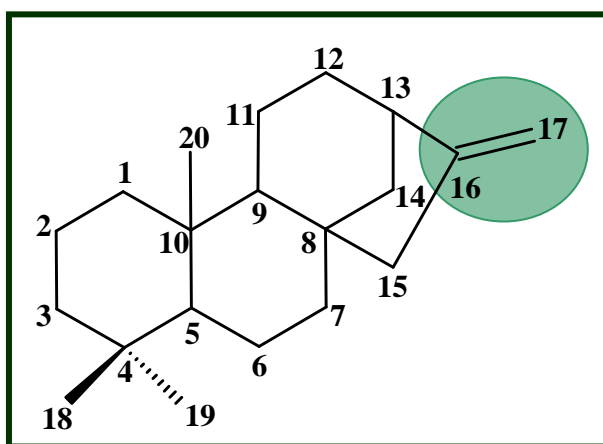
8.2 IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *E. REVOLUTUM*

8.2.1 Identificação estrutural de ER-1

A substância codificada como **ER-1** foi isolada na forma de um óleo incolor, solúvel em clorofórmio.

No espectro de RMN ^{13}C – APT (Fig. 44, Pág. 106) 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, 10 a carbonos metilênicos e 3 a carbonos metílicos. Os sinais de carbonos metínicos em δ_c 56,0, 56,2 e 44,0 ppm, após comparação com a literatura (YANG et al, 2002) permitiu sugerir um esqueleto carbônico para diterpenos tetracíclico do tipo caurano.

O deslocamento químico em δ_c 102,7 ppm (C-H₂), juntamente com o deslocamento químico em δ_c 156,1 ppm (Fig. 45, Pág. 106) infere uma dupla terminal em C-16.



No espectro de RMN ^1H observou-se um envelope de sinais na região de δ_H 0,72 a 2,1 ppm (Fig. 47, pág. 107) com multiplicidades resolvidas e não resolvidas. Constatou-se a presença de 3 singletos em δ_H 0,75, 0,95 e 1,00 ppm (Fig. 48, pág. 108), correspondentes a três metilas.

O sinal em δ_H 2,61 (1H, *sl*) (Fig. 48, pág. 108) foi atribuído ao hidrogênio H-13 de esqueleto do tipo caurano.

Comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C de **ER-1** com a literatura, possibilitou identificá-la como *ent*-cauran-16-eno. Os demais dados estão compilados na **Tabela 3** (Pág. 105).

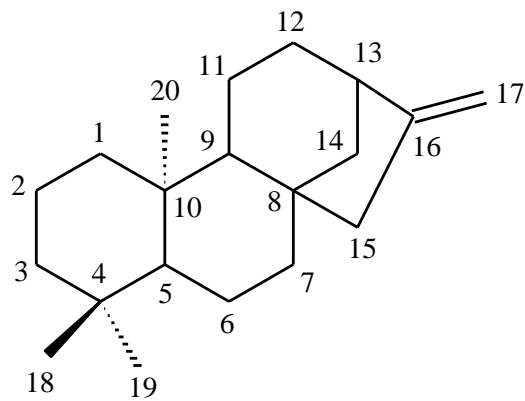
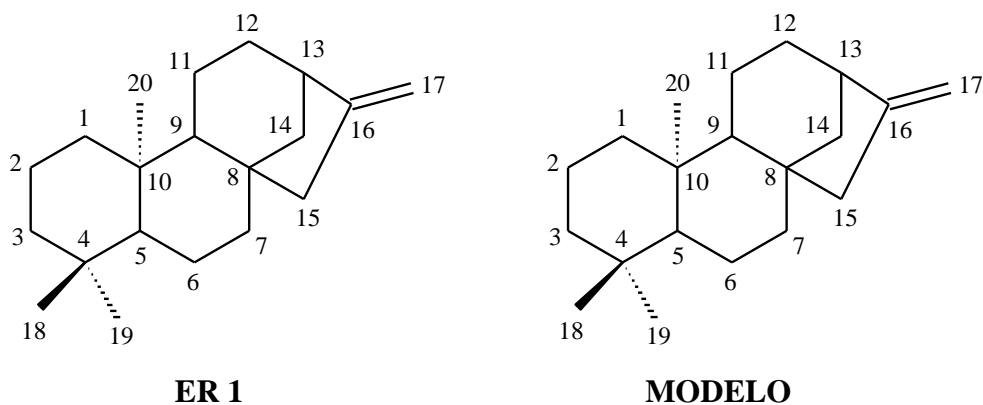


Tabela 3. Dados de RMN de ^{13}C em CDCl_3 a 500 MHz de ER-1.



	ER 1	MODELO PACHECO (2009)
C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{13}\text{C}$
1	41,2	41,3
2	18,6	18,7
3	42,0	42,0
4	33,2	33,3
5	56,2	56,1
6	20,2	20,3
7	40,4	40,4
8	44,2	44,2
9	56,0	56,1
10	39,3	39,3
11	18,1	18,1
12	31,9	33,3
13	44,0	44,2
14	39,8	39,9
15	49,1	49,2
16	156,1	156,0
17	102,7	102,8
18	33,6	33,7
19	21,6	21,7
20	14,1	17,6

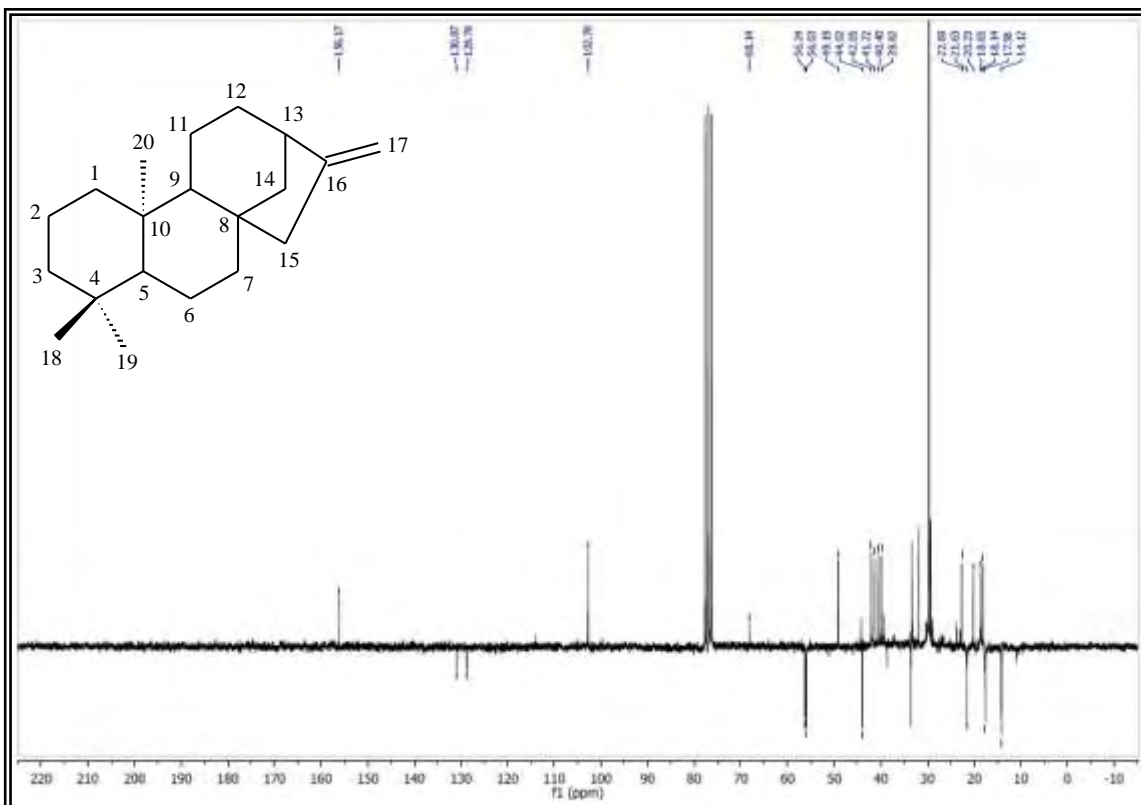


Figura 44. Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 1.

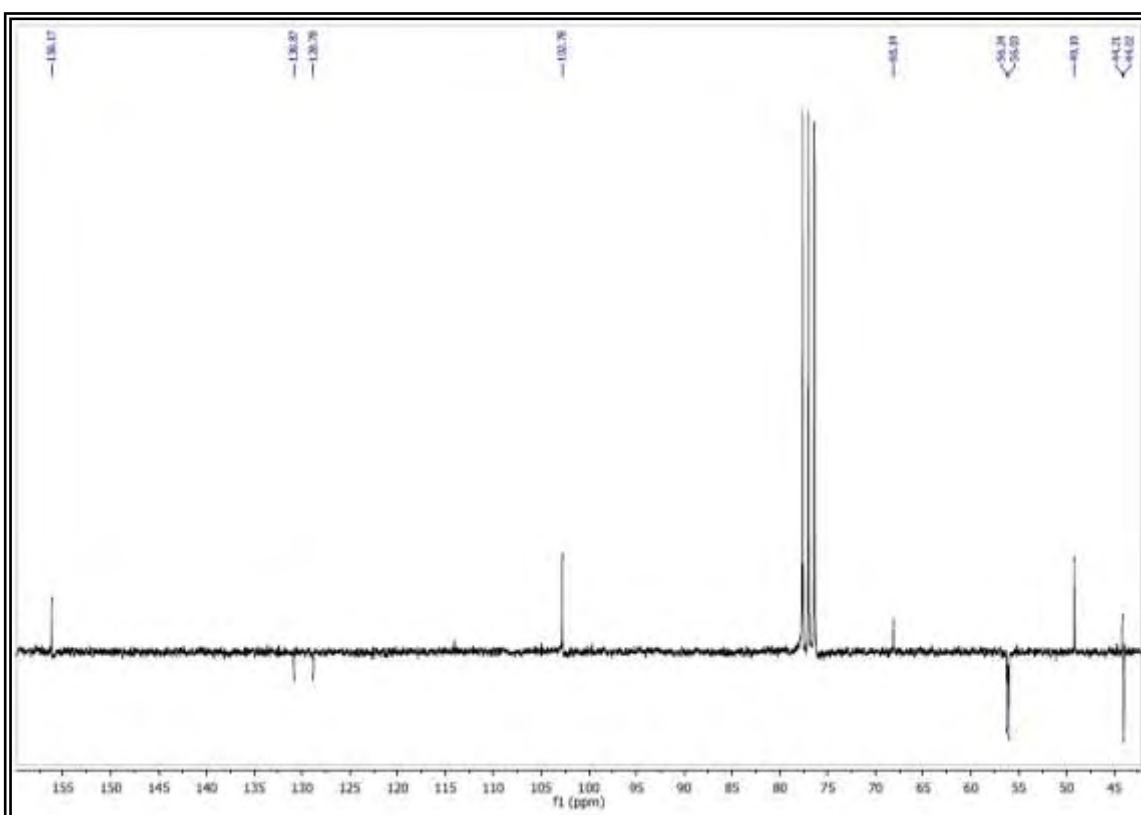


Figura 45. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 1 na região entre δ_{H} 155,0-45,0 ppm.

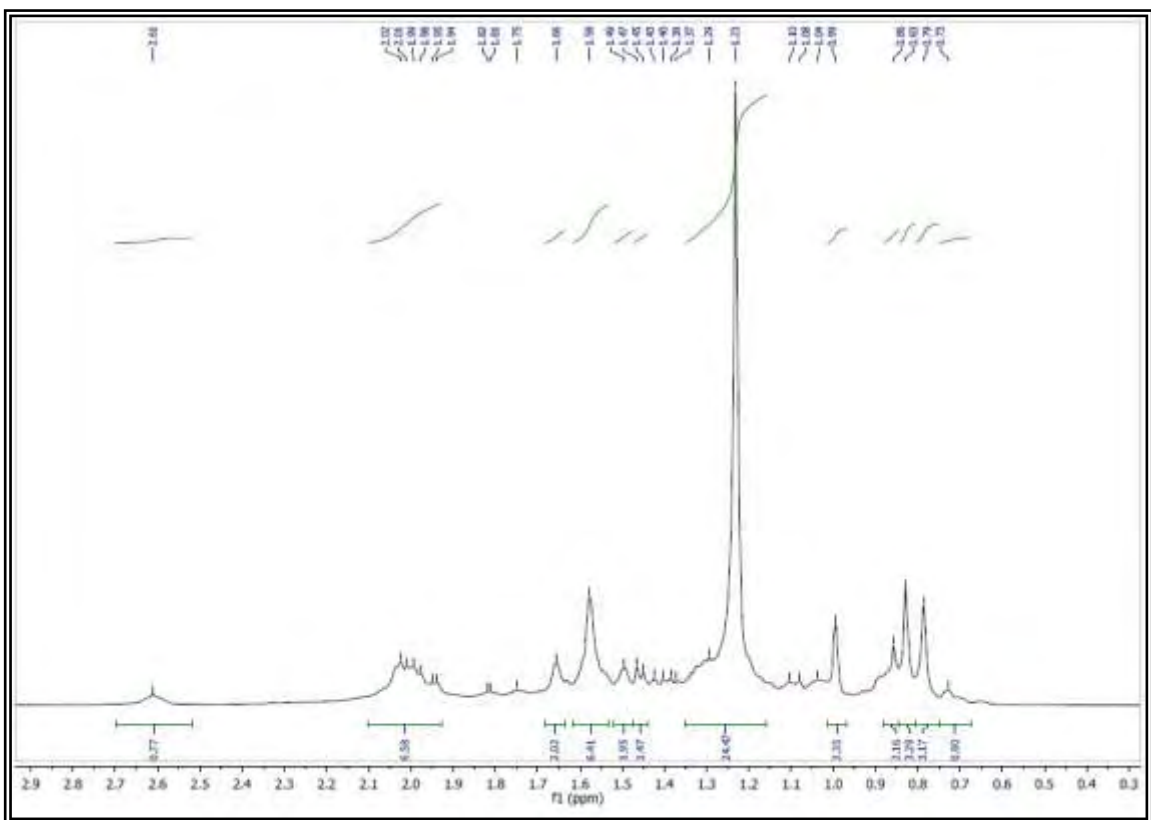
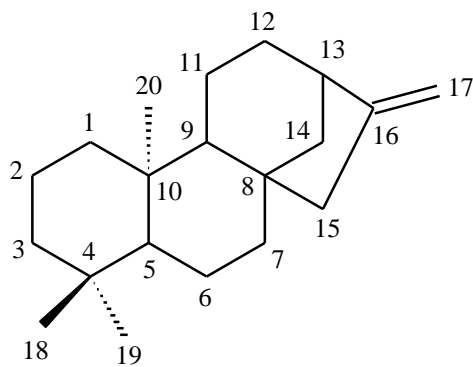


Figura 48. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 1 na região entre δ_{H} 2,9-0,3 ppm.



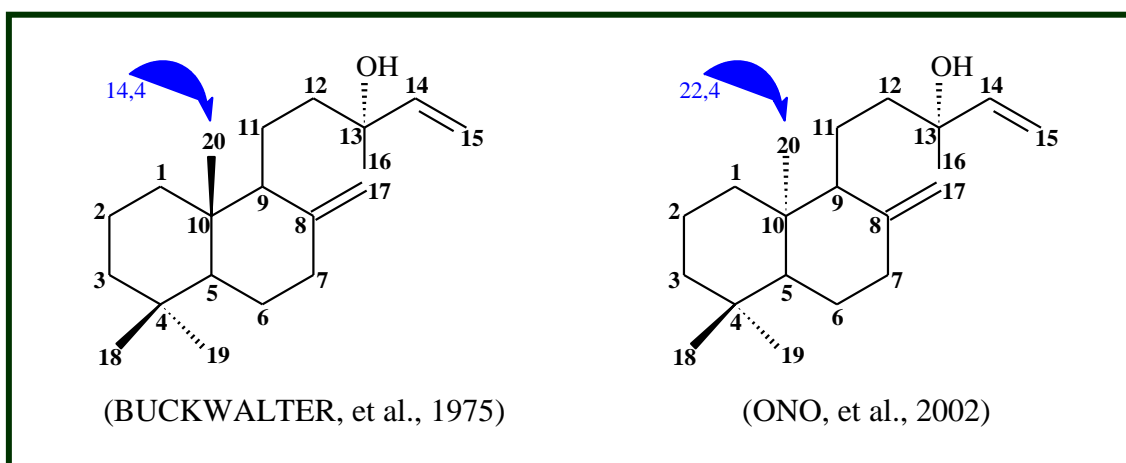
8.2.2. Identificação estrutural de ER-2

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

No espectro de RMN ^{13}C – APT (Fig. 49, pág. 111) observou-se a presença de 20 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} 55,5, 57,2 e 145,1 ppm, após comparação com a literatura (ONO et al., 2002) permitiu sugerir um esqueleto carbônico para diterpenos bicíclicos do tipo labdano.

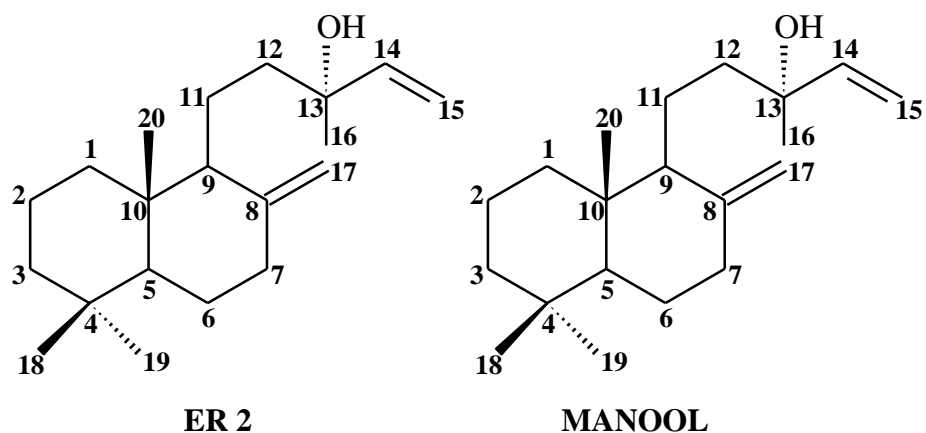
No espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 52, pág. 112) observou-se um envelope de sinais na região de δ_{H} 2,40 a 0,65 ppm com multiplicidade não resolvidas. Observou-se a presença de 4 singletos em δ_{H} 1,25, 0,84, 0,77 e 0,65 ppm correspondente a quatro metilas (Fig. 54, pág. 113). A análise do espectro de RMN ^1H permitiu indiciar a existência de hidrogênios ligados a carbonos olefínicos em δ_{H} 5,89 (1H, *dd*, $J = 17,5$ e $11,0$ Hz), 5,20 (1H, *dd*, $J = 1,0$ e $17,5$ Hz) e 5,04 (1H, *dd*, $J = 1,0$ e $10,5$ Hz), sinais de hidrogênios ligados a carbonos olefínicos em δ_{H} 4,78 (1H, *d*, $J = 1,5$ Hz) e 4,45 (1H, *d*, $J = 1,5$ Hz) (Fig. 53, pág. 113).

A determinação da série normal foi estabelecida por comparação com dados da literatura do deslocamento químico da metila C-20 (ONO, et al., 2002; BUCKWALTER, et al., 1975), a qual foi atribuído a ER 2 deslocamento δ_{C} 14,4 ppm.



As demais multiplicidades e deslocamentos químicos estão compilados na **Tabela 4** (pág. 110). Após análise dos dados espectrais, determinou-se **ER-2** como um diterpeno da série labdano 13-hidroxi-8(17),14-labdadieno (Manool).

Tabela 4. Dados de RMN de ^{13}C em CDCl_3 a 500 MHz de ER-2.



	ER 2	Manool (BUCKWALTER, 1975)
C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{13}\text{C}$
1	39,1	39,0
2	19,3	19,3
3	42,2	42,1
4	33,5	33,5
5	55,5	55,5
6	24,4	24,4
7	38,3	38,3
8	148,7	148,4
9	57,2	57,2
10	39,8	39,8
11	17,6	17,6
12	41,3	41,3
13	73,6	73,4
14	145,1	144,9
15	111,5	111,3
16	28,0	27,9
17	106,2	106,2
18	21,7	21,7
19	33,6	33,5
20	14,4	14,4

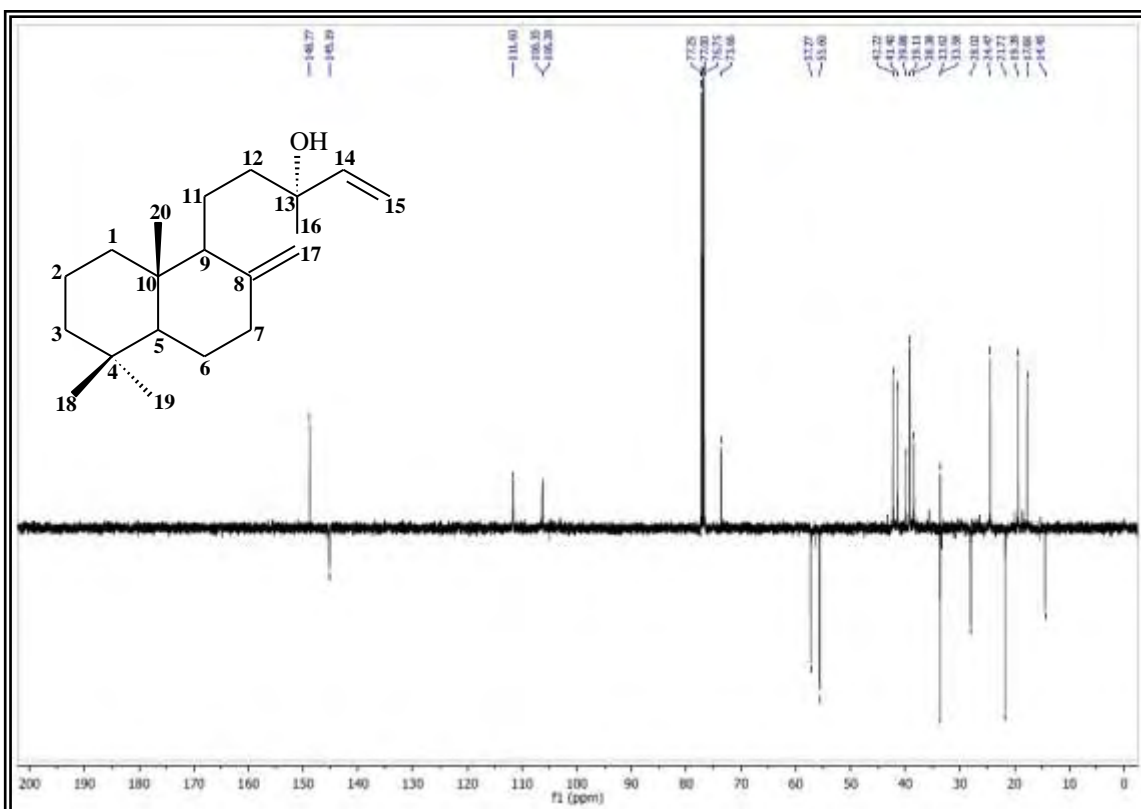


Figura 49. Espectro de RMN ¹³C-APT (125 MHz, CDCl₃) de ER 2.

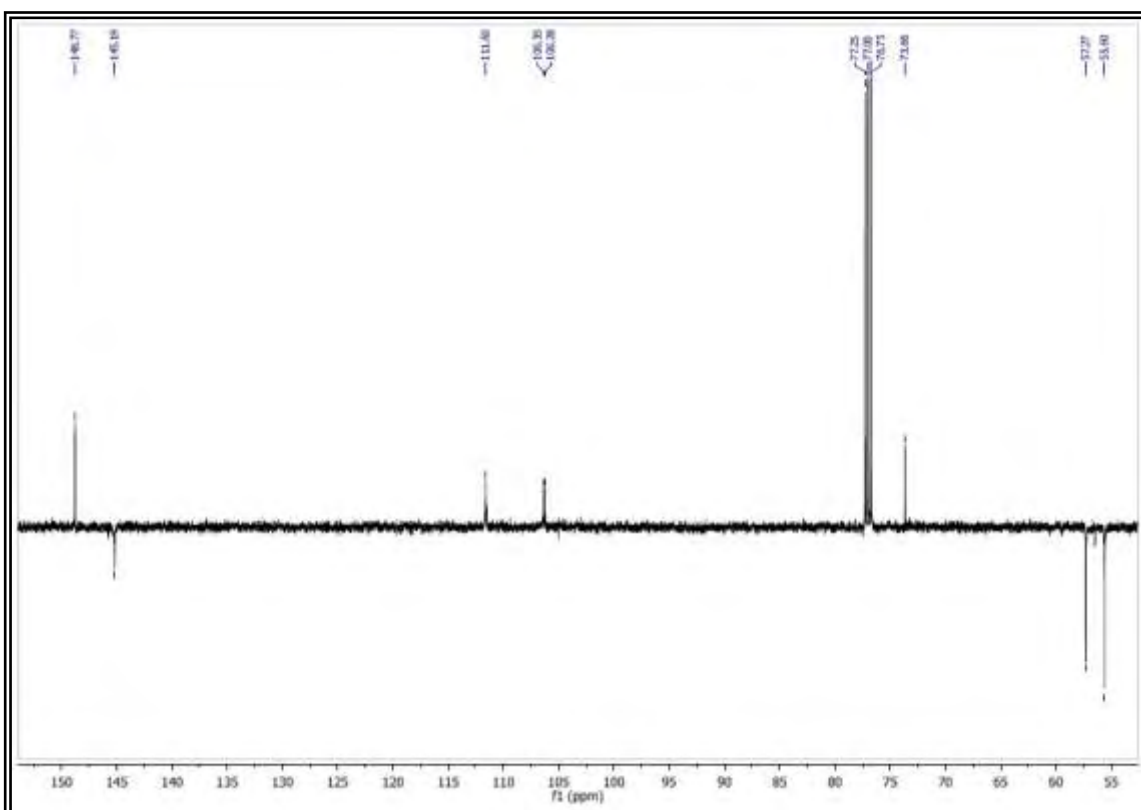


Figura 50. Expansão do espectro de RMN ¹³C-APT (125 MHz, CDCl₃) de ER 2 na região entre δ_H 150,0-55,0 ppm.

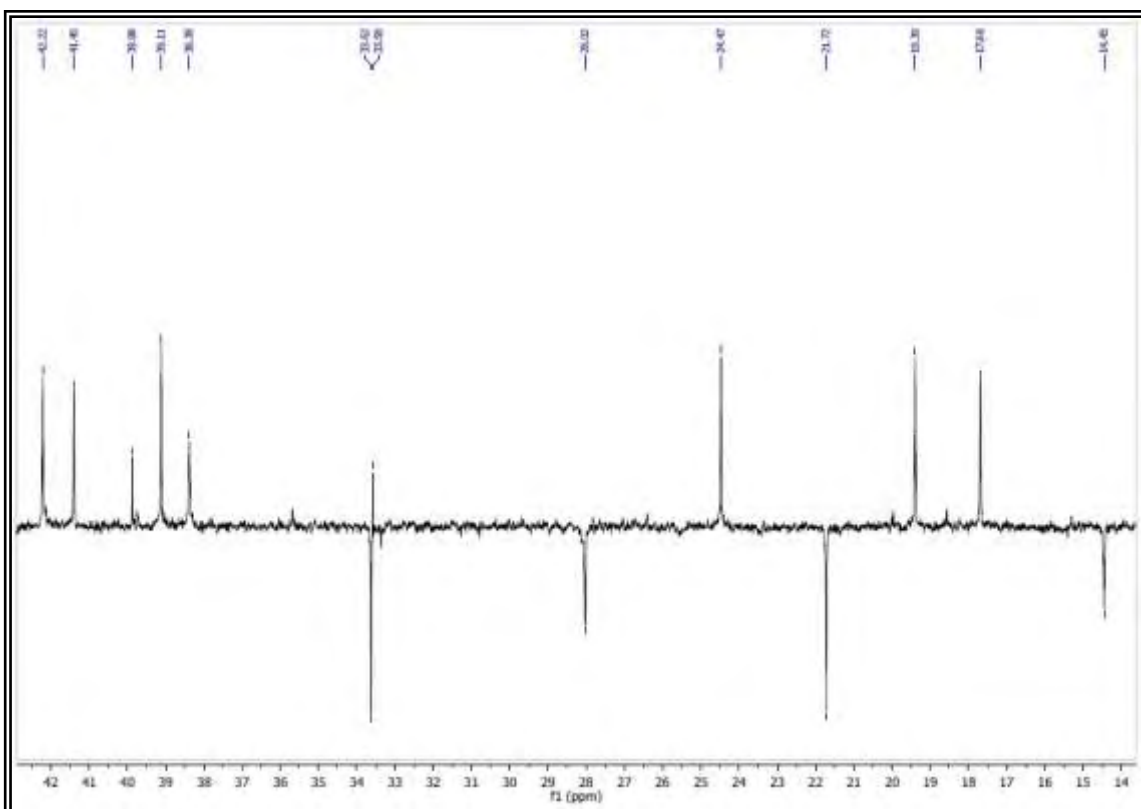


Figura 51. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 2 na região entre δ_{H} 42,0-14,0 ppm.

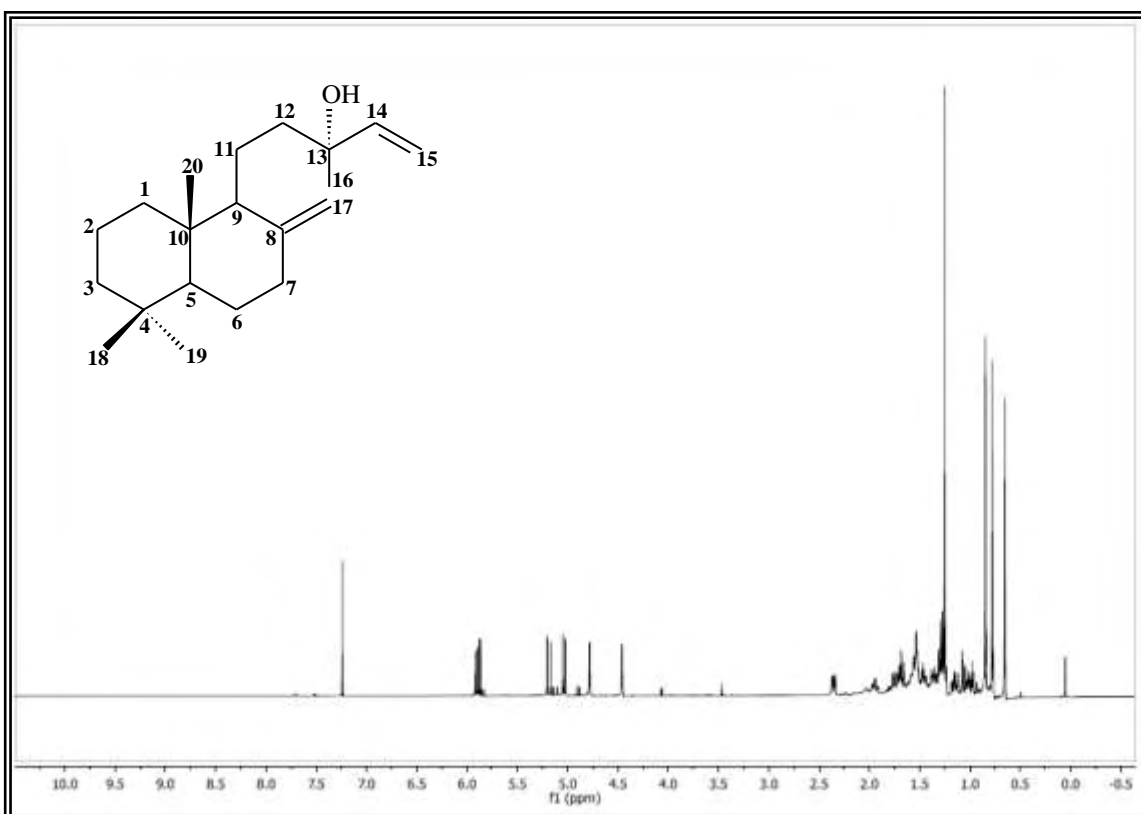


Figura 52. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 2.

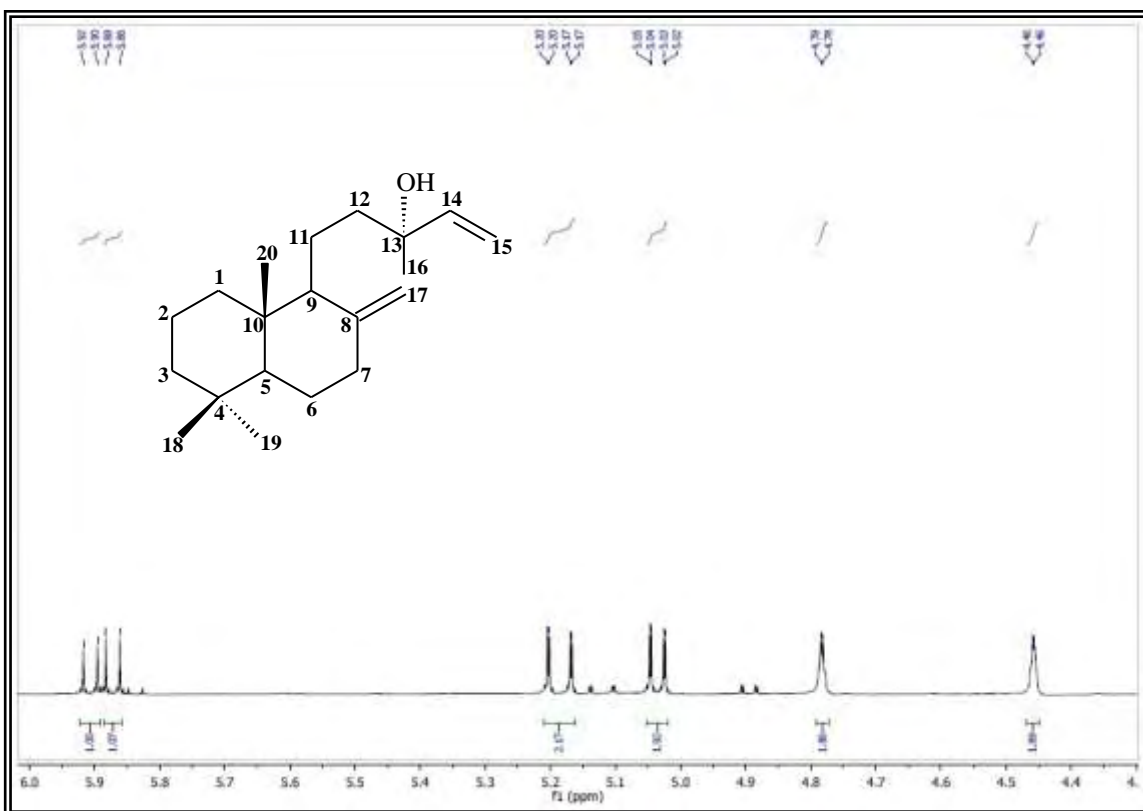


Figura 53. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 2 na região entre δ_{H} 6,0-4,4 ppm.

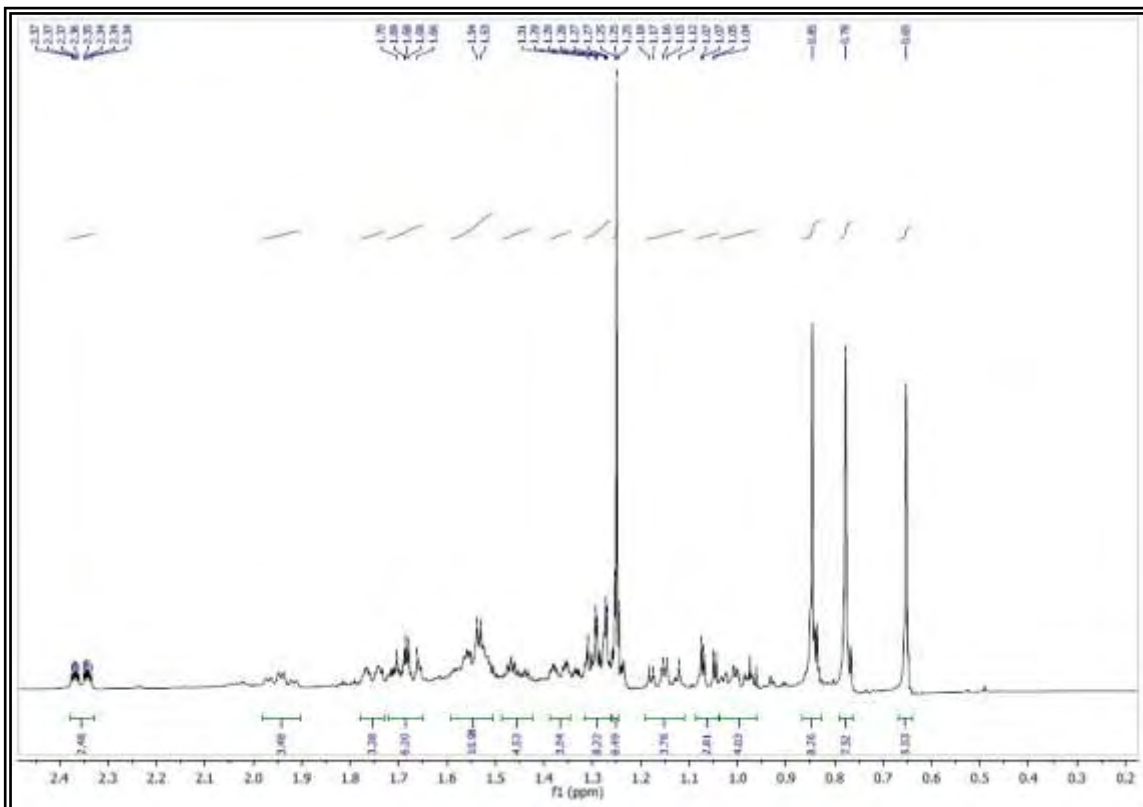


Figura 54. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 2 na região entre δ_{H} 2,4-0,3 ppm.

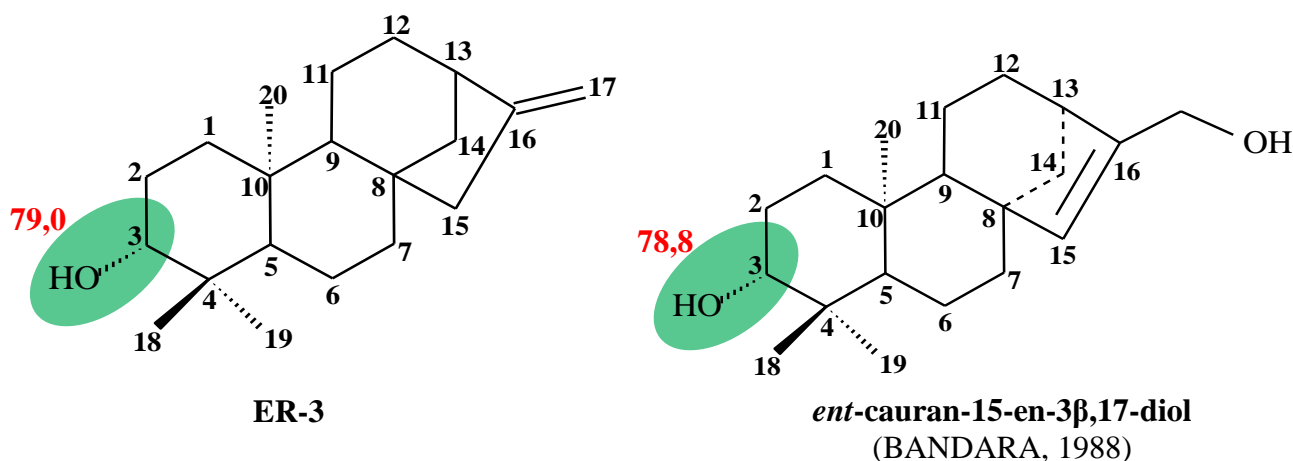
8.2.3 Identificação estrutural de ER-3

A substância codificada como **ER-3** foi isolada na forma de um pó amorfo branco, $[\alpha]_D + 0,174$, solúvel em clorofórmio e com ponto de fusão 138-140 °C.

O espectro de IV obtido em KBr (Fig. 55, Pág. 117) mostrou absorção em 3446 cm^{-1} e 3023 cm^{-1} característico de estiramento de hidroxila.

No espectro de RMN ^{13}C APT (125 MHz, CDCl_3), (Fig. 56, Pág. 117) observou-se a presença de 20 sinais correspondentes a 20 átomos de carbono. Destes, 4 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 4 a carbonos metínicos, 9 a carbonos metilênicos e 3 a carbonos metílicos. Os sinais de carbonos metínicos em δ_C 55,2, 55,9 e 43,9 ppm, após comparação com a literatura (PIOZZI,1980) permitiu sugerir um esqueleto carbônico de diterpenos tetracíclicos do tipo caurano.

Comparando os deslocamentos químicos de **ER-3** com **ER-1**, observou-se a presença do sinal em δ_C 79,0 ppm indicando a presença de carbono oximetínico em C-3. A inserção de um grupo hidroxila em C-3 foi confirmada através da correlação heteronuclear – HMBC (Fig. 69, pág. 124) a três ligações de C-3 com os hidrogênios metílicos H-18 e H-19. Isso é corroborado pelo efeito de proteção sobre as metilas C-18 e C-19 que em **ER-1** absorve em δ_C 21,6 e 33,6 ppm e em **ER-3** absorve em δ_C 17,5 e 28,3 ppm (Fig. 58, pág. 118) respectivamente. O deslocamento químico em δ_C 79,0 ppm (C-3) infere a orientação alfa axial do grupo hidroxila.



No espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 59, pág. 119) observou-se um envelope de sinais na região de δ_H 2,03 a 0,75 ppm com multiplicidade não resolvidas. Observou-se a presença de 3 singletos em δ_H 1,00, 0,95 e 0,75 ppm correspondente a

três metilas, e um singlete largo em 2,62 que foi atribuído a H-13, corroborando com a proposição de caurano 16-en. As demais multiplicidades e deslocamentos químicos dos hidrogênios estão compilados na **Tabela 5** (pág. 116).

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) (Fig. 62, pág. 120) e suas expansões, pode-se verificar correlações diretas entre os hidrogênios em δ_{H} 0,75 com δ_{C} 55,2, δ_{H} 1,02 com δ_{C} 55,9 e δ_{H} 2,62 com δ_{C} 43,9 (Fig. 63, pág. 121), atribuindo-os a C-5, C-9 e C-13, respectivamente. Deslocamentos químicos em δ_{H} 3,13, 1,00, 0,95 e 0,75, ppm mostraram correlações com δ_{C} 79,0, 15,4, 28,3, e 17,5 ppm (Fig. 63 e 64, pág. 121) sendo atribuídos a C-3, C-18, C-19 e C-20. As demais correlações estão compiladas na **Tabela 5** (pág. 116).

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) (Fig. 65, pág. 122) e suas expansões observamos correlações dos hidrogênios em δ_{H} 1,00 (s), CH_3 -20, com o carbono em δ_{C} 55,9, ppm (Fig. 70, pág. 124), atribuindo-o a C-9. Correlações dos hidrogênios em δ_{H} 1,02 (s), CH-9 com os carbonos em δ_{C} 38,6, 38,8 e 49,0 ppm (Fig. 70, pág. 124), atribuindo-os a C-7, C-8 e C-15 respectivamente. Uma correlação do sinal em δ_{H} 2,03 ppm (H-15) com δ_{C} 155,8 e 103,0 ppm e δ_{H} 4,72 (H-17) com δ_{C} 43,9 (C-13), confirmaram as atribuições feitas para estes carbonos. A posição da hidroxila em C-3 foi confirmada através da correlação δ_{H} 3,13 ppm com δ_{C} 15,4 (C-18) e 28,3 (C-19) respectivamente (Fig. 71, pág. 125).

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ gCOSY (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 73 a 74, pág. 126 a 127) o sinal em δ_{H} 3,13 ppm (H-3) mostrou relação com o sinal em δ_{H} 1,62 ppm (Fig. 75, pág. 128), sendo portanto esse último atribuído a H-2.

Após análise dos dados espectrais e comparação com dados da literatura determinou-se **ER-3** como sendo *ent*-caur-16-en-3 β -ol.

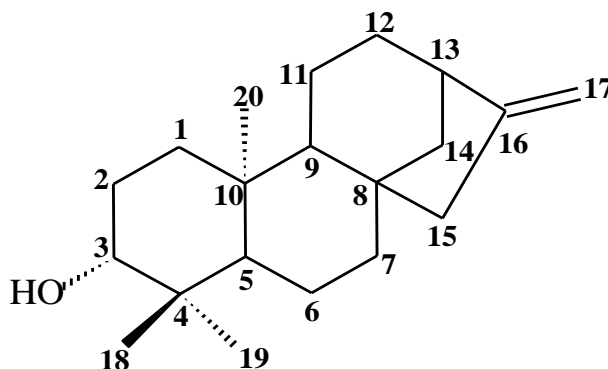
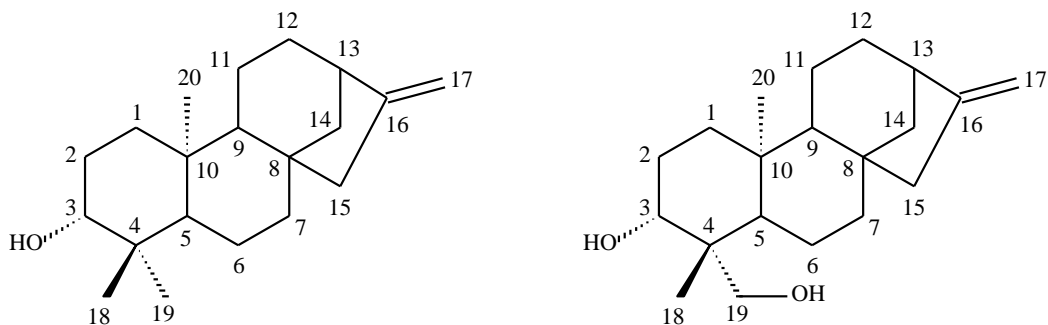


Tabela 5. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais em CDCl_3 a 500 MHz e 125 MHz de ER-3.



ER 3

PIOZZI (1980)

C	$\delta^{13}\text{C}$	HMQC	HMBC	COSY	PIOZZI (1980) $\delta^{13}\text{C}$
		$\delta^1\text{H}$	$\delta_{\text{C}} \times \delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{H}} \times \delta_{\text{H}}$	
1	41,1	1,48 (<i>m</i>)			38,7
2	27,3	1,62 (<i>m</i>)	C-3, C-10	H-3	27,6
3	79,0	3,13 (<i>dd</i> , $J=5,0$ e $11,0$)	C-18, C-19	H-2	80,6
4	44,0	-----			42,7
5	55,2	0,75 (<i>sl</i>)	C-18, C-19, C-20		55,8
6	18,2	1,68 (<i>m</i>)		H-7	20,1
7	38,6	1,54 (<i>m</i>)		H-6	41,3
		1,82 (<i>m</i>)			
8	38,8	1,84 (<i>m</i>)			43,9

9	55,9	1,02 (<i>sl</i>)	C-7, C-8, C-15, C-20	H-11	55,8
10	39,0	-----			39,6
11	20,0	1,58 (<i>m</i>)	C-13		18,3
		1,54 (<i>m</i>)			
12	33,2	1,56 (<i>m</i>)			33,0
		1,43 (<i>m</i>)			
13	43,9	2,62 (<i>sl</i>)			43,9
14	39,7	1,94 (<i>d</i> , $J=10,0$)	C-8, C-15, C-16		38,5
		1,10 (<i>m</i>)			
15	49,0	2,03 (<i>sl</i>)	C-9, C-16, C-17		48,8
16	155,8	-----			155,4
17	103,0	4,72 (<i>sl</i>)	C-13, C-15		103,1
		4,73 (<i>sl</i>)			
18	15,4	0,75 (<i>s</i>)	C-3, C-4		22,8
19	28,3	0,95 (<i>s</i>)	C-3, C-4		64,3
20	17,5	1,00 (<i>l</i>)	C-9		18,3

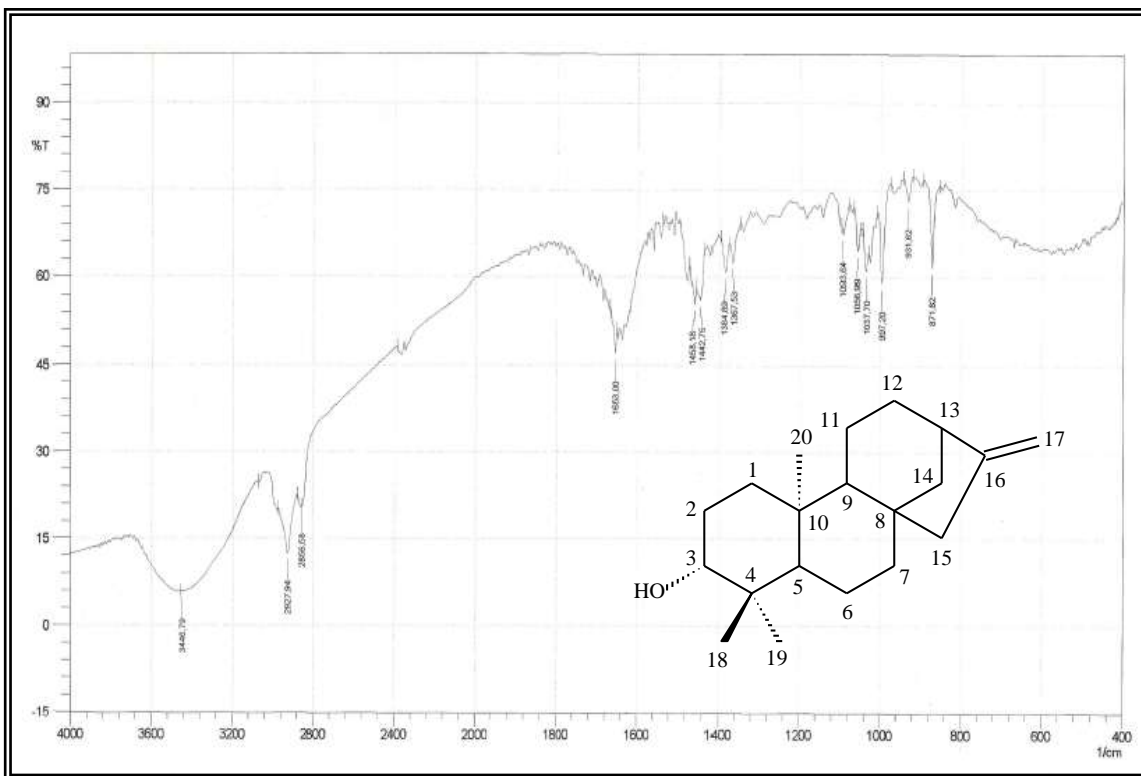


Figura 55. Espectro de IV em pastilhas de KBR de ER 3.

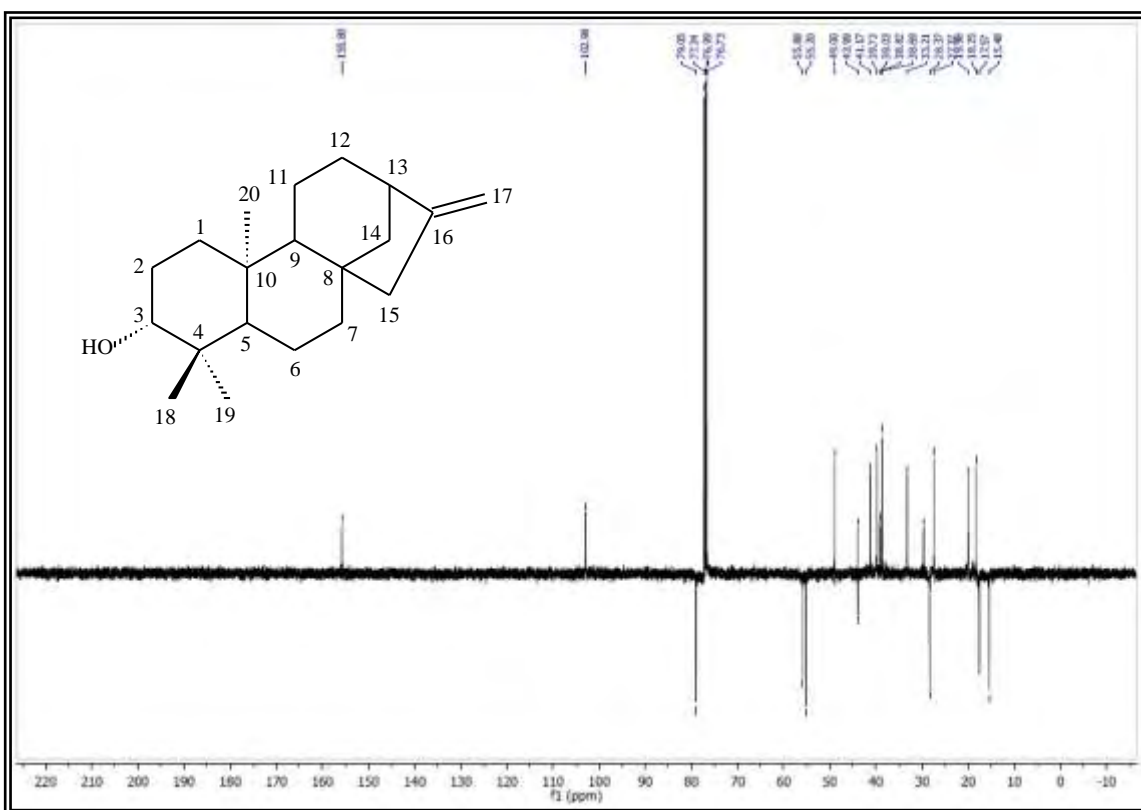


Figura 56. Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 3.

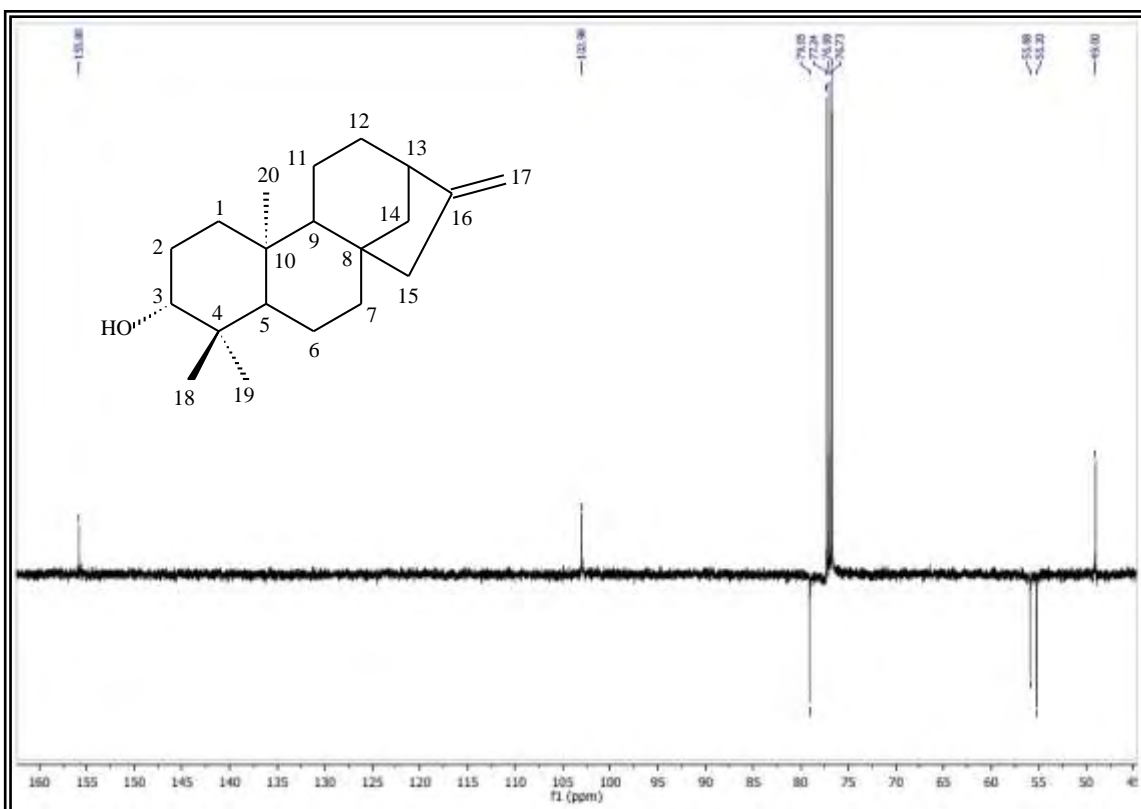


Figura 57. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região entre δ_{H} 160,0-45,0 ppm.

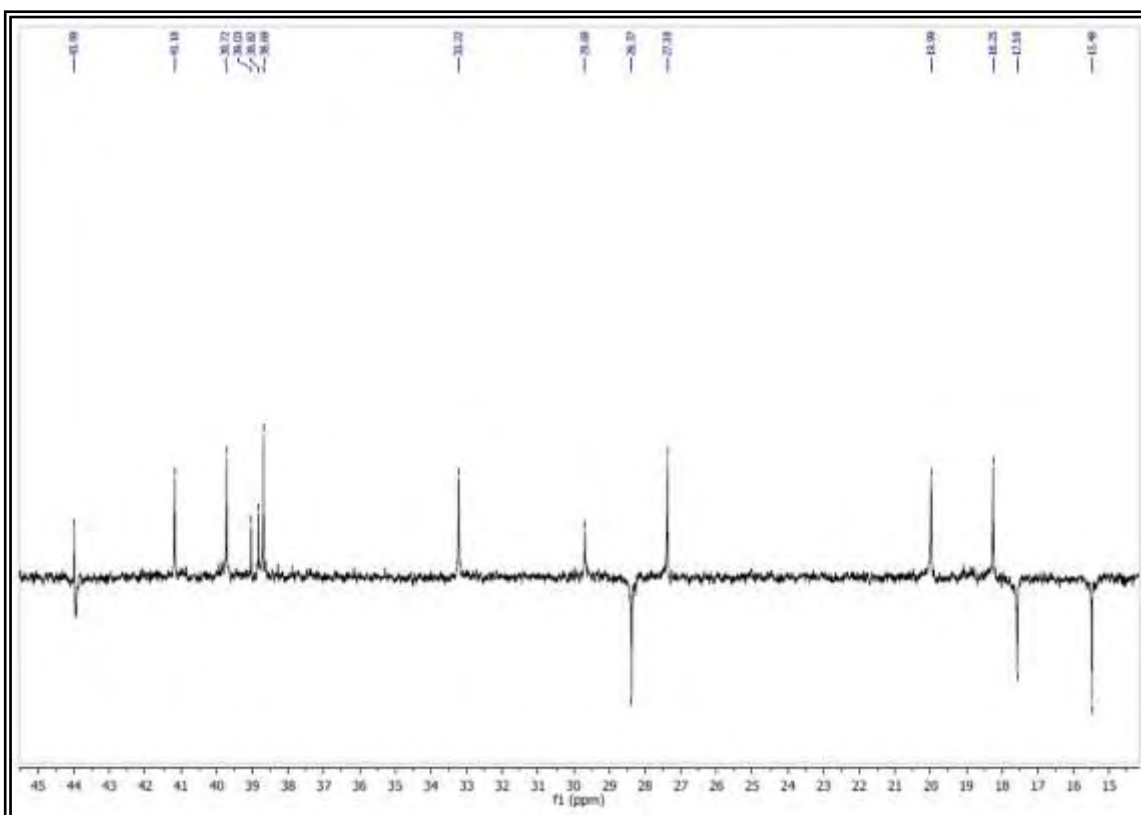


Figura 58. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região entre δ_{H} 45,0-15,0 ppm.

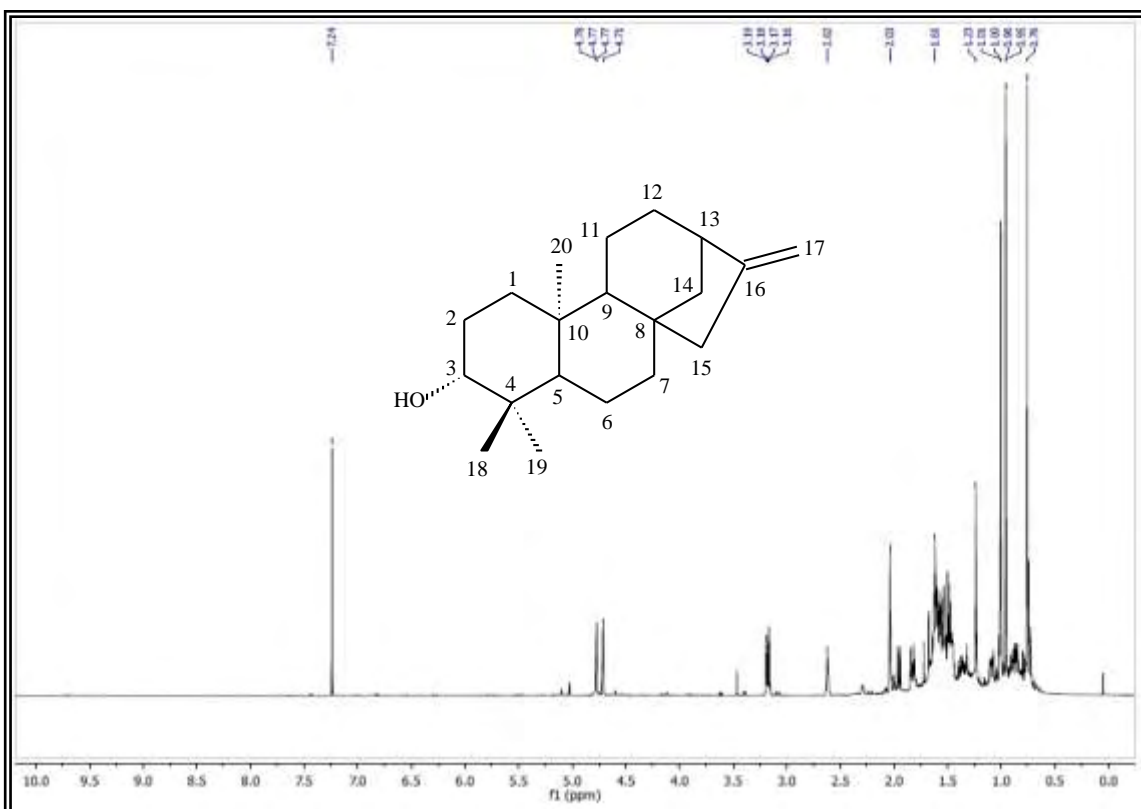


Figura 59. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 3.

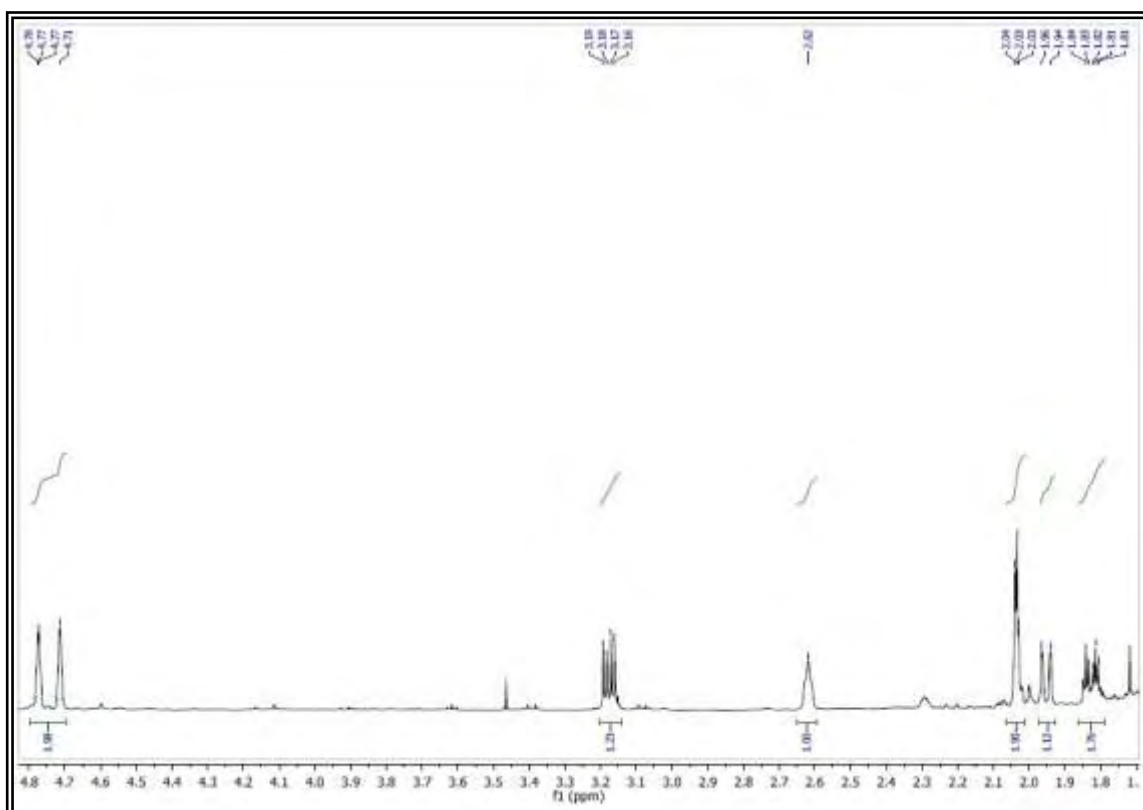


Figura 60. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região entre δ_{H} 4,8-1,8 ppm.

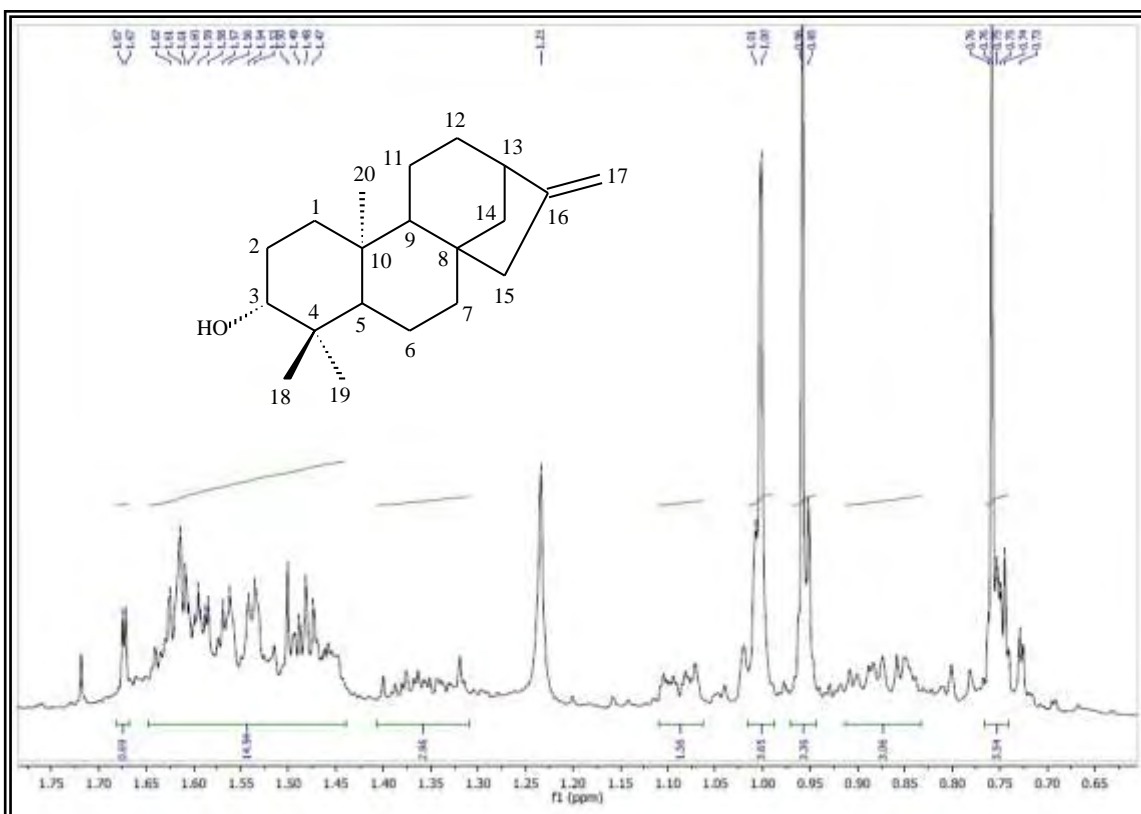


Figura 61. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região entre δ_{H} 1,7 – 0,6 ppm.

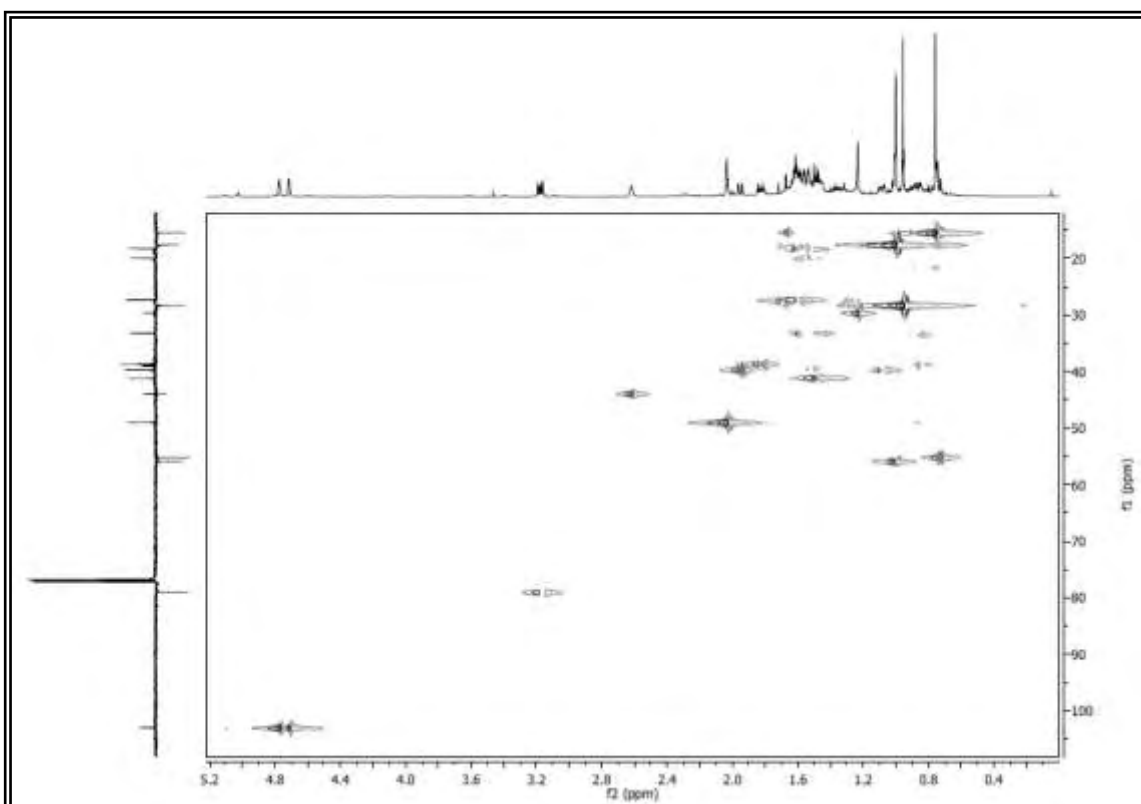


Figura 62. Espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 3.

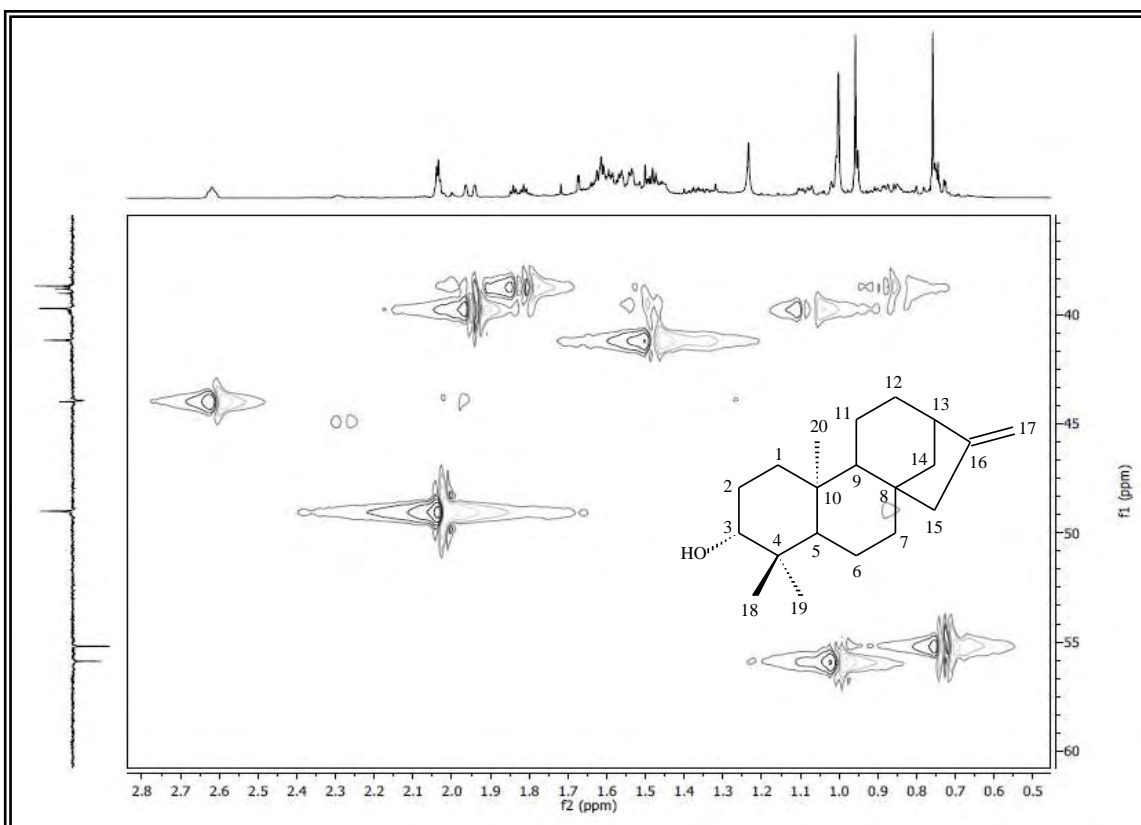


Figura 63. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região de (0,5 – 2,8 ppm) x (35,0 – 60,0 ppm)

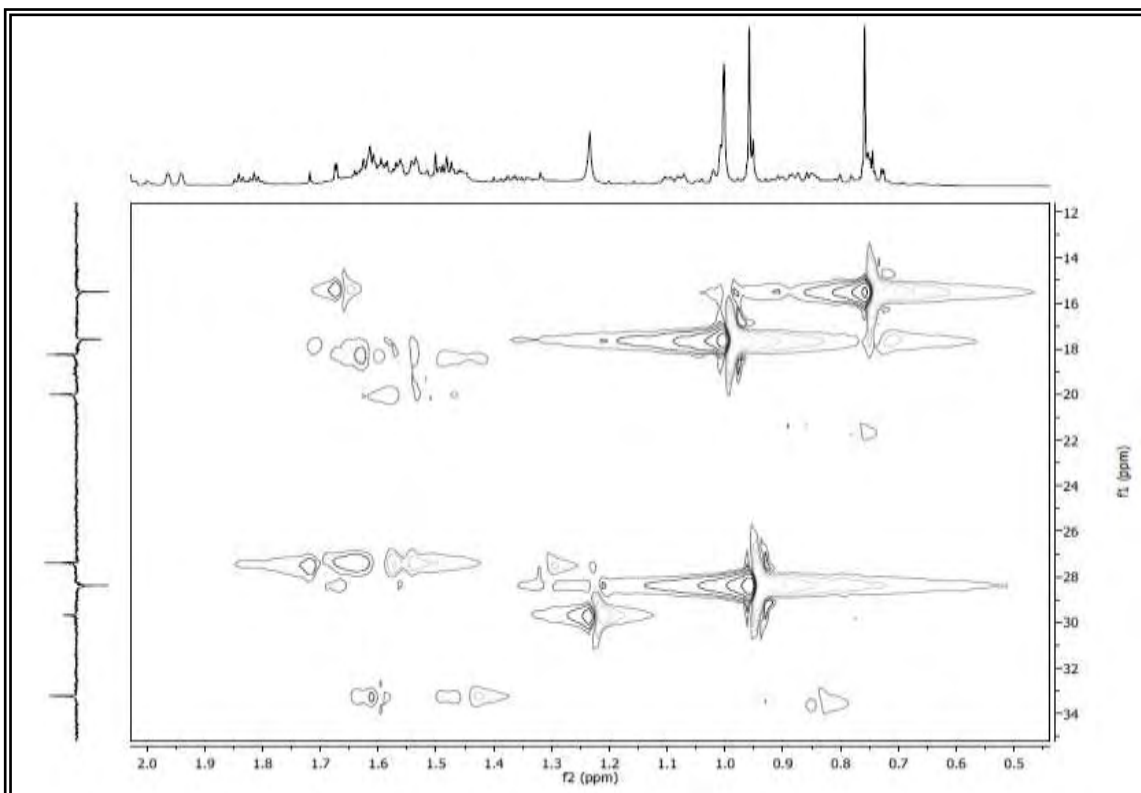


Figura 64. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região de (0,5 – 2,0 ppm) x (12,0 – 34,0 ppm).

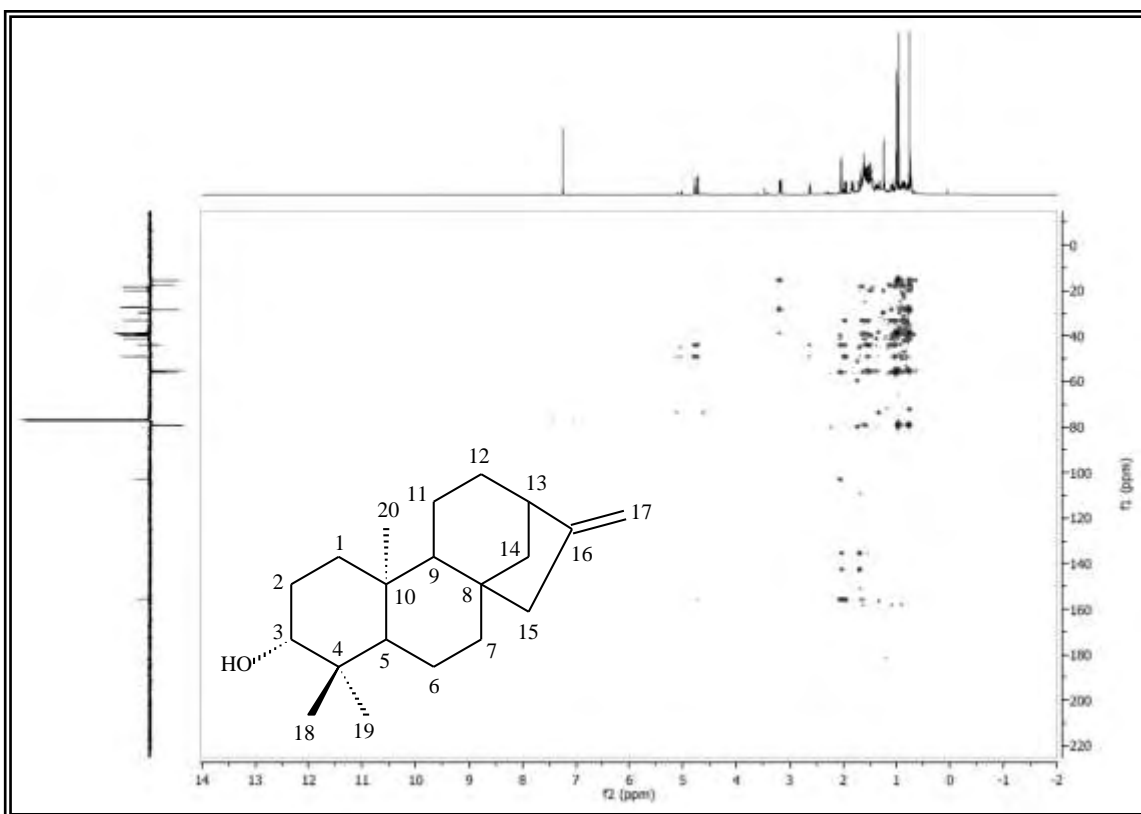


Figura 65. Espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 3.

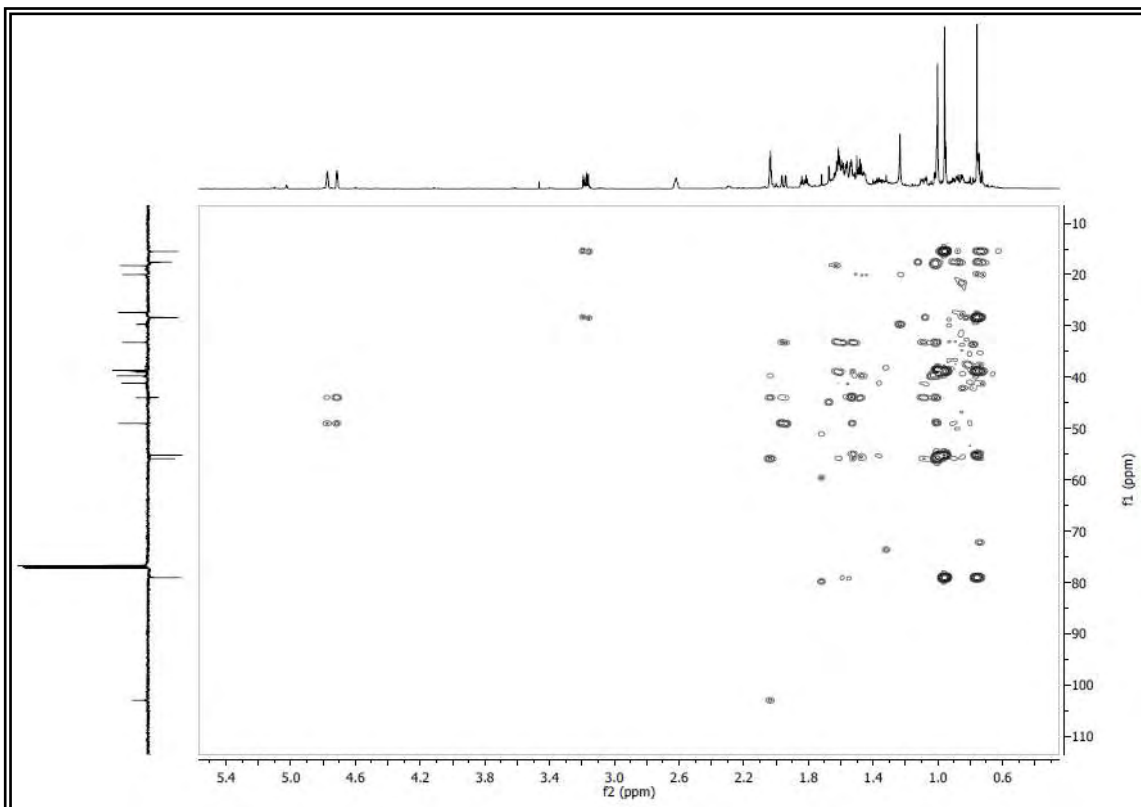


Figura 66. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região de (0,5 – 5,4 ppm) x (10,0 – 110,0 ppm).

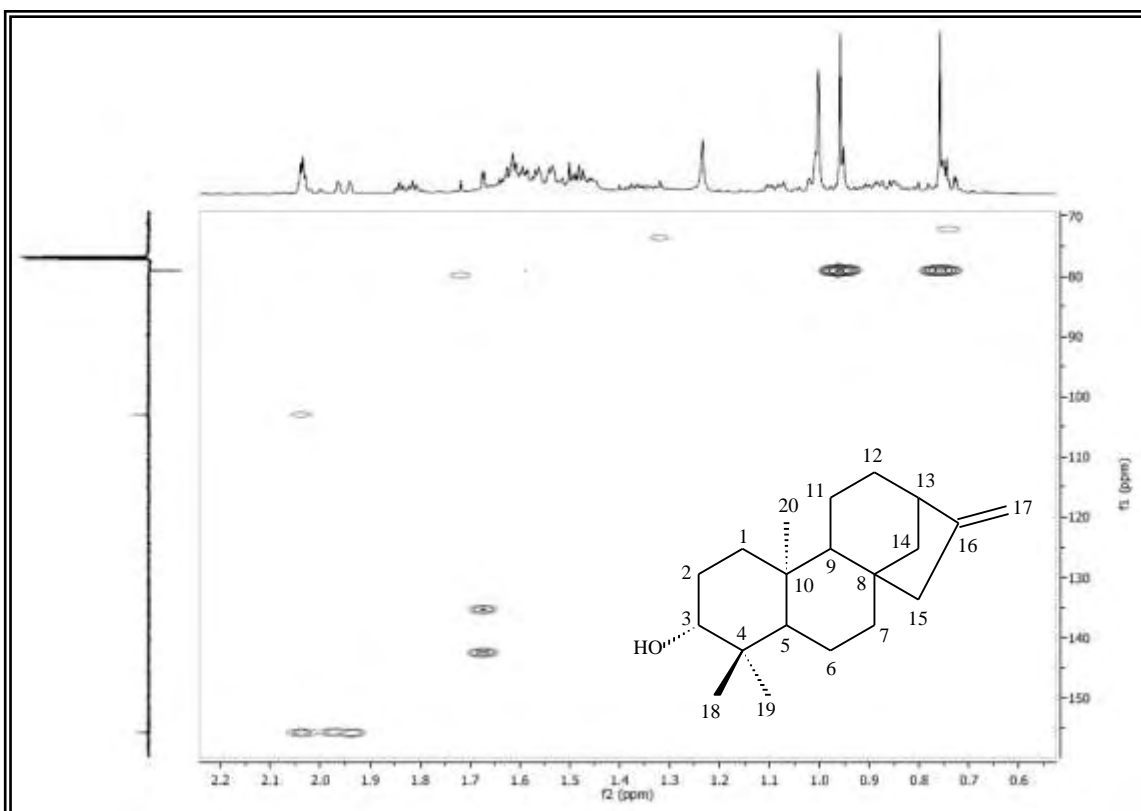


Figura 67. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região de (0,5 – 2,2 ppm) x (150,0 – 70,0 ppm).

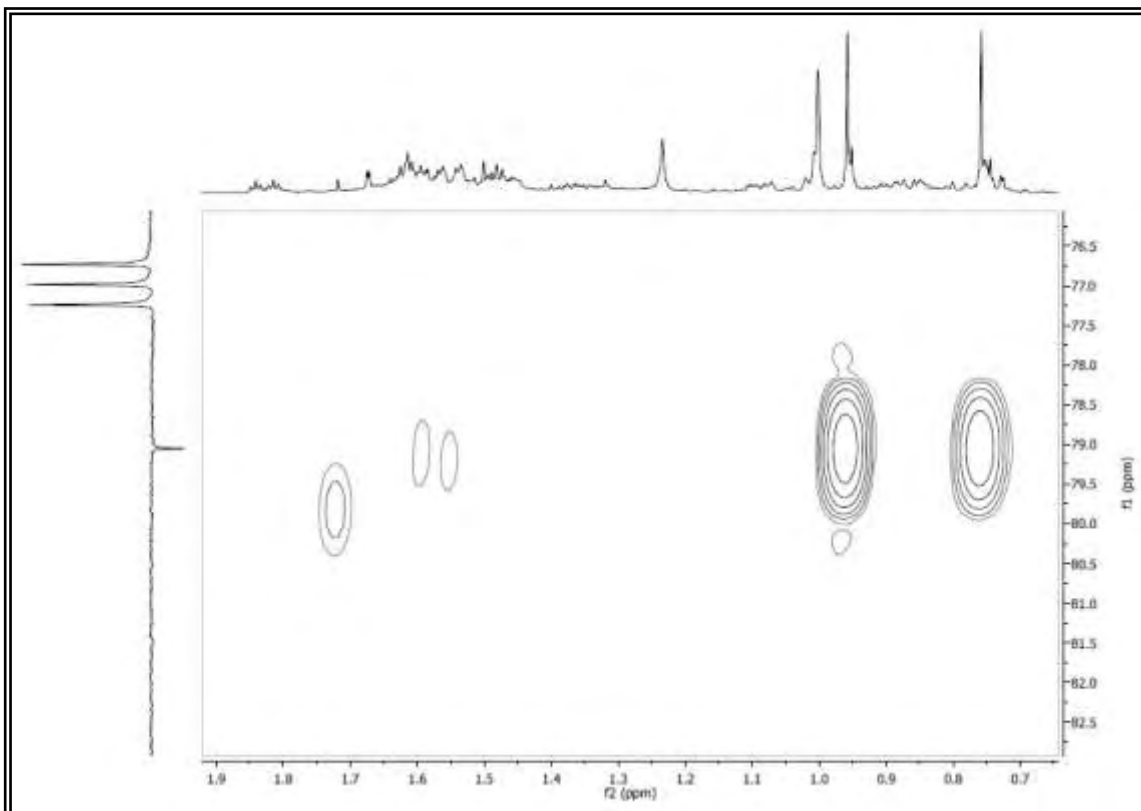


Figura 68. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região de (0,7 – 1,9 ppm) x (76,0 – 82,0 ppm).

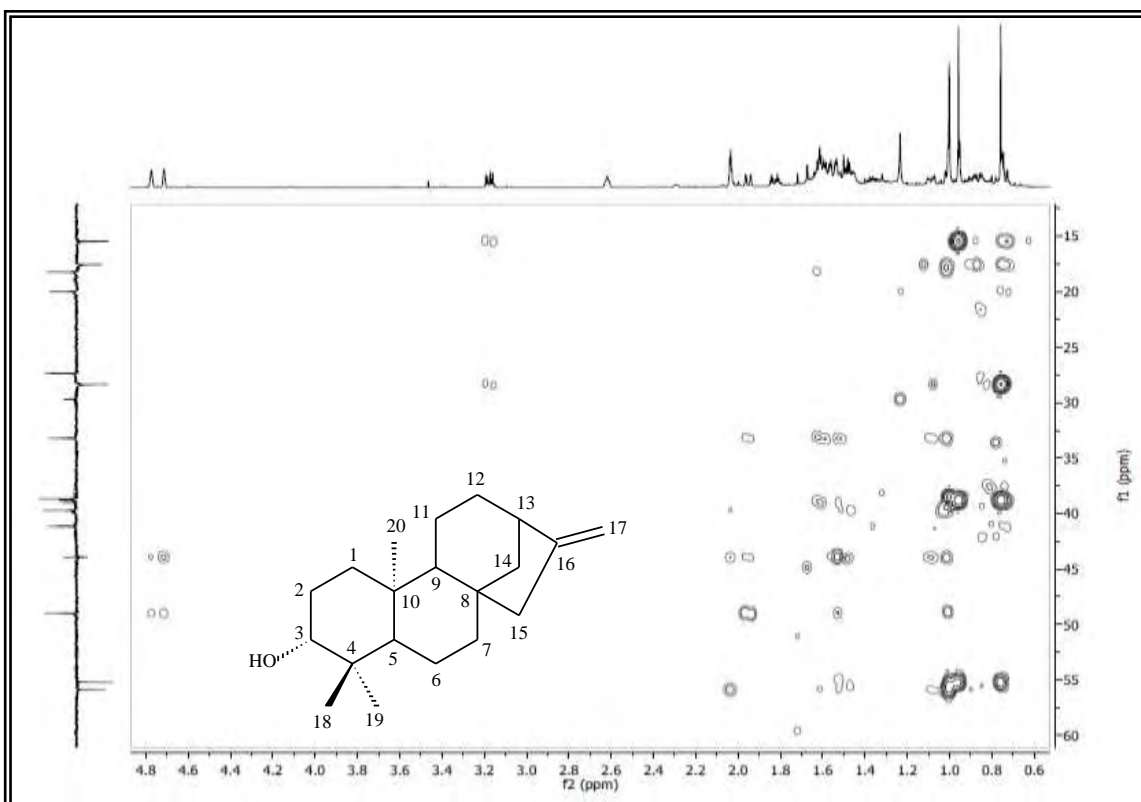


Figura 69. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região de (0,6 – 4,8 ppm) x (15,0 – 60,0 ppm).

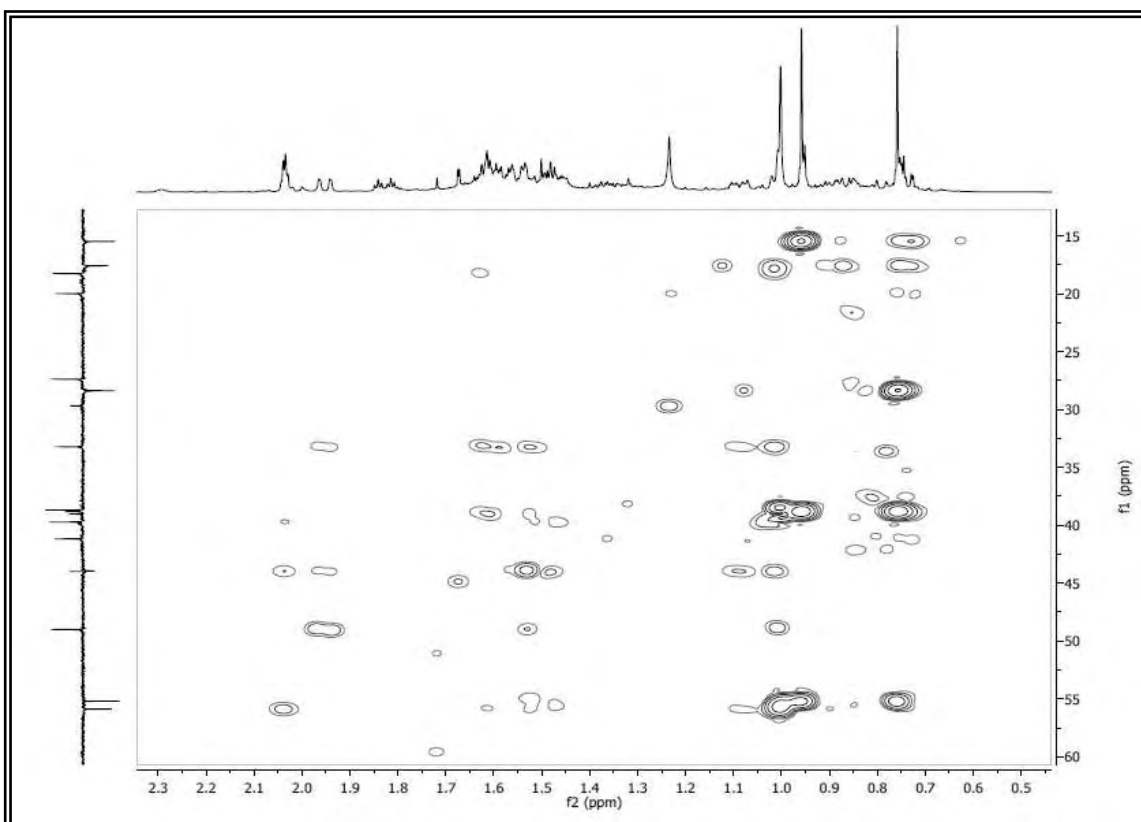


Figura 70. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região de (0,5 – 2,3 ppm) x (15,0 – 60,0 ppm).

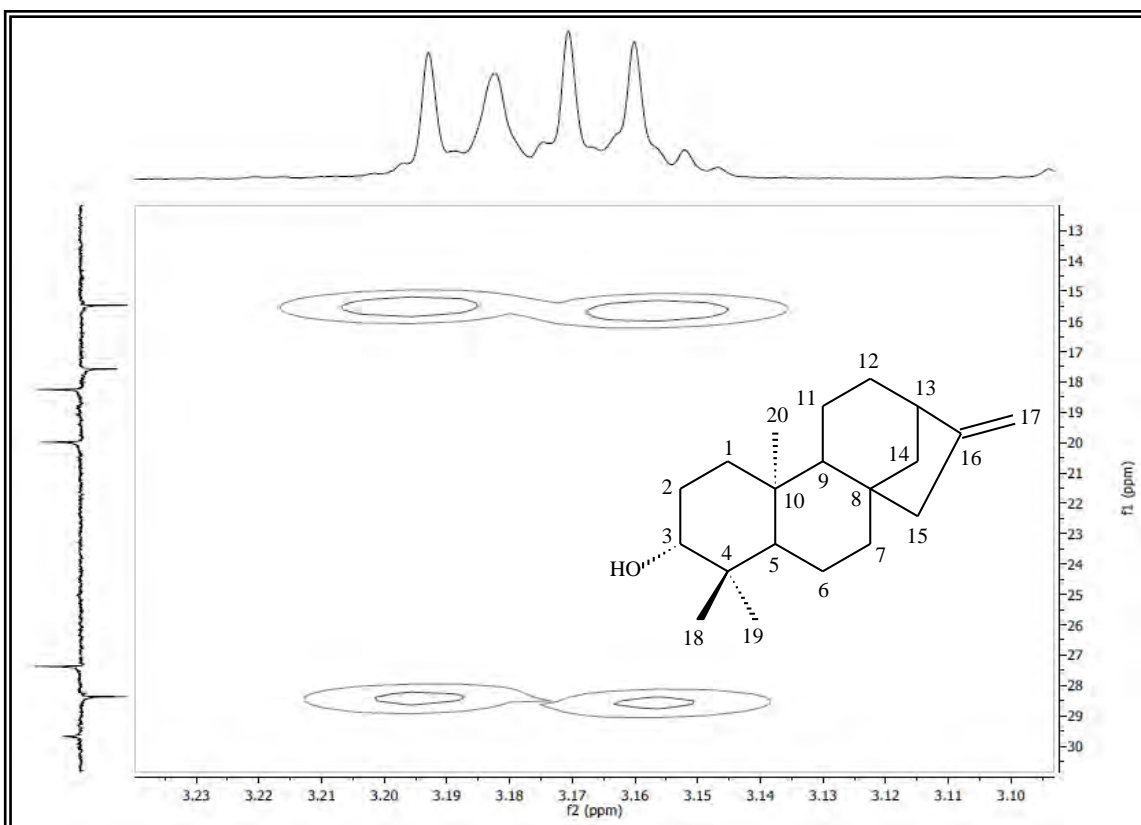


Figura 71. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região de (3,1 – 3,2 ppm) x (13,0 – 30,0 ppm).

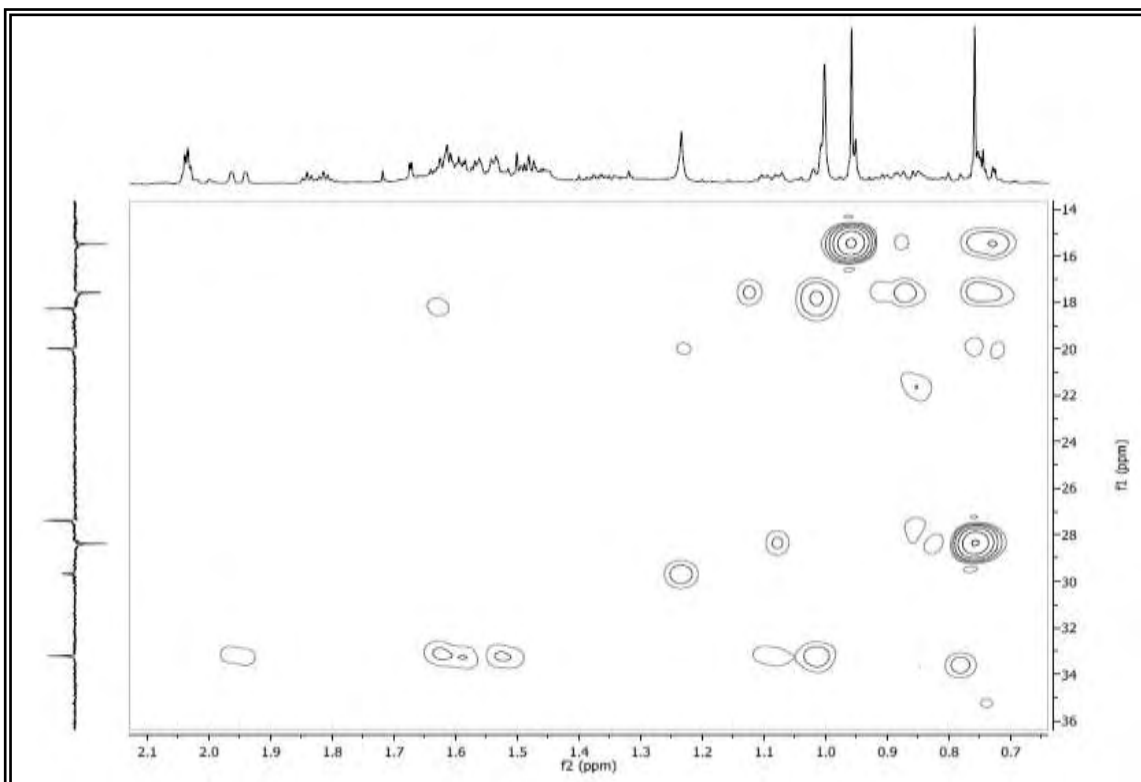


Figura 72. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região de (0,7 – 2,1 ppm) x (14,0 – 36,0 ppm).

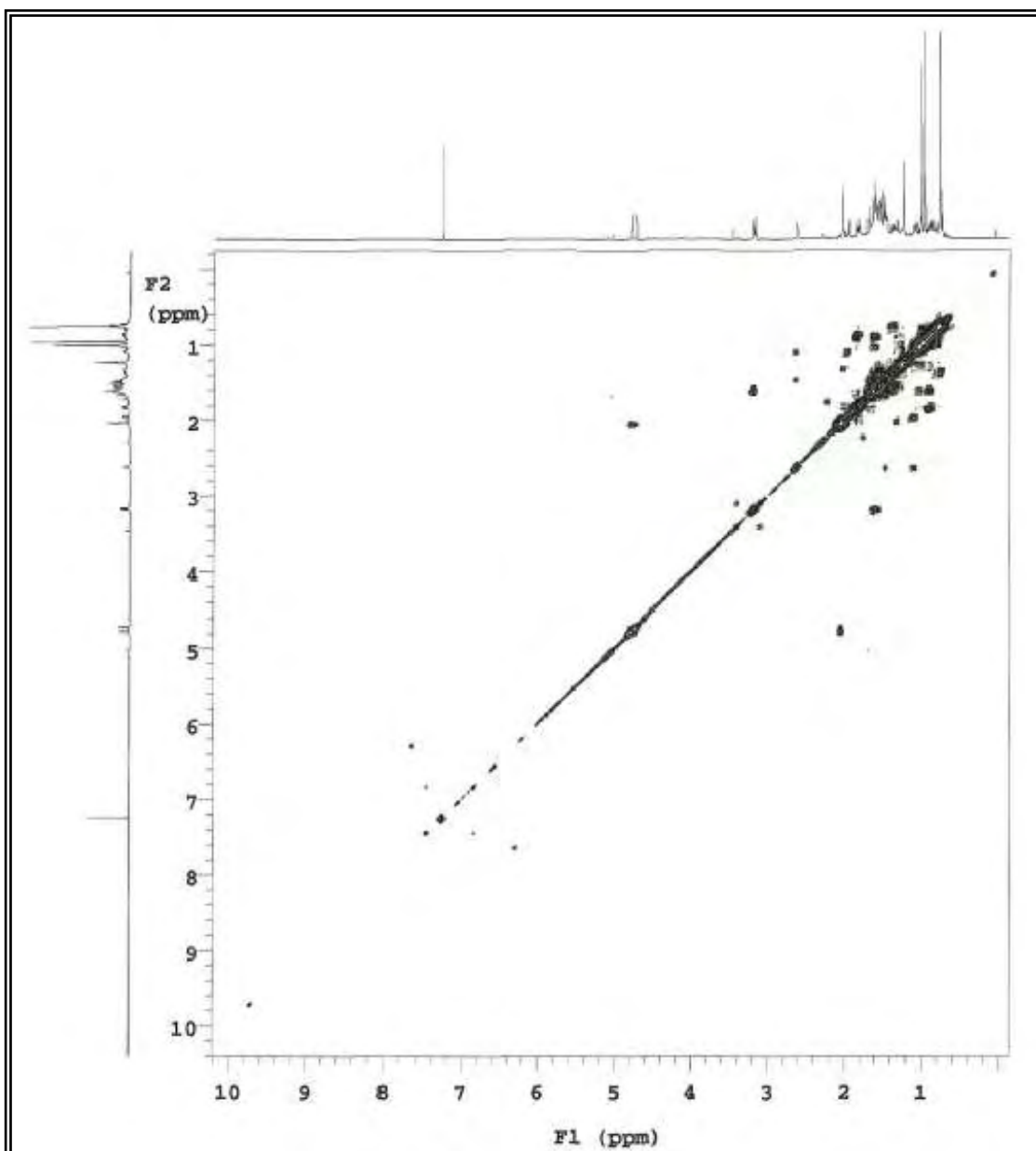
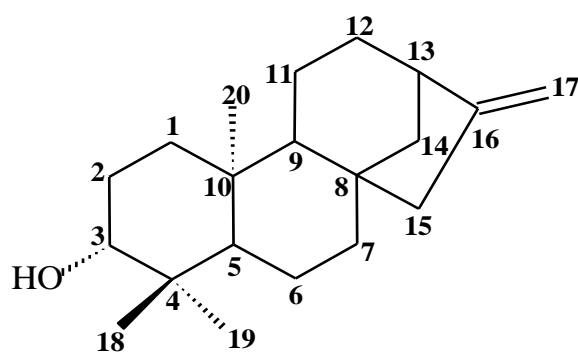


Figura 73. Espectro COSY (500 MHz, CDCl₃) de ER 3.



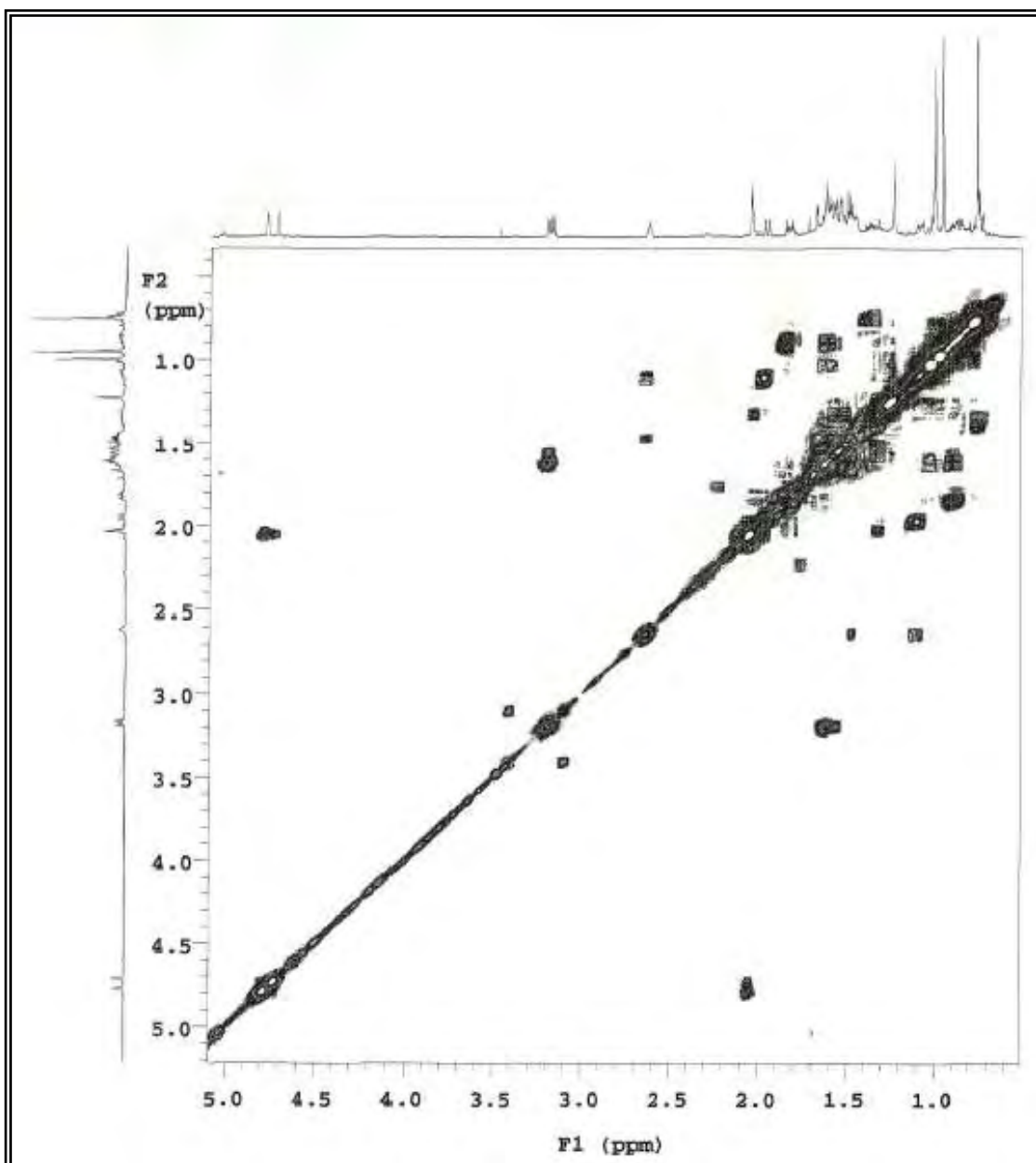
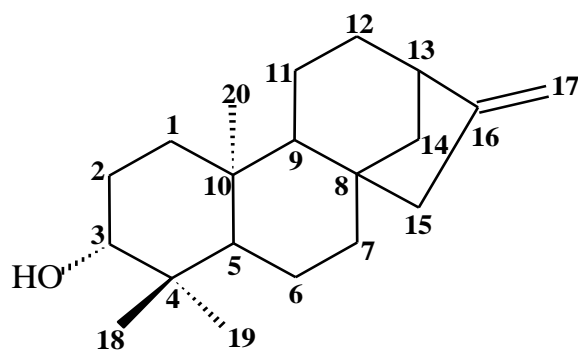


Figura 74. Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região de (0,5 – 5,0 ppm) x (0,5 – 5,0 ppm).



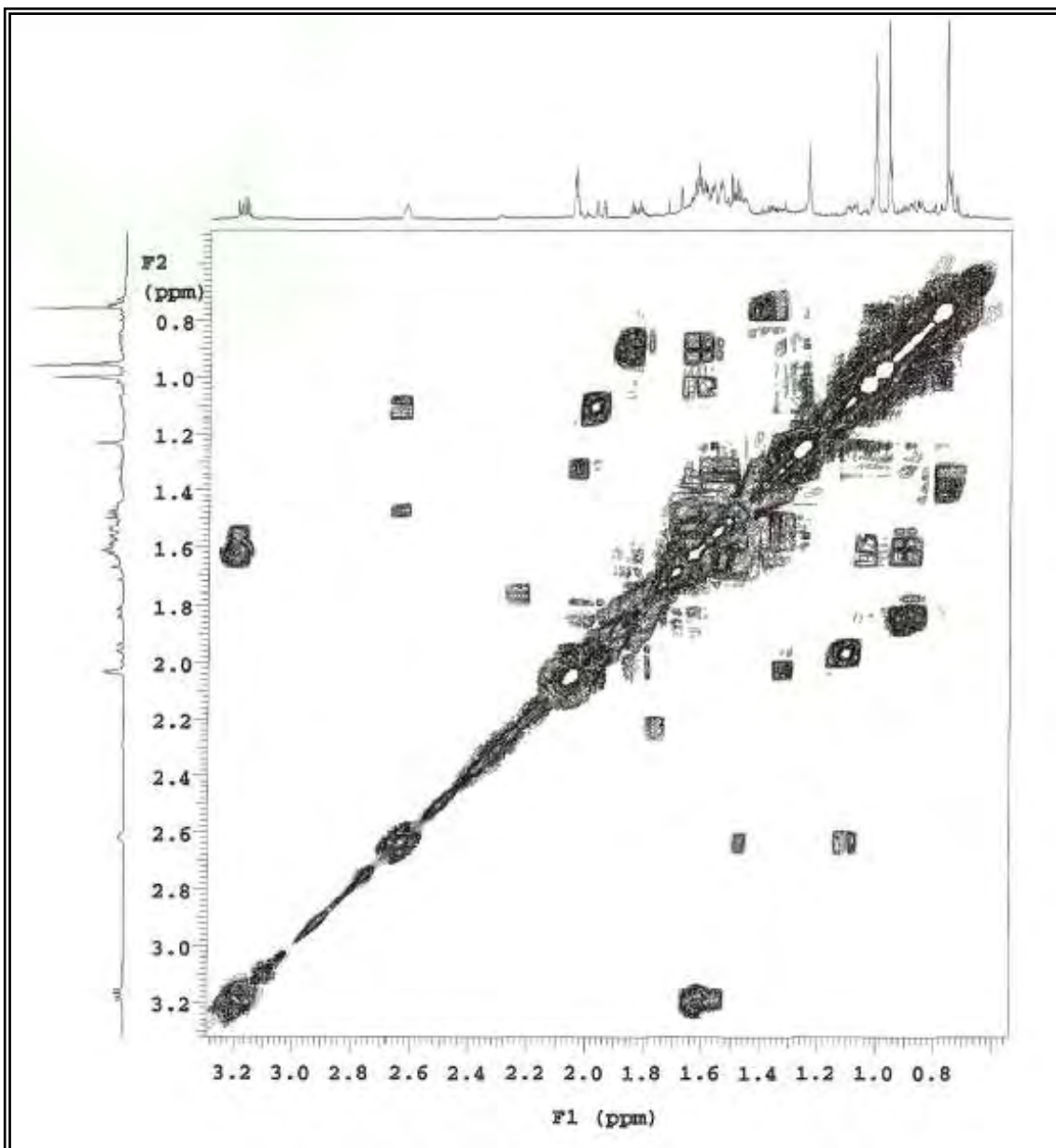
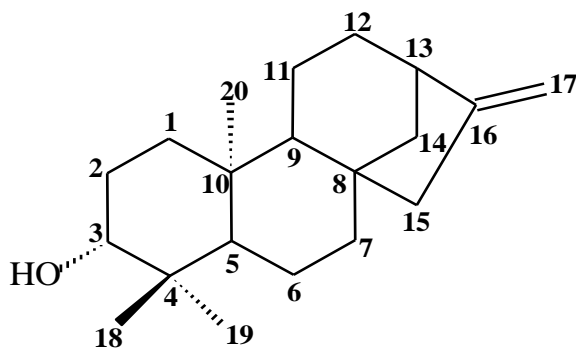


Figura 75. Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de ER 3 na região de (0,5 – 3,2 ppm) x (0,5 – 3,2 ppm).



8.2.4 Identificação estrutural de ER-4

A substância codificada como **ER-4** foi isolada na forma de um pó amorfo branco, $[\alpha]_D - 0,023$, solúvel em clorofórmio e com ponto de fusão 238-240 °C.

O espectro de IV obtido em KBr (Fig. 76, pág. 132) mostrou absorção em 3479 cm^{-1} característico de estiramento de hidroxila.

No espectro de RMN ^{13}C APT (125 MHz, CDCl_3), (Fig. 77, pág. 132) observou-se a presença de 20 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 de carbonos metínicos em δ_c 55,2, 56,1 e 144,9 ppm, após comparação com a literatura (ANSELL et al., 1993) permitiu sugerir um esqueleto carbônico de diterpenos bicíclicos do tipo labdano.

No espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 81, pág. 134) observou-se um envelope de sinais na região de δ_H 2,60 a 0,82 ppm com multiplicidade não resolvidas. Observou-se a presença de 4 singletos em δ_H 1,25, 1,07, 0,99 e 0,83 ppm correspondente a quatro metilas (Fig. 84, pág. 136). A análise do espectro de RMN ^1H indicou a existência de hidrogênios ligados a carbono monossubstituídos em δ_H 5,89 (1H, *dd*, $J = 17,5$ e 11,0 Hz), 5,21 (1H, *d*, $J = 17,0$ Hz) e 5,06 (1H, *d*, $J = 11,5$ Hz), sinais de hidrogênios ligados a carbono olefínicos em δ_H 4,86 (*s*) e 4,55 (*s*) (Fig. 82, pág. 135). As demais multiplicidades e deslocamentos químicos estão compilados na **Tabela 6** (pág. 131).

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – gHMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) (Fig. 85-89, pág. 136-138) e suas expansões, pode-se verificar correlações diretas entre os hidrogênios em δ_H 1,55, 1,58 e 5,89 ppm com os carbonos em δ_c 55,2; 56,1 e 144,9 ppm (Fig. 86, pág. 137), atribuindo-os a C-5, C-9 e C-14, respectivamente. Deslocamentos químicos em δ_H 1,25, 0,93, 1,07 e 0,83 ppm mostraram correlações com δ_c 28,2, 21,6, 26,0 e 13,9 ppm (Fig. 87, pág. 137) sendo atribuídos a C-16, C-18, C-19 e C-20. As demais correlações estão compiladas na **Tabela 6** (pág. 131).

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – gHMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) e suas expansões (Fig. 90-94, pág. 139-141) observamos correlações dos hidrogênios em δ_H 0,83 (*s*), CH₃-20, com os carbonos em δ_c 37,6, 55,2, 56,1 e 40,0 ppm (Fig. 94, pág. 141), atribuindo-os a C-1, C-5, C-9 e C-10, correlações do hidrogênio em δ_H 1,25 (*s*), CH₃-16 com os carbonos em δ_c 41,1, 73,5 e 144,6 ppm (Fig. 90 e 92, pág. 139 e 140), atribuindo-os a C-12, C-13 e C-14 respectivamente, juntamente com a correlação dos

sinais em δ_{H} 4,86 e 4,55 ppm (Fig. 92, pág. 140), CH_2 -17 com o carbono em δ_{C} 37,8 ppm atribuindo-o a C-7, confirmaram as atribuições feitas para estes carbonos. A posição da carbonila em C-3 foi confirmada através da correlação dos sinais em δ_{H} 0,93 e 1,07 ppm com δ_{C} 217,0 (Fig. 91, pág. 139).

No espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ gCOSY (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 95, pág. 142) o sinal em δ_{H} 5,21 e 5,06 ppm (H-15) mostrou correlação com o sinal em δ_{H} 5,89 ppm (Fig. 97, pág. 144), sendo portanto esse último atribuído a H-14.

Após análise dos dados espectrais e comparação com a literatura determinou-se **ER-4** como sendo o *ent*-3-oxo-13-hidroxi-8(17),14-labdadieno.

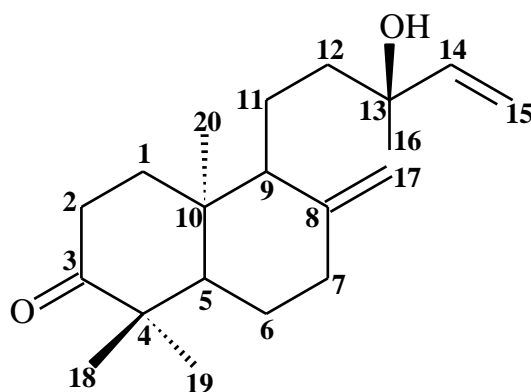
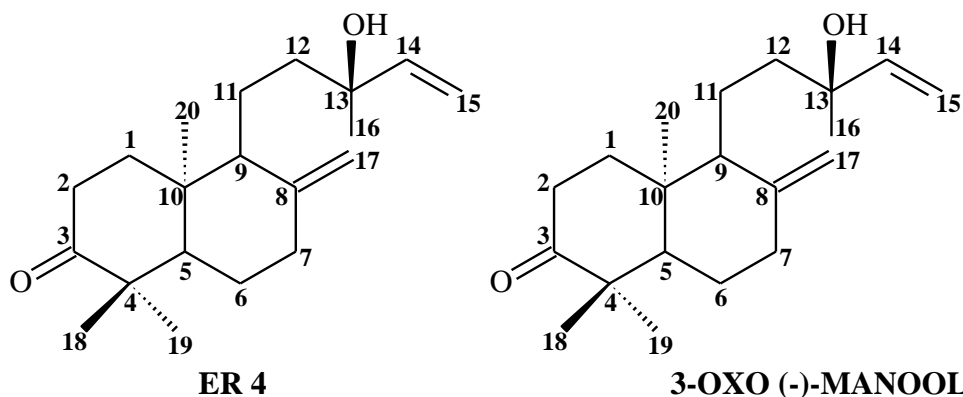


Tabela 6. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais em CDCl_3 a 500 MHz e 125 MHz de ER-4.



HMQC		HMBC	COSY	ANSELL (1993)
C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta_{\text{C}} \times \delta_{\text{H}}$	$\delta^{13}\text{C}$
1	37,6	2,01 (<i>m</i>) 2,07 (<i>m</i>)	-	37,6
2	34,7	2,34 (<i>m</i>) 2,37 (<i>m</i>)	-	34,7
3	217,0		-	216,8
4	47,7		-	47,7
5	55,2	1,55 (<i>m</i>)	-	55,3
6	25,0	1,68 (<i>m</i>) 1,60 (<i>m</i>)	-	25,1
7	37,8	2,37 (<i>m</i>) 2,42 (<i>m</i>)	-	37,9
8	147,3		-	147,3
9	56,1	1,58 (<i>m</i>)	-	56,2
10	40,0		-	39,5
11	18,2		-	18,2
12	41,1	1,71 (<i>m</i>) 1,72 (<i>m</i>)	-	41,2
13	73,5	2,62 (<i>sl</i>)	-	73,4
14	144,9	5,89 (<i>dd</i> , $J_1=11,0$; $J_2=17,5$ Hz)	-	H-15
15	111,8	5,21 (<i>d</i> , $J=17,0$ Hz) 5,06 (<i>d</i> , $J=11,5$ Hz)	C-13	H-14
16	28,2	1,25 (<i>s</i>)	C-12, C-13, C-14	28,2
17	107,6	4,86 (<i>s</i>) 4,55 (<i>s</i>)	C-7, C-9	107,6
18	26,0	1,07 (<i>s</i>)	C-3, C-4, C-5, C-19	26,0
19	21,6	0,93 (<i>s</i>)	C-3, C-4, C-5, C-18	21,7
20	13,9	0,83 (<i>s</i>)	C-1, C-5, C-9, C-10	14,0

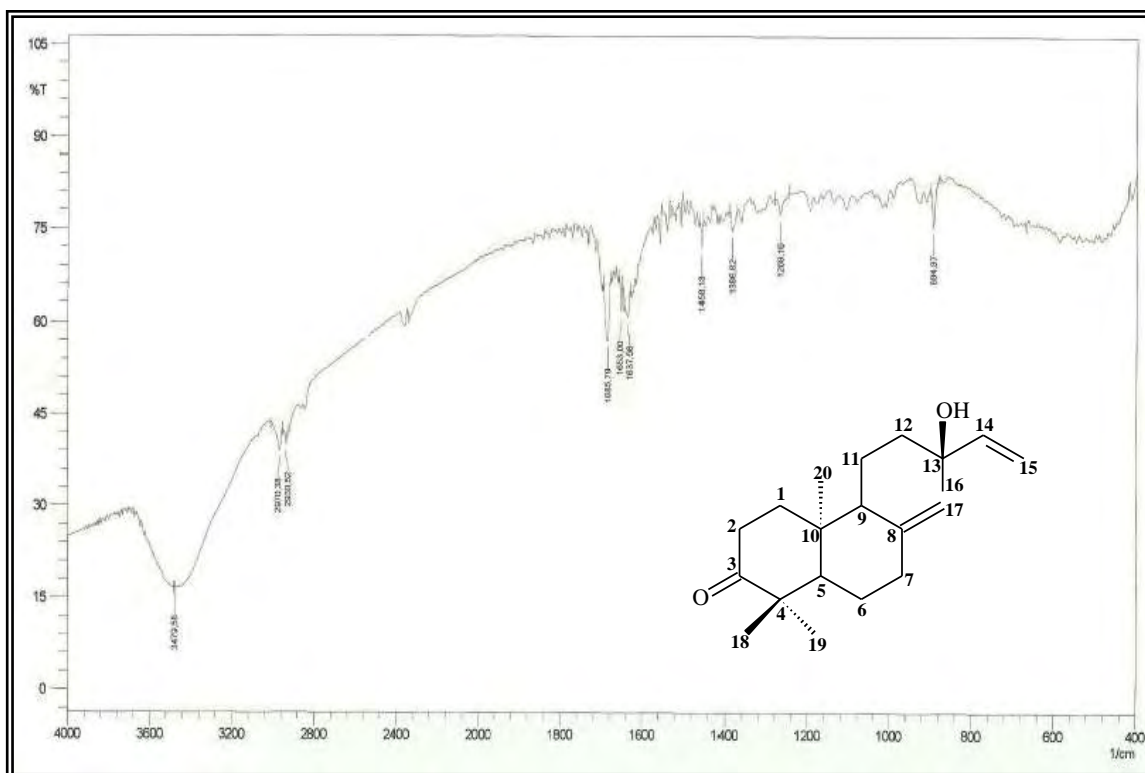


Figura 76. Espectro de IV em pastilhas de KBR de ER 4.

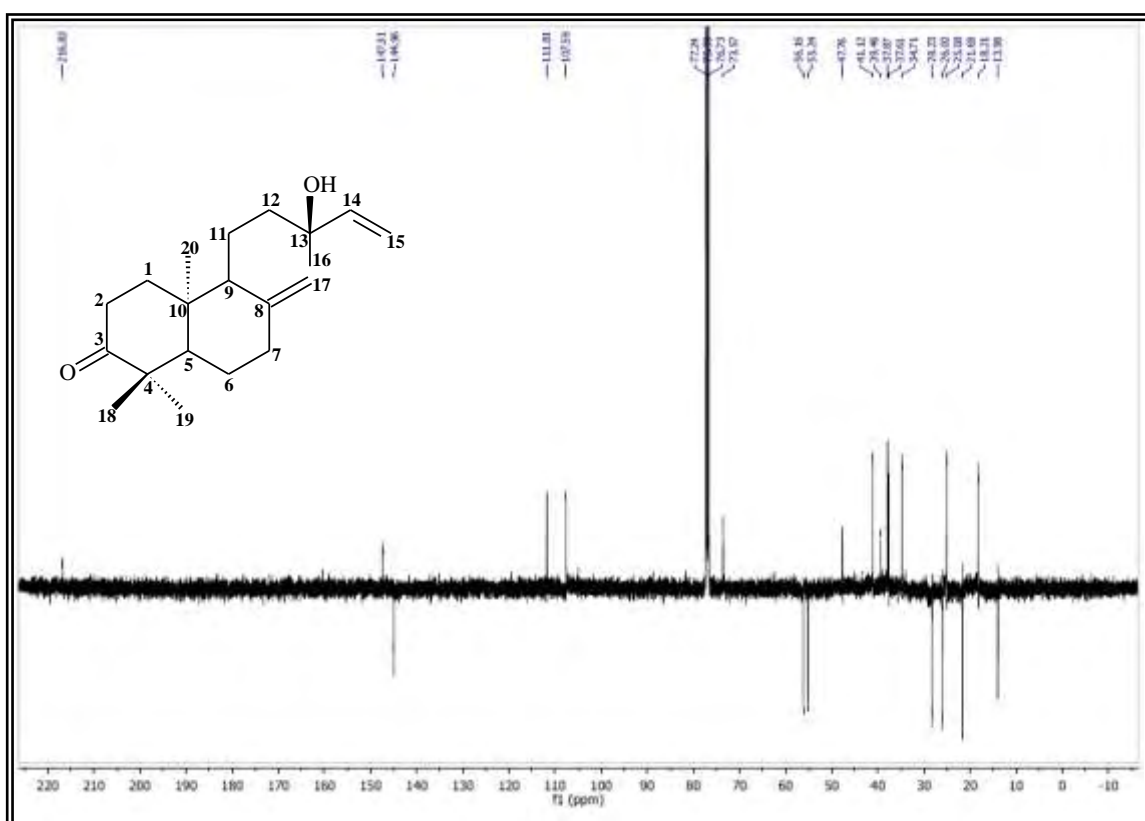


Figura 77. Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 4.

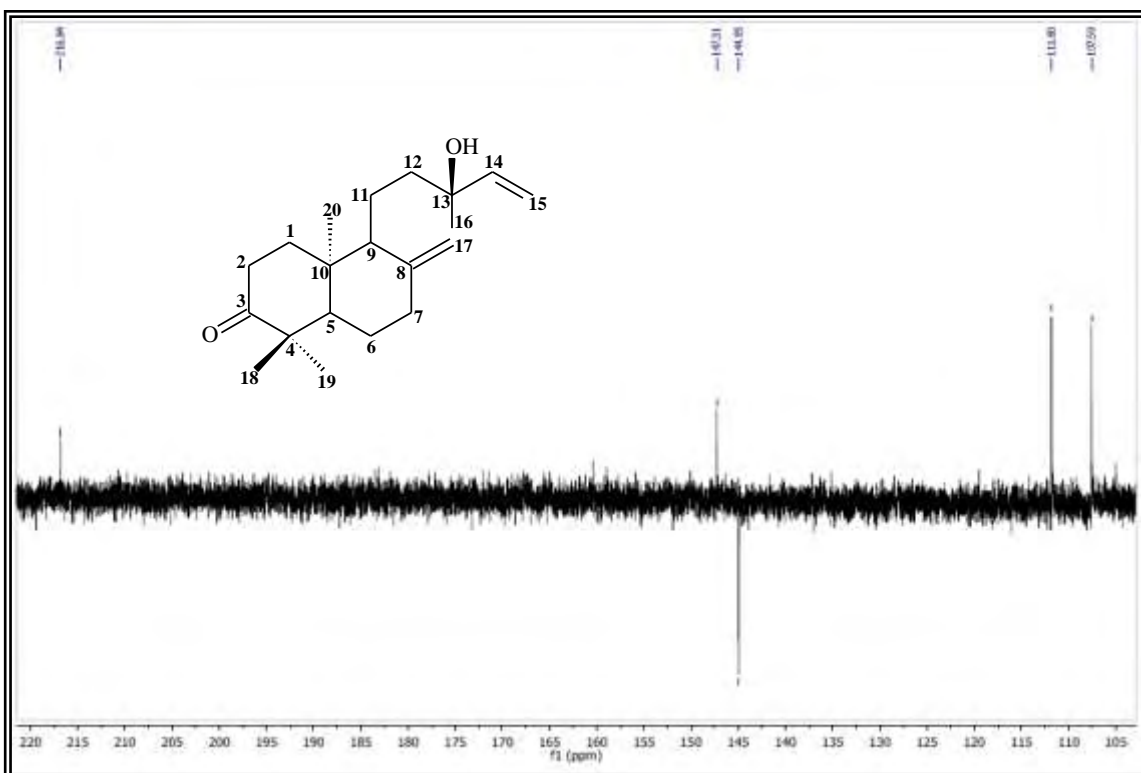


Figura 78. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região entre δ_{H} 220-105 ppm.

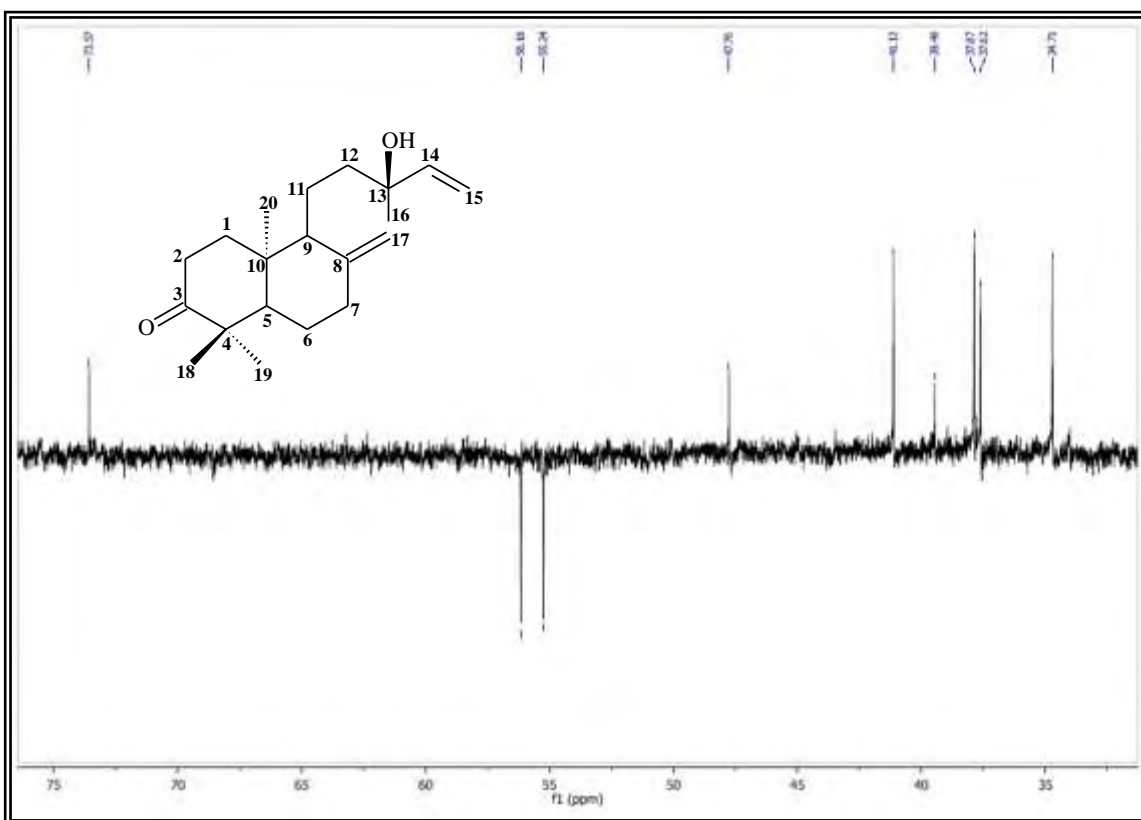


Figura 79. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região entre δ_{H} 75-30 ppm.

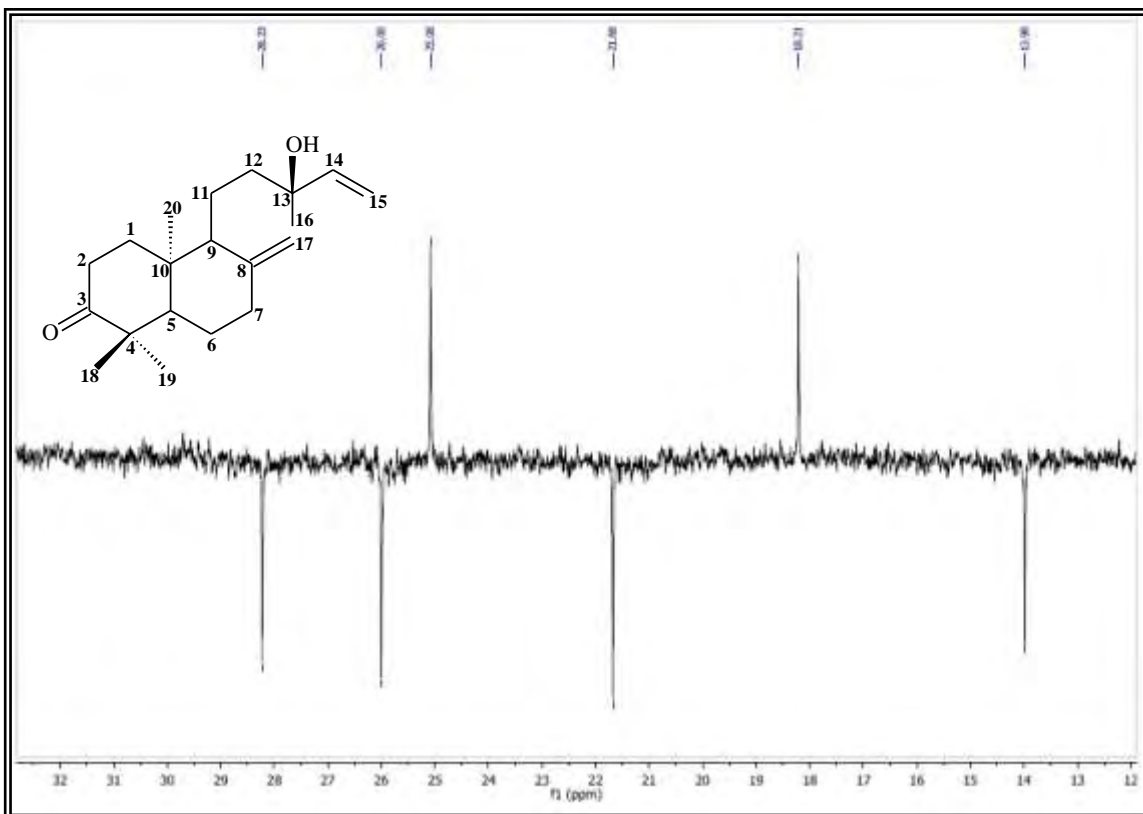


Figura 80. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região entre δ_{H} 32-13 ppm.

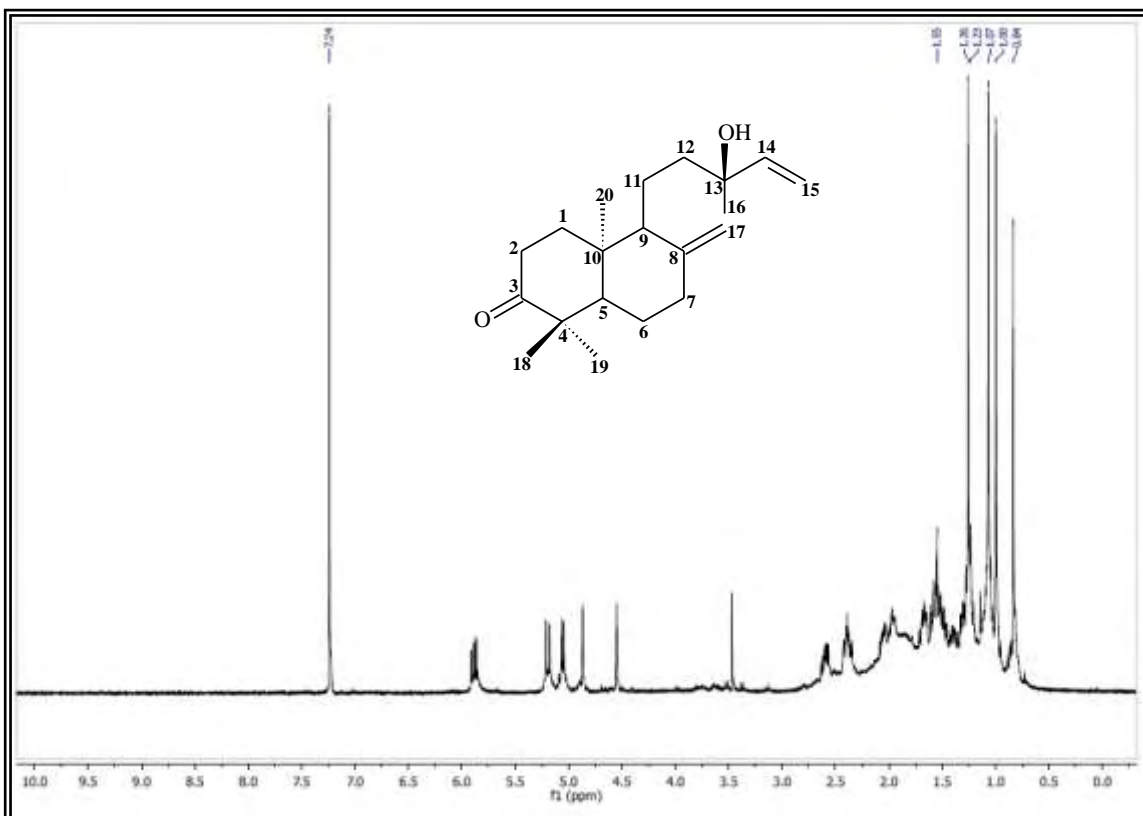


Figura 81. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 4.

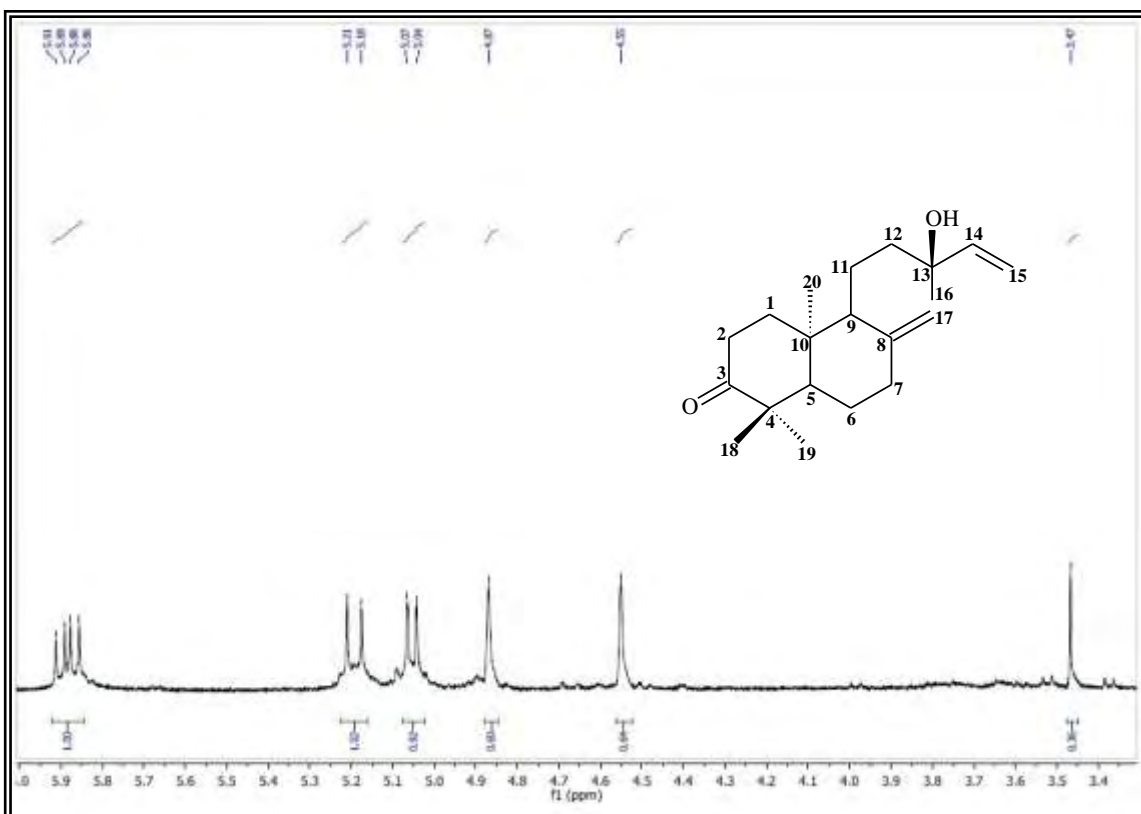


Figura 82. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região entre δ_{H} 6,0-3,5 ppm.

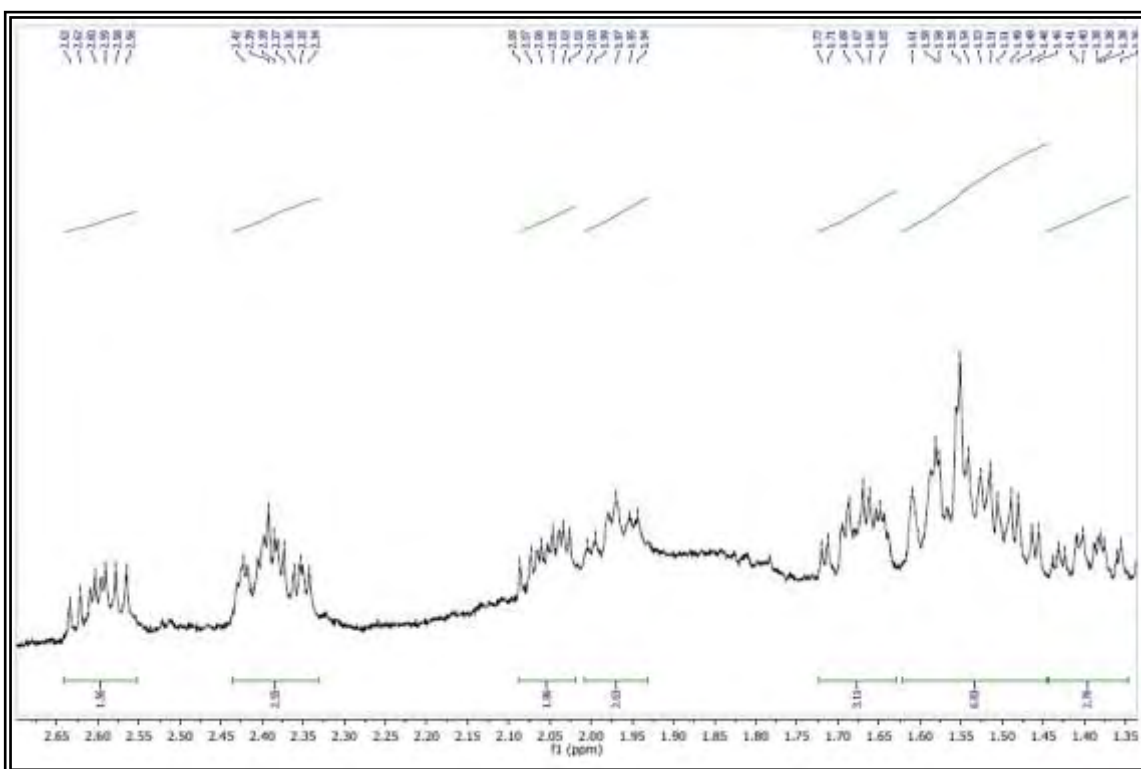


Figura 83. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região entre δ_{H} 2,6-1,3 ppm.

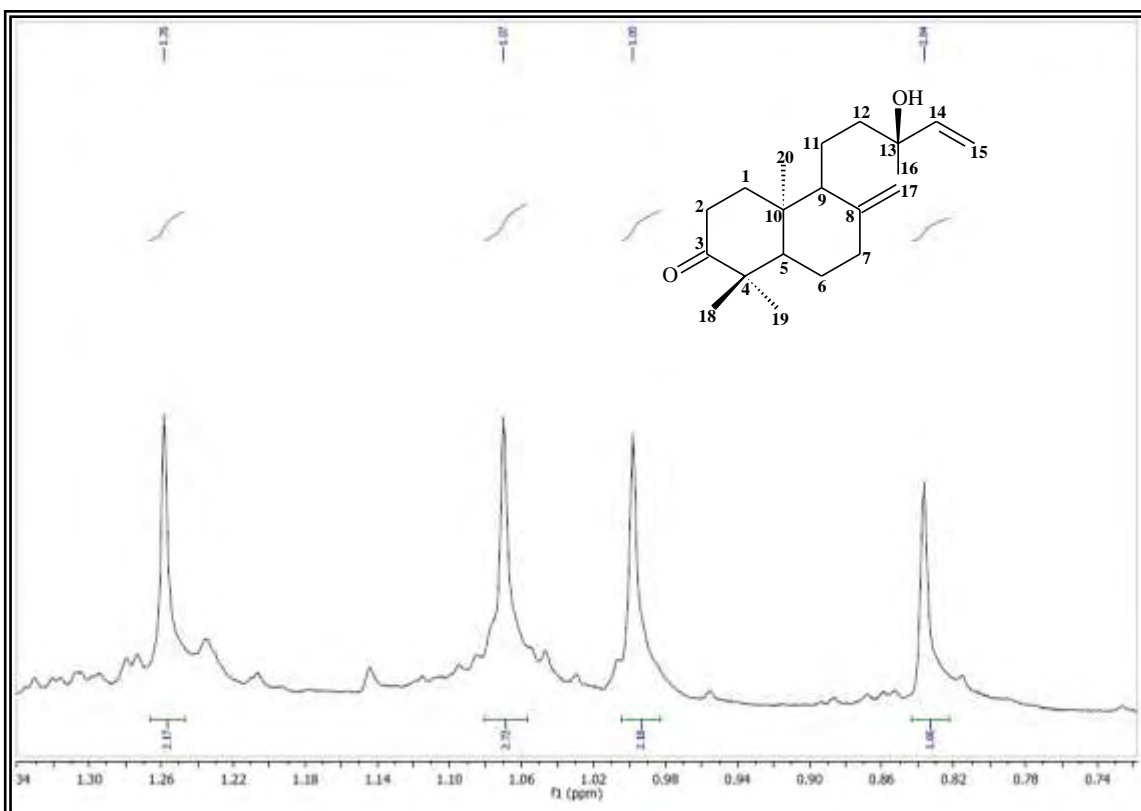


Figura 84. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região entre δ_{H} 1,3-0,7 ppm.

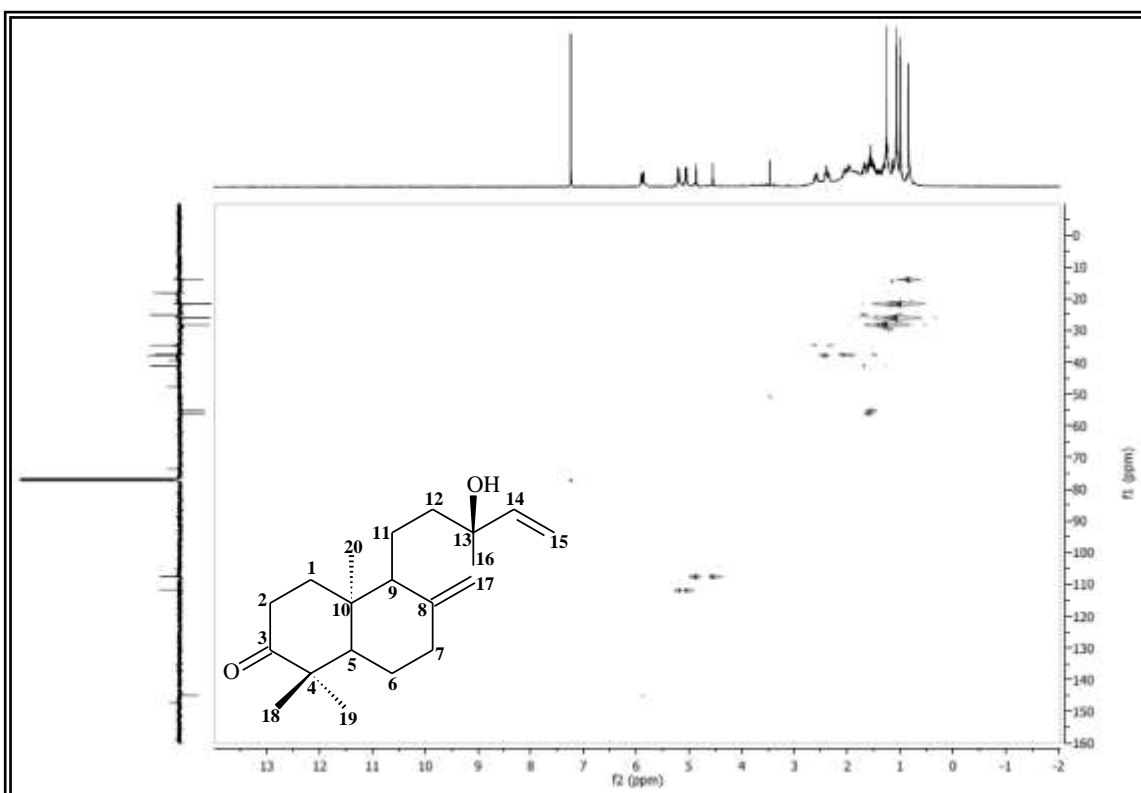


Figura 85. Espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 4.

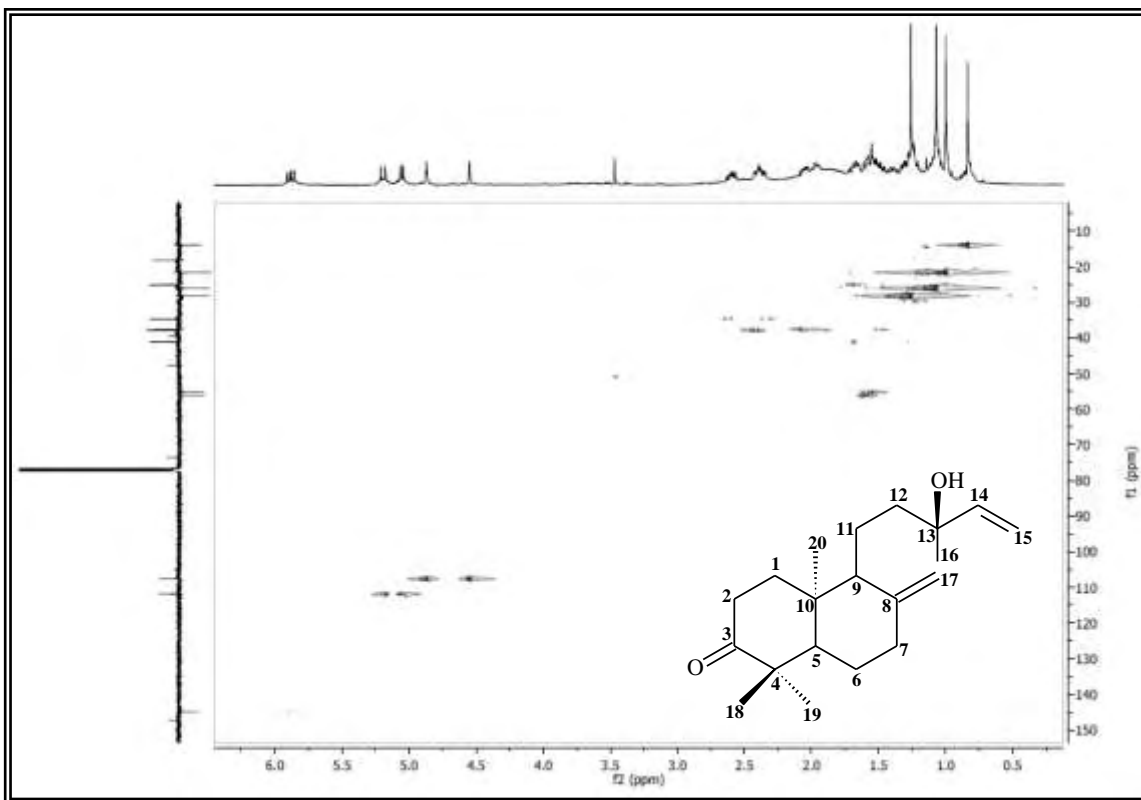


Figura 86. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região de (0,5 – 6,0 ppm) x (10,0 – 150,0 ppm).

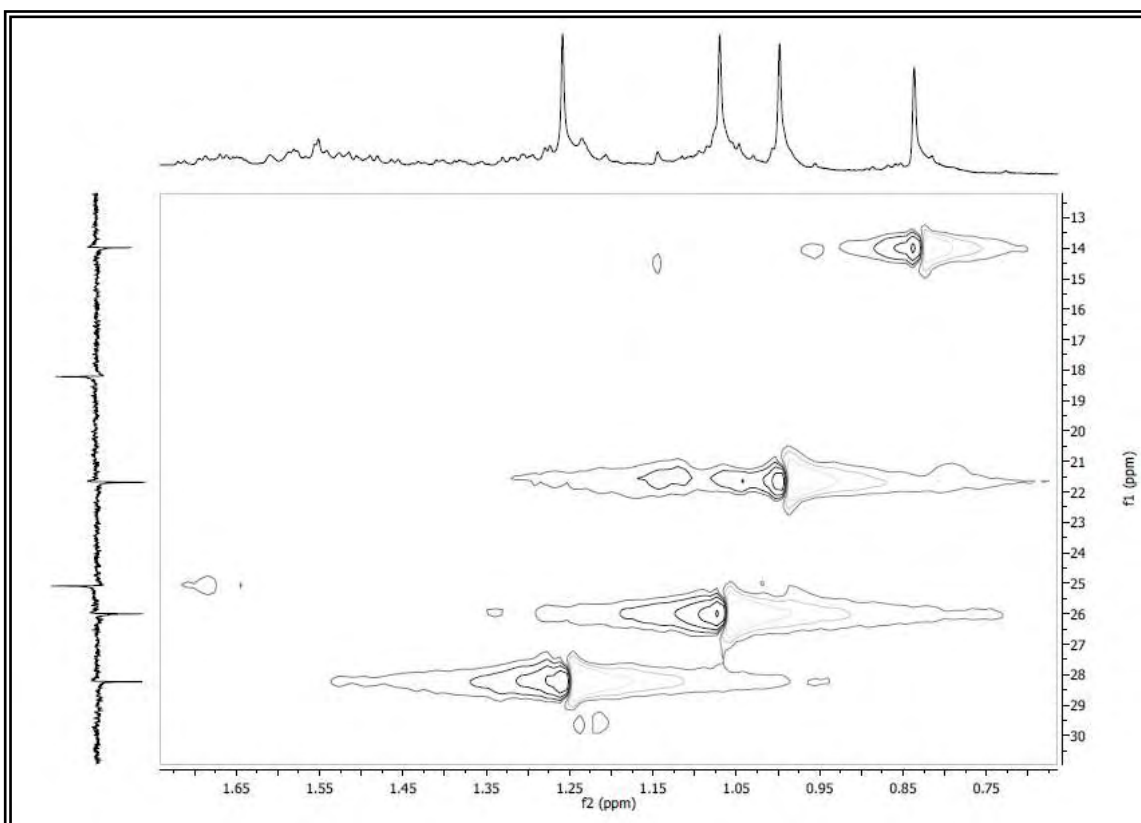


Figura 87. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região de (0,7 – 1,6 ppm) x (13,0 – 30,0 ppm).

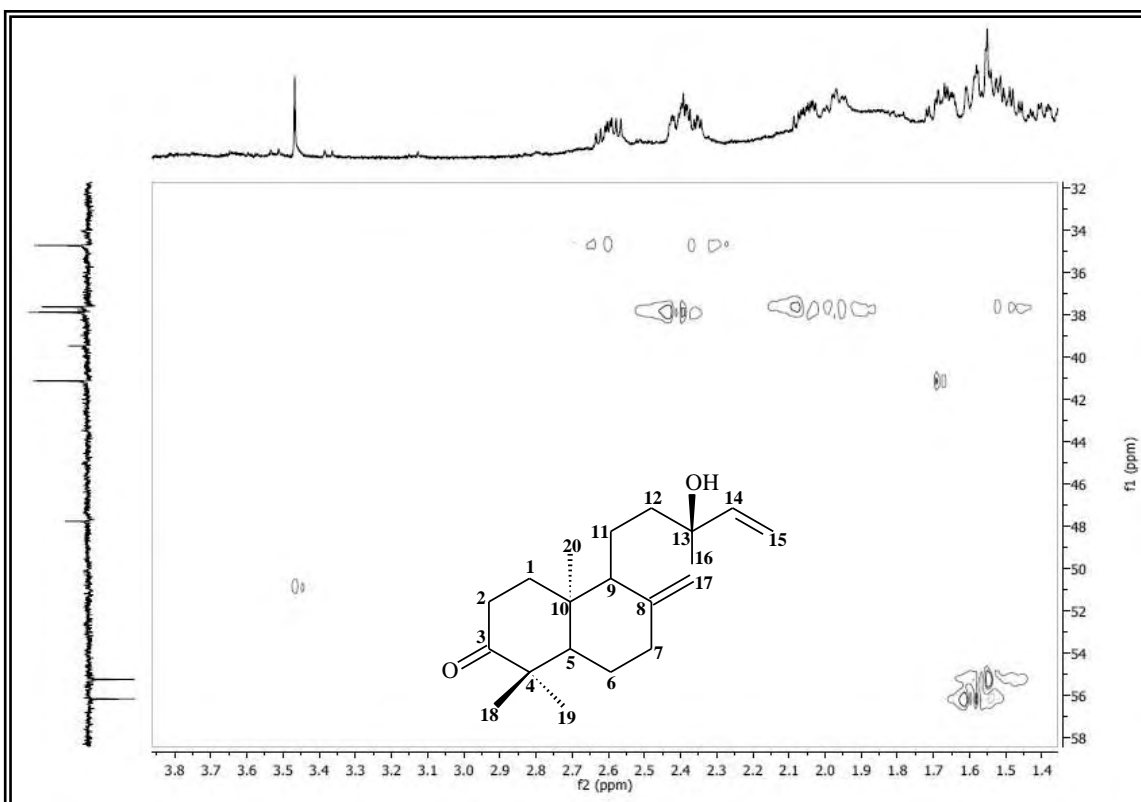


Figura 88. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região de (1,4 – 3,8 ppm) x (32,0 – 58,0 ppm).

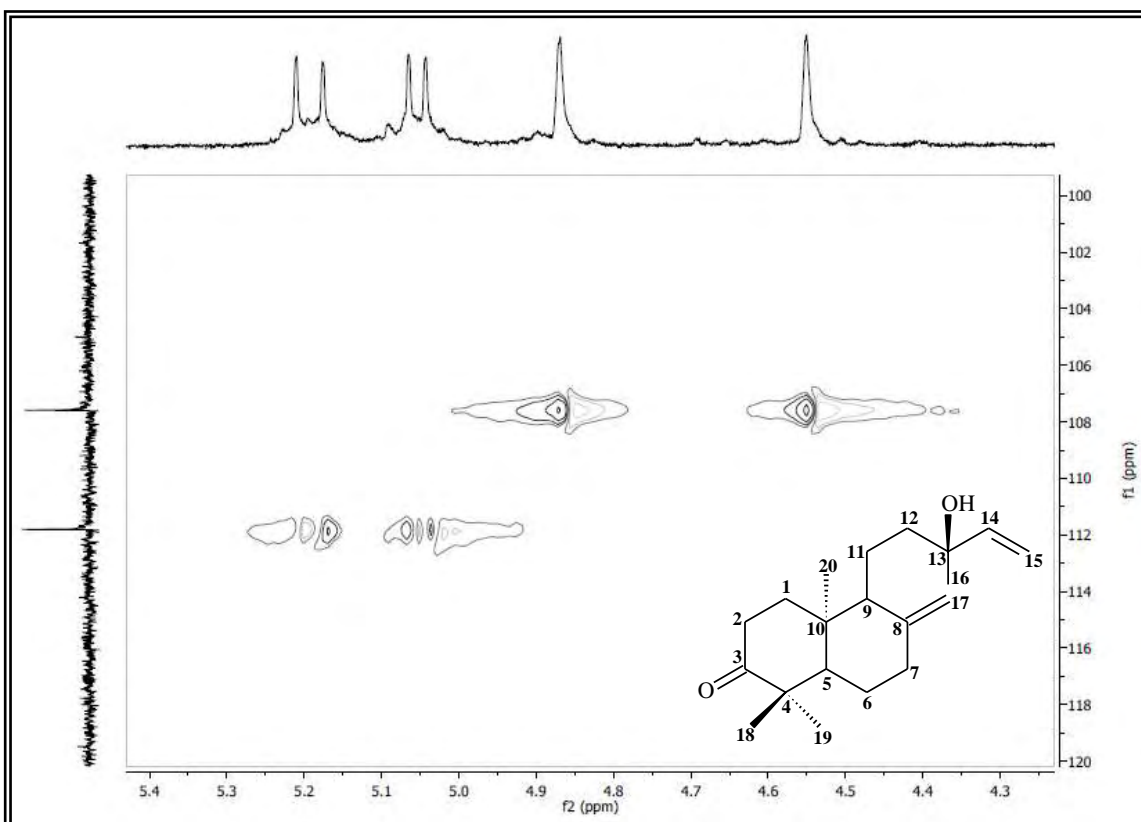


Figura 89. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região de (4,3 – 5,4 ppm) x (110,0 – 120,0 ppm).

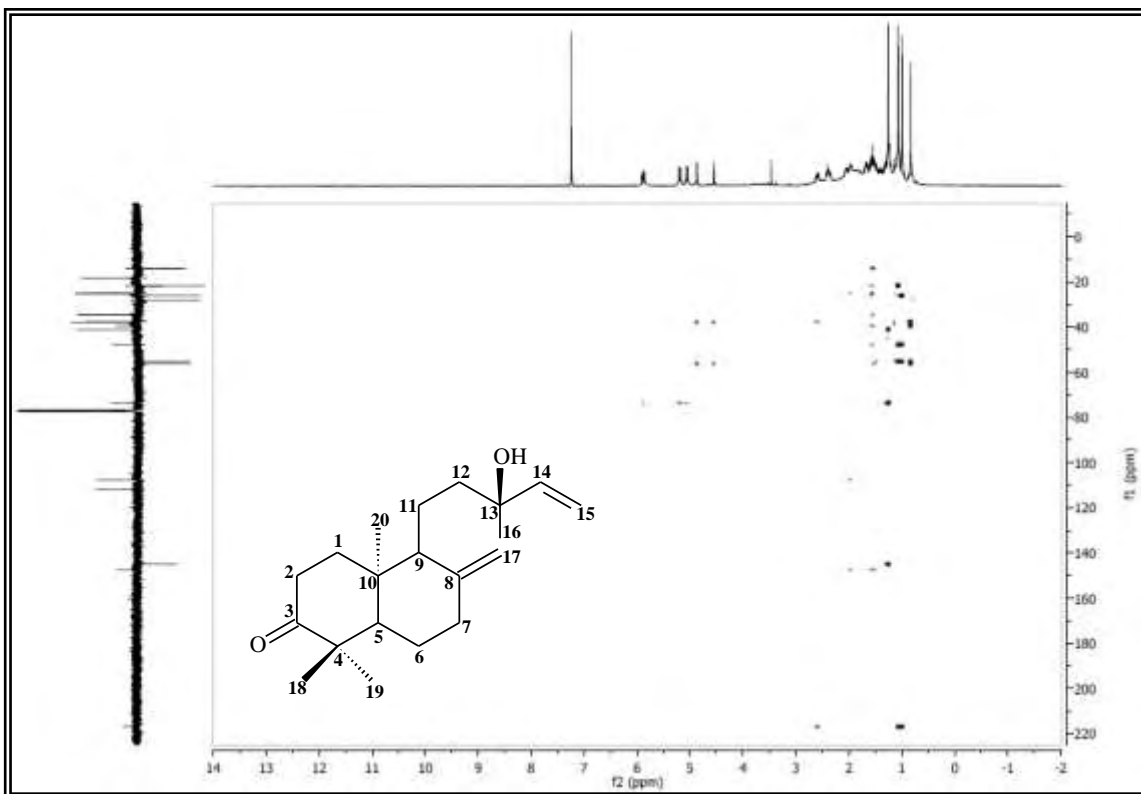


Figura 90. Espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 4.

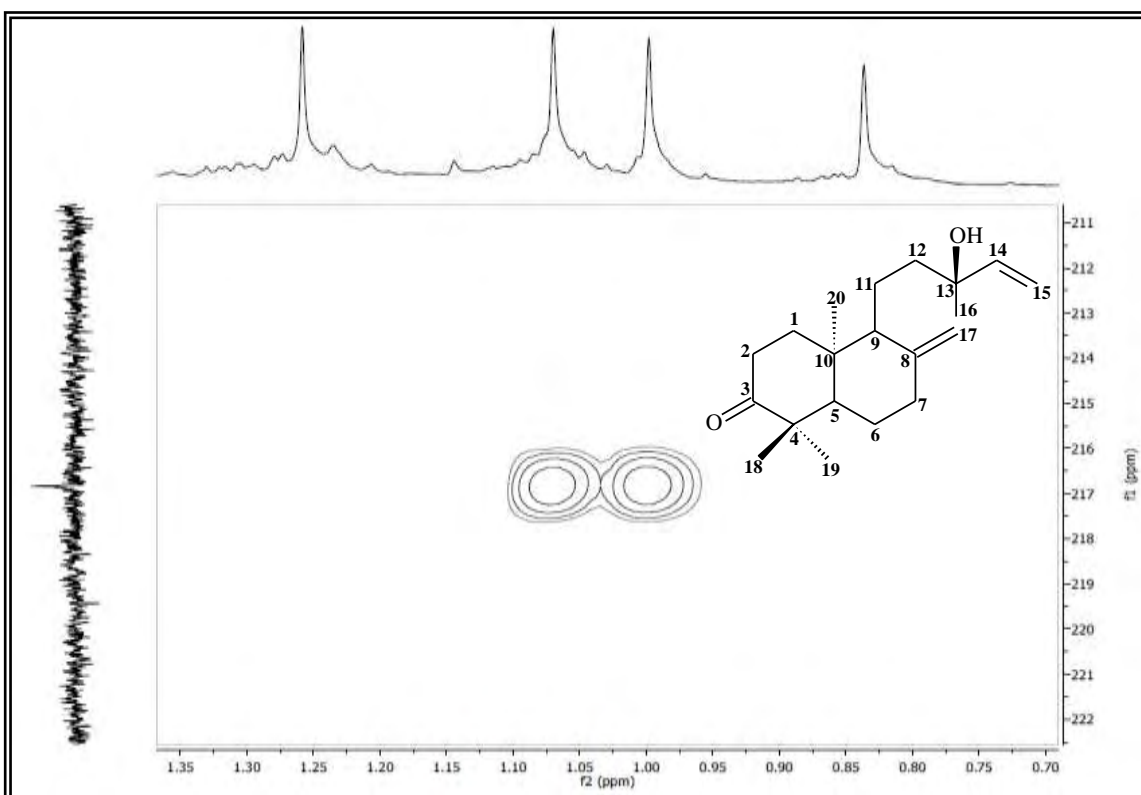


Figura 91. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região de (0,7 – 1,3 ppm) x (211,0 – 222,0 ppm).

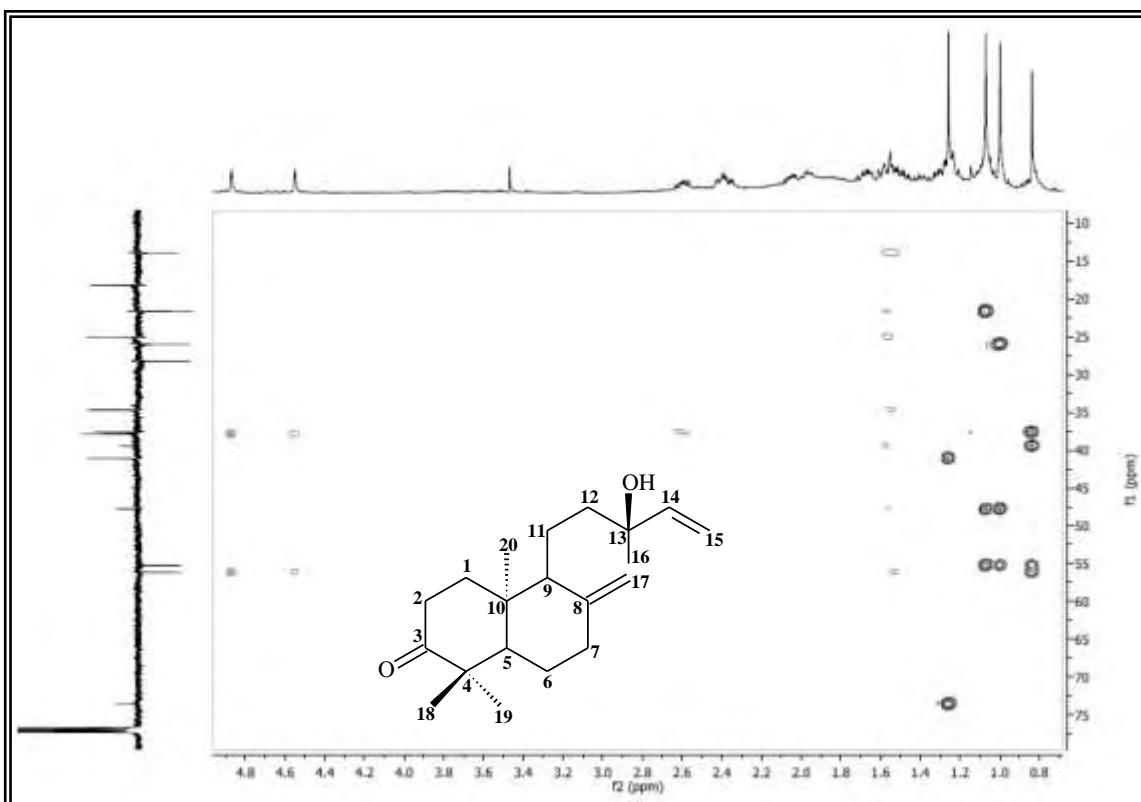


Figura 92. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região de (0,8 – 4,8 ppm) x (10,0 – 75,0 ppm).

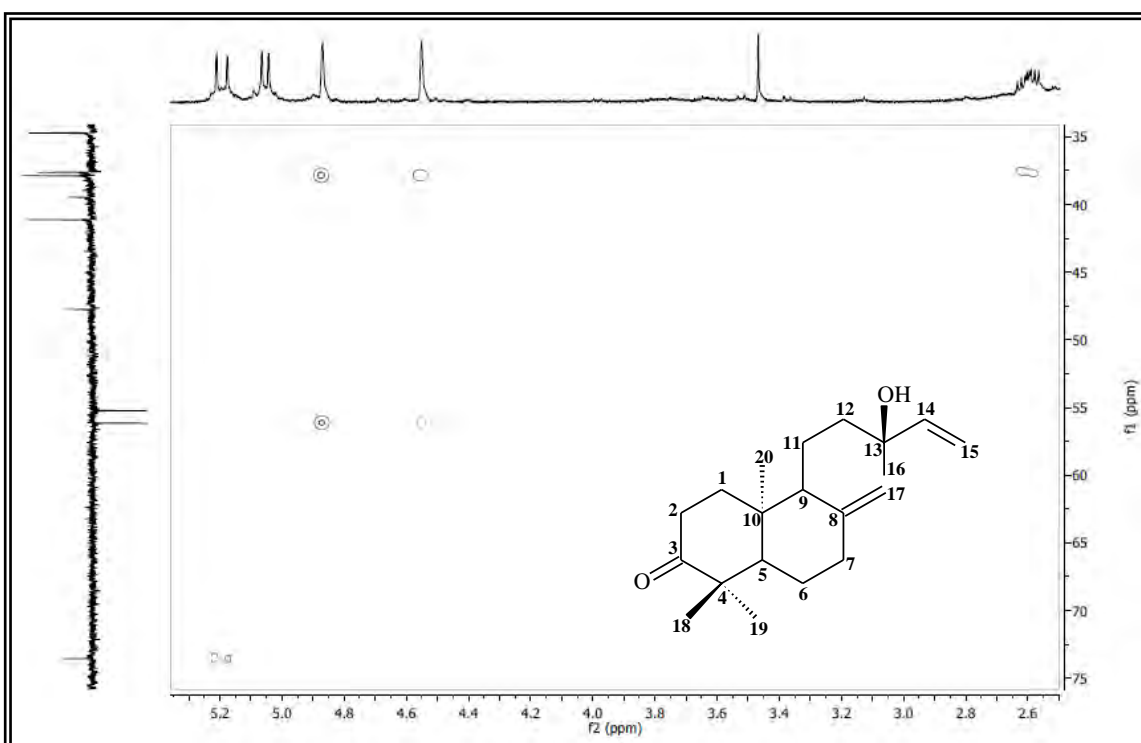


Figura 93. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região de (2,6 – 5,3 ppm) x (75,0 – 35,0 ppm).

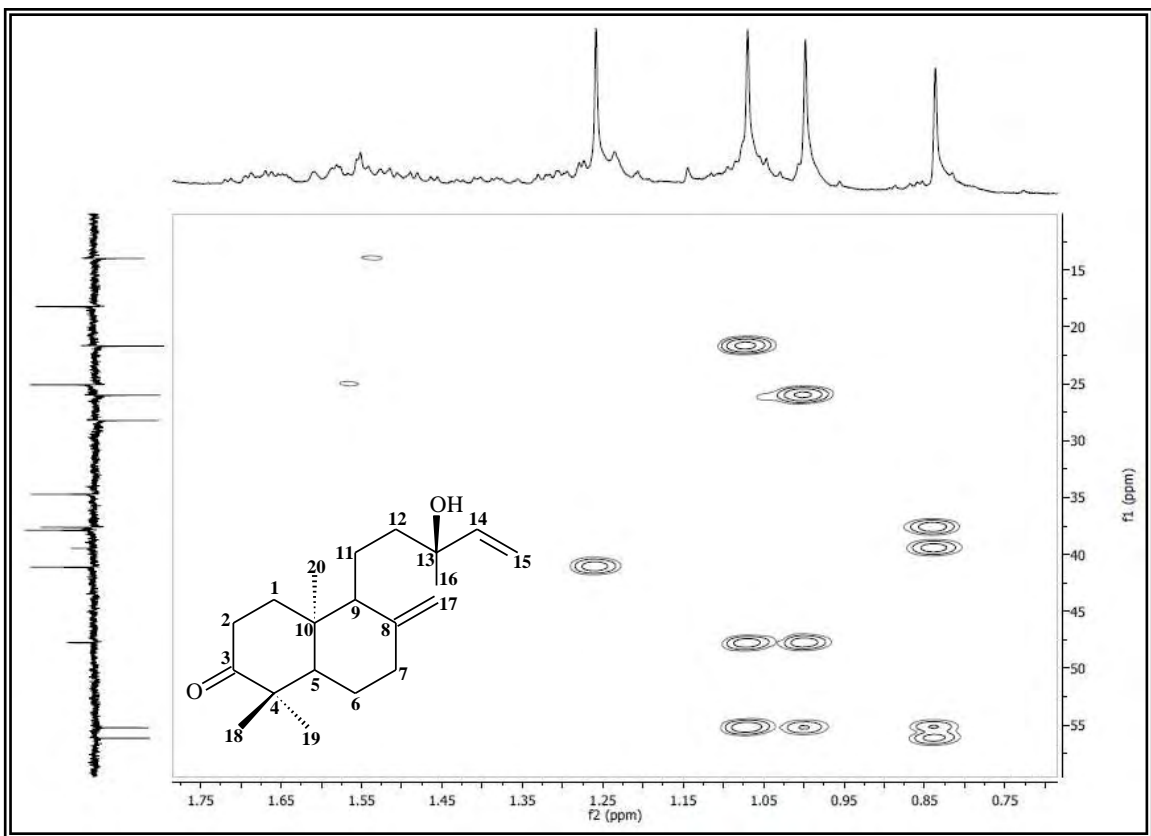


Figura 94. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região de (0,7 – 1,7 ppm) x (55,0 – 15,0 ppm).

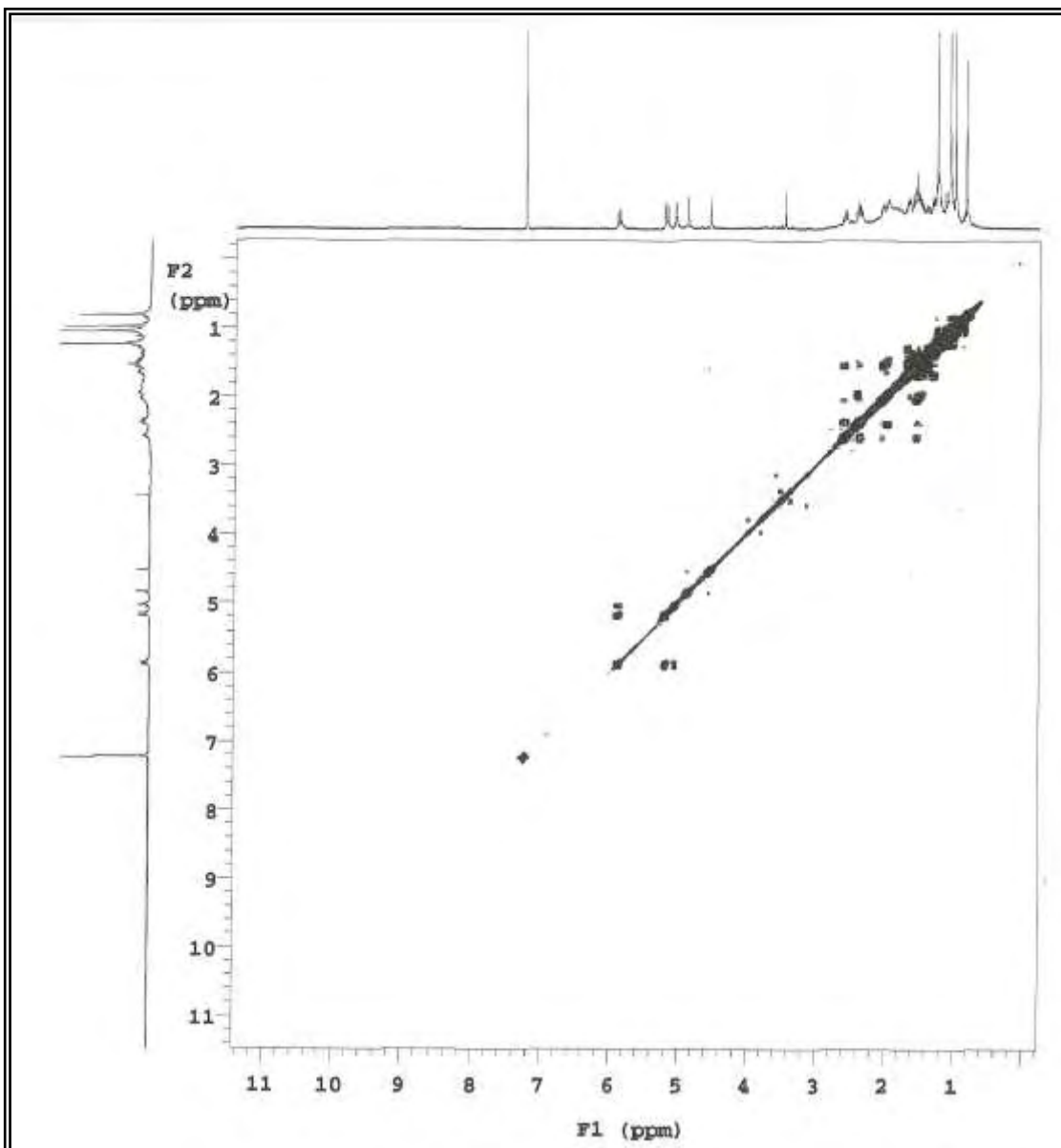
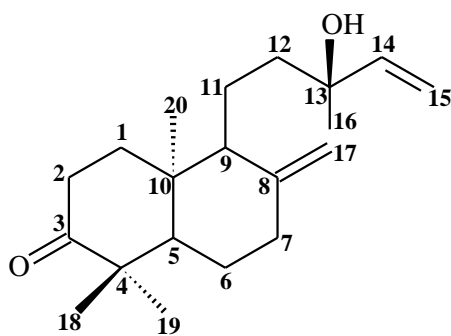


Figura 95. Espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de ER 4.



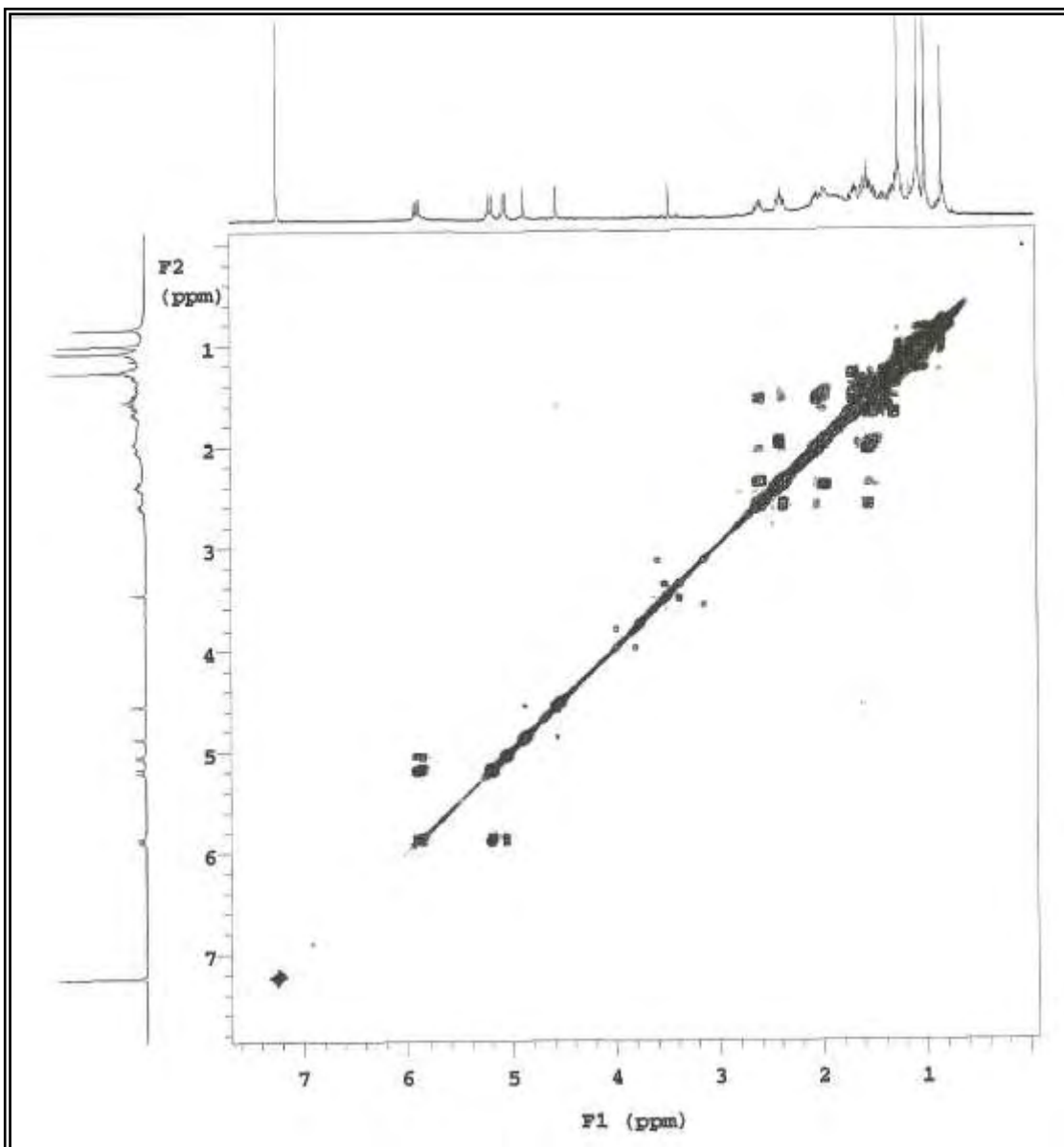
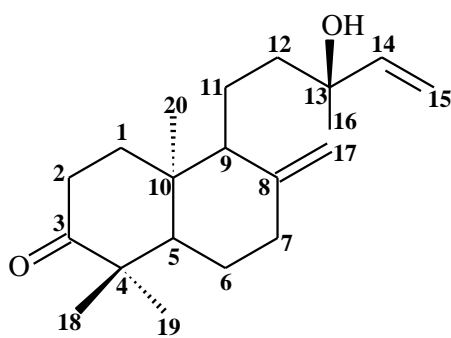


Figura 96. Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região de (0,5 – 7,0 ppm) x (0,5 – 7,0 ppm).



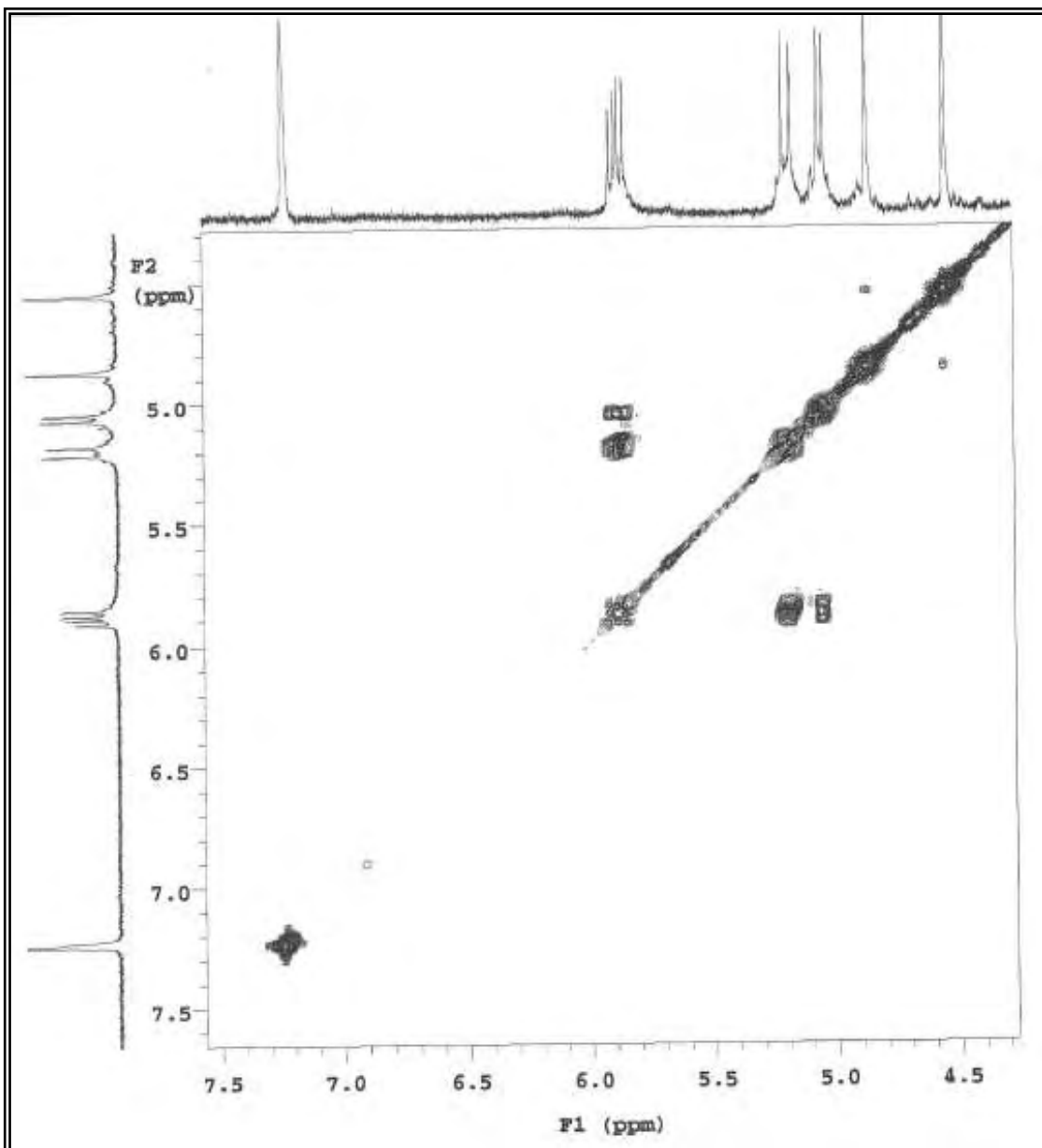
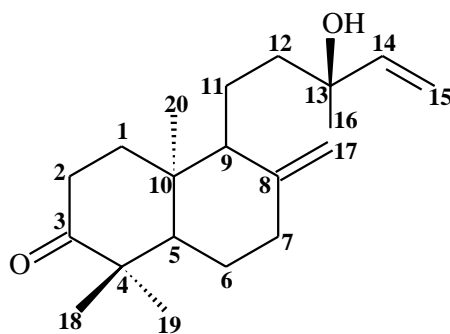


Figura 97. Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região de (4,5 – 7,5 ppm) x (4,5 – 7,5 ppm).



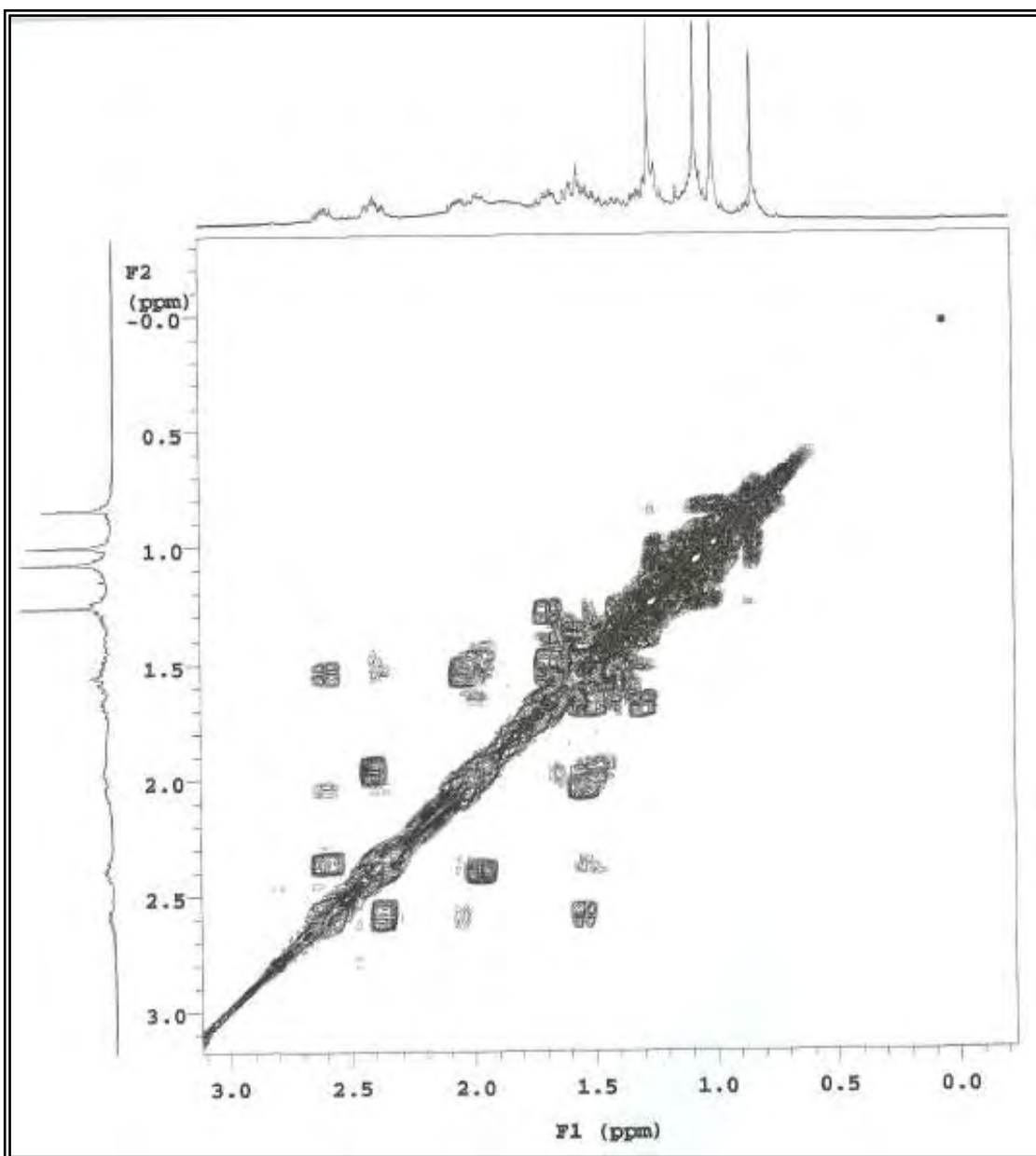
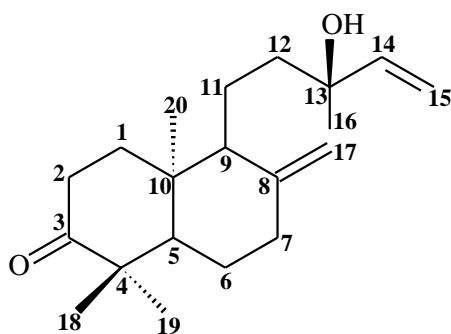


Figura 98. Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de ER 4 na região de (0,0 – 3,0 ppm) x (0,0 – 3,0 ppm).



8.2.5 Identificação estrutural de ER-5

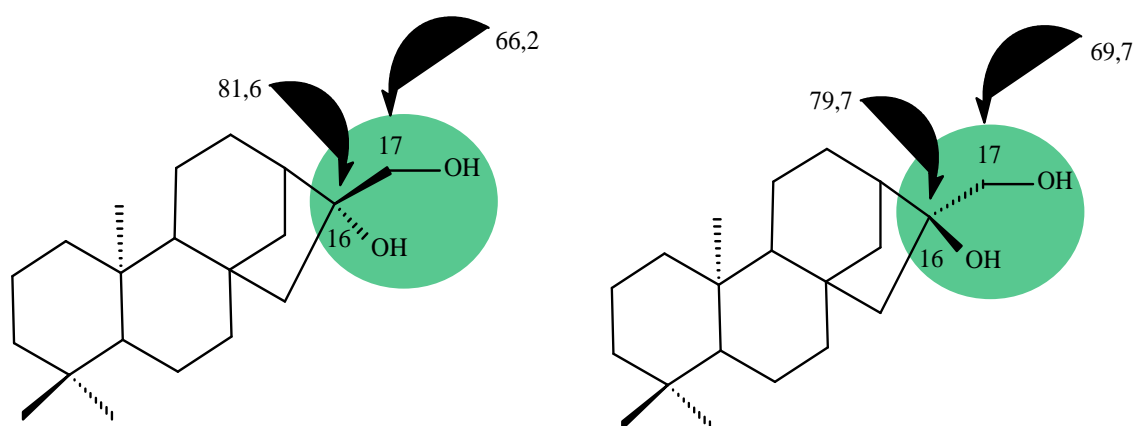
A substância codificada como **ER-5** foi isolada na forma de um pó amorfo branco, $[\alpha]_D - 0,025$, solúvel em clorofórmio e com ponto de fusão 177-179 °C.

O espectro de IV obtido em KBr mostrou absorção em 3396 cm^{-1} característico de estiramento de hidroxila e deformação axial C-O em 1064 cm^{-1} (Fig. 99, pág. 149).

No espectro de RMN ^{13}C - APT (125 MHz, CDCl_3), (Fig. 100, pág. 149) observou-se a presença de 20 sinais correspondentes a 20 átomos de carbono. Destes, 4 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 3 a carbonos metínicos, 10 a carbonos metilênicos e 3 a carbonos metílicos. Os sinais de carbonos metínicos em δ_c 56,1, 56,7 e 45,5 ppm em comparação com a literatura (PACHECO et al., 2009) sugerem um esqueleto carbônico para diterpenos tetracíclicos do tipo caurano.

Comparando os deslocamentos químicos de **ER-5** com **ER-1**, observa-se ausência dos sinais em δ_c 155,8 e 103,0 ppm e a presença dos sinais em δ_c 81,8 e 66,3 sugerindo uma hidroxila e hidrogênio metilênico ($\text{CH}_2\text{-OH}$) em C-16 (Fig. 101, pág. 150).

A estereoquímica relativa do centro quiral em C-16 foi determinada por comparação com a literatura dos deslocamentos químicos de C-16 e C-17 (KATAJIMA, 1982), a qual foi atribuído a **ER-5** deslocamento δ_c 81,8 e 66,3 ppm, conferindo orientação β para a hidroxila.



No espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Fig. 102, pág. 150) observou-se um envelope de sinais na região de δ_H 2,03 a 0,75 ppm com multiplicidade não resolvidas. Observou-se a presença de 3 singletos em δ_H 0,99, 0,82 e 0,78 ppm correspondente a três metilas e um dubleto largo em 2,01 que foi atribuído a H-13 (Fig. 103 e 104, pág. 151). Dois dubletos em δ_H 3,76 e 3,65 confirmaram a presença de um

grupo CH₂-OH em C-16 gerando um *ent*-cauran-16β, 17-diol. As demais multiplicidades e deslocamentos químicos estão compilados na **Tabela 7** (pág. 148).

No espectro de correlação ¹H x ¹³C – gHMQC (500 e 125 MHz, CDCl₃) (Fig. 105 a 110, pág. 152 a 120) e suas expansões, pode-se verificar correlações diretas entre os hidrogênios em δ_H 0,82, 0,99 e 2,01 ppm com os carbonos em δ_C 56,1, 56,7 e 45,5 ppm (Fig. 107 e 108, pág. 153), atribuindo-os a C-5, C-9 e C-13, respectivamente. Deslocamentos químicos em δ_H 0,78, 0,82 e 0,99 ppm mostraram correlações com δ_C 21,5, 33,5 e 17,7 ppm (Fig. 109, pág. 154) sendo atribuídos a C-18, C-19 e C-20. As demais correlações estão compiladas na **Tabela 7** (pág. 148).

No espectro de correlação ¹H x ¹³C – gHMBC (500 e 125 MHz, CDCl₃) e suas expansões (Fig. 111 a 117, pág. 155 a 158) observamos correlações do hidrogênio em δ_H 0,99 (*s*), CH₃-20, com os carbonos em δ_C 56,7 e 44,7 ppm (Fig. 113 e 114, pág. 156), atribuindo-o a C-8 e C-10. Observou-se uma correlação do hidrogênio em δ_H 1,58 (*s*), CH-7 com o carbono em δ_C 44,7 ppm (Fig. 114, pág. 156), atribuindo este deslocamento químico a C-8. As correlação dos sinais em δ_H 2,01 ppm (H-13) e 3,75, 3,76 (H-17) com δ_C 81,8 ppm, confirmaram a posição do grupo CH₂-OH e a atribuição feita para o carbono C-16 (Fig. 112 e 113, pág. 155 e 156).

No espectro de correlação ¹H x ¹H gCOSY (500 MHz, CDCl₃) (Fig. 118, pág. 159) o sinal em δ_H 1,96 ppm (H-7) mostrou correlação com o sinal em δ_H 1,56 ppm, sendo portanto esse último atribuído a H-6 e δ_H 2,01 ppm (H-12) com δ_H 1,56, sendo portanto esse último atribuído a H-13 (Fig. 119, pág. 160).

Após análise dos dados espectrais e comparação com a literatura determinou-se **ER-5** como sendo *ent*-cauran-16β, 17-diol.

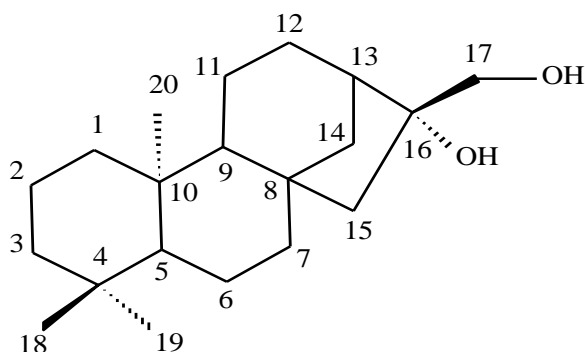
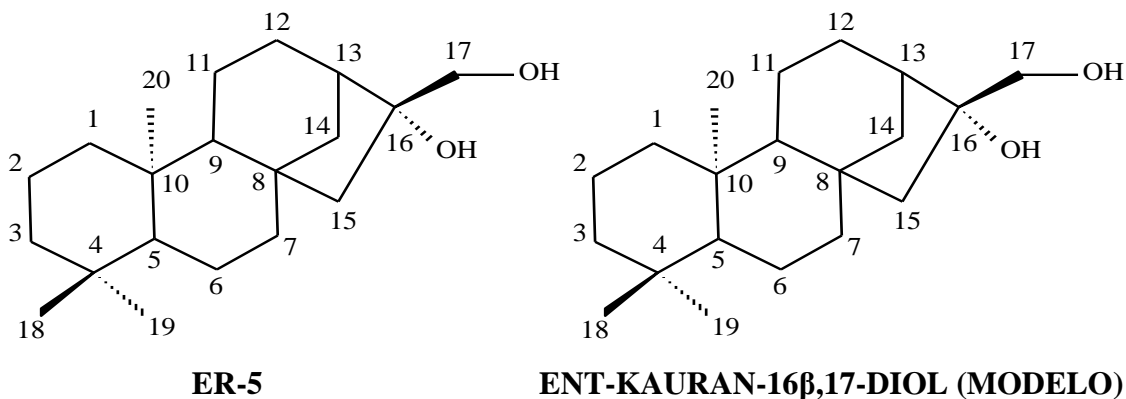


Tabela 7. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais em CDCl_3 a 500 MHz e 125 MHz de ER-5.



HMQC			HMBC	COSY	MODELO KATAJIMA (1982)
C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta_{\text{C}} \times \delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{H}} \times \delta_{\text{H}}$	$\delta^{13}\text{C}$
1	41,9	1,38 (<i>m</i>) 1,61 (<i>m</i>)			42,0
2	18,2	(<i>m</i>) 1,60 (<i>m</i>)		H-3	18,2
3	42,0	1,13 (<i>d</i> , $J=5,0$ Hz) 1,49 (<i>d</i> , $J=5,0$ Hz)		H-2	42,0
4	33,2	-----			33,4
5	56,1	0,82 (<i>s</i>)	C-10		56,1
6	20,4	1,57 (<i>m</i>)		H-7	20,5
7	37,2	1,96 (<i>d</i> , $J=11,5$ Hz) 1,58 (<i>m</i>)	C-8	H-6	37,2
8	44,7	-----			44,0
9	56,7	0,99 (<i>s</i>)	C-10		56,7
10	39,3	-----			39,4
11	18,5	1,40 (<i>m</i>)			18,3
12	26,3	1,56 (<i>m</i>)		H-13	26,3
13	45,5	2,01 (<i>d</i> , $J=2,0$ Hz)	C-15, C-16	H-12	45,5
14	40,3	1,75 (<i>d</i> , $J=13,0$ Hz)			40,4
15	53,4	1,52 (<i>m</i>) 1,48 (<i>m</i>)	C-17		53,4
16	81,8	-----			81,6
17	66,3	3,76 (<i>d</i> , $J=11,0$ Hz) 3,65 (<i>d</i> , $J=11,0$ Hz)	C-15, C-16, C-13		66,2
18	21,5	0,78 (<i>s</i>)	C-3, C-5		21,5
19	33,5	0,82 (<i>s</i>)	C-3, C-5		33,4
20	17,7	0,99 (<i>s</i>)	C-9, C-10		17,7

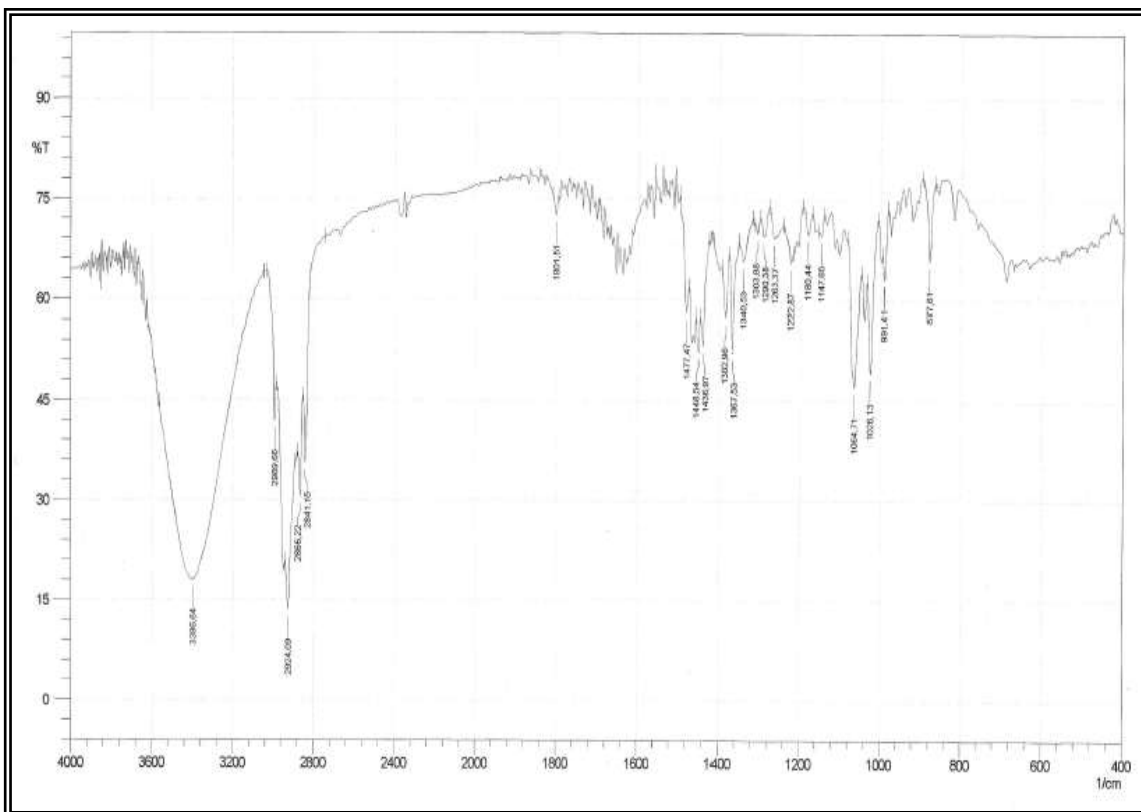


Figura 99. Espectro de IV em pastilhas de KBR de ER 5.

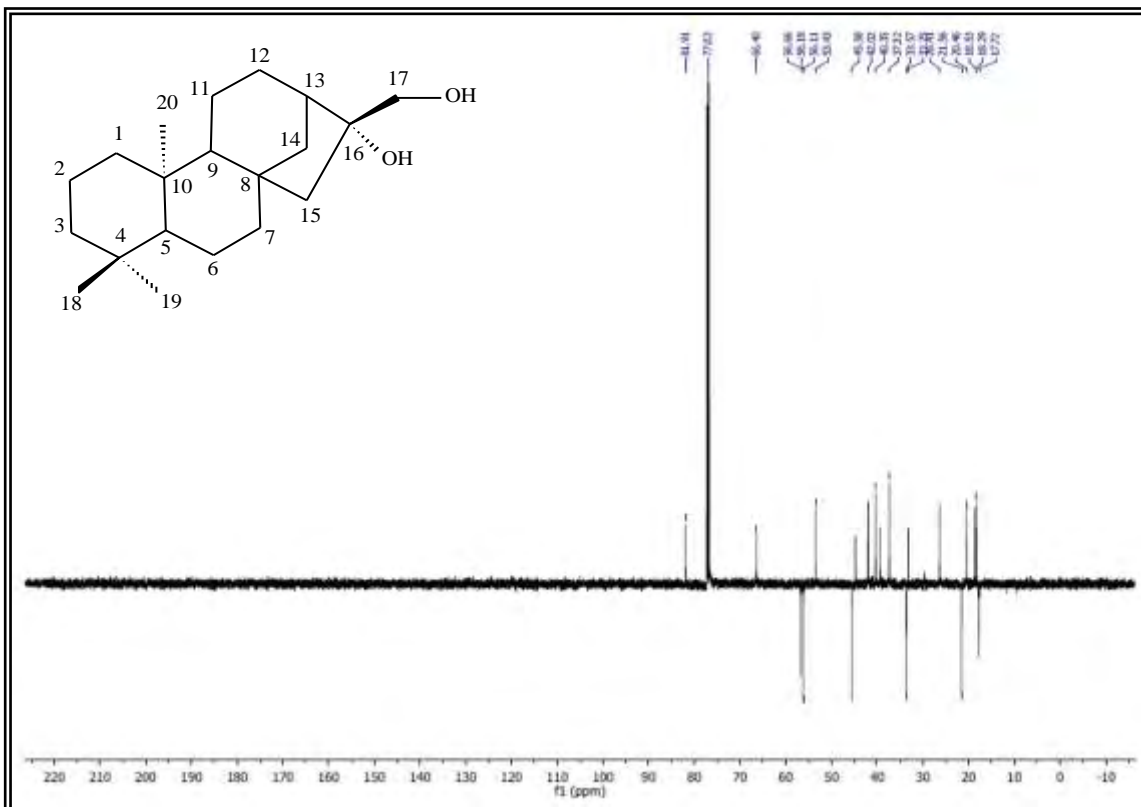


Figura 100. Espectro de RMN ¹³C-APT (125 MHz, CDCl₃) de ER 5.

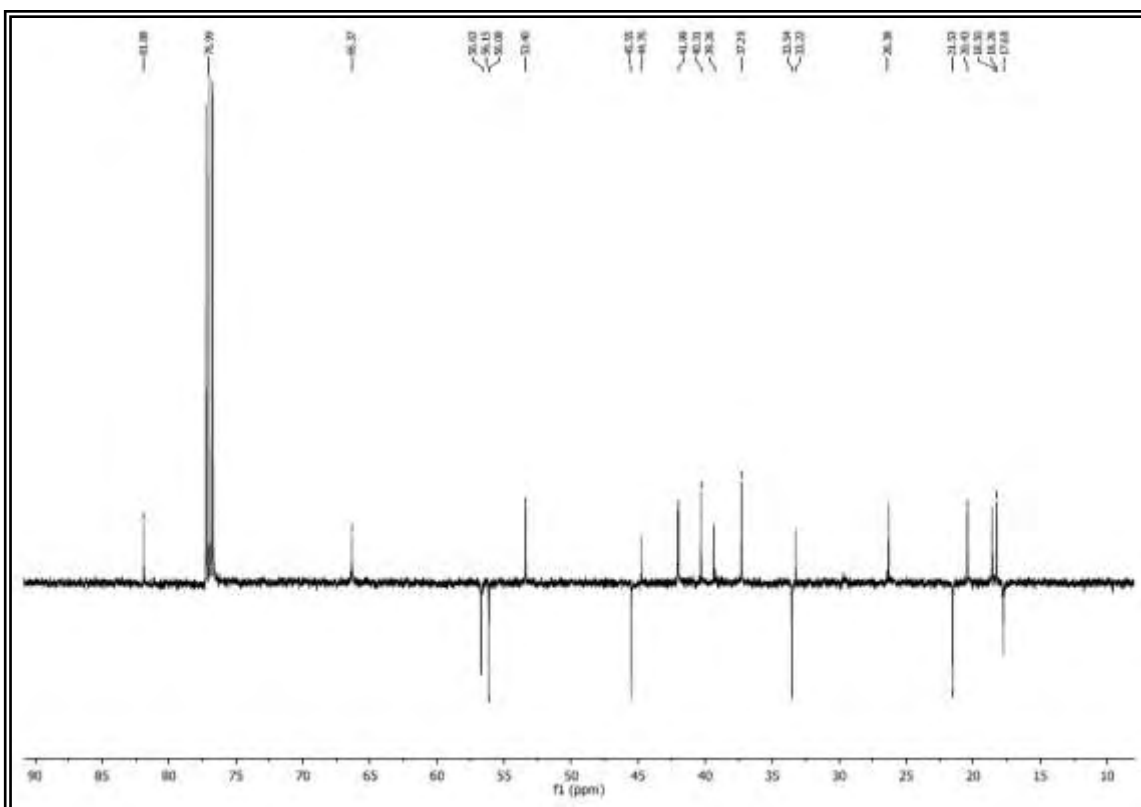


Figura 101. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região entre δ_{H} 90-10 ppm.

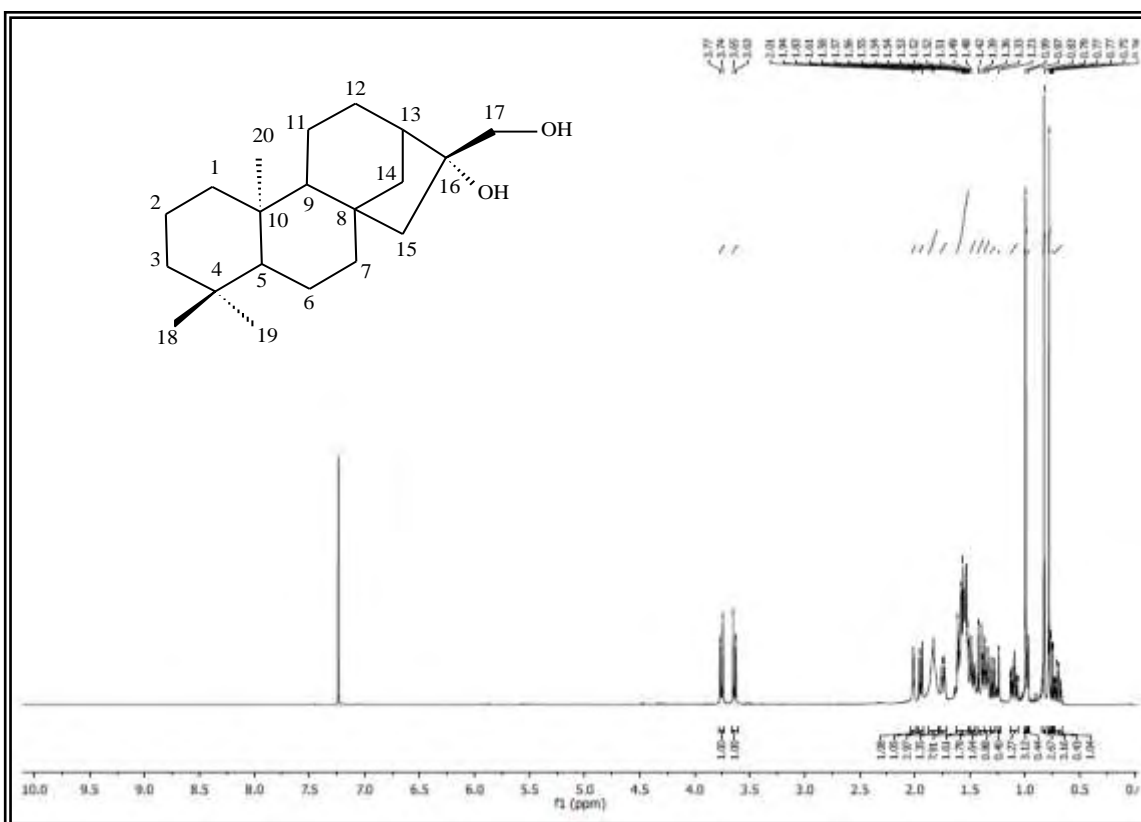


Figura 102. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 5.

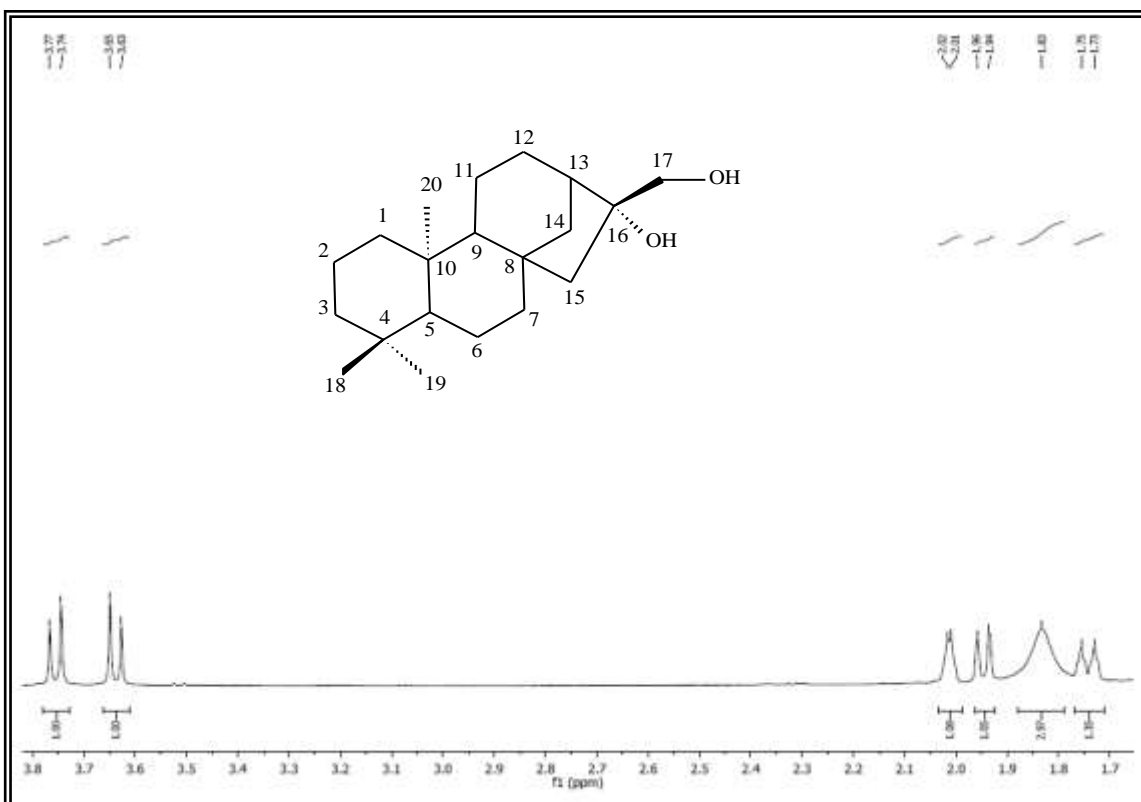


Figura 103. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região entre δ_{H} 3,8-1,7 ppm.

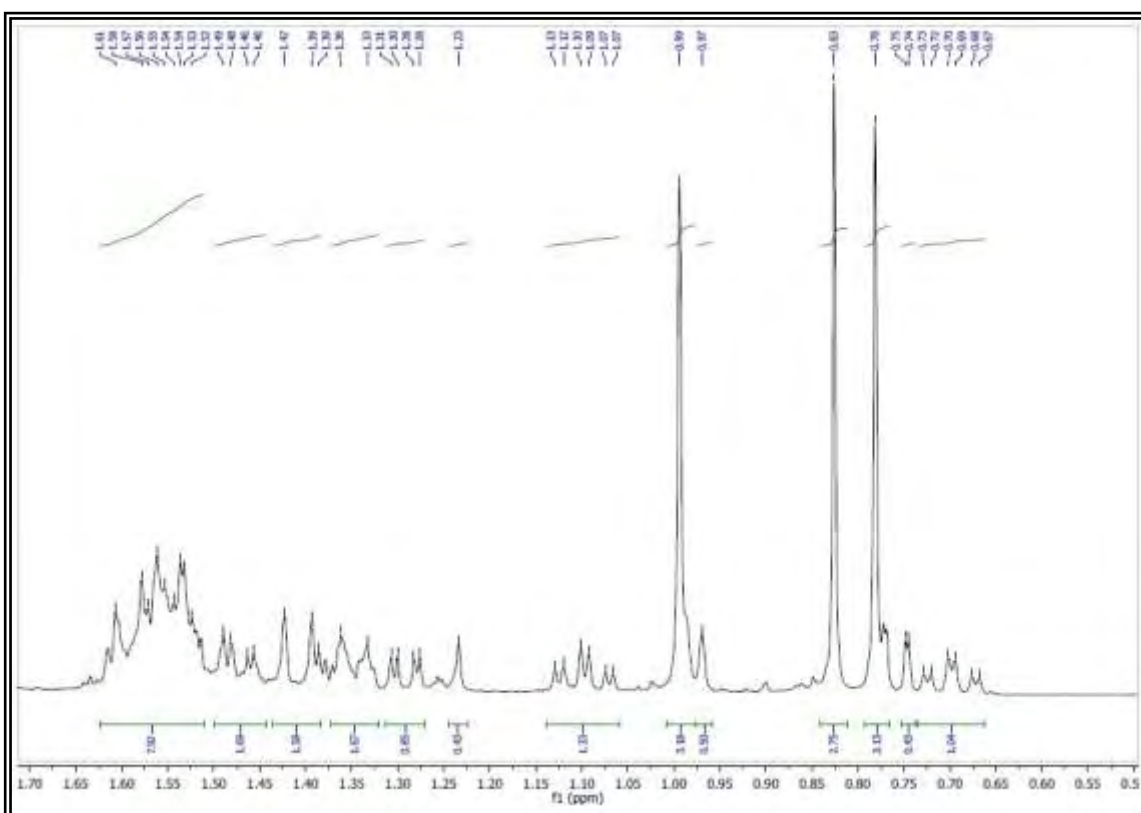


Figura 104. Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região entre δ_{H} 1,7-0,5 ppm.

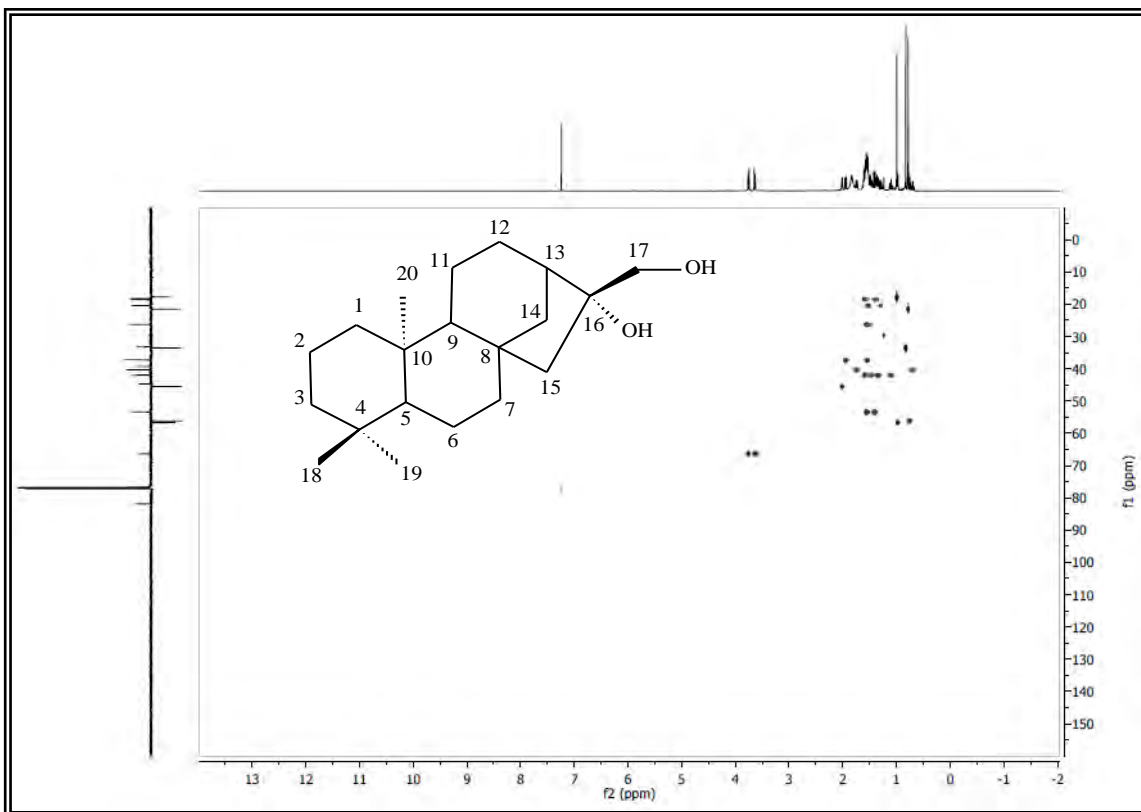


Figura 105. Espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl₃) de ER 5.

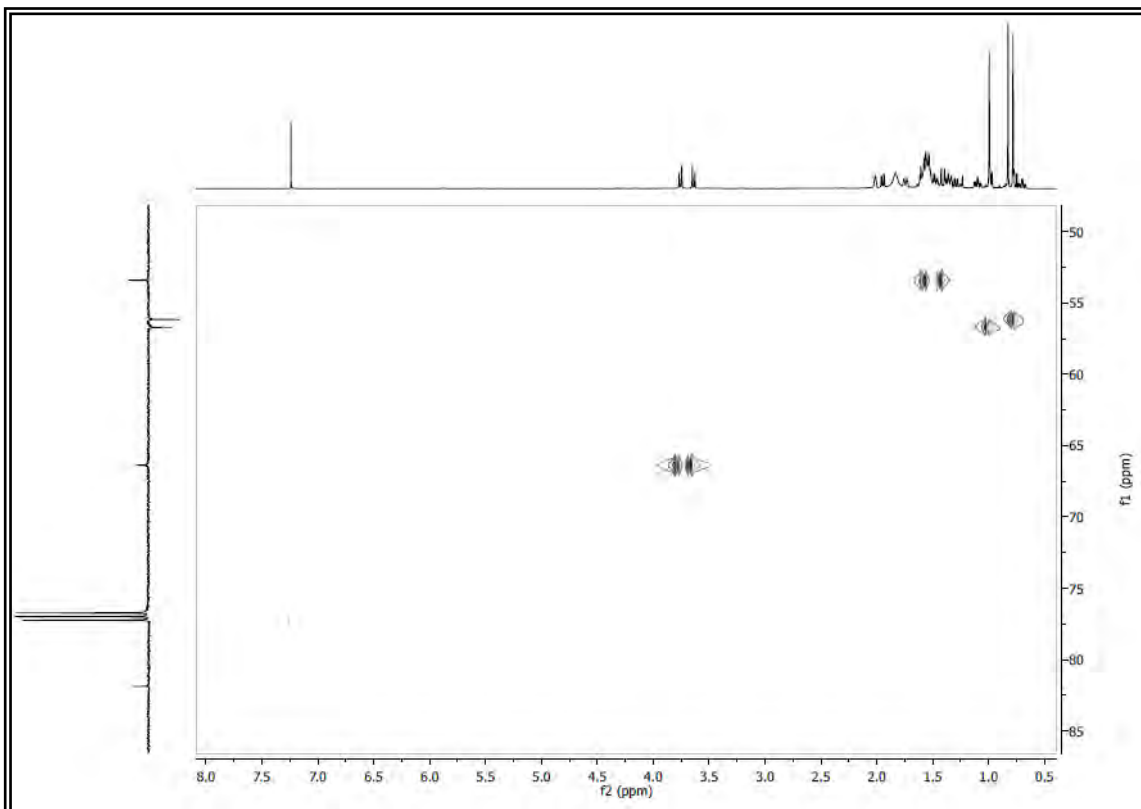


Figura 106. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl₃) de ER 5 na região de (0,5 – 8,0 ppm) x (50,0 – 85,0 ppm).

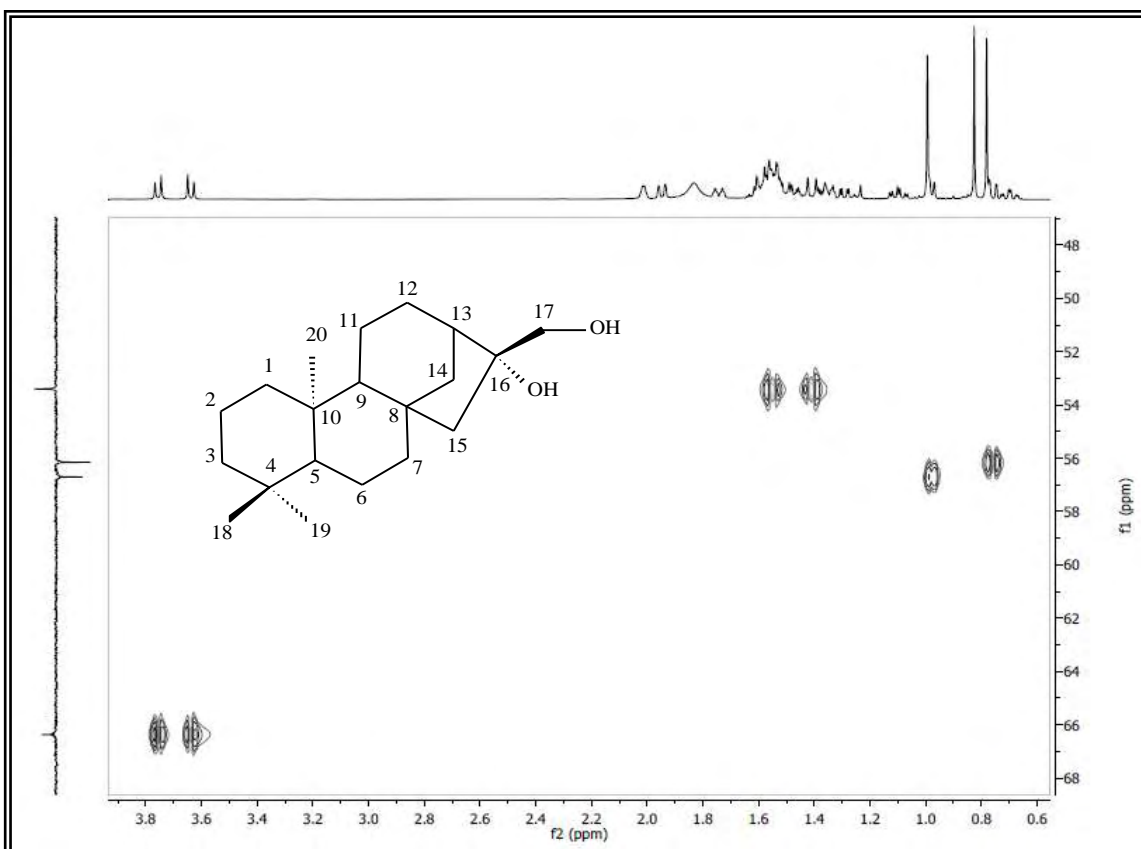


Figura 107. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região de (0,6 – 3,8 ppm) x (48,0 – 68,0 ppm).

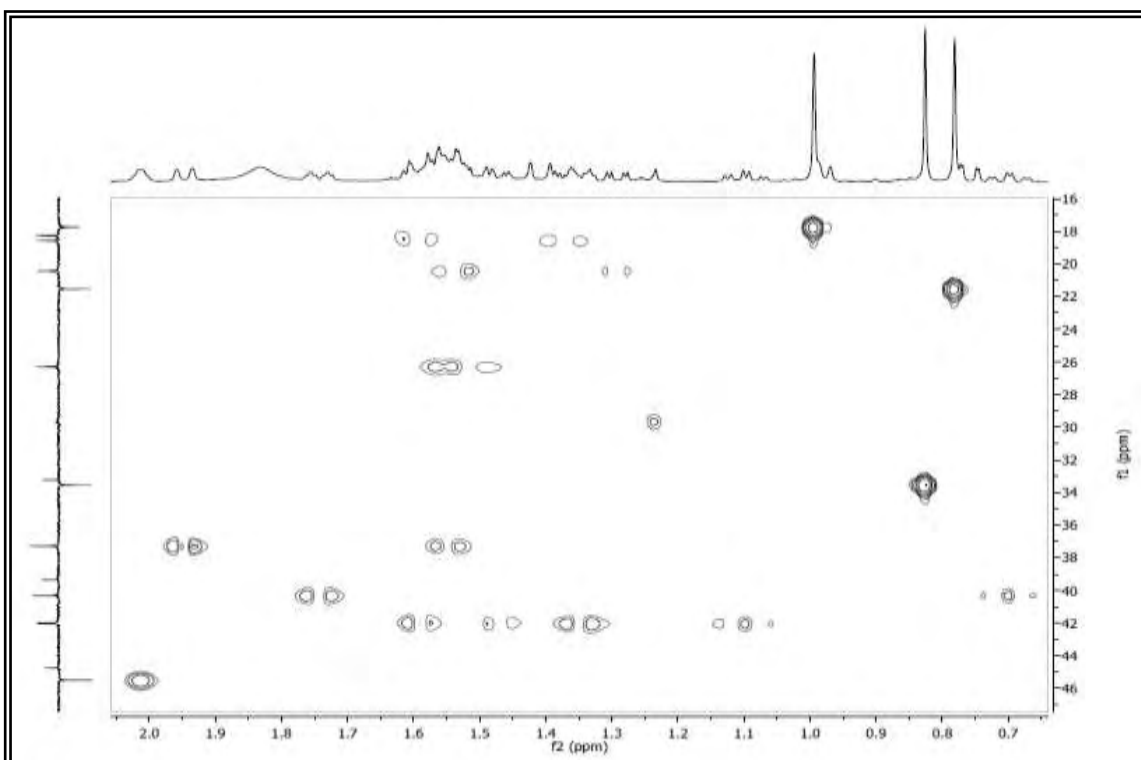


Figura 108. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região de (0,7 – 2,0 ppm) x (16,0 – 46,0 ppm).

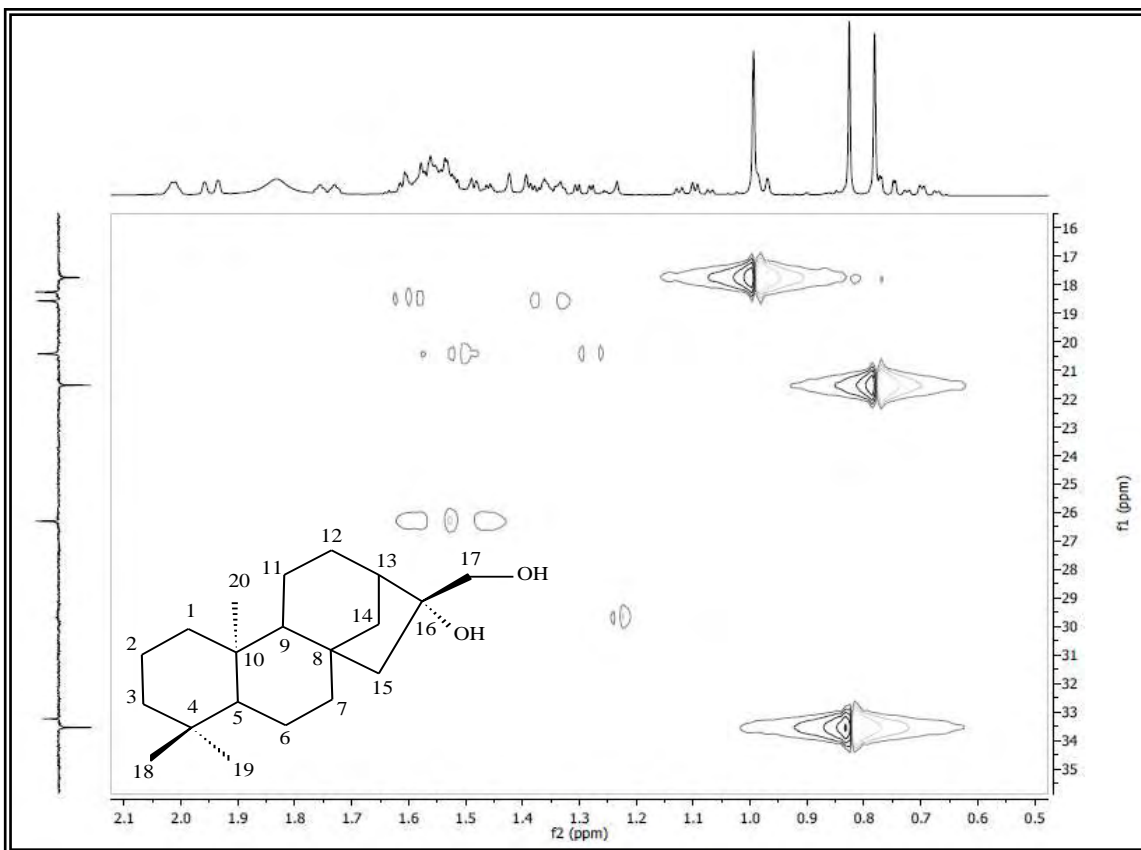


Figura 109. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região de (0,5 – 2,1 ppm) x (16,0 – 35,0 ppm).

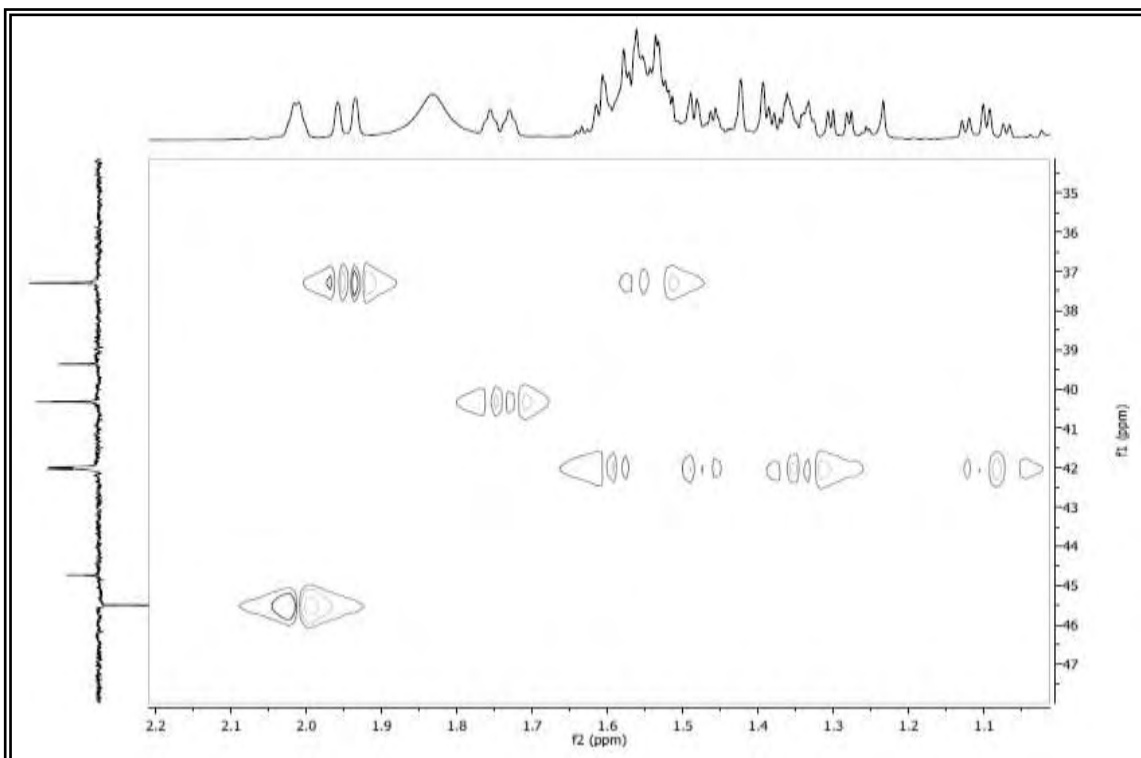


Figura 110. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região de (1,0 – 2,2 ppm) x (35,0 – 47,0 ppm).

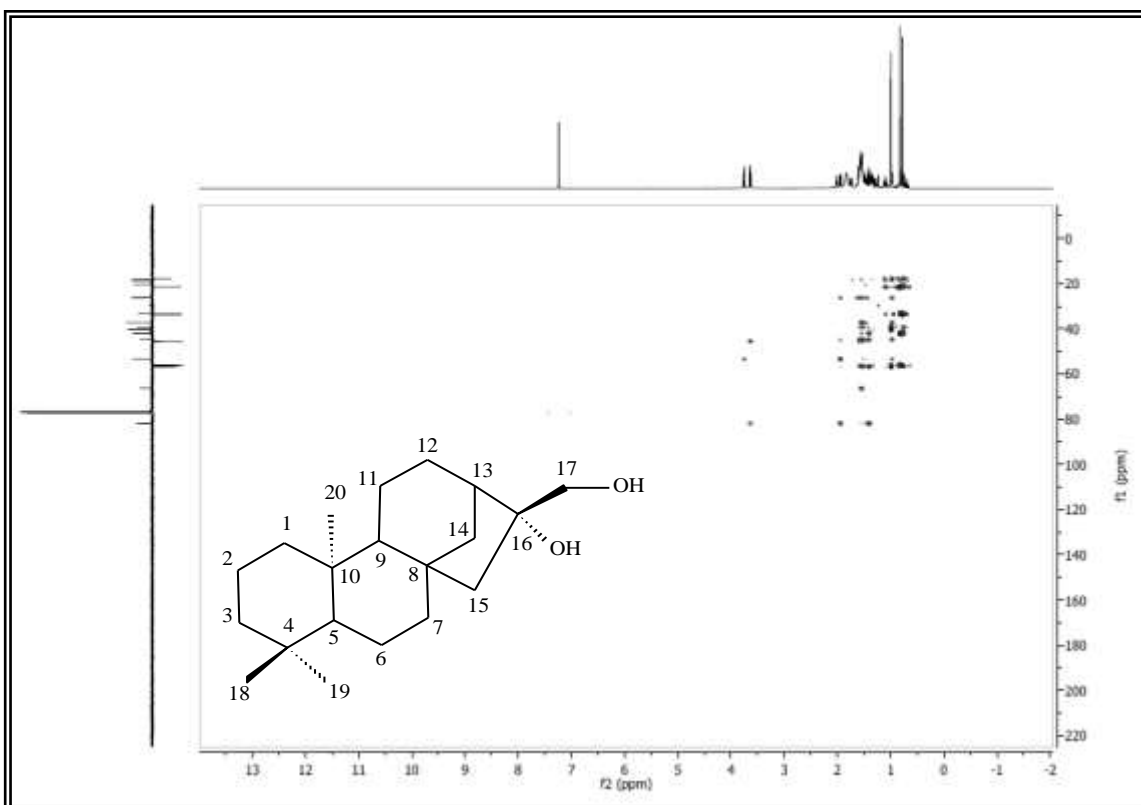


Figura 111. Espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 5.

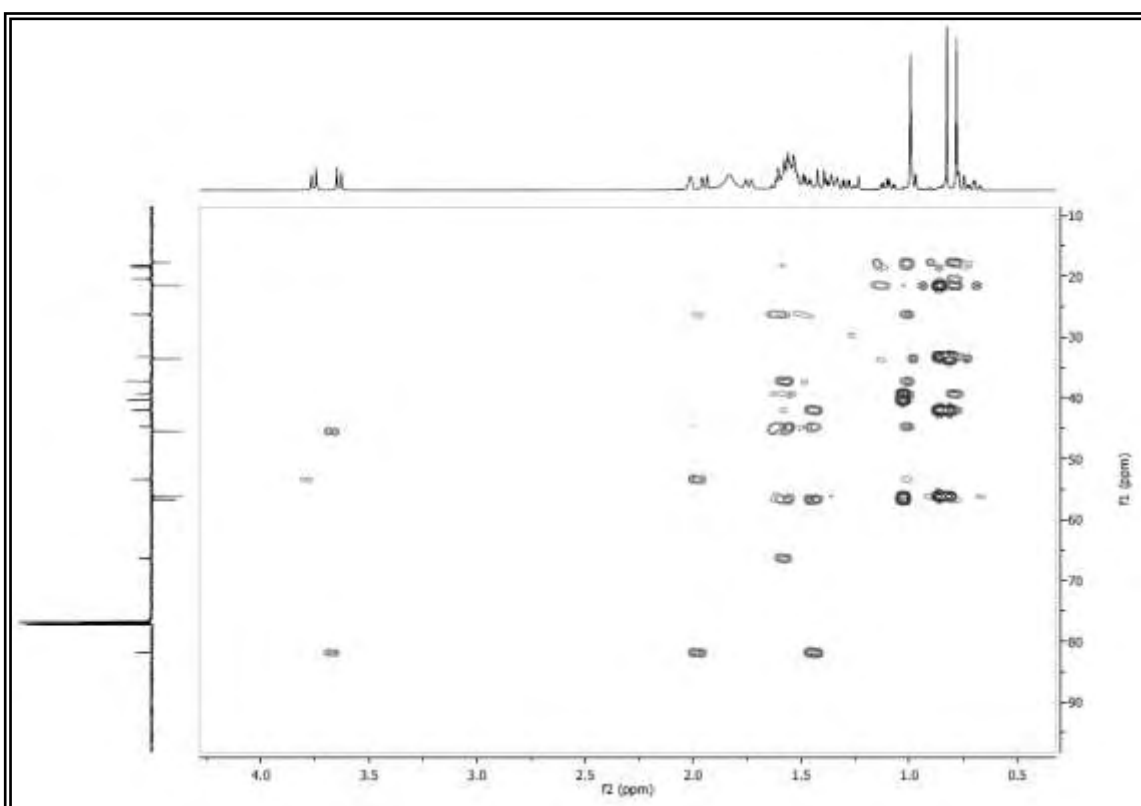


Figura 112. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região de (0,5 – 4,0 ppm) x (10,0 – 90,0 ppm).

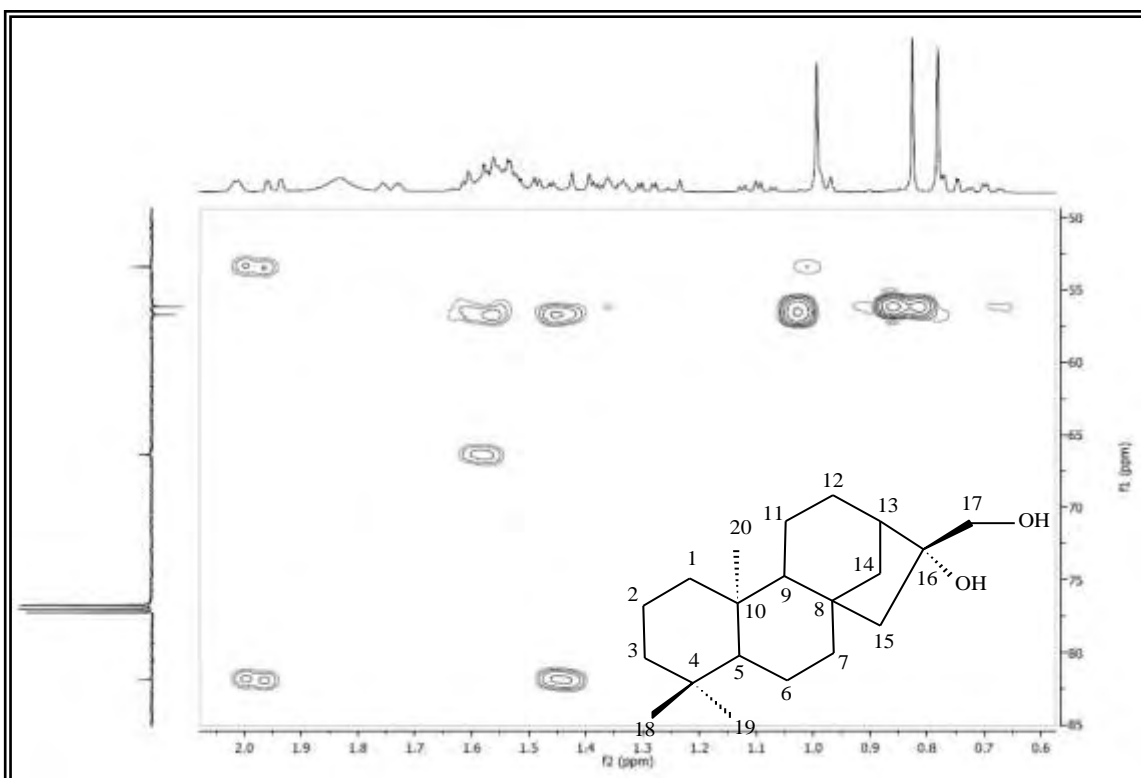


Figura 113. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região de (0,6 – 2,0 ppm) x (50,0 – 85,0 ppm).

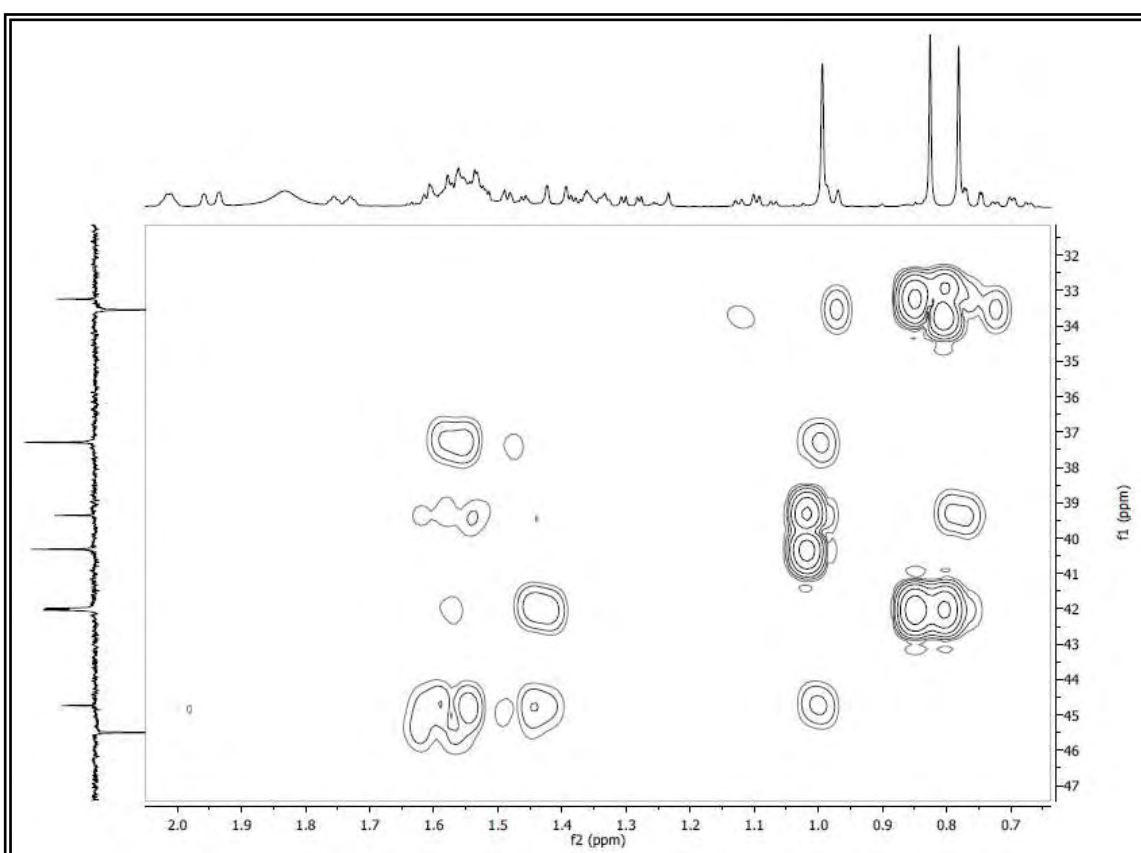


Figura 114. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região de (0,7 – 2,0 ppm) x (32,0 – 47,0 ppm).

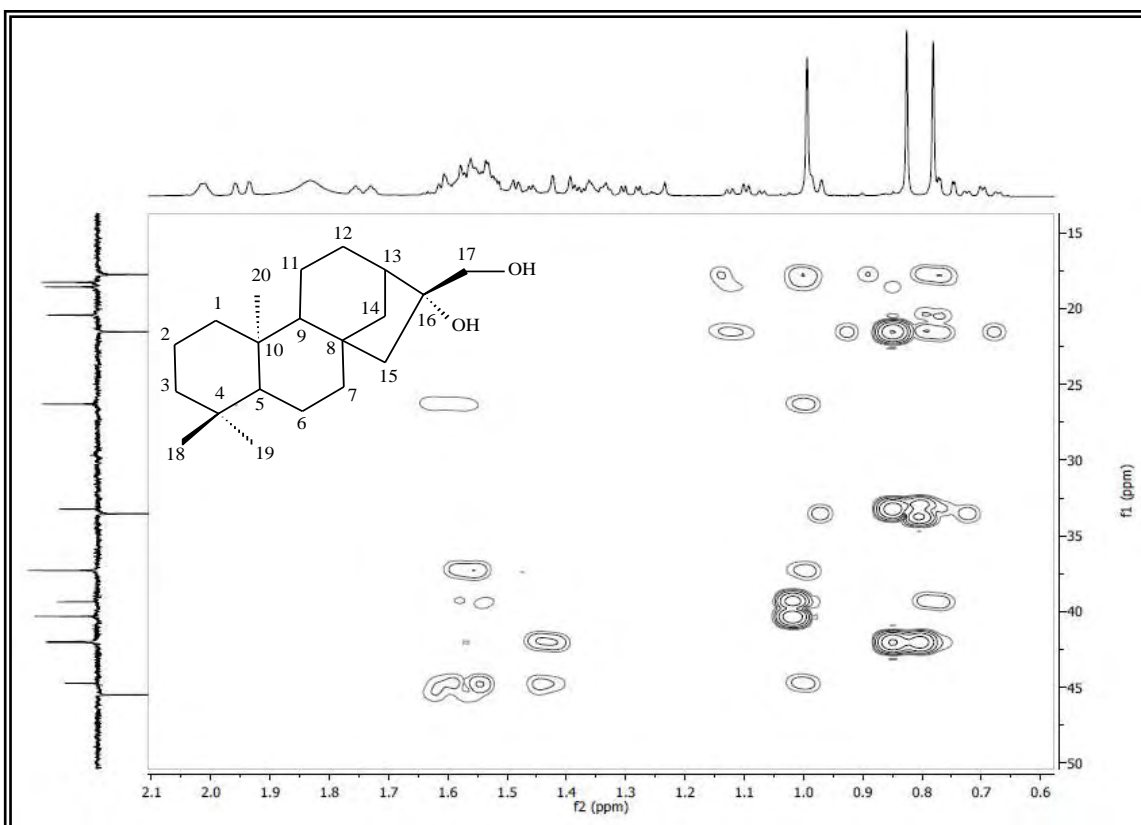


Figura 115. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região de (0,6 – 2,1 ppm) x (15,0 – 50,0 ppm).

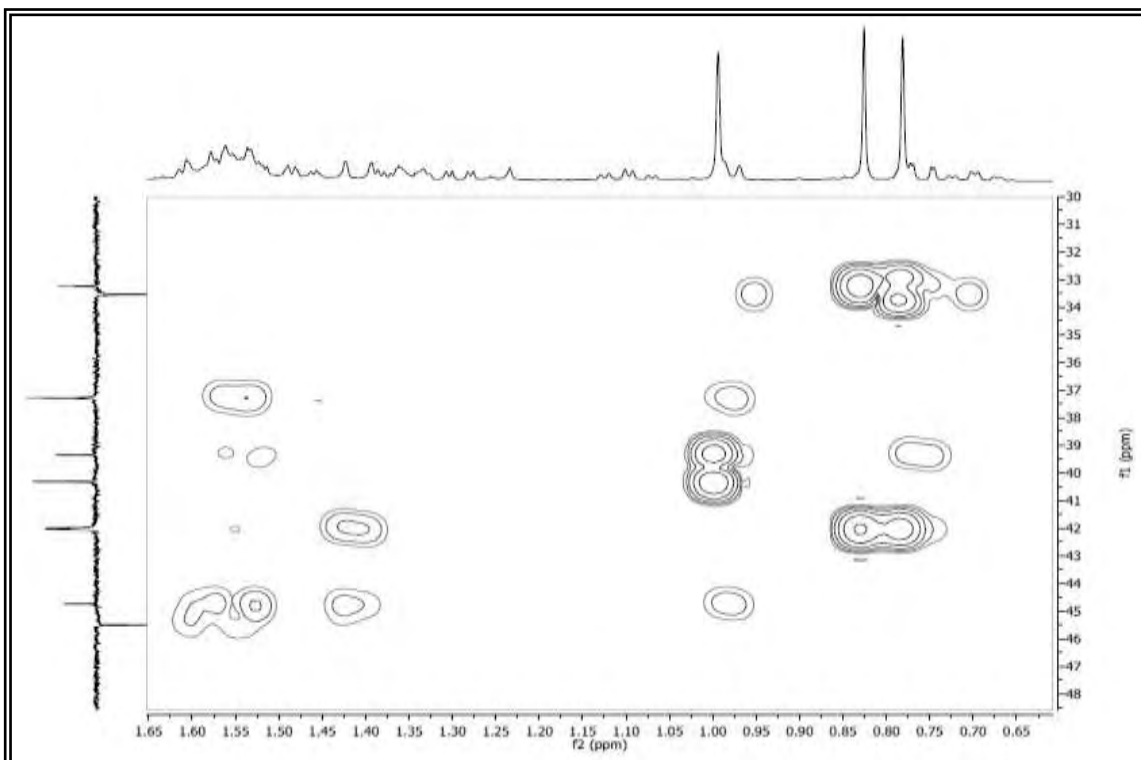


Figura 116. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região de (0,6 – 1,6 ppm) x (30,0 – 48,0 ppm).

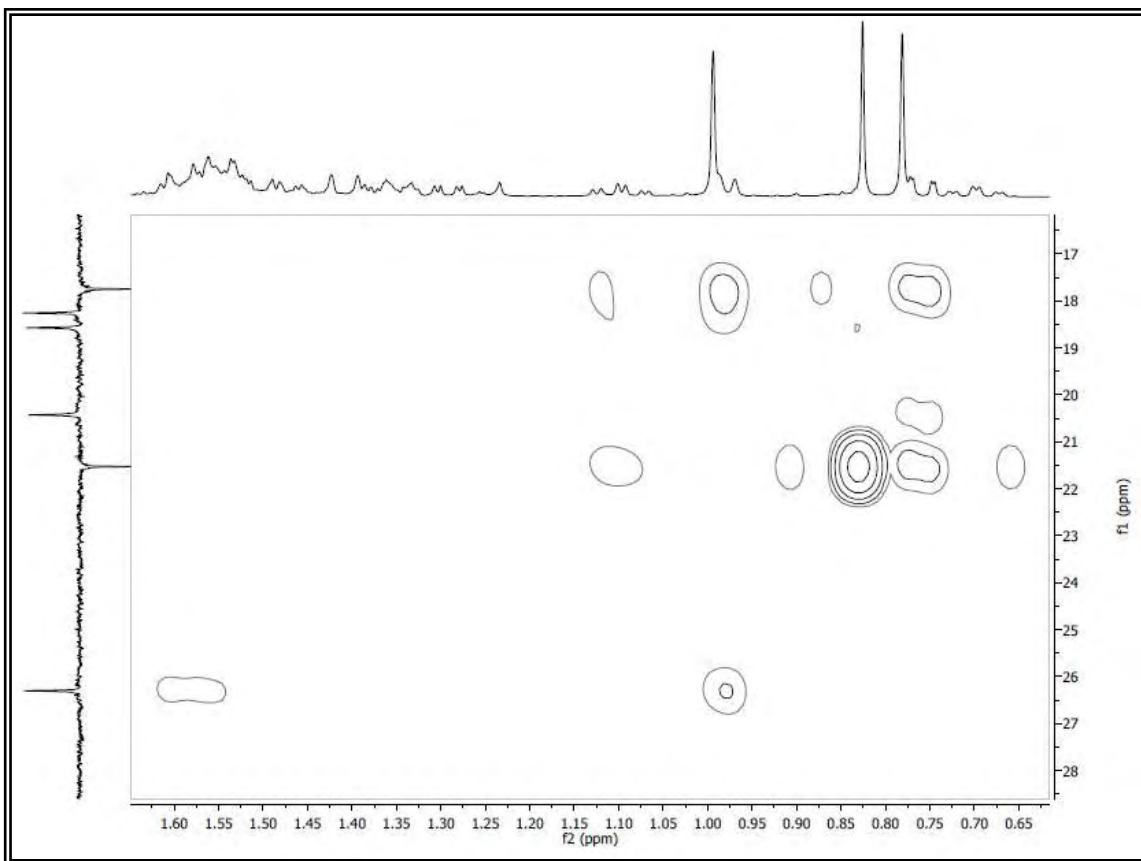
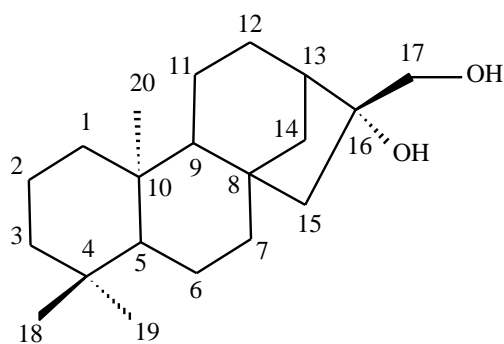


Figura 117. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região de (0,6 – 1,6 ppm) x (17,0 – 28,0 ppm).



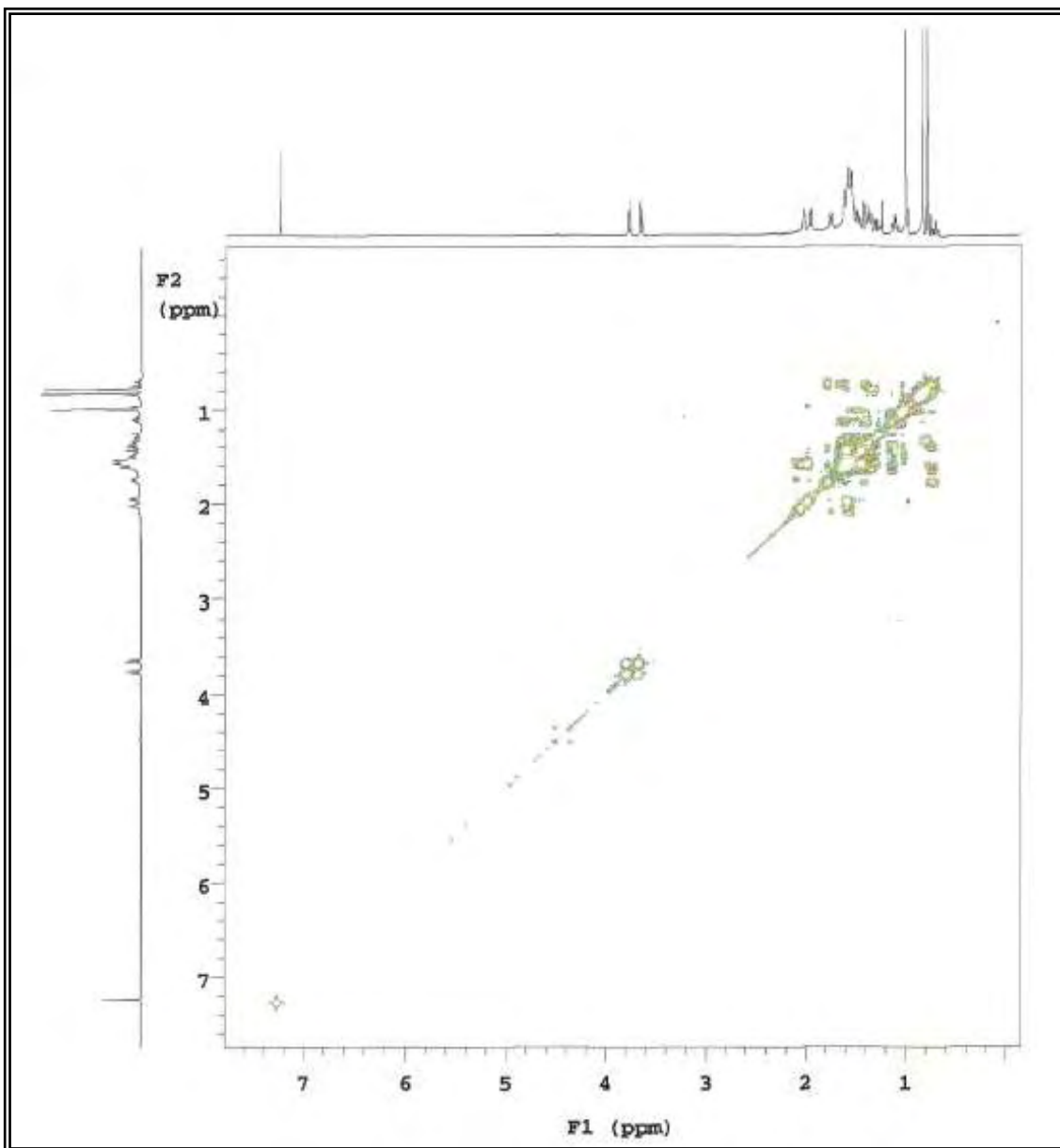
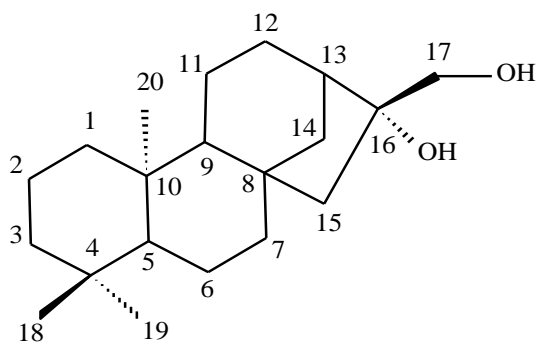


Figura 118. Espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de ER 5.



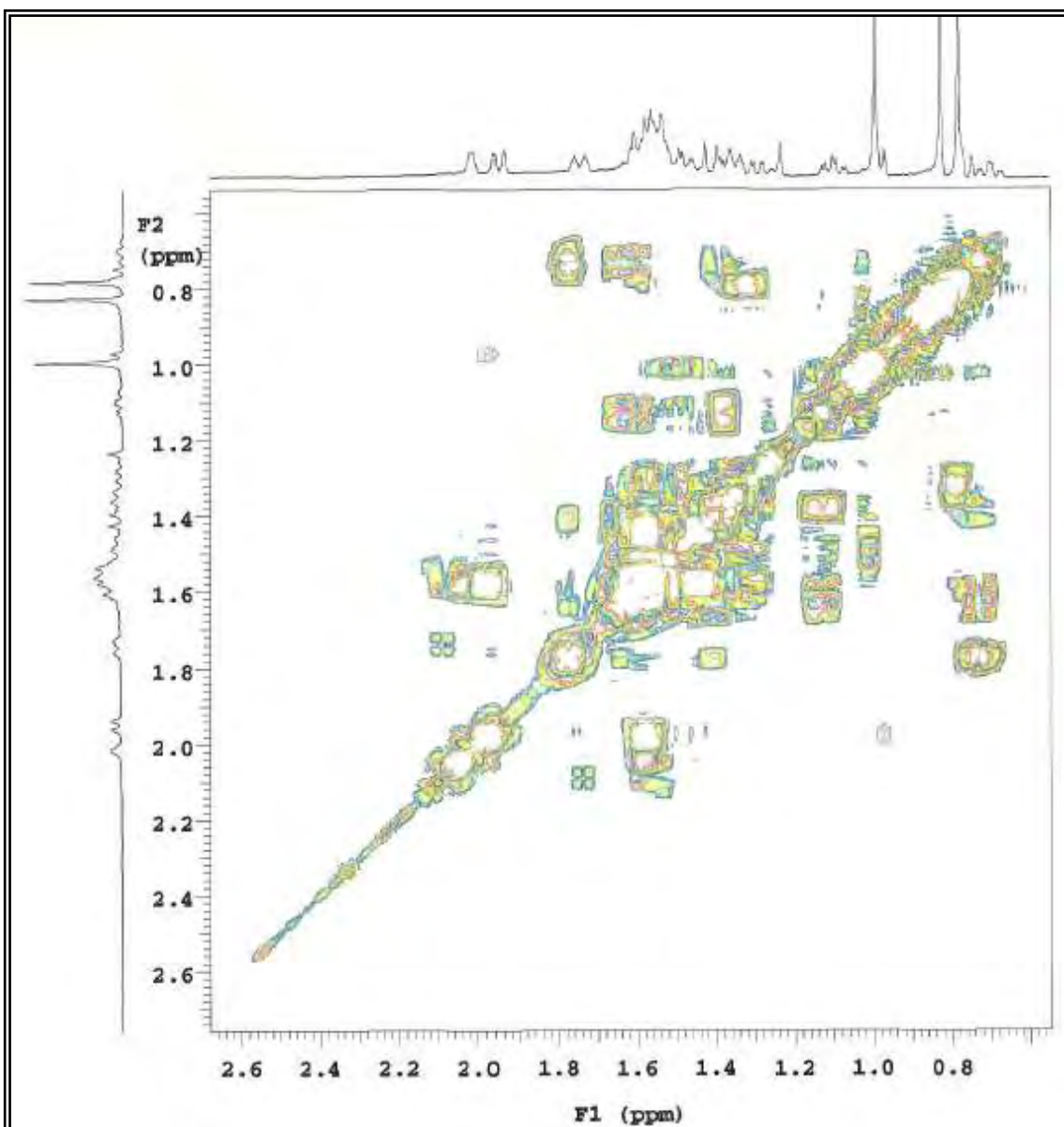
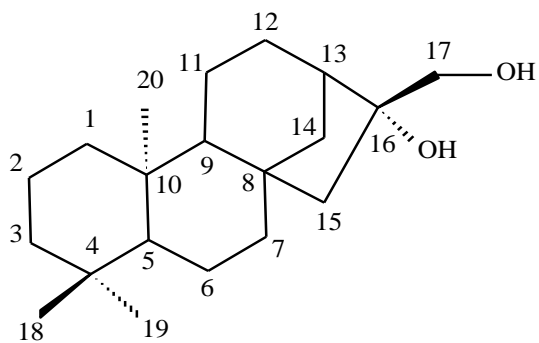


Figura 119. Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região de (0,6 – 2,6 ppm) x (0,6 – 2,6 ppm).



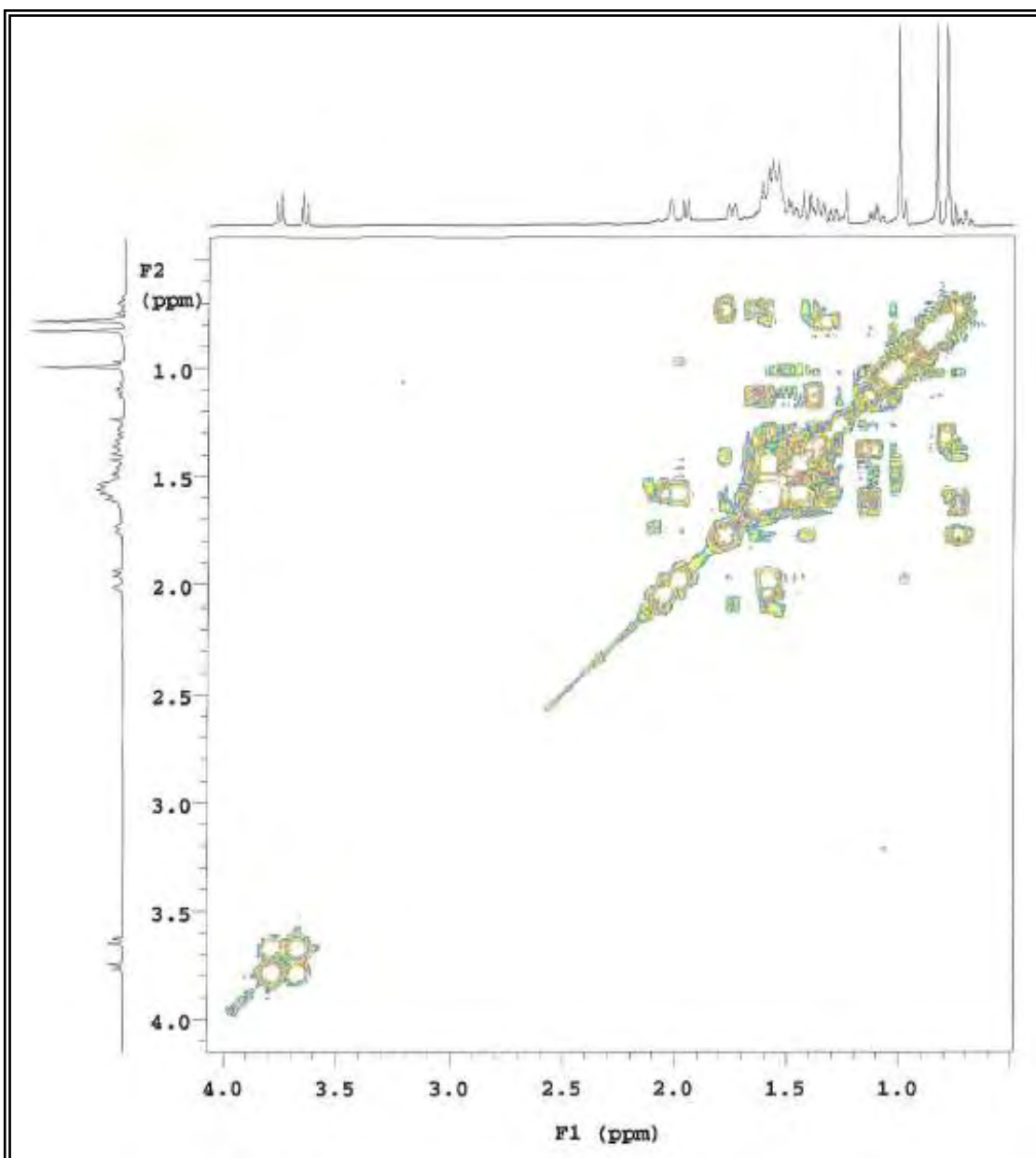
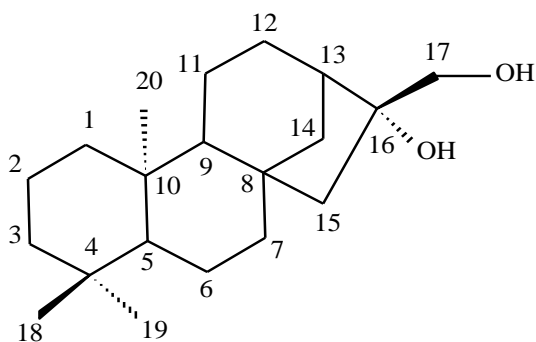


Figura 120. Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de ER 5 na região de (0,5 – 4,0 ppm) x (0,5 – 4,0 ppm).



Erythroxylum subrotundum

8.3 IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *E. SUBROTUNDUM*

8.3.1 Identificação estrutural de ES 1

O espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CD_3OD) (Fig. 121, pág. 166) de **ES 1** apresentou 21 sinais, sendo dez para carbonos não hidrogenados e cinco metínicos. Sete sinais referentes a carbonos não hidrogenados que sustentam grupos oxigenados, em δ_{C} 179,5, 165,7, 163,1, 159,2, 158,4, 149,7 e 146,3, em conjunto com a presença de cinco sinais para carbonos metínicos de sistema aromático em δ_{C} 122,9, 116,9, 116,3, 99,7, 94,7, (Fig. 122 e 123, pág. 166 e 167), sugeriram esqueletos de flavona pentasubstituída para **ES 1**. A ausência do sinal em δ_{C} 107,53 (C-3), sugeriu a presença de substituinte no carbono 3 de **ES 1**. O conjunto de sinais em 71,8-73,2 sugere a presença de unidade osídica.

O espectro de RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD) (Fig. 124, pág. 167) de **ES 1** mostrou dois dubletos na região de hidrogênios de sistema aromático em campo mais alto, em δ_{H} 6,34 ($J=2,0$ Hz) e 6,17 ($J=2,0$ Hz), característicos de hidrogênios H-6 e H-8 de flavonas oxigenadas na posição 5 e 7 (HARBORNE, 1994). Dois dubletos em δ_{H} 7,32 (1H, $J=1,8$ Hz) e 6,91 (1H, $J=8,2$ Hz) e um duplo dubleto em δ_{H} 7,29 (1H, $J=9,4$ e 1,8 Hz) (Fig. 125, pág. 168), poder ser atribuído a um sistema ABX no anel B da flavona. A ausência do singlete referente ao H-3 (δ_{H} 6,75) em **ES 1** reforçou a proposta de existência de substituinte nesta posição, sugerindo para **ES 1** como sendo uma flavona 3,5,7,3',4'-pentasubstituída. O singlete largo em δ_{H} 5,32, o duplo dubleto em 3,74 ($J=9,0$ e 3,6 Hz), os multipletos em δ_{H} 3,32 e 3,41, bem como o dubleto em δ_{H} 0,94 ($J=5,6$) (Fig. 126, pág. 168), permitiram identificar a ramnose ligada a C3 da flavona.

No espectro HMQC (Figuras 133 a 136, pág. 172 a 173), observou-se correlações dos sinais em δ_{H} 6,17 (H-6) com δ_{C} 99,8 e de δ_{H} 6,33 (H-8) com δ_{C} 94,7 ppm confirmando as atribuições de C-6 e C-8 do anel A da flavona. Observaram-se correlações de δ_{H} 6,90 (H-5') com δ_{C} 116,3, de δ_{H} 7,29 (H-6') com δ_{C} 122,9 e δ_{H} 7,32 (H-2') com 116,9 confirmando as atribuições. Observou-se ainda correlação do sinal em δ_{H} 0,93 (H-6'') com δ_{C} 17,6 e de δ_{H} 5,33 (H-1'') com δ_{C} 103,4 confirmando

respectivamente a metila e o carbono anomérico da raminose (BELTRAME et al., 2001). As demais correlações estão compiladas na **Tabela 8** (pág. 165).

No espectro HMBC (Figuras 128 a 132, pág. 169 a 171), foi possível determinar as correlações de δ_H 6,17ppm (H-6) e 6,33 (H-8) com 165,7 que foi atribuída ao C-7. Observou-se as correlações de 6,17 (H-6) com 163,0 sendo atribuído a C-5. Observou-se ainda correlação de 6,33 (H-8) com 158,4 que foi atribuído a C-9, assinalando todos os carbonos do anel A da flavona. Ainda nesse espectro as correlações de 7,32 (H-2') e 7,29 (H-6') com δ_C 159,2 que foram atribuídas a C-2. A correlação de δ_H 7,29 com δ_C 149,6 que foi atribuído a C-4'. A correlação observada em δ_H 5,33 com δ_C 136,1 confirma a unidade osídica em C-3. As demais correlações estão compiladas na **Tabela 8** (pág. 165) (BELTRAME et al., 2001).

No espectro COSY (Figuras 137 e 138, pág. 174 e 175), foi possível observar correlações dos sinais em δ_H 6,17 (H-6) com 6,33 (H-8), confirmando o anel A 5,7 substituído. Correlações de δ_H 7,32 (H-2') com δ_H 7,28 (H-6'), 6,92 (H-5') com 7,28 (H-6') e de 7,28 (H-6') com 7,32 (H-2') e 6,92 (H-5') confirmou o sistema ABX para o anel B da flavona.

Após análise dos dados de RMN 1D e 2D e comparação com a literatura, foi possível identificar **ES 1** como sendo Quercetina-3-*O*- α -L-raminosídeo.

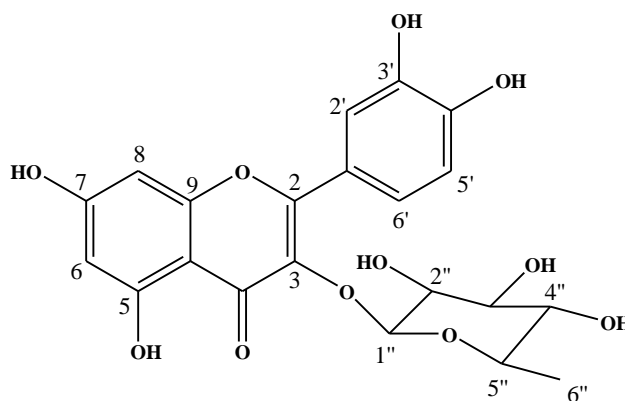
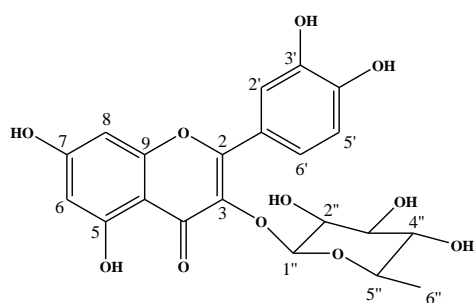
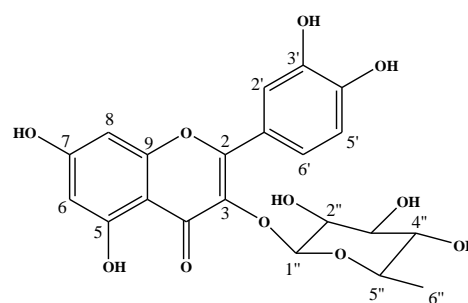


Tabela 8. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais em CD_3OD a 500 MHz e 50 MHz de ES-1.



ES 1



MODELO (BELTRAME et al., 2001)

		ES 1	MODELO		
		HMQC	HMBC	COSY	
C	δ_{C}	δ_{H}	$\delta_{\text{C}} \times \delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{H}} \times \delta_{\text{H}}$	δ_{C}
2	159,2		H-2', H-6'		158,8
3	136,1		H-1''		136,4
4	179,5				179,9
5	163,0				163,5
6	99,8	6,17 (d, $J = 2,0$ Hz)			99,9
7	165,7				166,1
8	94,7	6,34 (d, $J = 2,0$ Hz)			94,8
9	158,4		H-8		158,0
10	105,8		H-6, H-8		106,0
1'	122,9				123,1
2'	116,9	7,32 (d, $J = 2,0$ Hz)			117,0
3'	146,2		H-2', H-5'		144,6
4'	149,6				150,0
5'	116,3	6,91(d, $J = 8,5$ Hz)		H-6'	116,5
6'	122,9	7,29 (dd, $J = 2,0; 8,5$ Hz)		H-5'	123,1
1''	103,4	5,33 (d, $J = 1,5$ Hz)		H-2''	103,7
2''	71,9	4,22 (dd, $J = 1,5; 3,0$ Hz)		H-1'', H-3''	72,1
3''	72,0	3,74 (dd, $J = 3,0; 9,5$ Hz)	H-2'', H-5''	H-2''	72,2
4''	73,2	3,35(m)			73,3
5''	71,8	3,41 (m)	H-6''		72,0
6''	17,6	0,94 (d, $J = 6,5$ Hz)			17,6

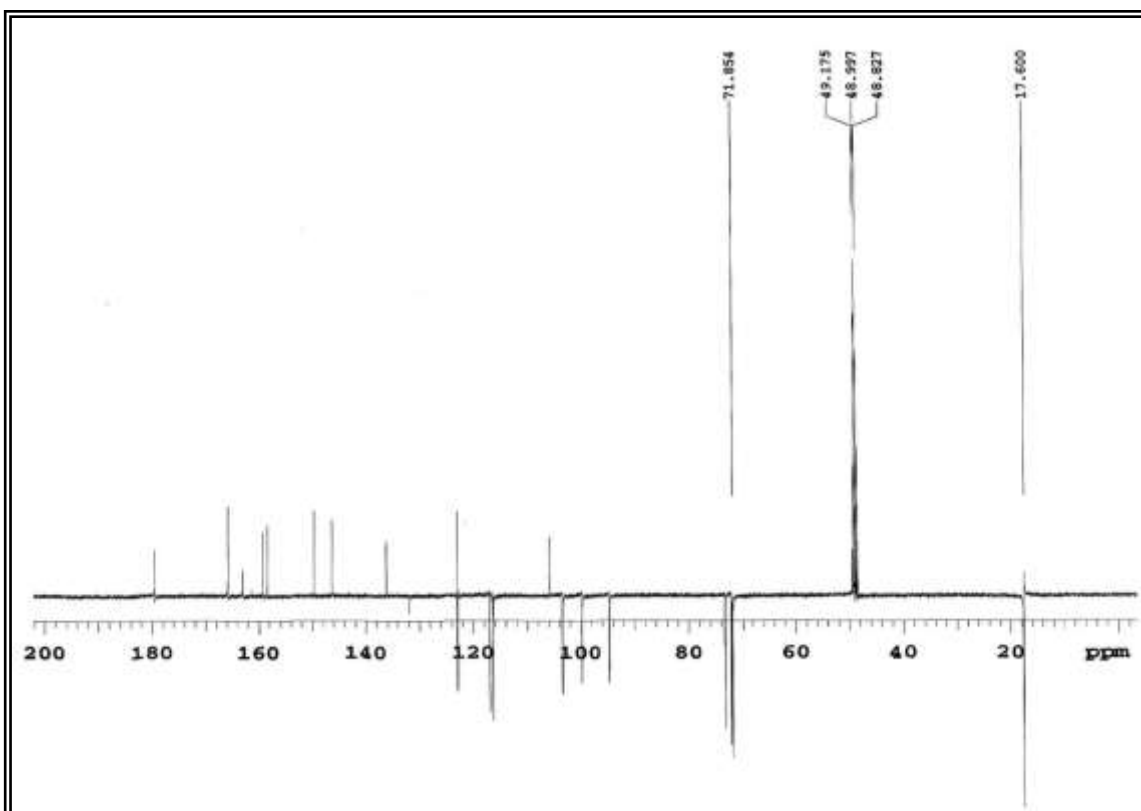


Figura 121. Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CD_3OD) de ES 1.

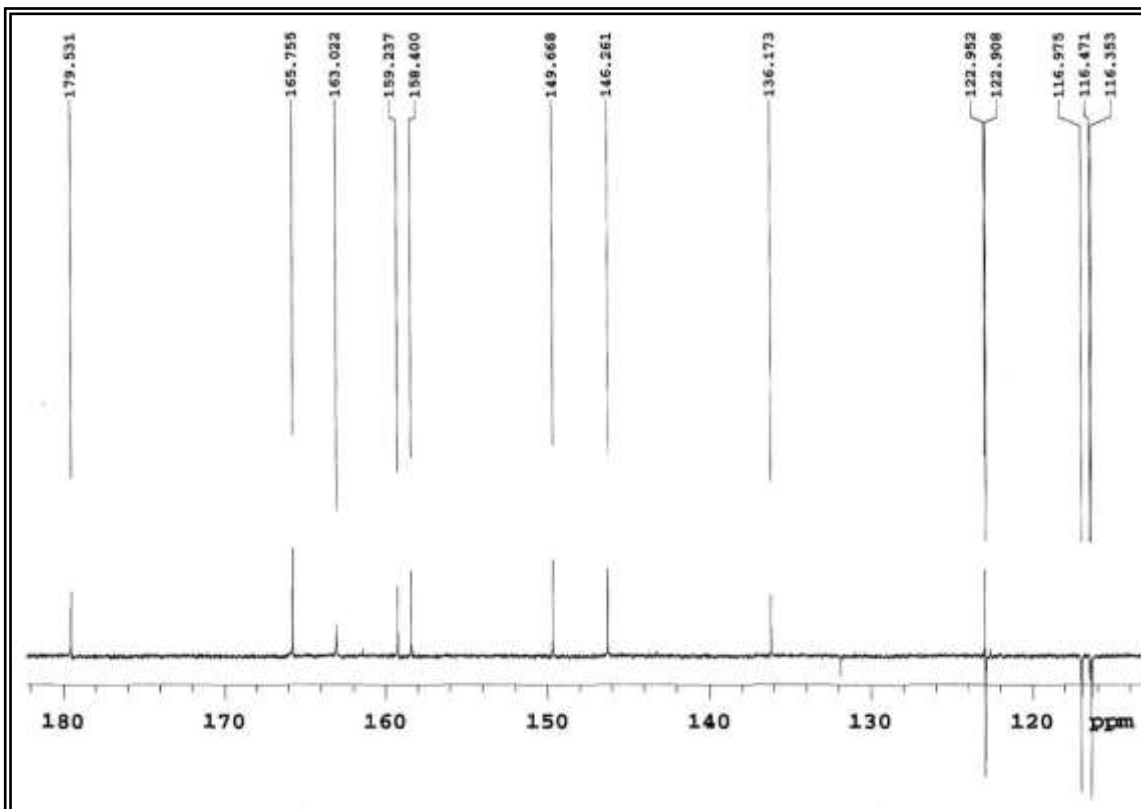


Figura 122. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CD_3OD) de ES 1 na região de 180 a 115 ppm.

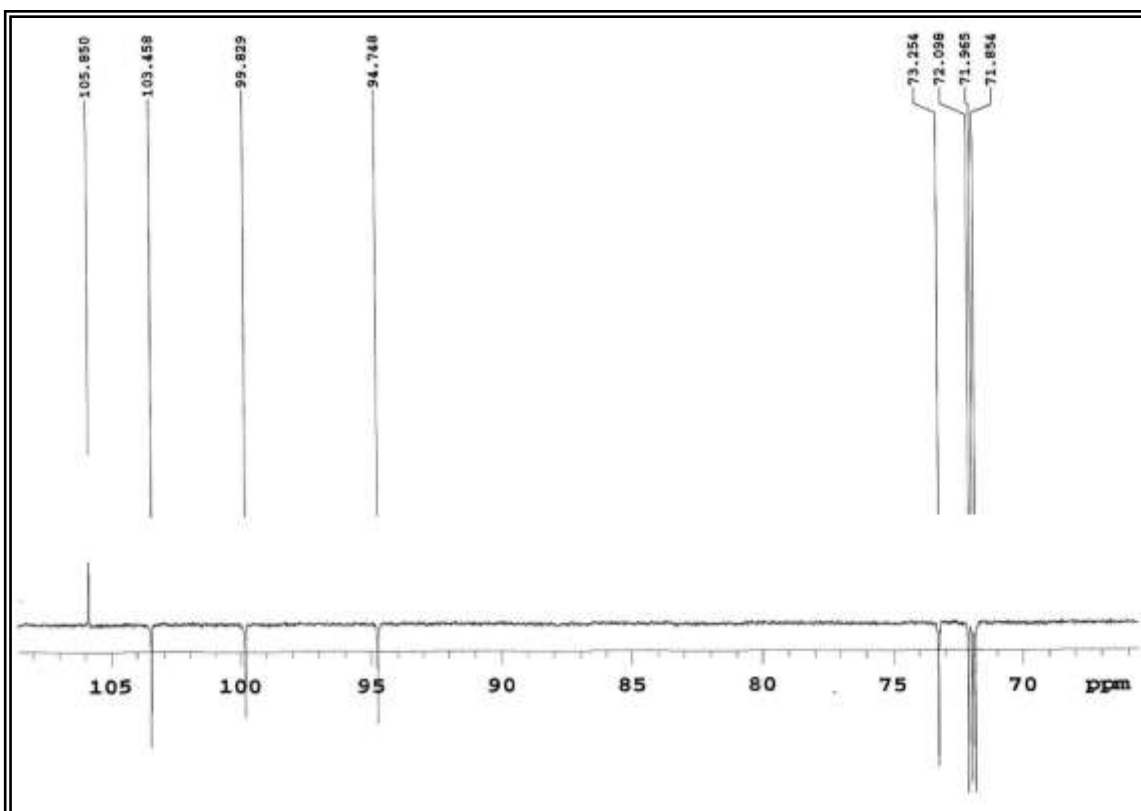


Figura 123. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de **ES 1** na região de 105 a 70 ppm.

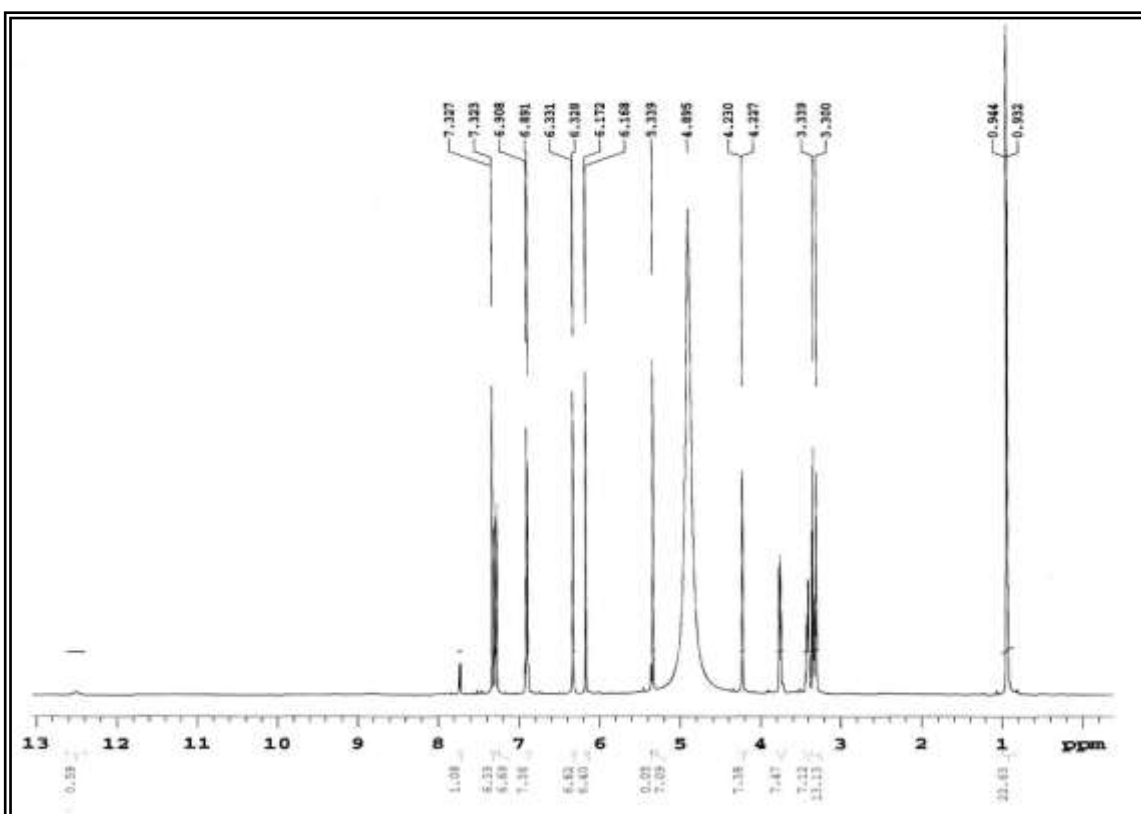


Figura 124. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) de **ES 1**.

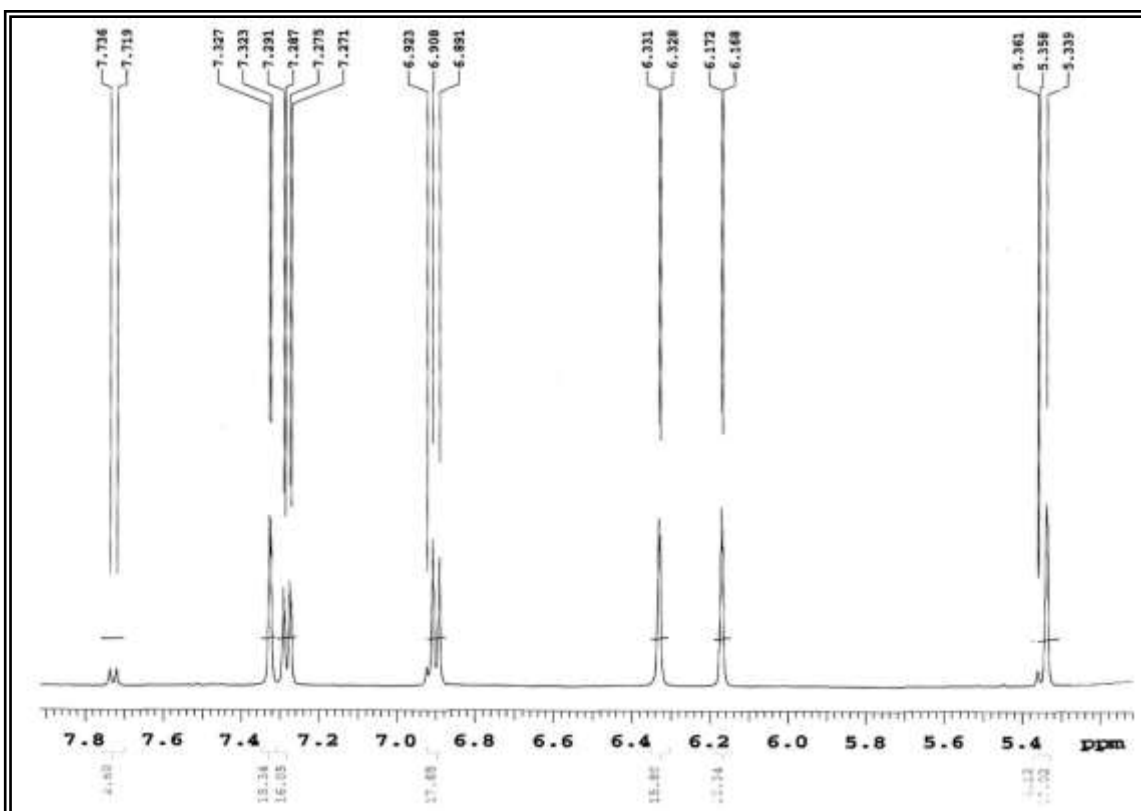


Figura 125. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) de **ES 1** na região de 7,8 a 5,3 ppm.

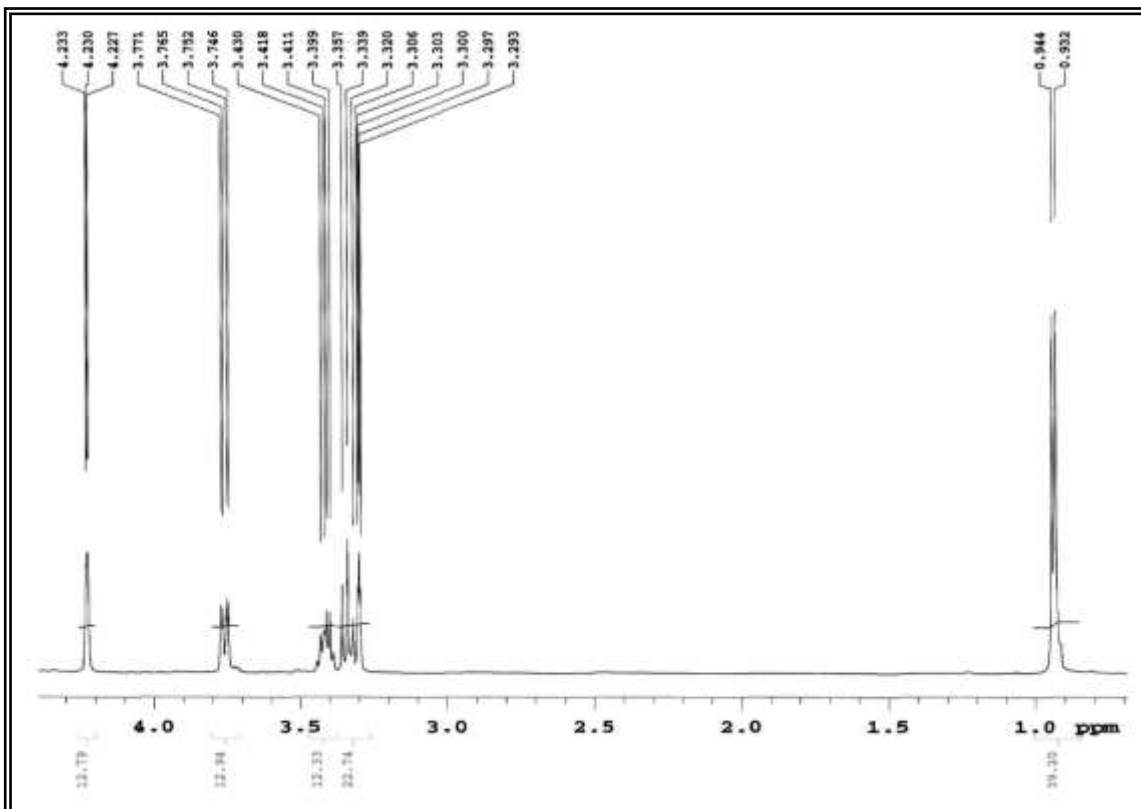


Figura 126. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) de **ES 1** na região de 4,5 a 0,5 ppm.

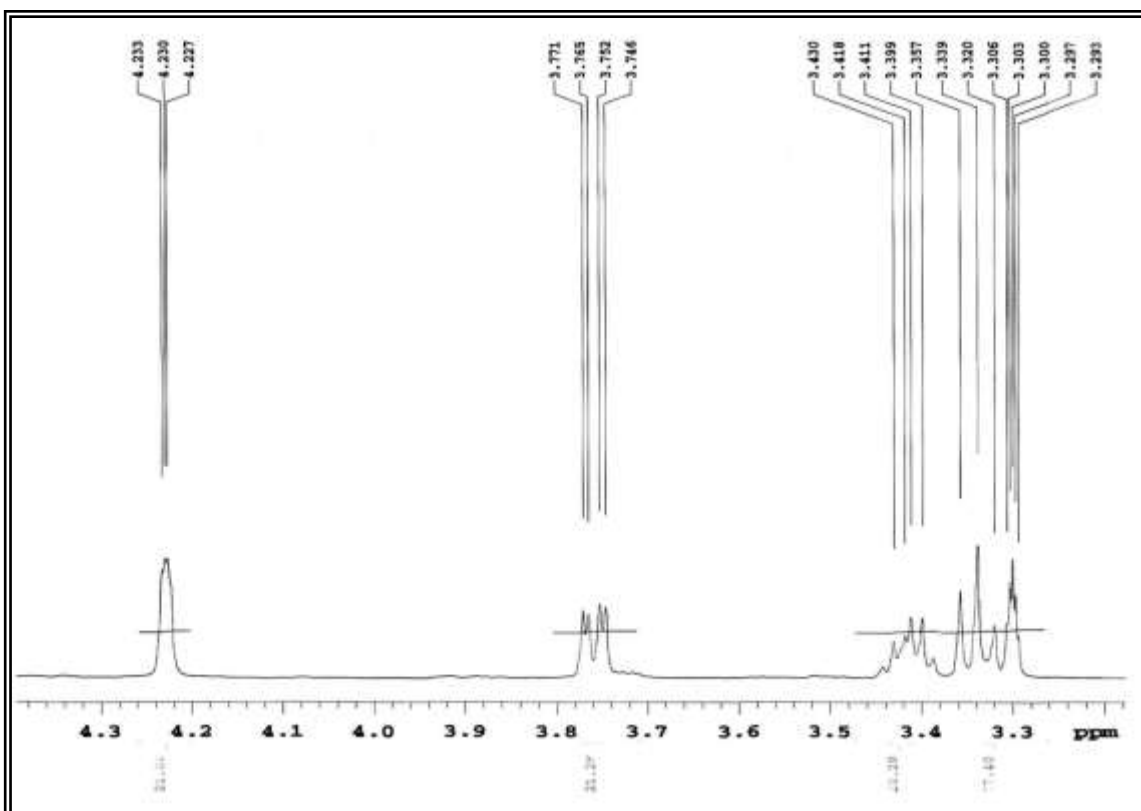


Figura 127. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) de **ES 1** na região de 4,3 a 3,2 ppm.

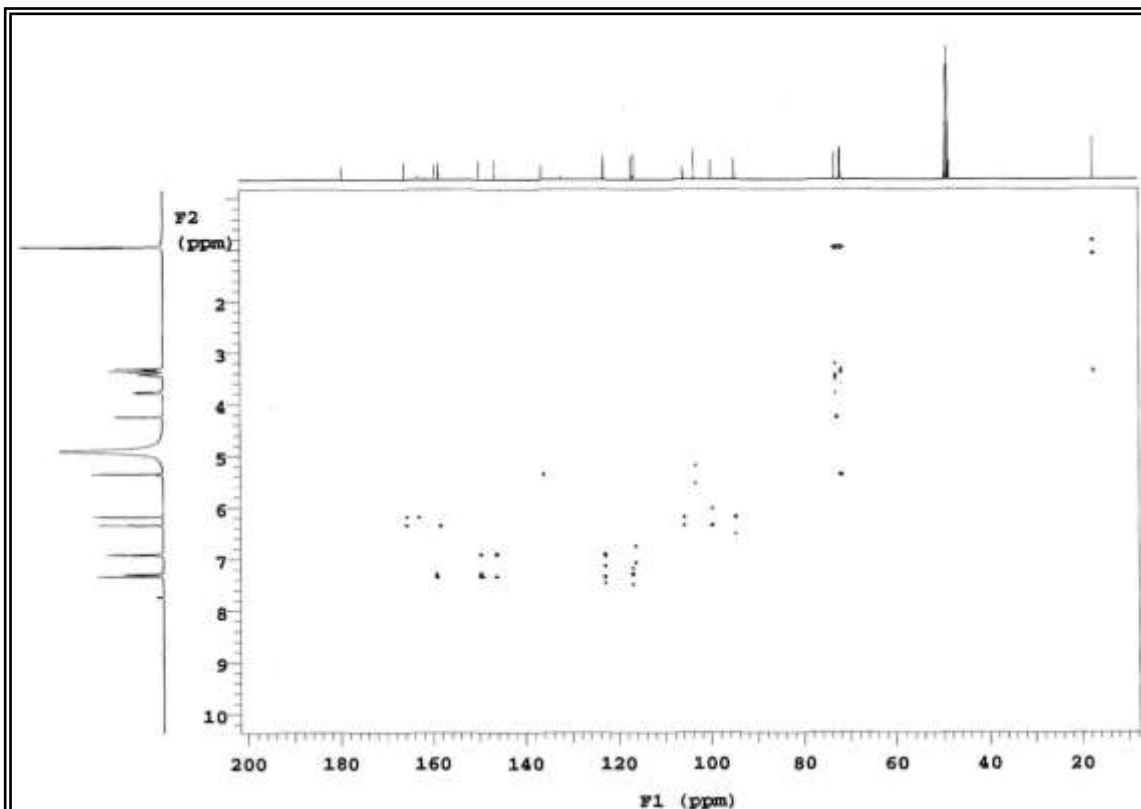


Figura 128. Espectro HMBC (500 e 125 MHz, CD_3OD) de **ES 1**.

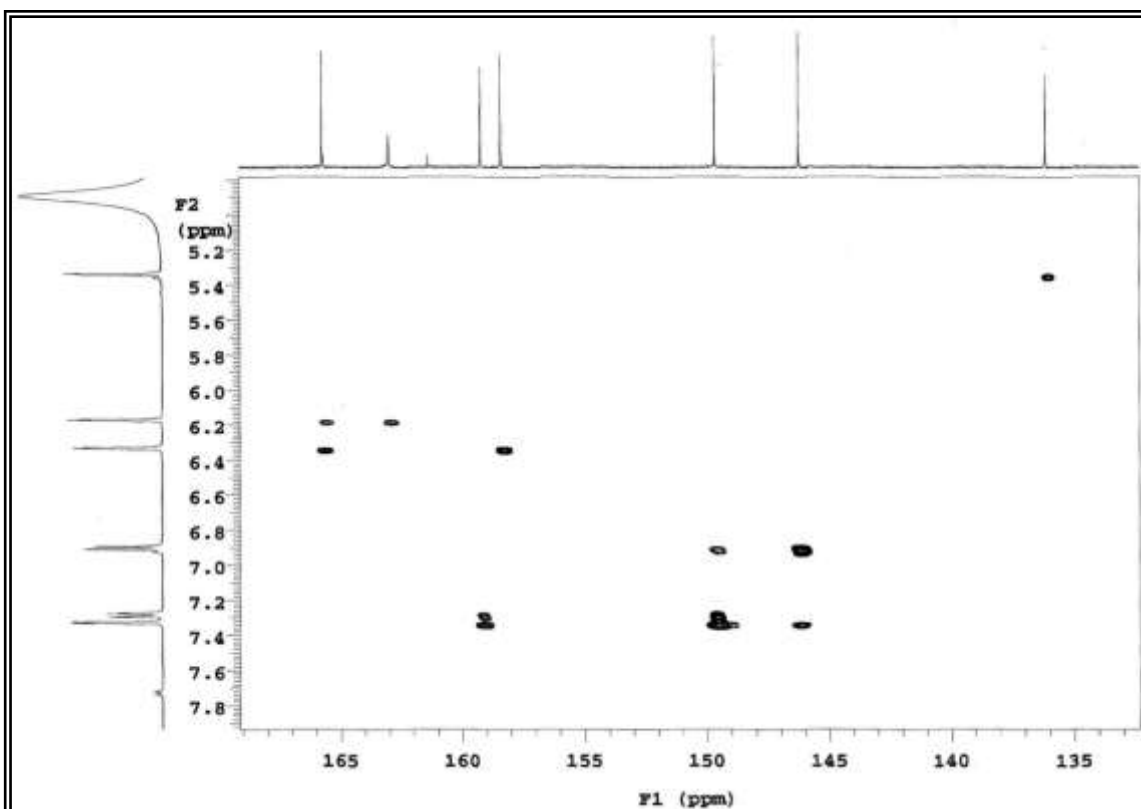


Figura 129. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CD₃OD) de **ES 1** na região de (5,0 – 7,8 ppm) x (135,0 – 165,0 ppm).

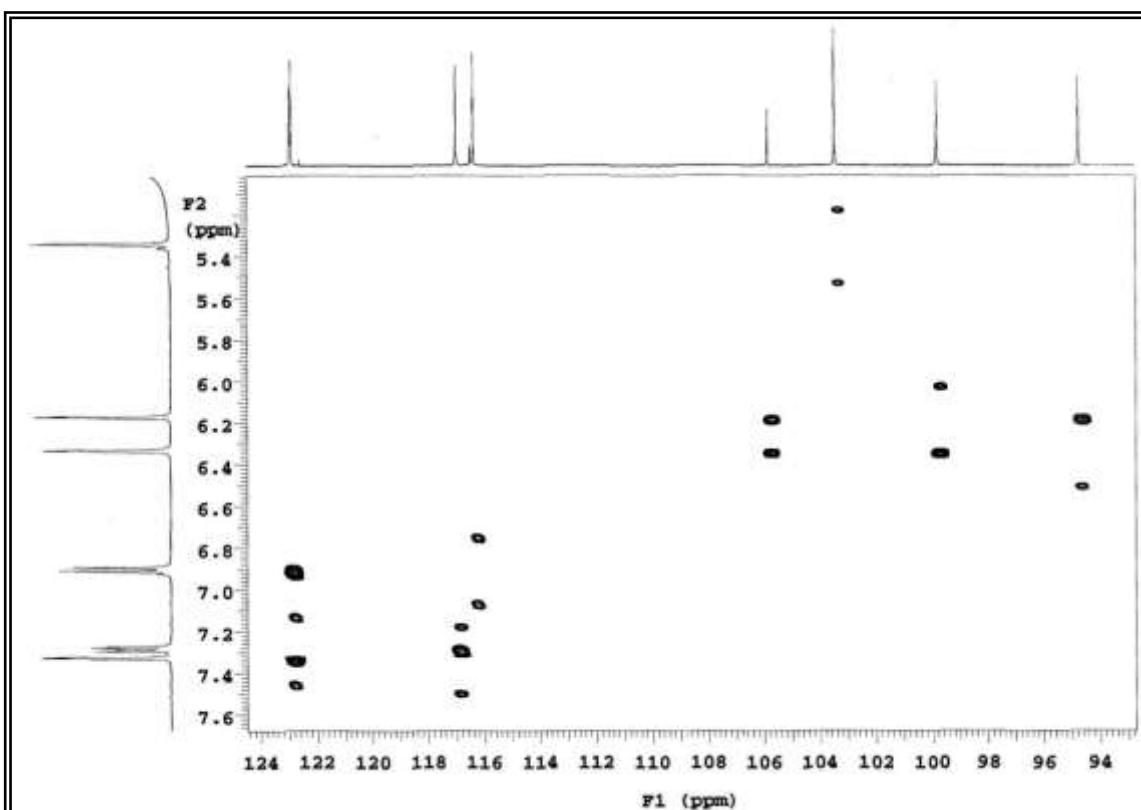


Figura 130. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CD₃OD) de **ES 1** na região de (5,3 – 7,6 ppm) x (94,0 – 124,0 ppm).

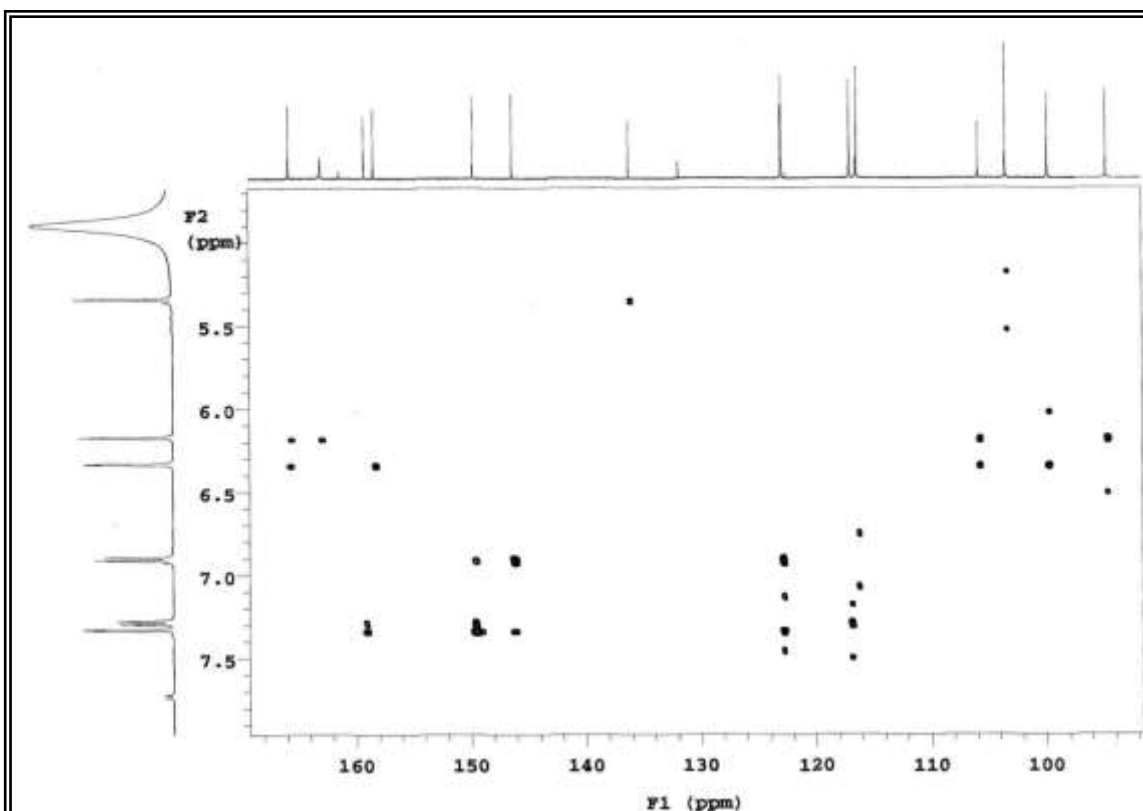


Figura 131. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CD₃OD) de **ES 1** na região de (5,0 – 7,5 ppm) x (90,0 – 170,0 ppm).

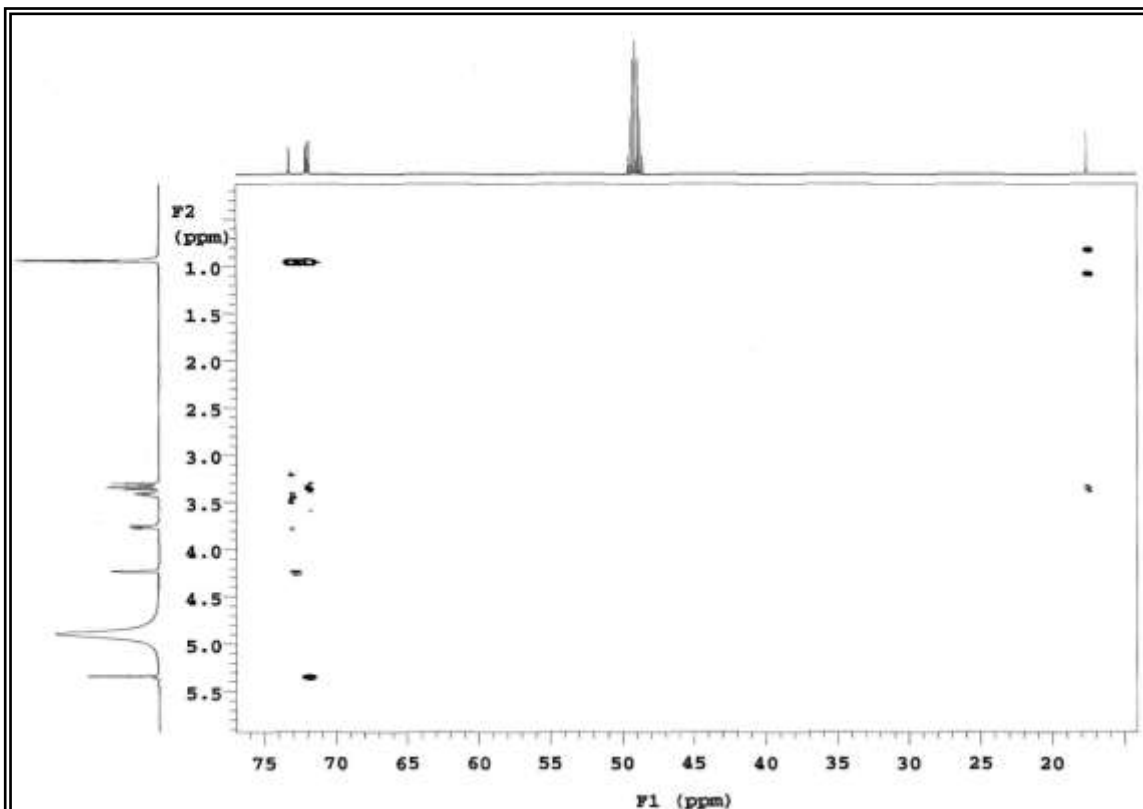


Figura 132. Expansão do espectro HMBC (500 e 125 MHz, CD₃OD) de **ES 1** na região de (1,0 – 5,5 ppm) x (10,0 – 75,0 ppm).

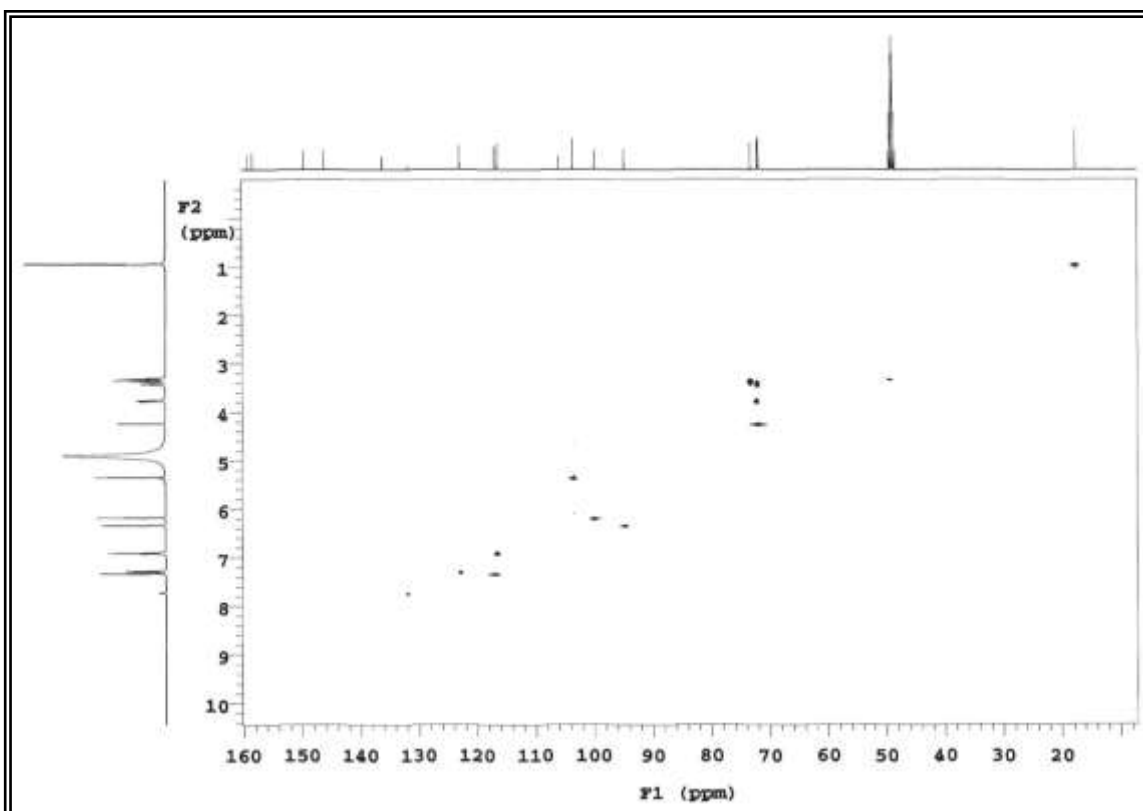


Figura 133. Espectro HMQC (500 e 125 MHz, CD₃OD) de **ES 1** na região de (1,0 – 10,0 ppm) x (20,0 – 160,0 ppm).

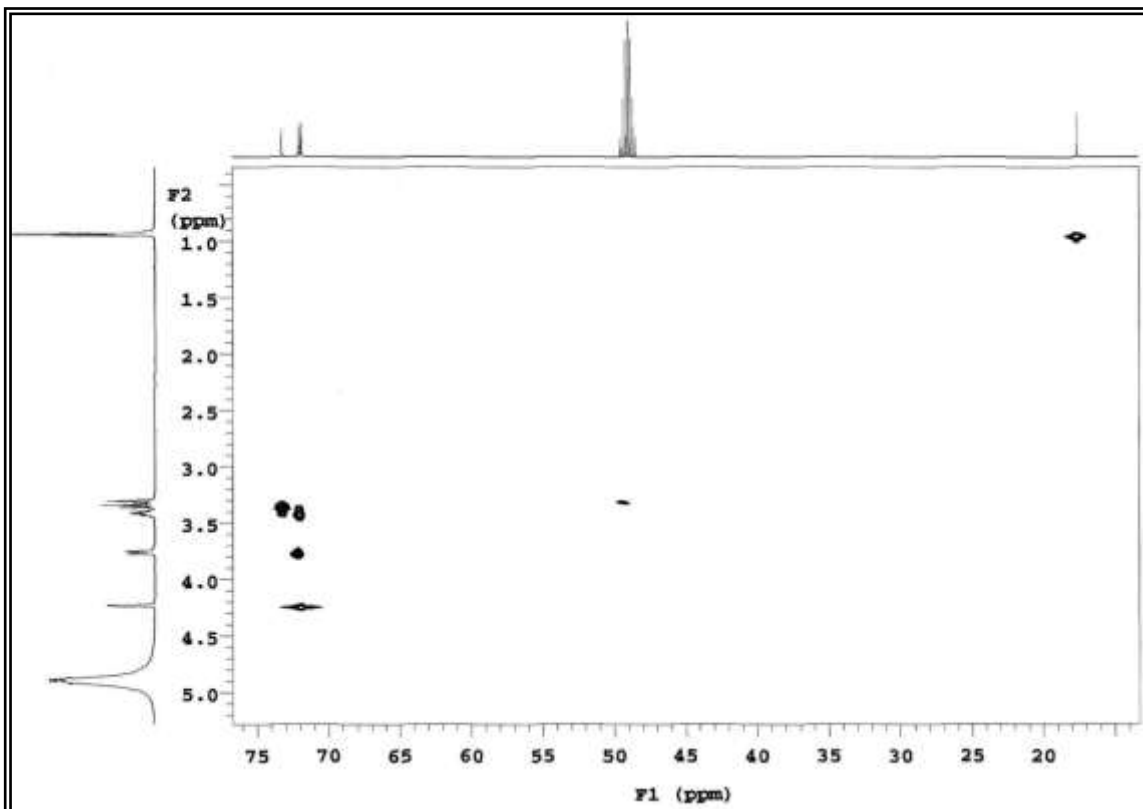


Figura 134. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CD₃OD) de **ES 1** na região de (0,5 – 5,0 ppm) x (20,0 – 75,0 ppm).

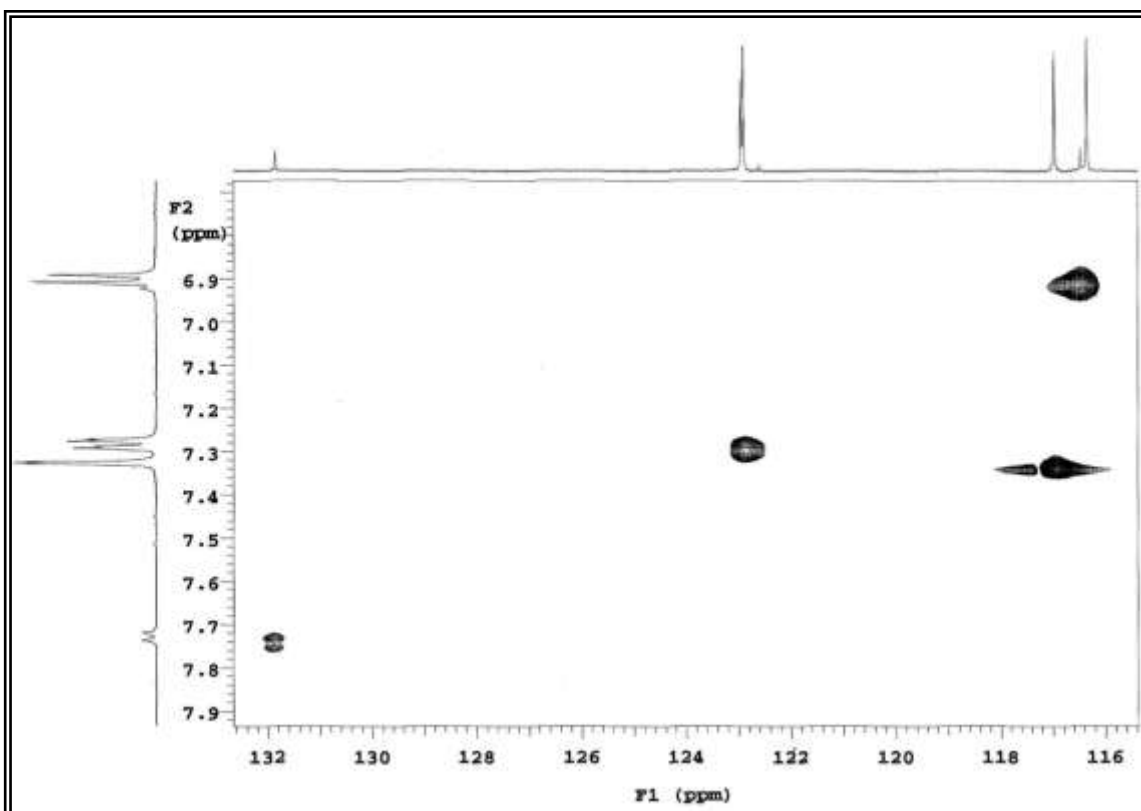


Figura 135. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CD₃OD) de **ES 1** na região de (6,8 – 7,9 ppm) x (116,0 – 132,0 ppm).

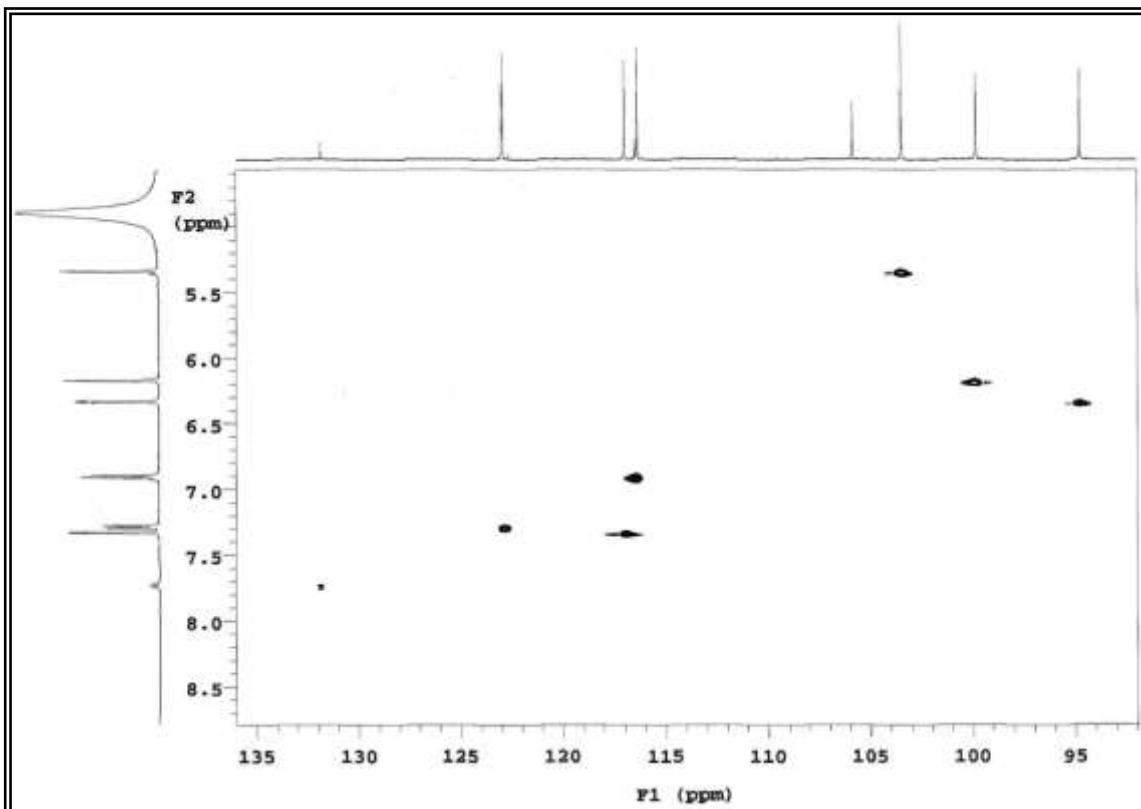


Figura 136. Expansão do espectro HMQC (500 e 125 MHz, CD₃OD) de **ES 1** na região de (5,0 – 8,5 ppm) x (95,0 – 135,0 ppm).

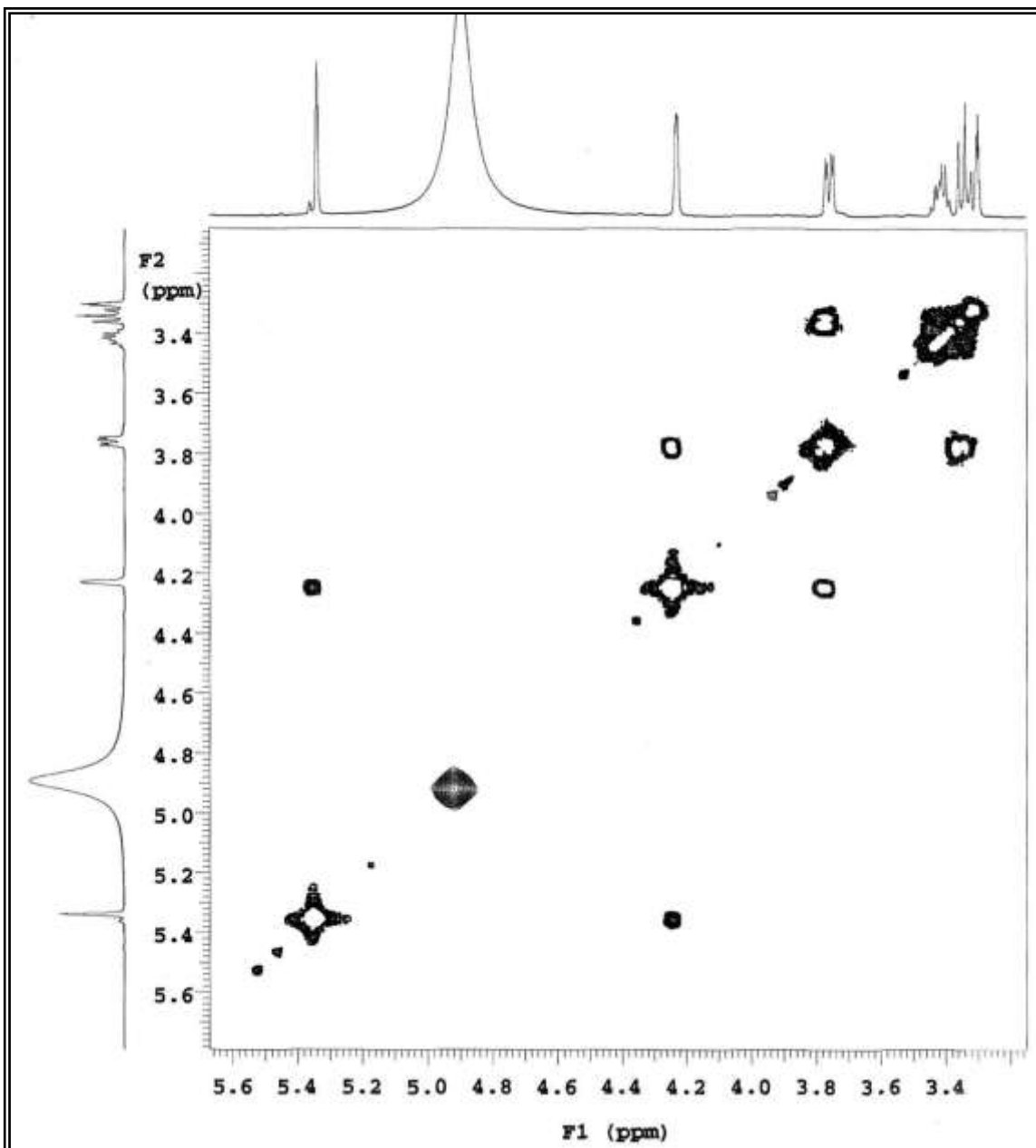


Figura 137. Espectro COSY (500 MHz, CD₃OD) de ES 1.

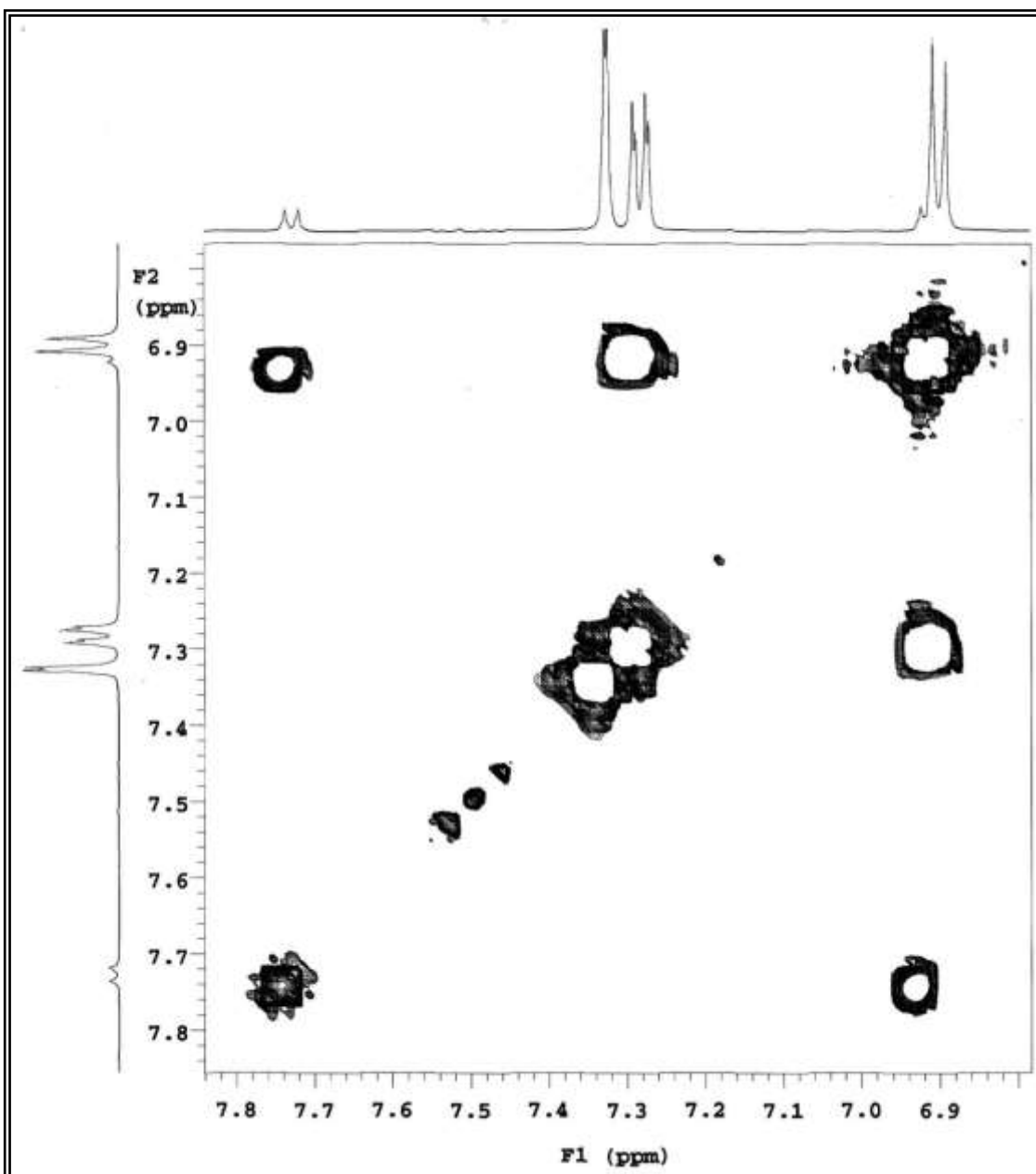


Figura 138. Expansão do espectro COSY (500 MHz, CD₃OD) de **ES 1** na região de (6,9 – 7,8 ppm) x (6,9 – 7,8 ppm).

8.3.2 Identificação estrutural de ES 2

O espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CD_3OD) (Fig. 142, pág. 179) de **ES 2** apresentou 21 sinais, sendo nove para carbonos não hidrogenados e seis metínicos. Seis sinais referentes a carbonos não hidrogenados que sustentam grupos oxigenados, em δ_{C} 179,5, 166,2, 163,1, 161,5, 158,6, 159,2 e 136,1, em conjunto com a presença de quatro sinais metínicos de sistema aromático correspondentes a seis carbonos em δ_{C} 131,8, 116,5, 100,1 e 94,9, (Fig. 143, pág. 180), sugeriram esqueletos de flavona tetrasubstituída para **ES 2**. A ausência do sinal em δ_{C} 107,53 (C-3), sugeriu a presença de substituinte no carbono 3 de **ES 2**. O conjunto de sinais em δ_{C} 71,8-73,2, sugere a presença de unidade osídica raminose.

O espectro de RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD) (Fig. 139, pág. 178) de **ES 2** mostrou dois dubletos na região de hidrogênios aromáticos em campo mais alto, em δ_{H} 6,18 (*sl*) e 6,35 (*sl*), atribuídos aos hidrogênios H-6 e H-8 de flavonas oxigenadas na posição 5 e 7. Na região de hidrogênios de sistema aromáticos, os sinais em δ_{H} 7,78 (*d*, $J=9,0$ Hz) e 6,95 ($J=8,6$ Hz) com integração para dois hidrogênios cada. As constantes de acoplamento observadas (8-9 Hz) indicam uma relação *orto* entre esses hidrogênios. Estes sinais foram atribuídos aos hidrogênios H-2', H-6' e H-3', H-5' do anel B, respectivamente, característico de anel aromático substituído na posição 4, formando o sistema AA'BB'. A ausência do singlete referente ao H-3 (δ_{H} 6,75) em **ES 2** reforçou a proposta de existência de substituinte nesta posição, sugerindo para **ES 2** como sendo uma flavona 3,5,4'-tetrasubstituída.

O singlete largo em δ_{H} 5,35, o duplo dubleto em 3,72 ($J=8,6$ e 2,6 Hz), os multipletos em δ_{H} 3,32 e 3,33, bem como o dubleto em δ_{H} 0,92 ($J=5,4$) (Fig. 141, pág. 179), permitiram identificar a raminose ligada a C3 da flavona. As demais multiplicidades e deslocamentos químicos estão compilados na **Tabela 9** (Pág. 177). Após análise desses dados e comparação com a literatura (BELTRAME et al. 2001), foi possível identificar **ES 2** como sendo o 5, 7, 4'-trihidroxi flavona 3-*O*- α L-rhaminosídeo.

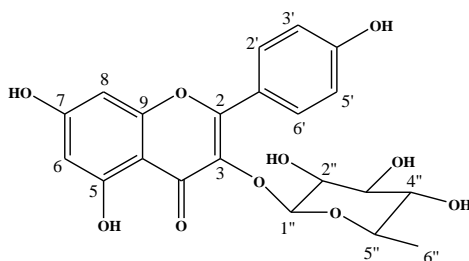
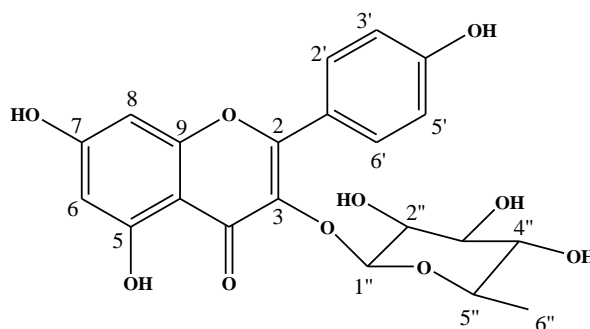


Tabela 9. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C em CD_3OD a 500 MHz e 50 MHz de ES-2.



ES 2		(BELTRAME et al. 2001)		
Posição	δC	δH	δC	δH
2	159,2		158,8	
3	136,1		136,4	
4	179,5		179,9	
5	163,1		163,5	
6	99,7	6,18 (sl)	99,9	6,27 (d, $J = 1,8$ Hz)
7	165,7		166,1	
8	94,7	6,35 (sl)	94,8	6,48 (d, $J = 1,8$ Hz)
9	158,4		158,0	
10	105,8		106,0	
1'	122,8		123,1	
2' e 6'	116,9	7,78 (d, $J = 9,0$ Hz)	117,0	7,50 (d, $J = 2,4$ Hz)
4'	149,7		150,0	
3' e 5'	116,3	6,95 (d, $J = 8,5$ Hz)	116,5	6,99 (d, $J = 8,4$ Hz)
1''	103,4	5,33 (sl)	103,7	5,51 (d, $J = 1,5$ Hz)
2''	71,9	4,22 (dd, $J = 1,8; 1,3$ Hz)	72,1	4,21 (dd, $J = 3,3; 8,0$ Hz)
3''	72,0	3,74 (dd, $J = 9,0; 3,6$ Hz)	72,2	3,73 (dd, $J = 9,0; 3,0$ Hz)
4''	73,2	3,32 (m)	73,3	3,35 (m)
5''	71,8	3,41 (m)	72,0	3,42 (m)
6''	17,6	0,94 (d, $J = 5,6$ Hz)	17,6	0,91 (d, $J = 1,5$ Hz)

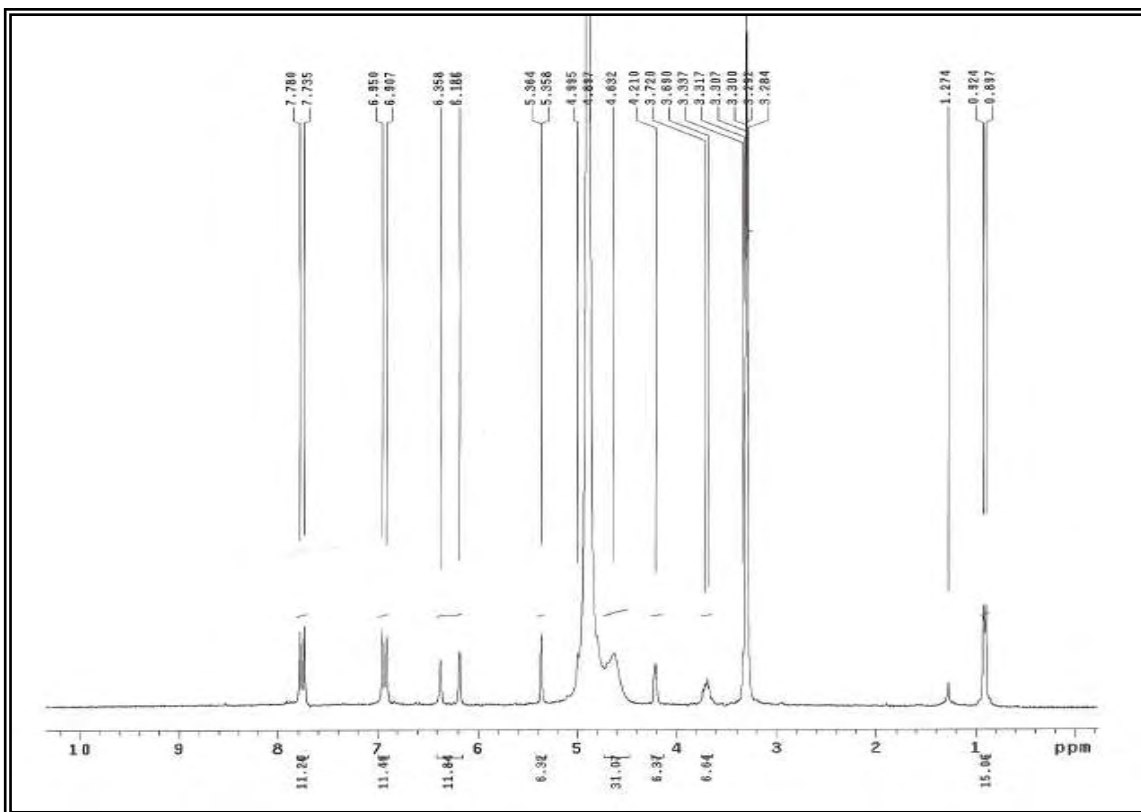


Figura 139. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) de ES 2.

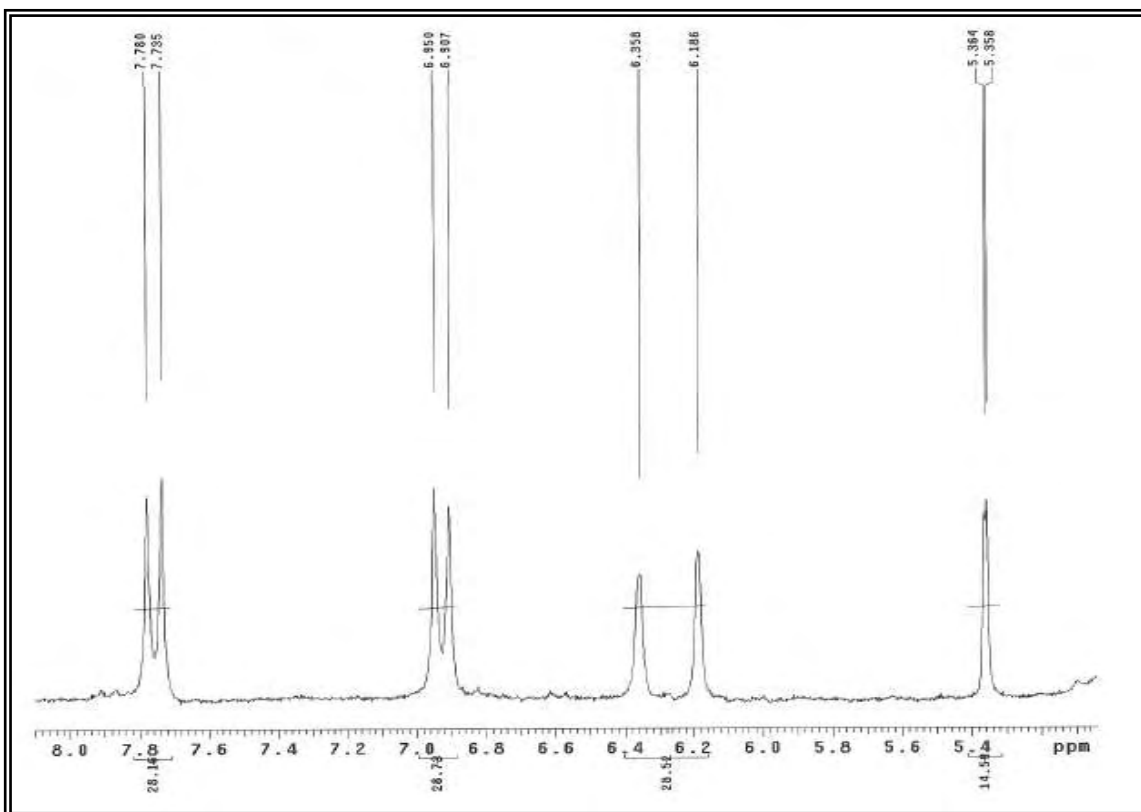


Figura 140. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) de ES 2 na região de 8,0 a 5,4 ppm.

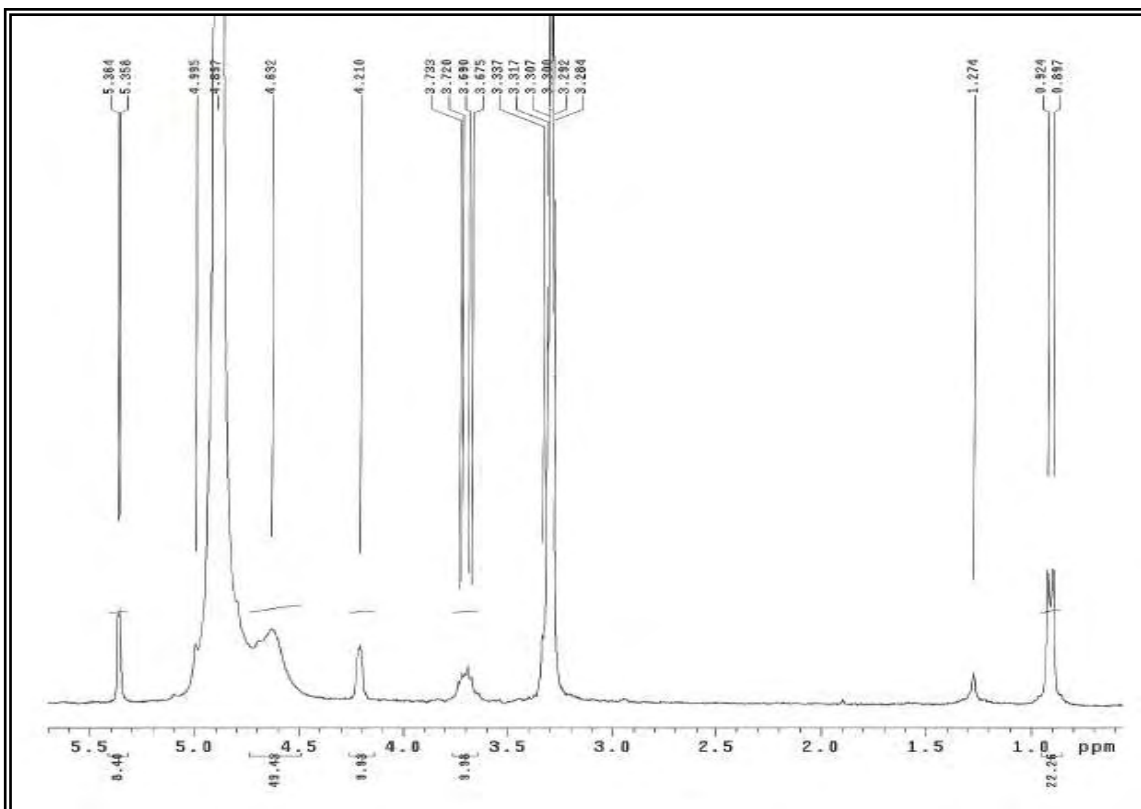


Figura 141. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) de **ES 2** na região de 5,5 a 1,0 ppm.

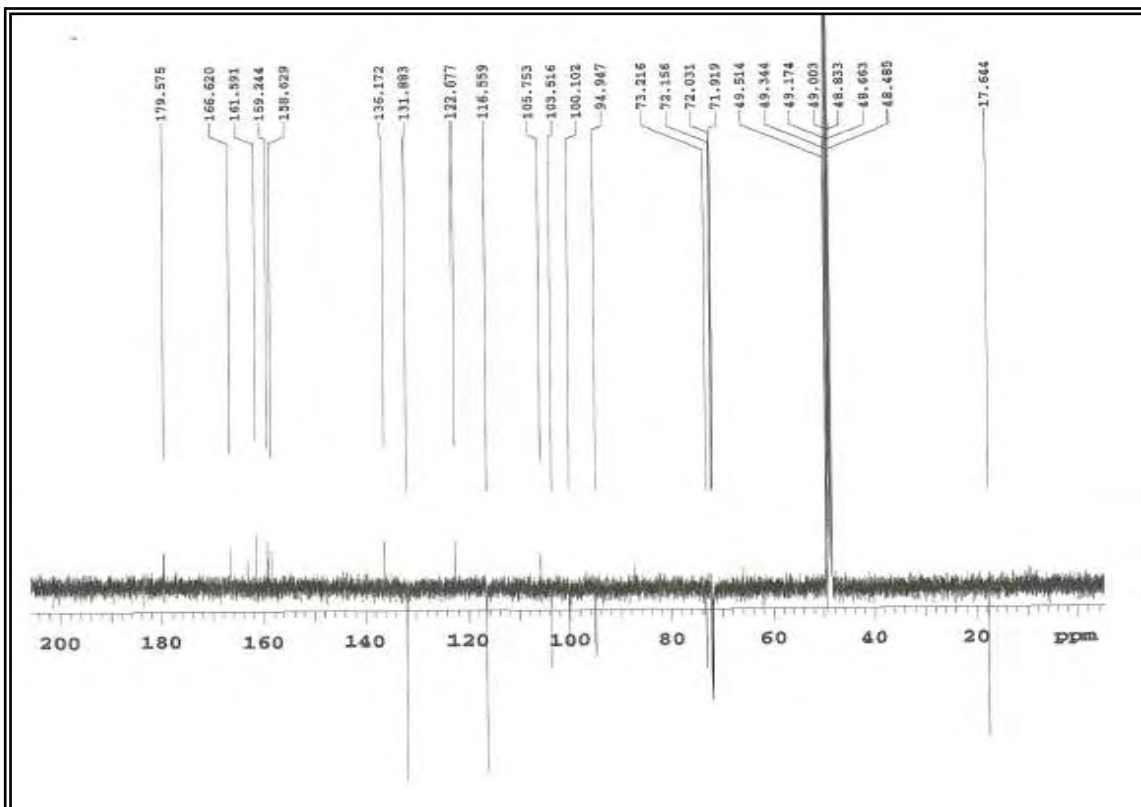


Figura 142. Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CD_3OD) de **ES 2**.

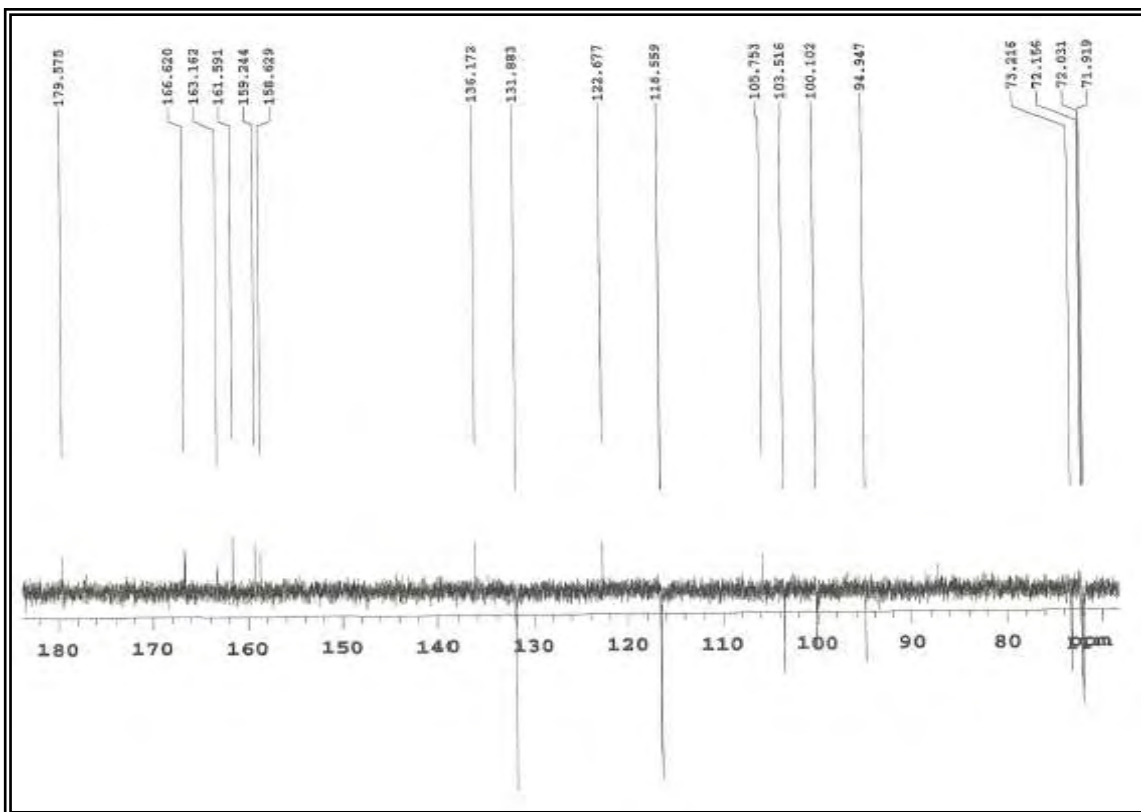


Figura 143. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de **ES 2** na região de 180 a 70 ppm.

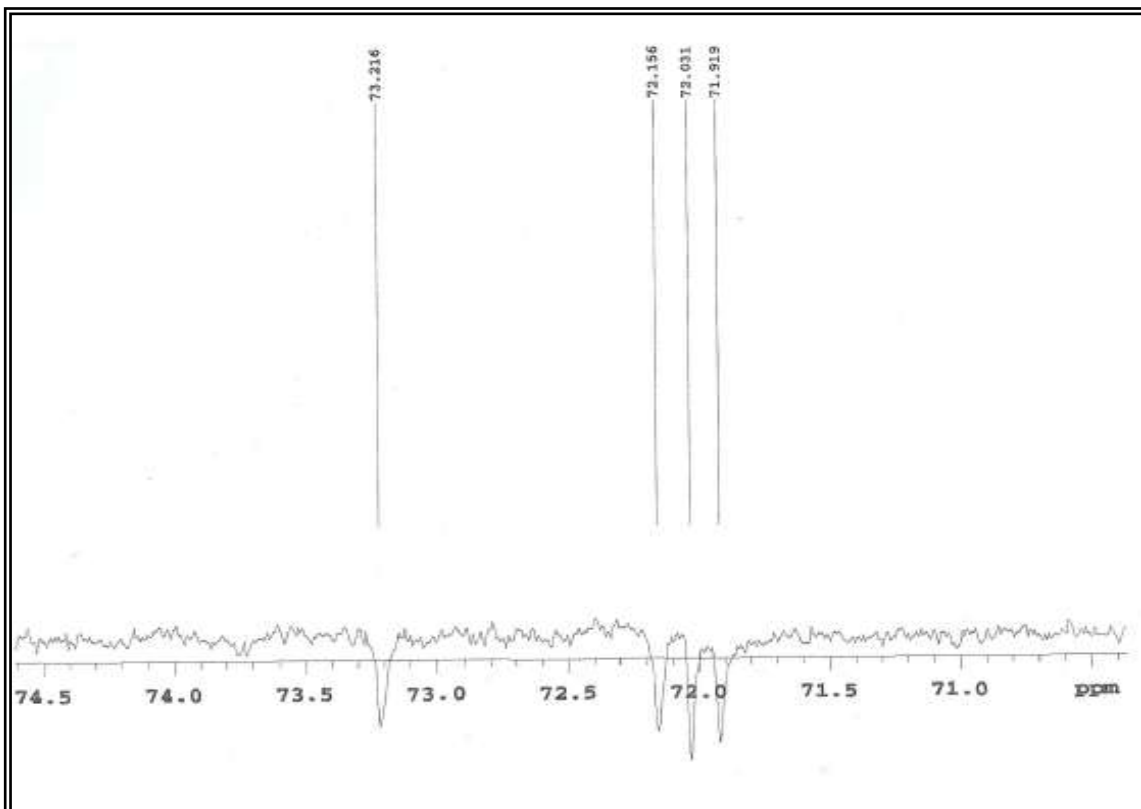
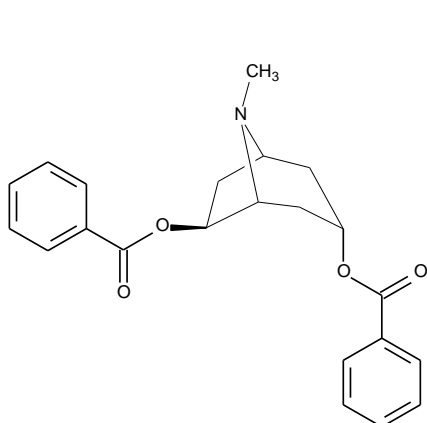


Figura 144. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de **ES 2** na região de 74 a 70 ppm.

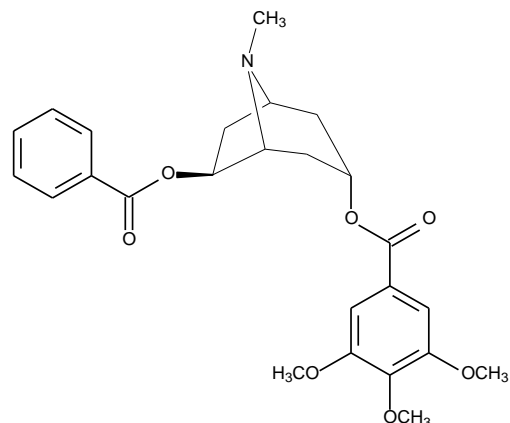
9 CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico das espécies do gênero *Erythroxylum* levou ao isolamento de dez compostos de três classes de metabólitos, dentre eles, terpenóides, flavonoides e alcaloides tropânicos.

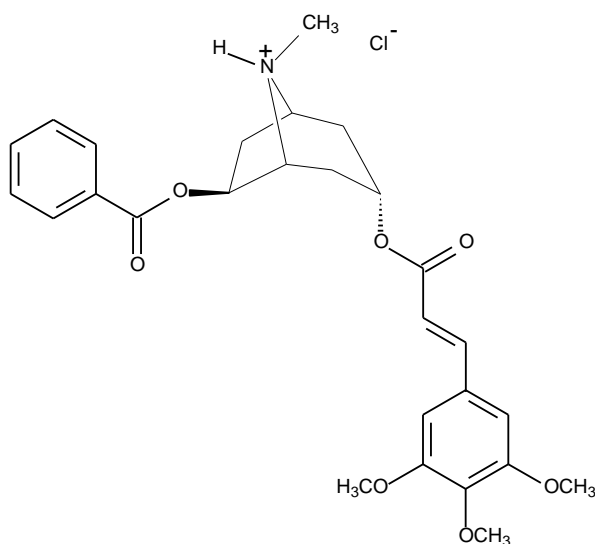
Até o momento, o estudo do extrato metanólico bruto, fase clorofórmica, do caule de *Erythroxylum caatingae* levou ao isolamento de quatro alcaloides tropânicos. Sendo os alcaloides 3α , 6β dibenzoiloxitropano e o 3α -(3',4',5' trimetoxibenzoiloxi)- 6β -benzoiloxitropano (Catuabina B), alcaloides já isolados anteriormente pelo mesmo grupo porém em quantidade suficiente para disponibilizar essas substâncias para testes farmacológicos.



EC 1. 3α , 6β dibenzoiloxitropano

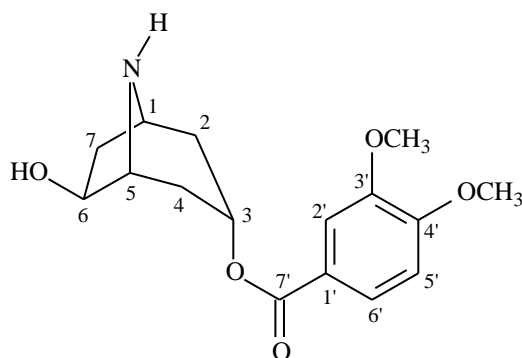


EC 2. (Catuabina B)



EC 3. cloreto 3α -(3',4',5' trimetoxicinamoiloxi)- 6β -benzoiloxitropano

O método cromatográfico por CLAE-DAD mais adequado para isolamento dos constituintes químicos da fração 37 foi eluição por sistema isocrático de solventes (30:70 | H₂O:MeCN / ET₃N), onde foi possível isolar o e o alcalóide EC-4 que através de técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono Treze (RMN ¹H e ¹³C) foi possível identificar o alcalóide como sendo o 3 α - (3',4' dimetoxi)-6 β -hidroxinortropano.



EC 4. 3 α - (3',4' dimetoxi)-6 β -hidroxinortropano

O estudo fitoquímico das folhas de *Erythroxylum revolutum* resultou no isolamento e identificação estrutural dos seguintes diterpenos: *ent*-cauran-16-eno, 13-hidroxi-8(17),14-labdadieno (Manool), *ent*-caur-16-en-3 β -ol, 3-oxo-13-hidroxi-8(17),14-labdadien e *ent*-cauran-16 β , 17-diol.

No que se refere ao processo de isolamento e identificação de constituintes químicos de *Erythroxylum subrotundum*, o uso de técnicas cromatográficas mostrou-se adequada para separação de compostos de grau de polaridade semelhante, assim como as técnicas de RMN ¹H e ¹³C e comparação com dados da literatura para a identificação inequívoca desses compostos. Através dessas técnicas foi possível isolar e identificar das folhas de *Erythroxylum subrotundum* os flavonoides Quercetina 3-*O*- α -L-raminosídeo e 5, 7, 4'-trihidroxi flavona 3-*O*- α -L-raminosídeo.

O isolamento e identificação destes compostos contribuem para o conhecimento da quimiotaxonomia do gênero *Erythroxylum*.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 114-140, 2007 a.
- AGRA, M. F.; BARACHO, G. S.; NURIT, K.; BASÍLIO, I. J. L. D.; COELHO, V. P. M. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, **Journal Ethnopharmacology**, v. 111, p. 383-395, 2007 b.
- AGRA, M. F.; BARACHO, G. S.; NURIT, K.; BASÍLIO, I. J. L. D.; COELHO, V. P. M.; BARBOSA, D. A. Sinopse da flora medicinal do Cariri Paraibano. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, p. 323-330, 2007 c.
- ALAGILE, D. et al. Functionalization at position 3 of the phenyl ring of the potent mGluR5 noncompetitive antagonists MPEP. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p. 945–949, 2005.
- AMORIM, E. L. C.; LIMA, C. S. A.; HIGINO, J. S.; SILVA, L. R. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Fitoterapia: instrumento para uma melhor qualidade de vida. **Infarma**, v. 15, n. 1-3, p. 66-68, 2003.
- ANSELL, S. M.; PEGEL, K. H.; TAYLOR, D. A. H. Diterpenes from the timber of 20 *Erythroxylum species*. **Phytochemistry**, v. 32, n. 4, p. 953-959, 1993.
- BACCHI, E. A. Alcalóides tropânicos. In: **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Ed. UFRGS/ Ed. UFSC, Porto Alegre/ Florianópolis, cap. 30, p. 806, 2007.
- BANDARA, B. M. R.; WIMALASIRI, W. R.; MACLEOD, J. K. *Ent*-kauranes and oleananes from *Croton lacciferus*. **Phytochemistry**, v. 19, n. 3, p. 869-871, 1988.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de novos fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BARREIROS, M. L. et al., Ryanodane diterpenes from two *Erythroxylum* species. **Phytochemistry**, v. 68, p. 1735-1739, 2007.

BELTRAME, F. L.; SARTORETTO, J. L.; BAZOTTE, R. B.; CUMAN, R. N.; CORTEZ, D. A. G.; FERNANDES, L. C.; TCHAIKOVSKI. Estudo Fitoquímico e Avaliação do Potencial Antidiabético do *Cissus sicyoides* L. **Química Nova**, v. 24, p. 783-785, 2001.

BERETZ, A.; CAZENAVE, J. P. **Plant flavonoids in biology and medicine II: progress in clinical and biological research**. New York: Alan R. Liss, 1988.

BOHM, B. A.; PHILLIPS, D. W.; GANDERS, F. R. Flavonoids of *Erythroxylum rufum* and *Erythroxylum ulei*. **Journal of Natural Products**, v. 44, n. 6, p. 676-9. 1981.

BOHM, B.A., GANDERS, F.R., PLOWMAN, T. Biosystematics and evolution of cultivated coca (*Erythroxylaceae*). **Systematic Botany**, v. 7, p.121-133, 1982.

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

BRUCE, N. C.; Alkaloid. Disponível em: <www.wiley-vch.de/books/biotech/pdf/v08a_alk.pdf> Acessado em 21 de março de 2007. Cambridge, UK.

BRUNETON, J. **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia**. Zaragoza: Editorial Acribia, S. A., 1991.

BUCKWALTER, B. L.; BURFITT, I. V.; NAGEL, A. A.; WENKERT, E.; NAF, F. ¹³C-NMR. Spectroscopy of Naturally Occurring Substances. XXXV. Labdanic diterpenes. **Helv. Chim. Acta**. v. 58, n. 6, p. 1567-1573. 1975

CHAVEZ, D., et al., Reversal of multidrug resistance by tropane alkaloids from the stems of *Erythroxylum rotundifolium*. **Journal of Natural Products**, v. 65, p. 606-610, 2002.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n 3, p. 241-256, 2009.

CRONQUIST, A. **The Evolution and Classification of Flowering Plants**. The New York Botanical Garden. 2 ed. 1988.

DALY, D. Erythroxylaceae. In: N. Smith, S. A. Mori, A. Henderson *et al.* (Eds.). **Flowering Plants of Neotropics**. The New York Botanical Garden. Princeton University Press. USA. p.143-145, 2004.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. New York: John Wiley & Sons Ltd., 2002.

DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Science**, v. 65, n. 4, p. 337-353, 1999.

Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/welcome.html>>, Acessado em 11 de agosto de 2011.

EVANS, J. E. Osteoporosis and the role of diet. **British Journal of Biomedical Science**, v. 51, p. 358-370, 1994.

GRIFFIN, W. J. Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids. **Phytochemistry**, v. 53 p. 623-637, 2000.

HARBORNE, J. B. General procedures and measurement of total phenolics. Methods in plant biochemistry: Plant Phenolics. **Academic Press**, London, v. 1, p. 1-28. 1989.

HENRIQUES, A. T. et al. Alcalóides: Generalidades e Aspectos Básicos. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Ed. UFRGS/ Ed. UFSC, Porto Alegre/ Florianópolis, cap 29, p 641, 1999.

JOHNSON, E. L.; SCHMIDT, W. F.; COOPER, D. Flavonoids as chemotaxonomic markers for cultivated Amazonian coca. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 40, p. 89-95, 2002.

JOHNSON, E. L.; SCHMIDT, W. F.; EMCHE, S. D.; MOSSOBA, M. M.; MUSSER, S. M. Kaempferol (rhamnosyl) glucoside, a new flavonol from *Erythroxylum coca* var.ipadu. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 31, p. 59–67, 2003.

KATAJIMA, J.; KOMORI, T.; KAWASAKI, T. Studies on the Constituents of the Crude Drug "Fritillariae Bulbus." III. On the Diterpenoid Constituents of Fresh Bulbs of *Fritillaria thunbergii* MIQ. **Chem. Pharm. Bull.** v. 30. n. 11. 1982.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica e Clínica**. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 9ª edição, 2006.

KUTCHAN, T. M. Alkaloid Biosynthesis -The Basis for Metabolic Engineering of Medicinal Plants. **The Plant Cell**, v. 7, p. 1059-1070, 1995.

LOIOLA, M. I. B; AGRA, M. F.; BARACHO, G. S.; QUEIROZ, R. T. de. Flora Paraibana, Brasil: Erythroxylaceae. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, p. 473-487, 2007.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MI et al., Pervilleines B and C, new tropane alkaloid aromatic esters that reverse the multidrug-resistance in the hollow fiber assay. **Cancer Letters**. v. 184. p. 13-20. 2002.

MUHTADI, J. F.; AL-BADR, A. A. In *Analytical Profiles of Drug Substances*; K. Florey, **Academic Press**: New York, v. 15, p. 151-229, 1986.

NISHIYAMA, et al., Tropane alkaloids from *Erythroxylum emarginatum*. **J. Nat. Med.** v. 61. p. 56-58. 2007.

NIERO, R.; MALHEIROS, A. Principais Aspectos Químicos e Biológicos de Terpenos. In: Cechinel Filho, V.; Yunes, R. A.(eds.). **Química de Produtos Naturais, Novos Fármacos e a Moderna Farmacognosia**, Editora Univali, Capítulo X, p. 239-257, 2007.

OLIVEIRA, R. A. G. **Plantas medicinais usadas na dermatologia: avaliação da atividade biológica de seus extratos, óleos essenciais e suas associações**. 2006. 220 p. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – LTF/CCS/UFPB, João Pessoa, 2006.

OLIVEIRA, S. L. **Alcaloides tropânicos de *Erythroxulum caatingae***. 2008. 121 p. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – LTF/CCS/UFPB, João Pessoa, 2008.

OLIVEIRA, S. L. et al. Tropane Alkaloids from *Erythroxylum caatingae* Plowan. **Chemistry & Biodiversity**, v. 8, p. 155-165, 2011.

ONO, M.; YANAKA, T.; YAMAMOTO, M.; ITO, Y.; NOHARA, T. New Diterpenes and Norditerpenes from the Fruits of *Vitex rotundifolia*. **Journal of Natural Products**. v. 65, p. 537-541. 2002.

PACHECO, A. G.; OLIVEIRA, P. M.; PILO-VELOSO, D.; ALCANTARA, A. F. de C. ¹³C-NMR Data of Diterpenes Isolated from *Aristolochia* Species. **Molecules**. v. 14, p. 1245-1262. 2009.

PERES, L. E. P., Metabolismo secundário. Disponível em: <<http://www.ciagri.usp.br/~lazaropp/FisioVegGradBio/MetSec.pdf>>, Acessado em 07 de fevereiro de 2008.

PIOZZI, F.; SAVONA, G.; HANSON, J. R. Kaurenoid diterpenes from *Stachys lanata*. **Phytochemistry**. v. 19, p.1237-1238. 1980.

PLOWMAN, T. C. & BERRY, P. E. Erythroxyloaceae. In: J. Steyermark, PÁG. Berry, B. Holst & K. Yatskievych (Eds.). **Flora of the Venezuelan Guayana**. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. v. 5. p. 59–71. 1999.

PLOWMAN, T. C. & HENSOLD, N. Names, types and distribution of neotropical species of *Erythroxyllum* (Erythroxyloaceae). **Brittonia** v. 56, n.1, p. 1-53, 2004.

PLOWMAN, T. C. Erythroxyloaceae Kunth. In: W.D. Stevens, C. Ulloa, A. Pool & O.M. Montiel (Eds.). Flora de Nicaragua. **Monographs Systematic Botany Missouri Botanical Garden**, v. 85, p. 834-838, 2001.

QIUWEN, M., et al., Pervilleines B e C, new tropane alkaloid aromatic esters that reverse the multidrug-resistance in the hollow fiber assay. **Cancer Letters**, v. p. 184.13-20, 2002.

RAHMAN, A-V, et al. Dimeric tropane alkaloids from *Erythroxyllum moonii*. **Phytochemistry**, v. 48, n. 2, p. 377-383, 1998.

SANTOS, C. C., LIMA, M. A. S., FILHO, R. B., SILVEIRA, E. R., Diterpenes from *Erythroxyllum barbatum*. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 17, p. 1304-1308, 2006.

SENA-FILHO, J. G.; SILVA, M. S.; TAVARES, J. F.; OLIVEIRA, S. L.; ROMERO, M. A. V.; XAVIER, H. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BRAZ-FILHO, R. Cytotoxic evaluation of pungicine: a new tropane alkaloid from the roots of *Erythroxyllum pungens* O. E. Schulz. **Helvetica Chimica Acta**, 2010.

SILVA, A. J. R.; ANDRADE, L. H. C. Etnobotânica nordestina: estudo comparativo da relação entre comunidades e vegetação na Zona do Litoral – Mata do estado de Pernambucano, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 1, p. 45-60, 2005.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2007.

SMITH, D. A.; BANK, S. W. **Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure- activity relationship.** New York: Alan R. Liss, 1986.

SOIKE, H.; PESCHLOW, E. L. Characterization of flavonoids from *Bacharis trimera* and their antihepatotoxic properties. **Planta Médica**, v. 53, p. 37-39, 1987.

SOMAN, R.; KAPADI, A. H.; SOBTI, R. R.; DEV, SUKH. Higher isoprenoids: Part XVIII – diterpenes of *Erythroxylon monogynum Roxb.* (Part 5): minor constituents. **Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry**, v. 22B, n. 10, p. 989-92, 1983.

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**, v. 65, p. 1462-1467, 2002.

YAGUDAEV, M. R.; ARIPOVA, S. F. The NMR investigation of alkaloids. IX. ¹³C NMR spectra and stereochemistry of Convolvine, Convolamine, Convoline, Convalidine, Subhirsine and 6-hydroxyhyoscyamine. **Chemistry of Natural Compounds**. v. 22, n. 1, p. 74-78. 1986.

ZANOLARI, B. et al., On-line identification of tropane alkaloids from *Erythroxylum vacciniifolium* by liquid chromatography-UV detection-multiple mass spectrometry and liquid chromatography-nuclear magnetic resonance spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1020, p. 75-89, 2003 a.

ZANOLARI, B. et al. Tropane alkaloids from the bark of *Erythroxylum vacciniifolium*. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 497-502, 2003 b.

ZUANAZZI, J. A. S. et al. Alkaloids of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae) species from Southern Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p. 819-825, 2001.

REVIEW**Tropane Alkaloids from *Erythroxylum* Genus: Distribution and Compilation of ¹³C-NMR Spectral Data**

by Steno L. Oliveira^a), Marcelo S. da Silva^a), Josean E. Tavares^a), José G. Sena-Filho^{a,b}),
Hellane F. S. Lucena^a), Marco A. V. Romero^a), and José M. Barbosa-Filho^a)

^a) Universidade Federal da Paraíba, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Caixa Postal 5009,
58051-970, João Pessoa-PB, Brazil

^b) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Coastal Tablelands, Av. Beira mar, 32,
49025-040, Aracaju, SE, Brazil (e-mail: marcelosobral@lft.ufpb.br/guedes@cpatc.embrapa.br)

Erythroxylum, the most representative genus of the Erythroxylaceae family, presents tropane alkaloids as main constituents. This class of compounds greatly contributes to the chemotaxonomic characterization of plants of this genus, and it has important medical uses and shows toxic effects. This review describes 186 tropane alkaloids in the 35 species of *Erythroxylum* distributed worldwide. In addition, a compilation of their ¹³C-NMR spectral data is presented.

Tropane Alkaloids from *Erythroxylum caatingae* PLOWMAN

by Steno L. de Oliveira^{a)}, Josean F. Tavares^{a)}, Marianna V. S. Castello Branco^{a)},
Hellane F. S. Lucena^{a)}, José M. Barbosa-Filho^{a)}, Maria de F. Agra^{a)}, Silene C. do Nascimento^{b)},
Jaciana dos S. Aguiar^{b)}, Teresinha G. da Silva^{b)}, Carlos A. de Simone^{c)}, João X. de Araújo-Júnior^{c)},
and Marcelo S. da Silva^{a)}

^{a)} Departamento de Ciências Farmacêuticas, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, C. P. 5009, 58051-970, João Pessoa, Paraíba, Brazil

(phone: +558332167427; fax: +558332167365; marcelosobral@ltf.ufpb.br)

^{b)} Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil

^{c)} Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, 57072-970, Maceió, AL, Brazil

^{d)} ESENFAR, Universidade Federal de Alagoas, 57072-970, Maceió, AL, Brazil

Three tropane alkaloids, 1–3, were isolated from *Erythroxylum caatingae*, i.e., 6 β -benzoyloxy-3 α -[(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoyl)oxy]tropane (**1**), a new tropane alkaloid, along with the known alkaloids 3 α ,6 β -dibenzoyloxytropane (**2**) and 6 β -benzoyloxy-3 α -[(3,4,5-trimethoxybenzoyl)oxy]tropane (catuabiné B; **3**). Their structures were determined by 2D- (¹H and ¹³C) NMR. By LC/ESI-MS/MS analysis of the fractions of alkaloids 1–3, it was possible to detect five more alkaloids, 4–8, two of these, 4 and 8, possibly being new natural products. X-Ray crystallography of the chloride derivate of **1**, i.e., 6 β -benzoyloxy-3 α -(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoyloxy)tropane hydrochloride (**1a**) confirmed the structure of **1**. Cytotoxicity was tested against the cell lines HEP-2, NCI-H292, and KB for the MeOH extract and alkaloid **3**, and antitumor activity was tested against Sarcoma 180 only for the MeOH extract.

Article

Antimicrobial, Antiproliferative and Proapoptotic Activities of Extract, Fractions and Isolated Compounds from the Stem of *Erythroxylum caatingae* Plowman

Jaciana S. Aguiar¹, Rosilma O. Araújo¹, Maria do Desterro Rodrigues¹, Kêsia X. F. R. Sena¹, André M. Batista², Maria M. P. Guerra², Steno L. Oliveira³, Josean F. Tavares³, Marcelo S. Silva³, Silene C. Nascimento¹ and Teresinha Gonçalves da Silva^{1,*}

¹ Antibiotics of Department, Federal University of Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brasil; E-Mails: jacianaaguiar@gmail.com (J.S.A.); rosilma23@hotmail.com (R.O.A.); mdrodrigues@yahoo.com.br (M.D.R.); kxfrs@bol.com.br (K.X.F.R.S.); silenen@yahoo.com.br (S.C.N.)

² Andrology Laboratory, Veterinary Medicine Department, Rural Federal University of Pernambuco, 52171-900, Recife, PE, Brasil; E-Mails: mariannob@yahoo.com.br (A.M.B.); mpguerra@dmv.ufrpe.br (M.M.P.G.)

³ Laboratory of Pharmaceutical Technology, Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Paraíba, Cx. Postal 5009, 58051-970, João Pessoa, Paraíba, Brasil; E-Mails: stenolacerda@yahoo.com.br (S.L.O.); joseanfchine@yahoo.com.br (J.F.T.); marcelosobral@pq.cnpq.br (M.S.S.)

* Author to whom correspondence should be addressed; E-Mail: teresinha.goncalves@pq.cnpq.br; Tel.: +55-81-2126-8347; Fax: +55-81-2126-8346.

Received: 5 January 2012; in revised form: 11 February 2012 / Accepted: 19 March 2012 / Published: 29 March 2012