



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

EVANDRO FERREIRA DA SILVA

ESTUDO FITOQUÍMICO DA *Paliavana tenuiflora* Mansf. (GESNERIACEAE)

**JOÃO PESSOA - PB
2014**

EVANDRO FERREIRA DA SILVA

ESTUDO FITOQUÍMICO DA *Paliavana tenuiflora* Mansf. (GESNERIACEAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS. Área de concentração: FARMACOQUÍMICA

ORIENTADOR – Prof Dr. Marcelo Sobral da Silva

COORIENTADOR – Prof Dr. Josean Fachine Tavares

JOÃO PESSOA - PB

2014

EVANDRO FERREIRA DA SILVA

ESTUDO FITOQUÍMICO da *Paliavana tenuiflora* Mansf. (GESNERIACEAE)

Dissertação aprovada em 07 /03 / 2014

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva

(Universidade Federal da Paraíba)

Orientador

Profa. Dra. Vanusia Cavalcanti França Pires

(Universidade Estadual da Paraíba)

Examinadora Externa

Profa. Dra. Celidarque da Silva Dias

(Universidade Federal da Paraíba)

Examinadora Interna

"Conhecimento é horizontal, mas a sabedoria é vertical — vem de cima." (Billy Graham)

"Não há maior obstáculo ao conhecimento do que o orgulho, e nenhuma condição mais essencial do que a humildade." (John Stott)

Dedicatória



*À minha família, em especial, a minha esposa,
Adriana, por todo o apoio e paciência; A meus pais,
Raimundo e Nevinha, por todo o investimento de amor,
tempo, dinheiro e atenção para que tornasse possível
este sonho.*

Agradecimentos



À Deus: toda honra e glória. Sem Ele nada disso poderia ser feito.

À Adriana, por todo carinho, compreensão por suportar os estresses, falta de paciência, correria por estar do meu lado quando a situação apertou, muito obrigado minha linda por me permitir fazer parte da sua vida.

Aos Meus pais , Raimundo e Nevinha, se consegui completar mais uma etapa na minha vida, devo isso a vocês, primeiro por me trazer ao mundo, por ter se esforçado para me oferecer um ensino de qualidade, por me incentivar a prosseguir nos sonhos, pela abdicação de tempo e dinheiro para que seu filho pudesse lograr êxito, pelos almoços, muitas vezes, feito as pressas para que pudesse voltar ao laboratório rápido e continuar o trabalho. Obrigado pelas muitas vezes que vocês oraram por mim para que o nosso Deus me derramasse graça e abrisse meu entendimento para terminar tudo o que era necessário. Escreveria uma lauda e, ainda sim seria pouco para agradecer o que vocês fazem por mim, que Deus vos abençoe e conceda o que seu coração deseja.

Aos meus irmãos, Ewerton e Fatinha, por todo, apoio, cada palavra de incentivo para que pudesse chegar até aqui. Que Deus recompense a cada um de vocês.

À minha sogra, Teca. A qual orou por mim e sempre me apoiou quando precisei vir em casa nas pressas e voltar para o laboratório; por sempre ter uma palavra de incentivo: “Deus te dará vitória”. Obrigado Teca.

À minha amiga Tainá. O agradecimento a você é especial: Está fazendo mestrado e quase aprovado no doutorado, devo primeiramente à Deus e segundo a você a qual me incentivou e disse: “ Evandro vai abrir uma seleção para mestrado especial” àquilo parecia distante pois nem o material para estudar farmacognosia eu tinha; obrigado por me emprestar, por me auxiliar no laboratório e me emprestar parte do material para trabalhar no início eu não tinha nem algodão!!!. Por me ajudar na interpretação de dados durante a elaboração da dissertação, enfim boa parte das coisas aqui nesse mestrado tem uma parcela sua. Obrigado por ser seu amigo, que Deus lhe retribua com muitas bênçãos.

À Flavio Borges, primeiramente por seu amigo de mestrado. Pelas horas de estudo e empenho nos seminários, pelos solventes destilados e, é claro, não poderia

deixar de agradecer ao meu fornecedor de vidarias. Obrigado Borges pela sua amizade.

À Jacqueline apoio imprescindível e constante no início de pesquisas pelas dúvidas esclarecidas, até aquelas tiradas pelo telefone, mesmo nos finais de semana, pelos momentos partilhados no laboratório e todo o apoio dado. Obrigado Jacq.

À Sallett minha companheira de laboratório, obrigado por permitir invadir seu lab., por ser minha amiga e emprestar seus ouvidos naquelas horas de estresse. Pelo seu incentivo, pelas mensagens, sempre preocupada de como vão às pesquisas e pela sua prontidão em sempre me ajudar. Obrigado Sallett!!!, Vem aí mais uma etapa, que Deus nos ajude a vencer esses quatro anos que teremos pela frente.

Ao Professor Josean Fachine Tavares, por toda a orientação durante esse tempo que estive no mestrado, pelas dicas, sugestões e por toda paciência para um aluno que não foi IC em fitoquímica e teve que aprender tudo o que é necessário para estudar produtos naturais.

Ao Professor. Marcelo Sobral da Silva por mesmo sem me conhecer, por uma simples indicação me aceitou como seu orientando.

Aos companheiros de trabalho, Sócrates, Alexsandro, Vicente e Nonato obrigado Por me auxiliar no laboratório, pelos espectros e toda a explicação sobre os equipamentos e vidarias. À Vicente, pelo auxílio no RMN; por me ensinar a realizar os meus próprios espectros e ter paciência de me explicar, mesmo estando de férias, como realizar pequenos ajustes nos espectros. Ao meu amigo Nonato meu agradecimento especial, pela sua disposição em ajudar não só a mim, mas a todos que necessitam dentro dos laboratórios de fitoquímica, por todo o material disponibilizado e pela sua amizade. Obrigado a todos vocês.

Às minhas amigas Paula, Ana Silvia, Sara, Jéssica, Jéssica Celestino, Susyanne, Milen, Madalena, Ania, Hellane e Sany.

Às minhas companheiras de laboratório, Élida, Jacqueline, Jéssica Celestino e suas ICs obrigado pelos momentos no laboratório e por todo apoio dado.

Aos professores das disciplinas cursadas: Eduardo, Fátima Vanderlei, Josean, Bagnólia, Bárbara, Demétrius, Barbosa, Celidarque, Mariana, Luiz, obrigado pelos ensinamentos.

À Fábio Pedrosa Lins Silva, do laboratório de síntese orgânica medicinal - LASOM pelo auxílio nos últimos dias mas, essenciais para a conclusão da pesquisa, obrigado pela disposição em ajudar.

A todos aqueles que contribuíram direta e indiretamente com este trabalho, obrigado, que Deus retribua a todos vocês.

Resumo



RESUMO

O gênero *Paliavana* pertence a família Gesneriaceae e é composto por cerca de 140 gêneros que se distribuem em toda América do Sul e Central, (exceto Caribe e México). No Brasil são encontradas na região Sudeste no Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro e Nordeste na Bahia, Paraíba e Pernambuco. Ocorre em afloramentos rochosos dos campos de altitude, chamados de “campos rupestres”, estes são representados pelas ervas e arbustos. *Paliavana tenuiflora* é encontrada em florestas úmidas em afloramentos rochosos na Paraíba, Pernambuco, Bahia e Minas Gerais e não há relatos de estudo fitoquímico dessa espécie. Desta forma, esse trabalho objetivou contribuir com o estudo fitoquímico da *Paliavana tenuiflora* Mansf. O material vegetal foi coletado na Pedra de Santo Antônio, município de Galante- Paraíba e depositado no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB) com o código M.F. Agra, 6090. Para o estudo fitoquímico, partes aéreas do vegetal foram submetidas a processos de extração, partição e cromatografia para isolamento dos constituintes químicos. As estruturas químicas dos compostos foram determinadas por métodos espectroscópicos, tais como: infravermelho, massas e ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C bidimensionais e comparações com modelos da literatura. Da fase acetato de etila obteve-se uma mistura de esteroides glicosilados (sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo e estigmasterol-3-O-D-glicopiranosídeo) além de três compostos fenólicos, hexacosanoato 2-(*p*-hidroxifenil)-de etila, hexacosanoato 2-(3, 4-dihidroxifenil)- de etila além do ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) prop-2-enoico(ácido cafeico), sendo esses dois ésteres relatados pela primeira vez no gênero, contribuindo, portanto para o estudo químico do gênero *Paliavana*.

Palavras-chave: Produtos naturais, *Paliavana tenuiflora* Mansf, esteroides, ácidos fenólicos, Gesneriaceae.

Abstract



ABSTRACT

The genus *Paliavana*. belongs to Gesneriaceae family and is composed of about 140 species distributed in all South and Central America (except Caribbean and Mexico). In Brazil are found in the Southeast region of Espírito Santo, Minas Gerais and Rio de Janeiro and Northeast region Bahia, Paraíba, Pernambuco . Occurs on rocky outcrops of high altitude grasslands, called "rock fields", these are represented by herbs and shrubs. *Paliavana tenuiflora* is found in rain forests on rocky outcrops in Paraíba, Pernambuco, Bahia and Minas Gerais, there are no reports of phytochemical study of this species. Thus, this study aimed to contribute to the phytochemical study of *Paliavana tenuiflora* Mansf . Plant material was material was collected in Pedra de Santo Antônio of Paraíba- Galante and deposited in the Herbarium Prof. Lauro Pires Xavier (JPB) under code M.F. Agra, 6090. For the phytochemical study, aerial parts of plant were subjected to extraction processes, partition and chromatography for chemical constituents isolation. Chemicals structures of the compounds has been assessed by spectroscopic methods such as IR, mass and nuclear magnetic resonance ^1H and ^{13}C two-dimensional and comparisons with literature data. From ethyl acetate phase was obtained a mixture of glycosylated steroids (sitosterol -3-O-D- glucopyranoside and stigmaterol-3-O-D- glucopyranoside) and tree phenolic compounds, hexacosanoic acid 2-(*p*-hydroxyphenyl)- ethyl ester, hexacosanoic acid 2-(3, 4-dihydroxyphenyl) - ethyl ester beyond acid 3-(3,4-dihydroxyphenyl) prop-2-enoic (caffeic acid), being this two esters reported for the first time in the genus thus contributing to the chemical study of the genus *Paliavana*.

Keywords: Natural products, *Paliavana tenuiflora* Mansf, steroids, phenolic acid, Gesneriaceae.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS, FÓRMULAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de Etila
APT	Attached Proton Test
CBiotec	Centro de Biotecnologia
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CCDP	Cromatografia em Camada Delgada Preparativa
CDCl₃	Clorofórmio Deuterado
CG-EM	Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas
CH₂Cl₂	Diclorometano
CLMP	Cromatografia Líquida de Média Pressão
COSY	“Correlation spectroscopy”
<i>d</i>	Dubleto
<i>dd</i>	Duplo dubleto
EEB	Extrato etanólico bruto
EtOH	Álcool Etílico
Fr	Fração
HMBC	“Homonuclear Multiple Quantum Correlation”
HSQC	“Heteronuclear Single Quantum Correlation”
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
KBr	Brometo de Potássio
M	Molar (Mol/L)
MeOH	Metanol
NaOMe	Metóxido de Sódio
NOESY	“Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy”
OMS	Organização Mundial de Saúde
ppm	Partes por milhão
C₅D₅N	Piridina deuterada
R_f	Fator de retenção
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de ¹³ C

RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
s	Singleto
sl	Singleto largo
t	Tripleto
THF	Tetrahidrofurano
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UV	Ultravioleta
v/v	Volume por volume
δ	Deslocamento Químico

Lista de Esquemas

Esquema 1 - Etapas envolvidas no processo de obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto de <i>Paliavana tenuiflora</i> Mansf.....	39
Esquema 2 - Processamento da Fase Acetato de Etila	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Distribuição de espécies da família Gesneriaceae na região neotropical.	30
Figura 2- Distribuição de espécies do gênero <i>Paliavana</i> no Brasil, área representada em vermelho e laranja no mapa.	33
Figura 3 - <i>Paliavana tenuiflora</i> em floração.	34
Figura 4 - Rota biossintética dos compostos fenólicos	35
Figura 5 - Estrutura básica dos esteroides.	36
Figura 6 - Espectro de IV(KBr, cm^{-1}) de Pt-1	50
Figura 7 - Espectro de RMN ^1H de Pt-1(200 MHz, CDCl_3).	51
Figura 8 - Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt-1 na região de 7,6 e 3,6 ppm (200 MHz, CDCl_3).	51
Figura 9 - Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt-1 na região de 2,9 a 0,5 ppm (200 MHz, CDCl_3).	52
Figura 10 - Espectro de COSY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - (500 MHz, CDCl_3) de Pt-1.	52
Figura 11 - Expansão do espectro de COSY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - (500 MHz, CDCl_3) de Pt-1 na região de (7,3-6,65) e (6,3-7,5) ppm.	53
Figura 12 - Expansão do espectro de COSY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - (500 MHz, CDCl_3) de Pt-1 na região de (4,5-0,0) e (0,0-4,5) ppm.	53
Figura 13 - Espectro de RMN ^{13}C – APT de Pt-1(50 MHz, CDCl_3).	54
Figura 14 - Espectro de RMN ^{13}C – APT de Pt-1(50 MHz, CDCl_3).	54
Figura 15 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de Pt-1 na região de 35 e 14 ppm.	55
Figura 16 - Estrutura do Tirosol	55
Figura 17 - Estrutura do Tirosol esterificado	55
Figura 18 - Espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-1	56
Figura 19 - Expansão do espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-1 na região de (100-190) e (7,0-1,0) ppm.	56
Figura 20 - Espectro de HSQC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-1	57
Figura 21 - Cromatograma de Pt-1	57
Figura 22 - Comparação do Cromatograma de Pt-1 com banco de dados NIST08.LIB do equipamento.	57
Figura 23 - Estrutura do Hexacosanoato 2-(<i>p</i> -hidroxifenil) de etila	58
Figura 24 - Espectro de RMN ^1H de Pt-2 (200 MHz, CD_3OD).	61
Figura 25 - Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt-2 na região de 7,6 e 4,7 (200 MHz, CD_3OD).	61
Figura 26 - Espectro de RMN ^{13}C de Pt-2 (50 MHz, CD_3OD).	62
Figura 27 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Pt-2 na região de 172 e 116 (50 MHz, CD_3OD).	62
Figura 28 - Espectro de IV(KBr, cm^{-1}) de Pt-3.	66
Figura 29 - Espectro de RMN ^1H de Pt-3 (200 MHz, CDCl_3).	67
Figura 30 - Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt-3 na região de 7,2 e 2,1 (200 MHz, CDCl_3).	67

Figura 31 - Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt-3 na região de 3,1 e 0,8 (200 MHz, CDCl_3).....	68
Figura 32 - Espectro de COSY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - (500 MHz, CDCl_3) de Pt-3.	68
Figura 33 - Expansão do espectro de COSY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - (500 MHz, CDCl_3) de Pt-3 na região de (4,4-0,6) e (5,0-0,0).	69
Figura 34 - Expansão do espectro de COSY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - (500 MHz, CDCl_3) de Pt-3 na região de (8,3-6,1) e (8,6-6,0).	69
Figura 35 - Espectro de RMN ^{13}C -APT de Pt-3 (50 MHz, CDCl_3).....	70
Figura 36 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT de Pt-3 na região de 175 e 115 (50 MHz, CDCl_3).....	70
Figura 37 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C - APT de Pt-3 na região de 34,6 e 29,0 (50 MHz, CDCl_3).....	71
Figura 38 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C - APT de Pt-3 na região de 34,5 e 14,5 (50 MHz, CDCl_3).....	71
Figura 39 – Estrutura do Hidroxitirosol.	72
Figura 40 - Hidroxitirosol esterificado com ácido graxo com sinais de δ_{C}	72
Figura 41 - Espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-3.....	72
Figura 42 - Expansão do espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-3 na região de (110-190) e (7,0-1,0).....	73
Figura 43 - Expansão do espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-3 na região de (110-190) e (7,0-1,0).....	73
Figura 44 - Espectro de HSQC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-3.....	74
Figura 45 - Expansão do espectro de HSQC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-3 na região de (130-20) e (7,5-2,0).....	74
Figura 46 - Estrutura de Pt-3. Estrutura do Hexacosanoato 2-(3, 4-dihidroxifenil) de etila.....	75
Figura 47 - Espectro de RMN ^1H de Pt-4 (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).....	78
Figura 48 - Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt-4 na região de 5,5 a 3,9 (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	79
Figura 49 .- Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt-4 na região de 2,8 a 0,5 (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	79
Figura 50 - Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt - 4 na região de 1,14 a 0,62 (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	80
Figura 51 - Espectro de RMN ^{13}C de Pt - 4 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	80
Figura 52 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Pt-4 na região de 153 a 121 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	81
Figura 53 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Pt-4 na região de 5,5 a 3,9 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	81
Figura 54 -. Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Pt-4 na região de 58 a 10 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	82
Figura 55 - Estrutura de estigmasterol-3-O-D-glicopiranosídeo (Pt-4a) e sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo(Pt-4b).....	82

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Principais Gêneros da Família Gesneriaceae.	30
Quadro 2 -Estrutura de algumas substâncias isoladas de espécies de Gesneriaceae.....	31
Quadro 3 - Espécies do Gênero Paliavana	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Método utilizado no CLMP da fase acetato de etila de <i>Paliavana tenuiflora</i>	41
Tabela 2 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C em CDCl_3 de Pt-1 e dados RMN ^1H e ^{13}C do Tirosol	49
Tabela 3 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C em CD_3OD de Pt-2 e dados RMN ^1H e ^{13}C e do ácido 3-(3',4' dihidroxifenil) prop-2-enoico).....	60

Sumário

1 INTRODUÇÃO	24
2 OBJETIVOS.....	27
2.1 OBJETIVO GERAL	27
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	29
3.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA GESNERIACEAE	29
3.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO <i>Paliavana</i>	32
3.3 CONSIDERAÇÕES QUÍMICAS E BIOSINTÉTICAS SOBRE AS CLASSES DE CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>Paliavana tenuiflora</i> Mansf.	34
3.3.1 Compostos Fenólicos.....	34
3.3.2 Esteroides	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 Estudo fitoquímico de <i>Paliavana tenuiflora</i> Mansf.	38
4.1.1 Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto (EEB)	38
4.1.2 Isolamento e purificação dos constituintes químicos.....	40
4.1.3 Caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados	44
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	47
5.1 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE Pt - 1.....	47
5.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE Pt - 2.....	59
5.3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE Pt - 3.....	63
5.4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE Pt - 4.....	76
6 CONCLUSÕES	84
REFERÊNCIAS.....	86

Introdução



1 INTRODUÇÃO

A relação do homem com a natureza é conhecida desde a Antiguidade, indo desde a alimentação, passando pela moradia, defesa, práticas religiosas, meios de transporte, fertilizantes, aromas, fragrâncias, até saúde. Dados históricos do uso tradicional de plantas medicinais relatam que povos da China, Egito, Ásia e Roma com base em seus conhecimentos realizaram a classificação de diversas espécies vegetais com a respectiva indicação terapêutica (LIMA, 2001).

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) revelam que nos últimos vinte anos, a humanidade vem despertando para a importância dos produtos naturais para a manutenção da saúde e recuperação e, consequentemente, para a melhoria da qualidade de vida. Esta organização revela que a medicina tradicional baseada em plantas medicinais é amplamente usada e aponta perspectivas de crescimento rápido, com grande relevância econômica.

Cerca de 80% da população da África utiliza a medicina tradicional para o tratamento das suas necessidades sanitárias; na Ásia e na América Latina, a medicina tradicional é resultado de circunstâncias históricas e de crenças culturais; e na China, a medicina tradicional corresponde a 40% da atenção sanitária desse país (Estratégias da OMS para a medicina tradicional, 2002 - 2005).

Segundo Braz-Filho (2010), o desenvolvimento sustentável de um país depende essencialmente de uma política consistente de educação, ciência, tecnologia e inovação, sustentada na preservação da natureza, na biodiversidade e na exploração racional de fontes naturais necessárias para alimentação, avanço social e econômico, num cenário que assegura a manutenção da saúde e a cura de doenças.

As atividades da fitoquímica podem contribuir significativamente para a concretização de tal programação através da investigação da flora e seu quimismo, da divulgação e geração de novos conhecimentos e da formação de recursos humanos qualificados. A Química de produtos naturais (QPN) de vegetais – fitoquímica, como é concebida atualmente, se dedica principalmente à caracterização estrutural, avaliação de propriedades e investigações biossintéticas de substâncias naturais produzidas pelo metabolismo secundário de organismos vivos (BRAZ-FILHO, 2010).

As plantas superiores constituem uma das fontes mais importantes de novas substâncias utilizadas diretamente como agentes medicinais. Mais recentemente, além disto, elas fornecem 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 arquiteturas moleculares naturais (BRAZ-FILHO, 2010).

O Brasil possui uma enorme diversidade de plantas que possuem uso medicinal, isso coloca o país num local de destaque se comparado a outros países. Observando sua riqueza vegetal ainda inexplorada, existe uma possibilidade muito grande no desenvolvimento de novos medicamentos (YUNES *et al*, 2001).

A família Gesneriaceae é encontrada na região pantropical e restrita em alguns lugares do continente africano espécies da família Gesneriaceae são usadas na medicina popular para diversas enfermidades, entre elas, para febre, tosse, constipações, picada de cobra, dores e doenças infecciosas e inflamatórias (VERDAN e STEFANELLO, 2012). Na literatura, exíguos são os estudos fitoquímicos sobre o gênero *Paliavana*, em espécies como *P. tenuiflora* os relatos são quase nulos, por isso a necessidade de estudo fitoquímico com essa espécie.

OBJETIVOS



2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Contribuir para o estudo químico do gênero *Paliavana*, através do isolamento, identificação e/ou determinação de constituintes químicos de *Paliavana tenuiflora* Mansf.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair e isolar metabólitos secundários de *Paliavana tenuiflora* presentes nas partes aéreas da espécie.
- Purificar, identificar os constituintes químicos de *Paliavana tenuiflora* por métodos espectroscópicos, visando contribuir para o conhecimento químico dessa espécie.

*FUNDAMENTAÇÃO
TEÓRICA*



3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

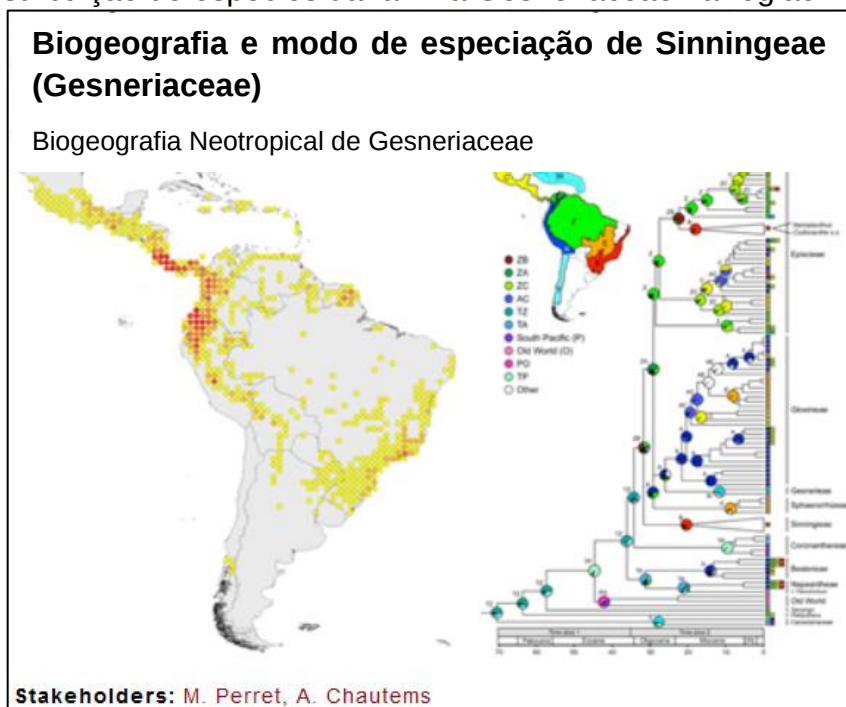
3.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA GESNERIACEAE

A família Gesneriaceae Rich. & Juss. ex DC. é composta por cerca de 140 gêneros e 3.500 espécies (WEBER 2004), sendo que no Brasil ocorrem cerca de 22 gêneros e 220 espécies (CHAUTEMS; KIYAMA 2003, ARAUJO *et al.* 2005). As Gesneriaceae estão distribuídas nos trópicos e subtrópicos dos dois hemisférios, sendo pouco representadas na África e na Europa (BARROSO *et al.* 1984, JUDD *et al.* 2002). Segundo JUDD *et al.* (2002), Souza e Lorenzi (2005) esta família está inserida na ordem Lamiales sendo proximamente relacionada às famílias Plumbaginaceae, Lentibulariaceae, Calceolariaceae e Oleaceae.

Diversas espécies de Gesneriaceae são utilizadas como plantas ornamentais, dentre elas merecem destaque às plantas do gênero *Episcia* Mart., a gloxínia do gênero *Sinningia* Nees e a conhecida violeta africana do gênero *Saintpaulia* H. Wendl., além de alguns exemplares de *Aeschynanthys* Jack e *Columnnea* L. (JUDD *et al.* 2002).

A maioria das espécies pertence ao gênero *Sinningia*, elas estão distribuídas em toda a região neotropical, exceto do Caribe (CHAUTEMS; WEBER, 1999). *Vanhouttea* e *Paliavana* têm uma distribuição restrita ocorrendo principalmente no sudeste do Brasil (SANMARTIN-GAJARDO; SAZIMA, 2005a e b).

A Figura 1 apresenta a Distribuição de espécies da família Gesneriaceae na região neotropical e o quadro 1 elenca os gêneros da família Gesneriaceae.

Figura 1- Distribuição de espécies da família Gesneriaceae na região neotropical.

Fonte: ville-ge.ch, 2013. (Acesso em 22 de Novembro de 2013.)

Quadro 1 - Principais Gêneros da Família Gesneriaceae.

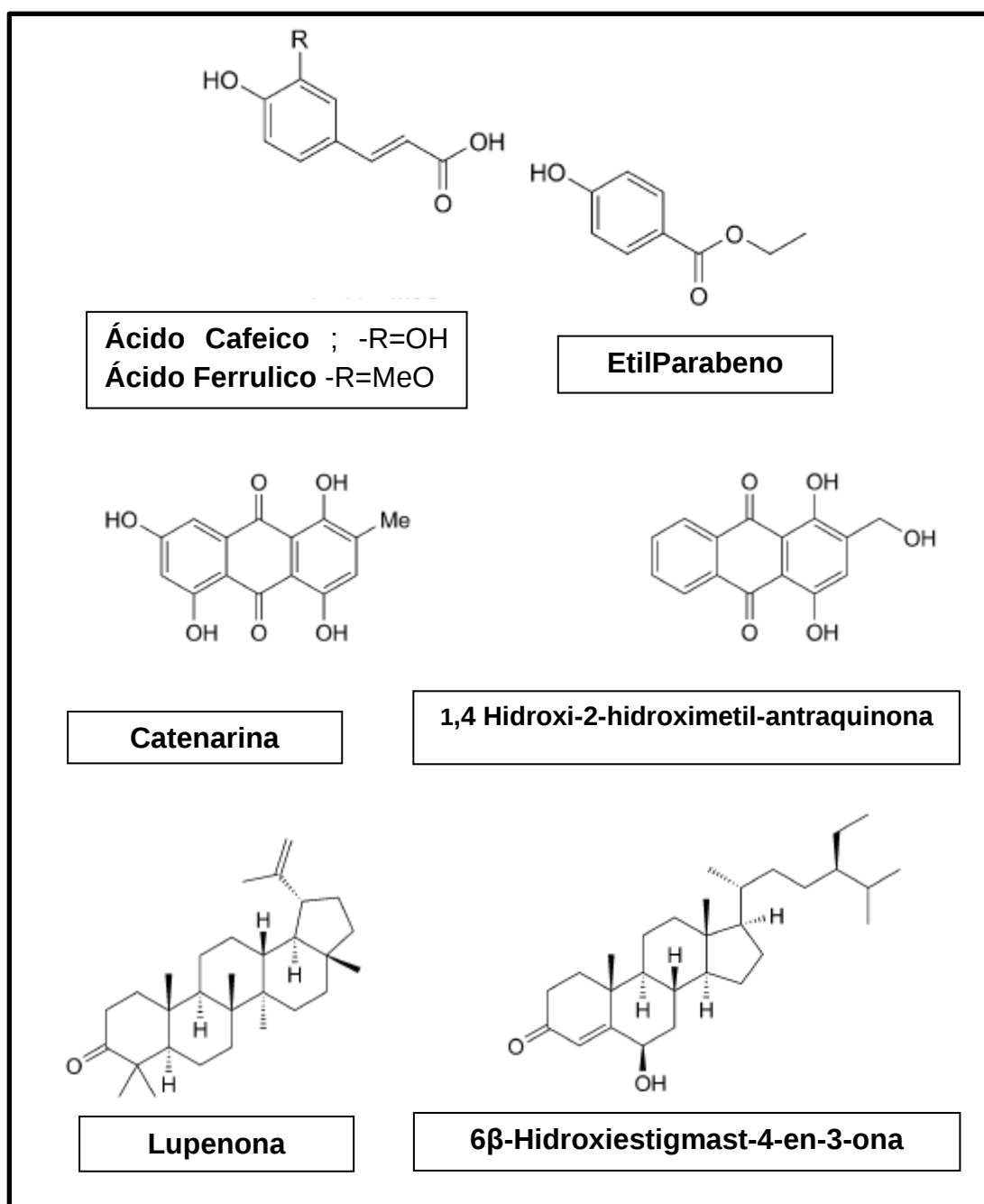
GÊNERO DA FAMÍLIA GESNERIACEAE	
<i>Anetanthus</i> Hiern ex Benth. & Hook.f.	<i>Mandirola</i> Decne
<i>Besleria</i> . L	<i>Monopyle</i> Moritz ex Benth
<i>Chautemsia</i> A.O.Araujo & V.C.Souza	<i>Napeanthus</i> Gardner
<i>Chrysothemis</i> Decne	<i>Nautilocalyx</i> Linden
<i>Codonanthe</i> (Mart.) Hanst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

Fonte : <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB119> (acesso em 13 de Maio de 2013).

Os principais metabólitos secundários encontrados na família Gesneriaceae são flavonoides, terpenos e esteroides, glicosídeos fenólicos, compostos fenólicos simples, quinonas, lignanas, xantonas (VERDAN e STEFANELLO, 2012).

Algumas substâncias de ocorrência em Gesneriaceae tem suas substâncias mostradas no Quadro 2.

Quadro 2 - Estrutura de algumas substâncias isoladas de espécies de Gesneriaceae.



3.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO *Paliavana*

O gênero *Paliavana* ocorre em afloramentos rochosos dos campos de altitude típicos que são chamados de "campos rupestres a grama curta savana misturados com outras comunidades rupícolas (GIULIETTI e PIRANI, 1988). Este gênero é representado principalmente por arbustos, ocasionalmente, pequenas árvores, e inclui seis espécies que ocorrem neste afloramento rochoso (campos rupestres) (ARAÚJO *et al*, 2005). Enquanto a maioria da tribo Sinningieae apresenta síndromes ornitófilas (PERRET *et al*, 2003, SANMARTIN-GAJARDO e . SAZIMA, 2005b), várias espécies de *Paliavana*, incluindo *P. tenuiflora*, apresentam, por causa de algumas características, síndromes quiropterófilas, incluindo flores hermafroditas em forma de garganta, corolas zigomorfas de cor branca e violeta, e alta produção de pólen e néctar (SANMARTIN-GAJARDO e SAZIMA, 2005b). Esta espécie ocorre principalmente em florestas úmidas em afloramentos rochosos na Paraíba, Pernambuco, Bahia e Minas Gerais (ARAÚJO *et al*, 2005)

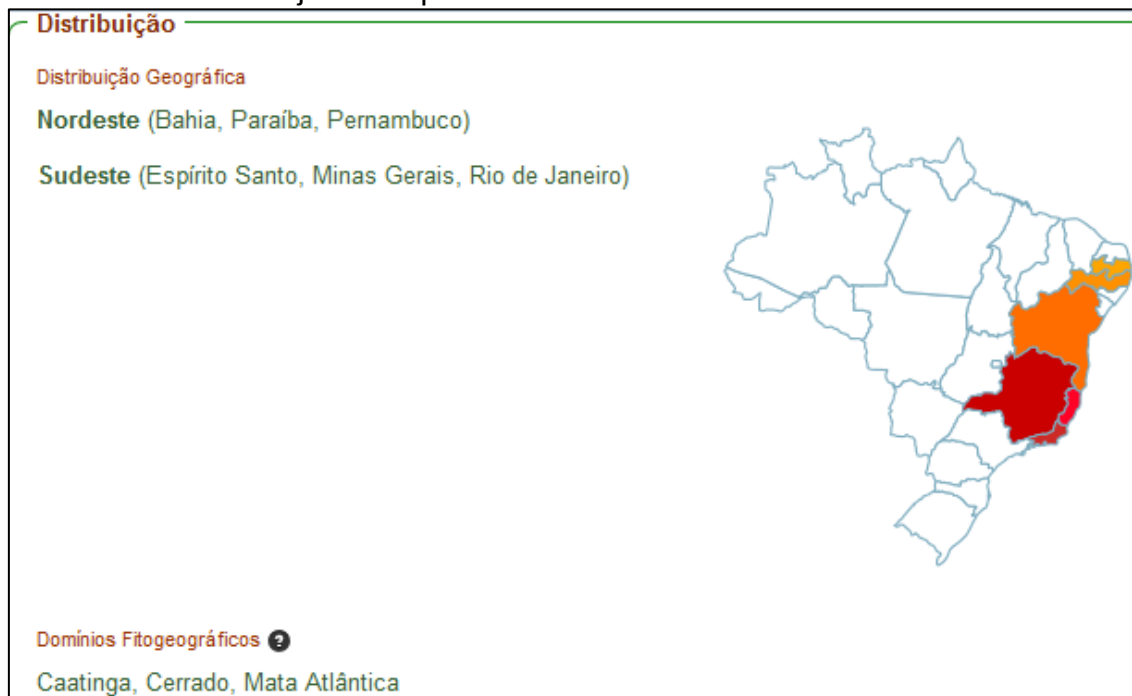
Algumas espécies do gênero *Paliavana* estão listadas no Quadro 3. Na Figura 2 pode-se observar a distribuição de espécies do gênero *Paliavana* no Brasil.

Quadro 3 - Espécies do Gênero *Paliavana*

ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Paliavana</i>	
<i>Paliavana gracilis</i> (Mart.) Chautems	<i>Paliavana gracilis</i> (Mart.) Chautems
<i>Paliavana plumerioides</i> Chautems	<i>Paliavana plumerioides</i> Chautems
<i>Paliavana prasinata</i> (Ker Gawl.) Benth	<i>Paliavana prasinata</i> (Ker Gawl.) Benth

Fonte: (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7871>) acesso em 20 de Maio de 2013.

Figura 2- Distribuição de espécies do gênero *Paliavana* no Brasil, área representada em vermelho e laranja no mapa.



. Fonte: (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7871>). Acesso em 06 de Junho de 2013.

Sobre o gênero *Paliavana* podemos afirmar que são ervas, subarbustos ou arbustos com alto grau de epifitismo (20%), podendo apresentar estruturas para adaptação às estações secas, nas formas de tubérculos e rizomas (WIEHLER, 1983).

A inflorescência axilar ou terminal típica é, uma cima composta por pares de flores, ou encontra-se reduzida a flores solitárias (WEBER, 1995). A corola é gamopétala, vistosa, de coloração variada, estames epipétalos com anteras coniventes e nectário ovariano, muitas vezes presente (BARROSO et al., 1991).

A polinização é feita principalmente por beija-flores, mas também por abelhas, em casos mais raros por morcegos e borboletas (SANMARTIN-GAJARDO e Freitas, 1999; SANMARTIN-GAJARDO e SAZIMA, 2004). Apresentam um forte potencial ornamental e são utilizadas na medicina popular (HEYWOOD, 1985; WIEHLER, 1995).

A Figura 3 mostra exemplar de *Paliavana tenuiflora* evidenciando sua flor.

Figura 3 - *Paliavana tenuiflora* em floração.



Fonte: (brazilplants.com) acesso em 06 de junho de 2013.

3.3 CONSIDERAÇÕES QUÍMICAS E BIOSSINTÉTICAS SOBRE AS CLASSES DE CONSTITUENTES QUÍMICOS DE *Paliavana tenuiflora* Mansf.

3.3.1 Compostos Fenólicos

Segundo Angelo e Jorge (2007) os compostos fenólicos derivam do metabolismo secundário das plantas, sendo fundamental para o seu desenvolvimento e reprodução, além de se formarem em condições de estresse, como infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros.

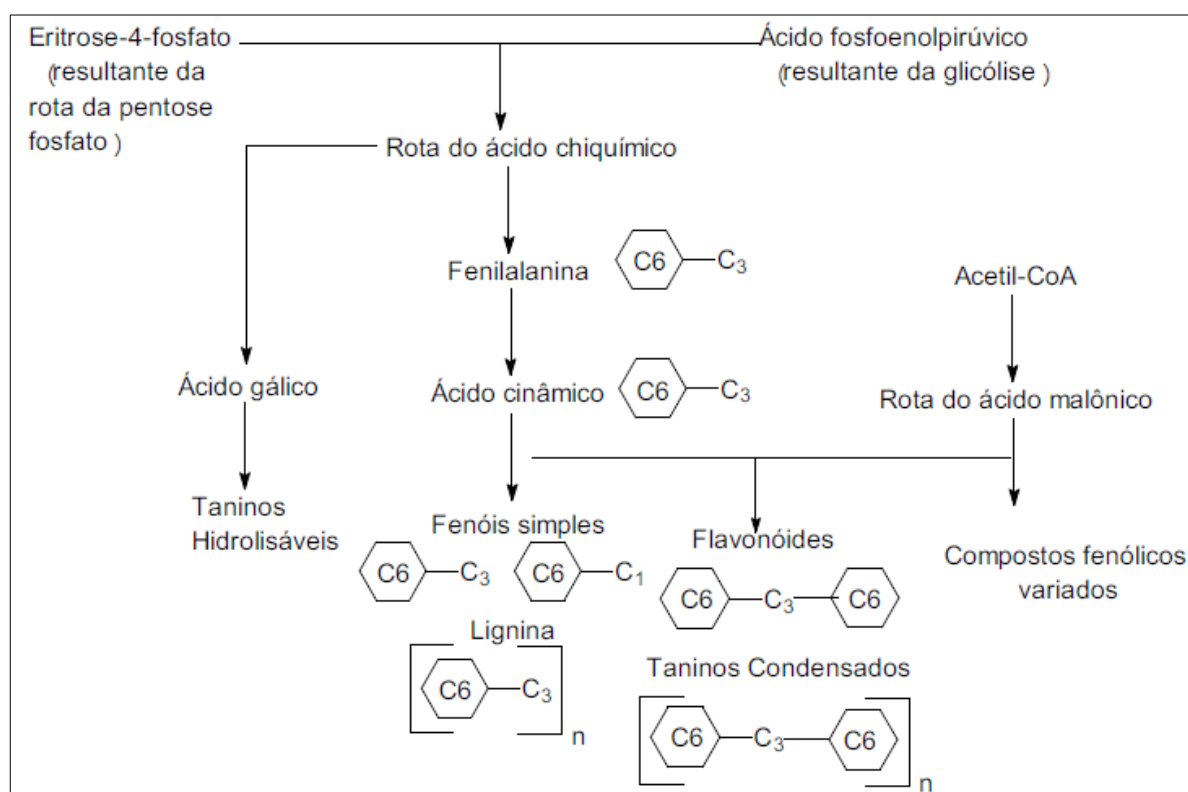
Esses compostos são sintetizados a partir de duas rotas metabólicas principais (Figura 4): a via do ácido chiquímico e a via do ácido malônico (TAIZ e ZEIGER, 2004). Eles podem ser divididos em dois grupos: os flavonoides e não flavonoides, sendo que ambos são metabólitos secundários presentes em frutas e vegetais.

Os denominados de “não flavonoides” são classificados como: os derivados das estruturas químicas C6-C1, específicas dos ácidos hidroxibenzoico, gálico e elágico; os derivados das estruturas químicas C6-C3 específicas dos ácidos cafêico, *p*-hidroxí cumárico e cinamatos; e os derivados das estruturas químicas C6-C2-C6 específicas do trans-reveratrol e cis-reveratrol (MELO e GUERRA, 2002 apud MAIA, 2008). Eles trazem um grande número de efeitos biológicos, como ações

antioxidantes, antimicrobiana, anti-inflamatória e vasodilatadora. Esses compostos apresentam diversas funções de defesa nas plantas, tanto contra agentes ambientais (umidade, temperatura e luz), como para fatores internos: nutrientes, hormônios e diferenças genéticas, auxiliando em sua síntese (MAIA, 2008).

A rota biossintética dos compostos fenólicos demonstrado na Figura 4 apresenta a rota biossintética dos compostos.

Figura 4 - Rota biossintética dos compostos fenólicos



Fonte: Taiz; Zeiger, 2004.

3.3.2 Esteroides

Os esteroides compõem uma classe de compostos naturais com vasta distribuição na natureza, que apresentam um núcleo ciclopentanoperidofenantreno (figura 5) e apresentam um grupo hidroxila no carbono 3. A maioria dos esteroides naturais possui uma cadeia lateral de 8 a 10 átomos de carbono e uma dupla ligação no carbono 5 (HUNG-LLAMOS *et al.*, 2005).

Em animais superiores se encontra fundamentalmente o colesterol, que é um elemento fundamental de membranas e precursor de substâncias fisiologicamente importantes (Vitamina D, ácidos biliares, hormônios etc.). Nas plantas superiores encontram-se principalmente os fitosteroides, desses já foram identificados mais de 100 tipos, os mais abundantes são o estigmasterol, campesterol e β - Sitosterol. Nos animais a presença desses se deve a sua ingestão na dieta. (HUNG-LLAMOS *et al.*, 2005).

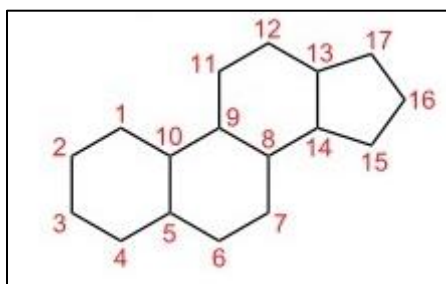
Os fitosteroides são compostos utilizados na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia por causa de suas propriedades farmacológicas e físico-químicas, sendo comercializado conforme suas aplicações. (COSSÍO, 2002)

Esses estão presentes em quase todas as partes das plantas, sobretudo nas sementes e talos, na forma de álcoois livres, esterificados com ácido graxo de cadeia longa e conjugados com glicosídeos (HUNG-LLAMOS *et al.*, 2005).

Há relatos de diversas atividades dos fitosteróis, dentre as quais podemos elencar redução do colesterol sérico reduzindo o risco de doenças cardiovasculares, ação antiinflamatória, inibição do crescimento de células cancerígenas, antipirética, antiulcérica, liberação de insulina e imunomodulação (HUNG-LLAMOS *et al.*, 2005).

A estrutura básica de esteroides com a distribuição de sua numeração está na Figura 5.

Figura 5 - Estrutura básica dos esteroides.



Materiais e Métodos



4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Estudo fitoquímico de *Paliavana tenuiflora* Mansf.

4.1.1 Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto (EEB)

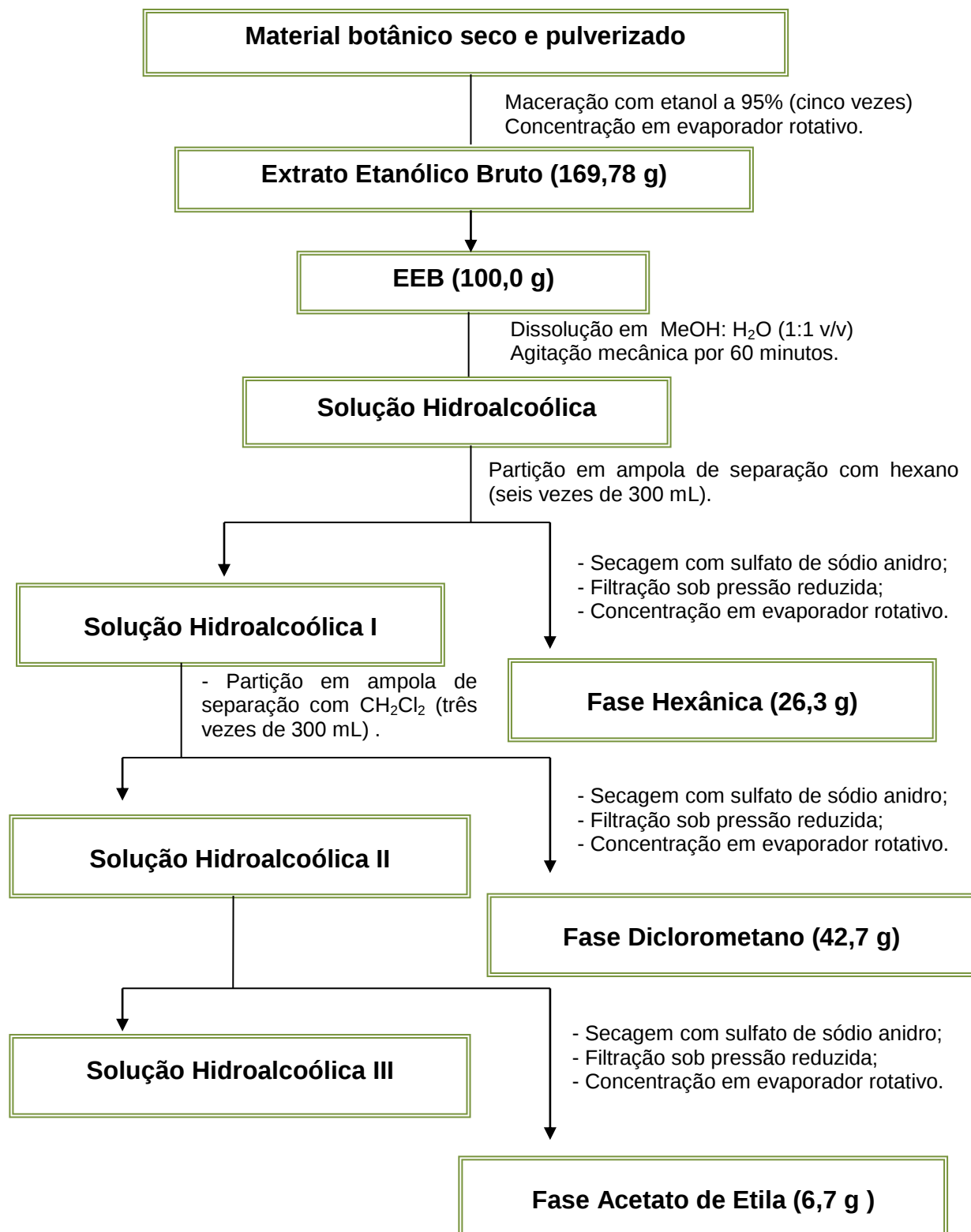
Partes aéreas de *Paliavana tenuiflora* Masf. foram coletadas na Pedra de Santo Antônio (Município de Galante – Estado da Paraíba), a coleta e identificação foi realizada pela professora doutora Maria de Fátima Agra. Uma exsicata desta foi depositada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB) do Centro de Ciências Exatas e da Natureza, com a identificação M.F. Agra 6090.

O material botânico 2.235 kg foi seco em estufa com ar circulante à temperatura de 40 °C durante 72 horas, e em seguida triturado e moído em moinho mecânico. O pó obtido foi submetido à maceração com etanol (EtOH) a 95% por três dias consecutivos em recipiente de aço inoxidável. Repetido o processo de extração por cinco vezes.

A solução extrativa resultante foi concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida a 44 °C, obtendo-se 169,78 g de EEB, com rendimento de 7,59% em relação ao peso seco da planta (Esquema 1). Parte desse EEB (100g) foi dissolvido numa mistura metanol: água (1:1) e homogeneizado em agitação mecânica por 60 minutos, obtendo-se uma solução aquosa. Essa solução foi submetida a partição líquido: líquido em ampola de separação obtendo as respectivas fases (Esquema 1).

As fases hexânica, diclorometano e acetato de etila/hidroalcóolica foram tratadas com sulfato de sódio anidro para secagem, submetidas a pressão reduzida, concentradas em evaporador rotativo à temperatura de 44,0 °C , obtendo três fases: 26,3 g de fase hexânica, 42,7 g de fase diclorometano e 6,7 g de fase AcOEt.

Esquema 1 - Etapas envolvidas no processo de obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto de *Paliavana tenuiflora* Mansf.



4.1.2 Isolamento e purificação dos constituintes químicos

O isolamento, a purificação e a análise dos constituintes químicos de *Paliavana tenuiflora* foram realizados utilizando cromatografia clássica em coluna (CC), em camada delgada analítica (CCDA), preparativa (CCDP) e cromatografia líquida de média pressão (CLMP).

Para as CC utilizou-se Sílica Flash (G60 da SILICYCLE de partículas de dimensões entre 60 – 200 µm e 70 – 230 mesh) e Sephadex LH-20 (AMERSHAM BIOSCIENCE) e colunas de vidro cujos comprimentos e diâmetros variam de acordo com a quantidade de amostra. As amostras foram acondicionadas sobre o topo da coluna, procedendo-se então a eluição com os solventes comerciais hexano, CH₂Cl₂, MeOH destilados no CBIotec/UFPB, puros ou em misturas binárias.

As CCDAs e a CCDPs foram empregadas para análise e purificação das frações obtidas por CC, respectivamente. Para isto, foram usadas placas (Whatman AL SIL G/UV) para a CCDA e de vidro (10,0 x 20,0 cm e 20,0 x 20,0cm) preparadas no próprio laboratório com uma suspensão de sílica gel PF 254 (ART 7749 da MERCK) em água destilada (1:2,5 m/v para CCDP) distribuída sobre a placa de vidro com ajuda de um espalhador mecânico tipo *quick fit*. As cromatoplasas obtidas, secas ao ar livre e ativadas em estufa a 100,0° C durante duas horas.

A revelação das substâncias em CCDA foi realizada pela exposição das cromatoplasas à lâmpada de radiação ultravioleta (UV) sob dois comprimentos de onda 254 e 366 nm, em aparelho MINERALIGHT (modelo UVGL-58).

Após análise por CCDA, as frações semelhantes foram reunidas de acordo com os fatores de retenção (R_f) e submetidas a ressonância magnética nuclear de hidrogênio .

Na extração das amostras que foram submetidas à CCDP foram utilizados CH₂Cl₂ e ou CH₂Cl₂:MeOH (9:1 v/v)

4.1.2.1 Processamento cromatográfico da fase acetato de etila

A fase acetato de etila (6,7g) foi submetida à cromatografia líquida de média pressão (CLMP), utilizando como fase estacionária sílica flash e como fase móvel hexano, acetato de etila, (AcOEt) e metanol (MeOH) em sistema isocrático, distribuídos em sete ciclos (Tabela 1).

Tabela 1 - Método utilizado no CLMP da fase acetato de etila de *Paliavana tenuiflora*.

	Método	Frações coletadas
1 ° Ciclo	Isocrático (100% Hexano)	01
2 ° Ciclo	Isocrático (Hexano 8:2 AcOEt)	02 -36
3 ° Ciclo	Isocrático (Hexano 6:4 AcOEt)	37-46
4 ° Ciclo	Isocrático (100% AcOEt)	47-53
5 ° Ciclo	Isocrático (AcOEt 9:1 MeOH)	54-61
6 ° Ciclo	Isocrático (AcOEt 7:3 MeOH)	62-72
7 ° Ciclo	Isocrático (AcOEt 5:5 MeOH)	73-76

Finalizados os sete ciclos foram obtidas 76 frações, as quais foram monitoradas por CCDA e reunidas de acordo com o R_f (Esquema 2).

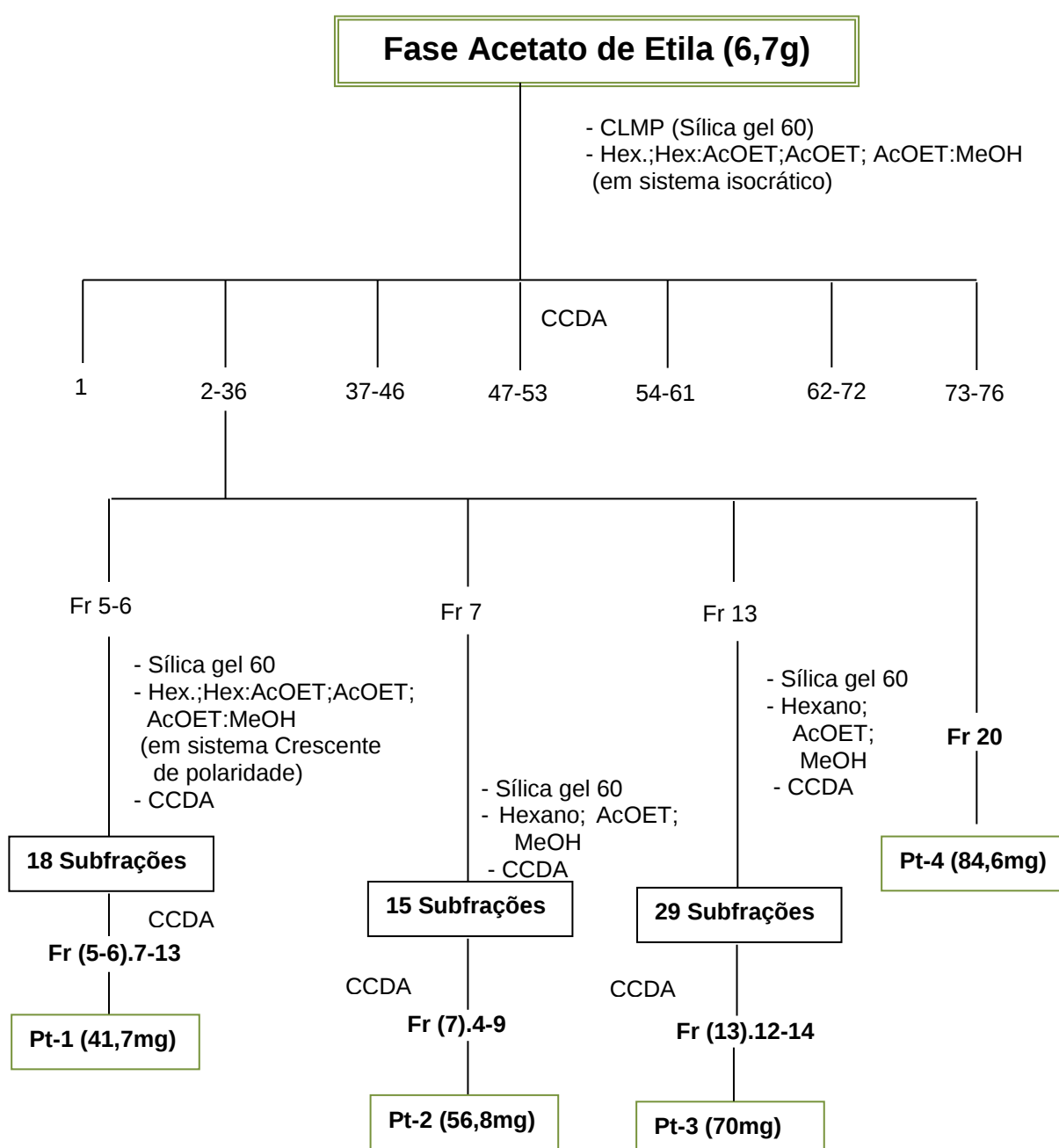
A fração 5-6 (64,3 mg) foi submetida a cromatografia em coluna utilizando sílica flash, como fase estacionária e hexano, AcOEt e metanol puros ou em misturas binárias como eluentes, obtendo 18 subfrações. Essas foram monitoradas por CCDA e reunidas as subfrações 7-13 (41,7mg), a qual apresentou-se como um sólido amorfo branco, com significativo grau de pureza, depois de verificar o seu PF, sendo codificada como Pt-1.

A fração 7 (89 mg) foi submetida a cromatografia em coluna utilizando sílica flash, como fase estacionária e hexano, AcOEt e metanol puros ou em misturas binárias como eluentes, obtendo 15 subfrações. Essas foram monitoradas por CCDA e as subtrações 4-9 (70 mg) foram reunidas, essa apresentou-se como um precipitado marrom claro, sendo codificada como Pt-2.

A fração 13 (156 mg) foi submetida a cromatografia em coluna utilizando sílica flash, como fase estacionária e hexano, AcOEt e metanol puros ou em misturas binárias como eluentes, obtendo 26 subfrações. Essas foram monitoradas por CCDA e as subfrações 12-14 (70mg) foram reunidas essa apresentou-se como um precipitado amarelo, sendo codificada como Pt-3.

A fração 20A (84,6mg) foi isolada como um sólido branco amorfo, solúvel apenas em piridina, o qual foi codificado como Pt-4.

Esquema 2 - Processamento da Fase Acetato de Etila



4.2.1.2 Hidrolise alcalina de Pt-1

Para a identificação do tamanho da cadeia alquilica foi realizado uma hidrolise alcalina. Para tanto se utilizou 25mg do composto ao qual foi adicionado THF (2 mL), tratado com 2,8% de Metoxido de Sódio (NaOMe) em MeOH (2 mL) e colocado sob refluxo a 70°C por 30min. Em seguida a reação foi neutralizada com HCl a 0,1 M e particionada com uma mistura *n*-hexano-H₂O. A fase hexânica foi concentrada e, seca em Sulfato de Sódio Anidro (NaSO₄) e injetada no CG-EM. As condições analíticas foram: DB-5 EM; coluna capilar (30m x 0,25 mm x 0,25 µm); gás de arraste Hélio; modo de injeção *split* (1:20) volume de injeção 1µL, temperatura do injetor e detector 300°C. Programação do forno de 80 °C a 300 °C / 5 °C/min.

4.1.3 Caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados

A estrutura química das substâncias isoladas foi caracterizada mediante uso de métodos espectroscópicos, experimentos de rotação óptica e determinação dos pontos de fusão.

a) Espectroscopia de infravermelho (IV)

Os espectros de observação na região do IV (4000 a 400 cm^{-1}), foram obtidos em aparelho de BOMEM FT-IR (modelo MB 100) do LTF/UFPB, utilizando uma pequena quantidade de amostra em pastilha de brometo de potássio (KBr), com frequência medida em cm^{-1} .

b) Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram obtidos em espectrômetros VARIAN SYSTEM 500 MHz e VARIAN MERCURY 200 MHz. As amostras para análise foram preparadas dissolvendo-se pequena quantidade das mesmas em solventes deuterados da marca Cambridge Isotope Laboratories: clorofórmio (CDCl_3) e piridina ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) deuterados.

As multiplicidades dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H foram indicadas segundo as convenções: s (singleto), sl (singleto largo), d (duplete), dd (duplo duplete), t (triplete).

Os espectros de RMN de ^{13}C foram obtidos pela técnica APT com a seguinte convenção: os sinais de carbonos não-hidrogenados (C) e metilênicos (CH_2) acima da linha base e sinais de carbonos metínicos (CH) e metílicos (CH_3) abaixo da linha base.

Os dados espectrais foram comparados com modelos da literatura, quando possível, permitindo fazer a maioria das atribuições.

c) Ponto de fusão

O ponto de fusão de cada substância foi determinado em aparelho digital (MQAPF – 302) da Microquímica Equipamentos LTDA, com faixa de temperatura de 0 a 350 °C.

d) Cromatografia Gasosa acoplada à espectroscopia de massas

Os cromatogramas foram obtidos após a ionização e fragmentação, sendo o padrão comparado eletronicamente com aqueles constantes na biblioteca de espectros de massas, permitindo a elucidação estrutural da amostra por análise comparativa (SIMÕES *et al*, 2003) Para isso foi utilizado o espectrômetro gasoso acoplado a espectrômetro de massas da Cromatógrafo Gasoso acoplado a Espectrômetro de Massas (EI), Shimadzu QP-2010. ambos do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA) da UFPB.

RESULTADOS E DISCUSSÕES



5 RESULTADOS E DSCUSSÕES

5.1 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE Pt - 1

O composto identificado como Pt-1 foi obtido como um sólido marrom claro com 41,7mg (Correspondendo a 0,041% em relação ao EEB) ponto de fusão (78,6-79,4 °C).

No espectro de IV obtido em pastilha de KBr (Figura 6) mostrou uma banda larga em 3456 cm^{-1} , típica de estiramento O-H, bandas de absorção em 1250 cm^{-1} característica de estiramento C-O de álcoois e fenóis, e bandas em 1171 e 1109 cm^{-1} para C-O de éster. Também foram observadas bandas em 1462 cm^{-1} típicas de dobramento de CH_2 em 2916 cm^{-1} característica de estiramento de alcanos, além disso, pode-se verificar uma banda de cadeia longa em 719 cm^{-1} . Observou-se também absorção em 827 cm^{-1} característico de dobramento $=\text{C-H}$ de aromático parassubstituído fora do plano e uma banda em 1724 cm^{-1} , característica de carbonila de éster (PAVIA *et al*, 2010).

No espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Pt-1 e suas expansões (Figuras 7 - 9) foram observados dois dubletos em δ_{H} 6,74 e 7,07 com integral para dois hidrogênios cada e acoplando orto entre si ($J = 8\text{ Hz}$), sugerindo a presença de um sistema AA'BB'.

Nesse mesmo espectro foram observados sinais de hidrogênios alifáticos, dois tripletos em δ_{H} 2,83 e 4,21, com integral para dois hidrogênios cada, sendo o sinal em δ_{H} 4,21 característico de hidrogênio ligado a carbono oxigenado (Pavia, *et al* 2010). Ainda nessa região foram observados sinais em δ_{H} 2,25 (t); 1,56 (m); 1,23 (s); e 0,86 (s), sugerindo a presença de uma cadeia longa saturada.

No espectro COSY (Figuras 10-12) observou-se correlações em δ_{H} 2,83 (H-2) e sinais em δ_{H} 4,21, confirmando a posição do H-2 e H-1, além da correlação δ_{H} 7,06 (H-5') com 6,74 (H-6').

No espectro de RMN ^{13}C de Pt-1 (50 MHz, CDCl_3) e suas expansões (Figuras 13-15) foram observados quatro sinais, correspondente a seis carbonos na região de

aromáticos, sendo quatro carbonos metínicos (dois absorvendo em δ_C 115,3 e dois absorvendo em 129,9) e dois de carbonos não hidrogenados δ_C 154,3 e 129,8 corroborando com a proposta do RMN 1H para um anel aromático para-substituído.

Estes sinais associados com os sinais para carbonos metilênicos em δ_C 64,9 e 34,4, nos permitiram inferir a presença do Tirosol (Figura 16) em Pt-1.

Entretanto, o sinal em δ_C 174,0, característico de carbonila de éster; os sinais para carbonos metilênicos entre δ_C 34,3 e 22,7, e o pico em δ_C 14,1, característico de metila, nos permitiu sugerir que o composto Tirosol estava esterificado com um ácido graxo saturado (Figura 17).

Com base nos espectros de correlação heteronuclear HMBC (Figuras 18-19) mostrando a correlação entre sinais δ_H 4,21 do H-1 e o δ_C 174,0 atribuído a carbonila e, comparados com dados da mostrados na Tabela 2 foi possível sugerir que se trata de uma esterificação do Tirosol visto que o sinal para carbonila de ácido está próxima a 178,00 ppm e o sinal da carbonila em Pt-1 está em 174,00 corroborando com a nossa proposta.

Figura 6 - Espectro de IV(KBr, cm^{-1}) de Pt-1

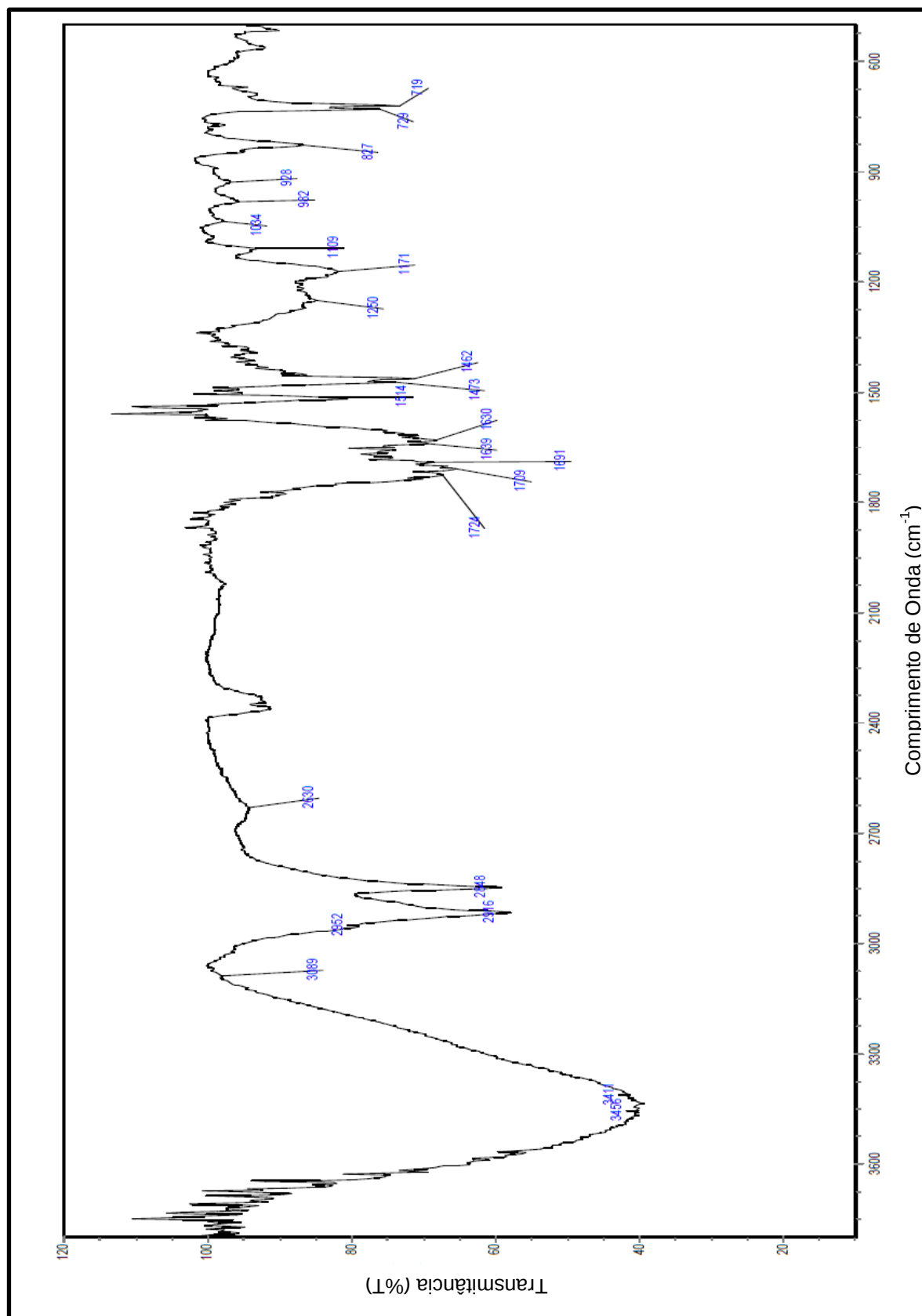


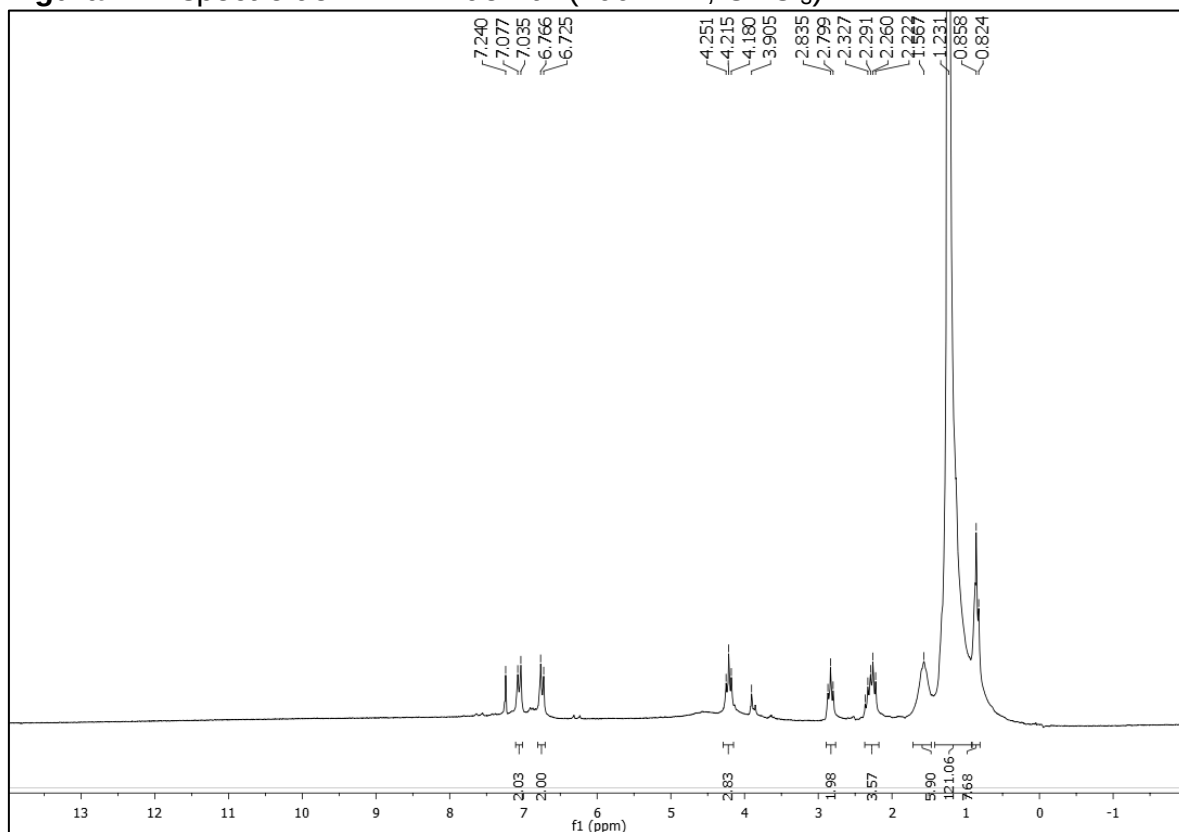
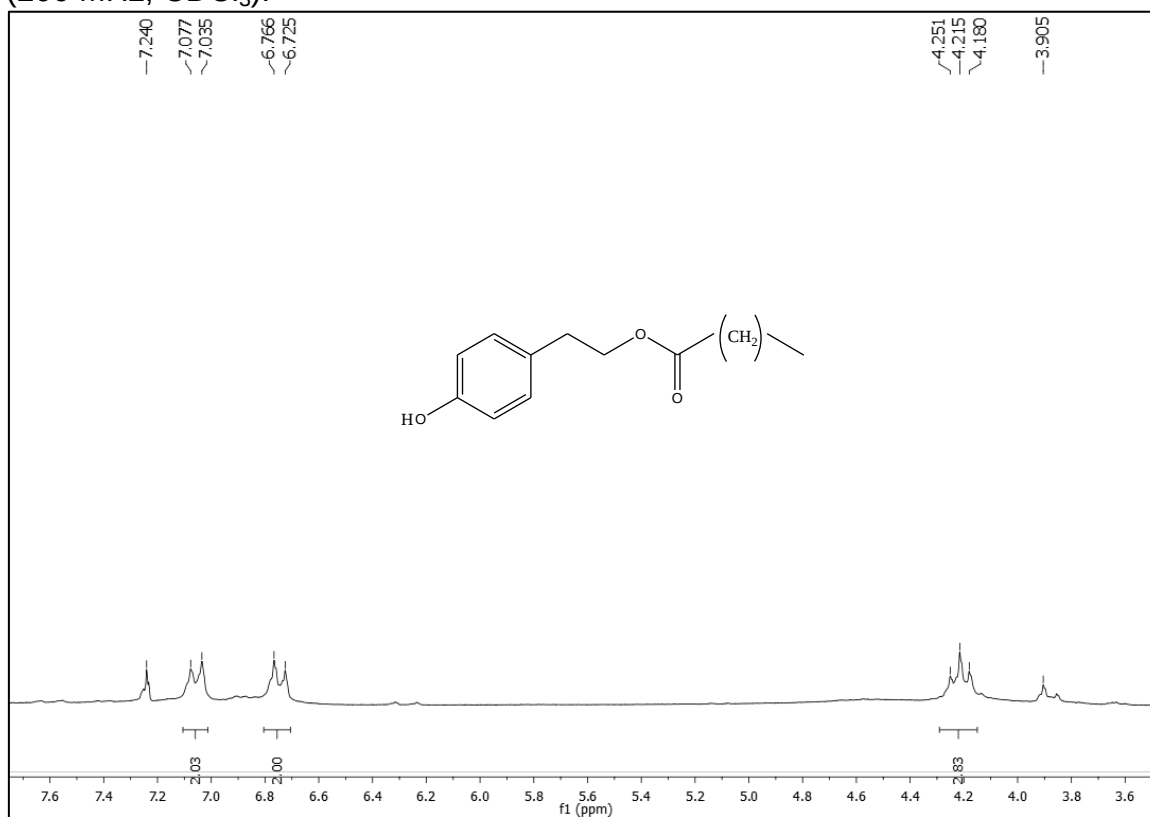
Figura 7 - Espectro de RMN ^1H de Pt-1(200 MHz, CDCl_3).**Figura 8** - Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt-1 na região de 7,6 e 3,6 ppm (200 MHz, CDCl_3).

Figura 9 - Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt-1 na região de 2,9 a 0,5 ppm (200 MHz, CDCl_3).

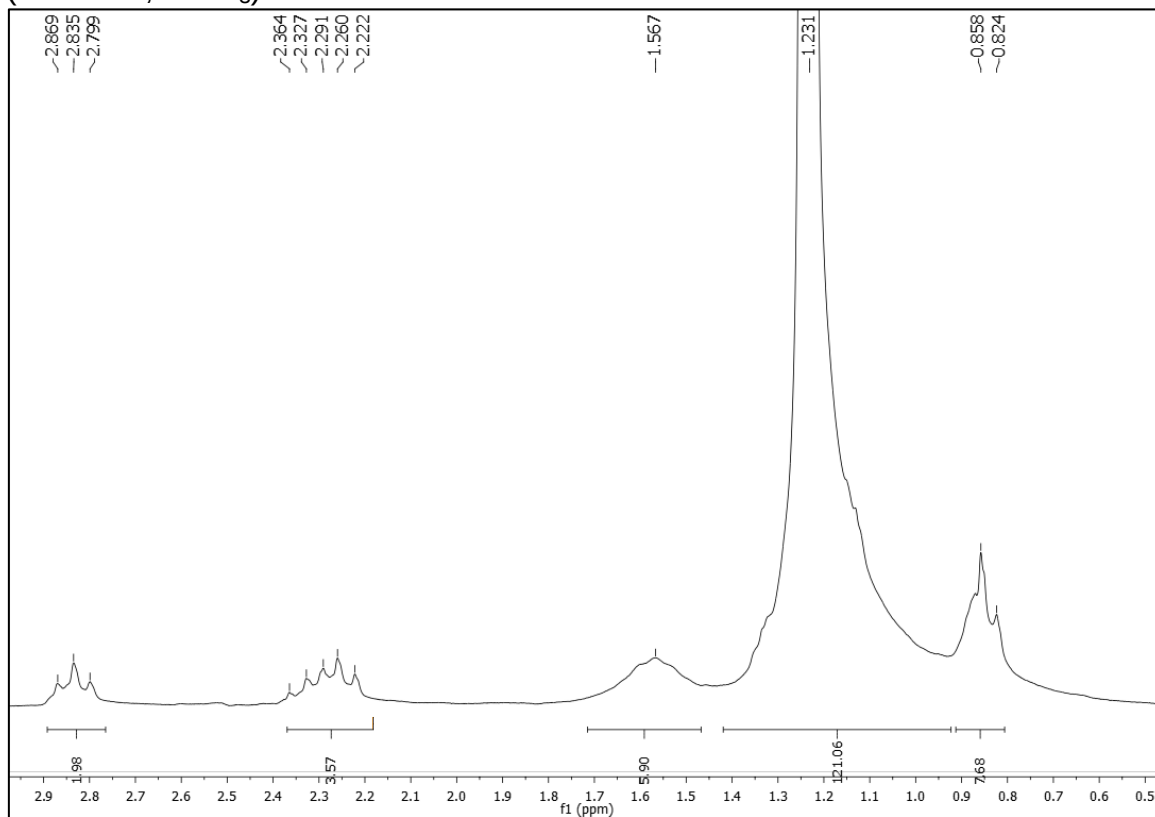


Figura 10 - Espectro de COSY de ^1H x ^1H - (500 MHz, CDCl_3) de Pt-1.

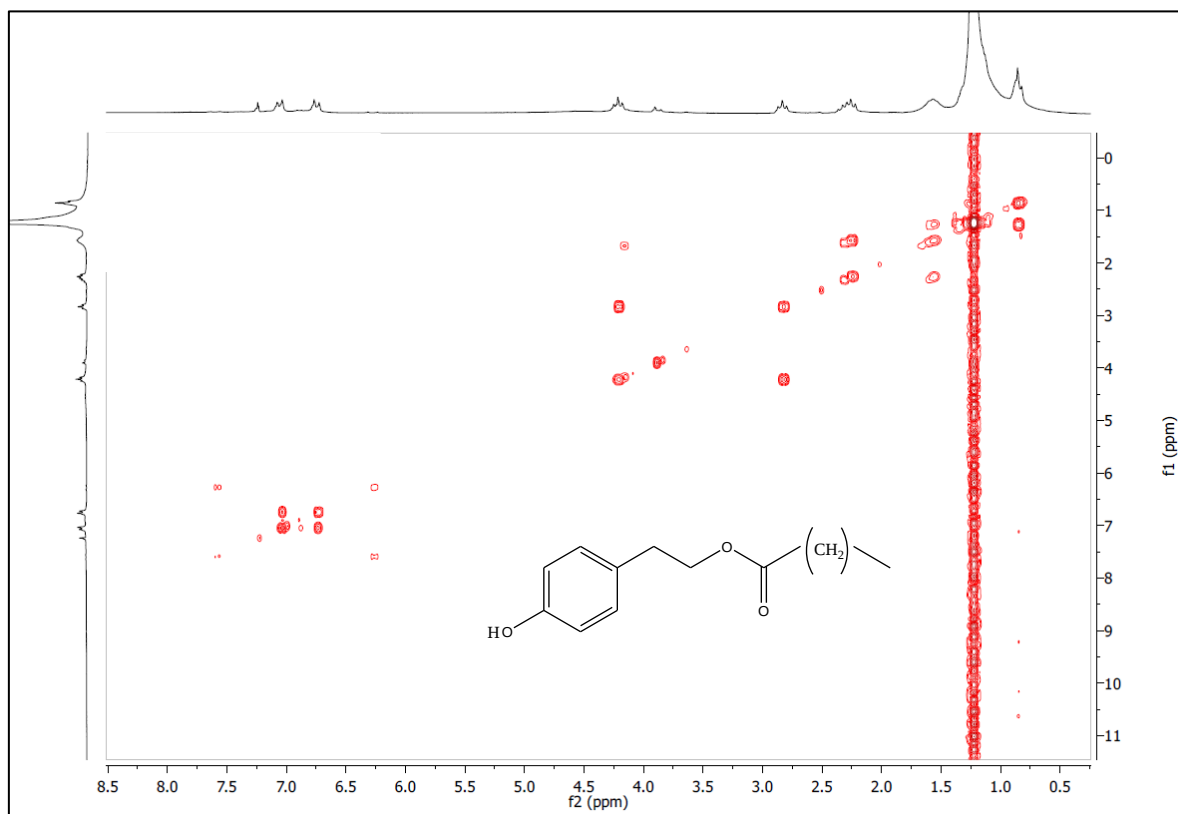


Figura 11 - Expansão do espectro de COSY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - (500 MHz, CDCl_3) de Pt-1 na região de (7,3-6,65) e (6,3-7,5) ppm.

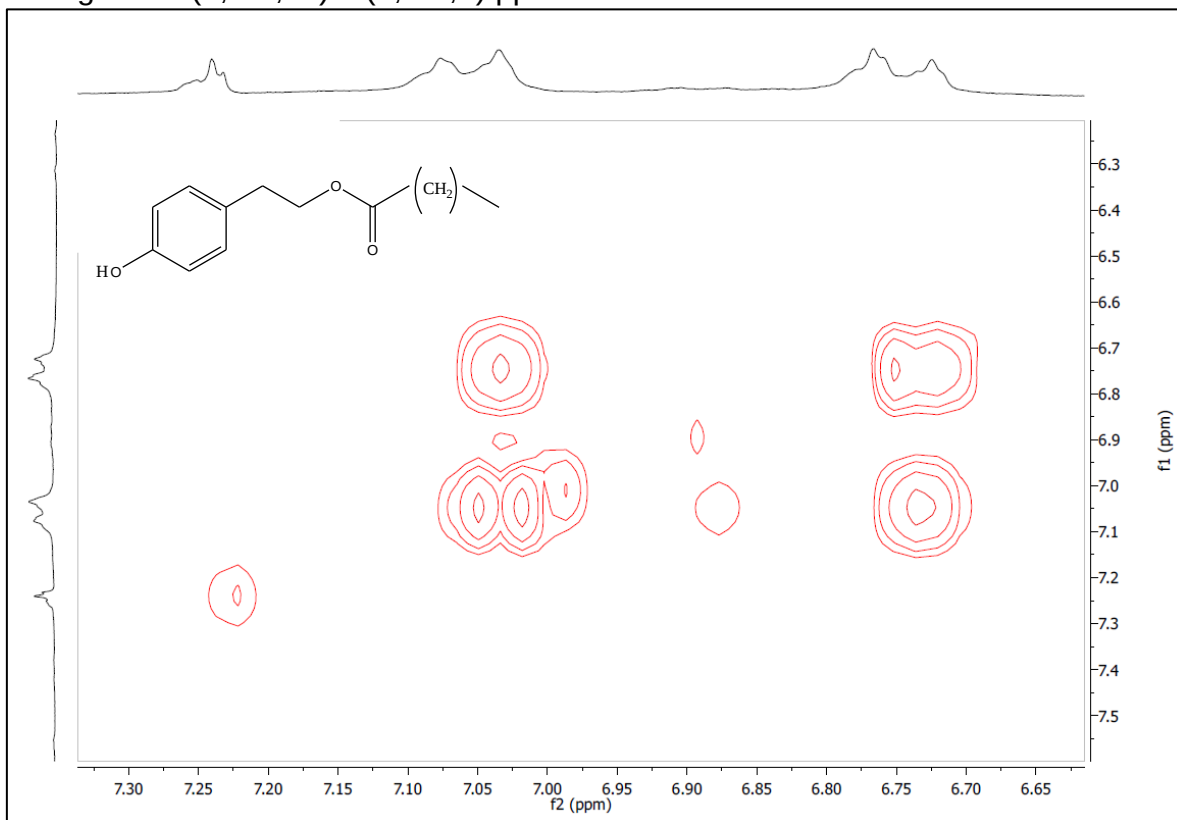


Figura 12 - Expansão do espectro de COSY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - (500 MHz, CDCl_3) de Pt-1 na região de (4,5-0,0) e (0,0-4,5) ppm.

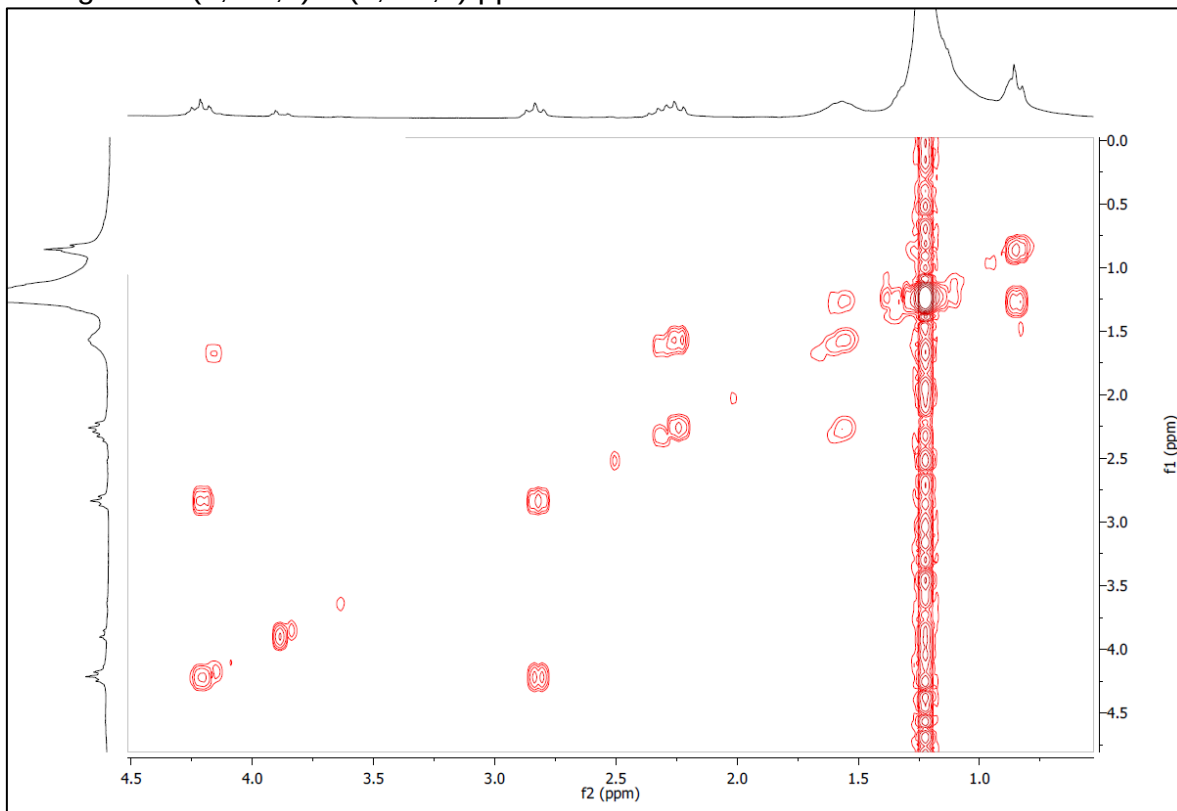


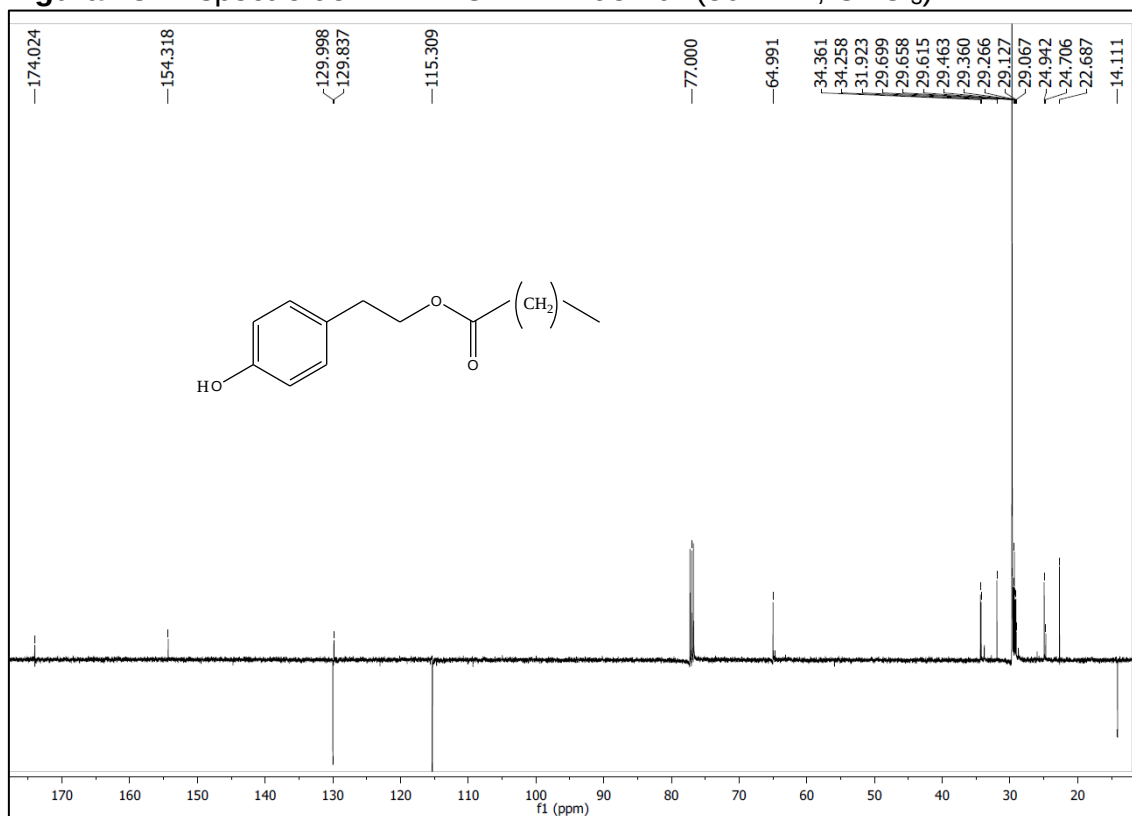
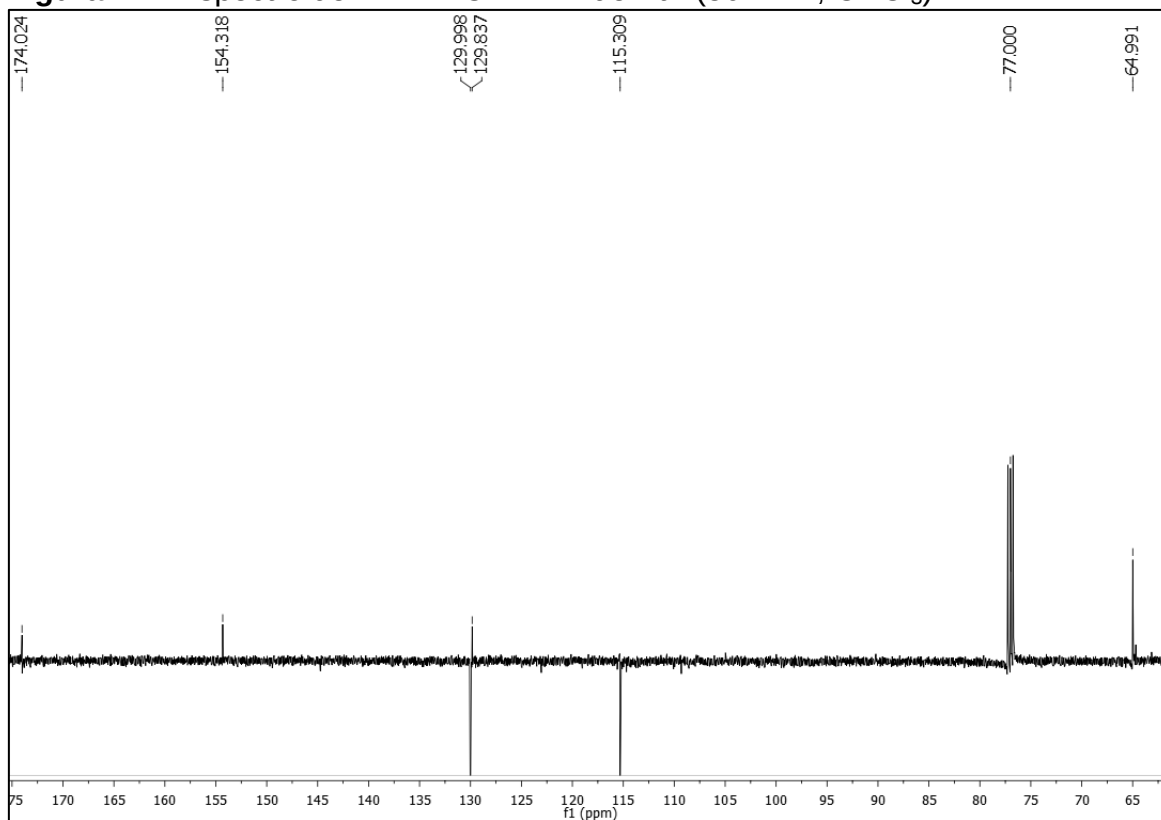
Figura 13 - Espectro de RMN ^{13}C – APT de Pt-1(50 MHz, CDCl_3).**Figura 14** - Espectro de RMN ^{13}C – APT de Pt-1(50 MHz, CDCl_3).

Figura 15 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de Pt-1 na região de 35 e 14 ppm.

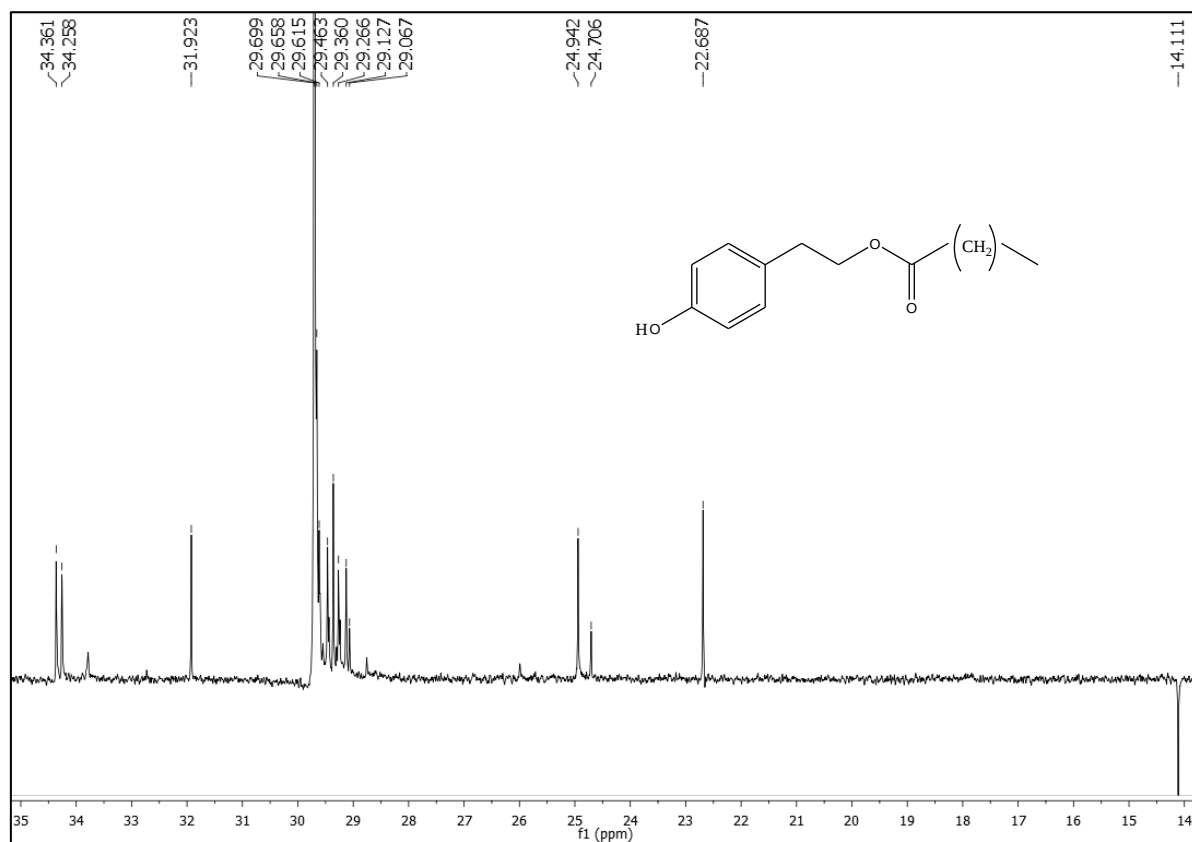


Figura 16 - Estrutura do Tirosol

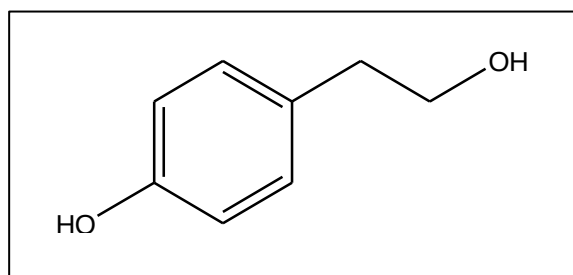


Figura 17 - Estrutura do Tirosol esterificado

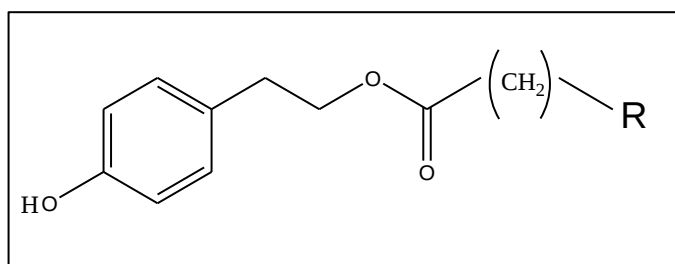


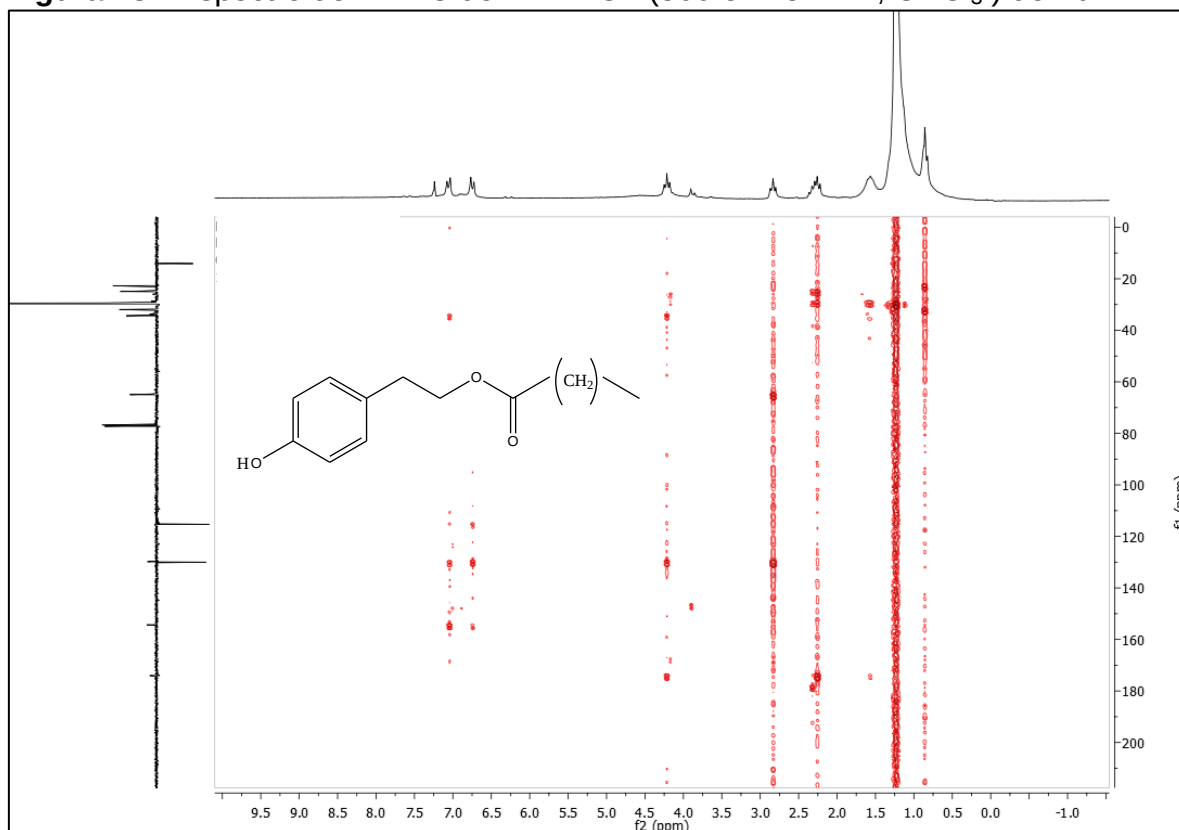
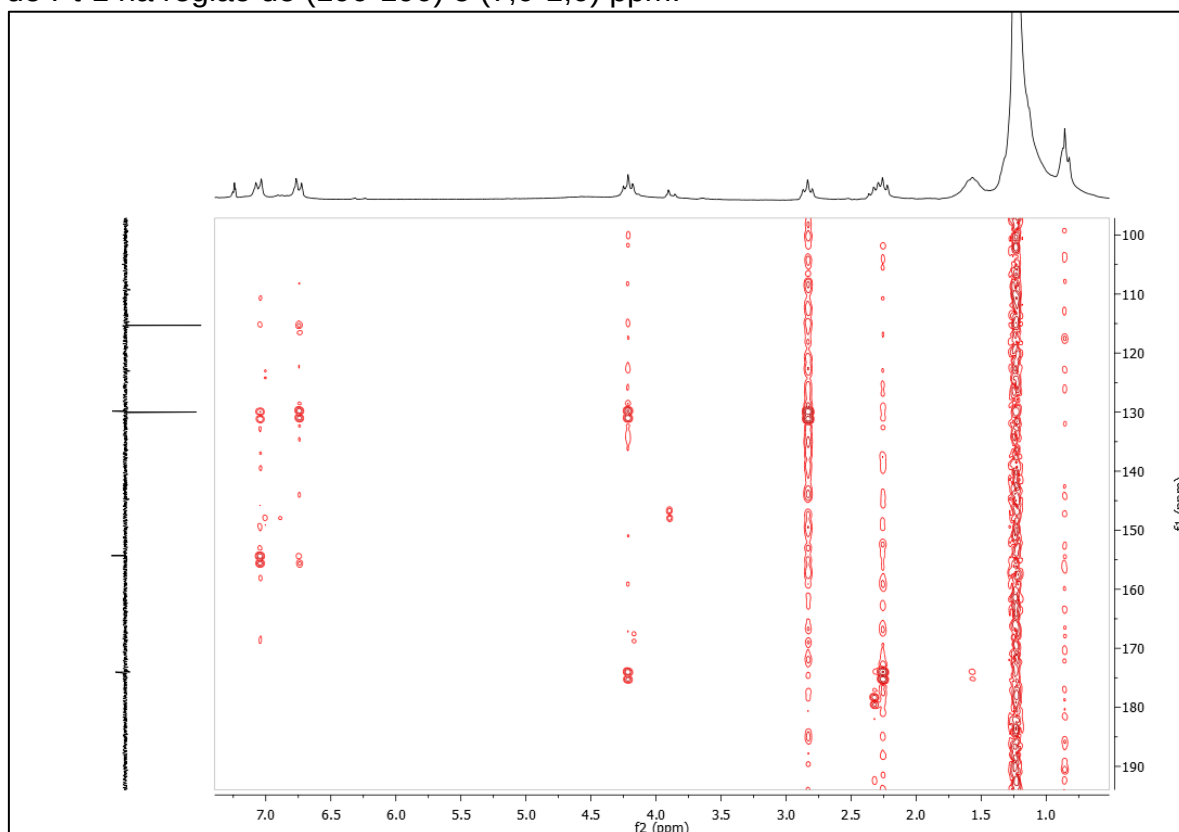
Figura 18 - Espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-1.**Figura 19** - Expansão do espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-1 na região de (100-190) e (7,0-1,0) ppm.

Figura 20 - Espectro de HSQC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-1.

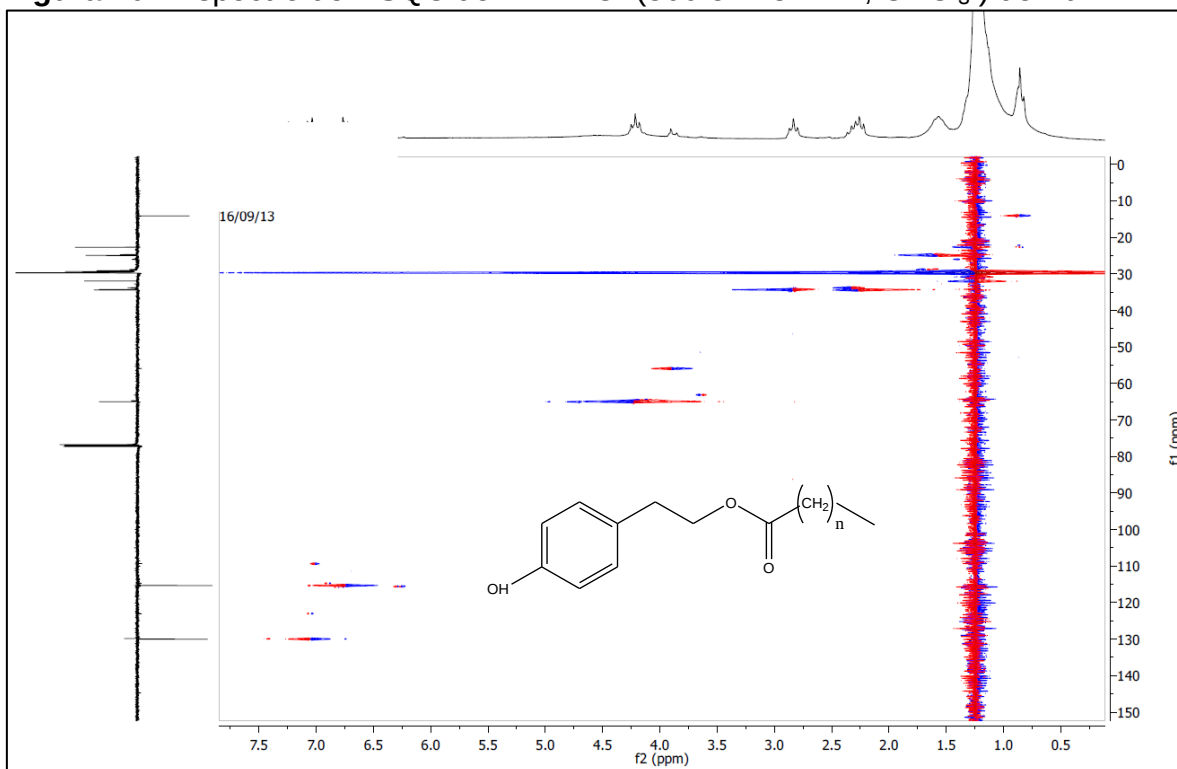


Figura 21 - Cromatograma de Pt-1.

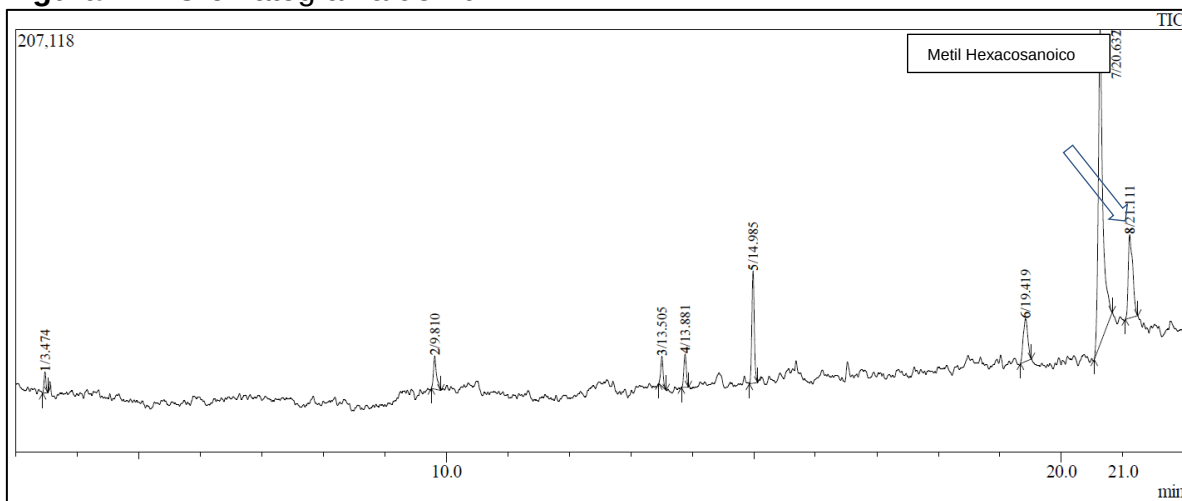
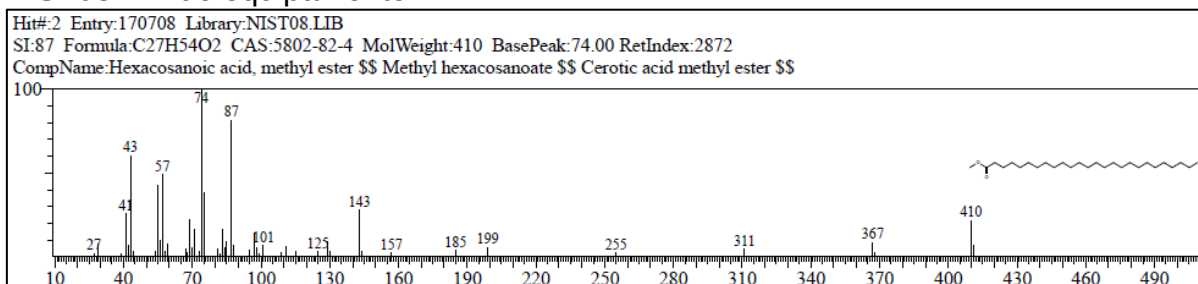
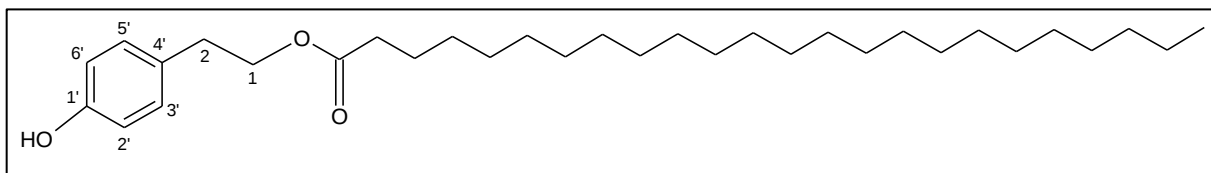


Figura 22 - Comparação do Cromatograma de Pt-1 com banco de dados NIST08.LIB do equipamento.



Após análise dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , análise de CG-EM (Figuras 20 -21) e comparação com a literatura (LIU,*et al.* 2010) (Tabela 2) foi possível sugerir que Pt-1 se tratava do Hexacosanoato 2-(*p*-hidroxifenil) de etila (Figura 23).

Figura 23 - Estrutura do Hexacosanoato 2-(*p*-hidroxifenil) de etila .



5.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE Pt - 2

A substância codificada como Pt-2 foi obtida como um sólido amorfo amarelado com massa 56, 8 mg (Correspondente a 0,0567% em relação ao peso bruto) e ponto de fusão 207-210 °C.

O espectro de RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD) (Figura 24-25) apresentou dois sinais em δ_{H} 6,24 (H-2) e 7,56 (H-3) (d, $J = 16,0$ Hz) com acoplamento *trans* atribuídos aos hidrogênios olefínicos α e β à carbonila. Sinais em δ_{H} 6,94 (dd, $J = 8,2$ e 2 Hz), 6,76 (d, $J = 8,2$ Hz) e 7,03 (d, $J = 2$ Hz) indicaram a presença de um anel trissubstituído (Figura 26).

No espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CD_3OD) (Figuras 26-27) foram observados sinais em δ_{C} 146,75 e δ_{C} 149,43, relativos a grupos hidroxila ligados ao anel aromático (BHATT, 2011). O sinal em δ_{C} 171,04 nos sugeriu a presença de uma carbonila de ácido a qual foi atribuída ao carbono C-1.

Comparados com dados da literatura (JEONG *et al*, 2011), nos permitiram identificar a substância Pt-2 como sendo o ácido 3-(3',4' dihidroxifenil) prop-2-enoico também conhecida como ácido cafeico. Os dados RMN ^1H e ^{13}C de Pt-2 estão compilados na Tabela 3.

Tabela 3 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C em CD_3OD de Pt-2 e dados RMN ^1H e ^{13}C e do ácido 3-(3',4' dihidroxifenil) prop-2-enoico (JEONG et al, 2011).

δ_{C}	δ_{H} Pt-2 (200 MHz, CD_3OD)	δ_{C} Pt-2 (50 MHz, CD_3OD)	δ_{H} (JEONG et al, 2011), (500 MHz CD_3OD)	δ_{H} (JEONG et al, 2011), (500 MHz CD_3OD)
C-1	-	171,04	-	171,6
C-2	6,24 (d $J = 16$ Hz)	115,06	6,24 (d $J = 16$ Hz)	116,6
C-3	7,56 (d $J = 16$ Hz)	147,02	7,55 (d $J = 16$ Hz)	147,6
C-1'	-	127,72	-	128,8
C-2'	7,03 (d $J = 2$ Hz)	115,59	7,07 (d $J = 2$ Hz)	115,7
C-3'	-	146,75	-	147,2
C-4'	-	149,43	-	149,8
C-5'	6,76 (d $J = 8,2$ Hz)	116,49	6,81 (d $J = 8,2$ Hz)	117,0
C-6'	6,94 (dd $J = 8,2$ e 2 Hz)	122,79	6,95 (dd $J = 8,2$ e 2 Hz)	123,4

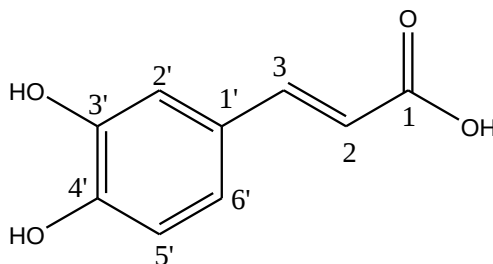


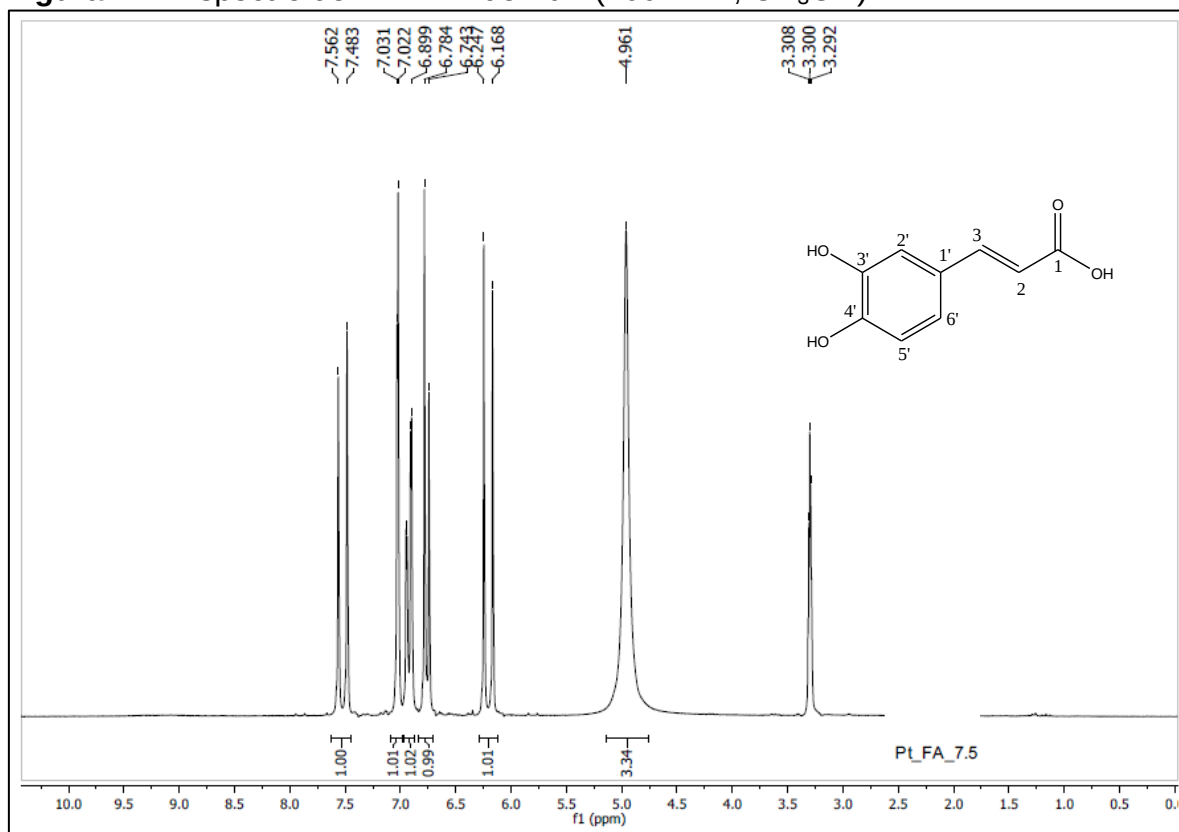
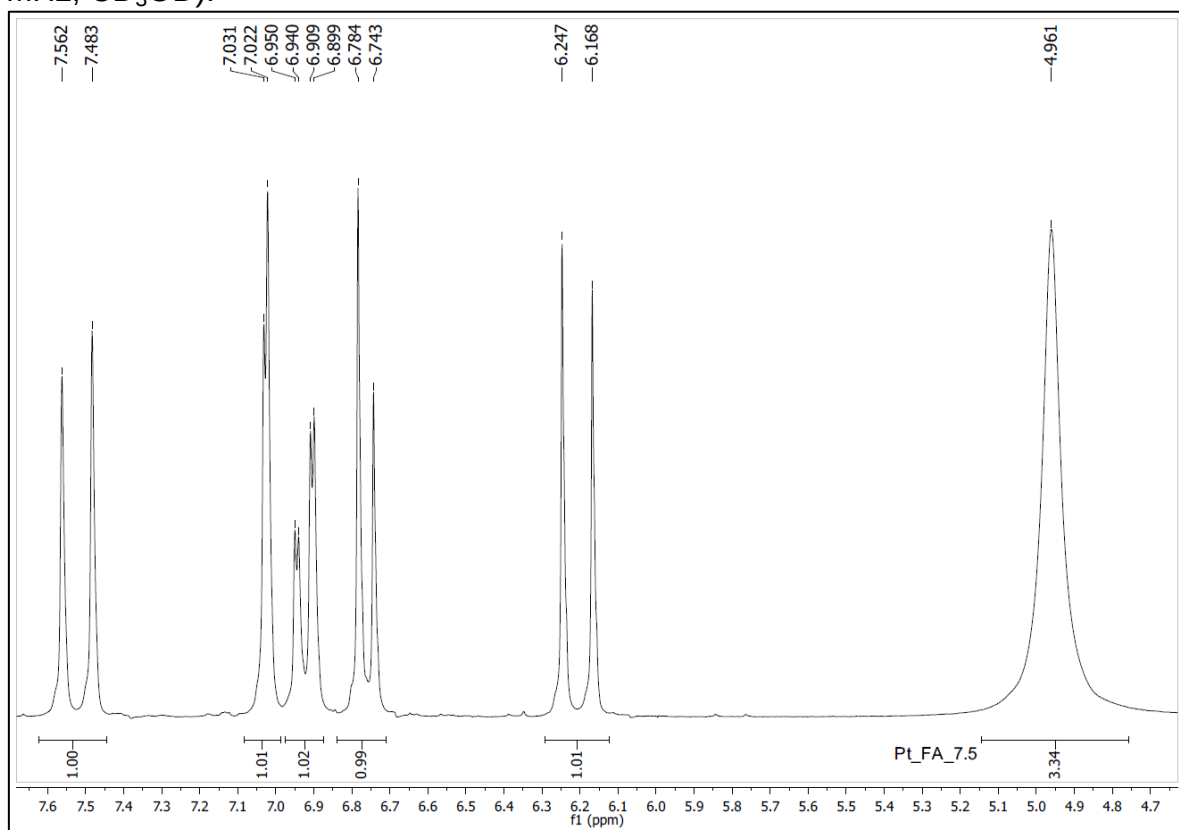
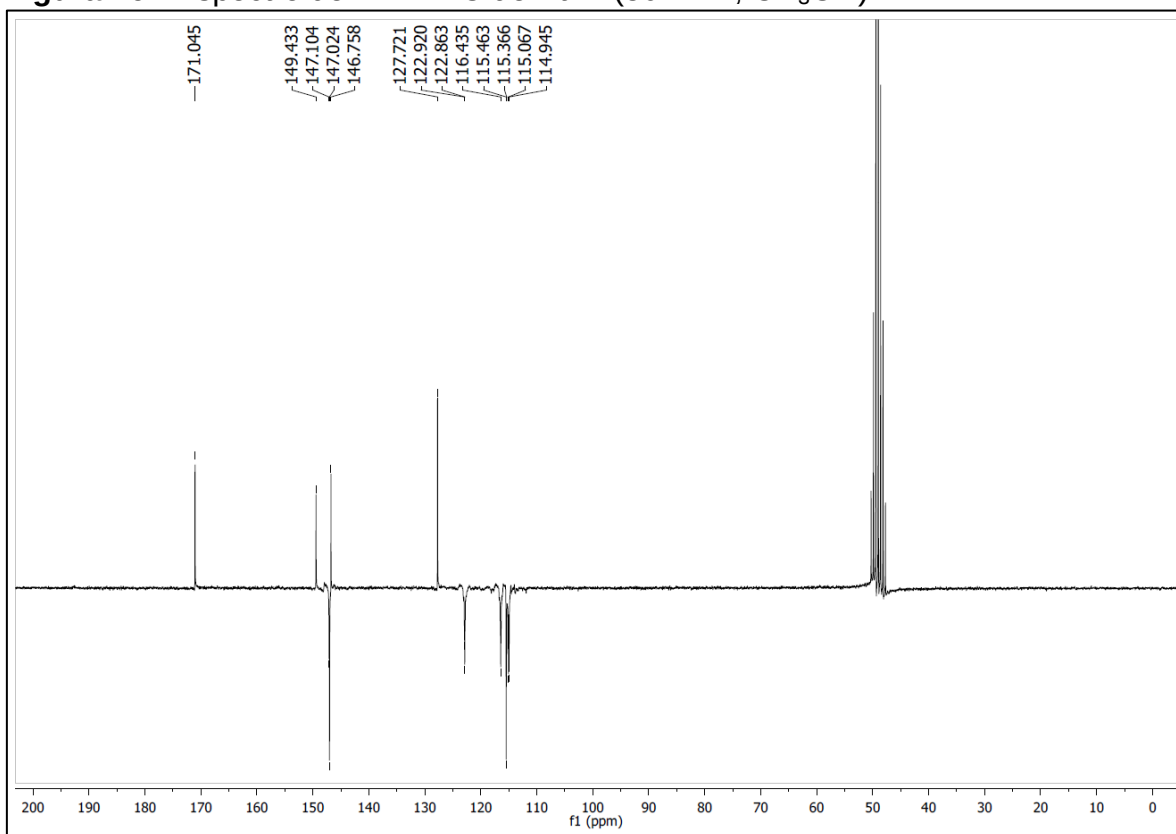
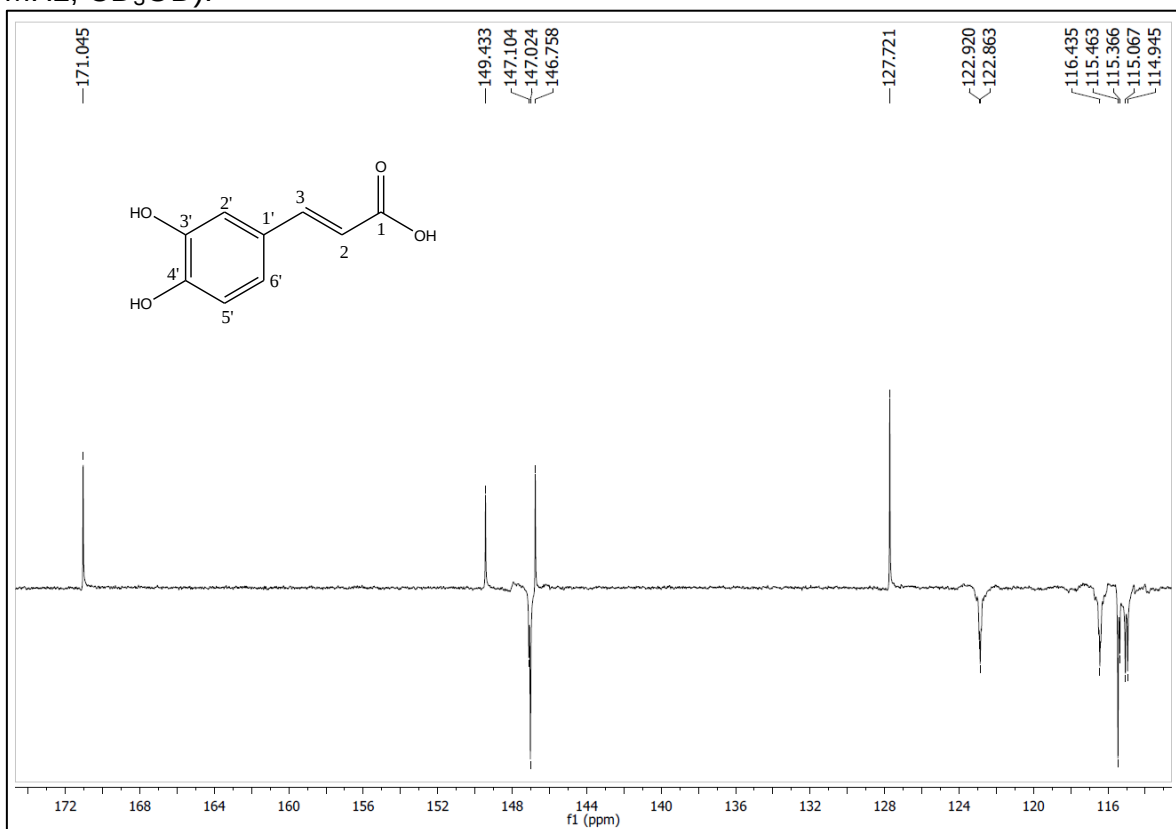
Figura 24 - Espectro de RMN ^1H de Pt-2 (200 MHz, CD_3OD).**Figura 25** - Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt-2 na região de 7,6 e 4,7 (200 MHz, CD_3OD).

Figura 26 - Espectro de RMN ^{13}C de Pt-2 (50 MHz, CD_3OD).**Figura 27** - Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Pt-2 na região de 172 e 116 (50 MHz, CD_3OD).

5.3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE Pt - 3

A substância Pt-3 foi obtida como um sólido amorfo amarelo com massa 70 mg (correspondendo a 0,070% em relação ao EEB), apresentando ponto de fusão 79,9 - 81,4 °C.

No espectro de IV realizados pastilha de KBr, (Figura 28) mostrou uma banda larga em 3429 cm^{-1} , típica de estiramento O-H, bandas de absorção em 1281 cm^{-1} característica de estiramento C-O de álcoois e fenóis, e bandas em 1184 e 1115 cm^{-1} para C-O de éster. Também foram observadas bandas em 1473 cm^{-1} típicas de dobramento de CH_2 e duas bandas características de estiramento de alcanos em 2916 e 2848 cm^{-1} , além disso, pode-se verificar uma banda de cadeia longa em 719 cm^{-1} . Observa-se também uma banda em 1739 cm^{-1} , característica de carbonila de éster (PAVIA, 2010).

No espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Pt-3 e suas expansões (Figura 29-31) foram observados sinais semelhantes a Pt-1, sendo dois tripletos em δ_{H} 2,83 e 4,21, com integral para dois hidrogênios cada, característicos de hidrogênios alifáticos e este último, atribuído a hidrogênio ligado a carbono oxigenado (PAVIA, 2010). Ainda nessa região foram observados sinais em δ_{H} 2,25 (t); 1,56 (m); 1,23 (s); e 0,86 (s/), confirmando a cadeia lateral saturada também observada em Pt-1

Diferente de Pt-1, em Pt-3 observamos o sistema ABX com sinais em δ_{H} 6,77 (d, $J = 8,2\text{ Hz}$), 6,72 (s) e 6,62 (d, $J = 8,2\text{ Hz}$). Esse sinais associados com a ausência dos sinais para substituintes na molécula e com a banda em 3429 cm^{-1} observada no espectro de IV nos permitiu inferir a presença de hidroxila na posição 1 do anel aromático.

No espectro de COSY (Figuras 32-34) nos permitiram observar correlações em δ_{H} 2,26 (2H-4) e em 1,53 (2H-5) e sinais δ_{H} em 2,79 e 4,21 confirmando assim a posição do H-2 e H-1, além da correlação de δ_{H} 6,61 e 6,72 confirmando a posição do H-5' e H-6'.

No espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de Pt-3 e suas expansões (Figuras 35-38) foram observados seis sinais na região de aromáticos, sendo três carbonos metínicos (δ_{C} 121,3, 115,9 e 115,3) e três carbonos não hidrogenados (δ_{C} 143,6,

142,2 e 130,7) corroborando com a proposta do RMN ^1H para um anel aromático trissubstituído. Dentre os sinais para carbono não hidrogenado, os picos em δ_{C} 143,6 e 142,2 são característicos de carbonos aromáticos oxigenados (PAVIA, 2010). Estes sinais associados com os picos para carbonos metilênicos em δ_{C} 64,9 e 34,5, nos permitiram inferir a presença do grupo hidroxitirosol (Figura 39) em Pt-3.

Entretanto, o sinal em δ_{C} 174,2, característico de carbonila de éster, os sinais para carbonos metilênicos entre δ_{C} 34,4 e 22,7, e o pico em δ_{C} 14,1, característico de metila, nos permitiu sugerir que o hidroxitirosol estava esterificado com um ácido graxo saturado (Figura 40).

Essa esterificação foi comprovada através do espectro de correlação HMBC (Figuras 41-43), nos quais, observou correlação do sinal em δ_{H} 4,21 (H-1) com os carbonos em δ_{C} 130,7; 174,2 que foram atribuídos aos carbonos C-1' e C-3, respectivamente. Observando esse mesmo H-1 foi possível constatar a correlação desse sinal com o carbono em δ_{C} 34,4, corroborando para a existência da mesma cadeia alifática presente no composto Pt-1. Observou-se ainda correlação do sinal em δ_{H} 2,26 (H-4) com o carbono em δ_{C} 174,2 que foi atribuído ao C-3. Observou-se ainda correlação em 6,76 (H-5') com os carbonos em δ_{C} 142,2 e 143,6 atribuídos aos carbonos C-4' e C-3' respectivamente. Observou-se ainda correlação em δ_{H} 2,79 (H-2) com o carbono em δ_{C} 64,9, atribuído ao C-1.

Tabela 4 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C em CDCl_3 de Pt-3 e dados RMN ^1H e ^{13}C do Hidroxitirosol (GUZMÁN-LÓPEZ, *et al*, 2007) e derivado do hidroxitirosol (CDCl_3) presente na literatura (BERNINI, *et al*, 2008).

δ_{H} e δ_{C}	Hidroxitirosol	Pt-3 δ_{H} e δ_{C}	Hexacosanoato 2-(3',4'- dihidroifenil) de etila
H-1	3,66	4,21	4,16
H-2	2,58	2,79	2,77
H-4	-	2,26	2,27
H-5	-	1,53	1,56
H-1'	-	-	-
H-2'	6,66	6,74	6,74
H-3'	-	-	-
H-4'	-	-	-
H-5'	5,89	6,79	6,78
H-6'	6,46	6,59	6,56
CH_3	-	0,86	0,85
C-1	-	64,9	54,2
C-2	-	34,4	34,4
C-3	-	174,2	174,7
C-5	-	24,9	24,9
C-1'	-	130,7	130,3
C-2'	-	115,3	115,3
C-3'	-	143,6	143,8
C-4'	-	142,2	142,5
C-5'	-	115,9	115,8
C-6'	-	121,3	121,1
CH_3	-	14,1	14,1

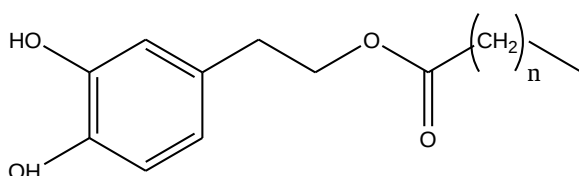


Figura 28 - Espectro de IV(KBr, cm^{-1}) de Pt-3.

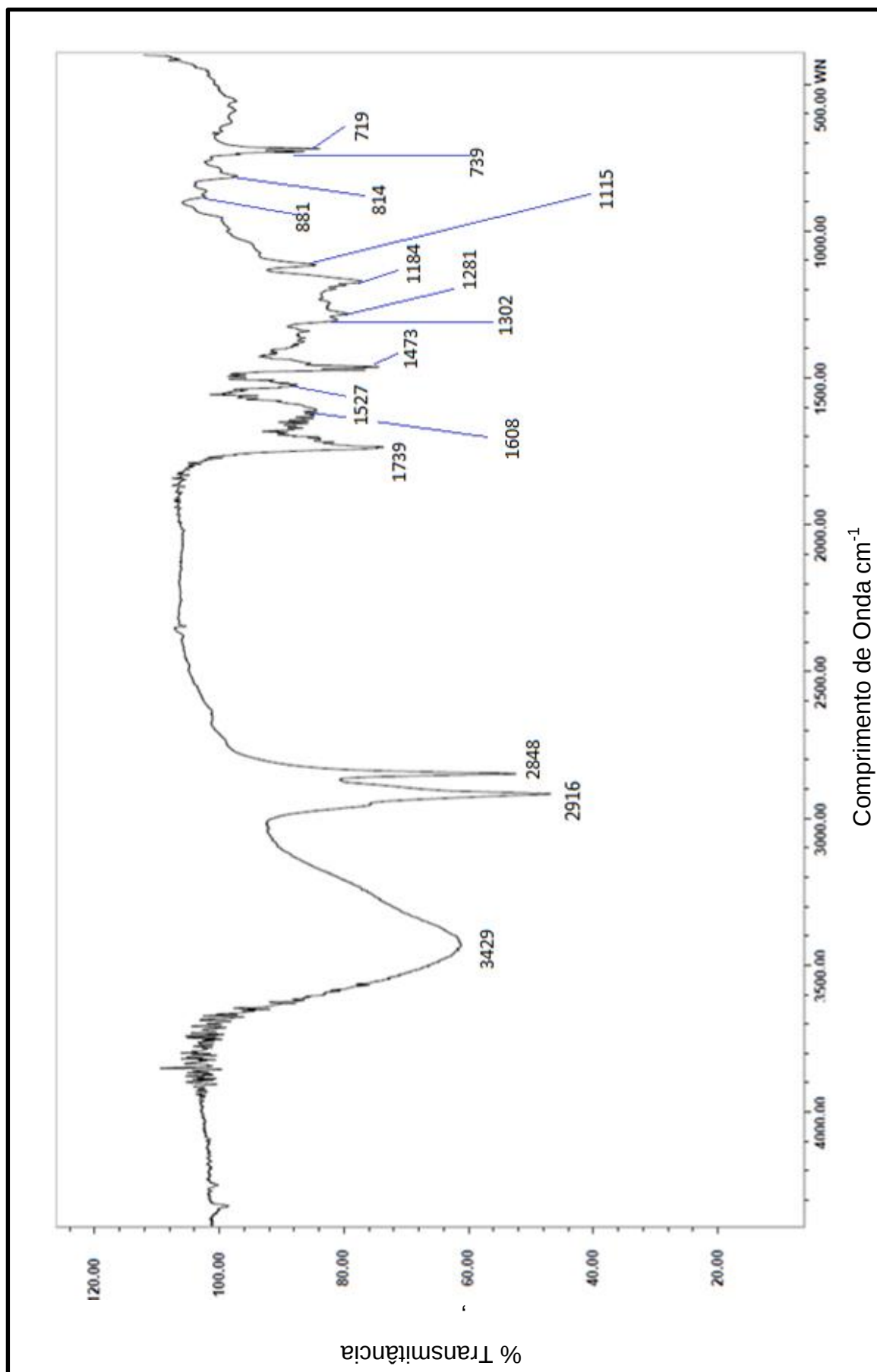


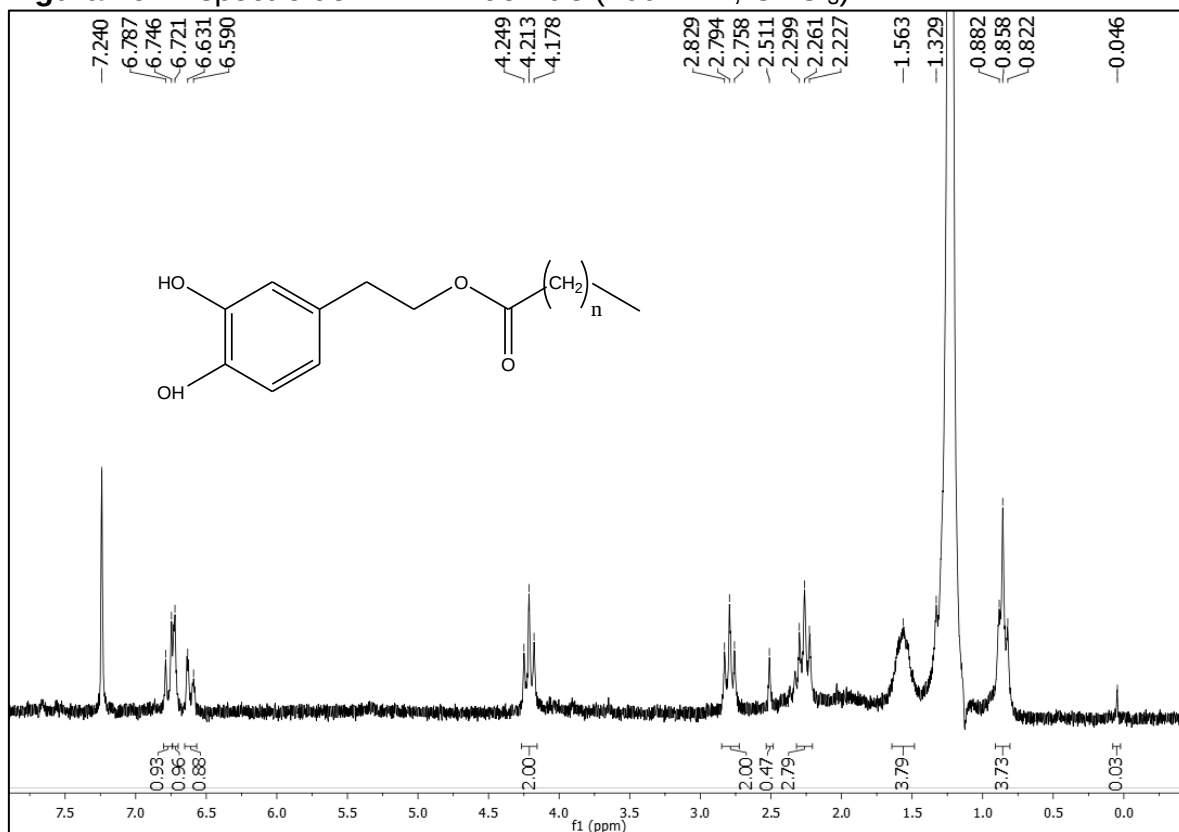
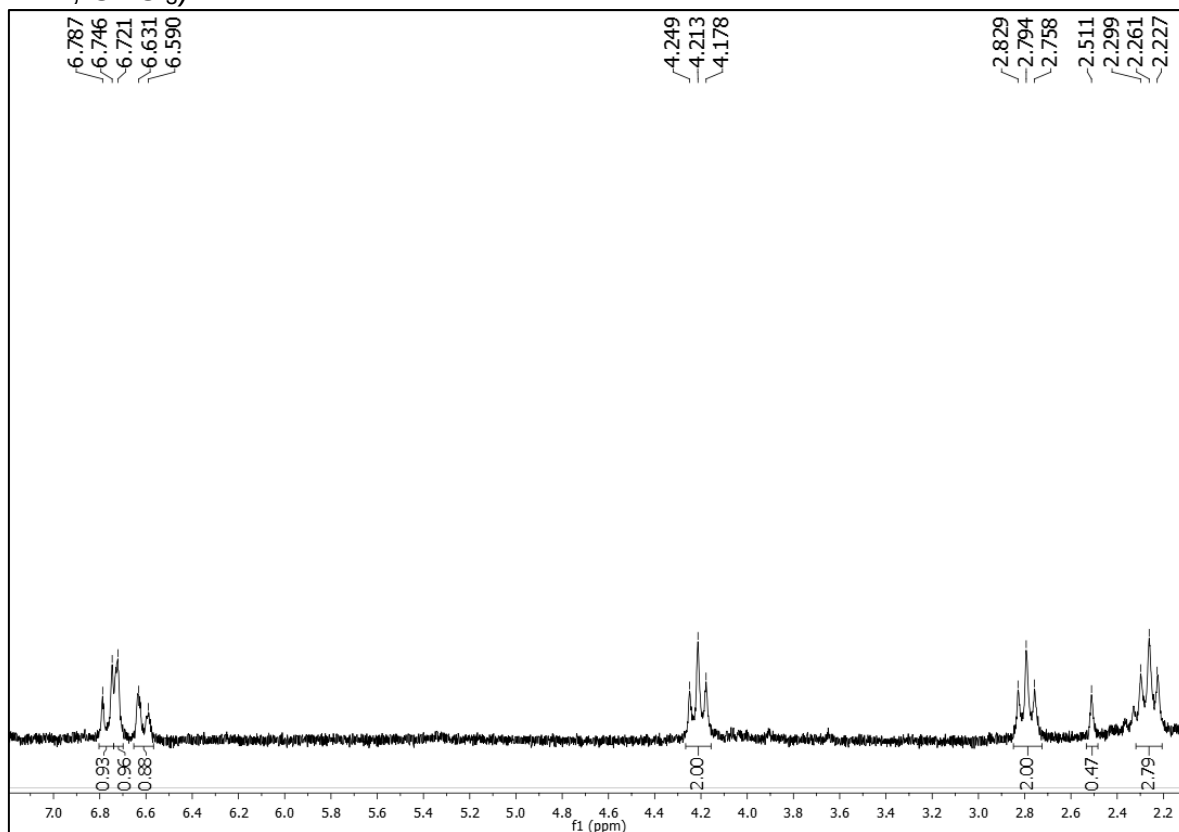
Figura 29 - Espectro de RMN ^1H de Pt-3 (200 MHz, CDCl_3).**Figura 30** - Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt-3 na região de 7,2 e 2,1 (200 MHz, CDCl_3).

Figura 31 - Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt-3 na região de 3,1 e 0,8 (200 MHz, CDCl_3).

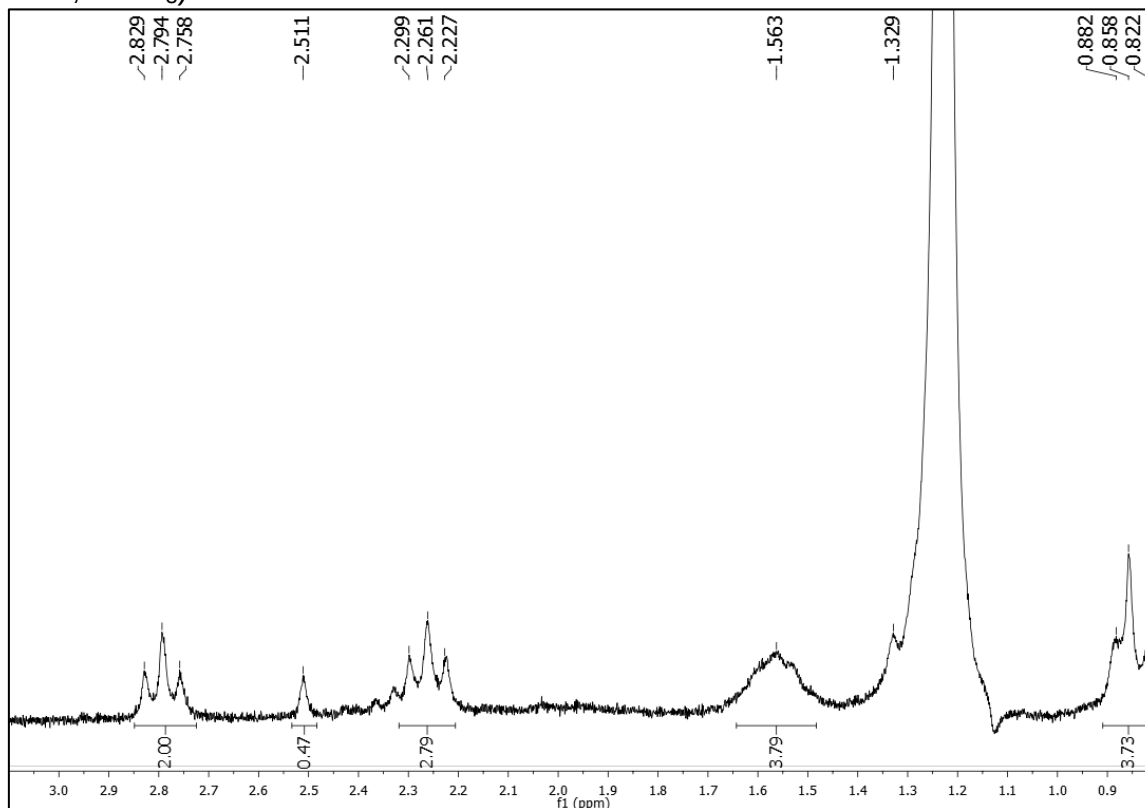


Figura 32 - Espectro de COSY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - (500 MHz, CDCl_3) de Pt-3.

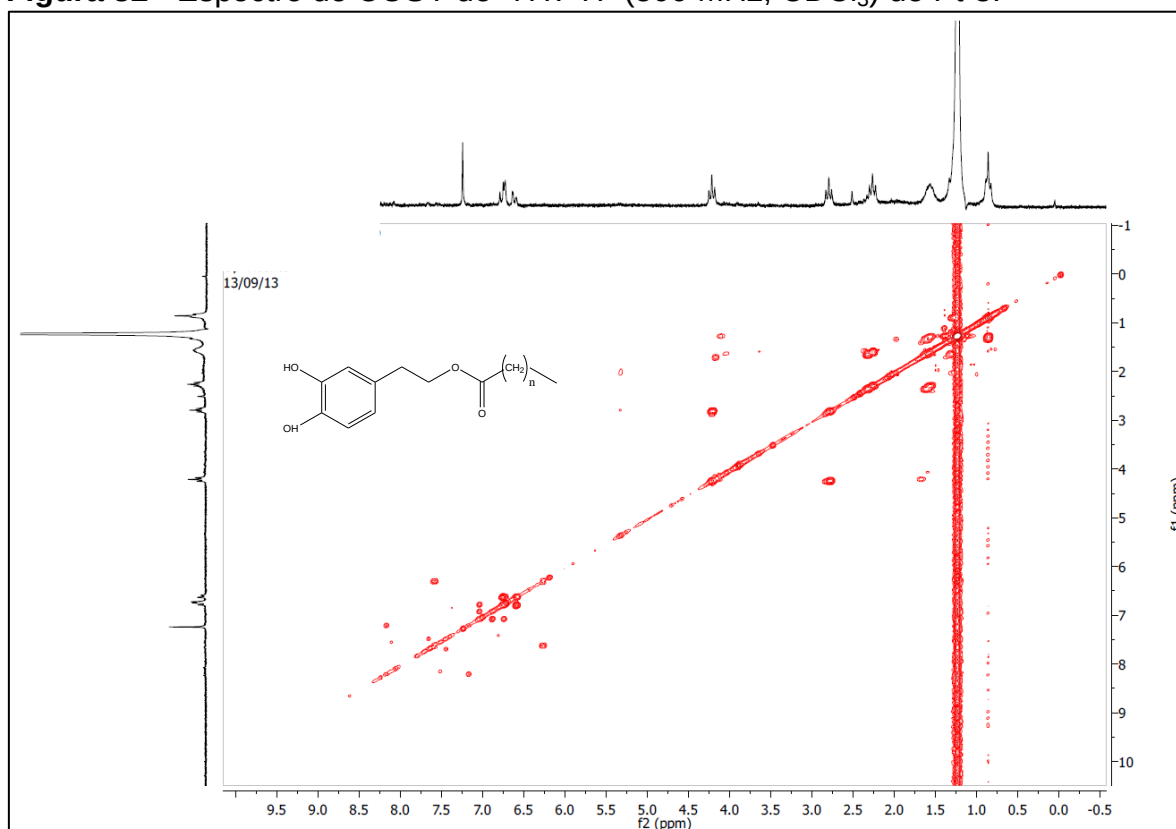


Figura 33 - Expansão do espectro de COSY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - (500 MHz, CDCl_3) de Pt-3 na região de (4,4-0,6) e (5,0-0,0).

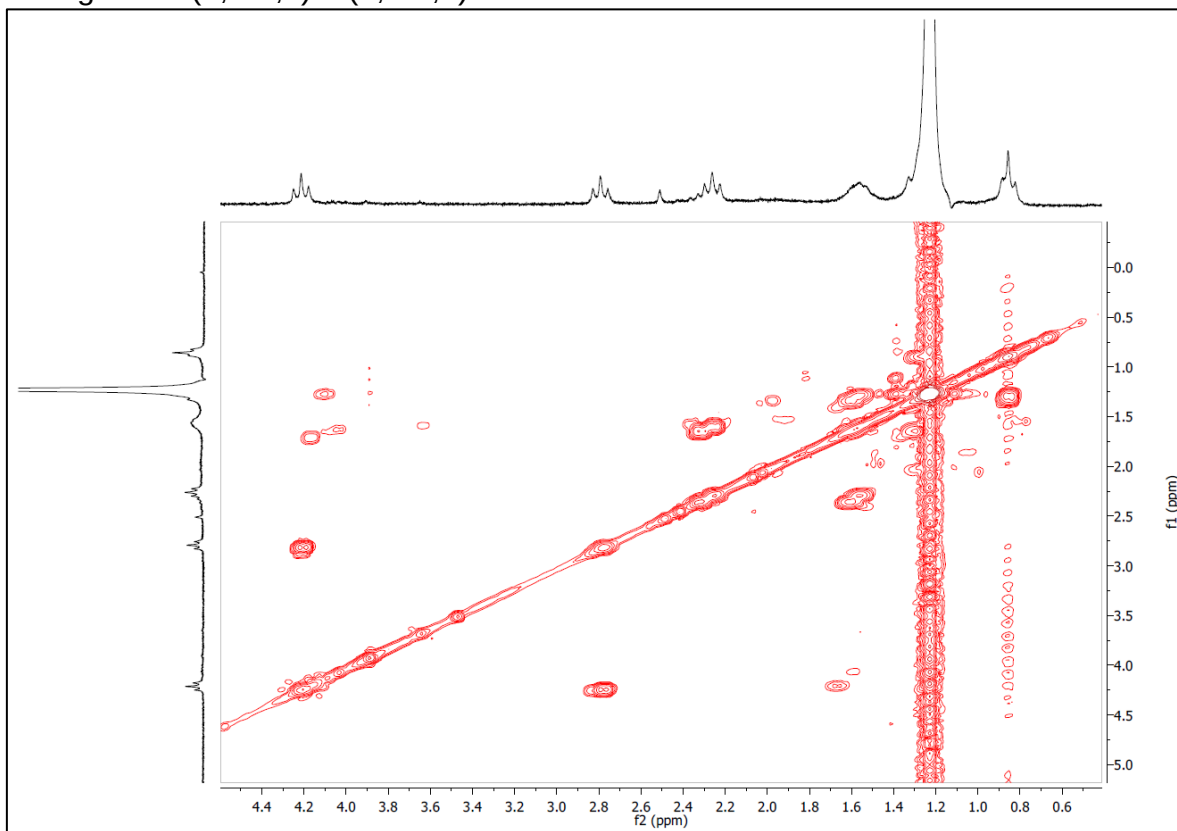


Figura 34 - Expansão do espectro de COSY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - (500 MHz, CDCl_3) de Pt-3 na região de (8,3-6,1) e (8,6-6,0).

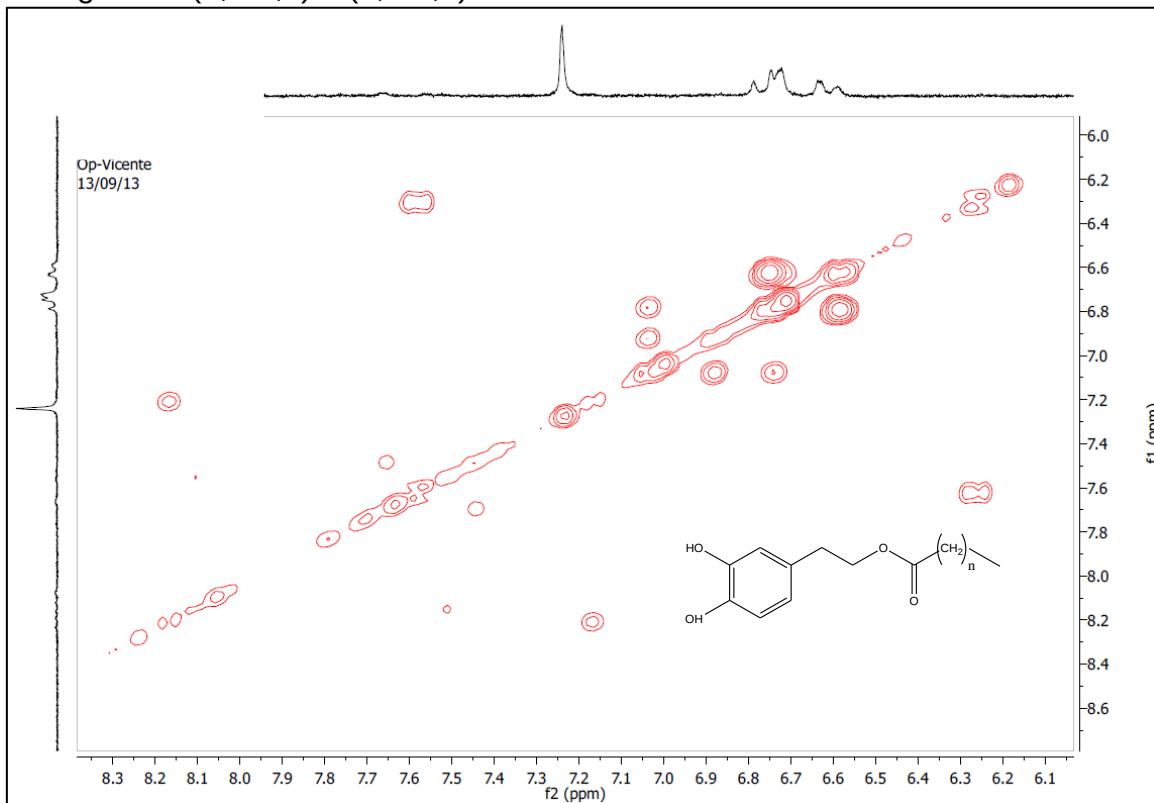


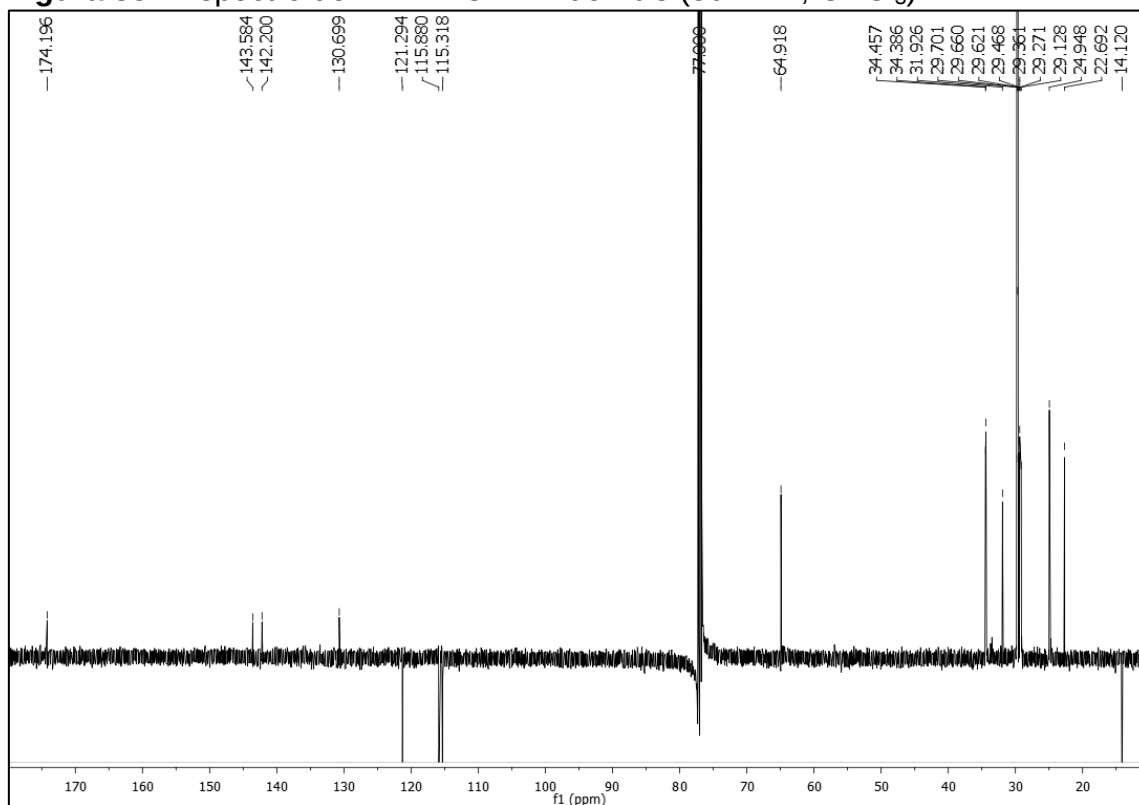
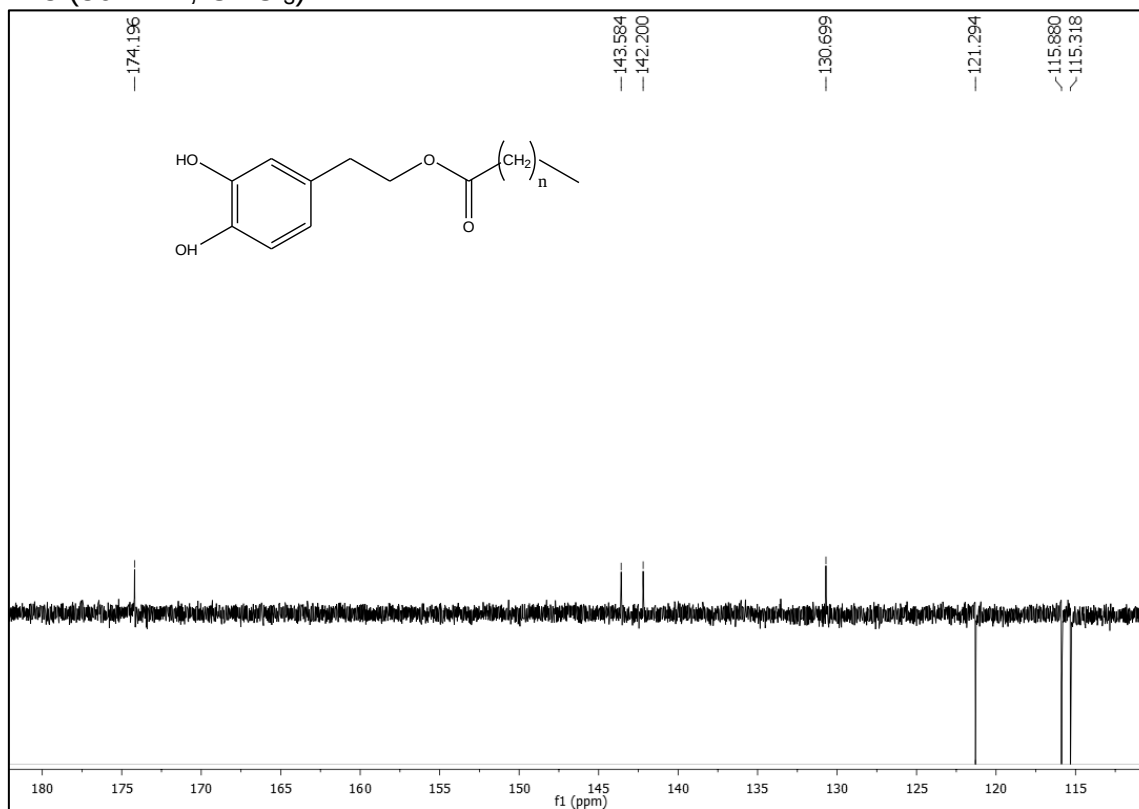
Figura 35 - Espectro de RMN ^{13}C -APT de Pt-3 (50 MHz, CDCl_3).**Figura 36** - Expansão do espectro de RMN ^{13}C – APT de Pt-3 na região de 175 e 115 (50 MHz, CDCl_3).

Figura 37 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Pt-3 na região de 34,6 e 29,0 (50 MHz, CDCl_3).

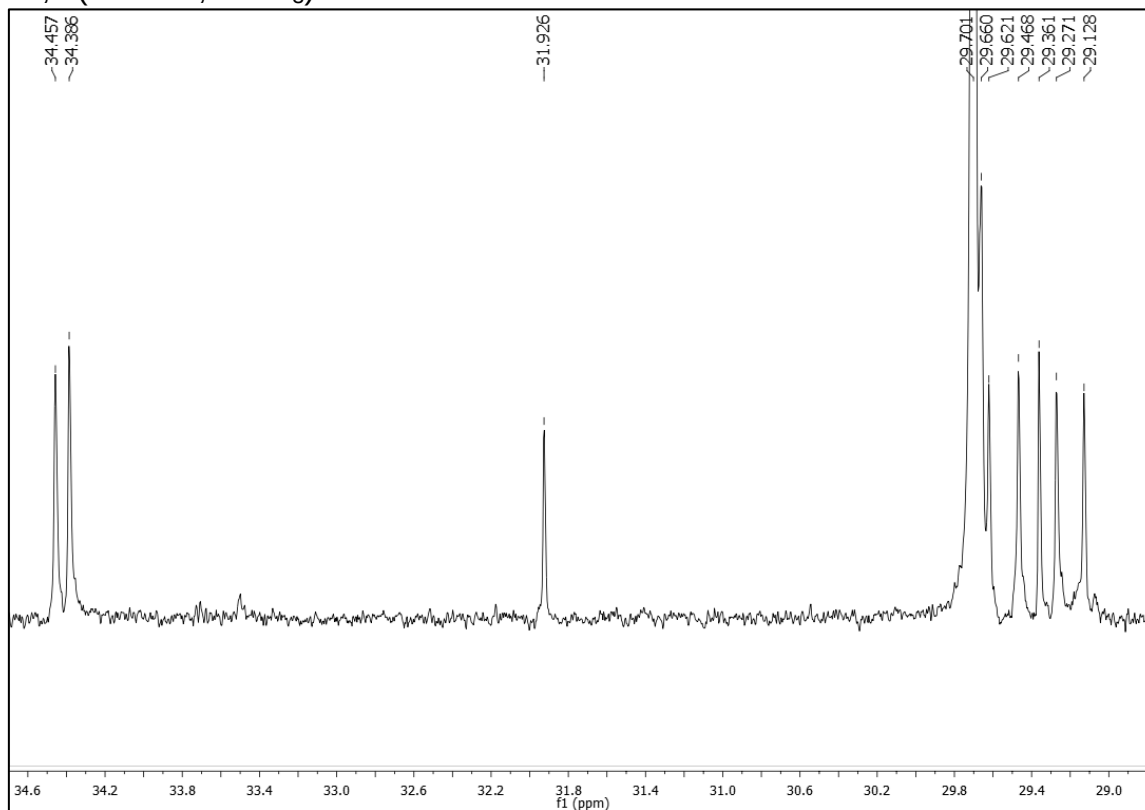


Figura 38 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de Pt-3 na região de 34,5 e 14,5 (50 MHz, CDCl_3).

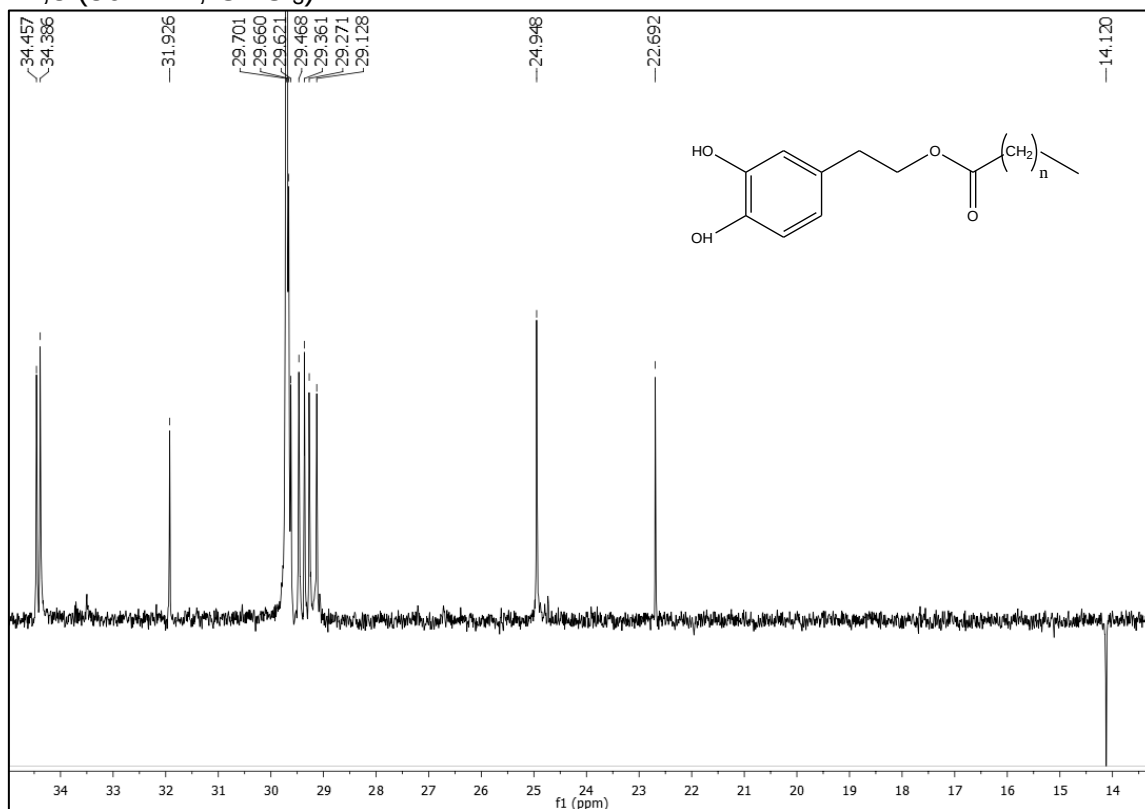


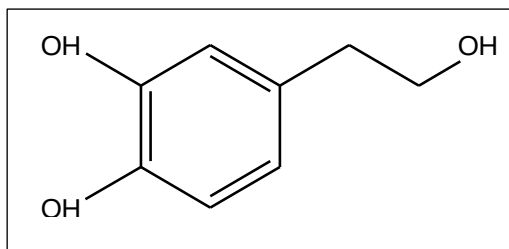
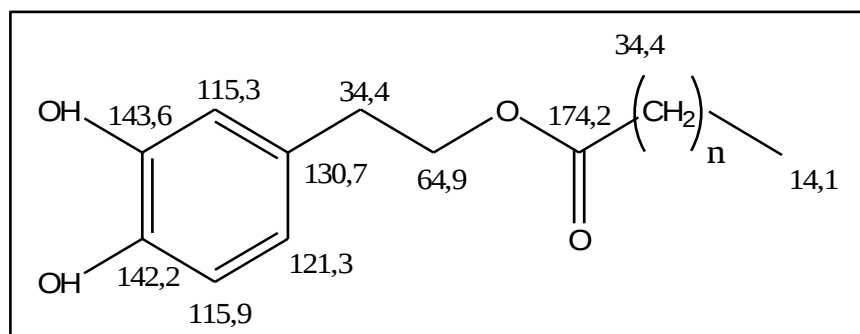
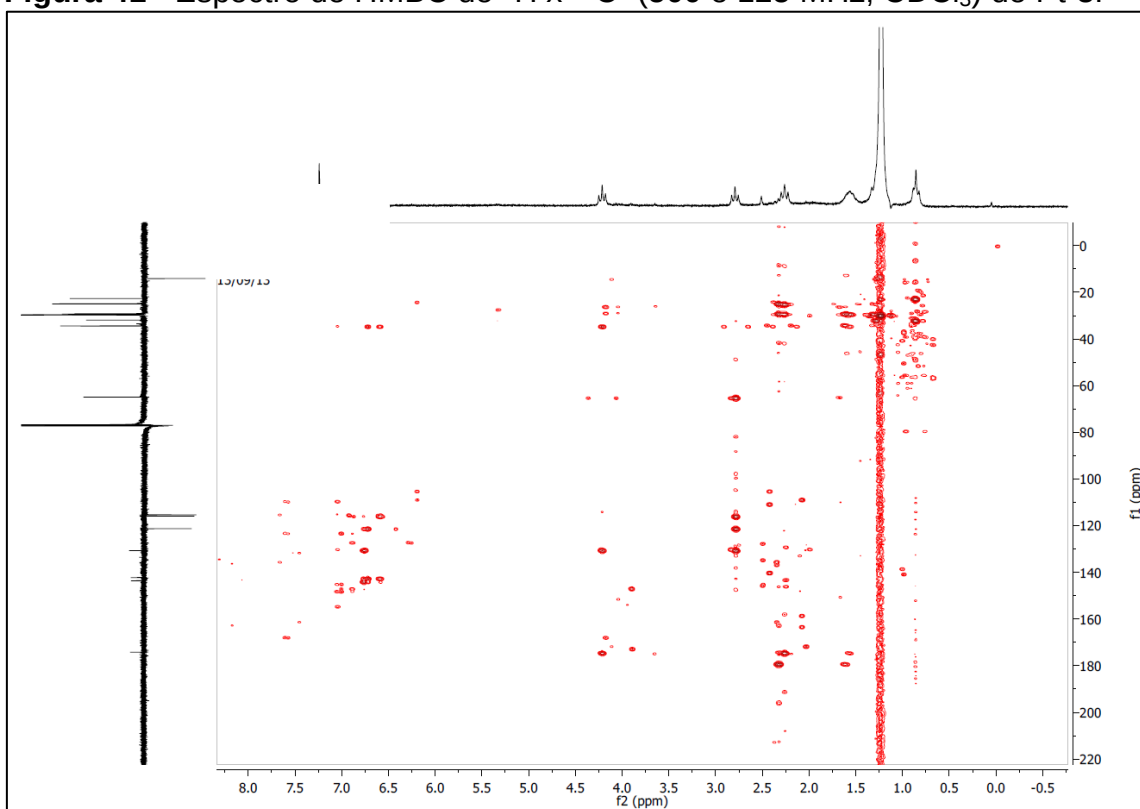
Figura 39 – Estrutura do Hidroxitirosol.**Figura 40** - Hidroxitirosol esterificado com ácido graxo com sinais de δ_C .**Figura 41** - Espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-3.

Figura 42 - Expansão do espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-3 na região de (110-190) e (7,0-1,0).

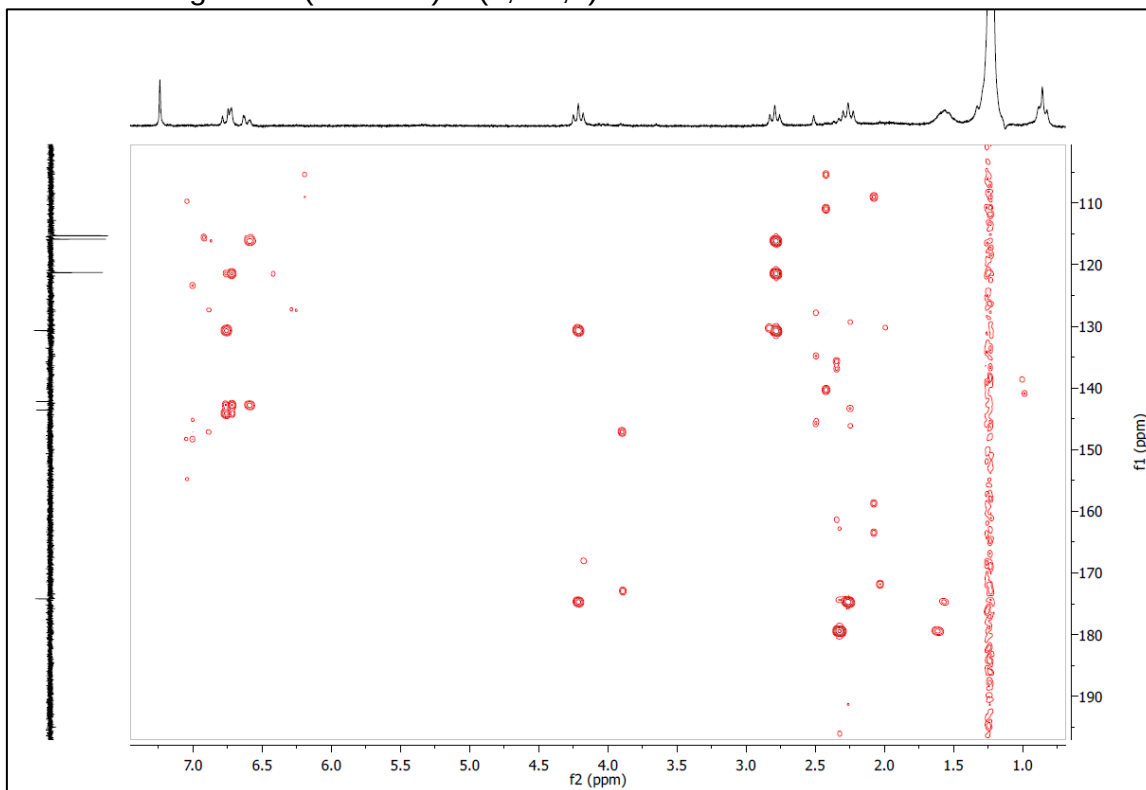


Figura 43 - Expansão do espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-3 na região de (110-190) e (7,0-1,0).

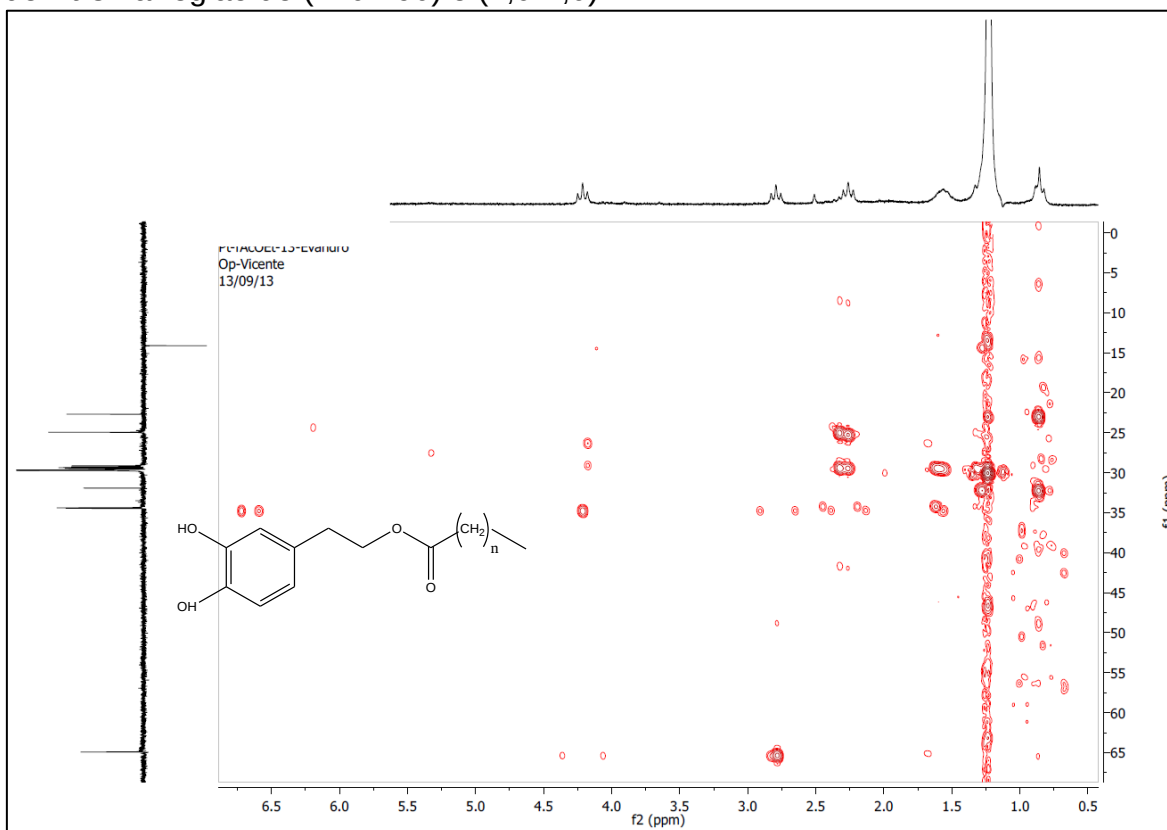


Figura 44 - Espectro de HSQC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-3.

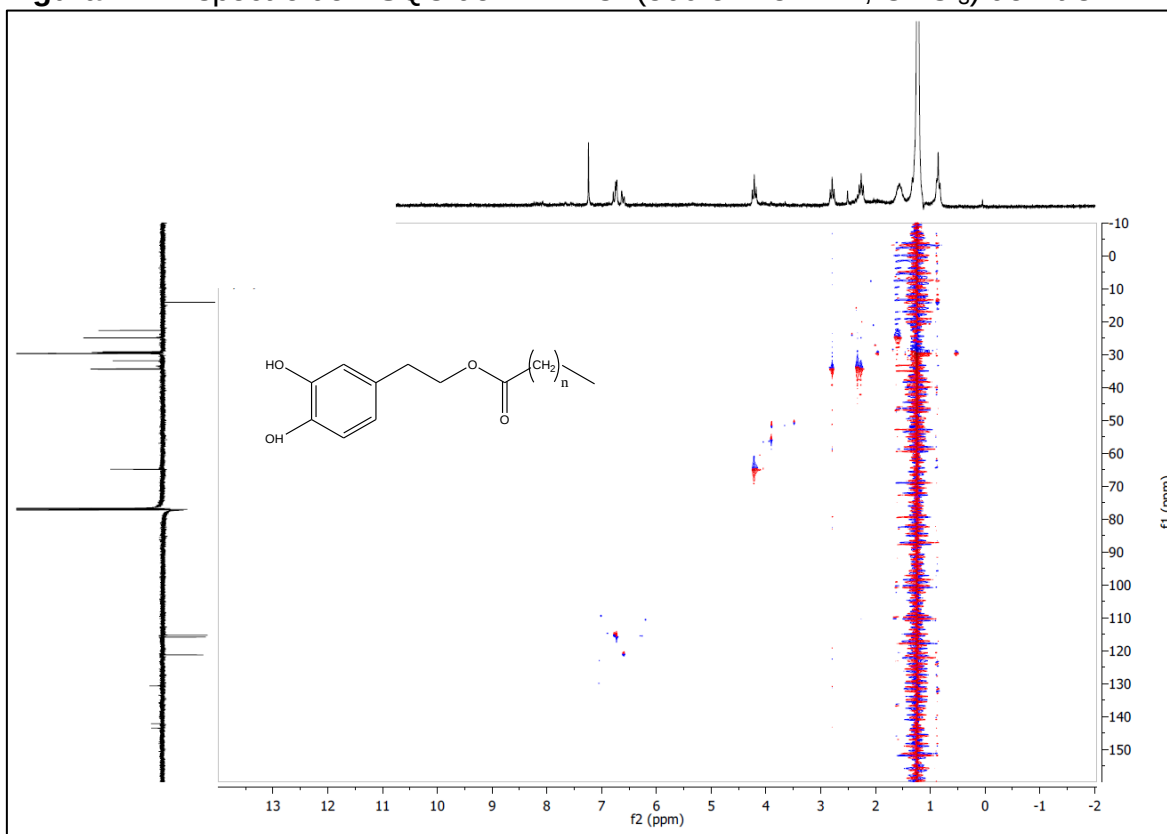
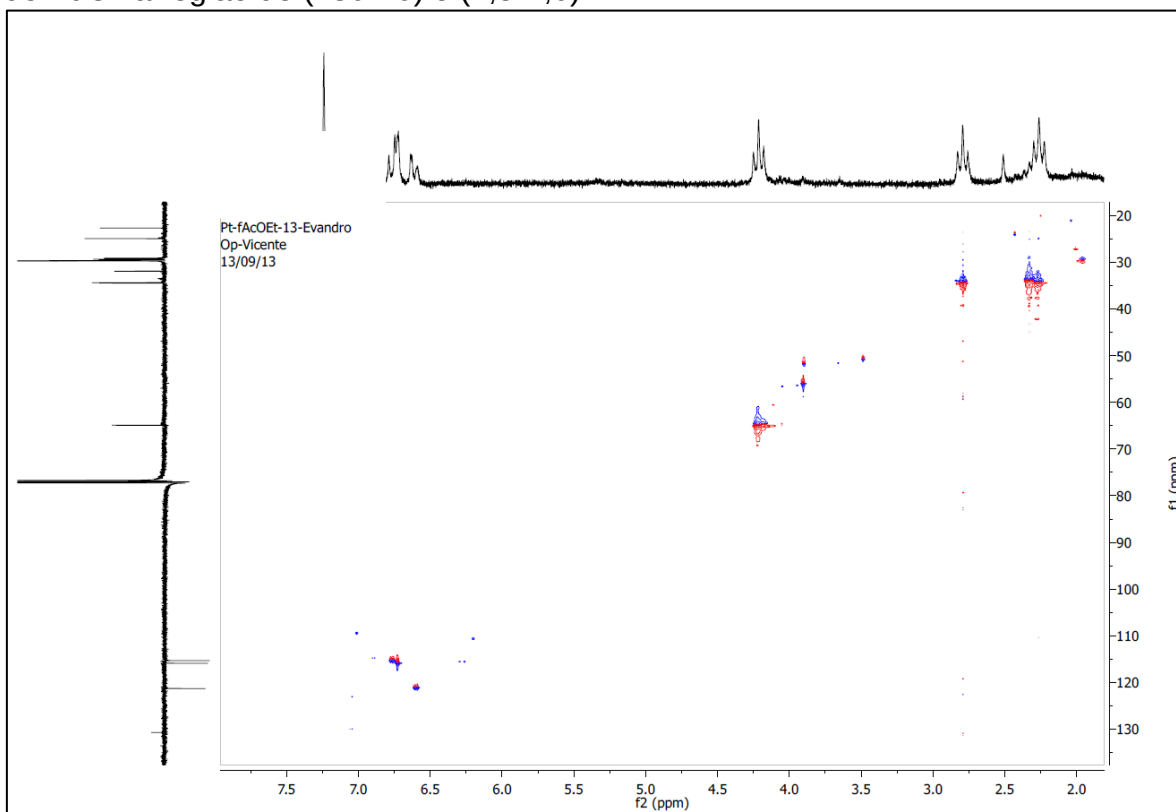
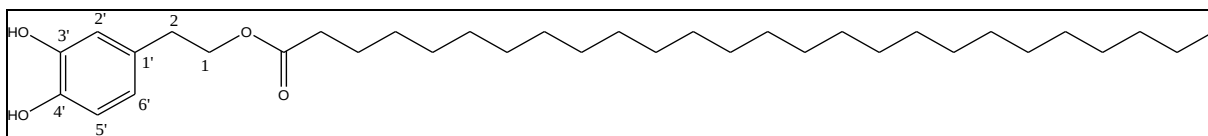


Figura 45 - Expansão do espectro de HSQC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Pt-3 na região de (130-20) e (7,5-2,0).



Após análise dos espectros de RMN ^1H , ^{13}C , outros espectros bidimensionais e sua comparação com a literatura (BERNINI, 2008) (Tabela 4) foi possível sugerir que Pt-3 se tratava do Ácido Hexacosanoico 2-(3', 4'-dihidroxifenil)- etil éster (Figura 46).

Figura 46 - Estrutura de Pt-3. Estrutura do Hexacosanoato 2-(3, 4-dihidroxifenil) de etila.



5.4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE Pt - 4

O composto codificado como Pt - 4 foi obtido na forma de pó branco com massa de 84,6 mg (correspondente a 0,0846 % em relação ao peso do EEB) .

No espectro de RMN ^1H e suas expansões (Figuras 47-50), foi observado um envelope de sinais entre δ_{H} 0,62 e δ_{H} 2,50 característico de núcleo esteroidal ou triterpênico (KOJIMA *et al.*, 1990), além de deslocamento de hidrogênios olefínicos [δ_{H} 5,33 (sl, H-6); 5,20 (dd, $J=9$ e 15,5 Hz, H-22) e 5,06(dd, $J=9$ e 15,5 Hz, H-23)] (SILVERSTEIN *et al.*, 2006; PAVIA *et al.*, 2010). A presença de um conjunto de picos entre δ_{H} 4,00 δ_{H} 4,60 nos permitiu sugerir a presença de uma unidade osídica, sendo estes, típicos de hidrogênios oximetínicos da referida unidade. Esta proposta foi fortalecida pela presença de um duplete em δ_{H} 5,02 com $J = 8$ Hz, atribuído ao hidrogênio anomérico, comum em unidade de glicose com configuração β (KASAI *et al.*, 1987).

Ainda nesse espectro, foi possível observar um multiplete em δ_{H} 3,95 referente ao hidrogênio carbinólico, permitiu propor a inserção da unidade osídica em C-3, tendo em vista seu deslocamento para campo baixo quando comparado a literatura (KOJIMA *et al.*, 1990).

No espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) e suas expansões, (Figuras 51-54) obtidos segundo a técnica APT, foram observados sinais intensos e outros duplicados permitindo identificar a substância Pt - 4 como uma mistura de esteroides (KOJIMA *et al.*, 1990).

Neste espectro foram observados picos referentes a carbonos metínicos de esteroides, com valores entre δ_{C} 11,96 e 19,9 (BREITMAIER & VOELTER, 1990), sinais em δ_{C} 140,92 e δ_{C} 121,85, correspondente, respectivamente, aos carbonos 5 e 6 do esqueleto de esteroides como o sitosterol e o estigmasterol, sendo que, para este último, observou-se ainda dois picos em δ_{C} 138,77 e δ_{C} 129,46, referentes aos carbonos olefinos 22 e 23 do estigmasterol, respectivamente, confirmando a presença de uma mistura de β -sitosterol e estigmasterol.

Os dados de RMN ^{13}C também corroboraram com a proposta anterior, da presença da unidade de glicose, ao mostrar um sinal em δ_{C} 102,54 referente ao carbono anomérico (C-1') da unidade osídica (AQUINO *et al.*, 1988)

Tabela 5 -. Dados de RMN ^{13}C em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ de Pt-4 e comparação com dados da literatura (SAEIDINIA *et al.*, 2011; MAIA, 2008).

Posição	Estigmasterol Glicosilado (SAEIDINIA <i>et al.</i> , 2011)	Pt-4a	Pt-4b	β Sitosterol Glicosilado (MAIA, 2008)
C-1	37,4	37,47	37,47	37,33
C-2	30,2	30,24	29,93	30,11
C-3	78,5	78,40	78,40	78,30
C-4	43,9	42,47	39,33	39,4
C-5	141,5	140,92	140,92	141,0
C-6	121,1	121,86	121,86	122,0
C-7	31,9	32,16	32,16	32,20
C-8	31,9	32,13	32,13	32,10
C-9	50,7	50,35	50,35	50,40
C-10	36,9	36,91	36,91	37,00
C-11	21,1	21,27	21,27	21,40
C-12	39,9	39,82	39,95	40,00
C-13	43,0	42,34	42,34	42,40
C-14	56,9	56,92	56,25	56,30
C-15	24,5	24,52	24,49	24,6
C-16	28,9	29,27	28,51	28,7
C-17	56,0	58,08	56,82	56,5
C-18	12,0	11,96	11,96	12,0
C-19	19,4	19,21	19,21	19,3
C-20	40,5	40,72	36,36	36,25
C-21	21,9	21,44	19,16	19,10
C-22	138,9	138,77	34,21	34,3
C-23	129,1	129,46	26,42	26,4
C-24	52,1	51,40	46,05	46,10
C-25	32,9	29,48	29,48	29,50
C-26	19,0	19,00	19,40	19,50
C-27	21,7	21,44	19,95	20,10
C-28	25,6	25,66	23,39	23,4
C-29	12,2	12,48	12,13	12,20
C-1'	102,8	102,54	102,54	102,6
C-2'	74,2	75,30	75,30	75,4
C-3'	79,8	78,56	78,56	78,7
C-4'	70,6	71,70	71,70	71,7
C-5'	76,7	78,13	78,13	77,5
C-6'	62,3	62,83	62,83	62,9

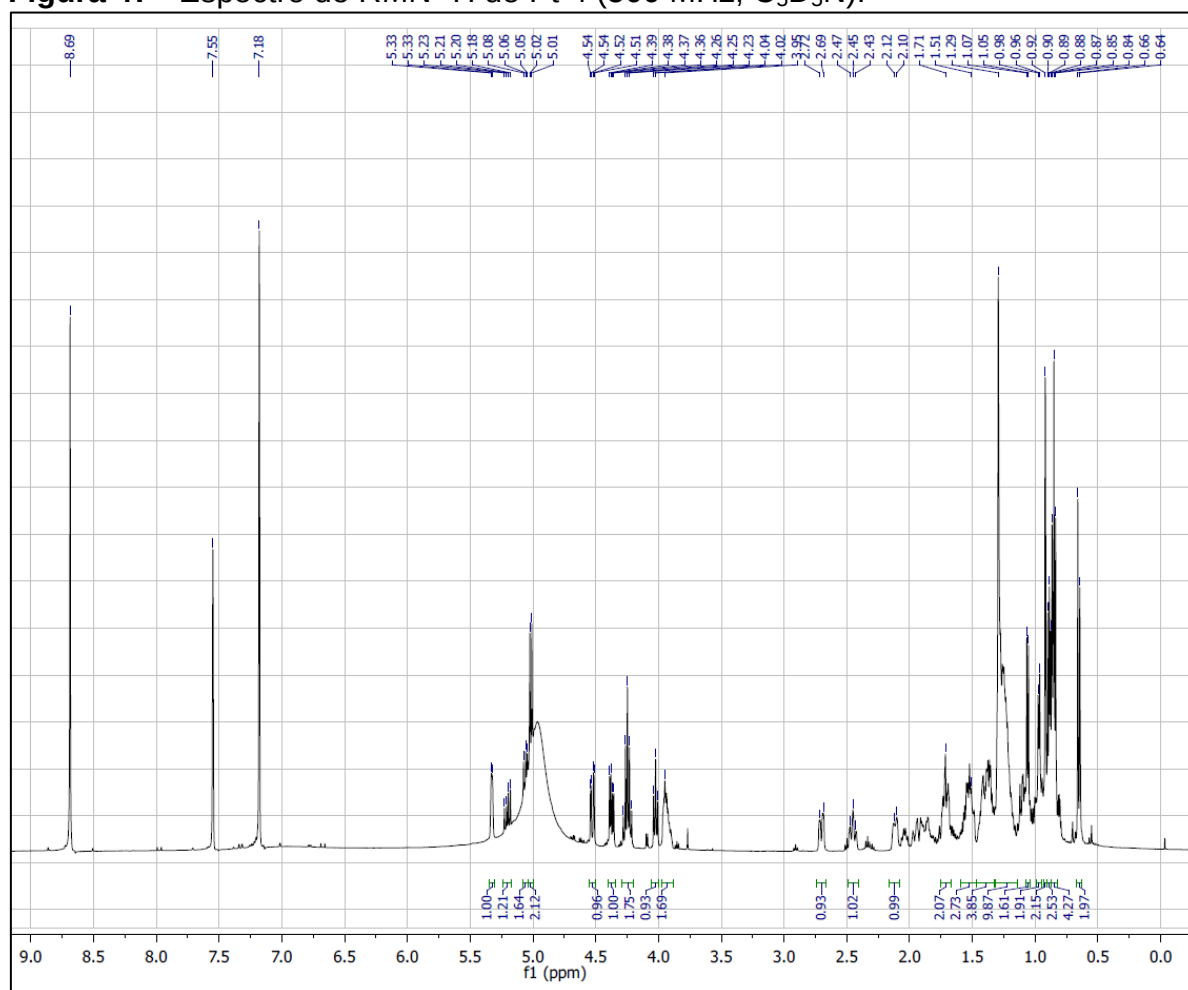
Figura 47 - Espectro de RMN ^1H de Pt-4 (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

Figura 48 - Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt-4 na região de 5,5 a 3,9 (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

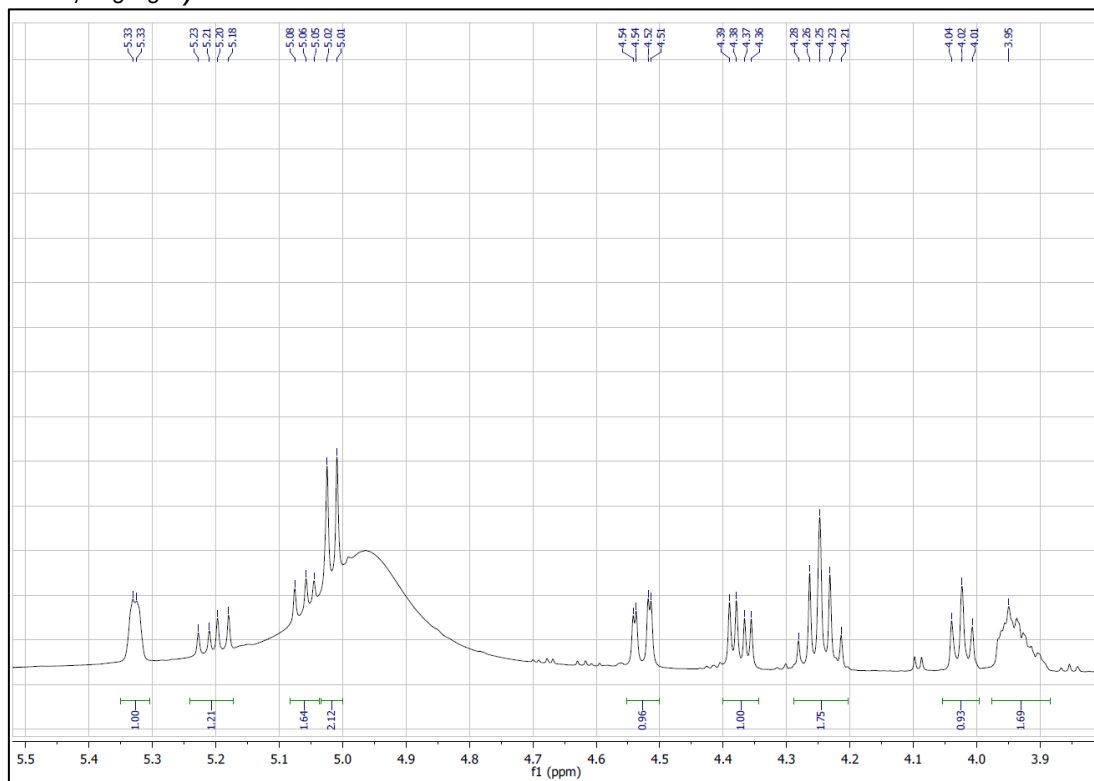


Figura 49.- Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt-4 na região de 2,8 a 0,5 (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

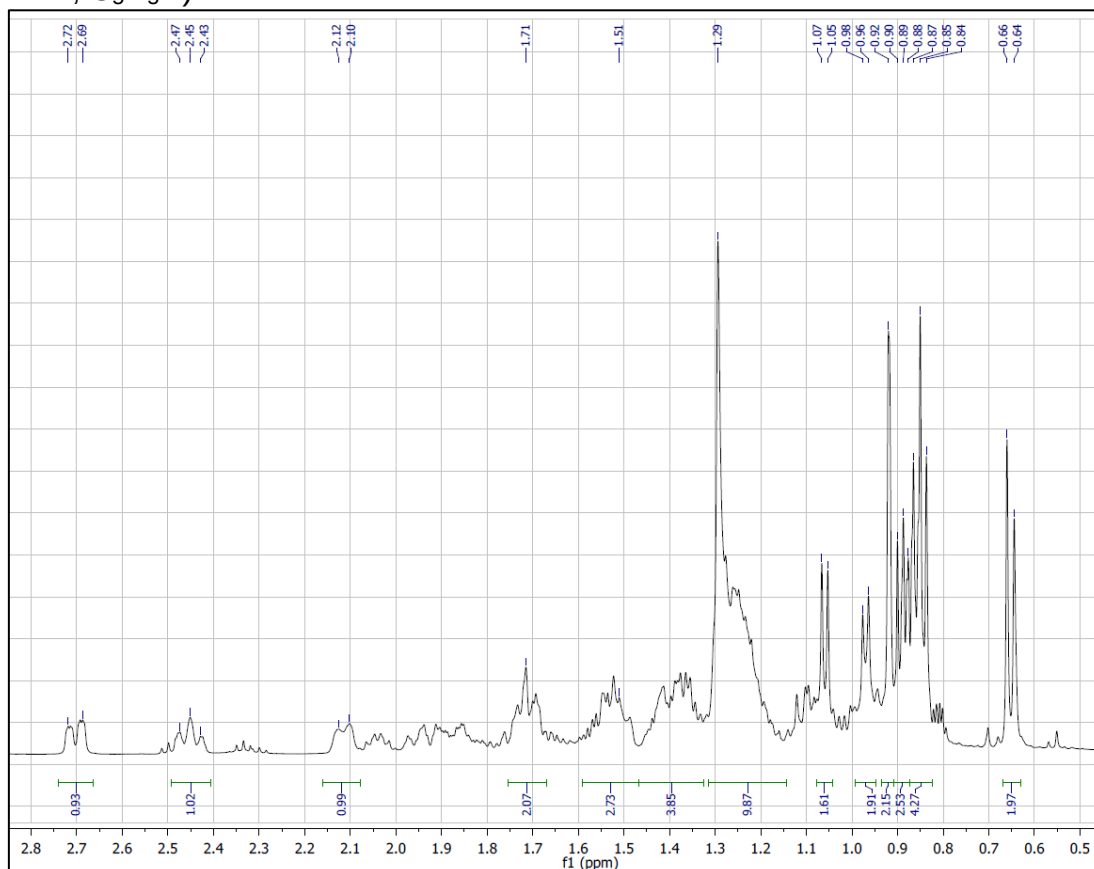


Figura 50 - Expansão do espectro de RMN ^1H de Pt - 4 na região de 1,14 a 0,62 (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

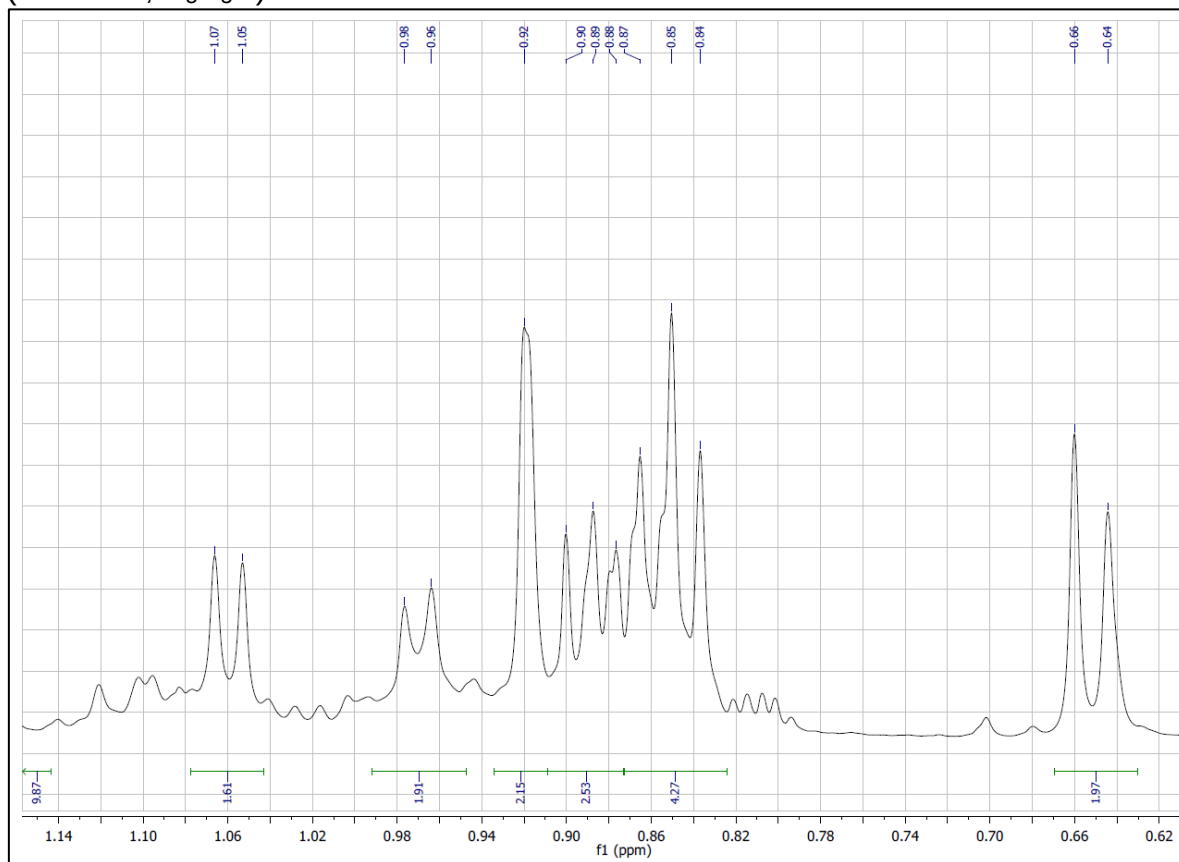


Figura 51 - Espectro de RMN ^{13}C de Pt - 4 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

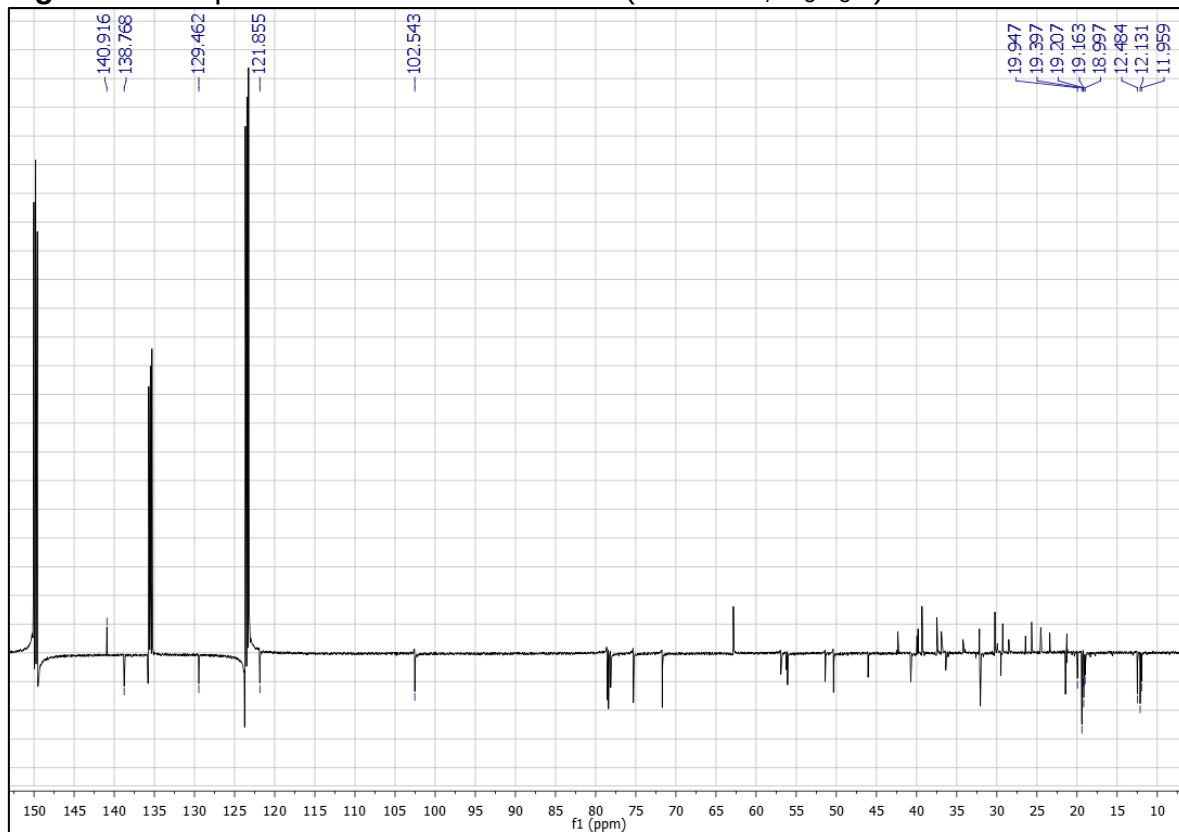


Figura 52 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Pt-4 na região de 153 a 121 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

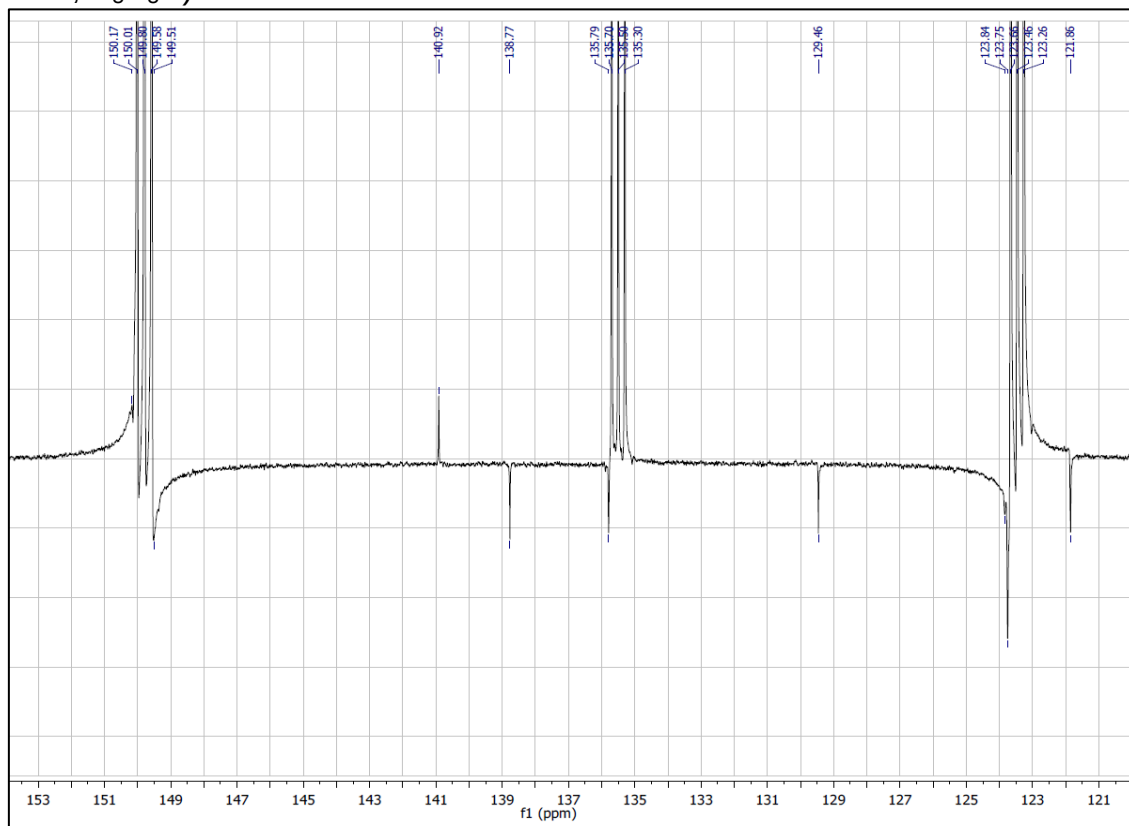


Figura 53 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Pt-4 na região de 5,5 a 3,9 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

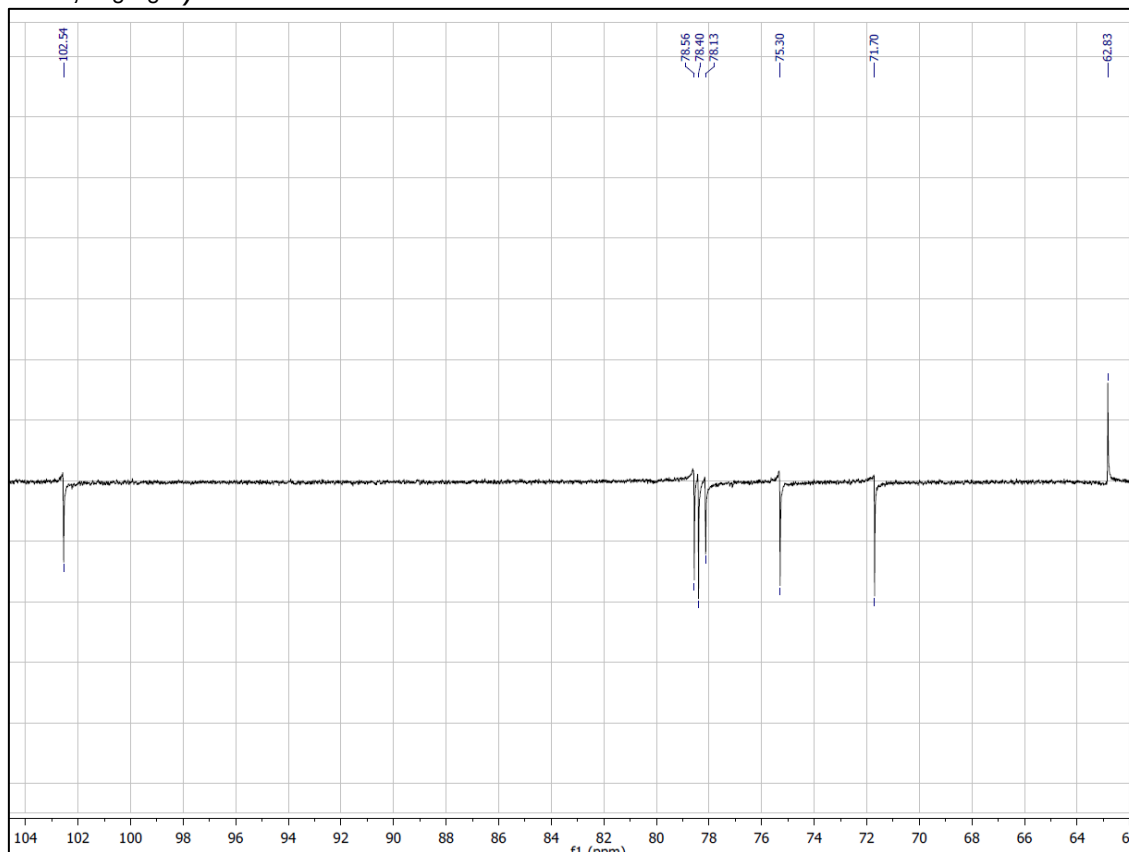
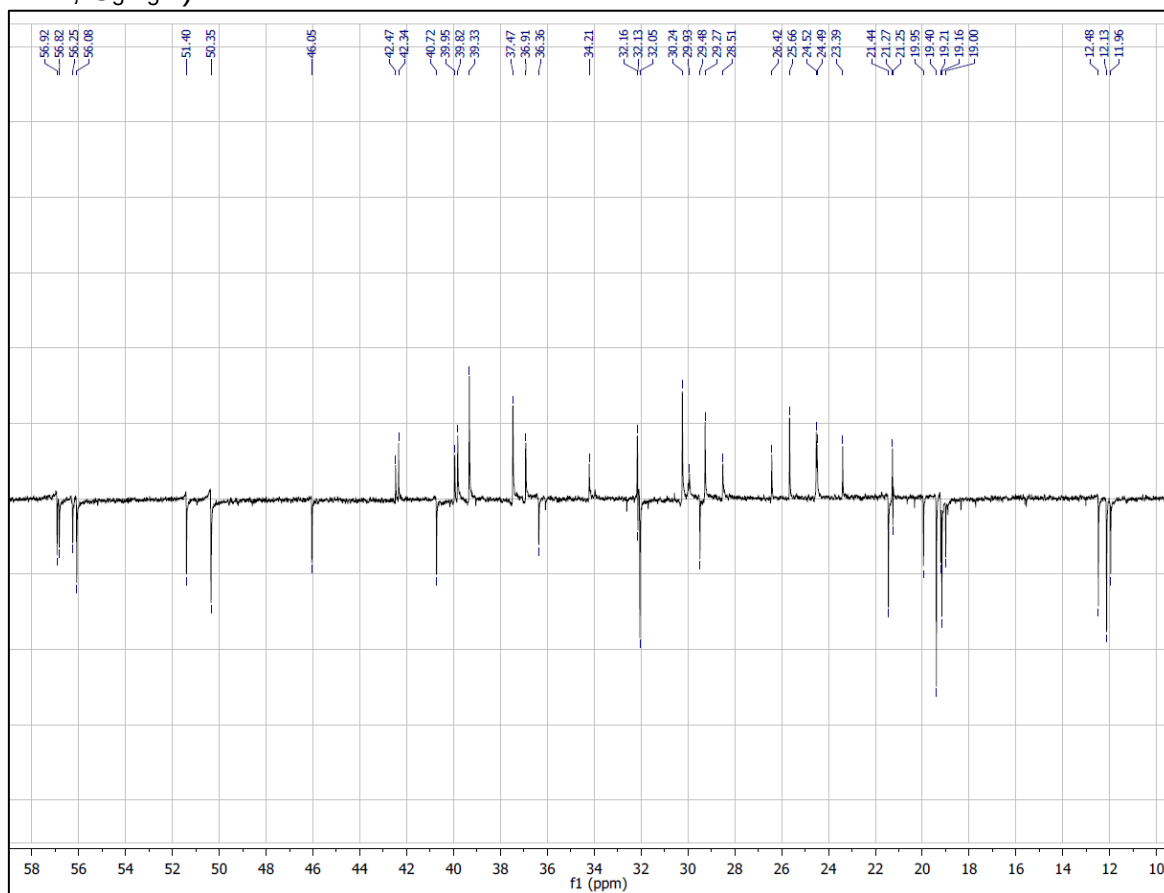
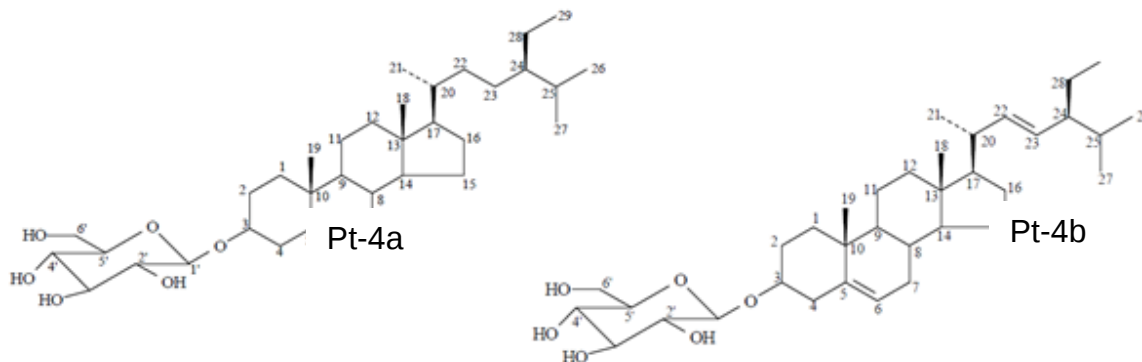


Figura 54 -. Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Pt-4 na região de 58 a 10 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).



Os dados de RMN ^1H e ^{13}C da mistura foram comparados com valores da literatura (Tabela 7), permitindo identifica-los como sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo (Pt-4a), estigmasterol-3-O-D-glicopiranosídeo (Pt-4b) (Figura 55), substâncias isoladas pela primeira vez no gênero *Paliavana*.

Figura 55 - Estrutura de estigmasterol-3-O-D-glicopiranosídeo (Pt-4a) e sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo (Pt-4b).



CONCLUSÕES



6 CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico de *Paliavana tenuiflora* Mans evidencia a espécie como bioprodutora de diferentes classes de metabólitos: esteroides, compostos fenólicos, entre outros.

A espécie apresentou em sua constituição química três compostos fenólicos, Hexacosanoato 2-(*p*-hidroxifenil) de etila, o Hexacosanoico 2- (3', 4'-dihidroxifenil) de etila, e o Ácido 3-(3',4'-dihidroxifenil) prop-2-enoico, sendo os dois primeiros relatados pela primeira vez no gênero, além de dois esteroides β -sitosterol e estigmasterol glicosilados também relatados a primeira vez na espécie.

Por se tratar do primeiro estudo fitoquímico da espécie *Paliavana tenuiflora*, este trabalho fornece importantes conhecimentos básicos sobre a espécie, pois dados da literatura são escassos.

REFERÊNCIAS



REFERÊNCIAS

ANGELO, P. M., JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n.1, p. 232-240, 2007.

AQUINO, R. DE SIMONE, F., PIZZA, C., CERRI, R., MELOO, J.F. Quinovic acid glycosides from guettarda platypoda. **Phytochemistry**, v.27, p.2927-2930, 1988.

ARAÚJO, A.O., SOUZA, V.C. & CHAUTEMS, A. 2005. Gesneriaceae da Cadeia do Espinhaço de Minas Gerais, **Brasil. Revista Brasileira de Botânica** 28: 109-135.

BARROSO, G.M., Peixoto, A.L., Costa, C.G., Ichaso, C.L.F., Guimarães, E.F. & Lima, H.C. 1984. Sistemática de angiospermas do Brasil, v.2, **Universidade Federal de Viçosa**, Viçosa.

BARROSO, G.M.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F.; COSTA, C.G.; GUIMARÃES, E.F.; LIMA, H.C. 1991. Gesneriaceae. Pp. 133-147. In:Sistemática de Angiospermas do Brasil . 2º ed. Minas Gerais: **Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa**, v. III.

BERNINI, R.; MINCIONE E.; BARONTINI, M.; CRISANTE, F. Convenient Synthesis of Hydroxytyrosol and Its Lipophilic Derivatives from Tyrosol or Homovanillyl Alcohol. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. 2008, 56, 8897–8904. Italy.

BHATT, B. Chemical constituents of *Solanum xanthocarpum*. **Jornal os Chemical and Pharmaceutical Research**. v.3, n.3, p. 176 -181, 2011.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição Da Fitoquímica Para O Desenvolvimento De Um País Emergente. **Química. Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

BREITMAIER, E., VOELTER, W. Carbono-13 NMR spectroscopy: High Resolution Methods And Applications In Organic Chemistry And Biochemistry. 3ª ed. Weinheim, New York : VHC, 1990

CHAUTEMS, A. & KIYAMA, C.Y. 2003. Gesneriaceae. In: M.G.L. Wanderley, G.J. Shepherd, A.M. Giuletti & T.S. Melhem (eds.). Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo, v. 3. FAPESP, **Rima Editora**, São Paulo, p. 75-103.

CHAUTEMS, A.; WEBER, A. Shoot and inflorescence architecture of the neotropical genus *Sinningia* (Gesneriaceae). In: KURMANN, M. H.; HEMSLEY, A. R. (Ed.). The evolution of plant architecture. Brough: **Kew Publishing**, 1999. p. 305–332.

Conservatoire Et Jardim Botaniques Ville De Genève. Disponível em:< http://www.ville-ge.ch/cjb/activites_projets_biogeo_gsn.php>, acesso:< maio de 2013>.

COSSÍO G., Búsqueda de información sobre fitosteroles, Resumen ejecutivo, consultoria Biomundi, **Instituto de Documentación e Información Científico Técnica**, Ciudad de La Habana, Cuba, 1-8, 2002.

GIULIETTI, A. M.; PIRANI, J. R. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço range, Minas Gerais, Bahia, Brazil. In: HEVER, W. R.; VANZOLINI, P. F. (Ed.). Proceeding of a workshop on Neotropical distribution patterns. Rio de Janeiro: **Academia Brasileira de Ciências**, 1988.

GUZMÁN-LÓPEZ, O.; TRIGOS, O.; FERNÁNDEZ, F. J.; YAÑEZ-MORALES, M. J.; SAUCEDO-CASTAÑEDA, G. Tyrosol and tryptophol produced by *Ceratocystis adiposa*. **World Journal Microbiol Biotechnol**, 2007, 23:1473–1477.

HEYWOOD, H.V.. Gesneriaceae. In: Flowering Plants of the world . London & Sydney: **Croom Helm**. 1985, p. 246-248.

HUNG-LLAMOS, B. R.; MOREJÓN, A. F.; BOLAÑOS, P.C.; MORALES, T.S.; QUIÑONES, B.Y.; RODRIGUES, P.M. Fitosteroles. Parte1. Tendencias actuales y aplicaciones biomédicas. **Revista CENIC. Ciências Biológicas**, v. 36, n.1, p.23-33, 2005.

JEONG, C., JEONG, H. R., CHOI, G. N., KIM, D., LEE, U. and HE, H.J. Neuroprotective and anti-oxidant effects os cafeic acid isolated from *Erigeron annuus* leaf. **Chinese Medicine.**, v. 6, n. 25, 2011.

JUDD, W.S. Campbell, C.S., Kellog, E.A. & Stevens, P.F. 2002. Plant Systematics: a phylogenetic approach. **Sinauer Associates**, Sunderland.

KASAI, R., MATSOMOTO, K., NIE, R. L., MORITA, T., AWAZU, A., ZHOU, A ZHOU, J., TANAKA, O. Sweet and bitter cucurbitane glycosides from *Hemsleya carnosiflora*. **Phytochemistry Letters**, v.4, n. 4, p. 459-461, 2011.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. Sterol glucosides from *prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v.29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.

LIMA, E. de. O. Plantas e suas propriedades antimicrobianas: uma breve análise histórica. p.484. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: **Argos – Editora Universitária**, 2001.

LIU, Z. W.; WEI, X.Y.; ZONG, Z. M.; LI, J. N.; XUE, J. Q.; CHEN, X. F.; CHEN, F. J.; Isolation and Identification of Methyl Alkanoates from Lingwu Coal. **Energy Fuels**. 2010, v. 24, 2784–2786.

MAIA, G. L. A. **Estudo fitoquímico de Anadenthera colubrina var. cebril (Griseb.) Reis (Fabaceae)**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.36, n. 1, p. 1-11, 2002.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE – OMS .**Estratégias da OMS para a medicina tradicional 2002-2005**. Documento publicado em 2002.

PAVIA, Donald. L; LAMPMAN M. G.; KRIZ, S. G.; VYVYAN, R. J. **Introdução à Espectroscopia**. Tradução da 4ª e,. Cenegage Learning, 2010

PERRET, M. et al. Systematics and evolution of tribe Sinningieae (Gesneriaceae): evidence from phylogenetic analyses of six plastid dna regions and nuclear ncpGS 1. **American Journal of Botany** , v. 90, p. 445-460, 2003.

SAEIDNIA, S.; GOHARI, A. R.; MALMIR, M MORADI-AFRAPOLI, F.; AJANI, Y Tryptophan and Sterols from *Salvia limbata*. **Journal of Medicinal Plants**, 1.10, n. 37, p. 41-47, 2011.

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

SANMARTIN-GAJARDO, I.; SAZIMA, M. Espécies de *Vanhouttea* Lem. E *Sinningia* Nees (Gesneriaceae) polinizadas por beija-flores: interações relacionadas ao hábitat da planta e ao néctar. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, p. 441-450, 2005b.

SANMARTIN-GAJARDO, I.C.; SAZIMA, M. Non-Euglossine bees also function as pollinators of *Sinningia* species (Gesneriaceae) in southeastern Brazil . **Plant Biology**. 2004.

SILVERSTEIN, R. M; WEBSTER, F. X.; KIEME, D. J. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos , 7ª Edição, Rio de Janeiro: Guanabarra Koogan, 2006.

SIMÕES, C.M.O. ,et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS, 2003.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII. **Instituto Plantarum**, Nova Odessa. 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3. ed. Porto Alegre: **Armed Editora**, 2004

VERDAN M. H.; STEFANELLO M. E A. **Secondary Metabolites and Biological Properties of Gesneriaceae Species**. CHEMISTRY & BIODIVERSITY – Vol. 9 (2012). p. 2701-2731.

WEBER, A. 1995. Developmental aspects of the pair-flowered cyme of Gesneriaceae. *Gesneriana* 1(1): 18-28.

WEBER, A. 2004. Gesneriaceae. In: K. Kubitzki (ed.). The families and genera of vascular plants. v. 7. Dicotyledons, Lamiales (except Acanthaceae incl. Avicenniaceae). **Springer**, Berlin, pp. 63-158.

WIEHLER, H. 1995. Medicinal Gesneriads: 122 species of the Rain Forest plant family Gesneriaceae used medicinally in the neotropics. **Gesneriana** 1(1): 98-120.

WIEHLER, H. 1983. A Synopsis of the neotropical Gesneriaceae. **Selbyana** 6: 1-219.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.