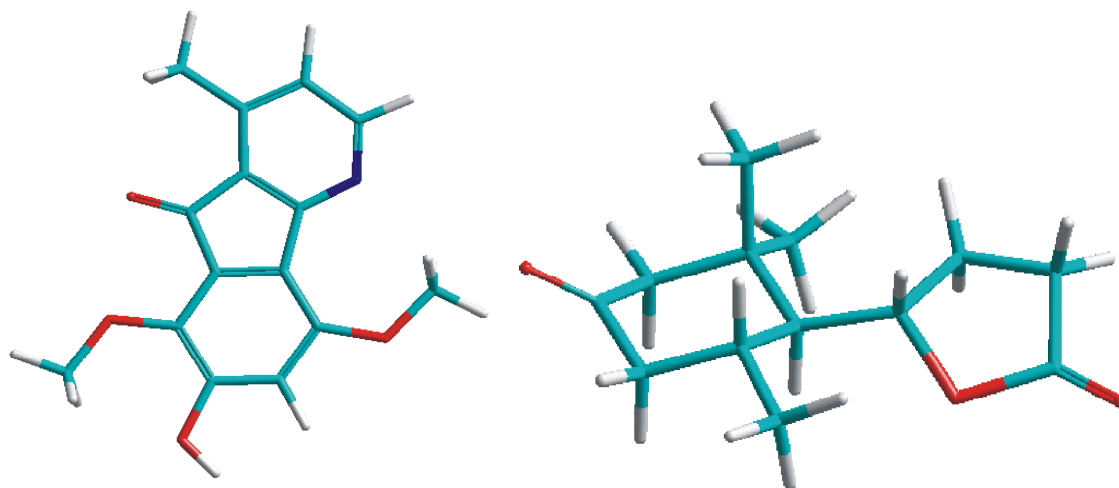




MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO - NÍVEL DE MESTRADO EM
QUÍMICA

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries (R. E. Fries) Annonaceae, e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

NÍDIA CRISTIANE YOSHIDA



CAMPO GRANDE, MS

2007



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO - NÍVEL DE MESTRADO EM
QUÍMICA

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e
cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E.
Fries (R. E. Fries) Annonaceae, e avaliação
da atividade biológica por bioensaios
simples.

NÍDIA CRISTIANE YOSHIDA

Dissertação apresentada como um dos
requisitos para obtenção do grau de **Mestre em
Química**, área de concentração em Química
Orgânica, junto ao Departamento de Química do
Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Walmir Silva Garcez
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. João Máximo de Siqueira

CAMPO GRANDE, MS

2007

Dedico este trabalho aos meus amados pais, Mário e Geni, e à minha amada irmã Nádia, pelo incentivo em todos os momentos, amor, carinho, e acima de tudo, por serem os alicerces da minha vida.

“A mente que se abre a uma nova idéia
jamais retornará ao seu tamanho original”.

Albert Einstein (1879-1955), cientista.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Ao professor Dr. Walmir Silva Garcez, pela contribuição inestimável na realização deste trabalho, pela amizade e carinho e por ter me acolhido quando precisei.

Ao professor Dr. João Máximo de Siqueira, por todos os ensinamentos nesses anos de convivência, pelo carinho e pela amizade.

Aos meus amados pais, Mário e Geni, e à minha amada irmã Nádia, pelo amor, carinho e incentivo de sempre.

Ao Francis Paes Saffran, por todo amor, paciência, carinho, companheirismo e zelo que sempre teve por mim.

Às minhas queridas amigas Cristiane Y. Kawasoko e Denise B. Silva, pela amizade sincera e pelo carinho, que sem dúvida serão eternos.

À minha amiga Felícia M. Ito, pela amizade, carinho e pelas deliciosas xícaras de café acompanhadas de bate-papos.

Aos meus amigos Thiago T. Okuyama, Bruno C. Shiguemoto e Gabriel Agarie, pelas longas discussões filosóficas e pela amizade.

Ao Rodolfo Patussi Correia e Ricardo Pereira Rodrigues, alunos de iniciação científica que contribuíram na realização deste trabalho e pela amizade.

A todos os colegas do laboratório de Farmacognosia, Rafaela, Carlos, Fabrício, Hércules e Janaína, pelos momentos inesquecíveis e pela amizade.

A todos os colegas do LP1, por terem me recebido de braços abertos.

A todos os amigos do mestrado.

Aos professores do mestrado: Dênis Pires Lima, Adilson Beatriz, Walmir Silva Garcez, Fernanda Rodrigues Garcez e Lucinéia Vizzotto, pelos ensinamentos e pela amizade.

À professora Mrs. Ubirazilda Maria Resende, pela localização e coleta da planta e ao professor Dr. Renato Mello-Silva pela identificação botânica.

À professora Ana Maria Gomes e ao professor Edson Mamoru Tamaki, por contribuírem com as coletas botânicas.

Ao técnico do laboratório de Farmacognosia João Roberto Fabri, por estar sempre disposto a ajudar no que fosse preciso e pela amizade.

À Lucinéia Vizzotto e Edilene Delphino Rodrigues pela realização dos experimentos de RMN e pela amizade.

Ao técnico Luiz Leonardo de Souza Viana pela realização dos experimentos de rotação ótica e IV/FT e aos demais funcionários do DQI pelos serviços prestados.

Ao professor Dr. Norberto Peporine Lopes e Carlos Alexandre Carollo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, pela realização dos espectros de massas.

Ao professor Dr. Evandro A. Nascimento – Universidade Federal de Uberlândia – UFU, pelas análises de CG/EM.

Aos secretários do mestrado Maria Otávia e Celestino.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

CONTEÚDO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	vii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. A FAMÍLIA ANNONACEAE	1
1.2. PERFIL DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EM ANNONACEAE	2
1.2.1. Acetogeninas em Annonaceae	2
1.2.2. Alcalóides em Annonaceae	3
1.2.3. Óleos essenciais em Annonaceae	6
1.2.4. Constituintes fenólicos em Annonaceae	7
1.3. O GÊNERO <i>UNONOPSIS</i>	9
1.4. <i>Unonopsis lindmanii</i> R. E. Fries (R. E. Fries)	14
1.4.1. Descrição botânica	15
1.5. ENSAIOS BIOLÓGICOS	15
1.5.1. Toxicidade sobre <i>Artemia salina</i>	16
1.5.2. Alelopatia	16
2. OBJETIVOS	18
3. PARTE EXPERIMENTAL	19
3.1. MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.2. COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL	21
3.3. OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE <i>Unonopsis lindmanii</i> POR HIDRODESTILAÇÃO	21

3.3.1. Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG/EM) do óleo essencial das folhas de <i>U. lindmanii</i> ULFOE-1	22
3.3.2. Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG/EM) do óleo essencial das folhas de <i>U. lindmanii</i> ULFOE-2	22
3.3.3. Cromatografia em coluna do óleo essencial ULFOE-1	23
3.3.4. Estratégias gerais de purificação e identificação dos compostos isolados do óleo essencial ULFOE-1	25
3.3.4.1. (-)- α -copaeno (1)	25
3.3.4.2. (+)-biciclogermacreno (2)	25
3.3.4.3. Alloaromadendreno (3)	25
3.3.4.4. (-)-globulol (4)	26
3.3.4.5. (+)-espatulenol (5)	26
3.4. OBTENÇÃO DO EXTRATO ALCALOÍDICO DAS FOLHAS DE <i>Unonopsis lindmanii</i>	27
3.4.1. Marcha química para alcalóides do extrato UIFALCBr	27
3.4.2. Cromatografia em coluna do extrato alcaloídico UIFALC	29
3.4.3. Estratégias gerais de purificação e identificação dos compostos isolados do extrato UIFALC	30
3.4.3.1. Liriodenina (6).	31
3.4.3.3. (-)-asimilobina (7)	31
3.4.3.4. (3 <i>S</i> , 5 <i>S</i> , 8 <i>R</i>)-3,5-diidroxi-megastigman-6,7-diene-9-ona (9)	32
3.5. OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO DO CERNE	33
3.5.1. Cromatografia em coluna do extrato UlcSolDCM	35
3.5.2. Estratégias gerais de purificação e identificação dos compostos isolados do extrato UlcSolDCM	36
3.5.2.1. β -sitosterol (10) e estigmasterol (11)	36
3.5.2.3. (-)-siringaresinol (12)	38
3.5.2.4. <i>N-trans</i> -feruloiltiramina (13)	38
3.5.2.5. (-)-anonaina (8)	39
3.6. ENSAIOS BIOLÓGICOS	41
3.6.1. Teste de toxicidade sobre <i>Artemia salina</i> (TAS)	41

3.6.2. Avaliação alelopática em sementes de <i>Lactuca sativa</i> e <i>Allium cepa</i>	43
3.7. DADOS FÍSICO-QUÍMICOS	45
3.7.1. (-)- α -copaeno (1)	45
3.7.2. (+)-biciclogermacreno (2)	46
3.7.3. Alloaromadendreno (3)	47
3.7.4. (-)-globulol (4)	47
3.7.5. (+)-espatulenol (5)	48
3.7.6. Liriodenina (6)	48
3.7.7. (-)-asimilobina (7)	49
3.7.8. (-)-anonaína (8)	49
3.7.9. (3 <i>S</i> , 5 <i>S</i> , 8 <i>R</i>)-3,5-diidróxi-megastigman-6,7-diene-9-ona (9)	50
3.7.10. β -sitosterol (10) e estigmasterol (11)	51
3.7.11. (-)-siringaresinol (12)	52
3.7.12. <i>N-trans</i> -feruloiltiramina (13)	52
 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	 53
4.1. ANÁLISE E COMPARAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS DE <i>Unonopsis lindmanii</i>	55
4.1.1. Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) do óleo essencial das folhas de <i>U. lindmanii</i> coletadas no Pantanal – MS (UIFOE-1)	55
4.1.2. Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) do óleo essencial das folhas de <i>U. lindmanii</i> coletadas em Rochedo – MS (ULFOE-2)	57
4.2. SESQUITERPENOS do óleo essencial das folhas de <i>U. lindmanii</i> (UIFOE-1)	59
4.2.1. (-)- α -copaeno (1)	60
4.2.3. (+)-biciclogermacreno (2)	77
4.2.4. Alloaromadendreno (3)	84
4.2.5. (-)-globulol (4)	91

4.2.6. (+)-espatulenol (5)	95
4.3. ALCALÓIDES	100
4.3.1. Liriodenina (6)	100
4.3.2. (-)-asimilobina (7)	105
4.3.3. (-)-anonáina (8)	111
4.4. MEGASTIGMANOS	118
4.4.2. (3 <i>S</i> , 5 <i>S</i> , 8 <i>R</i>)-3,5-diidróxi-megastigman-6,7-diene-9-ona (9)	118
4.5. ESTERÓIDES	135
4.5.1. β -sitosterol (10) e estigmasterol (11)	135
4.6. COMPOSTOS FENÓLICOS	142
4.6.1. (-)-siringaresinol (12)	142
4.6.2. <i>N-trans</i> -feruloiltiramina (13)	148
4.7. RESULTADOS DOS ENSAIOS BIOLÓGICOS	158
4.7.1. Avaliação da Toxicidade sobre <i>Artemia salina</i>	158
4.7.2. Avaliação Alelopática	159
5. CONCLUSÃO	165
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	166

RESUMO

No presente trabalho foi realizado o estudo fitoquímico das partes aéreas (cerne do caule e folhas) de *Unonopsis lindmanii*, bem como avaliação da toxicidade sobre *Artemia salina* e avaliação alelopática em sementes de *Lactuca sativa* e *Allium cepa* dos extratos obtidos desta planta.

O estudo fitoquímico do óleo essencial das folhas conduziu ao isolamento de cinco sesquiterpenos: (–)- α -copaeno (**1**), (+)-biciclogermacreno (**2**), alloaromadendreno (**3**), (–)-globulol (**4**) e (+)-espatulenol (**5**), enquanto do extrato alcaloídico das folhas foi obtido o megastigmano (3*S*,5*S*,8*R*)-3,5-diidróxi-megastigma-6,7-diene-9-ona (**9**) e dois alcalóides de esqueleto aporfinóide: liriodenina (**6**) e (–)-asimilobina (**7**).

A partir do extrato etanólico do cerne, foram isolados dois alcalóides: asimilobina (**7**) e (–)-anonaína (**8**); uma lignana: (–)-siringaresinol (**12**); um derivado do ácido cinâmico: *N-trans*-feruloiltiramina (**13**) e dois esteróides: β -sitosterol (**10**) e estigmasterol (**11**).

Os compostos **2**, **3**, **4**, **5**, **9**, **12** e **13** estão sendo descritos pela primeira vez no gênero *Unonopsis*.

Os extratos apresentaram resultados significativos frente aos ensaios propostos. No ensaio de toxicidade sobre *A. salina*, todos foram ativos, sendo o óleo essencial das folhas o de maior expressividade, com DL₅₀ de 17,9 μ g/mL. No ensaio de avaliação alelopática, todos os extratos apresentaram-se ativos, destacando-se o óleo essencial das folhas, que exibiu inibição da germinação e crescimento das espécies na ordem de até 90%.

ABSTRACT

In this work was carried out the phytochemical study of the aerial parts (leaves and heartwood) of *Unonopsis lindmanii* and the evaluation of the biological activity on the brine shrimp lethality bioassay and the allelopathic evaluation of crude extracts.

The phytochemical study from essential oil of leaves led to the isolation of five sesquiterpenes: α -copaene (**1**), (+)-bicyclogermacrene (**2**), alloaromadendrene (**3**), (-)-globulol (**4**) e (+)-spathulenol (**5**), from the alkaloid extract of leaves was isolated a megastigmane (3*S*,5*S*,8*R*)-3,5-dihydroxy-megastigma-6,7-dien-9-one (**9**) and two aporphinoids alkaloids: liriodenine (**6**) and (-)-asimilobine (**7**).

From the ethanolic extract of heartwood, two alkaloids were isolated: asimilobine (**7**) and (-)-anonaine (**8**); a lignan: (-)-syringaresinol (**12**); a derivated from cinamic acid: *N*-*trans*-feruloyltiramine (**13**), and two steroids: β -sitosterol (**10**) and stigmasterol (**11**).

The compounds **2**, **3**, **4**, **5**, **9**, **12** and **13** are described for the first time in the genus *Unonopsis*.

The crude extracts showed actives. On the brine shrimp lethality bioassay, being the leaves essential oil the most expressive, with LD₅₀ of 17.9 μ g/mL. Considering the allelopathic evaluation, all the extracts were active, and the essential oil shows inhibition in the species growing *Lactuca sativa* e *Allium cepa* in order of the ninety percent.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila P.A.
CC	Cromatografia em coluna
CCDS	Cromatografia em camada delgada de sílica gel
CCPS	Cromatografia em camada preparativa de sílica gel
CCPS-AgNO ₃	Cromatografia em camada preparativa de sílica gel impregnada com AgNO ₃
CCPS-OXA	Cromatografia em camada preparativa de sílica gel impregnada com ácido oxálico
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CD ₃ OD	Álcool metílico deuterado
C ₂ D ₆ CO	Acetona deuterada
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas
CHCl ₃	Clorofórmio P.A.
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
<i>d</i>	Dubleto
DCM	Diclorometano P.A.
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
<i>dd</i>	Duplo dubleto
<i>dl</i>	Dubleto largo
DL ₅₀	Dose letal para causar a morte de 50% das cobaias testadas
DMSO	Sulfóxido de dimetila P.A.
EP	Éter de petróleo P.A.
ESI	<i>Electrospray Ionization</i>
ESIMS	<i>Electrospray Ionization Mass Spectrum</i>
EtOH	Álcool etílico P.A.
gHMBC	<i>gradient Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i>
gHSQC	<i>gradient Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i>

HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantun Coherence</i>
HREIMS	<i>Hight Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrum</i>
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico P.A.
Hx	Hexano P.A.
IV/FT	Espectro de infravermelho com transformada de Fourier
<i>J</i>	Constante de acoplamento
MeOH	Álcool metílico P.A.
<i>m</i>	Multiplero
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
p/p	Relação peso/peso
ppm	Partes por milhão
PM	Peso molecular
<i>q</i>	Quarteto
R _f	Fator de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
<i>s</i>	Singleto
<i>sl</i>	Singleto largo
<i>t</i>	Tripleto
<i>tt</i>	Triplo tripleto
TAS	Toxicidade sobre <i>Artemia salina</i>
ULFOE-1	Óleo essencial das folhas de <i>U. lindmanii</i> , coletadas no Pantanal/MS
ULFOE-2	Óleo essencial das folhas de <i>U. lindmanii</i> , coletadas em Rochedo/MS
ULFALC	Extrato alcaloídico das folhas de <i>U. lindmanii</i>
ULFALCBr	Extrato alcaloídico bruto das folhas de <i>U. lindmanii</i>
Ulc	Extrato etanólico do cerne de <i>U. lindmanii</i>
UlcPpt	Parte precipitada do extrato etanólico do cerne de <i>U. lindmanii</i>
UlcSob	Parte sobrenadante do extrato etanólico do cerne de <i>U. lindmanii</i>
UlcInsDCM	Parte do extrato etanólico do cerne de <i>U. lindmanii</i> insolúvel em diclorometano

UlcSolDCM	Parte do extrato etanólico do cerne de <i>U. lindmanii</i> solúvel em diclorometano
v/p	Relação volume/peso
δ_H	Deslocamento químico de hidrogênio (ppm)
δ_C	Deslocamento químico de carbono (ppm)

1 - INTRODUÇÃO

1.1 – Annonaceae

Annonaceae é uma das maiores famílias da ordem Magnoliide, com aproximadamente 128 gêneros e 2300 espécies, a maioria pantropical. No Brasil, a Annonaceae compreende 26 gêneros e aproximadamente 260 espécies, a maior parte ocorrendo em florestas e alguns representantes ocorrendo em áreas abertas [MAAS, *et al.*, 2001]. Os membros que constituem esta família são de grande significância no que diz respeito à sua riqueza em metabólitos secundários [LEBOEUF, *et al.*, 1982] e na composição da vegetação brasileira sendo, portanto, de grande interesse.

O perfil de metabólitos secundários exibido por espécies de Annonaceae é bastante diversificado. Os gêneros, aparentemente, são altamente específicos na capacidade de produzir determinadas classes de metabólitos. Dois bons exemplos para essa diversidade química são os gêneros *Cleistopholis* e *Hexalobus*, nos quais algumas espécies produzem especificamente alcalóides benzilisoquinolínicos, enquanto outros “preferem” produzir diferentes tipos de alcalóides. Essa tendência é mais percebida na Annonaceae que em outras famílias já também estudadas com profundidade. A razão para esse grau de especificidade é ainda desconhecida, possivelmente pode ser reflexo da natureza primitiva da família, na qual gêneros distintos foram distanciados dos demais e, conseqüentemente, a diversificação química tornou-se mais pronunciada [WATERMAN, 1986].

Alguns representantes dessa família possuem frutos comestíveis e são de interesse comercial: *Annona muricata*, por exemplo, é uma árvore conhecida como “graviola” que fornece os frutos chamados “graviola”, muito apreciados tanto para consumo quanto como matéria prima na fabricação de geléias, sucos e polpas [SACRAMENTO, *et al.*, 2003]. *Xylopia aromatica*, conhecida popularmente como “pimenta de macaco”, é utilizada na fabricação de temperos [CORREA, 1978]. São também de destaque comercial os óleos essenciais de “cananga” (*Cananga odorata* Hook var. *macrophylla*) e de “ylang-ylang”

(*Cananga odorata* Hook var. *genuina*) que são empregados na indústria de perfumes [LEBOEUF, *et al.*, 1982].

1.2 – Perfil de metabólitos secundários em Annonaceae

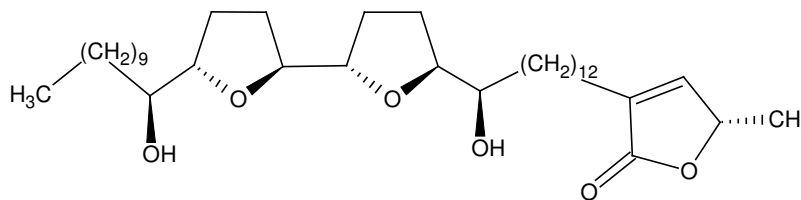
Annonaceae é uma das famílias de maior diversidade de constituintes químicos e revela a presença de diferentes estruturas e tipos de alcalóides em sua composição, tanto que no princípio, os metabólitos secundários obtidos desta família foram divididos em dois grupos: substâncias alcaloídicas e não alcaloídicas, o que demonstra a importância dada inicialmente à esta classe de constituintes.

O avanço no estudo desta família demonstrou sua riqueza e diversidade em outros compostos, sendo alguns muito ativos, como as acetogeninas. Abaixo se descreve alguns constituintes isolados de Annonaceae.

1.2.1 – Acetogeninas em Annonaceae

As acetogeninas são metabólitos de C₃₅-C₃₇, que biogeneticamente parecem ser derivadas de policetídios. São estruturalmente caracterizadas por apresentarem uma cadeia alifática longa, com anéis tetraidrofurânicos localizados entre as cadeias alifáticas.

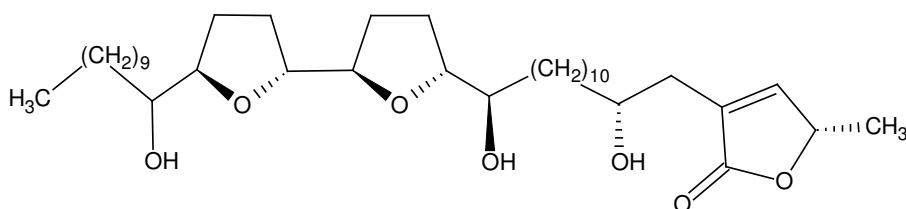
A primeira acetogenina isolada, do extrato etanólico das cascas do caule de *Uvaria accuminata*, foi a uvaricina, em 1982, que se apresentou como um agente antileucêmico ativo *in vitro*, sobre células P-388 [JOLAD, *et al.*, 1982].



Uvaricina

Essas substâncias apresentam uma grande diversidade de atividades biológicas: antineoplásica, citotóxica, inseticida, leishmanicida, antimicrobiana, antimicótica, e acaricida [BERMEJO, *et al.*, 2005; ALALI, *et al.*, 1999; FANG, *et al.*, 1993; GRANDIC, *et al.*, 2004; CEPLEANU, *et al.*, 1993; ALKOFABI, *et al.*, 1990; GRANDIC, *et al.*, 2000].

A acetogenina esquamocina apresentou efeito estimulante sobre células musculares de artéria coronária humana em concentrações de 0,3-100 μM , atuando sobre os canais de Ca^+ e K^+ [WU, *et al.*, 2003], e a acetogenina bulatacina possui atividade antileucêmica sobre células L1210, sendo efetiva a apenas 50 $\mu\text{g/Kg}$, cerca de 300 vezes mais ativo que o taxol [ALALI, *et al.*, 1999].

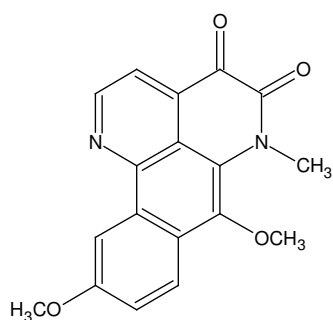


Bulatacina

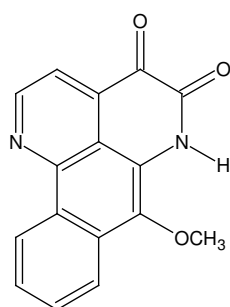
1.2.2 – Alcalóides em Annonaceae

Os alcalóides, como citado anteriormente, são uma importante classe de metabólitos em Annonaceae, e ainda hoje se encontram vários trabalhos que descrevem novos alcalóides de diferentes classes obtidos de Annonaceae, principalmente aporfinóides, muitos deles apresentando promissoras atividades biológicas.

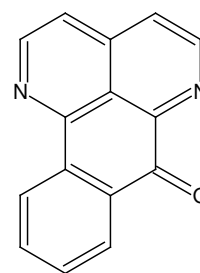
De *Duguetia hadrantha* foram isolados os alcalóides hadrantina A, hadrantina B e sampangina, sendo que a hadrantina A e sampangina apresentaram atividade antimalarial sobre cepas de *Plasmodium falciparum* além de atividade contra agregação plaquetária, enquanto a hadrantina B apresentou atividade citotóxica, com IC_{50} 0,3 $\mu\text{g/mL}$ [MUHAMMAD, *et al.*, 2001].



Hadrantina A

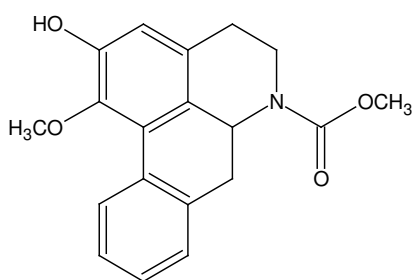


Hadrantina B

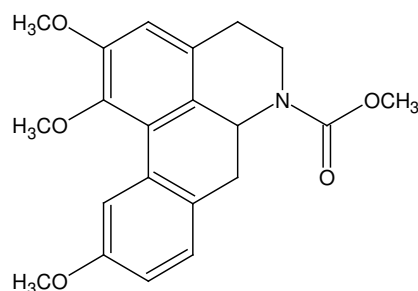


Sampangina

Os alcalóides aporfínicos *N*-metoxycarbonil romucosina A e romucosina D obtidos de *Rollinia mucosa* exibiram significante inibição do colágeno, ácido araquidônico e agregação plaquetária [KUO, *et al.*, 2001].

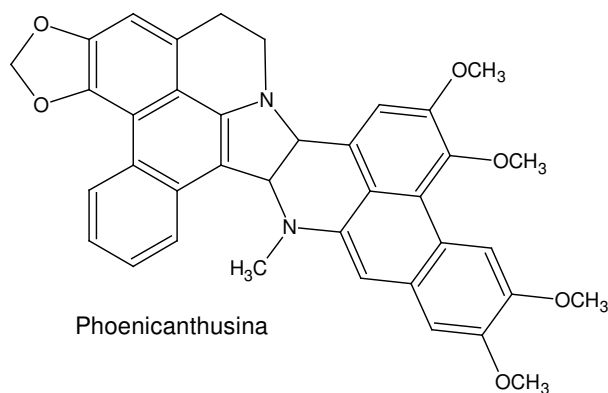


Romucosina A



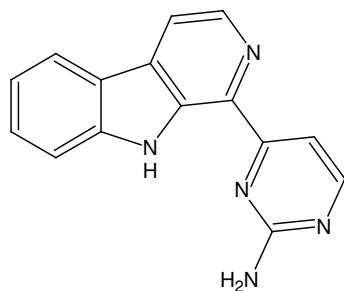
Romucosina D

O estudo da espécie *Phoenicanthus obliqua* conduziu ao isolamento do novo alcalóide dimérico aporfinoíde phoenicanthusina [WIJERATNE, *et al.*, 2001].

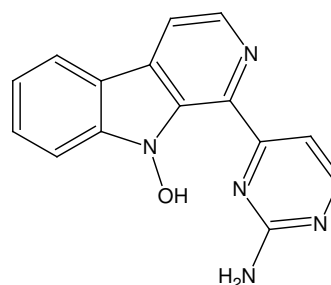


Phoenicanthusina

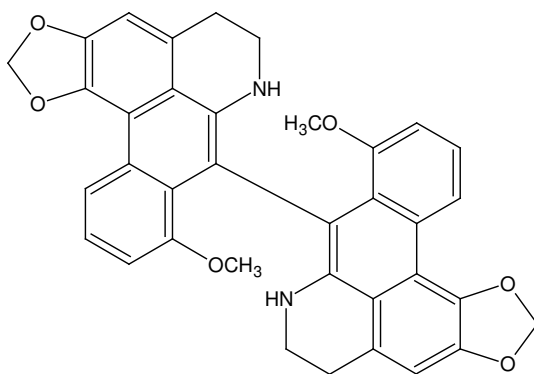
De *Annona foetida*, obteve-se os alcalóides do tipo “pyrimidine- β -carboline”, de ocorrência rara, annomontina e *N*-hidroxiannomontina, que apresentaram atividade leishmanicida contra formas promastigotas de *Leishmania brasiliensis* [COSTA, *et al.*, 2006].



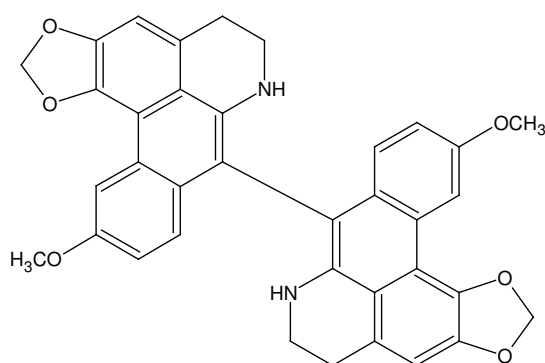
Annomontina

*N*-hidroxiannomontina

Os alcalóides aporfínicos diméricos bis-7,7'-desidro-8,8'-dimetoxianonaina e bis-7,7'-desidro-10,10'-dimetoxianonaina obtidos de *Polyalthia debilis*, apresentaram atividade antimalarial com valores de IC₅₀ de 5,4 e 4,1 µg/mL, respectivamente [KANOKMEDHAKUL, *et al.*, 2003].

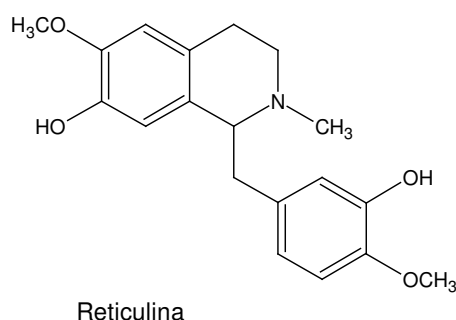


bis-7,7'-desidro-8,8'-dimetoxianonaina



bis-7,7'-desidro-10,10'-dimetoxianonaina

O estudo realizado com populações de Guadeloupe, França, relevou uma alta incidência de parkinsonismo atípico, cujo quadro apresentava-se reversível com a interrupção do consumo de chás das espécies *Annona muricata* e *Annona squamosa*, hábito bastante comum entre essas populações. Esse fato pôde ser explicado devido à presença de altas quantidades de alcalóides isoquinolínicos nestas plantas, como a reticulina, tóxicos para os neurônios dopaminérgicos. Estudos epidemiológicos indicaram, ainda, a perda neuronal após longa exposição aos alcalóides isoquinolínicos ou acetogeninas [CAPARROS-LEFEBVRE & STEELE, 2005; CAPARROS-LEFEBVRE & ELBAZ, 1999; KOTAKE, *et al.*, 2004].



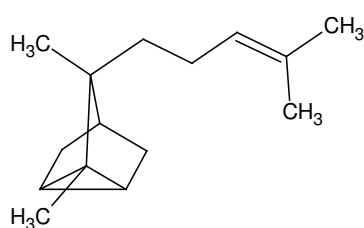
1.2.3 – Óleos essenciais em Annonaceae

Muitas espécies pertencentes à Annonaceae são odoríferas em razão da presença de óleos essenciais. Estes são misturas complexas que contêm, em geral, uma grande quantidade de compostos orgânicos, com predominância de sesquiterpenos e monoterpenos [FOURNIER, *et al.*, 1999].

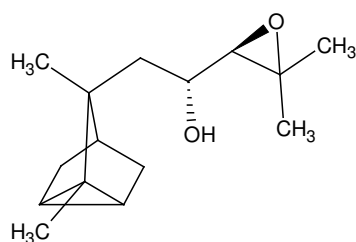
Os óleos essenciais têm despertado interesse por apresentarem diversas propriedades biológicas e ecológicas, além de sua importância comercial. O óleo essencial de *Cananga odorata*, além de ser empregado na indústria de perfumes, apresenta também propriedades relaxantes, quando inalado por humanos [HONGRATANAWORAKIT & BUCHBAUER, 2004]; já o óleo essencial de *Xylopia aethiopica* possui ação antibacteriana e citotóxica sobre células neoplásicas (Hep-2) [ASEKUN & ADENIYI, 2004], além de ação

antioxidante [KARIOTI, *et al.*, 2004]. Obtido a partir de *Hexabolus crispiflorus*, o óleo essencial exibiu forte atividade antiplasmódio sobre cepas de *Plasmodium falciparum*, agente causador da malária [BOYOM, *et al.*, 2003].

Em recente estudo fitoquímico, foram isolados do óleo essencial das folhas de *Duguetia furfuracea* e das cascas do caule de *Duguetia glabriuscula* os sequeiterpenos com esqueleto santalano, de ocorrência rara [CAROLLO, *et al.*, 2005; PEREIRA, *et al.*, 2003].



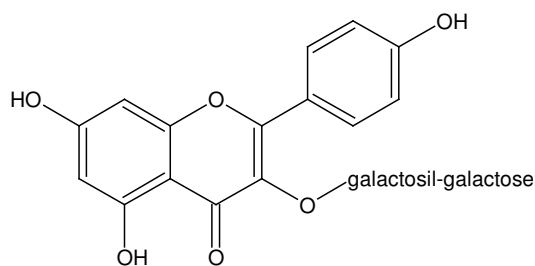
α -santaleno



(+)- α -santalan-10,11-epóxi-9-ol

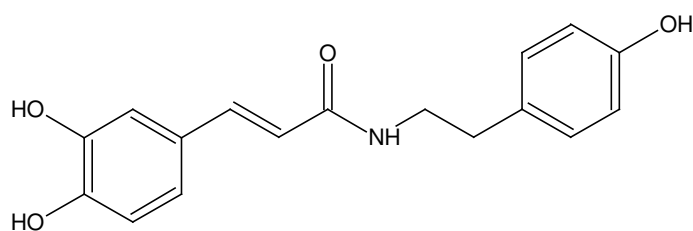
1.2.4 – Constituintes fenólicos em Annonaceae

O trabalho realizado por Santos e Salatino [2000] descreve a identificação de um total de 76 flavonóides obtidos de 12 gêneros pertencentes à Annonaceae, entre eles *Duguetia*, *Guatteria*, *Xylopia* e *Annona*. Nota-se a predominância de flavonóis e flavonas, em sua maioria glicosilados, a exemplo do 3-*O*-galactosilgalactosil-canferol.

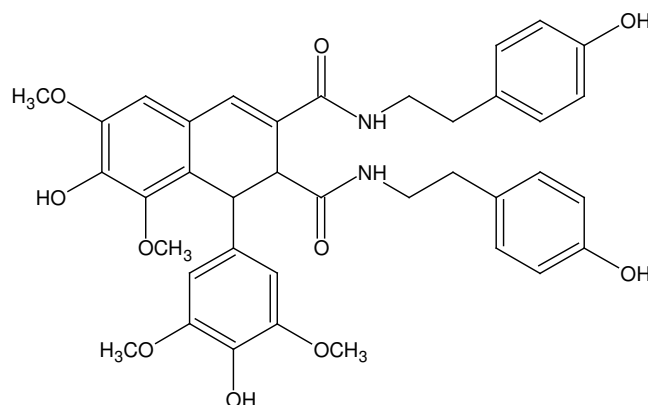


3-*O*-galactosilgalactosil-canferol

O primeiro relato de lignaminas obtidas de Annonaceae data de 1996, quando Santos e colaboradores [1996] isolaram a *N-trans*-cafeoiltiramina a partir das folhas de *Annona crassiflora*. Chaves e Roque [1997] isolaram a partir dos galhos de *Porcelia macrocarpa*, o composto 1,2 – diidro – 6,8 – dimetóxi – 7 – hidróxi – 1 – (3,5 – dimetóxi – 4 – hidróxifenil) – *N*¹, *N*² – bis – [2 – (4 – hidroxifenil) etil] – 2,3 – naftaleno dicarboxamida, juntamente com outras lignamidas.

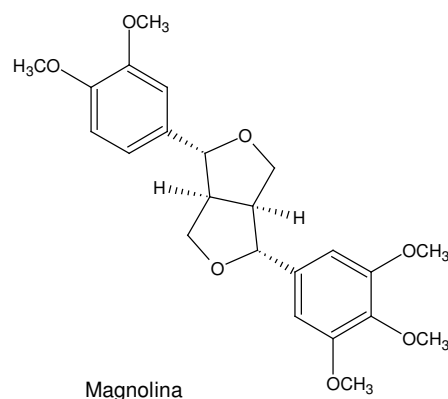
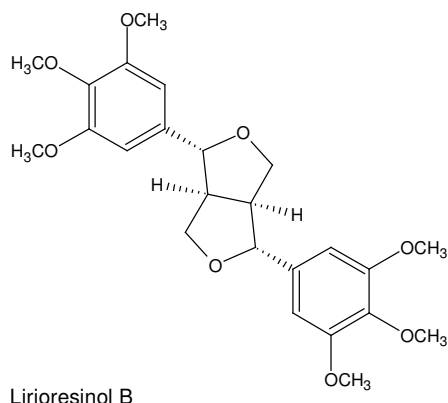


N-trans-cafeoiltiramina



1,2-diidro-6,8-dimetóxi-7-hidróxi-1-(3,5-dimetóxi-4-hidroxifenil)-
*N*¹,*N*²-bis-[2-(4-hidroxifenil) etil]-2,3-naftaleno dicarboxamida

De *Rollinia mucosa* obteve-se as lignanas lirioreinol B e magnolina [FIGUEIREDO, *et al.*, 1999], apresentando-se como as lignanas em maior proporção, acumuladas predominantemente nas folhas.



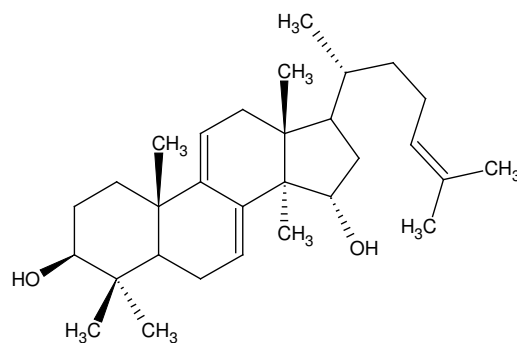
1.3 – O gênero *Unonopsis*

O gênero *Unonopsis*, representado por cerca de 27 espécies, foi pouco estudado até o momento, tanto do ponto de vista fitoquímico quanto biológico.

Poucos dados são encontrados quanto ao uso deste gênero na medicina tradicional; algumas utilizações empíricas foram descritas por Schultes [1993], que relatou o emprego de *Unonopsis veneficiorum* por índios da Floresta Amazônica, no tratamento da demência senil: as folhas são misturadas em alimento de idosos “que esquecem de como falar”. A mesma planta é utilizada como veneno para ponta de setas e como agente antifertilizante. A maceração das cascas do caule de *Unonopsis floribunda* Diels, conhecida popularmente como “icoja”, são empregadas no tratamento de artrites, bronquites, reumatismo e diarreia [JOVEL, *et al.*, 1996], além de ser utilizada no tratamento da malária por populações nativas do Peru [KVIST, *et al.*, 2006]. A espécie *Unonopsis glaucopetala* é considerada por índios da Guiana o melhor remédio contra picadas de cobras [ANDEL, 2000], sendo também empregada como viga na construção de telhados de casas pelos mesmos índios.

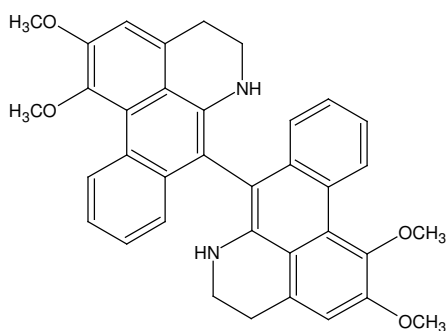
Um dos primeiros estudos fitoquímicos de *Unonopsis* remonta à década de 80, o qual conduziu ao isolamento do triterpeno policarpol a partir das raízes de *Unonopsis guatteriioides* [TOUCHE, *et al.*, 1981]. Um trabalho recente, que propõe o “screening” de produtos naturais com capacidade de atuar sobre receptores do colesterol modificando os

níveis de HDL e LDL, demonstrou que o policarpol, neste caso obtido de *Unonopsis glaucopetala*, possui atividade bastante pronunciada [JAYASURIYA, *et al.*, 2005].

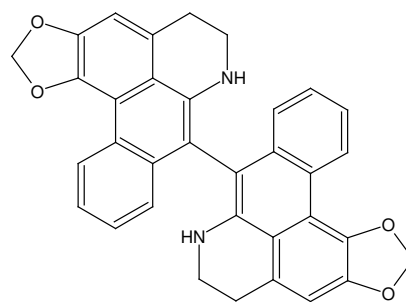


Policarpol

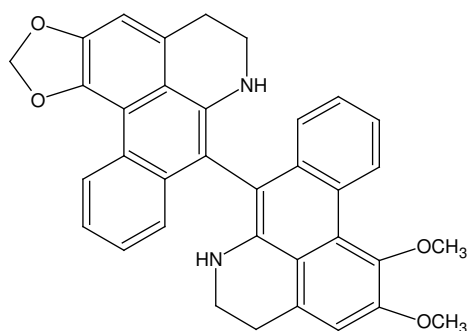
Das cascas do caule da espécie *Unonopsis spectabilis*, conhecida no Peru como “ícoja negro” e utilizada na medicina local em infusões contra reumatismo, foram isolados 3 alcalóides *bis-7,7'*-desidronoraporfinicos: urabaína, unonopsina e heteropsina, além do triterpeno policarpol e dos esteróides estigmasterol e β -sitosterol [LAPRÉVOTE, *et al.*, 1987].



Urabaina

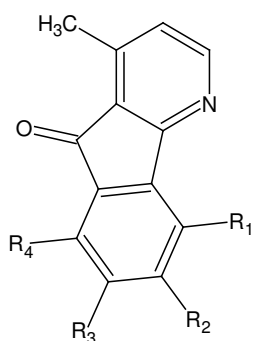


Unonopsina

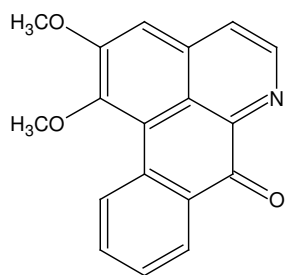


Heteropsina

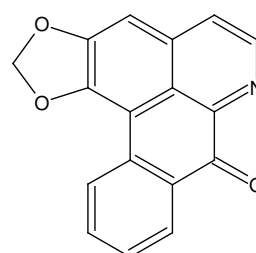
Outro estudo das cascas do caule de *U. spectabilis* levou ao isolamento de cinco alcalóides da classe das azafluorenonas: oniquina (**A**), 6-hidroxioniquina (**B**), macondina (**C**), ursulina (**D**) e isoursulina (**E**), juntamente com alcalóides oxaporfínicos liriodenina e lisicamina [LAPRÉVOTE, *et al.*, 1988].



	R₁	R₂	R₃	R₄
A	H	H	H	H
B	H	OH	H	H
C	H	H	OH	OCH ₃
D	OCH ₃	OH	H	H
E	OH	OCH ₃	H	H

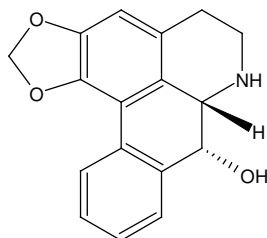


Lisicamina

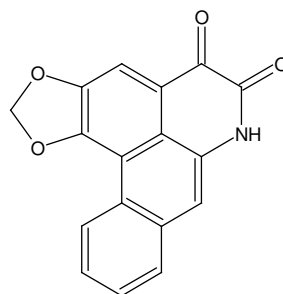


Liriodenina

A partir das cascas do caule de *Unonopsis pacifica* foram obtidos os alcalóides norushinsunina e norcepharadiona, além da liriodenina, unonopsina, heteropsina e do triterpeno poliocarpol [ARANGO, *et al.*, 1988].

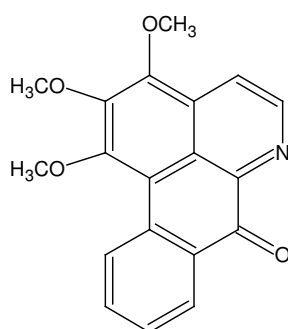


Norushinsunine

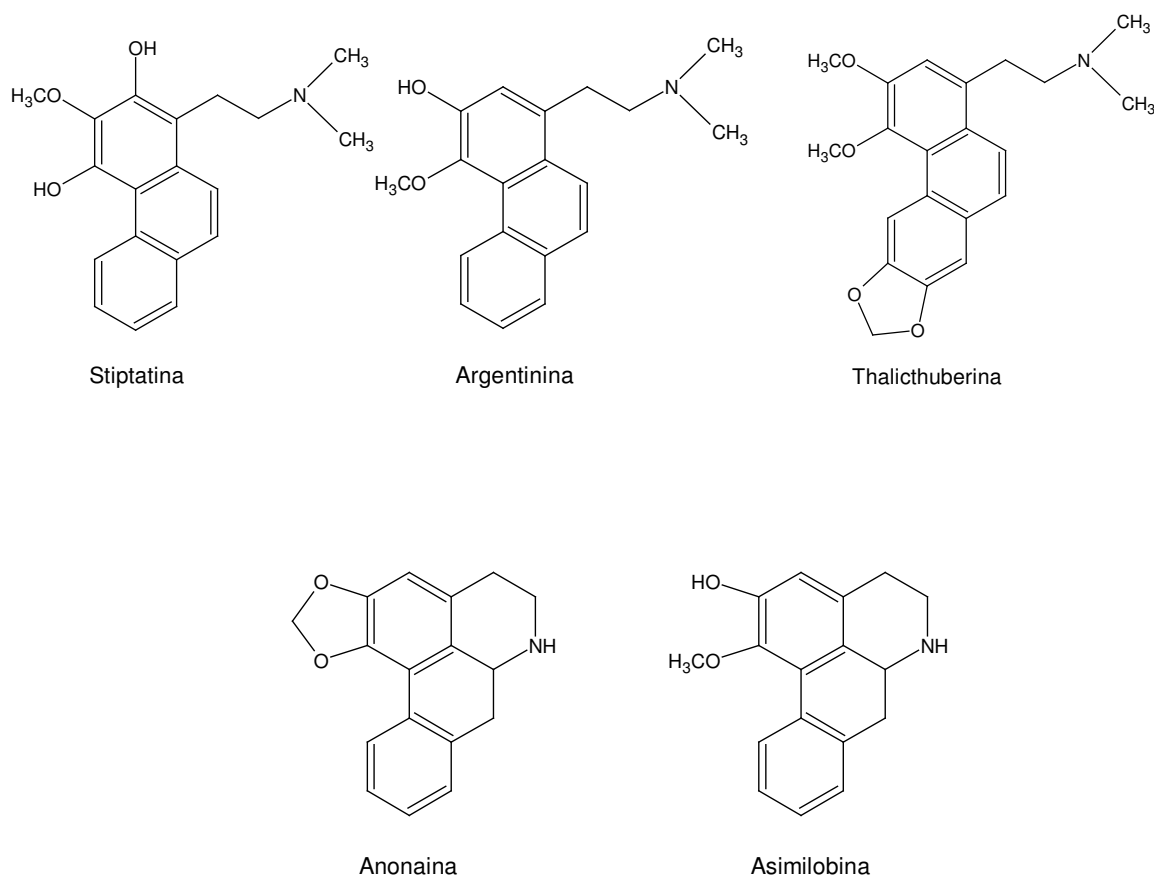


Norcepharadiona A

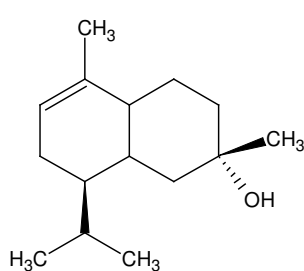
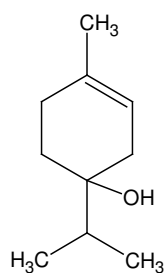
Mais recentemente tem sido estudada a capacidade leishmanicida das substâncias de algumas espécies de *Unonopsis*, como é o caso dos alcalóides isolados de extratos de *Unonopsis buchtienii*, que possuem uma alta atividade *in vitro* sobre as formas promastigotas de *Leishmania majore* e *L. donovani*. Dentre eles, o mais ativo foi o alcalóide oxaporfínico liriodenina, com uma DL_{100} de 3,12 $\mu\text{g/mL}$. Entretanto, esta substância mostrou-se bastante citotóxica, com uma DL_{50} de 1 $\mu\text{g/mL}$ sobre as linhagens de células “Vero”. Por outro lado, a atividade *in vitro* exercida pelo alcalóide *O*-metilmoscatolina sobre *Trypanosoma brucei*, com IC_{100} de 6,25 $\mu\text{g/mL}$, despertou interesse também à possível atividade tripanossomicida destes compostos [WAECHTER, *et al.*, 1999].

*O*-metilmoscatolina

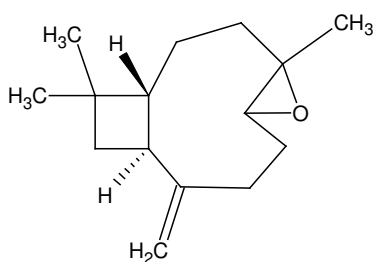
De *Unonopsis stipitata* foram isolados os alcalóides fenantrênicos stiptatina, argentinina e thalictuberina, e de *U. guaterioides* os alcalóides aporfínicos asimilobina, anonaina e norshinsunina e os oxaporfínicos liriodenina e lisicamina [PELLETIER, 1987].



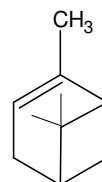
Foram analisados através de CG e CG/EM os óleos essenciais obtidos das raízes e frutos de *U. guaterioides*, sendo que nas raízes predominaram o δ -cadinol com teor de 21,6%, 1-terpinen-4-ol com 15,7% e óxido de cariofileno com 15,3%; nos frutos, os componentes em maior proporção são o β -cariofileno com teor de 22,5%, α -pineno com 11,7% e óxido de cariofileno 10,4% [FOURNIER, *et al.*, 1997].

 δ -cadinol

1-terpinen-4-ol



Óxido de cariofileno

 α -pineno

1.4 – *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries (R. E. Fries).

**FIGURA 1.** *Unonopsis lindmanii*. R. E. Fries. Ramos floridos

Unonopsis lindmanii, conhecida popularmente como “pindaíva-preta” ou “envira-preta”, é uma árvore freqüentemente encontrada no cerrados e em mata ciliar alagável e

caronal, e seu fruto, quando maduro, é comido por aves [POTT & POTT, 1995]. Não são encontrados dados de sua utilização popular.

Encontra-se atualmente na literatura, apenas uma publicação quanto ao estudo sobre a constituição química de *Unonopsis lindmanii*, que relata o isolamento biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina*, a partir das cascas do caule, dos alcalóides oxaporfínicos liriidenina e lisicamina, do alcalóide bis-7,7'-desidronoraporfínico unonopsina e dos esteróides estigmasterol e β -sitosterol [SIQUEIRA, *et al.*, 1998, SIQUEIRA, 1999].

1.4.1 – Descrição botânica

Unonopsis lindmanii R. E. Fries (R. E. Fries) é uma árvore com 2-18 metros de altura, folhas estreitas e elípticas de 16-20 x 5-6 cm, bastante densa com pêlos eretos na face abaxial; inflorescências pouco floridas, flores verdes ou brancas, frutos monocárpicos ocorrendo em 6-8, amarelos ou púrpuras (quando maduros), 9-22 x 9-10 mm, 1-2 brotos. É típico desta espécie apresentar pêlos eretos sobre seus ramos novos e na parte de baixo da lâmina das folhas [MAAS, *et al.*, 2001].

1.5 – Ensaio biológicos

Com o intuito de se obter protótipos naturais e ativos, dois ensaios biológicos foram usados no presente trabalho, sendo eles:

- Toxicidade sobre *Artemia salina*
- Avaliação alelopática em sementes de *Lactuca sativa* e *Allium cepa*.

1.5.1 – Toxicidade sobre *Artemia salina*

Em busca de avaliar as atividades biológicas de extratos de plantas e compostos isolados, muitos laboratórios de Produtos Naturais têm inserido dentro de suas rotinas de isolamento, purificação e elucidação estrutural diversos ensaios biológicos simples, no intuito de selecionar e monitorar o estudo fitoquímico de extratos de plantas na procura de substâncias bioativas. Dentre estes bioensaios, encontra-se a toxicidade sobre *Artemia salina* (TAS), que se caracteriza por ser de baixo custo, rápido, não exigir técnicas assépticas e apresentar boa sensibilidade [SIQUEIRA, 1999; SANTOS, *et al.*, 2007].

A. salina é um microcrustáceo de água salgada que é utilizado como alimento vivo para peixes, sendo seus ovos facilmente encontrados em lojas de aquaristas. A simplicidade do bioensaio TAS favorece sua utilização rotineira, podendo ser desenvolvido no próprio laboratório de fitoquímica.

Diversos trabalhos correlacionam a toxicidade sobre *A. salina* com atividades como antitumoral [McLAUGHLIN, *et al.*, 1993; TIEW, *et al.*, 2002], citotóxica [ANDERSON, *et al.*, 1991; BARBOSA, *et al.* 2005; HIRAMATSU, *et al.* 2007], tripanossomicida [ZANI, *et al.*, 1995], entre outras. O trabalho realizado por Parras e colaboradores [2001] indica uma boa correlação entre a DL₅₀ obtida no ensaio de TAS e a DL₅₀ obtida em ensaios de toxicidade sobre ratos.

O ensaio de toxicidade sobre *A. salina* representou um marco no que diz respeito à avaliação da atividade biológica de extratos de plantas, e até hoje é amplamente empregado como um ensaio preliminar.

1.5.2 – Alelopatia

Os vegetais liberam no ambiente uma grande quantidade de metabólitos primários e secundários a partir das folhas, caule, raízes e através da serapilheira em decomposição. O estudo realizado sobre os efeitos desses compostos nas plantas próximas constituem o campo da alelopatia. Se uma planta pode reduzir o crescimento das plantas vizinhas pela

liberação de compostos químicos no solo, isso pode ter como consequência a maior chance de acesso à luz, à água e aos nutrientes e, portanto, propiciar sua maior adaptação evolutiva [MALHEIROS & PERES, 2001]. Apesar do termo alelopatia ser aplicado freqüentemente aos efeitos nocivos dos vegetais sobre espécimes adjacentes, a definição precisa também inclui efeitos benéficos, tais como a indução de crescimento e germinação [TAIZ, *et al.*, 2004].

De maneira geral, a ação alelopática de um organismo sobre outro dá-se principalmente através da liberação de aleloquímicos, que em sua maioria, constituem-se de produtos do metabolismo secundário. Estes agentes aleloquímicos, que suprimem ou eliminam outras espécies vegetais competitivas próximas e presente em uma mesma biota, é para onde está direcionada a atenção de diversos pesquisadores, visando à busca de possíveis protótipos de herbicidas naturais [MACÍAS, *et al.*, 2006].

É conhecido o dano à saúde humana e ao ambiente causados por herbicidas, e este constitui um problema real nos dias de hoje. E o resultado é um aumento no interesse de estratégias alternativas que levem ao desenvolvimento de herbicidas naturais e compostos biodegradáveis, que possam ser menos prejudiciais ao meio ambiente e à saúde pública [MACÍAS, *et al.*, 2000]. A utilização de protótipos provindos de produtos naturais é útil na busca de produtos com possibilidade de emprego agroquímico, pois a ampla variedade estrutural e as promissoras atividades biológicas apresentadas em ensaios biológicos favorecem esta busca.

2 – OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii*, popularmente conhecida como “pindaíva-preta” e pertencente à família Annonaceae, visando ampliar a caracterização química desta espécie pouco estudada do ponto de vista fitoquímico e avaliar a atividade biológica dos extratos através de bioensaios simples.

3 – PARTE EXPERIMENTAL

3.1 – Material e Métodos

- Para o fracionamento em coluna foi utilizada como fase estacionária sílica gel de granulometria entre 70-230 mesh (0,063 - 0,200 mm), 60A°, MERCK; e Sephadex LH-20, AMERSHAM BIOSCIENCES.
- Para cromatografia em camada delgada (CCDS) foram utilizadas placas ativadas (105°C por 30 minutos) de sílica gel 60 G e sílica gel GF₂₅₄.
- Para cromatografia em camada preparativa (CCPS) foram utilizadas placas ativadas de sílica gel 60 G ou mistura de sílica gel 60 G: GF₂₅₄ na proporção 9:1. Nestas placas a recuperação das amostras foi feita com CHCl₃ e MeOH.
- Para cromatografia em camada preparativa de sílica gel impregnada com ácido oxálico (CCPS-OXA) foi utilizada sílica gel 60 G: GF₂₅₄: ácido oxálico na proporção 80:10:05. As placas foram ativadas de maneira normal (Cuidado! Vapores Tóxicos). Para recuperação das amostras, foi necessária a neutralização com NH₄OH 10% até pH 7-8, e posterior extração com CHCl₃.
- Para cromatografia em camada preparativa de sílica gel impregnada com nitrato de prata (CCPS-AgNO₃) foi utilizada sílica gel 60 G:GF₂₅₄: AgNO₃ na proporção 80:10:10. As placas foram preparadas em câmara escura, não foram ativadas e após 24 horas, foram utilizadas em ambiente ausente de luz. Na recuperação das amostras foi utilizado CHCl₃.
- As revelações cromatográficas foram feitas por irradiação de luz ultravioleta (Monitor UV de mão, modelo UVGL – 25, UVP inc. com lâmpadas BlackRay de 254 e 365 nm) e com os seguintes reveladores: vanilina (1% em EtOH) /ácido sulfúrico (5% em EtOH) e sulfato cérico (solução saturada de sulfato cérico em 65% em ácido sulfúrico) ambos seguidos de aquecimento, e reagente de Dragendorff [STAHL, 1990].

- A cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG/EM) da amostra ULFOE-1 foi realizada em equipamento Shimadzu 17A/QP5000, com detector seletivo de massa, no Departamento de Química da Universidade Federal de Uberlândia/UFU/MG.
- A cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG/EM) da amostra ULFOE-2 foi realizada em equipamento Shimadzu QP2010, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP/SP.
- Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos no aparelho Ultro TOF-Q, com ionização por eletrospray. As análises foram realizadas na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP/SP.
- A determinação das rotações específicas, $[\alpha]_D^{20}$, foram realizadas em polarímetro Perkin Elmer 341 EM.
- Os espectros de infravermelho foram registrados em espectrofotômetro Perkin Elmer modelo 783.
- Os espectros de RMN ^1H (300,13 MHz) e RMN ^{13}C (75,48 MHz), DEPT 135° e 90°, COSY, NOESY, HMBC e HMQC, gHMBC e gHSQC foram realizados em um espectrômetro da marca BRUKER de 7,05 Tesla, modelo DPX300 (300,13 MHz para a frequência do hidrogênio), no Departamento de Química da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul/UFMS/MS. Foram utilizadas sondas de 5 mm, com detecção no modo direto (Dual) e no modo inverso (BBI). Os experimentos gHMBC e gHSQC foram adquiridos com sonda BBI equipada com uma bobina geradora de gradiente de campo na coordenada Z.
- Os espectros foram processados com multiplicação exponencial LB=1.0 Hz para espectros de carbono e LB=0,3 Hz para os espectros de hidrogênio.
- Todos os espectros de RMN ^{13}C foram adquiridos totalmente desacoplados.
- Para obtenção dos espectros foram utilizados solventes deuterados, e como referências internas foram utilizados os sinais relativos ao tetrametilsilano (TMS) e os sinais relativos aos hidrogênios residuais dos solventes: CDCl_3 (δ_{H}

7,25 e δ_C 77,0), CD_3OD (δ_H 3,30 e δ_C 49,0) e C_2D_6CO (δ_H 2,04 e δ_C 29,8; e δ_C 206,7).

- Os critérios de pureza adotados para as substâncias foram a observação de uma única mancha em CCDS, variando-se ou não o sistema de eluição, e pelos sinais nos espectros de RMN 1H e ^{13}C .
- Para reação de epoxidação foi empregado ácido 3-cloroperóxibenzóico (Ác. MCPB) 70-75%, balanceado com ácido clorobenzóico e água, ACROS-ORGANICS.
- Para reação de redução foi utilizado boroidreto de sódio ($NaBH_4$) 98%, ALDRICH.

3.2 – Coleta e identificação do Material Vegetal

Folhas e cerne do caule de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries (R. E. Fries) foram localizados e coletados pela Profª Mrs. Ubirazilda Maria Resende – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e a identificação botânica foi realizada pelo Prof. Dr. Renato Mello-Silva – Universidade de São Paulo, e as exsiccatas foram depositadas no *Herbarium* CG/MS, UFMS, Campo Grande – MS, sob os números 4730 e 16548, respectivamente.

3.3- Obtenção do Óleo Essencial das Folhas de *U. lindmanii* por Hidrodestilação.

A primeira coleta foi realizada pela manhã no mês de março de 2005 no Pantanal-MS. Foram pesadas e trituradas 540g das folhas frescas de *U. lindmanii*, as quais foram submetidas à extração por hidrodestilação em aparelho de Clevenger por quatro horas. Foi adicionado clorofórmio sobre as camadas de óleo essencial e água e as fases foram separadas. A camada clorofórmica foi filtrada sobre sulfato de sódio anidro e rapidamente concentrada com N_2 gasoso, obtendo-se 2,3 mL (0,43% v/p), com 800mg (0,15% p/p), do

óleo essencial denominado UIFOE-1. O mesmo foi avaliado por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas.

A segunda coleta foi realizada pela manhã no mês junho de 2006 no município de Rochedo-MS. As folhas frescas (800 g) foram submetidas a hidrodestilação por quatro horas e tratadas da mesma maneira como descrito acima, produzindo 3,6 mL (0,45% v/p) e 937 mg (0,12% p/p) do óleo denominado ULFOE-2. Esta coleta foi realizada com intuito de se obter mais do sesquiterpeno α -copaeno para reações de modificação estrutural.

3.3.1 – Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) do óleo essencial das folhas de *U. lindmanii* UIFOE-1.

A identificação dos compostos do óleo essencial das folhas de *U. lindmanii* UIFOE-1 foi realizada por CG/EM, em equipamento Shimadzu, modelo CG17A, com detector seletivo de massa, modelo QP 5000 (Shimadzu). A coluna cromatográfica utilizada foi do tipo capilar de sílica fundida com a fase estacionária DB-5 de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, utilizando hélio com gás carreador e aquecimento com programação de temperatura de 60-240°C a 3°C/min. As temperaturas do injetor e detector foram fixadas em 220°C e 240°C, respectivamente.

3.3.2 – Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) do óleo essencial das folhas de *U. lindmanii* UIFOE-2.

A cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG/EM), foi realizada em equipamento Shimadzu QP2010, em um sistema operando em impacto eletrônico (70 eV) equipado com injetor split (250°C) e com proporção split 1/30. A coluna utilizada foi do tipo sílica fundida com fase estacionária DB-5 (30 m x 0,25 mm), utilizando hélio como gás carreador, o fluxo na coluna de 1,41 mL/min, pressão de 87,1 kPa e aquecimento com programação de temperatura de 60-240°C a 3°C/min.

3.3.3 – Cromatografia em coluna do óleo essencial UIFOE-1.

O óleo essencial (800mg) foi submetido ao fracionamento em coluna de sílica gel (150g), utilizando-se a série eluato: éter de petróleo, clorofórmio e metanol, em gradiente crescente de polaridade, sendo coletadas 133 frações. Essas frações foram analisadas em CCDS e reunidas de acordo com seus perfis cromatográficos.

Dimensões da coluna cromatográfica: 2,4 cm de diâmetro interno com coluna de sílica de 60 cm de altura.

TABELA 1. Fracionamento cromatográfico do óleo UIFOE-1.

Eluentes	Proporção	Volume (mL)	Frações
EP	100	468	1-24
EP:CHCl ₃	90:10	324	25-40
EP:CHCl ₃	50:50	324	41-57
EP:CHCl ₃	10:90	324	58-74
CHCl ₃	100	324	75-91
CHCl ₃ :MeOH	90:10	324	92-108
CHCl ₃ :MeOH	50:50	324	109-125
MeOH	100	162	126-133

TABELA 2. Grupos provenientes do fracionamento do óleo UIFOE-1.

Frações	Grupo	Peso (mg)
1-4	1	7,7
5-6	2	40,7
7	3	4,2
8	----	8,0
9	----	6,8
10	----	18,5
11	----	19,7
12	----	19,0
13	----	16,3
14-16	4	16,4
17-19	5	61,5
20	----	30,0
21	----	26,3
22	----	20,7
23-24	6	22,4
25-26	7	8,5
27-29	8	16,1
30-95	9	51,2
96-99	10	4,4
100-103	11	6,1
104	----	10,5
105	----	64,3
106	----	11,0
107-120	12	4,5
121-133	13	5,2

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

3.3.4 – Estratégias gerais de purificação e identificação dos compostos isolados do óleo essencial UIFOE-1

- Grupo 2

3.3.4.1 - (–)- α -copaeno (1)

As frações desse grupo apresentaram-se na forma de óleo incolor, odorífico, solúvel em clorofórmio. Estas foram cromatografadas em CCDS (eluente: éter de petróleo; revelador: H₂SO₄/vanilina e aquecimento), revelando a presença de um único ponto cor-de-rosa com R_f: 0,75. A análise dos espectros de RMN ¹H, RMN ¹³C, DEPT 135°, HMQC e HMBC confirmaram ser o sesquiterpeno (–)- α -copaeno.

- Fração 8

3.3.4.2 - Alloaromadendreno (3)

Esta fração apresentou-se como um óleo incolor, solúvel em clorofórmio. Pela CCDS (eluente: éter de petróleo; revelador: H₂SO₄/vanilina e aquecimento) pôde-se observar a presença de um ponto de cor roxa, R_f 0,55. Foram obtidos os espectros de RMN ¹H, RMN ¹³C e DEPT 135°, pelos quais pôde-se confirmar tratar-se do sesquiterpeno alloaromadendreno.

- Fração 20

3.3.4.3 - (+)-Biciclogermacreno (2)

Esta fração apresentou-se como um óleo incolor solúvel em clorofórmio, e através de CCDS (eluente: éter de petróleo; revelador: H₂SO₄/vanilina e aquecimento), revelou um

ponto de cor violeta, Rf 0,40. A substância foi identificada, através dos dados espectrais de RMN ^1H , RMN ^{13}C e DEPT 135°, como sendo o sesquiterpeno (+)-**biciclogermacreno**.

- Fração 105

Esta fração apresentou-se na forma de um óleo de coloração amarelada, e quando submetida a CCDS (eluente: CHCl_3 : MeOH 98:2; revelador: H_2SO_4 /vanilina e aquecimento) apresentou dois pontos, sendo um dos pontos de Rf 0,60 predominante e de cor violeta, que se eluiu pela placa formando uma cauda, e o outro com Rf 0,75 de coloração rosa.

Parte desta fração (60,0 mg) foi submetida a CCPS- AgNO_3 (eluente: CHCl_3 : MeOH 7:3; revelador: H_2SO_4 /vanilina e aquecimento), fornecendo três subfrações: **1** (11,2 mg), **2** (15,8 mg) e **3** (9,5 mg).

- Subfração 1

3.3.4.4 - (-)-**Globulol (4)**

Esta subfração apresentou em CCDS um ponto de Rf 0,65 e através da análise de seus dados espectrais (RMN ^1H , RMN ^{13}C e DEPT 135°) confirmou tratar-se do sesquiterpeno (-)-**globulol**.

- Subfração 2

Em CCDS (Rf: 0,55) esta subfração revelou a presença de uma mistura dos produtos encontrados nas subfrações **1** e **3**.

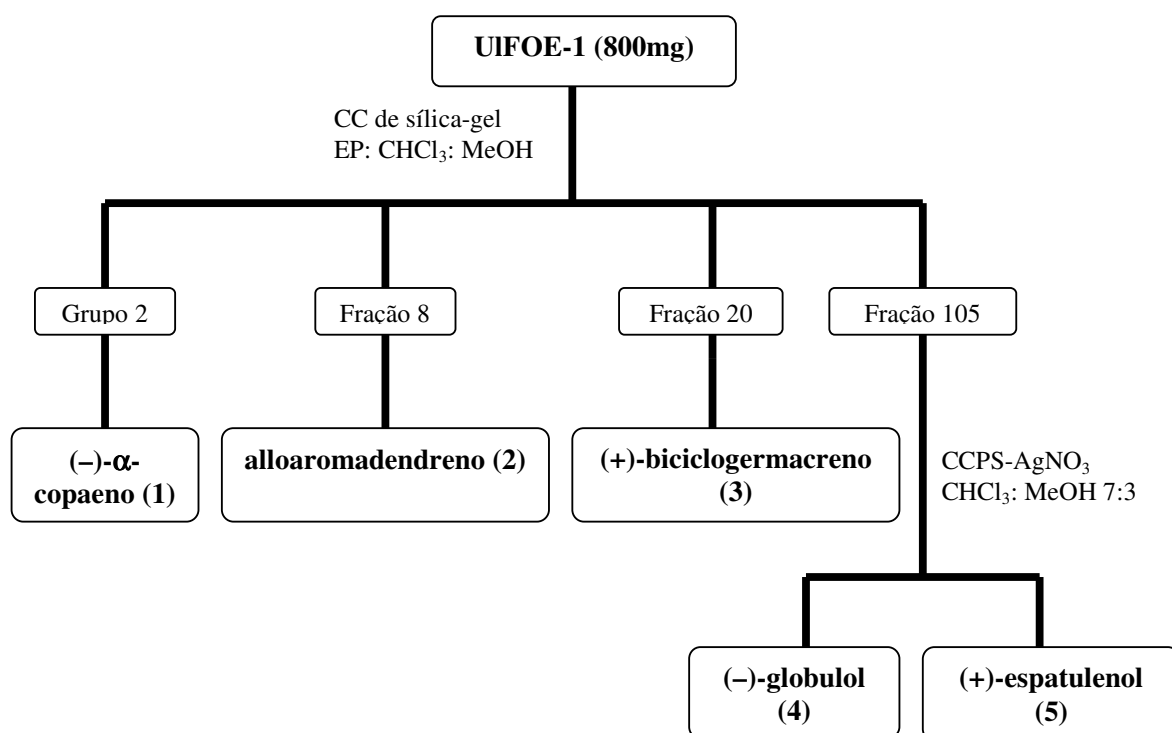
- Subfração 3

3.3.4.5 - (+)-**Espatulenol (5)**

Por CCDS esta subfração apresentou um ponto de Rf 0,45. Com a análise de seus dados espectroscópicos (RMN ^1H , RMN ^{13}C e DEPT 135°) foi possível identificar o sesquiterpeno (+)-**espatulenol**.

O estudo fitoquímico do óleo essencial de *U. lindmanii* (ULFOE-1) resultou no isolamento de cinco sesquiterpenos e as etapas realizadas estão descritas no esquema 1.

ESQUEMA 1. Estudo fitoquímico do óleo essencial das folhas de *U. lindmanii* (ULFOE-1).



3.4 – Obtenção do extrato alcaloídico das folhas de *Unonopsis lindmanii*

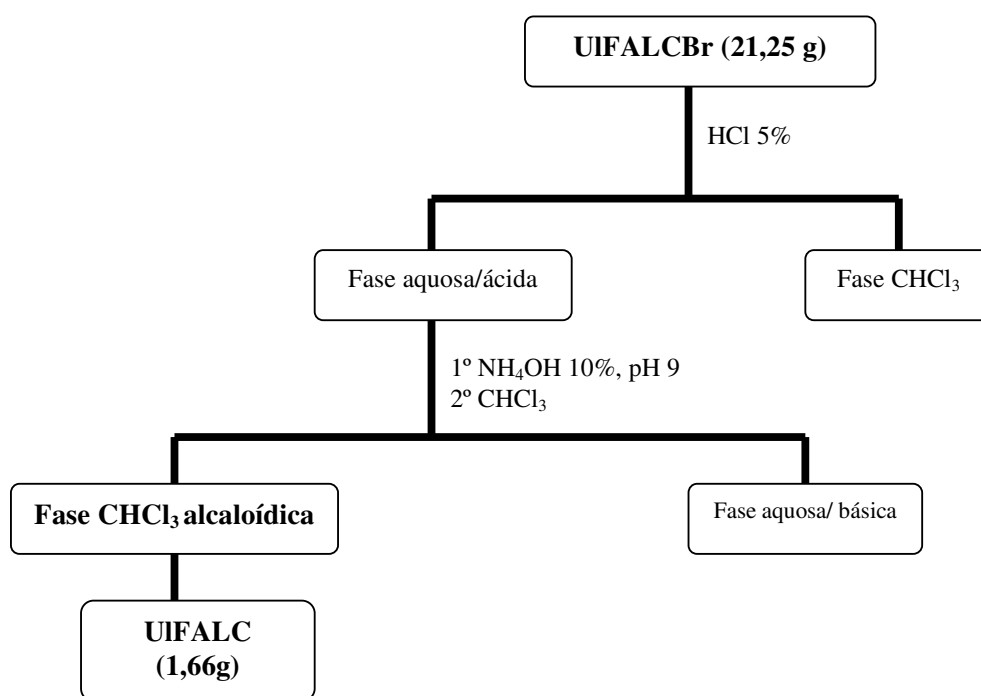
950g das folhas de *U. lindmanii* secas sob ventilação com aquecimento (40°C) foram pulverizadas e submetidas à extração com CHCl₃ em meio básico (NH₄OH 10%; pH 9) sob

agitação constante por 2 horas, durante 15 dias, obtendo-se 21,25g do extrato alcaloídico bruto, denominado de UIFALCBr.

3.4.1 – Marcha química para alcalóides do extrato UIFALCBr

O extrato foi solubilizado em CHCl_3 e submetido à marcha química para alcalóides [SIMÕES, *et al.*, 2000], obtendo-se 1,66g do extrato alcaloídico denominado UIFALC, conforme esquema abaixo:

ESQUEMA 2 . Processo de marcha química para alcalóides.



O extrato alcaloídico UIFALC foi avaliado em CCDS, na qual detectou-se a presença de alcalóides através do reagente de Dragendorff.

3.4.2 – Cromatografia em coluna do extrato alcaloídico UIFALC

O extrato alcaloídico UIFALC (1,0 g) foi submetido ao fracionamento em coluna de sílica (100g), utilizando-se um sistema de eluente com CHCl_3 e MeOH em gradiente crescente de polaridade. Foram coletadas 65 frações, as quais foram submetidas à análise em CCDS e reunidas em grupos conforme semelhança de seus perfis cromatográficos.

Dimensões da coluna cromatográfica: 2,4 cm de diâmetro interno com coluna de sílica de 55 cm de altura.

TABELA 3. Fracionamento cromatográfico do extrato UIFALC.

Eluentes	Proporção	Volume	Frações
CHCl_3	100	300mL	1-14
CHCl_3 :MeOH	98:2	200mL	15-17
CHCl_3 :MeOH	96:4	200mL	18-24
CHCl_3 :MeOH	94:6	200mL	25-34
CHCl_3 :MeOH	92:8	200mL	35-36
CHCl_3 :MeOH	90:10	200mL	37-39
CHCl_3 :MeOH	85:15	200mL	40-43
CHCl_3 :MeOH	70:30	200mL	44-46
CHCl_3 :MeOH	50:50	200mL	47-49
CHCl_3 :MeOH	25:75	200mL	50-52
MeOH	100	200mL	53-55

TABELA 4. Grupos provenientes do fracionamento do extrato UIFALC.

Frações	Grupo	Peso (mg)
1-16	1	18,7
17-20	2	49,6
21-22	3	21,8
23-24	4	11,6
25-27	5	18,7
28-29	6	24,4
30-35	7	65,4
36-38	8	33,9
39	-----	23,6
40	-----	13,3
41	-----	19,3
42	-----	23,2
43	-----	27,8
44	-----	26,3
45-55	9	19,8

3.4.3 – Estratégias gerais de purificação e identificação dos compostos isolados do extrato UIFALC

- Grupo 2

As frações deste grupo apresentaram coloração verde-amarelada, com presença de vários cristais amarelos pontiagudos, sendo solúvel em clorofórmio. Foram analisadas em CCDS (eluente: CHCl₃: MeOH 9:1, revelador: Dragendorff), apresentando três manchas principais. A mistura foi submetida a CCPS-OXA (eluente: DCM: MeOH 85:15; revelador: Dragendorff), fornecendo duas subfrações: **1** (5,7 mg) e **2** (15 mg).

- Subfração 1

3.4.3.1 - **Liriodenina (6)**

Esta subfração apresentou-se como cristais pontiagudos de coloração amarelada, sendo solúvel em clorofórmio. Quando analisada em CCDS (eluente: DCM: MeOH 9:1; revelador: Dragendorff), exibe um ponto de Rf 0,60 que apresenta fluorescência no ultravioleta e coloração amarela intensa quando revelada com Dragendorff. A análise dos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C confirmou tratar-se alcalóide oxaporfínico **liriodenina**.

- Subfração 2

Esta fração apresentou-se como uma mistura de três pontos, que quando recromatografados em CCPS-OXA (eluente: CHCl_3 : MeOH 8:2; revelador: Dragendorff) não apresentaram massa suficiente para que se concluísse sua identificação.

- Fração 40

3.4.3.3 - **(-)-Asimilobina (7)**

Esta fração se apresentou como um sólido amorfo de coloração marrom, solúvel em clorofórmio, identificada através de dados espectroscópicos de RMN ^1H , RMN ^{13}C e DEPT 135° como o alcalóide aporfínico **(-)-asimilobina**. Em CCDS apresenta um ponto quando revelada com Dragendorff (eluente: CHCl_3 : MeOH 9:1, revelador: Dragendorff), com Rf 0,40.

- Grupo 9

As frações deste grupo apresentaram-se como um sólido amorfo de coloração amarela escura, sendo solúvel em mistura de CHCl_3 :MeOH 1:1, que quando submetida a

CCDS (eluente: CHCl_3 :MeOH 7:3, revelador: sulfato cérico e Dragendorff) revelava a presença de uma mistura de duas substâncias, confirmada pelo espectro de RMN ^1H das frações deste grupo. Este grupo foi submetido à coluna cromatográfica empregando como fase estacionária Sephadex LH-20 (100 g) e como fase móvel CHCl_3 : MeOH na proporção 1:1 de modo isocrático, obtendo-se 18 frações, que foram reunidas de acordo com a semelhança de seus perfis apresentados em CCDS.

Dimensões da coluna cromatográfica: 1,5 cm de diâmetro interno com coluna de Sephadex LH-20 de 46,5 cm de altura.

TABELA 6. Subgrupos provenientes da partição do grupo 9.

Frações	Subgrupo	Peso (mg)
1-4	1	4,1
5-13	2	10,6
14-18	3	4,0

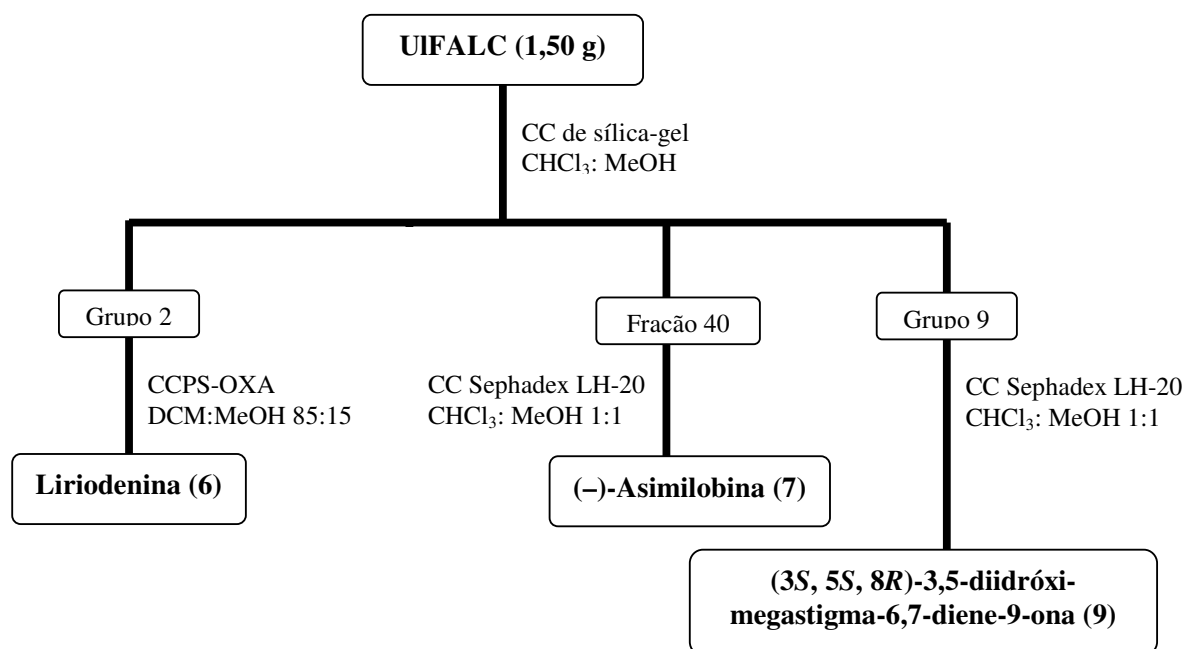
-Subgrupo 2

3.4.3.4 - (3*S*, 5*S*, 8*R*)-3,5-diidróxi-megastigma-6,7-diene-9-ona (9)

Este subgrupo apresentou-se como um sólido amorfo de cor amarela escura solúvel em CHCl_3 , aparecendo apenas um ponto em CCDS, de R_f 0,5 e coloração marrom quando revelada com sulfato cérico (eluente: CHCl_3 :MeOH 7:3; revelador: sulfato cérico e aquecimento). A análise de seus dados de RMN uni e bidimensionais revelaram a presença de sinais compatíveis com um composto pertencente à classe dos megastigmanos, denominado de (3*S*, 5*S*, 8*R*)-3,5-diidróxi-megastigma-6,7-diene-9-ona.

Do extrato alcaloídico das folhas de *U. lindmanii* foram isolados dois alcalóides, sendo um aporfínico e outro oxaporfínico, e dois compostos da classe dos megastigmanos, e os procedimentos utilizados estão sucintamente descritos no esquema abaixo:

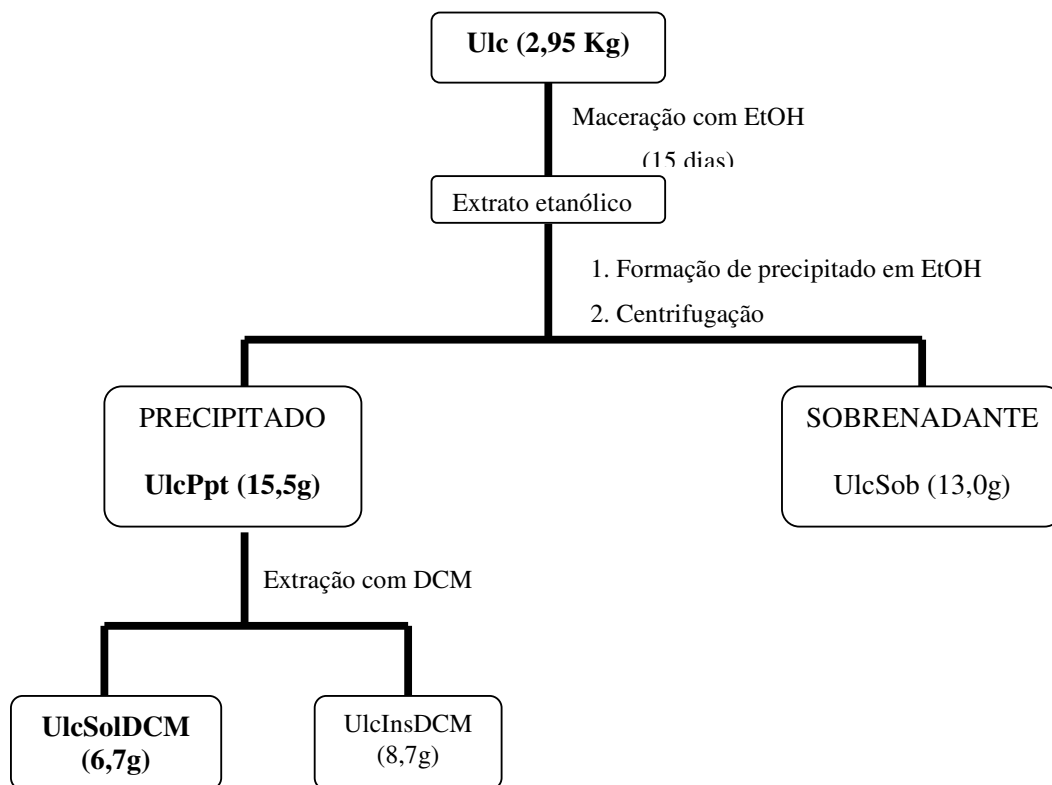
ESQUEMA 3. Estudo fitoquímico do extrato UIFALC



3.5 – Obtenção do extrato etanólico do cerne de *Unonopsis lindmanii*

O cerne do caule seco e triturado (2,95 Kg) de *U. lindmanii* foi submetido à maceração em álcool etílico durante 15 dias, obtendo-se 28,5 g do extrato denominado Ulc. O extrato Ulc ainda em álcool etílico, apresentou um precipitado, separado do sobrenadante após centrifugação, dando origem a um precipitado UlcPpt (15,5g) e um sobrenadante UlcSob (13,0g).

O precipitado UlcPpt foi submetido à extração com diclorometano seguida de centrifugação, originando uma fração diclorometânica UlcSolDCM (6,7g) e um precipitado UlcInsDCM (8,7g), conforme esquema abaixo:

ESQUEMA 4 . Fracionamento do extrato etanólico do cerne de *U. lindmanii*.

Quando submetida espectroscopia de RMN, a parte insolúvel em DCM (UlcInsDCM) apresentou apenas sinais relativos a açúcares, evidenciados pelo espectro de RMN ^{13}C na região entre δ_{C} 60-110 ppm. Optou-se por trabalhar a parte solúvel em DCM (UlcSolDCM), que apresentava diversos grupos de sinais distribuídos em por diversas regiões nos seus espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C .

3.5.1 – Cromatografia em coluna do extrato UlcSolDCM

UlcSolDCM (6,0g) foi submetido ao fracionamento em coluna cromatográfica de sílica gel (150 g), utilizando-se em gradiente crescente de polaridade: hexano, acetato de etila e metanol, tendo sido coletadas 260 frações. Essas frações foram analisadas em CCDS e reunidas de acordo com seus perfis cromatográficos.

Dimensões da coluna cromatográfica: 3,5 cm de diâmetro interno com coluna de sílica de 30 cm de altura.

TABELA 7. Fracionamento cromatográfico do extrato UlcSolDMC.

Eluentes	Proporção	Volume	Frações
Hx	100	486mL	1-35
Hx:AcOEt	99:1	243mL	36-50
Hx:AcOEt	97:3	243mL	51-69
Hx:AcOEt	95:5	243mL	70-85
Hx:AcOEt	93:7	243mL	86-96
Hx:AcOEt	90:10	243mL	97-114
Hx:AcOEt	80:20	243mL	115-130
Hx:AcOEt	70:30	243mL	131-160
Hx:AcOEt	60:40	243mL	161-166
Hx:AcOEt	50:50	243mL	167-180
Hx:AcOEt	75:25	243mL	181-190
AcOEt	100	243mL	191-200
AcOEt:MeOH	90:10	243mL	201-210
AcOEt:MeOH	50:50	243mL	211-220
MeOH	100	486mL	221-260

TABELA 8. Grupos provenientes do fracionamento do extrato UlcSolDCM.

Frações	Grupo	Peso (mg)
1-39	1	6,0
40-57	2	75,7
58-80	3	42,1
81-115	4	55,3
116-119	5	32,7
120	-----	40,3
121-125	6	36,9
126-140	7	70,4
141-169	8	15,7
170-175	9	38,0
176-197	10	102,3
198-202	11	55,3
203-210	12	125,9
211-217	13	28,5
218-223	14	248,2
224-226	15	15,6
227-233	16	73,9
234-249	17	60,5
250-260	18	140,0

3.5.2 – Estratégias gerais de purificação e identificação dos compostos isolados do extrato UlcSolDCM

- Fração 120

3.5.2.1 - β -sitosterol (10) e estigmasterol (11)

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

Nesta fração foi observada a presença de cristais pontiagudos de coloração branca, solúveis em CHCl_3 . Através do perfil cromatográfico em CCDS comparativo com padrões, aliado aos dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e DEPT 135°, foi identificado nesta fração uma mistura dos esteróides **β -sitosterol** e **estigmasterol**.

-Grupo 14

As frações desse grupo apresentavam-se como duas manchas principais em CCDS (eluente: CHCl_3 : MeOH 9:1; revelador: sulfato cérico e aquecimento), sendo uma delas de coloração azul e Rf 0,75 e outra de cor amarela e Rf 0,6. Este grupo foi recromatografado em coluna de Sephadex LH-20 (100 g), empregando-se como fase móvel CHCl_3 : MeOH na proporção 1:1 de modo isocrático, obtendo-se 40 frações. As frações foram reunidas de acordo com seus perfis em CCDS.

Dimensões da coluna cromatográfica: 1,5 cm de diâmetro interno com coluna de Sephadex LH-20 de 46,5 cm de altura.

TABELA 9. Subgrupos provenientes da partição do grupo 14.

Frações	Subgrupo	Peso (mg)
1-17	1	69,4
18-22	2	38,8
23-28	3	19,6
29-33	4	33,6
34-36	5	35,4
37-40	6	7,1

-Subgrupo 2

3.5.2.3 - (–)-Siringaresinol (12)

As frações deste subgrupo apresentaram-se como um sólido amorfo de cor amarelada, sendo solúvel em CHCl₃ com gotas de MeOH. Seu perfil cromatográfico em CCDS (eluente: CHCl₃: MeOH 9:1; revelador: sulfato cérico e aquecimento) continha apenas um ponto revelado em azul intenso com sulfato cérico, de R_f 0,50, e que através de dados de RMN ¹H, RMN ¹³C e DEPT 135°, foi identificado como sendo a lignana (–)-siringaresinol. É o primeiro relato da ocorrência de lignanas no gênero *Unonopsis*.

-Subgrupo 5

3.5.2.4 - *N-trans*-feruloiltiramina (13)

O perfil cromatográfico em CCDS deste grupo apresentou apenas um ponto de R_f 0,7 (eluente: CHCl₃:MeOH 9:1), que se revela amarelo claro em sulfato cérico. Seus dados de RMN uni e bidimensionais são compatíveis com o derivado do ácido cinâmico *N-trans*-feruloiltiramina, cuja ocorrência está sendo pela primeira vez descrita no gênero *Unonopsis*.

- Grupo 18

Este grupo apresentou vários pontos em CCDS (eluente: CHCl₃: MeOH 8:2; revelador: sulfato cérico e aquecimento), sendo dois deles predominantes. Optou-se a submetê-lo novamente a cromatografia em coluna, com fase estacionária de Sephadex LH-20 (100 g), com eluição isocrática de CHCl₃: MeOH 1:1, sendo obtidas desse processo 40 frações.

Dimensões da coluna cromatográfica: 1,5 cm de diâmetro interno com coluna de Sephadex LH-20 de 46,5 cm de altura.

TABELA 10. Subgrupos provenientes da partição do grupo 18.

Frações	Subgrupo	Peso (mg)
1-18	1	56,4
19-23	2	16,5
24-30	3	20,6
31-37	4	23,5
38-40	5	2,5

- Subgrupo 4

Na análise deste subgrupo em CCDS (eluente: CHCl₃: MeOH 85:15; revelador: sulfato cérico e aquecimento) foi observada a presença de dois pontos principais. Este subgrupo foi recromatografado em CCPS (eluente: CHCl₃: MeOH 8:2; revelador: sulfato cérico e aquecimento), do qual obteve-se três subfrações: **1** (3,1 mg), **2** (6,0 mg) e **3** (3,6 mg).

- Subfração 1

Através da análise de CCDS (CHCl₃: MeOH 85:15; revelador: sulfato cérico e aquecimento) e RMN ¹H, constatou-se que esta subfração (Rf 0,9) era constituída apenas de material graxo e produtos de degradação.

- Subfração 2

3.5.2.5 - (-)-Anonaína (8)

Nesta subfração observou-se apenas um ponto em CCDS (eluente CHCl₃: MeOH 85:15; revelador: sulfato cérico e Dragendorff), de Rf 0,5. Identificou-se através da análise

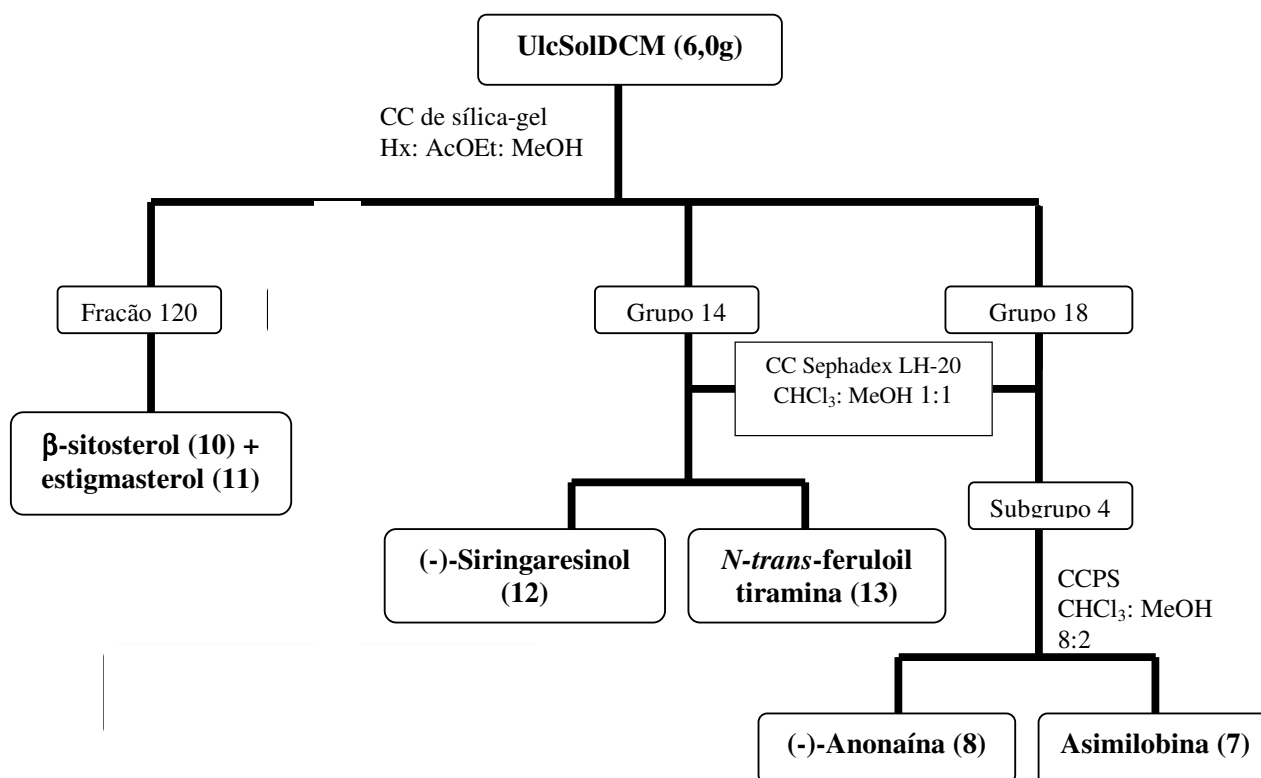
espectroscópica (RMN ^1H , RMN ^{13}C e DEPT 135°) que esta subfração era constituída pelo alcalóide aporfinico (–)-**anonaína**.

- Subfração 3

Asimilobina (7)

As amostras que compunham esta subfração apresentaram-se como um único ponto em CCDS, com Rf 0,35 (eluente: CHCl_3 : MeOH 85:15; revelador: sulfato cérico e Dragendorff). A análise de seu espectro de RMN ^1H e RMN ^{13}C revelou a presença do alcalóide **asimilobina**, anteriormente isolado do extrato alcaloídico das folhas.

Do estudo fitoquímico do cerne de *U. lindmanii* foram identificados sete compostos, sendo uma mistura de dois esteróides, três alcalóides, uma lignana e um derivado do ácido cinâmico. As etapas de fracionamento desse extrato e isolamento das substâncias estão descritas no esquema 5.

ESQUEMA 5. Estudo fitoquímico do extrato UlcSolDCM**3.6 – Ensaios Biológicos****3.6.1 – Teste de toxicidade sobre *Artemia salina* (TAS)**

O teste de toxicidade sobre *Artemia salina* (TAS) é considerado um ensaio preliminar e apresenta uma boa correlação com o teste de citotoxicidade sobre células 9KB [McLAUGHLIN, *et al.*, 1991], sendo então utilizado para o monitoramento de extratos de plantas que apresentam propriedades citotóxicas e antitumorais. Este ensaio é caracterizado pelo baixo custo e considerável sensibilidade. Os extratos e óleo essencial obtidos de *U. lindmanii* foram testados frente ao TAS, como descrito na tabela abaixo (TABELA 11):

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

TABELA 11. Extratos de *U. lindmanii* testados no ensaio de toxicidade sobre *A. salina* e suas respectivas concentrações:

Extratos teste	Concentrações (µg/mL)
Extrato alcaloídico das folhas - UIFALC	43,9; 21,9 e 10,9
Óleo essencial das folhas - UIFOE	25,0; 12,5 e 6,25
Extrato etanólico do cerne - UlcSolDCM	1000; 500 e 250

Ovos de *A. salina* obtidos comercialmente (80 mg) são mantidos em uma solução de sal marinho sintético (38 g/L, pH 8-9), sob oxigenação constante e a eclosão ocorre em 24 horas.

Alguns dos materiais utilizados no ensaio de TAS estão descritos na tabela abaixo (TABELA 12):

TABELA 12. Materiais utilizados para o ensaio de toxicidade sobre *A. salina*.

Materiais utilizados	Descrição	Marca
DMSO	C ₂ H ₆ SO, 99%	MERCK
Sal marinho	-----	MARINEMIX
Sulfato de quinidina	C ₄₀ H ₅₀ N ₄ O ₈ S	ALDRICH
Ovos de <i>Artemia salina</i>	Ovos de alta eclosão	MARAMAR

Após as primeiras 24 horas, as larvas eclodidas atingem o estágio de náuplio e são transferidas para frascos contendo as soluções teste e controles (branco e sulfato de quinidina); depois de 72 horas é feita a leitura do número de larvas vivas e de mortas (TABELA 13). As diluições das amostras e do controle positivo (sulfato de quinidina nas concentrações de 428, 214 e 107 µg/mL) foram feitas pelo método de diluição aritmética em solução de sal marinho sintético com 1% de DMSO (v/v). Em cada frasco foram adicionadas 10 larvas, 3 mL de solução (amostra teste e controles), sendo que as

concentrações foram testadas sempre em triplicata. A metodologia empregada é descrita por McLaughlin [1991].

TABELA 13. Cronograma do ensaio de toxicidade sobre *A. salina* (TAS)

Procedimento realizado	Horários
Adição dos ovos na cuba com oxigenação	0h
Eclosão e maturação dos ovos	24h
Transferência das larvas para frascos com as soluções (amostras e controles)	48h
Leitura do teste	72h

Utilizou-se o método probitos de análise para obtenção das DL_{50} e respectivos intervalos de confiança. O extrato é considerado ativo quanto o valor de TAS < 1000 ppm [FERRIGNI, *et al.*, 1984].

3.6.2 – Avaliação alelopática em sementes de *Lactuca sativa* e *Allium cepa*

O ensaio consiste no acompanhamento da inibição/indução de germinação de sementes, bem como o crescimento e desenvolvimento de radículas e hipocótilos de plântulas de *Lactuca sativa* (alface) e *Allium cepa* (cebola) em presença de um extrato ou substância a ser avaliado.

São espalhadas em placas de Petri, 25 sementes das espécies modelo e as soluções das amostras teste. Os extratos e óleo essencial foram solubilizados em solução tampão MES (pH 6,0) e para facilitar a solubilização foram utilizados 5 µL/mL de DMSO. Às placas com as sementes são adicionados 4 mL das soluções teste e controle, sendo estas placas mantidas em temperatura constante a 25°C e no escuro. As concentrações das amostras foram testadas em triplicatas.

Os materiais empregados no ensaio estão relacionados na tabela abaixo:

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

TABELA 14. Materiais utilizados no ensaio de Avaliação Alelopática.

Materiais utilizados	Descrição	Marca
Sementes de alface (<i>L. sativa</i>)	Alface: Green Salad (mimosa), semente comercial, 90% de germinação.	FELTRIN
Sementes de cebola (<i>A. cepa</i>)	Cebola: Baia periforme “Blu Line”, semente comercial, 97% de germinação.	AGRISTAR
Solução tampão, ajustada a pH 6,0 com NaOH 1%	MES (2-morpholinoethanesulfonic acid, $C_6H_{13}NO_4S \cdot H_2O$), min. 99%, faixa de pH 5,5-6,7.	SIGMA
DMSO	C_2H_6SO , 99%	MERCK
Placas de Petri	9 cm de diâmetro	PYREX
Papel filtro	Nº 02	WHATMAN
Incubadora B.O.D	Modelo 411D	NOVA ÉTICA

- **Preparo das soluções**

-Controle negativo (branco)

No bioensaio utilizou-se como controle negativo (branco) apenas solução tampão MES (1,95 mg/mL) em água destilada, com ajuste do pH a 6,0 com NaOH 1%.

-Amostras

Os extratos obtidos das folhas e cerne de *U. lindmanii* foram testados nas concentrações descritas na tabela abaixo (TABELA 15):

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

TABELA 15. Extratos de *U. lindmanii* testados no ensaio de avaliação alelopática e suas respectivas concentrações.

Extratos teste	Concentrações (µg/mL)
Extrato alcaloídico das folhas - UIFALC	1000; 500 e 250
Óleo essencial das folhas - UIFOE	1000; 500 e 250
Extrato etanólico do cerne - UlcSolDCM	1000; 500 e 250

Após o 6^a dia, as placas de Petri foram retiradas da incubadora e mantidas por 48 horas em freezer, para interromper o crescimento. As placas foram descongeladas e o comprimento dos hipocótilos e das radículas foram medidos (TABELA 16).

TABELA 16. Cronograma do ensaio de avaliação alelopática.

Procedimento realizado	Dias
Preparo do teste	1º dia
Retirada das placas de Petri da incubadora	6º dia
Leitura do comprimento das radículas	8º dia
Leitura do comprimento dos hipocótilos	8º dia

3.7 – Dados Físico-químicos

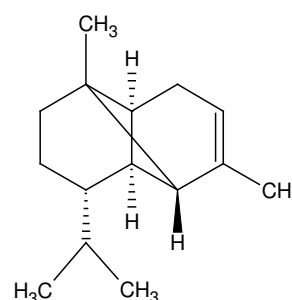
3.7.1 – (–)-α -copaeno (1)

Fórmula molecular: C₁₅H₂₄

Peso molecular: 204 u.m.a.

Estado físico: óleo incolor

Solubilidade: CHCl₃, DCM, Hx



Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

$[\alpha]_D^{20}$: -8,8 (CHCl_3 , c: 0,00125); literatura - $[\alpha]_D^{30}$: -6,53 (CHCl_3 , c: 2,3%) [KAPADIA, *et al.*, 1987].

IV/FT: 3026 cm^{-1} ; 2914 cm^{-1} ; 1465 cm^{-1} ; 1369 cm^{-1} ; 784 cm^{-1} .

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ): 5,20 (*sl*, H_3); 2,18 (*tl*, H_2); 2,09 (*m*, H_7); 1,66 (*m*, H_6); 1,66 (*s*, H_{15}); 1,65 (*m*, H_{11}); 1,54 (*m*, H_8); 1,53 (*m*, H_9); 1,52 (*m*, H_1); 1,51 (*d*, J 4,6 Hz, H_5); 0,85 (*d*, J 4,7 Hz, H_{12}); 0,84 (*d*, J 4,7 Hz, H_{13}); 0,78 (*s*, H_{14}).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , δ): 143,9 (C_4); 116,1 (C_3); 54,3 (C_5); 44,8 (C_1); 44,3 (C_6); 39,4 (C_{10}); 36,9 (C_7); 36,3 (C_9); 32,2 (C_{11}); 30,1 (C_2); 23,1 (C_{15}); 21,8 (C_8); 19,9 (C_{14}); 19,7 (C_{13}); 19,3 (C_{12}).

3.7.2 – (+)-biciclogermacreno (2)

Fórmula molecular: $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$

Peso molecular: 204 u.m.a.

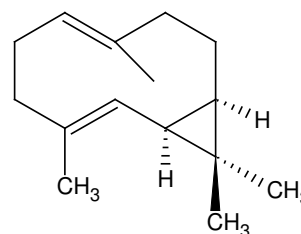
Estado físico: óleo incolor

Solubilidade: CHCl_3 , DCM

$[\alpha]_D^{20}$: +19,2 (CHCl_3 , c: 0,00234); literatura - $[\alpha]_D^{21}$: + 61,0 (acetona, c: 0,0015) [NISHIMURA, *et al.*, 1969].

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ): 4,82 (*dd*, J 11,1 e 5,0 Hz, H_1); 4,34 (*d*, J 11,5 Hz, H_5); 2,36 (*d*, J 12,2 Hz, H_3); 2,21 (*m*, H_9); 2,05 (*d*, J 12,2 Hz, H_2); 1,87 (*m*, H_8); 1,64 (*s*, H_{14}); 1,46 (*s*, H_{15}); 1,23 (*m*, H_6); 1,06 (*s*, H_{13}); 1,00 (*s*, H_{12}); 0,56 (*m*, H_7).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , δ): 140,8 (C_{10}); 127,9 (C_4); 126,4 (C_5); 124,8 (C_1); 41,1 (C_3); 37,2 (C_9); 30,0 (C_7); 29,2 (C_{12}); 26,9 (C_6); 26,8 (C_8); 26,0 (C_2); 20,8 (C_{15}); 19,8 (C_{11}); 16,5 (C_{14}); 15,4 (C_{13}).

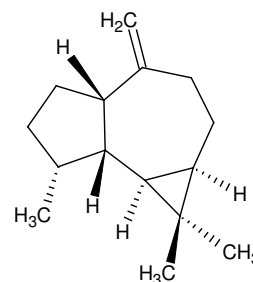


3.7.3 – Alloaromadendreno (3)

Fórmula molecular: C₁₅H₂₄**Peso molecular:** 204 u.m.a.**Estado físico:** óleo incolor**Solubilidade:** CHCl₃, DCM**IV/FT:** 2925 cm⁻¹; 2867 cm⁻¹; 1459 cm⁻¹; 885 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 4,71 (*s*, H_{14a}); 4,69 (*s*, H_{14b}); 2,66 (*m*, H₁); 2,31 (*m*, H_{9a}); 2,29 (*m*, H_{9b}); 2,06 (*m*, H₄); 1,86 (*m*, H_{2a}); 1,86 (*m*, H₅); 1,82 (*m*, H_{8a}); 1,71 (*m*, H_{2b}); 1,71 (*m*, H_{3a}); 1,30 (*m*, H_{8b}); 1,31 (*m*, H_{3b}); 0,99 (*s*, H₁₃); 0,94 (*s*, H₁₂); 0,91 (*d*, *J* 6,8 Hz, H₁₅); 0,54 (*ddd*, *J* 6,7; 10,1; 11,8 Hz, H₇); 0,23 (*dd*, *J* 9,9; 10,6 Hz, H₆).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ): 152,5 (C₁₀); 109,6 (C₁₄); 50,8 (C₁); 42,1 (C₅); 37,8 (C₄); 35,7 (C₉); 31,2 (C₃); 28,6 (C₁₃); 28,2 (C₂); 24,8 (C₇); 23,5 (C₆); 22,1 (C₈); 17,1 (C₁₁); 16,4 (C₁₅); 15,8 (C₁₂).

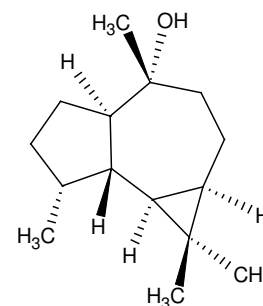


3.7.4 – (–)-globulol (4)

Fórmula molecular: C₁₅H₂₆O**Peso molecular:** 222 u.m.a.**Estado físico:** óleo amarelado**Solubilidade:** CHCl₃, DCM**[α]_D²⁰:** - 5,52 (CHCl₃, c: 0,0085).**IV/FT:** 3404 cm⁻¹; 3000 cm⁻¹; 2954 cm⁻¹; 2867 cm⁻¹; 1461 cm⁻¹; 1288 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 1,89 (*m*, H₁); 1,24 (*m*, H₂); 1,09 (*s*, H₁₄); 1,00 (*s*, H₁₂); 0,96 (*s*, H₁₃); 0,91 (*s*, H₁₅); 0,54 (*m*, H₇); 0,51 (*m*, H₆).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ): 75,2 (C₁₀); 57,0 (C₁); 44,6 (C₉); 39,6 (C₅); 36,4 (C₄); 34,6 (C₃); 28,6 (C₁₄); 28,3 (C₆); 26,7 (C₇); 26,1 (C₂); 20,2 (C₁₅); 20,1 (C₈); 19,3 (C₁₁); 16,0 (C₁₂); 15,8 (C₁₃).



3.7.5 – (+)-espatulenol (5)

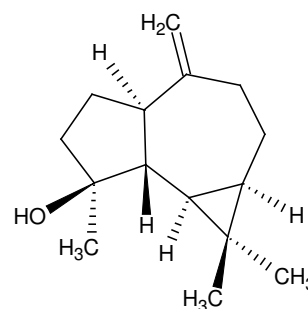
Fórmula molecular: C₁₅H₂₄O**Peso molecular:** 220 u.m.a.**Estado físico:** sólido amorfo branco**Solubilidade:** CHCl₃, DCM

[α]_D²⁰: +4,6 (CHCl₃, c: 0,0095), literatura - **[α]_D²⁰:** +5,3 (CHCl₃, c: 0,0085) [IWABUCHI, *et al.*, 1987].

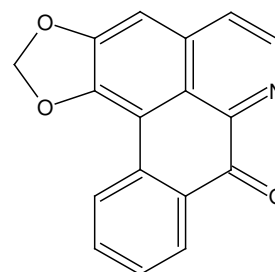
IV/FT: 3417 cm⁻¹; 3076cm⁻¹; 2954 cm⁻¹; 2862 cm⁻¹; 1454 cm⁻¹; 1288 cm⁻¹, 887 cm⁻¹; 774 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 4,68 (*s*, H_{14a}); 4,65 (*s*, H_{14b}); 1,27 (*s*, H₁₅); 1,04 (*s*, H₁₃); 1,03 (*s*, H₁₂); 0,69 (*m*, H₇); 0,45 (*dd*, *J* 9,7; 10,5 Hz, H₆).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ): 153,4 (C₁₀); 106,2 (C₁₄); 80,9 (C₄); 54,3 (C₅); 53,3 (C₁); 41,7 (C₃); 38,8 (C₉); 29,9 (C₆); 28,6 (C₁₃); 27,5 (C₇); 26,7 (C₂); 26,0 (C₁₅); 24,7 (C₈); 20,7 (C₁₁); 16,3 (C₁₂).



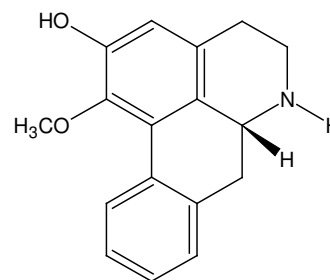
3.7.6 – Liriodenina (6)

Fórmula molecular: C₁₇H₉NO₃**Peso molecular:** 275 u.m.a.**Estado físico:** cristais amarelos**Solubilidade:** CHCl₃ com gotas de MeOH

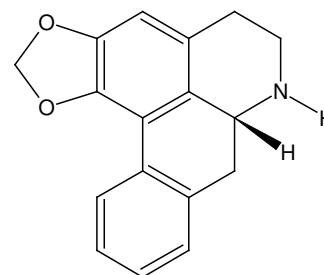
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 8,87 (*d*, *J* 5,2 Hz, H₅); 8,61 (*dl*, *J* 8,1 Hz, H₁₁); 8,55 (*dl*, *J* 8,1 Hz, H₈); 7,76 (*d*, *J* 5,2 Hz, H₄); 7,75 (*m*, H₁₀); 7,56 (*tl*, *J* 8,1 e 7,0 Hz, H₉); 7,18 (*s*, H₃); 6,36 (*s*, OCH₂O).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ): 182,2 (C₇); 151,9 (C_{6a}); 148,0 (C₂); 145,0 (C₁); 144,5 (C₅); 135,9 (C_{11a}); 133,9 (C₁₀); 132,8 (C_{3a}); 131,2 (C_{7a}); 128,8 (C₁₁); 128,6 (C₉); 127,3 (C₈); 124,3 (C_{1b}); 123,2 (C₄); 108,1 (C_{1a}); 103,2 (C₃); 102,5 (OCH₂O).

3.7.8 – (–)-asimilobina (7)

Fórmula molecular: C₁₇H₁₇NO₂**Peso molecular:** 267 u.m.a.**Estado físico:** sólido amorfo marrom escuro**Solubilidade:** CHCl₃, DCM**IV/FT:** 3415 cm⁻¹; 2925 cm⁻¹; 2862 cm⁻¹; 1662 cm⁻¹; 1593 cm⁻¹; 752 cm⁻¹**[α]_D²⁰:** - 74,5 (MeOH, c: 0,00106), literatura - **[α]_D²⁴:** -152,5 (CHCl₃, c: 0,23) [HSIEH, *et al.*, 1999].**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ):** 8,28 (*d*, *J* 7,9 Hz, H₁₁); 7,25-7,30 (*m*, H₈, H₉, H₁₀); 6,70 (*s*, H₃); 3,87 (*d*, *J* 13,0 Hz, H₅); 3,58 (*s*, OCH₃); 3,47 (*sl*, H_{6a}); 2,74 (*d*, *J* 13,0 Hz, H₄).**RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ):** 149,0 (C₂); 143,3 (C₁); 134,7 (C_{7a}); 131,5 (C_{11a}); 128,5 (C_{1b}); 128,2 (C₈); 127,9 (C₉); 127,5 (C₁₀); 127,4 (C₁₁); 125,8 (C_{3a}); 125,6 (C_{1a}); 114,5 (C₃); 60,4 (OCH₃); 53,3 (C_{6a}); 42,4 (C₅); 35,7 (C₇); 27,2 (C₄).

3.7.8 – (–)-anonáina (8)

Fórmula molecular: C₁₇H₁₅NO₂**Peso molecular:** 265 u.m.a.**Estado físico:** sólido amorfo amarelo**Solubilidade:** CHCl₃, MeOH**IV/FT:** 3388 cm⁻¹; 2921 cm⁻¹; 2850 cm⁻¹; 1594 cm⁻¹; 1423 cm⁻¹; 775 cm⁻¹**[α]_D²⁰:** - 34,0 (CHCl₃, c: 0,0010), literatura - **[α]_D²⁴:** -68,0 (CHCl₃, c: 0,23) [HSIEH, *et al.*, 1999].**RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, δ):** 7,95 (*d*, *J* 7,3 Hz, H₁₁); 7,14-7,16 (*m*, H₈, H₉, H₁₀); 6,48 (*s*, H₃); 5,96 (*sl*, OCH₂O) e 5,81 (*sl*, OCH₂O); 3,77 (*dd*, *J* 4,9; 13,5 Hz, H_{6a}); 3,21 (*m*, H₅); 2,86 (*d*, *J* 6,9, H₄); 2,66 (*d*, *J* 13,5 Hz, H_{7a}); 2,56 (*d*, *J* 13,5 Hz, H_{7b}).

RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD , δ): 148,5 (C_2); 143,9 (C_1); 136,0 (C_{7a}); 132,2 (C_{11a}); 129,0 (C_{1b}); 128,6 (C_8); 128,6 (C_{3a}); 128,1 (C_9); 128,0 (C_{10}); 127,6 (C_{11}); 117,2 (C_{1a}); 108,8 (C_3); 102,0 (OCH_2O); 54,5 (C_{6a}); 43,9 (C_5); 37,2 (C_7); 29,3 (C_4).

3.7.9 – (3*S*, 5*S*, 8*R*)-3,5-diidróxi-megastigma-6,7-diene-9-ona (9)

Fórmula molecular: $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_3$

Peso molecular: 224 u.m.a.

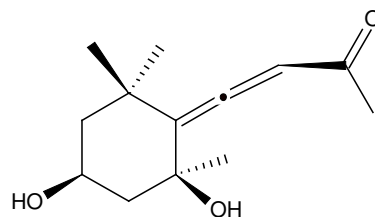
Estado físico: sólido amorfo amarelo escuro

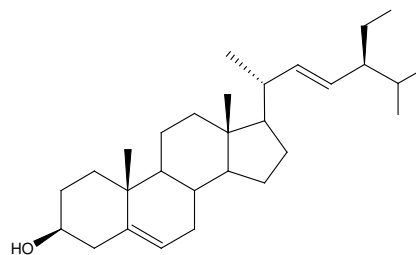
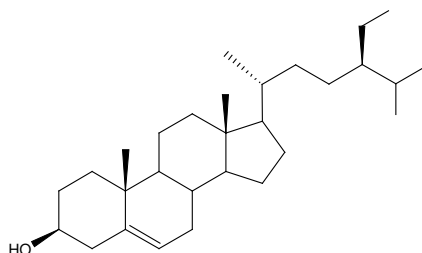
Solubilidade: CHCl_3 , DCM.

ESIMS (ESI: +) m/z (int. rel.): 247,13 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100); 225,15 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (54); 207,14 (33); 186,15 (16); 157,08 (9); 123,11 (5).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ): 5,82 (*s*, H_8); 4,31 (*tt*, J 12,0; 11,4; 4,1 e 4,1 Hz, H_3); 2,27 (*ddd*, J 13,1; 4,1; 2,1 Hz, $\text{H}_{4\text{eq}}$); 2,16 (*s*, H_{10}); 1,96 (*ddd*, J 12,6; 4,1; 2,1 Hz, $\text{H}_{2\text{eq}}$); 1,42 (*dl*, J 13,1 Hz, $\text{H}_{4\text{ax}}$); 1,40 (*s*, H_{13}); 1,36 (*s*, H_{12}); 1,32 (*dl*, J 12,6 Hz, $\text{H}_{2\text{ax}}$); 1,13 (*s*, H_{11}).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , δ): 209,5 (C_9); 198,1 (C_7); 118,7 (C_6); 100,7 (C_8); 72,3 (C_5); 63,8 (C_3); 48,9 (C_2); 48,7 (C_4); 36,1 (C_1); 31,6 (C_{11}); 30,9 (C_{13}); 29,0 (C_{12}); 26,3 (C_{10}).



3.7.10 – β -sitosterol (10)* e Estigmasterol (11)

Fórmula molecular: $C_{29}H_{50}O$ (10)* e $C_{29}H_{48}O$ (11)

Peso molecular: 414 u.m.a. (10)* e 412 u.m.a (11)

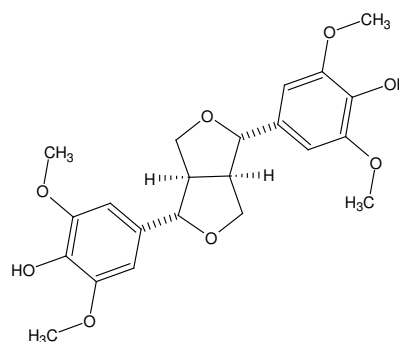
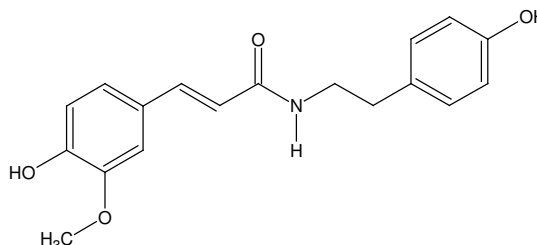
Estado físico: sólido branco cristalino

Solubilidade: $CHCl_3$, DCM.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$, δ): 5,34 (*d*, *J* 4,1Hz, H_6)*; 5,34 (*d*, *J* 4,1Hz, H_6); 5,14 (*dd*, *J* 8,4 e 15,2 Hz, H_{22}); 5,00 (*dd*, *J* 8,1 e 15,3 Hz, H_{23}); 3,51 (*m*, H_3)*; 3,51 (*m*, H_3).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, δ): 140,6 (C_5)*; 140,6 (C_5); 138,3 (C_{22}); 129,2 (C_{23}); 121,7 (C_6)*; 121,7 (C_6); 71,8 (C_3)*; 71,4 (C_3); 56,8 (C_{14}); 56,7 (C_{14})*; 56,0 (C_{17})*; 55,9 (C_{17}); 51,2 (C_{24}); 50,1 (C_9)*; 50,1 (C_9); 45,8(C_{24})*; 42,2 (C_4)*; 42,2 (C_4); 42,2 (C_{13})*; 42,2 (C_{13}); 40,4 (C_{20}); 39,7 (C_{12})*; 39,6 (C_{12}); 37,2 (C_1)*; 37,2 (C_1); 36,4 (C_{10})*; 36,4 (C_{10}); 36,1 (C_{20})*; 33,9 (C_{22})*; 31,8 (C_{25}); 31,8 (C_7)*; 31,8 (C_7); 31,8 (C_8)*; 31,8 (C_8); 31,5 (C_2)*; 31,5 (C_2); 29,3 (C_{25})*; 29,0 (C_{16}); 28,2 (C_{16})*; 26,0 (C_{23})*; 25,4 (C_{28}); 24,3 (C_{15}); 24,2 (C_{15})*; 23,0 (C_{28})*; 21,2 (C_{21}); 21,0 (C_{11})*; 21,0 (C_{11}); 19,8 (C_{27})*; 19,3 (C_{19})*; 19,3 (C_{19}); 19,0 (C_{26})*; 19,0 (C_{26}); 18,9 (C_{21})*; 18,7 (C_{27}); 12,2 (C_{29}); 12,0 (C_{18}); 11,9 (C_{29})*; 11,8 (C_{18})*.

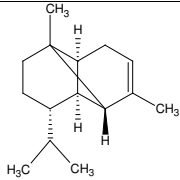
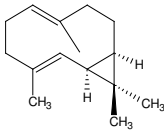
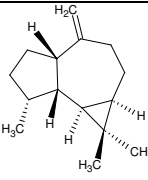
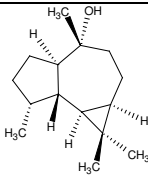
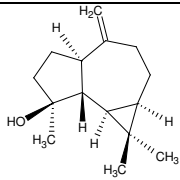
3.7.11 – (–)-siringaresinol (12)

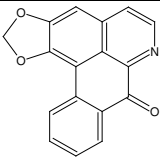
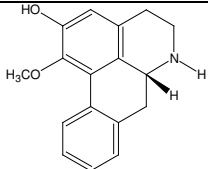
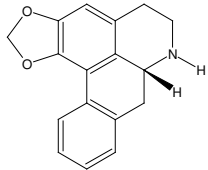
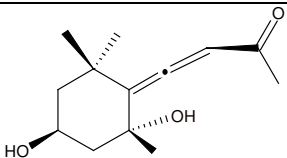
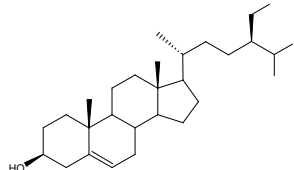
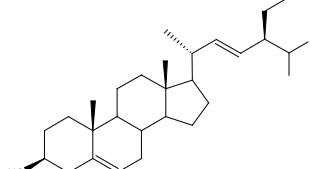
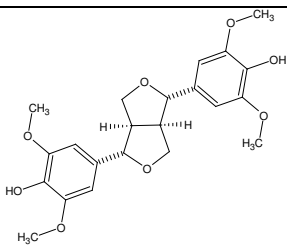
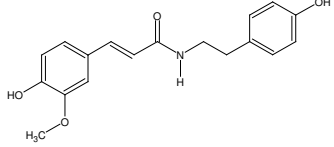
Fórmula molecular: C₂₂H₂₆O₈**Peso molecular:** 418 u.m.a.**Estado físico:** sólido amorfo amarelo**Solubilidade:** MeOH**IV/FT:** 3413cm⁻¹; 2933 cm⁻¹; 1729 cm⁻¹; 1614 cm⁻¹; 1515 cm⁻¹; 827 cm⁻¹**[α]_D²⁰:** - 34,0 (MeOH, c: 0,00152), literatura - **[α]_D²⁰:** -50,0 (CHCl₃, c: 0,32) [CHIBA, *et al.*, 2002].**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃ e gotas de CD₃OD, δ):** 6,52 (*s*, H₂, H₆ e H_{2'}, H_{6'}); 4,65 (*d*, *J* 5,0 Hz, H₇ e H_{7'}); 4,22 (*m*, H₉ e H_{9'}); 3,82 (*m*, H₉ e H_{9'}) 3,83 (*s*, 3-OCH₃, 5-OCH₃ e 3'-OCH₃, 5'-OCH₃); 3,80 (*m*, H₈ e H_{8'}).**RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃ e gotas de CD₃OD, δ):** 147,2 (C₃, C₅ e C_{3'}, C_{5'}); 134,3 (C₄ e C_{4'}); 131,7 (C₁ e C_{1'}); 102,7 (C₂, C₆ e C_{2'}, C_{6'}); 86,0 (C₇ e C_{7'}); 71,6 (C₉ e C_{9'}); 56,2 (3-OCH₃, 5-OCH₃ e 3'-OCH₃, 5'-OCH₃); 54,1 (C₈ e C_{8'}).3.7.12 – *N-trans*-feruloiltiramina (13)**Fórmula molecular:** C₁₈H₁₉NO₄**Peso molecular:** 313 u.m.a.**Estado físico:** sólido amorfo amarelo escuro**Solubilidade:** CHCl₃ com gotas de MeOH**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃ e gotas de CD₃OD, δ):** 7,42 (*d*, *J* 15,4 Hz, H₇); 6,97 (*d*, *J* 7,7, H_{2'} e H_{6'}); 6,94 (*d*, *J* 8,9 Hz, H₆); 6,92 (*sl*, H₂); 6,69 (*d*, *J* 7,7 Hz, H_{3'} e H_{5'}); 6,78 (*d*, *J* 8,3 Hz, H₅); 6,18 (*d*, *J* 15,4 Hz, H₈); 3,82 (*s*, 3-CH₃); 3,49 (*t*, H_{8'}); 2,71 (*t*, H_{7'}).**RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃ e gotas de CD₃OD, δ):** 166,9 (C₉); 155,2 (C_{4'}); 147,6 (C₄); 147,0 (C₃); 141,2 (C₇); 129,7 (C_{2'} e C_{6'}); 129,6 (C_{1'}); 126,9 (C₁); 122,0 (C₆); 117,5 (C₈); 115,3 (C_{3'} e C_{5'}); 114,9 (C₅); 110,0 (C₂); 55,7 (3-OCH₃); 40,9 (C_{8'}); 34,4 (C_{7'}).

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne) de *Unonopsis lindmanii* conduziu ao isolamento e identificação de quinze compostos e à obtenção de dois produtos por modificação estrutural, os quais são sumarizados nas tabelas abaixo (TABELAS 17 e 18):

TABELA 17. Compostos isolados de *Unonopsis lindmanii*.

COMPOSTO	ESTRUTURA	ORIGEM	CLASSE
(-)- α -copaeno (1)		Folhas – Óleo essencial	Sesquiterpeno copaano
(+)- biciclogermacreno (2)		Folhas – Óleo essencial	Sesquiterpeno biciclogermacrano
Alloaromadendreno (3)		Folhas – Óleo essencial	Sesquiterpeno aromadendrano
(-)-globulol (4)		Folhas – Óleo essencial	Sesquiterpeno aromadendrano
(+)-espatulenol (5)		Folhas – Óleo essencial	Sesquiterpeno aromadendrano

Liriodenina (6)		Folhas - extrato alcaloídico	Alcalóide oxaporfínico
(-)-asimilobina (7)		Folhas - extrato alcaloídico e Cerne - extrato etanólico	Alcalóide aporfínico
(-)-anonaína (8)		Cerne – extrato etanólico	Alcalóide aporfínico
(3<i>S</i>, 5<i>S</i>, 8<i>R</i>)-3,5-diidroxi-megastigma-6,7-diene-9-ona (9)		Folhas - extrato alcaloídico	Megastigmano
β-sitosterol (10)		Cerne – extrato etanólico	Esteróide
Estigmasterol (11)		Cerne – extrato etanólico	Esteróide
(-)-siringaresinol (12)		Cerne – extrato etanólico	Lignana furofurânica
<i>N-trans</i>-feruloiltiramina (13)		Cerne – extrato etanólico	Derivado do ácido cinâmico

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

Estudos anteriormente realizados com outras espécies de *Unonopsis* descrevem o isolamento de alcalóides (aporfínicos, oxaporfínicos, fenantrênicos e azafluorenonas), um triterpeno e dois esteróides, constando apenas um estudo sobre o óleo essencial, de *U. guatterioides*, através de cromatografia gasosa (vide: **Introdução - seção 1.3**, página 9). No entanto, observa-se em *Unonopsis lindmanii* uma variedade de classes de compostos, que revelam a riqueza de metabólitos secundários, como esperado para as espécies da família Annonaceae.

Os extratos obtidos de *U. lindmanii* foram testados frente ao ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina*, onde todos se apresentaram ativos, sendo o óleo essencial ULFOE-1 o de maior expressividade, com uma DL₅₀ de 17,9 µg/mL.

Estes mesmos extratos também apresentaram atividade alelopática sobre sementes de *Lactuca sativa* e *Allium cepa*, sendo o óleo essencial das folhas o mais ativo.

4.1 – Análise e comparação dos óleos essenciais das folhas de *Unonopsis lindmanii*.

Os constituintes voláteis, analisados em CG-EM, puderam ser identificados através da comparação de seus espectros de massas com o banco de dados do aparelho cromatográfico e dos índices de retenção de Kovats (IK), sendo que para a determinação dos IK foi necessária a injeção de hidrocarbonetos *n*-alcanos (C₉-C₂₂) conforme descrito por Adams [ADAMS, 1995].

4.1.1 – Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) do óleo essencial das folhas de *Unonopsis lindmanii* coletadas no Pantanal-MS (UIFOE-1).

Através da análise do óleo essencial obtido da primeira coleta das folhas de *U. lindmanii* (ULFOE-1), realizada em março de 2005 no Pantanal-MS, observou-se predominância de três sesquiterpenos, sendo eles o α -copaeno, o trans-cariofileno e o

biciclogermacreno todos com teor de 15,7%, seguidos do α -humuleno com teor de 9,0%, *alloaromadendreno* com 8,4% e do (+)-espatulenol com 7,3%.

Os compostos que se apresentaram com teor abaixo de 0,5% foram desconsiderados.

TABELA 19. Principais constituintes do óleo essencial das folhas de *U. lindmanii* coletadas no Pantanal-MS (ULFOE-1), determinados por CG-EM.

Pico	Tr (min)	Teor (%)	Composto	IK* (lit.)	IK (calc.)
1	29,84	15,7	α -copaeno	1376	1377
2	30,50	6,2	β -elemeno	1391	1391
3	31,99	15,7	trans-cariofileno	1418	1419
4	33,45	9,0	α -humuleno	1454	1455
5	33,77	8,4	alloaromadendreno	1461	1460
6	34,32	1,1	γ -muuroleno	1477	1480
7	34,65	6,2	germacreno-d	1485	1485
8	35,45	15,7	biciclogermacreno	1502	1500
9	35,65	1,2	δ -guaieno	1509	1512
10	36,04	0,6	γ -cadineno	1518	1514
11	36,30	3,9	δ -cadineno	1524	1523
12	37,95	3,4	germacreno B	1563	1561
13	38,80	7,3	(+)-espatulenol	1576	1578
14	39,10	3,4	(-)-óxido de cariofileno	1581	1583
15	41,14	1,1	espatulenol	1637	1640
16	41,80	0,6	α -cadinol	1653	1654

Tr: tempo de retenção (minutos); IK* (lit.): índice de Kovats encontrado na literatura; IK (calc.): índice de Kovats calculado.

*Referência: [ADAMS, 1995].

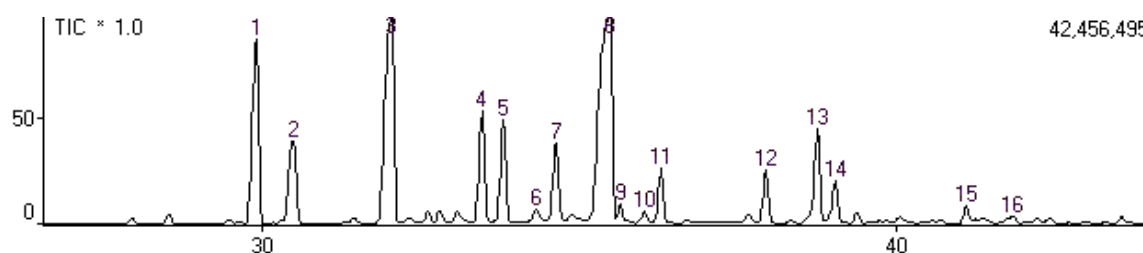


FIGURA 2. Cromatograma obtido da análise por CG-EM óleo essencial das folhas de *U. lindmanii* coletadas no Pantanal-MS (UIFOE-1).

4.1.2 – Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) do óleo essencial das folhas de *Unonopsis lindmanii* coletadas em Rochedo-MS (UIFOE-2).

O óleo essencial obtido da segunda coleta das folhas de *U. lindmanii* (ULFOE-2), realizada em junho de 2006 em Rochedo-MS, apresentou como constituintes majoritários o (+)-espatulenol com teor de 26,1%, (-)-óxido de cariofileno com 22,5%, benzoato de 3-hexen-1-ol com 7,0%, α -copaeno com 6,6%, (-)-globulol com 5,7% e o alloanomadendreno com 4,9 %.

Os compostos que se apresentavam com teor abaixo de 0,5% foram desconsiderados.

TABELA 20. Principais constituintes do óleo essencial das folhas de *U. lindmanii* coletadas em Rochedo-MS (ULFOE-2), determinados por CG-EM.

Pico	Tr (min)	Teor (%)	Composto	IK* (lit.)	IK (calc.)
1	21,91	6,66	α -copaeno	1376	1371
2	22,23	0,50	β -bourboneno	1384	1379
3	22,43	0,86	β -cubebeno	1390	1384
4	22,52	2,12	β -elemeno	1391	1386
5	23,71	2,96	trans-cariofileno	1418	1414
6	24,48	1,08	aromadendreno	1439	1433
7	25,19	1,20	α -humuleno	1454	1450
8	25,35	4,99	alloaromadendreno	1461	1454
9	29,94	7,05	benzoato de 3-hexen-1-ol	1570	1568
10	30,10	26,19	(+)-espatulenol	1576	1572
11	30,24	22,54	(-)-óxido de cariofileno	1581	1576
12	30,41	5,79	(-)-globulol	1583	1580

Tr: tempo de retenção (minutos); IK* (lit.): índice de Kovats encontrado na literatura; IK (calc.): índice de Kovats calculado.

*Referência: [ADAMS, 1995].

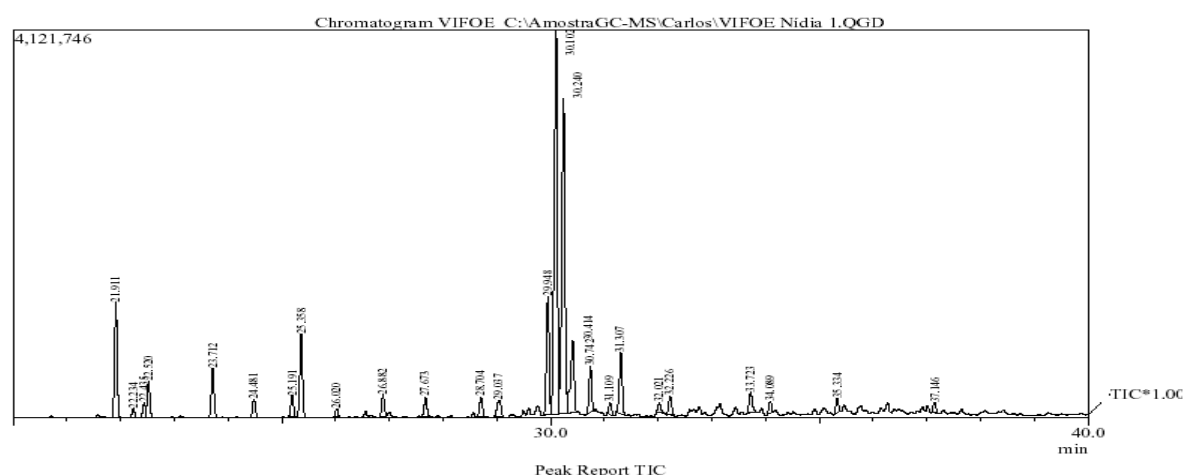


FIGURA 3. Cromatograma obtido da análise por CG-EM do óleo essencial de *U. lindmanii* coletado em Rochedo-MS (ULFOE-2).

Observou-se diferenças entre a composição dos dois óleos essenciais analisados e principalmente, no teor dos sesquiterpenos encontrados. Entre as diferenças encontradas, destaca-se a porcentagem de teor do α -copaeno encontrada no óleo ULFOE-1, sendo que este sesquiterpeno chega a perfazer 15,7% do total, enquanto se observa um teor de α -copaeno de apenas 6,6% em ULFOE-2. Ressalta-se também a presença do biciclogermacreno em ULFOE-1, como um dos produtos majoritários (teor de 15,7%), sendo que em ULFOE-2 nota-se a inexistência do biciclogermacreno em sua composição. Além disso, os constituintes majoritários dos óleos ULFOE-1 e ULFOE-2 diferiram consideravelmente: em ULFOE-1, os constituintes majoritários foram o α -copaeno (15,7%), trans-cariofileno (15,7%) e o biciclogermacreno (15,7%); e em ULFOE-2, os constituintes de maior teor foram o (+)-espatulenol (26,1%), (-)-óxido de cariofileno (22,5%) e o benzoato de 3-hexen-1-ol (7,0%). As demais variações entre as composições dos óleos essenciais ULFOE-1 e ULFOE-2 podem ser conferidas nas tabelas 19 e 20.

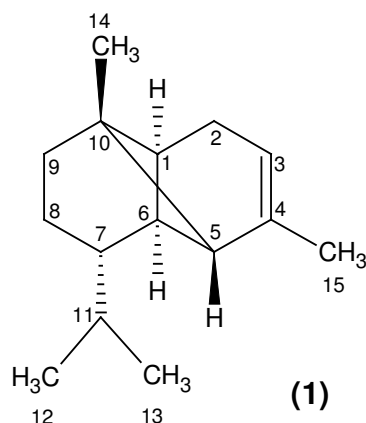
Essas variações podem ter ocorrido devido aos diferentes locais de coleta, bem como às épocas do ano distintas, além de fatores climáticos. Esses fatores podem influenciar consideravelmente no teor e na composição do óleo essencial entre indivíduos da mesma espécie; no entanto, não se descarta a hipótese de esta variação se dever a existência de diferenças genéticas entre as populações analisadas. Estes resultados indicam a necessidade de novos estudos sobre a variação na composição observada nos óleos essenciais de *U. lindmanii*.

4.2 – SESQUITERPENOS do Óleo Essencial das folhas de *U. lindmanii* (ULFOE-1).

Para identificação espectroscópica dos sesquiterpenos levou-se em consideração o número de metilas, presença de sinais característicos e a presença de insaturações, respeitando a rota biossintética e tentando visualizar as unidades isoprênicas que os constituem.

As estruturas dos sesquiterpenos foram numeradas de acordo com o proposto no dicionário de sesquiterpenos [CONNOLLY & HILL, 1991].

4.2.1 – (–)- α -copaeno (1)



O composto **1** apresentou-se como um óleo incolor odorífico, solúvel em CHCl_3 e com $[\alpha]_D^{20}$: - 8,8 (CHCl_3 , c: 0,00125). Foi obtido através de cromatografia em coluna de sílica e quando submetido a CCDS (eluente: éter de petróleo; revelador: H_2SO_4 /vanilina e aquecimento), apresentou um único ponto de coloração cor-de-rosa com R_f 0,75. Este composto é um dos componentes majoritários do óleo essencial de *Unonopsis lindmanii*.

A análise do espectro de IV/FT de **1** (ESPECTRO 1) revelou a presença de uma pequena banda em 3026 cm^{-1} relativa a estiramento C-H olefínico, uma banda intensa em 2923 cm^{-1} relativa ao estiramento C-H alifático e uma banda em 784 cm^{-1} relativa à deformação de C-H olefínico.

No espectro de RMN ^1H de **1** (ESPECTRO 2) foram observados sinais relativos a hidrogênios metílicos: um singleto em δ_H 0,78, correlacionado a partir do gráfico de contornos HMQC ao H-14, e outros dois sinais em δ_H 0,84 e δ_H 0,85 (ambos com J 5,1 Hz) que se apresentaram como dubletos e foram atribuídos às metilas do grupo *gem*-dimetil H-12 e H-13. Também foi visualizado um singleto em δ_H 1,66 relativo à metila olefínica H-15; o sinal em δ_H 2,18 (*tl*, H-2) foi atribuído aos hidrogênios metilênicos vizinhos à dupla

ligação e um singlete largo a δ_H 5,20 (H-3), atribuído a um hidrogênio olefínico de uma dupla ligação trissubstituída, correlacionado a partir do HMQC (ESPECTROS 7-10) ao C-3. Os demais sinais dos hidrogênios estão descritos na tabela 21.

No espectro de RMN ^{13}C (ESPECTRO 3) resalta-se a presença de 15 sinais, indicativo de se tratar de um sesquiterpeno. Destacam-se os sinais observados em δ_c 116,1 (C-3) e δ_c 143,9 (C-4), relativos aos carbonos olefínicos, e o sinal em δ_c 23,1 (C-15), relativo à metila ligada ao carbono olefínico. A análise do espectro de DEPT 135° (espectro 4) revelou que o composto possui quatro carbonos metílicos, três metilênicos, seis metínicos e dois carbonos não ligados a hidrogênio.

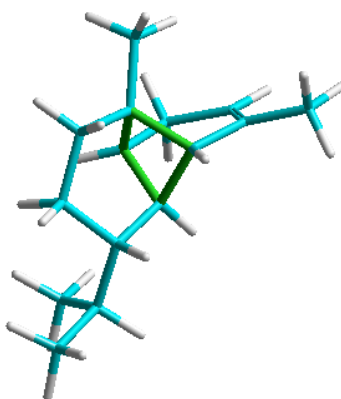


FIGURA 4. Imagem tridimensional do composto **1**. Em verde, destaque do anel de quatro membros na estrutura.

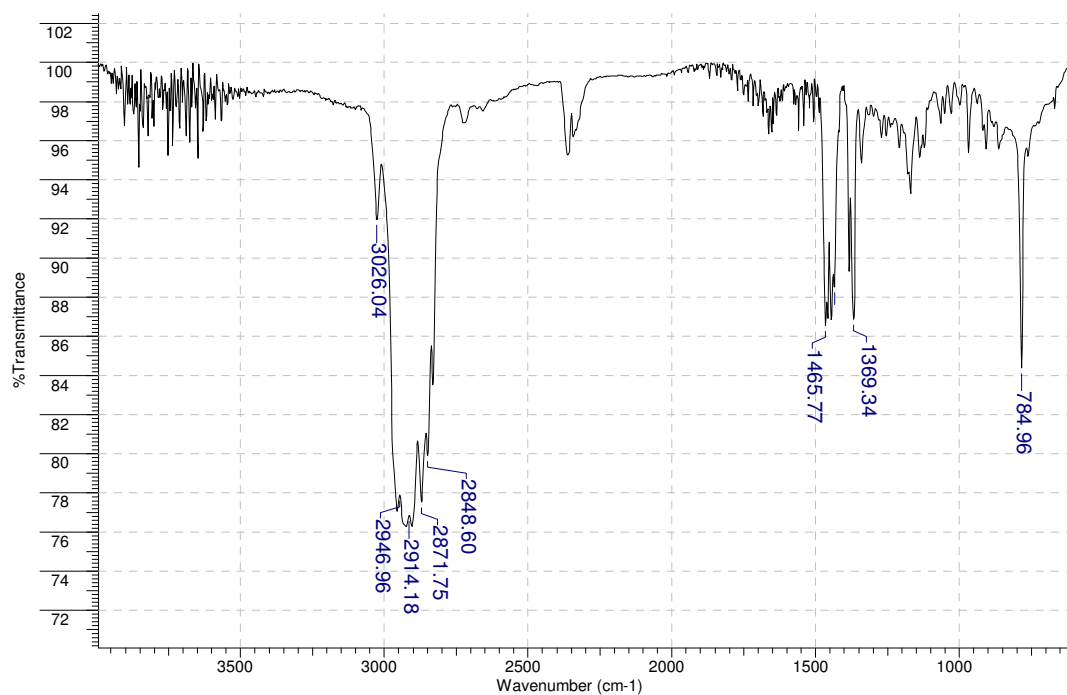
TABELA 21. Dados de RMN ^1H , ^{13}C e DEPT 135° de **1** (CDCl_3)

H e C	$\delta ^1\text{H}$ [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	$\delta ^{13}\text{C}$	DEPT 135°
1	1,52 [♦] <i>m</i>	44,7	CH
2	2,18 <i>tl</i>	30,1	CH ₂
3	5,20 <i>sl</i>	116,1	CH
4	-----	143,9	C
5	1,51 (<i>d</i> , 4,6) [♦]	54,2	CH
6	1,66* <i>m</i>	44,3	CH
7	2,09 <i>m</i>	36,9	CH
8	1,54 [♦] <i>m</i>	21,8	CH ₂
9	1,53 [♦] <i>m</i>	36,2	CH ₂
10	-----	39,4	C
11	1,65* <i>m</i>	32,2	CH
12	0,85 (<i>d</i> , 4,7)	19,3	CH ₃
13	0,84 (<i>d</i> , 4,7)	19,7	CH ₃
14	0,78 <i>s</i>	19,9	CH ₃
15	1,66* <i>s</i>	23,1	CH ₃

* sinais que aparecem envelopados na região entre δ_{H} 1,65-1,67 no espectro de RMN ^1H ;

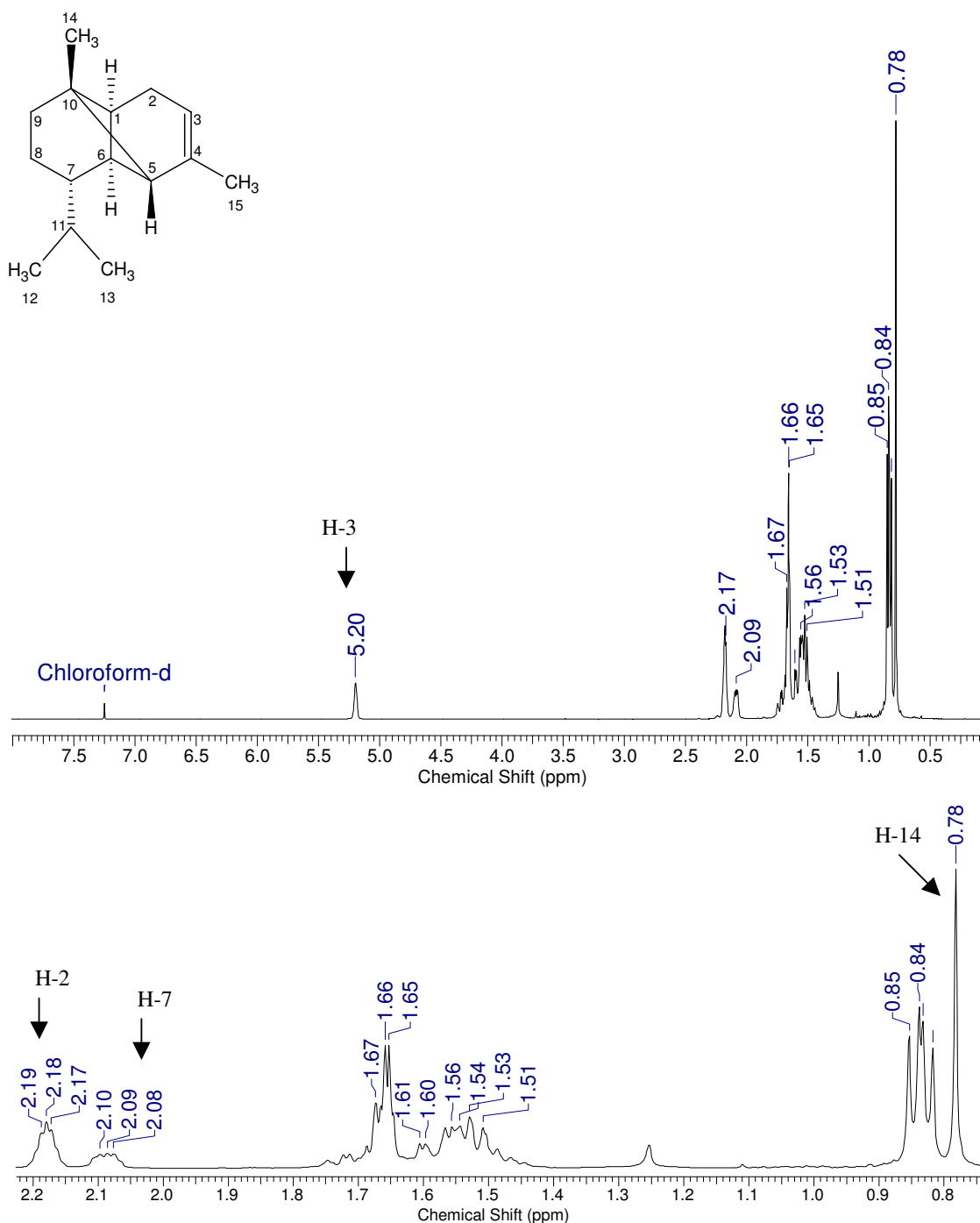
♦ sinais que aparecem envelopados na região entre δ_{H} 1,51-1,56 no espectro de RMN ^1H ; *m* = multiplicidade dos sinais; *J* = constante de acoplamento (em Hz).

File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\NIDIA\MEUS DOCUMENTOS\ESPECTROS-FID\INFRA VERMELHO\ULFOE5-6.PRN		
Date	28 Feb 2007 16:31:12	Technique	Infrared
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	Arbitrary
Points Count	1764	Data Spacing	1.9286
		Spectral Region	IR
		Spectrum Range	599.8101 - 4000.0000



ESPECTRO 1. Espectro de IV/FT de **1**.

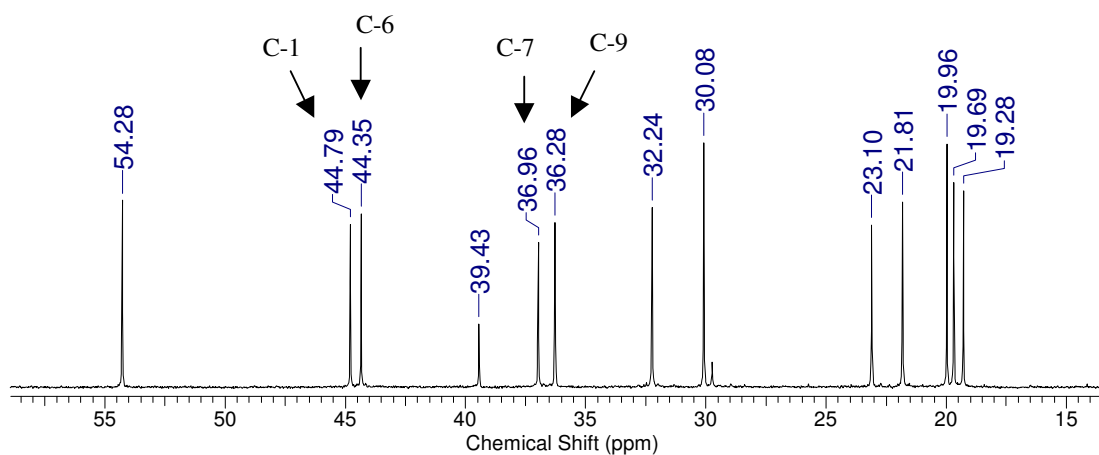
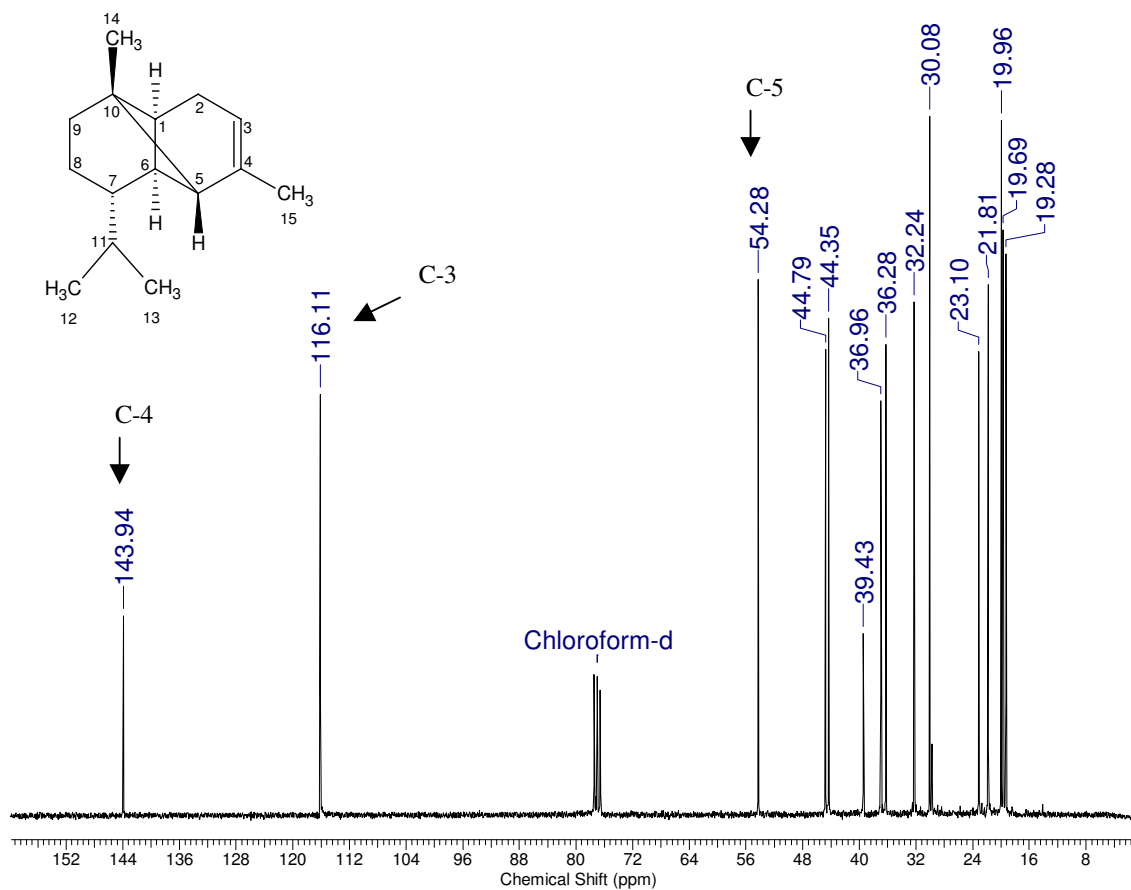
Acquisition Time (sec)	2.1889	Comment	Imported from UXMNR.
Date	22 Aug 2005 17:33:52		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOECC5-6\ULFOECC5-6_001000fid		
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	¹ H
Original Points Count	16384	Points Count	16384
Solvent	CHLOROFORM-D	Pulse Sequence	zg
		Sweep Width (Hz)	7485.03
		Temperature (degree C)	27.000



ESPECTRO 2. Espectro de RMN ¹H de **1**.

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

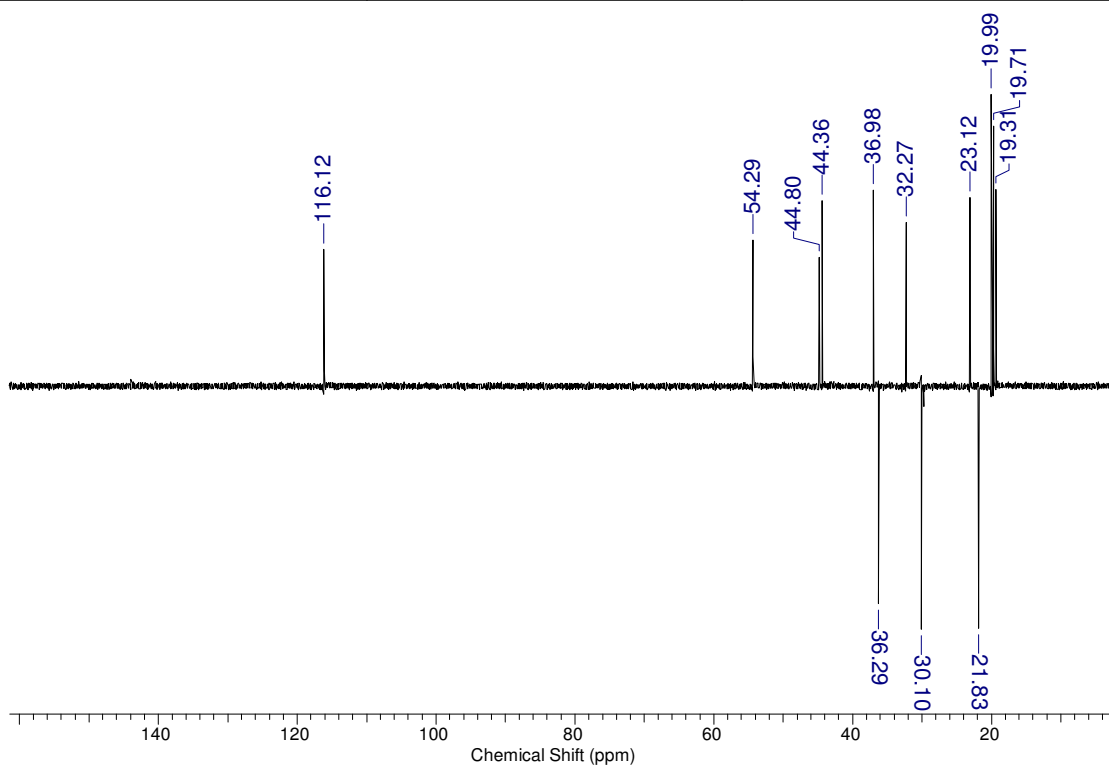
Acquisition Time (sec)	0.8700	Comment	Imported from UXMNR.
Date	23 Aug 2005 11:46:08		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOECC5-6\ULFOECC5-6_003000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Original Points Count	16384	Points Count	16384
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39
		Number of Transients	4342
		Pulse Sequence	zgpg30
		Temperature (degree C)	27.000



ESPECTRO 3. Espectro de RMN ¹³C de 1.

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

Acquisition Time (sec)	1.7400	Comment	Imported from UXMNR.	
Date	23 Aug 2005 13:26:24			
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOECC5-6\ULFOECC5-6_002000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients 569
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C) 27.000



ESPECTRO 4. Espectro de DEPT 135° de 1.

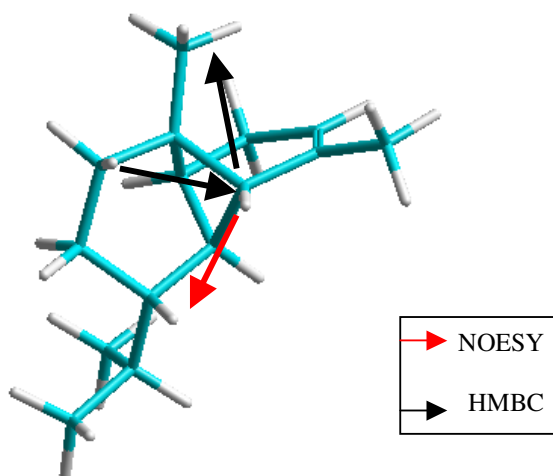


FIGURA 5. Correlações observadas nos experimentos bidimensionais de **1**.

A análise do gráfico de contornos HMBC (ESPECTROS 11-14) demonstrou importantes correlações entre o C-9 e o H-5 e entre o C-5 e o H-14, que corroboraram a presença do anel de quatro membros na estrutura. A formação do anel de quatro membros requer a junção *cis* dos anéis de seis membros e define, também, a estereoquímica de C-5 e C-10. Já a configuração de C-7 foi definida pela correlação espacial entre o H-5 (δ_H 1,51) e H-7 (δ_H 2,09) observadas no experimento NOESY (ESPECTRO 5). As demais correlações observadas nos experimentos bidimensionais estão descritas na figura 5 e nas tabelas 22 e 23.

Os dados espectroscópicos acima descritos são compatíveis com um sesquiterpeno tricíclico com uma insaturação. Através da análise destas informações e das correlações observadas nos experimentos bidimensionais, confirmou-se tratar do sesquiterpeno **(-)- α -copaeno (1)**.

TABELA 22. Dados obtidos de experimentos bidimensionais HMQC e HMBC de **1** (CDCl₃).

	HMQC		HMBC	
	δ C	δ H [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	2J	3J
C-1	44,8	1,52 [♦] <i>m</i>	-----	H-5
C-2	30,1	2,18 <i>dl</i>	-----	H-6
C-3	116,1	5,20 <i>sl</i>	-----	H-5 e H-15
C-4	143,9	-----	H-15	-----
C-5	54,3	1,51 (<i>d</i> , 4,6)	-----	H-14 e H-15
C-6	44,3	1,66 [*] <i>m</i>	H-5	-----
C-7	36,9	2,09 <i>m</i>	-----	H-5
C-8	21,8	1,54 [♦] <i>m</i>	-----	H-6
C-9	36,3	1,53 [♦] <i>m</i>	-----	H-14
C-10	39,4	-----	H-14	H-6
C-11	32,2	1,65 [*] <i>m</i>	H-12	H-6
C-12	19,3	0,85 (<i>d</i> , 4,7)	-----	H-11
C-13	19,7	0,84 (<i>d</i> , 4,7)	-----	-----
C-14	19,9	0,78 <i>s</i>	-----	-----
C-15	23,1	1,66 [*] <i>s</i>	-----	H-5

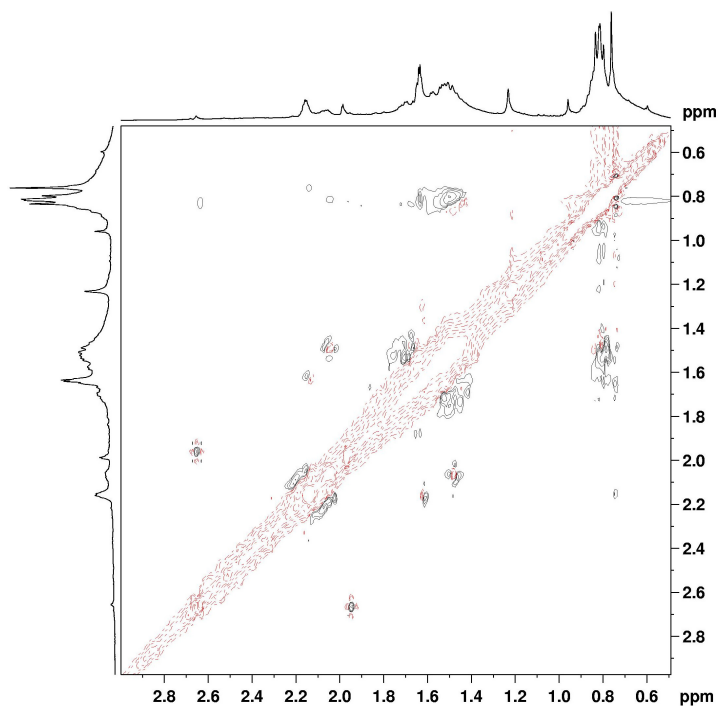
* sinais que aparecem envelopados na região entre δ_H 1,63-1,65 no espectro de RMN ¹H;

♦ sinais que aparecem envelopados na região entre δ_H 1,52-1,54 no espectro de RMN ¹H.

TABELA 23. Dados obtidos do experimento bidimensional NOESY e COSY de **1** (CDCl₃).

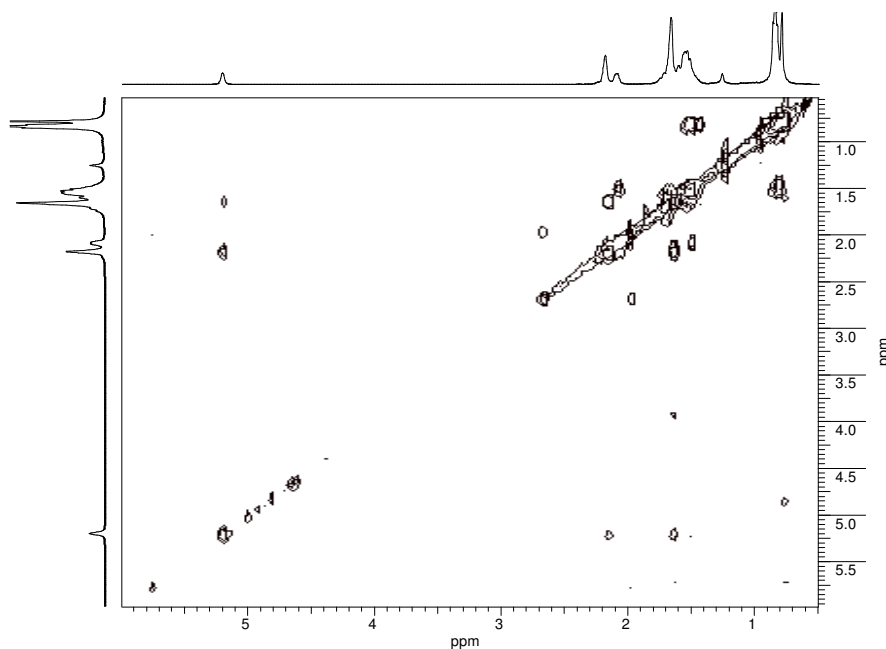
H	NOESY	COSY
3	H-15	H-2/H-15
5	H-7	-----
7	H-5	-----
12	-----	H-13
13	-----	H-12

Acquisition Time (sec)	(0.1671, 0.3342)	Date	18 Nov 2006 19:38:34
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOECC5-6\1\8\ser		
Frequency (MHz)	(300.13, 300.13)	Nucleus	(1H, 1H)
Original Points Count	(512, 1024)	Points Count	(512, 1024)
Solvent	CDCl ₃	Sweep Width (Hz)	(3063.71, 3063.73)
		Number of Transients	32
		Pulse Sequence	noesytp
		Temperature (degree C)	27.000



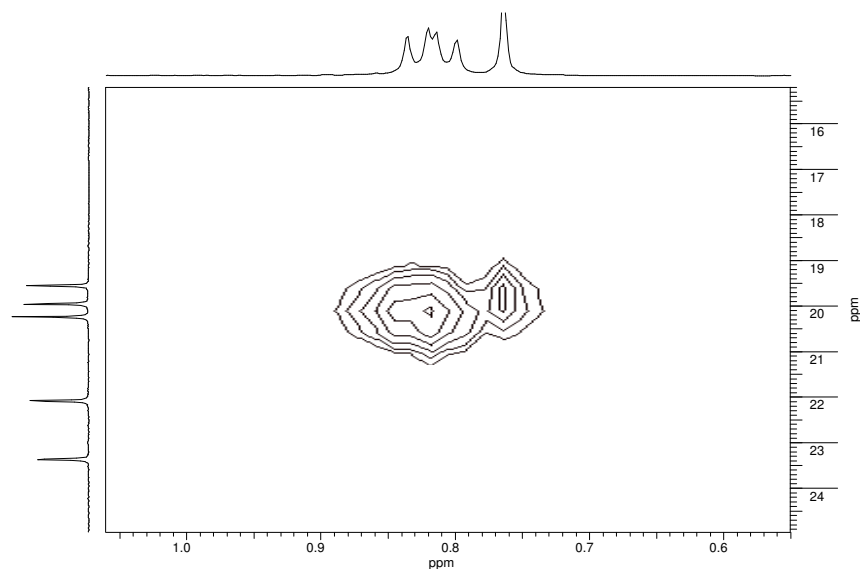
ESPECTRO 5. Espectro NOESY de **1**, entre δ_H 0,5-3,0 ppm (CDCl₃).

Acquisition Time (sec)	(0.0614, 0.2458)	Date	18 Nov 2006 18:38:26
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOECC5-6II\7.ser		
Frequency (MHz)	(300.13, 300.13)	Nucleus	(1H, 1H)
Original Points Count	(256, 1024)	Points Count	(256, 1024)
Solvent	CDCl ₃	Sweep Width (Hz)	(4166.67, 4166.67)
		Pulse Sequence	cosy90
		Temperature (degree C)	27.000



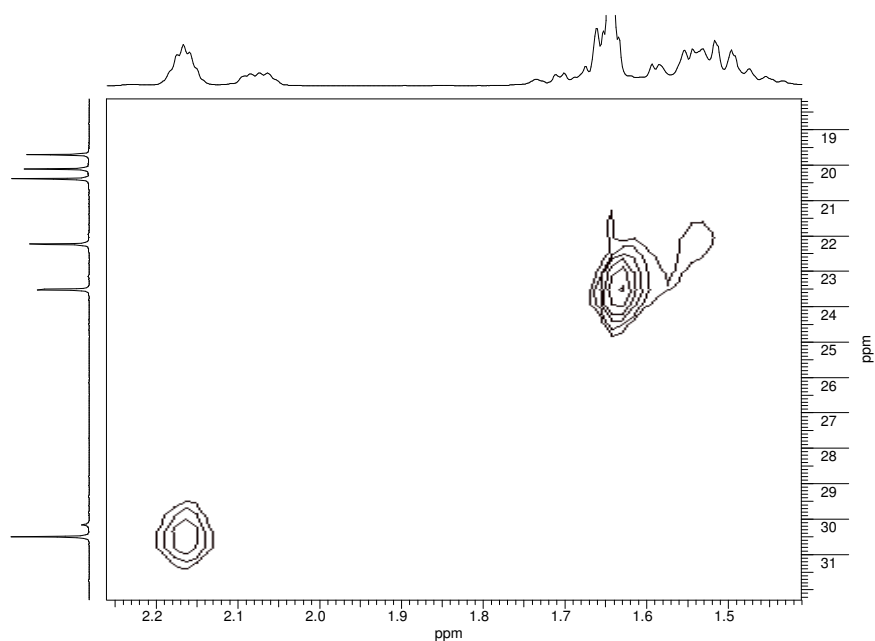
ESPECTRO 6. Espectro COSY de **1**, entre δ_H 0,0-6,0 ppm (CDCl₃).

Acquisition Time (sec)	(0.0272, 0.2458)	Date	18 Nov 2006 19:38:12
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOECC5-6II\5.ser		
Frequency (MHz)	(75.48, 300.13)	Nucleus	(13C, 1H)
Original Points Count	(512, 1024)	Points Count	(512, 1024)
Solvent	CDCl ₃	Sweep Width (Hz)	(18831.36, 4166.67)
		Pulse Sequence	invbtp
		Temperature (degree C)	27.000

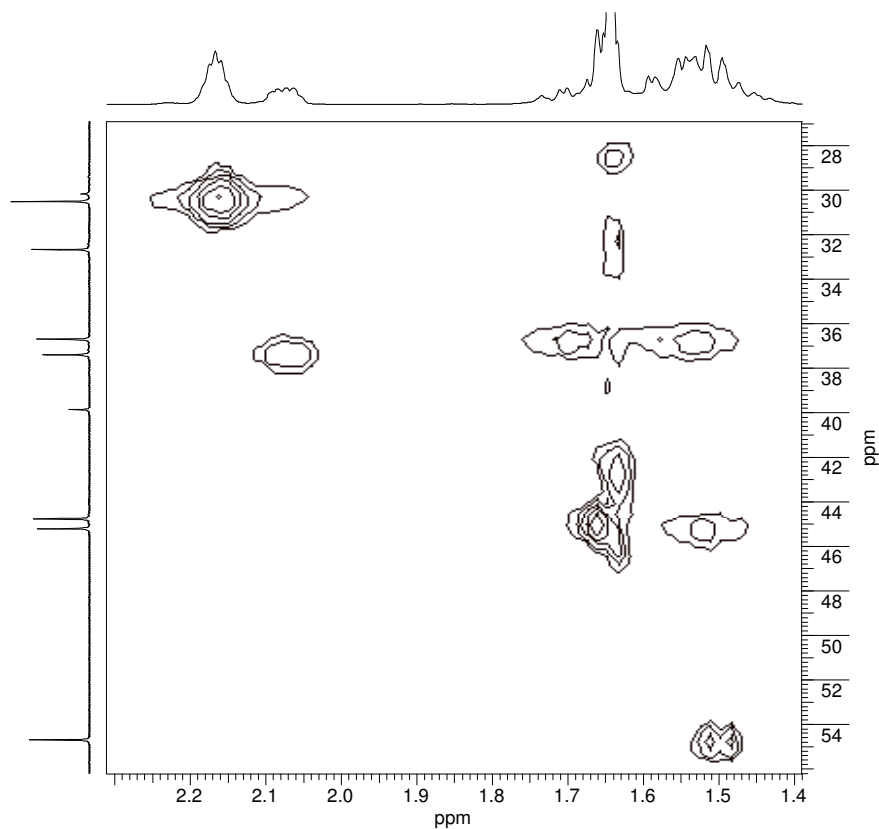


ESPECTRO 7. Mapa de contornos HMQC de **1**, entre δ_H 0,5-1,2 ppm (CDCl₃).

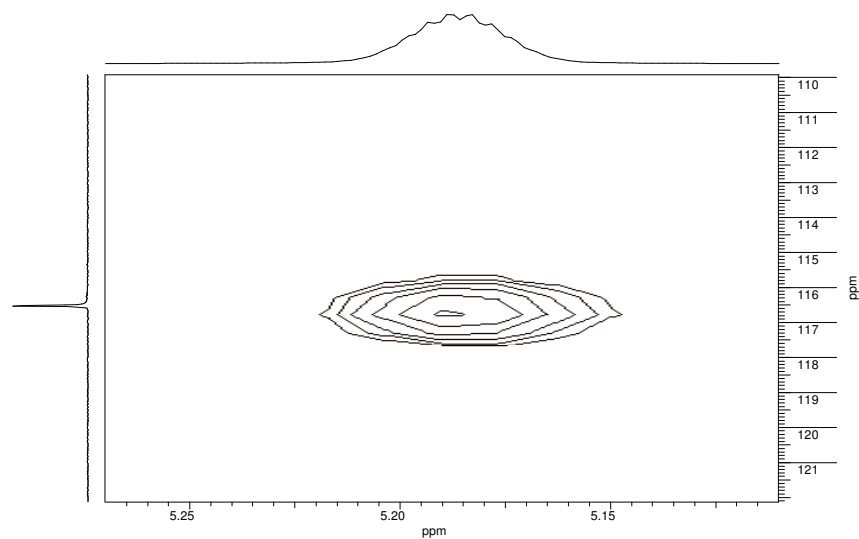
Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.



ESPECTRO 8. Mapa de contornos HMQC de **1**, entre δ_{H} 1,4-2,3 ppm.

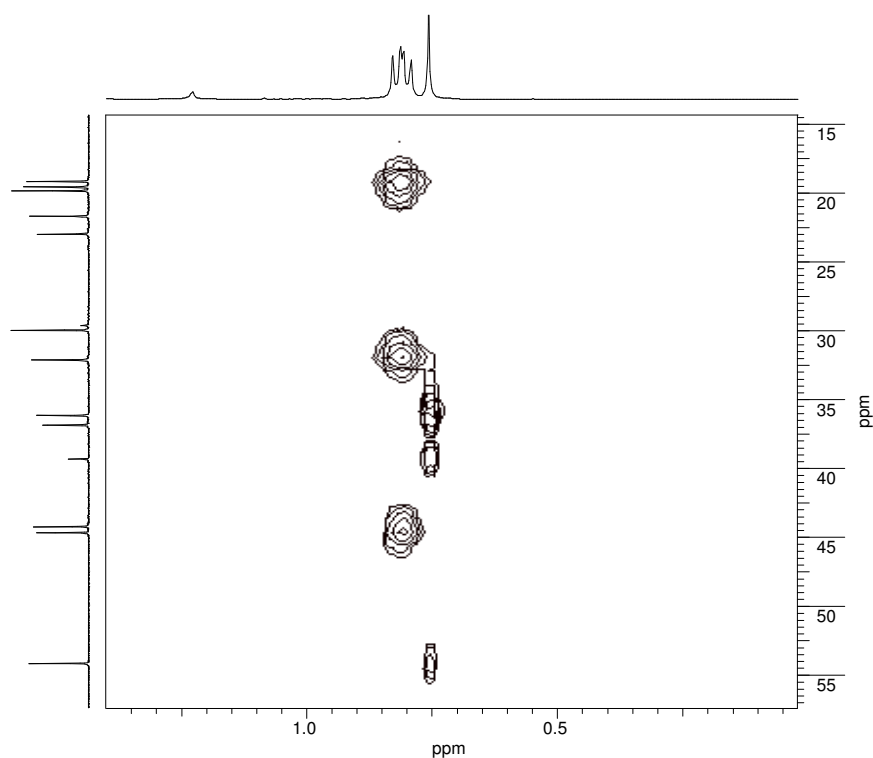


ESPECTRO 9. Mapa de contornos HMQC de **1**, entre δ_{H} 1,4-2,3 ppm.

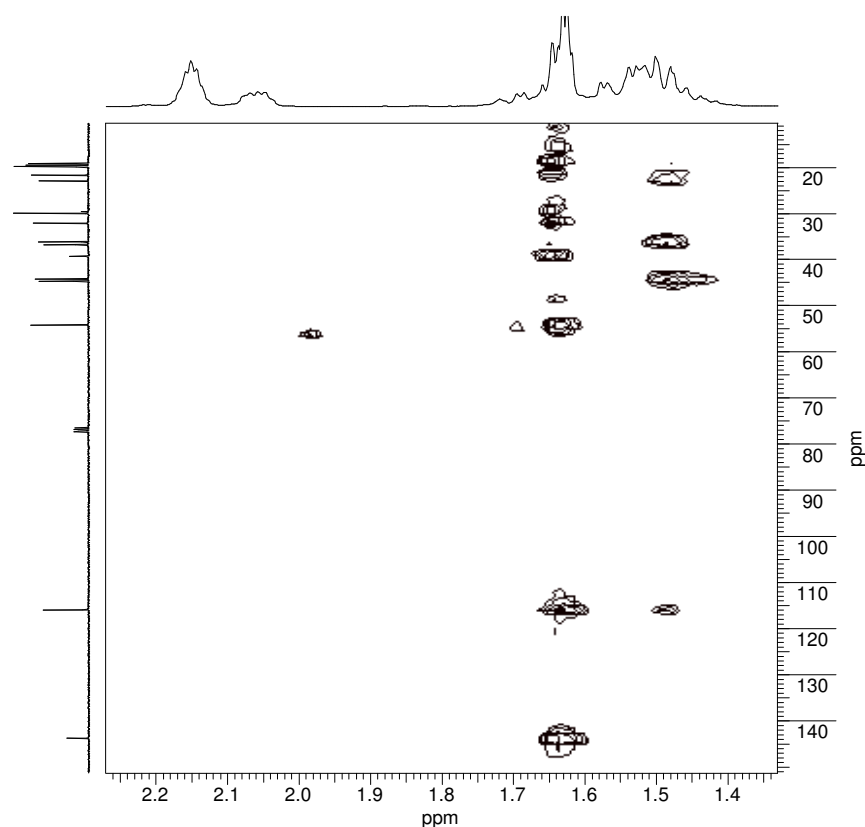


ESPECTRO 10. Mapa de contornos HMQC de **1**, entre δ_H 4,8-5,6 ppm.

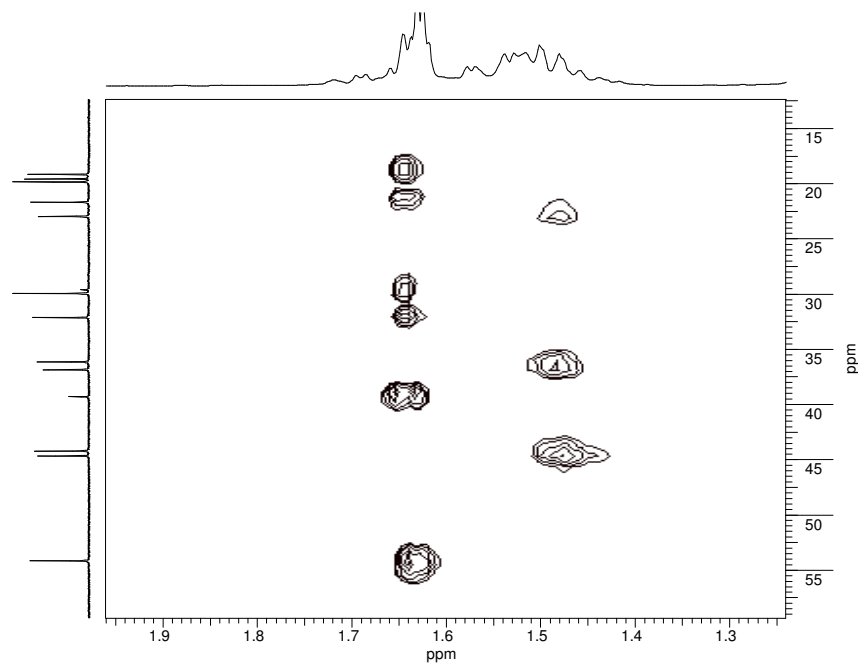
Acquisition Time (sec)	(0.0136, 0.4915)	Date	18 Nov 2006 19:38:20
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOECC5-6II\6.ser		
Frequency (MHz)	(75.48, 300.13)	Nucleus	(¹³ C, ¹ H)
Number of Transients	48	Original Points Count	(256, 2048)
Points Count	(256, 2048)	Pulse Sequence	inv4plrnd
Solvent	CDCl ₃	Sweep Width (Hz)	(18831.90, 4166.67)
Temperature (degree C)	27.000		



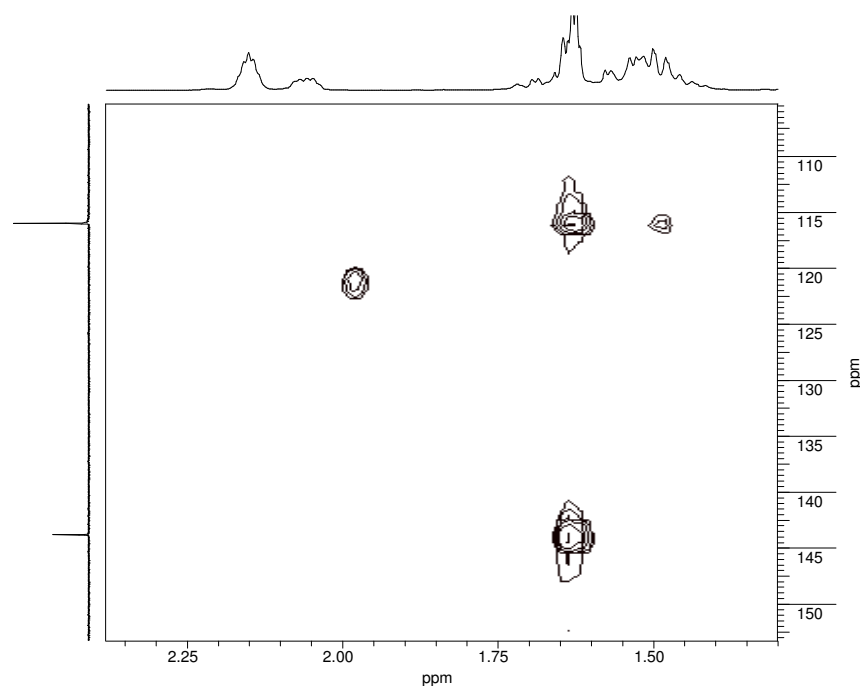
ESPECTRO 11. Mapa de contornos HMBC de **1**, entre δ_H 0,0-2,0 ppm (CDCl₃).



ESPECTRO 12. Mapa de contornos HMBC de **1**, entre δ_H 1,0-3,0 ppm.



ESPECTRO 13. Mapa de contornos HMBC de **1**, entre δ_H 1,3-1,9 ppm.



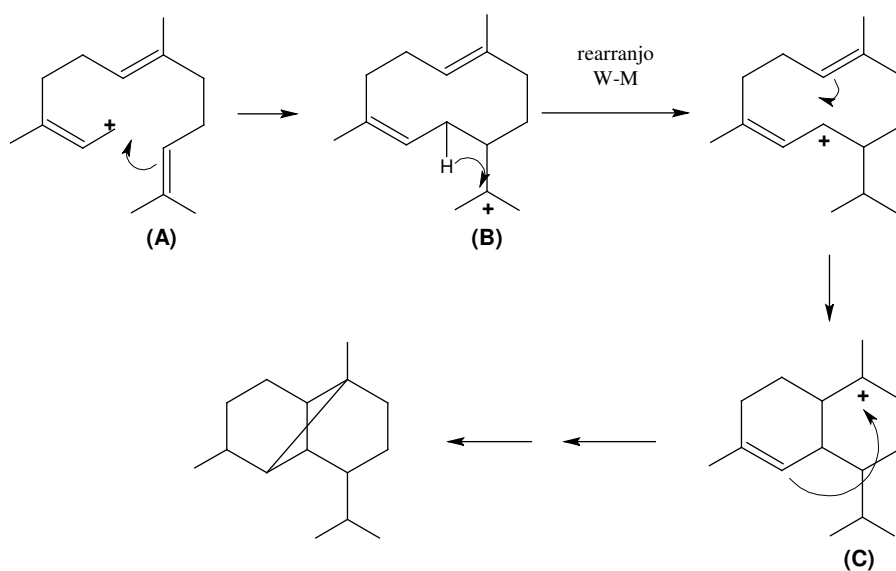
ESPECTRO 14. Mapa de contornos HMBC de **1**, entre δ_H 1,0-2,5 ppm.

- Atividade biológica

Para o (+)- α -copaeno foi relatada uma potente atividade de atração para machos de *Ceratitis capitata* Wled (moscas de frutas), um inseto que causa grandes prejuízos às safras de frutas, nozes e flores em países europeus [JACOBSON, *et al.*, 1987]. No entanto, análogos estruturais desse composto testados para o mesmo fim apresentaram efeitos reduzidos, uma vez que modificações na estrutura tridimensional do (+)- α -copaeno reduzem significativamente a atividade atrativa para os insetos [FLATH, *et al.*, 1994].

- Proposta biossintética

A rota biossintética dos compostos da classe dos copaanos pode ser proposta a partir do precursor cátion *E,Z*-farnesil (**A**), que primeiramente forma o cátion *cis*-germacril (**B**) e que através de rearranjo do tipo Wagner-Meerwein (migração 1,3 de hidreto) gera, em uma etapa posterior, o cátion cadinil (**C**) [DEWICK, 1997]. Após a formação do cátion cadinil, é possível que ocorra um ataque eletrofílico à dupla ligação, que leva ao fechamento do anel de quatro membros e à formação do esqueleto copaano, conforme esquema abaixo (ESQUEMA 6):



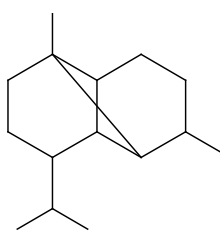
ESQUEMA 6. Proposta para rota biossintética do esqueleto copaano.

- α -copaeno na literatura

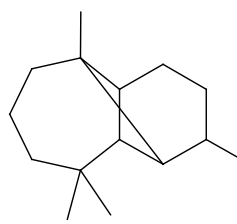
O primeiro relato do sesquiterpeno copaeno data de 1914, obtido do óleo de Copaíba e descrito como um sesquiterpeno tricíclico [SCHIMMEL, 1914]. No entanto, a estrutura dessa substância permaneceu indeterminada por muitos anos, sendo que várias estruturas contendo um anel ciclopropânico foram propostas, criticadas e rejeitadas antes da correta formulação feita consecutivamente por dois grupos de pesquisadores [MAYO, *et al.* 1965; KAPADIA, *et al.*, 1965].

Sua molécula foi alvo de diversas tentativas de síntese, por apresentar um interessante desafio sintético centrado em seu incomum sistema de anéis. A primeira síntese total do copaeno foi realizada em 1966 por Heathcock [1966], sendo obtido também o iso-copaeno, seu epímero em C-7. Corey e Watt [1973] propuseram a síntese do copaeno a partir da formação do precursor *cis*-decalina através de reações Dials-Alder, com subsequente geração do sistema tricíclico e fechamento do anel de quatro membros, obtendo também seu isômero β -copaeno.

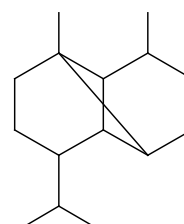
Os sesquiterpenos das classes longipinano e ylangano, assim como os copaanos, apresentam em suas estruturas um dos anéis contendo quatro membros, de ocorrência rara entre os produtos naturais.



copaeno

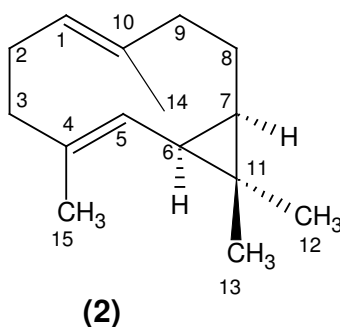


longipinano



ylangano

4.2.3 – (+)-Biciclogermacreno (2)



O composto **2** apresentou-se como um óleo incolor e odorífico, $[\alpha]_D^{20}$: +19,2 (CHCl₃, c: 0,00234), sendo obtido por cromatografia em coluna de sílica. Pela CCDS (eluente: éter de petróleo; revelador: H₂SO₄/vanilina e aquecimento), visualizou-se um ponto de cor violeta, R_f 0,40.

No espectro de RMN ¹H de **2** foram identificados sinais correspondentes a quatro metilas, dois como singletos em δ_H 1,00 (H-12) e δ_H 1,06 (H-13) relativos às metilas geminais do anel ciclopropânico, e outros dois singletos em δ_H 1,47 (H-15) e δ_H 1,65 (H-14), que foram atribuídos às metilas olefínicas. Um duplo dubleto em δ_H 4,82 (*dd*, *J* 11,1 e 5,0 Hz) foi atribuído ao hidrogênio olefínico H-1 e um dubleto em δ_H 4,34 (*d*, *J* 11,5 Hz) foi atribuído ao hidrogênio olefínico H-5. O sinal em δ_H 0,60 (*m*) foi atribuído ao H-7.

No espectro de RMN ¹³C foram observados 15 sinais, definidos através do DEPT 135° e do DEPT 90° como sendo correspondentes a quatro carbonos metílicos, quatro metilênicos, quatro metínicos e a três carbonos não ligados a hidrogênio. Os sinais em δ_C 124,8 (C-1), δ_C 140,8 (C-10), δ_C 127,9 (C-4) e δ_C 126,4 (C-5) são relativos a dois grupos olefínicos.

Os dados espectroscópicos obtidos para **2** são compatíveis com aqueles descritos na literatura para o **biciclogermacreno** [McMURRY & BOSCH, 1987; FERREIRA, *et al.*, 2001]. Os dados de RMN ¹H e RMN ¹³C de **3** estão colocados nas tabelas 24 e 25 para comparação.

TABELA 24. Dados de RMN ^1H de **2** e do **biciclogermacreno** [McMURRY & BOSCH, 1987].

H	δ 2 ^a [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	δ biciclogermacreno ^a
1	4,82 (<i>dd</i> , 11,1; 5,0)	4,81 (<i>m</i>)
2	2,05 (<i>d</i> , 12,2)	-----
3	2,41 (<i>d</i> , 12,2)	2,40 (<i>d</i> , 13,3)
5	4,34 (<i>d</i> , 11,5)	4,33 (<i>d</i> , 12,1)
6	1,23 (<i>m</i>)	1,1-1,3 (<i>m</i>)
7	0,60 (<i>m</i>)	0,59 (<i>m</i>)
8	1,87 (<i>m</i>)	1,68-2,13 (<i>m</i>)
9	2,21 (<i>m</i>)	2,20 (<i>m</i>)
12	1,00 (<i>s</i>)	1,01 (<i>s</i>)
13	1,06 (<i>s</i>)	1,07 (<i>s</i>)
14	1,65 (<i>s</i>)	1,65 (<i>s</i>)
15	1,47 (<i>s</i>)	1,46 (<i>s</i>)

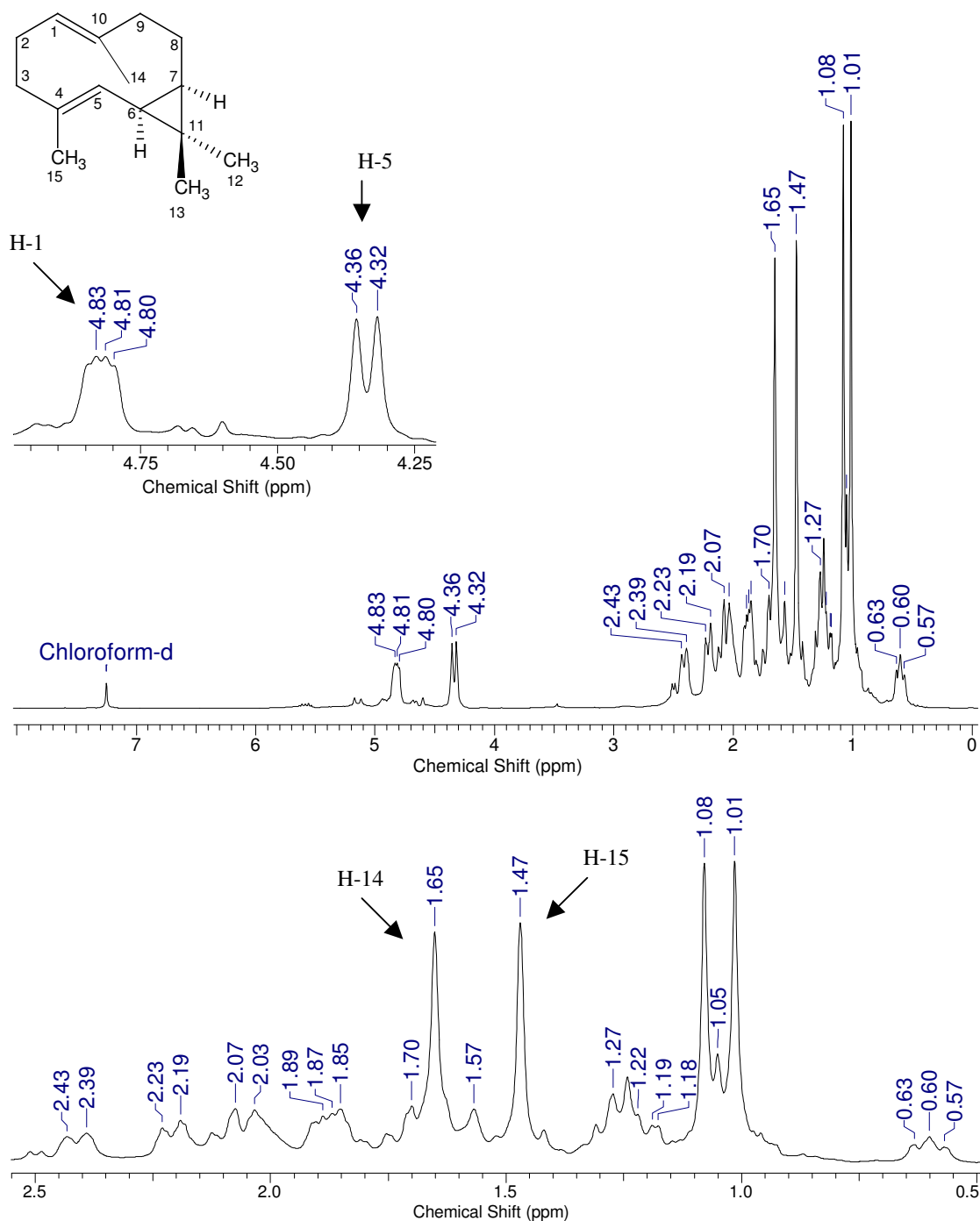
^a(300 MHz, CDCl₃)

TABELA 25. Dados de RMN ^{13}C de **2** e do **biciclogermacreno** [FERREIRA, *et al.*, 2001].

C	δ 2 ^a	δ biciclogermacreno ^a	DEPT 135°
1	124,8	124,7	CH
2	26,0	26,0	CH ₂
3	41,1	41,1	CH ₂
4	127,9	127,8	C
5	126,4	126,4	CH
6	26,9	26,9	CH
7	30,0	30,0	CH
8	26,8	26,8	CH ₂
9	37,2	37,2	CH ₂
10	140,8	140,7	C
11	19,8	19,8	C
12	29,2	29,2	CH ₃
13	15,4	15,4	CH ₃
14	16,5	16,5	CH ₃
15	20,8	20,8	CH ₃

^a(75 MHz, CDCl₃)

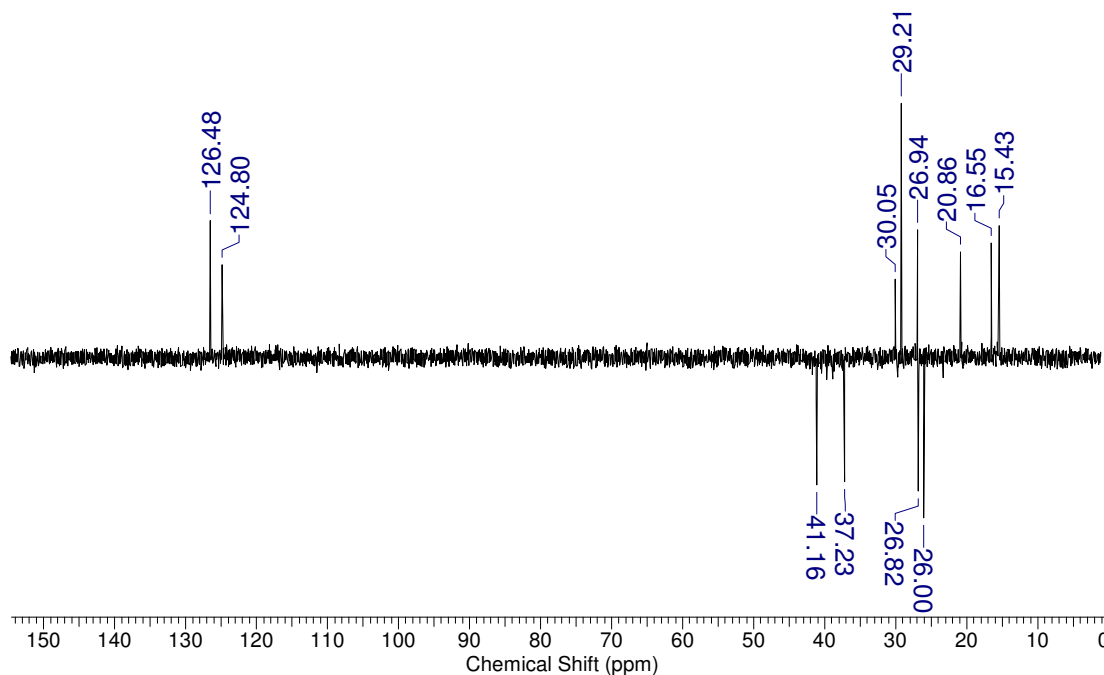
Acquisition Time (sec)	5.1380	Comment	Imported from UXMNR.
Date	29 Aug 2005 12:18:08		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOECC20\ULFOECC20_001000fid		
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	¹ H
Original Points Count	16384	Points Count	16384
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3188.78
		Number of Transients	8
		Pulse Sequence	zg
		Temperature (degree C)	27.000



ESPECTRO 15. Espectro de RMN ¹H de **2**.

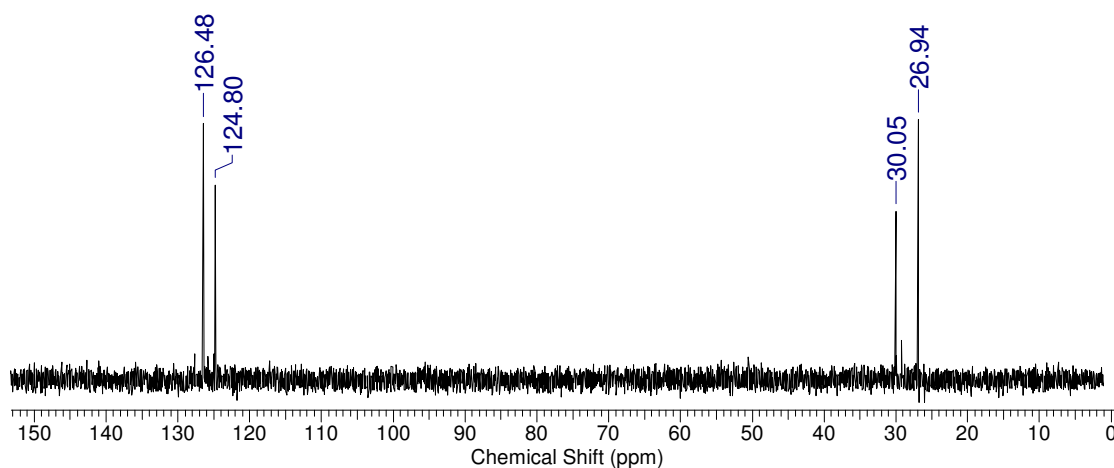
Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

Acquisition Time (sec)	1.7400	Comment	Imported from UXMNR.
Date	29 Aug 2005 12:39:28		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOECC20\ULFOECC20_002000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Original Points Count	32768	Points Count	32768
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39
		Temperature (degree C)	27.000



ESPECTRO 17. Espectro de DEPT 135° de 2.

Acquisition Time (sec)	1.7400	Comment	Imported from UXMNR.
Date	29 Aug 2005 12:52:16		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOECC20\ULFOECC20_004000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Original Points Count	32768	Points Count	32768
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39
		Temperature (degree C)	27.000

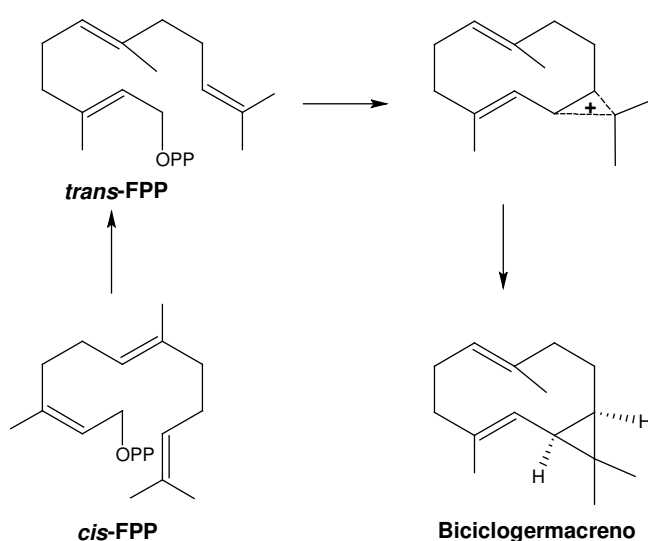


ESPECTRO 18. Espectro de DEPT 90° de 2.

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

- Rota biossintética

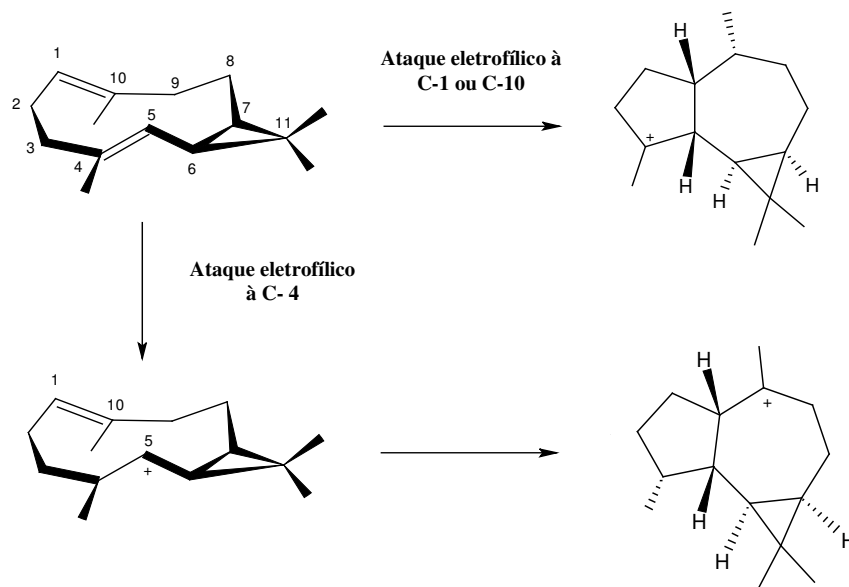
Ciclizações enzimáticas regioespecíficas do *trans*-FPP ou *cis*-FPP geram vários cátions carbocíclicos que levam a intermediários carbocátions não clássicos. O cátion não clássico obtido do *trans*-FPP gera, depois de desprotonação 1,3 estereoseletiva, o biciclogermacreno [GIJSEN, *et al.*, 1995] (ESQUEMA 7).



ESQUEMA 7. Rota biossintética para o biciclogermacreno.

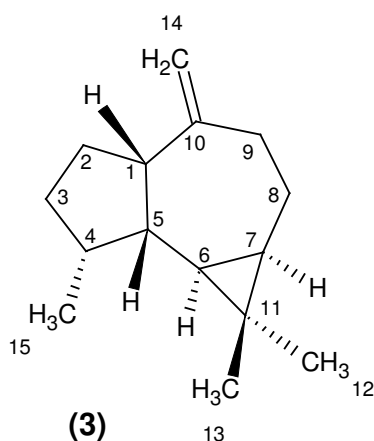
Toyota e colaboradores relatam a instabilidade do biciclogermacreno, sofrendo isomerizações e oxidações (sob luz, aquecimento brando e em meio ácido), instabilidade esta confirmada pela diferença significativa na concentração do (-)-*ent*-biciclogermacreno e (-)-*ent*-espatulenol em extratos vegetais armazenados por longos períodos [TOYOTA, *et al.*, 1996]. A oxidação que levou do biciclogermacreno ao espatulenol foi estudada no trabalho realizado por Carollo, sendo que a formação dos produtos de oxidação foi acompanhada através de RMN ^1H , RMN ^{13}C e EM/IE [CAROLLO, 2004].

O biciclogermacreno é considerado precursor biossintético dos aromadendranos [GIJSEN, *et al.*, 1995] (ESQUEMA 8).



ESQUEMA 8. Proposta biossintética para a formação do esqueleto aromadendrano a partir do biciclogermacreno [GIJSEN, *et al.*, 1995].

4.2.4 – Alloaromadendreno (3)



O composto **3** apresentou aspecto de óleo incolor e odorífico, solúvel em CHCl_3 , sendo purificado por cromatografia em coluna de sílica. Através de CCDS (eluente: éter de petróleo; revelador: H_2SO_4 /vanilina e aquecimento), pôde-se observar a presença de um ponto de cor roxa, com R_f 0,55.

No espectro de IV/FT foi visualizada uma banda intensa referente ao estiramento C-H alifático em 2925 cm^{-1} e uma banda em 885 cm^{-1} referente à deformação de C-H olefínico.

O espectro de RMN ^1H de **3** apresentou sinais em δ_{H} 0,23 (*dd*, J 10,6 e 9,9 Hz, H-6) e δ 0,54 (*ddd*, J 10,6, 10,1 e 6,7 Hz, H-7), característicos dos hidrogênios do anel ciclopropânico, além dos sinais relativos aos três grupos metila em δ_{H} 0,92 (*d*, J 6,8 Hz, H-15), em δ_{H} 0,94 (*s*, H-12) e δ_{H} 0,99 (*s*, H-13). Os singletos largos em δ_{H} 4,69 e δ_{H} 4,71 foram atribuídos aos hidrogênios olefínicos da ligação dupla exocíclica entre C-10 e C-14.

O espectro de RMN ^{13}C revelou sinais correspondentes a 15 carbonos. No DEPT 135° evidenciou-se que estes eram correspondentes a três carbonos metílicos, cinco metilênicos, cinco metínicos e dois carbonos não ligados hidrogênios. O sinal em δ_{C} 152,5 (C-10), referente a um carbono não ligado a hidrogênio, e o sinal em δ 109,6 (C-14), de um carbono metilênico, são relativos aos carbonos que compõem a dupla ligação exocíclica. O sinal observado em δ 17,1 foi atribuído ao carbono não ligado a hidrogênio do anel ciclopropânico (C-11), sendo uma forte evidência para um esqueleto aromadendrano [SAN FELICIANO, *et al.*, 1989].

A comparação dos dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e DEPT 135° de **3** com os obtidos da literatura para o **alloaromadendreno** estão compilados na tabela 26 e 27 e sugerem tratar-se da mesma substância.

A configuração absoluta do *alloaromadendreno*, no qual o esqueleto hidroazulênico é *cis*-fundido, foi estabelecida por Büchi em 1966, após a realização de sua síntese total utilizando como produto de partida o (–)-perialdeído [BÜCHI, *et al.*, 1966]. Neste trabalho foram adicionalmente estabelecidas as configurações do aromadendreno e dos sesquiterpenos C-10 oxigenados: globulol, ledol e viridiflorol, todos com esqueletos aromadendrano.

TABELA 26. Dados de RMN ^1H de **3** e do **alloaromadendreno** [MIYAZAWA, *et al.*, 1995].

H	δ 3 ^a [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	δ alloaromadendreno ^b
1	2,66 (<i>m</i>)	2,67 (<i>m</i>)
2	1,86 (<i>m</i>) e 1,71 (<i>m</i>)	1,88 (<i>m</i>) e 1,73 (<i>m</i>)
3	1,31 (<i>m</i>) e 1,71 (<i>m</i>)	1,32 (<i>m</i>) e 1,73 (<i>m</i>)
4	2,06 (<i>m</i>)	2,07 (<i>m</i>)
5	1,86 (<i>m</i>)	1,86 (<i>m</i>)
6	0,23 (<i>dd</i> , 9,9; 10,6)	0,24 (<i>ddd</i> , 9,0; 10,5)
7	0,54 (<i>ddd</i> , 6,7; 10,1; 10,6)	0,55 (<i>ddd</i> , 6,0; 9,5; 10,5)
8	1,82 (<i>m</i>) e 1,30 (<i>m</i>)	1,84 (<i>m</i>) e 1,24 (<i>m</i>)
9	2,31 (<i>m</i>) e 2,29 (<i>m</i>)	2,34 (<i>m</i>) e 2,28 (<i>m</i>)
12	0,94 <i>s</i>	0,96 <i>s</i>
13	0,99 <i>s</i>	1,00 <i>s</i>
14	4,69 (<i>s</i>) e 4,71 (<i>s</i>)	4,70 (<i>s</i>) e 4,73 (<i>s</i>)
15	0,92 (<i>d</i> , 6,8)	0,94 (<i>d</i> , 7,0)

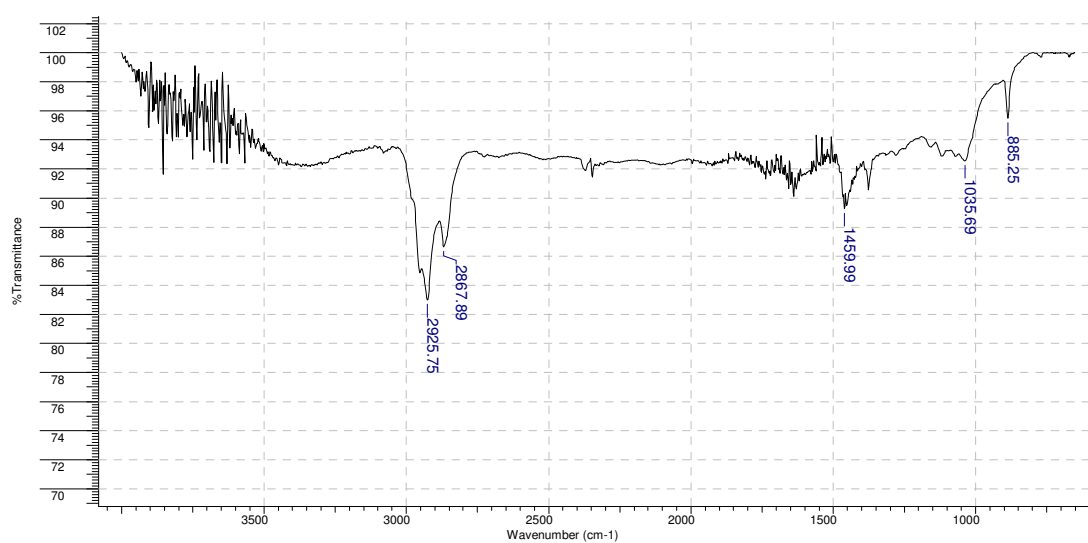
^a(300 MHz, CDCl₃), ^b(500 MHz, CDCl₃)

TABELA 27. Dados de RMN ^{13}C de **3** e do **alloaromadendreno** [MIYAZAWA, *et al.*, 1995].

C	δ 3 ^a	δ alloaromadendreno ^b	DEPT 135°
1	50,8	50,8	CH
2	28,2	28,2	CH ₂
3	31,2	31,2	CH ₂
4	37,8	37,8	CH
5	42,1	42,2	CH
6	23,5	23,6	CH
7	24,8	24,8	CH
8	22,1	22,2	CH ₂
9	35,7	35,7	CH ₂
10	152,5	152,6	C
11	17,1	17,2	C
12	15,8	15,9	CH ₃
13	28,6	28,6	CH ₃
14	109,6	109,7	CH ₂
15	16,4	16,4	CH ₃

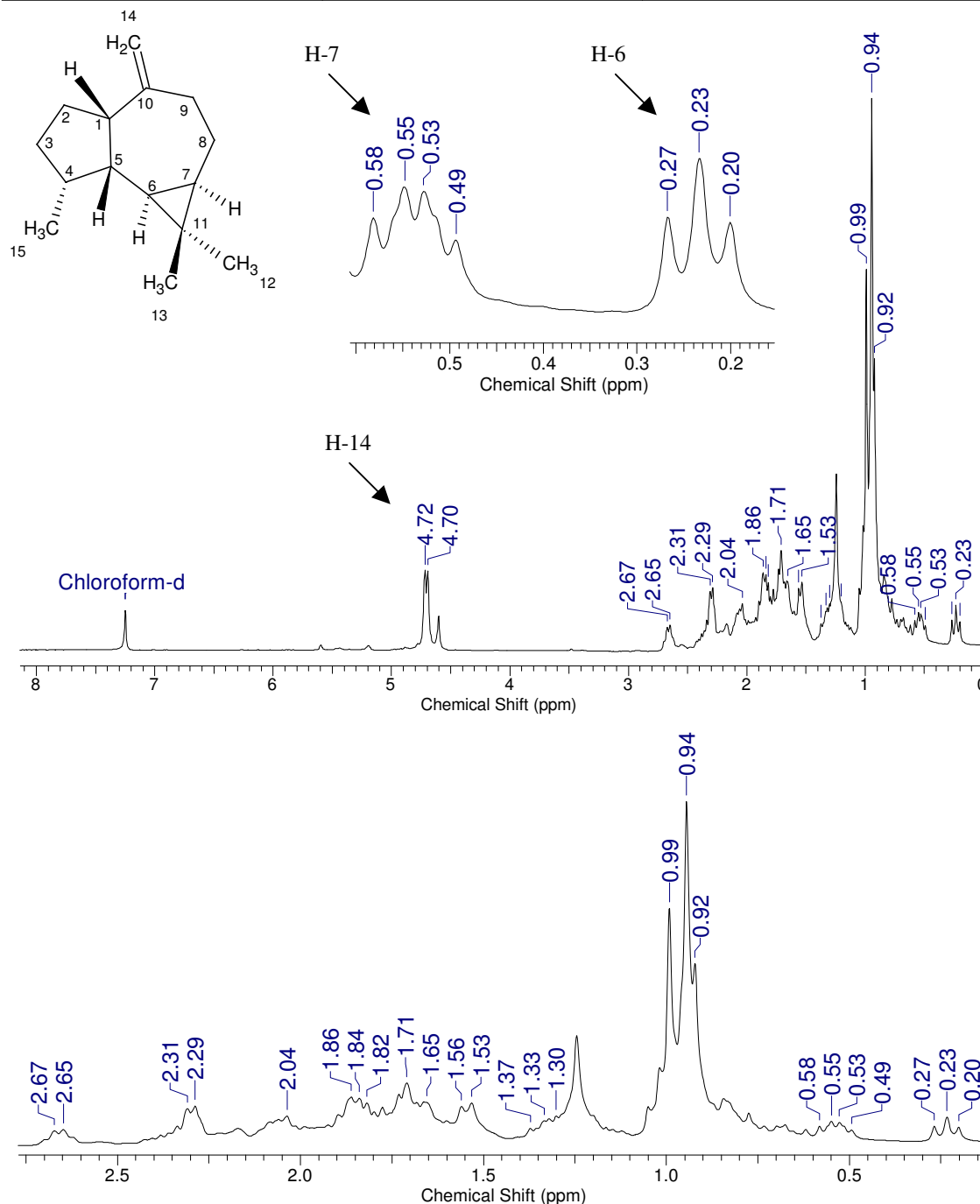
^a (75MHz, CDCl₃), ^b (125 MHz, CDCl₃)

File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\NIDIA\MEUS DOCUMENTOS\ESPECTROS-FID\INFRA VERMELHO\ULFOE-8.PRJ		
Date	28 Feb 2007 16:31:10	Technique	Infrared
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	%Transmittance
Points Count	1738	Data Spacing	1.9286
		Spectral Region	IR
		Spectrum Range	649.9600 - 4000.0000



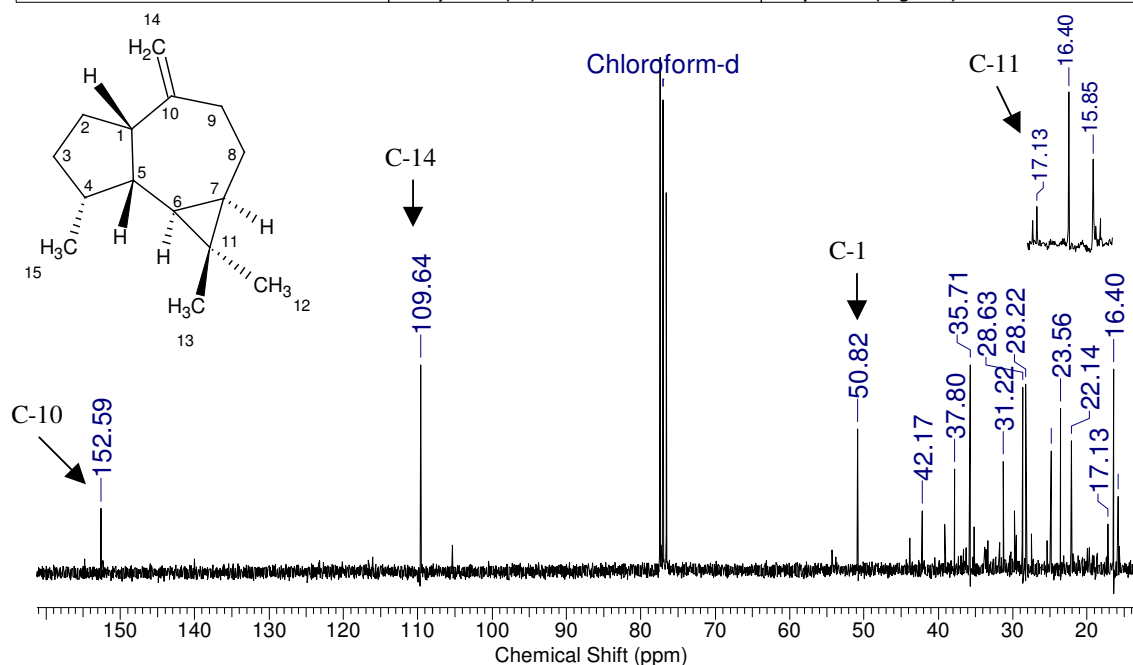
ESPECTRO 19. Espectro de IV/FT de **3**.

Acquisition Time (sec)	2.1889	Comment	Imported from UXMNR.
Date	22 Aug 2005 17:38:08		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOECC8\ULFOECC8_001000fid		
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	¹ H
Original Points Count	16384	Points Count	16384
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	7485.03
		Number of Transients	8
		Pulse Sequence	zg
		Temperature (degree C)	27.000

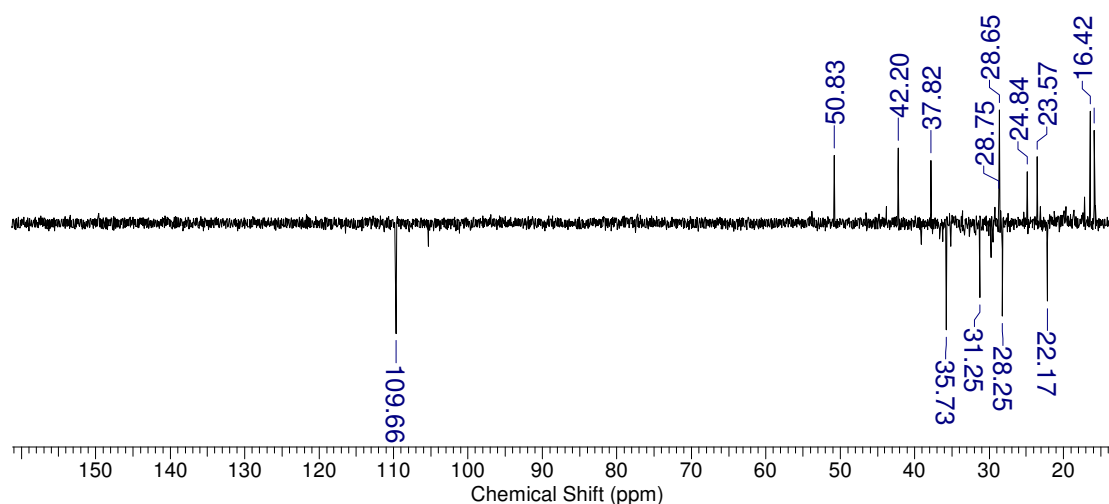


ESPECTRO 20. Espectro de RMN ¹H de **3**.

Acquisition Time (sec)	0.8700	Comment	Imported from UXNMR.
Date	22 Aug 2005 17:55:12		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOECC8\ULFOECC8_003000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	^{13}C
Original Points Count	16384	Points Count	16384
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39
		Temperature (degree C)	27.000

ESPECTRO 21. Espectro de RMN ^{13}C de 3.

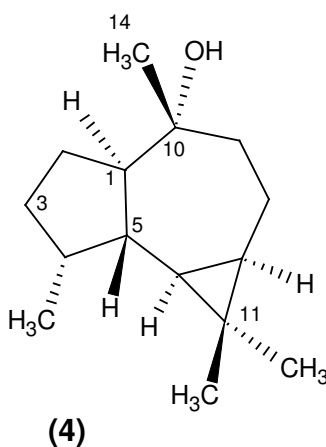
Acquisition Time (sec)	1.7400	Comment	Imported from UXNMR.
Date	22 Aug 2005 19:31:12		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOECC8\ULFOECC8_002000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	^{13}C
Original Points Count	32768	Points Count	32768
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39
		Temperature (degree C)	27.000



ESPECTRO 22. Espectro de DEPT 135° de 3.

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

4.2.5 – (–)-Globulol (4)



O composto **4** apresentou-se como um óleo amarelado odorífico, $[\alpha]_D^{20}$: -5,52 (CHCl_3 , c: 0,0085), obtido por cromatografia em coluna de sílica e purificado através de CCPS- AgNO_3 . Em CCDS (eluente: CHCl_3 : MeOH 7:3; revelador: H_2SO_4 /vanilina e aquecimento) apresentou-se como um ponto de cor rósea, com R_f 0,65.

No espectro de IV/FT foi observada uma banda em 3404 cm^{-1} relativa a deformação axial de um grupo hidroxila, e bandas logo abaixo de 3000 cm^{-1} , relativas a estiramento de C-H alifático.

O espectro de RMN ^1H de **4** se caracterizou por apresentar sinais relativos aos hidrogênios do anel ciclopropânico em δ_{H} 0,51 (H-6) e δ_{H} 0,54 (H-7), além dos sinais correspondentes a quatro metilas: dois singletos em δ_{H} 1,00 (H-12) e δ_{H} 0,96 (H-13) relativos às metilas geminais do anel ciclopropânico, o singlete em δ_{H} 1,09 relativo ao H-14 e um dubleto em δ_{H} 0,91 (3H, J 7,1 Hz) atribuído ao H-15.

No espectro de RMN ^{13}C foram observados 15 sinais, onde se destaca a presença de um sinal de carbono não ligado a hidrogênios em δ_{C} 19,3, relativo ao C-11, forte indicação de tratar-se de um sesquiterpeno com esqueleto aromadendrano, e o sinal em δ_{C} 75,2, relativo a um carbono carbinólico.

Através do espectro de DEPT 135° foi possível distinguir os carbonos como sendo quatro metílicos, quatro metilênicos, cinco metínicos e dois não ligados a hidrogênio.

Por comparação dos dados obtidos de **4** com os encontrados na literatura para o **globulol** (TABELAS 28 e 29) pôde-se concluir serem ambas as mesmas substâncias.

TABELA 28. Dados de RMN ^1H de **4** e do **globulol** [BOMBARDA, *et al.*, 2001].

H	δ 4 ^a [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	δ globulol ^a
1	1,89 (<i>m</i>)	1,91
5	1,24 (<i>m</i>)	1,23
6	0,51 (<i>m</i>)	0,51
7	0,54 (<i>m</i>)	0,59
12	1,00 (<i>s</i>)	1,01
13	0,96 (<i>s</i>)	0,98
14	1,09 (<i>s</i>)	1,09
15	0,91 (<i>d</i> , 7,1)	0,92

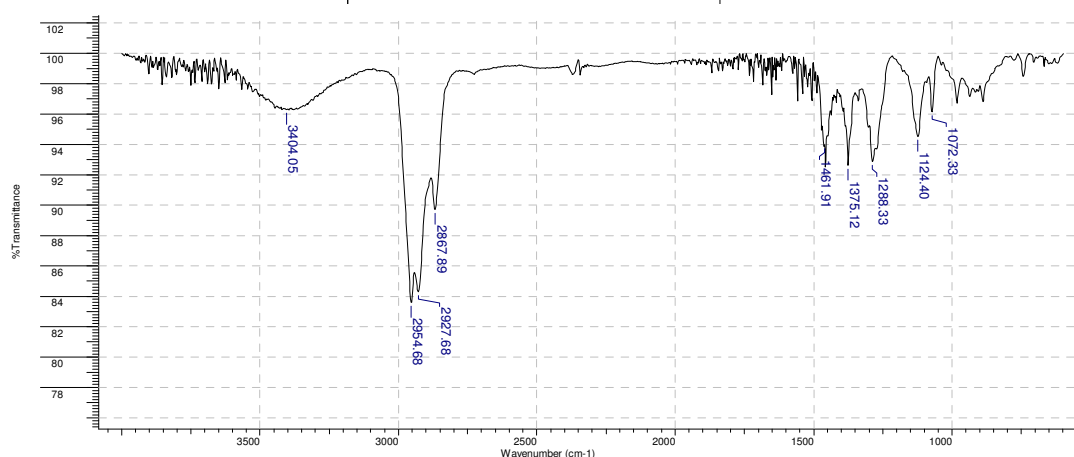
^a(300 MHz, CDCl_3)

TABELA 29. Dados de RMN ^{13}C de **4** e do globulol [BOMBARDA, *et al.*, 2001].

C	δ 4 ^a	δ globulol ^a	DEPT 135°
1	57,0	57,1	CH
2	26,1	26,2	CH ₂
3	34,6	34,6	CH ₂
4	36,4	36,4	CH
5	39,6	39,6	CH
6	28,3	28,5	CH
7	26,7	26,9	CH
8	20,1	20,2	CH ₂
9	44,6	44,7	CH ₂
10	75,2	75,1	C
11	19,3	19,3	C
12	16,0	16,0	CH ₃
13	15,8	15,8	CH ₃
14	28,6	28,7	CH ₃
15	20,2	20,2	CH ₃

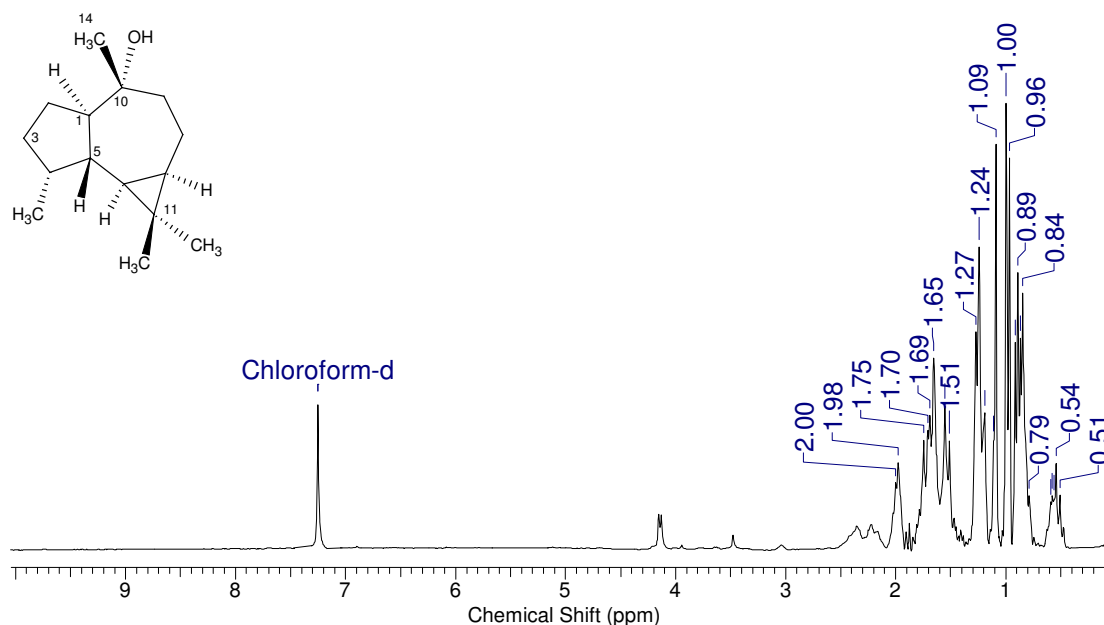
^a(75 MHz, CDCl₃)

File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\NIDIA\MEUS DOCUMENTOS\ESPECTROS-FID\INFRA VERMELHO\NI-4.PRN		
Date	15 Mar 2007 11:12:10	Technique	Infrared
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	%Transmittance
		Spectral Region	IR
		Spectrum Range	599.8101 - 4000.0000

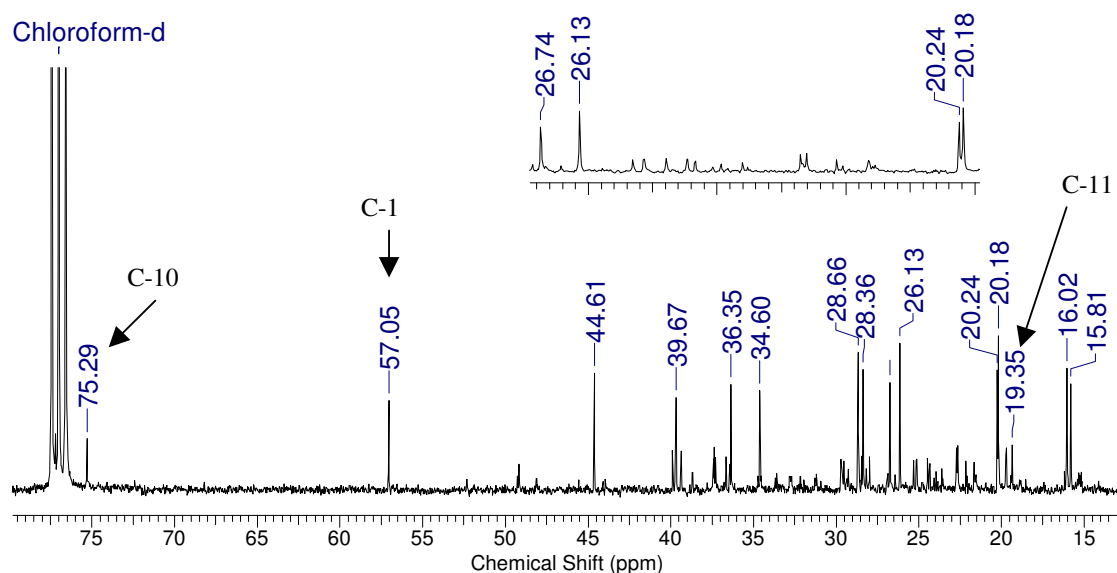
**ESPECTRO 23.** Espectro de IV/FT de **4**.

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

Acquisition Time (sec)	3.5652	Comment	Imported from UXNMR.		
Date	20 Oct 2005 20:05:20				
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOE1052\ULFOE1052L_001000fid				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4595.59	Temperature (degree C)	27.000

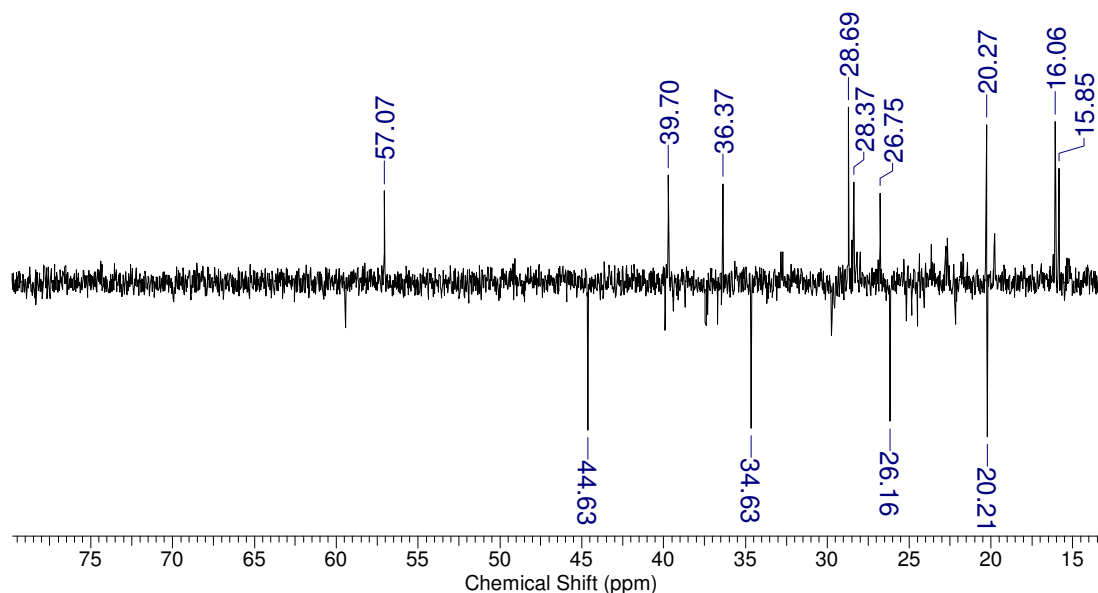
ESPECTRO 24. Espectro de RMN ¹H de **4**.

Acquisition Time (sec)	0.8700	Comment	Imported from UXNMR.		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C	Number of Transients	20000
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence	zgpg30
Solvent	CDCl ₃	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

ESPECTRO 25. Espectro de RMN ¹³C de **4**.

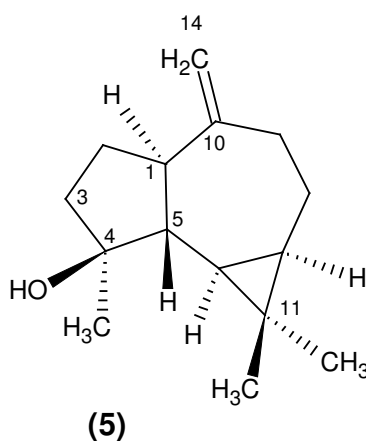
Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

Acquisition Time (sec)	1.7302	Comment	Imported from UXNMR.	
Date	24 Oct 2005 11:29:04			
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOE1052\ULFOE1052I_002000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients 1000
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18939.39	Temperature (degree C) 27.000



ESPECTRO 26. Espectro de DEPT 135° de **4**.

4.2.6 –(+)-Espatulanol (**5**)



O composto **5** apresentou-se como um sólido amorfo branco e odorífico, $[\alpha]_D^{20}$: +9,91 (CHCl₃, c: 0,0085). Foi obtido através de cromatografia em coluna de sílica, purificado por CCPS-AgNO₃, e em CCDS (eluente: CHCl₃: MeOH 7:3; revelador: H₂SO₄/vanilina e aquecimento), apresentando um ponto de coloração roxa e R_f 0,45.

Pelo espectro de IV/FT foi possível visualizar uma banda em 3417 cm⁻¹, relativa à deformação axial de grupo hidroxila, também uma pequena banda em 3076 cm⁻¹ devida estiramento C-H olefínico e bandas logo abaixo de 3000 cm⁻¹, relativas ao estiramento de C-H alifático.

No espectro de RMN ¹H de **5** foram visualizados 3 singletos em δ_H 1,03 (H-12), δ_H 1,04 (H-13) e δ_H 1,27 (H-15) relativos aos hidrogênios dos grupos metilas. Outros sinais relevantes foram observados em δ_H 0,45 (1H, *dd*, *J* 9,7 e 10,5 Hz, H-6) e δ_H 0,69 (*m*, H-7), sendo estes característicos do esqueleto aromadendrano, além dos singletos largos em δ_H 4,65 e em δ_H 4,68 relativos aos hidrogênios olefínicos H-14.

O espectro de RMN ¹³C, juntamente com os sinais evidenciados no DEPT 135°, revelou a presença de 15 carbonos, sendo que estes correspondem a três metílicos, cinco metilênicos, quatro metínicos e três carbonos não ligados a hidrogênios. O sinal em δ_C 20,2 (C-11) que corresponde ao carbono não ligado a hidrogênio do anel ciclopropânico é, novamente, evidência para o esqueleto aromadendrano, enquanto o sinal em δ_C 80,9 (C-4) é sugestivo de um carbono carbinólico em sistema anelar de cinco membros. Os carbonos que constituem a dupla ligação originam os sinais em δ_C 153,4 (C-10) e δ_C 106,2 (C-14), este último sendo um carbono metilênico, indicando tratar-se de uma dupla ligação exocíclica.

Através da comparação dos dados de **5** com os encontrados na literatura confirmou-se que o composto em questão tratava-se do sesquiterpeno **espatulenol** (TABELAS 30 e 31).

Para o espatulenol são relatadas atividades como repelente contra insetos da espécie *Atta cephalopodes* [HUBERT, *et al.*, 1985] e antitumoral [PACCIARONI, *et al.*, 2000].

TABELA 30. Dados de RMN ^1H de **5** e do **espatulenol** [IWABUCHI, *et al.*, 1987].

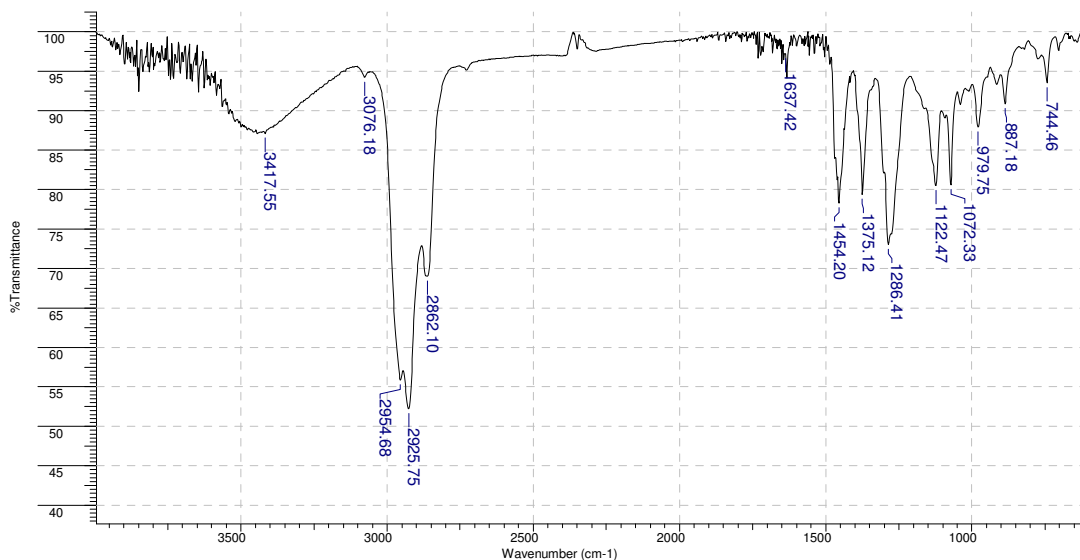
H	δ 4 ^a [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	δ espatulenol ^b
6	0,45 (<i>dd</i> , 9,7; 10,5)	0,47 (<i>dd</i> , 9,5; 11,4)
7	0,69 (<i>m</i>)	0,71 (<i>m</i>)
12	1,03 (<i>s</i>)	1,04 (<i>s</i>)
13	1,04 (<i>s</i>)	1,06 (<i>s</i>)
14	4,65 (<i>sl</i>) e 4,68 (<i>sl</i>)	4,67 (<i>s</i>) e 4,69 (<i>s</i>)
15	1,27 (<i>s</i>)	1,28 (<i>s</i>)

^a(300 MHz, CDCl₃), ^b(400 MHz, CDCl₃)**TABELA 31.** Dados de RMN ^{13}C de **5** e do **espatulenol** [IWABUCHI, *et al.*, 1987].

C	δ 5 ^a	δ espatulenol ^a	DEPT 135°
1	53,3	53,6	CH
2	26,7	26,8	CH ₂
3	41,7	41,9	CH ₂
4	80,9	81,0	C
5	54,3	54,4	CH
6	29,9	30,1	CH
7	27,5	27,6	CH
8	24,7	24,9	CH ₂
9	38,8	39,0	CH ₂
10	153,4	153,4	C
11	20,7	20,3	C
12	16,3	16,4	CH ₃
13	28,6	28,7	CH ₃
14	106,2	106,4	CH ₂
15	26,0	26,1	CH ₃

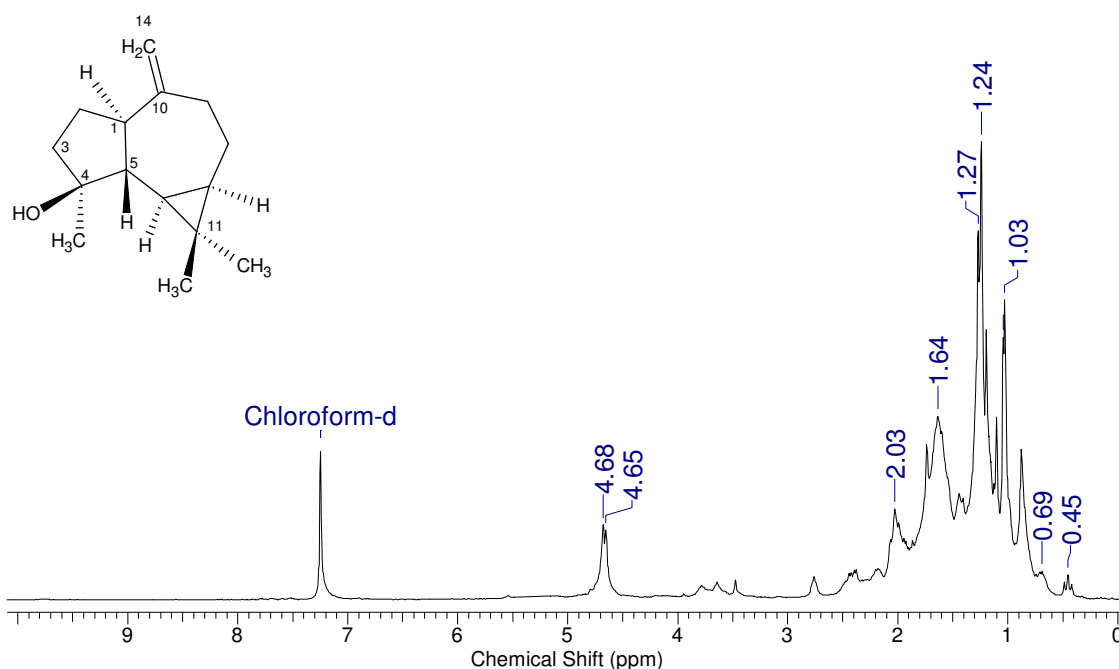
^a(75 MHz, CDCl₃), ^b(100 MHz, CDCl₃)

File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\NIDIA\MEUS DOCUMENTOS\ESPECTROS-FID\INFRA VERMELHO\NI-2.PRN		
Date	15 Mar 2007 11:14:40	Technique	Infrared
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	%Transmittance
Points Count	1764	Data Spacing	1.9286
		Spectral Region	IR
		Spectrum Range	599.8101 - 4000.0000



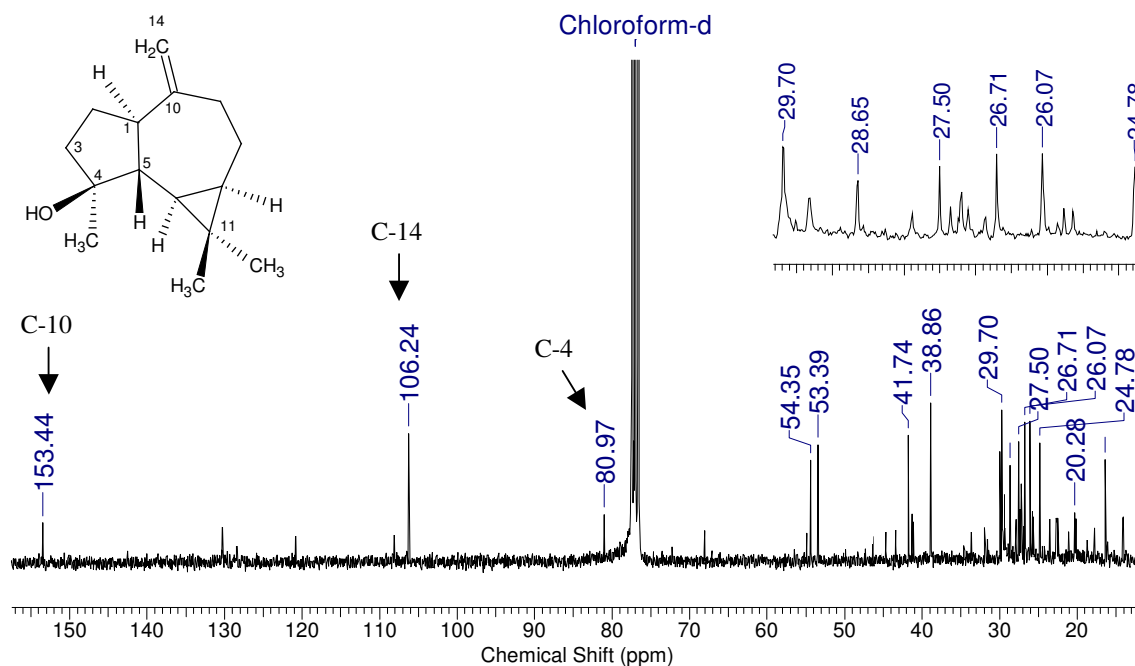
ESPECTRO 27. Espectro de IV/FT de 5.

Acquisition Time (sec)	3.4406	Comment	Imported from UXNMR.	
Date	26 Sep 2005 19:58:56			
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOE105III\ULFOE105III_001000fid			
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients 8
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence zg

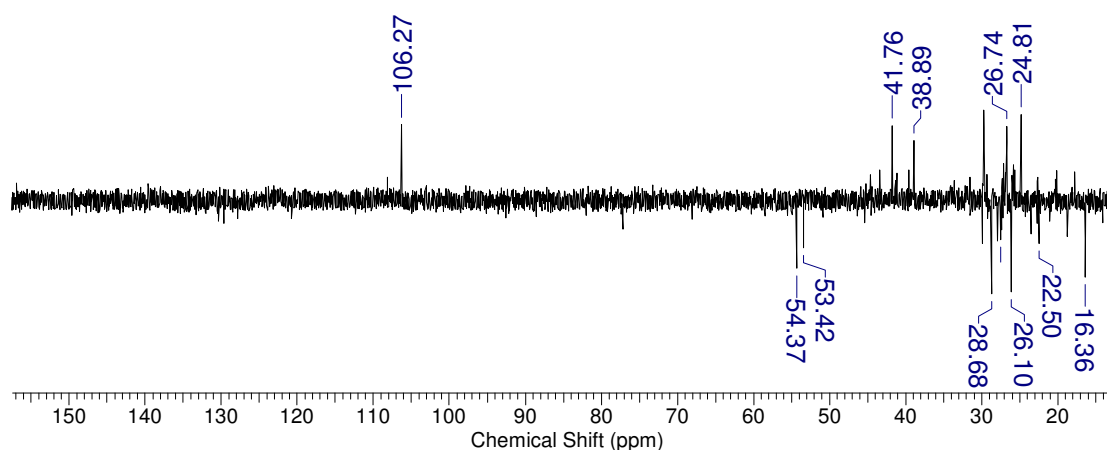
ESPECTRO28. Espectro de RMN ¹H de 5.

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

Acquisition Time (sec)	0.8700	Comment	Imported from UXMNR.
Date	30 Sep 2005 14:13:20		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOE105III\ULFOE105III_003000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Original Points Count	16384	Points Count	16384
Pulse Sequence	zgpg30	Solvent	CHLOROFORM-D
Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

ESPECTRO 29. Espectro de RMN ¹³C de 5.

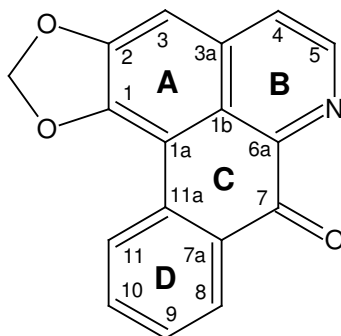
Acquisition Time (sec)	1.7302	Comment	Imported from UXMNR.
Date	29 Sep 2005 22:56:00		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFOE105III\ULFOE105III_002000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Original Points Count	32768	Points Count	32768
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18939.39
		Number of Transients	5000
		Pulse Sequence	dept135
		Temperature (degree C)	27.000



ESPECTRO 30. Espectro de DEPT 135° de 5.

4.3–ALCALÓIDES

4.3.1 – liriidenina (6)



O composto **6** apresentou-se como cristais amarelos pontiagudos, sendo solúvel em CHCl_3 . Foi obtido do extrato alcaloídico das folhas e purificado por cromatografia em coluna de sílica e através de CCPS-OXA. Quando analisada em CCDS (eluente: DCM: MeOH 9:1; revelador: Dragendorff), exibe um ponto de R_f 0,60 que apresenta fluorescência no ultravioleta e coloração amarela intensa quando revelada com Dragendorff.

O espectro de RMN ^1H de **6** apresentou dois sinais em δ_H 8,87 (1H, *dl*, J 5,2 Hz) e δ_H 7,76 (1H, *dl*, J 5,2 Hz), relativos ao H-5 e H-4, respectivamente. Observa-se ainda um singlete em δ_H 7,18, típico do hidrogênio H-3 em alcalóides oxaporfínicos quando o anel A é 1,2-dioxigenado. O sinal dos hidrogênios do grupo metilenodióxi é observado como um singlete em δ_H 6,36. Além destes, mais quatro sinais referentes aos hidrogênios do anel D são observados, sendo dois dubletos em δ_H 8,61 (J 8,1 Hz) e em δ_H 8,55 (J 8,1 Hz), um multiplete em δ_H 7,75 e um tripleto largo em δ_H 7,56 (J 8,1 e 7,0 Hz), relativos aos H-11, H-8, H-10 e H-9, respectivamente.

Foram observados no espectro de RMN ^{13}C sinais relativos a 17 carbonos, podendo destacar-se o sinal em δ_C 102,5, relativo ao grupo metilenodióxi e o sinal em δ_C 182,2, referente ao grupo carbonila em C-7.

Os dados espectroscópicos de **6** coincidem com dados encontrados na literatura para o alcalóide oxaporfínico **liriodenina** (TABELAS 32 e 33).

A identificação foi confirmada por eluição de um padrão autêntico juntamente com a amostra em placas de CCDS-OXA, empregadas para identificação e separação de alcalóides oxaporfínicos [SILVA, *et al.*, 2005].

- Atividades biológicas

Diversas atividades biológicas atribuídas à liriodenina são encontradas na literatura, entre elas a atividade frente ao ensaio de TAS, apresentando DL₅₀ de 2,1µg/mL, com intervalo de confiança de 95% (2,3 < DL₅₀ < 3,5 µg/mL) [SIQUEIRA, *et al.*, 1998], potente citotoxicidade frente a células de carcinoma humano (A-549) e células de tumor de cólon (HCT-8) [WU, *et al.*, 1989], atividade antiplaquetária [CHEN, *et al.*, 1996] e antimicrobiana [HUFFORD, *et al.*, 1975]. Woo e colaboradores [1997] descrevem ainda, a atividade inibidora da enzima topoisomerase II, envolvida na replicação viral, em teste *in vivo* e *in vitro*, causada pelo alcalóide liriodenina.

TABELA 32. Dados de RMN ¹H de **6** da **liriodenina** [GUINAUDEAU, *et al.*, 1988].

H	δ 6 ^a [<i>m</i> , J (Hz)]	δ liriodenina ^b
3	7,18 (<i>s</i>)	7,17 (<i>s</i>)
4	7,76 (<i>dl</i> , 5,2)	7,78 (<i>d</i> , 5,1)
5	8,87 (<i>dl</i> , 5,2)	8,89 (<i>d</i> , 5,0)
8	8,55 (<i>d</i> , 8,1)	8,58 (<i>dd</i> , 8,2)
9	7,56 (<i>tl</i> , 8,1 e 7,0)	7,58 (<i>td</i> , 8,0 e 2,0)
10	7,75 (<i>m</i>)	7,76 (<i>dd</i> , 8,0 e 2,0)
11	8,61 (<i>d</i> , 8,1)	8,64 (<i>d</i> , 8,0)
O-CH₂-O	6,36 (<i>s</i>)	6,37 (<i>s</i>)

^a(300 MHz, CDCl₃), ^b(250MHz, CDCl₃)

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

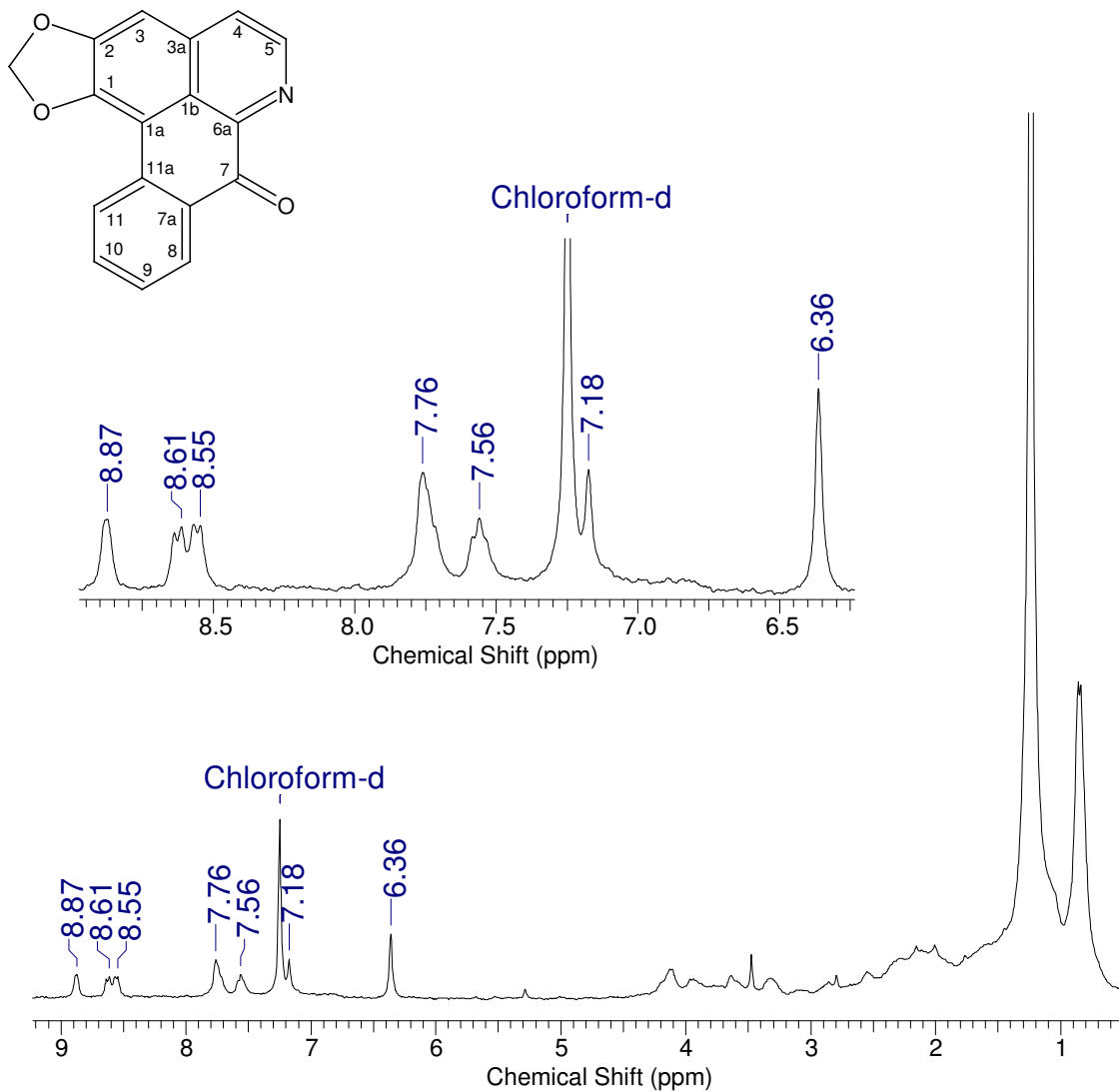
TABELA 33. Dados de RMN ^{13}C de **6** e da **liriodenina** [CASTRO, *et al.*, 1996].

C	δ 6 ^a	δ liriodenina ^b	DEPT 135°
1	145,0	144,7	C
1a	108,1	107,7	C
1b	124,3	125,1	C
2	148,0	144,3	C
3	103,2	103,4	CH
3a	132,8	132,7	C
4	123,2	124,4	CH
5	144,5	144,3	CH
6a	151,9	151,3	C
7	182,2	182,3	C
7a	131,2	130,9	C
8	127,3*	127,2*	CH
9	128,6*	128,4*	CH
10	133,9	134,0	CH
11	128,8*	128,4*	CH
11a	135,9	135,7	C
O-CH₂-O	102,5	102,6	CH ₂

^a(75 MHz, CDCl₃), ^b(50MHz, CDCl₃)

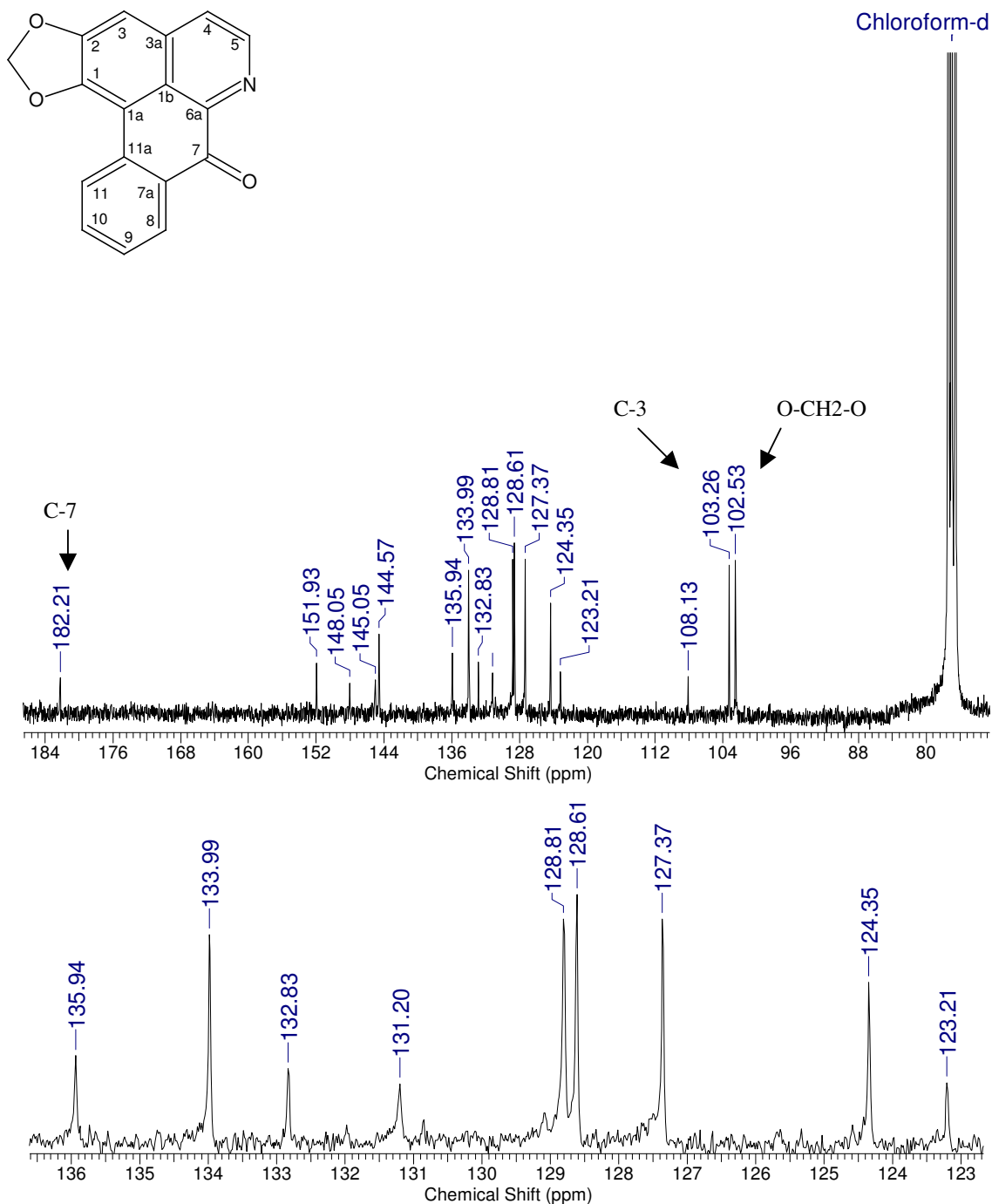
*Os sinais podem estar trocados na coluna.

Acquisition Time (sec)	3.8797	Comment	Imported from UXNMR.
Date	31 Mar 2006 20:52:16		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFALC4-5LX\ULFALC4-5LX_001000fid		
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	¹ H
Original Points Count	16384	Points Count	16384
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4222.97
		Number of Transients	1
		Pulse Sequence	zg
		Temperature (degree C)	27.000



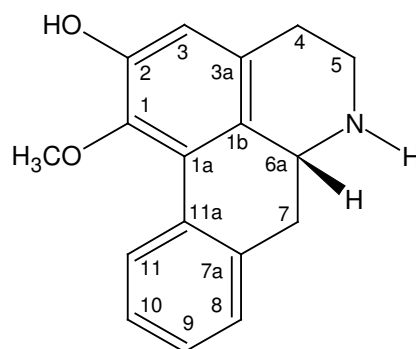
ESPECTRO 31. Espectro de RMN ¹H de **6**

Acquisition Time (sec)	0.8700	Comment	Imported from UXNMR.
Date	10 Apr 2006 09:38:08		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFALC4-5LX\ULFALC4-5LX_003000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	^{13}C
Original Points Count	16384	Points Count	16384
Solvent	DMSO-D ₆	Sweep Width (Hz)	18832.39
		Number of Transients	28603
		Pulse Sequence	zgpg30
		Temperature (degree C)	27.000

ESPECTRO 32. Espectro de RMN ^{13}C de 6.

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

4.3.2 – (–)-Asimilobina (7)



(7)

A substância **7** apresentou-se como um sólido marrom escuro, $[\alpha]_D^{20}$: -74,5 (CH₃OH, c: 0,00106), solúvel em CHCl₃. Foi obtido a partir do extrato alcaloídico das folhas e purificado por cromatografia em coluna de sílica, e em CCDS (eluente: CHCl₃: MeOH 9:1, revelador: Dragendorff), apresenta um ponto de R_f 0,40.

No espectro de IV/FT, foi observada uma banda em 3415 cm⁻¹ relativa a estiramento N-H, além de duas bandas em 1425 cm⁻¹ e 1456 cm⁻¹ referentes à deformação de grupo hidroxila.

No espectro de RMN ¹H de **7** foram observados sinais relativos a hidrogênios aromáticos: um singlete em δ_H 6,70 (H-3), um multiplete em δ_H 7,25-7,30 relativos aos hidrogênios H-8, H-9 e H-10 e um sinal em δ_H 8,28 (*d*, *J* 7,9 Hz), relativo ao H-11. Foi observado um singlete relativo a um grupo metoxila em δ_H 3,58.

A análise do espectro de RMN ¹³C em conjunto com o experimento DEPT 135° mostrou a presença de 17 carbonos. Destaca-se um sinal em δ_C 60,8, relativo a um grupo metoxila, e os sinais em δ_C 27,2 (C-4), δ_C 42,4 (C-5), δ_C 53,3 (C-6a) e δ_C 35,7 (C-7) atribuídos à porção alifática da substância.

O fato de o hidrogênio da posição 3 apresentar-se como um singlete indica que as posições 1 e 2 estão substituídas. Como apenas foi observado um sinal para um metoxila

nos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C , é sugestivo de que um grupo OH também esteja presente na molécula.

A comparação destas informações obtidas do composto **7** com as encontradas na literatura para o alcalóide (–)-**asimilobina** (TABELAS 34 e 35) confirma tratarem-se da mesma substância.

TABELA 34.Dados de RMN ^1H de **7** e da **asimilobina** [HSIEH, *et al.*, 1999].

H	δ 7^a [<i>m</i>, <i>J</i> (Hz)]	δ asimilobina^b
3	6,70 (<i>s</i>)	6,72 (<i>s</i>)
4	2,74 (<i>d</i> , 13,0)	-----
5	3,87 (<i>d</i> , 13,0)	-----
6a	3,47 (<i>sl</i>)	-----
8, 9, 10	7,25-7,30 (<i>m</i>)	7,25-7,26 (<i>m</i>)
11	8,28 (<i>d</i> , 7,9)	8,26 (<i>d</i> , 8,8)
OCH₃	3,58 (<i>s</i>)	3,65 (<i>s</i>)

^a(300 MHz, CDCl₃), ^b(400 MHz, CDCl₃)

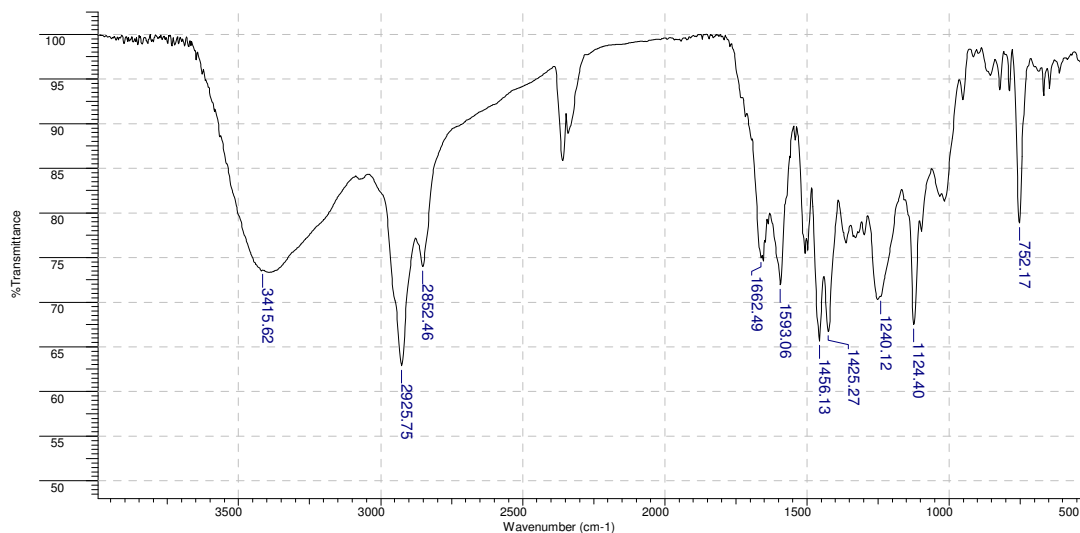
TABELA 35. Dados de RMN ^{13}C de **7** e da **asimilobina** [GUINAUDEAU, *et al.*, 1979].

C	δ 7 ^a	δ asimilobina ^b	DEPT 135°
1	143,3	143,2	C
1a	125,6	125,1	C
1b	128,5	129,3	C
2	149,0	148,9	C
3	114,5	115,7	CH
3a	125,8	126,8	C
4	27,2	28,5	CH ₂
5	42,4	42,6	CH ₂
6a	53,3	53,2	C
7	35,7	36,9	CH ₂
7a	134,7	136,3	C
8	128,2*	127,7*	CH
9	127,9*	127,5*	CH
10	127,5*	127,2*	CH
11	127,4*	126,5*	CH
11a	131,5	132,1	C
OCH₃	60,4	59,3	CH ₃

^a(75 MHz, CDCl₃), ^b(75MHz, DMSO-*d*₆)

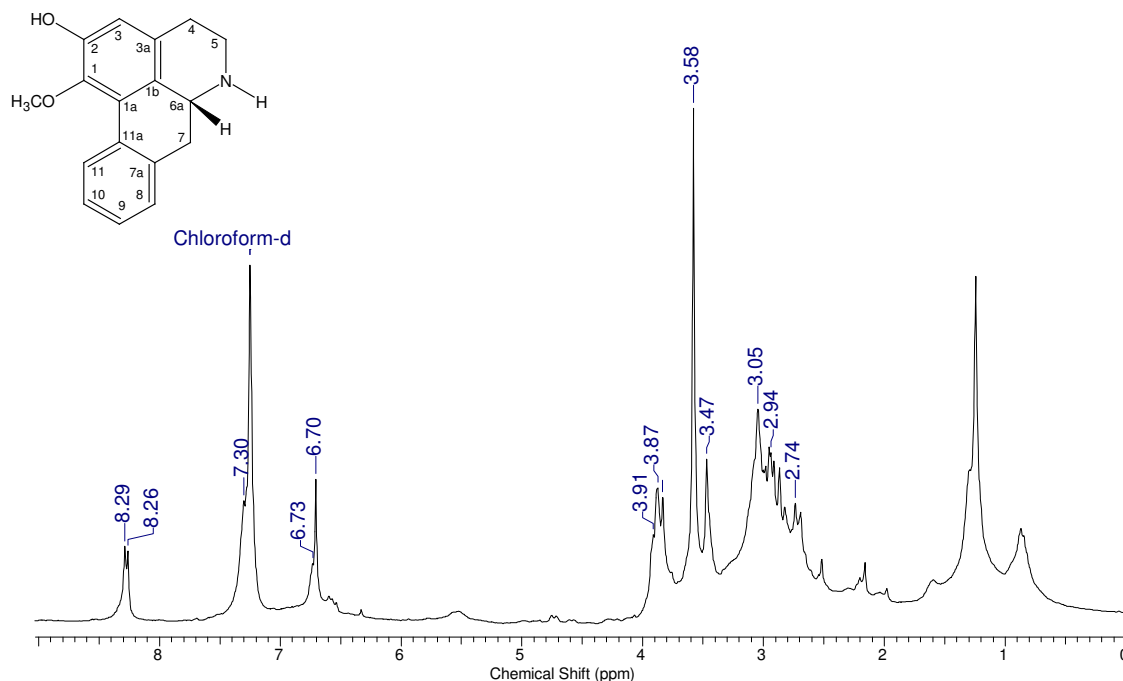
*Os sinais podem estar trocados na coluna.

File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\NIDIA\MEUS DOCUMENTOS\ESPECTROS-FID\INFRA VERMELHO\NI-6.PRN		
Date	09 Mar 2007 10:21:08	Technique	Infrared
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	%Transmittance
Points Count	1816	Data Spacing	1.9286
		Spectral Region	IR
		Spectrum Range	499.5200 - 4000.0000



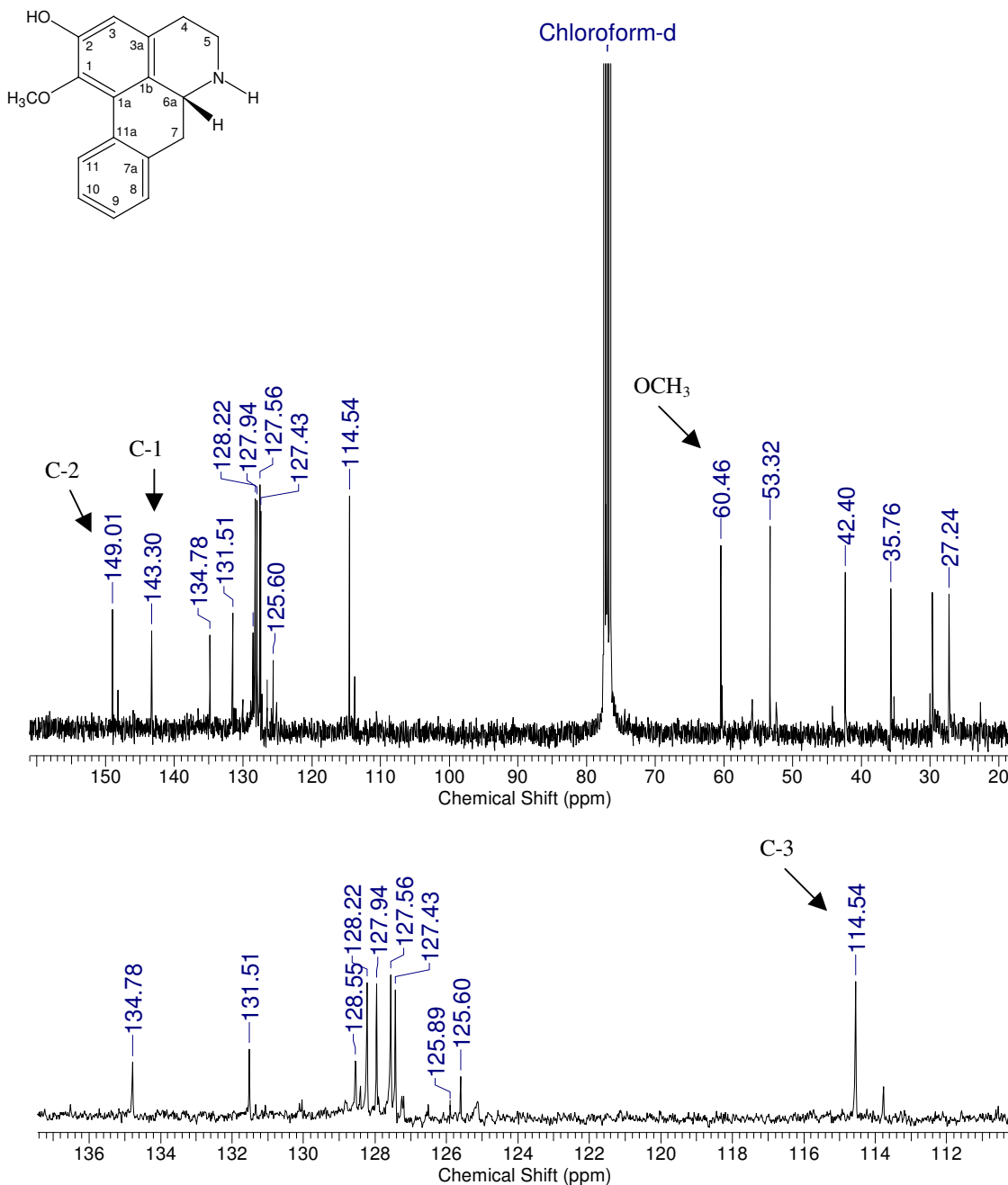
ESPECTRO 33. Espectro de IV/FT de 7.

Acquisition Time (sec)	2.1889	Comment	Imported from UXNMR.		
Date	04 Apr 2005 17:40:16				
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFALC40\ULFALC40_001000fid				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	¹ H	Number of Transients	8
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	7485.03	Temperature (degree C)	27.000

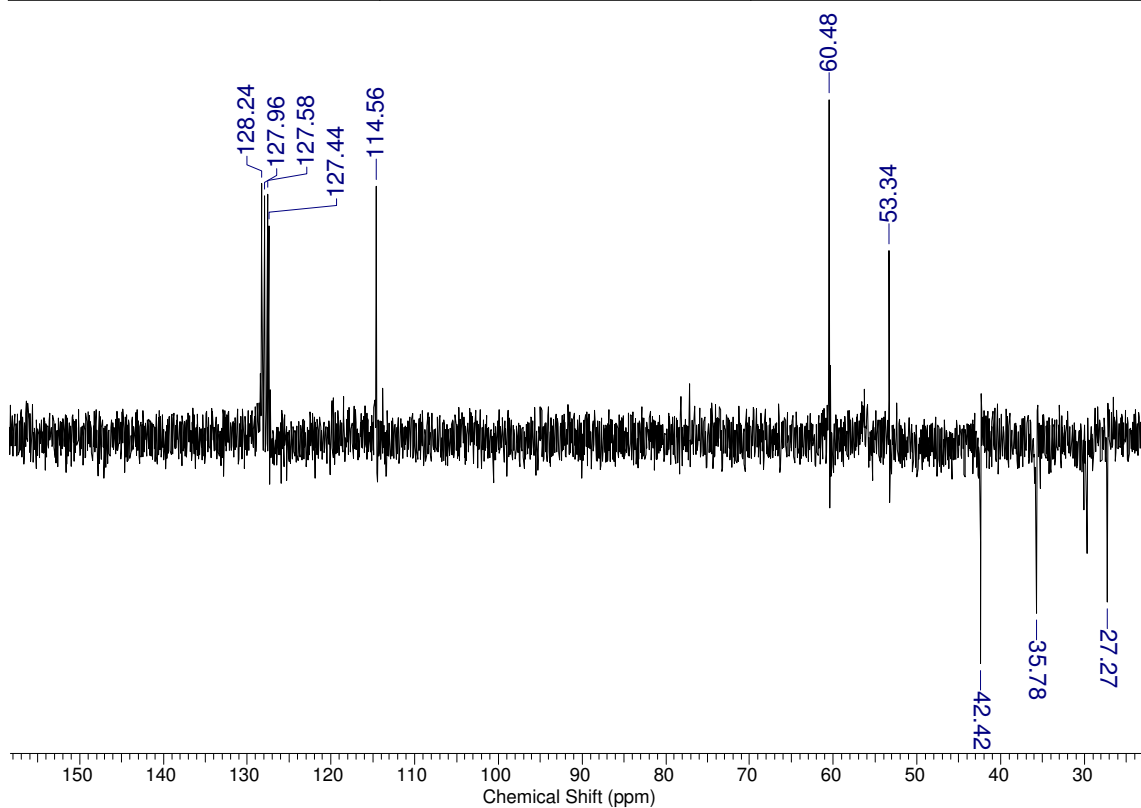
ESPECTRO 34. Espectro de RMN ¹H de 7.

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

Acquisition Time (sec)	0.8700	Comment	Imported from UXMNR.
Date	20 Apr 2005 09:06:08		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFALC40\ULFALC40_003000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Points Count	16384	Pulse Sequence	zgpg30
Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000
		Original Points Count	16384
		Solvent	CHLOROFORM-D

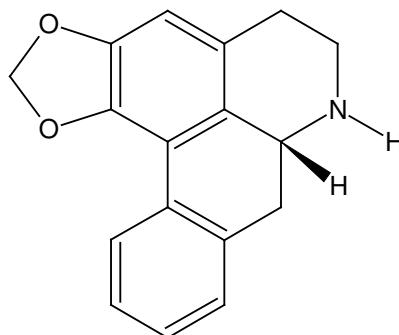
ESPECTRO 35. Espectro de RMN ¹³C de 7

Acquisition Time (sec)	1.7400	Comment	Imported from UXMNR.	
Date	20 Apr 2005 09:53:04			
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\ULFALC40\ULFALC40_002000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	13C	Number of Transients 5000
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C) 27.000



ESPECTRO 36. Espectro de DEPT 135° de 7.

4.3.3 – (–)-Anonaína (8)



(8)

O composto **8** apresentou-se como um sólido amorfo de coloração amarelada, com $[\alpha]_D^{20}$: -34,0 (CHCl_3 , c: 0,0010), solúvel em MeOH. Foi obtido do extrato etanólico do cerne e purificado através de cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 e CCPS. Em CCDS (eluente: CHCl_3 : MeOH 85:15; revelador: Dragendorff), apresentou apenas um ponto de R_f 0,5.

Seu espectro de IV/FT revelou uma banda em 3388 cm^{-1} relativa a estiramento N-H e uma banda em 2921 cm^{-1} referente a estiramento C-H alifático.

O espectro de RMN ^1H do composto **8** apresentou um perfil sugestivo de um alcalóide aporfínico, mostrando um dubleto em δ_{H} 7,95 com acoplamento *orto* (J 7,3 Hz), atribuído ao H-11, e um multiplete entre δ_{H} 7,14-7,16 referente aos hidrogênios H-8, H-9 e H-10, característico de um anel D não funcionalizado [CAVÉ, *et al.*, 1987]. Foi também visualizado um singlete em δ_{H} 6,48, referente ao H-3, que juntamente com os dois singletos largos observados em δ_{H} 5,81 e δ_{H} 5,96, referentes aos hidrogênios do grupo metilenodióxi, compõem o padrão de substituição do anel A.

No espectro de RMN ^{13}C foram observados 17 sinais, que através do experimento de DEPT 135° foram caracterizados como sendo de quatro carbonos metilênicos, cinco metínicos e oito carbonos não ligados a hidrogênio. Destaca-se a presença do carbono metilênico em δ_{C} 102,0, do grupo metilenodióxi, único substituinte presente na molécula,

localizado nos carbonos C-1 e C-2, onde os alcalóides aporfínicos são comumente funcionalizados.

Estes dados indicam que a estrutura de **8** corresponde à do alcalóide aporfínico anonaína. A comparação dos dados encontrados na literatura para o alcalóide (–)-**anonaína** com os de **8** (TABELAS 36 e 37) confirmam serem a mesma substância.

TABELA 36. Dados de RMN ^1H de **8** e da **anonaína** [HSIEH, *et al.*, 1999].

H	8 ^a [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	anonaína ^b
3	6,48 (<i>s</i>)	-----
4	2,86 (<i>d</i> , 6,9)	-----
5	3,21 (<i>m</i>)	-----
6a	3,77 (<i>dd</i> , 4,9; 13,5)	3,98 (<i>dd</i> , 5,2; 13,4)
7	2,56 (<i>d</i> , 13,5)	2,64 (<i>d</i> , 13,4)
	2,66 (<i>d</i> , 13,5)	2,85 (<i>d</i> , 13,4)
8, 9, 10	7,14-7,16 (<i>m</i>)	7,22-7,38 (<i>m</i>)
11	7,95 (<i>d</i> , 7,3)	8,08 (<i>d</i> , 7,4)
O-CH₂-O	5,81 (<i>sl</i>)	5,93 (<i>d</i> , 1,4)
	5,96 (<i>sl</i>)	6,08 (<i>d</i> , 1,4)

^a(300 MHz, CD₃OD), ^b(200 MHz, CDCl₃)

TABELA 37. Dados de RMN ^{13}C (δ) de **8** e da **anonaína** [GUINAUDEAU, *et al.*, 1983].

C	δ 8 ^a	δ anonaína ^b	DEPT 135°
1	143,9	142,5	C
1a	117,2	116,3	C
1b	129,0	129,0	C
2	148,5	146,8	C
3	108,8	108,0	CH
3a	128,6	128,7	C
4	29,3	29,6	CH ₂
5	43,9	43,6	CH ₂
6a	54,5	53,6	C
7	37,2	37,4	CH ₂
7a	136,0	135,4	C
8	128,6*	127,0*	CH
9	128,1*	127,1*	CH
10	128,0*	127,5*	CH
11	127,6*	128,1*	CH
11a	132,2	131,4	C
O-CH₂-O	102,0	100,6	CH ₂

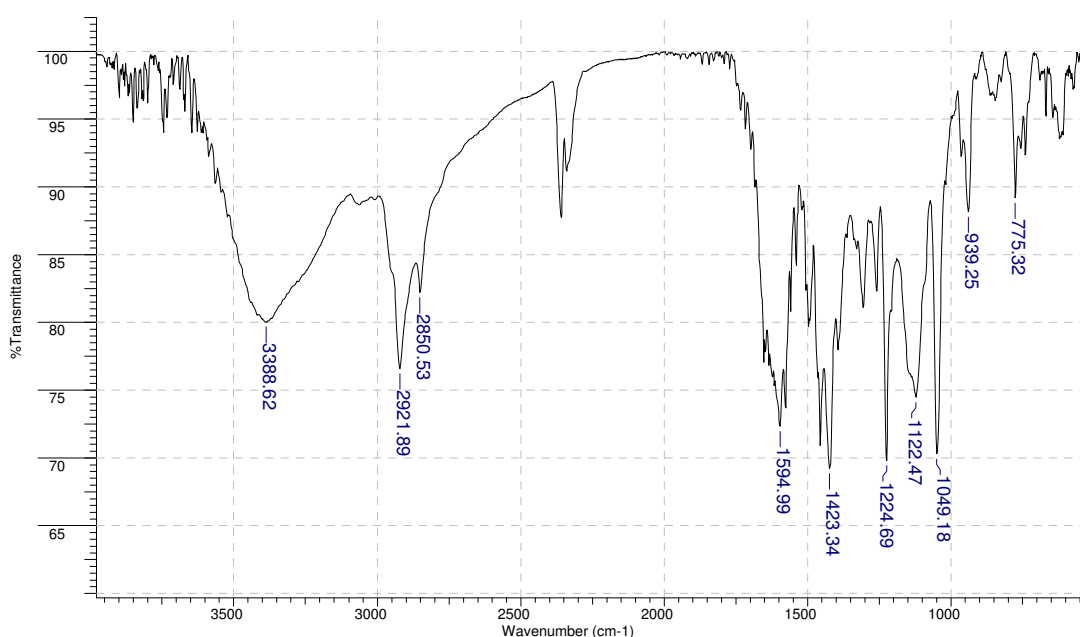
^a(75 MHz, CD₃OD), ^b(75MHz, DMSO-*d*6)

*Os sinais podem estar trocados na coluna.

- Atividades biológicas

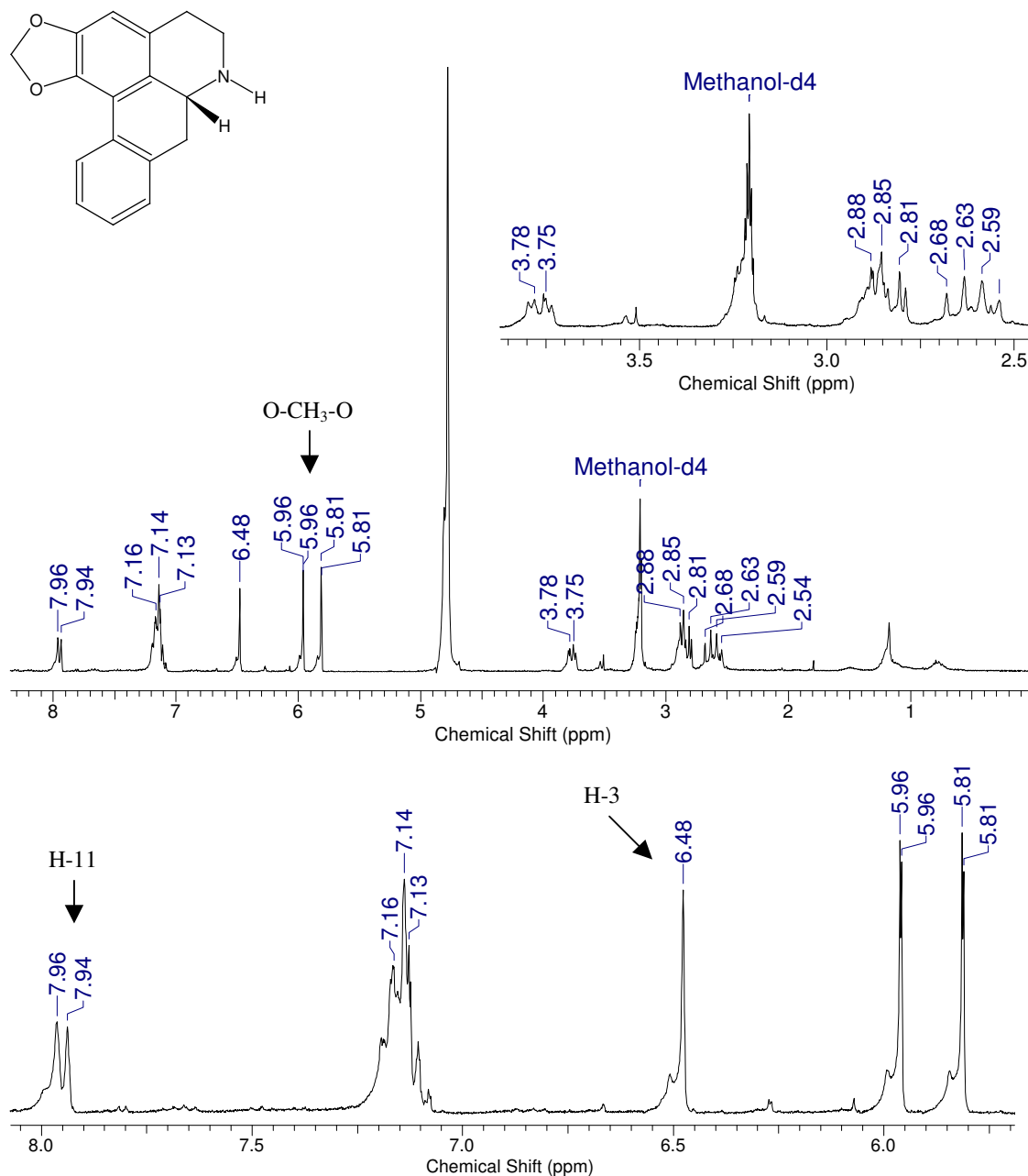
Para o alcalóide anonaína são descritas atividades como antimalarial e citotóxica sobre várias linhagens de células oncóticas, tais como de câncer de mama, fibrosarcoma, câncer de laringe, câncer de cólon, entre outras [LIKHIWITAYAWUID, *et al.*, 1993]. O mesmo estudo, agora voltado para estrutura-atividade de uma série de alcalóides de esqueleto aporfínico, revela que todos os alcalóides testados que apresentavam o grupo 1,2-metilenodióxido são ativos frente aos ensaios de citotoxicidade sobre as células tumorais. A anonaína ainda apresenta atividade inibitória seletiva sobre os receptores do neurotransmissor dopamina, envolvido em doenças como a depressão [PROTAIS, *et al.*, 1995].

File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\NIDIA\MEUS DOCUMENTOS\ESPECTROS-FID\INFRA VERMELHO\NI-7.PRN		
Date	09 Mar 2007 10:21:10	Technique	Infrared
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	%Transmittance
Points Count	1816	Data Spacing	1.9286
		Spectral Region	IR
		Spectrum Range	499.5200 - 4000.0000

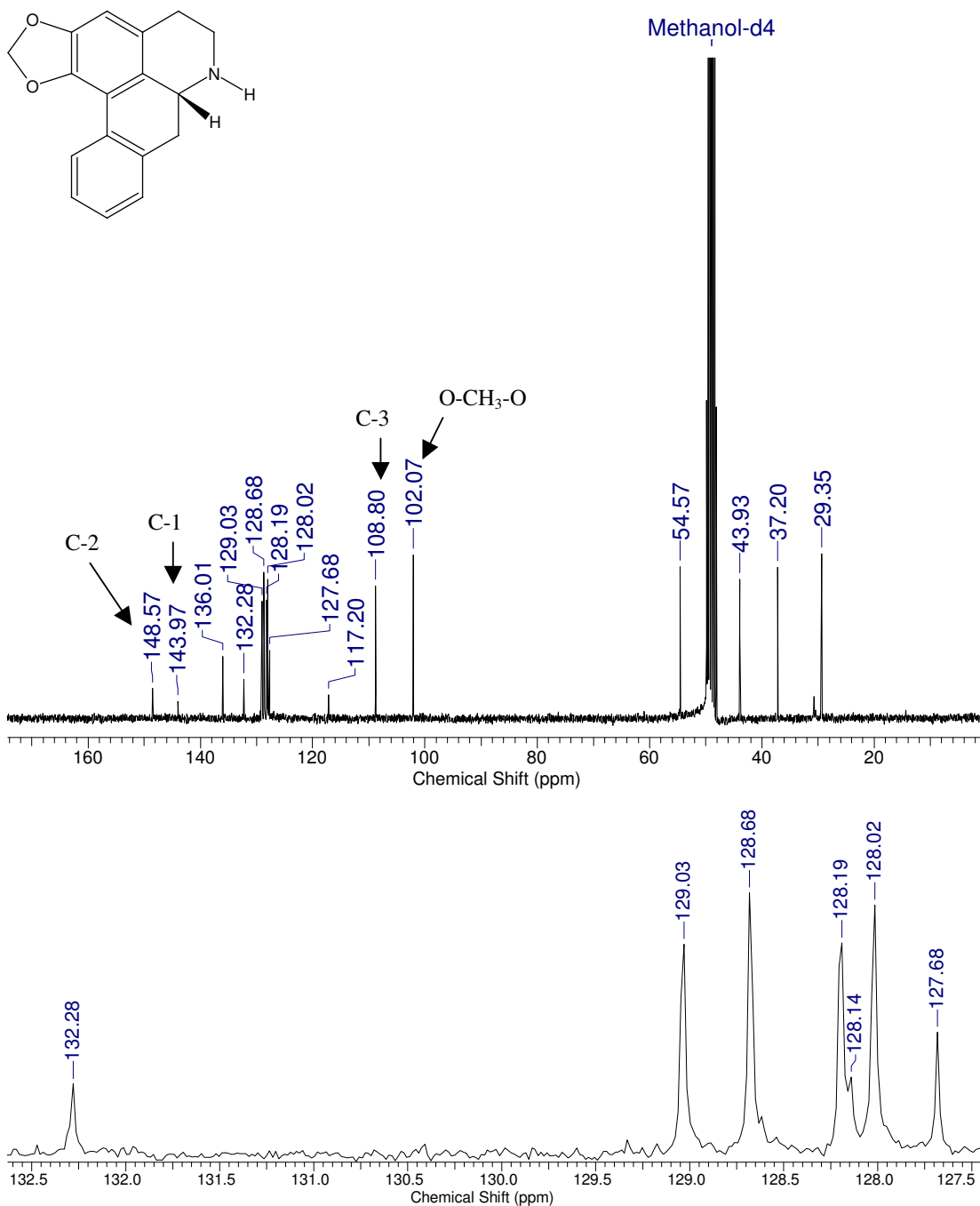


ESPECTRO 36. Espectro de IV/FT de **8**.

Acquisition Time (sec)	5.3084	Comment	Imported from UXNMR.
Date	01 Aug 2006 15:30:08		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\UlcAGHP3X\UlcAGHP3X_001000fid		
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	¹ H
Original Points Count	32768	Points Count	32768
Solvent	MeOH	Sweep Width (Hz)	6172.84
		Temperature (degree C)	27.000

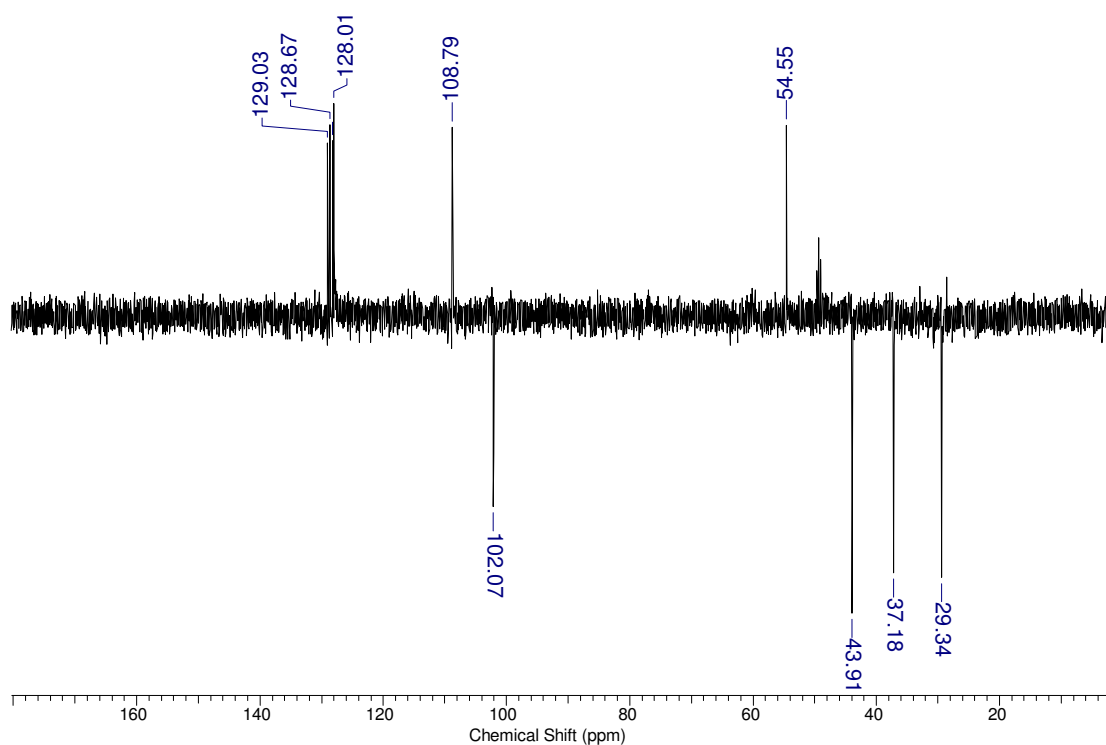
ESPECTRO 37. Espectro de RMN ¹H de 8.

Acquisition Time (sec)	0.8356	Comment	Imported from Uxnmr.
Date	03 Aug 2006 14:09:04		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\UlcAGHP3X\UlcAGHP3X_003000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Original Points Count	16384	Points Count	16384
Solvent	MeOH	Sweep Width (Hz)	19607.84
		Temperature (degree C)	27.000



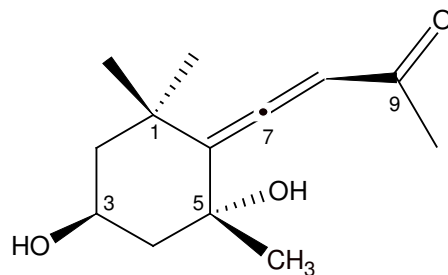
Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

Acquisition Time (sec)	1.6613	Comment	Imported from UXNMR.	
Date	03 Aug 2006 12:30:56			
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\UlcAGHP3X\UlcAGHP3X_002000fid			
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C	Number of Transients 918
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	19723.87	Temperature (degree C) 27.000



ESPECTRO 39. Espectro de DEPT135° de **8**.

4.4 – MEGASTIGMANOS

4.4.2 – (3*S*, 5*S*, 8*R*)-3,5-diidróxi-megastigma-6,7-diene-9-ona (9)

(9)

O composto **9** apresentou-se como um sólido amorfo amarelo escuro, odorífico. Foi obtido do extrato alcaloídico das folhas e purificado através de cromatografia em coluna de Sephadex LH-20, apresentando em CCDS um único ponto de Rf: 0,50 e coloração marrom quando revelada com sulfato cérico (eluente: CHCl₃:MeOH 7:3; revelador: sulfato cérico e aquecimento).

O espectro de massas de alta resolução do composto **9** foi realizado no modo positivo e apresentou pico íon pseudo molecular em m/z 225,15 ($[M+H]^+$), sendo correspondente à fórmula molecular C₁₃H₂₀O₃.

Em seu espectro de RMN ¹H, o composto **9** revelou sinais referentes a quatro metilas, apresentando-se como singletos em δ_H 1,13 (H-11), δ_H 1,36 (H-12), δ_H 1,40 (H-13) e δ_H 2,16 (H-10). Um singlete em δ_H 5,83 pôde ser atribuído ao único hidrogênio olefínico H-8. O sinal em δ_H 1,96 (*ddd*, J 12,6; 4,1; 2,1 Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-2_{eq.}, apresentando constante de acoplamento geminal de 12,6 Hz com o H-2_{ax.}, um acoplamento axial-equatorial de 4,1 Hz com o H-3_{ax.} e um acoplamento ⁴ J_w equatorial-equatorial de 2,1 Hz com o H-4_{eq.}, apresentando-se como um duplo duplo dubleto, enquanto que o H-2_{ax.} apresentou-se como um dubleto largo em δ_H 1,32 com constante de acoplamento geminal de 12,6 Hz. Os sinais em δ_H 2,27 (*ddd*, J 13,1; 4,1; 2,1 Hz, H-4_{eq.}) e δ_H 1,42 (*d*, J 13,1, H-

4_{ax.}) foram atribuídos aos H-4. O fato dos hidrogênios equatoriais encontrarem-se mais desprotegidos que os axiais pode ser explicado pelo fato do grupo hidroxila em C-3 encontrar-se também na posição equatorial, conferindo desproteção a esses hidrogênios. O sinal em δ_H 4,31 (*tt*, *J* 12,0; 11,4; 4,1; 4,1 Hz) foi atribuído ao H-3.

No espectro de RMN ^{13}C foram observados 13 sinais, que através do espectro de DEPT 135° evidenciou-se serem quatro carbonos metílicos, dois metilênicos, dois metínicos e cinco carbonos não ligados a hidrogênio. O sinal observado em δ_C 209,5 é referente à carbonila C-9, enquanto os sinais em δ_C 118,7, δ_C 198,0 e δ_C 100,7 são relativos aos carbonos C-6, C-7 e C-8, indicativos da presença de um grupo alênico na molécula. Os sinais do carbono metínico em δ_C 63,8 e do carbono não ligado a hidrogênio em δ_C 72,3 são referentes aos carbonos carbinólicos C-3 e C5, respectivamente. Os carbonos metílicos foram observados em δ_C 26,3 (C-10), δ_C 31,6 (C-11), δ_C 29,0 (C-12) e δ_C 30,9 (C-13).

No experimento bidimensional gHMBC, foi observada correlação entre o carbono em δ_C 118,7 (C-6) com os H-2 e H-4 a $^3J_{C-H}$, e também com hidrogênio olefínico H-8 a $^3J_{C-H}$, o que está de acordo com a estrutura proposta. A correlação entre o H-8 a $^2J_{C-H}$ com os carbonos em δ_C 198,1 (C-7) e δ_C 209,5 (C-9), corroborou a atribuição do grupo alênico e da carbonila. As demais correlações observadas, que dão suporte a estrutura proposta, estão descritas na tabela 45.

Através do experimento NOESY foi visualizada uma correlação entre o H-3 (δ_H 4,31) com o H-12 (δ_H 1,36) que se encontra em posição axial, confirmando a estereoquímica em na posição C-3. Como não se observada correlação entre o H-3_{axial} e hidrogênios metílicos H-13 (δ_H 1,40), é sugestivo de que a metila H-13 esteja em posição equatorial. Também foi observada uma correlação entre o H-8 e os hidrogênios metílicos H-10.

No experimento COSY foram observadas correlações entre os dois hidrogênios H-2 e entre os dois hidrogênios H-4, além das correlações entre o H-3 com os hidrogênios H-2 e H-4.

O confronto dos dados obtidos para o composto **9** com os encontrados na literatura para o composto trivialmente denominado “**grasshopper ketone**” (TABELA 38 e 39), confirmam ser a mesma substância.

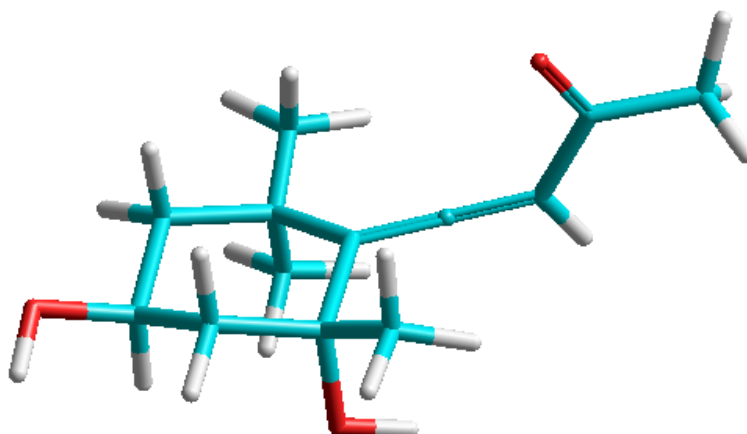


FIGURA 6. Imagem tridimensional do composto 9.

TABELA 38. Dados de RMN ^1H de 9 e da grasshopper ketone [DELLAGRECA, *et al.*, 2004].

H	δ 9 ^a [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	δ grasshopper ketone ^b
2 _{eq.}	1,96 (<i>ddd</i> , 12,6; 4,1; 2,1)	1,98 (<i>m</i>)
2 _{ax.}	1,32 (<i>dl</i> , 12,6)	1,43 (<i>m</i>)
3	4,31 (<i>tt</i> , 12,0; 11,4; 4,1; 4,1)	4,30 (<i>m</i>)
4 _{eq.}	2,27 (<i>ddd</i> , 13,1; 4,1; 2,1)	2,20 (<i>m</i>)
4 _{ax.}	1,42 (<i>dl</i> , 13,1)	1,42 (<i>m</i>)
8	5,82 (<i>s</i>)	5,97 (<i>s</i>)
10	2,16 (<i>s</i>)	2,25 (<i>s</i>)
11	1,13 (<i>s</i>)	1,10 (<i>s</i>)
12	1,36 (<i>s</i>)	1,39 (<i>s</i>)
13	1,40 (<i>s</i>)	1,41 (<i>s</i>)

^a(300 MHz, CDCl_3), ^b(500 MHz, CDCl_3)

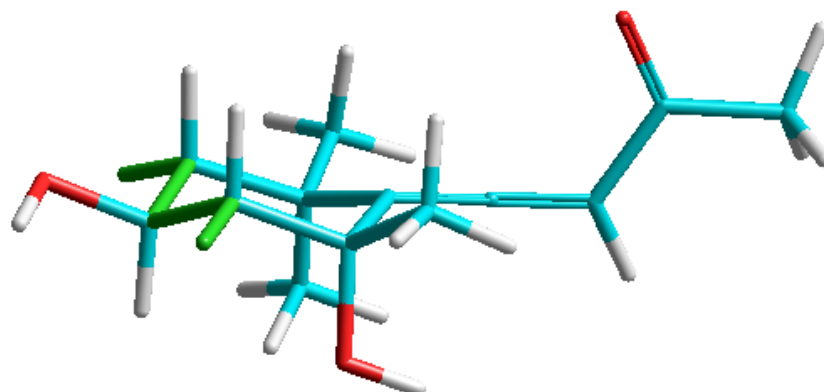


FIGURA 7. Em verde, destaque do acoplamento $^4J_{W\text{ H-H}}$ entre o H-2_{eq} e H-4_{eq} do composto **9**.

TABELA 39. Dados de RMN ^{13}C de **9** e da grasshopper ketone [DELLAGRECA, *et al.*, 2004].

C	δ 9 ^a	δ grasshopper ketone ^b	DEPT 135°
C-1	36,1	35,9	C
C-2	48,9	48,7	CH ₂
C-3	63,8	63,9	CH
C-4	48,7	48,7	CH ₂
C-5	72,3	72,4	C
C-6	118,7	118,7	C
C-7	198,1	199,1	C
C-8	100,7	100,1	CH
C-9	209,5	209,4	C
C-10	26,3	27,1	CH ₃
C-11	31,6	31,9	CH ₃
C-12	29,0	29,1	CH ₃
C-13	30,9	30,9	CH ₃

^a(75 MHz, CDCl₃), ^b(125 MHz, CDCl₃)

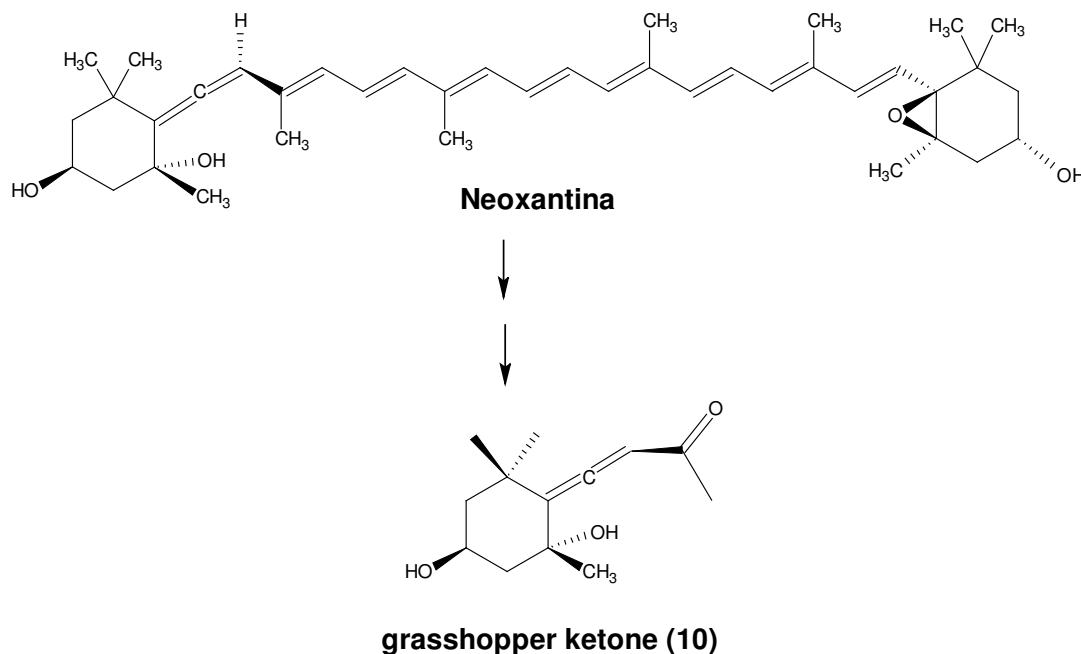
TABELA 40. Dados obtidos de experimentos bidimensionais gHSQC e gHMBC de **9** (CDCl₃).

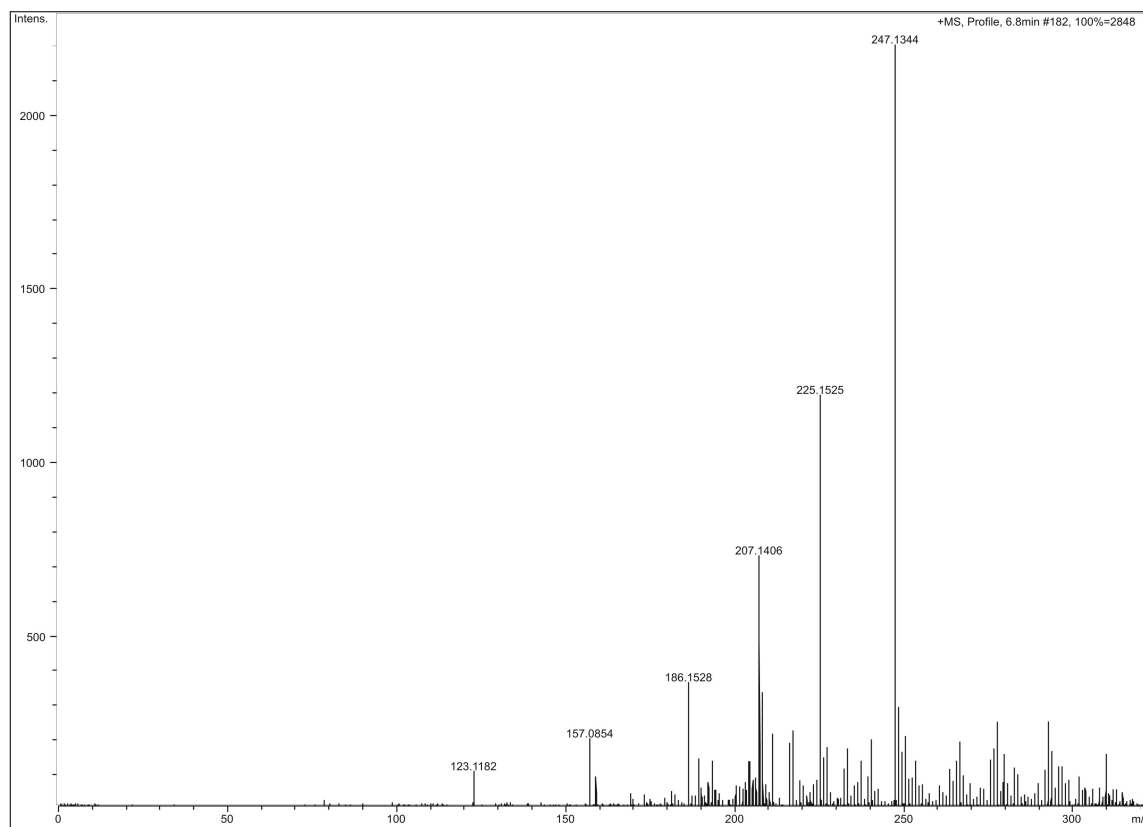
	gHSQC		gHMBC	
	δ C	δ H	2J	3J
C-1	36,1	-----	H-2/H-11/H-12	-----
C-2	48,9	1,96 (<i>ddd</i> , 12,6; 4,1; 2,1)	-----	H-4
		1,32 (<i>d</i> , 12,6)		
C-3	63,8	4,31 (<i>tt</i> , 12,0; 11,4; 4,1; 4,1)	H-2/H-4	-----
C-4	48,7	2,27 (<i>ddd</i> , 13,1; 4,1; 2,1)	-----	H-2
		1,42 (<i>d</i> , 13,1)		
C-5	72,3	-----	H-4/H-13	-----
C-6	118,7	-----	-----	H-2/H-4/H-8
C-7	198,1	-----	H-8	-----
C-8	100,7	5,82 (<i>s</i>)	-----	H-10
C-9	209,5	-----	H-8	-----
C-10	26,3	2,16 (<i>s</i>)	-----	H-8
C-11	31,6	1,13 (<i>s</i>)	-----	H-12
C-12	29,0	1,36 (<i>s</i>)	-----	H-11
C-13	30,9	1,40 (<i>s</i>)	-----	-----

- Ocorrência e atividades biológicas

O curioso nome trivial dado a este composto, **grasshopper ketone**, algo como “cetona de gafanhoto”, foi devido seu isolamento ter se dado primeiramente a partir de uma secreção antirrepelente emitida por alguns gafanhotos (*Romalea microptera*) [MEINWALD, *et al.*, 1968] e, desde então, esse composto tem sido encontrado também na composição de algumas espécies de plantas. Para essa substância, encontra-se relato de atividade alelopática sobre sementes de *Lactuca sativa* [DELLAGRECA, *et al.*, 2004], e para um análogo glicosilado deste composto, há estudos que indicam sua atividade inibitória sobre cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* [WANG, *et al.*, 2005] além de atividade inibitória sobre a produção de óxido nítrico [MARINO, *et al.*, 2004]. Evidências experimentais indicam que a biossíntese do composto **9** é oriunda da degradação do carotenóide neoxantina [BAUMES, *et al.*, 2002] (ESQUEMA 9).

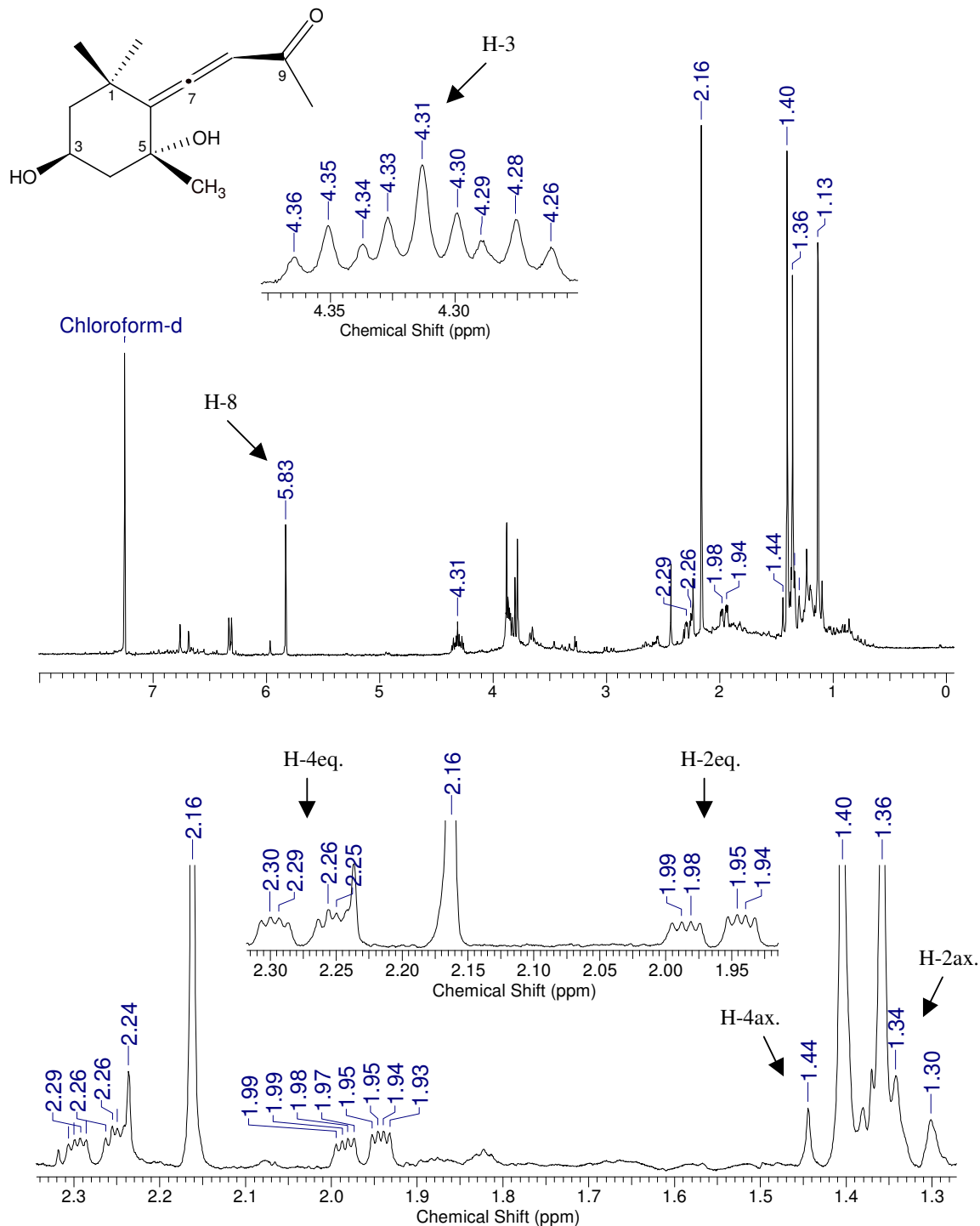
ESQUEMA 9. Proposta biossintética para o megastigmano **grasshopper ketone** [BAUMES, *et al.*, 2002].





ESPECTRO 39. ESIMS do composto 9.

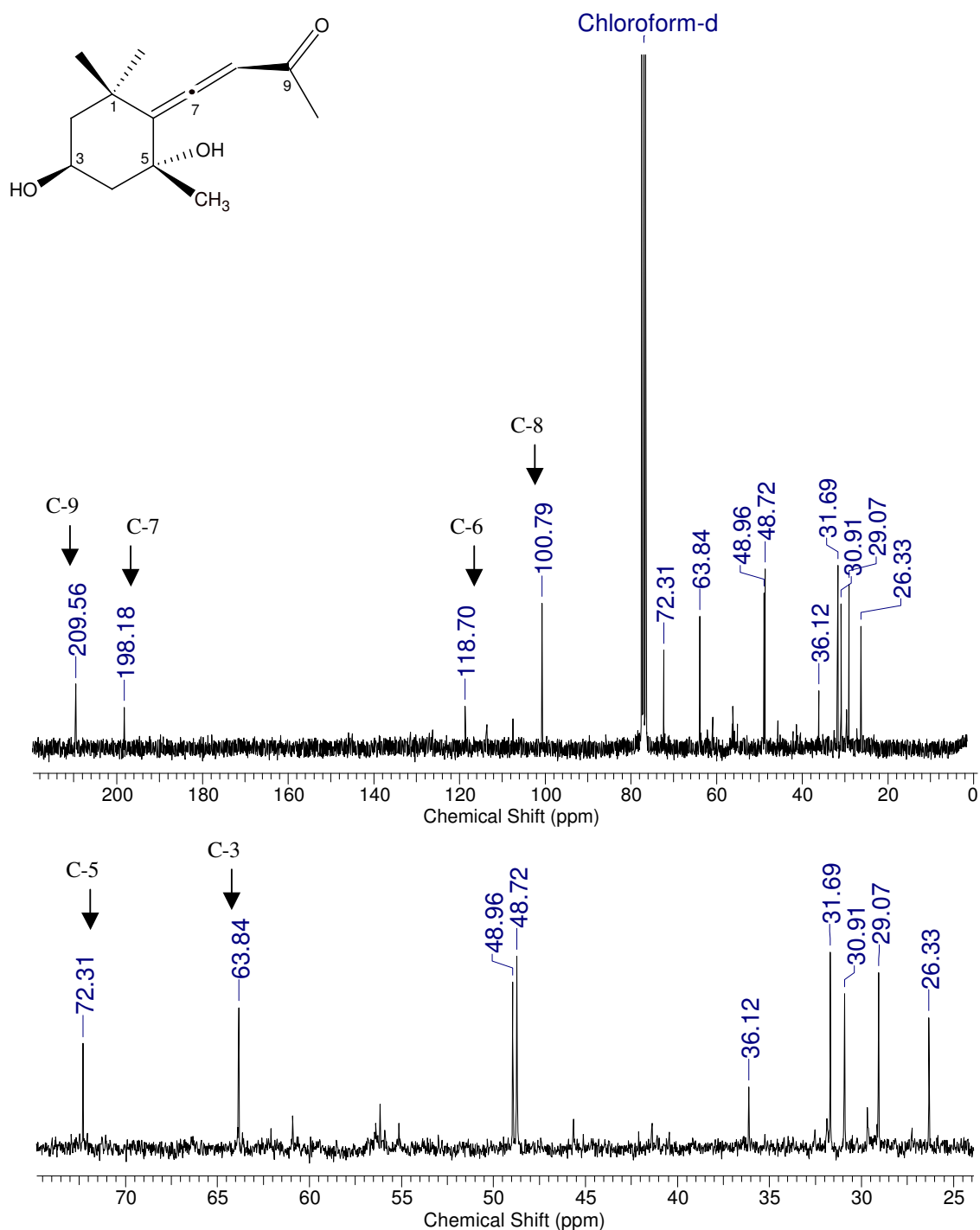
Acquisition Time (sec)	7.0255	Date	13 Feb 2007 23:10:56
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\UIFRS-13\UIFRS-13_001000fid		
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	¹ H
Original Points Count	32768	Points Count	32768
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4664.18
		Pulse Sequence	zg
		Temperature (degree C)	27.000



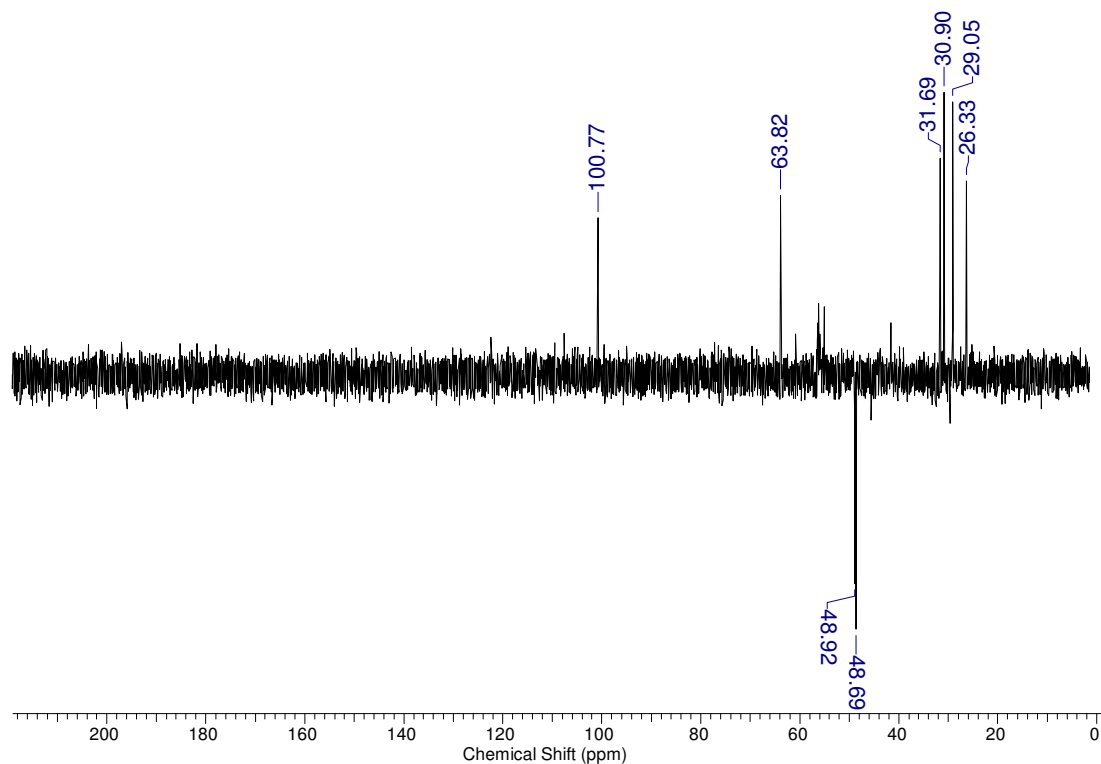
ESPECTRO 40. Espectro de RMN ¹H de **9**.

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

Acquisition Time (sec)	0.8700	Date	13 Mar 2007 11:03:28
File Name	F:\UIFRS-13\UIFRS-13_030000fid	Frequency (MHz)	75.48
Nucleus	¹³ C	Number of Transients	7161
Points Count	16384	Original Points Count	16384
Sweep Width (Hz)	18832.39	Pulse Sequence	zgpg30
		Solvent	CHLOROFORM-D
		Temperature (degree C)	27.000

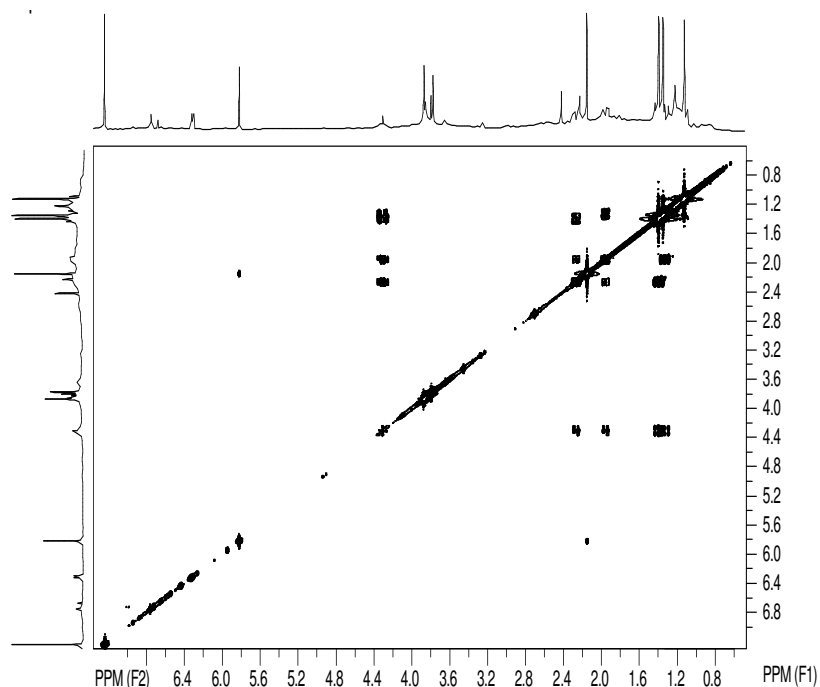
ESPECTRO 41. Espectro de RMN ¹³C de 9.

Acquisition Time (sec)	1.7400	Date	21 Feb 2007 20:33:04		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\UIFRS-13\UIFRS-13_002000fid				
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C	Number of Transients	996
Original Points Count	32768	Points Count	32768	Pulse Sequence	dept135
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39	Temperature (degree C)	27.000

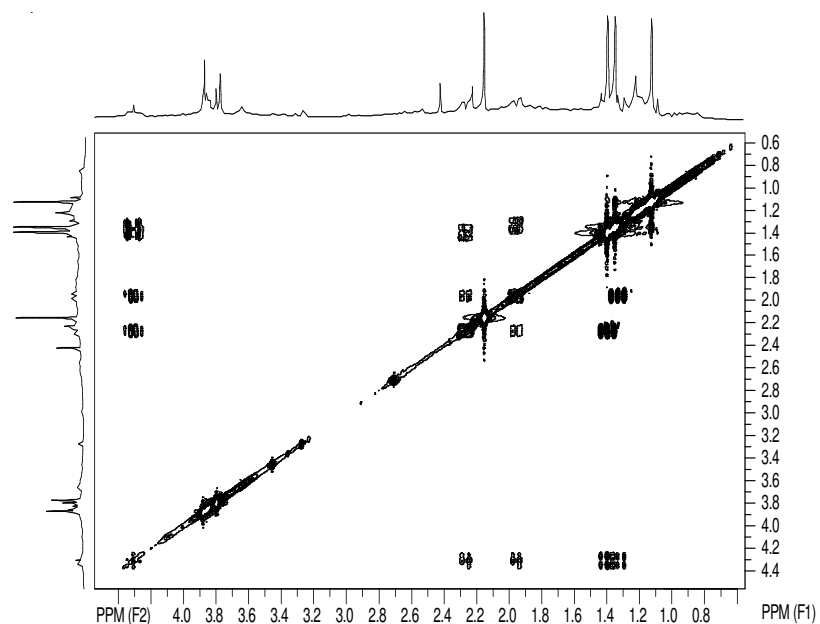


ESPECTRO 42. Espectro de DEPT 135° de **9**.

Acquisition Time (sec)	(0.0978, 0.4227)	Date	19 Mar 2007 12:47:32
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\UIFRS-13\71\ser		
Frequency (MHz)	(300.13, 300.13)	Nucleus	(1H, 1H)
Original Points Count	(237, 1024)	Points Count	(256, 1024)
Solvent	CDCl ₃	Sweep Width (Hz)	(2422.48, 2422.48)
		Number of Transients	12
		Pulse Sequence	cosygpgf
		Temperature (degree C)	27.000

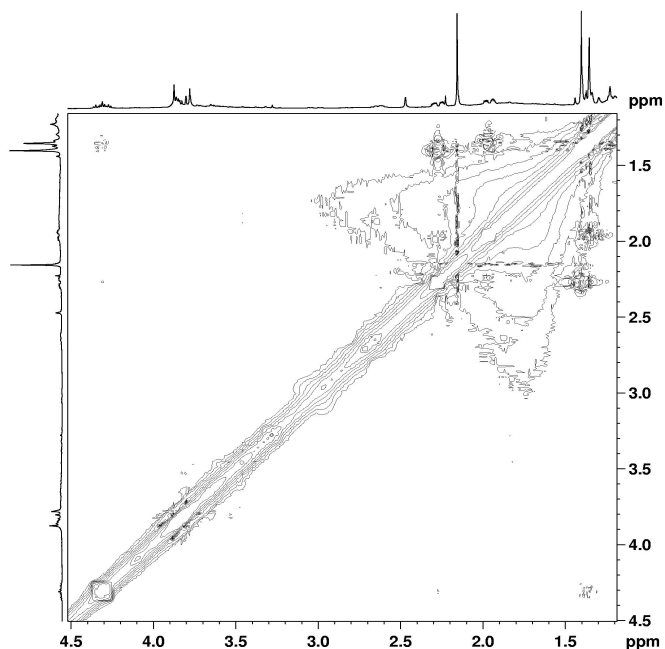


ESPECTRO 43. Espectro COSY de **9** (CDCl₃).

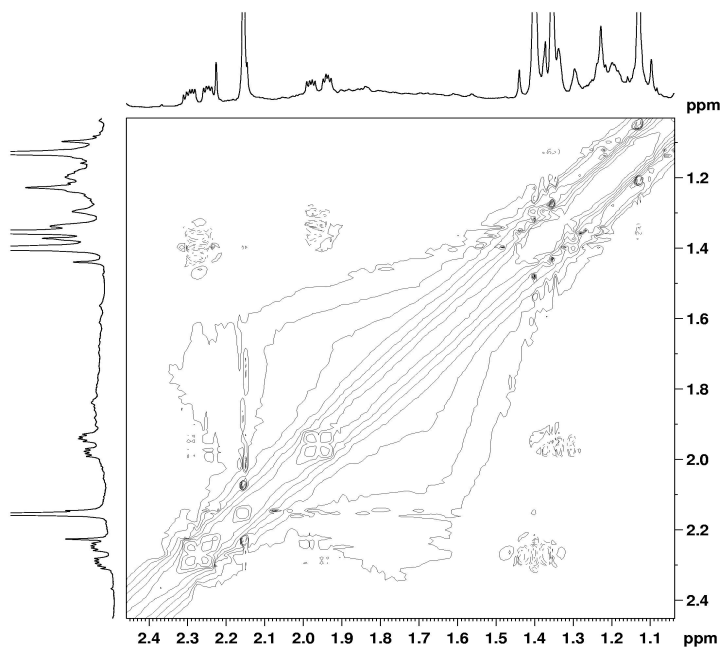


ESPECTRO 44. Espectro COSY de **9**, entre δ_H 0,8-5,0 ppm.

Acquisition Time (sec)	(0.1057, 0.4227)	Date	19 Mar 2007 14:26:44
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\UIFRS-13\9\ser		
Frequency (MHz)	(300.13, 300.13)	Nucleus	(1H, 1H)
Original Points Count	(256, 1024)	Points Count	(256, 1024)
Solvent	CDCl ₃	Sweep Width (Hz)	(2422.48, 2422.48)
		Number of Transients	8
		Pulse Sequence	noesygpph
		Temperature (degree C)	27.000

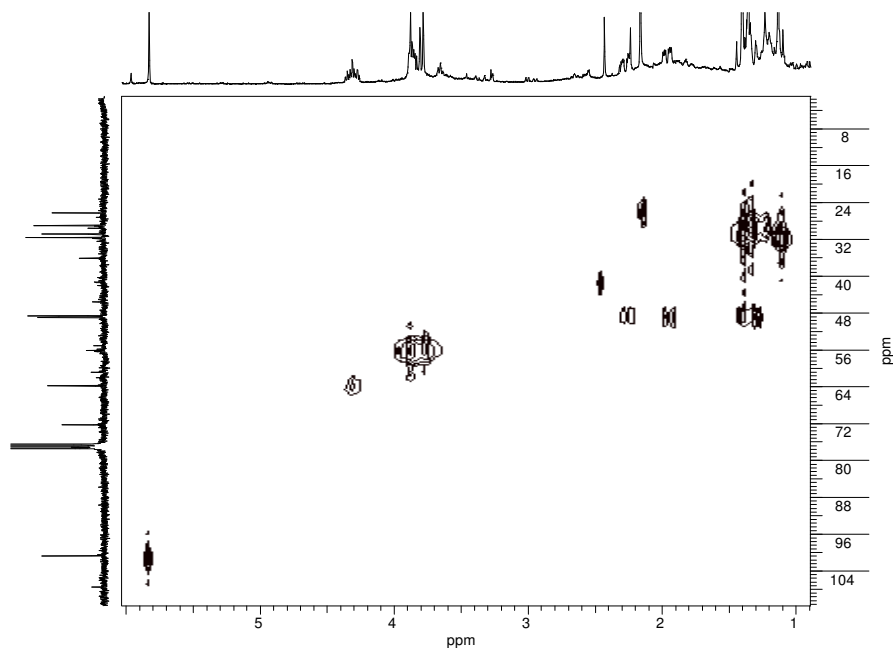


ESPECTRO 45. Espectro NOESY de **9**, entre δ_{H} 1,0-4,5 ppm (CDCl₃).

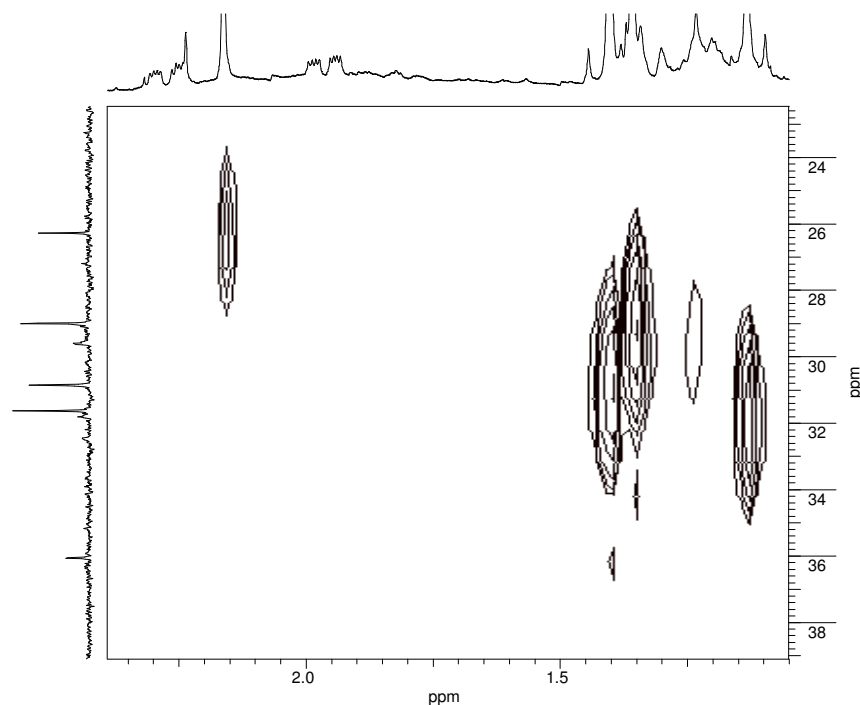


ESPECTRO 46. Espectro NOESY de **9**, entre δ_{H} 1,1-2,5 ppm.

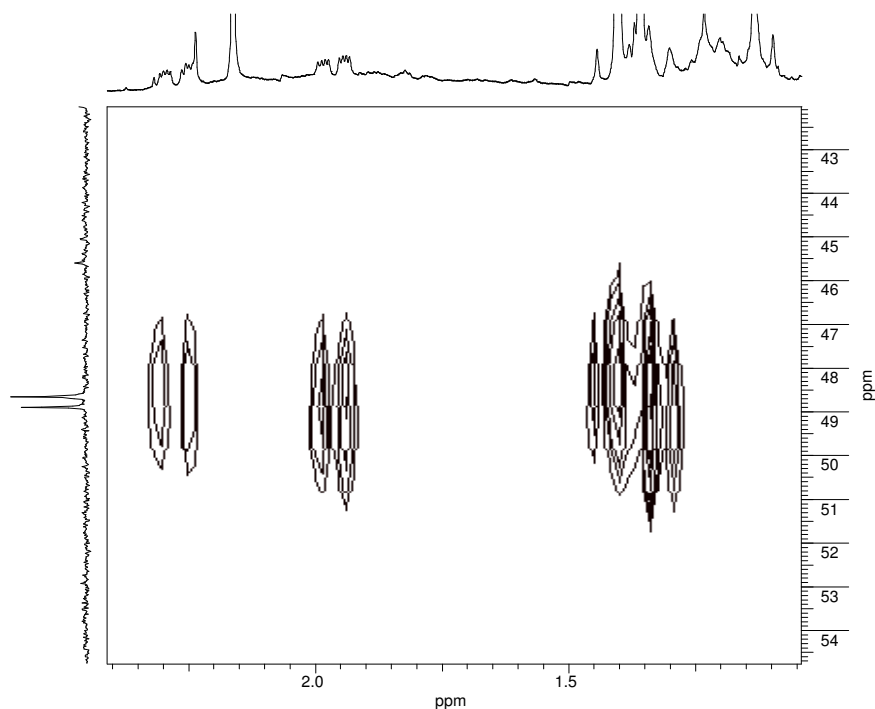
Acquisition Time (sec)	(0.0072, 0.2114)	Date	05 Mar 2007 16:50:22
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\UIFRS-13\5\ser		
Frequency (MHz)	(75.48, 300.13)	Nucleus	(¹³ C, ¹ H)
Original Points Count	(136, 512)	Points Count	(256, 512)
Solvent	CDCl ₃	Sweep Width (Hz)	(18832.39, 2422.48)
		Number of Transients	12
		Pulse Sequence	hsqcetgcp
		Temperature (degree C)	27.000



ESPECTRO 47. Mapa de contornos gHSQC de **9**, entre δ_H 1,0-6,0 ppm (CDCl₃).

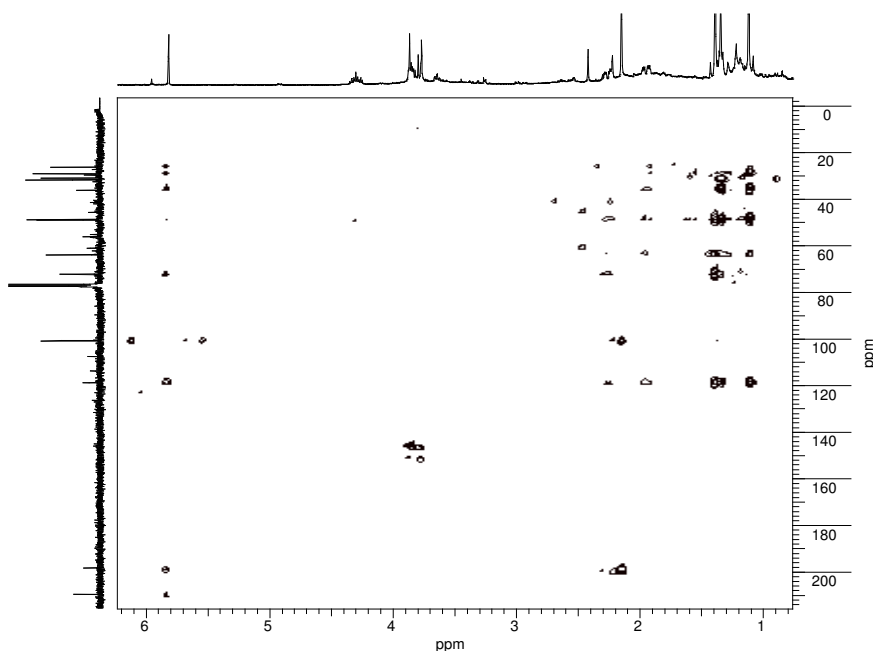


ESPECTRO 48. Mapa de contornos gHSQC de **9**, entre δ_H 1,0-2,5 ppm.

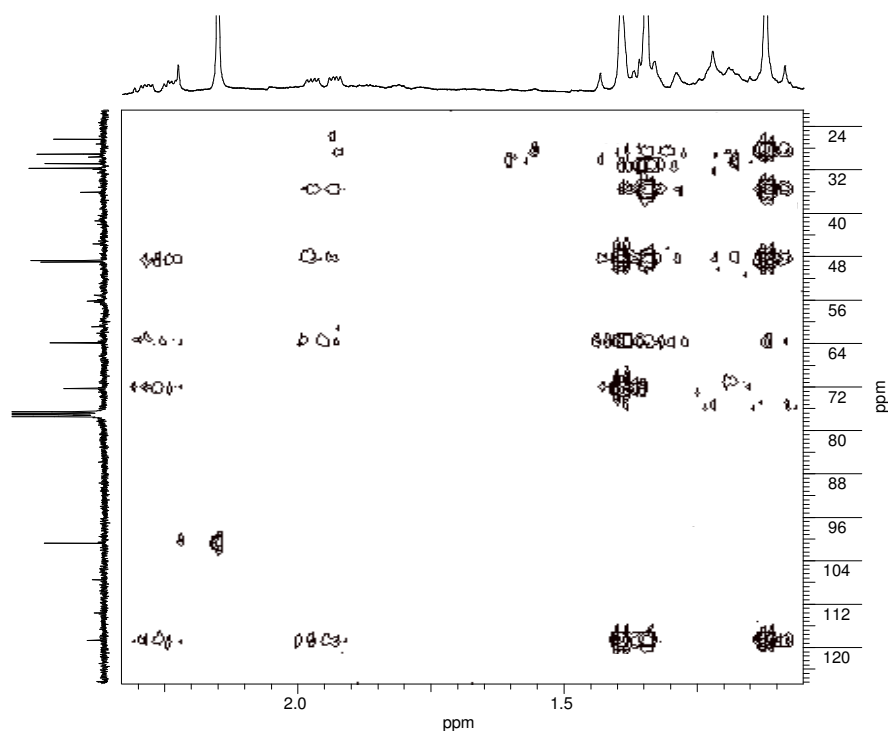


ESPECTRO 49. Mapa de contornos gHSQC de **9**, entre δ_H 1,0-2,5 ppm.

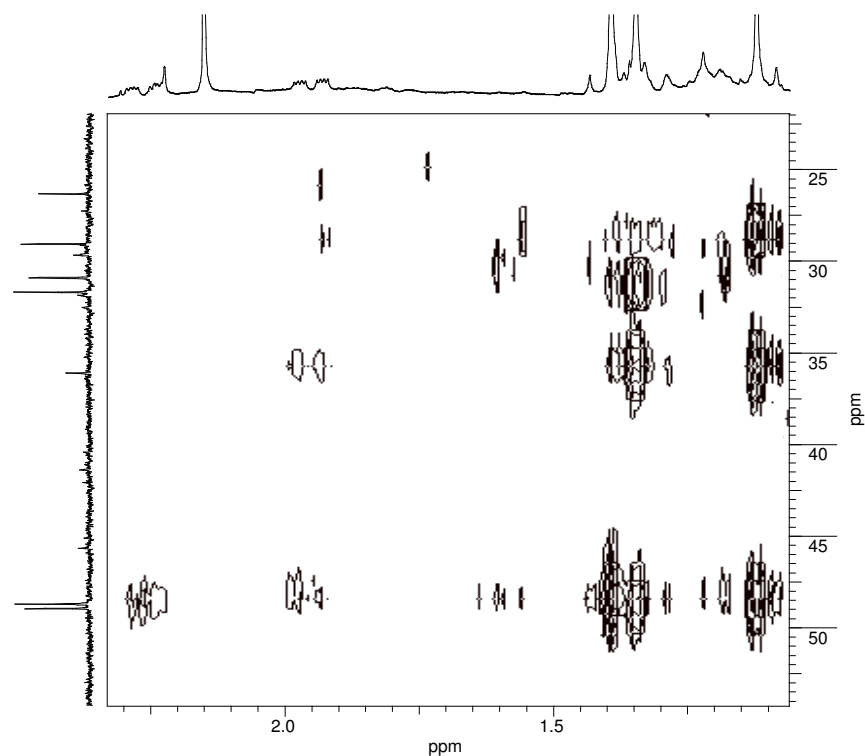
Acquisition Time (sec)	(0.0136, 0.8454)	Date	06 Mar 2007 13:10:42
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\UIFRS-13\6\ser		
Frequency (MHz)	(75.48, 300.13)	Nucleus	(¹³ C, ¹ H)
Original Points Count	(256, 2048)	Points Count	(256, 2048)
Solvent	CDCl ₃	Sweep Width (Hz)	(18832.39, 2422.48)
		Number of Transients	16
		Pulse Sequence	hmbcgpndqf
		Temperature (degree C)	27.000



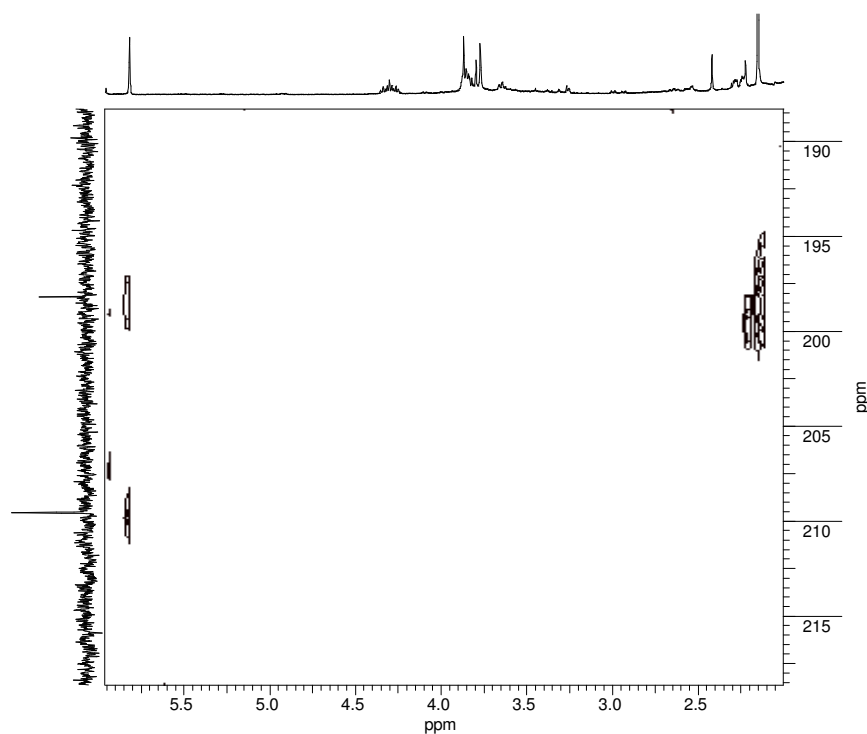
ESPECTRO 50. Mapa de contornos gHMBC de **9**, entre δ_H 1,0-6,0 ppm (CDCl₃).



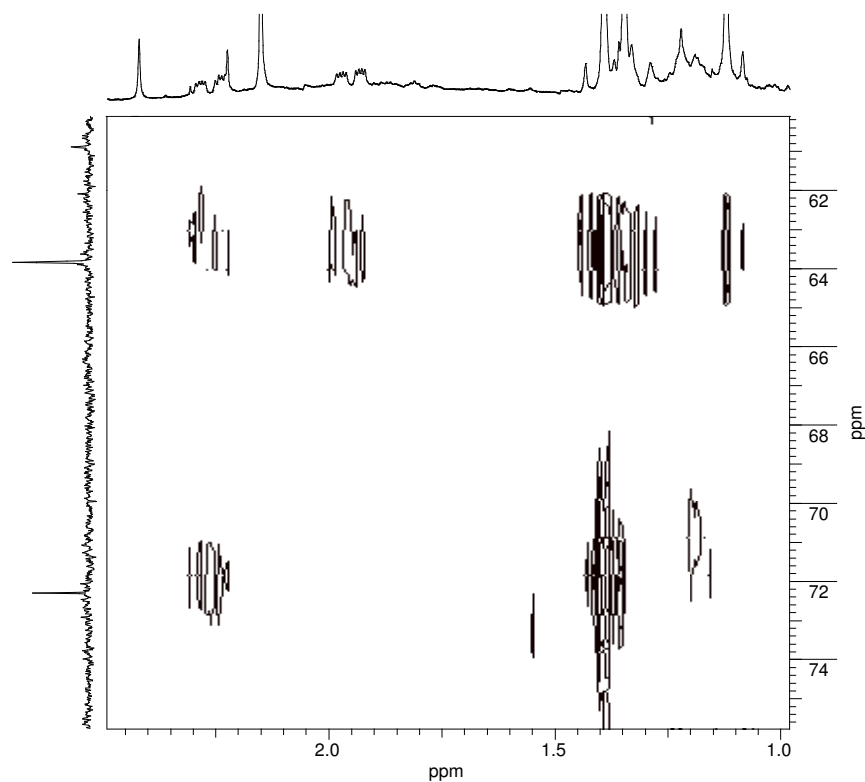
ESPECTRO 51. Mapa de contornos gHMBC de **9**, entre δ_H 1,0-2,5 ppm.



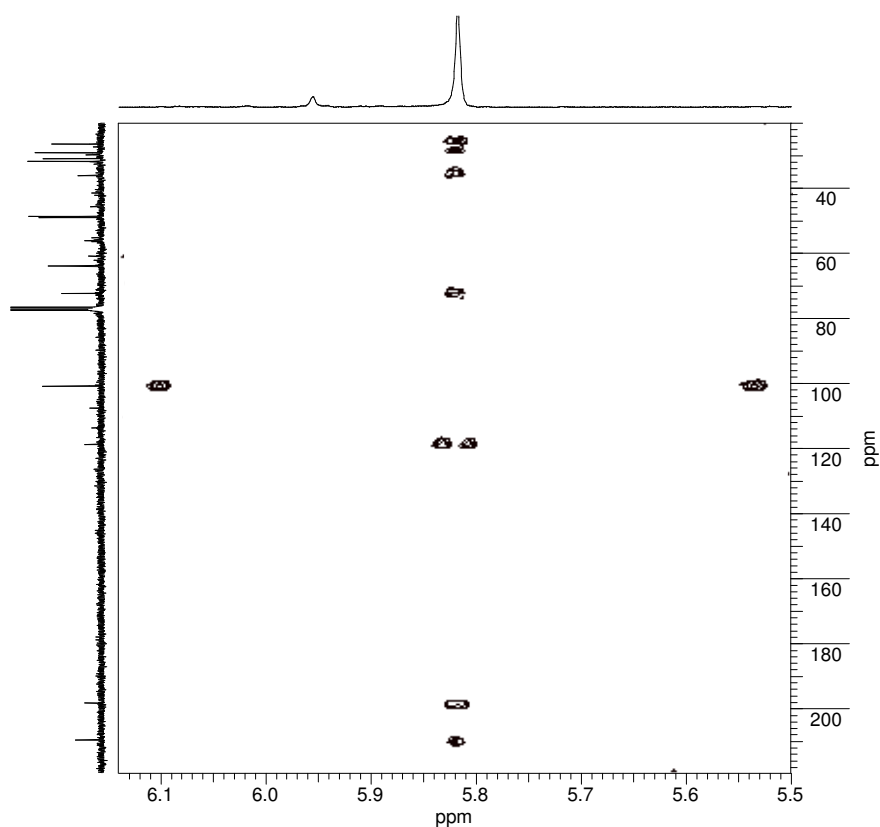
ESPECTRO 52. Mapa de contornos gHMBC de **9**, entre δ_H 1,0-2,5 ppm.



ESPECTRO 53. Mapa de contornos gHMBC de **9**, entre δ_H 2,0-6,0 ppm.

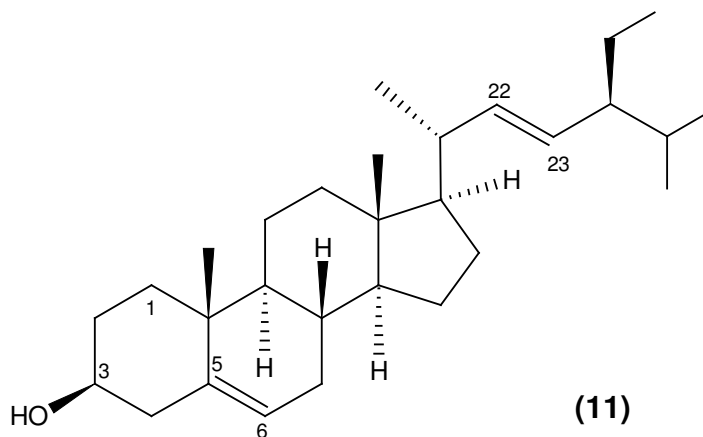
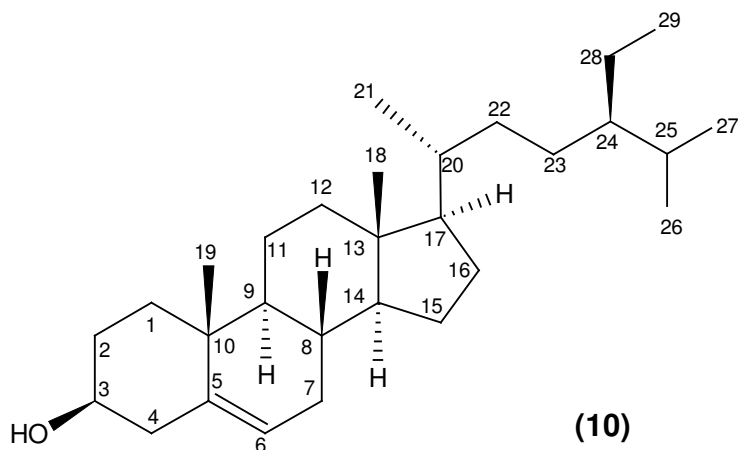


ESPECTRO 54. Mapa de contornos gHMBC de **9**, entre δ_H 1,0-3,0 ppm.



ESPECTRO 55. Mapa de contornos gHMBC de **9**, entre δ_{H} 5,5-6,2 ppm.

4.5 –ESTERÓIDES

4.5.1 – β - sistosterol (10) e Estigmasterol (11)

Os compostos **10** e **11** apresentaram-se como sólidos brancos cristalinos, solúveis em CHCl_3 . Foram obtidos do extrato etanólico do cerne e purificados por cromatografia em coluna de sílica, e em CCDS (eluente: Hx: AcOEt 1:1; revelador: sulfato cérico e aquecimento) revelam-se como um ponto de coloração roxa e R_f 0,65.

No espectro de IV/FT de **10** e **11** é visualizada uma banda em 3419 cm^{-1} referente a estiramento de grupo hidroxila e uma banda entre $2852\text{--}2954\text{ cm}^{-1}$ relativa a estiramento C-H alifático.

O espectro de RMN ^1H apresentou um sinal em $\delta_{\text{H}} 5,34$ (*sl*) relativo ao hidrogênio olefínico H-6 dos compostos **10** e **11**, além de dois duplo dubletos em $\delta_{\text{H}} 5,00$ (*dd*, *J* 15,3 e 8,1 Hz) e $\delta_{\text{H}} 5,14$ (*dd*, *J* 15,3 e 8,1 Hz), referentes aos hidrogênios olefínicos H-23 e H-22, respectivamente, do composto **11**. Um multipeto localizado em $\delta_{\text{H}} 3,51$ é relativo ao hidrogênio H-3, diretamente ligado ao carbono carbinólico C-3 em ambos compostos **10** e **11**. Os demais sinais apareceram envelopados na região entre $\delta_{\text{H}} 0,66$ a $\delta_{\text{H}} 2,77$.

O espectro de RMN ^{13}C apresentou sinais em $\delta_{\text{C}} 140,6$ e $\delta_{\text{C}} 121,7$, referentes aos carbonos olefínicos C-5 e C-6 em **10** e **11**, e $\delta_{\text{C}} 129,2$ e $\delta_{\text{C}} 138,3$, relativo aos carbonos C-23 e C-22 respectivamente, que compõem a outra dupla ligação presente apenas no composto **11**. As intensidades relativas permitiram distinguir os sinais de cada composto. Os demais sinais visualizados nos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C encontram-se descritos nas tabelas 41 e 42.

A comparação dos dados obtidos para **10** e **11** com dados da literatura confirmou tratar-se de uma mistura dos esteróides **β -sitosterol** e **estigmasterol** (TABELAS 41 e 42).

TABELA 41. Dados de RMN ^1H da mistura de **10** e **11** e dos esteróides **β -sitosterol** e **estigmasterol** [GALOTA, *et al.*, 2005].

H	δ 10 ^a [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	δ β-sitosterol ^b	δ 11 ^a [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	δ estigmasterol ^b
3	3,51 (<i>m</i>)	3,5 (<i>m</i>)	3,51 (<i>m</i>)	3,5 (<i>m</i>)
6	5,34 (<i>sl</i>)	5,2 (<i>m</i>)	5,34 (<i>sl</i>)	5,2 (<i>m</i>)
22	-----	-----	5,14 (<i>dd</i> , 15,3 e 8,1)	5,18 (<i>dd</i> , 14,8 e 7,0)
23	-----	-----	5,00 (<i>dd</i> , 15,3 e 8,1)	5,03 (<i>dd</i> , 14,8 e 7,0)

^a (75 MHz, CDCl_3), ^b (50 MHz, CDCl_3)

TABELA 42. Dados de RMN ^{13}C da mistura de **10** e **11** e dos esteróides β -sitosterol e estigmasterol [GALOTA, *et al.*, 2005].

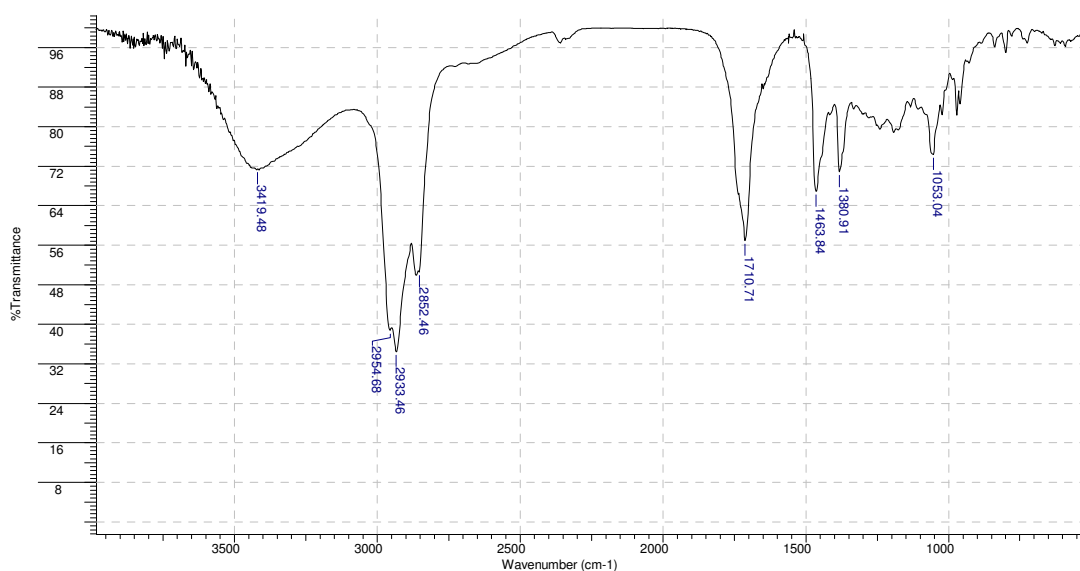
C	δ 10 ^a	δ β -sitosterol ^b	δ 11 ^a	δ estigmasterol ^b
1	37,2	37,2	37,2	37,2
2	31,5	31,6	31,5	31,6
3	71,8	71,8	71,4	71,8
4	42,2	42,2	42,2	42,2
5	140,6	140,7	140,6	140,7
6	121,7	121,7	121,7	121,7
7	31,8	31,8	31,8	31,8
8	31,8	31,8	31,8	31,8
9	50,1	50,1	50,1	50,1
10	36,4	36,4	36,4	36,4
11	21,0	21,0	21,0	21,0
12	39,7	39,7	39,6	39,6
13	42,2	42,2	42,2	42,2
14	56,7	56,7	56,8	56,8
15	24,2	24,3	24,3	24,3
16	28,2	28,2	29,0	28,2
17	56,0	56,0	55,9	55,9
18	11,8	11,8	12,0	11,8
19	19,3	19,3	19,3	19,3
20	36,1	36,1	40,4	40,5
21	18,9	19,0	21,2	21,2
22	33,9	33,9	138,3	138,4
23	26,0	26,1	129,2	129,2
24	45,8	45,8	51,2	51,2
25	29,3	29,2	31,8	31,8
26	19,0	18,7	19,0	19,0
27	19,8	19,8	18,7	19,0

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

28	23,0	23,0	25,4	25,4
29	11,9	11,9	12,2	12,7

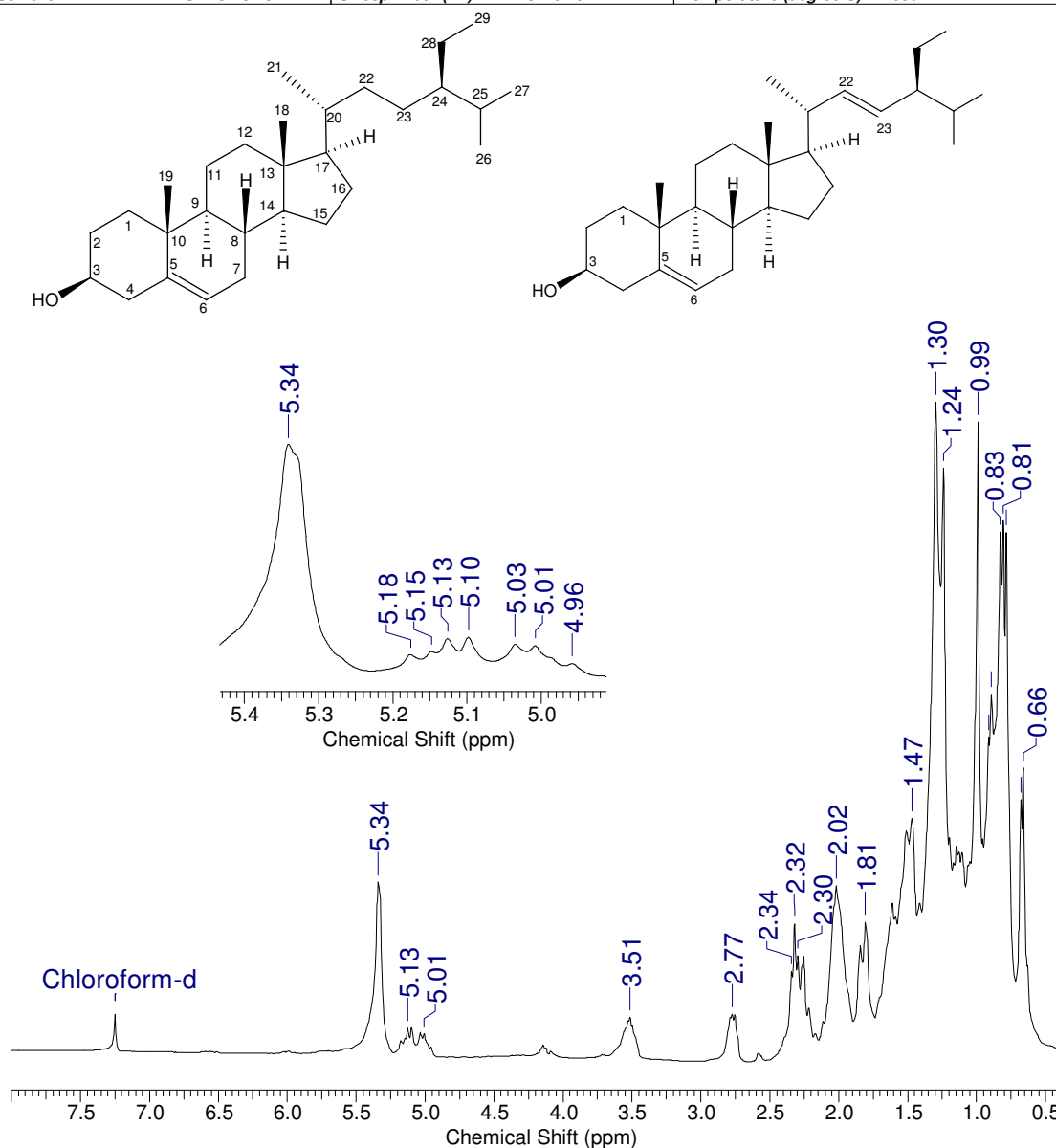
^a(75 MHz, CDCl₃), ^b(50 MHz, CDCl₃)

File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\NIDIA\MEUS DOCUMENTOS\ESPECTROS-FID\INFRA VERMELHO\SITOSTER.PRN		
Date	28 Feb 2007 16:45:56	Technique	Infrared
X Axis	Wavenumber (cm-1)	Y Axis	%Transmittance
Points Count	1816	Data Spacing	1.9286
		Spectral Region	IR
		Spectrum Range	499.5200 - 4000.0000



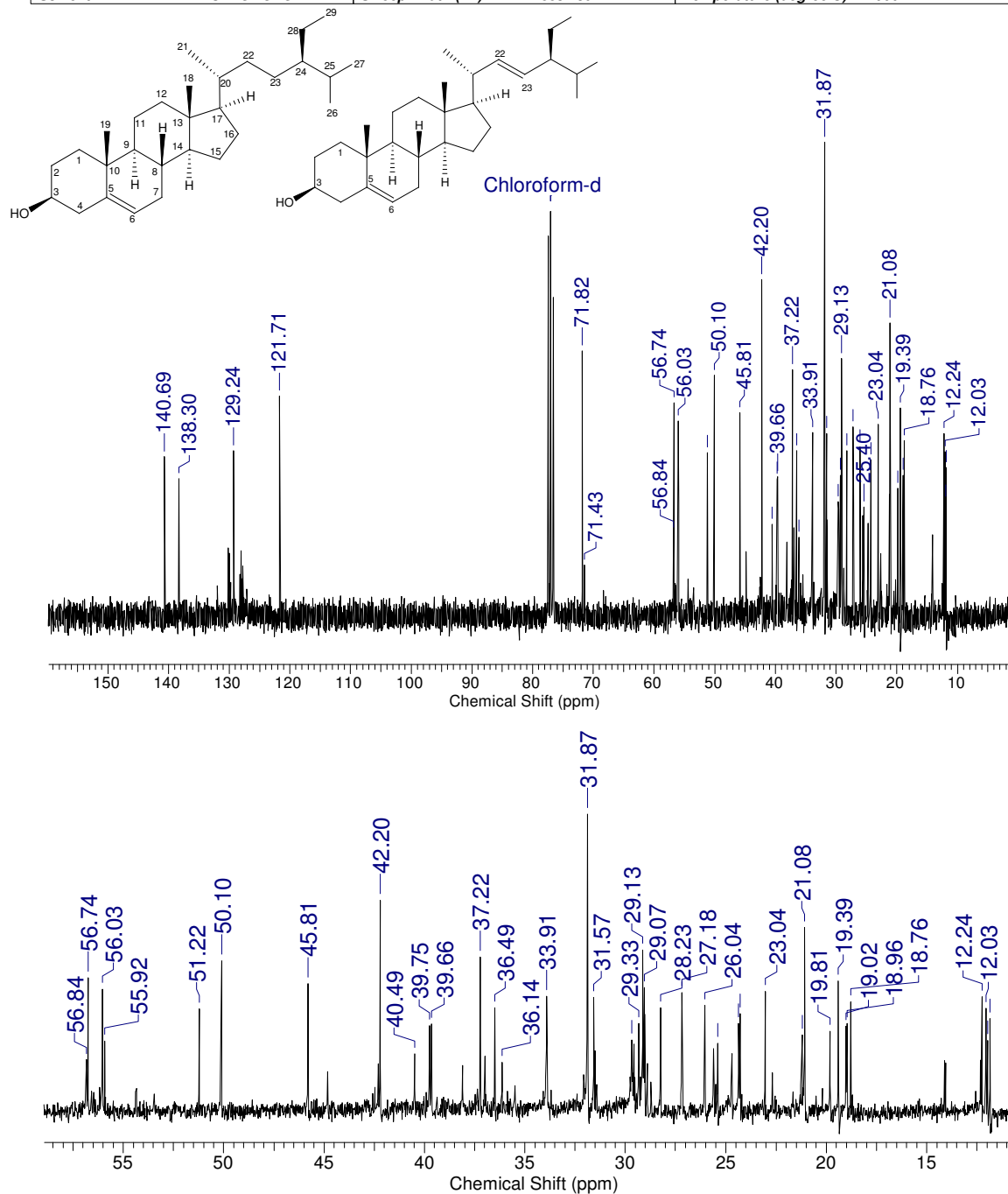
ESPECTRO 56. Espectro de IV/FT de **10** e **11**.

Acquisition Time (sec)	5.2167	Comment	Imported from UXNMR.		
Date	19 Apr 2006 09:12:32				
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\Ulc120\Ulc120_001000fid				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	16384	Points Count	16384	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3140.70	Temperature (degree C)	27.000



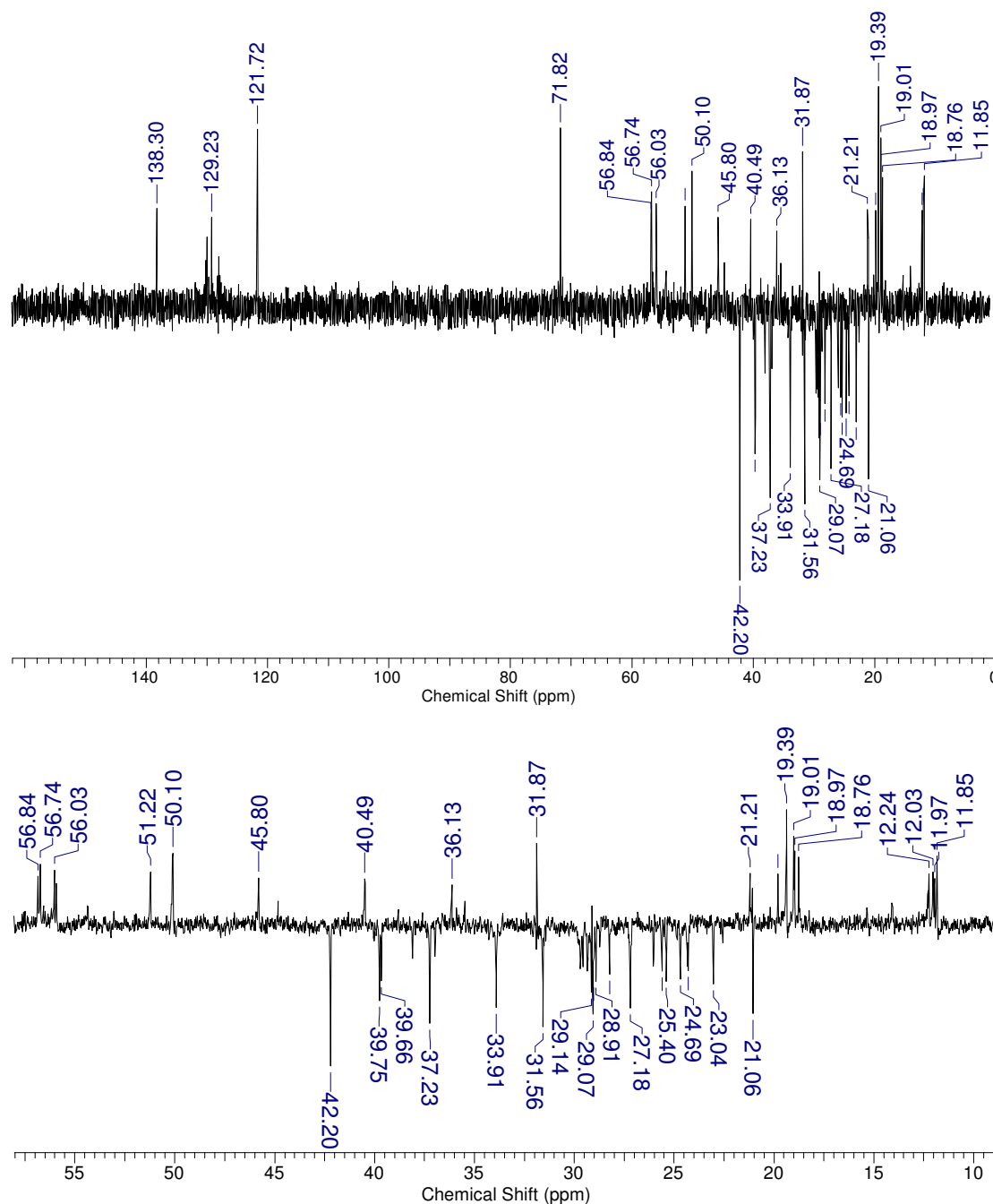
ESPECTRO 57. Espectro de RMN ^1H de 10 e 11.

Acquisition Time (sec)	0.8700	Comment	Imported from UXNMR.
Date	19 Apr 2006 10:08:00		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\UlcA-120\UlcA-120_003000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Original Points Count	16384	Points Count	16384
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39
		Number of Transients	6621
		Pulse Sequence	zgpg30
		Temperature (degree C)	27.000

ESPECTRO 58. Espectro de RMN ¹³C de 10 e 11.

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

Acquisition Time (sec)	1.7400	Comment	Imported from UXMNR.
Date	19 Apr 2006 09:16:48		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\UlcA-120\UlcA-120_002000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Original Points Count	32768	Points Count	32768
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39
		Number of Transients	600
		Pulse Sequence	dept135
		Temperature (degree C)	27.000



ESPECTRO 59. Espectro de DEPT 135° de **10** e **11**.

- Ocorrência e atividades biológicas

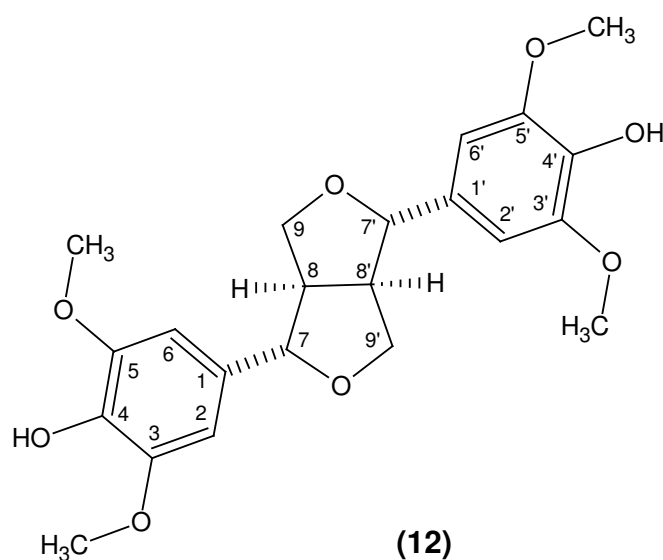
Os esteróides β -sitosterol e estigmasterol são comumente encontrados nas plantas e têm sido extensivamente descritos em estudos fitoquímicos de espécies vegetais de diversos gêneros e famílias.

São encontrados dados recentes de testes realizados com diversos produtos naturais, alguns de ocorrência comum no reino vegetal, quanto suas capacidades de neutralizarem efeitos letais do veneno de cobras do gênero *Bothrops*. Neste trabalho descrito por Mors e colaboradores, foi observado que o β -sitosterol exibe até 70% de proteção contra o efeito letal deste veneno [MORS, *et al.*, 2000].

Existem propostas para o emprego do esteróide estigmasterol em síntese que, após reações de oxidação seletiva, leva em poucos passos à formação do hormônio progesterona [DEWICK, 1997].

4.6 – COMPOSTOS FENÓLICOS

4.6.1 – (–)-Siringaresinol (12)



A substância **12** apresentou-se como um sólido amorfo de cor amarela, $[\alpha]_D^{20}$: -34,2 (CH₃OH, c: 0,00152), solúvel em MeOH. Foi obtida do extrato etanólico do cerne e purificada através de cromatografia em coluna de Sephadex-LH 20. Seu perfil cromatográfico em CCDS (eluente: CHCl₃: MeOH 9:1; revelador: sulfato cérico e aquecimento) revelou a presença de um ponto de cor azul intensa e R_f 0,50.

No espectro de IV/FT destaca-se a presença de uma banda intensa em 3413 cm⁻¹, relativa ao estiramento de grupos hidroxila.

O espectro de RMN ¹H de **12** apresentou poucos sinais. Se o sinal à δ_H 4,65 for correspondente a um hidrogênio, o singlete em δ_H 6,52 seria proporcional a dois hidrogênios e o sinal de metoxila em δ_H 3,83 corresponderia a seis hidrogênios (duas metoxilas). Outros sinais na região de hidrogênios alifáticos foram também observados (TABELA 48). O aspecto geral do espectro de RMN ¹H sugere uma estrutura simétrica, levando à hipótese de tratar-se de uma lignana. A consideração de questões biossintéticas e dos sinais observados no espectro de RMN ¹H levou à proposição da estrutura de **12** como sendo a lignana tetraidrofurânica siringaresinol.

O espectro de RMN ¹³C juntamente com os sinais encontrados no espectro de DEPT 135°, revelou sinal intenso relativo às metoxilas equivalentes, em δ_C 56,2. O sinal em δ_C 102,7 é relativo aos carbonos metínicos aromáticos, enquanto que os sinais de carbonos ligados a oxigênio que aparecem em δ_C 86,0 e δ_C 71,6 são compatíveis com a proposta, sendo atribuídos respectivamente, aos carbonos C-7, C-7' e C-9, C-9'. O sinal em δ_C 54,1 referente a carbono metínico pôde ser atribuído à C-8. São observados três sinais de carbonos não ligados a hidrogênio que aparecem em δ_C 147,2 relativo a C-5, C-5', C-3 e C-3', em δ_C 134,2 relativo a C-4 e C-4', este último mais protegido devido efeito conferido pela vizinhança de dois substituintes oxigenados, e um sinal em δ_C 131,7, relativo ao C-1 e C-1'.

Os dados encontrados para a substância **12** coincidem com aqueles descritos para a lignana furofurânica **siringaresinol** (TABELAS 43 e 44), confirmando tratarem-se da mesma substância. Sendo assim, este é o primeiro relato da ocorrência de lignanas no gênero *Unonopsis*.

TABELA 43.Dados de RMN ^1H de **12** e da **siringaresinol** [VERMES, *et al.*, 1991].

H	δ 12 ^a [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	δ siringaresinol ^b
2 e 6	6,52 (<i>s</i>)	6,60 (<i>s</i>)
2' e 6'		
7 e 7'	4,65 (<i>d</i> , 5,0)	4,75 (<i>d</i> , 7,0)
8 e 8'	3,04 (<i>m</i>)	3,10 (<i>m</i>)
9 e 9'	3,82 (<i>m</i>)	3,90 ax (<i>d</i> , 9,7)
	4,22 (<i>m</i>)	4,31 eq (<i>d</i> , 9,7)
3-OCH₃ e 5-OCH₃	3,83 (<i>s</i>)	3,78 (<i>s</i>)
3'-OCH₃ e 5'-OCH₃		

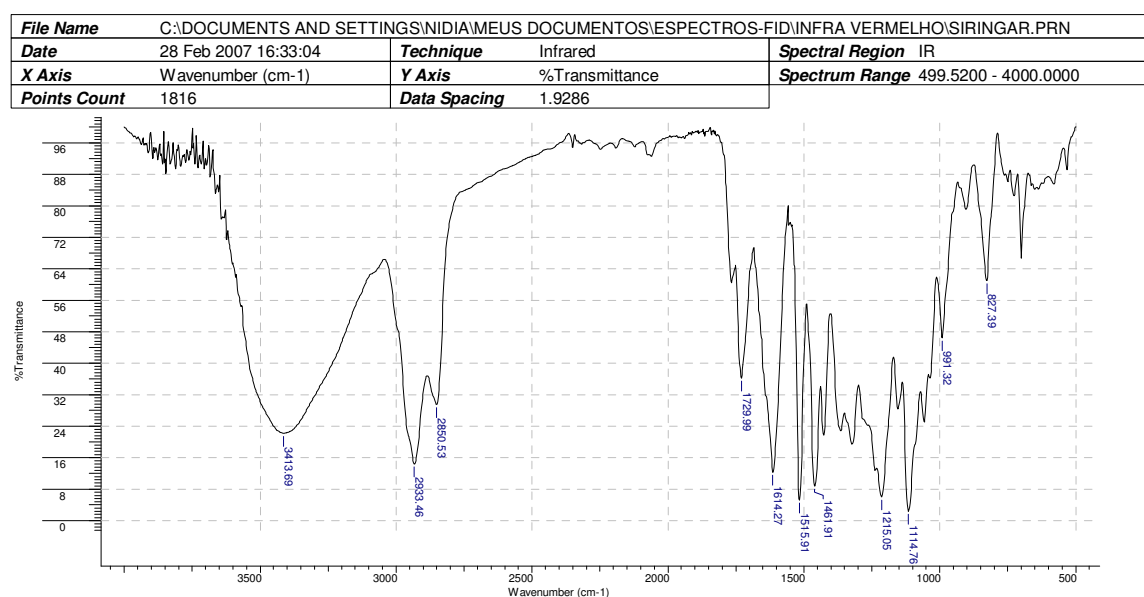
^a(300 MHz, CDCl₃/CD₃OD), ^b(360 MHz, CDCl₃)**TABELA 44.** Dados de RMN ^{13}C (δ) de **12** e da **siringaresinol** [AGRAWAL, *et al.*, 1985].

C	δ 12 ^a	δ siringaresinol ^b	DEPT 135°
1 e 1'	131,7	132,1	C
2 e 6	102,7	102,7	CH
2' e 6'			
3 e 5	147,2	147,1	C
3' e 5'			
4 e 4'	134,3	134,3	C
7 e 7'	86,0	86,1	CH ₂
8 e 8'	54,1	54,3	CH
9 e 9'	71,6	71,8	CH ₂
3-OCH₃ e 5-OCH₃	56,2	56,4	CH ₃
3'-OCH₃ e 5'-OCH₃			

^a(75 MHz, CDCl₃/CD₃OD), ^b(75MHz, CDCl₃)

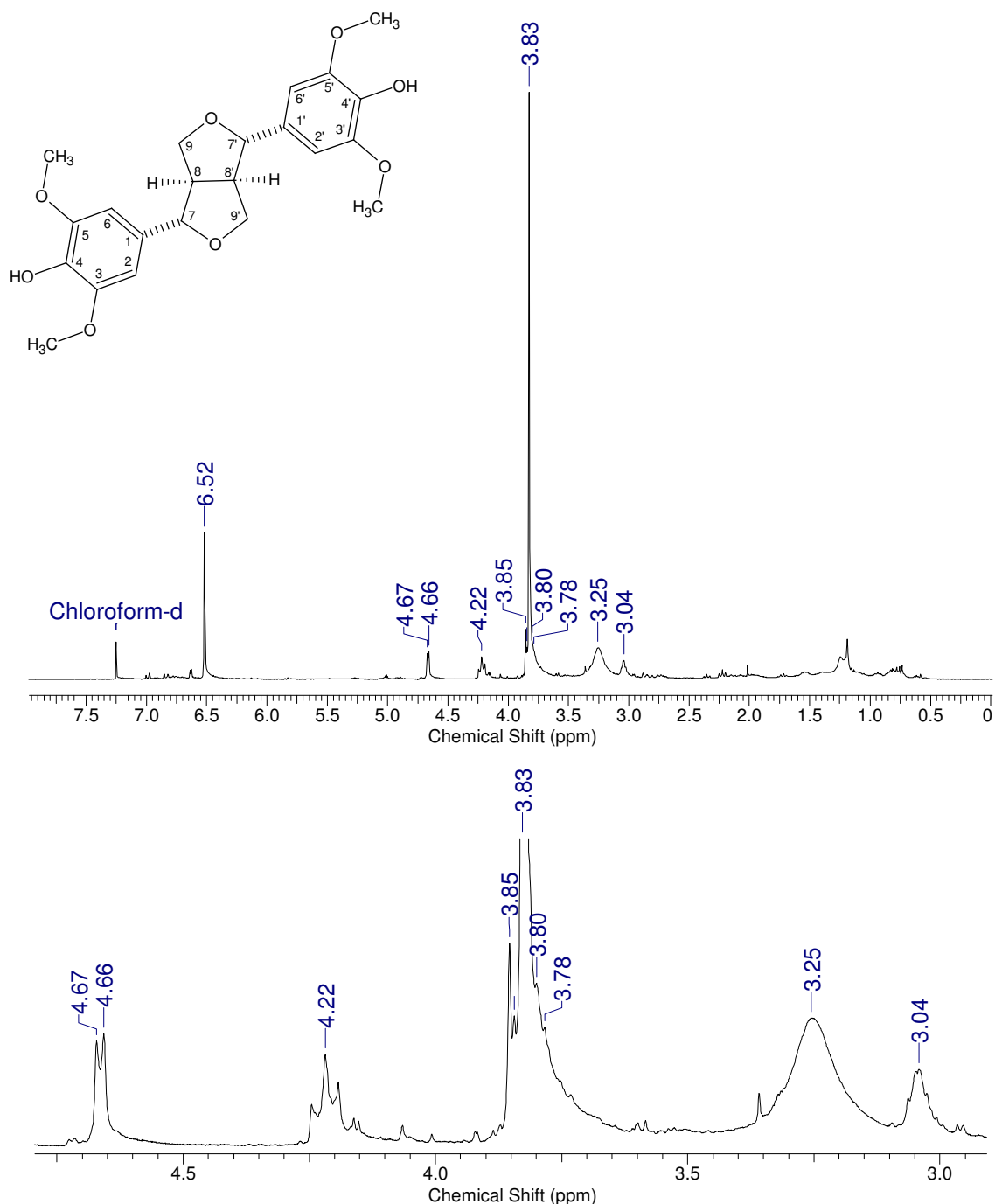
- Atividades biológicas

As lignanas, de um modo geral, apresentam uma gama de atividades biológicas. Para a lignana siringaresinol é descrita atividade inibitória contra *Helicobacter pilori*, agente responsável por úlceras gástricas, inibindo em até 90% das bactérias, e possuindo uma dose letal DL_{100} de 500µg/mL [MIYAZAWA, *et al.*, 2006]. Também é descrita sua ação inibitória sobre a produção de óxido nítrico, um dos mediadores de processos inflamatórios e alérgicos, além da ação capturadora de radicais livres [WANG, *et al.*, 2005].



ESPECTRO 60. Espectro de IV/FT de **12**.

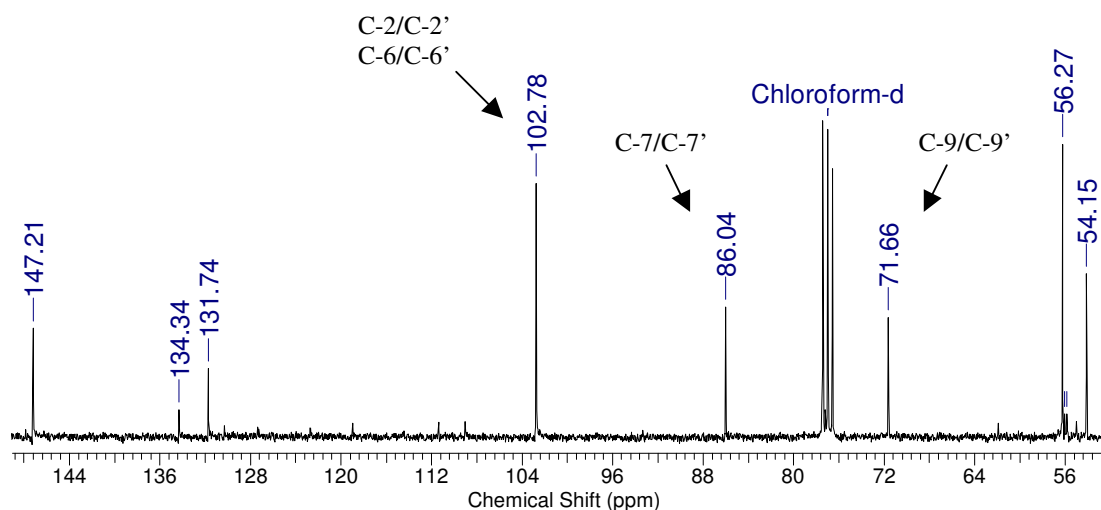
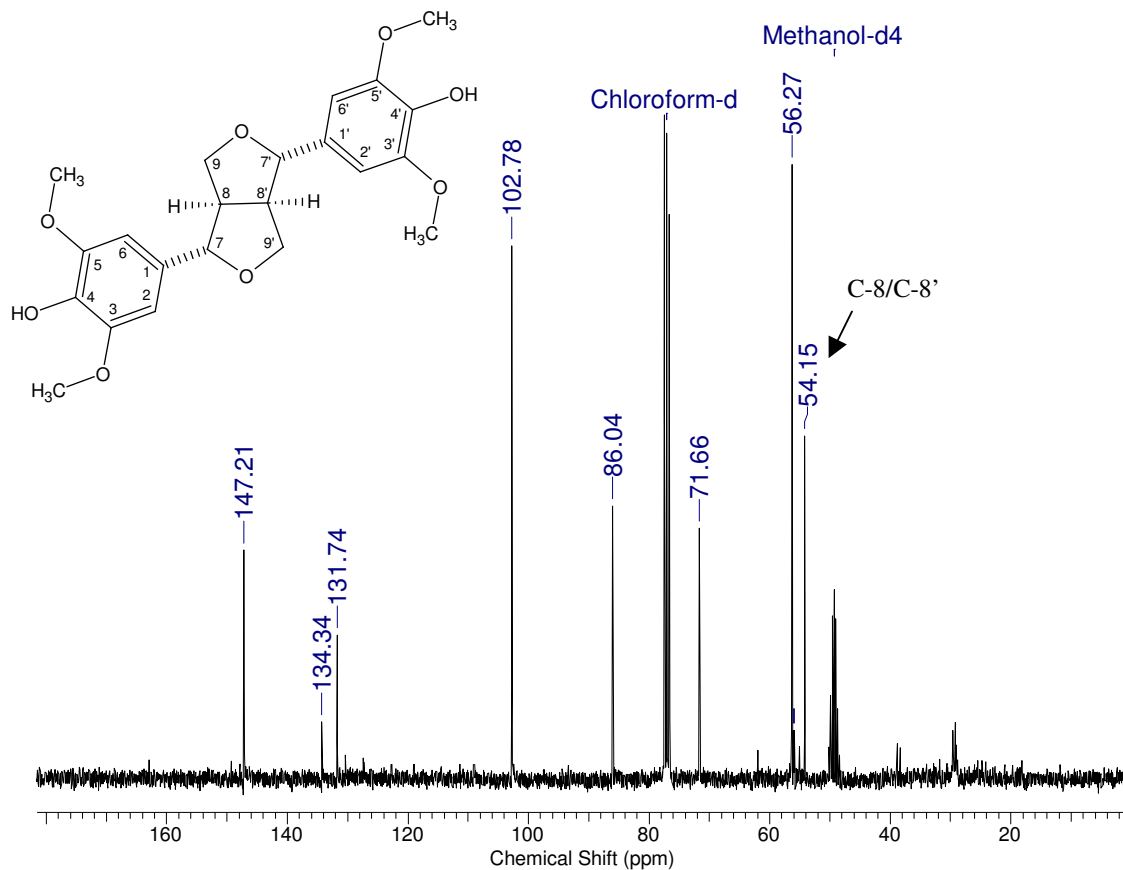
Acquisition Time (sec)	4.5351	Comment	Imported from UXNMR.
Date	19 Jun 2006 17:14:40		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\UlcD20\UlcD20_001000fid		
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	¹ H
Original Points Count	32768	Points Count	32768
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	7225.43
		Number of Transients	8
		Pulse Sequence	zg
		Temperature (degree C)	27.000



ESPECTRO 61. Espectro de RMN ¹H de 12.

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

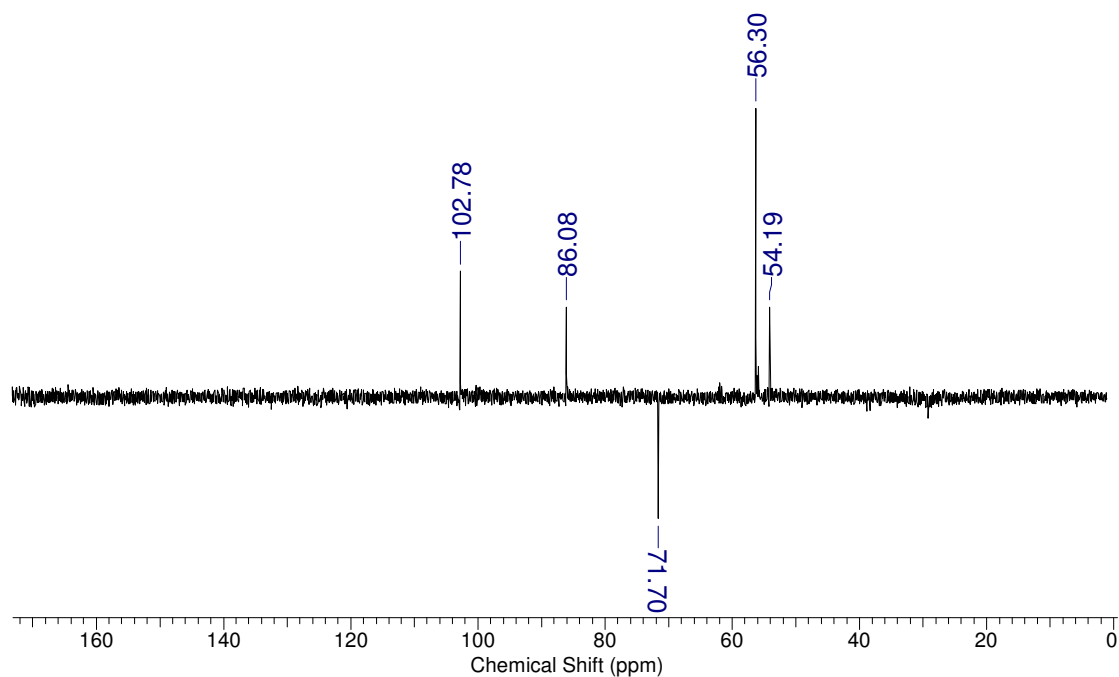
Acquisition Time (sec)	0.8356	Comment	Imported from UXNMR.
Date	23 Jun 2006 19:16:16		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\UlcD20\UlcD20_003000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Original Points Count	16384	Points Count	16384
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	19607.84
		Temperature (degree C)	27.000



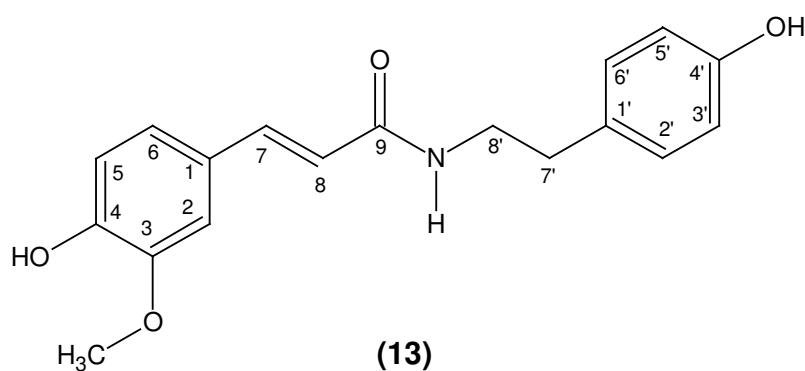
ESPECTRO 62. Espectro de RMN ¹³C de 12.

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

Acquisition Time (sec)	1.7400	Comment	Imported from UXMNR.
Date	23 Jun 2006 18:27:12		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\UlcD20\UlcD20_002000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Original Points Count	32768	Points Count	32768
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39
		Number of Transients	204
		Pulse Sequence	dept135
		Temperature (degree C)	27.000



ESPECTRO 63. Espectro de DEPT 135° de 12.

4.6.2 – *N-trans-feruloiltiramina* (13)

O composto **13** apresentou-se como um sólido amorfo de cor amarelo escuro, solúvel em CHCl_3 e gotas de MeOH. Foi obtido do extrato etanólico do cerne e purificado através de cromatografia em coluna de Sephadex LH-20. Em CCDS (eluente: CHCl_3 :MeOH 9:1; revelador: sulfato cérico e aquecimento) apresentou apenas um ponto de cor amarela clara e R_f 0,70.

O espectro de RMN ^1H de **13** revelou dois dubletos relativos a hidrogênios olefínicos, em δ_{H} 6,18 (H-8) e δ_{H} 7,42 (H-7), apresentando constante de acoplamento de 15,4 Hz, definindo a relação *trans* entre esses hidrogênios que compõem a dupla ligação. Um sinal relativo a uma metoxila foi observado em δ_{H} 3,82, além de vários sinais entre δ_{H} 6,70-7,00, relativos aos hidrogênios ligados a anel aromáticos, que puderam ter suas atribuições confirmadas através do experimento bidimensional HMQC. Através deste experimento pôde-se caracterizar também dois sinais em δ_{H} 2,71 (*t*, *J* 8,7 e 6,8 Hz) e δ_{H} 3,49 (*t*, *J* 8,7 e 6,8 Hz), correspondentes a dois grupos metilênicos vicinais.

No espectro de RMN ^{13}C foram observados 18 sinais que através do espectro de DEPT 135°, foram identificados como sendo de um carbono metílico, dois metilênicos, nove metínicos e seis carbonos não ligados a hidrogênio. Chama a atenção os sinais em δ_{C} 115,3 (C-3' e C-5') e δ_{C} 129,6 (C-2' e C-6'), ambos metínicos, que se apresentaram com grande intensidade quando comparado aos outros carbonos metínicos, servindo com um indicativo de um anel aromático *para* substituído. Os sinais em δ_{C} 141,2 (C-7) e 117,5 (C-8) são referentes aos carbonos que compõem a dupla ligação, este último mais protegido devido à sua posição α em relação à carbonila em C-9. Observa-se ainda, um sinal em δ_{C} 166,9, referente à carbonila localizada em C-9 e um sinal em δ_{C} 55,7 (3-OCH₃) que pode ser atribuído a uma metoxila. Os demais sinais, bem como as correlações observadas nos experimentos bidimensionais, estão descritos na tabela 50.

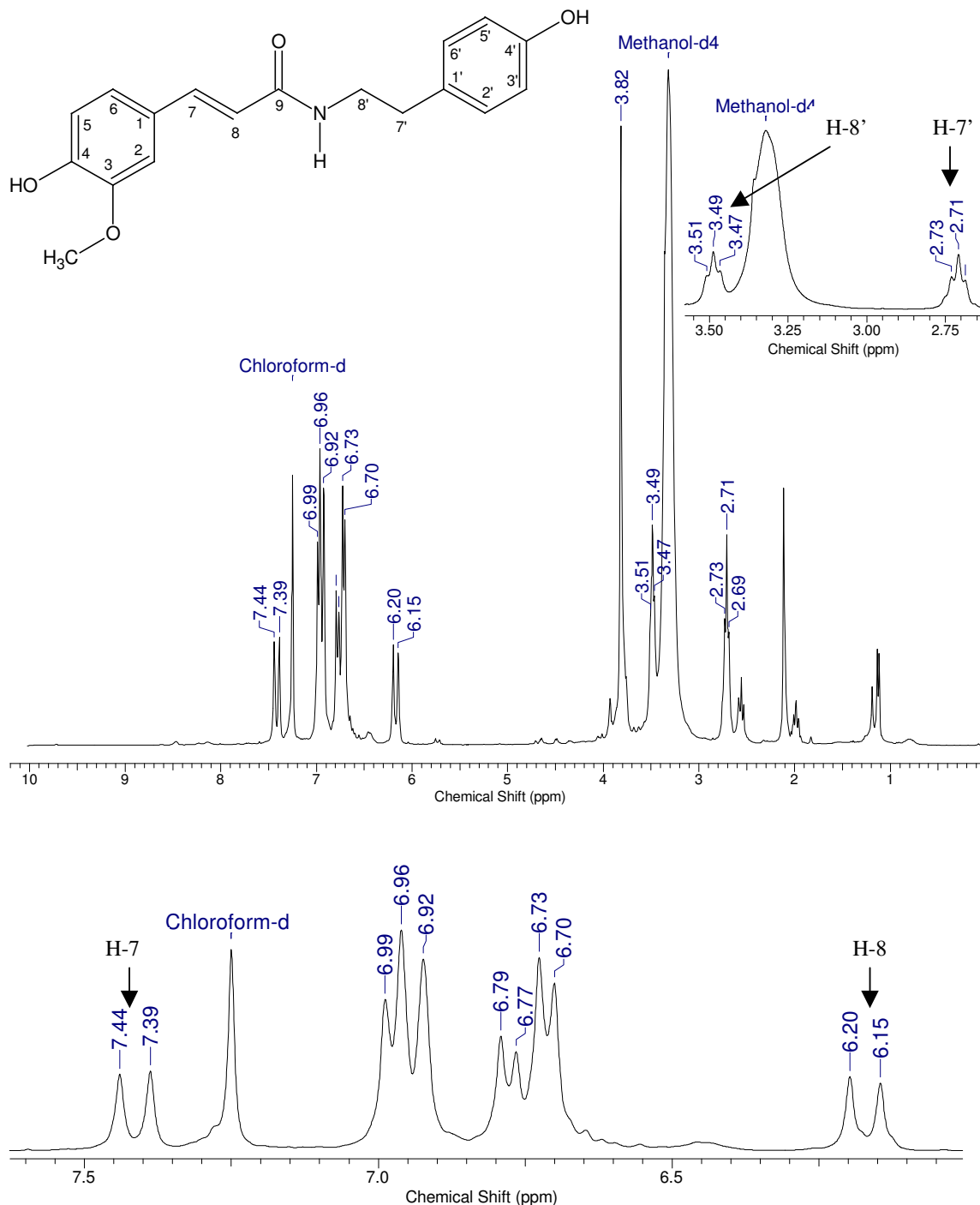
A consideração dos sinais observados nos espectros de RMN uni e bidimensionais permitiu propor que a substância **13** corresponde à *N-trans-feruloiltiramina*. É o primeiro relato deste composto no gênero *Unonopsis*.

TABELA 45. Dados de RMN ^1H , ^{13}C , DEPT 135° e HMBC de **13** ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$).

H e C	$\delta^1\text{H}$ [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	$\delta^{13}\text{C}$	DEPT 135°	HMBC	
				2J	3J
1	-----	126,9	C	H-7	H-5/H-8
2	6,92 (<i>sl</i>)	110,0	CH	-----	H-6/ H-7
3	-----	147,0	C	-----	3-OCH₃
4	-----	147,6	C	H-5	H-2
5	6,78 (<i>d</i> , 8,3)	114,9	CH	-----	-----
6	6,94 (<i>d</i> , 8,9)	122,0	CH	-----	H-7/H-2
7	7,42 (<i>d</i> , 15,4)	141,2	CH	-----	H-6
8	6,18 (<i>d</i> , 15,4)	117,5	CH	H-7	-----
9	-----	166,9	C	H-8	H-7/H-8'
1'	-----	129,6	C	H-2'/H-7'	H-3'/H-8'
2'	6,97 (<i>d</i> , 7,7)	129,7	CH	-----	-----
3'	6,69 (<i>d</i> , 7,7)	115,3	CH	H-2'	H-5'
4'	-----	155,2	C	H-3'/H-5'	H-2'/H-6'
5'	6,69 (<i>d</i> , 7,7)	115,3	CH	H-6'	H-3'
6'	6,97 (<i>d</i> , 7,7)	129,6	CH	-----	-----
7'	2,71 (<i>t</i> , 8,7 e 6,8)	34,4	CH ₂	H-8'	H-2'
8'	3,49 (<i>t</i> , 8,7 e 6,8)	40,9	CH ₂	H-7'	-----
3-OCH₃	3,82 (<i>s</i>)	55,7	CH ₃	-----	-----

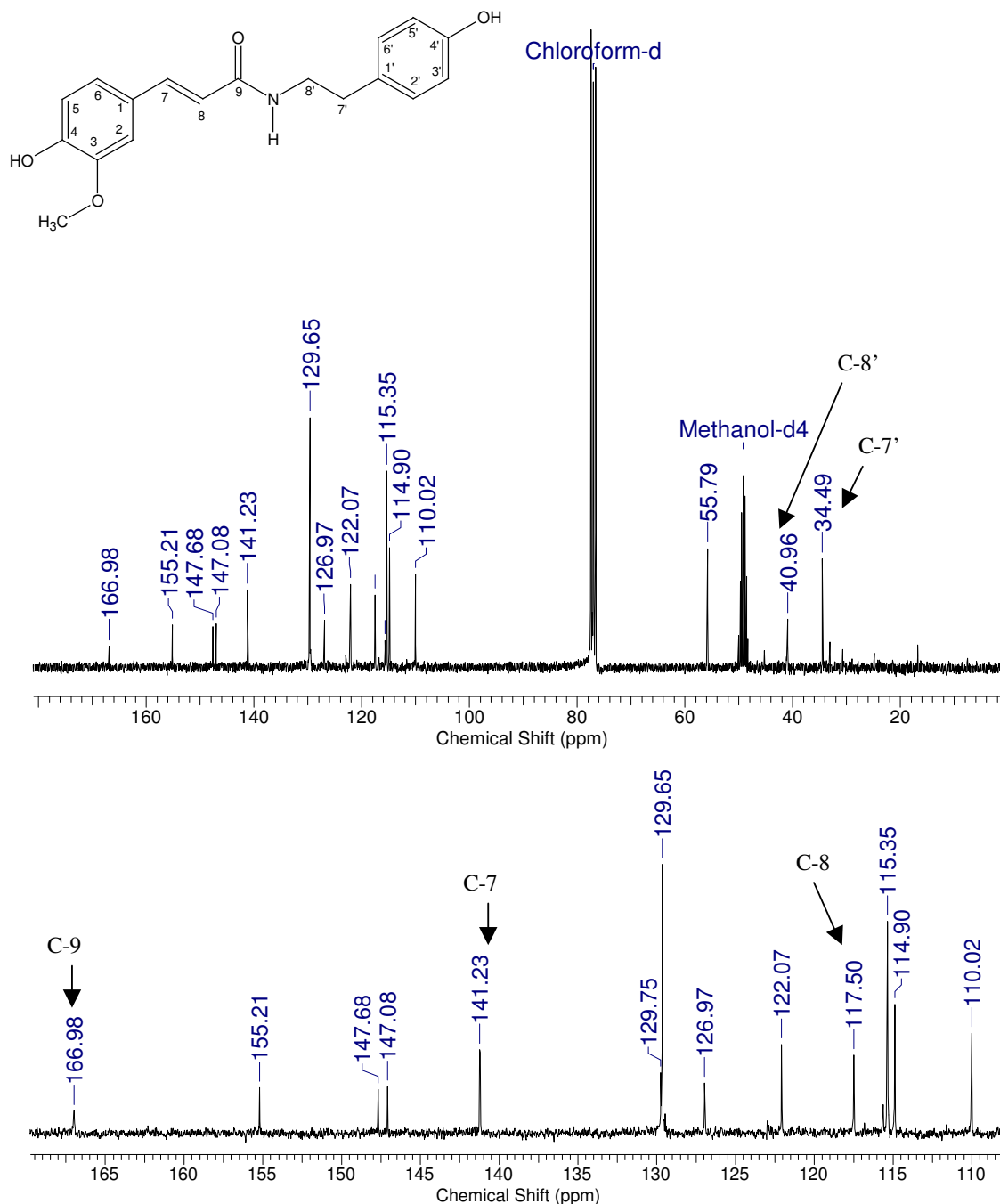
m = multiplicidade dos sinais.*J* = constante de acoplamento (em Hz)

Acquisition Time (sec)	10.1188	Comment	Imported from UXMNR.
Date	24 Jun 2006 11:46:08		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\UlcD34-36\UlcD34-36_010000fid		
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	¹ H
Original Points Count	32768	Points Count	32768
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	3238.34
		Number of Transients	8
		Pulse Sequence	zg
		Temperature (degree C)	27.000



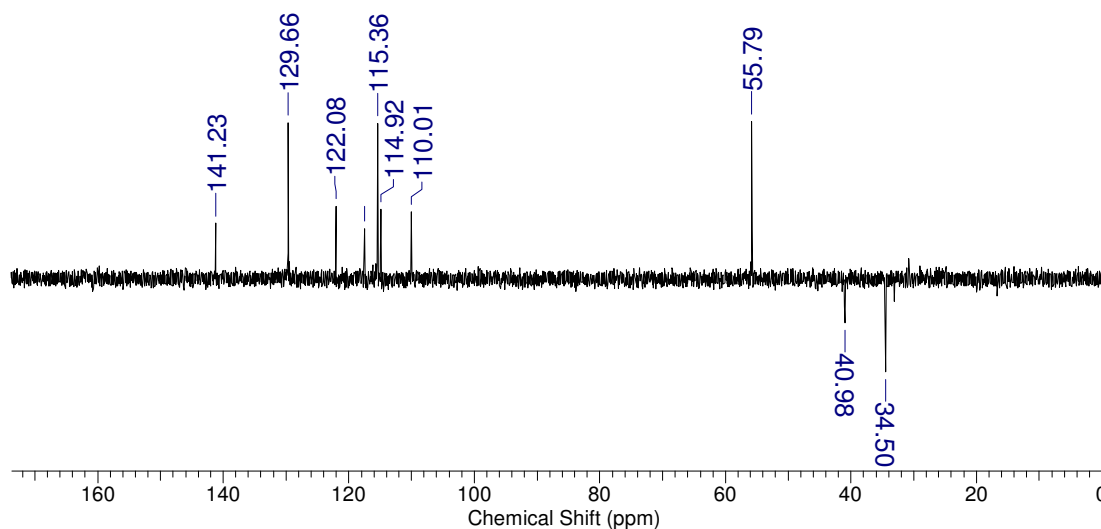
Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

Acquisition Time (sec)	0.8356	Comment	Imported from UXNMR.
Date	23 Jun 2006 12:48:00		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\UlcD34-36\UlcD34-36_003000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Original Points Count	16384	Points Count	16384
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	19607.84
		Number of Transients	11885
		Pulse Sequence	zgpg30
		Temperature (degree C)	27.000

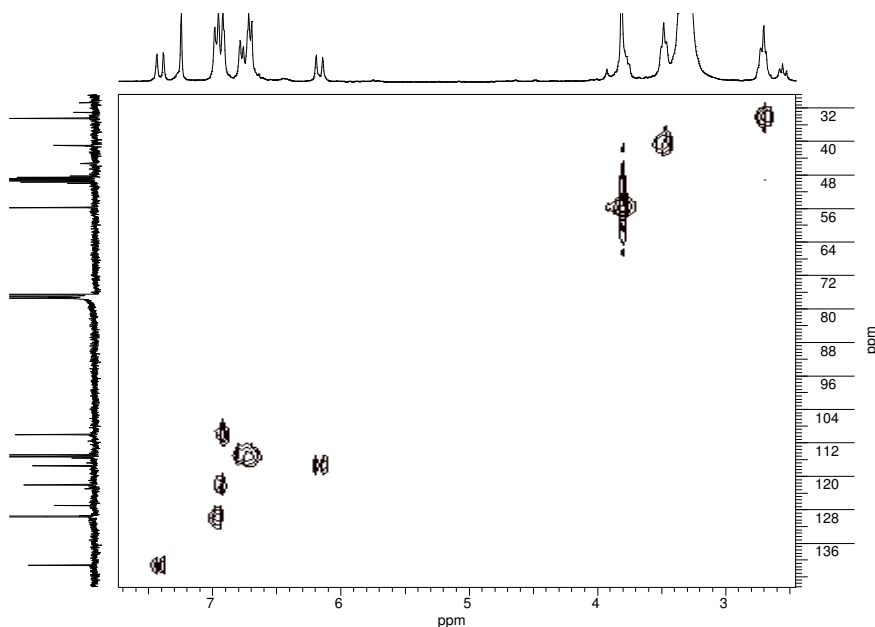


Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

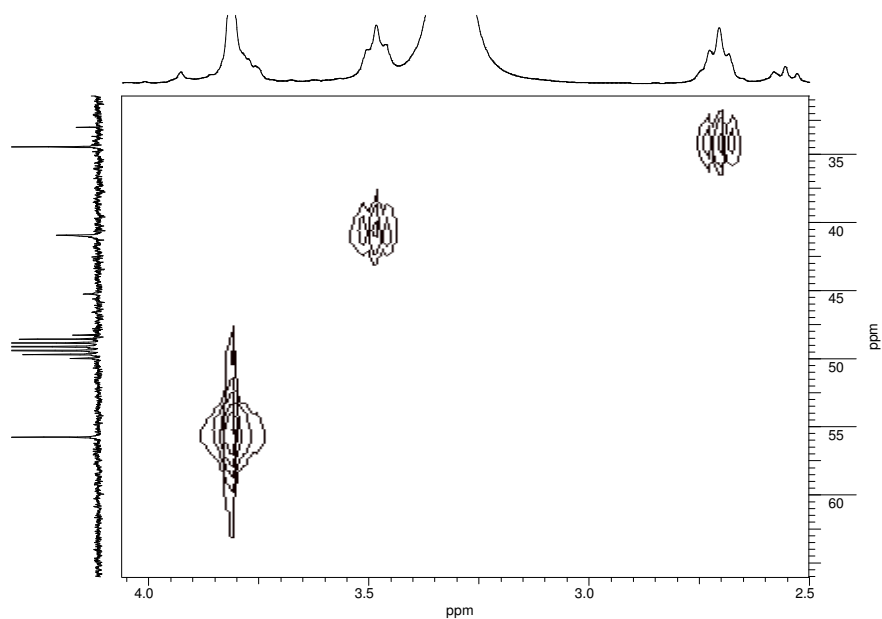
Acquisition Time (sec)	1.6613	Comment	Imported from UXMNR.
Date	23 Jun 2006 11:46:08		
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\UlcD34-36\UlcD34-36_002000fid		
Frequency (MHz)	75.48	Nucleus	¹³ C
Original Points Count	32768	Points Count	32768
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	19723.87
		Number of Transients	904
		Pulse Sequence	dept135
		Temperature (degree C)	27.000

ESPECTRO 66. Espectro de DEPT 135° de **13**.

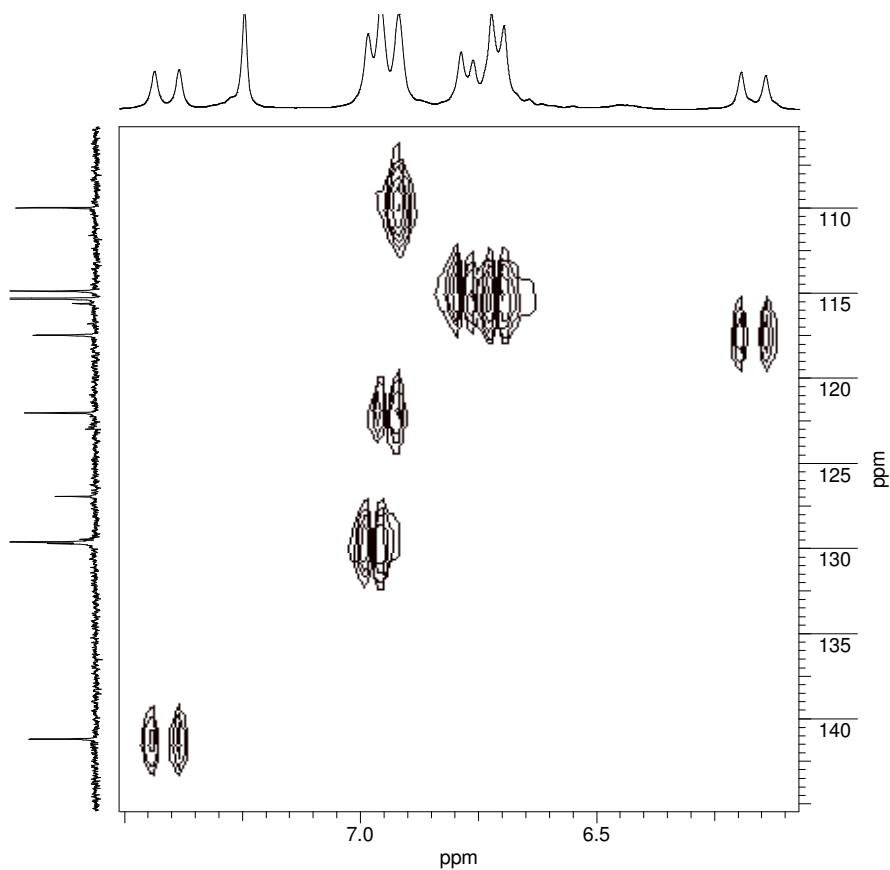
Acquisition Time (sec)	(0.0136, 0.3162)	Date	18 Nov 2006 18:33:02
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\UlcD34-36\5\ser		
Frequency (MHz)	(75.48, 300.13)	Nucleus	(¹³ C, ¹ H)
Original Points Count	(256, 1024)	Points Count	(256, 1024)
Solvent	CDCl ₃	Sweep Width (Hz)	(18868.27, 3238.34)
		Number of Transients	88
		Pulse Sequence	invbtp
		Temperature (degree C)	27.000

ESPECTRO 67. Mapa de contornos HMQC de **13** (CDCl₃/CD₃OD).

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

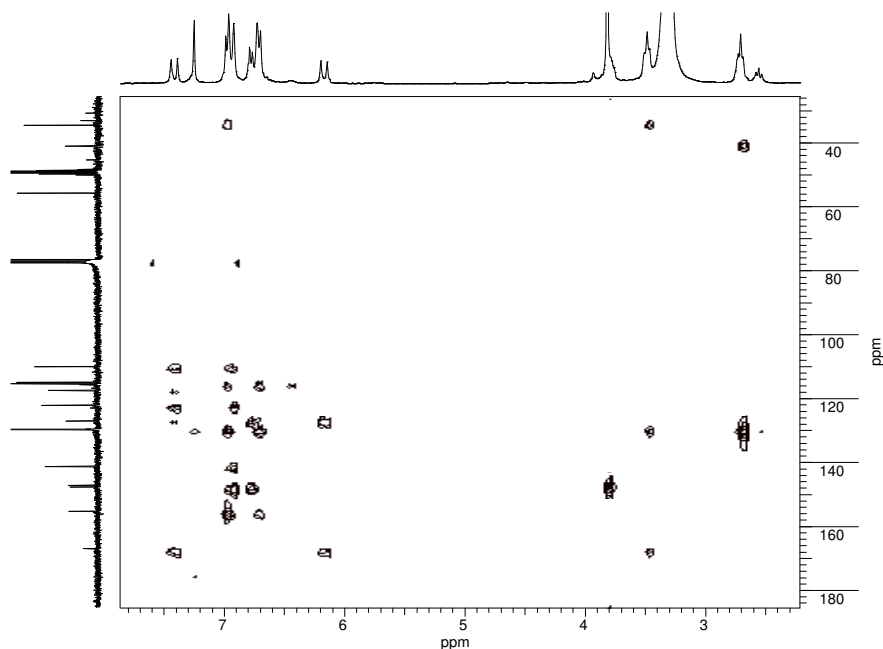


ESPECTRO 68. Mapa de contornos HMQC de **13**, entre δ_H 2,5-4,5 ppm.

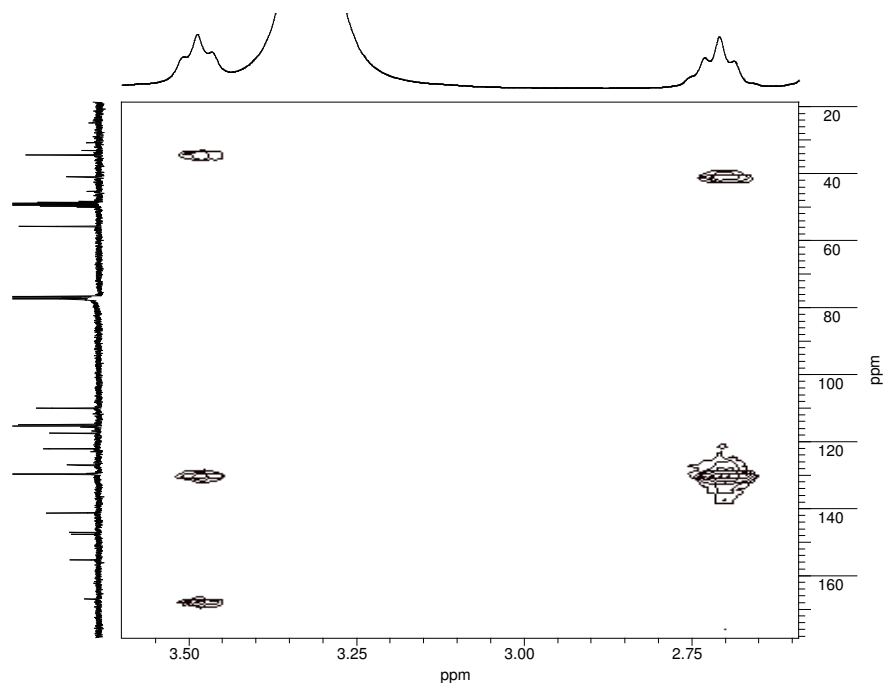


ESPECTRO 69. Mapa de contornos HMQC de **13**, entre δ_H 6,0-8,0 ppm.

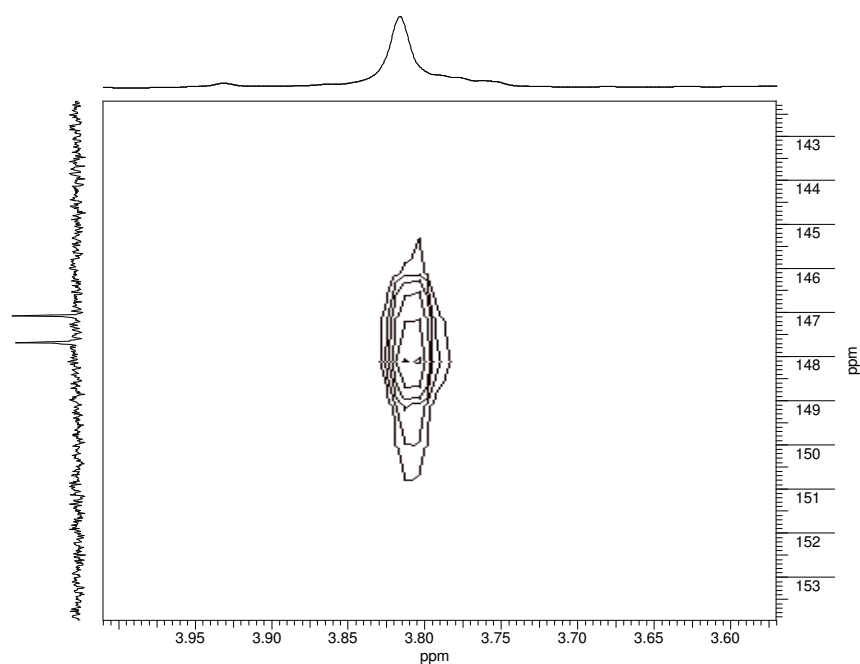
Acquisition Time (sec)	(0.0136, 0.6324)	Date	18 Nov 2006 18:33:10
File Name	C:\Documents and Settings\Nidia\Meus documentos\ESPECTROS-FID\Indy\UlcD34-36\6\ser		
Frequency (MHz)	(75.48, 300.13)	Nucleus	(¹³ C, ¹ H)
Original Points Count	(256, 2048)	Points Count	(256, 2048)
Solvent	CDCl ₃	Sweep Width (Hz)	(18868.81, 3238.34)
		Number of Transients	96
		Pulse Sequence	inv4plrnd
		Temperature (degree C)	27.000



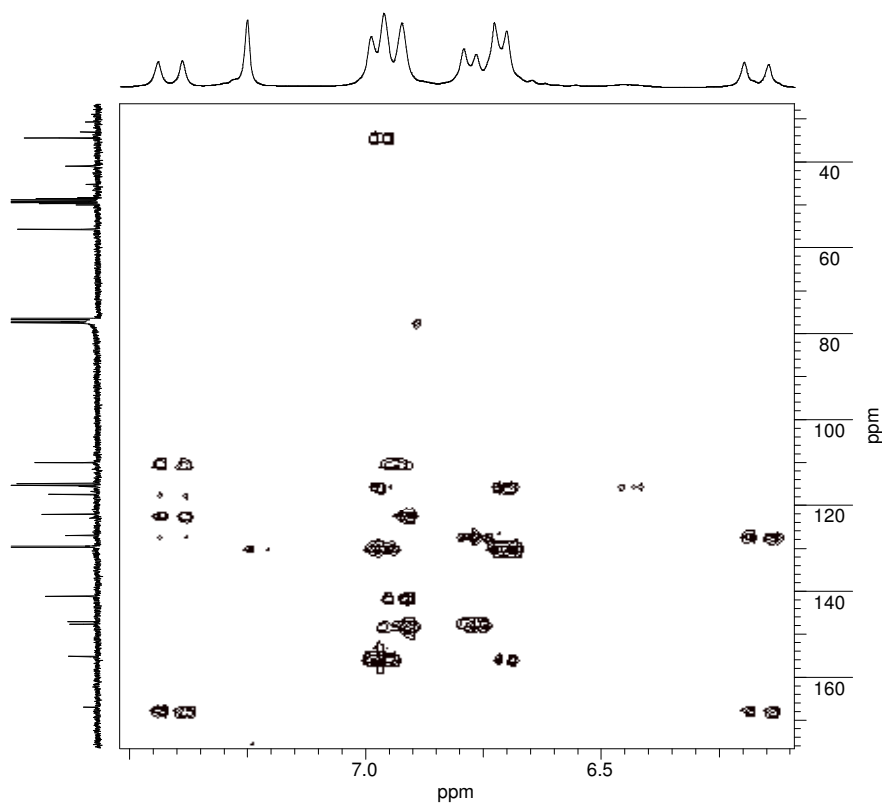
ESPECTRO 70. Mapa de contornos HMBC de **13** (CDCl₃/CD₃OD).



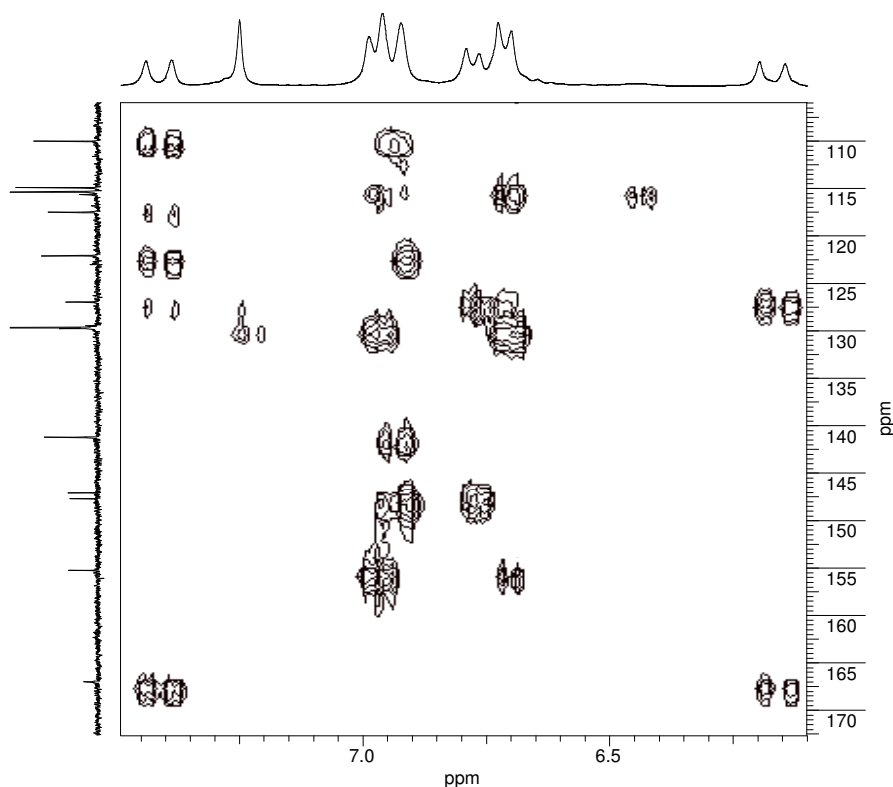
ESPECTRO 71. Mapa de contornos HMBC de **13**, entre δ_H 2,5-3,6 ppm.



ESPECTRO 72. Mapa de contornos HMBC de **13**, entre δ_H 3,5-4,0 ppm.



ESPECTRO 73. Mapa de contornos HMBC de **13**, entre δ_H 6,0-7,5 ppm.



ESPECTRO 74. Mapa de contornos HMBC de **13**, entre δ_H 6,0-7,5 ppm.

- Ocorrência e atividades biológicas

Foi relatado o isolamento deste composto a partir de batatas após a infecção por fungos, o que sugere seu envolvimento em reações de hipersensibilidade pós-infecções, sendo também considerado como um intermediário sinalizador de transdução em plantas [ENGSTRÓM, *et al.*, 1998]. Também se encontram relatos de efeito pronunciado da *N-trans*-feruloiltiramina na inibição de fungos fitopatogênicos [MIZUTANI, *et al.*, 1998].

4.7 – Resultado dos ensaios biológicos

4.7.1 – Avaliação da toxicidade sobre *Artemia salina*

O bioensaio de toxicidade sobre *Artemia salina* foi realizado com o extrato alcaloídico e óleo essencial das folhas de *U. lindmanii* e com a fração diclorometânica oriunda do extrato do cerne. O ensaio de TAS, como citado anteriormente, apresenta boas correlações com outros ensaios mais complexos, dentre os quais se destaca a atividade antitumoral e tripanossomicida [ANDERSON, *et al.*, 1991; ZANI, *et al.*, 1995].

Todos extratos e óleo essencial de *U. lindmanii* apresentaram-se tóxicos sobre *A. salina*, sendo que a maior atividade foi observada para o óleo essencial das folhas ULFOE-1, com DL₅₀ de 17,9 µg/mL, e o menos ativo sendo a parte do extrato do cerne UlcSolDCM, com DL₅₀ de 161,3 µg/mL (TABELA 46). O extrato é considerado ativo quando a DL₅₀ for menor ou igual a 1000 ppm [FERRIGNI, *et al.*, 1984].

TABELA 46. Resultado da avaliação da toxicidade sobre *Artemia salina* dos extratos oriundos das folhas e cerne de *Unonopsis lindmanii*.

Extrato teste	DL ₅₀ (intervalo de confiança 95%)
Extrato Alcaloídico das folhas - UIFALC	21,9 µg/mL (18,1-26,5)
Óleo essencial das folhas – UIFOE-1	17,9 µg/mL (14,7-21,8)
Extrato EtOH do cerne - UlcSolDCM	161,3 µg/mL (61,9-420,2)
Sulfato de quinidina – controle positivo	214,0 µg/mL (167,0-269,0)

Os resultados positivos obtidos a partir deste ensaio preliminar de toxicidade sobre *A. salina* dos extratos de *U. lindmanii* indicam a necessidade de também submeter as substâncias isoladas ao referido ensaio, visando definir as substâncias responsáveis pela atividade tóxica sobre *A. salina*, bem como submetê-las a ensaios de toxicidade mais específicos.

4.7.2 – Avaliação alelopática

A possibilidade de existência de compostos com atividade alelopática em *Unonopsis lindmanii* foi proposta a partir da observação em campo da presença de formações monoespecíficas de *U. lindmanii*, nas regiões de mata ciliar onde a referida espécie era coletada.

Para avaliação da atividade alelopática foram realizados ensaios empregando sementes de espécies modelos de monocotiledônea, *Allium cepa* L. (cebola) e dicotiledônea, *Lactuca sativa* L. (alface).

Desta forma, para verificação dos efeitos alelopáticos em sementes de *Allium cepa* e *Lactuca sativa* foram considerados os parâmetros de germinação e desenvolvimento das plântulas ocorridos após 6 dias de incubação em estufa com temperatura controlada (25° C) e sob ausência total de luz. As leituras referentes a taxa de germinação e o desenvolvimento das sementes foram feitas após 6 dias de incubação e registradas em comparação ao controle (branco).

O extrato alcaloídico e o óleo essencial obtidos das folhas, bem como a fração diclorometânica obtida a partir do extrato etanólico do cerne de *U. lindmanii* foram avaliados e os resultados estão descritos a seguir.

4.8.1 – Resultados obtidos na avaliação alelopática dos extratos de *Unonopsis lindmanii* sobre *Allium cepa* (modelo monocotiledônea).

- Germinação das sementes de *Allium cepa*

Ao analisar os percentuais de germinação das sementes de *A. cepa*, observou-se que o óleo essencial apresentou atividade dose-dependente, chegando a inibir cerca de 62% da germinação das sementes na maior concentração (1000 µg/mL). O extrato etanólico do

cerne e o extrato alcaloídico apresentaram-se bastante ativos, reduzindo consideravelmente a germinabilidade das sementes (TABELA 52).

TABELA 47. Percentagem de inibição da germinação* das sementes de *Allium cepa* promovida pelos extratos de *U. lindmanii*.

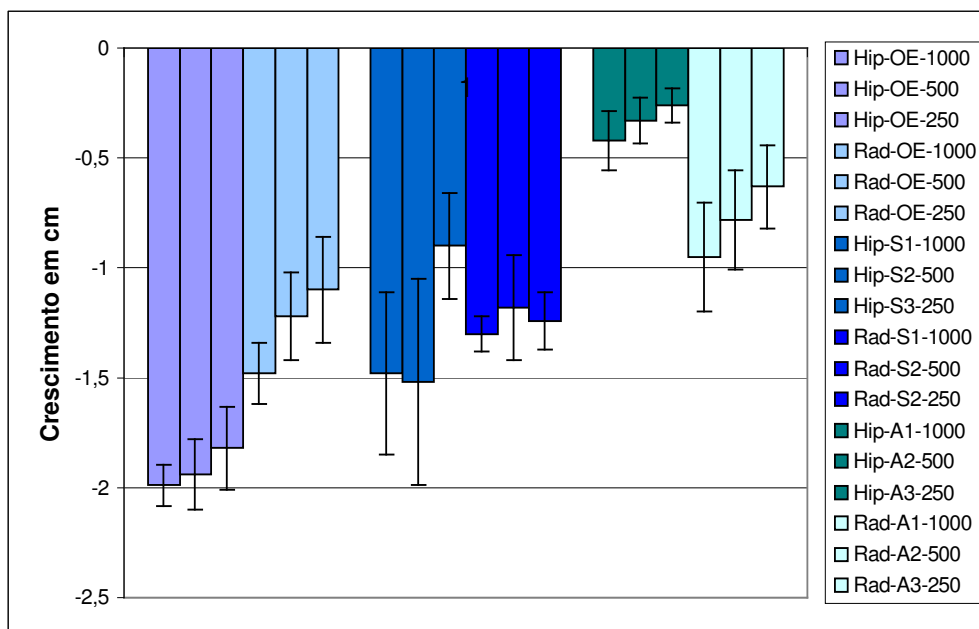
Extratos e concentrações testadas (µg/mL)	Hipocótilo	Radícula
Óleo essencial – UIFOE –1		
1000	61,9	57,0
500	34,9	23,8
250	25,4	14,3
Extrato etanólico do cerne – UlcSolDCM		
1000	92,1	88,9
500	84,0	84,0
250	93,7	92,1
Extrato alcaloídico – UIFALC		
1000	68,3	69,9
500	68,3	73,0
250	71,4	73,0

*Os percentuais são calculados em razão do número de sementes germinadas nas placas do controle.

- Crescimento das radículas e hipocótilos de *Allium cepa*

Todos os extratos de *U. lindmanii* inibiram em grande proporção o crescimento tanto das radículas quanto dos hipocótilos de *A. cepa*, conforme gráfico abaixo:

GRÁFICO 1. Inibição do crescimento das sementes de *Allium cepa* (cebola) promovido pelos extratos de *U. lindmanii*.



Hip.:hipocótilos; Rad.:radículas; OE*: óleo essencial das folhas; S*: extrato etanólico do cerne; A*: extrato alcaloídico das folhas.

*os números que seguem são referentes às respectivas concentrações testadas (µg/mL).

Dentre os extratos testados, o óleo essencial foi o que se apresentou com maior atividade, inibindo em maior proporção o crescimento dos hipocótilos, e em menor proporção o crescimento das radículas, ambos com os efeitos dose-dependente nas concentrações testadas.

O extrato etanólico do cerne também apresentou efeito inibitório, sendo maior sobre o crescimento dos hipocótilos; quanto às radículas, notou-se pouca diferença entre a taxa de inibição em relação à dose.

O extrato alcaloídico inibiu o crescimento das plântulas, entretanto, este extrato exibiu um efeito inibitório mais pronunciado sobre as radículas do que sobre os hipocótilos, em relação dose-dependente.

4.8.1 – Resultados obtidos na avaliação alelopática dos extratos de *Unonopsis lindmanii* sobre *Lactuca sativa* (modelo dicotiledônea).

- Germinação das sementes de *Lactuca sativa*

Sobre as sementes de *L. sativa* os extratos apresentaram-se menos efetivos na inibição da germinação do que sobre *A. cepa*. Entretanto, ainda é observada uma considerável diminuição da germinação das sementes, no qual o óleo essencial mostrou maior efeito dose-dependente, sendo que na maior concentração inibiu em até 88,2% a germinação dos hipocótilos e radículas. Os extratos do cerne e alcaloídico apresentaram inibição da germinação em torno de 51% e 25%, respectivamente, ambos com pouca variação em relação à concentração.

TABELA 48. Percentagem de inibição da germinação* de sementes de *Lactuca sativa* promovida pelos extratos de *U. lindmanii*.

Extratos e concentrações testadas (µg/mL)	Hipocótilo	Radícula
Óleo essencial – ULFOE -1		
1000	88,2	88,2
500	70,6	70,6
250	67,7	67,7
Extrato etanólico do cerne – UlcSolDCM		
1000	53,0	53,0
500	51,5	51,5
250	51,5	51,5
Extrato alcaloídico – UIFALC		
1000	26,5	26,5
500	20,6	20,6
250	25,0	25,0

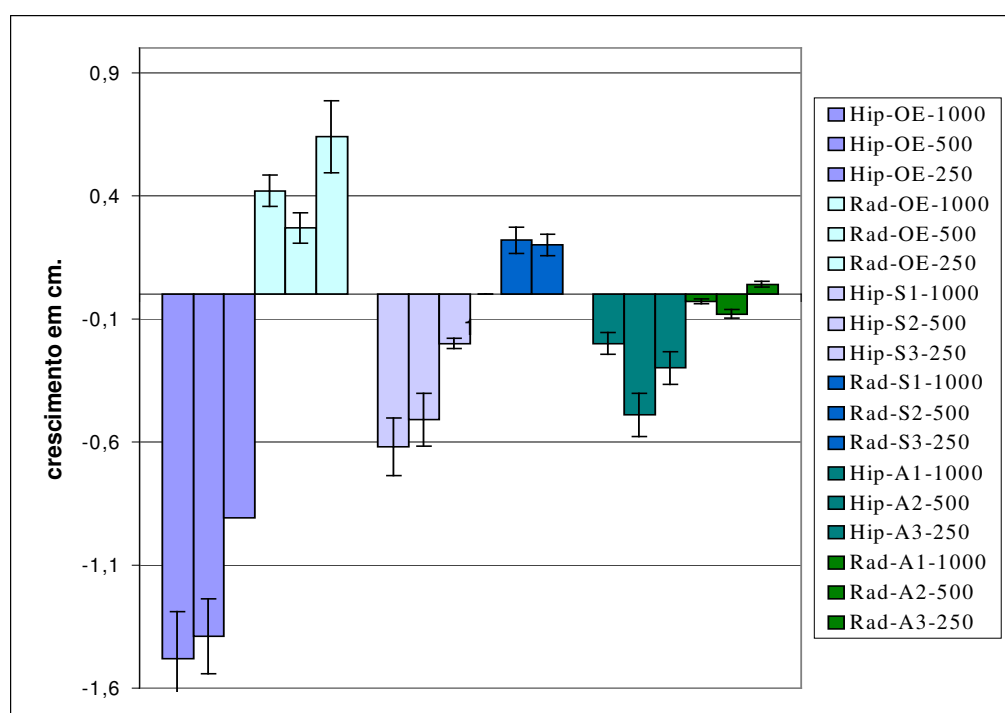
*Os percentuais são calculados em razão do número de sementes germinadas nas placas do controle.

- Crescimento das radículas e hipocótilos de *Lactuca sativa*

De uma maneira geral, observou-se uma menor atividade dos extratos sobre as sementes de *L. sativa* (dicotiledônea) quanto comparada com a atividade exercida sobre as sementes de *A. cepa* (monocotiledônea).

Todos os extratos apresentaram efeito inibitório mais pronunciado sobre o crescimento dos hipocótilos de *L. sativa*, e um menor efeito sobre as radículas. O óleo essencial apresentou a maior taxa de inibição de crescimento tanto dos hipocótilos quanto das radículas, seguido do extrato etanólico do cerne. O extrato alcaloídico apresentou maior atividade sobre os hipocótilos, com atividade variável nas concentrações testadas.

GRÁFICO 2. Inibição do crescimento das sementes de *Lactuca sativa* (alface) promovido pelos extratos de *U. lindmanii*.



Hip.:hipocótilos; Rad.:radículas; OE*: óleo essencial das folhas; S*: extrato etanólico do cerne; A*: extrato alcaloídico das folhas.

*os números que seguem são referente às respectivas concentrações testadas (µg/mL).

Os resultados indicam uma maior atividade dos extratos de *U. lindmanii* em modelo de plantas monocotiledônea (*Allium cepa*), tanto na inibição da germinação das sementes quanto na diminuição do crescimento e desenvolvimento das mesmas. Dentre os extratos testados, óleo essencial foi o mais ativo sobre o crescimento e desenvolvimento das sementes, enquanto o extrato etanólico do cerne apresentou-se o mais ativo quanto à inibição da germinação.

Há vários relatos na literatura que descrevem o potencial alelopático de óleos essenciais, tais como os oriundos de plantas pertencentes aos gêneros *Ruta* [FEO, *et al.*, 2002], *Cymbopogon* e *Lippia* [ALVES, *et al.*, 2004], *Tagetes* e *Schinus* [SCRIVANTI, *et al.*, 2003], e representantes da família Lamiaceae [POSER, *et al.*, 1996; ANGELINI, *et al.*, 2003]. O trabalho realizado por Dudai e colaboradores descreve o potencial alelopático de plantas dos gêneros *Cymbopogon*, *Micrometria* e *Origanum*, avaliando também o possível emprego como herbicidas naturais [DUDAI, *et al.*, 1999]. Quanto à família Annonaceae, a espécie *Duguetia furfuracea* apresentou um pronunciado efeito indutor do crescimento de radículas e hipocótilos de *L. sativa* exercido pelo óleo essencial, mas o extrato alcaloídico desta espécie exibiu inibição da germinação e crescimento das sementes [SILVA, *et al.*, 2005].

Dellagrecia e colaboradores descrevem atividade alelopática de megastigmanos alênicos isolados de *Chenopodium album* sobre as plântulas de *L. sativa*. Entre esses megastigmanos, o composto **grasshopper ketone** foi isolado e posteriormente avaliado, e inibiu o crescimento dos hipocótilos em até 30% e das radículas em 20% [DELLAGRECA, *et al.*, 2004]. Essa substância foi identificada no extrato alcaloídico, que também apresentou atividade, das folhas de *U. lindmanii*.

Macías e colaboradores também descrevem a atividade alelopática exibida por megastigmanos isolados de *Helianthus annuus*, sendo observada seletividade dos compostos testados sobre modelos de espécies monocotiledôneas, tal como *A. cepa*, chegando a inibir até 45% da germinação das sementes e apresentando efeito estimulante sobre crescimento das radículas [MACÍAS, *et al.*, 1998].

5 – CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico das partes aéreas de *Unonopsis lindmanii* conduziu ao isolamento e identificação de 15 substâncias e obtenção de dois produtos por modificação estrutural.

Das folhas foi isolado o megastigmano (3*S*,5*S*,8*R*)-3,5-diidróxi-megastigma-6,7-diene-9-ona (**9**); dois alcalóides de esqueleto aporfinóide: liriodenina (**6**) e (–)-asimilobina (**7**) e cinco sesquiterpenos: α -copaeno (**1**), (+)-biciclogermacreno (**2**), alloaromadendreno (**3**), (–)-globulol (**4**) e (+)-espatulenol (**5**).

Do cerne foram obtidos dois alcalóides: asimilobina (**7**) e (–)-anonaína (**8**); uma lignana: (–)-siringaresinol (**12**); um derivado do ácido cinâmico: *N-trans*-feruloiltiramina (**13**), e dois esteróides: β -sitosterol (**10**) e estigmasterol (**11**).

Este trabalho contribuiu para ampliação da caracterização química do gênero *Unonopsis*, uma vez que os compostos **2**, **3**, **4**, **5**, **9**, **12** e **13** estão sendo descritos pela primeira vez no gênero.

Os extratos foram testados frente aos bioensaios de toxicidade sobre à *Artemia salina* e avaliação alelopática frente a duas espécies vegetais mono e dicotiledônea, *Allium cepa* e *Lactuca sativa*, respectivamente. Os extratos apresentaram-se ativos frente aos ensaios propostos; no ensaio de toxicidade sobre *A. salina*, todos foram ativos, sendo o óleo essencial das folhas o de maior expressividade, com DL₅₀ de 17,9 μ g/mL. No ensaio de avaliação alelopática, todos os extratos apresentaram-se ativos, no qual o óleo essencial das folhas exibiu inibição da germinação e crescimento das espécies na ordem de até 90%.

Os resultados obtidos a partir da avaliação biológica dos extratos desta espécie foram bastante significativos e indicam a necessidade de também submeter as substâncias isoladas aos respectivos ensaios biológicos, visando definir as substâncias responsáveis pela toxicidade sobre *A. salina*, bem como pelo efeito alelopático.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by Gas Chromatography / Mass Spectroscopy**. Illinois, USA. Ed. Allured Publishing Corporation, 1995.

AGRAWAL, P. K.; THAKUR, R. S. ^{13}C NMR spectroscopy of lignan and neolignan derivatives. *Magnetic Resonance in Chemistry*, v. 23, p. 390-418, 1985.

ALALI, F. Q.; LIU, X. X.; McLAUGHLIN, J. L. Annonaceous Acetogenins: Recent Progress. *Journal of Natural Products*, v. 62, p. 504-540, 1999.

ALKOFAHI, A.; RUPPRECHT, J. K.; LIU, Y. M.; CHANG, C. J.; SMITH, D. L.; McLAUGHLIN, J. L. Gigantecin: a novel and cytotoxic acetogenin, with nonadjacent tetrahydrofuran rings, from *Goniothalamus giganteus* (Annonaceae). *Experientia*, v. 46, p. 539-541, 1990.

ALVES, M. C. S.; MEDEIROS, S. F.; INNECCO, I.; TORRES, S. B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 29, n. 11, p. 1083-1086, 2004.

ANDERSON, J. E.; GOETZ, C. M.; McLAUGHLIN, J. L.; SUFFNESS, M. A blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumor cell cytotoxicities as antitumor prescreens. *Phytochemical Analysis*, v. 2, p. 107-111, 1991.

ANDEL, T. R. Useful plants species in the seven forest hectare plots. In: **Non-timber Forest products of the North-West District of Guyana – Part I**. Guyana, Ed. Print Partners Ipskamp K. V. 2000. cap. 4., p. 94-146.

Estudo fitoquímico das partes aéreas (folhas e cerne do caule) de *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – e avaliação da atividade biológica por bioensaios simples.

- ANGELINI, L. G.; CARPANESE, G.; CIONI, P. L.; MORELLI, I.; MACCHIA, M.; FLAMINI, G. Essential oils from Mediterranean Laminaceae as weed germination inhibitors. *Journal of Food and Chemistry*, v. 51, p. 6158-6164, 2003.
- ARANGO, G.; CORTES, D.; CASSELS, B.; CAVÉ, A.; MÉRIENNE, C. Azafluorenones from *Oxandra* cf. *major* and biogenetic considerations. *Phytochemistry*, v. 26, n. 7, p. 2093-2098, 1987.
- ARANGO, G. J.; CORTES, D.; CAVÉ, A.; D'OCON, M. P. 7,7'-bisdehydroaporphines from *Unonopsis pacifica*. *Anales de Química, Serie C: Química Orgânica e Bioquímica*, v. 84 (1), p. 124-127, 1988.
- ASEKUN, O. T.; ADENIYI, B. A. Antimicrobial and cytotoxic activities of the fruit essential oil of *Xylopia aethiopica* from Nigeria. *Fitoterapia*, v. 75, p. 368-370, 2004.
- BALDERMANN, S.; NAIM, M.; FLEISCHMANN, P. Enzymatic carotenoid degradation and aroma formation in nectarines (*Prunus persica*). *Food Research International*, v. 38, p. 833-836, 2005.
- BARBOSA, T. P.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S.; MARTINS, R. M.; PINTO, A. C.; VARGAS, M. D. New 1,2,3,4-tetrahydro-1-aza-anthraquinones and 2-aminoalkyl compounds from norlapachol with molluscicidal activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 13, p. 6464-6469, 2005.
- BASER, K. H. C.; KURKCUOGLU, M.; AYTAC, Z. Composition of the essential oil of *Salvia euphratica* Montbret et Aucher ex Benth var. *euphratica* from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 13, p. 63-64, 1998.

- BAUMES, R.; WIRTH, J.; BUREAU, S.; GUNATA, Y.; RAZUNGLES, A. Biogeneration of C₁₃-norisoprenoids compounds: experiments supportive for an apo-carotenoid pathway in grapevines. *Analytica Chimica Acta*, v. 458, p. 3-14, 2002.
- BERMEJO, A.; FIGADERE, B.; ZAFRA-POLO, M.; BARRACHINA, I.; ESTORNELL, E.; CORTES, D. Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. *Natural Products Reports*, v. 22(2), p. 260-303, 2005.
- BOMBARDA, I.; RAHARIVELOMANANA, P.; RAMANOELINA, P. A. R.; FAURE, R.; BIANCHINI, J.; GAYDOU, E. Spectrometric identifications of sesquiterpene alcohols from niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) essential oil. *Analytica Chimica Acta*, v. 447, p. 113-123, 2001.
- BOULIN, B.; MIGUEL, A. B.; DELMOND, B. Nouvelles voies d'accès aux theaspiranes, mégastigma-5,7,9-trién-4-one et mégastigma-5,8-dién-4-one à partir du γ -pyronène. *Tetrahedron*, v. 56, p. 3927-3932, 2000.
- BOYOM, F. F.; NGOUANA, V.; ZOLLO, P. H. A.; MENUT, C.; BESSIERE, J. M.; GUT, J.; ROSENTHAL, P. J. Composition and anti-plasmodial activities of essential oils from some Cameroonian medicinal plants. *Phytochemistry*, v. 64(7), p. 1269-1275, 2003.
- BUCHĬ, G.; HOFHEINZ, G. W.; PAUKSTELIS, J. V. Synthesis of (–)-aromadendrane and related sesquiterpenes. *Journal of American Chemical Society*, v. 91, p. 6473, 1966.
- CAPARROS-LEFEBVRE, D.; ELBAZ, A. Possible relation of parkinsonism in the French West Indies with consumption of tropical plants: a case-control study. *The Lancet*, v. 354, p. 281, 1999.

- CAPARROS-LEFEBVRE, D.; STEELE, J. Atypical parkinsonism os Guadalupe, comparison with the parkinsonism-dementia complex of Guam, and environmental hypotheses. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 19, p. 407-413, 2005.
- CAROLLO, C. A. **Estudo fitoquímico das partes aéreas (casca do caule e folhas) de *Duguetia furfuracea* – Annonaceae. 2004.** Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.
- CAROLLO, C. A.; HELLMANN, A. R.; SIQUEIRA, J. M. Sesquiterpenoids from the essential oil from leaves of *Duguetia furfuracea* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 33, p. 647-. 649, 2005
- CASTRO, I., VILLEGAS, J. R.; SOEDER, B.; CASTRO, C. Oxaporphine alkaloids from *Annona purpurea* Wood. *Fitoterapia*, v. 57, n. 2, p. 181-182, 1996.
- CAVÉ, A., LEBOEUF, M., WATERMAN, P. G. The aporphinoid alkalois of the Annonaceae. In: **Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives**. New York Ed. S. Willian Pelleiter (John Wiley, Sons), v.5, cap.3, p.133-627, 1987.
- CEPLEANU, F.; OHTANI, K.; HAMBURGER, M.; GUPTA, M. P.; SOLIS, P.; HOSTETTMANN, K. Novel acetogenins from the leaves of *Annona purpurea*. *Helvetica Chimica Acta*, v. 76, p. 1379-1388, 1993.
- CHAVES, M. H.; ROQUE, N. F. Amides and lignanamides from *Porcelia macrocarpa*. *Phytochemistry*, v. 46, n. 5, p. 879-881, 1997.
- CHEN, K.; KO, F.; TENG, C.; WU, Y. Antiplatelet and vasorelaxing actions of some aporphinoids. *Planta Medica*, v. 62, p. 133-136, 1996.

- CHIBA, K.; YAMAZAKI, M.; UMEGAKI, E.; LI, M. R.; XU, Z. W.; TERADA, S.; TAKA, M.; NAOI, N.; MOHRI, T. Neuritogenesis of herbal (+)- and (-)-syringaresinols separated by chiral HPLC in PC12h and Neuro2a cells. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 25, p. 791-793, 2002.
- CHOUDHURY, S.; AHMED, R.; BARTHEL, A.; LECLERCQ, P. A. Composition of the bark and flower oils of *Cinnamomum bejolghota* (Bunch. – Ham.). Sweet from two locations of Assam, India. *Journal Essential Oil Research*, v. 10(3), p. 245-250, 1998.
- CONNOLLY, J. D; HILL, R. A. **Dictionary of terpenoids. V. 1 – mono and sesquiterpenoids**. London. Ed. Chapman & Hall, 1991.
- COREY, E. J.; WATT, D. S. A total synthesis of ($\pm$)- α - and ($\pm$)- β -copaene and ylangenes. *Journal American Chemical Society*, v. 95:7, p. 2303-2311, 1973.
- CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro, 2ª edição, Imprensa Nacional, 1978. v. 6.
- COSTA, E. V.; PINHEIRO, M. L. B.; XAVIER, C. M.; SILVA, J. R. A.; AMARAL, A. C. F.; SOUZA, A. D. L.; BARISON, A.; CAMPOS, F. R.; FERREIRA, A.G.; MACHADO, G. M. C.; LEON, L. L. P. A pyrimidine- β -carboline and other from *Annona foetida* with antileishmanial activity. *Journal of Natural Products*, v. 69, p. 292-294, 2006.
- COX, A.; SKOUROUMOUNIS, G. K.; ELSEY, G. M.; PERKINS, M. V.; SEFTON, M. A. Generation of (*E*)-1-(2,3,6-trimethylphenyl)buta-1,3-diene from C₁₃-norisoprenoid precursor. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 6777-6784, 2004.

- DELLAGRECA, M.; MARINO, C.; ZARRELLI, A.; D'ABROSCA, B. Isolation and phytotoxicity of apocarotenoids from *Chenopodium album*. *Journal of Natural Products*, v. 67, p. 1492-1495, 2004.
- DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products – A biosynthetic approach**. England, Ed. John Wiley & Sons, 1997.
- DUDAI, N.; POLJAKOFF-MAYBER, A.; MAYER, A. M.; PUTIEVCKI, E.; LERNER, H. R. Essential oil as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. *Journal of Chemical Ecology*, v. 25, n. 5, 1999.
- ENGSTRÖM, K. Post-infectional metabolites from infected potato tubers. *Phytochemistry*, v. 46, p. 1585-1587, 1998.
- FANG, X.; RIESER, M. J.; GU, Z.; ZHAO, G.; McLAUGHLIN, J. L. Annonaceous acetogenins: an update review. *Phytochemical Analysis*, v. 4, p. 27-48, 1993.
- FEO, V.; SIMONE, F.; SENATORE, F. Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. *Phytochemistry*, v. 61, p. 573-578, 2002.
- FERREIRA, M. J. P.; CONSTANTIN, M. B.; SARTORELLI, M. P.; RODRIGUES, G. B.; LIMBERGER, R.; HENRIQUES, A. T.; KATO, M. J.; EMERENCIANO, V. P. Computer-aided method for identification of components in essential oils by ¹³C NMR spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, v. 447, p. 125-134, 2001.
- FERRIGNI, N. R.; McLAUGHLIN, J. L.; POWELL, R. G.; SMITH, J. C. R. Use of potato disc and brine shrimp bioassay to detect activity and isolate picetannol as the antileukemic principle from the seeds of *Euphorbia lagascae*. *Journal of Natural Products*, v. 47, n. 2, p. 347-352, 1984.

- FIGUEIREDO, S. F. L.; VIANNA, V. R. C.; SIMÕES, C.; ALBARELLO, N.; TRUGO, L. C.; KAPLAN, M. A.; KRUL, W. R. Lignans from leaves, seedlings and micropropagated plants of *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill. - Annonaceae. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 56 (2), p. 121-214, 1999.
- FLAT, R. A.; CUNNINGHAM, R. T.; MON, R. T.; JONH, J. O. Males lures for Mediterranean fruitfly (*Ceratitis capitata* Wled): structural analogs of α -copaene. *Journal of Chemical Ecology*, v. 20 (10), p. 2595-2609, 1994.
- FOURNIER, G.; LEOEUF, M.; CAVÉ, A. Annonaceae essential oils: a review. *Journal of Essential Oil Research*, v.11, p.131-142, 1999.
- FOURNIER, G.; HADJIAKHOONDI, P. K.; LEOEUF, M.; CAVÉ, A. CHARLES, B. Essential oils of *Monanthotaxis diclina* (Sprague) Verdecourt and *Unonopsis guaterioides* R. E. Fries. *Flavour and Fragrance Journal*, v.12, p. 95-98, 1997.
- GALOTA, A. L. Q. A. **Estudo fitoquímico e farmacológico da espécie Euterpe precatória (Martius) ARECACEAE. 2005.** Dissertação (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- GIJSEN, H. J. M.; WIJNBERG, J. B. P. A.; GROOT, A. Structure, occurrence, biosynthesis, biological, activity, synthesis and chemistry of aromadendrane sesquiterpenoids. In: **Progress in the Chemistry of Organic Natural Products**. New York, Ed. Springer-Verlag, 1995. p. 149-184.
- GOULART, M.; SANTANA, A. E. G.; OLIVEIRA, A. B.; OLIVEIRA, G. G.; MAIA, J. G. S. Azafluorenones and azaanthraquinones from *Guatteria dielsiana*. *Phytochemistry*, v. 25, p. 1691-1695, 1986.

- GRANDIC, R. S.; FOURNEAU, C.; LAURENS, A.; BORIES, L. A.; HOCQUEMILLER, R.; LOISEAU, P. M. *In vitro* antileishmanial activity of acetogenins from Annonaceae. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 58, p. 388-392, 2004.
- GRANDIC, R. S.; FOURNEAU, C.; LAURENS, A.; HOCQUEMILLER, R.; LOISEAU, P. M.; BORIES, C. Squamocin and benzyl benzoate, acaricidal components of *Uvaria pauci ovulata* bark extracts. *Planta Medica*, v. 66, p. 173-175, 2000.
- GUINAUDEAU, H., LEBOEUF, M., CAVÉ, M. Aporphinoids alkaloids II. *Journal of Natural Products*, v. 42, n. 4, p.325-360, 1979.
- GUINAUDEAU, H., LEBOEUF, M., CAVÉ, M. Aporphinoids alkaloids III. *Journal of Natural Products*, v. 46, n. 6, p. 761-835, 1983.
- GUINAUDEAU, H., LEBOEUF, M., CAVÉ, M. Aporphinoids alkaloids IV. *Journal of Natural Products*, v. 51, n. 3, p. 389-474, 1988.
- HEATHCOCK, C. H. The total synthesis of (±)-copaene and (±)-isocopaene. *Journal American Chemical Society*, 88:17, p. 4110-4112, 1966.
- HIRAMATSU, F.; MURAYAMA, T.; KOSEKI, T.; SHIONO, Y. Strobilols A-D: four cadinane type sesquiterpenes from the edible mushroom *Strobilurus ohshimae*. *Phytochemistry*, v. 68, p. 1267-1271, 2007.
- HONGRATANAWORAKIT, T.; BUCHBAUER, G. Evaluation of the effect of ylang-ylang oil on humans inhalation. *Planta Medica*, v. 70, p. 632-636, 2004.
- HSIEH, T.; CHANG, F.; WU, Y. CHO, C. The constituents of *Cananga odorata*. *Journal Chinese Chemical Society*, v. 46, n. 4, p. 607-612, 1999.

- HUBERT, T. D.; WIEMER, D. F. Ant-repellent terpenoids from *Melampodium divaricatum*. *Phytochemistry*, v. 24, p. 1197, 1985.
- HUFFORD, C. D.; FUNDERBURK, M. J.; MORGAN, J. M.; ROBERTSON, L. W. Two antimicrobial alkaloids from Heartwood of *Liriodendron tulipifera* L. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 64, n. 5, p. 789-792, 1975.
- HUFFORD, C. D.; LIU, S.; CLARK, A. M.; OGUNTIMEIN, B. O. Anticandical activity of eupolauridine and onychin, alkaloids from *Cleistopholis patens*. *Journal of Natural Products*, v.50, n.5, 1987.
- IWABUCHI, H.; YOSHIKURA, M.; KAMISAKO, W. Studies on the sesquiterpenoids of *Panax ginseng*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v. 37, p. 509-510, 1987.
- JACOBSON, M.; UEBEL, E. C.; LUSBY, W. R.; WATERS, R. M. Optical isomers of α -copaene derived from several plants sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 35, p. 798-800, 1987.
- JAYASURIYA, H.; HERATH, K. B.; ONDEYKA, J. G.; GUAN, Z.; BORRIS, R. P.; TIWARI, S.; JONG, W.; CHAVEZ, F.; MOSS, J.; STEVENSON, D. W.; BECK, H. T.; SLATERRY, M.; ZAMORA, N.; SCHULMAN, M.; ALI, A.; SHARMA, N.; MACNAUL, K.; HAYES, N.; MENKE, J. G.; SINGH, S. B. Diterpenoid, steroid and triterpenoid agonist of liver X receptors from diversified terrestrial plants and marine sources. *Journal of Natural Products*, v. 68, p. 1247-1252, 2005.
- JOLAD, S. D., HOFFMANN, J. J., SCHRAM, K. H., COLE, J. R. Uvaricin, a new antitumor agent from *Uvaria accuminata* (Annonaceae). *Journal of Organic Chemistry* n. 47, p. 3151-3153, 1982.

- JOVEL, E. M.; CABANILLAS, J.; TOWERS, G. H. N. An ethnobotanical study of the traditional medicine of the Mestizo people of Suri Miraño, Loreto, Peru. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 53, p. 149-156, 1996.
- KANOKMEDHAKUL, S.; KANOKMEDHAKUL, K.; YODBUDDEE, D.; PHONKERD, N. New antimalarial bis-dehydroaporphine alkaloids from *Polyalthia debilis*. *Journal of Natural Products*, v. 66, p. 616-619, 2003.
- KAPADIA, V. H.; NAGASAMPAGI, B. A.; NAIK, V. G.; DEV, S. Studies of muskatone and copaeene. *Tetrahedron*, v. 21, p. 607-618, 1965.
- KARIOTI, A.; HADJIPAVLOU-LITINA, D.; MESSAH, M. L. K.; FLEISCHER, C. T.; SKALTSA, H. Composition and antioxidant activity of the essential oils of *Xylopia aethiopica* (Dun) A. Rich. (Annonaceae) leaves, stem bark, root bark, and fresh and dried fruits, growing in Ghana. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 8094-8098, 2004.
- KOTAKE, Y.; OKUDA, K.; KAMIZONO, M.; MATSUMOTO, N.; TANAHASHI, T.; HARA, H.; CAPARROS-LEBEBVRE, D.; OHTA, S. Detection and determination of reticuline and N-methylcoclaurine in the Annonaceae family using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, v. 806, p. 75-78, 2004.
- KVIST, L. P.; CHRISTENSEN, S. B.; RASMUSSEN, H. B.; MEJIA, K.; GONZALEZ, A. Identification and evaluation of Peruvian plants used to treat malaria and leishmaniasis. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 106, p. 390-402, 2006.
- KUO, R.; CHANG, F.; CHEN, C.; TENG, C.; YEN, H.; WU, Y. Antiplatelet activity of N-methoxycarbonyl aporphines from *Rollinia mucosa*. *Phytochemistry*, v. 57, p. 421-425, 2001.

- LAPRÉVOTE, O.; ROBLLOT, F.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A. Alcaloïdes des Annonacées, 84. Bisaporphinoïdes de l'*Unonopsis spectabilis*. *Journal of Natural Products*, v.50, n.5, p. 984-988, 1987.
- LAPRÉVOTE, O.; ROBLLOT, F.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A. Alcaloïdes des Annonacées, 87. Azafluorénones de l'*Unonopsis spectabilis*. *Journal of Natural Products*, v.51, n.3, p. 555-561, 1988.
- LEBOEUF, M.; CAVÉ, A.; BHAUMIK, P. K.; MUKHERJEE, B.; MUKHERJEE, R. The phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry* v. 21, n. 12, p. 2783-2813, 1982.
- LIKHITWITAYAWUID, K.; ANGERHOFER, C. K.; CHAI, H.; PEZZUTO, J. M.; CORDELL, G. A.; RUANGRUGSI, N. Citotoxic and antimalarial alkaloids from the tubers of *Stephania pierrei*. *Journal of Natural Products*, v. 56, n. 9, p. 1468-1478, 1993.
- MAAS, P. J. M.; MAAS-VAN de KAMER, H.; JUNIKKA, L.; MELLO-SILVA, R.; RAINER, H. Annonaceae from Central-eastern Brazil. *Rodriguésia*, v 52 (80), p. 65-98. 2001.
- MACÍAS, F. A.; VARELA, R. M.; TORRES, A.; OLIVA, R. M.; MOLINILLO, J. M. G. Bioactive norsesquiterpenes from *Helianthus annuus* with potential allelopathic activity. *Phytochemistry*, v. 48, n. 4, p. 631-636, 1998.
- MACÍAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J. M. G. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, p. 2512-2521, 2000.
- MACÍAS, F. A.; SIQUIERA, J. M.; CHINCHILIA, D. M.; VARELA, R. M.; MOLINILLO, J. M. G. New herbicide models from benzoxazinones: aromatic ring

- functionalization effects. *Journal of Food and Agricultural Chemistry*, v. 54, p. 9843-9851, 2006.
- MALHEIROS, A.; PERES, M. T. L. P. Alelopatia: interações químicas entre as espécies. *In: Plantas Medicinais sob a ótica da química medicinal moderna*. Chapecó, SC. Ed. Argos, 2001. p. 503-523.
- MARINO, S.; BORBONE, N.; ZOLLO, F.; IANARO, A.; MEGLIO, P.; IORIZZI, M. Megastigmane and phenolic components from *Laurus nobilis* L. leaves and their inhibitory effects on nitric oxide production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 7525-7531, 2004.
- MAYO, P.; WILLIAMS, R. E. The absolute stereostructure of copaene. *Tetrahedron*, v. 21, p. 619-627, 1965.
- McMURRY, J. E.; BOSCH, G. K. Synthesis of macrocyclic terpenoids hydrocarbons by intramolecular carbonyl coupling: bicyclogermacrene, lepidozene and casbene. *Journal of Organic Chemistry*, v. 52, n. 22, 1987.
- McLAUGHLIN, J. L.; CHANG, C-J; SMITH, D.L. “Bench-top” bioassays for the discovery of bioactive natural products: an update. *In: Studies in Natural Products Chemistry*. Amsterdam Ed. Atta-ur-Rahman, *Elsevier Science Publishers B. V*, 1991. v. 9.
- McLAUGHLIN, J. L.; CHANG, C-J; SMITH, D.L. Simple bench-top bioassays (brine shrimp and potato disk) for the discovery of plant antitumor compounds. *In: Human Medicinal Agents from Plants*. Balandrini, Ed. Kinghorn, 1993. ACS 534, p. 113-137.

- MEINWALD, J.; ERICKSON, K.; HARTSHORN, M.; MEINWARD, Y. C.; EISNER, T. Defensive mechanisms of arthropods. XXII. Allenic sesquiterpenoid from the grasshopper *Romalea microptera*. *Tetrahedron Letters*, v. 25, p. 2959-2962, 1968.
- MIZUTANI, M.; HASHIDOKO, Y.; TAHARA, S. Factors responsible for inhibiting motility of zoospores of the phytopathogenic fungus *Aphanomyces cochlioides* isolated from the non-host plant *Portulaca oleracea*. *FEBS Letters*, v. 438, p. 236-240, 1998.
- MIYAZAWA, M.; UEMURA, T.; KAMEOKA, H. Biotransformation of sesquiterpenoids (+)-aromadendrene and (-)-alloaromadendrene by *Glomerella cingulata*. *Phytochemistry*, v. 40, n. 3, p. 793-796, 1995.
- MYAZAWA, M.; UTSUNOMIYA, H.; INADA, K.; YAMADA, T.; OKUNO, Y.; TANAKA, H.; TATEMATSU, M. Inhibition of *Helicobacter pylori* motility by (+)-syringaresinol from unripe japanese apricot. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, v. 29, p. 172-173, 2006.
- MUHAMMAD, I.; DUNBAR, D. C.; TAKAMATSU, S.; WALKER, L. A.; CLARK, A. M. Antimalarial, cytotoxic, and antifungal alkaloids from *Duguetia hadrantha*. *Journal of Natural Products*, v. 64, p. 559-562, 2001.
- MORS, W. B.; NASCIMENTO, M. C.; PEREIRA, B. M. R.; PEREIRA, N. A. Plant natural products active against snake bite – the molecular approach. *Phytochemistry*, v. 55, p. 627-642, 2000.
- NELSON, A.; WARREN, S. Control of remote stereochemistry using phosphine oxides: formal synthesis of any stereoisomer diol (*RR*, *RS*, *SR* or *SS*) bearing 1,5-related stereogenic centers across an *E* double bond. *Journal of the Chemical Society, Perkins transactions 1*, p. 1983-1998, 1999.

- NISHIMURA, K.; SHINODA, N.; HIROSE, Y. New sesquiterene, byciclogermacrene. *Tetrahedron Letters*, v. 36, p. 3097-3100, 1969.
- NONIER, M.; GAULEJAC, N. V.; VIVAS, N.; VITRY, C. Characterization of carotenoids and their degradation products in oak wood. Incidence on the flavour of wood. *Compters Rendus Chimie*, v. 7, p. 689-698, 2004.
- OTSUKA, H.; ZHONG, X.; HIRATA, E.; SHINZATO, T.; TAKEDA, Y. Myrsiniosides A-E: megastigmano glycosides from the leaves of *Myrsine segunii* Lev. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v. 49 (9), p. 1093-1097, 2001.
- PACCIARONI, A. D.; MONGELLI, E.; ESPINAR, L. A.; ROMANO, A.; CICCIA, G. SILVA, G. L. Bioactive constituents of *Conyza albida*. *Planta Medica*, v. 66, p. 720-723, 2000.
- PARRA, A. L.; YHEBRA, S. R.; SARDIÑAS, I. G.; BUELA, L. I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD₅₀ value) in mice, to determine oral acute toxicity of plants extracts. *Phytomedicine*, v. 8, p. 395-400, 2001.
- PEREIRA, N. F. G.; CAROLLO, C. A.; GARCEZ, W. S.; SIQUEIRA, J. M. Novel santalane sesquiterpenoids from the stem bark of *Duguetia glabriuscula* – Annonaceae. *Química Nova*, v. 26, p. 512-516, 2003.
- PELLETIER, S. W. **Alkaloids: chemical and biological perspectives**. New York, Ed. John Wiley & Son, 1987.
- POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. Corumbá. Ed. Embrapa – Centro de Pesquisa Agropecuária, 1995. p.33-37.

- POSER, G. L.; MENUT, C.; TOFFOLI, P. V.; SOBRAL, M.; BESSIÈRE, J.; LAMATY, G.; HENRIQUES, A. T. Essential oil composition and allelopathic effect of the brazilian Lamiaceae *Hesperozygis rigens* (Benth.) Epling and *Hesperozygis rhondodon* Epling. *Journal of Food and Chemistry*, v. 44, p. 1829-1832, 1994.
- PROTAIS, P.; ARBAOUI, J.; BAKKALI, E.; BERMEJO, A.; CORTES, D. Effects of various isoquinoline alkaloids on in vitro ^3H -dopamine uptake by rat striatal synaptosomes. *Journal of Natural Products*, v. 58, p. 1475-1484, 1995.
- QIN-HUI, T.; CHUN, W.; FENG-XIANGH, Y.; DUAN-FANG, L. MAPK pathway mediates the protective effects of onychin on oxidative stress-induced apoptosis in ECV304 endothelial cells. *Life Sciences*, v.76, n.5, p. 487-497, 2004.
- REBSTOCK, A.; MONGIN, F.; TRÉCOURT, F.; QUÉGUINER, G. Regioselectivities in desprotonation of 2-(4-chloro-2-pyridyl) benzoic acid and corresponding ester and amide. *Tetrahedron*, v. 60, p. 2181-2186, 2004.
- SACRAMENTO, C. K.; FARIA, J. C.; CRUZ, F. L.; BARRETO, W. S.; GASPAR, J. W.; LEITE, J. B. V. Caracterização física e química de frutos de três tipos de graviroleira (*Annona muricata* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 25, n. 2, p. 329-331, 2003.
- SAN FELICIANO, A.; MEDARDE, M.; GORDALISA, M.; DEL OLMO, E.; CORRAL, J. M. Sesquiterpenoids and phenolics of *Plucaria paludosa*. *Phytochemistry*, v. 28, p. 2217-2721, 1989.
- SANTOS, A. F.; AZEVEDO, D. P. L.; MATA, R. C. S.; MENDONÇA, D. I. M. D.; SANT'ANA, A. E. G. The lethality of *Euphorbia conspicua* to adults of *Biomphalaria glabrata*, cercaria of *Schistosoma mansoni* and larvae of *Artemia salina*. *Bioresource Technology*, v. 98, p. 135-139, 2007.

- SANTOS, D. Y. A. C.; SALATINO, M. L. F. Foliar flavonoids of Annonaceae from Brazil: taxonomic significance. *Phytochemistry*, v. 55, p. 567-573, 2000.
- SANTOS, L. P.; BOAVENTURA M, A. D. ; OLIVEIRA, A. B. ; CASSADY, J. M. Grossamide and *N-trans*-caffeoyltyramine from *Annona crassiflora* seeds. *Planta Medica*, v. 62, p. 76, 1996.
- SCHULTES, R. E. Plants in treating senile dementia in the northwest Amazon. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 38, p.129-135, 1993.
- SCHIMMEL, W. *Ber. Shimmel*, p. 48, 1914. *Apud*: KAPADIA, V. H.; NAGASAMPAGI, B. A.; NAIK, V. G.; DEV, S. Studies of muskatone and copaene. *Tetrahedron*, v. 21, p.607-618, 1965.
- SCRIVANTI, L. R.; ZUNINO, M. P.; ZUGADLO, J. A. *Tagetes minuta* and *Schinus areira* essential oils as allelopathic agents. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 31, p. 563-572, 2003.
- SILVA, D. B., MIGLIO, H. S., CAROLLO, C. A., FABRI, J. R., SIQUIERA, J. M. A utilização de cromatografia em camada preparativa impregnada com ácido oxálico no isolamento e purificação de alcalóides oxaporfínicos. *In*: 28ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2005, Poços de Caldas, MG. Livro de resumos PN-259.
- SILVA, D. B.; ALENCAR, K. M. C.; VALTER, J. L.; TULLI, E. C. O.; CORREIA, R. P.; OLIVEIRA, A.; FABRI, J. R.; NASCIMENTO, E. A.; MORAIS, S. A. L.; CHANG, R.; SIQUEIRA, J. M. Avaliação alelopática dos extratos e exsudato radicular de *Duguetia furfuracea* – uma planta invasora. *In*: 28ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2005, Poços de Caldas, MG. Livros de resumos PN-258.

- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. *In: Farmacognosia – da planta ao medicamento*. 2ª edição, Porto Alegre. Ed. da UFSC, 2000. p. 641-656.
- SIQUEIRA, J. M.; BOMM, M. D.; BOAVENTURA, M. A. D.; OLIVEIRA, A. B.; GARCEZ, W. S. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* biomonitorado pelo ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina*. *Química Nova*, v.21, n.5, p.557-559, 1998.
- SIQUEIRA, J. M. **Estudo fitoquímico de *Duguetia gabriuscula* R. E. Fries e *Unonopsis lindmanii* R. E. Fries – Annonaceae – biomonitorado pelo ensaio biológico de toxicidade sobre *Artemia salina*. 1999.** Dissertação (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- SOLER, E.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P. Composition of *Aloysia gratissima* leaf essential oil. *Phytochemistry*, v. 25 (6), p. 1343-1345, 1986.
- STAHL, E. **Thin-Layer Chromatography – A laboratory Handbook**. 2º ed., New York: Ed. Spring-Verlag, 1990.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3ª ed., Porto Alegre: Ed. Artmed, 2004.
- TÁDIC, D.; CASSELS, B. K.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. Kinabaline and the aporphinoid biogenesis of azaanthracene and azafluorene alkaloids. *Phytochemistry*, v. 26, p. 537-541, 1987.
- TIEW, P.; PUNTUMCHAI, A.; KOKPOL, U.; CHAVASIRI, W. Coumarins from the heartwoods of *Mansonia gagei* Drumm. *Phytochemistry*, v. 60, p. 773-776, 2002.

- TOUCHE, A., DESCONCLOIS, J. F., JACQUEMIN, H., LELIEVRE, Y., FORGACS, P. Constituants de quelques Annonacées guyanaises. Analyse qualitative et quantitative des acides aminés basiques libres. Présence d'un triterpène, le polycarpol. *Plantes Medicinales et Phitothérapie*, v.15, n.1, p. 4-9, 1981.
- TOYOTA, M.; KOYAMA, H.; MIZUTANI, M.; ASAKAWA, Y. (-)-Ent-spathulenol isolated from liverworts is an artifact. *Phytochemistry*, v. 41, p.1347-1350, 1996.
- TU, S.; JIANG, B.; JIA, R.; ZHANG, J.; ZHANG, Y. An efficient and expeditious microwave-assisted synthesis of 4-azafluorenones via multi-component reaction. *Tetrahedron Letters*, v. 48, p. 1369-1374, 2007.
- VELASCO-NEGUERUELA, A.; PEREZ-AFONSO, M. J.; PERZ, P. L. P; The volatiles of two *Bystropogon* species from the Canary Islands (Spain). *Planta Medica*, v. 58 (5), p. 461-463, 1992.
- VERMES, B.; SELIGMANN, O.; WAGNER, H. Synthesis of biologically active tetrahydrofuranlignan - (syringin, pinoresinol) – mono – and bis – glucosides. *Phytochemistry*, v. 30, p. 3087-3089, 1991.
- VOGEL, A. I. **Química Orgânica – Análise orgânica qualitativa**. São Paulo, Ed. da USP, 1985. v. 3, p. 926.
- WAECHTER, A.; CAVÉ, A.; HOCQUEMILLER, R.; BORIES, C.; MUÑOZ, V.; FOURNET, A. Antiprotozoal activity of aporphine alkaloids isolated from *Unonopsis buchtienii* (Annonaceae). *Phytotherapy Research*, v. 13, p. 175-177, 1999.
- WATERMAN, P. G. A Phytochemistry in the African Rain Florest. *Phytochemistry*, v.25, p.3-17, 1986.

- WANG, L.; UNEHARA, N.; KITANAKA, S. Lignans from the roots of *Wikstroemia indica* and their DPPH radical scavenging and nitric oxide activities. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v. 53 (10), p. 1348-1351, 2005.
- WANG, J.; SHEN, Y.; HE, H.; KANG, W.; HAO, X. Norsesquiterpenoid and sesquiterpenoid glycosides from *Evodia austrosinensis*. *Planta Medica*, v. 71(1), p. 96-98, 2005.
- WIJERATNE, E. M.; LANKANANDA, B. D.; TEZUKA, Y.; NAGAOKA, T.; GUNATILAKA, A. A. L. Dimeric aporphinoid alkaloids of *Phoenicanthus obliqua* from Sri Lanka. *Journal of Natural Products*, v. 64, p. 1465-1467, 2001.
- WIRTH, J.; GUO, W.; BAUMES, R.; GÜNATA, Z. Volatile compounds released by enzymatic hydrolysis of conjugates of leaves and grape berries from *Vitis vinifera* Muscat of Alexandria and Shiraz cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, p. 2917-2923, 2001.
- WOO, S. H., REYNOLDS, M. C., SUN, N. J., CASSADY, J. M., SNAPKA, R. M. Inhibition of Topoisomerase II by Liriodenine. *Biochemical Pharmacology*, v. 54, p. 467-473, 1997.
- WU, S.; CHIANG, H.; CHANG, F.; LIAW, C.; WU, Y. Stimulatory effects of squamocin, an Annonaceous acetogenin, on Ca^{2+} -activated K^{+} current in culture smooth muscle cells of human coronary artery. *Chemical Research in Toxicology*, v. 16, p. 15-22, 2003.
- WU, Y.; LU, S., CHANG, J.; LEE, K. Cytotoxic aporphines from *Artabotrys uncinatus* and the structure and stereochemistry of artacinatine. *Phytochemistry*, v. 28, n. 8, p. 2191-2195, 1989.

- ZANI, C. L.; CHAVES, P. P. G.; QUEIROZ, R.; OLIVEIRA, A. B.; CARDOSO, J. E.; ANJOS, A. M. G.; GRANDI, T. S. M. Brine shrimp lethality assay as a prescreening system for anti-*Trypanosoma cruzi* activity. *Phytomedicine*, v. 2, p. 47-50, 1995.

“Ao estudo da sabedoria jamais haveis de pôr termo;
não acabe ele antes de acabada a vossa vida.
Em três coisas cumpre ao homem pensar e exercitar-se
enquanto viva: em bem saber, em bem falar e em bem obrar.
Desterra dos teus estudos a arrogância;
não fiques presumido pelo que sabes, porque tudo
quanto sabe o mais sábio homem do mundo nada é
em comparação com o muito que lhe falta saber.
Mui escasso é, e muito obscuro e incerto,
tudo quanto os homens alcançam nesta vida;
e os nossos entendimentos, detidos e presos neste cárcere do corpo,
estão oprimidos por grandíssima escuridão, trevas e ignorância,
e o corte ou fio do engenho é tão cego que não pode cortar,
nem passar-lhe de raspão sequer, coisa alguma.
Afora isto, a arrogância faz com que não possas tirar proveito do estudo;
creio que terá havido muitos que não chegaram a sábios
e que poderiam tê-lo sido se não dessem a entender que já o eram.
Deveis guardar-vos, também, de porfias, de competências,
de menosprezar ou amesquinhar o que os
outros sabem ou não sabem, de desejar vanglórias.
Para isto servem os estudos:
para nos ensinarem a fugir de tais vícios e de outros semelhantes”.

Juan Luis Vives (1492-1540), filósofo, In: **"Introdução à Sabedoria"**.