

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS

Centro de Ciências Exatas e Tecnologia – CCET

Departamento de Química - DQI

RMN aplicada à taxonomia de líquens

Luciana Marçal Ravaglia

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Neli Kika Honda

Dissertação apresentada ao
programa de Pós-Graduação em Química
– curso de Mestrado em Química, área de
concentração em Química Orgânica, da
Universidade Federal de Mato Grosso do
Sul, como parte dos requisitos para
obtenção do Título de Mestre em Química.

Campo Grande/ MS/ Brasil

Maio de 2007

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS
Centro de Ciências Exatas e Tecnologia – CCET
Departamento de Química - DQI

- Data da apresentação: 11/ 05/ 2007

- Local: Departamento de Química - UFMS

- Banca Examinadora:

- Profª. Drª. Neli Kika Honda (orientadora)
- Prof. Dr. Wagner Vilegas (Instituto de Química de Araraquara - UNESP)
- Profª. Drª. Neusa Maria M. Somera (DQI – UFMS)
- Profª. Drª. Rosenei Louzada Brum (Suplente - DQI – UFMS)

“Conheça-te a ti mesmo”

Sócrates

Dedico este trabalho aos meus pais, Estacio Ravaglia e Marize Marçal Ravaglia, a minha irmã, Elaine Marçal Ravaglia, e aos meus anjos de guarda...

... por todo o apoio e todo amor.

Amo muito vocês!!!

Agradecimentos

Agradeço a Deus, por tudo mesmo...

Por todo o aprendizado em todos esses anos de caminhada...

E principalmente pelos maravilhosos dons da vida e do amor.

À Nossa Senhora, nossa mãe, por estar sempre por perto, me guardando, intercedendo por mim e por toda minha família.

Por toda a força e amor que tenho no meu coração...

Aos meus queridos anjos de guarda, pela companhia, já que sempre estiveram por perto também... Por me ajudarem em todos os momentos, mesmo sem que eu sequer precisasse pedir. Por todas as lindas transformações na minha vida. Por me ajudarem a subir muitos degraus (tão importantes) em tão pouco tempo!

Por toda proteção, compreensão e amor.

Aos meu pais, Estacio Ravaglia e Marize M. Ravaglia, por todo apoio. Por estarem sempre ao meu lado, sempre.

Amo muito vocês!

A minha irmã, Elaine M. Ravaglia, por estar sempre do meu lado também.

Irmã, eu te amo e sempre vou te amar!

A Prof^ª. Dr^ª. Neli K. Honda, pela orientação durante todo o tempo que estive no laboratório LP2, desde a iniciação científica até os dias de hoje. Pelos conselhos, paciência e oportunidade de desenvolver esse trabalho.

Professora Neli, todos esses anos de convivência ficarão guardados no meu coração para sempre! Muito obrigada pela oportunidade de aprendizado e crescimento, como pesquisadora e como ser humano.

Ao Prof. Dr. Wagner Vilegas (Instituto de Química de Araraquara - UNESP) e a Prof^a. Dr^a. Neusa Maria M. Somera, por gentilmente aceitarem o convite de fazer parte da banca de avaliação deste trabalho.

Muito obrigada por participarem desta etapa tão importante do meu desenvolvimento.

As minhas queridas amigas, Ana Camila Micheletti e Aline Siqueira Gianini (Sulanka Manka). Pela companhia, nos bons momentos e também nos difíceis. Pela compreensão. Por todos os nossos momentos hilários. Por me ajudarem a aprender a conviver com as diferenças. Por todas as histórias que vivenciamos juntas. *E foram muitas!!!* Por estarem sempre ao meu lado. Por me ajudarem a ver o lado bom de tudo, mesmo quando parecia não haver lado bom! Sem vocês seria impossível!

Tia Ana e Tia Sulanka Manka, vocês estão no meu coração para sempre!

Aos meus amigos do LP4: Edson dos Anjos dos Santos, Felicia Megumi Ito e Euzebio Guimarães Barbosa. Pela convivência durante o mestrado (no caso do Edson, desde a graduação!). Por todas as conversas (científicas e não científicas)!!! Pela animação e companhia (principalmente na hora do almoço)!

A todos os meus amigos contemporâneos de mestrado, principalmente as meninas da orgânica: Nídia, Deize, Cristiane e Vanderléa. Pela companhia nesses meses de árdua caminhada.

As Prof^a. Dr^a. Rosenei Louzada Brum e Dr^a. Roberta Coelho, pela maravilhosa convivência no LP2. Pelos conselhos, orientações e amizade, durante todo esse tempo.

Muito obrigada!

A todos os habitantes e agregados do LP2, desde as professoras e mestrandas, que já foram citadas, até os alunos de iniciação científica, por todo o tempo que passamos juntos. *E esse tempo foi ótimo!!!* Especialmente, a Isabel, José Ricardo, Marcelo, Thiago, Oscar, menino Jhon e menina Sâmia. Sem esquecer do menino Luis Augusto, pelas ótimas conversas filosóficas!

A todos os técnicos e professores do Departamento de Química da UFMS, da

graduação e da pós-graduação, que contribuíram direta, ou indiretamente, na minha formação profissional. Por todos os exemplos e por meu aprendizado. Em especial a D. Rosa, por todo carinho.

A Prof^ª. Dr^ª. Mariana Fleig e ao Prof. Dr. Marcelo Marcelli, pela identificação dos líquens.

As operadoras do RMN, porque sem elas o trabalho seria impossível! O meu muito obrigada a Msc. Edilene C. D. Rodrigues e a Dr^ª. Lucinéia Vizotto.

Lu, obrigada por todas as dicas! Foi ótimo ter você como professora!

Um agradecimento especial a Maria Otávia e Celestino pelos serviços disponibilizados.

Ao CNPq, pela bolsa de mestrado, com duração de março de 2005 a março de 2007.

A UFMS e ao Departamento de Química, pelo apoio e oportunidade de trabalhar nas suas dependências.

E a todas as pessoas, que fazem ou fizeram parte da minha vida, e me ajudaram, de alguma forma, a construir o meu destino e a minha caminhada.

Muito obrigada!

Índice Geral

Resumo	1
Abstract	2
Introdução	3
Objetivos	15
Parte experimental	16
Seleção de amostras	16
Preparação dos extratos	17
Cromatografia em camada delgada	17
Microcristalização	18
Ressonância Magnética Nuclear	18
Resultados e Discussão	21
<i>Rimelia cetrata</i> (Ach.) Hale & Flechter	22
<i>Parmotrema dilatatum</i> (Vainio) Hale	30
<i>Canoparmelia texana</i> (Tuck.) Elix & Hale	37
<i>Canoparmelia ecaperata</i> (Müll. Arg.) Elix & Hale	46
<i>Dirinaria aspera</i> (H. Magn.) Awasthi	55
<i>Dirinaria aegialita</i> (Afzel. ex Ach.) Moore	63
<i>Dirinaria confluens</i> (Fr.) Awasthi	72
<i>Xanthoparmelia plittii</i> (Gyeln.) Hale	86
<i>Xanthoparmelia succedans</i> Elix & Johnston	97
<i>Usnea subcavata</i> Motyka	106
<i>Parmotrema delicatulum</i> (Vainio) Hale	113
<i>Parmotrema pancheri</i> (Hue) Hale	125
<i>Parmotrema rigidum</i> (Lyn.) Hale	137
<i>Parmotrema wainii</i> (Smith) Hale	149
<i>Parmotrema argentinum</i> (Kremp.) Hale	163
<i>Hypotrachyna dactylifera</i> (Vainio) Hale	174
<i>Parmotrema praesorediosum</i> (Nyl.) Hale	187

<i>Parmotrema mesotropum</i> (Müll. Arg.) Hale	197
<i>Parmotrema miranda</i> (Hale) Hale	209
<i>Heterodermia leucomela</i> (L.) Poelt subsp. <i>leucomela</i>	224
<i>Parmotrema cornutum</i> (Lynge) Hale	234
Dados de RMN utilizados como referência e comparação	244
Atranorina	246
Ácido protocetrário	253
Ácido norstítico	259
Ácido difractário	264
Ácido úsnico	272
Ácido girofórico	274
Ácido α -colatólico	276
Ácido α -alectorônico	278
Ácido salazínico	280
Ácido perlatólico	288
Ácido divaricático	298
Ácido protopraesorediósico	315
Ácido murólico	316
Ácido protoliquesterínico	317
Ácido caperático	318
Ácido liquesterínico	319
Zeorina	320
Ácido vulpínico	322
Conclusões	323
Referências Bibliográficas	328

Índice de espécies

Espécies (por ordem alfabética)	
<i>Canoparmelia ecaperata</i> (Müll. Arg.) Elix & Hale	46
<i>Canoparmelia texana</i> (Tuck.) Elix & Hale	37
<i>Dirinaria aegialita</i> (Afzel. ex Ach.) Moore	63
<i>Dirinaria aspera</i> (H. Magn.) Awasthi	55
<i>Dirinaria confluens</i> (Fr.) Awasthi	72
<i>Heterodermia leucomela</i> (L.) Poelt subsp. <i>leucomela</i>	224
<i>Hypotrachyna dactylifera</i> (Vainio) Hale	174
<i>Parmotrema argentinum</i> (Kremp.) Hale	163
<i>Parmotrema cornutum</i> (Lynge) Hale	234
<i>Parmotrema delicatulum</i> (Vainio) Hale	113
<i>Parmotrema dilatatum</i> (Vainio) Hale	30
<i>Parmotrema mesotropum</i> (Müll. Arg.) Hale	197
<i>Parmotrema miranda</i> (Hale) Hale	209
<i>Parmotrema pancheri</i> (Hue) Hale	125
<i>Parmotrema praesorediosum</i> (Nyl.) Hale	187
<i>Parmotrema rigidum</i> (Lyn.) Hale	137
<i>Parmotrema wainii</i> (Smith) Hale	149
<i>Rimelia cetrata</i> (Ach.) Hale & Flechter	22
<i>Usnea subcavata</i> Motyka	106
<i>Xanthoparmelia plittii</i> (Gyeln.) Hale	86
<i>Xanthoparmelia succedans</i> Elix & Johnston	97

Índice de cromatogramas

Cromatogramas 1 e 2 – Extrato de <i>R. cetrata</i>	23
Cromatograma 3 e 4 – Extrato de <i>P. dilatatum</i>	31
Cromatograma 5 – Extrato de <i>C. texana</i>	38
Cromatograma 6 – Extrato de <i>C. texana</i>	41
Cromatograma 7 – Extrato de <i>C. ecaperata</i>	47
Cromatograma 8 – Extrato de <i>D. aspera</i>	56
Cromatograma 9 – Extrato de <i>D. aegialita</i>	64
Cromatograma 10 – Extrato de <i>D. confluens</i>	73
Cromatograma 11 – Extrato de <i>X. plittii</i>	86
Cromatograma 12 – Extrato de <i>X. plittii</i>	87
Cromatograma 13 – Extrato de <i>X. succedans</i>	97
Cromatograma 14 – Extrato de <i>X. succedans</i>	98
Cromatograma 15 – Extrato de <i>U. subcavata</i>	106
Cromatograma 16 – Extrato de <i>P. delicatulum</i>	114
Cromatograma 17 – Extrato de <i>P. pancheri</i>	126
Cromatograma 18 – Extrato de <i>P. pancheri</i>	127
Cromatograma 19 – Extrato de <i>P. rigidum</i>	139
Cromatograma 20 – Extrato de <i>P. rigidum</i>	140
Cromatograma 21 – Extrato de <i>P. wainii</i>	151
Cromatograma 22 – Extrato de <i>P. wainii</i>	152
Cromatograma 23 – Extrato de <i>P. argentinum</i>	165
Cromatograma 24 – Extrato de <i>P. argentinum</i>	166
Cromatograma 25 – Extrato de <i>H. dactylifera</i>	175
Cromatograma 26 – Extrato de <i>P. praesorediosum</i>	188
Cromatograma 27 – Extrato de <i>P. mesotropum</i>	198
Cromatograma 28 – Extrato de <i>P. miranda</i>	210
Cromatograma 28 – Extrato de <i>H. leucomela</i>	225
Cromatograma 30 e 31 – Extrato de <i>P. cornutum</i>	235

Índice de figuras

Figura A - Estrutura básica de uma depsidona - Variedade de substituintes (exemplos mais comuns) que podem ser encontrados nesse tipo esqueleto.	11
Figura B - Estrutura básica de um depsídeo - Variedade de substituintes (exemplos mais comuns) que podem ser encontrados nesse tipo esqueleto.	13
Figura 1 - Sinais de deslocamento químico para o ácido salazínico presente no extrato de <i>R. cetrata</i> (DMSO-d ₆).	23
Figura 2 - Sinais de deslocamento químico para atranorina presente no extrato de <i>R. cetrata</i> (DMSO-d ₆).	31
Figura 3 - Sinais de deslocamento químico para ácido protocetrárico presente no extrato de <i>P. dilatatum</i> (DMSO-d ₆).	33
Figura 4 - Sinais de deslocamento químico para atranorina presente no extrato de <i>P. dilatatum</i> (DMSO-d ₆).	33
Figura 5 - Sinais de deslocamento químico para ácido divaricático presente no extrato de <i>C. texana</i> (CDCl ₃).	40
Figura 6 - Sinais de deslocamento químico para atranorina presente no extrato de <i>C. texana</i> (CDCl ₃).	42
Figura 7 - Depsídeo 5-cloroatranorina presente no extrato de <i>C. texana</i> .	42
Figura 8 - Sinais de deslocamento químico de RMN de ¹ H para ácido divaricático presente no extrato de <i>C. ecaperata</i> (CDCl ₃).	48
Figura 9 - Sinais de deslocamento químico de RMN de ¹³ C para ácido divaricático presente no extrato de <i>C. ecaperata</i> (CDCl ₃).	49
Figura 10 - Sinais de deslocamento químico para ácido úsnico presente no extrato de <i>C. ecaperata</i> (CDCl ₃).	50
Figura 11 - Sinais de deslocamento químico de RMN de ¹ H para ácido divaricático presente no extrato de <i>D. aspera</i> (DMSO-d ₆).	58
Figura 12 - Sinais de deslocamento químico para atranorina presente no extrato de <i>D. aspera</i> (DMSO-d ₆).	58
Figura 13 - Sinais de deslocamento químico para ácido divaricático presente no extrato de <i>D. aegialita</i> (DMSO-d ₆).	66
Figura 14 - Sinais de deslocamento químico para atranorina presente no extrato de <i>D. aegialita</i> (DMSO-d ₆).	66
Figura 15 - Sinais de deslocamento químico para o ácido divaricático presente no extrato de <i>D. confluens</i> (DMSO-d ₆).	75
Figura 16 - Sinais de deslocamento químico para o ácido divaricático presente no extrato de <i>D. confluens</i> (CDCl ₃).	76

Figura 17 – Sinais de deslocamento químico para o depsídeo atranorina presente no extrato de <i>D. confluens</i> (DMSO-d ₆ e CDCl ₃).	77
Figura 18 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ¹ H para ácido estético presente no extrato de <i>X. plittii</i> (DMSO-d ₆).	89
Figura 19 – Sinais de deslocamento químico de ¹³ C para ácido estético presente no extrato de <i>X. plittii</i> (DMSO-d ₆).	90
Figura 20 – Sinais de deslocamento químico para ácido constítico presente no extrato de <i>X. plittii</i> (DMSO-d ₆).	91
Figura 21 – Atribuição de sinal de deslocamento químico para ácido úsnico presente no extrato de <i>X. plittii</i> (DMSO-d ₆).	91
Figura 22 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ¹ H para ácido estético presente no extrato de <i>X. succedans</i> (DMSO-d ₆).	99
Figura 23 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ¹³ C para ácido estético presente no extrato de <i>X. succedans</i> (DMSO-d ₆).	100
Figura 24 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ¹ H e ¹³ C para ácido constítico presente no extrato de <i>X. succedans</i> .	100
Figura 25 – Atribuição de sinal de deslocamento químico para ácido úsnico presente no extrato de <i>X. succedans</i> .	101
Figura 26 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ¹ H do ácido difractáico presente no extrato de <i>U. subcavata</i> (CDCl ₃).	107
Figura 27 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ¹³ C do ácido difractáico presente no extrato de <i>U. subcavata</i> (CDCl ₃).	108
Figura 28 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ¹ H para ácido úsnico presente no extrato de <i>U. subcavata</i> (CDCl ₃).	108
Figura 29 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ¹ H para o ácido salazínico presente no extrato de <i>P. delicatulum</i> (DMSO-d ₆).	115
Figura 30 – Sinais de deslocamento químico para ácido úsnico presente no extrato de <i>P. delicatulum</i> (CDCl ₃ e DMSO-d ₆).	116
Figura 31 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ¹³ C para o ácido salazínico presente no extrato de <i>P. delicatulum</i> (DMSO-d ₆).	116
Figura 32 – Sinais de deslocamento químico para o ácido girofórico presente no extrato de <i>P. delicatulum</i> (DMSO-d ₆).	117
Figura 33 – Sinais de deslocamento químico de ¹ H para atranorina presente no extrato de <i>P. pancheri</i> (CDCl ₃).	128
Figura 34 – Sinais de deslocamento químico de ¹ H do ácido α-alectorônico presente no extrato de <i>P. pancheri</i> (CDCl ₃).	129
Figura 35 – Sinais de deslocamento químico de ¹³ C para atranorina presente no extrato de <i>P. pancheri</i> (CDCl ₃).	130

Figura 36 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C do ácido α-alecorônico presente no extrato de <i>P. pancheri</i> (CDCl_3).	131
Figura 37 – Sinais de deslocamento químico de ^1H para atranorina presente no extrato de <i>P. rigidum</i> (CDCl_3 , atribuição concordante com König & Wright 1999).	141
Figura 38 – Sinais de deslocamento químico de ^1H do ácido α-alecorônico presente no extrato de <i>P. rigidum</i> (CDCl_3).	142
Figura 39 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C para atranorina presente no extrato de <i>P. rigidum</i> (CDCl_3).	143
Figura 40 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C do ácido α-alecorônico presente no extrato de <i>P. rigidum</i> (CDCl_3).	144
Figura 41 – Sinais de deslocamento químico de ^1H para atranorina presente no extrato de <i>P. wainii</i> (CDCl_3).	153
Figura 42 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C para atranorina presente no extrato de <i>P. wainii</i> (CDCl_3).	154
Figura 43 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C do ácido α-alecorônico presente no extrato de <i>P. wainii</i> (CDCl_3).	155
Figura 44 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C do ácido α-colatólico presente no extrato de <i>P. wainii</i> (CDCl_3).	156
Figura 45 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C do ácido α-alecorônico presente no extrato de <i>P. argentinum</i> ($\text{DMSO}-d_6$).	168
Figura 46 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C do ácido α-colatólico presente no extrato de <i>P. argentinum</i> ($\text{DMSO}-d_6$).	169
Figura 47 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C do ácido colensóico presente no extrato de <i>H. dactylifera</i> ($\text{DMSO}-d_6$).	178
Figura 48 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C do ácido norcolensóico presente no extrato de <i>H. dactylifera</i> ($\text{DMSO}-d_6$).	179
Figura 49 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C da atranorina presente no extrato de <i>H. dactylifera</i> ($\text{DMSO}-d_6$).	179
Figura 50 – Sinais de deslocamento químico de ^1H e ^{13}C do ácido protopraesorediósico presente no extrato de <i>P. praesorediosum</i> (CDCl_3).	190
Figura 51 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C da atranorina presente no extrato de <i>P. praesorediosum</i> (CDCl_3).	191
Figura 52 – Sinais de deslocamento químico de ^1H e ^{13}C da atranorina presente no extrato de <i>P. mesotropum</i> ($\text{DMSO}-d_6$).	201
Figura 53 – Sinais de deslocamento químico de ^1H e ^{13}C que podem ser (muito provavelmente) atribuídos à estrutura do ácido protoliquesterínico presente no extrato de <i>P. mesotropum</i> ($\text{DMSO}-d_6$).	201

Figura 54 – Sinais de deslocamento químico de ^1H e ^{13}C que podem ser (provavelmente) atribuídos à estrutura do ácido liqueterínico presente no extrato de <i>P. mesotropum</i> (DMSO- d_6).	202
Figura 55 – Sinais de deslocamento químico do ácido úsnico presente no extrato de <i>P. miranda</i> (CDCl_3 e DMSO- d_6).	212
Figura 56 – Sinais de deslocamento químico do ácido salazínico presente no extrato de <i>P. miranda</i> (DMSO- d_6).	213
Figura 57 – Sinais de deslocamento químico do ácido girofórico presente no extrato de <i>P. miranda</i> (DMSO- d_6).	213
Figura 58 – Sinais de deslocamento químico da atranorina presente no extrato de <i>H. leucomela</i> (CDCl_3).	226
Figura 59 – Sinais de deslocamento químico da zeorina presente no extrato de <i>H. leucomela</i> (CDCl_3).	227
Figura 60 – Sinais de deslocamento químico da atranorina presente no extrato de <i>P. cornuta</i> (CDCl_3).	236
Figura 61 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H da atranorina (experimental, DMSO- d_6).	247 e 249
Figura 62 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H da atranorina (König & Wright, 1999, CDCl_3).	247
Figura 63 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do ácido protocetrário (experimental, DMSO- d_6).	256
Figura 64 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do ácido norstítico (experimental, DMSO- d_6).	262
Figura 65 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do ácido difractáico (CDCl_3).	267
Figura 66 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do ácido úsnico (König & Wright, 1999, CDCl_3).	273
Figura 67 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do ácido girofórico (Narui <i>et al.</i> , 1999, DMSO- d_6).	275
Figura 68 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do ácido α-colatólico (Huneck & Yoshimura, 1996, CDCl_3).	277
Figura 69 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do ácido α-alectorônico (Millot <i>et al.</i> , 2007, DMSO- d_6).	279
Figura 70 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do ácido salazínico (Eifler-Lima <i>et al.</i> , 2000, CDCl_3 -DMSO- d_6 1:3).	281
Figura 71 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do ácido salazínico (experimental, DMSO- d_6).	282 e 286
Figura 72 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do ácido perlatólico (experimental, CDCl_3).	292

Figura 73 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do ácido divaricático (experimental, a partir dos espectros de RMN de <i>Canoparmelia ecaperata</i> , em CDCl_3).	299
Figura 74 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do ácido divaricático (experimental, a partir dos espectros de RMN de <i>Canoparmelia ecaperata</i> , em $\text{DMSO}-d_6$).	300 e 305
Figura 75 – Sinais de deslocamento químico de ^1H do ácido protopraesorediósico (David <i>et al.</i> 1990, CDCl_3).	315
Figura 76 – Sinais de deslocamento químico de ^1H do ácido murólico (David <i>et al.</i> 1990, piridina- d_5).	316
Figura 77 – Sinais de deslocamento químico de ^1H do ácido protoliquesterínico (Huneck & Yoshimura, 1996, CDCl_3 para ^{13}C e $\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$ (2:1) para ^1H).	317
Figura 78 – Sinais de deslocamento químico de ^1H do ácido caperático (Huneck & Yoshimura, 1996, acetona- d_6).	318
Figura 79 – Sinais de deslocamento químico de ^1H do ácido liquesterínico (Bodo & Molho, 1980).	319
Figura 80 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C da zeorina (Elix <i>et al.</i> 1982, CDCl_3).	321
Figura 81 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C da zeorina (Konig & Wright, 1999, $\text{DMSO}-d_6$).	321
Figura 82 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C da zeorina (Konig & Wright, 1999, $\text{DMSO}-d_6$).	321
Figura 83 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C da ácido vulpínico (Konig <i>et al.</i> 1999, acetona- d_6).	322

Índice de espectros

Espectro 1 - Espectro de RMN ^1H do extrato de <i>R. cetrata</i> (DMSO- d_6)	23
Espectro 2 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>R. cetrata</i> (DMSO- d_6)	31
Espectro 3 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 do extrato de <i>R. cetrata</i> (DMSO- d_6)	33
Espectro 4 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>P. dilatatum</i> (DMSO- d_6)	35
Espectro 5 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. dilatatum</i> (DMSO- d_6)	36
Espectro 6 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>P. dilatatum</i> (DMSO- d_6)	36
Espectro 7 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>C. texana</i> (CDCl_3)	44
Espectro 8 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>C. texana</i> (CDCl_3)	45
Espectro 9 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>C. texana</i> (CDCl_3)	45
Espectro 10 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>C. ecaperata</i> (CDCl_3)	52
Espectro 11 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>C. ecaperata</i> (CDCl_3)	53
Espectro 12 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>C. ecaperata</i> (CDCl_3)	54
Espectro 13 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>D. aspera</i> (DMSO- d_6)	60
Espectro 14 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>D. aspera</i> (DMSO- d_6)	61
Espectro 15 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>D. aspera</i> (DMSO- d_6)	62
Espectro 16 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>D. aegialita</i> (DMSO- d_6)	69
Espectro 17 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>D. aegialita</i> (DMSO- d_6)	70
Espectro 18 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>D. aegialita</i> (DMSO- d_6)	71
Espectro 19 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>D. confluens</i> (DMSO- d_6)	80
Espectro 20 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>D. confluens</i> (DMSO- d_6)	81
Espectro 21 - Espectro de RMN ^{13}C de DEPT 135 do extrato de <i>D. confluens</i> (DMSO- d_6)	82
Espectro 22 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>D. confluens</i> (CDCl_3)	83
Espectro 23 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>D. confluens</i> (CDCl_3)	84
Espectro 24 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>D. confluens</i> (CDCl_3)	85
Espectro 25 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>X. plittii</i> (DMSO- d_6)	94
Espectro 26 - Espectro de de RMN ^{13}C do extrato de <i>X. plittii</i> (DMSO- d_6)	95
Espectro 27 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>X. plittii</i> (DMSO- d_6)	96
Espectro 28 - Espectro de RMN de ^1H extrato de <i>X. succedans</i> (DMSO- d_6)	103
Espectro 29 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>X. succedans</i> (DMSO- d_6)	104
Espectro 30 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>X. succedans</i> (DMSO- d_6)	105
Espectro 31 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>U. subcavata</i> (CDCl_3)	110
Espectro 32 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>U. subcavata</i> (CDCl_3)	111
Espectro 33 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>U. subcavata</i> (CDCl_3)	112
Espectro 34 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>P. delicatulum</i> (CDCl_3)	120
Espectro 35 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>P. delicatulum</i> (DMSO- d_6)	121
Espectro 36 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. delicatulum</i> , com ampliações de 172 a 110 ppm (DMSO- d_6)	122

Espectro 37 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. delicatulum</i> , com ampliações de 124 a 7 ppm (DMSO- d_6)	123
Espectro 38 - Espectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do extrato de <i>P. delicatulum</i> (DMSO- d_6)	124
Espectro 39 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>P. pancheri</i> (CDCl_3)	134
Espectro 40 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. pancheri</i> (CDCl_3)	135
Espectro 41 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>P. pancheri</i> (CDCl_3)	136
Espectro 42 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>P. rigidum</i> (CDCl_3)	146
Espectro 43 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. rigidum</i> (CDCl_3)	147
Espectro 44 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>P. rigidum</i> (CDCl_3)	148
Espectro 45 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>P. wainii</i> (CDCl_3)	160
Espectro 46 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. wainii</i> (CDCl_3)	161
Espectro 47 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>P. wainii</i> (CDCl_3)	162
Espectro 48 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>P. argentinum</i> (DMSO- d_6).	171
Espectro 49 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. argentinum</i> (DMSO- d_6).	172
Espectro 50 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>P. argentinum</i> (DMSO- d_6).	173
Espectro 51 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>H. dactylifera</i> (DMSO- d_6).	183
Espectro 52 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>H. dactylifera</i> , com ampliações de 170 a 103 ppm (DMSO- d_6).	184
Espectro 53 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>H. dactylifera</i> , com ampliações de 88 a 9 ppm (DMSO- d_6).	185
Espectro 54 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>H. dactylifera</i> (DMSO- d_6).	186
Espectro 55 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>P. praesorediosum</i> (CDCl_3).	194
Espectro 56 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. praesorediosum</i> (CDCl_3).	195
Espectro 57 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>P. praesorediosum</i> (CDCl_3).	196
Espectro 58 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>P. mesotropum</i> (DMSO- d_6).	205
Espectro 59 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. mesotropum</i> , com ampliações de 195 a 105 ppm (DMSO- d_6).	206
Espectro 60 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. mesotropum</i> , com ampliações de 85 a 9,5 ppm (DMSO- d_6).	207
Espectro 61 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>P. mesotropum</i> (DMSO- d_6).	208
Espectro 62 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>P. miranda</i> (CDCl_3).	217
Espectro 63 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. miranda</i> (CDCl_3).	218
Espectro 64 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>P. miranda</i> (CDCl_3).	219
Espectro 65 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>P. miranda</i> (DMSO- d_6).	220
Espectro 66 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. miranda</i> , com ampliações de 170 a 98 ppm (DMSO- d_6).	221
Espectro 67 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. miranda</i> , com ampliações de 73 a 6 ppm (DMSO- d_6).	222
Espectro 68 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>P. miranda</i> (DMSO- d_6).	223
Espectro 69 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>H. leucomela</i> (CDCl_3).	230
Espectro 70 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>H. leucomela</i> , com ampliações de 170 a 100 ppm (CDCl_3).	231

Espectro 71 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>H. leucomela</i> , com ampliações de 75 a 5 ppm (CDCl_3).	232
Espectro 72 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>H. leucomela</i> (CDCl_3).	233
Espectro 73 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>P. cornuta</i> , com ampliações de 14 a 5 ppm (CDCl_3).	239
Espectro 74 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>P. cornuta</i> , com ampliações de 4,5 a 0,5 ppm (CDCl_3).	240
Espectro 75 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. cornuta</i> , com ampliações de 195 a 85 ppm (CDCl_3).	241
Espectro 76 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>P. cornuta</i> , com ampliações de 76 a 16 ppm (CDCl_3).	242
Espectro 77 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>P. cornuta</i> (CDCl_3).	243
Espectro 78 - Espectro de RMN de ^1H da atranorina ($\text{DMSO}-d_6$).	248
Espectro 79 - Espectro de RMN de DEPT 135 da atranorina ($\text{DMSO}-d_6$).	248
Espectro 80 - Espectro de RMN de ^{13}C da atranorina ($\text{DMSO}-d_6$).	249
Espectro 81 - Espectro de RMN de gHSQC da atranorina ($\text{DMSO}-d_6$).	251
Espectro 82 - Espectro de RMN de gHMBC da atranorina ($\text{DMSO}-d_6$).	252
Espectro 83 - Espectro de RMN de ^1H do ácido protocetrário ($\text{DMSO}-d_6$).	254
Espectro 84 - Espectro de RMN de ^{13}C do ácido protocetrário ($\text{DMSO}-d_6$).	255
Espectro 85 - Espectro de RMN de gHSQC do ácido protocetrário ($\text{DMSO}-d_6$).	257
Espectro 86 - Espectro de RMN de gHMBC do ácido protocetrário ($\text{DMSO}-d_6$).	257
Espectro 87 - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido protocetrário ($\text{DMSO}-d_6$) - corte mais raso (visualização de correlações a J3 ligações).	258
Espectro 88 - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido protocetrário ($\text{DMSO}-d_6$) - corte mais profundo (visualização de correlações a J3, J4 e J5 ligações).	258
Espectro 89 - Espectro de RMN de ^1H do ácido norstítico ($\text{DMSO}-d_6$).	260
Espectro 90 - Espectro de RMN de ^{13}C do ácido norstítico ($\text{DMSO}-d_6$).	261
Espectro 91 - Espectro de RMN de gHSQC do ácido norstítico ($\text{DMSO}-d_6$).	263
Espectro 92 - Espectro de RMN de gHMBC do ácido norstítico ($\text{DMSO}-d_6$).	263
Espectro 93 - Espectro de RMN de ^1H do ácido difractáico (CDCl_3).	265
Espectro 94 - Espectro de RMN de ^{13}C do ácido difractáico (CDCl_3).	266
Espectro 95 - Espectro de RMN de gHSQC do ácido difractáico (CDCl_3).	268
Espectro 96 - Ampliação do espectro de RMN de gHSQC do ácido difractáico (CDCl_3).	268
Espectro 97 - Espectro de RMN de gHMBC do ácido difractáico (CDCl_3).	269
Espectro 98 - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido difractáico (CDCl_3) - região dos hidrogênios aromáticos.	269
Espectro 99 - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido difractáico (CDCl_3) - região dos hidrogênios aromáticos.	270
Espectro 100 - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido difractáico (CDCl_3) - região dos hidrogênios com δ 2,16 e 2,18 ppm.	271
Espectro 101 - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido difractáico (CDCl_3), na região de $\delta^1\text{H}$ de aproximadamente 11 ppm - corte fundo.	271
Espectro 102 - Espectro de RMN de ^1H do ácido salazínico ($\text{DMSO}-d_6$).	283

Espectro 103 - Espectro de RMN de ^{13}C do ácido salazínico (DMSO-d_6).	284
Espectro 104 - Espectro de RMN de gHSQC do ácido salazínico (DMSO-d_6).	286
Espectro 105 - Espectro de RMN de gHMBC do ácido salazínico (DMSO-d_6).	287
Espectro 106 - Espectro de RMN de ^1H do ácido perlatólico (CDCl_3).	289
Espectro 107 - Espectro de RMN de ^{13}C do ácido perlatólico (CDCl_3).	290
Espectro 108 - Espectro de RMN de gHSQC do ácido perlatólico (CDCl_3).	293
Espectro 109 - Ampliação do espectro de RMN de gHSQC do ácido perlatólico (CDCl_3) - região dos hidrogênios aromáticos.	293
Espectro 110 - Ampliação do espectro de RMN de gHSQC do ácido perlatólico (CDCl_3) - região dos hidrogênios das cadeias alquílicas.	294
Espectro 111 - Ampliação do espectro de RMN de gHSQC do ácido perlatólico (CDCl_3) - região dos hidrogênios das cadeias alquílicas e carbonos com $\delta^{13}\text{C}$ de 32,0; 31,9 e 31,4 ppm (correlações ambíguas).	294
Espectro 112 - Espectro de RMN de gHMBC do ácido perlatólico (CDCl_3).	295
Espectro 113 - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido perlatólico (CDCl_3) - região da hidroxila, em $\delta^1\text{H}$ em 11,34 ppm.	295
Espectro 114 - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido perlatólico (CDCl_3) - região de hidrogênios aromáticos, em $\delta^1\text{H}$ em 6,62; 6,38 e 6,37 ppm.	296
Espectro 115 - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido perlatólico (CDCl_3) - região de hidrogênios aromáticos, em $\delta^1\text{H}$ em 6,74; 6,62; 6,38 e 6,37 ppm.	297
Espectro 116 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de <i>Canoparmelia ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO-d_6)	301
Espectro 117 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de <i>Canoparmelia ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO-d_6)	302
Espectro 118 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de <i>Canoparmelia ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO-d_6)	303
Espectro 119 - Espectro de RMN de gHSQC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO-d_6).	305
Espectro 120 - Ampliação de RMN de gHSQC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO-d_6) - região dos hidrogênios aromáticos.	306
Espectro 121 - Ampliação de RMN de gHSQC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO-d_6) - região dos hidrogênios aromáticos.	306
Espectro 122 - Ampliação de RMN de gHSQC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO-d_6) - região dos hidrogênios das cadeias alquílicas	307
Espectro 123 - Espectro de RMN de gHMBC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO-d_6).	307
Espectro 124 - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO-d_6) - região da hidroxila com $\delta^1\text{H}$ 10,23 ppm; corte raso.	308
Espectro 125 - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO-d_6) - região da hidroxila com $\delta^1\text{H}$ 10,23 ppm; corte fundo.	308
Espectro 126 - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO-d_6) - região de hidrogênios aromáticos.	309
Espectro 127 - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO-d_6) - região de hidrogênios aromáticos, com $\delta^1\text{H}$ em 6,51 e 6,35 ppm.	309

Espectro 128 – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região de hidrogênios aromáticos, com δ^1H em 6,58; 6,51 e 6,35 ppm e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 95 a 120 ppm.	310
Espectro 129 – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região de hidrogênios aromáticos, com δ^1H em 6,58; 6,51 e 6,35 ppm e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 146 a 170 ppm.	310
Espectro 130 – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – hidrogênios com sinal de δ^1H em 3,73 ppm e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 153 a 170 ppm.	311
Espectro 131 – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região de hidrogênios que podem ser atribuídos as cadeias alquílicas e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 0 a 50 ppm.	311
Espectro 132 – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região dos sinais δ^1H em 2,63 e 2,57 (2xt~m) e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 0 a 50 ppm; corte mais raso.	312
Espectro 133 – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região dos sinais δ^1H em 1,53 e 1,58 (2xm) e 0,88 e 0,90 (2xt~m), e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 0 a 50 ppm; corte mais raso.	312
Espectro 134 – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região dos sinais δ^1H em 1,53 e 1,58 (2xm) e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 130 a 150 ppm; corte mais fundo.	313
Espectro 135 – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de <i>C. ecaperata</i> , que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região do sinais de δ^1H em 6,35 ppm e carbonos da cadeia alquílica da região de $\delta^{13}C$ de 24 ppm; corte mais fundo.	314

Índice de tabelas

Tabela 1 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>R. cetrata</i> (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para atranorina (ATR) e ácido salazínico (SLZ) .	26
Tabela 2 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>P. dilatatum</i> (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para ácido protocetrário (PROT) e atranorina (ATR) .	34
Tabela 3 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>C. texana</i> (CDCl ₃) e atribuição de sinais para ácido divaricático (DIVA) e atranorina (ATR) .	43
Tabela 4 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>C. ecaperata</i> (CDCl ₃) e atribuição de sinais para ácido divaricático (DIVA) e ácido úsnico (USN) .	51
Tabela 5 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>D. aspera</i> (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para ácido divaricático (DIVA) e atranorina (ATR) .	59
Tabela 6 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>D. aegialita</i> (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para ácido divaricático (DIVA) e atranorina (ATR) .	67
Tabela 7 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>D. confluens</i> (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para ácido divaricático (DIVA) e atranorina (ATR) .	78
Tabela 8 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>D. confluens</i> (CDCl ₃) e atribuição de sinais para ácido divaricático (DIVA) e atranorina (ATR) .	79
Tabela 9 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>X. plitti</i> (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para os ácidos constítico (CONST) , estítico (EST) e úsnico (USN) .	93
Tabela 10 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>X.succedans</i> (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para os ácidos constítico (CONST) , estítico (EST) e úsnico (USN) .	102
Tabela 11 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>U. subcavata</i> (CDCl ₃) e atribuição de sinais para os ácidos úsnico (USN) e difractáico (DIF) .	109
Tabela 12 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>P. delicatulum</i> (DMSO- d_6 e CDCl ₃) e atribuição de sinais para os ácidos girofórico (GIR) , salazínico (SLZ) e úsnico (USN) .	118
Tabela 13 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>P. pancheri</i> (CDCl ₃) e atribuição de sinais para ácido α-alectorônico (ALECT) e atranorina (ATR) .	132

Tabela 14 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>P. rigidum</i> (CDCl ₃) e atribuição de sinais para ácido α-alectorônico (ALECT) e atranorina (ATR) .	145
Tabela 15 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>P. wainii</i> (CDCl ₃) e atribuição de sinais para ácido α-alectorônico (ALECT) , ácido α-colatólico (COLA) e atranorina (ATR) .	158
Tabela 16 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>P. argentinum</i> (DMSO-d ₆) e atribuição de sinais para ácido α-alectorônico (ALECT) , ácido α-colatólico (COLA) e atranorina (ATR) .	170
Tabela 17 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>H. dactylifera</i> (DMSO-d ₆) e atribuição de sinais para os ácido colensóico (COLENS) , ácido norcolensóico (NORCOLENS) e atranorina (ATR) .	181
Tabela 18 – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>P. praesorediosum</i> (CDCl ₃) e atribuição de sinais para atranorina (ATR) e ácido protopraesorediósico (PROTOPRAE) .	192
Tabela 19 – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>P. mesotropum</i> (DMSO-d ₆) e atribuição de sinais para atranorina (ATR) e ácidos graxos do tipo liqueterínico (LIQ) e do tipo protoliqueterínico (PROTOLIQ) .	203
Tabela 20 – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>P. miranda</i> (CDCl ₃) e atribuição de sinais para ácido úsnico (USN) .	214
Tabela 21 – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>P. miranda</i> (DMSO-d ₆) e atribuição de sinais para os ácidos úsnico (USN) , girofórico (GIR) e salazínico (SLZ) .	215
Tabela 22 – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>H. leucomela</i> (CDCl ₃) e atribuição de sinais para a atranorina (ATR) e zeorina (ZEO) .	228
Tabela 23 – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de <i>P. cornuta</i> (CDCl ₃) e atribuição de sinais para a atranorina (ATR) .	237
Tabela 24 – Origem dos dados de RMN	245
Tabela 25 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) da atranorina a partir de dados experimentais e da literatura.	246
Tabela 26 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) da atranorina a partir de dados experimentais de RMN ¹ H, ¹³ C e correlações observadas em RMN de gHSQC e gHMBC (DMSO-d ₆).	250
Tabela 27 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido protocetrário a partir de dados experimentais de RMN de ¹ H, ¹³ C, gHSQC e gHMBC (DMSO-d ₆).	253
Tabela 28 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido protocetrário a partir de dados experimentais de RMN de ¹ H, ¹³ C e correlações observadas em RMN de gHSQC e gHMBC (DMSO-d ₆).	256
Tabela 29 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido norstítico a partir de dados experimentais de RMN de ¹ H, ¹³ C, gHSQC e gHMBC (DMSO-d ₆).	259

Tabela 30 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido norstítico a partir de dados experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C e correlações observadas em RMN de gHSQC e gHMBC.	262
Tabela 31 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido difractáico a partir de dados experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C , gHSQC e gHMBC.	264
Tabela 32 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido difractáico a partir de dados experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C e correlações observadas em RMN de gHSQC e gHMBC.	267
Tabela 33 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido úsnico a partir de dados da literatura (CDCl_3).	272
Tabela 34 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido girofórico a partir de dados da literatura.	274
Tabela 35 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido α-colatólico a partir de dados da literatura.	276
Tabela 36 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido α-alectorônico a partir de dados da literatura.	278
Tabela 37 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido salazínico a partir de dados experimentais e da literatura.	280
Tabela 38 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido salazínico a partir de dados experimentais de RMN ^1H , ^{13}C e correlações observadas em RMN de gHSQC e gHMBC.	285
Tabela 39 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido perlatólico a partir de dados experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C , gHSQC e gHMBC.	288
Tabela 40 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido perlatólico a partir de dados experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C e correlações observadas em RMN de gHSQC e gHMBC.	291
Tabela 41 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos do extrato <i>Canoparmelia ecaperata</i> e atribuição de sinais apenas para o ácido divaricático , que é a substância em maior proporção nesse extrato.	298
Tabela 42 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido divaricático a partir de dados experimentais de RMN ^1H , ^{13}C e correlações observadas em RMN de gHSQC e gHMBC ($\text{DMSO}-d_6$).	304
Tabela 43 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido protopraesorediósico a partir de dados da literatura (CDCl_3).	315
Tabela 44 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido murólico a partir de dados da literatura.	316
Tabela 45 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido protoliquesterínico a partir de dados da literatura.	317
Tabela 46 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido caperático a partir de dados da literatura.	318
Tabela 47 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido liquesterínico a partir de dados da literatura.	319

Tabela 48 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do zeorina a partir de dados da literatura.	320
---	------------

Tabela 49 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do ácido vulpínico a partir de dados da literatura (acetona- d_6).	322
---	------------

Índice de substâncias

(citações e estruturas)

Substância	Espécies (página)	Páginas
Ácido α -alectorônico	<i>P. pancheri</i> (125), <i>P. rigidum</i> (137), <i>P. wainii</i> (149), <i>P. argentinum</i> (163)	278
Ácido α -colatólico	<i>P. rigidum</i> (137), <i>P. wainii</i> (149), <i>P. argentinum</i> (163)	276
Ácido caperático		318
Ácido colensóico	<i>H. dactylifera</i> (174)	
Ácido conorstítico	<i>X. plittii</i> (86)	
Ácido consalazínico	<i>R. cetrata</i> (22)	
Ácido constítico	<i>X. plittii</i> (86), <i>X. succedans</i> (97)	
Ácido criptoestítico	<i>X. plittii</i> (86)	
Ácido difractáico	<i>U. subcavata</i> (106)	264
Ácido divaricático	<i>C. texana</i> (37), <i>C. ecaperata</i> (46), <i>D. aspera</i> (55), <i>D. aegialita</i> (63), <i>D. confluens</i> (72)	298
Ácido estítico	<i>X. plittii</i> (86), <i>X. succedans</i> (97)	
Ácido fisódico	<i>H. dactylifera</i> (174)	
Ácido girofórico	<i>P. delicatulum</i> (113), <i>P. miranda</i> (209)	274
Ácido lecanórico		5
Ácido liquesterínico	<i>P. mesotropum</i> (197)	319
Ácido livídico	<i>H. dactylifera</i> (174)	
Ácido murólico		316
Ácido norcolensóico	<i>H. dactylifera</i> (174)	
Ácido nordivaricático	<i>C. texana</i> (37)	
Ácido norstítico	<i>X. plittii</i> (86)	5
Ácido panárico		5
Ácido perlatólico		288
Ácido praesorediósico	<i>P. praesorediosum</i> (187), <i>P. mesotropum</i> (197)	
Ácido protocetrário	<i>P. dilatatum</i> (30)	5, 253
Ácido protoliquesterínico	<i>P. praesorediosum</i> (187), <i>P. mesotropum</i> (197)	317
Ácido protopraesorediósico	<i>P. praesorediosum</i> (187), <i>P. mesotropum</i> (197)	315
Ácido ramalinólico	<i>D. aegialita</i> (63), <i>D. confluens</i> (72)	
Ácido rodocladônico		5
Ácido salazínico	<i>R. cetrata</i> (22), <i>P. delicatulum</i> (113), <i>P. miranda</i> (209)	280
Ácido sequicáico	<i>D. aspera</i> (55), <i>D. aegialita</i> (63), <i>D. confluens</i> (72)	55, 63, 72

Ácido úsnico	<i>P. dilatatum</i> (30), <i>C. ecaperata</i> (46), <i>X. plittii</i> (86), <i>X. succedans</i> (97), <i>U. subcavata</i> (106), <i>P. delicatulum</i> (113), <i>P. miranda</i> (209)	4, 12, 272
Ácido vulpínico		5, 322
Atranorina	<i>R. cetrata</i> (22), <i>P. dilatatum</i> (30), <i>C. texana</i> (37), <i>D. aspera</i> (55), <i>D. aegialita</i> (63), <i>D. confluens</i> (72), <i>P. pancheri</i> (125), <i>P. rigidum</i> (137), <i>P. wainii</i> (149), <i>P. argentinum</i> (163), <i>H. dactylifera</i> (174), <i>P. praesorediosum</i> (187), <i>P. mesotropum</i> (197), <i>H. leucomela</i> (224), <i>P. cornuta</i> (234)	4, 246
Liquexantona		5
Parietina ou fisciona		5
Zeorina	<i>H. leucomela</i> (224)	320

Índice de abreviaturas e siglas

1D	unidimensional
2D	bidimensional
Acetona-d ₆	Acetona deuterada
AQ	Tempo de aquisição (segundos)
BBI	“Broad Band Inverse”
CCD	Cromatografia em camada delgada
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
d	dublete
d1	Tempo de espera entre o final de AQ e um novo pulso de rádio frequência
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
FID	Decaimento livre de indução
gHMBC	“Heteronuclear multiple-bond connectivity” com utilização de gradiente de campo pulsado na coordenada z
gHSQC	“Heteronuclear single quantum coherence” com utilização de gradiente de campo pulsado na coordenada z
J	Constante de acoplamento (dada em Hz)
LB	“line-broadening”- grau de aplicação da função de multiplicação exponencial do FID
m	multiplete
ns	Número de transientes
ppm	Parte por milhão
R _f	Fator de retenção
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de ¹³ C
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de ¹ H
DEPT 135	“Distortionless Enhancement by polarization transfer”
s	singlete
SFO1	Frequência central (MHz)
SI	“Data size”- número de pontos após a transformada de Fourier
sl	Singlete largo
SWH	Tamanho da janela espectral
t	triplete
δ	Deslocamento químico (dado em ppm)
TD	“Time domain” - número de pontos utilizados na aquisição
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
CD ₃ OD ou MeOD	Metanol deuterado

MC	microcristalização
DNA	Ácido Desoxirribonucléico, em inglês = Deoxyribonucleic acid
B ₀	Campo Magnético Externo
GAoT	Solução contendo glicerina: etanol: o-toluidina (2:1:1 v/v/v)
GAW	Solução contendo glicerina: etanol: água (1:1:1 v/v/v)
GE	Solução de glicerina: ácido acético glacial (3:1 v/v)
Piridina-d ₅	Piridina deuterada

Resumo

RMN aplicada à taxonomia de líquens

Os líquens representam uma parcela importante da diversidade biológica do nosso planeta e são fontes de inúmeros compostos biologicamente ativos, além de atuarem como biomonitores ambientais. A identificação taxonômica de líquens tem sido realizada pela análise morfológica e métodos químicos tais como: reações de coloração do talo, microcristalização e CCD. O presente trabalho objetivou avaliação da técnica de RMN como ferramenta auxiliar na elucidação da composição de extratos de líquens, para fins taxonômicos.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma das técnicas mais utilizadas nos dias atuais para elucidação estrutural de compostos orgânicos e tem sido aplicada, também, na análise da composição de misturas.

Neste trabalho foram avaliadas 21 espécies de líquens das famílias Physciaceae e Parmeliaceae, coletados em Mato Grosso do Sul. Foram obtidos extratos, os quais sem purificação prévia, foram submetidos à análise por cromatografia (CCD), microcristalização (MC) e RMN visando a elucidação da composição química da mistura.

A análise dos espectros de RMN de extratos de líquens permitiu, principalmente, a identificação de substâncias fenólicas, as quais são de importância taxonômica relevante e puderam ser identificadas quando presentes nos extratos em concentrações detectáveis por essa técnica. Através dessa análise foi possível identificar substâncias consideradas marcadores taxonômicos, como é o caso do ácido salazínico e do ácido α -alectorônico que atualmente delimitam grupos taxonômicos dentro do gênero *Parmotrema*.

Substâncias das classes dos ácidos graxos e dos triterpenos também podem ser detectadas nos extratos, pela análise dos sinais de deslocamentos químicos nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Entretanto, há dificuldades quanto a elucidação estrutural das substâncias de ambas as classes, nos extratos.

Contudo, a técnica de RMN, associada à cromatografia em camada delgada (CCD) e microcristalização (MC), constitui um excelente recurso na elucidação da composição de extratos de líquens para fins de taxonomia.

Abstract

NMR application in lichen taxonomy

Lichens represent one important parcel of biological diversity of our planet and they are source of many biologically active compounds. Besides it, they also actuate as environmental biomonitors. The taxonomic identification of lichens has been carried out by morphological analysis and chemical methods, as thalline spot tests, microcrystallization and TLC. This work had as objective the evaluation of the NMR technique as an auxiliary tool in lichen extracts composition elucidation, for taxonomic sense.

The Nuclear Magnetic Resonance (NMR) is one of the most currently used techniques for structural elucidation of organic compounds and it has been applied also for mixture analysis composition.

In this work were evaluated 21 lichen species of Physciaceae and Parmeliaceae families, collected in Mato Grosso do Sul. Extracts obtained were analyzed by thin layer chromatography (TLC), microcrystallization (MC) and Nuclear Magnetic Ressonance (NMR) without previous purification, with the aim to elucidate chemical composition of them through mixture analysis.

NMR spectra analysis of crude lichen extracts allowed mainly the identification of phenolic compounds, which have important taxonomic relevance. They could be identified by this technique when they were in detectable quantity. Through those analyses it was possible to identify substances that are considered as taxonomic markers, like salazinic and α -alectorinic acids, that nowadays delimit taxonomics groups into the *Parmotrema* genus.

Substances of fatty acids and triterpenoid classes also may be detected in extracts by ^1H and ^{13}C NMR. However, there are difficulties related to structural elucidation of substances of both classes.

Although, the NMR technique is an excellent tool in elucidation of lichen extracts composition for taxonomic sense when it is associated with TLC and MC.

Introdução

Introdução

Biodiversidade é toda a variedade de vida na Terra, constituída pelas variedades inter-espécies, entre espécies e de ecossistemas. Se refere igualmente às relações entre os seres vivos e o seu meio ambiente. Também é referida como o conjunto de plantas, animais, microrganismos e ecossistemas que sobrevivem na natureza – estimado em mais de 10 milhões de espécies (<http://www.cdb.gov.br/glossario>, acessado dia 27 de março de 2007, 15:59). Entre essas, os líquens representam uma importante parcela desse conjunto.

Os líquens são estruturas simbióticas formadas em grande parte por micobiontes liquenizados (90 a 95%) e uma pequena parte (5 a 10%) por algas verdes ou por cianofíceas. Tanto algas e cianobactérias, quanto fungos, são beneficiados nesta parceria – simbiose – enquanto os fotobiontes fornecem os metabólitos primários aos micobiontes, estes, fornecem proteção contra a dessecação e a forte luminosidade. Assim sendo, quando em conjunto apesar de ter diminuída sua velocidade de crescimento, tanto micobionte quanto fotobionte ficam em vantagem sobre as formas de vida livre, pois tornam-se um sistema resistente e auto-sustentável podendo assim se fixar tanto em florestas e campos quanto em locais de difícil acesso como desertos e montanhas (Nash 1996).

Quimiotaxonomia

Nos líquens, a alga (fotobionte) é a fonte primária de carbono que através do processo fotossintético produz glicose (cianobactérias) ou polióis (clorofíceas). Os carboidratos são passados para o fungo (micobionte) através da parede celular da alga que se torna mais permeável quando no estado liquenizado (Richardson 1988). O fungo sintetiza, então, carboidratos mais complexos como oligossacarídeos e polissacarídeos, assim como aminoácidos, proteínas, vitaminas e carotenóides. Esses compostos se encontram ligados à parede celular e no protoplasto e representam os metabólitos primários. São compostos que ocorrem não-somente em líquens, mas em fungos e algas de vida livre e em plantas superiores (Elix 1996).

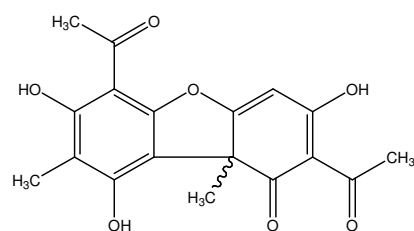
Os produtos extracelulares, freqüentemente chamados metabólitos secundários, são encontrados na medula ou no córtex, raramente em ambas as camadas. Ocorrem como depósitos cristalinos sobre a superfície das hifas do micobionte e na matriz extracelular. Substâncias que apresentam cor, como a maior parte das antraquinonas, derivados do ácido

pulvínico e ácido úsnico, e outras incolores como atranorina e liquexantona, são exemplos típicos de substâncias presentes no córtex. A maior parte de depsídeos e depsidonas é encontrada somente na medula (Hale 1983). Entretanto, pode ocorrer que as substâncias químicas estejam localizadas também em outras partes do líquen, como por exemplo, a cor vermelha dos apotécios de *Cladonia corallifera* é devida a presença de ácido rodocladônico; em *Letraria columbina* os apotécios contêm ácido norstítico que é incolor e nos talos estão presentes atranorina e ácido vulpínico sendo este último de cor amarela.

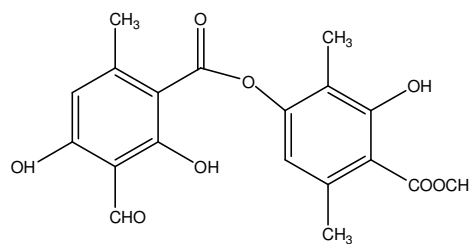
A biossíntese dessas substâncias segue três principais vias: a via do acetato-polimalonato (ou via dos policetídeos), a via do ácido chiquímico e a via do ácido mevalônico. A primeira via é responsável pela produção dos compostos típicos de líquens que são os depsídeos e depsidonas, além de outros como os dibenzofuranos, ácidos úsnicos, antraquinonas, xantonas e ácidos graxos. A via do ácido chiquímico dá origem a compostos da classe das terfenilquinonas e derivados do ácido pulvínico, e a via do ácido mevalônico conduz a formação de terpenos e esteróis como em plantas superiores (Elix 1996).

A identificação taxonômica de líquens é feita em nível de gêneros e espécies através da combinação de informações obtidas das análises morfológica e química. A utilização apenas da análise morfológica para um dado espécime, pode não ser suficiente para a sua identificação e a elucidação taxonômica pode ser complementada com informações sobre a composição química.

O principal grupo de compostos empregado em taxonomia de líquens é o de policetídeos aromáticos. A maior parte desses é exclusiva desse grupo vegetal e, são formados pela condensação da acetilSCoA e malonilSCoA resultando em um policetídeo que por reações subseqüentes de ciclização pode dar origem aos ácidos orselínico e β -metil-orcelínico e a floroacetofenona. Esses compostos são precursores de depsídeos, depsidonas, dibenzofuranos e ácidos úsnicos.

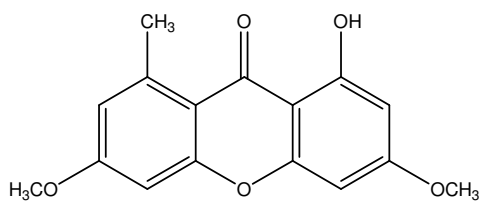


Ácido úsnico

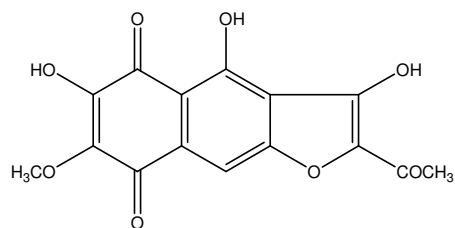


Atranorina

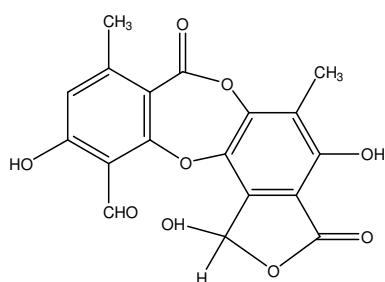
(depsídeo derivado do β -orcinol)



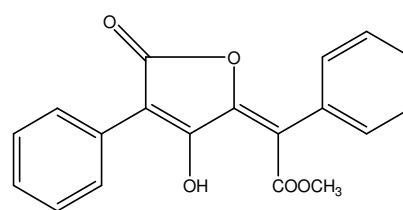
Liquexantona



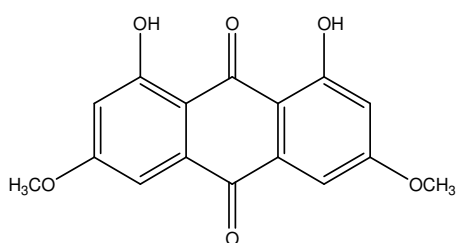
Ácido rodocladônico



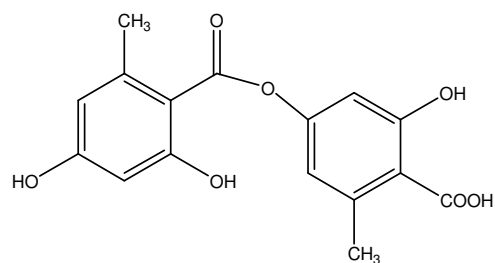
Ácido norstístico
(depsidona)



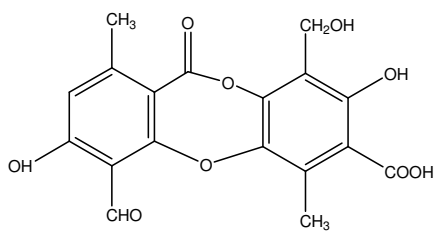
Ácido vulpínico



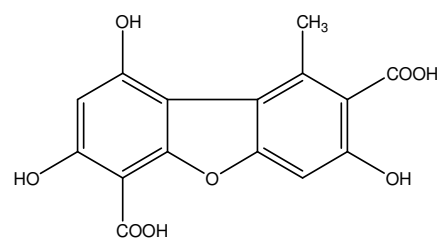
Parietina ou fisciona



Ácido lecanórico
(depsídeo derivado do orcinol)



Ácido protocetrário
(depsidona)



Ácido panário
(dibenzofurano)

Grande parte das substâncias produzidas pela via do acetato-polimalonato nos líquens apresentam características estruturais fenólicas e grupos funcionais com diversidade conhecida – isso determina comportamentos químicos que permitem utilizar essas substâncias em taxonomia.

Dessa forma, a identificação de líquens em níveis de gêneros e espécies tem sido conduzida, por análise morfológica, reações de coloração no talo, cromatografia e microcristalização de extratos obtidos a partir de pequenos fragmentos dos talos.

A espectrometria de massas também tem sido usada como técnica auxiliar em quimiotaxonomia. Mais recentemente, tem sido sugerida a utilização de dados espectrais de RMN de polissacarídeos para a identificação de líquens (Common 1991, Gorin *et al.* 1993, Shibata 1973, Takahashi *et al.* 1981, Teixeira *et al.* 1995). A aplicação de técnicas cromatográficas e de dados espectrais de RMN de derivados fenólicos para fins de taxonomia tem sido desenvolvida pelo grupo de pesquisa em Química de Líquens do Departamento de Química da UFMS (Hilleshein 1999, Alcantara & Micheletti 2003).

Muitos compostos coloridos presentes nos líquens pertencem às classes das quinonas e xantonas, são compostos que ocorrem também em plantas superiores e em fungos não-liquenizados. As quinonas caracterizam as Teloschistales, ocorrendo também nas Caliciales, Lecanorales e Peltigerales. Parietina ou fisciona (uma antraquinona) e ácido rododadônico (uma naftoquinona), são exemplos dessa classe de compostos (Huneck *et al.* 1991, Santesson 1967, 1969 e 1973). Xantonas como a liquexantona ocorrem em Lecanorales (gêneros *Buellia*, *Lecanora* e *Lecidella*) e em espécies pertencentes a Arthoniales, Caliciales, Pertusariales e Telochistales.

Reações de coloração

Reagentes como o hidróxido de potássio e o hipoclorito de cálcio, são usados para caracterização de várias substâncias produzidas pelos líquens. Nylander, em 1866, foi o primeiro a utilizar esses reagentes em taxonomia de líquens (Elix 1996). As reações são conduzidas aplicando a solução do reagente com um capilar à um fragmento do talo do líquen e as colorações observadas dependem da natureza das substâncias presentes.

O hidróxido de potássio promove a hidrólise da ligação éster de depsídeos e depsidonas, dando formação a compostos cujas colorações variam do amarelo a vermelho intenso. Pigmentos quinoidais, como a parietina, também podem apresentar reação positiva, enquanto que, derivados do ácido pulvínico, xantonas e ácido úsnico não reagem (Hale 1983, Vicente 1975).

A reação com hipoclorito de cálcio é positiva com compostos que apresentam configuração *meta*-diidróxi ocorrendo formação de derivados quinoidais. A cor apresentada por esses derivados, laranja e vermelho vivo, são provavelmente modificadas pela presença de outros grupamentos ligados ao anel aromático (Hale 1983, Vicente 1975).

Depsídeos derivados do orcinol podem ser divididos em dois grupos, um deles derivados metaidroxilados, que reagem positivamente com hipoclorito, e o outro, *meta*-substituídos metoxilados, que em sua maior parte dão reação negativa (Hale 1983, Vicente 1975).

As depsidonas não apresentam reação com hipoclorito de cálcio. No entanto, esses compostos podem apresentar reação positiva com esse reagente, se forem tratados inicialmente com KOH. A reação combinada desses reagentes sobre depsidonas pode dar aparecimento à coloração vermelha (Santesson 1973).

Além desses, podem ser utilizados reagentes específicos para detecção de outros grupos funcionais, como por exemplo solução de *p*-fenilenodiamina para detecção de grupo aldeído. A reação ocorre pela formação de bases de Schiff de coloração amarela, laranja ou vermelha (Hale 1983).

Essas reações são amplamente empregadas em trabalhos de taxonomia, entretanto, não são reações específicas no sentido de permitir a identificação precisa dos componentes presentes no líquen. Isto se deve ao fato que diferentes substâncias podem apresentar os mesmos grupamentos químicos que ao reagirem produzem a mesma variação de cor, não sendo possível distingui-las quando se encontram em mistura. Também, muitas substâncias produzidas pelos líquens não produzem qualquer variação de cor pela ação desses reagentes, requerendo portanto, a utilização de outras técnicas para detecção dessas substâncias.

Microcristalização

Asahina em 1936, desenvolveu esta técnica para identificação de substâncias produzidas pelos líquens (Hale 1983). O método foi gradativamente aperfeiçoado e, embora existam atualmente técnicas mais precisas para a identificação dessas substâncias, a microcristalização continua sendo uma ferramenta auxiliar utilizada em trabalhos de taxonomia.

Pelo uso da técnica de microcristalização é possível, através da identificação das estruturas cristalinas, sugerir preliminarmente a identidade das várias substâncias de natureza fenólica produzida pelos líquens (Elix 1996, Huneck *et al.* 1996, Taylor 1967a e 1967b, Thompson 1968).

Cromatografia

A cromatografia é uma das técnicas mais utilizadas na identificação de substâncias produzidas pelos líquens. A cromatografia em camada delgada tem sido extensivamente usada não só pela aplicabilidade geral, como também por ser uma técnica sensível, rápida e simples. Numerosos trabalhos foram publicados sobre a separação de substâncias fenólicas de líquens por cromatografia em camada delgada (CCD) (Culberson *et al.* 1970, 1976, 1981, Culberson 1972, Santesson 1967, Walker *et al.* 1980, White *et al.* 1985).

O emprego da cromatografia gasosa para análise de misturas de substâncias de líquens é de uso limitado devido à baixa volatilidade e labilidade térmica da maioria dos compostos conhecidos. Entretanto, xantonas, antraquinonas, dibenzofuranos, terpenos e derivados do ácido pulvínico podem ser analisados por essa técnica (Santesson 1969).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para análise de extratos de líquens tem sido usada extensivamente em estudos sobre a composição e proporção das substâncias fenólicas em espécies do gênero *Cladonia* (Houvinen *et al.* 1985, 1986a, 1986b, 1988, 1989a, 1989b).

Espectrometria de massas

Embora a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas é de uso limitado para análise de substâncias extraídas de líquens, a análise dessas pode ser realizada pela técnica de espectrometria de massas por injeção direta.

Devido ao fato que os líquens frequentemente contém misturas complexas de compostos pertencentes às diferentes classes químicas, o comportamento dessas em espectrometria de massa varia consideravelmente de acordo com a volatilidade, a estabilidade térmica e iônica de seus constituintes sob condições de alta vácuo na câmara de ionização do espectrômetro de massa (Santesson 1973).

Essa técnica permite a análise não só de compostos isolados, mas também de misturas de substâncias. A principal vantagem da espectrometria de massas é a detecção de quantidades extremamente pequenas dos compostos (nanogramas) em fragmentos menores que 1mg do talo do líquen. Um simples apotécio é geralmente mais que suficiente para análise. Em muitos casos, espécimes-tipos podem ser quimicamente analisados por espectrometria de massas sem grandes perdas de material (talo do líquen). É possível também, o estudo da distribuição histológica dos compostos no talo dos líquens (Santesson, 1973).

Os espectros de massas dos extratos de líquens são, via de regra, muito semelhantes aos espectros dos correspondentes compostos puros. Quando vários compostos estão presentes em uma amostra do líquen, os espectros obtidos são a sobreposição dos espectros dos compostos individuais (Santesson 1973).

Identificação genética

Após décadas de uso de características fenotípicas, morfologia interna e externa, e de características químicas, como a análise de substâncias especiais de líquens, Blum e Kashevarov, em 1986, aplicaram pela primeira vez o método de hibridização DNA:DNA como método para diferenciar amostras do gênero *Lasallia* do de *Umbilicaria* e depois, *Cladina* e *Pseudoevernia* de *Cladonia* e *Evernia* respectivamente, através da reassociação cinética pela ciclização (Depriest 1993).

O material ribossômico, principalmente a sequência de nucleotídeos, abrange potencialmente um grande número de informações que são hereditárias e a evolução destas

características deve-se a simples substituições, inserções, deleções ou recombinações na sequência de nucleotídeos.

Esse método apresenta certos problemas, como por exemplo, a necessidade de extração de alta quantidade de material de líquens ou culturas de simbiontes e separação do DNA extraído da alga e o do fungo (Depriest 1993).

RMN: alguns conceitos e sua aplicação na química de líquens

Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma das técnicas mais utilizadas nos dias atuais para elucidação estrutural de compostos orgânicos e tem sido aplicada, também, na análise da composição de misturas.

O conceito clássico da técnica espectrométrica consiste em que determinados núcleos da molécula têm seu estado energético alterado (excitação) pela absorção de energia de campos eletromagnéticos apropriadamente aplicados.

Como resposta a essa absorção é gerado um espectro (gráfico) que plota as frequências dos picos de absorção contra as suas intensidades. É chamada de deslocamento químico à diferença da posição de absorção de um átomo com relação a um outro átomo de referência. O valor de deslocamento químico é proporcional ao campo eletromagnético aplicado B_0 e geralmente se expressa esse deslocamento de uma maneira independente desse campo utilizando-se o parâmetro δ .

De acordo com a influência dos efeitos de blindagem local e dos efeitos de átomos ou grupos vizinhos na molécula podem-se observar as diferenças de δ que caracterizam os vários tipos de átomos presentes numa molécula objeto da técnica. Dessa forma a técnica de RMN permite a elucidação de moléculas através da interpretação dos espectros obtidos.

Dentre as várias classes de substâncias produzidas pelos líquens, as depsidonas são metabólitos especiais que se caracterizam por duas unidades fenólicas ligadas por uma ligação éster e também uma ligação éter.

Esse tipo de estrutura molecular apresenta-se com frequência da seguinte maneira:

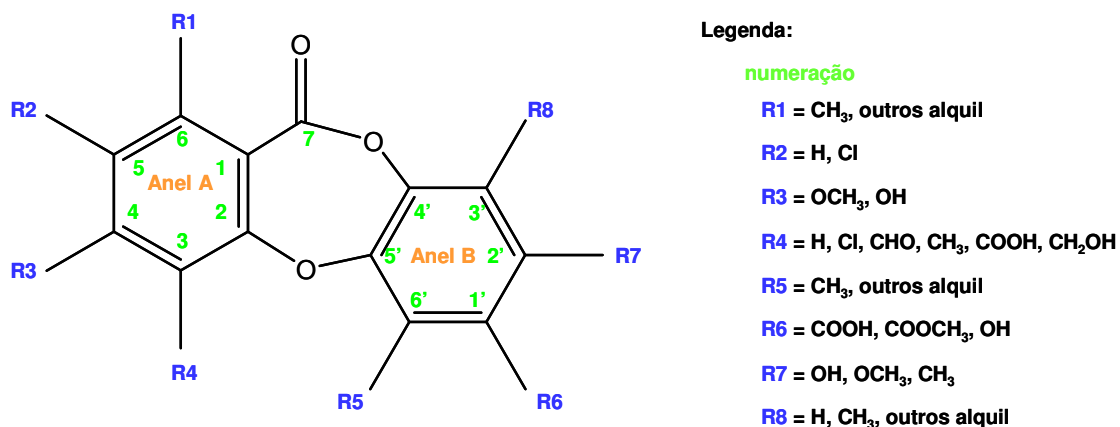


Figura A - Estrutura básica de uma depsidona - Variedade de substituintes (exemplos mais comuns) que podem ser encontrados nesse tipo esqueleto

As depsidonas apresentam um padrão de substituição que se caracteriza freqüentemente por uma metila em C6 (anel A), ligação éster entre C1 e C4', ligação éter entre C2 e C5' e ainda, C5 geralmente hidrogenado. C4 e C2' (com R₃ e R₇ respectivamente) apresentam-se sempre oxigenados. C3 muitas vezes pode estar substituído com um grupo aldeído (R₄) e C2' (com R₇) freqüentemente aparece substituído com um grupo metila. Um grupo de depsidonas apresenta também um anel lactol ligado no anel B em C1' e C6'.

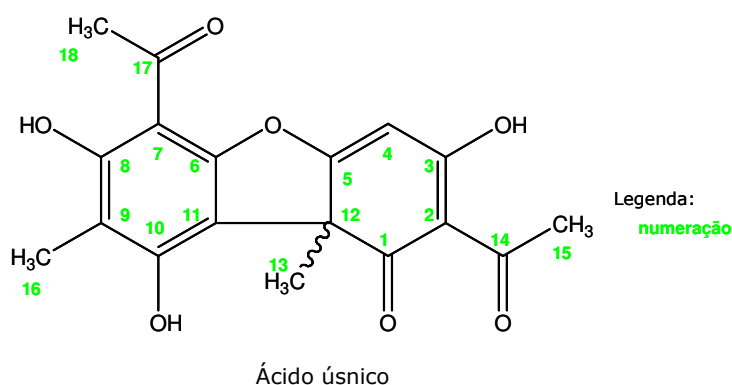
Esse tipo de padrão de substituição deste grupo de moléculas permite uma série de inferências (principalmente) sobre a apresentação dos sinais de deslocamento químico de ¹³C ($\delta^{13}\text{C}$).

Sabe-se que carbonos aromáticos têm $\delta^{13}\text{C}$ entre 110 e 150 ppm (Pavia *et al.* 1996). No anel A, se C4 sempre se apresenta oxigenado, pode-se esperar então que o mesmo apresente um valor mais elevado de $\delta^{13}\text{C}$, já que esse substituinte oxigenado gera um efeito de desproteção desse carbono (devido à eletronegatividade do substituinte, que por efeito indutivo, torna o C_{ipsu} mais “sensível” ao campo eletromagnético imposto pela técnica de RMN). A presença desse tipo de substituinte oxigenado em C4 gera ainda um efeito de proteção em C5 e C3 (posição *orto* ao substituinte) e também em C1 (posição *para* ao substituinte) devido o efeito de ressonância. Esse efeito sugere que uma densidade de carga negativa, proveniente do substituinte oxigenado, se localize preferencialmente nessas posições, protegendo os C's do campo eletromagnético. Se C6 se apresenta freqüentemente substituído com um CH₃ então esse carbono apresenta um valor de $\delta^{13}\text{C}$ maior (dentro da faixa característica para os C's aromáticos) devido ao efeito α de desproteção provocado pela presença do substituinte.

No anel B, se C2' se apresenta freqüentemente oxigenado, pode-se esperar o mesmo comportamento observado no anel A: C3' mais desprotegido, devido ao efeito de desproteção provocado pelo oxigênio no C_{ipsu} , e também uma proteção dos C's em posição *orto* (C3' e C1') e *para* (C5') a C2', além desses, outros fatores relacionados com a vizinhança também devem ser levados em conta.

O ácido úsnico é uma substância de grande importância nos líquens. Sua estrutura é constituída de uma unidade fenólica e também por um anel de 6 membros que contém uma carbonila $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ insaturada (sistema conjugado) interligados entre si em dois pontos: por uma ligação éter e também por uma ligação C-C.

Seu esqueleto característico também permite algumas inferências importantes sobre a apresentação dos sinais de deslocamento químico de ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$).



A molécula do ácido do úsnico possui 3 carbonilas de cetona, e pode-se esperar que a carbonila em C1 tenha o menor valor de $\delta^{13}\text{C}$, já que as 2 insaturações conjugadas proporcionam uma maior densidade eletrônica nesse carbono, causando um efeito de proteção. É de se esperar também que a carbonila em C14 apresente um $\delta^{13}\text{C}$ maior que C1 devido a ausência de efeitos γ protetores.

Os C's aromáticos presentes na estrutura têm seus $\delta^{13}\text{C}$ afetados pelos substituintes. C8, C6 e C10 se apresentam mais desprotegidos que os outros carbonos aromáticos devido ao efeito de desproteção no C_{ipsu} que o oxigênio provoca, quando ligado a esses carbonos.

E ainda, C3 e C5 devem ser os carbonos olefínicos com maiores $\delta^{13}\text{C}$. C3 deve apresentar um $\delta^{13}\text{C}$ maior devido à hidroxila ligada (que causa desproteção por efeito indutivo retirador de elétrons). Já C5 se localiza no fim do sistema conjugado, o que

proporciona uma menor densidade de carga negativa nesse carbono (desproteção) como resultado da ressonância com a carbonila.

Uma outra classe importante de substâncias são os depsídeos, que se caracterizam por duas unidades fenólicas ligadas por uma ligação éster.

Esse tipo de estrutura molecular apresenta-se com frequência da seguinte maneira:

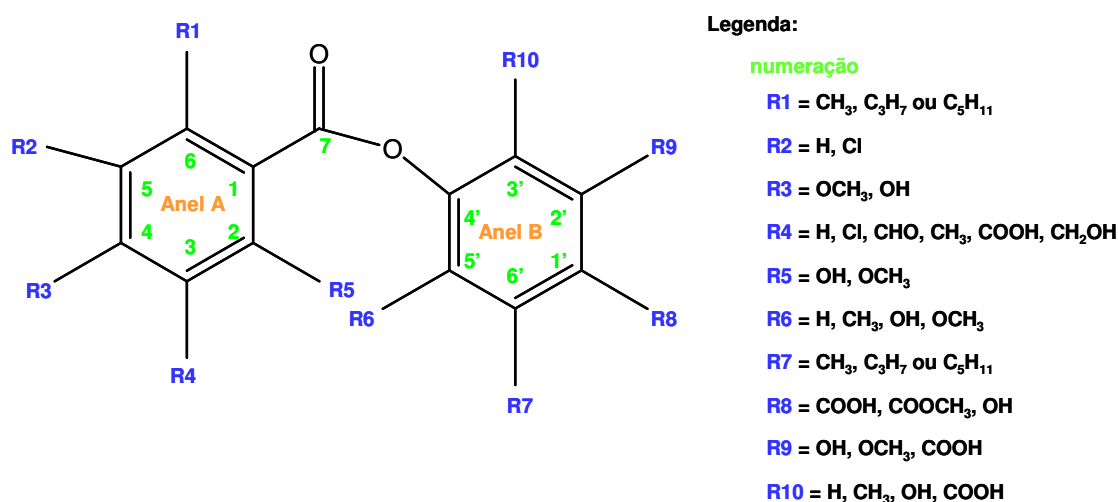


Figura B - Estrutura básica de um depsídeo - Variedade de substituintes (exemplos mais comuns) que podem ser encontrados nesse tipo esqueleto

Os depsídeos apresentam um padrão de substituição muito semelhante ao das depsidonas e as mesmas inferências (principalmente) sobre a apresentação dos sinais de $\delta^{13}\text{C}$ são válidas, com exceção a C2 e C5'.

C2 frequentemente apresenta-se hidroxilado ou metoxilado, e em geral é um dos carbonos aromáticos mais desprotegidos. C5' geralmente apresenta-se substituído com H e nesta situação seu $\delta^{13}\text{C}$ mostra valores em torno de 115 ppm (tanto em CDCl₃ quanto em DMSO-d₆).

Com base em todas as considerações anteriores, pode-se dizer que a identificação das substâncias em mistura, presentes nos extratos, através da técnica de RMN, só é possível através do conjunto de informações que é obtido: dados da literatura sobre a composição provável, dados cromatográficos e de microcristalização dos extratos comparados com

substâncias de referência e por último, dados espectroscópicos de RMN, de fundamental importância. A análise de todas essas informações pode confirmar a composição química dos metabólitos especiais majoritários das espécies em estudo, ou ainda acrescentar informações pertinentes sobre as substâncias presentes.

Objetivos

Objetivos

Considerando as exsicatas de líquens identificadas que fazem parte da coleção do Laboratório LP2 do Departamento de Química da UFMS, selecionamos duas famílias (Parmeliaceae e Physciaceae) para a realização deste trabalho. Essas famílias foram selecionadas devido à frequência de ocorrência de suas espécies em Mato Grosso do Sul.

Este trabalho teve por objetivos :

- Avaliar o uso da técnica de RMN na análise de extratos de líquens das famílias Parmeliaceae e Physciaceae visando a elucidação da composição dos mesmos – análise das substâncias em mistura;
- Investigar a presença de marcadores taxonômicos que possam auxiliar na caracterização de um dado gênero, ou de um grupo de espécies de um dado gênero.

Parte experimental

Parte experimental

Seleção das amostras

Para a realização deste trabalho foram selecionadas espécies das famílias Parmeliaceae e Physciaceae coletadas em Mato Grosso do Sul. As exsiccatas das espécies identificadas pela Prof^a. Dr^a. Mariana Fleig e pelo Prof. Dr. Marcelo Marcelli fazem parte da coleção de líquens do Laboratório LP2 do Departamento de Química da Universidade Federal de Mato do Sul. As espécies são:

- Rimelia cetrata* (Ach.) Hale & Flechter; Parmeliaceae
- Parmotrema dilatatum* (Vainio) Hale; Parmeliaceae
- Canoparmelia texana* (Tuck.) Elix & Hale; Parmeliaceae
- Canoparmelia ecaperata* (Müll. Arg.) Elix & Hale; Parmeliaceae
- Dirinaria aspera* (H. Magn.) Awasthi; Physciaceae
- Dirinaria aegialita* (Afzel. ex Ach.) Moore; Physciaceae
- Dirinaria confluens* (Fr.) Awasthi; Physciaceae
- Xanthoparmelia plittii* (Gyeln.) Hale; Parmeliaceae
- Xanthoparmelia succedans* Elix & Johnston; Parmeliaceae
- Usnea subcavata* Motyka; Parmeliaceae
- Parmotrema delicatulum* (Vainio) Hale; Parmeliaceae
- Parmotrema pancheri* (Hue) Hale; Parmeliaceae
- Parmotrema rigidum* (Lyn.) Hale; Parmeliaceae
- Parmotrema wainii* (Smith) Hale; Parmeliaceae
- Parmotrema argentinum* (Kremp.) Hale; Parmeliaceae
- Hypotrachyna dactylifera* (Vainio) Hale; Parmeliaceae
- Parmotrema praesorediosum* (Nyl.) Hale; Parmeliaceae
- Parmotrema mesotropum* (Müll. Arg.) Hale; Parmeliaceae
- Parmotrema miranda* (Hale) Hale; Parmeliaceae
- Heterodermia leucomela* (L.) Poelt subsp. *leucomela*; Physciaceae
- Parmotrema cornutum* (Lynge) Hale; Parmeliaceae

Preparação dos extratos

Para obtenção dos extratos foram retirados fragmentos de aproximadamente 200mg da exsicata de cada espécie selecionada. Após limpeza, o talo de cada líquen foi triturado em almofariz e o pó obtido foi tratado com clorofórmio e/ou acetona à temperatura de aproximadamente 50°C. Os extratos foram evaporados em capela e os resíduos obtidos foram armazenados em dessecador na ausência de luz. A análise dos extratos foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD), microcristalização (MC) e ressonância magnética nuclear (RMN ^1H , ^{13}C e DEPT 135).

Cromatografia em camada delgada

Os extratos foram cromatografados em cromatofolhas de alumínio recobertas com sílica gel F₂₅₄ de procedência Merck. Foram utilizados os seguintes eluentes:

- I – Tolueno/ Acetato de etila/ Ácido acético glacial (6:4:1 v/v/v)
- II – Tolueno/ Acetato de etila/ Ácido fórmico (138: 83:8 v/v/v) (Culberson *et al.* 1981)
- III – Benzeno/ Dioxano/ Ácido acético glacial (90:25:4 v/v/v) (Culberson *et al.* 1970)
- IV – Tolueno/ Clorofórmio (1:1 v/v)
- V – Tolueno/ Ácido acético glacial (85:15 v/v) (Culberson *et al.* 1970)

A visualização dos constituintes de cada espécie foi feita inicialmente com luz UV (254 e 366 nm) e nebulização com metanol contendo H₂SO₄ 10% seguido de aquecimento em chapa elétrica, até o aparecimento completo das manchas. A seguir as placas foram nebulizadas com p-anisaldeído/ H₂SO₄ e novamente aquecidas. Em alguns casos foi usado cloreto férrico 5% em metanol para revelação. Ácidos graxos foram revelados com água.

Substâncias de referência foram cromatografadas junto com os extratos para efeito de comparação do perfil cromatográfico e com dados da literatura (Culberson e Kristinsson, 1970; Culberson, 1972; Culberson e Johnson, 1976; Culberson *et al.* 1981). Foram utilizadas as seguintes substâncias como referência: ácido fumarprotocetrárico, ácido protocetrárico, ácido lecanórico, ácido difractáico, ácido secalônico, ácido salazínico, ácido hipostítico, ácido perlatólico, ácido norstítico, ácido úsnico, liquexantona e atranorina.

Após a revelação dos cromatogramas foram obtidas imagens digitalizadas por escaneamento para registro e armazenamento dos dados cromatográficos.

Microcristalização (MC)

A observação de estruturas cristalinas características de um grande número de substâncias produzidas pelos líquens foi conduzida de acordo com a técnica descrita por Taylor (1967a, 1967b), Thompson (1968), Hale (1974) e Huneck & Yoshimura (1996).

O extrato de cada espécie foi depositado sobre uma lâmina para microscópio. O resíduo obtido após evaporação do solvente foi tratado, separadamente, com as soluções: GAOt (glicerina: etanol: o-toluidina 2:1:1 v/v/v), GAW (glicerina: etanol: água 1:1:1 v/v/v) e GE (glicerina: ácido acético glacial 3:1 v/v).

Após a adição das soluções para cristalização, as misturas foram cobertas com lamínula e, com exceção da lâmina com GAOt, foram aquecidas suavemente sobre chama de uma lamparina à álcool.

As lâminas foram observadas em microscópio logo após o preparo das mesmas, após 1, 6, 12 e 24 horas. As estruturas cristalinas observadas foram comparadas com aquelas obtidas de substâncias puras disponíveis no laboratório e também com fotos da literatura (Taylor 1967a, 1967b, Hale 1974, Huneck & Yoshimura 1996).

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Para avaliar a composição dos extratos em relação as substâncias do metabolismo secundário, foram obtidos os espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT 135, gHSQC e gHMBC. Os extratos foram solubilizados em dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6) ou clorofórmio

deuterado (CDCl_3), conforme o caso. No caso dos espectros obtidos a partir de extratos, os mesmos foram analisados visando elucidar a composição através da identificação de sinais de deslocamento químico indicativos das substâncias reveladas nos cromatogramas. A elucidação foi conduzida por comparação dos espectros com aqueles obtidos de substâncias puras disponíveis no laboratório e também com dados contidos em publicações especializadas.

Todos os experimentos de RMN foram realizados em um espectrômetro da marca BRUKER de 7,05 Tesla, modelo DPX300 (300,13 MHz para a frequência do hidrogênio). Foram utilizadas sondas com 5 mm de diâmetro interno, com detecção no modo direto (dual) e no modo inverso (BBI), esta equipada com uma bobina geradora de gradiente de campo na coordenada z (para o caso de experimentos gHSQC, gHMBC e gCOSY), utilizando o sinal do solvente deuterado como referência. Os espectros de ^1H (SFO1=300.13 MHz) foram obtidos utilizando-se a sequência de pulso zg, largura espectral (SWH) média de 21 ppm, tempo de aquisição (AQ) 5,19s, tempo de espera entre cada aquisição (d1) 1,2 s, sendo acumulados (ns) 8 FIDs. Eles foram processados sem zero-filling (SI < TD) e com multiplicação exponencial (LB=0,3 Hz). Os espectros de ^{13}C (SFO1=75,48 MHz) foram obtidos utilizando-se a sequência de pulso zgpg30, largura espectral (SWH) média de 250 ppm, tempo de aquisição (AQ) e número de FIDs acumulados (ns) variável, tempo de espera entre cada aquisição (d1) 0,15s. Eles foram processados também sem zero-filling (SI < TD) e com multiplicação exponencial (LB=1 Hz). Os espectros de DEPT 135 (SFO1=75,48 MHz) foram obtidos utilizando-se a sequência de pulso dept135, largura espectral (SWH) média de 250 ppm, tempo de aquisição (AQ) e número de FIDs acumulados (ns) variável, tempo de espera entre cada aquisição (d1) 2s. Eles foram processados sem zero-filling (SI < TD) e com multiplicação exponencial (LB=1 Hz).

Os espectros de gHSQC (^1H SFO1=300.13 e ^{13}C SFO2=75,48 MHz) foram obtidos utilizando-se o programa hsqcedetgp. A largura espectral em F2 (SWH2) foi variável e em F1 (SWH1) de aproximadamente 250 ppm, tempo de aquisição (AQ) e número de FIDs acumulados (ns) variáveis, tempo de espera entre cada aquisição (d1) de 2 e 1,5 s respectivamente.

No processamento, foram utilizados 1K pontos em F_2 e F_1 e empregada a função de apodização seno sino elevado ao quadrado, com fator de deslocamento de 0 para ambos os eixos. Para os espectros de gHMBC o programa de pulsos utilizado foi hmbcgpndqf, largura espectral em F2 (SWH2) variável e em F1 (SWH1) de aproximadamente 250 ppm, tempo de aquisição (AQ) e número de FIDs acumulados (ns) variáveis, tempo de espera entre cada

aquisição (d1) de 2 e 1,5s, respectivamente. No processamento, foram utilizados 1K pontos em F_2 e F_1 e empregada a função de apodização seno sino, com fator de deslocamento de 0 para ambos os eixos.

Resultados e discussão

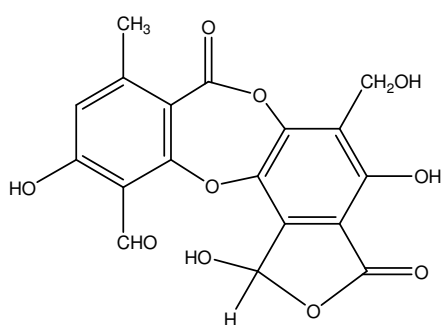
Resultados e discussão

Foram selecionadas 21 espécies de líquens, com ocorrência no Estado de Mato Grosso do Sul, para este estudo. 17 espécies pertencem à família Parmeliaceae e 4 à família Physciaceae.

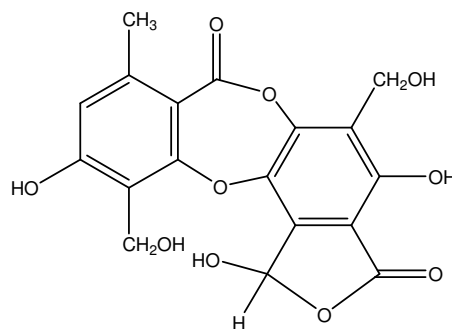
Serão apresentados, para cada espécie analisada, o perfil cromatográfico (CCD), dados da microcristalização e a análise dos espectros de RMN ^1H , ^{13}C e DEPT 135.

Rimelia cetrata (Ach.) Hale & Fletcher

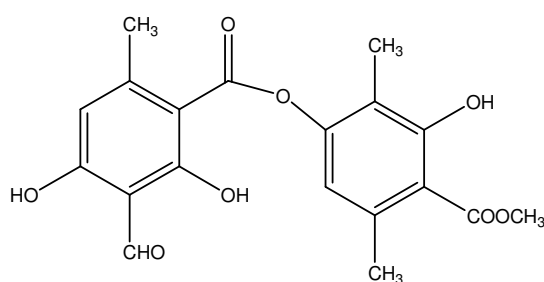
Hale & Fletcher (1990) descrevem a presença de ácidos salazínico, consalazínico e atranorina como substâncias de importância taxonômica.



Ácido salazínico



Ácido consalazínico

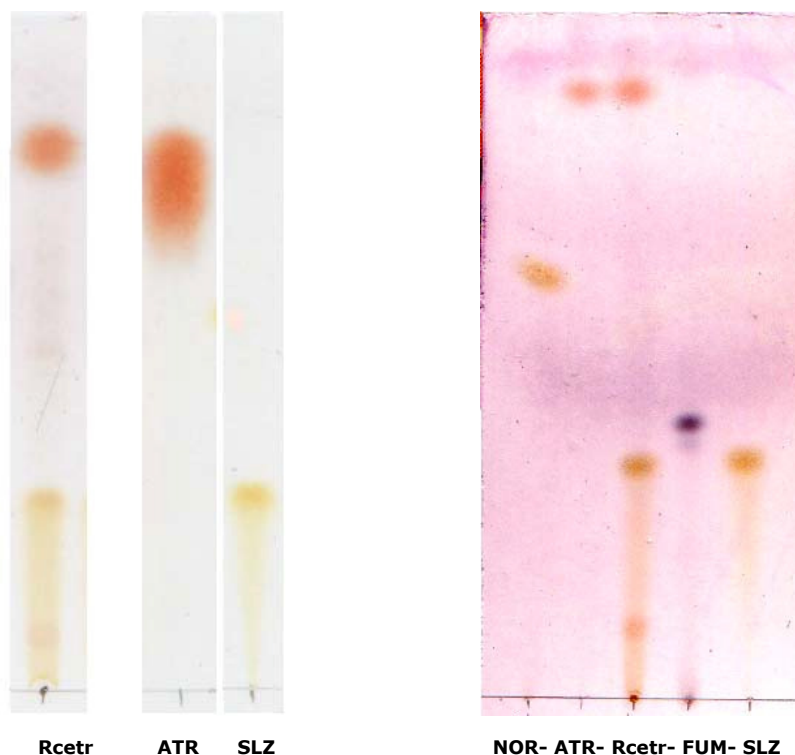


Atranorina

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato acetônico de *R. cetrata*, cromatografado no eluente II apresentou ao menos 03 manchas após revelação (cromatograma 1). A mancha de Rf 0,73 pode ser atribuída à atranorina, outra de Rf 0,24 é compatível com o comportamento cromatográfico do ácido salazínico (comparação com a substância de referência), além de uma substância de Rf 0,066.

O ácido consalazínico resulta da redução da carbonila (-CHO) ligada ao C-3 do anel A do ácido salazínico – devido a isso adsorve mais sobre sílica.



Cromatogramas 1 e 2 - Extrato de *R. cetrata*

Cromatograma 1: (Rctr= *R. cetrata*, ATR= atranorina, SLZ= ácido salazínico). **Eluente I:** tolueno/ acetato de etila/ ácido acético (6:4:1 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Cromatograma 2: (NOR= ácido norstítico, ATR= atranorina, Rctr= *R. cetrata*, FUM= ácido fumarprotocetrárico, SLZ= ácido salazínico). **Eluente II:** Tolueno: Acetato de etila: Ácido fórmico (138:83:8 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Microcristalização (MC)

Na microcristalização foram observadas estruturas cristalinas em GAoT que são compatíveis com aquelas apresentadas pelo depsídeo atranorina e a depsidona ácido salazínico.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Foram obtidos espectros de RMN ^1H , ^{13}C e DEPT 135 em DMSO- d_6 .

O espectro de RMN ^1H do extrato acetônico de *R. cetrata* apresenta sinais em 2,44; 4,69; 6,91 e 10,49 ppm que podem ser atribuídos a $-\text{CH}_3$ ligado a anel aromático, $-\text{CH}_2$ alcoólico, H aromático e H de carbonila de aldeído, respectivamente. Esses sinais são compatíveis com a estrutura da depsidona ácido salazínico.

Além desses, o espectro mostra sinais de baixa intensidade variando de 2,08 e 2,39 ppm que são indicativos de $-\text{CH}_3$ ligado a anel aromático; um sinal em 3,92 ppm característico de metila de éster metílico ($-\text{COOCH}_3$); sinais em 6,47 e 6,69 ppm correspondentes a hidrogênios ligados a anel aromático, e sinal em 10,25 ppm, H de grupo aldeído. Esses sinais podem ser atribuídos ao depsídeo atranorina que está presente no extrato de *R. cetrata* em baixa concentração.

No espectro de RMN ^{13}C o sinal em 52,7 ppm pode ser atribuído ao grupo metileno alcoólico; o sinal em 192,8 ppm é de uma carbonila de aldeído ligada a um sistema aromático. Um outro sinal em 94,7 ppm refere-se a CH de lactol. Esses sinais e outros presentes no espectro confirmam a estrutura do ácido salazínico e estão indicados na figura 1. Estes dados estão de acordo com Eifler-Lima *et al.* 2000 ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$ 3:1) e também com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos do ácido salazínico isolado e purificado ($\text{DMSO}-d_6$), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

Um sinal em 52,4 ppm e outros de baixa intensidade são indicativos do depsídeo atranorina, estão representados na figura 2 e estão de acordo com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos da atranorina isolada e purificada ($\text{DMSO}-d_6$), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

O espectro de RMN ^{13}C não apresenta sinais que possam indicar a presença do ácido consalazínico. Considerando que o ácido consalazínico apresenta dois grupos $-\text{CH}_2$ alcoólico, esses sinais podem estar sobrepostos pelos sinais em 4,69 ppm (RMN ^1H) e em 52,7 ppm (RMN ^{13}C) do ácido salazínico, assim como também o sinal em 94,7 ppm de CH de lactol. Portanto o ácido consalazínico, nessas condições, só pode ser identificado por CCD. O cromatograma 2 mostra a migração das substâncias contidas no extrato de *R. cetrata* (R_f 0,082; 0,282 e 0,723) e das substâncias de referência ácido norstítico (R_f 0,504), atranorina (R_f 0,723) e ácidos fumarprotocetrárico (R_f 0,723) e salazínico (R_f 0,286). As comparações com dados de Culbertson (1981) indicam que a mancha com R_f de 0,082 no eluente II pode mesmo ser atribuída à presença de ácido consalazínico (R_f 0,08).

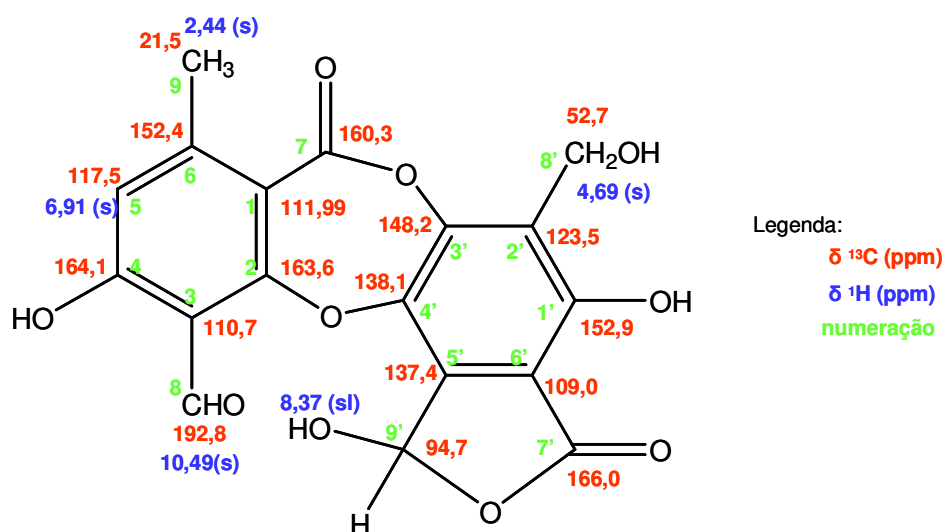


Figura 1 – Sinais de deslocamento químico para o **ácido salazínico** presente no extrato de *R. cetrata* (DMSO- d_6).

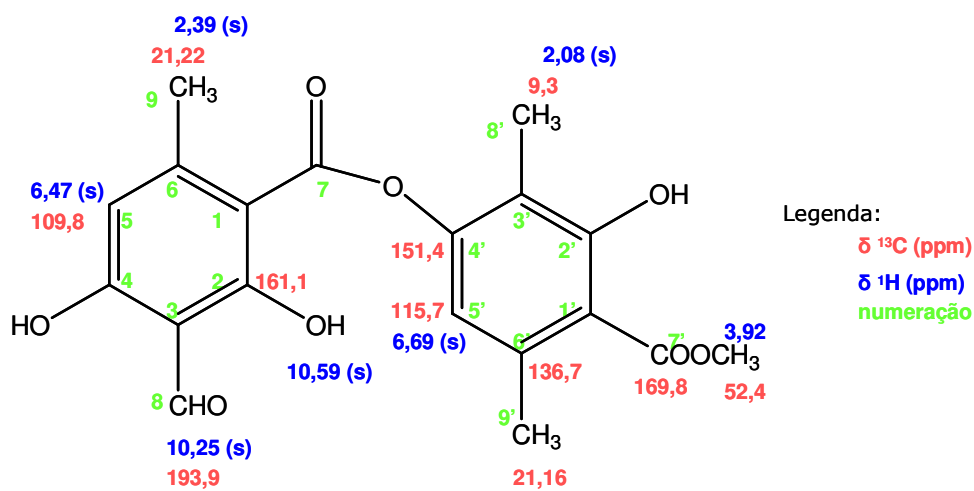


Figura 2 – Sinais de deslocamento químico para **atranorina** presente no extrato de *R. cetrata* (DMSO- d_6).

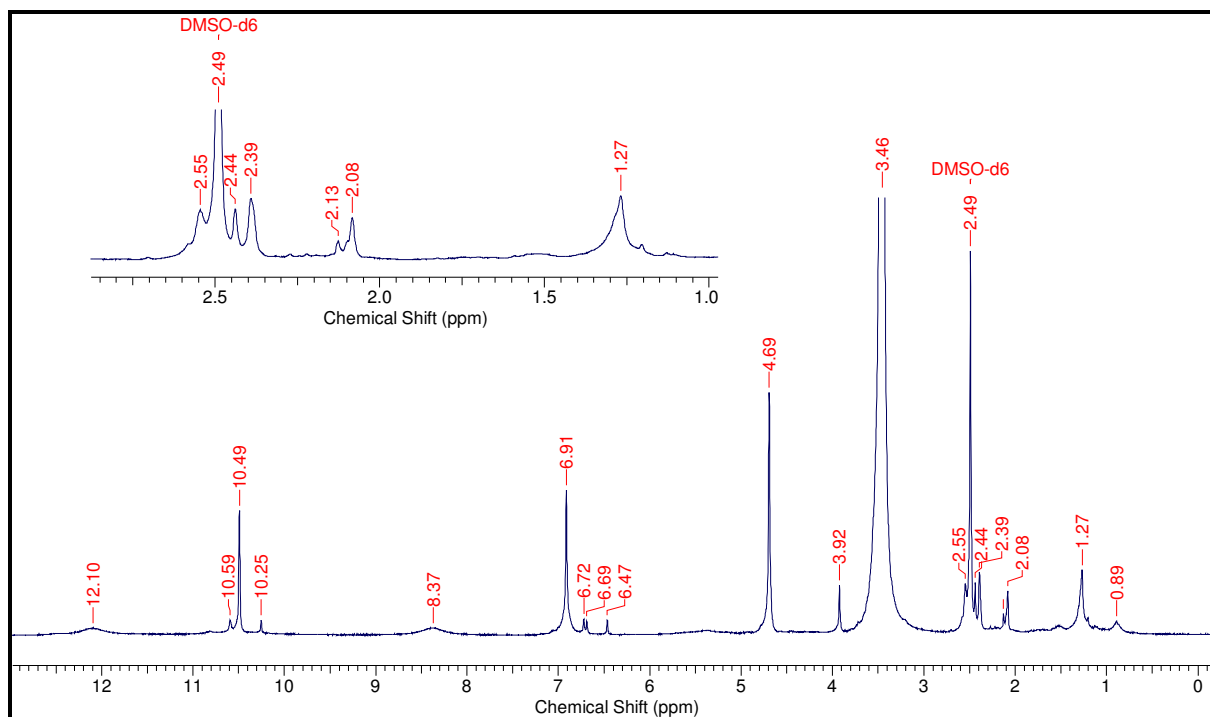
Tabela 1* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *R. cetrata* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para **atranorina (ATR)** e **ácido salazínico (SLZ)**.

$\delta^{13}\text{C}^a$		$\delta^1\text{H}^b$	
(DEPT 135)	C - substância	(multiplicidade)	H - substância
193,9	C8 – ATR	12,10 (sl)	OH(C4) – SLZ
192,8 (CH)	C8 – SLZ	10,59 (s)	OH(C2') – ATR
169,8	C7' – ATR	10,49 (s)	CHO(C8) – SLZ
166,0	C7' – SLZ	10,25 (s)	CHO(C8) – SLZ
164,1	C4 – SLZ	8,37 (sl)	OH(C9') – SLZ
163,6	C2 – SLZ	6,91 (s)	H(C5) – SLZ
161,1	C2 – ATR	6,72 (s)	
160,3	C7 – SLZ	6,69 (s)	H(C5') – ATR
152,9	C2' – SLZ	6,47 (s)	H(C5) – ATR
152,4	C6 – SLZ	4,69 (s)	H(C8') – SLZ
151,4	C4' – ATR	3,92 (s)	COOCH ₃ (C7') – ATR
148,2	C4' – SLZ	2,55 (s)	
138,1	C5' – SLZ	2,44 (s)	H(C9) – ATR
137,4	C6' – SLZ	2,39 (s)	H(C9) – ATR
136,7	C6' – ATR	2,13 (s)	
123,5	C3' – SLZ	2,08 (s)	H(C8') – ATR
117,5	C5 – SLZ	1,27 (sl)	
115,7	C5' – ATR	0,89 (sl)	
112,0	C1 – SLZ		
110,7	C3 – SLZ		
109,8	C5 – ATR		
94,7	C9' – SLZ		
52,7 (CH ₂)	C8' – SLZ		
52,4 (CH ₃)	COOCH ₃ (C7') – ATR		
21,5 (CH ₃)	C9 – SLZ		
21,22 (CH ₃)	C9 – ATR		
21,16 (CH ₃)	C9' – ATR		
9,3 (CH ₃)	C8' – ATR		

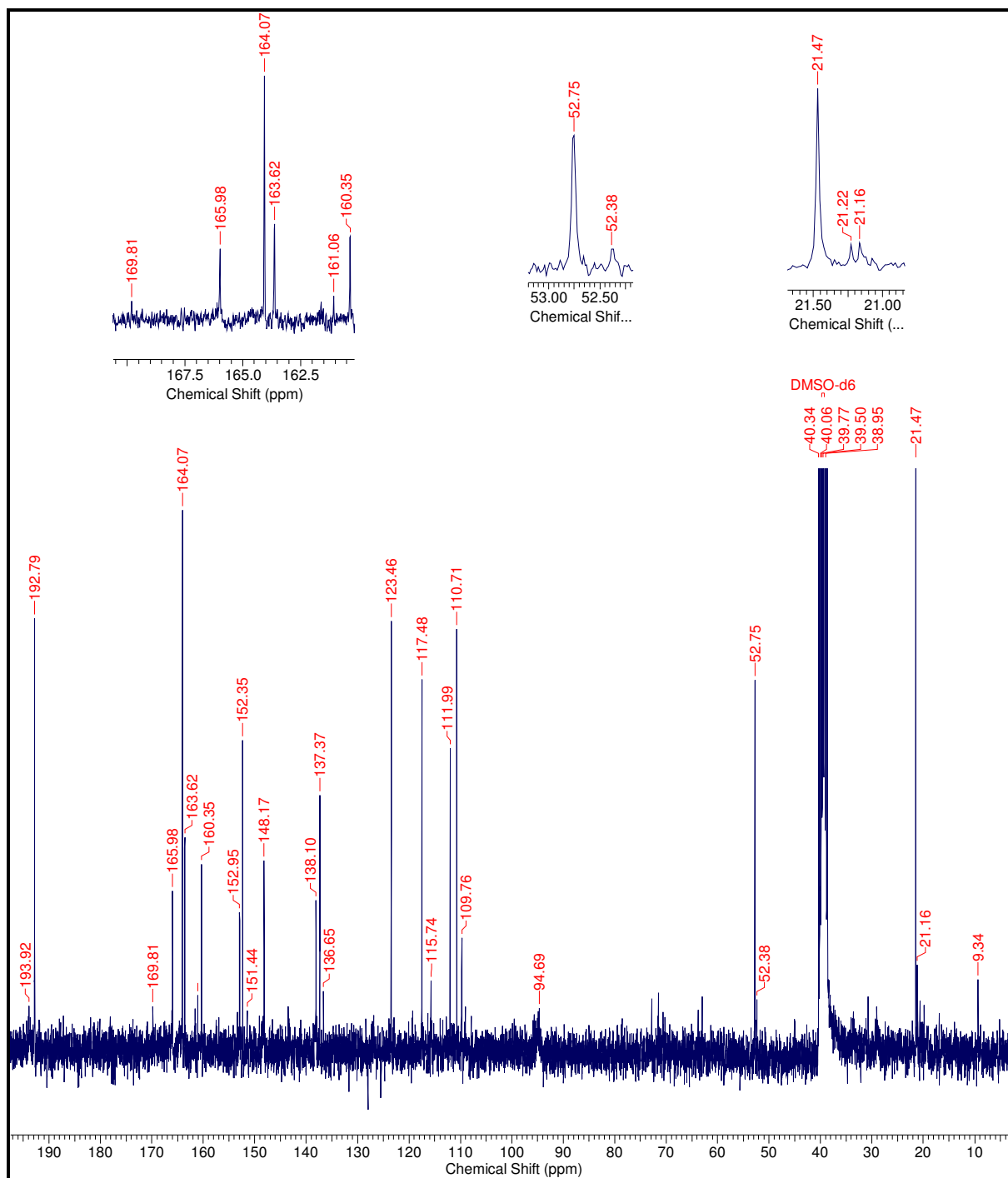
^a 300 MHz; ^b 75 MHz

*Numeração dos carbonos: se refere aos próprios carbonos numerados na estrutura, a não ser por carbonos de grupos que não apresentam numeração própria (como ésteres metílicos, como acontece na atranorina, e também metoxilas), e que têm indicado entre parênteses os carbonos aos quais estão ligados.

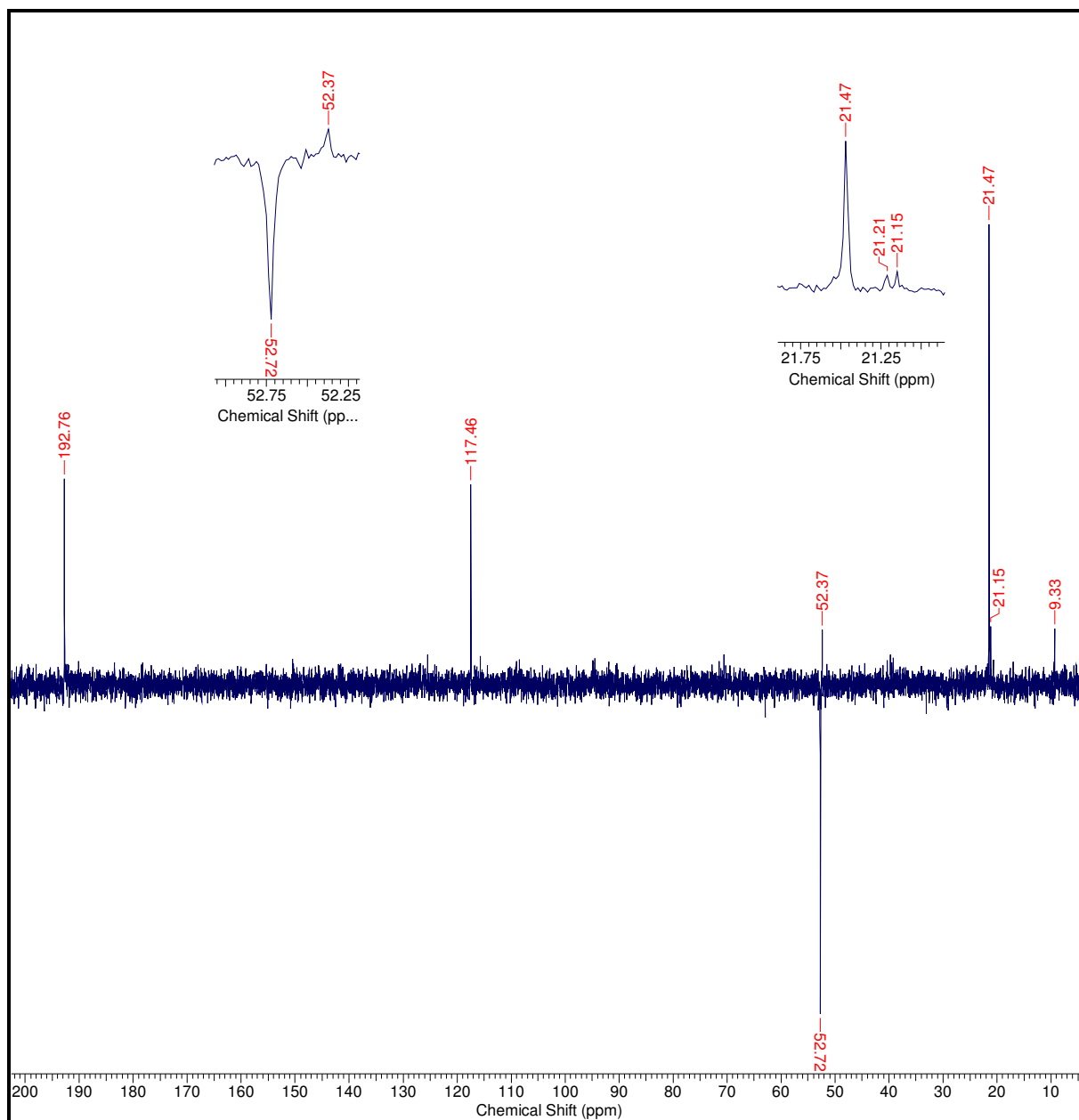
Numeração dos hidrogênios: números entre parênteses indicam os carbonos numerados da estrutura aos quais os hidrogênios estão ligados. Estas observações sobre a numeração são válidas para todas as tabelas com atribuições de δ .



Espectro 1 - Espectro de RMN ^1H do extrato de *R. cetrata* (DMSO-d_6)



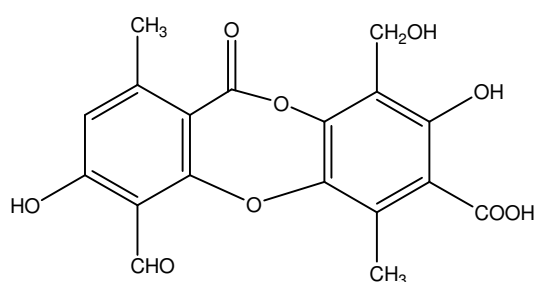
Espectro 2 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *R. cetrata* (DMSO-d_6)



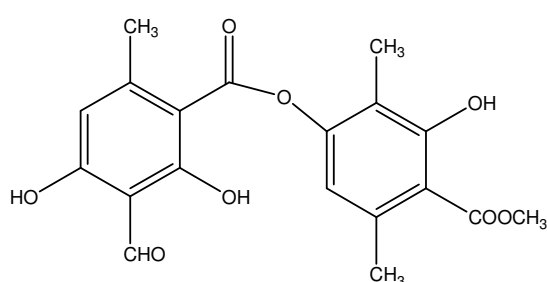
Espectro 3 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 do extrato de *R. cetrata* (DMSO-d_6)

Parmotrema dilatatum (Vainio) Hale

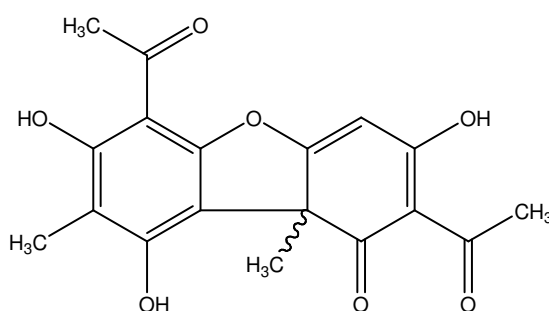
P. dilatatum é uma fonte potencial da depsidona ácido protocetrário. Contém também o depsídeo atranorina e quantidade traço de ácido úsnico (Hale, 1974a).



Ácido protocetrário



Atranorina



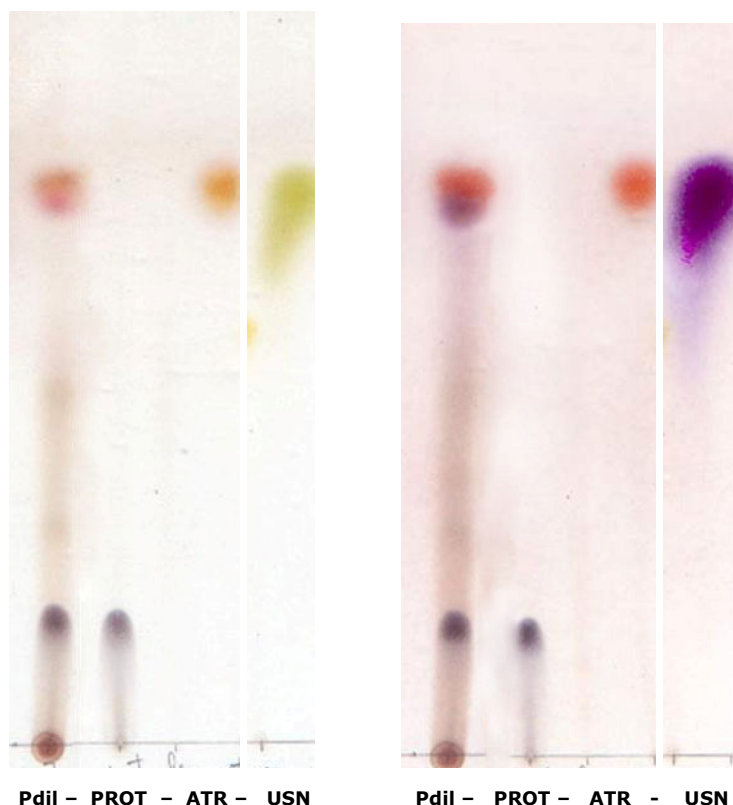
Ácido úsnico

Cromatografia em camada delgada (CCD)

A cromatografia do extrato acetônico no eluente I confirmou a presença das 03 substâncias.

A mancha de maior migração pode ser atribuída à presença de atranorina, pois o comportamento cromatográfico é compatível com aquele apresentado pela substância de referência. Muito próxima a essa mancha pode ser observada a mancha que caracteriza a presença de ácido úsnico nesse extrato. A caracterização só pôde ser feita graças à utilização do revelador que contém p-anisaldeído, o qual proporciona uma cor violeta muito característica ao ácido úsnico, mesmo quando ele se apresenta em baixa concentração.

O cromatograma também apresenta um componente semelhante à substância de referência ácido protocetrário. A mancha desse componente revela cor cinza.



Cromatogramas 3 e 4 - Extrato de *P. dilatatum*

Cromatograma 3: (Pdil= *P. dilatatum*, PROT= ácido protocetrário, ATR= atranorina e USN= ácido úsnico).
Eluente I: tolueno/ acetato de etila/ ácido acético (6:4:1 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v).

Cromatograma 4: (Pdil= *P. dilatatum*, PROT= ácido protocetrário, ATR= atranorina e USN= ácido úsnico).
Eluente I: tolueno/ acetato de etila/ ácido acético (6:4:1 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Microcristalização (MC)

A análise por MC do extrato de *P. dilatatum* indicou em GAoT formas cristalinas características da atranorina. O ácido úsnico foi confirmado pela identificação de formas

cristalinas características desse ácido cristalizado em GE. A identificação foi feita por comparação com aquelas formadas a partir de substância pura.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Foram obtidos espectros de RMN ^1H , ^{13}C e DEPT 135 em DMSO- d_6 .

O espectro de RMN ^1H do extrato de *P. dilatatum* apresenta sinais intensos de deslocamento químico em 2,37 e 2,41 ppm para $-\text{CH}_3$ ligados a anel aromático, 4,59 ppm para grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$ (metileno alcoólico), 6,82 ppm para hidrogênio ligado a anel aromático e 10,57 ppm para aldeído aromático.

No espectro de RMN de ^{13}C o sinal em 191,7 ppm pode ser atribuído a uma carbonila de aldeído ligada a um sistema aromático. O sinal em 170,1 ppm pode ser atribuído a uma carbonila de ácido carboxílico e ainda, um sinal em 52,8 ppm, característico de metileno alcoólico, juntamente com outros vários sinais característicos de esqueleto depsidona, condizem com a estrutura do ácido protocetrário. Estes δ estão indicados na figura 3 e estão de acordo com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos do ácido protocetrário isolado e purificado (DMSO- d_6), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

Sinais de deslocamento químico com menor intensidade são também observados. Esses sinais são difíceis de serem atribuídos, especialmente na região de 2,0 a 3,0 ppm no espectro de RMN ^1H , devido à intensidade muito maior dos sinais do ácido protocetrário, que é o componente em maior proporção nesse extrato. Entretanto, um sinal em 3,86 ppm no espectro de RMN ^1H sugere grupo éster metílico ($-\text{COOCH}_3$), e ainda, dois singletes, em 6,63 e 6,41 ppm, indicam dois hidrogênios aromáticos do depsídeo atranorina. Outros sinais característicos desses depsídeo, como o grupo carbonila de éster e de aldeído, no entanto, não são observados no espectro. Os sinais que foram atribuídos à atranorina estão indicados na figura 4 e estão de acordo com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos da atranorina isolada e purificada (DMSO- d_6), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

Sinais de deslocamento químico do ácido úsnico não foram visualizados nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C . Portanto, o ácido úsnico presente no extrato em análise somente foi identificado por cromatografia e por microcristalização. A depsidona ácido protocetrário foi identificada por cromatografia e a estrutura confirmada por RMN ^1H e ^{13}C e a atranorina foi

identificada parcialmente pelos sinais de baixa intensidade no espectro de RMN de ^1H . A cromatografia e a microcristalização confirmaram a presença desse depsído no extrato.

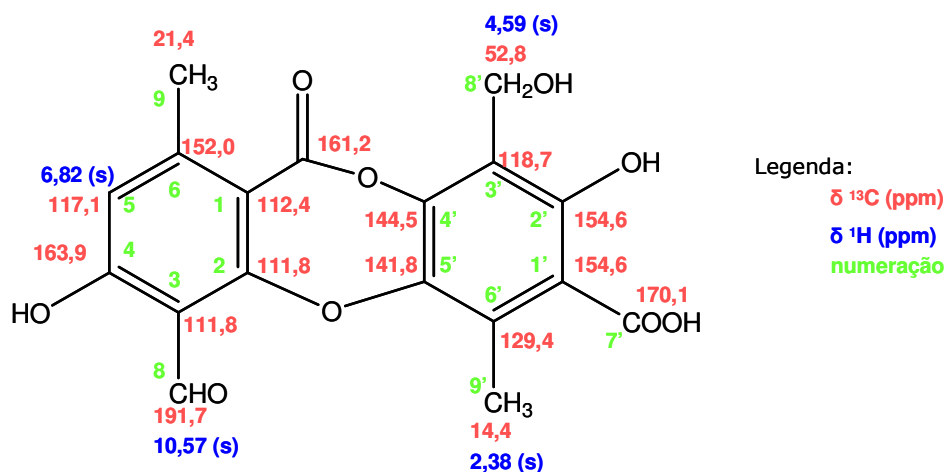


Figura 3 – Sinais de deslocamento químico para **ácido protocetrárico** presente no extrato de *P. dilatatum* (DMSO-d_6).

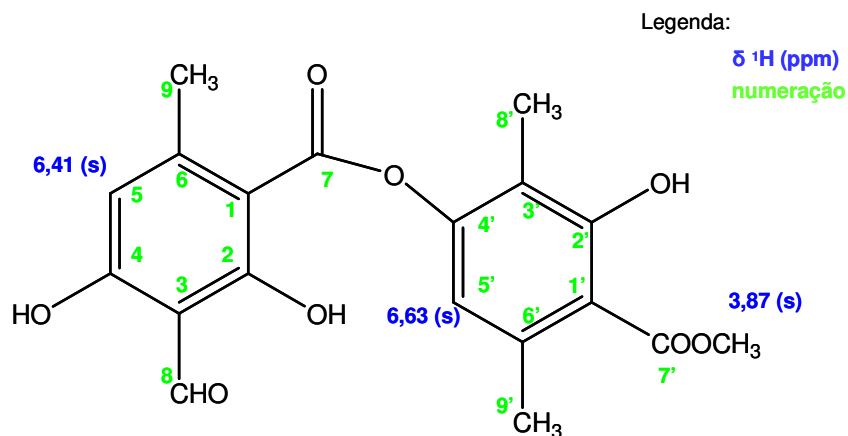
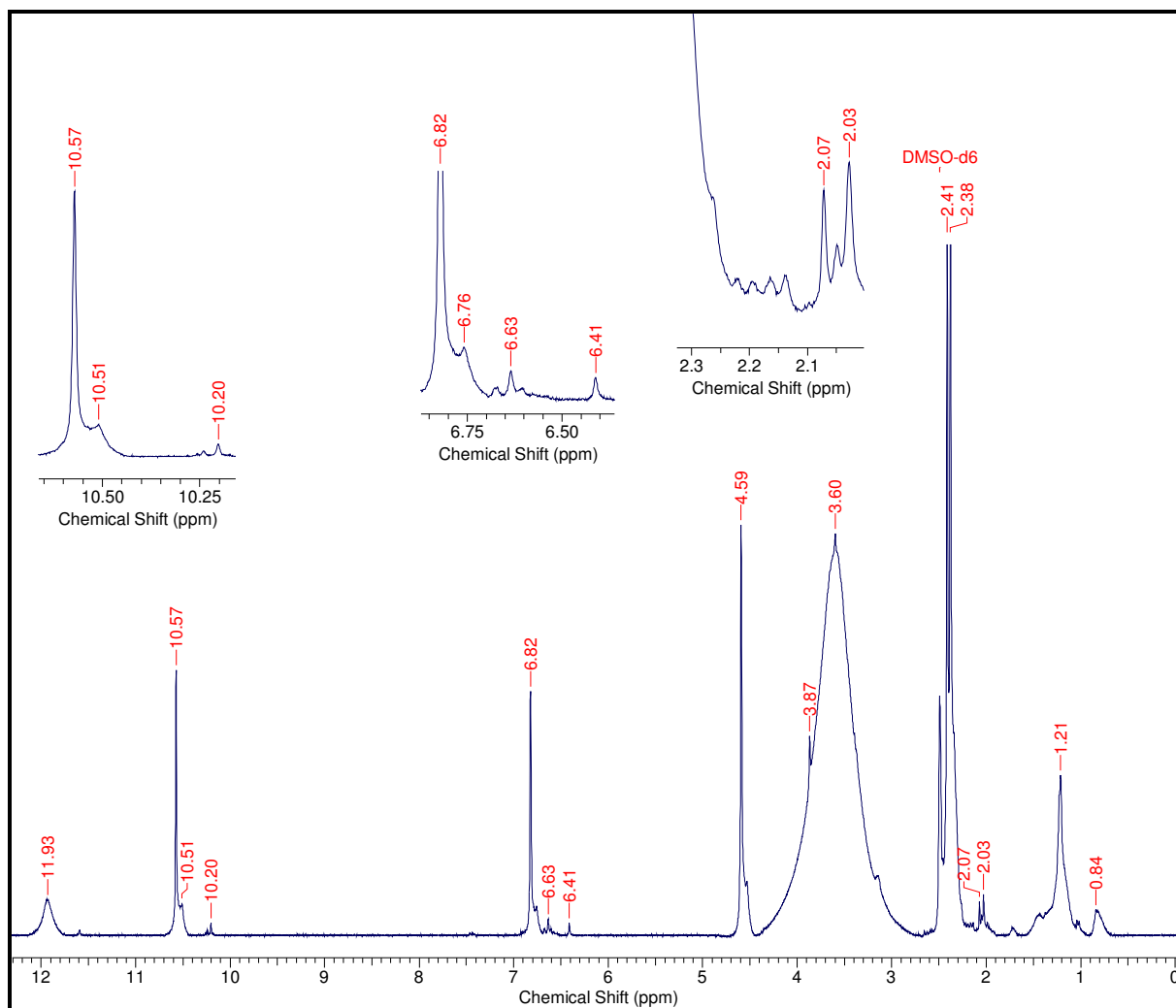


Figura 4 – Sinais de deslocamento químico para **atranorina** presente no extrato de *P. dilatatum* (DMSO-d_6).

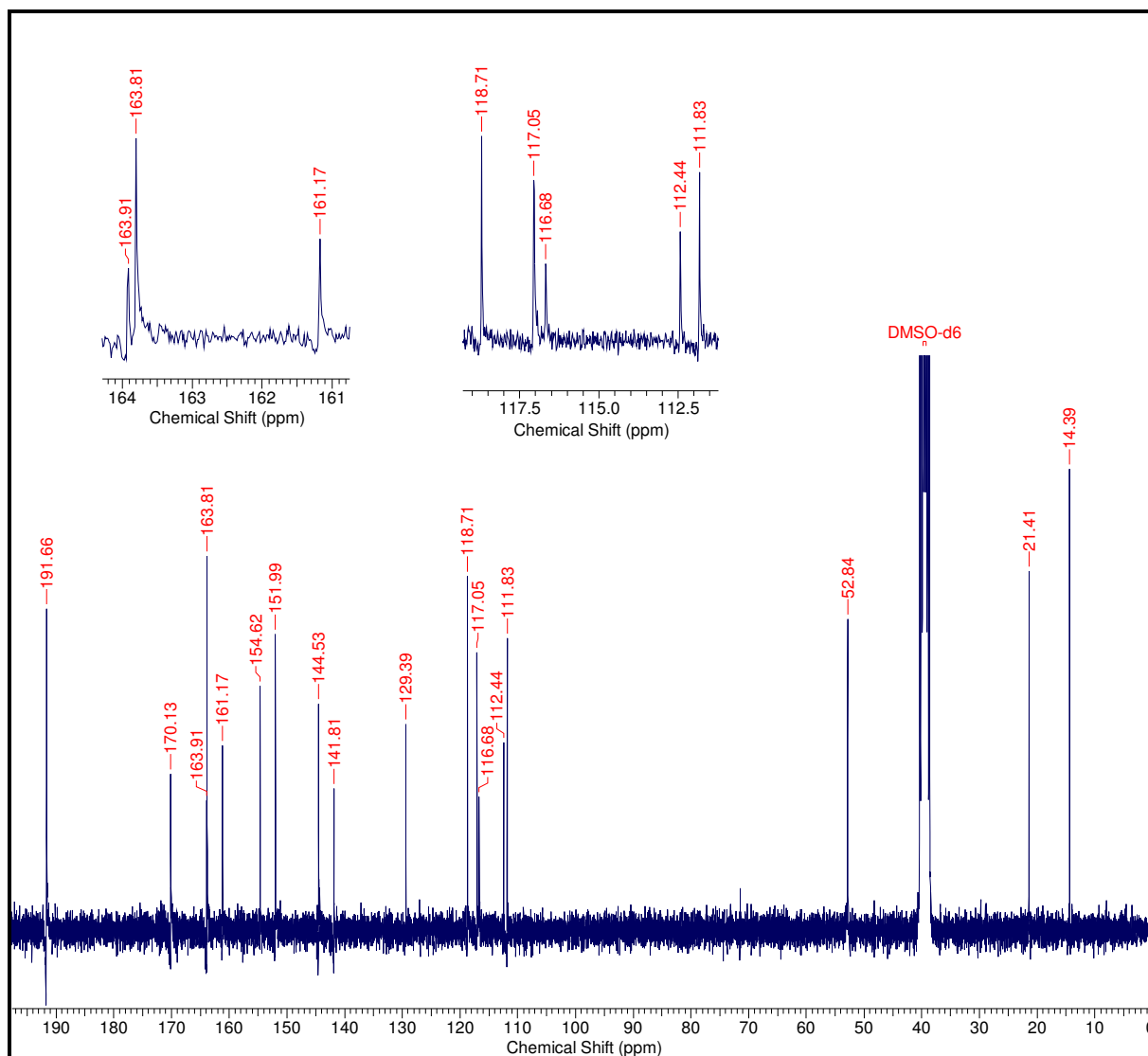
Tabela 2 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. dilatatum* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para **ácido protocetrário (PROT)** e **atranorina (ATR)**.

$\delta^{13}\text{C}^a$		$\delta^1\text{H}^b$	
(DEPT 135)	C – substância	(multiplicidade)	H – substância
191,7 (CH)	C8 – PROT	11,93 (sl)	
170,1	C7' – PROT	10,57 (s)	H(C8) – PROT
163,9	C4 – PROT	10,51 (s)	
163,8	C2 – PROT	10,20 (s)	
161,2	C7 – PROT	6,82 (s)	H(C5) – PROT
154,6	C2' – PROT	6,76 (s)	
152,0	C6 – PROT	6,63 (s)	H(C5') – PROT
144,5	C4' – PROT	6,41 (s)	H(C5) – PROT
141,8	C5' – PROT	4,59 (s)	H(C8') – PROT
129,4	C6' – PROT	3,87 (s)	COOCH ₃ (C7') – ATR
118,7	C3' – PROT	2,41 (s)	H(C9) – PROT
117,1 (CH)	C5 – PROT	2,38 (s)	H(C9') – PROT
116,7	C1' – PROT	2,07 (s)	
112,4	C1 – PROT	2,03 (s)	
111,8	C3 – PROT	1,21 (s)	
52,8 (CH ₂)	C8' – PROT	0,84 (s)	
21,4 (CH ₃)	C9 – PROT		
14,4 (CH ₃)	C9' – PROT		

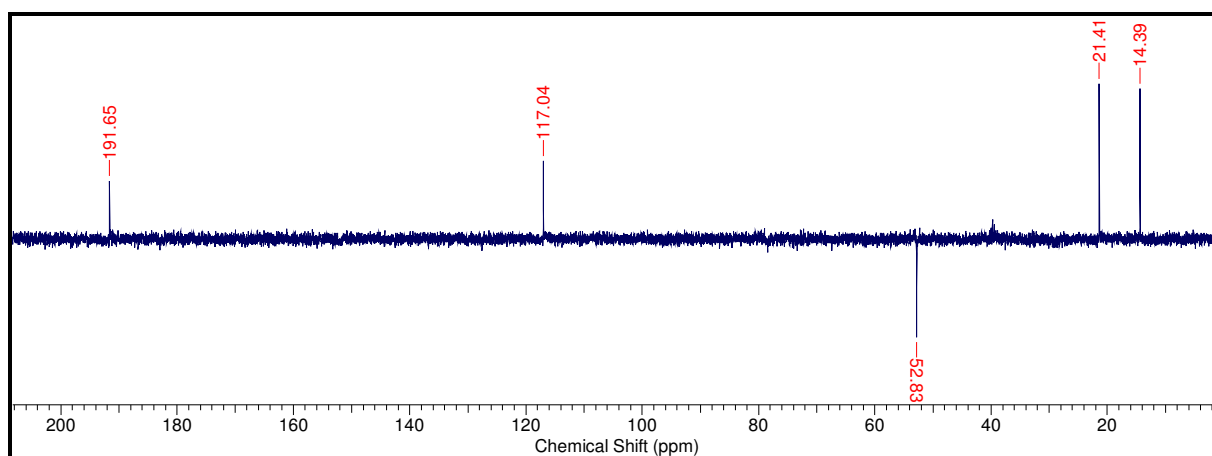
^a 300 MHz; ^b 75 MHz



Espectro 4 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *P. dilatatum* (DMSO-d_6)



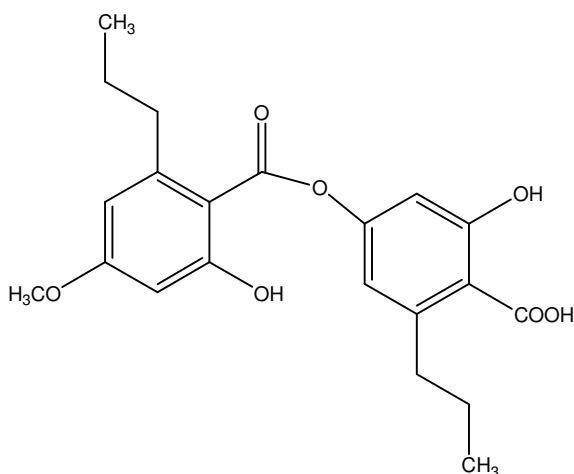
Espectro 5 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *P. dilatatum* (DMSO-d_6)



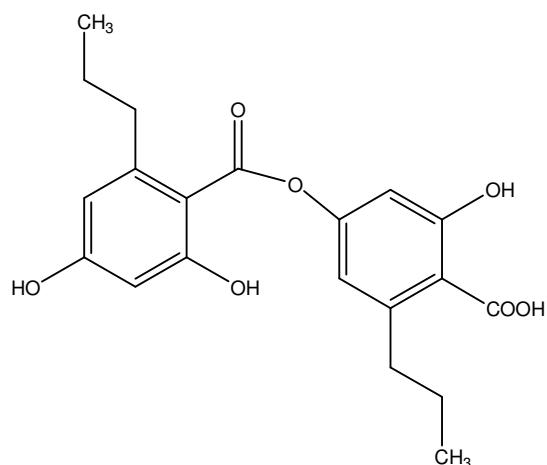
Espectro 6 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *P. dilatatum* (DMSO-d_6)

Canoparmelia texana (Tuck.) Elix & Hale

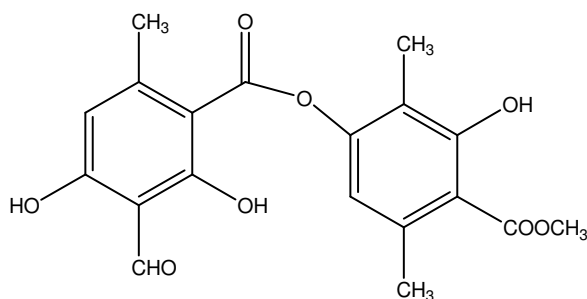
De acordo com Elix *et al.* (1986), atranorina, ácido divaricático e nordivaricático são substâncias de importância taxonômica para essa espécie.



Ácido divaricático



Ácido Nordivaricático



Atranorina

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *C. texana* foi cromatografado no eluente V. Observou-se ao menos 3 manchas no cromatograma. Sugere-se que a mancha de maior migração possa ser atribuída à presença de atranorina.

Além do depsídeo atranorina, o extrato contém ainda outras 2 substâncias que revelam cor vermelha nessas condições.



Ctex

Cromatograma 5 - Extrato de *C. texana*

Cromatograma 5: (Ctex= *C. texana*) **Eluente V:** tolueno/ ácido acético glacial (85:15 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Microcristalização (MC)

A análise por MC do extrato de *C. texana* indicou formas cristalinas características do ácido divaricático e atranorina em GAOt. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Foram obtidos espectros de RMN ^1H , ^{13}C e DEPT 135 em CDCl_3 .

O espectro de RMN ^1H do extrato de *C. texana* apresenta sinais de deslocamento químico que permitem confirmar a estrutura do depsídeo ácido divaricático. No espectro de RMN ^1H , sinais em 0,96 (t~m); 1,00 (t~m); 1,66 (m) e 2,96 ppm (m) podem ser atribuídos a cadeias alquílicas em C6' e C6. O sinal 3,83 ppm indica uma metoxila e os sinais em 6,38; 6,36 (2d, $J = 2,6$ Hz); 6,64 (d, $J = 2,2$ Hz) e 6,75 ppm (d, $J = 2,2$ Hz) podem ser atribuídos a hidrogênios ligados a anel aromático.

No espectro de RMN ^{13}C a região entre 14 e 40 ppm apresenta 6 sinais (14,16; 14,21; 24,8; 25,2; 38,5 e 39,1 ppm) que correspondem aos carbonos das duas cadeias n-propil ligadas à C6 e C6' da estrutura do ácido divaricático. O sinal em 55,4 ppm, é característico de metoxila. Os demais sinais são indicados na figura 5. Todos os sinais aqui atribuídos a essa molécula foram comparados e estão de acordo com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos do ácido perlatólico isolado e purificado (CDCl_3), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

Considerando que o cromatograma 5 (do extrato de *C. texana*) indica a presença de uma substância de Rf 0,34, portanto de polaridade um pouco maior que o ácido divaricático (Rf 0,54), é possível que essa mancha possa corresponder ao ácido nordivaricático. A diferença estrutural entre os ácidos divaricático e nordivaricático é uma metoxila ligada em C4. Com tal semelhança estrutural, os deslocamentos químicos apresentados pelos átomos de C e H do ácido nordivaricático devem coincidir com aqueles do ácido divaricático, exceto por C3, C4 e C5 (e seus respectivos hidrogênios ligados). Seria esperada uma desproteção desses sinais em cerca de 4 ppm, visto que a o grupo metoxila nessa posição proporciona um efeito γ de proteção em C5 e C3, como é observado em outras séries de compostos que se diferenciam pela presença de um grupo metoxila nessa posição. O espectro de RMN ^{13}C não apresenta sinais de deslocamento químico entre 100 e 102 ppm, onde seria esperado o sinal para C3, e também entre 113 e 115 ppm, onde seria esperado o sinal para C5 para o ácido nordivaricático.

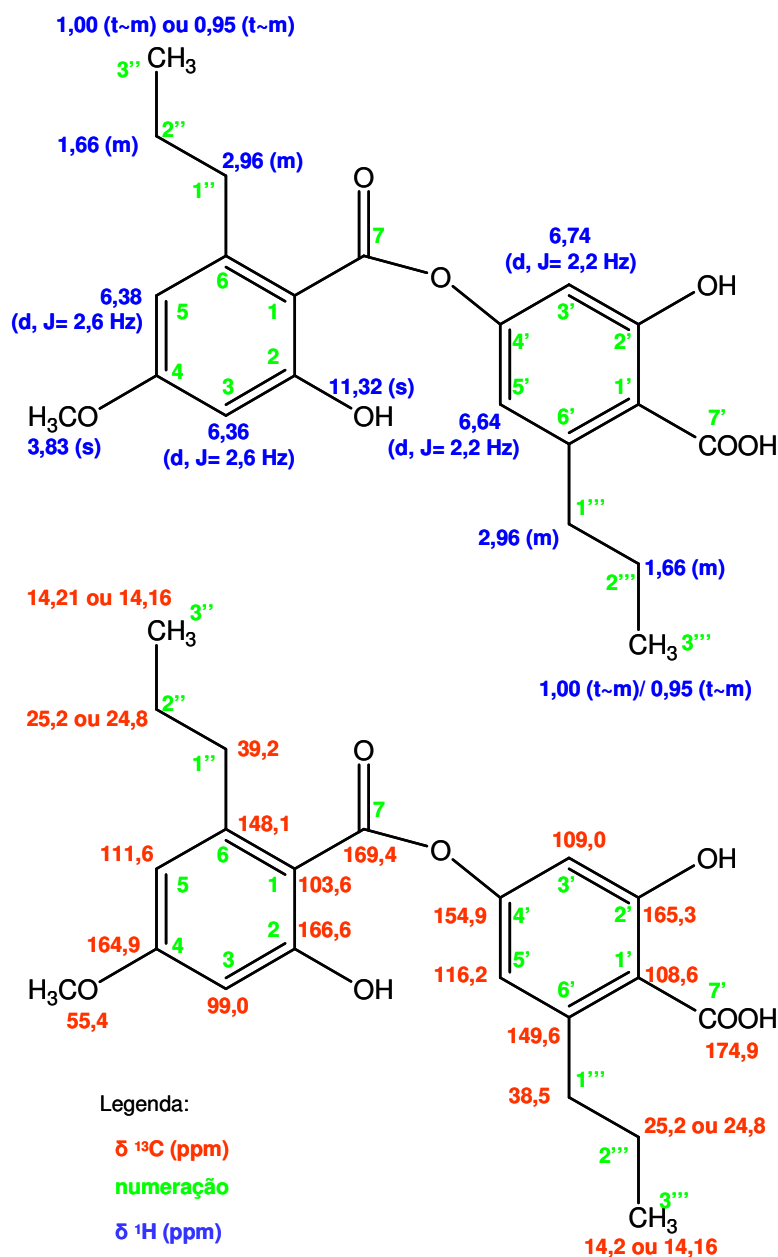


Figura 5 – Sinais de deslocamento químico para **ácido divaricático** presente no extrato de *C. texana* (CDCl_3).

O espectro de RMN ^1H apresenta, além dos sinais intensos que caracterizam o ácido divaricático, sinais de baixa intensidade na região característica para grupos metila ligados a anel aromático (entre 2,75 e 1,75 ppm), que são indicativos da presença do depsídeo atranorina e, possivelmente, também indicam a presença do seu derivado 5-cloroatranorina. Para avaliar essa possibilidade, o extrato de *C. texana* foi cromatografado no eluente IV.

O cromatograma 6 revela 2 manchas vermelhas, indicando que o extrato contém atranorina (R_f 0,5) e em menor proporção o derivado 5-cloroatranorina (R_f 0,43).



Ctex

Cromatograma 6 - Extrato de *C. texana*

Cromatograma 6: (Ctex= *C. texana*) **Eluente IV:** tolueno/ clorofórmio (1:1 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Dessa forma, os sinais em baixa intensidade 2,08; 2,53 e 2,68 ppm no espectro de RMN ^1H podem ser atribuídos para os hidrogênios ligados a C8', C9' e C9 da atranorina. Devido à similaridade entre as estruturas da atranorina e seu derivado clorado, é muito difícil atribuir seguramente sinais de δ para o derivado somente por comparação.

Os sinais de $\delta^1\text{H}$ para atranorina estão indicados na figura 6 e estão de acordo com aqueles descritos por König & Wright (1999) para este depsídeo. A estrutura da 5-cloroatranorina está indicada na figura 7.

Portanto, o extrato de *C. texana* contém atranorina, 5-cloroatranorina, ácido divaricático e possivelmente ácido nordivaricático.

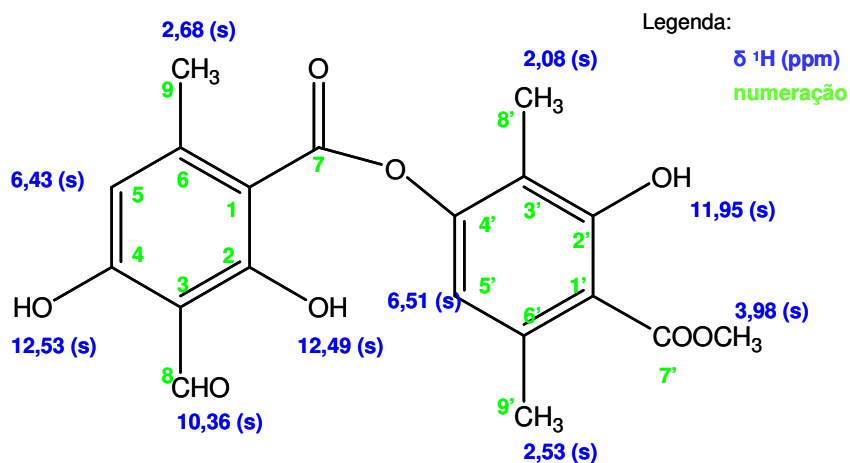


Figura 6 – Sinais de deslocamento químico para **atranorina** presente no extrato de *C. texana* (CDCl_3).

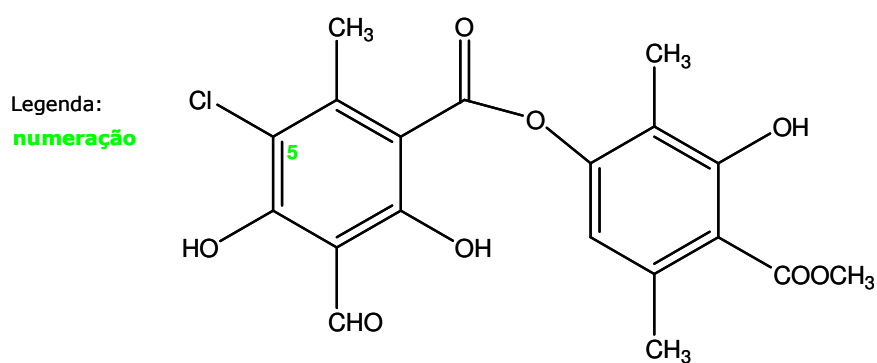


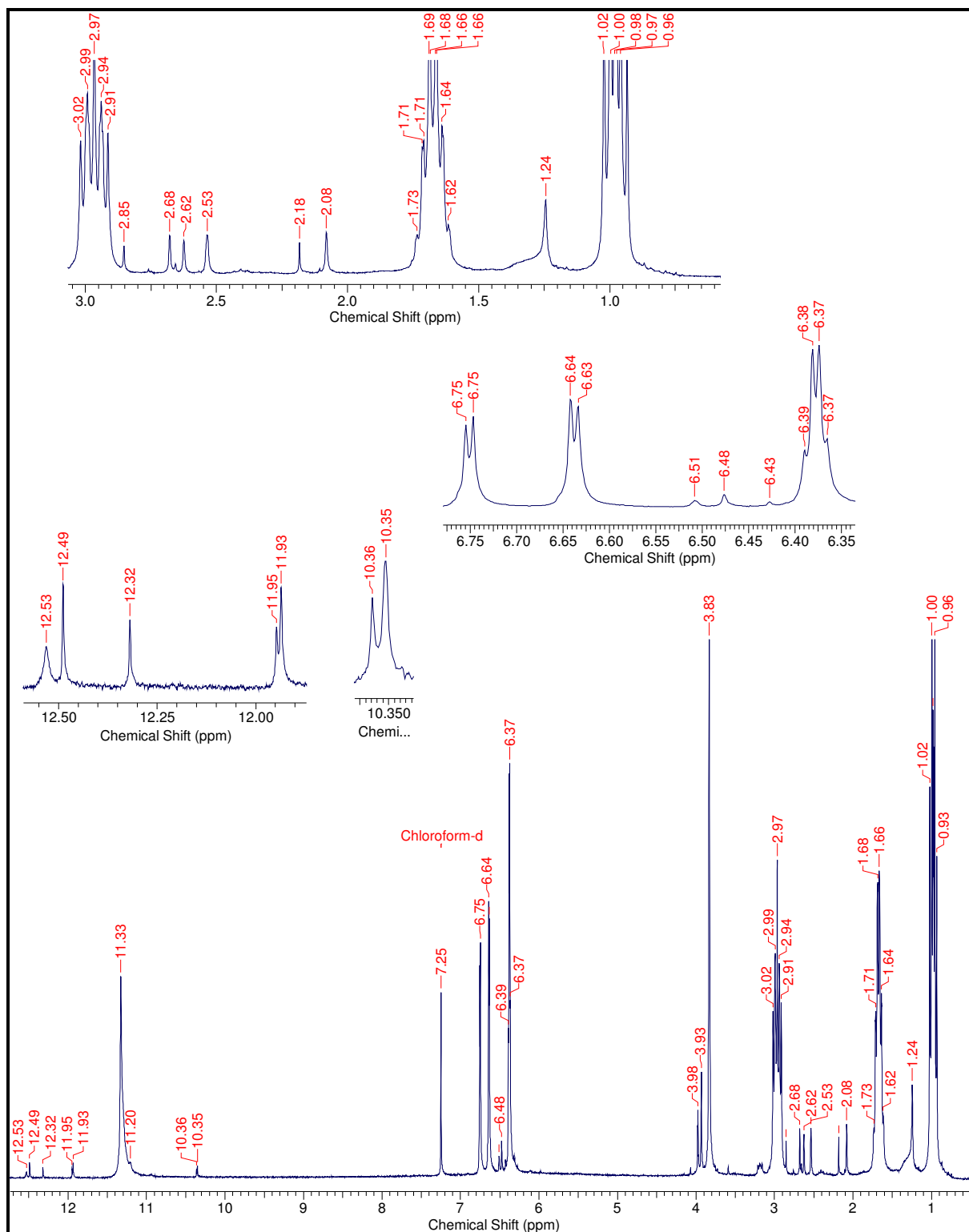
Figura 7 – Depsídeo **5-cloroatranorina** presente no extrato de *C. texana*.

Tabela 3* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *C. texana* (CDCl_3) e atribuição de sinais para **ácido divaricático (DIVA)** e **atranorina (ATR)**.

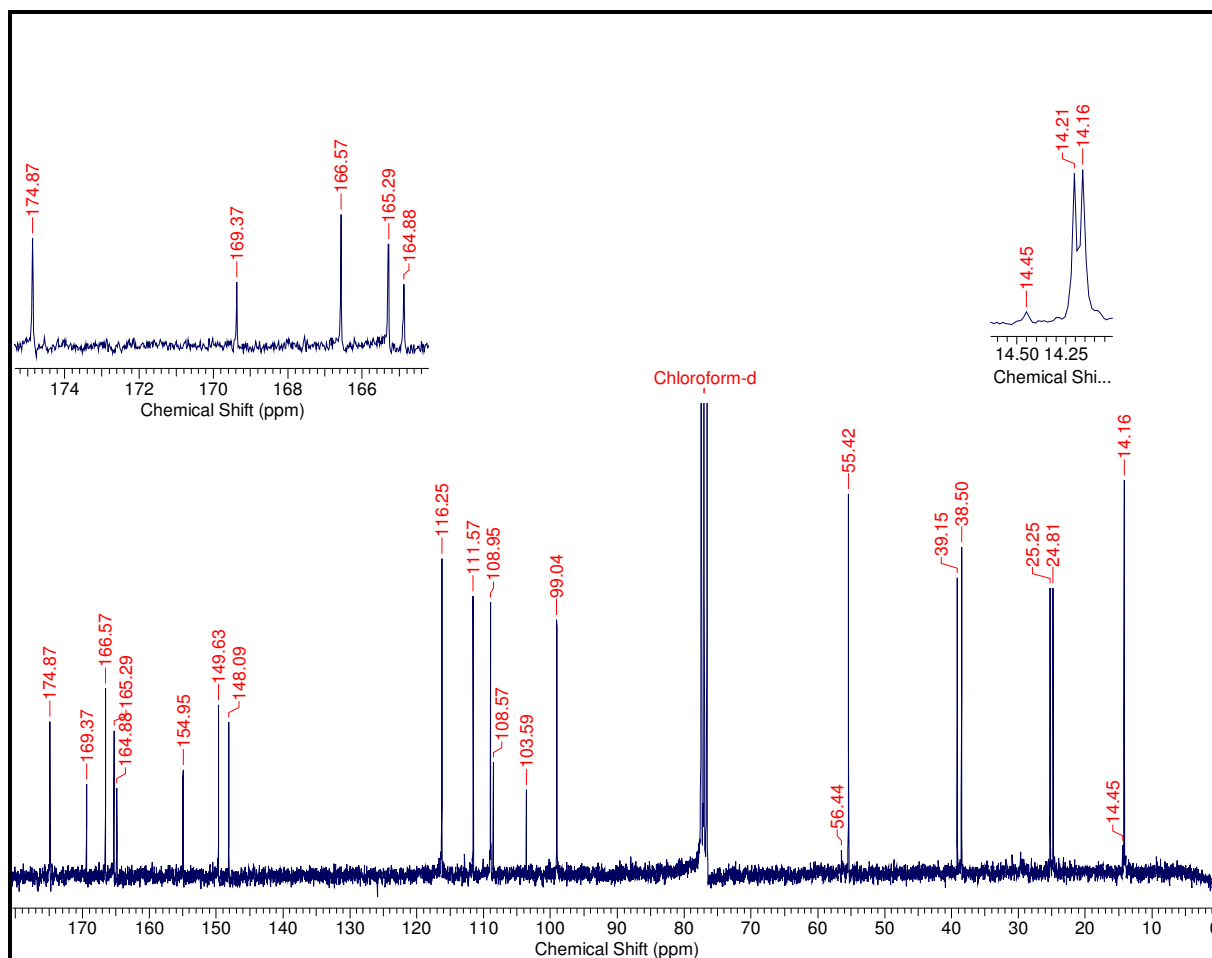
$\delta^{13}\text{C}^a$		$\delta^1\text{H}^b$	
(DEPT 135)	C - substância	(multiplicidade)	H - substância
174,9	C7' – DIVA	12,53 (sl)	OH(C4) – ATR
169,4	C7 – DIVA	12,49 (s)	OH(C2) – ATR
166,6	C2 – DIVA	12,32 (s)	
165,3	C2' – DIVA	11,95 (s)	OH(C2') – ATR
164,9	C4 – DIVA	11,93 (s)	
154,9	C4' – DIVA	11,33 (s)	OH(C2) – DIVA
149,6	C6' – DIVA	11,21 (s)	
148,1	C6 – DIVA	10,36 (s)	CHO(C8) – ATR
116,2 (CH)	C5' – DIVA	10,35 (s)	
111,6 (CH)	C5 – DIVA	6,75 (d, J= 2,2 Hz)	H(C3') – DIVA
109,0 (CH)	C3' – DIVA	6,64 (d, J=2,2 Hz)	H(C5') – DIVA
108,6	C1' – DIVA	6,51 (s)	H(C5') – ATR
103,6	C1 – DIVA	6,48 (s)	
99,0 (CH)	C3 – DIVA	6,43 (s)	H(C5) – ATR
56,4 (CH ou CH_3)		6,38 (d~q, J=2,6 Hz)	H(C5) – DIVA
55,4 (CH_3)	OCH_3 (C4) – DIVA	6,36 (d~q, J=2,6 Hz)	H(C3) – DIVA
39,2 (CH_2)	C1'' – DIVA	3,98 (s)	COOCH_3 (C7') – ATR
38,5 (CH_2)	C1''' – DIVA	3,93 (s)	
25,2 (CH_2)	C2' – DIVA e	3,83 (s)	OCH_3 (C4) – DIVA
24,8 (CH_2)	C2''' – DIVA	2,96 (m)	H(C1'') – DIVA e H(C1''') – DIVA
14,5		2,85 (s)	
14,21 (CH_3)	C3' – DIVA e	2,68 (s)	H(C9) – ATR
14,16 (CH_3)	C3''' – DIVA	2,62 (s)	
		2,53 (s)	H(C9') – ATR
		2,18 (s)	
		2,08 (s)	H(C8') – ATR
		1,66 (m)	H(C2'') – DIVA e H(C2''') – DIVA
		1,24 (sl)	
		1,00 (t~m)	H(C3'') – DIVA e
		0,95 (t~m)	H(C3''') – DIVA

^a 300 MHz; ^b 75 MHz

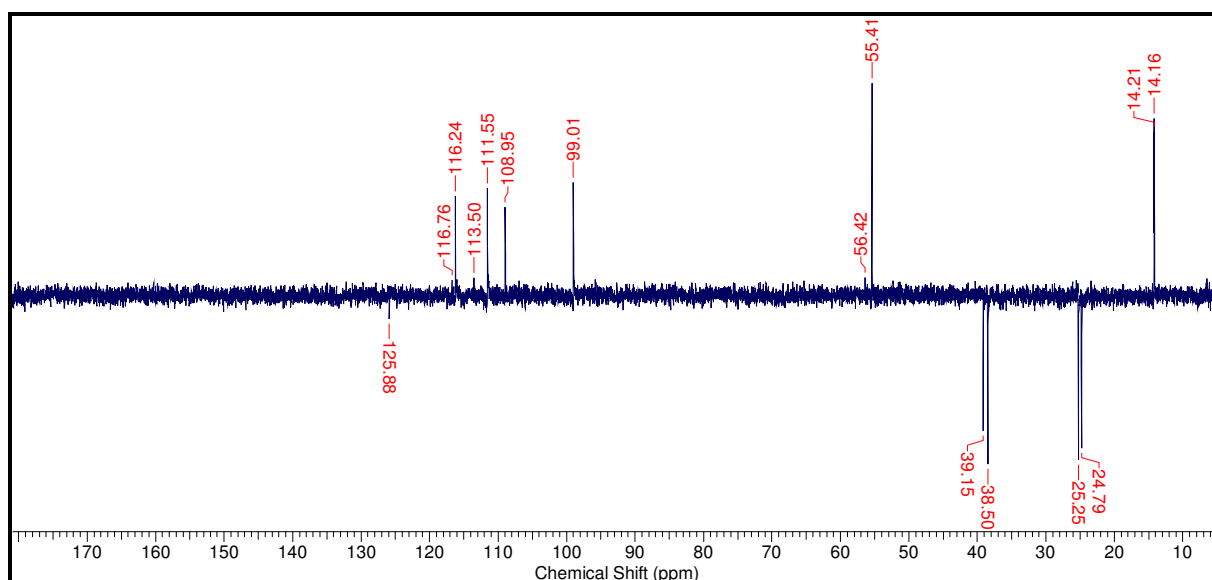
*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes.



Espectro 7 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *C. texana* (CDCl_3)



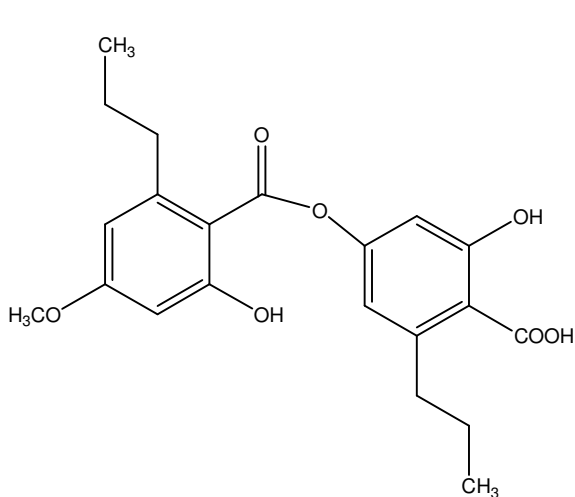
Espectro 8 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *C. texana* (CDCl_3)



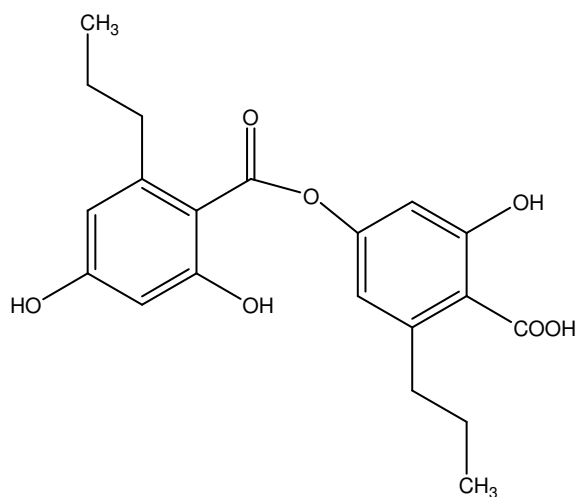
Espectro 9 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *C. texana* (CDCl_3)

Canoparmelia ecaperata (Müll. Arg.) Elix & Hale

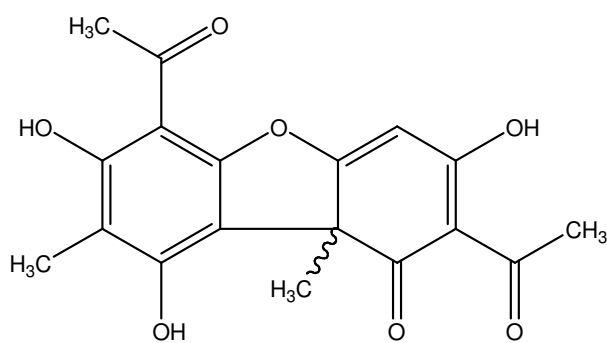
Para essa espécie, os ácidos úsnico, divaricático e nordivaricático são as substâncias de importância taxonômica (Elix *et al.* 1986).



Ácido divaricático



Ácido Nordivaricático



Ácido úsnico

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *C. ecaperata* foi cromatografado no eluente V. No cromatograma observa-se ao menos 3 manchas, sendo que a mancha de maior migração pode ser atribuída à presença do ácido úsnico, já que a cor roxa apresentada nessa condição de revelação é bastante característica para tal substância.

Além do ácido úsnico, o extrato de *C. ecaperata* contém ainda outras 2 substâncias que revelam cor vermelha nessas condições (Rf 0,34 e 0,54) e uma outra de cor vermelha menos intensa e de Rf 0,28.



Cecap

Cromatograma 7 - Extrato de *C. ecaperata*

Cromatograma 7: (Cecap= *C. ecaperata*) **Eluente V:** tolueno/ ácido acético glacial (85:15 v/v/v).
Revelador: metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Microcristalização (MC)

A análise por MC do extrato de *C. ecaperata* indicou em GE formas cristalinas características do ácido divaricático e ácido úsnico. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Foram obtidos espectros de RMN ^1H , ^{13}C e DEPT 135 em CDCl_3 .

O cromatograma do extrato de *C. ecaperata* apresenta muita semelhança com o de *C. texana*, nas mesmas condições. Também são semelhantes os sinais de deslocamento químico mais intensos nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , indicando a semelhança entre as composições químicas das duas espécies. E da mesma forma como foi conduzida a atribuição do ácido divaricático em *C. texana* foi possível identificar e atribuir sinais de δ para essa substância em *C. ecaperata*. A atribuição de sinais de δ à estrutura do ácido divaricático (indicados nas figuras 8 e 9) foi comparada e está de acordo com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos do ácido perlatólico isolado e purificado (CDCl_3), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

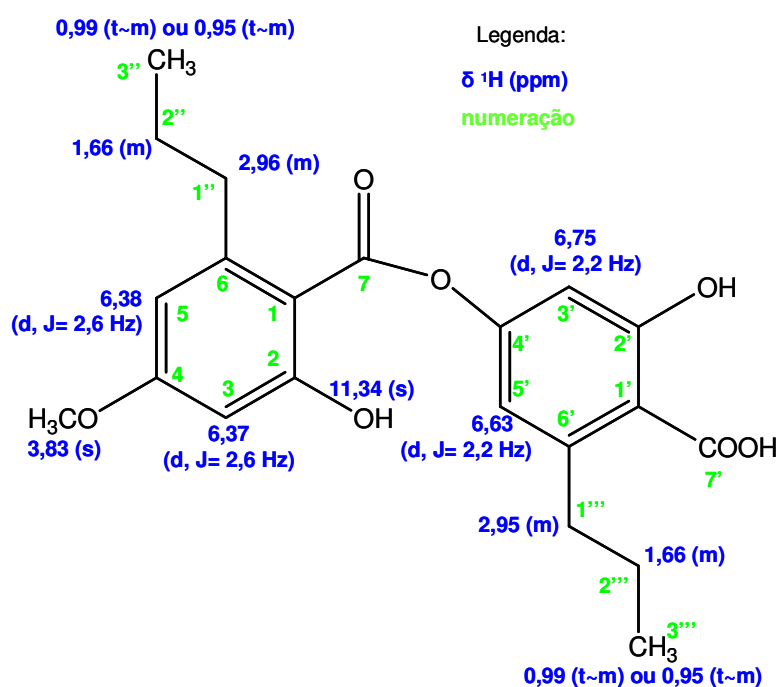


Figura 8 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ^1H para **ácido divaricático** presente no extrato de *C. ecaperata* (CDCl_3).

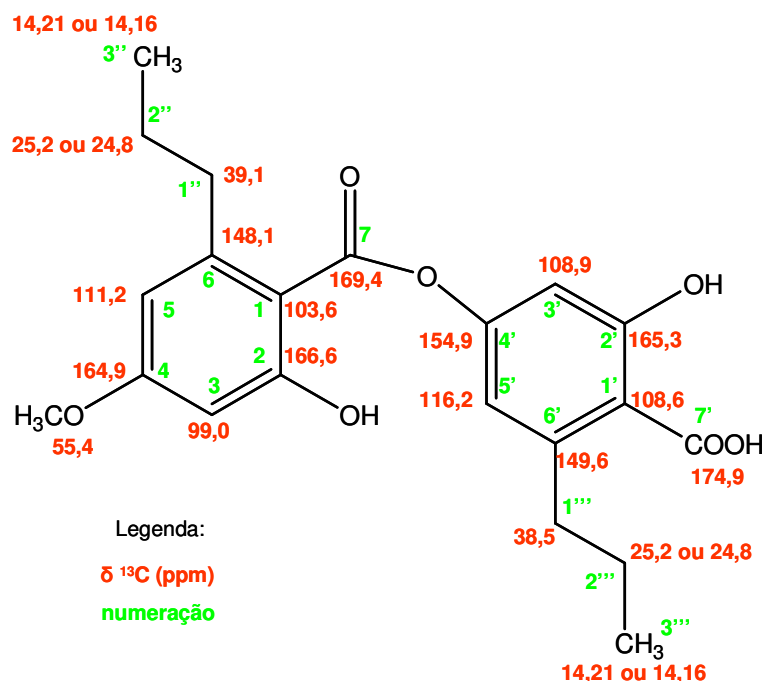


Figura 9 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ^{13}C para **ácido divaricático** presente no extrato de *C. ecaperata* (CDCl_3).

Após a confirmação da presença do ácido divaricático através da observação dos dados de RMN obtidos a partir do extrato de *C. ecaperata* em CDCl_3 , foram obtidos também espectros de RMN 2D a partir desse mesmo extrato em DMSO-d_6 . Esse procedimento foi necessário para que a atribuição do ácido divaricático em DMSO-d_6 pudesse ser comparada com dados espectrais obtidos de outras espécies nesse mesmo solvente, já que nenhuma informação semelhante pôde ser encontrada na literatura. Esses dados estão indicados na página 244 em “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”.

No espectro de RMN ^1H também são observados, além dos sinais intensos que caracterizam o ácido divaricático, sinais de baixa intensidade acima de 10 ppm, indicando hidroxilas ligadas a anel aromático, um singlete em 5,98 ppm e também sinais na região entre 1,5 e 3 ppm, característicos de grupos metila. No espectro de RMN ^{13}C também aparecem com intensidade reduzida sinais característicos de grupos metila (na região de 7,5 a 33 ppm) e um sinal em 98,3 ppm, sendo que todos esses sinais são indicativos da presença do ácido úsnico nesse extrato e estão indicados na figura 10. Os sinais indicados concordam com aqueles publicados por König & Wright (1999). Os demais sinais de ^{13}C previstos para a estrutura do ácido úsnico não são visíveis no espectro possivelmente devido à mais baixa

intensidade que é natural aos sinais de C quaternários. A presença do ácido úsnico no extrato é confirmada também por cromatografia e MC.

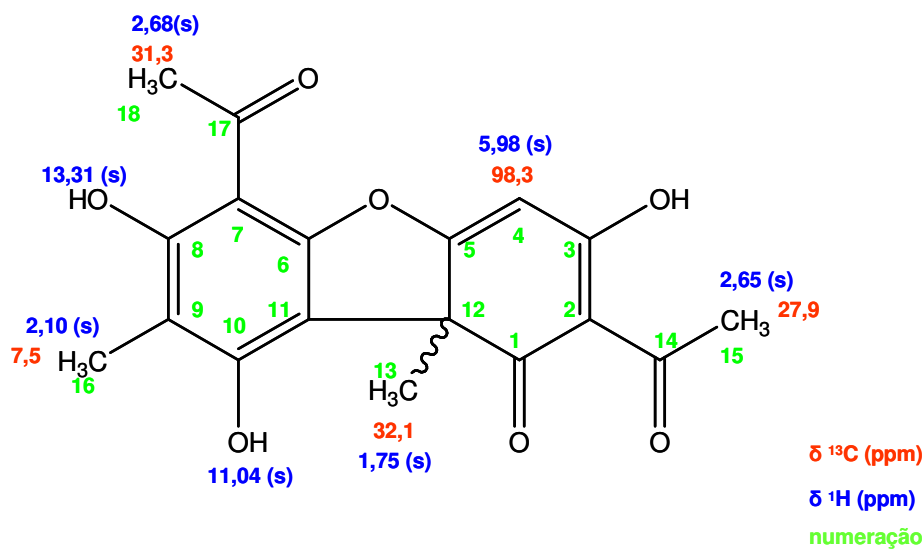


Figura 10 – Sinais de deslocamento químico para **ácido úsnico** presente no extrato de *C. ecaperata* (CDCl_3).

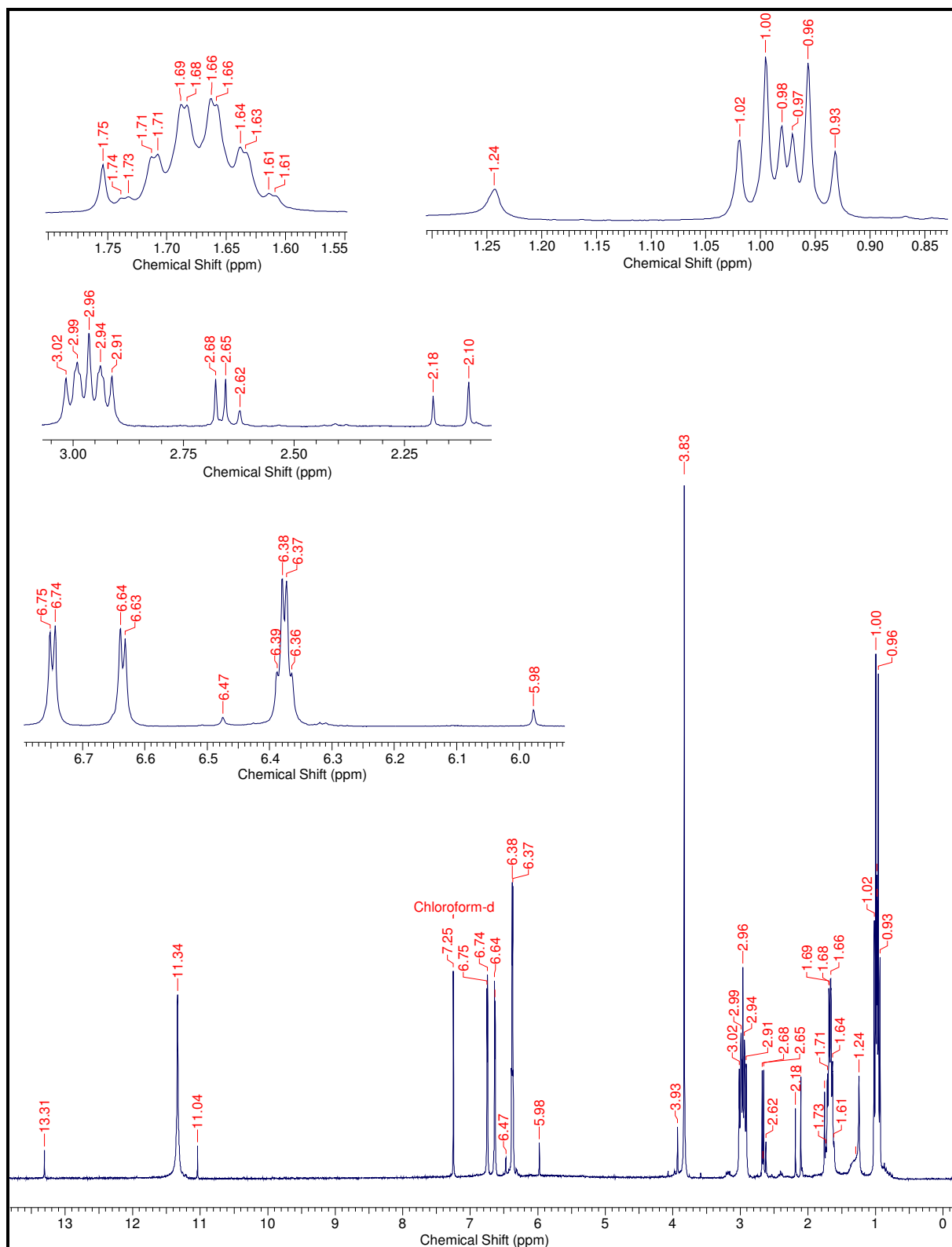
Além dessas substâncias, o extrato de *C. ecaperata* apresenta ainda na cromatografia uma substância de R_f 0,34. Devido à baixa concentração dessa substância no extrato, em relação ao ácido divaricático, os sinais de deslocamento químico para essa substância nos espectros de RMN não são detectados. Essa substância pode ser o ácido nordivaricático, conforme Elix & Hale (1986). Entretanto, não ocorre microcristalização nas soluções testadas, o que dificulta a caracterização química da substância de R_f 0,34. A substância de R_f 0,28 também não pôde ser identificada pelas análises realizadas com o extrato de *C. ecaperata*.

Tabela 4* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *C. ecaperata* (CDCl_3) e atribuição de sinais para **ácido divaricático (DIVA)** e **ácido úsnico (USN)**.

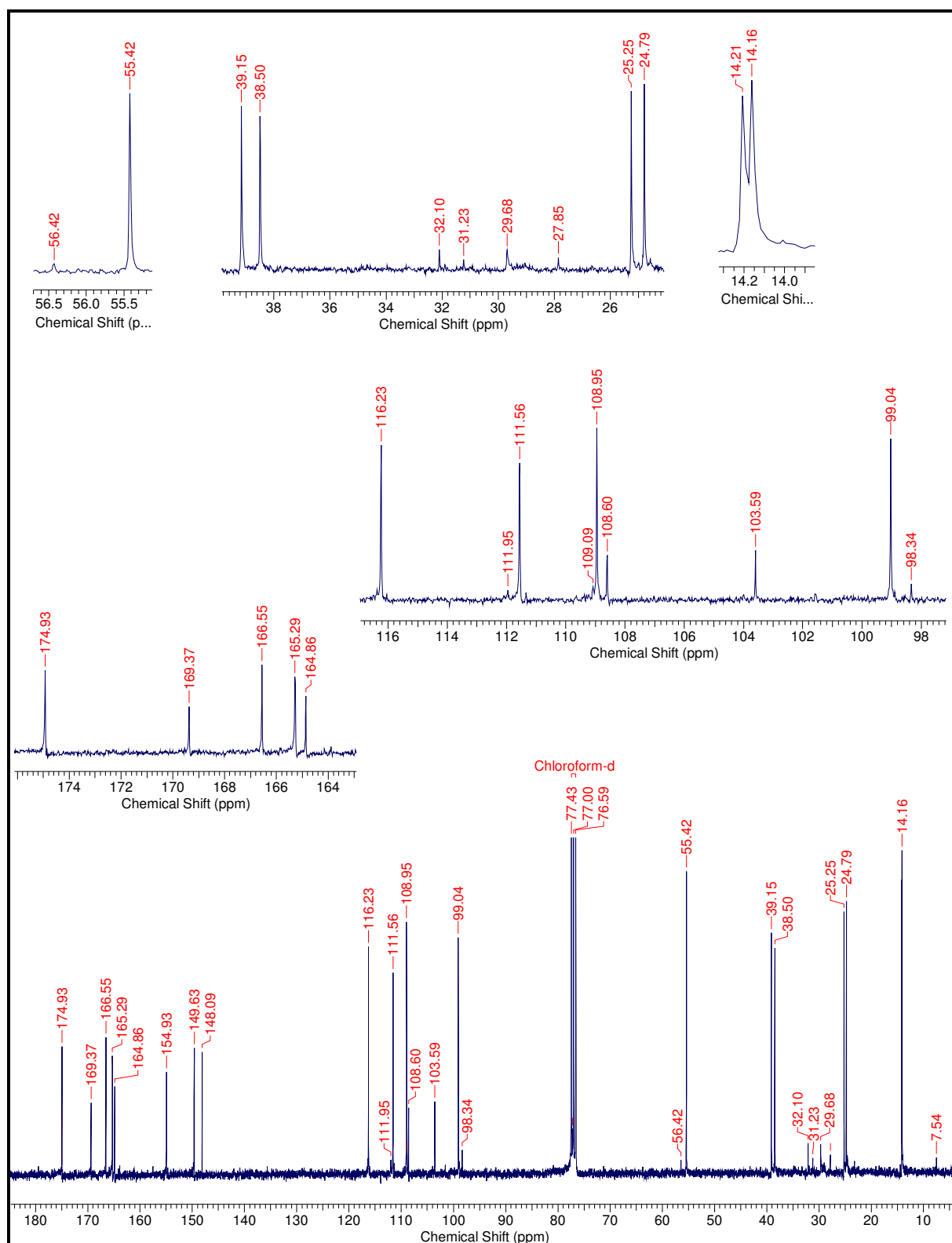
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
174,9	C7' - DIVA	13,31 (s)	OH(C8) - USN
169,4	C7 - DIVA	11,34 (s)	OH(C2) - DIVA
166,6	C2 - DIVA	11,04 (s)	OH(C10) - USN
165,3	C2' - DIVA	6,75 (d, J=2,2 Hz)	H(C3') - DIVA
164,9	C4 - DIVA	6,63 (d, J=2,2 Hz)	H(C5') - DIVA
154,9	C4' - DIVA	6,47 (s)	
149,6	C6' - DIVA	6,38 (d, J=2,6 Hz)	H(C5) - DIVA
148,1	C6 - DIVA	6,37 (d, J=2,6 Hz)	H(C3) - DIVA
116,2 (CH)	C5' - DIVA	5,98(s)	H(C4) - USN
112,0		3,93 (s)	
111,2 (CH)	C5 - DIVA	3,83 (s)	OCH ₃ (C4) - DIVA
109,1		2,96 (m)	H(C1'') - DIVA e H(C1''') - DIVA
109,0 (CH)	C3' - DIVA	2,68 (s)	H(C18) - USN
108,6	C1' - DIVA	2,65 (s)	H(C15) - USN
103,6	C1 - DIVA	2,18 (s)	
99,0	C3 - DIVA	2,10 (s)	H(C16) - USN
98,3 (CH)	C4 - USN	1,75 (s)	H(C13) - USN
56,4		1,67 (m)	H(C2'') - DIVA e H(C2''') - DIVA
55,4 (CH ₃)	OCH ₃ (C4) - DIVA	1,24 (sl)	
39,2 (CH ₂)	C1'' - DIVA	0,99 (t~m)	H(C3'') - DIVA e
38,5 (CH ₂)	C1''' - DIVA	0,95 (t~m)	H(C3''') - DIVA
32,1 (CH ₃)	C13 - USN		
31,2 (CH ₃)	C18 - USN		
29,7			
27,9 (CH ₃)	C15 - USN		
25,2 (CH ₂)	C2' - DIVA e		
24,8 (CH ₂)	C2''' - DIVA		
14,21 (CH ₃)	C3' - DIVA e		
14,16 (CH ₃)	C3''' - DIVA		
7,5 (CH ₃)	C16 - USN		

^a 300 MHz; ^b 75 MHz

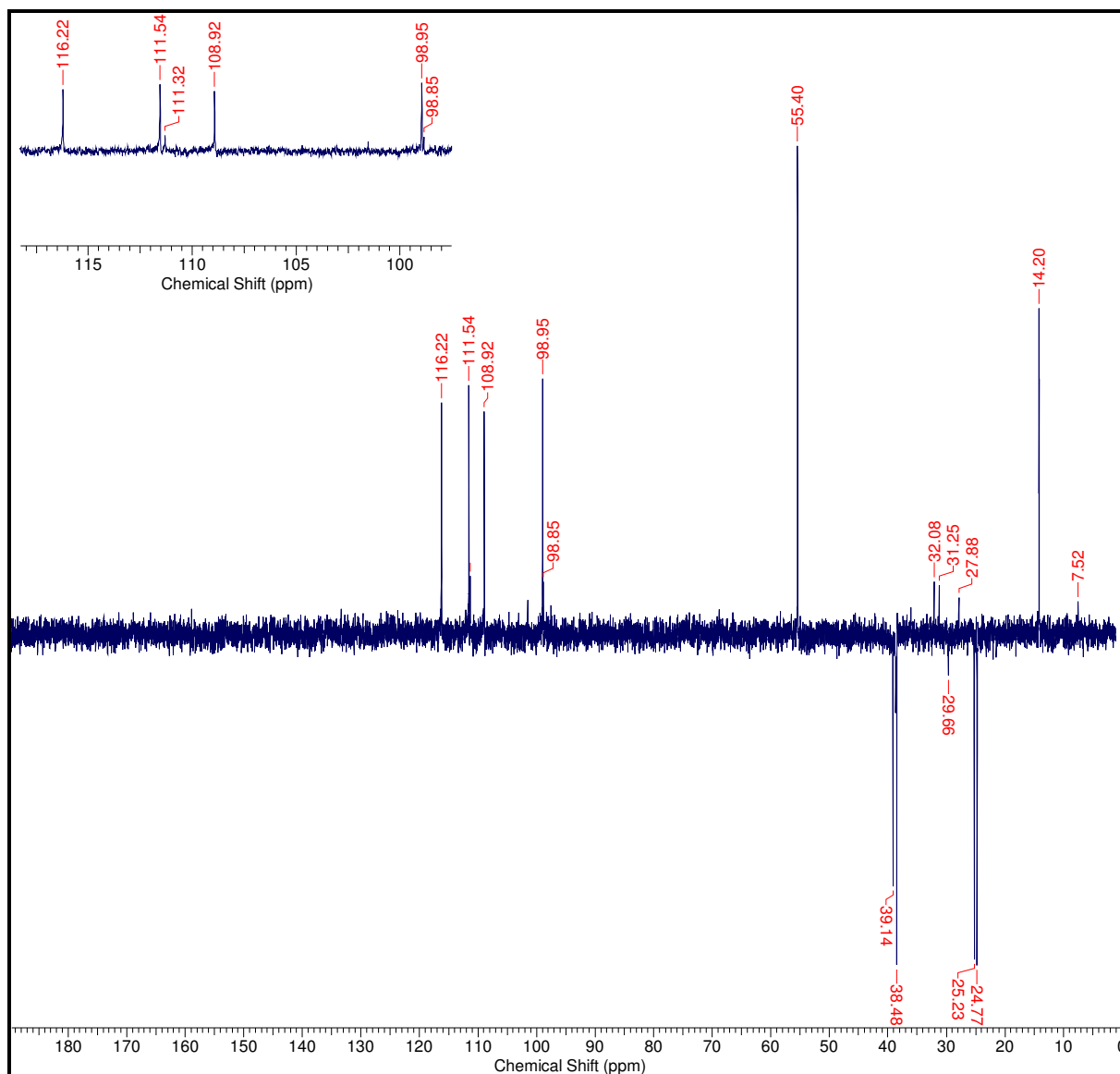
*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes.



Espectro 10 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *C. ecaperata* (CDCl_3)



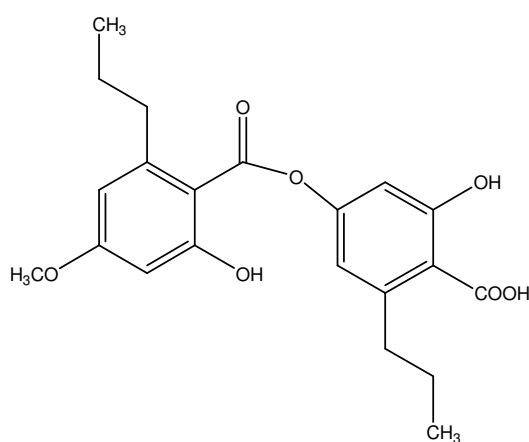
Espectro 11 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *C. ecaperata* (CDCl_3)



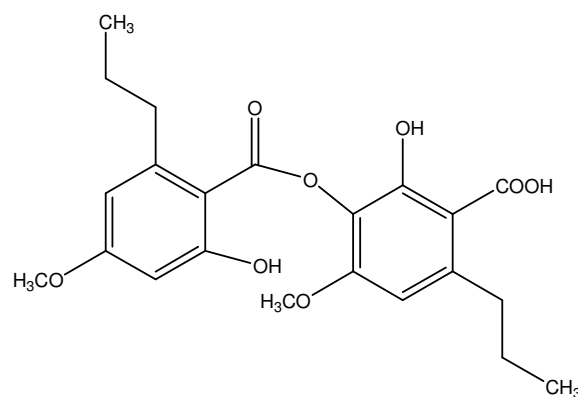
Espectro 12 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *C. ecaperata* (CDCl_3)

Dirinaria aspera (H. Magn.) Awasthi

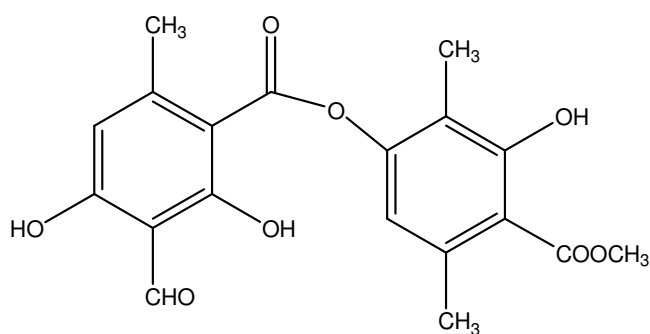
São de importância taxonômica para essa espécie a atranorina e os ácidos divaricático e sequicáico (Culberson *et al.* 1977).



Ácido divaricático



Ácido sequicáico

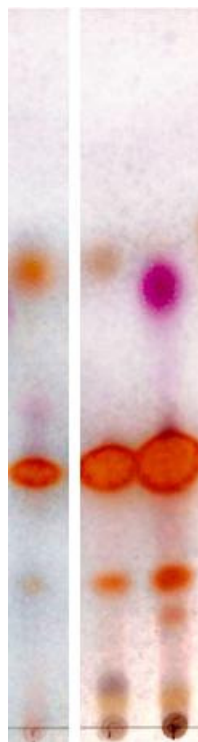


Atranorina

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *D. aspera* foi cromatografado no eluente V. No cromatograma observa-se ao menos 2 manchas, sendo que a mancha de maior migração pode ser atribuída à presença de atranorina.

Além do depsídeo atranorina, o extrato de *D. aspera* contém ainda outra mancha de revelação intensa de cor vermelha nessas condições, o que indica presença de outra substância (Rf 0,35).



Daspe – Ctexa - Cecap

Cromatograma 8 - Extrato de *D. aspera*

Cromatograma 8: (Daspe= *D. aspera*; Ctexa= *Canoparmelia texana*; Cecap= *Canoparmelia ecaperata*)

Eluente V: tolueno/ ácido acético glacial (85:15 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Microcristalização (MC)

A análise por MC do extrato de *D. aspera* indicou em GE formas cristalinas características do ácido divaricático e ainda, atranorina em GAoT. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Foram obtidos espectros de RMN ^1H , ^{13}C e DEPT 135 em DMSO- d_6 .

O cromatograma do extrato de *D. aspera* apresenta-se muito semelhante aos de *C. texana* e *C. ecaperata*, nas mesmas condições. Também é possível observar semelhanças entre os espectros das três espécies, apesar de terem sido obtidos em solventes diferentes.

No espectro de RMN de ^1H é possível observar um singlete em 10,23 ppm, que sugere uma hidroxila. Na região característica dos hidrogênios aromáticos, dois dubletes com $J \sim 2\text{Hz}$ e um singlete largo indicam hidrogênios aromáticos com acoplamento meta. Um sinal intenso em 3,74 ppm indica hidrogênios característicos de metoxila, e ainda, 3 multipletes em 2,63; 1,55 e 0,87 ppm dão indícios de cadeia alquílica com 3 carbonos.

Nos espectros de RMN de ^{13}C , 4 sinais intensos em 99,0; 106,8; 106,9 e 112,8 ppm, são facilmente diferenciados dos demais no espectro de RMN de DEPT 135 e indicam 4 carbonos aromáticos ligados a hidrogênios. Um sinal em 55,1 ppm, também diferenciável no espectro de DEPT 135 como um carbono ligado a 3 hidrogênios, indica uma metoxila. Além desses, 5 sinais indicam 2 cadeias alquílicas com 3 carbonos cada: 23,9; 24,1 35,6 e 35,7 ppm, todos CH_2 , e um sinal em 13,8 ppm, indicando a metila terminal. Todos esses sinais, entre outros, indicam e confirmam a presença do ácido divaricático no extrato de *D. aspera*. Todos os sinais atribuídos ao ácido divaricático estão indicados na figura 11 e concordam com a atribuição feita para esse depsídeo através de dados obtidos a partir dos espectros de RMN 2D do extrato de *C. ecaperata* em DMSO-d_6 , o qual comprovadamente contém essa substância. A atribuição do ácido divaricático em DMSO-d_6 a partir de *C. ecaperata* está indicada na página 244 em “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”.

No espectro de RMN ^1H também são observados, além dos sinais intensos que caracterizam o ácido divaricático, um singlete em 3,87 ppm, característico de éster metílico, e também singletes na região de hidrogênios aromáticos, além de sinais característicos de grupos metila, abaixo de 3 ppm. No espectro de RMN ^{13}C também aparecem com intensidade reduzida sinais característicos de grupos metila (em 21,14 e 21,06 ppm) e um sinal em 52,1 ppm, sendo que todos esses sinais são indicativos da presença da atranorina nesse extrato e estão indicados na figura 12. Os sinais indicados concordam com a atribuição feita para o depsídeo atranorina em DMSO-d_6 a partir de espectros de RMN 2D, e estão indicados na página 244 em “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”. Os demais sinais de ^{13}C previstos para a estrutura da atranorina não são visíveis no espectro possivelmente devido a mais baixa proporção dessa substância no extrato. A presença dessa substância no extrato é confirmada também por cromatografia e MC.

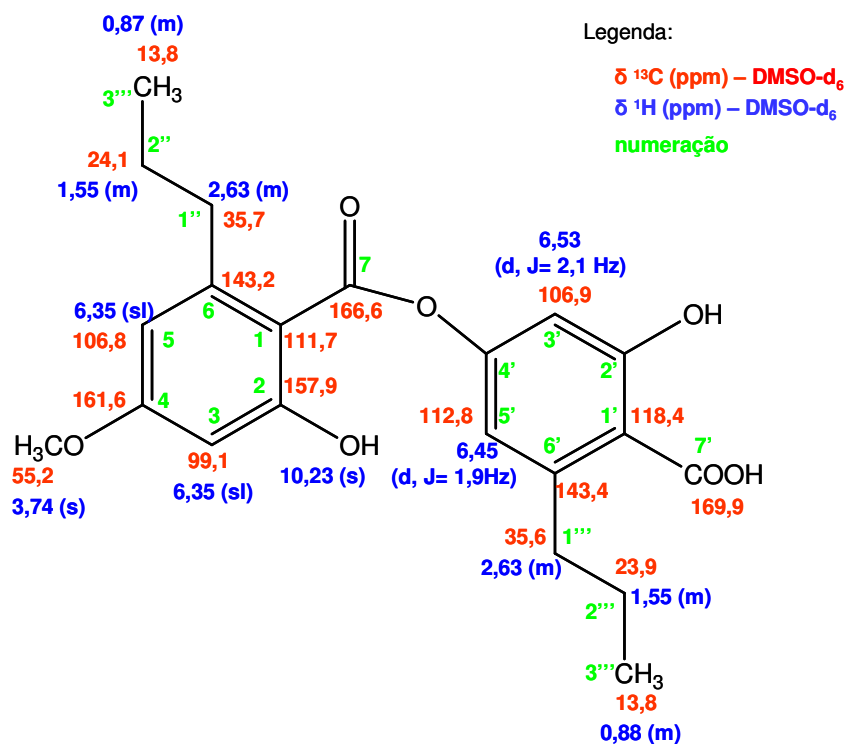


Figura 11 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ^1H para **ácido divaricático** presente no extrato de *D. aspera* (DMSO- d_6).

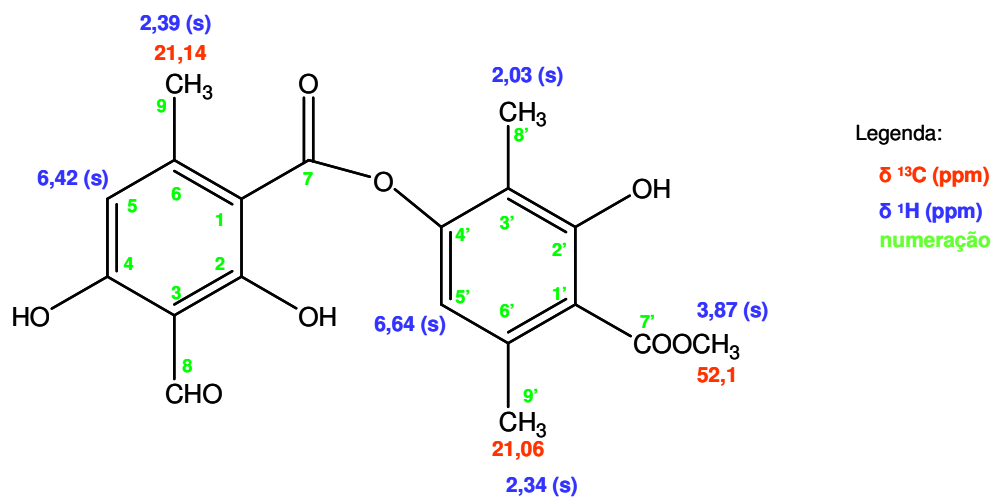


Figura 12 – Sinais de deslocamento químico para **atranorina** presente no extrato de *D. aspera* (DMSO- d_6).

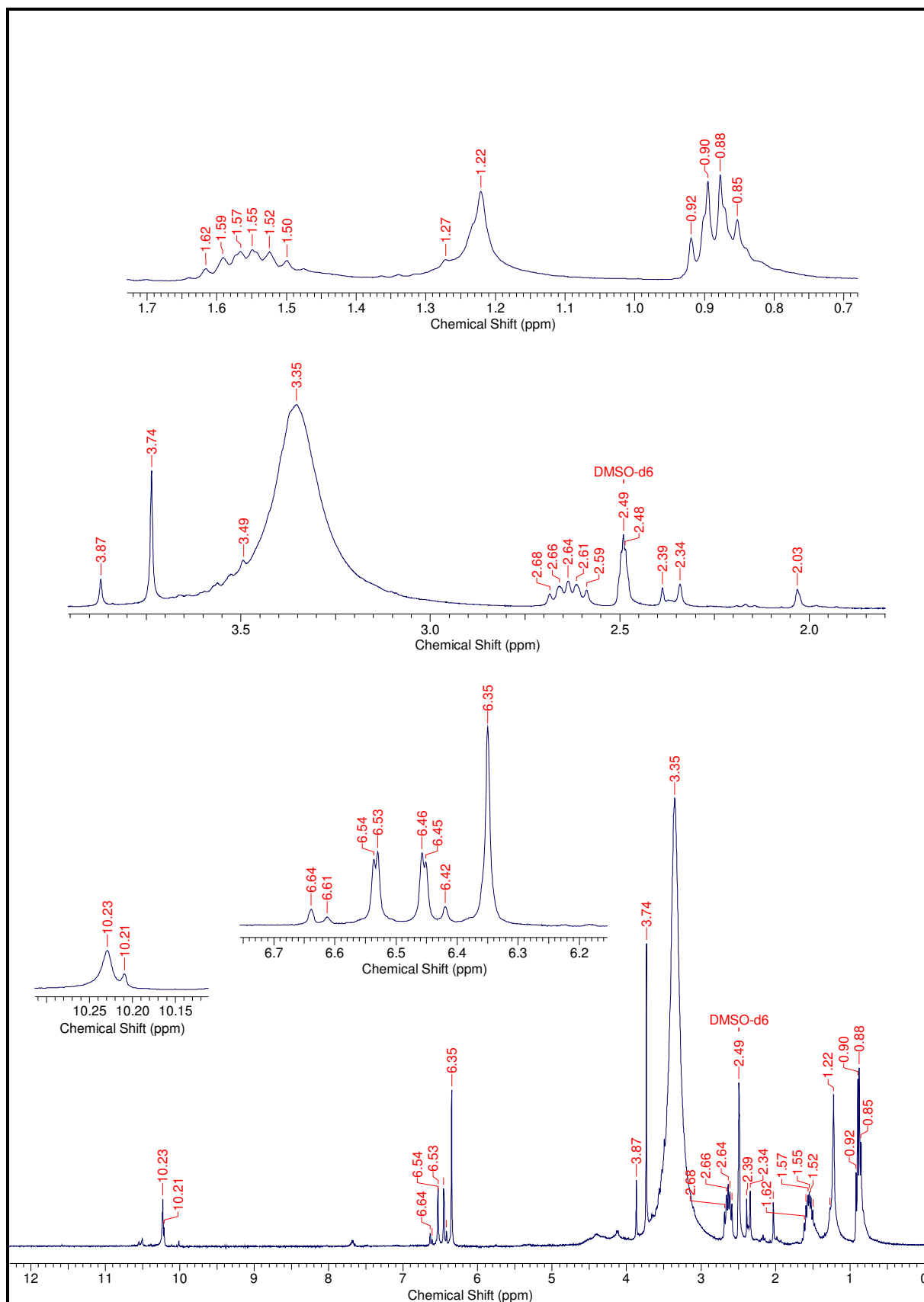
Além do ácido divaricático e da atranorina, o extrato de *D. aspera* apresenta ainda na cromatografia algumas substâncias em baixa concentração que não puderam ser identificadas entre essas pode estar incluído o ácido sequicáico.

Tabela 5* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *D. aspera* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para **ácido divaricático (DIVA)** e **atranorina (ATR)**.

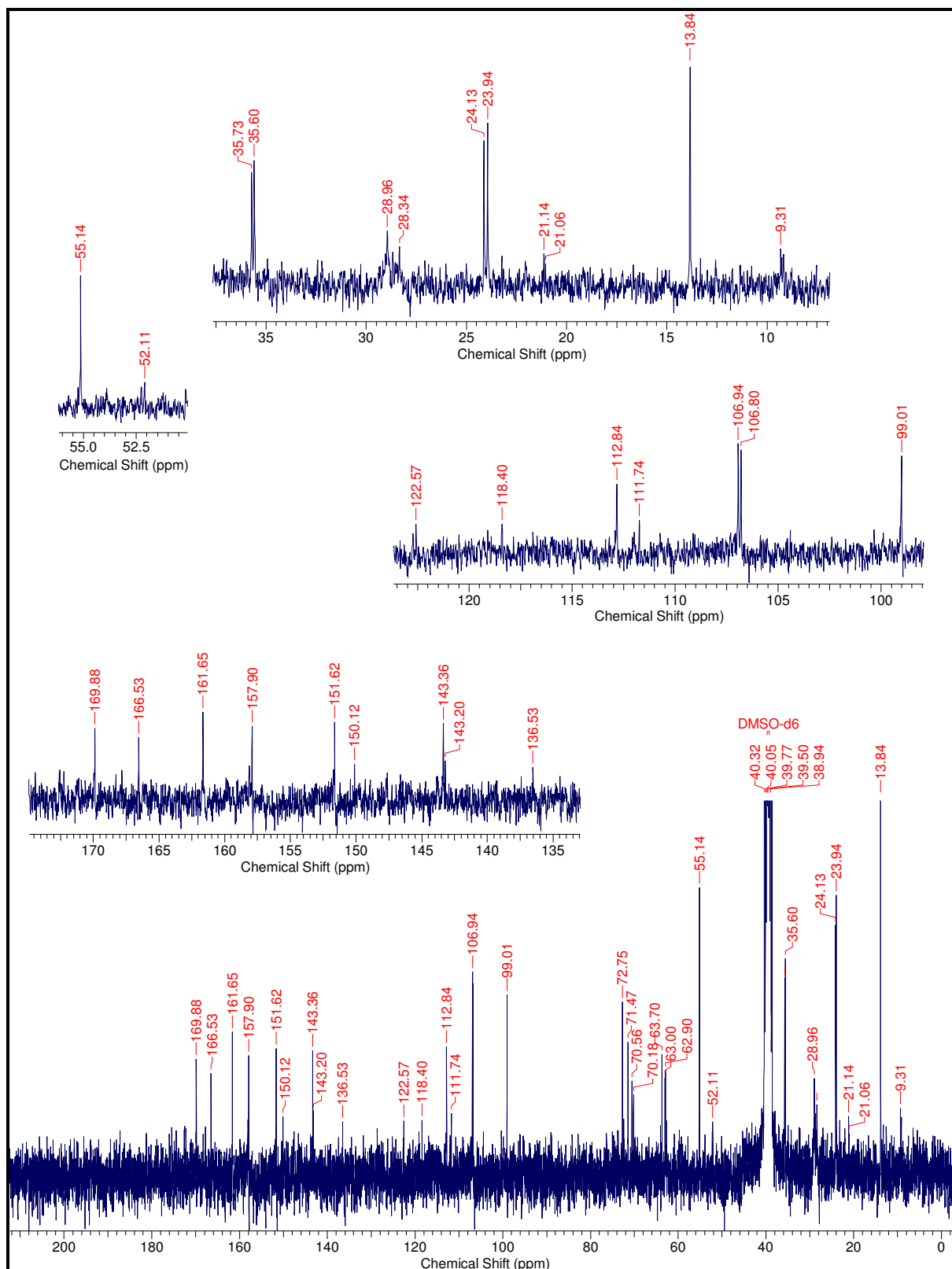
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
169,9	C7' – DIVA	10,23 (s)	OH(C2) – DIVA
166,5	C7 – DIVA	10,21 (s)	
161,6	C4 – DIVA	6,64 (s)	H(C5') – ATR
157,9	C2 – DIVA	6,61 (s)	
151,6		6,53 (d, J= 2,1Hz)	H(C3') – DIVA
150,1		6,45 (d, J= 1,9Hz)	H(C5') – DIVA
143,4	C6 – DIVA	6,42 (s)	H(C5) – ATR
143,2	C6' – DIVA	6,35 (sl)	H(C5) – DIVA e H(C3) – DIVA
136,5		3,87(s)	COOCH ₃ (C7') – ATR
122,6		3,74 (s)	OCH ₃ (C4) – DIVA
118,4	C1' – DIVA	2,63 (m)	H(C1'') – DIVA e H(C1''') – DIVA
112,8 (CH)	C5' – DIVA	2,39 (s)	H(C9) – ATR
111,7	C1 – DIVA	2,34 (s)	H(C9') – ATR
106,9 (CH)	C3' – DIVA	2,03 (s)	H(C8') – ATR
106,8 (CH)	C5 – DIVA	1,55 (m)	H(C2'') – DIVA e H(C2''') – DIVA
99,0 (CH)	C3 – DIVA	1,22 (sl)	
72,8 (CH)	Açúcar(es)	0,87 (m)	H(C3'') – DIVA e H(C3''') – DIVA
71,5 (CH)			
70,6 (CH)			
70,2 (CH)			
63,7 (CH ₂)			
63,0 (CH ₂)			
62,9 (CH ₂)			
55,1 (CH ₃)	OCH ₃ (C4) – DIVA		
52,1 (CH ₃)	COOCH ₃ (C7') – ATR		
35,7 (CH ₂)	C1'' – DIVA		
35,6 (CH ₂)	C1''' – DIVA		
29,0 (CH ₂)			
28,3			
24,1 (CH ₂)	C2' – DIVA		
23,9 (CH ₂)	C2''' – DIVA		
21,14 (CH ₃)	C9 – ATR		
21,06 (CH ₃)	C9' – ATR		
13,8 (CH ₃)	C3' – DIVA e C3''' – DIVA		

^a 300 MHz; ^b 75 MHz;

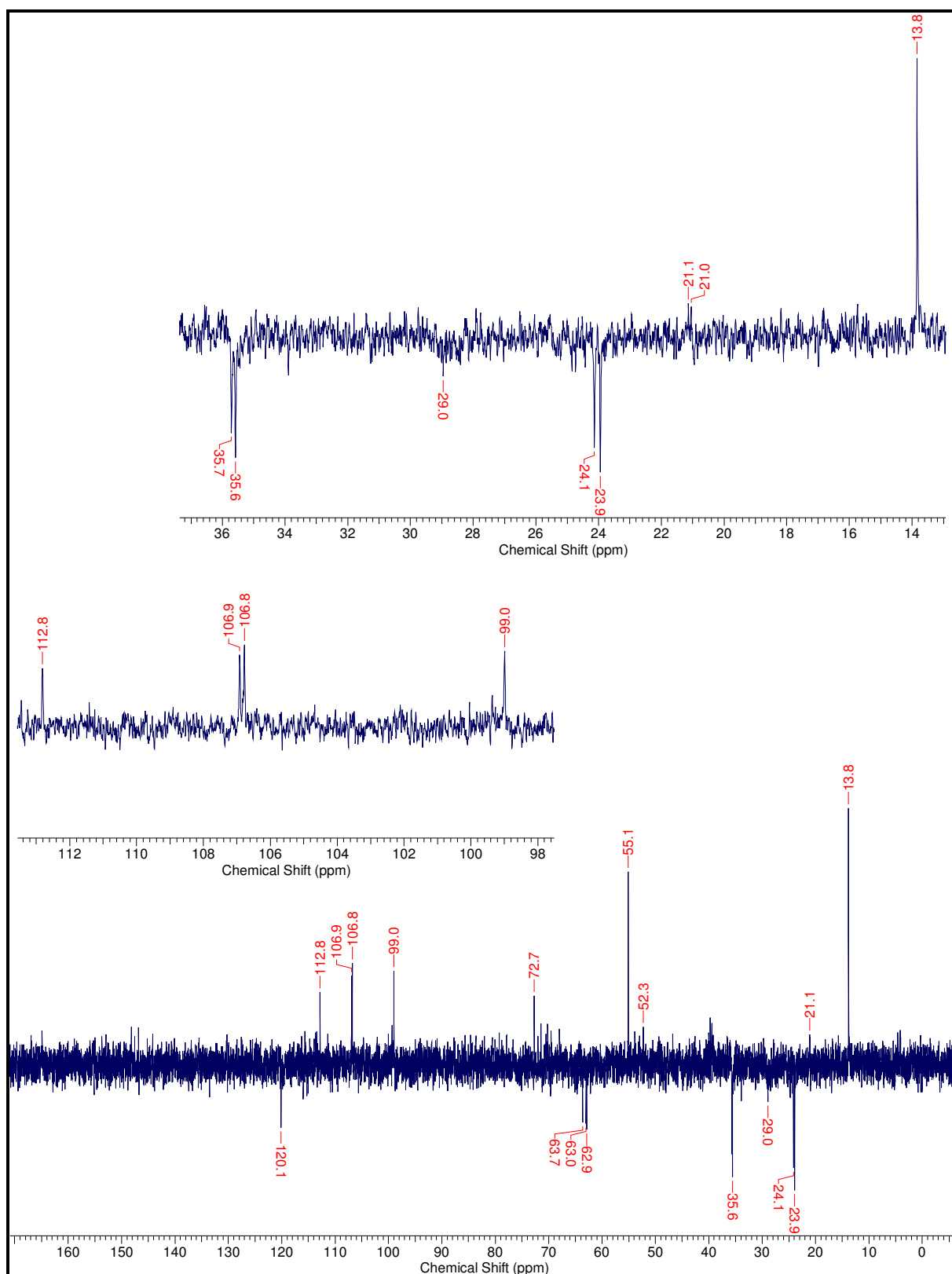
*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes; células da tabela na cor rosa indicam $\delta^{13}\text{C}$ de carbonos de açúcares (os quais não foram atribuídos).



Espectro 13 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *D. aspera* (DMSO-d_6)



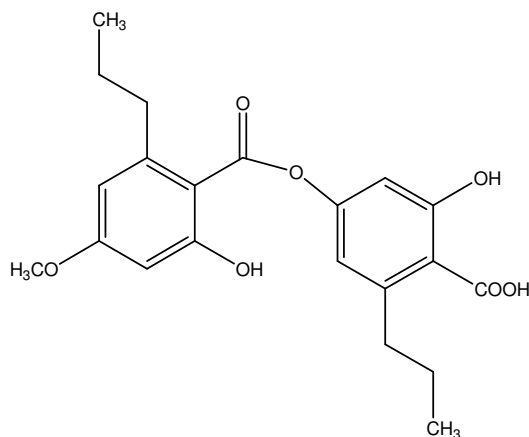
Espectro 14 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *D. aspera* (DMSO-d_6)



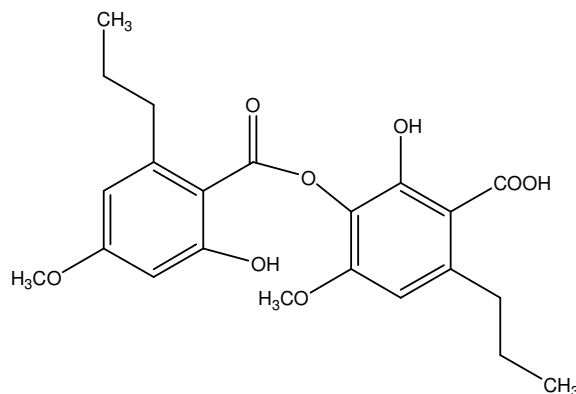
Espectro 15 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *D. aspera* (DMSO- d_6)

Dirinaria aegialita (Afzel. ex Ach.) Moore

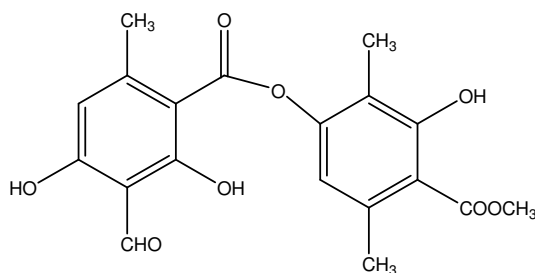
Para essa espécie, os ácidos divaricático, ramalinólico e sequicáico, além da atranorina, são as substâncias de importância taxonômica (Culberson, 1970).



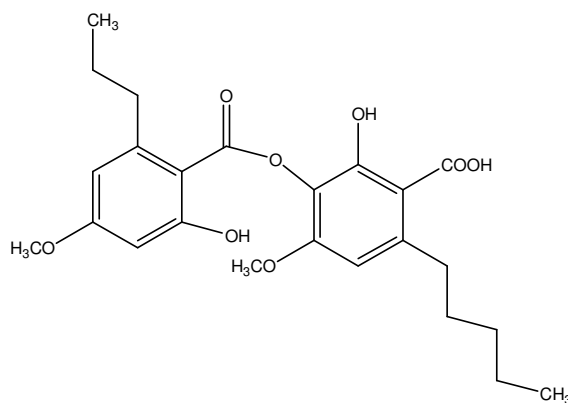
Ácido divaricático



Ácido sequicáico



Atranorina

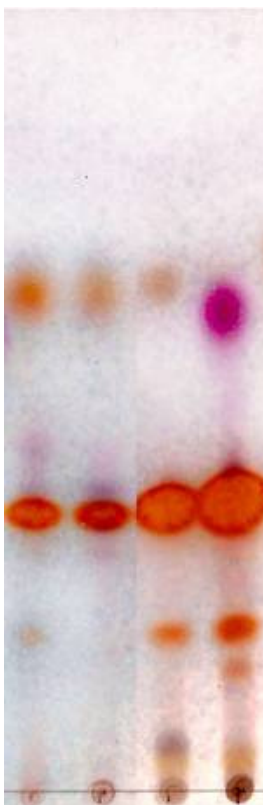


Ácido ramalinólico

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *D. aegialita* foi cromatografado no eluente V e apresenta-se bastante semelhante ao de *D. aspera*. No cromatograma observa-se ao menos 2 manchas, sendo que a mancha de maior migração pode ser atribuída à presença do atranorina.

Além da atranorina, o extrato de *D. aegialita* contém ainda outra substância que revela cor vermelha nessas condições (Rf 0,35)



Daspe – Daegi – Ctexa – Cecap

Cromatograma 9 - Extrato de *D. aegialita*

Cromatograma 9: (Daspe= *D. aspera*; Daegi= *D. aegialita*; Ctexa= *Canoparmelia texana*; Cecap= *Canoparmelia ecaperata*) **Eluente V:** tolueno/ ácido acético glacial (85:15 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Microcristalização (MC)

A análise por MC do extrato de *D. aegialita* indicou, em GAoT, formas cristalinas semelhantes as da atranorina e, em GE, do ácido divaricático. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Foram obtidos espectros de RMN ^1H , ^{13}C e DEPT 135 em DMSO- d_6 .

O cromatograma do extrato de *D. aegialita* apresenta-se muito semelhante aos de *C. texana*, *C. ecaperata* e *D. aspera*, nas mesmas condições. É possível também observar semelhanças entre os espectros das espécies, apesar de terem sido obtidos em solventes diferentes. Essa semelhança fica mais evidente com *D. aspera*, já que os espectros de RMN dessa espécie também foram obtidos em DMSO-d₆.

A elucidação dos espectros de RMN de *D. aegialita* foi conduzida da mesma forma que em *D. aspera*. No espectro de RMN de ¹H é possível observar um singlete em 10,22 ppm, que sugere uma hidroxila. Na região característica dos hidrogênios aromáticos, também são observados dois dubletes com J~2Hz, que indicam hidrogênios aromáticos com acoplamento meta. Um sinal intenso em 3,74 ppm sugere uma metoxila, e ainda, 3 multipletes em 2,60; 1,56 e 0,86 ppm dão indícios de cadeia alquílica com 3 carbonos.

Nos espectros de RMN de ¹³C, também podem ser observados 4 sinais intensos em 99,0; 106,8; 106,9 e 113,0 ppm, que são facilmente diferenciados dos demais no espectro de RMN de DEPT 135 e indicam 4 carbonos aromáticos ligados a hidrogênios. Um sinal em 55,1 ppm, também diferenciável no espectro de DEPT 135, indica uma metoxila. Além desses, sinais abaixo de 40 ppm indicam 2 cadeias alquílicas com 3 carbonos cada. Todos esses sinais, entre outros, indicam e confirmam a presença do ácido divaricático no extrato de *D. aegialita*. Todos os sinais atribuídos ao ácido divaricático estão indicados na figura 13 e concordam com a atribuição feita para esse depsídeo através de dados obtidos a partir dos espectros de RMN 2D do extrato de *C. ecaperata* em DMSO-d₆, o qual comprovadamente contém essa substância. A atribuição do ácido divaricático em DMSO-d₆ a partir de *C. ecaperata* está indicada na página 244 em “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”.

Da mesma forma que em *D. aspera*, também no espectro de RMN ¹H de *D. aegialita* são observados, além dos sinais intensos que caracterizam o ácido divaricático, sinais de baixa intensidade que caracterizam a presença, em menor proporção, do depsídeo atranorina. No espectro de RMN ¹³C também aparecem com intensidade reduzida alguns sinais indicativos da presença da atranorina nesse extrato e todos esses sinais estão dispostos na figura 14. Os sinais indicados concordam com a atribuição feita para a atranorina em DMSO-d₆ a partir de espectros de RMN 2D, e estão indicados na página 244 em “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”.

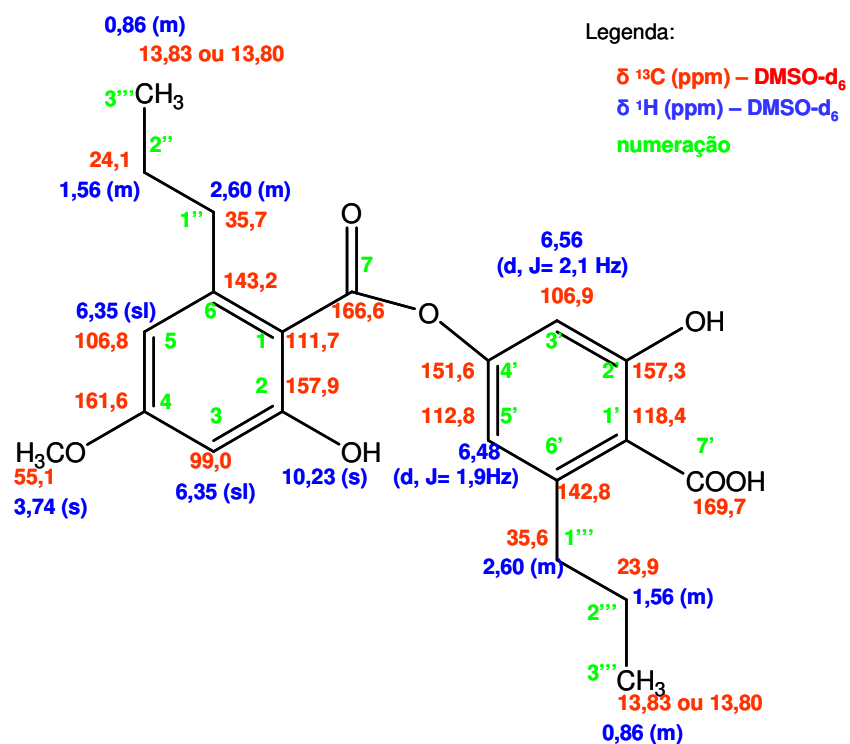


Figura 13 – Sinais de deslocamento químico para **ácido divaricático** presente no extrato de *D. aegialita* (DMSO-d₆).

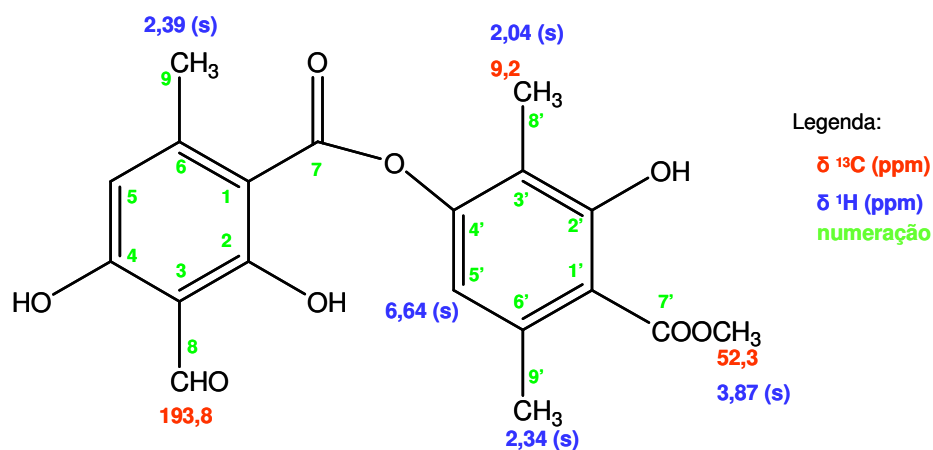


Figura 14 – Sinais de deslocamento químico para **atranorina** presente no extrato de *D. aegialita* (DMSO-d₆).

Tabela 6* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *D. aegialita* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para **ácido divaricático (DIVA)** e **atranorina (ATR)**.

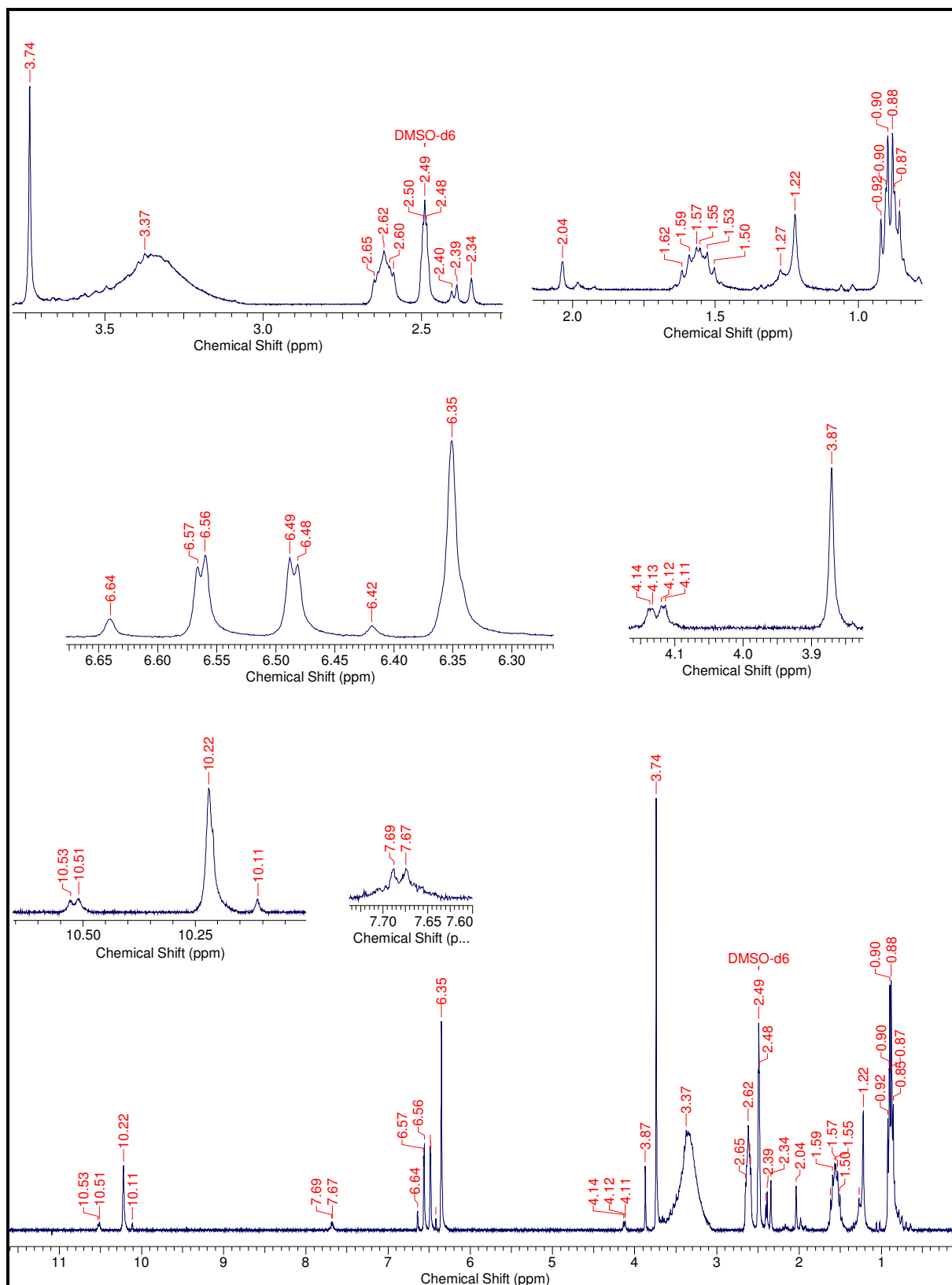
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
193,8	C8 – ATR	10,53 (s)	
169,9	C7' – DIVA	10,51 (s)	
166,5	C7 – DIVA	10,22 (s)	OH(C2) – DIVA
161,6	C4 – DIVA	10,11 (s)	
157,9	C2 – DIVA	7,68 (d, J= 4,0Hz)	
157,3	C2' – DIVA	6,64 (s)	H(C5') – ATR
151,6	C4' – DIVA	6,56 (d, J= 1,9Hz)	H(C3') – DIVA
143,4	C6 – DIVA	6,48 (d, J= 2,1Hz)	H(C5') – DIVA
143,2	C6' – DIVA	6,42 (s)	H(C5) – ATR
136,5		6,35 (sl)	H(C5) – DIVA e H(C3) – DIVA
128,6		3,87(s)	COOCH ₃ (C7') – ATR
118,6	C1' – DIVA	3,74 (s)	OCH ₃ (C4) – DIVA
113,0 (CH)	C5' – DIVA	2,60 (m)	H(C1'') – DIVA e H(C1''') – DIVA
111,7	C1 – DIVA	2,40 (s)	
106,9 (CH)	C3' – DIVA	2,39 (s)	H(C9) – ATR
106,8 (CH)	C5 – DIVA	2,34 (s)	H(C9') – ATR
99,0 (CH)	C3 – DIVA	2,04 (s)	H(C8') – ATR
72,7 (CH)	Açúcar(es)	1,56 (m)	H(C2'') – DIVA e H(C2''') – DIVA
71,5 (CH)		1,27 (s)	
70,5 (CH)		1,22 (sl)	
70,2 (CH)		0,89 (m)	H(C3'') – DIVA e H(C3''') – DIVA
63,7 (CH ₂)			
63,0 (CH ₂)			
62,9 (CH ₂)			
55,1 (CH ₃)			
52,3 (CH ₃)			
35,7 (CH ₂)			
35,5 (CH ₂)			
29,0 (CH ₂)			
28,3			
24,1 (CH ₂)	C2' – DIVA		
23,9 (CH ₂)	C2''' – DIVA		
23,2			
22,3			
21,1 (CH ₃)			
13,83 (CH ₃)	C3' – DIVA e		
13,80 (CH ₃)	C3''' – DIVA		

Continuação da tabela 6* – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *D. aegialita* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para **ácido divaricático (DIVA)** e **atranorina (ATR)**.

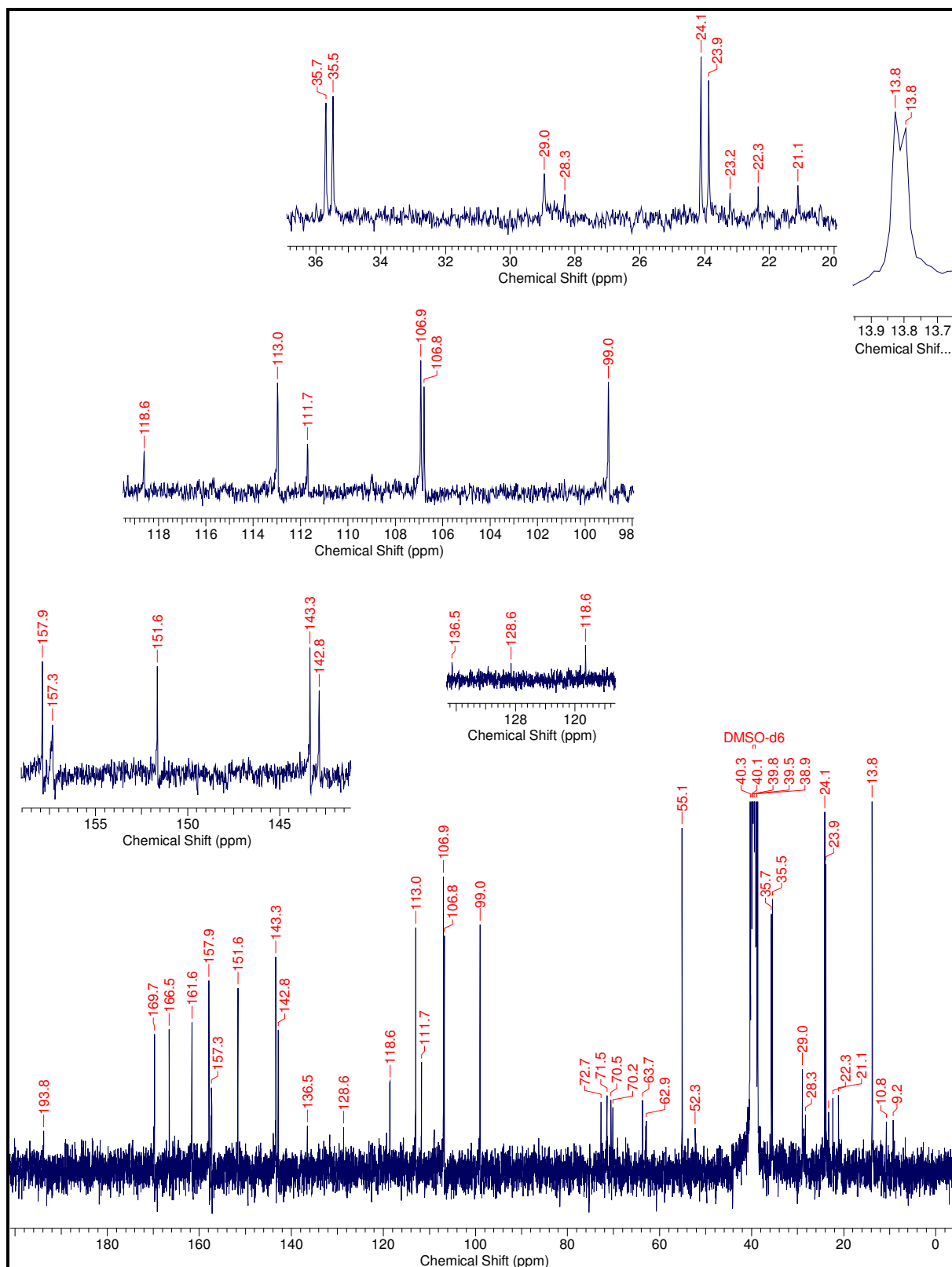
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135) C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade) H - substância
10,7	
9,2 (CH_3) C8' – ATR	

^a 300 MHz; ^b 75 MHz;

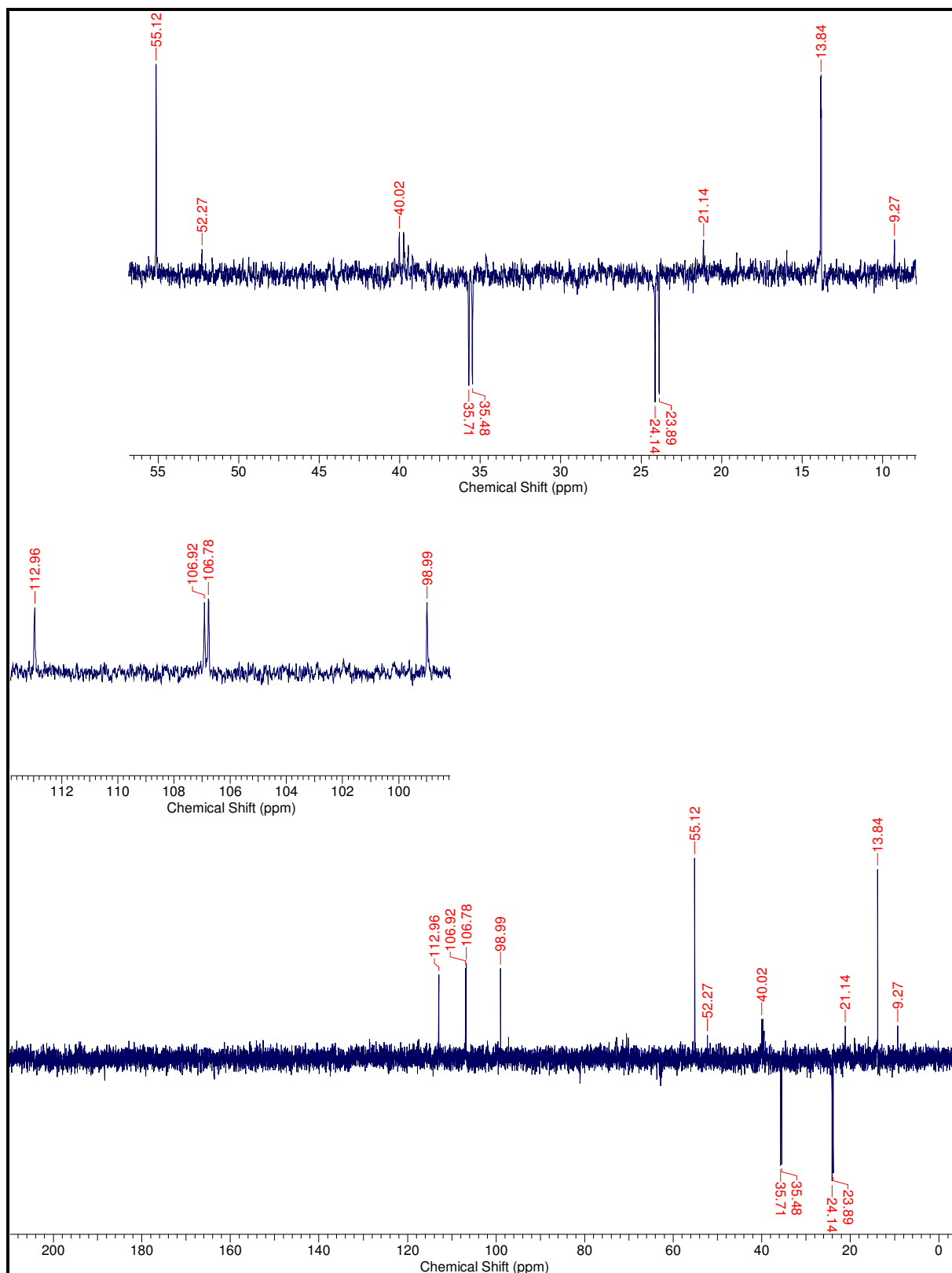
*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes; células da tabela na cor rosa indicam $\delta^{13}\text{C}$ de carbonos de açúcares (os quais não foram atribuídos).



Espectro 16 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *D. aegialita* (DMSO-d_6)



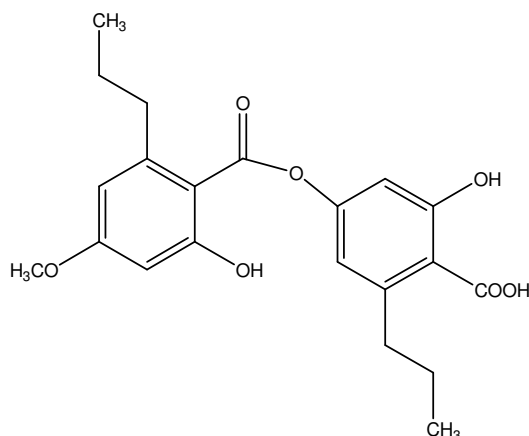
Espectro 17 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *D. aegialita* (DMSO-d_6)



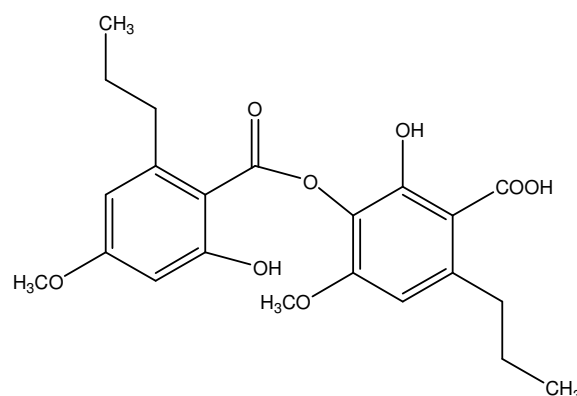
Espectro 18 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *D. aegialita* (DMSO- d_6)

Dirinaria confluens (Fr.) Awasthi

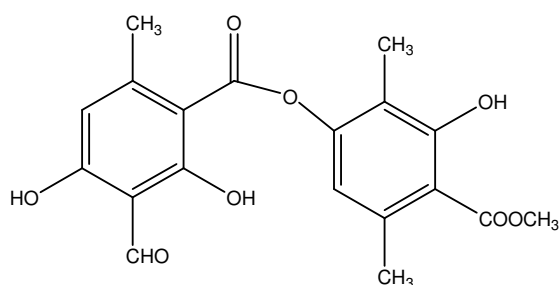
Para essa espécie, os ácidos divaricático, ramalinólico e sequicáico, além da atranorina, são as substâncias de importância taxonômica (Culberson *et al.* 1977).



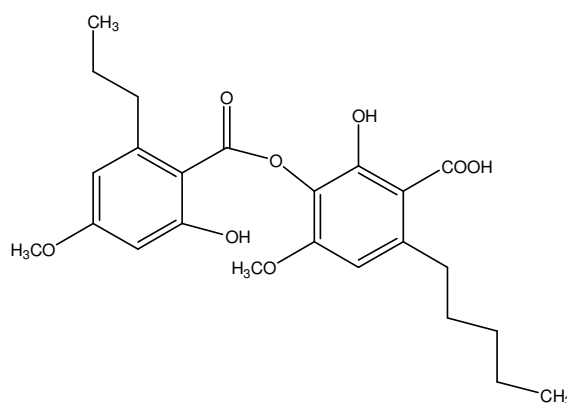
Ácido divaricático



Ácido sequicáico



Atranorina



Ácido ramalinólico

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *D. confluens* também foi cromatografado no eluente V. Nota-se a semelhança no comportamento cromatográfico entre 3 espécies de *Dirinaria* (*D. aspera*, *D. aegialita* e *D. confluens*) e as 2 espécies de *Canoparmelia* (*C. texana* e *C. ecaperata*).

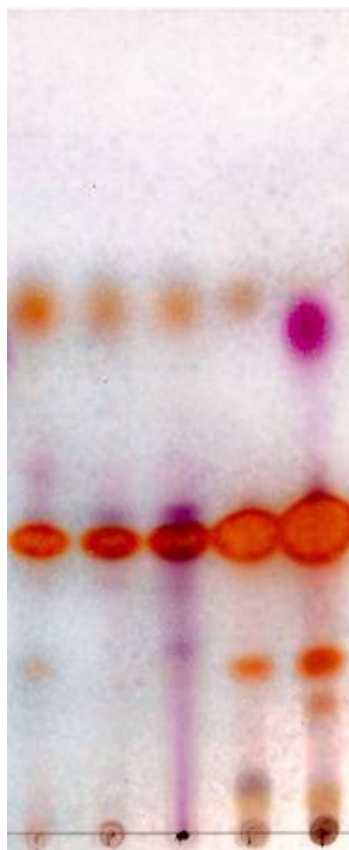
No cromatograma, entre as 3 *Dirinaria* e *C. texana*, observa-se a presença constante de uma mancha com maior migração, que indica a presença de atranorina nas 4 espécies. Em *C. ecaperata*, a mancha de maior migração indica a presença de ácido úsnico, como já foi citado na descrição feita da espécie, anteriormente.

Entre as 5 espécies cromatografadas, nota-se a presença constante de uma mancha com Rf 0,35 e revelação intensa na cor vermelha, o que sugere semelhança de composição química – indicando a presença de ácido divaricático em todas as 5 espécies.

Além do ácido divaricático, os extratos de *C. texana* e *C. ecaperata* contém ainda outra substância que revelam cor vermelha nessas condições (Rf 0,19), que pode ser o ácido nordivaricático.

Nota-se também que *D. confluens* possui, além das manchas que indicam a presença de atranorina e ácido divaricático, manchas que revelam com coloração roxa que provavelmente indicam a presença de triterpenos, em baixa concentração no extrato.

Entretanto os depsídeos ácidos sequicáico e ramalinólico, citados para esta espécie, não aparecem no cromatograma. Se presentes no extrato dessa espécie devem estar em quantidade traço.



Daspe – Daegi – Dconf – Ctexa – Cecap

Cromatograma 10 - Extrato de *C. ecaperata*

Cromatograma 10 (página anterior): (Daspe= *D. aspera*; Daegi= *D. aegialita*; Dconf= *D. confluens*; Ctexa= *Canoparmelia texana*; Cecap= *Canoparmelia ecaperata*) **Eluente V:** tolueno/ ácido acético glacial (85:15 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Microcristalização (MC)

A análise por MC do extrato de *D. confluens* indicou, em GE, formas cristalinas características do ácido divaricático e em GAOT, da atranorina. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Foram obtidos espectros de RMN ^1H , ^{13}C e DEPT 135 em DMSO- d_6 e CDCl_3 .

O cromatograma do extrato de *Dirinaria confluens* apresenta-se muito semelhante aos de *Canoparmelia texana*, *Canoparmelia ecaperata*, *Dirinaria aspera* e *Dirinaria aegialita*, sob as mesmas condições. Os espectros das 5 espécies também apresentam semelhanças. Essa semelhança é mais evidente quando comparamos os espectros que foram obtidos nos mesmos solventes: *D. confluens* (DMSO- d_6) com *D. aspera* e *D. aegialita* (também em DMSO- d_6); e *D. confluens* (CDCl_3) com *C. ecaperata* e *C. texana* (também em CDCl_3).

A elucidação dos espectros de RMN de *D. confluens* foi conduzida da mesma forma que nas outras espécies de *Dirinaria*. Nos espectros de RMN de ^1H , entre os sinais mais intensos nos espectros, é possível observar um singlete em 10,22 ppm (CDCl_3) e em 11,33 ppm (DMSO- d_6), que sugere uma hidroxila. Na região característica dos hidrogênios aromáticos, também podem ser observados dois dubletes com $J \sim 2\text{Hz}$, indicando hidrogênios aromáticos com acoplamento meta, no espectro em CDCl_3 , já em DMSO- d_6 os sinais que são equivalentes são singletes largos. Um sinal intenso em 3,74 ppm (em CDCl_3) e em 3,83 ppm (em DMSO- d_6) indicam a presença de metoxila na molécula que se apresenta em maior proporção no extrato. E ainda, 3 multipletes na região abaixo de 4 ppm indicam a presença de cadeias alquílicas com 3 carbonos: em 2,63; 1,55 e 0,88 ppm, no espectro obtido em DMSO- d_6 , e em 2,92; 1,65 e 0,95 ppm, no espectro em CDCl_3 .

Nos espectros de RMN de ^{13}C , também podem ser observados 4 sinais intensos, que são facilmente diferenciados dos demais no espectro de RMN de DEPT 135 e indicam 4 carbonos aromáticos ligados a hidrogênios, são eles: 99,0; 108,9; 111,5 e 116,1 ppm, em CDCl_3 , e 99,0; 106,8; 106,9 e 112,9 ppm, em DMSO- d_6 . Um sinal que aparece em 55,1 ppm em DMSO- d_6 e em 55,4 ppm, em CDCl_3 , também diferenciáveis nos espectros de DEPT 135, indicam uma metoxila. Além desses, sinais abaixo de 40 ppm indicam 2 cadeias alquílicas com 3 carbonos cada, em ambos os solventes. Todos esses sinais, entre outros, indicam e

confirmam a presença do ácido divaricático no extrato de *D. confluens*. Todos os sinais atribuídos ao ácido divaricático estão indicados nas figuras 15 e 16.

A atribuição dos sinais para o ácido divaricático em DMSO- d_6 concorda com a atribuição feita para esse depsídeo através de espectros de RMN 2D do extrato de *C. ecaperata* (que comprovadamente contém essa substância em grande proporção) em DMSO- d_6 e está indicada na página 244 em “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”.

Já a atribuição de sinais de δ à estrutura do ácido divaricático em $CDCl_3$ foi comparada e está de acordo com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos do ácido perlatólico isolado e purificado ($CDCl_3$), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

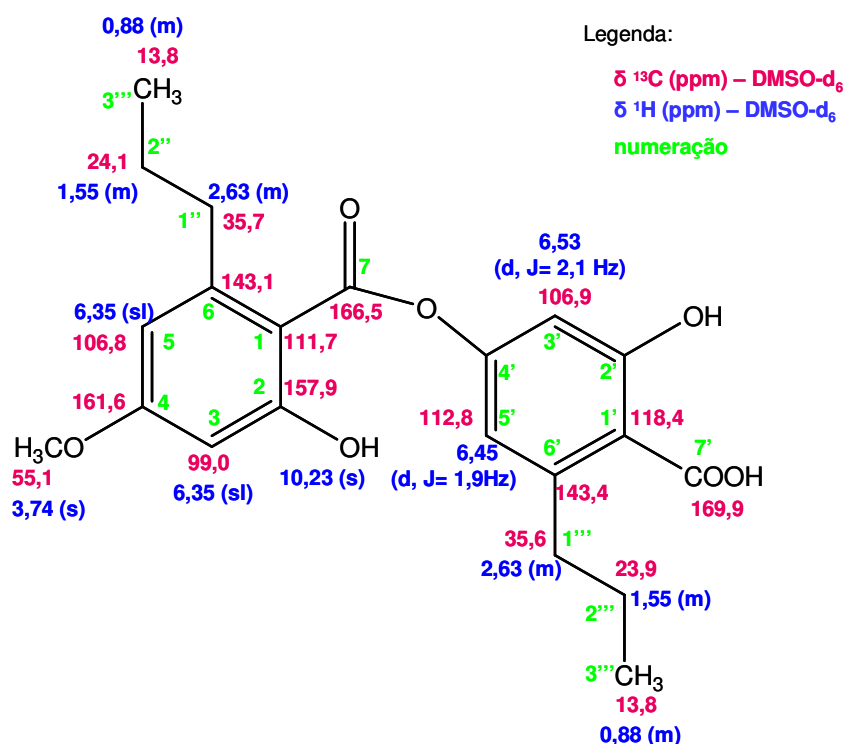


Figura 15 – Sinais de deslocamento químico para o **ácido divaricático** presente no extrato de *D. confluens* (DMSO- d_6).

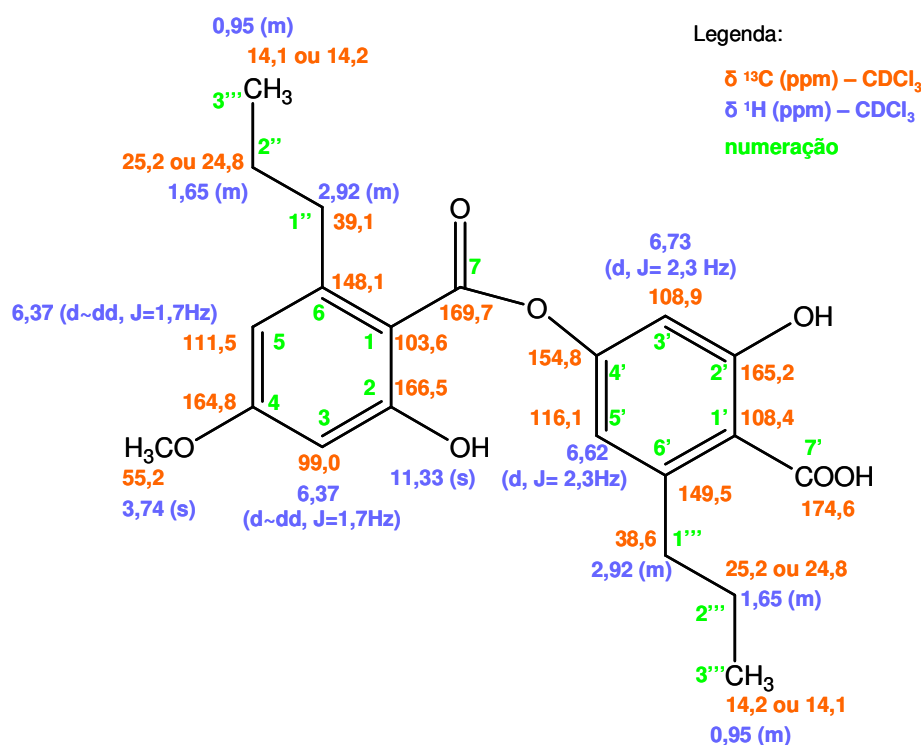
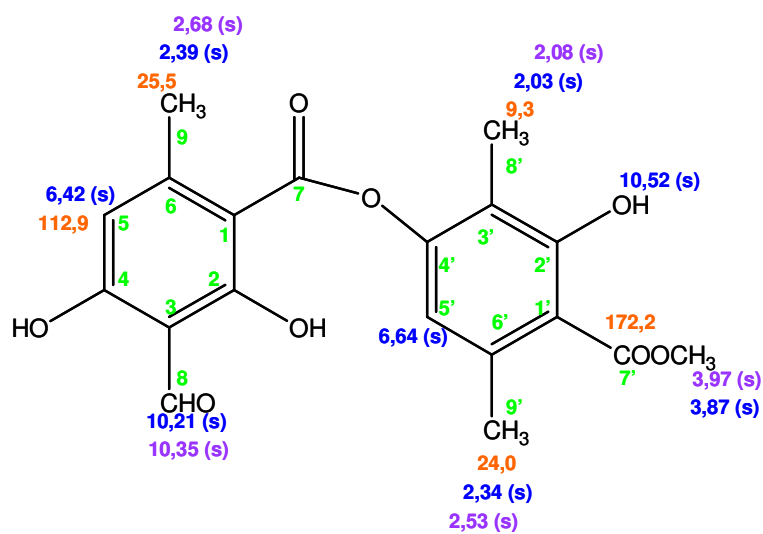


Figura 16 – Sinais de deslocamento químico para o **ácido divaricático** presente no extrato de *D. confluens* (CDCl_3).

Da mesma forma que nos espectros das outras espécies de *Dirinaria*, também nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C de *D. confluens* são observados, além dos sinais intensos que caracterizam o ácido divaricático, sinais de baixa intensidade que caracterizam a presença, em menor proporção, do depsídeo atranorina. Esses sinais estão dispostos na figura 17.

Os sinais atribuídos a atranorina, em DMSO-d_6 , estão de acordo com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos da atranorina isolada e purificada (DMSO-d_6), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244. A atribuição dos sinais para a atranorina em CDCl_3 está de acordo com os descritos por König & Wright (1999)



Legenda:

$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) – CDCl₃
 $\delta^1\text{H}$ (ppm) – DMSO-d₆
 $\delta^1\text{H}$ (ppm) – CDCl₃
 numeração

Figura 17 – Sinais de deslocamento químico para o depsídeo **atranorina** presente no extrato de *D. confluens* (DMSO-d₆ e CDCl₃).

Tabela 7* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *D. confluens* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para **ácido divaricático (DIVA)** e **atranorina (ATR)**.

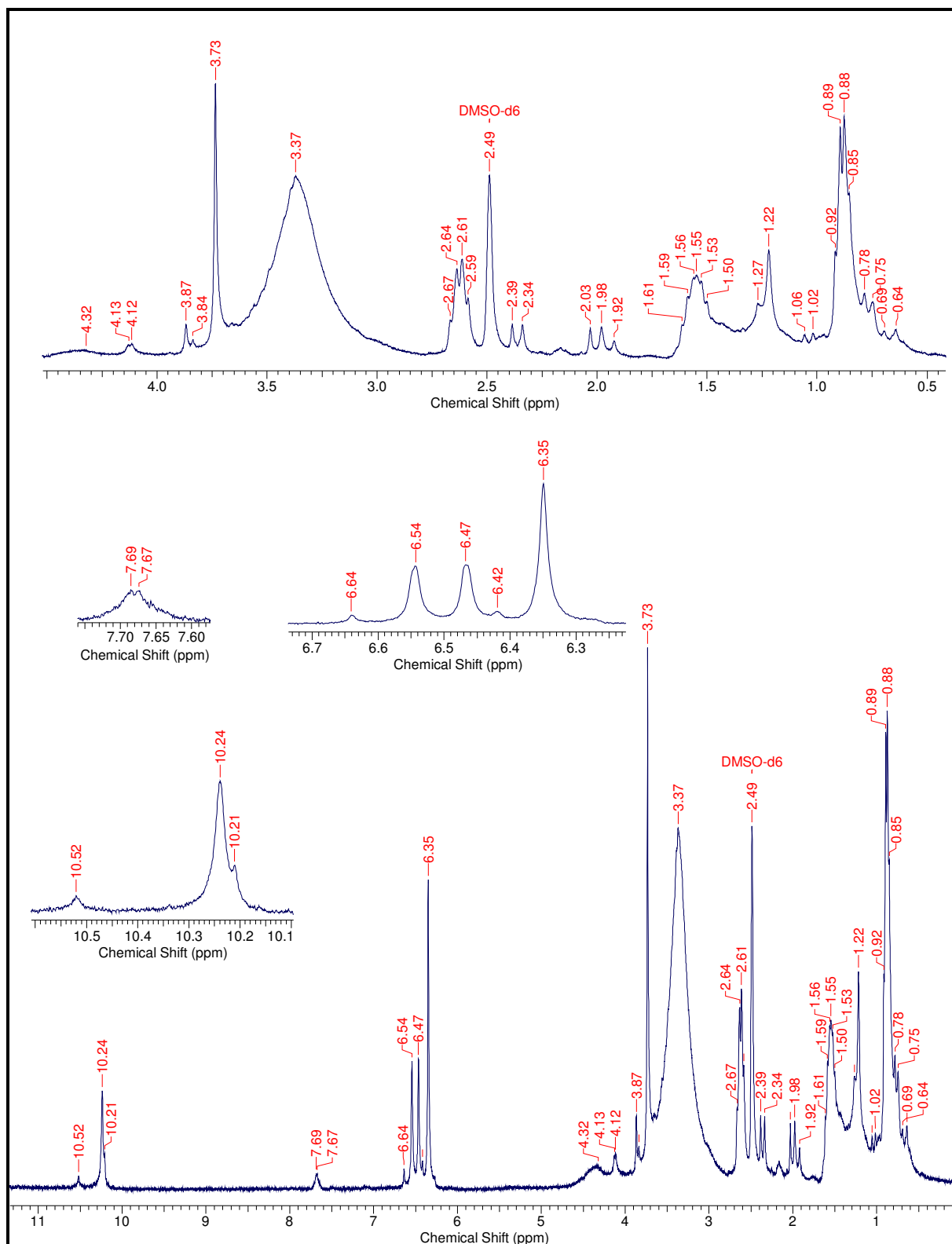
DMSO-d_6			
300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
δ ^{13}C	C - substância	δ ^1H	H - substância
(DEPT 135)		(multiplic.)	
169,8	C7' – DIVA	10,52 (s)	
166,5	C7 – DIVA	10,24 (s)	
161,6	C4 – DIVA	10,21 (s)	CHO(C8) – ATR
157,9	C2 – DIVA	7,68 (d, J= 3,28Hz)	
151,6		6,64 (s)	H(C5') – ATR
143,4	C6 – DIVA	6,54 (sl)	H(C3') – DIVA
143,1	C6' – DIVA	6,47 (sl)	H(C5') – DIVA
128,6		6,42 (s)	H(C5) – ATR
118,4	C1' – DIVA	6,35 (sl)	H(C5) – DIVA e H(C3) – DIVA
115,6		3,87 (s)	COOCH ₃ (C7') – ATR
112,9 (CH)	C5' – DIVA	3,73 (s)	OCH ₃ (C4) – DIVA
111,7	C1 – DIVA	2,63 (m)	H(C1'') – DIVA e H(C1''') – DIVA
106,9 (CH)	C3' – DIVA	2,39 (s)	H(C9) – ATR
106,8 (CH)	C5 – DIVA	2,34 (s)	H(C9') – ATR
99,0 (CH)	C3 – DIVA	2,03 (s)	H(C8') – ATR
71,5	Açúcar(es)	1,98 (s)	
70,6		1,92 (s)	
70,2		1,55 (m)	H(C2'') – DIVA e H(C2''') – DIVA
63,7		1,27 (sl)	
62,9		1,22 (sl)	
55,1 (CH ₃)	OCH ₃ (C4) – DIVA	1,06 (sl)	
35,7 (CH ₂)	C1'' – DIVA	1,02 (sl)	
35,5 (CH ₂)	C1''' – DIVA	0,88 (m)	H(C3'') – DIVA e H(C3''') – DIVA
29,0		0,78 (s)	
24,1 (CH ₂)	C2'' – DIVA	0,75 (s)	
23,9 (CH ₂)	C2''' – DIVA	0,69 (s)	
13,8 (CH ₃)	C3'' – DIVA e C3''' – DIVA	0,64 (s)	

*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes; células da tabela na cor rosa indicam $\delta^{13}\text{C}$ de carbonos de açúcares (os quais não foram atribuídos).

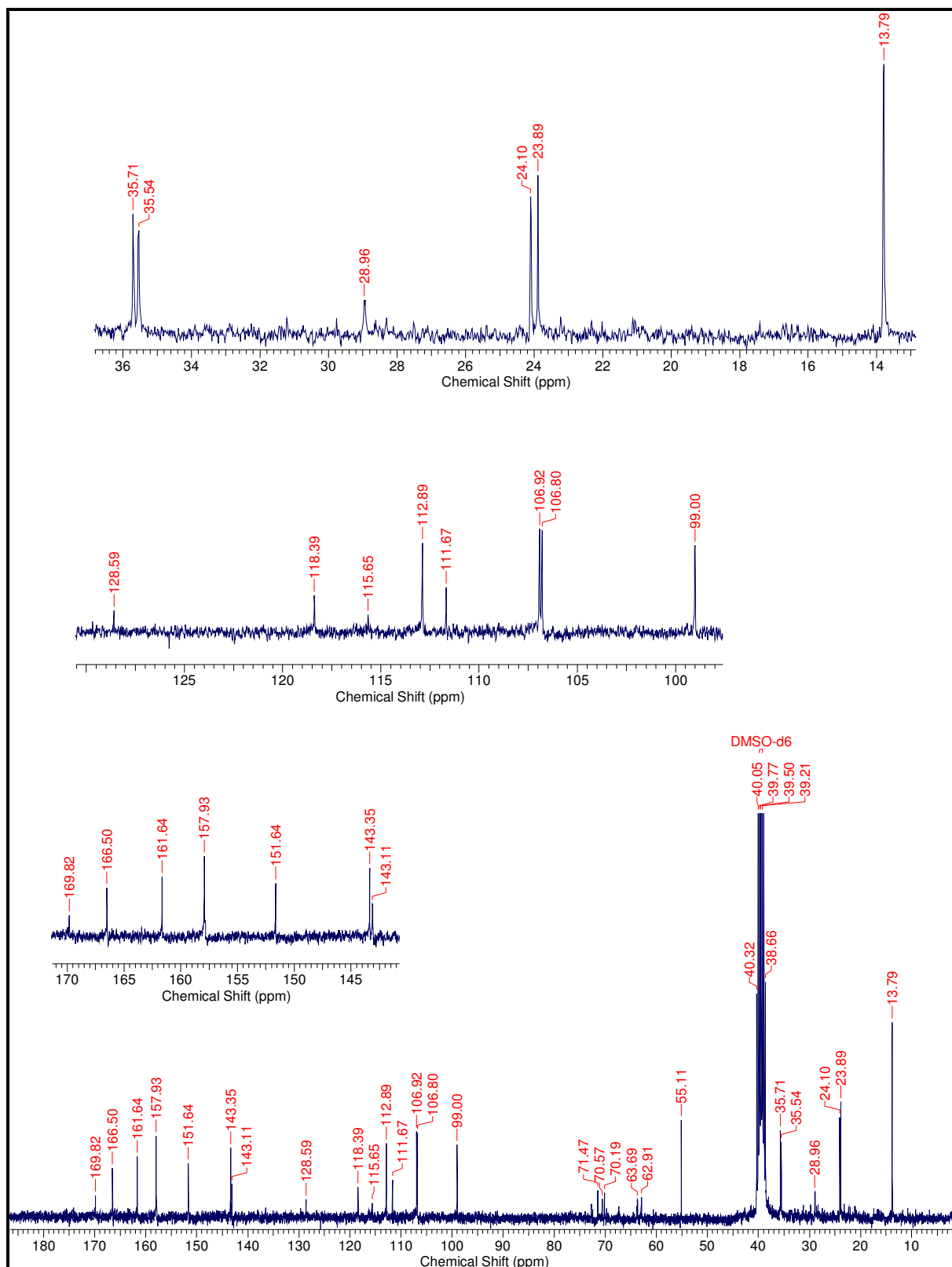
Tabela 8* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *D. confluens* (CDCl_3) e atribuição de sinais para **ácido divaricático (DIVA)** e **atranorina (ATR)**.

CDCl_3			
300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
$\delta^{13}\text{C}$	C - substância	$\delta^1\text{H}$	H - substância
(DEPT 135)		(multiplic.)	
174,6	C7' – DIVA	12,48 (s)	
172,2	C7' – DIVA	11,92 (s)	
169,4	C7 – DIVA	11,33 (s)	OH(C2) – DIVA
166,5	C2 – DIVA	10,35 (s)	CHO(C8) – ATR
165,2	C2' – DIVA	6,73 (d, J= 2,3Hz)	H(C3') – DIVA
164,8	C4 – DIVA	6,62 (d, J= 2,3Hz)	H(C5') – DIVA
154,8	C4' – DIVA	6,51 (s)	
149,5	C6' – DIVA	6,37 (d~dd, J= 1,73Hz)	H(C5) – DIVA e H(C3) – DIVA
148,1	C6 – DIVA	6,34 (d, J= 2,3Hz)	
116,1 (CH)	C5' – DIVA	6,27 (d, J= 3,5Hz)	
112,9	C5 – ATR	3,97 (s)	COOCH ₃ (C7') – ATR
111,5 (CH)	C5 – DIVA	3,93 (s)	
111,3		3,81 (s)	
111,2		3,79 (s)	
108,9 (CH)	C3' – DIVA	2,92 (m)	H(C1'') – DIVA e H(C1''') – DIVA
108,8	C1' – DIVA	2,68 (s)	H(C9) – ATR
103,6	C1 – DIVA	2,53 (s)	H(C9') – ATR
101,5		2,18 (s)	
99,0 (CH)	C3 – DIVA	2,08 (s)	H(C8') – ATR
55,4 (CH ₃)	OCH ₃ (C4) – DIVA	2,05 (s)	H(C9') – ATR
52,3 (CH ₃)	COOCH ₃ (C7') – ATR	1,65 (m)	H(C2'') – DIVA e H(C2''') – DIVA
39,1 (CH ₂)	C1'' – DIVA	0,95 (m)	H(C3'') – DIVA e H(C3''') – DIVA
38,6			
38,5 (CH ₂)	C1''' – DIVA		
37,8			
29,7			
27,8			
25,5	C9 – ATR		
25,2 (CH ₂)	C2'' – DIVA e		
24,8 (CH ₂)	C2''' – DIVA		
24,0	C9 – ATR		
17,7			
14,2 (CH ₃)	C3'' – DIVA e		
14,1 (CH ₃)	C3''' – DIVA		
9,3 (CH ₃)	C8 – ATR		

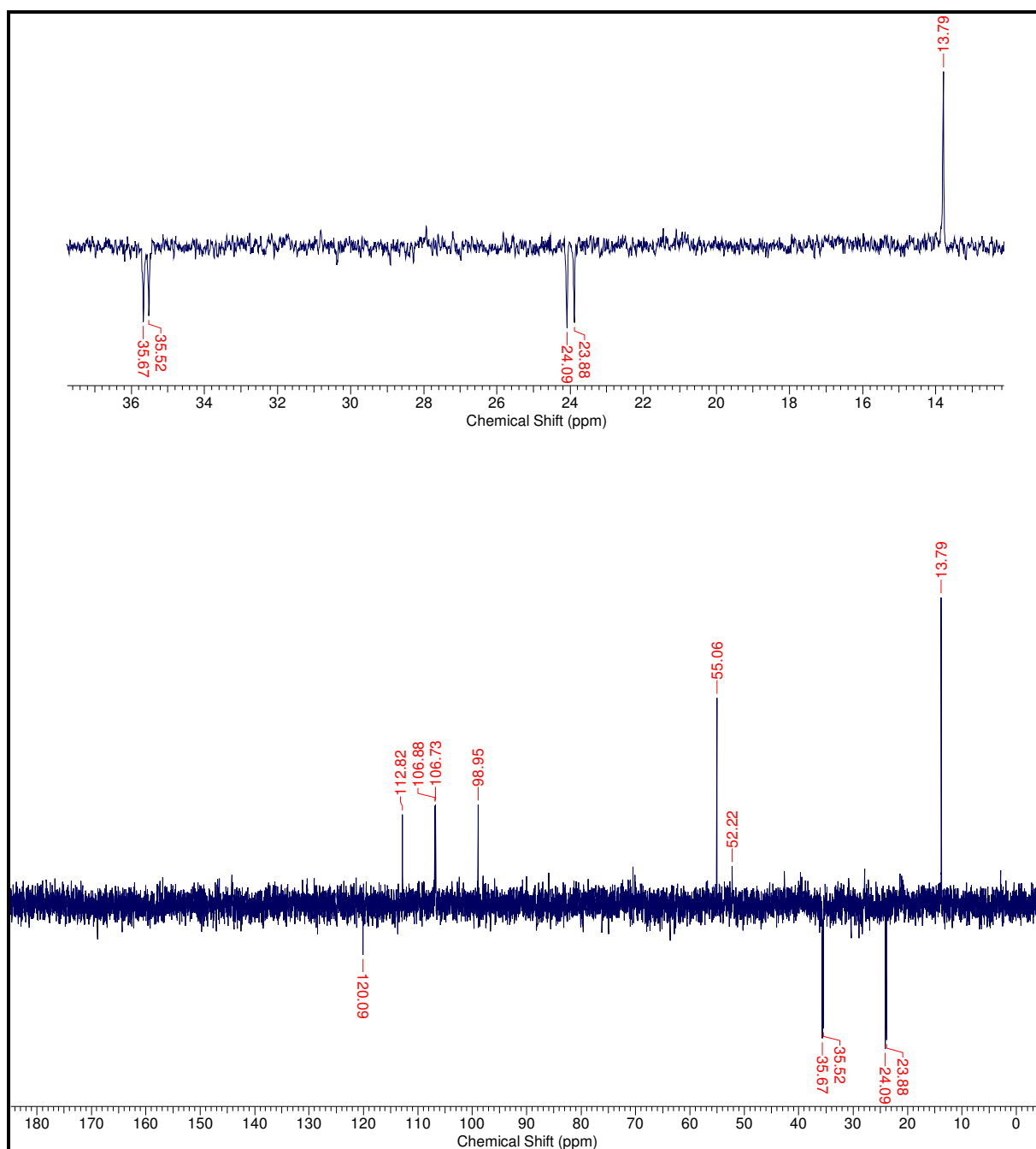
*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes.



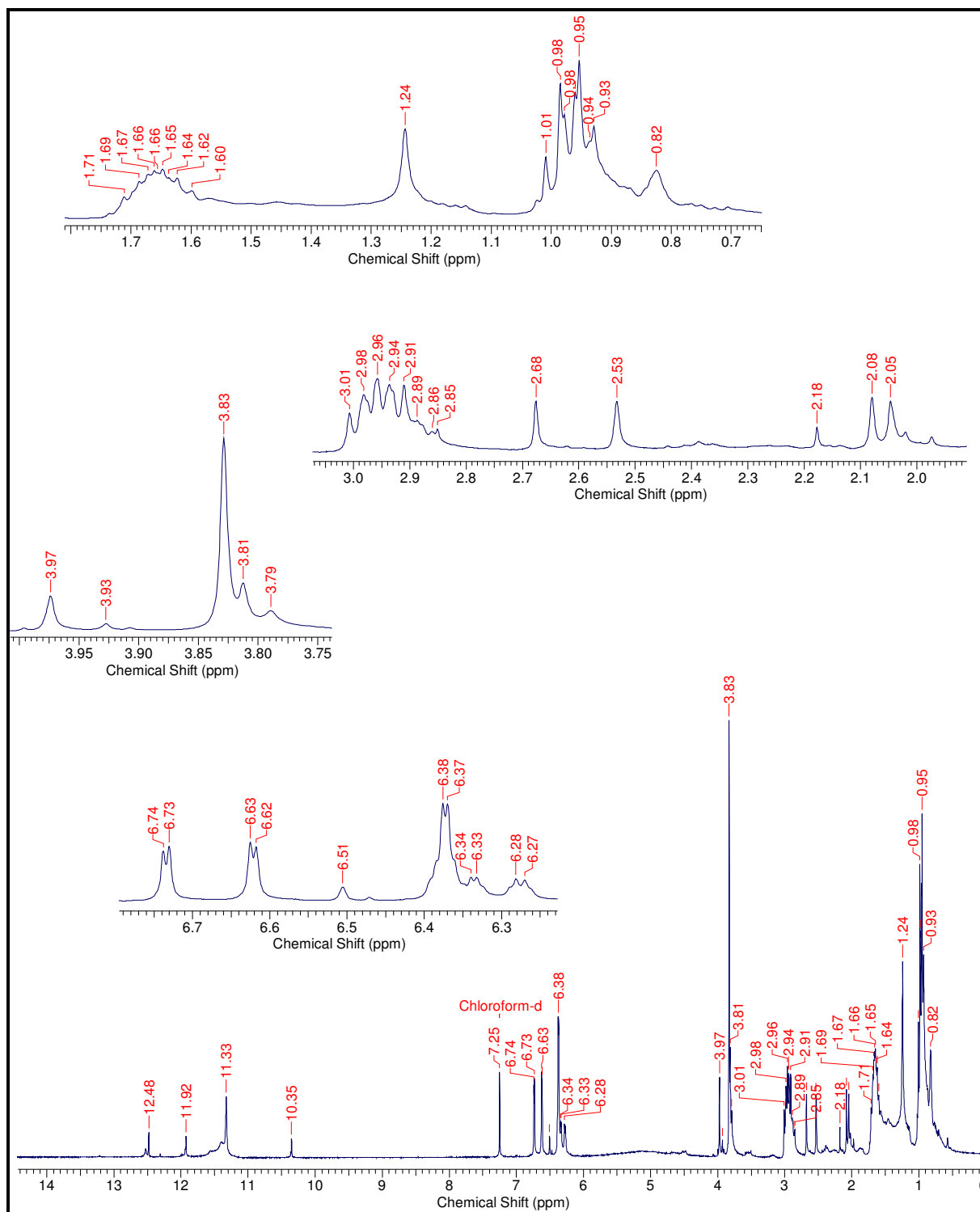
Espectro 19 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *D. confluens* (DMSO-d_6)



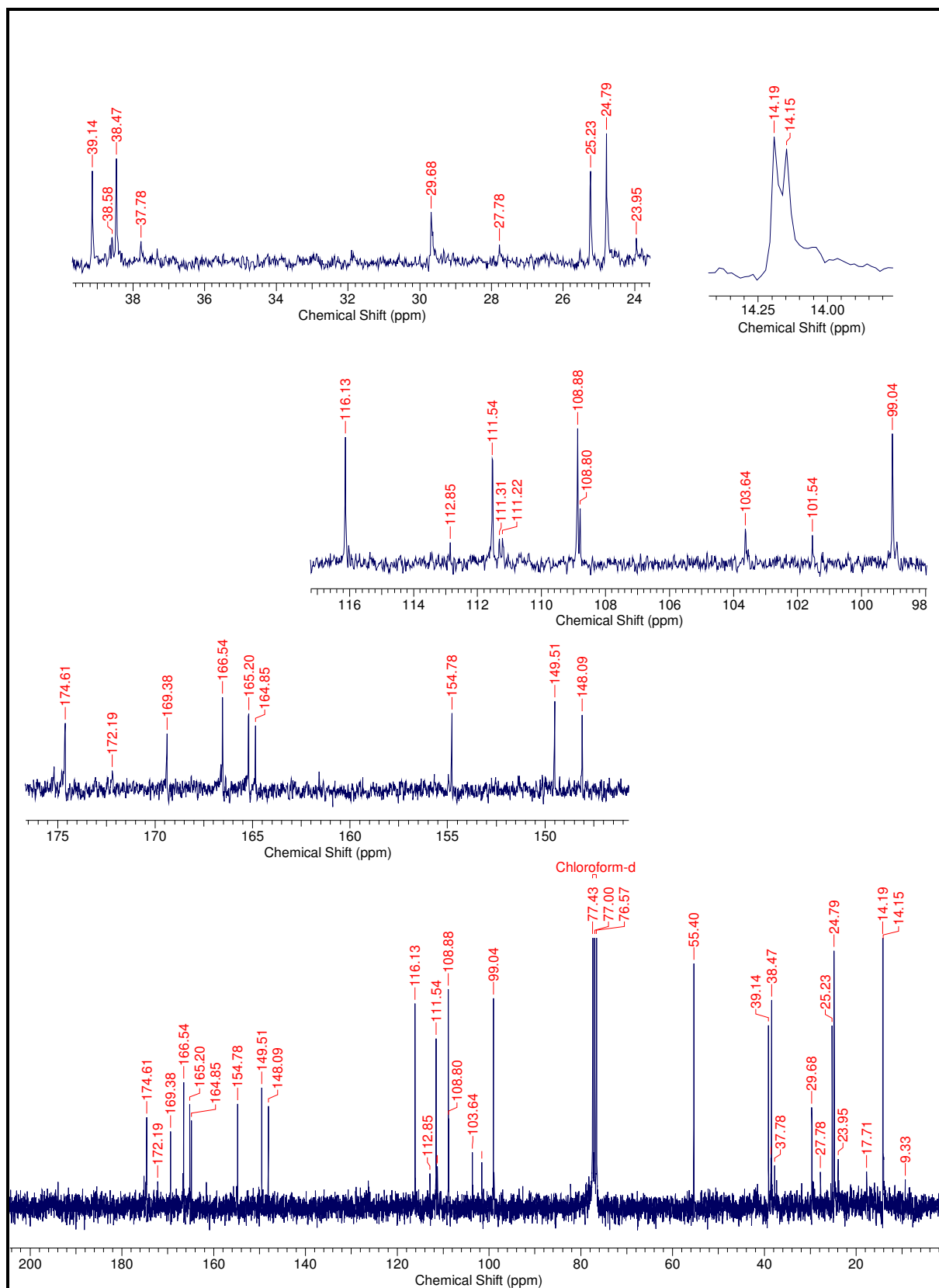
Espectro 20 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *D. confluens* (DMSO-d_6)

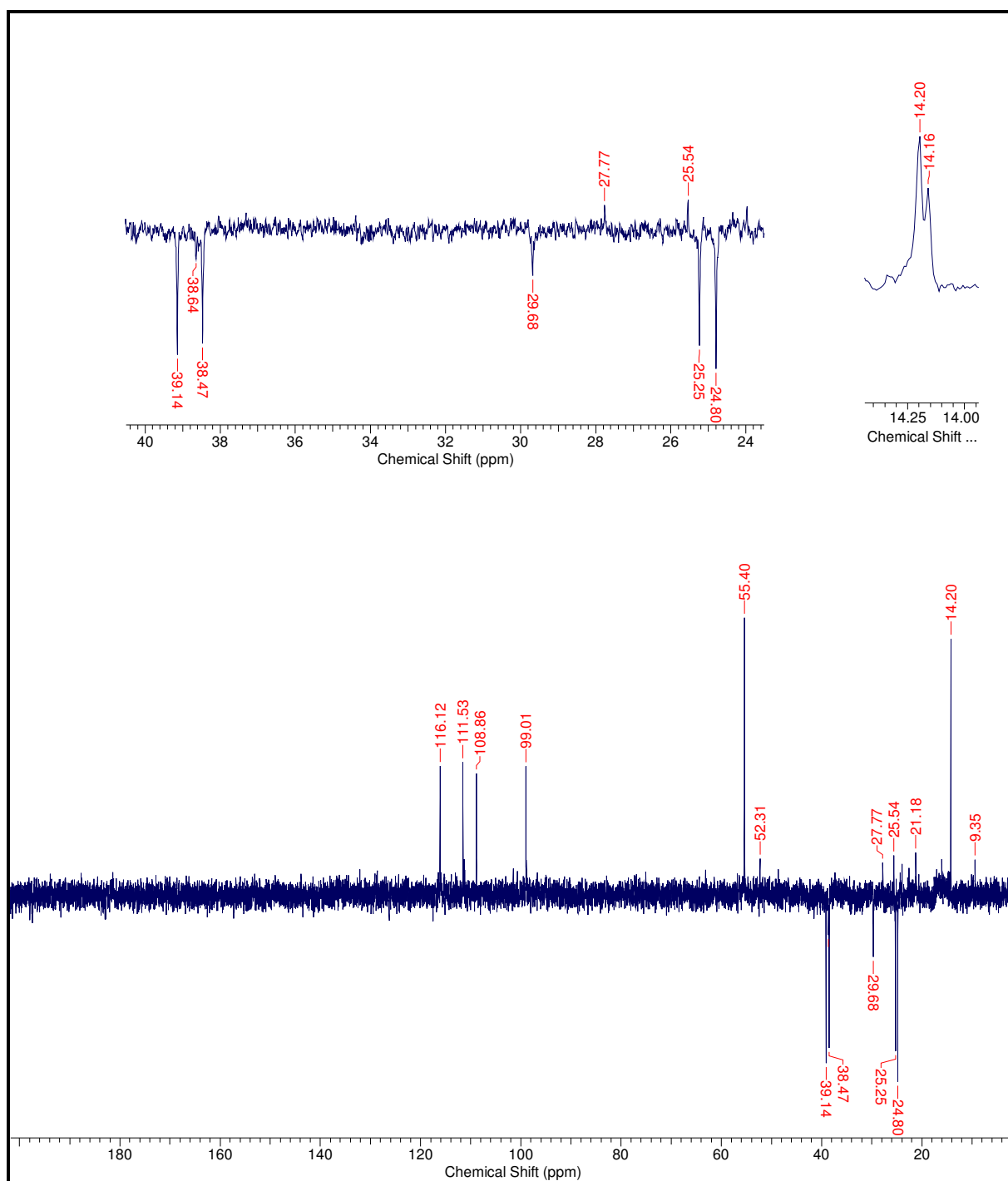


Espectro 21 - Espectro de RMN ^{13}C de DEPT 135 do extrato de *D. confluens* (DMSO-d_6)



Espectro 22 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *D. confluens* (CDCl_3)

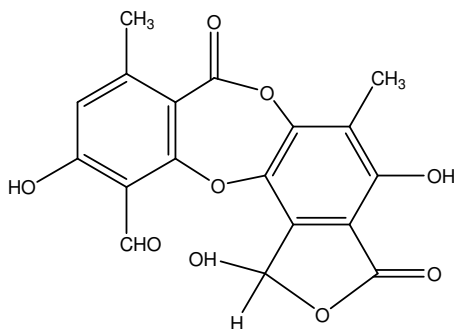
**Espectro 23** - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *D. confluens* (CDCl_3)



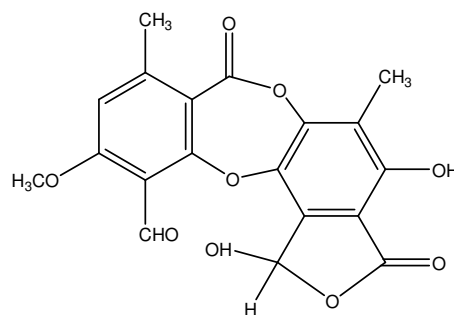
Espectro 24 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *D. confluens* (CDCl_3)

Xanthoparmelia plittii (Gyeln.) Hale

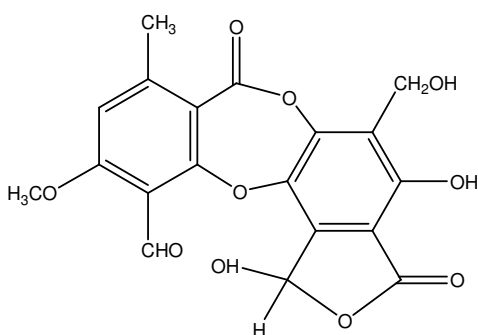
De acordo com Hale (1974b), *Xanthoparmelia plittii* contém ácidos úsnico, norstístico, estístico, criptoestístico, conorstístico e constístico.



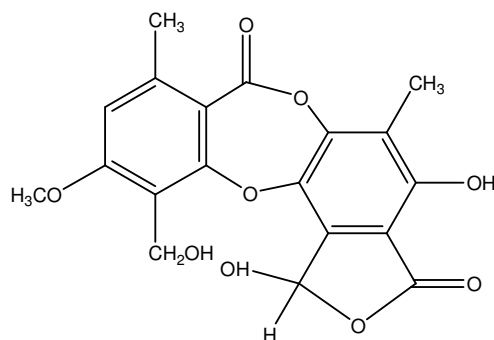
Ácido norstístico



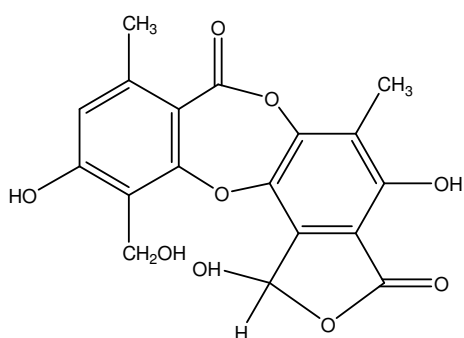
Ácido estístico



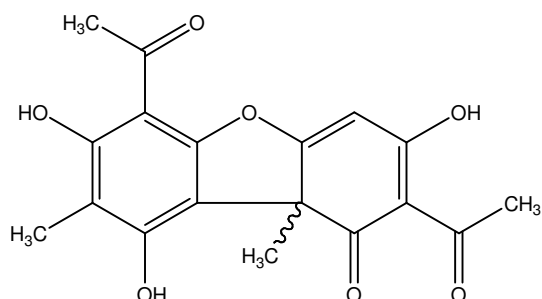
Ácido constístico



Ácido criptoestístico



Ácido conorstístico



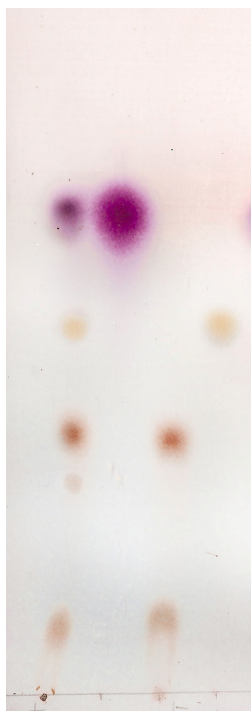
Ácido úsnico

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato obtido de *X. plittii* foi cromatografado no eluente I (cromatograma 11) juntamente com os ácidos norstítico, estítico, constítico e úsnico.

A mancha de maior migração pode ser atribuída à presença de ácido úsnico – comportamento cromatográfico compatível com aquele apresentado pela substância usada como referência.

Uma outra substância apresentou comportamento cromatográfico comparável ao ácido norstítico. Além dessas substâncias o cromatograma apresenta ainda pelo menos 03 outras com Rf 0,09; 0,305 e 0,35. A mancha de migração intermediária (Rf 0,35) e a de menor migração (Rf 0,09), comportam-se de maneira semelhante aos ácidos estítico e constítico usados como referência. Além dessas substâncias o cromatograma revela ainda uma outra (Rf 0,305) em concentração bem menor que as demais presentes no extrato em análise.



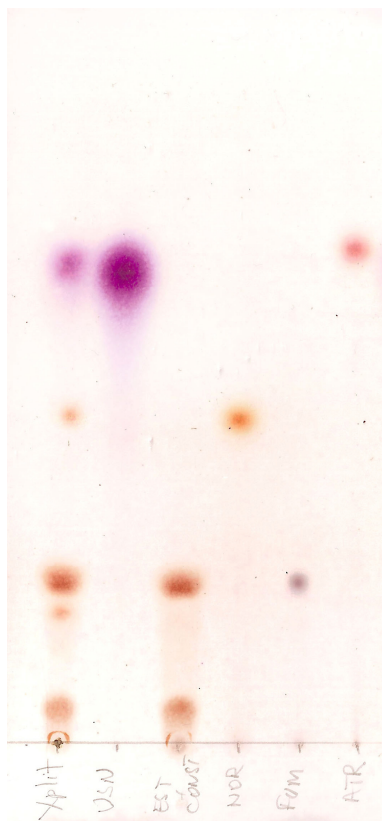
Xplit USN E+C NOR

Cromatograma 11 - Extrato de *X. plittii*

Cromatograma 11: (Xplit= *X. plittii*, USN= ácido úsnico, E+C= ácidos estítico e constítico, NOR= ácido norstítico) **Eluente I:** tolueno/ acetato de etila/ ácido acético glacial (6:4:1 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

A cromatografia do extrato de *X. plittii* no eluente II (cromatograma 12) permitiu comparar o comportamento cromatográfico das substâncias nele contidas com dados da literatura (Culberson, 1981). Dessa forma, além dos ácidos úsnico, norstítico, estítico e

constítico, é possível que a mancha de Rf 0,176 seja o ácido conorstítico e/ou ácido criptoestítico.



Xplit – USN – E+C – NOR – FUM – ATR

Cromatograma 12 - Extrato de *X. plittii*

Cromatograma 12: (Xplit= *X. plittii*, USN= ácido úsnico, E+C= ácidos estítico e constítico, NOR= ácido norstítico, FUM= ácido fumarprotocetrárico, ATR= atranorina) **Eluente II:** tolueno/ acetato de etila/ ácido fórmico (138:83:8 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Microcristalização (MC)

A análise por MC do extrato de *X. plittii* indicou em GAoT formas cristalinas características do ácido estítico e em GE do ácido úsnico.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados espectrais do extrato de *Xanthoparmelia plittii* foram obtidos em DMSO-d₆.

No espectro de RMN de ¹H, um singlete em 7,09 ppm sugere um hidrogênio aromático. Outros dois singletes, em 2,19 e 3,91 ppm, sugerem hidrogênios de grupo metila e metoxila, respectivamente. Além desses, um singlete em 10,46 indica hidrogênio de aldeído. Dois singletes largos, em 8,21 e 6,62 ppm, podem pertencer a um sistema lactol.

No espectro de RMN de ¹³C o sinal em 186,7 ppm que pode ser atribuído a uma carbonila de aldeído ligada a um sistema aromático. Conhecendo os esqueletos de depsidonas mais comuns, o δ ¹³C dessa carbonila sugere que ela esteja protegida estericamente por uma metoxila (com δ ¹³C de 56,8 ppm). Os sinais em 95,2 e 95,1 ppm podem ser atribuídos a CH de lactol. Além disso, o espectro mostra também sinais que evidenciam o esqueleto de depsidona e todas essas informações indicam a estrutura do ácido estítico confirmando a análise por MC e CCD.

Analisando o espectro de RMN ¹³C nota-se a presença de mais de um sinal na região de 95 ppm. Um desses sinais seria referente ao ácido estítico, e o outro indica então a presença de outra depsidona com anel lactol. Os sinais de δ que podem ser atribuídos à estrutura do ácido estítico estão representados nas figuras 18 e 19. Todos os sinais atribuídos a essa molécula foram comparados e estão de acordo com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos do ácido norstítico isolado e purificado (DMSO-d₆), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

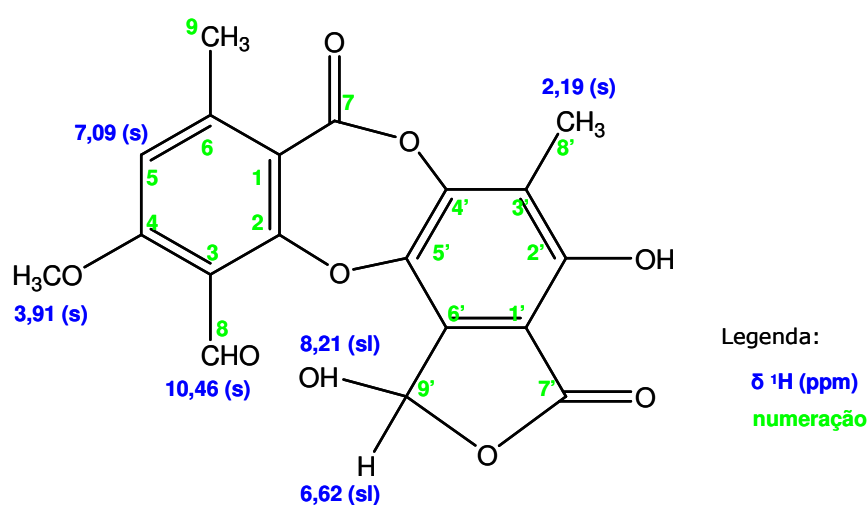


Figura 18 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ¹H para **ácido estítico** presente no extrato de *X. plittii* (DMSO-d₆).

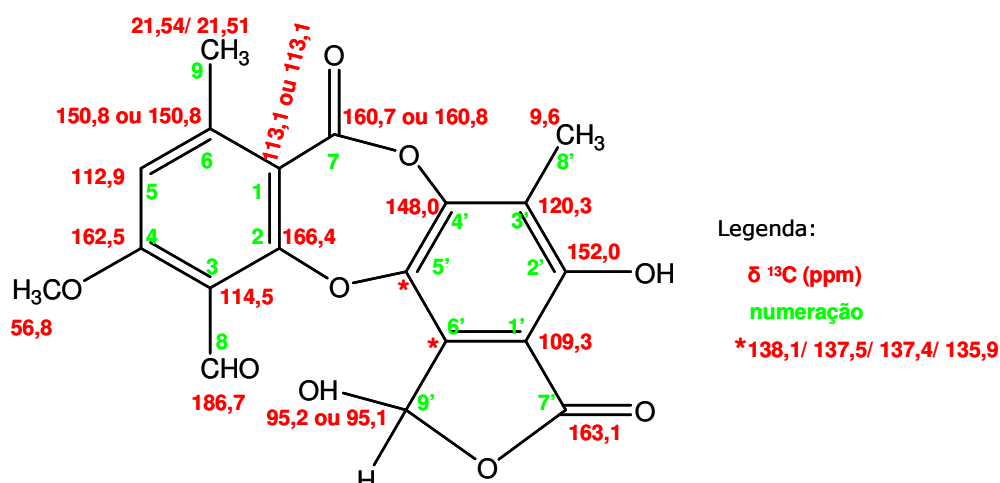


Figura 19 – Sinais de deslocamento químico de ¹³C para **ácido estético** presente no extrato de *X. plittii* (DMSO-d₆).

A análise cromatográfica indica que o ácido norstético está presente em concentração mais baixa que o ácido estético, o que dificulta o aparecimento de seus sinais de deslocamento químico no espectro de RMN ¹³C.

A substância de R_f 0,09 (cromatograma 11) apresenta comportamento cromatográfico semelhante ao do ácido constítico. Os sinais com δ¹³C 52,7 ppm e δ¹H 4,63 ppm são característicos de C metileno de álcool primário e indicam a provável presença dessa substância. Além disso, o sinal em 123,3 ppm pode ser atribuído ao C3' e apresenta uma desproteção de 3 ppm com relação ao mesmo carbono do ácido estético, que pode ser explicada pelo efeito indutivo de retirar elétrons e pelo efeito β de desproteção que a hidroxila presente no grupo -CH₂OH exerce nesse carbono aromático. Outros sinais de δ¹³C para o anel B do ácido constítico são semelhantes aos encontrados no ácido salazínico, graças à semelhança estrutural entre essas duas depsidonas. Os dados de δ que podem ser atribuídos ao ácido constítico através da comparação com o ácido salazínico estão de acordo com Eifler-Lima *et al.* 2000 (ácido salazínico em CDCl₃/DMSO-d₆ 3:1) e também com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos do ácido salazínico isolado e purificado (DMSO-d₆), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244. Os sinais de δ atribuídos ao ácido constítico estão representados na figura 20.

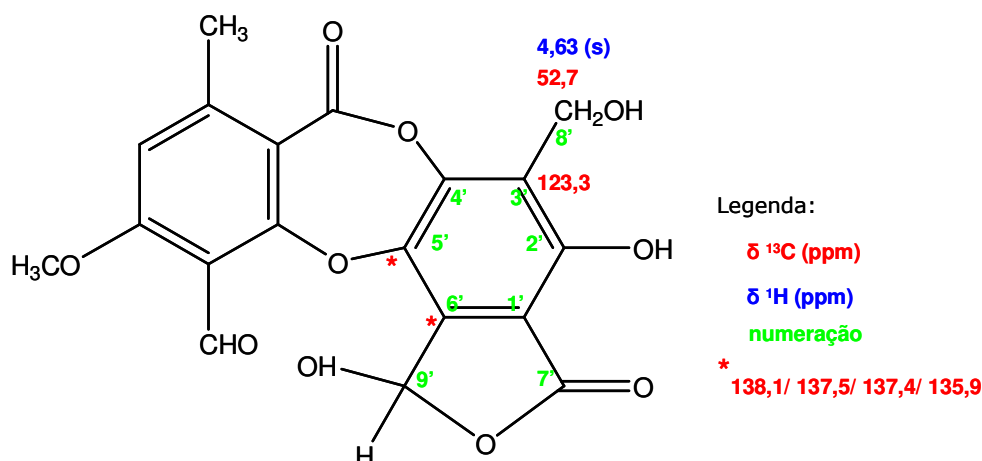


Figura 20 – Sinais de deslocamento químico para **ácido constítico** presente no extrato de *X. plittii* (DMSO- d_6).

Embora a cromatografia e a MC indiquem a presença de ácido úsnico, são poucos os sinais de deslocamento químico correspondentes a essa substância que aparecem nos espectros de RMN do extrato de *X. plittii*. Isso ocorre devido à baixa concentração no extrato e à baixa solubilidade do ácido úsnico em DMSO ($< 0,038$ mg/mL). Os sinais que podem ser atribuídos estão indicados na figura 21 e concordam com aqueles atribuídos por König & Wright (1999) ao ácido úsnico.

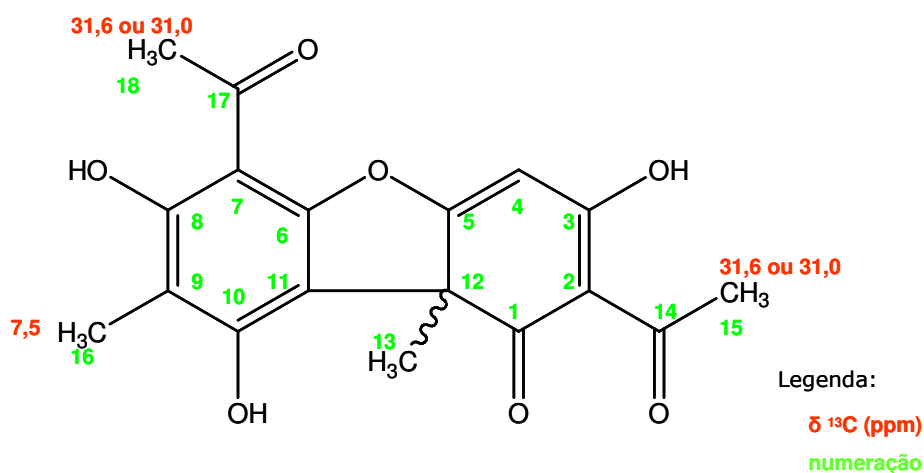


Figura 21 – Atribuição de sinal de deslocamento químico para **ácido úsnico** presente no extrato de *X. plittii* (DMSO- d_6).

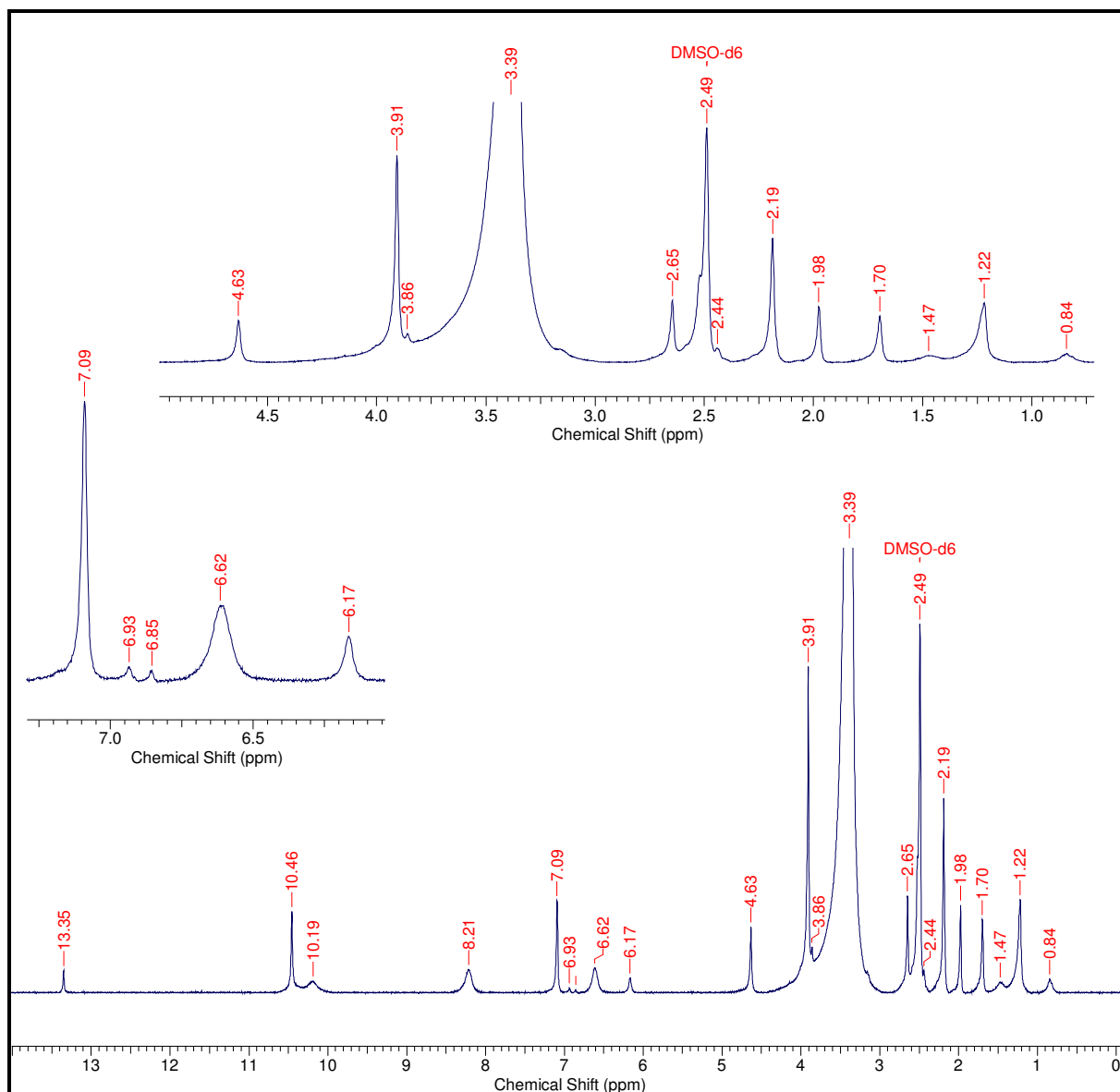
Portanto, os espectros de RMN permitiram a identificação segura dos ácidos estético e constético presentes no extrato de *X. plittii*. Os ácidos úsnico e norstético foram identificados por CCD através da comparação com substâncias isoladas. A atribuição da identidade à mancha de Rf 0,305 (cromatograma 8) como ácido criptoestético e/ou conorstético foi feita por comparação com dados da literatura (Culberson 1981) e pela correlação entre comportamento cromatográfico considerando as estruturas das depsidonas com anel lactol.

Tabela 9* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *X. plitti* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para os **ácidos constítico (CONST)**, **estético (EST)** e **úsico (USN)**.

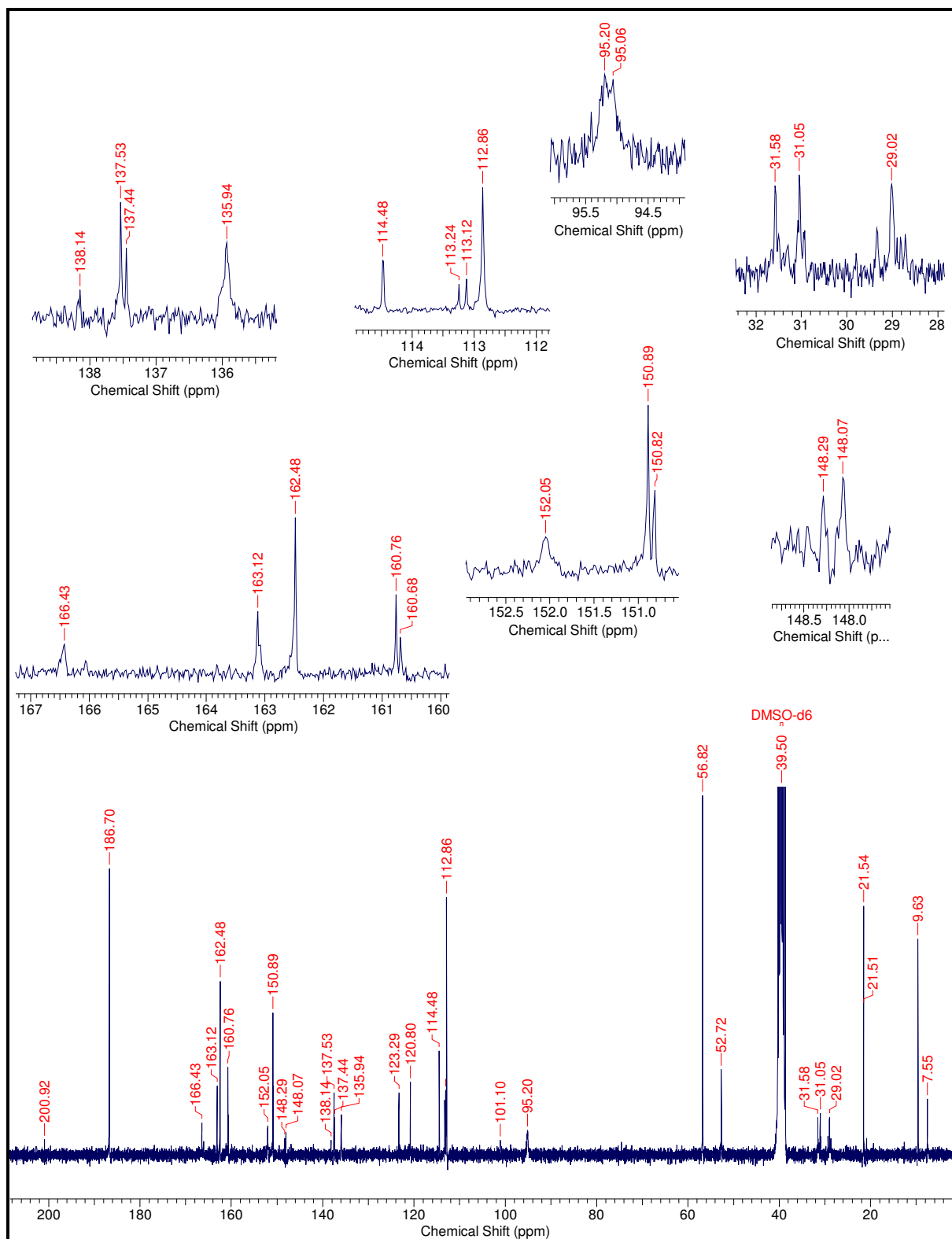
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
186,7 (CH)	C8 – EST	13,35 (s)	
166,4	C2 – EST	10,46 (s)	CHO(C8) – EST
163,1	C7' – EST	10,19 (sl)	
162,5	C4 – EST	8,21 (sl)	OH(C9') – EST
160,8		7,09 (s)	H(C5) – EST
160,7	C7 – EST	6,93 (s)	
152,0	C2' – EST	6,85 (s)	
150,9		6,62 (s)	H(C9') – EST
150,8	C6 – EST	6,17 (s)	
148,3		4,63 (s)	H(C8') – CONST
148,1	C4' – EST	3,91 (s)	OCH ₃ (C4) – EST
138,1	C5' – CONST,	2,86 (s)	
137,5	C6' – CONST,	2,44 (s)	
137,4	C5' – EST e	2,19 (s)	H(C8') – EST
135,9	C6' – CONST	1,98 (s)	
123,3	C3' – CONST	1,70 (s)	
120,8	C3' – EST	1,47 (s)	
114,5	C3 – EST	1,22 (s)	
113,2		0,84 (sl)	
113,1	C1 – EST		
112,9 (CH)	C5 – EST		
101,1			
95,2 (CH)			
95,1 (CH)	C9' – EST		
56,8 (CH ₃)	OCH ₃ (C4) – EST		
52,7 (CH ₂)	C8' – CONST		
31,6 (CH ₃)	C18 – USN e		
31,0 (CH ₃)	C13 – USN		
29,0			
21,54 (CH ₃)	C9 – EST		
21,51 (CH ₃)	C9 – CONST		
9,6 (CH ₃)	C8' – EST		
7,5 (CH ₃)	C16 – USN		

^a 300 MHz; ^b 75 MHz

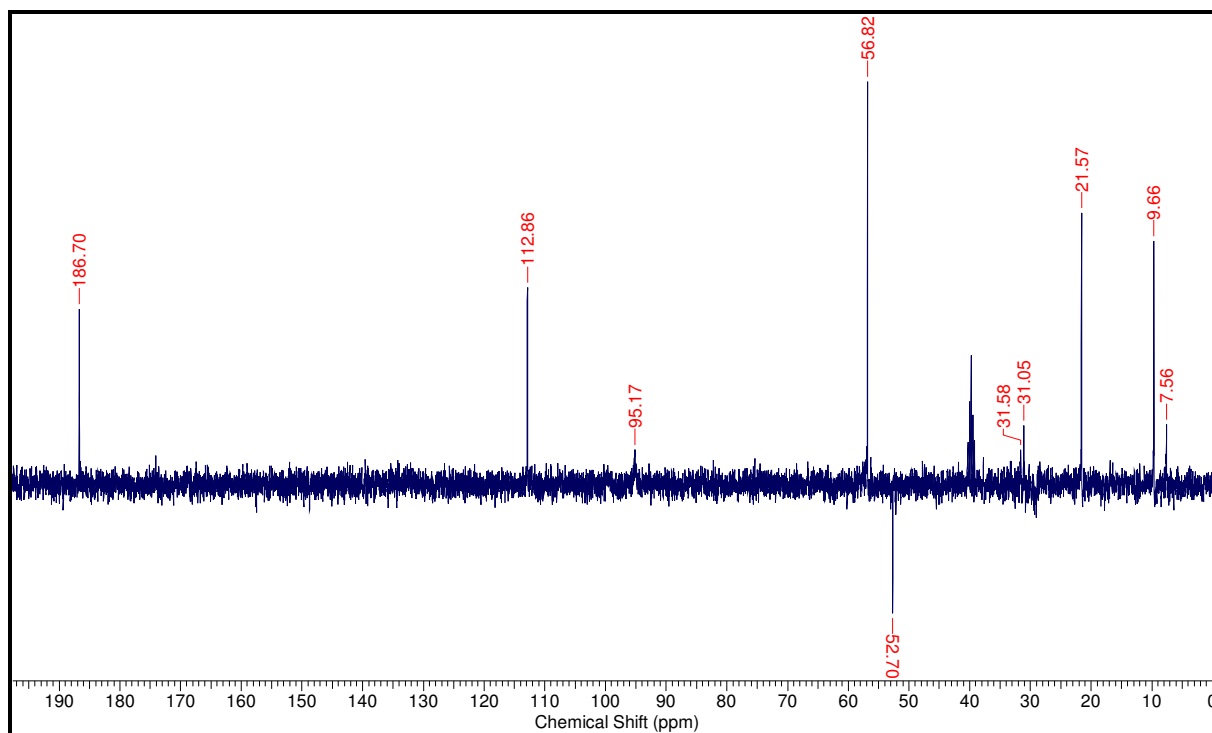
*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes.



Espectro 25 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *X. plittii* (DMSO-d_6)



Espectro 26 - Espectro de de RMN ^{13}C do extrato de *X. plittii* (DMSO-d_6)



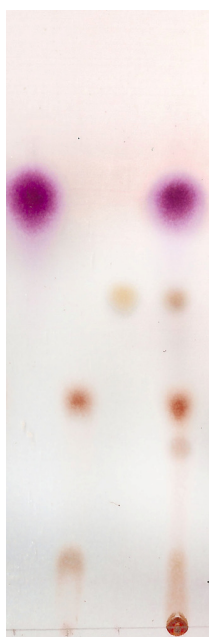
Espectro 27 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *X. plittii* (DMSO-d₆)

Xanthoparmelia succedans Elix & Johnston

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato obtido de *X. succedans* foi primeiramente cromatografado com as substâncias de referência ácidos norstítico, estítico, constítico e úsnico no eluente I (cromatograma 13). Este cromatograma apresenta semelhança com o da espécie *X. plittii*, o que indica semelhança entre as composições dos extratos.

Observaram-se pelo menos 4 manchas de substâncias majoritárias no cromatograma de *X. succedans*. A mancha de maior R_f pode ser atribuída ao ácido úsnico. Uma outra apresenta R_f comparável ao do ácido norstítico, e ainda duas outras com R_f menores que do ácido norstítico. Além dessas, o cromatograma mostra também a presença de outras substâncias que devem estar presentes nesse espécime em menor concentração.

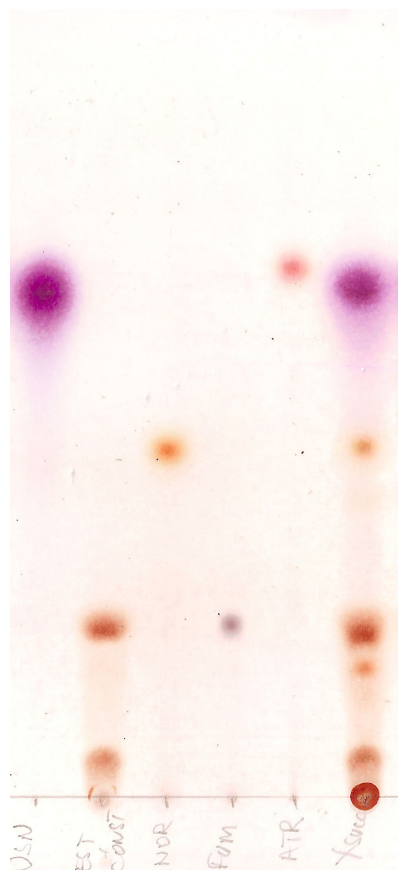


USN E+C NOR Xsucc

Cromatograma 13 - Extrato de *X. succedans*

Cromatograma 13: (USN= ácido úsnico, E+C= ácidos estítico e constítico, NOR= ácido norstítico, Xsucc= *X. succedans*) **Eluente I:** tolueno/ acetato de etila/ ácido acético glacial (6:4:1 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Com o objetivo de comparar o comportamento cromatográfico das substâncias contidas nesse extrato com dados da literatura (Culberson, 1981), o extrato foi cromatografado no eluente II (cromatograma 14).



USN - E+C - NOR - FUM - ATR - Xsucc

Cromatograma 14 - Extrato de *X. succedans*

Cromatograma 14: (USN= ácido úsnico, E+C= ácidos estítico e constítico, NOR= ácido norstítico, FUM= ácido fumarprotocetrárico, ATR= atranorina, Xsucc= *X. succedans*) **Eluente II:** tolueno/ acetato de etila/ ácido fórmico (138:83:8 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

O comportamento cromatográfico de Xsucc foi semelhante ao de Xplit e do mesmo modo, sugere que a composição majoritária de Xsucc é ácido úsnico, ácido norstítico, ácido estítico e ácido constítico.

Microcristalização (MC)

A análise por MC do extrato de *X. succedans* permitiu identificar estruturas cristalinas obtidas em solução de GAoT características da presença de ácido estítico e o ácido úsnico foi identificado por cristalização em GE.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados espectrais do extrato de *Xanthoparmelia succedans* foram obtidos em DMSO-d₆.

A análise dos espectros de *X. succedans* mostra sinais de δ muito semelhantes a aqueles observados nos espectros de *X. plittii*, o que indica semelhança de composição entre as espécies. Dessa forma todas as considerações feitas com relação aos espectros de *X. plittii* se aplicam também a *X. succedans*.

Um sinal em 186,7 ppm pode ser atribuído a uma carbonila de aldeído ligada a um sistema aromático, protegida estericamente por uma metoxila (com $\delta^{13}\text{C}$ de 56,8 ppm) e um grupo de sinais com $\delta^{13}\text{C}$ de aproximadamente 95 ppm indicam a presença de grupos CH de lactol, concordam com a estrutura do ácido estítico. A atribuição completa dos sinais está nas figuras 21 e 22. Todos os sinais que puderam ser atribuídos foram comparados e estão de acordo com a atribuição do ácido norstítico, feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos dessa substância isolada e purificada (DMSO-d₆), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

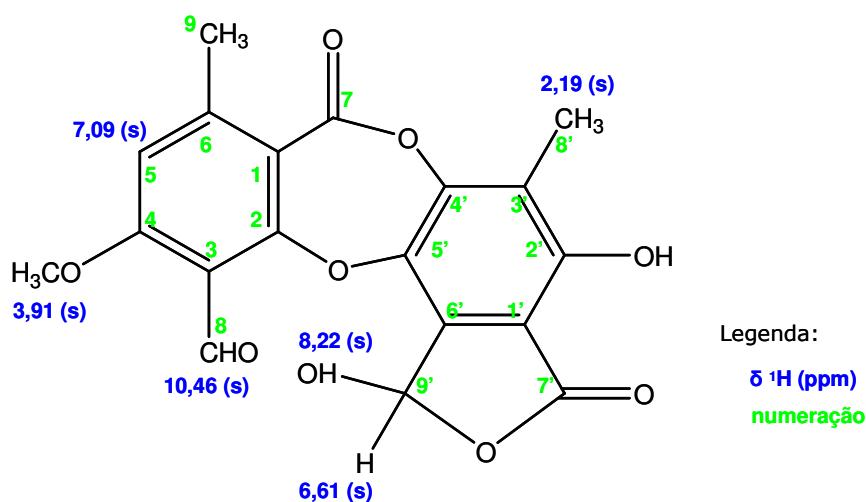


Figura 22 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ¹H para **ácido estítico** presente no extrato de *X. succedans* (DMSO-d₆).

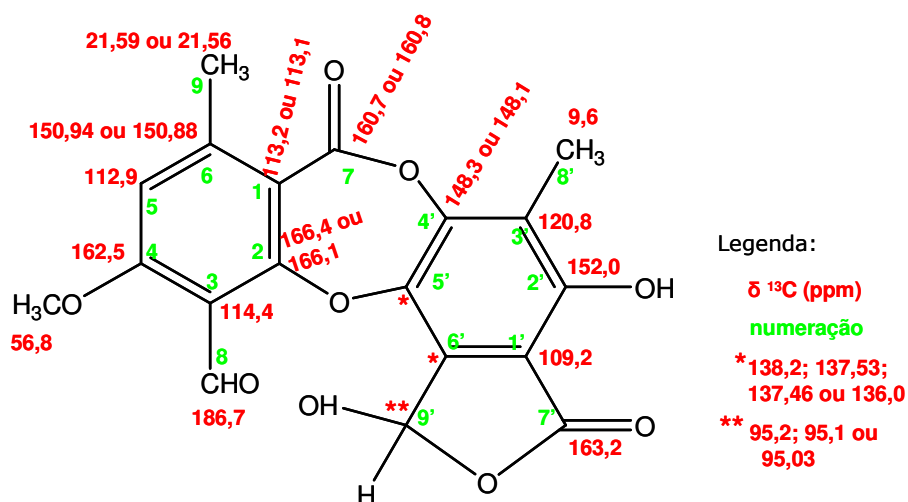


Figura 23 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ^{13}C para **ácido estético** presente no extrato de *X. succedans* (DMSO- d_6).

As mesmas evidências encontradas nos espectros de *X. plittii* para o ácido constítico foram encontradas nos espectros de *X. succedans*.

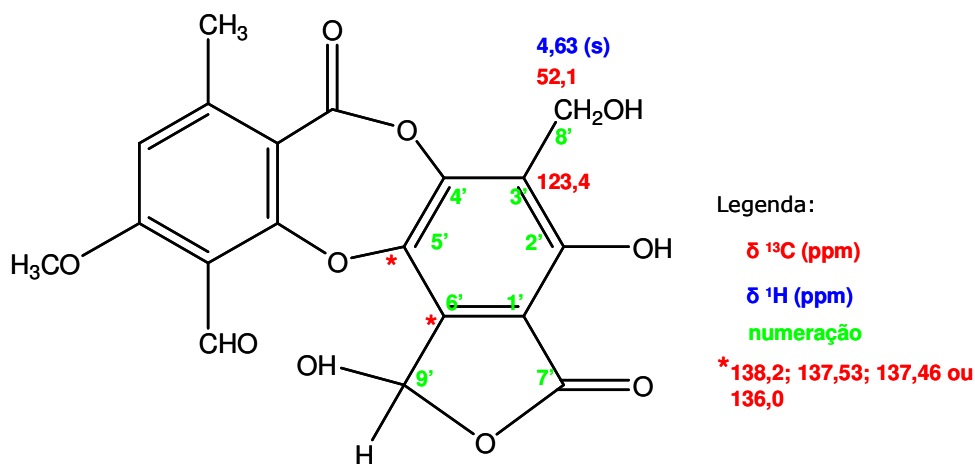


Figura 24 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ^1H e ^{13}C para **ácido constítico** presente no extrato de *X. succedans*

Também foi possível a confirmação da presença do ácido úsnico através da observação de alguns sinais de baixa intensidade no espectro de RMN ^{13}C . Estes sinais de deslocamento estão indicados na figura 24 e concordam com a atribuição feita por König &

Wright (1999). O número reduzido de sinais no espectro ocorre, provavelmente devido à baixa concentração no extrato e à baixa solubilidade do ácido úsnico em DMSO (< 0,038 mg/mL).

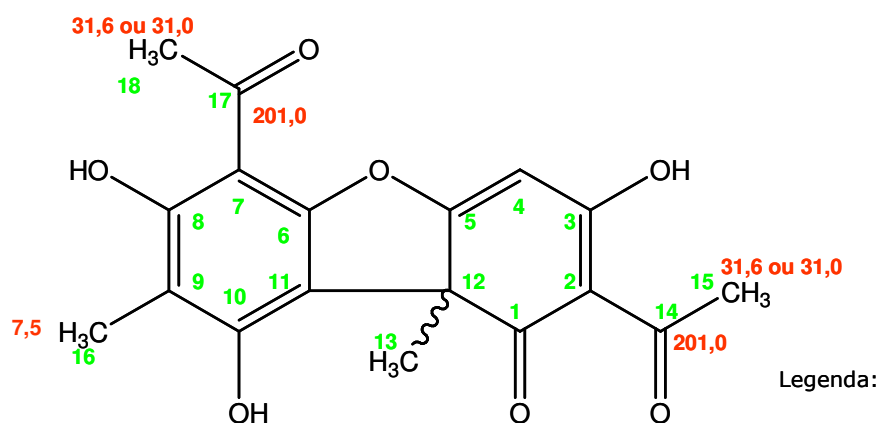


Figura 25 – Atribuição de sinal de deslocamento químico para **ácido úsnico** presente no extrato de *X. succedans*.

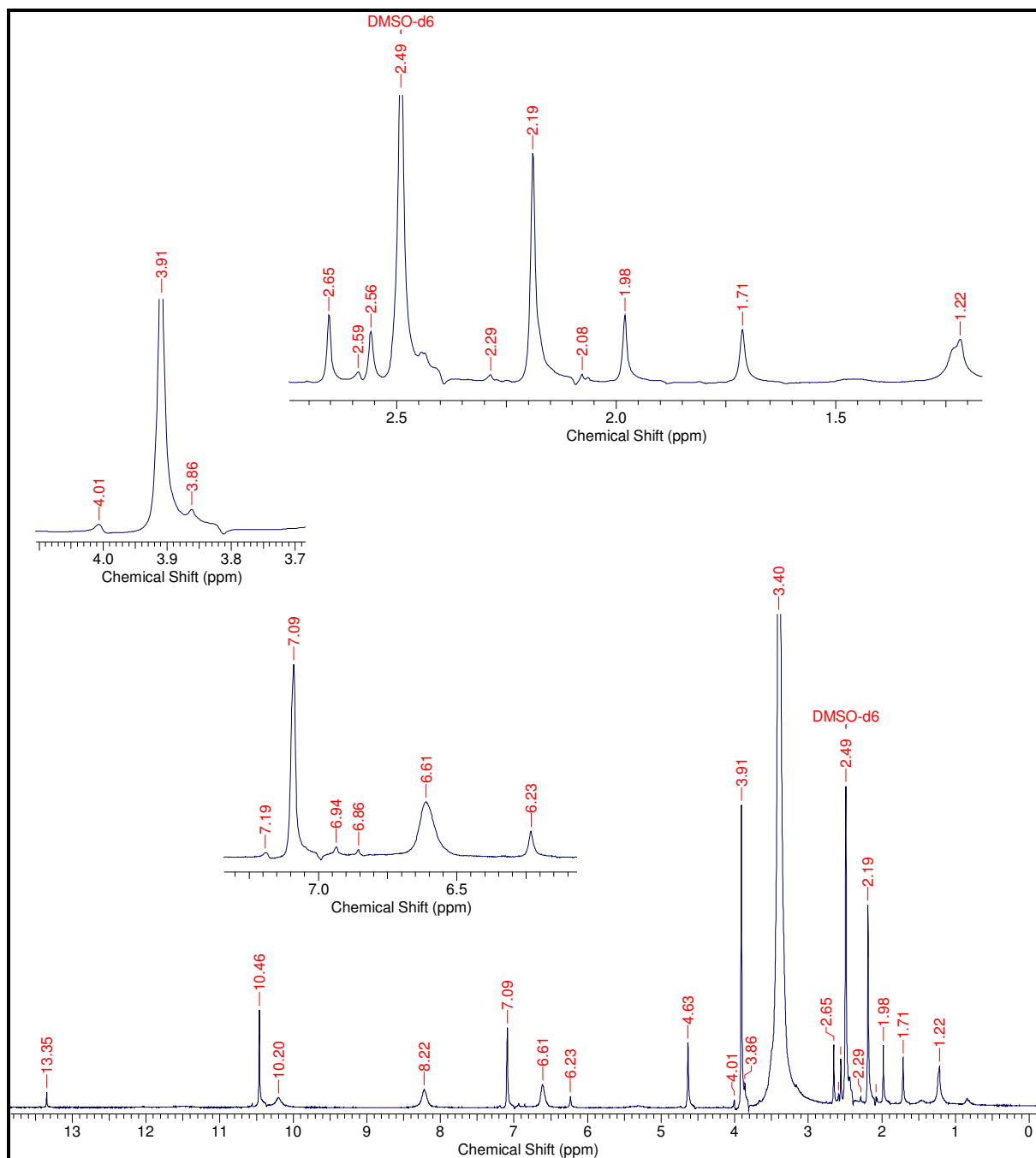
Portanto, os espectros de RMN permitiram a identificação dos ácidos estítico, constítico e úsnico, presentes no extrato de *X. succedans*. Os ácidos úsnico e norstítico foram identificados por CCD através da comparação com substâncias isoladas.

Tabela 10* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *X.succedans* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para os **ácidos constítico (CONST)**, **estítico (EST)** e **úsnico (USN)**.

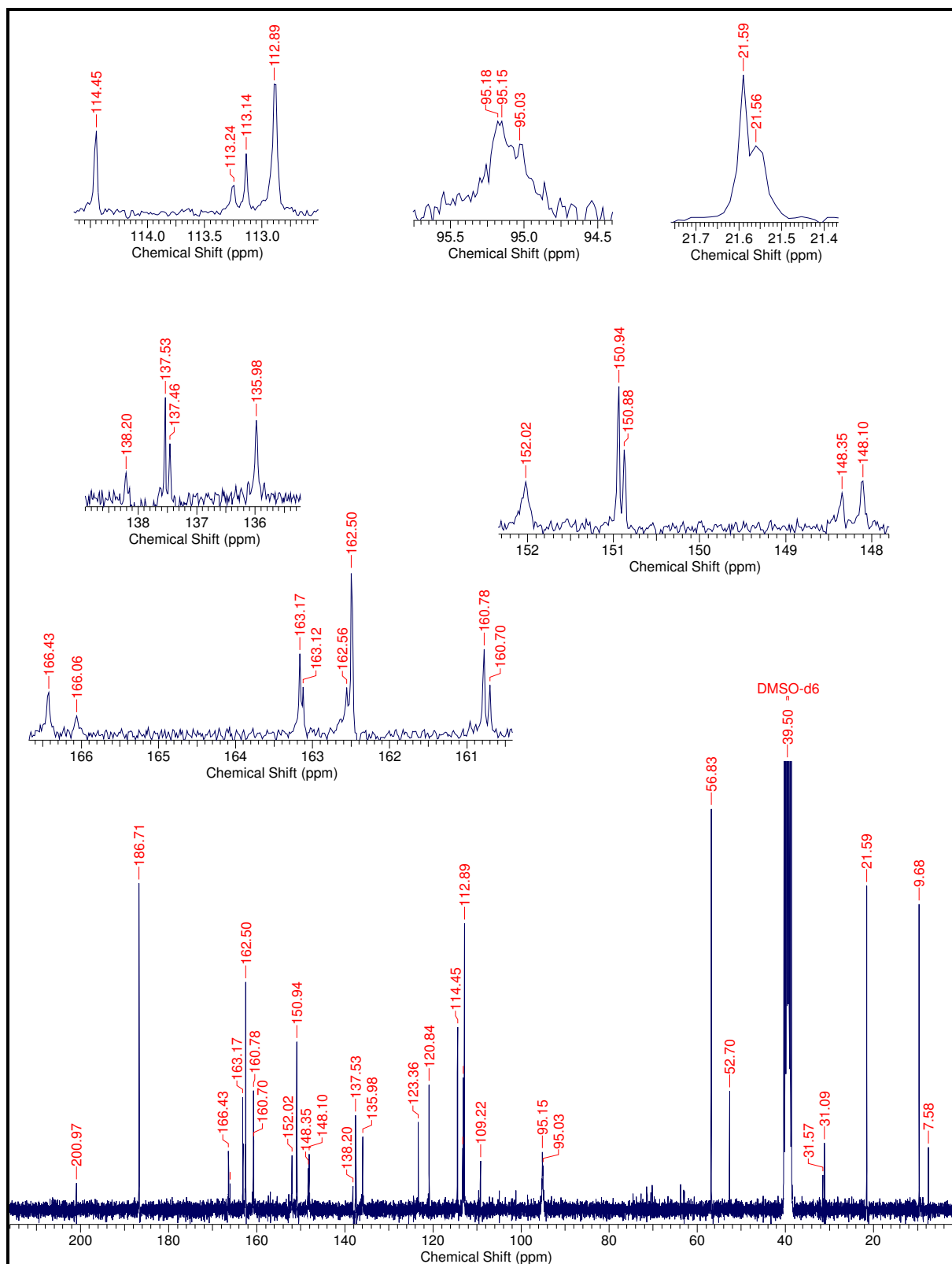
$\delta^{13}\text{C}^a$		$\delta^1\text{H}^b$	
(DEPT 135)	C - substância	(multiplicidade)	H - substância
201,1	C17 e/ou C14 – USN	13,35 (s)	
186,7 (CH)	C8 – EST	10,46 (s)	CHO(C8) – EST
166,4		10,20 (sl)	
166,1	C2 – EST	8,22 (sl)	OH(C9') – EST
163,2	C7' – EST	7,19 (s)	
162,5	C4 – EST	7,09 (s)	H(C5) – EST
160,8		6,94 (s)	
160,7	C7 – EST	6,86 (s)	
152,0	C2' – EST	6,61 (s)	H(C9') – EST
148,3		4,63 (s)	H(C8') – CONST
148,1	C4' – ATR	4,01 (s)	
138,2	C5' – CONST,	3,91 (s)	OCH ₃ (C4) – EST
137,53	C6' – CONST,	3,86 (s)	
137,43	C5' – EST e	2,65 (s)	
136,0	C6' – EST	2,59 (s)	
123,4	C3' – CONST	2,29 (s)	
120,8	C3' – EST	2,19 (s)	H(C8') – EST
114,4	C3 – EST	2,08 (s)	
113,2		1,98 (s)	
113,1	C1 – EST	1,71 (s)	
112,9 (CH)	C5 – EST	1,22 (sl)	
109,2	C1' – EST		
95,18 (CH)			
95,15 (CH)	C9' – EST		
95,03 (CH)			
56,8 (CH ₃)	OCH ₃ (C4) – EST		
52,1 (CH ₂)	C8' – CONST		
31,6 (CH ₃)	C18 – USN e		
31,1 (CH ₃)	C13 – USN		
28,1 (CH ₃)	C15 – USN		
21,59 (CH ₃)	C9 – EST		
21,56 (CH ₃)	C9 – CONST		
9,7 (CH ₃)	C8' – EST		
7,6 (CH ₃)	C16 – USN		

^a 300 MHz; ^b 75 MHz

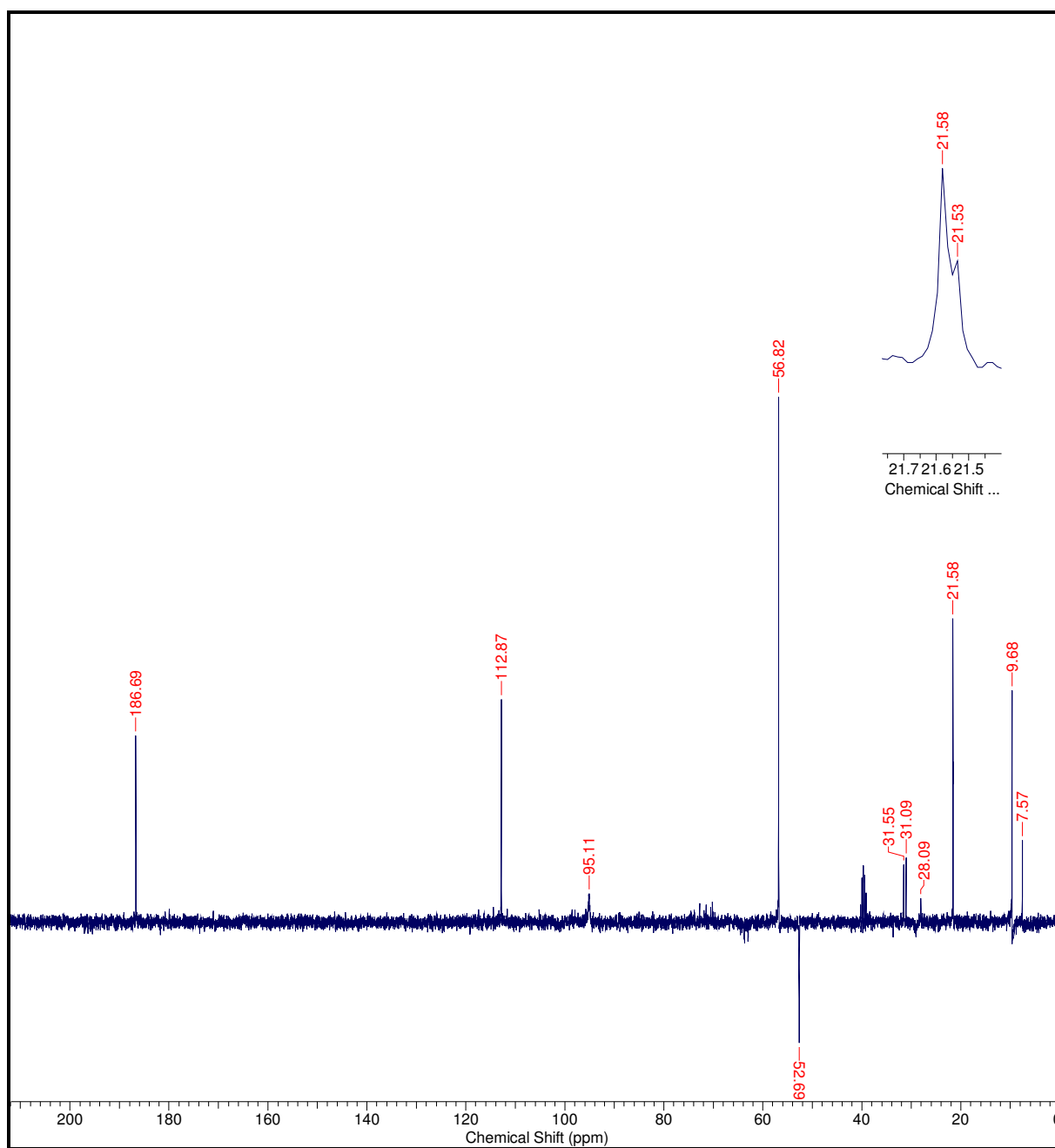
*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes.



Espectro 28 - Espectro de RMN de ^1H extrato de *X. succedans* (DMSO-d_6)



Espectro 29 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *X. succedans* (DMSO-d_6)

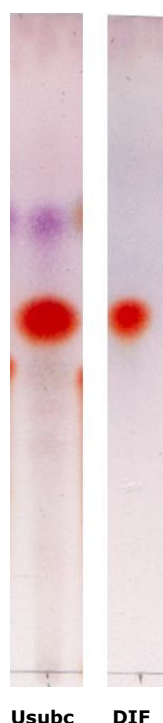


Espectro 30 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *X. succedans* (DMSO-d₆)

Usnea subcavata Motyka

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *U. subcavata* foi cromatografado no eluente I e após revelação observou-se no cromatograma a presença de duas substâncias. A de Rf maior corresponde ao ácido úsnico. A outra substância, com Rf 0,438, revela laranja-vermelho com p-anisaldeído, o que sugere ser um depsídeo. Essa substância tem comportamento cromatográfico semelhante à substância de referência ácido difractáico.



Cromatograma 15 - Extrato de *U. subcavata*

Cromatograma 15: (Usubc= *U. subcavata*, DIF= ácido difractáico) **Eluente I:** tolueno/ acetato de etila/ ácido acético glacial (6:4:1 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Microcristalização (MC)

A microcristalização em GE indicou formas cristalinas correspondentes ao ácido difractáico e ao ácido úsnico. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e também com aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados espectrais do extrato de *Usnea subcavata* foram obtidos em CDCl_3 .

O espectro de RMN ^1H desse extrato apresenta sinais intensos de deslocamento químico na região abaixo de 3 ppm que indicam a possível presença de metilas que são normalmente encontradas nos depsídeos. Elas podem estar ligadas em C3, C3', C6 e/ou C6' nesse tipo de estrutura. São observados também sinais em 3,85 e 3,84 ppm, dois singletes, que podem ser atribuídos a grupos $-\text{OCH}_3$; e ainda sinais em 6,53 e 6,61 ppm que provavelmente indicam hidrogênios ligados a carbonos aromáticos. É também observado um singlete largo em 11,74 ppm que pode ser atribuído a um OH ligado a carbono aromático.

Esses δ no espectro de RMN ^1H , juntamente com os $\delta^{13}\text{C}$ de 8,9; 9,1; 20,2 e 24,1 ppm que podem ser atribuídos a 4 grupos CH_3 , e ainda dois sinais que indicam carbonos aromáticos com hidrogênios ligados (facilmente diferenciados no espectro de RMN de DEPT 135) sugerem a estrutura de depsídeo derivado de β -orcinol. Os sinais de maior intensidade no espectro de RMN ^{13}C podem ser atribuídos à estrutura do ácido difractáico e estão indicados nas figuras 25 e 26. Todos esses δ estão de acordo com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos do ácido difractáico isolado e purificado (CDCl_3), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

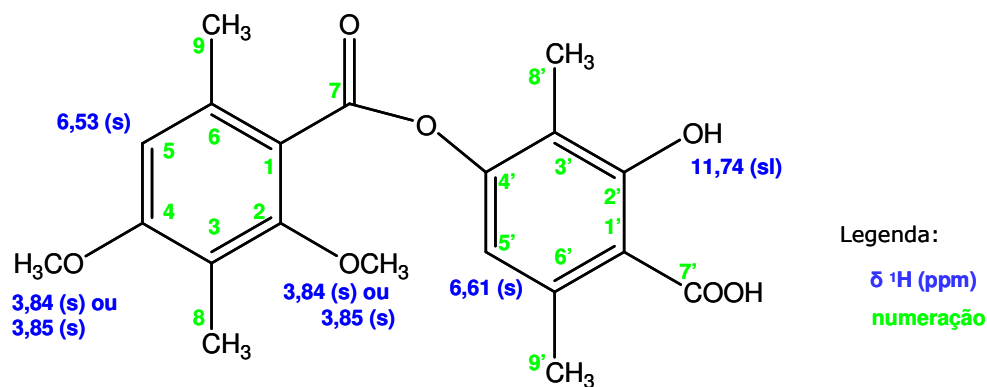


Figura 26 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ^1H do **ácido difractáico** presente no extrato de *U. subcavata* (CDCl_3).

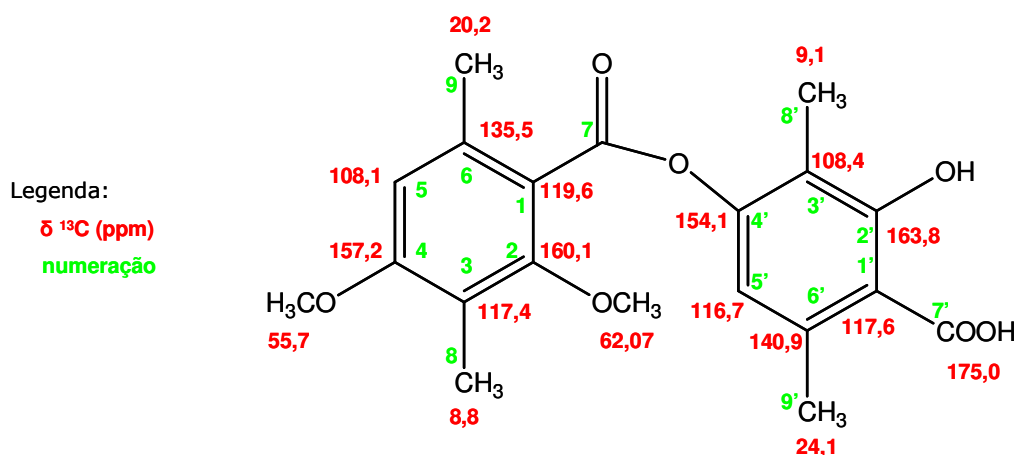


Figura 27 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ^{13}C do **ácido difractáico** presente no extrato de *U. subcavata* (CDCl_3).

O espectro de RMN ^1H apresenta também sinais de deslocamento químico de menor intensidade em 1,75; 2,10; 2,65 e 2,67 ppm, que podem corresponder a hidrogênios de grupos metila. Esses sinais, entre alguns outros que podem ser atribuídos ao ácido úsnico, estão indicados na figura 25 e concordam com a atribuição de König & Wright 1999.

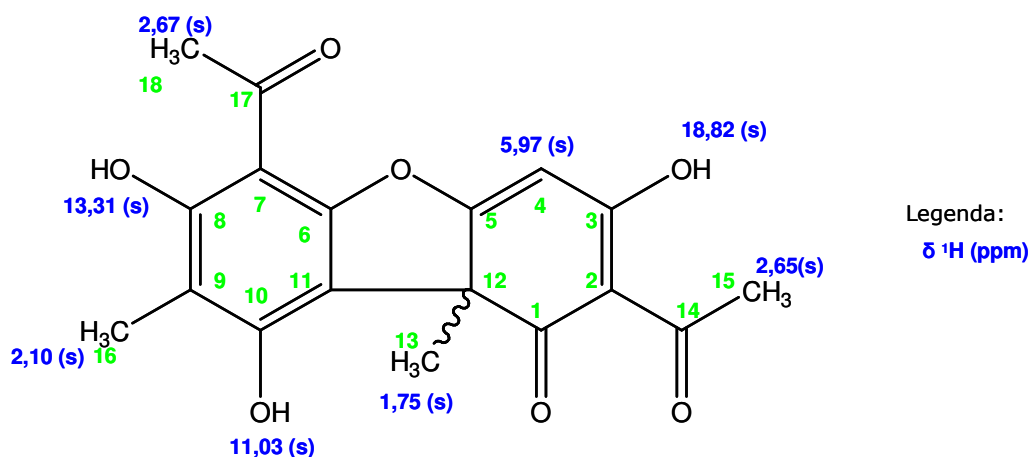


Figura 28 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ^1H para **ácido úsnico** presente no extrato de *U. subcavata* (CDCl_3).

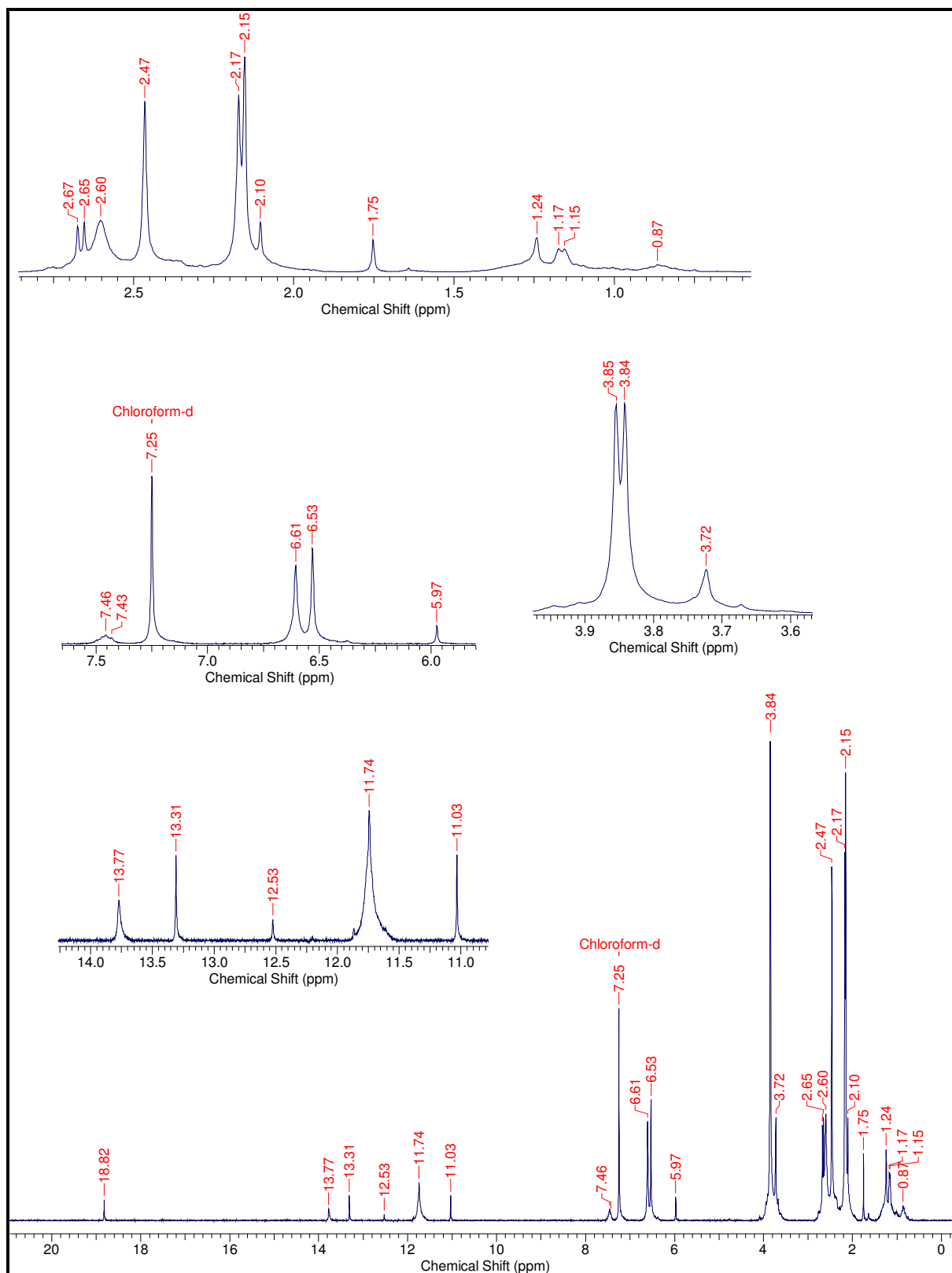
Concluindo, o extrato de *U. subcavata* contém ácidos difractáico e úsnico, sendo o primeiro em maior concentração. A identificação dos ácidos difractáico e úsnico, nessa espécie, foi feita mediante CCD, MC e interpretação dos espectros de RMN.

Tabela 11* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *U. subcavata* (CDCl₃) e atribuição de sinais para os **ácidos úsnico (USN)** e **difractáico (DIF)**.

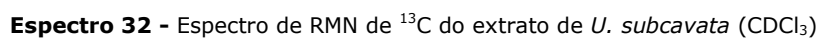
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
175,1	C7' – DIF	18,82 (s)	OH(C3) – USN
166,2		13,77 (sl)	
163,9		13,31 (s)	OH(C8) – USN
163,8	C2' – DIF	12,53 (s)	
160,1	C2 – DIF	11,74 (s)	OH(C2') – DIF
157,2	C4 – DIF	11,03 (s)	OH(C10) – DIF
154,1	C4' – DIF	7,46 (s)	
141,0		7,43 (s)	
140,9	C6' – DIF	6,61 (s)	H(C5') – DIF
135,5	C6 – DIF	6,53 (s)	H(C5) – DIF
119,6	C1 – DIF	5,97 (s)	H(C4) – USN
117,6	C1' – DIF	3,85 (s)	OCH ₃ (C4) – DIF e
117,4	C3 – DIF	3,84 (s)	OCH ₃ (C2) – DIF
116,7 (CH)	C5' – DIF	3,72 (s)	
108,4		2,67 (s)	H(C18) – USN
108,1 (CH)	C5 – DIF	2,65 (s)	H(C
98,3	C4 – USN	2,60 (sl)	H (C8') – ATR
62,1 (CH ₃)	OCH ₃ (C2) – DIF	2,47 (s)	
55,7 (CH ₃)	OCH ₃ (C4) – DIF	2,17 (s)	
36,3		2,15 (s)	
32,1		2,10 (s)	
31,3			
29,7			
29,3			
24,1 (CH ₃)	C9' – DIF		
20,2 (CH ₃)	C9 – DIF	1,75 (s)	
18,0		1,24 (s)	
9,1 (CH ₃)	C8' – DIF	1,17 (s)	
8,9 (CH ₃)	C8 – DIF	1,15 (s)	
7,5 (CH ₃)	C16 – USN	0,87 (s)	

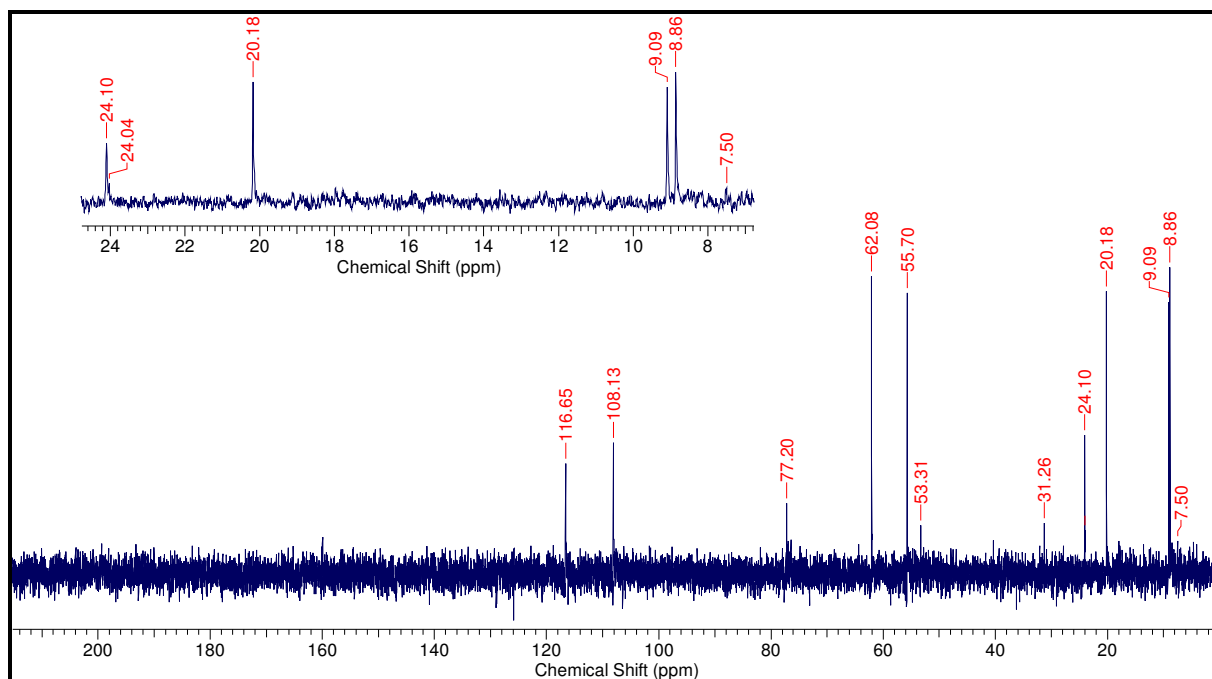
^a 300 MHz; ^b 75 MHz;

*a cor azul células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (¹H ou ¹³C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes;



Espectro 31 - Espectro de RMN de ¹H do extrato de *U. subcavata* (CDCl₃)

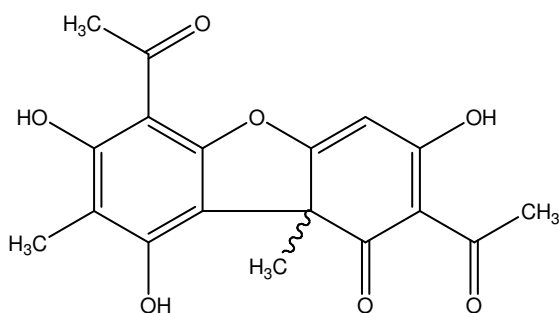




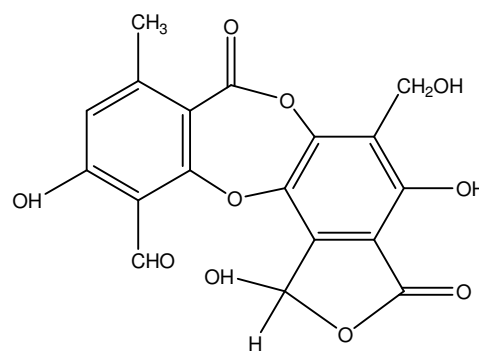
Espectro 33 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *U. subcavata* (CDCl₃)

Parmotrema delicatulum (Vain.) Hale

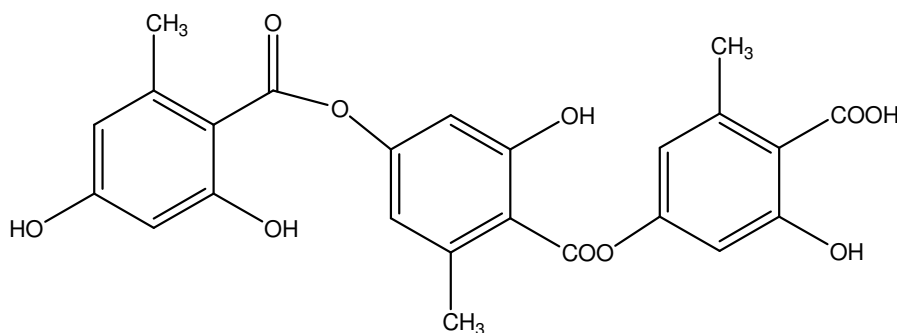
Os ácidos úsnico, salazínico e girofórico são as substâncias com importância taxonômica para essa espécie (Culberson *et al.* 1977).



Ácido úsnico



Ácido salazínico



Ácido girofórico

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *P. delicatulum* foi cromatografado no eluente III. No cromatograma observa-se ao menos 3 manchas. A mancha de maior migração pode ser atribuída ao ácido úsnico. Já a mancha de menor migração pode ser atribuída ao ácido salazínico. A mancha de migração intermediária apresenta comportamento cromatográfico semelhante a aquela das substâncias de referência ácidos girofórico e lecanórico.



Pdeli GIR LEC

Cromatograma 16 - Extrato de *P. delicatulum*

Cromatograma 16: (Pdeli= *P. delicatulum*, GIR= ácido girofórico, LEC= ácido lecanórico) **Eluente III:** benzeno/ dioxano/ ácido acético glacial (90:25:3 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Microcristalização (MC)

A análise por MC do extrato de *P. delicatulum* indicou em GE formas cristalinas características dos ácidos girofórico e úsnico. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e também com aquelas formadas a partir de substâncias puras e extratos com composição conhecida.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados espectrais do extrato de *P. delicatulum* foram obtidos em DMSO-d₆.

O espectro de RMN ¹H desse extrato apresenta sinais na região de 13 a 10 ppm, que podem ser referentes a hidroxilas e hidrogênios ligados a carbonilas de aldeídos. Um sinal largo em 8,28 ppm indica uma hidroxila ligada a um anel lactol e sugere uma depsidona, que

pode ser o ácido salazínico. Na região de 6 ppm são observados sinais que sugerem hidrogênios aromáticos. Em 4,64 ppm um sinal pode indicar hidrogênios de metileno alcoólico, condizente também com o ácido salazínico. E ainda, sinais abaixo de 3,5 ppm sugerem hidrogênios de metilas ligadas a anel aromático. Todos esses sinais eram esperados para confirmação das estruturas das moléculas que estão presentes no extrato, porém, não foi possível atribuir $\delta^1\text{H}$ inequivocamente para nessas condições, principalmente os hidrogênios na região de 6 ppm, onde os acoplamentos não puderam ser assinalados de maneira eficiente.

Os sinais de $\delta^1\text{H}$ que puderam ser atribuídos ao ácido salazínico estão indicados na figura 28 e concordam com dados de Eifler-Lima *et al.* 2000 (ácido salazínico em $\text{CDCl}_3/\text{DMSO-d}_6$ 3:1) e também com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos do ácido salazínico isolado e purificado (DMSO-d_6), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

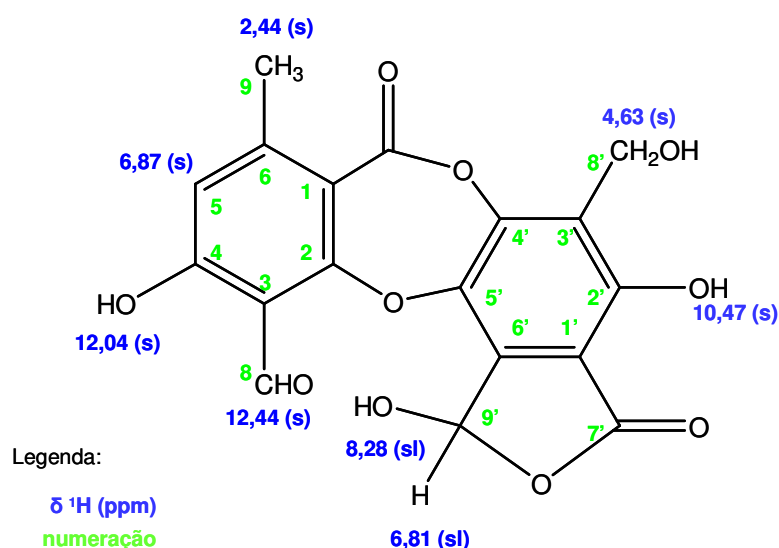


Figura 29 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ^1H para o **ácido salazínico** presente no extrato de *P. delicatulum* (DMSO-d_6).

No espectro de RMN ^{13}C , os sinais mais desprotegidos, em 201,0 e 199,9 ppm, são característicos de carbonila de cetona. Esses sinais, juntamente outros em 7,5; 31,6 e 31,1 ppm, todos CH_3 , que pode ser atribuídos as metilas características da presença do ácido úsnico. A presença dessa substância também foi confirmada por CCD e MC. Os sinais atribuídos ao ácido úsnico estão indicados na figura 29 e concordam com dados da literatura (König & Wright 1999).

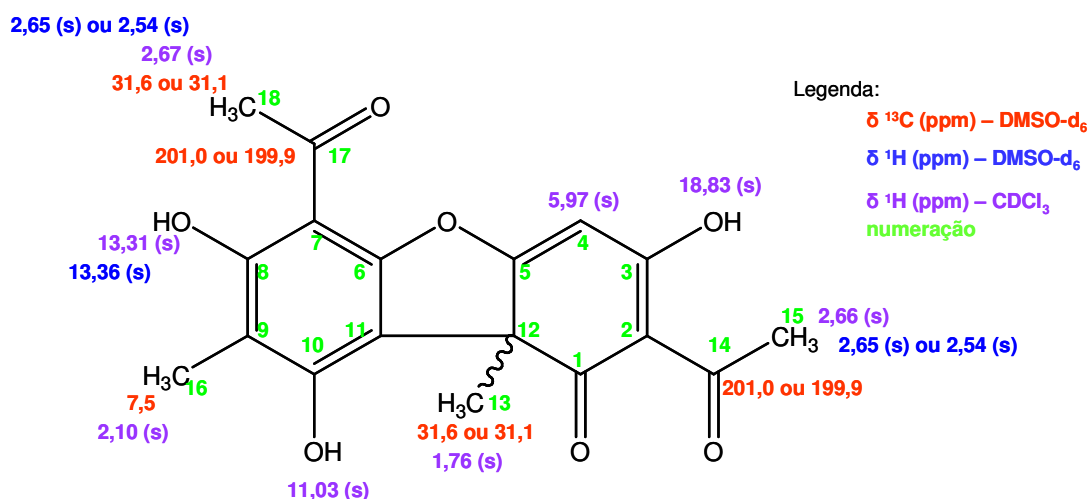


Figura 30 – Sinais de deslocamento químico para **ácido úsnico** presente no extrato de *P. delicatulum* (CDCl_3 e DMSO-d_6).

O espectro de RMN ^{13}C também apresenta um sinal em 192,8 ppm, que é característico de carbonila de aldeído. O sinal com $\delta^{13}\text{C}$ 52,8 ppm, facilmente caracterizado como $-\text{CH}_2-$ pelo espectro de RMN ^{13}C DEPT 135, sugere um metileno alcoólico. Não foi possível observar sinais na região de 95 ppm, onde estariam o $\delta^{13}\text{C}$ do carbono C9' das depsidonas que possuem anel lactol. Esse sinal tem baixa intensidade por natureza. O conjunto de sinais observados e que sugerem a estrutura da depsidona ácido salazínico está indicado na figura 30.

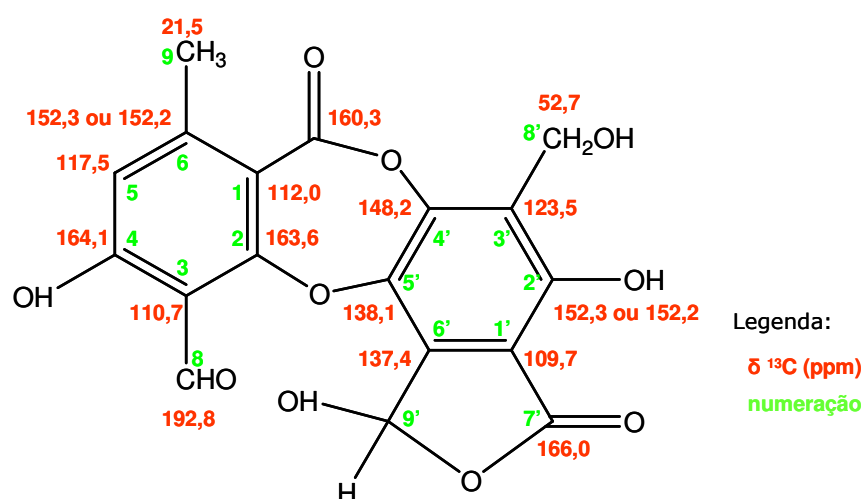


Figura 31 – Sinais de deslocamento químico de RMN de ^{13}C para o **ácido salazínico** presente no extrato de *P. delicatulum* (DMSO-d_6).

Ainda no espectro de RMN ^{13}C , os sinais em 107,2; 107,3; 114,3 e 114,5 podem ser caracterizados como carbonos aromáticos ligados a hidrogênio pelo espectro de RMN de DEPT 135 e indicam fazer parte de uma estrutura com certo grau de simetria. Outros 2 sinais, em 100,6 e 109,9 também se apresentam como CH e tem intensidade semelhante aos outros 4 CH já citados, o que sugere que todos os 6 sinais façam parte da mesma molécula. Na região de carbonos alifáticos, 3 sinais com intensidades semelhantes, em 19,4; 20,9 e 21,3 ppm podem indicar 3 metilas ligadas a sistemas aromáticos e também podem pertencer à mesma molécula. Esses sinais podem confirmar a informação obtida por MC, que sugere a presença do tripepsídeo ácido girofórico no extrato de *P. delicatulum*. Os sinais de $\delta^{13}\text{C}$ que indicam a presença desse tripepsídeo estão indicados na figura 31 e concordam com valores da literatura (Narui *et al.* 1998).

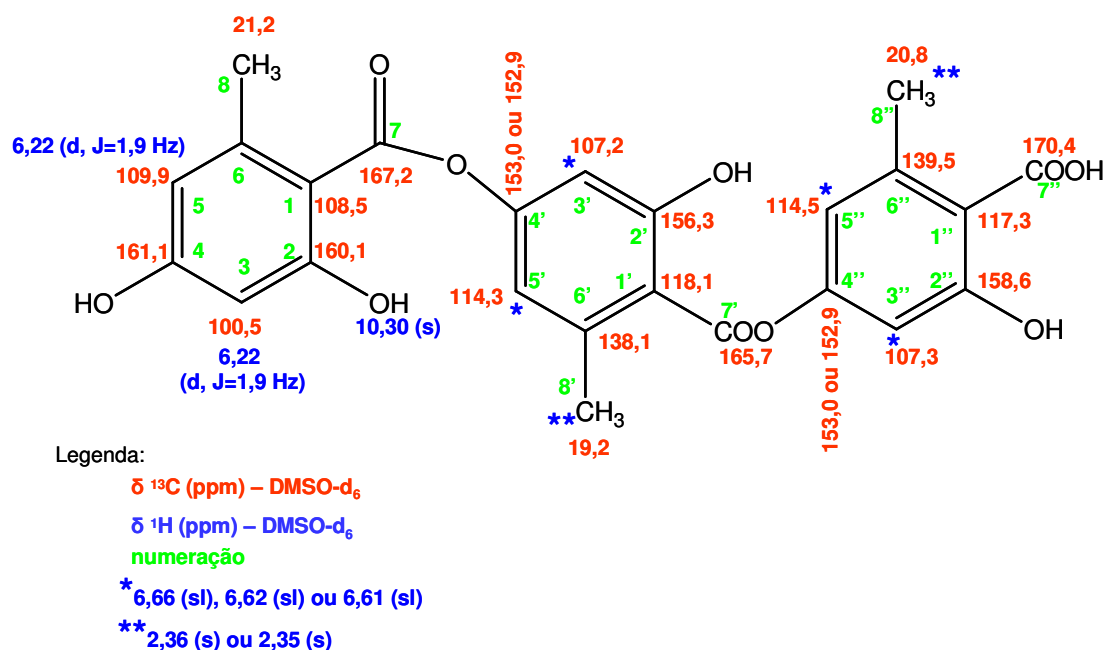


Figura 32 – Sinais de deslocamento químico para o **ácido girofórico** presente no extrato de *P. delicatulum* (DMSO- d_6).

Dessa forma, no extrato de *P. delicatulum* foram identificados: ácido úsnico, por CCD, MC e RMN; ácido salazínico, por CCD e RMN e, por último, ácido girofórico, por MC e RMN.

Tabela 12* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. delicatulum* (DMSO- d_6 e $CDCl_3$) e atribuição de sinais para os **ácidos girofórico (GIR)**, **salazínico (SLZ)** e **úsico (USN)**.

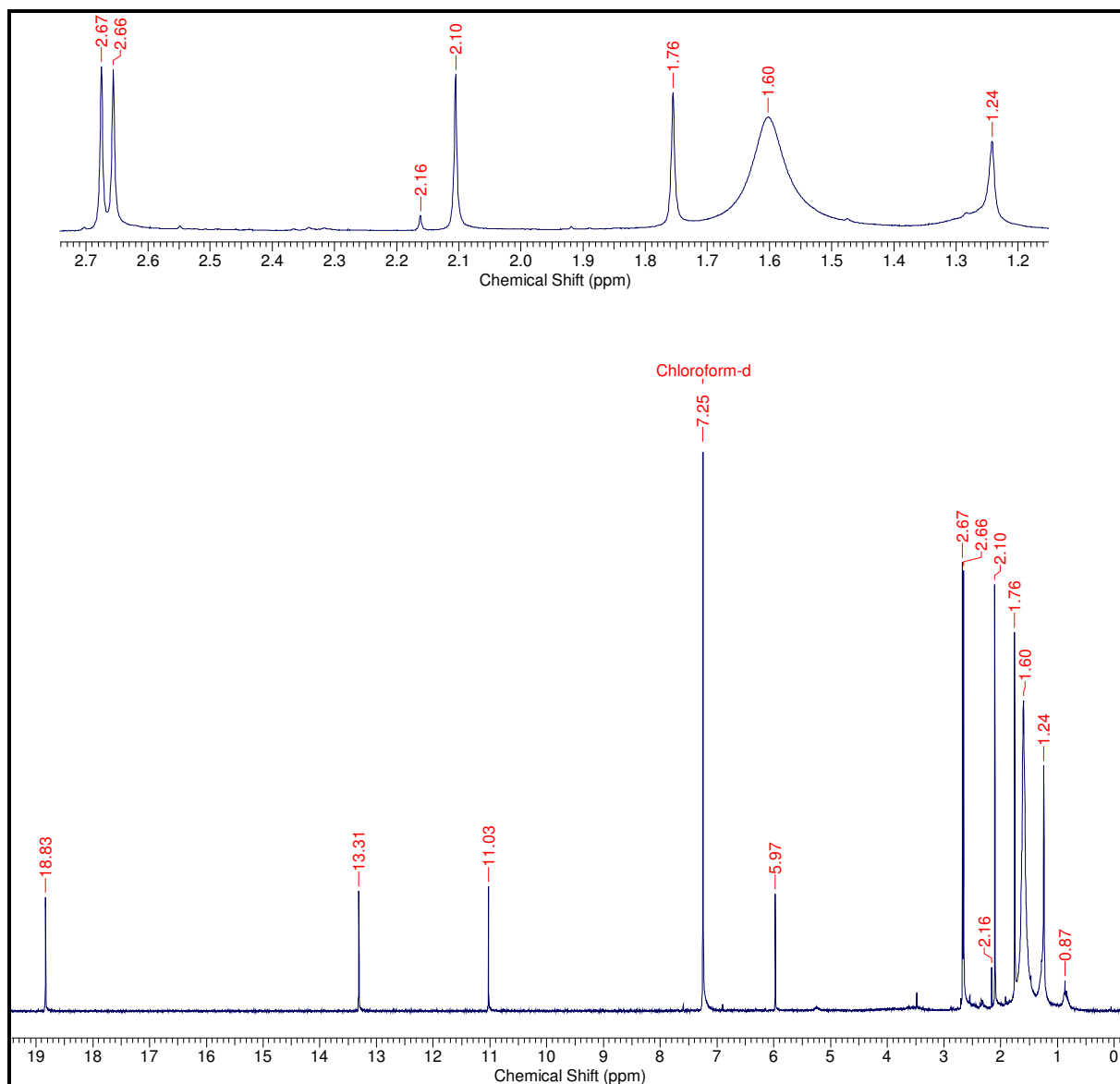
$\delta^{13}C^a$ em DMSO- d_6 (DEPT 135)	C - substância	δ^1H^b (multiplicidade) em DMSO- d_6	H - substância	δ^1H^b (multiplicidade) em $CDCl_3$	H - substância
201,0	C14 – USN e	13,36 (s)	OH(C8) – USN	18,83 (s)	OH(C3) – USN
199,9	C17 – USN	12,04 (s)	OH(C4) – SLZ	13,31 (s)	OH(C8) – USN
192,8 (CH)	C8 – SLZ	10,47 (s)	OH(C2') – SLZ	11,03 (s)	OH(C10) – USN
170,5	C7'' – GIR	10,44 (s)	H(C8) – SLZ e OH(C2') – GIR	5,97 (s)	H(C4) – USN
167,2	C7 – GIR	10,30 (s)	OH(C2) – GIR	2,67 (s)	H(C18) – USN
166,0	C7' – SLZ	10,00 (s)	OH(C2'') – GIR	2,66 (s)	OH(C15) – USN
165,7	C7' – GIR	8,28 (sl)	OH(C9') – SLZ	2,16 (s)	
164,1	C4 – SLZ	6,87 (s)	H(C5) – SLZ	2,10 (s)	H(C16) – USN
163,6	C2 – SLZ	6,81 (sl)	H(C9') – SLZ	1,76 (s)	H(C13) – USN
161,1	C4 – GIR	6,66 (sl)	H(C5') , H(C3'),	1,60 (s)	
160,3	C7 – SLZ	6,62 (sl)	H(C5'') e H(C3'')	1,24 (s)	
160,1	C2 – GIR	6,61 (sl)	– GIR	0,87 (s)	
158,6	C2'' – GIR	6,22 (d, J=1,9Hz)	H(C5) – GIR e H(C3) – GIR		
156,3	C2' – GIR	4,64 (s)	H(C8') – SLZ		
153,0	C4' – GIR e	2,65 (s)	H(C15) – USN e		
152,9	C4'' – GIR	2,54 (s)	H(18) – USN		
152,4	C2' – SLZ e	2,44 (s)	H(C9) – SLZ		
152,2	C6 – SLZ	2,36 (s)	H(C8) – GIR,		
148,2	C4' – SLZ	2,35 (s)	H(C8') – GIR e H(C8'') – GIR		
140,3	C6 – GIR	2,07 (s)			
139,5	C6'' – GIR	1,99 (s)			
138,1	C5' – SLZ e C6' – GIR	1,71 (s)			
137,4	C6' – SLZ	1,22 (ss)			
123,5	C3' – SLZ	0,84 (sl)			
118,1	C1' – GYR				
117,5	C5 – SLZ				
117,3	C1'' – GIR				
114,5	C5'' – GIR				
114,3	C5' – GIR				
112,0	C1 – SLZ				
110,7	C3 – SLZ				
109,9	C5 – GIR				

Continuação da tabela 12* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. delicatulum* (DMSO- d_6 e $CDCl_3$) e atribuição de sinais para os **ácidos girofórico (GIR), salazínico (SLZ) e úsnico (USN)**.

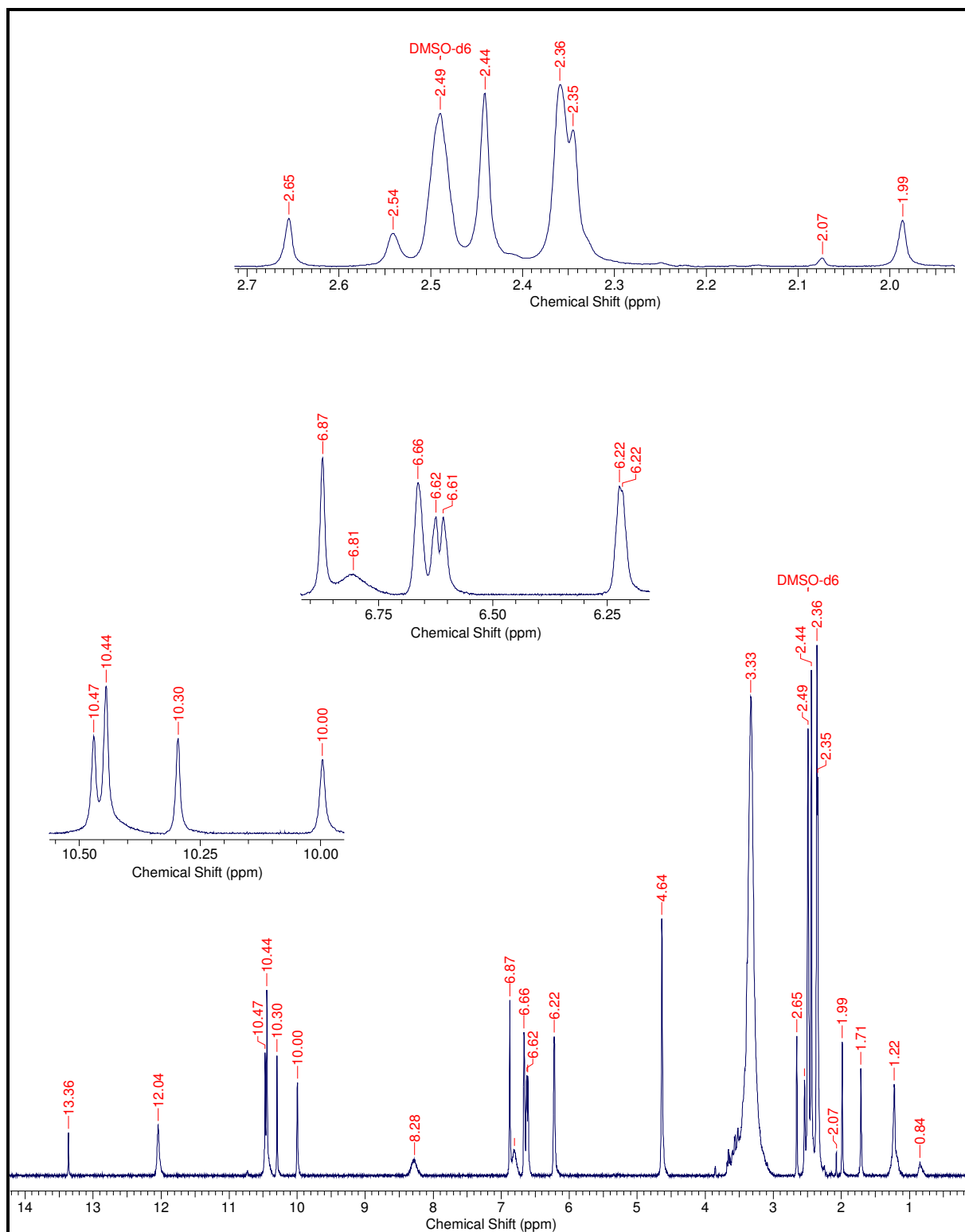
$\delta^{13}C^a$ em DMSO- d_6	C - substância	δ^1H^b (multiplicidade) em DMSO- d_6	H - substância	δ^1H^b (multiplicidade) em $CDCl_3$	H - substância
109,7	C1' – SLZ				
108,5	C1 – GIR				
107,3	C3'' – GIR				
100,6	C3 – GIR				
72,8	Açúcar (es)				
71,5					
71,4					
70,6					
70,2					
69,8					
63,9					
63,8					
63,1					
63,0					
52,8	C8' – SLZ				
31,6	C18 – USN e				
31,1	C13 – USN				
21,5	C9 – SLZ				
21,3	C8 – GIR				
20,9	C8'' – GIR				
19,4	C8' – GIR				
7,6	C16 – USN				

^a 300 MHz; ^b 75 MHz;

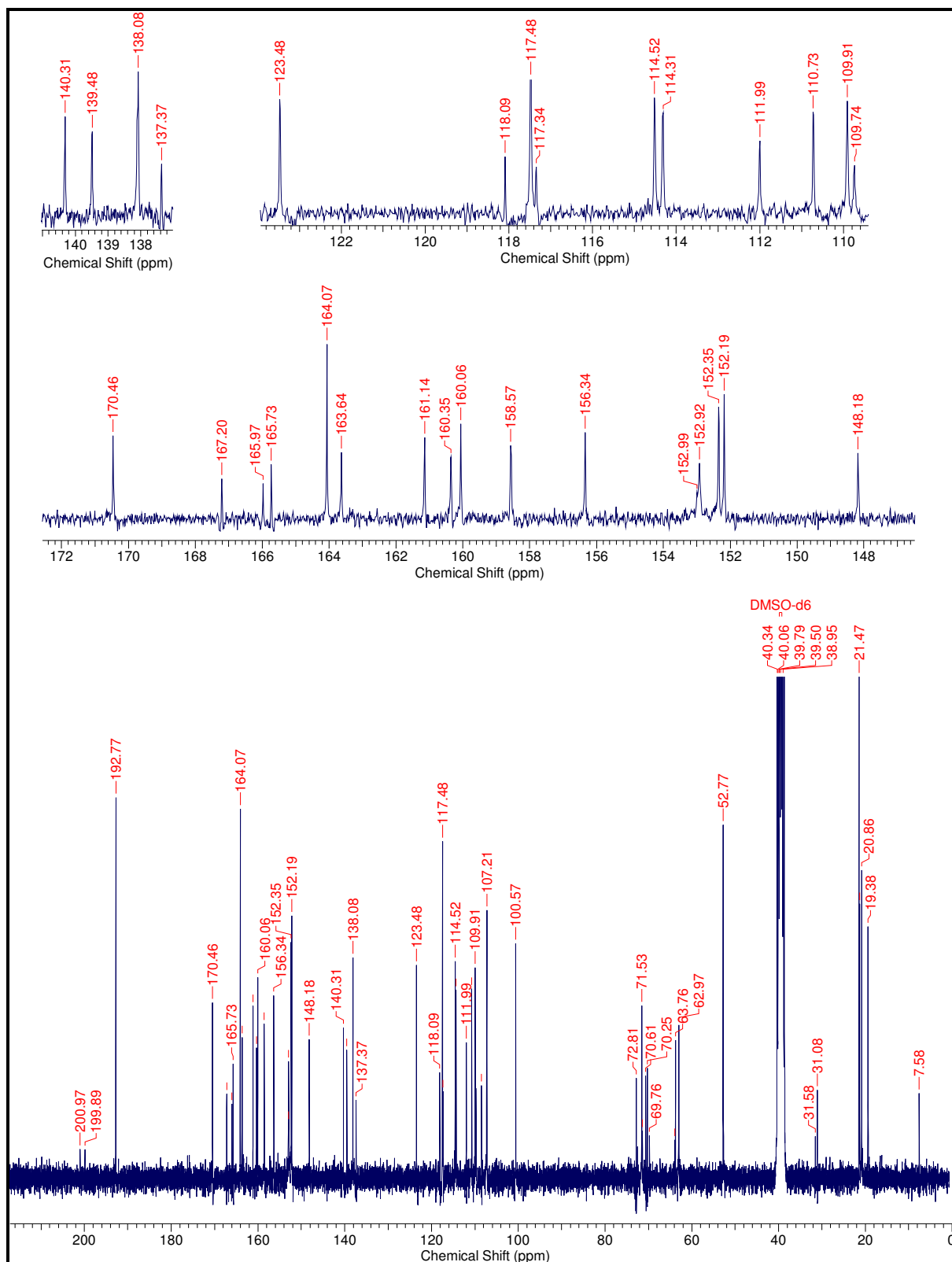
*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes; células da tabela na cor rosa indicam $\delta^{13}C$ de carbonos de açúcares (os quais não foram atribuídos).



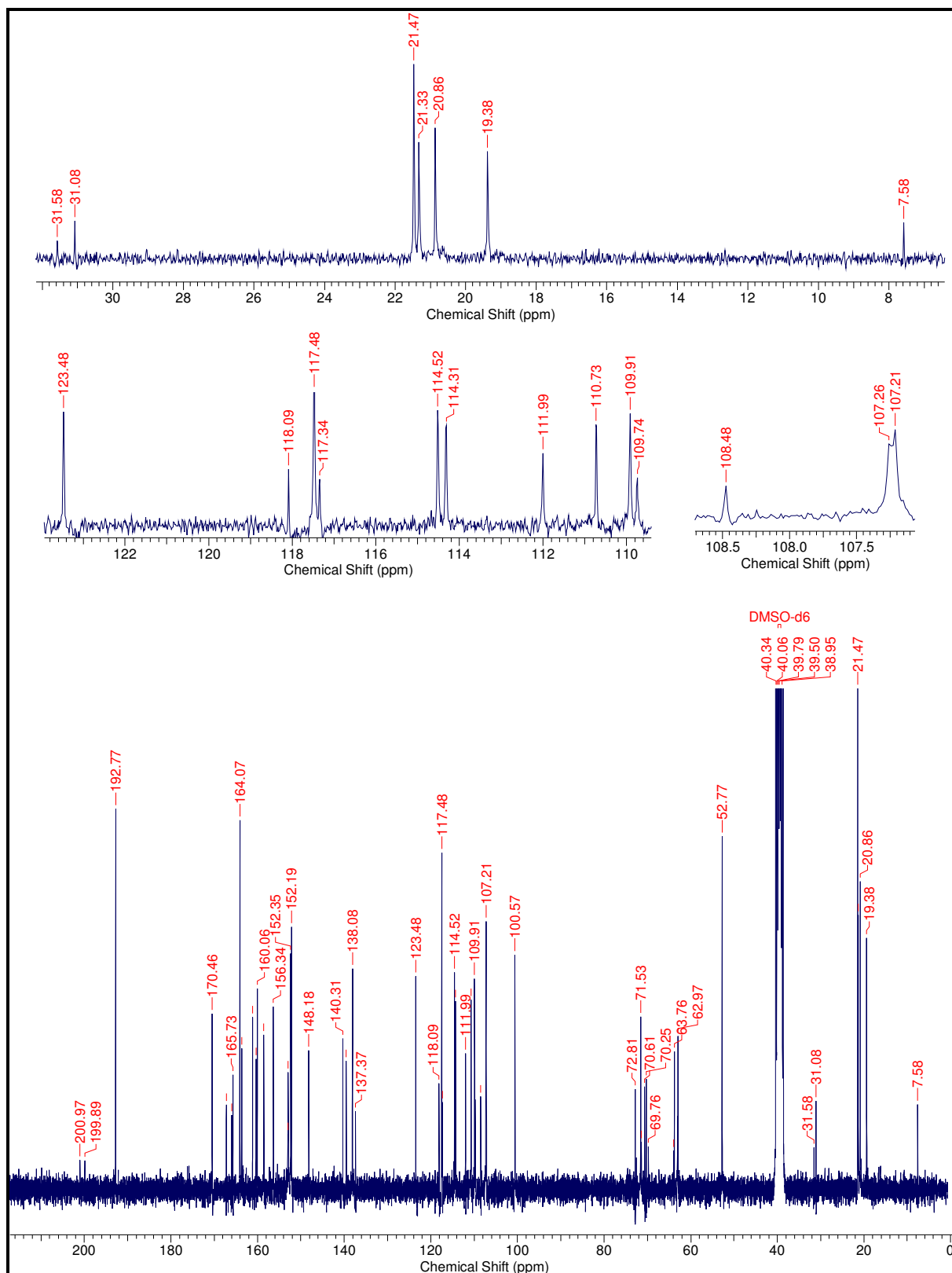
Espectro 34 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *P. delicatulum* (CDCl_3)



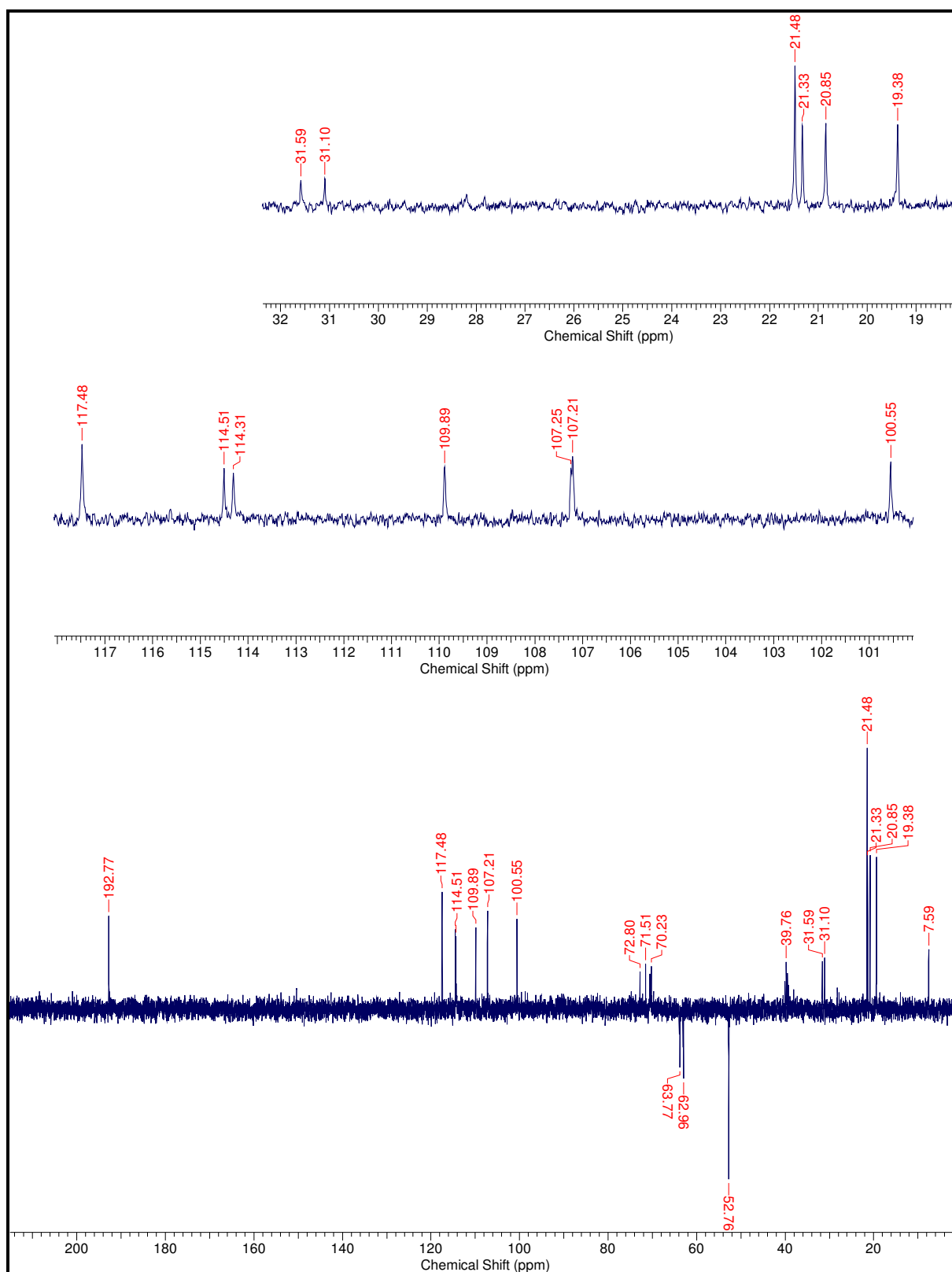
Espectro 35- Espectro de RMN de ^1H do extrato de *P. delicatulum* (DMSO-d_6)



Espectro 36 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *P. delicatulum*, com ampliações de 172 a 110 ppm (DMSO-d_6)



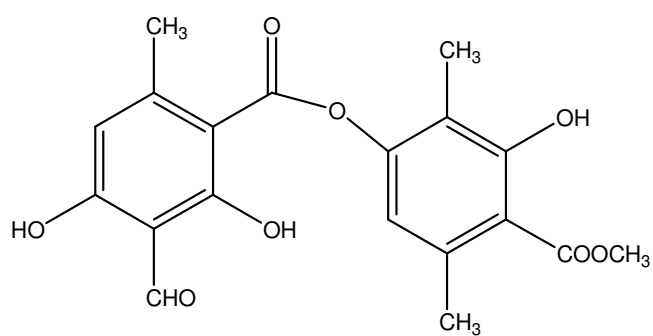
Espectro 37 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *P. delicatulum*, com ampliações de 124 a 7 ppm (DMSO- d_6)



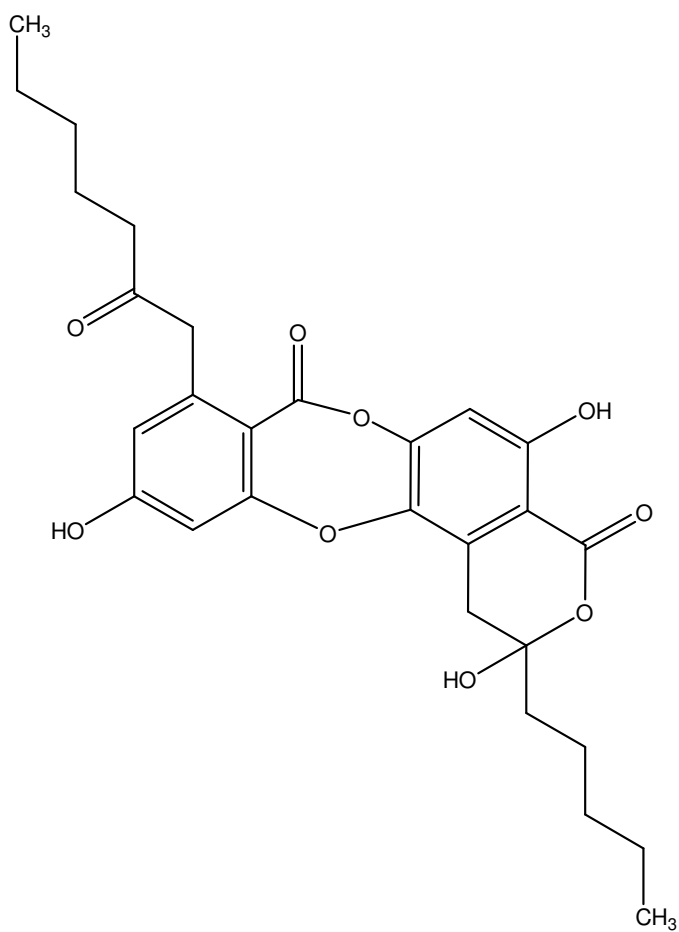
Espectro 38 - Espectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do extrato de *P. delicatulum* (DMSO-d_6)

Parmotrema pancheri (A.L. Smith) Hale

São importantes taxonomicamente para esta espécie as substâncias ácido α -alectorônico e atranorina (Culberson *et al.* 1977).



Atranorina



Ácido α -alectorônico

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *P. pancheri* foi cromatografado no eluente II. No cromatograma observa-se apenas uma mancha, sendo que a mesma tem comportamento cromatográfico semelhante a substância de referência atranorina.



Ppanc ATR

Cromatograma 17 - Extrato de *P. pancheri*

Cromatograma 17: (Ppanc= *P. pancheri*, ATR= atranorina) **Eluente II:** tolueno/ acetato de etila/ ácido fórmico (138:83:8 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

O extrato de *P. pancheri* também foi cromatografado no eluente V. Na tentativa de observar o maior número de substâncias possíveis, o cromatograma foi revelado com FeCl_3 5% em metanol. Foi possível observar ao menos duas manchas. A de migração maior, com cor mais pálida, pode ser atribuída à presença de atranorina. Sugere-se que a de menor migração seja atribuída ao ácido α -alectorônico por comparação com dados da literatura (Culberson & Kristinsson 1970; Culberson 1972).



Ppanc

Cromatograma 18 - Extrato de *P. pancheri*

Cromatograma 18: (Ppanc= *P. pancheri*) **Eluente V:** tolueno/ ácido acético glacial (85:15 v/v/v).
Revelador: solução FeCl₃ 5% em metanol

Microcristalização (MC)

A microcristalização em GE indicou formas cristalinas correspondentes ao ácido α -alectorônico e atranorina em GAoT. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e também com aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados espectrais do extrato de *P. pancheri* foram obtidos em CDCl₃.

O espectro de RMN ¹H desse extrato apresenta sinais de deslocamento químico em 2,08; 2,53 e 2,68 ppm, todos singletes, que podem ser atribuídos as metilas que são normalmente encontradas nos depsídeos. E ainda, um singlete em 3,97 ppm, característico de éster metílico e um sinal em 10,35 ppm, também singlete, que pode ser atribuído ao

hidrogênio ligado a uma carbonila de aldeído, condizem com a estrutura da atranorina e estão indicados na figura 32. Esses valores estão de acordo com dados da literatura (König & Wright 1999).

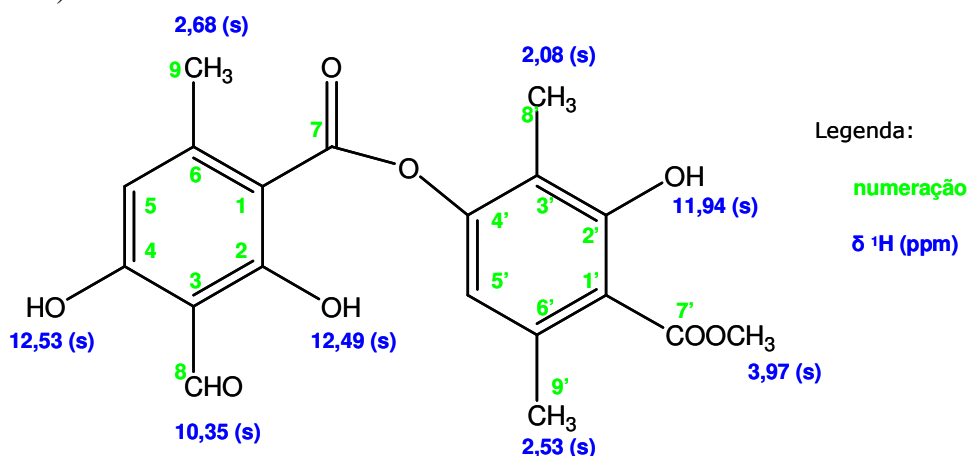


Figura 33 – Sinais de deslocamento químico de ¹H para **atranorina** presente no extrato de *P. pancheri* (CDCl₃).

São observados também no espectro de RMN ¹H um singlete largo em 10,95 ppm que sugere uma hidroxila num anel lactol. Um triplete com J= 7,5 Hz em 2,60 ppm indica um grupo –CH₂– mais desprotegido adjacente a apenas 1 grupo –CH₂–, logo é possível que também esteja ligado a uma carbonila. Dois dubletes com J ~ 17Hz em 3,42 e 3,13 ppm sugerem um acoplamento geminal entre dois hidrogênios diastereotópicos, como os ligados a C1''' na estrutura do ácido α-alectorônico. Todos esses hidrogênios podem ser atribuídos à estrutura dessa substância e estão indicados na figura 33.

A atribuição de δ referentes aos hidrogênios aromáticos, que tem δ ¹H entre 5 a 8 ppm, tornou-se difícil, já que houve sobreposição dos sinais. O espectro também apresenta sinais característicos da cadeia alquílica do ácido α-alectorônico. Porém a falta de dados específicos δ ¹H para esta substância na literatura dificulta a atribuição dos mesmos. A própria natureza dessas cadeias, que são bastante semelhantes, geram sinais que se desdobram e coincidem em δ muito próximos. A atribuição inequívoca de sinais dessa natureza seria difícil mesmo através da análise de experimentos bidimensionais se fossem obtidos a partir da substância pura, como é o caso do ácido perlatólico, vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

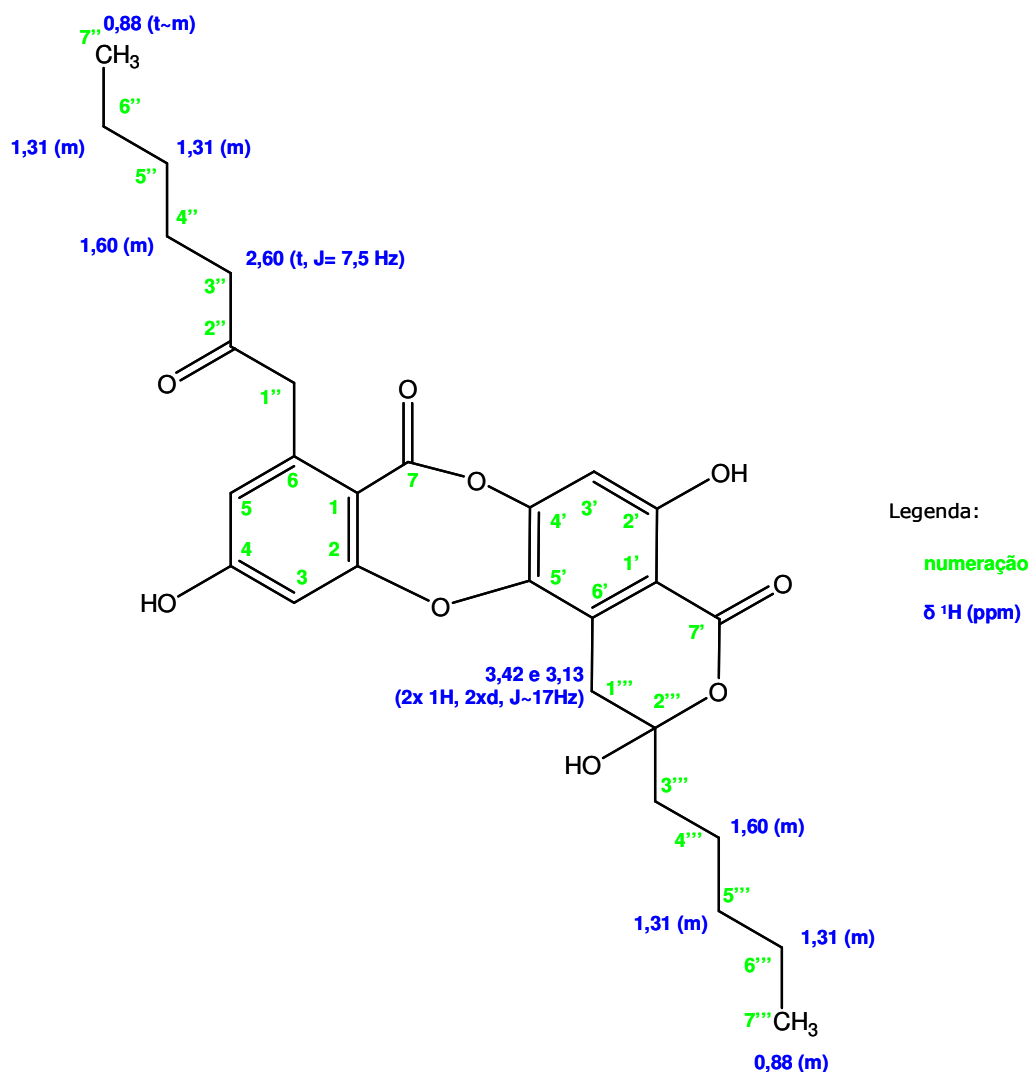


Figura 34 – Sinais de deslocamento químico de ^1H do **ácido α -atrorônico** presente no extrato de *P. pancheri* (CDCl_3).

O espectro de RMN ^{13}C apresenta muitos sinais na região de δ de carbonos alifáticos. Entre esses, os sinais em 9,3; 24,0 e 25,5 ppm podem ser referentes a 3 grupos $-\text{CH}_3$. Esses sinais apresentam aproximadamente a mesma intensidade e podem ser atribuídos as metilas do depsídeo atranorina. São também característicos dessa substância os sinais em 52,3 ppm, que pode ser atribuído ao éster metílico em C7' e também um sinal em 193,9 ppm, característico do grupo aldeído em C8. Os demais sinais atribuídos aos carbonos da atranorina presente no extrato de *P. pancheri* são indicados na figura 34 e concordam com König & Wright (1999).

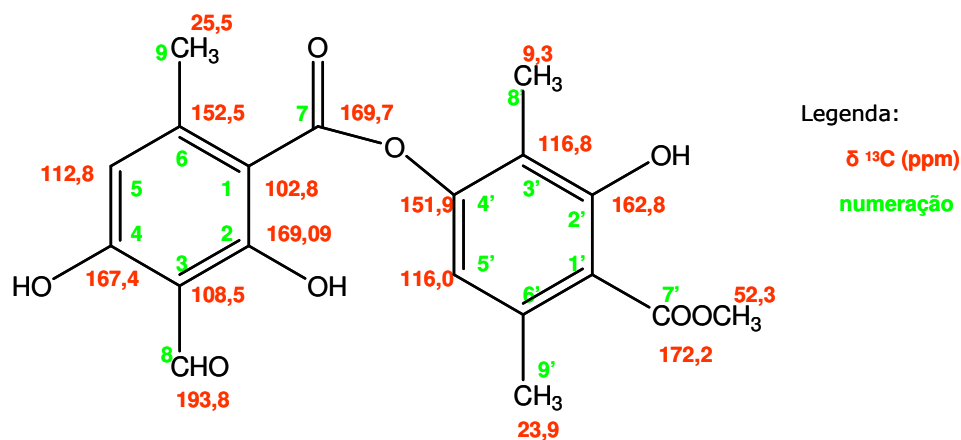


Figura 35 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C para **atranorina** presente no extrato de *P. pancheri* (CDCl_3).

Além dos sinais atribuídos à atranorina, observam-se no espectro de RMN ^{13}C na região de δ de carbonos alifáticos dois sinais bastante intensos em 13,94 e 13,90 ppm, característico de grupos $-\text{CH}_3$ terminal de cadeia alquílica, e sinais intensos referentes a grupos $-\text{CH}_2-$ entre 22 e 40 ppm. O espectro também apresenta um sinal em 209,4 ppm, característico de carbonila de cetona, e 2 sinais de grupos $-\text{CH}_2-$ mais desprotegidos, em 42,9 e 47,9 ppm, que podem estar sob efeito de desproteção da carbonila, e podem então ser atribuídos aos carbonos adjacentes a mesma. Esses sinais, em conjunto, podem ser atribuídos às cadeias alquílicas do ácido α -alectorônico. Outros 3 sinais referentes a 3 carbonos aromáticos ligados a hidrogênio são facilmente distinguíveis pelo espectro de RMN de DEPT 135, em 106,4; 108,0 e 117,7 ppm. Esses e os demais sinais de $\delta^{13}\text{C}$ que concordam com a estrutura do ácido α -alectorônico estão indicados na figura 35. Os sinais de RMN ^1H e ^{13}C foram comparados com dados da literatura para o ácido α -colatólico (Elix, Ferguson e Sargent 1974, Huneck & Yoshimura 1996).

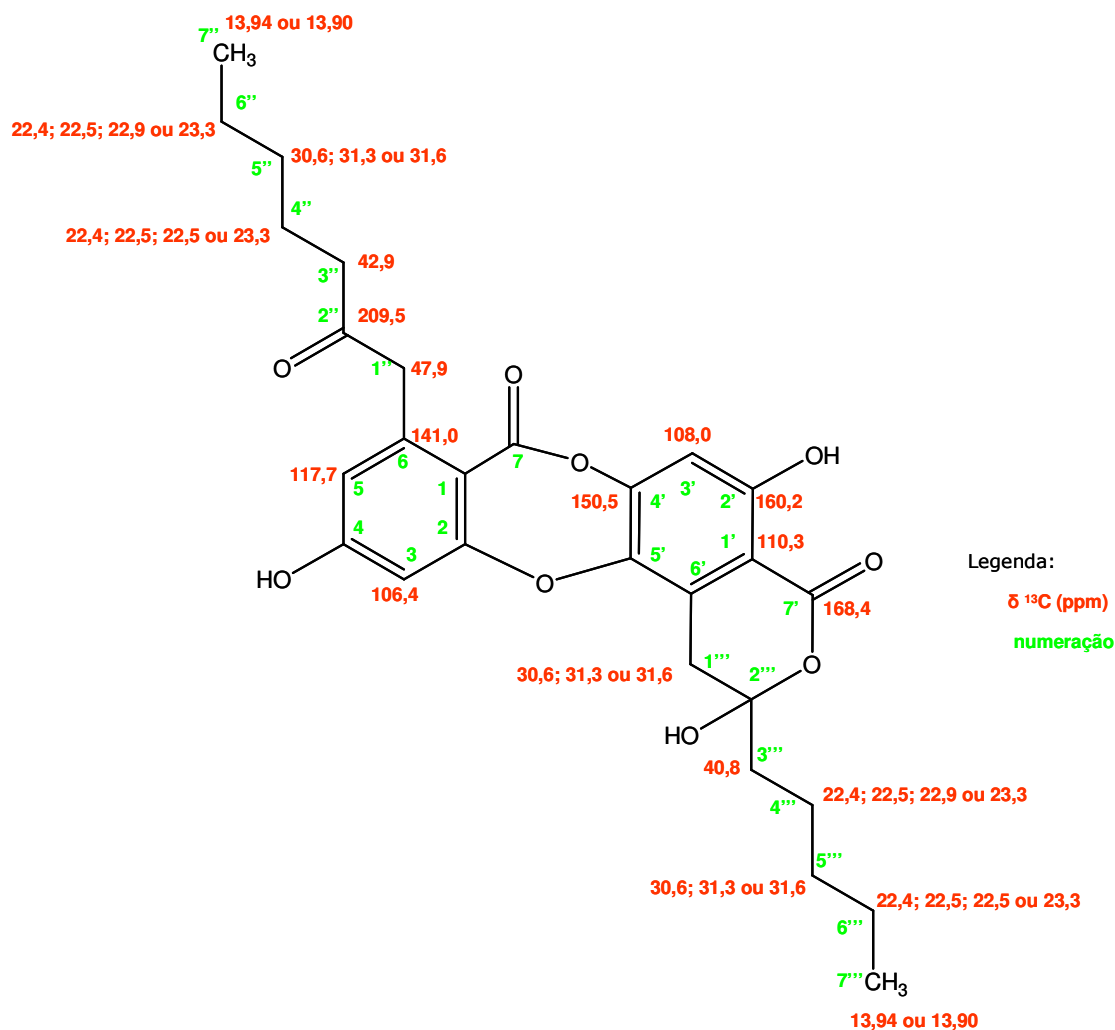


Figura 36 – Sinais de deslocamento químico de ¹³C do **ácido α-aleatorônico** presente no extrato de *P. pancheri* (CDCl₃).

Por fim, o extrato de *P. pancheri* contém atranorina e ácido α-aleatorônico, sendo que os dois foram identificados por CCD, MC e RMN.

Tabela 13* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. pancheri* (CDCl_3) e atribuição de sinais para **ácido α -alectorônico (ALECT)** e **atranorina (ATR)**.

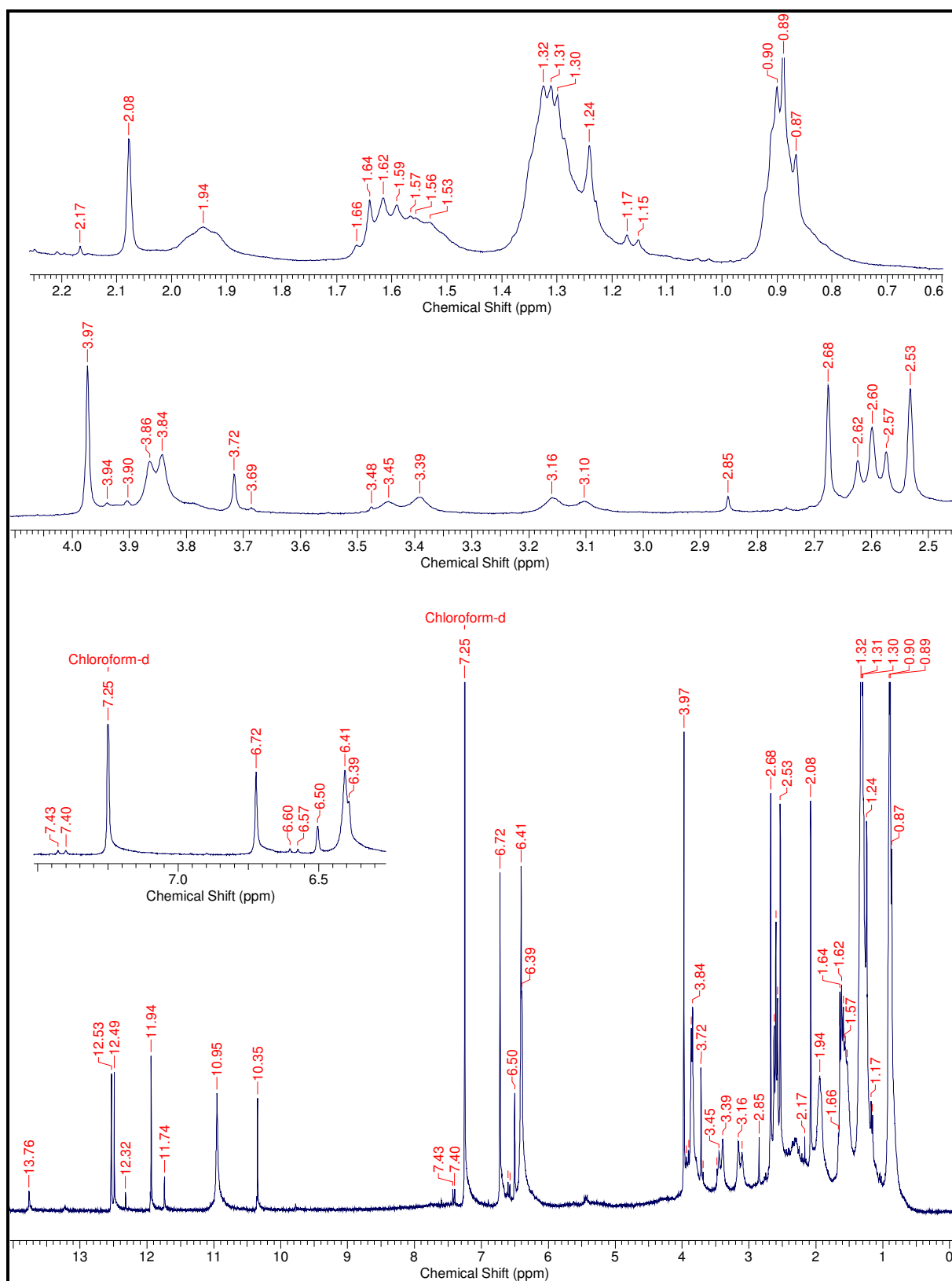
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
209,5	C2'' - ALECT	13,76 (s)	
193,9 (CH)	C8 - ATR	12,53 (sl)	OH (C4) - ATR
187,1		12,49 (s)	OH (C2) - SLZ
172,2	C7' - ATR	12,32 (s)	
169,7	C7 - ATR	11,94 (s)	OH (C2') - ATR
169,1	C2 - ATR	11,74 (s)	
168,4	C7' - ALECT	10,95 (s)	
167,5	C4 - ATR	10,35 (s)	H (C5') - ATR
162,8	C2 - ATR	7,43 (s)	
162,3		7,40 (s)	
161,9		6,72 (s)	
161,2		6,60 (s)	
160,2	C2' - ALECT	6,57 (s)	
159,3		6,50 (s)	
152,4	C6 - ATR	6,41 (s)	
152,0	C4' - ATR	6,39 (s)	
150,5	C4' - ALECT	3,97 (s)	COOCH ₃ (C7') - ATR
141,0	C6 - ALECT	3,94 (s)	
140,2		3,90 (s)	
140,02		3,86 (s)	
139,98		3,84 (s)	
139,9	C6' - ATR	3,72 (s)	
129,4		3,69 (s)	
129,1		3,48 (s)	
117,7 (CH)	C5 - ALECT	3,42 (d, J=16,2 Hz)	
116,8		3,13 (d, J= 17,0 Hz)	2x H(C1'') - ALECT
116,0 (CH)	C5' - ATR	2,85 (s)	
112,8 (CH)	C5 - ATR	2,68 (s)	H(C9) - ATR
112,7		2,60 (t, J=7,5 Hz)	H(C3'') - ALECT
110,3	C1' - ATR	2,53 (s)	H(C9') - ATR
108,5	C3 - ATR	2,17(s)	
108,0 (CH)	C3' - ALECT	2,08 (s)	H(C8') - ATR
106,4 (CH)	C3 - ALECT	1,94 (sl)	
104,91	C1' - ALECT e C1'' - ALECT	1,60 (m)	H(C4'') - ALEC e H(C4''') - ALECT
104,88		1,31 (m)	H(C5''), H(C5'''), H(C6'') e H(C6''') - ALECT
104,7		1,24 (s)	
102,8		1,17 (s)	

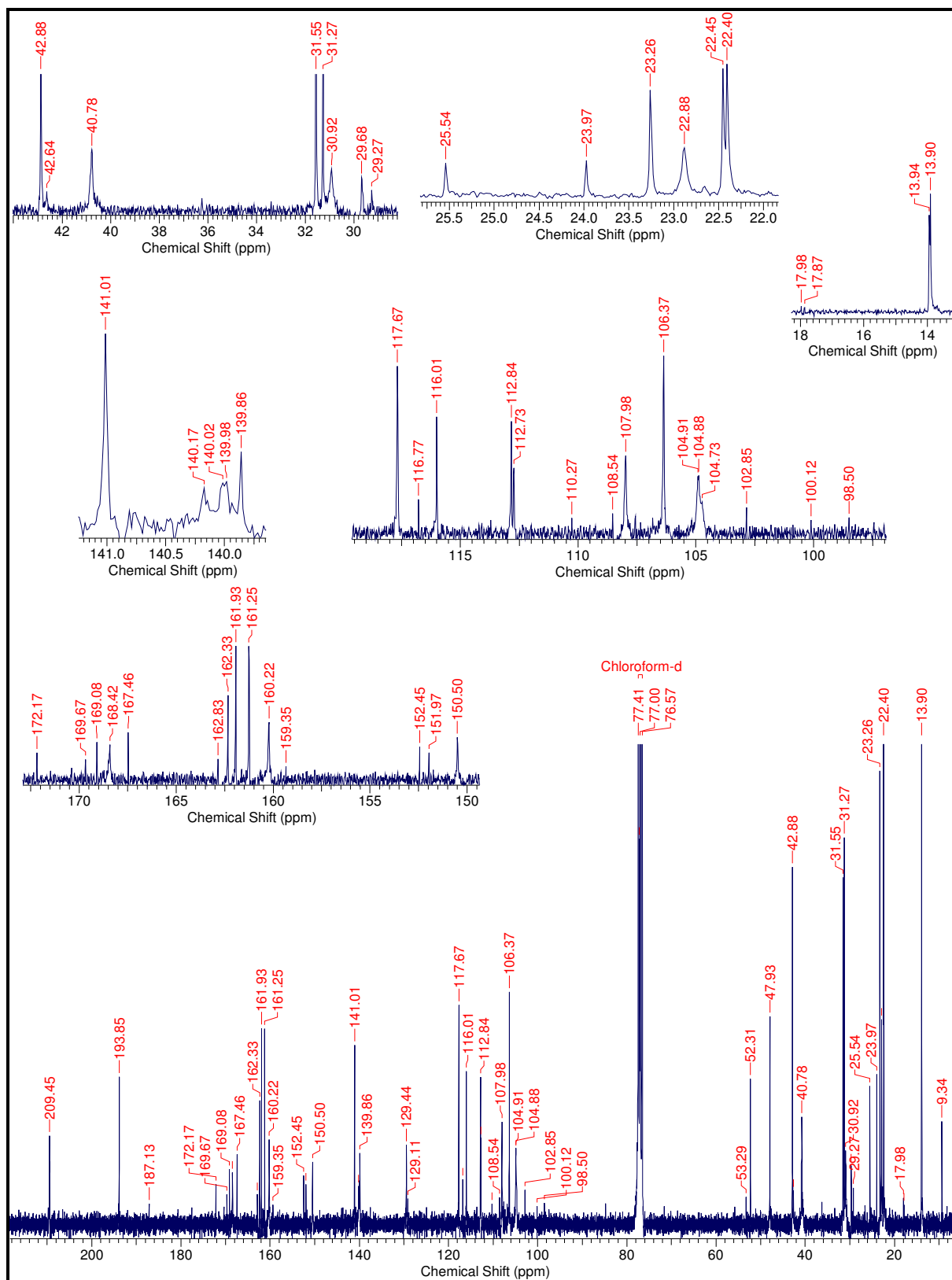
Continuação da tabela 13* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. pancheri* (CDCl_3) e atribuição de sinais para **ácido α -alectorônico (ALECT)** e **atranorina (ATR)**.

$\delta^{13}\text{C}^a$	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
100,1		1,15 (s)	
98,5		0,88 (m~t)	H(C7'') - ALECT e H(C7''') - ALECT
53,3 (CH_3)			
52,3 (CH_3)	OCH3 (C7') - ATR		
47,9 (CH_2)	C1'' - ALECT		
42,9 (CH_2)	C3'' - ALECT		
42,6			
40,8	C3''' - ALECT		
31,6 (CH_2)	C5''' - ALECT,		
31,3 (CH_2)	C5'' - ALECT e		
30,9 (CH_2)	C1''' - ALECT		
29,7			
29,3			
25,5 (CH_3)	C9 - ATR		
24,0 (CH_3)	C9' - ATR		
23,3 (CH_2)	C6'' - ALECT,		
22,9 (CH_2)	C4'' - ALECT,		
22,5 (CH_2)	C6''' - ALECT e		
22,4 (CH_2)	C4''' - ALECT		
18,0			
17,9			
13,94 (CH_3)	C7''' - ALECT e		
13,90 (CH_3)	C7'' - ALECT		
9,3 (CH_3)			

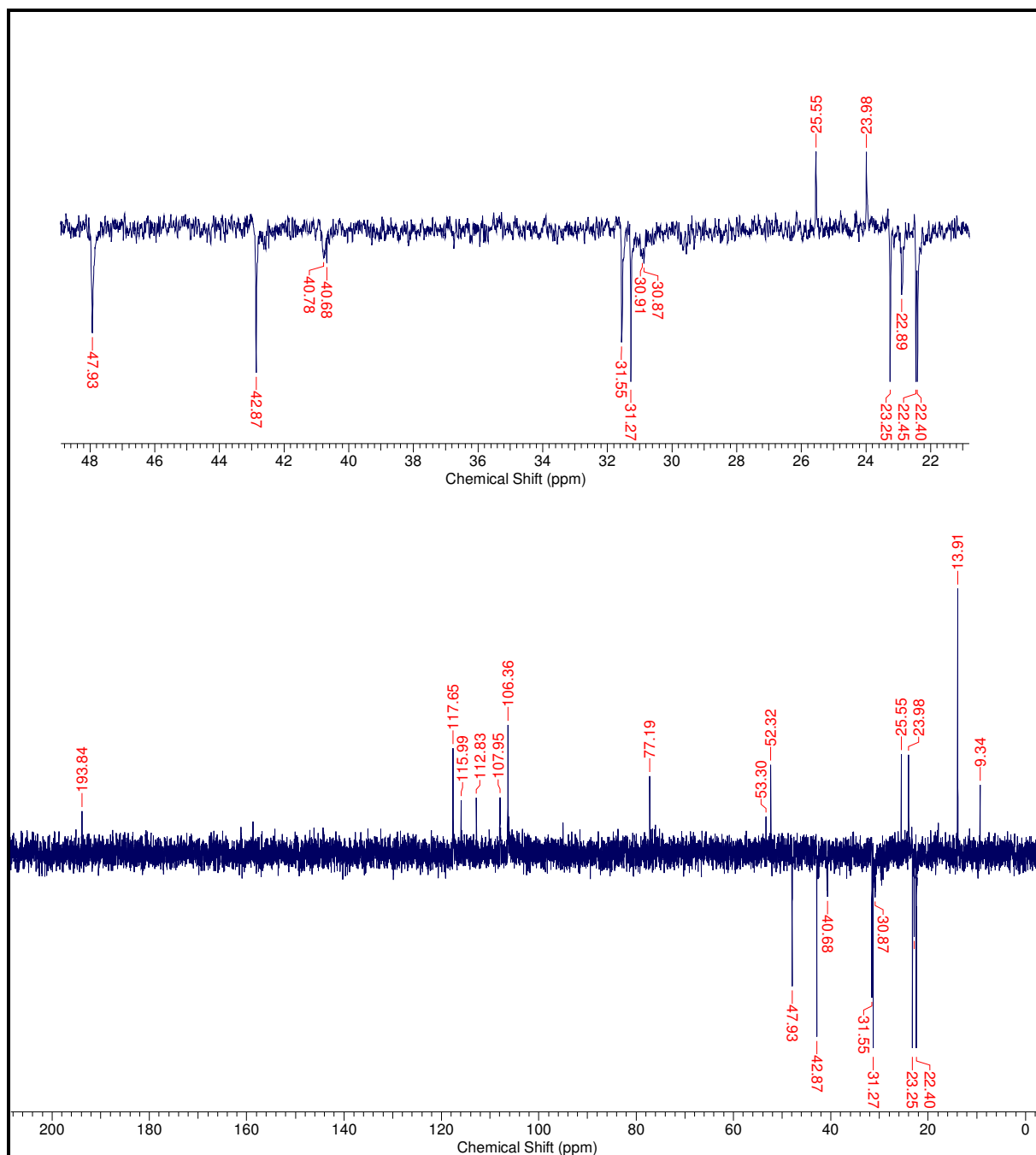
^a 300 MHz; ^b 75 MHz

*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes.

**Espectro 39** - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *P. pancheri* (CDCl_3)



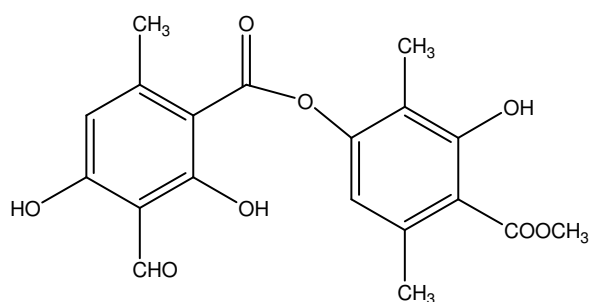
Espectro 40 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *P. pancheri* (CDCl_3)



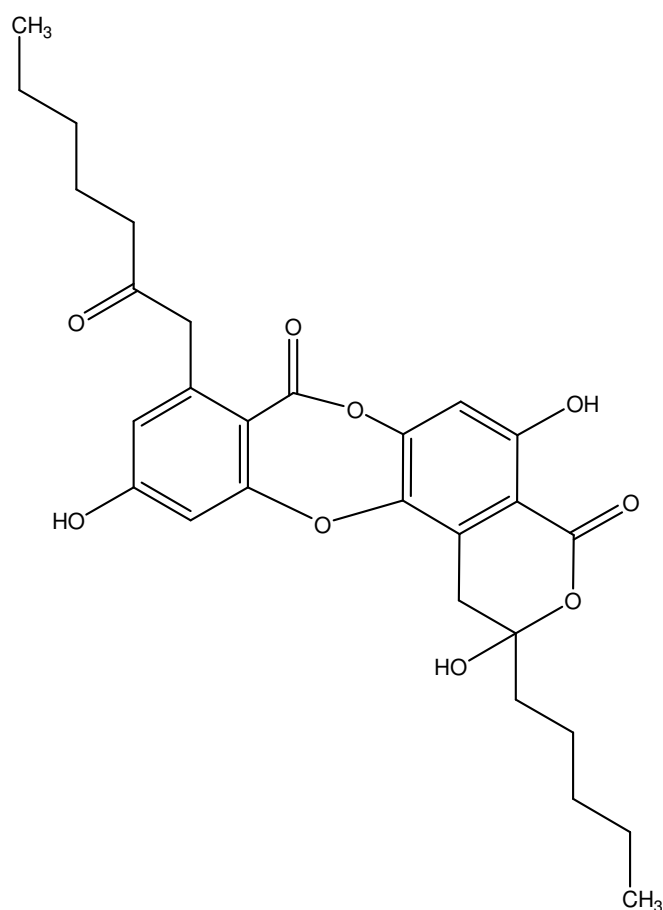
Espectro 41 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *P. pancheri* (CDCl_3)

Parmotrema rigidum (Lynge) Hale

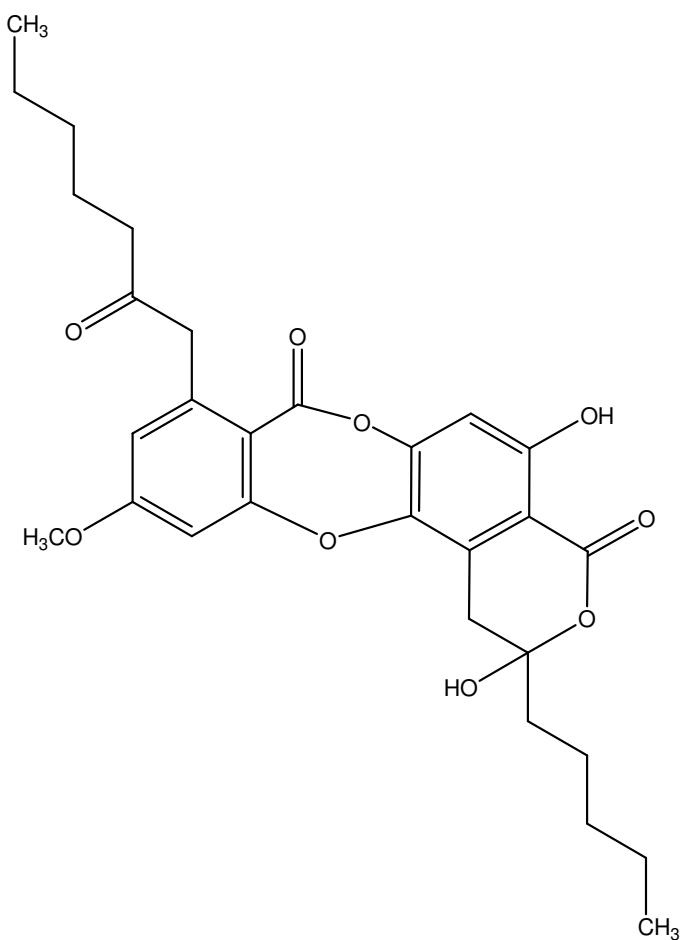
São importantes taxonomicamente para esta espécie as substâncias atranorina e os ácidos α -alectorônico e α -colatólico (traços) (Hale, 1974).



Atranorina



Ácido α -alectorônico

Ácido α -colatólico

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *P. rigidum* foi cromatografado no eluente II. No cromatograma observa-se ao menos uma mancha. Apesar do desenvolvimento não linear do cromatograma, a mancha mais evidente, com R_f de aproximadamente 0,71, pode ser atribuída à atranorina (R_f 0,7), pois o comportamento cromatográfico é semelhante à substância de referência.



Prigi Pwain Parge ATR

Cromatograma 19 - Extrato de *P. rigidum*

Cromatograma 19: (Prigi= *P. rigidum*, Pwain= *P. wainii*, Parge= *P. argentinum*, ATR= atranorina) **Eluente II:** tolueno/ acetato de etila/ ácido fórmico (138:83:8 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Da mesma forma que em *P. pancheri*, o extrato de *P. rigidum* também foi cromatografado no eluente V e revelado com FeCl_3 5% em metanol. A mancha com cor roxa bastante evidente em *P. rigidum* tem comportamento cromatográfico semelhante à atribuída ao ácido α -alectorônico em *P. pancheri*. Esta sugestão concorda com Culberson & Kristinsson (1970) e Culberson (1972) .



Ppanc - Prigi

Cromatograma 20 - Extrato de *P. pancheri*

Cromatograma 20: (Ppanc= *P. pancheri*, Prigi= *P. rigidum*) **Eluente V:** tolueno/ ácido acético glacial (85:15 v/v/v). **Revelador:** solução FeCl₃ 5% em metanol

Microcristalização (MC)

A microcristalização em GE indicou formas cristalinas correspondentes ao ácido α -alecorônico e atranorina em GAOt. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e também com aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados espectrais do extrato de *P. rigidum* foram obtidos em CDCl₃.

Podem ser observados no espectro de RMN ¹H desse extrato sinais de deslocamento químico em 2,08; 2,53 e 2,68 ppm, ambos singletes, que podem ser atribuídos as metilas que são normalmente encontradas nos depsídeos. Somam-se a esses sinais, um singlete em 3,97 ppm, característico de éster metílico, e singletes como 12,49 e 12,54 ppm, que sugerem hidroxilas. Esses, e alguns outros sinais, condizem com a estrutura da atranorina e estão indicados na figura 36.

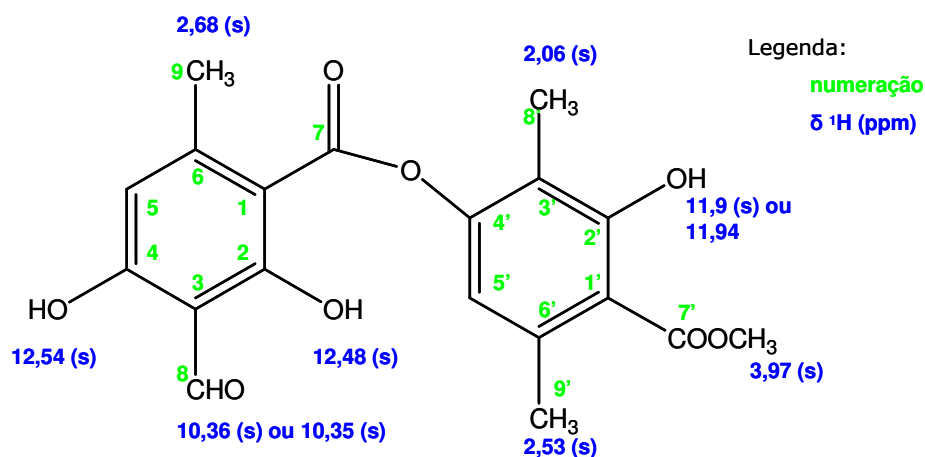


Figura 37 – Sinais de deslocamento químico de ¹H para **atranorina** presente no extrato de *P. rigidum* (CDCl₃, atribuição concordante com König & Wright 1999).

Da mesma forma como foi conduzida a análise dos sinais de δ ¹H no espectro do extrato de *P. pancheri*, o espectro de RMN ¹H do extrato de *P. rigidum* apresenta um singlete largo em 10,98 ppm que sugere uma hidroxila num anel lactol. Um triplete com J= 7,5 Hz em 2,60 ppm indica um grupo –CH₂– mais desprotegido adjacente a apenas 1 grupo –CH₂–, logo é possível que também esteja ligado a uma carbonila. Dois dubletes com J ~16 Hz em 3,4 e 3,1 ppm sugerem um acoplamento geminal entre dois hidrogênios diastereotópicos. Esses hidrogênios podem ser atribuídos à estrutura do ácido α-alecorônico e estão indicados na figura 37.

O espectro também apresenta sinais característicos da cadeia alquílica do ácido α-alecorônico, e novamente a natureza da própria cadeia alquílica dificulta a atribuição inequívoca dos mesmos.

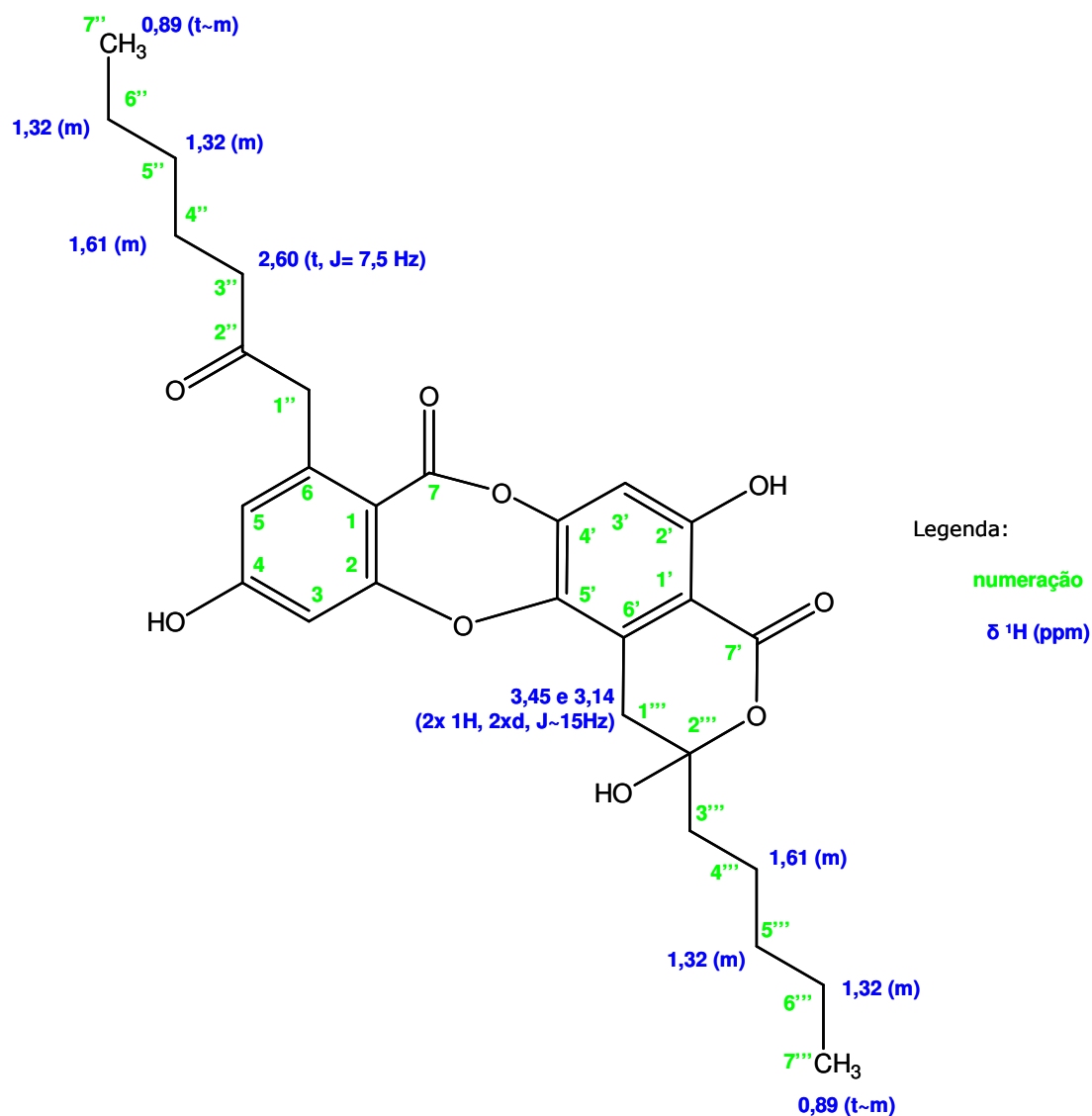


Figura 38 – Sinais de deslocamento químico de ^1H do **ácido α -alectorônico** presente no extrato de *P. rigidum* (CDCl_3).

O espectro de RMN ^{13}C apresenta, na região de δ de carbonos alifáticos, sinais em 9,4 e 24,0 ppm que podem ser atribuídos a 2 grupos $-\text{CH}_3$ do depsídeo atranorina. São também característicos dessa substância os sinais em 52,3 ppm, que pode ser atribuído ao éster metílico em C7' e também os sinais em 112,7 e 116,0 ppm, característicos de carbonos aromáticos ligados a hidrogênio (C5 e C5', respectivamente). Os sinais de δ ^{13}C atribuídos à atranorina, presente no extrato de *P. rigidum* são indicados na figura 38 e concordam com dados da literatura (König & Wright 1999).

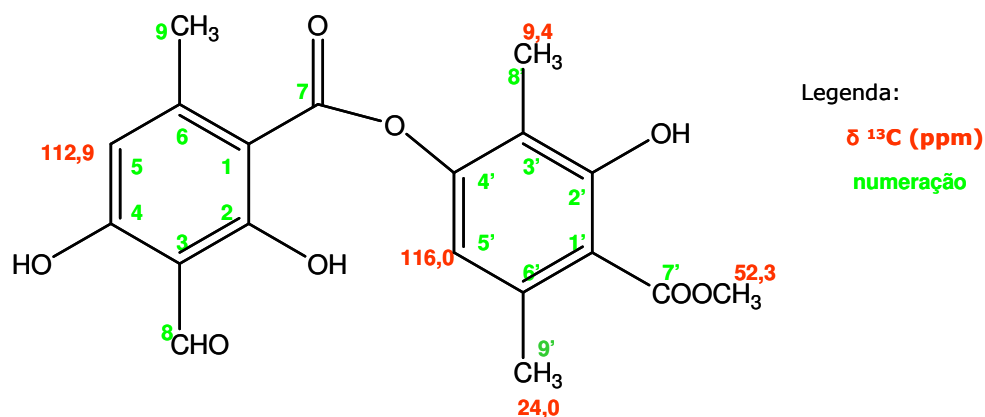


Figura 39 – Sinais de deslocamento químico de ¹³C para **atranorina** presente no extrato de *P. rigidum* (CDCl₃).

O espectro de RMN ¹³C apresenta também na região de δ de carbonos alifáticos sinais bastante intensos em 13,9 e 14 ppm, característico de grupos –CH₃, e sinais intensos referentes a grupos –CH₂– entre 22 e 40 ppm. O espectro também apresenta um sinal em 209,1 ppm, característico de uma carbonila de cetona, e 2 sinais de grupos –CH₂– mais desprotegidos, em 42,9 e 47,9 ppm, que podem estar sob efeito de desproteção da carbonila, e podem então ser atribuídos aos carbonos vizinhos da mesma. Esses sinais, em conjunto, podem ser atribuídos às cadeias alquílicas do ácido α-alectorônico. Sinais em 106,4; 108,0 e 117,6 são facilmente atribuíveis a 3 carbonos aromáticos ligados a hidrogênio através do espectro de RMN de DEPT 135. Esses e os demais sinais de δ ¹³C que concordam com a estrutura do ácido α-alectorônico estão indicados na figura 39. Os sinais foram comparados com dados da literatura para o ácido α-colatólico (Elix, Ferguson e Sargent 1974, Huneck & Yoshimura 1996).

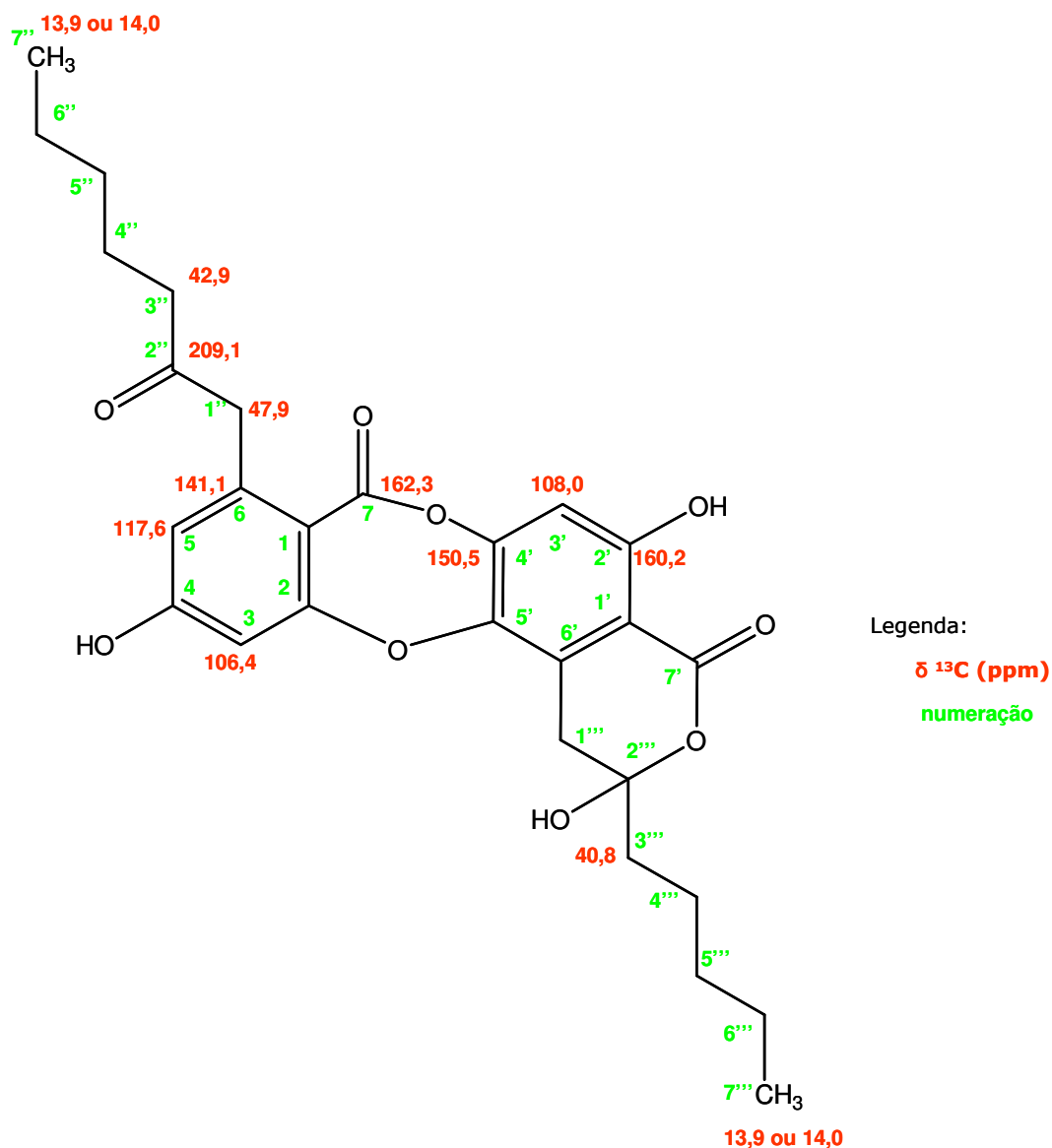


Figura 40 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C do **ácido α -alectorônico** presente no extrato de *P. rigidum* (CDCl_3 , atribuição concordante com Huneck & Yoshimura 1996 para ácido α -colatólico).

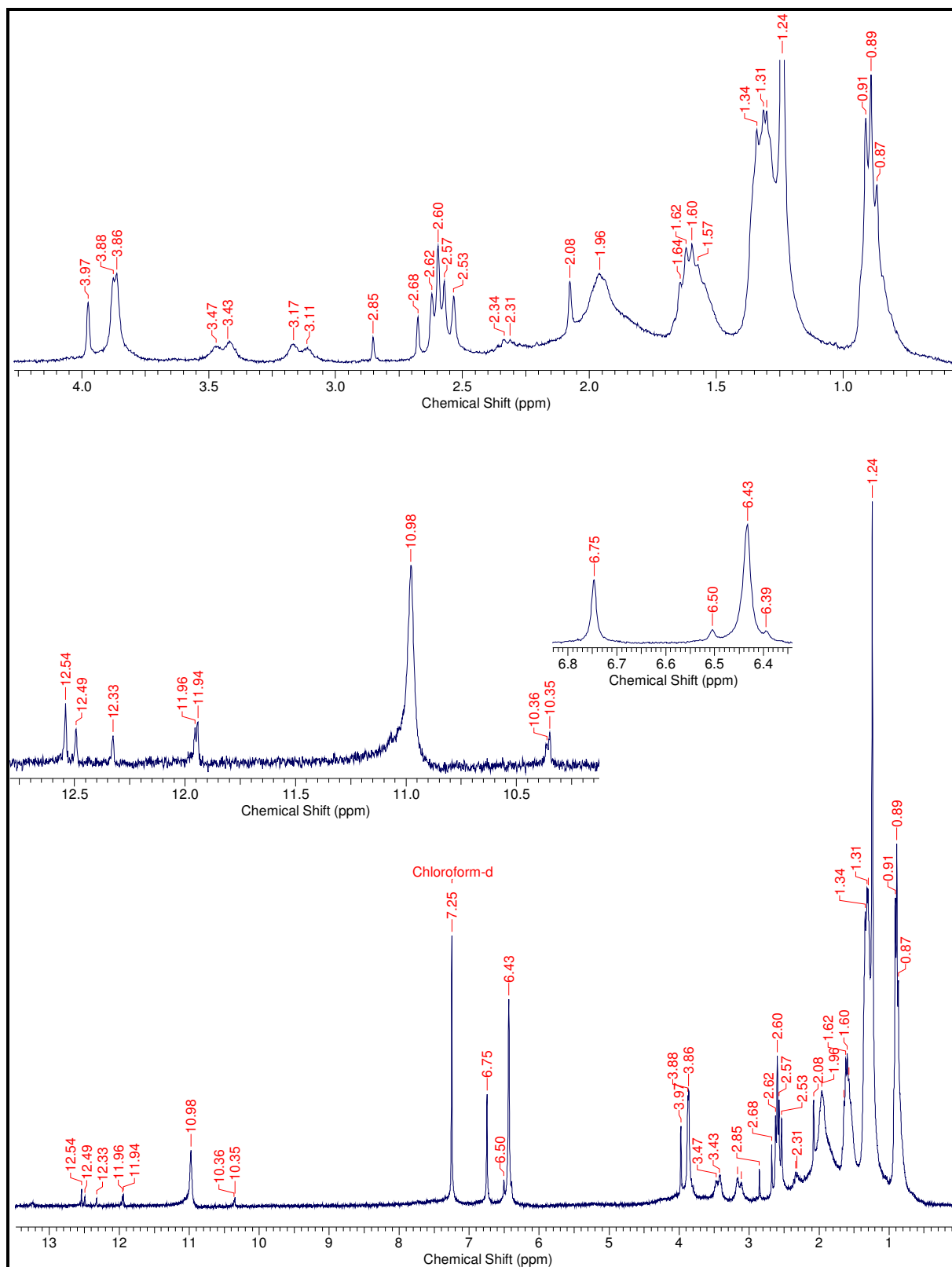
Concluindo, no extrato de *P. rigidum*, foram identificados atranorina e ácido α -alectorônico, por CCD, MC e RMN. Não foi detectada a presença do ácido α -colatólico nessa espécie.

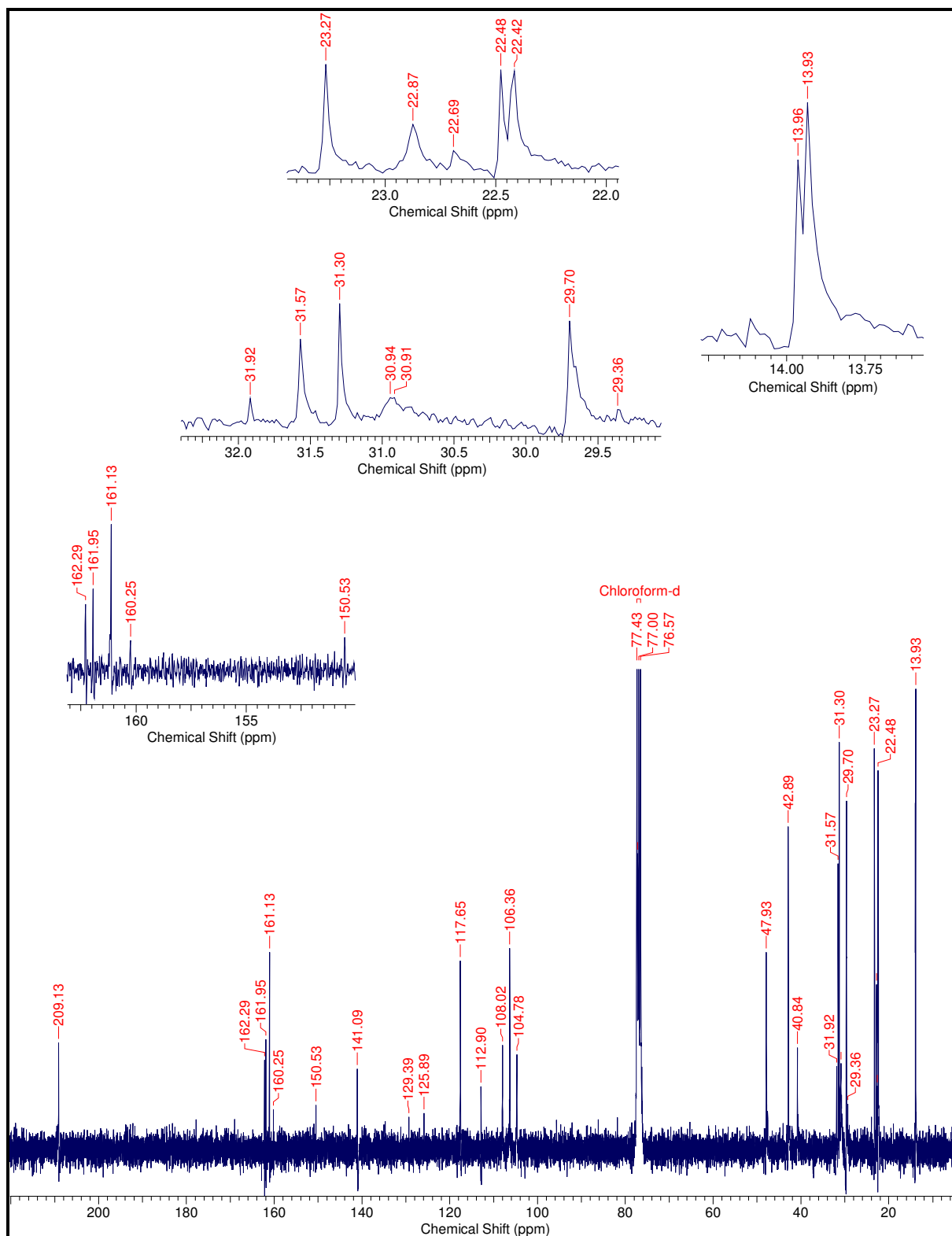
Tabela 14* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. rigidum* (CDCl_3) e atribuição de sinais para **ácido α -alectorônico (ALECT)** e **atranorina (ATR)**.

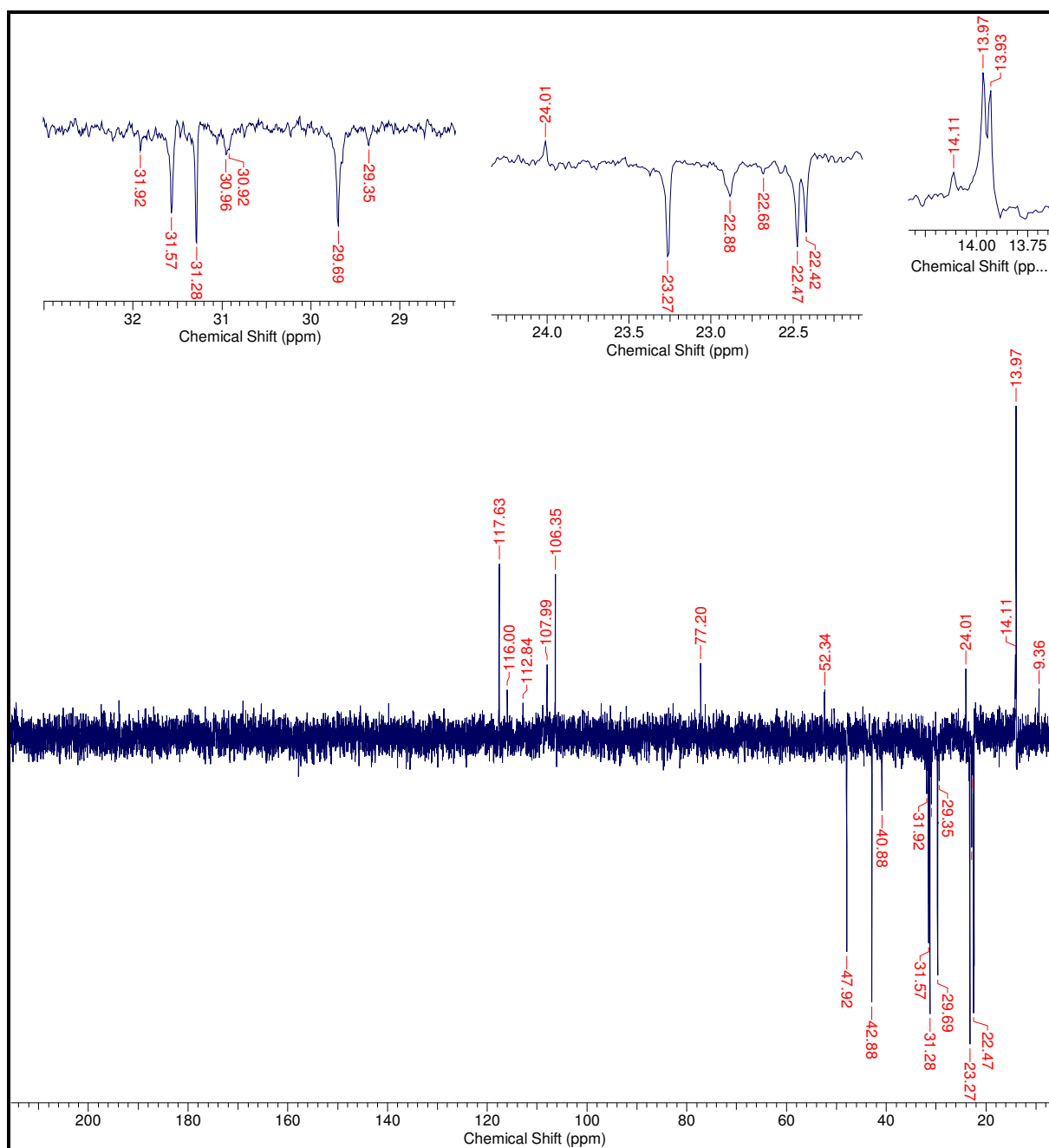
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
209,1	C2'' – ALECT	12,54 (s)	OH (C4) – ATR
162,3		12,49 (s)	OH (C2) – ATR
162,0		12,33 (s)	
161,1		11,96 (s)	
160,2	C2' – ALECT	11,94 (s)	OH (C2') – ATR
150,5	C4' – ALECT	10,98 (s)	
141,1	C6 – ALECT	10,36 (s)	
129,4		10,35 (s)	CHO(C8) – ATR
125,9		6,75 (s)	
117,6 (CH)	C5 – ALECT	6,50 (s)	
116,0 (CH)	C5' – ATR	6,43 (s)	
112,9 (CH)	C5 – ATR	6,39 (s)	
108,0 (CH)	C3' – ALECT	3,97 (s)	COOCH ₃ (C7') – ATR
106,4 (CH)	C3 – ALECT	3,88 (s)	
104,8		3,86 (s)	
52,3 (CH ₃)	C7' – ATR	3,45 (d, J=13,7 Hz)	
47,9 (CH ₂)	C1'' – ATR	3,14 (d, J=15,9 Hz)	2x H(C1'') – ALECT
42,9 (CH ₂)	C3'' – ALECT	2,85 (s)	
40,8 (CH ₂)	C3''' – ALECT	2,68 (s)	H(C9) – ATR
31,9 (CH ₂)		2,60 (t, J=7,5 Hz)	H(C3'') – ALECT
31,6 (CH ₂)		2,53 (s)	H(C9') – ATR
31,3 (CH ₂)		2,08 (s)	H(C8') – ATR
30,94 (CH ₂)		1,96 (sl)	
30,91 (CH ₂)		1,61 (m)	H(C4'') – ALECT e H(C4''') – ALECT
29,7 (CH ₂)		1,32 (m)	H(C5''), H(C5'''), H(C6'') e H(C6''') – ALECT
29,3 (CH ₂)		1,24 (s)	
24,0 (CH ₃)	C9' – ATR	0,89 (m~t)	H(C7'') – ALECT e H(C7''') – ALECT
23,3 (CH ₂)			
22,9 (CH ₂)			
22,7 (CH ₂)			
22,5 (CH ₂)			
22,4 (CH ₂)			
14,1 (CH ₃)			
14,0 (CH ₃)	C7'' – ALECT e		
13,9 (CH ₃)	C7''' – ALECT		
9,4 (CH ₃)	C8' – ATR		

^a 300 MHz; ^b 75 MHz

*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes.

**Espectro 42** - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *P. rigidum* (CDCl_3)

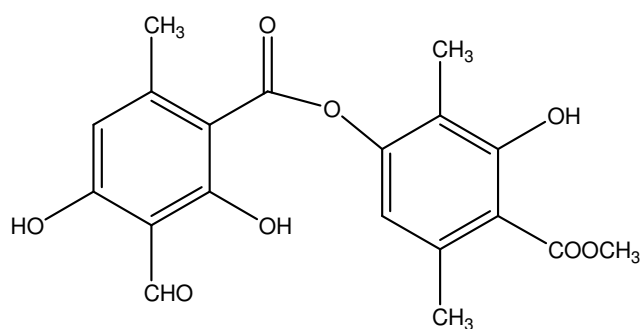
**Espectro 43** - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *P. rigidum* (CDCl_3)



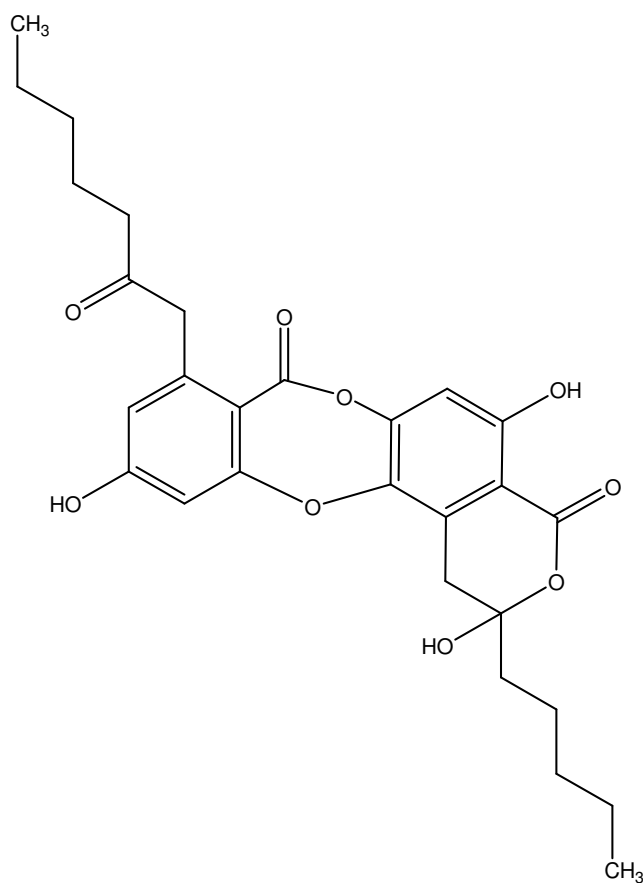
Espectro 44 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *P. rigidum* (CDCl_3)

Parmotrema wainii (A.L. Smith) Hale

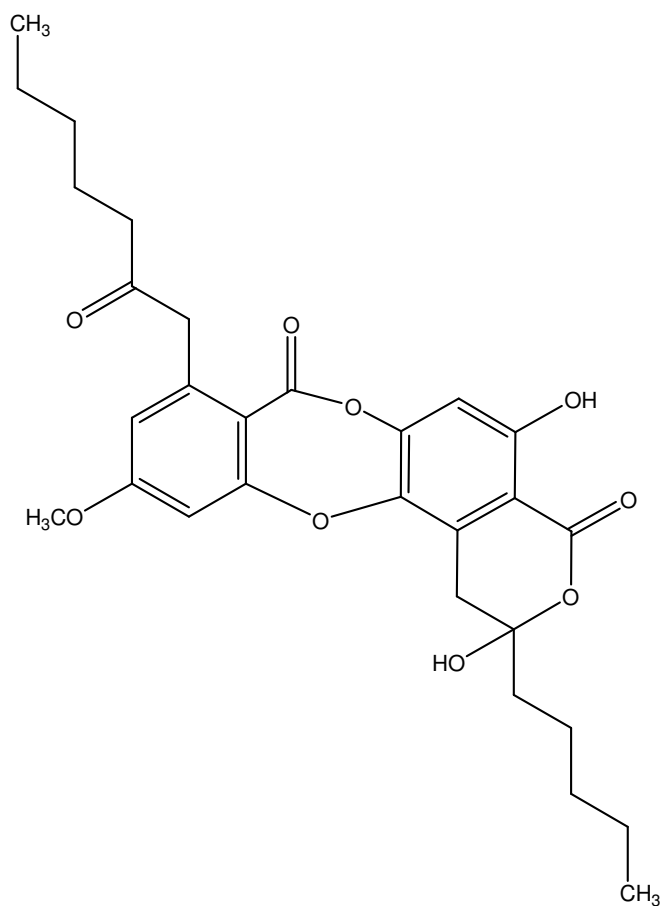
São importantes taxonomicamente para esta espécie as substâncias atranorina e os ácidos α -alectorônico e α -colatólico (Hale, 1974).



Atranorina



Ácido α -alectorônico

Ácido α -colatólico

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *P. wainii* foi cromatografado no eluente II. No cromatograma observa-se ao menos uma mancha com cor laranja mais evidenciada. Essa mancha pode ser atribuída à atranorina, pois o comportamento cromatográfico é semelhante à substância de referência.



Prigi Pwain Parge ATR

Cromatograma 21 - Extrato de *P. wainii*

Cromatograma 19: (Prigi= *P. rigidum*, Pwain= *P. wainii*, Parge= *P. argentinum*, ATR= atranorina) **Eluente II:** tolueno/ acetato de etila/ ácido fórmico (138:83:8 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Da mesma forma que nas duas espécies anteriores, *P. pancheri* e *P. rigidum*, o extrato de *P. wainii* também foi cromatografado no eluente V e revelado com FeCl_3 5% em metanol. Para *P. wainii* observa-se ao menos 3 manchas. A de migração maior, com cor mais pálida, pode ser atribuída à presença de atranorina. A mancha com cor roxa bastante evidente em *P. wainii* tem comportamento cromatográfico semelhante à atribuída ao ácido α -alecorônico em *P. pancheri* e *P. rigidum*. E ainda, a mancha de migração intermediária (R_f maior que do ácido α -alecorônico) sugere a presença do ácido α -colatólico nesse espécime. O comportamento cromatográfico dessas substâncias são comparáveis com os descritos na literatura (Culberson e Kristinsson, 1970; Culberson, 1972).



Ppanc Prigi Pwain

Cromatograma 22 - Extrato de *P. wainii*

Cromatograma 20: (Ppanc= *P. pancheri*, Prigi= *P. rigidum* e Pwain= *P. wainii*) **Eluente V:** tolueno/ ácido acético glacial (85:15 v/v/v). **Revelador:** solução FeCl₃ 5% em metanol

Microcristalização (MC)

A microcristalização em GE indicou formas cristalinas correspondentes aos ácidos α -alecorônico e α -colatólico, e ainda atranorina em GAoT. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e também com aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados espectrais do extrato de *P. wainii* foram obtidos em CDCl₃.

O espectro de RMN ¹H desse extrato apresenta sinais de deslocamento químico em 2,07; 2,53 e 2,67 ppm, todos singletes, que podem ser atribuídos as metilas que são normalmente encontradas nos depsídeos. Um singlete em 3,97 ppm, característico de éster metílico, um sinal em 10,34 ppm, também singlete, que pode ser atribuído ao hidrogênio

ligado a uma carbonila de aldeído e também 3 singletes em 11,94; 12,49 e 12,53 ppm, que sugerem 3 hidroxilas, condizem com a estrutura da atranorina e estão indicados na figura 40.

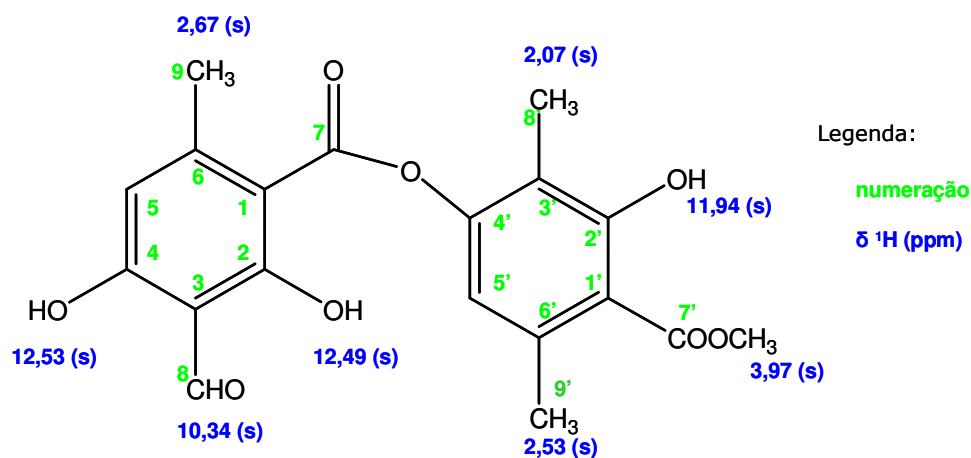


Figura 41 – Sinais de deslocamento químico de ¹H para **atranorina** presente no extrato de *P. wainii* (CDCl₃).

São observados também no espectro de RMN ¹H um singlete largo em 10,97 ppm que sugere hidroxila ligada a anel lactol. Em 2,58 ppm, um multiplete parecendo um triplete, indica grupo –CH₂– mais desprotegido adjacente a apenas 1 grupo –CH₂–, logo é possível que também esteja ligado a uma carbonila. Esses hidrogênios podem ser atribuídos à estrutura do ácido α-alectorônico e também à do ácido α-colatólico, já que as duas substâncias apresentam estruturas muito semelhantes.

É essa semelhança estrutural entre essas duas substâncias que congestionava a região de sinais abaixo de 4 ppm no espectro de RMN ¹H, onde normalmente se apresentam os vários hidrogênios das 4 cadeias alquílicas. Isso dificultou a observação dos padrões de desdobramento desses sinais. Os δ ¹H que puderem ser atribuídos aos ácidos α-alectorônico e α-colatólico estão indicados nas figuras 42 e 43, respectivamente.

O espectro de RMN ¹³C apresenta também muitos sinais na região de δ de carbonos alifáticos. Alguns sinais de intensidade reduzida caracterizam o depsídeo atranorina. São eles: 9,3; 24,0 e 25,6 ppm, referentes a 3 metilas; 112,6 e 116,0 ppm, dos carbonos C5 e C5', que estão ligados a hidrogênio, e por último, 193,9 ppm, característico de carbonila de aldeído. Estes sinais estão indicados na figura 41. Os sinais de δ ¹H e ¹³C para atranorina concordam com König & Wright (1999).

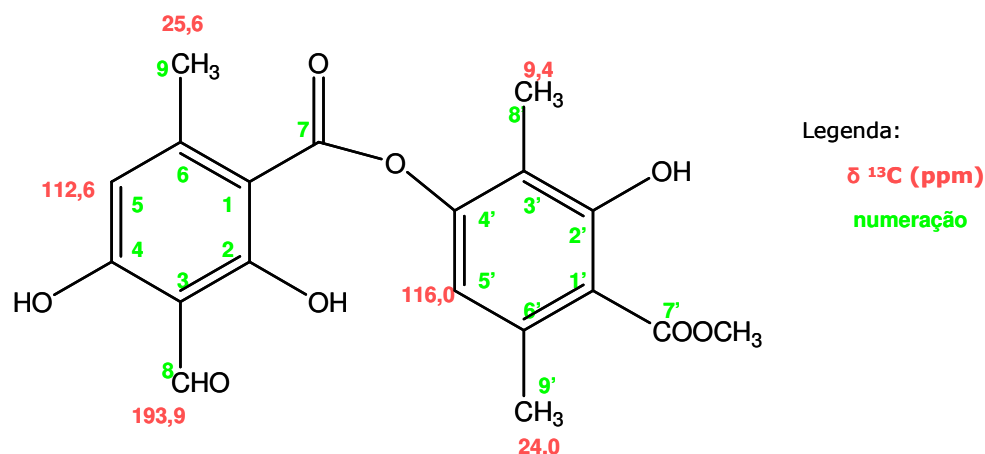


Figura 42 – Sinais de deslocamento químico de ¹³C para **atranorina** presente no extrato de *P. wainii* (CDCl₃).

Entre os sinais mais intensos no espectro de RMN ¹³C, observa-se um sinal em 13,9 ppm, característico de grupo –CH₃ terminal de cadeia alquílica, e ainda sinais referentes a grupos –CH₂– entre 22 e 40 ppm. Dessa vez o espectro apresenta 2 sinais característicos de carbonila de cetona, em 207,2 e 209,4 ppm e também 2 sinais duplos que podem ser atribuídos a grupos –CH₂– mais desprotegidos, em aproximadamente 42,8 e 48,0 ppm. A desproteção desses grupos –CH₂– pode indicar proximidade ao grupo carbonila de cetona. Esse conjunto de sinais indica a presença de cadeias alquílicas com grupos cetona, e indicam a presença das depsidonas ácidos α-alectorônico e α-colatólico.

Os sinais em 117,7 e 106,3 ppm, correspondentes a carbonos aromáticos ligados a hidrogênios, juntamente com o sinal em 209,4 ppm podem ser atribuídos apenas aos carbonos C5, C3 e C2'' do ácido α-alectorônico. Já os sinais em 115,3 e 104,7 ppm, também correspondentes a carbonos aromáticos ligados a hidrogênio, em conjunto com os sinais em 207,2 e 55,8 ppm, o último correspondente a uma metoxila, concordam com a estrutura do ácido α-colatólico. A presença da metoxila ligada no carbono C4 na estrutura do ácido α-colatólico justifica a proteção de cerca de 2 ppm apresentada pelos carbonos C5 e C3 atribuídos a esta depsidona quando comparados aos mesmos carbonos atribuídos ao ácido alectorônico. Esse efeito de proteção é estérico.

Muitos sinais aparecem duplicados no espectro de RMN ¹³C e isso ocorre devido a similaridade entre as estruturas das duas depsidonas, ácidos α-alectorônico e α-colatólico, que só diferem pela presença de uma metoxila na posição C4 da última. Os sinais de δ ¹³C e ¹H para o ácido α-colatólico estão indicados na figura 43 e para o ácido α-alectorônico estão

indicados na figura 42. Todos esses sinais foram comparados com dados da literatura para o ácido α -colatólico (Elix, Ferguson e Sargent 1974, Huneck & Yoshimura 1996).

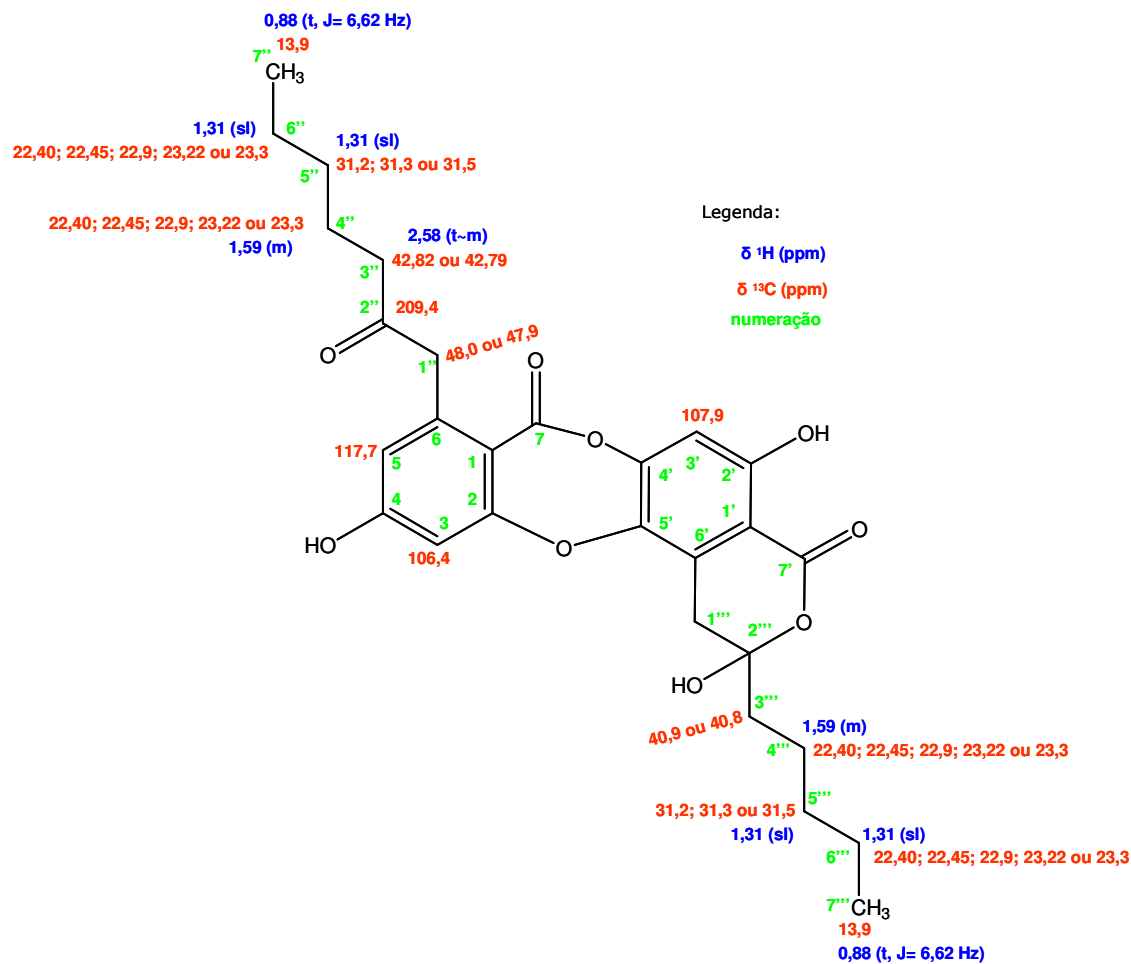


Figura 43 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C do ácido α -alectorônico presente no extrato de *P. wainii* (CDCl₃).

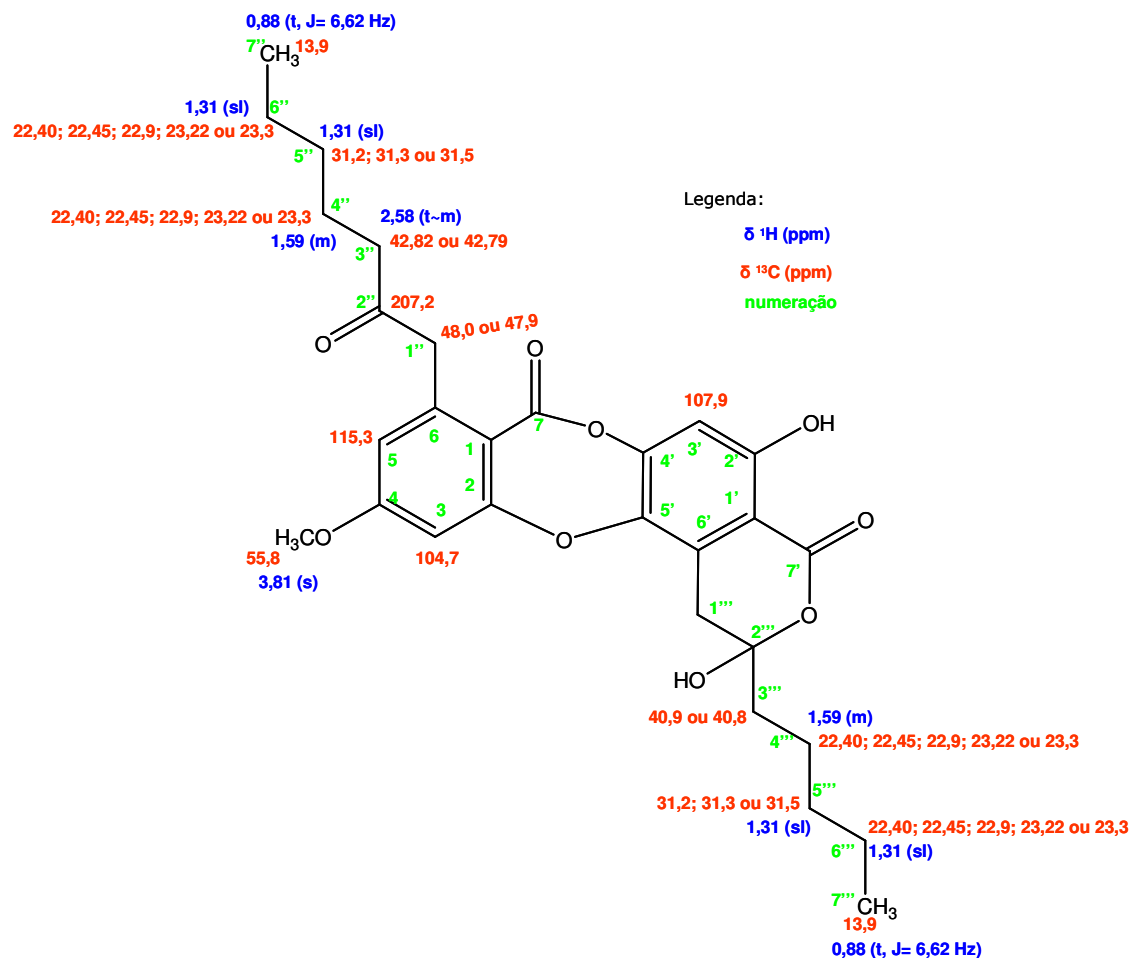


Figura 44 – Sinais de deslocamento químico de ¹³C do **ácido α-colatólico** presente no extrato de *P. wainii* (CDCl₃).

Dessa forma, no extrato de *P. wainii* foram identificados atranorina e os ácidos α-alectorônico e α-colatólico, por CCD, MC e RMN.

A similaridade entre as estruturas dos ácidos α-alectorônico e α-colatólico, principalmente quanto ao anel B, que é idêntico para as duas substâncias, dificultou a atribuição de muitos sinais de δ¹H e δ¹³C.

Por último, sobre o espectro de RMN ¹H: as características intrínsecas dos hidrogênios de cadeia alquílica dificultam por si só a atribuição de δ ¹H dos mesmos. Muitos desses hidrogênios acoplam entre si e então apresentam uma variada multiplicidade e também a proximidade com que esses sinais se dispõem no espectro (na região abaixo de 3,5 ppm) faz com que eles muitas vezes se sobreponham. Além disso, os ácidos α-alectorônico e α-colatólico apresentam 2 cadeias alquílicas compostas de 7 carbonos cada uma, e essas duas substâncias estão presentes juntas no

mesmo extrato em proporção semelhante. Tudo isso congestionava a região abaixo de 3,5 ppm no espectro de RMN ^1H e torna inviável a atribuição inequívoca dos δ ^1H para cada hidrogênio.

Tabela 15* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. wainii* (CDCl_3) e atribuição de sinais para **ácido α -alectorônico (ALECT)**, **ácido α -colatólico (COLA)** e **atranorina (ATR)**.

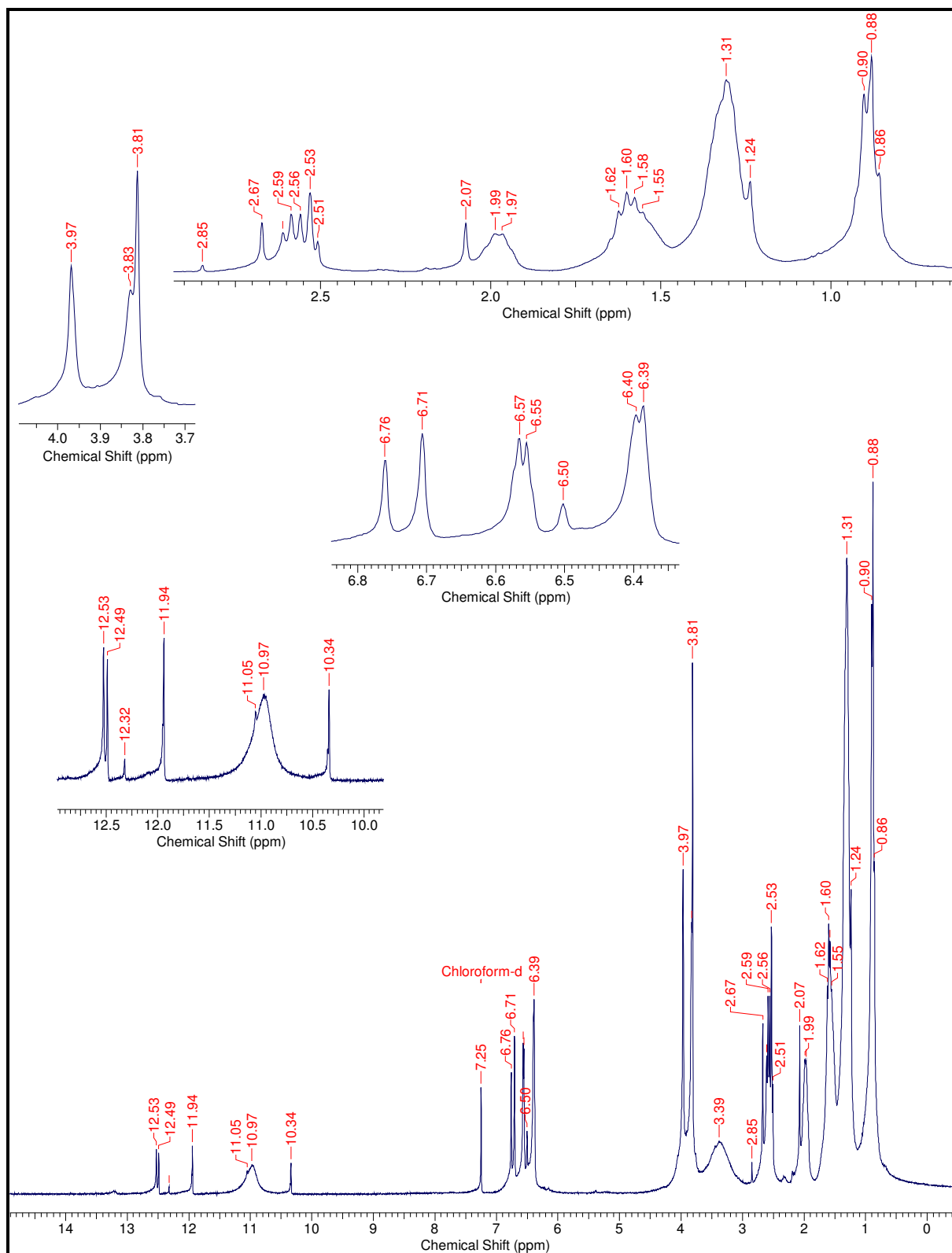
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
209,4	C2'' – ALECT	12,53 (s)	OH (C4) – ATR
207,2	C2'' – COLA	12,49 (sl)	OH (C2) – ATR
193,9	C8 – ATR	12,32 (s)	
163,5		11,94 (s)	OH(C2) – ATR
162,4		11,05 (s)	
161,9		10,97 (s)	
161,7		10,34 (s)	CHO(C8) – ATR
161,4		6,76 (s)	
160,41		6,71 (s)	
160,37		6,60 (d, J=3,1 Hz)	
160,3		6,50 (s)	
160,2		6,39 (d, J=3,1 Hz)	
141,2		3,97 (s)	COOCH ₃ (C7') – ATR
141,0		3,83 (s)	
129,5		3,81 (s)	OCH ₃ (C4) – COLA
129,3		3,39 (s)	
117,7 (CH)	C5 – ALECT	2,85 (s)	
116,0	C5' – ATR	2,67 (s)	H(C9) – ATR
115,3 (CH)	C5 – COLLA	2,58 (m)	H(C3'') – ALECT e H(C3'') – COLA
113,8		2,53 (s)	H(C9') – ATR
112,8	C5 – ATR	2,07 (s)	H(C8') – ATR
108,2		1,98 (d~m, J=6,2)	
107,9 (CH)	C3' – ALECT e C3' – COLA	1,59 (m)	H(C4'') e H(C4''') – ALECT e H(C4'') e H(C4''') – COLA
106,3 (CH)	C3 – ALECT	1,31 (sl)	H(C5''), H(C5'''), H(C6'') e H(C6''') – ALECT e
104,7 (CH)	C3 – COLLA		H(C6'') – ALECT e
55,8 (CH ₃)	OCH ₃ (C4) – COLLA		H(C5''), H(C5'''), H(C6'') e H(C6''') – COLA
48,0 (CH ₂)	C1'' – COLA e		
47,9 (CH ₂)	C1'' – ALECT	1,24 (s)	
42,82 (CH ₂)	C3'' – COLA e	0,88 (t, J=6,6 Hz)	H(C7'') e H(C7'') – ALECT e
42,79 (CH ₂)	C3'' – ALECT		H(C7'') e H(C7'') –
40,9 (CH ₂)	C3''' – COLA e		
40,8 (CH ₂)	C3''' – ALECT		
31,5 (CH ₂)	C5'', C5''' – COLA		
31,3 (CH ₂)	e		
31,2 (CH ₂)	C5'', C5''' – ALECT		

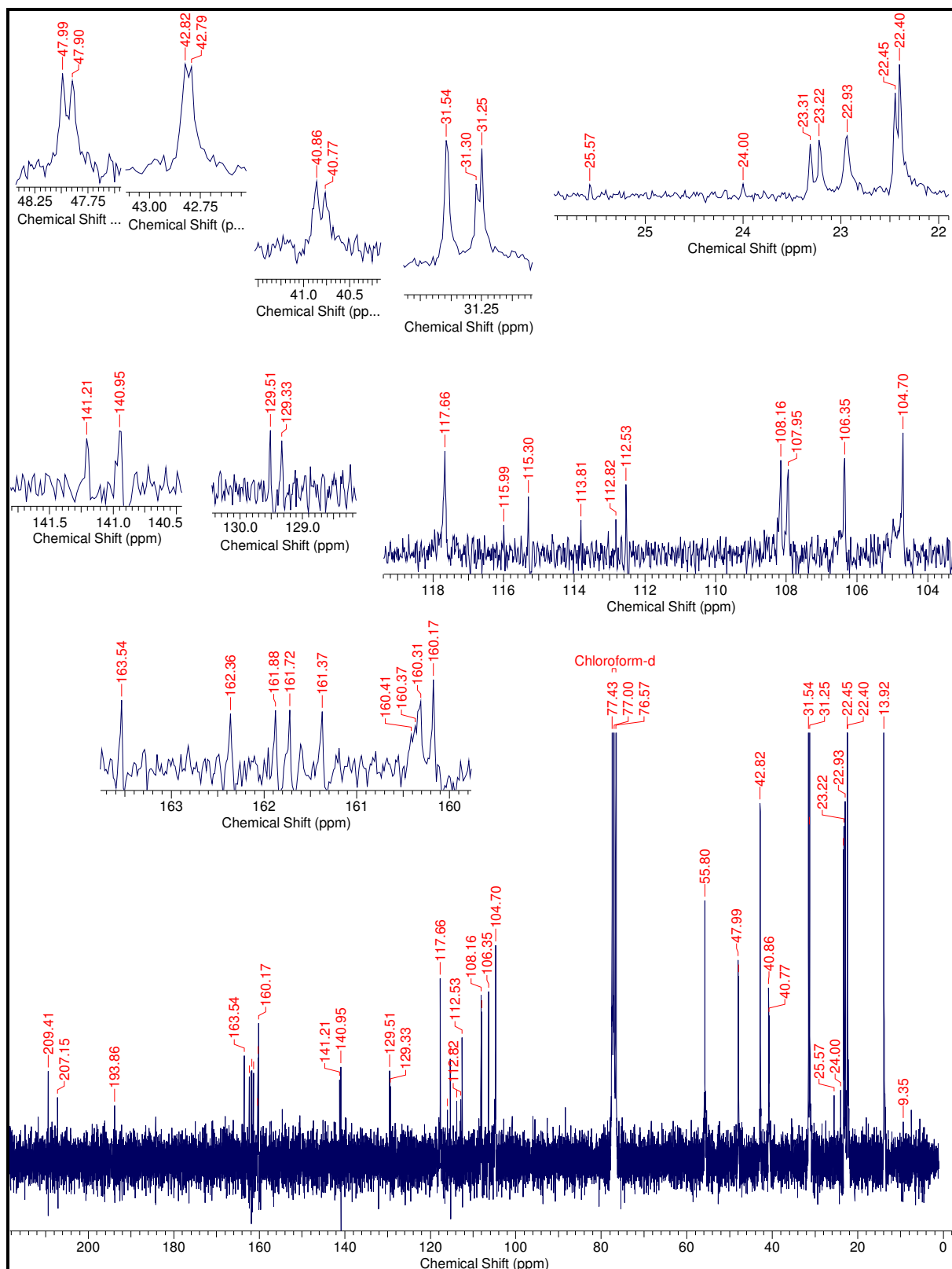
Continuação da tabela 15* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. wainii* (CDCl_3) e atribuição de sinais para **ácido α -alectorônico (ALECT)**, **ácido α -colatólico (COLA)** e **atranorina (ATR)**.

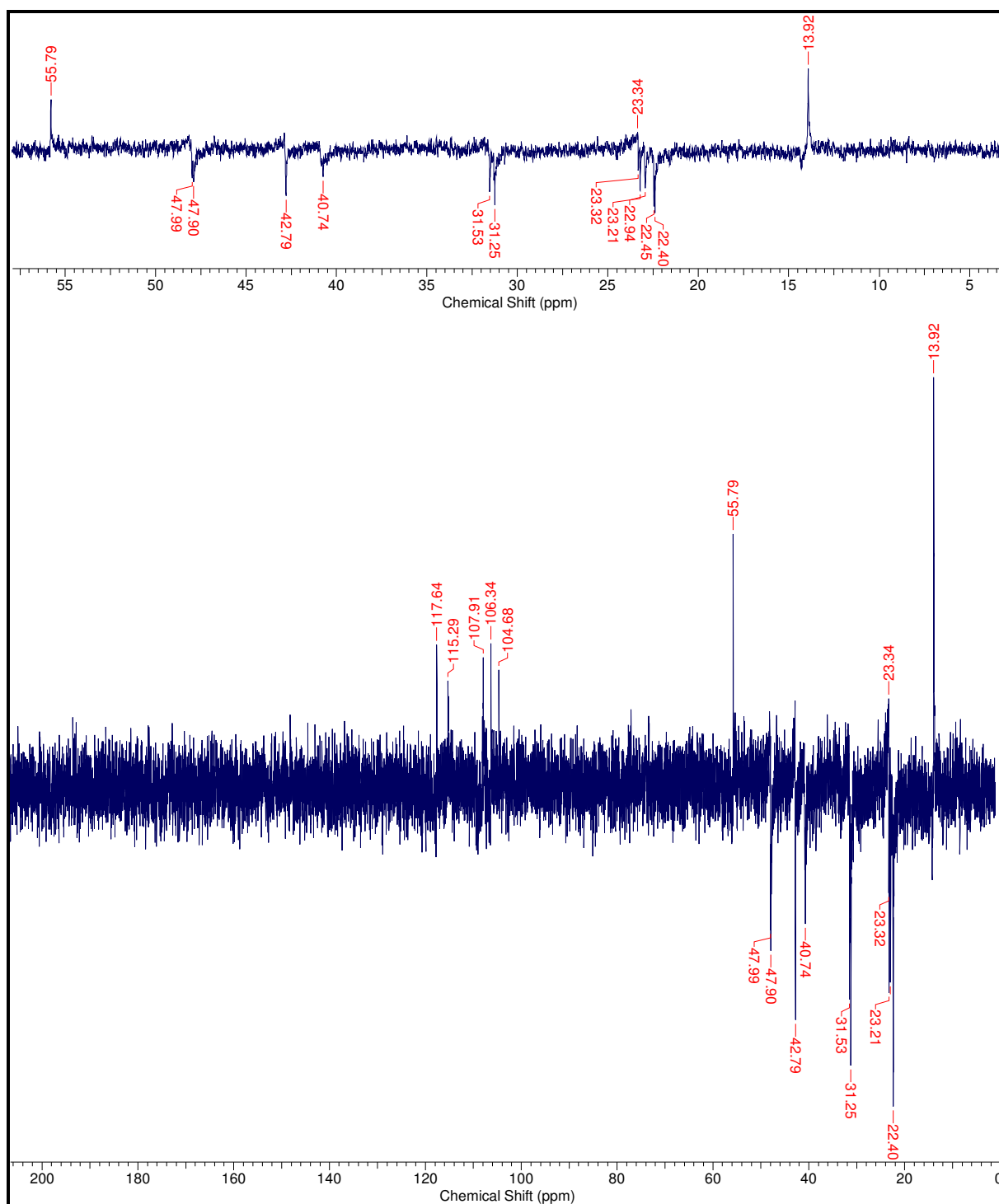
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
25,6	C9 – ATR		
24,0	C9' – ATR		
23,3 (CH_2)			
23,22 (CH_2)	C6'', C4'', C6''' e C4''' –		
22,9 (CH_2)	COLA e		
22,45 (CH_2)	C6'', C4'', C6''' e C4''' –		
22,40 (CH_2)	ALECT		
13,9 (CH_3)	C7''' e C7'' – COLA e C7''' e C7'' – ALECT		
9,3	C8' – ATR		

^a 300 MHz; ^b 75 MHz

*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes.

**Espectro 45** - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *P. wainii* (CDCl_3)

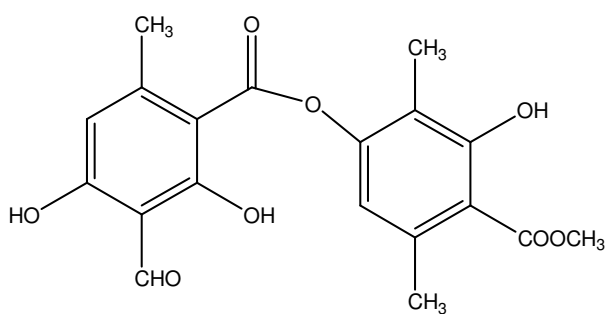




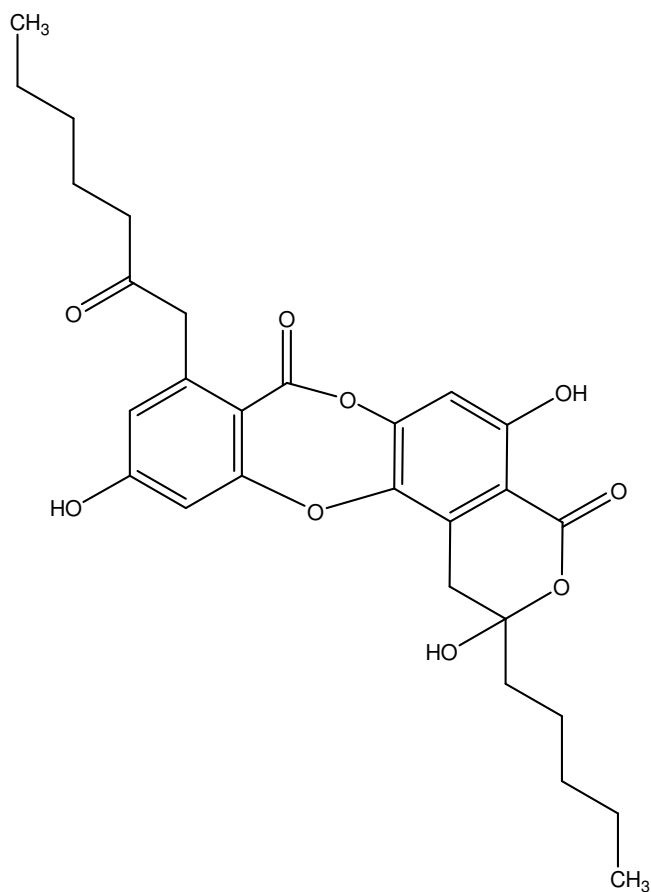
Espectro 47 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *P. wainii* (CDCl₃)

Parmotrema argentinum (Kremp.) Hale

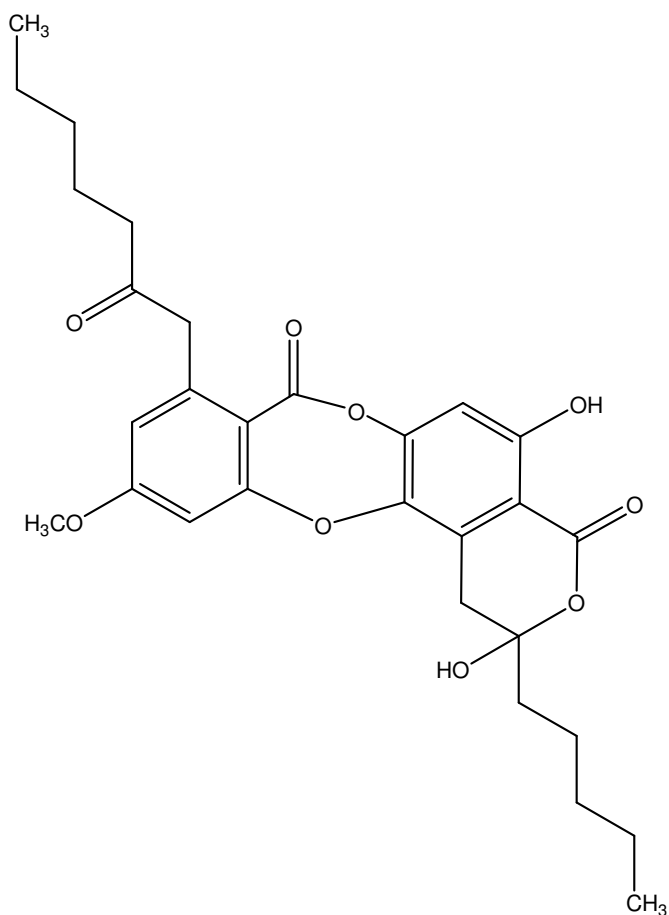
São importantes taxonomicamente para esta espécie as substâncias atranorina e os ácidos α -alectorônico e α -colatólico (Hale, 1974).



Atranorina

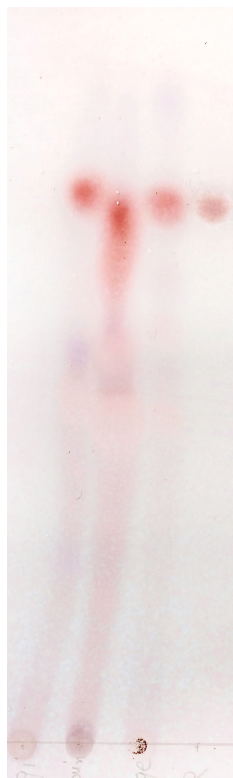


Ácido α -alectorônico

Ácido α -colatólico

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *P. argentinum* foi cromatografado no eluente II. No cromatograma observa-se ao menos uma mancha com cor laranja mais evidenciada. Essa mancha pode ser atribuída à atranorina, pois o comportamento cromatográfico é semelhante à substância de referência.



Prigi Pwain Parge ATR

Cromatograma 23 - Extrato de *P. argentinum*

Cromatograma 21: (Prigi= *P. rigidum*, Pwain= *P. wainii*, Parge= *P. argentinum*, ATR= atranorina) **Eluente II:** tolueno/ acetato de etila/ ácido fórmico (138:83:8 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Da mesma forma que nas três espécies anteriores, *P. pancheri*, *P. rigidum* e *P. wainii*, o extrato de *P. argentinum* também foi cromatografado no eluente V e revelado com FeCl_3 5% em metanol. Para *P. argentinum* observa-se ao menos 3 manchas. A de migração maior pode ser atribuída à presença de atranorina. A mancha com cor roxa bastante evidente em *P. argentinum* tem comportamento cromatográfico semelhante à atribuída ao ácido α -alectorônico em *P. pancheri*, *P. rigidum* e *P. wainii*. E ainda, a mancha de migração intermediária (R_f maior que do ácido α -alectorônico) sugere a presença do ácido α -colatólico nesse espécime. O comportamento cromatográfico dessas substâncias são comparáveis com os descritos na literatura (Culberson e Kristinsson, 1970; Culberson, 1972).



Ppnc Prigi Pwain Parge

Cromatograma 24 - Extrato de *P. argentinum*

Cromatograma 22: (Ppnc= *P. pancheri*, Prigi= *P. rigidum*, Pwain= *P. wainii* e Parge= *P. argentinum*)

Eluente V: tolueno/ ácido acético glacial (85:15 v/v/v). **Revelador:** solução FeCl₃ 5% em metanol

Microcristalização (MC)

A microcristalização em GE indicou formas cristalinas correspondentes aos ácidos α -alecorônico e α -colatólico, e ainda atranorina em GAoT. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e também com aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados espectrais do extrato de *P. argentinum* foram obtidos em DMSO-d₆.

O espectro de RMN ¹H desse extrato apresenta sinais na região de 10 ppm, que podem ser referentes a hidroxilas. Na região de 6 ppm são observados sinais que sugerem hidrogênios aromáticos. Entre 4 e 3,5 ppm, sinais que podem indicar hidrogênios tanto de éster metílico quanto de metoxila. E ainda, sinais abaixo de 3,5 ppm sugerem hidrogênios de

cadeia alquílica. Todos esses sinais eram esperados para confirmação das estruturas das moléculas dos ácidos α -alecorônico e α -colatólico, cuja presença no extrato já foi indicada pelos cromatogramas e por MC. Porém devido às dificuldades já citadas nas discussões dos espectros de RMN das 3 espécies imediatamente anteriores, e que também contém essas substâncias, não foi possível atribuir os $\delta^1\text{H}$ inequivocamente com segurança, mesmo quando pode-se utilizar dados da literatura para comparação.

Na região de δ de carbonos alifáticos no espectro de RMN ^{13}C , observa-se um sinal duplo em 13,9 ppm, característico de grupos $-\text{CH}_3$ e ainda sinais referentes a grupos $-\text{CH}_2-$ entre 22 e 40 ppm. Dessa vez o espectro apresenta um sinal duplo em aproximadamente 206,4 ppm, característico de carbonila de cetona, e também 2 sinais duplos que podem ser atribuídos a grupos $-\text{CH}_2-$ mais desprotegidos, em 41,8 e 47,1 ppm. Esse conjunto de sinais indica a presença de cadeias alquílicas com grupo cetona.

Os sinais em 117,1 e 105,7 ppm, correspondentes a carbonos aromáticos ligados a hidrogênios, podem ser atribuídos apenas aos carbonos C5 e C3 do ácido α -alecorônico. Para os extratos das espécies *P. pancheri*, *P. rigidum* e *P. wainii*, onde os espectros foram obtidos em CDCl_3 , o sinal de C2'', uma carbonila de cetona, tem $\delta^{13}\text{C}$ em aproximadamente 209 ppm. Como anteriormente citado, os espectros de RMN do extrato da espécie *P. argentinum* foram obtidos em $\text{DMSO}-d_6$, e talvez um dos sinais, ou 206,5, ou 206,4, possa ser atribuído também a C2''. A diferença de aproximadamente 2 ppm observada entre esse sinal e os atribuídos ao mesmo carbono dessa molécula nos espectros das outras espécies ($\delta \sim 209$ ppm) pode ser decorrente do efeito do solvente (condições diferentes).

Os sinais em 115,9 e 104,5 ppm, também correspondentes a carbonos aromáticos ligados a hidrogênio, em conjunto com um dos sinais em 206,5 ou 206,4 ppm, e ainda o sinal em 56,0 ppm, esse último indicando uma metoxila, concordam com a estrutura do ácido α -colatólico.

Muitos sinais aparecem duplicados no espectro de RMN ^{13}C e isso ocorre, como já dito anteriormente, devido a similaridade entre as estruturas das duas depsidonas, ácidos α -alecorônico e α -colatólico, que só diferem pela presença de uma metoxila na posição C4 da última. Os sinais de $\delta^{13}\text{C}$ e ^1H para o ácido α -alecorônico estão indicados na figura 44 e para o ácido α -colatólico estão indicados na figura 45. Todos esses sinais foram comparados com dados da literatura para o ácido α -colatólico (Elix, Ferguson e Sargent 1974, Huneck & Yoshimura 1996, ambos em CDCl_3) e para o ácido α -alecorônico (Milot *et al.* 2007, $\text{DMSO}-d_6$).

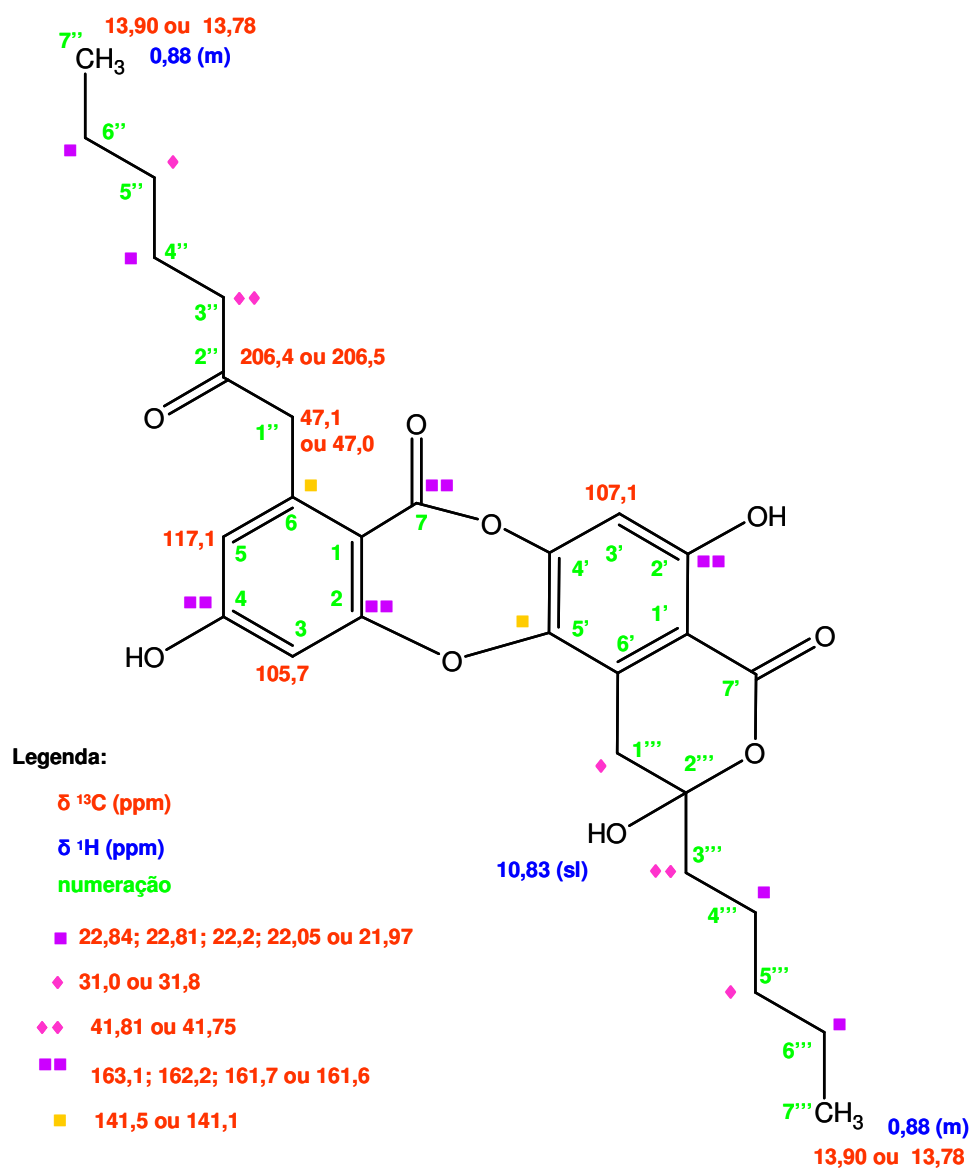


Figura 45 – Sinais de deslocamento químico de ¹³C do **ácido α-aleatorônico** presente no extrato de *P. argentinum* (DMSO-d₆).

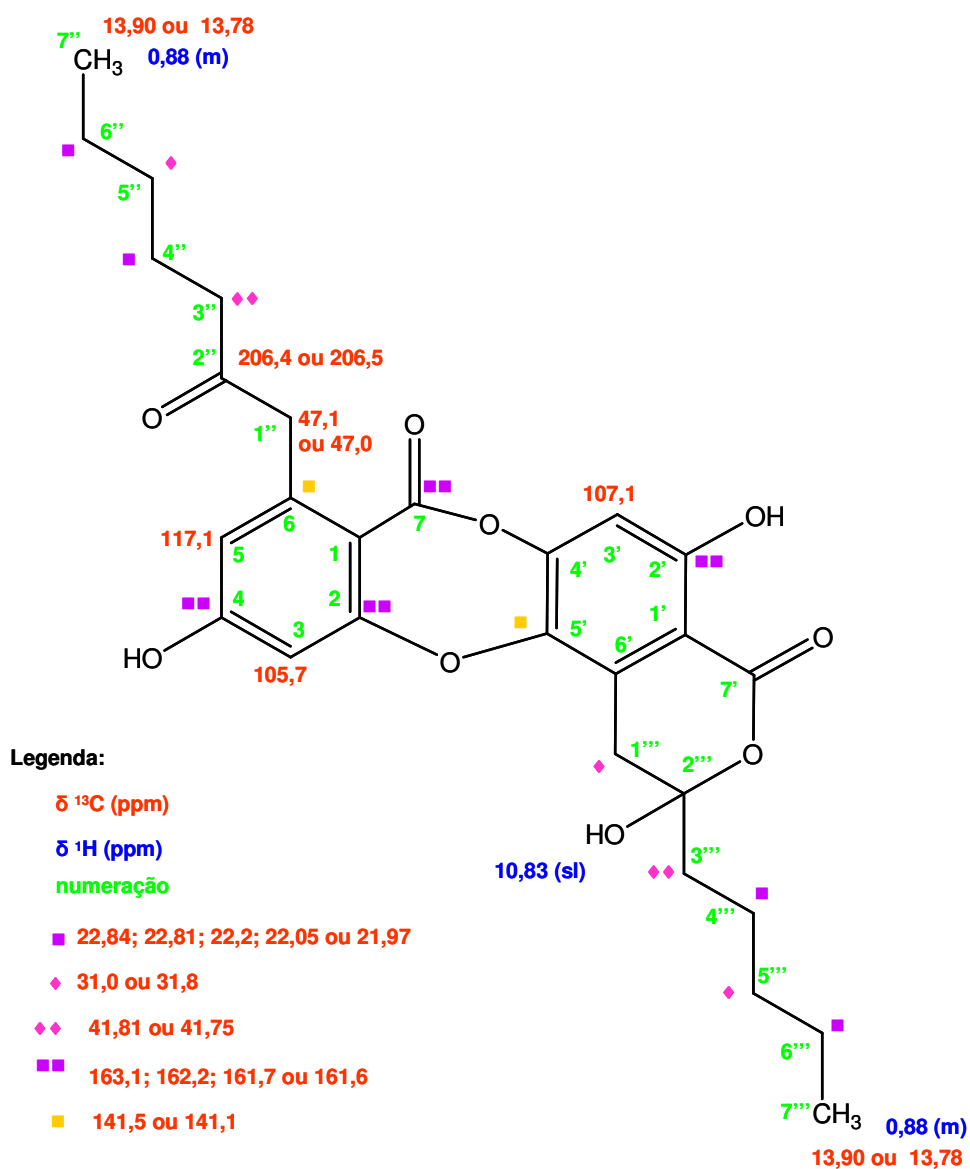


Figura 46 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C do **ácido α -colatólico** presente no extrato de *P. argentinum* (DMSO- d_6).

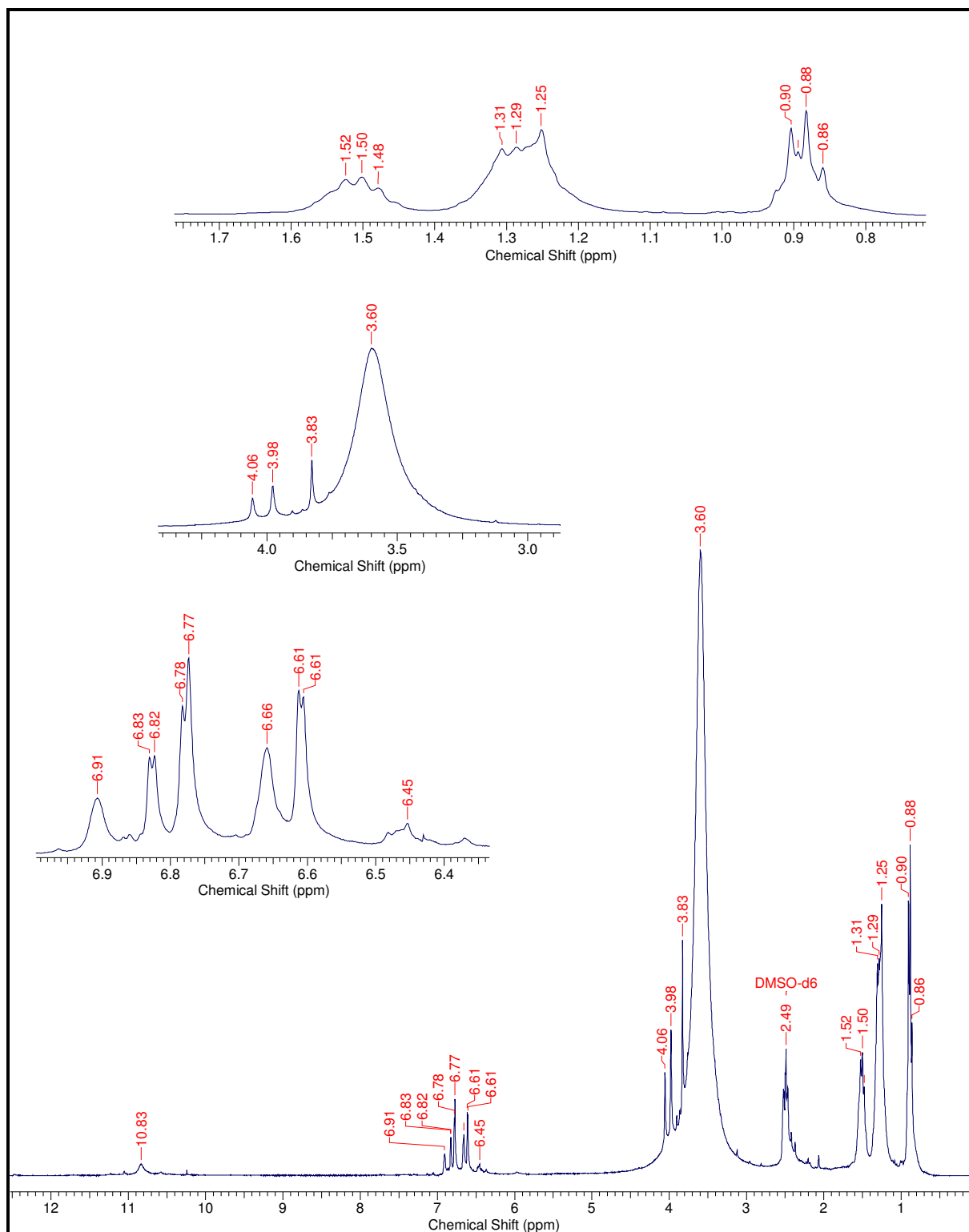
Assim, no extrato de *P. argentinum* foram identificados atranorina e os ácidos α -alecorônico e α -colatólico, por CCD e MC. Os dois últimos foram identificados também por RMN.

Tabela 16 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. argentinum* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para **ácido α -alectorônico (ALECT)**, **ácido α -colatólico (COLA)** e **atranorina (ATR)**.

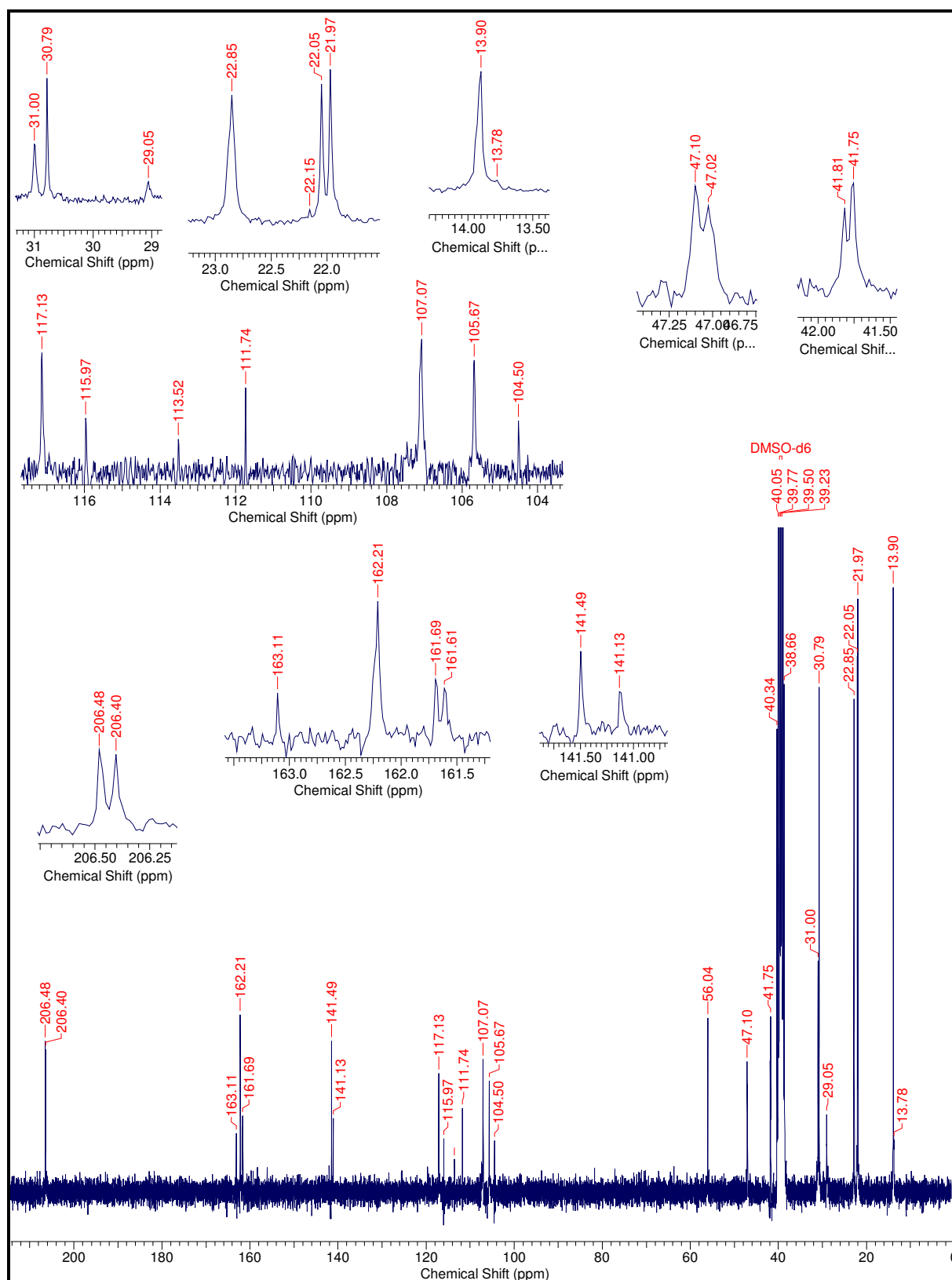
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
206,5		10,83 (sl)	
206,4	C2'' – COLA e C2'' – ALECT	6,91 (sl)	
163,1	C4, C7, C2 e/ou C2' –	6,83 (d, J=2,3 Hz)	
162,2	ALECT	6,78 (d, J=2,9 Hz)	
161,7	e	6,66 (sl)	
161,6	C4, C7, C2 e/ou C2' – COLA		
141,5	C6 e C5 – ALECT e	6,61 (d, J=2,0 Hz)	
141,1	C6 e C5 – COLA	6,45 (sl)	
117,1 (CH)	C5 – ALECT	4,06 (s)	
116,0 (CH)	C5 – COLA	3,98 (s)	
113,5		3,83	
111,7		1,50 (m)	
107,1 (CH)	C3' – ALECT e C3' – COLA	1,28 (m)	
105,7 (CH)	C3 – ALECT	0,88 (m)	H(C7'') e H(C7''') – ALECT e H(C7'') e H(C7''') – COLA
104,5 (CH)	C3 – COLA		
56,0 (CH ₃)	OCH ₃ (C4) – COLA		
47,1 (CH ₂)	C1''' – ALECT e		
47,0 (CH ₂)	C1''' – COLA		
41,81 (CH ₂)	C3'' e C3''' – ALECT e C3'' e C3''' – COLA		
41,75 (CH ₂)			
31,0 (CH ₂)	C5''', C5'' e/ou C1''' – ALECT		
30,8 (CH ₂)	e C5''', C5'' e/ou C1''' – COLA		
29,1			
22,84 (CH ₂)	C4''', C4'', C6''' e/ou C6'' –		
22,81 (CH ₂)	ALECT		
22,2 (CH ₂)	e/ou		
22,05	C4''', C4'', C6''' e/ou C6'' –		
21,97 (CH ₂)	COLA		
13,90 (CH ₃)	C7'' e C7''' – COLA e		
13,78 (CH ₃)	C7'' e C7''' – ALECT		

^a 300 MHz; ^b 75 MHz

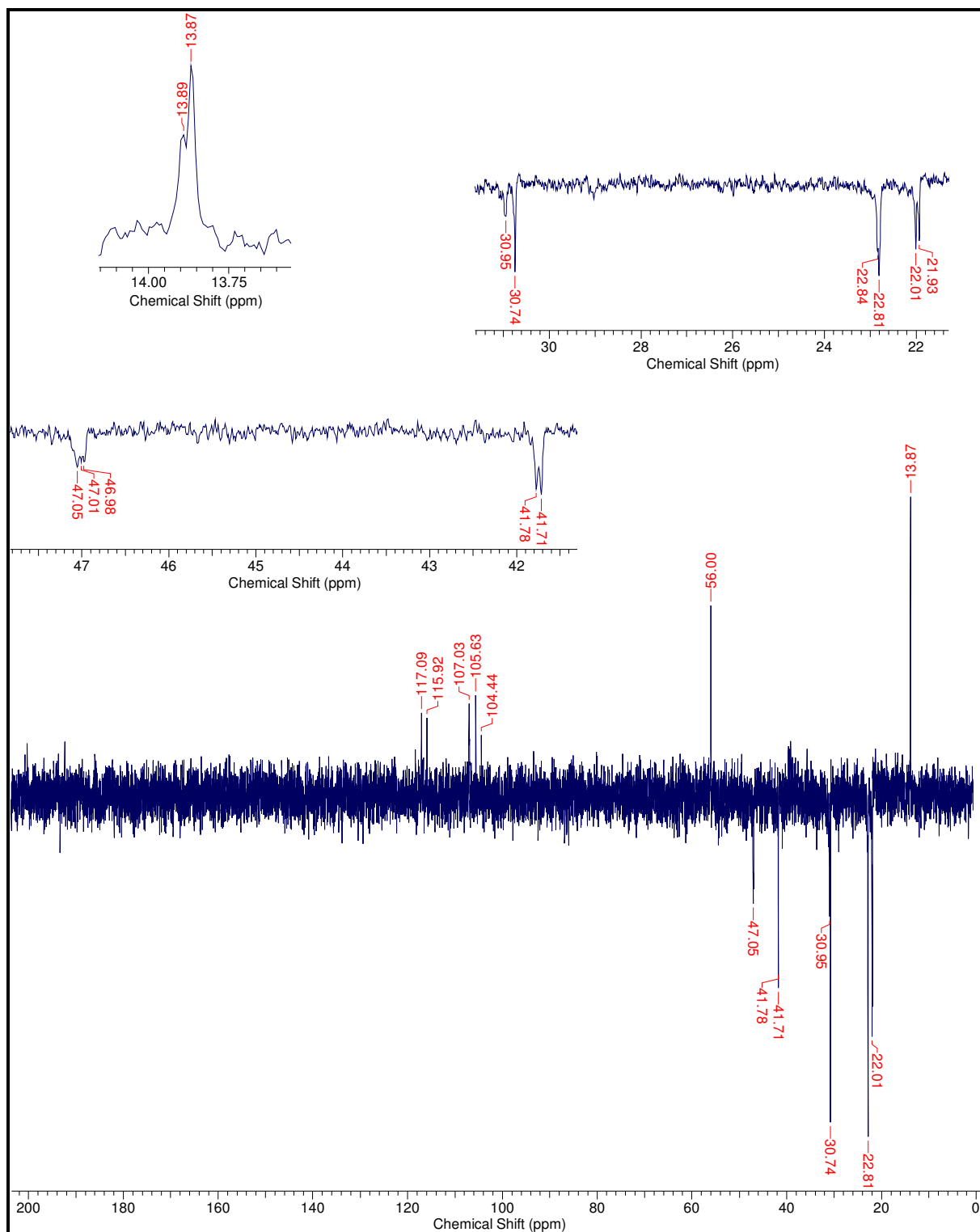
*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes.



Espectro 48 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *P. argentinum* (DMSO- d_6).



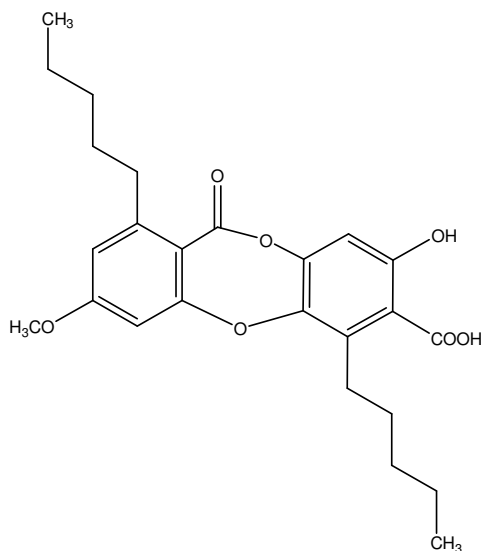
Espectro 49 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *P. argentinum* (DMSO- d_6).



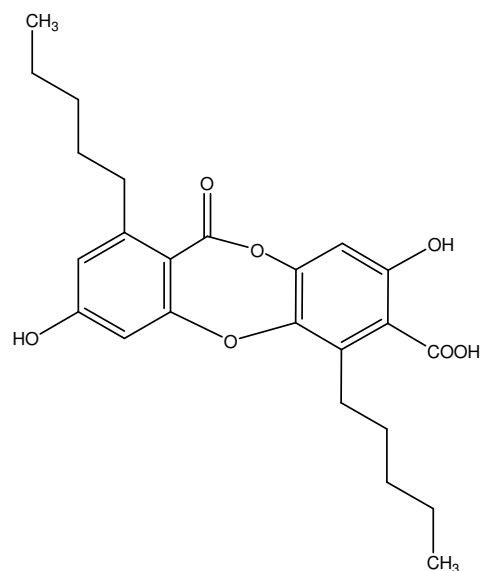
Espectro 50 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *P. argentinum* (DMSO- d_6).

Hypotrachyna dactylifera (Vainio) Hale

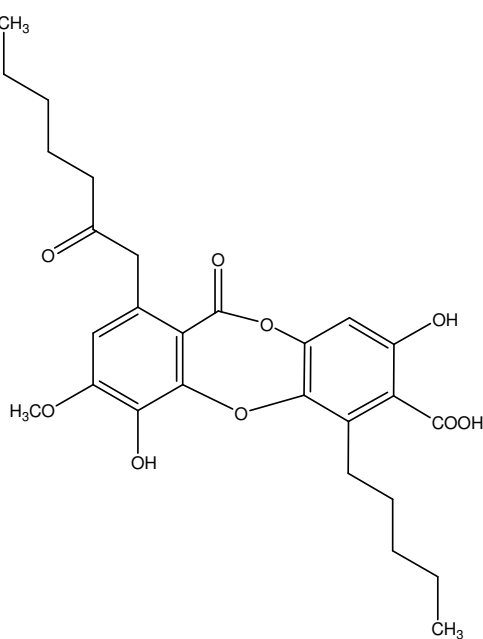
São importantes taxonomicamente para esta espécie as substâncias atranorina e os ácidos colensóico, norcolensóico, livídico e fisódico (Hale, 1975).



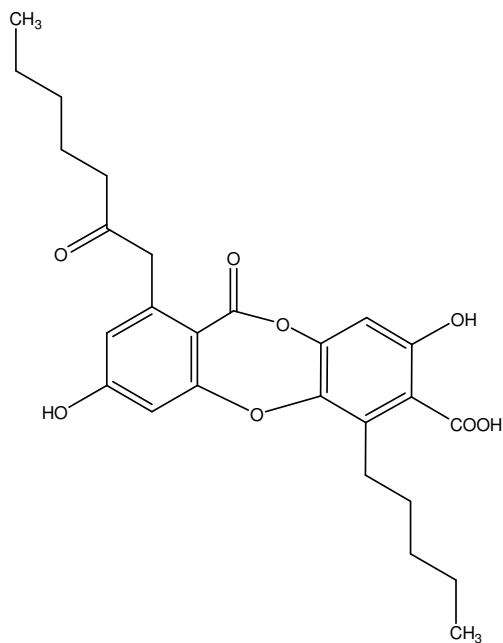
Ácido colensóico



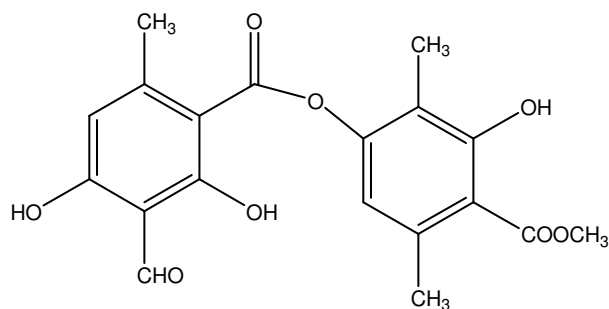
Ácido norcolensóico



Ácido livídico



Ácido fisódico



Atranorina

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *H. dactylifera* foi cromatografado no eluente II. No cromatograma observa-se ao menos 3 manchas. A de R_f maior tem comportamento cromatográfico semelhante ao da substância de referência atranorina. As outras duas manchas, com R_f de 0,28 e 0,36, sugerem a presença dos ácidos norcolensóico e colensóico, respectivamente, segundo Huneck & Yoshimura (1996).



Hdact - ATR

Cromatograma 25 - Extrato de *H. dactylifera*

Cromatograma 23: (Hdact= *H. dactylifera*, ATR= atranorina) **Eluente II:** tolueno/ acetato de etila/ ácido fórmico (138:83:8 v/v/v). **Revelador:** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Microcristalização (MC)

A microcristalização indicou formas cristalinas correspondentes a atranorina em GAOt. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e também com aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados espectrais do extrato de *H. dactylifera* foram obtidos em DMSO-d₆.

O espectro de RMN ¹H apresenta um padrão de sinais característicos das substâncias fenólicas com cadeia alquílica, com sinais de hidrogênios aromáticos se desdobrando, devido ao provável acoplamento meta entre os mesmos, e ainda, singletes indicando ésteres metílicos e/ou metoxilas, e alguns multipletes na região abaixo de 3 ppm.

Já o espectro de RMN de ¹³C mostra muitos sinais duplicados com intensidade semelhantes, o que pode sugerir a presença de duas substâncias em proporção semelhante. Outra observação é que o espectro não apresenta sinais na região de 200 ppm, o que pode significar que as moléculas que estão presentes em maior proporção nesse extrato não possuem grupos carbonila de cetona em seu esqueleto.

Os sinais em 168,54 e 168,51 ppm podem indicar carbonilas de grupos carboxila em C7', como acontece com os depsídeos atranorina e ácido divaricático em DMSO-d₆. Abaixo desses 2 sinais, outros 6 (entre 163,1 e 162,1 ppm) podem indicar os possíveis carbonos oxigenados C2' (ligado a uma hidroxila), C2 (ligado a hidroxila ou metoxila) e ainda C7, que é uma carbonila de éster que sempre apresenta δ mais protegido (menor) que uma carbonila de ácido carboxílico, como acontece com o ácido protocetrário.

Já dentro do intervalo de sinais entre 152,8 e 133,6 ppm podem ter δ os carbonos que provavelmente estão diretamente ligados as cadeias alquílicas (C6 e C6') e os carbonos da ligação éster e também éter do anel B das depsidonas (C4' e C5'), como pode ser observado nos espectros de outras depsidonas em DMSO-d₆ (ácido salazínico e ácido norstítico, por exemplo). Os dois sinais em 119,6 e 119,5 podem ser os δ de C1' de duas depsidonas, da mesma maneira que na atribuição de C1' do ácido protocetrário em DMSO-d₆.

O padrão de sinais de carbonos aromáticos ligados à hidrogênio, facilmente visível no espectro de RMN de DEPT 135, parece semelhante ao padrão que aparece nos espectros de *Parmotrema argentinum*, que contém as depsidonas ácido α -colatólico e ácido α -alectorônico.

Em *P. argentinum* as duas substâncias diferem apenas pela presença, ou ausência, de uma metoxila ligada em C4. Nos espectros de *H. dactylifera* também é possível identificar 5 sinais (115,1; 114,1; 105,4, mais intensos; 104,7 e 103,3 ppm) de carbonos aromáticos ligados a hidrogênio, o que sugere a presença de duas substâncias com 3 carbonos do tipo CH, cada uma. Tudo indica que uma dessas substâncias possua uma metoxila no anel A, já que é possível observar um sinal em 55,9 ppm. Essa metoxila deve estar ligada em C4, e assim exerce uma proteção estérica nos carbonos C5 e C3 da molécula, provavelmente 114,7 e 103,3 ppm, respectivamente. Essa proteção estérica não deve ser observada na molécula que possui apenas uma hidroxila (ao invés da metoxila), e os δ de C5 e C3 podem ser, nessa ordem, 115,1 e 104,7 ppm. O sinal em 105,4 ppm, que é mais intenso, pode ser referente a C3', e pode ser coincidente para as duas moléculas, já que, estando no anel B, o carbono C3' estaria livre da influência da metoxila.

Na região de δ de carbonos alifáticos no espectro de RMN ^{13}C , observa-se um sinal duplo em 13,9 ppm, característico de metila terminal de cadeia alifática, e ainda muitos sinais referentes a carbonos CH_2 entre 21 e 34 ppm, e ainda, um sinal em 55,9 ppm é característico de metoxila. Todos esses sinais, principalmente o padrão de sinais de carbonos aromáticos ligados à hidrogênio, indicam a presença das depsídonas ácido colensóico e ácido norcolensóico. Os sinais que podem ser atribuídos com segurança para essas duas moléculas estão dispostos nas figuras 46 e 47 (ácido colensóico e ácido norcolensóico, respectivamente). As atribuições de outras moléculas citadas nessa discussão estão indicadas na página 244 em “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”.

Além dos sinais de δ mais intensos, que podem ser atribuídos aos núcleos dos ácidos colensóico e norcolensóico, alguns sinais com menor intensidade podem ser atribuídos à atranorina, e estão indicados na figura 48. Esses sinais estão de acordo com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D, em DMSO-d_6 , obtidos da atranorina isolada e purificada (DMSO-d_6), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

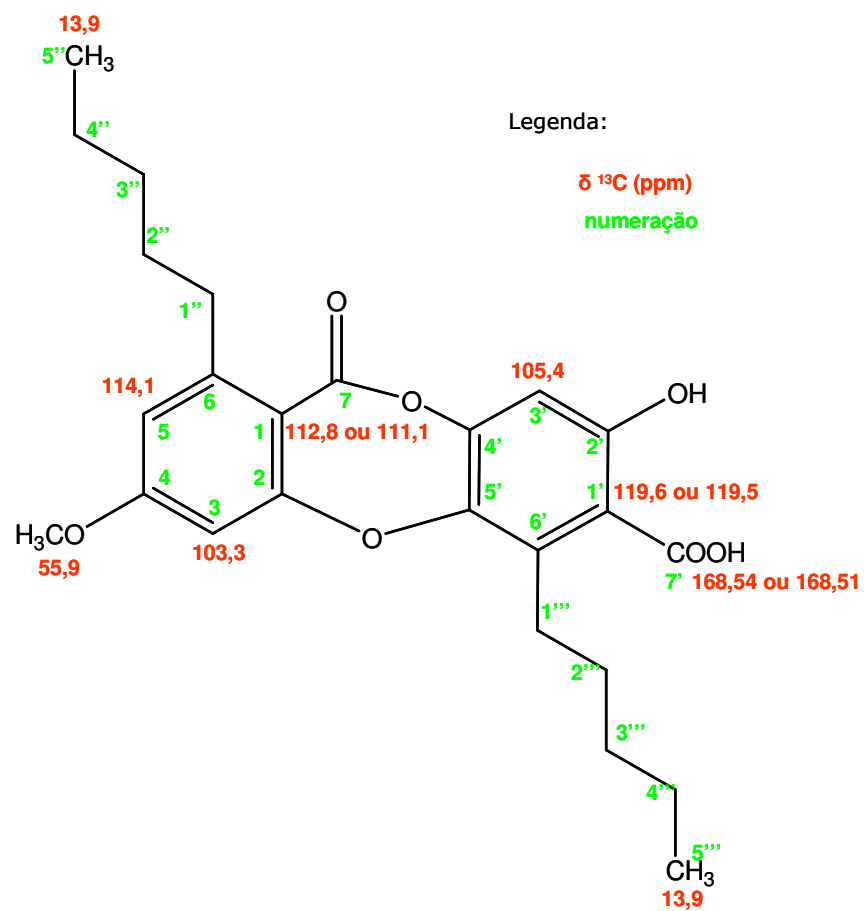


Figura 47 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C do **ácido colensóico** presente no extrato de *H. dactylífera* (DMSO-d_6).

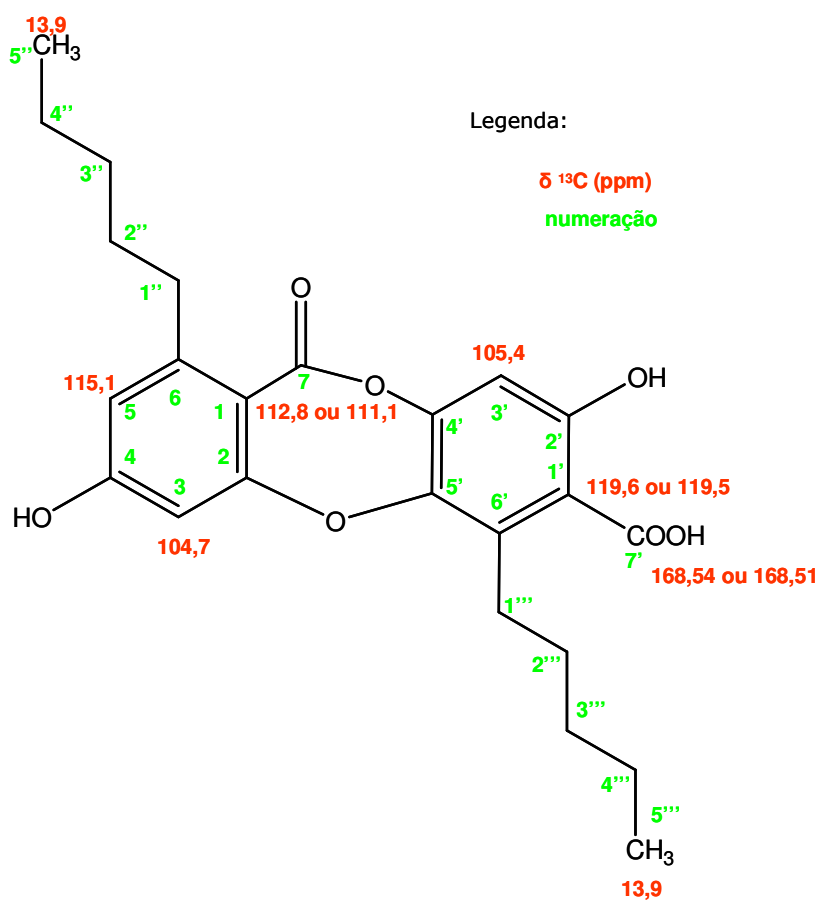


Figura 48 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C do **ácido norcolensóico** presente no extrato de *H. dactylífera* (DMSO- d_6).

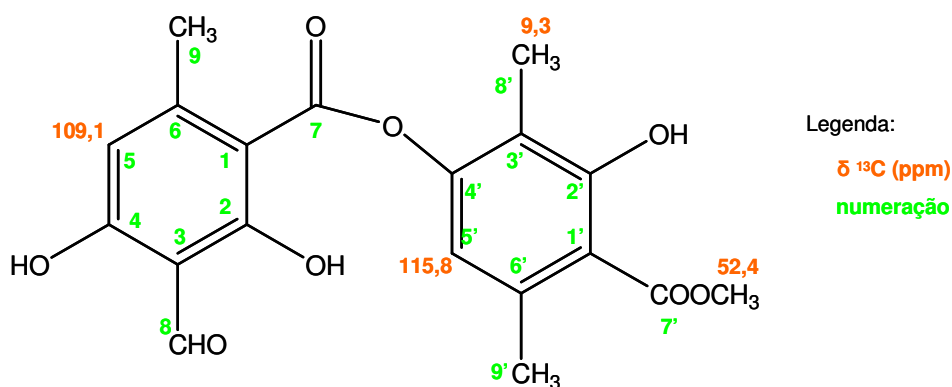


Figura 49 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C da **atranorina** presente no extrato de *H. dactylífera* (DMSO- d_6).

Assim, no extrato de *H. dactylífera* foram identificados atranorina e os ácidos colensóico e norcolensóico, por CCD, MC e RMN.

Tabela 17* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *H. dactylifera* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para os **ácido colensóico (COLENS)**, **ácido norcolensóico (NORCOLENS)** e **atranorina (ATR)**.

$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância**
168,54	C7' - COLENS e	7,85 (sl)	
168,51	C7' - NORCOLENS	5,30 (d, J= 1,5Hz)	
163,1		5,24 (d, J= 1,2Hz)	
162,8		5,17 (d, J= 2,4Hz)	
162,7	C2, C2' e C7 - COLENS e	5,14 (sl)	
162,4	C2, C2' e C7 - NORCOLENS		
162,3		3,39 (s)	
162,1		3,36 (s)	
152,8		2,64 (m)	
149,5		2,47 (s)	
149,3		2,43 (s)	
144,9	C6, C6', C4' e C5' - COLENS e	2,40 (s)	
144,7		2,21 (s)	
140,9	C6, C6', C4' e C5' - NORCOLENS	2,20 (s)	
133,8		1,76 (m)	
133,6		1,43 (m)	
119,6	C1' - COLENS e		
119,5	C1' - NORCOLENS		
115,8	C5' - ATR		
115,1 (CH)	C5 - NORCOLENS		
114,1 (CH)	C5 - COLENS		
112,8	C1 - COLENS e		
111,1	C1 - NORCOLENS		
109,1	C5 - ATR		
105,4 (CH)	C3' - COLENS e		
	C3' - NORCOLENS		
104,7 (CH)	C3 - NORCOLENS		
103,3 (CH)	C3 - COLENS		
80,5			
74,6 (CH)	Açúcar(es)		
73,9 (CH)			
72,8 (CH)			
71,5 (CH)			
70,6 (CH)			
70,2 (CH)			
63,8 (CH ₂)			
63,1 (CH ₂)			
63,0 (CH ₂)			
55,9 (CH ₃)	OCH ₃ (C4) - COLENS		
52,4 (CH ₃)	COOCH ₃ (C7') - ATR		
34,9			

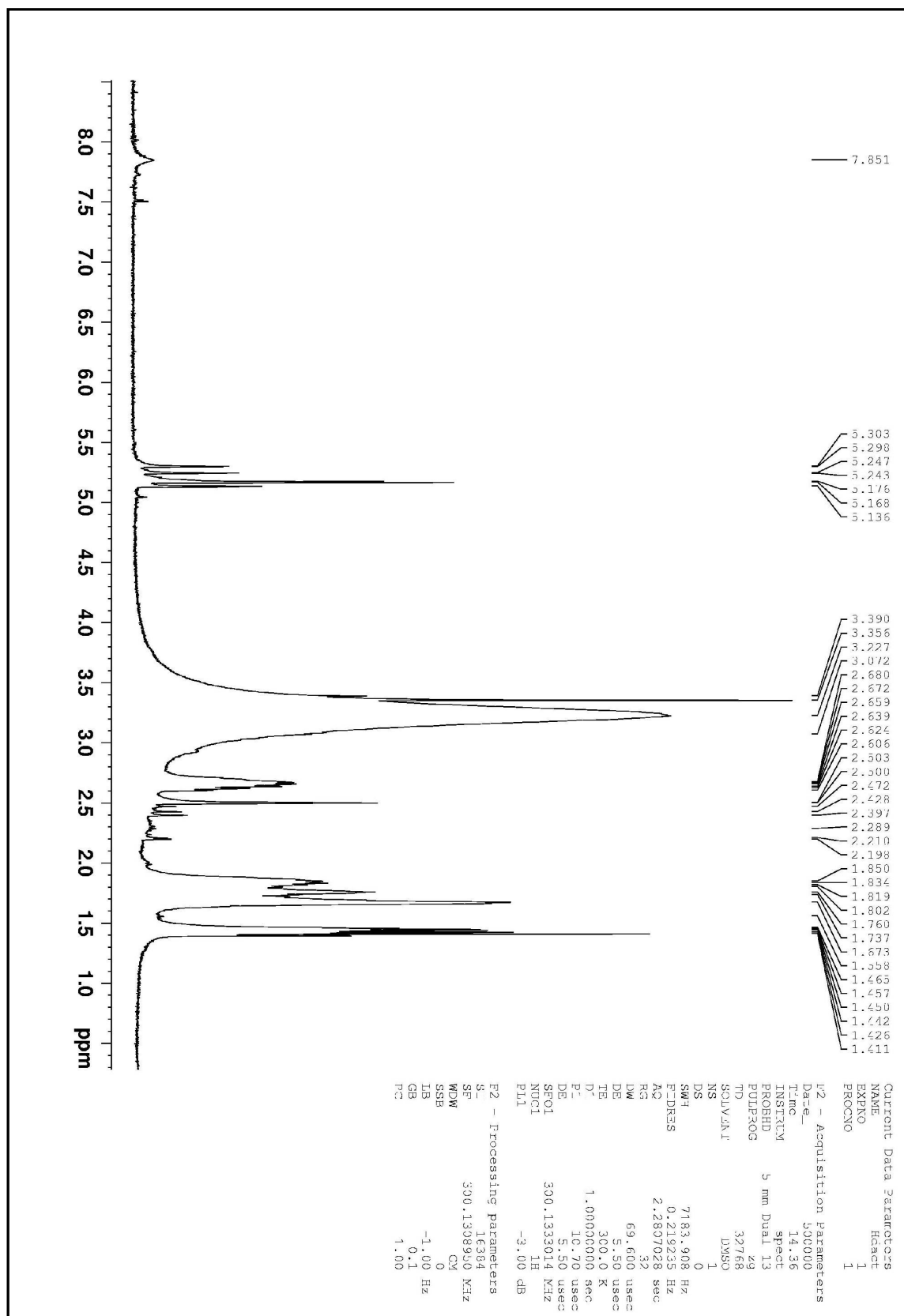
Continuação da Tabela 17* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *H. dactylifera* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para os **ácido colensóico (COLENS)**, **ácido norcolensóico (NORCOLENS)** e **atranorina (ATR)**.

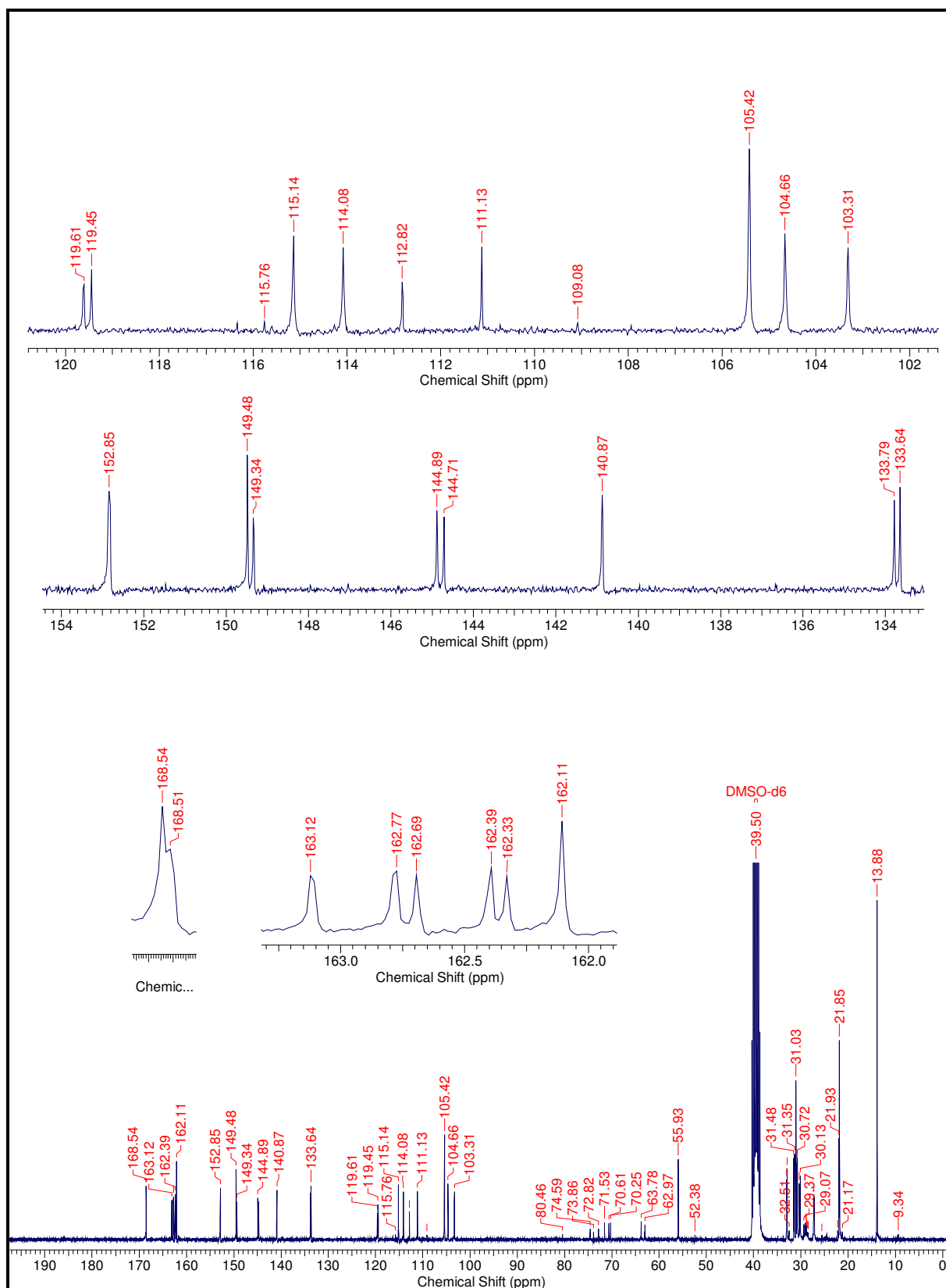
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
33,7 (CH ₂)			
33,0 (CH ₂)			
32,9 (CH ₂)			
32,5 (CH ₂)			
31,5 (CH ₂)			
31,3 (CH ₂)			
31,0 (CH ₂)			
30,8 (CH ₂)			
30,7 (CH ₂)			
30,3 (CH ₂)			
30,1 (CH ₂)			
29,37			
29,07			
28,88			
28,78			
28,75			
28,59			
28,43			
27,2 (CH ₂)			
25,6			
24,5			
22,2			
21,93 (CH ₂)			
21,85 (CH ₂)			
21,23 (CH ₂)			
21,17 (CH ₃)			
18,8			
13,9 (CH ₃)	C5'' e C5''' – NORCOLENS e C5'' e C5''' – COLENS		
9,3 (CH ₃)	C8' – ATR		

^a300 MHz; ^b75 MHz

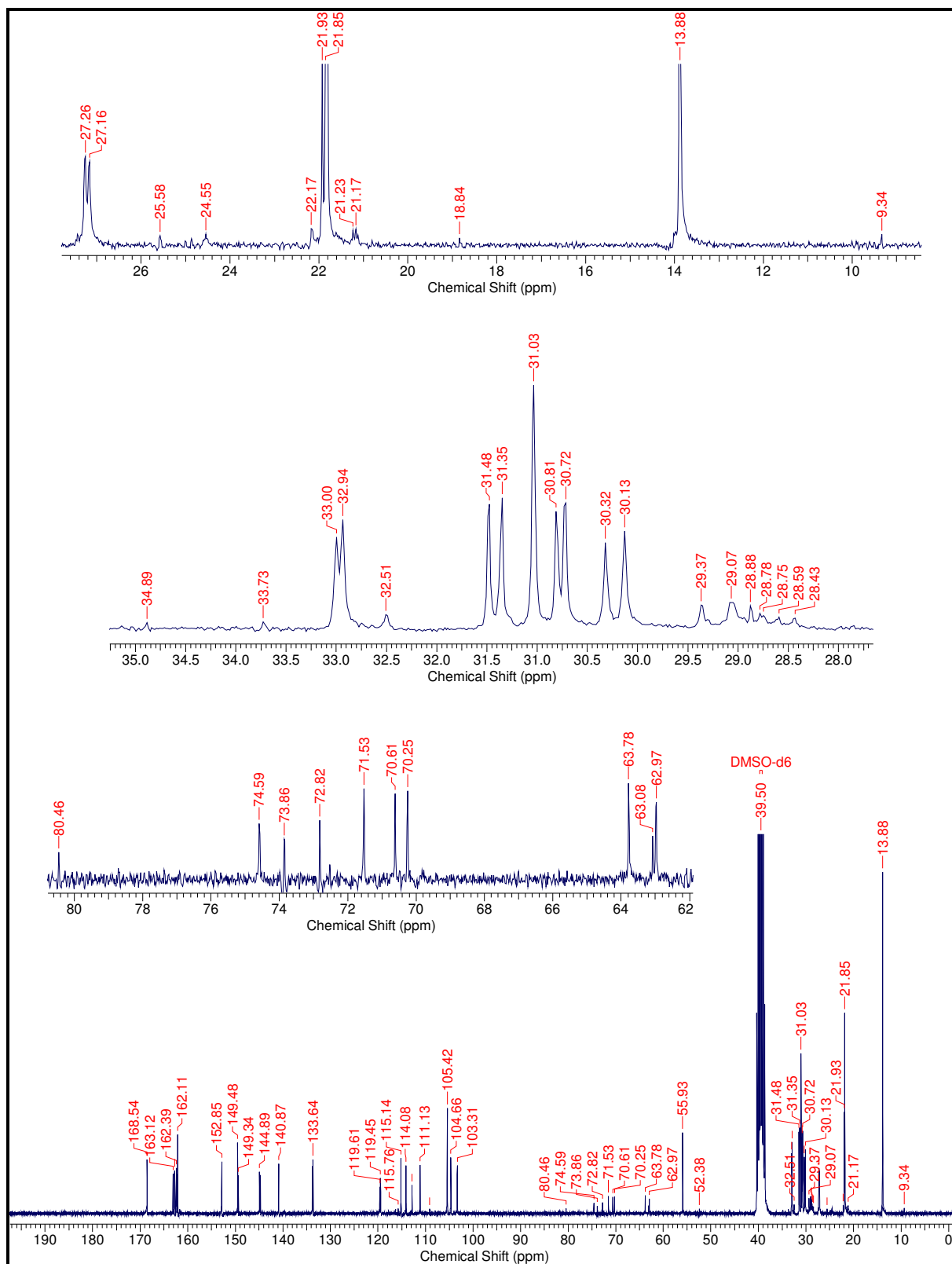
*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes.

**como a calibração do espectro de RMN de ^1H é feita através do sinal do solvente, talvez a mesma possa estar equivocada, já que o sinal pode ter sido marcado de forma incorreta. Porém, o perfil do espectro mantém a sua importância. O FID desse experimento não pode ser processado no mesmo programa que foi usualmente utilizado devido um problema inesperado de incompatibilidade.

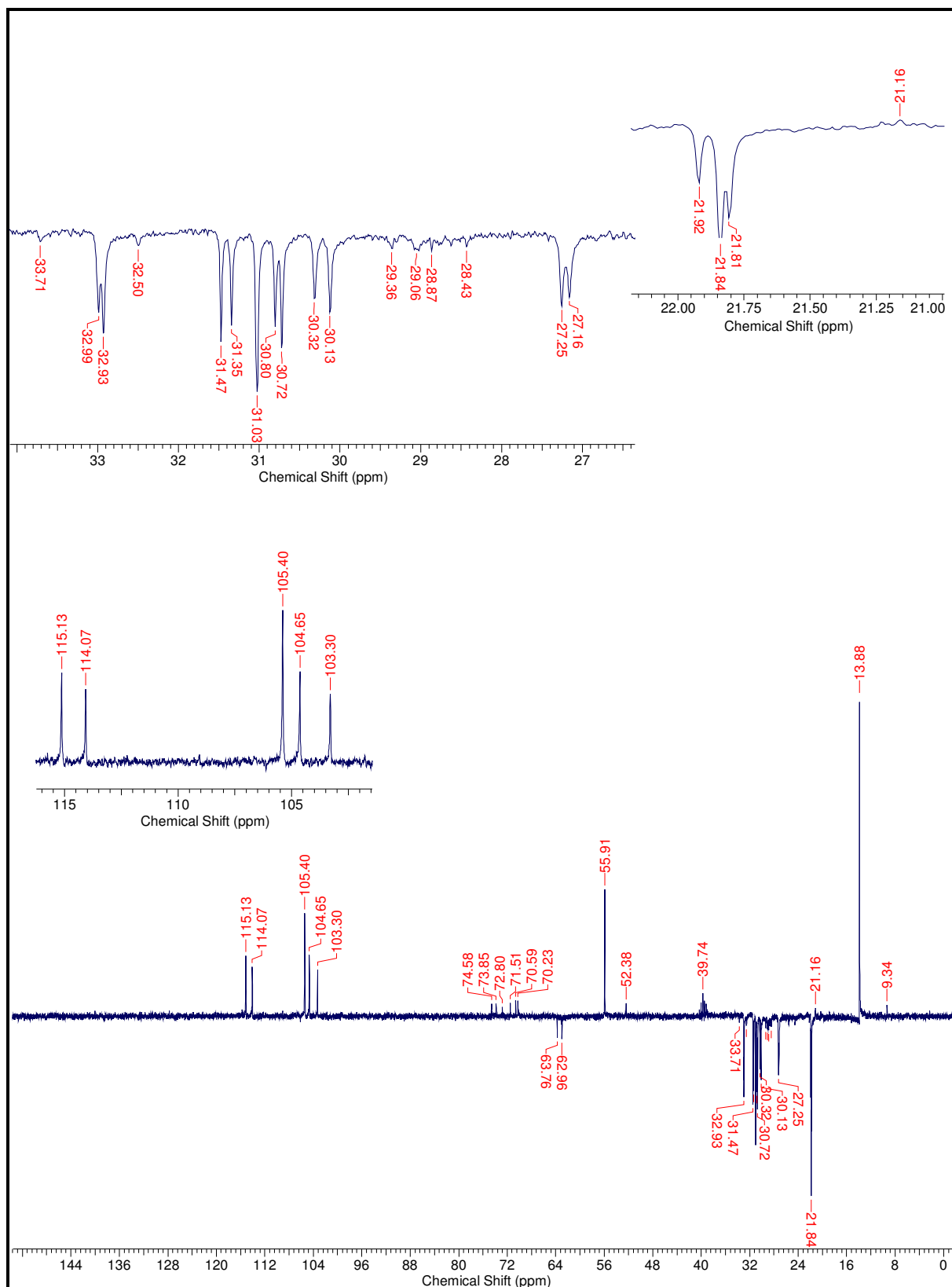
Espectro 51 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *H. dactylifera* (DMSO- d_6).



Espectro 52 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *H. dactylifera*, com ampliações de 170 a 103 ppm (DMSO-d_6).

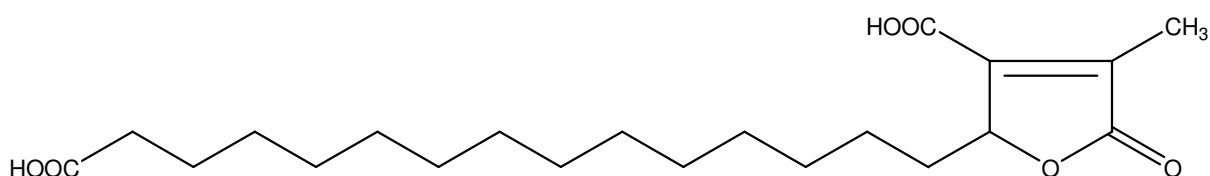


Espectro 53 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *H. dactylifera*, com ampliações de 88 a 9 ppm (DMSO-d₆).

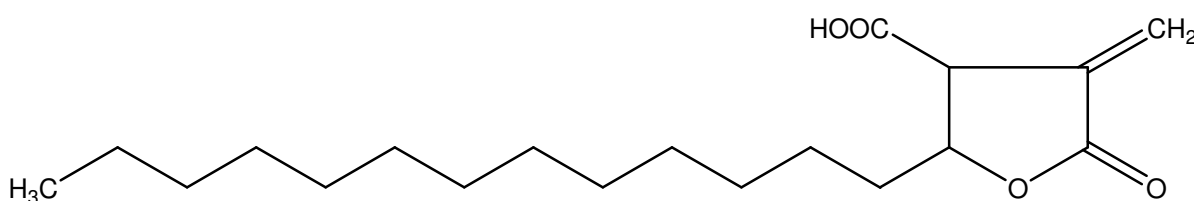


Parmotrema praesorediosum (Nyl.) Hale

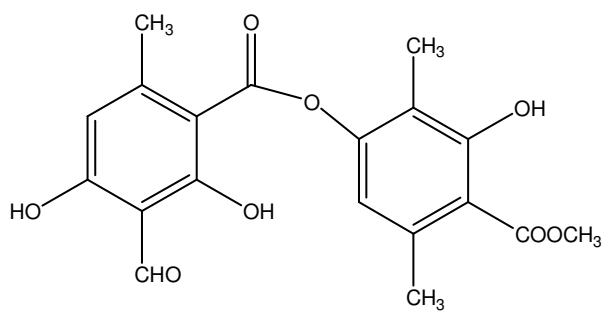
São importantes taxonomicamente para esta espécie as substâncias atranorina e os ácidos praesorediósico e protoliquesterínico (Hale, 1974a).



Ácido praesorediósico



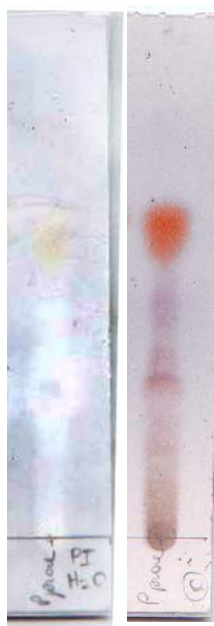
Ácido protoliquesterínico



Atranorina

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *P. praesorediosum* foi cromatografado no eluente V. Duas tentativas de revelação foram utilizadas: água (borrifada) e também metanol/ ácido sulfúrico 9:1 v/v e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.



Pprae - Pprae
(rev. H₂O) (rev. ácida)

Cromatograma 26 - Extrato de *P. praesorediosum*

Cromatograma 24: (Pprae= *P. praesorediosum*) **Eluente II:** tolueno/ acetato de etila/ ácido fórmico (138:83:8 v/v/v). **Revelador (H₂O):** H₂O (borrifada); **Revelador (ácido):** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

No primeiro cromatograma, revelado com água, nota-se que a água não adere uniformemente em toda a placa cromatográfica, o que sugere que alguma(s) substância(s) presente no cromatograma tenha características hidrofóbicas. Talvez esse comportamento indique a presença de substâncias com cadeia alquílica longa, como é o caso dos ácidos protoliqueterínico e praesorediósico.

No segundo cromatograma, revelado com soluções ácidas, nota-se a presença de uma mancha que tem comportamento cromatográfico semelhante ao do depsídeo atranorina. Além de manchas com forma não definidas completamente (com arraste).

Microcristalização (MC)

A microcristalização indicou formas cristalinas correspondentes a atranorina em GAOt. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e também com aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados espectrais do extrato de *P. praesorediosum* foram obtidos em CDCl_3 .

No espectro de RMN de ^1H é possível observar 3 singletes na região acima de 11 ppm, além de um singlete em 10,35 ppm. Estes δ indicam 3 hidroxilas e também um hidrogênio de grupo aldeído, respectivamente. Dois singletes, em 6,50 e 6,39 ppm, sugerem dois hidrogênios aromáticos e ainda, três singletes na região de hidrogênios mais protegidos, abaixo de 3 ppm, confirmam a presença do depsídeo atranorina. Estes $\delta^1\text{H}$ estão indicados na figura 50.

Também devido à presença do depsídeo atranorina, é possível identificar no espectro de RMN de ^{13}C , e também no espectro de RMN de DEPT 135, os sinais: em 193,8 ppm, um carbono CH, característico de carbonila de aldeído; em 116,0 e 112,9 ppm, carbonos aromáticos ligados a hidrogênio; em 52,3 ppm, um carbono CH_3 , indica o grupo éster metílico e ainda, outros três carbonos CH_3 , em 25,6; 24,43 e 9,4 ppm, indicam os carbonos metílicos da atranorina. Todos esses sinais e outros mais, estão indicados na figura 50 e concordam com dados da literatura (König & Wright 1999).

No espectro de RMN de ^1H , além dos sinais de δ mais intensos, que podem ser atribuídos aos núcleos da atranorina, é possível observar outros sinais que podem sugerir substância(s) semelhantes ao ácido protoliqueterínico.

Dois dubletes, em 6,44 ppm, com $J = 3,1$ Hz, e em 5,99 ppm, com $J = 2,2$ Hz; sugerem 2 hidrogênios geminais em um carbono sp^2 . Possivelmente o acoplamento que é observado não é geminal, mas sim alílico, já que os acoplamentos do primeiro tipo têm valores típicos de $J < 1\text{Hz}$. Outros 2 multipletes em 4,79 e 3,60 ppm sugerem hidrogênios acoplando com outros hidrogênios e/ou entre si. Um singlete largo bastante intenso em 1,25 ppm sugere hidrogênios em cadeia alquílica linear, e ainda, um triplete em 2,39 ppm com J de aproximadamente 7 Hz sugere que a porção terminal da cadeia esteja oxigenada, e que os hidrogênios ligados no carbono adjacente estejam acoplando apenas com outros 2 hidrogênios.

No espectro de RMN de ^{13}C é possível observar sinais em 132,7 e 125,4 ppm, o último identificado com CH_2 através da observação do espectro de RMN de DEPT 135, confirmam a presença de substância(s) com grupo olefínico e hidrogênios geminais. Outros dois sinais, em 78,7 e 49,7 ppm concordam com a sugestão da presença de uma substância semelhante ácido protoliquesterínico.

A substância, que é dita como semelhante ao ácido protoliquesterínico, e é encontrada em proporção razoável no extrato, tendo em vista a intensidade dos sinais já relatados, provavelmente não é esse ácido, já que o espectro de RMN de ^{13}C não apresenta sinal com intensidade moderada próximo a 14 ppm, onde é esperado o δ do carbono terminal da sua cadeia alquílica. Outra observação é que o espectro de RMN de ^{13}C também não apresenta sinal próximo a 10 ppm, onde seria encontrado o δ de C5 se o mesmo estivesse na forma reduzida (como CH_3), como ele é encontrado no ácido praesorediósico – e isso também sugere que a substância dessa classe que mostra sinais mais intensos no espectro não é o ácido praesorediósico.

Dessa forma, há fortes indícios de que a referida substância seja o ácido protopraesorediósico. Os sinais de $\delta^1\text{H}$ que podem ser assinalados na estrutura dessa substância estão indicados na figura 49, e estão de acordo com a atribuição de $\delta^1\text{H}$ para o ácido protopraesorediósico de David *et al.* (1990) em CDCl_3 (300 MHz). Os $\delta^{13}\text{C}$ que sugerem a estrutura dessa substância (figura 49) foram comparados com a atribuição dos sinais de δ para o ácido murólico (piridina- d_5), conforme Resanka & Guschina (2000), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

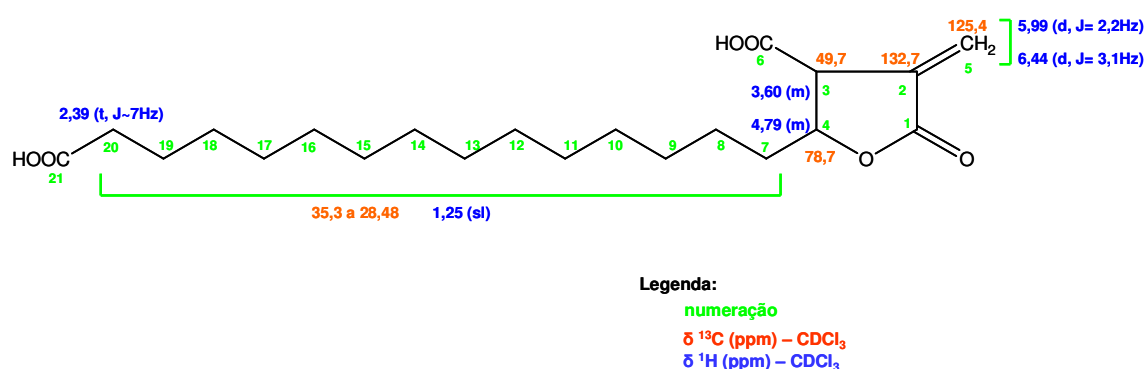


Figura 50 – Sinais de deslocamento químico de ^1H e ^{13}C do **ácido protopraesorediósico** presente no extrato de *P. praesorediosum* (CDCl_3).

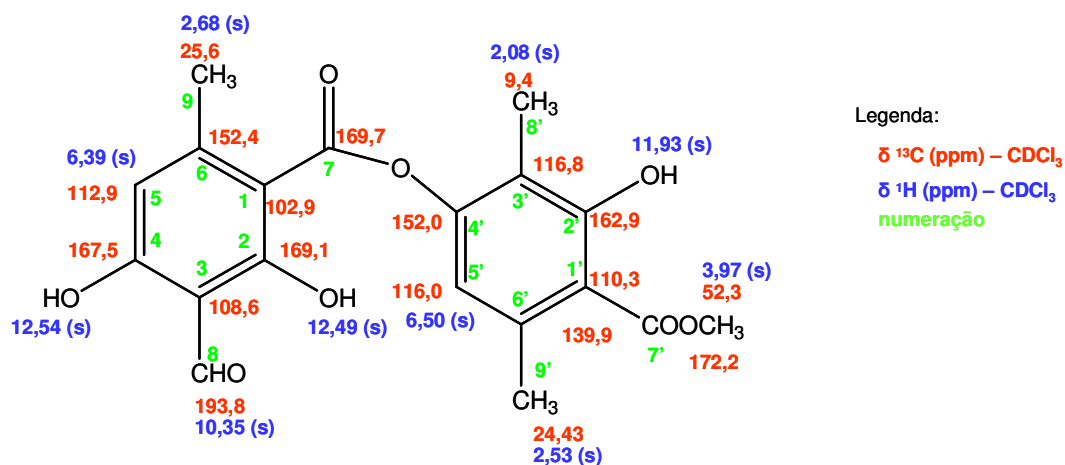


Figura 51 – Sinais de deslocamento químico de ¹³C da **atranorina** presente no extrato de *P. praesorediosum* (CDCl₃).

Desta forma foram identificados atranorina e possivelmente o ácido protopraesorediósico, por RMN. Por CCD e MC apenas a atranorina foi identificada com maior precisão.

Tabela 18* – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. praesorediosum* (CDCl₃) e atribuição de sinais para **atranorina (ATR)** e **ácido protopraesorediósico (PROTOPRAE)**.

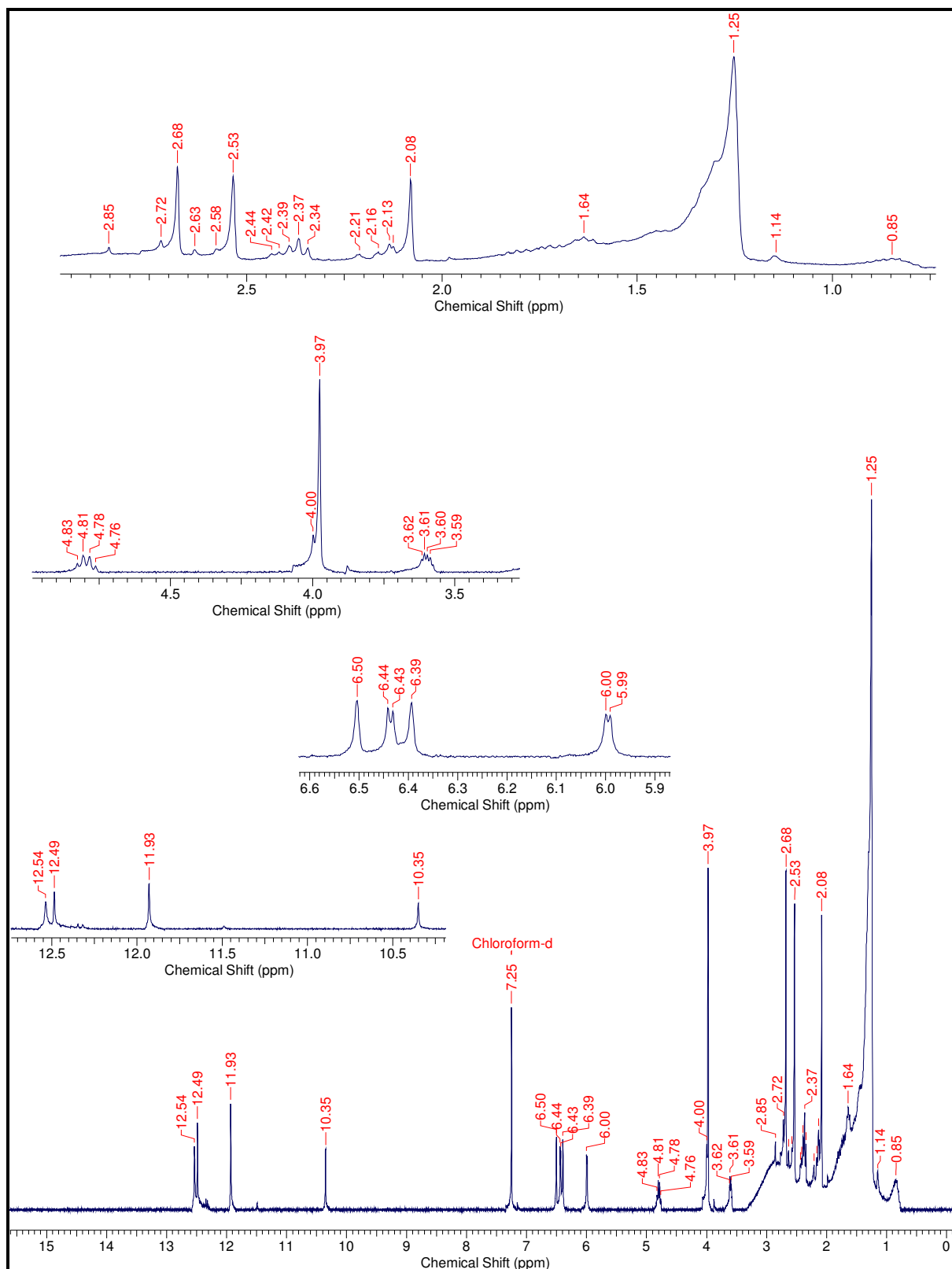
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
193,8 (CH)	C8 – ATR	12,54 (s)	OH(C4) – ATR
179,7	C21 – PROTOPRAE (?)	12,49 (s)	OH(C2) – ATR
172,2	C7' – ATR	11,93 (s)	OH(C2') – ATR
169,7	C7 – ATR	10,35 (s)	H(C8) – ATR
167,5	C4 – ATR	6,50 (s)	H(C5') – ATR
162,9	C2' – ATR	6,44 (d, J= 3,1Hz)	H(C5) - PROTOPRAE
152,4	C6 – ATR	6,39 (s)	H(C5) – ATR
152,0	C4' – ATR	5,99 (d, J= 2,2Hz)	H(C5) - PROTOPRAE
139,9	C6' – ATR	4,79 (m)	H(C4) - PROTOPRAE
132,7	C2 - PROTOPRAE	4,00 (s)	
125,4	C6 - PROTOPRAE	3,97 (s)	COOCH ₃ (C7') – ATR
116,8	C3' – ATR	3,60 (m)	H(C4) - PROTOPRAE
116,0 (CH)	C5' – ATR	2,85 (s)	
112,9 (CH)	C5 – ATR	2,72 (s)	
110,3	C1' – ATR	2,68 (s)	H(C9) – ATR
108,6	C3 – ATR	2,53 (s)	H(C9') – ATR
102,9	C1 – ATR	2,39 (t, J= 7,0Hz)	H(C20) - PROTOPRAE
78,7	C4 - PROTOPRAE	2,21 (sl)	
52,3 (CH ₃)	COOCH ₃ (C7') – ATR	2,16 (sl)	
49,7 (CH)	C3 - PROTOPRAE	2,13 (d, J= 3,1Hz)	
49,4		2,08 (s)	H(C8') – ATR
43,8		1,64 (s)	
35,3 (CH ₂)	C7 a C20 - PROTOPRAE	1,25 (sl)	H(cadeia alquílica) – PROTOPRAE
33,7 (CH ₂)		1,14 (s)	
29,70 (CH ₂)		0,85 (sl)	
29,47 (CH ₂)			
29,35 (CH ₂)			
29,28 (CH ₂)			
29,19 (CH ₂)			
29,13 (CH ₂)			
29,06 (CH ₂)			
28,83 (CH ₂)			
28,77 (CH ₂)			
28,48 (CH ₂)			
25,6 (CH ₃)	C9 – ATR		
24,7			
24,43 (CH ₂)			
24,37 (CH ₂)			
24,0 (CH ₃)	C9' – ATR		
23,9			

Continuação da tabela 18* – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. praesorediosum* (CDCl_3) e atribuição de sinais para **atranorina (ATR)** e **ácido protopraesorediósico (PROTOPRAE)**.

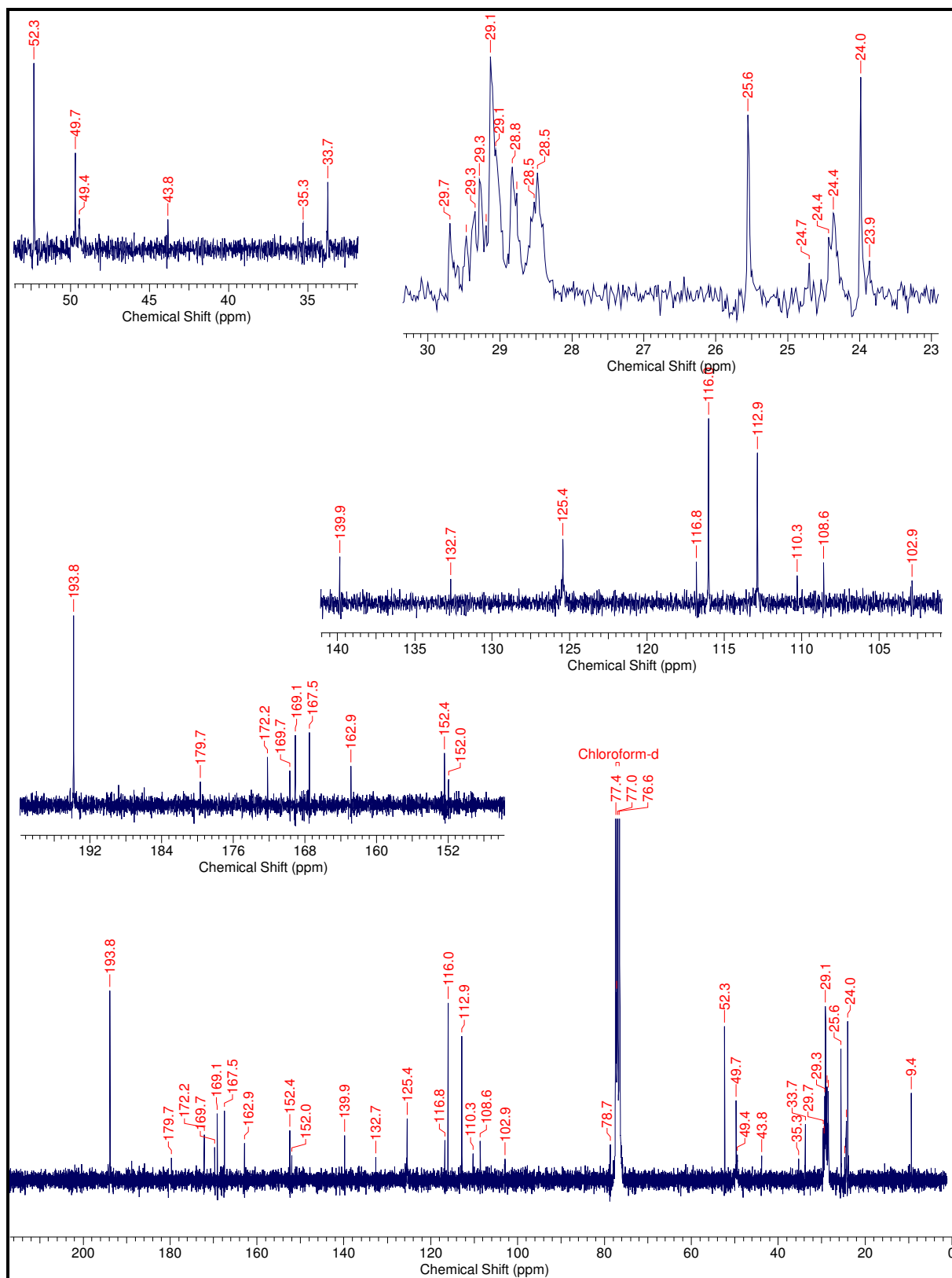
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
9,4 (CH_3)	C8 – ATR		

^a 300 MHz; ^b 75 MHz;

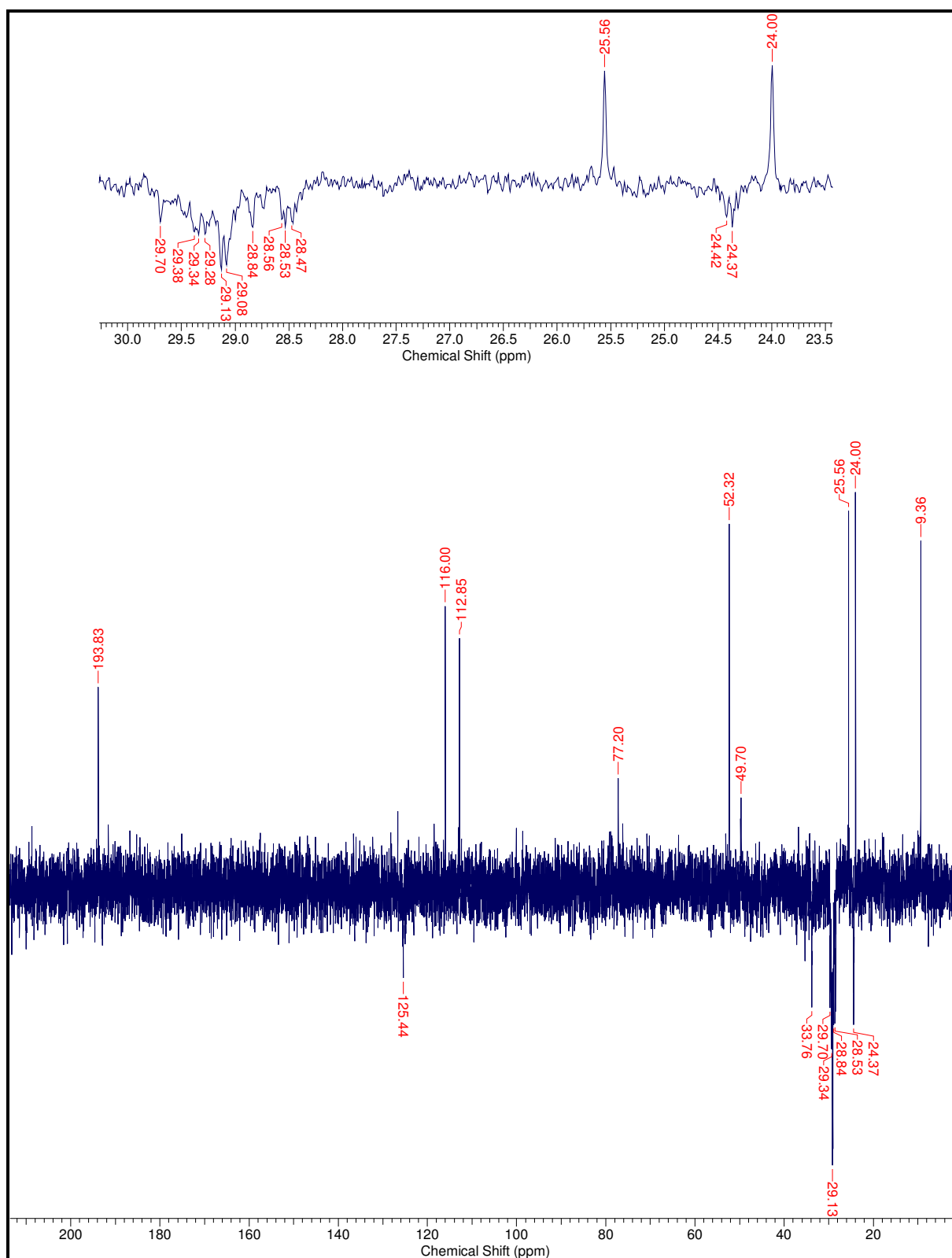
*a cor lavanda nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes; células da tabela na cor rosa indicam $\delta^{13}\text{C}$ de carbonos de açúcares (os quais não foram atribuídos).



Espectro 55 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *P. praesorediosum* (CDCl_3).



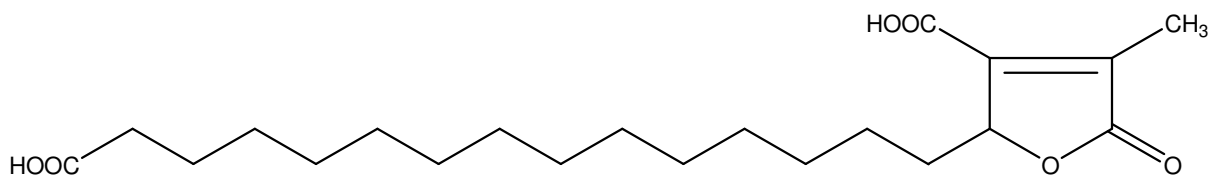
Espectro 56 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *P. praesorediosum* (CDCl_3).



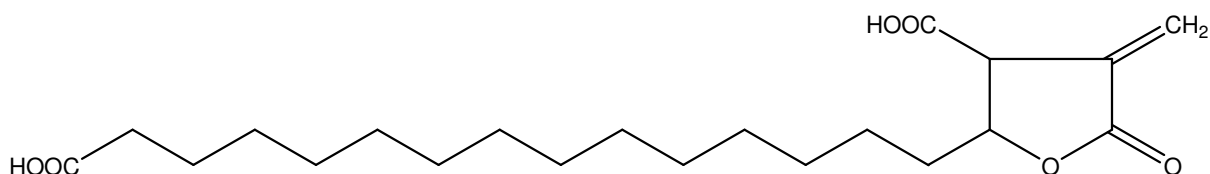
Espectro 57 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *P. praesorediosum* (CDCl_3).

Parmotrema mesotropum (Müll. Arg.) Hale

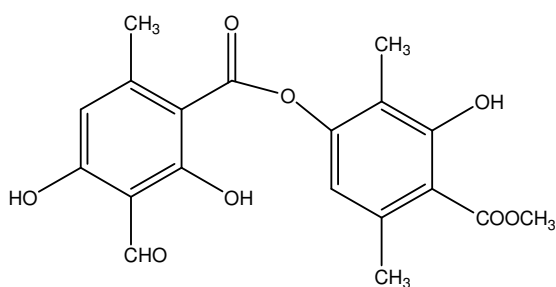
São importantes taxonomicamente para esta espécie as substâncias atranorina e os ácidos praesorediósico, protopraesorediósico e caperático (Hale, 1974a).



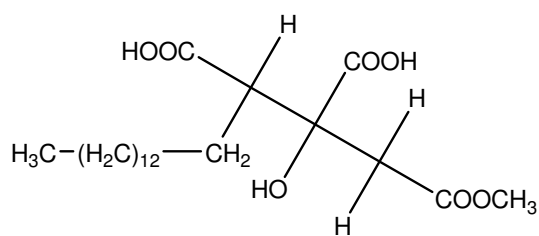
Ácido praesorediósico



Ácido protopraesorediósico



Atranorina



Ácido caperático

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *P. mesotropum* foi cromatografado no eluente V. Da mesma maneira que em *P. praesorediosum*, duas tentativas de revelação foram utilizadas: água (borrifada) e também metanol/ ácido sulfúrico 9:1 v/v e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.



Pmeso - Pmeso
(rev. H₂O) (rev. ácida)

Cromatograma 27 - Extrato de *P. mesotropum*

Cromatograma 25: (Pmeso= *P. mesotropum*) **Eluente II:** tolueno/ acetato de etila/ ácido fórmico (138:83:8 v/v/v). **Revelador (H₂O):** H₂O (borrifada); **Revelador (ácido):** metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Da mesma forma que nos cromatogramas de *P. praesorediosum*, o primeiro cromatograma de *P. mesotropum*, revelado com água, nota-se que a água não adere uniformemente em toda a placa cromatográfica, o que sugere que alguma(s) substância(s) presente no cromatograma tenha características hidrofóbicas. Talvez esse comportamento indique a presença de substâncias com cadeia alquílica longa, como é o caso dos ácidos protopresorediósico e praesorediósico.

No segundo cromatograma, revelado com soluções ácidas, nota-se a presença de uma mancha que tem comportamento cromatográfico semelhante ao do depsídeo atranorina. Além de manchas com forma não definidas completamente (com arraste).

Microcristalização (MC)

A microcristalização indicou formas cristalinas correspondentes a atranorina em GAoT e ácidos caperático e protoliquesterínico em GE. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e também com aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados espectrais do extrato de *P. mesotropum* foram obtidos em DMSO-d₆.

No espectro de RMN de ¹H é possível observar sinais que indicam a presença do depsídeo atranorina. São eles: um singlete em 10,20 ppm, para o hidrogênio do aldeído em C8; dois singletes na região de hidrogênios aromáticos, em 6,41 e 6,63 ppm; além dos 3 sinais para os hidrogênios das metilas e do sinal referente aos hidrogênios do éster metílico, em 2,38; 2,34; 2,03 e 3,86 ppm, respectivamente.

Também podem ser observados sinais no espectro de RMN de ¹³C que indicam a presença do depsídeo atranorina. Todos os sinais de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^1\text{H}$ que podem ser atribuídos a este depsídeo estão assinalados na figura 51 e estão de acordo com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos da atranorina isolada e purificada (DMSO-d₆), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

No espectro de RMN de ¹H, além dos sinais de δ mais intensos, que podem ser atribuídos aos núcleos da atranorina, é possível observar outros, como os dois singletes largos intensos em 6,19 e 5,91 ppm, que indicam hidrogênios geminais em sistema olefínico. Além desses, sinais em 4,67 ppm (quarteto), dois singletes largos em 1,22 e 0,84 ppm, um dublete parecendo um multiplete em 1,63 ppm e um sinal muito largo em 3,54 ppm, que pode estar sobreposto com o sinal da água residual do DMSO-d₆, dão indícios da presença de substância com estrutura semelhante ao ácido protopraesorediósico.

No espectro de RMN de ^{13}C é possível observar dois grupos de sinais, que podem indicar a presença não de um único ácido graxo com anel lactol, mas sim de dois.

Um sinal em 124,2 ppm, um CH_2 , juntamente com os sinais em 133,9 ppm, indicam um sistema olefínico. Essa informação pode ser somada à presença dos dois singletes largos em 6,19 e 5,91 ppm, nos espectros de RMN de ^1H . Esses sinais, juntamente com dois CH, em 79,2 e 49,2 ppm, indicam a presença de ácido graxo com anel lactol idêntico ao do ácido protoliquesterínico. A determinação precisa do número de carbonos, e hidrogênios, da cadeia alquílica é muito difícil na condição de análise em mistura - e isso impossibilita a identificação exata da substância, mas os indícios são fortes, já que isso confirmaria o resultado da microcristalização.

Outros sinais indicam a presença de outro ácido graxo, são eles: dois carbonos quaternários em 149,2 e 135,1 ppm, um CH em 81,0 ppm e um CH_3 em 10,4 ppm. Estes sinais sugerem que o ácido graxo em questão tenha a estrutura semelhante a do ácido liquesterínico, porém, pelos mesmos motivos, não é possível afirmar com certeza a identidade dessa substância. Os espectros indicam a presença de sinais com $\delta^{13}\text{C}$ de 14,3 ppm e $\delta^1\text{H}$ 0,84 ppm, que indicam extremidade de cadeia alquílica totalmente saturada, porém a observação desses sinais não é suficientemente segura para afirmar que ambos os ácidos graxos apresentam o mesmo tipo de carbono terminal em suas cadeias. Esses sinais, inclusive, podem indicar a extremidade da cadeia alquílica do ácido caperático, que foi identificado por MC, e que aparentemente não apresenta outros sinais característicos nos espectros de RMN.

Dessa forma, podem ser identificados no extrato de *P. mesotropum*: atranorina, por CCD, MC e RMN; ácido caperático, por MC; ácido protoliquesterínico, por MC; e ainda 2 ácidos graxos com anel lactol, um deles pode mesmo ser o ácido protoliquesterínico e o outro é muito semelhante ao ácido liquesterínico, identificados parcialmente por RMN.

Os sinais de δ que sugerem os ácidos graxos estão indicados nas figuras 52 e 53, e estão de acordo com as atribuições de δ para os ácidos protoliquesterínico (CDCl_3 para ^{13}C , $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 2:1, para ^1H , por Huneck & Yoshimura, 1996), ácido caperático (acetona- d_6 , Huneck & Yoshimura, 1996) e ácido liquesterínico (CDCl_3 , Bodo & Molho, 1980), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

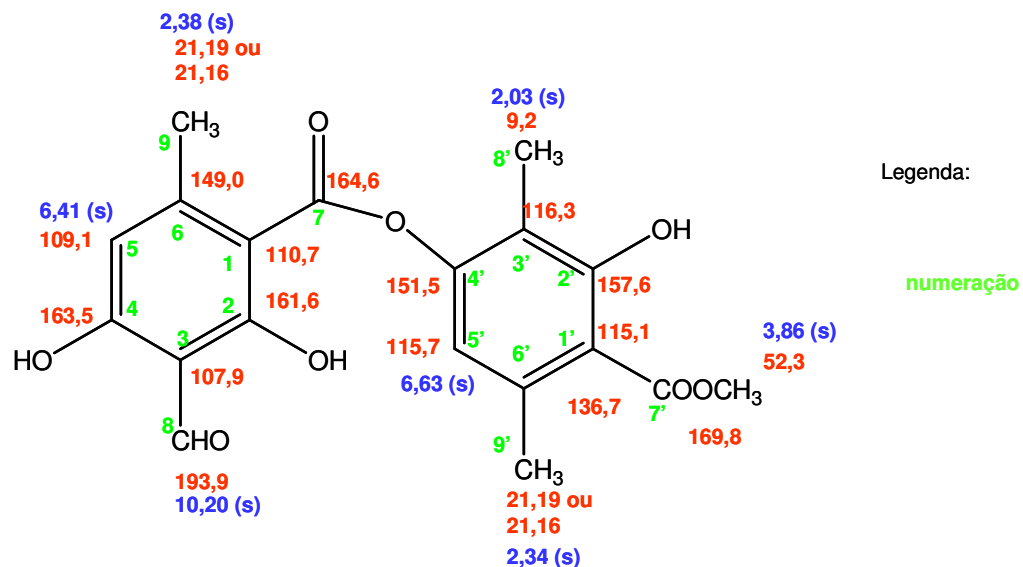


Figura 52 – Sinais de deslocamento químico de ^1H e ^{13}C da **atranorina** presente no extrato de *P. mesotropum* (DMSO-d_6).

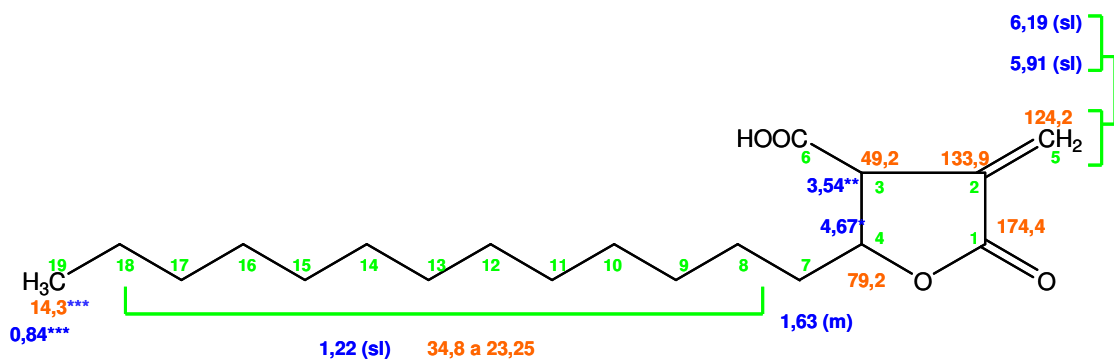


Figura 53 – Sinais de deslocamento químico de ^1H e ^{13}C que podem ser (muito provavelmente) atribuídos à estrutura do **ácido protoliquisterínico** presente no extrato de *P. mesotropum* (DMSO-d_6).

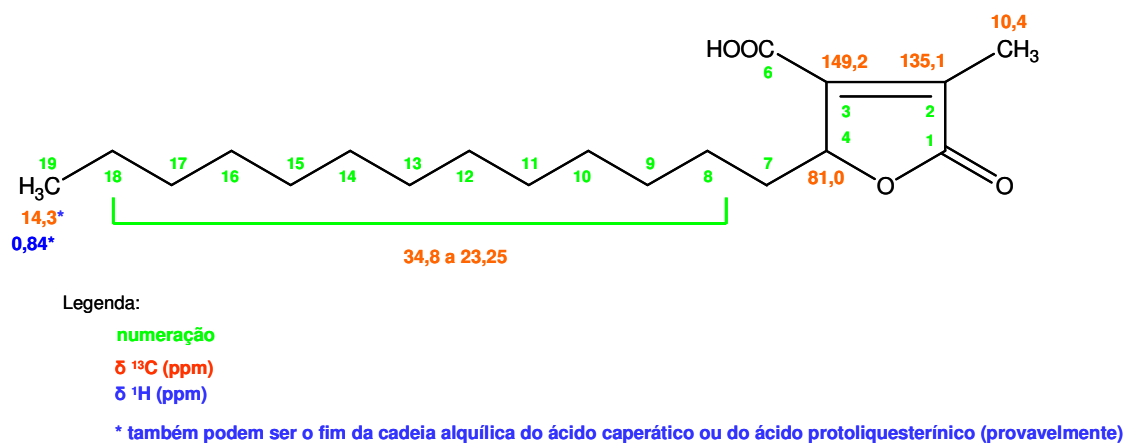


Figura 54 – Sinais de deslocamento químico de ^1H e ^{13}C que podem ser (provavelmente) atribuídos à estrutura do **ácido licochalconico** presente no extrato de *P. mesotropum* (DMSO-d_6).

Tabela 19* – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. mesotropum* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para **atranorina (ATR)** e **ácidos graxos do tipo liqueterínico (LIQ)** e do tipo **protoliqueterínico (PROTOLIQ)**.

$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
193,9 (CH)	C8 – ATR	10,58 (s)	
174,5	C1 – PROTOLIQ	10,55 (s)	
170,8		10,20 (s)	H(C8) – ATR
169,8	C7' – ATR	10,17 (s)	
168,3		6,81 (s)	
164,6	C7 – ATR	6,63 (s)	H(C5') – ATR
163,5	C4 – ATR	6,41 (s)	H(C5) – ATR
161,6	C2 – ATR	6,19 (sl)	H(C5) – PROTOLIQ
157,6	C2' – ATR	5,91 (sl)	H(C5) – PROTOLIQ
151,5	C4' – ATR	4,67 (q, J= 5,7Hz)	H(C4) – PROTOLIQ
149,2	C3 – LIQ	4,55 (s)	
149,0	C6 – ATR	3,86 (s)	COOCH ₃ (C7') – ATR
136,7	C6' – ATR	3,73 (sl)	
135,1	C2 – LIQ	3,52 (sl)	H(C3) – PROTOLIQ, sobreposto com sinal de H ₂ O residual do DMSO- d_6
133,9	C2 – PROTOLIQ	2,46 (s)	
124,2 (CH ₂)	C5 – PROTOLIQ	2,21 (s)	
116,9		2,38 (s)	H(C9) – ATR
116,3	C3' – ATR	2,34 (s)	H(C9') – ATR
115,7 (CH)	C5' – ATR	2,16 (t, J= 7,1Hz)	
115,1	C1' – ATR	2,03 (s)	H(C8') – ATR
111,7		1,63 (d~m)	H(C7) – LIQ
110,7	C1 – ATR	1,46 (s)	
109,1 (CH)	C5 – ATR	1,22(sl)	H(cadeia alquílica) – PROTOLIQ e/ou H(cadeia alquílica) – LIQ
107,9	C3 – ATR	0,84** (sl)	H(C19) – PROTOLIQ e/ou H(C19) – LIQ
81,0 (CH)	C4 – LIQ		
79,2 (CH)	C4 – PROTOLIQ		
72,8 (CH)	Açúcar(es)		
71,5 (CH)			
71,4 (CH)			
70,6 (CH)			
70,2 (CH)			
69,7 (CH)			
63,9 (CH ₂)			
63,7 (CH ₂)			
63,05 (CH ₂)			
62,95 (CH ₂)			

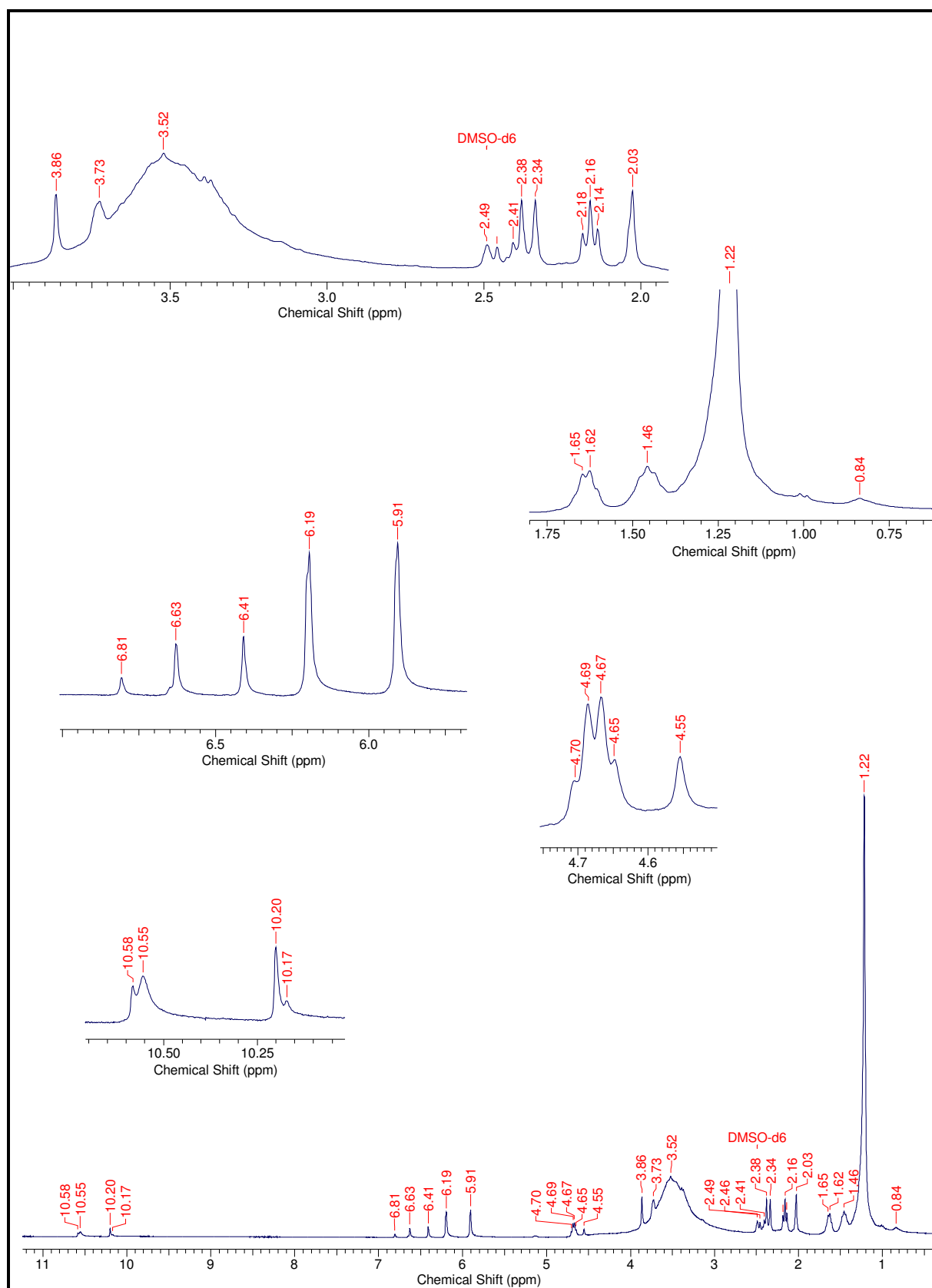
Continuação da tabela 19* – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. praesorediosum* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para **atranorina (ATR)** e **ácido protopraesorediósico (PROTOPRAE)**.

$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C – substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H – substância
52,3 (CH ₃)	COOCH ₃ (C7') – ATR		
49,2 (CH)	C3 – PROTOLIQ		
42,7 (CH ₂)			
34,8 (CH ₂)	C8 a C18 – cadeia alquílica		
33,7 (CH ₂)			
31,8 (CH ₂)			
29,0 (CH ₂)			
28,92 (CH ₂)			
28,85 (CH ₂)			
28,75 (CH ₂)			
28,64 (CH ₂)			
28,56 (CH ₂)			
24,51 (CH ₂)			
24,32 (CH ₂)	C8 a C18 – cadeia alquílica		
24,09 (CH ₂)			
23,25 (CH ₂)			
21,42 (CH ₃)			
21,19 (CH ₃)	C9 e C9' – ATR		
21,16 (CH ₃)			
14,3** (CH ₃)	C19 – PROTOLIQ e/ou C19 – LIQ		
10,4 (CH ₃)	C5 – LIQ		
9,3 (CH ₃)	C8' – ATR		

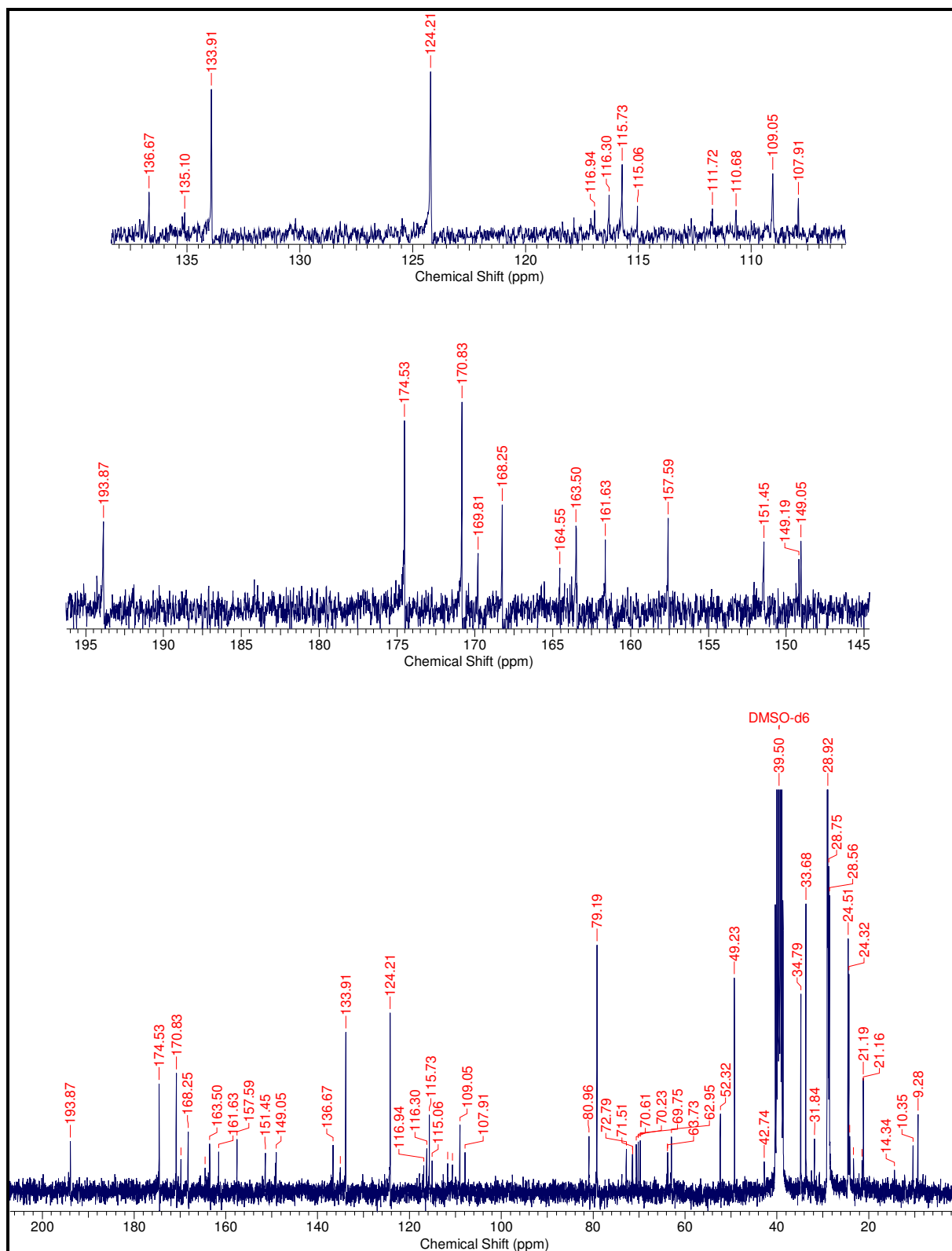
^a 300 MHz; ^b 75 MHz;

*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes; células da tabela na cor rosa indicam $\delta^{13}\text{C}$ de carbonos de açúcares (os quais não foram atribuídos).

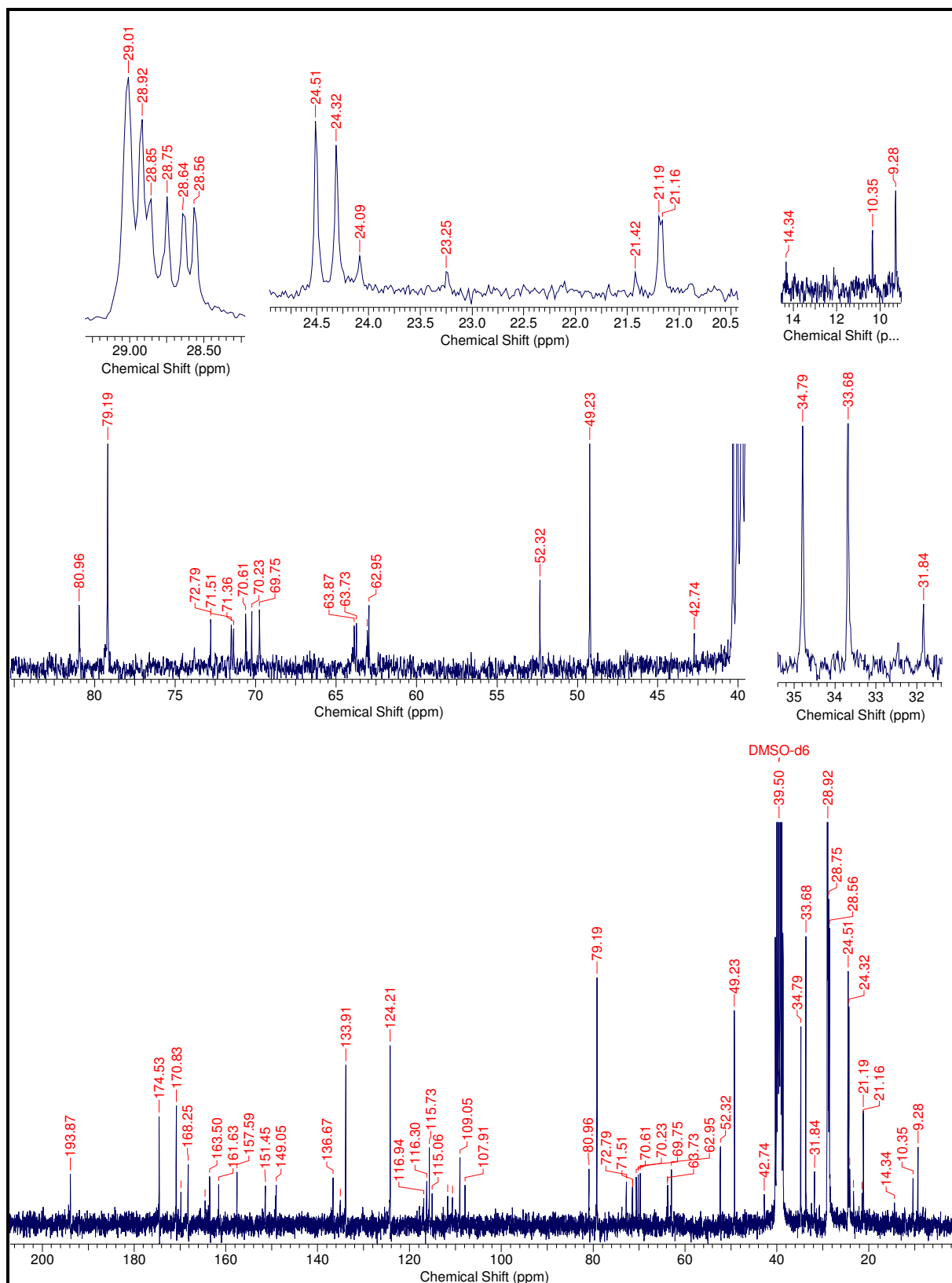
** indica carbono (e hidrogênios) terminal de cadeia alquílica – pode ser atribuído ao ácidos prololiqueterínico, liqueterínico e/ou caperático (que não foi detectado nos espectros de outra maneira, a não ser pela possibilidade que esse sinal apresenta).



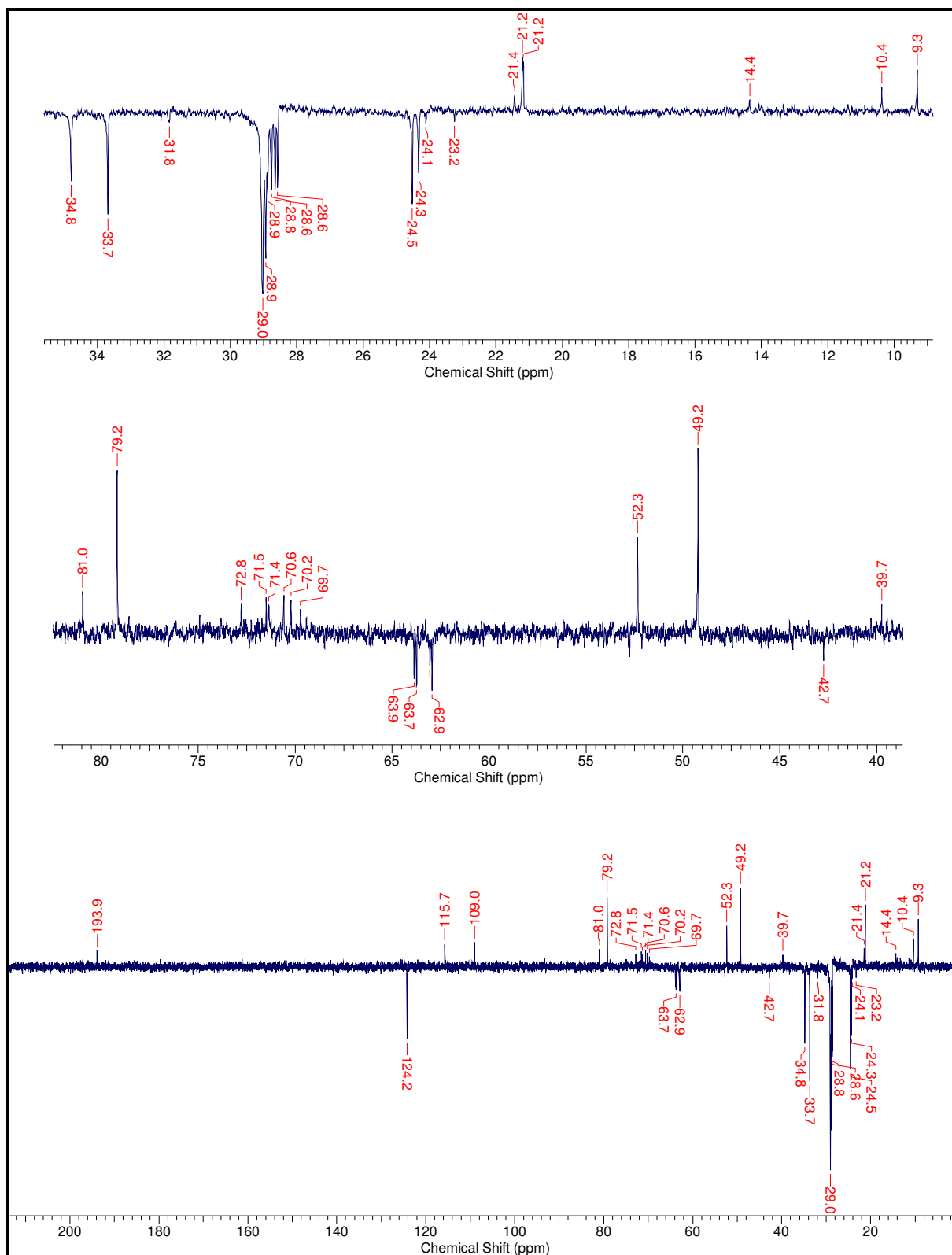
Espectro 58 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *P. mesotropum* (DMSO-d_6).



Espectro 59 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *P. mesotropum*, com ampliações de 195 a 105 ppm (DMSO- d_6).



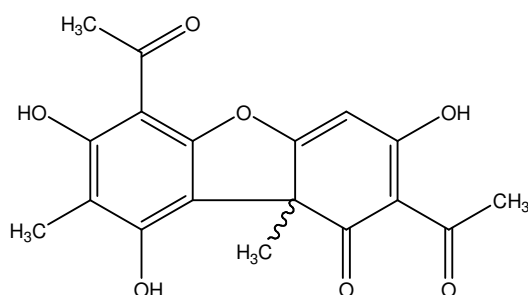
Espectro 60 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *P. mesotropum*, com ampliações de 85 a 9,5 ppm (DMSO-d_6).



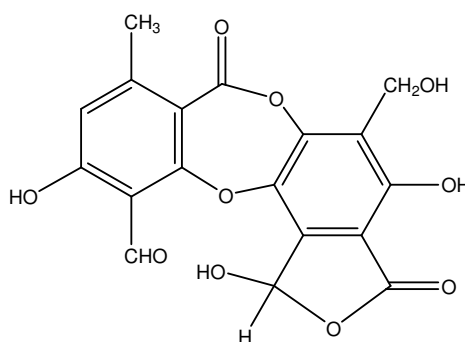
Espectro 61 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *P. mesotropum* (DMSO- d_6).

Parmotrema miranda (Hale) Hale

São importantes taxonomicamente para esta espécie os ácidos úsnico e salazínico (Hale, 1965).



Ácido úsnico



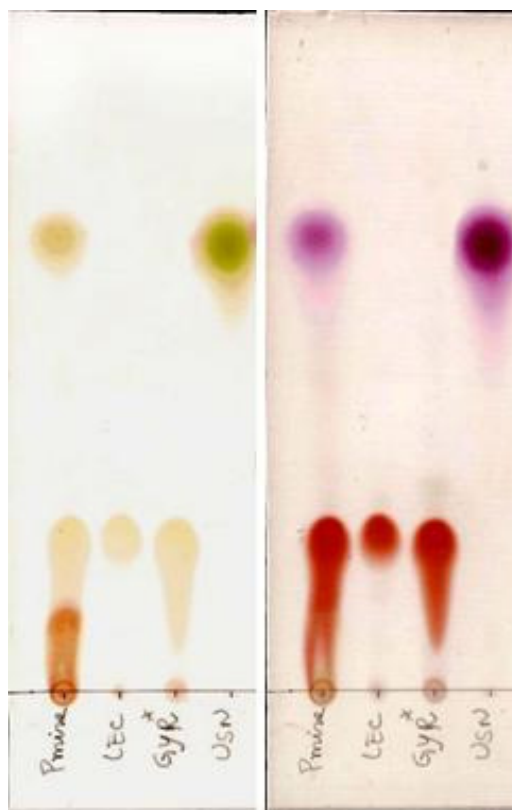
Ácido salazínico

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *P. miranda* foi cromatografado no eluente IV juntamente com as substâncias de referência ácidos lecanórico, girofórico e úsnico.

É possível observar a presença de 3 substâncias no cromatograma (1 cromatograma com 2 fases de revelação). Na primeira fase da revelação nota-se uma mancha de cor laranja, mais forte, e que apresenta o R_f menor. O comportamento dessa mancha sugere a presença do ácido salazínico. Já a mancha de R_f maior, que revela na cor roxa na segunda fase da

revelação (com p-anisaldeído) tem comportamento cromatográfico semelhante a da substância de referência ácido úsnico.



Pmira – LEC – GYR – USN – Pmira – LEC – GYR – USN
(rev. 1) (rev. 1 + rev. 2)

Cromatograma 28 - Extrato de *P. miranda*

Cromatograma 25: (Pmira= *P. miranda*, LEC= ácido lecanórico, GYR= ácido girofórico e USN= ácido úsnico)

Eluente IV: tolueno/ dioxano/ ácido acético glacial (90:25:3 v/v/v). **Reveladores:** (rev1:) metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e (rev2:) p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Há, ainda, a presença de uma terceira mancha, com R_f intermediário entre as outras duas, e que revela cor vermelha intensa na segunda fase da revelação. Essa cor vermelha é característica dos ácidos lecanórico e girofórico, porém, não é possível identificar, com precisão, a identidade dessa mancha, já que as próprias substâncias de referência apresentam R_f 's muito semelhantes.

Microcristalização (MC)

A microcristalização indicou formas cristalinas correspondentes ao ácido salazínico em GAOt e ácidos úsnico e girofórico em GE. A identificação foi feita por comparação com

fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e também com aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados espectrais do extrato de *P. miranda* foram obtidos em CDCl_3 e DMSO-d_6 .

Nos espectro de RMN obtidos em CDCl_3 , foram observados sinais que podem ser atribuídos apenas à estrutura do ácido úsnico, já que essa substância é bastante solúvel nesse solvente. São eles, no espectro de RMN ^1H : 18,83; 13,31 e 11,03 ppm, três singletes para três hidroxilas, em 5,77, um singlete para o hidrogênio ligado em C4, e ainda, quatro singletes para quatro metilas, em 2,67; 2,66; 2,10 e 1,76 ppm.

No espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3), também característicos do ácido úsnico: 201,8; 200,3 e 198,1 ppm, três carbonilas de cetona e ainda, um carbono CH, distinguível dos outros sinais através da observação do espectro de RMN de DEPT 135, em 98,3 ppm, entre outros sinais, não menos importantes. Todos esses sinais estão dispostos na figura 55 e concordam dados da literatura (König & Wright 1999, ácido úsnico em CDCl_3).

Já nos espectros obtidos em DMSO-d_6 foi possível observar outros padrões de sinais, que sugeriram outras substâncias. O espectro de RMN ^1H (DMSO-d_6) apresenta sinais acima de 10 ppm, que sugerem hidroxilas fenólicas e hidrogênio de aldeído. Na região característica de hidrogênios aromáticos é notável a quantidade de sinais, isso sugere mais sistemas aromáticos e, ainda, acoplamentos do tipo meta, devido a largura de alguns desses sinais. Esses sinais de hidrogênios aromáticos que acoplam entre si podem ser indicativos da presença de depsídeos derivados do orcinol, como é o caso do ácido girofórico. Um sinal em 4,64 ppm, um singlete, tem δ característico de metileno alcoólico, e sinaliza a presença do ácido salazínico. E ainda, na região de maior proteção, abaixo de 2,5 ppm, são encontrados vários singletes, que sugerem hidrogênios de metilas aromáticas.

No espectro de RMN de ^{13}C (DMSO-d_6) alguns sinais são característicos do ácido salazínico. São eles: um CH em 192,7 ppm, um carbono de aldeído, outro CH, em 117,4 ppm, para um carbono aromático e ainda, em 52,7 ppm, um CH_2 , característico de metileno alcoólico. Esses, e mais alguns outros sinais, podem ser atribuídos à presença do ácido salazínico, estão indicados na figura 56 e concordam com a atribuição feita a partir de espectros de RMN 2D obtidos do ácido salazínico (DMSO-d_6), vide “Dados de RMN utilizados como referência e comparação”, na página 244.

Ainda no espectro de RMN de ^{13}C é possível identificar outro padrão de sinais. Dentre eles, os mais importantes para identificação da substância, os carbonos aromáticos ligados a hidrogênio. São observados 6 sinais, referentes a carbonos CH, com intensidades semelhantes, na região entre 115 e 99 ppm no espectro de DEPT 135. Isso sugere que eles façam parte da mesma molécula, como no caso dos tridepsídeos, e isso concorda com a sugestão feita a partir da observação do espectro de RMN ^1H , onde foi possível observar vários sinais alargados, o que faz menção a hidrogênios aromáticos com acoplamento meta. Além dos sinais de $\delta^{13}\text{C}$ para os carbonos CH aromáticos, 3 sinais em 21,1; 20,8 e 19,3 ppm indicam 3 metilas aromáticas. Todos esses sinais, em conjunto com alguns outros, sugerem a presença do tridepsídeo ácido girofórico, estão indicados na figura 57 e concordam com a atribuição de Narui *et al.* 1999.

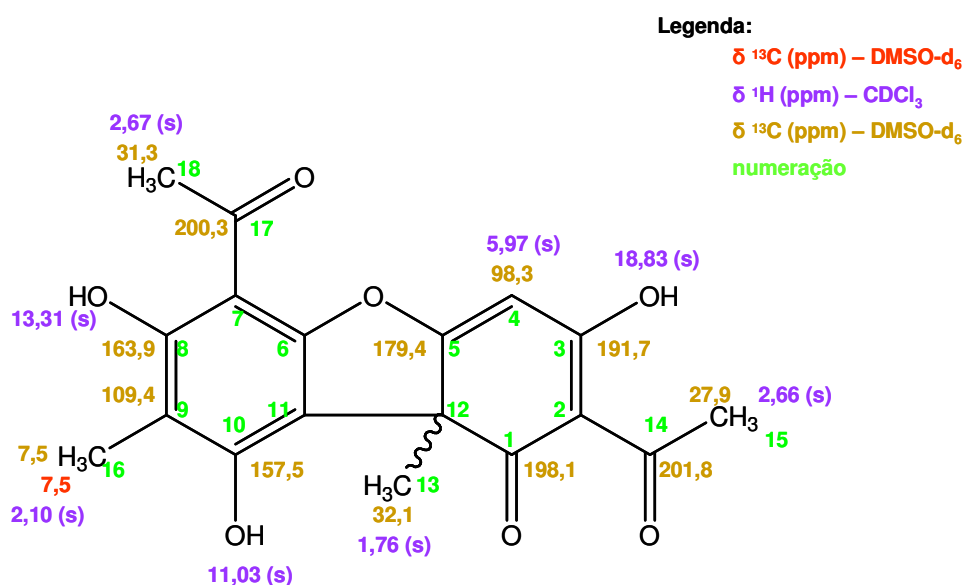


Figura 55 – Sinais de deslocamento químico do **ácido úsnico** presente no extrato de *P. miranda* (CDCl_3 e $\text{DMSO-}d_6$).

Dessa forma, foi possível identificar no extrato de *Parmotrema miranda* os ácidos salazínico, girofórico e úsnico por CCD, MC e RMN.

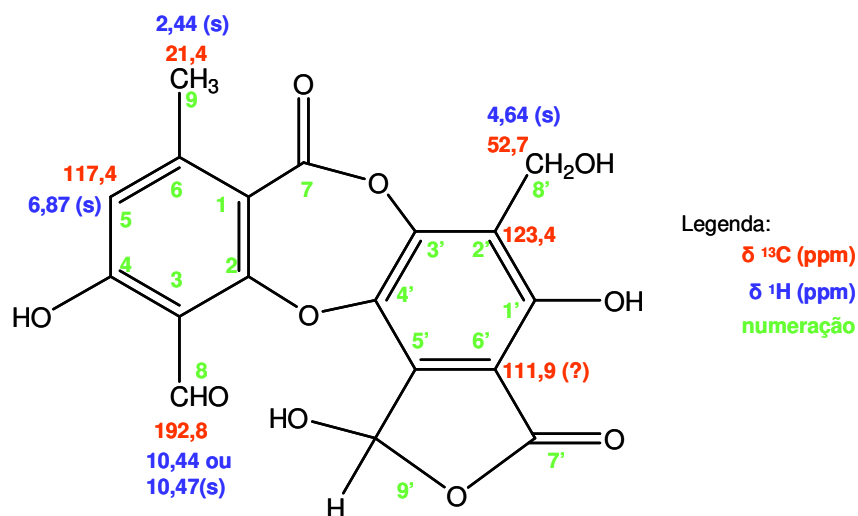


Figura 56 – Sinais de deslocamento químico do **ácido salazínico** presente no extrato de *P. miranda* (DMSO-d₆).

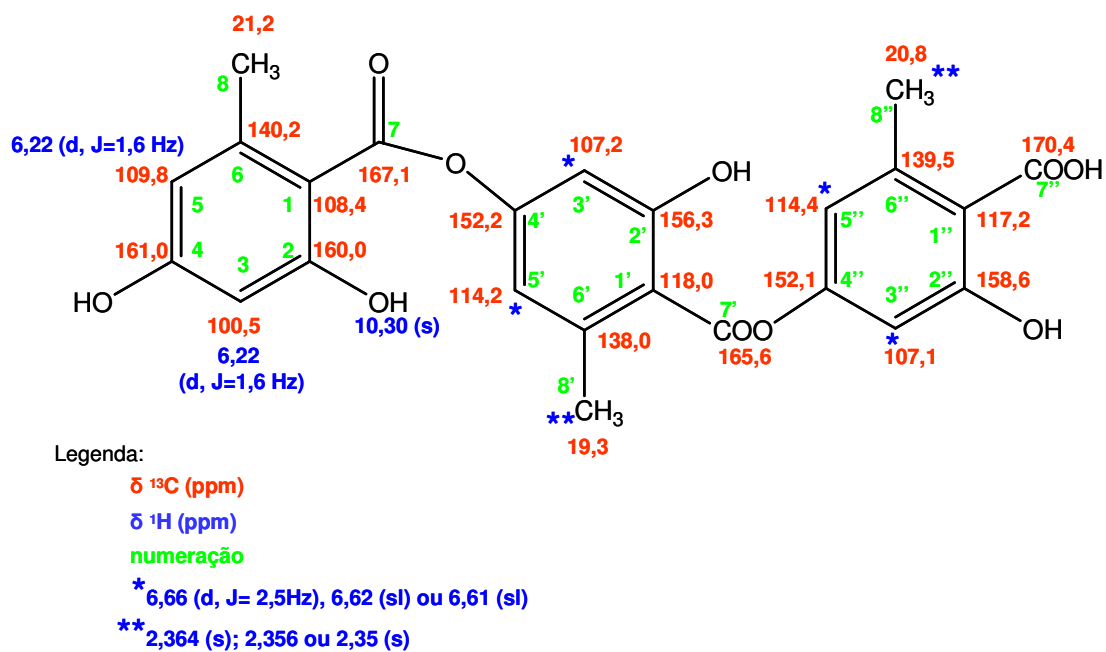


Figura 57 – Sinais de deslocamento químico do **ácido girofórico** presente no extrato de *P. miranda* (DMSO-d₆).

Tabela 20* – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. miranda* (CDCl_3) e atribuição de sinais para **ácido úsnico (USN)**.

$\delta^{13}\text{C}^a$		$\delta^1\text{H}^b$	
(DEPT 135)	C - substância	(multiplicidade)	H - substância
201,8	C14 - USN	18,83 (s)	OH(C3)
200,3	C17 - USN	13,31 (s)	OH(C8)
198,1	C1 - USN	11,03 (s)	OH(C10)
191,7	C3 - USN	5,97 (s)	H(C4)
179,4	C5 - USN	2,67 (s)	H(C18)
163,9	C8 - USN	2,66 (s)	H(C15)
157,5	C10 - USN	2,10 (s)	H(C16)
109,4	C9 - USN	1,76 (s)	H(C13)
98,3 (CH)	C4 - USN	1,24 (s)	
32,1 (CH_3)	C13 - USN	0,87 (sl)	
31,3 (CH_3)	C18 - USN		
27,9 (CH_3)	C15 - USN		
7,5 (CH_3)	C16 - USN		

^a 300 MHz; ^b 75 MHz;

Tabela 21* – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. miranda* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para os **ácidos úsnico (USN), girofórico (GIR) e salazínico (SLZ)** .

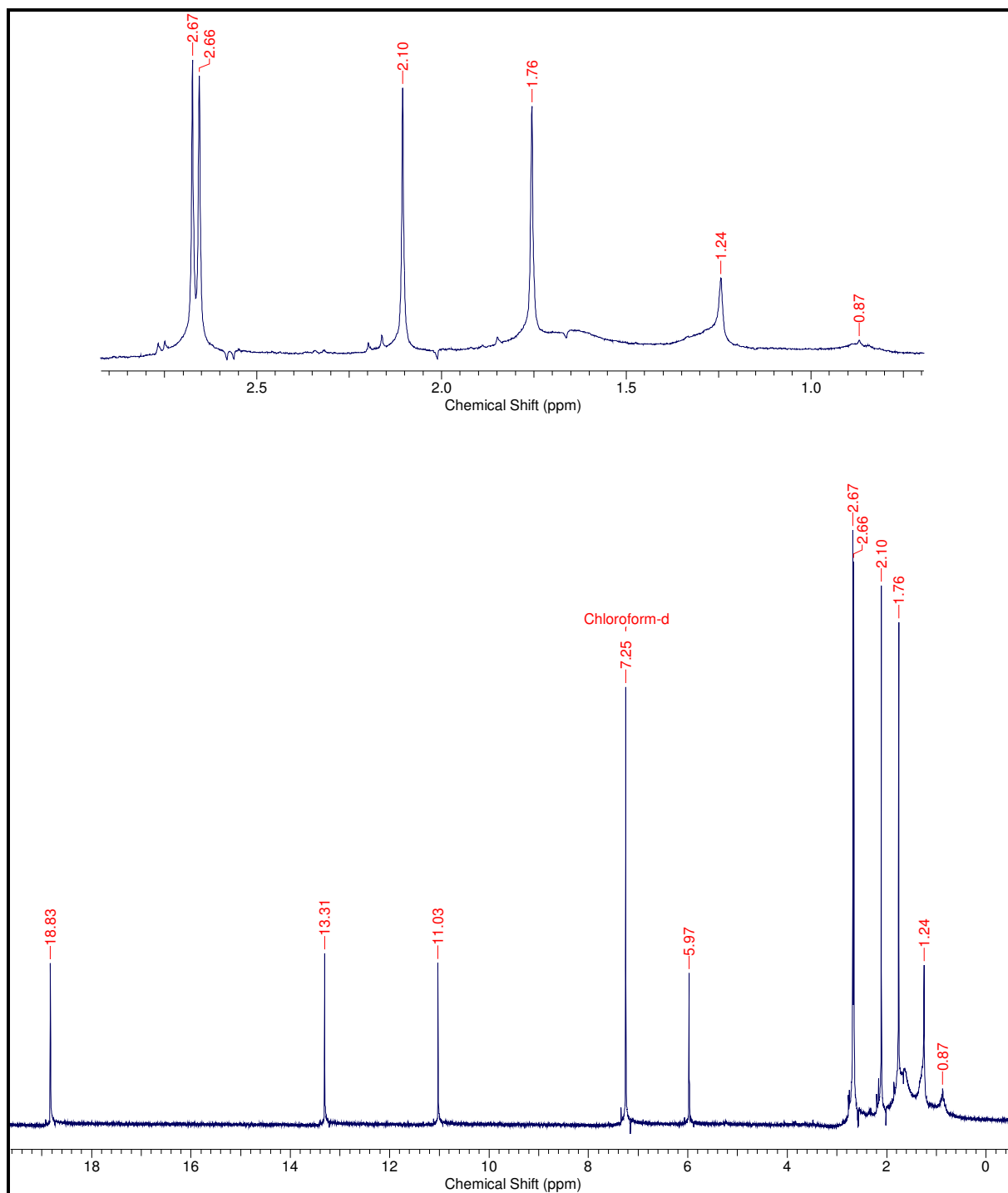
$\delta^{13}\text{C}^a$ (DEPT 135)	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$ (multiplicidade)	H - substância
192,7 (CH)	C8 – SLZ	13,35 (s)	
170,4	C7'' – GIR	12,04 (sl)	OH(C4) – SLZ
167,1	C7 – GIR	10,47 (s)	OH(C2') – GIR e/ou
165,6	C7 – GIR	10,44 (s)	H(C8) – SLZ
164,0		10,30 (s)	OH(C2) – GIR
161,0	C4 – GIR	10,00 (s)	OH(C2'') – GIR
160,0	C2 – GIR	6,87 (s)	H(C5) – GIR
158,6	C2'' – GIR	6,66 (d, J= 2,5Hz)	H(C3') – GIR;
156,3	C2' – GIR	6,62 (sl)	H(C3'') – GIR;
152,2	C4' – GIR	6,61 (sl)	H(C5') – GIR e H(C5'') – GIR
151,1	C4'' – GIR	6,22 (d, J= 1,6Hz)	H(C5) – GIR e H(C3) – GIR
140,2	C6 – GIR	6,2 (sl)	
139,4	C6'' – GIR	4,64 (s)	H(C8') – SLZ
138,0	C6' – GIR	3,37 (sl)	
123,4	C3' – GIR	3,35 (sl)	
118,0	C1' – GIR	2,65 (s)	
117,4 (CH)	C5 – SLZ	2,53 (s)	
117,2	C1'' – GIR (?)	2,44 (s)	H(C9) – SLZ
114,4 (CH)	C5'' – GIR	2,364 (s)	H(C8) – GIR;
114,2 (CH)	C5' – GIR	2,356 (s)	H(C8') – GIR e
111,9	C1 – SLZ (?)	2,35 (s)	H(C8'') – GIR
110,7		1,98 (s)	
109,8 (CH)	C5 – GIR	1,70 (s)	
108,4	C1 – GIR	1,22 (sl)	
107,2 (CH)	C3' – GIR		
107,1 (CH)	C3'' – GIR		
100,5 (CH)	C3 – GIR		
72,7 (CH)	Açúcar(es)		
71,5 (CH)			
70,6 (CH)			
70,2 (CH)			
63,7 (CH ₂)			
63,0 (CH ₂)			
62,9 (CH ₂)			
52,7 (CH ₂)	C8' – SLZ		
31,0 (CH ₃)			
21,4 (CH ₃)	C9 – SLZ		
21,2 (CH ₃)	C8 – GIR		
20,8 (CH ₃)	C8'' – GIR		
19,3 (CH ₃)	C8' – GIR		

Continuação da Tabela 19* – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. miranda* (DMSO- d_6) e atribuição de sinais para os **ácidos úsnico (USN), girofórico (GIR) e salazínico (SLZ)** .

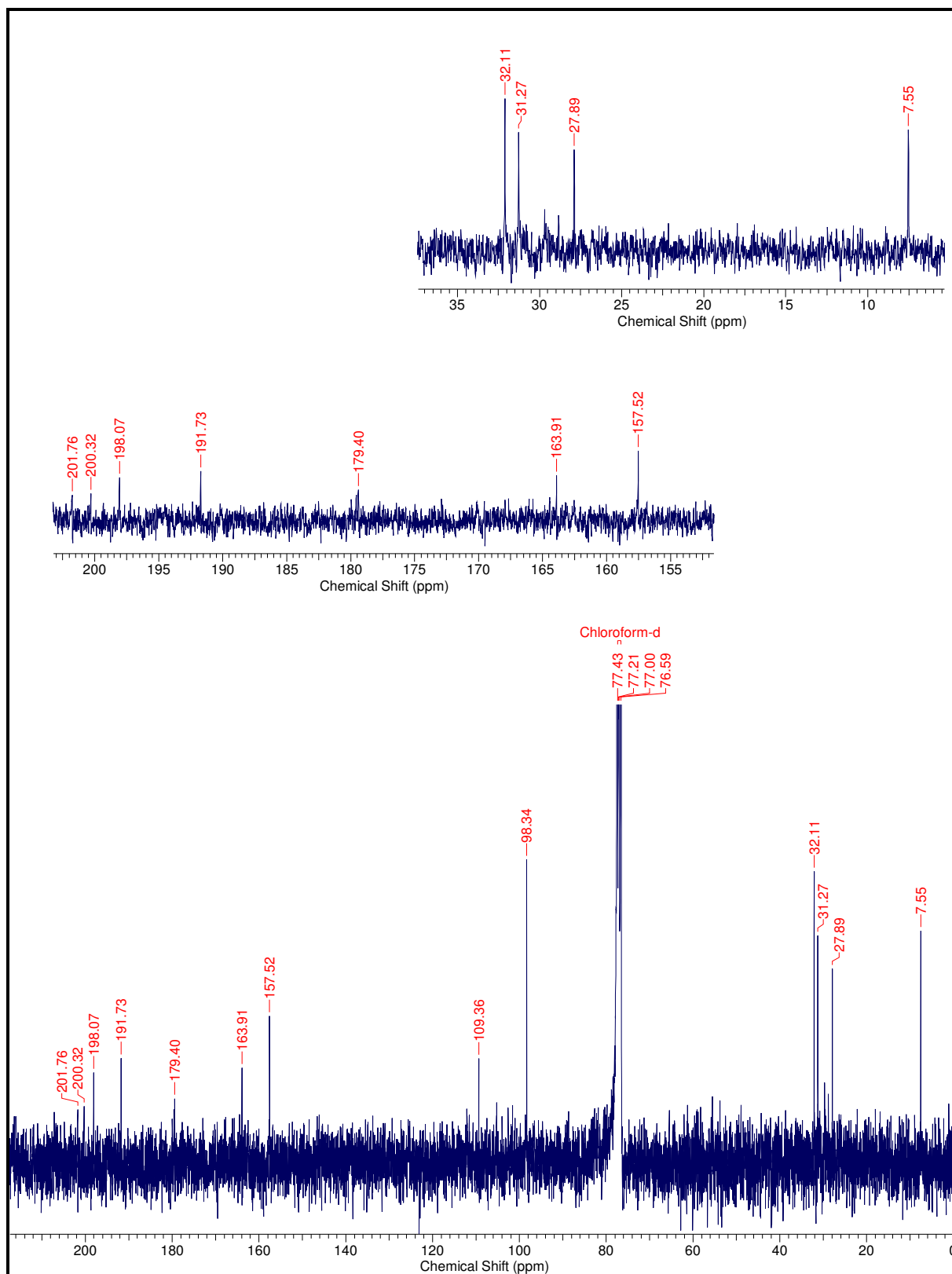
δ ^{13}C ^a		δ ^1H ^b	
(DEPT 135)	C - substância	(multiplicidade)	H - substância
7,5 (CH ₃)	C16 – USN		

^a 300 MHz; ^b 75 MHz;

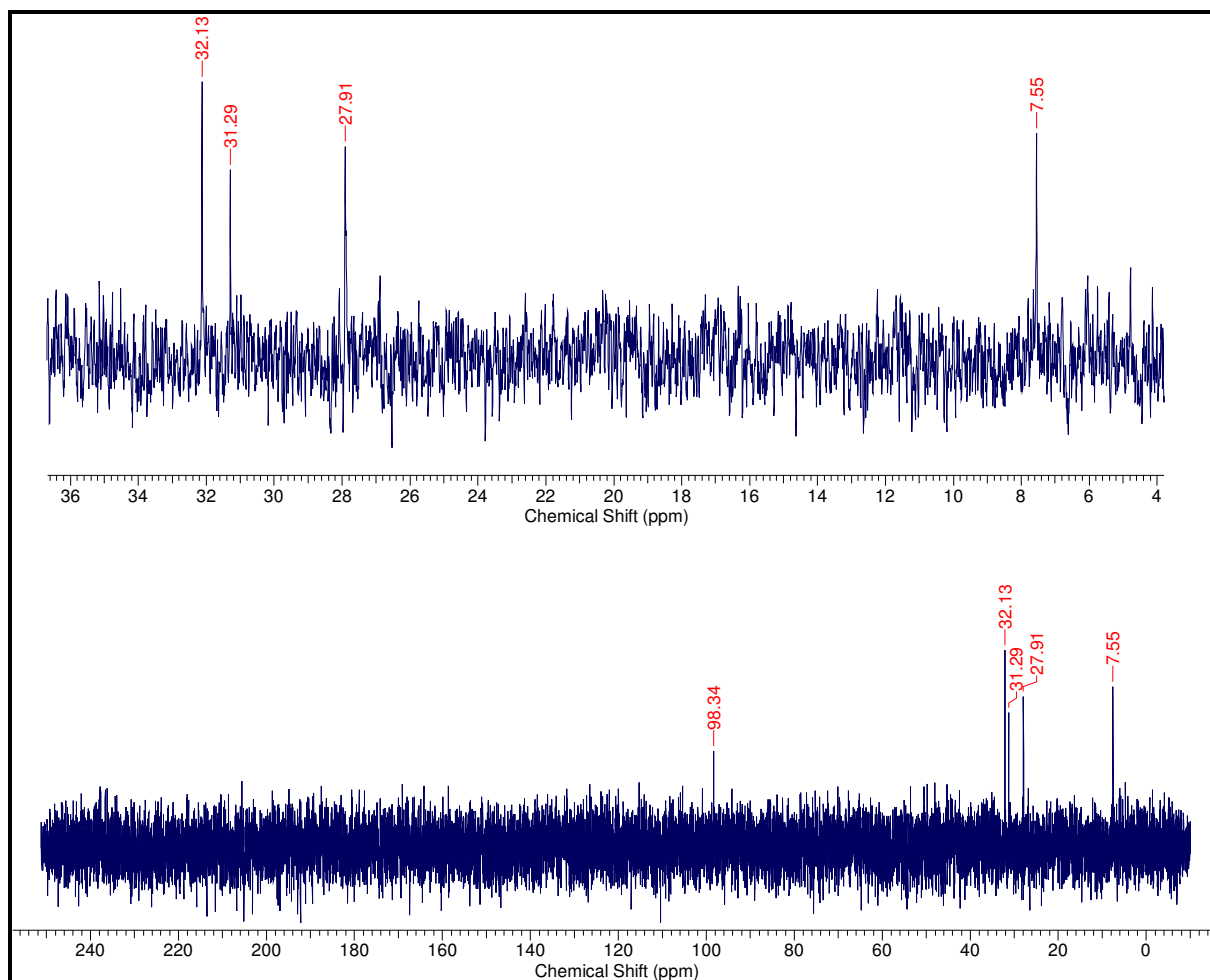
*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes; células da tabela na cor rosa indicam $\delta^{13}\text{C}$ de carbonos de açúcares (os quais não foram atribuídos).



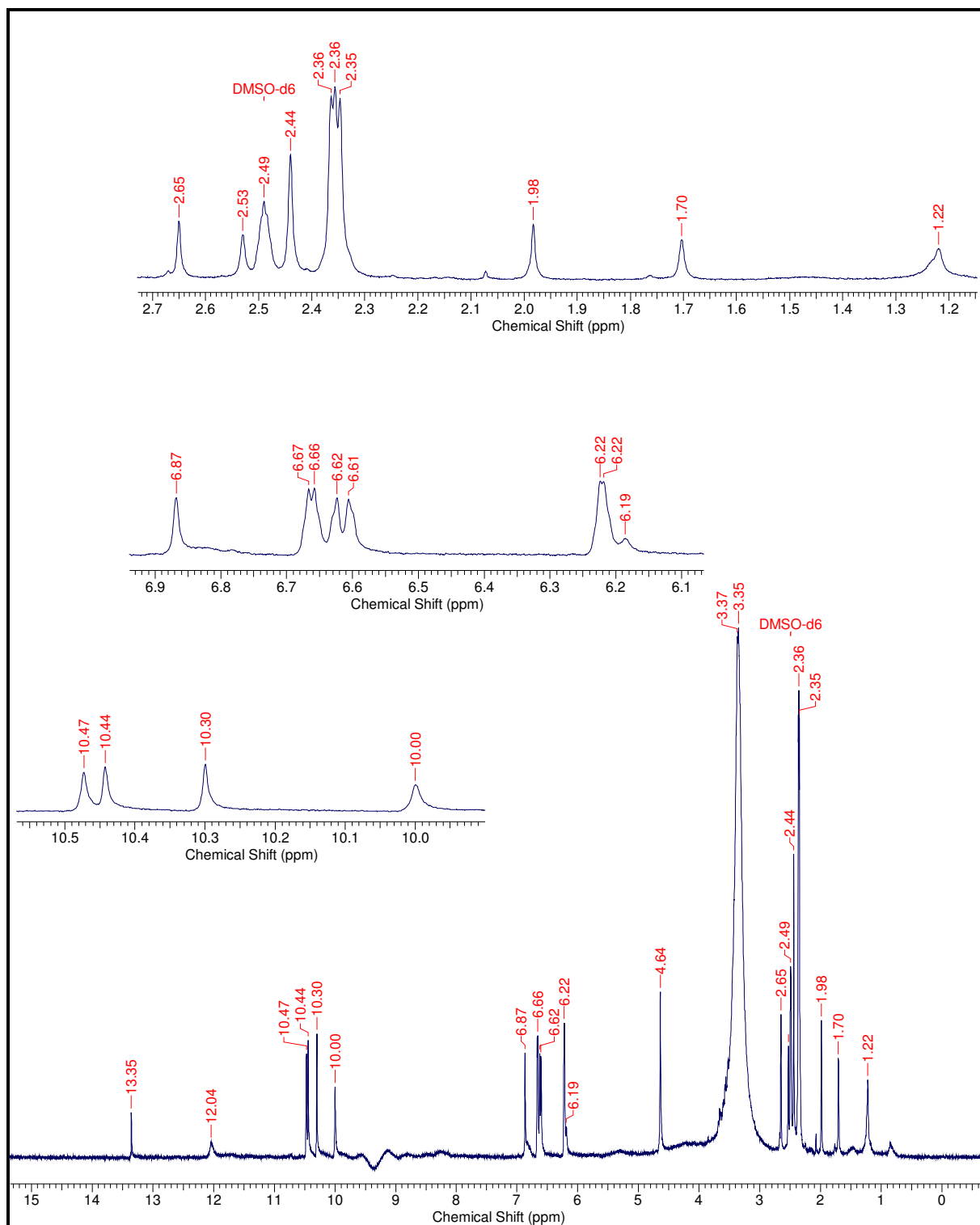
Espectro 62 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *P. miranda* (CDCl_3).



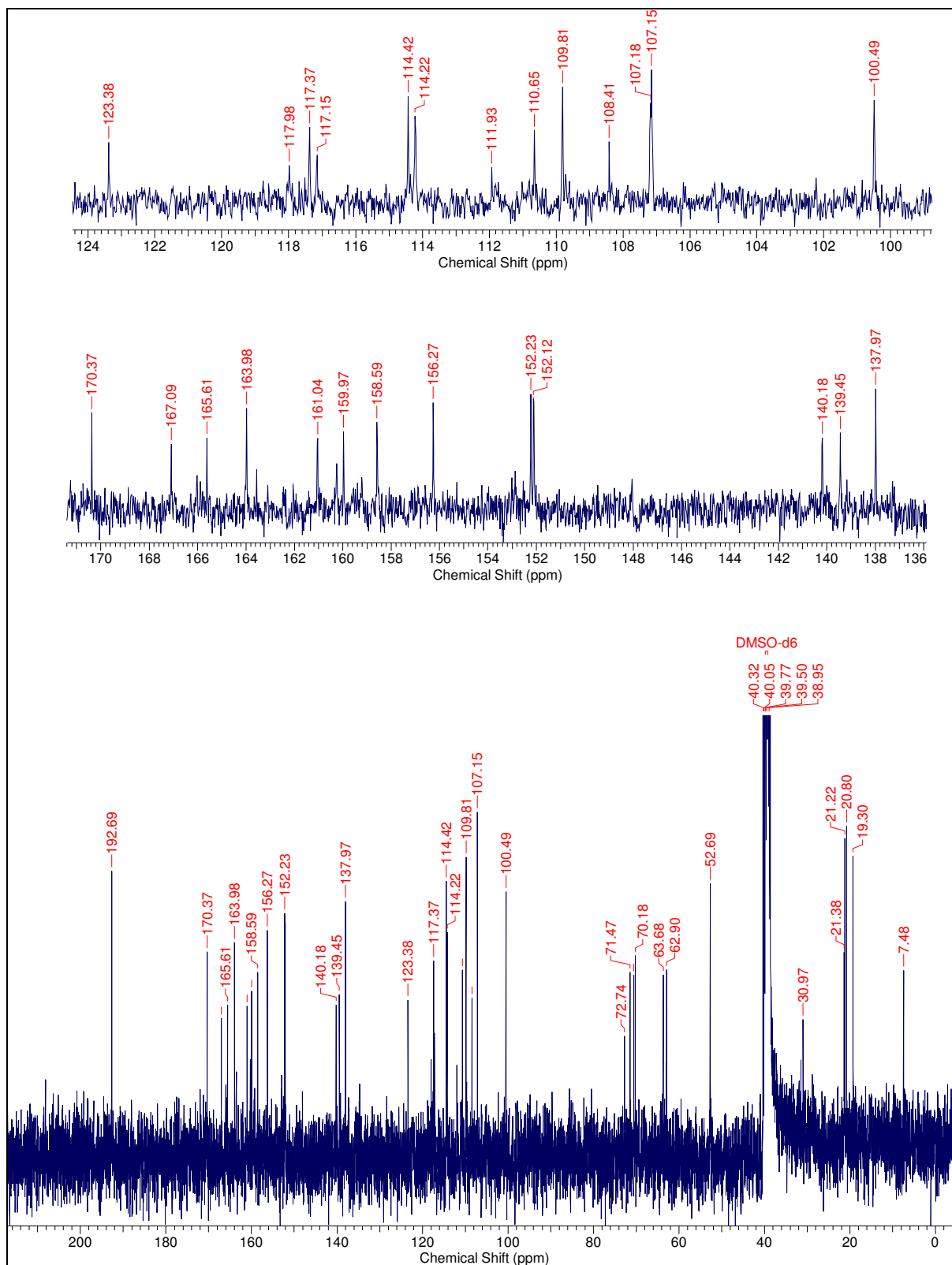
Espectro 63 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *P. miranda* (CDCl_3).



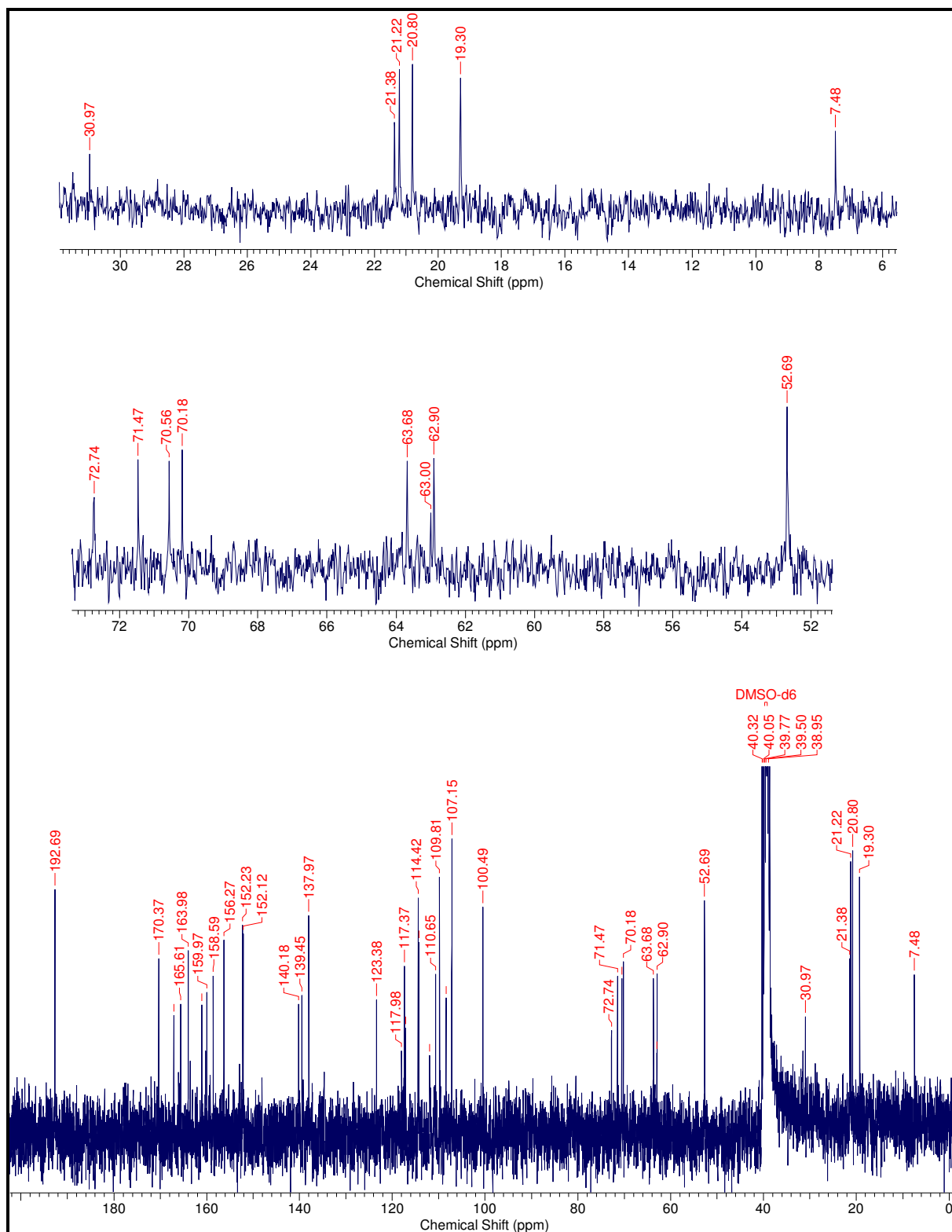
Espectro 64 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *P. miranda* (CDCl_3).



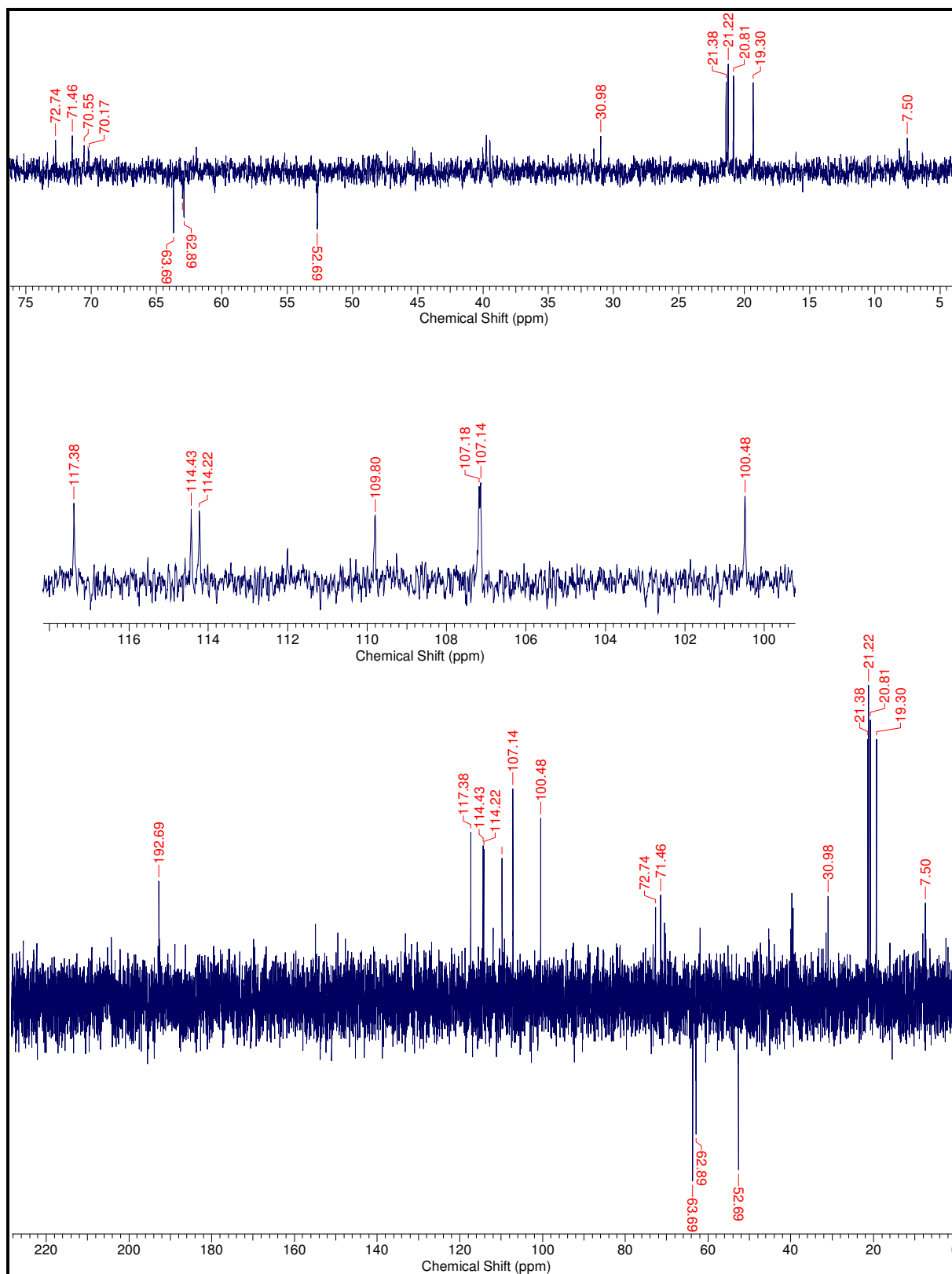
Espectro 65 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *P. miranda* (DMSO-d_6).



Espectro 66 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *P. miranda*, com ampliações de 170 a 98 ppm (DMSO-d₆).



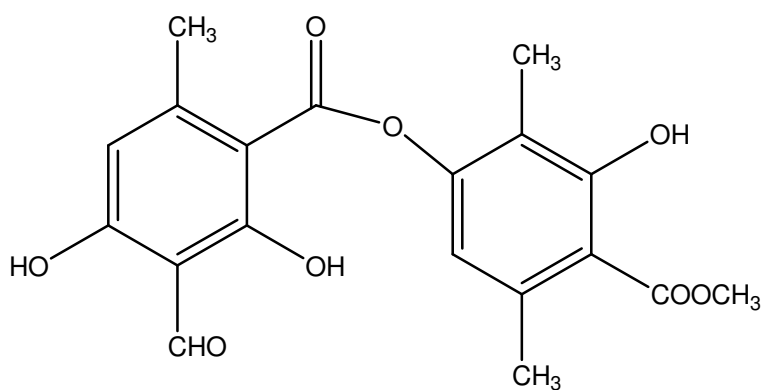
Espectro 67 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *P. miranda*, com ampliações de 73 a 6 ppm (DMSO- d_6).



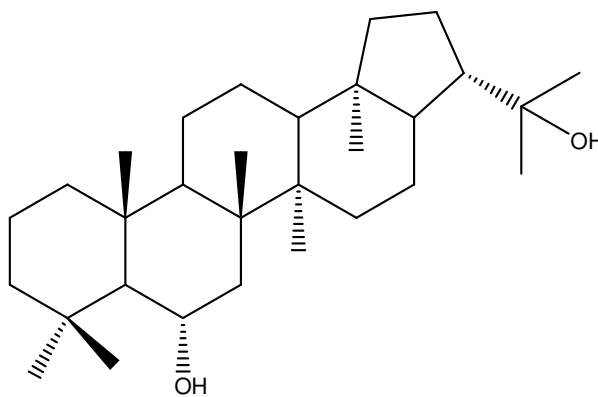
Espectro 68 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *P. miranda* (DMSO-d₆).

Heterodermia leucomela (L.) Poelt subsp. *leucomela*

São importantes taxonomicamente para esta espécie o depsídeo atranorina e o triterpeno zeorina (Culberson *et al.* 1977).



Atranorina



Zeorina

Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *H. leucomela* foi cromatografado no eluente V.

É possível observar a presença de 2 substâncias majoritárias no cromatograma. A mancha de R_f maior, que revela em tom laranja nessas condições, tem comportamento cromatográfico semelhante ao da atranorina.

Já a mancha de Rf 0,36, que revela cor roxa, pode ser referente ao triterpeno zeorina (Culberson, 1981).



Hleuc

Cromatograma 29 - Extrato de *H. leucomela*

Cromatograma 25: (Hleuc= *Heterodermia leucomela*) **Eluente V:** tolueno/ ácido acético glacial (85:15 v/v).

Revelador: metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) seguido de p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Microcristalização (MC)

A microcristalização indicou formas cristalinas correspondentes a atranorina e zeorina em GAO.T. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e também com aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados espectrais do extrato de *H. leucomela* foram obtidos em CDCl_3 .

Nos espectro de RMN de ^1H foram observados todos os sinais que podem caracterizar a presença do depsídeo atranorina. São eles, todos singletes: para as três hidroxilas, três sinais em 12,54; 12,49 e 11,49 ppm; em 10,35, 6,51 e 6,39 ppm, os sinais para o hidrogênio de

aldeído e para os dois hidrogênios aromáticos, respectivamente. E por último, outros quatro sinais, para o éster metílico e para as três metilas, em 3,98; 2,68; 2,53 e 2,08 ppm, respectivamente.

Também no espectro de RMN de ^{13}C é possível identificar, sem maiores dificuldades, os sinais de δ característicos dos carbonos da estrutura da atranorina, pois são os sinais mais intensos no espectro. Entre esses sinais, podem ser destacados: os dois carbonos CH aromáticos, em 112,9 e 116,0 ppm, e também o carbono do éster metílico, com δ de 52,3 ppm. Todos os sinais de $\delta^{13}\text{C}$ e ^1H que podem ser atribuídos a atranorina estão indicados na figura 58 e concordam dados da literatura (König & Wright 1999, atranorina em CDCl_3).

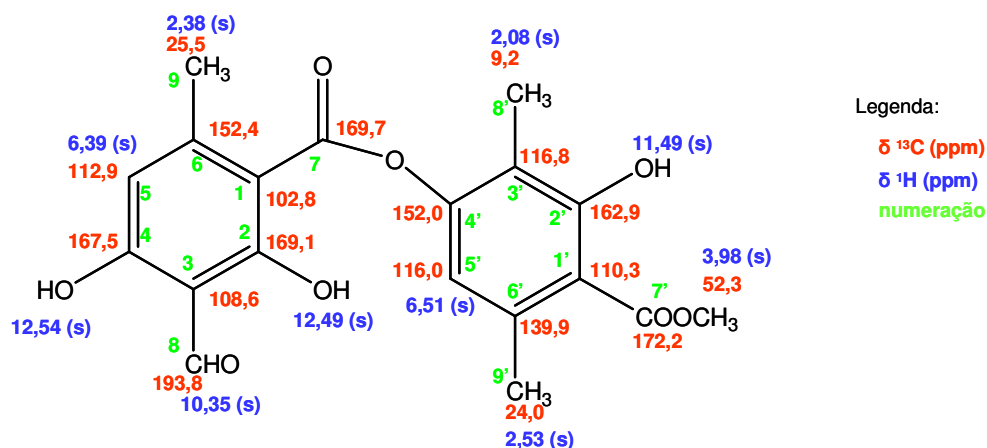


Figura 58 – Sinais de deslocamento químico da **atranorina** presente no extrato de *H. leucomela* (CDCl_3).

No espectro de RMN de ^1H também é possível observar alguns sinais menos intensos na região abaixo de 3 ppm. Isso indica que os hidrogênios da(s) molécula(s) estão mais protegidos do que, por exemplo, em uma substância fenólica, como é o caso da atranorina, que está presente em maior proporção no mesmo extrato. Essa observação concorda com a possibilidade da presença de um triterpeno, que apresentaria um conjunto extenso de hidrogênios com δ em região de maior proteção, logo, na região abaixo de 3 ppm. Porém, as conclusões sobre a estrutura do triterpeno através do espectro de RMN de ^1H não avançam muito, já que não é possível observar com clareza o padrão de desdobramento dos sinais num espectro de mistura, sendo o triterpeno um componente minoritário do extrato.

Também no espectro de RMN de ^{13}C , é possível observar um extenso conjunto de sinais com intensidade reduzida na região abaixo de 75 ppm. Esse conjunto sugere um

esqueleto triterpênico. A comparação desses sinais com aqueles que seriam esperados para a zeorina, que é um triterpeno do tipo hopano comumente encontrado em líquens, pode confirmar esse tipo de esqueleto. Assim, sugere-se que o triterpeno em questão pode ser a zeorina, apesar de que uma análise mais confiável deveria ser feita através de espectros (1D e 2D) da substância isolada a partir desse extrato, para afirmar a identidade do triterpeno. Os sinais de $\delta^{13}\text{C}$ que podem ser indicados estão dispostos na figura 59 e concordam com Elix *et al.* 1982.

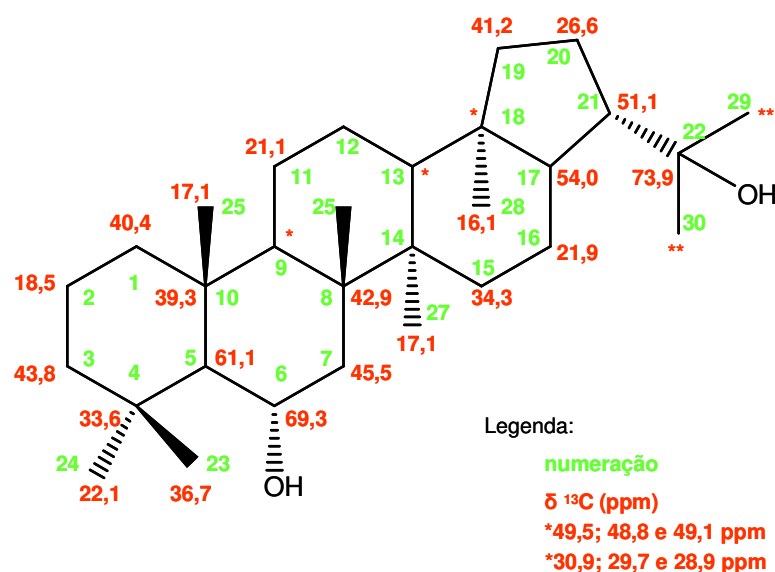


Figura 59 – Sinais de deslocamento químico da **zeorina** presente no extrato de *H. leucomela* (CDCl_3).

Assim, foi possível identificar no extrato de *Heterodermia leucomela* (L.) Poelt subsp. *leucomela* o depsídeo atranorina e o triterpeno zeorina, por CCD, MC e RMN.

Tabela 22* – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *H. leucomela* (CDCl_3) e atribuição de sinais para a **atranorina (ATR)** e **zeorina (ZEO)**.

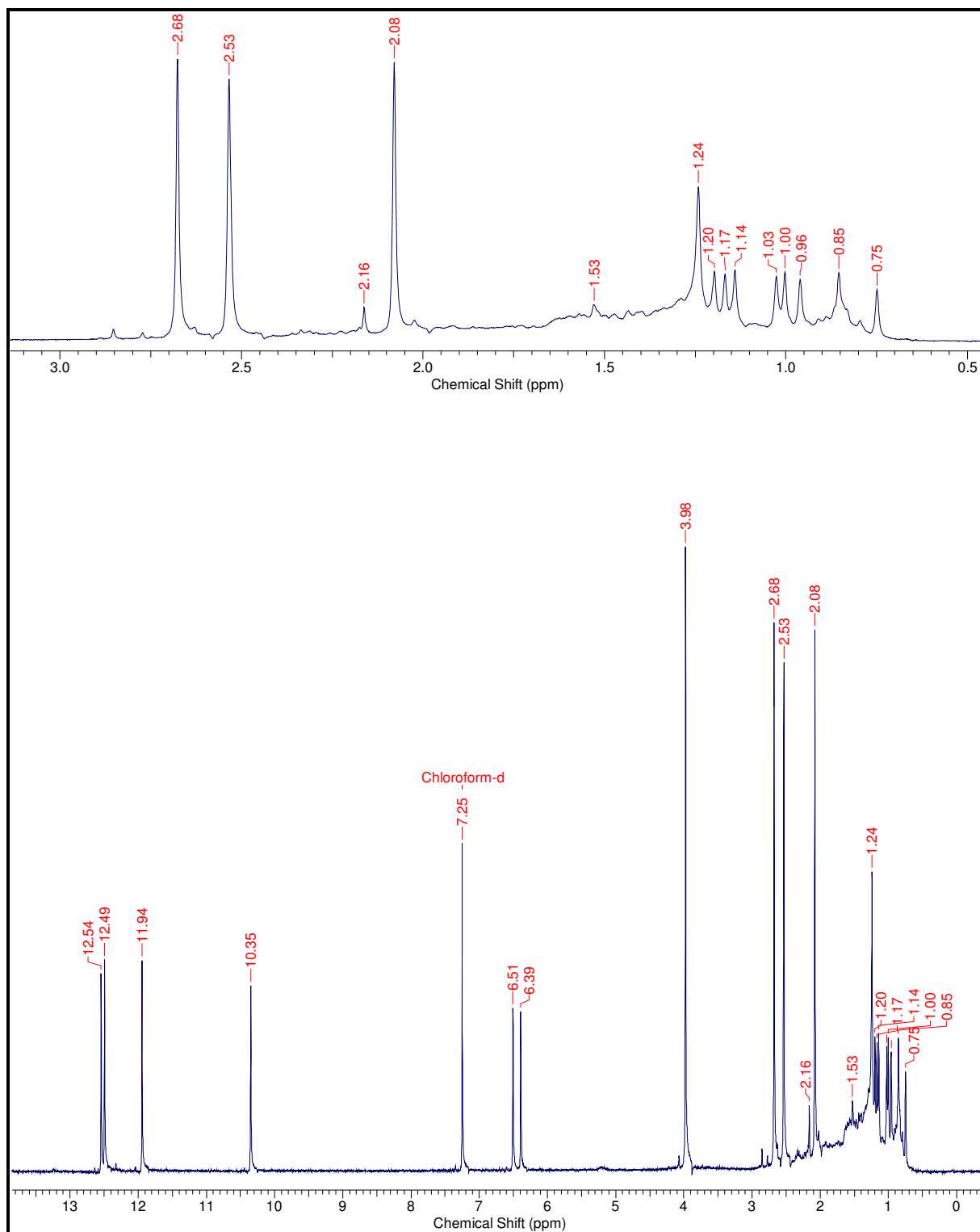
$\delta^{13}\text{C}^a$	C - substância	$\delta^1\text{H}^b$	H - substância
(DEPT 135)		(multiplicidade)	
193,8 (CH)	C8 – ATR	12,54 (s)	OH(C4) – ATR
172,2	C7' – ATR	12,49 (s)	OH(C2) – ATR
169,7	C7 – ATR	11,49 (s)	OH(C2') – ATR
169,1	C2 – ATR	10,35 (s)	H(C8) – ATR
167,5	C4 – ATR	6,51 (s)	H(C5') – ATR
162,9	C2' – ATR	6,39 (s)	H(C5) – ATR
152,4	C6 – ATR	3,98 (s)	$\text{COOCH}_3(\text{C7}') - \text{ATR}$
152,0	C4' – ATR	2,68 (s)	H(C9) – ATR
139,9	C6' – ATR	2,53 (s)	H(C9') – ATR
116,8	C3' – ATR	2,16 (s)	
116,0 (CH)	C5' – ATR	2,08 (s)	H(C8) – ATR
112,9 (CH)	C5 – ATR	1,53 (s)	
110,3	C1' – ATR	1,24 (s)	
108,6	C3 – ATR	1,20 (s)	
102,8	C1 – ATR	1,17 (s)	
73,9	C22 – ZEO	1,14 (s)	
69,3	C6 – ZEO	1,03 (s)	
61,1	C5 – ZEO	1,00 (s)	
54,0	C17 – ZEO	0,96 (s)	
52,3 (CH_3)	$\text{COOCH}_3(\text{C7}) - \text{ATR}$	0,85 (s)	
51,1	C21 – ZEO	0,75 (s)	
49,8	C18 – ZEO;		
49,4	C9 – ZEO e/ou		
48,6	C13 – ZEO		
45,5	C7 – ZEO		
44,0			
43,8	C3 – ZEO		
42,9	C8 – ZEO		
41,9	C14 – ZEO		
41,2 (CH_2)	C19 – ZEO		
40,4 (CH_2)	C1 – ZEO		
39,3	C10 – ZEO		
36,7 (CH)	C23 – ZEO		
34,3	C15 – ZEO		
33,6	C4 – ZEO		
30,9 (CH_3)	C29 – ZEO		
29,7	e/ou		
28,7 (CH_3)	C30 – ZEO		
26,6	C20 – ZEO		
25,5 (CH_3)	C9 – ATR		
24,0 (CH_3)	C9' – ATR		

Continuação da Tabela 19* – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *H. leucomela* (CDCl_3) e atribuição de sinais para a **atranorina (ATR)** e **zeorina (ZEO)**.

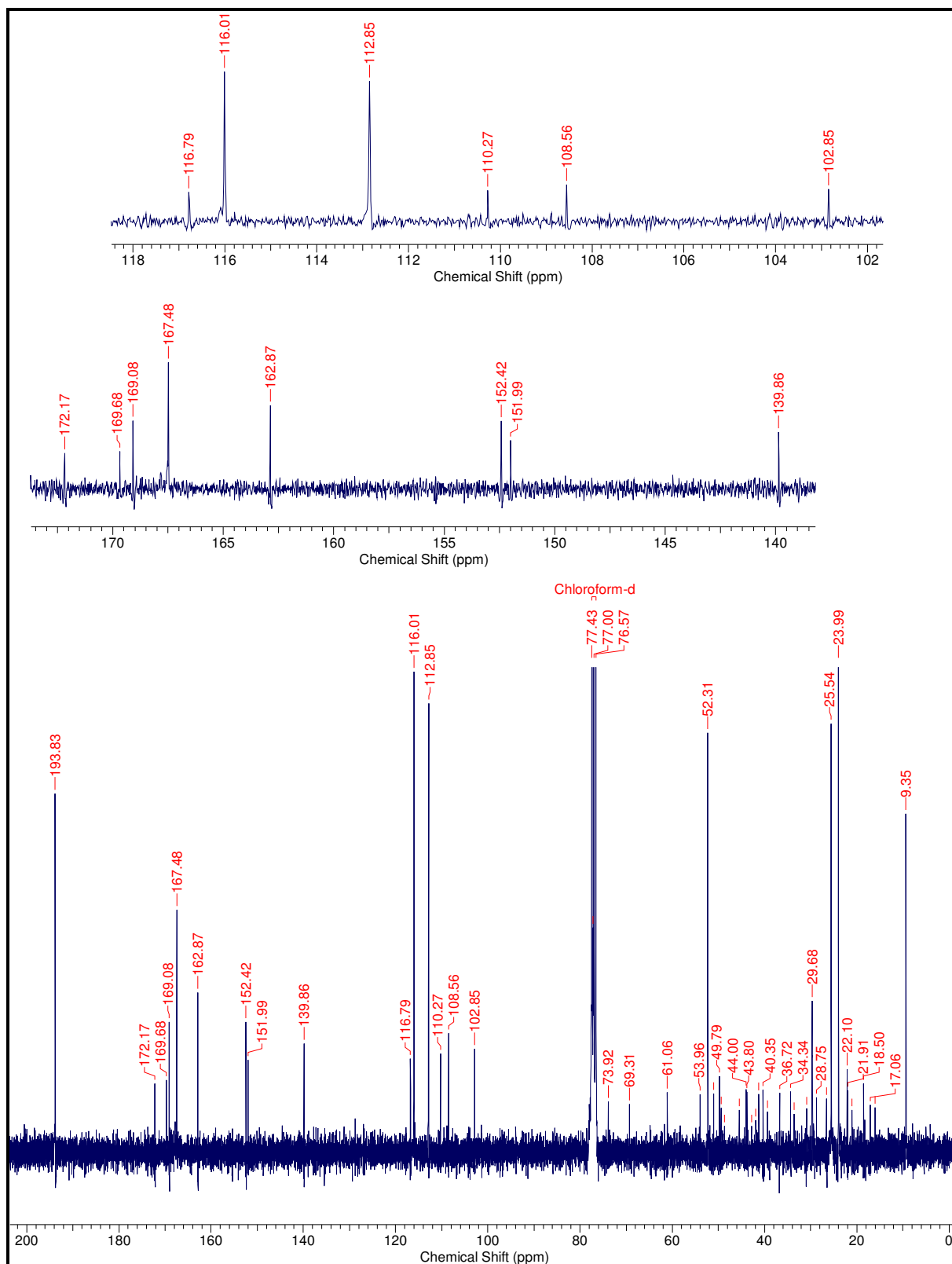
$\delta^{13}\text{C}^a$		$\delta^1\text{H}^b$	
(DEPT 135)	C - substância	(multiplicidade)	H - substância
22,1	C24 – ZEO		
21,9	C16 – ZEO		
21,1	C11 – ZEO		
18,5	C2 – ZEO		
17,1	C27 – ZEO e/ou C25 – ZEO		
16,1	C28 – ZEO		
9,4 (CH_3)	C8' – ATR		

^a 300 MHz; ^b 75 MHz;

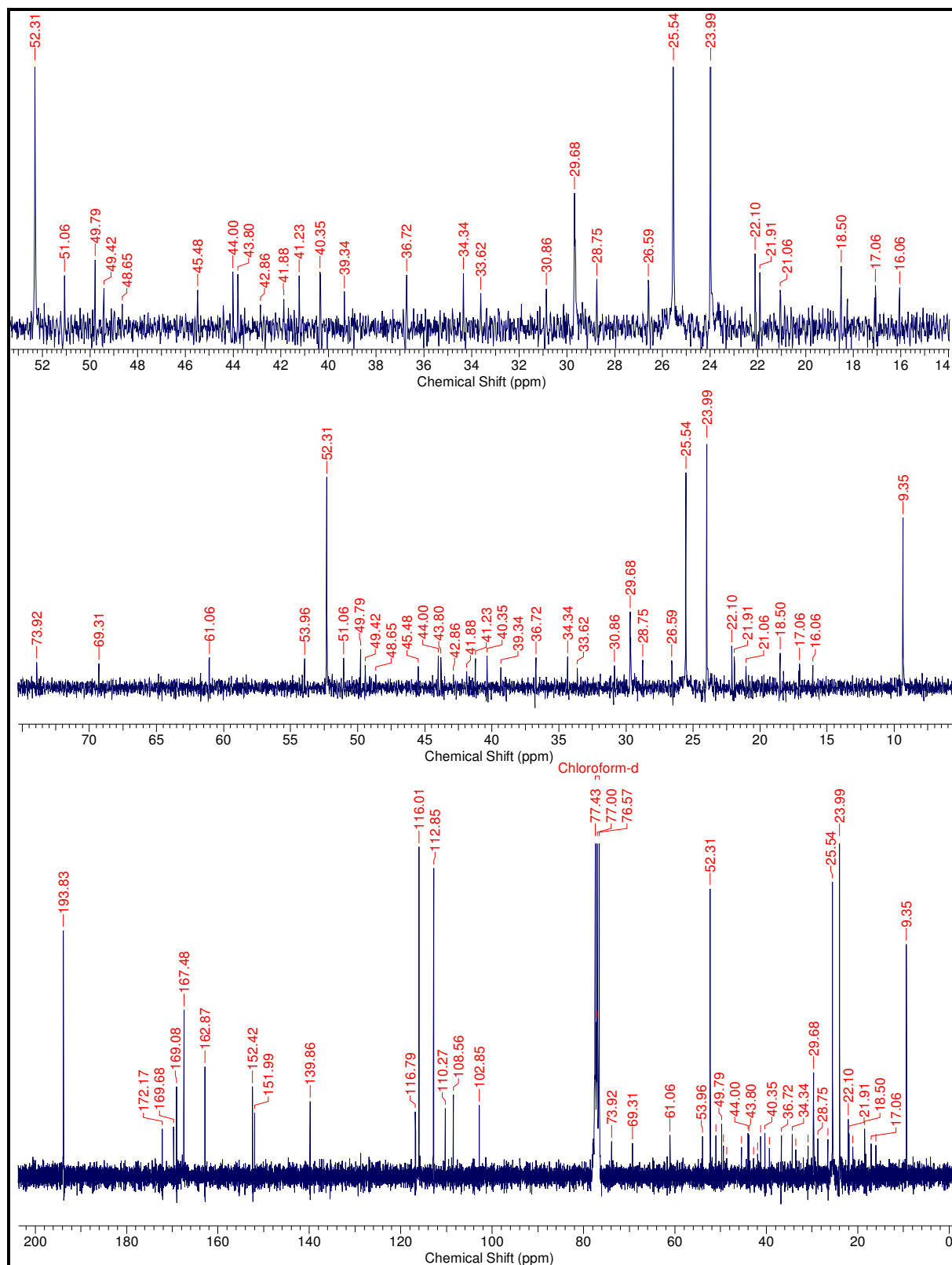
*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes.



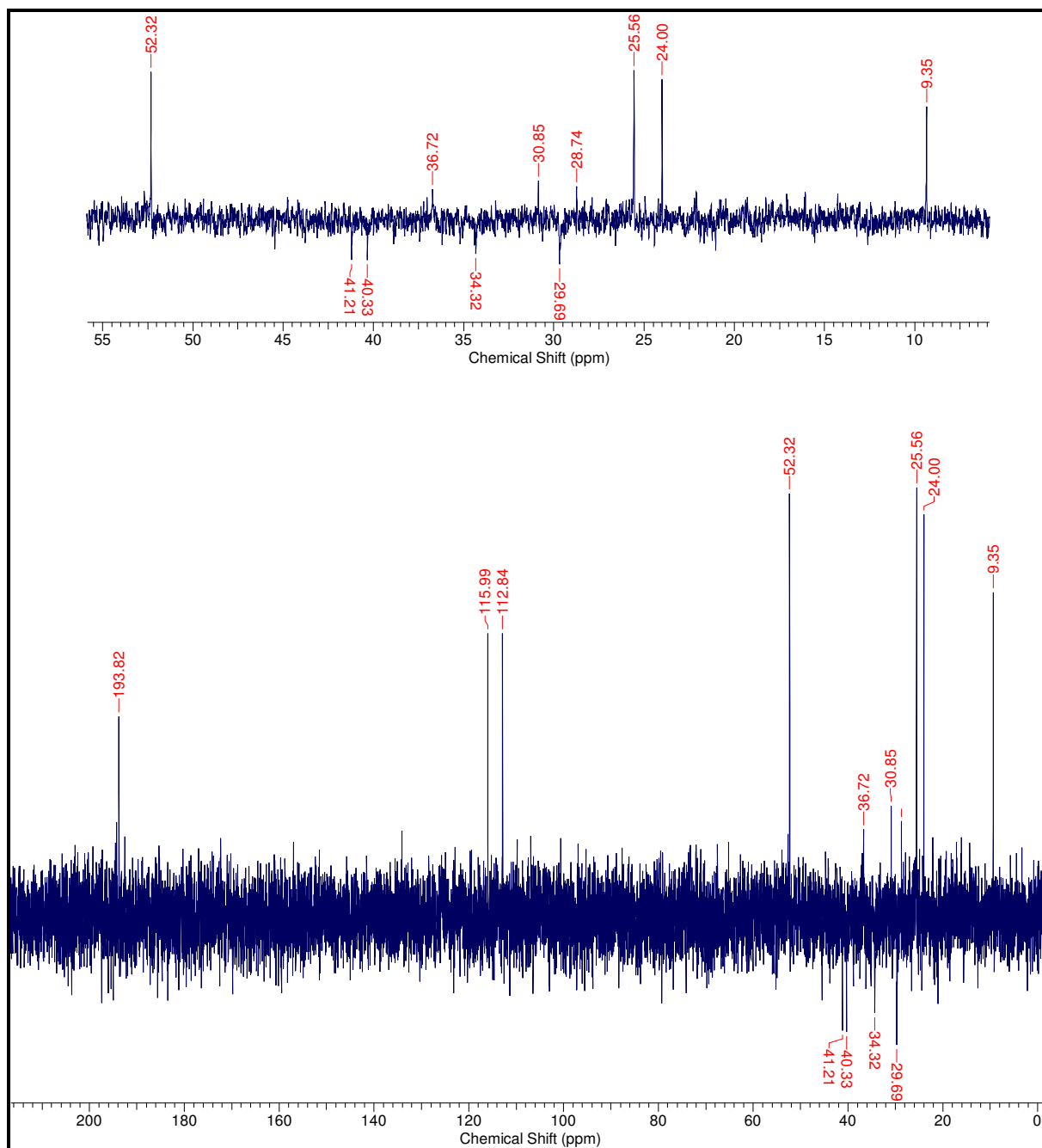
Espectro 69 - Espectro de RMN de ¹H do extrato de *H. leucomela* (CDCl₃).



Espectro 70 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *H. leucomela*, com ampliações de 170 a 100 ppm (CDCl_3).



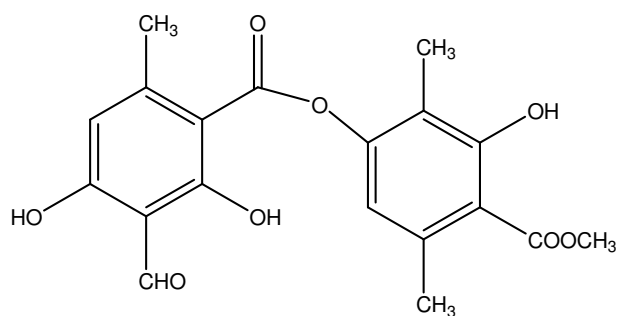
Espectro 71 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *H. leucomela*, com ampliações de 75 a 5 ppm (CDCl_3).



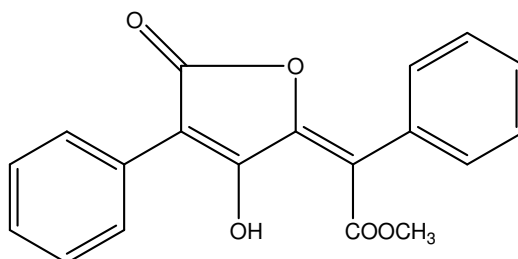
Espectro 72 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *H. leucomela* (CDCl₃).

Parmotrema cornutum (Lynge) Hale

São importantes taxonomicamente para esta espécie o depsídeo atranorina e o ácido vulpínico (Hale, 1965).



Atranorina



Ácido vulpínico

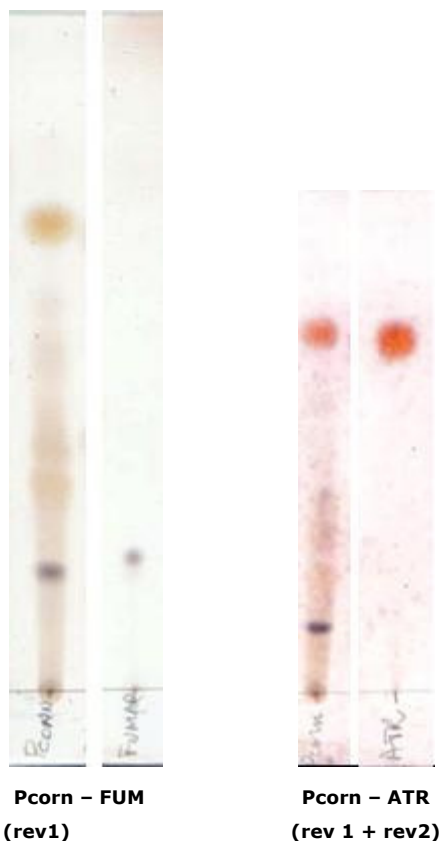
Cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato de *P. cornutum* foi cromatografado duas vezes no eluente II.

É possível observar a presença de ao menos 1 substância majoritária no cromatograma. Essa mancha possui o maior R_f, revela em tom laranja na presença dos reveladores 1 e 2 e apresenta comportamento cromatográfico semelhante ao da atranorina.

Já a mancha de menor R_f, que revela cor cinza escuro, não pôde ter sua identidade atribuída.

Outras manchas de cor e forma irregulares também não puderam ter sua identidade atribuída.



Cromatograma 30 e 31 - Extrato de *P. cornuta*

Cromatogramas 28 e 29: (Pcorn= *P. cornuta*; FUM= ácido fumarprotocetrárico; ATR= atranorina) **Eluente II:** tolueno/ ácido acético glacial/ ácido fórmico (138:83:8 v/v/v). **Reveladores:** (rev1:) metanol/ ácido sulfúrico (9:1 v/v) e (rev2:) p-anisaldeído em ácido sulfúrico.

Microcristalização (MC)

A microcristalização indicou formas cristalinas correspondentes a atranorina em GAOt. A identificação foi feita por comparação com fotos da literatura (Huneck & Yoshimura 1996) e também com aquelas formadas a partir de substância de referência.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os dados espectrais do extrato de *P. cornuta* foram obtidos em CDCl_3 .

Os sinais mais intensos presentes nos espectros caracterizam a presença do depsídeo atranorina. No espectro de RMN de ^1H é possível observar, todos singletes: para as três

hidroxilas, três sinais em 12,54; 12,49 e 11,49 ppm; em 10,35, 6,51 e 6,39 ppm, os sinais para o hidrogênio de aldeído e para os dois hidrogênios aromáticos, respectivamente. E por último, outros quatro sinais, para o éster metílico e para as três metilas, em 3,98; 2,68; 2,53 e 2,08 ppm, respectivamente.

No espectro de RMN de ^{13}C é possível identificar apenas os sinais que podem ser atribuídos a carbonos CH e CH_3 , que são facilmente identificáveis no espectro de DEPT 135. São eles: 116,0 e 112,8 ppm, dois carbonos CH aromáticos, 193,8 ppm, para a carbonila de aldeído, e ainda 52,3; 25,5; 24,0 e 9,4 ppm, para o éster metílico e as três metilas presentes na estrutura da atranorina. Todos os sinais de $\delta^{13}\text{C}$ e ^1H que podem ser atribuídos a atranorina estão indicados na figura 60 e concordam dados da literatura (König & Wright 1999, atranorina em CDCl_3).

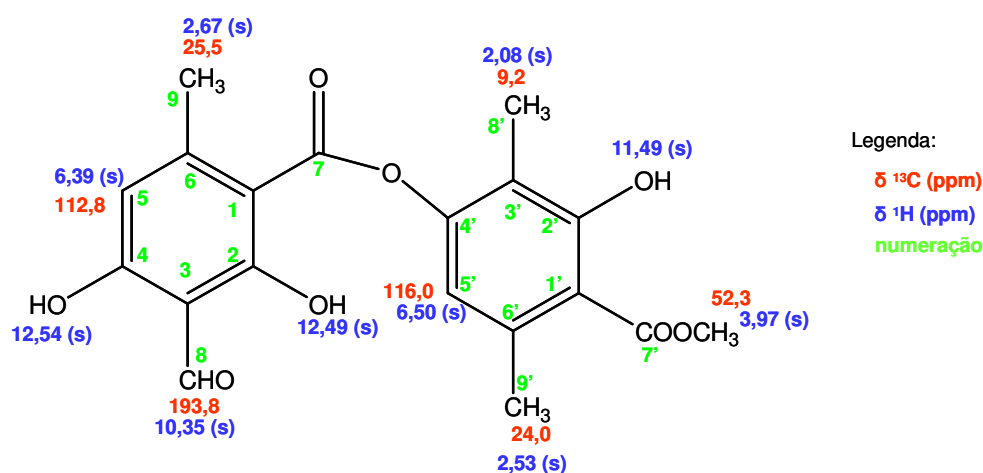


Figura 60 – Sinais de deslocamento químico da **atranorina** presente no extrato de *P. cornuta* (CDCl_3).

No espectro de RMN de ^1H também é possível observar muitos outros sinais além dos que são característicos da atranorina, porém não foi possível atribuí-los inequivocamente. O mesmo acontece com os sinais menos intensos presentes no espectro de RMN de ^{13}C .

Assim, foi possível identificar no extrato de *Parmotrema cornuta* apenas o depsídeo atranorina por CCD, MC e RMN.

Tabela 23* – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. cornuta* (CDCl_3) e atribuição de sinais para a **atranorina (ATR)**.

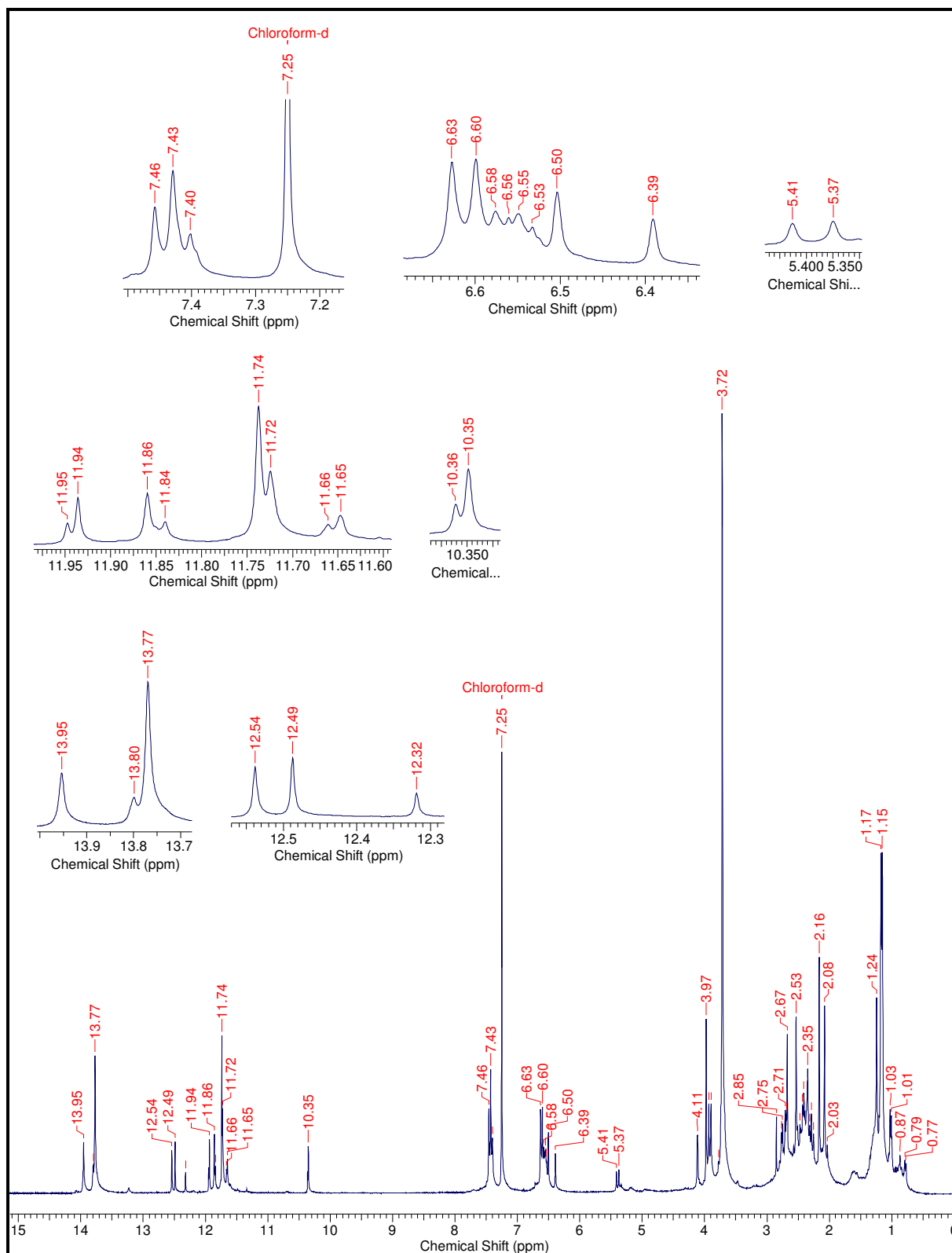
$\delta^{13}\text{C}^a$		$\delta^1\text{H}^b$	
(DEPT 135)	C - substância	(multiplicidade)	H - substância
216,9		13,95 (s)	
193,8	C8 – ATR	13,80 (s)	
188,8		13,77 (s)	
187,6		12,54 (s)	OH(C4) – ATR
187,1		12,49 (s)	OH(C2) – ATR
179,8		12,32 (s)	
177,6		11,95 (s)	
170,3		11,94 (s)	OH(C2') – ATR
159,4		11,86 (s)	
158,3		11,84 (s)	
140,2 (CH)		11,74 (s)	
139,7 (CH)		11,72 (s)	
118,2		11,66 (s)	
116,0 (CH)	C5' – ATR	11,65 (s)	
112,8 (CH)	C5 – ATR	10,36 (s)	
107,9		10,35 (s)	H(C8) – ATR
107,6 (CH)		7,43 (t, J= 8,2Hz)	
106,8		6,61 (d, J= 8,6Hz)	
101,5		6,58 (s)	
99,9		6,56 (s)	
84,7		6,55 (s)	
76,1 (CH)		6,53 (s)	
71,3 (CH)		6,50 (s)	H(C5') – ATR
53,5 (CH)		6,39 (s)	H(C5) – ATR
53,3 (CH)		5,40 (d, J= 11,5Hz)	
52,3 (CH)	COOCH ₃ (C7) – ATR	4,11 (sl)	
36,3 (CH ₃)		3,97 (s)	COOCH ₃ (C7') – ATR
36,1		3,93 (s)	
32,62 (CH ₂)		3,90 (s)	
32,57		3,78 (s)	
29,7 (CH ₃)		3,72 (s)	
29,2 (CH ₃)		2,85 (s)	
28,6 (CH ₃)		2,79	
28,5 (CH ₃)		2,76 (d, J= 5,1Hz)	
25,5 (CH ₃)	C9 – ATR	2,73 (s)	
24,0 (CH ₃)	C9' – ATR	2,70 (d, J= 5,9Hz)	
20,8 (CH ₃)		2,67 (s)	H(C9) – ATR
18,0 (CH ₃)		2,57 (s)	
17,5 (CH ₃)		2,53 (s)	H(C9') – ATR
17,4 (CH ₃)		2,51 (s)	
9,4 (CH ₃)*	C8' – ATR	2,46 (d, J= 4,5Hz)	
		2,40 (t~m)	

Continuação da tabela 19* – Sinais de deslocamento químico (δ) apresentados nos espectros obtidos a partir do extrato de *P. cornuta* (CDCl_3) e atribuição de sinais para a **atranorina (ATR)**.

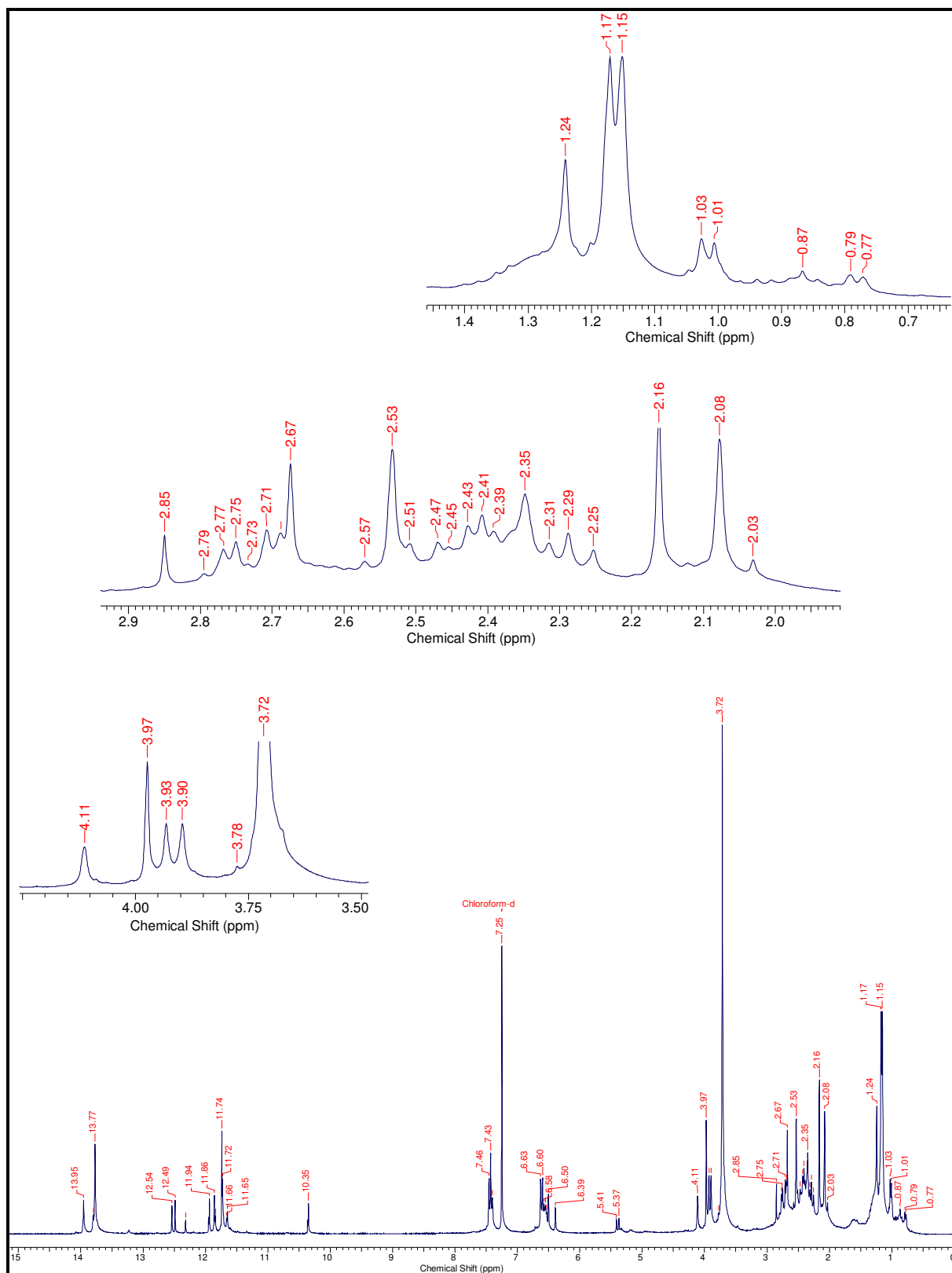
$\delta^{13}\text{C}^a$	$\delta^1\text{H}^b$
(DEPT 135) C - substância	(multiplicidade) H - substância
	2,35 (sl)
	2,28 (t~m)
	2,16 (s)
	2,08 (s) H(C8) – ATR
	2,03 (s)
	1,24 (s)
	1,17 (s)
	1,15 (s)
	1,03 (s)
	1,01 (s)
	0,87 (s)
	0,79 (s)
	0,77 (s)

^a 300 MHz; ^b 75 MHz

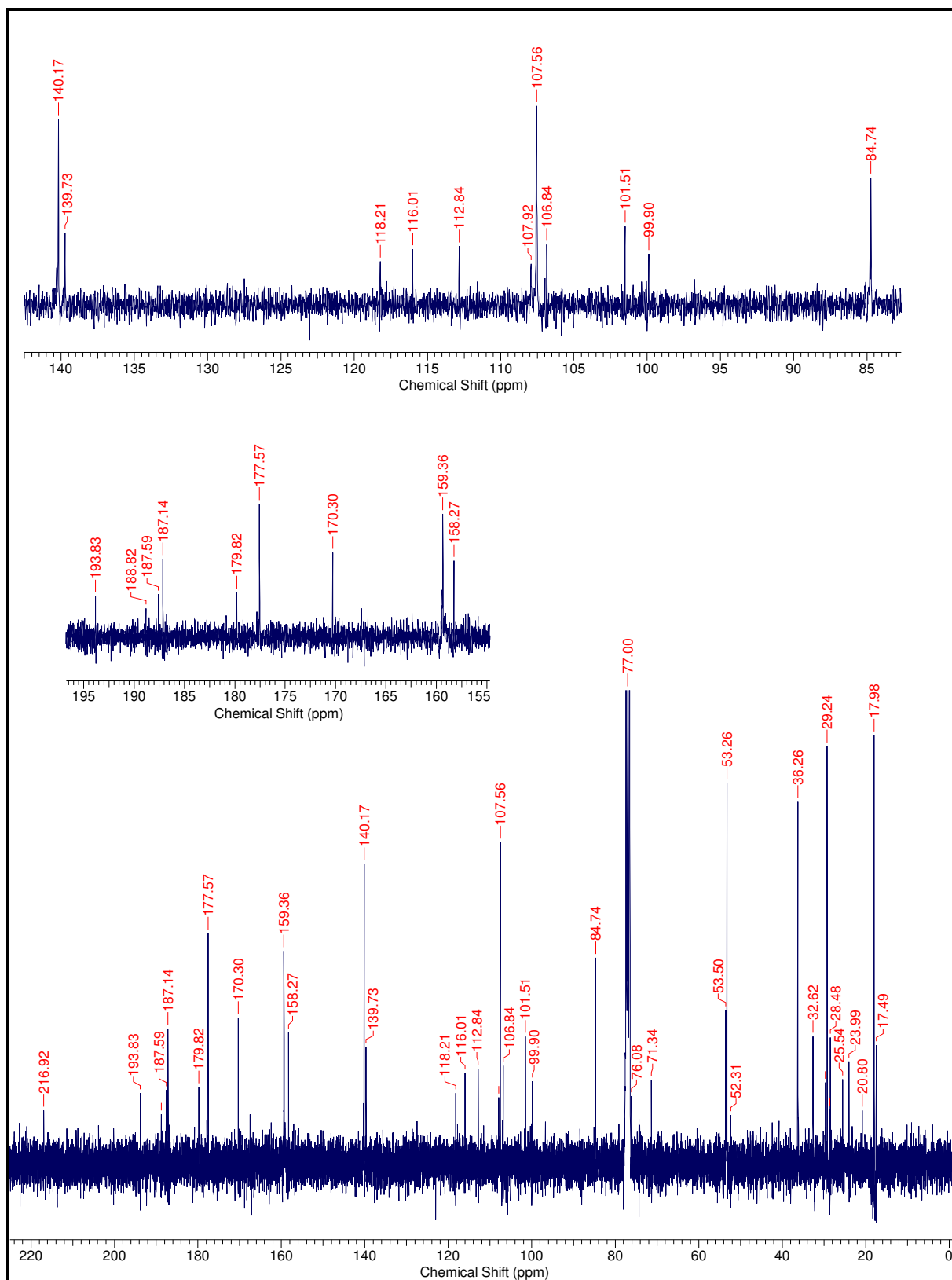
*visível apenas no espectro de RMN de DEPT 135



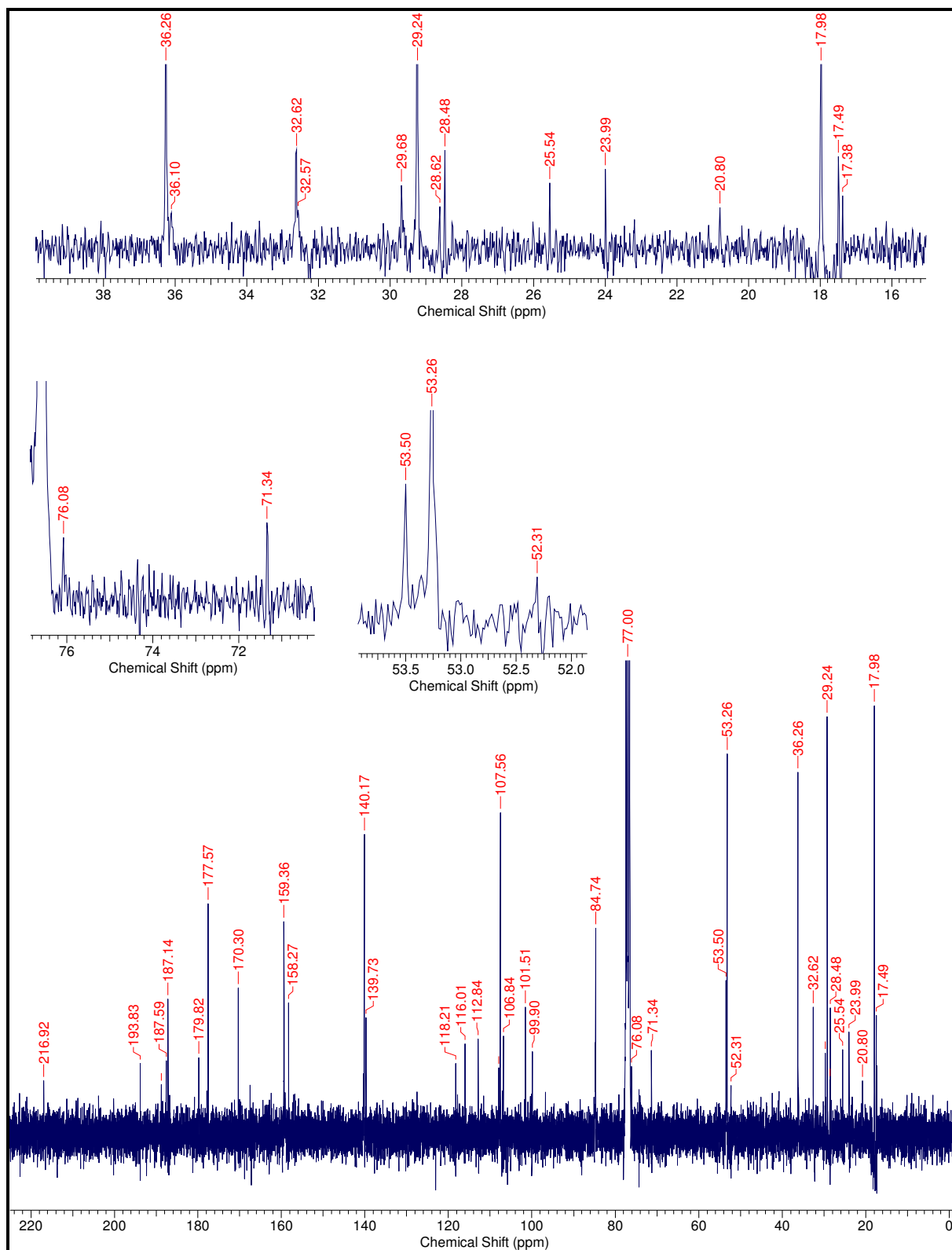
Espectro 73 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *P. cornutum*, com ampliações de 14 a 5 ppm (CDCl_3).



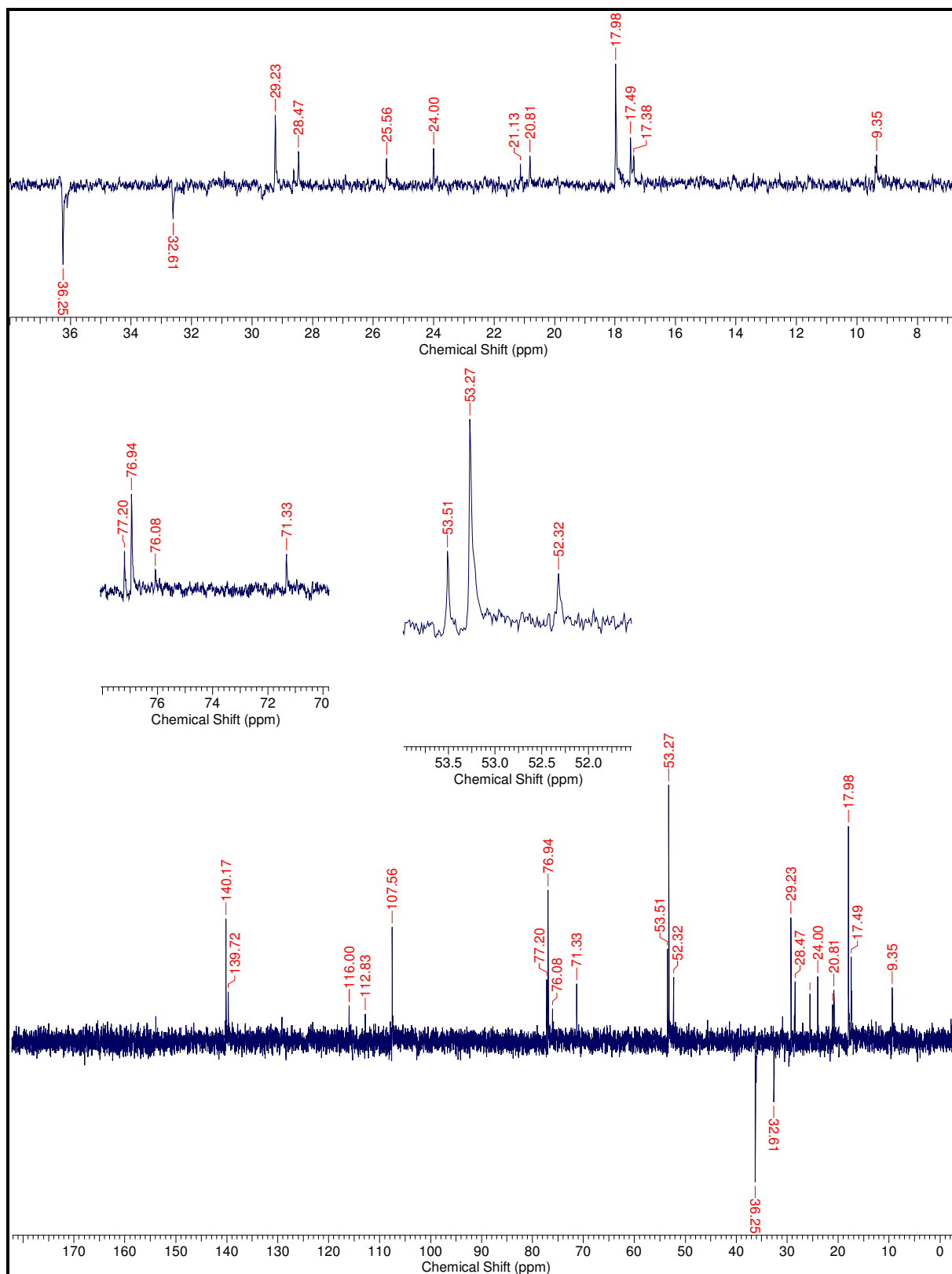
Espectro 74 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *P. cornutum*, com ampliações de 4,5 a 0,5 ppm (CDCl_3).



Espectro 75 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *P. cornutum*, com ampliações de 195 a 85 ppm (CDCl_3).



Espectro 76 - Espectro de RMN de ^{13}C do extrato de *P. cornutum*, com ampliações de 76 a 16 ppm (CDCl_3).



Espectro 77 - Espectro de RMN de DEPT 135 do extrato de *P. cornutum* (CDCl₃).

Dados de RMN utilizados como referência e comparação

Dados de RMN utilizados como referência e comparação

Serão apresentados os dados de RMN que foram utilizados como referência e comparação dentro dos resultados e discussão. São dados experimentais ou da literatura obtidos a partir de espectros de RMN de substâncias isoladas.

Para obtenção de dados experimentais foram utilizadas as mesmas substâncias utilizadas como referência para cromatografia. Cada um desses compostos foi previamente isolado e purificado pelo Grupo de Pesquisa em Química de Líquens (LP2/DQI/UFMS). Foram utilizadas as seguintes substâncias: atranorina e os ácidos protocetrárico, norstítico, difractáico, salazínico e perlatólico. Além das substâncias puras, também foram utilizados extratos de líquens que continham substâncias de interesse em alta proporção, dos quais foram obtidos espectros de RMN 2D que possibilitam a atribuição dos δ de ^1H e ^{13}C . Na próxima página é apresentada uma tabela com todas as substâncias pesquisadas e a paginação das referidas substâncias.

Tabela 24 – Origem dos dados de RMN

Substância	Dados de RMN	Solvente deut.	Fonte de dados	Página
Atranorina	^1H , ^{13}C	CDCl_3	König & Wright, 1999	246
Atranorina	^1H , ^{13}C , gHSQC e gHMBC	$\text{DMSO}-d_6$	Experimental	246
Ácido protocetrário	^1H , ^{13}C , gHSQC e gHMBC	$\text{DMSO}-d_6$	Experimental	253
Ácido norstítico	^1H , ^{13}C , gHSQC e gHMBC	$\text{DMSO}-d_6$	Experimental	259
Ácido difractáico	^1H , ^{13}C , gHSQC e gHMBC	CDCl_3	Experimental	264
Ácido úsnico	^1H , ^{13}C	CDCl_3	König & Wright, 1999	272
Ácido girofórico	^1H , ^{13}C	$\text{DMSO}-d_6$	Narui <i>et al.</i> 1998	274
Ácido α -colatólico	^1H , ^{13}C	CDCl_3	Huneck & Yoshimura, 1996	276
Ácido α -alecorônico	^1H , ^{13}C	$\text{DMSO}-d_6$	Millot <i>et al.</i> 2007	278
Ácido salazínico	^1H , ^{13}C	$\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$ (1:3)	Eifler <i>et al.</i> 2000	280
Ácido salazínico	^1H , ^{13}C , gHSQC e gHMBC	$\text{DMSO}-d_6$	Experimental	280
Ácido perlatólico	^1H , ^{13}C , gHSQC e gHMBC	CDCl_3	Experimental	288
Ácido divaricático	^1H , ^{13}C	CDCl_3	*	298
Ácido divaricático	^1H , ^{13}C , gHSQC e gHMBC	$\text{DMSO}-d_6$	Experimental**	298
Ácido protopraesorediósico	^1H , ^{13}C	CDCl_3	David <i>et al.</i> 1990	315
Ácido murólico	^1H , ^{13}C	Piridina- d_5	Rezanka <i>et al.</i> 2000	316
Ácido protoliquesterínico	^1H	$\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (2:1)	Huneck & Yoshimura, 1996	317
Ácido protoliquesterínico	^{13}C	CDCl_3	Huneck & Yoshimura, 1996	317
Ácido caperático	^1H	Acetona- d_6	Huneck & Yoshimura, 1996	318
Ácido liquesterínico	^{13}C	CDCl_3	Bodo & Molho, 1980	319
Zeorina	^1H , ^{13}C	$\text{DMSO}-d_6$	König & Wright, 1999	320
Zeorina	^{13}C	CDCl_3	Elix <i>et al.</i> 1982	320
Ácido vulpínico	^1H , ^{13}C	Acetona- d_6	König & Wright, 1999	322

*atribuição feita a partir da comparação com atribuição feita para o ácido perlatólico (CDCl_3)

**espectros de RMN 2D obtidos a partir do extrato de *Canoparmelia ecaperata*

Atranorina

Solventes deuterados: CDCl_3 (König & Wright, 1999) e DMSO-d_6 (experimental)

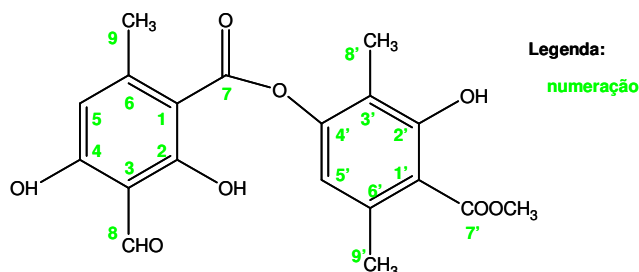


Tabela 25 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) da **atranorina** a partir de dados experimentais e da literatura.

Experimental DMSO- d_6 , 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)				König & Wright, 1999 CDCl_3 , 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
$\delta^{13}\text{C}$	C	$\delta^1\text{H}$ (multiplic.)	H	$\delta^{13}\text{C}$	C	$\delta^1\text{H}$ (multiplic.)	H
193,8	8	12,42 (sl)*		193,8	8	12,55 (s)	OH(C4)
169,7	7'	11,59 (sl)*		172,2	7'	12,50 (s)	OH(C2)
164,5	7	10,21 (s)	CHO(C8)	169,7	7	11,95 (s)	OH(C2')
163,4	4	6,64 (s)	H(C5')	169,1	2	10,36 (s)	CHO(C8)
161,5	2	6,41 (s)	H(C5)	167,4	4	6,52 (s)	H(C5')
157,4	2'	3,87 (s)	COOCH_3 (C7')	162,9	2'	6,40 (s)	H(C5)
151,4	4'	2,39 (s)	H(C9)	152,4	6	3,99 (s)	COOCH_3 (C7')
148,9	6	2,34 (s)	H(C9')	152,0	4'	2,69 (s)	H(C9)
136,5	6'	2,03 (s)	H(C8')	139,9	6'	2,54 (s)	H(C9')
116,2	3'			116,8	3'	2,09 (s)	H(C8')
115,6	5'			116,0	5'		
115,1	1'			112,8	5		
110,6	1			110,3	1'		
109,0	5			108,3	3		
107,9	3			102,8	1		
52,2	COOCH_3 (C7')			52,3	COOCH_3 (C7')		
21,1	9			25,5	9		
21,0	9'			24,0	9'		
9,2	8'			9,3	8'		

*Estes sinais são correspondentes provavelmente as duas hidroxilas ligadas à C4 e C2. O sinal aparece alargado no espectro de RMN de ^1H devido à troca rápida com deutério. Não foi possível atribuir os sinais inequivocamente porque não foi observada nenhuma correlação desses sinais no espectro de RMN de gHMBC.

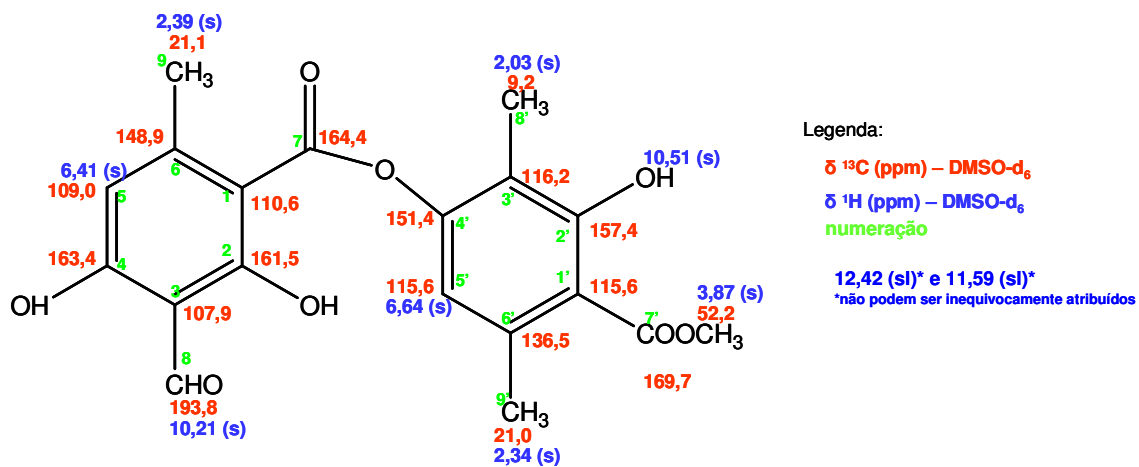


Figura 61 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H da **atranorina** (experimental, DMSO-d_6).

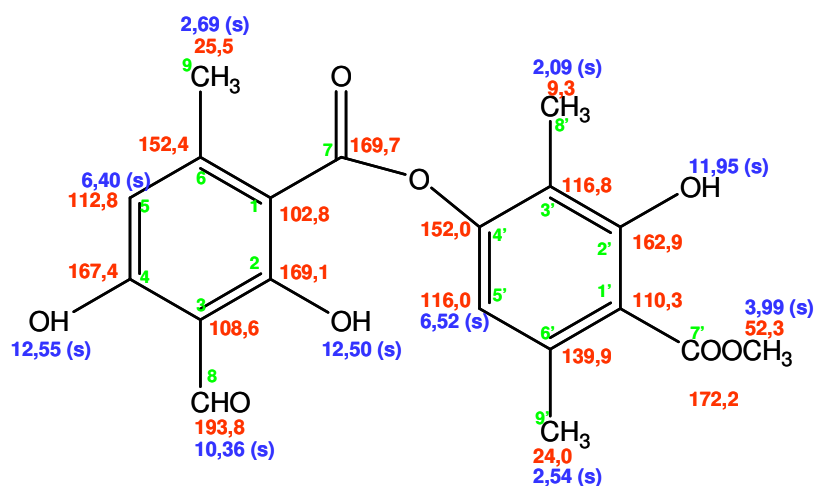
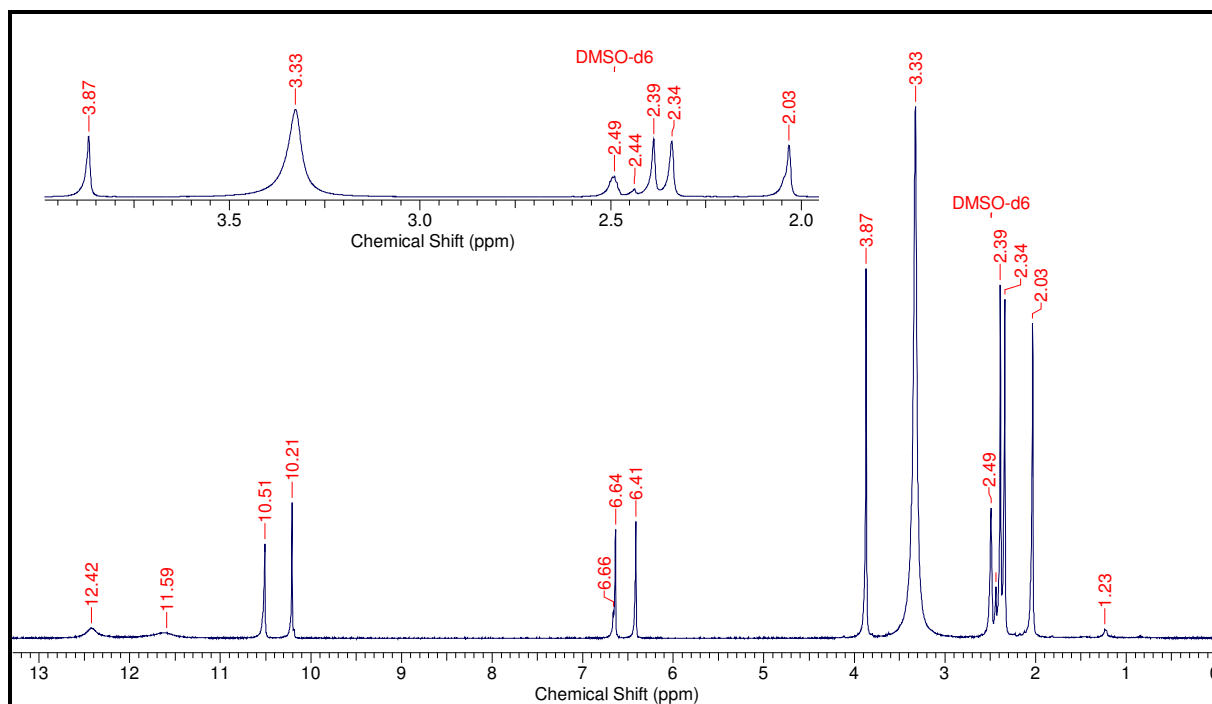
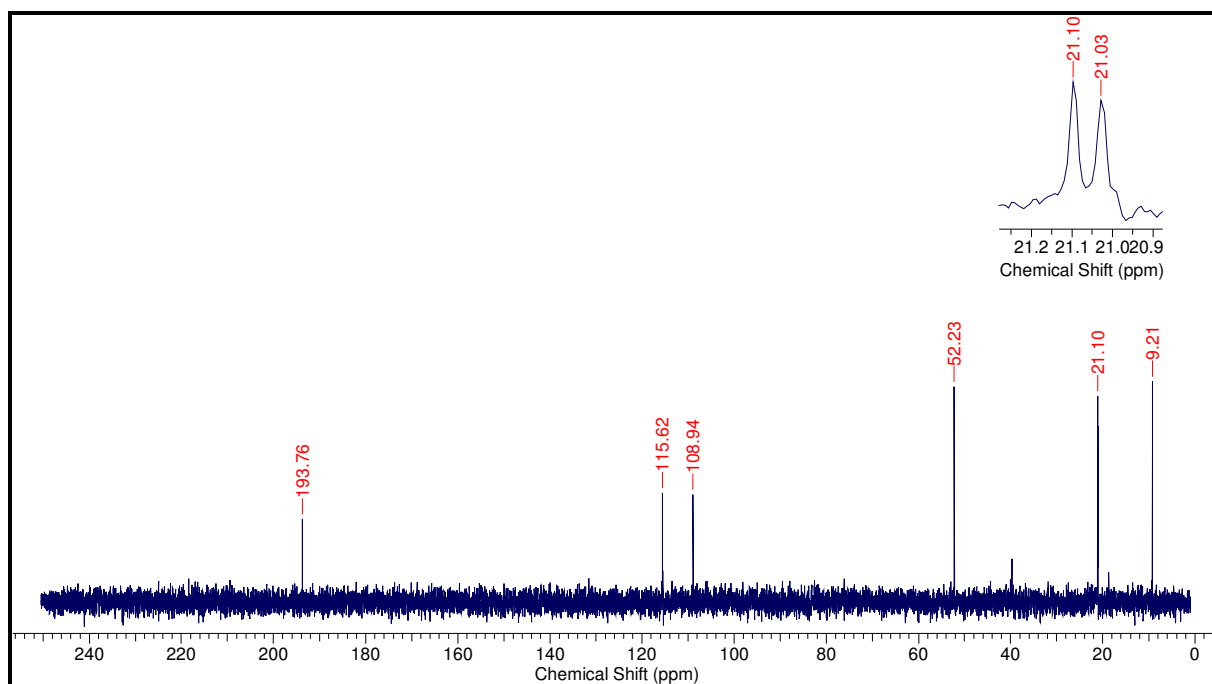


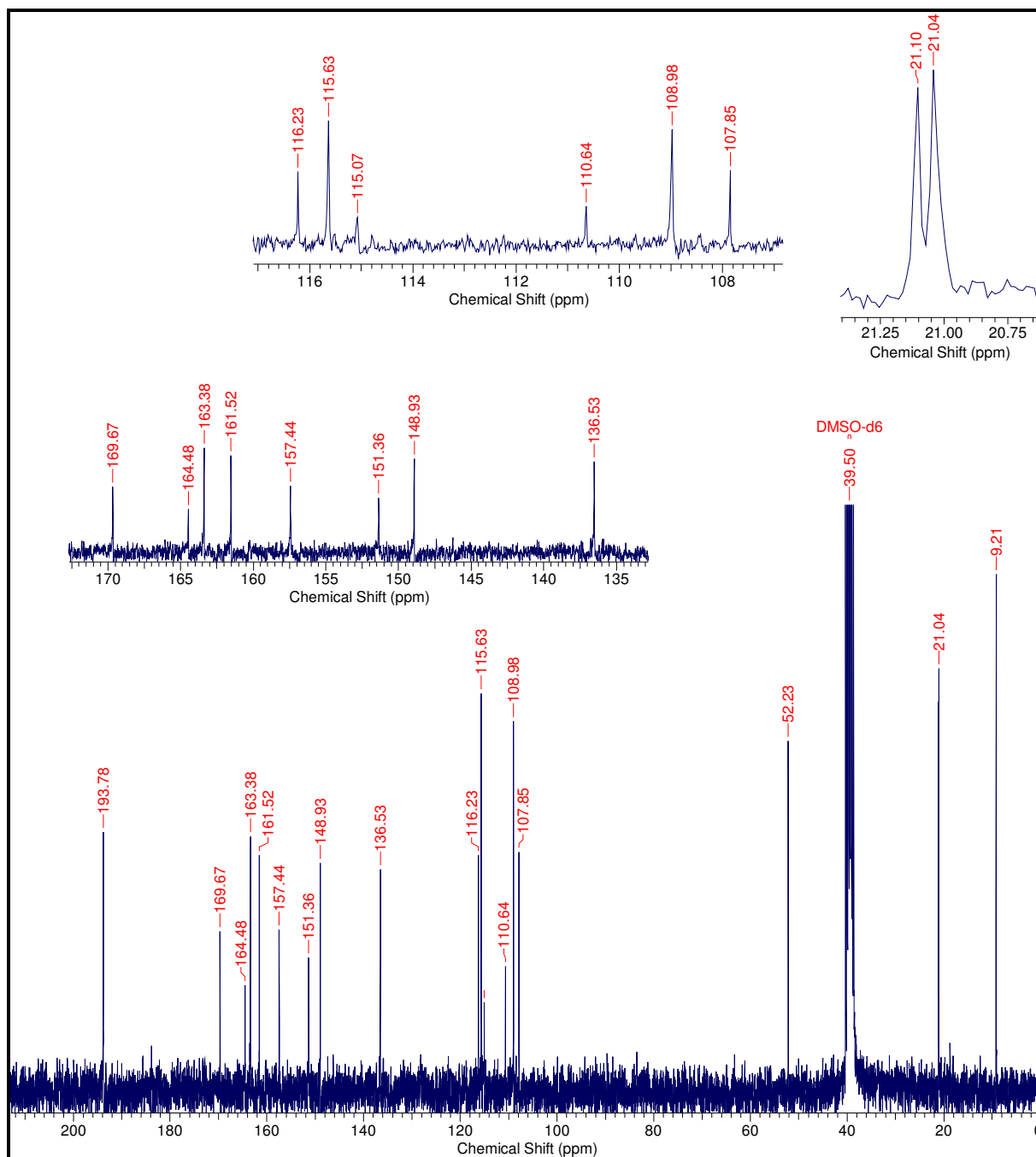
Figura 62 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H da **atranorina** (König & Wright, 1999, CDCl_3).



Espectro 78 - Espectro de RMN de ^1H da atranorina (DMSO-d₆).



Espectro 79 - Espectro de RMN de DEPT 135 da atranorina (DMSO-d₆).



Espectro 80 - Espectro de RMN de ^{13}C da atranorina (DMSO-d_6).

Tabela 26 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) da **atranorina** a partir de dados experimentais de RMN ^1H , ^{13}C e correlações observadas em RMN de gHSQC e gHMBC (DMSO- d_6).

Atranorina - Experimental			
DMSO-d_6, 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
δ ^{13}C (DEPT 135)*	C	gHSQC	gHMBC
193,8 (CH)	8	10,21	161,5/ 110,6
169,7	7'		
164,5	7		
163,4	4		
161,5	2		
157,4	2'		
151,4	4'		
148,9	6		
136,5	6'		
116,2	3'		
115,6 (CH)	5'	6,64	9,2/ 21,4/ 151,4/ 157,4/ 169,7
115,1	1'		
110,6	1		
109,0 (CH)	5	6,41	21,1/107,9/ 110,6/ 163,4/ 193,8
107,9	3		
52,2 (CH ₃)	COOCH ₃ (C7')	3,87	
21,1 (CH ₃)	9	2,39	109,0/ 110,6/ 148,9/ 161,5/ 163,4
21,0 (CH ₃)	9'	2,34	115,6/ 136,5/ 157,4
9,2 (CH ₃)	8'	2,03	116,2/ 136,5/ 151,4/ 157,4

*a mesma informação é obtida através da observação das fases (negativa ou positiva) no espectro (colorido) de RMN de gHSQC.

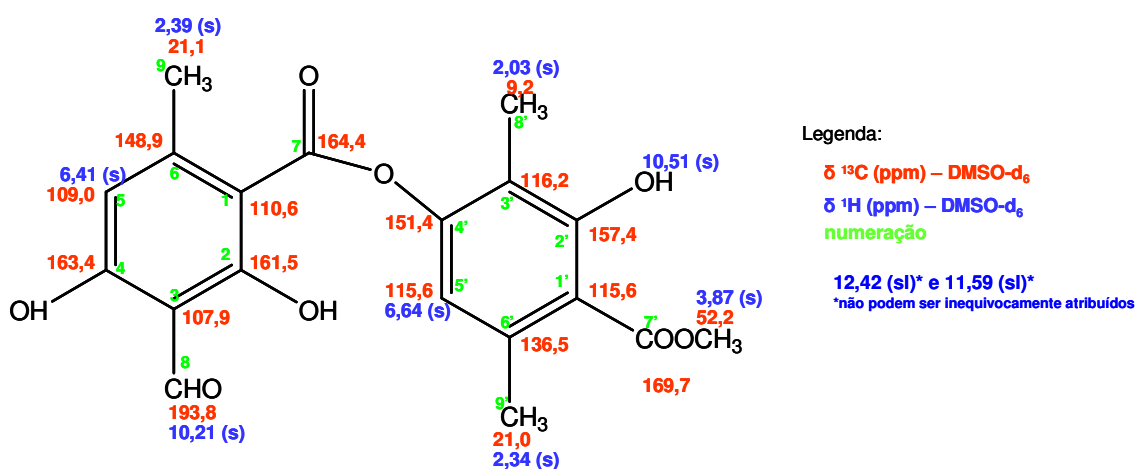
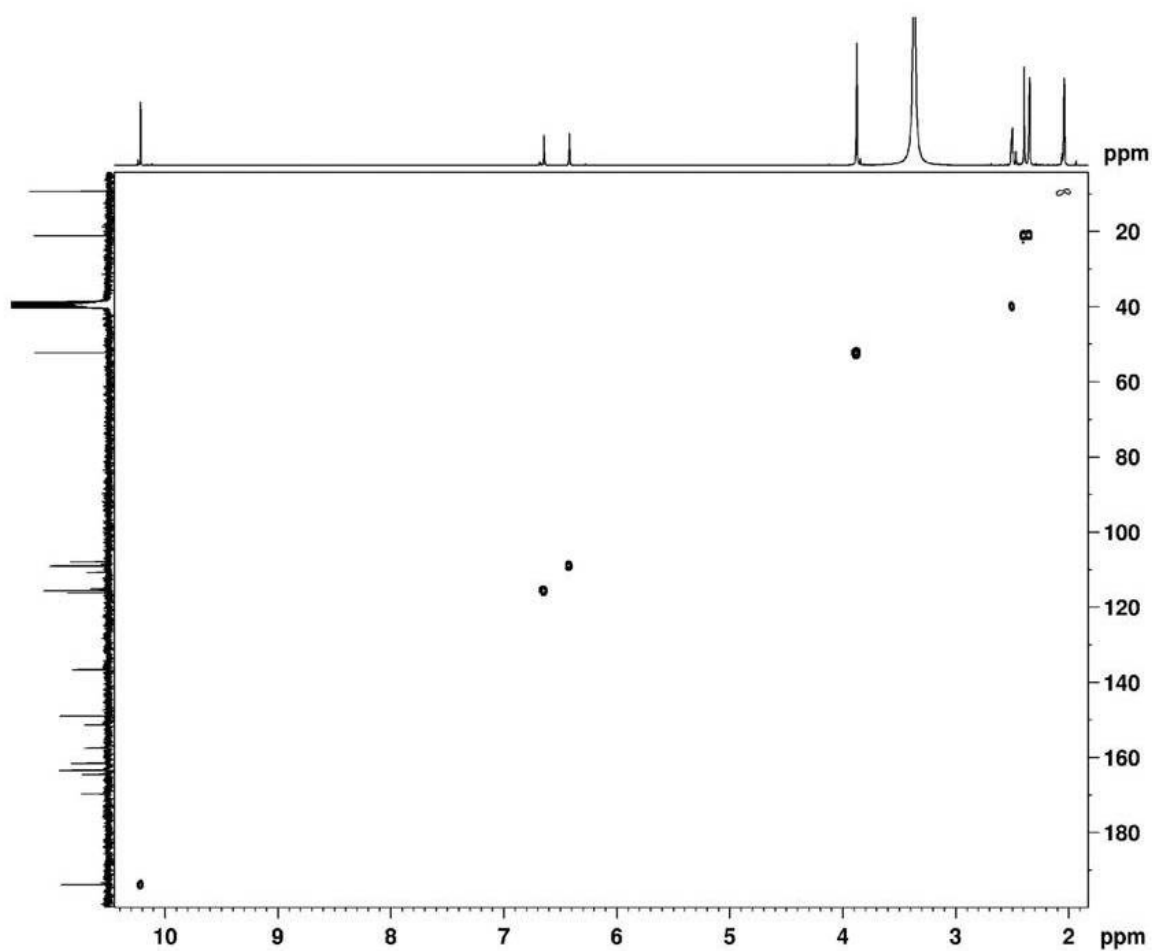
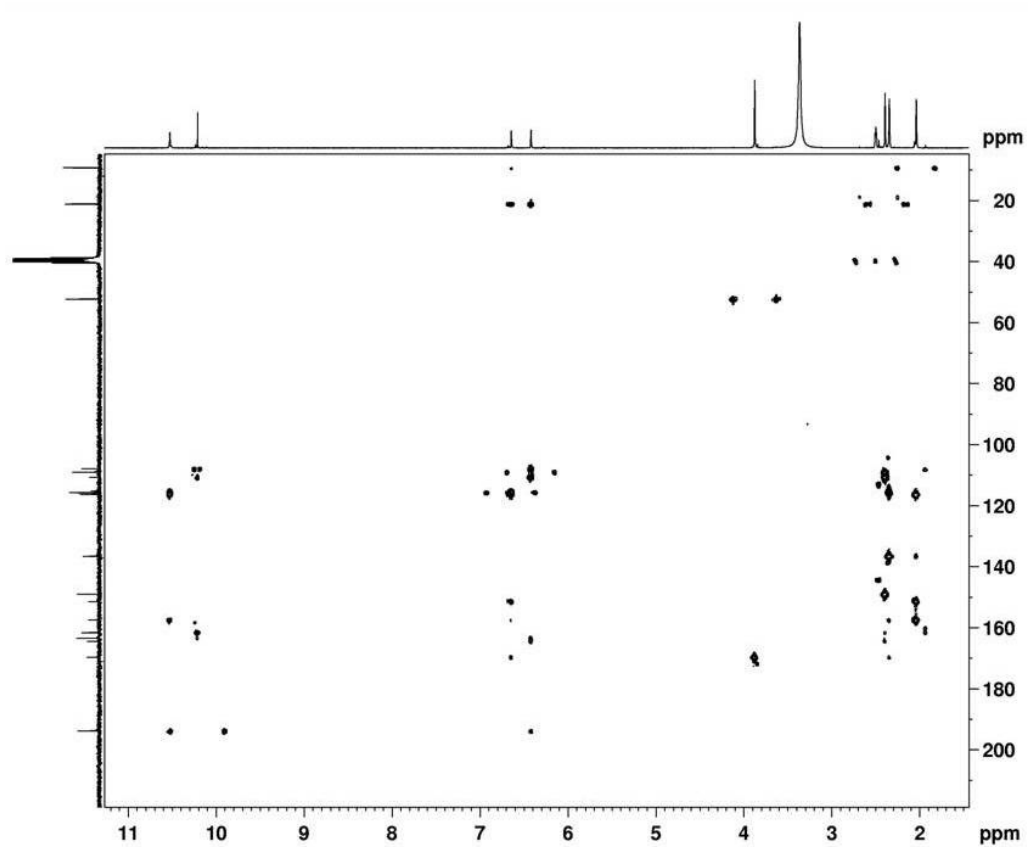


Figura 61 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H da **atranorina** (experimental, DMSO- d_6).



Espectro 81 - Espectro de RMN de gHSQC da atranorina (DMSO-d₆).



Espectro 82 - Espectro de RMN de gHMBC da atranorina (DMSO-d₆).

Ácido protocetrário

Solvente deuterado: DMSO-d₆ (experimental)

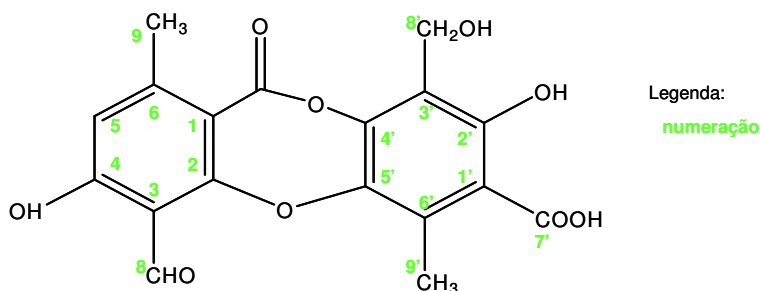
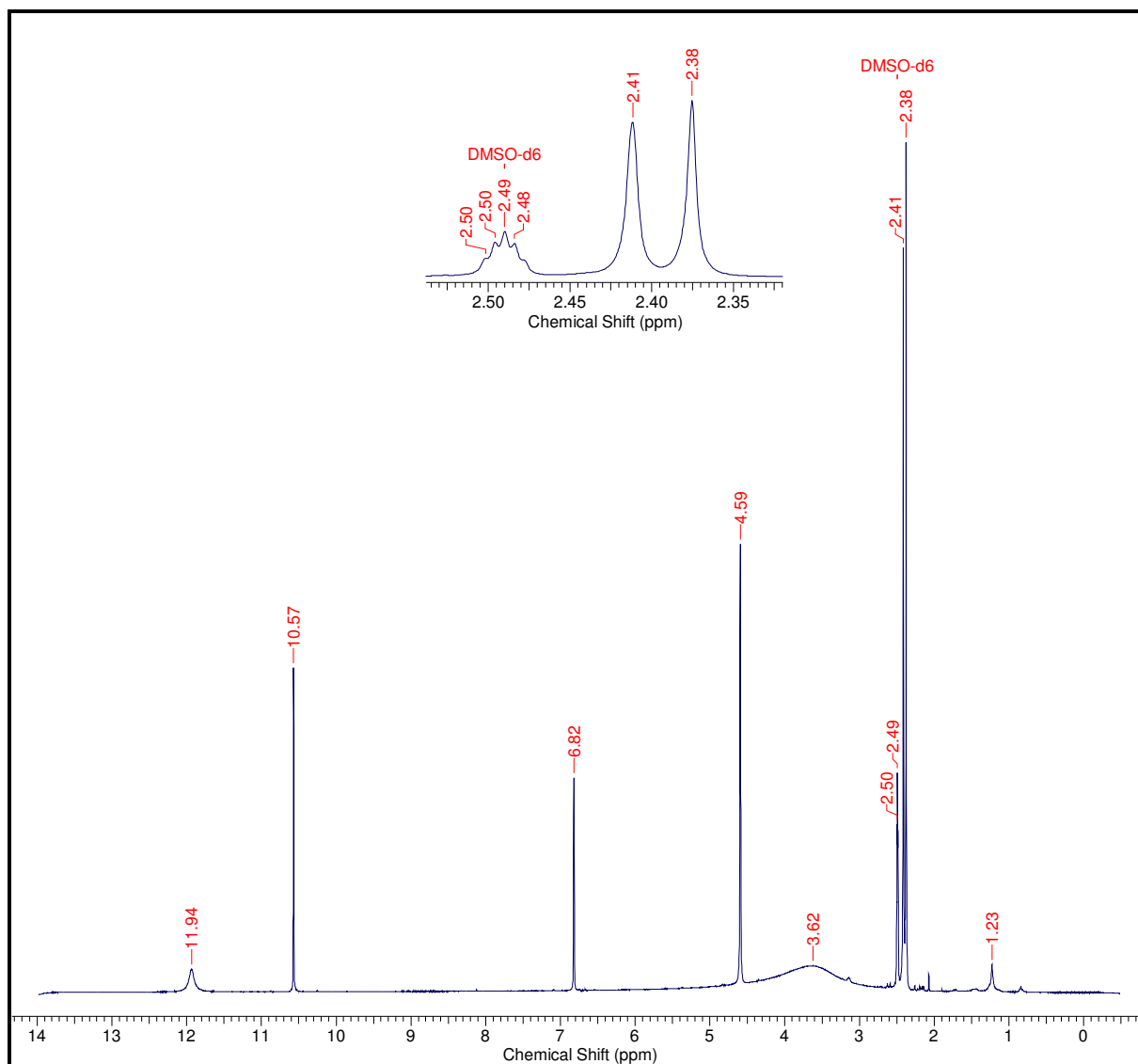


Tabela 27 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido protocetrário** a partir de dados experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C , gHSQC e gHMBC (DMSO-d₆).

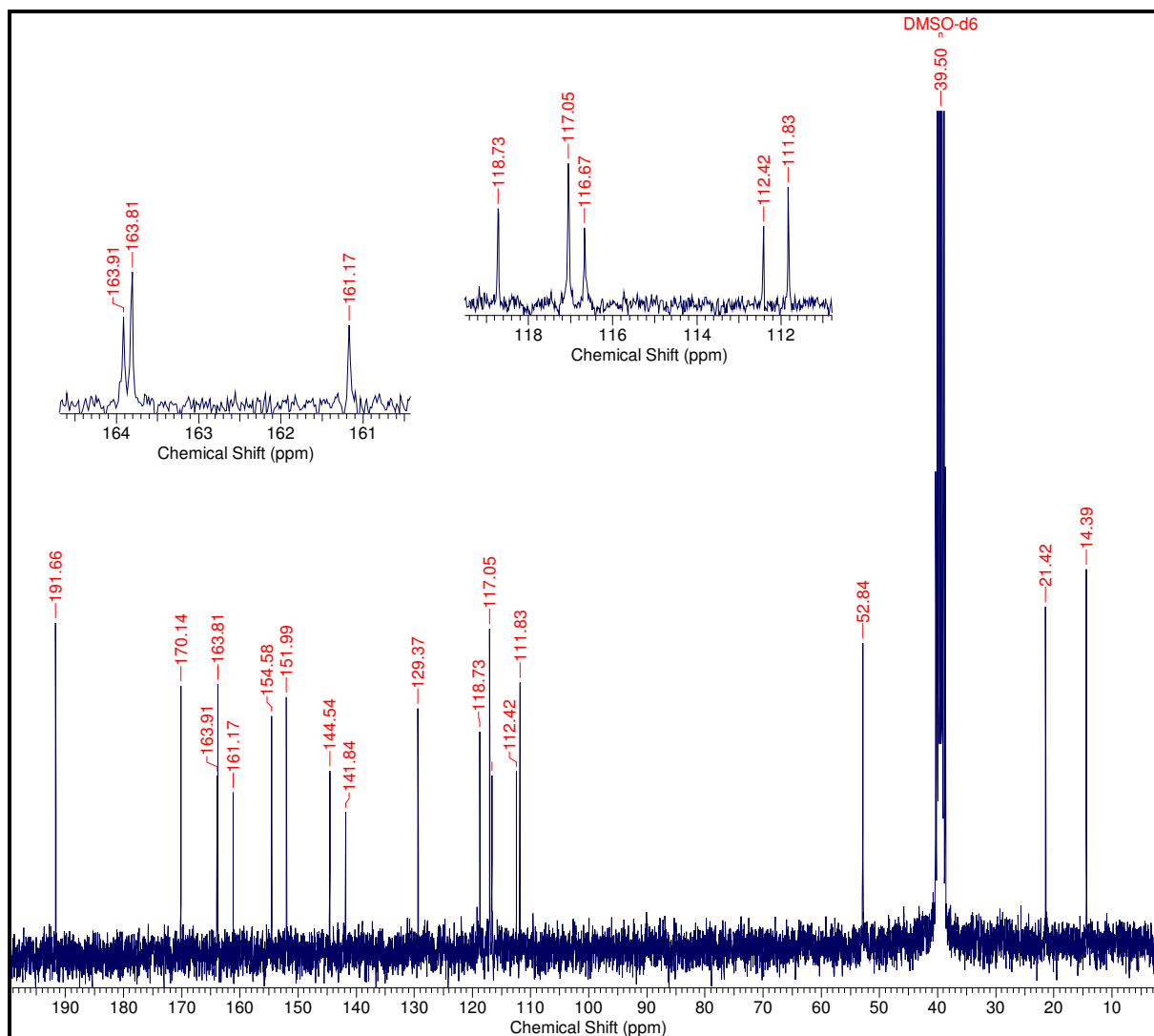
Ácido protocetrário - Experimental			
DMSO-d₆, 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
$\delta^{13}\text{C}$ (DEPT 135)*	C	$\delta^1\text{H}$ (multiplic)	H
191,7 (CH)	8	11,94 (sl)**	
170,1	7'	10,57 (s)	H(C8)
163,9	4	6,82 (s)	H(C5)
163,8	2	4,59 (s)	H(C8')
161,2	7	2,41 (s)	H(C9)
154,6	2'	2,38 (s)	H(C9')
152,0	6		
144,5	4'		
141,8	5'		
129,4	6'		
118,7	3'		
117,1 (CH)	5		
116,7	1'		
112,4	1		
111,8	3		
52,2 (CH ₂)	8'		
21,4 (CH ₃)	9		
14,4 (CH ₃)	9'		

*a mesma informação é obtida através da observação das fases (negativa ou positiva) no espectro (colorido) de RMN de gHSQC.

**Este sinal pode ser correspondente as duas hidroxilas ligadas à C4 e C2', ou a apenas uma delas. O sinal aparece alargado no espectro de RMN de ^1H devido à troca rápida com deutério. Não foi possível atribuir o sinal inequivocamente porque não foi observada nenhuma correlação desse sinal no espectro de RMN de gHMBC.



Espectro 83 - Espectro de RMN de ^1H do ácido protocetrário (DMSO-d_6).



Espectro 84 - Espectro de RMN de ^{13}C do ácido protocetrárico (DMSO-d_6).

Tabela 28 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido protocetrárico** a partir de dados experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C e correlações observadas em RMN de gHSQC e gHMBC (DMSO- d_6).

Ácido protocetrárico - Experimental			
DMSO-d_6, 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
δ ^{13}C (DEPT 135)*	C	gHSQC	gHMBC
191,7 (CH)	8	10,57	111,8/ 117,1/ 163,8
170,1	7'		
163,9	4		
163,8	2		
161,2	7		
154,6	2'		
152,0	6		
144,5	4'		
141,8	5'		
129,4	6'		
118,7	3'		
117,1 (CH)	5	6,82	21,4/ 111,8/ 112,4/ 163,9/ 161,2
116,7	1'		
112,4	1		
111,8	3		
52,2 (CH_2)	8	4,59	118,7/ 144,5/ 154,6
21,4 (CH_3)	9	2,41	112,4/ 117,1/ 152,0/ 161,2/ 163,9
14,4 (CH_3)	9'	2,38	116,7/ 129,4/ 141,8/ 118,7/ 144,5/ 154,6

*a mesma informação é obtida através da observação das fases (negativa ou positiva) no espectro (colorido) de RMN de gHSQC.

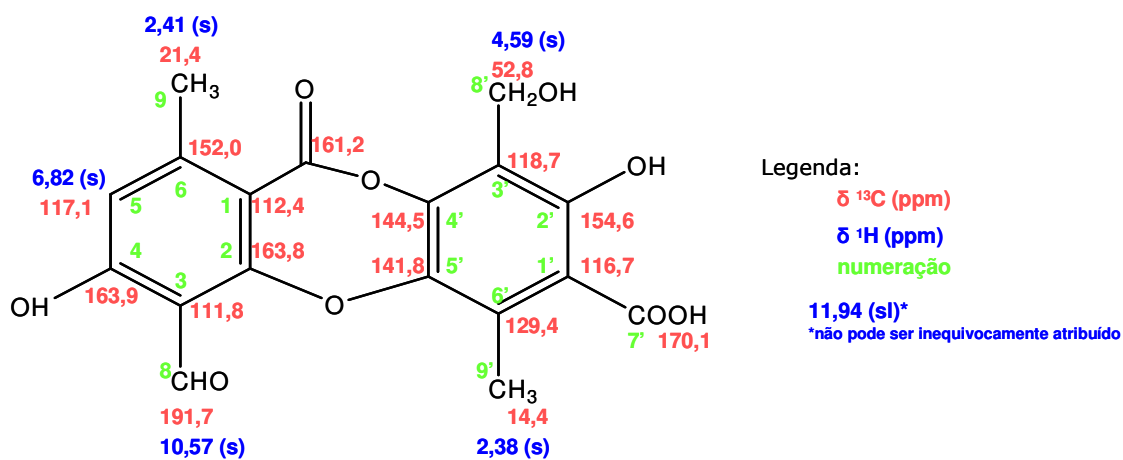
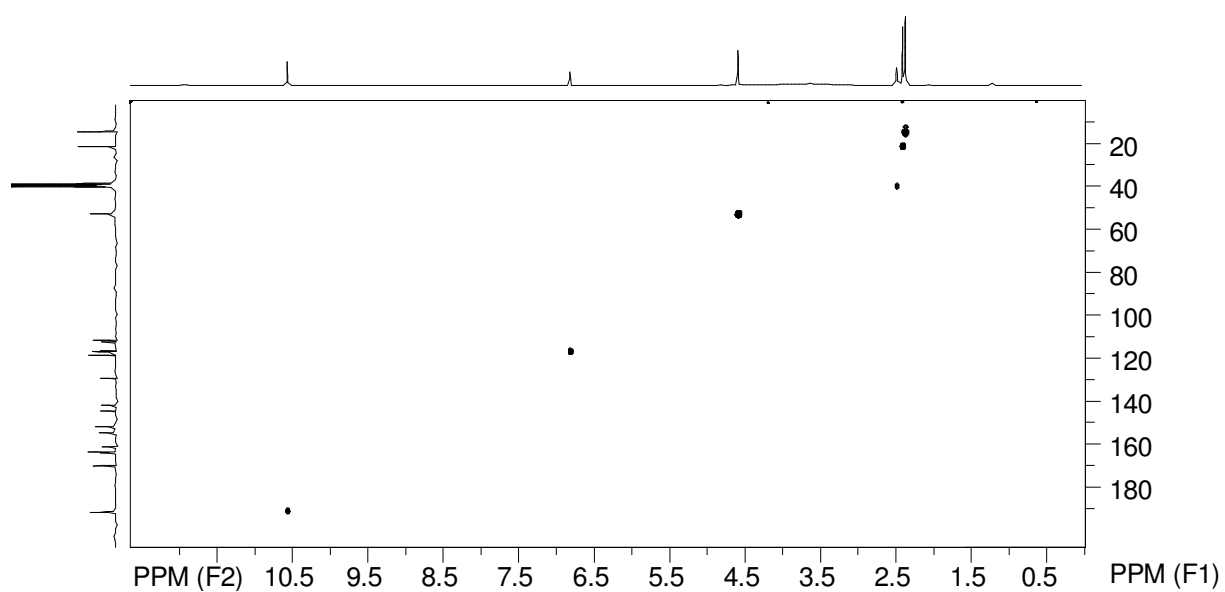
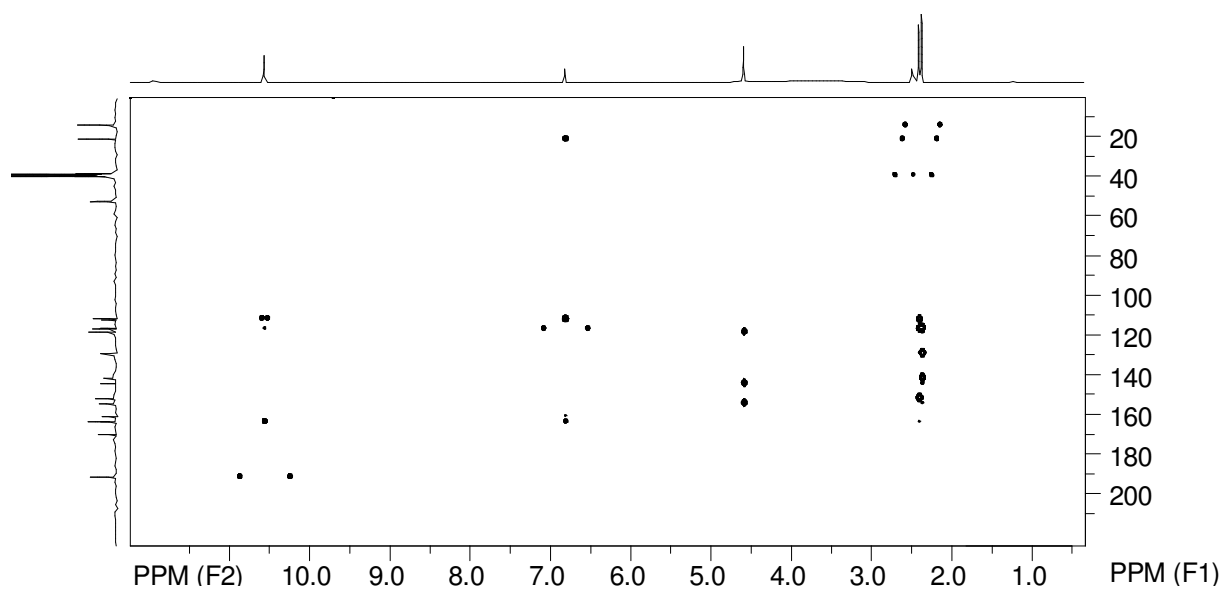


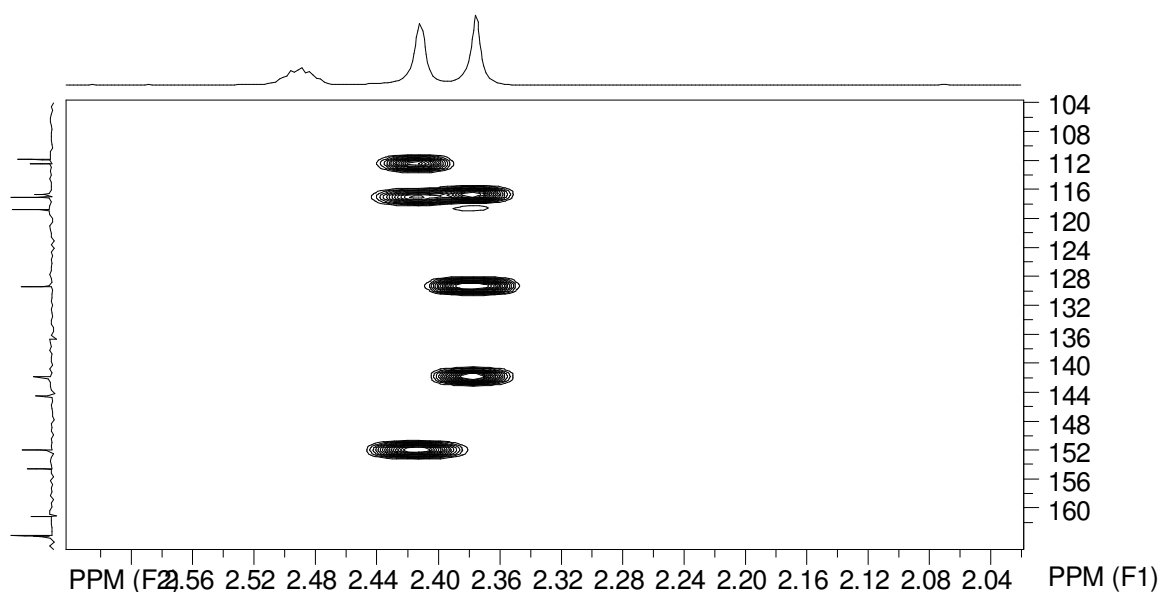
Figura 63 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do **ácido protocetrárico** (experimental, DMSO- d_6).



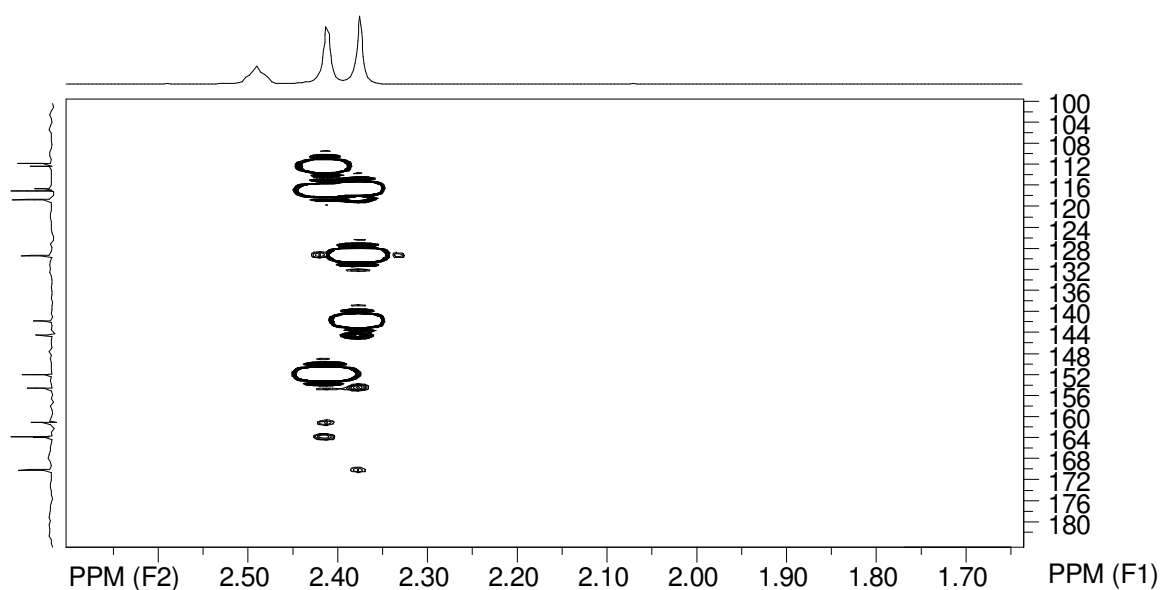
Espectro 85 - Espectro de RMN de gHSQC do ácido protocetrário (DMSO-d₆).



Espectro 86 - Espectro de RMN de gHMBC do ácido protocetrário (DMSO-d₆).



Espectro 87* – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido protocetrário (DMSO- d_6) – corte mais raso (visualização de correlações a J3 e J2 ligações).



Espectro 88* – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido protocetrário (DMSO- d_6) – corte mais profundo (visualização de correlações a J2, J3, J4 e J5 ligações).

*Ampliações importantes para visualização das correlações referentes aos hidrogênios ligados aos carbonos C9 e C9' (2,41 e 2,38 ppm, respectivamente).

2,41 (H-C9) se correlacionando com C1 (112,4 - J3)/ C5 (117,1 - J3)/ C6 (152,0 - J2)/ C7 (161,2 - J4) e C2 (163,9 - J4)

2,38 (H-C9') se correlacionando com C1' (116,7 - J3)/ C6' (129,4 - J2)/ C5' (141,8 - J3)/ C4' (144,5 - J4)/ C2' (154,6 - J4) e C3' (118,7 - J5)

Ácido norstítico

Solvente deuterado: DMSO-d₆ (experimental)

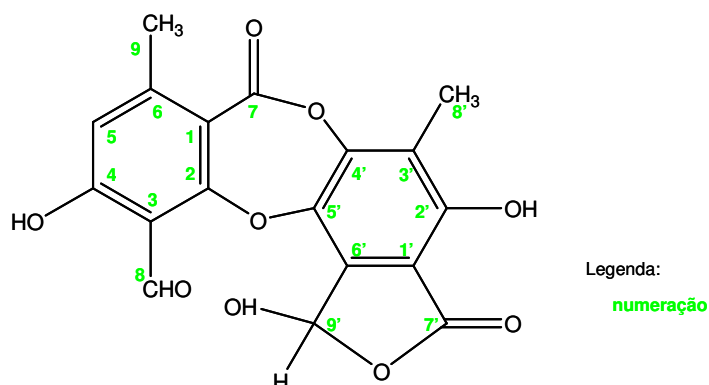
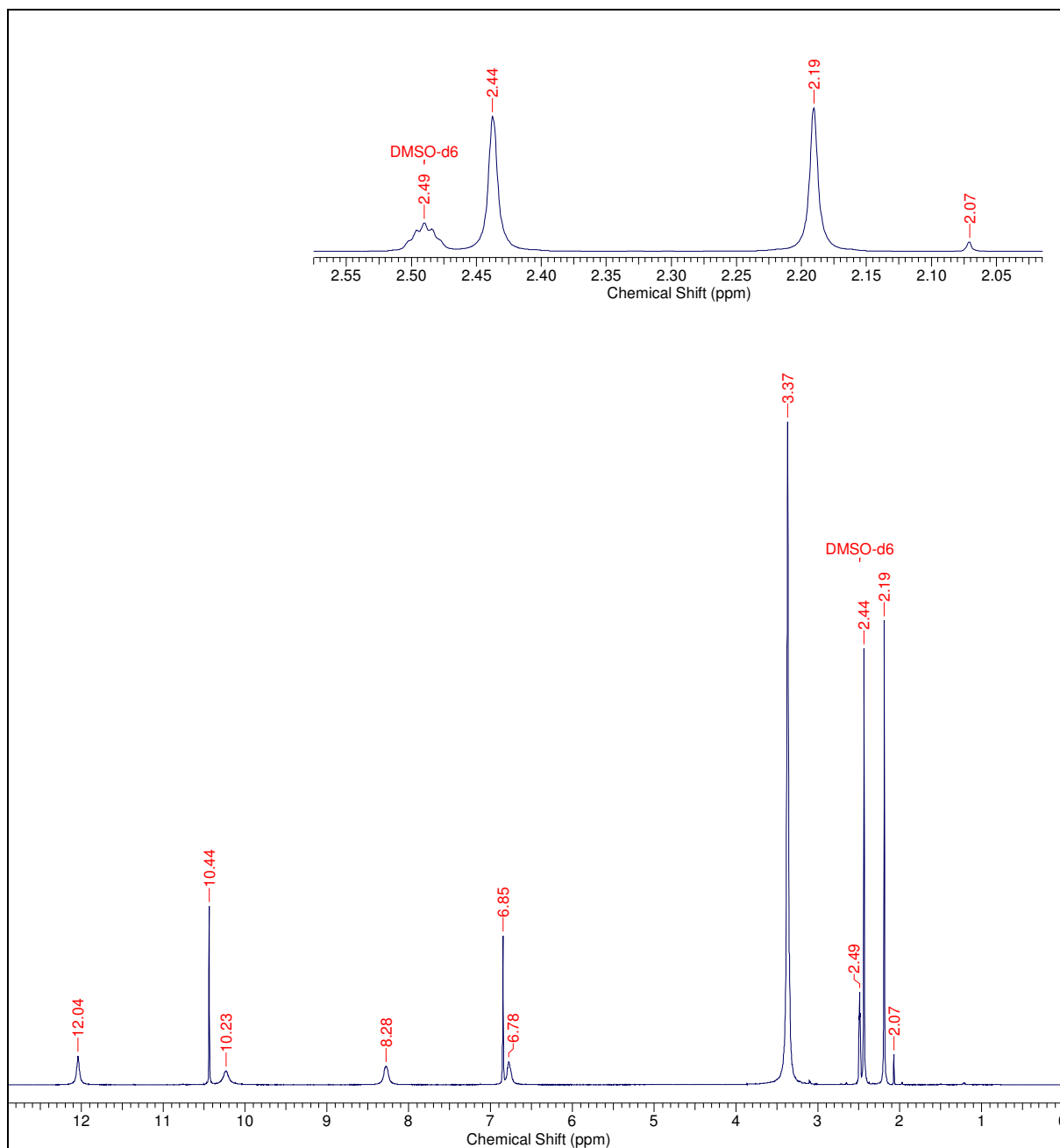


Tabela 29 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido norstítico** a partir de dados experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C , gHSQC e gHMBC (DMSO-d₆).

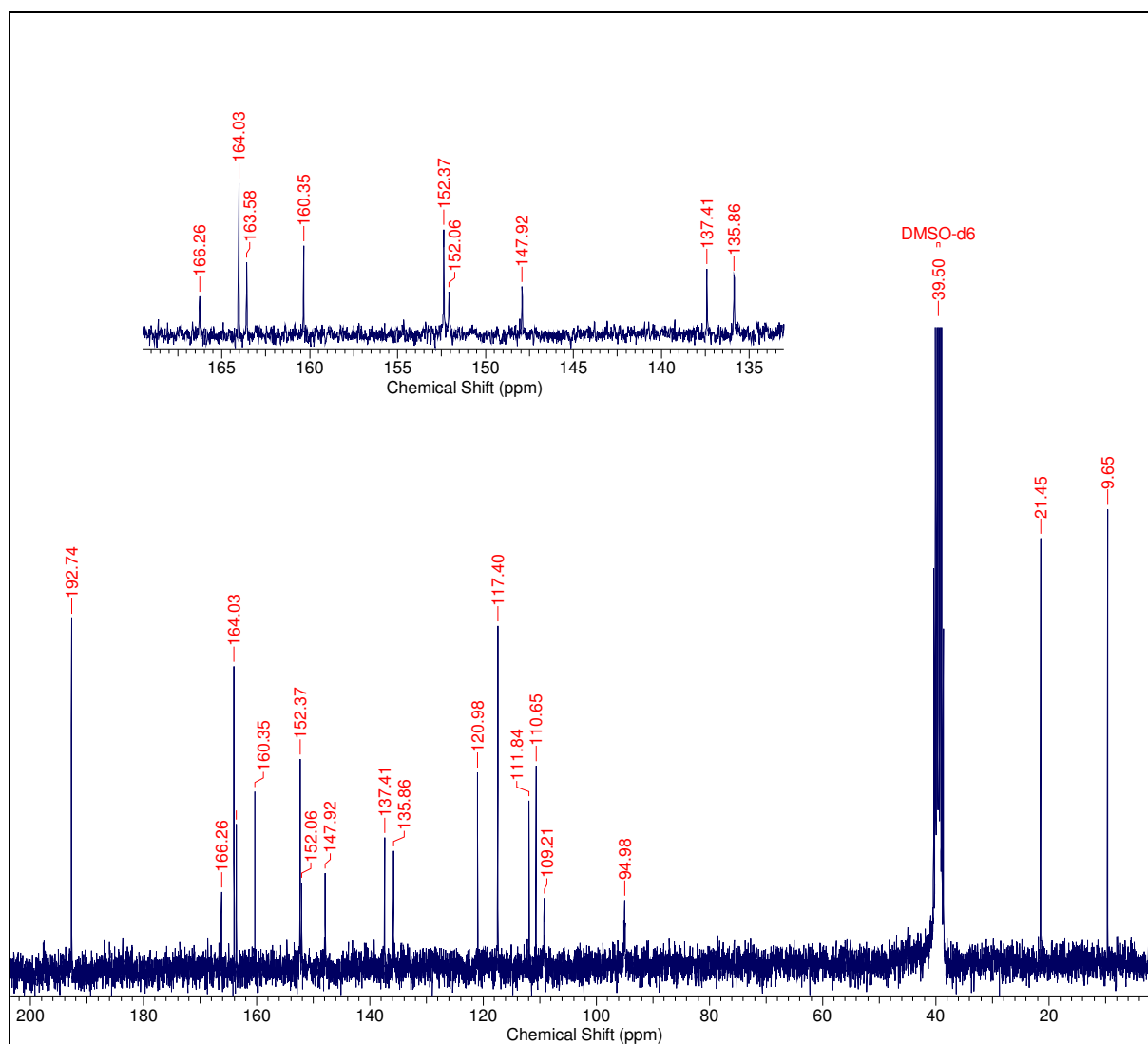
Ácido norstítico - Experimental			
DMSO-d₆, 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
δ ^{13}C (DEPT 135)*	C	δ ^1H (multiplic)	H
192,7 (CH)	8	12,04 (sl)**	
166,3	7'	10,44 (s)	H(C8)
164,0	4	10,23 (sl) **	
163,6	2	8,28 (sl)	OH(C9')
160,3	7	6,85 (s)	H(C5)
152,4	6	6,78 (sl)	H(C9')
152,1	2'	2,44 (s)	H(C9)
147,9	4'	2,19 (s)	H(C8')
137,4	5'		
135,9	6'		
120,1	8'		
117,4 (CH)	5		
111,8	1		
110,7	3		
109,2	1'		
95,0 (CH)	9		
21,5 (CH ₃)	9'		
9,6 (CH ₃)	8'		

*a mesma informação é obtida através da observação das fases (negativa ou positiva) no espectro (colorido) de RMN de gHSQC.

**Estes sinais podem ser correspondentes as duas hidroxilas ligadas a C4 e C2'. O sinal aparece alargado no espectro de RMN ^1H devido à troca rápida com deutério. Não foi possível atribuí-los inequivocamente porque não foi observada nenhuma correlação dos mesmos no espectro de RMN de gHMBC.



Espectro 89 - Espectro de RMN de ^1H do ácido norstístico (DMSO-d_6).



Espectro 90 - Espectro de RMN de ^{13}C do ácido norstictico (DMSO-d_6).

Tabela 30 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido norstítico** a partir de dados experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C e correlações observadas em RMN de gHSQC e gHMBC.

Ácido norstítico - Experimental			
DMSO-d_6, 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
δ ^{13}C (DEPT 135)*	C	gHSQC	gHMBC
192,7 (CH)	8	10,44	110,7/ 117,4/ 164,0
166,3	7'		
164,0	4		
163,6	2		
160,3	7		
152,4	6		
152,1	2'		
147,9	4'		
137,4	5'		
135,9	6'		
120,1	8'		
117,4 (CH)	5	6,85	21,5/ 111,8/ 160,3/ 164,0
111,8	1		
110,7	3		
109,2	1'		
95,0 (CH)	9	6,78	
21,5 (CH_3)	9'	2,44	111,8/ 117,4/ 152,4/ 160,3/ 163,6
9,6 (CH_3)	8'	2,19	109,2/ 121,0/ 147,9/ 152,1

*a mesma informação é obtida através da observação das fases (negativa ou positiva) no espectro (colorido) de RMN de gHSQC.

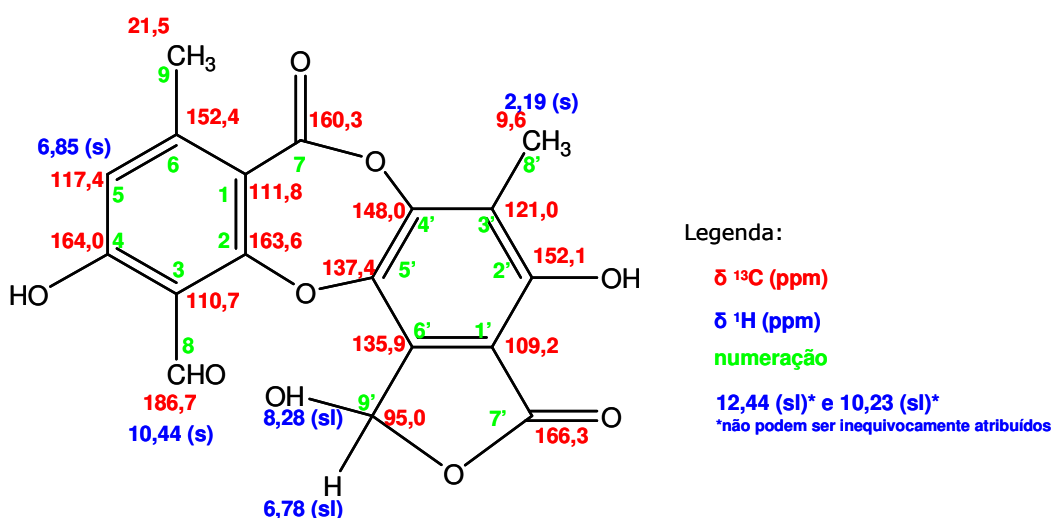
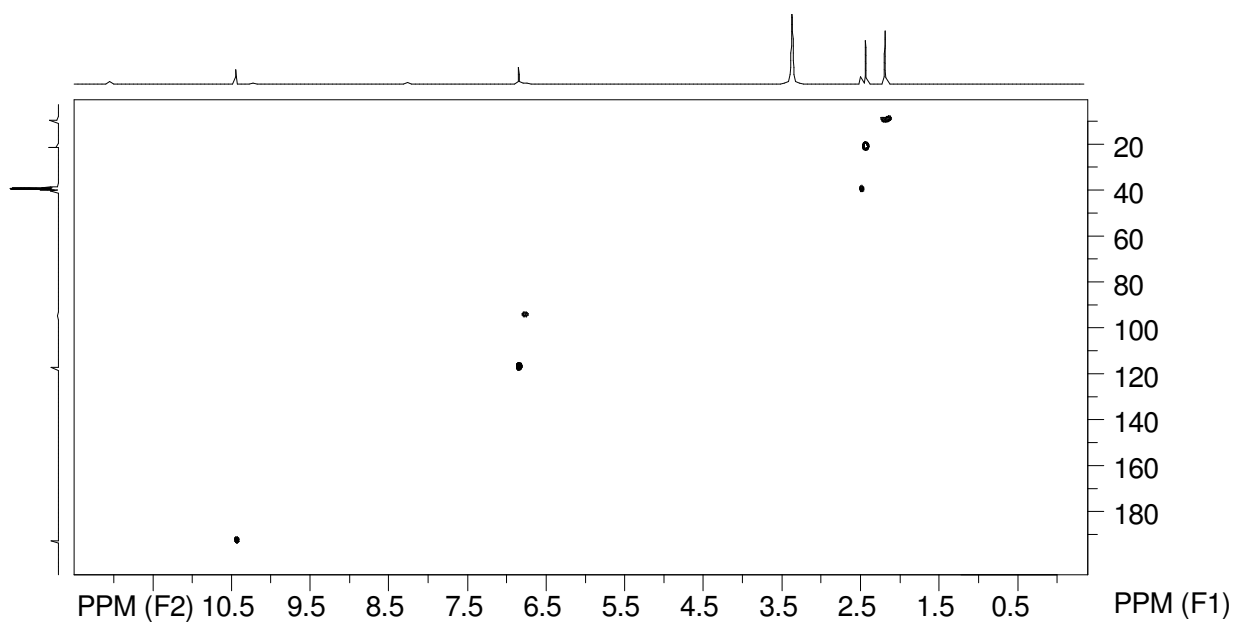
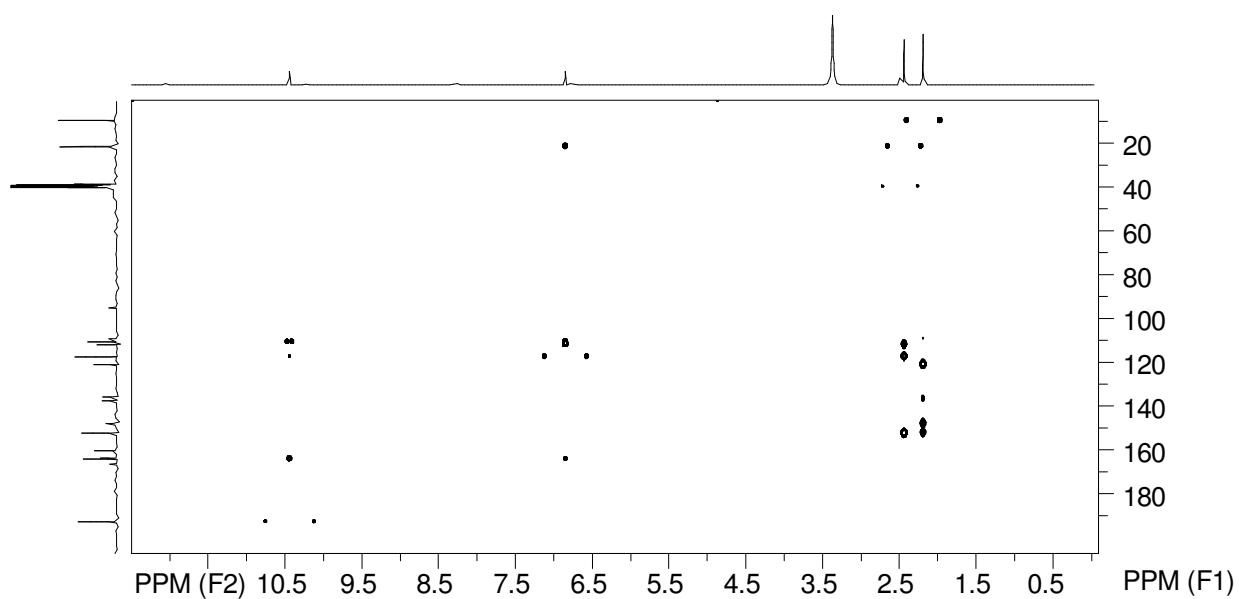


Figura 64 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do **ácido norstítico** (experimental, DMSO- d_6).



Espectro 91 - Espectro de RMN de gHSQC do ácido norstítico (DMSO-d₆).



Espectro 92 - Espectro de RMN de gHMBC do ácido norstítico (DMSO-d₆).

Ácido difractáico

Solvente deuterado: CDCl_3 (experimental)

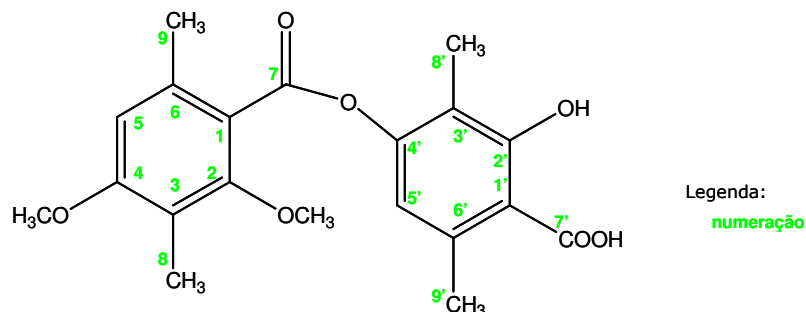
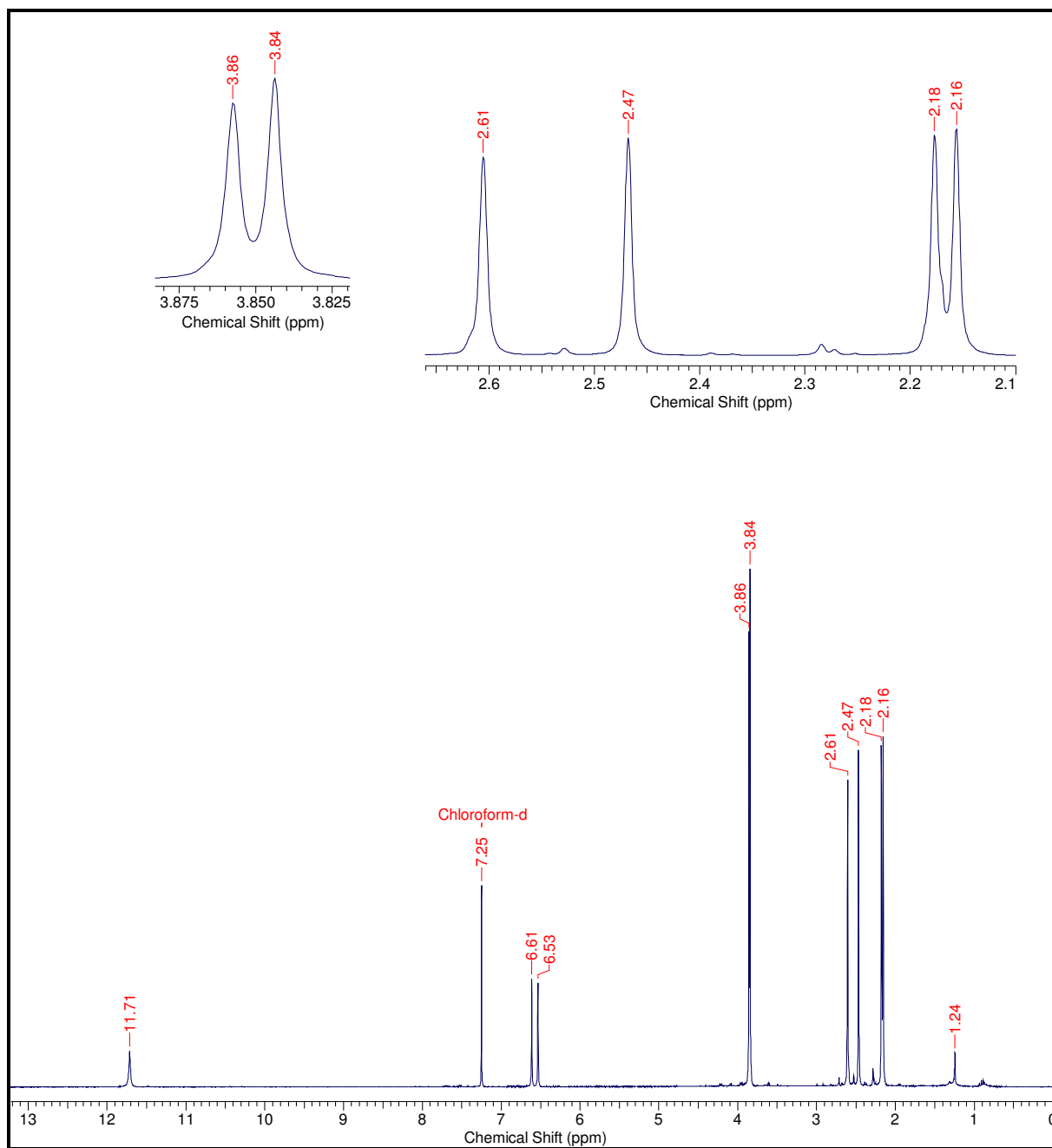


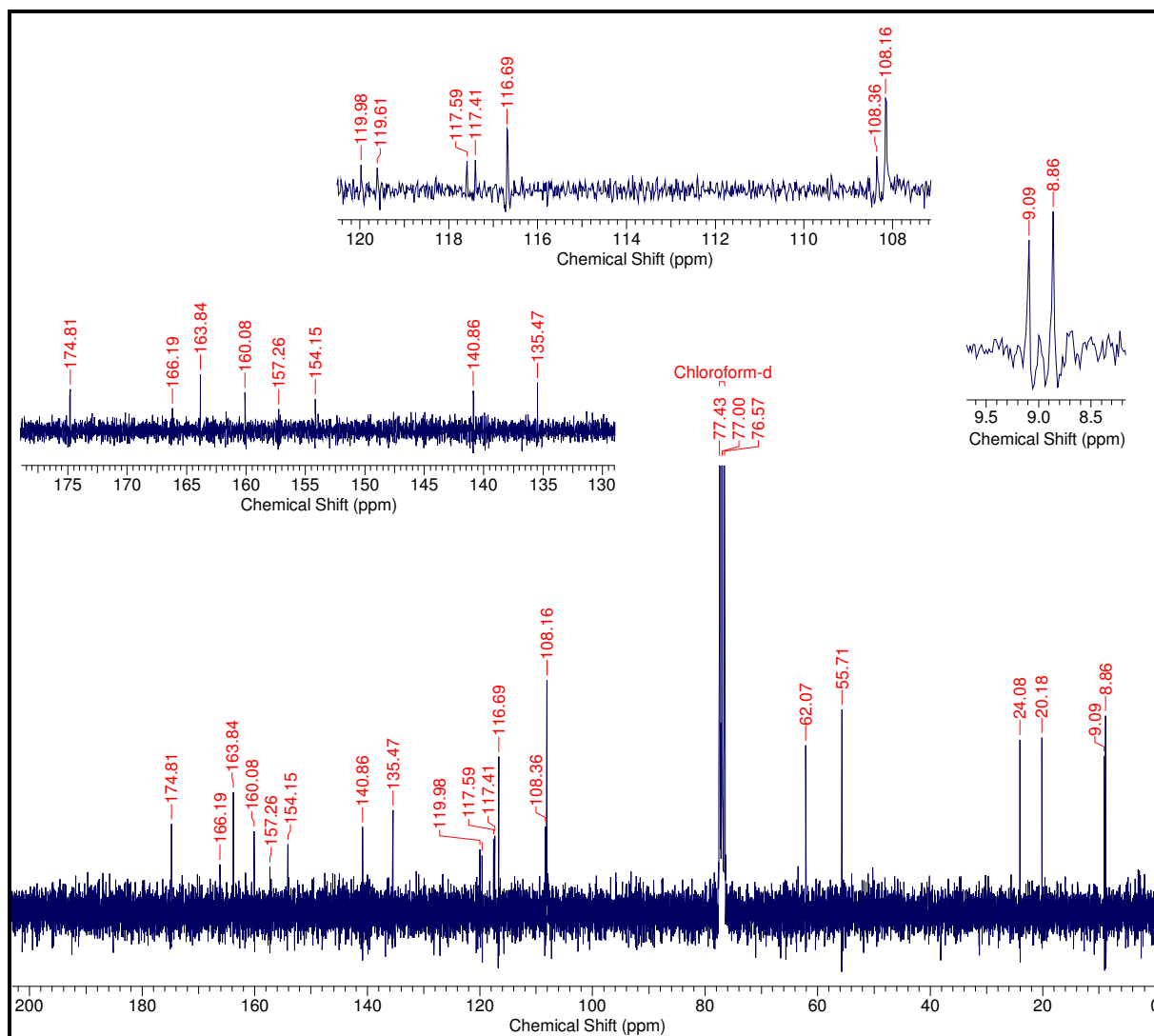
Tabela 31 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido difractáico** a partir de dados experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C , gHSQC e gHMBC.

Ácido difractáico - Experimental			
CDCl_3, 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
$\delta^{13}\text{C}$ (DEPT 135)*	C	$\delta^1\text{H}$ (multiplic)	H
174,8	7'	11,71 (sl)	OH(C2')
166,2	7	6,61 (s)	H(C5')
163,8	2'	6,53 (s)	H(C5)
160,1	4	3,86 (s)	$\text{OCH}_3(\text{C4})$
157,3	2	3,84 (s)	$\text{OCH}_3(\text{C2})$
154,2	4'	2,61 (s)	H(C9')
140,9	6'	2,47 (s)	H(C9)
135,5	6	2,18 (s)	H(C8)
119,6	1	2,16 (s)	H(C8')
117,6	3	1,24 (s)	
117,4	3'		
116,7 (CH)	5'		
108,4	1'		
108,2 (CH)	5		
62,1 (CH_3)	$\text{OCH}_3(\text{C2})$		
55,7 (CH_3)	$\text{OCH}_3(\text{C4})$		
24,1 (CH_3)	9'		
20,2 (CH_3)	9		
9,1 (CH_3)	8'		
8,9 (CH_3)	8		

*a mesma informação é obtida através da observação das fases (negativa ou positiva) no espectro (colorido) de RMN de gHSQC.



Espectro 93 - Espectro de RMN de ^1H do ácido difractáico (CDCl_3).



Espectro 94 - Espectro de RMN de ^{13}C do ácido difractáico (CDCl_3).

Tabela 32 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido difractáico** a partir de dados experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C e correlações observadas em RMN de gHSQC e gHMBC.

Ácido difractáico - Experimental			
CDCl_3, 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
$\delta^{13}\text{C}$ (DEPT 135)*	C	gHSQC	gHMBC
174,8	7'		
166,2	7		
163,8	2'		
160,1	4		
157,3	2		
154,2	4'		
140,9	6'		
135,5	6		
119,6	1		
117,6	3		
117,4	3'		
116,7 (CH)	5'	6,61	24,1/ 108,4/ 117,4/ 154,2
108,4	1'		
108,2 (CH)	5	6,53	20,2/ 119,6/ 117,6/ 166,2/ 160,1
62,1 (CH_3)	$\text{OCH}_3(\text{C}2)$	3,84	157,3
55,7 (CH_3)	$\text{OCH}_3(\text{C}4)$	3,86	160,1
24,1 (CH_3)	9'	2,61	140,9/ 116,7/ 108,4
20,2 (CH_3)	9	2,47	108,2/ 119,6/ 135,5
9,1 (CH_3)	8'	2,18	117,4/ 154,2/ 163,8
8,9 (CH_3)	8	2,16	117,6/ 157,3/ 160,1
---	---	$\text{OH}(\text{C}2') =$ 11,71**	108,4/ 117,4/ 163,8

*a mesma informação é obtida através da observação das fases (negativa ou positiva) no espectro (colorido) de RMN de gHSQC.

**este sinal apresenta correlações apenas no espectro de RMN de gHMBC.

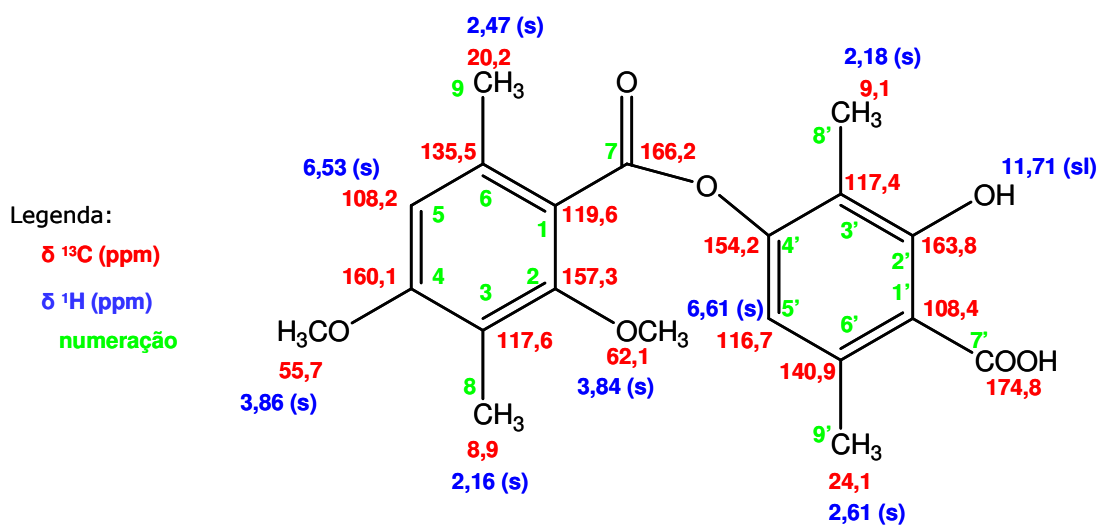
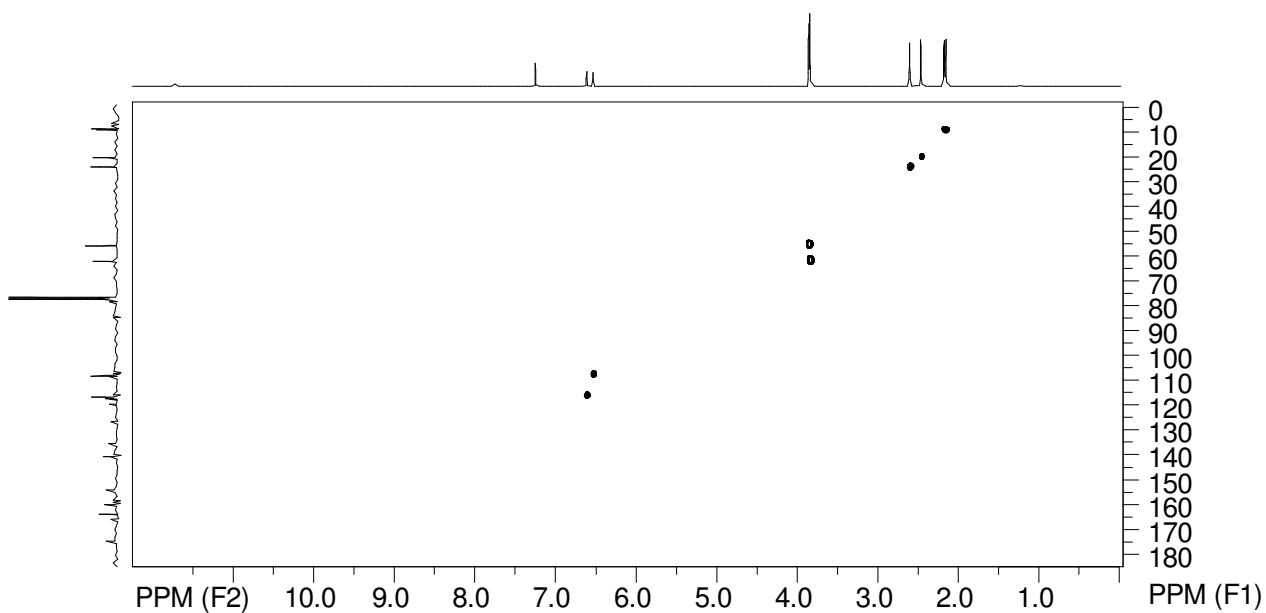
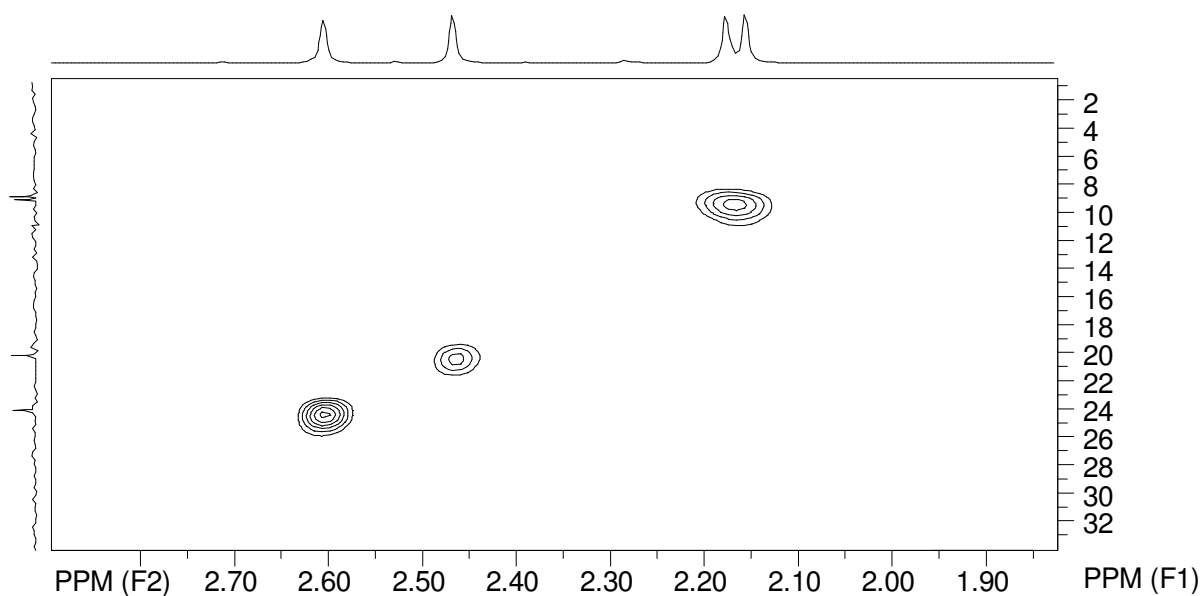


Figura 65 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do **ácido difractáico** (CDCl_3).



Espectro 95 - Espectro de RMN de gHSQC do ácido difractáico (CDCl_3).



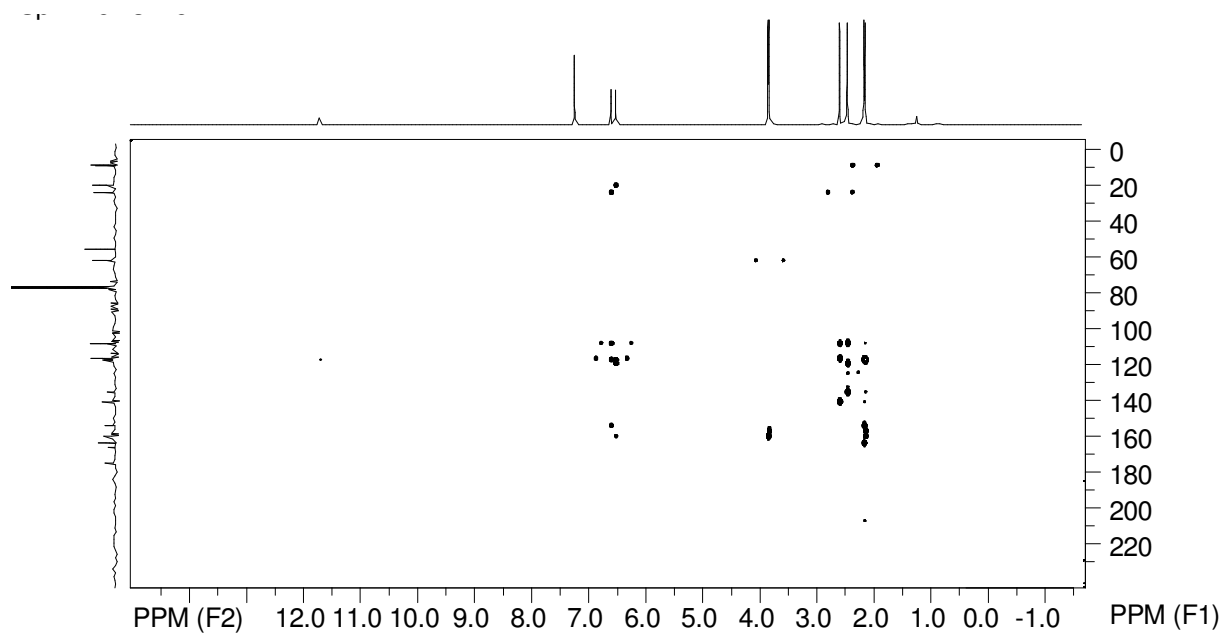
Espectro 96* - Ampliação do espectro de RMN de gHSQC do ácido difractáico (CDCl_3).

*Ampliação importante para visualização das correlações referentes aos hidrogênios ligados aos carbonos C9 e C9' (2,47 e 2,61 ppm, respectivamente).

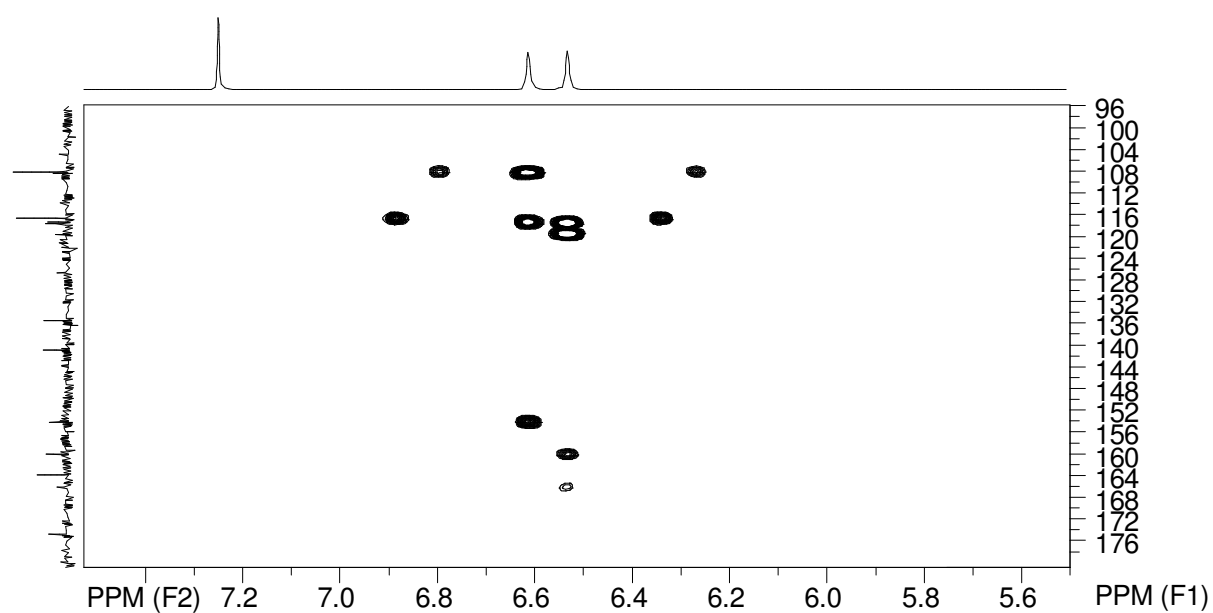
2,47 (H-C9) se correlacionando com C9 (20,2)

2,61 (H-C9') se correlacionando com C9' (24,1)

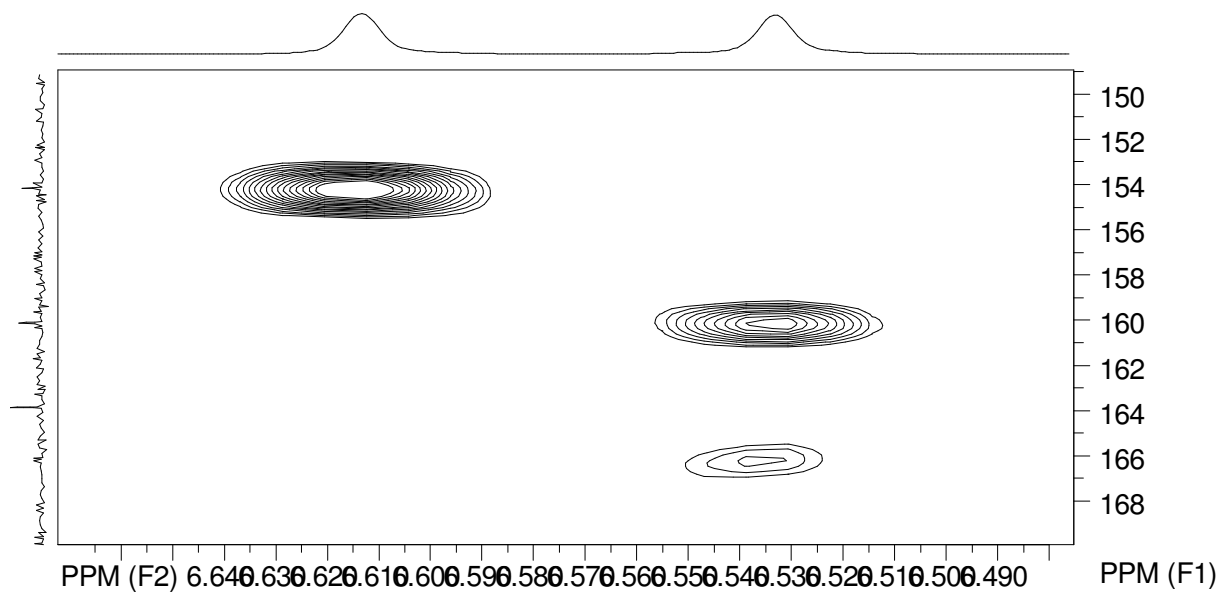
2,16 e 2,18 (H-C8 e H-C8', respectivamente) foram melhor atribuídos através do espectro de RMN de gHMBC.



Espectro 97 - Espectro de RMN de gHMBC do ácido difractáico (CDCl_3).



Espectro 98** – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido difractáico (CDCl_3) – região dos hidrogênios aromáticos.

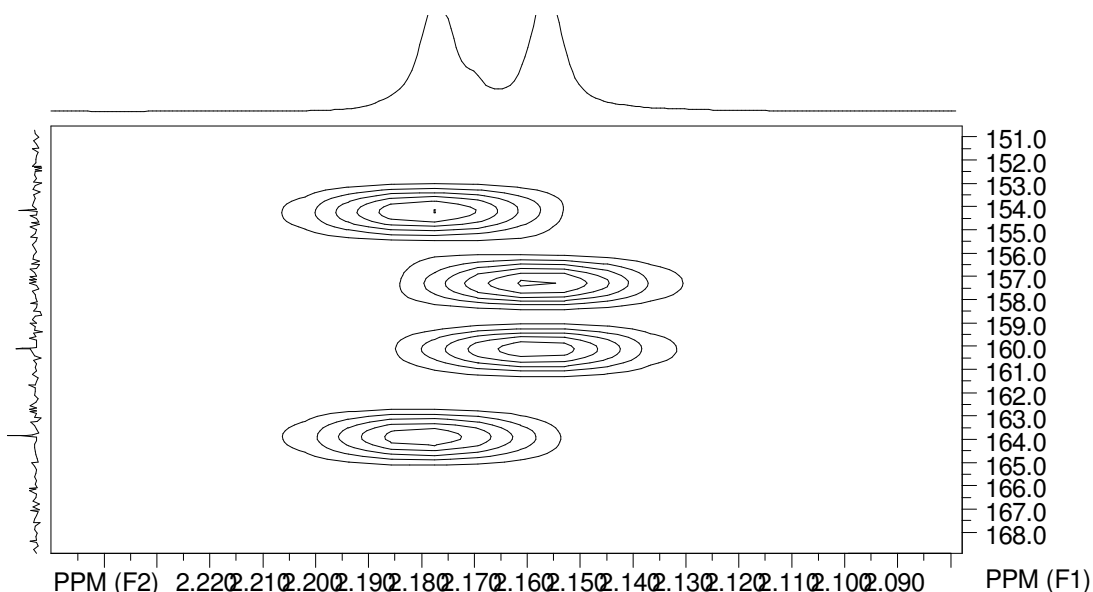


Espectro 99** – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido difractáico (CDCl_3) – região dos hidrogênios aromáticos.

**Ampliações importantes para visualização das correlações referentes aos hidrogênios ligados aos carbonos C5 e C5' (6,53 e 6,61 ppm, respectivamente).

6,53 (H-C5) se correlacionando com C3 (117,6 - J3)/ C1 (119,6 - J3)/ C4 (160,1 - J2)/ C7 (166,2 - J4)

2,61 (H-C5') se correlacionando com C1' (108,4 - J3)/ C3' (117,4 - J3)/ C4' (154,2 - J2)

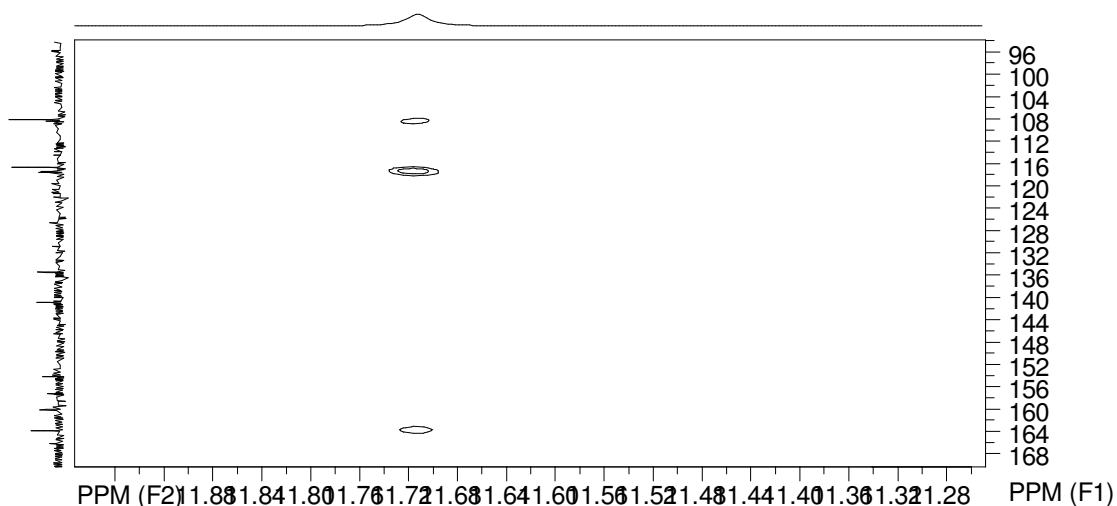


Espectro 100*** – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido difractáico (CDCl_3) – região dos hidrogênios com δ 2,16 e 2,18 ppm.

***Ampliação importante para visualização das correlações referentes aos hidrogênios ligados aos carbonos C8 e C8' (2,16 e 2,18 ppm, respectivamente).

2,16 (H-C8) se correlacionando com C2 (157,3 - J3)/ C4 (160,1 - J3)

2,61 (H-C8') se correlacionando com C4' (154,2 - J3)/ C2' (163,8 - J3)



Espectro 101**** – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido difractáico (CDCl_3), na região de $\delta^1\text{H}$ de aproximadamente 11 ppm – corte fundo.

***Ampliação importantes para visualização das correlações referentes ao hidrogênio de hidroxila ligados aos carbonos C2' (em 11,71 ppm).

11,71 (OH-C2') se correlacionando com C1' (108,4 - J3)/ C3' (117,4 - J3)/ C2' (163,8 - J2)

Ácido úsnico

Solvente deuterado: CDCl₃ (König & Wright, 1999)

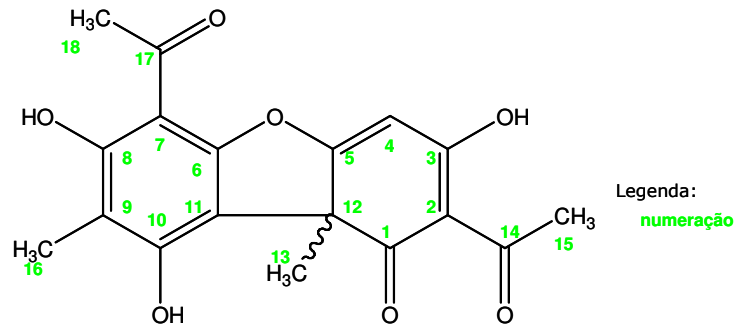


Tabela 33 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido úsnico** a partir de dados da literatura (CDCl₃).

Ácido úsnico - König & Wright, 1999			
CDCl ₃ , 300MHz (¹ H) e 75MHz (¹³ C)			
δ ¹³ C	C	δ ¹ H (multiplic)	H
201,8	14	18,84 (s)	OH(C3)
200,4	17	13,31 (s)	OH(C8)
198,1	1	11,02 (s)	OH(C10)
191,8	3	5,92 (s)	H(C4)
179,4	5	2,67 (s)	H(C18)
163,9	8	2,66 (s)	H(C15)
157,6	10	2,10 (s)	H(C16)
155,2	6	1,75 (s)	H(C13)
109,4	9		
105,3	2		
104,0	11		
101,6	7		
98,4	4		
59,1	12		
32,2	13		
31,3	18		
27,9	15		
7,6	16		

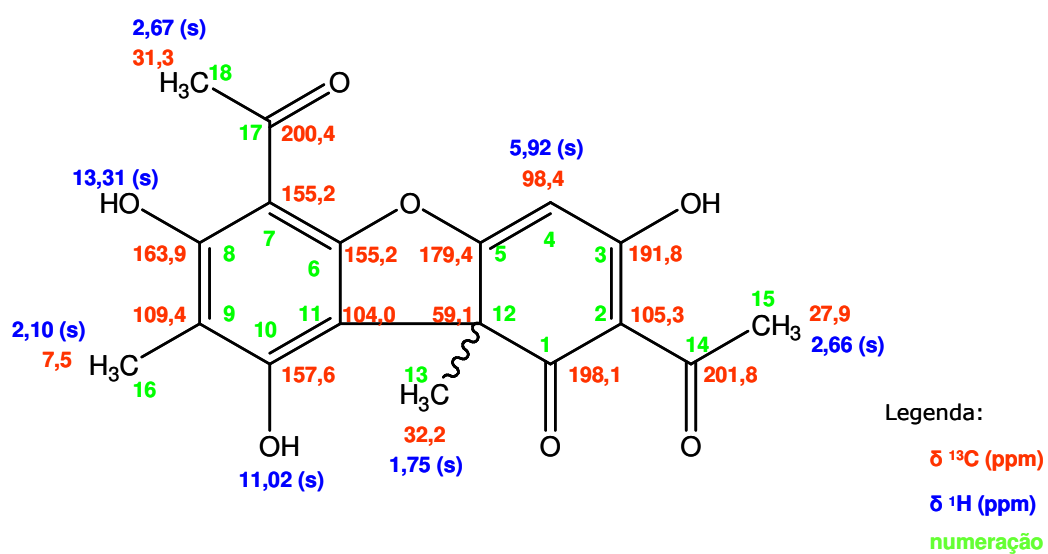


Figura 66 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do **ácido úsnico** (König & Wright, 1999, CDCl_3).

Ácido girofórico

Solvente deuterado: DMSO-d₆ (Narui *et al.* 1999)

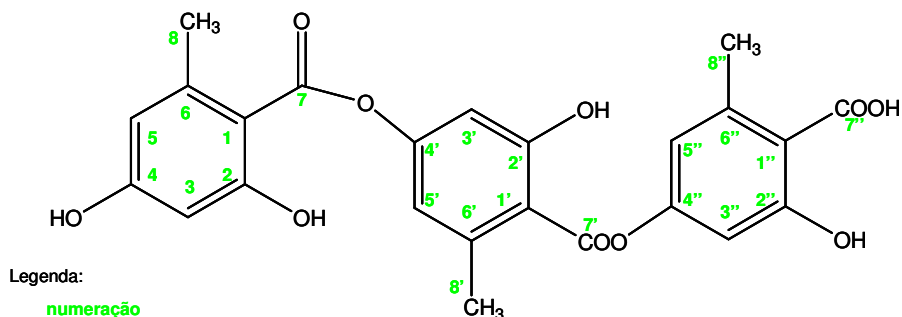


Tabela 34 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido girofórico** a partir de dados da literatura.

Ácido girofórico - Narui <i>et al.</i> 1998			
DMSO-d₆, 500MHz (¹H) e 125MHz (¹³C)			
δ ¹³ C	C	δ ¹ H (multiplic.)	H
170,37	7''	10,42 (s)	OH(C2')
167,07	7	10,29 (s)	OH(C2)
165,52	7'	9,96 (sl)	OH(C2'')
161,08	4	6,70 (d, J=1,68Hz)	H(C3')
160,08	2	6,67 (d, J=1,68Hz)	H(C5')
158,77	2''	6,65 (d, J=1,98Hz)	H(C3'')
156,30	2'	6,62 (d, J=1,98Hz)	H(C5'')
152,18	4'	6,24 (d, J=2,14Hz)	H(C3) e H(C5)
152,08	4''	2,40 (s)	H(C8'')
140,21	6	2,38 (s)	H(C8')
139,56	6''	2,37 (s)	H(C8)
137,95	6'		
117,88	1'		
116,80	1''		
114,43	5''		
114,17	5'		
109,85	5		
108,23	1		
107,17	3'		
107,14	3''		
100,49	3		
21,22	8		
20,84	8''		
19,26	8'		

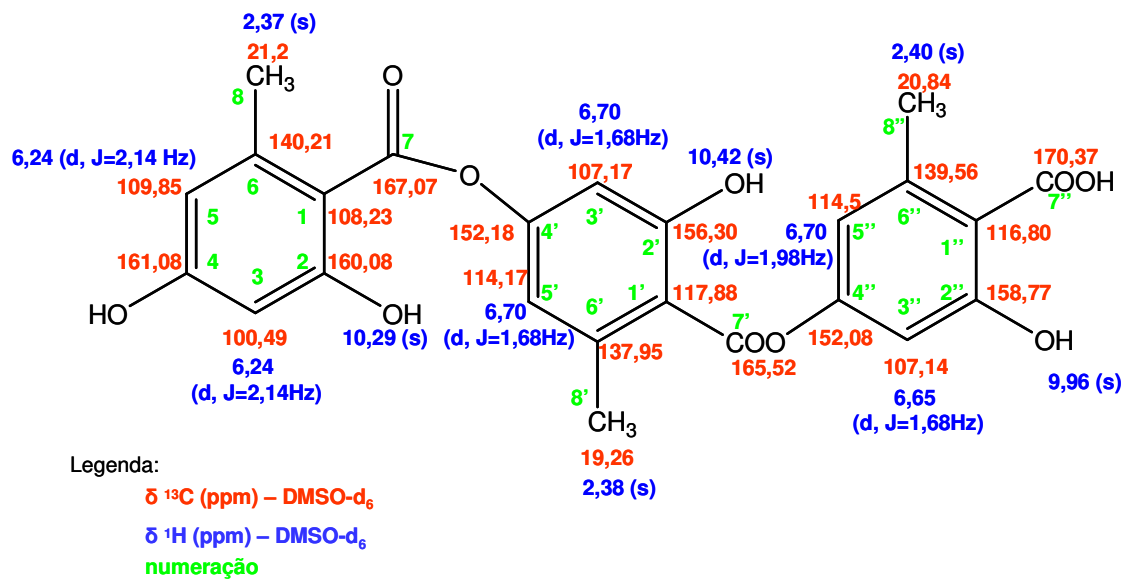


Figura 67 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do **ácido girofórico** (Narui *et al.* 1999, DMSO- d_6).

Ácido α -colatólico

Solvente deuterado: CDCl_3 (Huneck & Yoshimura, 1996)

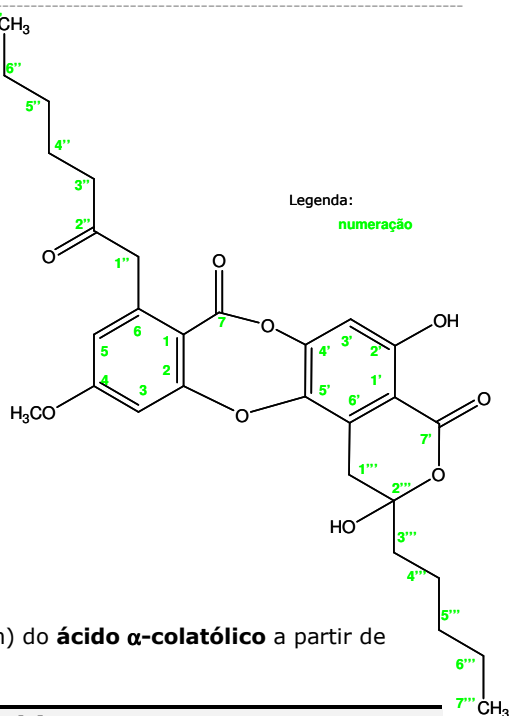


Tabela 35 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido α -colatólico** a partir de dados da literatura.

Ácido α-colatólico – Huneck & Yoshimura, 1996			
CDCl_3, 500MHz (^1H) e 125MHz (^{13}C)			
$\delta^{13}\text{C}$	C	$\delta^1\text{H}$ (multiplic.)	H
206,6	2''	11,00 (s)	OH(C2')
168,4	7'	6,80 (s)	H(C3')
163,5	2	6,60 (d, J= 2,3Hz)	H(C3)
162,2	7	6,57 (d, J= 2,3Hz)	H(C5)
161,3	4	3,97 (m)	H(C1'')
160,2	2'	3,84 (s)	OCH ₃ (C4)
150,5	4'	3,18 e 3,52 (2xd, J=16,2Hz)	H(C1''')
141,2	6	2,54 (t, J= 7,4Hz)	H(C3'')
140,0	5'	2,00 (m)	H(C3''')
129,3	6'	1,62 (m)	H(C4'')
115,2	5	1,59 (m)	H(C4''')
113,8	1	1,37 (m)	H(C5'') e H(C5''')
108,0	3'	1,31 (m)	H(C6'') e H(C6''')
104,9	1'	0,93 (t, J= 7,0Hz)	H(C7'')
104,7	2'''	0,90 (t, J=7,1Hz)	H(C7''')
104,6	3		
55,7	OCH ₃ (C4)		
47,9	1''		
42,7	3''		
40,8	3'''		
31,6	5'''		
31,3	5''		
30,9	1'''		
23,3	4''		
23,0	4'''		
22,5	6''		
22,4	6'''		
13,9	7'' e 7'''		

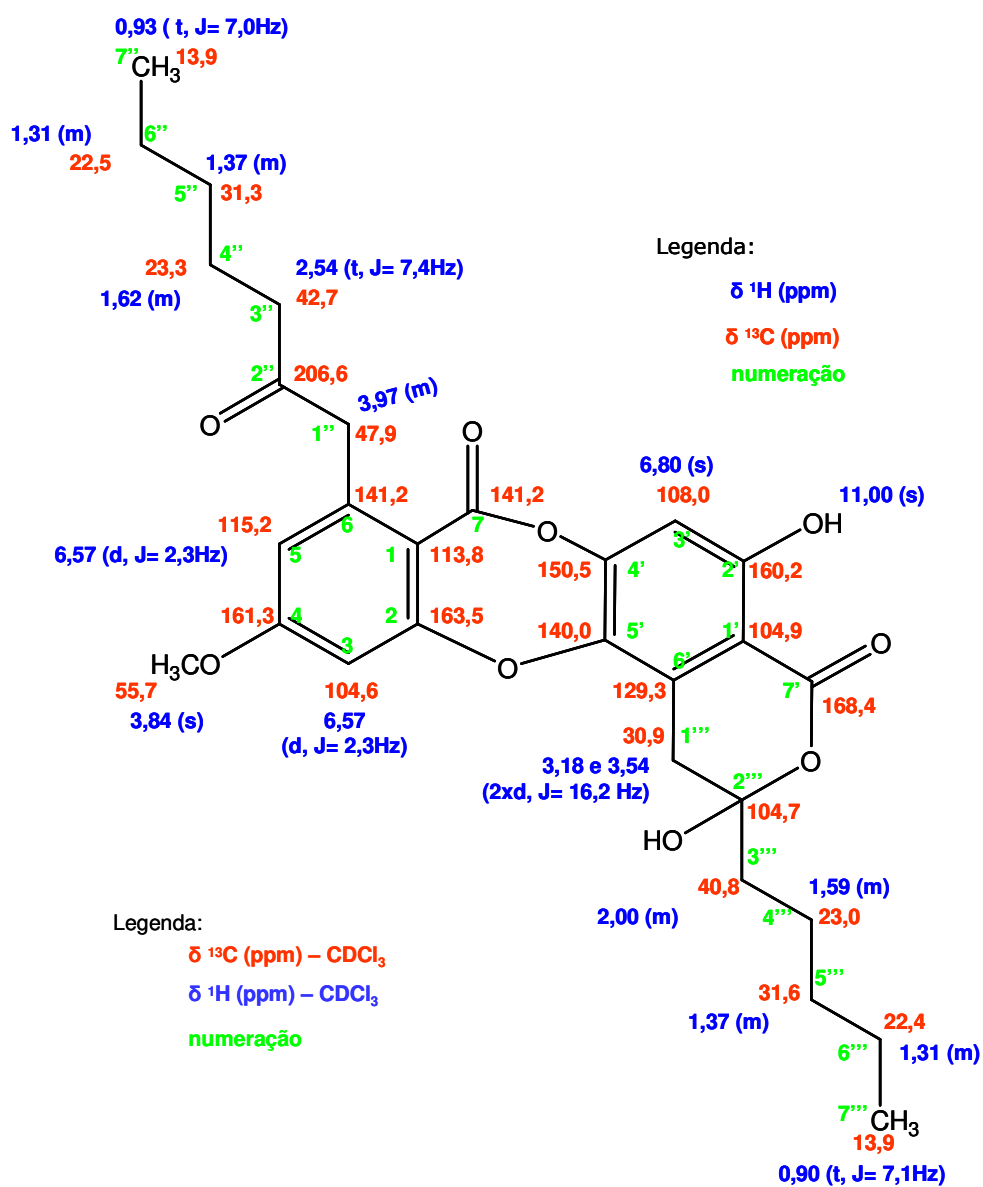


Figura 68 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do **ácido α -colatólico** (Huneck & Yoshimura, 1996, CDCl_3).

Ácido α -alectorônico

Solvente deuterado: DMSO- d_6 (Milot *et al.* 2007)

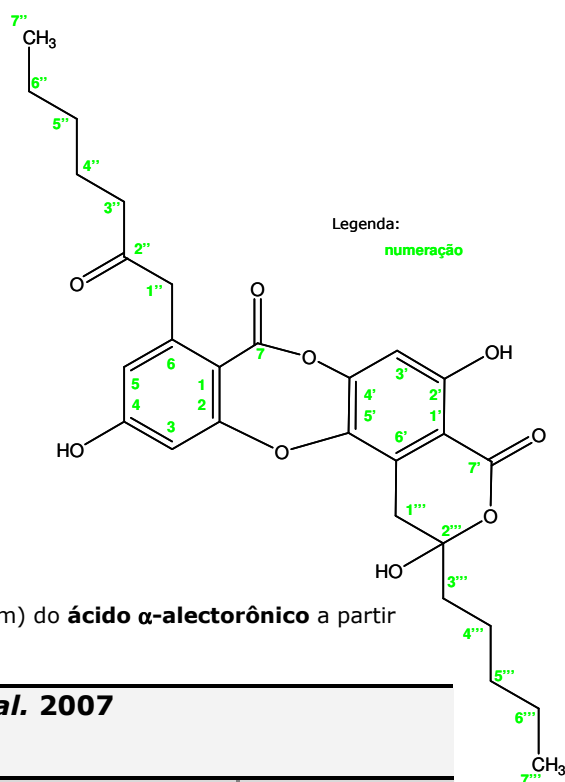


Tabela 36 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido α -alectorônico** a partir de dados da literatura.

Ácido α-alectorônico – Milot <i>et al.</i> 2007			
DMSO-d_6, 270MHz (1H)			
$\delta^{13}C$	C	δ^1H (multiplic.)	H
206,6	2''	11,39	OH(C2')
169,5	7'	10,36	OH(C4)
162,9	4	7,15	OH(C2''')
162,7	7	6,89 (s)	H(C3)
162,5	2	6,81 (s)	H(C3')
160,3	2'		
151,2	4'	6,74 (s)	H(C5)
142,6	6	4,09	H(C1'')
141,0	5'	3,73	H(C1''')
132,1	6'	3,39	H(C1''')
117,7	5	2,59	H(C3'')
113,6	1	2,08 – 2,10 (m)	H(C3''')
107,6	3'	1,62 (m)	H(C4''')
106,4	3	1,52 (m)	H(C4'')
47,8	1'''	1,33 – 1,37 (m)	H(C5''')
42,7	3''	1,24 – 1,37 (m)	H(C6'') e H(C6''')
41,4	3'''	1,24 – 1,31 (m)	H(C5'')
32,6	5'''	0,93	H(C7''')
32,0	5''	0,89 (t, J= 7Hz)	H(C7'')
31,0	1'''		
24,2	4'''		
23,9	4''		
23,4	6''' e 6''		
14,6	7''		
14,5	7'''		

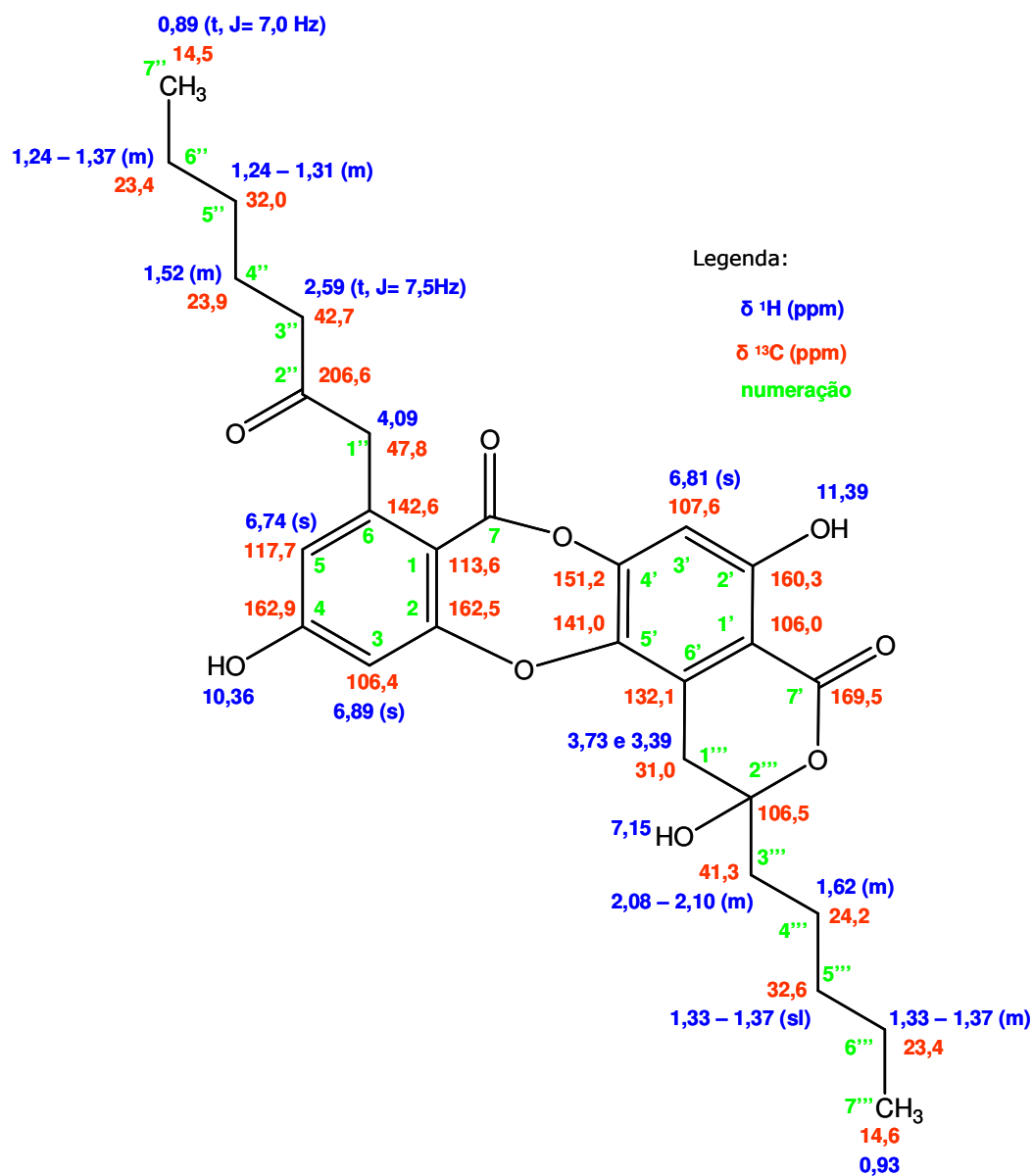


Figura 69 – Sinais de deslocamento químico de ¹³C e ¹H do **ácido α-alectorônico** (Millet *et al.*, 2007, DMSO-d₆).

Ácido salazínico

Solventes deuterados: DMSO-d₆ (experimental) e CDCl₃ – DMSO-d₆ (1:3) (Eifler-Lima *et al.* 2000).

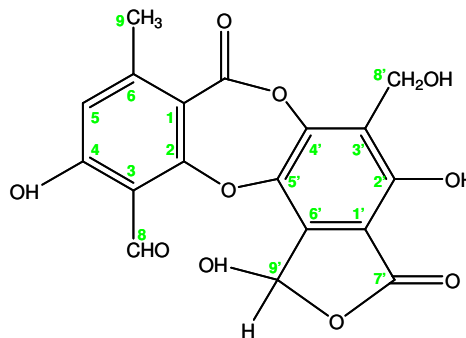


Tabela 37 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) da **ácido salazínico** a partir de dados experimentais e da literatura.

Experimental DMSO-d ₆ , 300MHz (¹ H) e 75MHz (¹³ C)				Eifler-Lima et al. 2000 CDCl ₃ – DMSO-d ₆ (1:3), 300MHz (¹ H) e 75MHz (¹³ C)			
δ ¹³ C	C	δ ¹ H (multiplic.)	H	δ ¹³ C	C	δ ¹ H (multiplic.)	H
193,5	8	12,04 (sl)	OH(C4)	193,5	8	12,12 (s)	OH(C4)
166,9		10,44 (s)	H(C8)			10,50	
166,6		8,30 (sl)	OH(C9')	166,3	7'	(1H, d, ⁴ J = 0,5Hz)	H(C9)
166,0	7'	6,87 (s)	OH(C5)	164,9	7	10,38 (sl)	OH(C2')
164,1	4	6,81 (sl)	H(C9')	163,9	2	8,30 (sl)	OH(C8')
163,7	2	6,71		160,0	7	6,84 (1H, m)	H(C5)
161,7		6,67		153,3	2'	6,78 (1H, sl)	H(C8')
	7			152,8	6	4,70 (2H, s)	H(C9')
160,4		4,64 (s)	H(C8')			2,47	
155,9		2,33 (s)	H(C9)	147,9	4'	(3H, d, ⁴ J = 0,5Hz)	H(C8)
154,2		2,07 (s)		137,6	5'		
152,9	2'	1,23 (sl)		137,5	6'		
152,4	6	0,85 (s)		122,5	3'		
152,2				117,5	5		
148,1	4'			111,9	1		
146,6				110,3	3		
138,1	5'			109,6	1'		
137,4	6'			95,2	8'		
135,0				54,2	9'		
123,0	3'			21,9	9		
117,5	5						
117,0							
114,1							
112,0	1						
111,4							
110,7	3						
109,8	1'						
102,7							

Continuação da tabela 37 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) da **ácido salazínico** a partir de dados experimentais e da literatura.

Experimental				Eifler-Lima et al. 2000			
DMSO-d ₆ , 300MHz (¹ H) e 75MHz (¹³ C)				CDCl ₃ – DMSO-d ₆ (1:3), 300MHz (¹ H) e 75MHz (¹³ C)			
δ ¹³ C	C	δ ¹ H (multiplic.)	H	δ ¹³ C	C	δ ¹ H (multiplic.)	H
94,6	9'						
71,4							
54,5							
52,8	8'						
29,3							
21,5	9						
20,4							

*Estes sinais são correspondentes provavelmente as duas hidroxilas ligadas à C4 e C2. O sinal aparece alargado no espectro de RMN de ¹H devido à troca rápida com deutério. Não foi possível atribuir os sinais inequivocamente porque não foi observada nenhuma correlação desses sinais no espectro de RMN de gHMBC.

**Atribuição do ácido salazínico em DMSO-d₆ a partir de extrato acetônico enriquecido de *Parmotrema lichexanthonicum* Eliasaro & Adler.

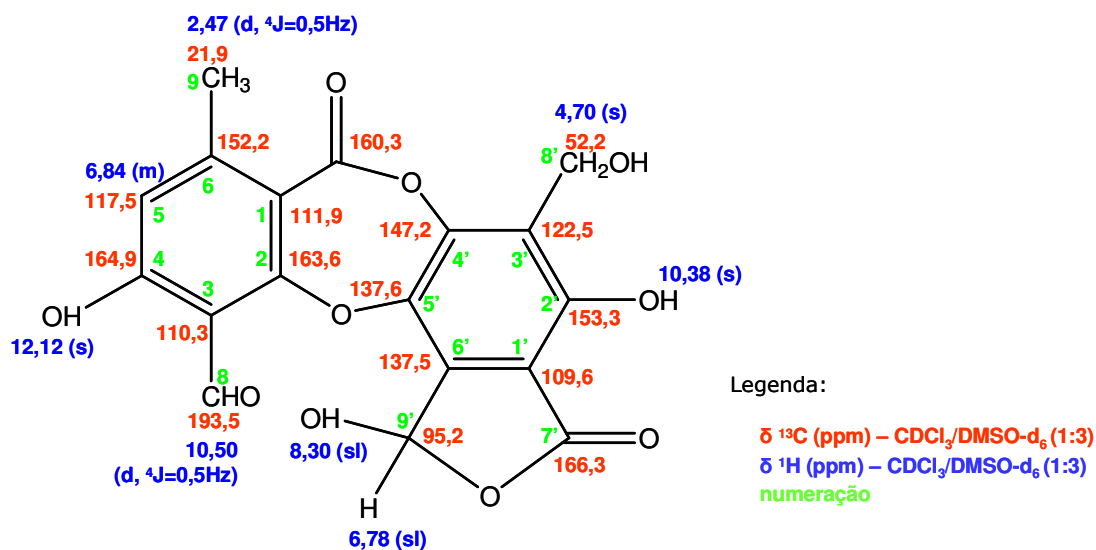


Figura 70 – Sinais de deslocamento químico de ¹³C e ¹H do **ácido salazínico** (Eifler-Lima *et al.* 2000, CDCl₃-DMSO-d₆ 1:3).

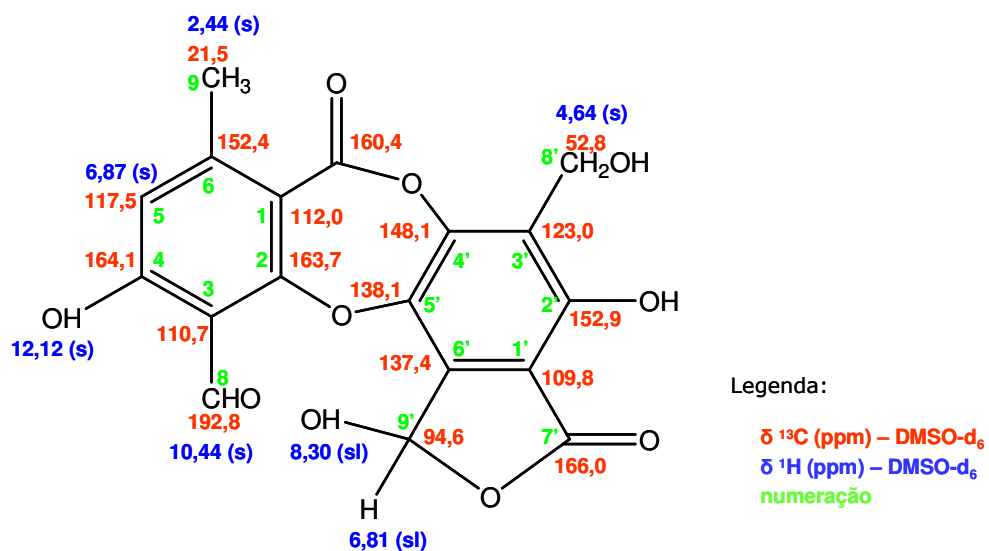
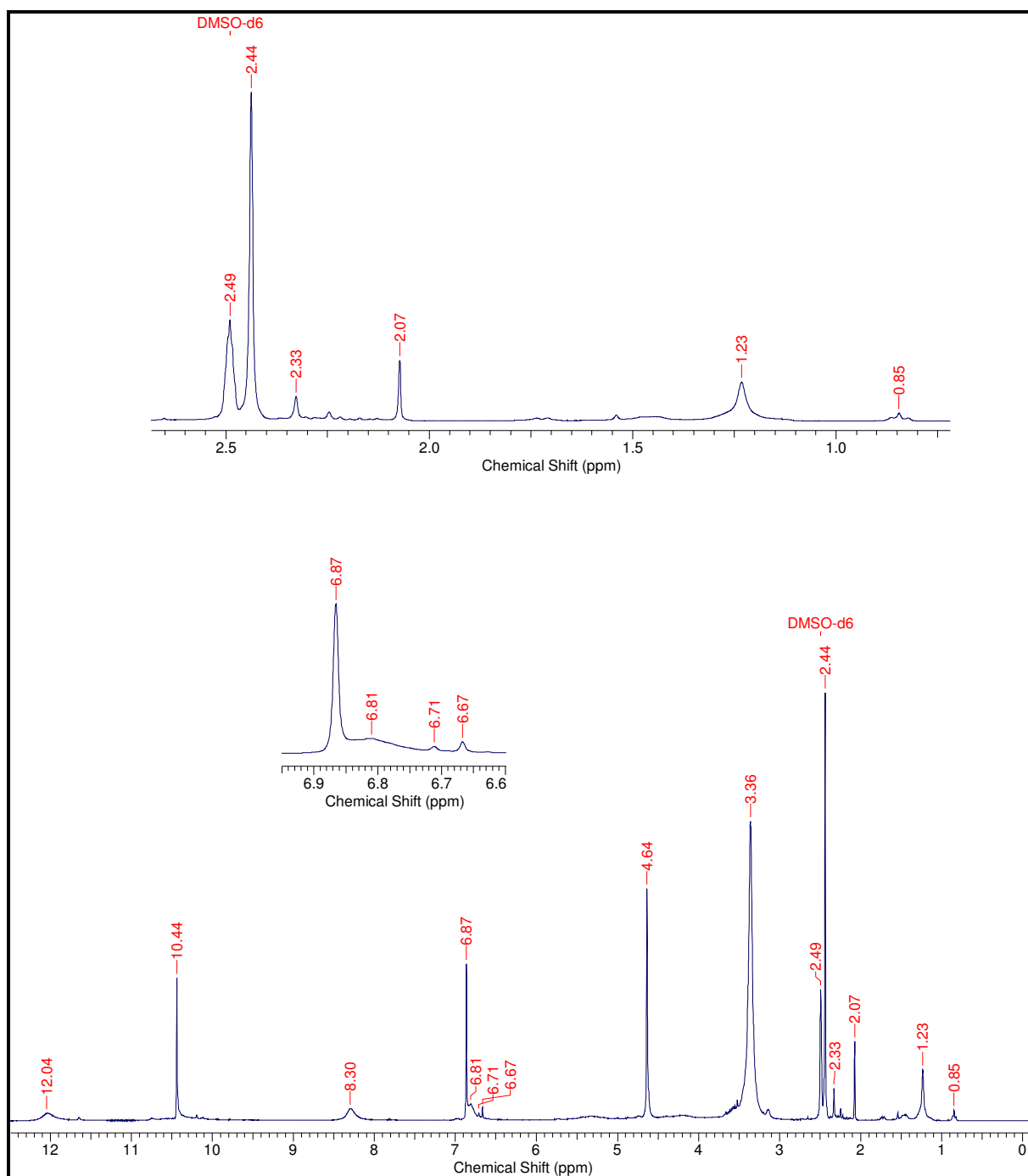
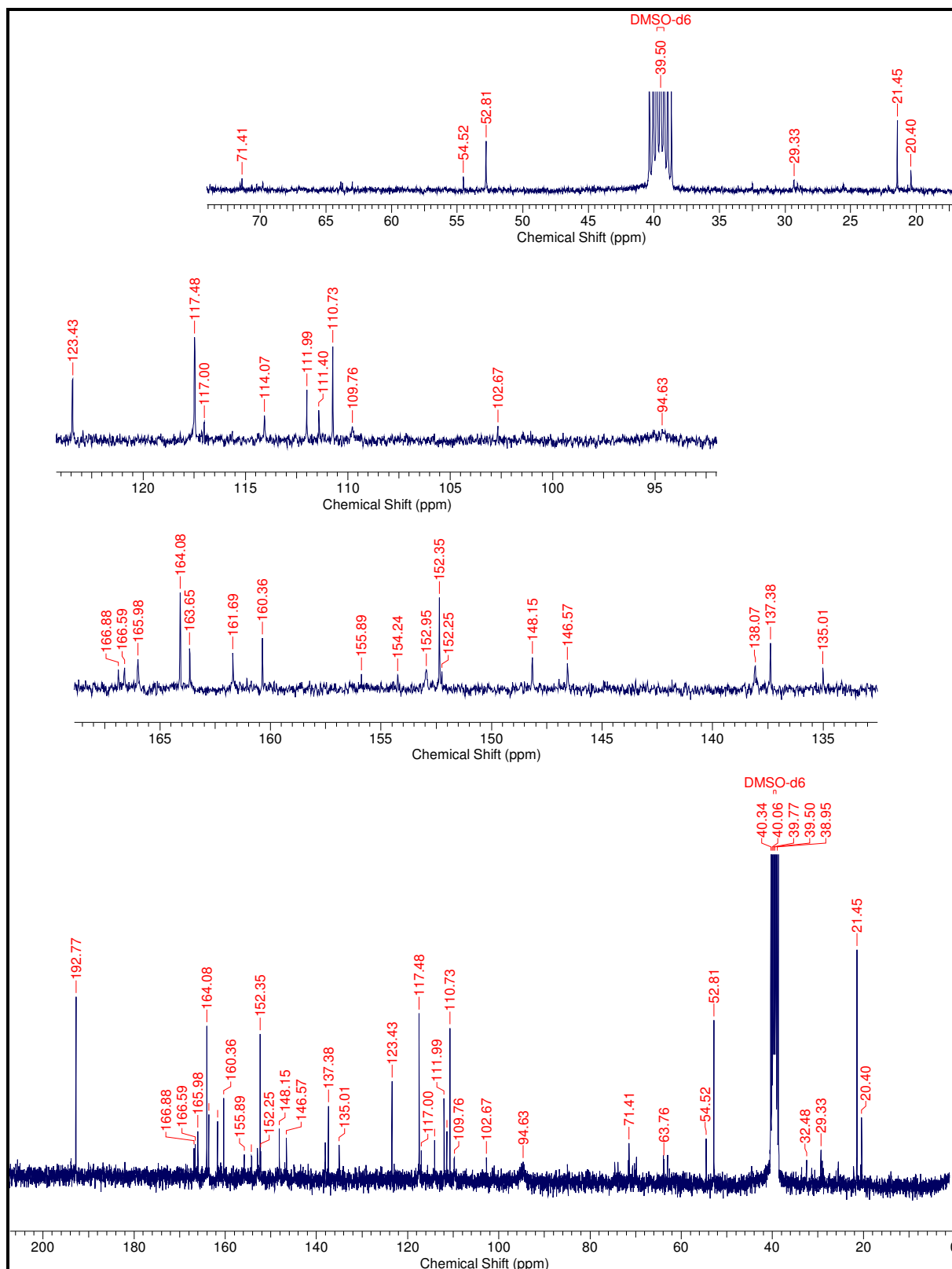


Figura 71 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do **ácido salazínico** (experimental, **DMSO- d_6**).



Espectro 102 - Espectro de RMN de ^1H do ácido salazínico (DMSO-d_6).



Espectro 103 - Espectro de RMN de ^{13}C do ácido salazínico (DMSO-d_6).

Tabela 38 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido salazínico** a partir de dados experimentais de RMN ^1H , ^{13}C e correlações observadas em RMN de gHSQC e gHMBC.

Ácido salazínico - Experimental			
DMSO-d₆, 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
δ ^{13}C (DEPT 135)*	C	gHSQC	gHMBC
192,8 (CH)	8	10,44	110,7/ 117,5/ 164,1
166,9			
166,6			
166,0	7'		
164,1	4		
163,7	2		
161,7			
160,4	7		
155,9			
154,2			
152,9	2'		
152,4	6		
152,2			
148,1	4'		
146,6			
138,1	5'		
137,4	6'		
135,0			
123,0	3'		
117,5 (CH)	5	6,87	21,5/ 112,0/ 164,1
117,0			
114,1			
112,0	1		
111,4			
110,7	3		
109,8	1'		
102,7			
94,6 (CH)	9'	6,81**	
71,4			
54,5			
52,8 (CH ₂)	8'	4,64	123,0/ 148,1/ 152,9
29,3			
21,5 (CH ₂)	9	2,44	117,5/ 112,0/ 152,4/ 160,4/ 163,7
20,4			

*a mesma informação é obtida através da observação das fases (negativa ou positiva) no espectro (colorido) de RMN de gHSQC.

**correlação que não pôde ser visualizada, porém a atribuição foi possível tendo em vista a comparação com a interpretação de outros espectros e atribuição de δ de outras moléculas semelhantes.

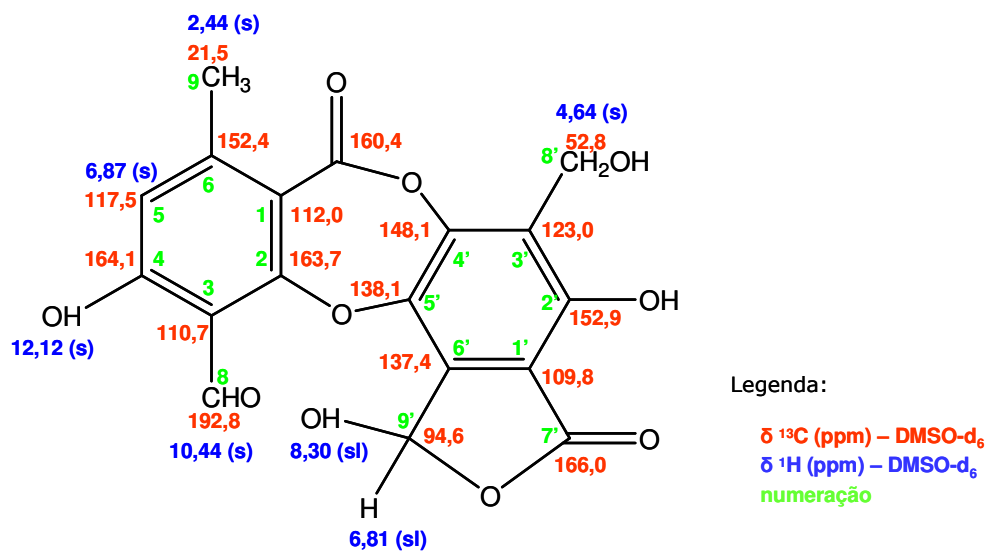
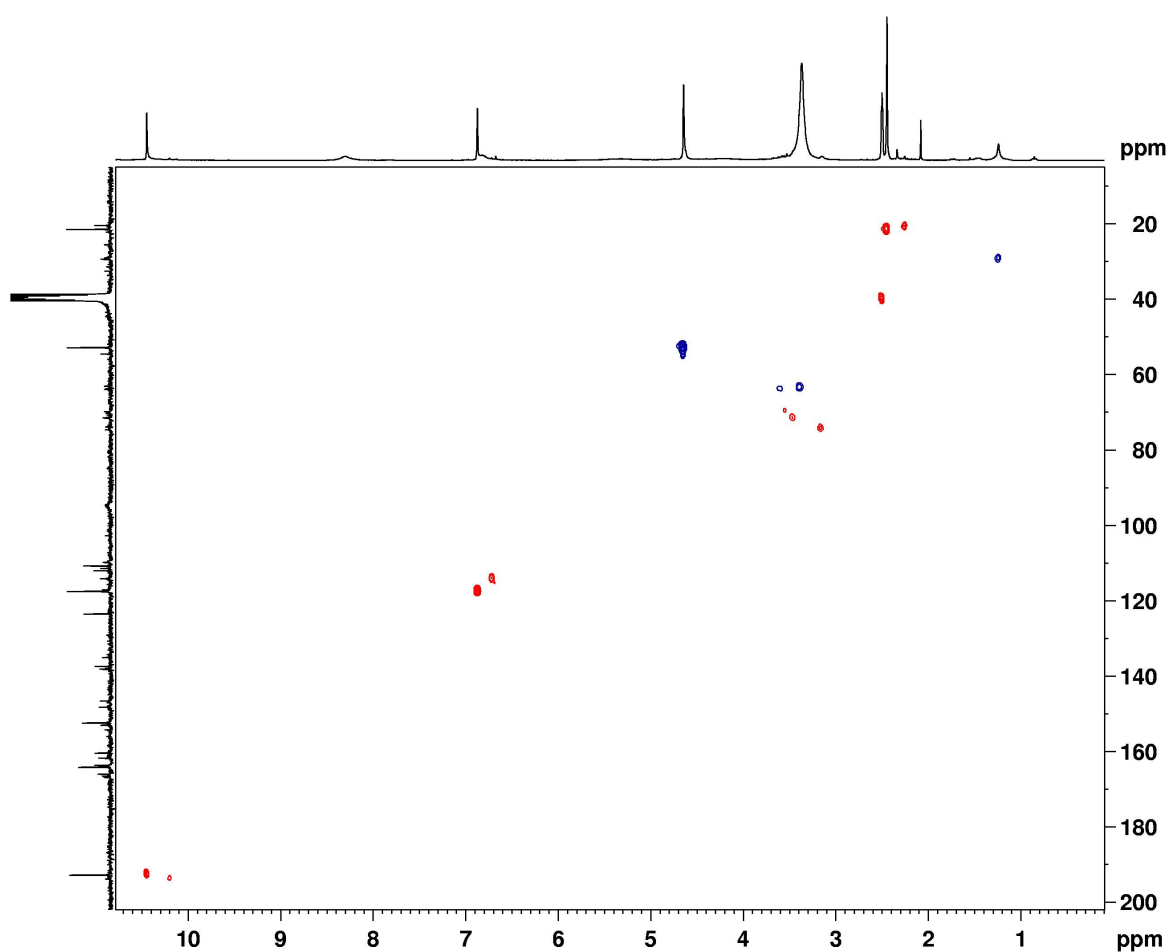
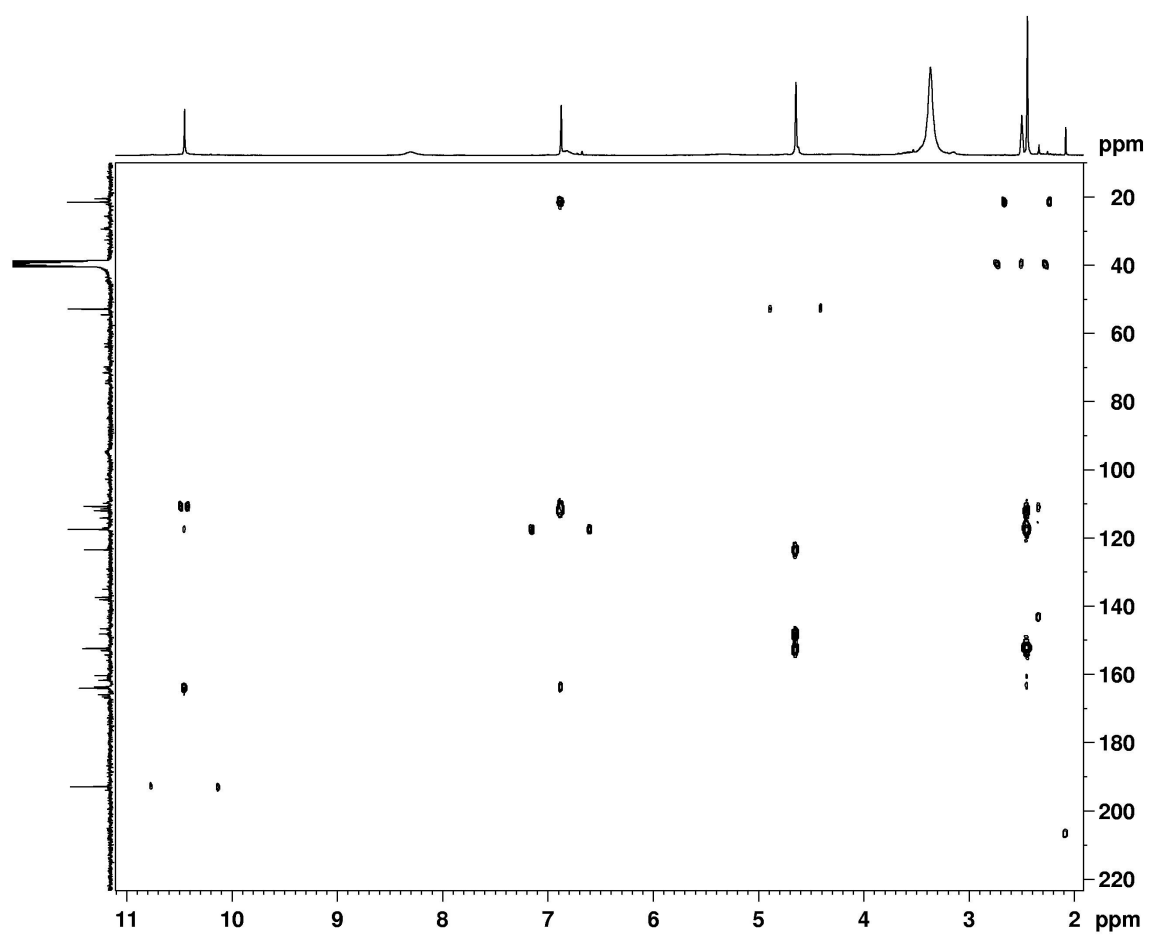


Figura 71 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do ácido salazínico (experimental, DMSO- d_6).



Espectro 104 - Espectro de RMN de gHSQC do ácido salazínico (DMSO- d_6).



Espectro 105 - Espectro de RMN de gHMBC do ácido salazínico (DMSO- d_6).

Ácido perlatólico

Solvente deuterado: CDCl₃ (experimental)

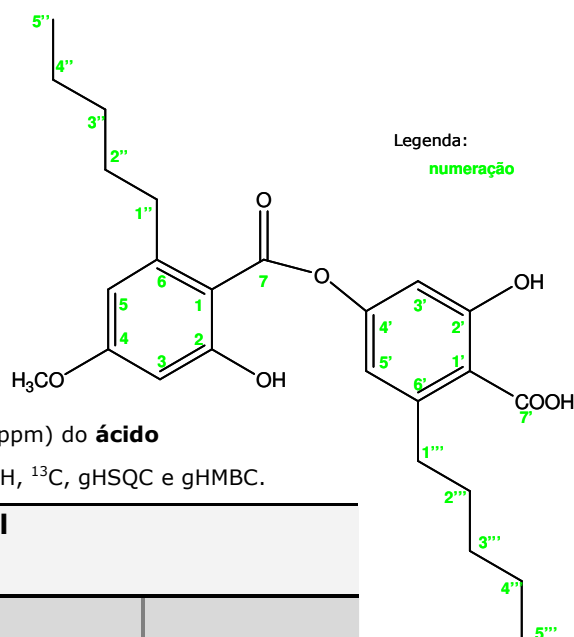


Tabela 39* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido**

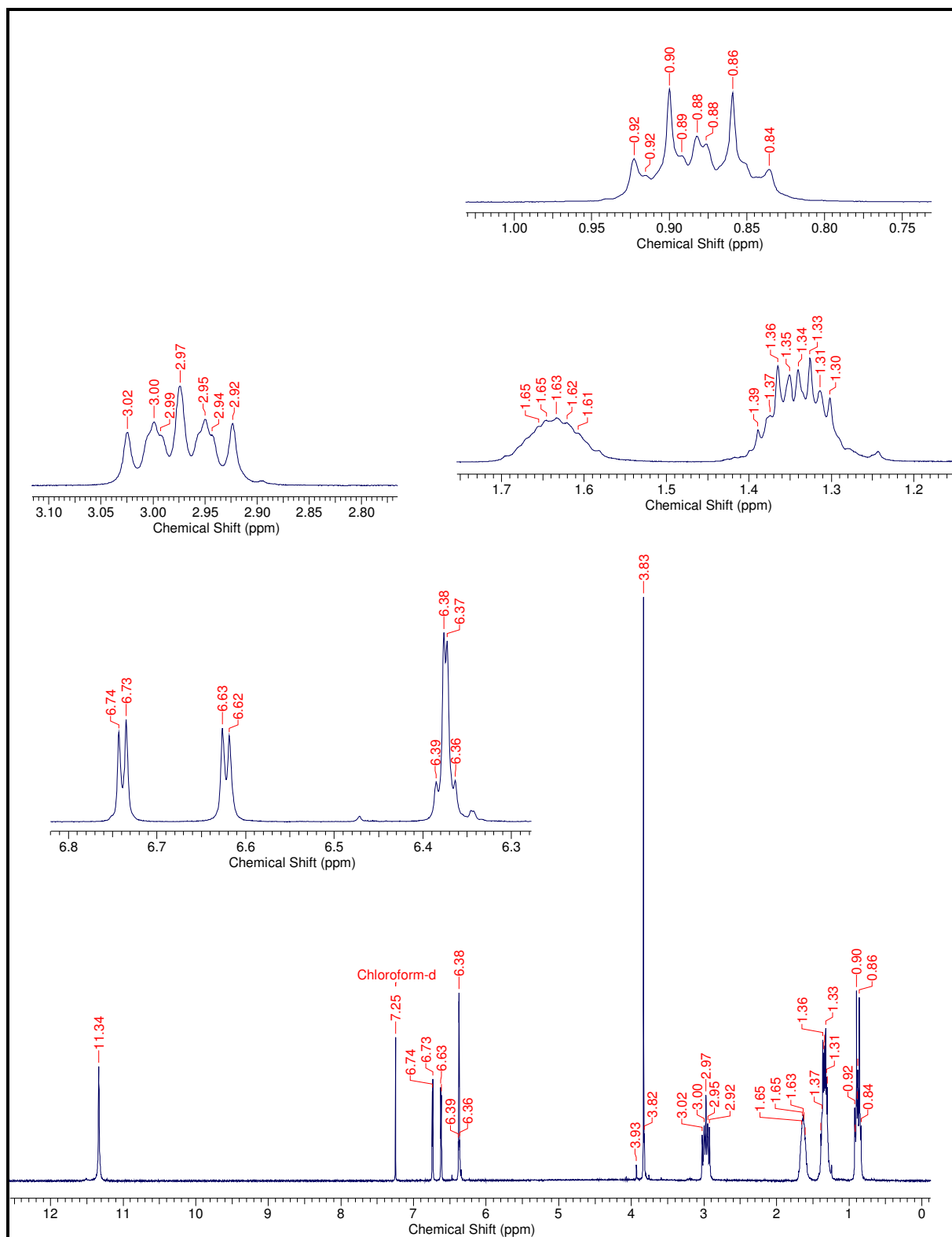
perlatólico a partir de dados experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C , gHSQC e gHMBC.

Ácido perlatólico - Experimental			
CDCl₃, 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
δ ^{13}C (DEPT 135)**	C	δ ^1H (multiplic)	H
174,8	7'	11,34 (s)	OH(C2)
169,4	7	6,74 (d, J=2,4Hz)	H(C3')
166,6	2	6,62 (d, J=2,4Hz)	H(C5')
165,3	2'	6,38 (d, J=2,7Hz)	H(C3)
164,9	4	6,37 (d, J=2,7Hz)	H(C5)
155,0	4'	3,83 (s)	OCH ₃ (C4)
150,0	6'	2,98 (m)	H(C1''')
148,4	6	2,95 (m)	H(C1'')
116,2 (CH)	5'	1,63 (m) ***	H(C2''), H(C2'''),
111,4 (CH)	5	1,34 (m) ***	H(C3''), H(C3'''),
			H(C4'') e H(C4''')
109,0 (CH)	3'	0,88 (m)	H(C5'') e H(C5''')
108,6	1'		
103,6	1		
99,0 (CH)	3		
55,4 (CH ₃)	OCH ₃ (C4)		
37,2 (CH ₂)	1''		
36,5 (CH ₂)	1'''		
32,0 (CH ₂)***			
31,9 (CH ₂) ***			
31,4 (CH ₂) ***			
22,6 (CH ₂) ***			
22,4 (CH ₂) ***			
14,0 (CH ₃)	C5'' e C5'''		

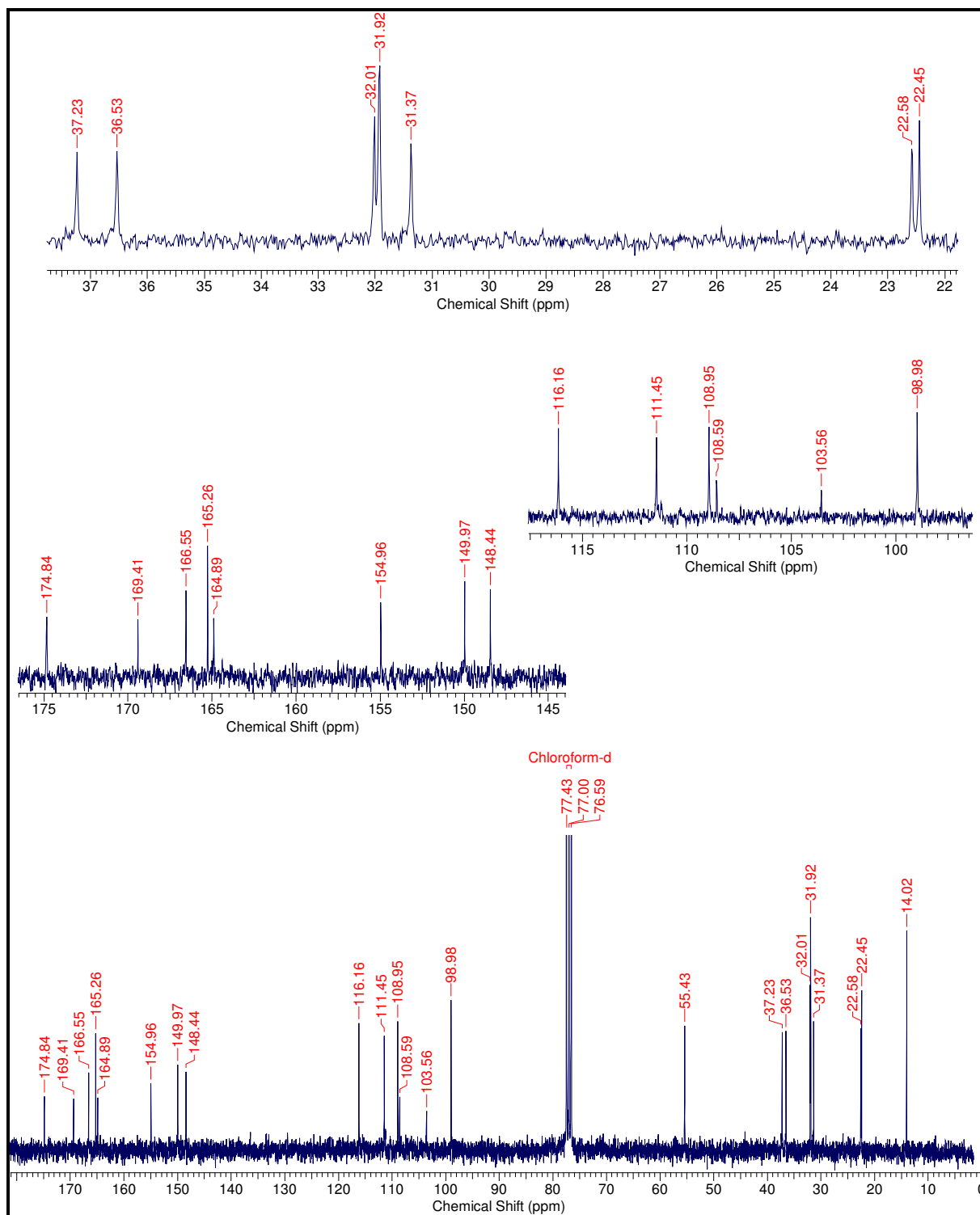
*as cores azul e lavanda nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes; células da tabela na cor rosa indicam $\delta^{13}\text{C}$ de carbonos de açúcares (os quais não foram atribuídos).

**a mesma informação é obtida através da observação das fases (negativa ou positiva) no espectro (colorido) de RMN de gHSQC.

***A atribuição desses δ talvez possa ser resolvida, posteriormente, através do experimento de RMN de gTOCSY 2D.



Espectro 106 - Espectro de RMN de ^1H do ácido perlatólico (CDCl_3).



Espectro 107 - Espectro de RMN de ^{13}C do ácido perlatólico (CDCl_3).

Tabela 40* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido perlatólico** a partir de dados experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C e correlações observadas em RMN de gHSQC e gHMBC.

Ácido perlatólico - Experimental			
CDCl_3, 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
$\delta^{13}\text{C}$ (DEPT 135)**	C	gHSQC	gHMBC
174,8	7'		
169,4	7		
166,6	2		
165,3	2'		
164,9	4		
155,0	4'		
150,0	6'		
148,4	6		
116,2 (CH)	5'	6,62	36,5/ 108,6/ 155,0
111,4 (CH)	5	6,37	37,2/ 99,0/ 103,6
109,0 (CH)	3'	6,74	108,6/ 116,2/ 155,0/ 165,3
108,6	1'		
103,6	1		
99,0 (CH)	3	6,38	103,6/ 164,9***/ 166,6***/ 169,4***
55,4 (CH_3)	$\text{OCH}_3(\text{C}_4)$	3,83	164,9
37,2 (CH_2)	1''	2,95	103,6/ 111,4/ 148,4
36,5 (CH_2)	1'''	2,98	108,6/ 116,2/ 150,0
32,0 (CH_2)****		1,60 e 1,34	
31,9 (CH_2)****			
31,4 (CH_2)****			
22,6 (CH_2)****			
22,4 (CH_2)****			
14,0 (CH_3)	C_5'' e C_5'''	0,88	99,0/ 103,6/ 166,6/ 164,9
---	---	$\text{OH}(\text{C}_2)=$ 11,34*****	

*a cor verde nas células da tabela indicam apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula ou de moléculas diferentes.

**a mesma informação é obtida através da observação das fases (negativa ou positiva) no espectro (colorido) de RMN de gHSQC.

***essas correlações também podem ser atribuídas ao H com $\delta^1\text{H}$ de 6,37 ppm. Os dois sinais (6,37 e 6,38 ppm) estão muito próximos e indicam os H(C5) e H(C3). Essas correlações ambíguas não entram em conflito, já que os carbonos indicados pertencem ao mesmo anel aromático e podem ser atribuídos através da observação de outras correlações.

****A atribuição desses δ talvez possa ser resolvida, posteriormente, através do experimento de RMN de gTOCSY 2D.

*****este sinal apresenta correlações apenas no espectro de RMN de gHMBC.

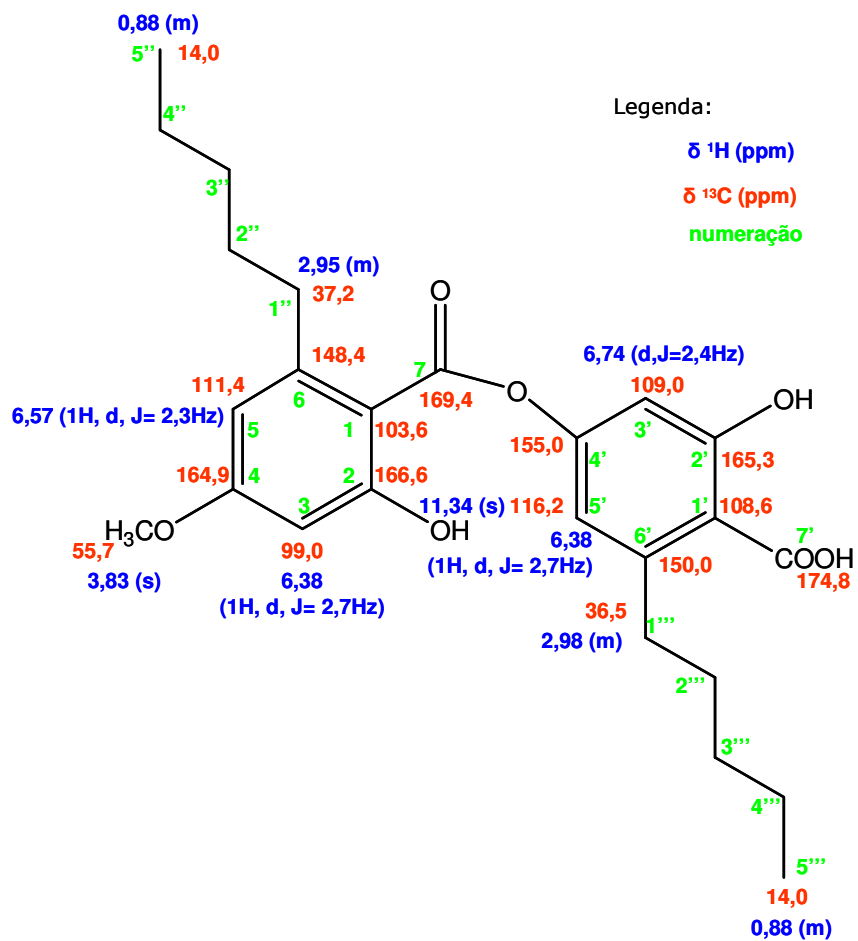
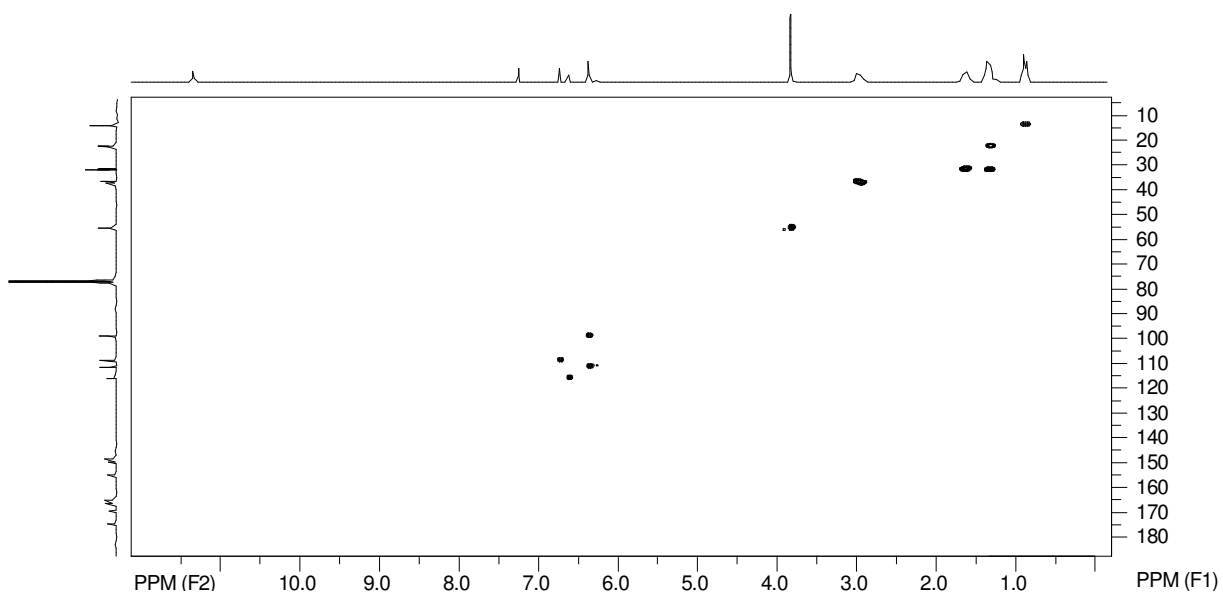
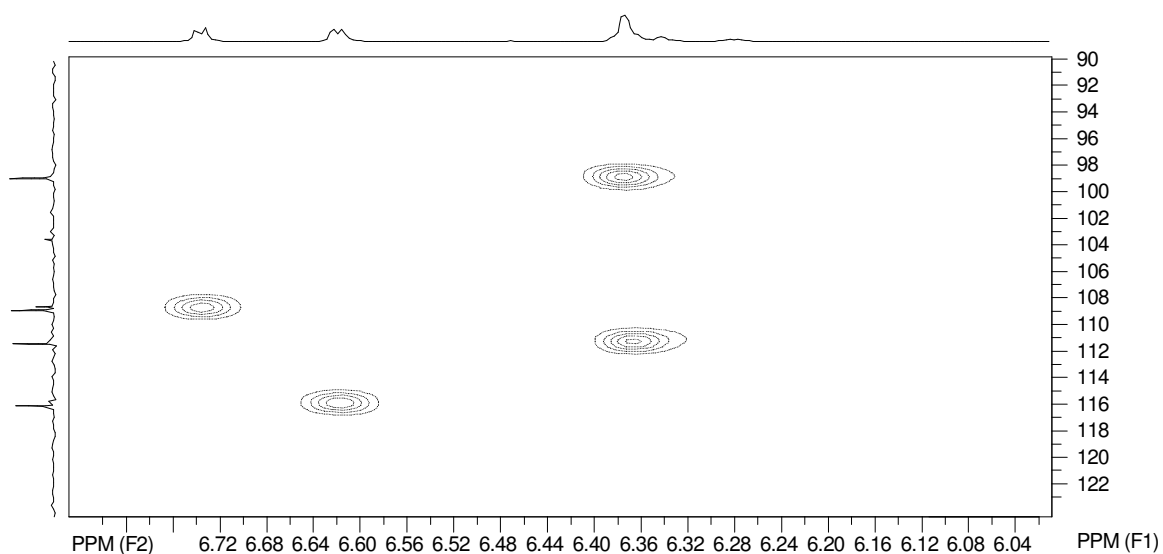


Figura 72 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do **ácido perlatólico** (experimental, CDCl_3).



Espectro 108 - Espectro de RMN de gHSQC do ácido perlatólico (CDCl_3).



Espectro 109* - Ampliação do espectro de RMN de gHSQC do ácido perlatólico (CDCl_3) - região dos hidrogênios aromáticos.

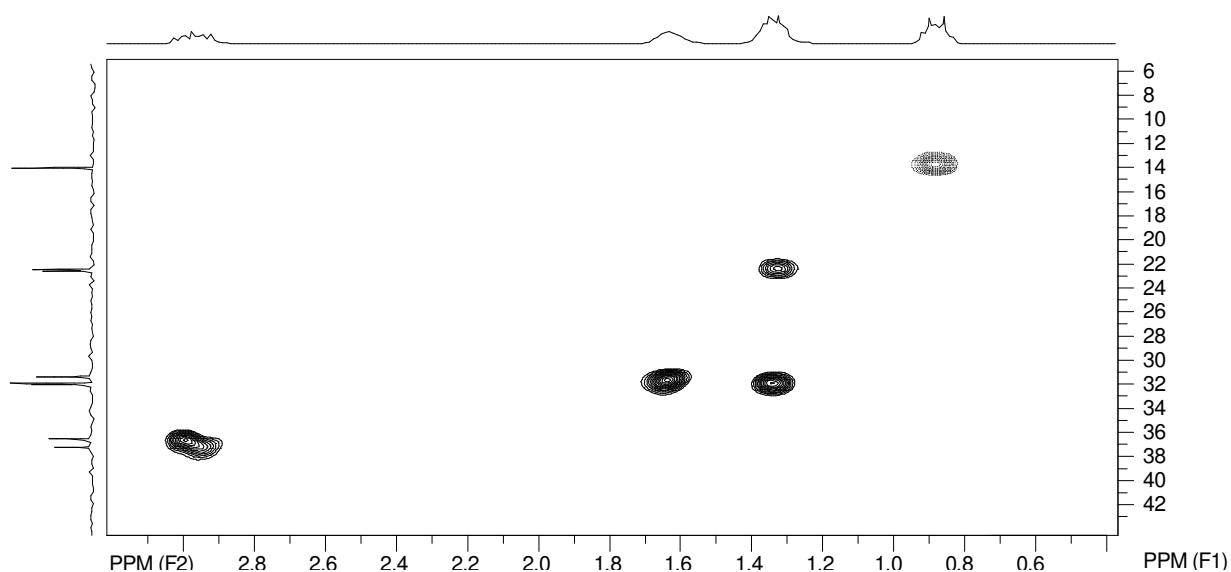
*Ampliação importantes para visualização das correlações que possibilitam atribuir os hidrogênios e carbonos aromáticos:

6,74 (H-C3') se correlacionando com C3' (109,0)

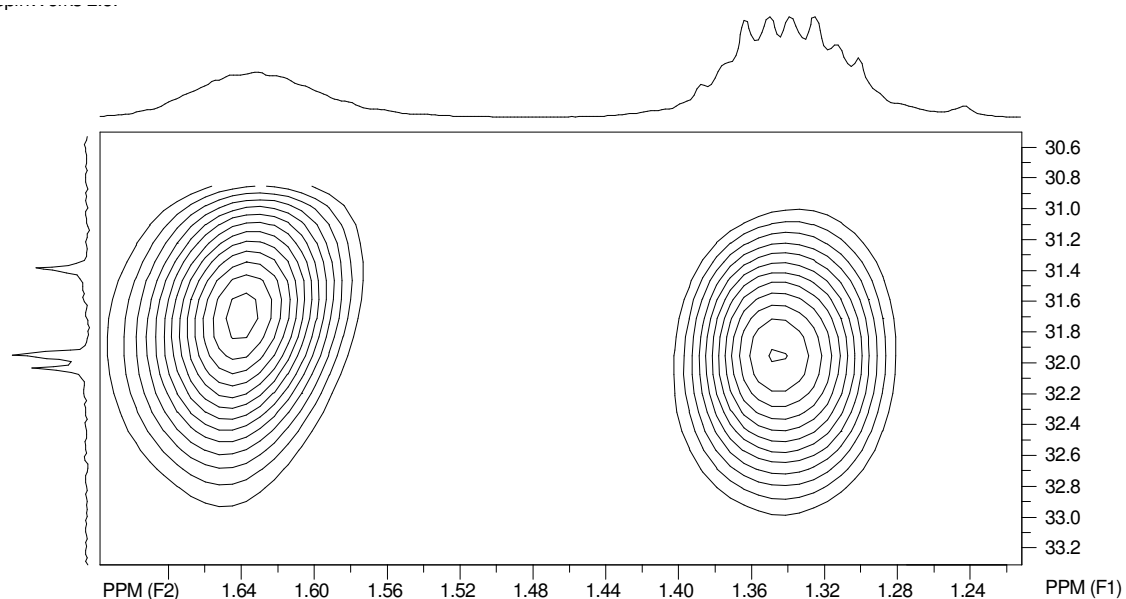
6,62 (H-C5') se correlacionando com C5' (116,2)

6,37 (H-C5) se correlacionando com C5 (111,4)

6,38 (H-C3) se correlacionando com C3 (99,0)



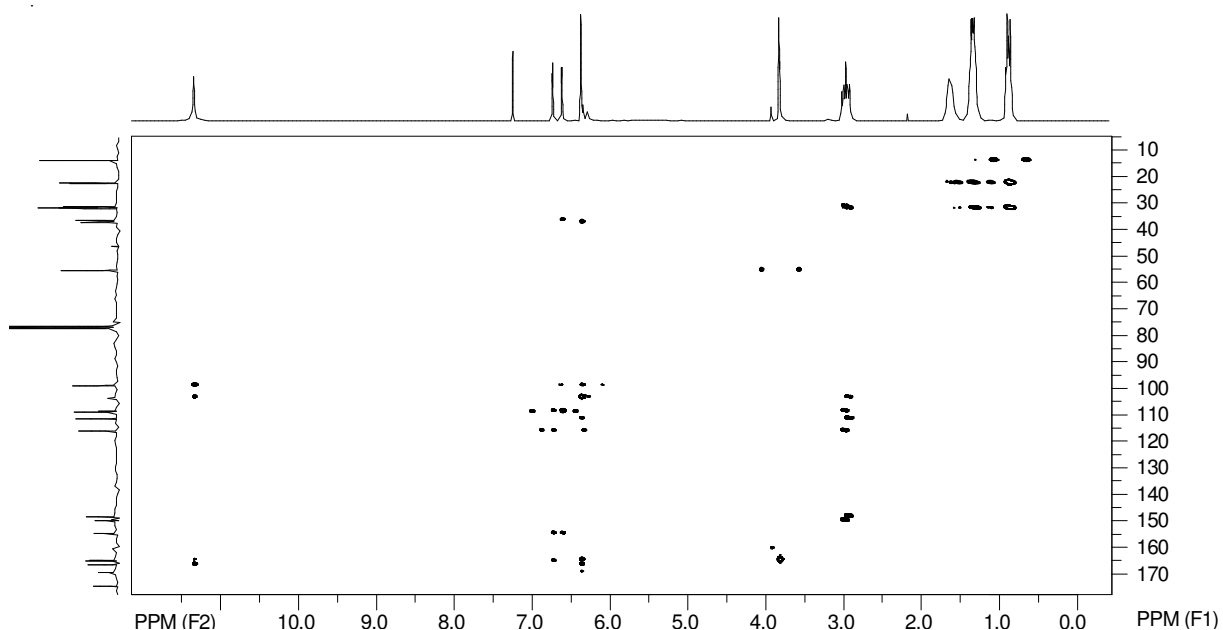
Espectro 110** – Ampliação do espectro de RMN de gHSQC do ácido perlatólico (CDCl_3) – região dos hidrogênios das cadeias alquílicas.



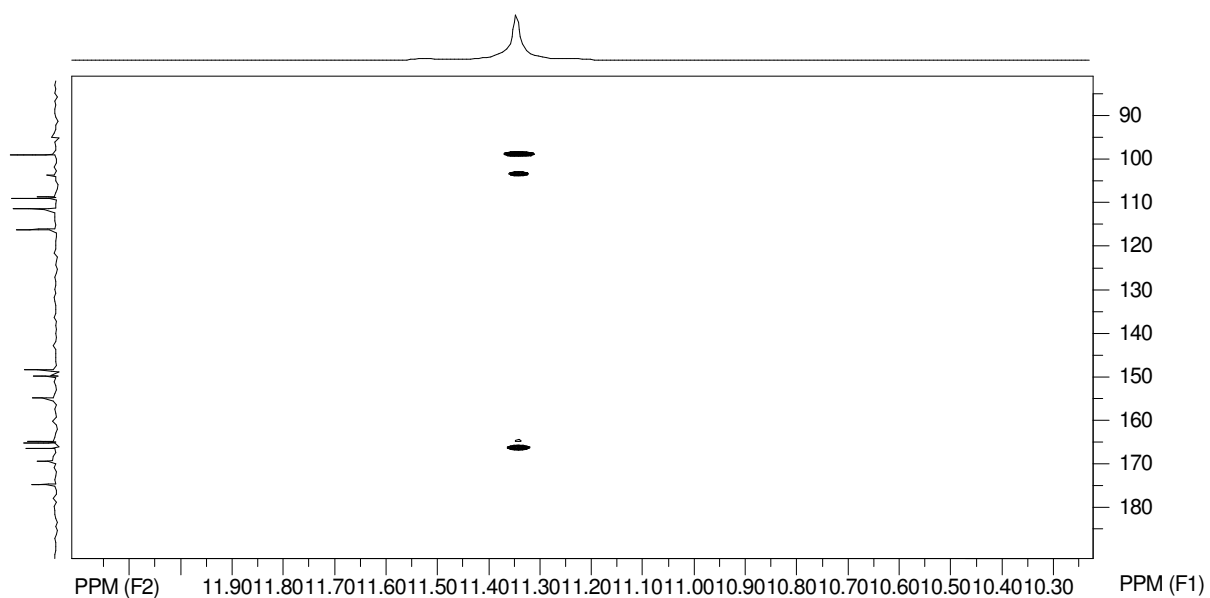
Espectro 111** – Ampliação do espectro de RMN de gHSQC do ácido perlatólico (CDCl_3) – região dos hidrogênios das cadeias alquílicas e carbonos com $\delta^{13}\text{C}$ de 32,0; 31,9 e 31,4 ppm (correlações ambíguas).

****Ampliação importantes para visualização das correlações entre hidrogênios e carbonos pertencentes as cadeias alquílicas:**

- 2,95 (H-C1'') e 2,98 (H-C1''') se correlacionando com C1'' (37,2) e C1''' (36,5); respectivamente
- 1,60 se correlacionando com 32,0/ 31,9 e/ou 31,4 (correlação ambígua)
- 1,34 se correlacionando com 22,4 e 22,6; e ainda com 32,0/ 31,9 e/ou 31,4 (correlação ambígua com relação aos 3 últimos δ de carbono)
- 0,88 (H-C5'' e H-C5''') se correlacionando com C5'' e C5''' (14,0)



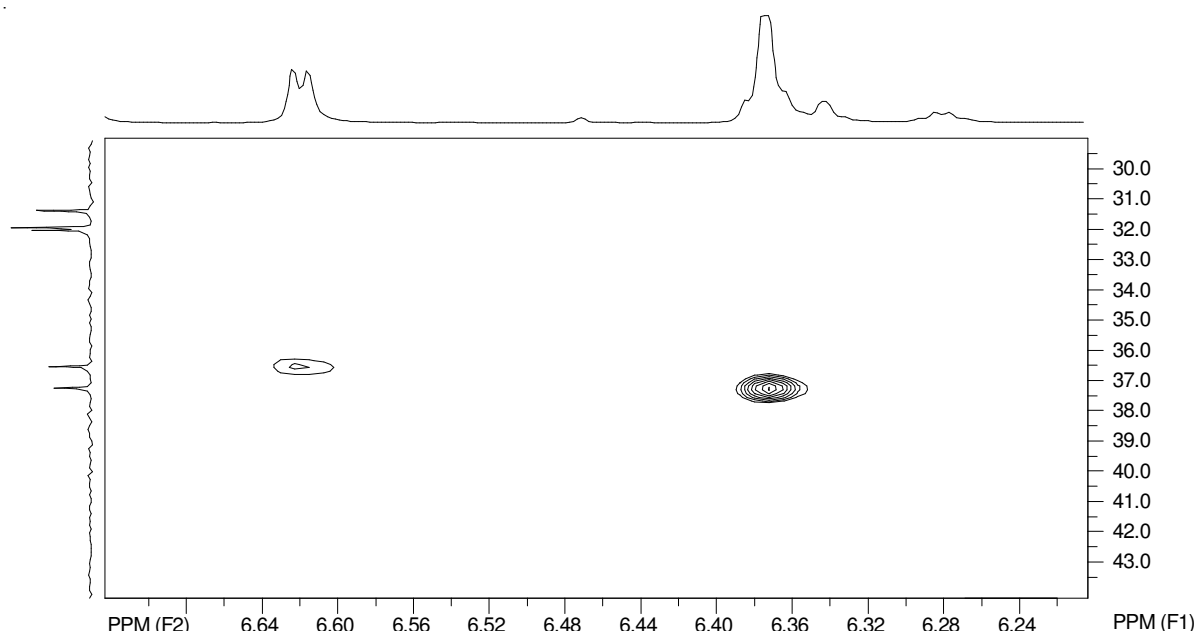
Espectro 112 - Espectro de RMN de gHMBC do ácido perlatólico (CDCl₃).



Espectro 113*** - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido perlatólico (CDCl₃) - região da hidroxila, em δ¹H em 11,34 ppm.

***Ampliação importante para visualização das correlações referentes ao hidrogênio de hidroxila

11,34 (OH-C2) se correlacionando com C3 (99,0 - J3) / C1 (103,6 - J3) / C4 (164,9 - J4) / C2 (166,6 - J2)

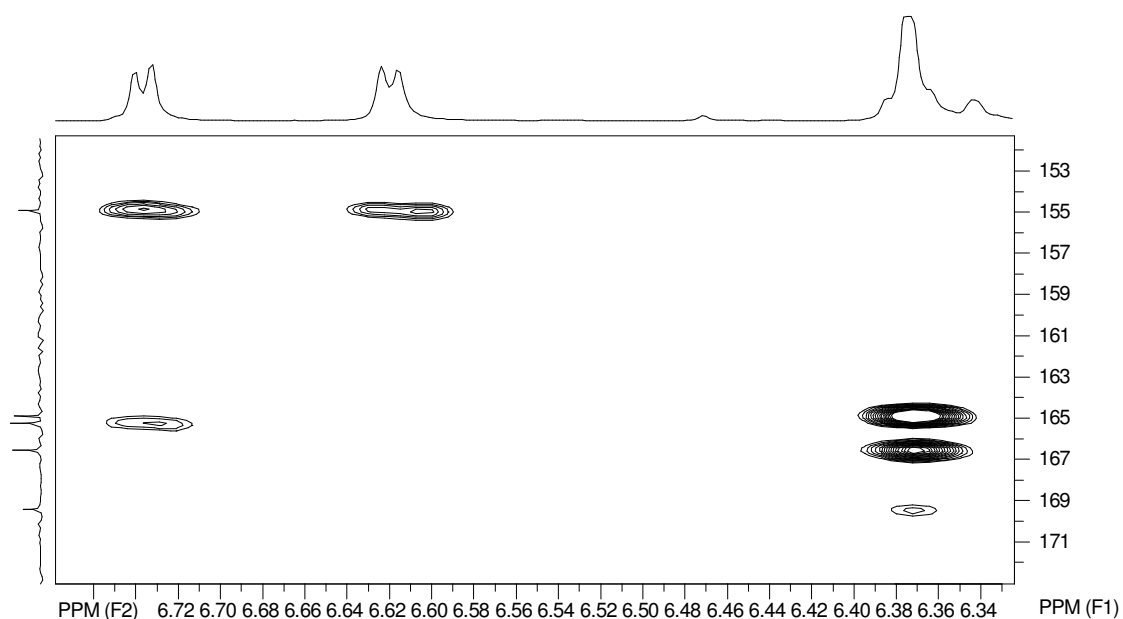


Espectro 114**** – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido perlatólico (CDCl_3) – região de hidrogênios aromáticos, em $\delta^1\text{H}$ em 6,62; 6,38 e 6,37 ppm.

****Ampliação importante para visualização das correlações que possibilitam atribuir os carbonos C1'' e C1''' , os primeiros carbonos das duas cadeias alquílicas do ácido perlatólico.

6,62 (H-C5') se correlacionando com C1''' (36,5 – J3)

6,37 (H-C5) se correlacionando com C1'' (37,2 – J3)



Espectro 115***** – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do ácido perlatólico (CDCl_3) – região de hidrogênios aromáticos, em $\delta^1\text{H}$ em 6,74; 6,62; 6,38 e 6,37 ppm.

*****Ampliação importante para visualização das correlações que possibilitam atribuir alguns carbonos oxigenados:

6,74 (H-C3') se correlacionando com C4' (155,0 – J2) / C2' (165,3 – J2)

6,62 (H-C5') se correlacionando com C4' (155,0 – J2)

6,38 e 6,37 (H-C3 e H-C5) se correlacionando com C4 (164,9 – J2)/ C2 (166,6 – J2 e/ou J4) / C7 (169,4 – J4)

Os dois sinais (6,37 e 6,38 ppm) estão muito próximos e indicam os H(C5) e H(C3). Essas correlações ambíguas não entram em conflito, já que os carbonos indicados pertencem ao mesmo anel aromático e podem ser atribuídos através da observação de outras correlações.

Ácido divaricático

Solventes deuterados: CDCl_3 (experimental – via comparação com atribuição do ácido perlatólico) e DMSO-d_6 (experimental – via experimentos de RMN 2D).

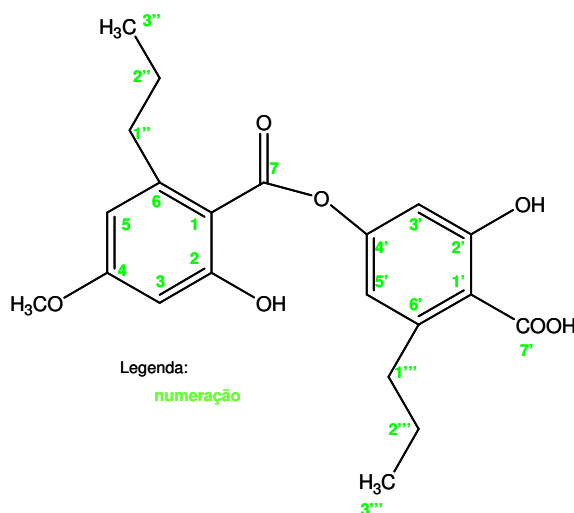


Tabela 41* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos do extrato *Canoparmelia ecaperata* e atribuição de sinais apenas para o **ácido divaricático**, que é a substância em maior proporção nesse extrato.

Experimental** CDCl_3 *** 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)				Experimental DMSO-d6 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
$\delta^{13}\text{C}$ (DEPT 135)	C	$\delta^1\text{H}$ (multiplic.)	H	$\delta^{13}\text{C}$ (DEPT 135)	C	$\delta^1\text{H}$ (multiplic.)	H
174,9	7'	13,31 (s)		169,8	7'	13,35 (s)	
169,4	7	11,34 (s)	OH(C2)	166,6	7	10,23 (s)	OH(C2)
166,6	2	11,04 (s)		161,8	4	6,58 (d, J=1,68Hz)	H(C3')
165,3	2'	6,75 (d, J=2,2 Hz)	H(C3')	158,0	2	6,51 (d, J=1,54Hz)	H(C5')
164,9	4	6,63 (d, J=2,2 Hz)	H(C5')	156,7	2'	6,35 (sl)	H(C5) e H(C3)
154,9	4'	6,47 (s)		151,7	4'	6,29 (s)	
149,6	6'	6,38 (d, J=2,6 Hz)	H(C5)	143,5	6	3,73 (s)	OCH ₃ (C4)
148,1	6	6,37 (d, J=2,6 Hz)	H(C3)	142,7	6'	2,73 (s)	
116,2 (CH)	5'	5,98(s)		118,8	1'	2,63 (t~m)	H(C1''')
112,0		3,93 (s)		113,2 (CH)	5'	2,57 (t~m)	H(C1'')
111,2 (CH)	5	3,83 (s)	OCH ₃ (C4)	111,7	1	2,37 (s)	
109,1		2,96 (m)	H(C1'') e H(C1''')	107,0 (CH)	3'	1,99 (s)	
109,0 (CH)	3'	2,68 (s)		106,9 (CH)	5	1,71 (s)	
108,6	1'	2,65 (s)		99,1 (CH)	3	1,58 (m)	H(C2'')
103,6	1	2,18 (s)		72,8 (CH)		1,53 (m)	H(C2''')
99,0	3	2,10 (s)		71,5 (CH)		1,21 (p)	
98,3 (CH)		1,75 (s)		70,6 (CH)		0,88 (t~m)	H(C3''')
56,4		1,67 (m)	H(C2'') H(C2''')	63,8 (CH ₂)		0,90 (t~m)	e H(C3'')
55,4 (CH ₃)	OCH ₃ (C4)	1,24 (sl)		63,0 (CH ₂)			
39,2 (CH ₂)	1''			55,2 (CH ₃)	OCH ₃ (C4)		
38,5 (CH ₂)	1'''			35,8 (CH ₂)	1''		

Continuação da tabela 41* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) apresentados nos espectros obtidos do extrato *Canoparmelia ecaperata* e atribuição de sinais para o **ácido divaricático**, que é a substância em maior proporção nesse extrato.

Experimental				Experimental			
CDCl ₃ *				DMSO-d ₆			
300MHz (¹ H) e 75MHz (¹³ C)				300MHz (¹ H) e 75MHz (¹³ C)			
δ ¹³ C (DEPT 135)		δ ¹ H (multiplic.)	H	δ ¹³ C (DEPT 135)	C	δ ¹ H (multiplic.)	H
32,1 (CH ₃)		0,99 (t~m)	H(C3'')	35,5 (CH ₂)	1'''		
31,2 (CH ₃)		0,95 (t~m)	H(C3''')	24,2 (CH ₂)	2''		
29,7				23,9 (CH ₂)	2'''		
27,9 (CH ₃)				13,9 (CH ₃)	3''		
25,2 (CH ₂)	2'' e			13,8 (CH ₃)	3'''		
24,8 (CH ₂)	2'''						
14,21 (CH ₃)	3'' e						
14,16 (CH ₃)	3'''						
7,5 (CH ₃)							

*as cores azul, lavanda e verde nas células da tabela podem indicar apenas que o δ ou a atribuição não são exclusivas de único núcleo (^1H ou ^{13}C) de uma mesma molécula; células da tabela na cor rosa indicam $\delta^{13}\text{C}$ de carbonos de açúcares (os quais não foram atribuídos).

**espectros de RMN do extrato de *C. ecaperata* em CDCl_3 estão dispostos nas páginas 52, 53 e 54.

*** atribuição feita a partir da comparação com atribuição feita para o ácido perlatólico (CDCl₃)

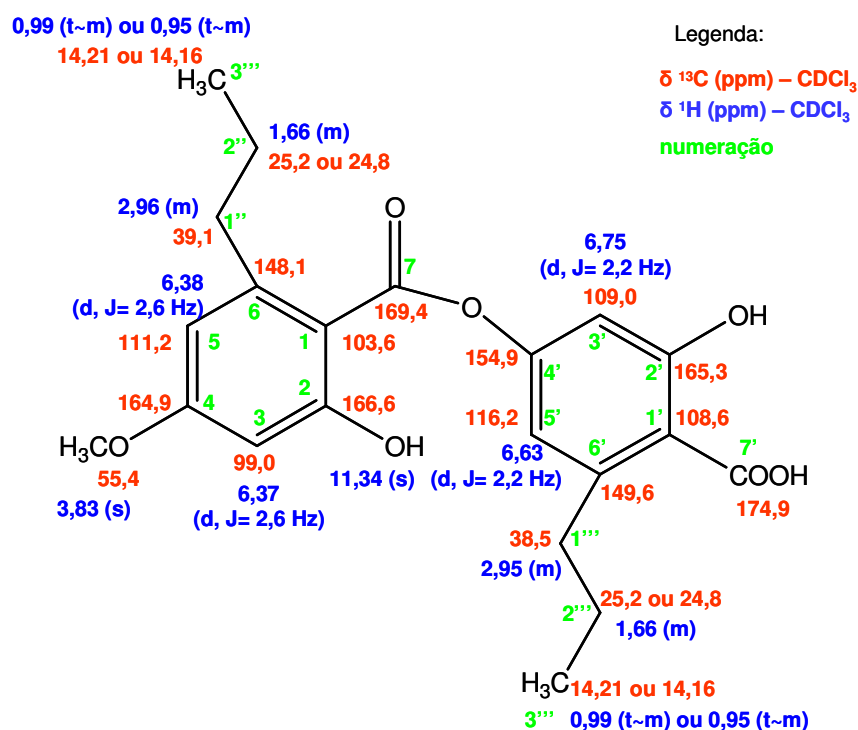


Figura 73 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do **ácido divaricático** (experimental, a partir dos espectros de RMN de *Canoparmelia ecaperata*, em CDCl_3)

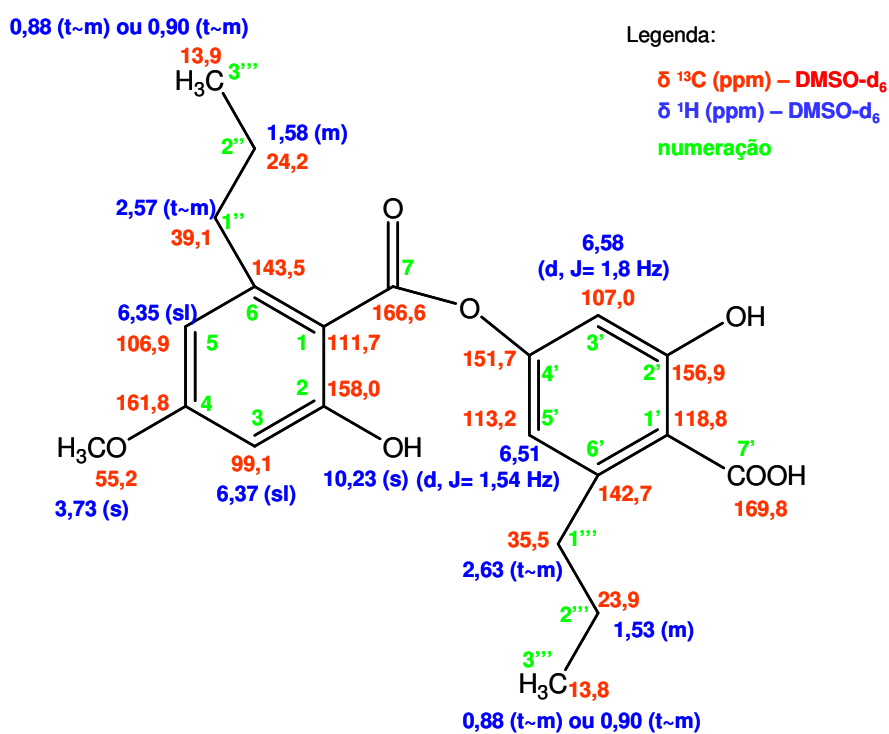
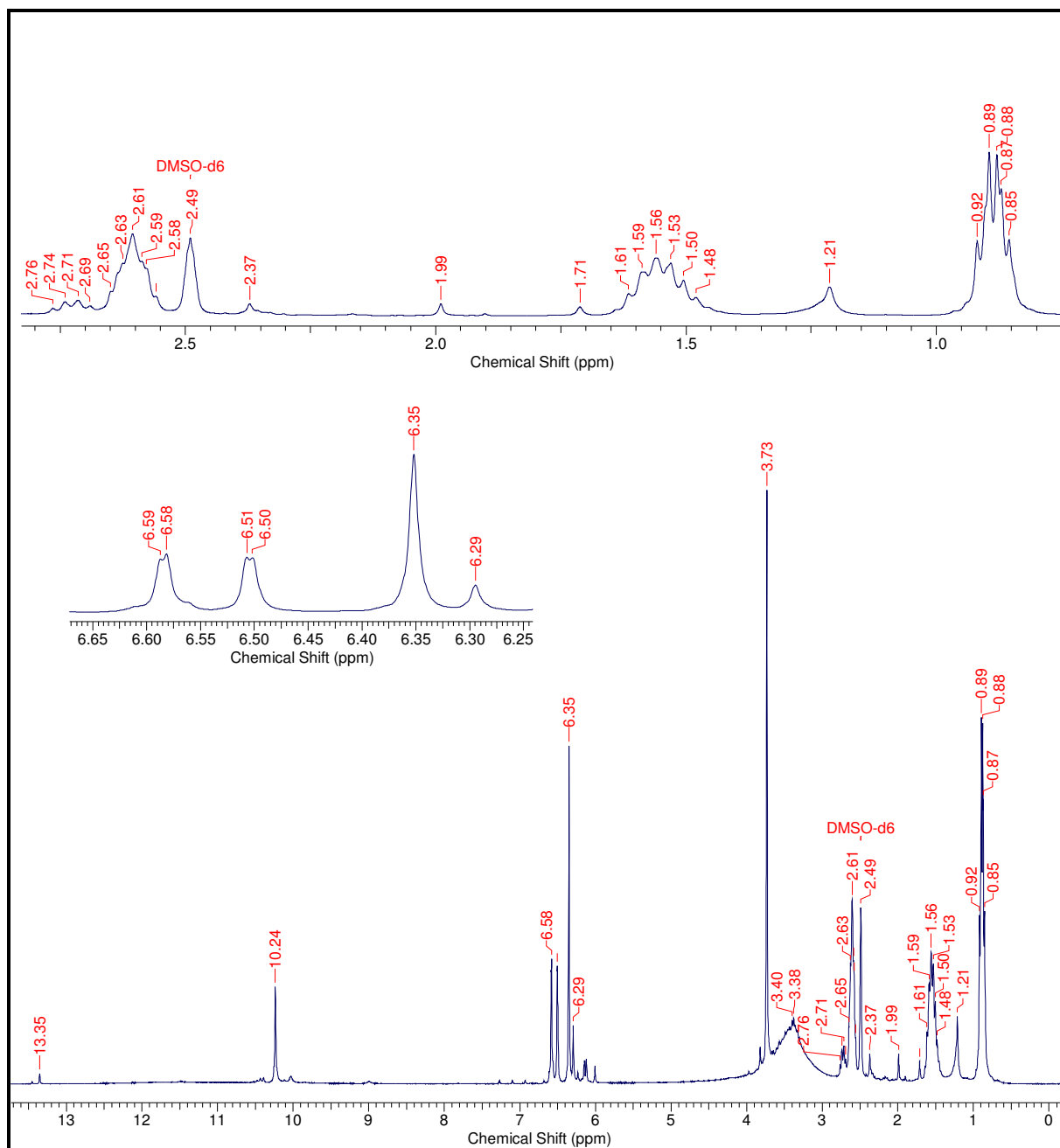
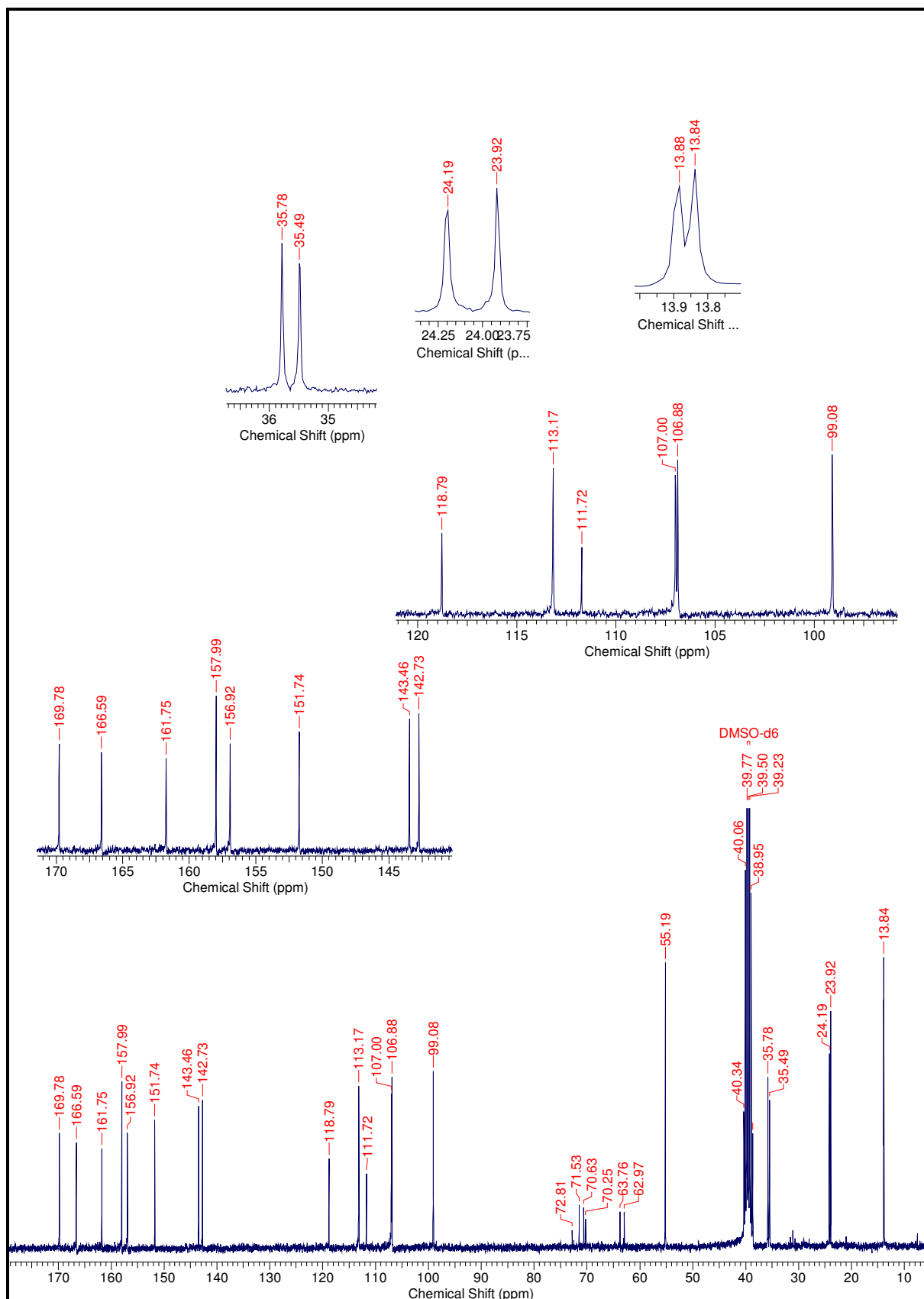


Figura 74 – Sinais de deslocamento químico de ¹³C e ¹H do **ácido divaricático** (experimental, a partir dos espectros de RMN de *Canoparmelia ecaperata*, em DMSO-d₆).



Espectro 116 - Espectro de RMN de ^1H do extrato de *Canoparmelia ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO-d_6).



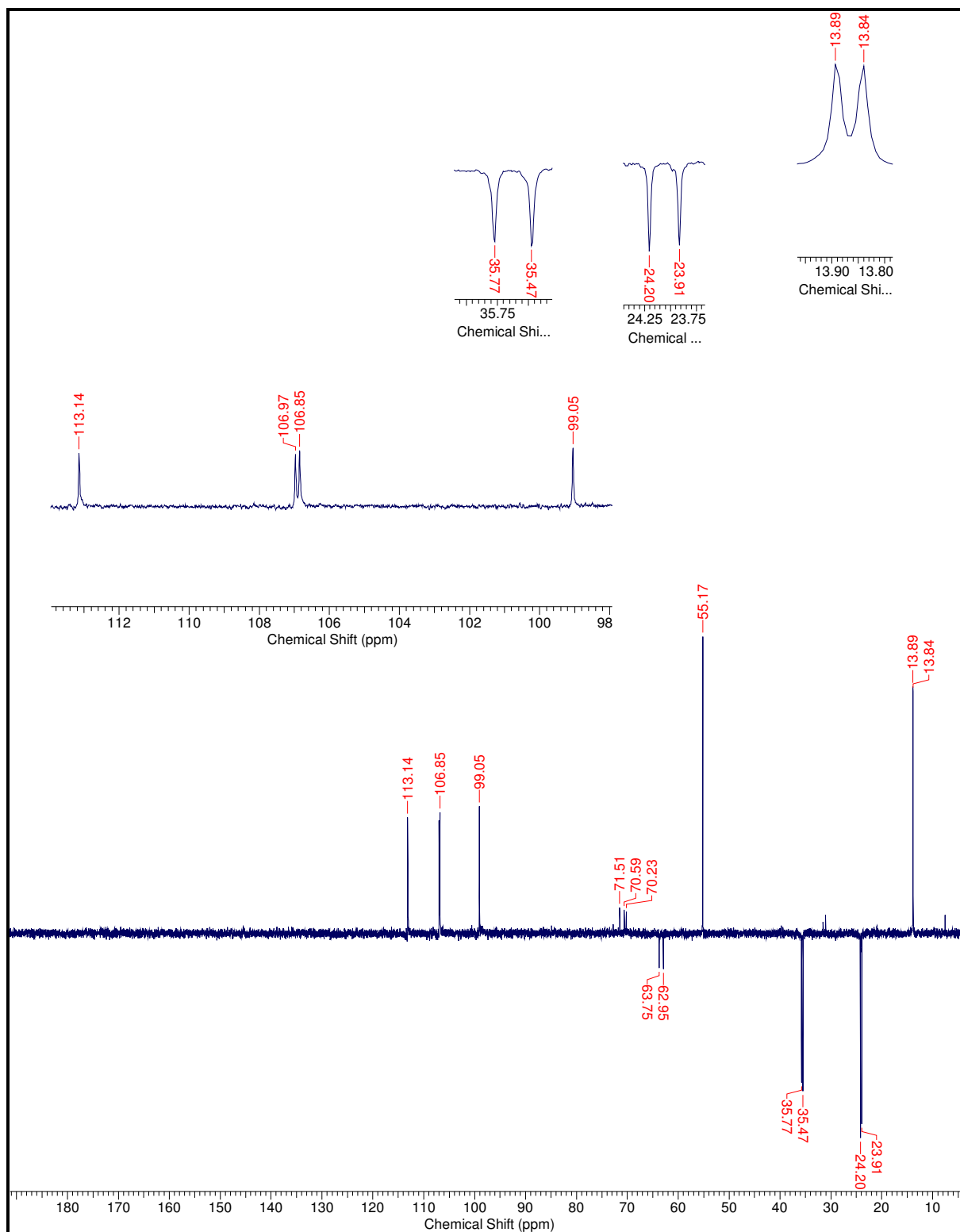


Tabela 42* – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido divaricático** a partir de dados experimentais de RMN ^1H , ^{13}C e correlações observadas em RMN de gHSQC e gHMBC (DMSO- d_6).

Ácido divaricático - Experimental			
DMSO-d_6, 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
$\delta^{13}\text{C}$ (DEPT 135)*	C	gHSQC	gHMBC
169,8	7'		161,5/ 110,6
166,6	7		
161,8	4		
158,0	2		
156,9	2'		
151,7	4'		
143,5	6		
142,7	6'		
118,8	1'		
113,2 (CH)	5'	6,51	35,5/ 118,8/ 107,0/ 151,7
111,7	1		
107,0 (CH)	3'	6,58	113,2/ 118,8/ 151,7/ 156,9
106,9 (CH)	5	6,35**	24,2/ 35,8/ 99,1*** /106,0*** /111,7/ 158,0/ 161,8/ 166,6
99,1 (CH)	3	6,35**	99,1*** /106,0*** /111,7/ 158,0/ 161,8/ 166,6
55,2 (CH ₃)	OCH ₃ (C4)	3,73	161,8
35,8 (CH ₂)	1''	2,57'	13,8/ 23,9
35,5 (CH ₂)	1'''	2,63'	13,9/ 24,2
24,2 (CH ₂)	2''	1,58'	143,5/ 13,9'/ 35,8'
23,9 (CH ₂)	2'''	1,53'	142,7/ 13,8'/ 35,5'
13,9 (CH ₃)	3''	0,88 ou 0,90''	23,9/ 24,2/ 35,5/ 35,8
13,8 (CH ₃)	3'''	0,88 ou 0,90''	23,9/ 24,2/ 35,5/ 35,8
---	---	OH(C2)= 11,34***	99,1/ 111,7/ 143,5/ 158,0

*Os espectros foram obtidos do extrato *Canoparmelia ecaperata*, onde o **ácido divaricático**, é a substância em maior proporção nesse extrato.

**Todas as correlações do sinal com $\delta^1\text{H}$ de 6,35 ppm com carbonos aromáticos, exceto pelas indicadas com 3x*, podem ser ambíguas, mas não entram em conflito, já que os carbonos indicados pertencem ao mesmo anel aromático e podem ser atribuídos através da observação de outras correlações.

*** correlação a J3 ligações

'correlação ambígua que foi resolvida através da observação de outras correlações

''sinais que não puderam ser atribuídos inequivocamente

''' este sinal apresenta correlações apenas no espectro de RMN de gHMBC.

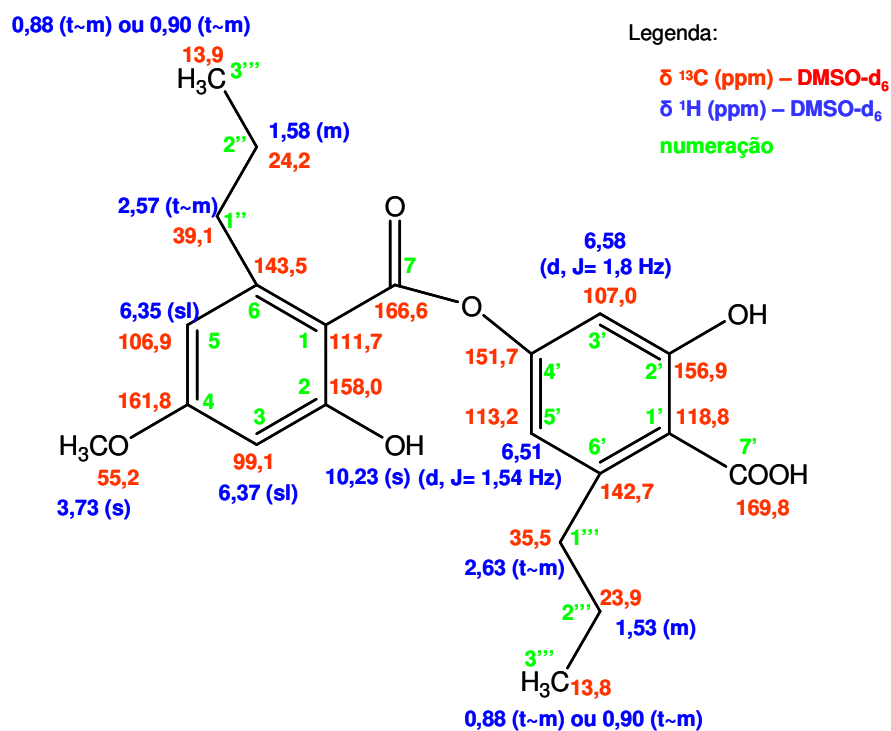
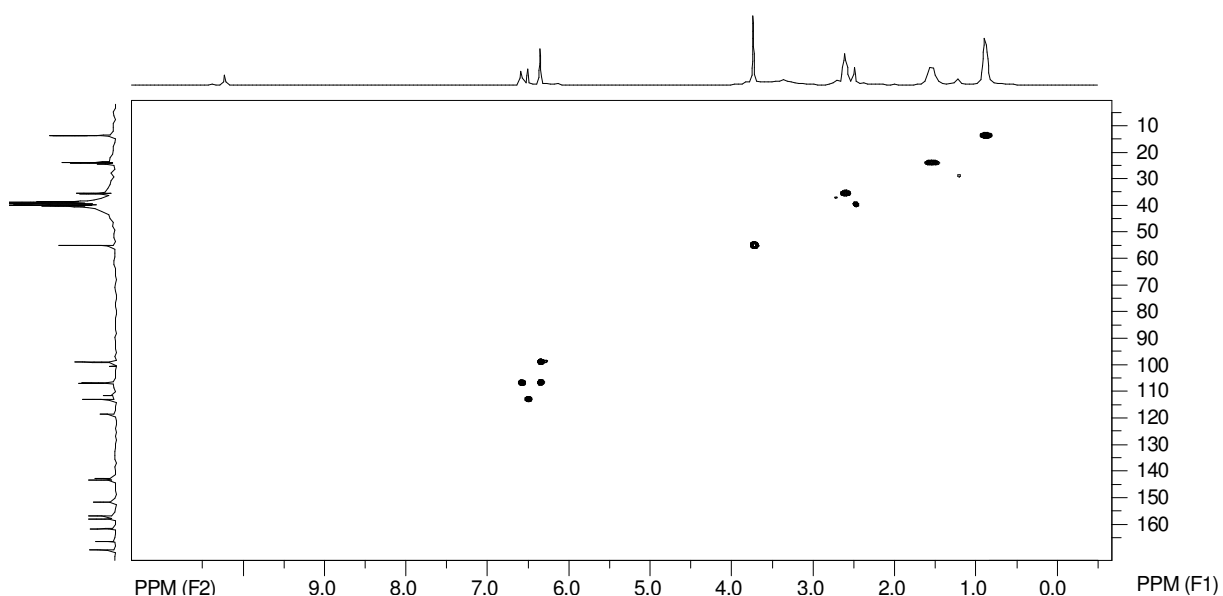
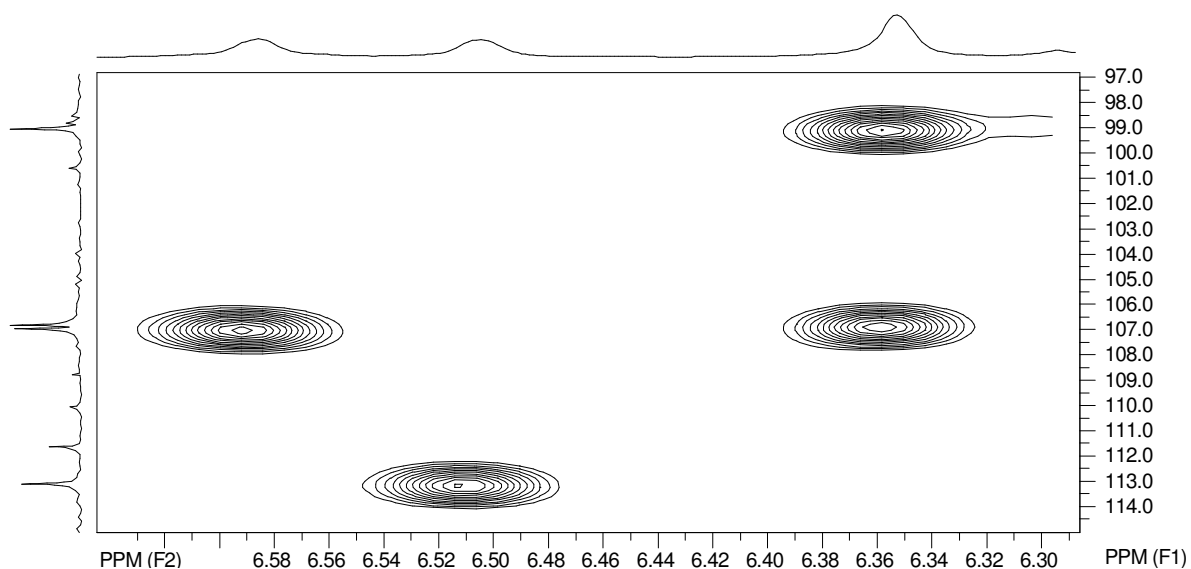


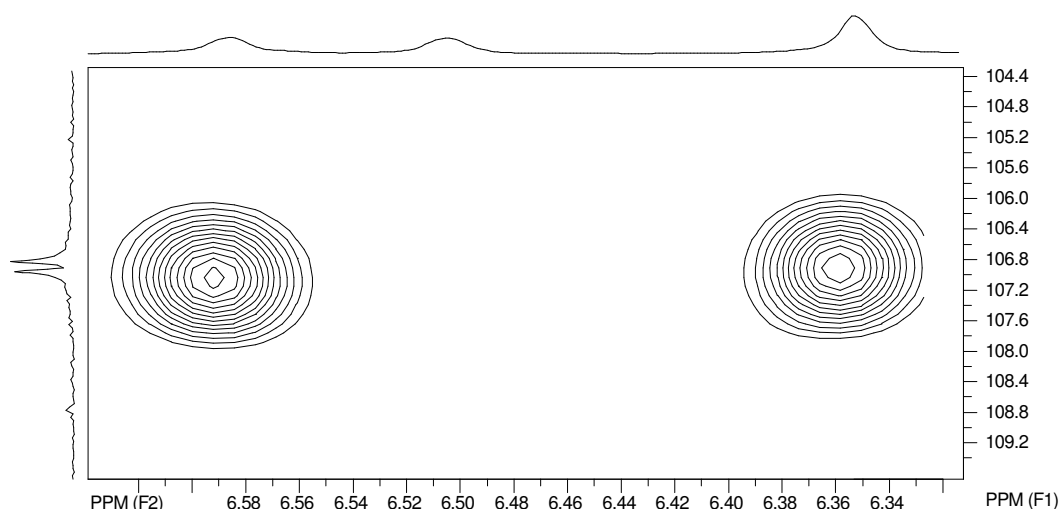
Figura 74 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C e ^1H do **ácido divaricático** (experimental, a partir dos espectros de RMN de *Canoparmelia ecaperata*, em DMSO- d_6).



Espectro 119 - Espectro de RMN de gHSQC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido (DMSO- d_6).



Espectro 120* - Ampliação de RMN de gHSQC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região dos hidrogênios aromáticos.



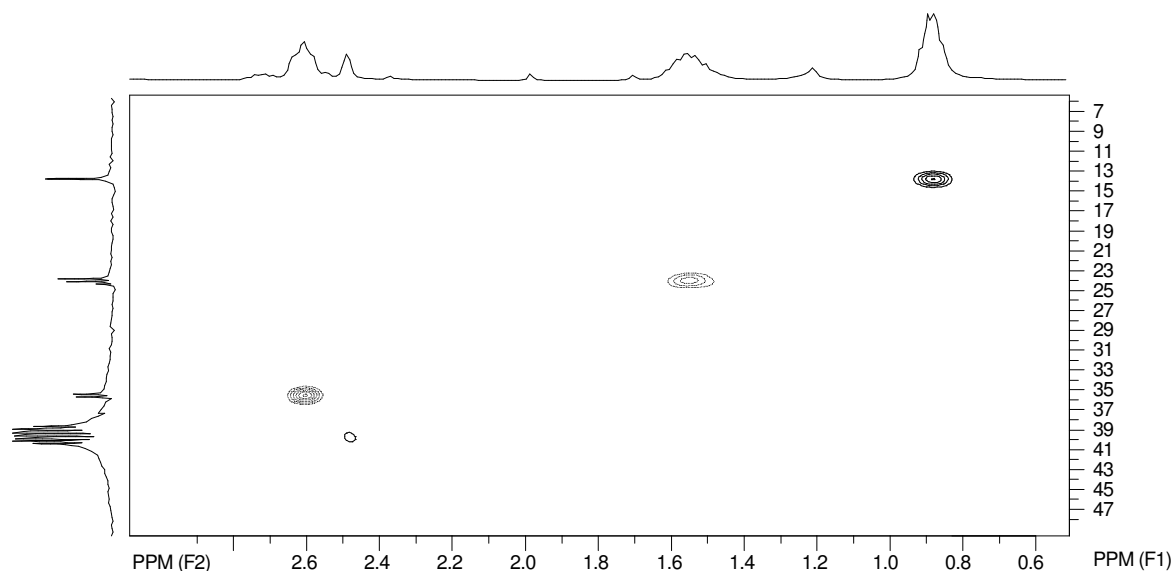
Espectro 121* - Ampliação de RMN de gHSQC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região dos hidrogênios aromáticos.

*Ampliação importantes para visualização das correlações que possibilitam atribuir os hidrogênios e carbonos aromáticos:

6,58 (H-C3') se correlacionando com 107,0 (C3')

6,51 (H-C5') se correlacionando com 113,2 (C5')

6,35 (H-C3 e H-C5) se correlacionando com C3 (106,9) e C5 (99,1)



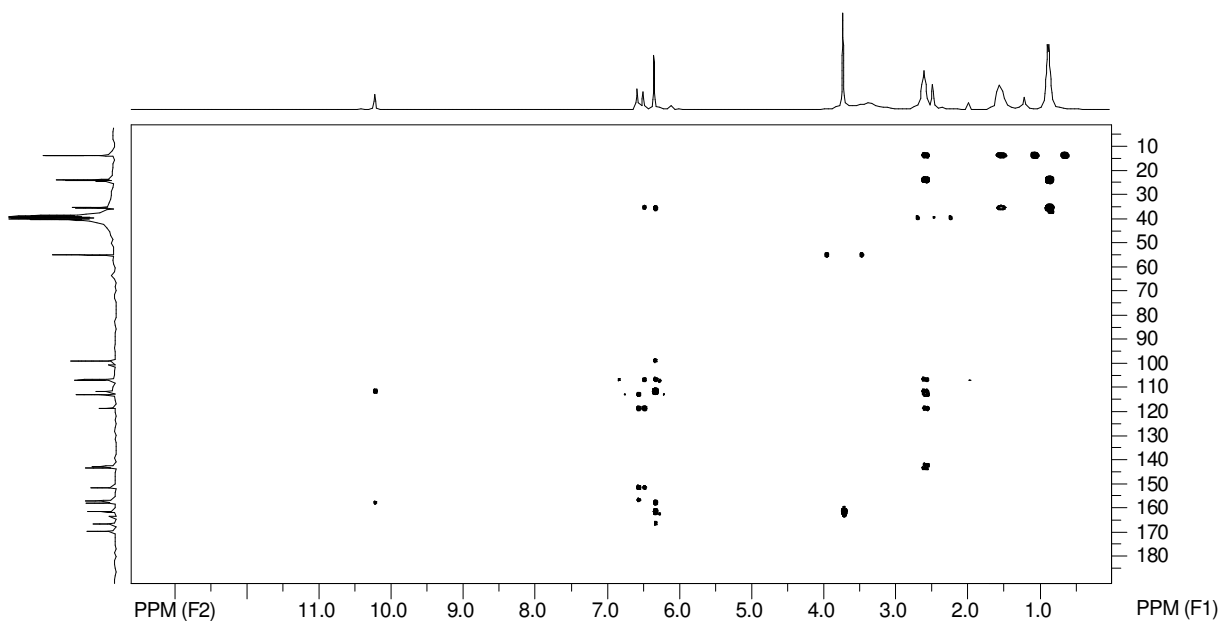
Espectro 122** - Ampliação de RMN de gHSQC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região dos hidrogênios das cadeias alquílicas

**Ampliação importantes para visualização das correlações entre hidrogênios e carbonos pertencentes as cadeias alquílicas:

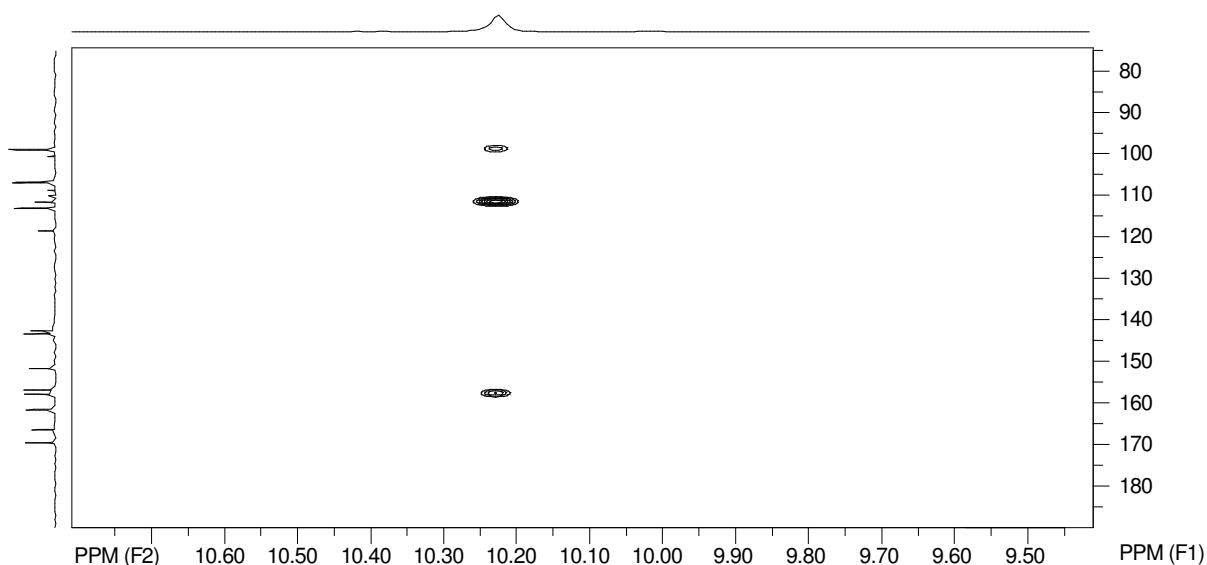
2,63 e 2,57 se correlacionando com 35,8 e 35,5 (correlação ambígua);

1,53 e 1,58 se correlacionando com 23,9 e 24,2 (correlação ambígua)

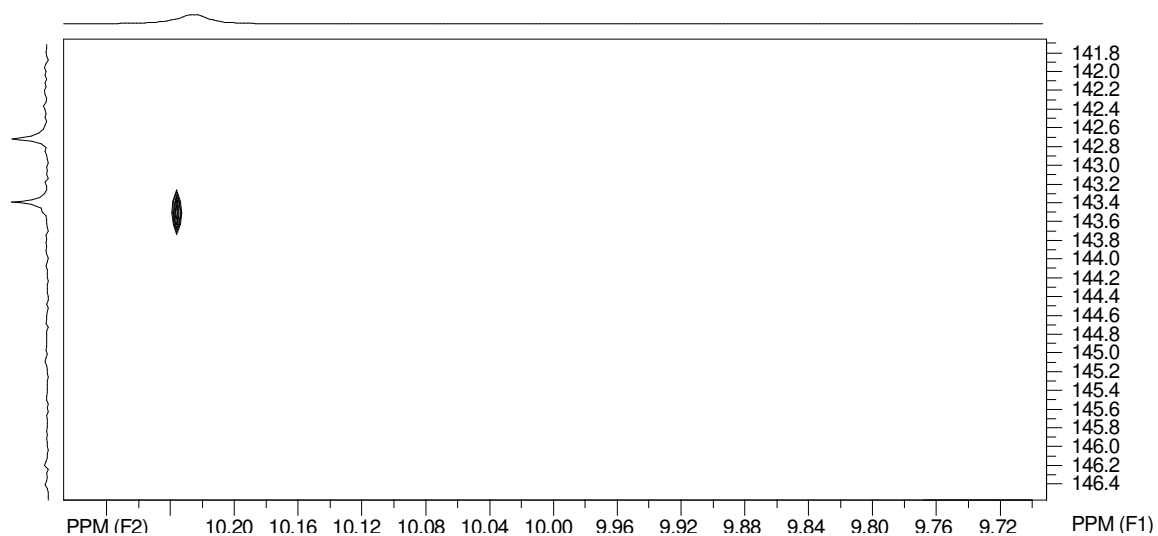
0,88 e 0,90 se correlacionando com 13,8 e 13,9 (correlação ambígua)



Espectro 123 - Espectro de RMN de gHMBC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6).

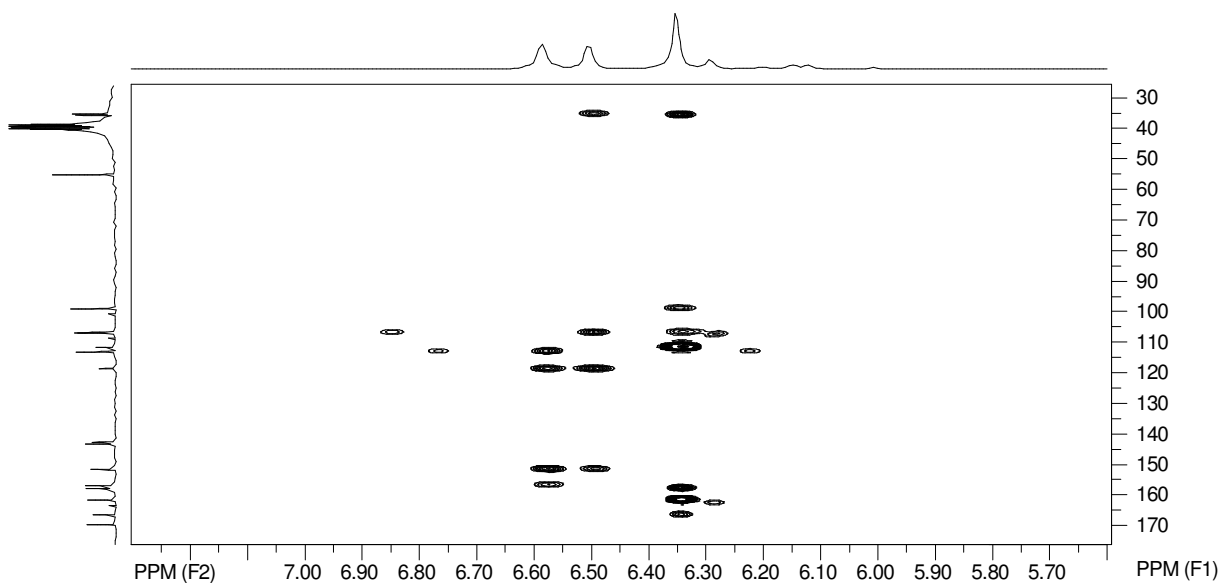


Espectro 124*** - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região da hidroxila com δ^1H 10,23 ppm; corte raso.

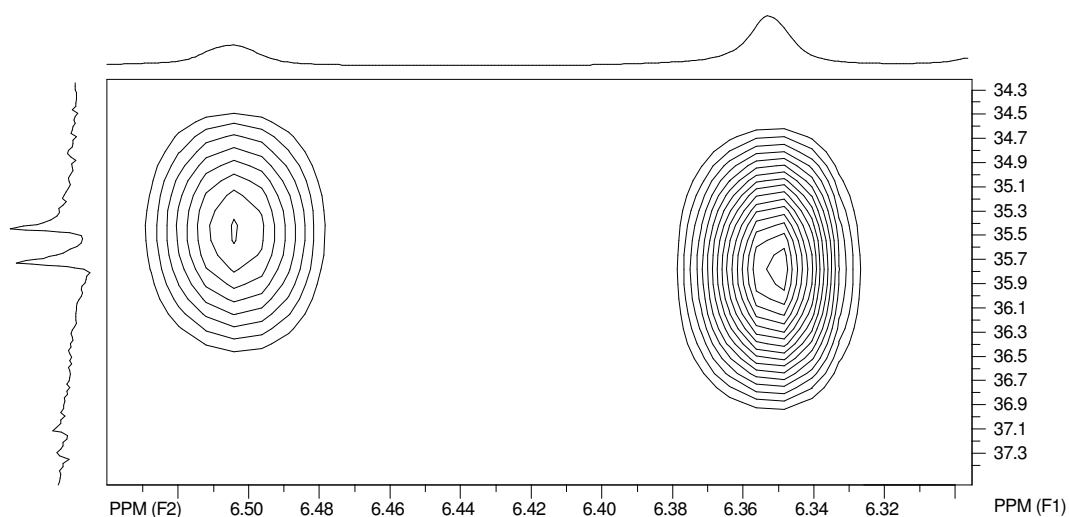


Espectro 125*** - Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região da hidroxila com δ^1H 10,23 ppm; corte fundo.

***Ampliações importantes para visualização das correlações referentes ao hidrogênio de hidroxila 10,23 (OH-C2) se correlacionando com C3 (99,1 – J3)/ C1 (111,7 – J3)/ C6 (143,5 – J4) e C2 (158,0 – J2)



Espectro 126 – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região de hidrogênios aromáticos.

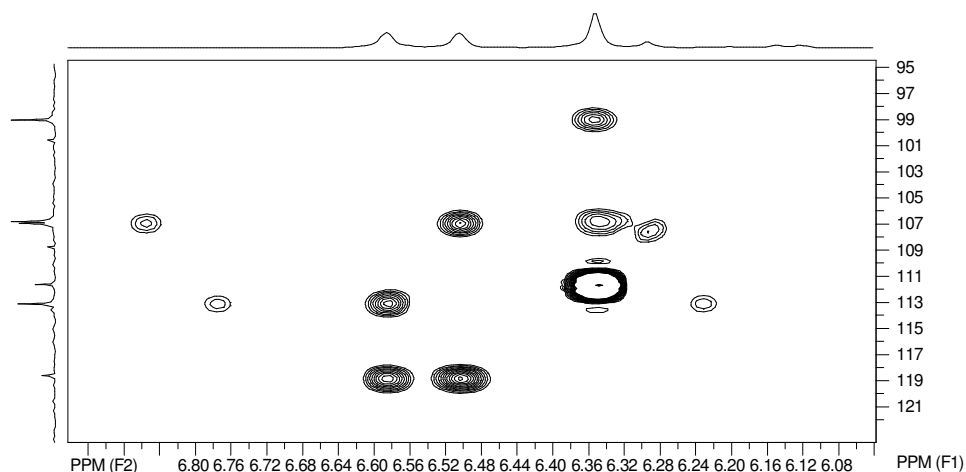


Espectro 127**** – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região de hidrogênios aromáticos, com δ^1H em 6,51 e 6,35 ppm.

****Ampliação importante para visualização das correlações que possibilitam atribuir os carbonos C1'' e C1''', os primeiros carbonos das duas cadeias alquílicas do ácido divaricático.

6,51 (H-C5') se correlacionando com C1''' (35,5 – J3)

6,35 (H-C5) se correlacionando com C1'' (35,8 – J3)



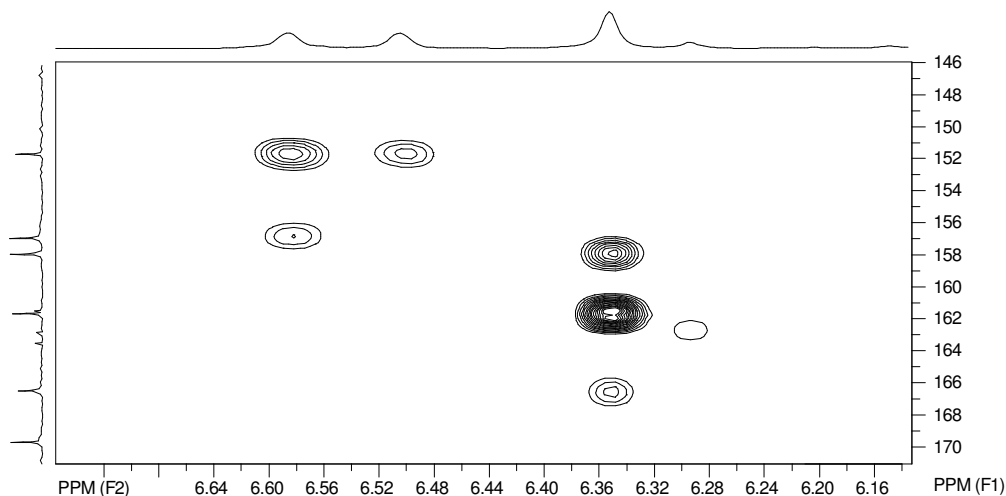
Espectro 128* – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região de hidrogênios aromáticos, com δ^1H em 6,58; 6,51 e 6,35 ppm e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 95 a 120 ppm.

*Ampliação importante para visualização das correlações entre os hidrogênios aromáticos e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 95 a 120 ppm do ácido divaricático.

6,58 (H-C3') se correlacionando com C5' (113,2 – J3) e C1' (118,8 – J3)

6,51 (H-C5') se correlacionando com C3' (107,0 – J3) e C1' (118,8 – J3)

6,35 (H-C5 e H-C3) se correlacionando com C3 (99,1 – J3)/ C5 (106,9 – J3) e C1 (111,7 – J3)



Espectro 129** – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região de hidrogênios aromáticos, com δ^1H em 6,58; 6,51 e 6,35 ppm e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 146 a 170 ppm.

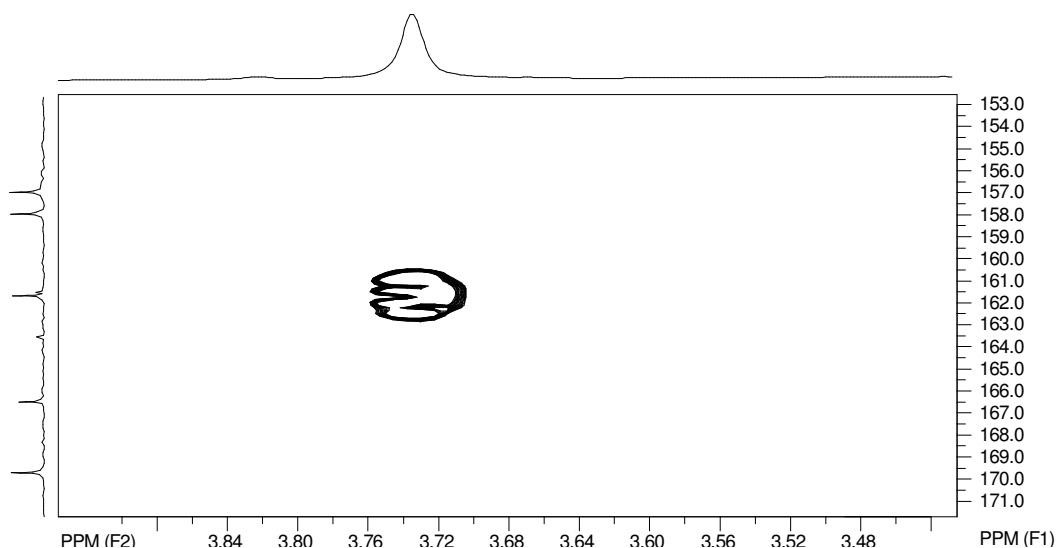
**Ampliação importante para visualização das correlações entre os hidrogênios aromáticos e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 146 a 170 ppm, que geralmente são oxigenados.

6,58 (H-C3') se correlacionando com C4' (151,7 – J2) e C2' (156,9 – J2);

6,51 (H-C5') se correlacionando com C4' (151,7 – J2);

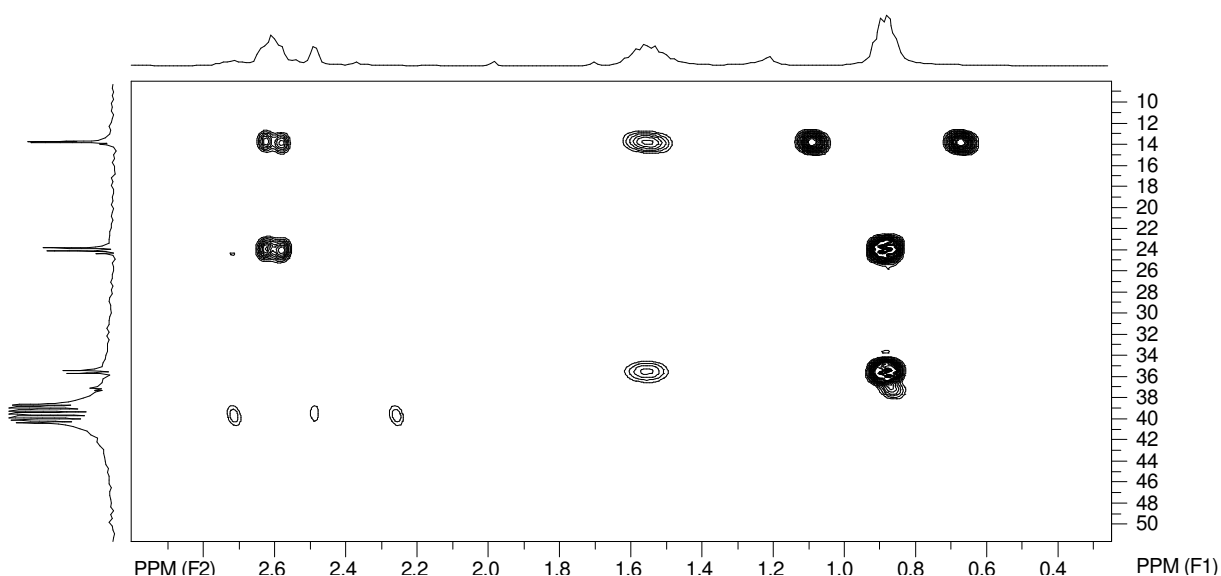
6,35 (H-C5 e H-C3) se correlacionando com C2 (158,0 – J2 e/ou J4)/ C4 (161,8 – J2) e C7 (166,6 – J4).

O sinal em 6,35 indica H(C5) e H(C3) e então as correlações que partem desse sinal são ambíguas, porém não entram em conflito, já que os carbonos indicados pertencem ao mesmo anel aromático e podem ser atribuídos através da observação de outras correlações.

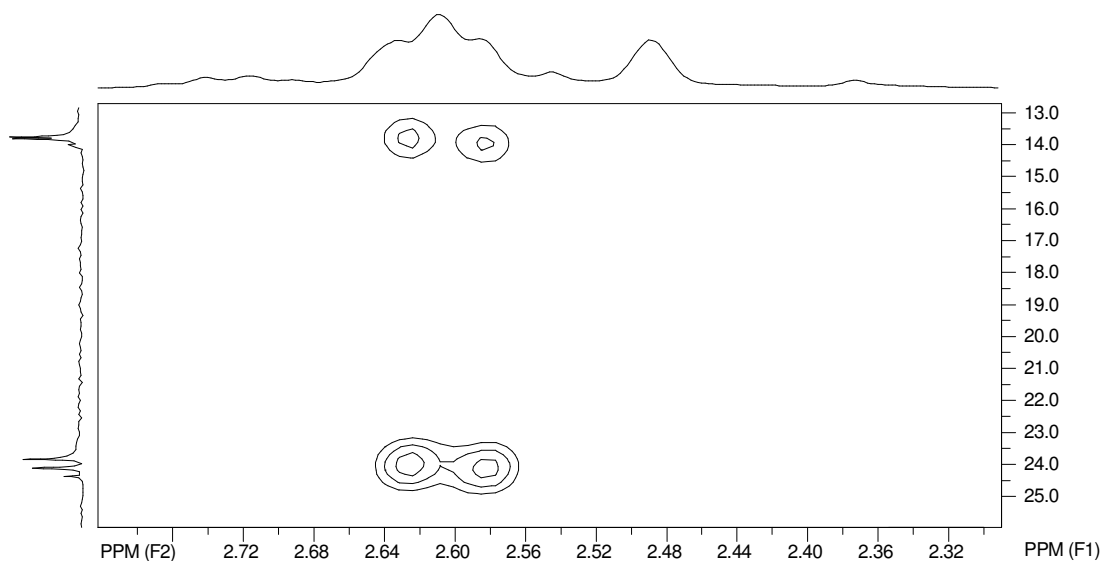


Espectro 130*** – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – hidrogênios com sinal de δ^1H em 3,73 ppm e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 153 a 170 ppm.

***Ampliação importante para visualização da correlação entre o sinal dos hidrogênios da metoxila ligada em C4 (com δ^1H em 3,73 ppm) e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 153 a 170 ppm, que geralmente são oxigenados.
3,73 (OCH₃-C4) se correlacionando com C4 (161,8 – 13)



Espectro 131 – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região de hidrogênios que podem ser atribuídos às cadeias alquílicas e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 0 a 50 ppm.



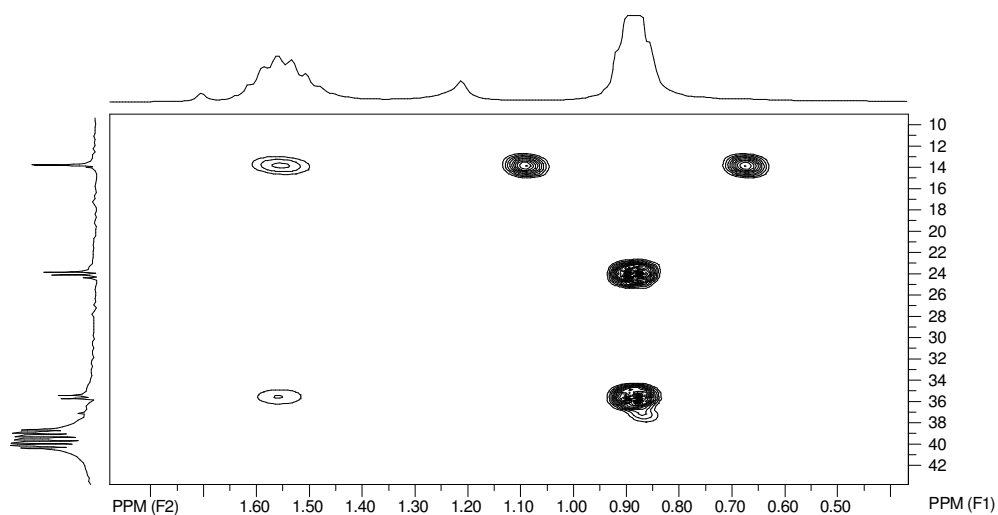
Espectro 132**** – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região dos sinais δ^1H em 2,63 e 2,57 (2xt~m) e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 0 a 50 ppm; corte mais raso.

****Ampliação importante para visualização da correlação entre sinais de δ^1H em 2,63 e 2,57 (2xt~m), que podem ser atribuídos como H(C1''') e H(C1''), respectivamente, e os outros carbonos da cadeia alquílica.

2,63 (H-C1''') se correlacionando com C3''' (13,8 – J3) e C2''' (23,9 – J2);

2,57 (H-C1'') se correlacionando com C3'' (13,9 – J3) e C2'' (24,2 – J2).

Essas correlações confirmar que os sinais de δ^1H em 2,63 e 2,57 (H-C1''' e H-C1'', 2xt~m), que parecem apenas um multiplete quando observados no espectro de RMN 1H , são dois tripletes sobrepostos.



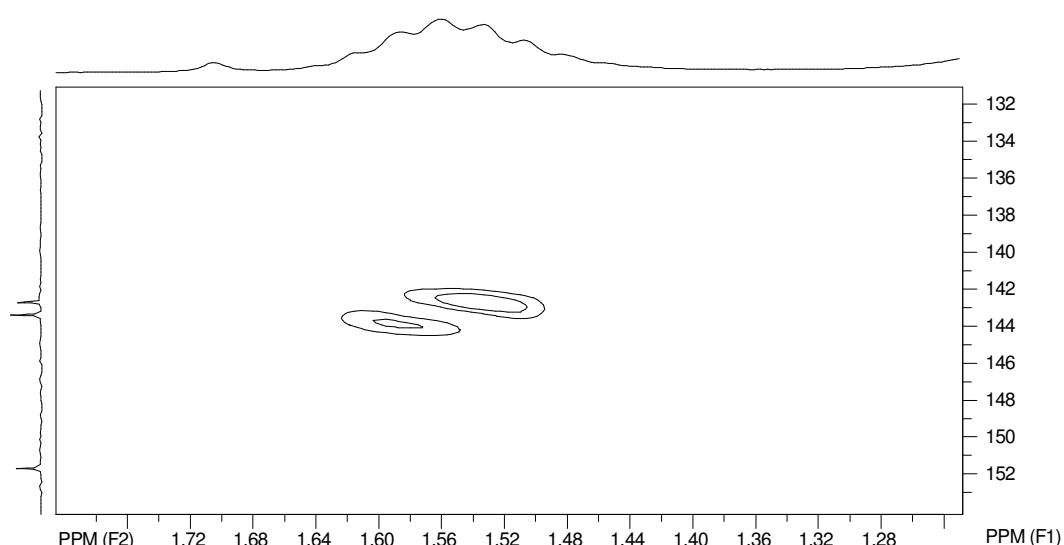
Espectro 133° – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região dos sinais δ^1H em 1,53 e 1,58 (2xm) e 0,88 e 0,90 (2xt~m), e carbonos da região de $\delta^{13}C$ de 0 a 50 ppm; corte mais raso.

A ampliação anterior é importante para visualização das correlação entre sinais de $\delta^1\text{H}$ em 1,53 e 1,58 (2xm, atribuídos como H-C2''' e H-C2'', respectivamente) e 0,88 e 0,90 (2xt~m, H-C3'' e/ou H-C3''', que não puderam ser atribuídos inequivocamente), e os outros carbonos da cadeia alquílica.

1,53 e 1,58 (H-C2''' e H-C2'') se correlacionando com C3''' (13,8 – J2)/ C3'' (13,9 – J2)/ C1''' (35,5 – J2) e C1'' (35,8 – J2) (correlações ambíguas);

0,88 e 0,90 (H-C3'' e/ou H-C3''') se correlacionando com C2''' (23,9 – J2)/ C2'' (24,3 – J2)/ C1''' (35,5 – J3) e C1'' (35,8 – J3) (correlações ambíguas).

Essas correlações ainda não permitem confirmar que os sinais em 1,53 e 1,58 são realmente dois multipletos sobrepostos. Mas isso poderá ser observado na próxima ampliação que será apresentada.

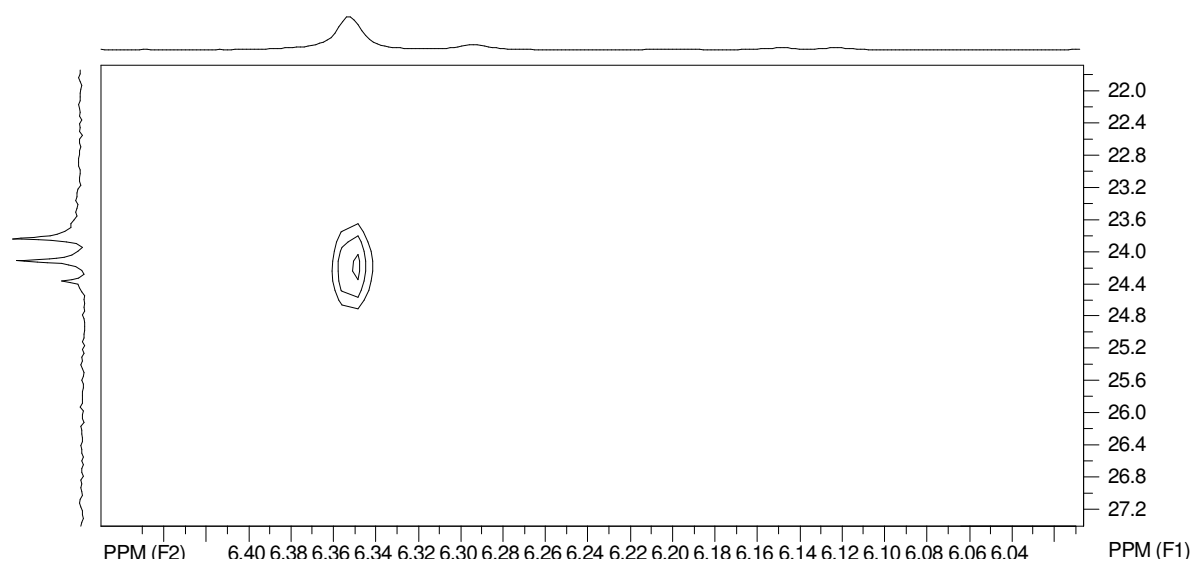


Espectro 134° – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região dos sinais $\delta^1\text{H}$ em 1,53 e 1,58 (2xm) e carbonos da região de $\delta^{13}\text{C}$ de 130 a 150 ppm; corte mais fundo.

°Ampliação importante para visualização da correlação entre sinais de $\delta^1\text{H}$ em 1,53 e 1,58 (2xm) que podem ser atribuídos como H-C2''' e H-C2'', respectivamente, e carbonos aromáticos aos quais estão ligados as cadeias alquílicas.

1,53 (H-C2''') se correlacionando com C6' (142,7 – J3);

1,58 (H-C2'') se correlacionando com C6 (143,5 – J3).



Espectro 135^{*}** – Ampliação do espectro de RMN de gHMBC do extrato de *C. ecaperata*, que contém ácido divaricático (DMSO- d_6) – região dos sinais de $\delta^1\text{H}$ em 6,35 ppm e carbonos da cadeia alquílica da região de $\delta^{13}\text{C}$ de 24 ppm; corte mais fundo.

^{***}Ampliação importante para visualização da correlação entre sinais de $\delta^1\text{H}$ em 6,35 ppm (H-C5, neste caso) com C2'' (24,2 – J4).

Ácido protopraesorediósico

Solvente deuterado: CDCl_3 (David *et al.* 1990)

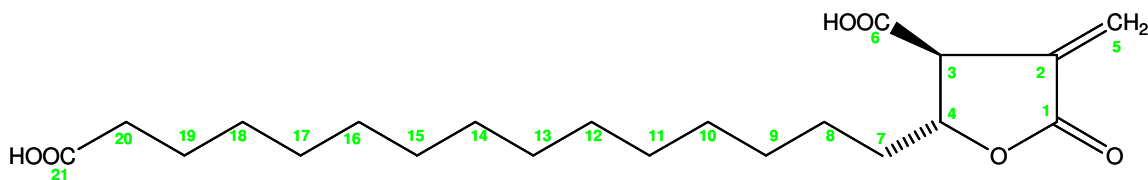
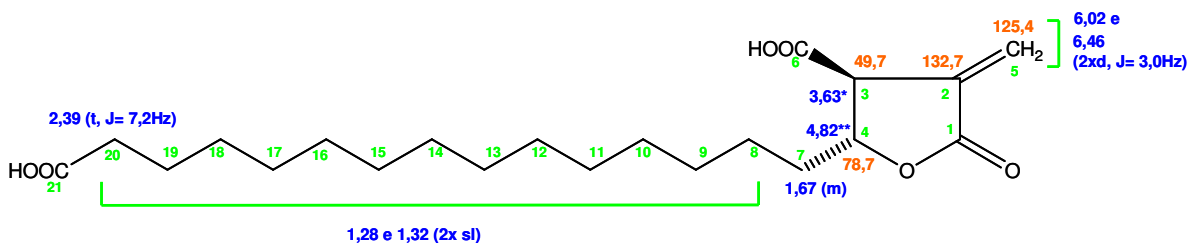


Tabela 43 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido protopraesorediósico** a partir de dados da literatura (CDCl_3).

Ácido protopraesorediósico - David <i>et al.</i> 1990	
CDCl_3, 300MHz (^1H)	
δ ^1H (multiplic.)	H
6,46 (d, J= 3Hz)	H(C5)
6,02 (d, J= 3Hz)	H(C5)
4,82 (dt, J= 6,0 e 6,1Hz)	H(C4)
3,63 (ddd, J= 6,0 e 3,0Hz)	H(C3)
2,41 (t, J= 7,2Hz)	H(C20)
1,32 (sl)	H(cadeia alquílica)
1,28 (sl)	H(cadeia alquílica)



Legenda:

numeração

δ ^{13}C (ppm) – CDCl_3

δ ^1H (ppm) – CDCl_3

* (ddd, J= 6,0 e 3,0 Hz)

** (dt, J= 3,0 e 6,0 Hz)

Figura 75 – Sinais de deslocamento químico de ^1H do **ácido protopraesorediósico** (David *et al.* 1990, CDCl_3).

Ácido murólico

Solvente deuterado: piridina-d₅ (Rezanka *et al.* 2000)

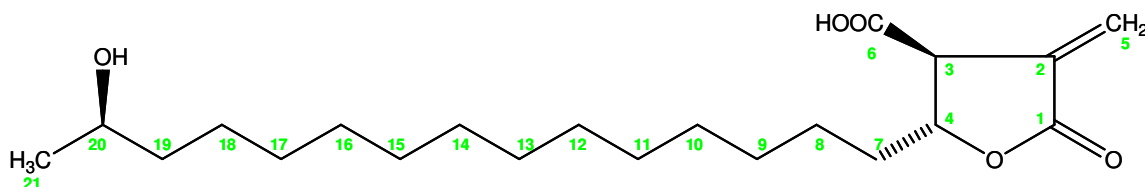


Tabela 44 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido murólico** a partir de dados da literatura.

Ácido murólico* – Rezanka <i>et al.</i> 2000			
Piridina-d₅, 500MHz (¹H) e 125MHz (¹³C)			
δ ¹³ C	C	δ ¹ H (multiplic.)	H
173,5	1	6,37 (d, J= 3,0Hz)	H(C5)
168,5	6	6,02 (d, J= 3,0Hz)	H(C5)
133,1	2	4,83 (dt, J= 6,8 e 11,5Hz)	H(C4)
125,6	5	3,74 (m)	H(C20)
79,3	4	3,61 (dt, J= 3,0 e 6,0Hz)	H(C3)
68,2	20	1,74 (m)	H(C7)
49,7	3	1,28 (sl)	H(cadeia alquílica)
39,0	19	1,15 (d, J= 6,0Hz)	H(C21)
35,8	7		
28,1 a 29,4	9 a 17		
25,6	18		
24,7	8		
23,3	19		

*A atribuição se refere a ésteres glicosídicos do ácido murólico, substituídos na hidroxila de C20.

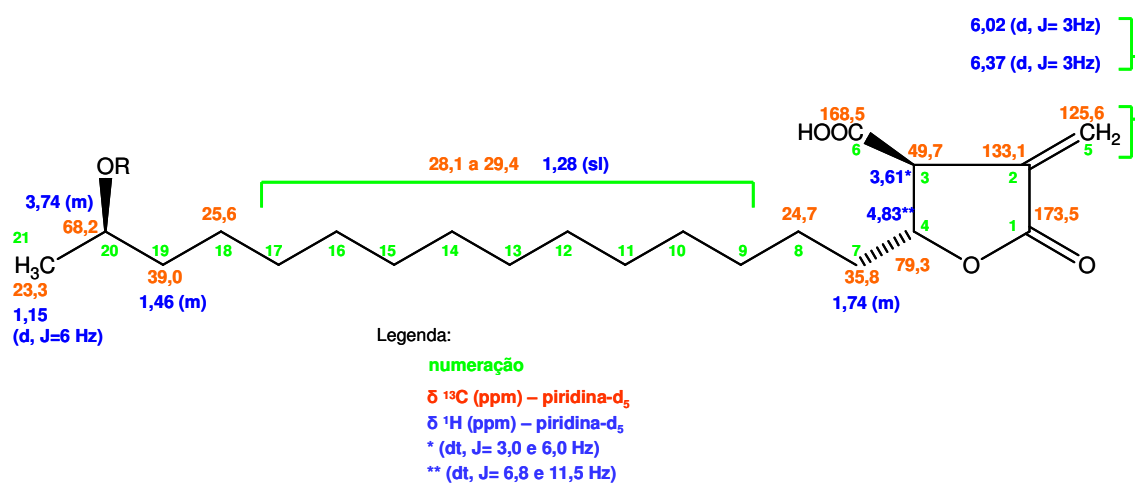


Figura 76 – Sinais de deslocamento químico de ¹H do **ácido murólico** (David *et al.* 1990, piridina-d₅).

Ácido protoliquesterínico

Solventes deuterados: CDCl_3 (^{13}C , Huneck & Yoshimura, 1996) e $\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$ (2:1) (^1H , Huneck & Yoshimura, 1996).

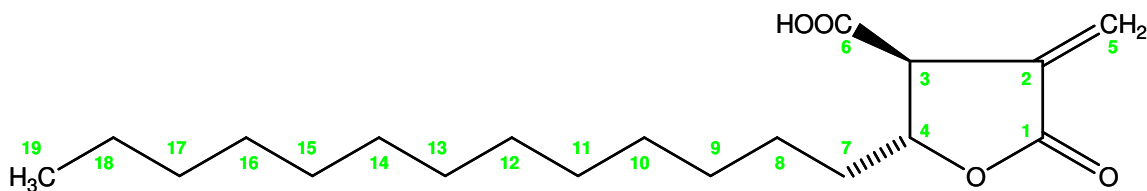
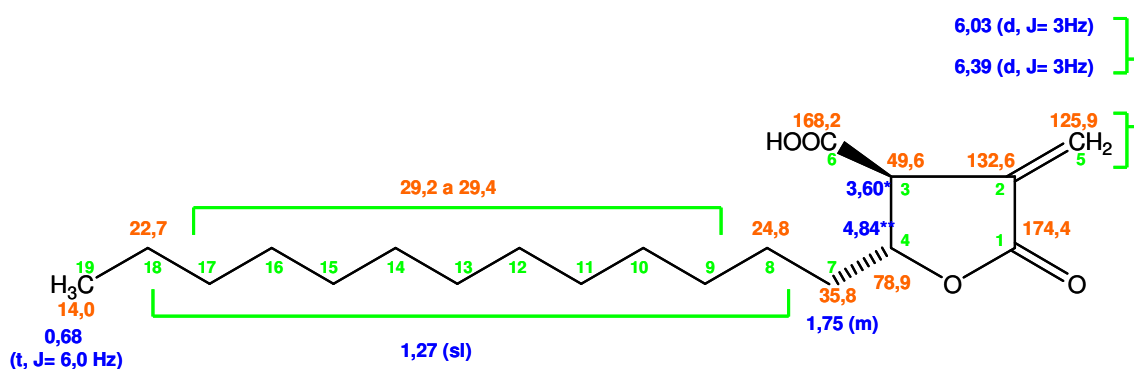


Tabela 45 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido protoliquesterínico** a partir de dados da literatura.

Ácido protoliquesterínico – Huneck & Yoshimura, 1996.			
$\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$ (2:1), 270MHz (^1H) e CDCl_3, 20MHz (^{13}C)			
$\delta^{13}\text{C}$	C	$\delta^1\text{H}$ (multiplic.)	H
174,4	1	6,39 (d, J= 3,0Hz)	H(C5)
168,2	6	6,03 (d, J= 3,0Hz)	H(C5)
132,6	2	4,84 (ddd, J= 6,0 e 6,0Hz)	H(C4)
125,9	5	3,60 (ddd, J= 3,0 e 6,0Hz)	H(C3)
78,9	4	1,75 (m)	H(C7)
49,6	3	1,27 (sl)	H(cadeia alquílica)
35,8	7	0,68 (t, J= 6,0Hz)	H(C19)
29,2 a 29,4	9 a 17		
24,8	8		
22,7	18		
14,0	19		



Legenda:

numeração

$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) – CDCl_3

$\delta^1\text{H}$ (ppm) – $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (2:1)

* (ddd, J= 3,0 e 6,0Hz)

** (ddd, J= 6,0 e 6,0Hz)

Figura 77 – Sinais de deslocamento químico de ^1H do **ácido protoliquesterínico** (Huneck & Yoshimura, 1996, CDCl_3 para ^{13}C e $\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$ (2:1) para ^1H).

Ácido caperático

Solvente deuterado: acetona-d₆ (Huneck & Yoshimura, 1996)

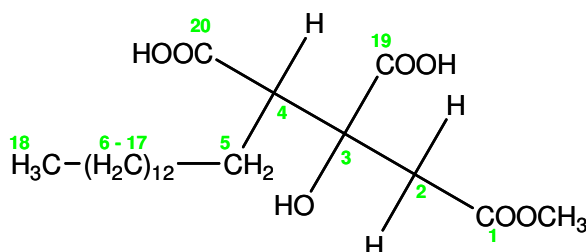


Tabela 46 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido caperático** a partir de dados da literatura.

Ácido caperático - Huneck & Yoshimura, 1996	
Acetona-d₆, 220MHz (¹H)	
δ ¹H (multiplic.)	H
3,61 (s)	COOCH ₃ (C1)
2,77 (d)	H(C2)
2,67 (t)	H(C4)
1,29 (sl)	H(cadeia alquílica)
0,88 (t)	H(C18)

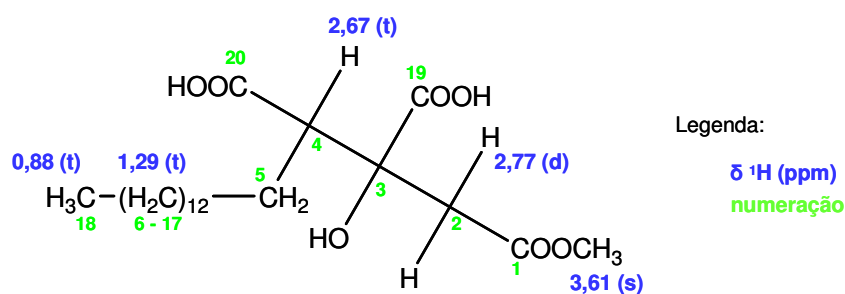


Figura 78 – Sinais de deslocamento químico de ¹H do **ácido caperático** (Huneck & Yoshimura, 1996, acetona-d₆).

Ácido liquesterínico

Solvente deuterado: CDCl_3 (Bodo & Molho, 1980)

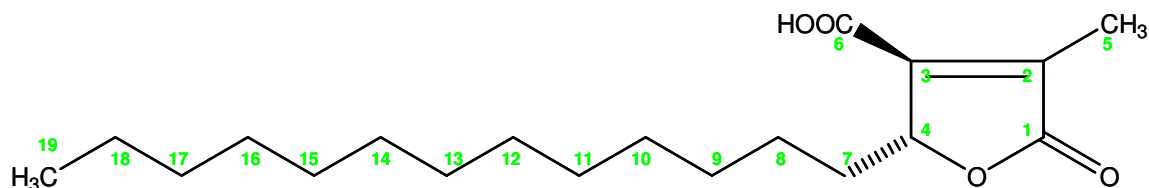
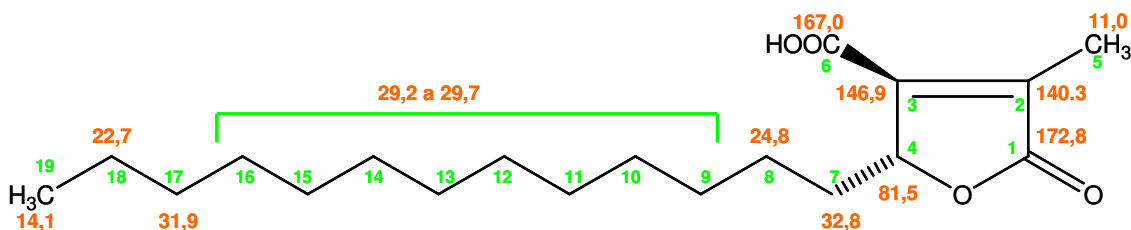


Tabela 47 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido liquesterínico** a partir de dados da literatura.

Ácido liquesterínico – Bodo & Molho, 1980	
CDCl_3, 20,115MHz (^{13}C)	
δ ^{13}C	C
172,8	1
167,0	6
146,9	3
140,3	2
81,5	4
32,8	7
31,9	17
29,4 a 29,7	9 a 16
24,8	8
22,7	18
14,1	19
11,0	5



Legenda:

numeração

δ ^{13}C (ppm)

Figura 79 – Sinais de deslocamento químico de ^1H do **ácido liquesterínico** (Bodo & Molho, 1980).

Zeorina

Solvente deuterado: CDCl₃ (Elix *et al.* 1982)

e DMSO-d₆ (Konig & Wright, 1999)

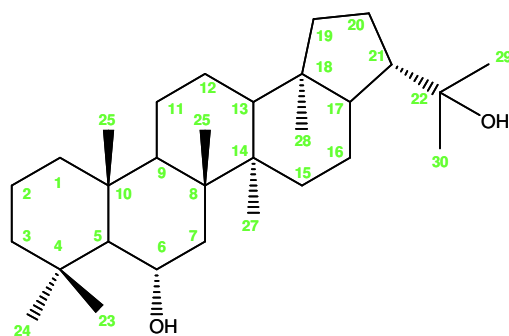


Tabela 48 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **zeorina** a partir de dados da literatura.

Elix <i>et al.</i> 1982		Konig & Wright, 1999*			
CDCl ₃ (¹³ C)		DMSO-d ₆ , 400MHz (¹ H) e 100MHz (¹³ C)			
δ ¹³ C	C	δ ¹³ C	C	δ ¹ H (multiplic.)	H
73,9	22	39,5	1	0,77 (m) e 1,56 (m)	H(C1)
69,3	6	18,1	2	1,32 (m) e 1,51 (m)	H(C2)
61,1	5	43,5	3	1,14 (m) e 1,28 (m)	H(C3)
54,0	17	33,3	4		H(C4)
51,1	21	60,0	5	0,73 (d, J= 10,40Hz)	H(C5)
49,5	9 ou 18	66,5	6	3,75 (m)	H(C6)
49,1	18 ou 9	44,7	7	1,38 (m)	H(C7)
48,8	13	42,1	8		H(C8)
45,5	7	49,3	9	1,21 (m)	H(C9)
43,8	3	38,5	10		H(C10)
42,9	8	20,5	11	1,27 (m) e 1,50 (m)	H(C11)
41,9	14	23,6	12	1,35 (m) e 1,48 (m)	H(C12)
41,5	19	48,9	13	1,34 (m)	H(C13)
41,4	1	41,4	14		H(C14)
39,4	10	33,9	15	1,17 (m) e 1,36 (m)	H(C15)
36,8	23	21,3	16	1,53 (m) e 1,93 (m)	H(C16)
34,3	15	53,8	17	1,37 (m)	H(C17)
33,6	4	43,5	18		H(C18)
31,2	29	40,9	19	0,88 (m) e 1,45 (m)	H(C19)
29,0	30	26,0	20	1,48 (m) e 1,64 (m)	H(C20)
26,6	20	50,3	21	2,10 (m)	H(C21)
24,0	12	71,5	22		H(C22)
22,1	24	36,6	23	1,12 (s)	H(C23)
21,9	16	22,0	24	0,95 (m)	H(C24)
21,1	11	16,8	25	0,82 (s)	H(C25)
18,5	2	18,0	26	0,98 (s)	H(C26)
18,3	26	16,8	27	0,92 (s)	H(C27)
17,1	25 e 27	15,8	28	0,71 (s)	H(C28)
16,1	28	29,0	29	1,04 (s)	H(C29)
		30,8	30	1,08 (s)	H(C30)
				3,86 (d, J= 6,4Hz)	OH(C6)
				3,78 (s)	OH(C22)

*sinais de δ em ordem correspondente à numeração dos carbonos da molécula.

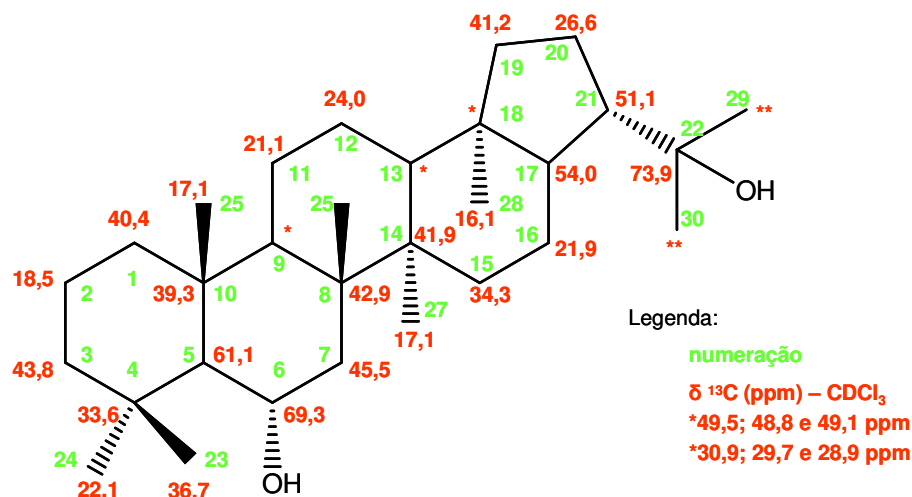


Figura 80 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C da **zeorina** (Elix *et al.* 1982, CDCl_3).

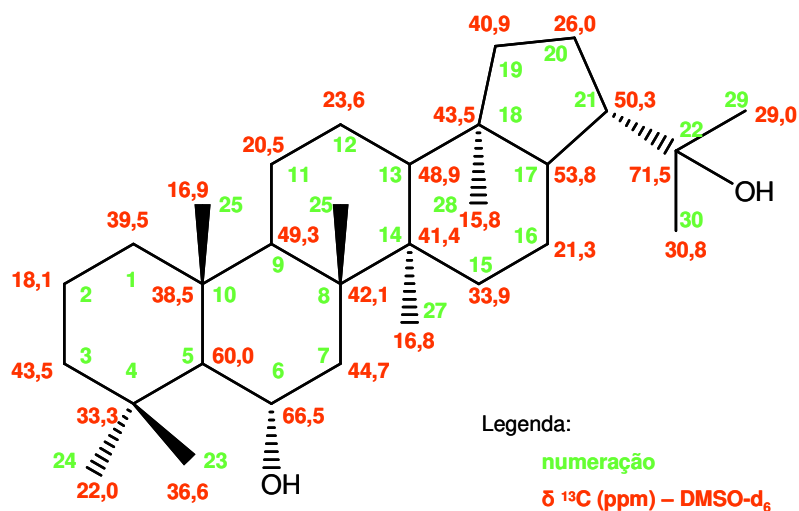


Figura 81 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C da **zeorina** (Konig & Wright, 1999, DMSO-d_6).

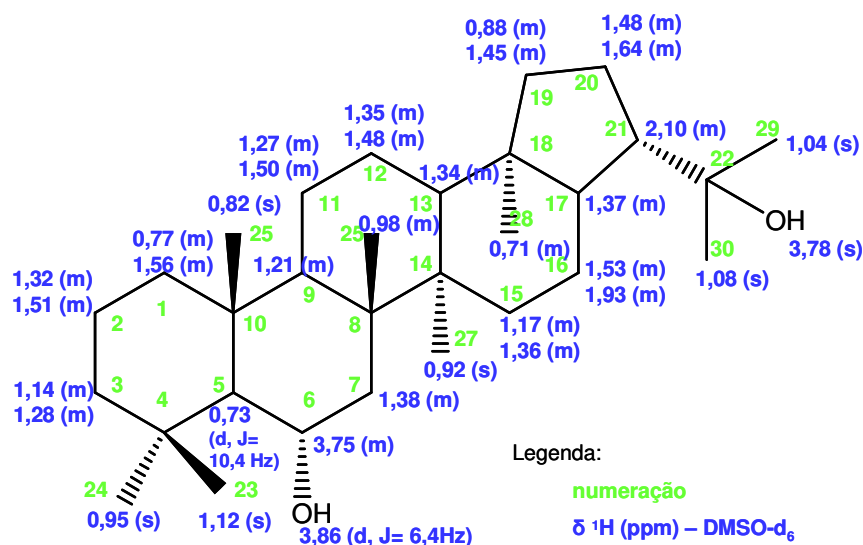


Figura 82 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C da **zeorina** (Konig & Wright, 1999, DMSO-d_6).

Ácido vulpínico

Solvente deuterado: acetona- d_6 (Konig *et al.* 1999)

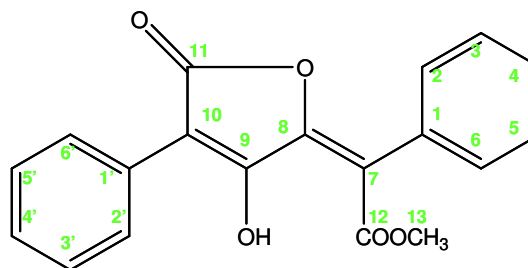


Tabela 49 – Sinais de deslocamento químico (δ em ppm) do **ácido vulpínico** a partir de dados da literatura (acetona- d_6).

Ácido vulpínico – Konig <i>et al.</i> 1999			
Acetona-d_6, 300MHz (^1H) e 75MHz (^{13}C)			
$\delta^{13}\text{C}$	C	$\delta^1\text{H}$ (multiplic.)	H
172,7	C12	13,95 (sl)	OH(C9)
166,4	C9	8,1 – 8,3 (2H)	H's aromáticos
161,7	C11	7,2 – 7,7 (8H)	H's aromáticos
155,0	C8	3,86 (s)	H(C13)
133,5	C1		
130,9	2xC ?		
130,2	?		
129,2	2xC ?		
129,0	2xC		
128,7	2xC ?		
128,4	2xC ?		
117,0	C7		
104,8	C10		
54,9	C13		

Legenda:

numeração

$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)

$\delta^1\text{H}$ (ppm)

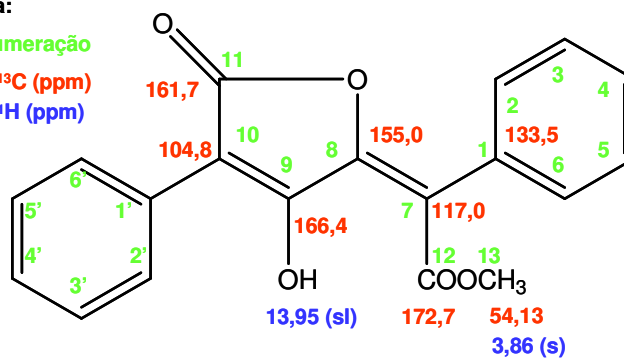


Figura 83 – Sinais de deslocamento químico de ^{13}C da **ácido vulpínico** (Konig *et al.* 1999, acetona- d_6).

Conclusões

Conclusões

A análise dos espectros dos extratos das 21 espécies estudadas indicou que é possível, em muitos casos, a **elucidação da composição da mistura**, especialmente se as substâncias estão presentes em proporções tais que os sinais de δ sejam evidentes.

Na maioria dos extratos analisados ocorreu a **presença de uma substância majoritária** e as demais se apresentaram em baixas concentrações – nesses casos, os sinais de δ permitiram a elucidação da estrutura da substância majoritária, enquanto que, alguns sinais de baixa intensidade puderam ser atribuídos a grupamentos presentes nas substâncias minoritárias.

Em grande parte dos extratos, o **ácido úsnico** e a **atranorina** estão presentes. Embora não seja possível a atribuição de todos os sinais de δ dessas substâncias, quando elas estão presentes em baixa proporção, alguns sinais evidenciam a presença de grupamentos característicos das mesmas. Alguns sinais, então, possibilitam a identificação da presença dessas substâncias por RMN.

No caso do depsídeo **atranorina**, sinais de baixa intensidade, nos espectros de RMN de ^1H , entre 3,80 e 4,00 ppm sugerem o éster metílico; 4 sinais entre 12,55 e 10,20 ppm, as 3 hidroxilas e o hidrogênio de grupo aldeído; dois singletes em 6,40 e 6,52 ppm (em CDCl_3) ou em 6,41 e 6,64 ppm (em DMSO-d_6), os dois hidrogênios aromáticos. Já no espectros de RMN de ^{13}C , são sinais importantes para identificação da atranorina: em 193,8 ppm, a carbonila de aldeído; em 112,8 e 116,0 ppm (em CDCl_3) ou 109,0 e 115,6 ppm (em DMSO-d_6), os dois carbonos CH aromáticos, com intensidades semelhantes; em aproximadamente 52 ppm, o sinal característico do éster metílico, e ainda, 2 sinais entre 25 e 20 ppm, e mais um outro sinal em 9 ppm, indicando as 3 metilas da estrutura.

Para o **ácido úsnico**, nos espectros de RMN de ^{13}C , é importante a observação dos sinais das 3 carbonilas de cetona que estão presentes na estrutura e tem δ em aproximadamente 200 ppm, porém esses sinais nem sempre podem ser observados, devido a baixa intensidade na qual eles são frequentemente encontrados. Além desses, 3 outros sinais entre 32 e 27 ppm indicam 3 metilas; e ainda, em 7,5 ppm, outro sinal para uma metila, são bastante característicos da presença do ácido úsnico, e aparece nos espectros mesmo quando essa substância aparece em baixa proporção. Nos espectros de RMN de ^1H , os 3 sinais dos

hidrogênios das 3 hidroxilas, em aproximadamente 18, 13 e 11 ppm, são indicativos fortes da presença dessa substância.

Essas substâncias presentes nos extratos, mesmo em baixa proporção, podem ser evidenciadas pela **análise cromatográfica sobre sílica gel e reveladas com p-anisaldeído**.

A **presença de depsídeos** nos extratos pode ser evidenciada nos espectros de RMN através da presença de sinais de δ que caracterizam as metilas presentes nas estruturas dessas substâncias. Depsídeos derivados do orcinol apresentam um maior número de grupos metila do que os depsídeos derivados do β -orcinol, e essas indicações podem ser observadas nos espectros na região abaixo de 3 ppm, nos espectros de RMN de ^1H , ou na região abaixo de 25 ppm, nos espectros de RMN de ^{13}C . Nos depsídeos também podem ser observados 2 ou 4 carbonos do tipo CH aromático, facilmente distinguíveis através do espectro de DEPT 135.

Já no caso das **depsidonas** é possível observar apenas de um carbono CH aromático, no caso das depsidonas com anel lactol derivadas do β -orcinol, até 3 CH's aromáticos, como é o caso do ácido alectorônico.

Os **espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135** apresentam uma riqueza maior de **informações**, nesse tipo de análise de mistura, além de permitirem inferências com relação à proporção entre as substâncias presentes nos extratos, com base na altura relativa de sinais de carbonos semelhantes.

Com relação a análise dos espectros das espécies que contém **substâncias fenólicas com cadeias alquílicas $\geq 3\text{C}$** , como é o caso do **ácido divaricático** e que está presente em *Canoparmelia texana*, *Canoparmelia ecaperata*, *Dirinaria aspera*, *Dirinaria aegialita* e *Dirinaria confluens*, pode-se dizer que houveram algumas dificuldades.

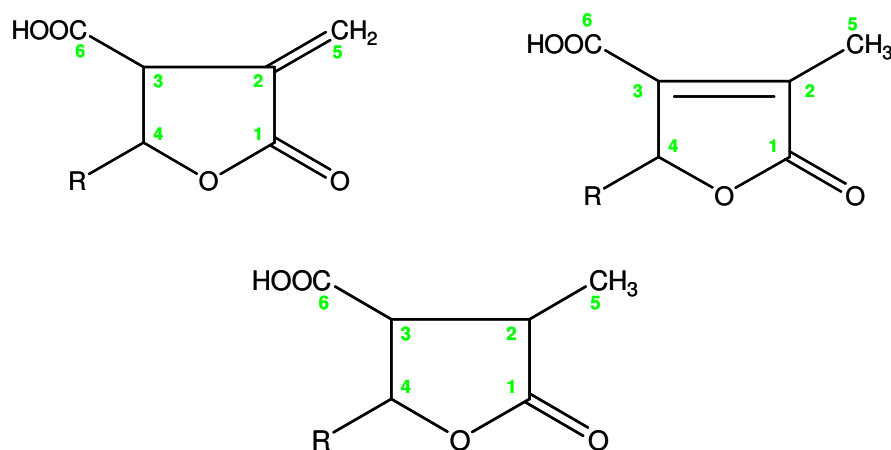
O ácido divaricático é um depsídeo que apresenta duas cadeias alquílicas de 3 carbonos, cada uma ligada em cada anel aromático. Devido ao alto grau de simetria entre elas, é muito difícil atribuir inequivocamente os deslocamentos químicos de carbonos e hidrogênios em posições equivalentes entre as cadeias – por isso a utilização de intervalos de δ e de atribuições “abertas” apresenta-se como alternativas bastante adequadas nestes casos, já que não é desejável que a atribuição perca a sua validade.

Um outro grupo de espécies que também apresenta substância fenólica com cadeia alquílica > 3C são *Parmotrema pancheri*, *Parmotrema rigidum*, *Parmotrema wainii* e *Parmotrema argentinum*, que contém **ácido alectorônico**.

O ácido α -alectorônico é uma depsidona que apresenta em sua estrutura duas cadeias alquílicas com 7 carbonos, uma delas apresenta uma cetona e a outra, uma anel lactol. Da mesma forma que ocorre com a análise dos espectros de RMN das espécies que contém o ácido divaricático, a atribuição inequívoca dos carbonos e hidrogênios do ácido α -alectorônico é muito difícil, tanto se a condição fosse a análise da substância isolada, quanto é na condição de mistura. Isso, é claro, decorre da própria natureza dessas cadeias, que são bastante semelhantes e geram sinais que se desdobram e coincidem em δ muito próximos. Porém, essa dificuldade se multiplica quando, além do ácido α -alectorônio, também está presente o seu derivado metoxilado, o ácido α -colatólico. As regiões características de cadeia alquílica nos espectros de RMN (< 4 ppm, para ^1H e < 50 ppm, para ^{13}C) ficaram muito povoadas de sinais, o que tornou quase impossível uma atribuição mais específica.

Com relação as espécies que contém **ácidos graxos**, *Parmotrema praesorediosum* e *Parmotrema mesotropum*, essas espécies apresentaram em sua composição química o depsídeo atranorina e também substâncias com características hidrofóbicas – os ácidos graxos de cadeia longa.

Podem ser encontrados em líquens ácidos graxos com ou sem anel lactol. A diversidade de substâncias do último tipo varia com o tipo de anel e com o tamanho e grau de oxidação do fim da cadeia. Podem ser encontrados 3 tipos de anel lactol, são eles:



O tamanho da cadeia alquílica varia entre 11, 13 e 15 carbonos (geralmente), e o grau de oxidação dos carbonos terminais pode variar desde um carbono metílico, um ácido carboxílico, uma cetona, entre outros. A variação entre as substâncias ocorre com a combinação de um anel lactol e um tipo de cadeia alquílica. Nota-se que a determinação do tipo de anel lactol presente não é, de fato, um problema na análise dos espectros de RMN de ^{13}C . São três tipos distintos que podem ser facilmente diferenciados – quando se observa os deslocamentos químicos dos grupos olefínicos ou da metila em C5, principalmente no último caso, que tem $\delta^{13}\text{C}$ por volta de 10 ppm.

Nestes casos, onde a atranorina já pode ser identificada como substância em maior proporção, para uma identificação mais acurada do tipo de ácido graxo que também está presente no extrato, apenas os dados de RMN de ^1H não são muito conclusivos, principalmente quando o que se pretende determinar é o tipo de cadeia alquílica presente. Pode haver sobreposição dos sinais e dificilmente o número de hidrogênios presentes na cadeia poderá ser determinado com precisão. No espectro de RMN de ^{13}C os carbonos CH_2 aparecem com δ muito próximos, ou ainda sobrepostos, o que também dificulta a determinação do número de carbonos presentes na cadeia.

Como a variedade de ácidos graxos com anel lactol que podem ser encontrados apresentam diferenças que podem ser muito sutis à observação dos seus espectros de RMN, a determinação precisa da composição de ácidos graxos presentes em misturas é muito difícil e delicada.

Sobre a observação de sinais de δ que poderiam ser atribuídos a **açúcares**: na análise de 6 espectros de RMN de ^{13}C obtidos em DMSO-d_6 , de 6 espécies de líquens, foram observados sinais com intensidade relevante que poderiam ser atribuídos a açúcares. São sinais que apresentam um comportamento semelhante entre os espectros: entre 73 e 70 ppm, carbonos CH e também carbonos CH_2 entre 64 e 62,9 ppm. Estes sinais podem ser referentes a açúcares álcoois, como D-manitol e ribitol, que são comumente encontrados em líquens. Esse tipo de substância se dissolve melhor em DMSO-d_6 e solventes com características polares do que nos com características apolares, como CDCl_3 , o que explica o aparecimento desses sinais apenas nos espectros obtidos em DMSO-d_6 .

Como a atribuição inequívoca de δ de carbonos e hidrogênios de moléculas de açúcares, sejam álcoois, aldoses ou cetoses, são altamente dependentes da resolução do espectro de RMN de ^1H , quando não de espectros de RMN 2D, os δ observados nos espectros

dos extratos não foram atribuídos. Não foi possível observar sinais nos espectros de RMN de ^1H que pudessem ser atribuídos aos açúcares, e o foco do trabalho ficou com as substâncias de natureza fenólica.

Sobre os **sinais de δ de algumas substâncias que mudam dependendo do solvente utilizado**: foi observado que alguns depsídeos apresentaram diferenças significativas de valores de δ quando dissolvidos em CDCl_3 e DMSO-d_6 . Essa diferença fica evidenciada quando se observa os δ da atranorina (na página 246) e do ácido divaricático (na página 298) nesses dois solventes, onde a maioria dos sinais se mostrou mais protegidos em DMSO-d_6 do que em CDCl_3 . É possível que os depsídeos apresentem mais essas diferenças de δ com relação ao solvente utilizado do que as depsídonas.

Da análise dos espectros de RMN dos extratos das espécies estudadas neste trabalho, pôde-se concluir que a simples análise dos sinais de δ nos espectros de RMN de ^1H permite inferir informações importantes sobre a composição dos extratos. A análise é completada com mais detalhes sobre as estruturas das substâncias com a análise dos espectros de RMN de ^{13}C e de DEPT 135. Dessa forma a técnica de RMN é uma ferramenta extremamente importante para a análise de extratos de líquens e completa de maneira mais segura as informações obtidas das análises por CCD e MC.

A técnica de RMN pode, portanto, contribuir de maneira significativa para a identificação taxonômica de espécies, já que as informações sobre a composição química, em termos de substâncias fenólicas, juntamente com a análise morfológica, são os requisitos para a taxonomia de líquens.

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas

- ALCÂNTARA, G. B., MICHELETTI, A. C., Estudo Quimiotaxonômico de espécies do gênero *Pseudoparmelia*. Relatório final de Iniciação científica, PIBIC – CNPq/UFMS, **2002/2003**.
- BODO, B. & MOLHO, D.; Structure des acides isomuronique et neuropogolique, nouveaux acides aliphatiques du lichen *Neuropogon trachycarpus*. *Phytochemistry*. 19: 1117-1120, **1980**.
- COMMON, R. S., The distribution and taxonomic significance of lichenan and isolichenan in the Parmeliaceae (lichenized Ascomycotina), as determined by iodine reactions. I. Introduction and methods. II. The genus *Alectoria* and associated taxa. *Mycotaxon*, 61: 67-112, **1991**.
- CULBERSON, C. F.; Supplement to “Chemical and Botanical Guide to Lichen Products”. *The Bryologist* 73(2) : 177-377, **summer 1970**.
- CULBERSON, C. F.; Improved conditions and new data for the identification of lichen products by a standardized thin-layer chromatographic method. *J. Chromatogr.* 72: 113-125, **1972**.
- CULBERSON, C.F. & KRISTINSSON, H.; A standardized method for the identification of lichen products. *J. Chromatogr.* 46: 85-93, **1970**.
- CULBERSON, C. F. & JOHNSON, A.; A standardized two-dimensional thin-layer chromatographic of lichen products. *J. Chromatogr.* 128: 253-259, **1976**.
- CULBERSON, C. F., CULBERSON, W. L., JOHNSON,; Second Supplement to “Chemical and Botanical Guide to Lichen Products”. The American Bryological and Lichenological Society, Missouri Botanical Garden, St. Louis, USA, 400p. **1977**.

- CULBERSON, C.F., CULBERSON, W.L. & JOHNSON, A.; A standardized TLC Analysis of β -orcinol depsidones. *Bryologist* 84 (1): 16-29, **1981**.
- DAVID, F., ELIX, J. A., SAMSUDIN, M. W., Two new aliphatic acids from lichen *Parmotrema praesorediosum*. *Australian Journal of Chemistry*, 43: 1297-1300, **1990**.
- DEPRIEST P. T., Molecular innovations in lichen systematics: the use of ribosomal and intron nucleotide sequences in the *Cladonia chlorophaea* complex. *The Bryologist* 96(3): 314-325, **1993**.
- ELIX, J. A., FERGUSON, B. A. and SARGENT, M. V.; The structure of alectorônico acid and related lichen metabolites. *Australian Journal of Chemistry*, 27: 2403-2411, **1974**.
- ELIX, J. A., WHITTON, A. A., JONES, A. J., Triterpenes from the lichen genus *Physcia*. *Australian Journal of Chemistry*, 35: 641-647, **1982**.
- ELIX, J.A .Biochemistry and secondary metabolites. In. *Lichen Biology*, Nash III, T.H. (ed.) 1st. Ed. Cambridge, Cambridge University Press, 154-180, **1996**.
- ELIX, J. A., JOHNSTON, J. and VERDON, D.; *Canoparmelia*, *Paraparmelia* and *Relicinopsis*, three new genera in the Parmeliaceae (lichenized Ascomycotina). *Mycotaxon* 27: 271-282, **1986**.
- EIFLER-LIMA, V. L., SPERRY, A., SINBANDHIT, S., BOUSTIE, J., TOMASI, S. and SCHENKEL, E.; NMR spectral data of salazínico acid isolated from some species of *Parmotrema*. *Magnetic Resonance in Chemistry* 38: 472-474, **2000**.
- HALE, JR. M. E.; A monograph of *Parmelia* subgenus *Amphigymnia*. Contr. U. S. Nat. Herb., 36(5): 193-308, **1965**.
- HALE, JR. M. E.; *The Biology of Lichens*. 3rd. Baltimore, Edward Arnold, 190 p, **1983**.
- HALE, M. E.; New combinations in the lichen genus *Parmotrema* Massalongo. *Phytologia* 28(4): 334-339, **1974a**.

- HALE, M. E.; *Bulbothrix*, *Parmelina*, *Relicina*, and *Xanthoparmelia*, four new genera in the Parmeliaceae (Lichenes). *Phytologia* 28 : 479-490, **1974b**.
- HALE, M. E.; A revision of the Lichen Genus *Hypotrachina* (Parmeliaceae) in Tropical America. *Smithsonian Contribution to Botany* 25, 1-73, Smithsonian Institution Press, City of Washington, **1975**.
- HALE, M.E. & FLETCHER, A. *Rimelia* Hale & Fletcher, a new lichen genus (Ascomycotina: Parmeliaceae). *The Bryologist* 93: 23-29, **1990**.
- HILLESHEIN, V., Avaliação preliminar da aplicação de RMN em quimiotaxonomia de líquens. Monografia de conclusão de curso de Química Bacharelado da UFMS, **1999**.
- HUOVINEN, K., A high performance liquid chromatographic method for the analysis of lichen compounds from the genera *Cladonia* and *Cladonia*. *Acta Pharm. Fenn.* 94: 99-112, **1985**.
- HUOVINEN, K. & AHTI, T., The composition and contents of aromatic lichen substances in *Cladonia*, section *Uciales*. *Ann. Bot. Fenn.* 23: 93-106, **1986a**.
- HUOVINEN, K. & AHTI, T., The composition and contents of aromatic lichen substances in *Cladonia*, section *Helopodium* and subsection *Foliosae*. *Ann. Bot. Fenn.* 23: 173-178, **1986b**.
- HUOVINEN, K. & AHTI, T., The composition and contents of aromatic lichen substances in *Cladonia*, section *Perviae*. *Ann. Bot. Fenn.* 25: 371-383, **1988**.
- HUOVINEN, K. & AHTI, T. & STENROOS, S., The composition and contents of aromatic lichen substances in *Cladonia*, section *Cocciferae*. *Ann. Bot. Fenn.* 26: 133-148, **1989a**.
- HUOVINEN, K. & AHTI, T. & STENROOS, S., The composition and contents of aromatic lichen substances in *Cladonia*, section *Helopodium* and subsection *Folioseae*. *Ann. Bot. Fenn.* 26: 167-306, **1989b**.

- HUNECK, S., CULBERSON, C. F., CULBERSON, W. L. & ELIX, J. A. Haematomone, a red pigment from apothecia of *Haematomma puniceum*. *Phytochemistry* 30(2): 706-707, **1991**.
- HUNECK, S. & YOSHIMURA, I. Identification of Lichen Substances. Springer-Verlag, Berlin, 493p. **1996**.
- GORIN, P. A. J., BARON, M., SILVA, M. L. C., TEIXEIRA, A. Z. A. & IACOMINI, M.. Lichen Carbohydrates. *Ciência e cultura (Journal of Brazilian Association for the Advancement of Science)* 45: 27-36, **1993**.
- KÖNIG, G. M., WRIGHT, A. D., ¹H and ¹³C-NMR and Biological Activity Investigations of Four Lichen-derived Compounds. *Phytochemical Analysis*, 10: 279-284, **1999**.
- MILLOT, M., TOMASI, S., ARTICUS, K., ROUAND, I., BERNARD, A., BOUSTIE, J.; Metabolites from the lichen *Ochrolechia parella* growing under two different heliotropic conditions. *Journal of Natural Products*, 70 (2): 316-318, **2007**.
- NARUI, T., SAWADA, K., SATOSHI, T., OKUYAMA, T., CULBERSON, C. F., CULBERSON, W. L., SHIBATA, S., NMR assignment of depsides and tridepsides of the lichen family Umbilicariaceae. *Phytochemistry*, 48 (5): 815-822, **1998**.
- NASH III, T.H., Lichen Biology – Introduction. In. *Lichen Biology* Nash III, T.H. (ed.) 1st. Ed. Cambridge, Cambridge University Press, **1996**.
- PAVIA, D. L., LAMPMAN, G. M., KRIZ, G. S., *Introduction to Spectroscopy, a guide for students of organic chemistry*. 2nd edition, Harcourt Brace College Publishers, **1996**.
- REZANKA, T. & GUSCHINA, I. A., Glycosidic compounds of murolic, protoconstipatic and allo-murolic acids from lichen of Central Asia. *Phytochemistry*, 54 (6): 635-645, **2000**.
- RICHARDSON, D. H. S., Understanding the pollution sensitivity of lichens. *Botanical Journal of the Linnean Society* 96: 31-43, **1988**.

- SANTESSON, J., Chemical studies on lichens. 4. Thin layer chromatography of lichen substances. *Acta Chem. Scand.* 21: 1167-1172, **1967**.
- SANTESSON, J., Chemical studies on lichens. 10. Mass spectrometry of lichen. *Arkiv för Kemiband* 30: 363-377, **1969**.
- SANTESSON, J., Identification and isolation of lichen substances. In. *The lichens*. Ahmadjian, V. & Hale, M. E. Londo, Academic Press , **1973**.
- SHIBATA, S. Some recent studies on the metabolites of fungi and lichens. *Pure Applied Chemistry*, 33: 109-129, **1973**.
- TAKAHASHI, K., KON, T., YOKOTA, I., DHIBATA, S., *Carbohydrates Research*. 98: 166-173, **1981**.
- TAYLOR, C. J. The lichen of Ohio. Part I. *Foliose lichens*. Columbus, Ohio. The Ohio State University, 151p, **1967a**.
- TAYLOR, C. J., The lichen of Ohio. Part II. *Fruticose and cladoniform lichens*.. Columbus, Ohio. The Ohio State University, 95p, **1967b**..
- TEIXEIRA, A. Z. A., IACOMINI, M. & GORIN, P. A. J., Chemotypes of mannose-containing polysaccharides of lichen mycobionts: a possible aid in classification and identification. *Carbohydrates. Research*, 266: 309-314, **1995**.
- THOMSON, J. W., The lichen genus *Cladonia* in North America. Toronto, University Toronto Press, 172p, **1968**.
- VICENTE, C. Fisiologia de las substancias líquénicas. 1ª ed. Alhambra, Madrid. 161p, **1975**.
- WALKER, F. J. & JAMES, P. W., A new guide to microchemical techniques for the identification of lichen products. *Bull. Brit. Soc.* 46 (Suppl.) 13-29, **1985**.

WHITE, F. J. & JAMES, P. W., A new guide to microchemical techniques for the identification of lichen substances. *Brit. Lichen. Soc. Bull.* 57(Suppl.) 53p, **1985**.

<http://www.cdb.gov.br/glossario>, *site da Conferência das Partes (COP), que é o órgão supremo decisório no âmbito da Convenção sobre Diversidade Biológica – CDB*, em Ministério das Relações Exteriores/ Ministério do Meio Ambiente, Governo Federal Brasileiro; acessado dia 27 de março de **2007**, 15:59)