

Mariana Pacifico

Estudo químico e atividades mutagênica e  
antiulcerogênica de *Syngonanthus nitens*  
(Bong.) Ruhland

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Química, Universidade Estadual Paulista,  
como requisito para obtenção do título de  
Mestre em Química.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lourdes Campaner dos Santos

Araraquara

2010

FICHA CATALOGRÁFICA

P117e      Pacifico, Mariana  
Estudo químico e atividades mutagênica e antiulcerogênica  
de *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland. / Mariana Pacifico. –  
Araraquara : [s.n], 2010  
130 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,  
Instituto de Química  
Orientador: Lourdes Campaner dos Santos

1. Produtos naturais. 2. Eriocaulaceae. 3. Capim dourado.  
I. Título.

Elaboração: Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara  
Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

## **DADOS CURRICULARES**

### **MARIANA PACIFICO**

#### **Dados pessoais**

Nascimento: 01/01/1984  
Nacionalidade: Brasileira  
Naturalidade: Valinhos-SP  
Estado civil: Solteira  
Filiação: Marcia de Fatima Baron  
Marcio Pacifico  
Profissão: Biotecnóloga  
Endereço Profissional: Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, Unesp, Araraquara  
R: Francisco Degni, s/n, Quitandinha, CEP: 14800-900  
Telefone: (16) 3301-6600 Ramal 6792  
Email: meg\_mariana@yahoo.com.br

#### **Formação acadêmica**

Bacharelado em Biotecnologia  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”  
Faculdade de Ciências e Letras, Campus de Assis  
08/2003 – 07/2007

Mestrado em Química  
Área de concentração: Química Orgânica  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”  
Instituto de Química, Araraquara

## MARIANA PACIFICO

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 22 de julho de 2010.

## BANCA EXAMINADORA



Profª Drª Lourdes Campaner dos Santos (Orientadora)  
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. Sidney Augusto Vieira Filho  
Escola de Farmácia – UFOP, Ouro Preto



Profª Drª Lucienir Pains Duarte  
Instituto de Ciências Exatas – UFMG, Belo Horizonte

## Trabalhos apresentados em Congressos

1. PACÍFICO, M.; RODRIGUES, J.; SILVA, V. C.; RODRIGUES, C. M.; VILEGAS, W.; SANTOS, L. C. Caracterização da constituição química por HPLC-DAD e avaliação da atividade antioxidante de *Syngonanthus nitens* (Euriocaulaceae). In: 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009, Fortaleza-CE.
2. QUAGLIO, A. E. V.; PACIFICO, M.; GRACIOSO, H. M. ; QUEIROGA, C. L. ; GRACIOSO, J. S. **Apresentação Oral**. Atividade antiinflamatória do extrato hidroalcoólico de *Typha* sp administrado por via tópica, via oral e via intraperitoneal. In: VIII Jornada Paulista de Plantas Medicinais, 2007, São Paulo-SP.
3. LIMA, A. F.; PACIFICO, M.; GRACIOSO, J. S.; OLIVA NETO, P. Estudo da ação do infuso liofilizado obtido das partes aéreas de *Turnera diffusa* em relação à inibição do crescimento de *Saccharomyces cerevisiae*.. In: VIII Jornada Paulista de Plantas Medicinais, 2007, São Paulo-SP.
4. LIMA, A. F.; PACIFICO, M.; ANTONIO, J. M.; GRACIOSO, H. M.; OLIVA NETO, P. Estudo da ação do extrato hidroalcoólico 70% obtido do caule de *Typha angustifolia* em relação à inibição do crescimento de *Saccharomyces cerevisiae*. In: VIII Jornada Paulista de Plantas Medicinais, 2007, São Paulo-SP.
5. PACIFICO, M.; PAULI, P. A. ; OLIVA NETO, P. ; GRACIOSO, J. S. Análise fitoquímica e determinação da atividade analgésica e antiedematogênica do suco bruto concentrado e do extrato hidroalcoólico de *Agave sisalana*.. In: I Forum de Biotecnologia do Vale do Paranapanema, 2006, Assis-SP.
6. PACIFICO, M.; PAULI, P. A. ; OLIVA NETO, P. ; GRACIOSO, J. S. Determinação preliminar da atividade analgésica do suco bruto concentrado e do extrato hidroalcoólico de *Agave sisalana*.. In: XXI Reunião Anual da FeSBE, 2006, Águas de Lindóia-SP.
7. PAULI, P. A.; PACIFICO, M.; NASSER, A. L. M. ; SANTOS, C. ; OLIVA NETO, P. ; VILEGAS, W. ; GRACIOSO, J. S. Determinação da atividade antiedematogênica e análise fitoquímica do suco bruto concentrado de *Agave sisalana*.. In: XXI Reunião Anual da FeSBE, 2006, Águas de Lindóia-SP.

Dedico este trabalho aos meus pais e meus avós, que  
sempre compreenderam minha ausência, à Roseli, que sempre  
acreditou em mim e às amigas Adriana, Juliana Rodrigues e  
Juliana Severi, que fizeram toda a diferença  
Amo vocês.

## **Agradecimentos**

À Deus.

Aos meus pais, Marcio e Marcia, meus avós, Pedro e Helena e minhas tias Denise e Cristina, pelo apoio e por compreender a minha ausência.

À minha orientadora Lourdes Campaner dos Santos e ao Professor Wagner Vilegas pela oportunidade e ensinamentos.

Ao Nivaldo Boralle, pelos espectros de RMN e por contribuir com sugestões interessantes para o meu trabalho.

Aos professores e funcionários do IQ em especial as meninas da seção de pós-graduação, por serem sempre atenciosas.

Às funcionárias da biblioteca pela colaboração.

Ao professor Juliano Gracioso pelo grande exemplo e pelo tempo de amizade, que foi curto, porém, inesquecível.

Aos meus amigos de laboratório Ana Carolina Zanatta, Ana Carolina Benfatti, Carolina Gomes, Carlos Junior, Michelle Lira, Leonardo Perez, Juliana Moreno, Mayara Borges, Tiago Nakamura, Júlia Pescarini, Viviane Raissa Sipowo Tala, Fabiano Amaral, Viviane C. da Silva, Clenilson Martins, Portes Junior, Marcelo Ap. da Silva, Claudia Rocha, Maria do Socorro Fernandes Melo, Lima Neto.

Ao Daniel Rinaldo, por ter tido paciência de me ajudar a estudar para o exame de seleção.

Ao Felipe Hilário pelo empenho, amizade e colaboração; além das melhores piadas.

À Adriana Moura, Juliana Rodrigues e Juliana Severi pela amizade, por compartilhar todos os momentos e por me ajudarem com a química. Não tenho palavras para descrever o quanto sou grata a vocês.

À Sheila Pasqualotto pela amizade, convivência e imensa colaboração na elaboração da minha dissertação.

À Priscila A. de Pauli Credendio, Aline Scalon e Gisele Moyses, por fazerem parte da minha vida mesmo com a distância.

À Roseli Sena por sempre dizer as palavras certas nos momentos certos e não me deixar desistir.

E ao João Paulo Sena por silenciosamente me entender.

À todos os meus amigos que sempre me ouviram rir e chorar.

Ao CNPq e FAPESP pelo suporte financeiro.

## Resumo

Neste trabalho, foi investigada a composição química de *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland, espécie pertencente à família Eriocaulaceae, conhecida popularmente como “capim dourado” e amplamente utilizada para o artesanato, sendo de grande importância econômica principalmente para populações do Tocantins e Minas Gerais. Espécies dessa família são conhecidas popularmente como “sempre-vivas” e a maioria delas ocorre em Campos Rupestres do Brasil. Foram preparados extratos de capítulos e de escapos, separadamente, por maceração utilizando hexano e diclorometano e por percolação com metanol. Os extratos metanólicos foram fracionados por colunas de permeação em gel, cromatografia líquida de média pressão (MPLC), cromatografia líquida de alta eficiência, com detector de arranjo de diodo (HPLC-DAD) e com detector de índice de refração (HPLC-RI) e cromatografia em contracorrente (HSCCC). As estruturas foram caracterizadas por espectroscopia na região do ultravioleta, técnicas mono e bidimensionais de RMN e por espectrometria de massas com fonte electrospray e analisador íon trap (modo de inserção direta). Foram isoladas as substâncias: 1,3,6-triidroxi-2-metoxixantona; 1,3,6-triidroxi-2,5-dimetoxixantona; 1,5,7-triidroxi-3,6-dimetoxixantona; 1,3,6,8-tetraidroxi-2,5-dimetoxixantona; 1,3,6,8-tetraidroxi-5-metoxixantona; 7-metoxiluteolina-6-C- $\beta$ -D-glicopiranosídeo, 7-metoxiluteolina-8-C- $\beta$ -D-glicopiranosídeo, 3',7-dimetoxiluteolina-6-C- $\beta$ -D-glicopiranosídeo, 6-hidroxiluteolina e luteolina. Os extratos metanólicos de capítulos e escapos de *S. nitens* foram avaliados quanto à atividade antiulcerogênica e mutagênica. Através do modelo de lesão ulcerativa induzida por etanol absoluto, verificou-se que os dois extratos apresentaram atividade gastroprotetora. Na dose de 500 mg kg<sup>-1</sup> do extrato de capítulos obteve-se maior índice de atividade gastroprotetora do que da carbenoxolona, substância usada como referência. No ensaio de mutação gênica (teste de Ames), para os dois extratos, a mutagenicidade foi considerada negativa para todas as concentrações testadas em todas as linhagens. O estudo químico forneceu importantes informações para contribuir para a discussão da taxonomia da família Eriocaulaceae.

**Palavras-chave:** Eriocaulaceae, *Syngonanthus*, capim dourado, flavonoides.

## Abstract

In this work, the chemical composition of *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland was investigated. This plant belongs to Eriocaulaceae family, popularly known as “capim dourado” and widely used to make baskets and other handcraft products. It's a very important economical specie to local communities in Tocantins and Minas Gerais states, mainly. Plants of this family are known as “everlasting flower” and they can be found in “Campos Rupestres” vegetation in Brazil. Scapes and capitulae were extracted, sequentially, with hexane, dichloromethane and methanol. Methanol extract were fractionated by several chromatographic techniques, including gel permeation chromatography, Medium Pressure Liquid Chromatography (MPLC), High Pressure Liquid Chromatography (HPLC-DAD and HPLC-RI), High Speed Countercurrent Chromatography (HSCCC). Structures were determined by ultraviolet spectroscopy, as well as mono and bidimensional NMR techniques, besides electrospray – ion trap – mass spectrometry. The chemical study of *S. nitens* led to the identification of five xanthenes: 1,3,6-trihydroxy-2-methoxyxanthone; 1,3,6-trihydroxy-2,5-dimethoxyxanthone; 1,5,7-trihydroxy-3,6-dimethoxyxanthone; 1,3,6,8-tetrahydroxy-2,5-dimethoxyxanthone e 1,3,6,8-tetrahydroxy-5-methoxyxanthone, and five flavones: 7-methoxyluteolin-6-C- $\beta$ -D-glucopyranoside; 7-methoxyluteolin-8-C- $\beta$ -D-glucopyranoside; 4',7-dimethoxyluteolin-6-C- $\beta$ -D-glucopyranoside; 6-hydroxyluteolin and luteolin. Pharmacological assays demonstrated that the methanol extract of capitulae and scape from *S. nitens* has presented gastroprotective activity in the ethanol induced ulcer model. According the results of Ames test, the mutagenicity was considered negative for all tested concentrations of the three methanol extracts, at all tested strains. The chemical data obtained in this work also added more data to the discussion of the taxonomy of Eriocaulaceae.

**Keywords:** Eriocaulaceae, *Syngonanthus*, capim dourado, flavonoids

## Lista de abreviaturas

|                                |                                                                   |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| AcOEt                          | Acetato de Etila                                                  |
| ACN                            | Acetonitrila                                                      |
| CCDC                           | Cromatografia em Camada Delgada Comparativa                       |
| <i>d</i>                       | Dubleto                                                           |
| <i>dd</i>                      | Duplo dubleto                                                     |
| d.i.                           | Diâmetro interno                                                  |
| DMSO-d <sub>6</sub>            | Dimetilsulfóxido deuterado                                        |
| <i>ESI-IT-MS</i>               | <i>Eletrospray ion trap mass spectrometry</i>                     |
| EM                             | Espectrometria de massas                                          |
| EMeOH                          | Extrato metanólico                                                |
| $\delta$                       | Deslocamento químico                                              |
| <i>gHMBC</i>                   | <i>Gradient Heteronuclear Multiple Bond Correlations</i>          |
| <i>gHMQC</i>                   | <i>Gradient Heteronuclear Multiple Quantun Coherence</i>          |
| <i>gCOSY</i>                   | <i>Gradient Correlated Spectroscopy</i>                           |
| HOMODEC                        | <i>Homonuclear Decoupling</i>                                     |
| HPLC-DAD                       | <i>High Pressure Liquid Chromatography (Diode Array Detector)</i> |
| HPLC-RI                        | <i>High Pressure Liquid Chromatography (Refractive Index)</i>     |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | Ácido sulfúrico                                                   |
| HSCCC                          | <i>High Speed Counter Current Chromatography</i>                  |
| Hz                             | Hertz                                                             |
| <i>J</i>                       | Constante de acoplamento                                          |
| <i>m</i>                       | Multiplete                                                        |
| <i>m/z</i>                     | Relação massa carga                                               |
| MeOH                           | Metanol                                                           |
| MPLC                           | <i>Medium Pressure Liquid Chromatography</i>                      |
| NP/PEG                         | Difenilaminoborato/polietilenoglicol                              |
| MS                             | <i>Mass spectrometry</i>                                          |
| <i>n</i> -PrOH                 | <i>n</i> -propanol                                                |
| <i>n</i> -BuOH                 | <i>n</i> -butanol                                                 |
| PA                             | Padrão Analítico                                                  |
| PTFE                           | Politetrafluoretileno                                             |
| R <sub>f</sub>                 | <i>Retention factor</i> (Fator de retenção)                       |
| RMN                            | Ressonância Magnética Nuclear                                     |
| s                              | Singleto                                                          |

|                |                                        |
|----------------|----------------------------------------|
| s/             | Singleto largo                         |
| SPE            | <i>Solid phase extraction</i>          |
| TFA            | Ácido trifluoroacético                 |
| TMS            | Tetrametilsilano                       |
| t <sub>r</sub> | Tempo de retenção                      |
| TOCSY          | <i>Totally correlated spectroscopy</i> |
| UV             | Ultravioleta                           |
| v              | Volume                                 |

## Lista de Figuras

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Esquema de capítulos, escapos e folhas (Parra, 1998). .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 24 |
| Figura 2. Classificação de Eriocaulaceae (Giulietti <i>et al</i> , 2000).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 25 |
| Figura 3. Substâncias representativas de espécies de Eriocaulaceae.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 29 |
| Figura 4. Foto de campos úmidos (TO), local de ocorrência de <i>Syngonanthus nitens</i> , e de moradores locais realizando a colheita. ....                                                                                                                                                                                                                                                              | 30 |
| Figura 5. Fotos de <i>Syngonanthus nitens</i> , em que são visualizados capítulos e escapos. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 30 |
| Figura 6. Foto de peças de artesanato realizado com capim dourado. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 31 |
| Figura 7. Localização da área do Jalapão, no Tocantins. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 31 |
| Figura 8. Cromatograma representando o perfil do extrato metanólico dos capítulos da primeira coleta de <i>Syngonanthus nitens</i> (RP-18, 250 x 4,60 mm d.i. x 5 µm; Solvente A: H <sub>2</sub> O + 0,05% TFA; Solvente B: ACN + 0,05% TFA. Gradiente de 15-55% de B em A em 40 min; fluxo de 1,0 mL min <sup>-1</sup> , λ = 320 nm) e espectros de absorção na região do UV dos picos destacados. .... | 40 |
| Figura 9. Cromatograma representando o perfil do extrato metanólico dos escapos da primeira coleta de <i>Syngonanthus nitens</i> (RP-18, 250 x 4,60 mm d.i. x 5 µm; Solvente A: H <sub>2</sub> O + 0,05% TFA; Solvente B: ACN + 0,05% TFA. Gradiente de 10-50% de B em A em 40 min; fluxo de 1,0 mL min <sup>-1</sup> , λ = 320 nm) e espectros de absorção na região do UV dos picos destacados. ....   | 41 |
| Figura 10. Cromatograma representando o perfil do extrato metanólico dos capítulos da segunda coleta de <i>Syngonanthus nitens</i> (RP-18, 250 x 4,60 mm d.i. x 5 µm; Solvente A: H <sub>2</sub> O + 0,05% TFA; Solvente B: ACN + 0,05% TFA. Gradiente de 15-55% de B em A em 40 min; fluxo de 1,0 mL min <sup>-1</sup> , λ = 320 nm) e espectros de absorção na região do UV dos picos destacados. .... | 42 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 11. Cromatograma representando o perfil do extrato metanólico dos escapos da segunda coleta de <i>Syngonanthus nitens</i> (RP-18, 250 x 4,60 mm d.i. x 5 µm; Solvente A: H <sub>2</sub> O + 0,05% TFA; Solvente B: ACN + 0,05% TFA. Gradiente de 10-50% de B em A em 40 min; fluxo de 1,0 mL min <sup>-1</sup> , λ = 320 nm) e espectros de absorção na região do UV dos picos destacados. .... | 43 |
| Figura 12. Espectro de massas de primeira ordem (modo <i>full-scan</i> ) de <b>Sn10</b> , analisado em modo negativo.....                                                                                                                                                                                                                                                                              | 48 |
| Figura 13. Espectro de massas de segunda ordem (modo <i>full-scan</i> ) de <b>Sn10</b> , analisado em modo negativo.....                                                                                                                                                                                                                                                                               | 49 |
| Figura 14. Espectro de <b>Sn10</b> obtido por espectroscopia na região do UV.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 49 |
| Figura 15. Estrutura química de <b>Sn1</b> e <b>Sn10</b> . ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 51 |
| Figura 16. Espectro de massas de primeira ordem ( <i>full-scan</i> ) de <b>Sn2-A (*)</b> e <b>Sn2-B (•)</b> , analisado em modo negativo.....                                                                                                                                                                                                                                                          | 52 |
| Figura 17. Espectro de <b>Sn2</b> obtido por espectroscopia na região do UV.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 53 |
| Figura 18. Estrutura química de <b>Sn2-A</b> .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 55 |
| Figura 19. Estrutura química de <b>Sn2-B</b> .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 56 |
| Figura 20. Espectro de massas de primeira ordem (modo <i>full-scan</i> ) de <b>Sn3</b> , analisado em modo negativo.....                                                                                                                                                                                                                                                                               | 57 |
| Figura 21. Espectro de <b>Sn3</b> obtido por espectroscopia na região do UV.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 57 |
| Figura 22. Estrutura química de <b>Sn3</b> .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 59 |
| Figura 23. Espectro de massas de primeira ordem (modo <i>full-scan</i> ) de <b>Sn4</b> , analisado em modo negativo.....                                                                                                                                                                                                                                                                               | 60 |
| Figura 24. Espectro de <b>Sn4</b> obtido por espectroscopia na região do UV.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 60 |
| Figura 25. Estrutura química de <b>Sn4</b> .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 62 |
| Figura 26. Espectro de massas de primeira ordem (modo <i>full-scan</i> ) de <b>Sn5</b> , analisado em modo negativo.....                                                                                                                                                                                                                                                                               | 63 |
| Figura 27. Espectro de <b>Sn5</b> obtido por espectroscopia na região do UV.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 63 |
| Figura 28. Estrutura química de <b>Sn5</b> .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 65 |

|                                                                                                                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 29. Espectro de massas de primeira ordem (modo <i>full-scan</i> ) de <b>Sn6</b> , analisado em modo negativo.....                                                                                                    | 66 |
| Figura 30. Representação de íons produtos característicos formados pela clivagem de uma C-hexose (A) e de uma O-hexose (B). O sinal $\pm$ indica os modos de ionização, positivo ou negativo (CUYCKENS E CLAEYS, 2004). ... | 67 |
| Figura 31. Espectro de massas de segunda ordem de <b>Sn6</b> , avaliado em modo negativo.....                                                                                                                               | 67 |
| Figura 32. Proposta de fragmentação para <b>Sn6</b> baseada em CUYCKENS E CLAEYS, (2004). Onde: $^{0,2}X = [M - H - 120]^-$ ; $^{0,3}X = [M - H - 90]^-$ . ....                                                             | 68 |
| Figura 33. Espectro de <b>Sn6</b> obtido por espectroscopia na região do UV. ....                                                                                                                                           | 68 |
| Figura 34. Estrutura química de <b>Sn6</b> .....                                                                                                                                                                            | 70 |
| Figura 35. Espectro de massas de primeira ordem (modo <i>full-scan</i> ) da fração <b>Sn7</b> , analisado em modo negativo. ....                                                                                            | 71 |
| Figura 36. Espectro de massas de segunda ordem (modo <i>full-scan</i> ) da fração <b>Sn7</b> , analisado em modo negativo. ....                                                                                             | 72 |
| Figura 37. Proposta de fragmentação de <b>Sn7</b> baseada em CUYCKENS E CLAEYS, (2004). Onde: $^{0,2}X = [M - H - 120]^-$ ; $^{0,3}X = [M - H - 90]^-$ . ....                                                               | 72 |
| Figura 38. Espectro de <b>Sn7</b> obtido por espectroscopia na região do UV. ....                                                                                                                                           | 73 |
| Figura 39. Estrutura química de <b>Sn7</b> .....                                                                                                                                                                            | 75 |
| Figura 40. Espectro de massas de primeira ordem (modo <i>full-scan</i> ) de <b>Sn8</b> , analisado em modo negativo.....                                                                                                    | 76 |
| Figura 41. Espectro de massas de segunda ordem (modo <i>full-scan</i> ) de <b>Sn8</b> , analisado em modo negativo.....                                                                                                     | 76 |
| Figura 42. Espectro de massas de terceira ordem (modo <i>full-scan</i> ) de <b>Sn8</b> , analisado em modo negativo.....                                                                                                    | 77 |
| Figura 43. Proposta de fragmentação para <b>Sn8</b> baseada em CUYCKENS E CLAEYS, (2004). Onde: $^{0,2}X = [M - H - 120]^-$ . ....                                                                                          | 77 |
| Figura 44. Estrutura química de <b>Sn8</b> .....                                                                                                                                                                            | 79 |
| Figura 45. Estrutura química de <b>Sn9</b> .....                                                                                                                                                                            | 81 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 46. Efeito do extrato metanólico de capítulos e escapos de <i>Syngonanthus nitens</i> sobre a lesão ulcerativa induzida por etanol absoluto. Resultados expressos na forma de média $\pm$ E.P.M. (n: 5) da área de lesão e na forma de porcentagem de proteção. Anova – Dunnett ** $p < 0,01$ . .... | 84  |
| Figura 47. Espectro de RMN de $H^1$ de <b>Sn10</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).....                                                                                                                                                                                                                              | 97  |
| Figura 48. Espectro de RMN de $H^1$ (ampliação na região de $\delta$ 6,1 a $\delta$ 7,5) <b>Sn10</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....                                                                                                                                                                           | 97  |
| Figura 49. Espectro <i>g</i> COSY (ampliação na região de $\delta$ 6,2 a $\delta$ 7,6) de <b>Sn10</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....                                                                                                                                                                          | 98  |
| Figura 50. Espectro <i>g</i> HMQC de <b>Sn10</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).....                                                                                                                                                                                                                                | 98  |
| Figura 51. Espectro <i>g</i> HMBC de <b>Sn10</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....                                                                                                                                                                                                                               | 99  |
| Figura 52. Espectro de RMN de $H^1$ de <b>Sn2</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).....                                                                                                                                                                                                                               | 99  |
| Figura 53. Espectro de RMN de $H^1$ (ampliação na região de $\delta$ 6,4 a $\delta$ 8,0) de <b>Sn2</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).....                                                                                                                                                                          | 100 |
| Figura 54. Espectro <i>g</i> COSY (ampliação na região de $\delta$ 5,9 a $\delta$ 8,0) de <b>Sn2</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....                                                                                                                                                                           | 100 |
| Figura 55. Espectro <i>g</i> HMQC (ampliação na região de $\delta$ 6,1 a $\delta$ 8,4) de <b>Sn2</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....                                                                                                                                                                           | 101 |
| Figura 56. Espectro <i>g</i> HMBC de <b>Sn2</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....                                                                                                                                                                                                                                | 101 |
| Figura 57. Espectro <i>g</i> HMBC (ampliação na região de $\delta$ 6,0 a $\delta$ 8,4) de <b>Sn2</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....                                                                                                                                                                           | 102 |
| Figura 58. Espectro <i>g</i> HMBC (ampliação na região de $\delta$ 6,0 a $\delta$ 8,4) de <b>Sn2</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....                                                                                                                                                                           | 102 |
| Figura 59. Espectro <i>g</i> HMBC (ampliação na região de $\delta$ 3,2 a $\delta$ 4,4) de <b>Sn2</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....                                                                                                                                                                           | 103 |
| Figura 60. Espectro de RMN de $H^1$ de <b>Sn3</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).....                                                                                                                                                                                                                               | 103 |
| Figura 61. Espectro de RMN de $H^1$ (ampliação na região de $\delta$ 6,1 a $\delta$ 8,1) de <b>Sn3</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).....                                                                                                                                                                          | 104 |

|                                                                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 62. Espectro <i>g</i> COSY de <b>Sn3</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).....                                                        | 104 |
| Figura 63. Espectro <i>g</i> HMQC (ampliação na região de $\delta$ 6,5 a $\delta$ 8,6) de <b>Sn3</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....  | 105 |
| Figura 64. Espectro <i>g</i> HMBC de <b>Sn3</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....                                                       | 105 |
| Figura 65. Espectro <i>g</i> HMBC (ampliação na região de $\delta$ 6,3 a $\delta$ 7,3) de <b>Sn3</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....  | 106 |
| Figura 66. Espectro de RMN de $H^1$ de <b>Sn4</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).....                                                      | 106 |
| Figura 67. Espectro <i>g</i> COSY de <b>Sn4</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).....                                                        | 107 |
| Figura 68. Espectro <i>g</i> HMQC (ampliação na região de $\delta$ 5,9 a $\delta$ 7,0) de <b>Sn4</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....  | 107 |
| Figura 69. Espectro <i>g</i> HMBC de <b>Sn4</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....                                                       | 108 |
| Figura 70. Espectro de RMN de $H^1$ de <b>Sn5</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).....                                                      | 108 |
| Figura 71. Espectro de RMN de $H^1$ (ampliação na região de $\delta$ 6,1 a $\delta$ 6,6) de <b>Sn5</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T)..... | 109 |
| Figura 72. Espectro <i>g</i> COSY de <b>Sn5</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).....                                                        | 109 |
| Figura 73. Espectro <i>g</i> HMQC (ampliação na região de $\delta$ 5,7a $\delta$ 6,9) de <b>Sn5</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....   | 110 |
| Figura 74. Espectro <i>g</i> HMBC de <b>Sn5</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....                                                       | 110 |
| Figura 75. Espectro <i>g</i> HMBC (ampliação na região de $\delta$ 6,1 a $\delta$ 6,6) de <b>Sn5</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....  | 111 |
| Figura 76. Espectro de RMN de $H^1$ de <b>Sn6</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).....                                                      | 111 |
| Figura 77. Espectro de RMN de $H^1$ (ampliação na região de $\delta$ 4,7 a $\delta$ 7,6) de <b>Sn6</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T)..... | 112 |
| Figura 78. Espectro <i>g</i> COSY (ampliação na região de $\delta$ 6,4 a $\delta$ 7,8) de <b>Sn6</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....  | 112 |
| Figura 79. Espectro <i>g</i> HMQC de <b>Sn6</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).....                                                        | 113 |
| Figura 80. Espectro <i>g</i> HMQC (ampliação na região de $\delta$ 6,3 a $\delta$ 7,9) de <b>Sn6</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ....  | 113 |

|                                                                                                                                      |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 81. Espectro <i>g</i> HMBC de <b>Sn6</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                        | 114 |
| Figura 82. Espectro <i>g</i> HMBC de <b>Sn6</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                        | 114 |
| Figura 83. Espectro <i>g</i> HMBC (ampliação na região de $\delta$ 6,2 a $\delta$ 7,8) de <b>Sn6</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....   | 115 |
| Figura 84. Espectro TOCSY 1D de <b>Sn6</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                             | 115 |
| Figura 85. Espectro de RMN de $H^1$ de <b>Sn7</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                      | 116 |
| Figura 86. Espectro de RMN de $H^1$ (ampliação na região de $\delta$ 6,6 a $\delta$ 7,5) de <b>Sn7</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ..... | 116 |
| Figura 87. Espectro HOMODEC de <b>Sn7</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                              | 117 |
| Figura 88. Espectro <i>g</i> COSY de <b>Sn7</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                        | 117 |
| Figura 89. Espectro <i>g</i> HMQC de <b>Sn7</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                        | 118 |
| Figura 90. Espectro <i>g</i> HMQC (ampliação na região de $\delta$ 6,1 a $\delta$ 7,5) de <b>Sn7</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....   | 118 |
| Figura 91. Espectro <i>g</i> HMBC de <b>Sn7</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                        | 119 |
| Figura 92. Espectro <i>g</i> HMBC (ampliação na região de $\delta$ 6,4 a $\delta$ 7,9) de <b>Sn7</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....   | 119 |
| Figura 93. Espectro <i>g</i> HMBC (ampliação na região de $\delta$ 6,4 a $\delta$ 7,9) de <b>Sn7</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....   | 120 |
| Figura 94. Espectro TOCSY 1D de <b>Sn7</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                             | 120 |
| Figura 95. Espectro de RMN de $H^1$ de <b>Sn8</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                      | 121 |
| Figura 96. Espectro de RMN de $H^1$ (ampliação na região de $\delta$ 6,8 a $\delta$ 7,7) de <b>Sn8</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ..... | 121 |
| Figura 97. Espectro HOMODEC (ampliação na região de $\delta$ 6,8 a $\delta$ 7,7) de <b>Sn8</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....         | 122 |
| Figura 98. Espectro <i>g</i> COSY de <b>Sn8</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                        | 122 |
| Figura 99. Espectro <i>g</i> HMQC de <b>Sn8</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                        | 123 |
| Figura 100. Espectro <i>g</i> HMQC (ampliação na região de $\delta$ 6,7 a $\delta$ 7,7) de <b>Sn8</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....  | 123 |

|                                                                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 101. Espectro <i>g</i> HMBC (ampliação na região de $\delta$ 6,5 a $\delta$ 8,0) de <b>Sn8</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....   | 124 |
| Figura 102. Espectro <i>g</i> HMBC (ampliação na região de $\delta$ 6,5 a $\delta$ 8,0) de <b>Sn8</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....   | 124 |
| Figura 103. Espectro TOCSY 1D de <b>Sn8</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                             | 125 |
| Figura 104. Espectro NOESY 1D de <b>Sn8</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                             | 125 |
| Figura 105. Espectro NOESY 1D de <b>Sn8</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                             | 126 |
| Figura 106. Espectro de RMN de $H^1$ de <b>Sn9</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                      | 126 |
| Figura 107. Espectro de RMN de $H^1$ (ampliação na região de $\delta$ 6,4 a $\delta$ 7,5) de <b>Sn9</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). ..... | 127 |
| Figura 108. Espectro <i>g</i> COSY (ampliação na região de $\delta$ 6,3 a $\delta$ 7,6) de <b>Sn9</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....   | 127 |
| Figura 109. Espectro <i>g</i> HMQC (ampliação na região de $\delta$ 6,0 a $\delta$ 7,8) de <b>Sn9</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....   | 128 |
| Figura 110. Espectro <i>g</i> HMBC de <b>Sn9</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....                                                        | 128 |
| Figura 111. Espectro <i>g</i> HMBC (ampliação na região de $\delta$ 6,1 a $\delta$ 7,5) de <b>Sn9</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....   | 129 |
| Figura 112. Espectro <i>g</i> HMBC (ampliação na região de $\delta$ 6,1 a $\delta$ 7,7) de <b>Sn9</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....   | 129 |
| Figura 113. Espectro <i>g</i> HMBC (ampliação na região de $\delta$ 6,4 a $\delta$ 7,5) de <b>Sn9</b> (DMSO- $d_6$ , 11,4 T). .....   | 130 |

## Tabelas

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Rendimentos das extrações de capítulos e escapos de <i>Syngonanthus nitens</i> .....                                                                                                                                                                                                                                     | 39 |
| Tabela 2. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>Sn10</b> (11,7 T, DMSO- $d_6$ ).....                                                                                                                                                                                                                                | 51 |
| Tabela 3. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ de <b>Sn2-A</b> (11,7 T, DMSO- $d_6$ ).....                                                                                                                                                                                                                            | 54 |
| Tabela 3. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ de <b>Sn2-B</b> e <b>Sn2-A</b> (11,7 T, DMSO- $d_6$ ).....                                                                                                                                                                                                             | 56 |
| Tabela 4. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ de <b>Sn3</b> (11,7 T, DMSO- $d_6$ ).....                                                                                                                                                                                                                              | 59 |
| Tabela 5. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ de <b>Sn4</b> (11,7 T, DMSO- $d_6$ ).....                                                                                                                                                                                                                              | 62 |
| Tabela 6. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>Sn5</b> (11,7 T, DMSO- $d_6$ ).....                                                                                                                                                                                                                                 | 65 |
| Tabela 7. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>Sn6</b> (11,7 T, DMSO- $d_6$ ).....                                                                                                                                                                                                                                 | 70 |
| Tabela 8. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>Sn7</b> (11,7 T, DMSO- $d_6$ ).....                                                                                                                                                                                                                                 | 74 |
| Tabela 9. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>Sn8</b> (11,7 T, DMSO- $d_6$ ).....                                                                                                                                                                                                                                 | 79 |
| Tabela 10. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de <b>Sn9</b> (11,7 T, DMSO- $d_6$ ).....                                                                                                                                                                                                                                | 81 |
| Tabela 12. Atividade mutagênica expressa pela média, desvio padrão e razão de mutagenicidade (valor entre parênteses) na linhagem TA98 de <i>Salmonella typhimurium</i> exposta à várias doses do extrato metanólico de capítulos de <i>Syngonanthus nitens</i> , com (+S9) ou sem (-S9) ativação metabólica. ....                 | 87 |
| Tabela 13. Atividade mutagênica expressa pela média, desvio padrão e razão de mutagenicidade (valor entre parênteses) na linhagem TA100, TA97a e TA102 de <i>Salmonella typhimurium</i> exposta à várias doses do extrato metanolico de capítulos de <i>Syngonanthus nitens</i> , com (+S9) ou sem (-S9) ativação metabólica. .... | 88 |

# Sumário

|                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Introdução .....                                                                                             | 24 |
| 1.1. Família Eriocaulaceae .....                                                                                | 24 |
| 1.2. O Gênero <i>Syngonanthus</i> .....                                                                         | 26 |
| 1.3. Estudos químicos e biológicos .....                                                                        | 27 |
| 1.4. <i>Syngonanthus nitens</i> (Bong.) Ruhland .....                                                           | 30 |
| 2. Objetivos .....                                                                                              | 33 |
| 3. Materiais e equipamentos .....                                                                               | 34 |
| 3.1. Solventes .....                                                                                            | 34 |
| 3.2. Procedimentos cromatográficos .....                                                                        | 34 |
| 3.3. Reveladores para CCDC .....                                                                                | 34 |
| 3.4. Equipamentos .....                                                                                         | 35 |
| 4. Desenvolvimento, resultados e discussão .....                                                                | 38 |
| 4.1. Coleta e identificação do material vegetal .....                                                           | 38 |
| 4.2. Preparação dos extratos .....                                                                              | 38 |
| 4.3. Caracterização química dos extratos metanólicos .....                                                      | 39 |
| 4.4. Fracionamento do extrato metanólico da primeira coleta de escapos<br>de <i>Syngonanthus nitens</i> .....   | 44 |
| 4.5. Fracionamento do extrato metanólico dos capítulos da segunda coleta<br>de <i>Syngonanthus nitens</i> ..... | 44 |
| 4.6. Fracionamento do extrato metanólico dos escapos da segunda coleta<br>de <i>Syngonanthus nitens</i> .....   | 45 |
| 4.7. Elucidação estrutural .....                                                                                | 48 |
| 4.7.1. Elucidação estrutural de <b>Sn1</b> e <b>Sn10</b> .....                                                  | 48 |
| 4.7.2. Elucidação estrutural de <b>Sn2</b> .....                                                                | 51 |
| 4.7.3. Elucidação estrutural de <b>Sn3</b> .....                                                                | 56 |
| 4.7.4. Elucidação estrutural de <b>Sn4</b> .....                                                                | 59 |
| 4.7.5. Elucidação estrutural de <b>Sn5</b> .....                                                                | 62 |
| 4.7.6. Elucidação estrutural de <b>Sn6</b> .....                                                                | 65 |
| 4.7.7. Elucidação estrutural de <b>Sn7</b> .....                                                                | 71 |
| 4.7.8. Elucidação estrutural de <b>Sn8</b> .....                                                                | 75 |
| 4.7.9. Elucidação estrutural de <b>Sn9</b> .....                                                                | 80 |

|                                               |    |
|-----------------------------------------------|----|
| 5. Atividade biológica .....                  | 83 |
| 5. 1. Avaliação da atividade antiúlcera ..... | 83 |
| 5. 2. Avaliação da mutagenicidade.....        | 85 |
| 6. Conclusão .....                            | 89 |
| Referências .....                             | 91 |

# 1. Introdução

## 1.1. Família Eriocaulaceae

A família Eriocaulaceae pertence à ordem Poales, ao grupo das monocotiledôneas e possui distribuição pantropical (SALATINO *et al.*, 2000; RAMOS *et al.*, 2005). É uma família que possui inflorescências do tipo capítulos, que são envolvidos por brácteas, e folhas em forma de roseta, de onde brotam os escapos, e destes, surgem os capítulos (GIULIETTI, 1997; RICCI *et al.*, 1996) (Figura 1).

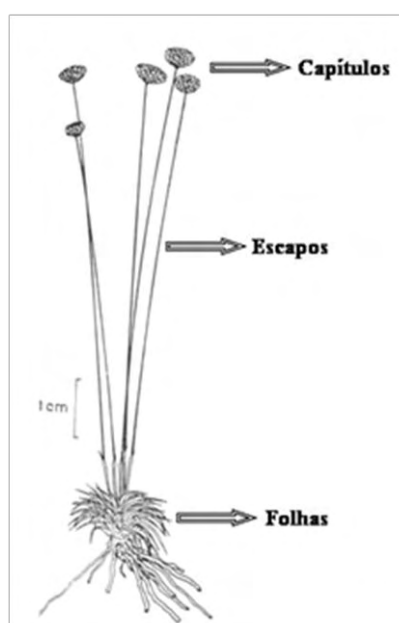


Figura 1. Esquema de capítulos, escapos e folhas (Parra, 1998).

Essas plantas são encontradas em diversos *hábitats*, que variam desde pântanos e ambientes aquáticos a solos arenosos ou pedregosos, onde preferencialmente crescem. (GIULIETTI *et al.*, 1996; RICCI *et al.*, 1996; SCATENA *et al.*, 2005).

Elas são conhecidas popularmente como “sempre vivas”, por apresentarem a aparência de vivas até muito tempo depois de serem colhidas (GIULIETTI, 1997; RAMOS *et al.*, 2005). Essa família é constituída por 11 gêneros e aproximadamente 1400 espécies (ANDRADE *et al.*, 2010).

No Brasil, a maior parte das espécies da família Eriocaulaceae é encontrada na região central do país (RAMOS *et al.*, 2005) e cerca de 600 a 700 fazem parte da vegetação dos Campos Rupestres, principalmente na região da Cadeia do Espinhaço nos Estados de Minas Gerais e Bahia (GIULIETTI *et al.*, 1987; COAN *et al.*, 2002; RICCI *et al.*, 1996; SCATENA *et al.*, 2005).

A vegetação de Campos Rupestres é caracterizada por possuir predominantemente espécies herbáceas, que crescem em solos pobres em nutrientes e pouco profundos, em altitudes acima de 900 metros (LAZZARI, 2000).

A maior parte das espécies desta região pertence aos gêneros *Eriocaulon*, *Leiothrix*, *Syngonanthus* e *Paepalanthus* (SALATINO *et al.*, 2000).

A família Eriocaulaceae possui uma complicada taxonomia. Alguns gêneros são divididos em várias categorias inferiores, tais como subgêneros, seções, subseções, séries até chegar às espécies (Figura 2). Estas subdivisões têm sido aceitas por quase todos os pesquisadores e é baseada exclusivamente em caracteres anatômicos e morfológicos das flores (GIULIETTI *et al.*, 1996).

| Subfamílias      | Gêneros             | Subgêneros             | Seções                | Subseções              |
|------------------|---------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|
| Eriocauloideae   | <i>Eriocaulon</i>   |                        |                       |                        |
|                  | <i>Masanthemum</i>  |                        |                       |                        |
| Paepalanthoideae | <i>Tonina</i>       |                        |                       |                        |
|                  | <i>Blastocaulon</i> |                        |                       |                        |
|                  | <i>Eulepsis</i>     |                        |                       |                        |
|                  | <i>Lachnocaulon</i> |                        |                       |                        |
|                  | <i>Leiothrix</i>    | <i>Leiothrix</i>       |                       |                        |
|                  |                     | <i>Rheocaulon</i>      |                       |                        |
|                  |                     | <i>Eleutherandra</i>   |                       |                        |
|                  |                     | <i>Stephanophyllum</i> |                       |                        |
|                  | <i>Paepalanthus</i> | <i>Platycaulon</i>     |                       |                        |
|                  |                     | <i>Thelxinoe</i>       |                       |                        |
|                  |                     | <i>Xeractis</i>        | <i>Xeractis</i>       |                        |
|                  |                     |                        | <i>Crysostegis</i>    |                        |
|                  |                     |                        | <i>Gymnostegis</i>    |                        |
|                  |                     |                        | <i>Pleutophyllum</i>  |                        |
|                  |                     | <i>Paepalocephalus</i> | <i>Actinocephalus</i> |                        |
|                  |                     |                        | <i>Diphymene</i>      |                        |
|                  |                     |                        | <i>Eriocaulopsis</i>  |                        |
|                  | <i>Philodice</i>    |                        |                       |                        |
|                  | <i>Rondonanthus</i> |                        |                       |                        |
|                  | <i>Syngonanthus</i> |                        |                       | <i>Syngonanthus</i>    |
|                  |                     |                        |                       | <i>Carpoccephalus</i>  |
|                  |                     |                        |                       | <i>Trysanocephalus</i> |
|                  |                     |                        |                       | <i>Eulepis</i>         |

Figura 2. Classificação de Eriocaulaceae (Giulietti *et al.*, 2000).

Espécies da família Eriocaulaceae são importantes economicamente para as populações da Cadeia do Espinhaço e Chapada Diamantina, que utilizam o extrativismo dessas plantas como fonte de renda. Elas são comercializadas no Brasil e até exportadas para outros locais, como Estados Unidos e países da Europa (GIULIETTI *et al.*, 1988; RICCI *et al.*, 1996). Por isso, muitas dessas espécies correm o risco de extinção, decorrente da exploração econômica que compromete a reprodução, afetando a sua sobrevivência (RAMOS *et al.*, 2005).

Estudos taxonômicos foram intensificados nos últimos anos, devido a constituição química e aspectos farmacológicos das espécies (LAZZARI, 2000).

Muitos aspectos das espécies de Eriocaulaceae são ainda desconhecidos e estudos químicos são importantes como ferramenta para colaborar na classificação taxonômica (RICCI *et al.*, 1996).

## **1.2. O Gênero *Syngonanthus***

A maioria das espécies da família Eriocaulaceae que são comercializadas como “sempre vivas” pertencem ao gênero *Syngonanthus* (LAZZARI, 2000; RAMOS *et al.*, 2005).

Este gênero possui aproximadamente 200 espécies, com distribuição nas Américas, principalmente a do Sul, e na África. No Brasil, a maior parte é encontrada nos Estados de Minas Gerais e Bahia, onde já foram encontradas cerca de 180 espécies (GIULIETTI, 1997).

Essas plantas são abundantes principalmente na região da Cadeia do Espinhaço e representam uma importante fonte de renda para as famílias que habitam esse local. Em função do intenso extrativismo há risco de extinção dessas espécies (LAZZARI, 2000).

### 1.3. Estudos químicos e biológicos

Os primeiros estudos químicos de plantas da família Eriocaulaceae relataram a presença de flavonoides em espécies de *Eriocaulon*, *Leiothrix*, *Paepalanthus* e *Syngonanthus*, bem como a relação da distribuição destas substâncias nesses gêneros e sua evolução (BATE SMITH E HARBORNE, 1969; DOKKEDAL E SALATINO, 1992; MAYWORM E SALATINO, 1993, RICCI *et al.*, 1996). Foi relatado que em espécies de *Eriocaulon* e *Paepalanthus* há uma predominância de compostos fenólicos e flavonóis, como a quercetagetina e patuletina, enquanto que em *Leiothrix* e *Syngonanthus*, ocorrem principalmente flavonas C-glicosiladas (SALATINO *et al.*, 2000, DOKKEDAL *et al.*, 2004).

RICCI *et al.* (1996) descreveu a presença de flavonas C- e O-glicosiladas, derivadas da luteolina em espécies do gênero *Syngonanthus*, o que aproximaria esse gênero de *Leiothrix*, que também possui derivados de flavonas.

Estudos com espécies de *Paepalanthus* demonstraram a presença da paepalantina (Figura 3A), uma isocumarina, dos capítulos de *P. bromelioides* (VILEGAS *et al.*, 1990), um metabólito não usual em plantas, e freqüente em microorganismos dos gêneros *Penicillium* spp e *Fusarium* spp (HILL, 1986). Ensaio biológicos *in vitro* indicaram intensa atividade antibiótica contra *Bacillus cereus* (7,5 µg/ml), *Staphylococcus aureus* (7,5 µg/ml), *S. epidermidis* (15 µg/ml) e *Escherichia coli* (250 7,5 µg/ml) (VARANDA *et al.*, 1997; TAVARES *et al.*, 1999).

O dímero da paepalantina (Figura 3B), isolado também de *P. bromelioides*, foi testado biologicamente e com grande potencial citotóxico. Esse composto foi isolado por COELHO *et al.*, (2000).

Estudos de avaliação da toxicidade, mutagenicidade e da atividade antimicrobiana da paepalantina e seus derivados (DEVIIENNE *et al.*, 2005; VARANDA *et al.*, 2004), e comparação da relação estrutura-atividade, demonstraram que alguns derivados são compostos significativamente menos tóxicos e com menor atividade antimicrobiana para alguns microorganismos.

Concluiu-se, também, que a ausência de mutagenicidade pode estar relacionada com a configuração espacial da molécula, que proporciona impedimento estérico para sua interação com o DNA.

Foi isolado um constituinte das folhas de *Paepalanthus argenteus*, caracterizado como xeractinol (Figura 3C), um diidroflavonol C-glicosilado, que pode ser utilizado como marcador taxonômico, por não ter sido encontrado em nenhum outro táxon de Eriocaulaceae (DOKKEDAL *et al.*, 2007). De *Paepalanthus polyanthus*, foram isolados vários flavonoides 6-metoxiglicosilados derivados da quercetina e 6-metoxiquercetina-3-O-(6''-E-feruloil)- $\beta$ -D-glicopiranosídeo (Figura 3D) (SANTOS *et al.*, 2002).

Foi isolada a planifolina (Figura 3E), das folhas de *Paepalanthus planifolius*, além de flavonoides (SANTOS *et al.*, 2003). Essa substância apresentou atividade citotóxica *in vitro* em linhagens de células tumorais de mama e de pulmão (SANTOS *et al.*, 2005).

Xantonas isoladas do gênero *Leiothrix* (Figura 3F) apresentaram atividade antioxidante (SANTOS *et al.*, 2003). Extratos de espécies de *Syngonanthus* apresentaram atividade antiulcerogênica. Extratos contendo flavonóides obtidos de *Syngonanthus bisulcatus* (COELHO *et al.*, 2006) e de *Syngonanthus arthrotrichus* (BATISTA *et al.*, 2004) apresentaram atividade antiulcerogênica, utilizando o modelo de úlcera induzida por etanol/ácido clorídrico.

Foram isolados de capítulos de *Eriocaulon ligulatum*, o flavonoide acilado (6,4-dimetoxiquercetina-3-O- $\beta$ -D-6''[3,4,5-triidroxi(E)-cinamoil] glicopiranosídeo) (Figura 3G), um dímero de naftopiranona, denominado eriocaulina (Figura 3H) e os flavonoides (6-metoxiapigenina-7-O- $\beta$ -D-glicopiranosídeo (Figura 3I) e 6-metoxiapigenina-7-O- $\beta$ -D-alopiranosídeo), (Figura 3J). O extrato e algumas frações ricas em flavonoides de *E. ligulatum* apresentaram atividade mutagênica em algumas linhagens de *Salmonella* (SILVA *et al.*, 2007). Portanto, diante dos resultados obtidos, fica evidente a importância da continuidade dos estudos com espécies de Eriocaulaceae, na busca por novas substâncias naturais com potencial farmacológico.

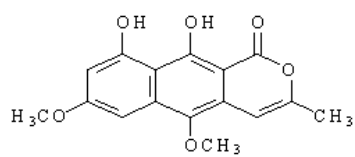
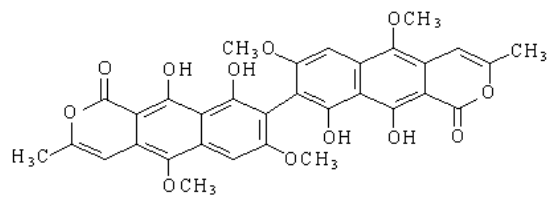
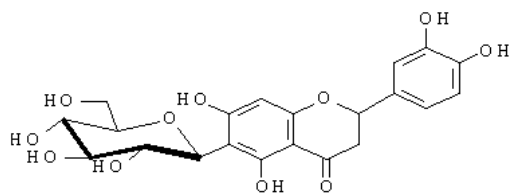
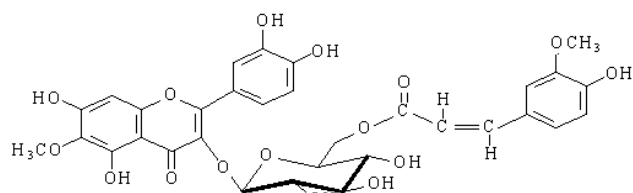
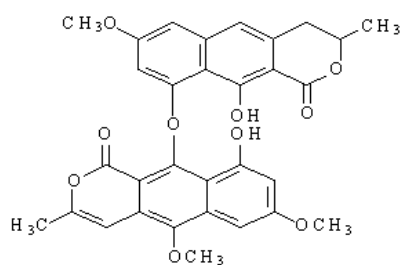
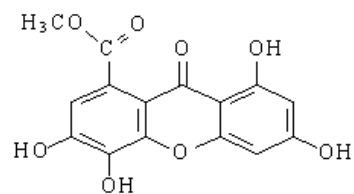
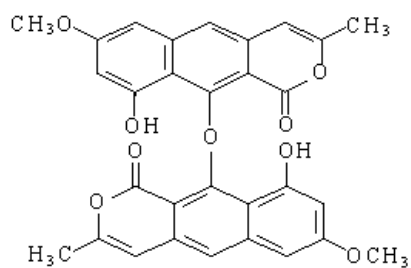
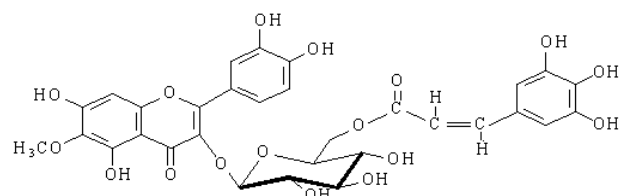
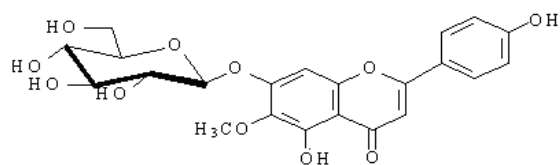
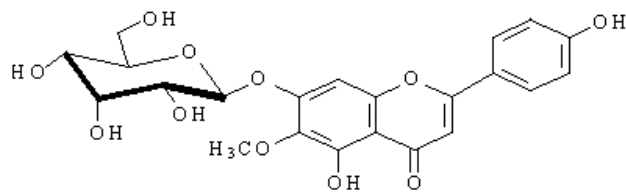
**3a****3B****3C****3D****3E****3F****3H****3G****3I****3J**

Figura 3. Substâncias representativas de espécies de Eriocaulaceae.

#### 1.4. *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland

A espécie *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland (Figuras 4 e 5) é amplamente distribuída pelo Brasil Central, encontrada em campos úmidos adjacentes a veredas e matas de galeria inundáveis (SCHMIDT *et al.*, 2007). Ocorre, também, no Paraguai, Bolívia, Venezuela e Peru (PARRA, 1998).

*Syngonanthus nitens* é caracterizada por roseta basal de folhas de onde partem de 1 a 10 escapos dourados e glabros (GIULIETTI *et al.*, 1996) (Figura 1).

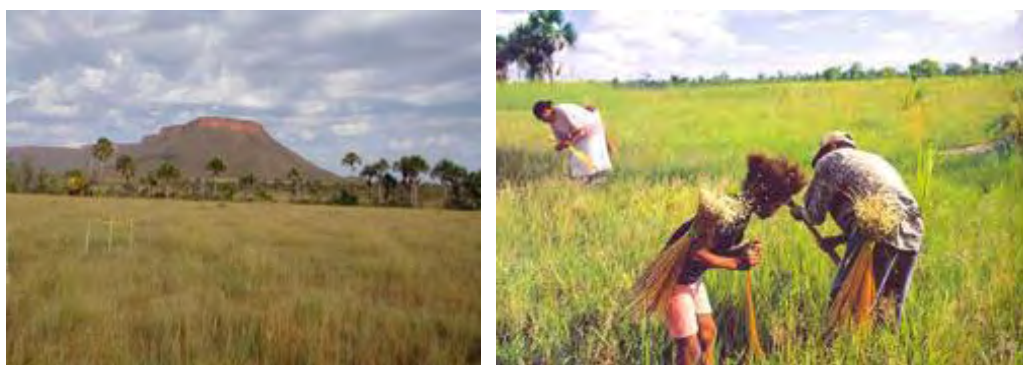


Figura 4. Foto de campos úmidos (TO), local de ocorrência de *Syngonanthus nitens*, e de moradores locais realizando a colheita.  
Disponível em: <[www.ispn.org.br](http://www.ispn.org.br)>. Acesso em: 4 mai. 2010.

Os escapos de *S. nitens* são utilizados para confecção de artesanato em regiões do Cerrado, principalmente na Cadeia do Espinhaço, nos Estados de Minas Gerais e Bahia (SCHMIDT *et al.*, 2007). No Estado de Minas Gerais, essa planta é conhecida como “sedinha” (GIULIETTI *et al.* 1996). É encontrada em regiões de Goiás e na Serra do Jalapão no Tocantins, onde é conhecida como “capim dourado” (SCHMIDT *et al.*, 2007).



Figura 5. Fotos de *Syngonanthus nitens*, em que são visualizados capítulos e escapos.  
Disponível em: <[www.pequi.org.br](http://www.pequi.org.br)>. Acesso em: 4 mai. 2010.

O capim dourado é amplamente utilizado na confecção de artesanato (Figura 6), o que torna a espécie de grande importância econômica para a população da região do Jalapão (SCHMIDT, 2005).



Figura 6. Foto de peças de artesanato realizado com capim dourado. Disponível em: < [www.ispn.org.br](http://www.ispn.org.br) >. Acesso em: 4 mai. 2010.

A região do Jalapão (Figura 7), localizada a leste do Estado de Tocantins e faz divisa com Bahia, Piauí e Maranhão, está inserida no bioma Cerrado e seus principais municípios são Mateiros, Ponte Alta do Tocantins e São Félix do Tocantins (FIGUEIREDO, 2007). Nessa região está localizada uma grande área do Cerrado conservado, e existem três áreas de unidades de conservação de proteção integral (SILVA E BATES, 2002). São elas: a Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins, Parque Estadual do Jalapão e Parque Nacional Nascentes do Paraíba (SILVA E BATES, 2002; FIGUEIREDO, 2007).



Figura 7. Localização da área do Jalapão, no Tocantins. Disponível em: <[www.revistabrasileiros.com.br](http://www.revistabrasileiros.com.br)>. Acesso em: 4 mai. 2010.

O artesanato produzido pela população do Jalapão é caracterizado pela técnica de costurar conjuntos de escapos de capim dourado em feixes concêntricos, com seda de buriti (*Mauritia flexuosa* Mart., Arecaceae). A seda utilizada é fibra de folhas novas de buriti (FIGUEIREDO, 2007).

Essa técnica, de origem indígena, foi iniciada na região há aproximadamente 80 anos (SCHMIDT, 2005). Porém, foi na década de 90 que houve maior divulgação e expansão das vendas do artesanato de peças feitas com capim dourado, com conseqüente aumento do número de artesãos interessados na confecção artesanal (SCHMIDT, 2005).

Este crescente interesse tem ocasionado um aumento da coleta da planta, gerando extrativismo desordenado, o que compromete a reprodução da espécie, causando declínio populacional (SCHMIDT, 2005).

Essa atividade, porém, está sendo regulamentada e a população conscientizada em relação aos cuidados na colheita, para que a espécie não seja extinta, o que garante, também, a sustentabilidade do artesanato (FIGUEIREDO, 2007). Em 2000, o Instituto Brasileiro de Meio Ambientes e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), juntamente com outras instituições, iniciou estudos para a sustentabilidade da atividade artesanal do capim dourado (SCHMIDT *et al.*, 2006).

Por isso, o artesanato do capim dourado é uma atividade viável, e o seu fortalecimento pode gerar renda, conservar áreas do Cerrado, evitando que estas sejam convertidas em áreas de plantio de espécies agrícolas, o que geraria perda da biodiversidade e processos erosivos no solo (SCHMIDT, 2005).

Diante da escassez de dados na literatura sobre a constituição química de *S. nitens*, faz-se necessário a investigação dessa espécie, com o objetivo de adquirir maiores informações quimiotaxonômicas. Também, pretende-se fornecer subsídios, para que estas informações, aliadas ao conhecimento tradicional existente, indique formas sustentáveis para a atividade extrativista na região do Jalapão.

## 2. Objetivos

Estudar a composição química de capítulos e escapos de *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland.

Avaliar a atividade mutagênica e a atividade antiulcerogênica de extratos obtidos de *Syngonanthus nitens*.

### 3. Materiais e equipamentos

#### 3.1. Solventes

Solventes PA: acetato de etila, ácido acético, clorofórmio, metanol, *n*-butanol, *n*-propanol (Synthlab<sup>®</sup>).

Solventes grau HPLC: metanol (Baker<sup>®</sup>), acetonitrila (Mallinckrodt<sup>®</sup>), água purificada em sistema Milli Q (Millipore<sup>®</sup>) e ácido trifluoroacético (TFA) (Mallinckrodt<sup>®</sup>).

Solvente deuterado: DMSO-d<sub>6</sub> (Sigma Aldrich<sup>®</sup>).

Reagentes para reveladores e triagem preliminar: anisaldeído (Riedel-deHaën), difenilaminoborato (NP), polietilenoglicol (PEG), ácido sulfúrico concentrado e ácido acético (Quemis).

#### 3.2. Procedimentos cromatográficos

Nas análises por cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) foram utilizadas placas preparadas de sílica gel 60 (Merck<sup>®</sup>) (20 x 20 cm x 0,2 mm).

Para o fracionamento por cromatografia em permeação em gel foram utilizadas colunas de vidro preenchidas com Sephadex LH-20 (57 cm x 3,0 cm d.i.), acopladas a uma bomba peristáltica modelo P1 18-1110-91 (Pharmacia<sup>®</sup>) e a um coletor automático Redifrac (Pharmacia<sup>®</sup>).

#### 3.3. Reveladores para CCDC

Para revelação das placas de CCDC foram utilizados: Luz UV 254-366 nm (Chromatovue); anisaldeído/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (WAGNER *et al.*, 1984) e/ou NP/PEG (específico para flavonoides) (WAGNER *et al.*, 1984).

Para o preparo da solução de anisaldeído/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> foram utilizados 0,85 mL de anisaldeído em 85,0 mL de MeOH, 10,0 mL de ácido acético e 5,0 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado.

A revelação das placas de CCDC foi feita através da pulverização com o revelador anisaldeído/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, seguido de aquecimento á 100° C em estufa da marca Quimis<sup>®</sup>. Foi possível observar manchas roxas para terpenos, avermelhadas para saponinas e catequinas, marrom para taninos e amarelas para flavonoides.

Para preparo da solução de NP/PEG foram utilizados 100,0 mg de difenilaminoborato (NP), 500,0 mg de polietilenoglicol 2000 (PEG) e 20,0 mL de MeOH. Borrifa-se sobre a placa cromatográfica e observa-se no visível e depois sob luz UV.

### 3.4. Equipamentos

Para pesagens foram utilizadas: balança analítica (Marte<sup>®</sup>, AL 200) com capacidade para 200g e precisão de 0,001g para pesagem das frações e balança (Quimis<sup>®</sup>, BG 4000) com capacidade para 4.040g e precisão de 0,01g para pesagem dos extratos.

A concentração do extrato e das amostras foi efetuada em evaporador rotativo (Heidolph<sup>®</sup>, Laborota 4001 – efficient) equipado com bomba à vácuo (Heidolph<sup>®</sup>, Rotavac valve control).

Utilizou-se centrífuga da marca CELM, modelo COMBATE, a 2500 rpm na preparação das amostras para os fracionamentos.

Foi utilizado filtro com membrana de PTFE (politetrafluoretileno, teflon<sup>®</sup>, Millipore<sup>®</sup>) com poro de 0,45 e 0,20 µm para preparo de amostras para análise por HPLC.

As análises dos perfis cromatográficos foram realizadas em HPLC, modo analítico, modelo PU-2089 (Jasco<sup>®</sup>), equipado com um detector de arranjo de foto diodos com faixa de varredura de 195-650 nm e intervalo mínimo de 1 nm, modelo MD-20140 (Jasco<sup>®</sup>), com coluna de fase reversa RP18 imobilizadas com octadecilsilano, modelo Luna 2 (Phenomenex<sup>®</sup>) (250 x 4,6 mm d.i.) com partículas de tamanho médio de 5 µm e softwares *Star Chromatography Workstation* versão 5.31 (Varian<sup>®</sup>) e *EZChrom Elite Client/Server* versão 3.1.7 (Chromatec<sup>®</sup>) para o processamento dos dados cromatográficos;

As análises no modo semipreparativo foram realizadas nos seguintes equipamentos:

- Cromatógrafo Líquido de Média Pressão Büchi Pump Manager C-615 (MPLC – Medium Pressure Liquid Chromatography).

- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (semi-preparativo) modelo ProStar 210/330 (Varian®) acoplado a um detector de arranjo de foto diodos, com coluna de fase reversa RP18 imobilizadas com octadecilsilano, modelo Luna 2 (Phenomenex®) (250 x 10,0 mm d.i.) com partículas de tamanho médio de 10 µm (HPLC - High Pressure Liquid Chromatography).

- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (semi-preparativo) (Knauer®), acoplado a um detector de índice de refração, Smartline RI Detector 2300/2400 (Knauer®) com coluna de fase reversa C18 (Phenomenex®) (250 x 10 mm d.i.) com partícula de tamanho médio de 10 µm (HPLC - High Pressure Liquid Chromatography).

A técnica de Cromatografia em Contracorrente de Alta Velocidade ("HSCCC: High Speed Counter-Current Chromatography") foi realizada utilizando o instrumento P.C. Inc., Potomac (Buffalo, NY, USA), equipado com uma coluna helicoidal multicamada com duas bobinas de politetrafluoroetileno de 1,68 mm i.d. de aproximadamente 80,0 mL e 240,0 mL conectadas em série com uma capacidade total de 320,0 mL. A velocidade foi ajustada para 850 rpm. O fluxo foi controlado utilizando uma bomba Waters 4000 de fluxo constante (Milford, MA-USA). A amostra foi injetada através de um módulo de injeção P.C. Inc. (Buffalo, NY, USA) com loop de 20,0 mL.

Os dados espectroscópicos e espectrométricos para determinação estrutural das substâncias foram obtidos dos equipamentos:

- Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear de 11,7 T (Varian® INOVA), operando a 500 MHz para  $^1\text{H}$  e a 125 MHz para  $^{13}\text{C}$ . O TMS foi usado como padrão interno para determinação dos deslocamentos químicos;

- Espectrofotômetro de Ultravioleta/Visível (Hach®), modelo DR/4000 U;

- Espectrômetro de massas acoplado a um trapeador de íons, Ion-Trap (IT), LCQ Deca (ESI-IT-MS/MS, Thermo Finnigan). Os espectros foram obtidos pela técnica de análise por injeção em fluxo (FIA). Modo negativo para os espectros de primeira ordem (MS), bem como para os demais experimentos em múltiplos estágios (MS<sup>n</sup>). Condições: voltagem do capilar – 4 V, voltagem do spray –5 kV, temperatura do capilar 280 °C, gás de arraste (N<sub>2</sub>) fluxo 60 (unidades arbitárias). A faixa de aquisição foi  $m/z$  50-2000, com dois ou mais eventos de varredura realizados simultaneamente no espectrômetro de massas LCQ. O primeiro evento foi uma varredura completa *full-scan* dos espectros de massas para adquirir os dados dos íons na faixa  $m/z$  estabelecida. Os demais eventos foram experimentos MS<sup>n</sup> realizados a partir dos dados da primeira varredura para íons precursores pré-selecionados com energia de colisão entre 25 e 30 % da energia total do instrumento.

As análises de FIA-ESI-IT-MS/MS foram realizadas junto aos grupos do Prof. Dr. Cosimo Pizza e Sonia Piacente da Università degli Studi di Salerno e da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Virginia Carbone do Istituto di Scienze dell Centro di Spettrometria di Massa Proteomica e Biomolecolare – Itália

## **4. Desenvolvimento, resultados e discussão**

### **4.1. Coleta e identificação do material vegetal**

A primeira coleta de *S. nitens* foi realizada em janeiro de 2008 pelo Prof. Paulo Takeo Sano na região de Diamantina em Minas Gerais. Uma exsicata de número Sano 3895B foi depositada no IB-USP São Paulo.

A segunda coleta da espécie *S. nitens* foi realizada na Serra do Jalapão no estado do Tocantins por Crysthiano Borges Pereira em dezembro de 2008 e a identificação foi feita pelo Prof. Paulo Takeo Sano (USP/SP). Uma exsicata de número SPF 189975 foi depositada no IB-USP São Paulo.

### **4.2. Preparação dos extratos**

O material vegetal da primeira coleta foi seco em estufa a 40 °C durante 48 horas. Depois, capítulos foram separados de escapos e foram feitas extrações do pó de capítulos (9,5 g) e escapos (42,9 g), separadamente. Foi feita maceração com hexano, e em seguida com diclorometano (3 vezes, por 72 horas cada); e percolação com metanol (7 dias). Após cada extração, o extrato obtido (Tabela 1) foi filtrado em papel filtro, concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida (em temperatura inferior a 40 °C).

O material vegetal da segunda coleta foi seco em estufa a 40 °C durante 48 horas. Depois, capítulos foram separados de escapos e foram triturados, separadamente, em moinho de facas, resultando um pó. O pó foi submetido à extração por maceração, com hexano, 2 vezes, por 72 horas cada. O mesmo procedimento foi realizado com diclorometano e em seguida, foi realizada extração por percolação com metanol. Foram utilizados 416,0 g de pó de capítulos e 410,0 g de pó de escapos. Após cada extração, o extrato obtido (Tabela 1) foi filtrado em papel filtro, concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida (em temperatura inferior a 40°C).

**Tabela 1.** Rendimentos das extrações de capítulos e escapos de *Syngonanthus nitens*

| Extrato         | Primeira coleta |               | Segunda coleta |               |
|-----------------|-----------------|---------------|----------------|---------------|
|                 | Capítulos       | Escapos       | Capítulos      | Escapos       |
|                 | Massa (g) [%]   | Massa (g) [%] | Massa (g) [%]  | Massa (g) [%] |
| Hexânico        | 0,01 (0,13)     | 0,27 (0,63)   | 1,96 (0,47)    | 2,65 (0,65)   |
| Diclorometânico | 0,06 (0,62)     | 0,19 (0,45)   | 2,25 (0,54)    | 2,24 (0,54)   |
| Metanólico      | 0,20 (2,08)     | 1,22 (2,84)   | 11,80 (2,83)   | 16,00 (3,90)  |

### 4.3. Caracterização química dos extratos metanólicos

Para a caracterização química, os extratos metanólicos de capítulos e escapos foram, separadamente, purificados por extração em fase sólida em cartucho de sílica C18 (SPE-RP18). Cada extrato (10,0 mg) foi solubilizado em metanol e aplicado no cartucho. As amostras foram secas, ressuspensas em solução MeOH/H<sub>2</sub>O, 5:95 v/v, filtradas em filtro de 0,45 µm e o filtrado foi submetido a análise por HPLC analítico.

A análise de alguns espectros de absorção na região do UV (Figuras 8 e 9) obtidos indicou a presença de flavonoides, derivados de flavonas. No espectro UV de um flavonoide observa-se dois máximos de absorção: a banda II, que se encontra em um intervalo de comprimento de onda de 240 a 285 nm e a banda I entre 300 a 550 nm. A natureza do flavonoide e seu padrão de oxigenação podem ser definidos pela posição e intensidades relativas dos máximos de absorção. Quando existem modificações no anel A, a banda II é alterada e quando há modificações nos anéis B e C, a banda I é que sofre alteração. As bandas características de flavonas estão situadas entre 250 a 280 nm (banda II) e 310 a 350 nm (banda I) (MABRY *et al.*, 1970).

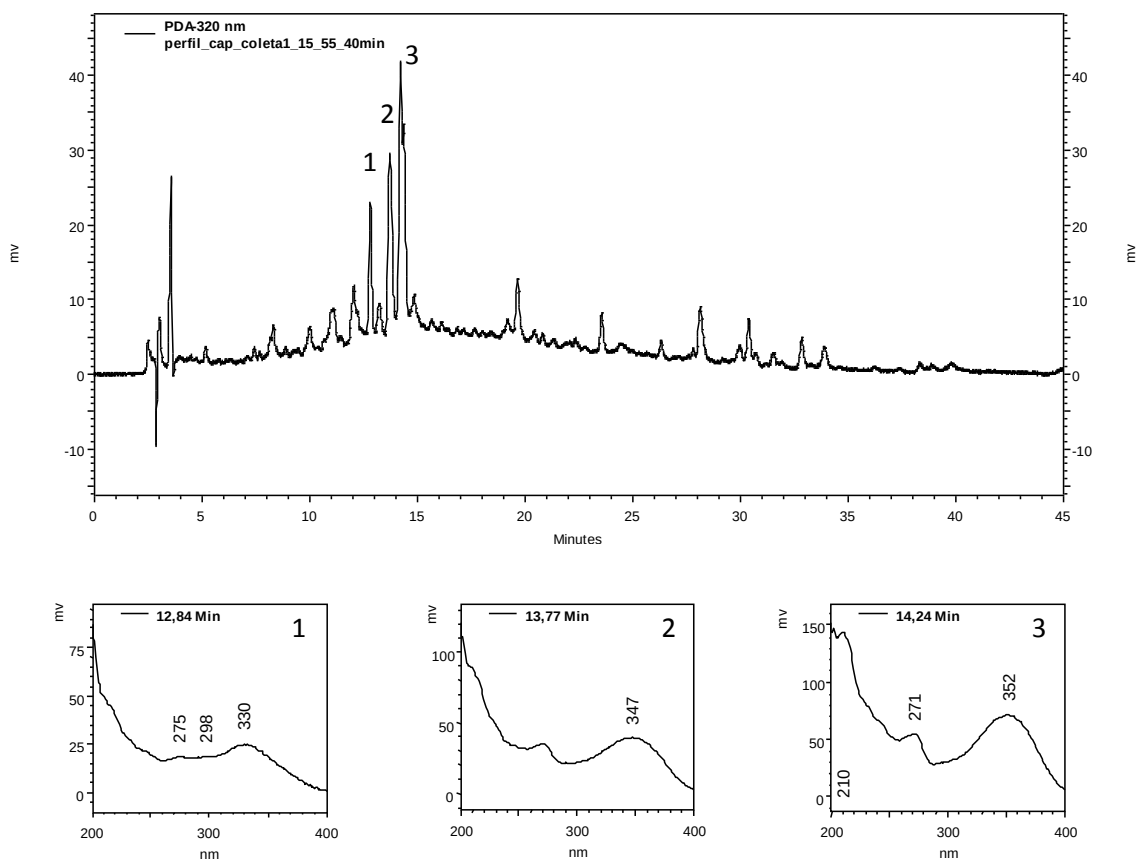


**Figura 8.** Cromatograma representando o perfil do extrato metanólico dos capítulos da primeira coleta de *Syngonanthus nitens* (RP-18, 250 x 4,60 mm d.i. x 5  $\mu$ m; Solvente A: H<sub>2</sub>O + 0,05% TFA; Solvente B: ACN + 0,05% TFA. Gradiente de 15-55% de B em A em 40 min; fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup>,  $\lambda$  = 320 nm) e espectros de absorção na região do UV dos picos destacados.

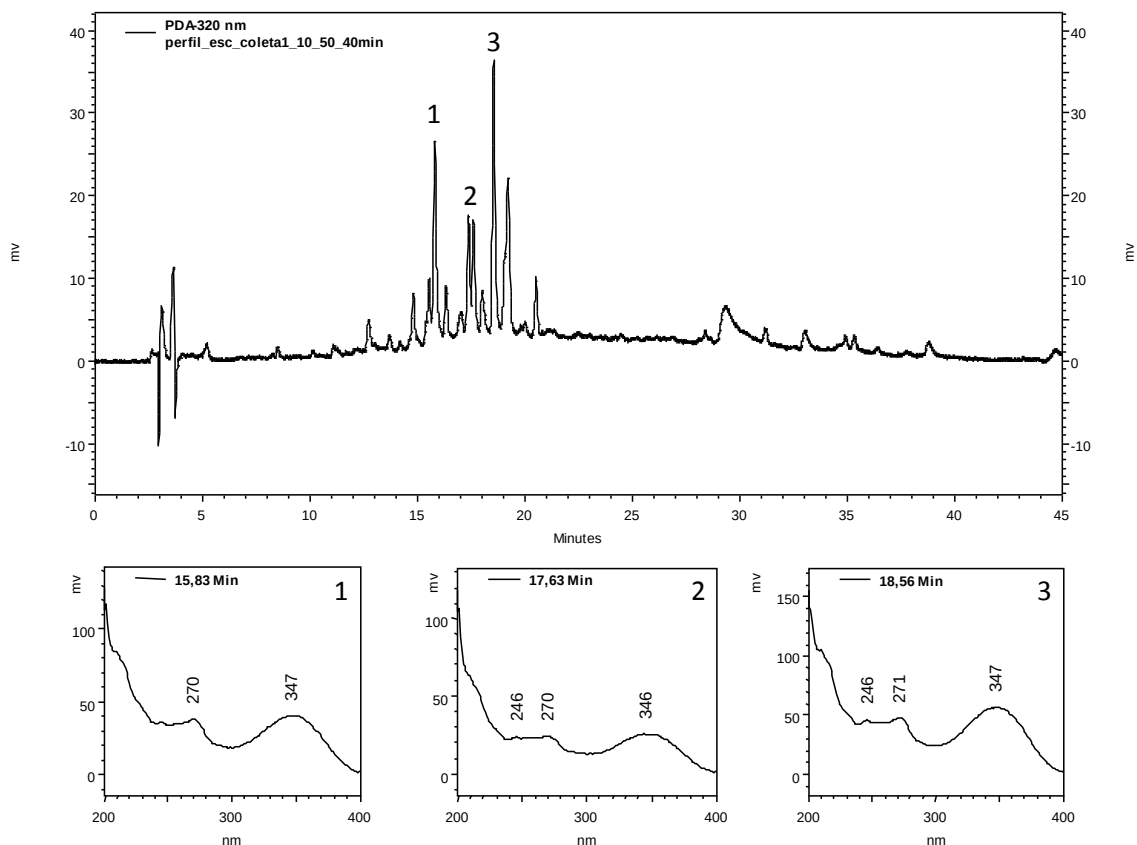


**Figura 9.** Cromatograma representando o perfil do extrato metanólico dos escapos da primeira coleta de *Syngonanthus nitens* (RP-18, 250 x 4,60 mm d.i. x 5  $\mu$ m; Solvente A: H<sub>2</sub>O + 0,05% TFA; Solvente B: ACN + 0,05% TFA. Gradiente de 10-50% de B em A em 40 min; fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup>,  $\lambda$  = 320 nm) e espectros de absorção na região do UV dos picos destacados.

Conclui-se que extratos de capítulos e escapos da primeira coleta possuem características químicas diferentes. Ambos contem a mesma classe de substâncias em sua composição, porém, com constituintes distintos em concentrações diferentes.

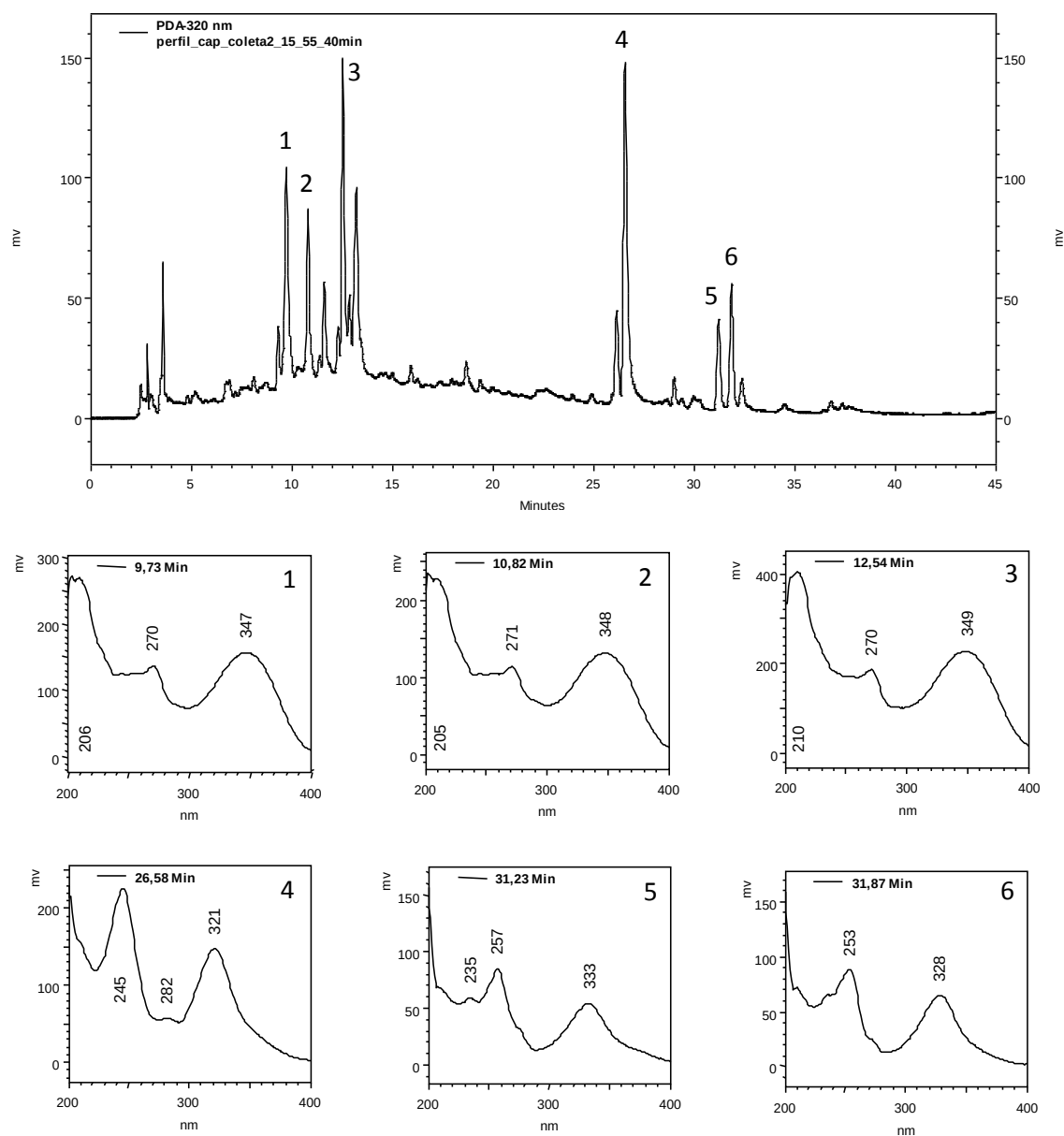


**Figura 10.** Cromatograma representando o perfil do extrato metanólico dos capítulos da segunda coleta de *Syngonanthus nitens* (RP-18, 250 x 4,60 mm d.i. x 5  $\mu$ m; Solvente A: H<sub>2</sub>O + 0,05% TFA; Solvente B: ACN + 0,05% TFA. Gradiente de 15-55% de B em A em 40 min; fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup>,  $\lambda$  = 320 nm) e espectros de absorção na região do UV dos picos destacados.

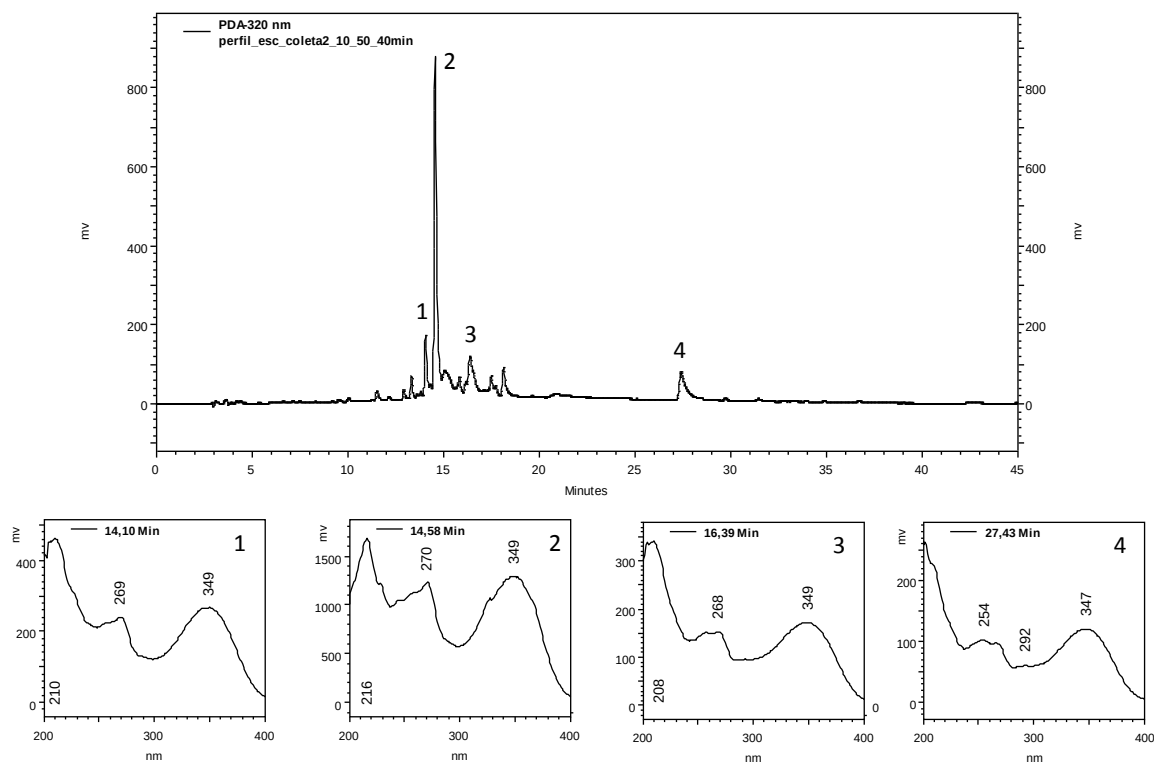


**Figura 11.** Cromatograma representando o perfil do extrato metanólico dos escapos da segunda coleta de *Syngonanthus nitens* (RP-18, 250 x 4,60 mm d.i. x 5  $\mu$ m; Solvente A: H<sub>2</sub>O + 0,05% TFA; Solvente B: ACN + 0,05% TFA. Gradiente de 10-50% de B em A em 40 min; fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup>,  $\lambda$  = 320 nm) e espectros de absorção na região do UV dos picos destacados.

A análise representativa de alguns espectros de absorção na região do UV para extratos da segunda coleta (Figuras 10 e 11) indicou a presença de flavonoides, derivados de flavonas. Nesse caso, as composições químicas de capítulos e escapos também foram diferentes. A análise dos cromatogramas mostrou que, capítulos e escapos possuem composição química diferente observada na região com  $t_r$  = 20-35 min. e semelhante na região entre  $t_r$  = 10-15 min., com espectros no UV característicos de flavonas (MABRY *et al.*, 1970).

A análise qualitativa dos cromatogramas (Figuras 7, 8, 9 e 10) mostrou que a amostra da primeira coleta, realizada no Estado de Minas Gerais, possui composição química diferente da amostra da segunda coleta, realizada no Estado do Tocantins.

No cromatograma de extrato de capítulos da segunda coleta observou-se um maior número de picos (picos 4, 5 e 6) e em alguns espectros de absorção na região do UV foram detectadas bandas de absorção que não estão presentes no cromatograma do extrato de capítulos da primeira (245, 282 e 321 nm) coleta, indicando a presença de uma outra classe de substâncias. O perfil desses espectros quando comparados com a literatura são característicos de xantonas (MEYER *et al.*, 2008).

#### **4.4. Fracionamento do extrato metanólico da primeira coleta de escapos de *Syngonanthus nitens***

Foi realizado o fracionamento do extrato metanólico de escapos em coluna de Sephadex LH-20 (57,0 cm x 3,0 cm d.i.). Para tal, 0,7 g de extrato foi dissolvido em 15,0 mL de metanol e centrifugada duas vezes, por 8 minutos cada á 2500 rpm, o sobrenadante foi aplicado na coluna e a eluição foi feita com metanol. As frações resultantes foram analisadas por CCDC em placas de sílica gel, eluídas com CHCl<sub>3</sub>/MeOH/n-prOH/H<sub>2</sub>O (5:6:1:4, v/v) e reveladas com solução de anisaldeído/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Foi isolada a substância **Sn1** (7,0 mg) da fração 351-360. Após análises espectroscópicas e espectrométricas, verificou-se que **Sn1** e **Sn10** são a mesma substância.

#### **4.5. Fracionamento do extrato metanólico dos capítulos da segunda coleta de *Syngonanthus nitens***

O extrato metanólico dos capítulos foi dividido em duas amostras e fracionado em coluna de Sephadex LH-20 (57,0 cm x 3,0 cm d.i.), a fim de se obter maior quantidade de material para posterior purificação. Foram utilizados 3,0 g de extrato em cada coluna. A amostra foi solubilizada em 20,0 mL de metanol e centrifugados à 2500 rpm, por duas vezes, 8 minutos cada. O sobrenadante foi aplicado na coluna e eluído com metanol. No primeiro experimento foram coletadas 192 frações, e no segundo, 191 frações de 3,0 mL. As frações foram analisadas por CCDC, em placas de sílica gel, eluídas com CHCl<sub>3</sub>/MeOH/n-prOH/H<sub>2</sub>O (5:6:1:4, v/v) e reveladas com solução de anisaldeído/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

As frações 120-134 coletadas da primeira coluna e 118-139 obtidas da segunda coluna foram reunidas em um único grupo, após análise por CCDC, que foi denominado fração 10 (129,0 mg).

A fração 10 foi purificada por HPLC-DAD, no modo semi preparativo. A fração 10 foi solubilizada em 1,0 mL de MeOH/H<sub>2</sub>O 2:8 v/v, filtrada em Millex de 0,45 µm, obtendo-se uma solução de 100,0 mg mL<sup>-1</sup>. A fase móvel empregada foi: A = H<sub>2</sub>O + TFA 0,05 % e B = MeOH + TFA 0,1 %, em fluxo de 2,5 mL min<sup>-1</sup>. A rampa de eluição usada foi: 0-20 min, 30-70 % B; 20-40 min, 70-90 % B; 40-45 min, 90-100 % B.

Foram realizadas 14 injeções de 100,0 µL cada, coletando-se 31 frações. Foram isoladas substâncias **Sn2** (18,0 mg), **Sn3** (5,0 mg), **Sn4** (10,0 mg) e **Sn5** (5,0 mg), que apresentaram-se aparentemente puras na análise por CCDC e foram analisadas por RMN, UV e espectrometria de massas.

#### **4.6. Fracionamento do extrato metanólico dos escapos da segunda coleta de *Syngonanthus nitens***

O extrato metanólico dos escapos foi fracionado em coluna de Sephadex LH-20 (57,0 cm x 3,0 cm d.i.), eluída com metanol. Foram feitos três fracionamentos, utilizando em cada um deles 3,5 g de extrato previamente solubilizados em 20,0 mL de metanol e centrifugados à 2500 rpm, por duas vezes, 8 minutos cada. O sobrenadante foi aplicado na coluna. No primeiro fracionamento foram coletadas 326 frações, no segundo, 253 frações e no terceiro, 280 frações de 3,0 mL. As frações foram analisadas por CCDC, em placas de sílica gel, eluídas com CHCl<sub>3</sub>/MeOH/n-prOH/H<sub>2</sub>O (5:6:1:4, v/v) e reveladas com solução de anisaldeído/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

A fração 56-61 (270,0 mg) obtida da segunda cromatografia em coluna de Sephadex-LH 20, foi fracionada por MPLC (C18, 15 cm x 1,5 cm, eluição com gradiente H<sub>2</sub>O/MeOH). A amostra foi dissolvida em 3,0 mL de uma solução H<sub>2</sub>O/MeOH (95:5), centrifugada por 6 minutos e filtrada em filtro Millex de 0,45 µm. As frações resultantes foram analisadas por CCDC em placas de sílica gel, eluídas com CHCl<sub>3</sub>/MeOH/n-prOH/H<sub>2</sub>O (5:6:1:4, v/v) e reveladas com solução de anisaldeído/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Foram detectadas diversas manchas com diferentes R<sub>f</sub>s nas placas de sílica gel.

Portanto, conclui-se que não houve separação eficiente dos constituintes presentes na fração.

A fração 69-88 (474,0 mg) obtida da primeira cromatografia em coluna de Sephadex-LH 20 foi fracionada por cromatografia em contracorrente de alta velocidade (HSCCC – High Speed Counter Current Chromatography). Foram testadas várias proporções da mistura de acetato de etila:*n*-butanol:H<sub>2</sub>O, obtendo-se resultados satisfatórios com a mistura de acetato de etila:*n*-butanol:H<sub>2</sub>O (3,5:1,5:5,0 v/v). Esta fase mostrou  $K_D$  próximo de 1. Em seguida, os solventes foram misturados em funil de separação e deixados em repouso por doze horas, para saturação prévia dos mesmos.

A fase inferior do sistema de solventes foi usada como fase estacionária e a superior como fase móvel. O sentido do bombeamento das fases foi cauda → cabeça da coluna, com vazão de 1,0 mL min<sup>-1</sup> e rotação de 870 rpm.

O volume de fase estacionária eluída foi de 55,0 mL. A fração foi solubilizada em 16,0 mL de uma mistura de 1:1 de fase inferior e fase superior do sistema de solvente. A amostra foi centrifugada e o sobrenadante foi injetado no *loop* do aparelho com auxílio de uma seringa. Foram coletadas 84 frações de 3,0 mL cada.

As frações foram analisadas por CCDC, em placas de sílica gel, eluídas com CHCl<sub>3</sub>/MeOH/*n*-prOH/H<sub>2</sub>O (5:6:1:4, v/v) e reveladas com solução de anisaldeído/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. As frações 16-19 e 68-72 apresentaram coloração amarelada, característica de flavonoides, quando reveladas com uma solução de anisaldeído/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Foram isoladas as substâncias **Sn6** (8,0 mg) e **Sn7** (7,0 mg), que foram analisadas por UV, RMN e espectrometria de massas.

As frações 60-68 (primeira cromatografia em coluna de Sephadex) e 56-59 (segundo processo cromatográfico) foram unidas por apresentarem manchas semelhantes, após análise por CCDC. Essa fração foi purificada, também, por HPLC-RI no modo semipreparativo. A amostra (100,0 mg) foi solubilizada em 1,0 mL de uma solução MeOH/H<sub>2</sub>O 45:55 v/v e filtrada em Millex de 0,45 µm. (RP18; 2,5 mL min<sup>-1</sup>).

Foram realizadas 15 injeções de 80,0  $\mu\text{L}$  cada, e 13 frações foram coletadas. Foi isolada a substância **Sn8** (5,0 mg), que foi analisada por UV, RMN e espectrometria de massas

A fração 131-253 (240,0 mg) obtida da segunda coluna de Sephadex LH-20 foi fracionada por HPLC-RI no modo semipreparativo. A amostra foi solubilizada em 2,5 mL de MeOH/H<sub>2</sub>O 75:25 v/v, filtrada em Millex de 0,45  $\mu\text{m}$ , obtendo-se uma solução de 100,0 mg mL<sup>-1</sup> (RP18; 2,0 mL min<sup>-1</sup>). Foram realizadas 18 injeções de 80,0  $\mu\text{L}$  cada, coletando-se 12 frações, resultando no isolamento das substâncias **Sn9** (10,0 mg) e **Sn10** (11,0 mg), que foram analisadas por UV, RMN e espectrometria de massas.

## 4.7. Elucidação estrutural

### 4.7.1. Elucidação estrutural de Sn1 e Sn10

Os espectros de UV, MS e RMN das substâncias **Sn1** e **Sn10** foram idênticos. Portanto, a discussão desses dados será feita com a denominação de **Sn10**.

No espectro de massas de **Sn10** (Figura 12) foi observado o pico correspondente ao íon da molécula desprotonada  $[M - H]^-$ . Através da análise do espectro de segunda ordem (Figura 13), foram observados fragmentos em  $m/z$  285 e fragmentos em  $m/z$  241  $[M - 44 - H]^-$ , em  $m/z$  151  $[M - 134 - H]^-$  e em  $m/z$  133 referente à  $[M - 152 - H]^-$ .

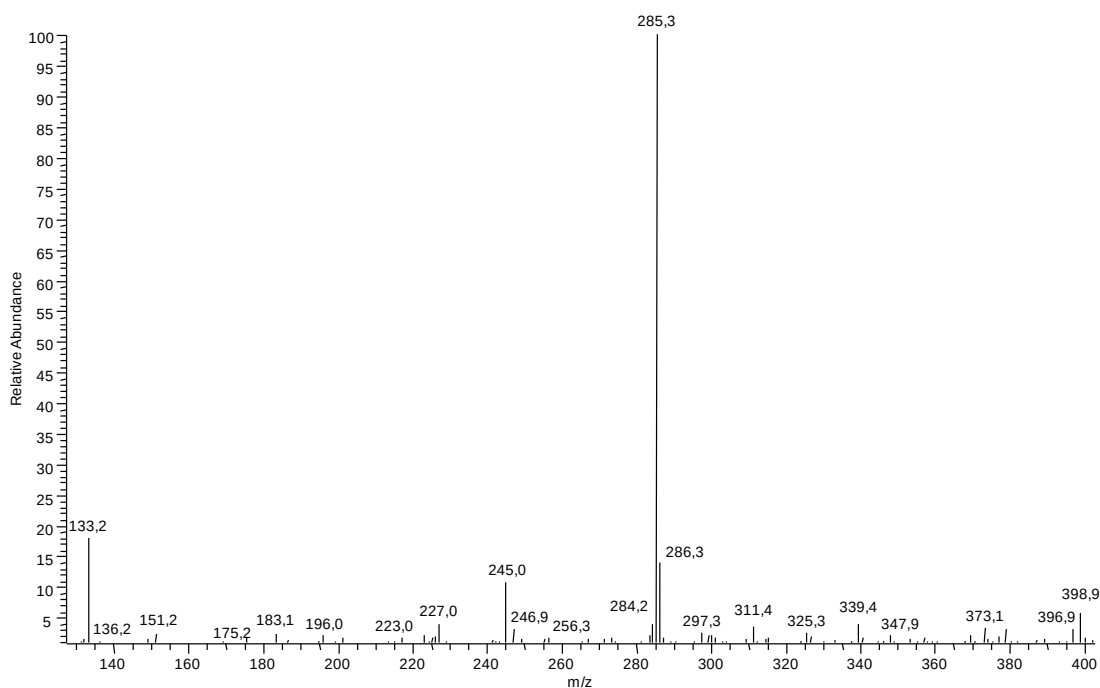


Figura 12. Espectro de massas de primeira ordem (modo *full-scan*) de **Sn10**, analisado em modo negativo.

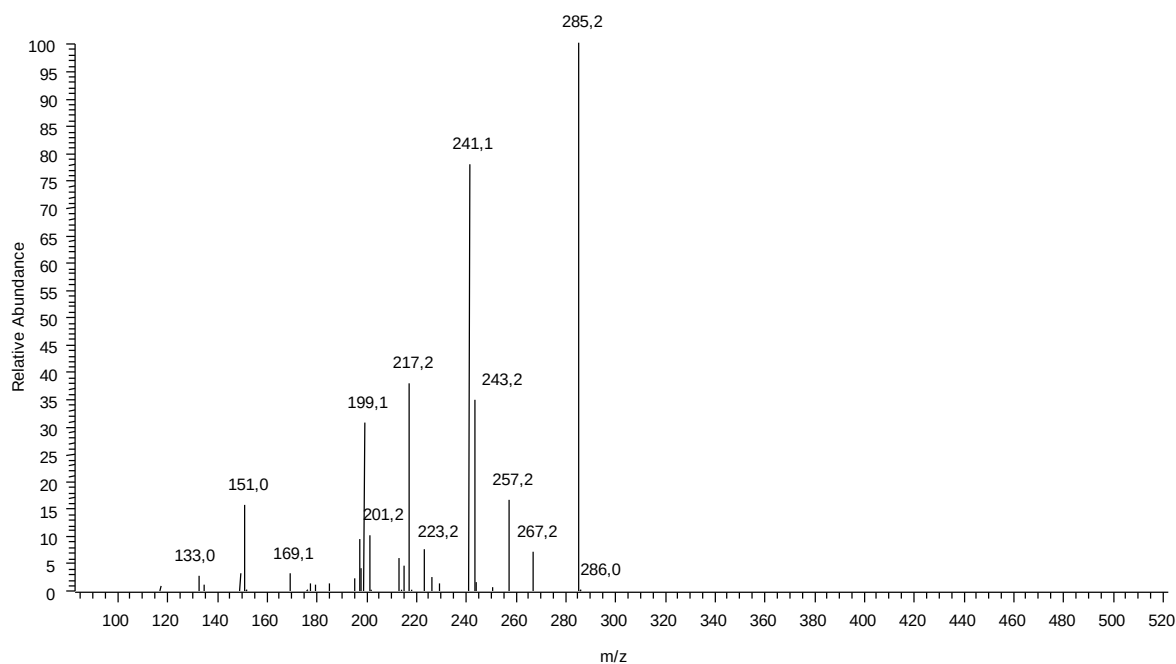


Figura 13. Espectro de massas de segunda ordem (modo *full-scan*) de **Sn10**, analisado em modo negativo.

No espectro de absorção de **Sn10** na região do UV (Figura 14) foram observadas bandas em 254, 268 e 348 nm, características de flavonas (MABRY *et al.*, 1970). Esses dados foram coerentes com os valores encontrados na literatura para a luteolina (RINALDO, 2007).

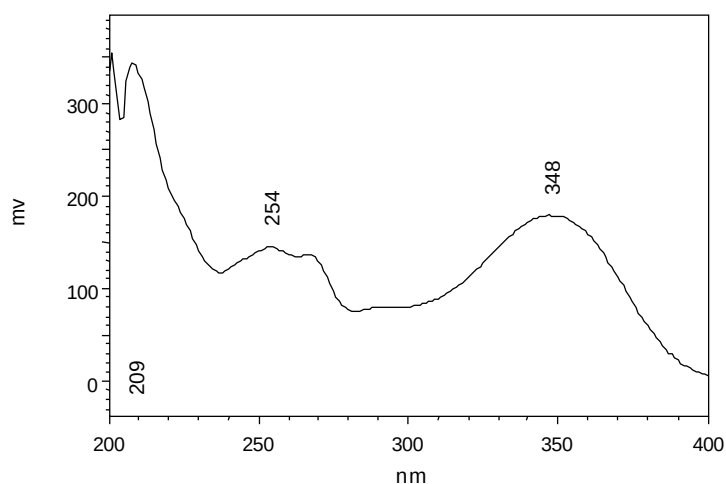


Figura 14. Espectro de **Sn10** obtido por espectroscopia na região do UV.

O perfil do espectro de RMN de **Sn10** (Figura 47) foi similar ao de **Sn1**. Foram observados sinais na região de aromáticos, correspondentes aos encontrados em espectros de flavonóides. Em função disso, **Sn1** e **Sn10** foram estudados juntos.

Foram visualizados dois dubletos, um em  $\delta$  6,88 de  $J = 8,0$  Hz ( $H5'$ ), e outro em  $\delta$  7,38 com  $J = 2,0$  Hz ( $H2'$ ) e um duplo dubleto em  $\delta$  7,40 de  $J = 2,5$  e  $8,5$  Hz ( $H6'$ ). Apresentou, também, dois dubletos em  $\delta$  6,18 ( $H6$ ) e  $\delta$  6,44 ( $H8$ ), ambos com  $J = 2,0$  Hz, o que evidencia dois hidrogênios com acoplamento em *meta* e um singleto em  $\delta$  6,65, correspondente ao  $H3$  de uma flavona (Tabela 2).

Os dados fornecidos pelos espectros *g*HMQC e *g*HMBC (Figuras 50 e 51) possibilitaram a atribuição dos hidrogênios e carbonos de **Sn10** (Tabela 2). Através da análise do espectro *g*HMQC foi possível atribuir os sinais de hidrogênios em  $\delta$  6,65 ( $H3$ ),  $\delta$  6,18 ( $H6$ ),  $\delta$  6,44 ( $H8$ ),  $\delta$  7,38 ( $H2'$ ),  $\delta$  6,88 ( $H5'$ ) e em  $\delta$  7,40 ( $H6'$ ) com os sinais de carbono em  $\delta$  102,6,  $\delta$  98,6,  $\delta$  93,8,  $\delta$  112,9,  $\delta$  113,7 e  $\delta$  118,7, respectivamente.

No espectro *g*COSY (Figura 49) observou-se a correlação entre os sinais em  $\delta$  6,88 e  $\delta$  7,40, correspondentes aos hidrogênios  $5'$  e  $6'$ , confirmando o acoplamento em *orto*. No espectro *g*HMBC, foram observadas correlações entre o sinal em  $\delta$  6,18 ( $H6$ ) com os sinais de carbono em  $\delta$  93,8 ( $C8$ ),  $\delta$  103,6 ( $C10$ ),  $\delta$  161,5 ( $C5$ ) e do sinal em  $\delta$  6,44 ( $H8$ ) com os sinais de carbono em  $\delta$  98,6 ( $C6$ ),  $\delta$  103,6 ( $H10$ ) e  $\delta$  155,2 ( $C9$ ).

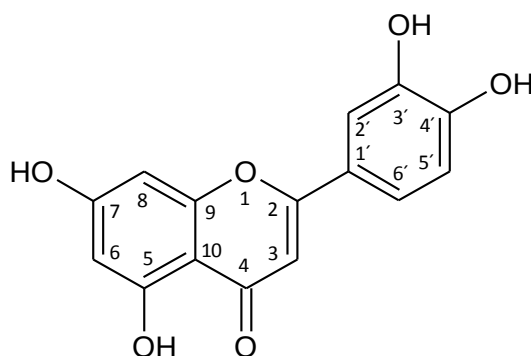
Os dados encontrados foram comparados com a literatura, tornando possível a identificação de **Sn10** como sendo a luteolina (Figura 15).

**Tabela 2.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de **Sn10** (11,7 T, DMSO- $d_6$ )

| Posição | <b>Sn10</b>                |                      | <b>SILVA, 2008*</b> |                 |
|---------|----------------------------|----------------------|---------------------|-----------------|
|         | $^1\text{H}$ (ppm), J (Hz) | $^{13}\text{C}^{**}$ | $^1\text{H}$ (ppm)  | $^{13}\text{C}$ |
| 2       |                            | 164,0                |                     | 163,8           |
| 3       | 6,65 s                     | 102,6                | 6,65 s              | 102,8           |
| 4       |                            | 181,4                |                     | 181,5           |
| 5       |                            | 161,5                |                     | 161,4           |
| 6       | 6,18 d (2,0)               | 98,6                 | 6,19 d (2,5)        | 98,8            |
| 7       |                            | 164,0                |                     | 164,1           |
| 8       | 6,44 d (2,0)               | 93,8                 | 6,44 d (2,5)        | 93,7            |
| 9       |                            | 155,2                |                     | 157,2           |
| 10      |                            | 103,6                |                     | 103,6           |
| 1'      |                            | 121,3                |                     | 121,4           |
| 2'      | 7,38 d (2,0)               | 112,9                | 7,39 d (2,0)        | 113,3           |
| 3'      |                            | 146,0                |                     | 145,7           |
| 4'      |                            | 149,7                |                     | 149,6           |
| 5'      | 6,88 d (8,0)               | 113,7                | 6,88 d (8,5)        | 115,9           |
| 6'      | 7,40 dd (2,5; 8,0)         | 118,7                | 7,40 dd (2,0; 8,5)  | 118,9           |

\* DMSO- $d_6$ , 11,7 T.

\*\*Dados obtidos a partir das correlações observadas nos espectros gHMQC e gHMBC.

Figura 15. Estrutura química de **Sn1** e **Sn10**.

#### 4.7.2. Elucidação estrutural de **Sn2**

O espectro de massas da mistura de metabólitos presentes nesta fração (Figura 16) mostrou padrão de fragmentação semelhante aos encontrados para algumas xantonas, relatado na literatura (PINHEIRO *et al.*, 1998). A análise do espectro de massas foi realizada considerando-se a intensidade de picos, portanto, as substâncias foram denominadas **Sn2-A** e **Sn2-B**.

A substância **Sn2-A** apresentou íon da molécula desprotonada  $[\text{M} - \text{H}]^-$  em  $m/z$  273, o que sugere fórmula molecular  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_6$  (Figura 16). Apresentou fragmentos em  $m/z$  258 referente a  $[\text{M} - 15 - \text{H}]^-$  (perda de uma metila) e em  $m/z$  245 referente a  $[\text{M} - 28 - \text{H}]^-$  (perda de CO).

No espectro de massas da substância **Sn2-B** (Figura 16) foi verificado o íon da molécula desprotonada  $[M - H]^-$  em  $m/z$  303, o que sugere fórmula molecular  $C_{15}H_{12}O_7$ . A fragmentação de xantonas metoxiladas é caracterizada pela presença dos fragmentos em  $m/z$  288 referente a  $[M - 15 - H]^-$  (perda de metila); em  $m/z$  274 referente a  $[M - 29 - H]^-$  (perda de COH) e em  $m/z$  259  $[M - 15 - COH - H]^-$  evidencia-se a perda de uma metila e a perda de COH.

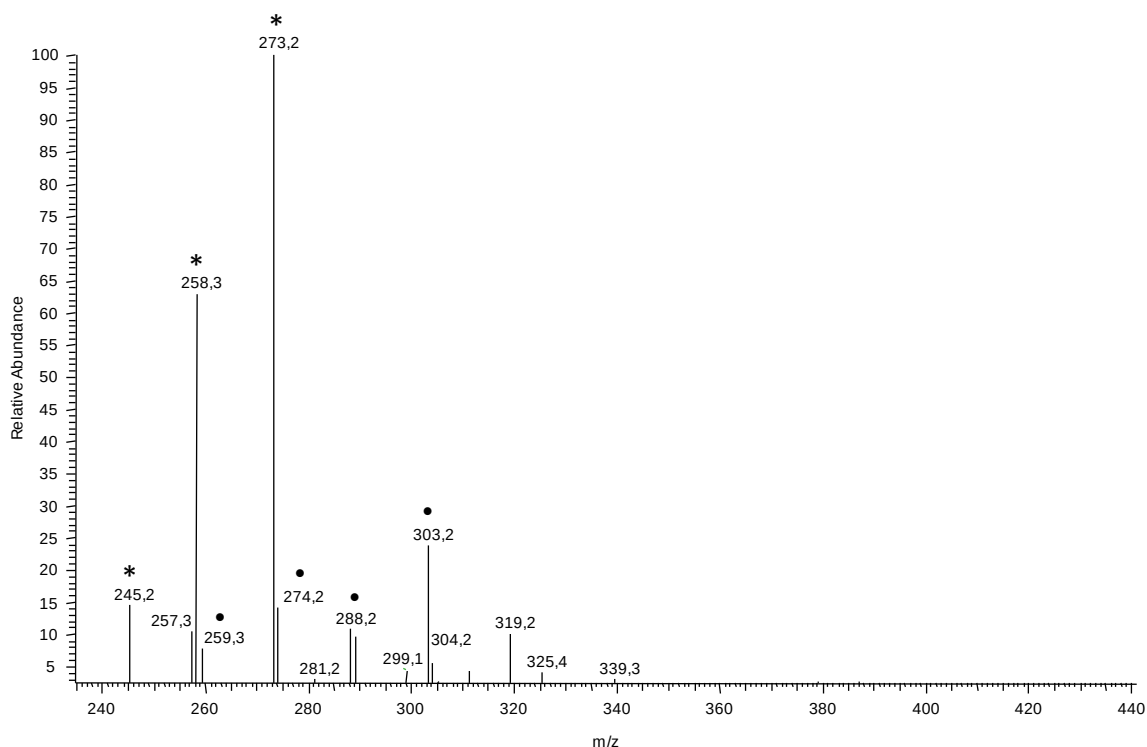


Figura 16. Espectro de massas de primeira ordem (*full-scan*) de **Sn2-A** (\*) e **Sn2-B** (•), analisado em modo negativo.

O espectro de absorção na região do UV (Figura 17) apresentou máximos de absorção em 213, 245 e 321 nm. Esses dados são similares quando comparados com valores encontrados na literatura para xantonas (ASTHANA *et al.*, 1991).

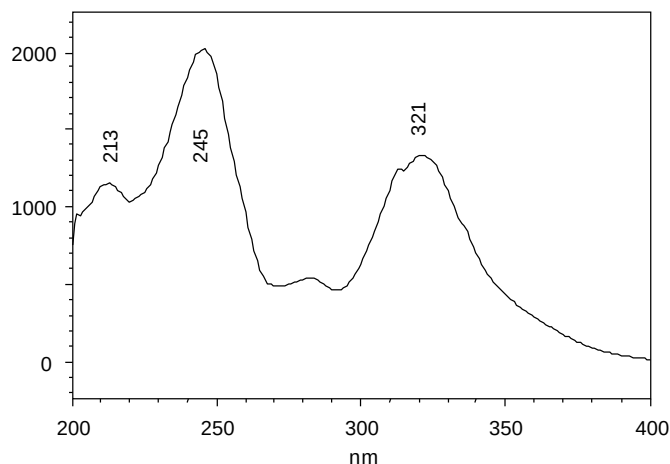


Figura 17. Espectro de **Sn2** obtido por espectroscopia na região do UV.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **Sn2-A** foram observados sinais de hidrogênios na região aromática (Tabela 3) (Figura 52 e 53). Observou-se um dubleto ( $J = 2,5$  Hz) em  $\delta$  6,80 (H5), um duplo dubleto ( $J = 2,5$  e 9,0 Hz) em  $\delta$  6,88 (H7) e um dubleto ( $J = 9,0$  Hz) em  $\delta$  7,96 (H8). Apresentou, também, um singleto em  $\delta$  6,44 (H4) e outro em  $\delta$  3,73, este último característico da presença de uma metoxila.

No espectro *g*COSY (Figura 54), observou-se correlação entre  $\delta$  6,88 (H7) e  $\delta$  7,96 (H8), e entre  $\delta$  6,80 (H5) e  $\delta$  6,88 (H7), confirmando que esses hidrogênios acoplam entre si. No espectro *g*COSY não foi observada nenhuma correlação com o sinal em  $\delta$  6,44. Dessa forma pode-se propor a estrutura de uma xantona pentassubstituída no anel A e trissubstituída no anel B.

Através dos dados dos espectros *g*HMQC e *g*HMBC foi possível efetuar atribuições dos hidrogênios e carbonos de **Sn2-A** (Tabela 3). No espectro *g*HMQC (Figura 55) observou-se a correlação de  $\delta$  6,44 (H4) com o carbono em  $\delta$  94,0, de  $\delta$  6,80 (H5) com  $\delta$  101,9; de  $\delta$  6,88 (H7) com  $\delta$  114,0 e de  $\delta$  7,96 (H8) com  $\delta$  127,1.

Através do espectro *g*HMBC (Figura 56, 57, 58 e 59), o sinal em  $\delta$  3,73 foi atribuído à metoxila na posição 2, devido à sua correlação com o carbono em  $\delta$  130,6 (C2).

Foi possível, também efetuar a atribuição da hidroxila no anel B na posição 6 e o hidrogênio em  $\delta$  7,96 na posição 8, em função da sua correlação com os carbonos em  $\delta$  157,5 (C6),  $\delta$  164,2 (C4b) e com a carbonila em  $\delta$  179,5 (C9).

Na substância isolada por Pinheiro *et al* (1998), 1,3,7-triidroxi-2-metoxixantona, o grupo hidroxila está localizado na posição 7 e observou-se diferentes deslocamentos químicos dos carbonos 5, 6, 7 e 8 (Tabela 3), quando comparados aos da molécula **Sn2-A**.

Foram observados, também, no espectro gHMBC, a correlação entre  $\delta$  6,44 (H4) e  $\delta$  101,9 (C8b),  $\delta$  130,6 (C2),  $\delta$  152,4 (C4a),  $\delta$  158,2 (C3),  $\delta$  179,5 (C9); entre  $\delta$  6,80 (H5) e  $\delta$  112,0 (C8a),  $\delta$  114,0 (C7),  $\delta$  157,5 (C6),  $\delta$  164,2 (C4b) e entre  $\delta$  6,88 (H7) e  $\delta$  101,9 (C5),  $\delta$  112,0 (8a).

Esses dados permitiram a identificação da substância como sendo a 1,3,6-triidroxi-2-metoxixantona (Figura 18).

**Tabela 3.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de **Sn2-A** (11,7 T, DMSO- $d_6$ )

| Posição            | <b>Sn2-A</b>               |                      | <b>PINHEIRO <i>et al.</i>, 1998*</b> |                 |
|--------------------|----------------------------|----------------------|--------------------------------------|-----------------|
|                    | $^1\text{H}$ (ppm), J (Hz) | $^{13}\text{C}^{**}$ | $^1\text{H}$ (ppm)                   | $^{13}\text{C}$ |
| 1                  | 13,11 s [OH]               | ***                  | 13,16 s [OH]                         | 154,1           |
| 2                  |                            | 130,6                |                                      | 131,8           |
| 3                  |                            | 158,2                |                                      | 160,6           |
| 4                  | 6,44 s                     | 94,0                 | 6,49 s                               | 95,1            |
| 4a                 |                            | 152,4                |                                      | 154,4           |
| 4b                 |                            | 157,5                |                                      | ***             |
| 5                  | 6,80 d (2,5)               | 101,9                | 6,46 d (8,8)                         | 119,4           |
| 6                  |                            | 164,2                | 7,36 dd (3,0; 8,8)                   | 125,3           |
| 7                  | 6,88 dd (2,5; 9,0)         | 114,0                |                                      | 155,5           |
| 8                  | 7,96 d (9,0)               | 127,1                | 7,58 d (3,0)                         | 109,3           |
| 8a                 |                            | 112,0                |                                      | 121,4           |
| 8b                 |                            | 101,9                |                                      | 103,5           |
| 9                  |                            | 179,5                |                                      | 181,4           |
| 2-OCH <sub>3</sub> | 3,73 s                     | 60,0                 | 3,88 s                               | 60,5            |

\* Piridina- $d_5$ , 300 MHz para  $^1\text{H}$  e 75 MHz para  $^{13}\text{C}$ .

\*\* Dados obtidos a partir das correlações observadas nos espectros gHMQC e gHMBC.

\*\*\* Sinais não detectados.

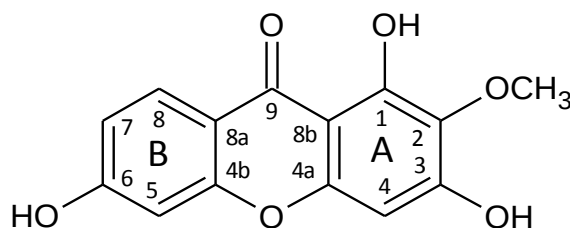


Figura 18. Estrutura química de **Sn2-A**

A substância **Sn2-B** apresentou em seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , um singlete em  $\delta$  6,49 (H4) e dois dubletos de  $J = 9,0$  Hz em  $\delta$  6,96 (H7) e  $\delta$  7,72 (H8) (Tabela 4) (Figura 52 e 53), o que é comprovado pela correlação apresentada no espectro *g*COSY (Figura 54). Pode-se observar a presença sinais correspondentes a duas metoxilas em  $\delta$  3,74 e  $\delta$  3,87, que apresentam correlação no espectro *g*HMQC com os sinais de carbonos em  $\delta$  60,0 e  $\delta$  60,8, respectivamente.

Os dados observados nos espectros *g*HMQC e *g*HMBC possibilitaram a atribuição dos hidrogênios e carbonos de **Sn2-B**. No espectro *g*HMQC (Figura 55), observou-se a correlação de  $\delta$  6,49 (H4) com o carbono em  $\delta$  94,0, de  $\delta$  6,96 (H7) com  $\delta$  114,0 e de  $\delta$  7,72 (H8) com  $\delta$  122,0.

Através do *g*HMBC (Figura 56, 57, 58 e 59) foi possível verificar as correlações entre  $\delta$  6,49 (H4) e  $\delta$  101,9 (C8b),  $\delta$  130,6 (C2), e  $\delta$  152,4 (C4a); entre  $\delta$  6,96 (H7) e  $\delta$  101,9 (8a) e  $\delta$  134,2 (C5); e entre  $\delta$  7,72 (H8) e  $\delta$  152,4 (C6),  $\delta$  157,5 (C4b) e  $\delta$  179,5 (C9).

Pode-se observar, também, nesse espectro, a correlação entre os sinais de metoxilas em  $\delta$  3,74 e  $\delta$  3,87, com os sinais de carbonos em  $\delta$  130,6 (C2) e  $\delta$  134,2 (C5), respectivamente. A diferença das estruturas de **Sn2-A** e **Sn2-B**, é que **Sn2-B** possui uma metoxila na posição 5. A presença da metoxila na posição 5 de **Sn2-B** alterou o deslocamento químico no carbono 5 (desblindagem) quando comparada à **Sn2-A** (Tabela 3).

Portanto, conclui-se que a estrutura de **Sn2-B** é 1,3,6-triidroxi-2,5-dimetoxixantona (Figura 19). Essa substância foi anteriormente isolada de *periploca aphylla* (Asclepidaceae) por REHMAN *et al.* (2004).

**Tabela 4.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de **Sn2-B** e **Sn2-A** (11,7 T, DMSO- $d_6$ )

|                    | <b>Sn2-B</b>               |                   | <b>Sn2-A</b>               |                   |
|--------------------|----------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|
| Posição            | $^1\text{H}$ (ppm), J (Hz) | $^{13}\text{C}^*$ | $^1\text{H}$ (ppm), J (Hz) | $^{13}\text{C}^*$ |
| 1                  | 13,07 s (OH)               | **                | 13,11 s (OH)               | **                |
| 2                  |                            | 130,6             |                            | 130,6             |
| 3                  |                            | **                |                            | 158,2             |
| 4                  | 6,49 s                     | 94,0              | 6,44 s                     | 94,0              |
| 4a                 |                            | 152,4             |                            | 152,4             |
| 4b                 |                            | 157,5             |                            | 164,2             |
| 5                  |                            | 134,2             | 6,80 d (2,5)               | 101,9             |
| 6                  |                            | 152,4             |                            | 157,5             |
| 7                  | 6,96 d (9,0)               | 114,0             | 6,88 dd (2,5; 9,0)         | 114,0             |
| 8                  | 7,72 d (9,0)               | 122,0             | 7,96 d (9,0)               | 127,1             |
| 8a                 |                            | 101,9             |                            | 112,0             |
| 8b                 |                            | 101,9             |                            | 101,9             |
| 9                  |                            | 179,5             |                            | 179,5             |
| 2-OCH <sub>3</sub> | 3,74 s                     | 60,0              | 3,73 s                     | 60,0              |
| 3-OCH <sub>3</sub> | 3,87 s                     | 60,8              |                            |                   |

\* Dados obtidos a partir das correlações observadas nos espectros gHMQC e gHMBC.

\*\* Sinais não detectados.

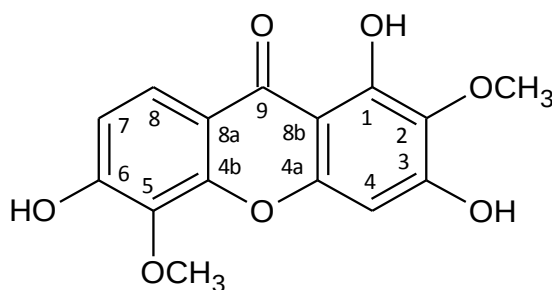


Figura 19. Estrutura química de **Sn2-B**.

#### 4.7.3. Elucidação estrutural de Sn3

O perfil do espectro de massas de **Sn3** (Figura 20) foi semelhante ao da substância **Sn2-B**. Foi observado o íon da molécula desprotonada  $[\text{M} - \text{H}]^-$  em  $m/z$  303, o que sugere fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_7$ . Também foram observados fragmentos representativos em  $m/z$  288 referente a  $[\text{M} - 15 - \text{H}]^-$ ; em  $m/z$  273 referente a  $[\text{M} - (2 \times 15) - \text{H}]^-$  e em  $m/z$  245 indicando  $[\text{M} - (2 \times 15) - 28 - \text{H}]^-$ .

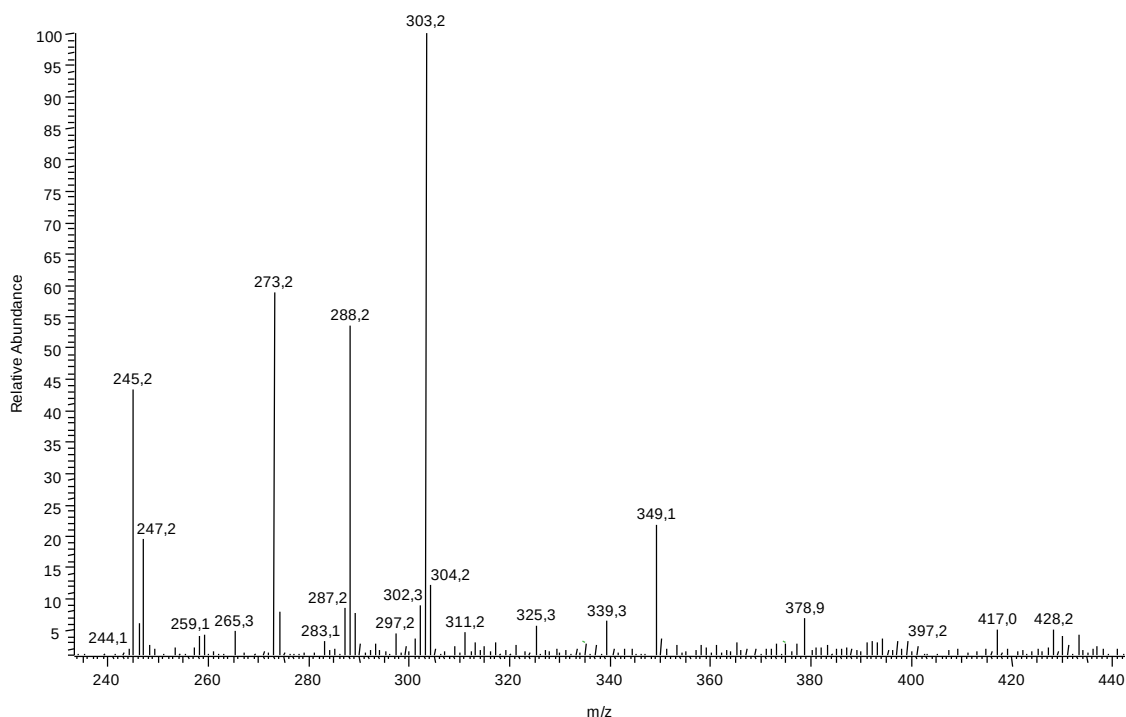


Figura 20. Espectro de massas de primeira ordem (modo *full-scan*) de **Sn3**, analisado em modo negativo.

No espectro de absorção na região do UV (Figura 21) foram observados máximos de absorção em 257, 285 e 326 nm. Esses dados são similares aos valores encontrados na literatura para xantonas (ASTHANA *et al.*, 1991; MOREL *et al.*, 2002).

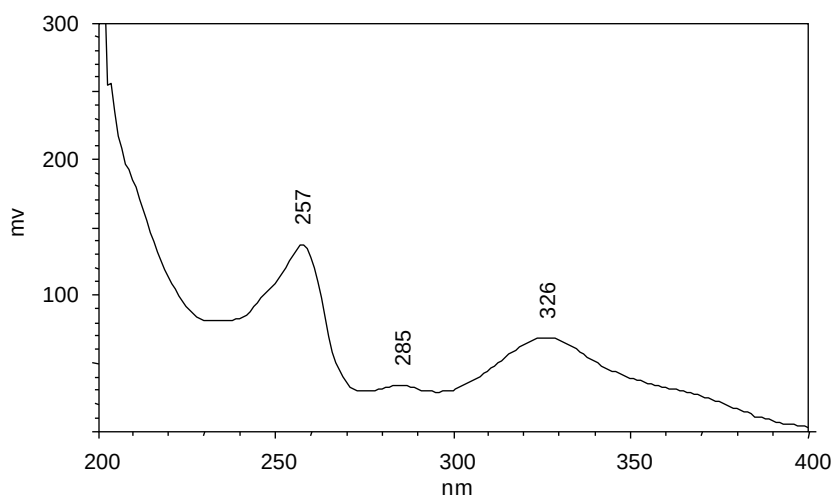


Figura 21. Espectro de **Sn3** obtido por espectroscopia na região do UV.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  apresentou, na região aromática, um singleto em  $\delta$  7,08 (H8), e dois dubletos de  $J = 2,5$  Hz em  $\delta$  6,34 (H2) e  $\delta$  6,59 (H4) (Tabela 5) (Figura 60 e 61). No espectro  $g\text{HMQC}$  (Figura 63) foi observada a correlação entre os sinais de hidrogênios em  $\delta$  6,34 (H2),  $\delta$  6,59 (H4) e  $\delta$  7,08 (H8) com os sinais de carbono em  $\delta$  97,4,  $\delta$  92,7 e  $\delta$  96,2, respectivamente.

Verificou-se ainda a presença de dois singletos referentes a grupos metoxílicos em  $\delta$  3,87 e  $\delta$  3,88. Pelo espectro  $g\text{HMBC}$  (Figura 64 e 65), constatou-se que estes sinais correlacionam-se com os sinais de carbono em  $\delta$  145,9 (C6) e em  $\delta$  165,9 (C3), respectivamente. Pode-se atribuir o sinal em  $\delta$  7,08 ao hidrogênio da posição 8 devido à presença de sua correlação com a carbonila em  $\delta$  179,5 (C9).

Ainda foram observadas no espectro  $g\text{HMBC}$  as correlações entre os sinais em  $\delta$  7,08 (H8) e  $\delta$  142,4 (C4b),  $\delta$  145,9 (C6) e  $\delta$  179,5 (C9); entre  $\delta$  6,34 (H2) e  $\delta$  92,2 (C4),  $\delta$  102,3 (C8b),  $\delta$  162,3 (C1) e  $\delta$  165,9 (C3); e entre  $\delta$  6,59 (H4) e  $\delta$  96,5 (C2),  $\delta$  102,3 (C8b),  $\delta$  159,0 (C4a) e  $\delta$  165,9 (C3).

As correlações observadas no espectro  $g\text{HMBC}$  de H8 com o carbono do anel B possibilitaram efetuar as atribuições da metoxila na posição 6 e das hidroxilas nas posições 5 e 7. Portanto, propõe-se para essa substância a estrutura da 1,5,7-triidroxi-3,6-dimetoxixantona (Figura 22).

Esta substância foi anteriormente isolada da espécie *Canscora decussata* Schult (Gentianaceae) por GHOSAL *et al.* (1977). Os dados espectroscópicos existentes na literatura para essa substância são de UV e de RMN de  $^1\text{H}$  (Tabela 5).

**Tabela 5.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de **Sn3** (11,7 T, DMSO- $d_6$ )

| <b>Sn3</b>         |                            | <b>GHOSAL et al. (1977)**</b> |                            |
|--------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| Posição            | $^1\text{H}$ (ppm), J (Hz) | $^{13}\text{C}^*$             | $^1\text{H}$ (ppm), J (Hz) |
| 1                  | 13,15 s (OH)               | 162,3                         | 13,15 (OH)                 |
| 2                  | 6,34 d (2,5)               | 96,5                          | 6,35 d (3,0)               |
| 3                  |                            | 165,9                         |                            |
| 4                  | 6,59 d (2,5)               | 92,2                          | 6,63 d (3,0)               |
| 4a                 |                            | 159,0                         |                            |
| 4b                 |                            | 142,4                         |                            |
| 5                  |                            | **                            |                            |
| 6                  |                            | 145,9                         |                            |
| 7                  |                            | **                            |                            |
| 8                  | 7,08 s                     | 95,1                          | 7,11 s                     |
| 8a                 |                            | **                            |                            |
| 8b                 |                            | 102,3                         |                            |
| 9                  |                            | 179,5                         |                            |
| 3-OCH <sub>3</sub> | 3,87 s                     | 55,8                          | 3,93 s (3H)                |
| 6-OCH <sub>3</sub> | 3,88 s                     | 55,8                          | 3,93 s (3H)                |

\*Dados obtidos a partir das correlações observadas nos espectros gHMQC e gHMBC.

\*\*Sinais não detectados.

\*\*\*[(CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO]

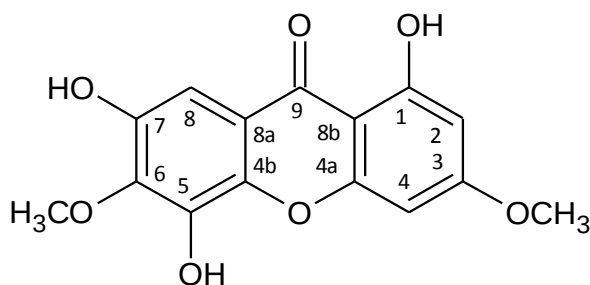


Figura 22. Estrutura química de **Sn3**.

#### 4.7.4. Elucidação estrutural de Sn4

No espectro de massas (Figura 23) foi detectado o íon da molécula desprotonada  $[\text{M} - \text{H}]^-$  em  $m/z$  319, o que sugere fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_8$ . Também foram observados fragmentos representativos em  $m/z$  304, referente a  $[\text{M} - 15 - \text{H}]^-$ ; em  $m/z$  289, referente a perda de duas metilas  $[\text{M} - (2 \times 15) - \text{H}]^-$  e em  $m/z$  261, indicando a perda de duas metilas e CO  $[\text{M} - (2 \times 15) - 28 - \text{H}]^-$ .

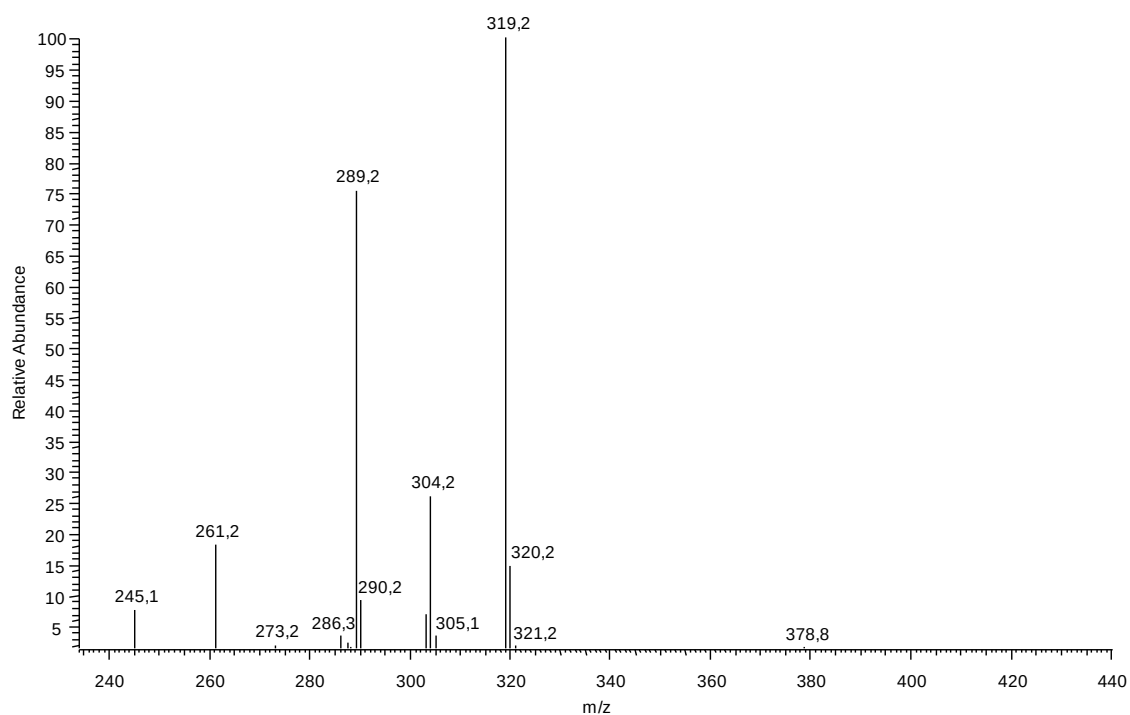


Figura 23. Espectro de massas de primeira ordem (modo *full-scan*) de **Sn4**, analisado em modo negativo.

No espectro de absorção de **Sn4** na região do UV (Figura 24) foram observados máximos de absorção em 257 e 333 nm, similares aos encontrados na literatura para xantonas (MEYER *et al*, 2008).

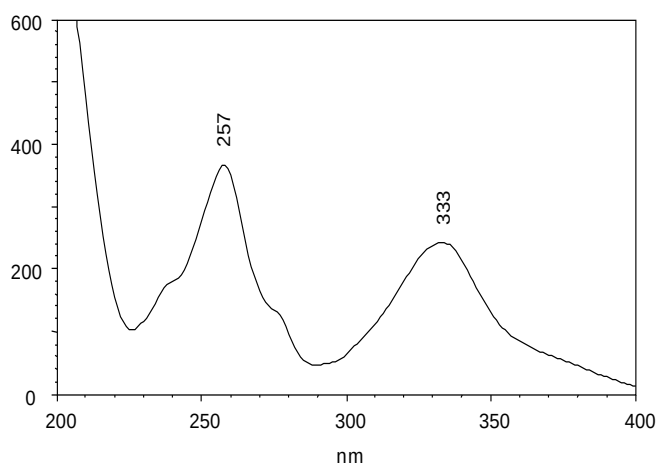


Figura 24. Espectro de **Sn4** obtido por espectroscopia na região do UV.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  foram observados dois singletos na região aromática em  $\delta$  6,44 (H4) e  $\delta$  6,80 (H7) (Tabela 6, Figura 66). Estes sinais, no espectro *g*COSY (Figura 67), não apresentam correlação com nenhum outro sinal de hidrogênio. Os sinais em  $\delta$  3,73 e  $\delta$  3,76 indicam a presença de dois grupos metoxilas.

No espectro *g*HMQC (Figura 68), observou-se que os sinais de hidrogênio, em  $\delta$  6,44 e  $\delta$  6,80, apresentam correlação com os sinais de carbonos em  $\delta$  98,2 e  $\delta$  94,3, respectivamente. Pode-se concluir que a molécula não é simétrica, pois esses sinais de hidrogênio não apresentam correlação com o mesmo carbono, o que ocorreria se houvesse simetria. Fato semelhante foi relatado para xantonas simetricamente substituídas, isoladas de *Polygala Cyparissias* (PINHEIRO *et al.*, 1998), em que os hidrogênios nas posições 4 e 5 ( $\delta$  6,77) apresentam correlação com um único carbono em  $\delta$  95,0, comprovando a estrutura simétrica da substância.

No espectro *g*HMBC (Figura 69), o sinal de hidrogênio em  $\delta$  6,25 (H4) apresentou correlações com os carbonos em  $\delta$  100,2 (C8b);  $\delta$  127,4 (C2);  $\delta$  156,4 (C4a);  $\delta$  158,8 (C3). O sinal de hidrogênio em  $\delta$  6,48 (H7) apresentou correlações com os carbonos em  $\delta$  100,5 (C8a);  $\delta$  130,8 (C5);  $\delta$  152,1 (C8);  $\delta$  158,8 (C6). Ainda, observou-se no espectro *g*HMBC, a correlação dos sinais de hidrogênios em  $\delta$  3,73 e  $\delta$  3,76 (metoxilas) com os sinais de carbonos em  $\delta$  130,8 (C5) e em  $\delta$  127,4 (C2).

Xantonas hexa oxigenadas são raras. Esse tipo de molécula foi isolado de *Polygalia macradenia* (DREYER, 1969) e derivados de metil xantonas hexa oxigenadas foram isoladas de Gentianaceae (MANDAL *et al.*, 1992).

A comparação destes dados (Tabela 6) com a literatura (MEYER *et al.*, 2008), possibilitou afirmar que a estrutura de **Sn4** corresponde a 1,3,6,8-tetraidroxí-2,5-dimetoxixantona (Figura 25).

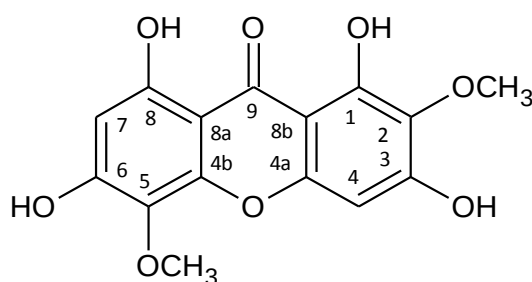
**Tabela 6.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de **Sn4** (11,7 T, DMSO- $d_6$ )

| <b>Sn4</b>         |                    |                    | <b>MEYER et al., 2008*</b> |                 |
|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------------|-----------------|
| Posição            | $^1\text{H}$ (ppm) | $^{13}\text{C}$ ** | $^1\text{H}$ (ppm)         | $^{13}\text{C}$ |
| 1                  | 11,63 s (OH)       | ***                | 11,80 s (OH)               | 149,3           |
| 2                  |                    | 127,4              |                            | 127,5           |
| 3                  |                    | 158,8              |                            | 157,7           |
| 4                  | 6,44 s             | 98,2               | 6,25 s                     | 93,1            |
| 4a                 |                    | 156,4              |                            | 153,0           |
| 4b                 |                    | ***                |                            | 148,8           |
| 5                  |                    | 130,8              |                            | 130,5           |
| 6                  |                    | 158,8              |                            | 158,3           |
| 7                  | 6,80 s             | 94,3               | 6,45 s                     | 98,3            |
| 8                  | 11,63 s (OH)       | 152,1              | 12,10 s (OH)               | 152,7           |
| 8a                 |                    | 100,5              |                            | 101,5           |
| 8b                 |                    | 100,2              |                            | 101,3           |
| 9                  |                    | ***                |                            | 183,7           |
| 5-OCH <sub>3</sub> | 3,73 s             | 59,6               | 3,88 s                     | 60,7            |
| 2-OCH <sub>3</sub> | 3,76 s             | 60,6               | 3,84 s                     | 61,5            |

\* CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T

\*\*Dados obtidos a partir das correlações observadas nos espectros gHMQC e gHMBC.

\*\*\*Sinais não detectados.

Figura 25. Estrutura química de **Sn4**.

#### 4.7.5. Elucidação estrutural de **Sn5**

A substância **Sn5** foi obtida na forma de mistura com a substância **Sn4**. No espectro de massas (Figura 26), observou-se o sinal do íon da molécula desprotonada  $[\text{M} - \text{H}]^-$  em  $m/z$  289, o que sugere fórmula molecular  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_7$ . Foram observados picos correspondentes a fragmentos representativos em  $m/z$  274 referente a  $[\text{M} - 15 - \text{H}]^-$  e  $m/z$  245 referente a  $[\text{M} - 29 - \text{H}]^-$ .

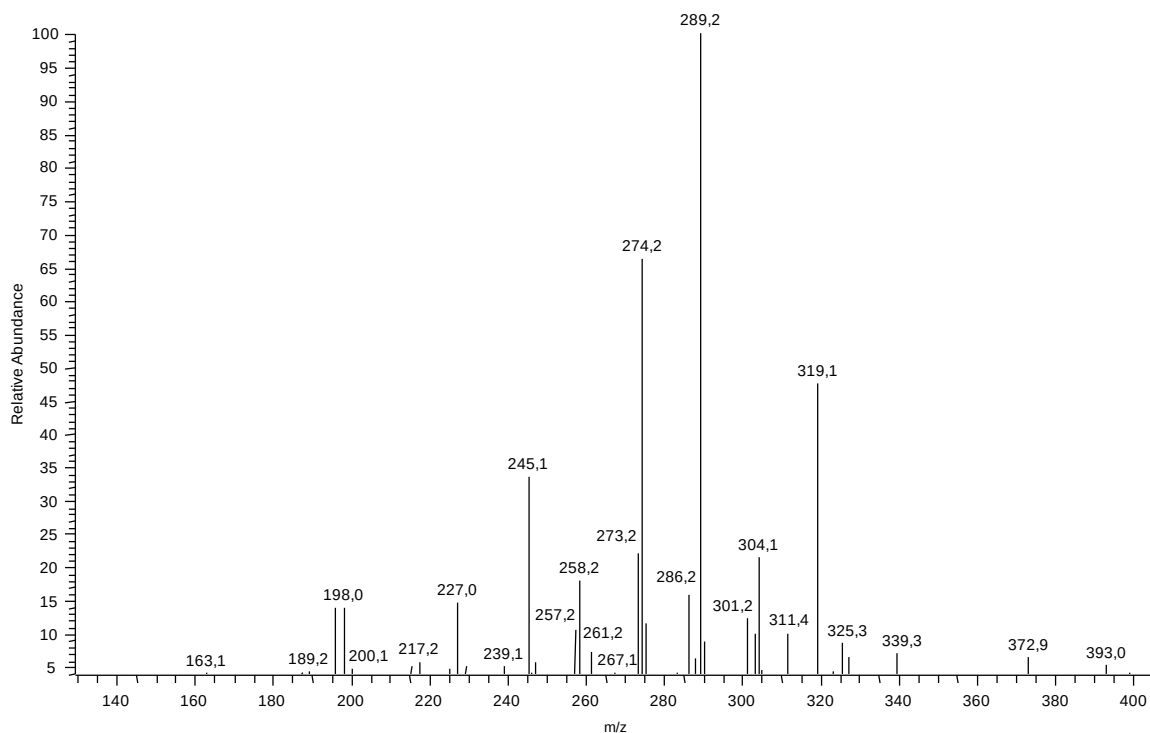


Figura 26. Espectro de massas de primeira ordem (modo *full-scan*) de **Sn5**, analisado em modo negativo.

No espectro de absorção na região do UV (Figura 27) foram observados máximos de absorção em 254 e 328 nm. Esses dados são similares aos valores encontrados na literatura para xantonas (MEYER *et al*, 2008).

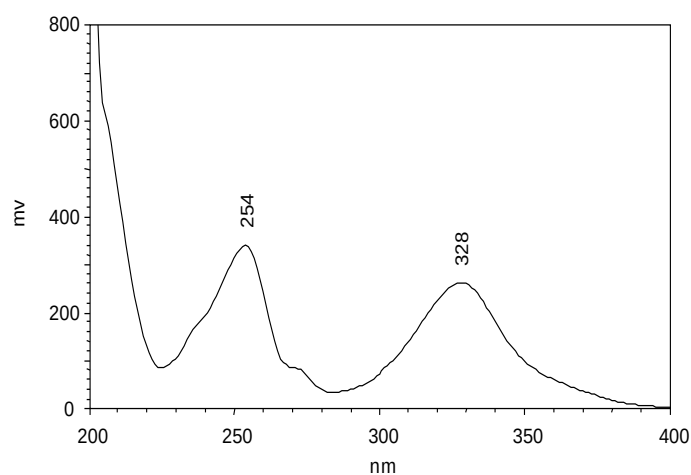


Figura 27. Espectro de **Sn5** obtido por espectroscopia na região do UV.

Através dos dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **Sn5** (Figura 70 e 71) foi possível constatar que essa substância tratava-se de uma mistura. Observou-se um singlete em  $\delta$  6,43 (H7) e dois dubletos ( $J = 2,0$  Hz) em  $\delta$  6,17 (H2) e  $\delta$  6,32 (H4). Pode-se observar a presença de um sinal em  $\delta$  3,73, que corresponde a uma metoxila.

Os dados observados nos espectros *g*HMQC e *g*HMBC possibilitaram a atribuição dos hidrogênios e carbonos. O espectro *g*HMQC (Figura 73) apresentou as correlações entre os sinais em  $\delta$  6,43 (H7),  $\delta$  6,32 (H4) e em  $\delta$  6,17 (H2) com os sinais de carbonos em  $\delta$  94,2,  $\delta$  93,9 e  $\delta$  98,1, respectivamente.

Verificou-se, no espectro *g*HMBC (Figura 74 e 75), as correlações entre os sinais em  $\delta$  6,43 (H7) e  $\delta$  100,9 (C8a),  $\delta$  130,8 (C5),  $\delta$  152,0 (C8) e  $\delta$  158,8 (C6); entre os sinais em  $\delta$  6,32 (H4) e  $\delta$  98,1 (C2),  $\delta$  157,4 (C4a) e  $\delta$  165,6 (C3); e entre os sinais em  $\delta$  6,17 (H2) e  $\delta$  93,9 (C4)  $\delta$  100,2 (C8b), e  $\delta$  162,0 (C1). Pode ser observada, também, a correlação do sinal em  $\delta$  3,73 (metoxila) com o sinal de carbono em  $\delta$  130,8 (C2).

Verificou-se pelos deslocamentos químicos (Tabela 7) que **Sn5** foi obtido na forma de uma mistura com **Sn4**.

Para atribuição do anel B de **Sn5**, os dados obtidos foram comparados com os de **Sn4** e com os relatados por MEYER *et al.* (2008). Para a atribuição do anel A, foram utilizados dados publicados por MOREL *et al.* (2002). Portanto, **Sn5** foi identificada como 1,3,6,8-tetraidroxi-5-metoxixantona (Figura 28). Essa substância foi anteriormente identificada em *Calophyllum apetalum* (Guttiferae) por LINUMA *et al.* (1997), porém não existe até a presente data dados de RMN na literatura.

**Tabela 7.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **Sn5** (11,7 T, DMSO- $d_6$ )

| <b>Sn5</b>         |                            |                   |
|--------------------|----------------------------|-------------------|
| Posição            | $^1\text{H}$ (ppm), J (Hz) | $^{13}\text{C}^*$ |
| 1                  | 11,98 s                    | 162,0             |
| 2                  | 6,17 <i>d</i> (2,0)        | 98,1              |
| 3                  |                            | 165,6             |
| 4                  | 6,32 <i>d</i> (2,0)        | 93,9              |
| 4a                 |                            | 157,4             |
| 4b                 |                            | **                |
| 5                  |                            | 130,8             |
| 6                  |                            | 158,8             |
| 7                  | 6,43 s                     | 94,2              |
| 8                  | 11,88 s                    | 152,0             |
| 8a                 |                            | 100,9             |
| 8b                 |                            | 100,2             |
| 9                  |                            | **                |
| 5-OCH <sub>3</sub> | 3,73 s                     | 59,8              |

\* Dados obtidos a partir da projeção dos espectros *g*HMQC e *g*HMBC.

\*\*Sinais não detectados.

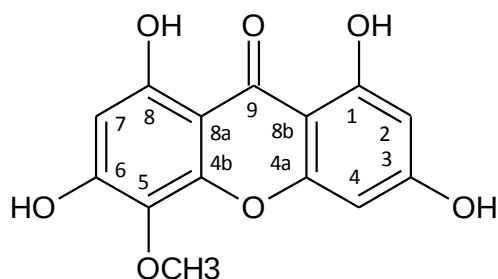


Figura 28. Estrutura química de **Sn5**.

#### 4.7.6. Elucidação estrutural de **Sn6**

No espectro de massas da substância **Sn6** (Figura 29) foi observado o pico  $m/z$  461  $[\text{M} - \text{H}]^-$  referente à molécula desprotonada e fragmentos significativos no espectro de segunda ordem (Figura 31) em  $m/z$  371, referente a  $[\text{M} - 90 - \text{H}]^-$  e em  $m/z$  341  $[\text{M} - 120 - \text{H}]^-$ , sugerindo a presença de açúcar em **Sn6**.

Em flavonoides C-glicosilados, o açúcar é ligado diretamente ao núcleo do flavonoide por uma ligação C–C, dificilmente clivada. Já em flavonoides O-glicosilados, a ligação O–C é mais susceptível a clivagem. Por isso, é possível diferenciá-los através da análise do espectro de massas.

Em flavonoides C-glicosilados a via de fragmentação preferencial é aquela que ocorre através da clivagem interna da unidade sacarídica, e em flavonóides O-glicosilados é favorecida a eliminação intacta do açúcar. A eliminação de água a partir da desidratação da unidade sacarídica é uma fragmentação específica de C-6-glicosídeos (Figura 30) (CUYCKENS E CLAEYS, 2004).

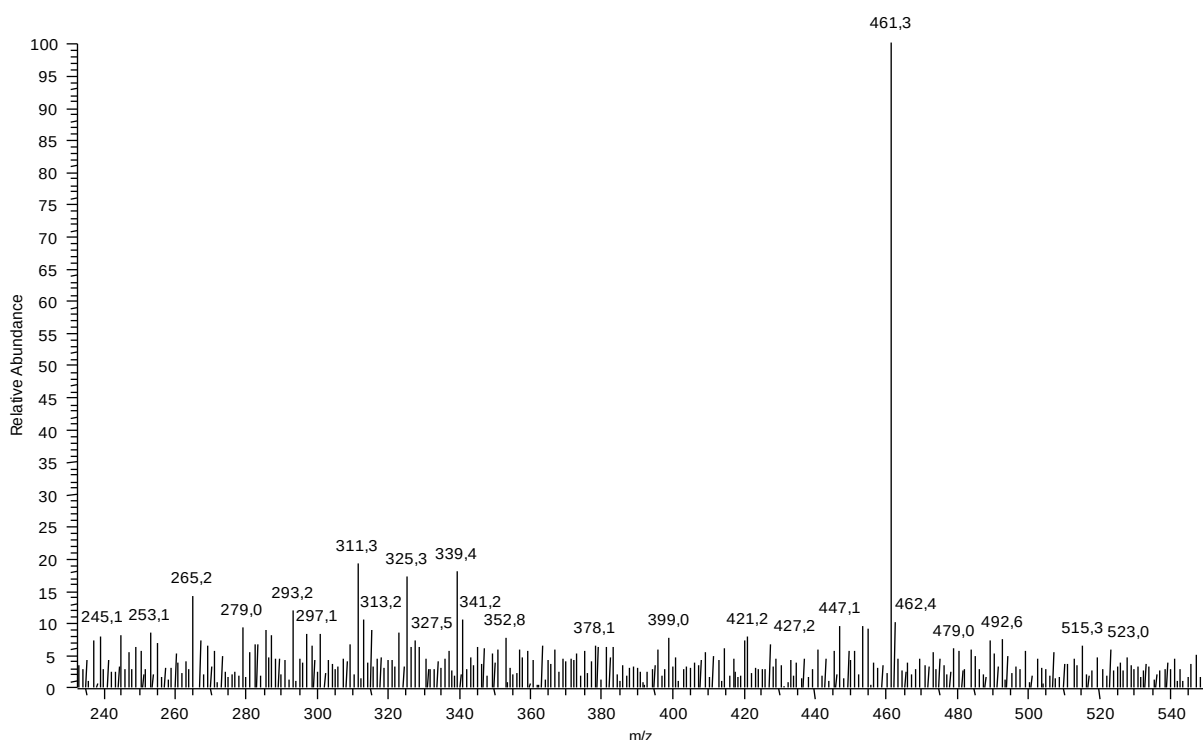


Figura 29. Espectro de massas de primeira ordem (modo *full-scan*) de **Sn6**, analisado em modo negativo.

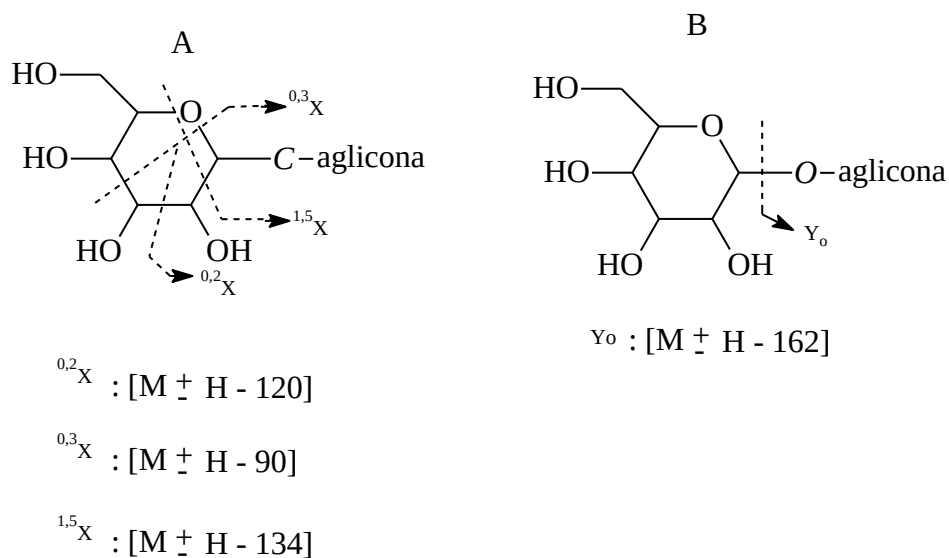


Figura 30. Representação de íons produtos característicos formados pela clivagem de uma C-hexose (A) e de uma O-hexose (B). O sinal  $\pm$  indica os modos de ionização, positivo ou negativo (CUYCKENS E CLAEYS, 2004).

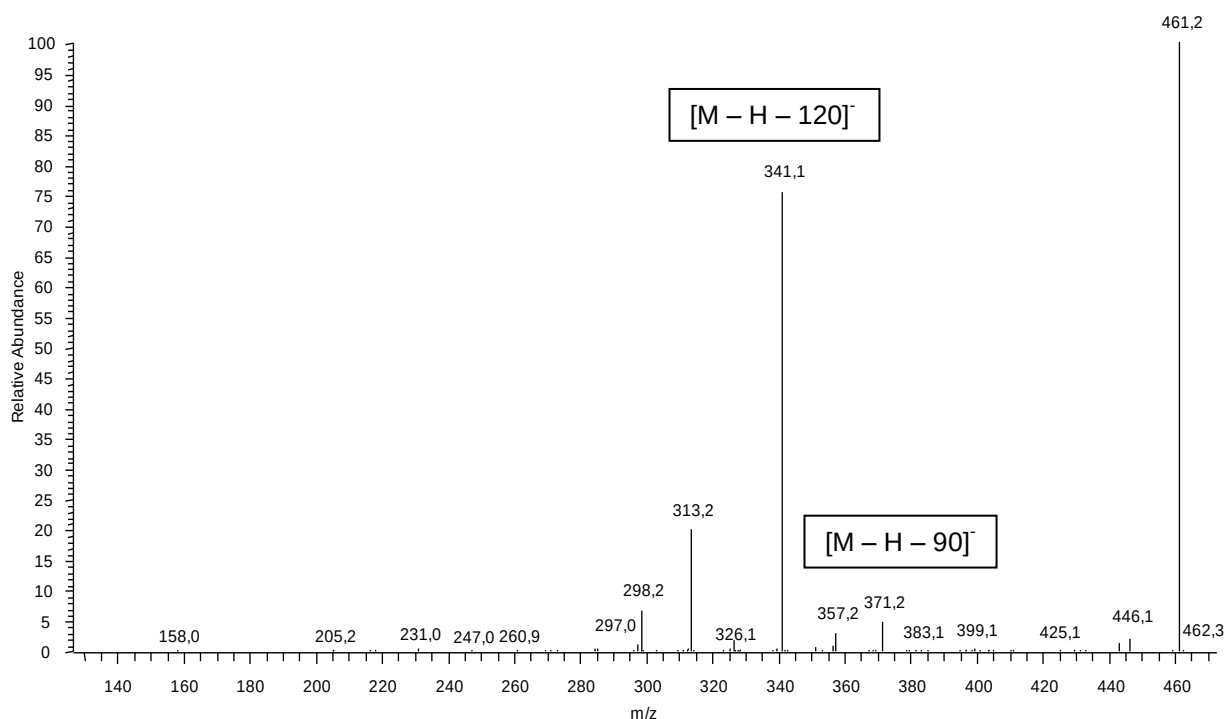


Figura 31. Espectro de massas de segunda ordem de **Sn6**, avaliado em modo negativo

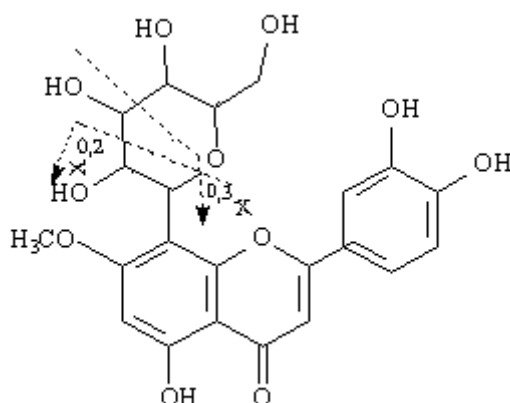


Figura 32. Proposta de fragmentação para **Sn6** baseada em CUYCKENS E CLAEYS, (2004). Onde: <sup>0,2</sup>X = [M - H - 120]<sup>-</sup>; <sup>0,3</sup>X = [M - H - 90]<sup>-</sup>.

No espectro de absorção na região do UV (Figura 33) de **Sn6** foram observadas bandas em 258 e 352 nm, características de flavonas. (MABRY *et al.*, 1970).

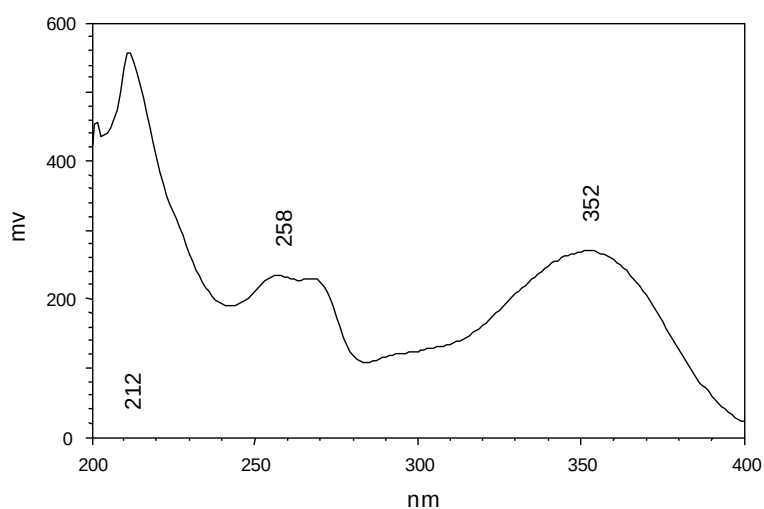


Figura 33. Espectro de **Sn6** obtido por espectroscopia na região do UV.

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H foram detectados sinais na região aromática que correspondem a um flavonóide (Tabela 8, Figura 76 e 77). Foram observados um dubleto em δ 6,86 de J = 8,0 (H5'), um dubleto em δ 7,48 de J = 2,0 (H2') e um duplo dubleto em δ 7,54 de J = 2,5 e 8,5 (H6').

Notou-se, também, um singleto em δ 6,68, correspondente ao H3 de uma flavona, e um singleto em δ 6,50 (H6).

Observou-se um singleto em  $\delta$  3,87, referente ao sinal de uma metoxila. A presença de uma unidade de açúcar foi verificada devido à presença de um sinal em  $\delta$  4,70 de  $J = 10,0$ , que corresponde ao hidrogênio anomérico ( $H1''$ ).

Os dados fornecidos pelos espectros *g*HMQC e *g*HMBC possibilitaram a atribuição dos hidrogênios e carbonos de **Sn6** (Tabela 8). Através da análise do espectro *g*HMBC (Figura 81, 82 e 83) confirmou-se a posição do hidrogênio em  $\delta$  6,50 na posição 6, devido à correlação deste com os sinais de carbonos em  $\delta$  105,1 (C8),  $\delta$  161,1 (C5),  $\delta$  163,8 (C7).

No espectro *g*HMBC, também foram observadas correlações entre o sinal de hidrogênio em  $\delta$  3,87 (metoxila) e o carbono em  $\delta$  163,8 (C7); e entre  $\delta$  4,70 ( $H1''$ ) e  $\delta$  163,8 (C7),  $\delta$  105,1 (C8) e  $\delta$  155,1 (C9). Com isso, pode-se propor que a metoxila está ligada na posição 7 e o açúcar na posição 8.

No espectro *g*COSY (Figura 78) observou-se a correlação entre os sinais  $\delta$  6,86 e  $\delta$  7,54, que correspondem aos hidrogênios 5' e 6', evidenciando acoplamento em *orto*. Observou-se, também, a interação entre hidrogênios metoxílicos e hidrogênio anomérico ( $\delta$  4,70 e  $\delta$  3,87), o que confirma que o açúcar está ligado na posição 8.

O experimento TOCSY 1D (Figura 84), mostrou que quando o hidrogênio anomérico foi irradiado, o sinal em  $\delta$  4,70, apresentou correlação com os sinais de hidrogênio em  $\delta$  3,40;  $\delta$  3,24;  $\delta$  3,40;  $\delta$  3,82;  $\delta$  3,14;  $\delta$  3,34 e  $\delta$  3,68 indicando tratar-se de uma glicose.

Esses dados, comparados com a literatura, permitiram a identificação de **Sn6** como sendo a 7-metoxi-luteolina-8-C- $\beta$ -D-glicopiranosídeo ou 3',4',5-triidroxi-7-metoxi-8-C- $\beta$ -D-glicopiranosilflavona (Figura 34).

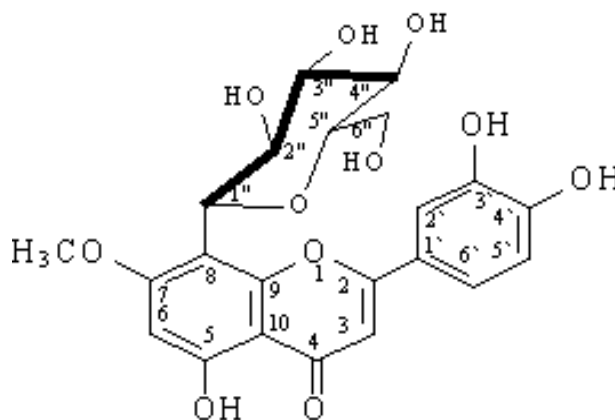
**Tabela 8.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **Sn6** (11,7 T,  $\text{DMSO-}d_6$ )

| <b>Sn6</b>         |                            |                      | <b>GRECA et al., 1998*</b> |                 |
|--------------------|----------------------------|----------------------|----------------------------|-----------------|
| Posição            | $^1\text{H}$ (ppm), J (Hz) | $^{13}\text{C}^{**}$ | $^1\text{H}$ (ppm), J (Hz) | $^{13}\text{C}$ |
| 2                  |                            | 164,4                |                            | 164,2           |
| 3                  | 6,68 s                     | 102,4                | 6,75 s                     | 102,0           |
| 4                  |                            | ***                  |                            | 182,0           |
| 5                  | 12,76 s (OH)               | 161,1                |                            | 161,3           |
| 6                  | 6,50 s                     | 94,9                 | 6,58 s                     | 94,6            |
| 7                  |                            | 163,8                |                            | 163,2           |
| 8                  |                            | 105,1                |                            | 105,4           |
| 9                  |                            | 155,1                |                            | 154,8           |
| 10                 |                            | 104,3                |                            | 104,1           |
| 1'                 |                            | 121,6                |                            | 121,8           |
| 2'                 | 7,48 d (2,0)               | 113,9                | 7,56 sl                    | 113,7           |
| 3'                 |                            | 145,8                |                            | 145,6           |
| 4'                 |                            | 149,7                |                            | 149,6           |
| 5'                 | 6,86 d (8,0)               | 115,4                | 6,93 d (8,3)               | 115,6           |
| 6'                 | 7,54 dd (2,5; 8,5)         | 119,1                | 7,62 dd (2,0; 8,5)         | 119,4           |
| 7-OCH <sub>3</sub> | 3,87 s                     | 56,4                 | 3,93 s                     | 56,5            |
| 1''                | 4,70 d (10,0)              | 72,8                 | 4,78 d (11,1)              | 73,2            |
| 2''                | 3,24 dd (8,5; 9,0)         | 70,2                 | ****                       | 70,8            |
| 3''                | 3,40 dd (8,0; 7,5)         | 78,2                 | ****                       | 78,5            |
| 4''                | 3,82 dd (9,0; 9,5)         | 70,2                 | ****                       | 70,3            |
| 5''                | 3,14 m                     | 81,6                 | ****                       | 81,6            |
| 6''                | 3,34 dd (3,5; 12,0)        | 61,4                 | ****                       | 61,3            |
|                    | 3,68 (4,5; 12,0)           |                      |                            |                 |

\*  $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz para  $^1\text{H}$  e 100 MHz para  $^{13}\text{C}$ 

\*\*Dados obtidos a partir das correlações observadas nos espectros gHMQC e gHMBC.

\*\*\* Sinais não detectados. \*\*\*\* Dados não fornecidos.

Figura 34. Estrutura química de **Sn6**.

#### 4.7.7. Elucidação estrutural de Sn7

O perfil do espectro de massas de **Sn7** (Figura 35) foi semelhante ao da substância **Sn6**. Foi observado pico correspondente ao íon da molécula desprotonada  $[M - H]^-$  em  $m/z$  461 e de fragmentos significativos em  $m/z$  371, referente a  $[M - 90 - H]^-$  e em  $m/z$  341  $[M - 120 - H]^-$ .

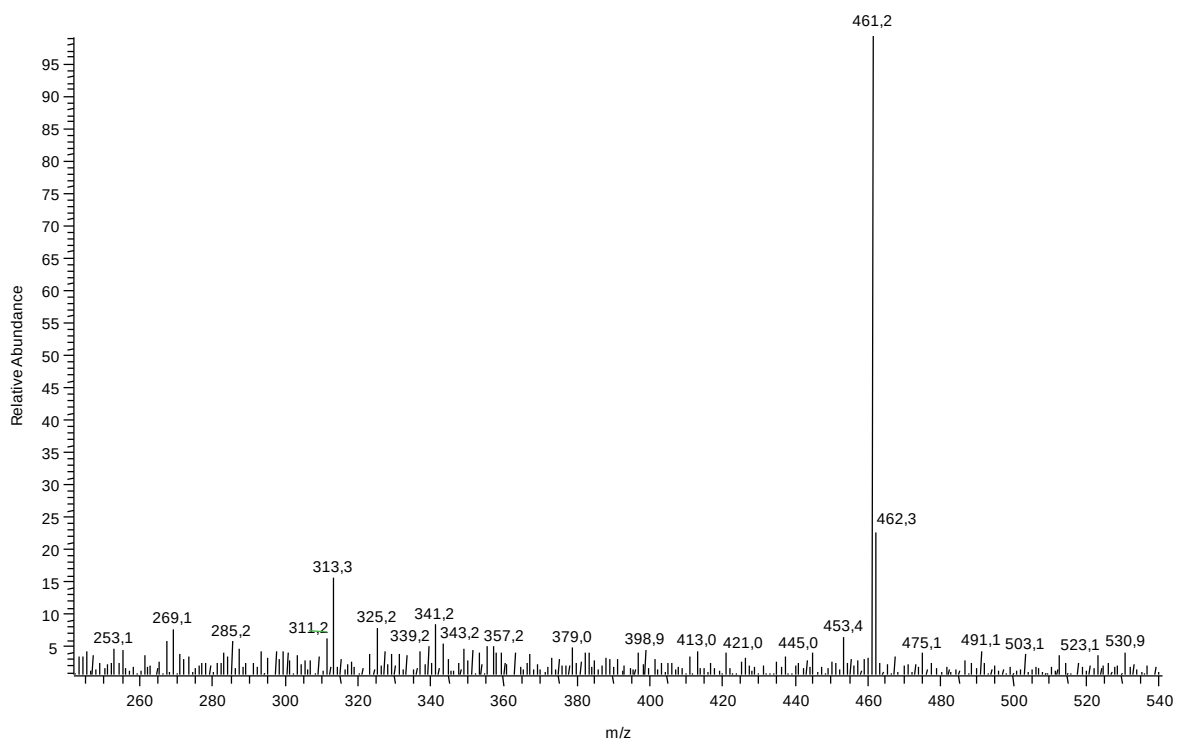


Figura 35. Espectro de massas de primeira ordem (modo *full-scan*) da fração **Sn7**, analisado em modo negativo.

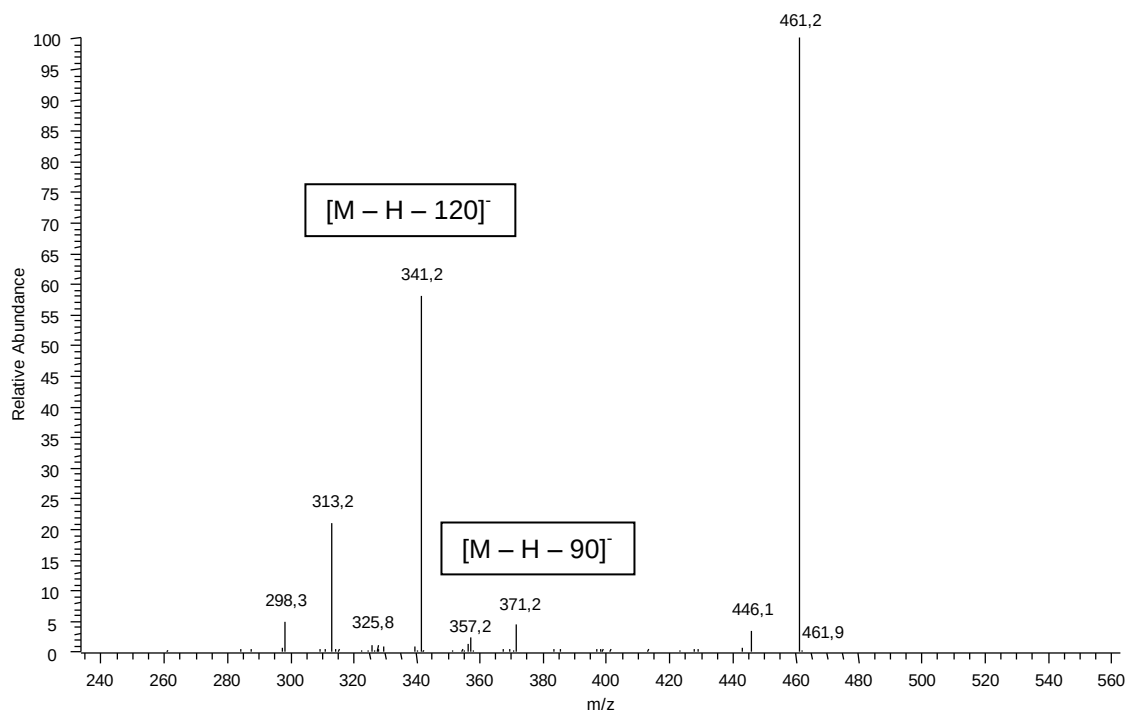


Figura 36. Espectro de massas de segunda ordem (modo *full-scan*) da fração **Sn7**, analisado em modo negativo.

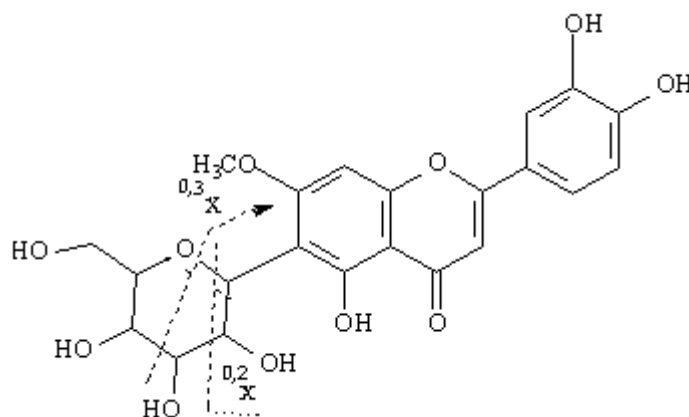


Figura 37. Proposta de fragmentação de **Sn7** baseada em CUYCKENS E CLAEYS, (2004). Onde:  $^{0,2}X = [M - H - 120]^-$  ;  $^{0,3}X = [M - H - 90]^-$ .

No espectro de absorção na região do UV de **Sn7** (Figura 38) foram observadas bandas em 270 e 349 nm, características de flavonas. (MABRY *et al.*, 1970).

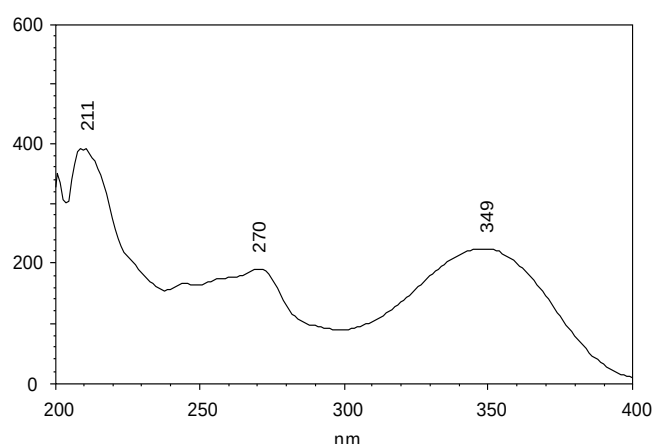


Figura 38. Espectro de **Sn7** obtido por espectroscopia na região do UV.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  foram verificados sinais na região aromática referentes a um flavonóide (Tabela 8) (Figura 85 e 86). Foram observados dois dubletos em  $\delta$  6,88 ( $J = 8,5$ ;  $\text{H5}'$ ), e em  $\delta$  7,44 ( $\text{sl}$ ;  $\text{H2}'$ ), um duplo dubleto em  $\delta$  7,46 ( $J = 2,0$  e  $8,5$ ;  $\text{H6}'$ ), um singleto em  $\delta$  6,72 ( $\text{H3}$ ) e outro em  $\delta$  6,78 ( $\text{H8}$ ). Observou-se a presença de singleto em  $\delta$  3,89, correspondente a metoxila. Verificou-se a presença de um sinal de hidrogênio anomérico ( $\text{H1}''$ ) de açúcar, em  $\delta$  4,57 ( $J = 10,5$ ).

Através dos espectros bidimensionais ( $g\text{HMQC}$  e  $g\text{HMBC}$ ) foi feita a atribuição dos sinais de hidrogênios e carbonos (Tabela 9) (Figuras 89, 90, 91, 92 e 93). No espectro  $g\text{HMBC}$ , foi observada a correlação do sinal em  $\delta$  3,90 (metoxila) com o de carbono em  $\delta$  163,6 ( $\text{C7}$ ).

Através de irradiações seletivas via HOMODEC (desacoplamento homonuclear) foi evidenciado que os sinais em  $\delta$  6,73 e  $\delta$  6,78 são singletos, pois quando irradiados, os outros sinais não foram alterados (Figura 87). Isso também pode ser confirmado através do espectro  $g\text{COSY}$  (Figura 88).

Os valores de deslocamentos químicos da aglicona e do açúcar foram comparados com dados da literatura (HARBORNE e MABRY, 1982)

A posição do açúcar foi determinada através da análise de correlações observadas no espectro *g*HMBC, do sinal em  $\delta$  4,59 (H1'') com  $\delta$  109,9 (C6),  $\delta$  160,4 (C5) e  $\delta$  104,5 (C10).

Através do experimento TOCSY 1D (Figura 94), verificou-se a correlação do sinal em  $\delta$  4,59 com  $\delta$  3,11;  $\delta$  3,16;  $\delta$  3,97;  $\delta$  3,18;  $\delta$  3,70 e  $\delta$  3,38, indicando tratar-se de uma glicose. Portanto a estrutura de **Sn7** foi determinada como sendo 7-metoxiluteolina-6-C- $\beta$ -D-glicopiranosideo ou 3',4',5-triidroxi-7-metoxi-6-C-glicopiranosilflavona (Figura 39).

**Tabela 9.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **Sn7** (11,7 T, DMSO- $d_6$ )

| <b>Sn7</b>         |                            |                      | <b>HARBORNE e MABRY (1982)</b> |
|--------------------|----------------------------|----------------------|--------------------------------|
| Posição            | $^1\text{H}$ (ppm), J (Hz) | $^{13}\text{C}^{**}$ | $^{13}\text{C}$                |
| 2                  |                            | 163,9                | 163,5                          |
| 3                  | 6,72 s                     | 102,5                | 102,7                          |
| 4                  |                            | ***                  | 181,7                          |
| 5                  | 12,76 s (OH)               | ***                  | 160,5                          |
| 6                  |                            | 109,6                | 108,7                          |
| 7                  |                            | 163,7                | 163,0                          |
| 8                  | 6,78 s                     | 90,5                 | 93,4                           |
| 9                  |                            | 156,9                | 156,0                          |
| 10                 |                            | 104,3                | 103,3                          |
| 1'                 |                            | 121,4                | 121,3                          |
| 2'                 | 7,44 s/                    | 112,8                | 113,2                          |
| 3'                 |                            | 145,9                | 145,6                          |
| 4'                 |                            | 149,9                | 149,5                          |
| 5'                 | 6,88 d (8,5)               | 115,6                | 115,6                          |
| 6'                 | 7,46 dd (2,0; 8,5)         | 118,3                | 118,9                          |
| 7-OCH <sub>3</sub> | 3,89 s                     | 56,2                 |                                |
| 1''                | 4,57 d (10,5)              | 72,8                 | 72,9                           |
| 2''                | 3,11 dd (9,0; 7,5)         | 70,4                 | 70,4                           |
| 3''                | 3,16 dd (10,5; 9,5)        | 78,2                 | 78,6                           |
| 4''                | 3,97 dd (9,0; 9,0)         | 71,4                 | 70,1                           |
| 5''                | 3,18 m                     | 81,9                 | 81,3                           |
| 6''                | 3,70 dd (3,5; 12,0)        | 61,4                 | 61,3                           |
|                    | 3,38 (4,5; 12,0)           |                      |                                |

\* DMSO- $d_6$ , 11,7 T.

\*\*Dados obtidos a partir das correlações observadas nos espectros *g*HMQC e *g*HMBC.

\*\*\*Sinais não detectados.

Esta substância foi pela primeira vez isolada de *Swertia japonica* por KOMATSU *et al.* (1966). Devido a falta de disponibilidade dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  desta substância, a isoorientina (3',4',5-7-tetraidroxi-6-C-glicopiranosilflavona) foi utilizada para comparação (Tabela 8, HARBORNE & MABRY, 1982). A metoxila na posição 7 de **Sn7** ficou confirmada também com esta comparação, pois quando a posição 7 é apenas hidroxilada o deslocamento químico do carbono na posição 8 é em  $\delta$  93,4 e quando a posição 7 é metoxilada, o deslocamento do carbono é em  $\delta$  90,5.

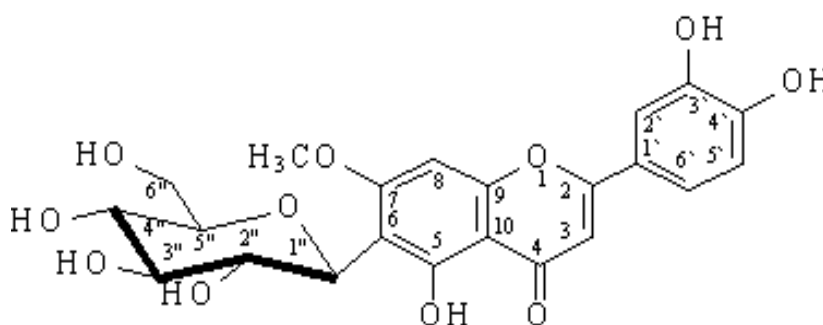


Figura 39. Estrutura química de **Sn7**.

#### 4.7.8. Elucidação estrutural de **Sn8**

No espectro de massas de **Sn8** (Figura 40) foi observado o pico do íon da molécula desprotonada  $[\text{M} - \text{H}]^-$  em  $m/z$  475, o que sugeriu fórmula molecular  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$ .

No espectro de massas de segunda ordem (Figura 41) foram observados fragmentos em  $m/z$  460 referente a  $[\text{M} - 15 - \text{H}]^-$ ; em  $m/z$  445  $[\text{M} - (2 \times 15) - \text{H}]^-$  e em  $m/z$  327 referente a perda de duas metilas, e também, fragmentos característicos de C-glicosídeo  $[\text{M} - (2 \times 15) - 120 - \text{H}]^-$ ; e o pico em  $m/z$  297 referente a  $[\text{M} - (2 \times 15) - 120 - 28 - \text{H}]^-$ .

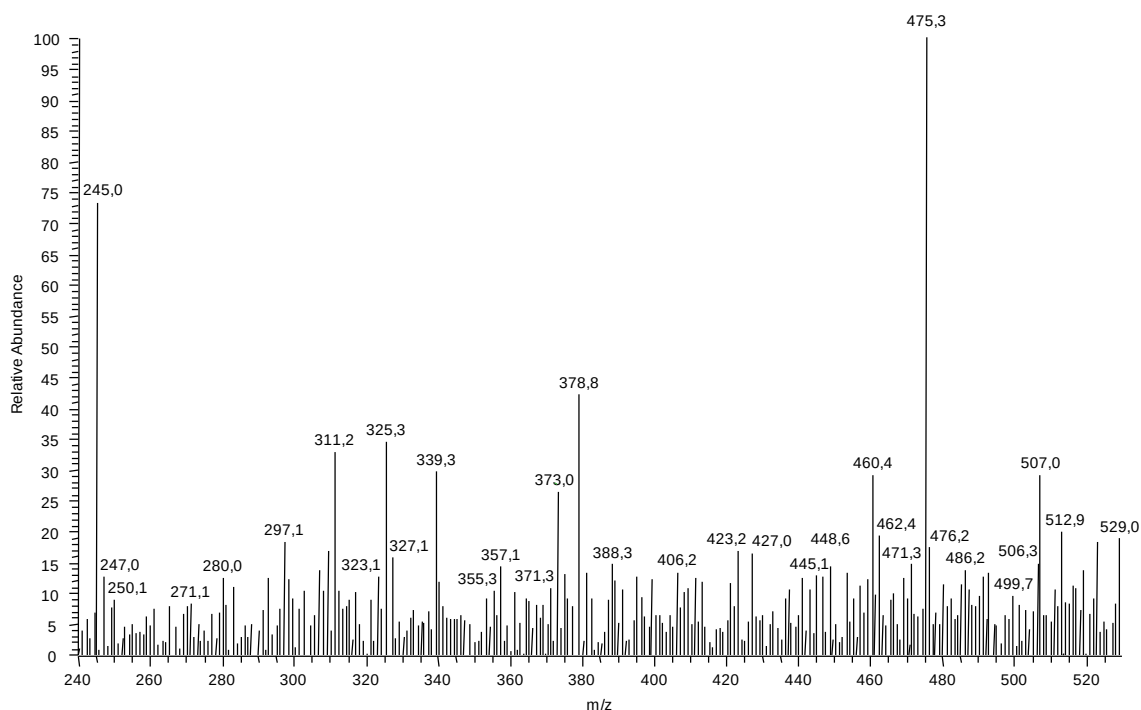


Figura 40. Espectro de massas de primeira ordem (modo *full-scan*) de **Sn8**, analisado em modo negativo.

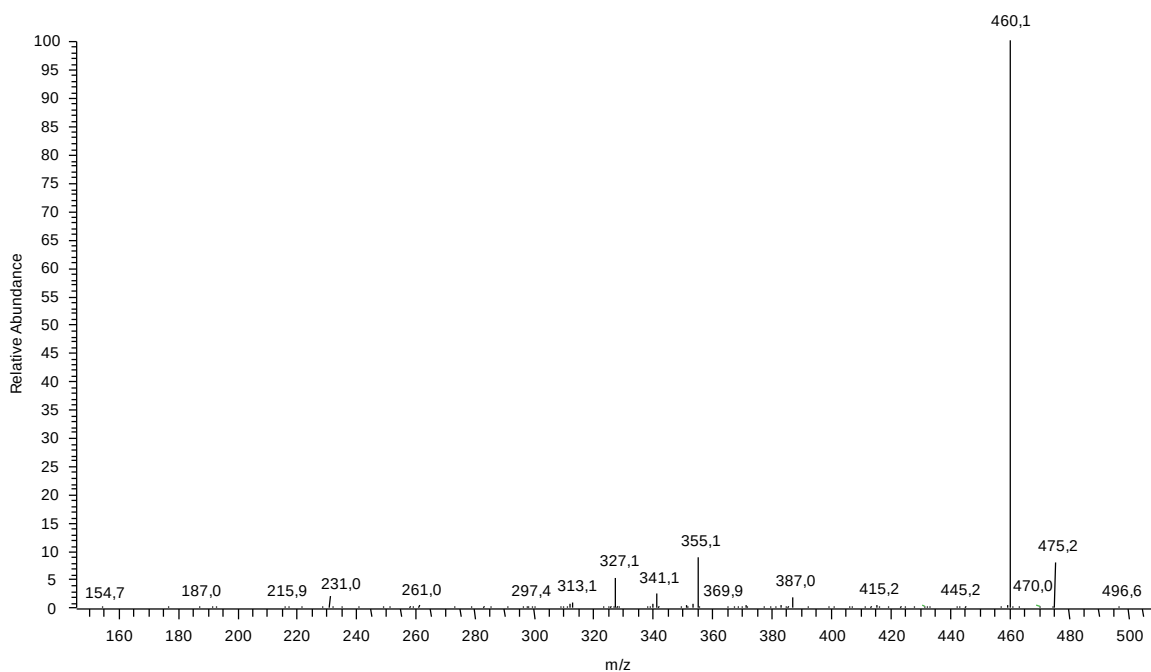


Figura 41. Espectro de massas de segunda ordem (modo *full-scan*) de **Sn8**, analisado em modo negativo.

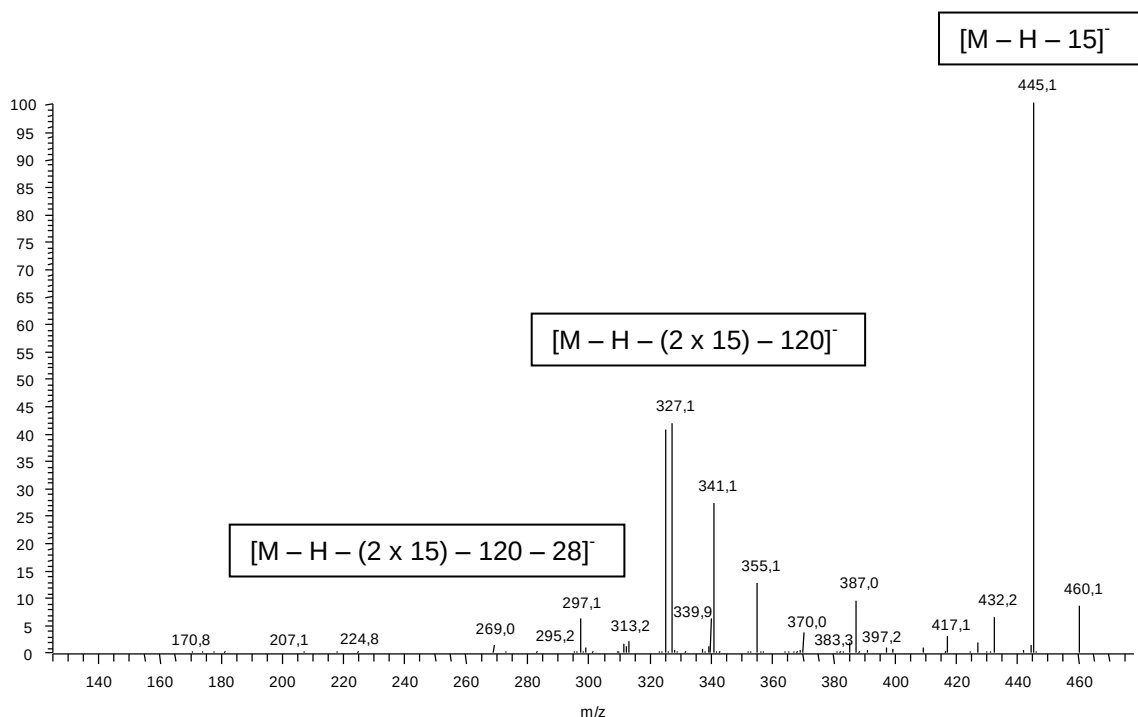


Figura 42. Espectro de massas de terceira ordem (modo *full-scan*) de **Sn8**, analisado em modo negativo.

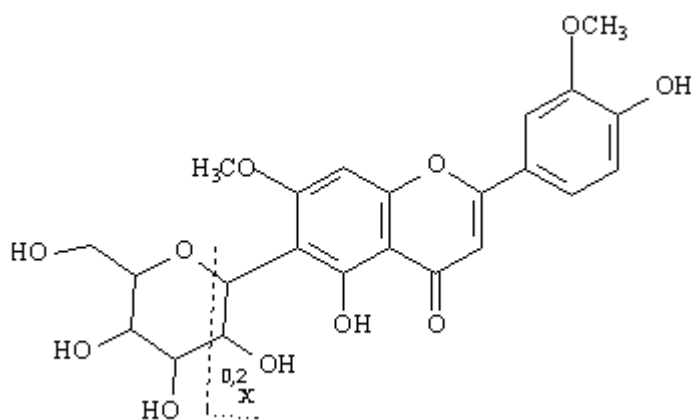


Figura 43. Proposta de fragmentação para **Sn8** baseada em CUYCKENS E CLAEYS, (2004). Onde:  $^{0,2}X = [M - H - 120]^-$ .

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  foram observados sinais na região aromática referentes ao esqueleto de flavonóide. Observou-se dois dubletos em  $\delta$  6,96 ( $J = 8,0$ , H5'), em  $\delta$  7,59 ( $J = 2,0$ , H2') um duplo dubleto em  $\delta$  7,54 ( $J = 2,5$  e  $8,5$ , H6') e dois singletos, um em  $\delta$  6,93 (H3) e outro em  $\delta$  6,86 (H8) (Tabela 10) (Figura 95 e 96). Observou-se a presença de um singlete em  $\delta$  3,90 (6H), de um grupo metoxila.

A presença de uma unidade de açúcar foi verificada devido à presença de um sinal em  $\delta$  4,59 de  $J = 10,0$ , que corresponde ao hidrogênio anomérico ( $H1''$ ).

Através do espectro *g*HMBC (Figura 101 e 102), foi possível atribuir as posições das metoxilas, pois observou-se a correlação do sinal em  $\delta$  3,90 (metoxila) com os sinais de carbono em  $\delta$  147,9 ( $C3'$ ) e em  $\delta$  163,9 ( $C7$ ). Essas posições foram confirmadas pelos dados do espectro NOESY 1D (Figura 104 e 105), que apresenta a correlação com o sinal em  $\delta$  3,90 com os sinais em  $\delta$  6,86 ( $H8$ ) e em  $\delta$  7,59 ( $H2'$ ).

Através de irradiações seletivas via HOMODEC (desacoplamento homonuclear) foi evidenciado que os sinais em  $\delta$  6,86 e  $\delta$  6,96 são singletos, pois quando irradiados, os outros sinais não foram alterados (Figura 97). Isso também foi evidenciado pelos dados do espectro *g*COSY (Figura 98) e NOESY 1D.

Os dados da aglicona foram comparados com a literatura (JENSEN *et al.*, 1994; PARK *et al.*, 2006) e verificou-se que os deslocamentos correspondentes do açúcar foram semelhantes aos da substância **Sn8**.

A posição do açúcar foi determinada através da análise de correlações observadas no espectro *g*HMBC, do sinal em  $\delta$  4,59 ( $H1''$ ) com  $\delta$  109,9 ( $C6$ ),  $\delta$  160,4 ( $C5$ ) e  $\delta$  104,5 ( $C10$ ).

No espectro TOCSY 1D (Figura 68), foi observada a correlação do sinal em  $\delta$  4,59 com os sinais em  $\delta$  3,14;  $\delta$  3,16;  $\delta$  3,98;  $\delta$  3,41 e 3,44, indicando tratar-se de uma glicose.

Portanto a estrutura de **Sn8** foi determinada como sendo 3',7-dimetoxiluteolina-6-*C*- $\beta$ -D-glicopiranosideo ou 4',5-diidroxi-3',7-dimetoxi-6-*C*-glicopiranosilflavona (Figura 44).

Esta substância foi pela primeira vez isolada de *Achillea credita* (VALANT *et al.*, 1980). Os dados de RMN desta substância não estão disponíveis na literatura.

**Tabela 10.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **Sn8** (11,7 T,  $\text{DMSO}-d_6$ )

| <b>Sn8</b>          |                            |                   |
|---------------------|----------------------------|-------------------|
| Posição             | $^1\text{H}$ (ppm), J (Hz) | $^{13}\text{C}^*$ |
| 2                   |                            | 164,0             |
| 3                   | 6,93 s                     | 103,0             |
| 4                   |                            | **                |
| 5                   | 12,76 s                    | 160,4             |
| 6                   |                            | 109,9             |
| 7                   |                            | 163,9             |
| 8                   | 6,86 s                     | 90,5              |
| 9                   |                            | 156,8             |
| 10                  |                            | 104,5             |
| 1'                  |                            | 121,6             |
| 2'                  | 7,59 d (2,0)               | 110,1             |
| 3'                  |                            | 147,9             |
| 4'                  |                            | 150,8             |
| 5'                  | 6,96 d (8,0)               | 115,6             |
| 6'                  | 7,61 dd (2,0; 8,0)         | 120,7             |
| 3'-OCH <sub>3</sub> | 3,90 s                     | 56,0              |
| 7-OCH <sub>3</sub>  | 3,90 s                     | 56,0              |
| 1''                 | 4,59 d (10,0)              | 72,8              |
| 2''                 | 3,14 dd(9,0;9,0)           | 69,8              |
| 3''                 | 3,16 dd(9,0;9,0)           | 79,8              |
| 4''                 | 3,98 (9,0)                 | 71,4              |
| 5''                 | 3,18 m                     | 81,9              |
| 6''                 | 3,41 (4,5; 12,0)           | 61,4              |
|                     | 3,44 (5,0;12,0)            |                   |

\*Dados obtidos a partir das correlações observadas nos espectros *g*HMQC e *g*HMBC.

\*\*Dados não detectados.

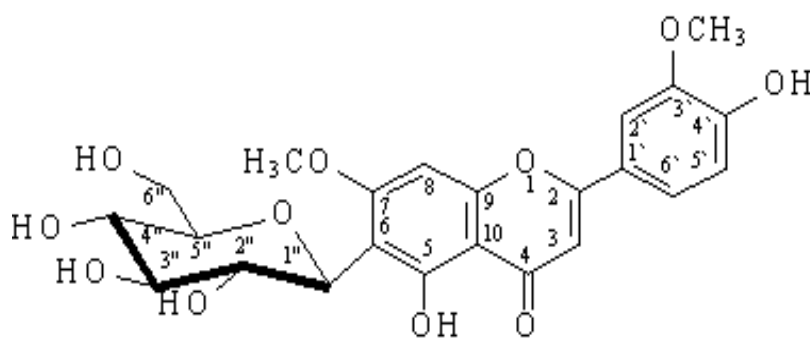


Figura 44. Estrutura química de **Sn8**.

#### 4.7.9. Elucidação estrutural de Sn9

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  foram detectados um dubleto em  $\delta$  6,87 de  $J = 8,0$  ( $\text{H5}'$ ), um dubleto em  $\delta$  7,37 de  $J = 2,5$  ( $\text{H2}'$ ) e um duplo dubleto em  $\delta$  7,38 de  $J = 2,0$  e  $8,0$  ( $\text{H6}'$ ). Observou-se um singlete em  $\delta$  6,61 ( $\text{H3}$ ) e outro em  $\delta$  6,53 ( $\text{H8}$ ) (Tabela 10, Figura 106 e 107). Devido à ausência do sinal de  $\text{H6}$ , em torno de  $\delta$  6,18, pode-se propor a inserção de uma hidroxila nessa posição.

Os dados observados nos espectros bidimensionais (*g*HMQC e *g*HMBC) (Tabela 10) (Figuras 109, 110, 111, 112 e 113) possibilitaram a atribuição dos hidrogênios e carbonos. Observa-se ainda que quando a posição 6 da flavona não é oxigenada (luteolina), o deslocamento químico do carbono é em  $\delta$  98,9 e quando esta posição está oxigenada, este carbono é desblindado, e o sinal do carbono é alterado para  $\delta$  129,4, confirmando portanto a oxigenação na posição 6.

Através da análise do espectro *g*HMQC foi possível atribuir os sinais de hidrogênios em  $\delta$  6,61 ( $\text{H3}$ ),  $\delta$  6,53 ( $\text{H8}$ ),  $\delta$  7,37 ( $\text{H2}'$ ),  $\delta$  6,87 ( $\text{H5}'$ ) e em  $\delta$  7,38 ( $\text{H6}'$ ) com os sinais de carbono em  $\delta$  101,9,  $\delta$  93,4,  $\delta$  112,9,  $\delta$  115,8 e  $\delta$  118,6, respectivamente.

Pelo espectro *g*HMBC, foi possível observar as correlações entre o sinal em  $\delta$  6,53 ( $\text{H8}$ ) com os sinais de carbono em  $\delta$  104,2 ( $\text{H10}$ ),  $\delta$  129,4 ( $\text{C6}$ ) e  $\delta$  152,7 ( $\text{C9}$ ). No espectro *g*COSY (Figura 108) observou-se a correlação entre os sinais em  $\delta$  6,87 ( $\text{H5}'$ ) e  $\delta$  7,38 ( $\text{H6}'$ ), confirmando o acoplamento em *orto*.

Esses dados, comparados com a literatura, permitiram identificar **Sn9** como a 6-hidroxi-luteolina (Figura 45).

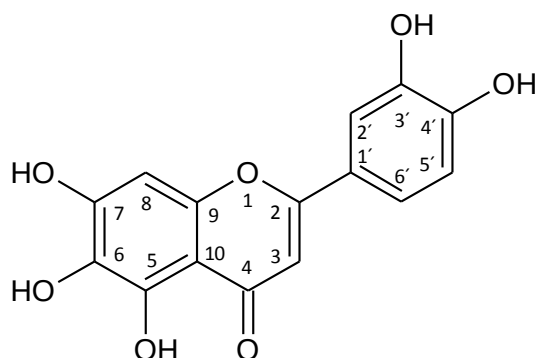
**Tabela 11.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **Sn9** (11,7 T, DMSO- $d_6$ )

| Posição | <b>Sn9</b>         |                      | <b>Sn10 (Luteolina)*</b> |                 |
|---------|--------------------|----------------------|--------------------------|-----------------|
|         | $^1\text{H}$ (ppm) | $^{13}\text{C}^{**}$ | $^1\text{H}$ (ppm)       | $^{13}\text{C}$ |
| 2       |                    | 164,1                |                          | 164,0           |
| 3       | 6,61 s             | 101,9                | 6,65 s                   | 102,6           |
| 4       |                    | 181,5                |                          | 181,4           |
| 5       | 12,76 s (OH)       | ***                  |                          | 161,5           |
| 6       |                    | 129,4                | 6,18 d (2,0)             | 98,6            |
| 7       |                    | 149,9                |                          | 164,0           |
| 8       | 6,53 s             | 93,4                 | 6,44 d (2,0)             | 93,8            |
| 9       |                    | 152,7                |                          | 155,2           |
| 10      |                    | 104,2                |                          | 103,6           |
| 1'      |                    | 121,9                |                          | 121,3           |
| 2'      | 7,37 d (2,5)       | 112,9                | 7,38 d (2,0)             | 112,9           |
| 3'      |                    | 145,8                |                          | 146,0           |
| 4'      |                    | 149,4                |                          | 149,7           |
| 5'      | 6,87 d (8,0)       | 115,8                | 6,88 d (8,0)             | 113,7           |
| 6'      | 7,38 dd (2,0; 8,0) | 118,6                | 7,40 dd (2,5; 8,0)       | 118,7           |

\* DMSO- $d_6$ , 11,7 T.

\*\*Dados obtidos a partir das correlações observadas nos experimentos gHMQC e gHMBC.

\*\*\* Sinais não detectados.

Figura 45. Estrutura química de **Sn9**.

Até o momento, da família Eriocaulaceae foram isolados predominantemente flavonoides e naftopiranonas (VILEGAS *et al.*, 1990, 1999a, 1999b, ANDRADE *et al.*, 1999, SANTOS *et al.*, 1999, COELHO *et al.* 2000).

Na literatura, as substâncias relatadas para o gênero *Syngonanthus* são, em sua maioria, flavonas (derivados O- e C-glicosilados da luteolina) (RICCI *et al.*, 1996, SALATINO *et al.*, 2000). Essa informação é coerente com a presença da luteolina e seus derivados glicosilados em *S. nitens*.

*Syngonanthus* é considerado um gênero próximo de *Leiothrix* (GIULIETTI *et al.*, 2000), pois ambos são caracterizados pela presença de flavonas e ausência de flavonóis (DOKKEDAL E SALATINO, 1992, RICCI *et al.*, 1996; SALATINO *et al.*, 2000).

A presença de derivados C-glicosilados da luteolina é de grande importância taxonômica (GORNALL *et al.*, 1979) visto que esse tipo de composto já foi isolado de diversas espécies de *Syngonanthus* (RICCI *et al.*, 1996; SALATINO *et al.*, 2000, COELHO *et al.*, 2006).

A presença de xantonas é uma informação que pode contribuir significativamente para aproximar os gêneros *Syngonanthus* e *Leiothrix*, pois xantonas são descritas, até o momento, somente em espécies de *Leiothrix* (SANTOS *et al.*, 2001).

Em trabalhos anteriores, SANTOS *et al.*, (2001) discute que a presença de xantonas diferenciava o gênero *Leiothrix* de *Syngonanthus*, pois as xantonas eram ausentes em *Syngonanthus* enquanto que flavonas era uma característica marcante, utilizada para definir o clado *Leiothrix-Syngonanthus*.

Neste trabalho, foram isoladas cinco xantonas inéditas no gênero *Syngonanthus*, com padrão de oxigenação diferente das xantonas isoladas de *Leiothrix*, que possuem um grupo carboximetoxi (COOCH<sub>3</sub>) na posição 8 (SANTOS *et al.*, 2001). Atualmente, estes gêneros são considerados grupos irmãos e tem como caráter classificatório somente a presença de flavonas (DOKKEDAL *et al.*, 1992, GIULIETTI *et al.*, 2000). Portanto, essa nova informação auxilia no estabelecimento de relações quimiotaxonômicas entre esses dois gêneros.

## 5. Atividade biológica

### 5. 1. Avaliação da atividade antiúlcera

Os ensaios da atividade antiúlcera foram realizados pelo grupo de pesquisa da Profa. Dra. Clelia Akiko Hiruma Lima, pesquisadora do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu.

Nesses ensaios foram utilizados camundongos Swiss albinos, machos e fêmeas (25-40 g) e ratos Wistar machos (150 a 200 g) provenientes do Biotério Central da UNESP-Botucatu. Os animais foram aclimatados às condições do biotério setorial por pelo menos sete dias antes da manipulação experimental, sob temperatura controlada ( $23 \pm 2^\circ \text{C}$ ) e ciclo claro-escuro de 12 horas. Os animais foram alimentados com ração comercial e água *ad libitum*.

Todos os experimentos foram executados de acordo com protocolos aprovados previamente pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEAA), do Instituto de Biociências da UNESP – Botucatu (Protocolo número 18/05 CEEA). O número de animais por grupo experimental variou de 5 a 10. Os resultados foram expressos na forma de média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) dos parâmetros obtidos. Os valores médios obtidos foram submetidos à análise de variância - ANOVA, seguido pelo teste à posteriori de Dunnett em experimentos com mais de dois grupos de tratamento. O teste *t* de Student foi utilizado para a análise estatística de diferenças existentes entre dois grupos de tratamento. Foi considerado como nível de significância mínima  $p < 0,01$ .

#### Etanol absoluto (MORIMOTO *et al.*, 1991)

Este modelo consiste na destruição da barreira mucoprotetora e redução do fluxo sanguíneo da mucosa gástrica. Foram utilizados ratos submetidos a jejum prévio de 24 horas.

Os animais foram tratados oralmente por gavagem, com carbenoxolona  $100,0 \text{ mg kg}^{-1}$  (controle positivo), solução salina 0,9% ou Tween 80 a 8% no volume de  $10,0 \text{ mL kg}^{-1}$  (controle negativo) e com os extratos metanólicos de capítulos e escapos em diversas doses de 125,0, 250,0 e  $500,0 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Decorridos 60 minutos após o tratamento, os animais receberam, também por via oral, 1,0 mL de etanol absoluto (agente indutor de lesões). Após 60 minutos do agente indutor de lesão gástrica, os animais foram mortos e o estômago retirado para mensuração das lesões.

A área de lesão ulcerativa e a porcentagem de inibição dessas lesões nos animais tratados com os extratos metanólicos, na dose de 125,0, 250,0 e 500,0 mg kg<sup>-1</sup>, foi comparada com lesões induzidas pelo etanol absoluto (Figura 40). Pode-se observar uma proteção efetiva de 51 % das lesões nos animais tratados com o extrato na dose de 500,0 mg kg<sup>-1</sup>. Esse resultado serviu como triagem para o delineamento de outros modelos de avaliação de atividade antiulcerogênica para os mesmos extratos.

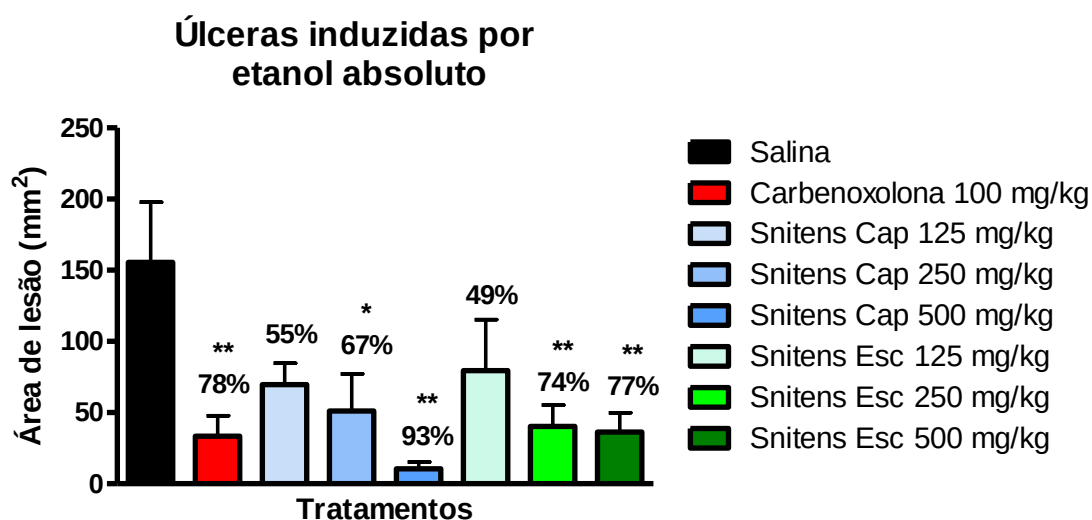


**Figura 46.** Efeito do extrato metanólico de capítulos e escapos de *Syngonanthus nitens* sobre a lesão ulcerativa induzida por etanol absoluto. Resultados expressos na forma de média  $\pm$  E.P.M. (n: 5) da área de lesão e na forma de porcentagem de proteção. Anova – Dunnett \*\*  $p < 0,01$ .

Os resultados indicam que ambos os extratos possuem atividade gastroprotetora em relação à lesão induzida por etanol absoluto. Na dose de 500,0 mg kg<sup>-1</sup>, o extrato metanólico de capítulos provocou 93 % de inibição da área da lesão e o extrato metanólico de escapos apresentou 77 %. A dose de 500,0 mg kg<sup>-1</sup> do extrato de capítulos de *S. nitens* foi a que proporcionou melhor atividade gastroprotetora comparativamente à carbenoxolona, usada como referencial. Sugere-se que novos experimentos sejam realizados para elucidação dos mecanismos de ação envolvidos em tal efeito farmacológico.

Outras espécies do gênero *Syngonanthus* já foram testadas em relação à sua atividade antiulcerogênica, obtendo-se resultados positivos. Em *Syngonanthus bisulcatus* a atividade gastroprotetora foi atribuída à presença de flavonoides no extrato etanólico e frações (COELHO *et al.*, 2006). A atividade de extratos de *Syngonanthus arthrotrichus* pode estar relacionada à presença de flavonoides derivados da luteolina (BATISTA *et al.*, 2004).

Relatos na literatura citam flavonóides como sendo compostos com atividade antiúlcera, provavelmente devido à sua propriedade antioxidante, que envolve a capacidade de sequestrar radicais livres e diminuir danos de injúrias causadas por reações oxidativas (LA CASA *et al.*, 2000). Devido a sua baixa toxicidade, os flavonoides podem ser utilizados no tratamento da úlcera, inclusive das lesões associadas à infecção por *Helicobacter pylori* (DI CARLO *et al.*, 1999; BORRELI, IZZO, 2000).

Existem, também, relatos de compostos que possuem um sistema catecólico como o anel B de derivados da luteolina, que apresentaram atividade antioxidante e antiúlcera (YESILADA *et al.*, 2000, COELHO *et al.*, 2006).

## 5. 2. Avaliação da mutagenicidade

Os ensaios de mutagenicidade foram realizados pelo grupo de pesquisa da Profa. Dra. Eliana Aparecida Varanda, pesquisadora da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara.

O ensaio de mutação gênica reversa utilizado foi o Teste de Ames, que baseia-se na utilização de linhagens de *Salmonella typhimurium* TA100, TA98, TA97a e TA102, pré incubadas por 20 a 30 minutos com a substância teste, com ou sem ativação metabólica (MARON E AMES, 1983).

O teste de mutagenicidade com *Salmonella typhimurium*, (*Salmonella*/microsomo ou Teste de Ames), é uma das metodologias mais utilizadas atualmente para detectar substâncias genotóxicas (VARELLA *et al.*, 2004), sendo validado em larga escala por diversos laboratórios (MORTELMANS e ZEIGER, 2000; RIBEIRO *et al.*, 2003).

Nesse ensaio são utilizadas linhagens de *Salmonella typhimurium* que, na presença do agente mutagênico, sofrem reversão do seu caráter auxotrófico para a síntese de histidina, passando a crescer em meios que não possuem este aminoácido. O crescimento das colônias revela a ocorrência de uma mutação reversa induzida pelo agente, e a contagem caracteriza a ação mutagênica em função da concentração utilizada (ZEIGER, 2001).

Foi utilizada a fração microsomal S9 homogeneizada de fígado de rato (fração pós-mitocondrial), suplementada com um co-fator, preparada a partir de fígado de roedores tratados com agentes indutores de enzimas (AROCLOR 1254). A fração S9 revela se a substância ou amostra é mutagênica em sua forma original ou necessita ser metabolizada ou ativada para se tornar mutagênica. Essa fração foi obtida da MOLTOX (Molecular Toxicology, Inc. USA). Para o preparo da mistura S9, todas as soluções (cloreto de magnésio 0,4M, cloreto de potássio 0,4 M, glicose-6-fosfato 1M,  $\beta$ -nicotinamida adenina dinucleotidofosfato 0,1 M, tampão fosfato 0,2 M pH 7,4 e água destilada) inclusive a fração S9 hidratada, foram mantidas em banho de gelo durante todo o ensaio, preparadas sempre a fresco e utilizadas por um período de no máximo 3 horas. As linhagens de *S. typhimurium* foram fornecidas pelo Dr. B. Ames, Universidade da Califórnia (BERKELEY, CA, USA).

O controle negativo foi feito com DMSO (100,0  $\mu\text{L placa}^{-1}$ ). O ensaio foi realizado incluindo controles positivos para confirmar as propriedades de reversão e especificidade de cada cepa. Foram utilizados como controle positivo em ensaios sem ativação metabólica (-S9) o 4-nitrofenilenodiamino (NPD) (10,0  $\mu\text{g placa}^{-1}$ ) para as linhagens TA98 e TA97a, azida sódica (1,25  $\mu\text{g placa}^{-1}$ ) para a linhagem TA100 e mitomicina C (0,5  $\mu\text{g placa}^{-1}$ ) para a linhagem TA102 e para os ensaios com ativação metabólica (+S9) foi usado o 2-antramino (0,125  $\mu\text{g placa}^{-1}$ ) para todas as linhagens.

Os dados de mutagenicidade foram analisados utilizando o programa estatístico Salanal. Esse programa permite avaliar o efeito dose resposta através do cálculo da análise de variância (ANOVA – teste F) entre as médias do número de revertentes nas diferentes doses testadas e o controle negativo, seguido de uma regressão linear.

O modelo do programa escolhido para a análise dos dados foi o modelo Bernstein (BERNSTEIN *et al*, 1982). A partir dos resultados obtidos, foi calculada a razão de mutagenicidade (RM) para cada dose estudada. A RM consiste na média do número de revertentes na placa teste (espontâneos + induzidos) dividida pela média do número de revertentes por placa do controle negativo.

O resultado do teste foi considerado positivo quando a razão de mutagenicidade (RM) foi maior ou igual a 2 em pelo menos uma das doses testadas, e quando houve uma relação dose resposta entre as concentrações testadas e o número de revertentes induzidos. Por sua vez, a amostra foi considerada negativa para o Teste de Ames quando a mesma não induziu aumento significativo no número de revertentes e suas RM forem todas menores que 2. Quando apenas um dos parâmetros foi atendido, considerou-se a amostra com indícios de mutagenicidade.

As concentrações do extrato metanólico dos capítulos de *S. nitens* foram 2,2; 4,4; 8,8; 17,5 e 26,3 mg placa<sup>-1</sup> na linhagem TA98. Nas linhagens TA100, TA97a e TA102, as concentrações foram 0,75; 1,5; 3,0; 6,0 e 9,0 mg placa<sup>-1</sup>.

**Tabela 12.** Atividade mutagênica expressa pela média, desvio padrão e razão de mutagenicidade (valor entre parênteses) na linhagem TA98 de *Salmonella typhimurium* exposta à várias doses do extrato metanólico de capítulos de *Syngonanthus nitens*, com (+S9) ou sem (-S9) ativação metabólica.

| Tratamento/mg placa <sup>-1</sup><br>Extrato metanólico capítulos | TA98              |                   |
|-------------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------|
|                                                                   | - S9 <sup>a</sup> | + S9 <sup>b</sup> |
| 0                                                                 | 26 ± 10           | 23 ± 1            |
| 2,2                                                               | 26 ± 5 (1,0)      | -----             |
| 4,4                                                               | 25 ± 5 (1,0)      | 19 ± 4 (0,8)      |
| 8,8                                                               | 25 ± 1 (1,1)      | 19 ± 8 (0,8)      |
| 17,5                                                              | 48 ± 8 (1,9)      | 30 ± 7 (1,3)      |
| 26,3                                                              | 18 ± 12 (0,7)     | 24 ± 5 (1,0)      |
| Controle +                                                        | 1329 ± 206        | 3189 ± 132        |

0 = controle negativo (DMSO, 100,0 µL placa<sup>-1</sup>). Controle Positivo: a) 4-nitro-O-fenilenediamina (10,0 µg placa<sup>-1</sup>); b) 2-antramina (1,25 µg placa<sup>-1</sup>).

**Tabela 13.** Atividade mutagênica expressa pela média, desvio padrão e razão de mutagenicidade (valor entre parênteses) na linhagem TA100, TA97a e TA102 de *Salmonella typhimurium* exposta à várias doses do extrato metanólico de capítulos de *Syngonanthus nitens*, com (+S9) ou sem (-S9) ativação metabólica.

| Tratamento/mg placa-1        | TA100             |                   | TA97a             |                   | TA102             |                   |
|------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Extrato metanólico capítulos | - S9 <sup>c</sup> | + S9 <sup>b</sup> | - S9 <sup>a</sup> | + S9 <sup>b</sup> | - S9 <sup>d</sup> | + S9 <sup>b</sup> |
| 0                            | 222 ± 12          | 149 ± 13          | 155 ± 19          | 217 ± 8           | 264 ± 18          | 238 ± 29          |
| 0,75                         | 253 ± 14 (1,1)    | 191 ± 13 (1,3)    | 195 ± 8 (1,3)     | 263 ± 17 (1,2)    | 237 ± 31 (0,9)    | 262 ± 64 (1,1)    |
| 1,50                         | 236 ± 18 (1,0)    | 154 ± 16 (1,0)    | 193 ± 13 (1,3)    | 233 ± 14 (1,1)    | 252 ± 22 (0,9)    | 300 ± 6 (1,3)     |
| 3,00                         | 254 ± 17 (1,1)    | 128 ± 30 (0,9)    | 182 ± 8 (1,2)     | 215 ± 10 (1,0)    | 254 ± 6 (0,9)     | 294 ± 22 (1,2)    |
| 6,00                         | 253 ± 20 (1,1)    | 149 ± 11 (1,0)    | 188 ± 9 (1,2)     | 219 ± 4 (1,0)     | 238 ± 40 (0,9)    | 326 ± 43 (1,4)    |
| 9,00                         | 298 ± 15 (1,3)    | 175 ± 29 (1,2)    | 183 ± 30 (1,2)    | 223 ± 4 (1,0)     | 198 ± 49 (0,7)    | 341 ± 9 (1,4)     |
| Controle +                   | 3740 ± 450        | 4933 ± 240        | 1444 ± 82         | 3006 ± 151        | 3135 ± 329        | 1476 ± 201        |

0 = controle negativo (DMSO, 100,0 µL placa<sup>-1</sup>). Controle positivo: a) 4-nitro-O-fenilenediamina (10,0 µg placa<sup>-1</sup>); b) 2-antramina (1,25 µg placa<sup>-1</sup>); c) azida de sódio (100 µg placa<sup>-1</sup>); d) mitomicina (0,5 µg placa<sup>-1</sup>).  $p \leq 0,05$  (ANOVA).

De acordo com os resultados (Tabelas 12 e 13), com (+S9) ou sem ativação metabólica (-S9), que caracteriza a capacidade dos extratos em induzir mutações do tipo *frameshift*, a mutagenicidade foi considerada negativa para todas as concentrações testadas em todas as linhagens. Para um material vegetal que se pretende utilizar para uso como agente terapêutico é uma vantagem não ter propriedades indesejáveis, como atividade mutagênica.

## 6. Conclusão

A abordagem interdisciplinar possibilitou uma visão mais ampla e verdadeira do estudo de plantas, tanto para o conhecimento acadêmico quanto para a obtenção de resultados sobre as atividades biológicas exercidas pelos extratos de *S. nitens*.

Não existem na literatura estudos químicos e biológicos relacionados a espécie *Syngonanthus nitens*. Através dos estudos realizados foi possível avaliar os constituintes químicos dos extratos metanólicos de capítulos e escapos de *S. nitens*. Foram isoladas e identificadas flavonas e xantonas.

Pelos resultados dos testes de atividade gastroprotetora dos extratos metanólicos de *S. nitens* verificou-se que a dose de 500,0 mg kg<sup>-1</sup> do extrato de capítulos, foi melhor que a atividade do composto usado como referencia (carbenoxolona). O extrato metanólico de capítulos não apresentou atividade mutagênica. A mutagenicidade foi considerada negativa para todas as concentrações e em todas as linhagens testadas.

Foram feitas caracterizações químicas através de análise por HPLC-DAD dos extratos metanólicos de capítulos e escapos e foi possível concluir que existem diferenças químicas entre eles. Flavonas foram encontradas em ambos os extratos e xantonas, isoladas dos extratos de capítulos. Observou-se, ainda, que capítulos e escapos coletados na região da Serra do Cipó possuem diferenças químicas quando comparados ao material coletado na região de Tocantins.

Através de cromatografia de permeação em gel, HPLC-DAD, HPLC-RI, HSCCC foram isolados os constituintes: 1,3,6-triidroxi-2-metoxixantona; 1,3,6-triidroxi-2,5-dimetoxixantona; 1,5,7-triidroxi-3,6-dimetoxixantona; 1,3,6,8-tetraidroxi-2,5-dimetoxixantona; 3,5,8-tetraiidroxi-5-metoxixantona; 7-metoxiluteolina-6-C- $\beta$ -D-glicopiranosideo, 7-metoxiluteolina-8-C- $\beta$ -D-glicopiranosideo, 3',7-dimetoxiluteolina-6-C- $\beta$ -D-glicopiranosideo, 6-hidroxiluteolina e luteolina.

A partir desses resultados e daqueles descritos na literatura é possível realizar novas discussões quimiotaxonômicas dos gêneros *de* Eriocaulaceae. Diante das novas informações infere-se agora que xantonas podem também ser uma característica marcante para aproximar ainda mais este clado.

## Referências

- AGRAWAL, P. K. **Carbon 13 NMR of flavonoids**. Amsterdam: Elsevier, 1989.
- ANDRADE, F. D. P.; SANTOS, L. C.; DOKKEDAL, A. L.; VILEGAS, W. Acyl glucosylated flavonols from *Paepalanthus* species. **Phytochemistry**, v. 51, p. 411-415, 1999.
- ANDRADE, M. J. G.; GIULIETTI, A. M.; RAPINI, A.; QUEIROZ, L. P.; CONCEIÇÃO, A. S.; ALMEIDA, P. R. M.; VAN DEN BERG, C. A comprehensive phylogenetic analysis of Eriocaulaceae: evidence from nuclear (ITS) and plastid (*psbA-trnH* and *trnL-F*) DNA sequences. **Taxon**, v. 59, n. 2, p. 379-388, 2010.
- ASTHANA, R. K.; SHARMA, N. K.; KULSHRESHTHA, D. K.; CHATTERJEE, S. K. A xanthone from *Swertia chirayita*. **Phytochemistry**, v. 30, p. 1037-1039, 1991.
- REHMAN, A. U.; MALIK, A.; RIAZ, N.; NAWAZ, H. R.; AHMAD, H.; NAWAZ, S. A.; CHOUDHARY, M. I. Lipxygenase inhibitory constituents from *Periploca aphylla*. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 1450-1454, 2004.
- BATE-SMITH, E. C.; HARBORNE, J. B. Quercetagenin and patuletin in *Eriocaulon*. **Phytochemistry**, v. 8, p. 1035-1037, 1969.
- BATISTA, L. M.; ALMEIDA, A. B. A.; PIETRO MAGRI, L.; TOMA, W.; CALVO, T. R.; VILEGAS, W.; SOUZA BRITO, A. R. M. Gastric antiulcer activity of *Syngonanthus arthrotrichus* SILVEIRA. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, p. 328-332, 2004.
- BERNSTEIN, L.; KALDOR, J.; McCANN, J.; PIKE, M. C. An empirical approach to the statistical analysis of mutagenesis data from the *Salmonella* test. **Mutation Research**, v. 97, p. 267-281, 1982.
- BORRELLI, F.; IZZO, A. A. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 581-591, 2000.
- COAN, A. I.; SCATENA, V. L.; GIULIETTI, A. M. Anatomia de algumas espécies aquáticas de Eriocaulaceae brasileiras. **Acta Botanica Brasílica**, v. 16, p. 371-384, 2002.
- COELHO, R. G.; VILEGAS, W.; DEVIENNE, K. F.; RADDI, M. S. G. A new cytotoxic naphthopyrone dimer from *Paepalanthus bromelioides*. **Fitoterapia**, v. 71, p. 497-500, 2000.
- COELHO, R. G.; BATISTA, L. M.; SANTOS, L. C.; SOUZA BRITO, A. R. M.; VILEGAS, W. Phytochemical study and antiulcerogenic activity of *Syngonanthus bisulcatus* (Eriocaulaceae). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 413-417, 2006.
- CUYCKENS, F.; CLAEYS, M. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 39, p. 1-5, 2004.

DEVIIENNE, K. F.; RADDI, M. S. G.; COELHO, R. G.; VILEGAS, W. Structure antimicrobial activity of some natural isocoumarins and their analogues.

**Phytomedicine**, v. 12, p. 378-381, 2005.

DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sciences**, v. 64, p. 337-353, 1999.

DOKKEDAL, A. L.; SALATINO, A. Flavonoids of brazilian species of *Leiothrix* (*Eriocaulaceae*). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 20, p. 31-32, 1992.

DOKKEDAL, A. L.; SANO, P. T.; VILEGAS, W. Chemistry in *Paepalanthus* and taxonomic implications. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, p. 503-504, 2004.

DOKKEDAL, A. L.; LAVARDA, F.; SANTOS, L. C.; VILEGAS, W. Xeractinol - a new flavanonol C-glucoside from *Paepalanthus argenteus* var. *argenteus* (Bongard) Hensold (*Eriocaulaceae*). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 437-439, 2007.

DREYER, D. L. Extractives of *Polygala macradenia* (*Polygalaceae*). **Tetrahedron**, v. 25, p. 4415-4420, 1969.

FIGUEIREDO, I. B. **Efeito do fogo em populações de capim dourado (*Syngonanthus nitens* Eriocaulaceae) no Jalapão, TO**. 2007. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

GHOSAL, S.; BISWAS, K.; CHAUDHURI, R. K. Chemical constituents of Gentianaceae. Part 22. Structures of new 1,3,5-tri- and 1,3,5,6,7-penta-oxygenated xanthones of *Canscora decussata* Schult. **Journal of the Chemical Society**, v.14, p. 1597-1601, 1977.

GIULIETTI, A. M.; MENEZES, N. L.; PIRANI, J. R.; MEGURO, M.; WANDERLEY, M. G. L. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: caracterização e lista das espécies. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 9, p. 1-151, 1987.

GIULIETTI, N.; GIULIETTI, A. M.; PIRANI, J. R.; MENEZES, N. L. Estudo de sempre-vivas: importância econômica do extrativismo em Minas Gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 1, p. 179-193, 1988.

GIULIETTI, A. M.; WANDERLEY, M. G. L.; WAGNER, H. M. L.; PIRANI, J. R.; PARRA, L. R. Estudos em “Sempre-Vivas”: taxonomia com ênfase nas espécies de Minas Gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 10, p. 329-353, 1996.

GIULIETTI, A. M. **Análise crítica da evolução da morfologia e da sistemática das Eriocaulaceae**. 1997. 161 f. Tese (Titular em Sistemática de Vegetais Superiores) – Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 1997.

GIULIETTI, A. M. ; SCATENA, V. L. ; SANO, P. T. ; PARRA, L. R. ; QUEIROZ, L. P. ; HARLEY, R. M. ; MENEZES, N. L. ; YSEPON, A. M. B. ; SALATINO, A. ; SALATINO, M. L. ; VILEGAS, W. ; SANTOS, L. C. ; RICCI, C. V. ; BONFIM, M. C. P. ; MIRANDA, E. B. Multidisciplinary studies of Neotropical Eriocaulaceae. In: WILSON, K. L.; MORRISON, D. A. (Ed.). **Monocots: systematics and evolution**. Meulbourne: CSIRO, 2000. v. 1, p. 580-589.

GORNALL, R. J.; BOHN, B. A.; DAHLGREN, R. M. T. The distribution of flavonoid in the angiosperms. **Botaniska Notiser**, v.132, p. 1-30, 1979.

GRECA, M. D.; FERRARA, M.; FIORENTINO, A.; MONACO, P.; PREVITERA, L. Antialgal compounds from *Zantedeschia aethiopica*. **Phytochemistry**, v. 49, p. 1299-1304, 1998.

HARBORNE, J. B.; MABRY, T. J. The flavonoids: advances in Research. New York. Chapman and Hall Ltd, 1982.

HILL, R. A. Naturally occurring isocoumarins. **Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe**, v. 49, p. 1-78, 1986.

JENSEN, S.; OLSEN, C. E.; TYAGI, O. M.; BOLL, P. M.; HUSSAINI, F. A.; GUPTA, S.; BISHT, K. S.; PARMAR, V. S. Neolignans and an isoprenylated phenol from *Piper clarkii*. **Phytochemistry**, v. 36, p. 789-792, 1994.

KOMATSU, M.; TOMIMORI, T. Constituents of *Swertia japonica*: isolation and structure of new flavonoids, swertisin and swertiajaponin. **Tetrahedron Letters**, v. 15, p. 1611-1617, 1966.

LA CASA, C.; VILLEGAS, I.; DE LA LASTRA, C. A.; MOTILVA, V.; CALERO, M. J. M. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, n. 1/2, p. 45-53, 2000.

LAZZARI, L. R. **Redelimitação e revisão de *Syngonanthus* Sect. *Eulepis* (Bong. Ex Koern.) Ruhland – Eriocaulaceae**. 2000. 153 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

LINUMA, M.; ITO, T.; TOSA, H.; TANAKA, T.; MIYAKE, R.; CHELLADURAI, V. New linear pyranoxanones from *Calophyllum apetalum*. **Heterocycles**, v. 45, p. 299-308, 1997.

MABRY, T. J.; MARKHAM, K. R.; THOMAS, M. B. **The systematic identification of flavonoids**. New York: Springer-Verlag, 1970.

MANDAL, S.; DAS, P. C.; JOSHI, P. C. Naturally-occurring xanones from *Terrestrial flora*. **Journal of the Indian Chemical Society**, v. 69, p. 611-636, 1992.

MARON, D. M.; AMES, B. N. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. **Mutation Research**, v. 113, p.173-215, 1983.

MAYWORM, M. A. S.; SALATINO, A. Flavonóides de quatro espécies de *Paepalanthus* Ruhl. (Eriocaulaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 7, p. 129-133, 1993.

MEYER, J. J.; RAKUAMBO, N. C.; HUSSEIN, A. A. Novel xanones from *Securidaca longepedunculata*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, p. 599-603, 2008.

MOREL, C.; HAY, A. E.; LITAUDON, M.; SÉVENET, T.; SÉRAPHIN, D.; BRUNETON, J.; RICHOMME, P. Thirteen new xanone derivatives from *Calophyllum caledonicum* (Clusiaceae). **Molecules**, v. 7, p. 38-50, 2002.

MORIMOTO, Y.; SHIMOHARA, K.; OSHIMA, S.; SUKAMOTO, K. Effects of the new antiulcer agent kb-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of terpenone and cimetidine. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 57, p. 495-505, 1991.

MORTELMANS, K.; ZEIGER, E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. **Mutation Research**, v. 455, n. 1/2, p. 29-60, 2000.

PARK, B. Y.; MIN, B. S.; OH, S. R.; KIM, J. H.; BAE, K. H.; LEE, H. K. Isolation of flavonoids, a biscoumarin and an amide from the flower buds of *daphne genkwa* and the evaluation of their anti-complement activity. **Phytotherapy Research**, v. 20, p. 610-613, 2006.

PARRA, L. R. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: *Syngonanthus* Ruhland (Eriocaulaceae). **Boletim de Botânica Universidade de São Paulo**, v. 17, p. 219-254, 1998.

PINHEIRO, T. R.; FILHO, V. C.; SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B.; MONACHE, F. D.; PIZZOLATTI, M. G.; YUNES, R. A. Three xanthenes from *Polygala cyparissias*. **Phytochemistry**, v. 48, p. 725-728, 1998.

RAMOS, C. O. C.; BORBA, F. L.; FUNCH, L. S. Pollination in Brazilian *Syngonanthus* (Eriocaulaceae) Species: Evidence for Entomophily instead of Anemophily. **Annals of Botany**, v. 96, p. 387-397, 2005.

RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F. S.; MARQUES, E. K. (Org.). **Mutagênese ambiental**. Canoas: Ulbra, 2003.

RICCI, C. V.; PATRÍCIO, M. C.; SALATINO, M. L.; SALATINO, A.; GIULIETTI, A. M. Flavonoids of *Syngonanthus* Ruhl. (Eriocaulaceae): taxonomic implications. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 24, p. 577-583, 1996.

RINALDO, D. **Uso sustentável da biodiversidade brasileira**: prospecção químico farmacológica de plantas superiores – *Neea theifera* Oersted (Nyctaginaceae). 2007. 84 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; SANTOS D. Y. A. C. Distribution and evolution of secondary metabolites in Eriocaulaceae, Lythraceae and Velloziaceae from “Campos Rupestres”. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 931-940, 2000.

SANTOS, L. C.; ANDRADE, F. D. P.; VASCONCELOS, E. C.; COELHO, R. G.; DOKKEDAL, A. L.; GARCIA, A. C. L.; SANO, P. T.; VILEGAS, W. Separation of flavonoids and naphthopyranones from brazilian *Paepalanthus* species by droplet countercurrent chromatography. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 2, p. 43-47, 1999.

SANTOS, L. C.; PIACENTE, S.; RICCARDIS, F.; ELETTO, A. M.; PIZZA, C.; VILEGAS, W. Xanthenes and flavonoids from *Leiothrix curvifolia* and *leiothrix flavescens*. **Phytochemistry**, v. 56, p. 853-856, 2001.

SANTOS, L. C.; PIACENTE, S.; PIZZA, C.; TORO, R.; SANO, P. T.; VILEGAS, W. 6-Methoxyquercetin-3-O-(6"-E-feruloyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside from *Paepalanthus polyanthus* (Eriocaulaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 30, p. 451-456, 2002.

SANTOS, L. C.; PIACENTE, S.; MONTORO, P.; PIZZA, C.; VILEGAS, W. Atividade antioxidante de xantonas isoladas de espécies de *Leiothrix* (Eriocaulaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 67-74, 2003.

SANTOS, L. C.; RODRIGUES, C. M.; SILVA, M. A.; COELHO, R. G.; SANNOMIYA, M.; VILEGAS, W. Chemical profile of *Eriocaulon ligulatum* (Vell.) LB Smith (Eriocaulaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, p. 1159-1166, 2005.

SCATENA, V. L. ; GIULIETTI, A. M.; BORBA, E. L.; BERG, C. V. D. Anatomy of Brazilian Eriocaulaceae: correlation with taxonomy and habitat using multivariate analyses. **Plant Systematics and Evolution**, v. 253, p. 1-22, 2005.

SCHMIDT, I. B. **Etnobotânica e ecologia populacional de *Syngonanthus nitens***: sempre viva utilizada para artesanato no Jalapão, TO. 2005. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2005.

SCHMIDT, I. B.; FIGUEIREDO, I. B.; SCARIOT, A. Ethnobotany and effects of harvesting on the population ecology of *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland (Eriocaulaceae), a NTFP from Jalapão Region, Central Brazil. **Economic Botany**, v. 61, p. 73-85, 2006.

SCHMIDT, I. B.; FIGUEIREDO, I. B.; BORGHETTI, F.; SCARIOT, A. Produção e germinação de sementes de “capim dourado”, *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland (Eriocaulaceae): implicações para o manejo. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, p. 37-42, 2007.

SILVA, J. M. C; BATES, J. M. Biogeographic pattern and conservation in South American Cerrado: a tropical savanna hotspot. **Bioscience**, v. 52, p. 225-233, 2002.

SILVA, M. A. **Estudo químico e biológico de plantas da família Eriocaulaceae**. 2008. 157 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

SILVA, M. A.; SANTOS, L. C.; OLIVEIRA, A. P. S.; SANNOMIYA, M.; SANO, P. T.; VARANDA, E. A.; VILEGAS, W. Flavonoids and a naphthopyranone from *Eriocaulon ligulatum* and their mutagenic activity. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 55, p. 1635-1639, 2007.

TAVARES, D. C.; VARANDA, E. A.; ANDRADE, F. D.; VILEGAS, W.; TAKAHASHI, C. S. Evaluation of the genotoxic potential of the isocoumarin paepalantine in vivo and in vitro mammalian systems. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 68, p. 115-120, 1999.

VALANT, K.; BESSON, E.; CHOPIN, J. Isoorientin 7,3'-dimethyl ether, a new C-glycosylflavone from *Achillea cretica*. **Phytochemistry**, v. 19, p. 156, 1980.

VARANDA, E. A.; RADDI, M. S. G.; DIAS, F. L. P.; ARAUJO, M. C. S.; GIBRAN, S. C. A.; TAKAHASHI, C. S.; VILEGAS, W. Evaluation of the genotoxic potential of the isocoumarin paepalantine in vivo and in vitro mammalian systems. **Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis**, v. 17, p. 85-95, 1997.

VARANDA, E. A.; DEVIENNE, K. F.; RADDI, M. S. G.; FURUYA, E. M.; VILEGAS, W. Mutagenicity of paepalantine dimer and glycoside derivatives from *Paepalanthus bromelioides*. **Toxicology in Vitro**, v. 18, n. 1, p. 109-114, 2004.

VARELLA, S. D.; POZETTI, G. L.; VILEGAS, W.; VARANDA, E. A. Mutagenic activity of sweepings and pigments of a household-was factory assayed with *Salmonella typhimutium*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 2029-2035, 2004.

VILEGAS, W.; ROQUE, N. F.; SALATINO, A.; GIESBRECHT, A. M.; DAVINO, S. Isocoumarin from *Paepalanthus bromelioides*. **Phytochemistry**, v. 29, p. 2299-2301, 1990.

VILEGAS, W.; DOKKEDAL, A. L.; RASTRELLI, L.; PIACENTE, S.; PIZZA, C. New naphthopyranone glycoside from *Paepalanthus vellozioides* and *latipes*. **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 746-749, 1999a.

VILEGAS, W.; NEHME, C. J.; DOKKEDAL, A. L.; PIACENTE, S.; RASTRELLI, L.; PIZZA, C. Quercetagenin 7-methyl ether glycosides from *Paepalanthus vellozioides* and *Paepalanthus latipes*. **Phytochemistry**, v. 51, p. 403-409, 1999b.

WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINSKY, E. **Plant drug analysis**. Berlin: Springer, 1984.

YESILADA, E.; TSUCHIYA, K.; TAKAISHI, Y.; KAWAZOE, K. Isolation and characterization of free radical scavenging flavonoid glycosides from the flowers of *Spartium junceum* by activity-guided fractionation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, p. 471-478, 2000.

ZEIGER, E. Mutagens that are not carcinogens: faulty theory or fault tests? **Mutation Research**, v. 492, n. 1/2, p. 29-38, 2001.

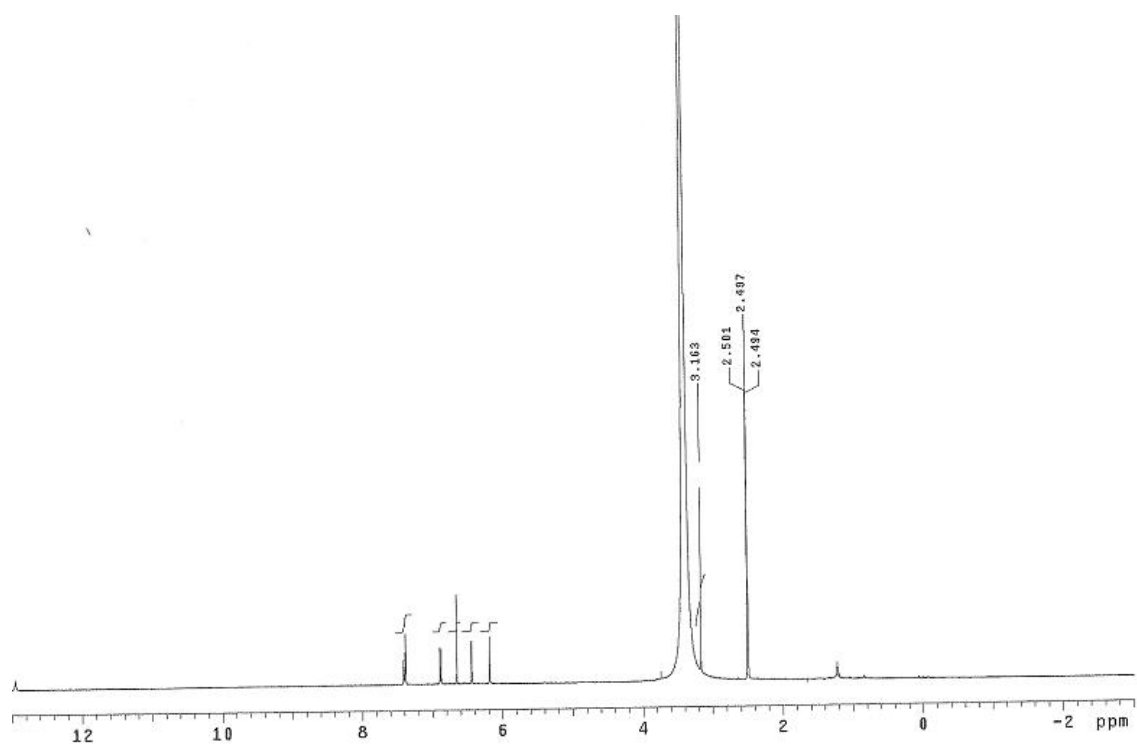


Figura 47. Espectro de RMN de H<sup>1</sup> de **Sn10** (DMSO-d<sub>6</sub>, 11,4 T).

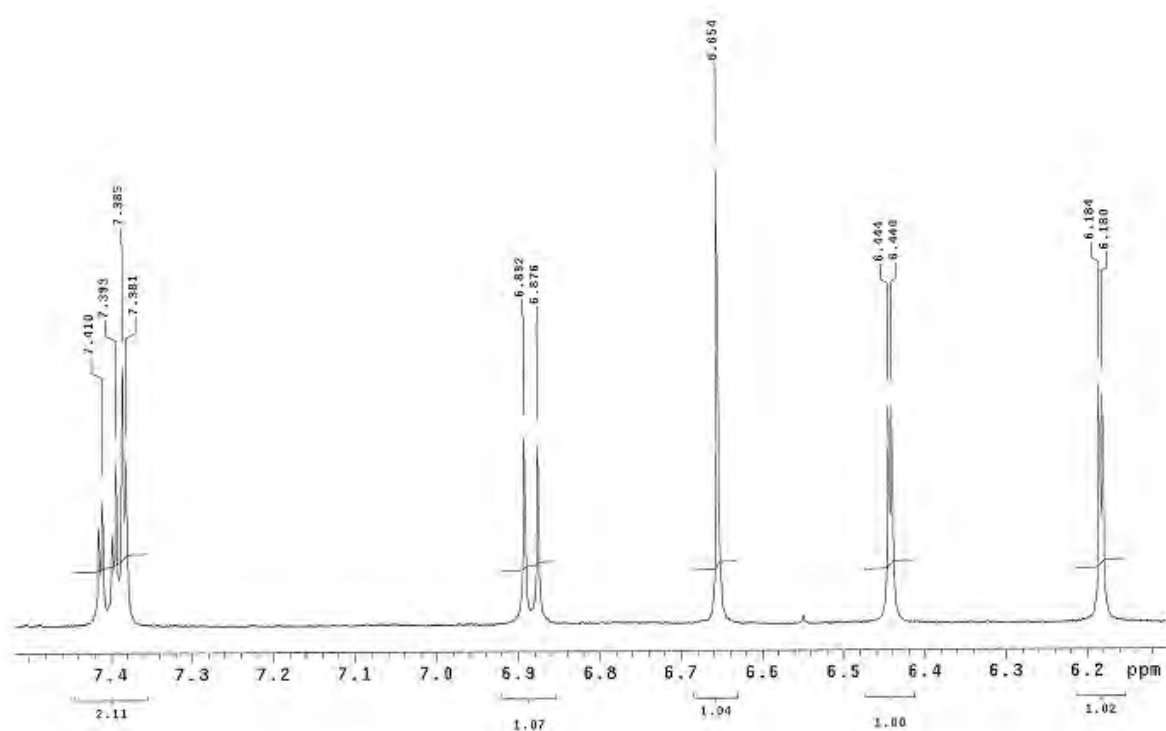


Figura 48. Espectro de RMN de H<sup>1</sup> (ampliação na região de  $\delta$  6,1 a  $\delta$  7,5) **Sn10** (DMSO-d<sub>6</sub>, 11,4 T).

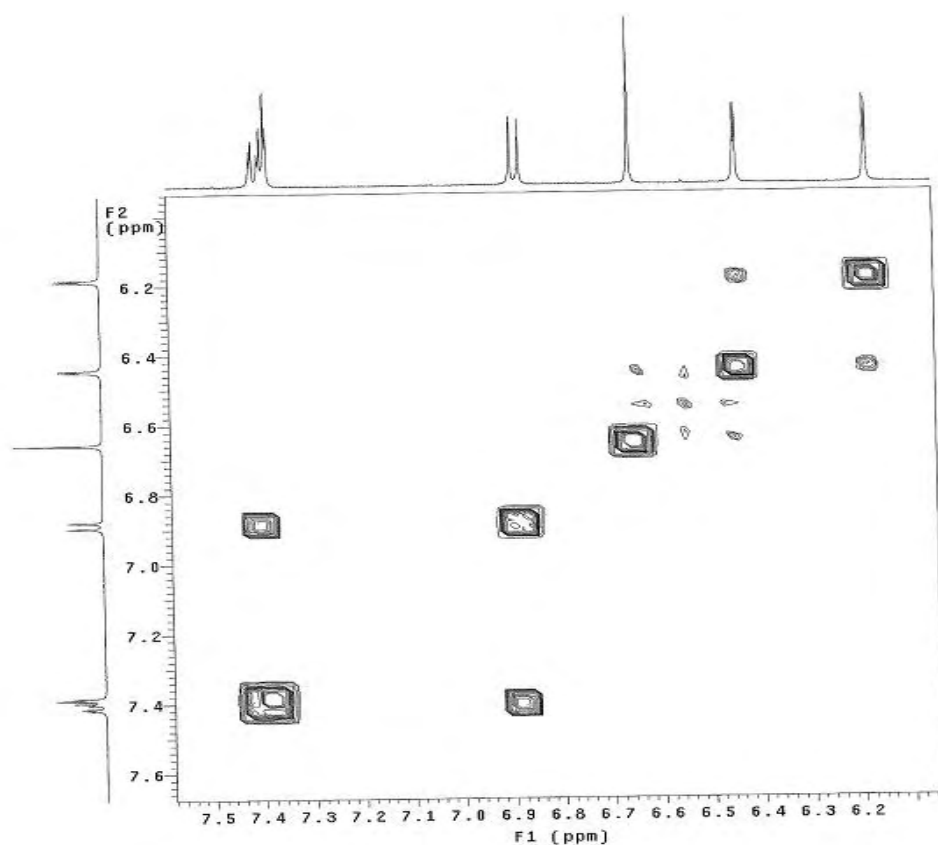


Figura 49. Espectro *g*COSY (ampliação na região de  $\delta$  6,2 a  $\delta$  7,6) de **Sn10** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

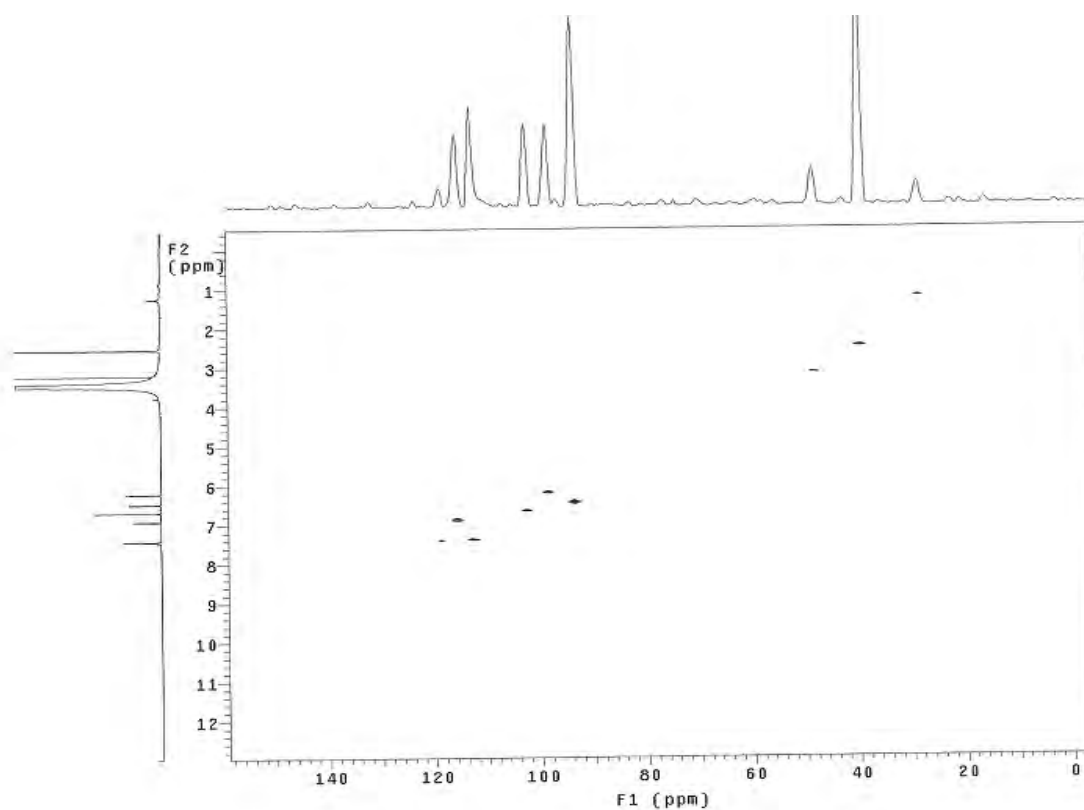


Figura 50. Espectro *g*HMQC de **Sn10** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

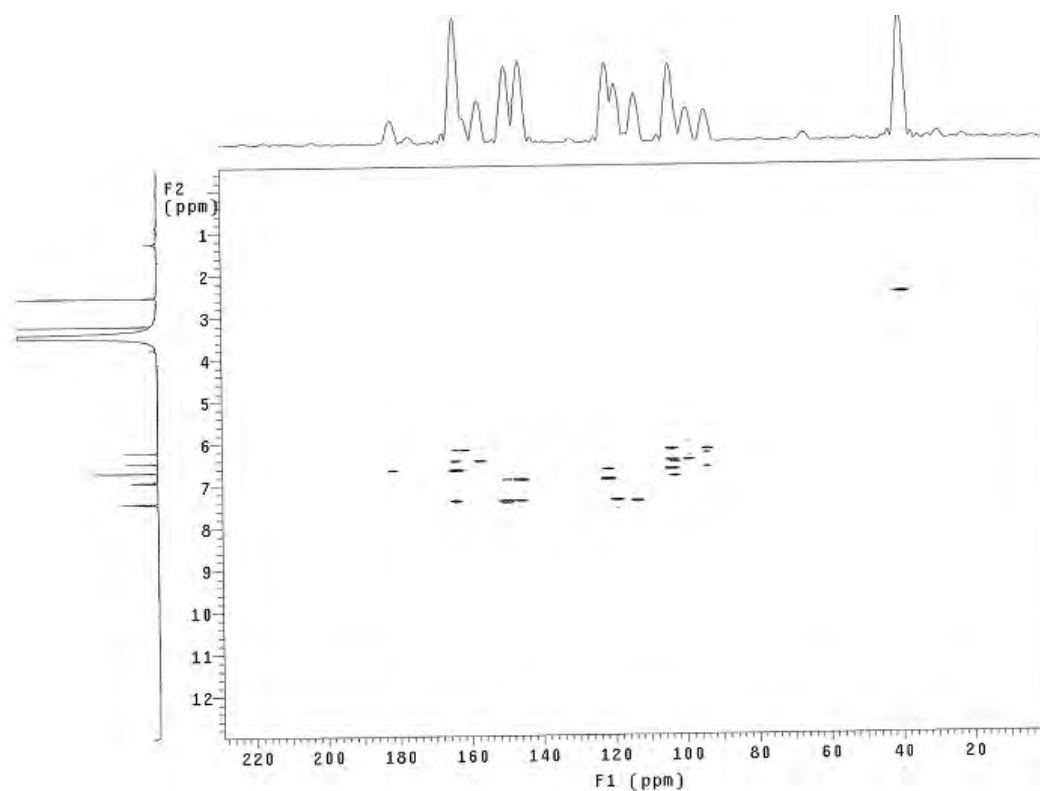


Figura 51. Espectro *g*HMBC de **Sn10** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

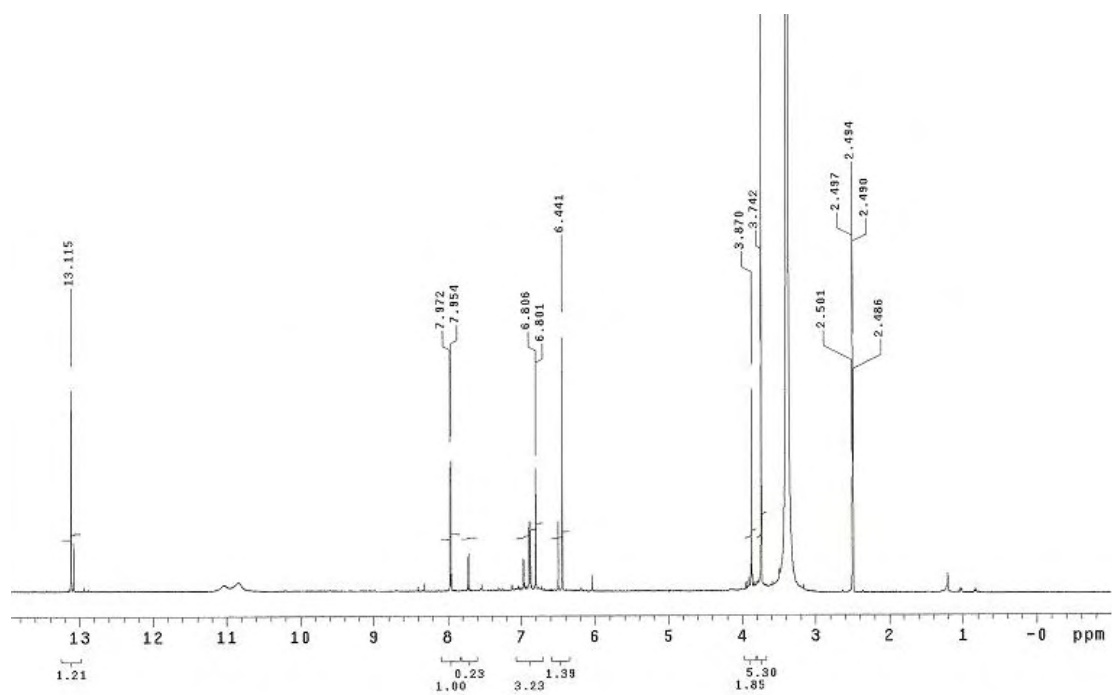


Figura 52. Espectro de RMN de  $H^1$  de **Sn2** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

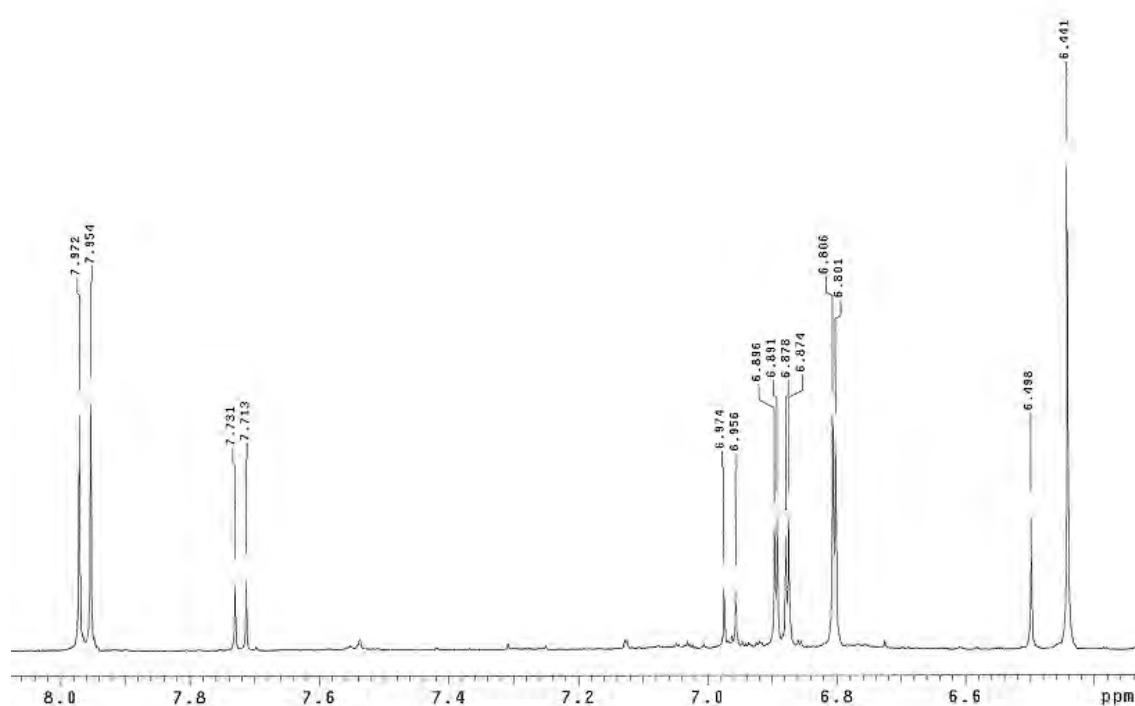


Figura 53. Espectro de RMN de  $\text{H}^1$  (ampliação na região de  $\delta$  6,4 a  $\delta$  8,0) de **Sn2** ( $\text{DMSO-d}_6$ , 11,4 T).

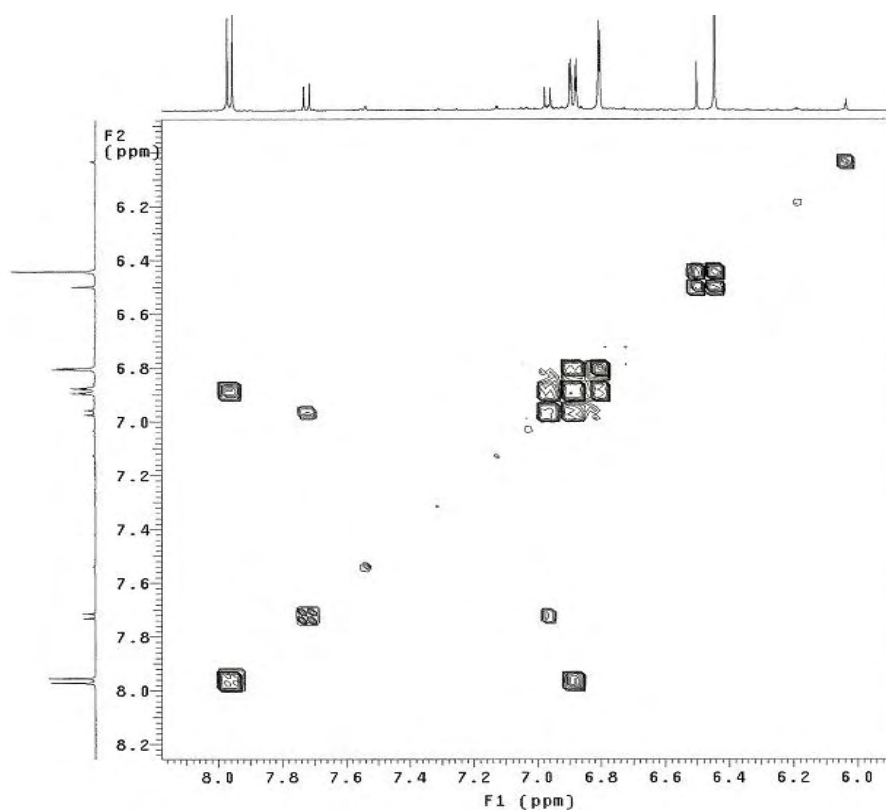


Figura 54. Espectro  $g\text{COSY}$  (ampliação na região de  $\delta$  5,9 a  $\delta$  8,0) de **Sn2** ( $\text{DMSO-d}_6$ , 11,4 T).

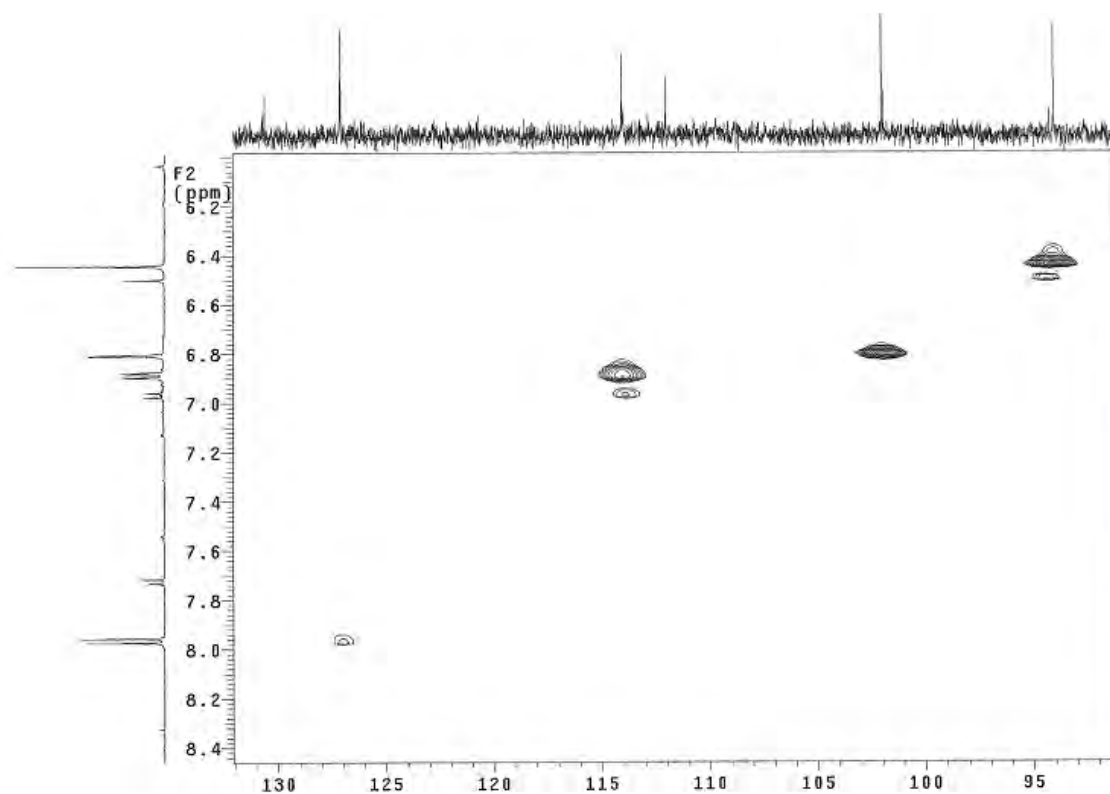


Figura 55. Espectro *g*HMQC (ampliação na região de  $\delta$  6,1 a  $\delta$  8,4) de **Sn2** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

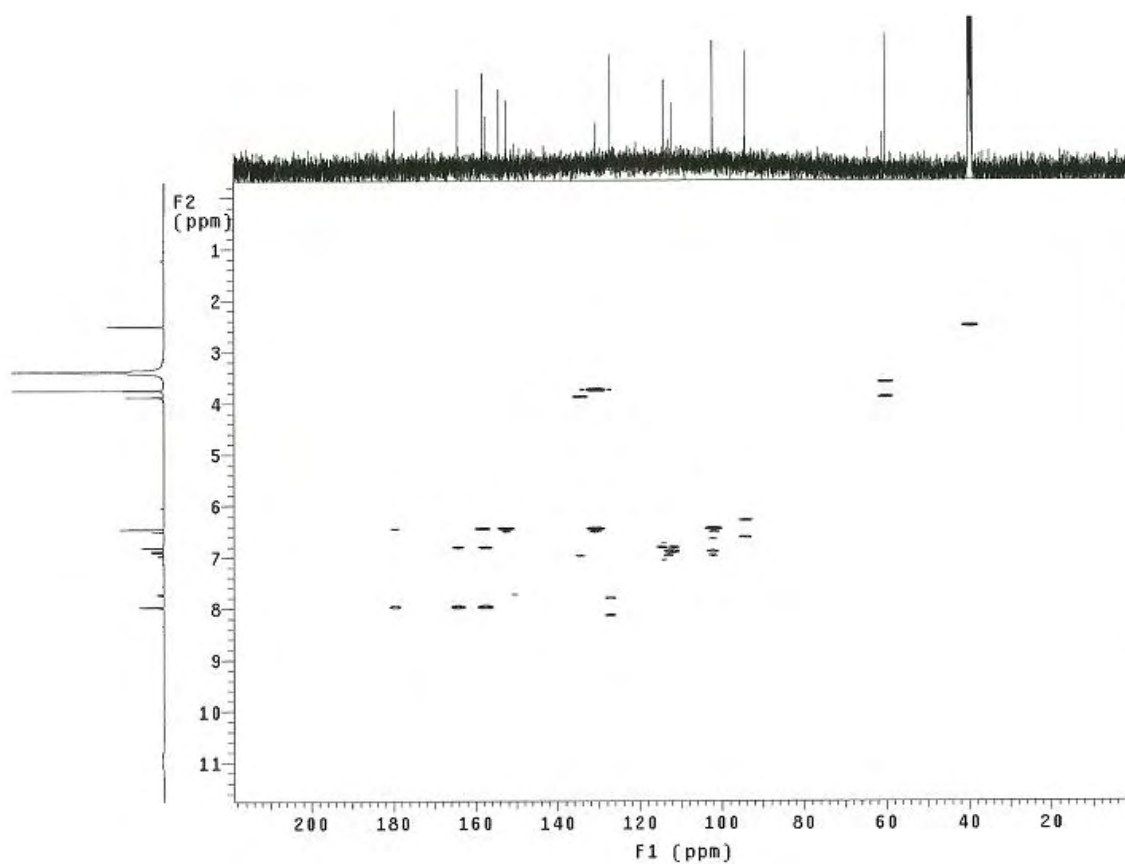


Figura 56. Espectro *g*HMBC de **Sn2** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

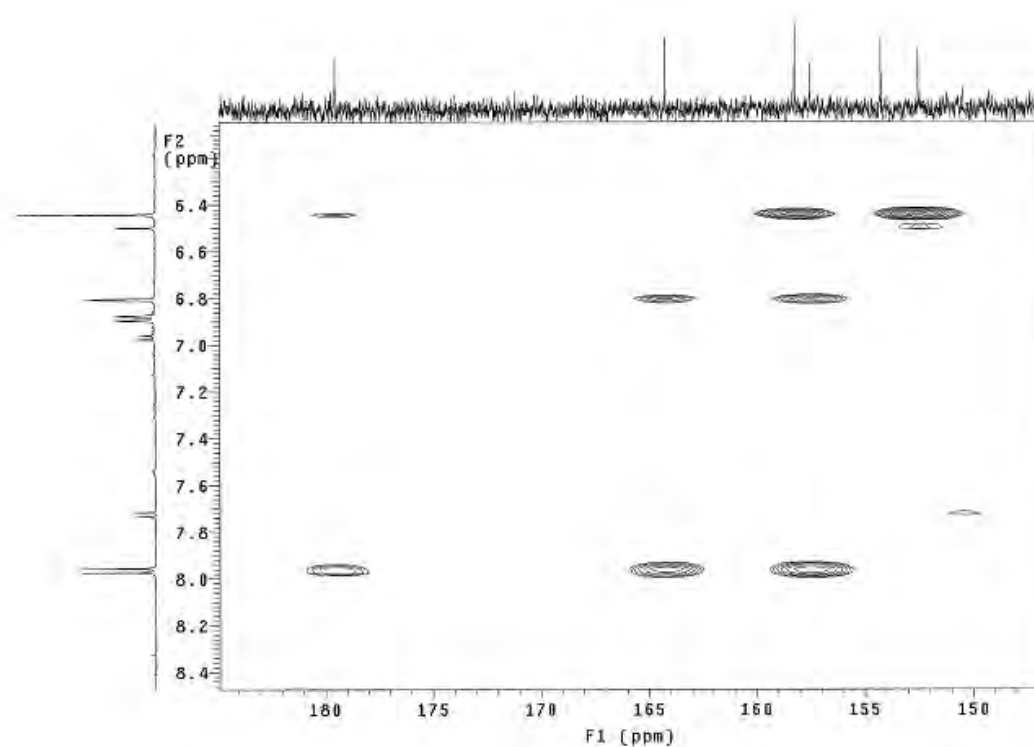


Figura 57. Espectro *g*HMBC (ampliação na região de  $\delta$  6,0 a  $\delta$  8,4) de **Sn2** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

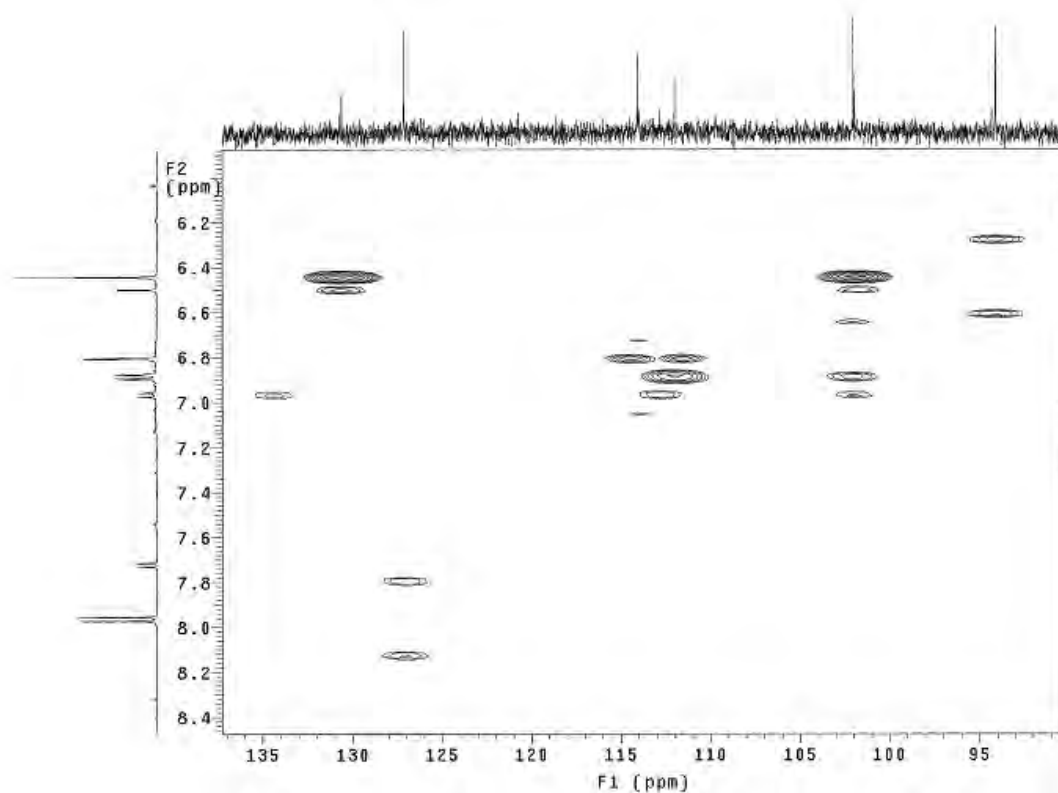


Figura 58. Espectro *g*HMBC (ampliação na região de  $\delta$  6,0 a  $\delta$  8,4) de **Sn2** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

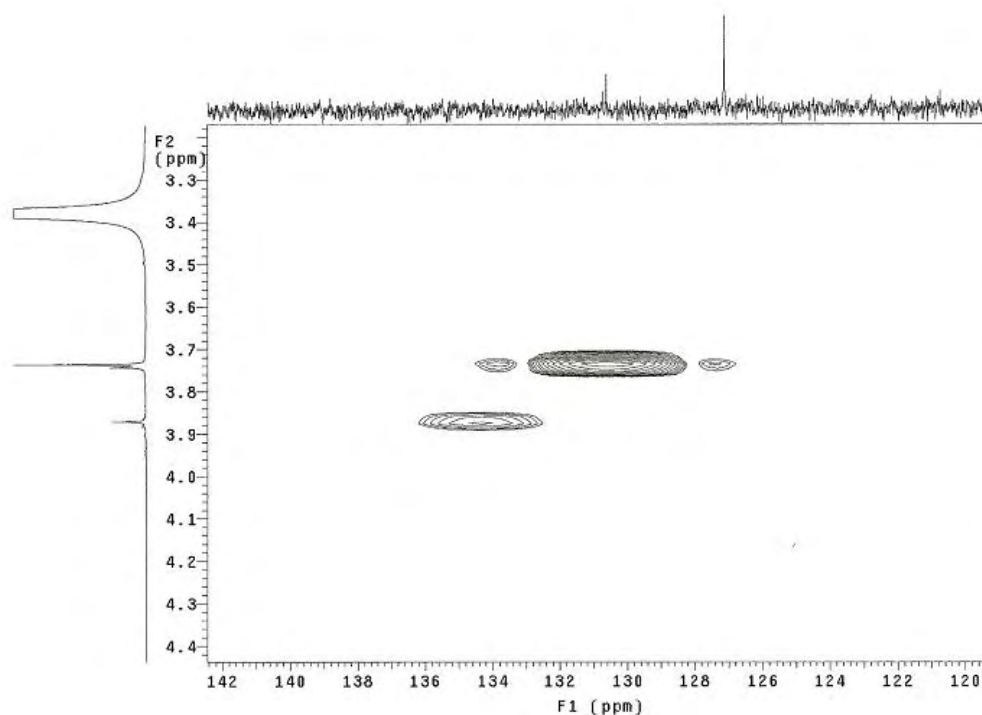


Figura 59. Espectro gHMBC (ampliação na região de  $\delta$  3,2 a  $\delta$  4,4) de **Sn2** (DMSO- $\text{d}_6$ , 11,4 T).

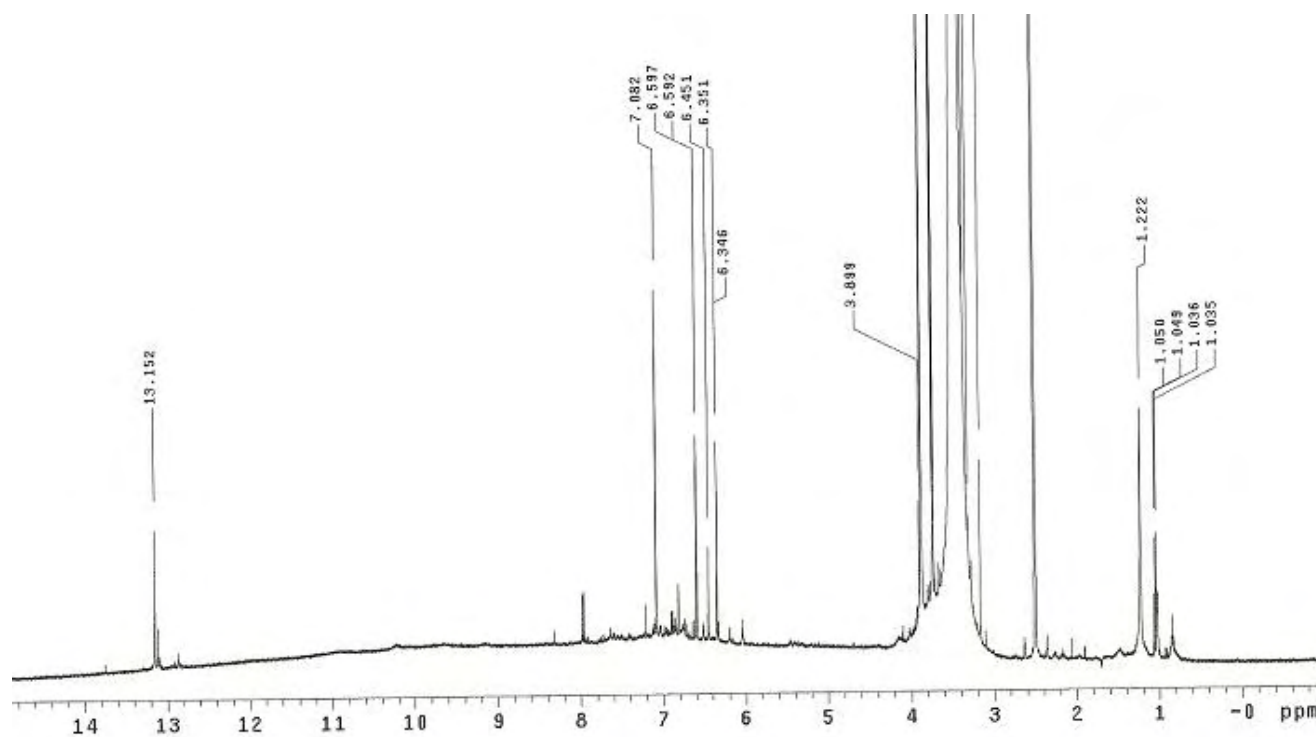


Figura 60. Espectro de RMN de  $\text{H}^1$  de **Sn3** (DMSO- $\text{d}_6$ , 11,4 T).

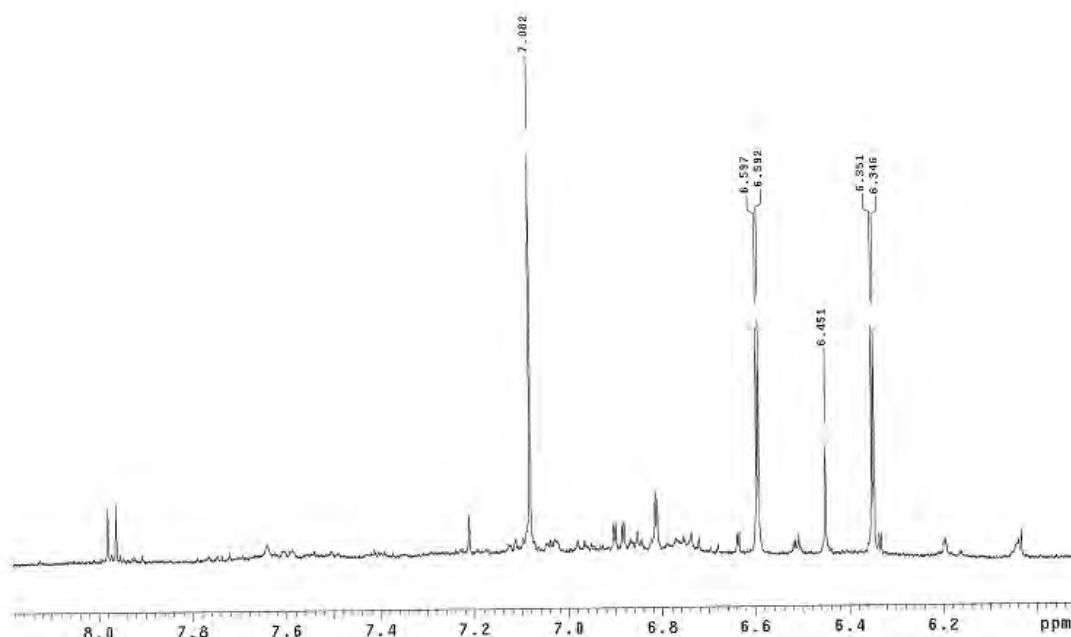


Figura 61. Espectro de RMN de  $H^1$  (ampliação na região de  $\delta$  6,1 a  $\delta$  8,1) de **Sn3** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

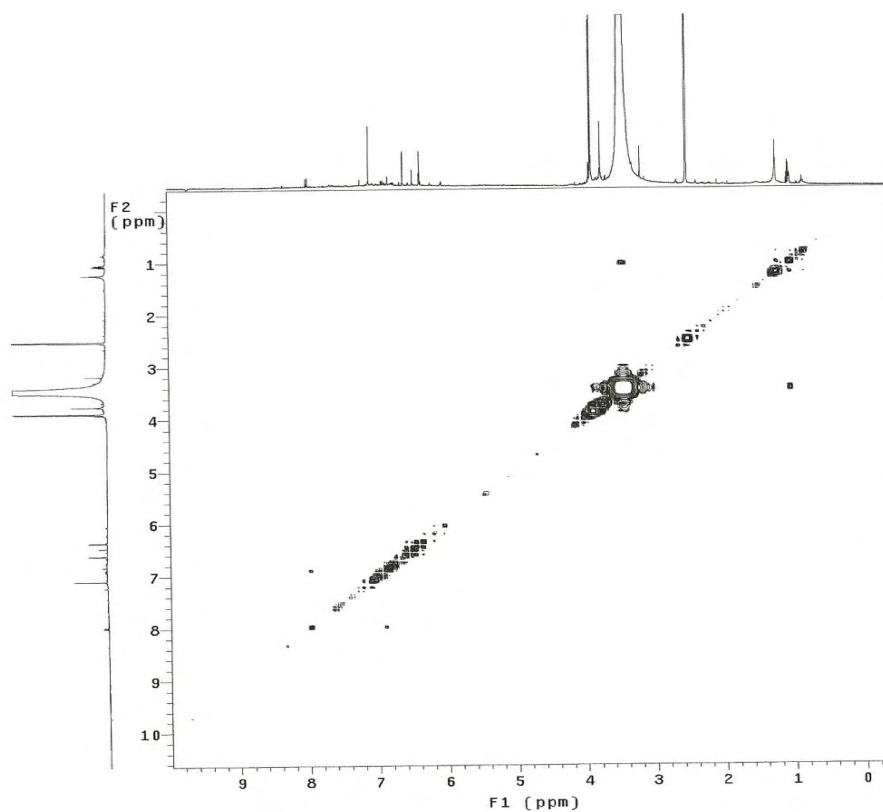


Figura 62. Espectro *g*COSY de **Sn3** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

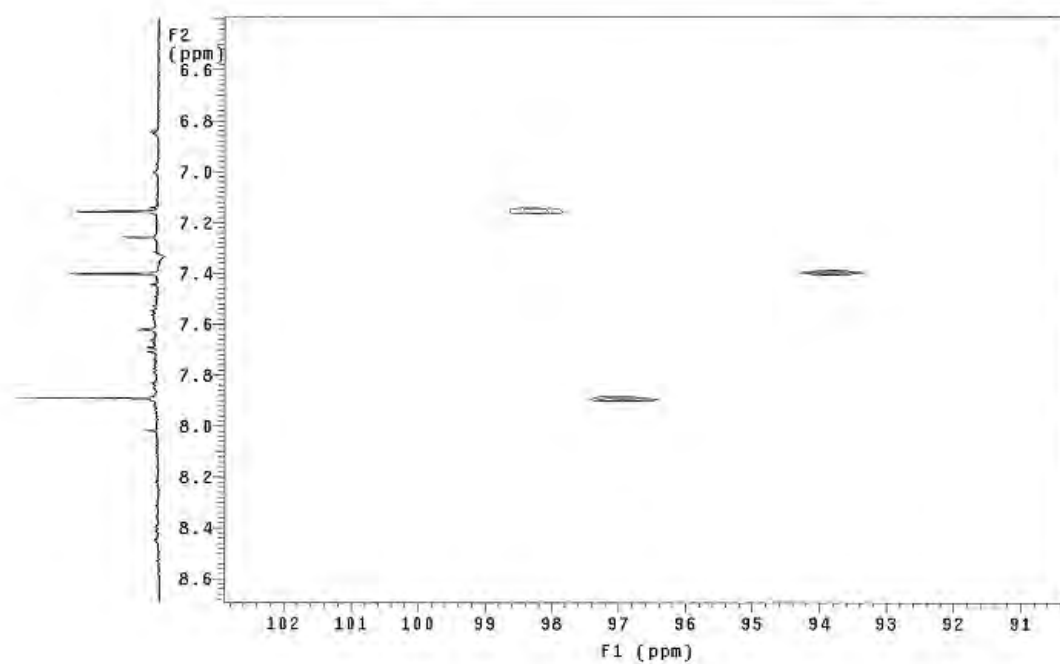


Figura 63. Espectro gHMQC (ampliação na região de  $\delta$  6,5 a  $\delta$  8,6) de **Sn3** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

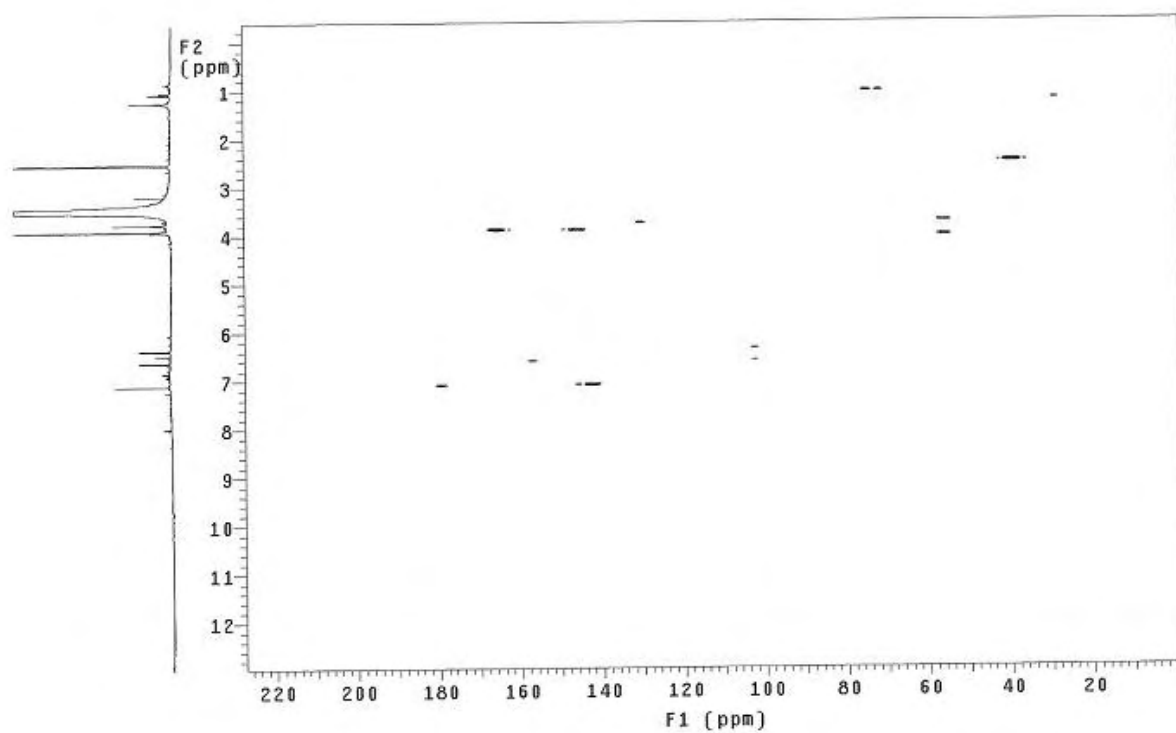


Figura 64. Espectro gHMBC de **Sn3** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

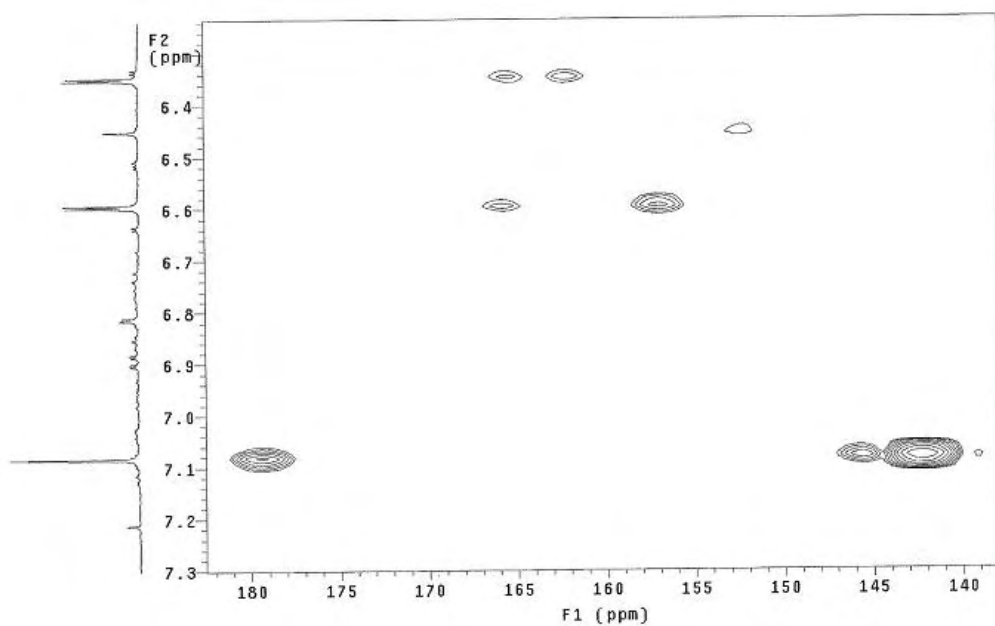


Figura 65. Espectro *g*HMBC (ampliação na região de  $\delta$  6,3 a  $\delta$  7,3) de **Sn3** (DMSO-d<sub>6</sub>, 11,4 T).

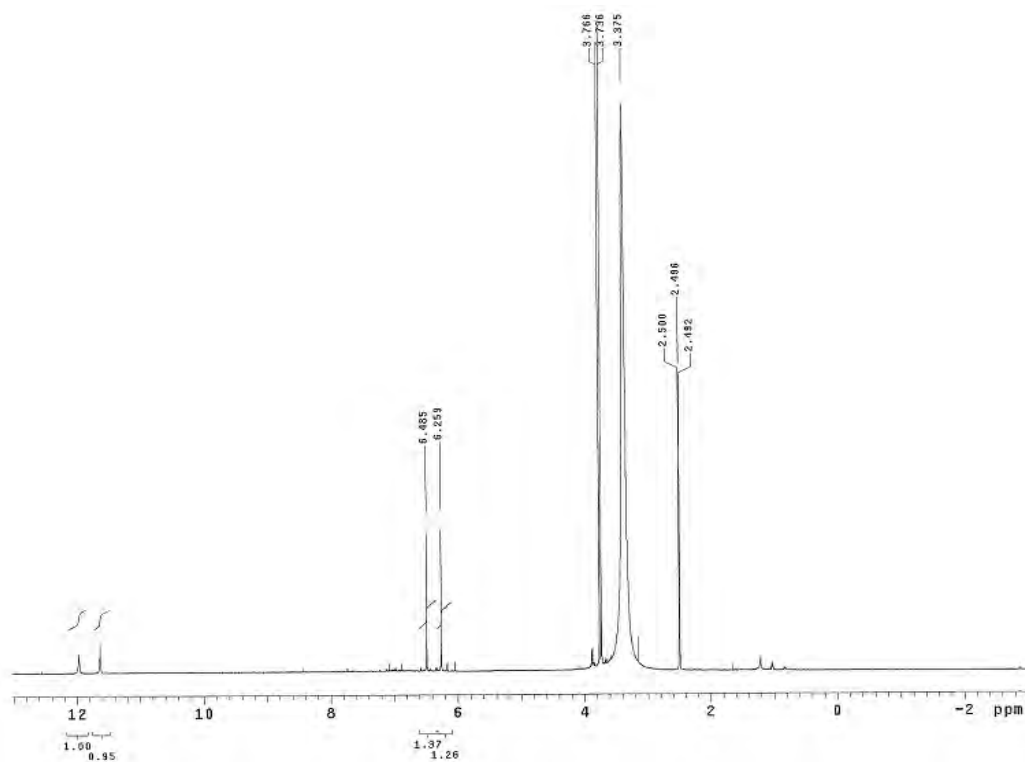


Figura 66. Espectro de RMN de H<sup>1</sup> de **Sn4** (DMSO-d<sub>6</sub>, 11,4 T).

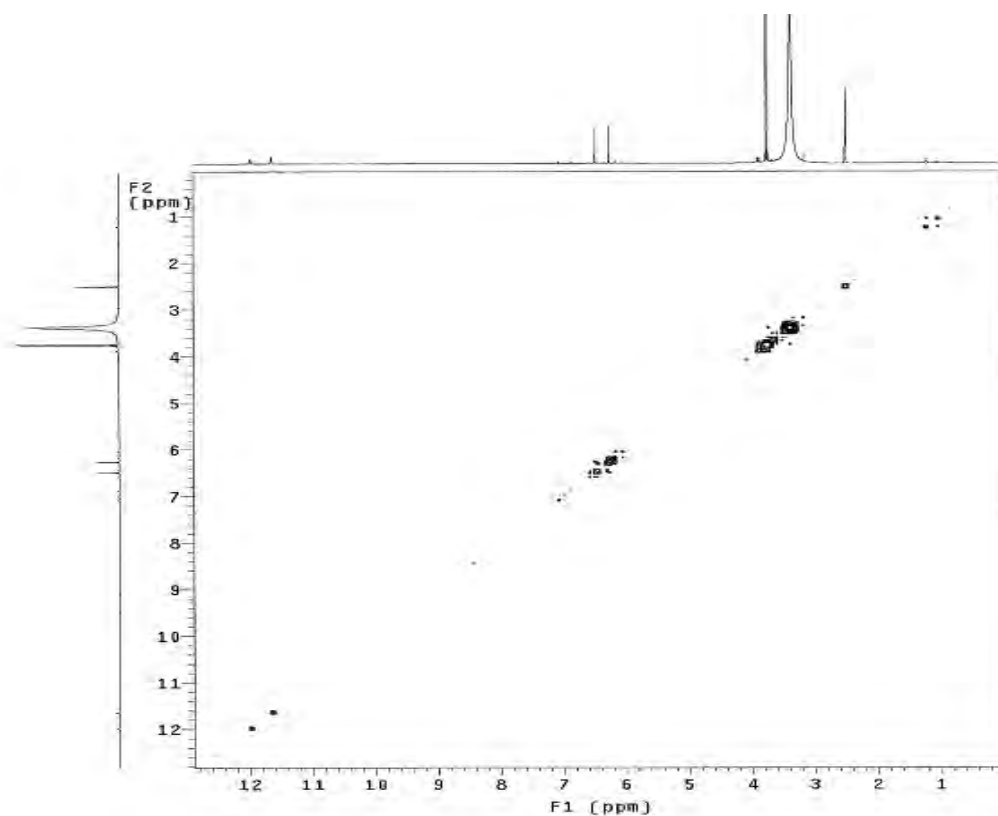


Figura 67. Espectro gCOSY de **Sn4** (DMSO-d<sub>6</sub>, 11,4 T).

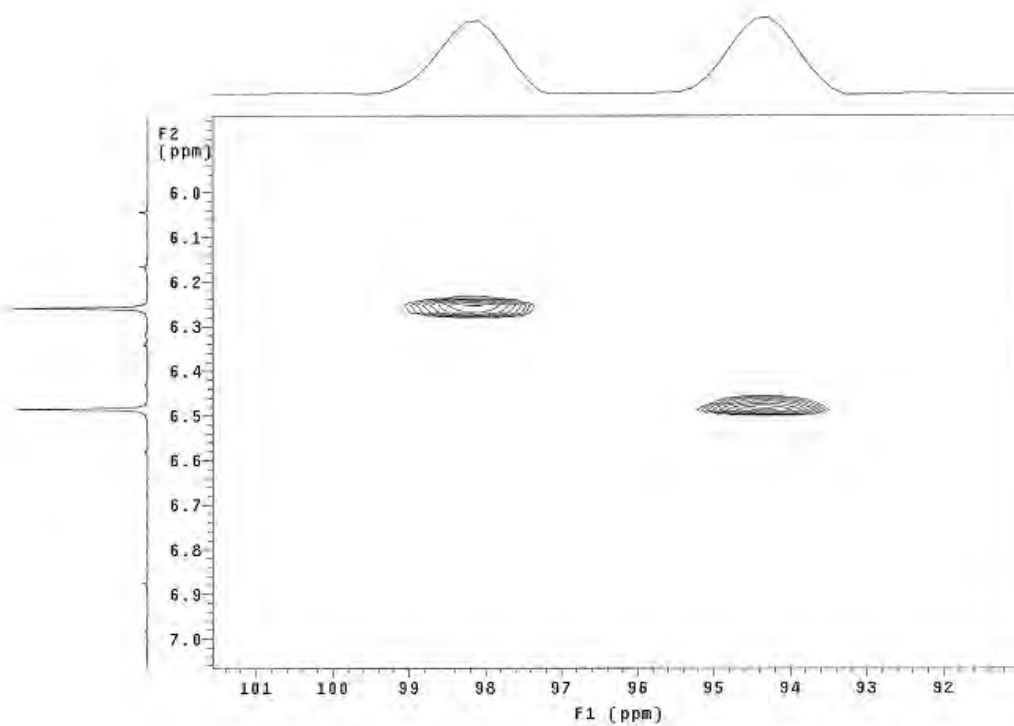


Figura 68. Espectro gHMQC (ampliação na região de  $\delta$  5,9 a  $\delta$  7,0) de **Sn4** (DMSO-d<sub>6</sub>, 11,4 T).

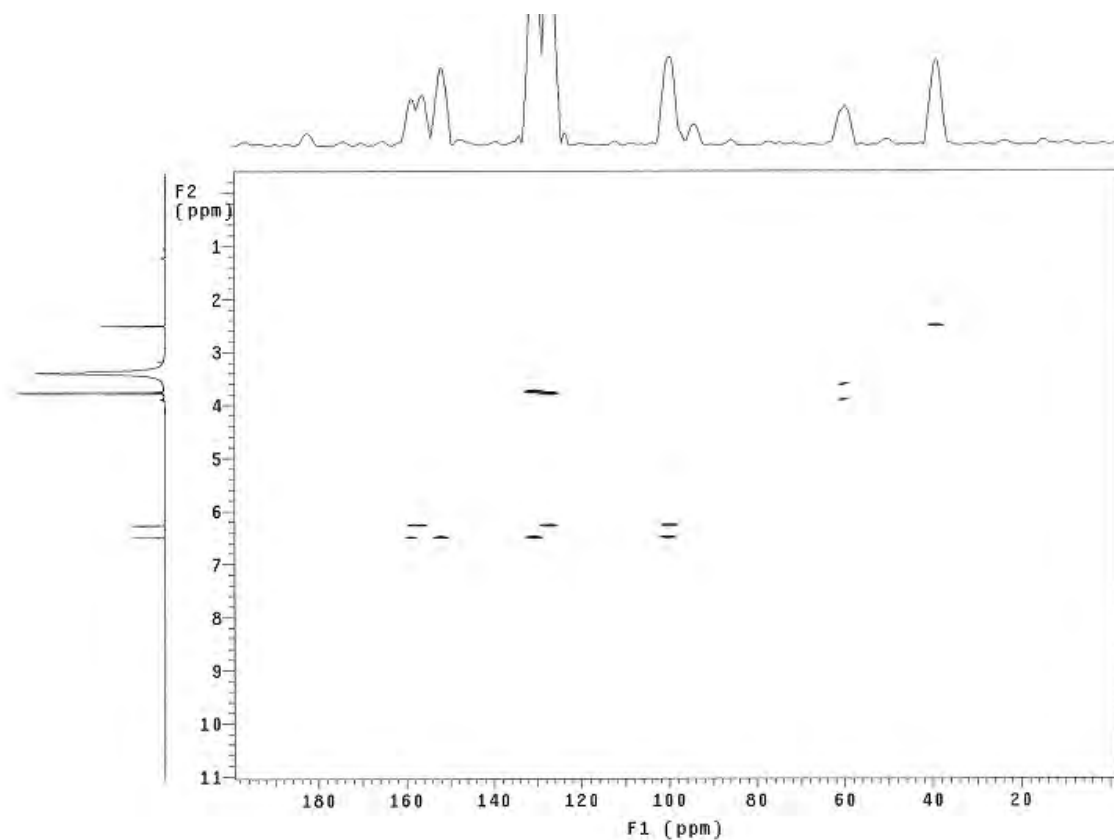


Figura 69. Espectro *g*HMBC de **Sn4** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 11,4 T).

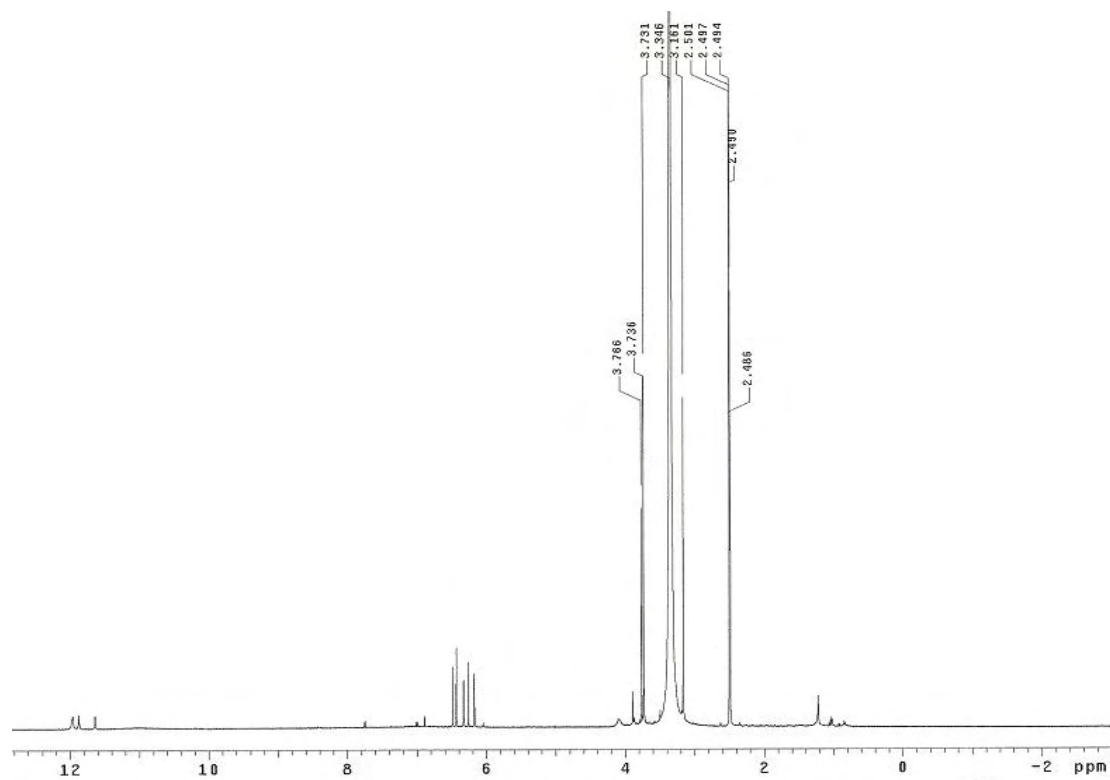


Figura 70. Espectro de RMN de  $H^1$  de **Sn5** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 11,4 T).

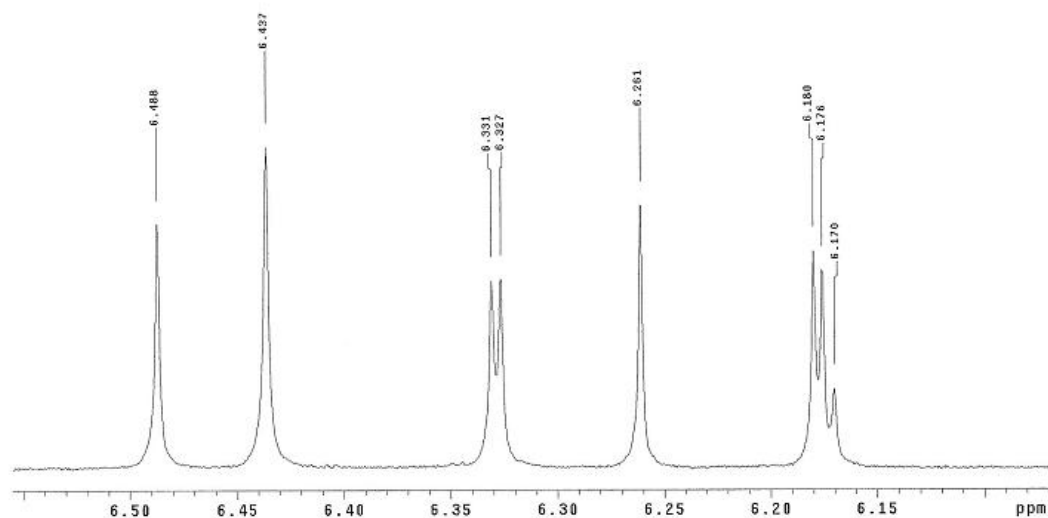


Figura 71. Espectro de RMN de  $\text{H}^1$  (ampliação na região de  $\delta$  6,1 a  $\delta$  6,6) de **Sn5** ( $\text{DMSO-d}_6$ , 11,4 T).

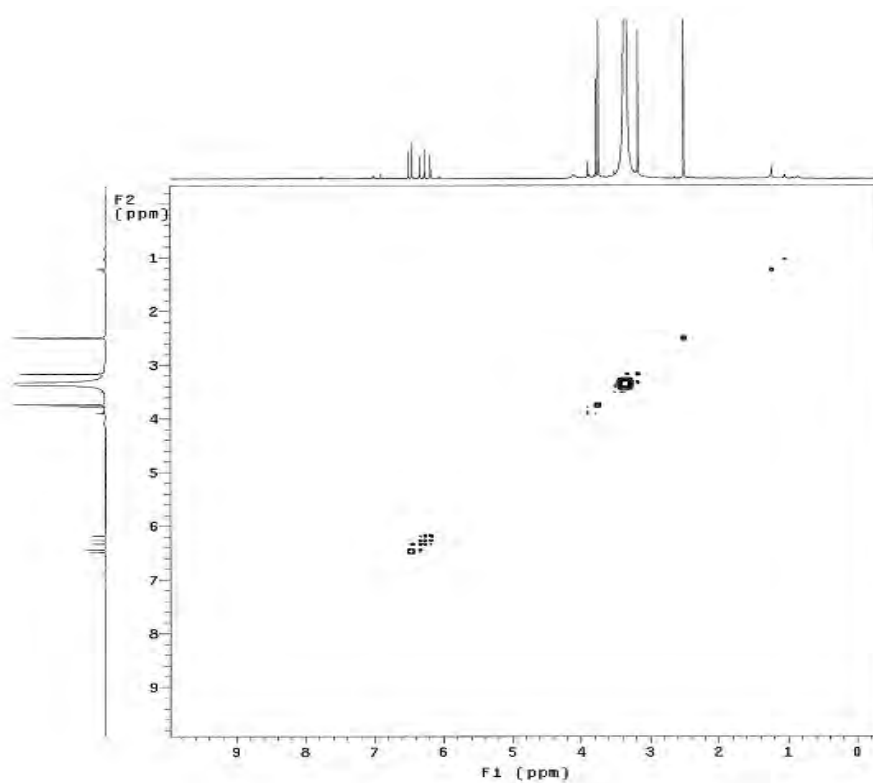


Figura 72. Espectro  $g\text{COSY}$  de **Sn5** ( $\text{DMSO-d}_6$ , 11,4 T).

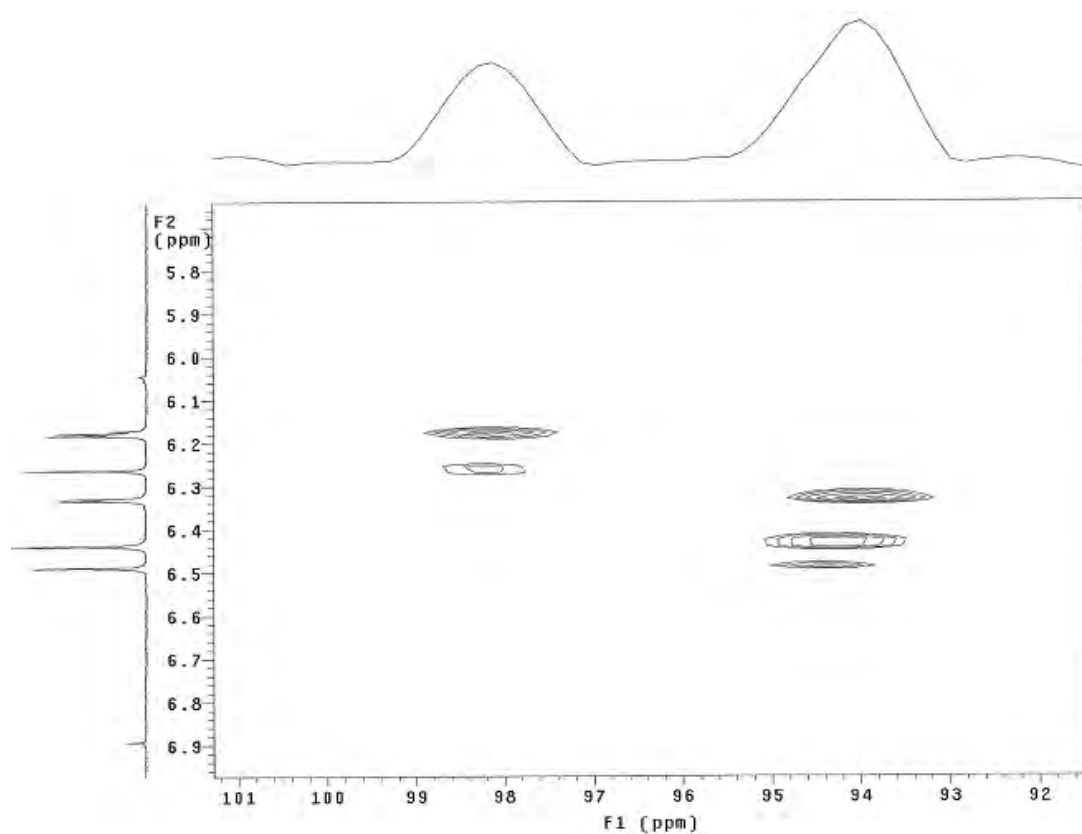


Figura 73. Espectro *g*HMQC (ampliação na região de  $\delta$  5,7 a  $\delta$  6,9) de **Sn5** (DMSO-d<sub>6</sub>, 11,4 T).

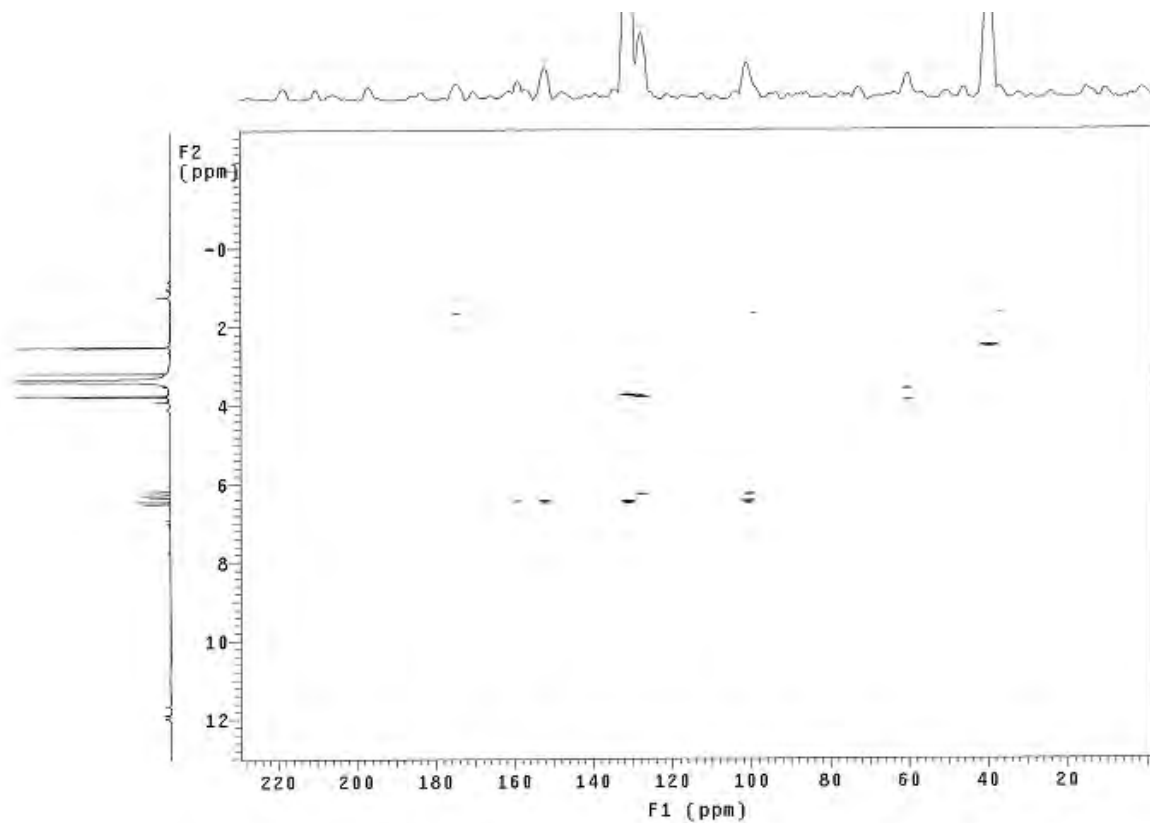


Figura 74. Espectro *g*HMBC de **Sn5** (DMSO-d<sub>6</sub>, 11,4 T).

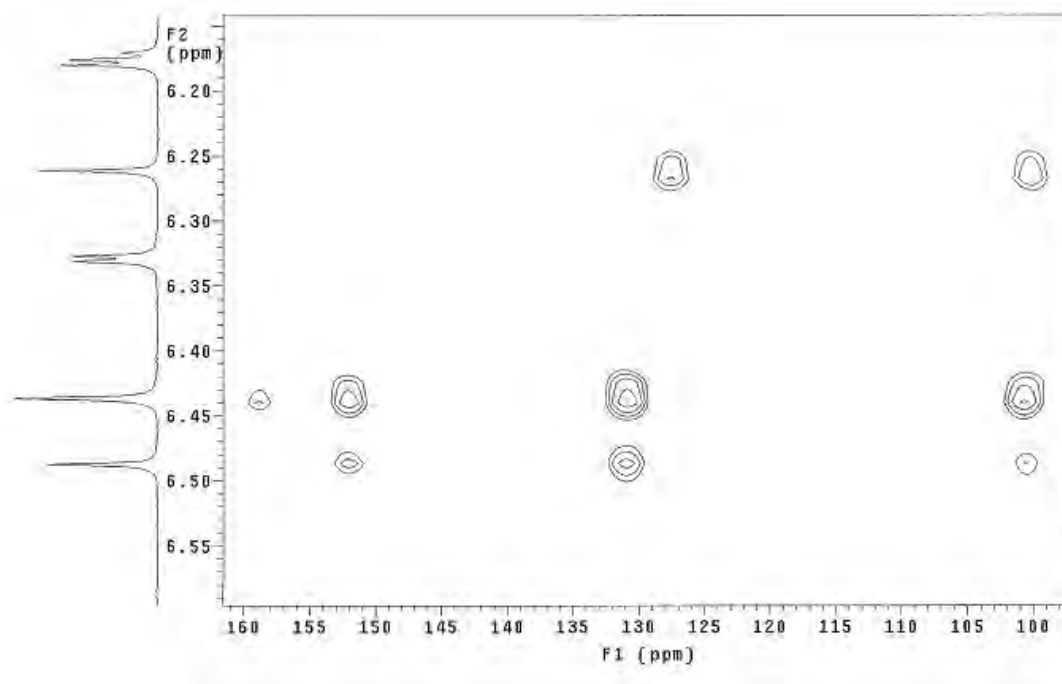


Figura 75. Espectro *g*HMBC (ampliação na região de  $\delta$  6,1 a  $\delta$  6,6) de **Sn5** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

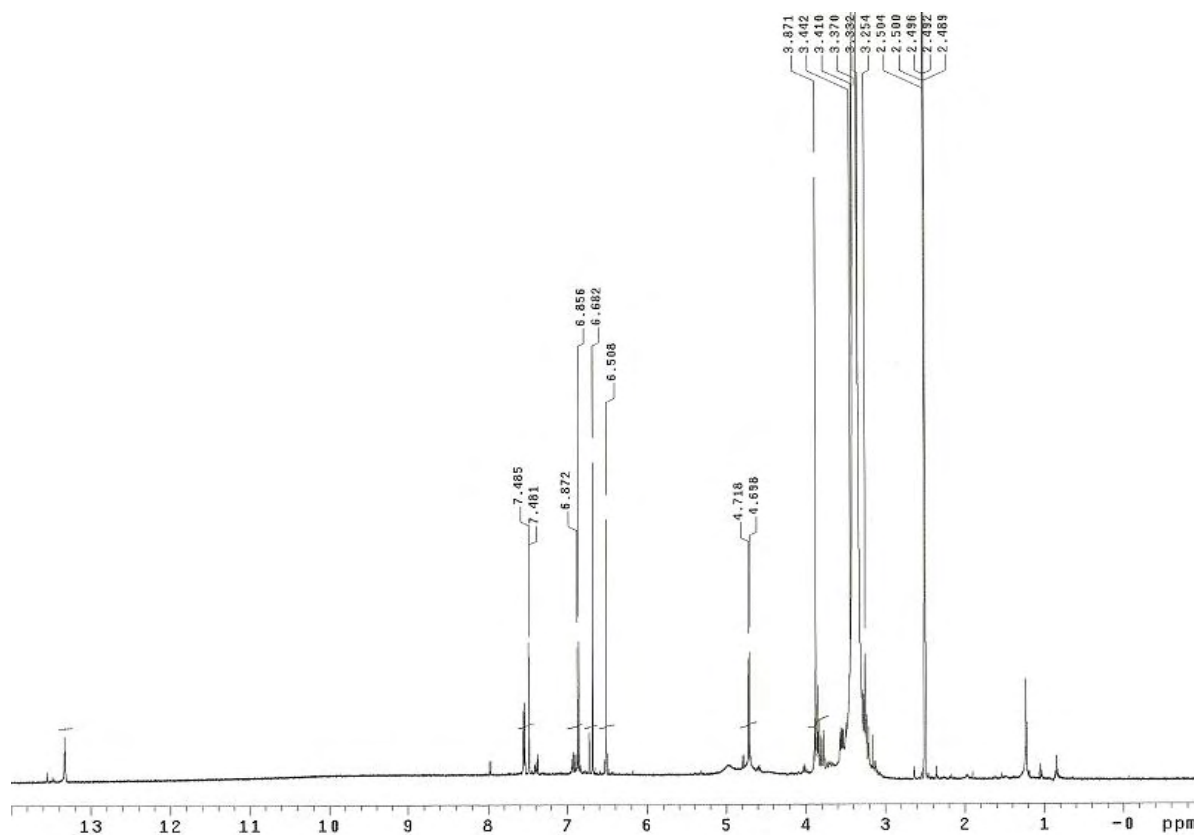


Figura 76. Espectro de RMN de  $H^1$  de **Sn6** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

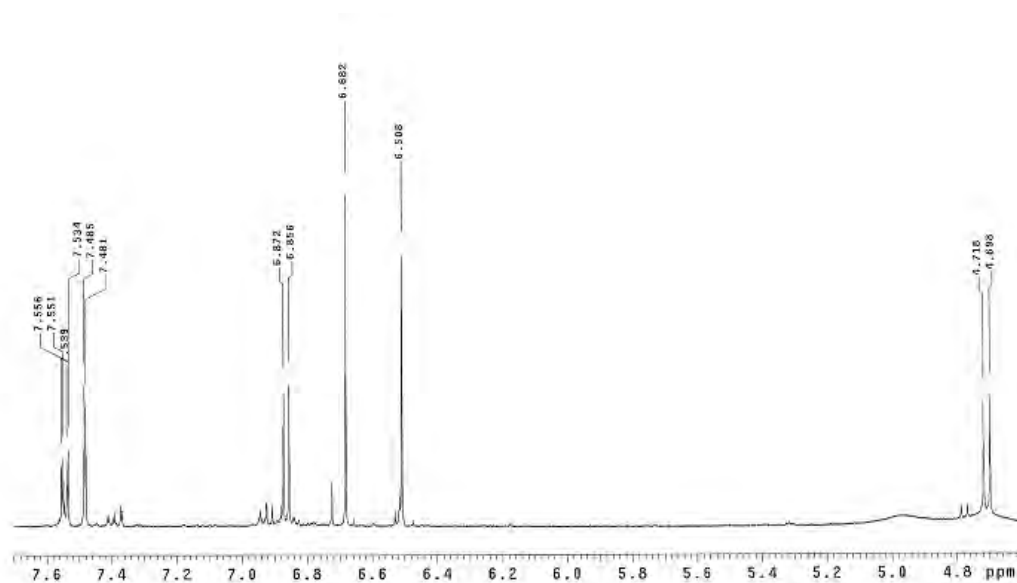


Figura 77. Espectro de RMN de  $\text{H}^1$  (ampliação na região de  $\delta$  4,7 a  $\delta$  7,6) de **Sn6** ( $\text{DMSO-d}_6$ , 11,4 T).

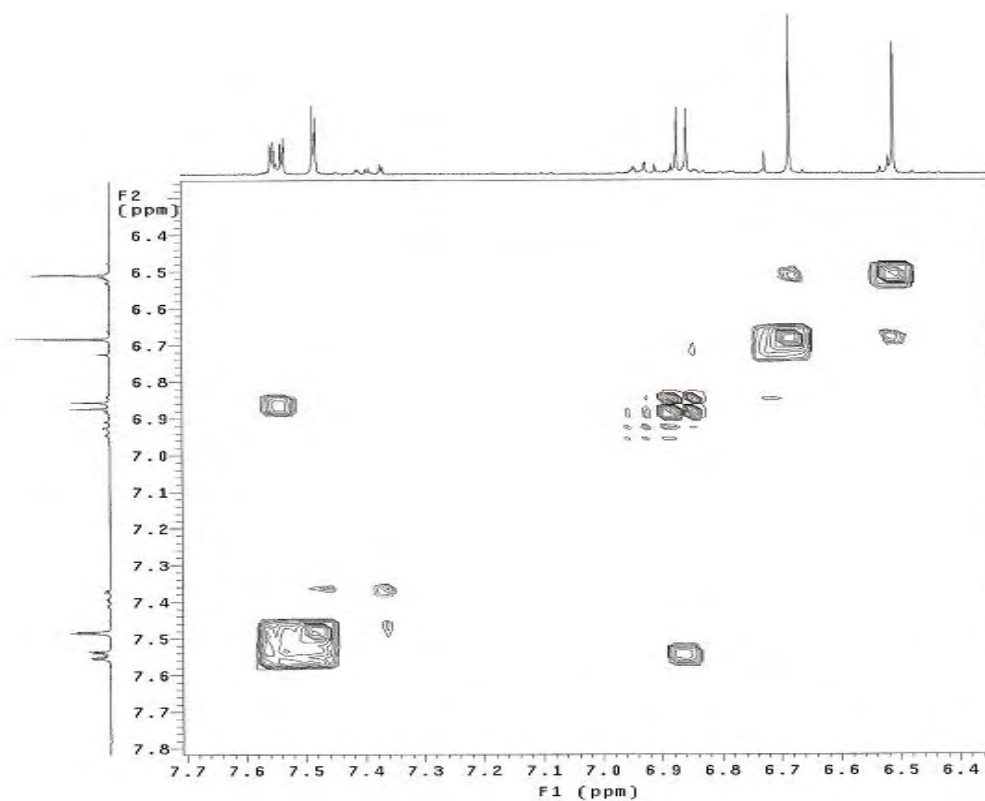


Figura 78. Espectro  $g\text{COSY}$  (ampliação na região de  $\delta$  6,4 a  $\delta$  7,8) de **Sn6** ( $\text{DMSO-d}_6$ , 11,4 T).

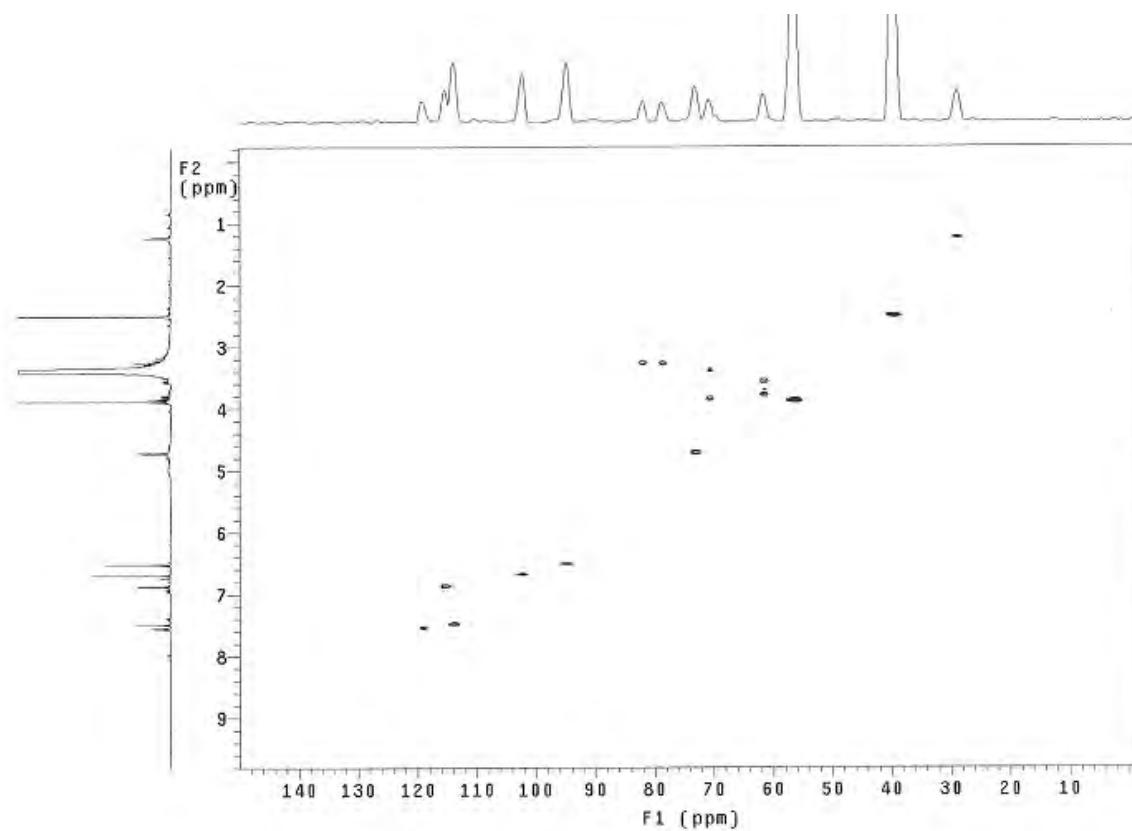


Figura 79. Espectro gHMQC de **Sn6** (DMSO- $\text{d}_6$ , 11,4 T).

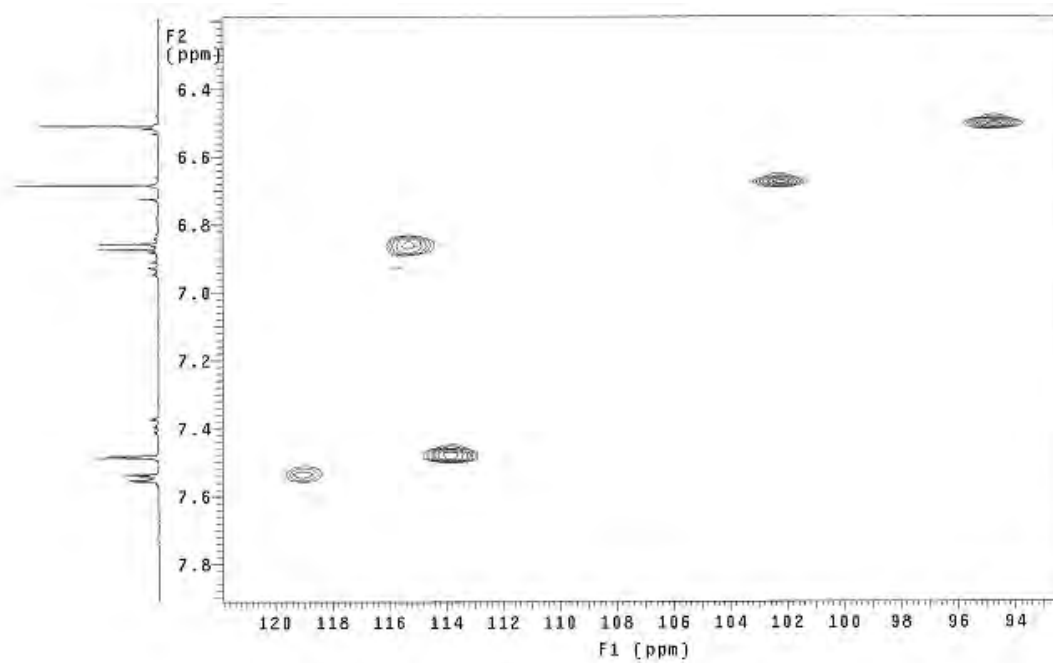


Figura 80. Espectro gHMQC (ampliação na região de  $\delta$  6,3 a  $\delta$  7,9) de **Sn6** (DMSO- $\text{d}_6$ , 11,4 T).

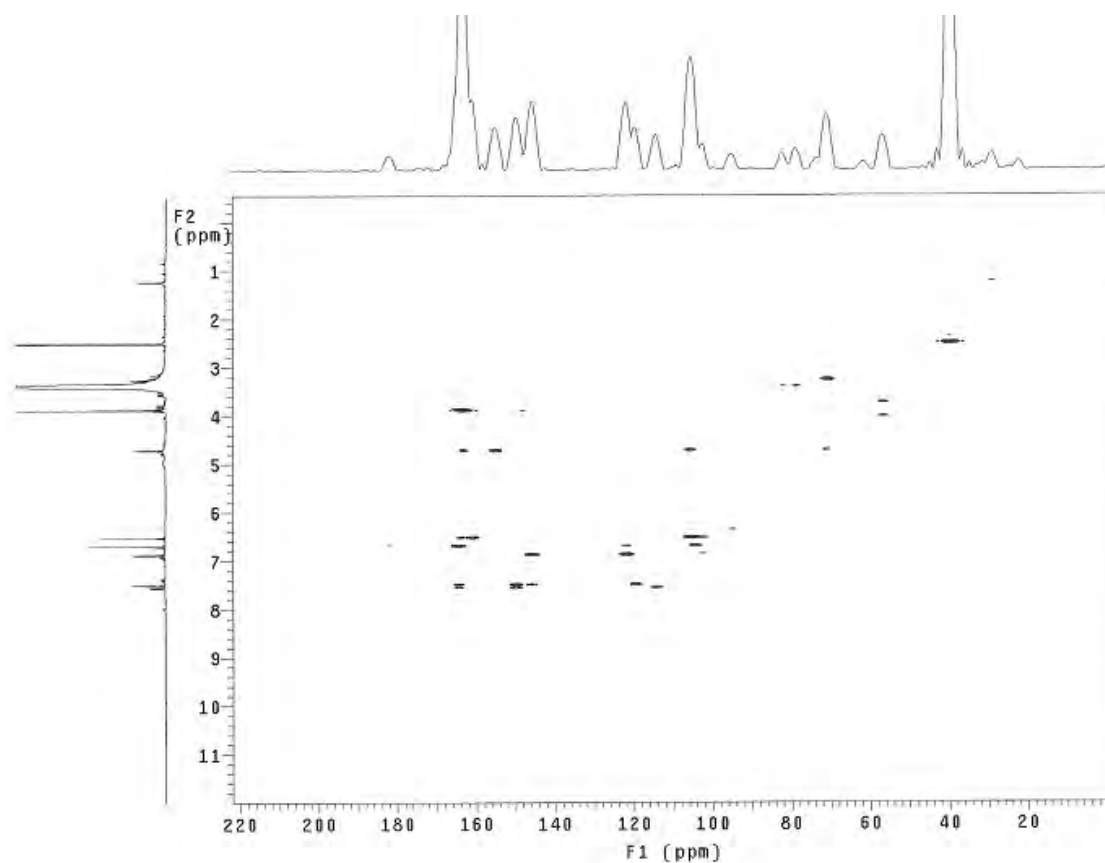


Figura 81. Espectro gHMBC de **Sn6** (DMSO-d<sub>6</sub>, 11,4 T).

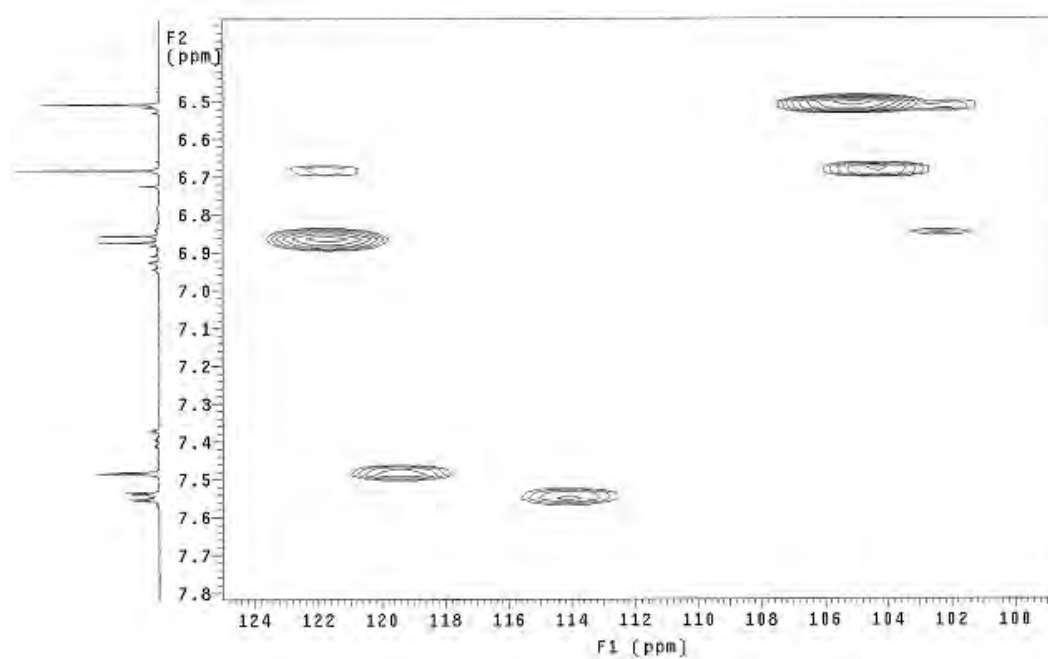


Figura 82. Espectro gHMBC de **Sn6** (DMSO-d<sub>6</sub>, 11,4 T).

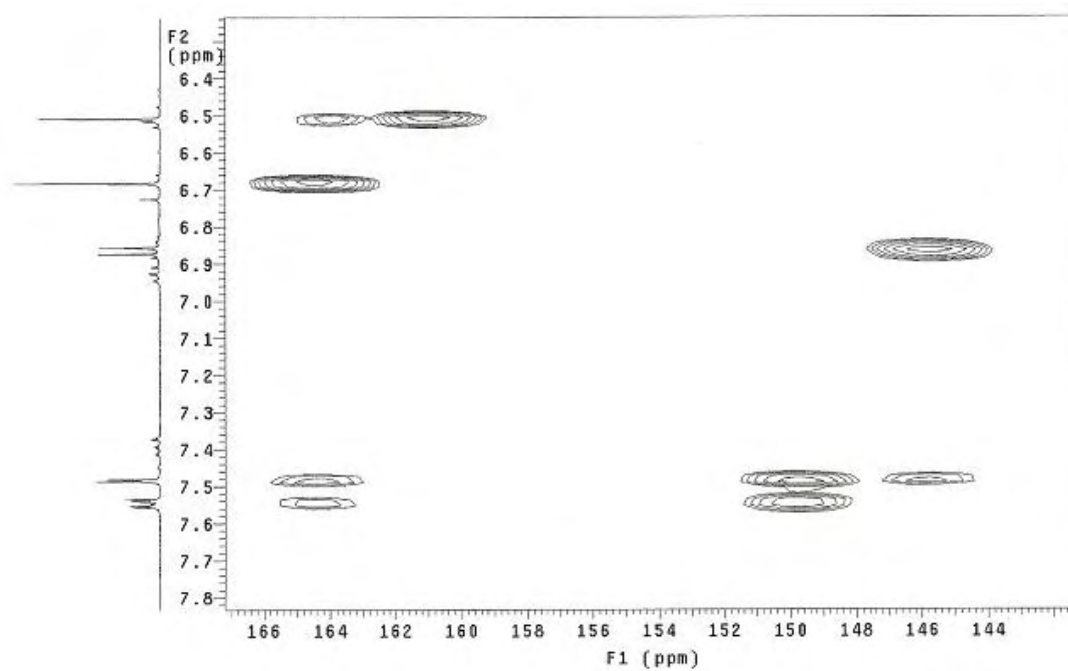


Figura 83. Espectro gHMBC (ampliação na região de  $\delta$  6,2 a  $\delta$  7,8) de **Sn6** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

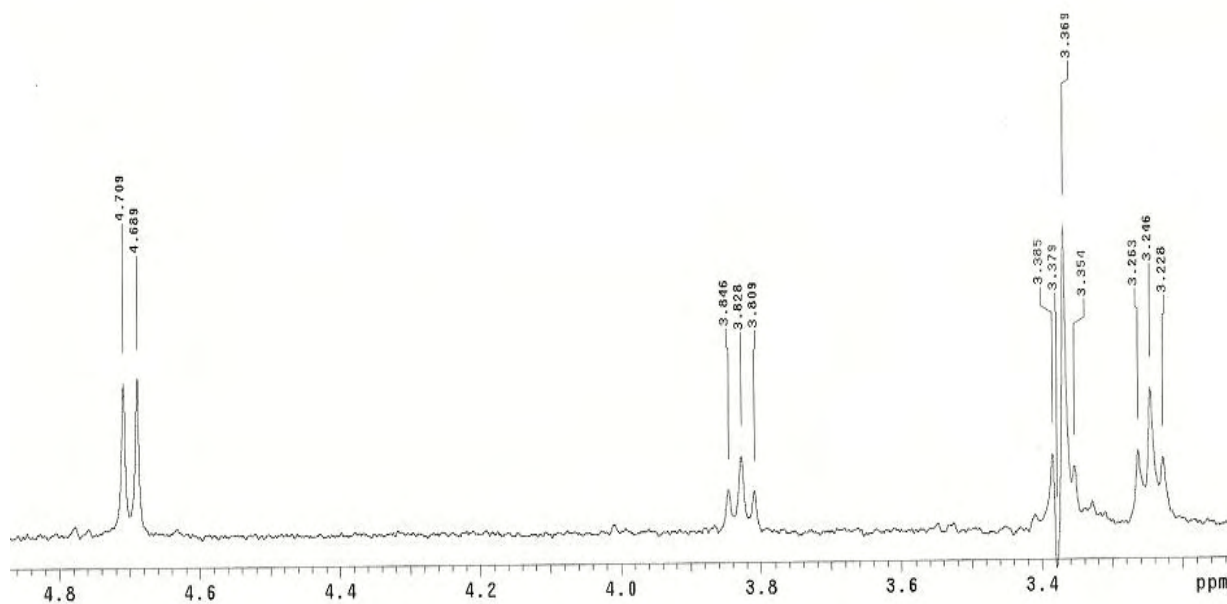


Figura 84. Espectro TOCSY 1D de **Sn6** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

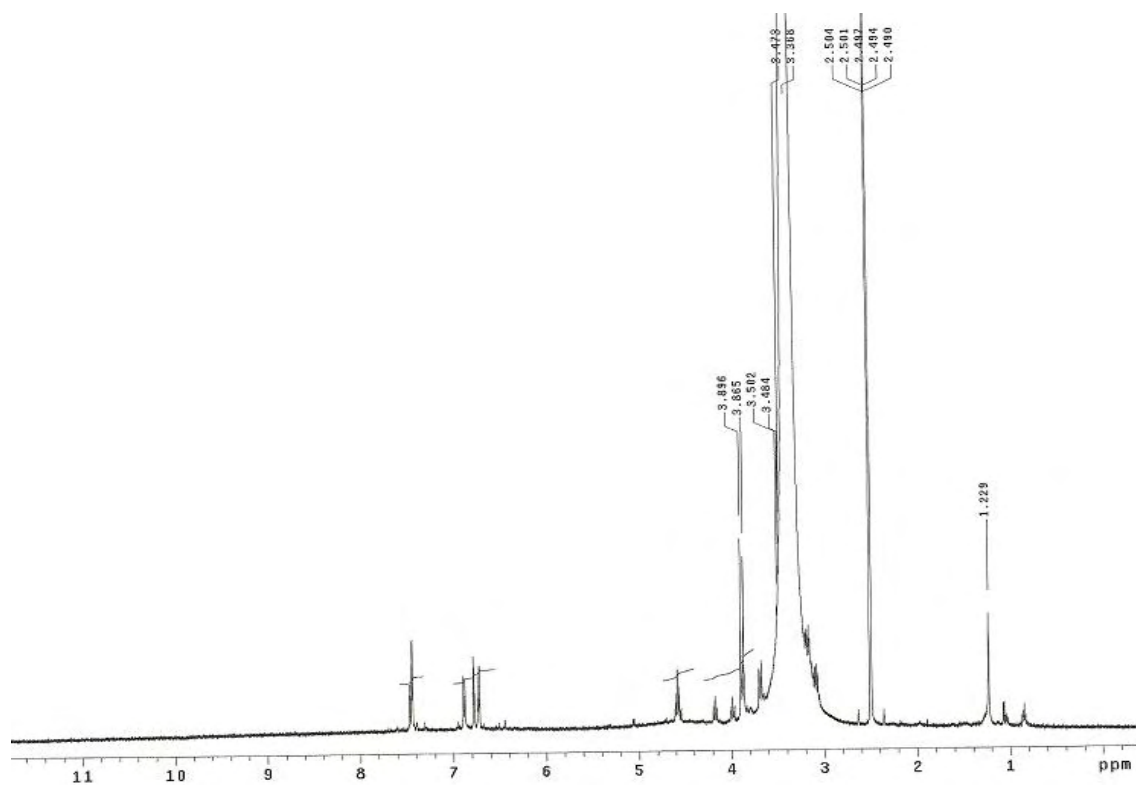


Figura 85. Espectro de RMN de  $H^1$  de **Sn7** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

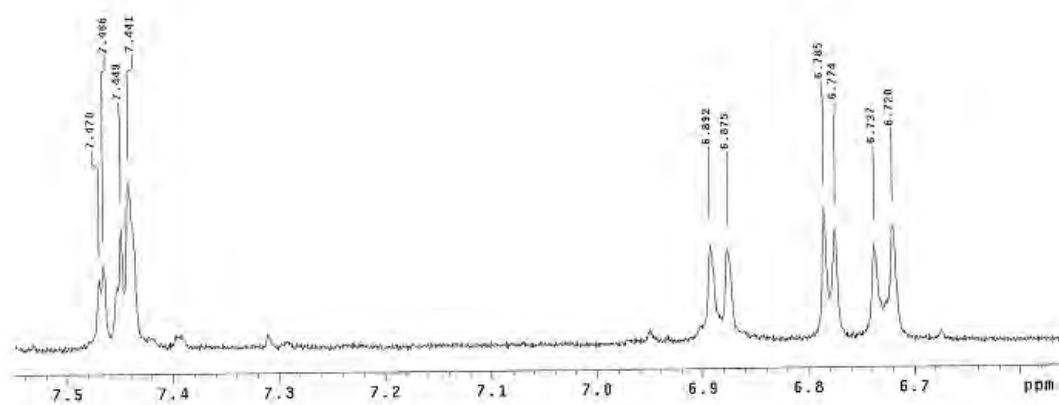
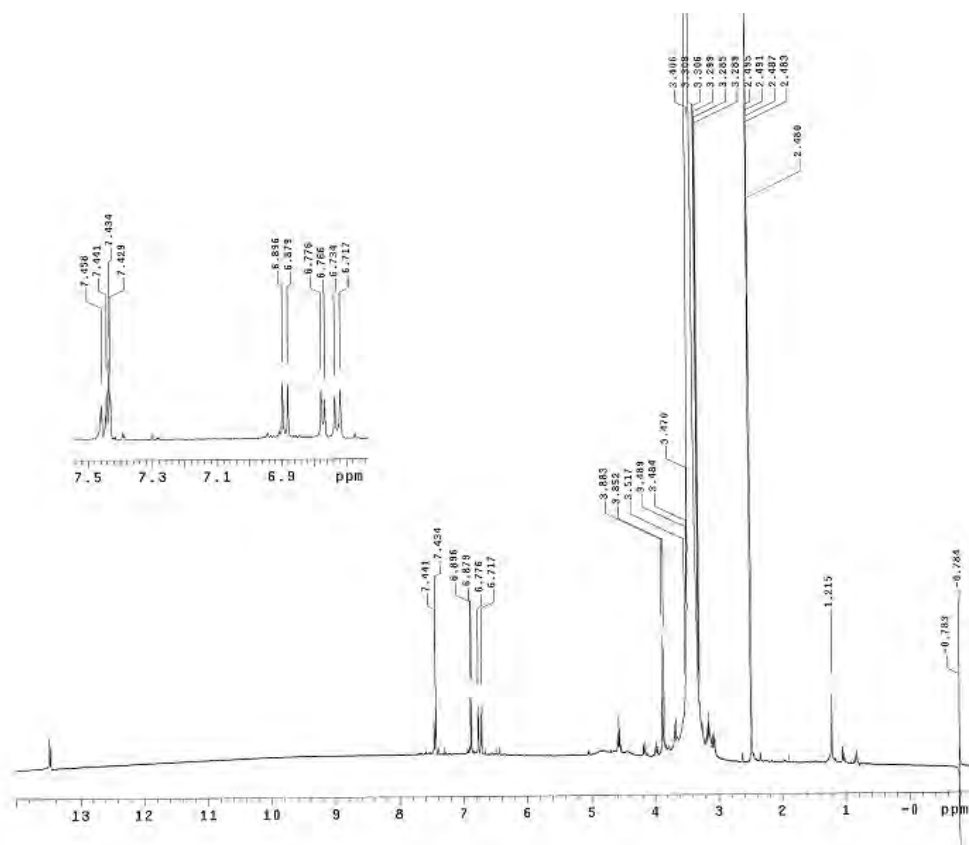
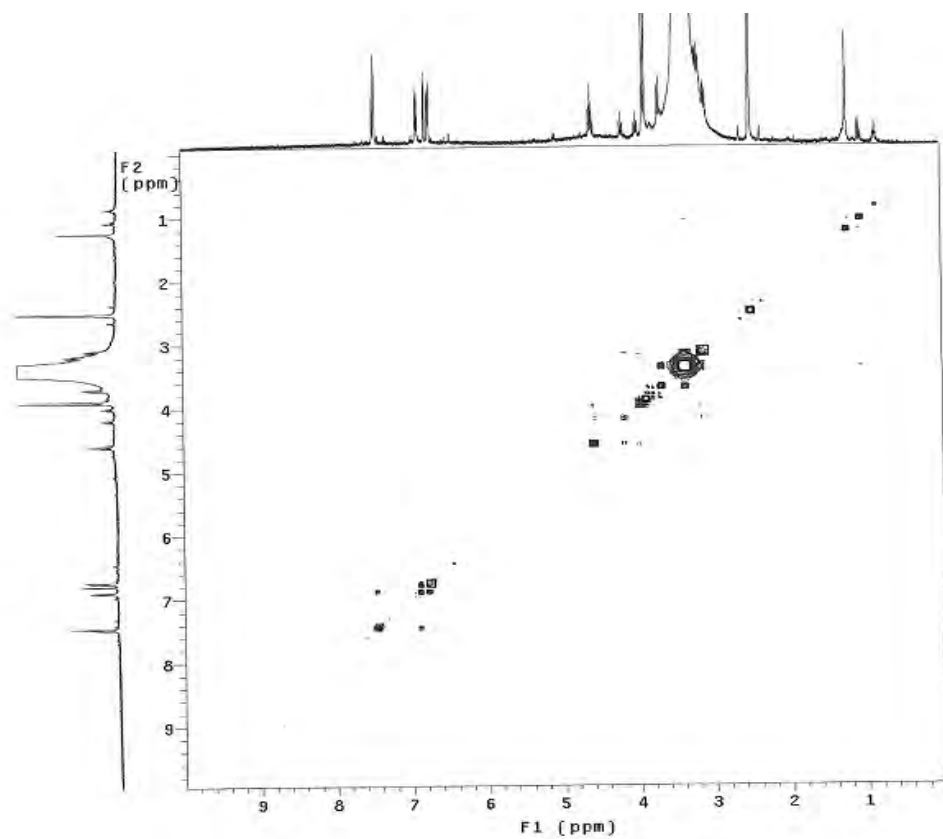


Figura 86. Espectro de RMN de  $H^1$  (ampliação na região de  $\delta$  6,6 a  $\delta$  7,5) de **Sn7** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

Figura 87. Espectro HOMODEC de **Sn7** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).Figura 88. Espectro *g*COSY de **Sn7** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

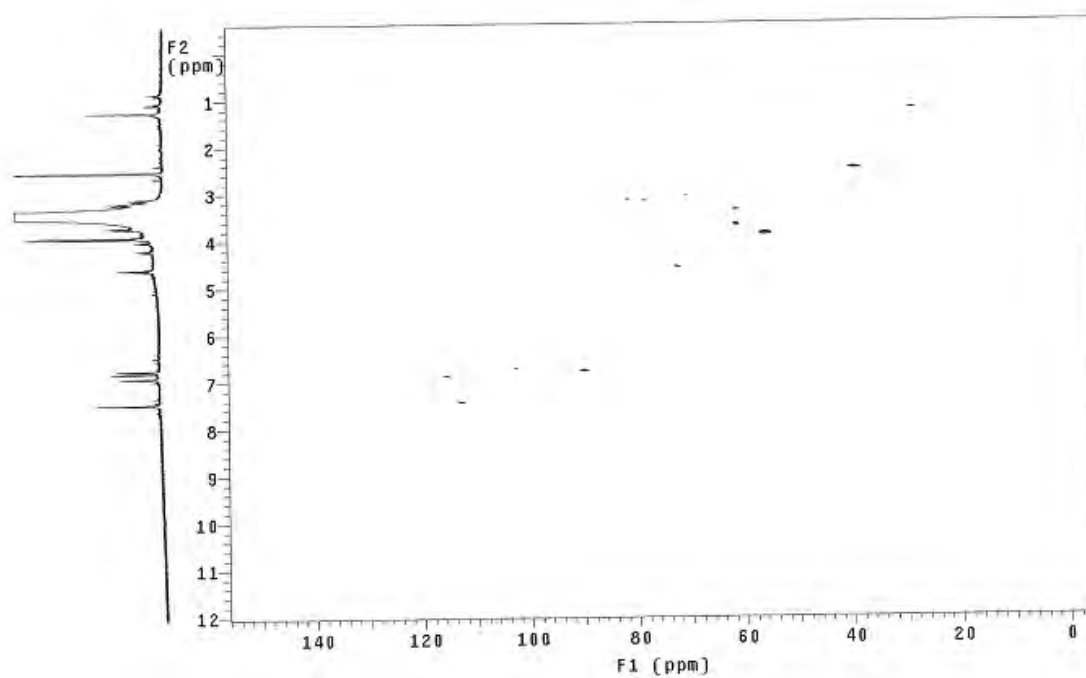


Figura 89. Espectro *g*HMQC de **Sn7** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 11,4 T).

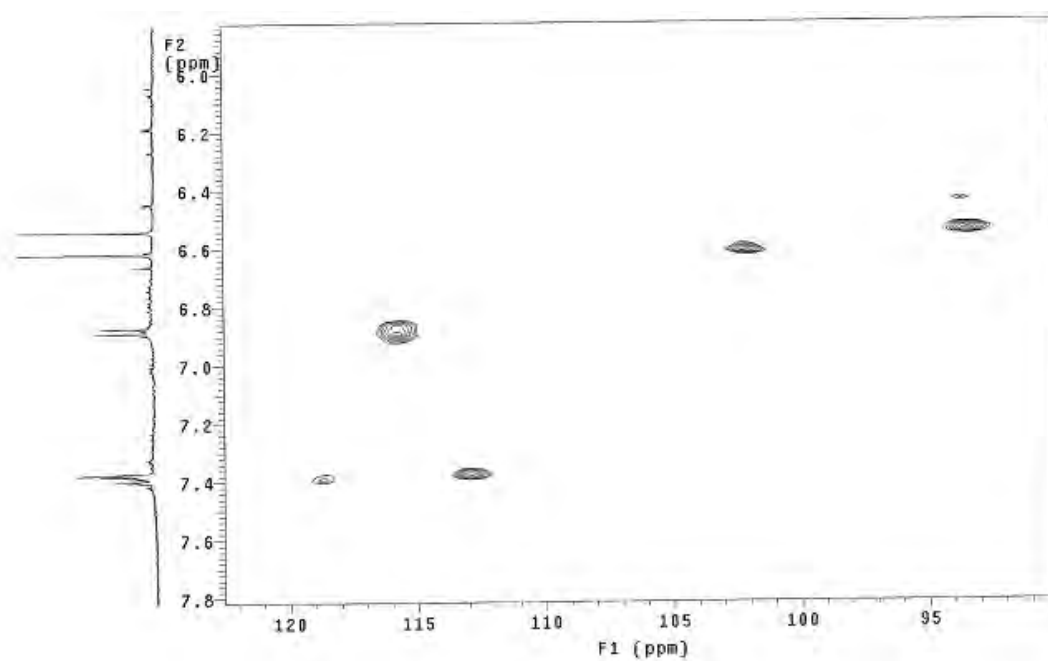


Figura 90. Espectro *g*HMQC (ampliação na região de  $\delta$  6,1 a  $\delta$  7,5) de **Sn7** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 11,4 T).

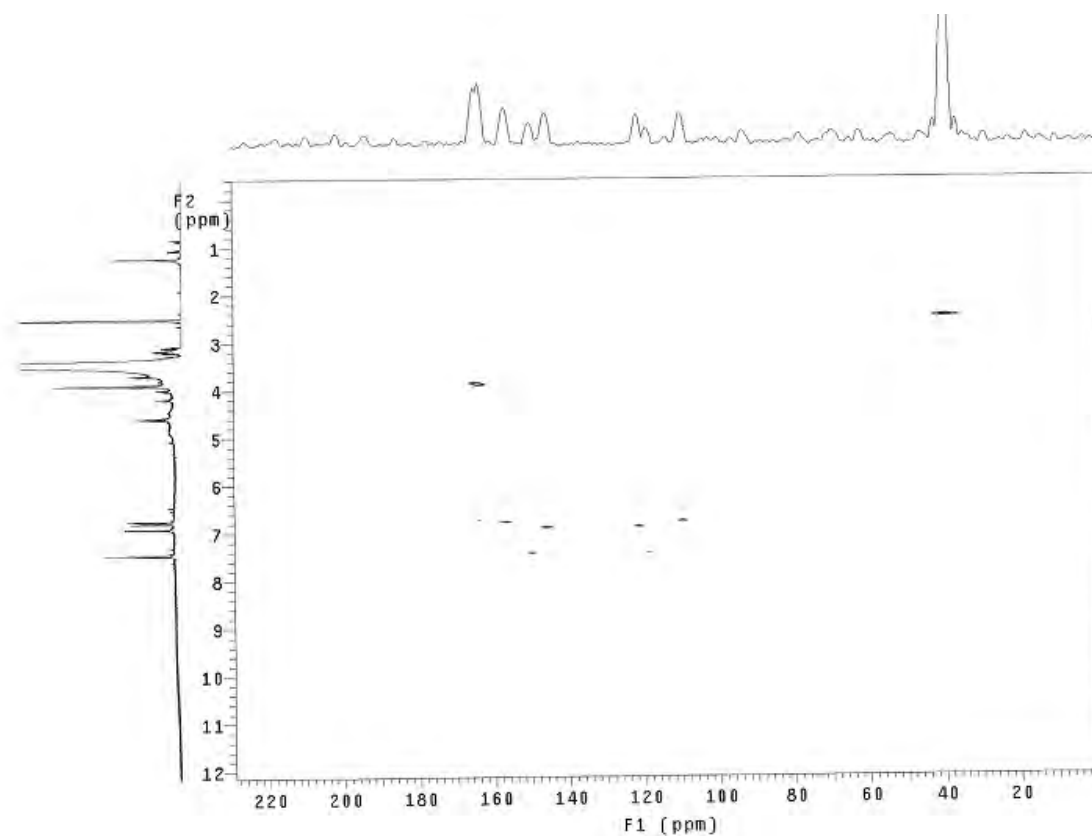


Figura 91. Espectro *g*HMBC de **Sn7** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

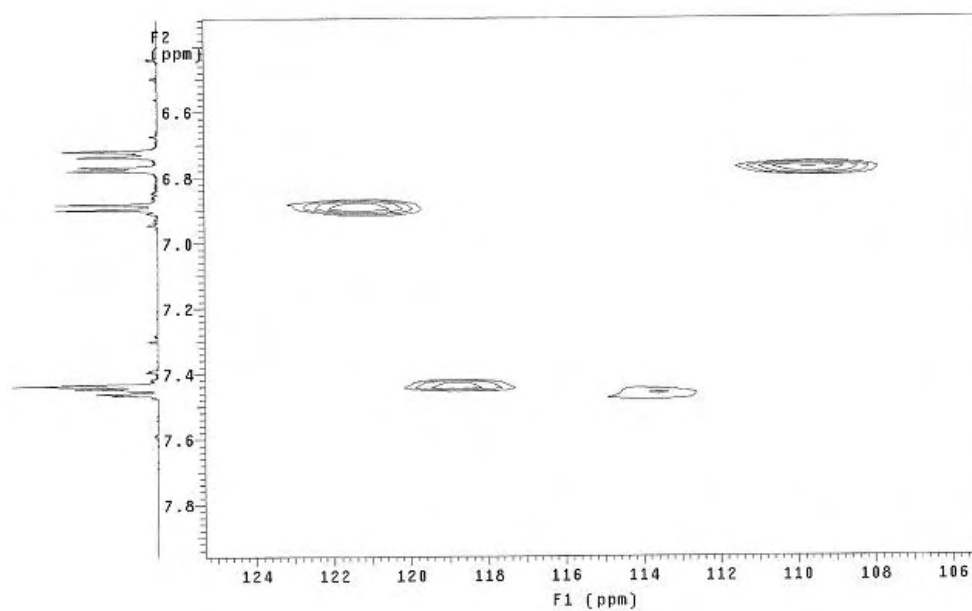


Figura 92. Espectro *g*HMBC (ampliação na região de  $\delta$  6,4 a  $\delta$  7,9) de **Sn7** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

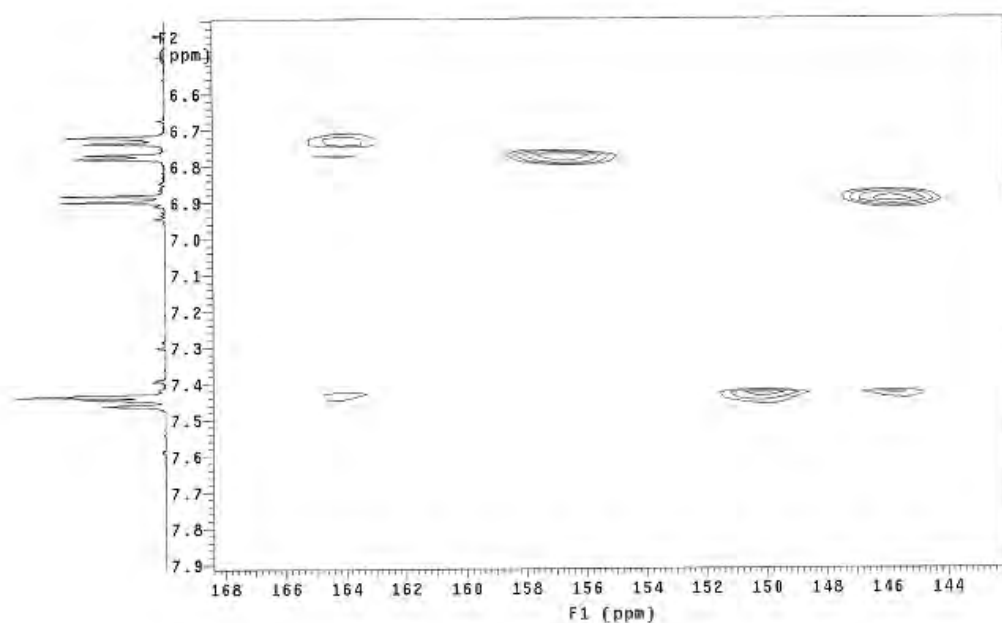


Figura 93. Espectro *g*HMBC (ampliação na região de  $\delta$  6,4 a  $\delta$  7,9) de **Sn7** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

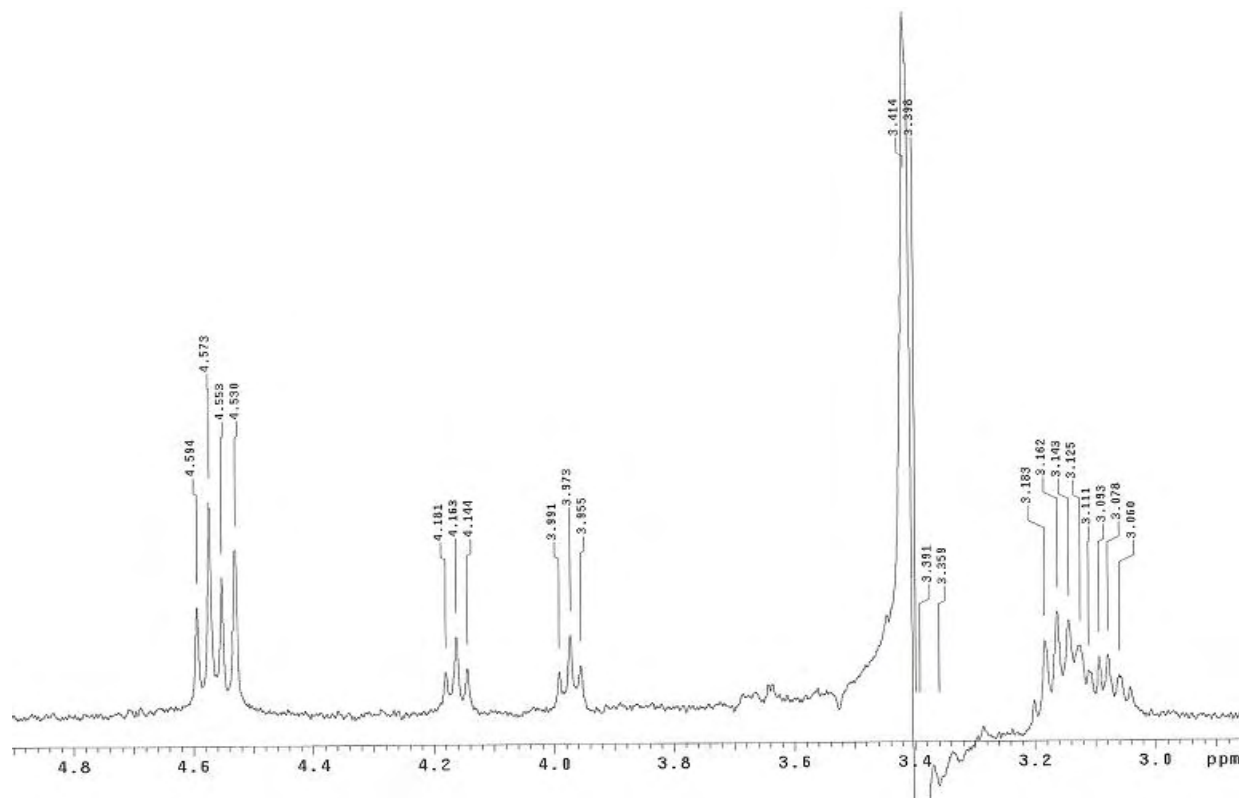


Figura 94. Espectro TOCSY 1D de **Sn7** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

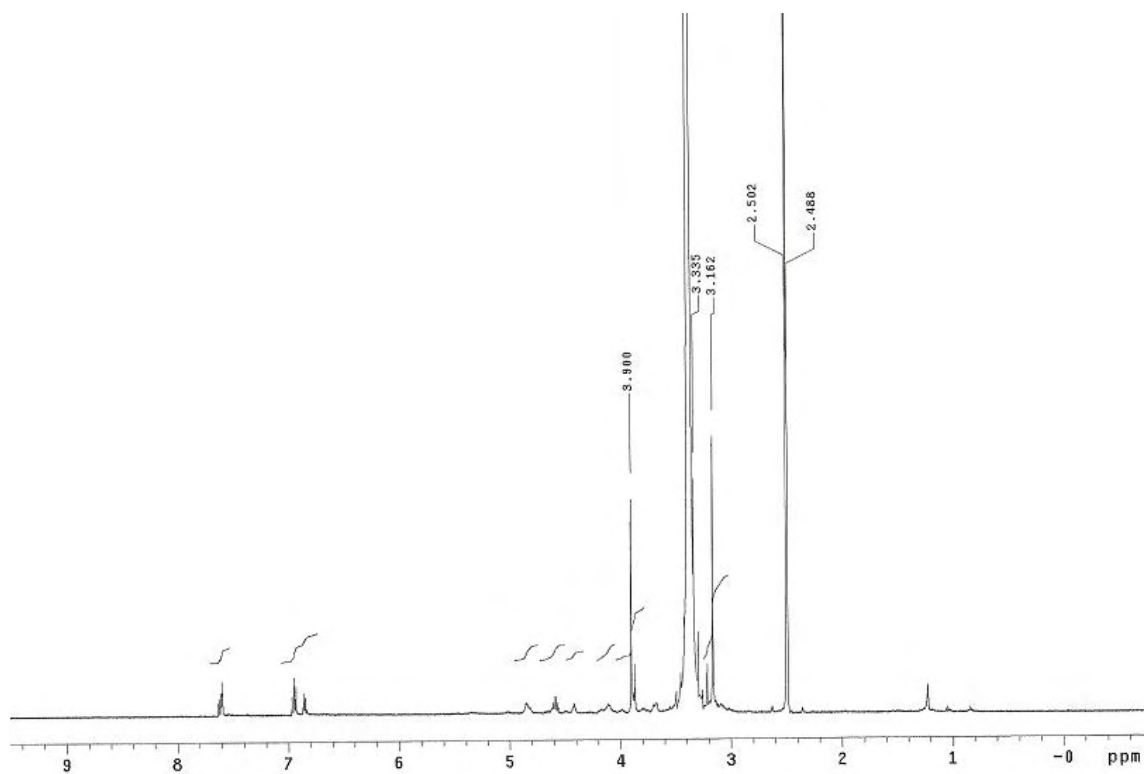


Figura 95. Espectro de RMN de  $\text{H}^1$  de **Sn8** ( $\text{DMSO-d}_6$ , 11,4 T).

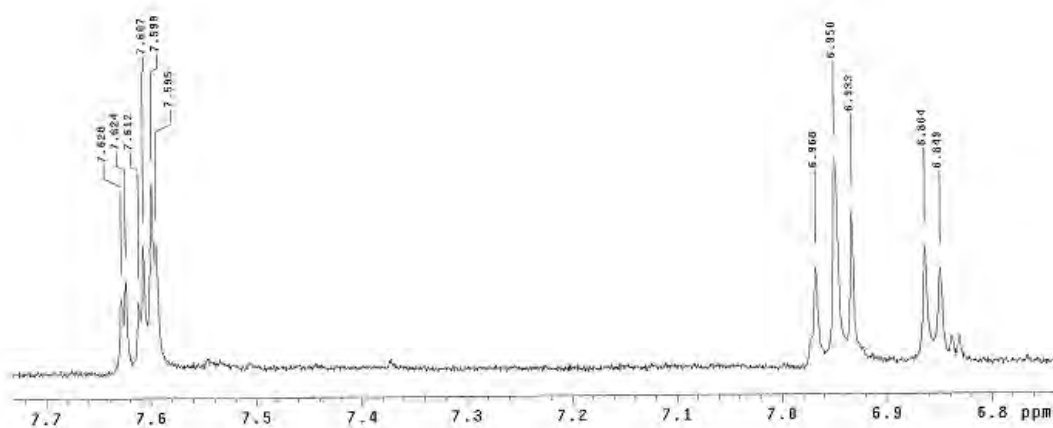


Figura 96. Espectro de RMN de  $\text{H}^1$  (ampliação na região de  $\delta$  6,8 a  $\delta$  7,7) de **Sn8** ( $\text{DMSO-d}_6$ , 11,4 T).

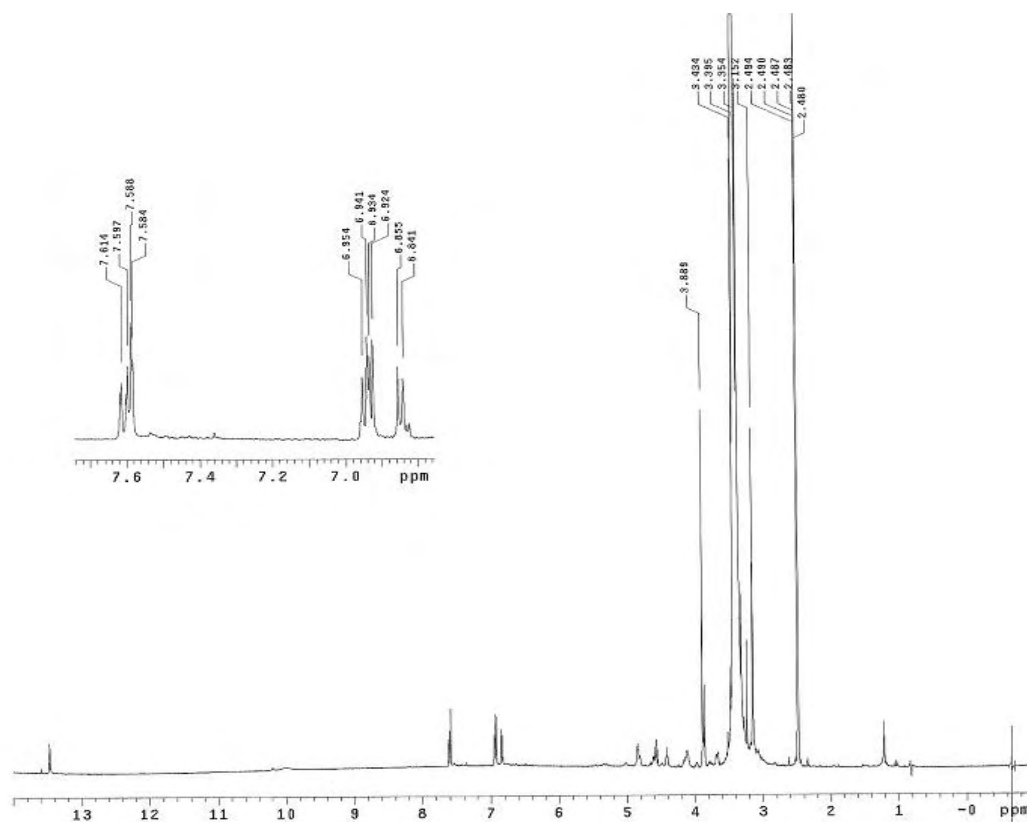


Figura 97. Espectro HOMODEC (ampliação na região de  $\delta$  6,8 a  $\delta$  7,7) de **Sn8** ( $\text{DMSO-d}_6$ , 11,4 T).

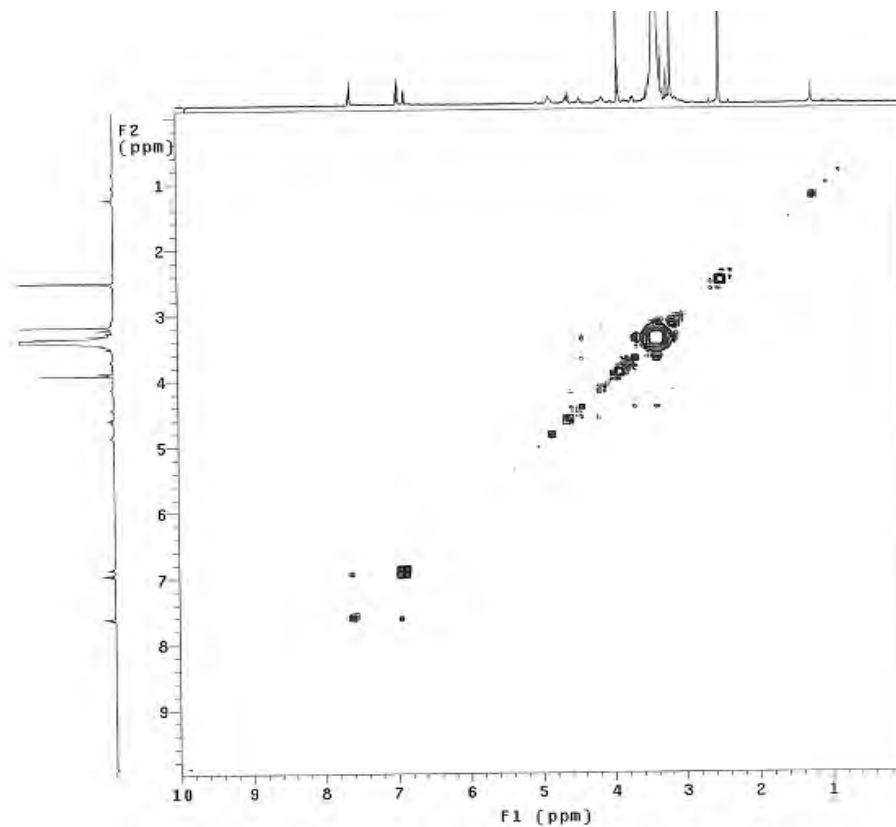


Figura 98. Espectro  $g\text{COSY}$  de **Sn8** ( $\text{DMSO-d}_6$ , 11,4 T).

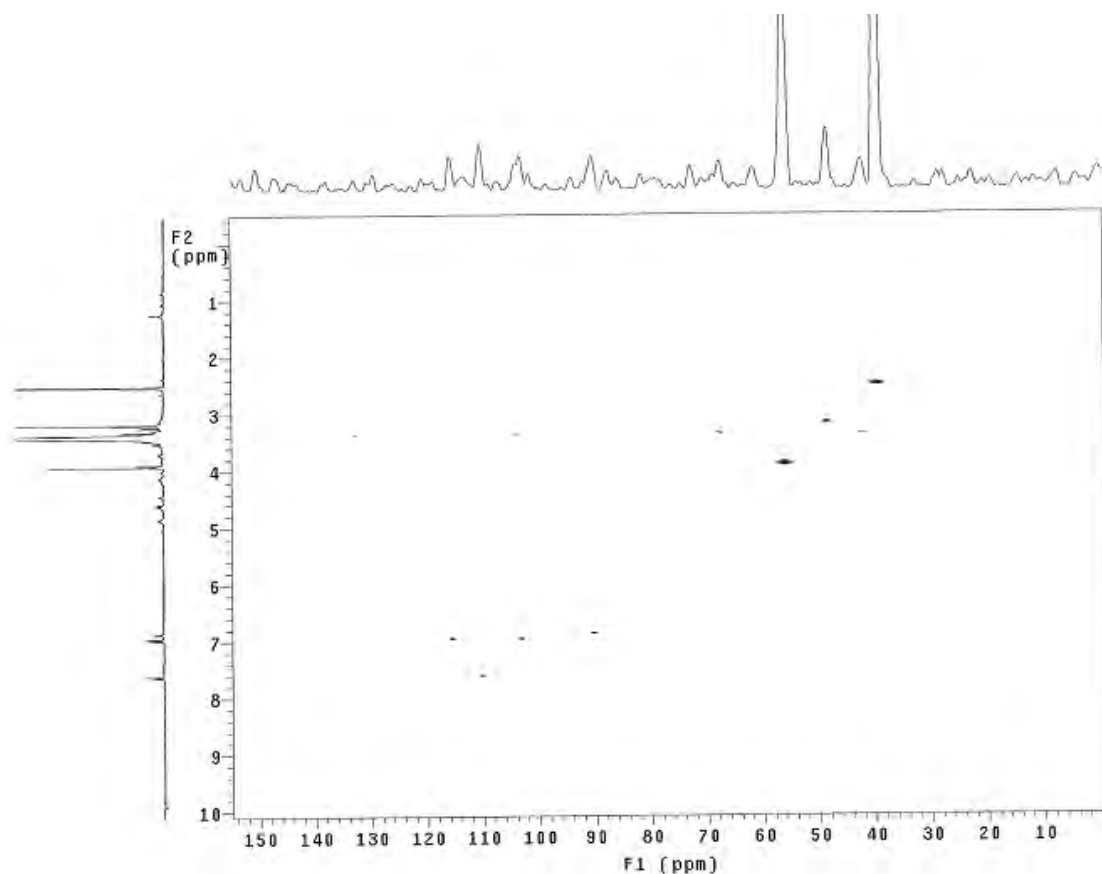


Figura 99. Espectro *g*HMQC de **Sn8** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 11,4 T).

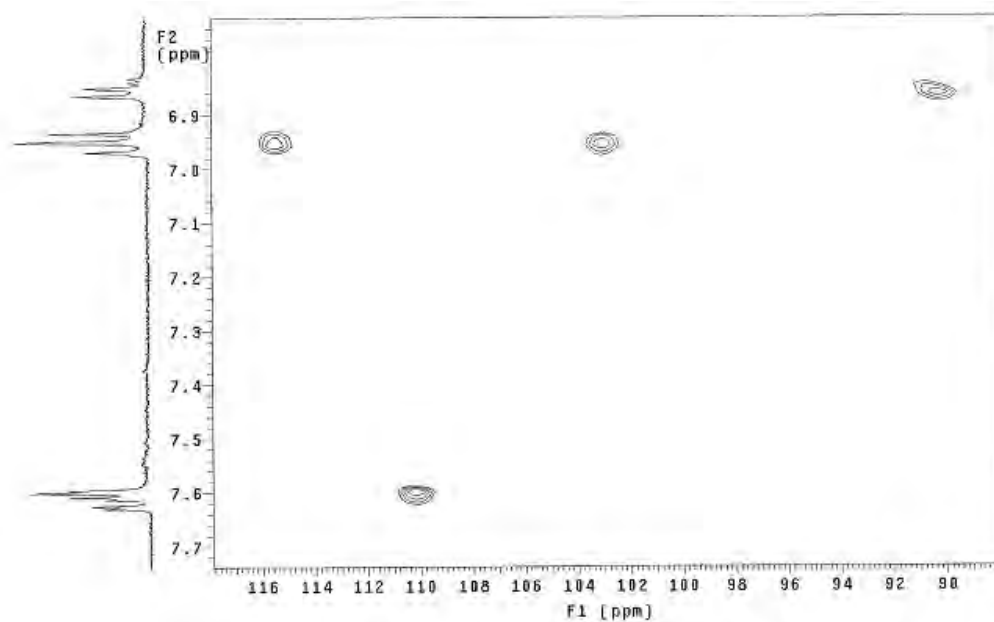


Figura 100. Espectro *g*HMQC (ampliação na região de  $\delta$  6,7 a  $\delta$  7,7) de **Sn8** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 11,4 T).

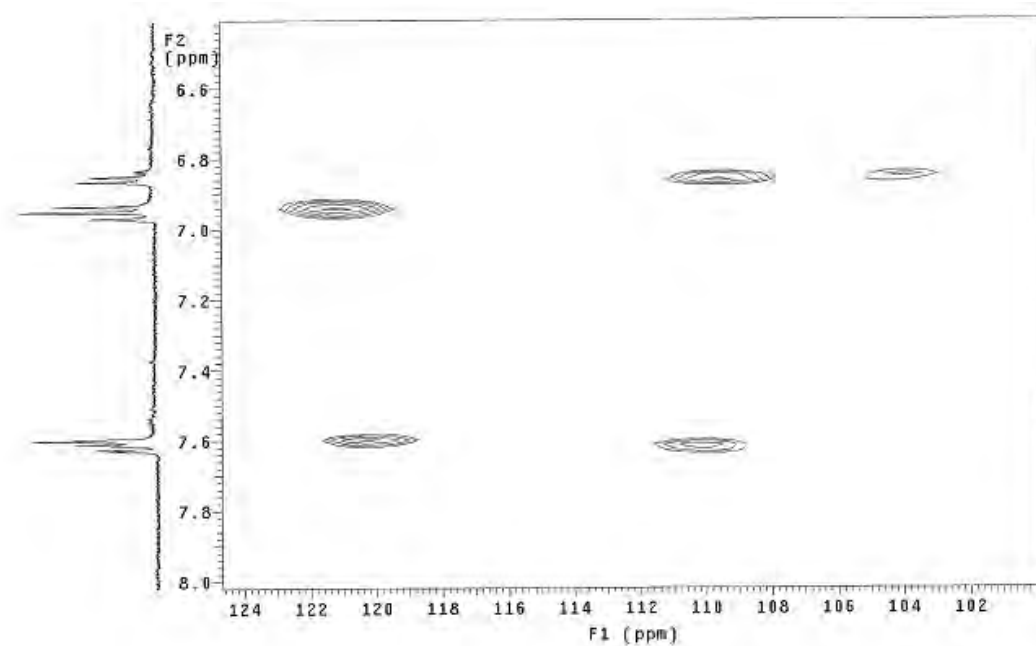


Figura 101. Espectro gHMBC (ampliação na região de  $\delta$  6,5 a  $\delta$  8,0) de **Sn8** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

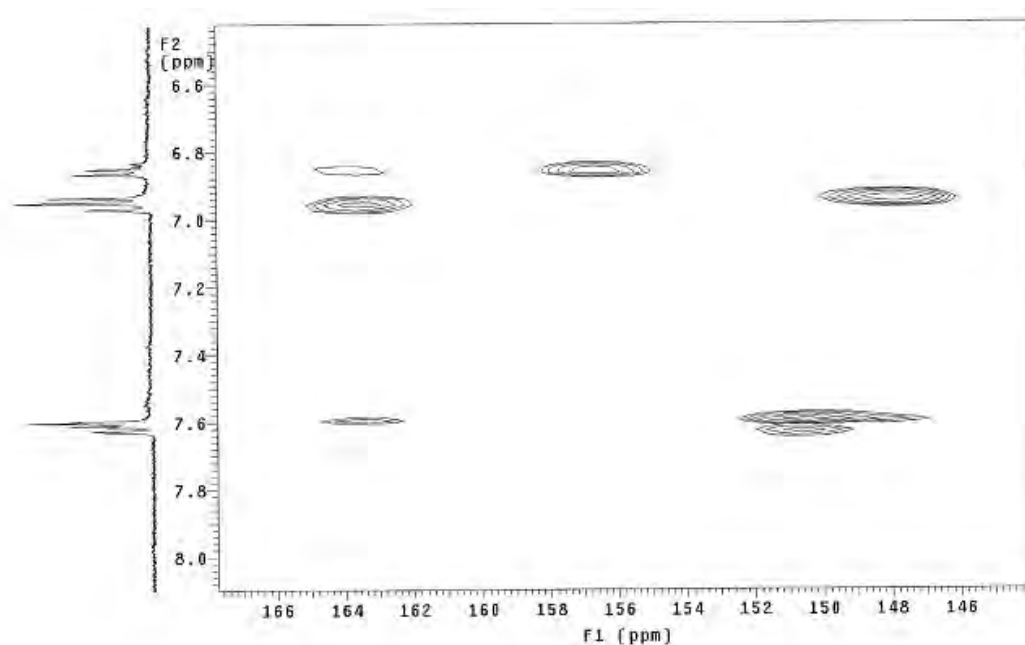


Figura 102. Espectro gHMBC (ampliação na região de  $\delta$  6,5 a  $\delta$  8,0) de **Sn8** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

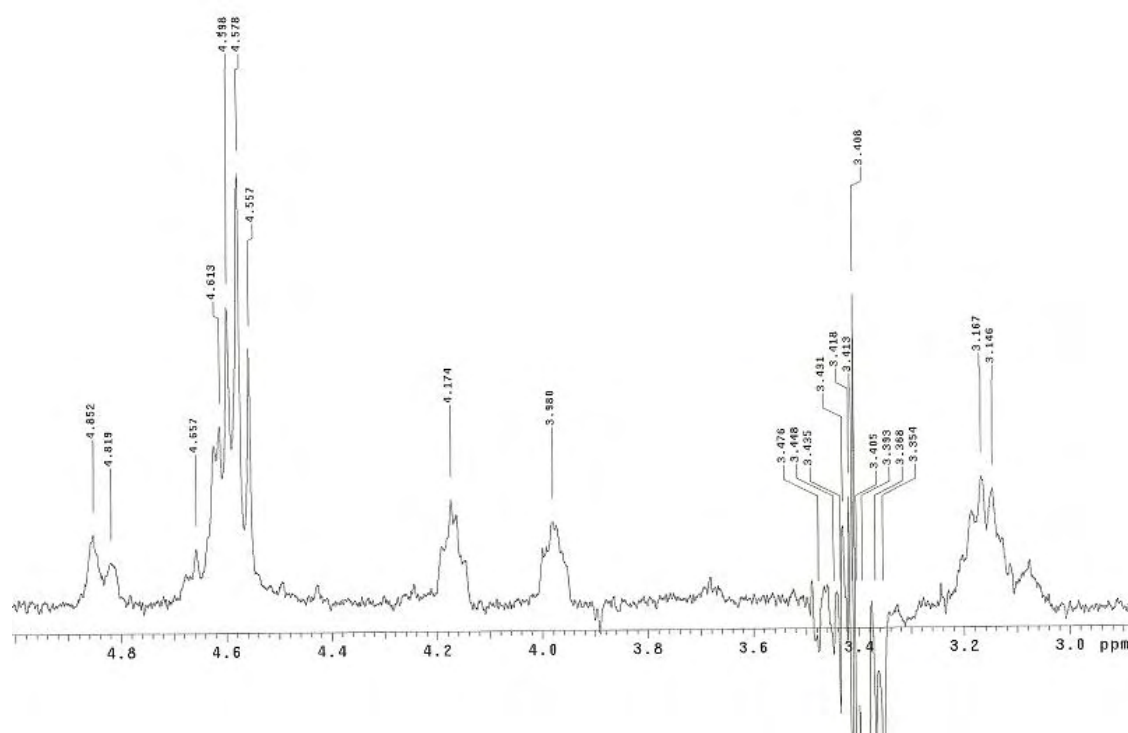


Figura 103. Espectro TOCSY 1D de **Sn8** (DMSO-d<sub>6</sub>, 11,4 T).

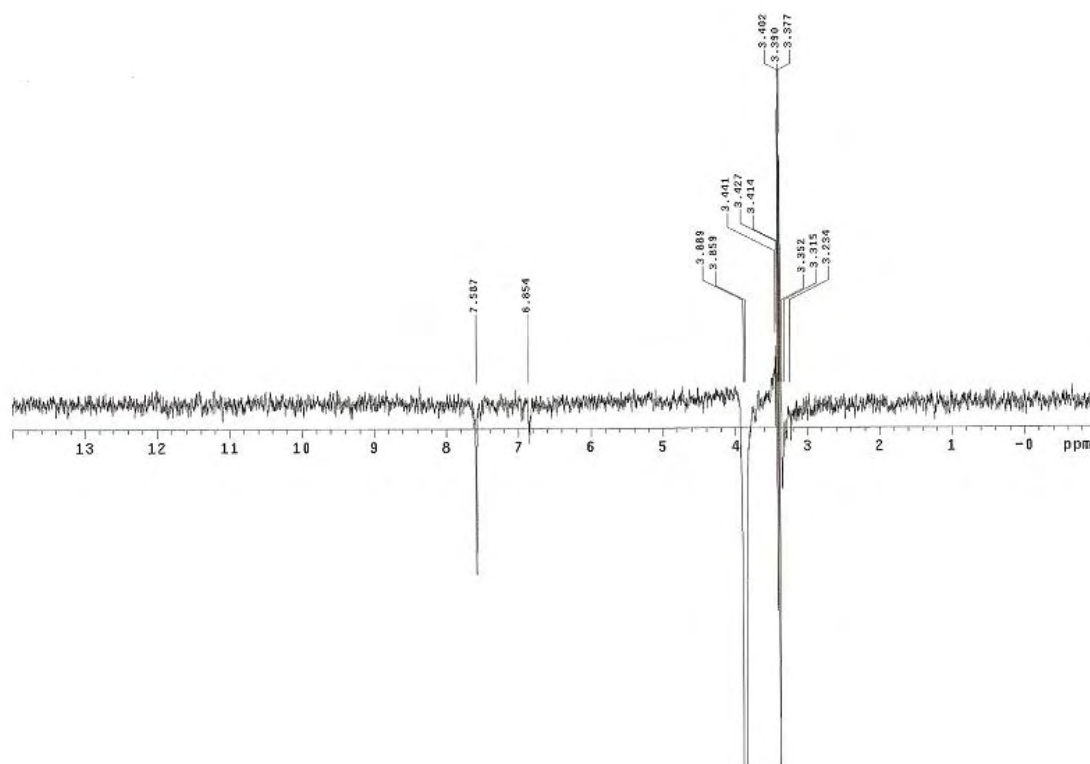
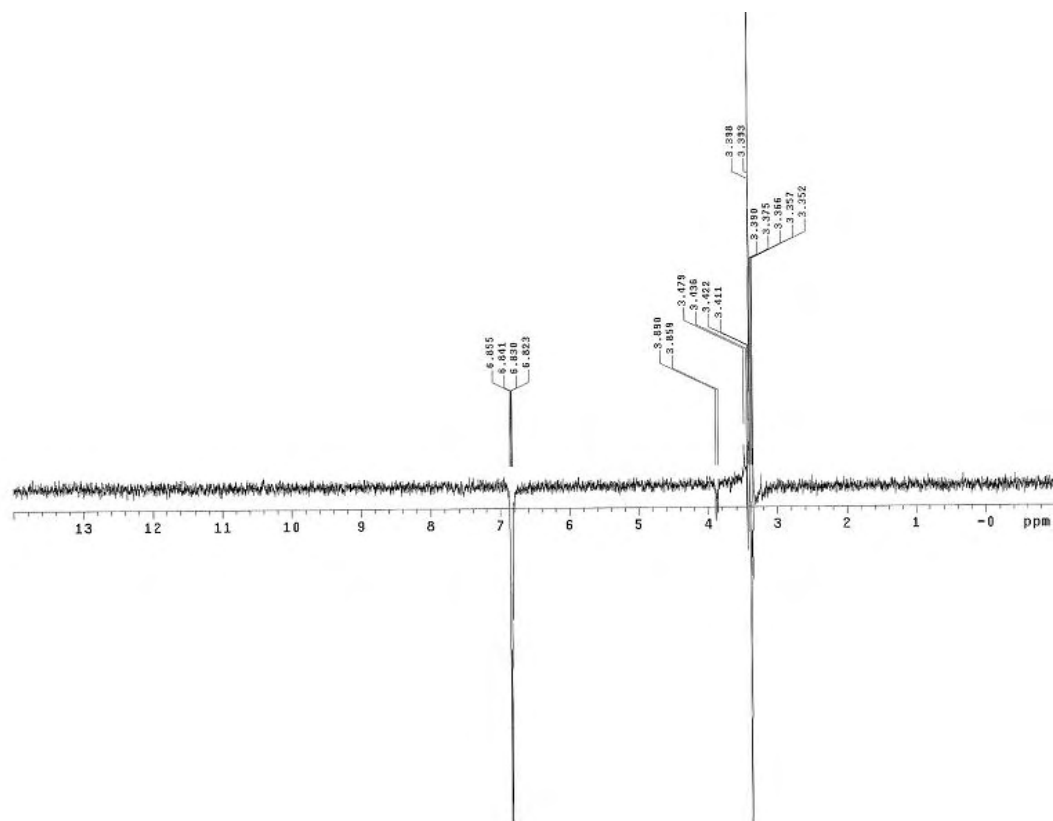
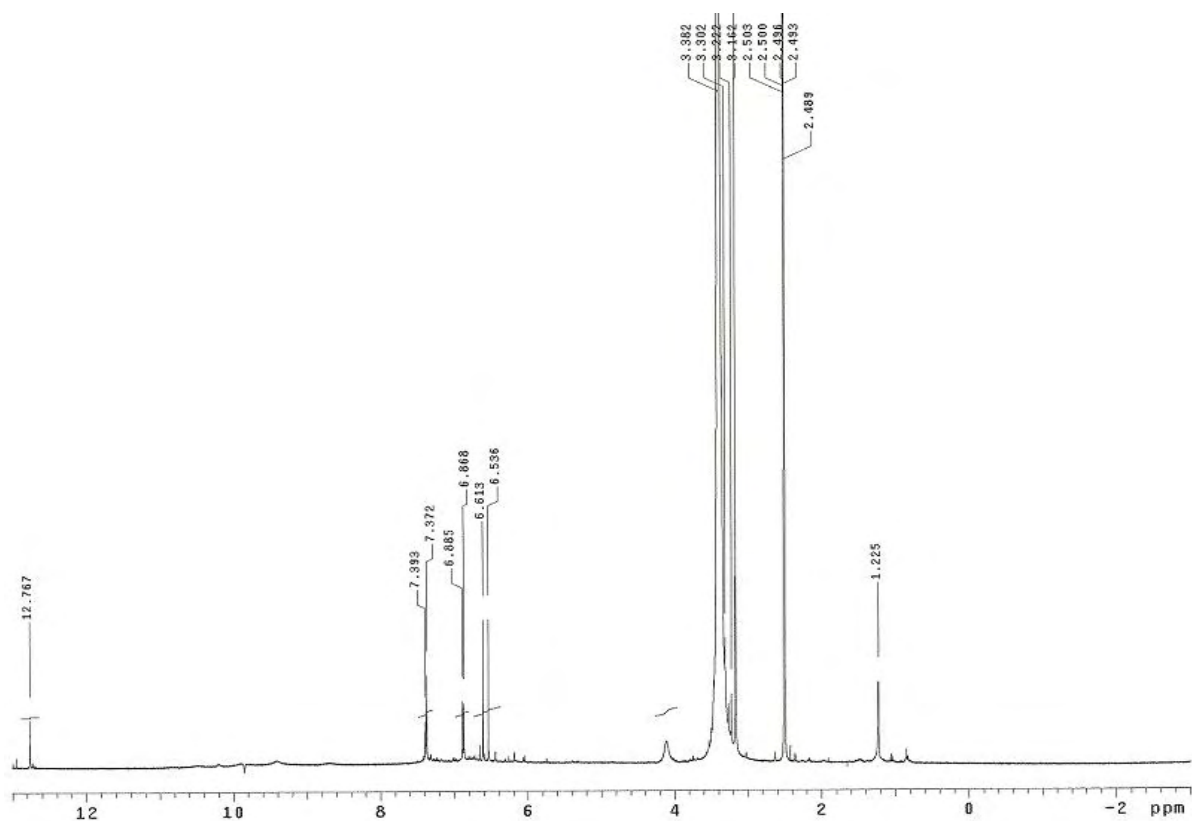


Figura 104. Espectro NOESY 1D de **Sn8** (DMSO-d<sub>6</sub>, 11,4 T).

Figura 105. Espectro NOESY 1D de **Sn8** (DMSO-d<sub>6</sub>, 11,4 T).Figura 106. Espectro de RMN de H<sup>1</sup> de **Sn9** (DMSO-d<sub>6</sub>, 11,4 T).

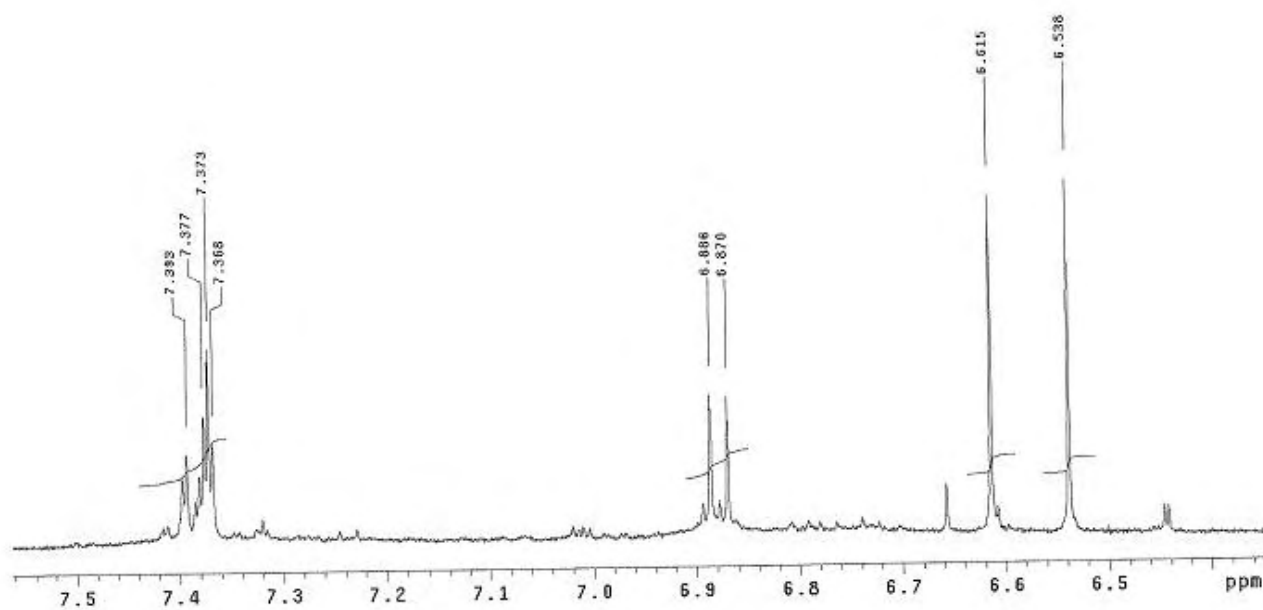


Figura 107. Espectro de RMN de  $H^1$  (ampliação na região de  $\delta$  6,4 a  $\delta$  7,5) de **Sn9** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

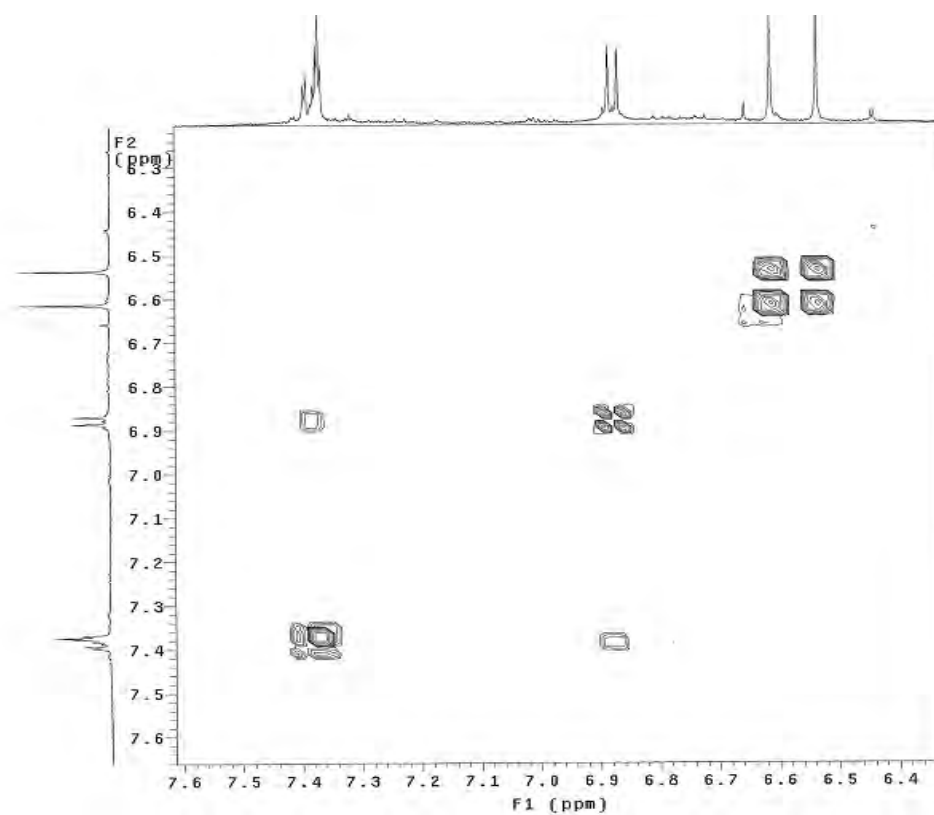


Figura 108. Espectro  $g$ COSY (ampliação na região de  $\delta$  6,3 a  $\delta$  7,6) de **Sn9** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

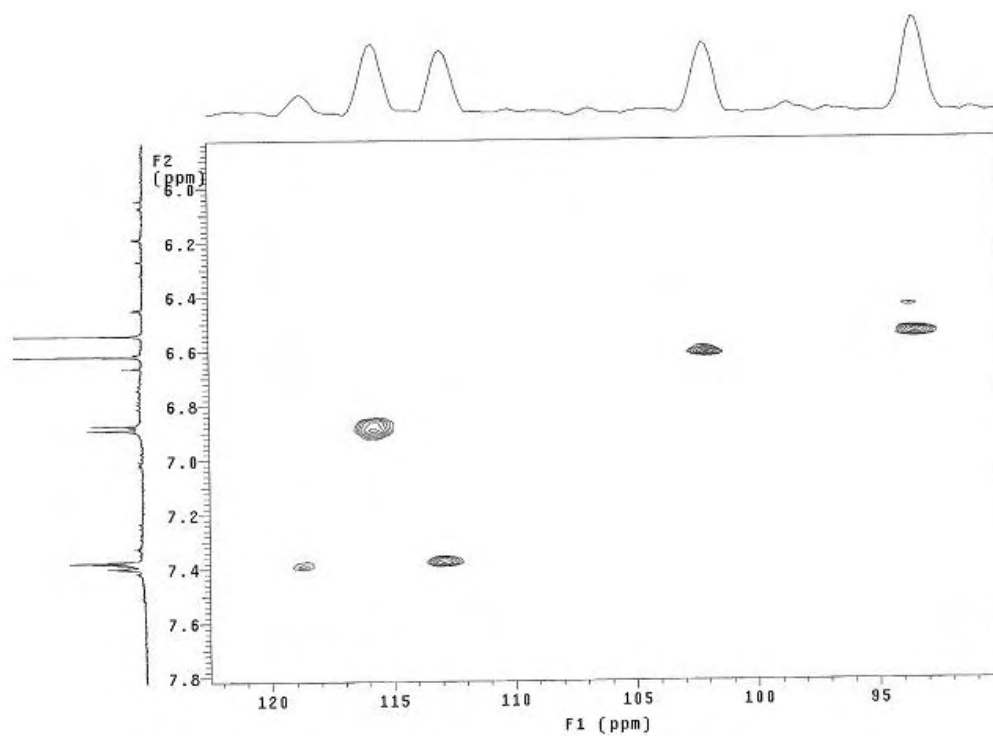


Figura 109. Espectro gHMBC (ampliação na região de  $\delta$  6,0 a  $\delta$  7,8) de **Sn9** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

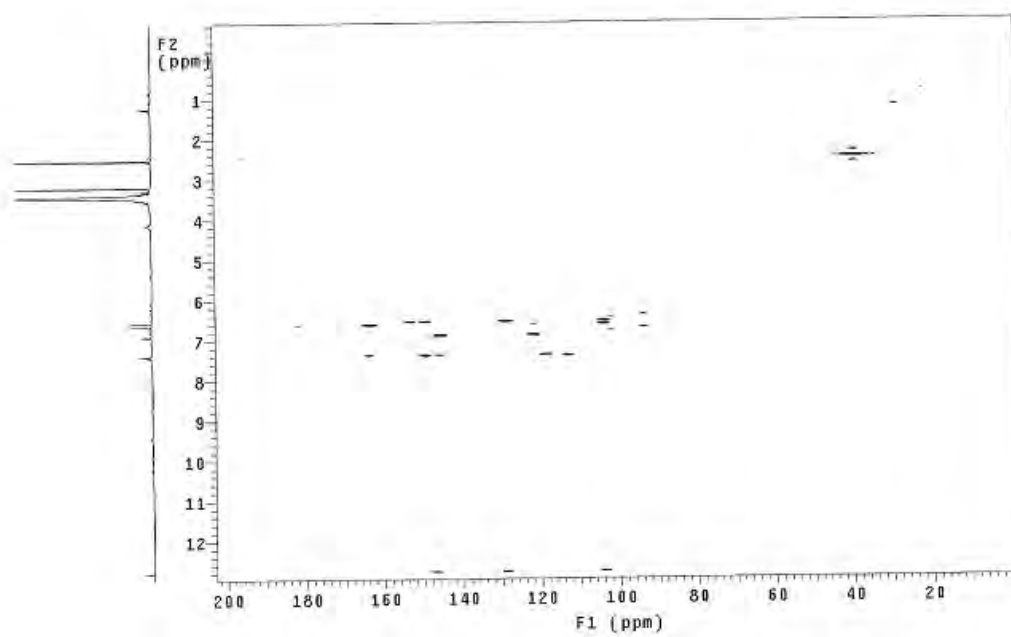


Figura 110. Espectro gHMBC de **Sn9** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

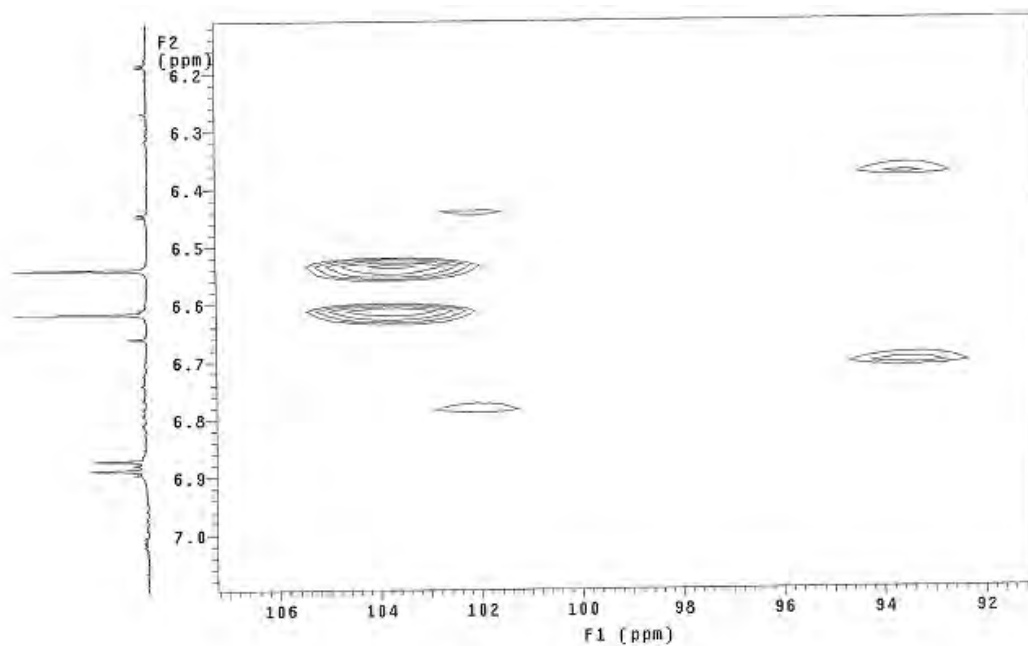


Figura 111. Espectro gHMBC (ampliação na região de  $\delta$  6,1 a  $\delta$  7,5) de **Sn9** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

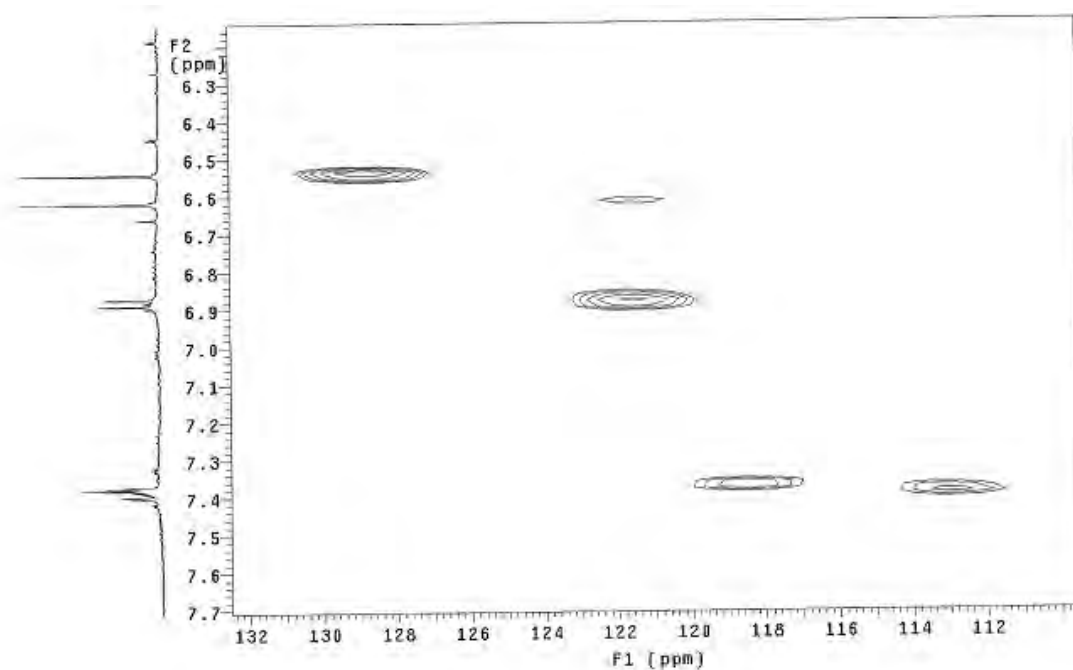


Figura 112. Espectro gHMBC (ampliação na região de  $\delta$  6,1 a  $\delta$  7,7) de **Sn9** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).

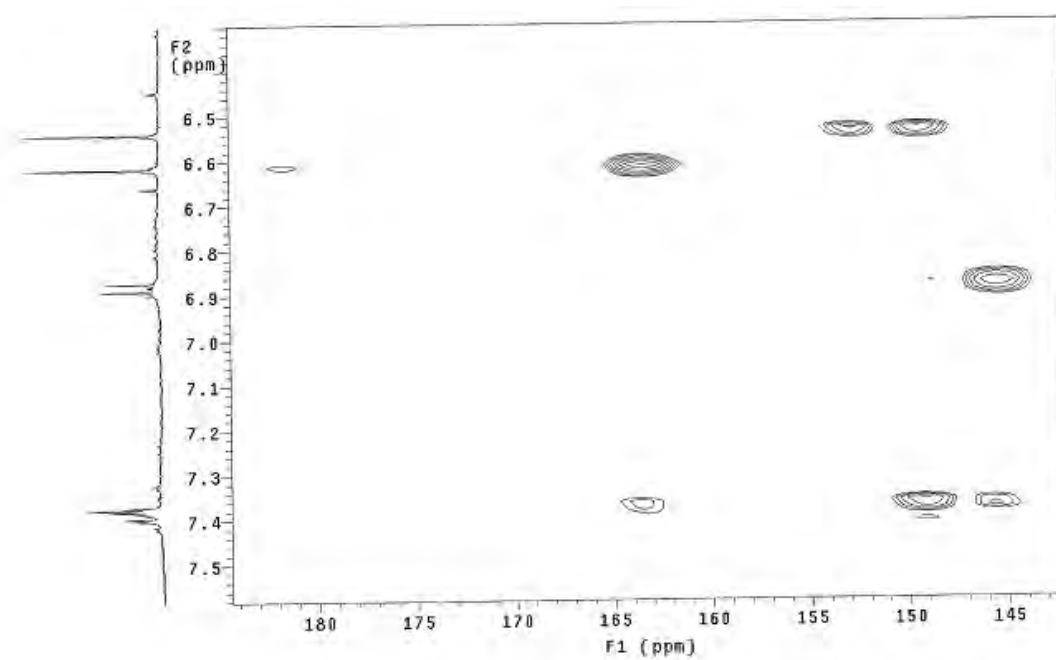


Figura 113. Espectro gHMBC (ampliação na região de  $\delta$  6,4 a  $\delta$  7,5) de **Sn9** (DMSO- $d_6$ , 11,4 T).