



UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“Júlio de Mesquita Filho”  
Instituto de Química de Araraquara  
Programa de Pós-graduação em Química



**SESQUITERPENOS E LIGNANAS DE**  
***Holostylis reniformis.***

MARCOS DONIZETE PELIÇON PEREIRA  
Mestrando

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. LUCIA MARIA XAVIER LOPES

Araraquara  
2012

MARCOS DONIZETE PELIÇON PEREIRA

**SESQUITERPENOS E LIGNANAS DE**  
*Holostylis reniformis.*

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

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. LUCIA MARIA XAVIER LOPES

Araraquara  
2012

FICHA CATALOGRÁFICA

P436s      Pereira, Marcos Donizete Pelicon  
              Sesquiterpenos e lignanas de *Holostylis reniformis* /  
Marcos Donizete Pelicon Pereira. – Araraquara : [s.n], 2012  
              118 f. : il.

              Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,  
              Instituto de Química  
              Orientador: Lucia Maria Xavier Lopes

              1. Produtos naturais. 2. Aristolochiaceae. 3. *Holostylis*  
              *reniformis*. 4. Sesquiterpenos. 5. Lignanas. I. Título.

## **DADOS CURRICULARES**

MARCOS DONIZETE PELIÇON PEREIRA

### **DADOS PESSOAIS**

Nascimento: 11/08/1983

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: Assis Chateaubriand-PR

Profissão: Químico

Endereço Profissional: Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química de Araraquara - UNESP, C.P. 355, CEP 14801-970, Araraquara-SP.

Email: mpelicon@bol.com.br

### **FORMAÇÃO ACADÊMICA**

Graduação: Química Licenciatura

Instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE

Mestrado: Química, Área de Concentração - Química Orgânica

Instituição: Universidade Estadual Paulista – UNESP, Instituto de Química de Araraquara

Dissertação: Sesquiterpenos e lignanas de *Holostylis reniformis*

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lucia Maria Xavier Lopes

Bolsas: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (agosto/2010 a agosto/2011); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES (março/2012 a agosto/2012)

### **TRABALHOS CIENTÍFICOS PUBLICADOS**

Artigos completos submetidos em periódicos

1. Pereira M. D. P., Silva T., Lopes L. M. X., Aguiar A. C. C., Krettli A. U. 4,5-Seco-Guaiane and Nine-Membered Sesquiterpene Lactone from *Holostylis reniformis*. *Phytochemistry*, 2012.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. Marcos, D. P. Pereira, Lucia M. X. Lopes. New Lignans from *Holostylis reniformis*. 3<sup>rd</sup> Brazilian Conference on Natural Products, the XXIX Annual Meeting on Micromolecular Evolution, Systematics and Ecology, and the VII Meeting of the Latin-american Phytochemical Society (3<sup>rd</sup> BCNP, 2011).
2. Lucia M. X. Lopes, Marcos D. P. Pereira, Tito da Silva, Antoniana U. Krettli. Sesquiterpenes from *Holostylis reniformis*. Phytochemical Society of North America, 50th Anniversary Meeting (PSNA, 2011).

MARCOS DONIZETE PELIÇON PEREIRA

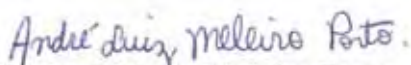
Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 17 de agosto de 2012.

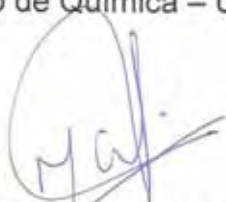
BANCA EXAMINADORA



Profª Drª Lucia Maria Xavier Lopes  
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. André Luiz Meleiro Porto  
Instituto de Química – USP, São Carlos



Profª Drª Mônica Tallarico Pupo  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP, Ribeirão Preto

## DEDICATÓRIA

A Deus, aos meus pais Valdenil e Maria,  
aos meus irmãos, e a minha namorada  
Verônica.

## **AGRADECIMENTOS**

À Prof. Dr<sup>a</sup>. Lucia Maria Xavier Lopes pela orientação, ensinamento, profissionalismo, amizade e confiança depositada.

Ao Dr. Nivaldo Borallo, pela realização dos experimentos de RMN e pela amizade.

Ao Dr. Alberto C. Alcício pelos experimentos de massas realizados, além das conversas agradáveis em momentos descontraídos.

Ao Prof. Dr. Luis Vitor Silva do Sacramento pelo auxílio e colaboração na secagem e tratamento do material vegetal.

Aos meus pais pelo incentivo, apoio e amor incondicional sentido muitas vezes em demoradas conversas por telefone.

Aos meus irmãos Eliana e Sidnei, os quais sempre me incentivaram, ajudaram e foram muito amorosos mesmo em pequenos gestos.

À minha namorada Verônica, por ter paciência em vários momentos difíceis, pelo apoio, amor e carinho desprendido sempre que precisei e por ser muito especial para mim.

À Gislaine pelo auxílio, pelas conversas, momentos descontraídos e pela amizade construída.

Ao Claudio pela amizade, ajuda e indagações que auxiliaram em meu crescimento científico.

Aos alunos de iniciação científica, Matheus e Ivan na colaboração com o trabalho, e a todos meus amigos em especial aos da república e aos das viagens para casa (Nicolas, Juliano, Michele, Amauri, Renato, Vinícius, Guilherme, Maíke e Juliana) pelo companheirismo.

Ao instituto de Química, e a Universidade Estadual Paulista UNESP-Araraquara.

E por fim mais não menos importante, às agências de fomento CNPq e CAPES, pelas bolsas concedidas, FAPESP e CNPq-PRONEX pelos auxílios financeiros.

“A mais bela experiência que podemos ter é a do mistério. É a emoção fundamental existente na origem da verdadeira arte e ciência. Aquele que não a conhece e não pode se maravilhar com ela está praticamente morto e seus olhos estão ofuscados.”

(Albert Einstein)

## RESUMO

*Holostylis reniformis* sintetiza uma variedade de compostos, incluindo seco lignanas e sesquiterpenos. Em busca de potenciais compostos antimaláricos, novos estudos fitoquímicos dos extratos de raízes foram realizados. Este trabalho descreve o isolamento de quatorze compostos por meio de técnicas cromatográficas, principalmente por CCD e CC, e CLAE. Estes compostos foram caracterizados por métodos espectrométricos, especialmente por experimentos de RMN e medidas de rotação óptica específica. A partir dos extratos de raízes de *H. reniformis* três sesquiterpenos novos, 4,5-seco-guaiano (7-*epi*-11-hidroxichabrolidiona A, **XIV**), uma lactona de nove membros (holostilactona, **XV**), e uma megastigmana [(6*S*,9*S*,7*E*)-6,9-di-hidroxi-10-(2'-hidroxietoxi)-4,7-megastigmadien-3-ona, **XVI**], juntamente com uma nova lignana [(7*R*, 7'*R*,8*S*,8'*S*)-8,8'-dimetil-4-hidroxi-3',4',5,7-tetrametil-2,7'-ciclolignana, **VIII**] foram isoladas. Além disso, os compostos conhecidos sitosterol (**I**), alantoína (**XI**), e a lignana furânica futokadsurin C (**IX**) foram obtidos.

Visando estudos posteriores sobre estrutura e atividade antimalárica, o composto (7'*R*,8*S*,8'*S*)-8,8'-dimetil-3',4',4,5-tetrametil-2,7'-ciclolignan-7-ona foi submetido a transformações químicas gerando dois derivados.

**Palavras-chave:** Aristolochiaceae, *Holostylis reniformis*, sesquiterpenos, lignanas.

## ABSTRACT

*Holostylis reniformis* can synthesize a variety of seco compounds including lignans and sesquiterpenes. In search of potential antimalarial compounds further phytochemical studies on the root extracts were carried out. This work describes the isolation of 14 compounds by chromatographic techniques, mainly by TLC, CC, and HPLC. These compounds were characterized by spectrometric methods, particularly by NMR experiments and optical rotation measurements. From the root extracts of *H. reniformis* three new sesquiterpenes, 4,5-seco-guaiane (7-*epi*-11-hydroxychabrolidione A, **XIV**), a nine-membered lactone (holostylactone, **XV**), and a megastigmane [(6*S*,7*E*,9*S*)-6,9-dihydroxy-10-(2'-hydroxyethoxy)-4,7-megastigmadien-3-one, **XVI**], together with a new lignan [(7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*)-8,8'-dimethyl-4-hydroxy-3',4',5,7-tetramethoxy-2,7'-cyclo lignan, **VIII**] were isolated. In addition, the known compounds sitosterol (**I**), allantoin (**XI**), and a tetrahydrofuran lignans futokadsurin C (**IX**) were obtained.

(7'*R*,8*S*,8'*S*)-8,8'-dimethyl-3',4',4,5-tetramethoxy-2,7'-cyclo lignan-7-one was subjected to chemical transformations into two derivatives for further structure and antimalarial activity studies.

**Keywords:** Aristolochiaceae, *Holostylis reniformis*, sesquiterpenes, lignans.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Fotos de diferentes partes de <i>H. reniformis</i> .....                                                                                                                                                                                                             | 20 |
| <b>Figura 2.</b> Exemplos de esqueletos carbônicos de lignanas isoladas de espécies da família Aristolochiaceae <sup>13</sup> .....                                                                                                                                                   | 21 |
| <b>Figura 3.</b> Esqueletos carbônicos de lignanas isoladas da espécie Aristolochiaceae.....                                                                                                                                                                                          | 22 |
| <b>Figura 4.</b> Fluxograma da preparação dos extratos de <i>H. reniformis</i> . ....                                                                                                                                                                                                 | 25 |
| <b>Figura 5.</b> Fluxograma de fracionamento, purificação e isolamento dos constituintes químicos do extrato acetônico de raiz de <i>H. reniformis</i> .....                                                                                                                          | 30 |
| <b>Figura 6.</b> Estruturas das substâncias isoladas do extrato acetônico de <i>H. reniformis</i> e obtidas via reações de transformações químicas.....                                                                                                                               | 34 |
| <b>Figura 7.</b> Espectro na região de UV de <b>II</b> à <b>IV</b> .....                                                                                                                                                                                                              | 36 |
| <b>Figura 8.</b> Estruturas e conformações determinadas para as substâncias <b>II</b> , <b>III</b> e <b>IV</b> .....                                                                                                                                                                  | 36 |
| <b>Figura 9.</b> Curvas de DC das substâncias <b>II</b> , <b>III</b> e <b>IV</b> (vermelho, verde e azul), respectivamente .....                                                                                                                                                      | 38 |
| <b>Figura 10.</b> Proposta para os íons fragmentários observados nos espectros de baixa resolução de <b>V</b> e <b>VI</b> . ....                                                                                                                                                      | 41 |
| <b>Figura 11.</b> Curvas de DC das substâncias <b>V</b> , <b>VI</b> e <b>VII</b> (Azul, Verde e vermelho), respectivamente. ....                                                                                                                                                      | 43 |
| <b>Figura 12.</b> Espectros de UV de <b>VIII</b> .....                                                                                                                                                                                                                                | 45 |
| <b>Figura 13.</b> Correlações obtidas no espectro de gHMBC ( <sup>13</sup> C→ <sup>1</sup> H). ....                                                                                                                                                                                   | 45 |
| <b>Figura 14.</b> a) Interações espaciais observadas no experimento NOESY-2D ( <sup>1</sup> H↔ <sup>1</sup> H). b) Configuração estabelecida para <b>VIII</b> . ....                                                                                                                  | 47 |
| <b>Figura 15.</b> Curva de DC, e estrutura da substância <b>VIII</b> .....                                                                                                                                                                                                            | 47 |
| <b>Figura 16.</b> Espectros de absorção na região do UV das substâncias <b>IX</b> (a) e <b>X</b> (b). ....                                                                                                                                                                            | 49 |
| <b>Figura 17.</b> Deslocamentos químicos de hidrogênios em diferentes configurações do anel furânico <sup>19-27</sup> .....                                                                                                                                                           | 50 |
| <b>Figura 18.</b> a) Correlações obtidas nos experimentos de gCOSY [ <sup>1</sup> H ↔ <sup>1</sup> H] e HOMODEC [ <sup>1</sup> H↔ <sup>1</sup> H] de <b>XIV</b> . b) Correlações observadas no experimento de gHMBC [ <sup>13</sup> C→ <sup>1</sup> H] da substância <b>XIV</b> ..... | 54 |
| <b>Figura 19.</b> Deslocamentos químicos de <sup>13</sup> C apresentados em diferentes configurações .....                                                                                                                                                                            | 54 |
| <b>Figura 20.</b> Irradiação seletiva obtida em experimentos de gNOESY 1D [ <sup>1</sup> H → <sup>1</sup> H] ..                                                                                                                                                                       | 55 |

|                                                                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 21. a)</b> Conformação <b>b)</b> configuração relativa de <b>XIV</b> .....                                                                                                                              | 56 |
| <b>Figura 22.</b> Biogênese dos sesquiterpenos <b>XIV</b> , <b>XV</b> e 1- <i>epi</i> -chabrolidiona A. ....                                                                                                      | 57 |
| <b>Figura 23.</b> Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ atribuídos à estrutura de <b>XV</b> (as multiplicidades dos carbonos foram determinadas por experimentos de DEPT, <i>g</i> HMQC) ..... | 58 |
| <b>Figura 24.</b> Correlações observadas por experimentos <i>g</i> HMBC da substância <b>XV</b> [ $^{13}\text{C} \rightarrow ^1\text{H}$ ].....                                                                   | 60 |
| <b>Figura 25. a)</b> Principais interações espaciais <i>n</i> Oe <b>b)</b> multiplicidades dos hidrogênios com base nos experimentos de COSY, TOCSY e HOMODEC da substância <b>XV</b> ....                        | 60 |
| <b>Figura 26.</b> Deslocamento químicos e constantes de acoplamento de <b>XV</b> .....                                                                                                                            | 61 |
| <b>Figura 27.</b> Estrutura química do cucumegastigmano I e de <b>XVI</b> .....                                                                                                                                   | 62 |
| <b>Figura 28.</b> Esquema das reações de obtenção das lignanas <b>XII</b> e <b>XIII</b> . ....                                                                                                                    | 63 |
| <b>Figura 29.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do extrato de raiz de <i>H. reniformis</i> ( $\text{CDCl}_3$ , 7,1 T) .....                                                                                     | 72 |
| <b>Figura 30.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>I</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 7,1 T).....                                                                                                                     | 72 |
| <b>Figura 31.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>I</b> , ( $\text{CDCl}_3$ , 7,1 T).....                                                                                                                | 73 |
| <b>Figura 32.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>II</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T). ....                                                                                                                  | 73 |
| <b>Figura 33.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>II</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                                                                                                | 74 |
| <b>Figura 34.</b> Espectro de EM-EI de <b>II</b> .....                                                                                                                                                            | 74 |
| <b>Figura 35.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ <b>III</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                                                                                                     | 75 |
| <b>Figura 36.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>III</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                                                                                               | 75 |
| <b>Figura 37.</b> Espectro de EM-EI de <b>III</b> .....                                                                                                                                                           | 76 |
| <b>Figura 38.</b> Mapa de contornos de <i>g</i> COSY de <b>III</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                                                                                               | 76 |
| <b>Figura 39.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>IV</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7).....                                                                                                                     | 77 |
| <b>Figura 40.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>IV</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T) .....                                                                                                               | 77 |
| <b>Figura 41.</b> Espectro de EM-EI de <b>IV</b> .....                                                                                                                                                            | 78 |
| <b>Figura 42.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>V</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                                                                                                    | 78 |
| <b>Figura 43.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>V</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T) .....                                                                                                                | 79 |
| <b>Figura 44.</b> Espectro de EM-EI de <b>V</b> .....                                                                                                                                                             | 79 |
| <b>Figura 45.</b> Mapa de contornos <i>g</i> COSY de <b>V</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T) .....                                                                                                                   | 80 |
| <b>Figura 46.</b> Mapa de contornos <i>g</i> HMBC de <b>V</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                                                                                                    | 80 |
| <b>Figura 47.</b> Mapa de contornos <i>g</i> HMQC de <b>V</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T) .....                                                                                                                   | 81 |
| <b>Figura 48.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>VI</b> . ....                                                                                                                                             | 81 |
| <b>Figura 49.</b> Espectro de EM-EI de <b>VI</b> .....                                                                                                                                                            | 82 |

|                                                                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figura 50.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>VII</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                 | 82  |
| <b>Figura 51.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>VII</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T) .....                             | 83  |
| <b>Figura 52.</b> Espectro de EM-ESI de <b>VII</b> .....                                                                         | 83  |
| <b>Figura 53.</b> Mapa de contornos $g\text{COSY}$ de <b>VII</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                | 84  |
| <b>Figura 54.</b> Mapa de contornos $g\text{HMBC}$ de <b>VII</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                | 85  |
| <b>Figura 55.</b> Mapa de contornos $g\text{HMQC}$ de <b>VII</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T) .....                               | 86  |
| <b>Figura 56.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>VIII</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                | 87  |
| <b>Figura 57.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>VIII</b> ampliado ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T) .....                      | 87  |
| <b>Figura 58.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>VIII</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T) .....                            | 88  |
| <b>Figura 59.</b> Espectro de EM-ESI <b>VIII</b> .....                                                                           | 88  |
| <b>Figura 60.</b> Espectro de absorção no IV (pastilha de KBr) de <b>VIII</b> . .....                                            | 89  |
| <b>Figura 61.</b> Mapa de contornos $g\text{HMQC}$ de <b>VIII</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T) .....                              | 90  |
| <b>Figura 62.</b> Mapa de contornos $g\text{HMBC}$ de <b>VIII</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                               | 91  |
| <b>Figura 63.</b> Mapa de contornos $g\text{NOESY}$ de <b>VIII</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                              | 91  |
| <b>Figura 64.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>IX</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                  | 92  |
| <b>Figura 65.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>IX</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T). .....                             | 92  |
| <b>Figura 66.</b> Espectro de EM-EI de <b>IX</b> .....                                                                           | 93  |
| <b>Figura 67.</b> Mapa de contornos $g\text{COSY}$ de <b>IX</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T) .....                                | 93  |
| <b>Figura 68.</b> Mapa de contornos $g\text{HMBC}$ de <b>IX</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                 | 94  |
| <b>Figura 69.</b> Mapas de contornos $g\text{HMQC}$ de <b>IX</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T) .....                               | 94  |
| <b>Figura 70.</b> Mapas de contornos $g\text{NOESY}$ de <b>IX</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                               | 95  |
| <b>Figura 71.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>X</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 7,1 T).....                                    | 95  |
| <b>Figura 72.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de <b>X</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 7,1 T). .....                                  | 96  |
| <b>Figura 73.</b> Espectros de EM-EI de <b>X</b> .....                                                                           | 96  |
| <b>Figura 74.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de <b>XI</b> ( $\text{DMSO}-d_6$ , 7,1 T). .....                                  | 97  |
| <b>Figura 75. a)</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>XIV</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T) <b>b)</b> Espectro ampliado ..... | 98  |
| <b>Figura 76.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de <b>XIV</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                 | 99  |
| <b>Figura 77.</b> Espectro de EM-ESI de <b>XIV</b> .....                                                                         | 99  |
| <b>Figura 78.</b> Espectro de IV (pastilha de KBr) de <b>XIV</b> .....                                                           | 100 |
| <b>Figura 79.</b> Mapa de contornos $g\text{HMBC}$ de <b>XIV</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T) .....                  | 101 |
| <b>Figura 80.</b> HOMODEC de <b>XIV</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                                         | 102 |
| <b>Figura 81.</b> Mapa de contornos $g\text{COSY}$ de <b>XIV</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                | 103 |
| <b>Figura 82.</b> Espectros de DEPT. $135^\circ$ de <b>XIV</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).....                                  | 103 |

|                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figura 83.</b> Espectros de DEPT. 90 ° de <b>XIV</b> (CDCl <sub>3</sub> , 11,7 T).....                          | 104 |
| <b>Figura 84.</b> Mapa de contornos <i>g</i> HSQC de <b>XIV</b> (CDCl <sub>3</sub> , 11,7 T).....                  | 104 |
| <b>Figura 85.</b> Mapa de contornos <i>g</i> HMQC de <b>XIV</b> (CDCl <sub>3</sub> , 11,7 T).....                  | 105 |
| <b>Figura 86.</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>XV</b> (CDCl <sub>3</sub> , 11,7 T) .....                | 106 |
| <b>Figura 87.</b> Espectro ampliado de RMN de <sup>1</sup> H de <b>XV</b> (CDCl <sub>3</sub> , 11,7 T).....        | 106 |
| <b>Figura 88.</b> Espectro de RMN de <sup>13</sup> C de <b>XV</b> (CDCl <sub>3</sub> , 11,7 T).....                | 107 |
| <b>Figura 89.</b> Espectro de EM-ESI de <b>XV</b> .....                                                            | 107 |
| <b>Figura 90.</b> Espectro de IV de <b>XV</b> .....                                                                | 108 |
| <b>Figura 91.</b> Espectro de DEPT 135 ° de <b>XV</b> (CDCl <sub>3</sub> , 11,7 T) .....                           | 108 |
| <b>Figura 92.</b> Mapa de contornos <i>g</i> HMBC de <b>XV</b> (CDCl <sub>3</sub> , 11,7 T) .....                  | 109 |
| <b>Figura 93.</b> Mapa de contornos <i>g</i> HMQC de <b>XV</b> (CDCl <sub>3</sub> , 11,7 T).....                   | 110 |
| <b>Figura 94.</b> Mapa de contornos <i>g</i> COSY de <b>XV</b> (CDCl <sub>3</sub> , 11,7 T).....                   | 111 |
| <b>Figura 95.</b> Irradiação seletiva em δ 2,71 em experimento de HOMODEC.....                                     | 112 |
| <b>Figura 96.</b> Irradiação seletiva em δ 2,06 em experimento de HOMODEC.....                                     | 112 |
| <b>Figura 97.</b> Mapa de contornos <i>g</i> NOESY de <b>XV</b> (CDCl <sub>3</sub> , 11,7 T). .....                | 113 |
| <b>Figura 98.</b> <i>J</i> : Calculado usando ACD/ChemSketch Predictors program.....                               | 114 |
| <b>Figura 99.</b> Mapa de contornos TOCSY de <b>XV</b> (CDCl <sub>3</sub> , 11,7 T) .....                          | 114 |
| <b>Figura 100.</b> Espectros de RMN de <sup>1</sup> H de <b>XVI</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 11,7 T). .....  | 115 |
| <b>Figura 101.</b> Espectros de RMN de <sup>13</sup> C de <b>XVI</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 11,7 T). ..... | 116 |
| <b>Figura 102.</b> Mapa de contornos <i>g</i> HMBC de <b>XVI</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 11,7 T). .....     | 116 |
| <b>Figura 103.</b> Espectro de absorção no IV (pastilha de KBr) de <b>XVI</b> .....                                | 117 |
| <b>Figura 104.</b> Espectro de EM-ESI de <b>XVI</b> .....                                                          | 117 |
| <b>Figura 105.</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>XII</b> (CDCl <sub>3</sub> , 11,7 T).....               | 118 |
| <b>Figura 106.</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>XIII</b> (CDCl <sub>3</sub> , 11,7 T).....              | 118 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1.</b> Estruturas de substâncias isoladas de <i>H. reniformis</i> <sup>10</sup> .....                                                | 22 |
| <b>Tabela 2.</b> Continuação: Estruturas de substâncias isoladas de <i>H. reniformis</i> <sup>10</sup> .....                                   | 23 |
| <b>Tabela 3.</b> Rendimento dos extratos obtidos de <i>H. reniformis</i> .....                                                                 | 26 |
| <b>Tabela 4.</b> Massas das frações obtidas, no processo cromatográfico.....                                                                   | 27 |
| <b>Tabela 5.</b> Massa das frações obtidas do subfracionamento de F-18.....                                                                    | 27 |
| <b>Tabela 6.</b> Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>II</b> , <b>III</b> e <b>IV</b> (11,7 T, <i>J</i> em Hz, CDCl <sub>3</sub> ).....        | 37 |
| <b>Tabela 7.</b> Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>V</b> e <b>VI</b> (11,7 T, <i>J</i> em Hz, CDCl <sub>3</sub> ).....                      | 40 |
| <b>Tabela 8.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H de <b>VII</b> (11,7 T, <i>J</i> = Hz, CDCl <sub>3</sub> ).....                                    | 42 |
| <b>Tabela 9.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C, gHMBC e NOESY de <b>VIII</b> (11,7 T, <i>J</i> em Hz, CDCl <sub>3</sub> ).....  | 46 |
| <b>Tabela 10.</b> Dados de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C de <b>IX</b> (11,7 T, <i>J</i> = Hz, CDCl <sub>3</sub> ).....               | 49 |
| <b>Tabela 11.</b> Dados de RMN de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C de <b>IX</b> (11,7 T, <i>J</i> em Hz, CDCl <sub>3</sub> ).....           | 51 |
| <b>Tabela 12.</b> Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>X</b> (7,1 T, <i>J</i> em Hz, CDCl <sub>3</sub> ).....                                  | 52 |
| <b>Tabela 13.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C de <b>XIV</b> (11,7 T, <i>J</i> em Hz, CDCl <sub>3</sub> ).....                | 56 |
| <b>Tabela 14.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C de <b>XV</b> (11,7 T, <i>J</i> em Hz, CDCl <sub>3</sub> ).....                 | 59 |
| <b>Tabela 15.</b> Dados de RMN de <b>XVI</b> e do cucumegastigmano I <sup>34</sup> (11,7 T, <i>J</i> em Hz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )..... | 62 |
| <b>Tabela 16.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H de <b>XII</b> (11,7 T, <i>J</i> em Hz, CDCl <sub>3</sub> ).....                                  | 64 |
| <b>Tabela 17.</b> Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>XIII</b> (11,7 T, <i>J</i> em Hz, CDCl <sub>3</sub> ).....                              | 65 |

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

|                             |                                                     |
|-----------------------------|-----------------------------------------------------|
| $[\alpha]_D^{25}$           | Rotação óptica                                      |
| AcOEt                       | Acetato de etila                                    |
| APTS                        | Ácido <i>p</i> -toluenossulfônico                   |
| 2D                          | Bidimensional                                       |
| <i>c</i>                    | Concentração (massa/volume)                         |
| CDCl <sub>3</sub>           | Clorofórmio deuterado                               |
| $\lambda$                   | Comprimento de onda                                 |
| CC                          | Cromatografia em Coluna                             |
| CCDC                        | Cromatografia em Camada Delgada Comparativa         |
| CCDP                        | Cromatografia em Camada Delgada Preparativa         |
| CLAE                        | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência            |
| COSY                        | Correlated Spectroscopy                             |
| <i>d</i>                    | Dubleto                                             |
| DC                          | Dicroísmo Circular                                  |
| <i>dd</i>                   | Duplo dubleto                                       |
| <i>ddd</i>                  | Duplo duplo dubleto                                 |
| <i>dddd</i>                 | Duplo duplo duplo dubleto                           |
| <i>ddq</i>                  | Duplo duplo quadrupletto                            |
| <i>ddt</i>                  | Duplo duplo tripleto                                |
| DEPT                        | Distortionless Enhancement by Polarization Transfer |
| <i>dl</i>                   | Dubleto largo                                       |
| dm                          | Decímetro                                           |
| DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> | Dimetilsulfóxido hexadeuterado                      |
| <i>dq</i>                   | Duplo quadrupletto                                  |
| <i>dqd</i>                  | Duplo quadruplo dubleto                             |
| D <sub>2</sub> O            | Água deuterada                                      |
| EM                          | Espectrometria de Massas                            |
| EI                          | Electron Ionization                                 |
| ESI                         | Electrospray Ionization                             |
| eV                          | Elétron-volt                                        |
| FE                          | Fase estacionária                                   |

|                                 |                                                                        |
|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| FM                              | Fase móvel                                                             |
| Hex.                            | Hexano                                                                 |
| HMBC                            | Heteronuclear Multiple Bond Correlation                                |
| HMQC                            | Heteronuclear Multiple Quantum Coherence                               |
| HOMODEC                         | Homonuclear Decouple                                                   |
| HSQC                            | Heteronuclear Single Quantum Coherence                                 |
| Hz                              | Hertz                                                                  |
| Int. rel.                       | Intensidade relativa                                                   |
| IV                              | Infravermelho                                                          |
| $J$                             | Constante de acoplamento                                               |
| $m$                             | Multiplete                                                             |
| min.                            | Minuto(s)                                                              |
| $m/z$                           | Relação massa/carga                                                    |
| Mbar                            | Milibar                                                                |
| nOe                             | Nuclear Overhauser Enhancement                                         |
| NOESY                           | Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy                                 |
| $q$                             | Quadruplete                                                            |
| $qt$                            | Quadruplo tripleto                                                     |
| RMN de $^{13}\text{C}$          | Ressonância Magnética Nuclear de Carbono                               |
| RMN de $^1\text{H}$             | Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio                            |
| $s$                             | Singlete                                                               |
| $tl$                            | Tripleto largo                                                         |
| TOCSY                           | Total Correlation Spectroscopy                                         |
| $tq$                            | Tripla quadruplete                                                     |
| UV                              | Ultravioleta                                                           |
| 1D                              | Unidimensional                                                         |
| $W_{1/2}$                       | Constante de acoplamento aparente                                      |
| $\delta$                        | Deslocamento químico                                                   |
| $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ | Frequência de absorção máxima na região de infravermelho medida em KBr |

## SUMÁRIO

|            |                                                                                                                                       |           |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b>   | <b>INTRODUÇÃO</b>                                                                                                                     | <b>19</b> |
| <b>1.1</b> | <b>A Família Aristolochiaceae</b>                                                                                                     | <b>19</b> |
| <b>1.2</b> | <b>O Gênero <i>Holostylis</i></b>                                                                                                     | <b>20</b> |
| <b>1.3</b> | <b>Lignanas</b>                                                                                                                       | <b>21</b> |
| <b>2</b>   | <b>OBJETIVOS</b>                                                                                                                      | <b>24</b> |
| <b>3</b>   | <b>PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL</b>                                                                                                      | <b>25</b> |
| <b>3.1</b> | <b>Material vegetal</b>                                                                                                               | <b>25</b> |
| <b>3.2</b> | <b>Preparação dos extratos de <i>H. reniformis</i></b>                                                                                | <b>25</b> |
| <b>3.3</b> | <b>Cromatografia em coluna (CC) do extrato acetônico de raiz e purificação por CLAE das frações F-11, 13, 15, 18, 19, 21, 22 e 25</b> | <b>26</b> |
| 3.3.1      | Subfracionamento cromatográfico da fração F-18                                                                                        | 27        |
| 3.3.2      | Isolamento dos constituintes químicos das frações F- 19, 21 e 22                                                                      | 28        |
| 3.3.3      | Isolamento dos constituintes químicos da fração F- 18                                                                                 | 28        |
| 3.3.4      | Isolamento dos constituintes químicos da fração F- 25                                                                                 | 28        |
| 3.3.5      | Isolamento dos constituintes químicos da fração F- 11, 13 e 15                                                                        | 29        |
| <b>3.4</b> | <b>Purificação das frações e isolamento dos constituintes químicos</b>                                                                | <b>30</b> |
| <b>3.5</b> | <b>Transformações químicas</b>                                                                                                        | <b>31</b> |
| 3.5.1      | Transformação química da lignana II em XII                                                                                            | 31        |
| 3.5.2      | Transformação química da lignana XII em XIII                                                                                          | 31        |
| <b>3.6</b> | <b>Materiais e equipamentos</b>                                                                                                       | <b>31</b> |
| <b>4</b>   | <b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>                                                                                                        | <b>33</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Caracterização estrutural das substâncias isoladas</b>                                                                             | <b>33</b> |
| <b>4.2</b> | <b>Sitosterol (I)</b>                                                                                                                 | <b>35</b> |
| <b>4.3</b> | <b>Lignanas ariltetralônicas (II, III e IV)</b>                                                                                       | <b>35</b> |
| 4.3.1      | Determinação das configurações absolutas de II, III e IV                                                                              | 38        |
| <b>4.4</b> | <b>Lignanas ariltetralônicas V, VI e VII</b>                                                                                          | <b>39</b> |
| 4.4.1      | Determinação das configurações absolutas de V, VI e VII                                                                               | 43        |
| <b>4.5</b> | <b>(7<i>R</i>,7'<i>R</i>,8<i>S</i>,8'<i>S</i>)-8,8'-dimetil-4-hidroxi-3',4',5,7-tetrametoxi-2,7'-ciclolignana</b>                     | <b>44</b> |
| 4.5.1      | Determinação da configuração absoluta de VIII                                                                                         | 47        |
| <b>4.6</b> | <b>Lignanas furânicas IX e X</b>                                                                                                      | <b>48</b> |
| <b>4.7</b> | <b>Alantoína XI</b>                                                                                                                   | <b>52</b> |

|       |                                                                                                                                                                                         |    |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.8   | Sesquiterpeno XIV                                                                                                                                                                       | 53 |
| 4.9   | Holostilactona XV                                                                                                                                                                       | 57 |
| 4.10  | Holostimegastigmadienona XVI                                                                                                                                                            | 61 |
| 5     | IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS TRANSFORMADAS                                                                                                                                  | 63 |
| 5.1   | (7 <i>R</i> ,7' <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,8' <i>S</i> )-3',4',4,5-tetrametoxi-2,7'-ciclolignan-7-ol (XII) e (7' <i>R</i> ,8' <i>S</i> )-3',4',4,5-tetrametoxi-2,7'-ciclolignan-7-eno (XIII) | 63 |
| 5.1.1 | Determinação das configurações absolutas de XII e XIII                                                                                                                                  | 65 |
| 6     | CONCLUSÃO                                                                                                                                                                               | 66 |
| 7     | DADOS FÍSICOS E ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS INÉDITAS                                                                                                                               | 67 |
| 7.1   | (7 <i>R</i> ,7' <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,8' <i>S</i> )-8,8'-Dimetil-4-hidroxi-3',4',5,7-tetrametoxi-2,7'-ciclolignana (VIII)                                                               | 67 |
| 7.2   | <i>rel</i> -(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> )-6-(2-Hidroxipropan-2-il)-3-metil-2-(3-oxobutil)cicloheptanona (7- <i>epi</i> 11-hidroxichabrolidiona A, XIV)                          | 67 |
| 7.3   | <i>rel</i> -(5 <i>S</i> ,8 <i>R</i> )-5,9,9-Trimetil-8-(3-oxobutil)oxonana-2,6-diona (holostilactona, XV)                                                                               | 67 |
| 7.4   | (6 <i>S</i> ,7 <i>E</i> ,9 <i>S</i> )-6,9-Dihidroxi-10-(2'-hidroxietoxi)-4,7-megastigmadien-3-ona (XVI)                                                                                 | 68 |
|       | REFERÊNCIAS                                                                                                                                                                             | 68 |
|       | ANEXO                                                                                                                                                                                   | 71 |

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 A Família Aristolochiaceae

Plantas pertencentes a família Aristolochiaceae são popularmente conhecidas pelas expressões “família da jarriinha, cipó mil-homens, papo-de-peru e caçaú”. As classificações taxonômicas da família Aristolochiaceae atribuem de quatro a oito gêneros contendo aproximadamente 540 espécies, dispersas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas de todo globo terrestre <sup>1-4</sup>.

González <sup>4</sup>, baseado na análise dos caracteres morfológicos: folha, inflorescência, frutos, semente, órgãos de reprodução e pólen, propõe aproximadamente 544 espécies presentes na família Aristolochiaceae que estão distribuídas em duas subfamílias (*Asaroideae* e *Aristolochioideae*), duas tribos (*Bragantieae* e *Aristolochieae*), quatro gêneros (*Saruma*, *Asarum*, *Thottea*, *Aristolochia*) e três subgêneros (*Siphisia*, *Orthoaristolochia*, *Pararistolochia*) <sup>4, 5</sup>. Estando as espécies *Holostylis* e *Euglypha*, incluídas no gênero *Aristolochia* como *Aristolochia reniformis* e *A. rosajiana*, respectivamente, diferentemente de classificações anteriores, Klotzsch (1859), Schmidt (1935) e Hoehne (1942), que dividiam a família Aristolochiaceae em duas subfamílias, *Asaroideae* (*Saruma*, *Asarum* e *Thottea*) e *Aristolochioideae* (*Aristolochia*, *Holostylis* e *Euglypha*), tendo esta última, *Holostylis* e *Euglypha* como gêneros de sua subfamília <sup>1</sup>.

O grande interesse pelo estudo fitoquímico da família Aristolochiaceae, principalmente dos gêneros *Aristolochia*, o maior gênero da família em número de espécies (~400), possuindo cerca de 82 espécies catalogadas no Brasil, e *Asarum* com cerca de 85 espécies distribuídas em regiões norte-temperadas, deve-se às atividades biológicas apresentadas por suas espécies. Sendo as espécies constituídas por uma composição química de metabólitos secundários diversificados (ácidos graxos, terpenoides, lignoides, flavonoides e alcaloides) <sup>6</sup>.

Dentre os constituintes químicos das espécies de Aristolochiaceae, vários apresentam atividades biológicas comprovadas, por exemplo, os ácidos aristolóquicos, alantoína, neolignanas e lignanas. Estas últimas classes de substâncias estão presentes também na espécie *Holostylis reniformis* Duch. e, em estudos recentes, demonstraram ter um potencial agente antiplasmódico <sup>6-9</sup>.

## 1.2 O Gênero *Holostylis*

*Holostylis reniformis* (Aristolochiaceae) também conhecida pelo nome vulgar “Flor de sapo”, é uma espécie endêmica na região central da América do Sul (Paraguai, Bolívia e Brasil). Esta espécie de planta possui características botânicas de um subarbusto perene, que ocupa superfícies de médio porte em terrenos húmidos, por estender seus estolhos e rizomas no subsolo. Possuem raízes simples, caules eretos ou levemente reclinados, folhas amplas com pecíolo de 5 a 12 cm, flores zigomorfas e fruto em forma de cápsula ovoide (figura 1) <sup>3,6</sup>.

No Brasil, a espécie *H. reniformis* se desenvolve geralmente nas bordas das matas e nas margens de rios, com ocorrência em Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e Tocantins <sup>3,4</sup>.

Na literatura é relatado a utilização das raízes e rizomas de *H. reniformis* como antirreumático, estomáquico, sudorífero e depurativo <sup>3</sup>.



**Figura 1.** Fotos de diferentes partes de *H. reniformis*.

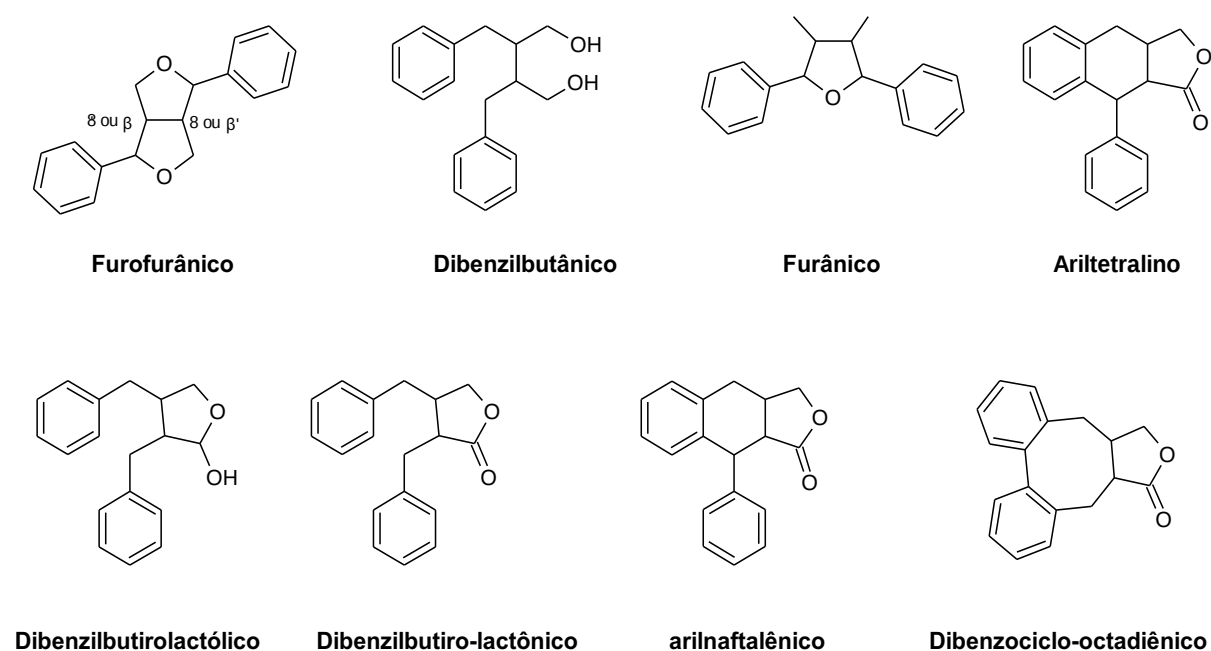
Estudos químicos desta espécie propiciaram o isolamento e/ou identificação de 41 substâncias de diversas classes químicas, principalmente lignanas do tipo ariltetralônicas (figura 3, tabelas 1 e 2) <sup>10</sup>. Testes biológicos realizados com algumas das substâncias puras demonstraram que diversas lignanas ariltetralônicas isoladas dos extratos de raiz apresentam potencial atividade antimalárica em experimentos realizados *in vitro* (empregando-se *Plasmodium falciparum*). Bioensaios *in vivo*

também evidenciaram a atividade potencial dos extratos de raiz na redução dos níveis de parasitemia empregando-se *Plasmodium berghei*<sup>7, 8, 11</sup>.

### 1.3 Lignanas

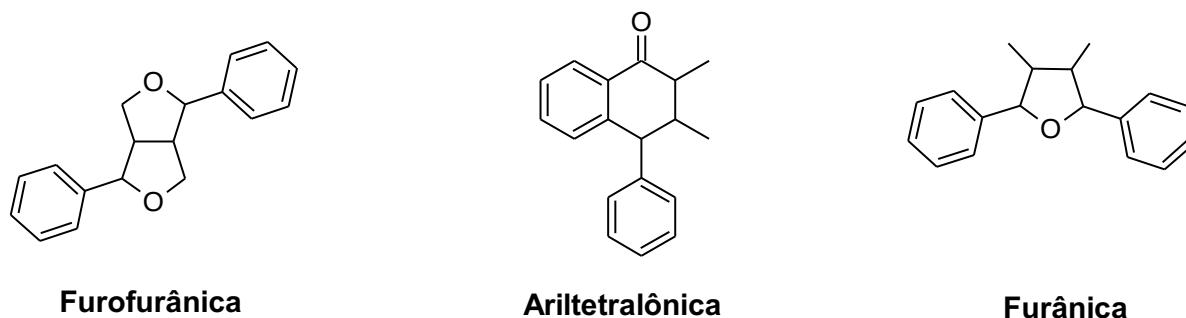
Lignanas e neolignanas são metabólitos secundários que ocorrem em plantas vasculares, com funções específicas de interação planta-planta, planta-inseto, planta-fungo e na defesa contra patógenos e predadores<sup>10</sup>. Segundo a IUPAC, lignanas e neolignanas diferem entre si, pela ligação que uni os dímeros de C<sub>6</sub>C<sub>3</sub> (fenilpropanoides). Lignanas são dímeros de C<sub>6</sub>C<sub>3</sub> unidos nas posições β-β', ou seja pela ligação entre os carbonos C-8 e C-8', já os dímeros de C<sub>6</sub>C<sub>3</sub> cuja união entre carbono seja diferente de C-8 e C-8' são denominados neolignanas<sup>12, 13</sup>.

A grande diversidade de estruturas químicas apresentadas por estas substâncias, deve-se aos diferentes precursores monoméricos gerarem novos subgrupos de lignanas por ciclizações e/ou modificações nos esqueletos carbônicos. Os diferentes subgrupos de lignanas (furofurânica, furânica, dibenzilbutânica, dibenzilbutirolactônica, ariltetralina, arilnaftalênica, dibenzociclo-octadiênica e dibenzilbutirolactol) (figura 2) são classificados segundo a maneira em que o oxigênio é incorporado no esqueleto base e nos padrões de ciclicização<sup>13</sup>.



**Figura 2.** Exemplos de esqueletos carbônicos de lignanas isoladas de espécies da família Aristolochiaceae<sup>13</sup>.

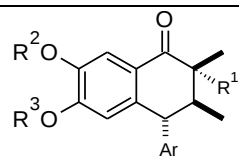
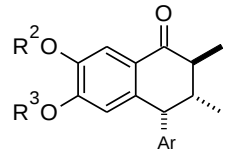
A maioria das lignanas isoladas das espécies de Aristolochiaceae são do tipo furofurânicas e as do tipo ariltetralônicas minoritárias. Sendo que cerca de 67% das lignanas isoladas das espécies de Aristolochiaceae ocorrem nos gêneros *Asarum*, *Aristolochia* e *Holostylis* <sup>6</sup>.



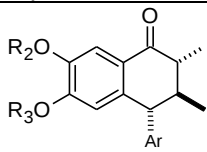
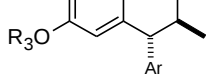
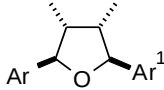
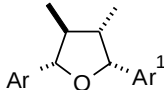
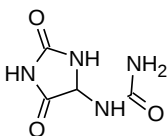
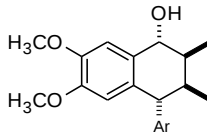
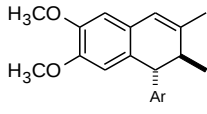
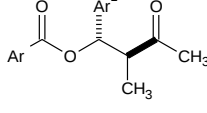
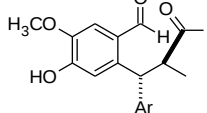
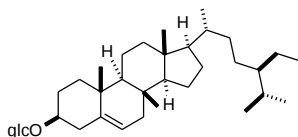
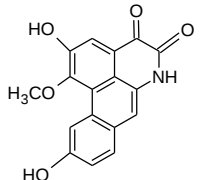
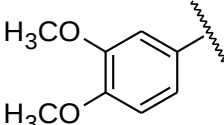
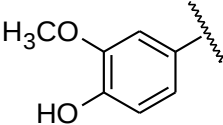
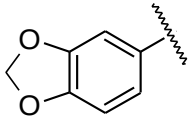
**Figura 3.** Esqueletos carbônicos de lignanas isoladas da espécie Aristolochiaceae.

O estudo fitoquímico de *H. reniformis* <sup>10</sup> evidenciou uma diversidade de metabólitos presentes na estrutura vegetal, sendo a maior composição de lignanas ariltetralônicas.

**Tabela 1.** Estruturas de substâncias isoladas de *H. reniformis* <sup>10</sup>.

| Tipo de estrutura                                                                   | Substância      |                      |                      |                      | Nome trivial                                                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|----------------------|----------------------|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <b>Ar</b>       | <b>R<sup>1</sup></b> | <b>R<sup>2</sup></b> | <b>R<sup>3</sup></b> |                                                                                                 |
|                                                                                     | Ar <sup>1</sup> | OH                   | CH <sub>3</sub>      | CH <sub>3</sub>      | (-)-8'- <i>epi</i> -8-hidroxi-aristoligona                                                      |
|                                                                                     | Ar <sup>2</sup> | H                    | CH <sub>3</sub>      | H                    | wulignana A <sub>2</sub>                                                                        |
|                                                                                     | Ar <sup>1</sup> | H                    | H                    | CH <sub>3</sub>      | (-)- <i>epi</i> -schisandrona                                                                   |
|                                                                                     | Ar <sup>2</sup> | H                    | CH <sub>3</sub>      | CH <sub>3</sub>      | (-)-holostiligona                                                                               |
|                                                                                     | Ar <sup>3</sup> | H                    | -CH <sub>2</sub> -   |                      | (-)-cagaianona B                                                                                |
|                                                                                     | Ar <sup>3</sup> | H                    | CH <sub>3</sub>      | CH <sub>3</sub>      | (7' <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,8' <i>S</i> )-3',4'-metilenodioxo-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona |
|                                                                                     | Ar <sup>1</sup> | H                    | CH <sub>3</sub>      | H                    | (-)-8,8'- <i>epi</i> -holostilona                                                               |
|                                                                                     | Ar <sup>1</sup> | H                    | -CH <sub>2</sub> -   |                      | (-)-4'- <i>O</i> -metilenshicina                                                                |
|                                                                                     | Ar <sup>1</sup> | H                    | CH <sub>3</sub>      | CH <sub>3</sub>      | (-)-8'- <i>epi</i> -aristoligona                                                                |
|  | <b>Ar</b>       |                      | <b>R<sup>2</sup></b> | <b>R<sup>3</sup></b> |                                                                                                 |
|                                                                                     | Ar <sup>3</sup> |                      | -CH <sub>2</sub> -   |                      | (-)-cagaionona A                                                                                |
|                                                                                     | Ar <sup>1</sup> |                      | CH <sub>3</sub>      | H                    | (-)-8,8'- <i>epi</i> -holostilona                                                               |
|                                                                                     | Ar <sup>3</sup> |                      | CH <sub>3</sub>      | CH <sub>3</sub>      | (-)-aristotetralona                                                                             |
|                                                                                     | Ar <sup>1</sup> |                      | CH <sub>3</sub>      | CH <sub>3</sub>      | (-)-aristoligona                                                                                |

**Tabela 2.** Continuação: Estruturas de substâncias isoladas de *H. reniformis* <sup>10</sup>.

| Tipo de estrutura                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Substância                         |                                                |                           | Nome trivial                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <b>Ar</b><br><b>Ar<sup>1</sup></b> | <b>R<sup>2</sup></b><br>CH <sub>3</sub>        | <b>R<sup>3</sup></b><br>H | (+)-holostilona                    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <b>Ar<sup>1</sup></b>              | CH <sub>3</sub>                                | CH <sub>3</sub>           | (+)-8,8'- <i>epi</i> -aristoligona |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <b>Ar</b><br><b>Ar<sup>3</sup></b> | <b>Ar<sup>1</sup></b><br><b>Ar<sup>3</sup></b> |                           | Galbacina                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <b>Ar</b><br><b>Ar<sup>3</sup></b> | <b>Ar<sup>1</sup></b><br><b>Ar<sup>1</sup></b> |                           | Calopepitina                       |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                    |                                                |                           | alantoína                          |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | <b>Ar</b><br><b>Ar<sup>1</sup></b> |                                                |                           | (-)-holostilol C                   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | <b>Ar</b><br><b>Ar<sup>1</sup></b> |                                                |                           | (-)-ciclogalgravina                |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | <b>Ar</b><br><b>Ar<sup>1</sup></b> | <b>Ar<sup>1</sup></b><br><b>Ar<sup>3</sup></b> |                           | 7,8-seco-holostilona B             |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | <b>Ar</b><br><b>Ar<sup>1</sup></b> |                                                |                           | 7,8-seco-holostilona A             |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                    |                                                |                           | sitosterol- $\beta$ -glicosídeo    |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                    |                                                |                           | aristololiukina-B                  |
| <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <br/> <b>Ar<sup>1</sup></b> </div> <div style="text-align: center;"> <br/> <b>Ar<sup>2</sup></b> </div> <div style="text-align: center;"> <br/> <b>Ar<sup>3</sup></b> </div> </div> |                                    |                                                |                           |                                    |

Este trabalho teve como uma das metas a obtenção de lignanas ariltetralônicas (gramas), visando a realização de testes biológicos (toxicidades e antiplasmódicos). Considerando que os extratos hexânico e acetônico de raízes apresentaram atividade antimalárica <sup>7, 10</sup>, o conhecimento mais aprofundado sobre a composição destes é importante para a racionalização da atividade biológica, correlacionando-a com a estrutura dos compostos. Assim, a obtenção e determinação estrutural das substâncias minoritárias presentes nestes extratos são também essenciais para o prosseguimento destes estudos.

## **2 OBJETIVOS**

Este trabalho teve como objetivo o isolamento, a identificação e a determinação estrutural de substâncias minoritárias não identificadas em estudos realizados anteriormente em extratos de raízes de *H. reniformis*. Além disto, este trabalho visou o isolamento de uma lignana ariltetralônica [(–)-8'-*epi*-aristoligona, II] mais abundante deste extrato, em quantidade suficiente para o avanço nos ensaios de biossegurança farmacológica, bem como transformações químicas do grupo carbonílico que permitam evidenciar se esta função é essencial para a atividade antiplasmódica.

### 3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

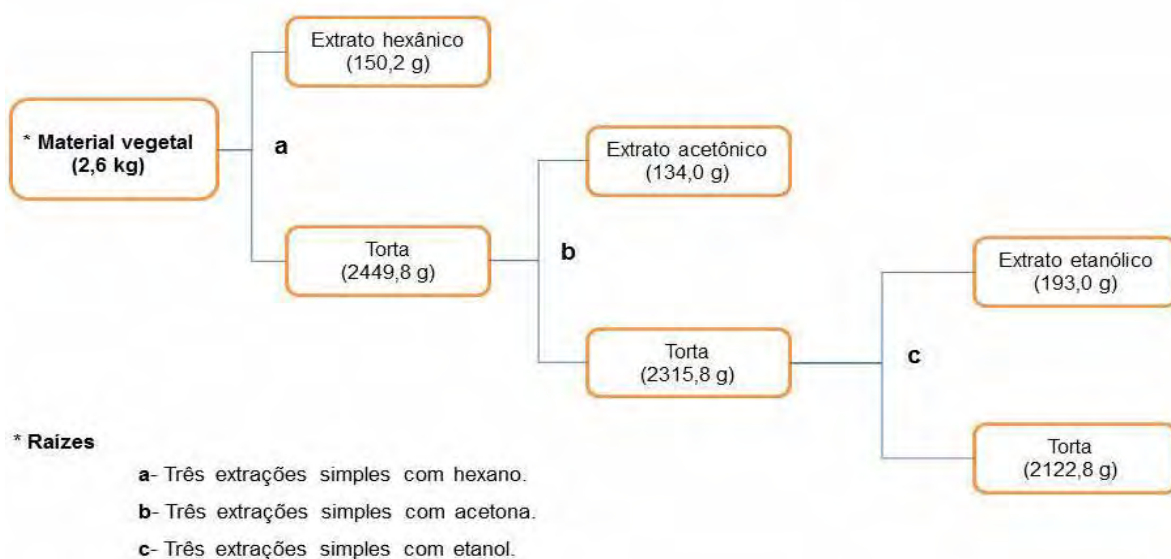
#### 3.1 Material vegetal

O material vegetal foi coletado em fevereiro de 2008, em uma área do perímetro rural da cidade de Ituiutaba-MG. Uma exsicata contendo as amostras dos órgãos vegetais adultos (raízes, caules, folhas e frutos) foi enviada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) de Piracicaba-SP, sendo esta espécie identificada como *H. reniformis* pelo Dr. Lindolpho Capellari Júnior. A espécie encontra-se depositada no Herbário da mesma Instituição com o registro (nº ESA-88282).

#### 3.2 Preparação dos extratos de *H. reniformis*

Após coletada, os órgãos vegetais da planta (raízes, caules, folhas e frutos) foram separados manualmente, secos ao ar e posteriormente em estufa climatizada a uma temperatura média de 45 °C.

As raízes de *H. reniformis*, parte vegetal selecionada para o desenvolvimento do trabalho, após secas, foram moídas por processo mecânico utilizando um moinho de facas. Cerca de 2,6 kg deste material vegetal foi submetido à extração sólido/líquido utilizando-se o método de maceração com a adição sucessiva de solventes inertes em polaridade crescente (figura 4). A extração foi feita em triplicata para cada solvente extrator com duração de 24 horas entre cada intervalo de extração.



**Figura 4.** Fluxograma da preparação dos extratos de *H. reniformis*.

Os extratos hexânico, acetônico e etanólico obtidos (figura 4) foram filtrados e concentrados à pressão reduzida (335, 556 e 175 mbar, respectivamente) à temperatura de 40 °C, sendo posteriormente secos em capela de exaustão à temperatura ambiente para eliminação de resíduos de solvente.

**Tabela 3.** Rendimento dos extratos obtidos de *H. reniformis*.

| Extrato      | Massa dos extratos (g) | Rendimento (%) em relação ao material vegetal seco (2,6 kg) | Rendimento (%) em relação à massa total de extratos obtidos |
|--------------|------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Hexânico     | 150,2                  | 5,8                                                         | 31,5                                                        |
| Acetônico    | 134,0                  | 5,1                                                         | 28,1                                                        |
| Etanólico    | 193,0                  | 7,4                                                         | 40,4                                                        |
| <b>Total</b> | 477,2                  | 18,3                                                        | 100,0                                                       |

Os extratos obtidos (tabela 3) foram analisados por RMN de  $^1\text{H}$  e CCDC em diferentes sistemas eluentes [Hex/AcOEt e  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  (9:1, 4:1 e 7:3)].

### 3.3 Cromatografia em coluna (CC) do extrato acetônico de raiz e purificação por CLAE das frações F-11, 13, 15, 18, 19, 21, 22 e 25

Parte do extrato acetônico de raiz de *H. reniformis* (20,6 g) foi submetido a fracionamento por CC (sílica 60H, Hex/AcOEt e MeOH em ordem crescente de polaridade). Ao final do processo cromatográfico foram obtidas 48 frações de 120 mL cada, identificadas pelos códigos F-1 à F-48, sucessivamente (tabela 4).

**Tabela 4.** Massas das frações obtidas, no processo cromatográfico.

| Fração | Massa (mg) | Fração | Massa (mg) | Fração | Massa (mg) | Fração | Massa (mg) |
|--------|------------|--------|------------|--------|------------|--------|------------|
| 1      | 0          | 13     | 90,0       | 25     | 225,1      | 37     | 4,8        |
| 2      | 0          | 14     | 990,2      | 26     | 115,3      | 38     | 8,8        |
| 3      | 0          | 15     | 1118,3     | 27     | 109,0      | 39     | 5,7        |
| 4      | 0          | 16     | 52,4       | 28     | 123,0      | 40     | 2,8        |
| 5      | 111,3      | 17     | 532,3      | 29     | 305,6      | 41     | 0,6        |
| 6      | 167,0      | 18     | 857,6      | 30     | 431,5      | 42     | 304,8      |
| 7      | 10,7       | 19     | 192,5      | 31     | 45,0       | 43     | 1448,8     |
| 8      | 0          | 20     | 64,5       | 32     | 45,0       | 44     | 445,2      |
| 9      | 0          | 21     | 266,4      | 33     | 45,8       | 45     | 58,3       |
| 10     | 0          | 22     | 1368,1     | 34     | 27,3       | 46     | 114,5      |
| 11     | 133,6      | 23     | 460,1      | 35     | 23,6       | 47     | 35,5       |
| 12     | 55,3       | 24     | 245,3      | 36     | 24,0       | 48     | 5,8        |

### 3.3.1 Subfracionamento cromatográfico da fração F-18

A análise preliminar da fração F-18 por CCDC permitiu identificar a presença de uma mistura complexa de substâncias com polaridades distintas. Esta fração (857 mg) foi submetida a um novo fracionamento por CC em fase estacionária de C18, tendo como eluente MeOH/H<sub>2</sub>O em sistema gradiente de polaridade, iniciando na proporção de 9:2 até a proporção final 3:2 de MeOH/H<sub>2</sub>O com variação de dez por cento no incremento de H<sub>2</sub>O a cada nova proporção de volume definido (150 ml). O novo fracionamento resultou na obtenção de dezessete novas subfrações identificadas pelos códigos F-18-1 à F-18-17 (tabela 5).

**Tabela 5.** Massa das frações obtidas do subfracionamento de F-18.

| Fração | Massa (mg) | Fração | Massa (mg) | Fração | Massa (mg) |
|--------|------------|--------|------------|--------|------------|
| 1      | 2,6        | 7      | 34,1       | 13     | 2,2        |
| 2      | 8,4        | 8      | 0,2        | 14     | 1,4        |
| 3      | 22,6       | 9      | 17,7       | 15     | 6,8        |
| 4      | 151,5      | 10     | 15,7       | 16     | 3,2        |
| 5      | 520,7      | 11     | 8,3        | 17     | 3,8        |
| 6      | 56,3       | 12     | 3,5        | —      | —          |

As frações obtidas foram analisadas por CCDC com eluente composto por misturas binárias de Hex/AcOEt e CHCl<sub>3</sub>/MeOH em diferentes proporções (9:1, 4:1 e 7:3). As frações que apresentaram maior grau de pureza na análise por CCDC foram submetidas a experimentos de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, sendo posteriormente isolados e/ou purificados os constituintes químicos (figura 5).

### 3.3.2 Isolamento dos constituintes químicos das frações F-19, 21 e 22

Após lavagens individuais das frações F-19, 21, 22, com MeOH, foram obtidos três precipitados brancos, parcialmente solúveis em MeOH, mas solúveis em CHCl<sub>3</sub>.

Os precipitados obtidos das frações F-19, 21 e 22 após a otimização em modo analítico, foram individualmente submetidos à CLAE no modo semipreparativo C18, MeOH/H<sub>2</sub>O nas proporção 7:3, 7:3 e 3:1 respectivamente, com vazão de 8 mL/min.

### 3.3.3 Isolamento dos constituintes químicos da fração F-18

Dentre as frações obtidas no subfracionamento da fração F-18, as substâncias presentes na fração identificada como F-18-5 foram separadas utilizando CLAE em coluna C18 semipreparativa tendo como fase móvel MeOH/H<sub>2</sub>O na proporção 3:2 em vazão de 8 mL/min. Dentre as substâncias isoladas, duas são lignanas do tipo ariltetralônicas (**V** e **VI**) e duas furânicas (**IX** e **X**).

### 3.3.4 Isolamento dos constituintes químicos da fração F- 25

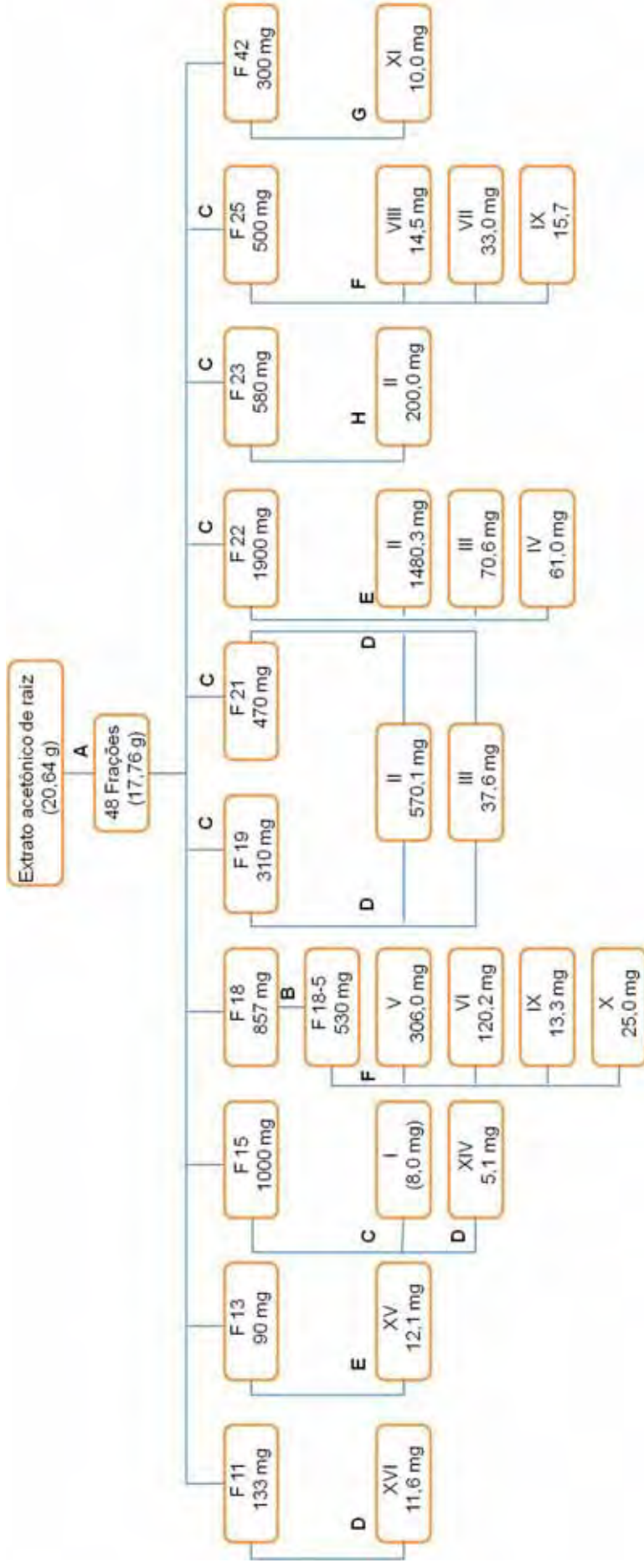
Esta fração foi purificada por CLAE semipreparativa, empregando como fase móvel MeOH/H<sub>2</sub>O na proporção 3:2, em coluna C18 com vazão de 8,0 mL/min., resultando no isolamento das substâncias já conhecidas (**VII** e **IX**) e de uma nova lignana ariltetralônica (**VIII**).

#### 3.3.5 Isolamento dos constituintes químicos da fração F-11, 13 e 15

A fração F-15 foi parcialmente dissolvida em MeOH, sendo extraída a substância **I** por precipitação. O material resultante solúvel em MeOH foi submetido à CLAE tendo como fase móvel MeOH/H<sub>2</sub>O na proporção 7:3 em vazão 8 mL/min., sendo isolada a substância **XIV**.

As frações F-11 e 13 foram submetidas à CLAE, empregando como fase móvel MeOH/H<sub>2</sub>O nas proporções 7:3 e 3:1, respectivamente, em coluna C18 com vazão de 8,0 mL/min., gerando duas substâncias **XV** e **XVI**.

### 3.4 Purificação das frações e isolamento dos constituintes químicos



A- CC (sílica gel 60H, Hex/AcOEt; AcOEt; MeOH em modo gradiente).

B- CC (C 18, MeOH/H<sub>2</sub>O em modo gradiente).

C- Precipitação por dissolução parcial em MeOH.

D- CLAE semipreparativa, (C18, MeOH/H<sub>2</sub>O 7:3, vazão: 8,0 mL/min.,  $\lambda_{\text{max}}$  254 nm).

E- CLAE semipreparativa, (C18, MeOH/H<sub>2</sub>O 3:1, vazão: 8,0 mL/min.,  $\lambda_{\text{max}}$  254 nm).

F- CLAE semipreparativa, (C18, MeOH/H<sub>2</sub>O 3:2, vazão: 8,0 mL/min.,  $\lambda_{\text{max}}$  254 nm).

G- Precipitação por dissolução parcial em CHCl<sub>3</sub>.

H- CCDP (sílica gel 60 H, Hex/AcOEt 3:2).

**Figura 5.** Fluxograma de fracionamento, purificação e isolamento dos constituintes químicos do extrato acetônico de raiz de *H. reniformis*.

### 3.5 Transformações químicas

#### 3.5.1 Transformação química da lignana **II** em **XII**

A substância **XII** (2000 mg) foi obtida como um sólido branco e rendimento reacional de 90,4%, pela reação de redução da substância **II** (2200 mg) com NaBH<sub>4</sub> (600 mg) dissolvidos em MeOH (80 mL), sob atmosfera de N<sub>2</sub> e agitação constante à temperatura de 0 °C durante 240 minutos. A reação de redução pode gerar dois produtos diastereoisoméricos, devido ao ataque do hidreto ter a possibilidade de ocorrer em ambas às faces ( $\alpha$  e  $\beta$ ) da carbonila.

#### 3.5.2 Transformação química da lignana **XII** em **XIII**

A substância **XIII** (1500 mg) foi obtida como um líquido viscoso de cor marrom, pela reação de eliminação (desidratação) da substância **XII** (2000 mg) com ácido *p*-toluenossulfônico (APTS, 465,2 mg) dissolvido em benzeno seco (60 mL), em atmosfera de N<sub>2</sub> à temperatura de 55 °C sob refluxo. O rendimento reacional foi de 70%, sendo ambos os produtos das transformações (substâncias **XII** e **XIII**), bem como o material de partida (substância **II**) enviados a bioensaios.

### 3.6 Materiais e equipamentos

As separações cromatográficas em coluna (CC) foram realizadas utilizando-se sílica gel 60H (Merck<sup>®</sup>) e sílica gel de fase reversa C-18 de 230-400 mesh (Merck<sup>®</sup>), enquanto para CCDC e CCDP foram utilizadas sílica G (2-25  $\mu$ m, 60 Å) da marca Sigma-Aldrich<sup>TM</sup> e sílica gel 60H (Merck<sup>®</sup>), respectivamente. As revelações foram feitas com irradiações na região do UV (254 e 365 nm).

Os solventes deuterados (CDCl<sub>3</sub> e DMSO-*d*<sub>6</sub>) utilizados nos experimentos de RMN foram da marca Sigma-Aldrich<sup>TM</sup>. Os solventes não deuterados empregados nos processos cromatográficos e nas etapas de lavagem das frações, foram das marcas Merck<sup>®</sup> e Sigma-Aldrich<sup>TM</sup> em grau cromatográfico. A água foi destilada e deionizada em aparelho da marca Milli-Q (resistividade mínima 18,2 M $\Omega$ .cm a 25° C).

Os espectros vibracionais de absorção na região do IV foram registrados em espectrofotômetro Perkin Elmer<sup>TM</sup> 1600 FT-IR, no intervalo de 400 a 4000 cm<sup>-1</sup>, utilizando-se pastilhas de KBr.

As medidas de rotação óptica específica,  $[\alpha]_D$ , foram obtidas utilizando um polarímetro Perkin Elmer <sup>TM</sup> 341-LC, em  $\lambda$  589 nm (lâmpada de sódio) a 25° C e cela de quartzo com caminho óptico de 1,00 dm.

As análises cromatográficas de alta eficiência foram realizadas utilizando cromatógrafos líquidos da Shimadzu <sup>TM</sup>, controlador SCL-10Avp, detector UV-vis SPD-10AVvp, bombas (SPD-10AVp) para modo analítico e (SPD-10AVvp) para modo semipreparativo e injetor manual com alça de amostragem de 20  $\mu$ L (analítico) e 5 mL (semipreparativo). No modo analítico foi empregado coluna C-18 (Waters <sup>TM</sup>, 3,9 x 150 mm), enquanto no modo semipreparativo foi utilizado coluna C-18 (Shimadzu <sup>TM</sup>, 20 x 250 mm). Os comprimentos de onda selecionados para aquisição dos cromatogramas foram 254 e/ou 365 nm.

As curvas de dicroísmo circular e os espectros de absorção na região do UV foram obtidos utilizando cromatógrafo líquido acoplado a detectores de arranjo de fotodiodos e de dicroísmo circular da marca JASCO <sup>TM</sup>, controlador LC-Net II/ADC, detector de arranjo de fotodiodos MD-2018 plus, bomba PU-2086 plus, injetor automático AS-2055 e detector de dicroísmo circular (CD-2095).

Os espectros de RMN uni e bidimensionais foram registrados em espectrômetros Varian <sup>TM</sup> INOVA-500 (11,7 T) a 126 e 500 MHz para <sup>13</sup>C e <sup>1</sup>H, respectivamente, e INOVA 300 (7,1 T) a 75 e 300 MHz para <sup>13</sup>C e <sup>1</sup>H, respectivamente.

Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetros Fisons Micromass <sup>TM</sup> Platform II operando a baixa resolução, injeção direta e ionização por impacto eletrônico (EM-EI), Thermo Scientific <sup>TM</sup> LCQ Fleet LC/MS operando a baixa resolução, injeção direta e ionização por electrospray (EM-ESI), e Bruker Daltonics <sup>TM</sup> ultrOTOFq (ESI-TOFMS) operando a alta resolução injeção direta e ionizada por electrospray (EM-ESI).

A concentração dos solventes foi feita a pressão reduzida, utilizando-se evaporador rotatório Büchi <sup>TM</sup> (Waterbath B-480).

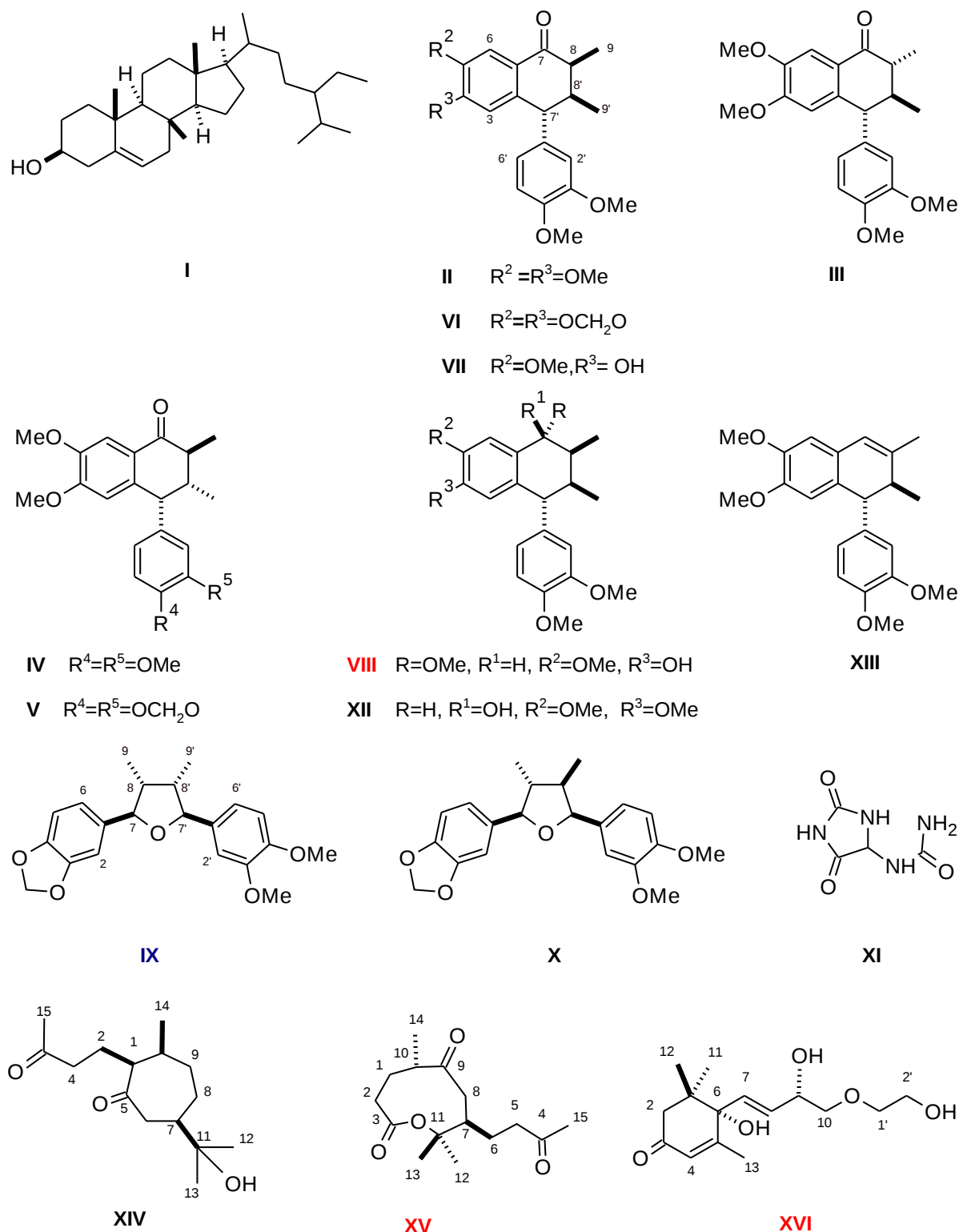
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise de RMN de  $^1\text{H}$  dos extratos obtidos permitiu selecionar o extrato acetônico de raízes (figura 29) como o extrato a ser quimicamente explorado, pois o mesmo apresentou perfis característicos de substâncias de interesse deste projeto, dentre elas, lignanas ariltetralônicas. A presença desta classe de substância é evidenciada pelos sinais de deslocamento químico característico de: hidrogênio aromático desprotegido pelo efeito anisotrópico do grupo carbonílico (entre  $\delta$  7,4 e 7,6), hidrogênios metílicos (entre  $\delta$  0,6 e 1,2) e metínicos (entre  $\delta$  2,0 e 2,8), além de sinais de hidrogênios metoxílicos (entre  $\delta$  3,67 e 3,85) e hidrogênios aromáticos (entre  $\delta$  6,2 e 6,8) <sup>8, 10, 11</sup>.

### 4.1 Caracterização estrutural das substâncias isoladas

Visando avançar nos testes biológicos, o estudo químico do extrato acetônico de raízes de *H. reniformis* buscou o reisolamento de lignanas ariltetralônicas em grande quantidade (gramas), bem como a obtenção de compostos minoritários presentes na estrutura vegetal.

Utilizando-se de diversas análises espectrométricas como: RMN uni e bidimensionais, EM, IV, UV, DC e valores de  $[\alpha]_D^{25}$ , foram identificadas dezesseis substâncias (figura 6), sendo as substâncias **XII** e **XIII** obtidas via transformações químicas a partir de produto natural isolado da planta.



**Figura 6.** Estruturas das substâncias isoladas do extrato acetônico de *H. reniformis* e obtidas via reações de transformações químicas.

Dentre as substâncias isoladas, **IX** é descrita pela primeira vez nesta espécie, enquanto **VIII**, **XIV**, **XV** e **XVI** ainda não foram relatadas na literatura.

## 4.2 Sitosterol (I)

O sitosterol é um metabólito secundário comumente encontrado em diversas espécies de plantas. A identificação da substância **I** como sendo o sitosterol foi estabelecida pela comparação de seus dados espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (figuras 30 e 31) com os descritos na literatura <sup>14</sup>.

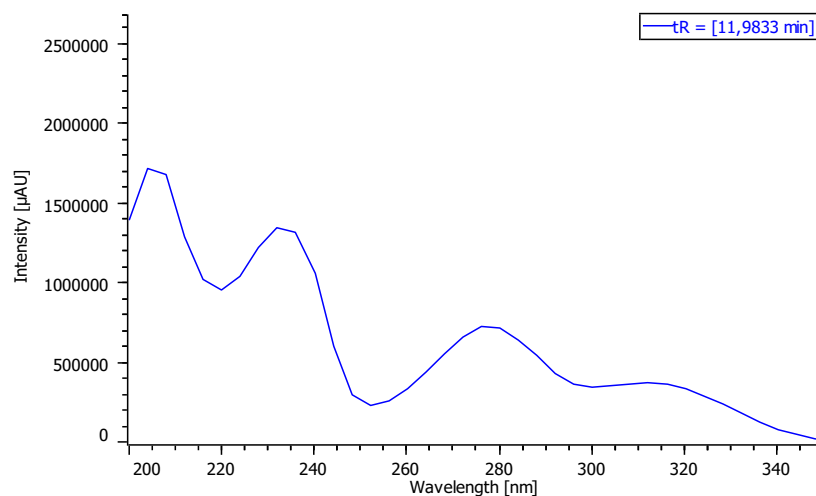
## 4.3 Lignanas ariltetralônicas (II, III e IV)

As substâncias **II**, **III** e **IV** foram obtidas como sólidos amorfos incolores. Os EM-EI de baixa resolução das substâncias **II** a **IV** (figuras 34, 37 e 41) apresentam os mesmos sinais de íons fragmentários, e pico do íon molecular  $[\text{M}]^{+}$  com  $m/z$  370 que pode ser atribuído a fórmula molecular  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_5$ .

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 6, figuras 33, 36 e 40) das três substâncias apresentam sinais correspondentes a 22 átomos de carbonos, coerentes com a fórmula molecular proposta. Destes, destacam os sinais: entre  $\delta$  55,8 e 56,2 característicos de carbonos metoxílicos aromáticos, entre  $\delta$  198,8 e 200,2 atribuídos aos carbonos carbonílicos  $\alpha,\beta$ -insaturados, além de doze sinais de carbonos aromáticos entre  $\delta$  108,3 e 153,9.

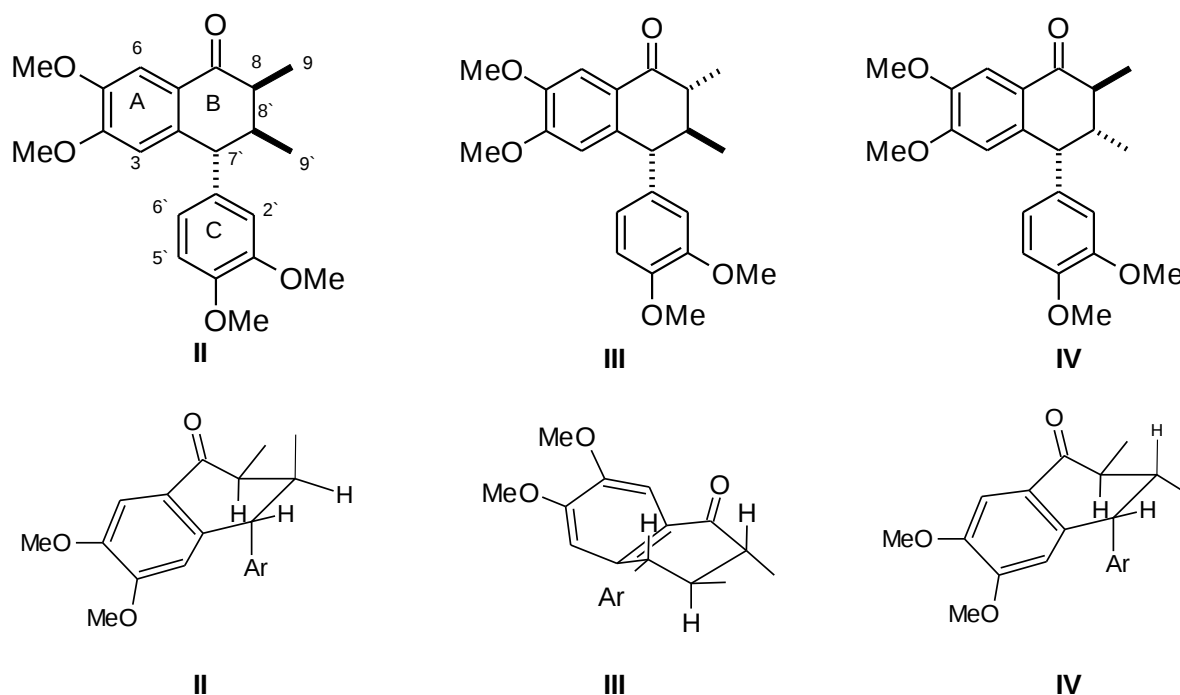
Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 6, figuras 32, 35 e 39) de **II**, **III** e **IV** apresentam grande semelhança, evidenciando sinais de: doze hidrogênios metoxílicos entre  $\delta$  3,71(s) e 3,89 (s), seis hidrogênios metílicos entre  $\delta$  0,88 (*d*) e  $\delta$  1,26 (*d*), além de três sinais de hidrogênios metínicos entre  $\delta$  2,32 e 4,05. Também são evidenciados nos espectros, quatro sinais em alta frequência atribuíveis a hidrogênios aromáticos entre  $\delta$  6,12 e 6,80 e um sinal entre  $\delta$  7,48 e 7,52 do hidrogênio aromático desprotegido pelos efeitos de ressonância e anisotrópico de uma carbonila ligada ao anel aromático. Os valores das constantes de acoplamentos e as multiplicidades dos hidrogênios aromáticos caracterizam a presença de dois anéis: um tetra- e outro trissubstituído.

As presenças de anel aromático e de um grupo carbonílico na estrutura carbônica das substâncias **II** a **IV** podem ser confirmadas, pelos valores apresentados nas regiões de absorção de (205, 235 e 275 nm) e 320 nm, respectivamente, no espectro de absorção na região do UV (figura 7).



**Figura 7.** Espectro na região de UV de II à IV.

Os conjuntos de valores de deslocamento químico obtidos nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  sugerem que II, III e IV sejam lignanas do tipo ariltetralônicas, sendo as principais diferenças entre as estruturas das substâncias evidenciadas pelos valores de deslocamento químico dos hidrogênios ligados aos carbonos C-3, C-7', C-8, C-8', C-9 e C-9', caracterizando substâncias de mesmo esqueleto carbônico e configurações distintas (figura 8).



**Figura 8.** Estruturas e conformações determinadas para as substâncias II, III e IV.

As configurações relativas das substâncias **II**, **III** e **IV** foram determinadas pelos valores das constantes de acoplamento entre os hidrogênios vicinais, nos centros estereogênicos, H-7', H-8 e H-8' (tabela 6). Valores de  $J \geq 5,0$  Hz, indicam uma relação *trans* entre os hidrogênios vicinais e  $J \leq 5,0$  Hz indicam uma relação *cis*. As magnitudes das constantes de acoplamento observadas para **II** ( $J_{H-7',8'} = 5,4$  ,  $J_{H-8',8} = 4,2$ ) indicam uma relação *trans-cis*, enquanto que para **IV** ( $J_{H-7',8'} = 4,5$  ,  $J_{H-8',8} = 11,5$ ), apresentam relação *cis-trans*. A substância **III** com valores de constante de acoplamento  $J_{H-7',8'}$  e  $J_{H-8',8} \geq 11,0$ , correspondem à uma estrutura com relação *trans-trans* entre os hidrogênios vicinais H-7'/H-8 e H-8/H-8'.

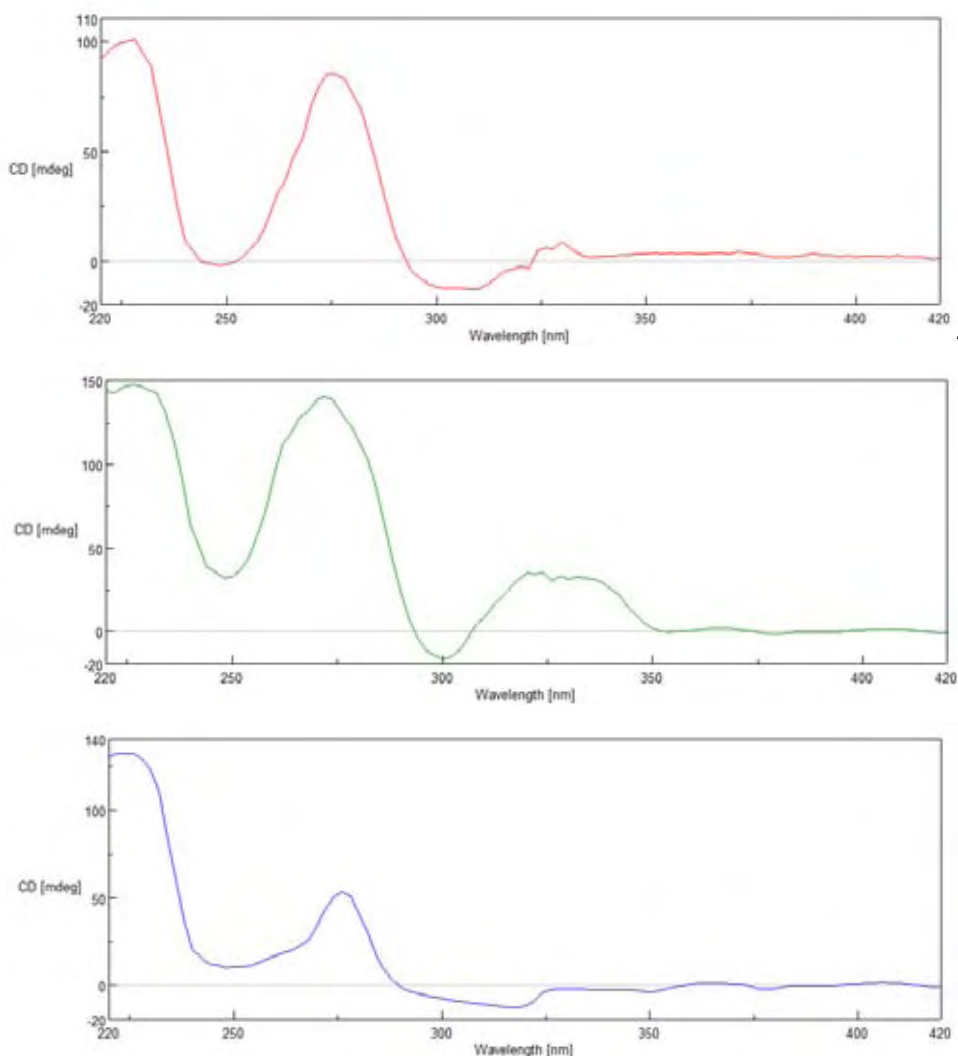
**Tabela 6.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  de **II**, **III** e **IV** (11,7 T,  $J$  em Hz,  $\text{CDCl}_3$ ).

| H/C                  | <b>II</b><br>$^1\text{H}$ ( $\delta$ ) | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) | <b>III</b><br>$^1\text{H}$ ( $\delta$ ) | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) | <b>IV</b><br>$^1\text{H}$ ( $\delta$ ) | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) |
|----------------------|----------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------|----------------------------------------|------------------------------|
| 1                    |                                        | 125,5                        |                                         | 125,7                        |                                        | 125,4                        |
| 2                    |                                        | 138,7                        |                                         | 141,5                        |                                        | 140,7                        |
| 3                    | 6,37 (s)                               | 111,8                        | 6,12 (s)                                | 111,2                        | 6,47 (s)                               | 110,7                        |
| 4                    |                                        | 153,7                        |                                         | 153,2                        |                                        | 153,8                        |
| 5                    |                                        | 148,2                        |                                         | 148,0                        |                                        | 148,3                        |
| 6                    | 7,50 (s)                               | 108,1                        | 7,48 (s)                                | 108,1                        | 7,52 (s)                               | 108,4                        |
| 7                    |                                        | 200,0                        |                                         | 198,8                        |                                        | 199,8                        |
| 8                    | 2,71 (dq, 4,2, 6,9)                    | 42,7                         | 2,32 (dq, 12,5, 7,0)                    | 48,5                         | 2,36 (dq, 11,5, 7,0)                   | 42,8                         |
| 9                    | 1,07 (d, 6,9)                          | 11,9                         | 1,26 (d, 7,0)                           | 12,6                         | 1,14 (d, 6,6)                          | 12,8                         |
| 1'                   |                                        | 136,2                        |                                         | 136,2                        |                                        | 131,9                        |
| 2'                   | 6,55 (d, 2,1)                          | 111,9                        | 6,52 (d, 2,0)                           | 111,1                        | 6,49 (d, 2,0)                          | 113,5                        |
| 3'                   |                                        | 149,1                        |                                         | 149,3                        |                                        | 148,4                        |
| 4'                   |                                        | 147,8                        |                                         | 147,9                        |                                        | 147,8                        |
| 5'                   | 6,72 (d, 8,1)                          | 111,0                        | 6,80 (d, 8,0)                           | 111,0                        | 6,69 (d, 8,0)                          | 110,8                        |
| 6'                   | 6,48 (dd, 8,1, 2,1)                    | 121,1                        | 6,70 (dd, 8,0, 2,0)                     | 122,1                        | 6,46 (dd, 8,0, 2,0)                    | 122,2                        |
| 7'                   | 3,91 (d, 5,4)                          | 50,3                         | 3,64 (d, 11,0)                          | 53,3                         | 4,05 (d, 4,5)                          | 50,0                         |
| 8'                   | 2,36 (ddq, 5,4, 4,2, 6,9)              | 42,5                         | 2,01 (ddq, 12,5, 11,0, 6,5)             | 43,8                         | 2,29 (ddq, 11,0, 4,5, 6,6)             | 39,9                         |
| 9'                   | 0,93 (d, 6,9)                          | 15,9                         | 0,88 (d, 6,5)                           | 18,0                         | 0,91 (d, 6,6)                          | 18,0                         |
| OCH <sub>3</sub> -3' | 3,75 (s)                               | 55,9                         | 3,75 (s)                                | 55,8                         | 3,72 (s)                               | 56,0                         |
| OCH <sub>3</sub> -4' | 3,71 (s)                               | 56,0                         | 3,85 (s)                                | 56,0                         | 3,78 (s)                               | 55,9                         |
| OCH <sub>3</sub> -4  | 3,80 (s)                               | 55,9                         | 3,56 (s)                                | 55,9                         | 3,76 (s)                               | 55,8                         |
| OCH <sub>3</sub> -5  | 3,89 (s)                               | 56,0                         | 3,86 (s)                                | 56,0                         | 3,88 (s)                               | 56,0                         |

#### 4.3.1 Determinação das configurações absolutas de **II**, **III** e **IV**

A determinação das configurações absolutas foi feita mediante análises dos valores de rotação óptica e das curvas de DC nas regiões de absorção do cromóforo carbonílico ( $\lambda \sim 330$  nm) e do cromóforo benzenóide ( $\lambda$  275-290 nm) obtidos, comparando com modelos descritos na literatura <sup>11, 15</sup>. Lignanas ariltetralônicas que apresentam efeito Cotton positivo na região de absorção do cromóforo carbonílico em  $\lambda \sim 330$  nm, possuem configuração *R* para o centro estereogênico C-8 <sup>11, 15</sup>.

As curvas de DC das substâncias **II**, **III** e **IV** (figura 9) apresentam sinais de efeito Cotton positivo em 275 nm para as três substâncias, além de efeito Cotton negativo para **II** e **IV** e positivo para **III** na região de absorção do cromóforo carbonílico ( $\lambda$  317-336 nm). Sendo atribuída a configuração da posição C-8 como *R* para a substância **III** e *S* para as substâncias **II** e **IV**.



**Figura 9.** Curvas de DC das substâncias **II**, **III** e **IV** (vermelho, verde e azul), respectivamente.

Os valores de rotação óptica obtidos para **II**, **III** e **IV**, comparados com os descritos na literatura <sup>11</sup> confirmam as configurações estabelecidas pelos efeitos Cotton das curvas de dicroísmo circular (em particular na região entre  $\lambda$  317-336 nm). Consequentemente é possível identificá-las como sendo **II**: (7'*R*,8*S*,8'*S*)-8,8'-Dimetil-3',4',4,5-tetrametoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona, **III**: (7'*R*,8*R*,8'*S*)-8,8'-Dimetil-3',4',4,5-tetrametoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona e **IV**: (7'*R*,8*S*,8'*R*)-8,8'-Dimetil-3',4',4,5-tetrametoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona.

#### 4.4 Lignanaril tetralônicas **V**, **VI** e **VII**

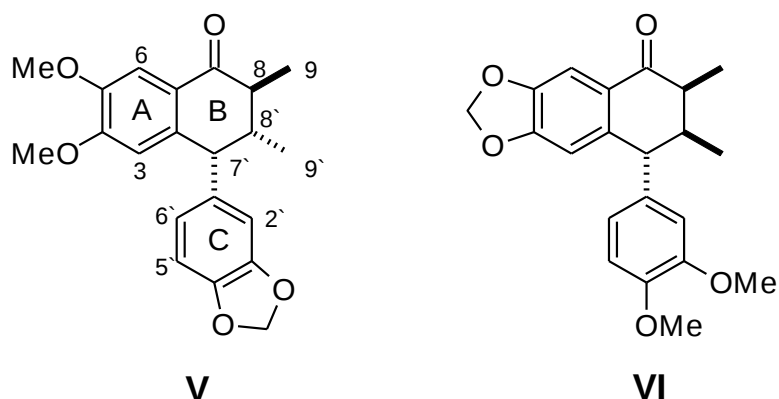
As substâncias **V** e **VI** foram obtidas como sólidos amorfos incolores, isoladas da fração Fr-18-5.

Os espectros de RMN de <sup>13</sup>C (tabela 7, figura 43) destas substâncias apresentam sinais atribuíveis a 21 átomos de carbono na estrutura molecular, havendo grande semelhança entre os deslocamentos químicos dos hidrogênios do anel B de **V** e **VI**, com aqueles de **IV** e **II**, respectivamente. Além da conformação deste anel e a configuração dos centros estereogênicos C-8, **V** e **VI** apresentam diferenças no padrão de substituição de dois grupos metoxílicos por metilenodioxílico em um dos anéis aromáticos. Este grupo, não observado nas substâncias **IV** e **II**, apresenta sinais em  $\sim \delta_C$  101,4 e  $\sim \delta_H$  5,93 nos espectros de RMN de <sup>13</sup>C e de <sup>1</sup>H, respectivamente (tabela 7, figuras 42, 43 e 48).

**Tabela 7.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  de **V** e **VI** (11,7 T, J em Hz,  $\text{CDCl}_3$ ).

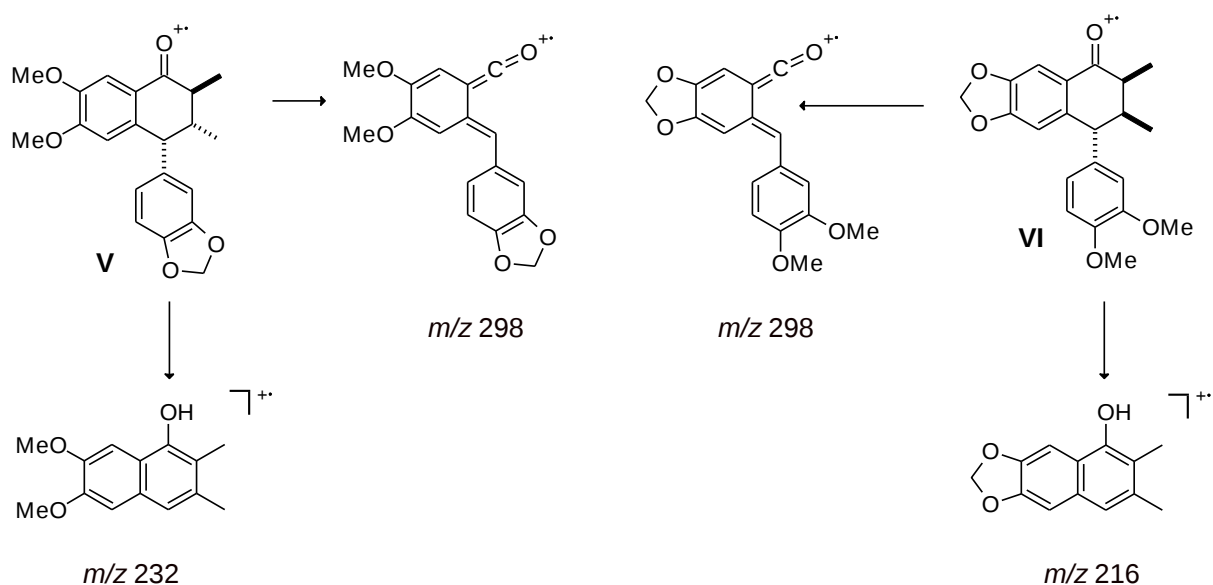
| H/C                       | $^1\text{H}$ ( $\delta$ )      | V | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ )      | VI | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) |
|---------------------------|--------------------------------|---|------------------------------|--------------------------------|----|------------------------------|
| 1                         |                                |   | 125,4                        |                                |    | 127,2                        |
| 2                         |                                |   | 140,6                        |                                |    | 141,1                        |
| 3                         | 6,45 (s)                       |   | 110,7                        | 6,35 (s)                       |    | 109,4                        |
| 4                         |                                |   | 153,8                        |                                |    | 152,1                        |
| 5                         |                                |   | 148,4                        |                                |    | 147,1                        |
| 6                         | 7,51 (s)                       |   | 107,8                        | 7,45 (s)                       |    | 105,8                        |
| 7                         |                                |   | 199,6                        |                                |    | 199,5                        |
| 8                         | 2,36 (dq, 11,0, 7,0)           |   | 42,6                         | 2,71 (dq, 4,5, 7,0)            |    | 43,0                         |
| 9                         | 1,13 (d, 7,0)                  |   | 12,7                         | 1,06 (d, 7,0)                  |    | 11,7                         |
| 1'                        |                                |   | 133,2                        |                                |    | 136,0                        |
| 2'                        | 6,41 (d, 2,0)                  |   | 110,3                        | 6,55 (d, 2,0)                  |    | 111,9                        |
| 3'                        |                                |   | 147,5                        |                                |    | 149,2                        |
| 4'                        |                                |   | 146,3                        |                                |    | 147,9                        |
| 5'                        | 6,65 (d, 8,0)                  |   | 108,5                        | 6,72 (d, 8,5)                  |    | 111,1                        |
| 6'                        | 6,43 (dd, 8,0; 2,0)            |   | 123,1                        | 6,48 (dd, 8,5; 2,0)            |    | 121,1                        |
| 7'                        | 4,02 (d, 4,5)                  |   | 50,1                         | 3,86 (d, 5,5)                  |    | 50,6                         |
| 8'                        | 2,28 (ddq, 11,0, 4,5, 7,5)     |   | 39,8                         | 2,35 (ddq, 5,5, 4,5, 7,0)      |    | 42,0                         |
| 9'                        | 0,90 (d, 7,5)                  |   | 18,1                         | 0,91 (d, 7,0)                  |    | 15,9                         |
| -OCH <sub>3</sub> -4, 5   | 3,76 (s), 3,88 (s)             |   | 56,0,                        |                                |    |                              |
| -OCH <sub>3</sub> -3',4'  |                                |   | 56,0                         | 3,76 (s), 3,80 (s)             |    | 55,7                         |
| -OCH <sub>2</sub> O-3',4' | 5,86, 5,85 (2d, $W_{1/2}$ 1,5) |   |                              |                                |    | 55,9                         |
| -OCH <sub>2</sub> O- 4, 5 |                                |   | 101,0                        | 5,93, 5,92 (2d, $W_{1/2}$ 1,5) |    | 101,4                        |

A análise comparativa entre os valores de  $\delta$  obtidos por experimentos de RMN uni e bidimensionais, e os valores de constantes de acoplamento obtidos entre os hidrogênios H-7'/H-8 e H-8/H-8' com os descritos na literatura <sup>8, 11, 16</sup>, permitiram determinar as configurações relativas de **V** e **VI**.



Os EM-EI de baixa resolução das substâncias **V** e **VI** (figuras 44 e 49), apresentam pico do íon molecular  $[M]^{++}$  com  $m/z$  354 coerente com a fórmula molecular  $C_{21}H_{22}O_5$ .

As diferenças de dezesseis unidades observadas nos íons fragmentários MS-MS, com  $m/z$  232 para o espectro da substância **V** e 216 para o espectro da substância **VI** comprovam o padrão de substituição determinados pelas correlações observadas nos experimentos de  $gHMBC$  e  $gCOSY$ . Sendo caracterizado o anel C da estrutura de **V** como sendo piperonílico e **VI** um anel veratrílico (figura 10).



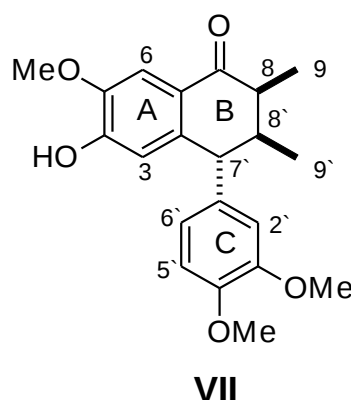
**Figura 10.** Proposta para os íons fragmentários observados nos espectros de baixa resolução de **V** e **VI**.

A lignana **VII** apresentou sinais de  $\delta_H$  e  $\delta_C$  (tabela 8, figura 50-51) característicos de lignanas do tipo ariltetralônica, havendo grande semelhança com os valores de deslocamento e constantes de acoplamento entre os hidrogênios do anel B de **VII** com os observados para **II**. As principais diferenças apresentadas nos

espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$  de **VII** e **II** são evidenciadas pela ausência dos sinais de deslocamento químico em  $\delta_{\text{C}}$  56,0 e  $\delta_{\text{H}}$  3,81 referentes a um grupo metoxílico, contraposta pela presença do sinal largo em  $\delta_{\text{H}}$  5,93, que desaparece do espectro quando registrado após a adição de  $\text{D}_2\text{O}$ , atribuído a um hidrogênio hidroxílico.

A diferença de quatorze unidades apresentada entre os EM de baixa resolução das substâncias **II** e **VII** (figuras 34 e 52) também indica diferença no padrão de substituição do anel A, de um grupo metoxílico para um grupo hidroxílico. Sendo esta diferença confirmada pelas correlações observadas nos experimentos de RMN bidimensionais (figuras 53-55).

O pico do íon molecular  $[\text{M}+\text{H}]^+$  com  $m/z$  357, obtido no EM-ESI de baixa resolução da substância **VII**, é compatível com a fórmula molecular  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_5$  estabelecida.



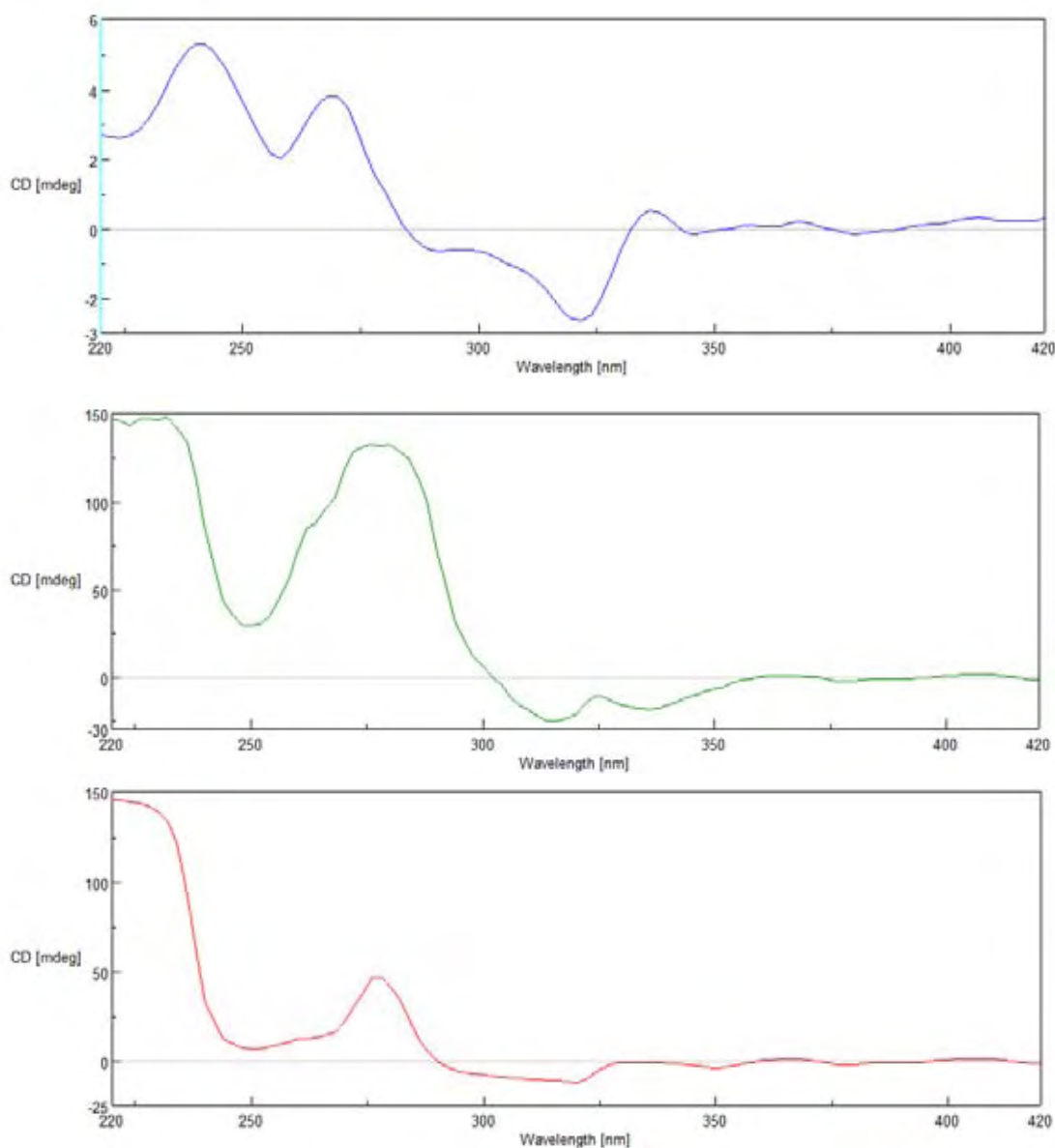
**Tabela 8.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  de **VII** (11,7 T,  $J = \text{Hz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ).

| H/C | $^1\text{H}$ ( $\delta$ ) | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) | H/C                | $^1\text{H}$ ( $\delta$ ) | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) |
|-----|---------------------------|------------------------------|--------------------|---------------------------|------------------------------|
| 1   |                           | 125,2                        | 3'                 |                           | 149,1                        |
| 2   |                           | 139,9                        | 4'                 |                           | 147,8                        |
| 3   | 6,44 (s)                  | 115,4                        | 5'                 | 6,71 (d, 8,0)             | 111,0                        |
| 4   |                           | 150,7                        | 6'                 | 6,49 (dd, 8,0, 2,0)       | 121,1                        |
| 5   |                           | 145,8                        | 7'                 | 3,85 (d, 6,5)             | 49,7                         |
| 6   | 7,51 (s)                  | 108,0                        | 8'                 | 2,37 (ddq, 6,5, 4,5, 7,0) | 41,9                         |
| 7   |                           | 200,2                        | 9'                 | 0,90 (d, 7,0)             | 16,0                         |
| 8   | 2,71 (dq, 4,5, 7,0)       | 43,2                         | $\text{OCH}_3$ -3' | 3,74 (s)                  | 55,9                         |
| 9   | 1,07 (d, 7,0)             | 11,7                         | $\text{OCH}_3$ -4' | 3,80 (s)                  | 56,0                         |
| 1'  |                           | 136,1                        | $\text{OCH}_3$ -5  | 3,89 (s)                  | 56,1                         |
| 2'  | 6,55 (d, 2,0)             | 111,9                        | OH-4               | 5,99 (s)                  |                              |

Os valores dos deslocamentos químicos e das constantes de acoplamento obtidos no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , principalmente entre os hidrogênios H-7'/H-8', e H-8/H-8', permitiram determinar a configuração relativa desta substância pela comparação destes dados (tabela 8) com os descritos na literatura <sup>8, 11</sup>.

#### 4.4.1 Determinação das configurações absolutas de **V**, **VI** e **VII**

As configurações absolutas foram estabelecidas, pelos sinais de efeito Cotton negativo das curvas de DC (figura 11) em  $\lambda$  317 nm para **V**,  $\lambda$  314 nm para **VI** e  $\lambda$  315 nm para **VII**, valores coerentes com configuração 8S segundo modelos isolados previamente de *H. reniformis* descritos na literatura <sup>11, 16</sup>.



**Figura 11.** Curvas de DC das substâncias **V**, **VI** e **VII** (Azul, Verde e vermelho), respectivamente.

Os sinais de  $[\alpha]_D^{25}$  -200,0 (c 1,00, CHCl<sub>3</sub>), -56,2 (c 1,30, CHCl<sub>3</sub>) e -158,0 (c 1,00, CHCl<sub>3</sub>) obtidos para as substâncias **V**, **VI** e **VII** em comparação com os descritos na literatura <sup>8, 11, 16</sup>,  $[\alpha]_D^{25}$  -164,3 (c 1,54, CHCl<sub>3</sub>), -47,1 (c 1,00, CHCl<sub>3</sub>) e  $[\alpha]_D^{25}$  -40,6 (c 1,23, CHCl<sub>3</sub>), respectivamente, permitiram confirmar a configuração absoluta de **V** como sendo: (7'*R*,8*S*,8'*R*)-8,8'-dimetil-4,5-dimetoxi-3',4'-metilenodioxi-2,7'-ciclolignan-7-ona, **VI**: (7'*R*,8*S*,8'*S*)-8,8'-dimetil-3',4'-dimetoxi-4,5-metilenodioxi-2,7'-ciclolignan-7-ona e **VII**: (7'*R*,8*S*,8'*S*)-8,8'-dimetil-4-hidroxi-3',4',5-trimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona.

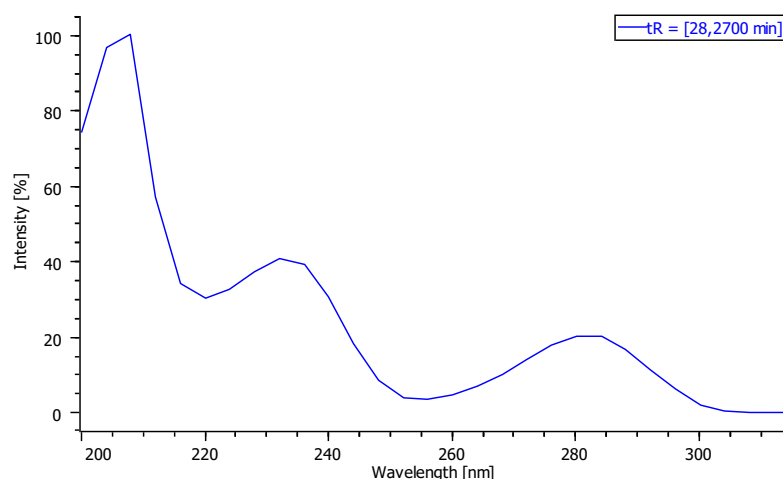
#### 4.5 (7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*)-8,8'-dimetil-4-hidroxi-3',4',5,7-tetrametoxi-2,7'-ciclolignana

A substância **VIII** foi obtida como um líquido viscoso, sendo atribuída a fórmula molecular C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub> com base nos dados de RMN de <sup>13</sup>C e principalmente por EM-ESI de alta resolução (figura 59) que apresentou íon molecular com *m/z* 371,1445 [M-H]<sup>-</sup>.

O espectro de RMN <sup>13</sup>C (tabela 9, figura 58) apresenta sinais correspondentes a 22 átomos de carbonos, entre os quais doze são atribuíveis a carbonos aromáticos (δ 110,8 - 149,0), quatro a carbonos metoxílicos (δ 55,8 - 56,0), além de dois sinais atribuíveis a carbonos metílicos (δ 11,1 - 17,2). São observados também quatro sinais correspondentes a carbonos metínicos, destacando o sinal em δ 83,4 atribuído a um carbono carbinólico-benzílico.

O espectro de absorção no IV (figura 60) da substância **VIII** apresenta banda de absorção característica de estiramento O-H em 3446 cm<sup>-1</sup>, de estiramentos de C=C aromáticos em 1590, 1520 e 1430 cm<sup>-1</sup>, e não apresenta absorção característica de grupo carbonílico.

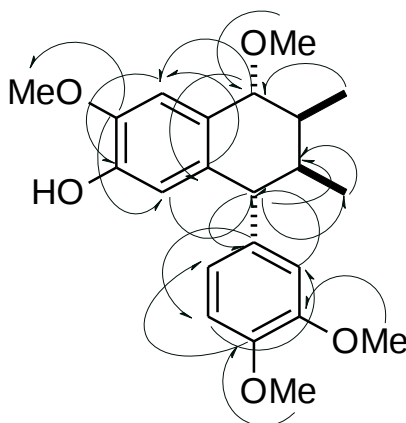
A presença de anel aromático nesta estrutura também é confirmada pelas absorções em λ 200, 240, e 280 nm, no espectro de absorção na região de UV da substância **VIII** (figura 12).



**Figura 12.** Espectros de UV de **VIII**.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 9, figuras 56-57) apresenta sinais entre  $\delta$  6,29 e 6,72, atribuíveis a cinco hidrogênios aromáticos, além de três singletos referentes a hidrogênios metoxílicos aromáticos entre  $\delta$  3,73 e 3,83, e um sinal em  $\delta$  3,40, atribuível a hidrogênios metoxílicos alifáticos. Na região de baixa frequência, dois dubletos correspondentes a hidrogênios metílicos são evidenciados em  $\delta$  0,79 e 0,81, além de sinais de quatro hidrogênios metínicos entre  $\delta$  2,19 e 3,92.

As multiplicidades apresentadas no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , associado às correlações observados no experimento de *g*HMBC (figura 13, 62) e o conjunto de dados espectrométricos descritos anteriormente permitiram determinar a estrutura **VIII** como sendo um metil derivado de uma lignana ariltetralóica.

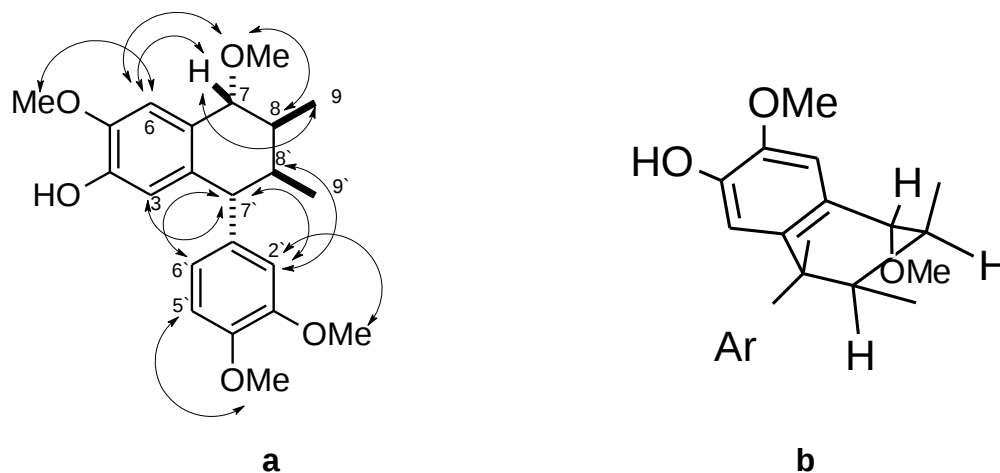


**Figura 13.** Correlações obtidas no espectro de *g*HMBC ( $^{13}\text{C} \rightarrow ^1\text{H}$ ).

**Tabela 9.** Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , gHMBC e NOESY de **VIII** (11,7 T,  $J$  em Hz,  $\text{CDCl}_3$ ).

| H/C                                 | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) | $^1\text{H}$ ( $\delta$ ) | gHMBC                                    | NOESY-2D                                               |
|-------------------------------------|------------------------------|---------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| <b>1</b>                            | 126,0                        |                           | H-3                                      |                                                        |
| <b>2</b>                            | 134,0                        |                           | H-6                                      |                                                        |
| <b>3</b>                            | 115,5                        | 6,29 (s)                  |                                          | H-7'                                                   |
| <b>4</b>                            | 145,3                        |                           | H-6                                      |                                                        |
| <b>5</b>                            | 144,9                        |                           | H-3; $\text{OCH}_3$ -5                   |                                                        |
| <b>6</b>                            | 112,2                        | 6,67 (s)                  |                                          | H-7; H-2'; $\text{OCH}_3$ -5; $\text{OCH}_3$ -7        |
| <b>7</b>                            | 83,4                         | 3,92 (d, 3,5)             | H-6; $\text{OCH}_3$ -7; $\text{CH}_3$ -9 | H-8; $\text{CH}_3$ -9 ; $\text{OCH}_3$ -7              |
| <b>8</b>                            | 34,6                         | 2,19 (qt, 7,0, 3,5)       | $\text{CH}_3$ -9'; H-7'                  | $\text{CH}_3$ -9; H-8'; $\text{OCH}_3$ -7; H-7         |
| <b>9</b>                            | 11,1                         | 0,79 (d, 7,0)             |                                          | H-8                                                    |
| <b>1'</b>                           | 138,4                        |                           | H-5'                                     |                                                        |
| <b>2'</b>                           | 112,2                        | 6,55 (d, 2,0)             | H-6'; H-7'                               | H-8'; H-7'; $\text{OCH}_3$ -3'                         |
| <b>3'</b>                           | 148,9                        |                           | H-5'; $\text{OCH}_3$ -3'                 |                                                        |
| <b>4'</b>                           | 147,4                        |                           | H-2'; H-6'; $\text{OCH}_3$ -4'           |                                                        |
| <b>5'</b>                           | 110,8                        | 6,72 (d, 8,0)             |                                          | $\text{OCH}_3$ -4'                                     |
| <b>6'</b>                           | 121,8                        | 6,63 (dd, 8,0, 2,0)       | H-2'                                     | H-7'                                                   |
| <b>7'</b>                           | 48,8                         | 3,30 (d, 10,5)            | H-3; $\text{CH}_3$ -9'; H-2'             | H-3; H-2'; H-6'; $\text{CH}_3$ -9 ou $\text{CH}_3$ -9' |
| <b>8'</b>                           | 35,3                         | 2,35 (dq, 10,5, 7,0, 3,5) |                                          | H-2'; H-9'; H-8                                        |
| <b>9'</b>                           | 17,2                         | 0,81 (d, 7,0)             | H-7'                                     | H-8'                                                   |
| <b><math>\text{OCH}_3</math>-3'</b> | 56,0                         | 3,73 (s)                  |                                          |                                                        |
| <b><math>\text{OCH}_3</math>-4'</b> | 55,9                         | 3,80 (s)                  |                                          |                                                        |
| <b><math>\text{OCH}_3</math>-5</b>  | 55,9                         | 3,84 (s)                  |                                          |                                                        |
| <b><math>\text{OCH}_3</math>-7</b>  | 56,0                         | 3,40 (s)                  |                                          | H-7; H-8                                               |
| <b>OH</b>                           |                              | 5,37                      |                                          |                                                        |

Os valores das constantes de acoplamento obtidos entre os hidrogênios ligados aos centros estereogênicos  $J_{\text{H-7',H-8'}} = 10,5$  Hz e  $J_{\text{H-8',H-8}} = 3,5$  Hz, estabelecem uma relação *trans*-diaxial entre H-7' ( $\delta$  3,3) e H-8' ( $\delta$  2,35) e axial-equatorial entre H-8' ( $\delta$  2,35) e H-8 ( $\delta$  2,19). A magnitude da constante de acoplamento  $J = 3,5$  Hz obtida entre os hidrogênios H-7 ( $\delta$  3,92) e H-8 ( $\delta$  2,19) não é decisiva para determinar a configuração relativa de **VIII**. Valores de  $J$  próximos de 4,0 Hz para a conformação *meia-cadeira* podem ser atribuídos tanto a uma relação *trans*-diequatorial, como *cis*-axial-equatorial entre os hidrogênios H-7 e H-8.

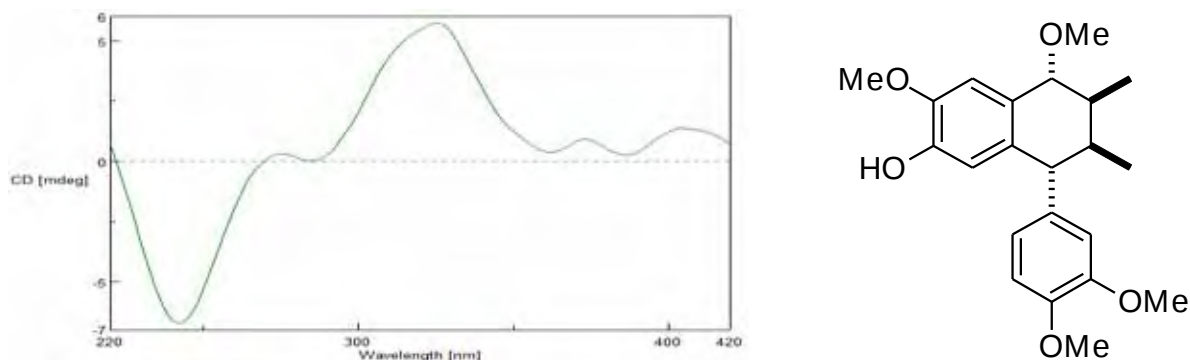


**Figura 14. a)** Interações espaciais observadas no experimento NOESY-2D ( $^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$ ). **b)** Configuração estabelecida para **VIII**.

A configuração relativa do centro estereogênico C-7 foi então estabelecida com base no nOe observado entre o hidrogênio oximetínico H-7 ( $\delta$  3,92) e a metila vicinal 3H-9 ( $\delta$  0,79) (figuras 14-a, 63). Sendo determinada uma relação *trans*-diequatorial entre os hidrogênios H-7/H-8, e, conseqüentemente, a posição do grupo metoxílico no anel B deve ser axial (figura 14-b), para uma conformação compatível com aquela descrita na literatura para lignanas do tipo ariltetralóico<sup>8</sup>.

#### 4.5.1 Determinação da configuração absoluta de **VIII**

A configuração  $\alpha$  para o grupo aril das lignanas é determinada pelo sinal do efeito Cotton positivo na curva de DC na região de absorção do cromóforo benzenóide<sup>11, 15</sup>. Curvas de dicroísmo circular de **VIII** (figura 15) apresentam efeito Cotton positivo em  $\lambda$  290 nm, indicando que o grupo arila esteja em  $\alpha$ , e conseqüentemente a configuração *R* para o centro estereogênico C-7' pode ser estabelecida.



**Figura 15.** Curva de DC, e estrutura da substância **VIII**.

A análise conjunta dos dados espectrométricos, bem como dos valores obtidos da curva de DC, permitiram determinar a substância **VIII** como sendo (7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*)-8,8'-dimetil-4-hidroxi-3',4',5,7-tetrametoxi-2,7'-ciclolignana, sendo esta configuração absoluta confirmada pela comparação do valor de rotação específica obtida  $[\alpha]_D^{25} -26,0$  (c 0,6, CHCl<sub>3</sub>) com o descrito na literatura <sup>17</sup> para (-)-4'-O-dimetil-7-metoxisogalbulina  $[\alpha]_D^{25} -16,1$  (c 0,2, CHCl<sub>3</sub>).

De acordo com o levantamento bibliográfico realizado, constata-se que não existe lignana descrita na literatura com estrutura química idêntica a de **VIII**.

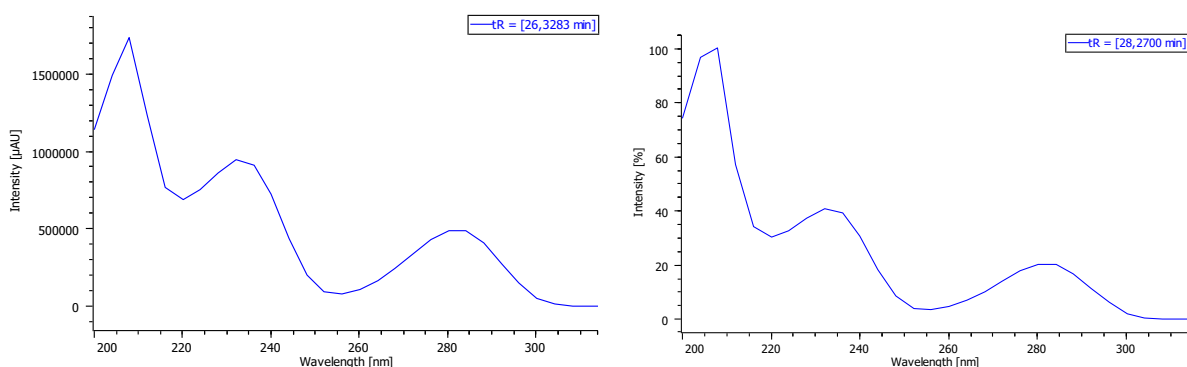
#### 4.6 Lignanas furânicas IX e X.

Duas lignanas furânicas **IX** e **X** foram obtidas a partir da fração F-25 com aspecto físico oleoso. Os EM-EI de baixa resolução destas substâncias (figuras 66 e 73) apresentam pico do íon molecular  $[M]^{+}$  com  $m/z$  356, podendo ser atribuído a fórmula molecular C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>O<sub>5</sub>, coerente com dez insaturações em cada estrutura. A presença dos mesmos íons fragmentários nos espectros de **IX** e **X** indicam uma relação estereoisomérica entre as duas substâncias.

O espectro de RMN <sup>13</sup>C (tabela 10, figura 65) da substância **IX** apresenta sinais correspondentes a 21 carbonos, coerentes com a fórmula molecular proposta. Destes, destaca-se a presença de dois sinais em  $\delta$  87,3 e 87,4, característico de carbonos carbinólicos-benzílicos.

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **IX** (tabela 10, figura 64) apresenta sinais em;  $\delta$  3,82 e 3,84 atribuídos a dois hidrogênios metoxílicos,  $\delta$  0,96 e 0,97 referentes a hidrogênios metílicos, e dois conjuntos de sinais em  $\sim \delta$  2,2 e em  $\delta$  4,40 e 4,42 atribuídos a hidrogênios metínicos e carbinólico-benzílicos, respectivamente. São observados ainda sinais em  $\delta$  5,89 atribuíveis aos hidrogênios metilenodioxílicos, além de dois conjuntos de sinais atribuíveis aos hidrogênios aromáticos de dois sistemas de spins em  $\delta$  6,73 (*d*,  $J=8,0$  Hz, H-5), 6,82 (*dd*,  $J=2,0, 8,0$  Hz, H-6), 6,92 (*d*,  $J=2,0$  Hz, H-2) e  $\delta$  6,80 (*d*,  $J=8,0$  Hz, H-5'), 6,90 (*dd*,  $J=2,0, 8,0$  Hz, H-6'), e 6,93 (*d*,  $J=2,0$  Hz, H-2'), indicando a presença de dois anéis aromáticos 1,3,4-trissubstituídos.

Os espectros de absorção na região de absorção do UV das substâncias **IX** e **X** (figuras 16-a e 16-b) confirmam a presença de anel aromático na estrutura, caracterizados pelas absorções em 220, 235 e 285 nm.



**Figura 16.** Espectros de absorção na região do UV das substâncias **IX** (a) e **X** (b).

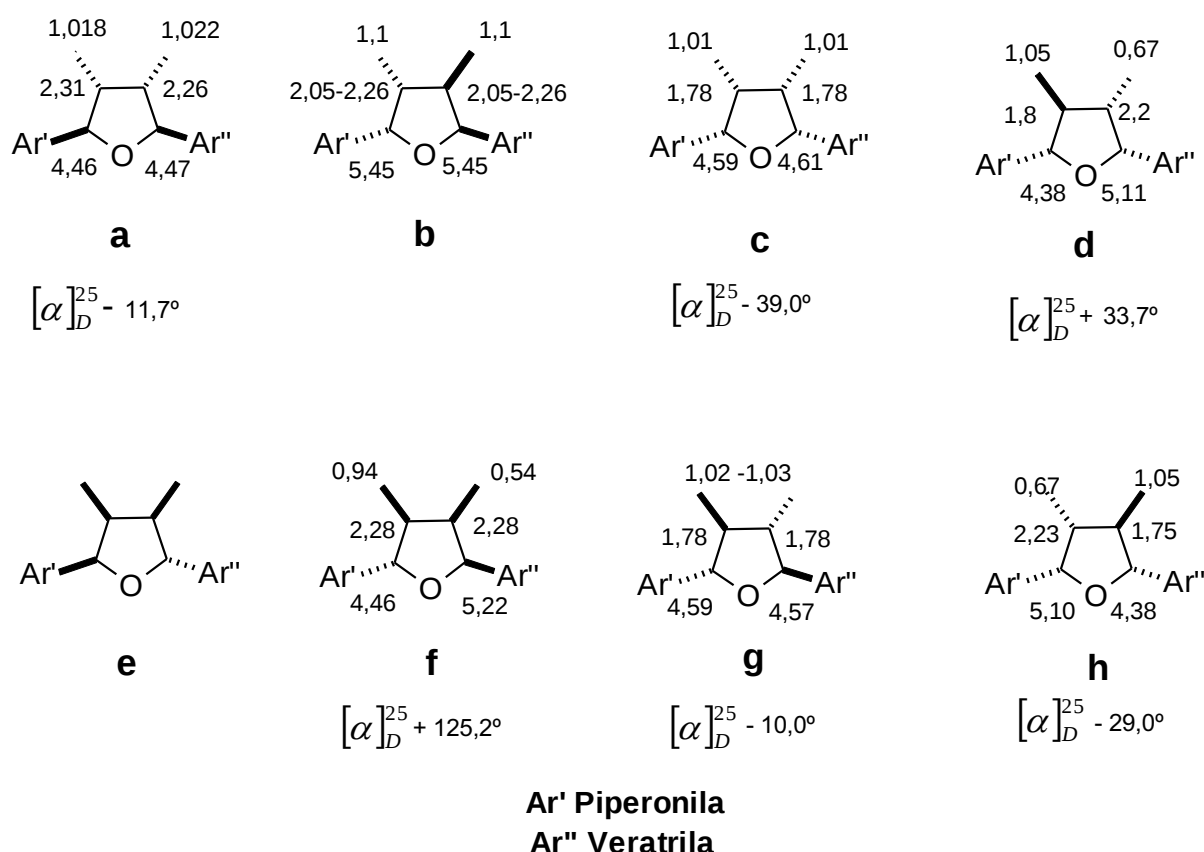
Os deslocamentos químicos dos hidrogênios, dos carbonos e os valores das constantes de acoplamento entre os hidrogênios apresentados para **IX** são compatíveis com os de 7,7'-epoxilignana<sup>18</sup>. Esta classe de substância é composta por oito estereoisômeros configuracionais, com e sem elementos de simetria (figura 17). Os valores de deslocamento químico obtidos para **IX** evidenciam a ausência de elemento de simetria na estrutura, devido aos substituintes aromáticos não serem iguais.

**Tabela 10.** Dados de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C de **IX** (11,7 T, J = Hz, CDCl<sub>3</sub>).

| H/C | <sup>1</sup> H (δ)           | <sup>13</sup> C (δ) | H/C                     | <sup>1</sup> H (δ)           | <sup>13</sup> C (δ) |
|-----|------------------------------|---------------------|-------------------------|------------------------------|---------------------|
| 1   |                              | 136,2               | 3'                      |                              | 149,0               |
| 2   | 6,92 ( <i>d</i> , 2,0)       | 106,8               | 4'                      |                              | 148,5               |
| 3   |                              | 147,8               | 5'                      | 6,80 ( <i>d</i> , 8,0)       | 111,0               |
| 4   |                              | 146,9               | 6'                      | 6,90 ( <i>dd</i> , 8,0, 2,0) | 118,6               |
| 5   | 6,73 ( <i>d</i> , 8,0)       | 108,0               | 7'                      | 4,42 ( <i>d</i> , 6,5)       | 87,3                |
| 6   | 6,82 ( <i>dd</i> , 8,0, 2,0) | 119,8               | 8'                      | 2,21 ( <i>m</i> )            | 44,4                |
| 7   | 4,40 ( <i>d</i> , 7,0)       | 87,4                | 9'                      | 0,97 ( <i>d</i> , 7,0)       | 12,9                |
| 8   | 2,26 ( <i>m</i> )            | 44,5                | OCH <sub>3</sub> - 3'   | 3,83 ( <i>s</i> )            | 55,8                |
| 9   | 0,96 ( <i>d</i> , 7,0)       | 12,78               | OCH <sub>3</sub> - 4'   | 3,82 ( <i>s</i> )            | 55,9                |
| 1'  |                              | 134,7               | OCH <sub>2</sub> O- 3,4 | 5,89 ( <i>s</i> )            | 100,9               |
| 2'  | 6,93 ( <i>d</i> , 2,0)       | 109,7               |                         |                              |                     |

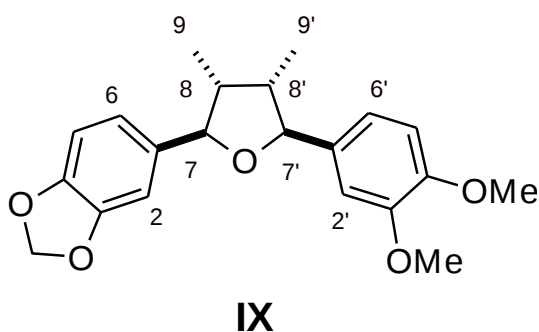
Baseado nos δ<sub>H</sub> descritos na literatura para epoxilignanas (figura 17), a relação entre a metila e o hidrogênio oximetílico assumem valores de δ<sub>H</sub> para configuração *cis* em ~ 1,00 e ~ 2,30 e valores de δ<sub>H</sub> ~ 0,65 e ~ 2,23 em *trans*.

Os valores dos deslocamentos químicos apresentados nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , principalmente dos conjuntos de sinais H-7 ( $\delta$  4,40), H-7' ( $\delta$  4,42), H-8 ( $\delta$  2,22), H-8' ( $\delta$  2,25), 3H-9 ( $\delta$  0,96) e 3H-9' ( $\delta$  0,97), permitem estabelecer para substância **IX** uma estrutura com configuração relativa *cis* entre as metilas (3H-9 e 3H-9'), e *cis* entre as metilas (3H-9 e 3H-9') e os hidrogênios oximetinícos H-7 ( $\delta$  4,40) e H-7' ( $\delta$  4,42), respectivamente, correspondente à estrutura **a**, figura 17 <sup>21</sup>.



**Figura 17.** Deslocamentos químicos de hidrogênios em diferentes configurações do anel furânico <sup>19-27</sup>.

A análise comparativa entre os dados de RMN uni e bidimensionais (tabela 11, figuras 67-70) e do valor de rotação óptica específica,  $[\alpha]_D^{25} -15,0$  (c 1,00,  $\text{CHCl}_3$ ), com o descrito na literatura <sup>21, 28</sup>,  $[\alpha]_D^{25} -11,7$  (c 3,26,  $\text{CHCl}_3$ ), permitiram identificar **IX** como sendo (7*R*,8*R*,7'*S*,8'*S*)-3,4-metilenodioxí-3',4'-dimetoxi-7,7'-epoxilignana (figura 17-**a**). A ocorrência desta lignana ainda não havia sido relatada na espécie *H. reniformis*.



**Tabela 11.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de **IX** (11,7 T,  $J$  em Hz,  $\text{CDCl}_3$ ).

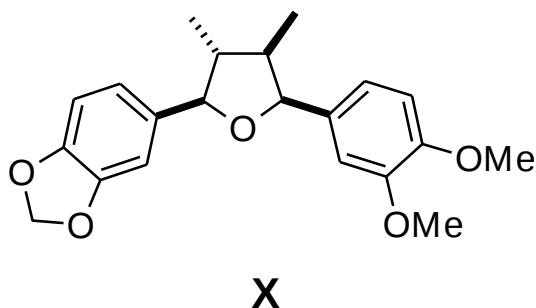
| H                            | $^1\text{H}$ ( $\delta$ ) de <b>IX</b> | $^1\text{H}$ ( $\delta$ ) Futokadsurin <b>C</b> <sup>21,28</sup> |
|------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| 2                            | 6,92( <i>d</i> , 2,0)                  | 6,97( <i>d</i> , 2,0)                                            |
| 5                            | 6,73 ( <i>d</i> , 8,0)                 | 6,78 ( <i>d</i> , 8,0)                                           |
| 6                            | 6,82 ( <i>dd</i> , 2,0, 8,0)           | 6,88 ( <i>dd</i> , 2,0 8,0)                                      |
| 7                            | 4,40 ( <i>d</i> , 7,0)                 | 4,46 ( <i>d</i> , 7,2)                                           |
| 8                            | 2,26 ( <i>m</i> )                      | 2,31( <i>m</i> )                                                 |
| 9                            | 0,96 ( <i>d</i> , 7,0)                 | 1,018 ( <i>d</i> , 6,4)                                          |
| 2'                           | 6,93 ( <i>d</i> , 2,0)                 | 6,99 ( <i>d</i> , 2,0)                                           |
| 5'                           | 6,80 ( <i>d</i> , 8,0)                 | 6,86 ( <i>d</i> , 8,0)                                           |
| 6'                           | 6,90 ( <i>dd</i> , 8,0, 2,0)           | 6,95 ( <i>dd</i> , 8,0, 2,0)                                     |
| 7'                           | 4,42 ( <i>d</i> , 6,5)                 | 4,47 ( <i>d</i> , 7,2)                                           |
| 8'                           | 2,21 ( <i>m</i> )                      | 2,26 ( <i>m</i> )                                                |
| 9'                           | 0,97 ( <i>d</i> , 7,0)                 | 1,022 ( <i>d</i> , 6,4)                                          |
| $\text{OCH}_3$ - 3'          | 3,83 ( <i>s</i> )                      | 3,89 ( <i>s</i> )                                                |
| $\text{OCH}_3$ - 4'          | 3,82 ( <i>s</i> )                      | 3,87 ( <i>s</i> )                                                |
| $\text{OCH}_2\text{O}$ - 3,4 | 5,89 ( <i>s</i> )                      | 5,93 ( <i>s</i> )                                                |

A substância **X** foi obtida como um líquido viscoso,  $[\alpha]_D^{25} -100,0$  ( $c$  0,64,  $\text{CHCl}_3$ ).

Os valores de deslocamento químico apresentado nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da substância **X** (figuras 71 e 72) são semelhantes aos apresentados por **IX**, diferindo apenas na configuração do anel tetraidrofurânico.

A análise dos dados obtidos nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$  (tabela 12) indica que não há elemento de simetria na estrutura, sendo a substância **X** compatível com o enantiômero de **9-d** (figura 17), ou seja, a (-)-calopepitina <sup>27</sup>. A

(-)-calopepitina é uma lignana tetraidrofurânica que apresenta uma relação *trans* entre H-7/H-8, *trans* entre H-8/H-8' e *cis* entre H-8'/H-7' no anel tetraidrofurânico.



**Tabela 12.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  de **X** (7,1 T, *J* em Hz,  $\text{CDCl}_3$ ).

| H  | $^1\text{H}$ ( $\delta$ )    | H                           | $^1\text{H}$ ( $\delta$ )    |
|----|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 2  | 6,98 ( <i>d</i> , 1,5)       | 6'                          | 6,80 ( <i>m</i> )            |
| 5  | 6,75 ( <i>d</i> , 8,0)       | 7'                          | 5,05 ( <i>d</i> , 9,0)       |
| 6  | 6,88 ( <i>dd</i> , 8,0, 1,5) | 8'                          | 1,68 ( <i>tq</i> , 9,0, 7,0) |
| 7  | 4,31( <i>d</i> , 9,5)        | 9'                          | 0,59 ( <i>d</i> , 7,0)       |
| 8  | 2,17 ( <i>tq</i> , 9,0; 7,0) | $\text{OCH}_3$ -3'          | 3,82 ( <i>s</i> )            |
| 9  | 0,99 ( <i>d</i> , 7,0)       | $\text{OCH}_3$ -4'          | 3,82 ( <i>s</i> )            |
| 2' | 6,81 ( <i>m</i> )            | $-\text{OCH}_2\text{O}-3,4$ | 5,90 ( <i>s</i> )            |
| 5' | 6,82 ( <i>m</i> )            |                             |                              |

#### 4.7 Alantoína XI

A substância **XI** apresentou-se como um sólido cristalino, insolúvel em  $\text{CHCl}_3$  e solúvel em DMSO e  $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  1:1. A análise comparativa dos valores de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 74) com os descritos na literatura <sup>29</sup> e a comparação destes espectros com aqueles de amostras autênticas, permitiram identificar **XI** como sendo a alantoína.

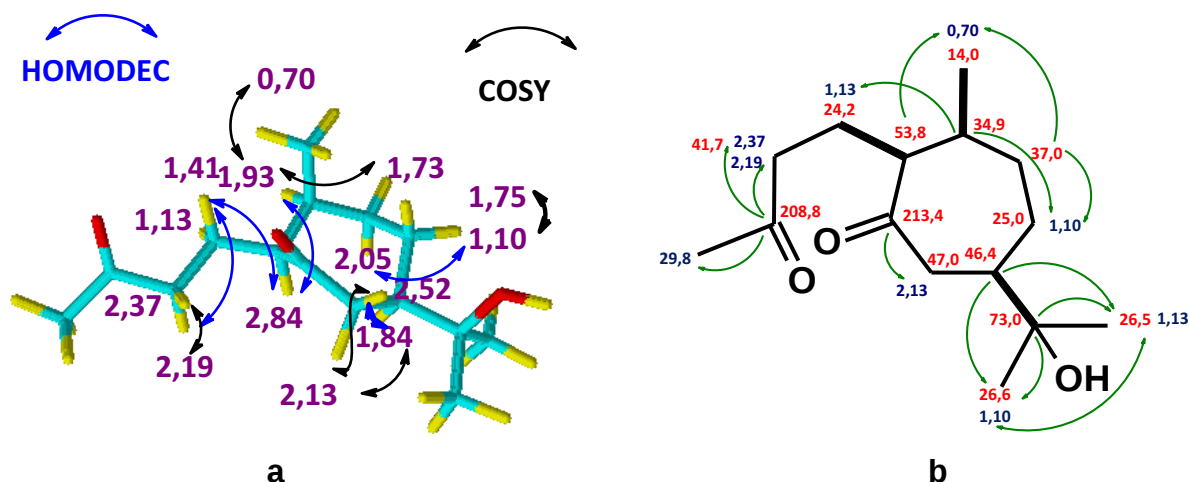
#### 4.8 Sesquiterpeno XIV

O espectro de EM-ESI de alta resolução de **XIV** (figura 77) apresenta pico do íon pseudo molecular  $[M+Na]^+$  com  $m/z$  277,1774 ( $C_{15}H_{26}O_3+Na$ ) e o MS-MS destes íons gerou um pico base em  $m/z$  237,25  $[M-H_2O+H]^+$ .

O espectro de RMN de  $^{13}C$  (figura 76) de **XIV** apresenta sinais atribuíveis a quinze carbonos, destacando a presença de dois carbonos carbonílicos em  $\delta$  213,4 e 208,8, sendo este correspondente a uma metil cetona ( $\delta_H$  2,04;  $\delta_C$  29,8), além de um carbono carbinólico quaternário ( $\delta$  73,0). A presença dos grupos carbonílicos e hidroxílico na estrutura pode ser comprovada pelas bandas observadas no espectro de absorção no IV em 1707 e 3440  $cm^{-1}$  (figura 78), respectivamente. Experimentos de RMN de  $^1H$ ,  $gHSQC$ ,  $gHMQC$ , e DEPT 135° e 90° mostraram a presença adicional de três grupos metílicos em  $\delta$  1,10; 1,13 e 0,7; três sinais correspondente a hidrogênios metínicos em  $\delta$  1,84; 1,93 e 2,84; além de sinais correspondentes a cinco hidrogênios metilênicos entre  $\delta$  1,10 e 2,52.

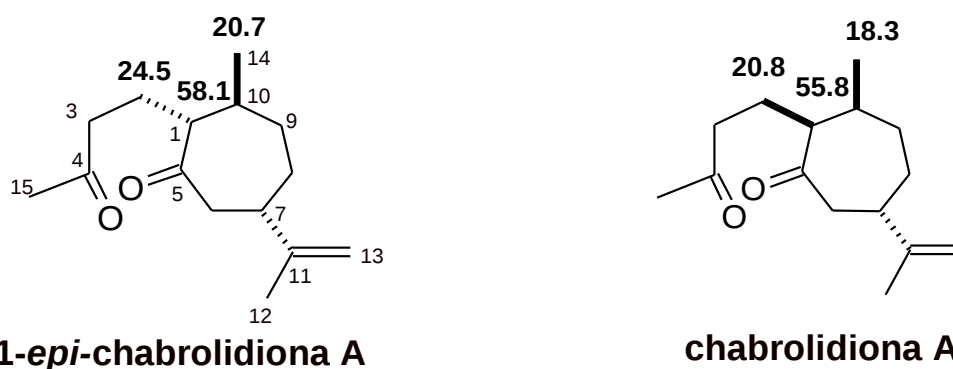
O mapa de contorno de  $gHMBC$  de **XIV** (figura 79) apresenta correlações de parte da estrutura. Baseando nas correlações obtidas (figura 18-b) e no índice de deficiência de hidrogênio calculado como sendo três, a partir do valor obtido com  $m/z$  277,1774 ( $C_{15}H_{26}O_3+Na$ ) para o pico do íon molecular no EM da substância **XIV** é possível estabelecer a presença de um anel na estrutura, o qual corresponde a uma das instaurações já que os dados de RMN de  $^{13}C$  e  $^1H$  (figuras 76 e 75) não apresentam sinais adicionais de carbonos  $sp^2$  além dos sinais carbonílicos já descritos.

A proposta de um composto cíclico de sete membros foi estabelecida pelas correlações de acoplamentos observadas entre o hidrogênio em  $\delta_H$  2,84 e os hidrogênios em  $\delta_H$  1,41 e 1,93, assim como entre os hidrogênios  $\delta_H$  2,13 e 1,84 obtidos nos experimentos de HOMODEC e  $gCOSY$  (figuras 18-a, 80 e 81). Sendo os deslocamentos químicos dos hidrogênios de **XIV** atribuídos com base nas correlações observadas por  $^1H-^1H$  COSY, desacoplamento seletivo de hidrogênio (HOMODEC), e experimentos  $gHMQC$ .



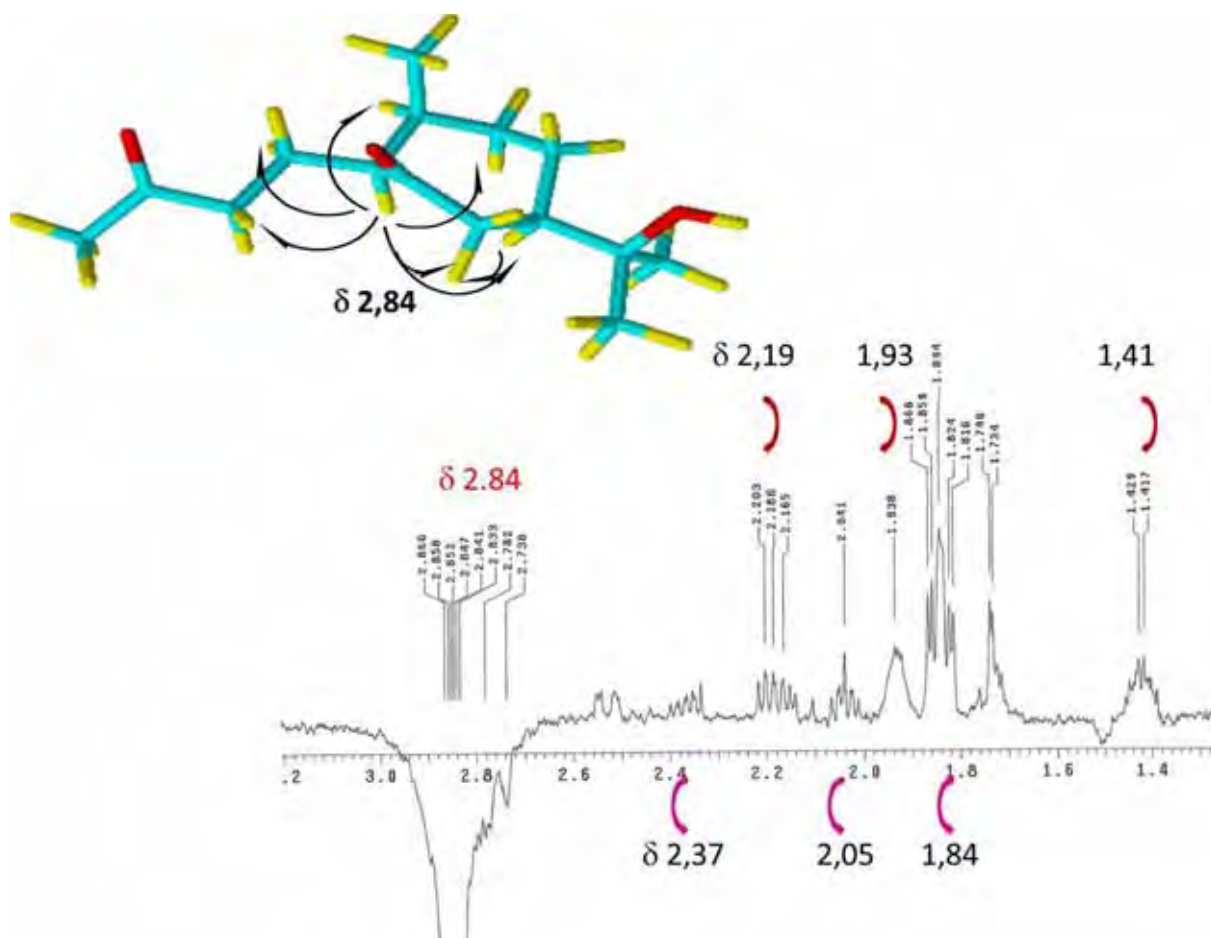
**Figura 18.** a) Correlações obtidas nos experimentos de gCOSY [ $^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$ ] e HOMODEC [ $^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$ ] de **XIV**. b) Correlações observadas no experimento de gHMBC [ $^{13}\text{C} \rightarrow ^1\text{H}$ ] da substância **XIV**.

A análise detalhada dos dados obtidos nos experimentos de RMN uni e bidimensionais (tabela 13), levou à estrutura de um 4,5-secoguaiano para **XIV**, ou seja, uma estrutura do tipo bulnesol oxidada nas posições C-4 e C-5 conforme apresentado na figura 22. Substâncias com este esqueleto carbônico estão descritas na literatura<sup>30, 31, 32</sup>, como a 1-*epi*-chabrolidiona A e a chabrolidiona A. Entretanto, os deslocamentos químicos dos carbonos no ciclo diferem significativamente dos de **XIV**, sugerindo que estes apresentem diferentes configurações relativas.



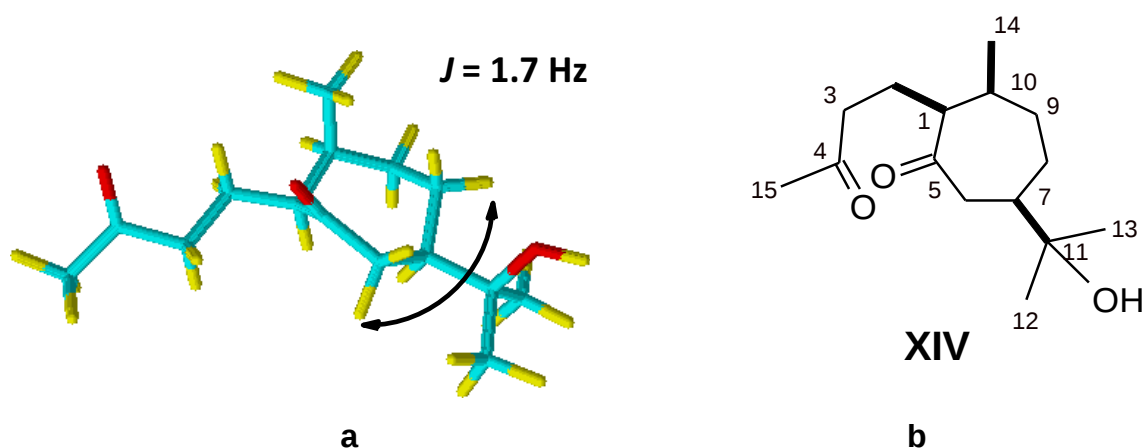
**Figura 19.** Deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  apresentados em diferentes configurações.

A irradiação seletiva em experimentos de gNOESY de **XIV** em  $\delta$  2,84 (H-1) (figura 20) simplifica os sinais em  $\delta$  1,41 (H-2a), 1,13 (H-2b), e 1,93 (H-10), e evidencia uma relação *cis* entre H-1 e H -10 ( $J = 2,5$  Hz).



**Figura 20.** Irradiação seletiva obtida em experimentos de gNOESY 1D [ $^1\text{H} \rightarrow ^1\text{H}$ ].

O acoplamento a longa distância entre H-6 $\alpha$  ( $\delta$  2,52) e H-8 $\alpha$  ( $\delta$  1,75) também foi observado ( $J = 1,7$  Hz) pela irradiação seletiva nas frequências destes hidrogênios (figura 21). Estes dados associados a interações espaciais entre H-1 e H-2a, H-6 $\alpha$ , H-7, H-9 $\alpha$ , e H-10 observadas por experimentos de gNOESY 1D, permitiram determinar a conformação e a configuração relativa de **XIV** como 1S, 7R, 10S. Nesta conformação, o deslocamento químico em alta frequência observado para H-8 $\beta$  ( $\delta_{\text{H}}$  1,10) é coerente com um hidrogênio endocíclico protegido pelo grupo carbonila em C-5. As interações espaciais observadas entre os hidrogênios metílicos CH<sub>3</sub>-14 ( $\delta_{\text{H}}$  0,70) e H-2a, H-8 $\alpha$ , H-8 $\beta$ , e H-9 $\beta$  confirmam esta configuração relativa.



**Figura 21.** a) Conformação b) configuração relativa de XIV.

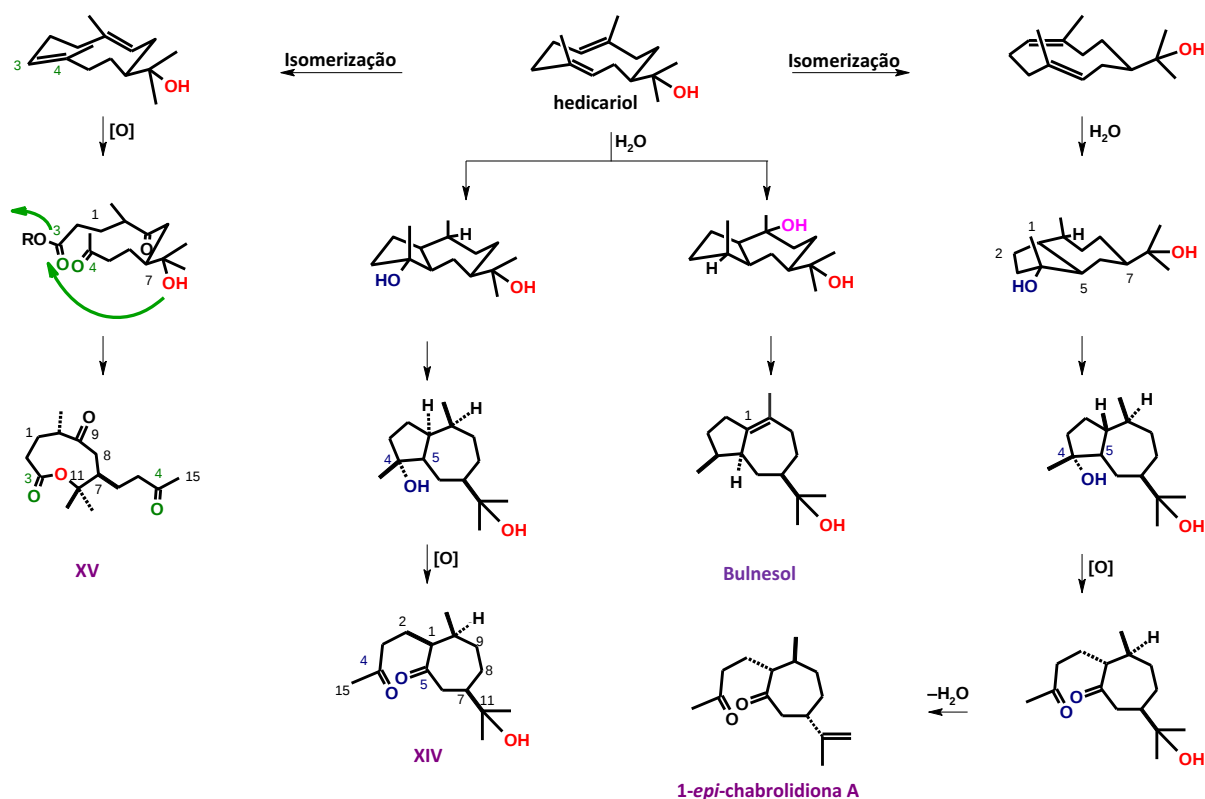
**Tabela 13.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de XIV (11,7 T, J em Hz,  $\text{CDCl}_3$ ).

| H/C        | $^1\text{H}$ ( $\delta$ ) <sup>a</sup>    | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) <sup>b</sup> | gHMBC                                                     |
|------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| 1 $\alpha$ | 2,84 ( <i>ddd</i> , 9,5, 4,5, 2,5)        | 53,8                                      | CH <sub>3</sub> -14                                       |
| 2a         | 1,41 ( <i>dddd</i> , 14,5, 8,5, 6,0, 4,5) | 24,2                                      |                                                           |
| 2b         | 1,13 ( <i>m</i> )                         |                                           |                                                           |
| 3a         | 2,37 ( <i>ddd</i> , 17,0, 8,5, 6,0)       | 41,7                                      |                                                           |
| 3b         | 2,19 ( <i>ddd</i> , 17,0, 9,0, 8,5)       |                                           |                                                           |
| 4          |                                           | 208,8                                     | H-3a, H-3b, CH <sub>3</sub> -15                           |
| 5          |                                           | 213,4                                     | H-6 $\beta$                                               |
| 6 $\alpha$ | 2,52 ( <i>ddd</i> 17,5, 4,5, 1,7)         | 47,0                                      |                                                           |
| 6 $\beta$  | 2,13 ( <i>dd</i> 17,5, 12,0)              |                                           |                                                           |
| 7          | 1,84 ( <i>dddd</i> 12,0, 10,0, 4,5, 1,5)  | 46,4                                      | CH <sub>3</sub> -12, CH <sub>3</sub> -13                  |
| 8 $\alpha$ | 1,75 ( <i>m</i> )                         | 25,1                                      |                                                           |
| 8 $\beta$  | 1,10 ( <i>m</i> )                         |                                           |                                                           |
| 9 $\alpha$ | 1,73 ( <i>m</i> )                         | 37,0                                      | H-8 $\beta$ , CH <sub>3</sub> -14                         |
| 9 $\beta$  | 2,04 ( <i>m</i> )                         |                                           |                                                           |
| 10         | 1,93 ( <i>m</i> )                         | 34,9                                      | CH <sub>3</sub> -14, H-2b e/ou H-8 $\beta$                |
| 11         |                                           | 73,0                                      | CH <sub>3</sub> -12, CH <sub>3</sub> -13 e/ou H-8 $\beta$ |
| 12         | 1,13 ( <i>s</i> )                         | 26,5                                      | CH <sub>3</sub> -13                                       |
| 13         | 1,10 ( <i>s</i> )                         | 26,6                                      | CH <sub>3</sub> -12                                       |
| 14         | 0,70 ( <i>d</i> , 7,5)                    | 14,0                                      |                                                           |
| 15         | 2,04 ( <i>s</i> )                         | 29,8                                      |                                                           |

<sup>a</sup> Multiplicidades foram determinadas com auxílio de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  TOCSY e experimento de HOMODEC.

<sup>b</sup> Deslocamentos químicos e multiplicidades determinadas com auxílio de DEPT e experimento de gHMQC.

A substância **XIV** pode ser um derivado biogenético do bulnesol, que sofreu oxidação nas posições 4 e 5, como ilustrado na figura 22.



**Figura 22.** Biogênese dos sesquiterpenos **XIV**, **XV** e 1-*epi*-chabrolidiona A.

O levantamento bibliográfico dos dados espectroscópicos obtidos para o sesquiterpeno **XIV** permite relatar como sendo inédita a substância nomeada como 7-*epi*-11-hidroxichabrolidiona A.

#### 4.9 Holostilactona XV

O espectro de EM-ESI de alta resolução do composto **XV** (figura 89) apresenta sinais referentes aos íons pseudo moleculares  $[M+Na]^+$  com  $m/z$  291,1567 (calculado para  $C_{15}H_{24}O_4+Na$  291,1567) e  $m/z$  269,1745  $[M+H]^+$  (calculado para  $C_{15}H_{25}O_4$  269,1747).

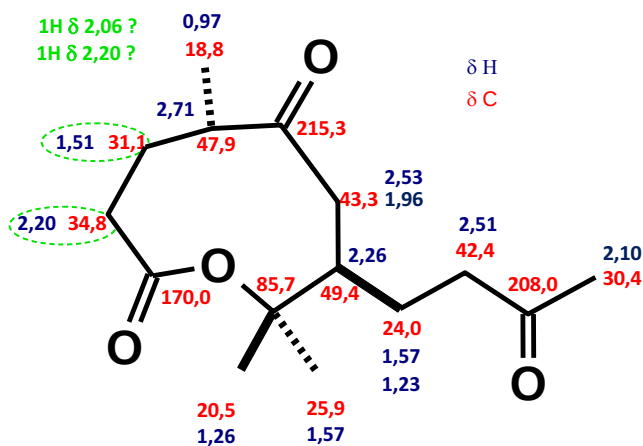
O espectro de RMN de  $^{13}C$  de **XV** (figura 88) apresenta sinais correspondentes a quinze carbonos, destes destacam-se dois carbonílicos em  $\delta$  215,3 e 208,0, e um grupo acílico em  $\delta$  171,0. O espectro de absorção na região do IV (figura 90) apresentou bandas de absorção largas e intensas destes grupos em  $\sim 1707$  e  $1732\text{ cm}^{-1}$ , e não apresentou bandas de absorções características de grupos

hidroxílicos (~ 3300), corroborando com os dados obtidos por RMN de  $^{13}\text{C}$  o qual indica a presença de grupos carbonílicos na estrutura de **XV**.

Além destes, um carbono carbinólico ( $\delta_{\text{C}}$  85,7), cinco metilênicos ( $\delta_{\text{C}}$  24,0,  $\delta_{\text{H}}$  1,57;  $\delta_{\text{C}}$  31,1,  $\delta_{\text{H}}$  1,51;  $\delta_{\text{C}}$  34,8,  $\delta_{\text{H}}$  2,20;  $\delta_{\text{C}}$  42,4,  $\delta_{\text{H}}$  2,51;  $\delta_{\text{C}}$  43,3,  $\delta_{\text{H}}$  2,53 e 1,96), dois grupos metínicos ( $\delta_{\text{C}}$  47,9;  $\delta_{\text{H}}$  2,71;  $\delta_{\text{C}}$  49,4;  $\delta_{\text{H}}$  2,26), e quatro metílicos ( $\delta_{\text{C}}$  18,8; 20,5; 25,7; 30,4 e  $\delta_{\text{H}}$  0,97; 1,26; 1,57; 2,10; respectivamente) foram observados pela análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e por DEPT 135 ° (figuras, 86, 88 e 91).

O espectro de *g*HMBC mostrou correlações entre o carbono carbonílico em  $\delta$  208,0 (C-4) e os hidrogênios da metila em  $\delta$  2,10 (3H-15) e os hidrogênios metilênicos em  $\delta$  2,51 (2H-5) (figuras 24 e 92). Estes últimos também apresentam correlações com o carbono metínico em 49,4 (C-7). O carbono carbinólico C-11 e C-7 apresentam correlações com os hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  1,57 (3H-12) e 1,26 (3H-13), bem como com H-8 $\alpha$  ( $\delta_{\text{H}}$  1,96). O espectro de *g*HMBC também mostrou correlações entre o carbono carbonílico em  $\delta$  215,3 (C-9) e H-8 $\alpha$  e CH<sub>3</sub>-14 ( $\delta_{\text{H}}$  0,97), os quais, por sua vez, foram correlacionados com C-1 e C-10.

Esses dados, associados aos dados obtidos em experimentos de *g*HMQC (figura 93), permitiram determinar os deslocamentos químicos dos carbonos e hidrogênios a eles ligados (tabela 14, figura 23), com exceção dos sinais de hidrogênios em  $\delta$  2,06 e 2,20 por apresentarem deslocamento químicos próximos e/ou sobrepostos (figuras 87).



**Figura 23.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  atribuídos à estrutura de **XV** (as multiplicidades dos carbonos foram determinadas por experimentos de DEPT, *g*HMQC).

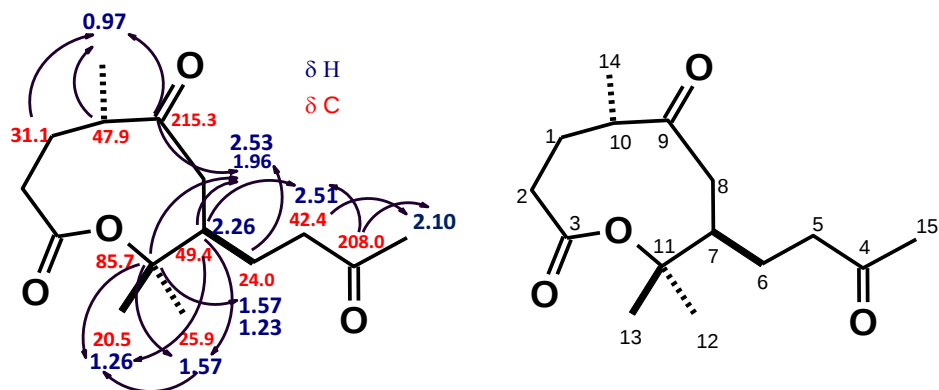
**Tabela 14.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **XV** (11,7 T, J em Hz,  $\text{CDCl}_3$ ).

| H/C        | $^1\text{H}$ ( $\delta$ ) <sup>a</sup>                      | $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) <sup>b</sup> | gHMBC                                                                         |
|------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| 1 $\alpha$ | 2,06 (dddd <sup>e</sup> , 14,0, 9,8, 9,3, 5,0) <sup>e</sup> | 31,1                                      | CH <sub>3</sub> -14                                                           |
| 1 $\beta$  | 1,51 (dddd <sup>e</sup> , 14,0, 6,5, 2,5, 1,5) <sup>e</sup> |                                           |                                                                               |
| 2 $\alpha$ | 2,20 (ddd <sup>e</sup> , 15,0, 5,0, 1,5) <sup>e</sup>       | 34,8                                      |                                                                               |
| 2 $\beta$  | 2,19 (ddd <sup>e</sup> , 15,0, 9,8, 6,5) <sup>e</sup>       |                                           |                                                                               |
| 3          |                                                             | 171,0                                     |                                                                               |
| 4          |                                                             | 208,0                                     | H-5a, H-5b, CH <sub>3</sub> -15                                               |
| 5a, 5b     | 2,51 (t/ 7,5)                                               | 42,4                                      | CH <sub>3</sub> -15                                                           |
| 6a         | 1,57 (ddt, 14,0, 2,0, 7,5)                                  | 24,0                                      | H-8 $\beta$                                                                   |
| 6b         | 1,23 (ddt, 14,0, 11,5, 7,0)                                 |                                           |                                                                               |
| 7          | 2,26 (ddt, 11,5, 11,0, 2,0)                                 | 49,4                                      | H-5a, H-5b, H-8 $\alpha$ , CH <sub>3</sub> -12, CH <sub>3</sub> -13           |
| 8 $\alpha$ | 1,96 (dd, 12,5, 2,0)                                        | 43,3                                      |                                                                               |
| 8 $\beta$  | 2,53 (dd, 12,5, 11,0)                                       |                                           |                                                                               |
| 9          |                                                             | 215,3                                     | H-8 $\alpha$ , CH <sub>3</sub> -14                                            |
| 10         | 2,71 (ddq, 9,3, 2,5, 7,0)                                   | 47,9                                      | CH <sub>3</sub> -14                                                           |
| 11         |                                                             | 85,7                                      | H-8 $\alpha$ , CH <sub>3</sub> -13, CH <sub>3</sub> -12 e ou H-6 <sup>a</sup> |
| 12         | 1,57 (s)                                                    | 25,9                                      | CH <sub>3</sub> -13                                                           |
| 13         | 1,26 (s)                                                    | 20,5                                      | CH <sub>3</sub> -12                                                           |
| 14         | 0,97 (d, 7,0)                                               | 18,8                                      |                                                                               |
| 15         | 2,10 (s)                                                    | 30,4                                      |                                                                               |

<sup>a</sup> Multiplicidades foram determinadas com auxílio de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  TOCSY e experimento de HOMODEC.<sup>b</sup> Deslocamentos químicos e multiplicidades determinadas com auxílio de DEPT e experimento de gHMQC.<sup>e</sup> Valores calculados utilizando ACD/ChemSketch Predictors Program.

A obtenção de quatro deficiências de hidrogênios, calculadas a partir do valor do íon molecular obtido no EM permitem estabelecer a presença de um anel na estrutura, sendo este referente a uma deficiência de hidrogênio, já que nenhum sinal de carbono  $sp^2$  adicional, além dos sinais já discutidos, foi observado no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ . Estes dados, associados aos deslocamentos químicos dos carbonos carbinólicos, do grupo acílico e a ausência de bandas referentes a estiramento de hidrogênio hidroxílico ( $\sim 3300\text{ cm}^{-1}$ ) no IV sugerem a presença de uma lactona.

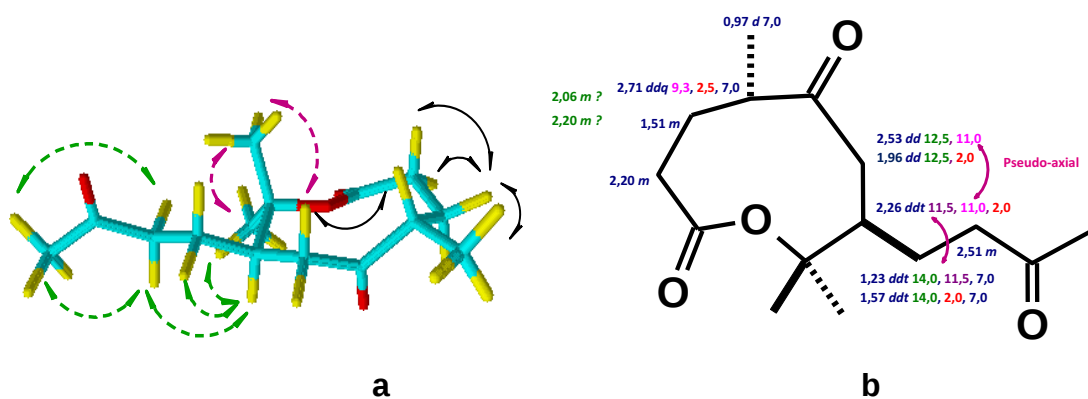
As correlações entre os hidrogênios H-10/H-2 $\alpha$  e/ou H-2 $\beta$ , H-8 $\alpha$ /H-7 evidenciadas em experimentos de TOCSY (figura 99), associados aos dados descritos anteriormente indicam a estrutura de uma lactona de nove membros, com um substituinte 3-oxobutila, para **XV**.



**Figura 24.** Correlações observadas por experimentos *g*HMBC da substância **XV** [ $^{13}\text{C} \rightarrow ^1\text{H}$ ].

A irradiação seletiva no hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  2,71 em experimentos de HOMODEC resolvem os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  2,06; 0,97 e 1,51; bem como a irradiação seletiva no hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  2,06 resolvem os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  2,19 e 2,71 (figuras 95-96) o que permite estabelecer os deslocamentos químicos dos hidrogênios 2H-1 e 2H-2, sendo H-1 ( $\delta$  1,51 e 2,06) vicinal aos hidrogênios H-2 ( $\delta$  2,22 e 2,19) e H-10 ( $\delta$  2,71) como ilustrado na figura 26.

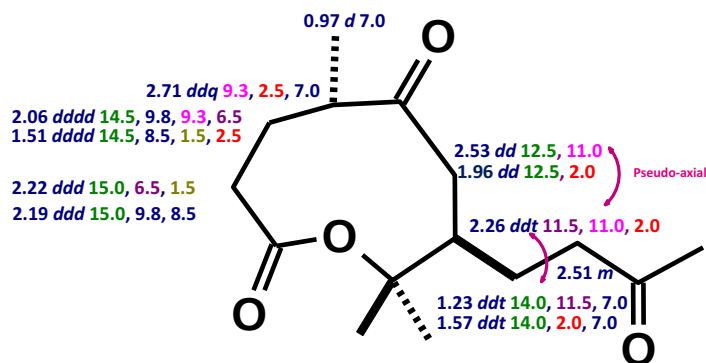
Além disso, os experimentos de *g*NOESY (figura 97) foram realizados para auxiliar na determinação da conformação desta lactona sesquiterpênica baseando nas interações espaciais entre os hidrogênios H-13/H-8, H-7/H-14 e H-8/H-10, como mostrado na figura 25.



**Figura 25.** a) Principais interações espaciais nOe b) multiplicidades dos hidrogênios com base nos experimentos de COSY, TOCSY e HOMODEC da substância **XV**.

Nesta conformação, os efeitos anisotrópicos do grupo acílico C-3 sobre os hidrogênios CH<sub>3</sub>-12 e do grupo carbonílico C-9 sobre H-7 e H-1 $\alpha$ , que estão em posições pseudo-axial, poderia explicar os deslocamentos químicos observados em alta frequência para estes tipos de hidrogênios. Portanto, a configuração relativa para **XV** foi estabelecida como sendo 7*R*, 10*S*.

A partir destes dados, associado ao cálculo das constantes de acoplamento utilizando ACD/ChemSketch Predictors Program (Advanced Chemistry Development, 2010) <sup>33</sup>, foi possível determinar as constantes de acoplamentos pela comparação entre o espectro real e o espectro simulado (figura 98), resultando nas constantes descritas na tabela 14.



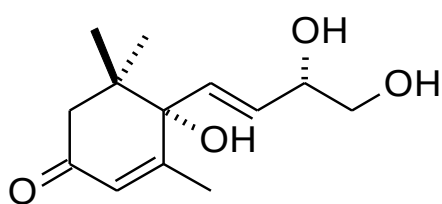
**Figura 26.** Deslocamento químicos e constantes de acoplamento de **XV**.

Assim, o sesquiterpeno **XV** previamente denominado de holostilactona por Silva <sup>10</sup>, teve a estrutura totalmente elucidada, a qual apresenta um novo esqueleto carbônico.

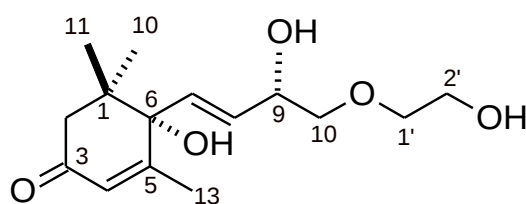
#### 4.10 Holostimegastigmadienona XVI

O espectro de EM-ESI de alta resolução do composto **XVI** apresentou o íon pseudo molecular  $[M + Na]^+$  com  $m/z$  307,1652 ( $C_{15}H_{24}O_5 + Na$ ). Os espectros de RMN de  $^1H$ , de  $^{13}C$  e  $gHMBC$  de **XVI** (tabela 15, figuras 100-102) mostraram sinais atribuíveis a dois grupos metílicos ligados a um carbono quaternário  $sp^3$  ( $\delta_H$  0,91; 0,93;  $\delta_C$  23,9; 23,0), um grupo metílico ( $\delta_H$  1,82;  $\delta_C$  19,0) ligado na posição  $\beta$  a um grupo carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado ( $\delta_H$  5,77;  $\delta_C$  197,4; 125,5; 164,0), e uma olefina *trans* [ $\delta_C$  129,9; 131,8;  $\delta_H$  5,75; 5,69 ( $J=17,0$  Hz)], ligado a carbonos carbinólicos ( $\delta_C$  71,6 e 79,1).

Estes dados, juntamente com os resultados de  $gCOSY$ ,  $gHMQC$ ,  $gHMBC$ , e experimentos de  $gNOESY$ , levaram a um esqueleto carbônico megastigmano para **XVI**. Pois os dados de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$  de **XVI** (tabela 15) são muito semelhantes aos publicados para cucumegastigmano I <sup>34</sup> (tabela 15 e figura 27). As principais diferenças entre os dados espectrométricos de RMN de  $^{13}C$  foram evidenciadas pelos sinais observados para um grupo  $O-CH_2CH_2OH$  em C-10 de **XVI** ( $\delta_C$  66,1 e 60,2) ao invés de um hidroxílico.



**cucumegastigmane I**



**XVI**

**Figura 27.** Estrutura química do cucumegastigmano I e de XVI.

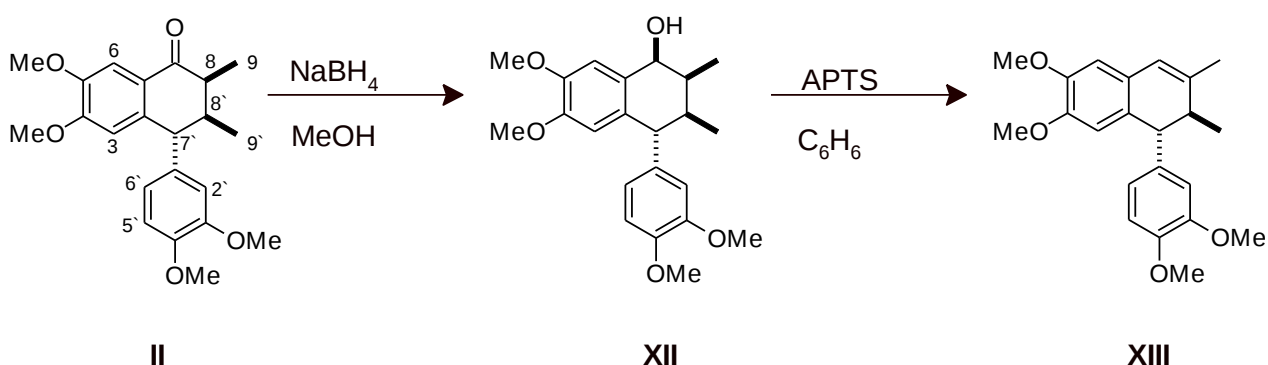
Com base na comparação das atividades ópticas de XVI ( $[\alpha]_D^{25} +68,6$ ;  $c$  0,9; MeOH) e do cucumegastigmano I ( $[\alpha]_D^{25} +168,5^\circ$ ;  $c$  0,08; MeOH), cuja configuração absoluta foi determinada usando um método de Mosher modificado <sup>34</sup>, a configuração absoluta XVI, sugerida é, (6*S*,7*E*,9*S*)-6,9-dihidroxi-10-(2'-hidroxietoxi)-4,7-megastigmadien-3-ona (denominado holostimegastigmadienona).

**Tabela 15.** Dados de RMN de XVI e do cucumegastigmano I <sup>34</sup> (11,7 T,  $J$  em Hz, DMSO- $d_6$ ).

| H/C | XVI                           |                                                                             | cucumegastigmano I                                       |
|-----|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
|     | <sup>1</sup> H ( $\delta$ )   | <sup>13</sup> C ( $\delta$ ) <i>g</i> HMBC                                  | <sup>1</sup> H ( $\delta$ ) <sup>13</sup> C ( $\delta$ ) |
| 1   |                               | CH <sub>3</sub> -11, CH <sub>3</sub> -12                                    |                                                          |
| 2   | 2,05 ( <i>d</i> , 16,0)       | CH <sub>3</sub> -11, CH <sub>3</sub> -12                                    | 2,16 ( <i>d</i> , $J$ 16,8 Hz)                           |
| 2   | 2,39 ( <i>d</i> , 16,0)       |                                                                             | 2,51 ( <i>d</i> , $J$ 16,8 Hz)                           |
| 3   |                               |                                                                             |                                                          |
| 4   | 5,77 ( <i>q</i> , 2,5)        | CH <sub>3</sub> -13                                                         | 5,87 ( <i>s</i> )                                        |
| 5   |                               | CH <sub>3</sub> -13                                                         |                                                          |
| 6   |                               | CH <sub>3</sub> -11, CH <sub>3</sub> -12, CH <sub>3</sub> -13, H-4, H-7, OH |                                                          |
| 7   | 5,75 ( <i>d</i> , 17,0)       |                                                                             | 5,89 ( <i>dd</i> , 15,6, 1,0 Hz)                         |
| 8   | 5,69 ( <i>dd</i> , 17,0, 5,0) |                                                                             | 5,79 ( <i>dd</i> , 15,6, 5,6 Hz)                         |
| 9   | 4,00 ( <i>m</i> )             | H-7                                                                         | 4,19 ( <i>m</i> )                                        |
| 10  | 3,30-3,40 ( <i>m</i> )        | H-1'                                                                        | 3,50 ( <i>dd</i> , 11,1, 5,0 Hz)                         |
|     |                               |                                                                             | 3,46 ( <i>dd</i> , 11,1, 6,7 Hz)                         |
| 11  | 0,93 ( <i>s</i> )             | CH <sub>3</sub> -12                                                         | 1,04 ( <i>s</i> )                                        |
| 12  | 0,91 ( <i>s</i> )             | CH <sub>3</sub> -11                                                         | 1,02 ( <i>s</i> )                                        |
| 13  | 1,82 ( <i>d</i> , 2,5)        | H-4                                                                         | 1,92 ( <i>d</i> , 1,2 Hz)                                |
| 1'  | 3,30-3,40 ( <i>m</i> )        |                                                                             |                                                          |
| 2'  | 3,30-3,40 ( <i>m</i> )        | H-1'                                                                        |                                                          |

## 5 IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS TRANSFORMADAS

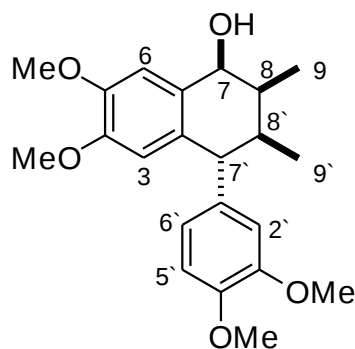
Visando a obtenção de análogos de lignanas ariltetralônicas em quantidade suficiente (1,5 g) para futuras realizações de bioensaios, as substâncias **XII** e **XIII**, as quais já foram obtidas por Silva <sup>10</sup>, foram obtidas novamente via reações de transformações químicas pelo método descrito por Kuo <sup>28</sup>, tendo como reagente de partida a substância **II** isolada do extrato acetônico de raiz de *H. reniformis* (figura 28).



**Figura 28.** Esquema das reações de obtenção das lignanas **XII** e **XIII**.

### 5.1 (7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*)-3',4',4,5-tetrametoxi-2,7'-ciclolignan-7-ol (**XII**) e (7'*R*,8'*S*)-3',4',4,5-tetrametoxi-2,7'-ciclolignan-7-eno (**XIII**)

A substância **XII** foi obtida como um sólido amorfo. A principal diferença entre os dados de RMN de  $^1\text{H}$  de **XII** (tabela 16, figura 105) com os da substância **II** (reagente de partida) é observada pelo  $\Delta\delta$  do hidrogênio aromático mais desprotegido que absorvia em  $\delta$  7,51 (s, H-6) em **II**, para  $\delta$  7,08 (s, H-6) em **XII**, devido à ausência do grupo carbonílico. Destaca-se também a presença de um sinal em  $\delta$  4,93 (*dl*, H-7) atribuído ao hidrogênio carbinólico-benzílico, sinal este inexistente no espectro da substância **II**. A configuração relativa de **XII**, foi estabelecida pela análise comparativa entre os valores de  $\delta$  e multiplicidades observados no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  com os descritos na literatura <sup>8</sup> para (-)-holostilol.



**XII**

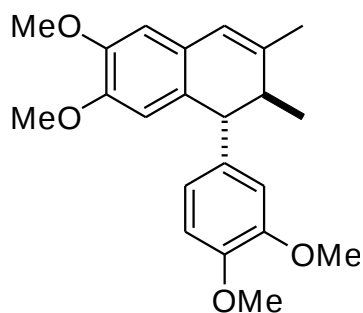
**Tabela 16.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  de **XII** (11,7 T,  $J$  em Hz,  $\text{CDCl}_3$ ).

| Posição | $\delta$ $^1\text{H}$     | Posição               | $\delta$ $^1\text{H}$      |
|---------|---------------------------|-----------------------|----------------------------|
| 3       | 6,16 (s)                  | 7'                    | 3,48 (d, 10,0)             |
| 6       | 7,08 (s)                  | 8'                    | 2,01 (ddq, 10,0, 3,0, 7,0) |
| 7       | 4,93 (dl, 4,5)            | 9'                    | 0,84 (d, 7,0)              |
| 8       | 2,16 (ddq, 4,5, 3,0, 7,0) | -OCH <sub>3</sub> -3' | 3,74 (s)                   |
| 9       | 0,86 (d, 7,0)             | -OCH <sub>3</sub> -4' | 3,81 (s)                   |
| 2'      | 6,48 (d, 2,0)             | -OCH <sub>3</sub> -4  | 3,54 (s)                   |
| 5'      | 6,72 (d, 8,0)             | -OCH <sub>3</sub> -5  | 3,84 (s)                   |
| 6'      | 6,58 (dd, 8,0, 2,0)       | - OH                  |                            |

A substância **XIII** foi obtida como um sólido amorfo de coloração marrom.

A principal diferença entre **XIII** e **XII**, é evidenciada no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 17, figura 106) que apresenta sinais de hidrogênio olefínico em  $\delta$  6,08 e de hidrogênios metílicos vicinais a um carbono  $sp^2$  em  $\delta_{\text{H}}$  1,74. Observa-se também a ausência do sinal de hidrogênio metínico (H-8), que para a substância **XII** atribuía-se deslocamento em  $\delta$  2,16.

Análise comparativa entre os valores de RMN de  $^1\text{H}$ , com os descritos na literatura permitiu identificar **XIII** como ciclogalgravina, sendo sua configuração relativa estabelecida pela magnitude das constantes de acoplamento observadas entre os hidrogênios H-7' e H-8' ( $J = 3,3$  Hz), evidenciando uma relação *trans*-diequatorial para estes hidrogênios.



**XIII**

**Tabela 17.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  de **XIII** (11,7 T,  $J$  em Hz,  $\text{CDCl}_3$ ).

| Posição | $\delta$ $^1\text{H}$ | Posição               | $\delta$ $^1\text{H}$ |
|---------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 3       | 6,49 (s)              | 7'                    | 3,60 (d, 3,3)         |
| 6       | 6,56 (s)              | 8'                    | 2,34 (dq, 3,3, 7,2)   |
| 7       | 6,08 (br s)           | 9'                    | 1,02 (d, 7,2)         |
| 9       | 1,74 (d, 1,2)         | -OCH <sub>3</sub> -3' | 3,72 (s)              |
| 2'      | 6,60 (d, 2,1)         | -OCH <sub>3</sub> -4' | 3,72 (s)              |
| 5'      | 6,66 (d, 8,1)         | -OCH <sub>3</sub> -4  | 3,76 (s)              |
| 6'      | 6,50 (dd, 8,1, 2,1)   | -OCH <sub>3</sub> -5  | 3,82 (s)              |

#### 5.1.1 Determinação das configurações absolutas de **XII** e **XIII**.

As configurações absolutas de **XII** e **XIII** foram determinadas pela comparação das atividades ópticas  $\{[\alpha]_D^{25} -27,3$  (c 1,02;  $\text{CHCl}_3$ ) e  $\{[\alpha]_D^{25} -103,1$  (c 1,00;  $\text{CHCl}_3$ ), respectivamente] medidas, com aquelas de amostras autênticas e dados descritos na literatura  $\{[\alpha]_D^{25} -20$  (c 1,02;  $\text{CHCl}_3$ ) e  $[\alpha]_D^{25} -105,9$  (c 1,00;  $\text{CHCl}_3$ )<sup>8</sup>. Os conjuntos de todos os dados obtidos permitiram identificar as substâncias **XII** e **XIII** como sendo (7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*)-3',4',4,5-tetrametoxi-2,7'-ciclolignan-7-ol e (7'*R*,8'*S*)-3',4',4,5-tetrametoxi-2,7'-ciclolignan-7-eno, ou (–)-ciclogalgravina, respectivamente. A configuração absoluta de **XII** permite estabelecer que o ataque do hidreto à carbonila na reação de redução de **II** ocorreu na face  $\alpha$ , gerando um único produto (**XII**) com um grupo hidroxílico em  $\beta$ . Isto é decorrente da substância **II** assumir a conformação meia-cadeira como descrito na literatura<sup>8</sup>, sendo que os grupos metoxílicos assumem fatores estéricos tornando o ataque do hidreto à carbonila seletivo.

## 6 CONCLUSÃO

Em estudos anteriores houve o isolamento de 41 substâncias de diferentes classes químicas de *H. reniformis*, sendo a maior parte de lignanas ariltetralônicas. O presente trabalho relata o isolamento da mesma espécie de quatorze substâncias de diferentes classes químicas, das quais cinco substâncias ainda não haviam sido isoladas anteriormente. Entre estas, a substância (7*R*,8*R*,7'*S*,8'*S*)-3,4-metilenodioxo-3',4'-dimetoxi-7,7'-epoxilignana (**IX**) e as substâncias (7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*)-8,8'-dimetil-4-hidroxi-3',4',5,7-tetrametoxi-2,7'-ciclolignana (**VIII**), 7-*epi*-11-hidroxichabrolidiona A (**XIV**), holostilactona (**XV**) e (6*S*,7*E*,9*S*)-6,9-dihidroxi-10-(2'-hidroxietoxi)-4,7-megastigmadien-3-ona (**XVI**) que ainda não foram relatadas na literatura. Destaca-se que os sesquiterpenos holostilactona e 7-*epi*-11-hidroxichabrolidiona A apresentam estruturas inéditas.

A substância (7'*R*,8'*S*)-3',4',4,5-tetrametoxi-2,7'-ciclolignan-7-eno (**XIII**) foi obtida (1,5 g) via transformações químicas a partir da substância **II** (isolada da planta), e encaminhada a laboratórios especializados para a realização de bioensaios *in vivo* (mutagenicidade, toxicidade e antimalálico).

Apesar de estudos sequenciais (fitoquímicos, biossintéticos e de avaliações de atividades inseticidas, antiplasmódicas e antimaláricas) realizados com *H. reniformis*, a composição química desta espécie, rica em metabolitos secundários, indica que há muito a ser conhecido sobre o metabolismo e a aplicação dos mesmos.

## 7 DADOS FÍSICOS E ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS INÉDITAS

### 7.1 (7*R*,7'*R*,8*S*,8'*S*)-8,8'-Dimetil-4-hidroxi-3',4',5,7-tetrametoxi-2,7'-ciclolignana (VIII)

Líquido viscoso; EM-ESI (probe), 4,5 eV, modo negativo,  $m/z$  (int. rel.):  $m/z$  371,1445  $[M-H]^-$  (100) (calculado para  $C_{22}H_{27}O_5$ , 371,1449); IV  $\nu_{\max}^{KBr}$   $cm^{-1}$ : 3446, 1590, 1520 e 1430  $cm^{-1}$ ; UV  $\lambda_{\max}^{MeOH}$ : 200, 240, e 280 nm;  $[\alpha]_D^{25}$  -26,0 ( $c$  0,6,  $CHCl_3$ ); dados de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ ) ver tabela 9.

#### 7.1.1 *rel*-(2*S*,3*S*,6*R*)-6-(2-Hidroxipropan-2-il)-3-metil-2-(3-oxobutil)cicloheptanona (7-*epi* 11-hidroxichabrolidiona A, XIV)

Óleo Incolor; EM-ESI (probe), 4,5 eV, modo positivo,  $m/z$  (rel. int.): 277,1774  $[M+Na]^+$  (94) (calculado para  $C_{15}H_{26}O_3+Na$  = 277,1774), 237,18  $[M+H-H_2O]^+$  (100); IV  $\nu_{\max}^{KBr}$   $cm^{-1}$ : 3440, 2972, 2925, 2875, 1707, 1376.  $[\alpha]_D^{25}$  +50,7 ( $c$  0,9,  $CHCl_3$ ); dados de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ ) ver tabela 13.

### 7.2 *rel*-(5*S*,8*R*)-5,9,9-Trimetil-8-(3-oxobutil)oxonana-2,6-diona (holostilactona, XV)

Óleo incolor; EM-ESI (probe) 4,5 eV, modo positivo,  $m/z$  (rel. int.): 291,1567  $[M+Na]^+$  (calculado para  $C_{15}H_{24}O_4+Na$  = 291,1567) (100) , 269,1745  $[M+H]^+$  (calculado para  $C_{15}H_{25}O_4$  269,1747) (60);  $[\alpha]_D^{25}$  -20,0 ( $c$  1,0,  $CHCl_3$ ); IV  $\nu_{\max}^{KBr}$   $cm^{-1}$ : 2912, 2862, 1732, 1707, 1389, 1100; dados de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ ) ver tabela 14.

### 7.3 (6*S*,7*E*,9*S*)-6,9-Dihidroxi-10-(2'-hidroxietoxi)-4,7-megastigmadien-3-ona (XVI)

Óleo amarelo; EM-ESI (probe) 20 eV, modo positivo,  $m/z$  (rel. int.): 307 (38), 277 (87), 275 (100), 237 (43), 205 (47), 130 (24);  $[\alpha]_D^{25}$  +68,6 ( $c$  0,9, MeOH); IV  $\nu_{\max}^{KBr}$   $cm^{-1}$ : 3452, 1666, 1643, 1384; dados de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ ) ver tabela 15.

Todas as outras substâncias apresentaram dados espectrométricos e dados físicos, identificados com aqueles descritos na literatura.

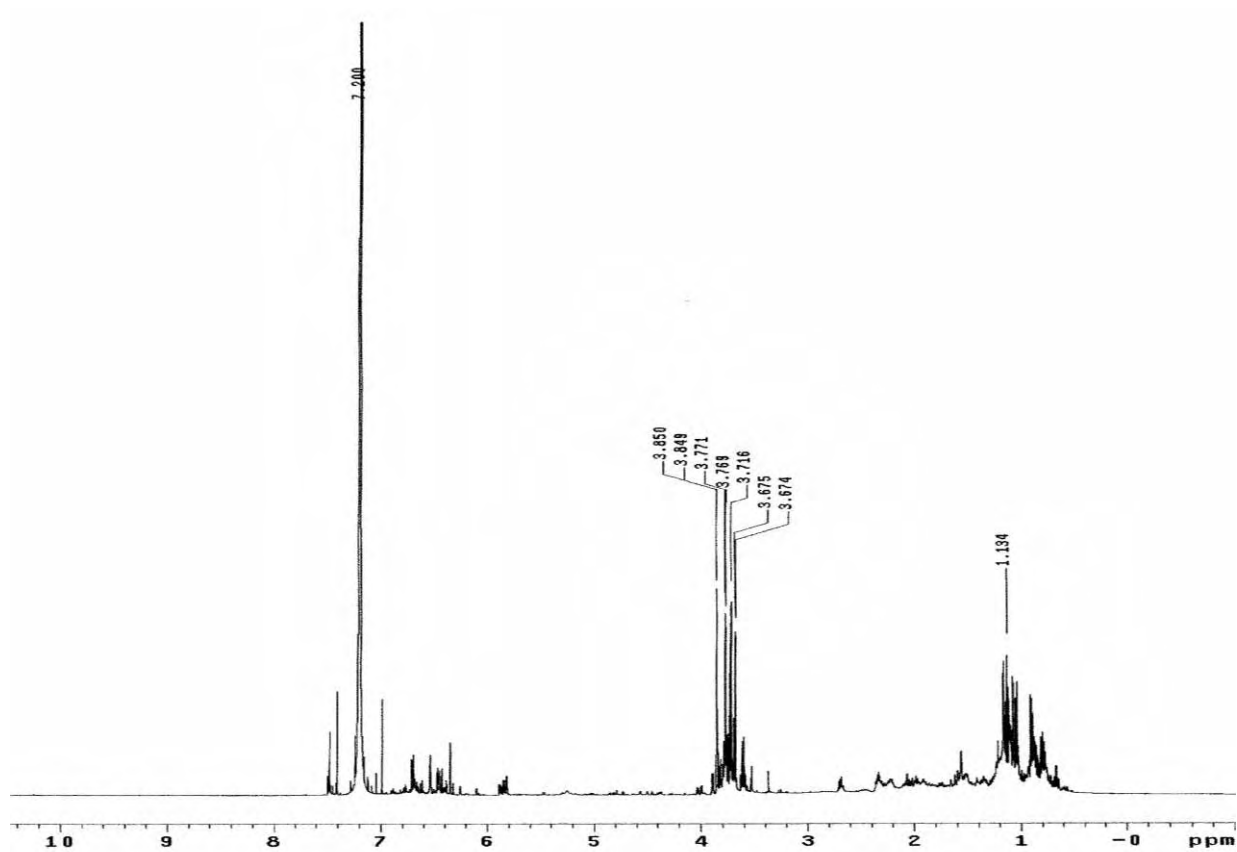
## REFERÊNCIAS

- 1 KELLY, L. M.; GONZÁLEZ, F. Phylogenetic relationships in Aristolochiaceae. **Systematic Botany**, v. 28, n. 2, p. 236-249, 2003.
- 2 CAPELLARI JÚNIOR, L. Aristolochiaceae. In: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPERD, G. J.; GIULIETTI, A. M. **Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: FAPESP, 2002. v. 2, p. 39-49.
- 3 HOENE, F. C. Aristolochiaceae. In: \_\_\_\_\_. **Flora brasílica**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1942, v. 15. 2, fasc. 6.
- 4 GONZÁLEZ, F. Un nuevo nombre para *Holostylis reniformis* Duchartre (Aristolochiaceae). **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias**, v. 23, n. 88, p. 337-339, 1999.
- 5 GONZÁLEZ, F. Hacia una filogenia de *Aristolochia* y sus congeneres neotropicales. **Caldasia**, v. 19, n. 1/2, p. 115-130, 1997.
- 6 LOPES, L. M. X.; NASCIMENTO, I. R.; SILVA, T. Phytochemistry of the Aristolochiaceae family. **Research Advances in Phytochemistry**, v. 2, p. 19-108, 2001.
- 7 ANDRADE NETO, V. F.; SILVA, T.; LOPES, L. M. X.; ROSÁRIO, V. E.; VAROTTI, F. P.; KRETTLI, A. U. Antiplasmodial activity of aryltetralone lignans from *Holostylis reniformis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 7, p. 2346-2350, 2007.
- 8 SILVA, T.; LOPES, L. M. X. Aryltetralol and aryltetralone lignans from *Holostylis reniformis*. **Phytochemistry**, v. 67, p. 929-937, 2006.
- 9 WARD, R. S. Lignans, neolignans and related compounds. **Natural Product Reports**, v. 14, n.1, p. 43-74, 1997.
- 10 SILVA, T. **Lignanaril tetralônicas de *Holostylis reniformis* Duch.: isolamento, síntese, biossíntese e avaliação biológica**. 2006. 261 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006. f. 28-119.
- 11 SILVA, T.; LOPES, L. M. X. Aryltetralone lignans and 7,8-seco-lignans from *Holostylis reniformis*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 751-759, 2004.
- 12 NOMENCLATURE of lignans and neolignans. **Pure and Applied Chemistry**, v. 72, n. 8, p. 1493-1523, 2000.
- 13 UMEZAWA, T. Diversity in lignan biosynthesis. **Phytochemistry Reviews**, v. 2, p. 371-390, 2003.

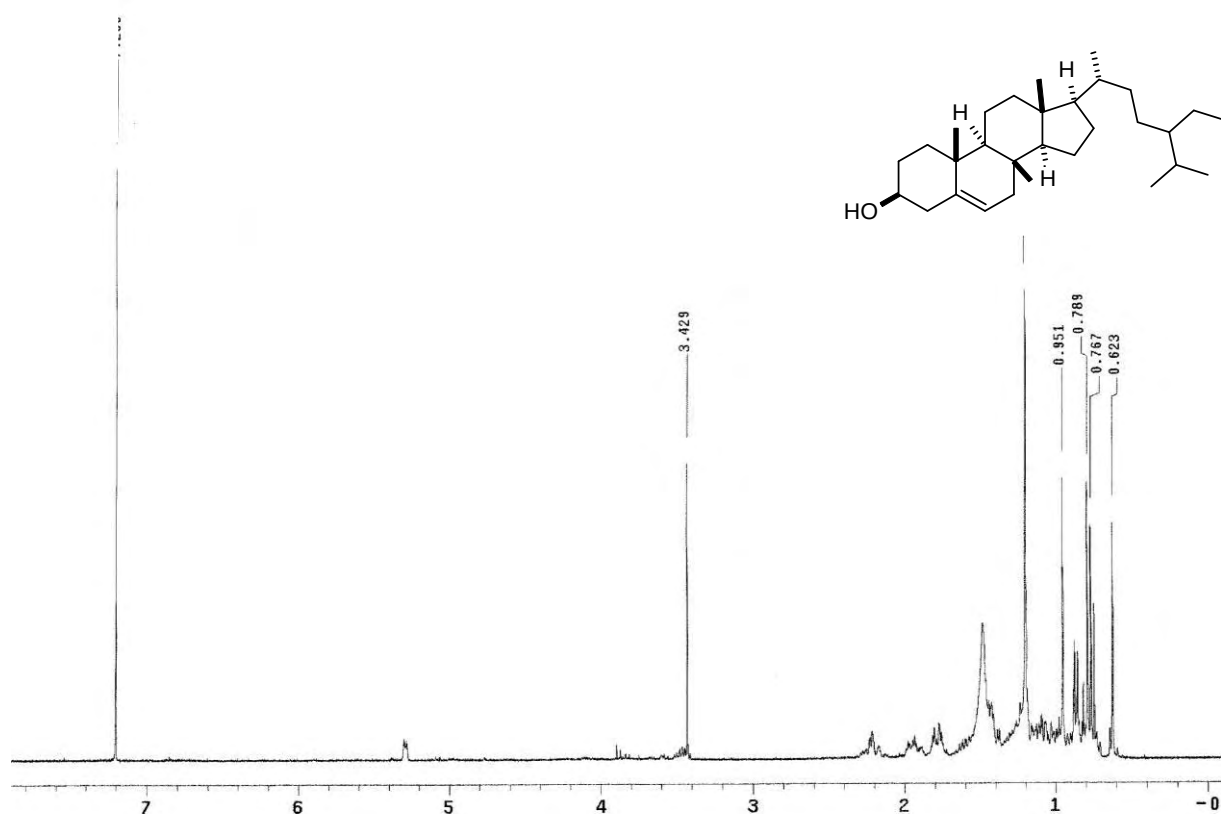
- 14 NES, W. D.; NORTON, R. A.; BENSON, M. Carbon-13 NMR studies on sitosterol biosynthesized from [<sup>13</sup>C] mevalonates. **Phytochemistry**, v. 31, n. 3, p. 805-811, 1992.
- 15 LOPES, M. L. X.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. 1,11-Diarylundecan-1-one and 4-aryltetralone neolignans from *Virola sebifera*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 3, p. 751-755, 1982.
- 16 URZÚA, A.; SHAMMA, M. The 4-aryltetralones of *Aristolochia chilensis*. **Journal of Natural Products**, v. 51, n. 1, p. 117-121, 1988.
- 17 MESSIANO, G. B.; WIJERATNE, E. M. K.; LOPES, L. M. X.; GUNATILAKA, A. A. L. Microbial transformations of aryltetralone and aryltetralin lignans by *Cunninghamella echinulata* and *Beauveria bassiana*. **Journal of Natural Products**, v. 73, p. 1933-1937, 2010.
- 18 URZÚA, A.; FREYER, A. J.; SHAMMA, M. 2,5-Diaryl-3,4-dimethyltetrahydrofuranoid lignans. **Phytochemistry**, v. 26, n. 5, p. 1509-1511, 1987.
- 19 PRASAD, A. K.; TYAGI, O. D.; WENGEL, J.; BOLL, P. M. Lignans and neolignans from stems of *Piper wightii*<sup>1</sup>. **Tetrahedron**, v. 50, n. 35, p. 10579-10586, 1994.
- 20 SHIMOMURA, H.; SASHIDA, Y.; OOHARA, M. Lignans from *Machilus thunbergii*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 2, p. 634-636, 1988.
- 21 KONISHI, T.; KONOSHIMA, T.; DAIKONYA, A.; KITANAKA, S. Neolignans from *Piper futokadsura* and their inhibition of nitric oxide production. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 53, n.1, p.121-124, 2005.
- 22 GONZÁLEZ-COLOMA, A.; ESCOUBAS, P.; MIZUTANI, J.; LAJIDE, L. Insect growth inhibitors from *Machilus japonica*. **Phytochemistry**, v. 35, n. 3, p. 607-610, 1994.
- 23 LIU, J. S.; HUANG, M. F.; GAO, Y. L. The structure of chicanine, a new lignan from *Schisandra sp.* **Canadian Journal of Chemistry**, v. 59, p. 1680-1684, 1981.
- 24 SILVA FILHO, A. A.; COSTA, E. S.; CUNHA, W. R.; SILVA, M. L. A.; NANAYAKKARA, N. P. D.; BASTOS, J. K. *In vitro* antileishmanial and antimalarial activities of tetrahydrofuran lignans isolated from *Nectandra megapotamica* (Lauraceae). **Phytotherapy Research**, v. 22, p.1307-1310, 2008.
- 25 DOSKOTCH, R. W.; FLOM, M. S. Acuminatin, a new *bis*-phenylpropide from *Magnolia acuminata* L. **Tetrahedron**, v. 28, p. 4711-4717, 1972.
- 26 RAO, K. V.; RAO, N. S. P. Chemistry of *Saururus cernuus*, VI: <sup>1</sup>three new neolignans. **Journal of Natural Products**, v. 53 n. 1, p. 212-215, 1990.
- 27 McALPINE, J. B.; RIGGS, N. V.; GORDON, P. G. Absolute stereochemistry of calopiptin. **Australian Journal of Chemistry**, v. 21, p. 2095-2106, 1968.

- 28 KUO, Y. H.; LIN, S. T.; WU, R. E. Three new lignans from the nutmeg of *Myristica cagayanesis*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 37, n. 9, p. 2310-2312, 1989.
- 29 POJE, M.; SOKOLIC´-MARAVIC´, L. The mechanism for the conversion of uric acid into allantoin and dehydro-allantoin. **Tetrahedron**, v. 42, n. 2, p. 747-751, 1986.
- 30 SU, J. H.; CHIANG, M. Y.; WEN, Z. H.; DAI, C. F.; HSU, C. H.; SHEU, J. H. Sesquiterpenoids from the Formosan Soft Coral *Sinularia leptoclados*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 58, n. 2, p. 250-253, 2010.
- 31 SU, J. H.; DAI, C. F.; HUANG, H. H.; WU, Y. C.; SUNG, P. J.; HSU, C. H.; SHEU, J. H. Terpenoid-related metabolites from a Formosan Soft Coral *Nephthea chabrolii*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 55, n. 4, p. 594-597, 2007.
- 32 VAN DER GEN, A.; VAN DER LINDE, L. M.; WITTEVEEN, J. G. Synthesis of guaipyridine and some related sesquiterpene alkaloids. **Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas**, v. 91, p. 1433-1440, 1972.
- 33 CHEMSKETCH WINDOW. **Advanced Chemistry Development**: ACD/C+H NMR predictors and DB. Version 12.01. Toronto, 2010. 1 CD-ROM.
- 34 KAI, H.; BABA, M.; OKUYAMA, T. Two new megastigmanes from the leaves of *Cucumis sativus*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 55, n. 1, p. 133-136, 2007.

## **ANEXOS**



**Figura 29.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do extrato de raiz de *H. reniformis* ( $\text{CDCl}_3$ , 7,1 T).



**Figura 30.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **I** ( $\text{CDCl}_3$ , 7,1 T).

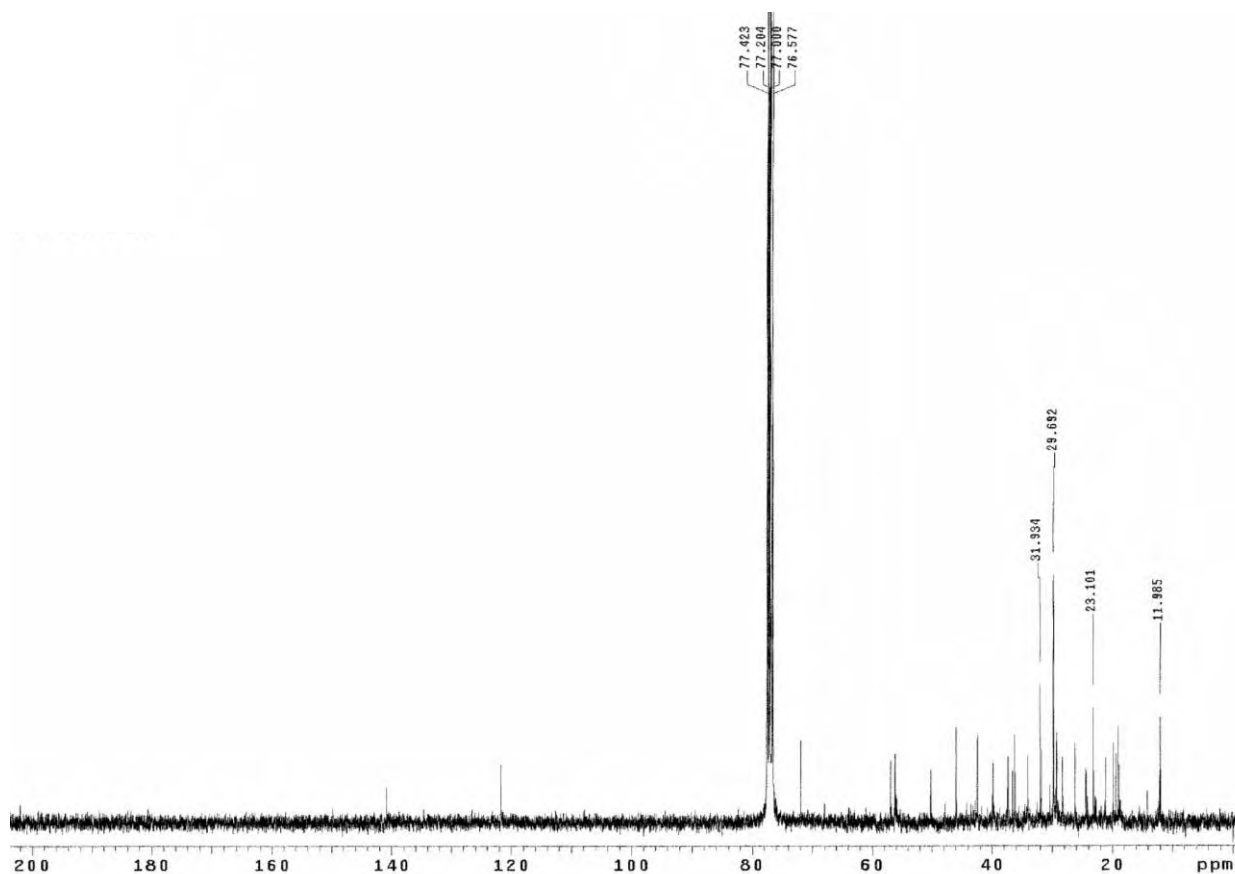


Figura 31. Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de I, (CDCl<sub>3</sub>, 7,1 T).

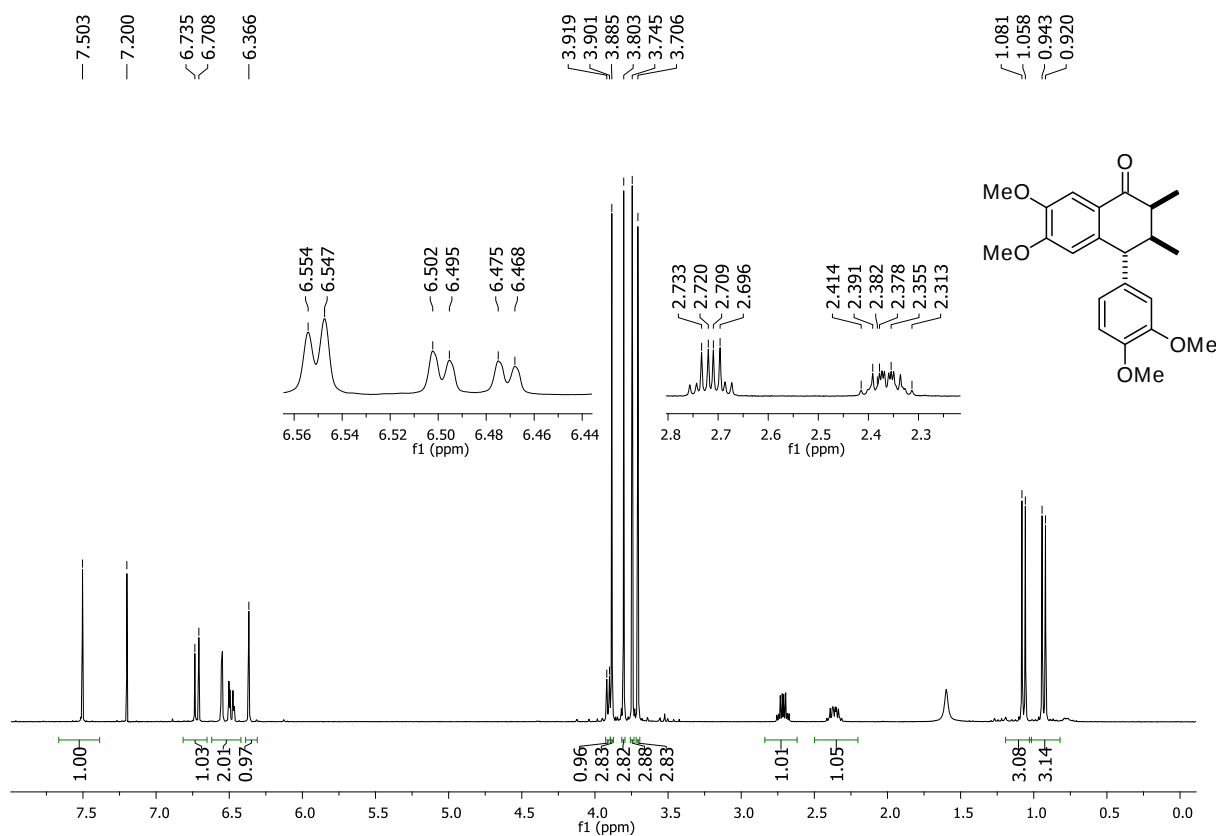
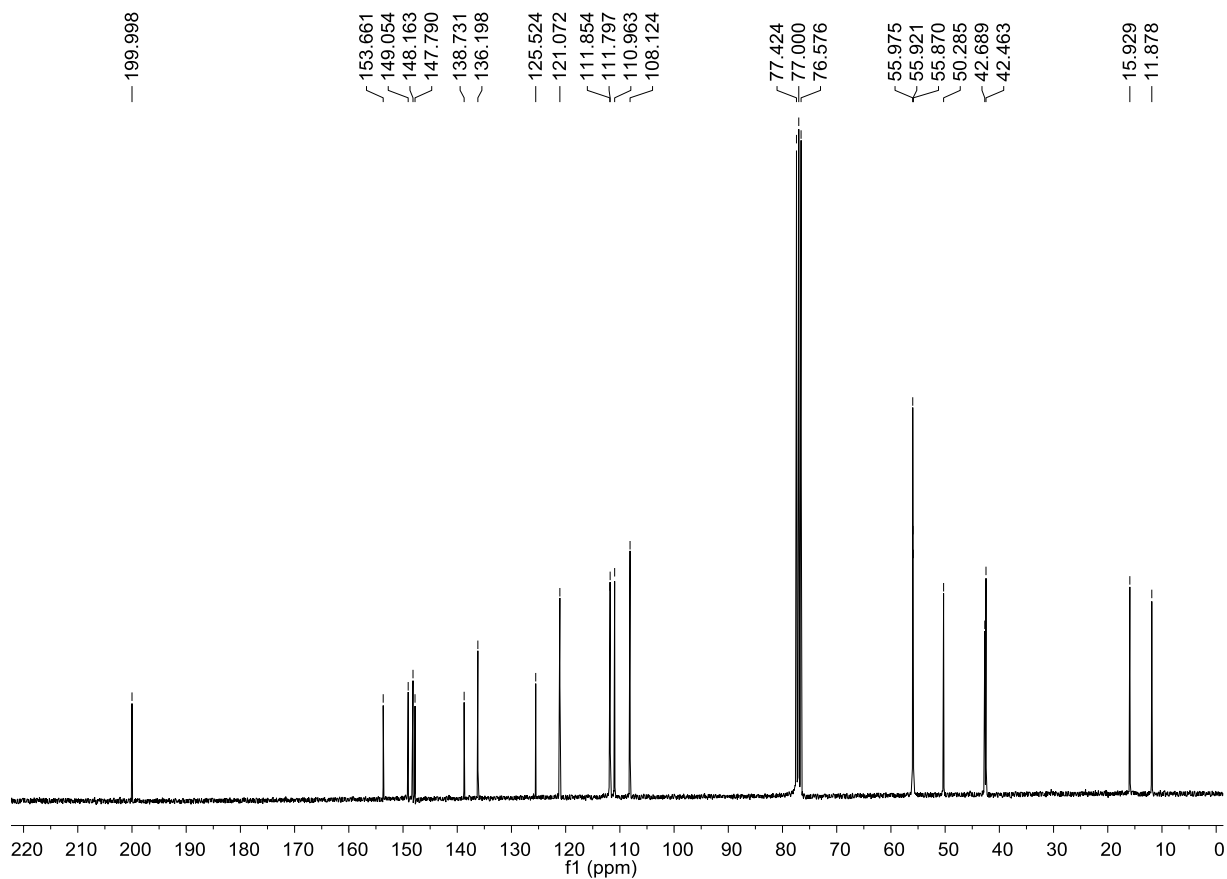
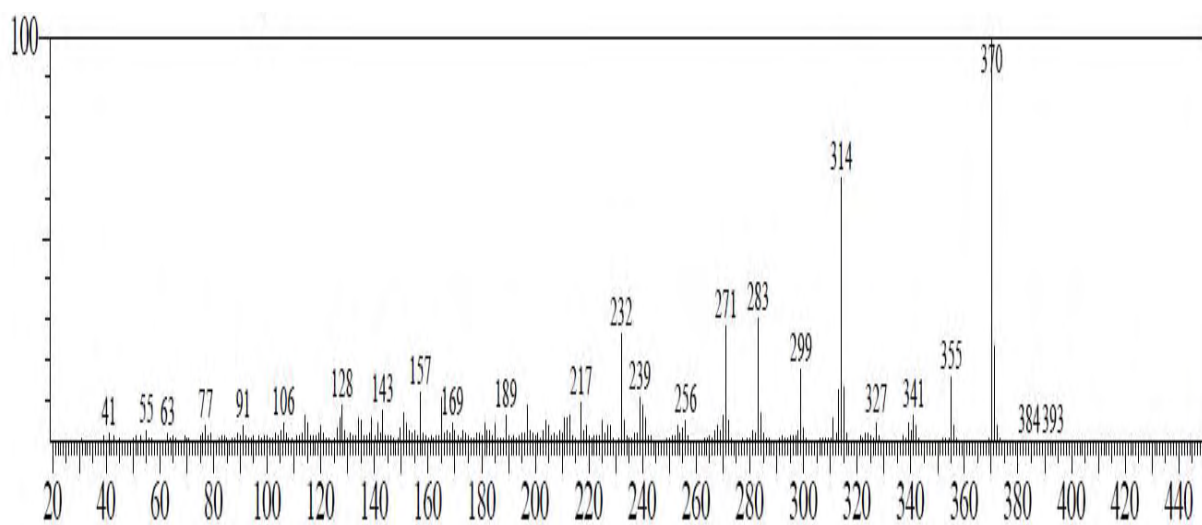


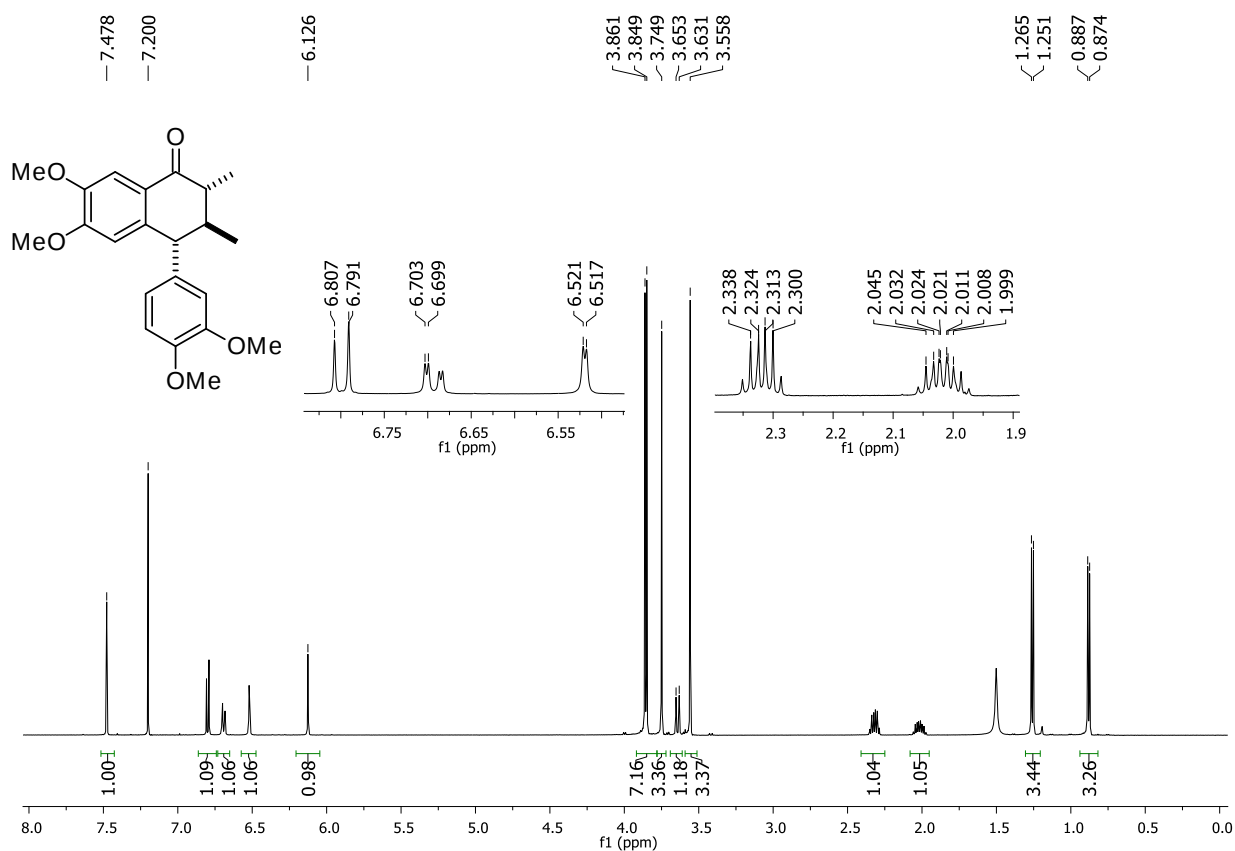
Figura 32. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de II (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



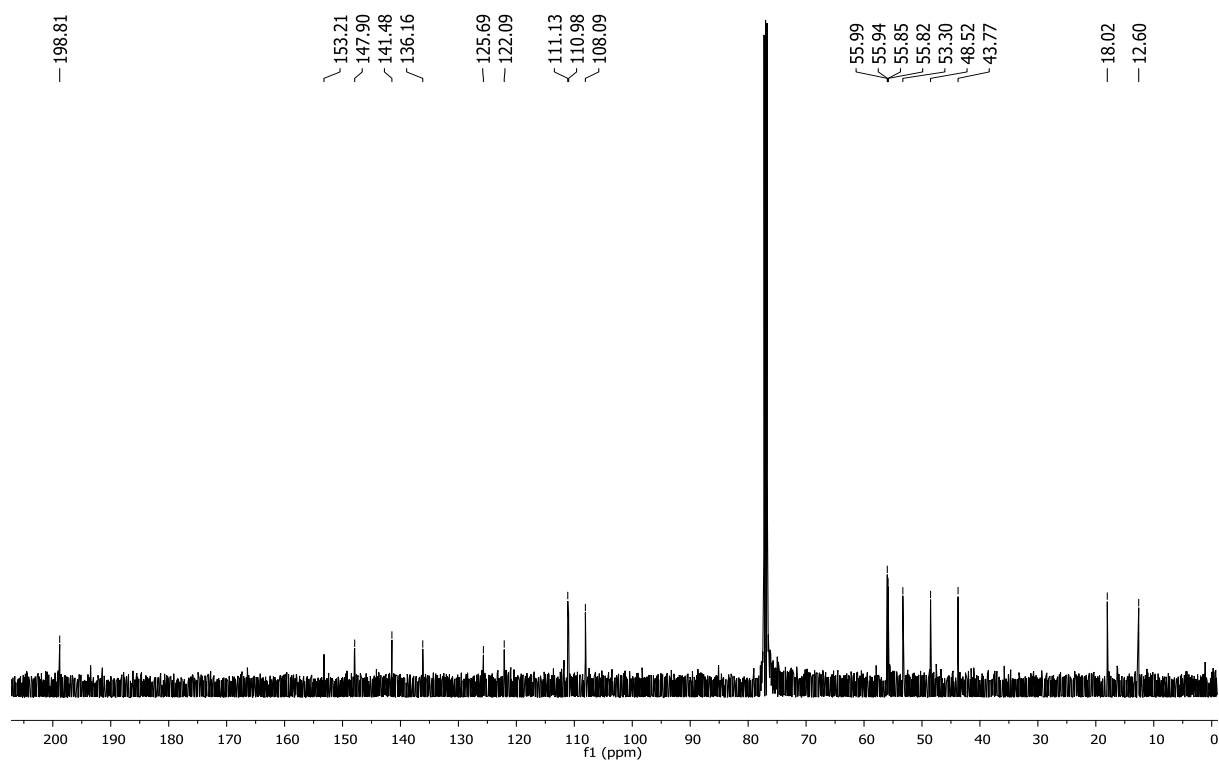
**Figura 33.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **II** ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).



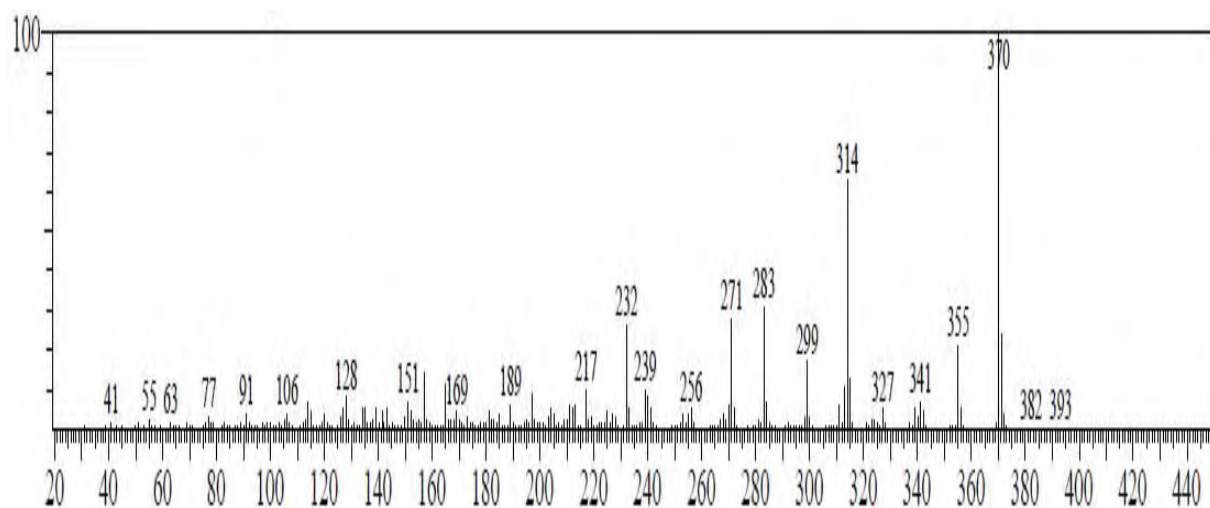
**Figura 34.** Espectro de EM-EI de **II**.



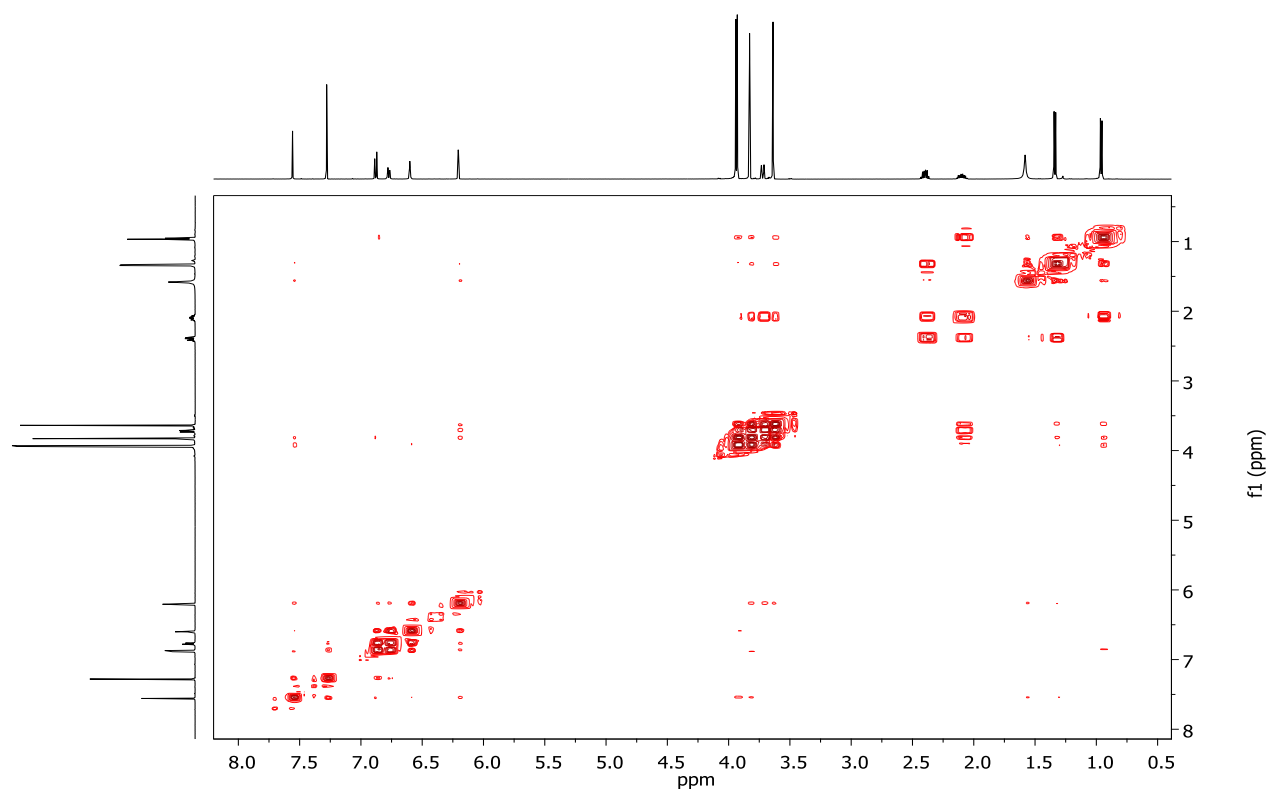
**Figura 35.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de III (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



**Figura 36.** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C III (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



**Figura 37.** Espectro de EM-EI de **III**.



**Figura 38.** Mapa de contornos de gCOSY de **III** ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).

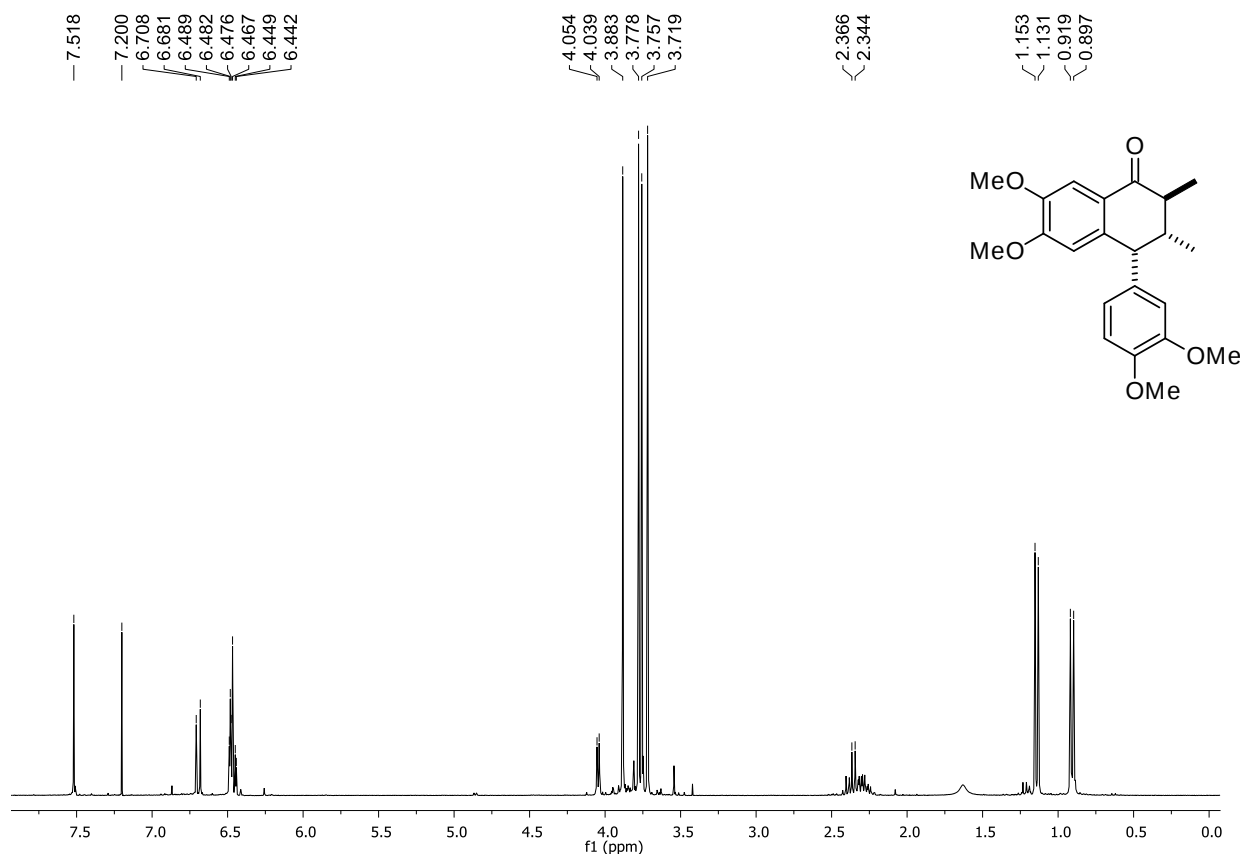


Figura 39. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de IV (CDCl<sub>3</sub>, 11,7).

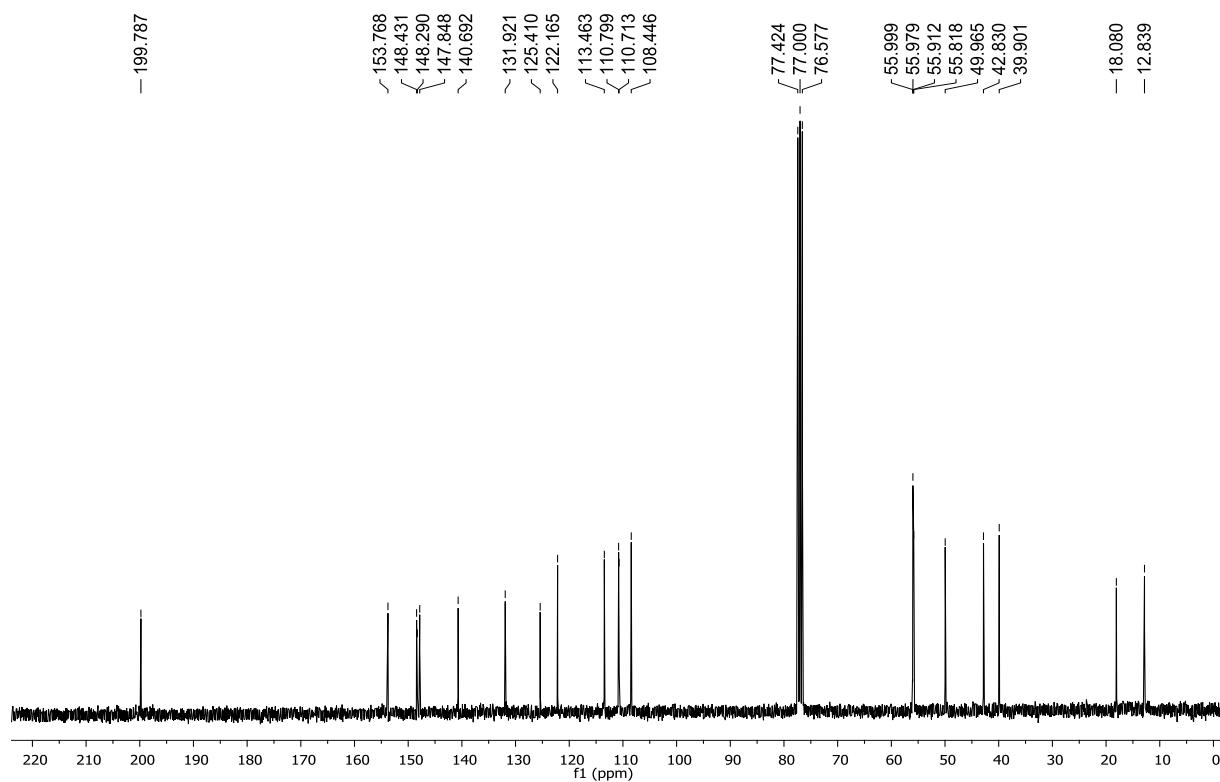
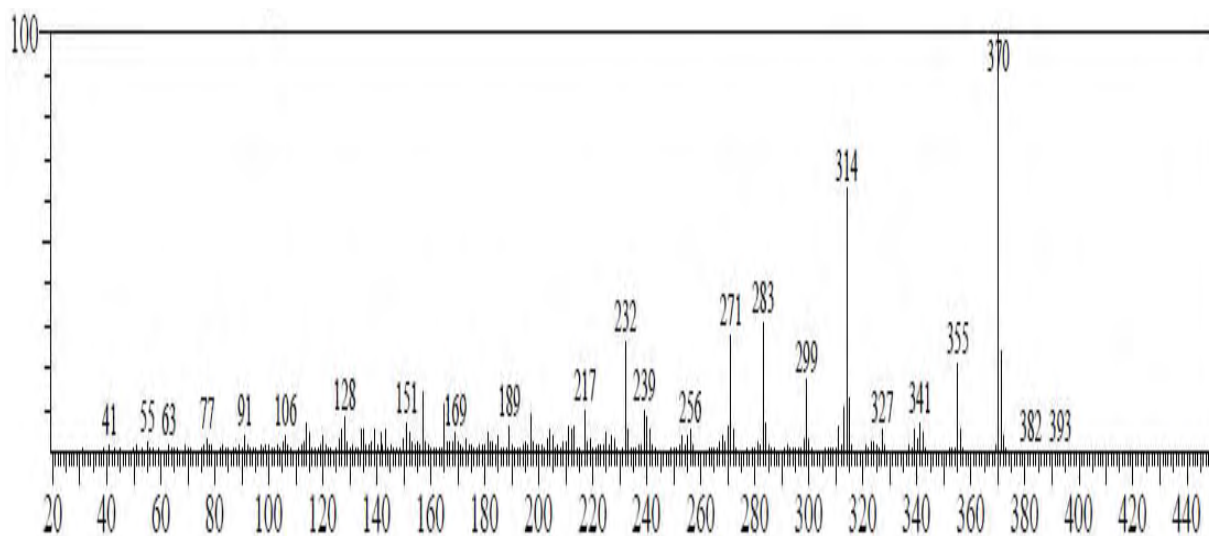
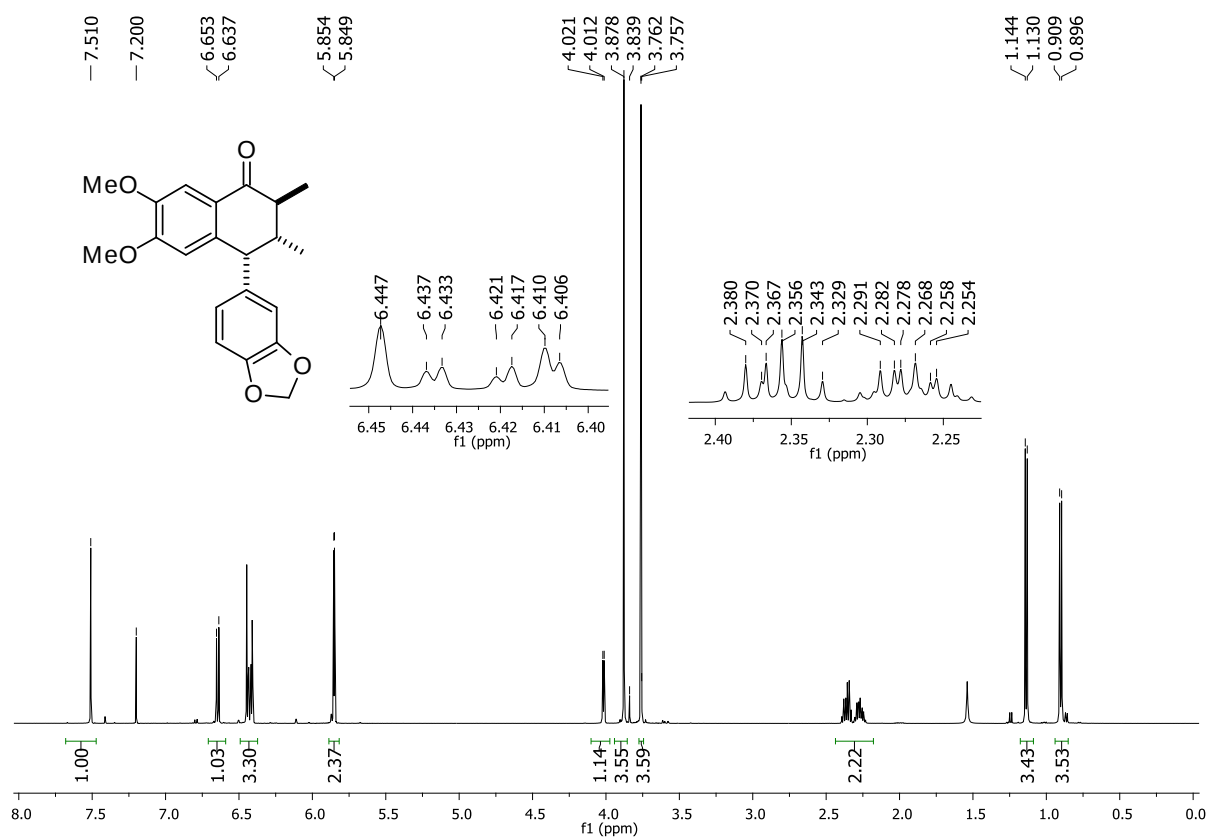


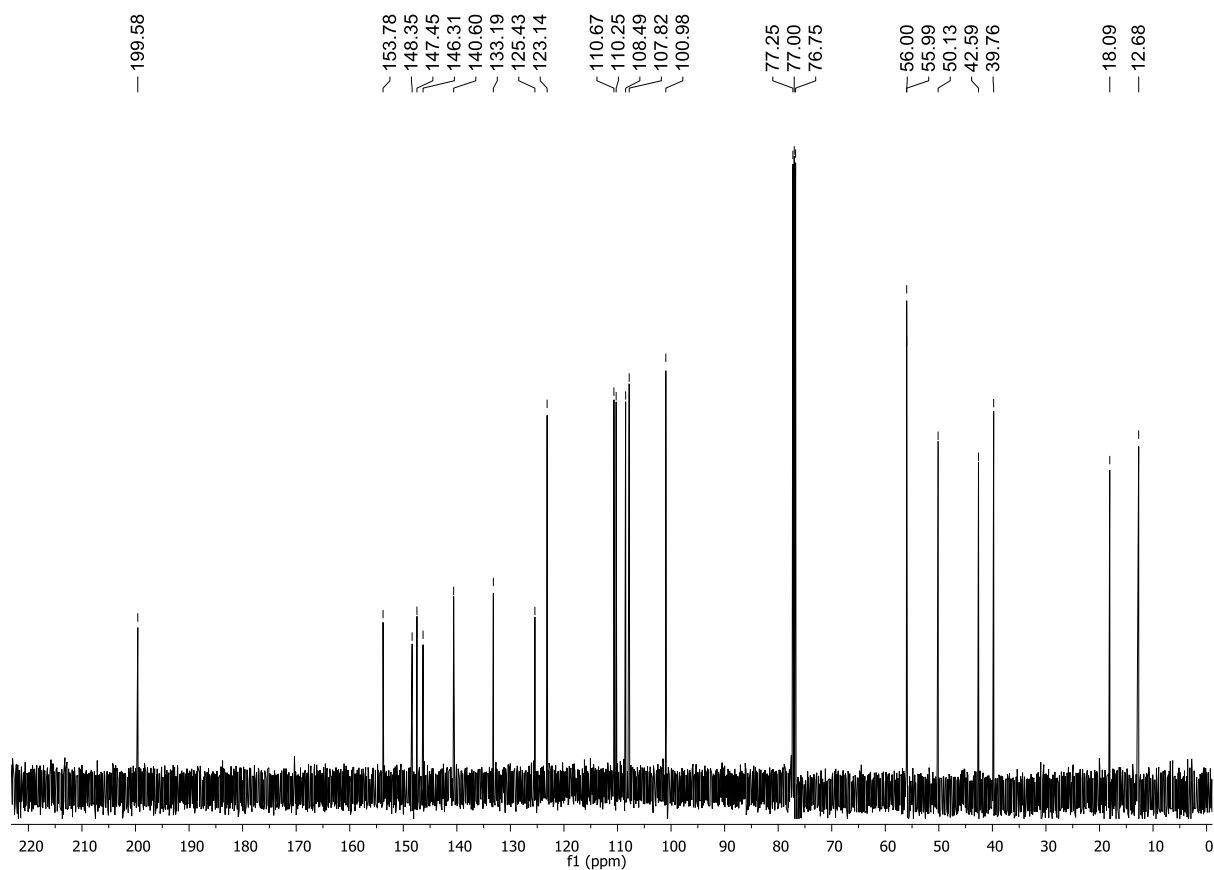
Figura 40. Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de IV (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



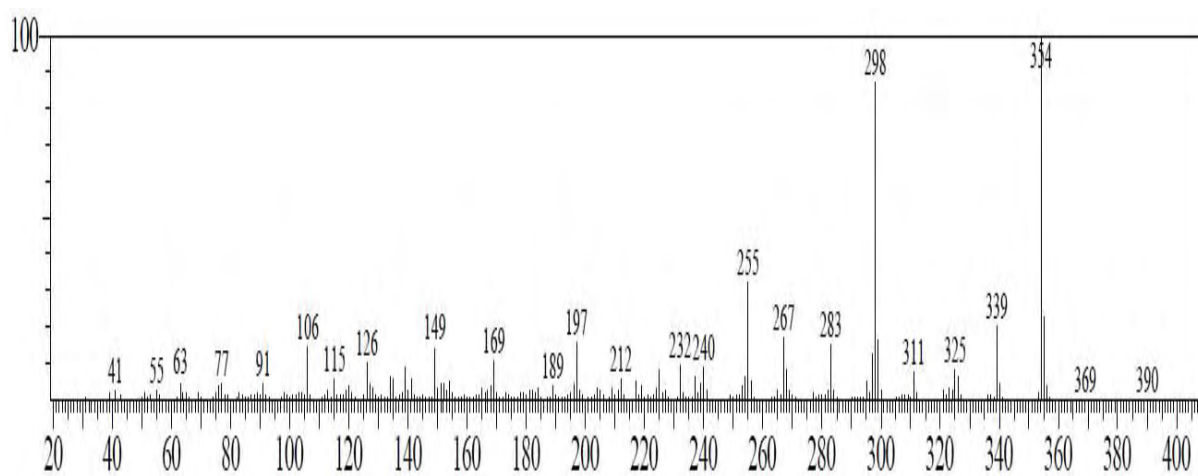
**Figura 41.** Espectro de EM-EI de IV.



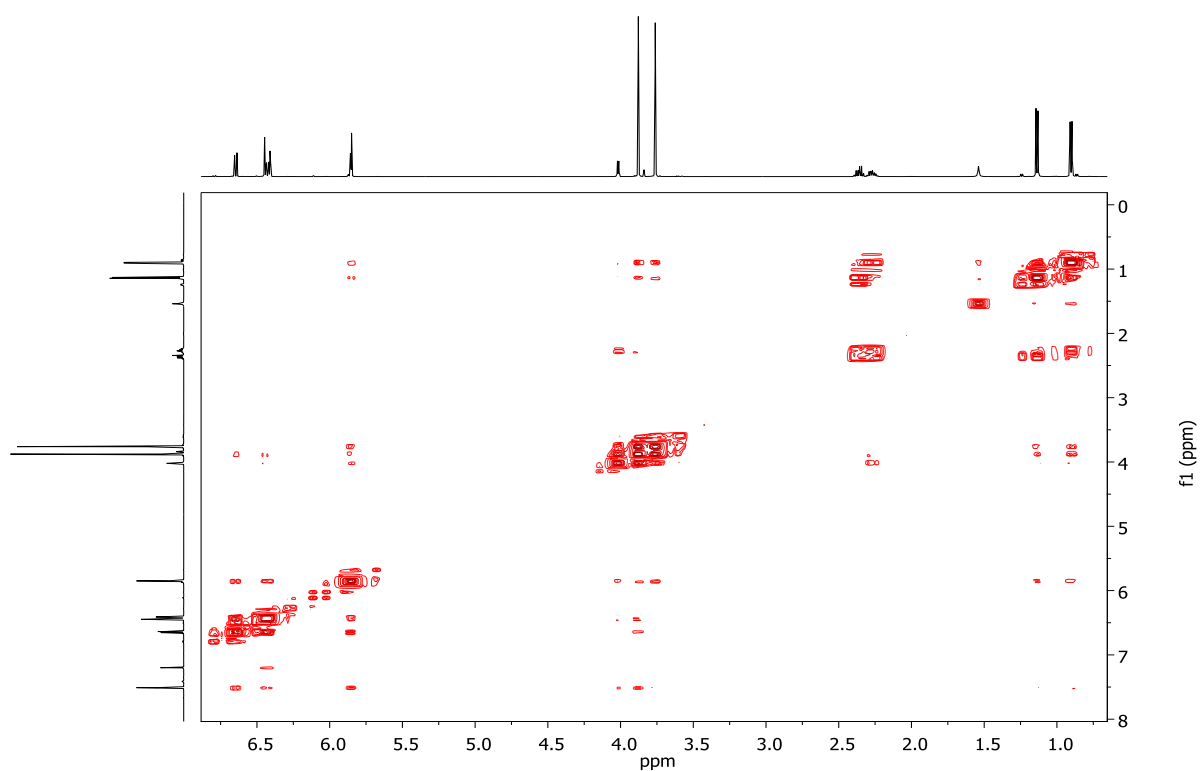
**Figura 42.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de V ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).



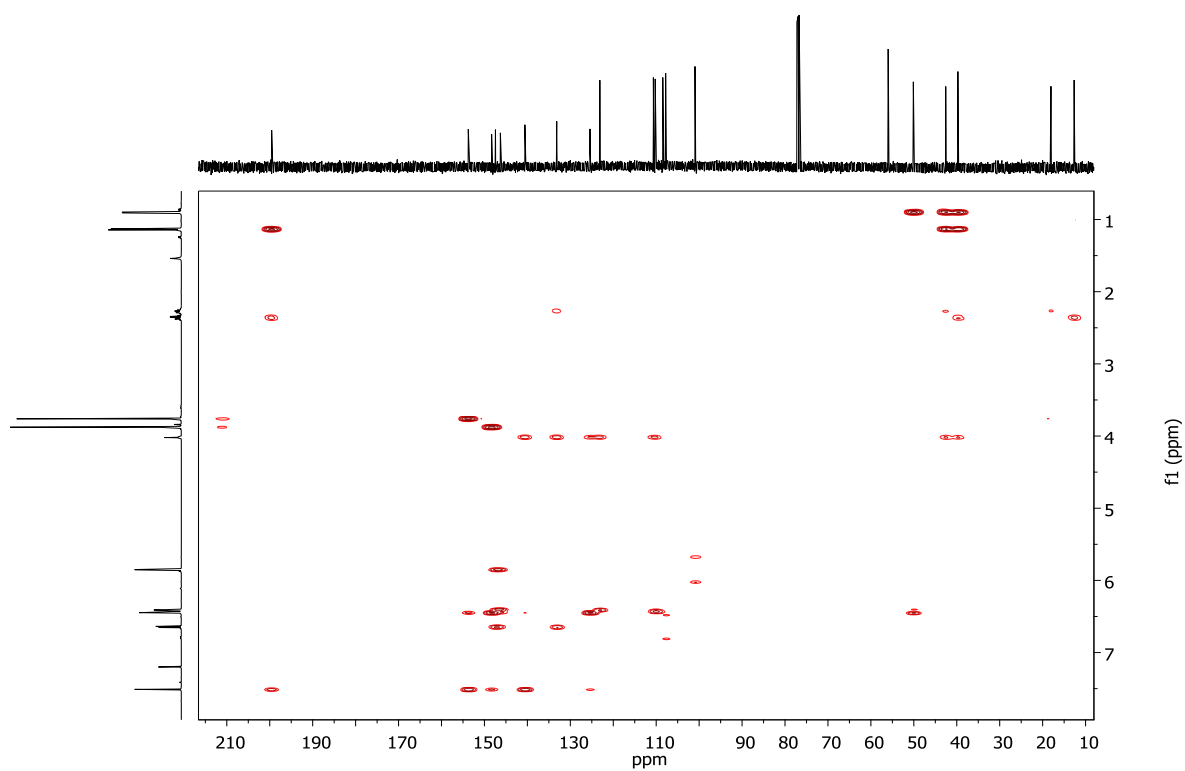
**Figura 43.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **V** ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).



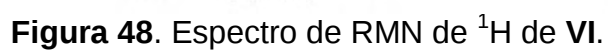
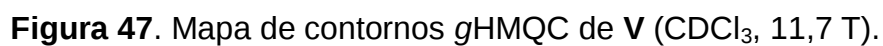
**Figura 44.** Espectro de EM-EI de **V**.

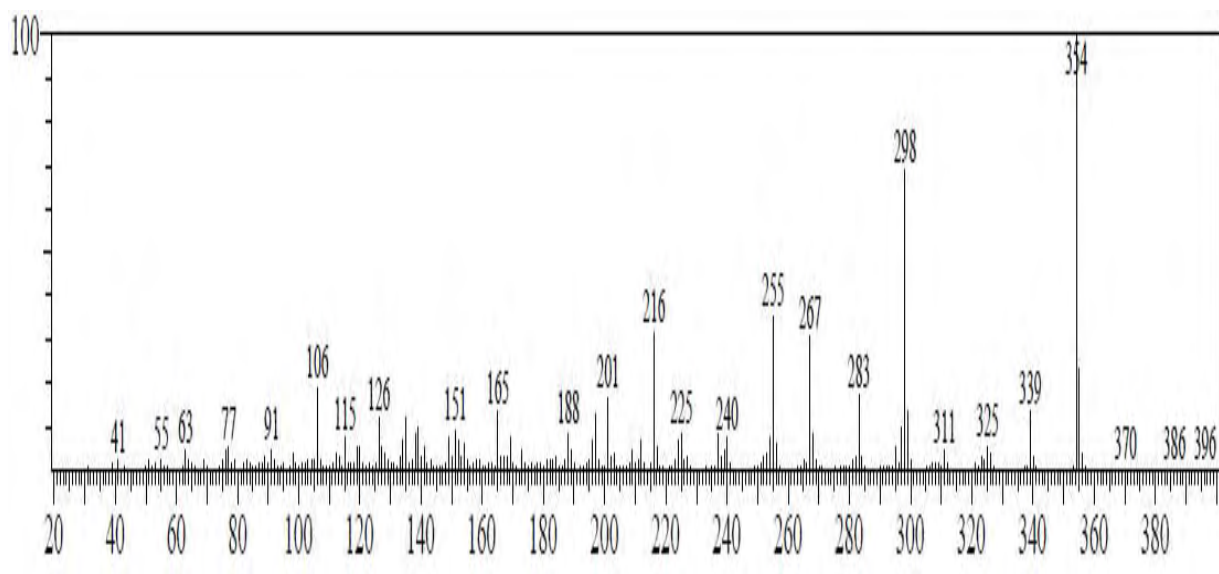


**Figura 45.** Mapa de contornos *g*COSY de **V** (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).

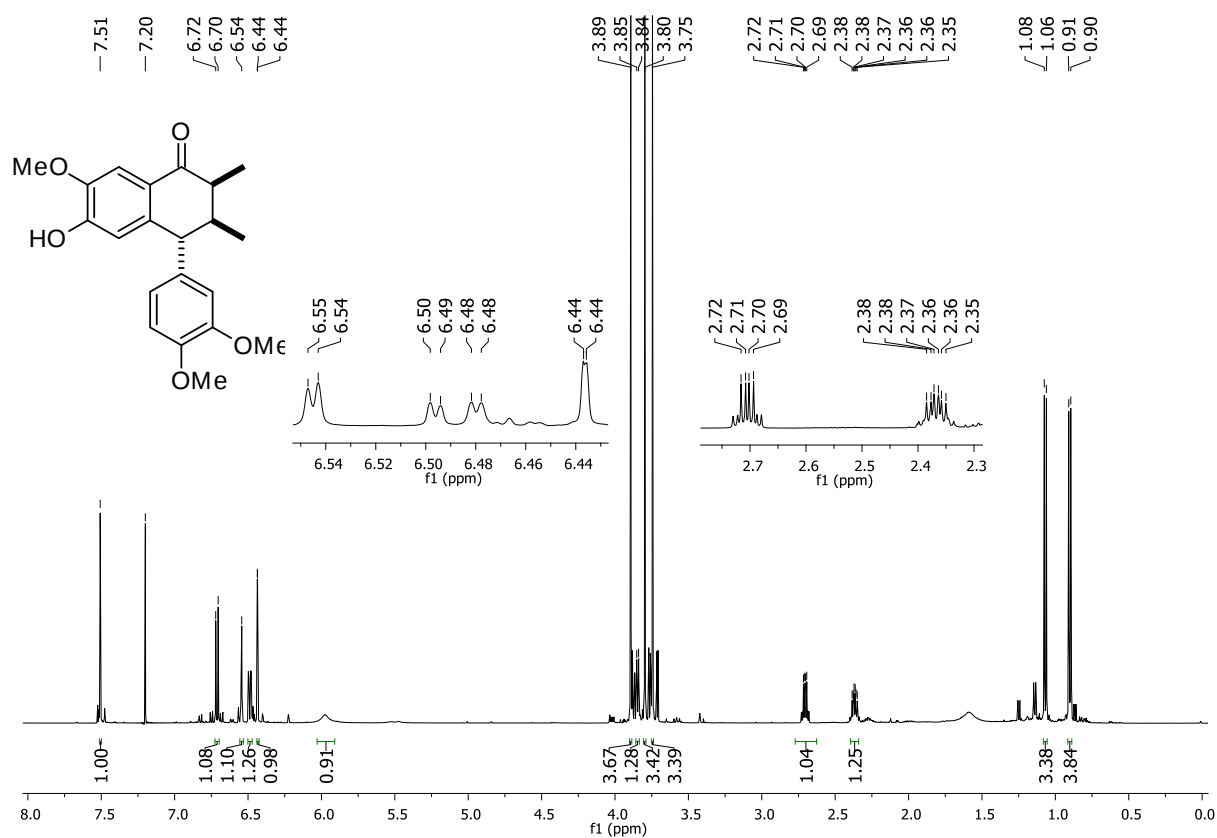


**Figura 46.** Mapa de contornos *g*HMBC de **V** (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).





**Figura 49.** Espectro de EM-EI de VI.



**Figura 50.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de VII ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).

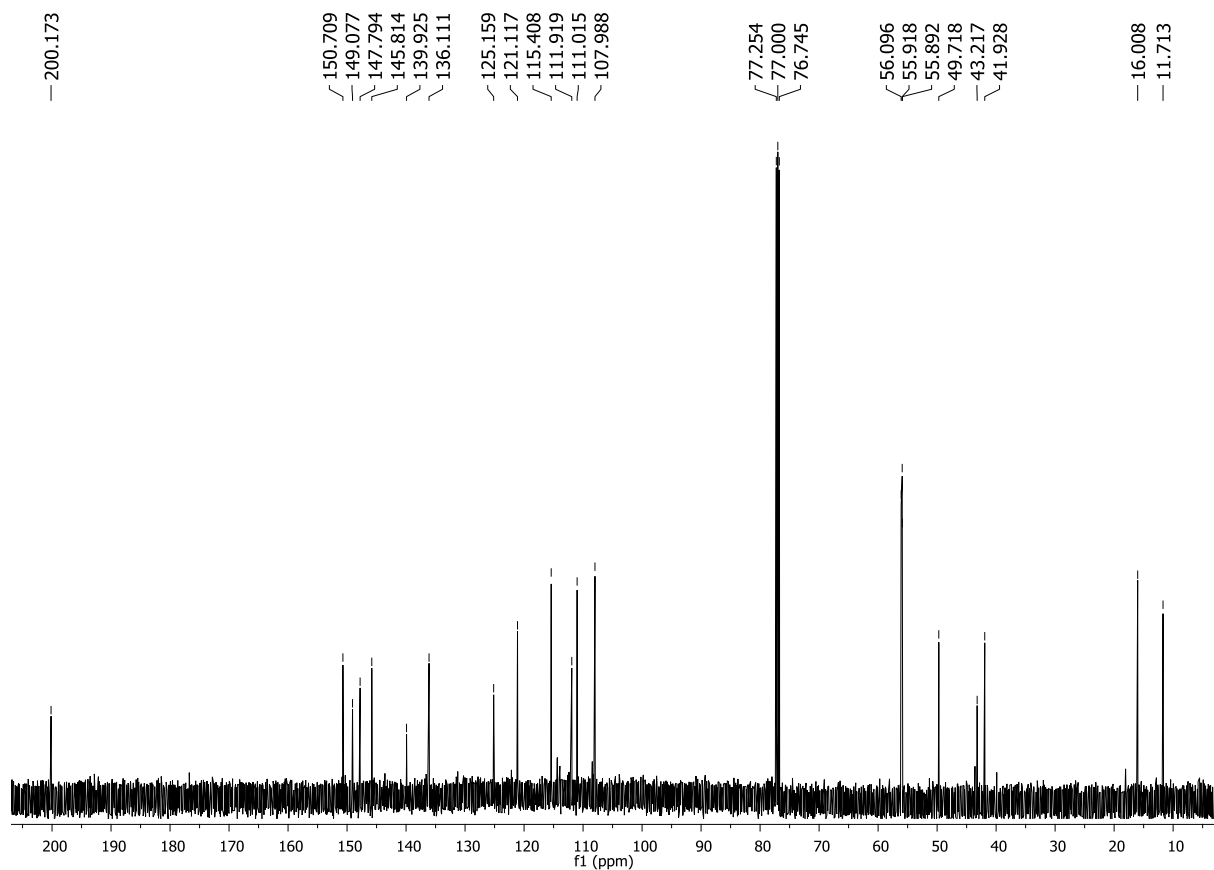


Figura 51. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de VII ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).

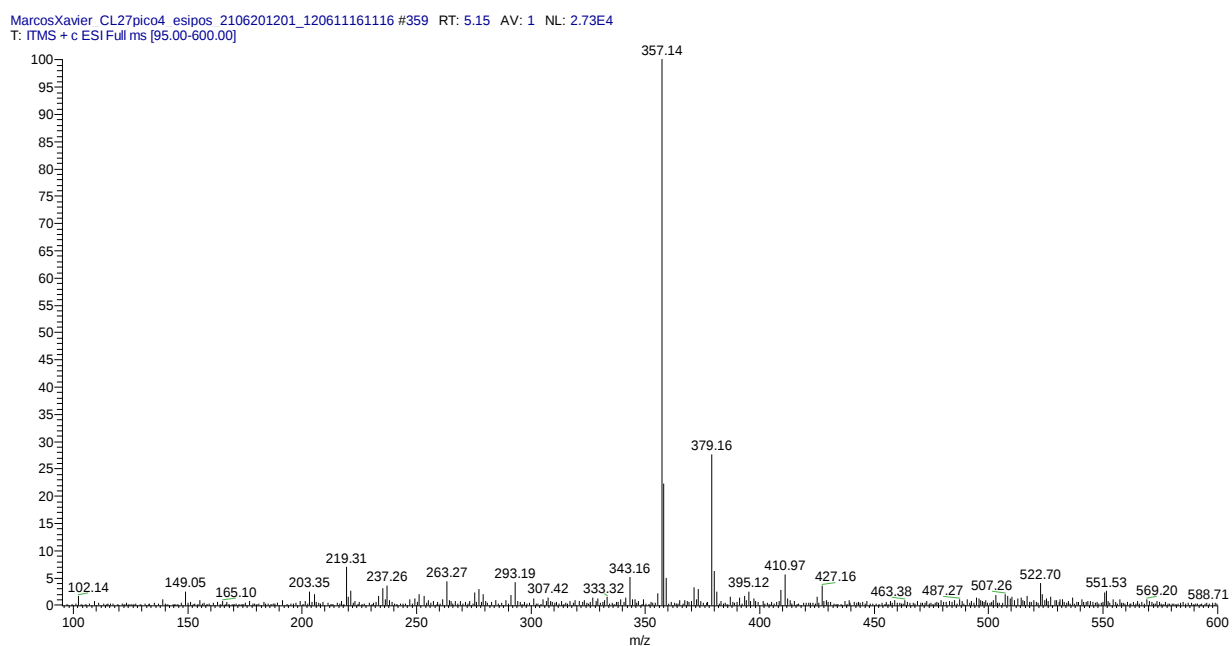
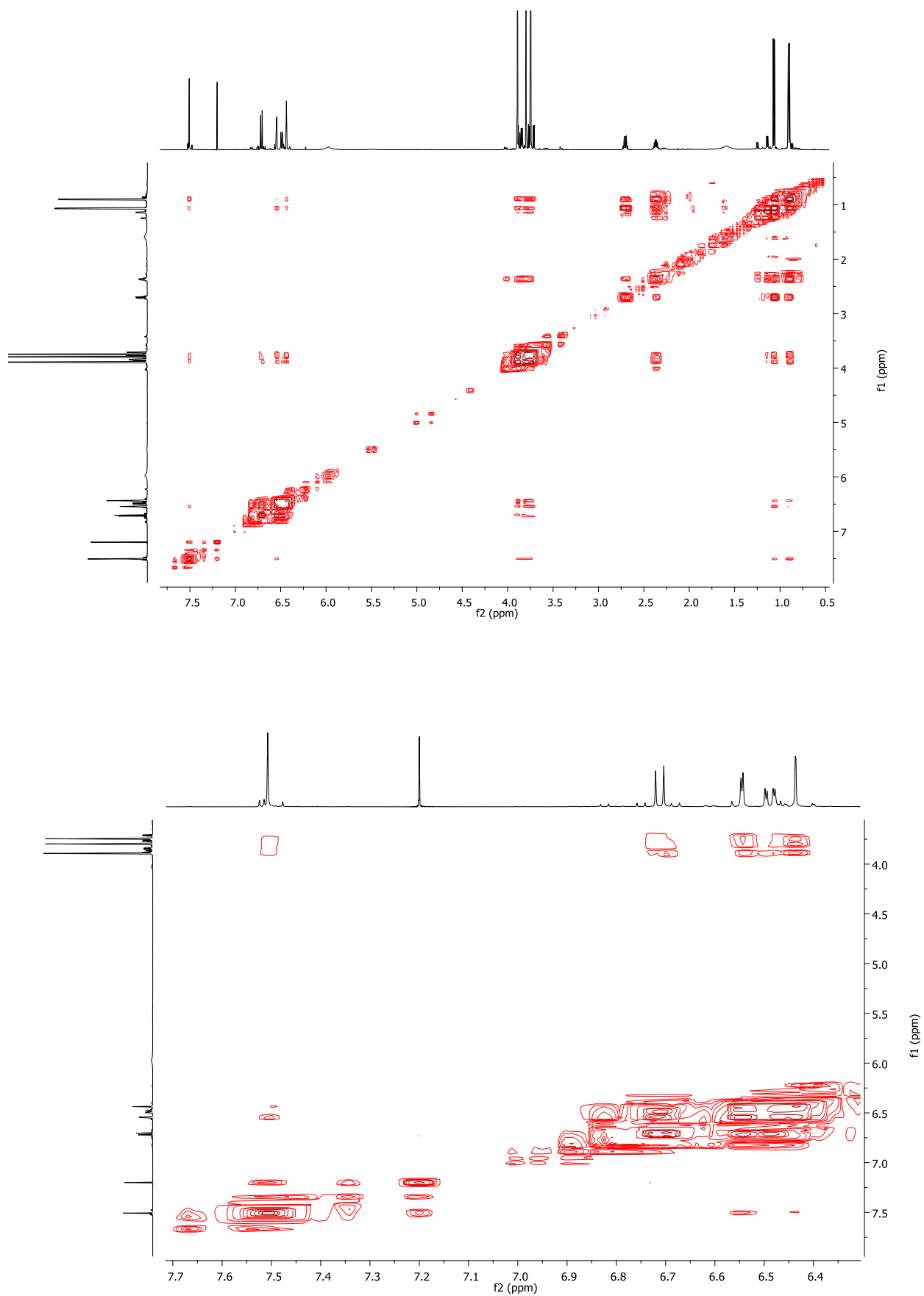


Figura 52. Espectro de EM-ESI de VII.



**Figura 53.** Mapa de contornos gCOSY de **VII** (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).

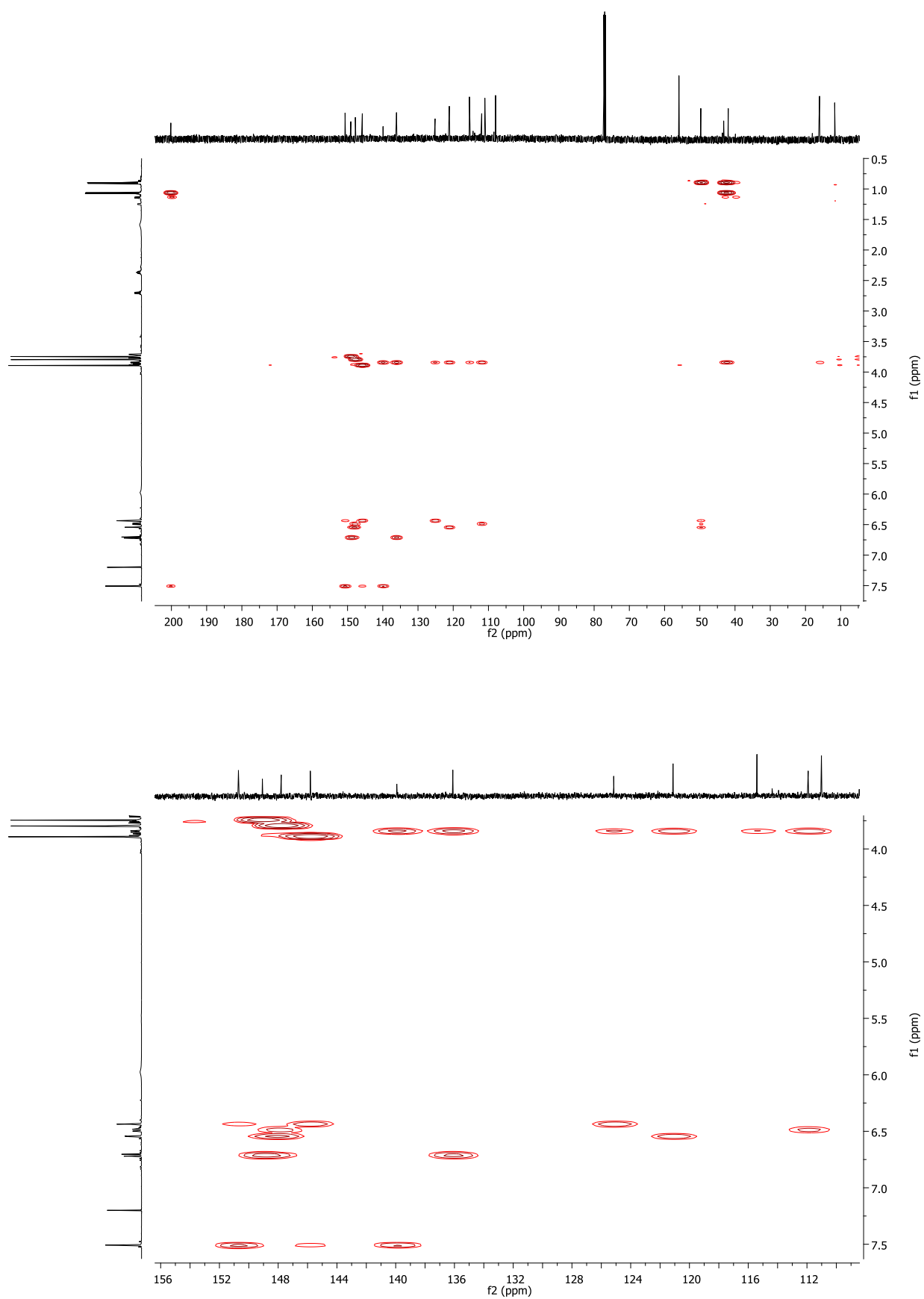
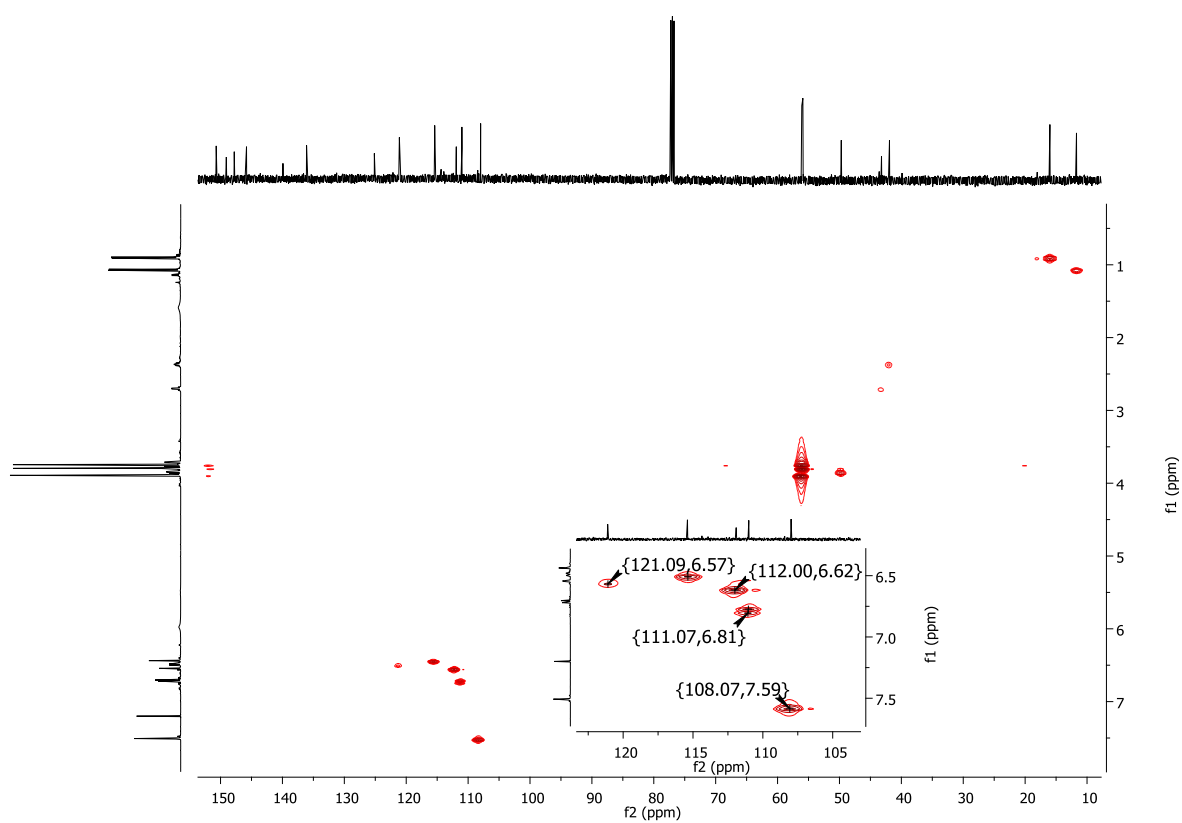
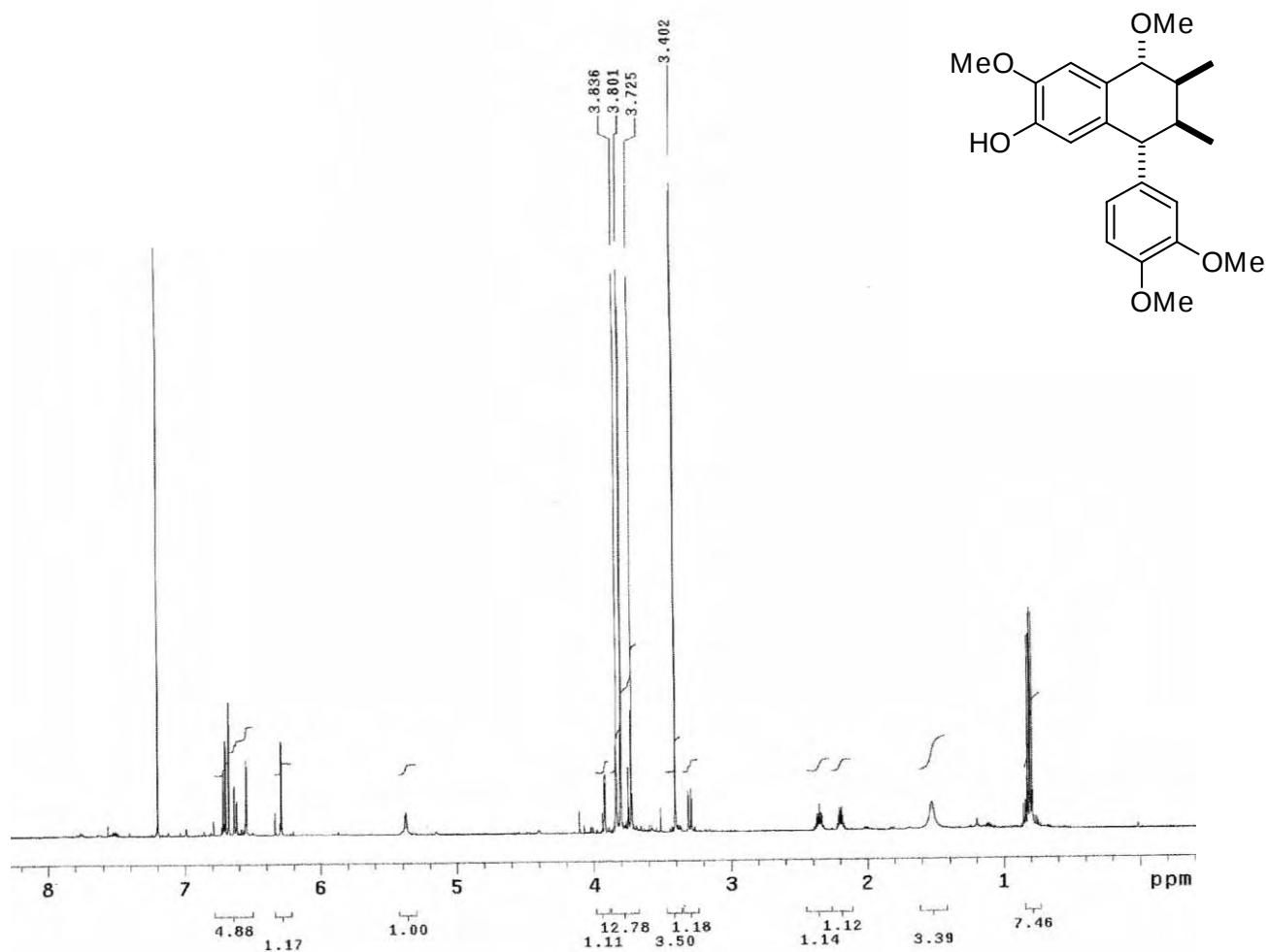


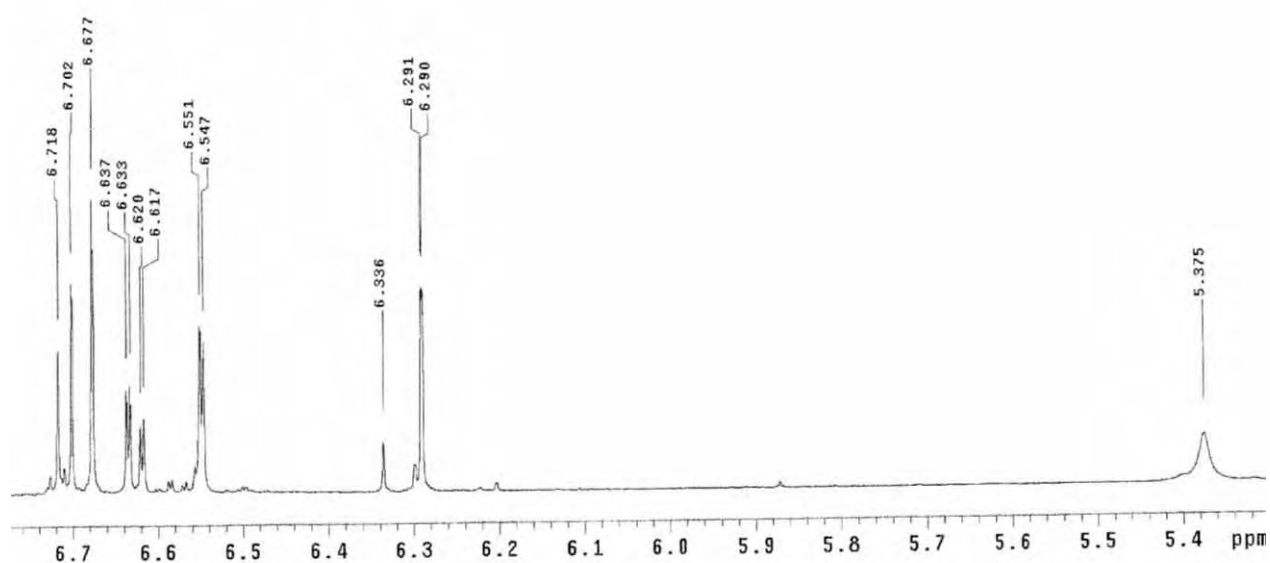
Figura 54. Mapa de contornos gHMBC de VII (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



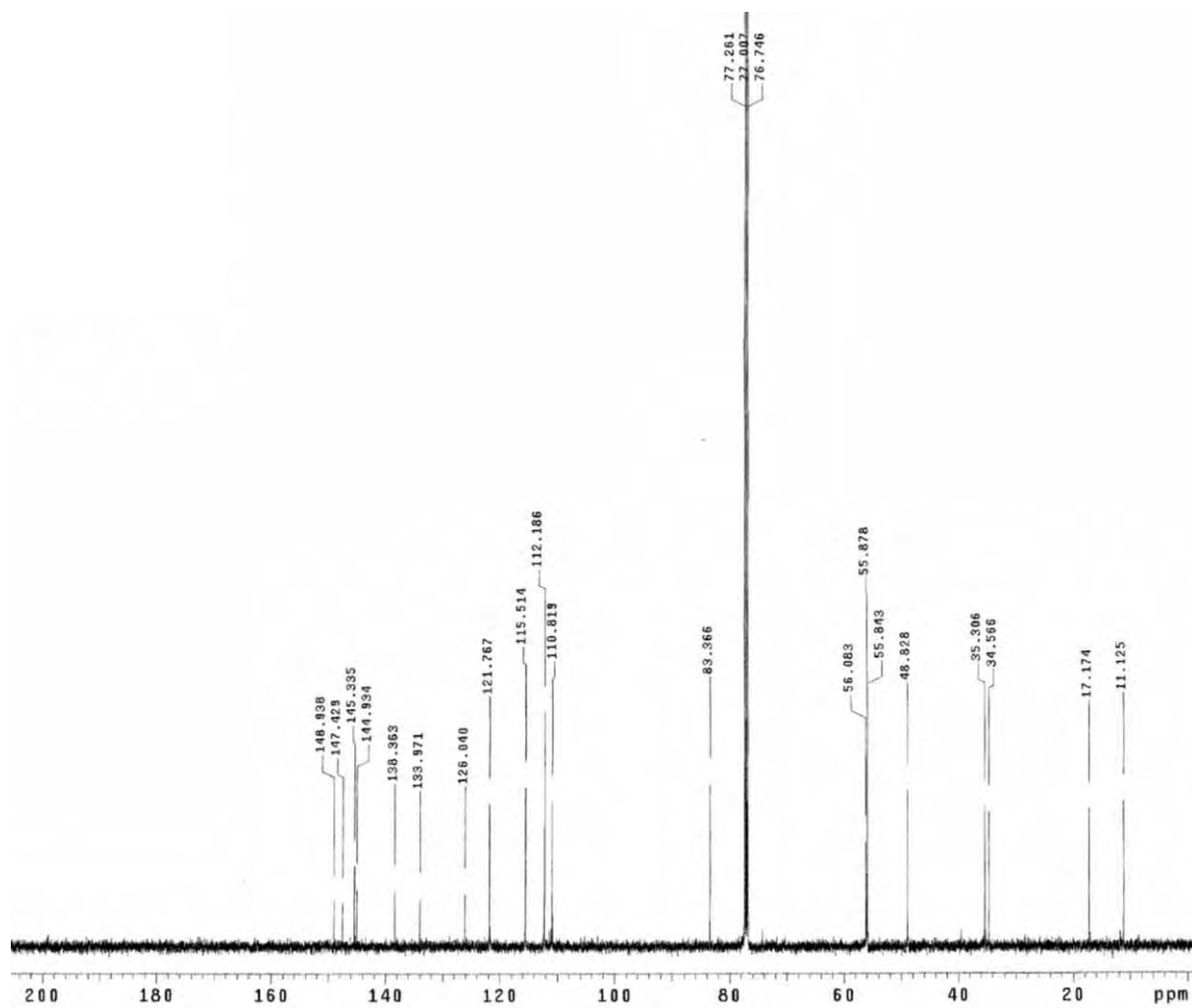
**Figura 55.** Mapa de contornos gHMTC de **VII** ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).



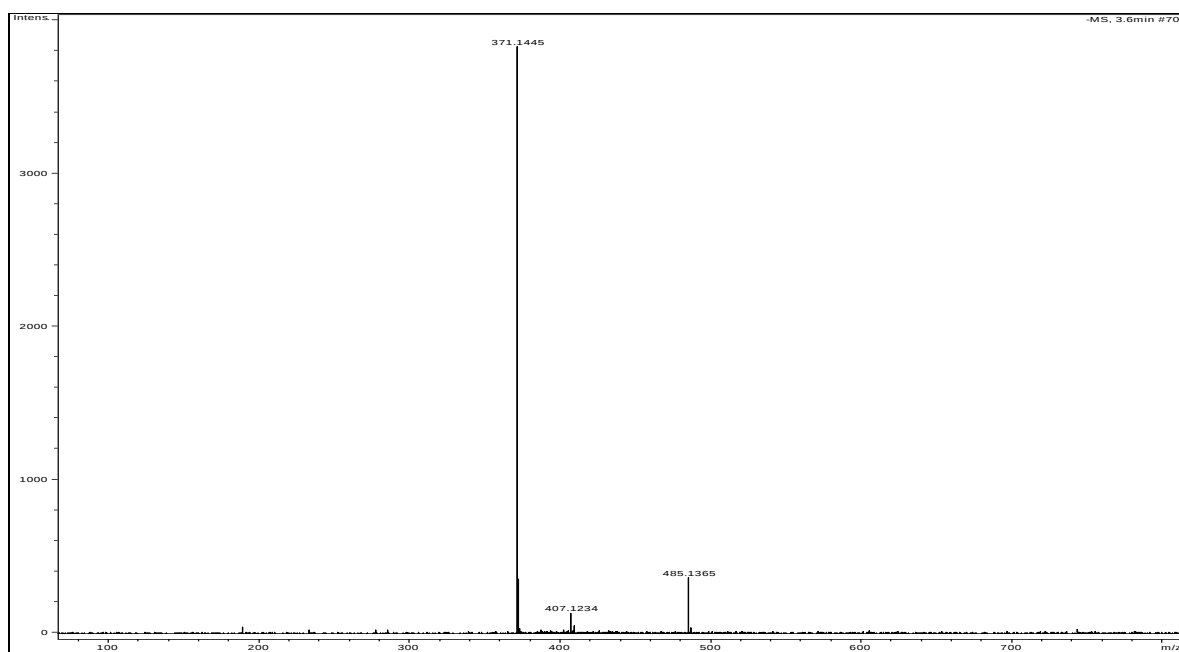
**Figura 56.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **VIII** (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



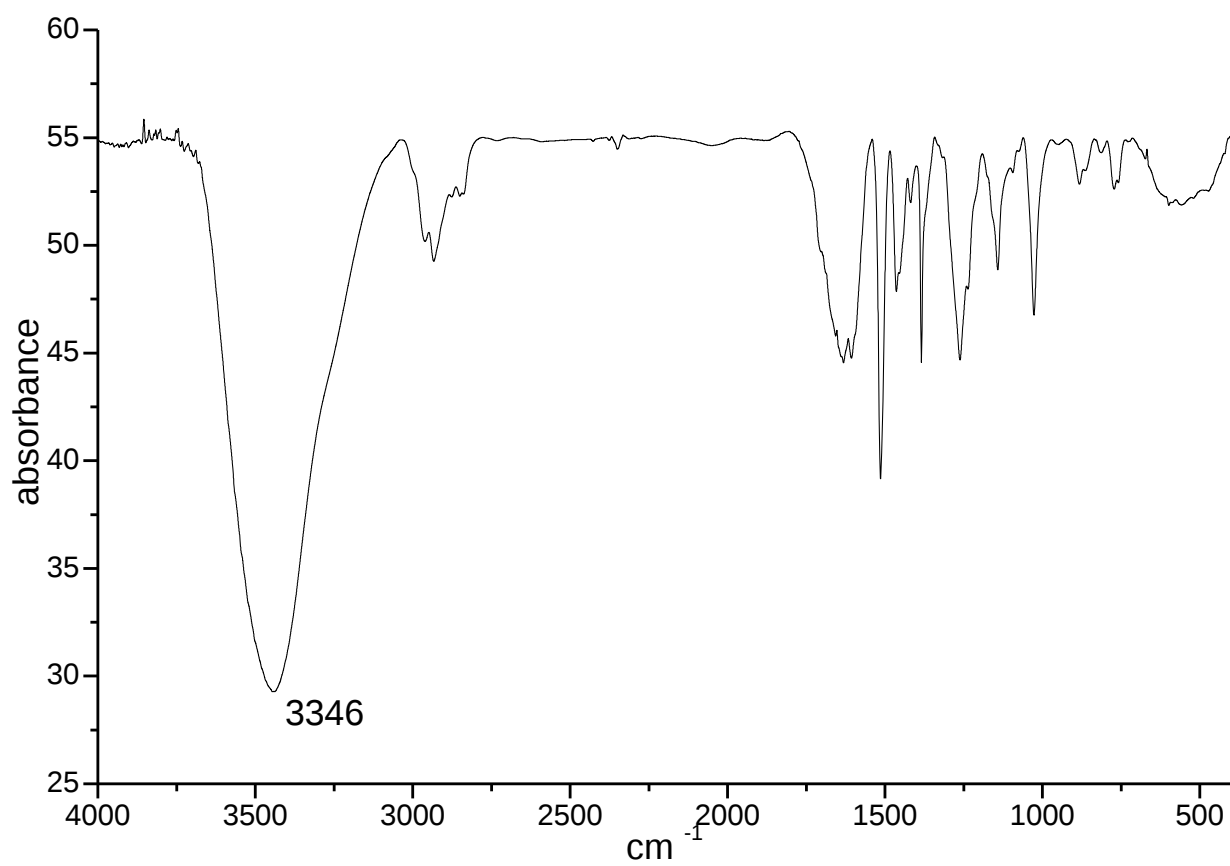
**Figura 57.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **VIII** ampliado (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



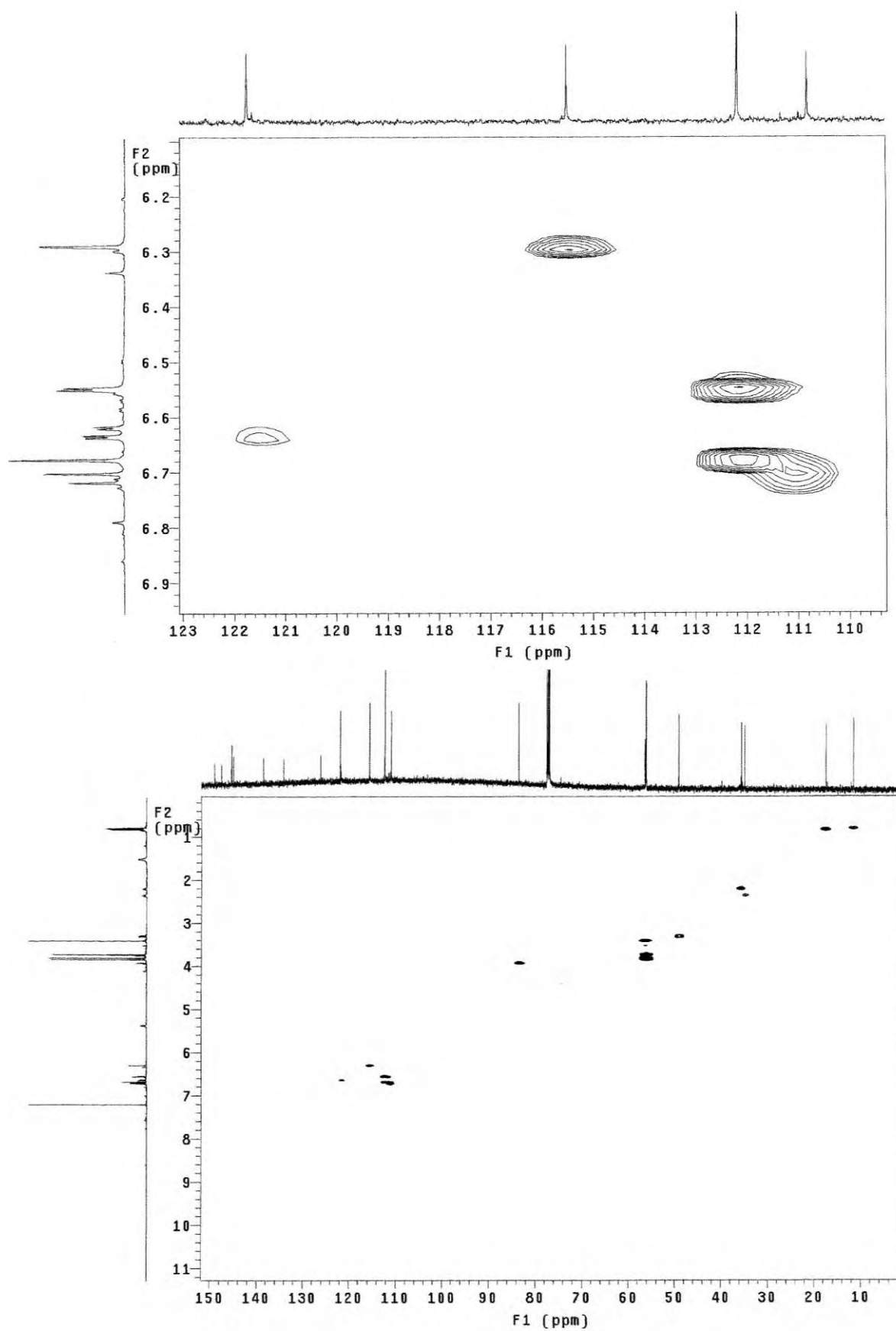
**Figura 58.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de VIII ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).



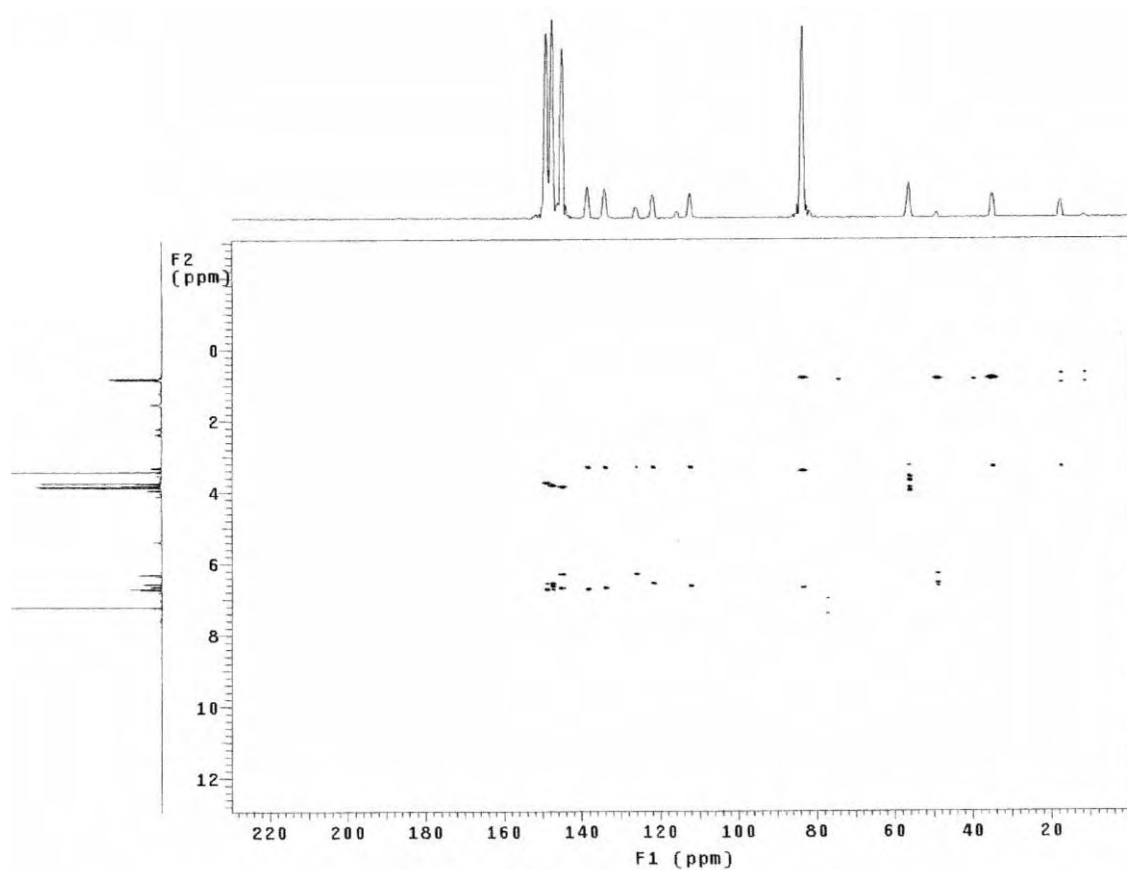
**Figura 59.** Espectro de EM-ESI VIII.



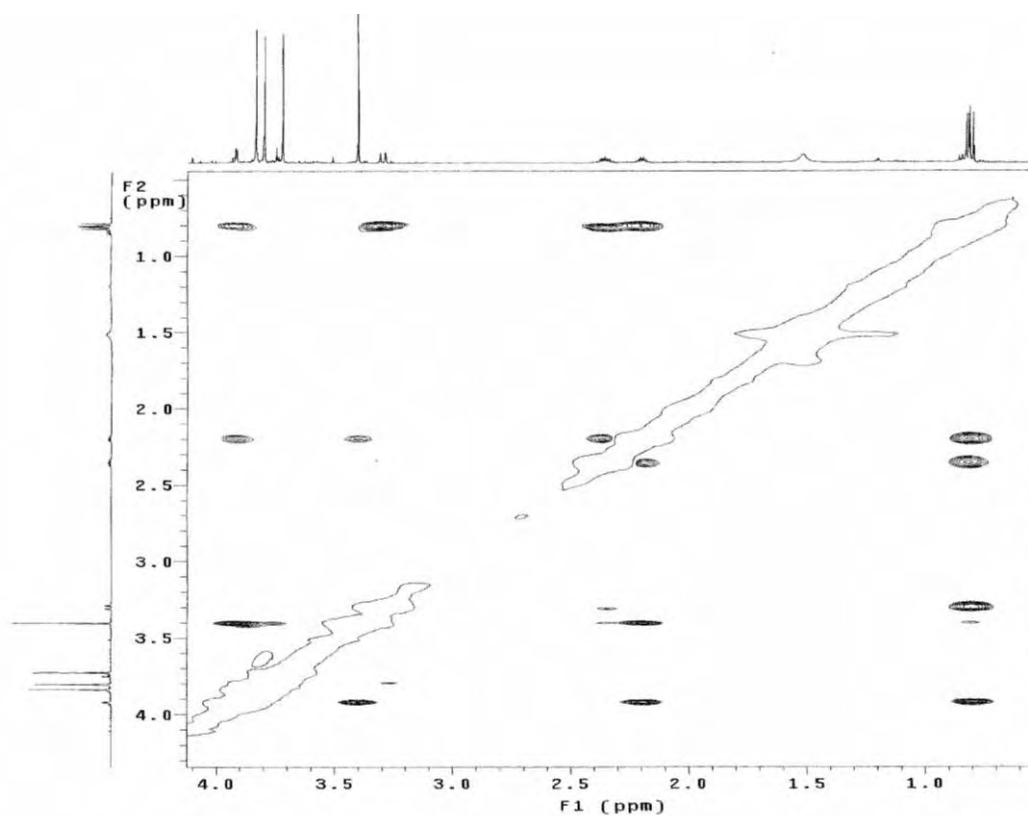
**Figura 60.** Espectro de absorção no IV (pastilha de KBr) de **VIII**.



**Figura 61.** Mapa de contornos gHMQC de **VIII** ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).



**Figura 62.** Mapa de contornos gHMBC de **VIII** ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).



**Figura 63.** Mapa de contornos gNOESY de **VIII** ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).

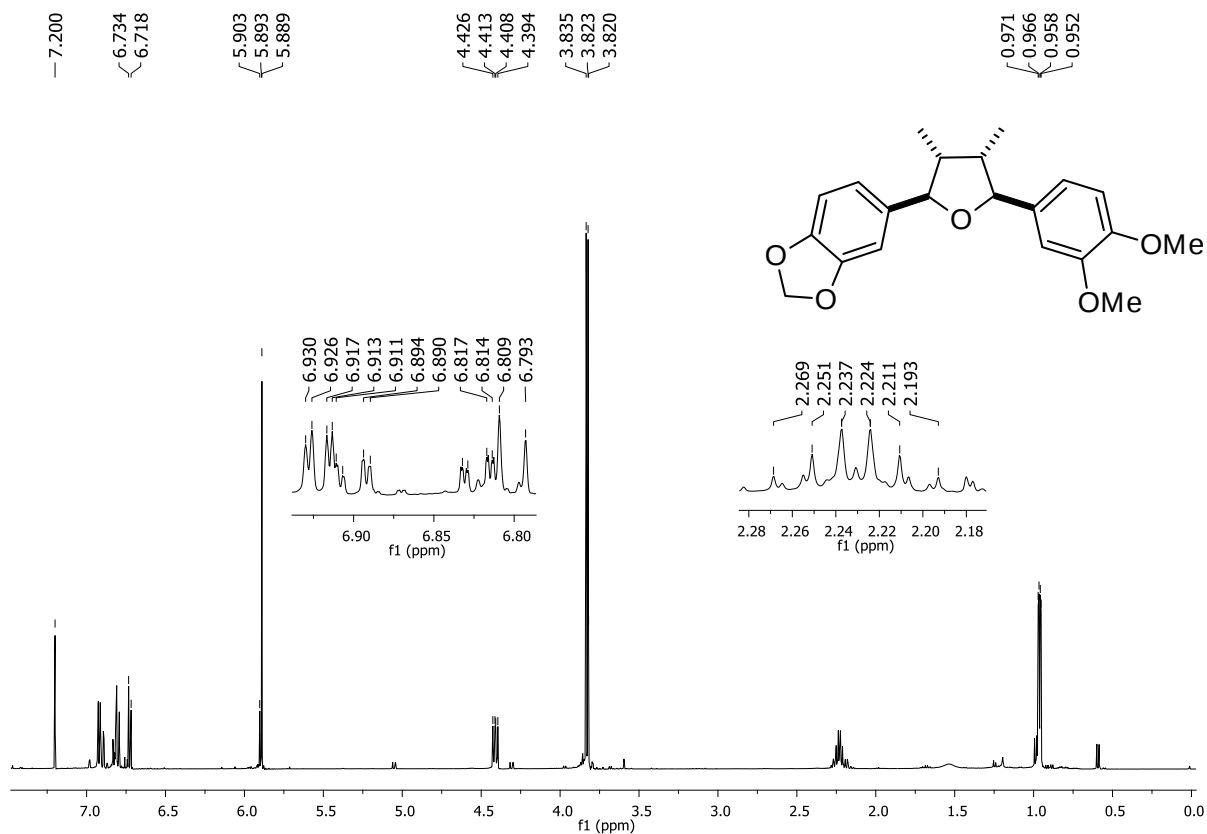


Figura 64. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de IX (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).

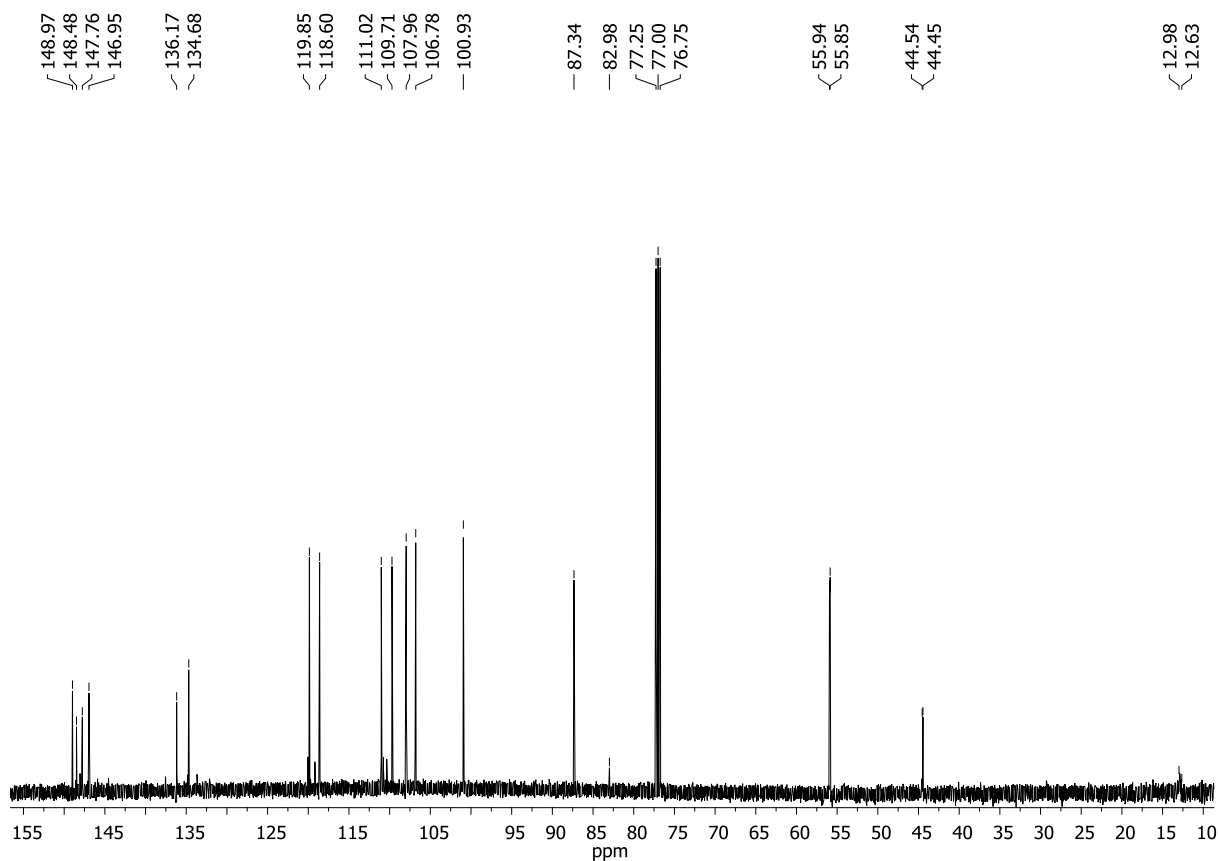
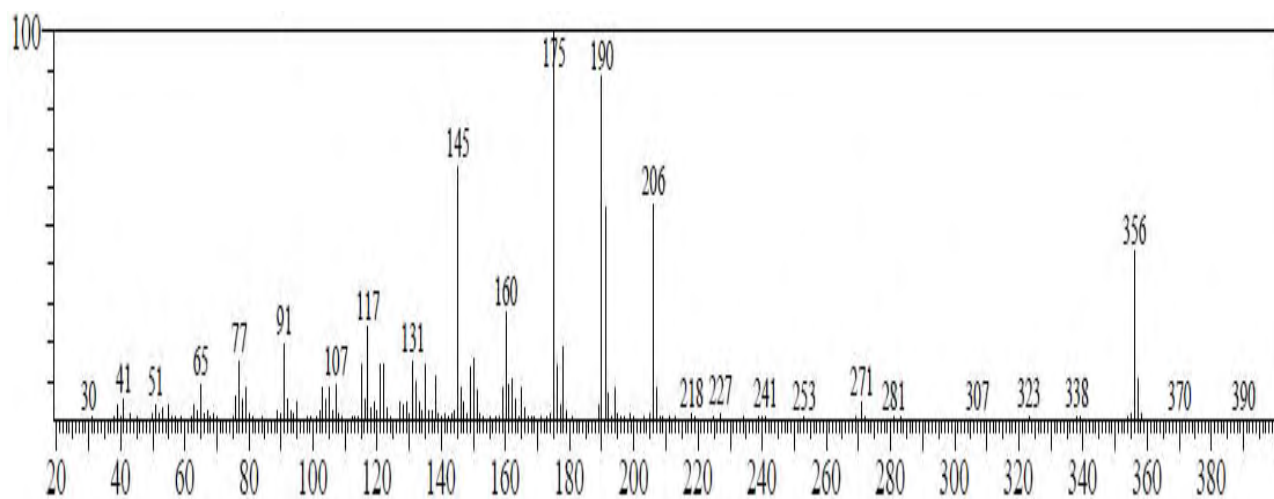
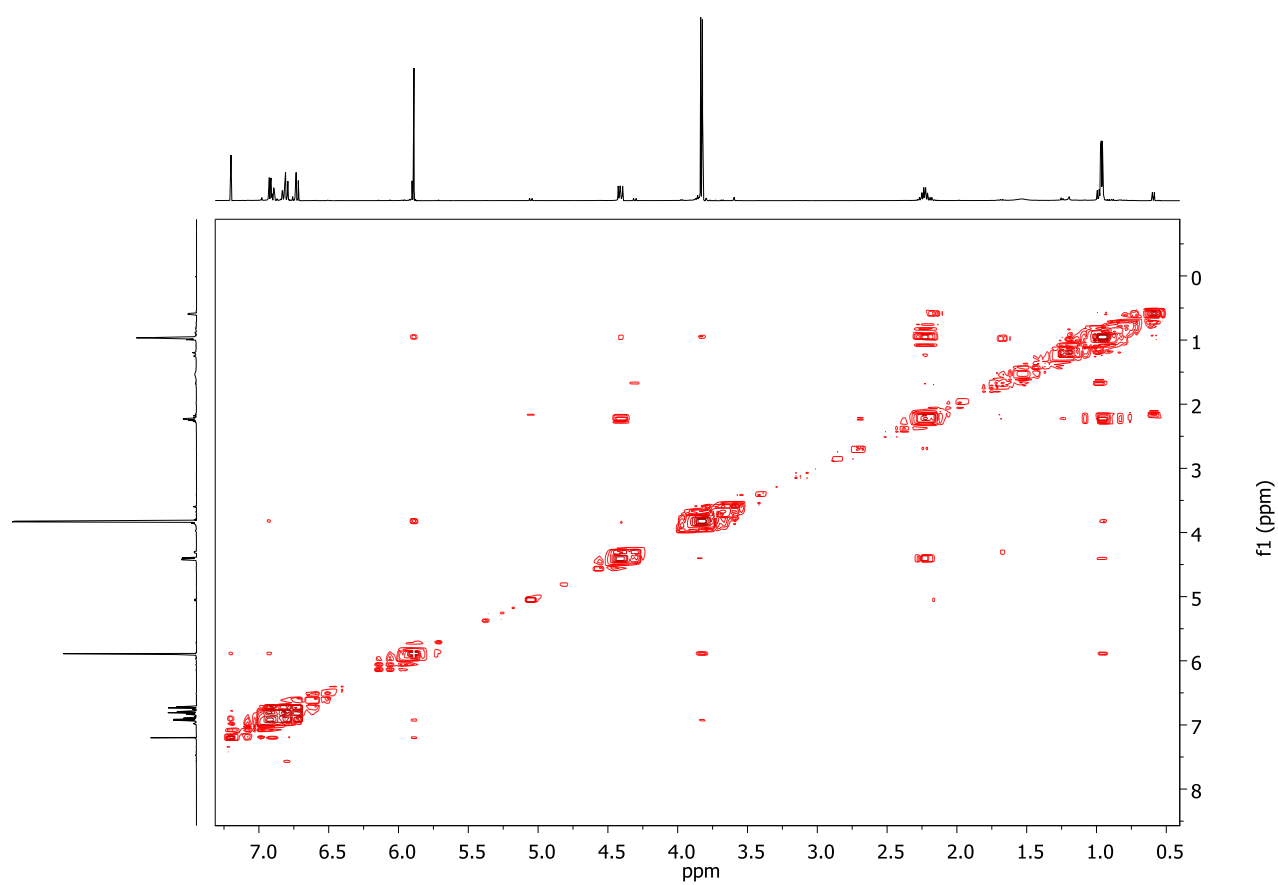


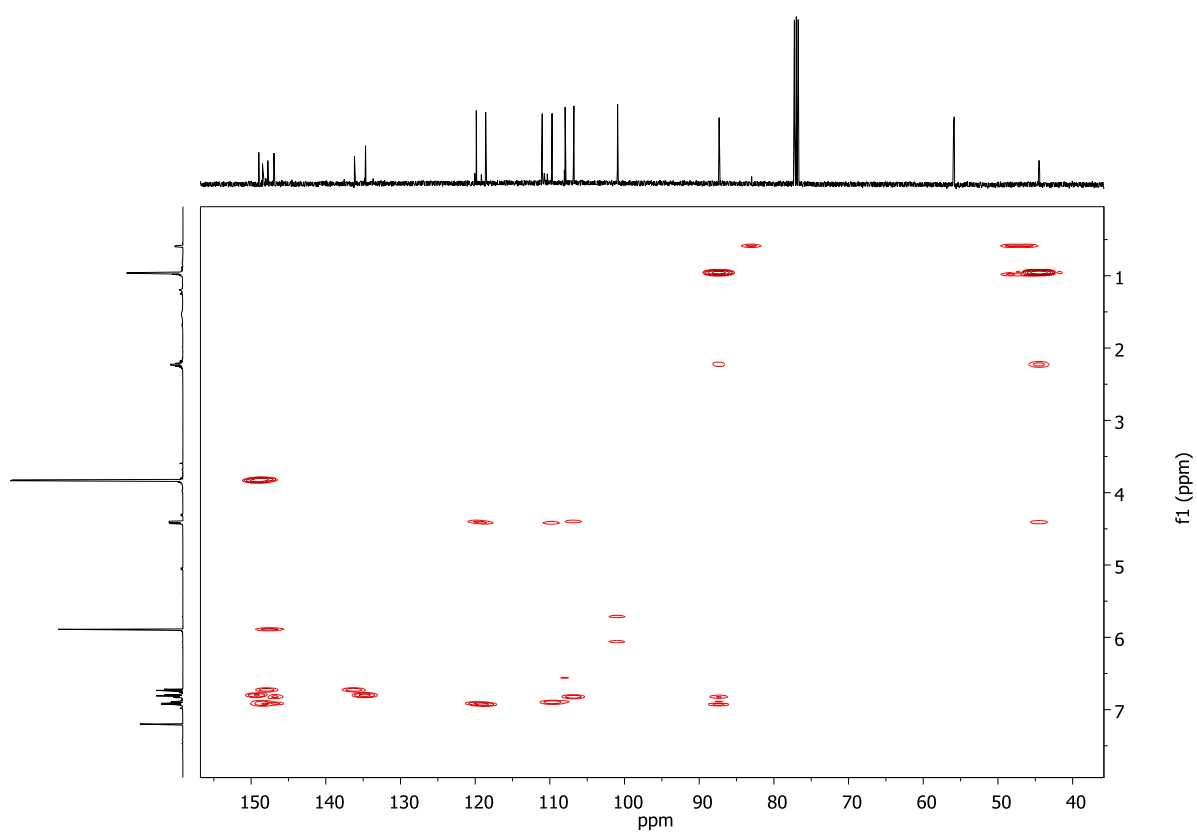
Figura 65. Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de IX (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



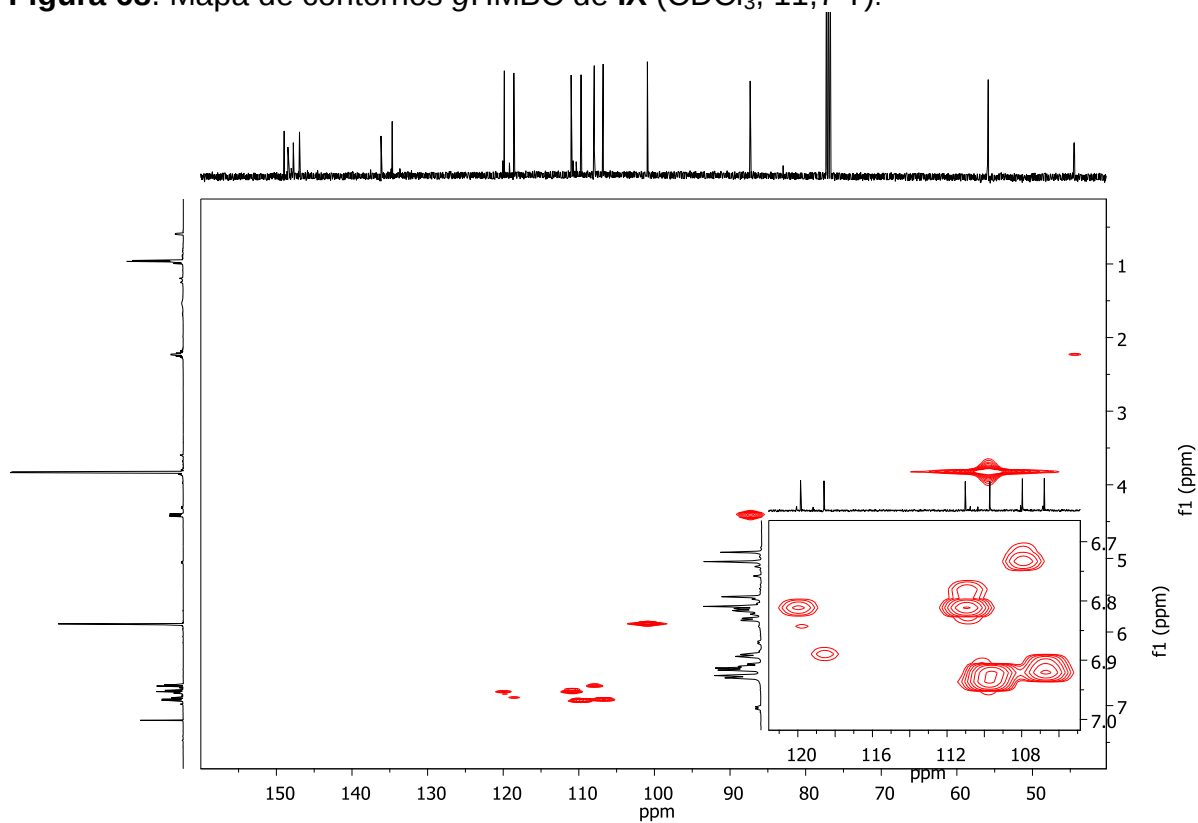
**Figura 66.** Espectro de EM-EI de IX.



**Figura 67.** Mapa de contornos gCOSY de IX (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



**Figura 68.** Mapa de contornos gHMBC de IX ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).



**Figura 69.** Mapas de contornos gHMQC de IX ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).

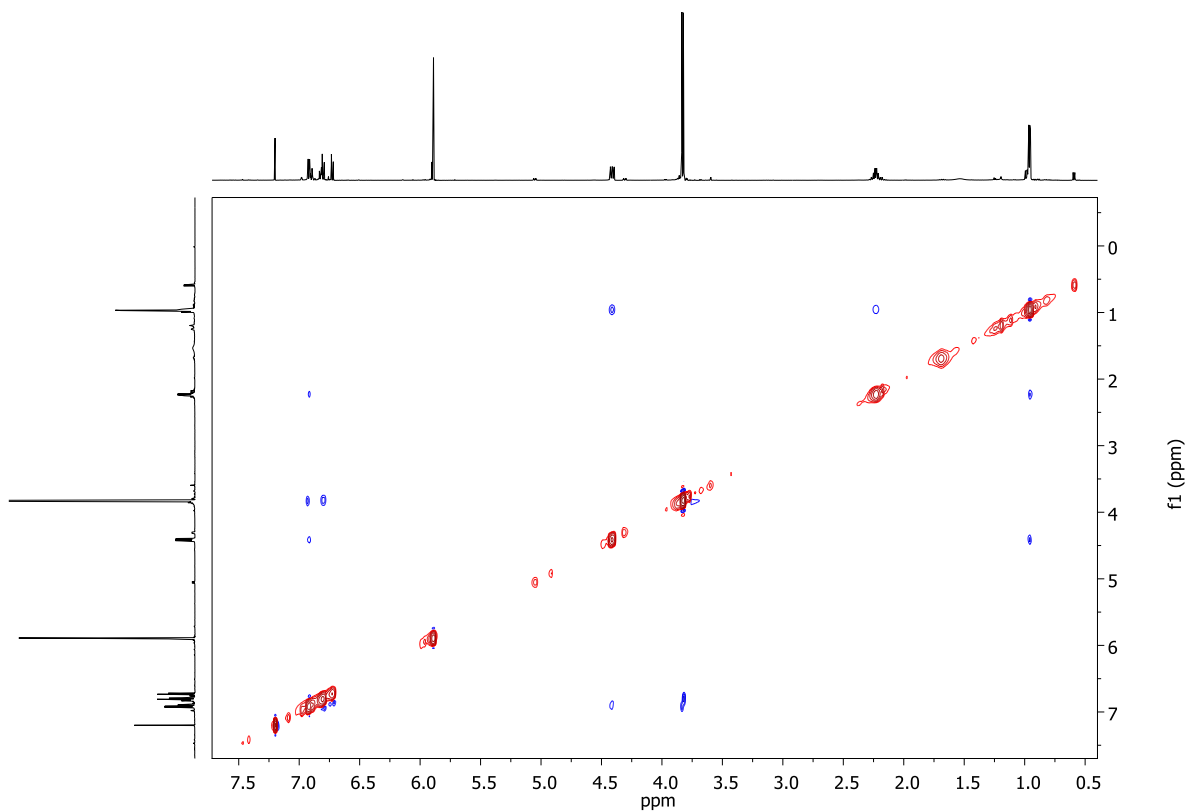


Figura 70. Mapas de contornos gNOESY de IX ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).

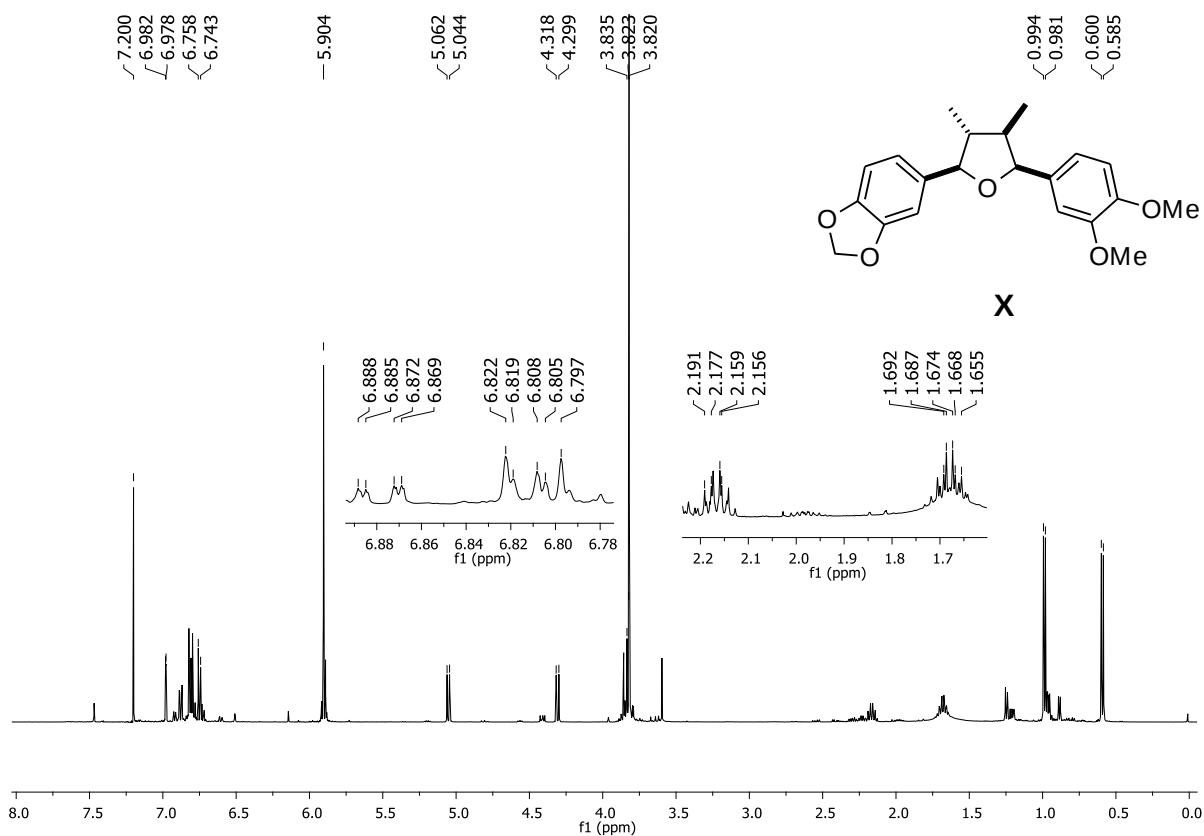
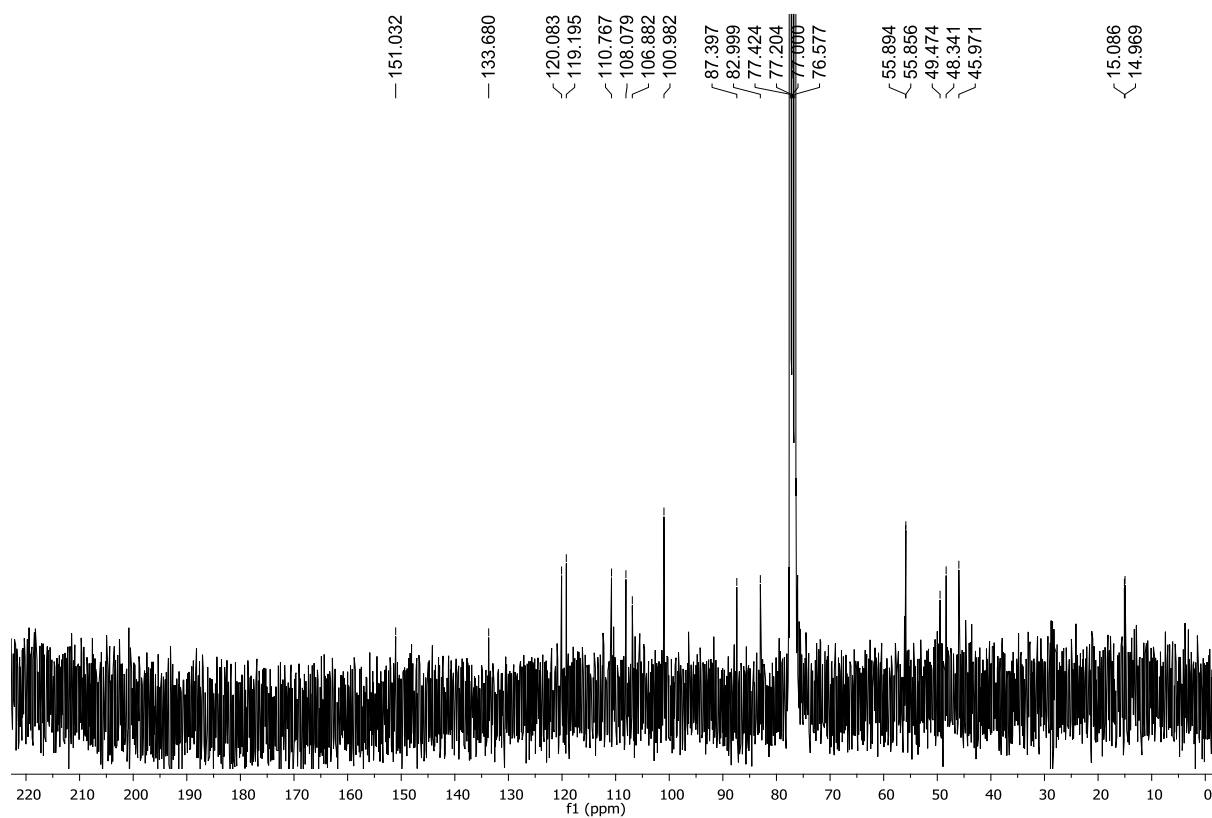
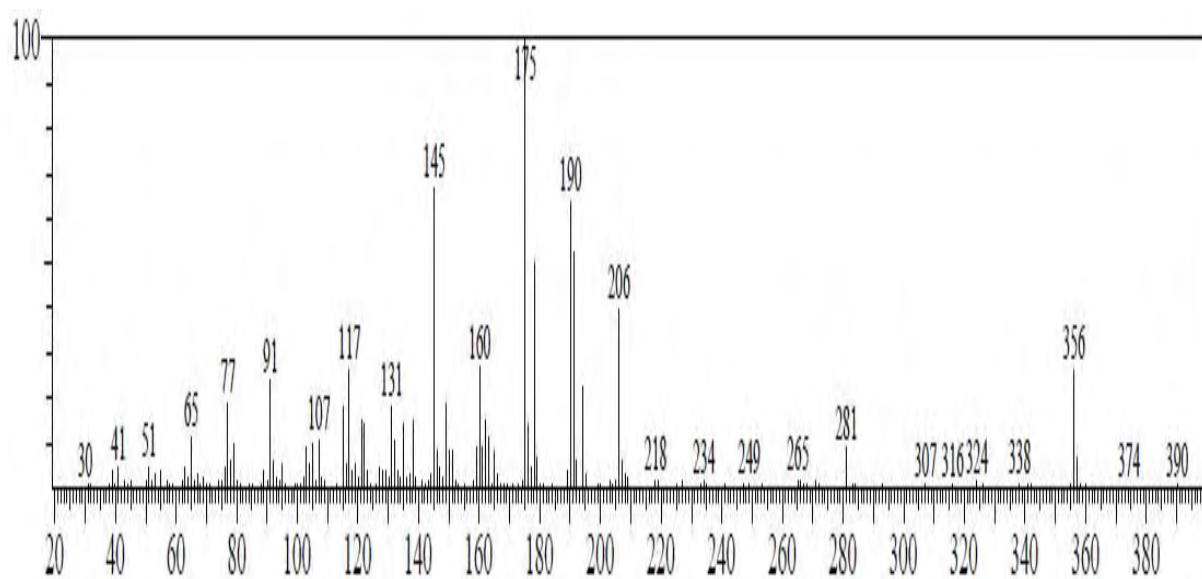


Figura 71. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de X ( $\text{CDCl}_3$ , 7,1 T).



**Figura 72.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **X** ( $\text{CDCl}_3$ , 7,1 T).



**Figura 73.** Espectros de EM-EI de **X**.

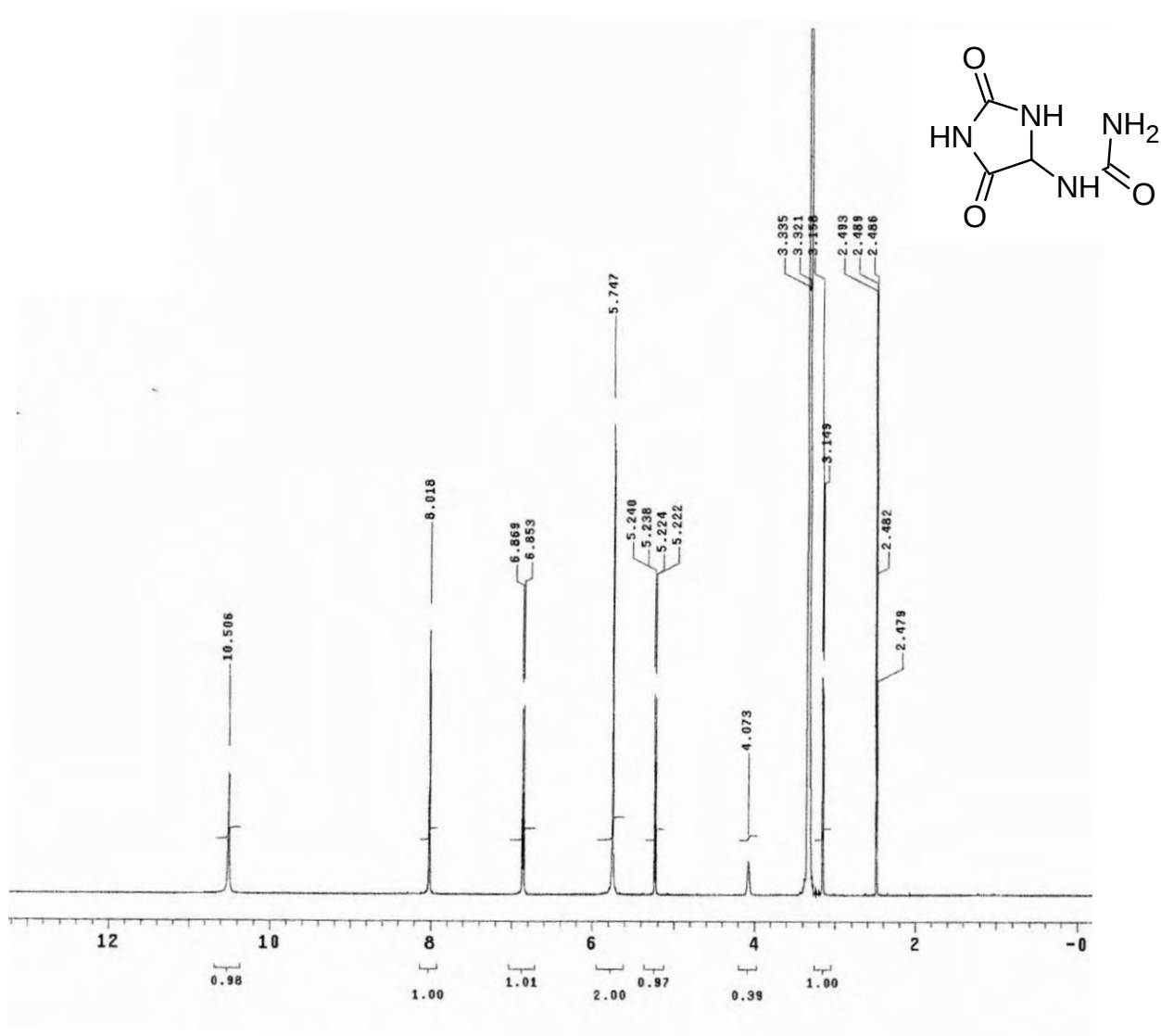
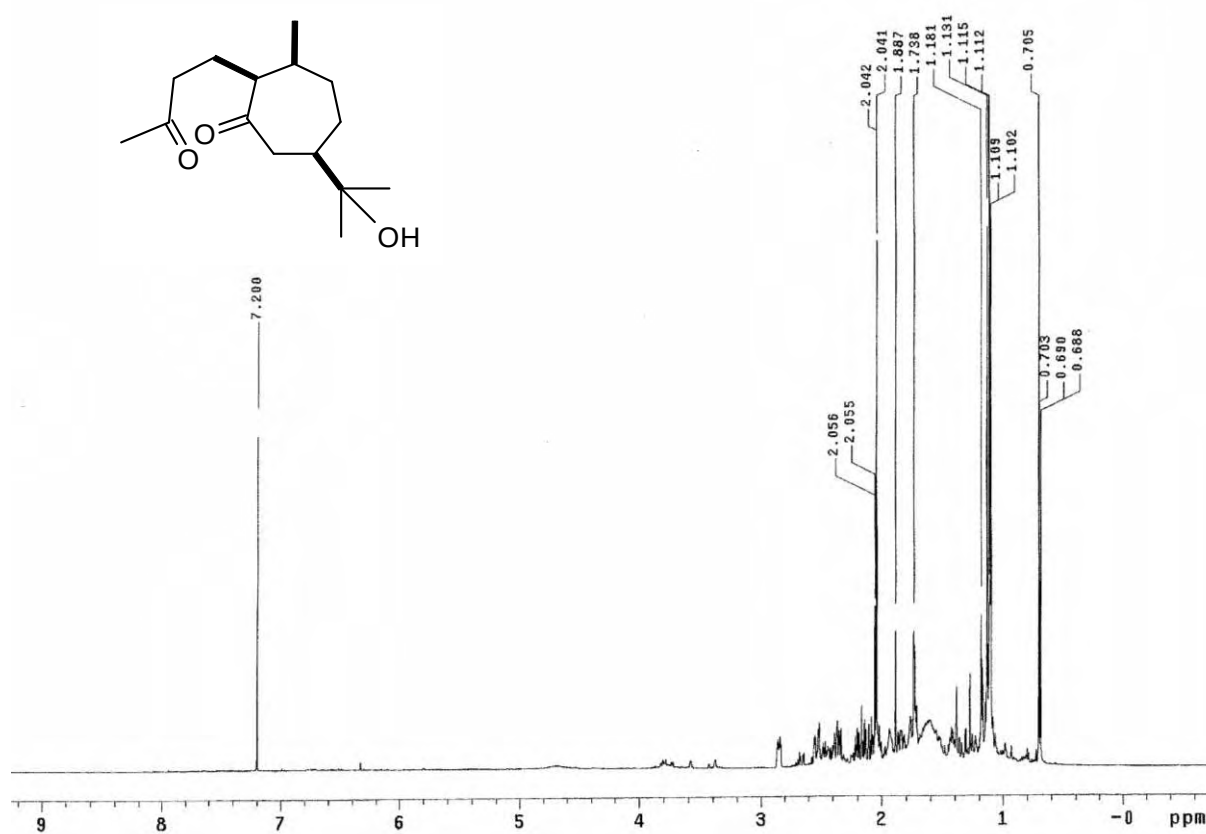
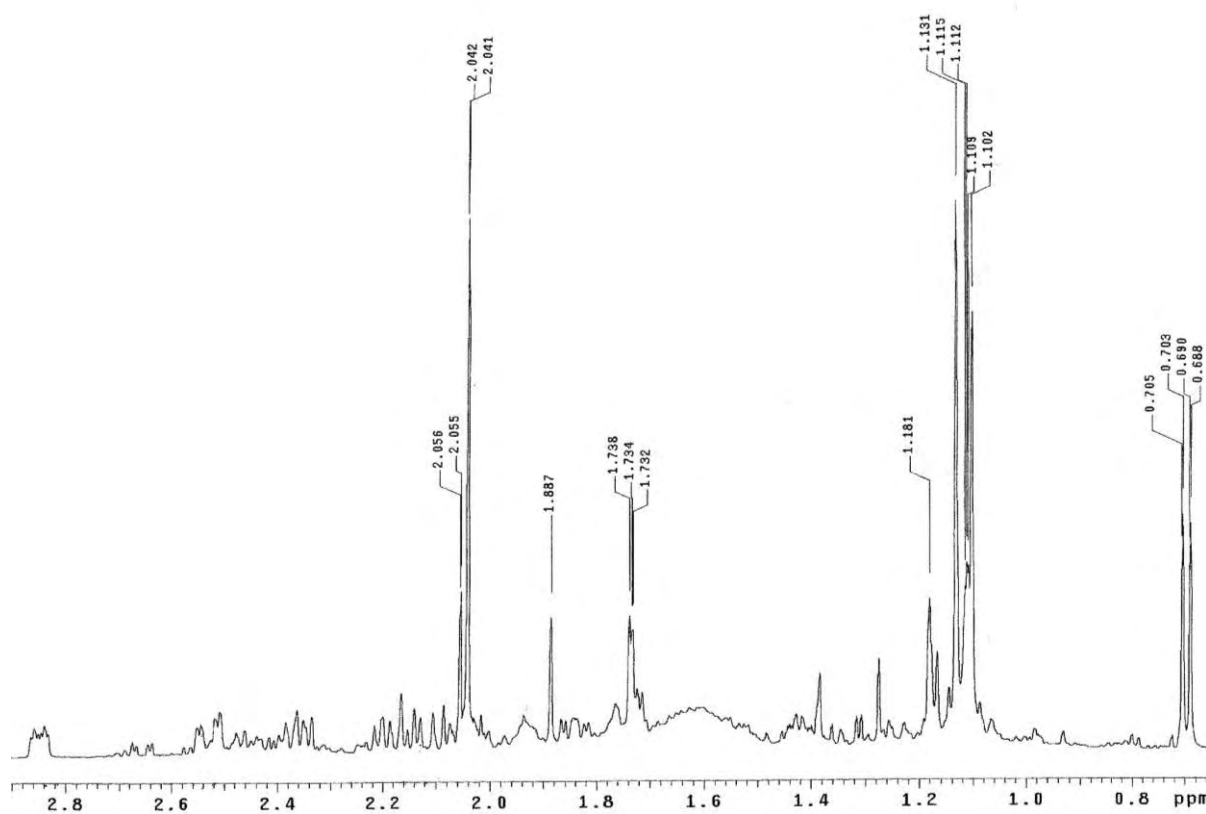


Figura 74. Espectro de RMN <sup>1</sup>H de XI (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 7,1 T).

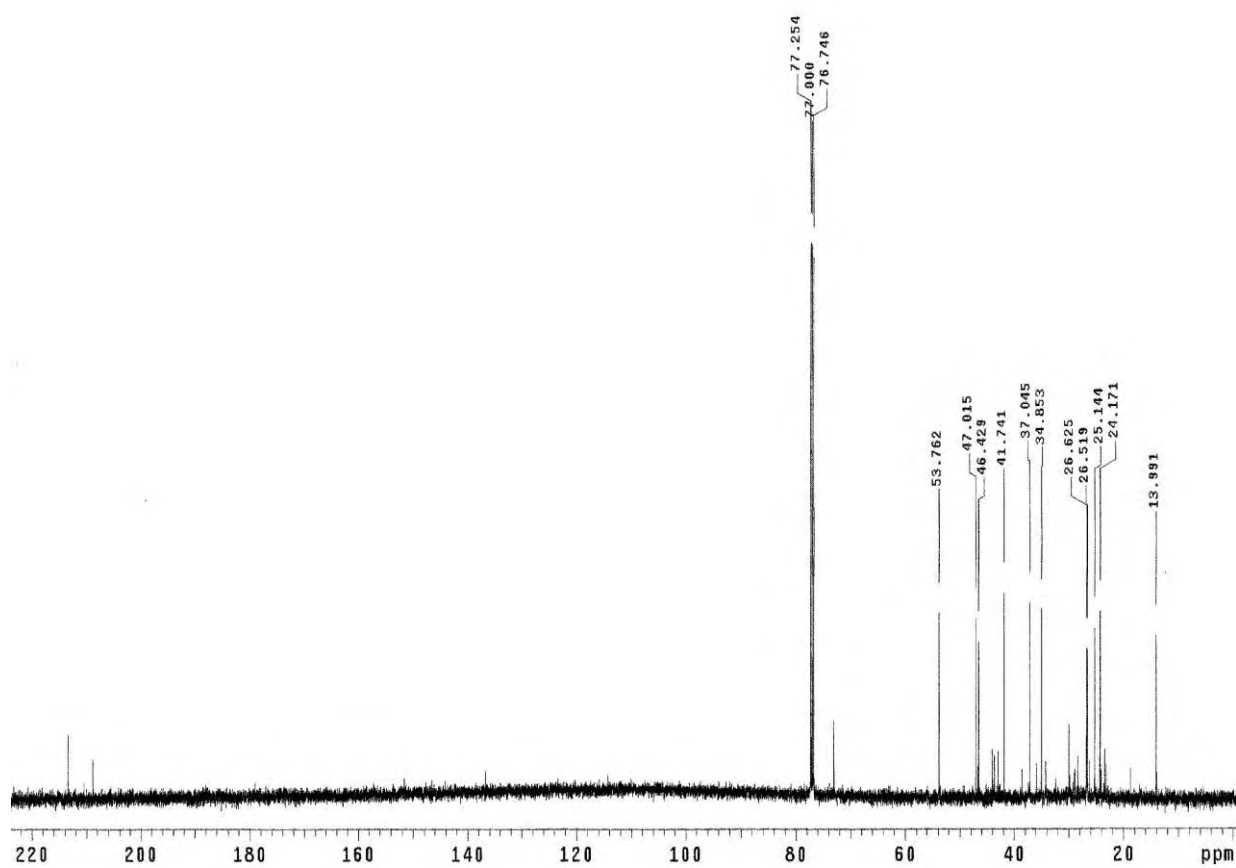


a)

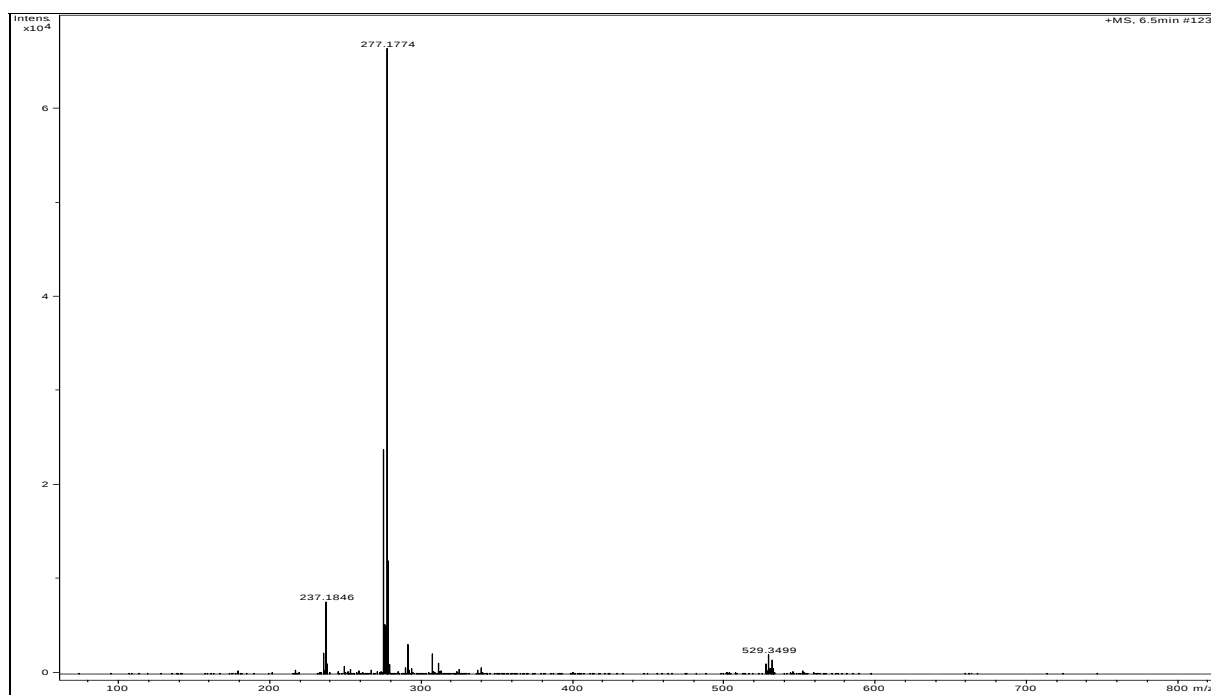


b)

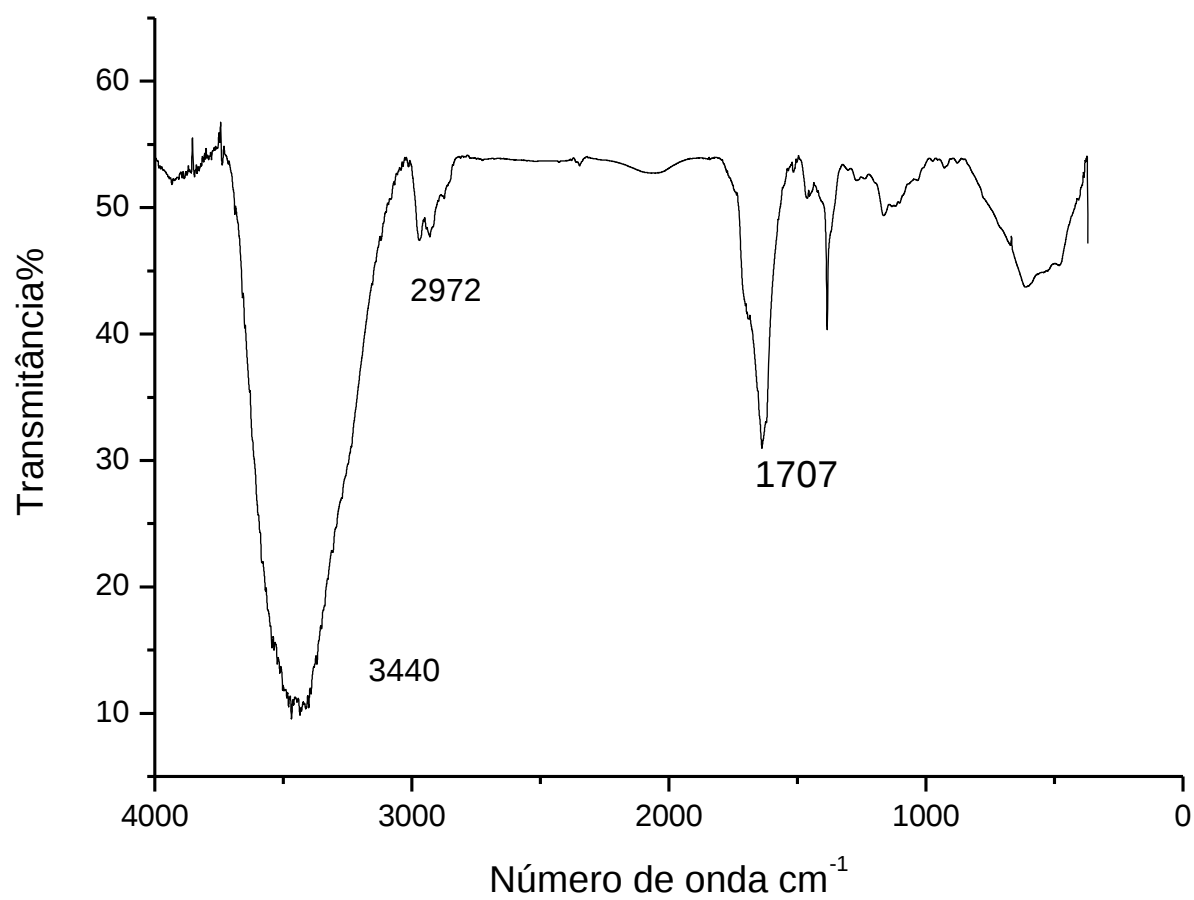
Figura 75. a) Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de XIV (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T) b) Espectro ampliado.



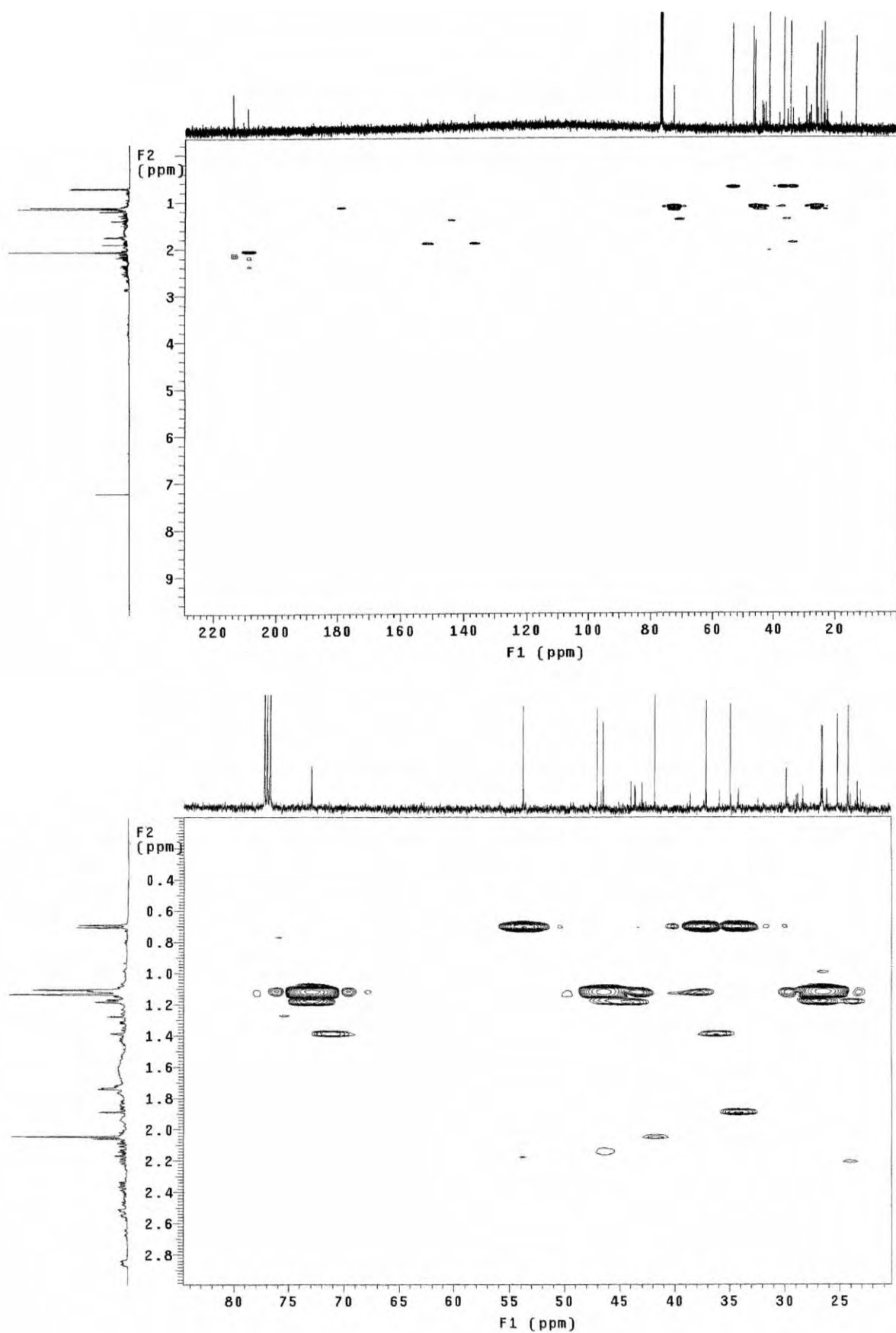
**Figura 76.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **XIV** ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).



**Figura 77.** Espectro de EM-ESI de **XIV**.



**Figura 78.** Espectro de IV (pastilha de KBr) de **XIV**.



**Figura 79.** Mapa de contornos gHMBC de XIV e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).

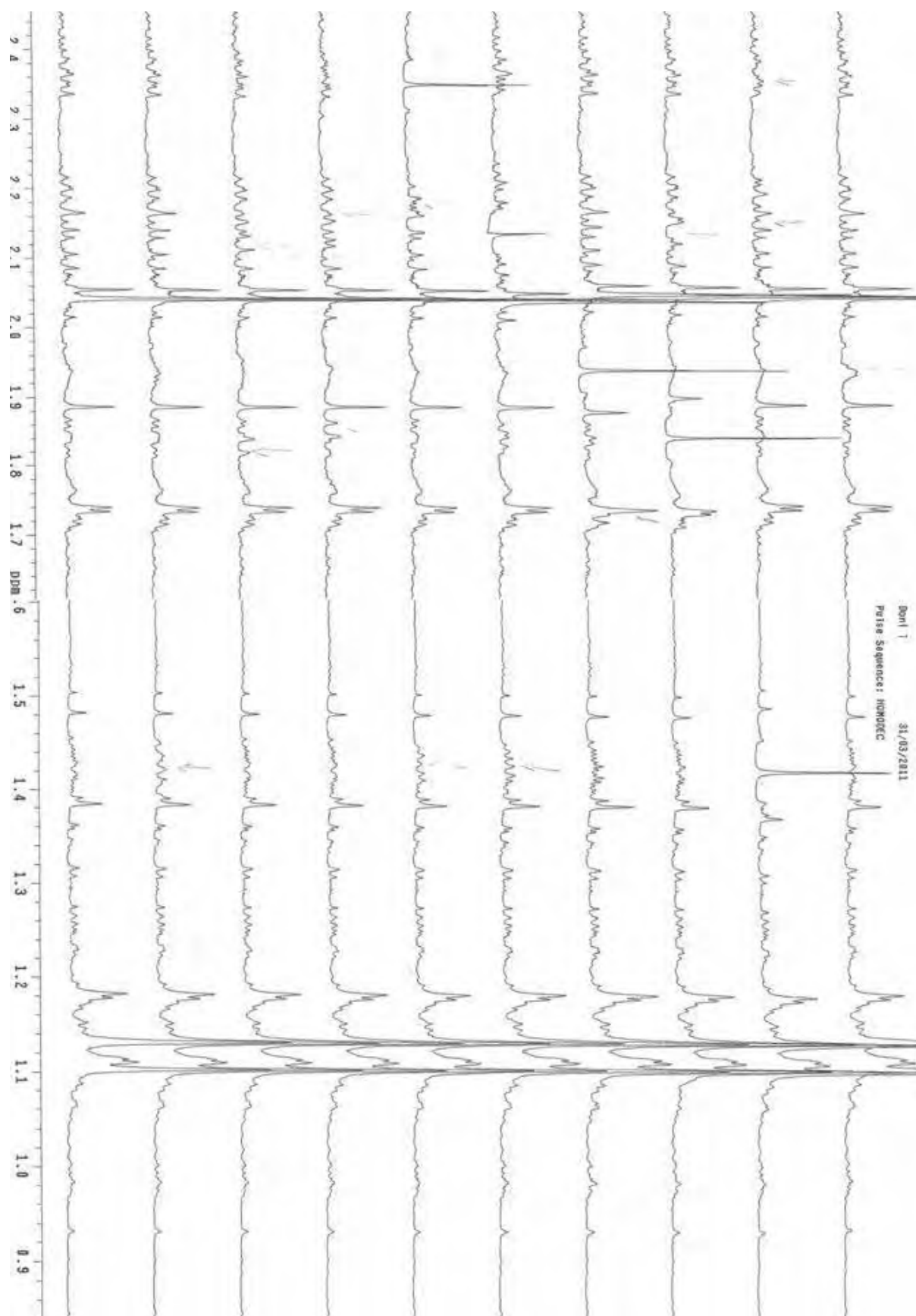
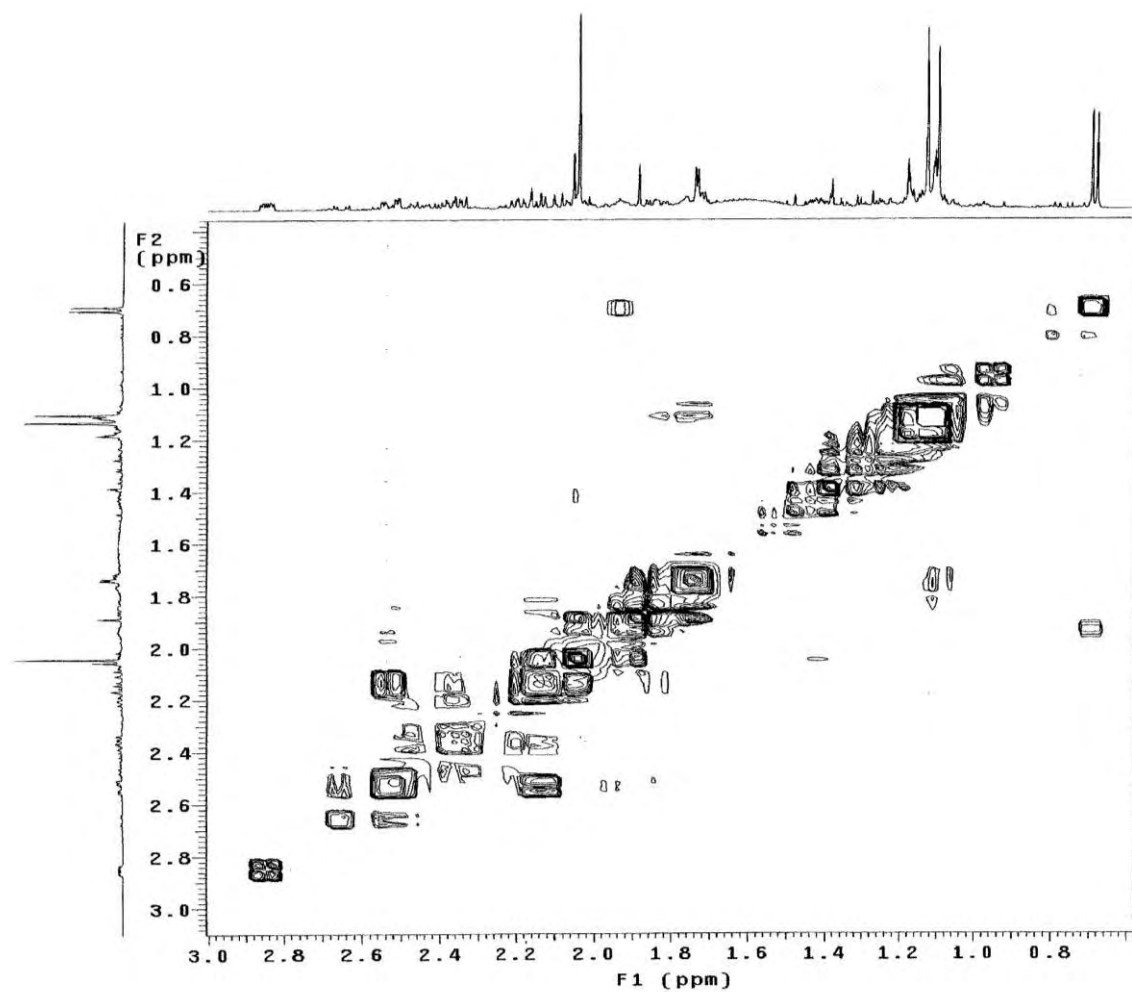
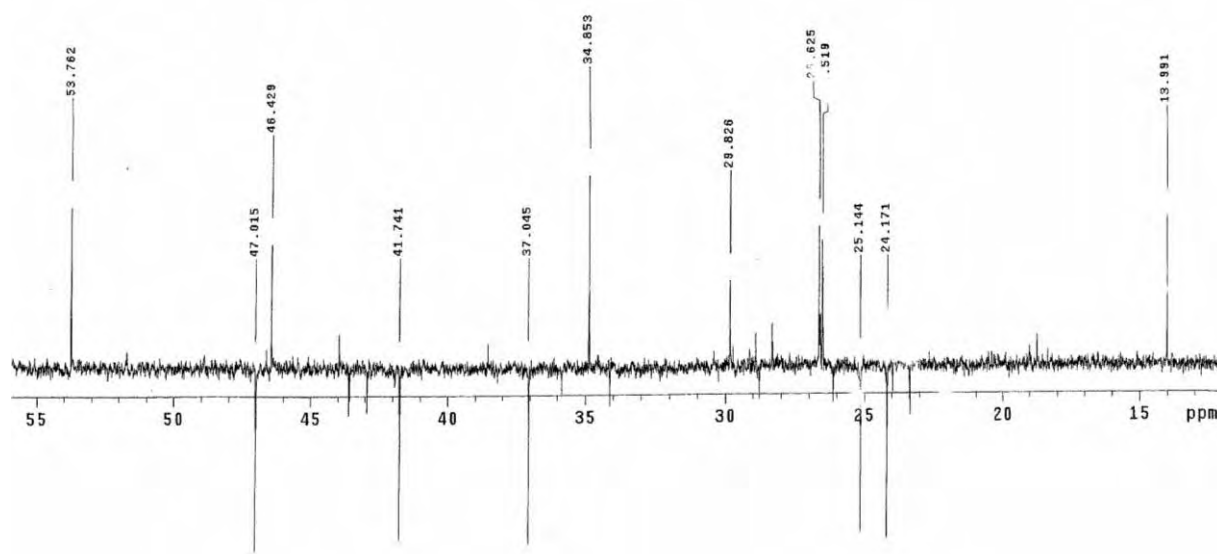


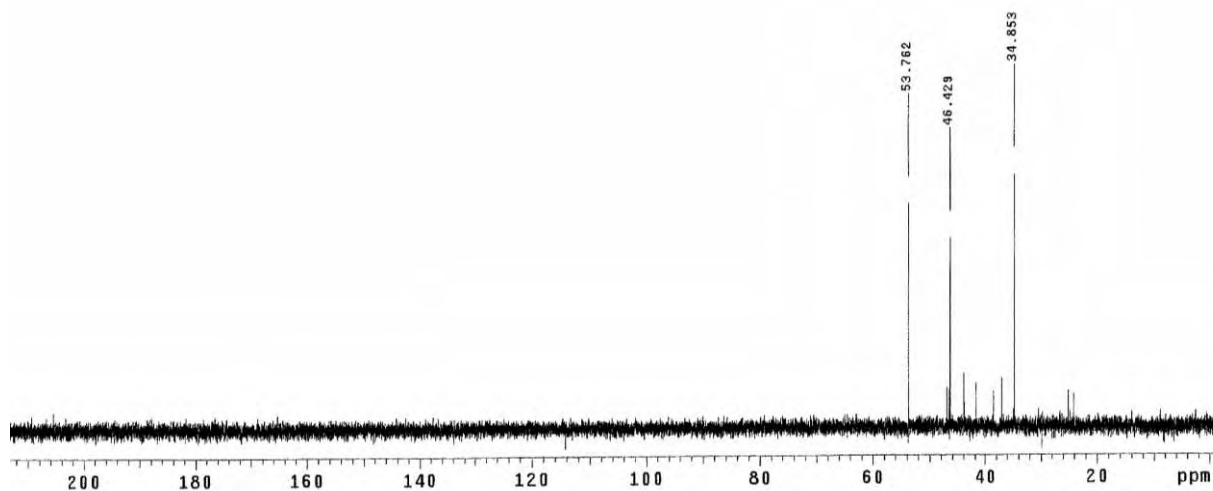
Figura 80. HOMODEC de XIV (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



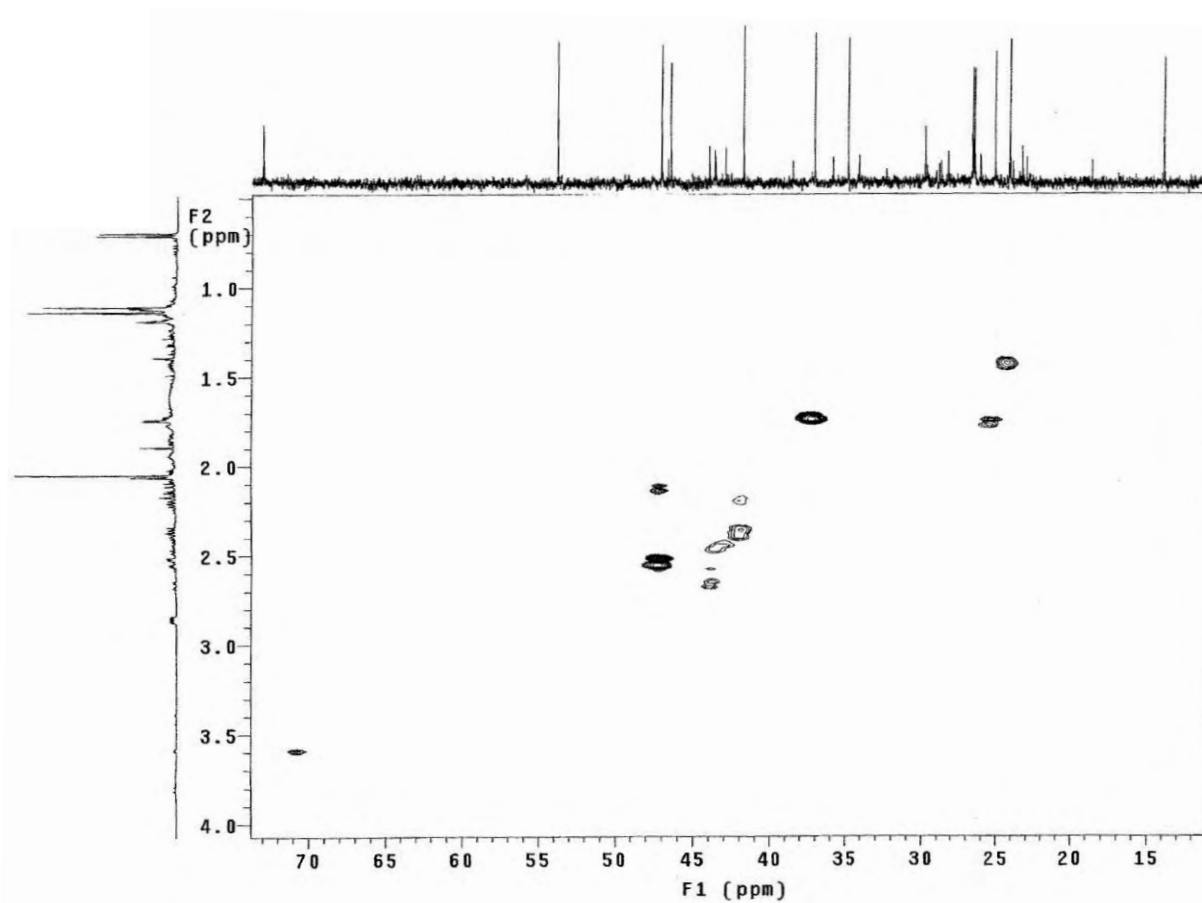
**Figura 81.** Mapa de contornos gCOSY de **XIV** ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).



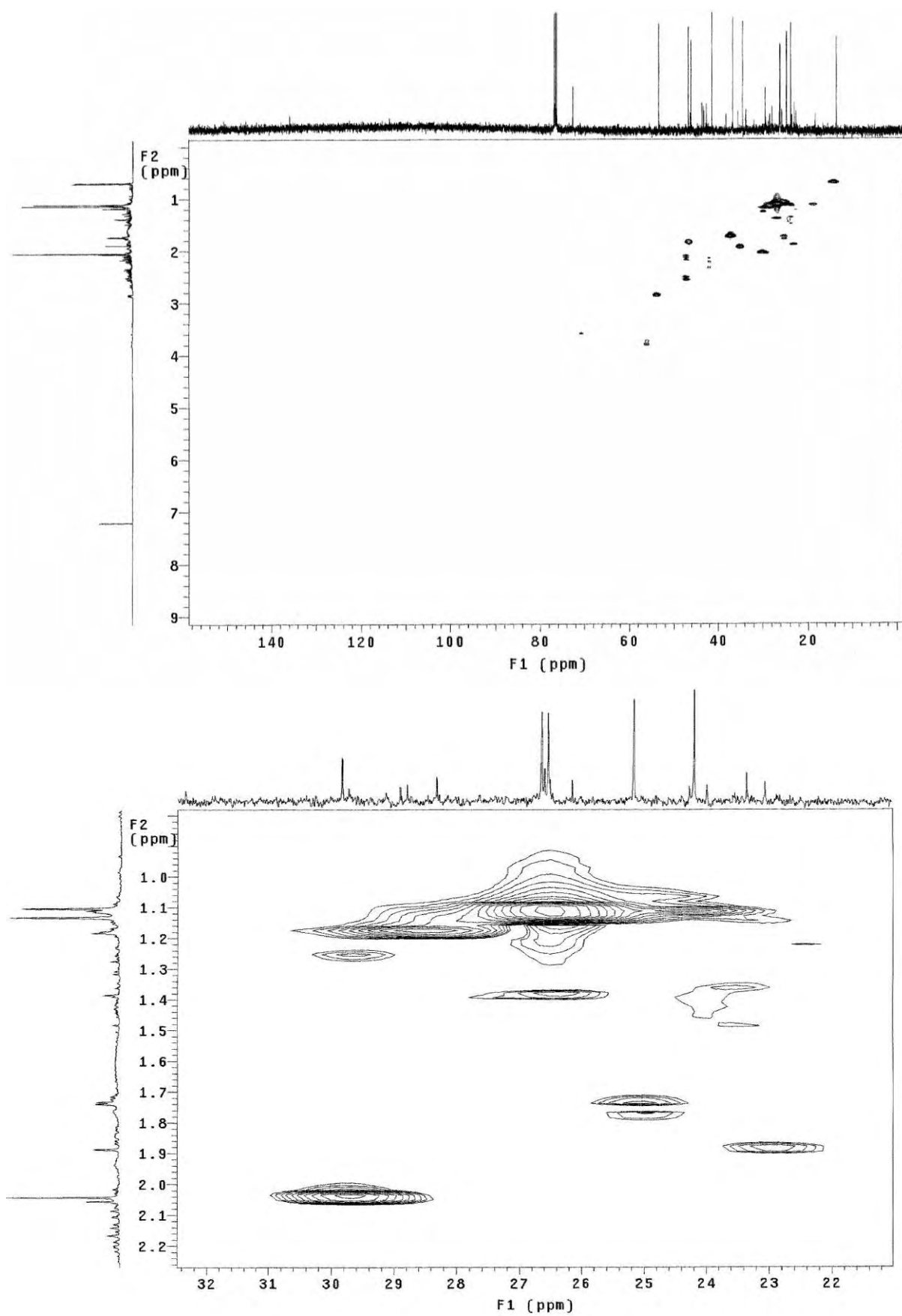
**Figura 82.** Espectros de DEPT. 135 ° de **XIV** ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).



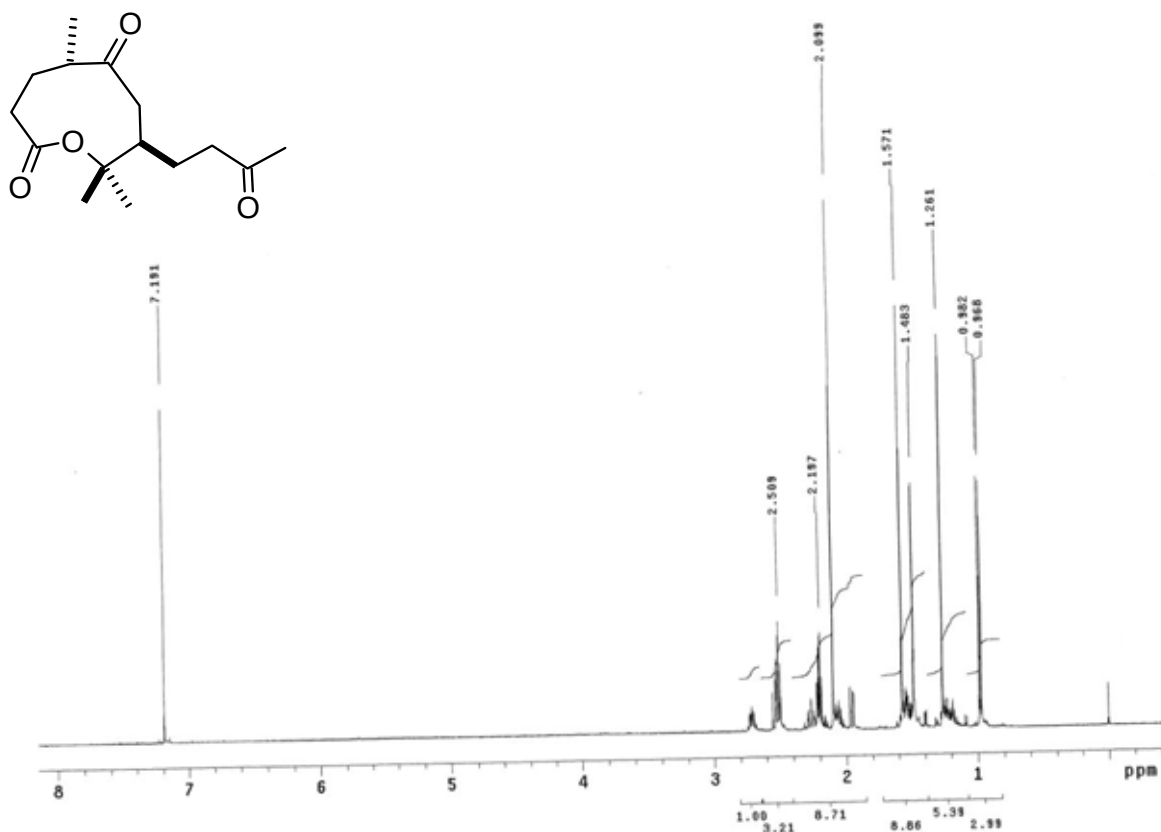
**Figura 83.** Espectros de DEPT. 90 ° de **XIV** (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



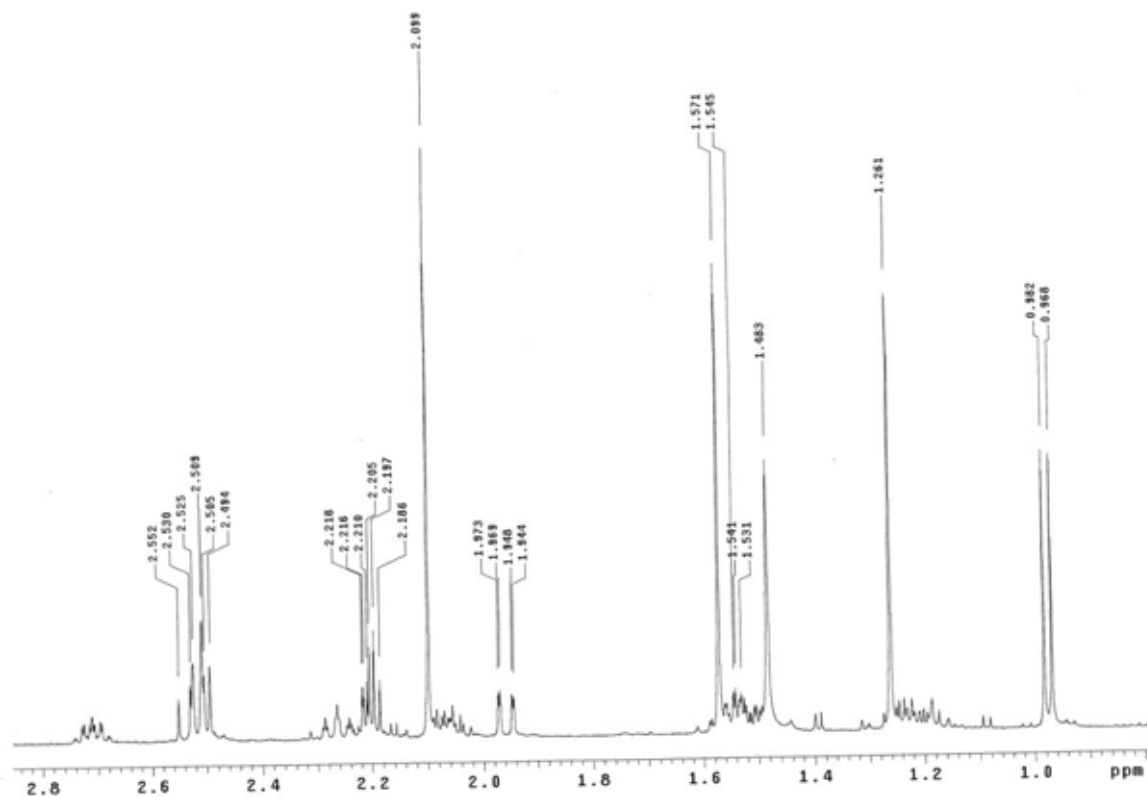
**Figura 84.** Mapa de contornos gHSQC de **XIV** (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



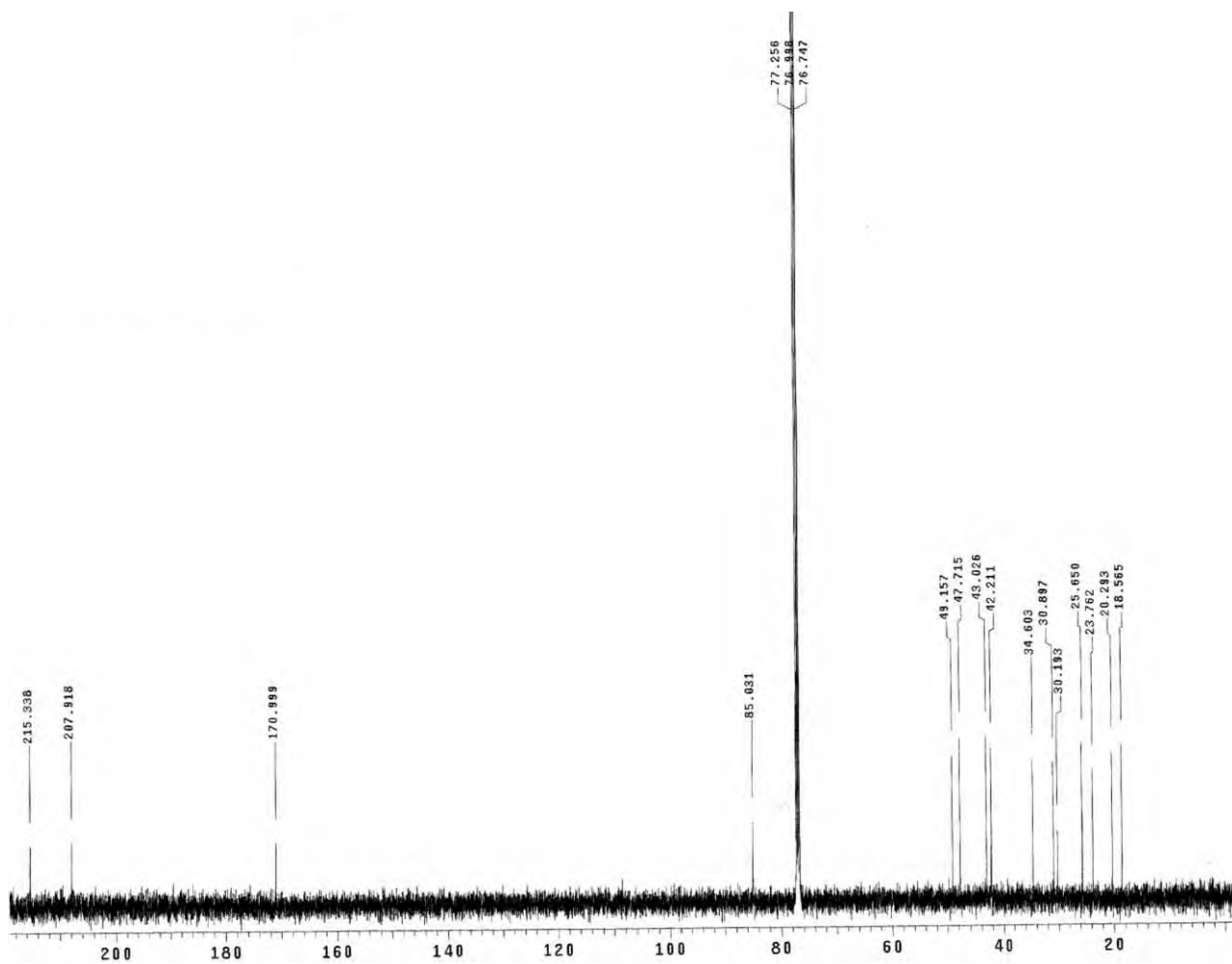
**Figura 85.** Mapa de contornos gHMQC de XIV ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).



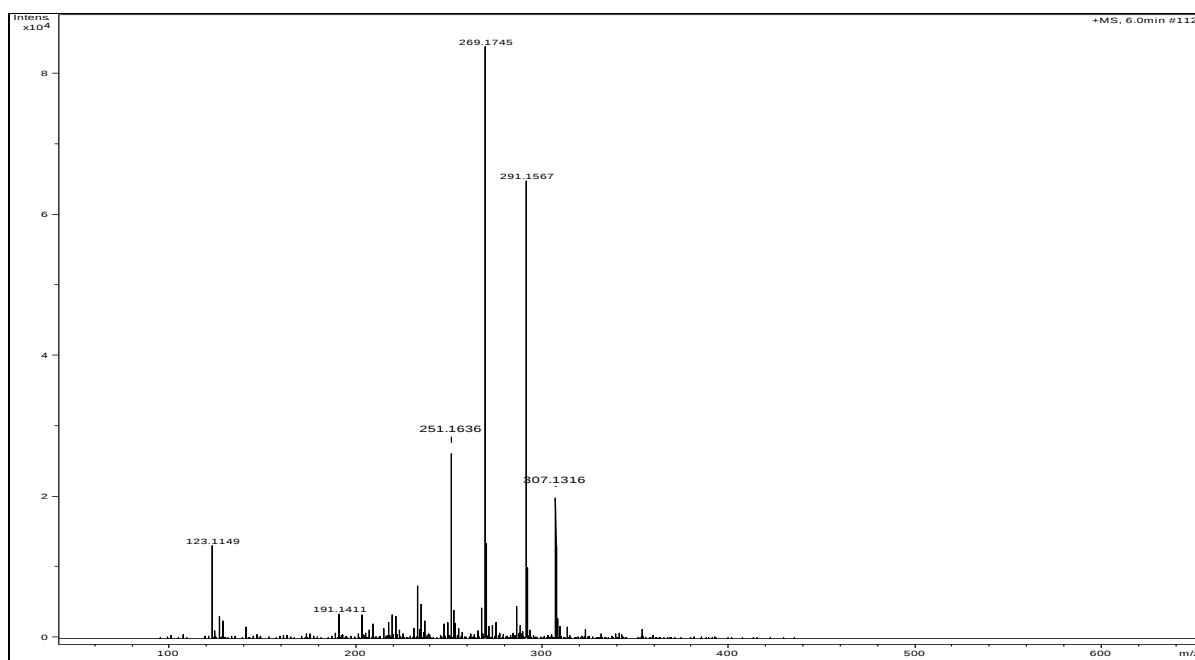
**Figura 86.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de XV (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



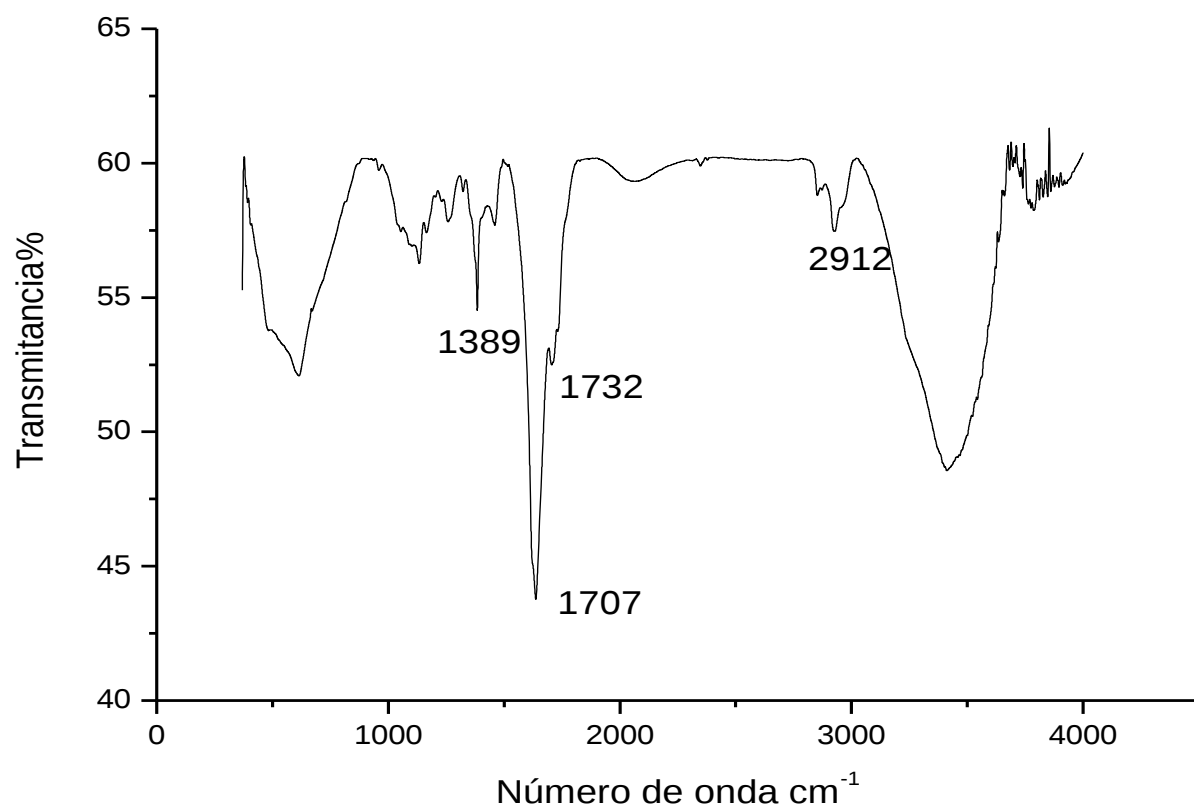
**Figura 87.** Espectro ampliado de RMN de <sup>1</sup>H de XV (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



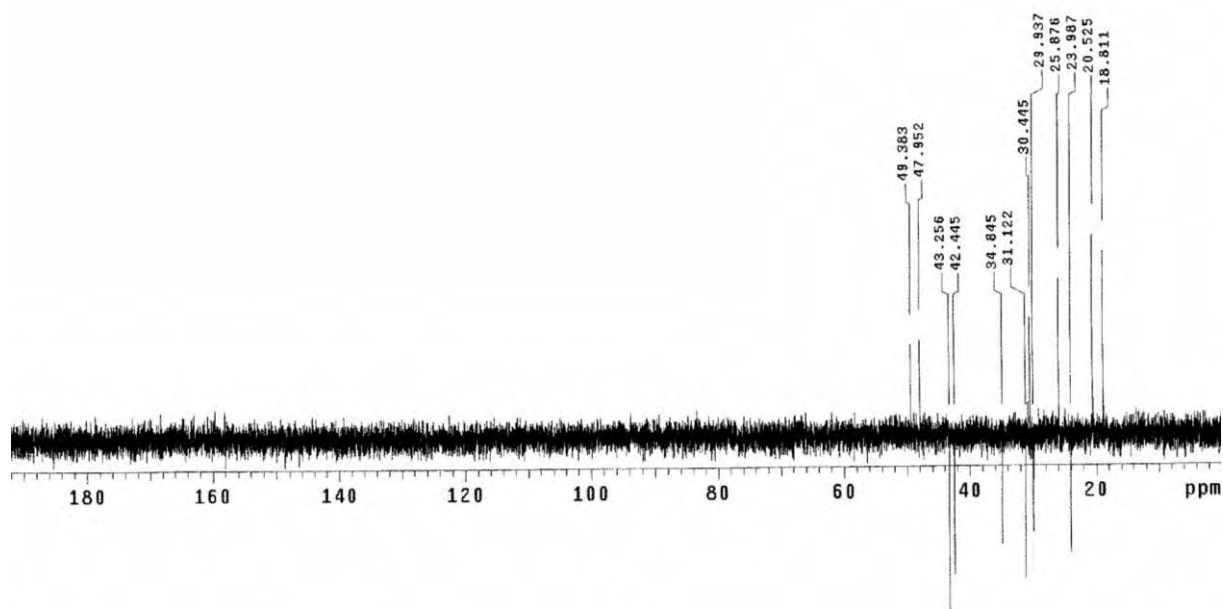
**Figura 88.** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de XV (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



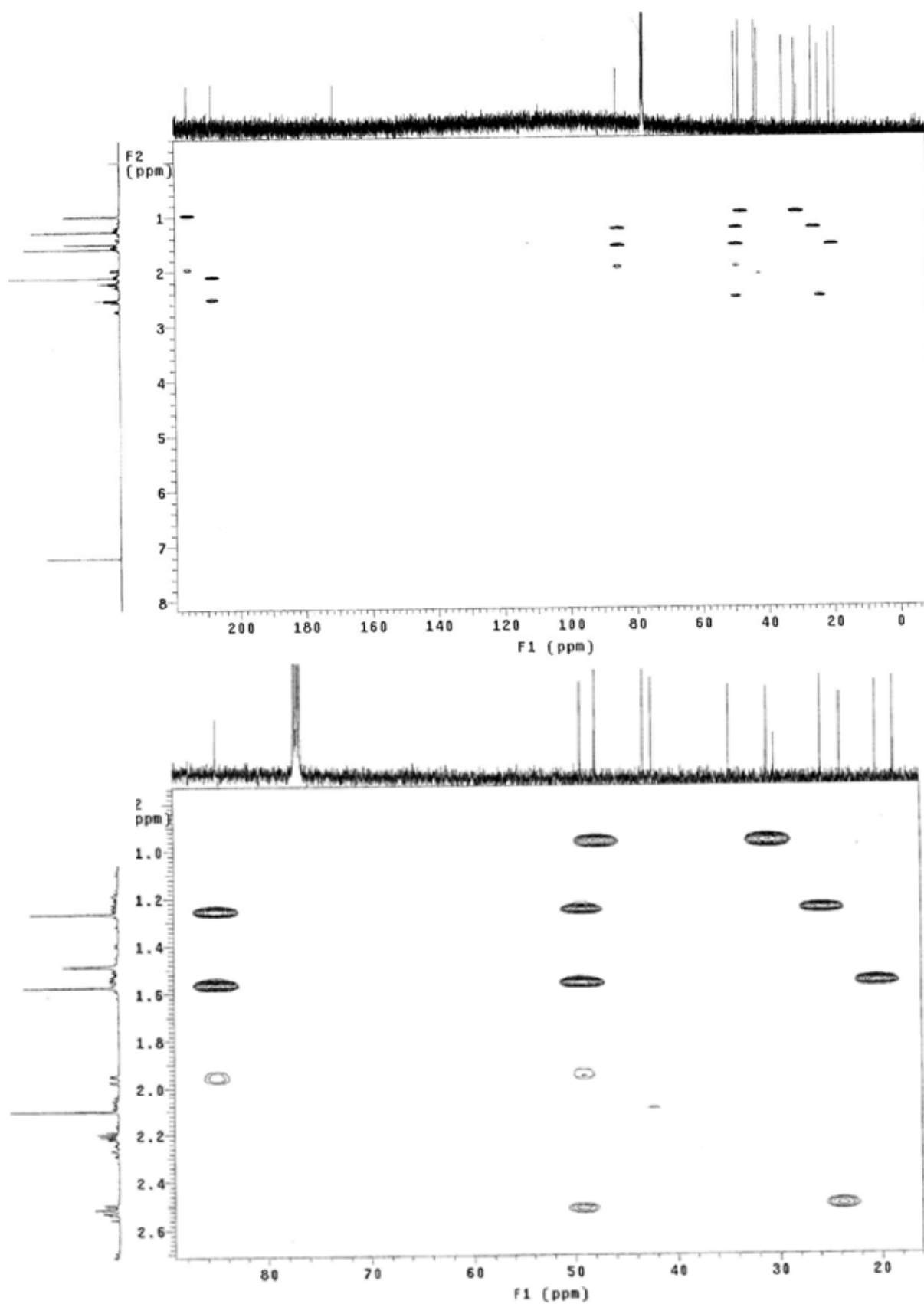
**Figura 89.** Espectro de EM-ESI de XV.



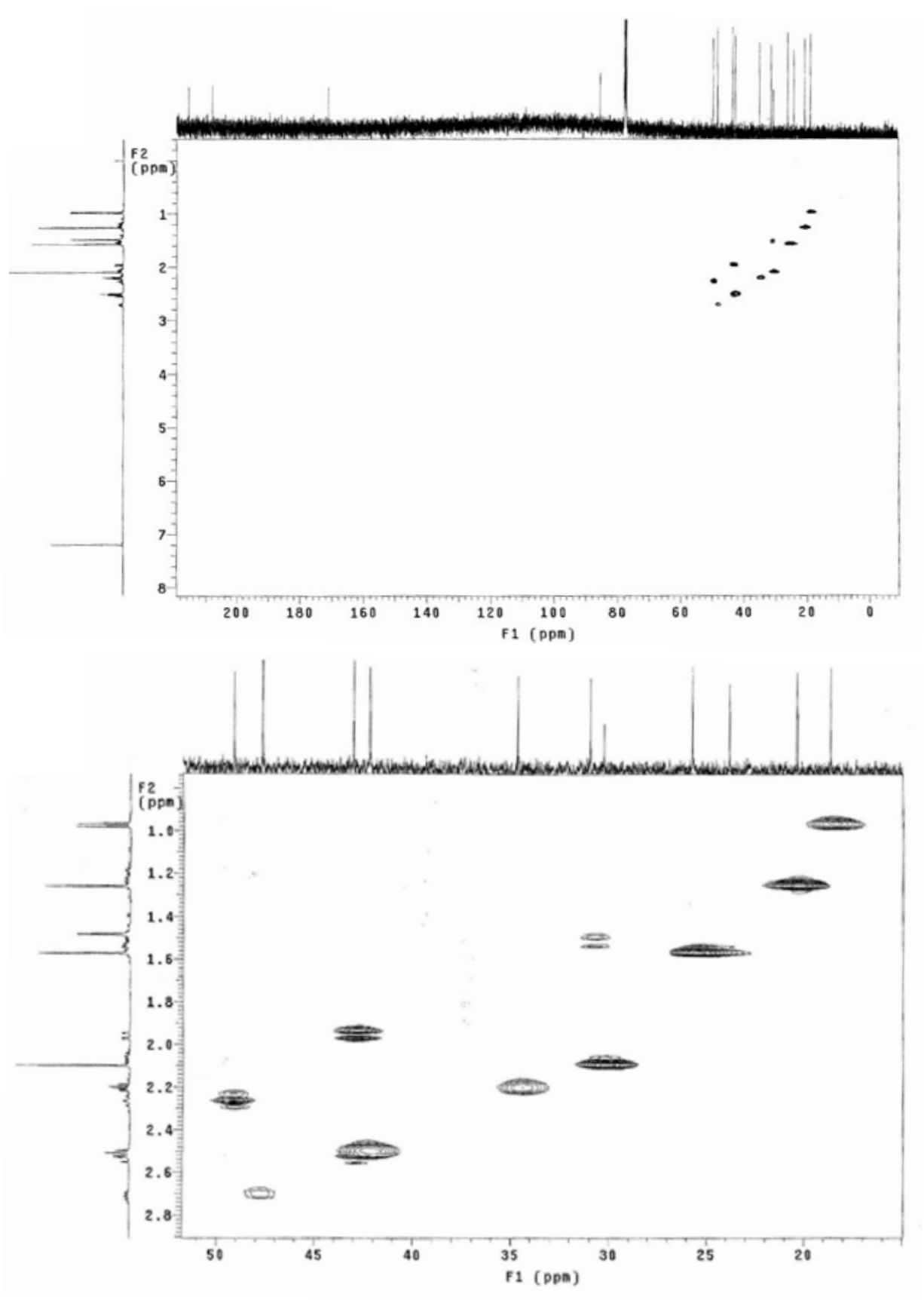
**Figura 90.** Espectro de IV de XV.



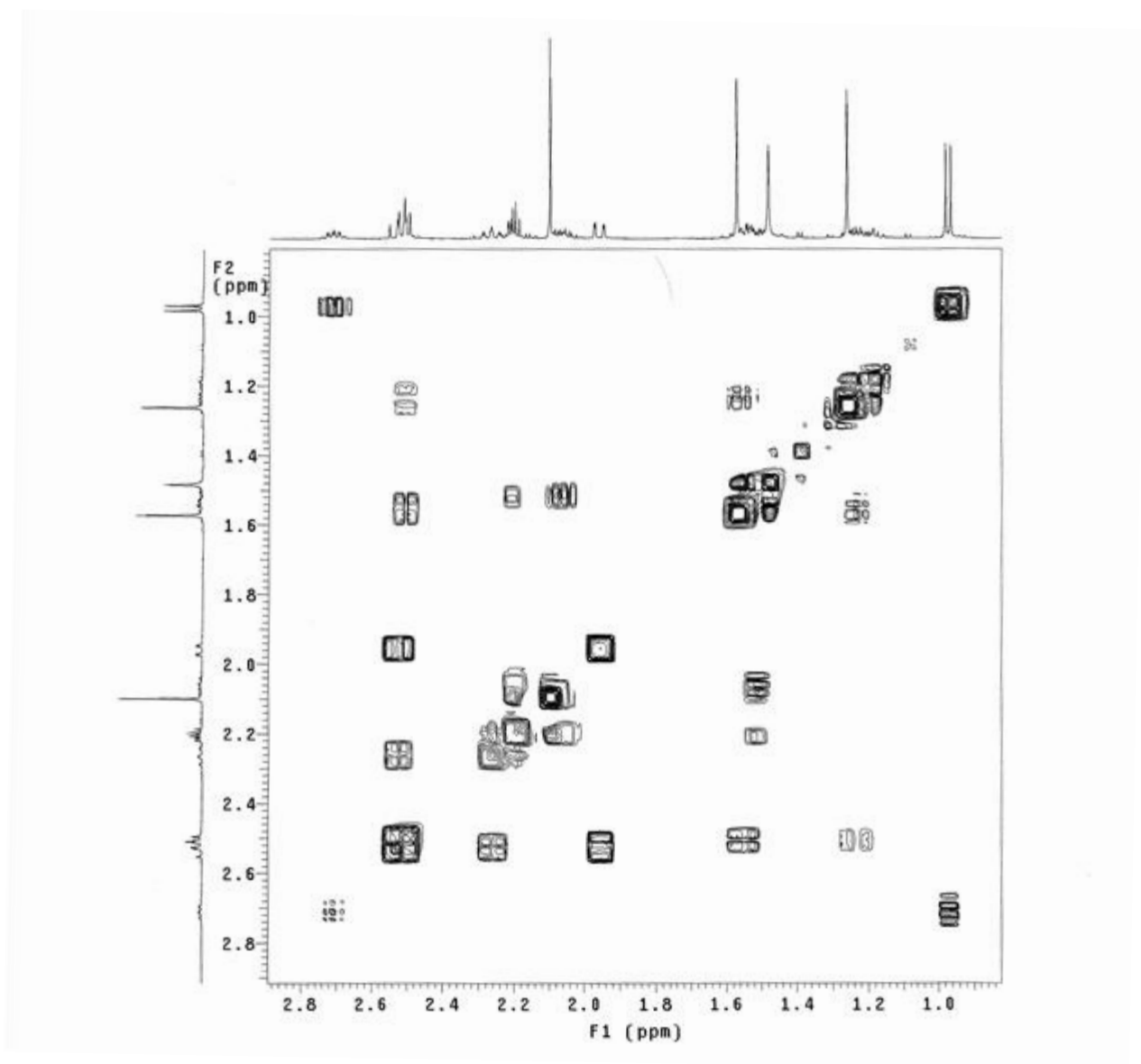
**Figura 91.** Espectro de DEPT 135 ° de XV (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



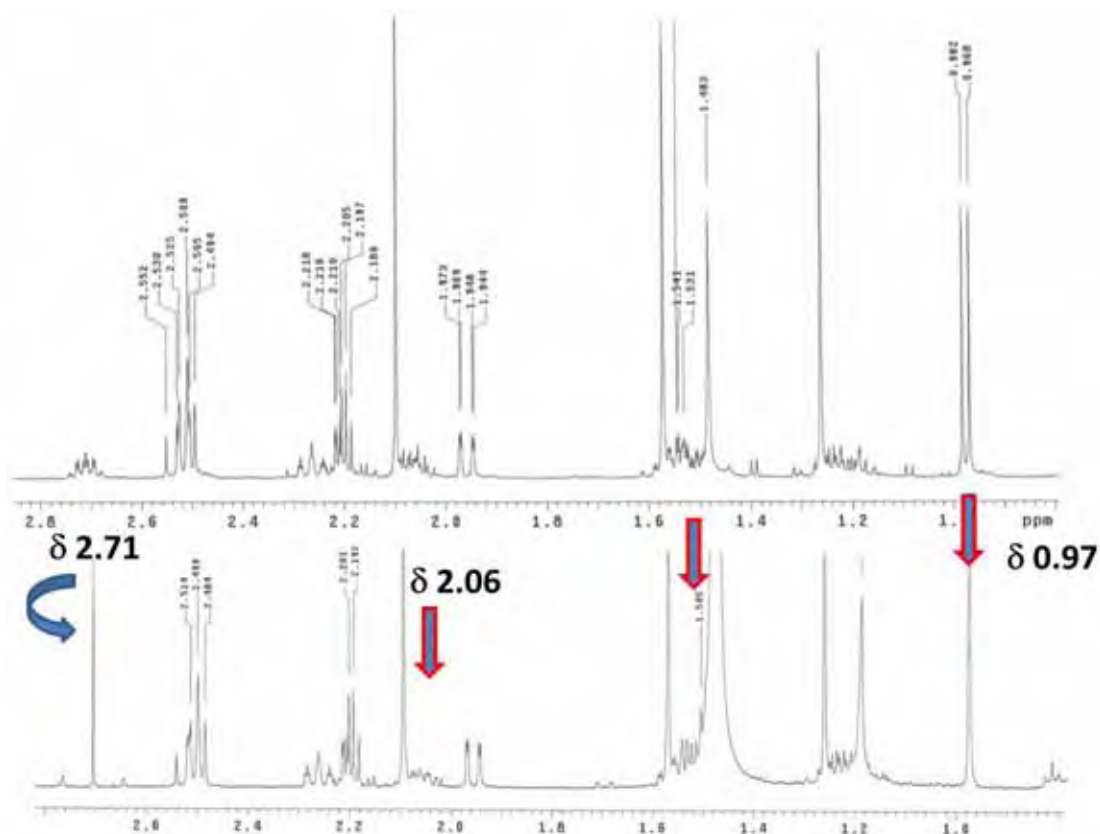
**Figura 92.** Mapa de contornos gHMBC de **XV** (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



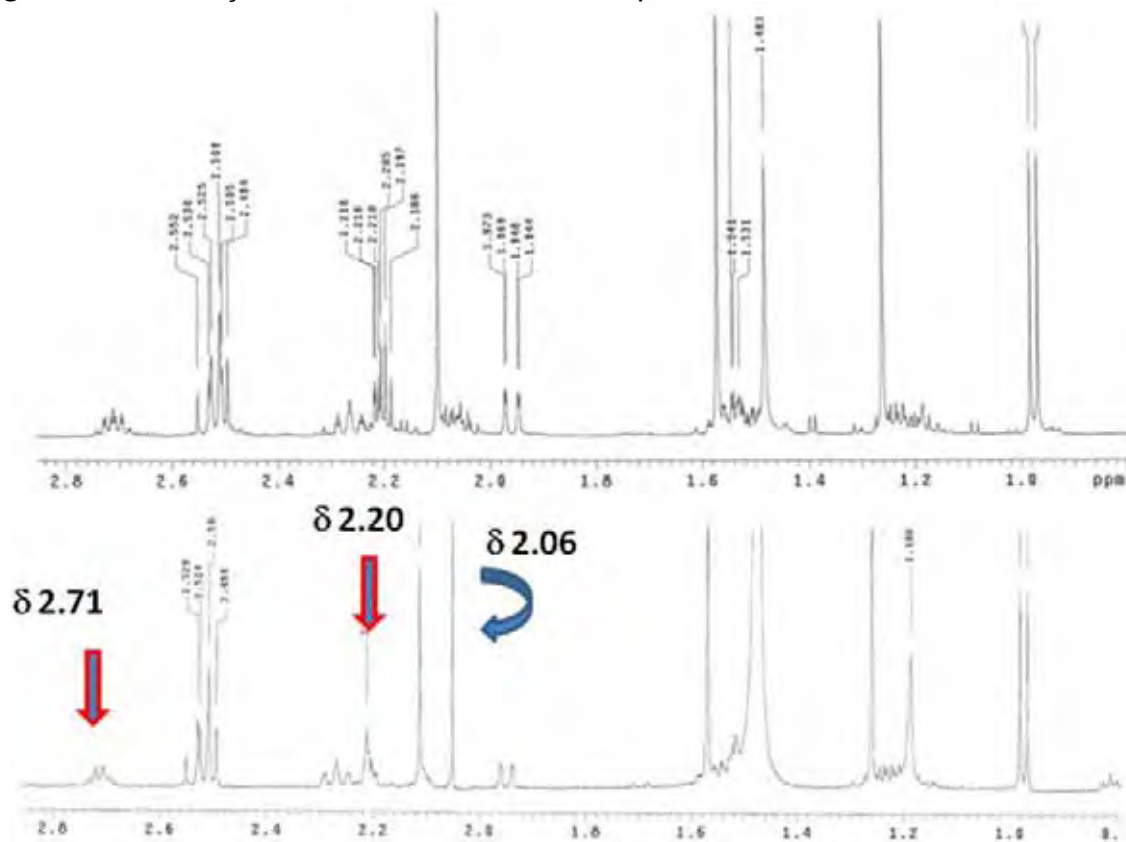
**Figura 93.** Mapa de contornos gHMBC de XV (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



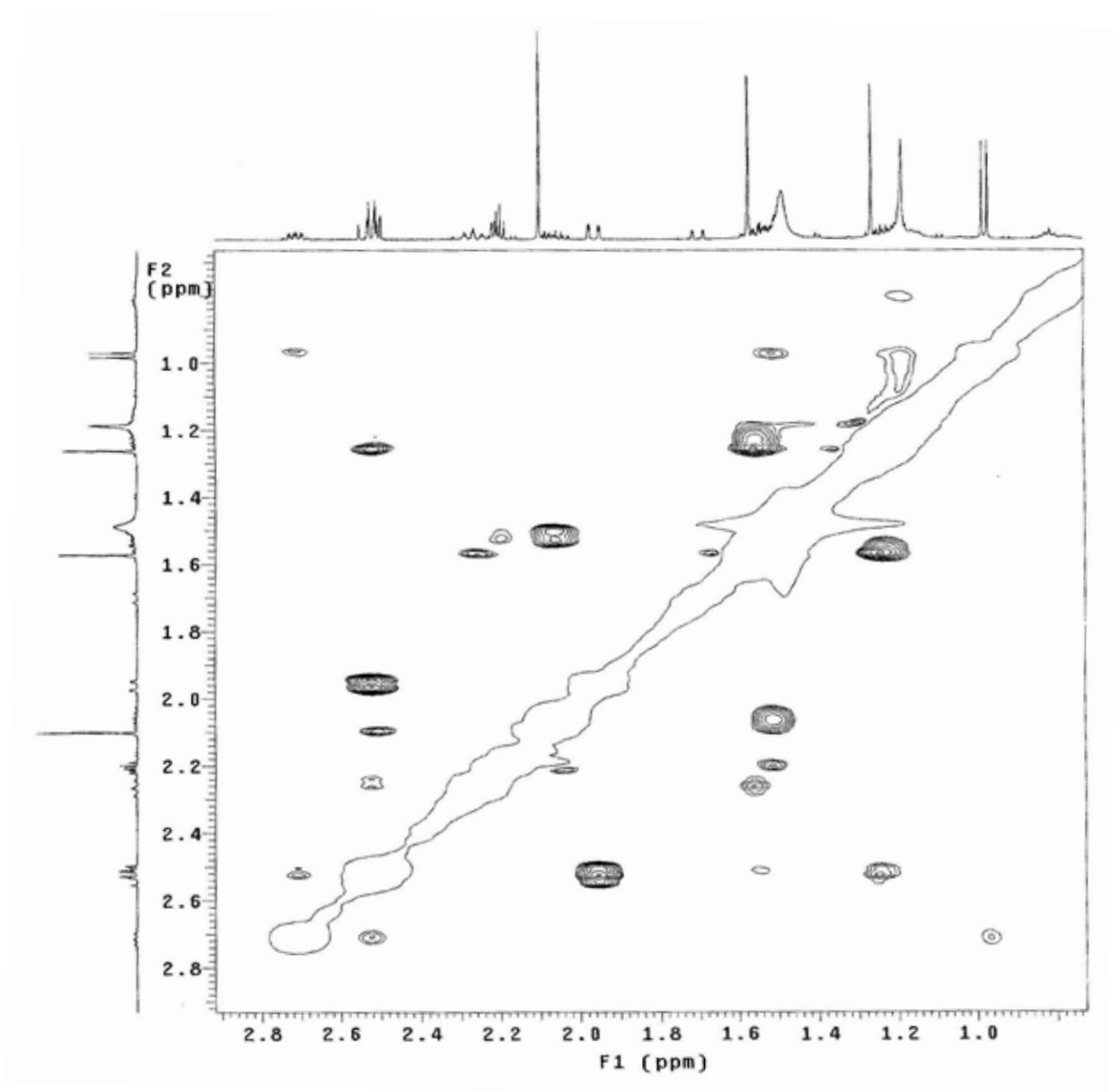
**Figura 94.** Mapa de contornos gCOSY de **XV** (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



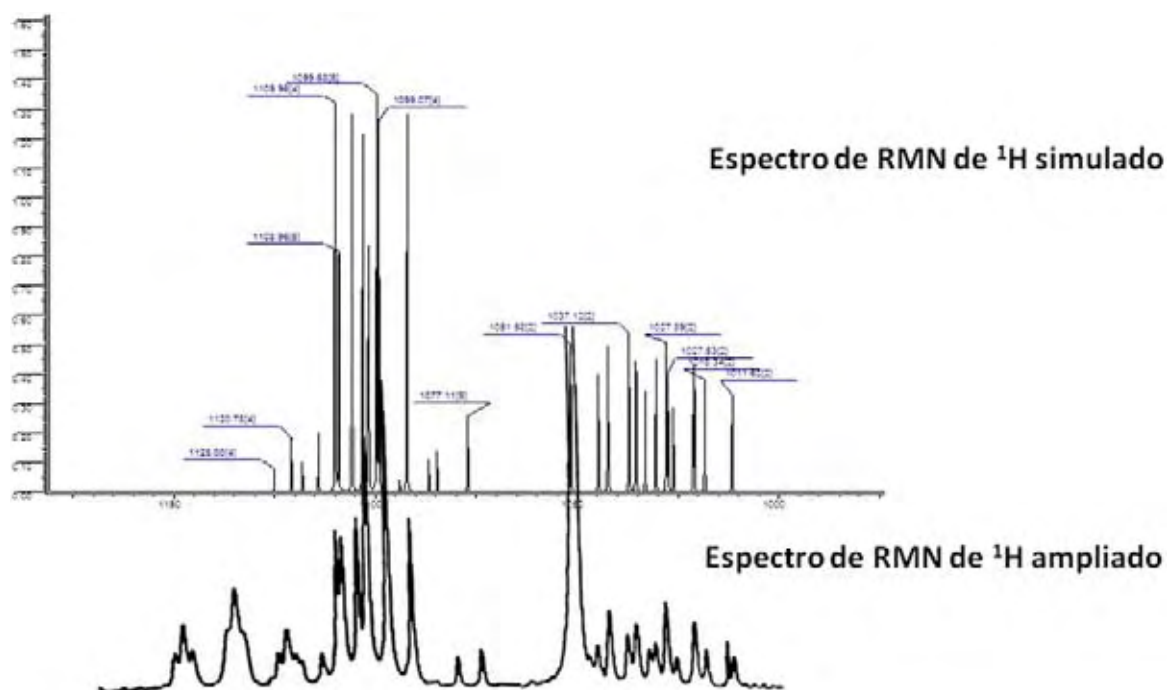
**Figura 95.** Irradiação seletiva em  $\delta$  2,71 em experimento de HOMODEC.



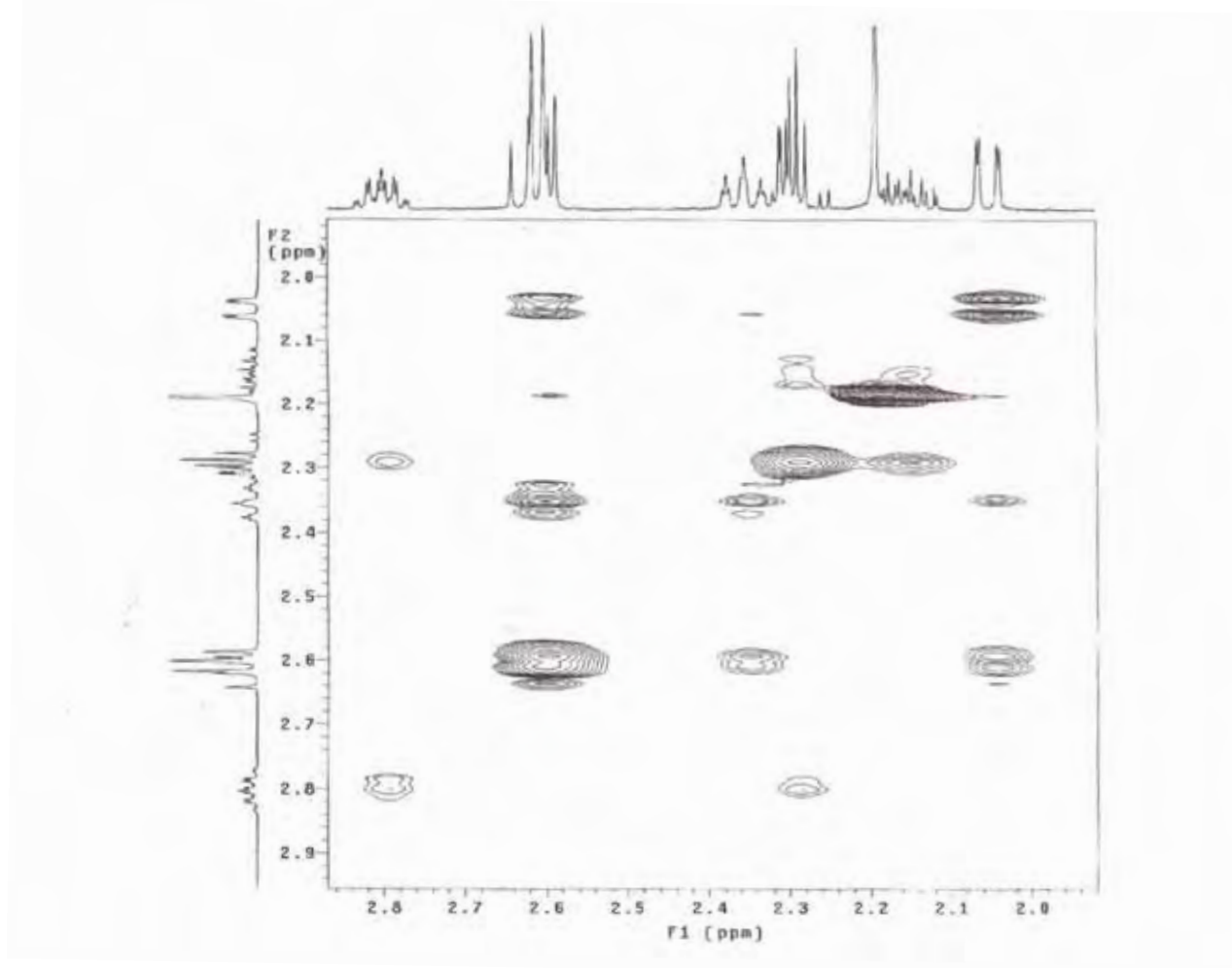
**Figura 96.** Irradiação seletiva em  $\delta$  2,06 em experimento de HOMODEC.



**Figura 97.** Mapa de contornos gNOESY de **XV** ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).



**Figura 98. J:** Calculado usando ACD/ChemSketch Predictors program.



**Figura 99.** Mapa de contornos TOCSY de **XV** ( $\text{CDCl}_3$ , 11,7 T).

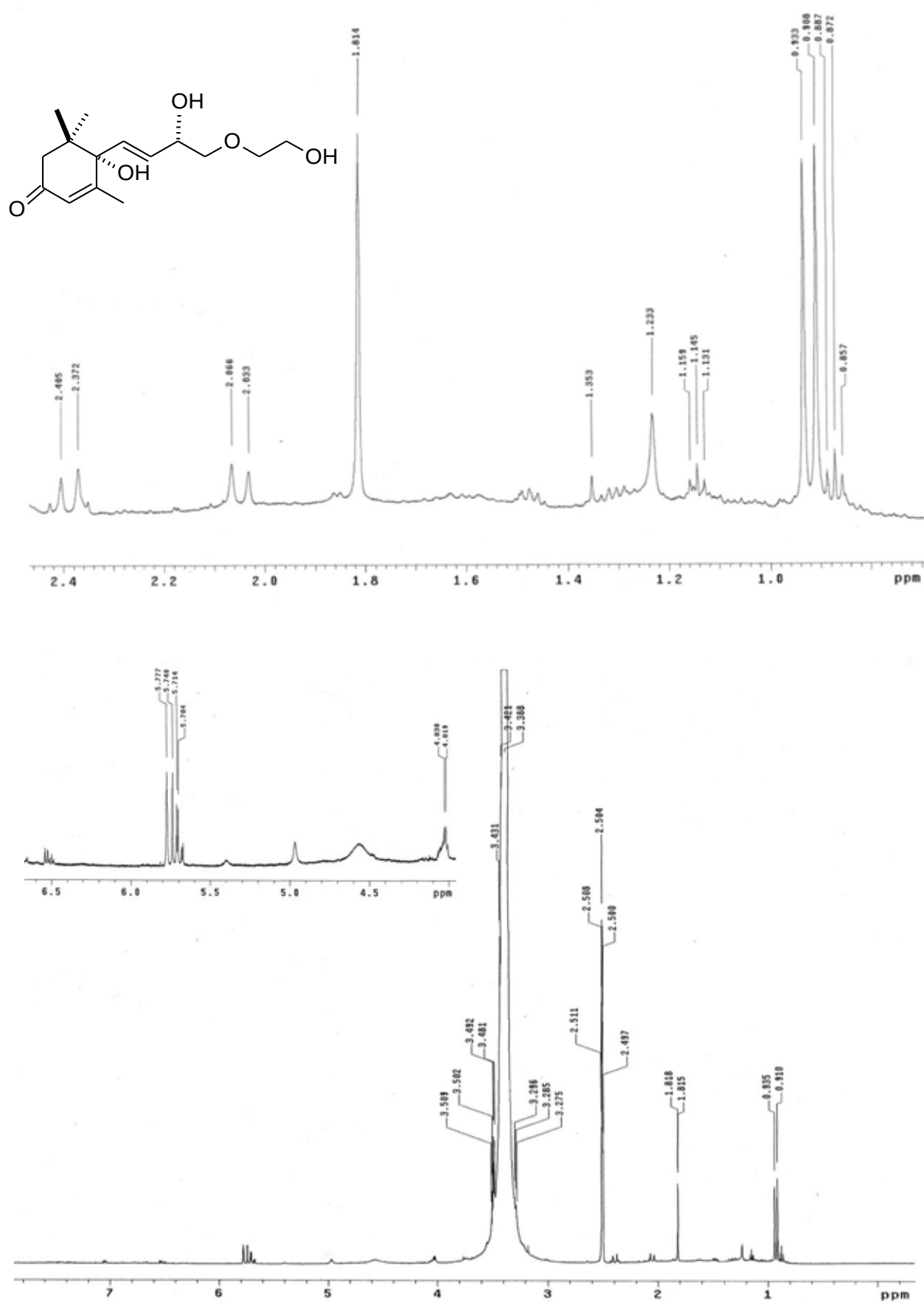
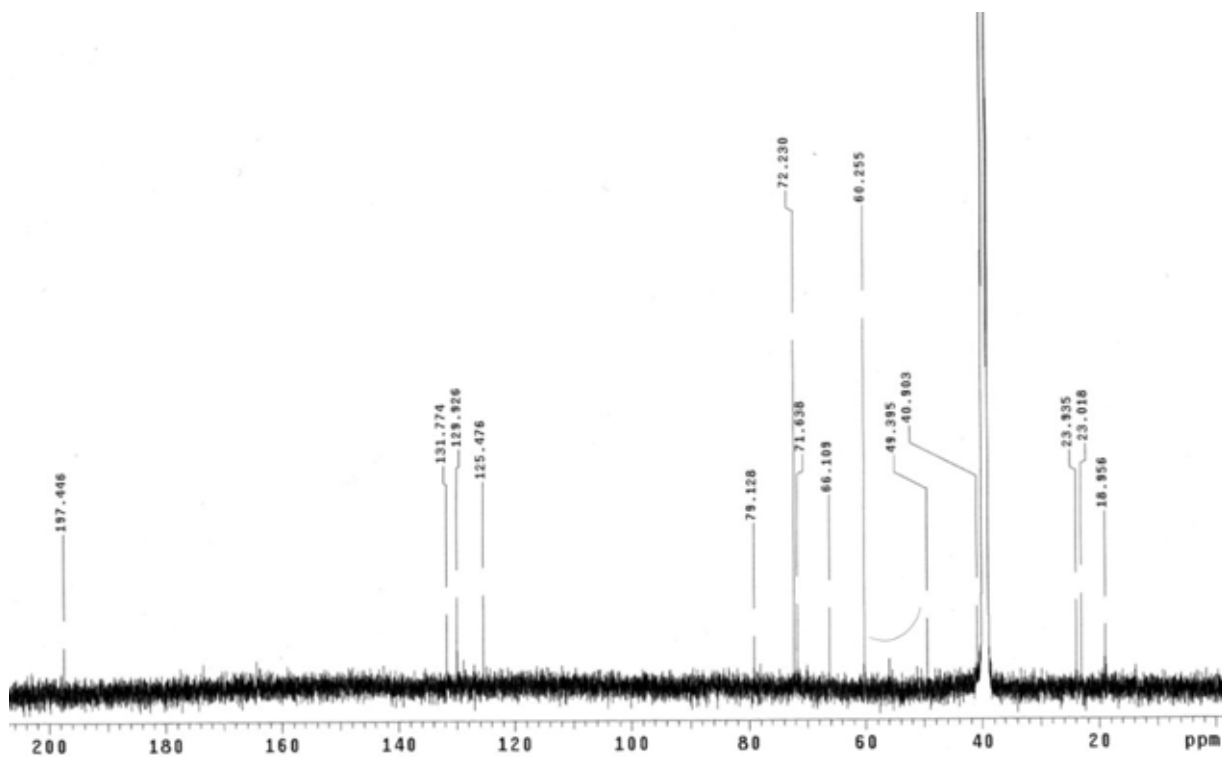
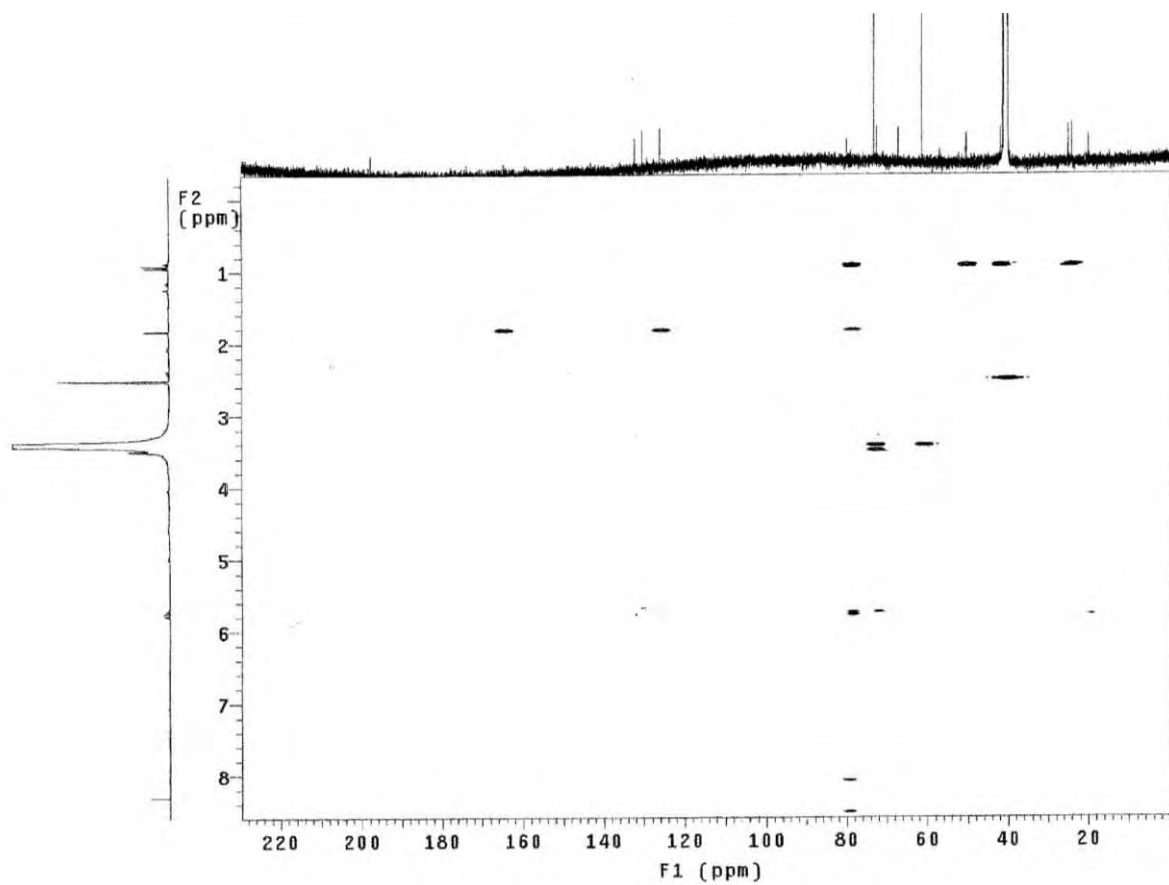


Figura 100. Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de XVI (DMSO- $d_6$ , 11,7 T).



**Figura 101.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **XVI** ( $\text{DMSO}-d_6$ , 11,7 T).



**Figura 102.** Mapa de contornos gHMBC de **XVI** ( $\text{DMSO}-d_6$ , 11,7 T).

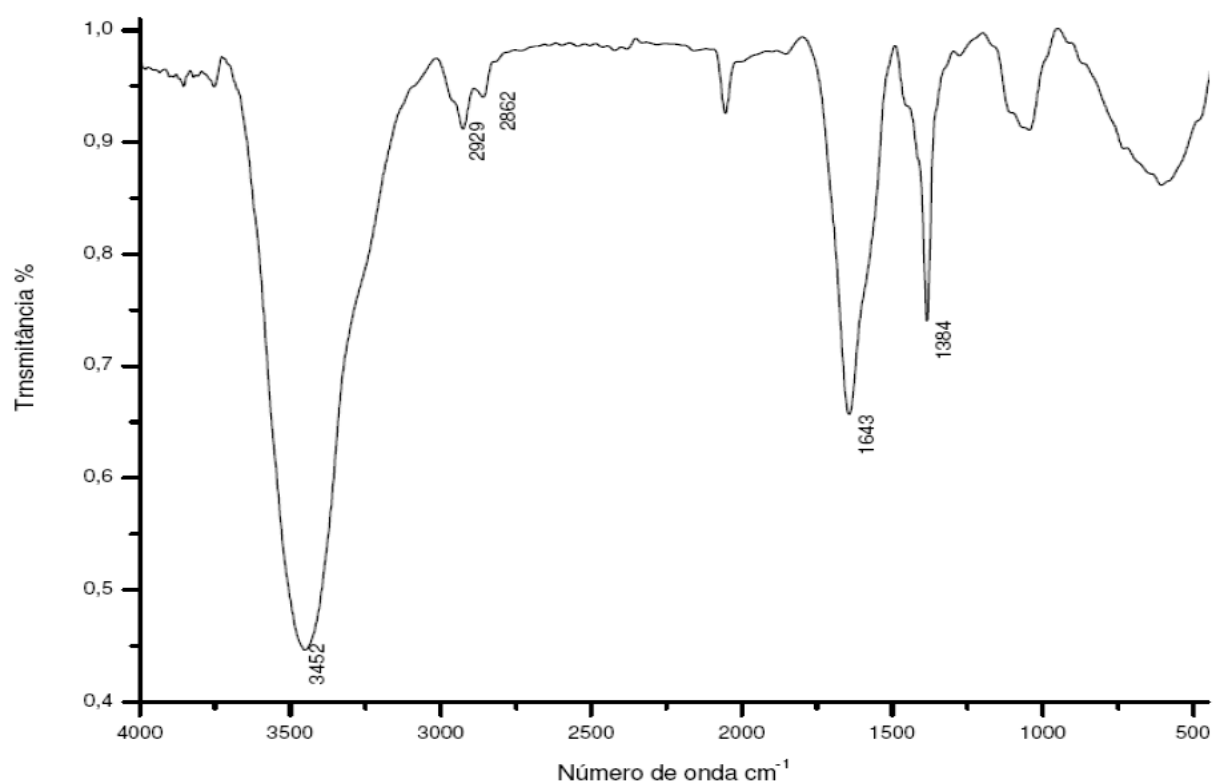


Figura 103. Espectro de absorção no IV (pastilha de KBr) de XVI.

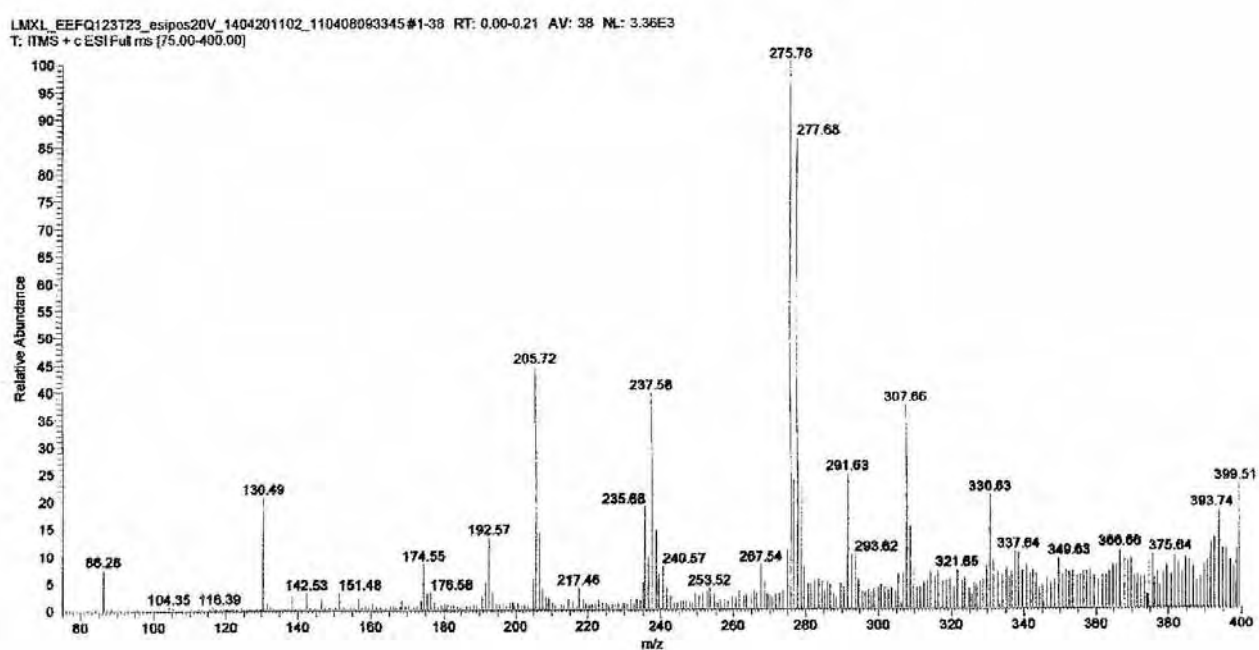
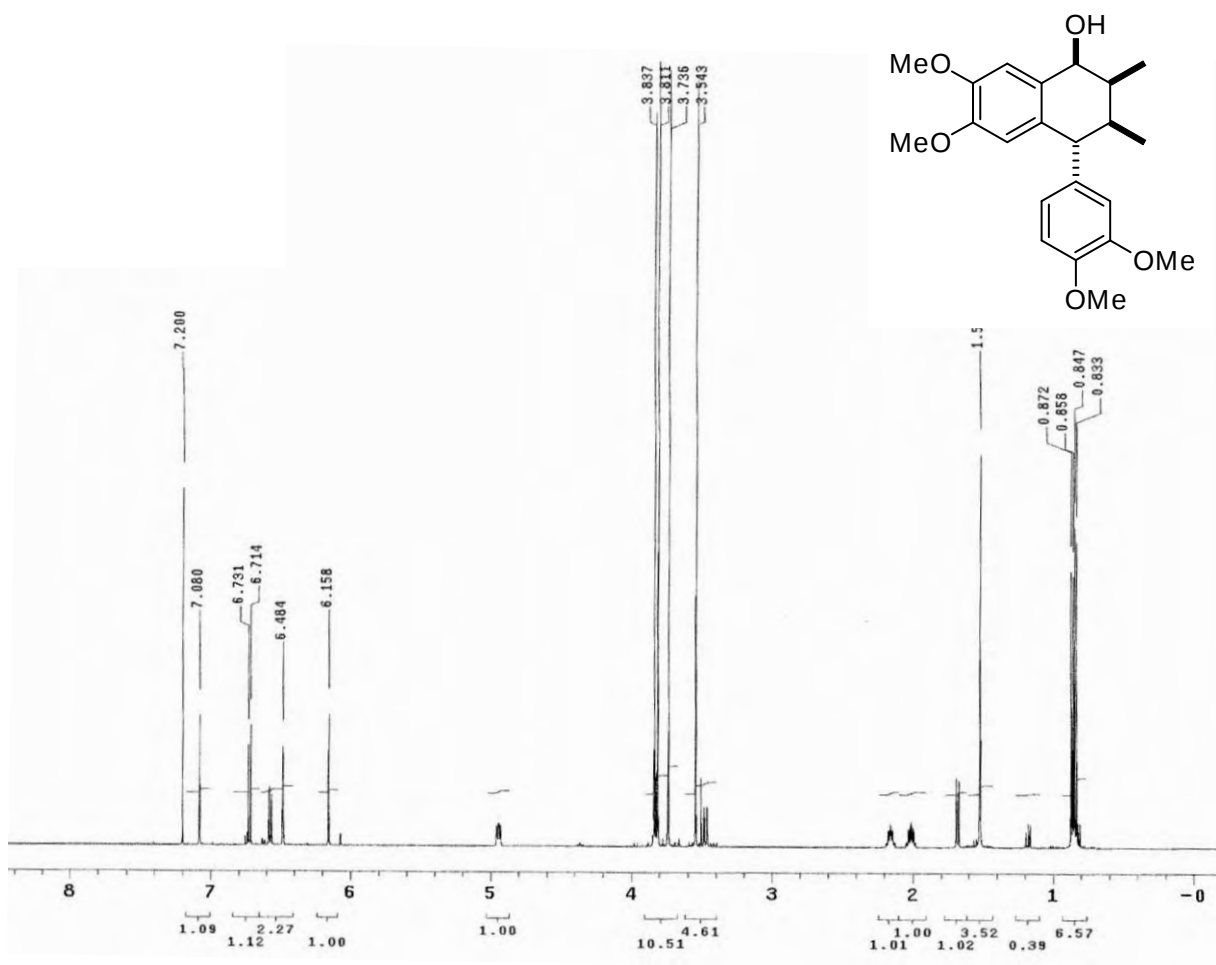
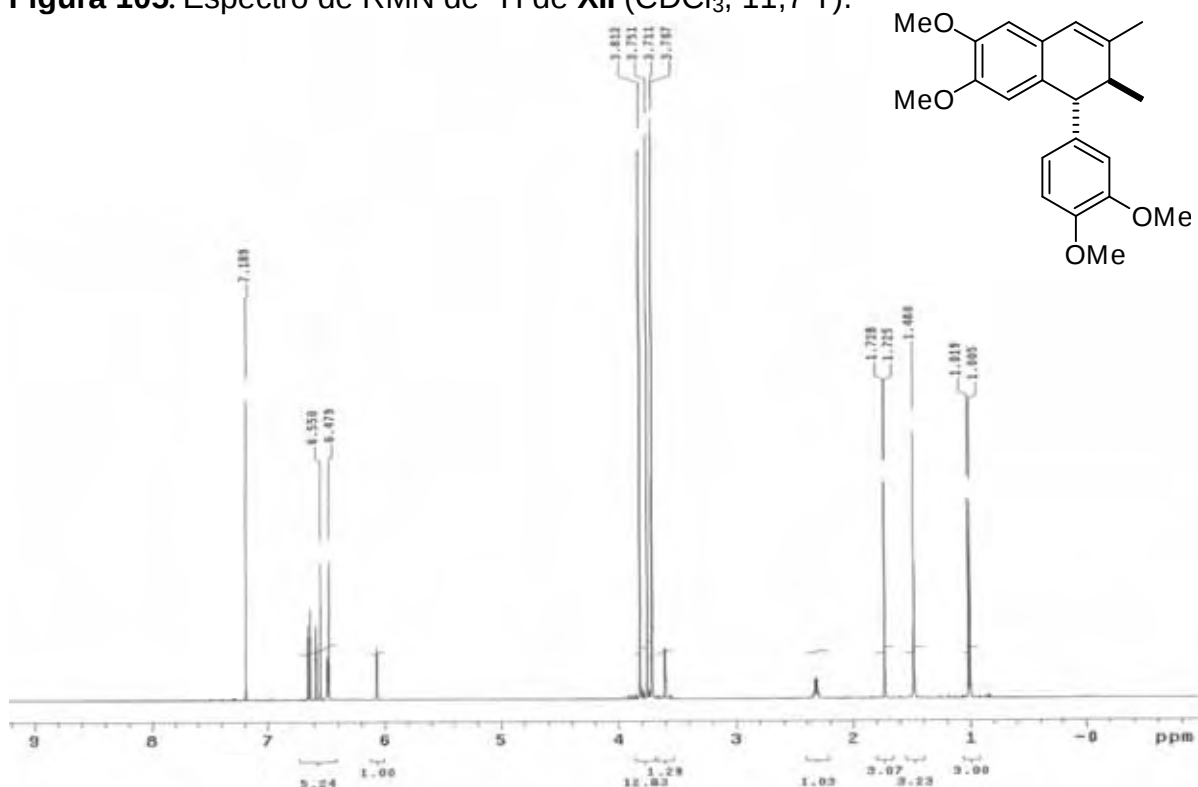


Figura 104. Espectro de EM-ESI de XVI.



**Figura 105.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **XII** (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).



**Figura 106.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **XIII** (CDCl<sub>3</sub>, 11,7 T).