

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

EDIONE F. CANZI

FLAVONOIDES DAS RAÍZES DE *Dahlstedtia glaziovii* (PAPILINOIDEAE)

CURITIBA

2013

EDIONE F. CANZI

FLAVONOIDES DAS RAÍZES DE *Dahlstedtia glaziovii* (PAPILINOIDEAE)

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Química, Curso de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Professora Dra. Beatriz Helena L. de N. Sales Maia

CURITIBA

2013

Dedico este trabalho a todos aqueles que com seus conselhos, apoio e incentivo, fizeram possível tornar mais esta etapa uma realização.

Dedico àqueles que são mais que amigos, constituem uma família!

A meus pais, Nílce e Valdir, cuja ausência me fez tornar um ser forte e sempre capaz de seguir adiante;

Às minhas irmãzinhas Amanda e Julia,

A meus irmãos Adenize e Juceli

e

Ao meu namorado Maurílio.

AGRADECIMENTOS

Demonstro minha gratidão, primeiramente, à Deus, pela oportunidade de existir e a quem tem me ensinado a Conhecê-lo:

"Não se conforme somente com saber que Deus existe. Você deve senti-Lo através das manifestações conscientes de seu próprio espírito; isto lhe será possível à medida que consiga penetrar nos conhecimentos que conduzem a Ele."

Raumsol

Minha eterna gratidão, às minhas "irmãs do coração", Amanda e Julia, que mesmo sem ter consciência do bem que me fazem, são minhas fontes de inspiração e estímulo para prosseguir, mesmo estando distante fisicamente ...

A meus irmãos, Adenize e Juceli, principalmente pela compreensão e paciência, devido à minha ausência durante os estudos e pelo amor de irmão;

Aos todos os seres que constituem minha família, sendo ou não de laço sanguíneo, sou grata pelos elementos de valentia, confiança e afeto.

Ao Maurílio pela colaboração, companheirismo, paciência e amor, e, principalmente, por me dar mais motivos para confiar no futuro;

Agradeço à minha querida orientadora Professora Dra. Beatriz H. L. de Noronha S. Maia, pela dedicação e apoio, pela confiança depositada, pelos conhecimentos transmitidos, por tornar o trabalho agradável e alegre e, principalmente, pelo ser humano que é, pela amizade que se estabeleceu e pelos conselhos que levarei para minha vida!

Agradeço à profa Dra Sirlei Dias Teixeira pela co-orientação e amizade deste a graduação ... e por ter sido a pessoa certa no momento certo, para me mostrar o

caminho para trabalhar com produtos naturais ... Motivo pelo qual eu amo o
que eu faço!

Sou grata a todos meus bons amigos, aos quais me acolheram em momentos
de dificuldades e me deram apoio para prosseguir: família Andretta, família
Pontarolo, família Rousselet, família Reiter, família Tresoldi, família Roriz
Dias;

aos meus amigos do sul: Vaci, Charlene, Robinho, Eder, Gabi, William;

aos amigos que me acompanham desde a graduação: Patrícia Appelt, Camila
Giongo, Cristiane Kalinke, Thiago Cavasotto;

aos que fiz nesta nova etapa: Thalita G. Santos e Vitor VLnieska;

a todos, independente de onde estivermos, sempre estarão presentes em minha
recordação por todos os bons momentos vividos, que fazem a minha vida cada
dia mais feliz;

Agradeço aos meus amigos e colegas do laboratório: Thalita G. Santos, Maria
H. Verdan, Regiane L. B. Strapasson, Dilamara Riva, Nelissa P. Vaz,
Carolina S. Kovalski, Anderson R. dos Santos, Inaiara Casapula, Renata
Olegário, Cassiano Pires, Juliana JÓ, Marineli A. Gelinsk, pelos momentos de
diversão, trabalho, descanso, dificuldades e pela troca de conhecimentos...

Aos colegas do laboratório de síntese: Gustavo, Ricardo e Vinicius;

Agradeço aos colegas e amigos do RMN: Kahlil, Angelita e Alan;

Agradeço aos Professores que fizeram parte desta etapa ...

Ao Professor Dr. Francisco de Assis Marques pelas contribuições e conversas
de sempre...

Aos Professores da banca de qualificação e defesa Prof. Dr. Andersson
Barison, Profa. Dra Ana Luísa L. Lordello e a Profa. Dra. Cleuza Conceição da
Silva pela disponibilidade e colaboração para a culminação deste trabalho.

Agradeço aos professores Dr. João Ernesto de Carvalho e Dra. Marta Cristina T.
Duarte do CPQBA da UNICAMP pela realização dos testes de atividade
antiproliferativa e antimicrobiana, respectivamente.

Agradeço aos professores Dra Ana Maria G. Azevedo e o Dr Marco J. da Silva
pela coleta e identificação da planta;

Ao professor Dr. Massuo J. Kato da USP-SP pela análise de EMAR;

Agradeço à dona Maria e a todas as meninas que passaram pelo nosso lar
neste período de estudos;

Agradeço a CAPES pelo financiamento dos meus estudos...

Ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Paraná e aos
secretários, sempre disposto em colaborar;

Sou grata a todos que colaboraram de alguma forma na minha vida durante
a realização deste trabalho.

“Aprender generosamente significa, também, abrir o coração para a verdade que se manifestou nele; e quando se aprende generosamente, também se ensina generosamente; ensina-se sem manchar a mente com nenhum pensamento egoísta ou mesquinho. Ao fazê-lo, se oferece aquilo que se recebeu primeiro, em homenagem à verdade manifestada em cada um, em homenagem aos conhecimentos que foram assinalando a rota e indicando as atuações mais acertadas a cada passo.”

Raumsol

RESUMO

A família Leguminosae Adans. (Fabaceae) é a terceira maior família de angiospermas, com 720 gêneros, 19.327 espécies e divide-se em três subfamílias (Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae). No Brasil, essa família possui aproximadamente 2.100 espécies em 188 gêneros. Apresenta uma grande particularidade devido ao alto teor de flavonoides, como metabólitos secundários, os quais são de importância taxonômica restrita a essa família. A subfamília Papilionoideae possui grande importância por ser a maior das três subfamílias e pela biossíntese de isoflavonoides, classe incomum em plantas, com importantes atividades biológicas. Dentre os principais gêneros, destacam-se *Lonchocarpus* e *Dahlstedtia* que apresentam grandes semelhanças taxonômicas. Recentemente houve uma nova reclassificação em que *Dahlstedtia* passou a agregar espécies antes pertencentes à *Lonchocarpus*. *Dahlstedtia* Malme apresenta-se endêmico nas Américas, tendo seu centro de diversidade na porção sul da América do Sul, sendo que doze das dezesseis espécies são endêmicas das regiões sul e sudeste do Brasil e leste do Paraguai e Argentina. *Dahlstedtia glaziovii*, restrita ao estado do Rio de Janeiro, é uma árvore de 4 a 12m e apresenta flores violáceas. Devido às diversas atividades biológicas e farmacológicas apresentadas pelos flavonoides, propôs-se o estudo desta espécie, com vistas ao isolamento destes compostos e realização de testes para atividade antiproliferativa *in vitro* contra linhagens de células tumorais humanas e, ainda, atividade antimicrobiana. A parte da planta estudada foram as raízes, devido a alta concentração de flavonoides presente. Após secas e trituradas, o material foi extraído a frio em três polaridades diferente de solvente: éter de petróleo, diclorometano e metanol. Ambos os extratos foram avaliados para testar as atividades acima citadas, sendo que o extrato diclorometânico apresentou melhor atividade, o qual foi fracionado. Vários procedimentos cromatográficos foram realizados para o isolamento de dezenove compostos, sendo um inédito 2'-hidroxi-8-(α - α -dimetilalila)-[3',4':4'',5'']-furanodibenzoilmetano, e os outros já conhecidos como produtos naturais. Todos os compostos isolados são pertencentes à classe dos flavonoides, sendo duas chalconas, seis derivados de dibenzoilmetano, duas flavanonas, oito flavonas e um rotenoide. Uma peculiaridade interessante é o fato de todos estes flavonoides apresentarem grupamentos prenilados, os quais caracterizam as espécies de Papilionoideae e são muito comuns no gênero em estudo e atuam como marcadores quimiotaxonômicos destas espécies. A avaliação da atividade antiproliferativa mostrou que o extrato diclorometânico apresentou-se potente contra as linhagens de células de melanoma e leucemia e moderado para as linhagens de células de câncer de mama, ovário, rim e próstata. Enquanto que o extrato de éter de petróleo apresentou-se potente contra a linhagem de células de melanoma e moderado contra linhagens de câncer de mama, ovário, rim, pulmão. Estes resultados indicam que os flavonoides de *D. glaziovii* apresentam potencial farmacológico.

Palavras-chave: Leguminosae. *Dahlstedtia glaziovii*. Flavonoides prenilados. Atividade antitumoral.

ABSTRACT

The Leguminosae Adans. (Fabaceae) family is the third largest family of angiosperms, with 720 genera and 19,327 species and is divided into three subfamilies (Caesalpinioideae, Mimosoideae and Papilionoideae). In Brazil, this family has approximately 2,100 species in 188 genera. It presents a particularity due its high content of flavonoids like secondary metabolites, which are from taxonomic significance restricted to this family. The subfamily Papilionoideae has large importance being the largest of the three subfamilies and due the biosynthesis of isoflavonoids, uncommon class in plants that present important biological activities. Among the main genera, *Dahlstedtia* and *Lonchocarpus* show taxonomic similarities. Recently, a new reclassification occurred and *Dahlstedtia* comprises species before belonging to *Lonchocarpus*. *Dahlstedtia* Malme is endemic in the Americas, with its center of diversity in the southern portion of South America, with twelve of the sixteen species endemic to the south and southeast regions of Brazil and eastern Paraguay and Argentina. *Dahlstedtia glaziovii* which is restricted to the state of Rio de Janeiro, is a tree of 4 to 12m and presents violet flowers. Due to the variety of biological and pharmacological activities presented by flavonoids, it was proposed the study of this species, in order to isolate these compounds and perform tests for antiproliferative activity *in vitro* against human tumor cell lines and also against antimicrobial activity. The plant's part that was investigated were the roots due its high concentration of flavonoids. After dried and crushed, the material was extracted under normal temperature using three different polarities solvent: petroleum ether, dichloromethane and methanol. Both extracts were tested to above mentioned activities and the dichloromethane extract showed the best activity, so it was fractionated. Several chromatographic procedures were performed for the isolation of nineteen compounds, being one novel 2'-hidroxy-8-(α,α -dimethylallyl)-[3',4':4'',5'']-furanodibenzoylmethane, and others known as natural products. All compounds isolated belong to the class of flavonoids, being two chalcones, six derivatives from dibenzoylmethane, two flavanones, eight flavones and one rotenoid. An interesting fact is that all these flavonoids exhibit prenylated groups, that characterizes the species of Papilionoideae and are very common in the genus in study therefore, acting as chemotaxonomic markers of these species. The antiproliferative assays showed that the dichloromethane extract presented potent activity against cell lines human of melanoma and leukemia and presented moderate activity against cell lines of breast, ovarian, kidney and prostate. While the petroleum ether extract showed potent activity against melanoma cell line and moderate against strains of breast, ovary, kidney and lung. These results indicate that the flavonoids of *D. glaziovii* present pharmacological potential.

Keywords: Leguminosae. *Dahlstedtia glaziovii*. Prenylated flavonoids. Antiproliferative assays.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

1D	Uma dimensão
2D	Duas dimensões
AcOEt	Acetato de Etila
<i>c</i>	Concentração
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CHCl ₃	Clorofórmio
δ	Deslocamento químico
<i>d</i>	Dupleto
DCM	Diclorometano
<i>dd</i>	Duplo dupleto
ϵ	Absortividade molar
EMAR	Espectrometria de massas de Alta Resolução
EEt	Éter etílico
EP	Éter de Petróleo
FTIR	Espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier
HMBC	Correlação heteronuclear em múltiplas ligações
HSQC	Correlação heteronuclear em uma única ligação
Hz	Hertz
IV	Espectroscopia no infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m</i>	Multiplete
[M] ⁺	Íon molecular
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
MeOH	Metanol
NOE	Efeito Nuclear Overhauser
RMN 1H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
RMN 13C{1H}	Ressonância Magnética Nuclear de carbono-13
<i>s</i>	Singleto
<i>sl</i>	Singleto Largo
TMS	Tetrametilsilano
UV-vis	Ultravioleta visível

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Espécies pertencentes ao gênero <i>Dahlstedtia</i> Malme.....	4
Tabela 2: Massas e rendimentos dos extratos de <i>D. glaziovii</i>	22
Tabela 3: Frações obtidas do extrato diclorometânico das raízes de <i>D. glaziovii</i>	23
Tabela 4: Valores de TGI para karanjina e os extratos de <i>D. glaziovii</i>	61
Tabela 5: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG16.	78
Tabela 6: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG19.	81
Tabela 7: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG17.	85
Tabela 8: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG12.	88
Tabela 9: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG10..	91
Tabela 10: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG11.	95
Tabela 11: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG18.	99
Tabela 12: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG14.	102
Tabela 13: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG15.	105

Tabela 14: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG13.	108
Tabela 15: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG5.	.111
Tabela 16: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG3..	114
Tabela 17: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG7.	.117
Tabela 18: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG8..	120
Tabela 19: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG4.	123
Tabela 20: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG1.	.126
Tabela 21: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG2.	130
Tabela 22: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG9..	133
Tabela 23: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância DG6.	.137

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Espécies de <i>Dahlstedtia</i> Malme: A) <i>Dahlstedtia grandiflora</i> . B) <i>Dahlstedtia erythrina</i> . C) <i>Dahlstedtia pentaphylla</i> . D) <i>Dahlstedtia araripensis</i> . E) <i>Dahlstedtia muehlbergiana</i>	5
Figura 2: Alguns flavonoides isolados de espécies do gênero <i>Dahlstedtia</i>	6
Figura 3: Flavonoides isolados de <i>Dahlstedtia</i> com atividade biológica.....	7
Figura 4: <i>Dahlstedtia glaziovii</i>	9
Figura 5: Flavonoides de Leguminosae com atividade biológica.....	12
Figura 6: Biossíntese de flavonoides e 5-desoxiflavonoides em Leguminosae. CHS: chalcona sintase; CHR, chalcona redutase; CHI, chalcona isomerase.....	13
Figura 7: Esqueletos básicos dos flavonoides.....	14
Figura 8: Subclasses de flavonoides e origem biossintética.....	15
Figura 9: Formação dos grupos A) adição de prenila; B) furano e pirano; C) furano dissubstituído; D) metilenodioxí.....	17
Figura 10: Flavonoides isolados de <i>D. glaziovii</i>	32
Figura 11: Propostas estruturais para DG19.....	35
Figura 12: Equilíbrio ceto-enólico para dibenzoilmetano.....	37
Figura 13: Estereoquímica relativa para derivado de dibenzoilmetano substituído em C-8.....	40
Figura 14: Correlações relevantes do HMBC observadas para DG18.....	44
Figura 15: Conformação preferencial do anel C da flavanona e constantes de acoplamento características.....	49
Figura 16: Gráfico da atividade antiproliferativa do extrato de étereo.....	62
Figura 17: Gráfico da atividade antiproliferativa do extrato diclorometânico.....	63
Figura 18: Gráfico da atividade antiproliferativa do extrato metanólico.....	63
Figura 19: Gráfico da atividade antiproliferativa de karanjina.....	64
Figura 20: Proposta de biogênese I.....	65
Figura 21: Proposta de biogênese II.....	66
Figura 22: Proposta de biogênese III.....	66

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Isolamento da flavona DG1	24
Esquema 2: Isolamento das flavonas DG2, DG3, DG4, DG5, DG7, DG8 e DG9 e do rotenoide DG6.	25
Esquema 3: Isolamento dos derivados de dibenzoilmetano DG10, DG11, DG12 e DG14 e da flavanona DG13.....	27
Esquema 4: Isolamento da flavanona DG15.	28
Esquema 5: Isolamento dos derivados de dibenzoilmetano DG17 e DG18 e da chalcona DG16.	29
Esquema 6: Isolamento da chalcona DG19.....	29

LISTA DE ESPECTROS

E1: Espectro de ^1H RMN de DG18 (MHz).	43
E2: Ampliações dos sinais referentes aos hidrogênios do grupo dimetilalila e H-3" (anel furano) acoplando com H-5' (anel B).	44
E3: Espectro de massas de alta resolução de DG18.	45
E4: Espectro no IV com as principais bandas de DG18.	46
E 5: Espectro no UV de DG18.	47
E 6: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG16.	79
E 7: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG16.	79
E 8: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG16.	80
E 9: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG19.	82
E 10: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG19.	82
E 11: Espectro de NOE referente aos hidrogênios em 3,92 (OCH_3) e 5,47 (H-5') de DG19 (CDCl_3 , 400 MHz).	83
E 12: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG19.	84
E 13: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG17.	86
E 14: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG17.	86
E 15: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG17.	87
E 16: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG12.	89
E 17: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG12.	89
E 18: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG12.	90
E 19: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG10.	92
E 20: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz) em CDCl_3 de DG10.	92
E 21: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG10.	93
E 22: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG10.	94
E 23: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG11.	96
E 24: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz) em CDCl_3 de DG11.	96
E 25: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG11.	97
E 26: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG11.	98

E 27: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG18.	100
E 28: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG18.	101
E 29: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG14.	103
E 30: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG14.	103
E 31: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG14.	104
E 32: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG15.	106
E 33: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG15.	106
E 34: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG15.	107
E 35: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG13.	109
E 36: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG13.	109
E 37: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG13.	110
E 38: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG5.	112
E 39: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG5.	112
E 40: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG5.	113
E 41: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG3.	115
E 42: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG3.	115
E 43: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG3.	116
E 44: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG7.	118
E 45: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG7.	118
E 46: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG7.	119
E 47: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG8.	121
E 48: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG8.	121
E 49: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG8.	122
E 50: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG4.	124
E 51: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG4.	124
E 52: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG4.	125
E 53: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG1.	127
E 54: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz) em CDCl_3 de DG1.	127
E 55: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG1.	128
E 56: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG1.	129

E 57: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG2.	131
E 58: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG2.	131
E 59: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG2.	132
E 60: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG9.	134
E 61: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG9.	134
E 62: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG9.	135
E 63: Sobreposição e ampliação da região dos hidrogênios de dupla ligação e aromáticos.....	136
E 64: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG6.	138
E 65: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG6.	138
E 66: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG6.	139

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 FAMÍLIA LEGUMINOSAE (FABACEAE)	2
1.2 GÊNERO <i>DAHSLTEDTIA</i> (TRIBO MILLETTIEAE - PAPILIONOIDEAE)	3
1.3 <i>DAHSLTEDTIA GLAZIOVII</i> (TAUBERT) M.J.SILVA & A.M.G.AZEVEDO, COMB. NOV.	8
1.4 FLAVONOIDES.....	10
1.41 Biossíntese dos flavonoides	12
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 GERAL.....	19
2.2 ESPECÍFICOS	19
3 PARTE EXPERIMENTAL	20
3.1 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS E EQUIPAMENTOS	20
3.2 COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA	21
3.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS	22
3.4 FRACIONAMENTO DO EXTRATO DE DCM	22
3.5 ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA <i>IN VITRO</i>	30
3.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA <i>IN VITRO</i>	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1 CHALCONAS	33
4.1.1 Determinação estrutural de DG16	33
4.1.2 Determinação estrutural de DG19	34
4.2 DERIVADOS DE DIBENZOILMETANO.....	36
4.2.1 Determinação estrutural de DG17	36
4.2.2 Determinação estrutural de DG12	38
4.2.3 Determinação estrutural de DG10	39
4.2.4 Determinação estrutural de DG11	41
4.2.5 Determinação estrutural de DG18	42

4.2.6 Determinação estrutural de DG14	47
4.3 FLAVANONAS	48
4.3.1 Determinação estrutural de DG15	49
4.3.2 Determinação estrutural de DG13	50
4.4 CROMENOFILAVONAS.....	51
4.4.1 Determinação estrutural de DG5	52
4.4.2 Determinação estrutural de DG3	53
4.4.3 Determinação estrutural de DG7	54
4.4.4 Determinação estrutural de DG8	55
4.5 FURANOFILAVONAS	56
4.5.1 Determinação estrutural de DG4	56
4.5.2 Determinação estrutural de DG1	57
4.5.3 Determinação estrutural de DG2	58
4.5.4 Determinação estrutural de DG9	59
4.6 ROTENOIDES.....	60
4.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA <i>IN VITRO</i>	61
4.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA <i>IN VITRO</i>	64
4.9 PROPOSTA DA BIOGÊNESE DOS FLAVONOIDES DE <i>D. glaziovii</i>	64
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	69
ANEXO.....	78

1 INTRODUÇÃO

A importância do estudo de produtos naturais tem se tornado cada vez mais evidente e necessário, uma vez que estes têm desempenhado um papel dominante no desenvolvimento de medicamentos para o tratamento de doenças humanas. Podendo ser utilizados diretamente como princípios ativos, ou ainda, servir como material de partida para a síntese, fornecendo modelo para a obtenção de moléculas estruturalmente semelhantes com atividade biológica.

Produtos naturais são caracterizados como moléculas de metabólitos secundários biossintetizados por plantas terrestres e marinhas, fungos, bactérias, protozoários, insetos e animais (Strohl, 2000). São produzidos por organismos vivos em resposta a estímulos externos, em decorrência da interação com outros organismos e com o meio ambiente. Constituindo-se, principalmente, como defesa e adaptação para o organismo. Este metabolismo caracteriza-se como não essencial para o crescimento e desenvolvimento de um organismo, produzindo estruturas complexas e de baixo peso molecular, dentre as principais classes destacam-se os alcaloides, terpenoides e derivados de fenilpropanoides.

Muitos produtos naturais possuem importantes atividades farmacológicas, sendo que 60% das drogas anticancerígenas e 75% das utilizadas no tratamento de doenças infecciosas ou são de origem natural ou derivadas de produtos naturais (Furlan *et al*, 2012). As plantas medicinais representam, desde os primórdios da humanidade, a melhor fonte de cura para diversas doenças. Metabólitos secundários de plantas e seus derivados semissintéticos têm desempenhado um papel importante na terapia, principalmente como drogas anticâncer (Newman e Cragg, 2012).

O câncer tem se tornado uma das doenças mais notáveis nos seres humanos, atualmente existe um interesse científico e comercial considerável na descoberta contínua de novos agentes anticancerígenos a partir de fontes naturais. O uso de produtos naturais como agentes anticancerígenos foi reconhecido na década de 50 pelo Instituto Nacional de Câncer dos EUA (NCI), o que tem levado à grandes contribuições na descoberta de novos medicamentos (Fouche *et al.*, 2006).

Dentre os fármacos de grande importância que foram isolados de plantas, destacam-se: taxol, vimblastina e vincristina como agentes anticâncer; etoposideo (VePesid[®]), composto sintético que surgiu baseado no produto natural

podofilotoxina, tem sido usado para câncer de testículo e pulmão, mostrando-se menos tóxico e mais potente que o composto natural (Kingham, 1987 e Yunes e Cechinel Filho, 2012).

Por muito tempo as plantas medicinais e seus derivados constituíram a base da terapêutica medicinal, e a cultura chinesa tem-se utilizado do conhecimento popular de ervas medicinais pelos últimos cinco séculos (Foglio *et al.*, 2006).

De acordo com estimativas da OMS, mais de 80% das pessoas nos países em desenvolvimento dependem da medicina tradicional para as suas necessidades básicas de saúde, sendo que mais de 60% dos pacientes com câncer fazem uso de vitaminas ou ervas como terapia (Unnati *et al.*, 2013).

Existem numerosas plantas medicinais disponíveis na natureza, sendo que a maior parte delas apresentam potentes propriedades anticancerígenas, entretanto, a grande maioria delas ainda não foi estudada quimicamente (Unnati *et al.*, 2013). Grande parte das plantas nativas brasileiras utilizadas popularmente, por exemplo, ainda não tem respaldo científico quanto à sua eficácia e segurança, o que demonstra uma grande disparidade diante da grande biodiversidade e as poucas pesquisas realizadas (Foglio *et al.*, 2006).

Desta forma, considera-se este um fator de grande incentivo ao estudo químico de plantas, visando sua utilização como fonte de recursos terapêuticos, pois o reino vegetal representa, devido a pouca quantidade de espécies estudadas, um vasto campo de moléculas com atividade biológica a ser explorado.

1.1 FAMÍLIA LEGUMINOSAE (FABACEAE)

A família Leguminosae Adans. ou Fabaceae Lindl. constitui a terceira maior família florífera de angiospermas, abrangendo aproximadamente 720 gêneros, 19.327 espécies e três subfamílias (Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae). Sendo que, no Brasil, compreende cerca de 2.100 espécies em 188 gêneros (Da Silva, 2010). Destaca-se devido sua grande importância econômica, por ser uma vasta fonte de alimentos, madeira de boa qualidade, plantas ornamentais, resinas, óleos essenciais, inseticidas e compostos químicos usados como medicamentos (Santos, 2008 e Da Silva, 2010). Uma importante particularidade

dessa família é seu alto teor de metabólitos secundários da classe dos flavonoides, sendo estes de importância taxonômica restrita a essa família (Sales, 1994).

Dentre as espécies utilizadas como fonte de alimentos, as mais conhecidas são: feijão (*Phaseolus vulgaris*), soja (*Glycine max*), ervilha (*Pisum sativum*) e grão-de-bico (*Cicer arietinum*). Como espécie ornamental das mais conhecidas no Brasil destacam-se o flamboyant (*Delonix regia*) e a pata-de-vaca (*Bauhinia variegata*).

Leguminosae divide-se em três subfamílias bastante distintas morfológicamente. Dentre as quais se destaca Papilinoideae, a maior e mais diversificada das três, com 28 tribos, 440 gêneros e cerca de 13.800 espécies (Da Silva, 2010), caracterizando-se quimicamente pela presença de isoflavonoides, classe incomum em plantas, com importantes atividades biológicas. Apesar dos flavonoides estarem presentes nas três subfamílias, a distinção mais importante se deve à presença dos isoflavonoides em Papilionoideae, uma vez que a ocorrência dessa classe em Caesalpinioideae e Mimosoideae continua a ser muito pequena em comparação com o número desses compostos encontrados em Papilionoideae. Outra indicação da diferença estrutural de flavonoides de Papilionoideae é a predominância de derivados prenilados, o que proporciona um maior interesse no estudo químico de leguminosas desta subfamília. Além dos isoflavonoides, outras classes presentes em Papilionoideae são: flavonas e flavonóis (aglicona e glicosilados); chalconas, flavanonas, dihidrochalconas e dihidroflavonois (comumente prenilados) e, ainda, auronas (Veitch, 2010).

1.2 GÊNERO *DAHSLTEDIA* (TRIBO MILLETTIEAE - PAPILIONOIDEAE)

A tribo Millettieae Miq. (mesmo que Tephrosieae) da subfamília Papilinoideae é composta por 909 espécies e 45 gêneros, sendo uma das mais complexas tribos de Leguminosae do ponto de vista tanto taxonômico, quanto de metabólitos secundários.

Segundo Da Silva, 2010, a história taxonômica dos gêneros de Millettieae é bastante complexa, principalmente gêneros relacionados com *Lonchocarpus sensu lato*, como o caso de *Derris Lour.*, *Deguelia Aubl.*, *Philenoptera Fenzl*, devido a riqueza específica e diversidade morfológica, bem como o grande compartilhamento de características morfológicas de *Lonchocarpus* com outros gêneros neotropicais,

como *Behaimia* Griseb., *Bergeronia* Micheli, *Dahlstedtia* Malme, *Deguelia*, *Margaritobium* Harms, *Platygyamus* Benth.; e gêneros paleotropicais como *Derris*, *Millettia* Wight & Arn., *Philenoptera* e *Tephrosia* Pers..

Dentre seus gêneros neotropicais *Dahlstedtia* apresenta-se muito semelhante morfológicamente com o gênero *Lonchocarpus*. Em estudo realizado por Da Silva, (2010 e 2012), foi proposto um desmembramento de *Lonchocarpus sensu lato* em três grupos distintos representados pelos clados Laxiflori, *Dahlstedtia* e *Lonchocarpus* s. str., os quais passaram a ser táxons genéricos independentes: *Muelleria*, *Dahlstedtia* e *Lonchocarpus sensu stricto* por possuírem características morfológicas e biogeografia exclusivas ou pouco compartilhadas.

Considerando abordagens taxonômicas, nomenclaturais e filogenéticas (Da Silva, 2010; Da Silva *et al.*, 2012) foi proposto a transferência das espécies de *Lonchocarpus* sect. *Punctati sensu* Bentham (1860) e de *L.* subg. "*Punctati*" *sensu* Tozzi (1989) para o gênero *Dahlstedtia*, o qual passou de 2 para 16 espécies, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1: Espécies pertencentes ao gênero *Dahlstedtia* Malme.

Espécies de <i>Dahlstedtia</i> Malme	Nomenclatura anterior	Espécies estudadas quimicamente
<i>D. pentaphylla</i> *	<i>Dahlstedtia pentaphylla</i>	x
<i>D. erythrina</i> *	<i>Dahlstedtia pinnata</i>	x
<i>D. burkartii</i> α		
<i>D. dehiscens</i> α		
<i>D. gwilymii</i> α		
<i>D. peckoltii</i> ∞	<i>Lonchocarpus peckoltii</i>	
<i>D. araripensis</i> ∞	<i>Lonchocarpus araripensis</i> / <i>Derris araripensis</i>	x
<i>D. bahiana</i> ∞	<i>Lonchocarpus bahianus</i>	
<i>D. calcarata</i> ∞	<i>Lonchocarpus calcaratus</i>	
<i>D. castaneifolia</i> ∞	<i>Lonchocarpus castaneifolius</i>	
<i>D. confertiflora</i> ∞	<i>Lonchocarpus confertiflorus</i>	
<i>D. floribunda</i> ∞	<i>Lonchocarpus subglaucescens</i>	x
<i>D. glaziovii</i> ∞	<i>Lonchocarpus glaziovii</i>	
<i>D. grandiflora</i> ∞	<i>Lonchocarpus grandiflorus</i>	
<i>D. hylobia</i> ∞	<i>Lonchocarpus hylobius</i>	
<i>D. muehlbergiana</i> ∞	<i>Lonchocarpus muehlbergianus</i>	x

* Espécies antes pertencentes ao gênero *Dahlstedtia*; α Três novas espécies;

∞ Espécies de *Lonchocarpus*. (Da Silva, 2010; Da Silva *et al.*, 2012).

Dahlstedtia Malme (Figura 1) tem seu centro de diversidade na porção sul da América do Sul, sendo que 12 das 16 espécies são endêmicas das regiões sul e sudeste do Brasil e leste do Paraguai e Argentina. Todas as espécies são exclusivas das Américas, na sua maioria, endêmicas no Brasil (10 spp.). Apenas 2 espécies (*D. confertiflora* e *D. hylobia*) localizam-se na porção setentrional sulamericana e uma abrange a América Central (*D. calcarata*).

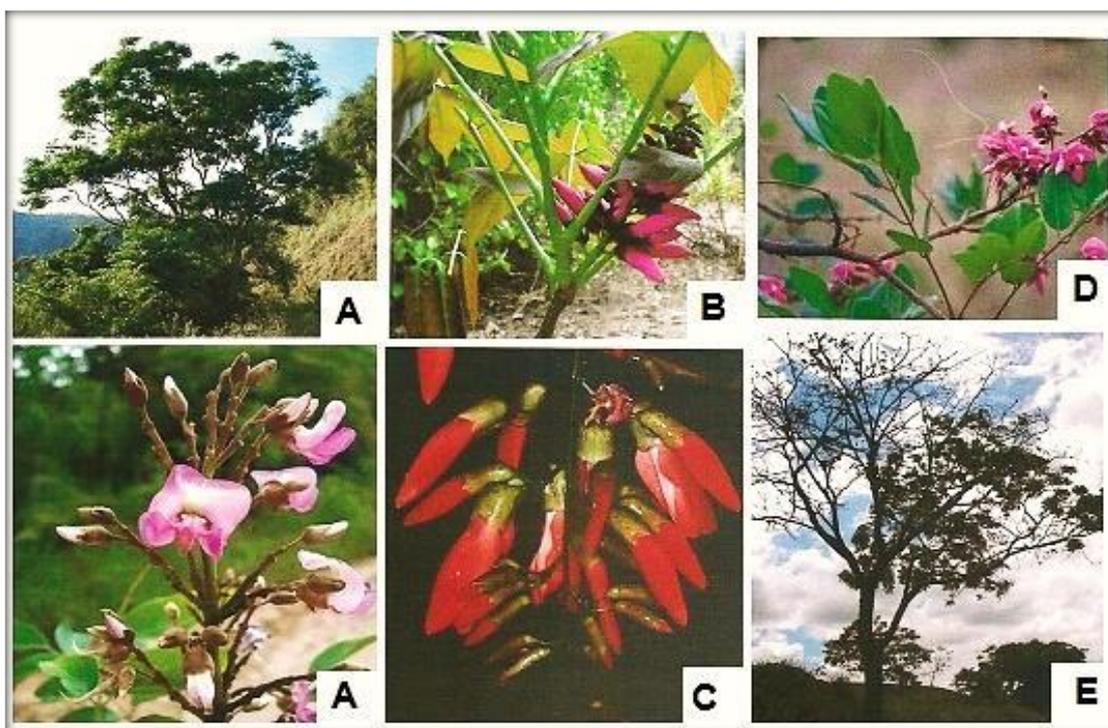


Figura 1: Espécies de *Dahlstedtia* Malme: A) *Dahlstedtia grandiflora*. B) *Dahlstedtia erythrina*. C) *Dahlstedtia pentaphylla*. D) *Dahlstedtia araripensis*. E) *Dahlstedtia muehlbergiana*.
(Fonte: Da Silva, 2010).

Dados fitoquímicos das espécies já estudadas desse gênero (tabela 1): *D. pentaphylla* e *D. erythrina* (Garcez *et al.*, 1988), *D. araripensis* (Lima *et al.*, 2009), *D. floribunda* (Magalhães, *et al.*, 1996) e *D. muehlbergiana* (Magalhães *et al.*, 2004); indicam que dentre as principais classes de flavonoides isoladas destas espécies encontram-se as chalconas, flavanonas, flavonas, dibenzoilmetanos e rotenóides, em menor ocorrência flavanas, auronas, di-idrochalconas e isoflavonas. Sendo que estes compostos caracterizam-se pela presença de grupos prenils, principalmente pela presença dos anéis furano e 2",2"-dimetilcromeno (Figura 2), indicando que flavonoides prenilados são marcadores taxonômicos de espécies deste gênero e

seus aliados. De acordo com estudo realizado por Garcez *et al.* (1988), os flavonoides prenilados presentes em *Dahlstedtia*, são indicadores da evolução destas espécies.

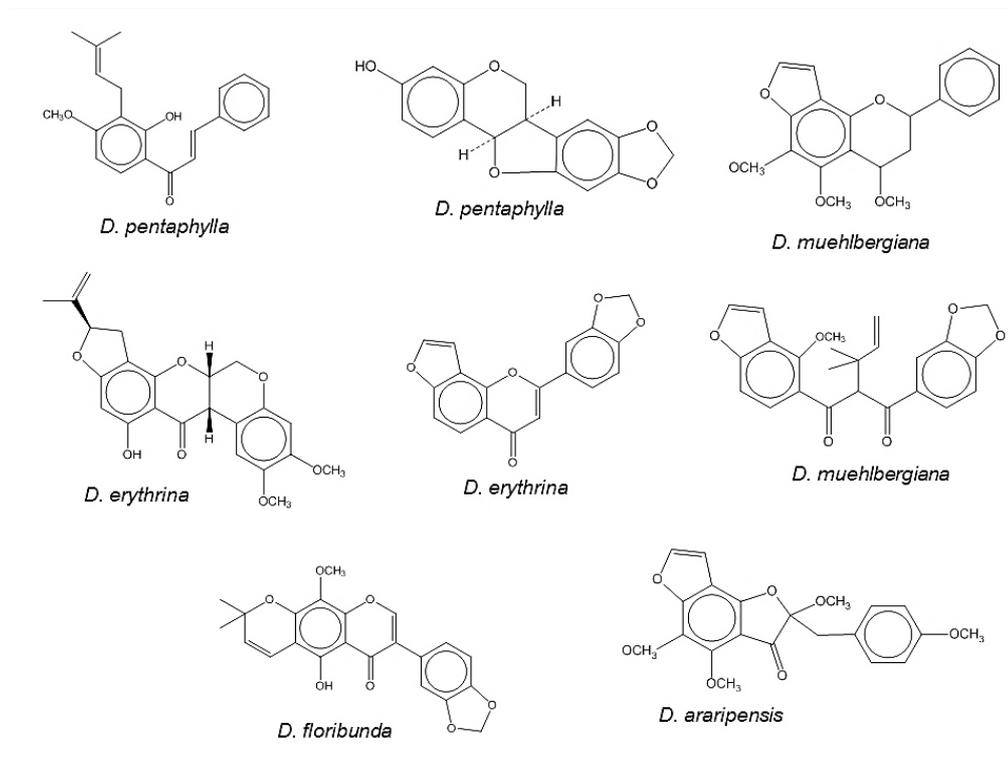


Figura 2: Alguns flavonoides isolados de espécies do gênero *Dahlstedtia*.

Na medicina tradicional plantas de *Lonchocarpus* spp. (raízes, folhas e frutos) têm sido utilizadas no tratamento de tumores, dores nas costas, convulsões, erupções, escorbuto, feridas, doença de chagas, diurético, laxante, parasiticida, em sintomas de reumatismo, artrite, diabetes, cólicas intestinais, diarréia crônica, bem como problemas respiratórios e como medicamento estomacal (Reyes-Chilpa *et al.*, 2006; De Lima *et al.*, 2011). Além disso, em algumas regiões do Brasil plantas de *Lonchocarpus* são tradicionalmente utilizadas para o tratamento da AIDS, dor de cabeça, doenças da pele, inflamações, gastrite e úlcera estomacal. Outras atividades relacionadas à *Lonchocarpus* são: antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, antitumoral, citotóxico, antiprotozoária e quimiopreventivo (Borges-Argáez *et al.*, 2007).

Flavonoides isolados de *Lonchocarpus* e *Dahlstedtia* têm apresentado importantes atividades biológicas, como atividade citotóxica antitumoral (Cassidy e Setzer, 2010). Flavonoides de *D. floribunda*, um dibenzoilmetano (3,4-metilenodioxido-

2'-metoxi-6",6"-dimetilcromeno[2",3":4',3']- β -oxochalcona) (**1**, figura 3) e uma flavanona (3',4'-dimetoxi-7,8-(2",2"-dimetilpirano)-flavanona) (**2**, figura 3), apresentaram atividade antimalária e potente atividade tripanosoma, respectivamente (Santos *et al.*, 2009b). A flavona 3,6-dimetoxi-6"-6"-dimetil-[2",3":7,8]-cromenoflavona (**3**, figura 3) isolada de *D. araripensis* demonstrou reduzir efetivamente lesões gástricas, apresentando-se como gastroprotetor (Campos *et al.*, 2008). O composto karanjina (**4**, figura 3) encontrado na maioria das espécies de *Dahlstedtia* estudadas, também demonstrou atividade como agente anti-úlceras, atuando como inibidor de H⁺, K⁺ -ATPase e antioxidante (Vismaya *et al.*, 2011). O composto pongamol (**5**, figura 3) e lanceolatina B (**6**, figura 3), muito comuns em espécies deste gênero, apresentaram-se ativos contra *Staphilococcus aureus*, sendo que o pongamol também foi ativo para *Bacillus subtilis* e *Cladosporium cladosporioides* (Magalhães *et al.*, 2007), apresentando-se, ainda, como inibidor da α -glicosidase intestinal, o que lhe confere atividade anti-hiperglicêmica (Rao *et al.*, 2009).

Os rotenóides, principalmente a rotenona (**7**, figura 3) são conhecidos pela sua alta toxicidade, causando a morte de insetos e peixes (Reyes-Chilpa *et al.*, 2006). Extrato etanólico das raízes da *Dahlstedtia pentaphylla* demonstrou-se eficiente contra a doença do carrapato, causada por *Boophilus microplus* (Pereira e Famadas, 2006).

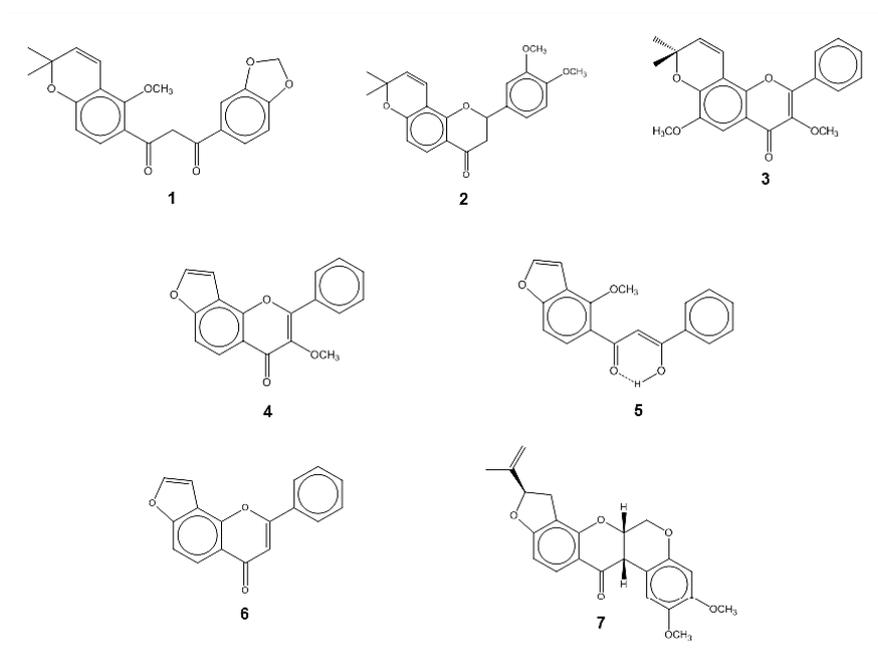


Figura 3: Flavonoides isolados de *Dahlstedtia* com atividade biológica.

1.3 DAHLSTEDTIA GLAZIOVII (TAUBERT) M.J.SILVA & A.M.G.AZEVEDO, COMB. NOV.

Dahlstedtia glaziovii (Taubert) M.J.Silva & A.M.G.Azevedo, **comb. nov.**, é uma espécie brasileira, endêmica da região Sudeste, a qual se restringe ao estado do Rio de Janeiro, sendo encontrada nos municípios de Nova Friburgo e Alto Macaé, nas imediações do Parque Estadual de Três Picos. Habita as bordas ou baixios das Florestas Ombrófilas Densas, próximas a cursos d'água em altitudes de 1231 a 1240 metros. É conhecida popularmente como Guaraná-timbó (Da Silva, 2010).

É uma árvore que atinge de 4 a 12 m de altura, apresenta ramos lenhosos; as folhas apresentam pecíolo e raque cilíndricos, estriados e com a face superior canaliculada, as flores lilases a violáceas, cálice e corola com cavidades secretoras; Legume samaróide (fruto) cartáceos, creme quando maduro e verde-claro quando imaturo; sementes macias, castanho-claras. Coleta com flores ocorre em março e abril e com frutos em abril, agosto e outubro.

D. glaziovii assemelha-se morfologicamente com *D. erythrina* e com *D. bahiana*. A classificação botânica (M.J.Silva & A.M.G.Azevedo, 2010) do espécime em estudo, está apresentada a seguir.

Nome científico: *Dahlstedtia glaziovii* (Taubert) M.J.Silva & A.M.G.Azevedo,
comb. nov.

Família: Leguminosae (Fabaceae)

Subfamília: Papilionoideae

Gênero: *Dahlstedtia* Malme

Espécie: *glaziovii*

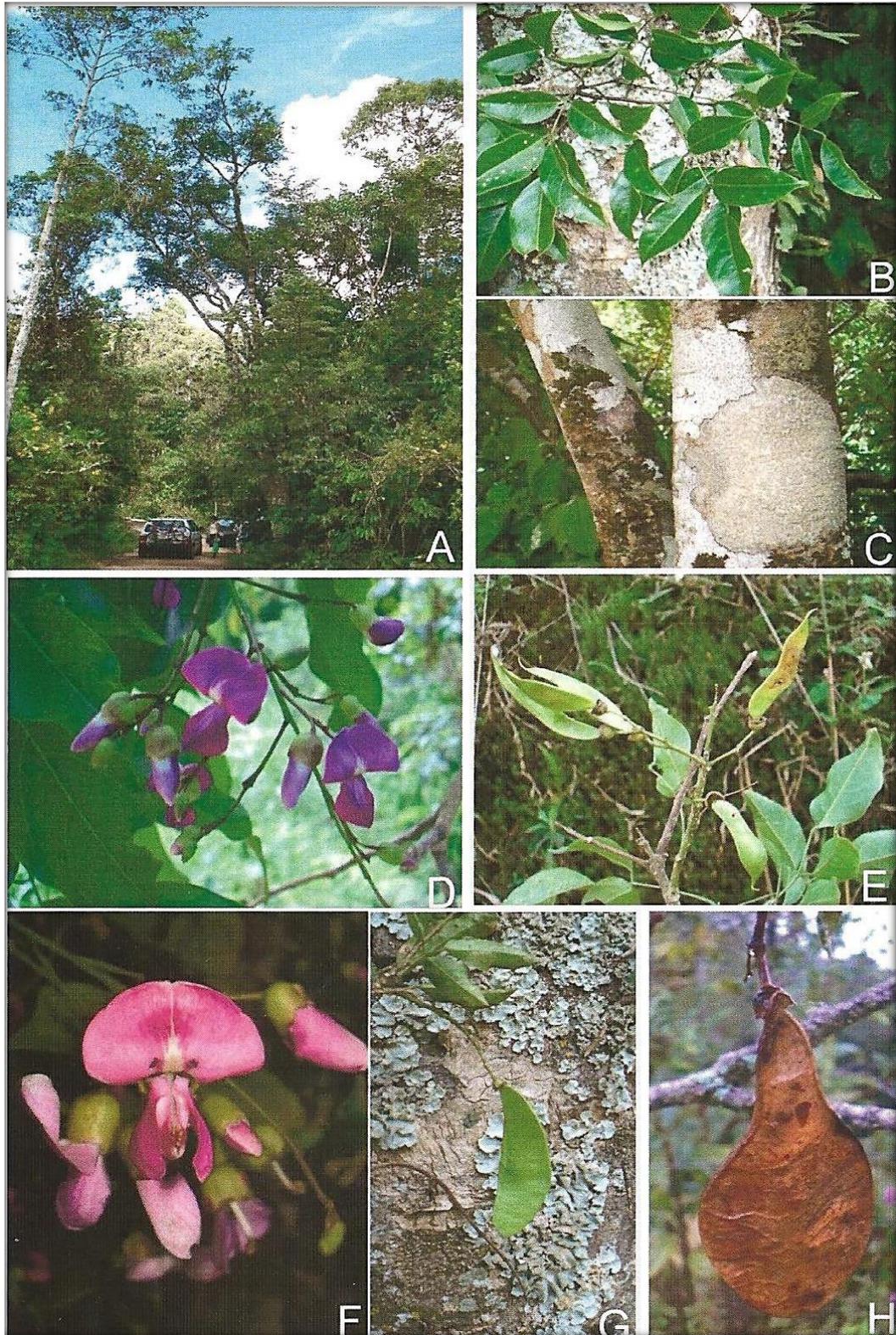


Figura 4: *Dahlstedtia glaziovii*.
(Fonte: Da Silva, 2010).

1.4 FLAVONOIDES

Os flavonoides constituem uma das maiores classes de metabolitos secundários presentes nos vegetais, representando um dos grupos fenólicos mais importantes entre os produtos de origem natural. Apresentam muitas variações estruturais, resultando numa grande diversidade de subclasses, como: chalconas, flavanonas, flavonas, dibenzoilmetanos, flavononóis, isoflavonoides, antocianidinas, rotenoides entre outros (Cushnie e Lamb, 2005). São compostos de baixo peso molecular, desempenham um papel vital na fotossíntese celular, além de, apresentarem importantes atividades biológicas na natureza, como antioxidantes, reguladores de crescimento, polinizadores, responsáveis pela coloração, fotoproteção, entre outros.

Nas plantas são responsáveis pela pigmentação, podendo ser considerados pigmentos naturais, sendo a coloração amarela conferida às chalconas e flavonóis, enquanto que coloração vermelha, azul e violeta, são conferidas às antocianidinas. Outros compostos incolores são atribuídos, por exemplo, as flavonas, as quais absorvem mais fortemente na região do UV, sendo detectadas pelos insetos, atuando como atrativos para agentes polinizadores de plantas (Dewick, 2009).

Desempenham um papel fundamental na proteção do vegetal em resposta ao ataque microbiano, observando seu acúmulo como fitoalexinas. Atuam também como protetores contra irradiação ultravioleta, principalmente na faixa do UV-B, absorvendo na região 280 ± 315 nm, o que os torna capazes de atuar como filtros UV, protegendo os tecidos subjacentes fotossintéticos contra danos (Harborne e Williams, 2000). Dos responsáveis por essa proteção, destacam-se os dibenzoilmetanos, capazes de absorver na faixa do UV-A. A avobenzona, um derivado de dibenzoilmetano de grande utilização comercial, se destaca dentre as demais substâncias fotoprotetoras por absorver na faixa do UV-A (320-400 nm), enquanto que a maioria das substâncias utilizadas em filtros solares absorvem radiação na faixa do UV-B (290-320 nm) (González *et al.*, 2008).

Flavonoides têm sido reportados por apresentarem diversas atividades biológicas, agindo como antioxidante (Pietta, 2000), fotoprotetor (Shirley, 1996 e Guaratini *et al.*, 2009), antitumoral e anti-inflamatória (Ko *et al.*, 2003), antimicrobiana (Cushnie e Lamb, 2005), antifúngica (López *et al.*, 2001), antiviral, antiprotozoário (Harborne e Williams, 2000), na melhora da memória e redução das

doenças cardiovasculares (Spencer, 2009), atividade estrogênica, inibição enzimática, antialérgica e outras atividades (Havsteen, 2002).

A maioria dos flavonoides com atividade antifúngica reconhecida em plantas são isoflavonoides, flavanas e flavanonas. As fitoalexinas mucronulatol (**1**, figura 5) e maackiaina (**2**, figura 5) de plantas leguminosas apresentaram-se como potentes inibidores da germinação de esporos de fungo (Harborne e Williams, 2000). Outros exemplos são o pterocarpano (–)-medicarpina (**3** figura 5) e a isoflavana (–)-vestitol (**4** figura 5), os quais são compostos sintetizados pela planta em resposta ao ataque de fungos (Veitch, 2010).

São poderosos antioxidantes, devido a sua capacidade de reduzir a formação e permitir a eliminação de radicais livres. Esta atividade é atribuída principalmente às hidroxilas presentes na estrutura do flavonoide, as quais possuem hidrogênios com alta reatividade os quais são transferidos a um radical, estabilizando-o. Formam-se, assim, radicais flavonoides que reagem com outros radicais livres, interrompendo a reação de propagação em cadeia, diminuindo o risco de várias doenças degenerativas associadas ao estresse oxidativo celular (Pietta, 2000 e Sandhar *et al.*, 2011).

Os flavonoides tem se tornado promissores produtos naturais anticâncer. Compostos como quercetina (**5**, figura 5), kaempferol (**6**, figura 5) e rutina (**7**, figura 5), apresentaram atividade protetora do dano gástrico e contra o câncer gástrico. A quercetina apresentou, ainda, inibição da proliferação de células de câncer de cólon *in vitro* (Gee *et al.*, 2002; Scalbert *et al.*, 2005 e Sandhar *et al.* 2011). Outras atividades anticâncer relacionadas a flavonoides foram observadas em vários órgãos, como boca, estômago, duodeno, cólon, fígado, pulmão, mama e pele (Scalbert *et al.*, 2005).

O composto Phenoxodiol (**8**, figura 5), derivado da isoflavona genisteína (**9**, figura 5) encontrada na soja (*Glycine max* (L.) Merr – Leguminosae) tem sido pesquisado como um novo medicamento promissor em oncologia, devido a seu amplo espectro anticancerígeno e baixa toxicidade. Phenoxodiol está em ensaios clínicos avançados, visando o tratamento de câncer de ovário, como uma monoterapia para o câncer de cólon do útero e de próstata. Há também um interesse no desenvolvimento da genisteína como um agente antileucêmico (Pan *et al.*, 2010).

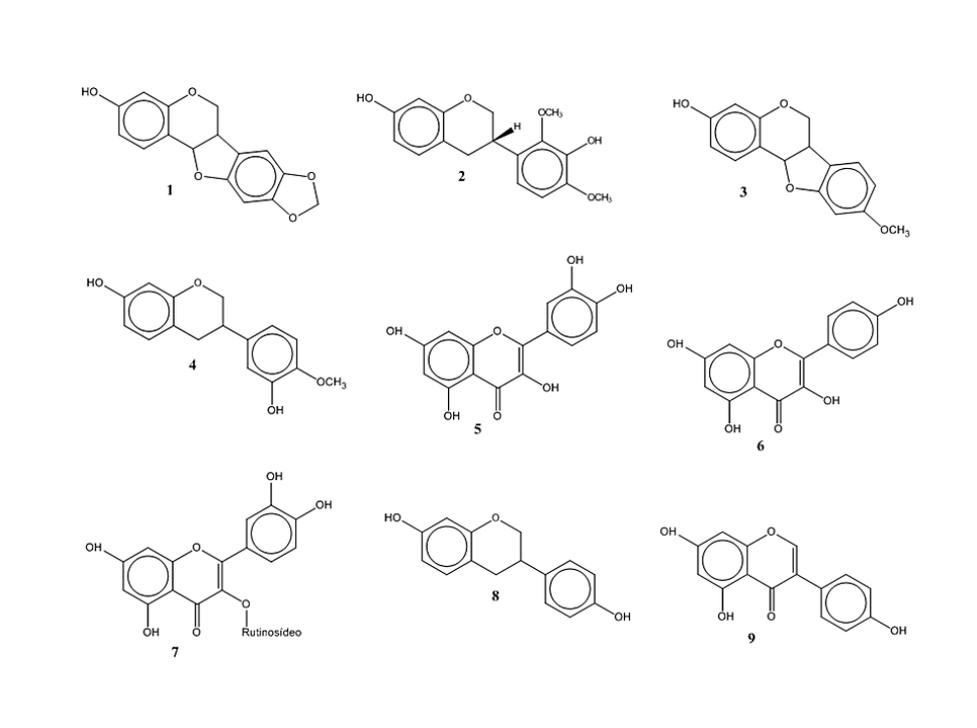


Figura 5: Flavonoides de Leguminosae com atividade biológica.

Os flavonoides de Leguminosae são uma importante área de pesquisa de produtos naturais, sendo que muitos dos compostos descritos até hoje têm um papel importante, tanto na função fisiológica como economicamente.

Diante da ampla diversidade de esqueletos de flavonoides encontrados na natureza, será descrito brevemente sua biossíntese.

1.41 Biossíntese dos flavonoides

O esqueleto básico dos flavonoides é caracterizado pela presença de quinze carbonos, formados por unidades $C_6-C_3-C_6$ correspondentes a dois anéis aromáticos interligados por uma cadeia de três átomos de carbono, podendo ou não estar ciclizado. Possuem rota biossintética mista, originados por uma molécula iniciadora de 4-hidroxicinamoil-CoA (rota do chiquimato), juntamente com três unidades de malonil-CoA, responsável pela extensão da cadeia, formando um intermediário policetídeo (rota do acetato). Por reação de condensação de Claisen, catalisada pela enzima chalcona sintase (CHS), ocorre a ciclização do policetídeo; após isso, ocorre enolização, para aromatização do anel, formando a chalcona em equilíbrio com a

flavanona (Figura 6), caracterizando os dois primeiros esqueletos de flavonoides (figura 7), os quais são intermediários para gerar as outras classes. Neste passo também ocorre, pela atuação da enzima chalcona redutase (CHR), a perda da hidroxila para formar a chalcona/5-desoxi-flavanona.

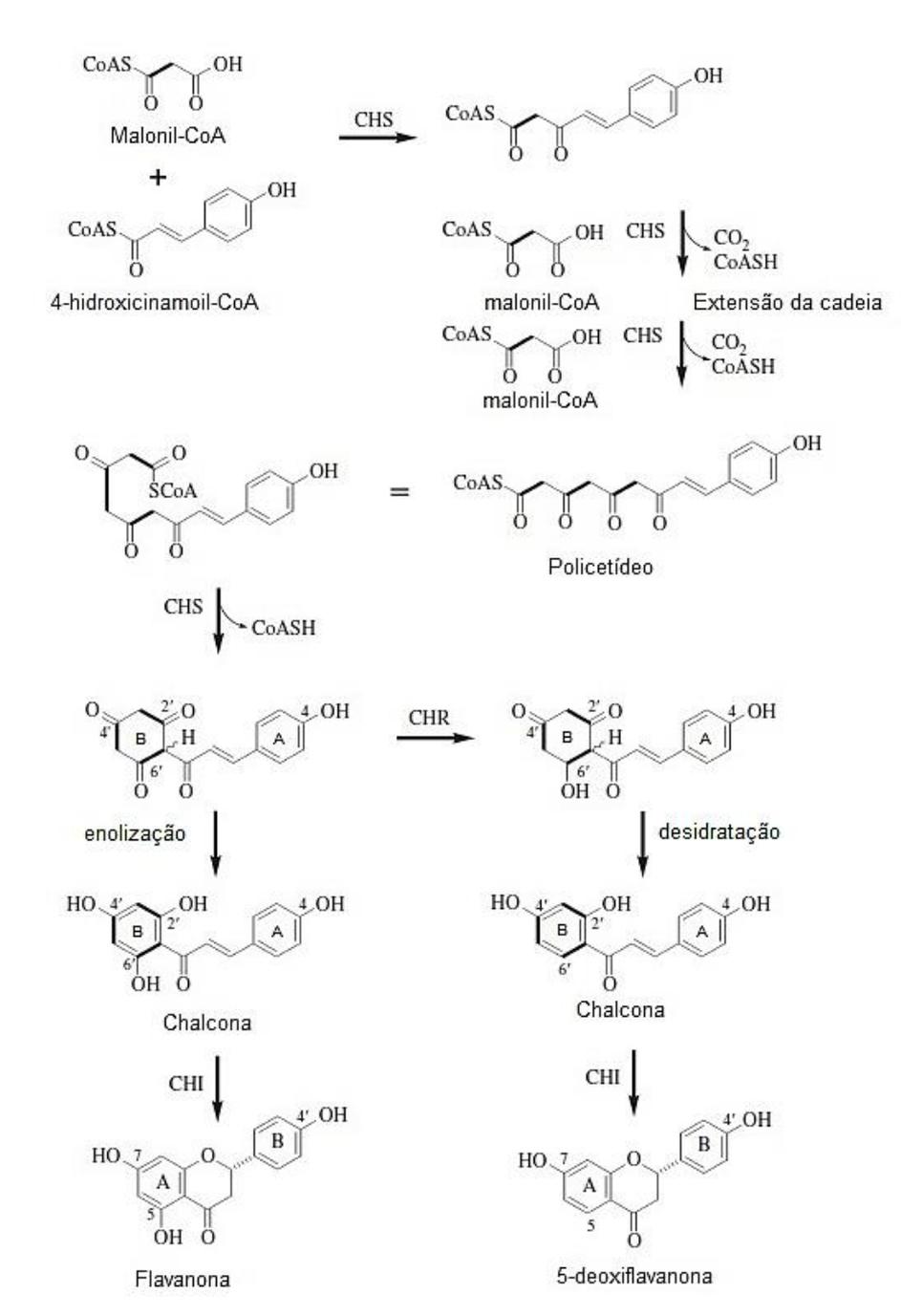


Figura 6: Biossíntese de flavonoides e 5-desoxiflavonoides em Leguminosae. CHS: chalcona sintase; CHR, chalcona redutase; CHI, chalcona isomerase (Adaptado de Veitch, 2010).

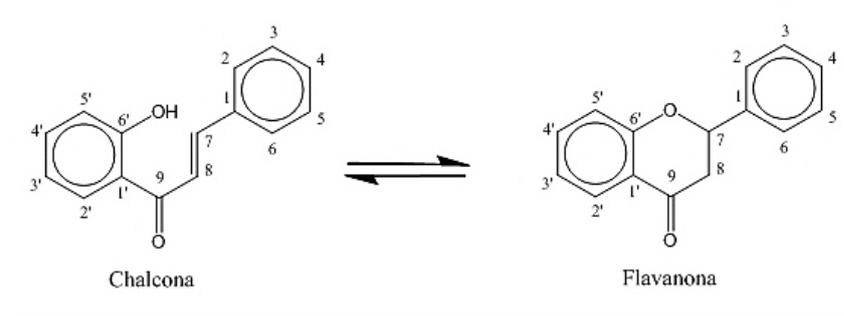


Figura 7: Esqueletos básicos dos flavonoides.

A chalcona é ciclizada para flavanona por uma reação tipo Michael, ocorre o ataque nucleofílico do grupo hidroxila (fenol) à cetona α,β -insaturada. Esta etapa é catalisada pela enzima chalcona isomerase (CHI), favorecendo a isomerização estereoespecífica da (2S)-flavanona, através de um mecanismo de catálise ácido-base (Davies e Schwinn, 2006). Após a formação deste metabólito secundário, uma série de reações enzimáticas envolvendo oxidações, reduções e alquilações originam os mais distintos esqueletos de flavonoides (Dewick, 2009).

Observa-se que os esqueletos formados diferenciam-se nitidamente pela forma como se apresenta a cadeia central (proveniente do ácido cinâmico): se aberta origina, a partir da chalcona, a di-idrochalcona, dibenzilmetanos; se cíclica origina, a partir da flavanona, a flavona, isoflavona, flavana, flavonol, aurona; sendo que os rotenoides, pterocarpanos e 3-fenilcumarinas derivam das isoflavonas (Figura 8).

As diversas classes de flavonoides diferem principalmente no nível de oxidação e no padrão de substituição do anel C, enquanto que numa mesma classe, estes compostos diferem no padrão de substituição dos anéis A e B (Pietta, 2000).

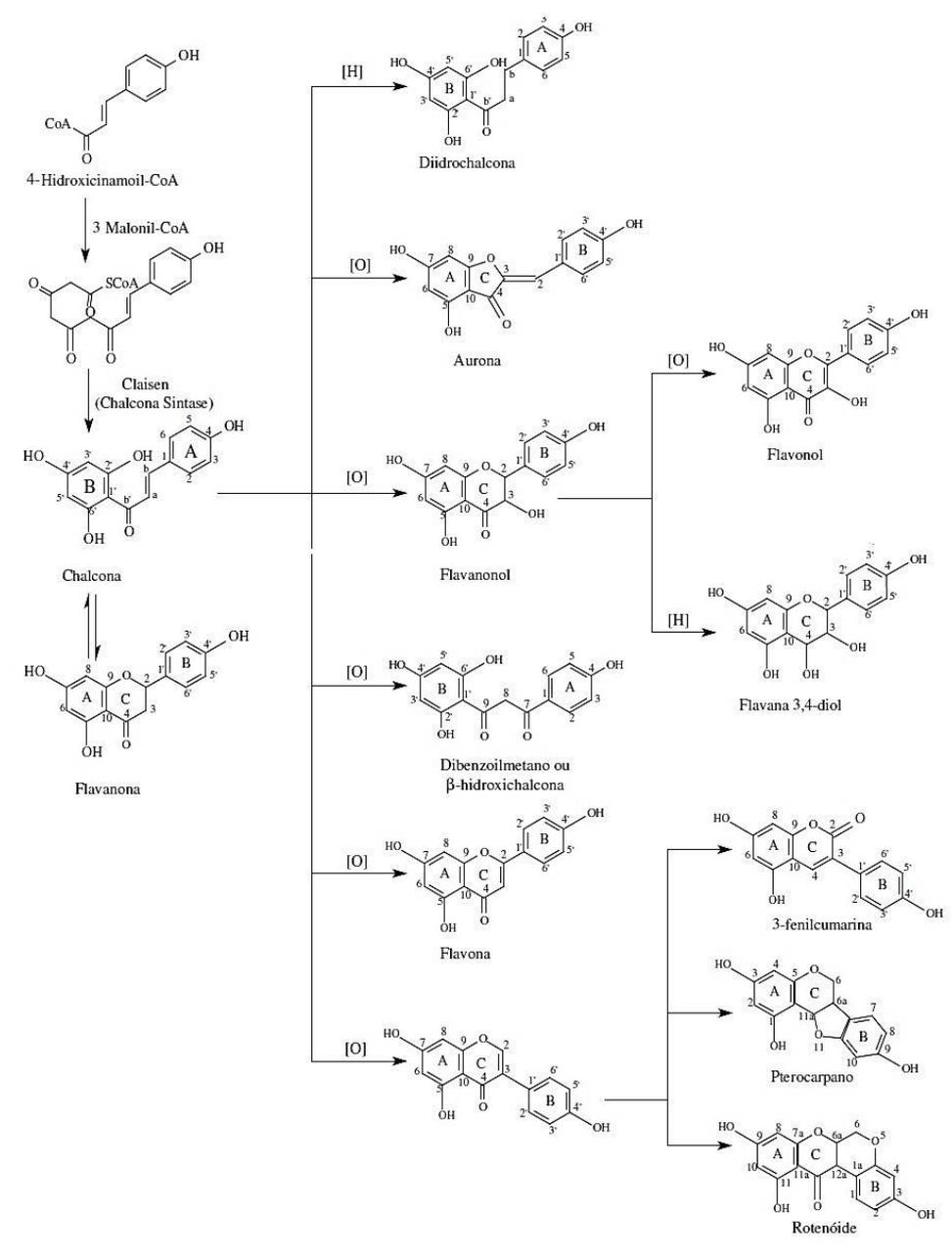


Figura 8: Subclasses de flavonoides e origem biossintética.
(Fonte: Sales, 1994).

Uma característica estrutural comum aos flavonoides de Leguminosae, independentemente da subfamília, é a presença de compostos 5-desoxi. O padrão de hidroxilação no esqueleto básico, geralmente ocorre nas posições 5, 7 e 4'. Podendo ocorrer a perda de hidroxila na posição 5, cujo processo é realizado pela enzima chalcona redutase, a qual quando atua com a enzima chalcona sintase, promove redução deste grupo antes da formação do primeiro flavonoide na rota biossintética (Figura 6) (Veitch, 2010).

A grande diversidade estrutural de flavonoides em Leguminosae ocorre devido a alguns fatores, como: introdução de hidroxilas adicionais nas posições 6, 8 no anel A e 2' no anel B, posições referentes ao esqueleto básico da flavanona (Figura 7), o qual geralmente apresenta um padrão de substituição nas posições 5, 7, 4' ou 5, 7, 3', 4'; perda da hidroxila na posição 5, como citado anteriormente; metilação de grupos hidroxílicos ou formação de grupo metilenodióxido, este último observado nas posições 3' e 4' (anel B); e inserção de grupos C-alquílicos, tais como metilas, metoxilas e, especialmente, grupos C-prenilas, com cinco átomo de carbono, os quais podem sofrer diversas modificações, resultando em anéis de cinco ou seis membros, como furano e 2'',2''-dimetilcromeno (Hegnauer *et al.*, 1993).

Os grupos prenilas são derivados da rota do mevalonato/metileritritol ou provenientes de aminoácidos, e flavonoides prenilados ocorrem quase que exclusivamente na subfamília Papilionoideae da família Leguminosae (Hegnauer *et al.*, 1993; Dewick, 2009). Flavonoides prenilados tendem a ocorrer em raízes, sementes e cerne, não sendo encontrado em folhas em plantas de Leguminosae (Hegnauer *et al.*, 1993).

As reações de ciclizações dos grupos C-prenilas, ocorrem por ataque nucleofílico do grupo hidroxila ao epóxido, inicialmente formado pela oxidação da ligação dupla deste grupo alquílico. Dependendo da orientação do ataque nucleofílico, o produto será um anel de seis membros, o pirano (2'',2''-dimetilcromeno) ou um anel de cinco membros, o furano (Figura 9A). O anel furano dissustituído, é biossinteticamente formado pela ação da enzima mono-oxigenase citocromo P450 dependente que utiliza os cofatores NADPH e oxigênio molecular para a clivagem do grupo hidroxi-isopropila, cujo fragmento é liberado em forma de acetona. Nesta etapa o processo é iniciado por um mecanismo via radicalar (Figura 9B) (Dewick, 2009).

A formação do grupo metilenodioxí, também envolve a enzima mono-oxigenase citocromo P450 dependente, por meio da ciclização oxidativa de um sistema aromático substituído *orto*-hidroximetoxi, levando a formação de um intermediário (hemiacetal de formaldeído), o qual cicliza formando a ponte metilenodioxí, por meio de um mecanismo iônico (Figura 9C) (Dewick, 2009).

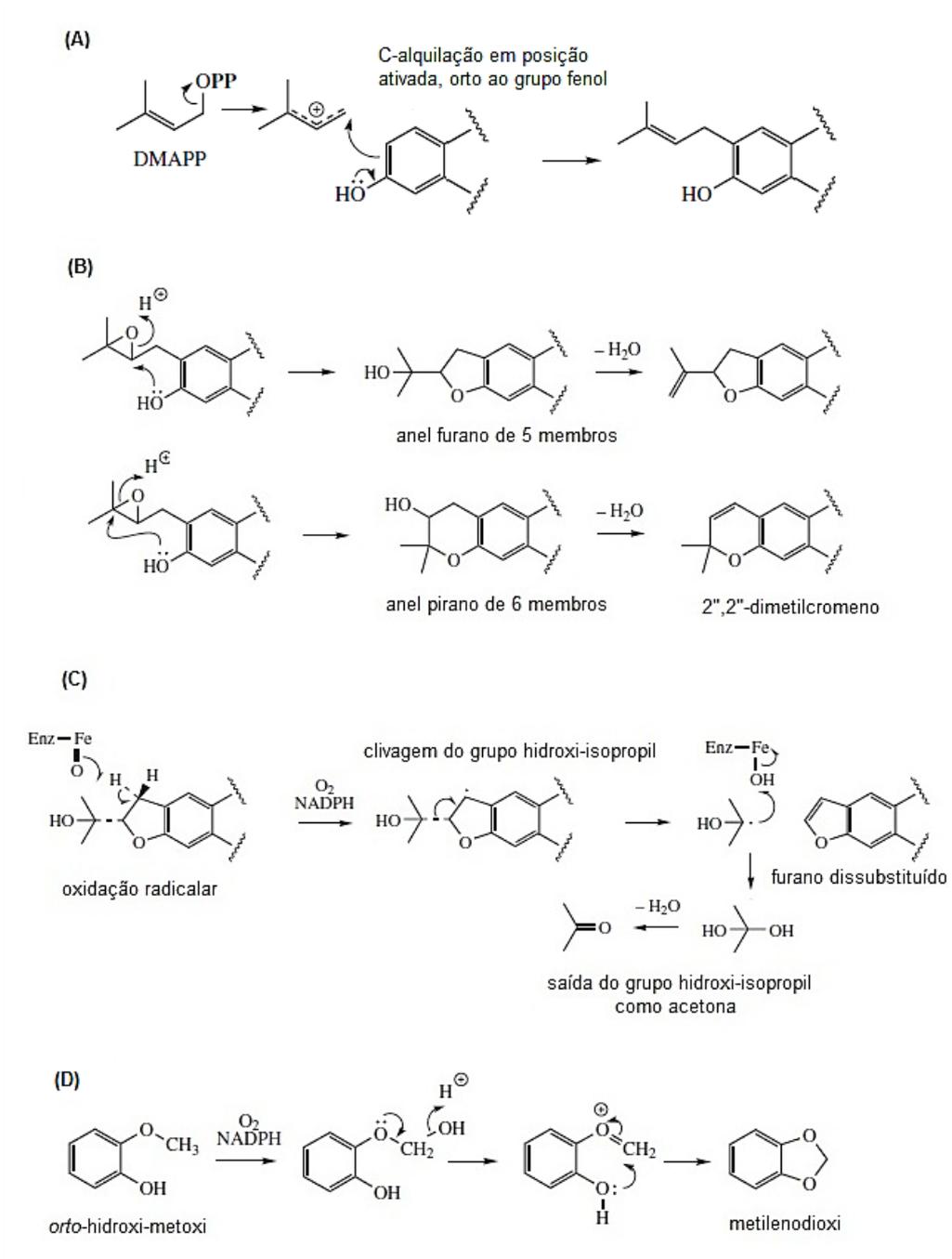


Figura 9: Formação dos grupos A) adição de prenila; B) furano e pirano; C) furano dissustituído; D) metilenedioxi.
(Fonte: Dewick, 2009).

Considerando o exposto, tem-se como justificativa desse trabalho que as espécies de Fabaceae/Leguminosae apresentam uma grande particularidade devido ao alto teor de flavonoides, como metabólitos secundários, os quais são de importância taxonômica restrita a essa família. A subfamília Papilinoideae possui grande importância por ser a maior das três subfamílias e pela biossíntese de isoflavonoides, classe incomum em plantas, com importantes atividades biológicas.

Dentre os principais gêneros, destacam-se *Lonchocarpus* e *Dahlstedtia* que apresentam grandes semelhanças taxonômicas.

Devido às diversas atividades biológicas e farmacológicas apresentadas pelos flavonoides, propôs-se o estudo de *D. glaziovii*, com vistas ao isolamento destes compostos e realização de testes para atividade antiproliferativa *in vitro* contra linhagens de células tumorais humanas e, ainda, atividade antimicrobiana. A parte da planta em estudo são as raízes, devido a alta concentração de flavonoides presente, sendo que a grande parte dos estudos realizados que constam na literatura foram realizados com esta parte da planta.

Uma peculiaridade interessante é o fato de todos estes flavonoides apresentarem grupamentos prenilas, os quais caracterizam as espécies de Papilionoideae e são muito comuns no gênero em estudo e atuam como marcadores quimiotaxonômicos destas espécies.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Realizar estudo fitoquímico das raízes de *Dahlstedtia glaziovii* e avaliar atividade biológica dos extratos.

2.2 ESPECÍFICOS

Isolar e identificar os metabólitos secundários dos extratos de *Dahlstedtia glaziovii*, com vistas ao isolamento de flavonoides e avaliar a atividade citotóxica dos extratos e substâncias isoladas.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS E EQUIPAMENTOS

Nas separações cromatográficas por coluna (CC) foi utilizado como fase estacionária sílica gel 60, tamanho de partículas entre 0,063-0,200mm (70-230 mesh) (Merck, Germany) e 0,040-0,063mm (230-400 mesh) (Merck, Germany) para a realização de coluna clássica e flash, respectivamente. Para cromatografia camada delgada centrífuga foi utilizado o Chromatotron® da marca Harrison Research, modelo 7924T, cuja fase estacionária foi sílica gel 60 GF₂₅₄ (5-40µ) (Merck, Germany). E para cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) as placas foram preparadas espalhando uma suspensão de sílica gel 60 (Vetec, Brasil e Machery-Nagel, Germany) com indicador de fluorescência F254 em água destilada sobre placas de vidro (20 x 20 cm), usando um espalhador do tipo Quickft, com espessura de 1,0 mm. Para cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), utilizou-se cromatofolhas de alumínio TLC recobertas por sílica gel 60, com indicador de fluorescência F254 e 0,2 mm de espessura da Merck. As placas foram reveladas por irradiação de luz ultravioleta (254 e 366 nm) e revelador anisaldeído (revelador universal). Os solventes utilizados foram éter de petróleo, éter etílico, diclorometano, acetona, clorofórmio, acetato de etila e metanol. Os solventes os quais não apresentavam alto grau de pureza foram previamente destilados em laboratório por destilação fracionada.

Para separação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), foi utilizado um cromatógrafo HPLC WATERS composto por bomba quaternária, injetor automático, detector PDA 2998 e acoplado a um sistema de aquisição de dados Empower software. As análises foram conduzidas utilizando uma coluna analítica fase reversa X-Terra C18, 5 µm, 250 x 4,6 mm, Ø 4,6, partícula de 4µm, coluna de guarda 20°C, marca Waters. Para as fases móveis foram utilizados solventes orgânicos grau HPLC, filtrados em membrana de nylon (0,45 µm) da Millipore® (SP, Brasil) e desgaseificadas por 30 min em um banho de ultrassom. Foi utilizada água ultrapura obtida através de sistema Milli-Q. As amostras foram filtradas em filtro Millex®HV PVDF (0,45 µm) da Millipore® (Cork, Ireland). As separações das frações

por CLAE foram conduzidas utilizando uma coluna semipreparativa X-Terra C18, 10 μm , 300 x 7,8 mm, marca Waters.

As raízes foram moídas em moinho de facas Tecnal-TE 651/2 e Trapp 300. As amostras foram pesadas em balança Shimadzu AUY220 e os extratos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo Tecnal-TE 210.

As substâncias, no geral, foram identificadas por análise espectroscópicas de RMN e por comparação com dados da literatura. Para o composto inédito foram realizadas análises espectroscópicas de UV-Vis, IV, RMN e EMAR.

Os espectros no UV-vis foram obtidos em CHCl_3 , usando uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1 cm, em um espectrofotômetro (Shimadzu) UV-2401PC.

Os espectros no IV foram obtidos utilizando um espectrômetro BIORAD FTS-3500, FTIR, em CHCl_3 e como discos de KBr.

Para obtenção dos espectros de RMN (^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, HSQC, HMBC, NOE) foram utilizados os espectrômetros de ressonância magnética nuclear Bruker DPX 200 4,7 tesla, operando a 200 MHz para hidrogênio e 50 MHz para carbono e Advance-400 (Bruker), operando a 400 MHz para hidrogênio e 100 MHz para carbono. As amostras foram solubilizadas em clorofórmio deuterado (99,8%) (Aldrich) utilizando tetrametilsilano (TMS) como padrão de referência interna.

Os espectros de massas de alta resolução foram adquiridos usando um LC-MS MicroQTOF II (Bruker) quadrupolo (5 eV), espectrômetro equipado com uma fonte de ionização por electrospray, aquisição em modo positivo. Condições de análise: célula de colisão 10 eV, capilar 4500 eV e nebulização de nitrogênio 0,4 Bar, fluxo 2 L/min e temperatura 180 °C.

As rotações específicas dos compostos foram determinadas em CHCl_3 , usando um polarímetro Jasco modelo P-2000 com lâmpada de sódio (589 nm).

3.2 COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

A coleta das raízes de *Dahlstedtia glaziovii* foi realizada em agosto de 2009, no Rio de Janeiro - RJ. O material vegetal foi coletado pelos botânicos professora Dra. Ana Maria Tozzi e professor Dr. Marcos J. da Silva do Instituto de Biologia da UNICAMP e as exsicatas estão depositadas no herbário da própria universidade, sob o número 1077 (UEC-RB).

3.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

As raízes foram pré-secas à sombra em temperatura ambiente, seguido de secagem em estufa de ar circulante a 40°C, em seguida foram trituradas em moinho de quatro facas. Após seco, moído e pesado, o material vegetal (315 gramas) foi submetido à extração a frio (maceração) com solventes de ordem crescente de polaridade: éter de petróleo (EP), diclorometano (DCM) e metanol (MeOH) com renovação do solvente em intervalos de 24 horas, numa média de quatro trocas de cada solvente. Os extratos foram concentrados em evaporador rotativo à pressão reduzida e armazenados em dessecador. As massas e rendimentos dos extratos encontram-se na tabela 2, abaixo.

Tabela 2: Massas e rendimentos dos extratos de *D. glaziovii*.

Extratos	Massa (g)	Rendimento (%)
EP	1,1	0,35
DCM	2,3	0,73
MeOH	21,5	6,83

3.4 FRACIONAMENTO DO EXTRATO DE DCM

A escolha do extrato a ser estudado inicialmente foi baseada nos resultados preliminares obtidos da atividade antiproliferativa. Diante disso, o extrato diclorometânico (DCM) foi escolhido para estudo, pois apresentou uma ótima atividade para duas linhagens de células cancerígenas. O extrato DCM (2,3 g) foi submetido ao fracionamento cromatográfico em coluna flash (diâmetro 3,5 cm) utilizando gradiente de eluição com solventes em ordem crescente de polaridade: EP, DCM, AcOEt e MeOH, obtendo-se 41 frações de 150 mL cada. Foram adicionados cerca de 200 mL de cada solvente e a ordem de polaridade foi aumentada de 10 em 10%. As frações obtidas foram concentradas e o solvente foi evaporado à vácuo, em rota evaporador. Após isso, as frações foram analisadas por CCDA e agrupadas de acordo com seus respectivos R_{fs} e padrão de revelação frente ao anisaldeído, conforme observado abaixo, Tabela 3. Visou-se o estudo das

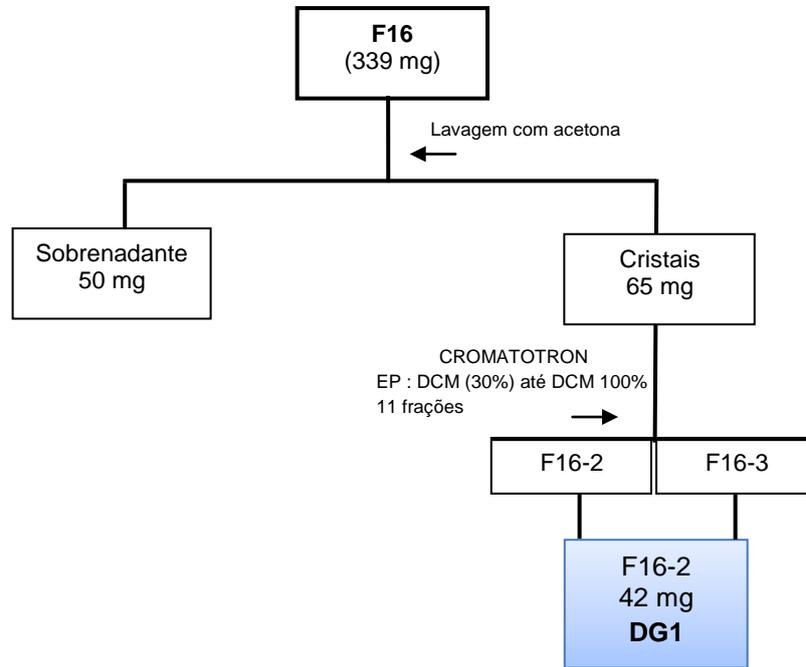
frações que apresentaram uma boa relação de massa *versus* grau de complexidade, sendo assim, nem todas as frações foram estudadas. As frações estudadas: F6, F8, F12, F14, F16 e F17, aparecem em destaque abaixo (Tabela 3).

Tabela 3: Frações obtidas do extrato diclorometânico das raízes de *D. glaziovii*.

Frações agrupadas	Fração (F)	Massa (mg)	Frações agrupadas	Fração (F)	Massa (mg)
F 1-5	F 1	16,9	F 20-22	F 20	207,5
F 6-7	F 6	5,8	F 23-25	F 23	95,0
F 8-11	F 8	12,3	F 26	F 26	23,4
F 12-13	F 12	30,0	F 27	F 27	518,0
F 14-15	F 14	182,3	F 28	F 28	16,0
F 16	F 16	339,0	F 29-31	F 29	69,3
F 17	F 17	500,0	F 32	F 32	12,0
F 18	F 18	76,0	F 33-41	F 33	48,0
F 19	F 19	68,7			

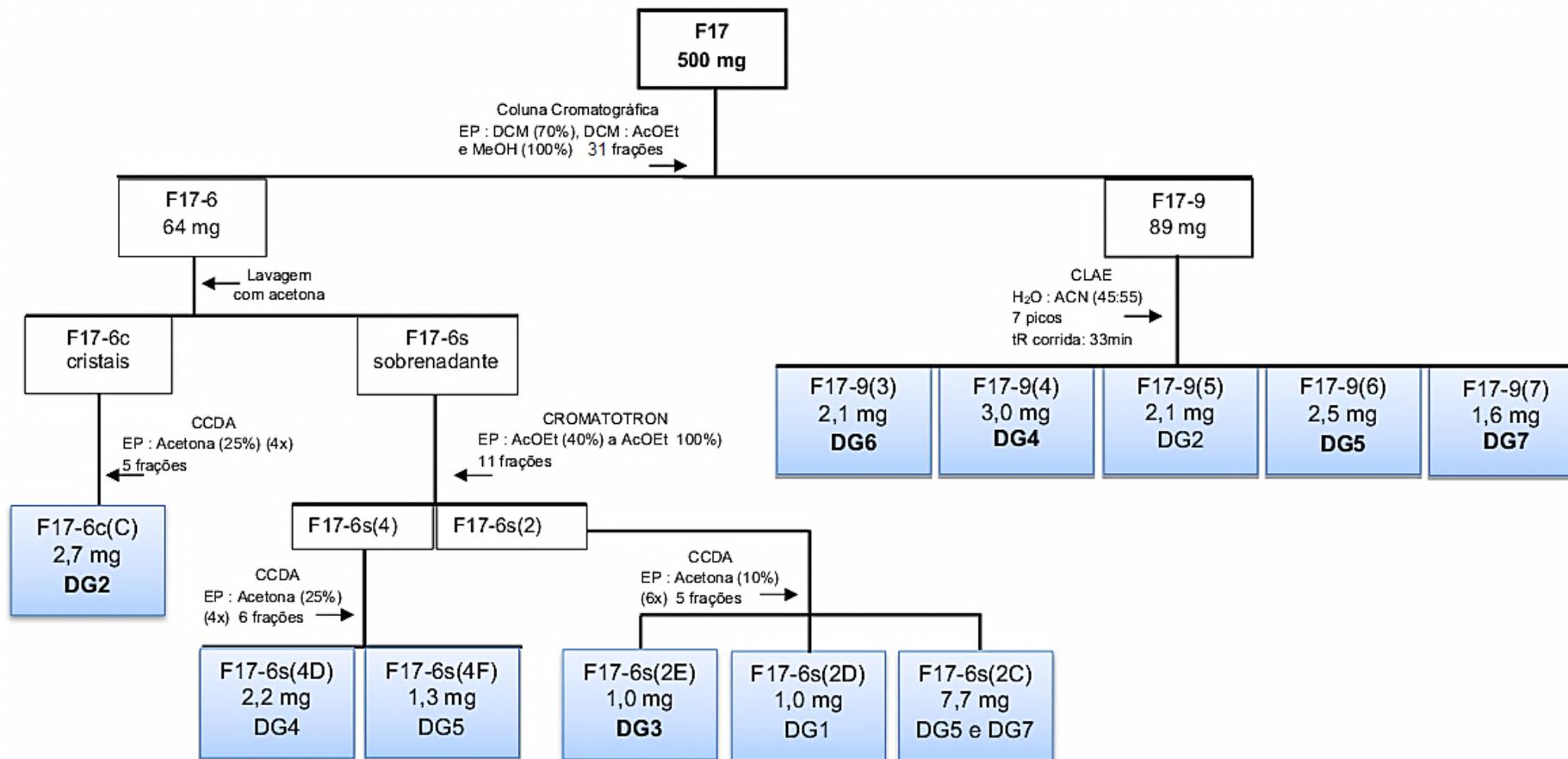
As frações agrupadas da coluna do extrato diclorometânico foram submetidas a sucessivas purificações, por CC, CCDP/CCDA, Cromatrotron e CLAE, sendo escolhidas as que apresentaram melhor relação massa x grau de complexidade. Os esquemas a seguir correspondem às frações purificadas.

Esquema 1: Isolamento da flavona DG1

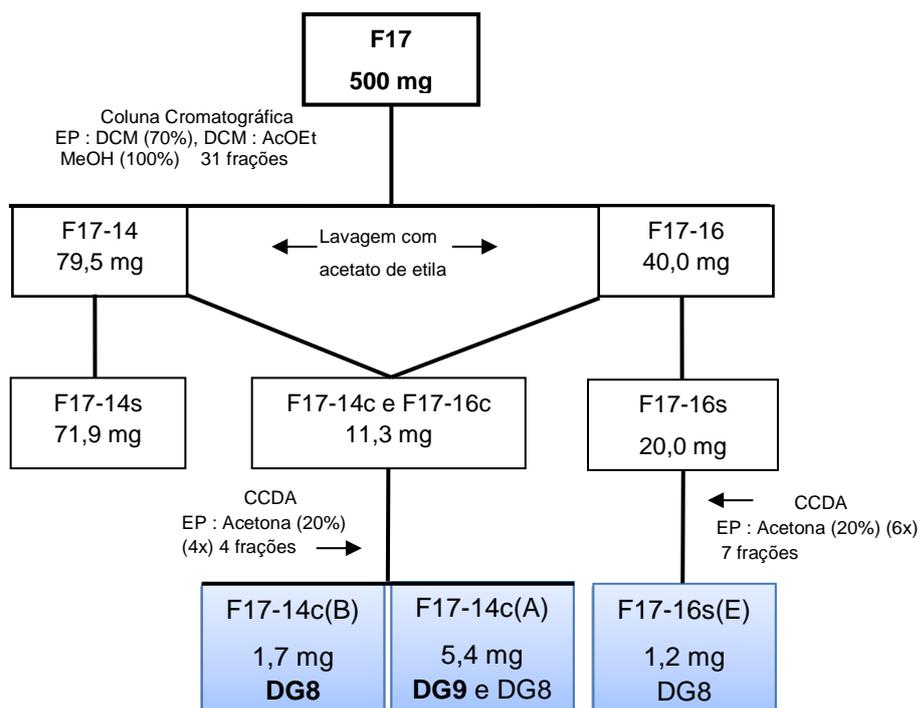


A fração F16 apresentou a formação de cristais após ser concentrada. Sendo assim, na tentativa de separar os cristais, esta foi lavada com acetona, em banho de gelo. Os cristais foram separados do sobrenadante e ambos foram submetidos à análise em CCDA, na qual se observou que os cristais não estavam puros. Diante da massa dos cristais estes foram submetidos à purificação em cromatografia radial (Cromatotron). As condições de análise encontram-se no esquema acima. Foram obtidas 11 frações, das quais F16-2 e F16-3 apresentaram o mesmo composto (observado por CCDA), rendendo 42mg. Ambas foram agrupadas, fornecendo DG1.

Esquema 2: Isolamento das flavonas DG2, DG3, DG4, DG5, DG7, DG8 e DG9 e do rotenoide DG6.



continua na próxima página

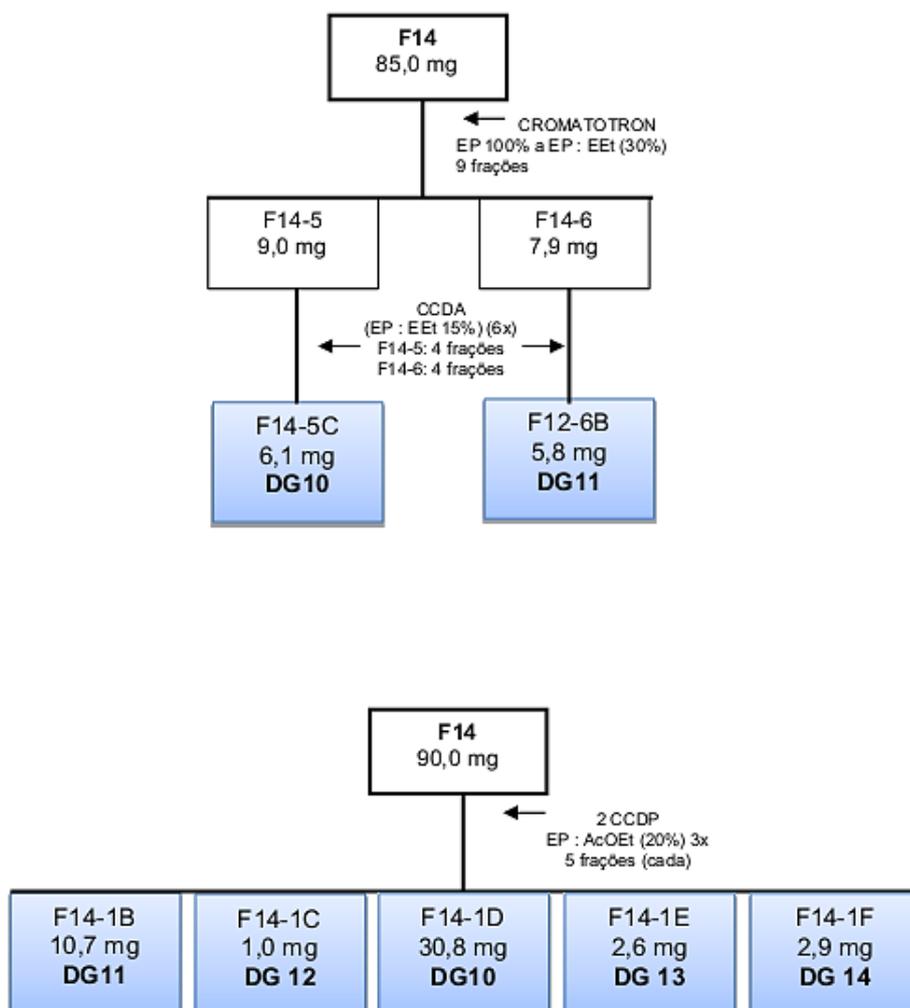


A fração F17 (500mg) devido a grande quantidade de massa foi submetida à purificação em coluna cromatográfica, rendendo 31 frações, de acordo com as condições cromatográficas especificadas no esquema. Após evaporadas e concentradas as subfrações de F17 foram analisadas por CCDA e as semelhantes agrupadas. De acordo com as características de cada fração, como quantidade em massa, complexidade das substâncias a serem separadas, foram utilizadas as técnicas cromatográficas adequadas.

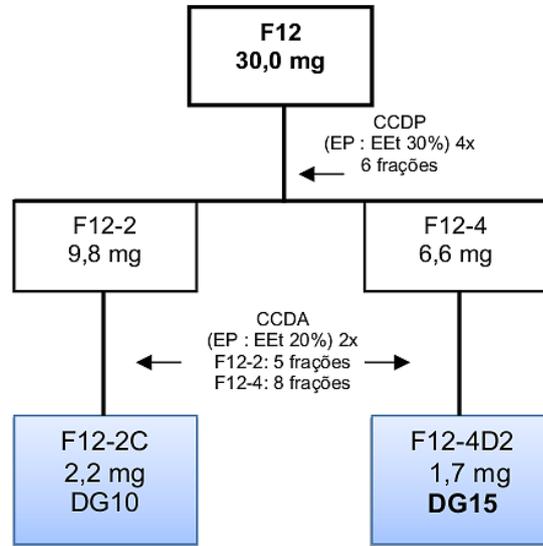
F17-9 foi submetida a purificação por CLAE, uma vez que os compostos apresentavam Rfs muito semelhantes, o que tornou a purificação em bancada impossível. Obtendo-se assim, 5 compostos puros, os quais foram coletados manualmente e com coletor automático. Foi utilizado o modo de eluição reverso, pela disponibilidade de coluna, o que possibilitou uma ótima separação.

Frações como F17-6s e F17-14c, devido a pouca quantidade de massa e boa separação dos compostos, foram purificadas por CCDA.

Esquema 3: Isolamento dos derivados de dibenzoilmetano DG10, DG11, DG12 e DG14 e da flavanona DG13.

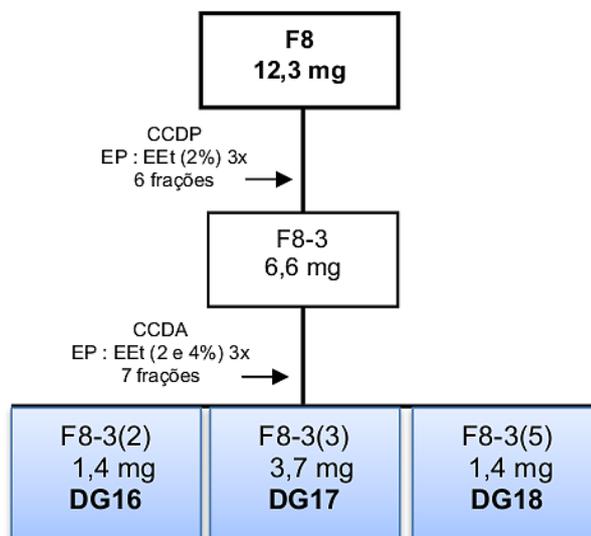


A fração F14 foi, primeiramente, submetida à purificação por cromatografia radial, entretanto esta técnica não apresentou boas separações, devido aos compostos não terem forte absorção no UV. Sendo assim, o restante da fração foi submetida a purificação por CCDP, resultando ao isolamento de 5 compostos no total.

Esquema 4: Isolamento da flavanona DG15.

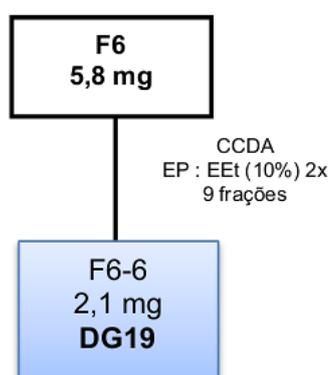
F12 (30mg) foi purificada por CCDP, conforme condições encontradas no esquema acima. Apresentou-se bastante complexa, resultando no isolamento de dois compostos puros DG10 já isolado de F14 e a flavanona DG15.

Esquema 5: Isolamento dos derivados de dibenzoilmetano DG17 e DG18 e da chalcona DG16.



A fração F8 foi purificada por CCDP e diante do elevado grau de complexidade, apenas F8-3 foi possível ser purificada, resultando no isolamento de 3 compostos, dos quais DG18 é inédito.

Esquema 6: Isolamento da chalcona DG19.



3.5 ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA *IN VITRO*

A avaliação da atividade antiproliferativa foi realizada de acordo com a metodologia desenvolvida pelo “National Cancer Institute” - NCI-USA, utilizando 11 linhagens de células tumorais humanas U251 (glioma, SNC), UACC-62 (melanoma), MCF-7 (mama), NCI-ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos), 786-0 (rim), NCI-H460 (pulmão, tipo células não pequenas), PC-3 (próstata), OVCAR-3 (ovário), HT-29 (cólon), K562 (leucemia) e HaCat (queratinócito humano, célula normal imortalizada).

As linhagens de células foram distribuídas em placas de 96 poços (100 μL célula/poço) e submetidas a quatro níveis diferentes de concentração 0,25; 2,5; 25,0 e 250,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ dos extratos, separadamente. Em DMSO (0,1%) a 37⁰C, com 5% de CO₂ por 48 horas. Como controle positivo foi padronizado a doxorrubicina nas mesmas concentrações das amostras testes. A concentração final de DMSO não afeta a viabilidade da célula. Após um período de incubação de 48 horas, uma solução de ácido tricloroacético 50% foi adicionada e depois de incubação de 30 minutos a 4⁰C, as células foram lavadas e secadas. A proliferação das células foi determinada pela quantificação espectrofotométrica (540 nm) do teor de proteína celular usando sulforodamina B (SRB), a qual é um corante proteico que se liga aos aminoácidos básicos das proteínas de células que estavam viáveis no momento da fixação. Por isso, quanto maior a quantidade de SRB ligada ao compartimento, menor a atividade citotóxica da amostra em teste. Os dados obtidos foram analisados graficamente relacionando a porcentagem de inibição de crescimento com a concentração do extrato teste (Fouche *et al.*, 2006).

Os testes antiproliferativos foram realizados na Divisão de Farmacologia e Toxicidade do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Química, Biológica e Agrícola (CPQBA) - UNICAMP, com a colaboração do Dr. João Ernesto de Carvalho.

3.6 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO*

A atividade antimicrobiana dos extratos brutos foi testada contra nove micro-organismos: *Escherichia coli* ATCC 11775, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538,

Streptococcus pneumoniae ATCC 11733, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida dubliniensis* CBS 7987 e *Candida krusei* CBS 573.

A subcultura dos micro-organismos foi realizada durante a noite a 36°C usando Nutrient Agar (Merck) para as bactérias e Sabouraud Dextrose Agar para *Candida* spp. A preparação dos inóculos para os ensaios foi realizada por diluição de uma massa de células raspadas em solução de NaCl a 0,85%, ajustado a escala de McFarland 0,5 e confirmado pela leitura em espectrofotômetro a 625 nm para bactérias ou 530 nm para levedura.

As suspensões de células foram finalmente diluídas para 104 UFC mL⁻¹ ou 103 para utilização nos ensaios de atividade, respectivamente, para bactérias e levedura. Os testes de Concentração Inibitória Mínima (MIC) foram realizados de acordo com a CLSI (2002 e 2005), utilizando caldo Muller-Hinton sobre uma placa de ensaio de cultura de tecidos (96 poços) ou caldo RPMI-1640. A solução estoque dos extratos brutos foi diluída e transferida para o primeiro poço, e foram feitas diluições em série de modo que concentrações obtidas foram na faixa de 1,0-0,015 mg.mL⁻¹. Como controle de referência foram utilizados os antibióticos Cloranfenicol e Nistatina (Merck) com concentração na faixa de 0,25 - 0,002 mg.mL⁻¹. O inóculo foi adicionado a todos os poços e as placas foram incubadas a 36°C durante 48 h. Cada concentração foi realizada em triplicata. A atividade antibacteriana foi detectada por adição de 20 µL de solução de 0,5% de TTC (cloreto de trifeniltetrazólio, Merck) aquoso. MIC foi definido como a concentração mínima da amostra que inibiu o crescimento visível, tal como indicado por coloração TCC (células mortas não são coradas pelo TTC). No caso de *Candida* spp, após o período de incubação, verificou-se mudança na coloração do meio RPMI-1640 passando de rosa (cor original) para amarelo. A mudança indica uma acidificação do meio pelo crescimento dos micro-organismos.

Os testes antimicrobianos foram realizados na Divisão de Microbiologia do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) - UNICAMP, com a colaboração da Dra. Marta Duarte Teixeira.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo fitoquímico do extrato diclorometânico das raízes de *D. glaziovii*, resultou no isolamento de dezenove flavonoides (Figura 10), dos quais dois pertencentes à classe das chalconas, duas flavanonas, oito flavonas, seis dibenzoilmetanos, sendo um inédito como produto natural e um rotenoide. As substâncias foram identificadas com base em dados espectrais de RMN e comparação destes com os presentes na literatura e encontram-se discutidas de acordo com cada classe pertencente.

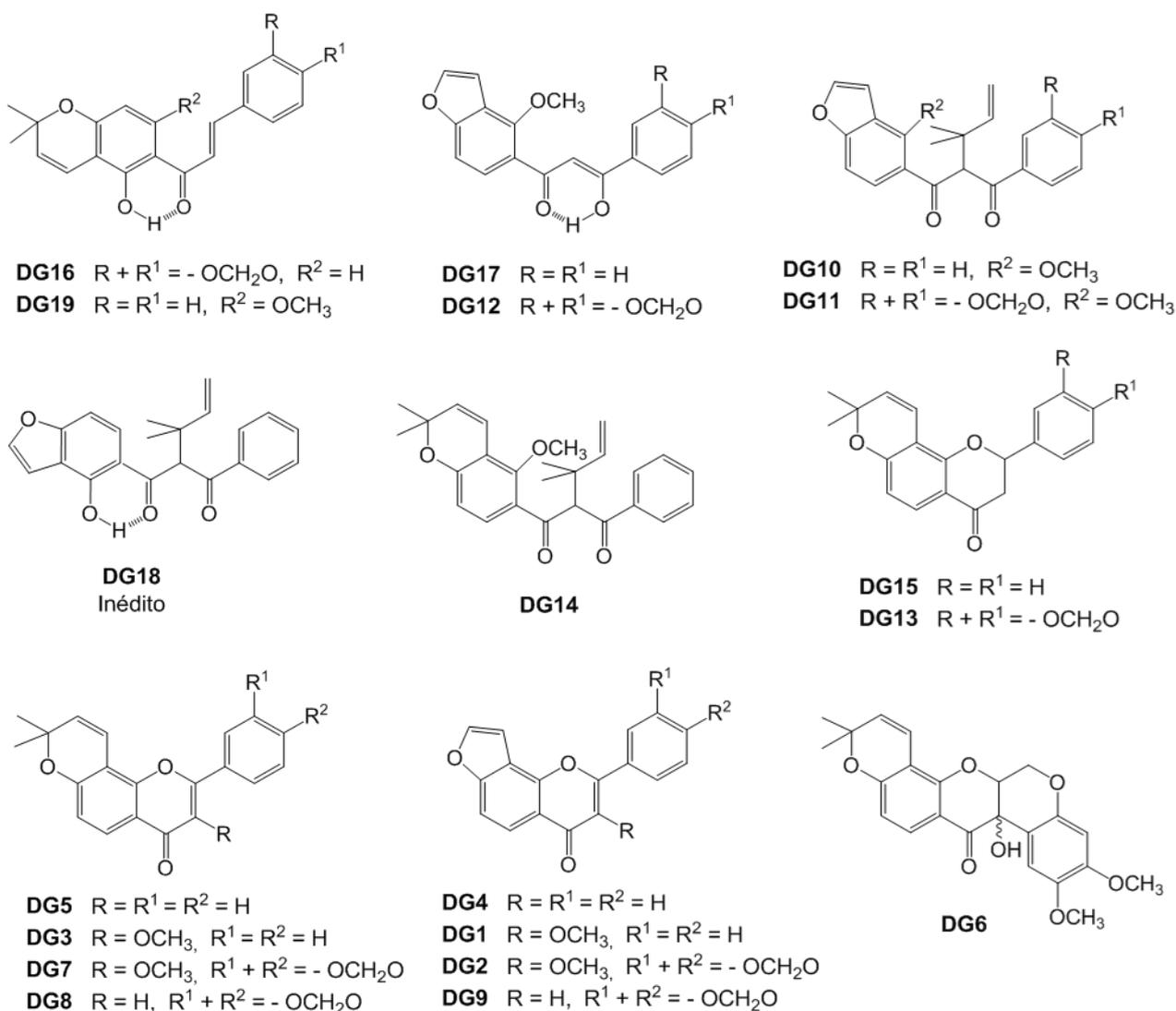
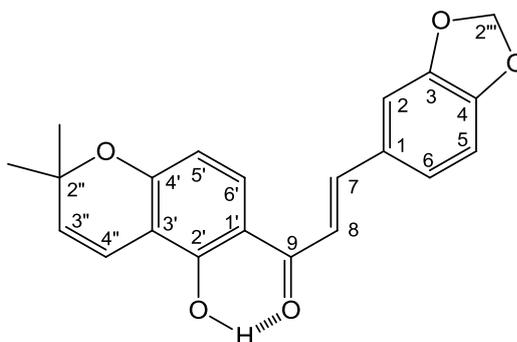


Figura 10: Flavonoides isolados de *D. glaziovii*.

4.1 CHALCONAS

As chalconas são consideradas os principais C6-C3-C6 precursores e constituem intermediários importantes na biossíntese dos flavonoides. É uma classe pouco encontrada na natureza, uma vez que a presença do grupo hidroxila nos carbonos C-2' ou C-6', no anel B, pode facilmente ciclizar originando a flavanona. Chalconas se caracterizam por apresentar coloração amarela, muitas vezes bastante intensa. As substâncias desta classe isoladas de *D. glaziovii* foram **DG16** e **DG19**.

4.1.1 Determinação estrutural de **DG16**



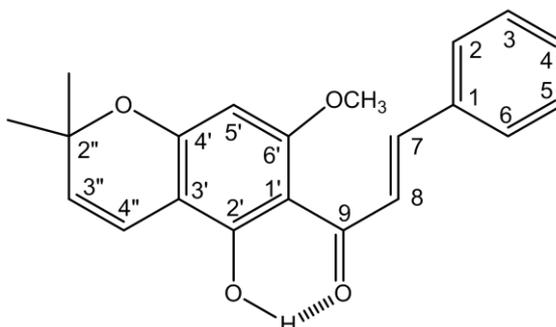
O espectro de RMN ^1H (Tabela 5, E6-E8, Anexo, pág. 78-80) apresentou sinais em δ 7,80 (1H; d; $J = 15,3$ Hz, H-7) e δ 7,40 (1H; d; $J = 15,3$ Hz, H-8), característicos de chalcona α - β insaturadas e constantes de acoplamento de acordo com ligação dupla com configuração *E*. A presença do grupo metilenodioxí foi identificada devido ao sinal intenso em δ 6,04 (2H; s, H-2''') e δ 101,8 (C-2''') no experimento de HSQC e a posição deste grupo foi confirmada pela presença de acoplamento *orto* e *meta* dos hidrogênios do anel A em δ 7,13 (1H; dd; $J = 8,0$ e 1,7 Hz, H-6), δ 6,85 (1H; d; $J = 8,0$ Hz, H-5) e δ 7,17 (1H; d; $J = 1,7$ Hz, H-2) e pelas correlações entre estes com os carbonos em δ 148,5 (C-3) e 150,2 (C-4), no experimento de HMBC, característicos de carbonos oxigenados.

Observou-se, ainda, a presença do anel 2'',2''-dimetilcromeno pelos sinais em δ 5,59 (1H; d; $J = 10,0$ Hz, H-3'') e em δ 6,76 (1H; dd; $J = 10,0$ e 0,6 Hz, H-4''), cuja constante de 10 Hz corresponde à ligação dupla com configuração *Z* enquanto que a constante de 0,6 Hz é devido ao acoplamento a longa distância com H-5' do anel B. A presença deste grupo foi corroborada, também, pelas metilas em δ 1,47 (6H; s) e

pelas correlações com os respectivos carbonos em δ 109,5 (C-3'), δ 159,7 (C-4'), δ 116,1 (C-4'') e δ 128,3 (C-3'') nos experimentos de HSQC e de HMBC. A presença de uma hidroxila com ligação intramolecular em δ 13,74 (1H; s, OH-2') ligada a C-2' (δ 160,5), juntamente com os sinais em δ 7,70 (1H; d; J = 9,0 Hz, H-6') e em δ 6,38 (1H; dd; J = 9,0 e 0,6 Hz, H-5'), que apresentam acoplamento *orto*, define a posição correta dos grupos hidroxila e 2'',2''-dimetilcromeno. E, finalmente, foi observada a presença da carbonila em δ 191,9 (C-9).

De acordo com os dados experimentais e dados da literatura foi possível a identificação de 2'-hidroxi-3,4-metilenodioxi-2'',2''-dimetilcromeno-[3',4':5'',6''] chalcona, conhecida como glabracromeno-II isolado primeiramente de *Pongamia glabra* (Sharma *et al.*, 1973 e Saini *et al.*, 1983) e de *Pongamia pinnata* (Li *et al.*, 2006). Este composto é encontrado pela primeira vez no gênero *Dahlstedtia*.

4.1.2 Determinação estrutural de **DG19**



O espectro de RMN ^1H de **DG19** (Tabela 6, E9-E12, Anexo, pág. 81-84) apresentou sinais em δ 7,78 (1H; d; J = 15,7 Hz, H-7) e δ 7,89 (1H; d; J = 15,7 Hz, H-8), caracterizando o esqueleto típico de chalcona α - β insaturadas, com constantes de acoplamento típicas de configuração *E* de ligação dupla. A presença de um sinal em δ 14,52 (1H; s, 2'-OH) e o deslocamento do carbono correspondente em δ 162,5 (C-2'), confirmaram a presença da hidroxila ligada intramolecularmente com a carbonila em δ 192,7 (C-9).

Verificou-se a presença do anel A monossubstituído com deslocamentos em δ 7,61 (2H; m, H-2 e H-6) e em δ 7,40 (3H; m, H-3, H-4 e H-5). A presença de metoxila ligada ao anel aromático em δ 3,92 (3H; s, OCH₃), foi confirmada pelo deslocamento em δ 55,8 posicionada em C-6' (δ 162,5). Observou-se, também, a presença do anel

2'',2''-dimetilcromeno, devido aos deslocamentos em δ 6,69 (1H; d; J = 10,0 Hz, H-4'') e em δ 5,47 (1H; d; J = 10,0 Hz, H-3'') no espectro de RMN ^1H , e pelas correlações destes hidrogênios com os carbonos em δ 103,0 (C-3'), δ 160,4 (C-4'), δ 116,2 (C-4'') e δ 125,6 (C-3'') nos experimentos de HSQC e HMBC.

Diante destes resultados têm-se duas possibilidades de localização do anel 2'',2''-dimetilcromeno, linear ou angular em relação ao anel B (Figura 11). No experimento de NOE (E11, Anexo, pág.83), ao irradiar os hidrogênios da metoxila (OCH_3) houve um aumento do sinal de H-5', o procedimento inverso também foi realizado, ao irradiar H-5', houve um incremento no sinal da metoxila, concluindo que a metoxila estava vicinal ao H-5'. Também foi irradiado o H-4'', observando apenas um incremento de sinal do H-3''. Diante disso, a proposta para **DG19** está representada na Figura 11(B).

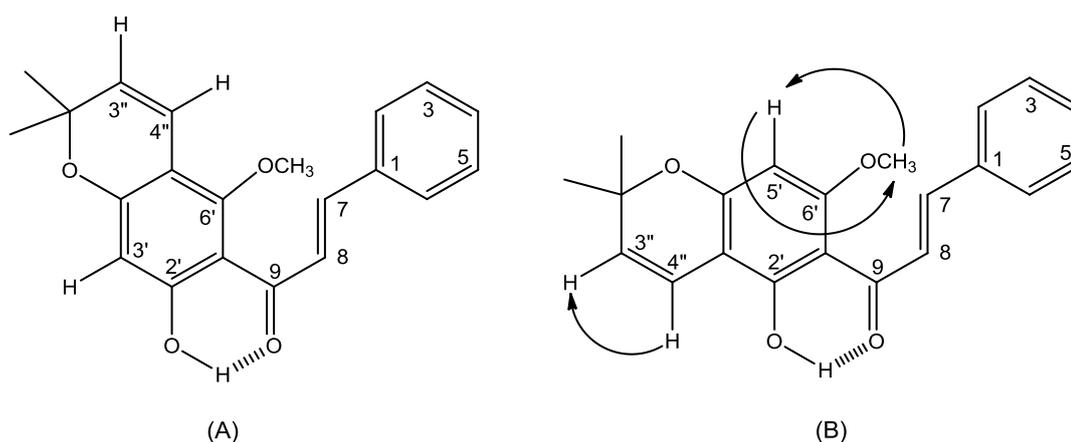


Figura 11: Propostas estruturais para **DG19**.

De acordo com os dados observados e comparação com dados da literatura, **DG19** foi determinada como 2'-hidroxi-6'-metoxi-2'',2''-dimetilcromeno-[3',4':5'',6'':]-chalcona (Andrei *et al.*, 2000), isolada de *Tephrosia tunicata*. Também conhecida como pongachalcona, tem sido relatada em *Dahlstedtia erytrina* e *pentaphylla* (Garcez *et al.*, 1988) e em *Pongamia glabra* (Pathak *et al.*, 1983).

4.2 DERIVADOS DE DIBENZOILMETANO

Esta classe de metabólitos, também conhecida como β -hidroxichalcona, é raramente encontrada na natureza, e os exemplares com substituição em C-8 são relatados apenas no gênero *Lonchocarpus*.

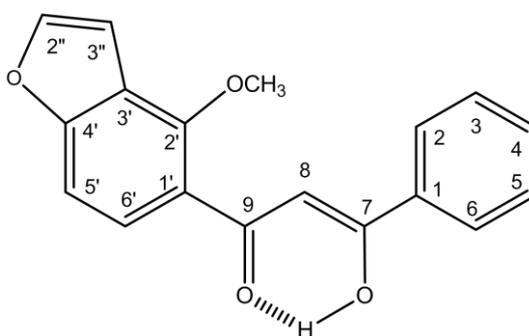
Em levantamento bibliográfico realizado por Cassidy e Setzer, 2011, revelou a descrição de apenas treze derivados de dibenzoilmetanos no gênero *Lonchocarpus*, sendo que agora algumas destas espécies pertencem ao gênero *Dahlstedtia*.

Esta classe de compostos foi isolada de *L. costaricensis*, *D. floribunda* (*L. subglaucescens*), *L. latifolius*, *D. montana* (*L. montanus*), *D. muehlbergiana* (*L. muehlbergianus*) e *Muelleria fluvialis* (*L. fluvialis*). Dados ainda não publicados do nosso grupo de pesquisa (Santos, 2008) revelam o isolamento de três novos dibenzoilmetanos e outro descrito pela primeira vez como produto natural isolados de *Muelleria filipes* (*L. filipes*).

Derivados de dibenzoilmetano podem atuar como filtro solar, além de apresentarem atividades anti-inflamatórias e antiproliferativa.

Foram isolados seis dibenzoilmetanos de *D. glaziovii*: **DG17**, **DG12**, **DG10**, **DG11**, **DG18** e **DG14**.

4.2.1 Determinação estrutural de **DG17**



O espectro de RMN de ^1H (Tabela 7, E13-E15, Anexo, pág. 83-87) desta substância apresentou sinais característicos do esqueleto de dibenzoilmetano, devido a presença de um hidrogênio referente a hidroxila enólica com ligação intramolecular no sistema C-3 aberto, em δ 16,91 (1H, s, 7-OH) e do sinal em δ 7,17 (1H; s, H-8), e no mapa de correlação de HMBC observa-se a presença de dois

carbonos em δ 184,6 (C-7) e δ 186,3 (C-9), caracterizando as carbonilas deste sistema. Devido a este equilíbrio C-8 é observado em δ 98,0. Esse tipo de estrutura pode encontrar-se em equilíbrio na forma dicetona (Figura 12A) e na forma ceto-enólica, estando neste caso o seu equilíbrio deslocado para a forma ceto-enólica (Figura 12B). Isso é comprovado pela análise dos dados de RMN de ^1H considerando a presença da hidroxila quelada e de H-8 com deslocamento de hidrogênio ligado a carbono com hibridização sp^2 e sua integração para um hidrogênio.

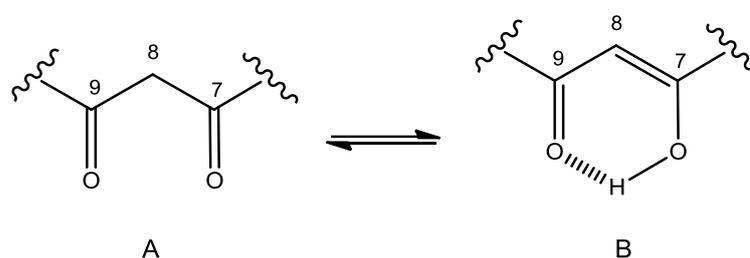


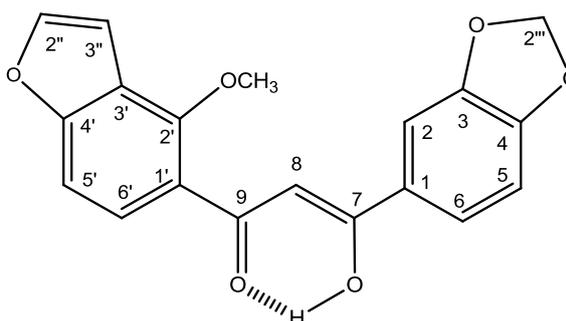
Figura 12: Equilíbrio ceto-enólico para dibenzoilmetano.

Verificou-se, ainda, a presença do anel A monossustituído pelos sinais em δ 7,98 (2H, m, H-2 e H-6) e em δ 7,51 (3H, m, H-3, H-4 e H-5). Um sinal intenso em δ 4,15 (3H; s, 2'-OCH₃) ligado ao carbono em δ 61,2 (-OCH₃), referente a metoxila posicionada em C-2' (δ 153,7), deslocamento característico de carbono oxigenado. A presença do anel furano foi observada pelos deslocamentos em δ 7,63 (1H; d; J = 2,2 Hz, H-2'') e δ 7,00 (1H; d; J = 2,2 Hz, H-3''), e sua posição angular no anel foi determinada pela presença dos hidrogênios do anel aromático B com acoplamento *orto* que são observados em δ 7,88 (1H; d; J = 8,8 Hz, H-6') e em δ 7,32 (1H; d; J = 8,8 Hz, H-5'). Pelos experimentos de HSQC e HMBC se confirma a presença do anel furano considerando as correlações de H-2'' e H-3'' com δ 158,2 (C-4'), δ 119,6 (C-3'), δ 145,1 (C-2'') e δ 105,4 (C-3'').

A estrutura foi confirmada pela comparação com dados da literatura e determinada como β -hidroxibenzofuranochalcona (Talapatra *et al.*, 1980), conhecida como pongamol, encontrado também nas seguintes espécies: *Tephrosia purpurea* (Parmar *et al.*, 1989), em *Pongamia pinnata* (Tanaka *et al.*, 1992), em *Pongamia glabra* (Tamrakara *et al.*, 2008) e, em espécies de *Lonchocarpus* (Magalhães *et al.*, 1997 e Santos, 2008).

Em estudos realizados com *Derris indica* (*Pongamia pinnata*), o pongamol isolado apresentou-se como potente inibidor de α -glucosidase intestinal (Rao *et al.*, 2009) e apresentou, também, significativa atividade hiperglicêmica em estudo *in vivo* (Tamrakara *et al.*, 2008).

4.2.2 Determinação estrutural de **DG12**



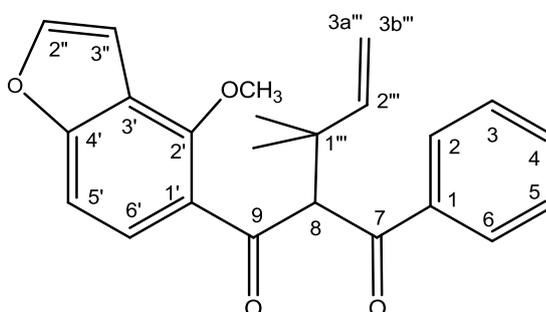
O espectro de RMN ^1H (Tabela 8, E16-E18, Anexo, pág. 88-90) de **DG12** apresentou-se muito semelhante ao da **DG17**, diferenciando-se apenas pela presença do grupo metilenodioxí em δ 6,07 (2H; s; H-2''') e os hidrogênios do anel A que apresentam acoplamentos *orto* e *meta* em δ 7,59 (1H; dd; J = 8,2 e 1,8 Hz, H-6), δ 6,90 (1H; d; J = 8,2 Hz, H-5) e δ 7,46 (1H; d; 1,8 Hz, H-2). Os dados do HMBC confirmam a presença do metilenodioxí pelos sinais em δ 148,3 (C-3) e 151,0 (C-4).

O restante do espectro permaneceu bastante semelhante com sinais em δ 7,06 (1H; s, H-8) e em δ 97,3 (C-8), em δ 184,6 (C-7) e δ 184,9 (C-9), os quais foram atribuídos às carbonilas características do esqueleto de dibenzoilmetano juntamente com a hidroxila ligada intramoleculamente em δ 16,99 (1H; s, 7-OH).

Verificou-se, ainda, um sinal intenso em δ 4,14 (3H; s, 2'-OCH₃), referente à metoxila confirmada pelo deslocamento em δ 61,2, posicionado em δ 153,5 (C-2'), característico de carbono oxigenado de sistema aromático. A presença do anel furano foi confirmada pelos deslocamentos em δ 7,63 (1H; d; J = 2,3 Hz, H-2'') e δ 7,00 (1H; dd; J = 2,3 e 1,0 Hz, H-3''), cuja posição deste foi confirmada pelo acoplamento à longa distância de H-3'' com H-5' em δ 7,31 (1H; dd; J = 8,8 e 1,0 Hz) e pelo acoplamento *orto* deste último com o H-6' em δ 7,86 (1H; d; 8,8 Hz). As correlações destes sinais no HMBC com os carbonos em δ 153,6 (C-4'), δ 117,7 (C-3'), δ 144,8 (C-2'') e δ 105,2 (C-3'') confirmam a presença do anel furano.

De acordo com os dados observados e por comparação com a literatura, **DG12** foi determinada como 3,4-metilenodioxi-2'-metoxi-[3',4':4'',5'']-furanodibenzoilmetano isolado pimeiramente de *Milletia ovalia* (Gupta e Krishnamurti, 1977), conhecido como ovalitenona, posteriormente isolado de *Dahlstedtia pinnata* (Garcez *et al.*; 1988 e Rao *et al.*, 2009), *Pongamia glabra* (Talapatra *et al.*, 1980) e *P. pinnata* (Tanaka *et al.*, 1992 e Yadav *et al.*, 2004).

4.2.3 Determinação estrutural de **DG10**



Na análise espectral de RMN ^1H e RMN ^{13}C (Tabela 9, E19-E22, Anexo, pág. 91-94) desta substância verificou-se a presença de sinais em δ 5,74 (1H; s, H-8) e duas carbonilas em δ 195,4 (C-7) e em δ 197,7 (C-9), típicas de esqueleto de dibenzoilmetano na forma dicetona.

Além disso, observou-se a presença do grupo dimetilalila, pelos deslocamentos em δ 6,10 (1H; dd; $J = 17,4$ e $10,8$ Hz, H-2'''), em δ 4,91 (1H; dd; $J = 17,4$ e $1,0$ Hz, H-3a'''), em δ 4,87 (1H; dd; $J = 10,8$ e $1,0$ Hz, H-3b''') e os sinais referentes aos grupos metilas em δ 1,23 (3H; s) e em δ 1,21 (3H; s), os quais apresentam as constantes de acoplamento típicas de um sistema de ligação dupla terminal, com constante geminal de $1,0$ Hz entre os hidrogênios H-3a''' e H-3b''' e constantes *cis* e *trans* vicinais com o H-2'''. Através da análise do experimento de HMBC determinou-se a posição deste grupo em C-8, pela correlação em δ 67,0 (C-8).

Comparando esta substância com **DG17** e **DG12**, anteriormente descritas, observa-se a ausência da hidroxila com ligação de hidrogênio intramolecular em torno de 16 ppm, indicando que a **DG10** está preferencialmente na forma dicetona. A presença do grupo dimetilalila no C-8 dificulta a ocorrência da isomerização para a

forma ceto-enólica, quando toda a estrutura estaria no mesmo plano, aumentando o impedimento estérico entre o grupo ligado ao C-8 (dimetilalila) com OCH₃ em C-2'.

Este mesmo derivado de dibenzoilmetano foi isolado por Magalhães *et al.*, 1997, em que sugere que a unidade benzoíla (anel A) e a ligação C-8/H-8 encontram-se no mesmo plano, enquanto que o anel B e o grupo 3,3-dimetilalila estão projetados para fora do plano (Figura 13), sustentando a ideia de que a forma diceto prevalece nestes compostos.

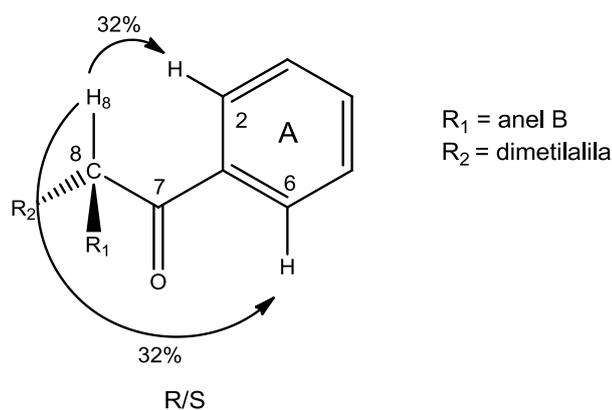


Figura 13: Estereoquímica relativa para derivado de dibenzoilmetano substituído em C-8. (Adaptado de Magalhães *et al.*, 1997).

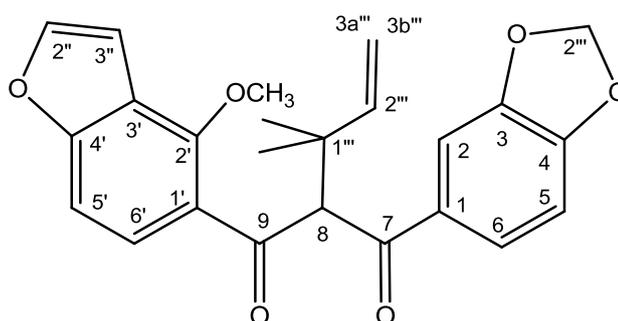
Verificou-se, ainda, a presença do anel A monossustituído pelos sinais em δ 8,02 (2H, m, H-2' e H-6') e em δ 7,50 (3H, m, H-3', H-4' e H-5'). Um sinal intenso em δ 3,84 (3H; s, 2'-OCH₃), atribuído a metoxila confirmada pelo deslocamento em δ 60,2 e posicionado em 152,3 (C-2'), característico de carbono oxigenado. A presença do anel furano foi observada pelos deslocamentos em δ 7,59 (1H; d; J = 2,3 Hz, H-2'') e δ 6,93 (1H; dd; J = 2,3 e 0,8 Hz, H-3'') e sua posição determinada pelo acoplamento a longa distância de H-3'' com H-5' (δ 7,18; dd; J = 8,6 e 0,8 Hz) e o acoplamento *orto* deste último com o H-6' (δ 7,44; d; 8,6 Hz). A presença do anel furano também foi detectada nos experimentos de HSQC e HMBC pelas correlações com os carbonos em δ 158,8 (C-4'), δ 117,4 (C-3'), δ 144,9 (C-2'') e δ 105,6 (C-3'').

Este composto apresenta estereocentro em C-8, sendo o valor da rotação óptica observada de $[\alpha]_{20}^D = +11,05$ na concentração de $6,1 \times 10^{-3} \text{ g.mL}^{-1}$.

De acordo com os dados observados e por comparação com dados da literatura, **DG10** foi determinada como 2'-metoxi-8-(α - α -dimetilalila)-[3',4':4'',5'']-furanodibenzoilmetano, isolado pela primeira vez de *Lonchocarpus latifolius* e *D.*

muehlbergiana (*L. muehlbergianus*) (Magalhães *et al.*, 1997 e 2000), posteriormente de *M. montana* (*L. montanus*) (Magalhães *et al.*, 2007) e em *M. filipes* (*L. filipes*) (Santos *et al.*, 2009). Este composto tem demonstrado atividade contra *Bacillus subtilis* (bactéria), *Aspergillus niger* (fungo) e *Cladosporium cladosporioides* (fungo endofítico) (Magalhães *et al.*, 2007).

4.2.4 Determinação estrutural de **DG11**



O espectro de RMN ^1H (Tabela 10, E23-E23, Anexo, pág. 95-98) de **DG11** indicou ser muito semelhante ao da **DG10**, diferenciando-se apenas pela presença do grupo metilenodioxi em δ 6,02 (1H; d; 1,4 Hz) e δ 6,03 (1H; d; 1,4 Hz) H-2'', e os hidrogênios do anel A que apresentam acoplamentos *orto* e *meta* em δ 7,64 (1H; dd; $J = 8,2$ e 1,8 Hz, H-6), δ 6,83 (1H; d; $J = 8,2$ Hz, H-5) e δ 7,49 (1H; d; 1,8 Hz, H-2). Os dados do espectro de RMN $^{13}\text{C}\{\text{H}\}$ confirmam a presença do metilenodioxi pelos sinais em δ 148,1 (C-3) e 151,5 (C-4).

O restante dos espectros de ^1H e ^{13}C RMN permaneceram muito semelhante com sinais em δ 5,63 (1H; s, H-8), em δ 193,3 (C-7) e em δ 197,6 (C-9), os quais foram atribuídos às carbonilas características do esqueleto de dibenzoylmenteno na forma dicetona. Além disso, a presença do grupo dimetilalila foi observado pelos deslocamentos em δ 6,10 (1H; dd; $J = 17,3$ e 10,7 Hz, H-2'''), em δ 4,91 (1H; dd; $J = 17,3$ e 1,0 Hz, H-3a'''), em δ 4,87 (1H; dd; $J = 10,7$ e 1,0 Hz, H-3b''') e os sinais referentes às metilas em δ 1,22 (3H; s), em δ 1,20 (3H; s), indicando, pelo observado nos experimentos de HSQC e HMBC a correlação destes hidrogênios com C-8 em δ 66,7, definindo sua posição.

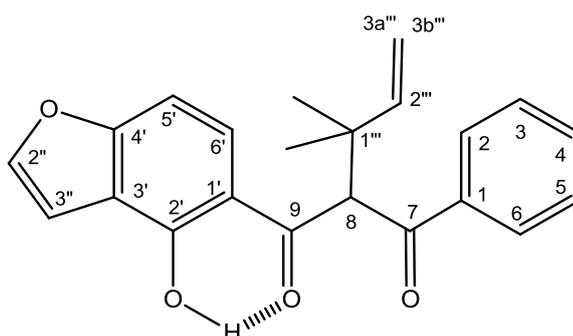
Verificou-se, ainda, um sinal intenso em δ 3,94 (3H; s, 2'-OCH₃), referente ao grupo metoxila, confirmado pelo deslocamento em δ 152,3 (C-2'). A presença do anel furano foi observada pelos deslocamentos em δ 7,59 (1H; d; $J = 2,3$ Hz, H-2'') e

δ 6,94 (1H; dd; $J = 2,3$ e $1,0$ Hz, H-3''), cuja posição deste foi confirmada pelo acoplamento a longa distância de H-3'' com H-5' em δ 7,17 (1H; dd; $J = 8,6$ e $1,0$ Hz) e pelo acoplamento *orto* deste último com o H-6' em δ 7,41 (1H; d; $8,6$ Hz). Os sinais em δ 158,7 (C-4'), δ 117,7 (C-3'), δ 144,8 (C-2'') e δ 105,6 (C-3'') confirmam a presença do anel furano.

Esta substância possui estereocentro em C-8, cujo valor da rotação óptica observada foi de $[\alpha]_{20}^D = +16,22$ na concentração de $5,8 \times 10^{-3}$ g.mL⁻¹.

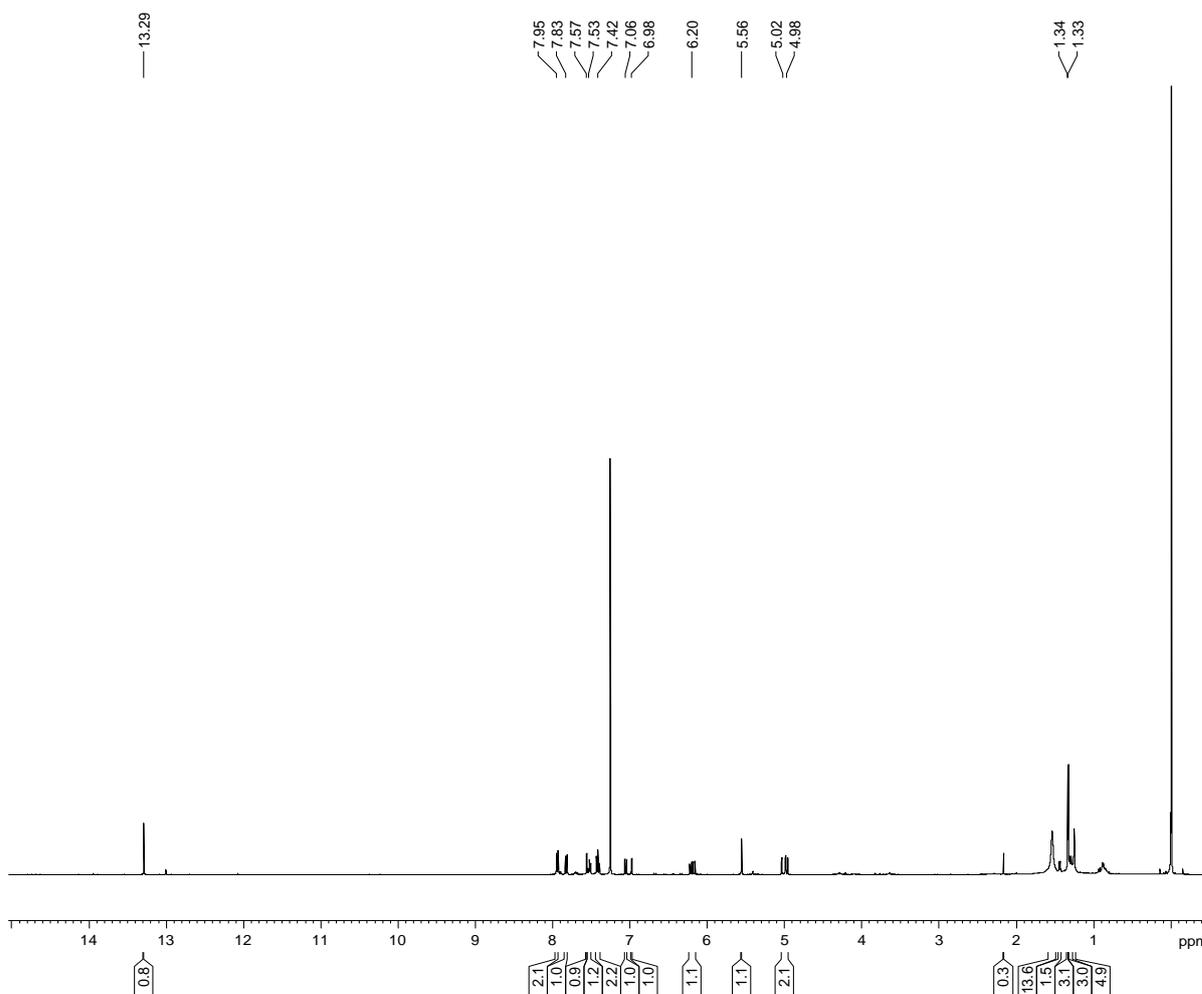
De acordo com os dados observados e por comparação com a literatura, **DG11** foi determinada como 3,4-metilenodioxi-2'-metoxi-8-(α - α -dimetilalila)-[3',4':4'',5'']-furanodibenzoilmetano isolado pela primeira vez de *D. muehlbergiana* (*L. muehlbergianus*) e de *L. latifolius* (Magalhães *et al.*, 1997 e 2000).

4.2.5 Determinação estrutural de **DG18**

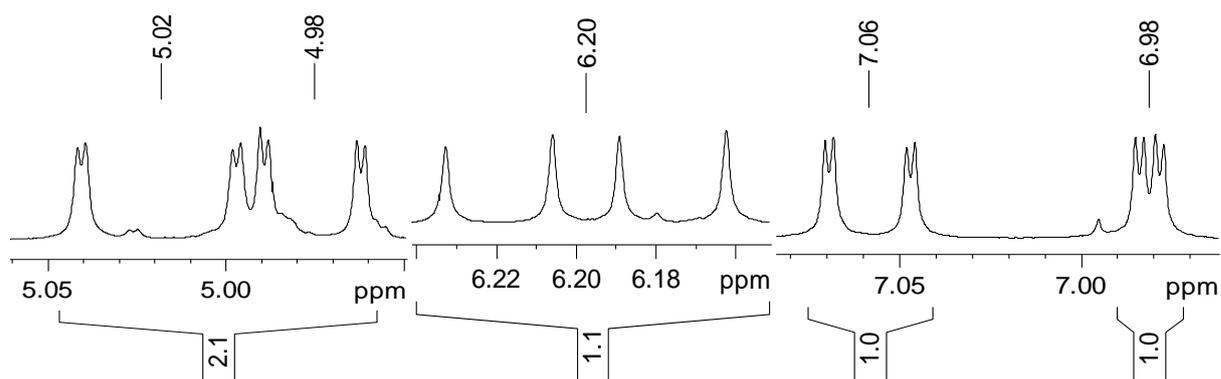


A análise do espectro de RMN de ¹H (E1, pág.43) (Tabela 11, E27 e E28, Anexo, pág. 99-101) desta substância é muito semelhante com o da substância **DG10**, devido aos sinais observados para H-8 em δ 5,57 (1H; s), as carbonilas C-7 em δ 193,9 e C-9 em δ 200,0; o anel A monossubstituído em δ 7,95 (2H, m, H-2 e H-6), em δ 7,53 (1H; m, H-4) e em δ 7,42 (2H, m, H-3 e H-5); o grupo dimetilalila em δ 6,20 (1H; dd; $J = 17,5$ e $10,7$ Hz, H-2''), em δ 5,02 (1H; dd; $J = 17,5$ e $0,9$ Hz, H-3a''), em δ 4,98 (1H; dd; $J = 10,7$ e $0,9$ Hz, H-3b''), em δ 1,33 (3H; s) e em δ 1,34 (3H; s) localizado em C-8 (δ 62,0) devido as correlações observadas no experimento de HMBC (Figura 14). Diferentemente de C-8 observado para DG11 (δ 66,7) este apresenta-se menos deslocado no espectro, o que evidencia a hidroxila com ligação intramolecular com a carbonila C-9, sendo observada pelo sinal em δ 13,30 (1H; s, 2'-OH). Além disso, a posição da hidroxila foi definida, também, pelas correlações

com o anel furano, o qual foi observado pelos deslocamentos em δ 7,57 (1H; d; J = 2,2 Hz, H-2") e em δ 6,98 (1H; dd; J = 2,2 e 0,9 Hz, H-3"), sendo a posição deste definida no anel B pela correlação com H-5' em δ 7,06 (1H; dd; J = 9,0 e 0,9 Hz) e H-6' em δ 7,83 (1H; d; 9,0 Hz), os quais apresentam acoplamento *orto* entre si e acoplamento a longa distância de H-5' com o H-3" do anel furano.



E1: Espectro de ^1H RMN de DG18 (MHz).



E2: Ampliações dos sinais referentes aos hidrogênios do grupo dimetilalila e H-3'' (anel furano) acoplado com H-5' (anel B).

Algumas das correlações do experimento de HMBC podem ser visualizadas na Figura 12.

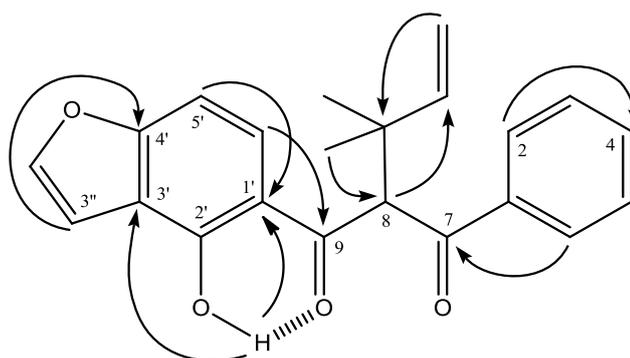
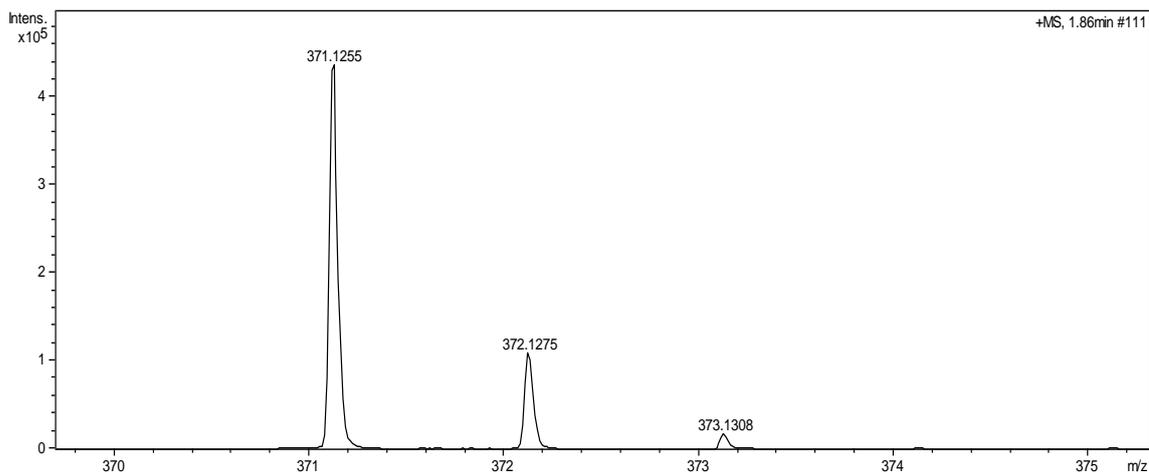


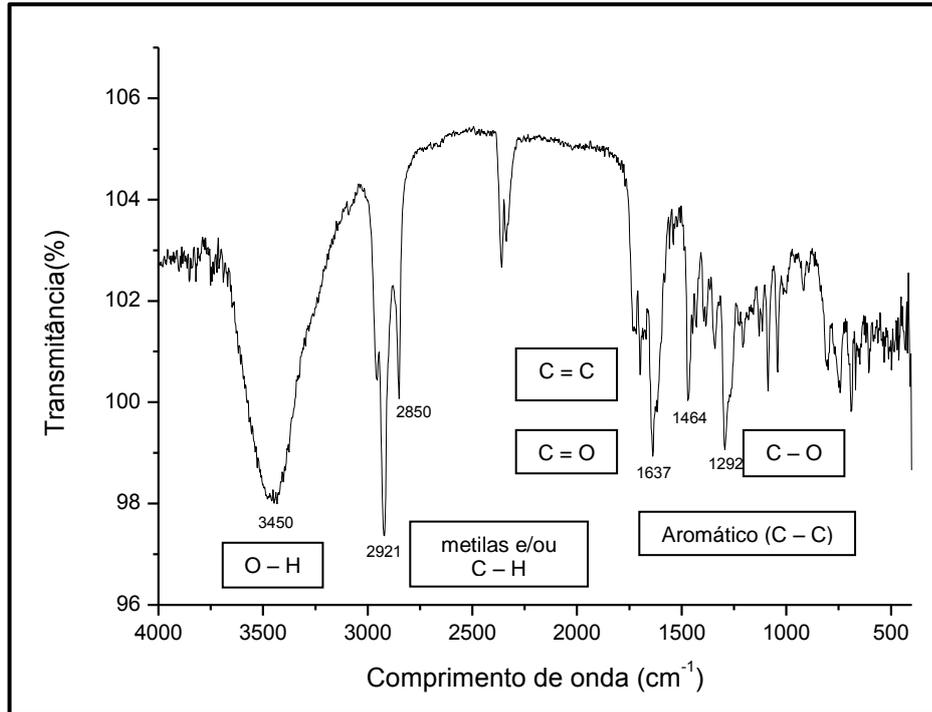
Figura 14: Correlações relevantes do HMBC observadas para **DG18**.

A fórmula molecular do composto $C_{22}H_{20}O_4$ foi calculada por EMAR no modo positivo, que revelou um pico referente ao íon pseudo-molecular do aduto de sódio de m/z 371,1255 $[M+Na]^+$ (E3, pág. 45).



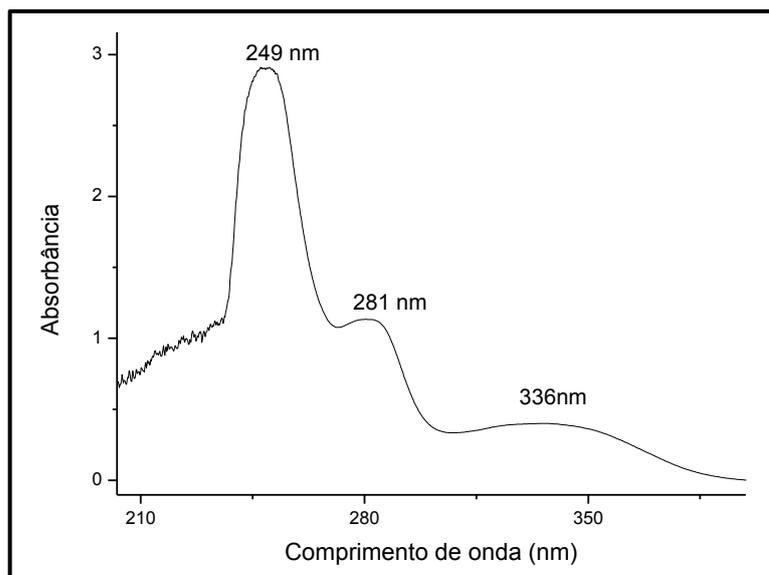
E3: Espectro de massas de alta resolução de **DG18**.

O espectro no infravermelho (E4, pág. 46) apresentou bandas características de deformação axial das ligações C–C dos esqueletos aromáticos na região de 1600 a 1300 cm^{-1} . Vibrações de deformação axial de O–H ligando-se intramolecularmente faz com que a banda de O–H seja observada em frequências mais baixas do que o normal (3.550-3.200 cm^{-1}), para esta estrutura é observada em 3.450 cm^{-1} , associada a banda de deformação axial C–O em 1292 cm^{-1} . O modo de deformação axial da ligação C=C de alcenos não conjugados apresenta uma banda de intensidade moderada a fraca em 1667-1640 cm^{-1} , podendo, portanto, estar representada no espectro no IV da estrutura proposta pelas bandas moderadas e fracas observadas acima de 1637 cm^{-1} , caracterizando a ligação dupla do grupo dimetilalila. A banda em 1637 cm^{-1} pode ser atribuída às vibrações de deformação axial de C=O, uma vez que segundo a literatura essa banda poderá ser observada como uma banda intensa na região entre 1870 e 1540 cm^{-1} . No caso das β -dicetonas estas apresentam uma banda larga entre 1.640 e 1580 cm^{-1} . Vibrações de deformação axial de C–H de alcanos ocorrem, geralmente, na região de 3.000 a 2.840 cm^{-1} , na estrutura proposta observa-se as bandas 2921 e 2850 cm^{-1} , as quais podem ser atribuídas aos grupamentos metila (Silverstein e Markhan, 2005).



E4: Espectro no IV com as principais bandas de **DG18**.

O espectro no UV (E5, pág. 47) mostrou uma banda intensa de absorção em 249 nm, correspondendo a região UVC. Uma banda de intensidade média a 281 nm, absorvendo na região de transição para UVB e UVC, outra banda de baixa intensidade em 336 nm, região característica da UVC. Os protetores solares derivados de dibenzoilmetano são mais eficientes na região UVA, impedindo a penetração da radiação nos componentes celulares vitais e bloqueiam o excesso de produção de espécies de radicais livres formadas a partir de oxigênio (Nogueira *et al.*, 2003).

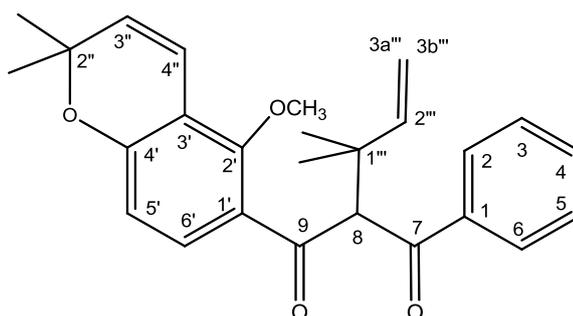


E 5: Espectro no UV de **DG18**.

DG15 possui estereocentro em C-8, cuja rotação óptica observada foi de $[\alpha]_{20}^D = -2,31$ em concentração de $1,4 \times 10^{-3} \text{ g.mL}^{-1}$.

Após revisão bibliográfica, esta substância apresentou-se como inédita na literatura, cujo nome sistemático atribuído é 2'-hidroxi-8-(α - α -dimetilalila)-[3',4':4'',5'']-furano-dibenzoilmetano e denominada como glaziovione.

4.2.6 Determinação estrutural de **DG14**



O espectro de RMN ^1H (Tabela 12, E29-E31, Anexo, pág. 102-104) desta substância apresentou sinal em δ 5,65 (1H; s, H-8) e referente a duas carbonilas em δ 195,6 (C-7) e em δ 196,4 (C-9), típicas de esqueleto de dibenzoilmetano na forma dicetona.

Além disso, observou-se a presença do grupo dimetilalila pelos deslocamentos em δ 6,08 (1H; dd; $J = 17,5$ e $10,8$ Hz, H-2'''), em δ 4,91 (1H; dd; $J =$

17,5 e 1,0 Hz, H-3a'''), em δ 4,87 (1H; dd; J = 10,8 e 1,0 Hz, H-3b''') e os sinais referentes às metilas em δ 1,21 (3H; s) e em δ 1,19 (3H; s), os quais apresentam constantes de acoplamento típicas de sistema de ligação dupla terminal. Através da análise de HMBC, pelas correlações com C-8 (δ 66,3), determinou-se a posição deste grupo.

Verificou-se, ainda, a presença do anel A monossustituído pelos sinais em δ 7,97 (2H, m, H-2' e H-6'), em δ 7,52 (1H, m, H-4') e em δ 7,43 (2H, m, H-3' e H-5'). Um sinal intenso em δ 3,51 (3H; s, 2'-OCH₃), atribuída a metoxila confirmada pelo deslocamento em δ 63,8 e posicionada em δ 155,2 (C-2'). Diferentemente dos outros derivados de dibenzoilmetano isolados de *D. glaziovii*, este ao invés do anel furano, apresenta o anel 2'',2''-dimetilcromeno, o qual foi determinado pelos deslocamentos em δ 5,65 (1H; d; J = 10,0 Hz, H-3'') e δ 6,52 (1H; dd; J = 10,0 e 0,7 Hz, H-4'') e sua posição confirmada pelo acoplamento a longa distância de H-4'' com H-5' (δ 6,54; dd; J = 8,5 e 0,7 Hz) e o acoplamento *orto* deste com o H-6' (δ 7,26; d; 8,5 Hz), juntamente com as correlações observadas no experimento de HMBC destes hidrogenios com os carbonos em δ 157,1 (C-4'), δ 114,5 (C-3'), δ 130,9 (C-3'') e δ 116,6 (C-4'').

Este composto apresenta estereocentro em C-8, sendo o valor da rotação óptica observada de $[\alpha]_{20}^D = -2,53$ na concentração de $2,9 \times 10^{-3}$ g.mL⁻¹.

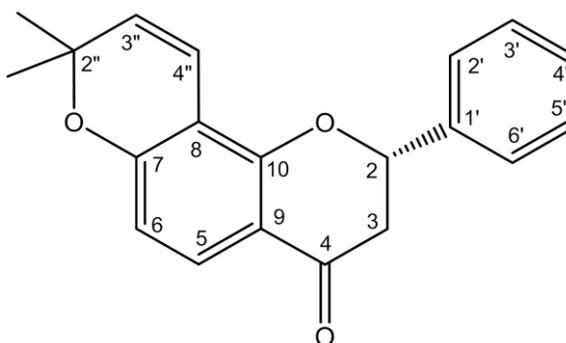
De acordo com os dados observados e por comparação com a literatura, **DG14** foi determinado como 2'-metoxi-8-(α - α -dimetilalila)-2'',2''-dimetilcromeno-[3',4':5'',6'']- dibenzoilmetano, isolado pela primeira vez de *M. montana* (*L. montanus*) (Magalhães *et al.*, 2007), sendo esta a segunda ocorrência deste composto na natureza e inédito no gênero *Dahlstedtia*.

4.3 FLAVANONAS

A sequência da rota biossintética dos flavonoides se inicia com a formação da estrutura da chalcona que, devido a atuação da enzima *chalcona sintase*, um equilíbrio é estabelecido entre a forma de chalcona (anel C aberto) e flavanona (anel C fechado), originando todas as demais classes de flavonoides.

As flavanonas possuem um estereocentro no carbono C-2, sendo em sua maioria, de configuração absoluta 2S. Foram isoladas duas flavanonas do extrato em estudo: **DG15** e **DG13**.

4.3.1 Determinação estrutural de **DG15**



A análise do espectro de RMN de ^1H (Tabela 13, E32-E34, Anexo, pág. 105-107) apresentou sinais em δ 5,48 (1H; dd; $J = 13,1$ e $3,1$ Hz, H-2), em δ 3,01 (1H; dd; $J = 16,8$ e $13,1$ Hz, H-3 pseudoaxial) e em δ 2,85 (1H; dd; $J = 16,8$ e $3,1$ Hz, H-3 pseudoequatorial), cujos deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento são típicos de hidrogênios H-2, H-3_{ax} e H-3_{eq} do anel C, característico do esqueleto de flavanonas que se encontram na conformação meia cadeira, conforme figura 15.

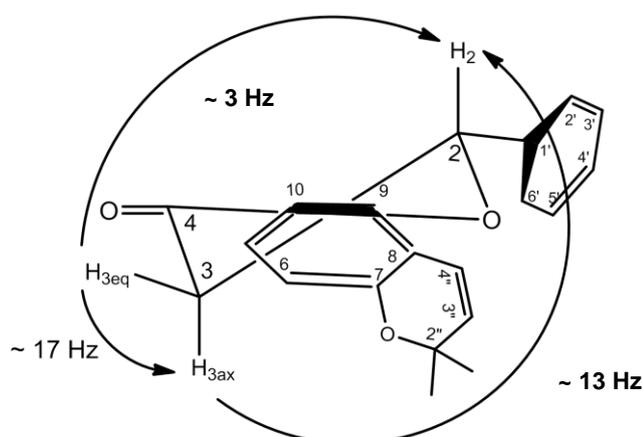


Figura 15: Conformação preferencial do anel C da flavanona e constantes de acoplamento características.

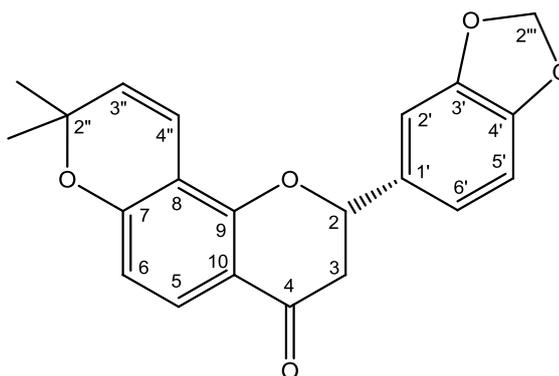
As correlações observadas no HSQC para os H-3ax e H-3eq apresentaram deslocamento em δ 44,4 típico de C-3, corroborando com o esqueleto da flavanona. Além disso a correlação destes hidrogênios com carbono em δ 190,6 (C-4), revelou a presença da carbonila, no HMBC.

Observou-se o anel B monossustituído pelo multipletto em δ 7,44 (5H; m, H-2' a H-6'), dois hidrogênios de sistema aromático com acoplamento orto em δ 7,75 (1H; d; J = 8,7 Hz, H-5) e em δ 6,50 (1H; dd; J = 8,7 e 0,7 Hz, H-6) no anel A. A presença do anel 2'',2''-dimetilcromeno foi confirmada pelos deslocamentos em δ 6,65 (1H; dd; J = 10,0 e 0,6 Hz, H-4'') e em δ 5,57 (1H; d; J = 10 Hz, H-3''), cuja posição deste foi determinada pelo acoplamento a longa distância do H-4'' com H-6 do anel A e pelas correlações destes hidrogênios com δ 159,6 (C-7), δ 109,6 (C-8), δ 129,1 (C-5'') e δ 116,1 (C-4'') no HSQC e HMBC.

A substância possui estereocentro em C-2, cujo valor da rotação óptica observada foi de $[\alpha]_{20}^D = -57,98$ em concentração de $1,7 \times 10^{-3} \text{ g.mL}^{-1}$ e por comparação com dados da literatura, teve sua configuração determinada como 2S-flavanona (Rao e Raju, 1979).

De acordo com o observado e por comparação com dados da literatura DG15 foi determinada como 2'',2''-dimetilcromeno-[8,7:5'',6'']-flavanona (Magalhães *et al.*, 2007). Este composto é conhecido como isolonchocarpina, sendo os primeiros relatos de isolamento encontrados em *Derris sericea* (Do Nascimento e Mors, 1972), e posteriormente em *L. sericeus* e *L. eriocaulinalis* (Monache *et al.*, 1978), em *Pongamia glabra* (Talapatra *et al.*, 1980), em *D. pentaphylla* (Garcez *et al.*, 1988) e em *Tephrosia purpurea* (Rao e Raju, 1979). Esta flavanona apresentou atividade contra *Staphylococcus aureus* (Magalhães *et al.*, 2007).

4.3.2 Determinação estrutural de **DG13**



O espectro de RMN ^1H (Tabela 14, E35-E37, Anexo, pág. 108-110) dessa substância apresentou-se muito semelhante ao da **DG15**, diferenciando-se apenas pela presença do grupo metilenodioxi em δ 6,01 (1H; d; 1,5 Hz) e δ 6,00 (1H; d; 1,5 Hz) H-2''' e C-2''' em δ 101,0; os hidrogênios do anel B apresentaram acoplamentos *orto* e *meta* em δ 6,91 (1H; dd; J = 8,0 e 1,8 Hz, H-6'), δ 6,84 (1H; d; J = 8,0 Hz, H-5') e δ 7,00 (1H; d; 1,8 Hz, H-2'). As correlações de HMBC confirmam a presença do metilenodioxi pelos sinais em δ 148,1 (C-3') e 147,8 (C-4').

O anel 2'',2''-dimetilcromeno foi confirmado pelos deslocamentos em δ 6,63 (1H; dd; J = 10,0 e 0,5 Hz, H-4'') e em δ 5,57 (1H; d; J = 10,0 Hz, H-3''), cuja posição deste foi determinada pelo acoplamento a longa distância do H-4'' com H-6 em δ 6,50 (1H; dd; J = 8,7 e 0,5 Hz) e pelo acoplamento *orto* deste último com o H-5 em δ 7,74 (1H; d; 8,7 Hz) e, ainda, pelas correlações destes hidrogênios com os carbonos em δ 159,3 (C-7), δ 109,4 (C-8), δ 128,6 (C-3'') e δ 115,5 (C-4''), no HSQC e HMBC.

A substância possui estereocentro em C-2, cujo valor da rotação óptica observada foi de $[\alpha]_{20}^D = -48,71$ em concentração de $2,6 \times 10^{-3} \text{ g.mL}^{-1}$.

Por comparação com dados da literatura **DG13** foi determinada como (2S)-3',4'-metilenodioxi-2'',2''-dimetilcromeno-[8,7:5'',6'']-flavanona, também conhecida como ovalicromeno B, isolada de *Milletia ovalifolia* (Gupta e Krishnamurti, 1976), *Pongamia glabra* (Talapatra *et al.*, 1982), *D. floribunda* (*L. subglaucescens*) (Magalhães *et al.*, 1996) e *Pongamia pinnata* (Li *et al.*, 2006).

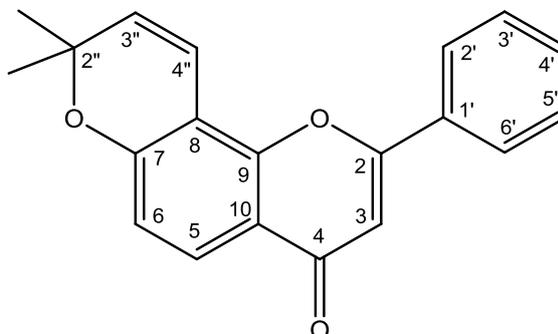
Esta flavanona é formada a partir da ciclização da chalcona correspondente, glabracromeno-II (**DG16**).

4.4 CROMENOFILAVONAS

A classe das flavonas se origina a partir de uma reação de oxidação da flavanona, formando uma instauração entre os carbonos C-2 e C-3. E na sequência várias reações de oxidação/redução vão determinando as mais variadas estruturas.

Cromenoflavonas se diferenciam por apresentar no esqueleto básico das flavonas a presença do grupo 2'',2''-dimetilcromeno, geralmente ligado aos carbonos C-7 e C-8 do anel A do esqueleto principal. Foram isoladas quatro cromenoflavonas das raízes de *D. glaziovii*: **DG5**, **DG3**, **DG7** e **DG8**.

4.4.1 Determinação estrutural de **DG5**

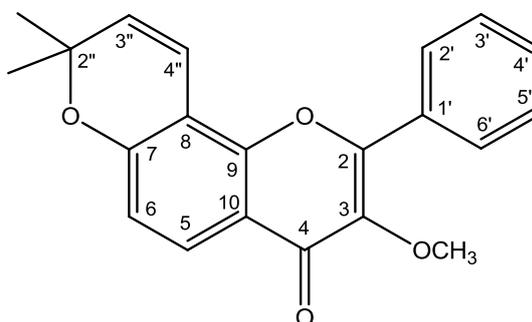


O espectro de RMN de ^1H (Tabela 15, E38-E40, Anexo, pág. 111-113) apresentou um singlete intenso em δ 6,76 (1H; s, H-3), sinal este característico do H-3 de flavonas, o qual foi confirmado pela correlação no HSQC com sinal em δ 107,3 (C-3), e complementando a estrutura da flavona foi possível observar uma carbonila em δ 177,9 (C-4) e em δ 162,5 (C-2), sinal característico de C_0 oxigenado.

Verificaram-se sinais característicos de um anel aromático monossustituído em δ 7,91 (2H; m, H-2' e H-6') e δ 7,54 (3H; m, H-3', H-4' e H-5'). A presença do anel 2'',2''-dimetilcromeno foi confirmada pelos deslocamentos em δ 6,94 (1H; d; $J = 10$ Hz, H-4'') e δ 5,76 (1H; d; $J = 10$ Hz, H-3''), cuja posição deste foi determinada pelos acoplamentos *orto* dos hidrogênios do anel aromático em δ 6,87 (1H; d; $J = 8,8$ Hz, H-6) e em δ 8,00 (1H; d; $J = 8,8$ Hz, H-5) e pelas correlações destes sinais com δ 157,4 (C-7), δ 109,3 (C-8), δ 130,2 (C-3'') e δ 115,0 (C-4'') nos experimentos de HSQC e HMBC.

De acordo com o observado e por comparação com dados da literatura, **DG5** foi determinada como 2'',2''-dimetilcromeno-[8,7:5,6]-flavona isolada de *Dahlstedtia pentaphylla* (Garcez *et al.*, 1988), *D. floribunda* (*Lonchocarpus subglaucescens*) (Magalhães *et al.*, 1996) e de *D. montana* (*L. montanus*) (Magalhães *et al.*, 2007), neste último apresentou atividade antifúngica contra *Fusarium oxysporium* e *Rhizopus oryzae*.

4.4.2 Determinação estrutural de **DG3**

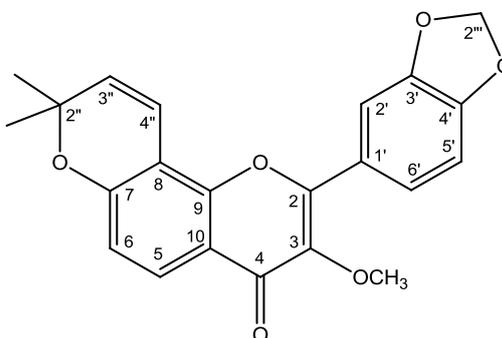


A análise desta substância mostrou ser muito semelhante a **DG5**, diferenciando-se apenas pela ausência do hidrogênio H-3 característico de flavona em torno de 6,5 ppm e a presença de uma metoxila como um singleto intenso em δ 3,89 (3H; s, H-3) e pelo sinal em δ 141,3 (C-3) (Tabela 16, E41-E43, Anexo, pág. 114-116)

Sinais referentes ao anel aromático monossustituído foram observados em δ 7,53 (3H; m, H-3', H-4' e H-5') e em δ 8,09 (2H; m, H-2' e H-6'). Os sinais em δ 6,89 (1H; d; J = 10,0 Hz, H-4'') e δ 5,73 (1H; d; 10,0 Hz, H-3'') indicaram a presença do anel 2'',2''-dimetilcromeno, confirmado pelas correlações destes sinais com δ 157,3 (C-7), δ 109,3 (C-8), δ 115,3 (C-4'') e δ 130,5 (C-3'') nos experimentos de HSQC e HMBC. O anel 2'',2''-dimetilcromeno foi definido em posição angular no anel A pelo acoplamento *orto* dos hidrogênios do anel aromático em δ 8,03 (1H; d; J = 8,8 Hz, H-5) e δ 6,85 (1H; d; J = 8,8 Hz, H-6).

Por comparação desses dados com a literatura, esta substância foi determinada como 3-metoxi-2'',2''-dimetilcromeno-[8,7:5'',6'']-flavona, conhecida como karanjacromeno isolada de *Dahstedtia pentaphylla* (Garcez *et al.*, 1988), de *Lonchocarpus latifolius* (Magalhães *et al.*, 2000), de *Pongamia pinnata* (Li *et al.*, 2006 e Rashid *et al.*, 2008). De acordo com Koysomboon *et al.*, 2006, este composto apresentou atividade moderada contra *M. tuberculosis*.

4.4.3 Determinação estrutural de **DG7**

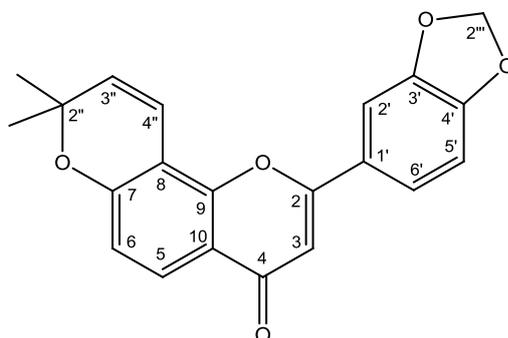


A análise do espectro de RMN de ^1H (Tabela 17, E44-E46, Anexo, pág. 117-119) desse composto mostrou ser muito semelhante ao espectro de **DG3**, apresentando o grupo 3-metoxi (δ 3,88; 3H, s), o anel 2'',2''-dimetilcromeno em δ 6,87 (1H; dd; J = 10,0 e 0,7 Hz, H-4'') e em δ 5,73 (1H; d; J = 10,0 Hz, H-3'') e os hidrogênios do anel A com acoplamento *orto* em δ 6,84 (1H; dd; J = 8,8 e 0,7 Hz, H-6) e em δ 8,00 (1H; d; J = 8,8 Hz, H-5).

A diferença em relação à **DG3** está no anel B, que apresenta três hidrogênios com constantes *orto* e *meta*, indicando um anel trissubstituído em δ 7,68 (1H; dd; J = 8,3 e 1,8 Hz, H-6'), em δ 6,95 (1H; d; J = 8,3 Hz, H-5') e em δ 7,60 (1H; d; J = 1,8 Hz, H-2') devido a presença do anel metilenodioxí com sinal característico em δ 6,07 (2H; s, H-2'') correlacionado com C-2''' (δ 101,9), no experimento HMBC.

De acordo com o observado e por comparação com dados da literatura **DG7** foi determinado como 3-metoxi-3',4'-metilenodioxí-2'',2''-dimetilcromeno-[8,7:5'',6'']-flavona, também conhecido por pongacromeno encontrado em *P. glabra* (Mukerjee *et al.*, 1969), *D. pentaphylla* (Garcez *et al.*, 1988), em *L. latifolius* (Magalhães *et al.*, 2000) e em *D. indica* (Rao *et al.*, 2009).

4.4.4 Determinação estrutural de **DG8**



Analisando o espectro de RMN de ^1H (Tabela 18, E47-E49, Anexo, pág. 120-122) desta substância observou-se sua semelhança com pongacromeno (**DG7**), diferenciando-se apenas pela redução no C-3, devido a presença de hidrogênio em δ 6,63 (1H; s, H-3) e δ 106,6 (C-3), e carbonila em δ 177,8 (C-4), caracterizando o anel C das flavonas. Foi confirmada a presença do anel metilenodioxí com sinal intenso em δ 6,09 (2H; s, H-2'') e correlacionado com δ 102,0 (C-2'') no HSQC, sendo que a posição deste grupo foi determinada pela presença de acoplamentos *orto* e *meta* dos hidrogênios do anel B em δ 7,47 (1H; dd; J = 8,3 e 1,8 Hz, H-6'), δ 6,95 (1H; d; J = 8,3 Hz, H-5') e δ 7,33 (1H; d; J = 1,8 Hz, H-2') correlacionados com os carbonos em δ 148,0 (C-3') e 150,0 (C-4') nos experimentos de HMBC, deslocamentos estes característicos de carbonos oxigenados.

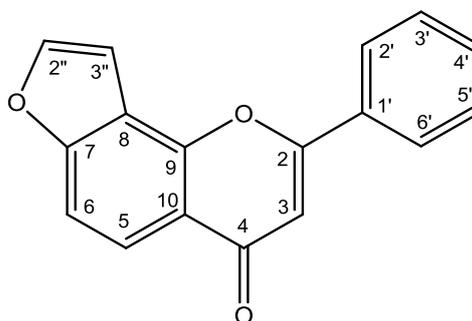
Foi verificada a presença do anel 2'',2''-dimetilcromeno em δ 6,91 (1H; d; J = 10,0 Hz, H-4'') e δ 5,76 (1H; d; J = 10,0 Hz, H-3''), sendo a posição deste indicada pelo acoplamento em *orto* dos hidrogênios do anel A em δ 7,98 (1H; d; J = 8,8 Hz, H-5) e δ 6,85 (1H; d; J = 8,8 Hz, H-6).

Diante do observado e por comparação com dados da literatura, **DG8** foi determinada como 3',4'-metilenodioxí-2'',2''-dimetilcromeno-[8,7:5'',6'']-flavona, isolada de *D. pinnata* (Garcez *et al.*, 1988) e de *D. floribunda* (*L. subglaucescens*) (Magalhães *et al.*, 1996).

4.5 FURANOFLAVONAS

Quando há a presença do grupo furano, que por biossíntese geralmente está ligado aos carbonos C-7 e C-8 (angular) ou C-6 e C-7 (linear) do anel A do esqueleto da flavona, estes compostos são denominados de furanoflavonas. Foram isoladas quatro furanoflavonas das raízes de *D. glaziovii*: **DG4**, **DG1**, **DG2** e **DG9**.

4.5.1 Determinação estrutural de **DG4**



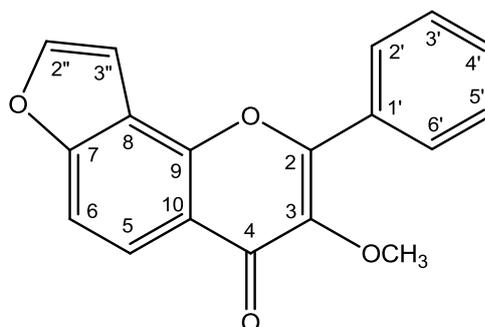
O espectro de RMN de ^1H (Tabela 19, E50-E52, Anexo, pág. 123-125) apresentou um singlete intenso em δ 6,89 (1H; s, H-3), sinal característico do H-3 de flavonas, o qual foi confirmado pela correlação no experimento de HSQC com o sinal em δ 108,6 (C-3), e corroborando para a estrutura da flavona foi possível observar uma carbonila em δ 178,2 (C-4) e em δ 162,2 (C-2) sinal característico de C_0 oxigenado.

Observaram-se sinais em δ 7,98 (2H; m, H-2' e H-6') e δ 7,57 (3H; m, H-3', H-4' e H-5'), característicos do anel B aromático monossustituído. A presença do anel furano foi determinada pelos deslocamentos em δ 7,79 (1H; d; $J = 2,2$ Hz, H-2'') e δ 7,22 (1H; dd; $J = 2,2$ e 0,8 Hz, H-3''), e confirmada nos experimentos de HSQC e HMBC pelas correlações destes com δ 117,3 (C-8), δ 158,5 (C-7), δ 146,0 (C-2'') e δ 104,5 (C-3''). A posição desse grupo foi determinada como angular em relação ao anel A, pelo acoplamento a longa distância de H-3'' com H-6 em δ 7,57 (1H; dd; $J = 8,8$ e 0,8 Hz) o qual acopla em *orto* com o H-5 em δ 8,18 (1H; d; $J = 8,8$ Hz, H-5).

A estrutura foi comprovada pela comparação dos seus dados com a literatura, sendo identificada como [8,7:4'',5'']furanoflavona conhecida também como lanceolatina B, isolada do gênero *Pongamia* (Talapatra *et al.*, 1982; Tanaka *et al.*, 1992 e Yadav *et al.*, 2004), de *Dahlstedtia* (Garcez *et al.*, 1988), *Millettia* (Mbafor *et*

al., 1995) e *Lonchocarpus* (Magalhães *et al.*, 1996, 2000 e 2007; Santos *et al.*, 2009).

4.5.2 Determinação estrutural de **DG1**



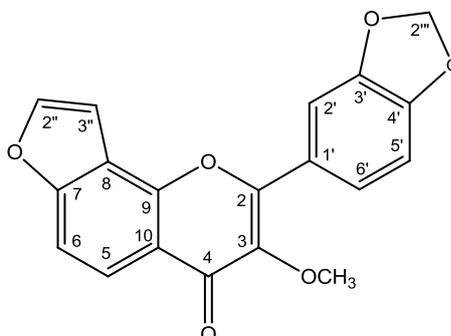
A análise deste composto mostrou-se semelhante à lanceolatina B (**DG4**), diferenciando-se apenas pela oxidação no C-3, devido à presença de um singlete intenso em δ 3,93 (3H; s, H-3) característico de metoxila (δ 60,2), a qual foi confirmada pelo sinal em δ 141,8 (C-3) e pela ausência do sinal de H-3, normalmente em torno de 6,5 ppm (Tabela 20, E53-E56, Anexo, pág. 126-129).

Sinais referentes ao anel aromático B monossustituído foram observados em δ 7,53 (3H; m, H-3', H-4' e H-5') e δ 8,14 (2H; m, H-2' e H-6'). A presença do anel furano foi confirmada pelos sinais em δ 7,17 (1H; dd; J = 2,2 e 0,9 Hz, H-3'') e δ 7,75 (1H; d; J = 2,2 Hz, H-2'') pelo espectro de RMN ^1H e pelas correlações com os sinais em δ 117,0 (C-8), δ 158,1 (C-7), δ 145,8 (C-2'') e δ 104,3 (C-3'') nos experimentos HSQC e HMBC. Pelo acoplamento *orto* observado para os hidrogênios do anel A em δ 8,19 (1H; d; J = 8,8 Hz, H-5) e δ 7,54 (1H; dd; J = 8,8 e 0,9 Hz, H-6), pode-se definir a posição angular do anel furano.

A estrutura foi comprovada por comparação com dados da literatura sendo determinada como 3-metoxi [8,7:4'',5'']furanoflavona, conhecida na literatura como karanjina, muito encontrada nas espécies da subfamília Papilionoideae (Leguminosae), sendo encontrada nos gêneros *Pongamia* (Talapatra *et al.*, 1980; Tanaka *et al.*, 1992 e Yadav *et al.*, 2004), *Dahlstedtia* (Garcez *et al.*, 1988) e *Lonchocarpus* (Magalhães *et al.*, 2000). Segundo Vismaya *et al.*, 2010, karanjina demonstrou ser um agente anti-úlceras eficaz, e por não ser tóxico possibilita seu uso

em combinação com outros nutracêuticos para a gestão eficaz de doença induzida por estresse oxidativo.

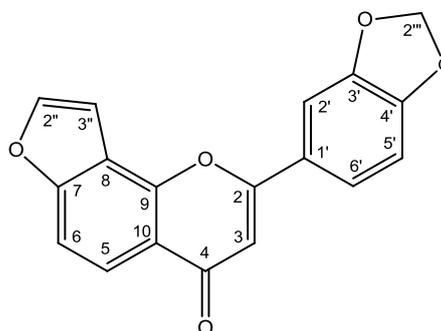
4.5.3 Determinação estrutural de **DG2**



O espectro de RMN ^1H (Tabela 21, E57-E59, Anexo, pág. 130-132) desta substância demonstrou uma continuação no padrão de oxidação no C-3, assim como em **DG1**, porém diferenciando-se por nova oxidação, atribuída a presença do grupo metilenodioxi, com sinal característico em δ 6,10 (2H; s, H-2'') e δ 101,8 (C-2''), obtidos pelas correlações no experimento de HSQC. A posição deste grupo foi confirmada pela presença de acoplamento *orto* e *meta* dos hidrogênios do anel B em δ 7,77 (1H; dd; 8,3 e 1,8 Hz, H-6''), δ 6,99 (1H; d; 8,3 Hz, H-5'') e δ 7,68 (1H; d; 1,8 Hz, H-2'') e pelas correlações com δ 148,0 (C-3'') e δ 149,5 (C-4'') no experimento de HMBC característicos de carbonos oxigenados.

Observou-se a presença da carbonila em δ 175,0 (C-4) e da metoxila em δ 3,93 (3H; s) e δ 60,2 correlacionada à C-3 (δ 141,2). Verificou-se, ainda, a presença do anel furano em δ 7,76 (1H; d; 2,2 Hz, H-2'') e δ 7,18 (1H; dd; 2,2 e 0,9 Hz, H-3''), e dos hidrogênios do anel A em δ 7,55 (1H; dd; 8,8 e 0,9 Hz, H-6) e em δ 8,19 (1H; d; 8,8 Hz, H-5).

Desta forma, por comparação com dados da literatura **DG2** foi determinada como 3-metoxi-3',4'-metilenodioxi-[8,7:4'',5'']-furanoflavona, conhecida como ponganpina isolada de *Pongamia glabra* (Mahey *et al.*, 1972), de *P. pinnata* (Tanaka *et al.*, 1992 e Yadav *et al.*, 2004) e do gênero *Lonchocarpus* (Magalhães *et al.*, 2000), sendo encontrada pela primeira vez em espécies de *Dahlstedtia*.

4.5.4 Determinação estrutural de **DG9**

O espectro de RMN de ^1H (Tabela 22, E608-E62, Anexo, pág. 133-136) deste composto diferenciou-se de ponganpina (**DG2**), devido a presença de um sinal em δ 6,76 (1H, s, H-3) correlacionado com δ 107,2 (C-3) no HMBC, caracterizando a redução da metoxila em C-3, que juntamente com a carbonila em δ 178,2 (C-4) caracterizam o anel C das flavonas. Foi confirmada a presença do grupo metilenodioxí com sinal característico em δ 6,10 (2H; s, H-2'') correlacionado com δ 102,0 (C-2'') no experimento de HSQC. A posição deste grupo foi confirmada pela presença de acoplamentos *orto* e *meta* dos hidrogênios do anel B em δ 7,53 (1H; dd; $J = 8,3$ e $1,8$ Hz, C-6'), δ 6,97 (1H; d; $J = 8,3$ Hz, C-5') e δ 7,40 (1H; d; $J = 1,8$ Hz, C-2') e pelas correlações deste com δ 148,5 (C-3') e 150,5 (C-4'), característicos de carbonos oxigenados. Foi verificada a presença do anel furano em δ 7,78 (1H; d; $J = 2,2$ Hz, H-2'') e em δ 7,20 (1H; dd; $J = 2,2$ e $0,8$ Hz, H-3''), e dos hidrogênios do anel A H-5 e H-6 em δ 8,16 (1H; d; $J = 8,8$ Hz) e em δ 7,56 (1H; dd; $J = 8,8$ e $0,8$ Hz) respectivamente.

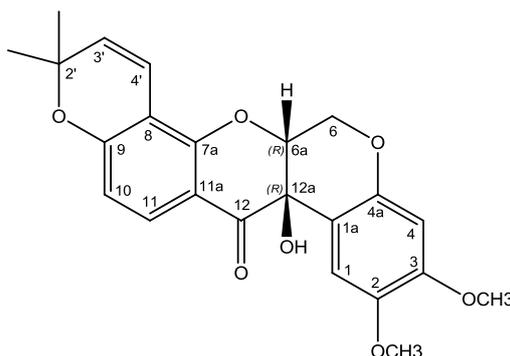
Este composto foi isolado em mistura com **DG8** e a elucidação estrutural foi possível pela sobreposição dos espectros de RMN ^1H e integração dos sinais (E 63, pág. 136).

De acordo com o observado e por comparação com a literatura, **DG9** foi determinada como 3',4'-metilenodioxí-[8,7:4'',5'']-furanoflavona, também conhecida como pongaglabrona, encontrada em *P. glabra* (Khanna *et al.*, 1963) e *P. pinnata* (Tanaka *et al.*, 1992 e Yadav *et al.*, 2004), em *Tephrosia purpurea* (Pelter *et al.*, 1981), em *Derris* (Rao *et al.*, 2009) e em *L. latifolius* (Magalhães *et al.*, 2000).

4.6 ROTENOIDES

A classe dos rotenoides é derivada das isoflavonas, a partir de hidroxilação/metilação (C-5', C-4' e C-2') e, posterior, ciclização do anel B (tipo condensação de Claisen) o qual se funde ao anel C.

Foi isolado um rotenoide de *D. glaziovii*: **DG6**.



O espectro de RMN de ^1H (Tabela 23, E64-E66, Anexo, pág. 137-139) apresentou sinais em δ 4,63 (1H; dd; $J = 12,1$ e $2,5$ Hz, H-6 pseudoaxial), em δ 4,57 (1H; dd; $J = 2,5$ e $0,7$ Hz, H-6a) e em δ 4,49 (1H; dd; $J = 12,1$ e $0,7$ Hz, H-6 pseudoequatorial), cujos deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento são típicos dos hidrogênios H-6a, H-6ax e H-6eq e juntamente com o sinal em δ 4,39 (1H, sl) o qual é referente à hidroxila em C-12a (δ 67,5) caracterizam o anel B do esqueleto de rotenoide. Além disso, observou-se através de correlação no HMBC o sinal em δ 191,4 referente à carbonila em C-12.

Foram observados sinais em δ 3,82 (3H, s) correlacionado com δ 151,0 (C-3) e em δ 3,73 (3H, s) correlacionado com δ 144,0 (C-2), sinais estes referentes às metoxilas. Juntamente com os sinais em δ 6,56 (1H, s, H-1) e em δ 6,48 (1H, s, H-4), os quais corroboraram com o esqueleto do anel A. O anel 2',2'-dimetilcromeno foi confirmado pelos sinais em δ 6,60 (1H; d; $10,0\text{Hz}$, H-4') e δ 5,56 (1H; d; $10,0\text{Hz}$, H-3'), juntamente com os sinais referentes aos carbonos δ 129,0 (C-3'), 115,4 (C-4'), 109,2 (C-8) e 160,8 (C-9). Pelo acoplamento *orto* observado para os hidrogênios do anel C em δ 6,47 (1H; d; $J = 8,8$ Hz, H-10) e δ 7,73 (1H; dd; $J = 8,8$ Hz, H-11), definiu-se a posição deste grupo no esqueleto do rotenoide.

De acordo com os dados obtidos e por comparação destes com a literatura, **DG6** foi determinado como tefrosina, isolada de *Tephrosia purpurea* (Ahmad *et al.*,

1999), de *Amorpha fruticosa* (Li e Wang, 1993), de *Lonchocarpus aff. fluvialis* (Blatt *et al.*, 2002) e *Tephrosia toxicaria* (Nunes e Vasconcelos *et al.*, 2012), sendo inédita no gênero *Dahlstedtia*. De acordo com Nunes e Vasconcelos *et al.*, 2012, a junção dos anéis B/C apresenta uma relação *cis* entre o hidrogênio e a hidroxila, configuração *Z*, sendo definida a estereoquímica *R* para 6a e 12a.

4.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA *IN VITRO*

Devido à resistência de patógenos aos fármacos convencionais tem-se buscado novas substâncias de origem natural com atividades biológicas. Diferentes linhagens de células possuem comportamentos específicos diante de cada composto químico, fazendo-se necessária a realização de testes nos mais diversos tipos de linhagens de células cancerígenas. Neste trabalho os valores para atividade antitumoral são expressos em termos da concentração necessária para inibir o crescimento total das células (TGI – total growth inhibition) em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Os extratos (éter de petróleo, diclorometânico e metanólico) das raízes de *D. glaziovii* e a substância karanjina (**DG1**) foram submetidos a ensaios para verificação de sua atividade antitumoral. Os resultados da TGI foram avaliados em onze linhagens de células tumorais humanas, conforme Tabela 4.

Tabela 4: Valores de TGI para karanjina e os extratos de *D. glaziovii*.

	Inibição Total do Crescimento – TGI ($\mu\text{g mL}^{-1}$)										
	2	u	m	a	7	4	p	o	h	k	q
Doxorrubicina	0,29	0,081	1,0	1,8	0,33	0,25	2,1	>25	6,3	0,23	0,19
Extrato etéreo	24,2	2,1	11,4	8,2	11,1	14,9	13,2	11,0	15,8	250	3,8
Extrato diclorometânico	25,1	1,5	8,2	8,4	13,5	18,4	11,5	21,9	18,3	1,9	3,5
Extrato metanólico	>250	37,6	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	110,0
Karanjina	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250

2 = U251 (glioma, SNC); u = UACC-62 (melanoma); m = MCF-7 (mama); a = NCI-ADR/RES (ovário, com fenótipo de resistência a múltiplas drogas); 7 = 786-0 (rim); 4 = NCI-H460 (pulmão, tipo não pequenas células); p = PC-3 (próstata); o = OVCAR-3; h = HT29 (colorectal); k = K562 (leucemia); q = HaCat (queratinócito humano, célula normal imortalizada).

A atividade antiproliferativa é considerada inativa quando $TGI > 50 \mu\text{g.mL}^{-1}$; fraca quando TGI entre $15 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$; moderada quando TGI ocorre entre $6,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $15 \mu\text{g.mL}^{-1}$; e potente quando $TGI < 6,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (Fouche *et al.*, 2006).

De acordo com esta classificação, o extrato de éter de petróleo (Figura 16) apresentou-se potente contra a linhagem de células de melanoma e atividade moderada contra linhagens de câncer de mama, ovário, rim, pulmão e próstata.

O extrato diclorometânico (Figura 17) apresentou-se potente contra as linhagens de células de melanoma e leucemia. Atividade moderada para as linhagens de células de câncer de mama, ovário, rim e próstata. Mostrando-se fraco para as demais linhagens.

O extrato metanólico (Figura 18) apresentou-se fraco para linhagens de melanoma e inativo para o restante das linhagens. A substância Karanjina (Figura 19) não apresentou atividade para as linhagens testadas.

Com os dados obtidos pode-se verificar que o extrato diclorometânico apresenta atividades antitumorais promissoras. E, ao avaliar a linhagem não-tumoral (HaCat) a qual é usada como indicativo de ação sobre o tecido normal (não-tumoral), observou-se que tanto para EP quanto para DCM demonstraram-se menos tóxicos que o padrão doxorrubicina.

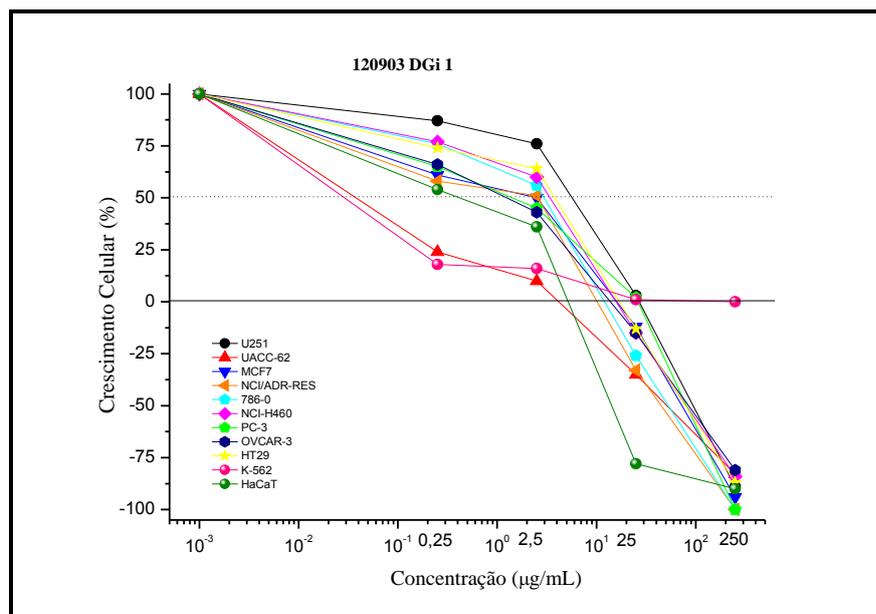


Figura 16: Gráfico da atividade antiproliferativa do extrato de éter de petróleo.

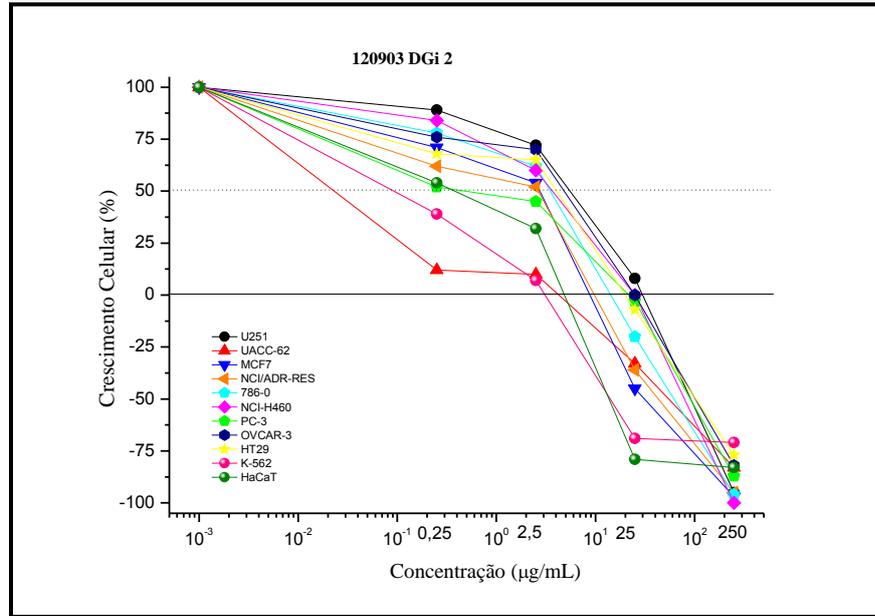


Figura 17: Gráfico da atividade antiproliferativa do extrato diclorometânico.

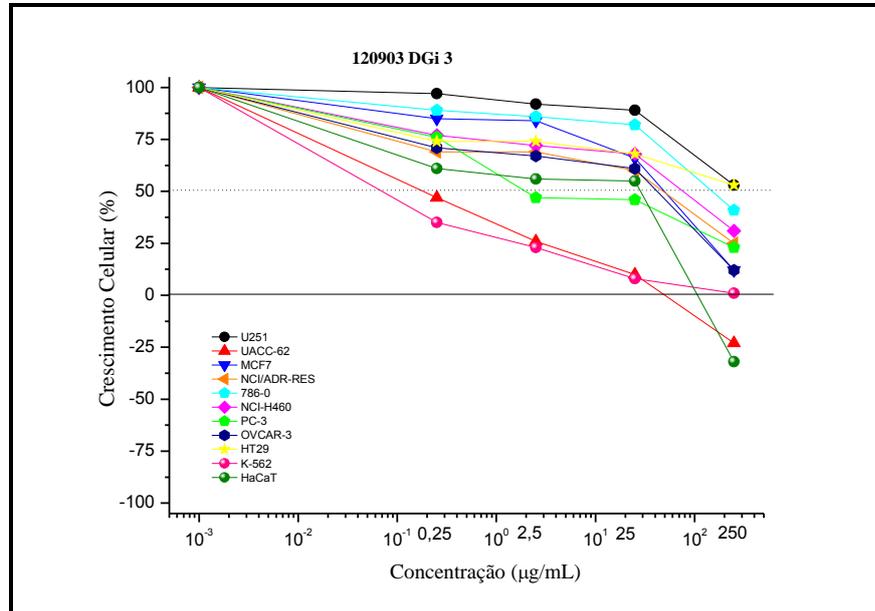


Figura 18: Gráfico da atividade antiproliferativa do extrato metanólico.

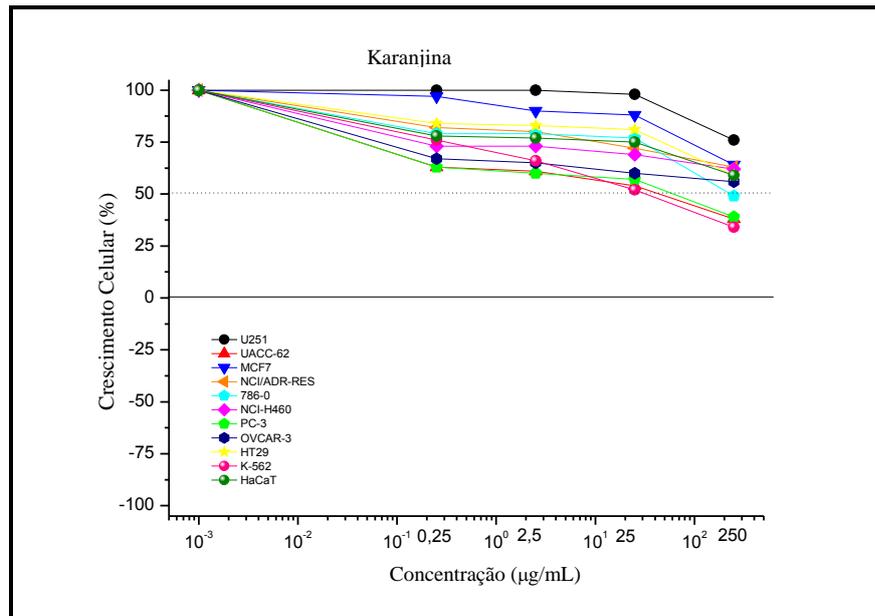


Figura 19: Gráfico da atividade antiproliferativa de karanjina.

4.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO*

Os extratos brutos foram avaliados quanto à atividade antibacteriana e *anti-Candida*, entretanto não apresentaram atividade significativa contra nenhum dos micro-organismos testados.

4.9 PROPOSTA DA BIOGÊNESE DOS FLAVONOIDES DE *D. glaziovii*

Diante da variedade de flavonoides isolados de *D. glaziovii* e semelhança estrutural entre os de mesma classe, propõem-se a biogênese destes compostos. Embora tenham muitos estudos na literatura relacionados à biossíntese dos flavonoides, não se pode afirmar ao certo como as derivações dos esqueletos principais ocorrem em cada espécie. Sendo assim, apresentamos possíveis passos para a rota biossintética dos flavonoides isolados neste trabalho.

É possível desenhar três propostas, a primeira (I), inclui os flavonoides que apresentam o grupo 2",2" – dimetilcromeno e a segunda (II) e a terceira propostas se referem aos flavonoides contendo o substituinte furano, conforme as figuras 20, 21 e 22.

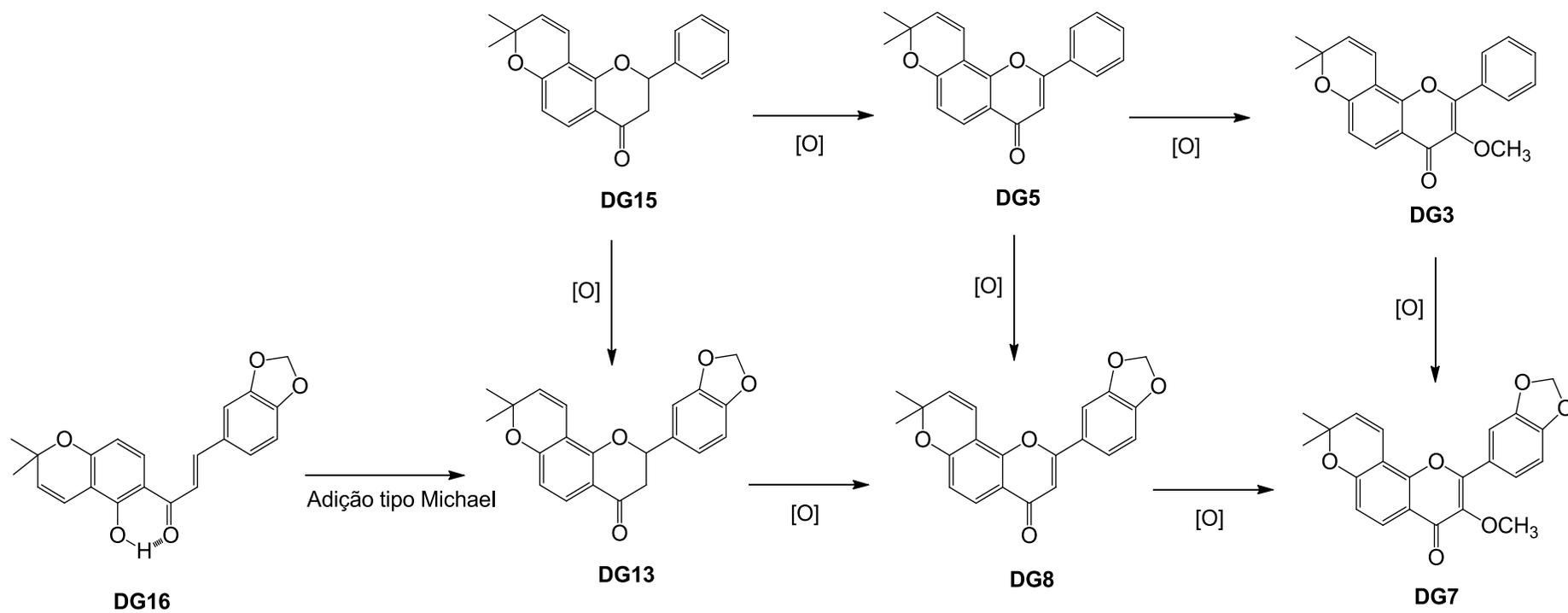


Figura 20: Proposta de biogênese I.

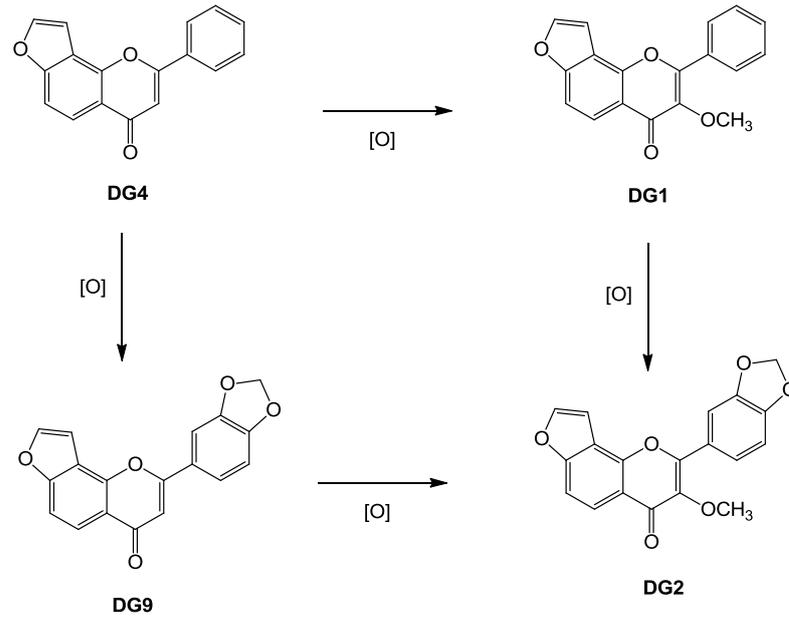


Figura 21: Proposta de biogênese II.

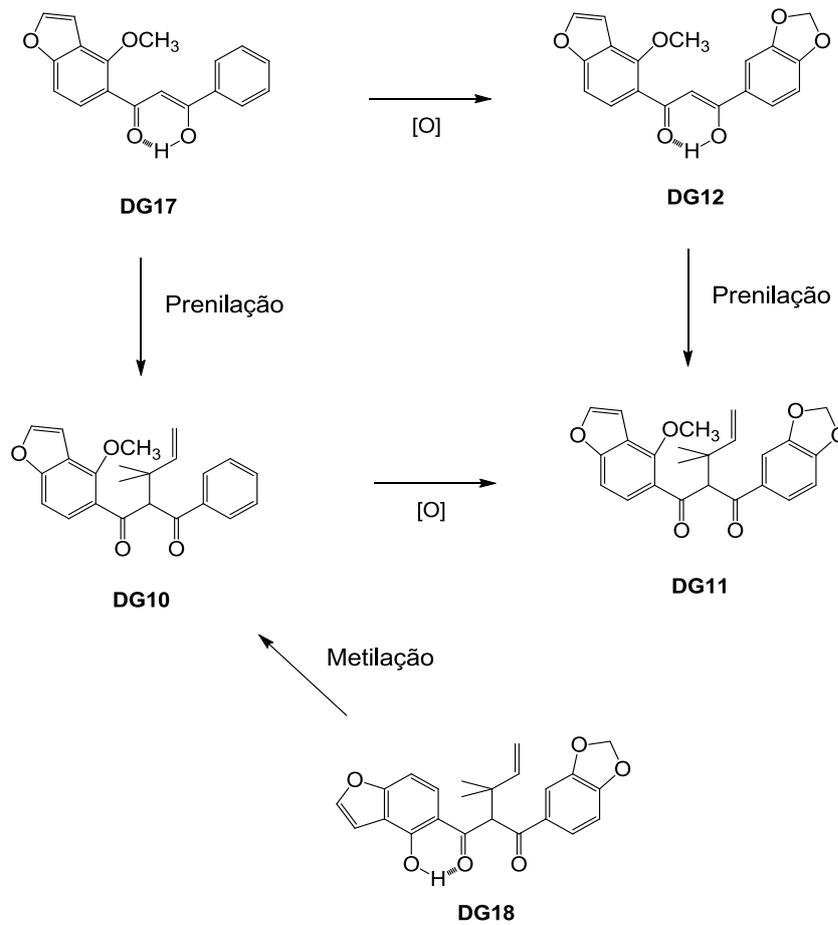


Figura 22: Proposta de biogênese III.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

Dentre as espécies já estudadas dos gêneros *Dahlstedtia* e *Lonchocarpus* observa-se, predominantemente, a biossíntese de flavonoides.

O estudo fitoquímico do extrato diclorometânico das raízes de *D. glaziovii* resultou no isolamento de dezenove flavonoides, dos quais duas chalconas: DG16 e DG19; duas flavanonas: DG15 e DG13; oito flavonas, sendo quatro furanoflavonas: DG4, DG1, DG2 e DG9 e quatro cromenoflavonas: DG5, DG3, DG7 e DG8; seis derivados de dibenzoilmetano: DG17, DG12, DG10, DG11, DG14 e DG18, sendo este último inédito; e um rotenoide: DG6.

A avaliação da atividade antitumoral do extrato diclorometânico apresentou forte atividade contra as células de melanoma e leucemia, e, ainda, atividade moderada para células de câncer de mama, ovário, rim e próstata. Estes resultados indicam que a espécie *D. glaziovii* apresenta substâncias com potencial farmacológico.

O isolamento de flavonoides prenilados corroboram com a nova reclassificação realizada por Da Silva *et al.*, 2012. De acordo com Garcez *et al.*, 1988, flavonoides com a presença de grupos prenilas ciclizados, como anel furano e 2",2"-dimetilcromeno, são indicadores da evolução do gênero *Dahlstedtia*, sendo estes encontrados na disposição 'angular' no esqueleto principal.

Muitos compostos isolados de *D. glaziovii* foram encontrados nas espécies de *Dahlstedtia pinnata* (*D. erythrina*) e *D. pentaphylla*, sendo Lancolatina B (DG4) e Pongachalcona (DG19) encontradas em ambas. Os compostos 3',4'-metilenodioxi-2",2"- dimetilcromeno-[8,7:5",6"]-flavona (DG8) e Pongaglabrona (DG9), são encontrados em *D. glaziovii* e em *D. pinnata*, o que leva à semelhança química entre ambas espécies, além da afinidade morfológica conforme citada por Da Silva, 2010. Os compostos (-)-isolonchocarpina (DG15), Karanjacromeno (DG3), Pongacromeno (DG7) e Karanjin (DG1), são encontrados em comum com *D. pentaphylla*, o que é de grande relevância quimiotaxonômica para a sistemática deste gênero, corroborando para a nova reclassificação.

Além disso, outras espécies reclassificadas como *Dahlstedtia*, já estudadas, possuem semelhança química com *D. glaziovii*, como *D. floribunda* (*Lonchocarpus subglaucescens*) (Magalhães *et al.*, 1996) e *D. muehlbergiana* (*L. muehlbergianus*) (Magalhães *et al.*, 2004). Apesar de *D. araripensis* (Lima *et al.*, 2009) não possuir

substâncias em comum com *D. glaziovii*, segue o padrão de prenilação, apresentando compostos com grupos furano e 2,2-dimetilcromeno.

Os compostos DG16, DG2, DG14 e DG6 foram isolados pela primeira vez no gênero *Dahlstedtia*, sendo a segunda ocorrência na natureza do dibenzoilmetano (DG14), o qual foi isolado pela primeira vez de *Muelleria montana* M.J.Silva & A.M.G.Azevedo (*Lonchocarpus monatnus*) (Magalhães *et al.*, 2007).

REFERÊNCIAS

AHMAD, V.U.; ALI, Z.; HUSSAINI, S.R.; IQBAL, F.; ZAHID, M.; ABBAS, M.; SABA, N.; Flavonoids of *Tephrosia purpurea*. *Fitoterapia*, v. 70, p. 443-445, 1999.

ANDREI, C. C.; FERREIRA, D. T.; FACCIONE, M.; DE MORAES, L. A. B.; DE CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R. C-prenylflavonoids from roots of *Tephrosia tunicata*. *Phytochemistry*, v. 55, 799-804, 2000.

BLATT, C. T. T.; CHAVEZ, D.; CHAI, H.; GRAHAM, J. G.; CABIESES, F.; FARNSWORTH, N. R.; CORDELL, G. A.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Cytotoxic flavonoids from the stem bark of *Lonchocarpus* aff. *Fluvialis*. *Phytotherapy Research*, v. 16, p. 320-325, 2002.

BORGES-ARGÁEZ, R.; BALNBURY, L.; FLOWERS, A.; GIMÉNEZ-TURBA, A.; RUIZ, G.; P.G.; PEÑA-RODRÍGUEZ, W. L. M. Cytotoxic and antiprotozoal activity of flavonoids from *Lonchocarpus* spp. *Phytomedicine*, v. 14, p. 530-533, 2007.

CAMPOS, D. A.; LIMA, A. F.; RIBEIRO, S. R. L.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L.; RAO, V. S.; SANTOS, F. A. Gastroprotective effect of a flavone from *Lonchocarpus araripensis* Benth. (Leguminosae) and the possible mechanism. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 60, 391-397, 2008.

CASSIDY, C. E.; SETZER, W. N. *Journal of Molecular Modeling*, v. 16, p. 311, 2010.

CASSIDY, C. E.; SETZER, W. N. *Lonchocarpus* polyphenolics and their biological activities. *The Natural Products Journal*, v. 1, p. 75-104, 2011.

CLSI (2002). Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade de Leveduras à Terapia Antifúngica – 2ª. edição, M27-A2, v. 22, n. 15.

CLSI (2005). Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico - 6ª. edição, M7-A6, v. 23, n.2.

CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 26, p. 343-356, 2005.

DA SILVA, M. J. 2010. 497f. Filogenia e biogeografia de *Lonchocarpus* S. L. e revisão taxonômica dos gêneros *Muelleria* L. F. e *Dahlsstedtia* malme (Leguminosae, Papilionoideae, Millettieae). Tese (Doutorado em biologia) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

DA SILVA, M. J.; QUEIROZ, L. P.; TOZZI, A. M. G. DE A.; LEWIS, G. P.; DE SOUSA, A. P. Phylogeny and biogeography of *Lonchocarpus* sensu lato and its allies in the tribe Millettieae (Leguminosae, Papilionoideae). *Taxon*, v. 61 (1), p. 93-108, 2012.

DAVIES, K. M.; SCHWINN, K. E. Molecular Biology and Biotechnology of Flavonoid Biosynthesis. In: ANDERSEN, Ø. M.; MARKHAM, K. R. (Org.). *Flavonoids chemistry, biochemistry and applications*. Florida: Taylor & Francis Group, 2006. p. 143.

DE LIMA, J. T.; ALMEIDA, J. R. G. S.; MOTA, K. S. L.; LÚCIO, A. S. S. C.; CÂMARA, C. A.; FILHO, J. M. B.; DA SILVA, B. A. Selective spasmolytic effect of a new furanoflavoquinone derivative from diplotropin on guinea-pig trachea. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, v. 3(1), p. 249-258, 2011.

DEWICK, P.M. Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach. 2ª ed. John Wiley & Sons, Ltda, 2009, 539p.

DO NASCIMENTO, M. C. e MORS, W. B. Chalcones of the root bark of *Derris sericea*. *Phytochemistry*, v. 11, p. 3023-3028, 1972.

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; SOUSA, I. M. DE L.; RODRIGUES, R. A. F. Plantas Medicinais como fonte de recursos terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar. *MultiCiência*, n. 7, 2006.

FOUCHE, G et al. Investigation of South African plants for anticancer properties. *Pharmacologyonline*, v. 3, p.494-500, 2006.

FURLAN, M.; BERGAMO, D. C. B; KATO, M. J. Biossíntese de produtos naturais: atualidades e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. In: YUNES, R. A. e CECHINEL FILHO, V. Org(s). *Química de produtos naturais novos fármacos e a moderna farmacognosia*. Ed. Univali. 3a ed., 2012, p. 13-36.

GARCEZ, F. R.; SCRAMIN, S.; DO NASCIMENTO, M. C.; MORS, W. B. Prenylated flavonoids as evolutionary indicators in the genus *Dahlsstedtia*. *Phytochemistry*, v. 27, n. 4, p. 1079-1083, 1988.

GEE, J. M.; HARA, H.; JOHNSON, I. T. Suppression of intestinal crypt cell proliferation and aberrant crypt foci by dietary quercetin in rats. *Nutrition and Cancer*, v. 43 (2), p. 193-201, 2002.

GONZÁLES, S. FERNANDEZ-LORENTE, M. GILABERTE-CALZADA, Y. The latest on skin photoprotection. *Clinics in Dermatology*, v. 26, p. 614-626, 2008.

GUARATINI, T.; CALLEJON, D. R.; PIRES, D. C.; LOPES, J. N. C.; LIMA, L. M.; NETO, D. G.; SUSTOVICH, C.; LOPES, N. P. Fotoprotetores derivados de produtos naturais: perspectivas de mercado e interações entre o setor produtivo e centros de pesquisa. *Quimica Nova*, v. 32, p.717-721, 2009.

GUPTA, R. K.; KRISHNAMURTI, M. Chromenoflavanones from *Milletia ovalifolia*. *Phytochemistry*, v. 15, p. 2011, 1976.

GUPTA, R. K.; KRISHNAMURTI, M. New dibenzoylmethane and chalcone derivatives from *Milletia ovalifolia* seeds. *Phytochemistry*, v. 16, p. 1104-1105, 1977.

HARBORNE; J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, v. 55, p. 481-504, 2000.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 96, p. 67-202, 2002.

HEGNAUER, R.; GRAYER-BARKMEYER, R. J. Relevance of seed polysaccharides and flavonoids for the classification of the Leguminosae – A chemotaxonomic approach. *Phytochemistry*, v. 34, p. 3-16, 1993.

KHANNA, R. N.; SESHADRI, T. R. Pongaglabrone, a new component of the seeds of *Ponagamia glabra*: its constitution and synthesis. *Tetrahedron*, v. 19, p. 219-225, 1963.

KINGHORN, A.D. Biologically Active Compounds from Plants with Reputed Medicinal and Sweetening Properties. *Journal of Natural Products*, v. 50 (6), p. 1009-1024, 1987.

KO, H. H.; TSAO, LO-TI; YU, KUN-LUNG; LIU, CHENG-TSUNG; WANG, JIH-PYANG; LINC, CHUN-NAN. Structure–activity relationship studies on chalcone derivatives: the potent inhibition of chemical mediators release. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 11, p. 105-111, 2003.

KOYSOMBOON, S.; ALTENA, I. V.; KATO, S.; CHANTRAPROMMA, K. Antimycobacterial flavonoids from *Derris indica*. *Phytochemistry*, v. 67, p. 1034-1040, 2006.

LI, L.; WANG, H. K. Antitumor agents, 138. Rotenoids and isoflavones as cytotoxic constituents from *Amorpha fruticosa*. *Journal of Natural Products*, v. 56 (5), p. 690-698, 1993.

LI, L.; LI, X.; SHI, C.; DENG, Z.; FU, H.; PROKSCH, P.; LIN, W. Pongamone A-E, five flavonoids from the stems of a mangrove plant, *Pongamia pinnata*. *Phytochemistry*, v. 67, p. 1347-1352, 2006.

LIMA, A. F.; MILEO, P. G. M.; ANDRADE-NETO, M.; BRAZ-FILHO, R.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L. ¹H and ¹³C NMR assignments of new methoxylated furanoflavonoids from *Lonchocarpus araripensis*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, v. 47, p. 165-168, 2009.

LÓPEZ, S. N.; CASTELLI, M. V.; ZACCHINO, S. A.; DOMÍNGUEZ, J. N.; LOBO, G.; CHARRIS-CHARRIS, J.; CORTES, J. C. G.; RIBAS, J. C.; DEVIA, C.; RODRIGUEZ, A. M.; ENRIZ, R. D. *In vitro* antifungal evaluation and structure-activity relationships of a new series of chalcone derivatives and synthetic analogues, with inhibitory properties against polymers of the fungal cell wall. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.9, p. 1999–2013, 2001.

MAGALHÃES, A. F.; TOZZI, A. M. G. A.; SALES, B. H. L. N.; MAGALHÃES, E. G. Twenty-three Flavonoids from *Lonchocarpus subglaucescens* roots. *Phytochemistry*, v. 42, p. 1459-1471, 1996.

MAGALHÃES, A. F.; TOZZI, A. M. G. A.; MAGALHÃES, E. G.; BLANCO, I. S.; NOGUEIRA, M. A. Three dibenzoylmethane derivatives from *Lonchocarpus* species. *Phytochemistry*, v. 46, p. 1029-1033, 1997.

MAGALHÃES, A. F.; TOZZI, A. M. A.; MAGALHÃES, E. G.; NOGUEIRA, M. A.; QUEIROZ, S. C. N. Flavonoids from *Lonchocarpus latifolius* roots. *Phytochemistry*, v. 55, p. 787-792, 2000.

MAGALHÃES, A. F.; TOZZI, A. M. G. A.; MAGALHÃES, E. G.; BLANCO, I. S.; SORIANO, M. D. P. C. Flavonoids from *Lonchocarpus muehbergianus*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 76, p. 651-661, 2004.

MAGALHÃES, A. F.; TOZZI, A. M. G. A.; SALES, B. H. L. N.; MAGALHÃES, E. G.; SANNOMIYA, M.; SORIANO, M. D. P. C.; PEREZ, M. A. F. Flavonoids from *Lonchocarpus montanus* A.M.G. Azevedo and biological activity. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 79, p. 351-367, 2007.

MAHEY, S.; SHARMA, P.; SESHADRI, T. R.; MUKERJEE, S. K.; Structure & synthesis of glabrachromene, a new constituent of *Pongamia glabra*. *Indian Journal of Chemistry*, v. 10, p. 585-588, 1972.

MBAFOR, J. T.; ATCHAADE, A. T.; NKENGFACK, A. E.; FOMUM, Z. T.; STERNER, O. Furanoflavones from root bark of *Millettia sanagana*. *Phytochemistry*, v. 40, p. 949-952, 1995.

MONACHE, F. D.; SUAREZ, L. E. C.; MARINI-BETTOLO, G. B. Flavonoids from the seeds of six *Lonchocarpus* species. *Phytochemistry*, v. 17, p. 1812-1813, 1978.

MUKERJEE, S. K.; SARKAR, S. C.; SEWADRI, T. R. The structure and synthesis of pongachromene, a new component of *Pongamia glabra*. *Tetrahedron*, v. 25, p. 1063-1069, 1969.

NEWMAN, D. V.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, v. 75, p. 311-335, 2012.

NOGUEIRA, M. A.; MAGALHÃES, E. G.; MAGALHÃES, A. F.; BILOTI, D. N.; LAVERDE JR., A.; PESSINE, F. B. T.; CARVALHO, J. E.; KOHN, L. K.; ANTONIO, M. A.; MARSAIOLI, A. J. A novel sunscreen agent having antimelanoma activity. *IL Farmaco*, v. 58, p. 1163-1169, 2003.

NUNES E VASCONCELOS, J.; SANTIAGO, G. M. P.; LIMA, J. Q.; MAFEZOLI, J.; LEMOS, T. L. G.; DA SILVA, F. R. L.; LIMA, M. A. S.; PIMENTA, A. T. A.; BRAZ-FILHO, R.; ARRIAGA, A. M. C.; CESARIN-SOBRINHO, D. Rotenoids from *Tephrosia toxicaria* with larvicidal activity against *Aedes aegypti*, the main vector of dengue fever. *Quimica Nova*, v. 35 (6), p. 1097-1100, 2012.

PAN, L.; CHAI, H.; KINGHORN, A. D. The continuing search for antitumor agents from higher plants. *Phytochemistry Letters*, v. 3, p. 1-8, 2010.

PARMAR, V. S.; RATHORE, J. S.; JAIN, R.; HENDERSON, D. A.; MALONE, J. F. occurrence of pongamol as the enol structure in *Tephrosia purpurea*. *Phytochemistry*, v. 28 (2), p. 591-593, 1989.

PATHAK, V. P.; SAINI, T. R.; KHANNA, R. N. Glabrachalcone, a chromenochalcone from *Pongamia glabra* seeds. *Phytochemistry*, v. 22 (5), p 1303-1304, 1983.

PELTER, A.; WARD, R. S. 8-Substituted flavonoids and 3'-substituted 7-oxygenated chalcones from *Tephrosia purpurea*. *Journal Chemical Society – Perkin Transactions I* 9, p. 2491-2498, 1981.

PEREIRA, J. R.; FAMADAS, K. M. The efficiency of extracts of *Dahlstedtia pentaphylla* (Leguminosae, Papilionoidae, Millettiedae) on *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) in artificially infested bovines. *Veterinary Parasitology*, v. 142, p. 192-195, 2006.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. *Toxicon*, v. 39, p. 603-613, 2001.

RAO, E. V.; RAJU, N. R. Occurrence of (–)-isolonchocarpin in the roots of *Tephrosia purpurea*. *Phytochemistry*, v. 18, p. 1581-1582, 1979.

RAO, R. R.; TIWARI, A. K.; REDDY, P. P.; BABU, K. S.; ALI, A. Z.; MADHUSUDANA, K.; RAO, J. M. New furanoflavanoids, intestinal α -glucosidase inhibitory and free-radical (DPPH) scavenging, activity from antihyperglycemic root extract of *Derris indica* (Lam.). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 17, p. 5170-5175, 2009.

RASHID, N.; ABBASI, M. S. A.; TAHIR, M. K.; YUSOF, N. M.; YAMIN, B. M. Isolation and Crystal Structure of Karanjachromene. *Analytical Sciences*, v. 24, p. 21-22, 2008.

REYES-CHILPA, R.; BAGGIO, C. H.; ALAVEZ-SOLANO, D.; ESTRADA-MUÑOZ, E.; KAUFFMAN, F. C.; SANCHEZ, R. I.; MESIA-VELA, S. Inhibition of gastric H^+ , K^+ - ATPase activity by flavonoids, coumarins and xanthenes isolated from Mexican medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, v.105, p. 167-172, 2006.

SAINI, T.R.; PATHAK, V.P.; KHANNA, R.N. Glabrachromene-II, a minor constituent of seeds of *Pongamia glabra*. *Journal of Natural Products*, v. 46 (6), p. 936-943, 1983.

SALES, B. H. L. N. Flavonoides de *Lonchocarpus subglaucescens* (Benth) - Leguminosae e síntese de β -hidroxichalconas. 1994. 198f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

SANDHAR, H. K.; KUMAR, B.; PRASHER, S.; TIWARI, P.; SALHAN, M.; SHARMA, P. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, v. 1 (1), p. 25-41, 2011.

SANTOS, E. L. Dibenzoilmetanos de *Lonchocarpus filipes*. 2008. 104f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008.

SANTOS, E. L.; COSTA, E. V.; MARQUES, F. A.; VAZ, N. P.; SALES-MAIA, B. H. L. N. Toxicidade e atividade antioxidante de flavonoides das cascas das raízes de *Lonchocarpus filipes*. *Química Nova*, v. 32, n. 9, p. 2255-2258, 2009a.

SANTOS, D. A. P.; BRAGA, P. A. C.; SILVA, M. F. G. F.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; MAGALHAES, A. F.; MAGALHAES, E. G.; MARSAIOLI, A. J.; MORAES, V. R. S. Anti-African trypanocidal and antimalarial activity of natural flavonoids, dibenzoylmethanes and synthetic analogues. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.61, p. 257-266, 2009b.

SCALBERT, A.; MANACH, C.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 45, p. 287-306, 2005.

SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P.R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. DE; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5ª ed., Porto Alegre/Florianópolis, Editora da UFRGS, cap. 15, 2004.

SHARMA, P.; SESHADRI, T. R.; MUKERJEE, S. K. Some synthetic & analogues of glabrachromene. *Indian Journal of Chemistry*, v. 11, p. 985-986, 1973.

SHIRLEY, B. W. Flavonoid biosynthesis: 'new' functions for an 'old' pathway. *Trends in Plant Science*, v. 1 (11), p. 377-382, 1996.

SILVERSTEIN, R. M.; MARKHAN, K. N.. Spectroscopic identification of organics compounds. 2005, EUA: 7ª ed. Jhon Wiley & Sons, INC, 140p.

SPENCER, J. P. E. The impact of flavonoids on memory: physiological and molecular considerations. *Chemical Society Reviews*, v. 38, p. 1152-1161, 2009.

STROHL, W. R. The role of natural products in a modern drug discovery program. *Drug Discovery Today*, v. 5 (2), p. 39-41, 2000.

TALAPATRA, S. K.; MALLIK, A. K.; TALAPATRA, B. Pongaglabol, a new hydroxyfuranoflavone, and aurantiamide acetate, a dipeptide from the flowers of *Pongamia glabra*. *Phytochemistry*, v. 19, p. 1199-1202, 1980.

TAMRAKARA, A. K.; YADAV, P. P.; TIWARI P.; MAURYA R.; SRIVASTAVA, A. K. Identification of pongamol and karanjin as lead compounds with antihyperglycemic activity from *Pongamia pinnata* fruits. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 118, p. 435-439, 2008.

TANAKA, T.; IINUMA, M.; YUKI, K.; FUJII, Y.; MIZUNO, M. Flavonoids in root bark of *Pongamia pinnata*. *Phytochemistry*, v. 31 (3), p. 993-998, 1992.

UNNATI, S.; RIPAL, S.; SANJEEV, A.; NIYATI, A. Novel anticancer agents from plant sources. *Chinese Journal of Natural Medicines*, v. 11 (1), p. 16-23, 2013.

VEITCH, N. C. Flavonoid Chemistry of the Leguminosae. In: SANTOS-BUELGA, C.; ESCRIBANO-BAILON, M. T.; LATTANZIO, V. Ed(s). *Recent Advances in Polyphenol Research*. Blackwell Publishing Ltd. v. 2, 2010, p. 23-58.

VISMAYA; EIPESON, W. S.; MANJUNATHA, J.R.; SRINIVAS, P.; SINDHU KANYA, T.C. Extraction and recovery of karanjin: A value addition to karanja (*Pongamia pinnata*) seed oil. *Industrial Crops and Products*, v. 32, n. 2, p.118-122, 2010.

VISMAYA; BELAGIHALLY, S. M.; RAJASHEKHAR, S.; JAYARAM, V. B.; DHARMESH, S. M.; THIRUMAKUDALU, S. K. C. Gastroprotective properties of karanjin from Karanja (*Pongamia pinnata*) Seeds; role as antioxidant and H⁺, K⁺ - ATPase inhibitor. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2011, p. 1-10, 2011.

YADAV, P. P.; AHMAD, G.; MAURYA, R. Furanoflavonoids from *Pongamia pinnata* fruits. *Phytochemistry*, v. 65, p. 439-443, 2004.

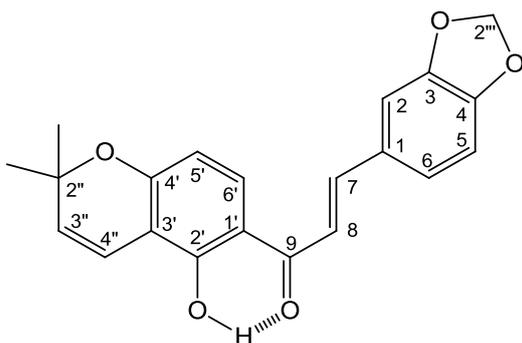
YUNES, R. A. e CECHINEL FILHO, V. Novas perspectivas dos produtos naturais na química medicinal moderna. In: YUNES, R. A. e CECHINEL FILHO, V. Org(s). *Química de produtos naturais novos fármacos e a moderna farmacognosia*. Ed. Univali. 3a ed., 2012, p. 13-36.

ANEXO

RELAÇÃO DE TABELAS E ESPECTROS

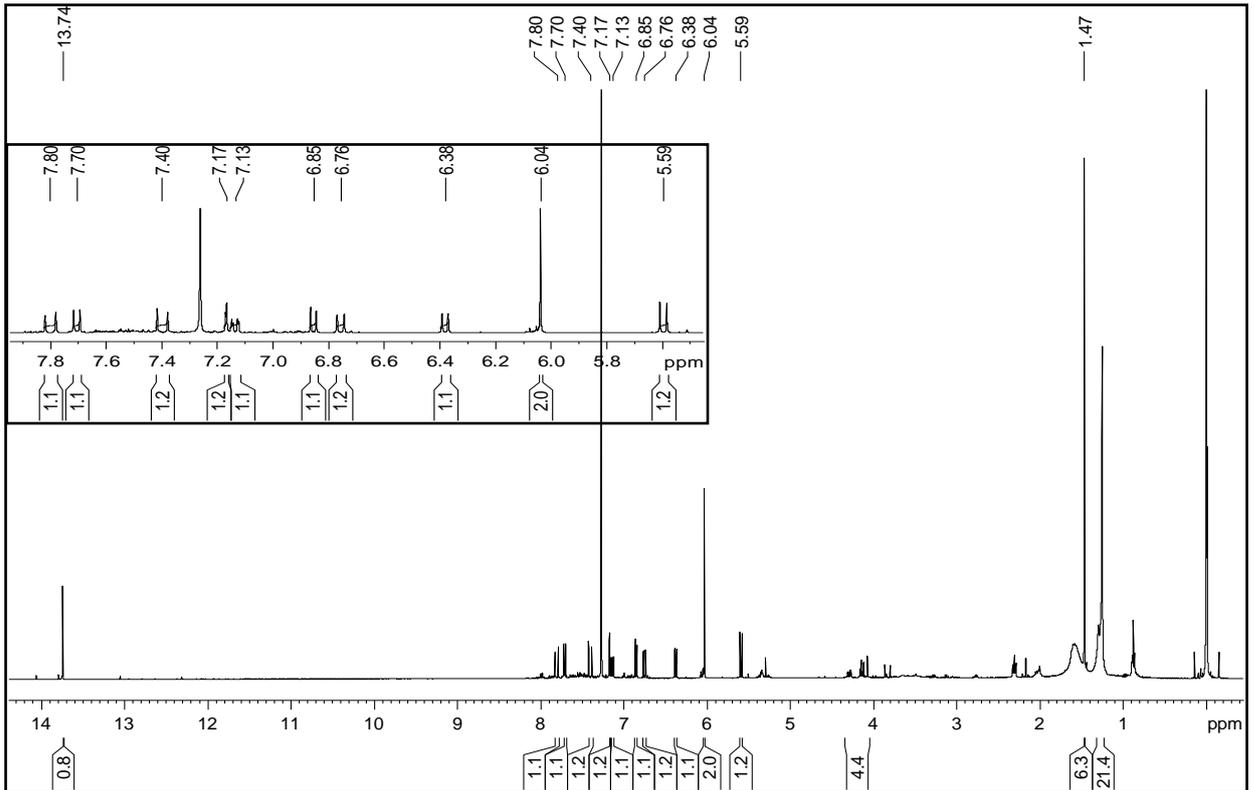
Tabela 5: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG16**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
1	129,3			
2	106,9	7,17 (1H; d; 1,7 Hz)	106,9	125,5 (C-6) e 144,2 (C-7)
3	148,5			
4	150,2			
5	108,8	6,85 (1H; d; 8,0 Hz)	108,8	129,3 (C-1) e 148,5 (C-3)
6	125,5	7,13 (1H; dd; 8,0 e 1,7 Hz)	125,5	106,9 (C-2); 144,2 (C-7) e 150,2 (C-4)
7	144,2	7,80 (1H; d; 15,3 Hz)	144,2	106,9 (C-2) e 191,9 (C-9)
8	118,5	7,40 (1H; d; 15,3 Hz)	118,5	129,3 (C-1) e 191,9 (C-9)
9	191,9			
1'	114,0			
2'	160,5			
3'	109,5			
4'	159,7			
5'	108,4	6,38 (1H; dd; 9,0 e 0,6 Hz)	108,4	109,5 (C-3') e 114,0 (C-1')
6'	130,6	7,70 (1H; d; 9,0 Hz)	130,6	160,5 (C-2') e 191,9 (C-9)
2''	77,8			
3''	128,3	5,59 (1H; d; 10,0 Hz)	128,3	77,8 (C-2'') e 109,5 (C-3')
4''	116,1	6,75 (1H; dd; 10,0 e 0,6 Hz)	116,1	77,8 (C-2'') e 159,7 (C-4')
2'''	101,8	6,04 (2H; s)	101,8	148,5 (C-3) e 150,2 (C-4)
CH ₃	28,6	1,47 (6H; s)	28,6	77,8 (C-2'') e 128,3 (C-3'')
OH (C-2')		13,73 (1H; s)		109,5 (C-3'); 114,0 (C-1') e 160,5 (C-2')

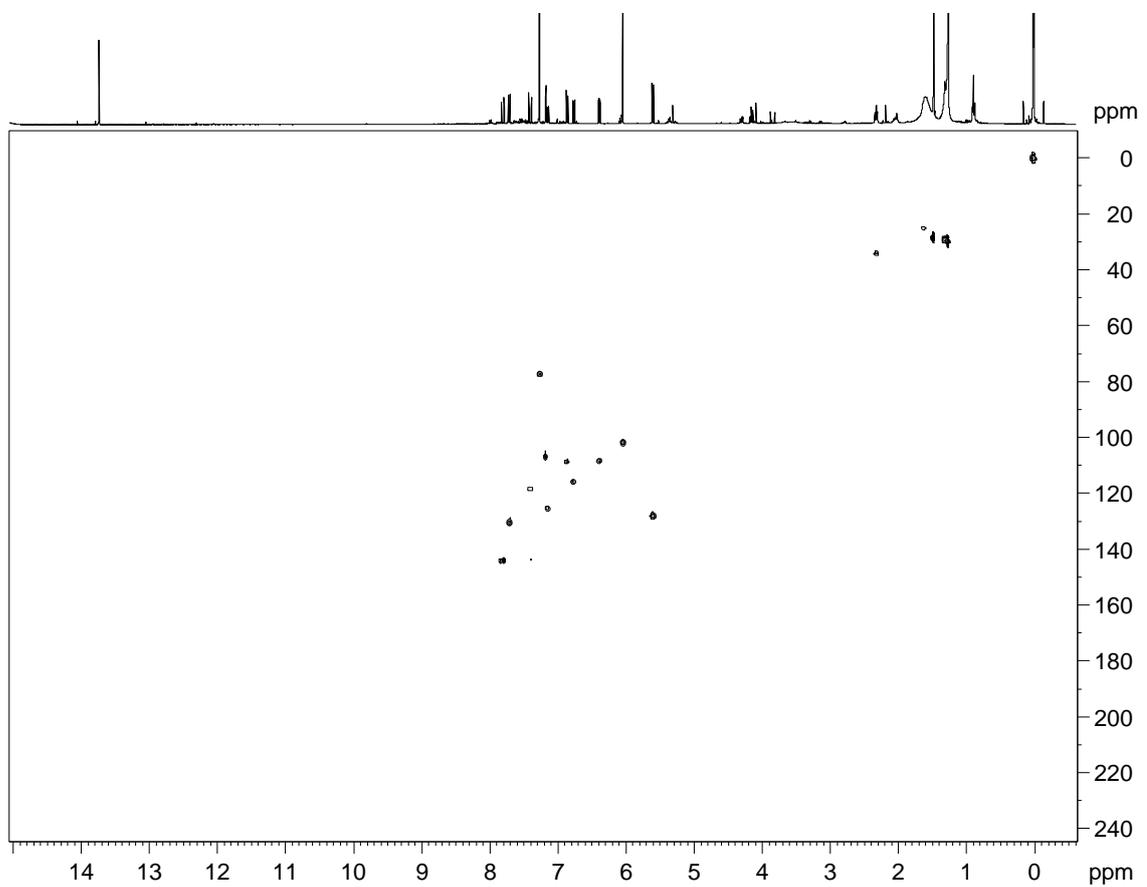


DG16 – Glabracromeno-II

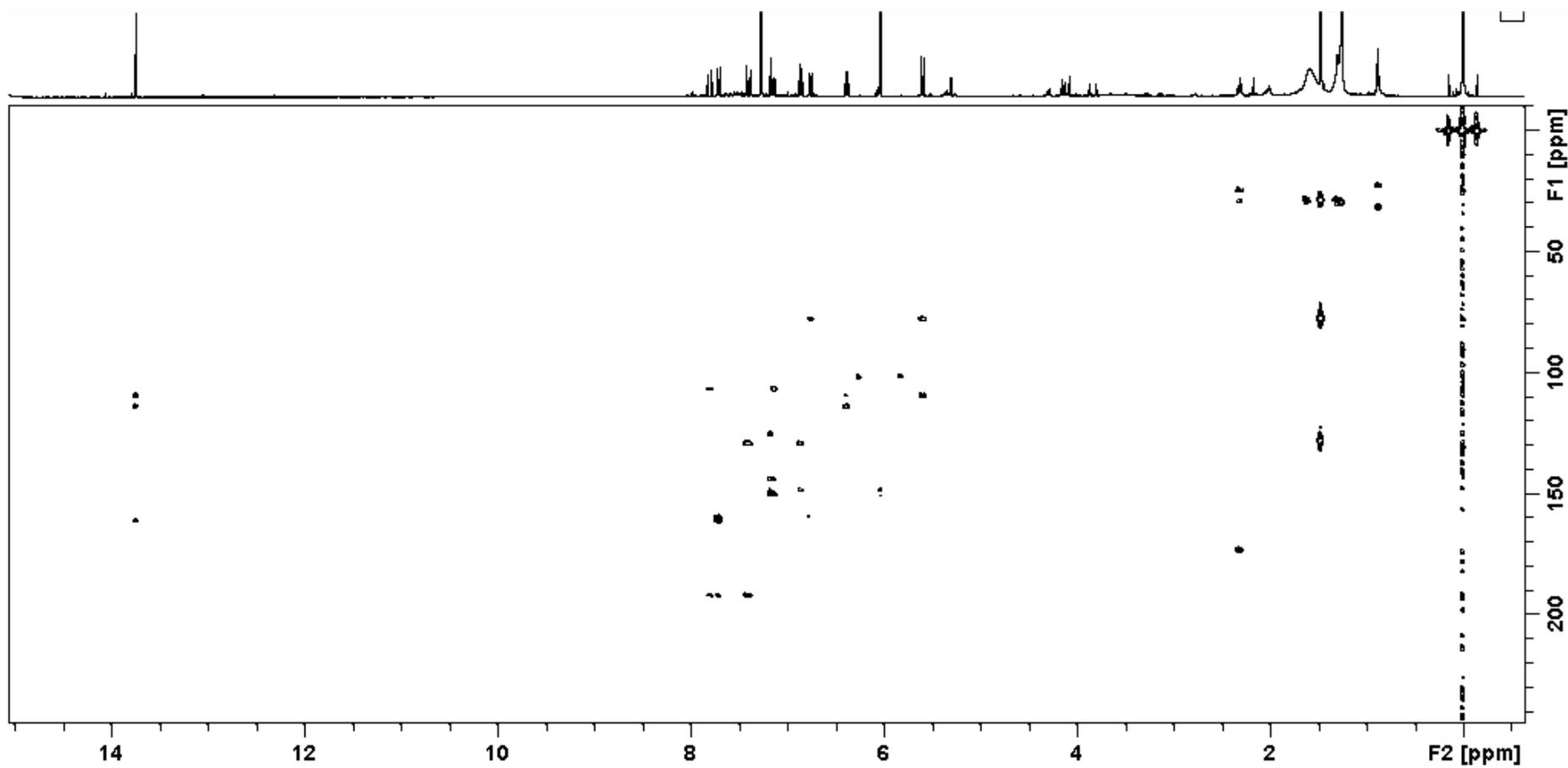
Óleo laranja



E 6: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG16**.



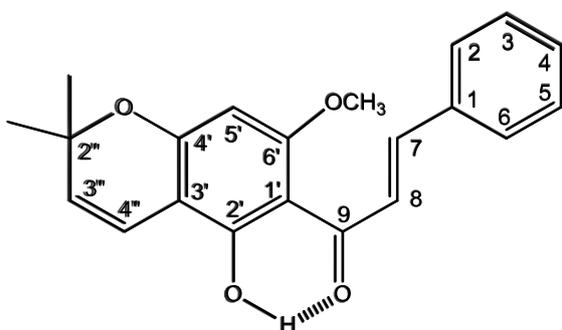
E 7: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG16**.



E 8: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG16.

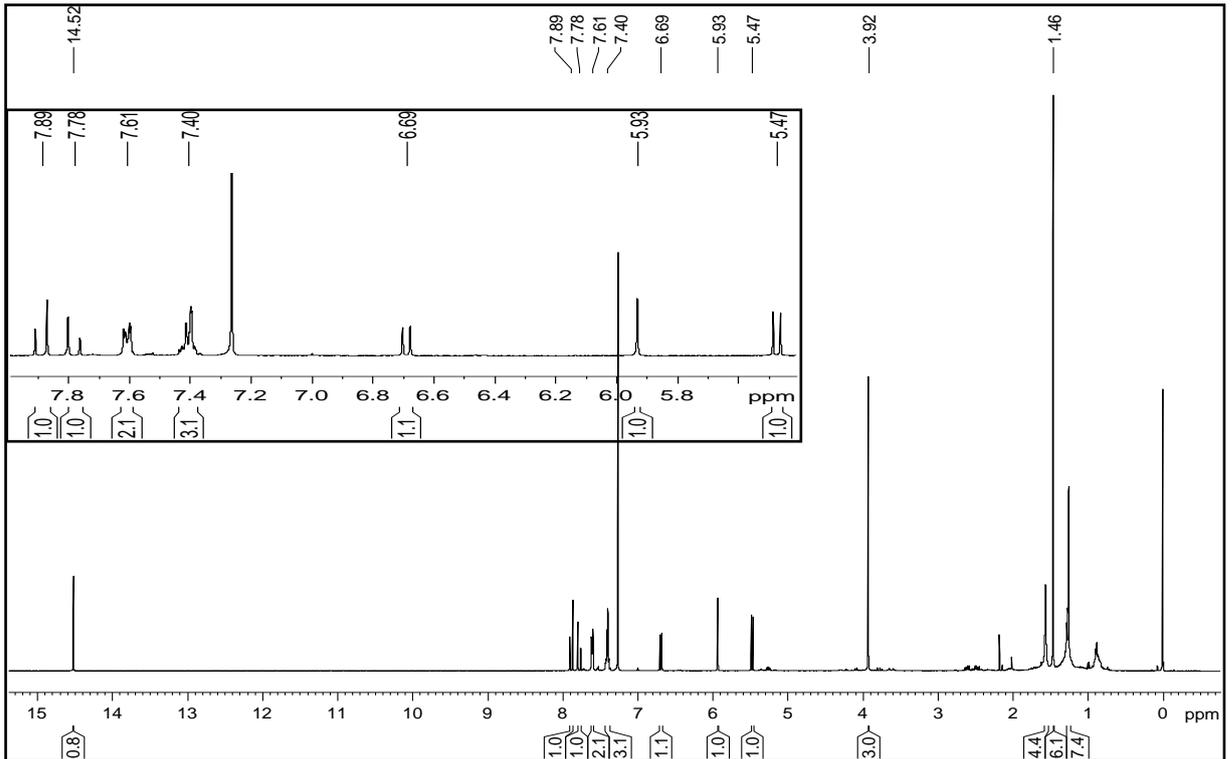
Tabela 6: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG19**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
1	135,6			
2	128,5	7,61 (2H; m)	128,5	130,0 (C-4)
3	129,4	7,40 (3H; m)	129,4	128,5 (C-2 e C-6) 129,3 (C-1) e 148,5 (C-3) 106,9 (C-2); 144,2 (C-7) e 150,2 (C-4)
4	130,0		130,0	
5	129,4		129,4	
6	128,5	7,61 (2H; m)	128,5	127,7 (C-8), 128,4 (C-2 e C-6) e 192,7(C-9)
7	142,3	7,78 (1H; d; 15,7 Hz)	142,3	135,6 (C-1) e 192,7 (C-9)
8	127,8	7,89 (1H; d; 15,7 Hz)	127,7	
9	192,7			
1'	106,0			
2'	162,5			
3'	103,0			
4'	160,4			
5'	91,6	5,93 (1H; s)	91,6	103,0 (C-3'), 106,0 (C-1'), 160,4 (C-4') e 162,5 (C-6')
6'	162,5			
4''	116,2	6,69 (1H; d; 10,0 Hz)	116,2	78,3 (C-2'') e 160,4 (C-4')
3''	125,6	5,47 (1H; d; 10,0 Hz)	125,6	78,3 (C-2'') e 103,0 (C-3')
2''	77,8			
CH ₃	28,4	1,46 (6H; s)	28,4	28,4 (CH ₃), 78,3 (C-2'') e 125,6 (C-3'')
OCH ₃	55,8	3,92 (3H; s)	55,8	55,8 (CH ₃) e 162,5 (C-2')
OH (C-2')		14,52 (1H; s)		103,0 (C-3'), 106,0 (C-1') e 162,5 (C-6')

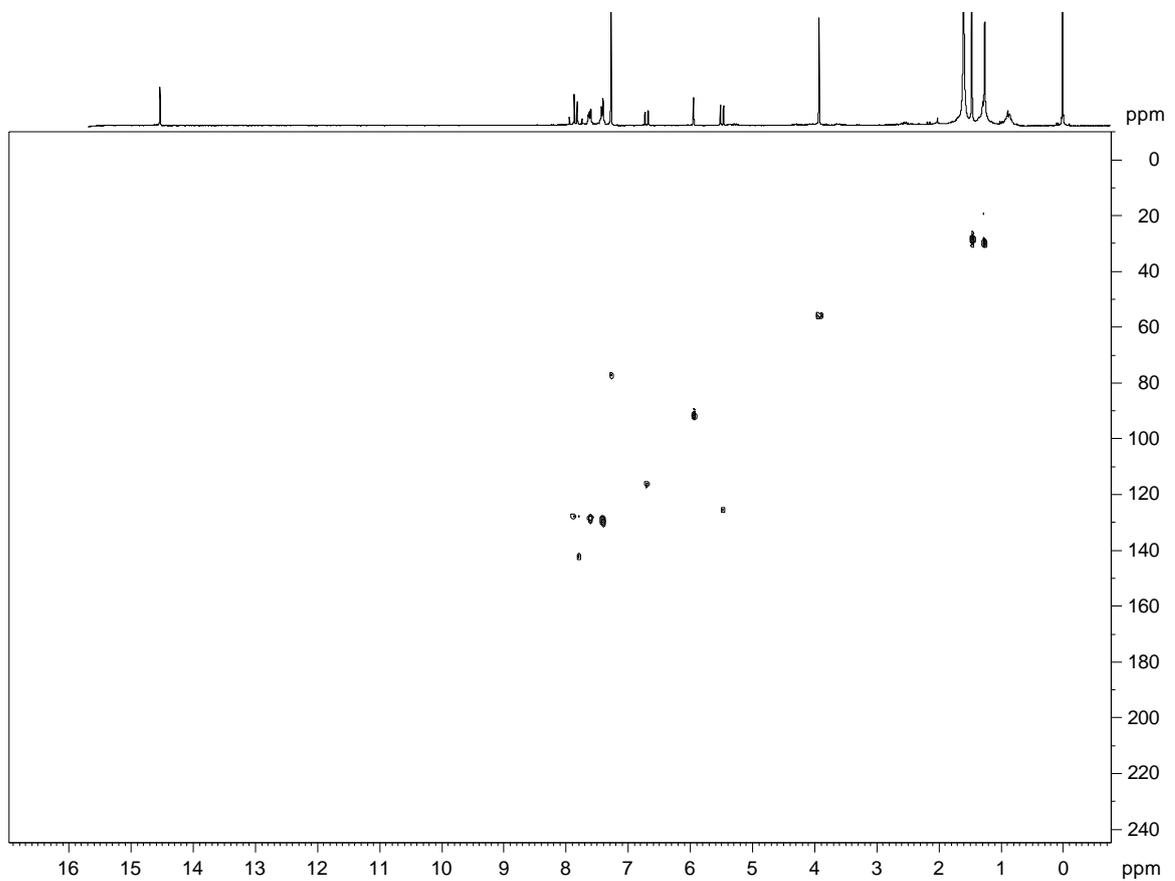


DG19 – 2'-hidroxi-6'-methoxi-2'',2''-
dimetilcromeno-[3',4':5'',6'']-chalcona

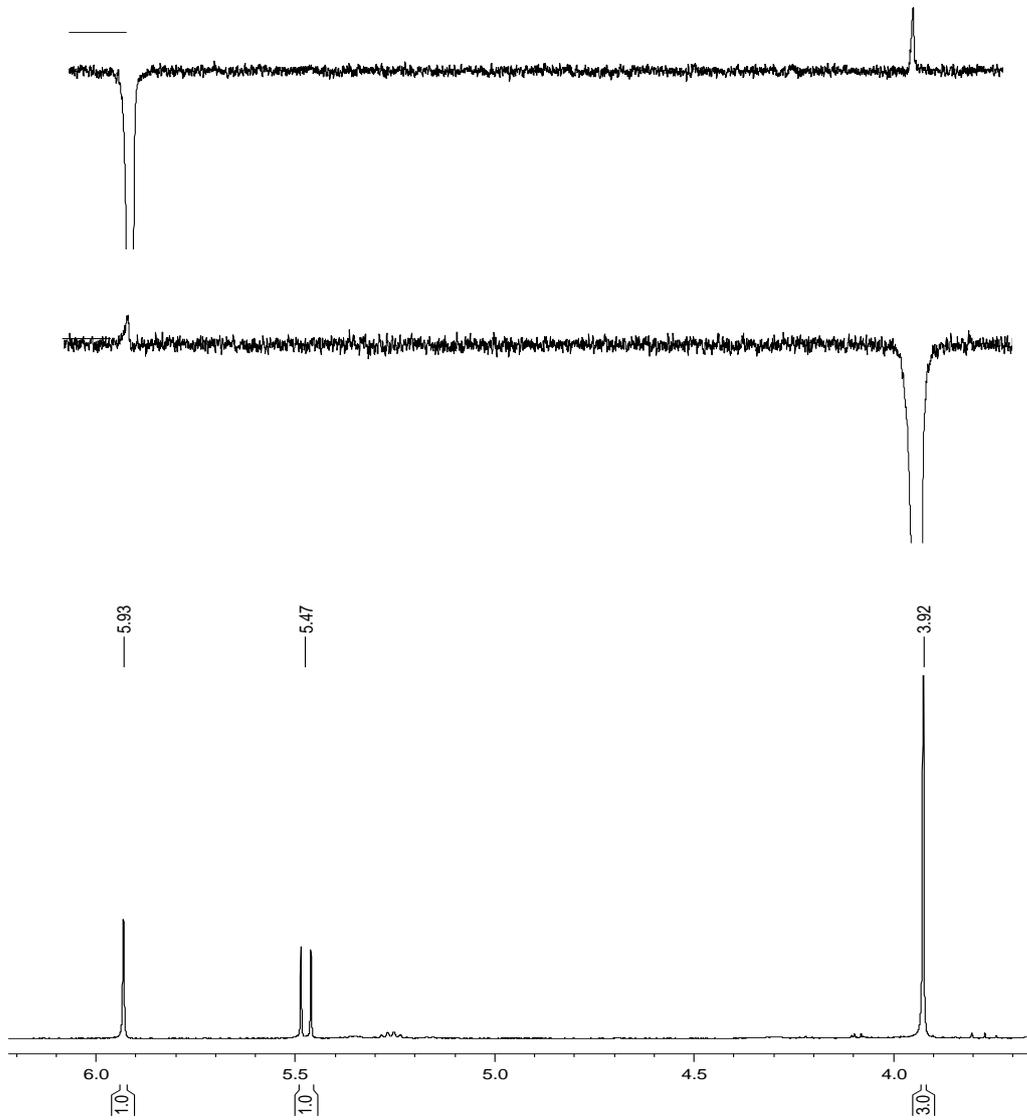
Óleo amarelo intenso



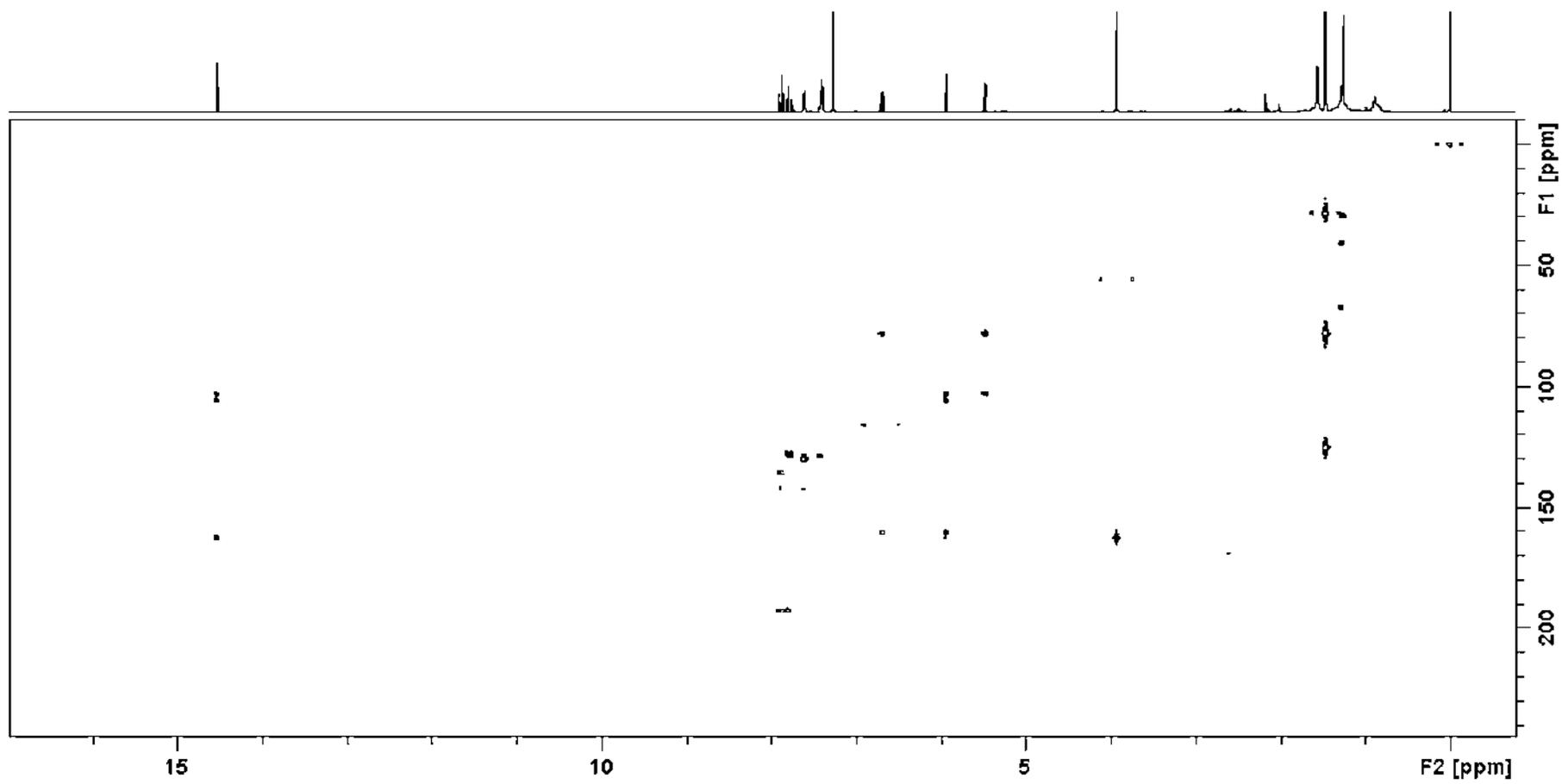
E 9: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) em CDCl₃ de DG19.



E 10: Mapa de correlação direta ¹H-¹³C (CDCl₃, 400 MHz) de DG19.



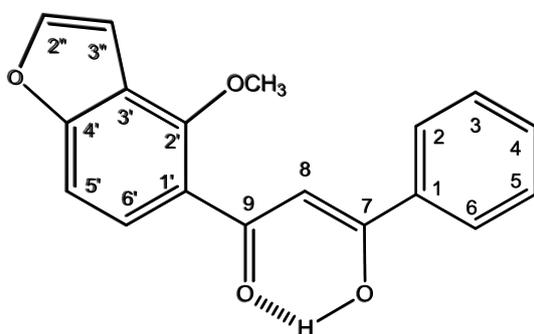
E 11: Espectro de NOE referente aos hidrogênios em 3,92 (OCH₃) e 5,47 (H-5') de **DG19** (CDCl₃, 400 MHz).



E 12: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG19.

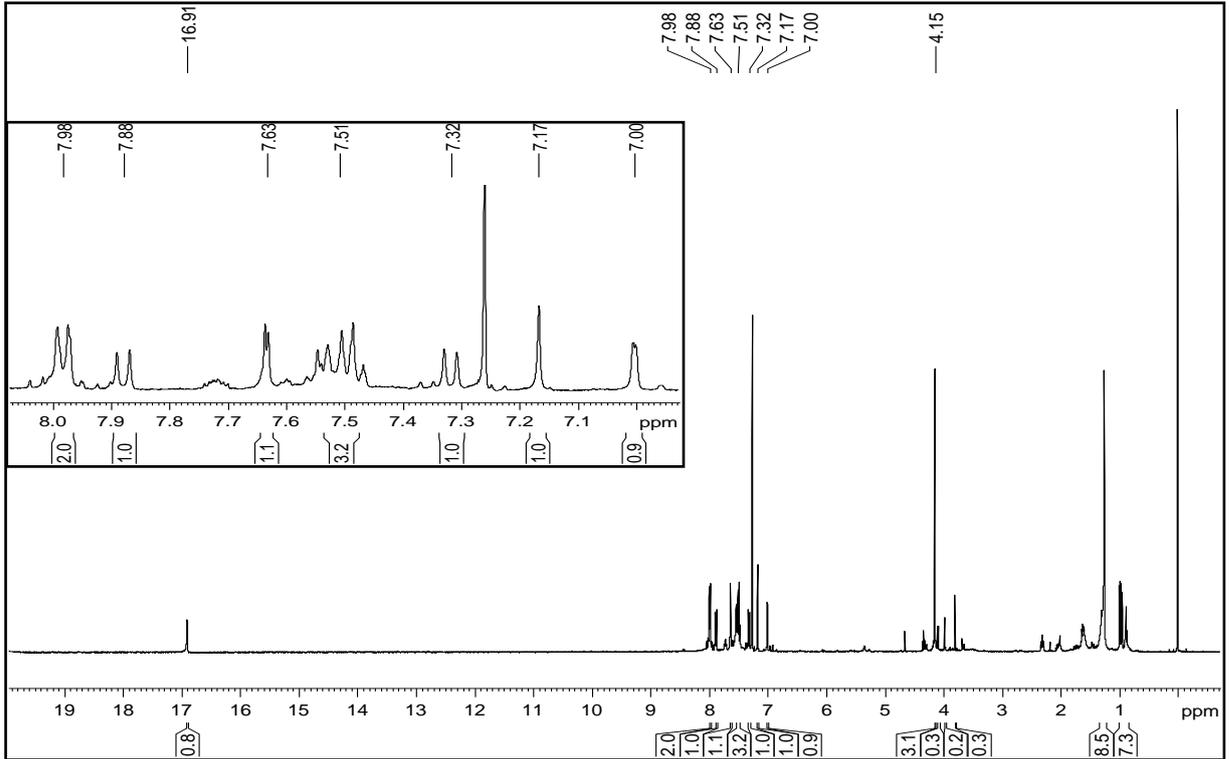
Tabela 7: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG17**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
1	135,4			
2	127,4	7,98 (2H, m)	127,4	132,0 (C-4) e 184,6 (C-7)
3	128,6		128,6	
4	132,0	7,51 (3H, m)	132,0	127,4 (C-2 e C-6); 135,4 (C-1)
5	128,6		128,6	
6	127,4	7,98 (2H, m)	127,4	132,0 (C-4) e 184,6 (C-7)
7	184,6			
8	98,0	7,17 (1H; s)	98,0	184,6 (C-7)
9	186,3			
1'	122,1			
2'	153,7			
3'	119,6			
4'	158,2			
5'	107,3	7,32 (1H; d; 8,8 Hz)	107,3	122,1 (C-1')
6'	126,7	7,88 (1H; d; 8,8 Hz)	126,7	153,3 (C-2'); 158,7 (C-4') e 186,3 (C-9)
2''	145,1	7,63 (1H; d; 2,2 Hz)	145,1	105,4 (C-3''); 119,6 (C-3') e 158,7 (C-4')
3''	105,4	7,00 (1H; d; 2,2 Hz)	105,4	119,6 (C-3'); 145,1 (C-2'') e 158,7 (C-4')
OCH ₃	61,2	4,14 (3H; s)	61,2	153,7 (C-2')
OH (C-7)		16,91 (1H, s)		98,0 (C-8); 135,4 (C-1) e 184,6 (C-7)

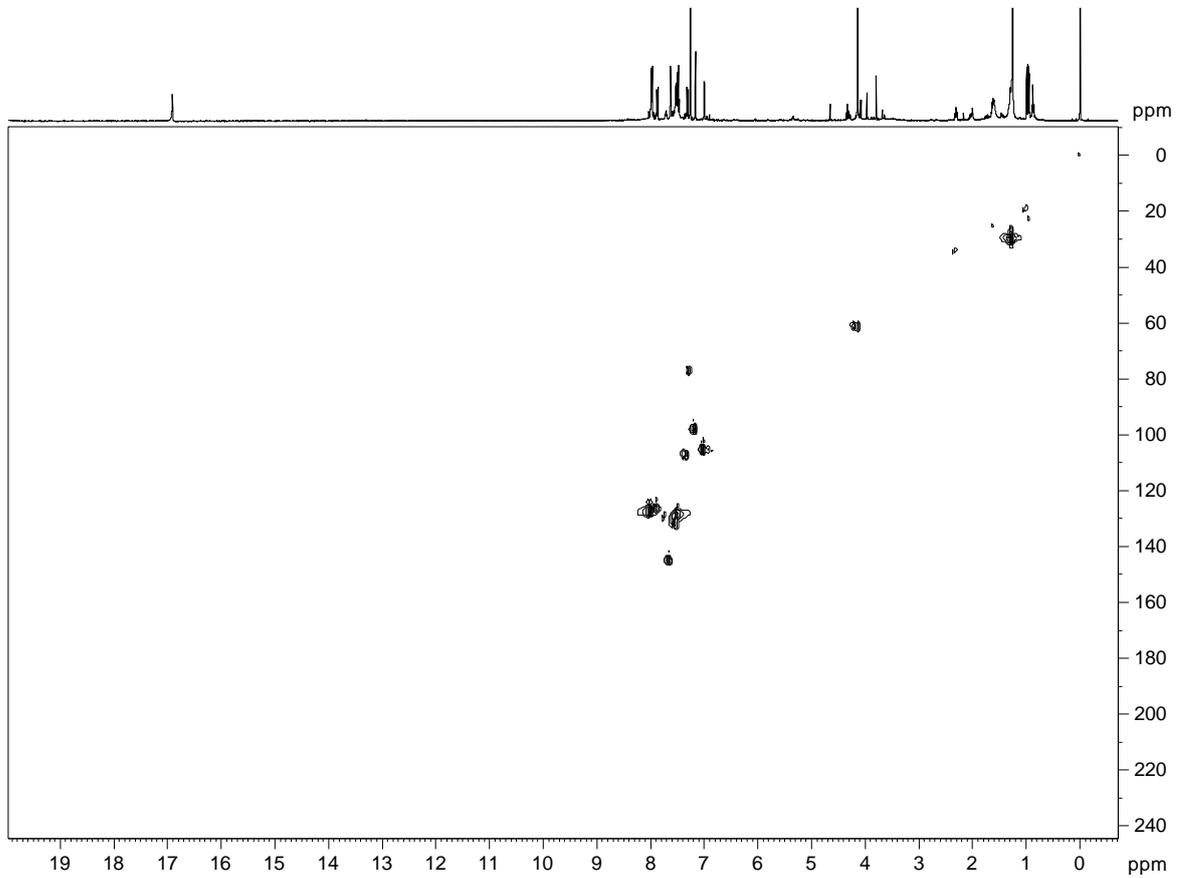


DG17 – Pongamol

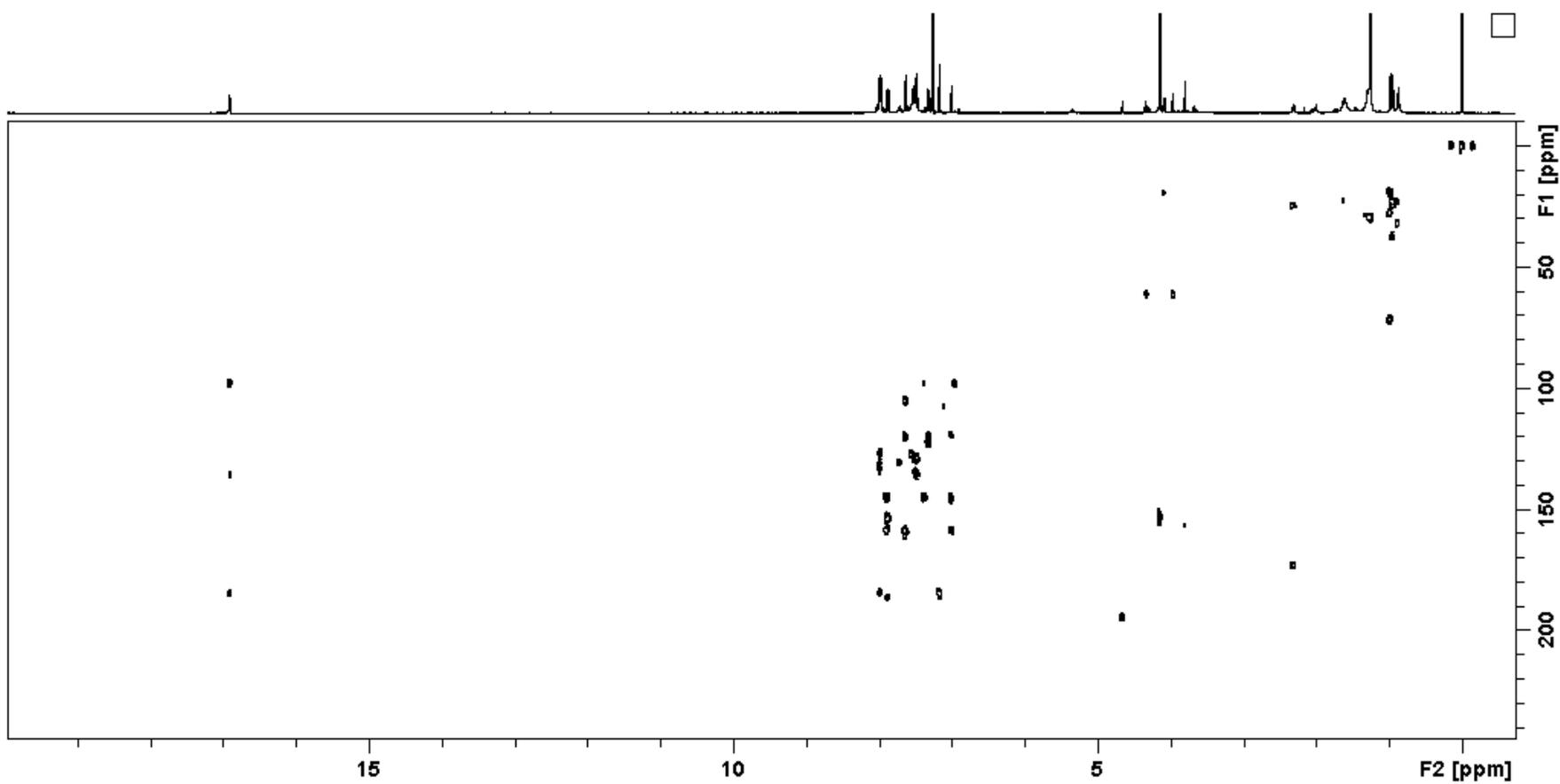
Óleo alaranjado



E 13: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG17**.



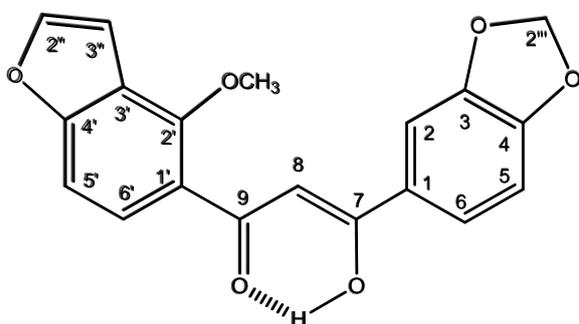
E 14: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG17**.



E 15: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG17.

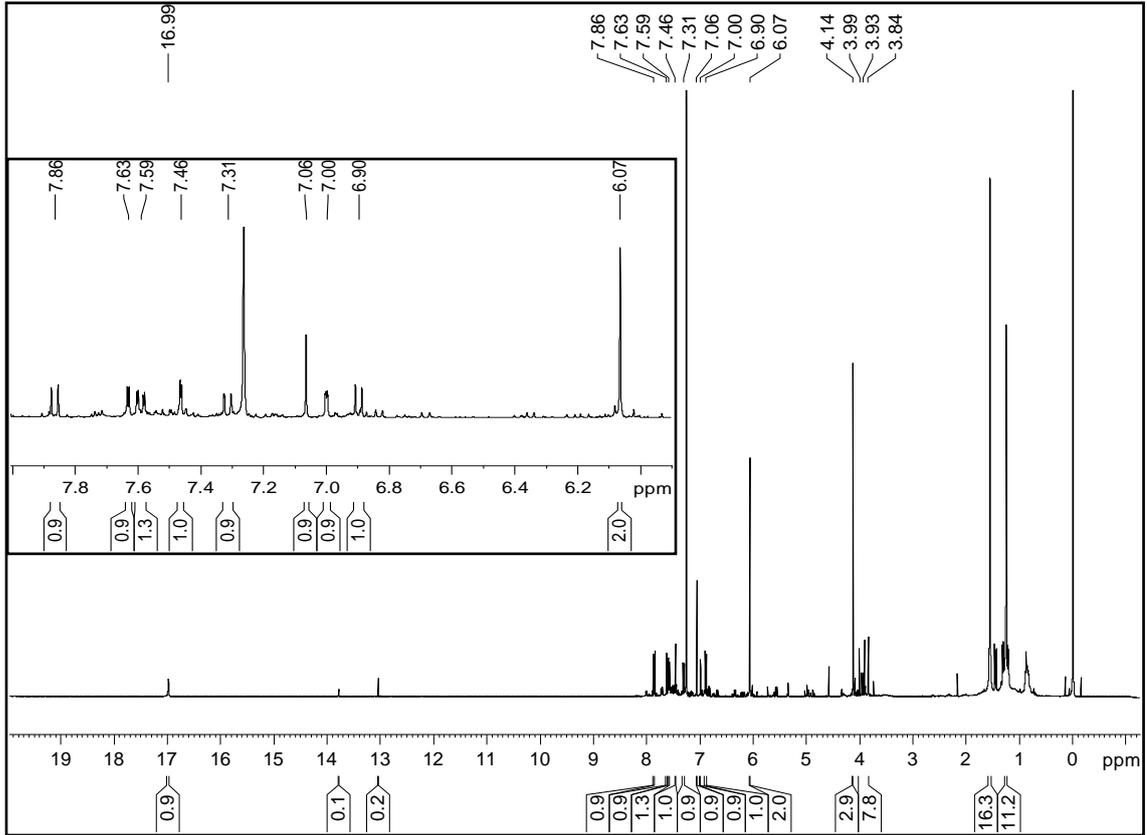
Tabela 8: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG12**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
1	130,4			
2	107,4	7,46 (2H, m)	107,4	
3	148,3			
4	151,0			
5	108,3	6,90 (1H; d; 8,2 Hz)	108,3	130,4 (C-1) e 148,3 (C-3)
6	122,8	7,59 (1H; dd; 8,2 e 1,8 Hz)	122,8	107,0 (C-5) e 151,0 (C-4)
7	184,8			
8	97,3	7,06 (1H; s)	97,3	184,9 (C-7)
9	184,0			
1'	122,1			
2'	153,6			
3'	119,8			
4'				
5'	107,0	7,31 (1H; d; 8,8 e 1,0 Hz)	107,0	119,8 (C-3') e 122,1 (C-1')
6'	126,4	7,86 (1H; d; 8,8 Hz)	126,4	153,6 (C-3') e 184,0 (C-9)
2''	144,8	7,63 (1H; d; 2,3 Hz)	144,8	
3''	105,2	7,00 (1H; d; 2,3 e 1,0 Hz)	105,2	
2'''	101,9	6,01 (2H; s)	101,9	151,1 (C-4) e 148,2 (C-3)
OCH ₃	61,2	4,14 (3H; s)	61,2	153,6 (C-2')
OH		17,00 (1H, s)		

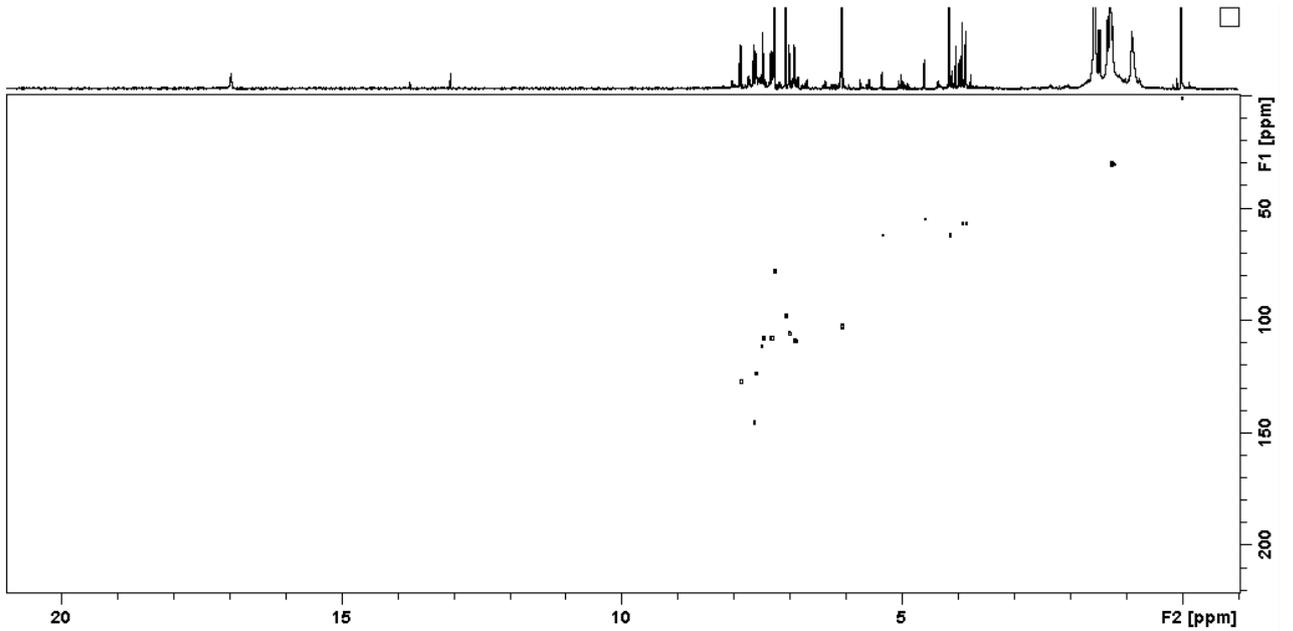


DG12 – Ovalitenona

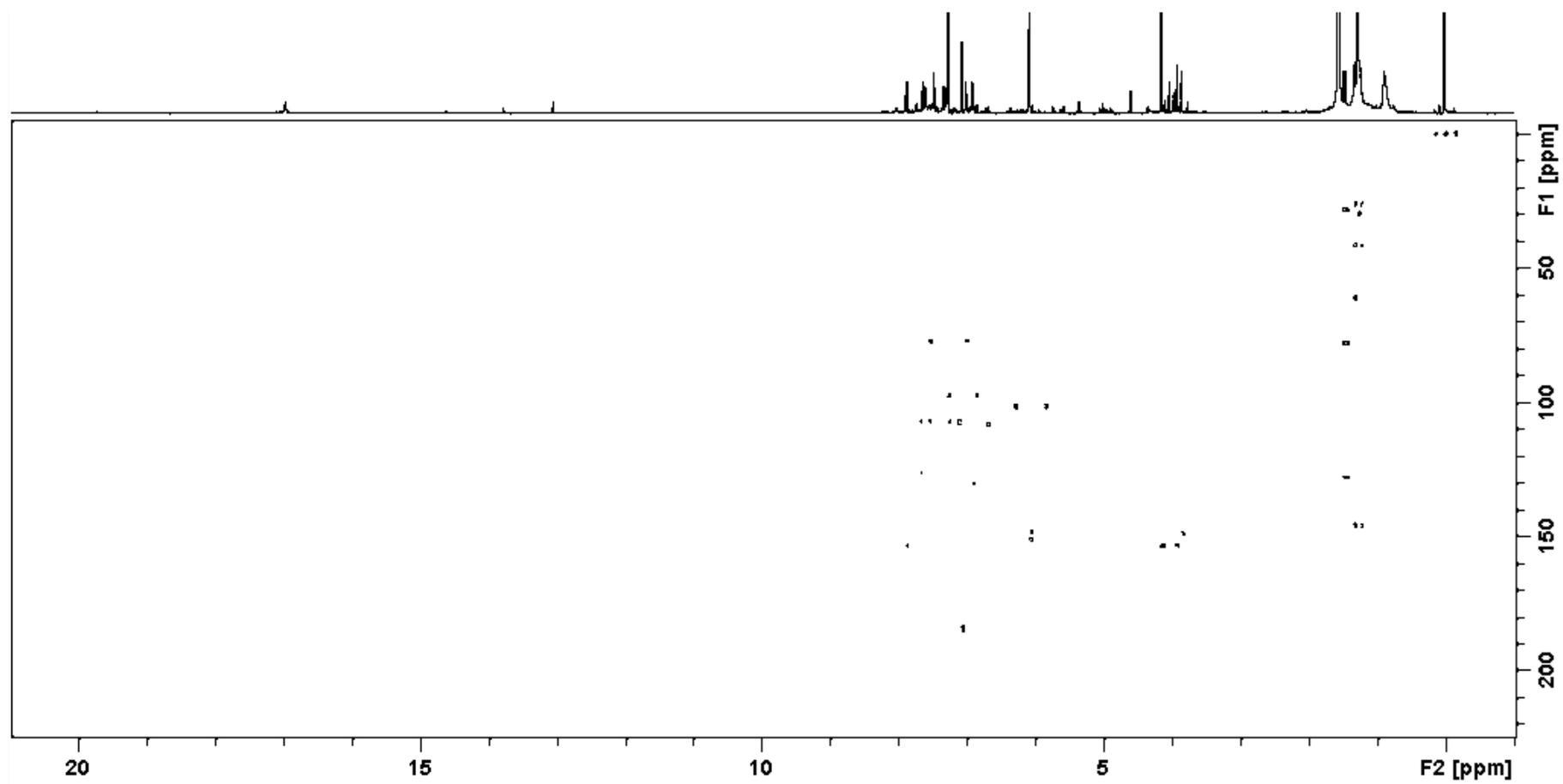
Óleo amarelo



E 16: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG12**.



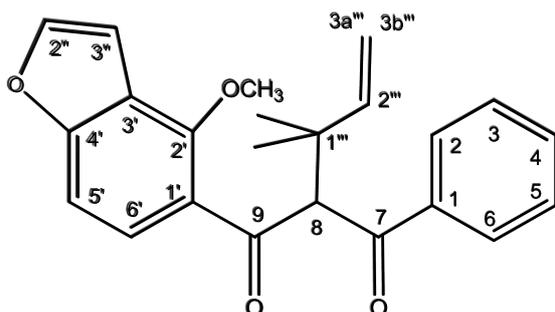
E 17: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG12**.



E 18: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG12.

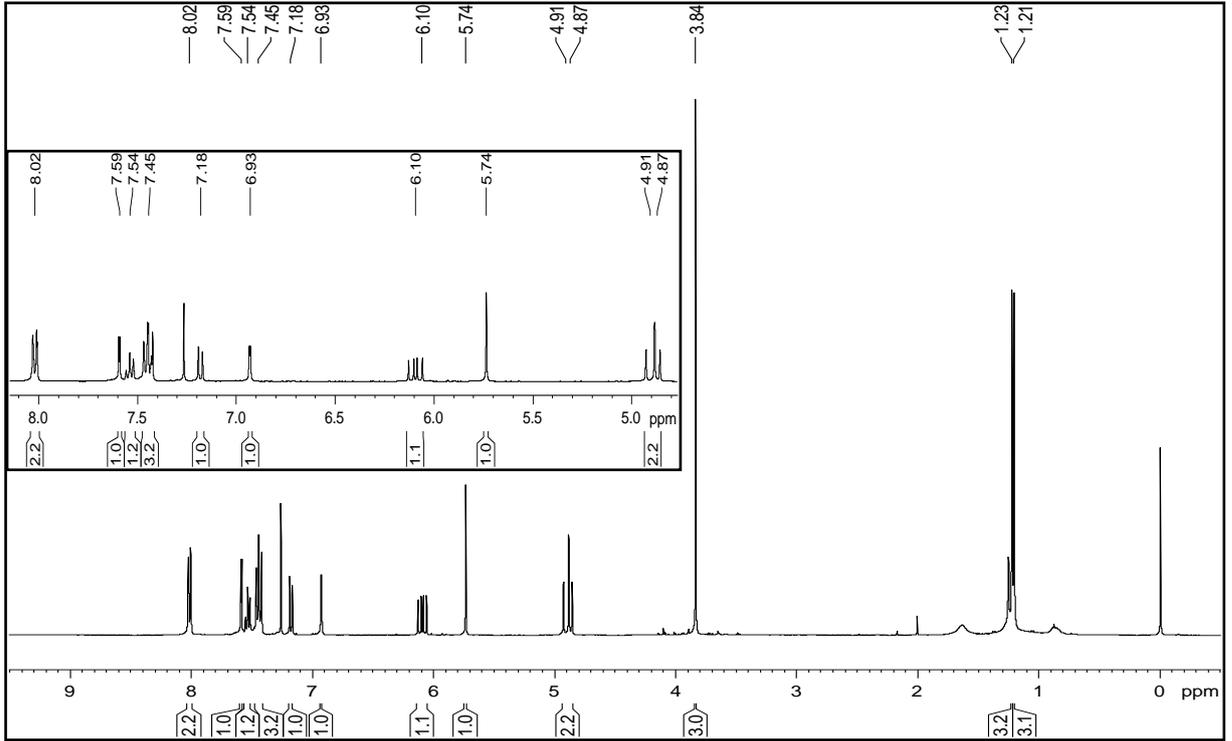
Tabela 9: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG10**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
1	138,6			
2	128,9	8,02 (2H; m)	128,9	128,9 (C-2 e C-6), 132,7 (C-4) e 195,4 (C-7)
3	128,5	7,50 (3H; m)	128,5	128,9 (C-2 e C-6); 128,5 (C-3 e C-5) e 138,6 (C-1)
4	132,7		132,7	
5	128,5		128,5	
6	128,9	8,02 (2H; m)	128,9	128,9 (C-2 e C-6), 132,7 (C-4) e 195,4 (C-7)
7	195,4			
8	67,0	5,74 (1H; s)	67,0	26,4 (CH_3), 25,8 (CH_3), 41,7 (C-1'''), 67,0 (C-8), 146,1 (C-2'''), 195,4 (C-7) e 197,7 (C-9)
9	197,7			
1'	127,0			
2'	152,4			
3'	117,4			
4'	158,8			
5'	106,8	7,18 (1H; dd; 8,6 e 0,8 Hz)	106,8	117,4 (C-3') e 127,0 (C-1')
6'	126,9	7,44 (1H; d; 8,6 Hz)	126,9	152,4 (C-2'), 158,8 (C-4') e 197,7 (C-9)
3''	105,6	6,93 (1H; dd; 2,3 e 0,8 Hz)	105,6	117,4 (C-3'), 144,6 (C-2'') e 158,8 (C-4')
2''	144,9	7,59 (1H; d; 2,3 Hz)	144,9	117,4 (C-3') e 158,8 (C-4')
1'''	41,6			
2'''	146,1	6,10 (1H; dd; 17,4 e 10,8 Hz)	146,1	26,2 (CH_3) e 41,7 (C-1''')
3a'''	111,7	4,90 (1H; dd; 17,4 e 1,0 Hz)	111,7	41,7 (C-1'''), 111,7 (C-3'''), 146,1 (C-2''')
3b'''	111,7	4,87 (1H; dd; 10,8 e 1,0 Hz)		
CH_3	25,8	1,23 (3H; s)	25,8	26,4 (CH_3), 41,7 (C-1'''), 67,0 (C-8) e 146,1 (C-2''')
CH_3	26,4	1,21 (3H; s)	26,4	25,8 (CH_3), 41,7 (C-1'''), 67,0 (C-8) e 146,1 (C-2''')
OCH_3	60,2	3,84 (3H; s)	60,2	60,2 (OCH_3) e 152,2 (C-2')

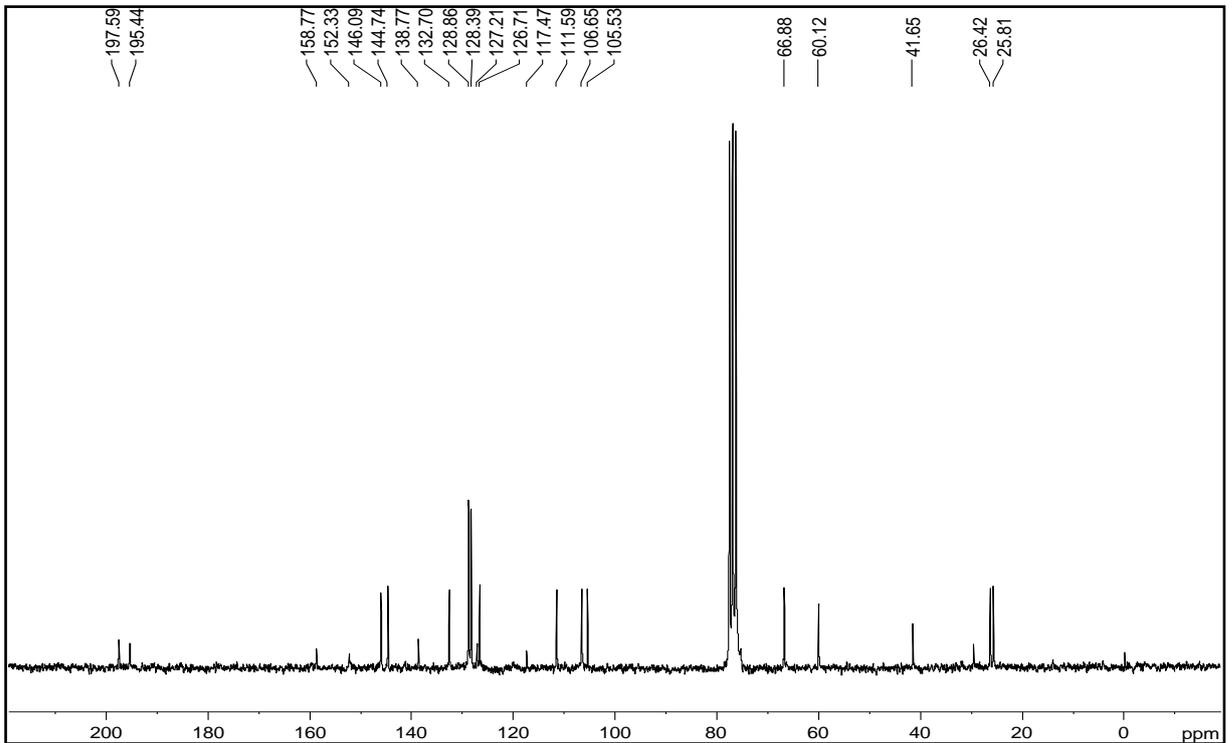


DG10 – 2'-metoxi-8-(α - α -dimetilalil)-[3',4':4'',5'']-furanodibenzoilmetano

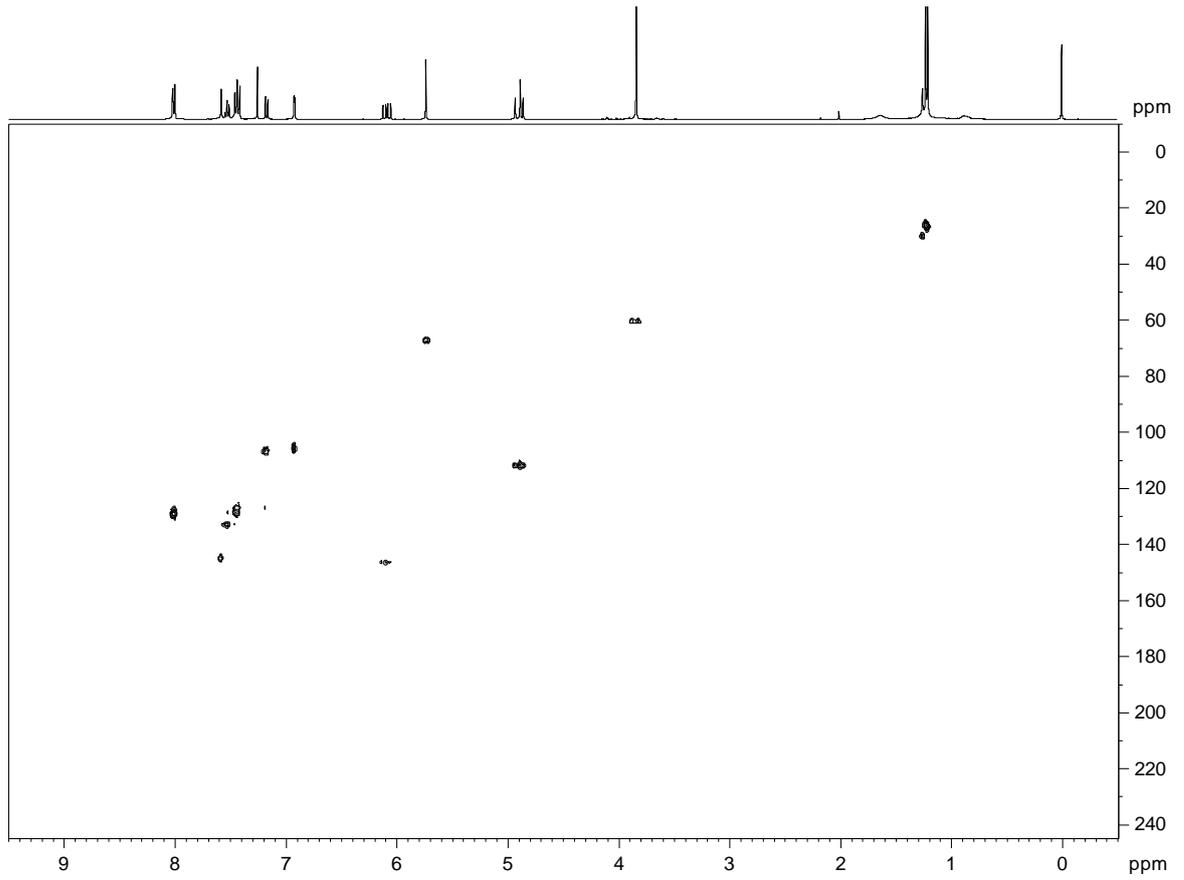
Óleo amarelo intenso



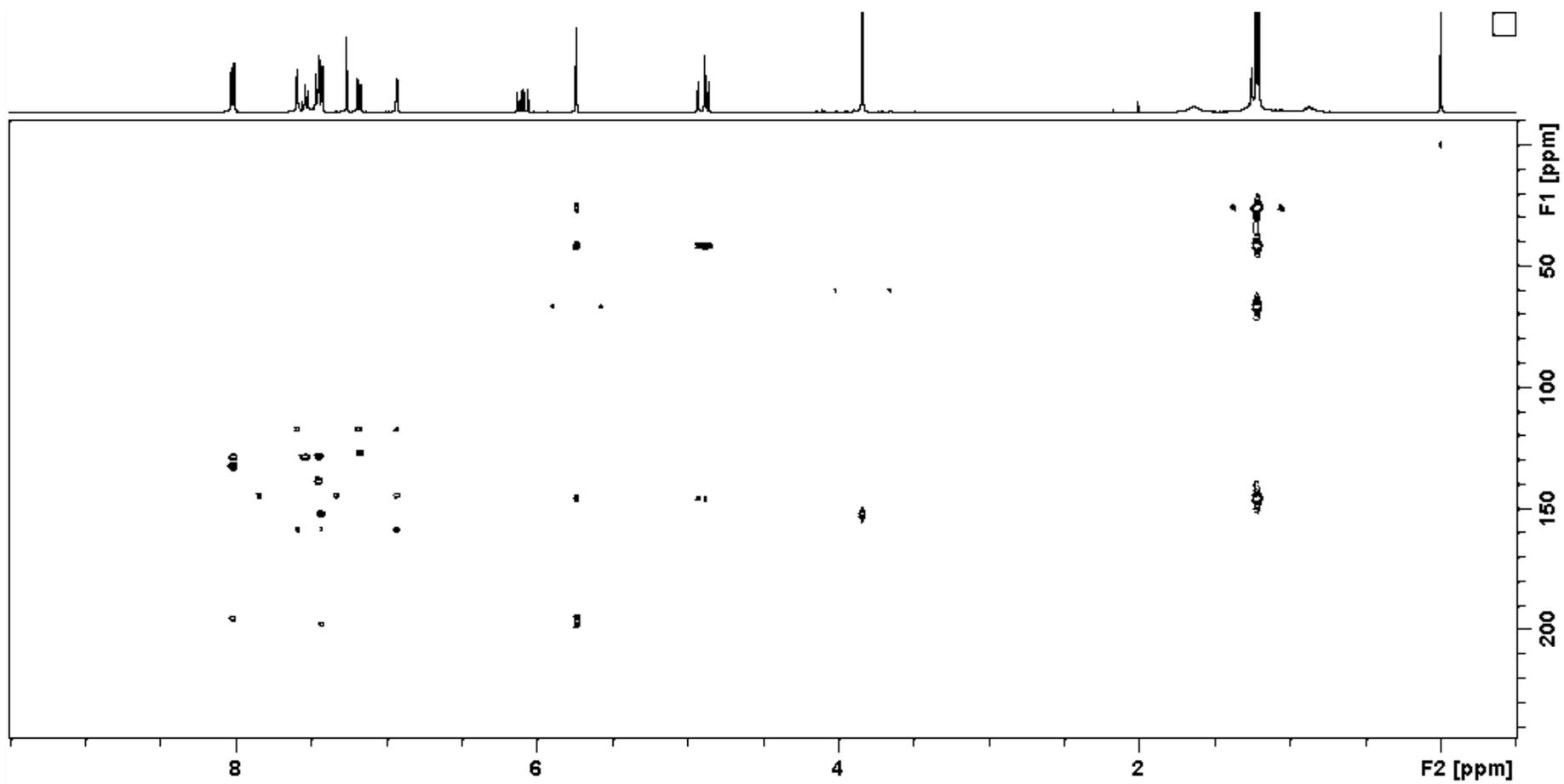
E 19: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG10**.



E 20: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz) em CDCl_3 de **DG10**.



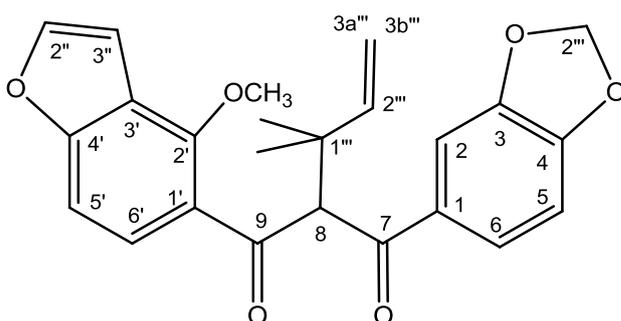
E 21: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG10**.



E 22: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG10.

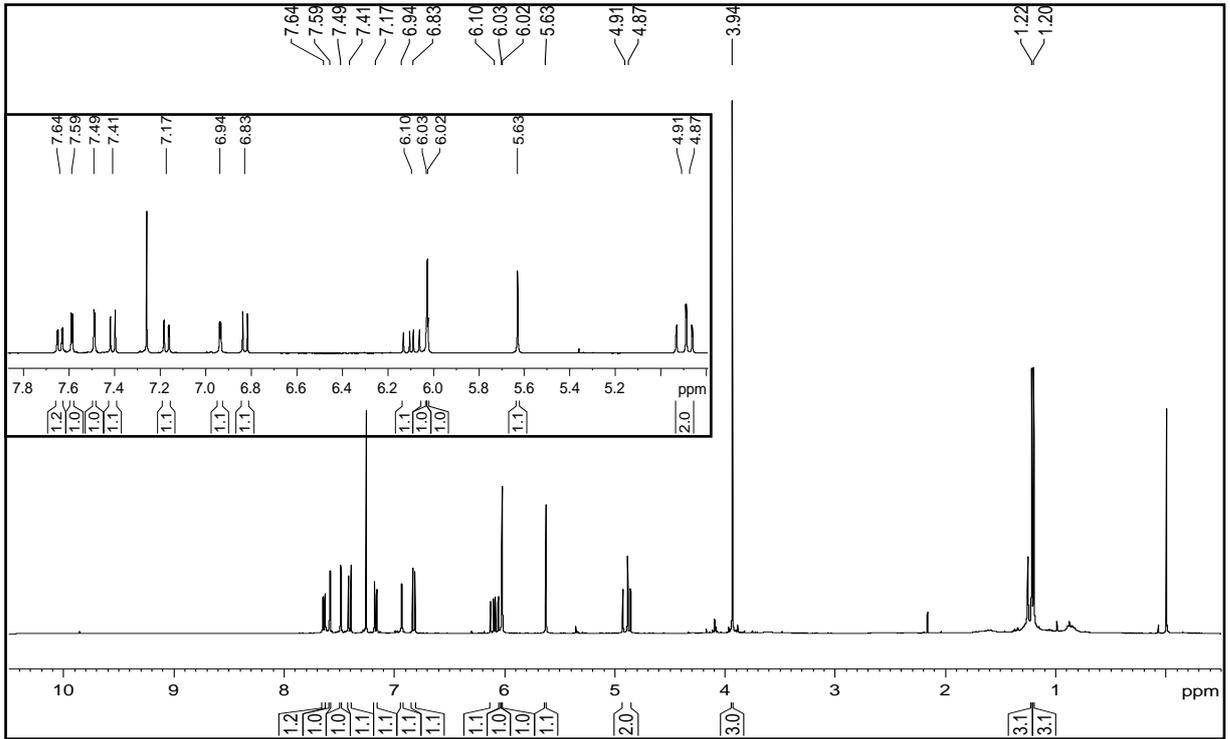
Tabela 10: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG11**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
1	133,6			
2	108,8	7,49 (1H; d; 1,8 Hz)	108,8	125,2 (C-2), 148,1 (C-3), 151,5 (C-4) e 193,3 (C-7)
3	148,1			
4	151,5			
5	107,8	6,83 (1H; d; 8,2 Hz)	107,8	133,6 (C-1) e 148,1 (C-3)
6	125,2	7,64 (1H; dd; 8,2 e 1,8 Hz)	125,2	108,8 (C-2), 151,5 (C-4) e 193,3 (C-7)
7	193,3			
8	66,7	5,63 (1H; s)	66,7	25,8 (CH_3), 26,4 (CH_3), 41,5 (C-1'''), 146,2 (C-2'''), 193,3 (C-7) e 197,6 (C-9)
9	197,6			
1'	127,3			
2'	152,2			
3'	117,7			
4'	158,7			
5'	126,9	7,18 (1H; dd; 1,0 e 8,6 Hz)	126,9	117,4 (C-3') e 127,0 (C-1')
6'	106,8	7,41 (1H; d; 8,6 Hz)	106,8	152,4 (C-2'), 158,8 (C-4') e 197,7 (C-9)
3''	105,6	6,94 (1H; dd; 2,3 e 1,0 Hz)	105,6	117,4 (C-3'), 144,6 (C-3'') e 158,8 (C-4')
2''	144,8	7,59 (1H; d; 2,3 Hz)	144,9	117,4 (C-3') e 158,8 (C-4')
2'''	101,9	6,02 (1H; d; 1,4 Hz) 6,03 (1H; d; 1,4 Hz)	101,9	148,1 (C-3) e 151,5 (C-4)
1''''	41,6			
2''''	146,1	6,10 (1H; dd; 17,4 e 10,8 Hz)	146,1	26,2 (CH_3) e 41,5 (C-1''')
3a''''	111,7	4,91 (1H; dd; 17,3 e 1,0 Hz)		
3b''''	111,7	4,87 (1H; dd; 10,7 e 1,0 Hz)	111,6	41,5 (C-1'''), 111,6 (C-3'''), 146,2 (C-2''')
CH_3	25,8	1,22 (3H; s)	25,8	26,4 (CH_3), 41,5 (C-1'''), 67,0 (C-8) e 146,2 (C-2''')
CH_3	26,4	1,20 (3H; s)	26,4	25,8 (CH_3), 41,5 (C-1'''), 67,0 (C-8) e 146,2 (C-2''')
OCH_3	60,2	3,94 (3H; s)	60,4	60,4 (OCH_3) e 152,2 (C-2')

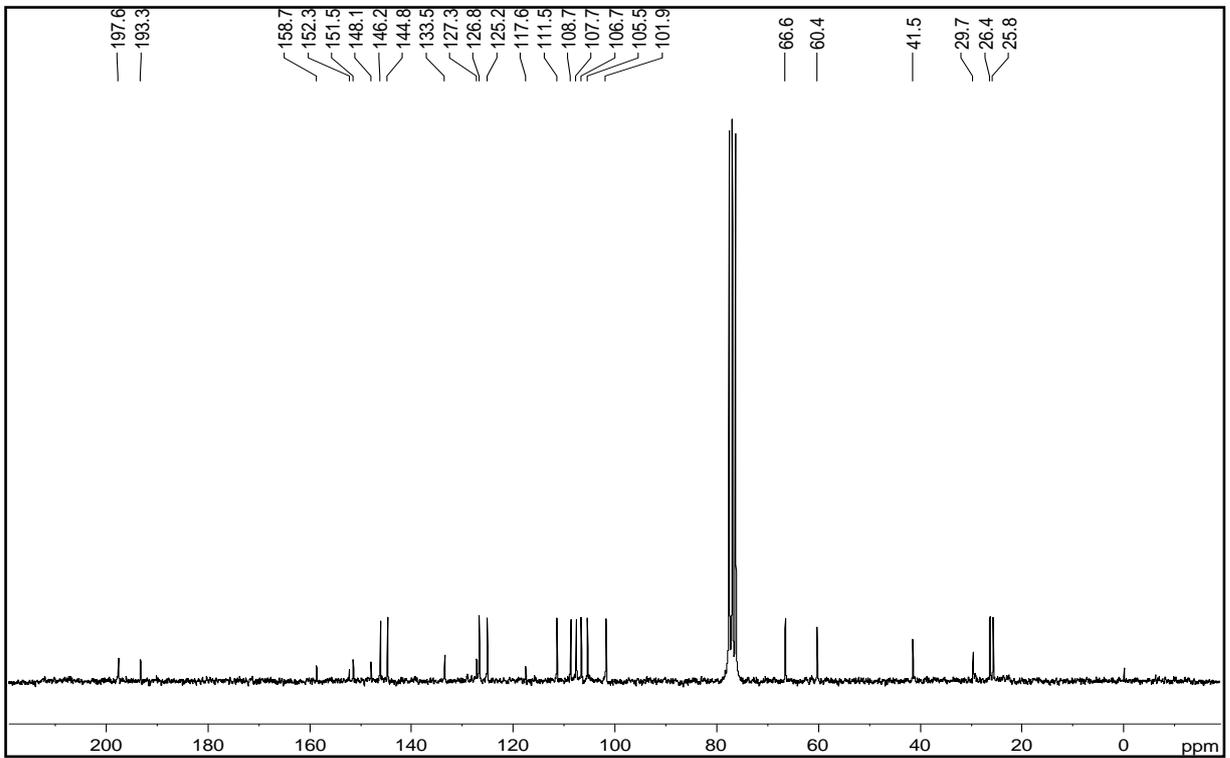


DG11 – 3,4-metilenodioxi-2'-metoxi-8-(α - α -dimetilalila)-[3',4': 4'',5'']-furanodibenzoilmetano

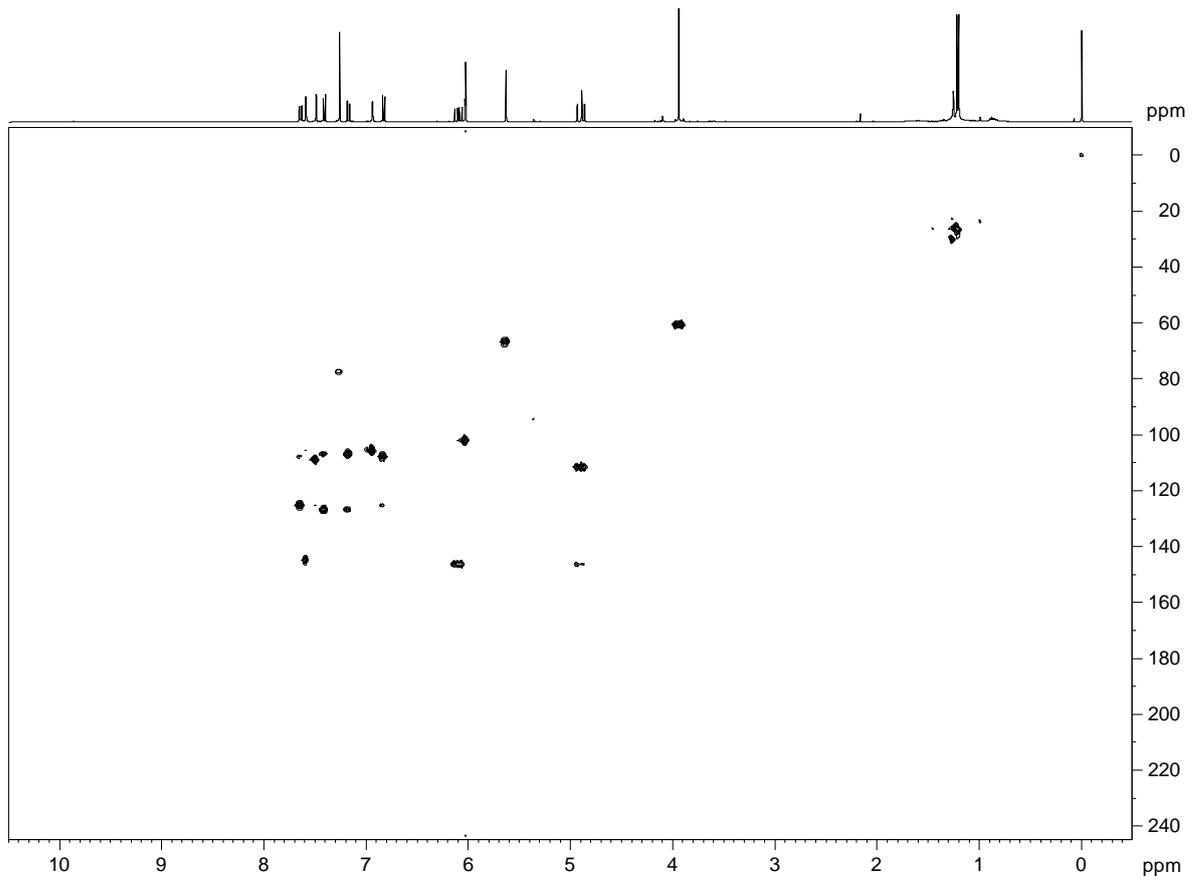
Óleo alaraniado



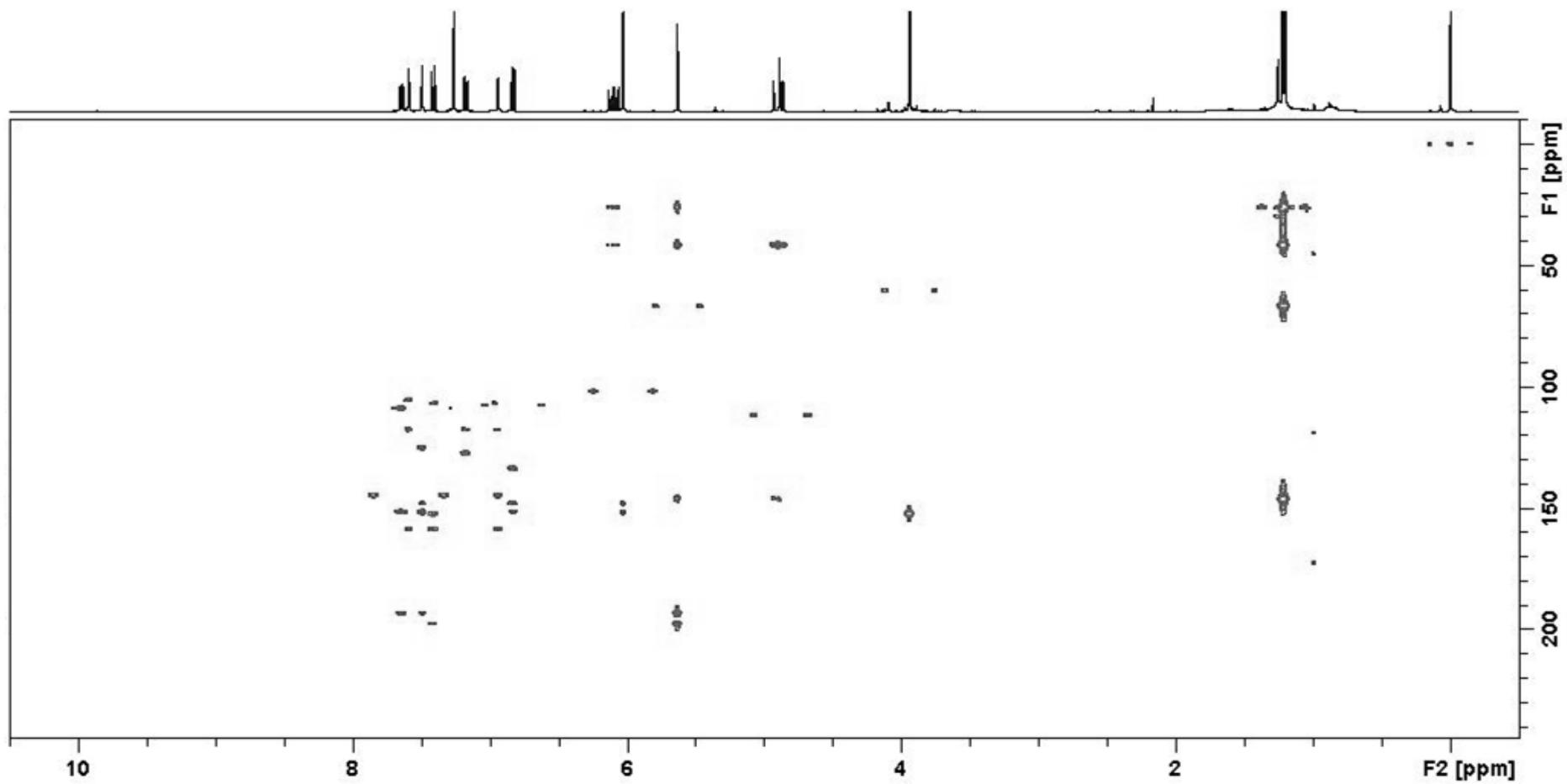
E 23: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG11**.



E 24: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz) em CDCl_3 de **DG11**.



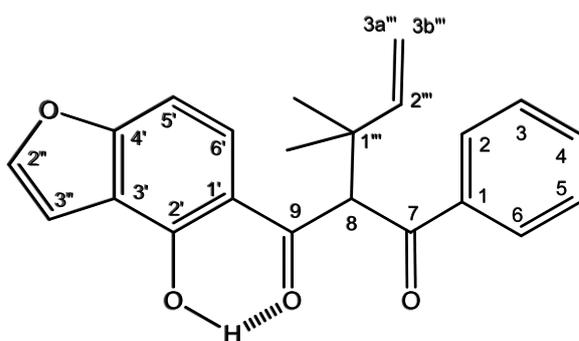
E 25: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG11.



E 26: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG11.

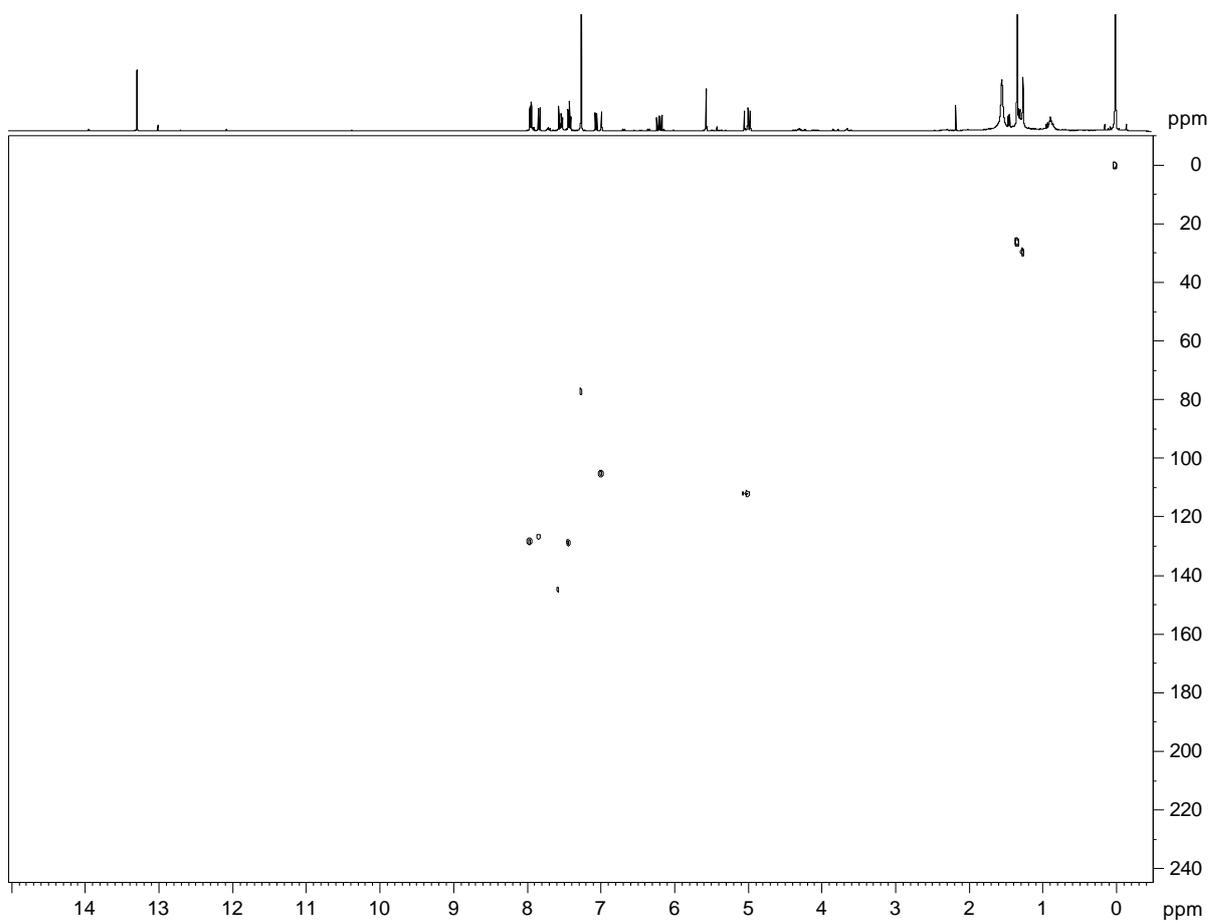
Tabela 11: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG18**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
2	128,4	7,95 (2H, m)	128,4	128,4 (C-2 e 6), 133,2 (C-4) e 193,9 (C-7)
3	128,7	7,42 (2H; m)	128,7	128,8 (C-3 e 5) e 137,9 (C-1)
4	133,2	7,53 (1H; m)	133,2	128,4 (C-2 e 6)
5	128,7	7,42 (2H; m)	128,7	128,8 (C-3 e 5) e 137,9 (C-1)
6	128,4	7,95 (2H, m)	128,4	128,4 (C-2 e 6), 133,2 (C-4) e 193,9 (C-7)
7	193,9			
8	62,0	5,57 (1H; s)	62,0	26,1 (CH ₃), 41,6 (C-1 ^{'''}), 145,7 (C-2 ^{'''}), 193,9 (C-7) e 200,0 (C-9)
9	200,0			
1'	41,6			
2'	160,0			
3'	114,6			
4'	159,9			
5'	104,0	7,07 (1H; dd; 9,0 e 0,9 Hz)	104,0	114,7 (C-3') e 118,1 (C-1')
6'	126,7	7,83 (1H; d; 9,0 Hz)	126,7	1160,0 (C-2') e 200,0 (C-9)
4''	105,1	6,99 (1H; dd; 2,2 e 0,9 Hz)	105,1	144,7 (C-5'') e 159,9 (C-4')
5''	144,7	7,57 (1H; d; 2,2 Hz)	144,7	159,9 (C-4')
1'''	41,6			
2'''	145,6	6,20 (1H; dd; 17,5 e 10,7 Hz)	145,6	
3a'''	112,2	5,02 (1H; dd; 17,5 e 0,9 Hz)	112,2	41,6 (C-1''') e 145,6 (C-2''')
3b'''	112,2	4,98 (1H; dd; 10,7 e 0,9 Hz)	112,2	
CH ₃	26,1	1,34 (3H; s)	26,1	26,1 (CH ₃), 41,6 (C-1'''), 62,0 (C-8) e 145,6 (C-2''')
CH ₃		1,33 (3H; s)		
OH	160,0	13,30 (1H; s)	160,0	114,6 (C-3'), 118,1 (C-1') e 160,0 (C-2')

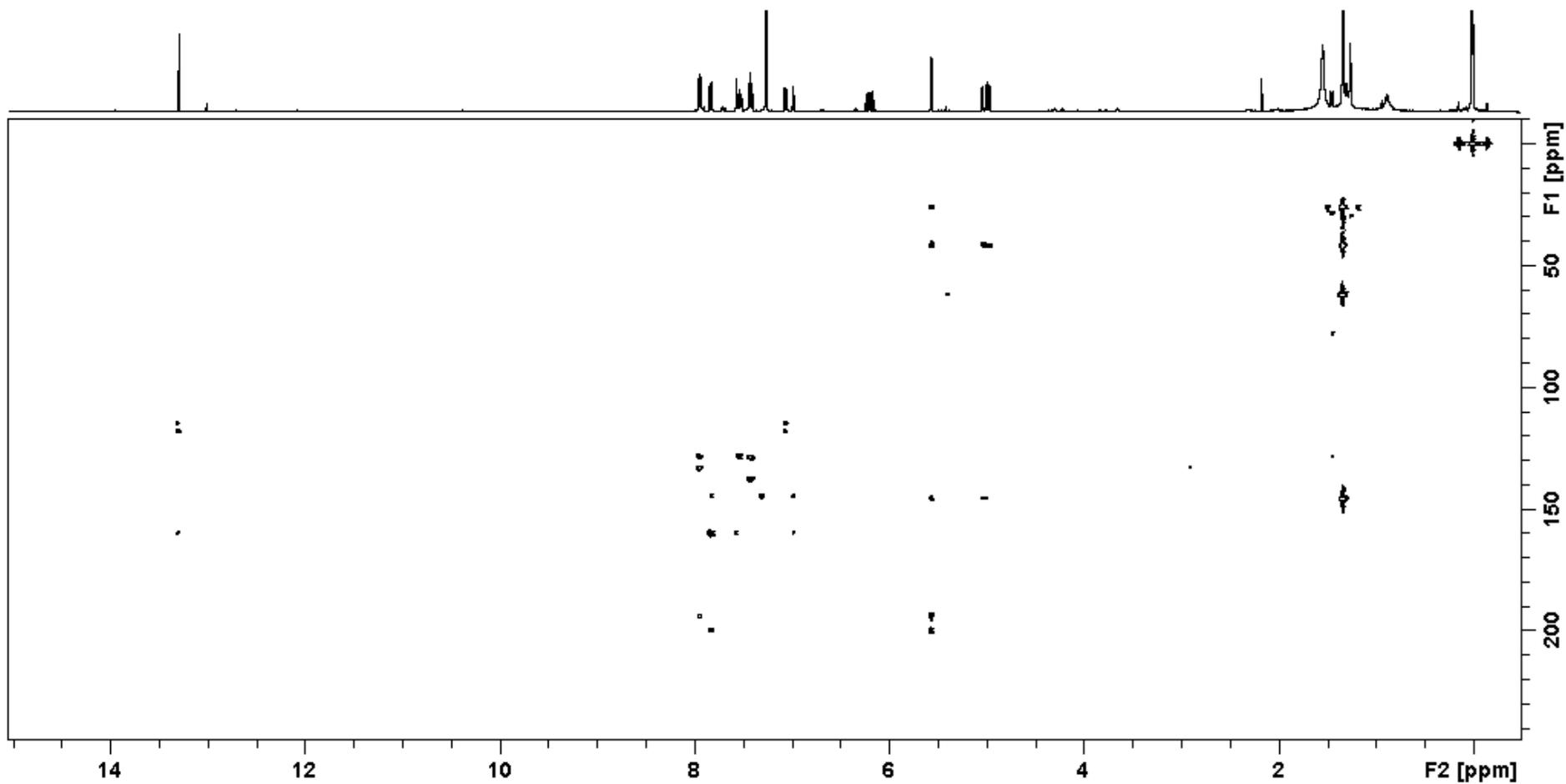


DG18 – 2'-hidroxi-8-dimetilalil-[3',4': 4'',5'']-furanodibenzoilmetano - Glaziovione

Óleo amarelo



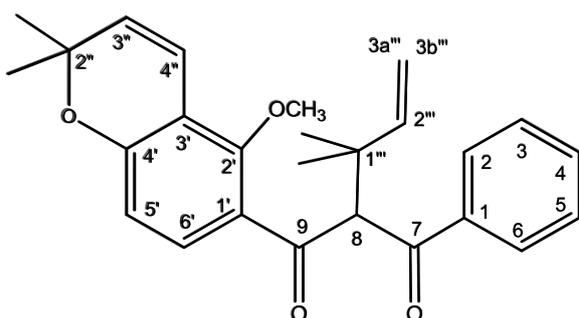
E 27: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG18**.



E 28: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG18**.

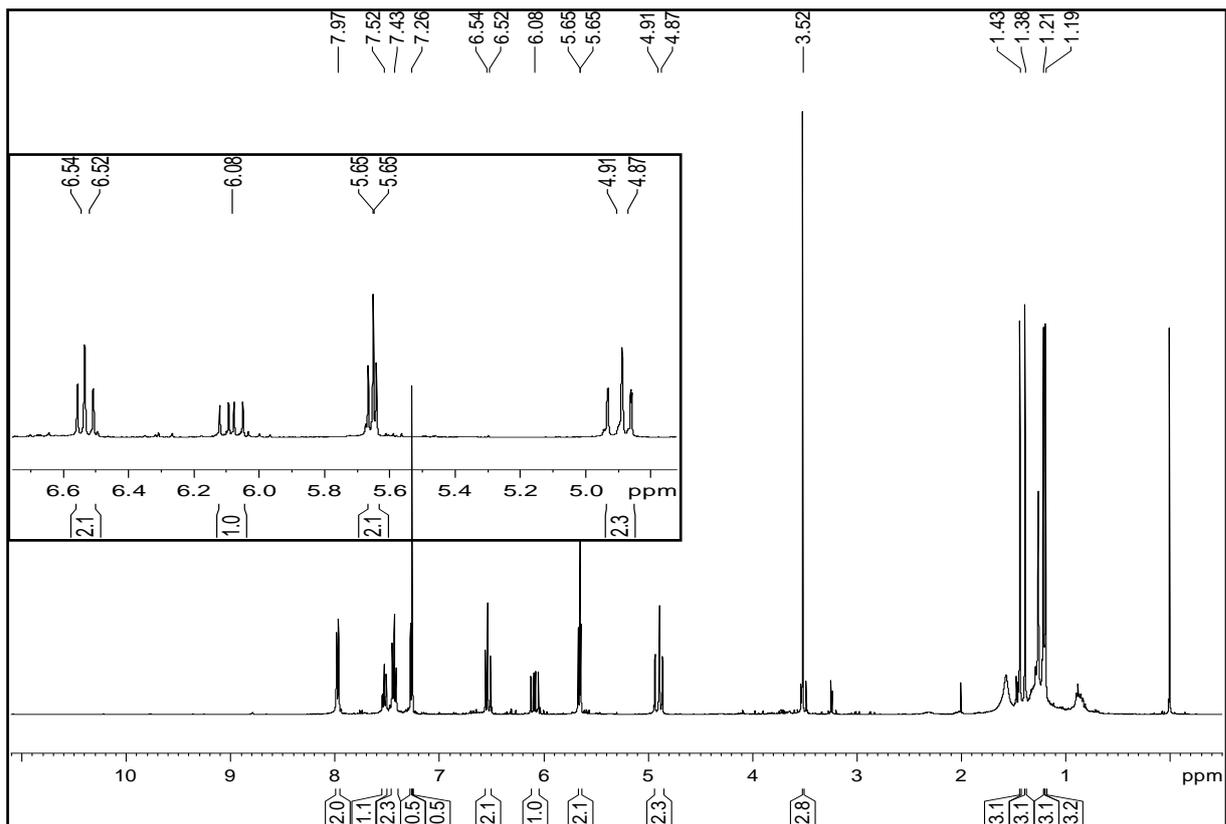
Tabela 12: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG14**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
1	138,9			
2	129,0	7,97 (2H; m)	129,0	128,7 (C-3 e C-5), 132,8 (C-4) e 195,6 (C-7)
3	128,7	7,43 (2H; m)	128,7	138,9 (C-1)
4	132,8	7,52 (1H; m)	132,8	129,0 (C-2 e C-6)
5	128,7	7,43 (2H; m)	128,7	138,9 (C-1)
6	129,0	7,97 (2H; m)	129,0	128,7 (C-3), 132,8 (C-4) e 195,6 (C-7)
7	195,6			
8	66,3	5,65 (1H; s)	66,3	25,8 (CH ₃), 26,3 (CH ₃), 41,6 (C-1'''), 146,0 (C-2'''), 195,6 (C-7) e 196,4 (C-9)
9	196,4			
1'	127,9			
2'	155,2			
3'	114,5			
4'	157,2			
5'	113,2	6,54 (1H; dd; 8,5 e 0,7 Hz)	113,2	114,5 (C-3') e 127,9 (C-1')
6'	130,8	7,26 (1H; d; 8,5 Hz)	106,8	155,2 (C-2'), 157,1 (C-4') e 196,4 (C-9)
4''	116,6	6,52 (1H; dd; 10,0 e 0,7 Hz)	116,6	76,7 (C-2'') e 157,2 (C-4')
3''	130,9	5,65 (1H; d; 10,0 Hz)	130,9	76,7 (C-2'')
2''	76,7			
1'''	41,6			
2'''	146,0	6,08 (1H; dd; 17,5 e 10,8 Hz)	146,0	
3a'''		4,91 (1H; dd; 17,5 e 1,0 Hz)		
3b'''	111,8	4,87 (1H; dd; 10,8 e 1,0 Hz)	111,8	41,6 (C-1''')
CH ₃	25,8	1,21 (3H; s)	25,8	26,3 (CH ₃), 41,6 (C-1'''), 66,3 (C-8) e 146,0 (C-2''')
CH ₃	26,3	1,19 (3H; s)	26,3	25,8 (CH ₃), 41,6 (C-1'''), 66,3 (C-8) e 146,0 (C-2''')
CH ₃	28,3	1,43 (3H; s)	28,3	28,0 (CH ₃), 76,7 (C-2'') e 130,9 (C-3'')
CH ₃	28,0	1,38 (3H; s)	28,0	28,3 (CH ₃), 76,7 (C-2'') e 130,9 (C-3'')
OCH ₃	63,8	3,51 (3H; s)	63,8	152,2 (C-2')

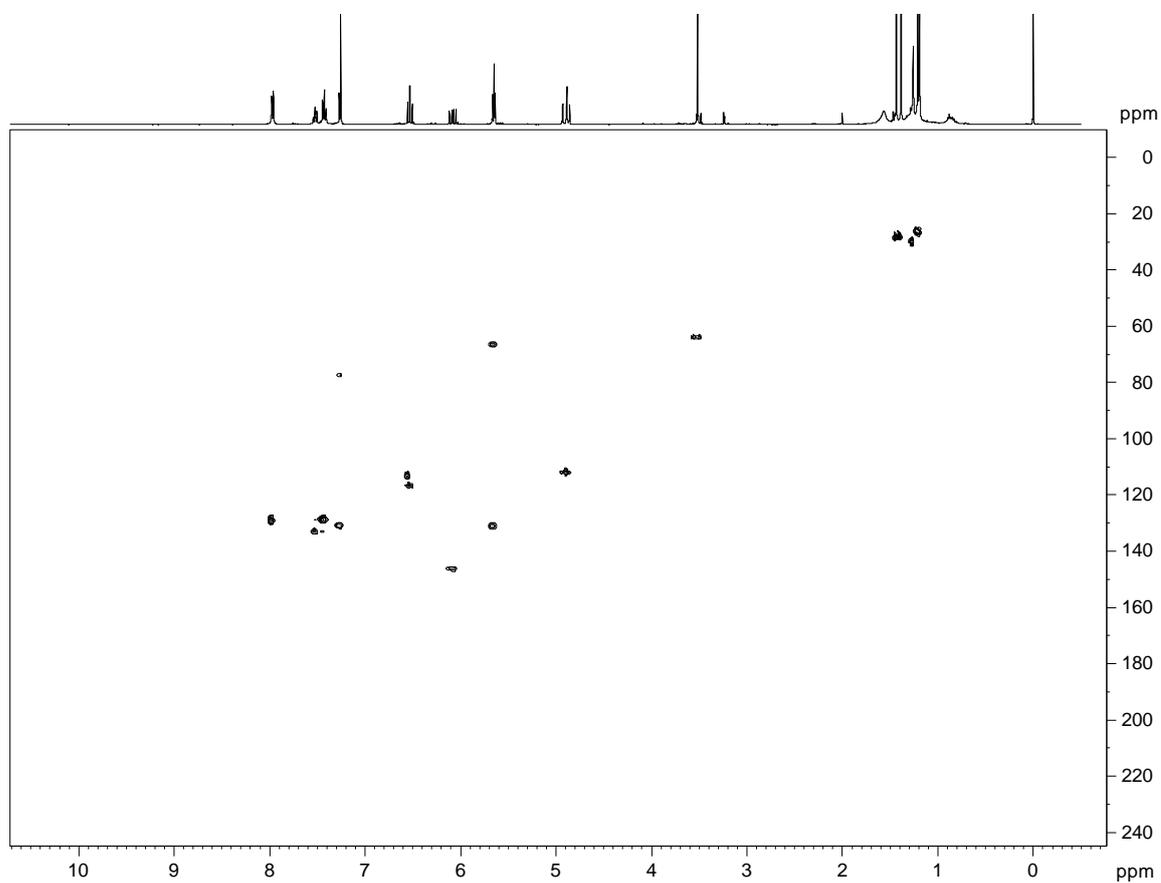


DG14 – 2'-metoxi-8-(α - α -dimetilalila)-2'',2''-dimetilcromeno-[3',4':5'',6'']- dibenzoilmetano

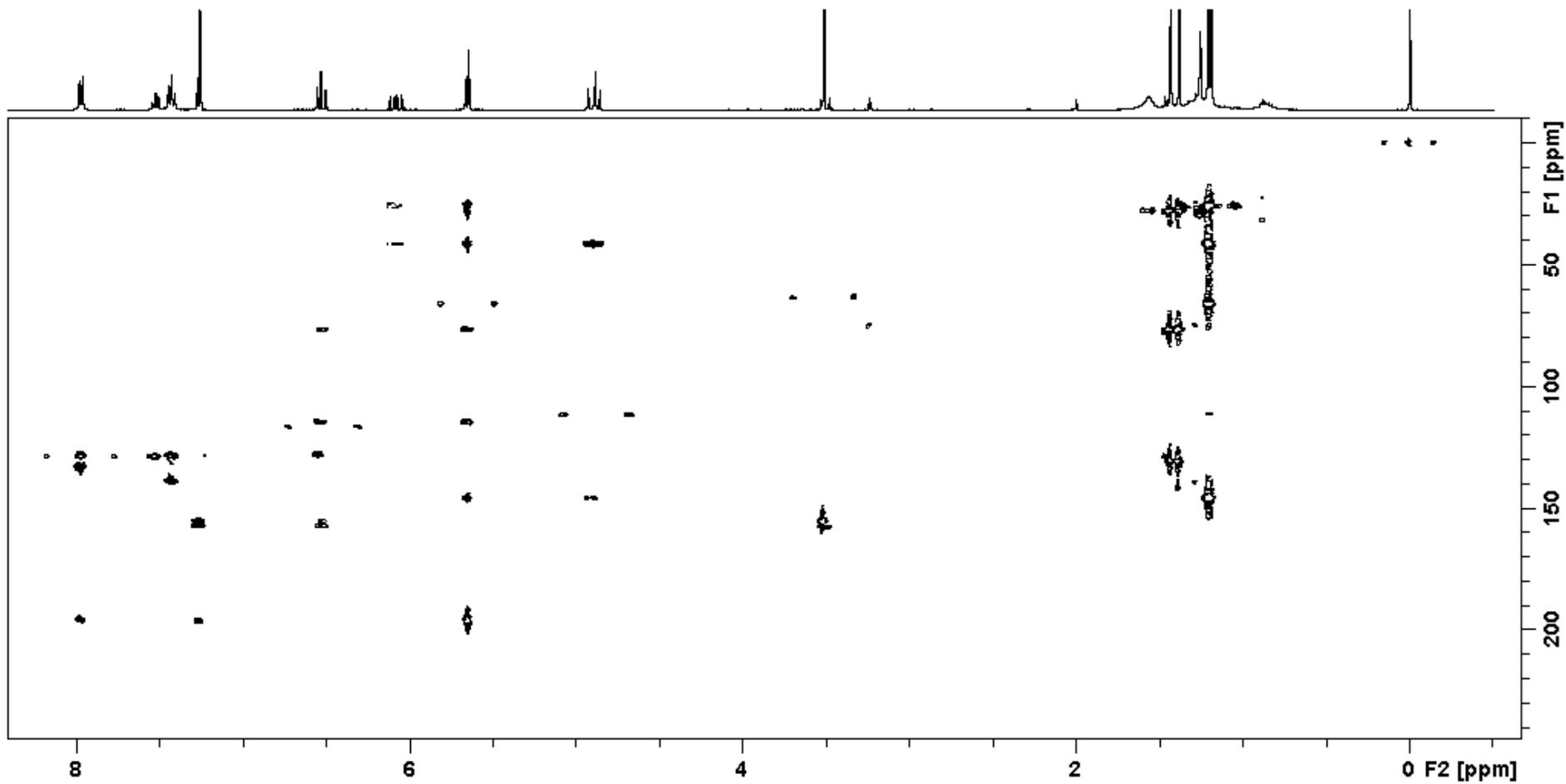
Óleo amarelo



E 29: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG14**.



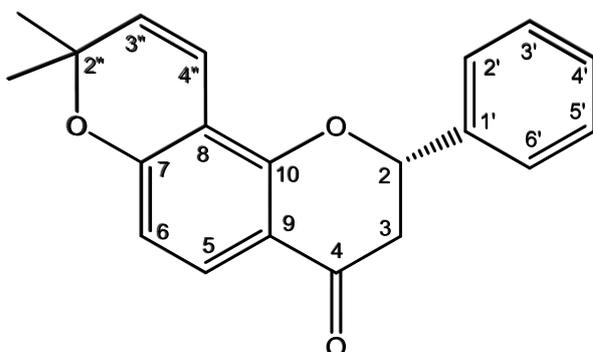
E 30: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG14**.



E 31: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG14.

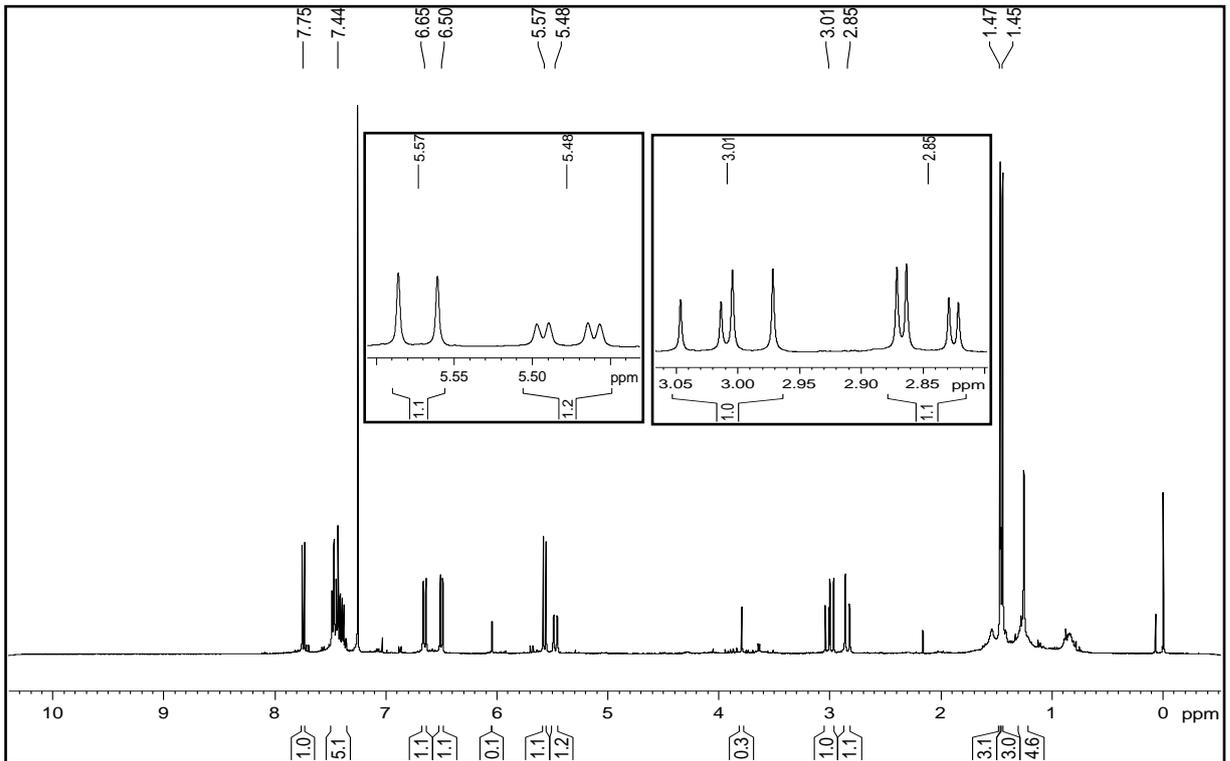
Tabela 13: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG15**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
2	79,8	5,48 (1H; dd; 13,1 e 3,1 Hz)	79,8	126,1 (C-2' e C-6')
3 ax	44,4	3,01 (1H; dd; 16,8 e 13,1 Hz)	44,4	79,8 (C-2), 139,1 (C-1') e 190,6 (C-4)
3 eq	44,4	2,84 (1H; dd; 16,8 e 3,1 Hz)	44,4	190,6 (C-4)
4	190,6			
5	128,0	7,75 (1H; d; 8,7 Hz)	128,0	157,8 (C-9), 159,6 (C-7) e 190,6 (C-4)
6	111,3	6,50 (1H; d; 8,7 Hz)	111,3	109,6 (C-8), 114,8 (C-10) e 159,8 (C-7)
7	159,8			
8	109,6			
9	157,8			
10	114,8			
1'	139,1			
2'	126,1		126,1	
3'	128,6		128,7	79,8 (C-2), 126,1 (C-2' e C-6'),
4'	128,8		128,9	128,6 (C-3' e C-5'),
5'	128,6		128,7	128,8 (C-4') e 139,1 (C-1')
6'	126,1		126,1	
2''	77,6		2''	77,6
3''	129,1	5,57 (1H; d; 10,0 Hz)	129,1	28,4 (CH ₃), 77,6 (C-2'') e 109,6 (C-8)
4''	116,1	6,65 (1H; dd; 10 e 0,6 Hz)	116,1	77,6 (C-2''), 157,8 (C-9) e 159,6 (C-7)
CH ₃	28,4	1,47 (3H, s)	28,4	28,2 (CH ₃), 77,6 (C-2'') e 109,6 (C-8)
CH ₃	28,2	1,45 (3H, s)	28,2	28,4 (CH ₃), 77,6 (C-2'') e 109,6 (C-8)

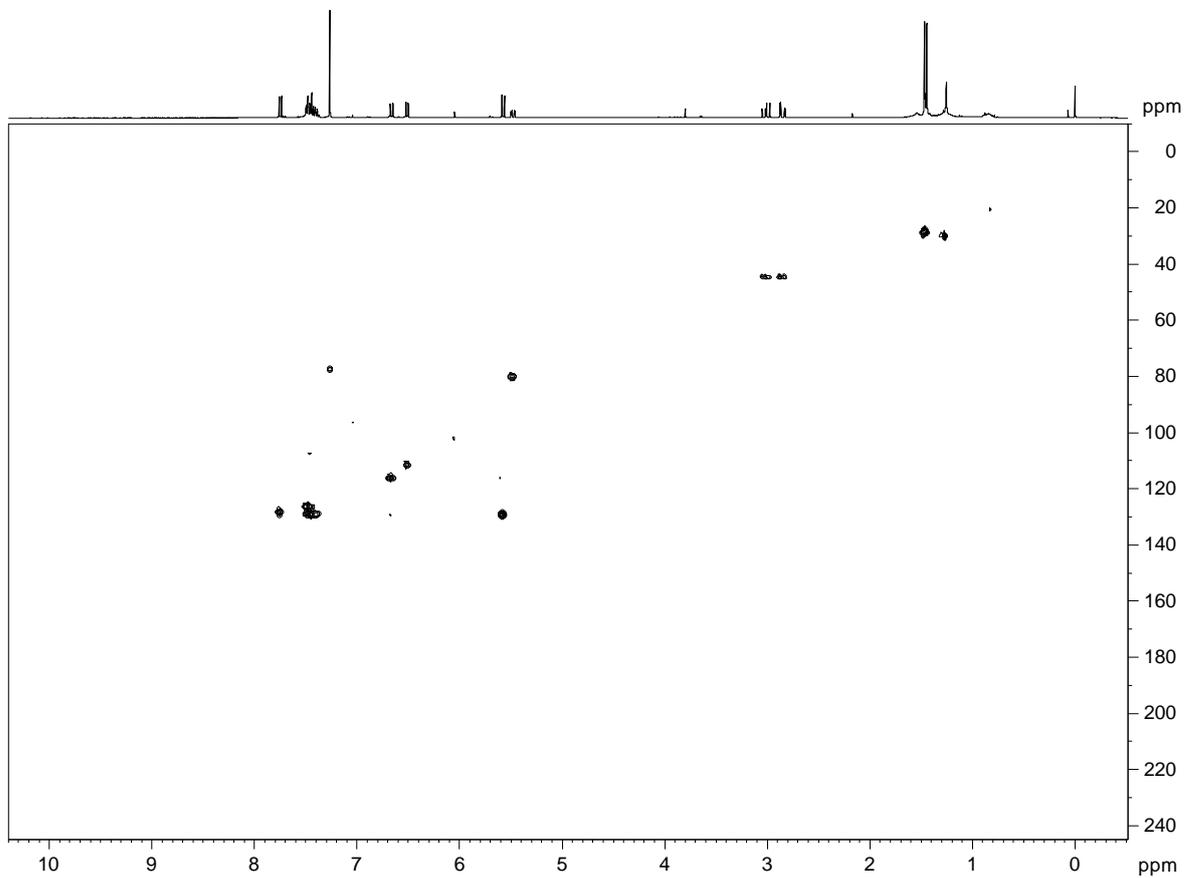


DG15 – (-)-Isolonchocarpina

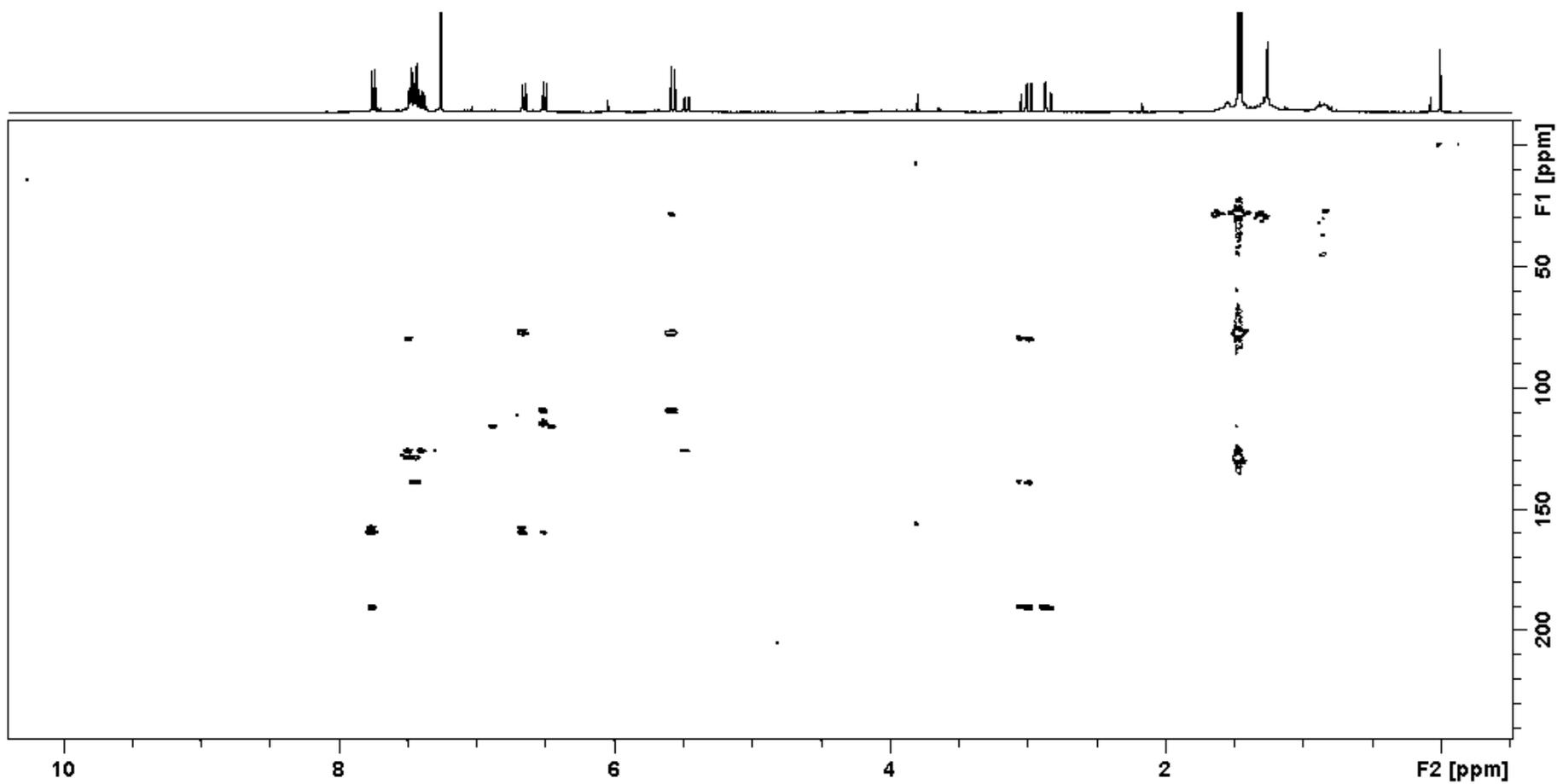
Sólido amorfo branco



E 32: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG15.



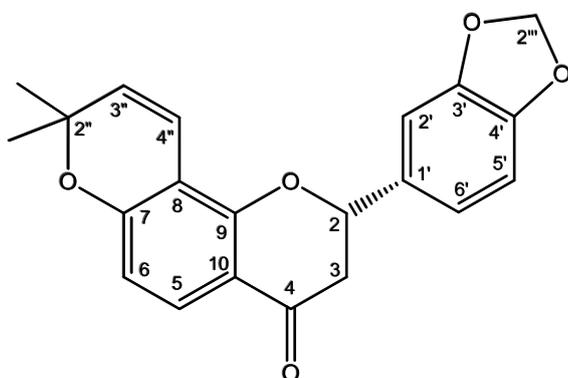
E 33: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG15.



E 34: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG15.

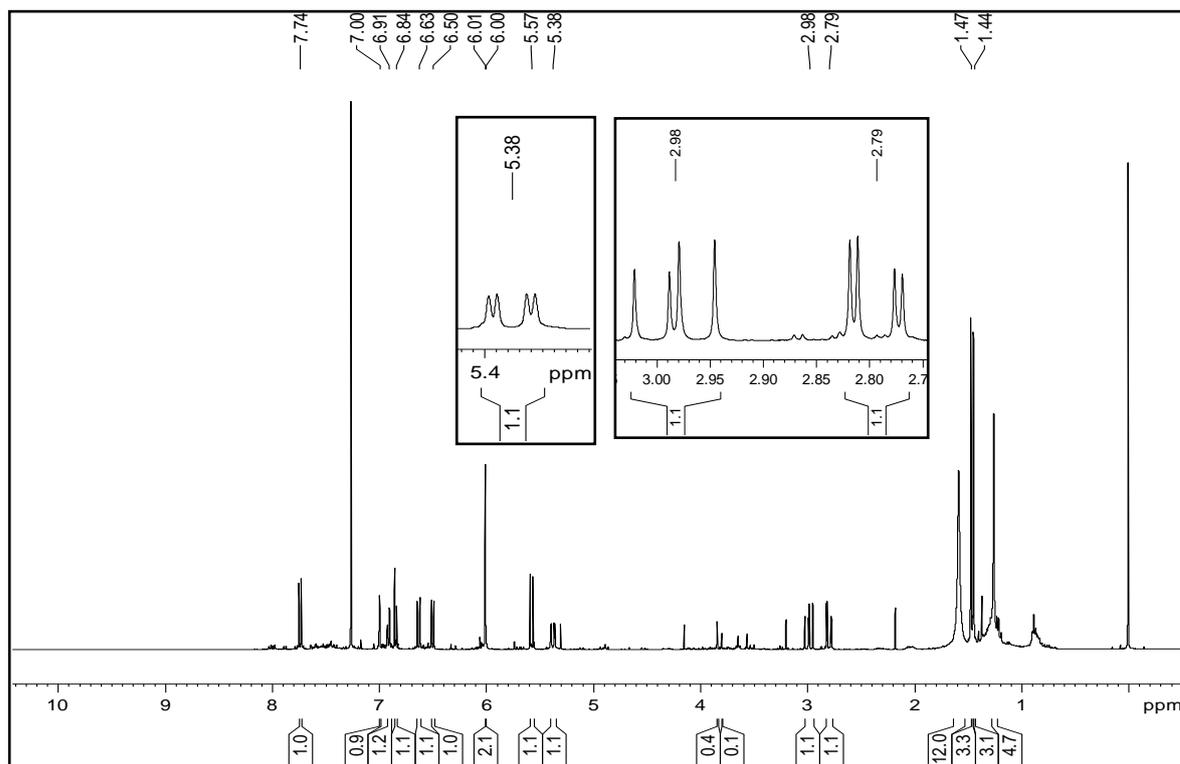
Tabela 14: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG13**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
2	79,5	5,38 (1H; dd; 13,2 e 3,0Hz)	79,5	
3 ax	43,8	2,98 (1H; dd; 16,8 e 13,2Hz)	43,8	79,5 (C-2)
3 eq	43,8	2,79 (1H; dd; 16,8 e 3,0Hz)	43,8	190,8 (C-4)
4	190,8			
5	127,5	7,74 (1H; d; 8,7Hz)	127,5	157,8 (C-9) e 159,3 (C-7)
6	110,8	6,50 (1H; dd; 8,7 e 0,5 Hz)	110,8	119,4 (C-8) e 114,8 (C-10)
7	159,3			
8	109,4			
9	157,8			
10	114,8			
1'	132,9			
2'	106,5	7,00 (1H; d; 1,8 Hz)	106,5	
3'	148,1			
4'	147,8			
5'	108,0	6,84 (1H; d; 8,0 Hz)	108,0	132,9 (C-1') e 148,1 (C-3')
6'	119,5	6,91 (1H; dd; 8,0 e 1,8 Hz)	119,5	106,5 (C-2') e 147,8 (C-4')
2''	77,6			
3''	128,6	5,57 (1H; d; 10,0Hz)	128,6	77,6 (C-2'') e 109,4 (C-8)
4''	115,5	6,63 (1H; dd; 10,0 e 0,5 Hz)	115,5	77,6 (C-2'')
2'''	101,0	6,01 (1H; d; 1,5 Hz)	101,0	148,1 (C-3')
CH ₃	28,1	1,47 (3H, s)	28,1	27,8 (CH ₃), 77,6 (C-2'') e 128,6 (C-3'')
CH ₃	27,8	1,44 (3H, s)	27,8	28,1 (CH ₃), 77,6 (C-2'') e 128,6 (C-3'')

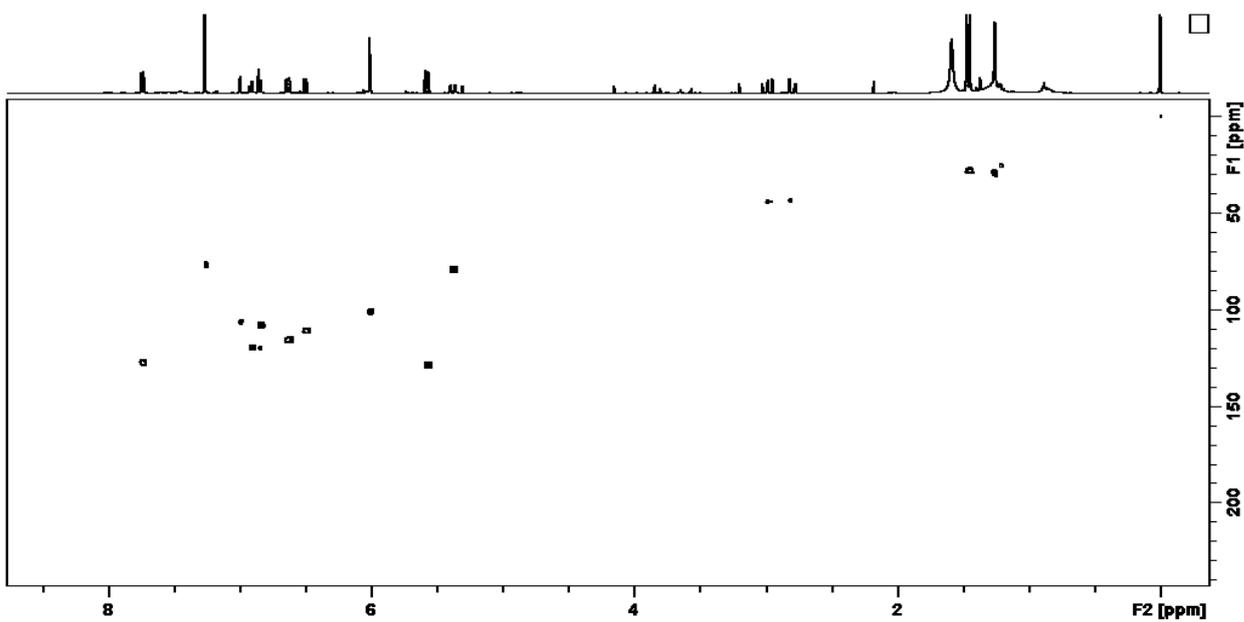


DG13 – Ovalicromeno B

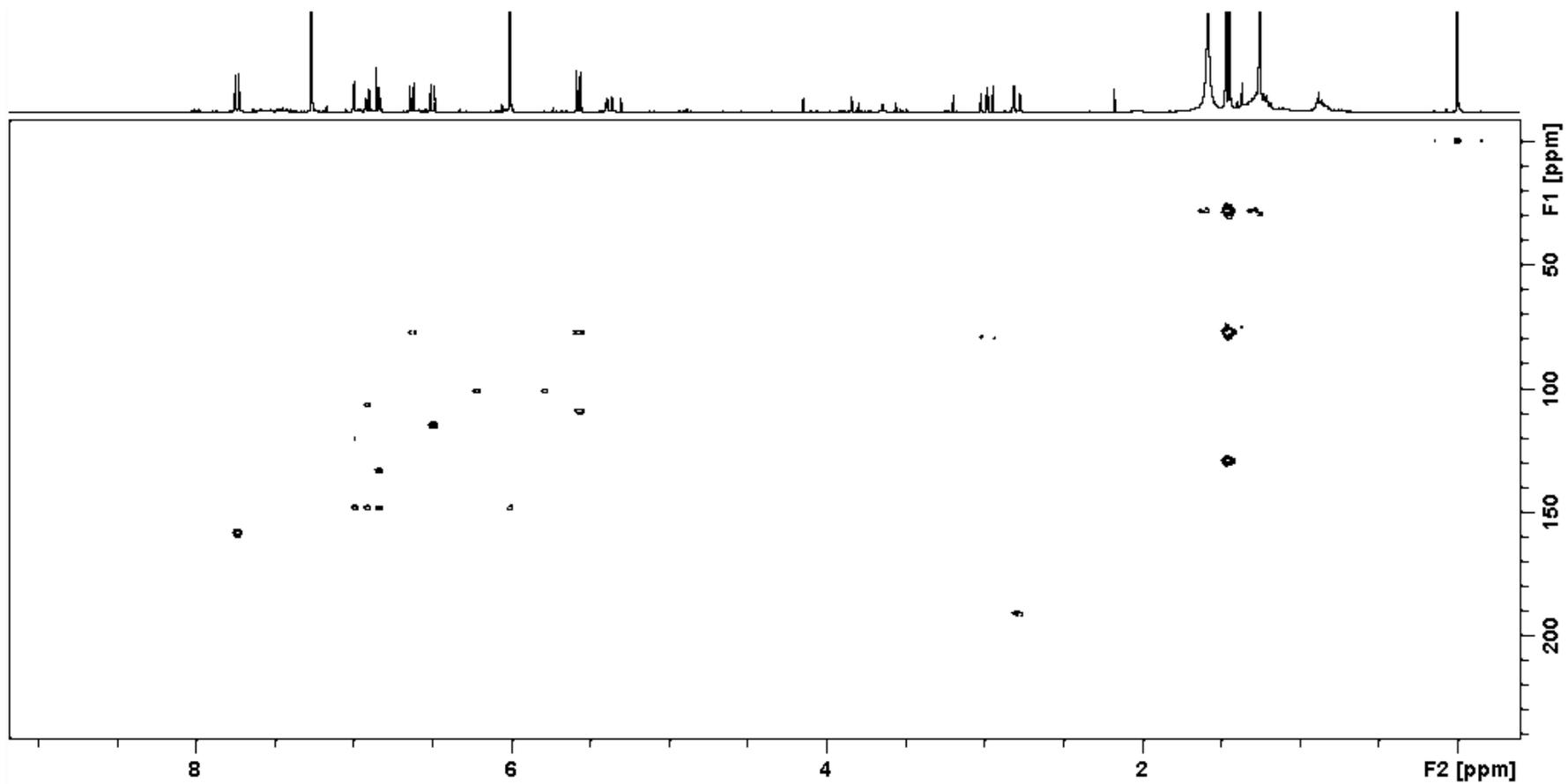
Sólido amorfo esbranquiçado



E 35: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de DG13.



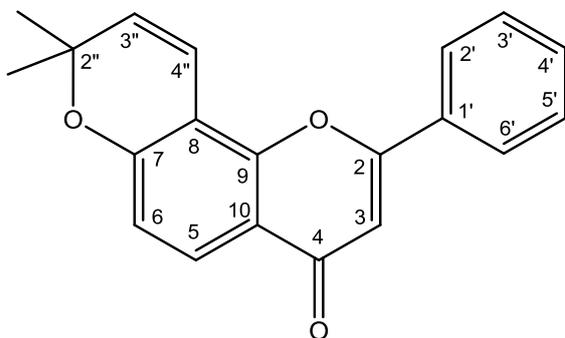
E 36: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de DG13.



E 37: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG13.

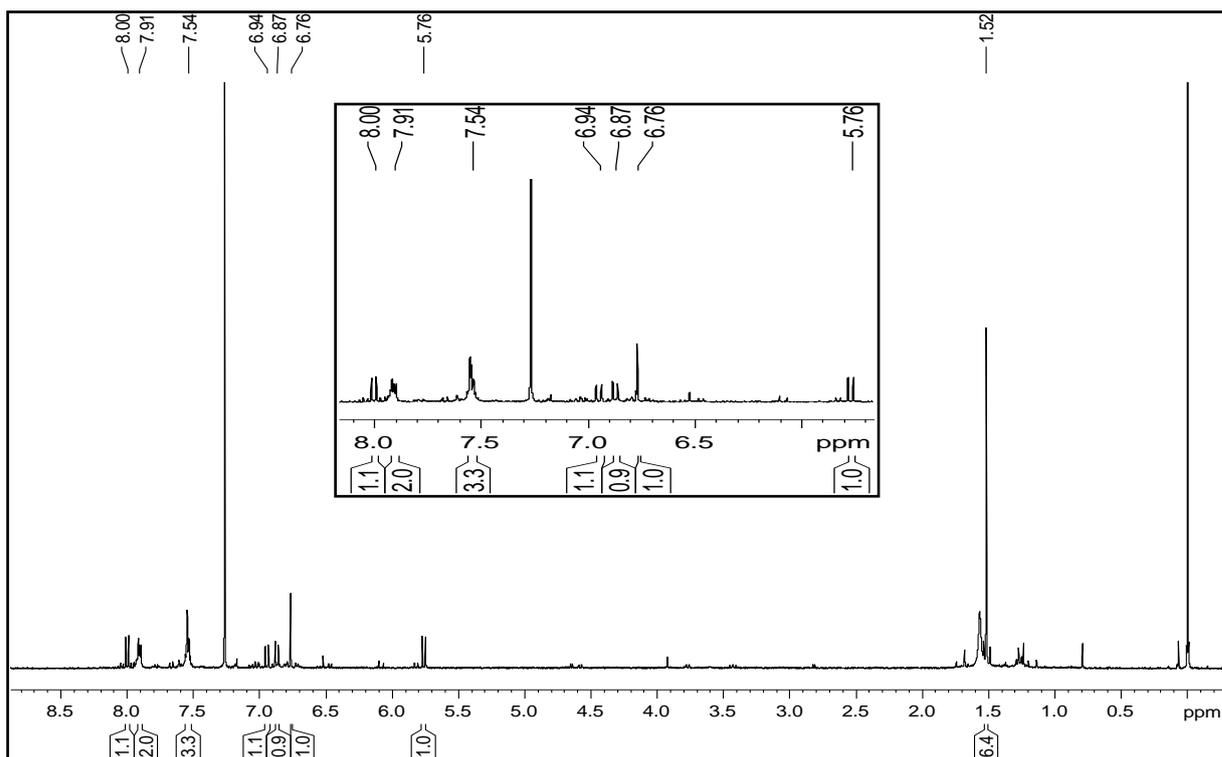
Tabela 15: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG5**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
2	162,5			
3	107,3	6,76 (1H; s)	107,3	117,8 (C-10); 132,0 (C-1'); 162,5 (C-2) e 177,9 (C-4)
4	177,9			
5	126,0	7,99 (1H; d; 8,8 Hz)	126,0	152,3 (C-9); 157,4 (C-7) e 177,9 (C-4)
6	114,9	6,87 (1H; d; 8,8 Hz)	114,9	109,3 (C-8) e 117,9 (C-10)
7	157,4			
8	109,3			
9	152,3			
10	117,9			
1'	132,0			
2'	126,0	7,91 (2H; m)	126,0	131,1 (C-4') e 162,5 (C-2)
3'	128,8	7,54 (3H, m)	128,8	126,0 (C-2' e C-6') e 132,0 (C-1')
4'	131,1		131,1	
5'	128,8		128,8	
6'	126,0	7,91 (2H; m)	126,0	131,1 (C-4') e 162,5 (C-2)
4''	115,0	6,94 (1H; d; 10 Hz)	115,0	77,6 (C-2'') e 157,5 (C-7)
3''	130,2	5,76 (1H; d; 10 Hz)	130,2	28,0 (CH_3); 77,6 (C-2'') e 109,3 (C-8)
2''	77,6			
CH_3	28,0	1,52 (6H, s)	28,0	77,6 (C-2'') e 130,2 (C-3'')

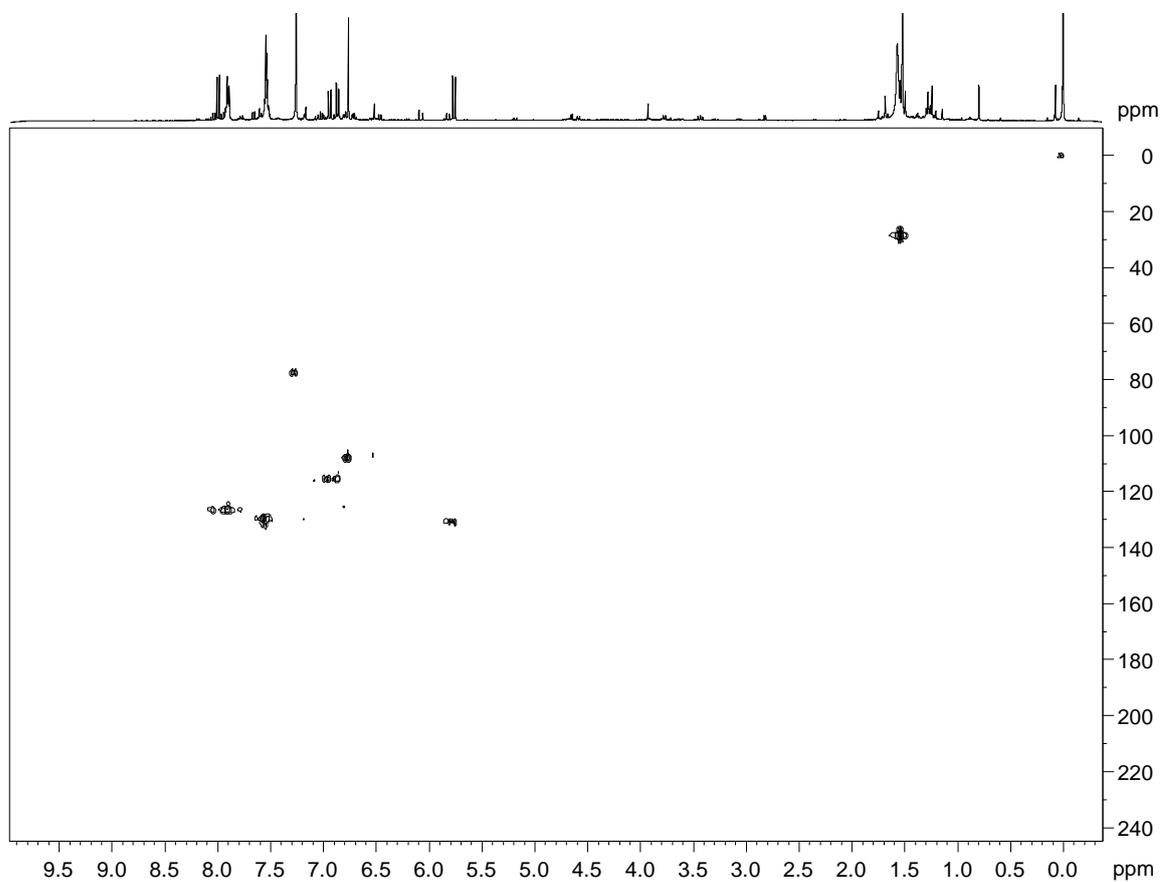


DG5 – 2'',2''-dimetilcromeno-[7,8:
2'',3'']-flavona

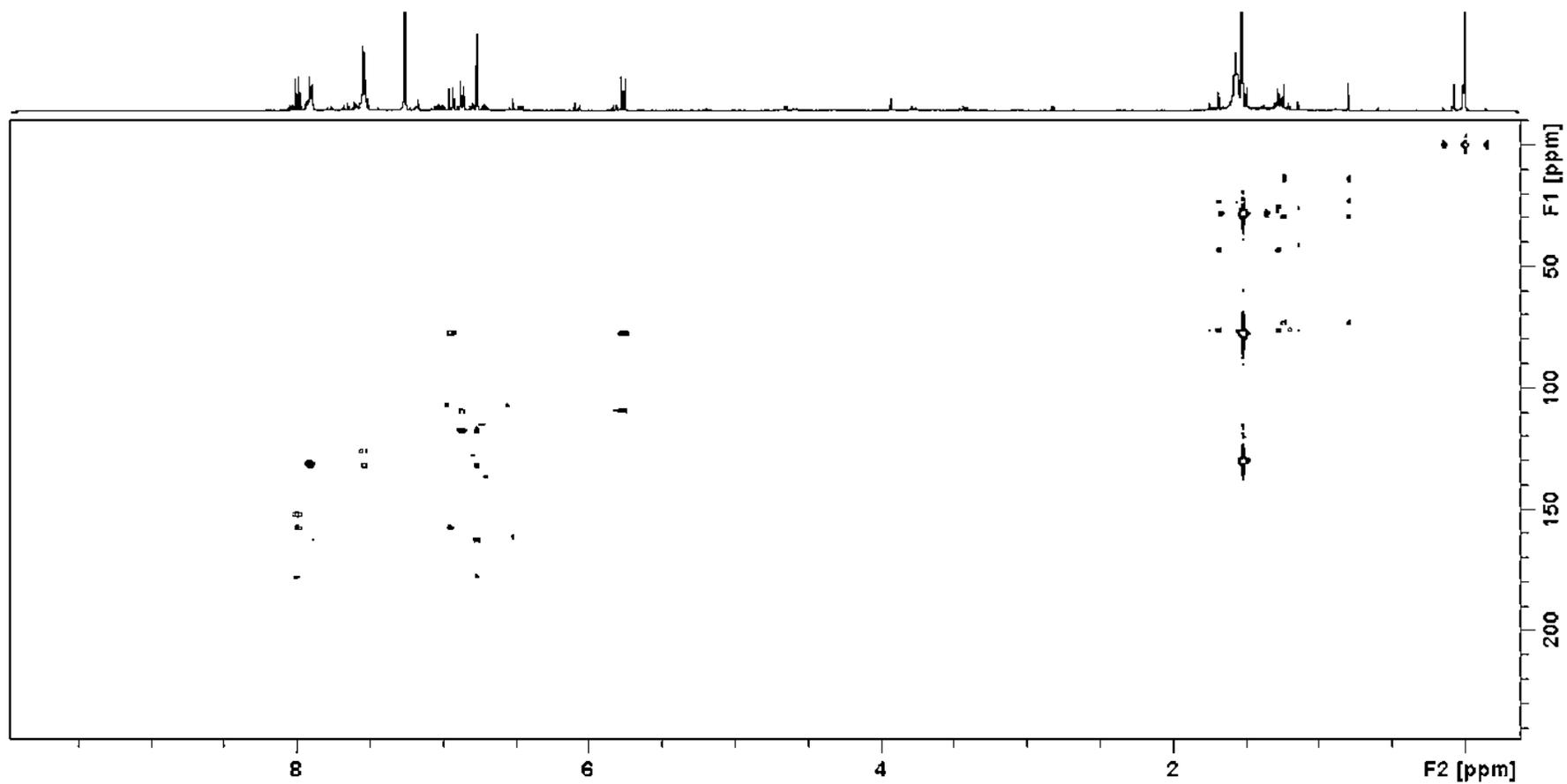
Óleo amarelo



E 38: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG5**.



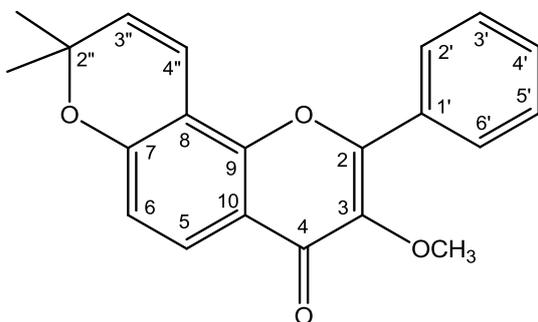
E 39: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG5**.



E 40: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG5.

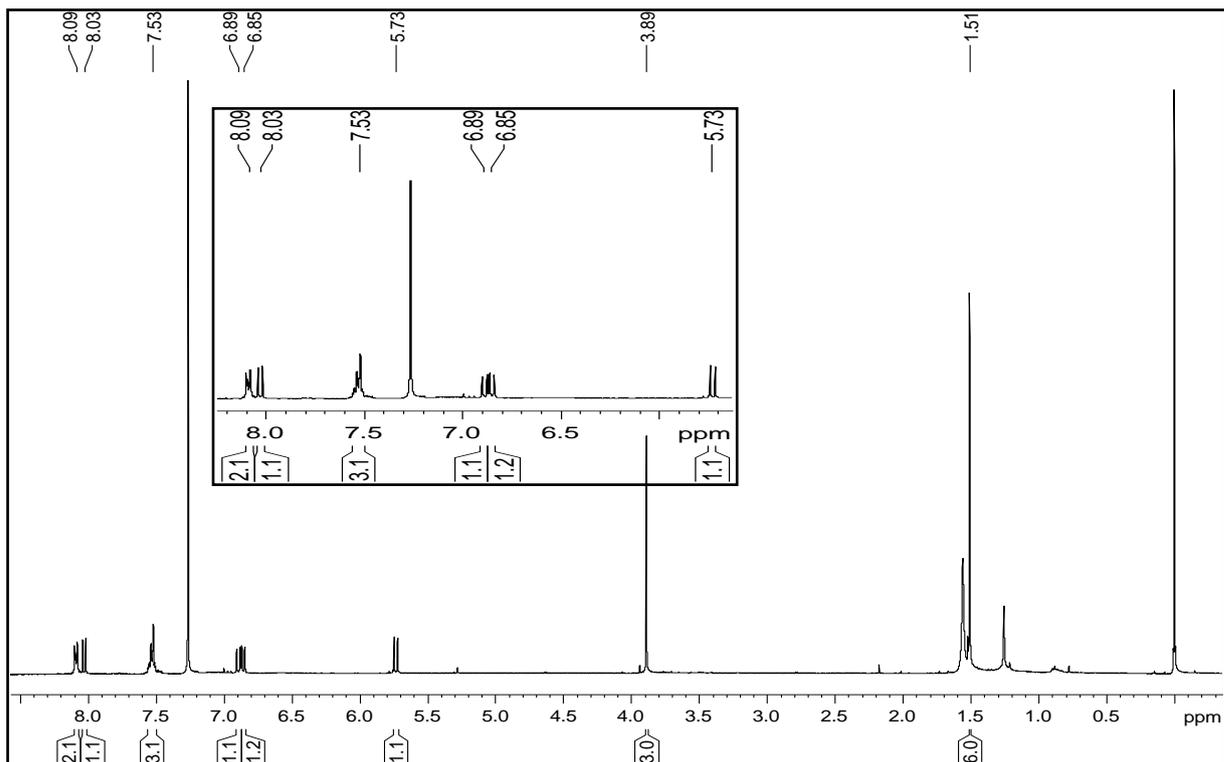
Tabela 16: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG3**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
2				
3	141,3			
4	174,6			
5	126,3	8,03 (1H; d; 8,8 Hz)	126,3	151,5 (C-9); 157,3 (C-7) e 174,6 (C-4)
6	115,1	6,85 (1H; d; 8,8 Hz)	115,1	109,3 (C-8) e 118,0 (C10)
7	157,3			
8	109,3			
9	151,5			
10	118,0			
1'				
2'	128,5	8,08 (2H; m)	128,5	130,5 (C-4')
3'	128,8	7,53 (3H; m)	128,8	
4'	130,5		130,5	
5'	128,8		128,8	
6'	128,5	8,09 (2H; m)	128,5	130,5 (C-4')
2''	77,8			
4''	115,3	6,89 (1H; d; 10 Hz)	115,3	77,8 (C-2'') e 157,5 (C-7)
3''	130,5	5,73 (1H; d; 10 Hz)	130,5	77,8 (C-2'') e 109,3 (C-8)
CH ₃	28,2	1,51 (6H; s)	28,2	77,8 (C-2'') e 130,5 (C-3'')
OCH ₃	60,3	3,89 (3H; s)	60,3	141,3 (C-3)

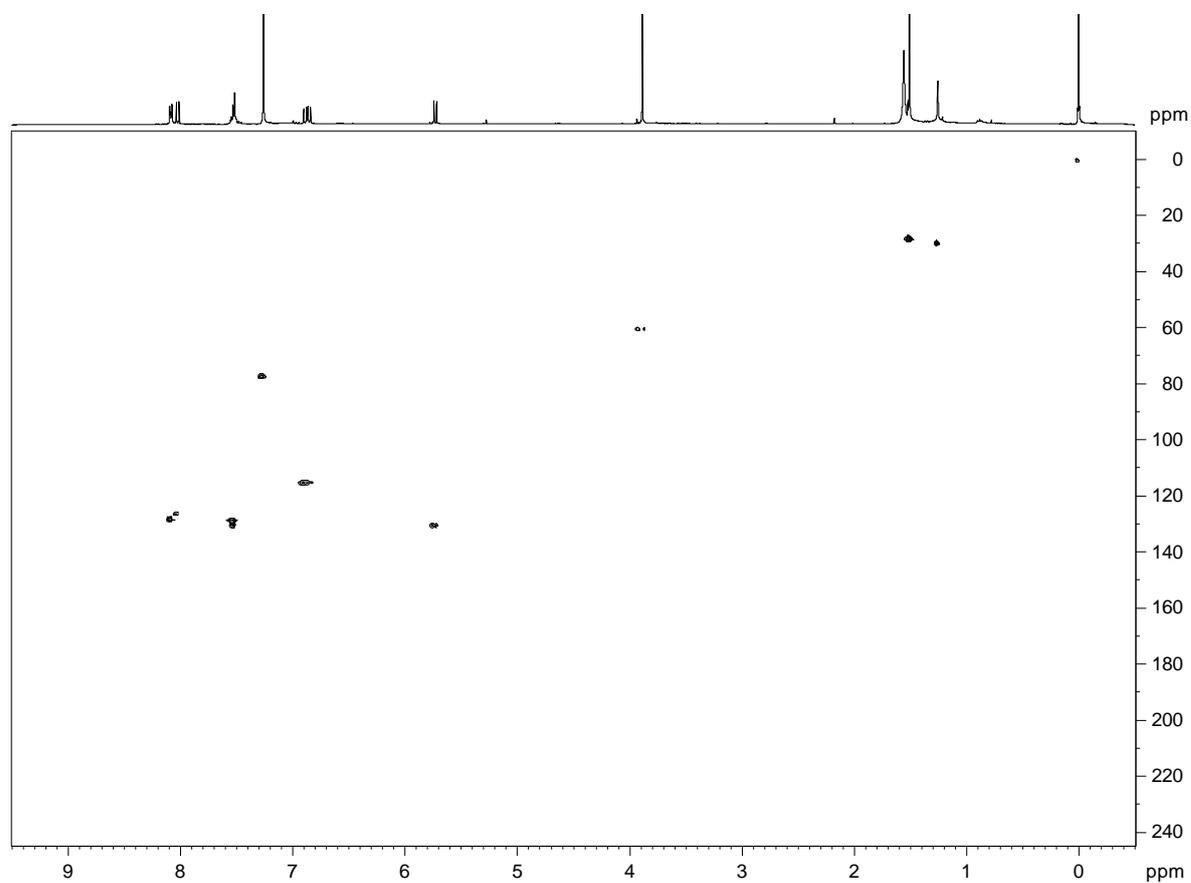


DG3 – Karanjacromeno

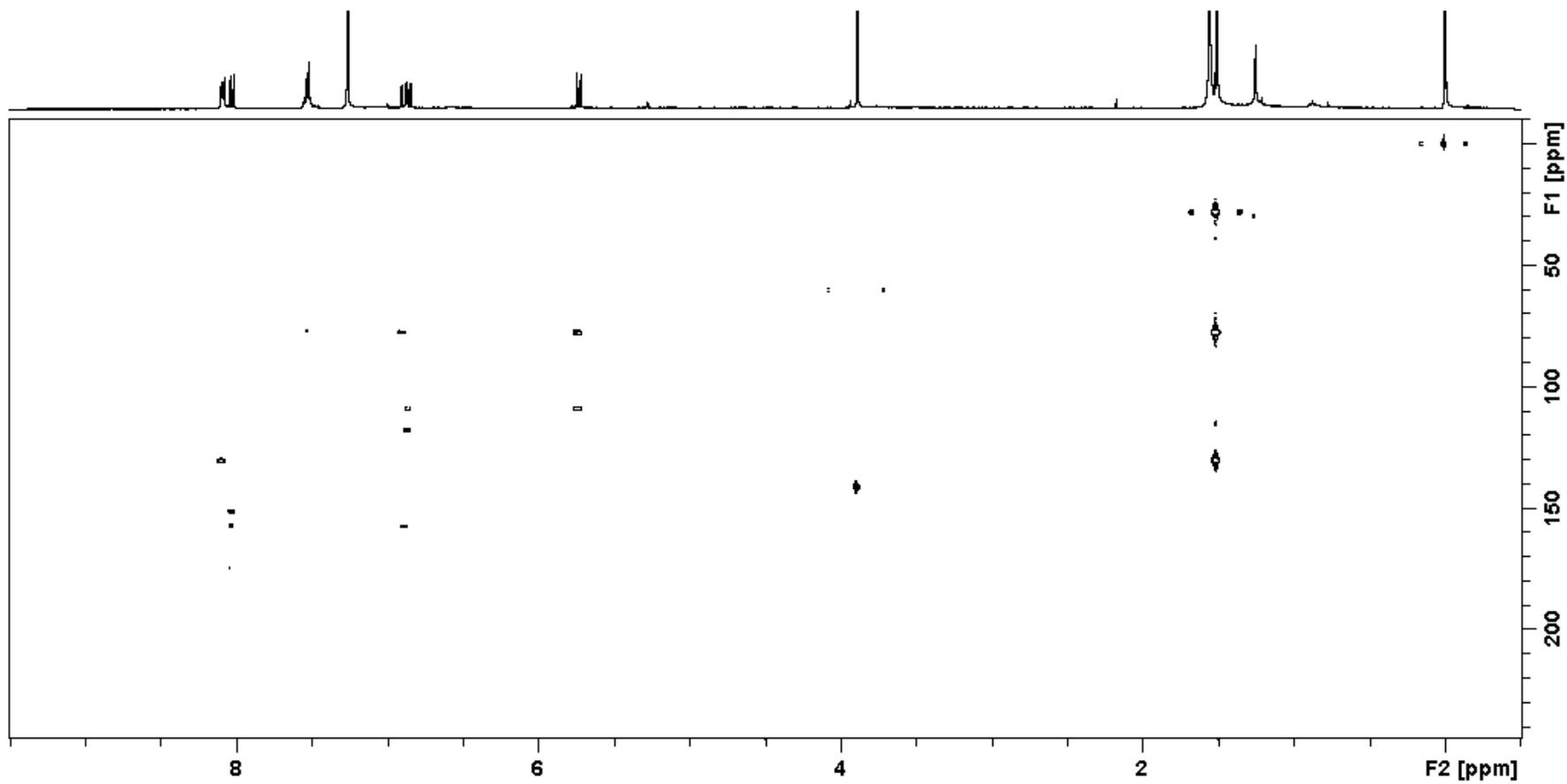
Sólido amorfo amarelado



E 41: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG3**.



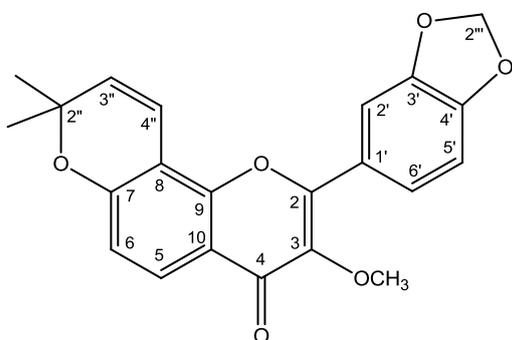
E 42: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG3**.



E 43: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG3**.

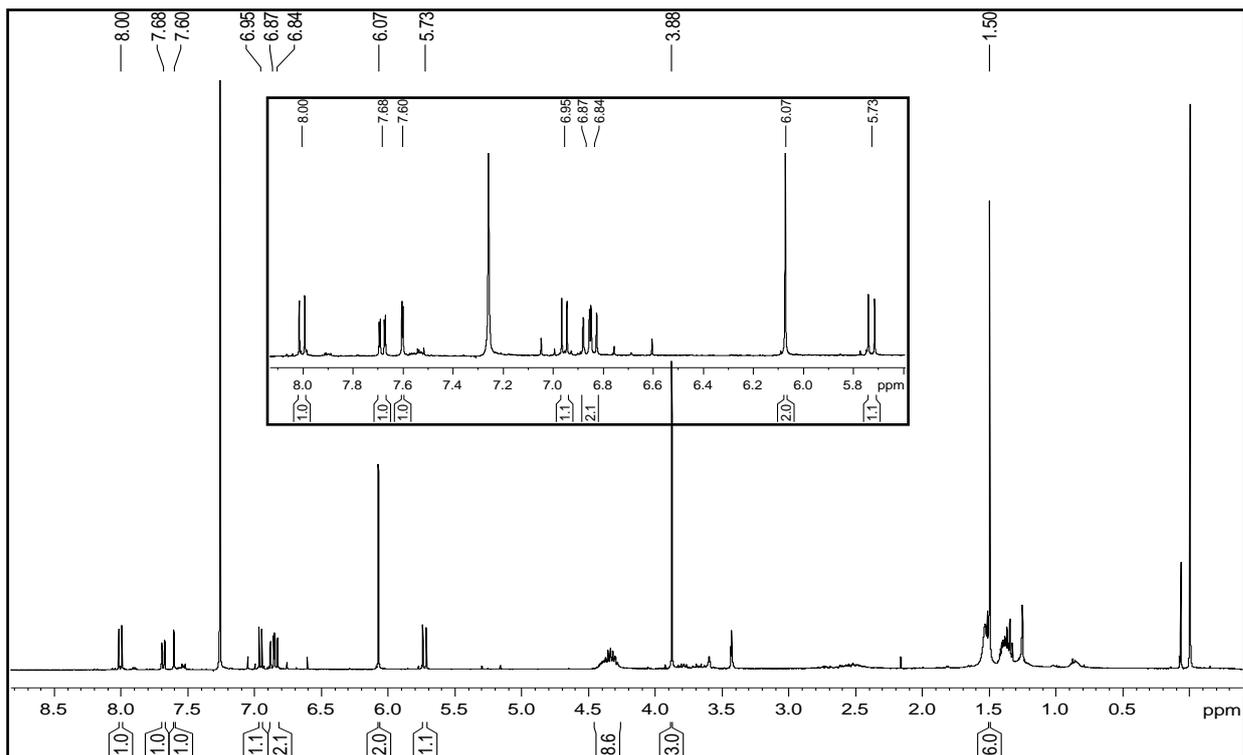
Tabela 17: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG7**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
2				
3	140,7	3,88 (3H; s)	140,7	140,7 (C-3)
4	177,8			
5	126,3	8,00 (1H; d; 8,8 Hz)	126,4	152,5 (C-9) e 177,8 (C-4)
6	155,2	6,84 (1H; dd; 8,8 e 0,7 Hz)	115,4	109,2 (C-8) e 118,1 (C-10)
7	157,4			
8	109,1			
9	151,4			
10	118,1			
1'	125,1			
2'	108,8	7,60 (1H; d; 1,8 Hz)	108,8	125,1 (C-1') e 149,5 (C-3')
3'	147,9			
4'	149,5			
5'	108,7	6,95 (1H; d; 8,3 Hz)	108,7	125,1 (C-1') e 147,9(C-3')
6'	123,7	7,68 (1H; dd; 8,3 e 1,8 Hz)	123,7	108,8 (C-2'); 149,5 (C-4')
2''	77,7			
4''	115,3	6,87 (1H; dd; 10 e 0,7 Hz)	115,3	157,3 (C-7)
3''	130,5	5,73 (1H; d; 10 Hz)	130,5	77,7 (C-2'') e 109,2 (C-8)
CH ₃	28,2	1,50 (6H; s)	28,2	77,7 (C-2'') e 130,5 (C-3'')
2'''	101,9	6,07 (2H;s)	101,9	147,9 (C-3') e 149,5 (C-4')

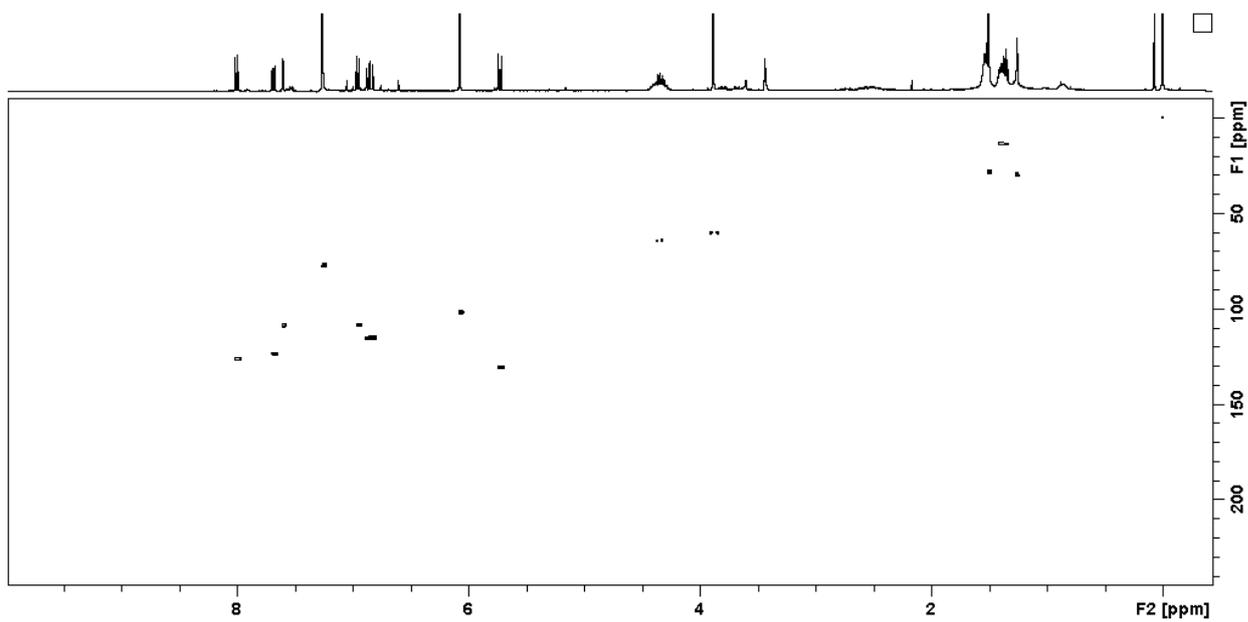


DG7 – Pongacromeno

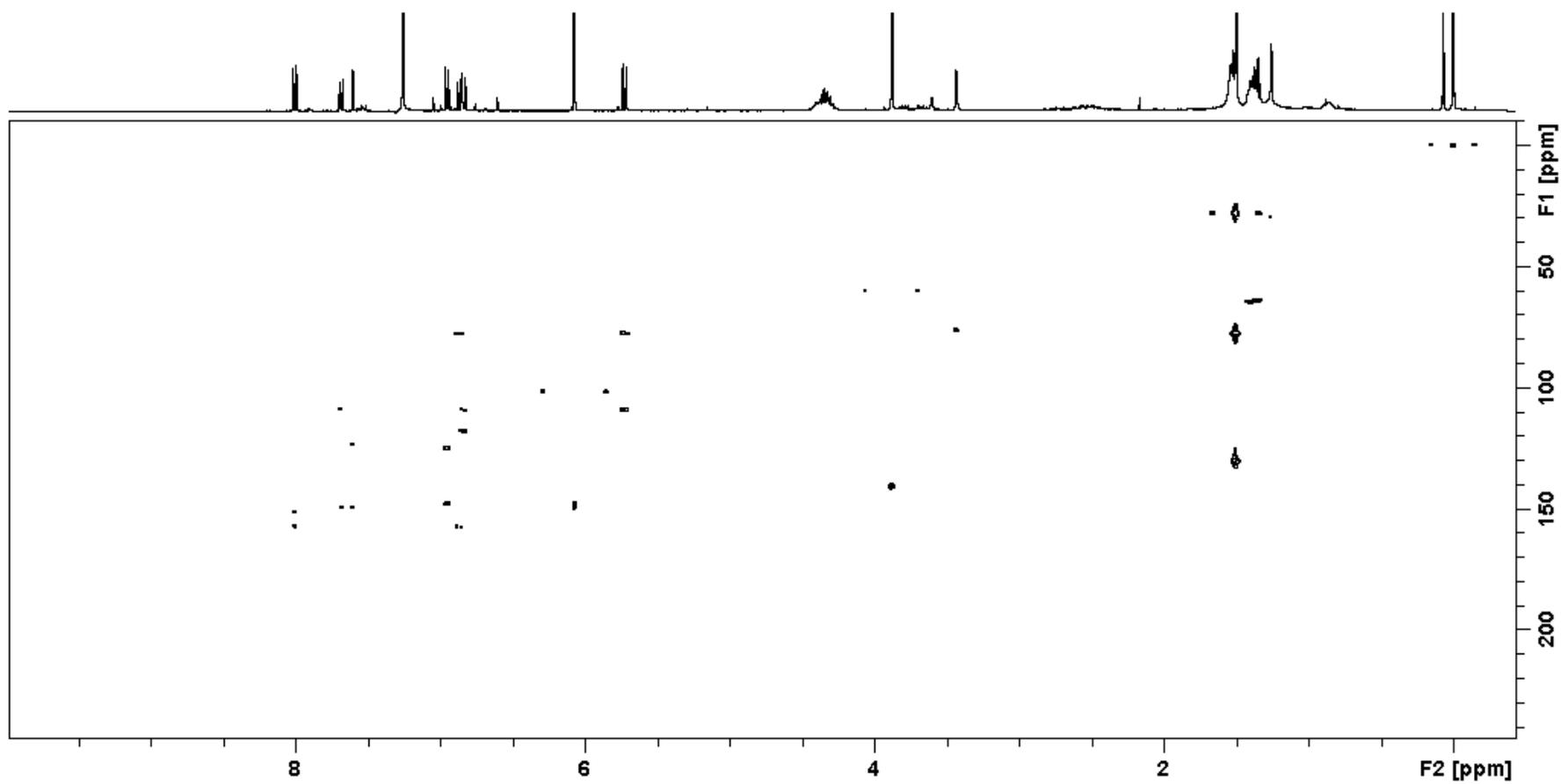
Cristais seda amarelo-esverdeado



E 44: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG7**.



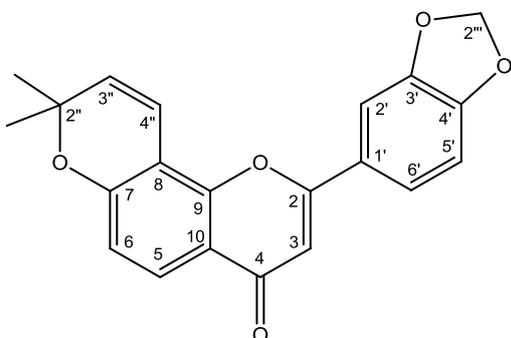
E 45: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG7**.



E 46: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG7.

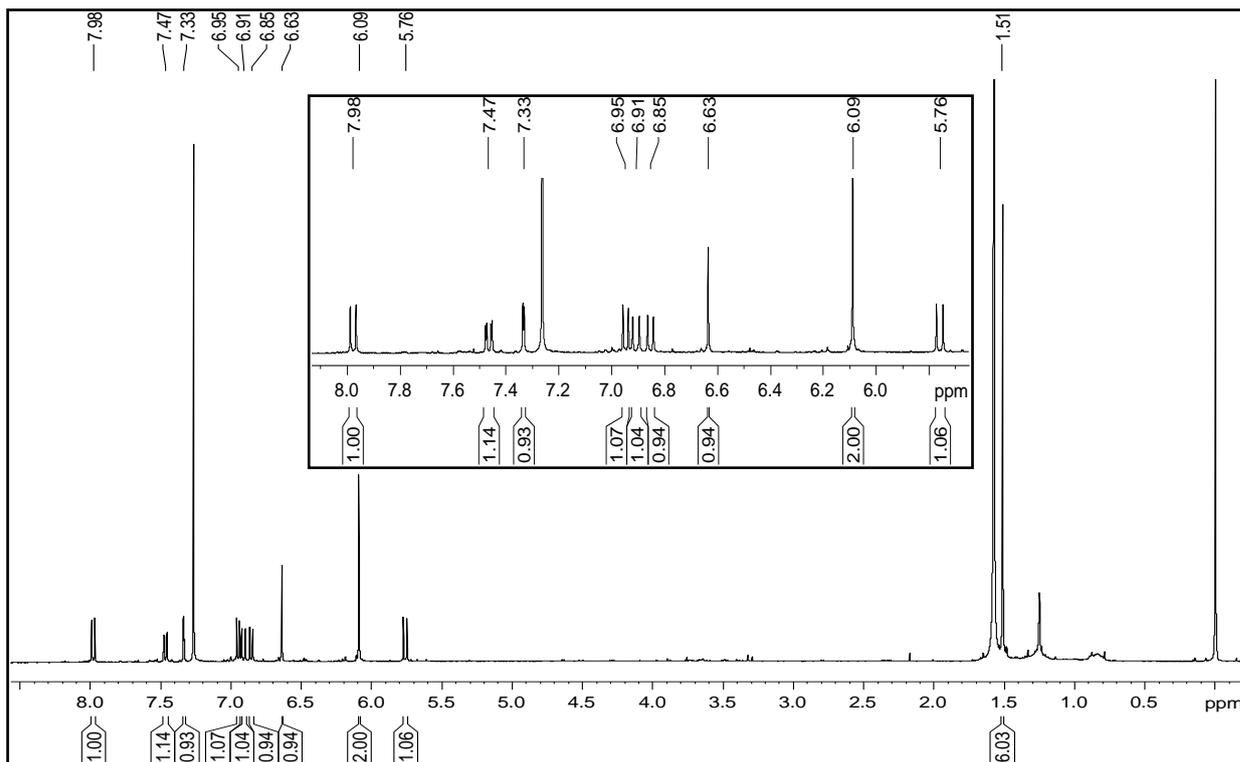
Tabela 18: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG8**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
2	161,5			
3	106,8	6,63 (1H; s)	106,8	117,3 (C-10); 126,5 (C-1'); 161,5 (C-2) e 177,8 (C-4)
4	177,8			
5	126,4	7,98 (1H; d; 8,8 Hz)	126,4	152,5 (C-9) e 177,8 (C-4)
6	115,4	6,85 (1H; d; 8,8 Hz)	115,4	109,2 (C-8) e 117,3 (C-10)
7	158,5			
8	109,2			
9	152,5			
10	117,3			
1'	125,7			
2'	106,5	7,33 (1H; d; 1,8 Hz)	106,5	150,0 (C-4') e 161,5 (C-2)
3'	148,0			
4'	150,0			
5'	109,3	6,95 (1H; d; 8,3 Hz)	109,3	125,7 (C-1') e 148,0 (C-3')
6'	121,6	7,47 (1H; dd; 8,3 e 1,8 Hz)	121,6	106,5 (C-2'); 150,0 (C-4') e 161,5 (C-2)
2''	77,8			
3''	130,7	5,76 (1H; d; 10 Hz)	130,7	77,8 (C-2'') e 109,2 (C-8)
4''	115,6	6,91 (1H; d; 10 Hz)	115,6	77,8 (C-2'') e 158,5 (C-7)
CH3				
CH3	28,3	1,51 (6H; s)	28,3	77,8 (C-2'') e 130,7 (C-3'')
2'''	102,2	6,09 (2H; s)	102,2	148,0 (C-3')

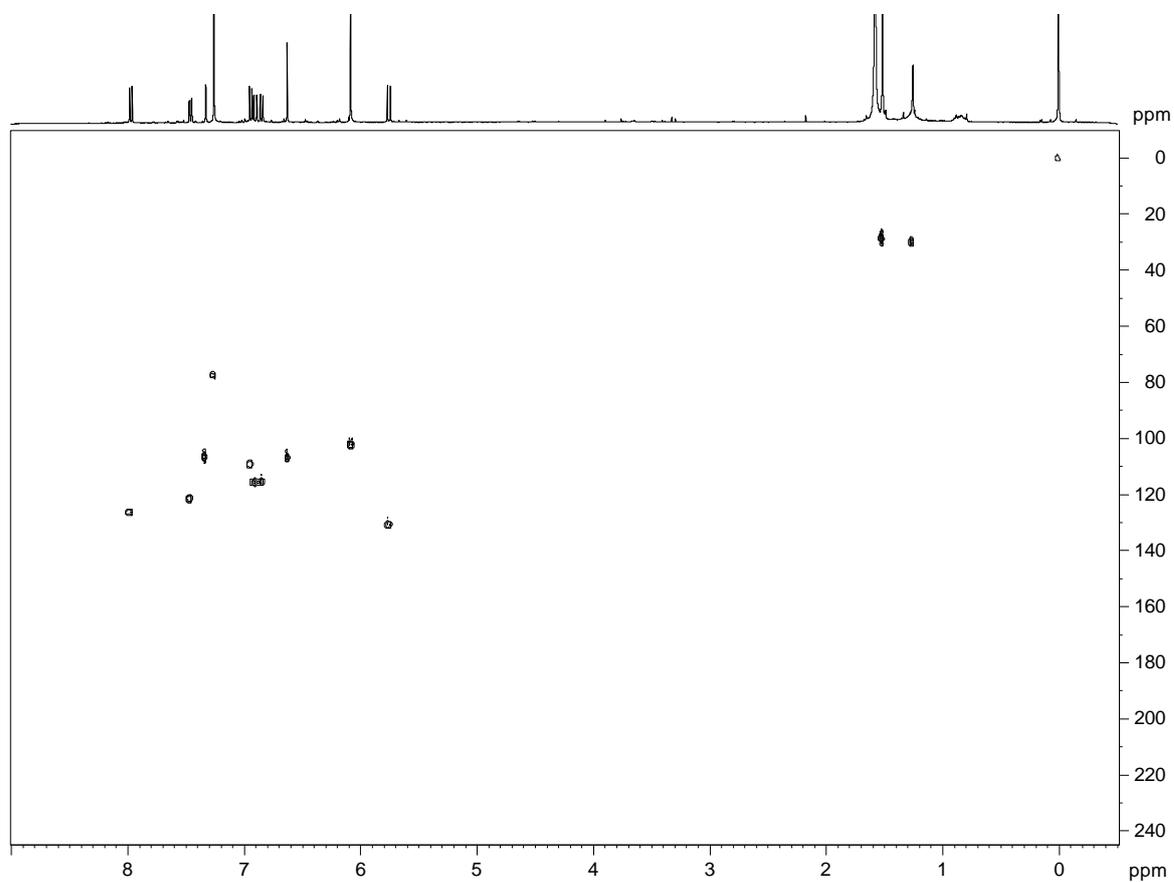


DG8 – 3',4'-metilenodioxo-2'',2''-
dimetilcromeno-[7,8:6'',5'']-flavona

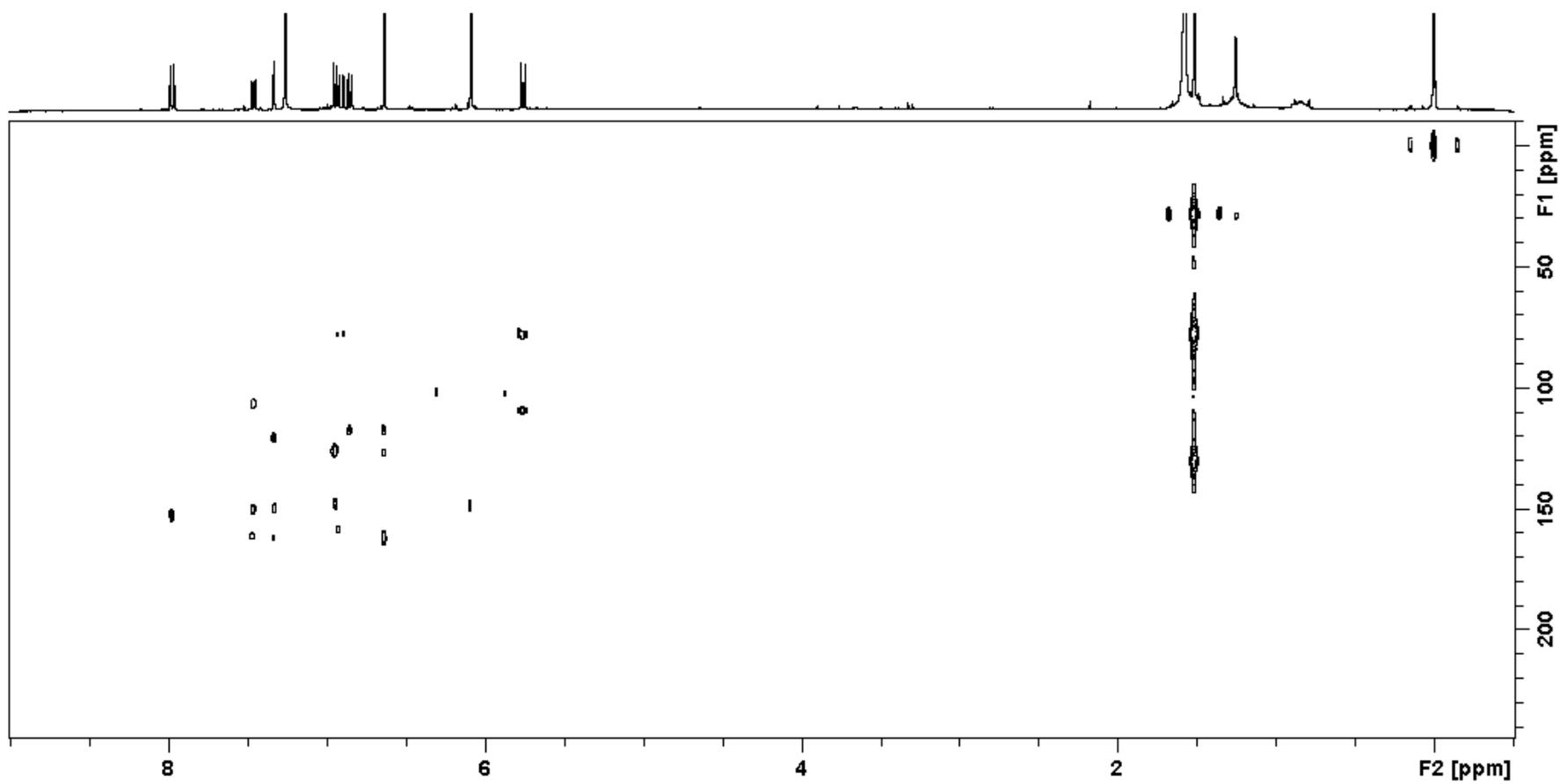
Sólido branco amorfo



E 47: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG8**.



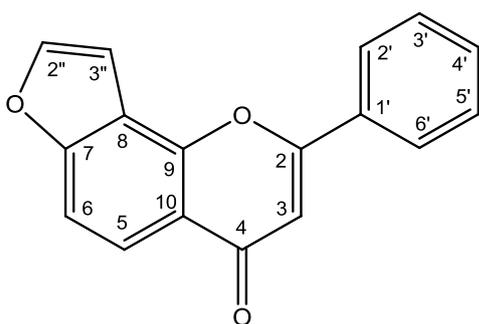
E 48: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG8**.



E 49: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG8.

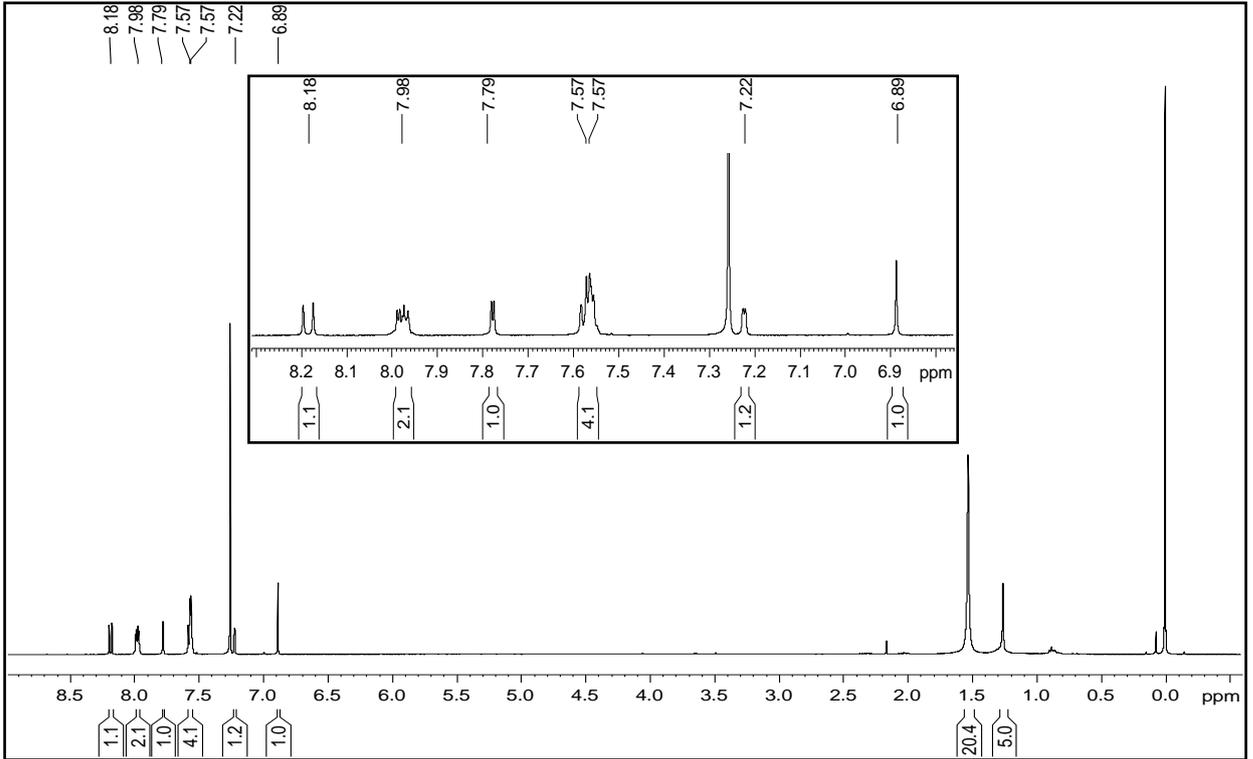
Tabela 19: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG4**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
2	162,2			
3	108,6	6,89 (1H; s)	108,6	119,3 (C-10); 132,0 (C-1'); 162,6 (C-2) e 178,2 (C-4)
4	178,2			
5	122,2	8,18 (1H; d; 8,8 Hz)	122,2	151,0 (C-9); 158,5 (C-7) e 178,2 (C-4)
6	110,6	7,57 (1H; dd; 8,8 e 0,8 Hz)	110,6	117,3 (C-8); 119,3 (C-10)
7	158,5			
8	117,3			
9	151,0			
10	119,3			
1'	132,0			
2'	126,6	7,98 (2H; m)	126,6	131,6 (C-4')
3'	129,6	7,57 (3H; m)	129,6	126,6 (C-2' e C-6'); 129,5 (C-3' e C-5') e 132,0 (C-1')
4'	131,8		131,8	
5'	129,6		129,6	
6'	126,6	7,98 (2H; m)	126,6	131,6 (C-4')
2''	146,0	7,79 (1H; d; 2,2 Hz)	146,0	117,3 (C-8) e 158,5 (C-7)
3''	104,5	7,22 (1H; dd; 2,2 e 0,8 Hz)	104,5	117,3 (C-8); 146,0 (C-2'') e 158,5 (C-7)

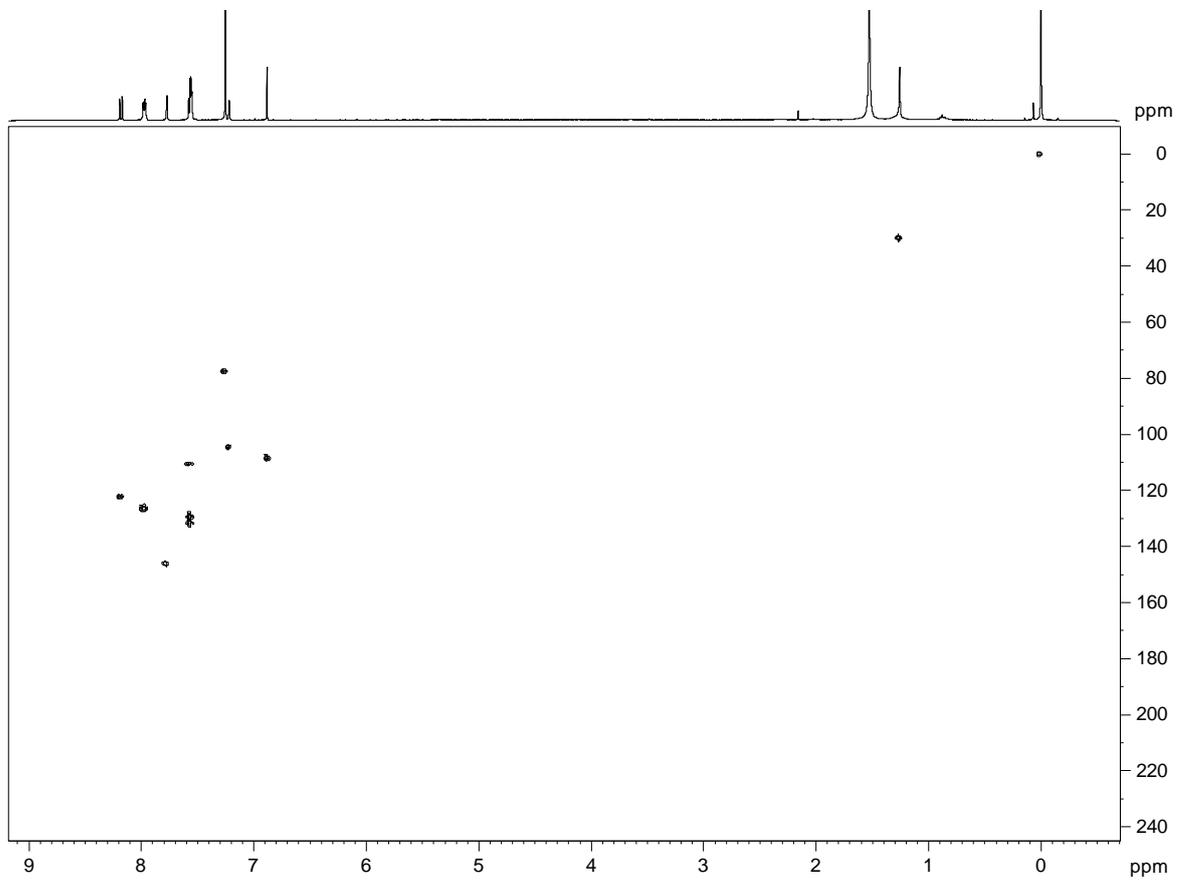


DG4 – Lanceolatina B

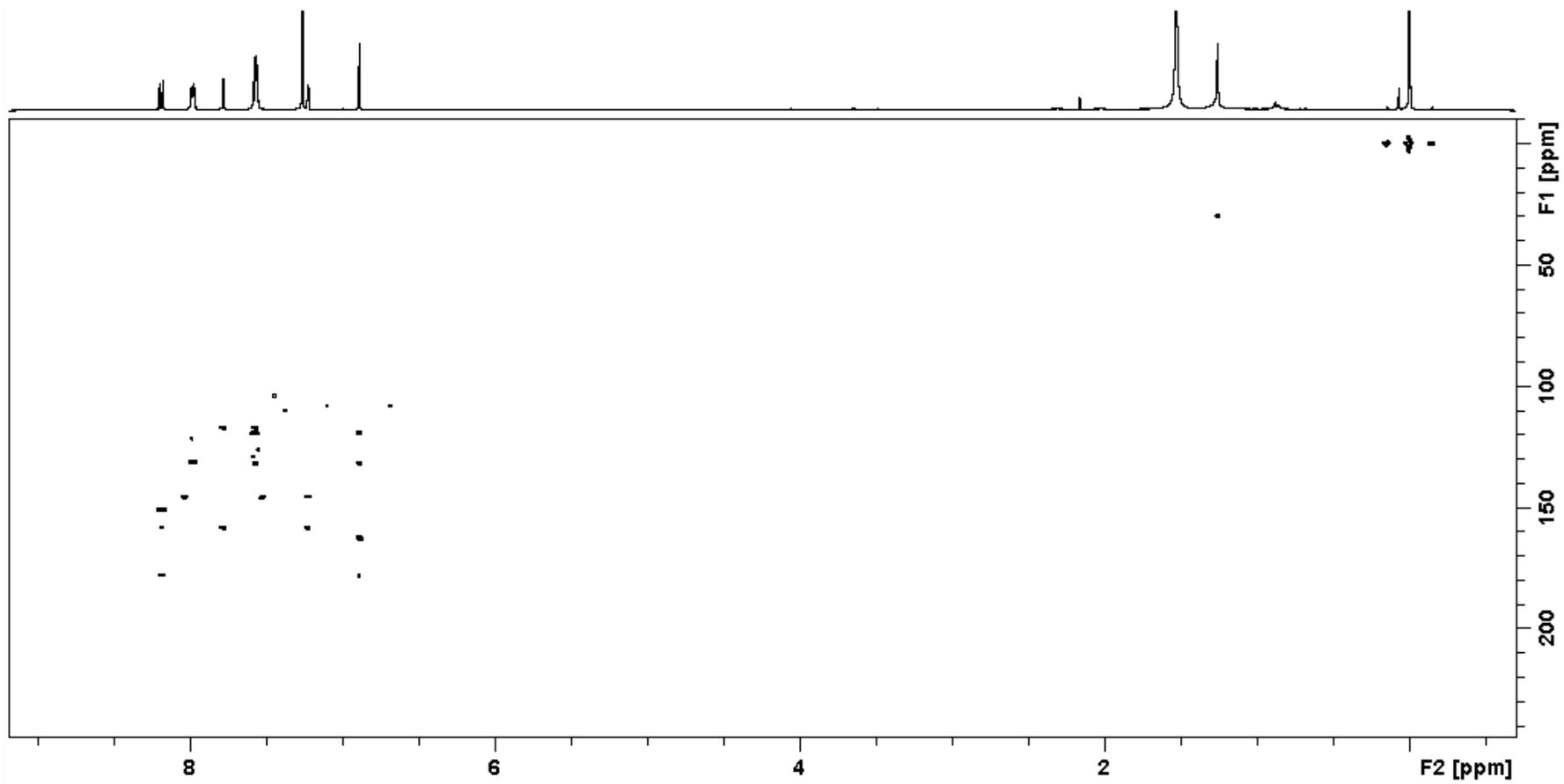
Cristais agulha transparente



E 50: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG4**.



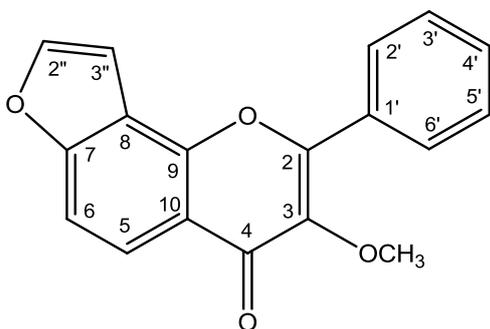
E 51: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG4**.



E 52: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG4.

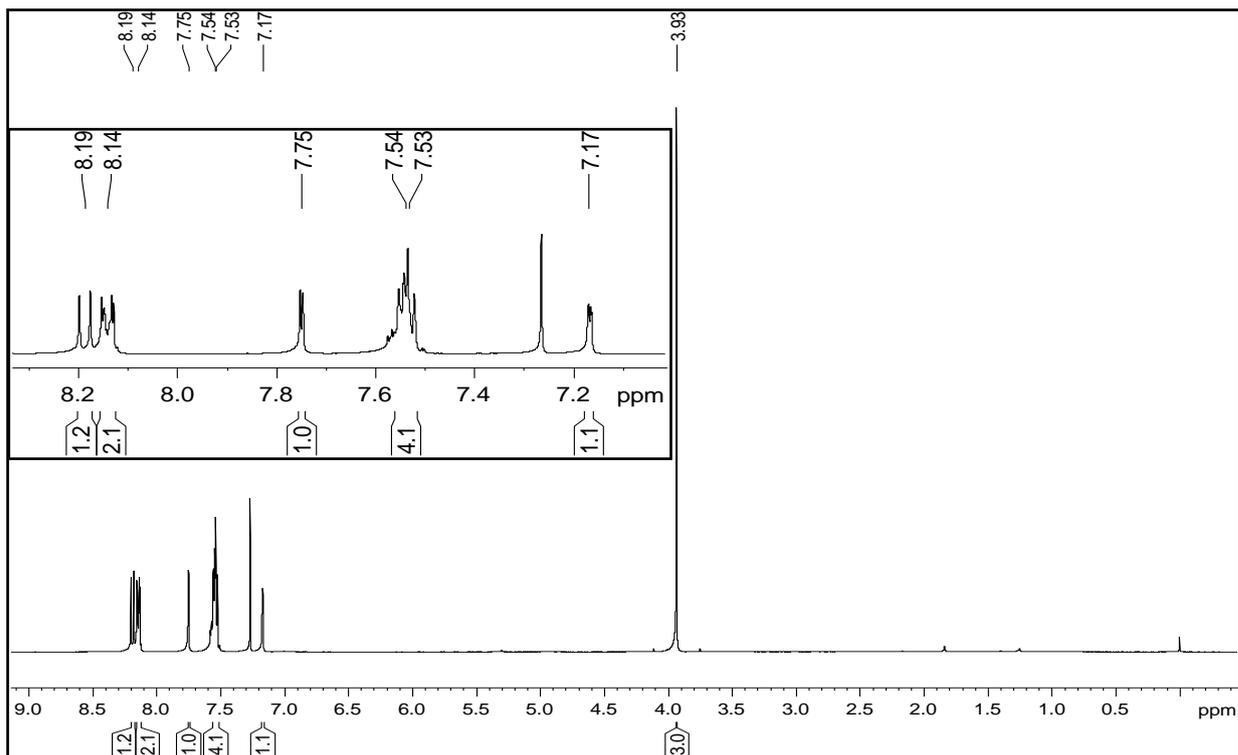
Tabela 20: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG1**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
2	154,8			
3	141,8			
4	175,0			
5	121,9	8,19 (1H; d; 8,8 Hz)	121,9	149,9 (C-9); 158,1 (C-7) e 175,0 (C-4)
6	110,0	7,54 (1H; dd; 8,8 e 0,9 Hz)	110,0	117,0 (C-8); 119,7 (C-10); 149,9 (C-9) e 158,1 (C-7)
7	158,1			
8	117,0			
9	149,9			
10	119,7			
1'	131,0			
2'	128,4	8,14 (2H; m)	128,4	130,6 (C-4') e 154,8 (C-2)
3'	128,6	7,53 (3H; m)	128,6	131,0 (C-1')
4'	130,6		130,6	
5'	128,6		128,6	
6'	128,4	8,14 (2H; m)		
2''	145,8	7,75 (1H; d; 2,2 Hz)	145,8	117,0 (C-8) e 158,1 (C-7)
3''	104,3	7,17 (1H; dd; 2,2 e 0,9 Hz)	104,3	117,0 (C-8); 145,8 (C-2'') e 158,1 (C-7)
OCH ₃	60,2	3,93 (3H; s)	60,2	141,0 (C-3)

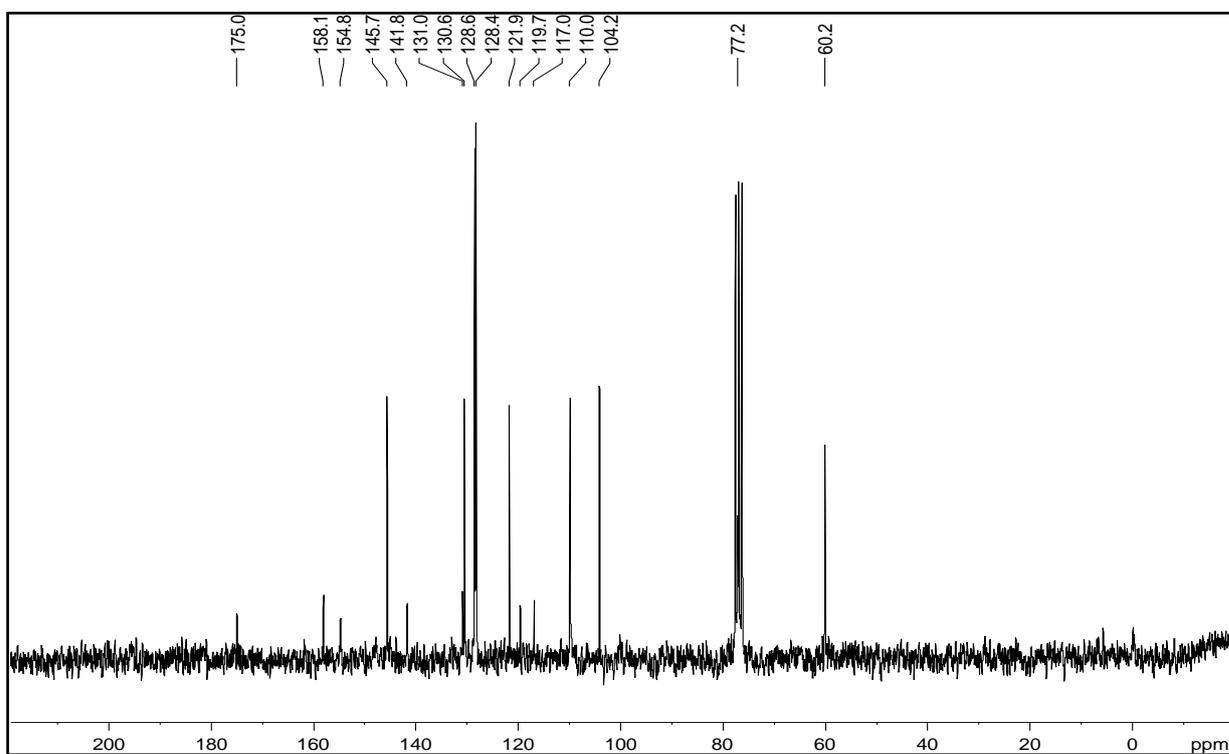


DG1 – Karanjina

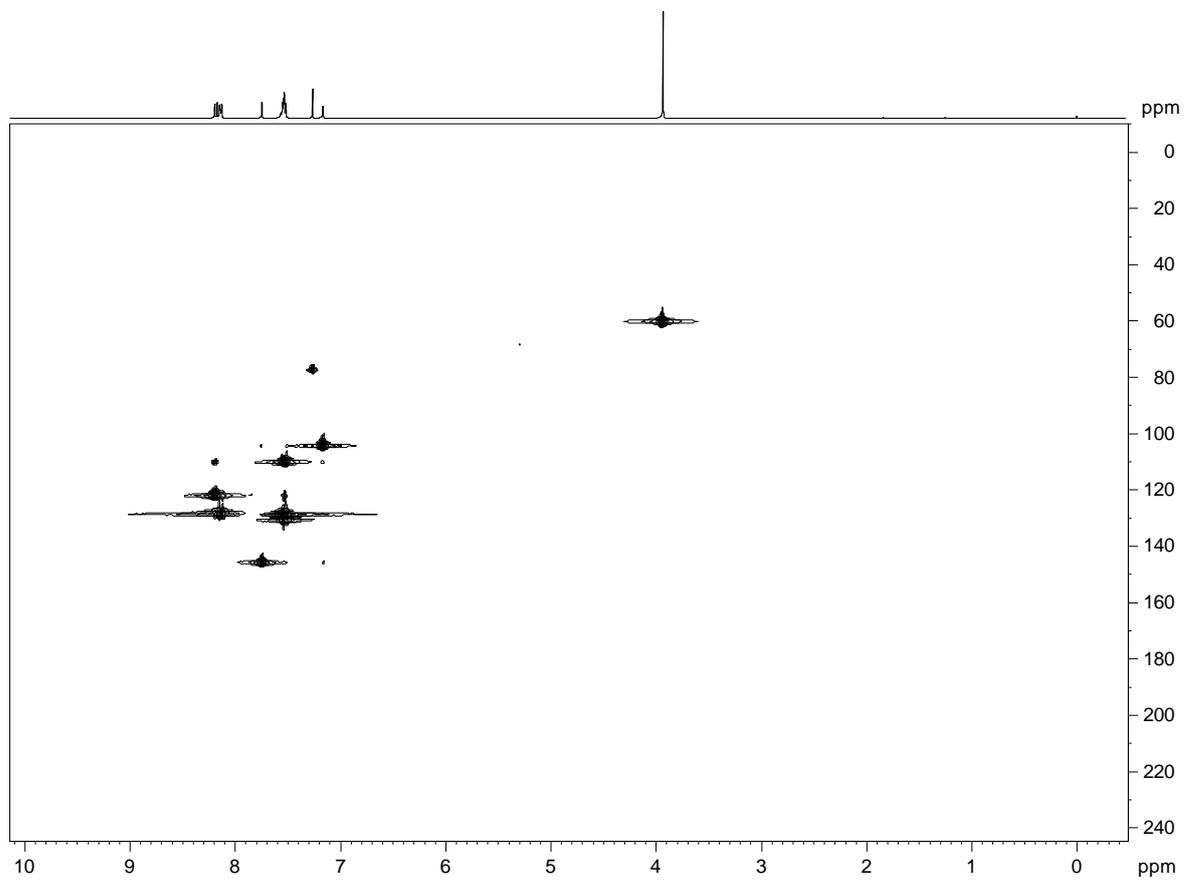
Cristal agulha esbranquiçado



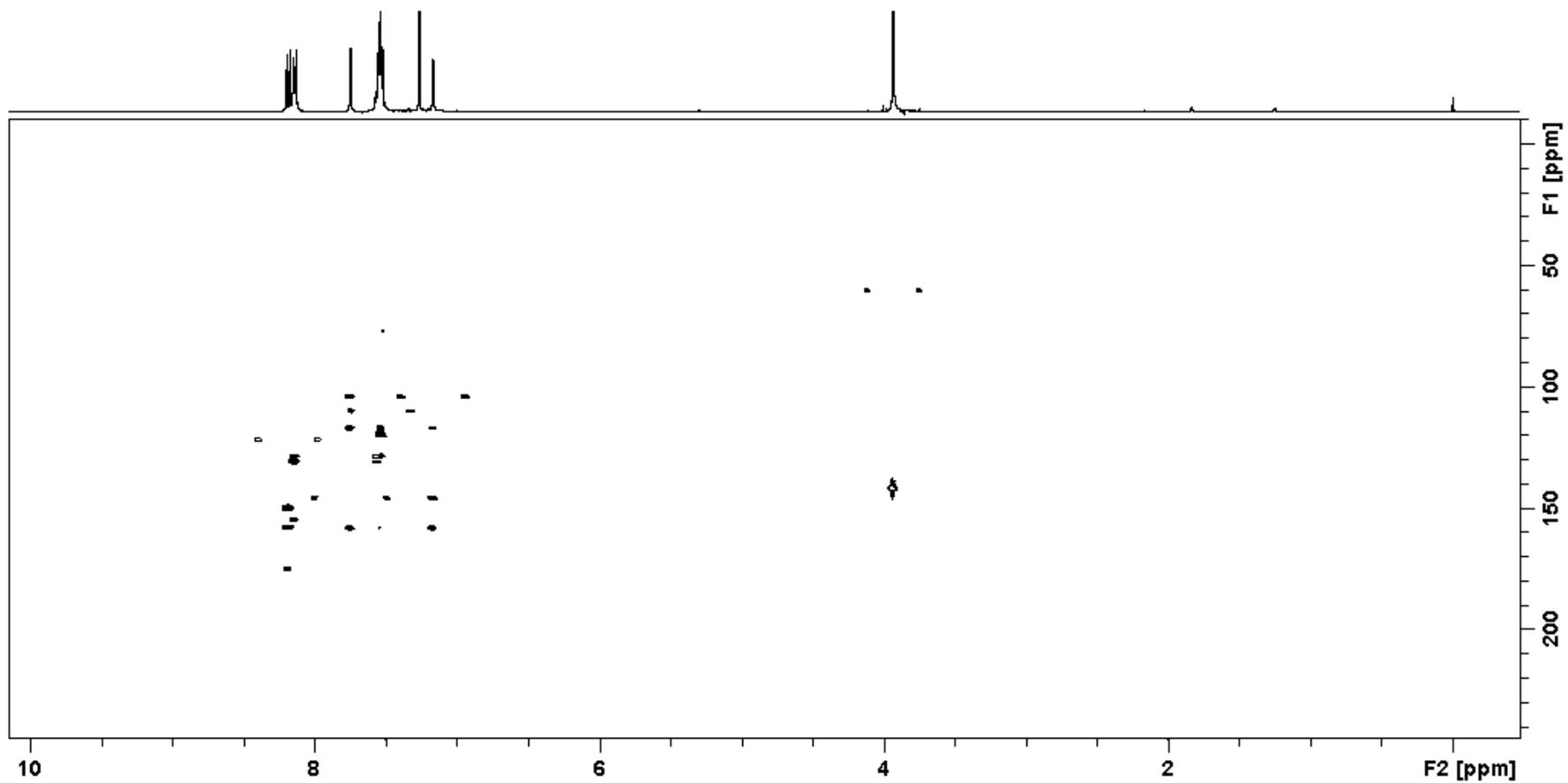
E 53: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG1**.



E 54: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz) em CDCl_3 de **DG1**.



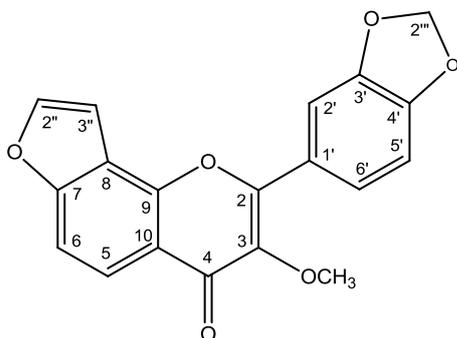
E 55: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG1**.



E 56: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG1.

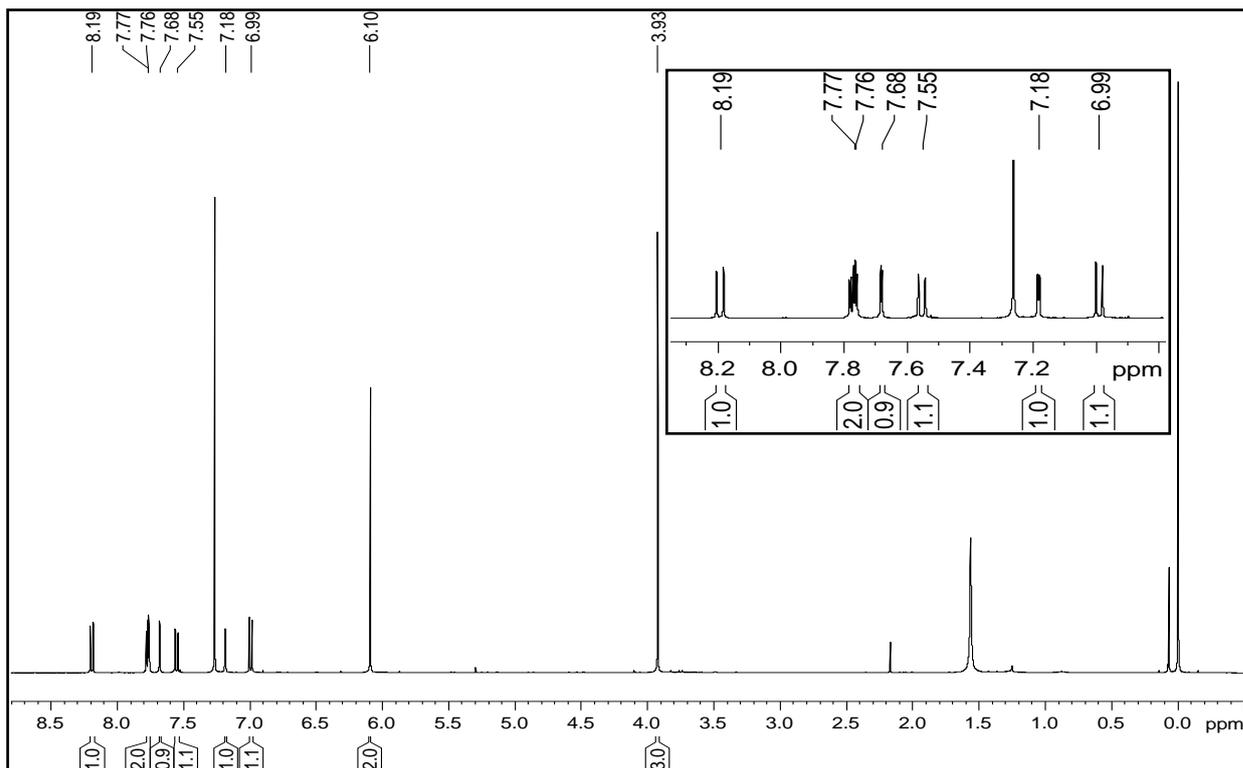
Tabela 21: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG2**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-C}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-C}}$
2	148,2			
3	141,2			
4	175,0			
5	122,0	8,19 (1H; d; 8,8 Hz)	122,0	149,7 (C-9) e 175,0 (C-4)
6	110,0	7,55 (1H; dd; 8,8 e 0,9 Hz)	110,0	116,9 (C-8) e 119,6 (C-10)
7	158,2			
8	116,9			
9	149,7			
10	119,6			
1'	124,7			
2'	108,7	7,68 (1H; d; 1,8 Hz)	108,7	149,5 (C-4') e 123,5 (C-6')
3'	148,0			
4'	149,5			
5'		6,99 (1H; d; 8,3 Hz)	108,5	124,7/ 148,0
6'		7,77 (1H; dd; 8,3 e 1,8 Hz)	123,5	108,7 (C-2') e 149,5 (C-4')
2''	145,7	7,76 (1H; d; 2,2 Hz)	145,7	116,9 (C-8) e 158,2 (C-7)
3''	104,2	7,18 (1H; dd; 2,2 e 0,9 Hz)	104,2	145,7 (C-2'') e 158,2 (C-7)
2'''	101,8	6,10 (2H; s)	101,8	148,0 (C-3') e 149,5 (C-4')
OCH ₃	60,2	3,92 (3H; s)	60,2	141,2 (C-3)

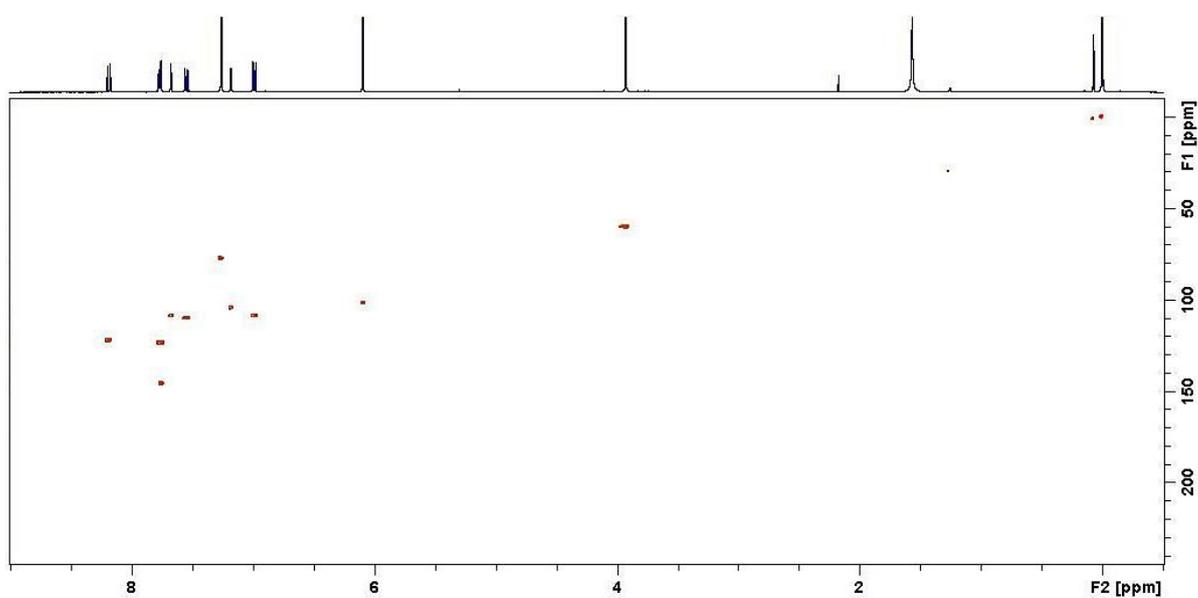


DG2 – Ponganpina

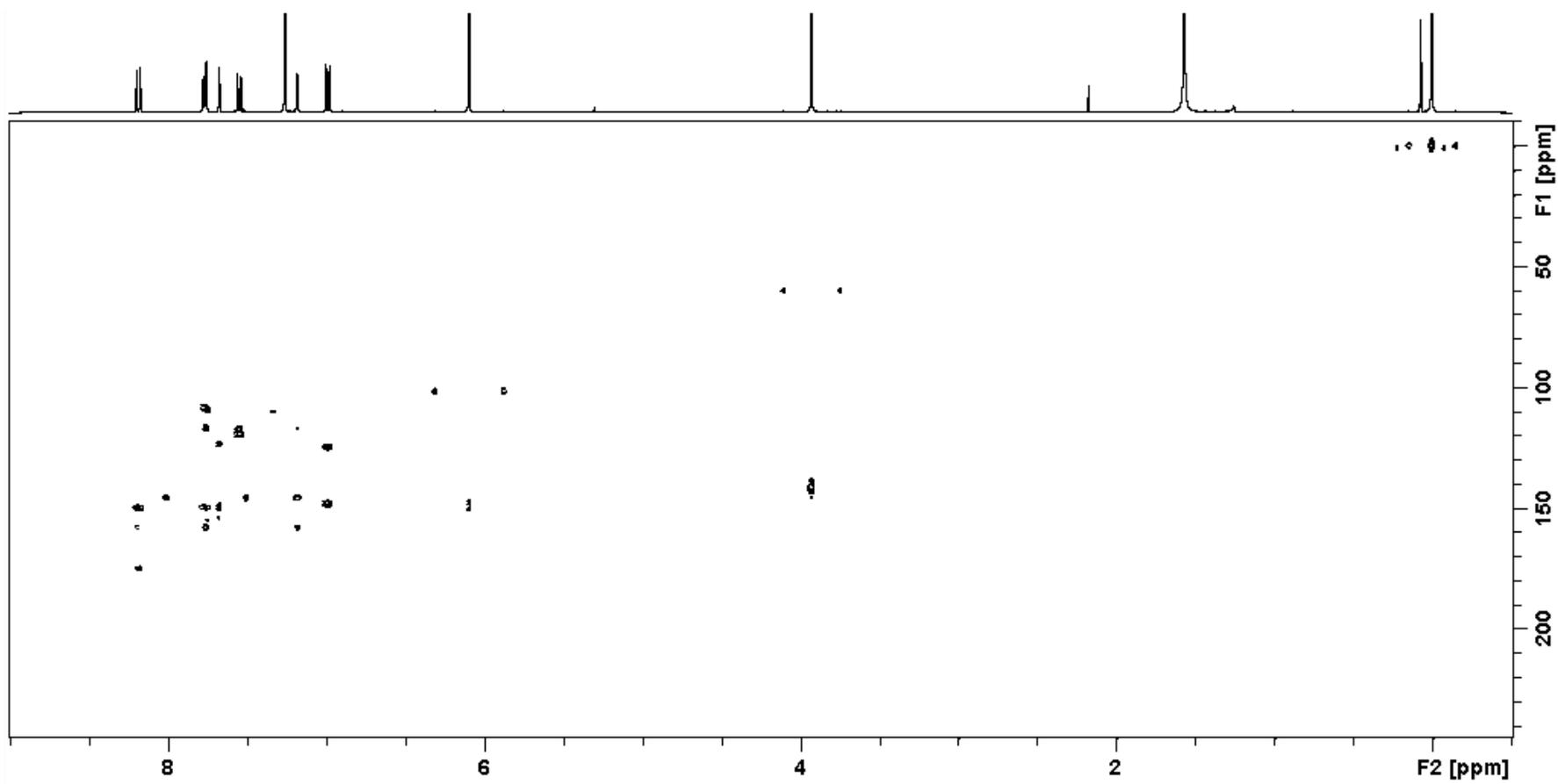
Sólido amorfo branco



E 57: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG2**.



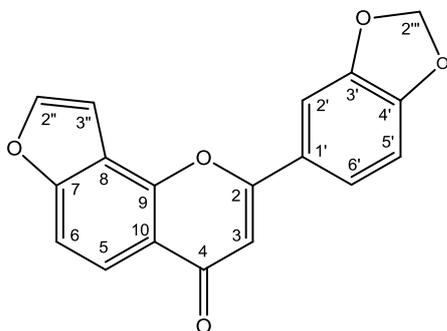
E 58: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG2**.



E 59: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG2**.

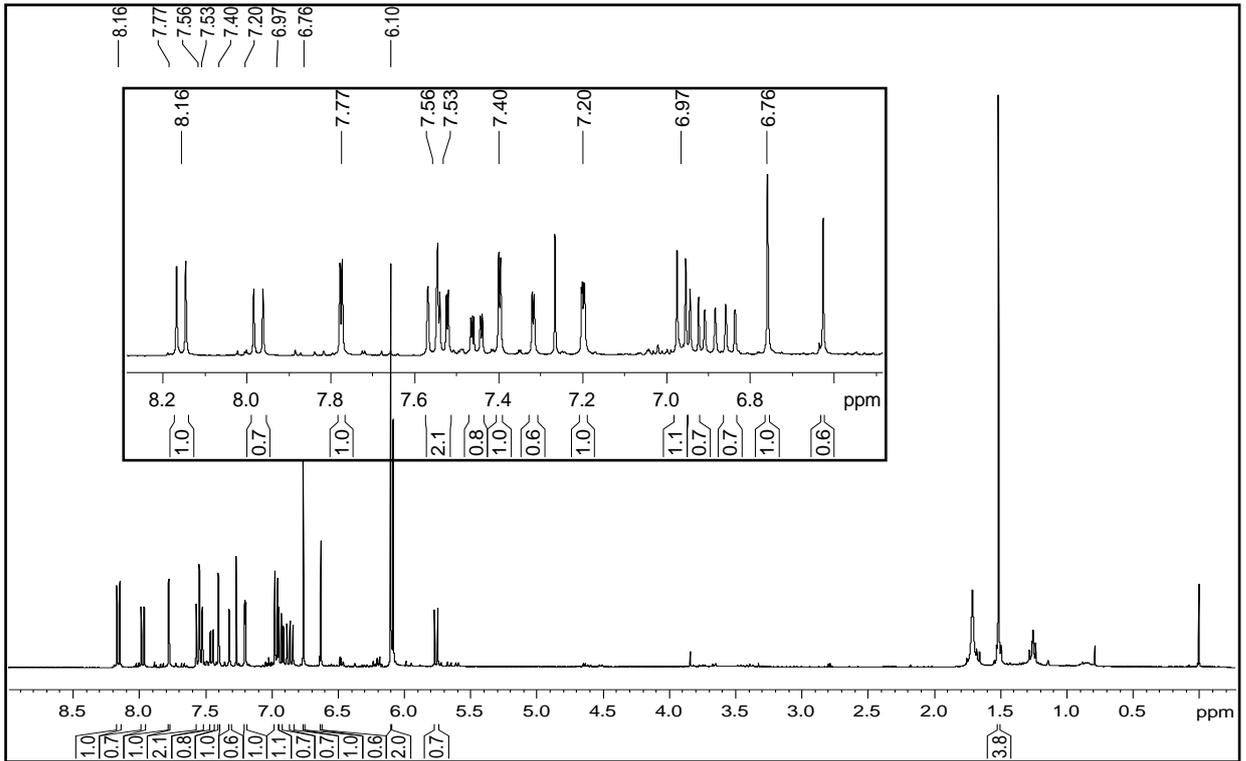
Tabela 22: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG9**.

C/H	^{13}C	^1H	$^1\text{J}_{\text{H-c}}$	$^{\text{LD}}\text{J}_{\text{H-c}}$
2	162,3			
3	107,2	6,76 (1H, s)	107,2	119,2 (C-10); 125,7 (C-1'); 162,3 (C-2) e 178,3 (C-4)
4	178,2			
5	121,9	8,16 (1H; d; 8,8 Hz)	121,9	158,3 (C-7) e 178,2 (C-4)
6	110,2	7,56 (1H; dd; 8,8 e 0,8 Hz)	110,2	117,1 (C-8) e 119,2 (C-10)
7	158,3			
8	117,1			
9	145,8			
10	119,2			
1'	125,7			
2'	106,3	7,40 (1H; d; 1,8 Hz)	106,3	121,4 (C-6'); 148,5 (C-3'); 150,5 (C-4') e 162,3 (C-3)
3'	148,5			
4'	150,5			
5'	108,9	6,97 (1H; d; 8,3 Hz)	108,9	125,7 (C-1') e 148,5 (C-3')
6'	121,4	7,53 (1H; dd; 8,3 e 1,8 Hz)	121,4	106,3 (C-2'); 150,5 (C-4') e 162,3 (C-2)
2''	145,9	7,78 (1H; d; 2,2 Hz)	145,9	117,1 (C-8) e 158,3 (C-7)
3''	104,2	7,20 (1H; dd; 2,2 e 0,8 Hz)	104,2	145,8 (C-9) e 158,3 (C-7)
2'''	102,0	6,10 (2H; s)	102,0	148,5 (C-3'); 150,5 (C-4')

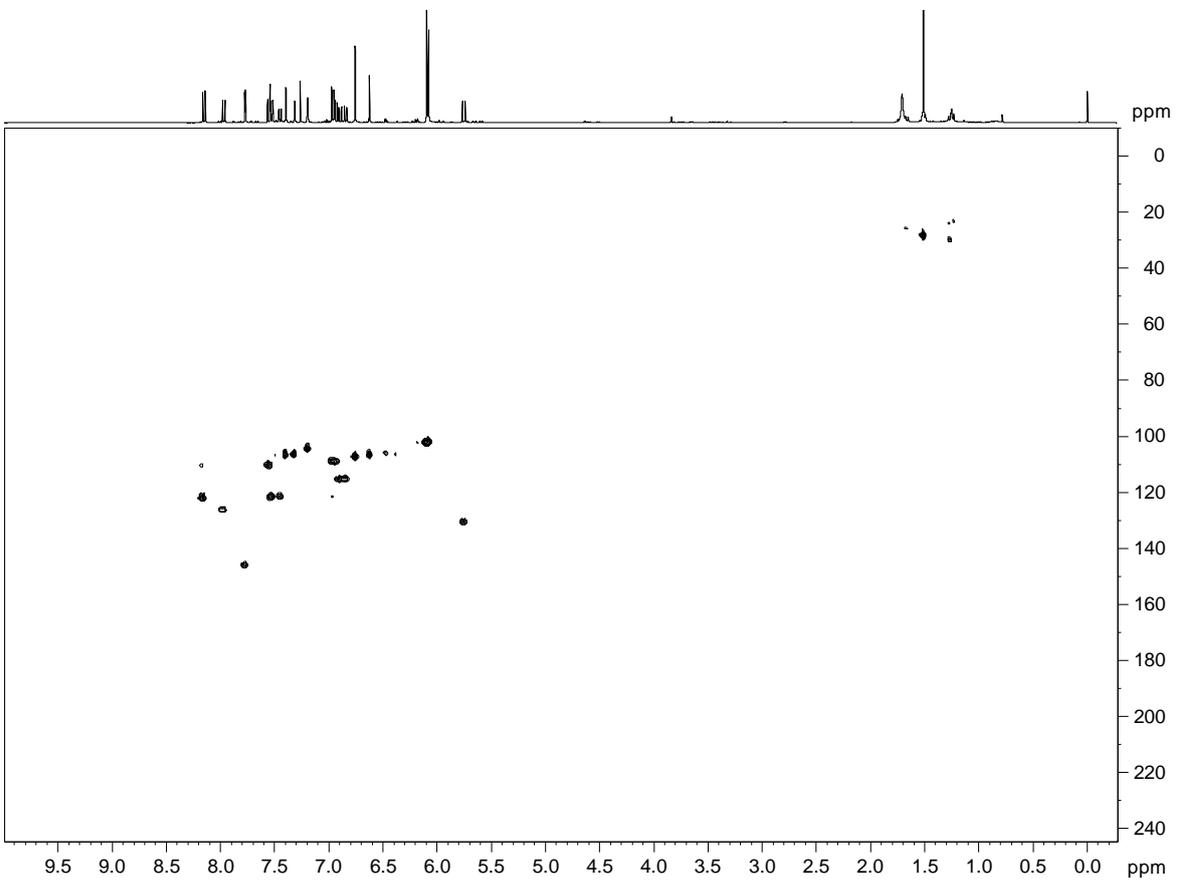


DG9 – Pongaglabrona

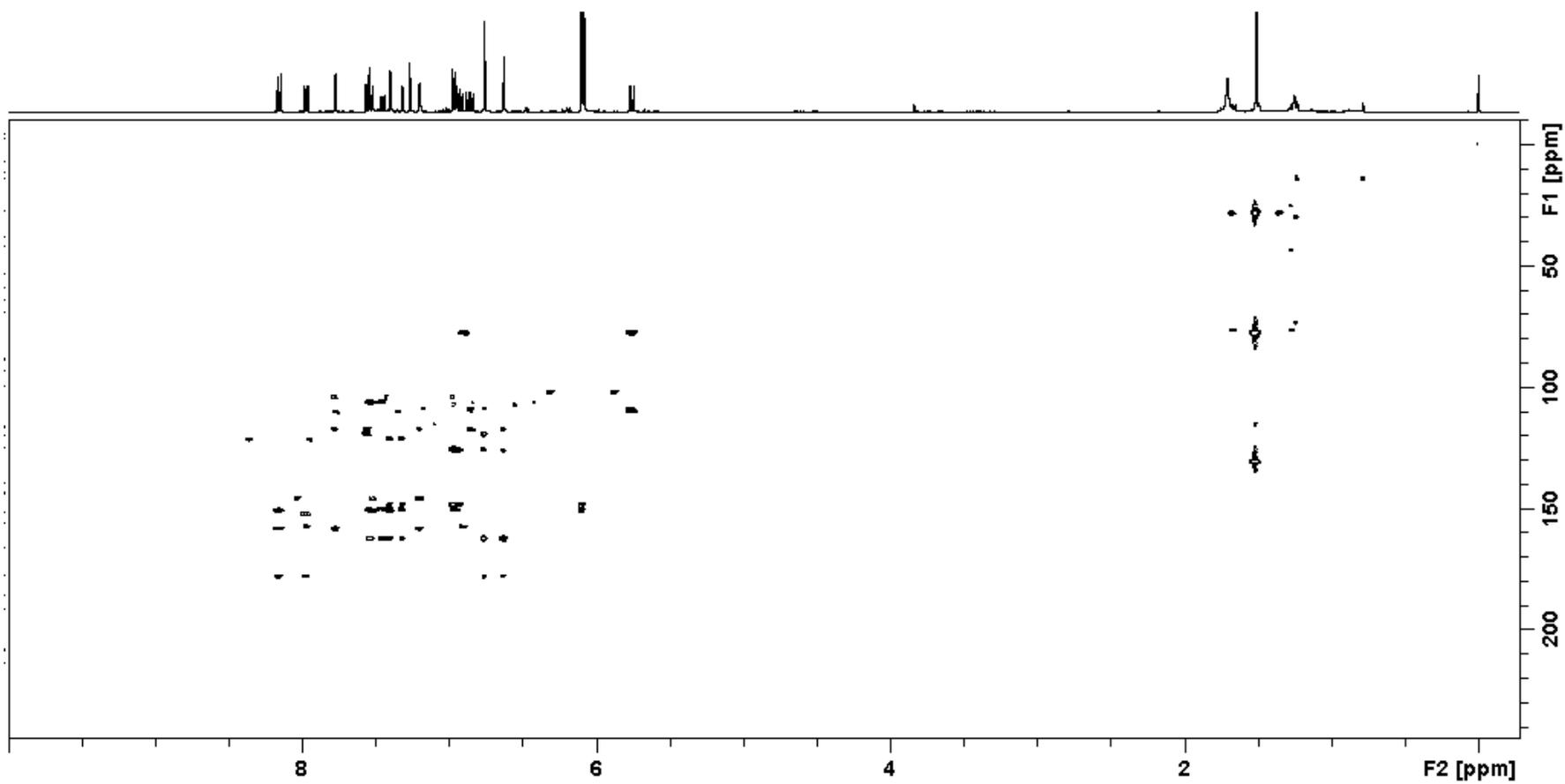
Cristais amorfo rosa claro



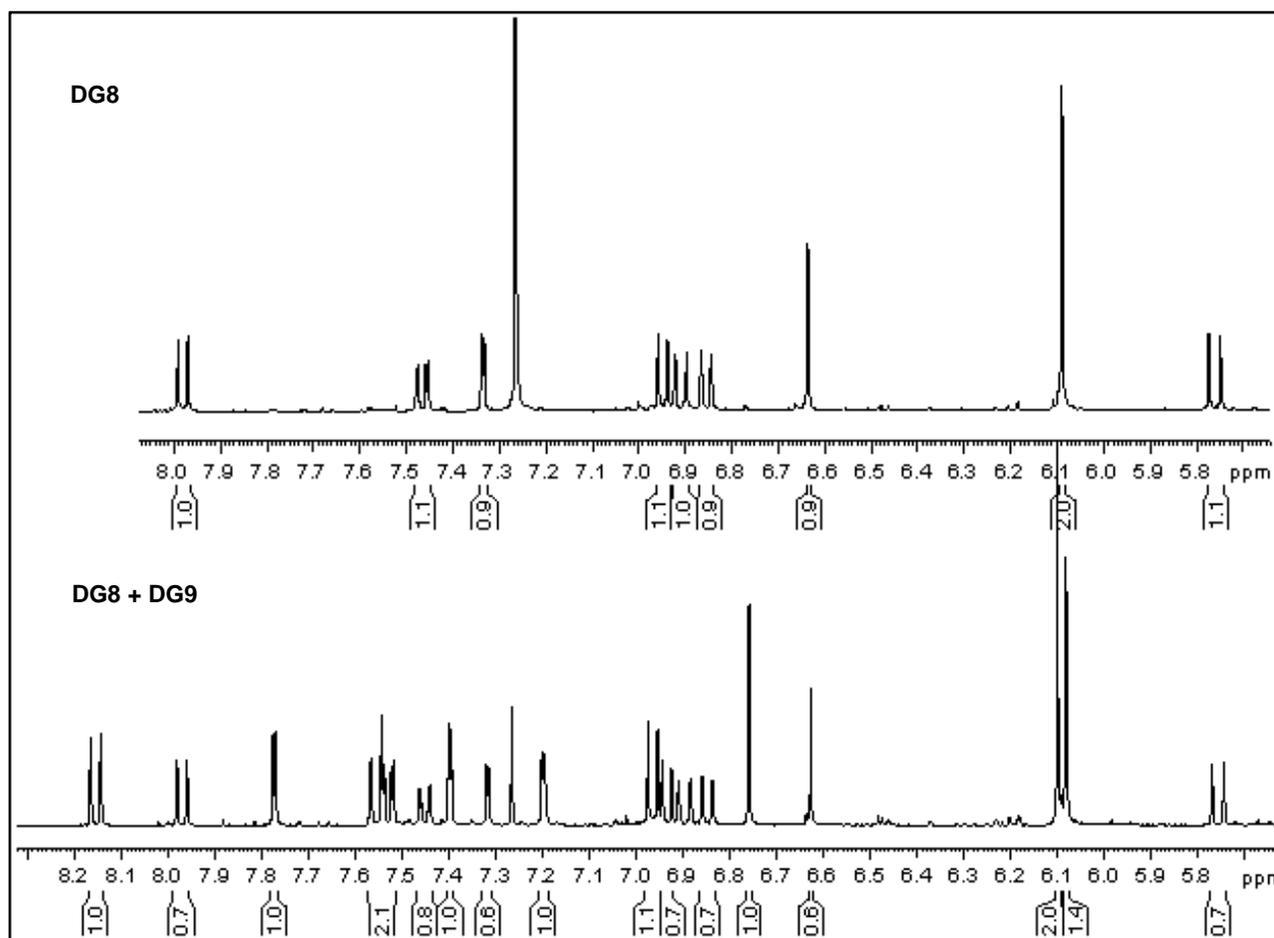
E 60: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG9**.



E 61: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG9**.



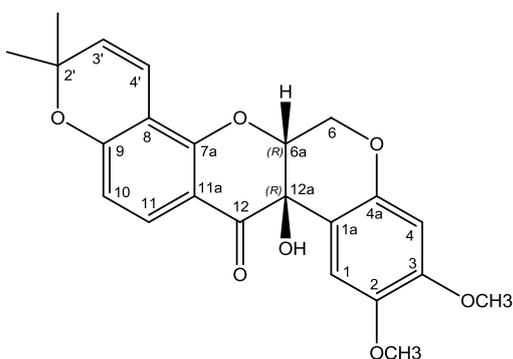
E 62: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG9.



E 63: Sobreposição e ampliação da região dos hidrogênios de dupla ligação e aromáticos (5,50-8,20 ppm) dos espectros de **DG8** e **DG9**.

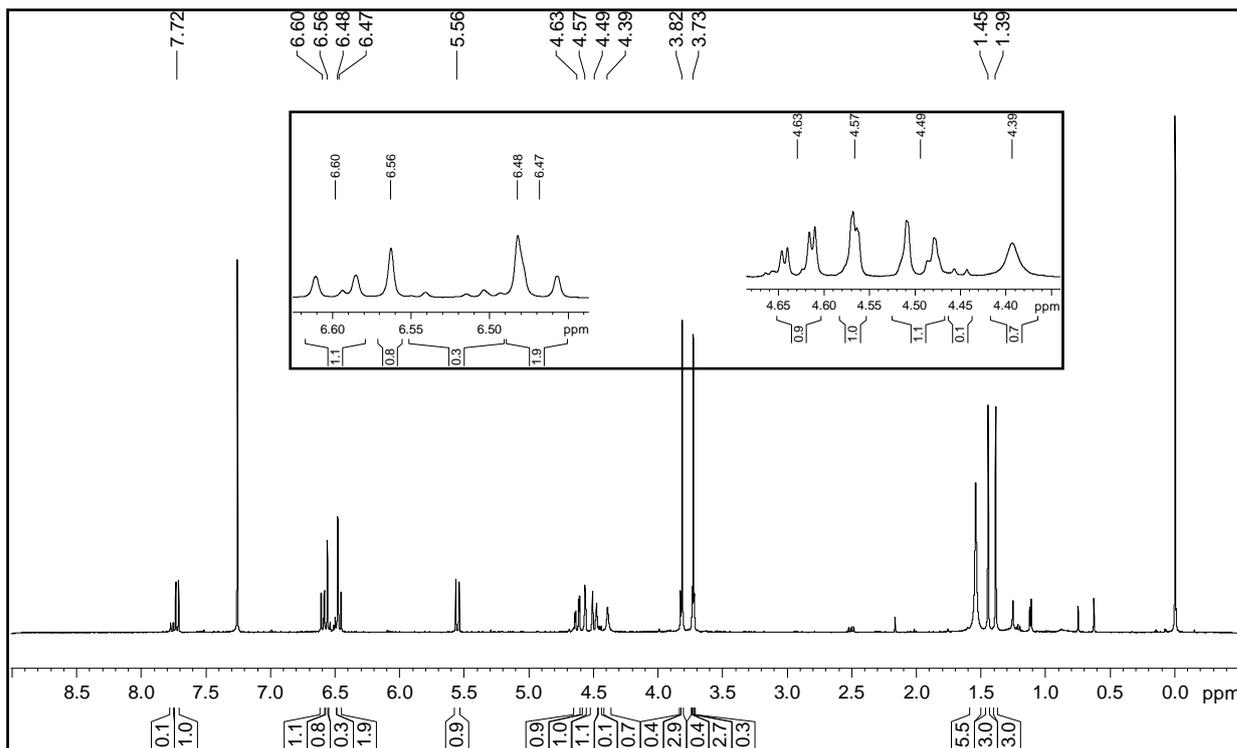
Tabela 23: Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz), mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (HSQC) e mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC), da substância **DG6**.

C/H	^{13}C	^1H	(H-C, ^1J)	V(H-C, ^nJ)
1	109,4	6,56 (1H, s)	109,4	67,5(C-12a); 144,1 (C-2); 48,4 (C-4a) e 151,0 (C-3)
1a	108,8			
2	144,0			
3	151,0			
4	101,1	6,48 (1H, s)	101,1	108,8 (C-1a); 144,0 (C-2) e 148,4 (C-4a)
4a	148,4			
6a	76,3	4,57 (1H; dd; 2,5 e 0,7 Hz)	76,3	108,8 (C-1a)
6 ax	63,9	4,63 (1H; dd; 12,1 e 2,5 Hz)	63,9	67,5 (C-12a); 76,3 (C-6a) e 148,4 (C-4a)
6 eq	63,9	4,49 (1H; dd; 12,1 e 0,7 Hz)	63,9	76,3 (C-6a)
7a	156,7			
8	109,2			
9	160,8			
10	111,8	6,47 (1H; d; 8,8 Hz)	111,8	111,0 (C-11a) e 109,2 (C-8)
11	128,8	7,73 (1H; d; 8,8 Hz)	128,8	156,7 (C-7a); 160,8 (C-9) e 191,4 (C12)
12	191,4			
12a	67,5			
3'	129,0	5,56 (1H; d; 10,0 Hz)	129,0	78,0 (C-6') e 109,2 (C-8)
4'	115,4	6,60 (1H; d; 10,0 Hz)	115,4	78,0 (C-6') e 160,8 (C-9)
CH ₃	28,6	1,45 (3H, s)	28,6	28,4 (CH ₃), 78,0 (C-6') e 129,0 (C-3')
CH ₃	28,4	1,39 (3H, s)	28,4	28,6 (CH ₃), 78,0 (C-6') e 129,0 (C-3')
OCH ₃ -3	56,4	3,82 (3H, s)	56,4	151,0 (C-3)
OCH ₃ -2	55,9	3,73 (1H, s)	55,9	144,0 (C-2)
OH-12a		4,4 (1H, sl)		76,3 (C-6a)

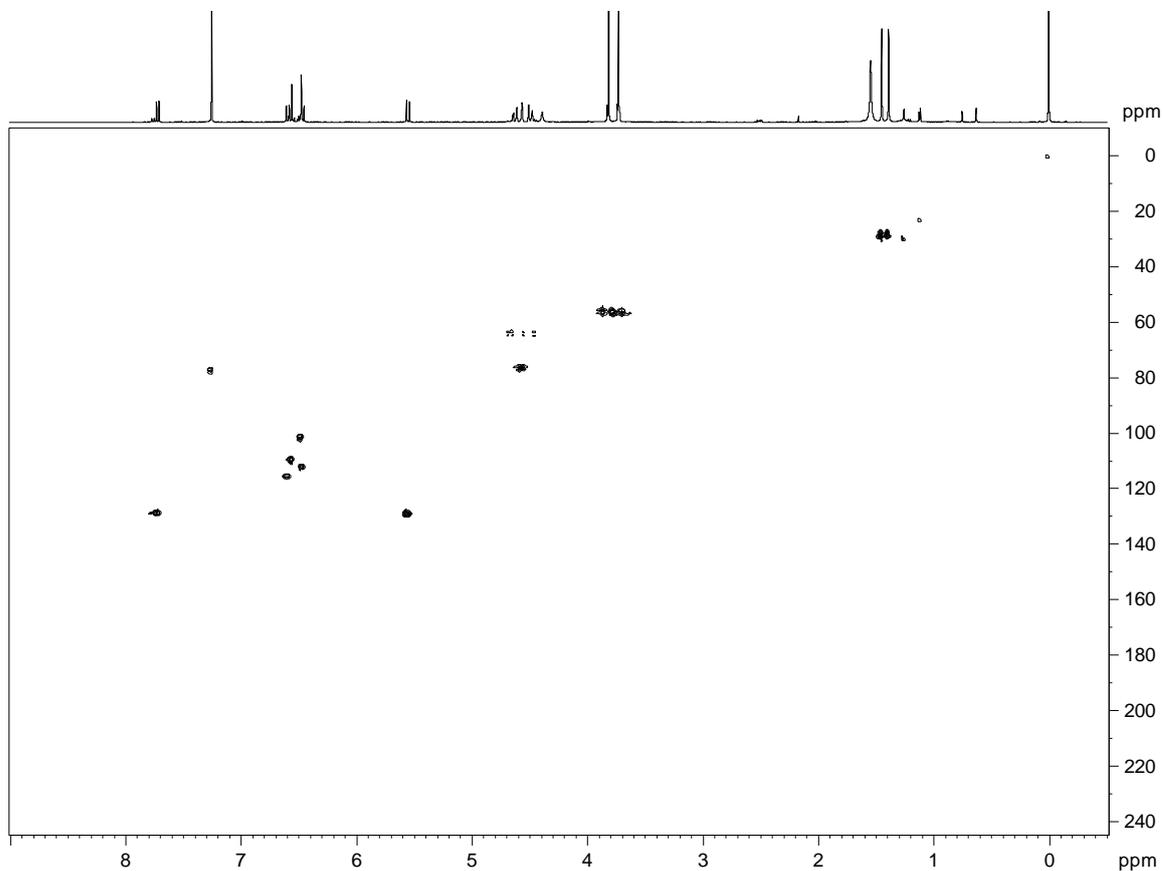


DG6 – Tefrosina

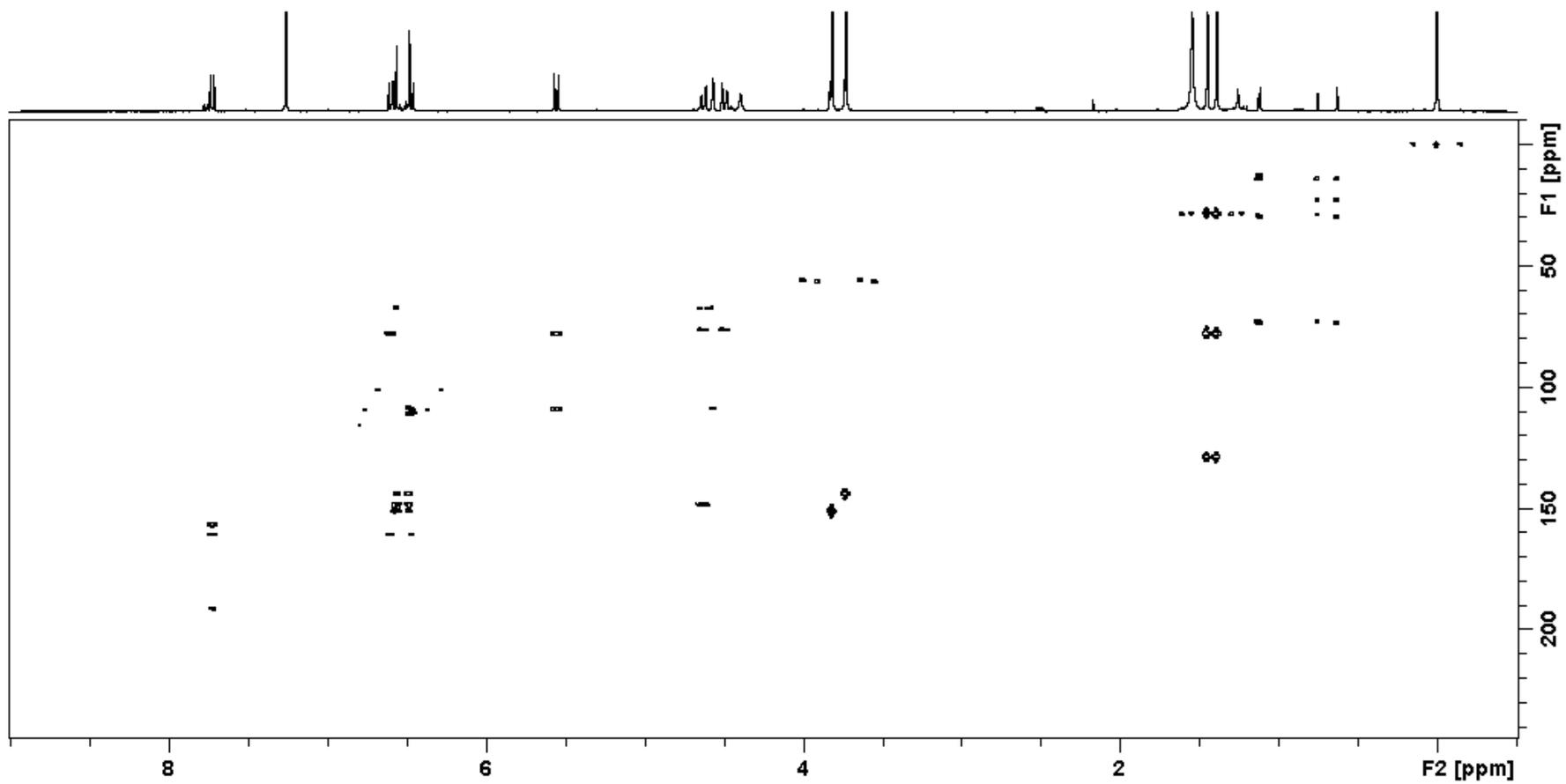
Sólido incolor



E 64: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 de **DG6**.



E 65: Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) de **DG6**.



E 66: Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (CDCl_3 , 400 MHz) de DG6.