

LETÍCIA FERRARI LEMOS BARROS

**Estudo químico, atividade antimicrobiana e antioxidante das
folhas de *Talauma ovata* A. St. Hil (Magnoliaceae).**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Química, Área de Concentração: Química Orgânica, Curso de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Maria Élide Alves Stefanello

CURITIBA

2008

*A Deus,
por ter me dado força e sabedoria*

*Aos meus pais Benedito e Valquíria,
Por orientar meus passos e
oportunidade de estudo
Dedico a vocês esse trabalho*

Amo vocês!

Alegria no nome
Amor no coração
Só pode ser você
O anjo que me dá a mão.

Minha melhor amiga, cúmplice, parceira de todos os momentos que a vida nos pôs para enfrentar. Passamos por tudo juntas. Fazem 24 anos e mais os meses de gestação no meu ventre, que compartilhamos cada dia de nossas vidas.

Ela seguindo o curso natural de todo ser humano, vencendo cada etapa de sua vida, infância, adolescência, etc; com os compromissos devidos.

Bonita por fora, bela por dentro. Letícia segue sua vida vivendo a máxima de *Saint-Exupéry* no livro “O Pequeno Príncipe: **És responsável por aquilo que cativas**”. Assim cativou e encontrou espaço em seu coração para ser filha, irmã, amiga, aluna e colega. Muitas vezes Mãe de suas irmãs e de sua Mãe. **Que criatura abençoada!**

Natureza decidida e definida assume suas responsabilidades com garra. Assim tive a oportunidade de ver minha filha na Universidade Federal do Paraná, referência na América Latina, crescer, vencer barreiras, definir-se como pessoa e profissional, centrada em seus objetivos, fazendo suas escolhas com determinação.

Sempre confia em suas convicções e experiências que trazem um conteúdo forte espiritual que adquiriu através dos exemplos familiares. A busca de Deus é uma constante em sua rotina de vida.

Há uma festa dentro de mim, sou grata a Deus.

Que Deus te abençoe, minha filha, longos e largos horizontes te esperam!

Te dou minha benção de mãe, e a amo imensamente.

(Sua Mãe, Valquíria Z. Ferrari)

AGRADECIMENTOS

- Ao Departamento de Química da UFPR, pela oportunidade concedida;
- À professora Dr^a. Maria Élide Alves Stefanello pela orientação, compreensão e confiança depositada durante a realização deste trabalho.
- Ao professor Dr. Renato Mello-Silva (**USP**) pela coleta e identificação do material botânico;
- Aos professores Dr. Andersson Barison – Departamento de Química – Universidade Federal do Paraná (**DQ – UFPR**) pelas análises de Ressonância Magnética Nuclear e juntamente com Dr. Francisco de Assis Marques (**DQ-UFPR**) pelas importantes correções e sugestões durante o Exame de Qualificação;
- Ao professor Dr. Marcos Salvador (**IB – UNICAMP**) pela realização dos testes antimicrobianos e antioxidante;
- Aos colegas de laboratório Emmanoel Costa, Érica Luiz dos Santos, Maria Helena Verdán e Nelissa P. Vaz pela amizade e auxílio;
- Às minhas irmãs Carolina, Ana Paula e Laisa pela amizade, incentivo e exemplo;
- À minha amiga Carolina Ferraza pela amizade e torcida por meu sucesso;
- E a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a execução deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE ESQUEMAS.....	xii
LISTA DE ESPECTROS.....	xiii
RESUMO.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
ESTRUTURAS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.....	xx
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 A família Magnoliaceae e seu metabolismo secundário.....	2
1.1.1 Alcalóides.....	3
1.1.2 Terpenóides.....	6
1.1.3 Lignóides.....	8
1.2 O gênero <i>Talauma</i> Juss.....	12
1.3 <i>Talauma ovata</i> A. St. Hil.	17
2 OBJETIVOS.....	20
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
3.1 Procedimentos gerais.....	20
3.2 Estudo Fitoquímico.....	22
3.2.1 Coleta e identificação do material botânico.....	22
3.2.2 Obtenção dos extratos.....	22
3.2.3 Fracionamento dos extratos em hexano e diclorometano.....	22
3.2.4 Análise detalhada do fracionamento das frações F2-3 e F4	24
3.2.5 Transformações químicas.....	25
3.3 Dados físicos e espectrométricos das substâncias isoladas e derivados.....	32
3.4 Avaliação da atividade antimicrobiana.....	36
3.5 Avaliação da atividade antioxidante.....	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1 Identificação da substância <u>To-1</u>	39

4.2 Identificação da substância To-2	44
4.3 Identificação da substância To-3 e To-4	49
4.4 Identificação da substância To-5	53
4.5 Identificação da substância To-6 e determinação estrutural da substância To-6a ..	58
4.6 Determinação estrutural das substâncias To-7 , To-7a e To-7b	68
4.7 Determinação estrutural das substâncias To-8 , To-8a e To-8b	84
4.8 Determinação estrutural da substância To-9 e identificação da substância To-9a .	100
4.9 Identificação da substância To-10	109
4.10 Identificação da substância To-11	112
4.11 Identificação da substância To-12	117
4.12 Identificação da substância To-13	122
4.13 Ensaios de atividade antimicrobiana e antioxidante.....	127
5 CONSIDERAÇÕES BIOSINTÉTICAS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS...	129
5.1 Neolignanas.....	129
5.2 Sesquiterpenos.....	129
6 CONCLUSÃO	133
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	134

LISTA DE ABREVIATURAS

Act	Acetato de etila
CC	Cromatografia em coluna
CCDC	Cromatografia em camada delgada comparativa
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CH₂Cl₂	Diclorometano (DCM)
CDCl₃	Clorofórmio deuterado
CIM	Concentração Inibitória Mínima
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
<i>ddd</i>	Duplo duplo dupleto
<i>dl</i>	Dupleto largo
<i>dq</i>	Duplo quarteto
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	<i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
EE	Éter etílico
EP	Éter de Petróleo
hex	Hexano
HMBC	Correlação heteronuclear em múltiplas ligações

HSQC	Correlação heteronuclear em única ligação
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
KBr	Brometo de Potássio
<i>m</i>	Multiplete
MeOH	Metanol
P.f.	Ponto de fusão
<i>p</i>-TsOH	Ácido <i>p</i> -toluenosulfônico
RMN de ¹H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN de ¹³C{¹H}	Ressonância magnética nuclear de carbono treze
<i>s</i>	Singleto
<i>sl</i>	Singleto largo
<i>t</i>	Triplete
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
δ	Deslocamento químico

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-1</u> .	41
Tabela 2 – Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-2</u> .	46
Tabela 3 – Dados de RMN de ^1H (400 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-3</u> e dados de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-4</u> .	50
Tabela 4 – Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-5</u> .	55
Tabela 5 – Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-6</u> .	60
Tabela 6 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-6a</u> .	64
Tabela 7 – Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-7</u> .	70
Tabela 8 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-7a</u> .	76
Tabela 9 – Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-7b</u> .	80
Tabela 10 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-8</u> .	86
Tabela 11 – Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-8a</u> .	92
Tabela 12 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-8b</u> .	96
Tabela 13 – Dados de RMN de ^1H (400 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-9</u> .	102
Tabela 14 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz) e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-9a</u> .	106

Tabela 15 - Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-10</u> .	110
Tabela 16 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-11</u> .	114
Tabela 17 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz) e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-12</u> .	119
Tabela 18 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância <u>To-13</u> .	124
Tabela 19 - Atividade antimicrobiana do extrato em DCM e das substâncias puras	127
Tabela 20 - Atividade antioxidante do extrato em DCM e das substâncias puras	128

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Rota biossintética do ácido chiquímico.	5
Figura 2 – Rota biossintética do ácido mevalônico.	6
Figura 3 – Terpenos com atividade biológica na planta e no homem.	8
Figura 4 – Rota biossintética dos fenilpropanóides.	10
Figura 5 – Neolignanas e lignanas com atividade biológica na planta e no homem.	11
Figura 6 – Alcalóides isolados de <i>Talauma</i> spp.	14
Figura 7 – Terpenóides isolados de <i>Talauma</i> spp.	15
Figura 8 – Lignóides isolados de <i>Talauma</i> spp.	16
Figura 9 – Substâncias de outras classes isoladas de <i>Talauma</i> spp.	17
Figura 10 – Fotos da árvore, folha, flor e fruto de <i>T.ovata</i>	18
Figura 11 – Avaliação da capacidade de redução do radical DPPH de To-1 .	128
Figura 12 – Radicais de propenil e/ou alilfenóis	130
Figura 13 – Biossíntese proposta para as neolignanas e di-norneolignanas benzofurânicas isoladas.	130
Figura 14 – Biossíntese proposta para as neolignanas diarildimetilbutanol isoladas.	131
Figura 15 – Biossíntese proposta para os sesquiterpenos isolados.	132

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Fracionamento dos extratos em hexano e diclorometano	23
Esquema 2 – Obtenção da substância <u>To-13</u> a partir da subfração 5-10	26
Esquema 3 – Obtenção das substâncias <u>To-7</u> , <u>To-7a</u> e <u>To-7b</u> a partir da subfração 17-18	27
Esquema 4 – Obtenção das substâncias <u>To-1</u> e <u>To-2</u> a partir da subfração 19-22	28
Esquema 5 – Obtenção das substâncias <u>To-3</u> , <u>To-4</u> e <u>To-5</u> a partir da subfração 19-22	29
Esquema 6 – Obtenção das substâncias <u>To-6</u> , <u>To-6a</u> , <u>To-8</u> , <u>To-8a</u> , <u>To-8b</u> e <u>To-10</u> a partir da subfração 6-9	30
Esquema 7 – Obtenção das substâncias <u>To-9</u> e <u>To-9a</u> a partir da subfração 10-13	31
Esquema 8 – Obtenção das substâncias <u>To-11</u> e <u>To-12</u> a partir da subfração 14-21	31

LISTA DE ESPECTROS

E1 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-1</u> .	42
E2 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-1</u> .	42
E3 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-1</u> .	43
E4 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-1</u> .	43
E5 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-2</u> .	47
E6 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50MHz, CDCl_3) da substância <u>To-2</u> .	47
E7 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-2</u> .	48
E8 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-2</u> .	48
E9 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-3</u> .	51
E10 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-3</u> .	51
E11 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-3</u> .	52
E12 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-4</u> .	52
E13 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-5</u> .	56
E14 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-5</u> .	56
E15 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-5</u> .	57
E16 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-6</u> .	61
E17 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50MHz, CDCl_3) da substância <u>To-6</u> .	61
E18 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-6</u> .	62
E19 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-6</u> .	62
E20 – Espectro no UV da substância <u>To-6a</u> .	65
E21 – Espectro no IV da substância <u>To-6a</u> .	65

E22 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-6a</u> .	66
E23 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50MHz, CDCl_3) da substância <u>To-6a</u> .	66
E24 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-6a</u> .	67
E25 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-6a</u> .	67
E26 – Espectro no UV da substância <u>To-7</u> .	71
E27 – Espectro no IV da substância <u>To-7</u> .	71
E28 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-7</u> .	72
E29 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-7</u> .	72
E30 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-7</u> .	73
E31 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-7</u> .	73
E32 - Espectro no UV da substância <u>To-7a</u> .	77
E33 – Espectro no IV da substância <u>To-7a</u> .	77
E34 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-7a</u> .	78
E35 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-7a</u> .	78
E36 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-7a</u> .	79
E37 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-7a</u> .	79
E38 - Espectro no UV da substância <u>To-7b</u> .	81
E39 – Espectro no IV da substância <u>To-7b</u> .	81
E40 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-7b</u> .	82
E41 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-7b</u> .	82
E42 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-7b</u> .	83
E43 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-7b</u> .	83
E44 – Espectro no UV da substância <u>To-8</u> .	87

E45 – Espectro no IV da substância <u>To-8</u> .	87
E46 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-8</u> .	88
E47 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-8</u> .	88
E48 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-8</u> .	89
E49 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-8</u> .	89
E50 – Espectro no UV da substância <u>To-8a</u> .	93
E51 – Espectro no IV da substância <u>To-8a</u> .	93
E52 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-8a</u> .	94
E53 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-8a</u> .	94
E54 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-8a</u> .	95
E55 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-8a</u> .	95
E56 – Espectro no UV da substância <u>To-8b</u> .	97
E57 – Espectro no IV da substância <u>To-8b</u> .	97
E58 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-8b</u> .	98
E59 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-8b</u> .	98
E60 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-8b</u> .	99
E61 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-8b</u> .	99
E62 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-9</u> .	103
E63 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-9</u> .	103
E64 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-9</u> .	104
E65 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-9a</u> .	107
E66 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-9a</u> .	107
E67 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-9a</u> .	108

E68 - Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-10</u> .	111
E69 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-10</u> .	111
E70 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-11</u> .	115
E71 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-11</u> .	115
E72 - Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-11</u> .	116
E73 - Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-11</u> .	116
E74 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-12</u> .	120
E75 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-12</u> .	120
E76 - Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-12</u> .	121
E77 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-13</u> .	125
E78 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-13</u> .	125
E79 - Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-13</u> .	126
E80 - Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância <u>To-13</u> .	126

RESUMO

A presente dissertação descreve o estudo fitoquímico e as atividades antimicrobiana e antioxidante das folhas de *Talauma ovata* St. Hil. (Magnoliaceae), conhecida popularmente como “pinha-do brejo” ou “bagaçu”.

As folhas foram coletadas em janeiro/2003 no Bosque da Biologia (USP-SP).

A fração hidroalcolica do extrato em hexano das folhas foi reunida com o extrato em diclorometano após análise prévia por CCDC e comparação de dados espectrais, mostrando que ambos possuíam compostos semelhantes. O fracionamento cromatográfico desta mistura levou ao isolamento de três novas neolignanas e dez substâncias conhecidas pertencentes à classe dos lignóides (neolignanas e *bis*-norneolignanas) e sesquiterpenóides. Estas substâncias foram identificadas através de análise dos seus dados espectrométricos (UV, IV, RMN) e comparação com dados da literatura.

Os compostos conhecidos foram identificados como: as neolignanas (+)-licarina-A (**To-1**), (+)-acuminatina (**To-2**), (+)-aldeído da licarina-A (**To-3**), (+)-kadsurenina-M (**To-4**), (+)-oleiferina-C (**To-5**) e (+)-oleiferina-A (**To-6**) e os terpenóides (-)-partenolido (**To-10**), (-)-michelenolido (**To-11**), (-)-11,13-deidrocompressanolido (**To-12**) e (-)-espatulenol (**To-13**). Destes licarina-A, oleiferina-C e partenolido já haviam sido encontrados em estudos anteriores com a planta.

As novas neolignanas foram identificadas como: (+)-talaumina-A (**To-7**) (7S*, 8R*,8'R* - 3,4: 3',4'-bis-(metilenodioxo)-lignana-7-ol), (+)-talaumina-B (**To-8**) (7S*, 8R*,8'R* - 3',4'- dimetoxi- 3,4-metilenodioxo-lignana-7-ol), talaumina-C (**To-9**) (7S, 8R,8'R - 3,4: 3',4'- tetrametoxi-lignana-7-ol).

As substâncias novas e a conhecida oleiferina-A foram acetiladas com anidrido acético e piridina, rendendo os correspondentes acetatos, que são inéditos. As novas neolignanas também foram submetidas à reação de ciclização, rendendo os correspondentes derivados ariltetralínicos, sendo que os derivados da talaumina-A e talaumina-B são inéditos.

A atividade antimicrobiana do extrato em diclorometano e das substâncias isoladas foi avaliada contra várias cepas de bactérias e fungos. O extrato mostrou fraca atividade contra algumas cepas de *Staphylococcus* sp e *Candida* sp. Dentre as substâncias puras apenas licarina-A, talaumina-A e partenolido foram ativas. As duas primeiras

apresentaram moderada atividade antifúngica contra cepas de *Cândida* sp e partenolido mostrou-se moderadamente ativo contra algumas cepas de *Staphylococcus* sp.

As neolignanas majoritárias licarina-A, acuminatina e talaumina-A foram testadas para atividade antioxidante. Apenas a primeira apresentou atividade moderada.

ABSTRACT

This work describes the phytochemical study and antimicrobial and antioxidant activities of leaves of *Talauma ovata* St. Hil., a Brazilian plant known as “bagaçu” or “pinha-do-brejo”.

Leaves were collected in São Paulo, SP, Brazil, in January 2003. Dried and powdered material was extracted, at room temperature, with hexane and dichloromethane, successively. The hexane extract was submitted to partition between hexane and MeOH-H₂O (9:1) and the hydro-alcoholic layer was combined with dichloromethane extract. Chromatographic fractionation of this mixture yielded three new neolignans with along ten known compounds. Their structures were elucidated by extensive spectroscopic methods including 1D (¹H and ¹³C) and 2D NMR (HSQC and HMBC) experiments as well as comparison with literature.

The known compounds were identified to be the neolignans: (+)- licarin-A (**To-1**) and their bis-norneolignan aldehyde (**To-3**), (+)-acuminatin (**To-2**), (+)-kadsurenin M (**To-4**), (+)-oleiferin-C (**To-5**) and (+)-oleiferin-A (**To-6**); and the terpenes: (-)-parthenolide (**To-10**), (-)-michelenolide (**To-11**), (-)-11,13-dehydrocompressanolide (**To-12**) and (-)- spathulenol (**To-13**). The compounds licarin-A, oleiferin-C and parthenolide have ever been previously reported in *T. ovata*.

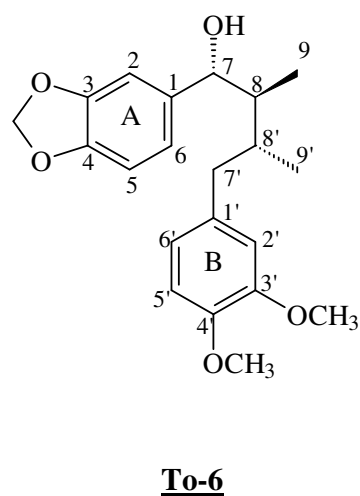
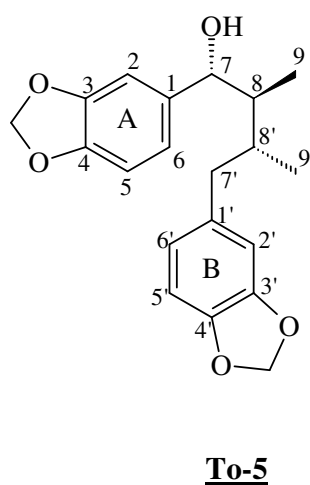
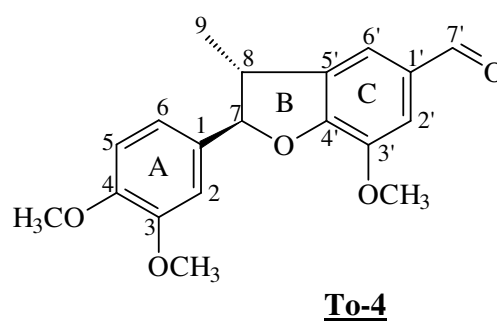
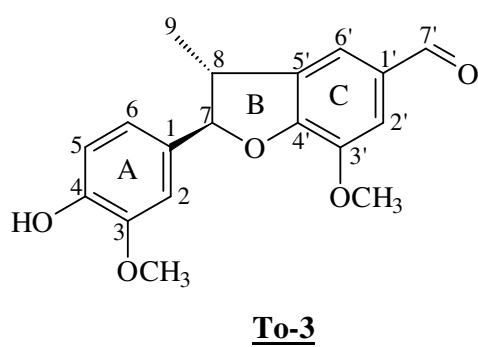
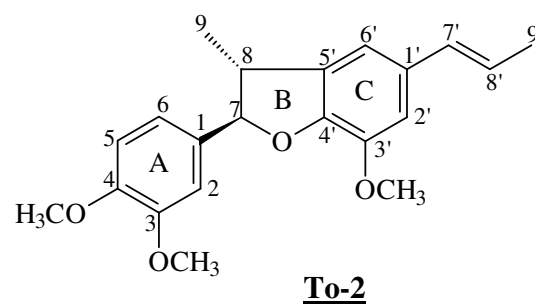
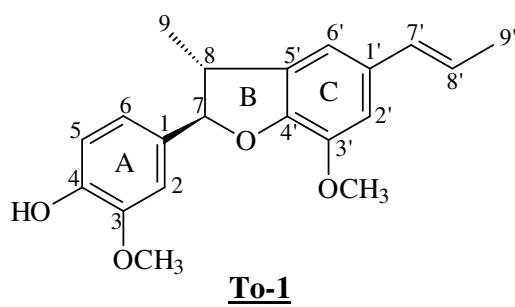
The new neolignans were identified as (+)-talaumin-A (**To-7**) (7S*, 8R*,8'R* - 3,4: 3',4'-bis-(methylenedioxy)-lignan-7-ol), (+)-talaumin-B (**To-8**) (7S*, 8R*,8'R* - 3',4'-dimethoxy- 3,4-methylenedioxy-lignan-7-ol) and (+)-talaumin-C (**To-9**) (7S, 8R ,8'R - 3, 4 : 3',4'- tetramethoxy-lignan-7-ol).

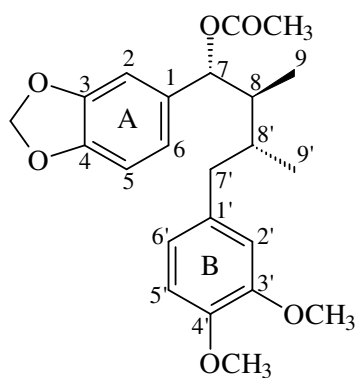
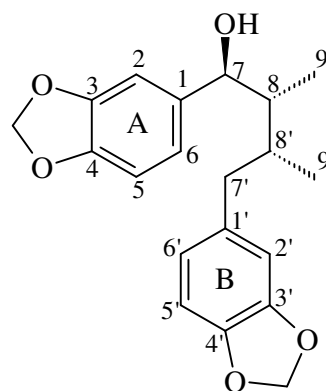
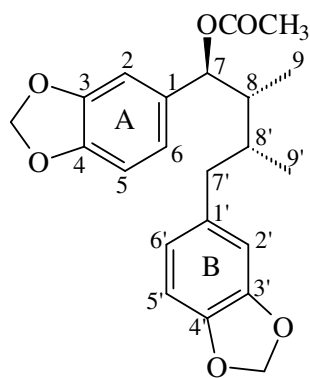
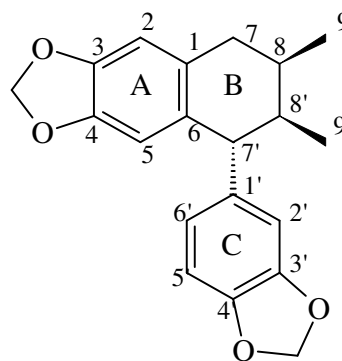
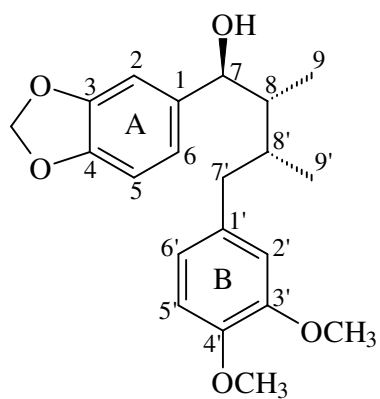
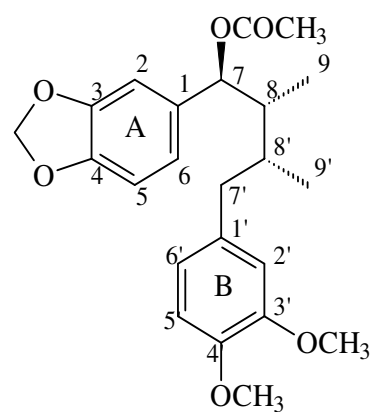
The new compounds and the known oleiferin-A were submitted to acetylation with acetic anhydride in pyridine, followed by usual work-up, yielding the respective acetates, which are new. The new neolignans also were submitted to cyclization acid catalyzed to give the respective aryltetraline derivatives. The compounds obtained from talaumin-A and talaumin-B are new, while talaumin-C yielded the known isogalbulin (**To-9a**).

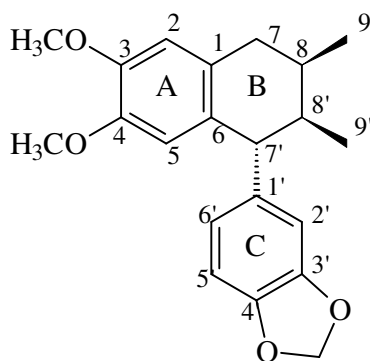
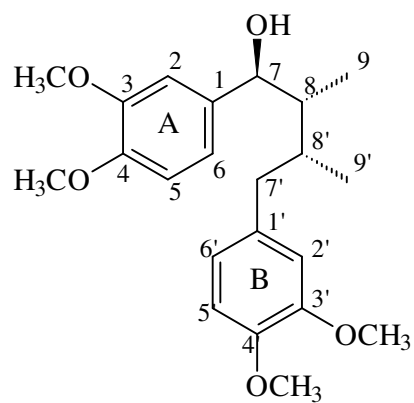
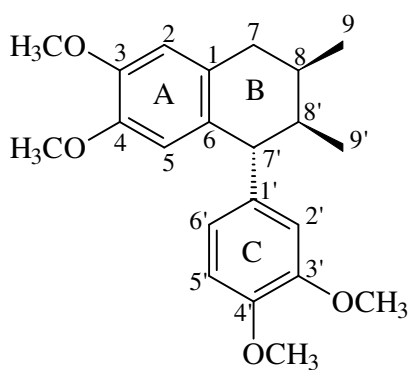
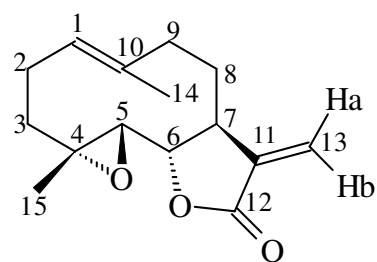
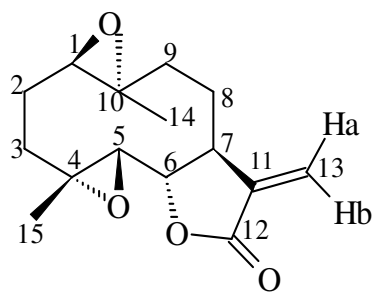
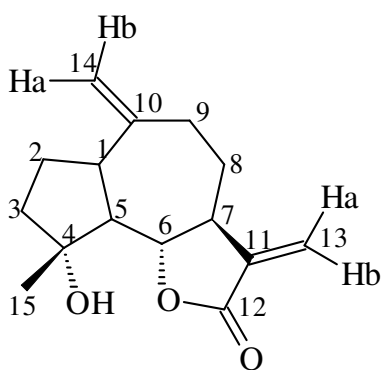
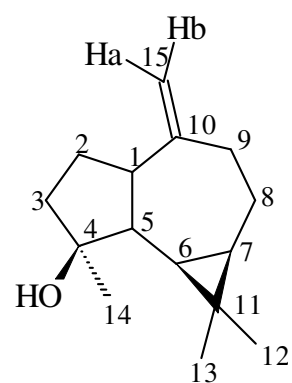
The antimicrobial activity of dichloromethane extract and isolated compounds were evaluated against several bacteria and fungi. The extract showed weak activity against some strains of *Staphylococcus* sp and *Candida* sp. Among pure compounds evaluated licarin-A and talaumin-A exhibited moderate activity against strains of *Candida* sp, while parthenolide was active against *Staphylococcus* sp.

The major neolignans licarin-A, acuminatin and talaumin-A were also evaluated for antioxidant activity. Only the first one showed moderate activity.

ESTRUTURAS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS



**To-6a****To-7****To-7a****To-7b****To-8****To-8a**

**To-8b****To-9****To-9a****To-10****To-11****To-12****To-13**

1. INTRODUÇÃO

As plantas são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de fármacos. Estes produtos encontrados na natureza revelam uma gama quase que inacreditável de diversidade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas (BRESOLIN & FILHO, 2003).

Ao se estudar uma planta com relação às suas características químicas, deve-se considerar a existência de dois grupos distintos de metabólitos, que são importantes para o seu desenvolvimento: os metabólitos primários e os metabólitos secundários ou produtos naturais. Os metabólitos primários são encontrados em todos os sistemas vivos, essenciais ao crescimento e à vida, como os aminoácidos, monossacarídeos, ácidos carboxílicos, lipídeos entre outros. Os metabólitos secundários são produtos de metabolismo específico, relacionados aos processos adaptativos e geralmente com efeitos biológicos. São biossintetizados a partir de metabólitos primários, e apresentam distribuição restrita a certas plantas e microrganismo (às vezes característico de um dado gênero ou espécie). São caracterizados por uma enorme diversidade química, como por exemplo, os alcalóides, esteróides, terpenóides, flavonóides, lignóides entre outros (VERPOORTE, 2000).

Os metabólitos secundários não são necessariamente produzidos em todas condições, e na grande maioria dos casos, a função desses compostos e seus benefícios para o organismo ainda são desconhecidos. Sabe-se que alguns compostos desenvolvem importantes funções na planta, tais como: defesas contra plantas parasitas e patógenos (vírus, bactérias, fungos e insetos). Por outro lado, metabólitos secundários das plantas podem facilitar a interação animal-planta produzindo pigmentos ou substâncias voláteis, cuja função é atrair os polinizadores (DEWICK, 2002).

O metabolismo secundário, principalmente de vegetais, é estudado pela química de produtos naturais. Essa é uma área bastante abrangente, pois envolve determinação estrutural dos metabólitos secundários, a sua formação no organismo (biossíntese), a sua ocorrência no reino vegetal (quimiosistemática) e a sua importância para a sobrevivência da planta (ecologia química). Os metabólitos secundários também são importantes para o homem, pois muitos apresentam propriedades farmacológicas enquanto outros podem ser utilizados como aromatizantes, conservantes, corantes, entre outros. Em qualquer caso, o conhecimento da

estrutura da substância é fundamental. Por isso a identificação ou determinação estrutural das substâncias presentes em uma dada espécie é sempre a primeira etapa em qualquer estudo dentro da química de produtos naturais.

A composição química de uma planta é produto de fatores genéticos, isto é, da presença de enzimas para a produção de compostos específicos, e de fatores ambientais, resultando na biodiversidade, que pode ser definida como a variedade e variabilidade existentes entre organismos vivos e as complexidades ecológicas nas quais eles ocorrem, como clima, tipo de solo, presença de poluentes, presença de animais e de outras espécies vegetais (HARBONE, 1982).

Esses fatores influenciam o desenvolvimento, a dispersão e a adaptação das espécies ao meio ambiente. Dentro das limitações impostas pelo seu aparato enzimático, uma espécie pode produzir um número maior ou menor de substâncias dependendo dessa pressão ambiental. Além disso, deve-se considerar que, nas angiospermas, os diferentes órgãos possuem funções diferentes na planta, o que também pode levar a diferenciação química entre as diferentes partes da planta.

Por essas razões, o estudo químico de uma dada espécie não pode se limitar a um único órgão ou um único exemplar. Isso é particularmente aplicável a plantas que possuem uma grande área de dispersão.

O conjunto de dados morfológicos e fitoquímicos têm resultado em uma excelente ferramenta para a caracterização de famílias, tribos e gêneros de espécies vegetais. A presença ou ausência de certos produtos naturais tem sido amplamente utilizada para construir uma classificação quimiotaxonômica, sempre tentando estabelecer uma correlação da química com a morfologia das plantas.

1.1 A família Magnoliaceae e seu metabolismo secundário

É uma família de plantas dicotiledônea pertencente à ordem Magnoliales. É composta por 12 gêneros e cerca de 220 espécies, largamente distribuídas pelas regiões tropicais e subtropicais da Ásia e América. Os maiores gêneros são *Magnolia* (80 spp), *Talauma* (50 spp) e *Michelia* (45 spp), que são facilmente diferenciados por seus caracteres vegetativos, florais e frutíferos (TRINTA & SANTOS, 1996; CRONQUIST, 1981).

No Brasil são encontradas algumas espécies de *Talauma*, *Magnolia* e *Michelia*. Dessas somente *Talauma* é nativa, enquanto que, as outras foram trazidas e são cultivadas como ornamentais (LOZANO-CONTRERAS, 1990).

A família Magnoliaceae tem atraído grande interesse de muitos botânicos, por ser considerada uma das mais primitivas de todas as angiospermas (árvore com flor), um registro fóssil que mostra uma longa história evolutiva de 100 milhões de anos (KIM *et al.*, 2001).

Diversos estudos químicos mostraram que a família Magnoliaceae produz principalmente alcalóides, sesquiterpenos e lignóides (LE RAY *et al.*, 1989; OGURA *et al.*, 1978; VIEIRA *et al.*, 1998).

1.1.1 Alcalóides

Constituem um vasto grupo de metabólitos com grande diversidade estrutural, representando cerca de 20% das substâncias naturais descritas.

Embora o primeiro alcalóide conhecido tenha sido isolado de humanos, as fontes mais reconhecidas são os microorganismos, os animais marinhos e principalmente os vegetais superiores, onde são encontrados em aproximadamente 14% dos gêneros representantes de todos os grupos vegetais, estando amplamente distribuídos em angiospermas e mais restritos nas talófitas, nas pteridófitas e nas gimnospermas.

Os alcalóides são bases orgânicas nitrogenadas, por ter o átomo de nitrogênio de maneira geral oriundo dos aminoácidos (alcalóides verdadeiros e protoalcalóides) e o anel heterocíclico formado fornece a base para sua classificação química. Os aminoácidos protéicos comumente utilizados na biossíntese dos alcalóides são: ácido aspártico (piridinas, isoquinoleínas), lisina (piperidinas, quinolizidinas), tirosina (isoquinolinas, benzilisoquinolinas, betalaínas), triptofano (derivados da triptamina, β -carbolinas, indóis complexos) e histidina (imidazóis). O aminoácido não-protéico ornitina dá origem aos alcalóides com núcleos pirrolidínicos, pirrolizidínicos e tropânicos. O aminoácido fenilalanina não dá origem a muitos alcalóides, contudo é normalmente a origem de anéis aromáticos em alcalóides complexos e pode também contribuir como fonte de grupamento α -amino em muitas estruturas.

Além dos aminoácidos, outros precursores tais como terpenos ou esteróides podem ser também incorporados na construção do esqueleto final dos alcalóides (pseudoalcalóides) (SIMÕES *et al.*, 2004).

Os alcalóides benzilisoquinolínicos e aporfínicos, freqüentemente encontrados em Magnoliaceae, são biossintetizados a partir do aminoácido tirosina vindo da via metabólica do chiquimato (**Figura 1**) (KUBITZKI *et al.*, 1993; GUINAUDEAU *et al.*, 1975).

Essa classe apresenta um amplo espectro de atividades biológicas tanto para a planta, atuando como hormônios reguladores de crescimento, proteção contra a irradiação UV, insetos e microrganismos, quanto para o homem em aplicações terapêuticas para a síntese de fármacos (SIMÕES *et al.*, 2004).

Um dos alcalóides mais comuns em Magnoliaceae é a liriodenina (**16**) (**Figura 6**, pág. 14) que apresenta atividades como antimicrobiana, sedativa, hipotensiva, analgésica, antileucêmica, antitumoral, entre outras (MONTEIRO *et al.*, 2007; RIOS *et al.*, 1989).

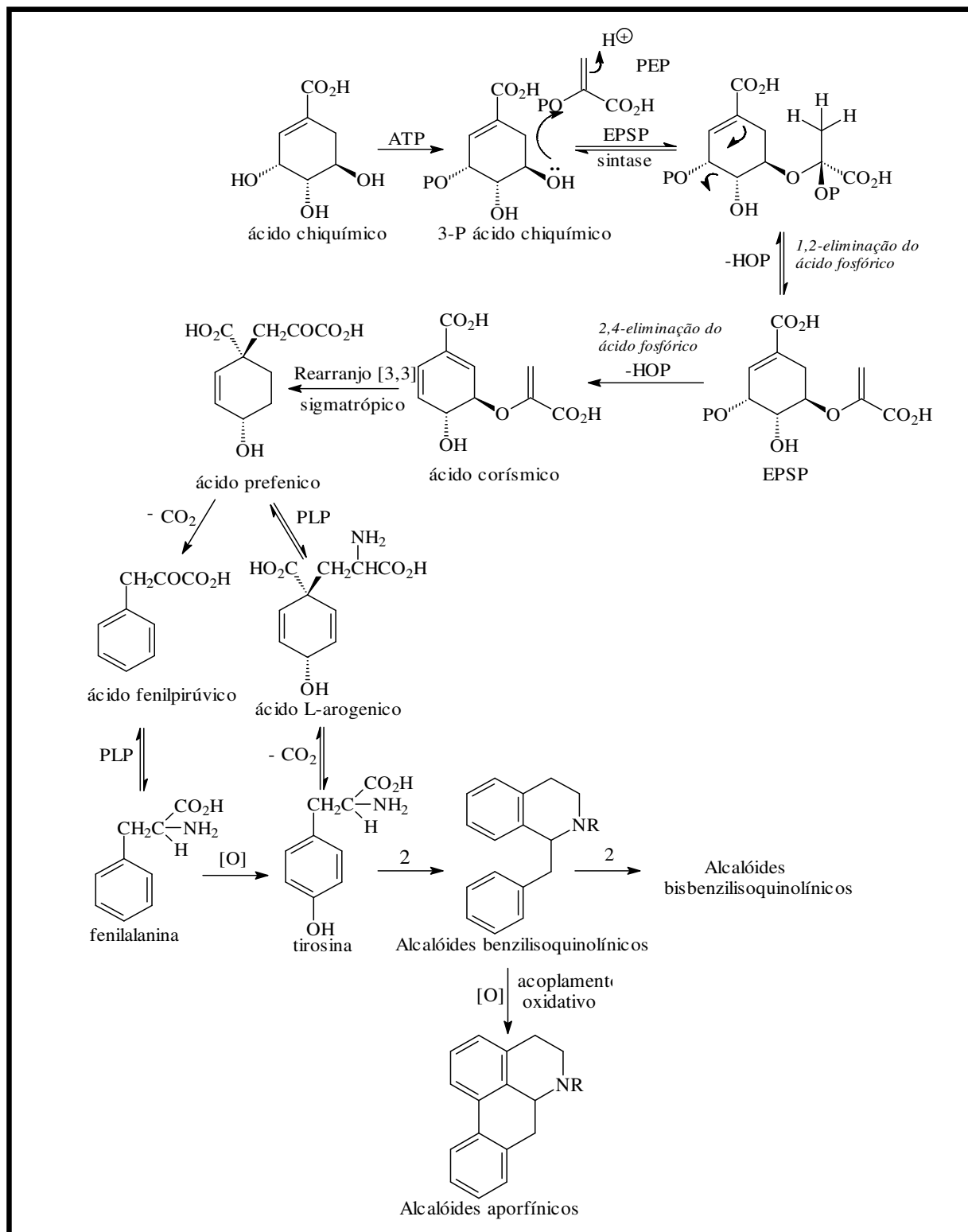


Figura 1: Rota biossintética do ácido chiquímico (DEWICK, 2002; DEY & HARBORNE, 1997). (ATP: adenosina trifosfato; PEP: Fosfoenolpiruvato; EPSP: ácido 5-enolpiruvilchiquímico 3-fosfato; -CO₂: descarboxilação; PLP: transaminação; PAL: enzima fenilalanina amônia liase; NADPH: redução; [O]:oxidação).

1.1.2 Terpenóides

Abrangem uma grande variedade de substâncias de origem vegetal, sendo encontrados principalmente em Asteraceae, mas também estão presentes em outras famílias, como Apiaceae, Magnoliaceae e Lauraceae, apresentando importância ecológica como defensores de plantas, assim como para o homem em várias aplicações terapêuticas importantes.

Os terpenóides são derivados de unidades de isopreno (C-5), cuja origem biossintética vem da rota do ácido mevalônico e são classificados como hemiterpenóides (C-5), monoterpenóides (C-10), sesquiterpenóides (C-15), diterpenóides (C-20), sesterpenóides (C-25), triterpenóides (C-30), esteróides (C-18 a C-30) e tetraterpenóides, carotenóides (C-40) (**Figura 2**) (DEWICK, 2002).

O número de compostos terpênicos conhecidos ultrapassa a 8.000 que apresentam uma grande variedade estrutural, podendo ser acíclicos, monocíclicos e bicíclicos, além de apresentar hidrocarbonetos insaturados, álcoois, aldeídos ou cetonas, lactonas e tropolonas (SIMÕES *et al.*, 2004).

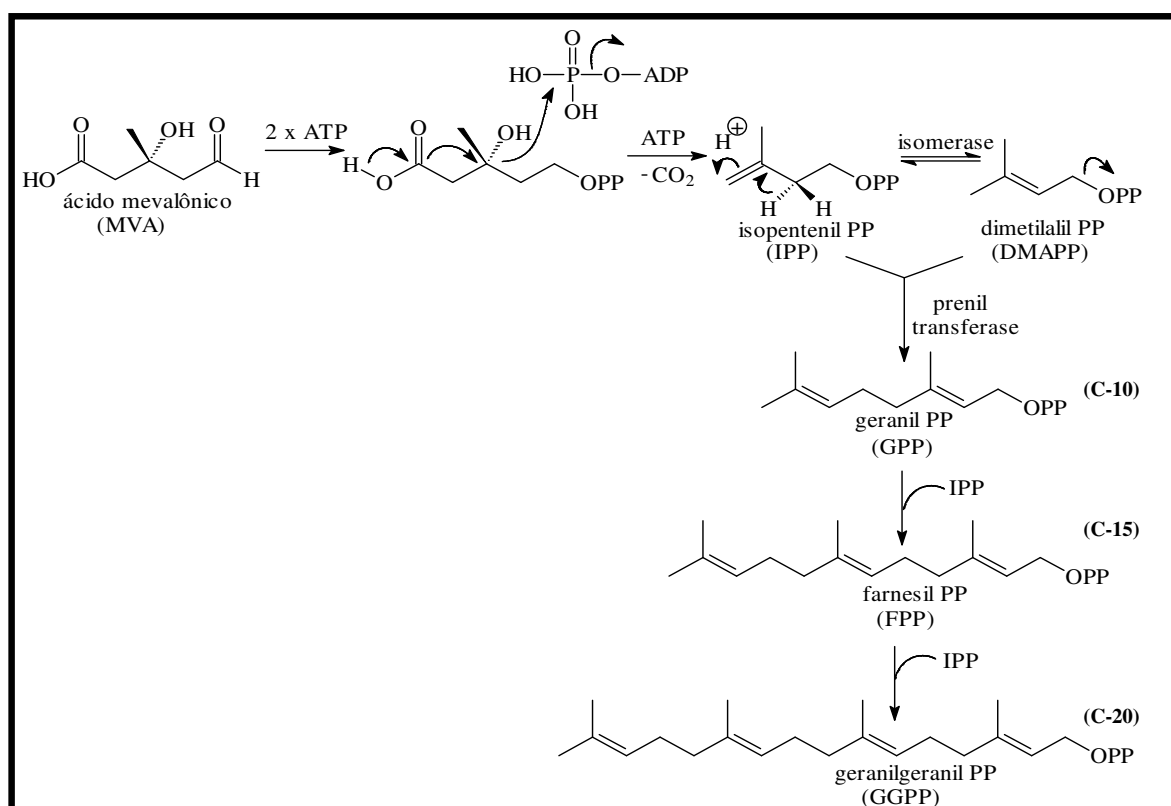


Figura 2: Rota biossintética do ácido mevalônico (DEWICK, 2002; DEY & HARBORNE, 1997).

Os monoterpenos são constituintes freqüentes nos óleos essenciais (cerca de 90% dos óleos voláteis). Outros terpenóides, como os diterpenos, são encontrados apenas em óleos voláteis extraídos com solventes orgânicos. Os sesquiterpenos, em geral, apresentam funções protetoras contra fungos e bactérias, enquanto muitos diterpenóides dão origem aos hormônios de crescimento vegetal. Os triterpenóides e seus derivados, os esteróides, apresentam uma gama de funções. Muitos têm função de proteção contra herbívoros, alguns são antimitóticos, e outros atuam na germinação das sementes e na inibição do crescimento da raiz (HARBORNE & BAXTER, 1995).

Os óleos essenciais em plantas foram considerados por muito tempo como “desperdício fisiológico”, ou mesmo produtores de desintoxicação, como eram vistos os produtos do metabolismo secundário. Atualmente, considera-se a existência de funções ecológicas, especialmente como inibidores da germinação, na proteção contra predadores, na atração de polinizadores, na proteção contra perda de água e aumento da temperatura.

Existem trabalhos demonstrando que a toxicidade de alguns componentes dos óleos voláteis constitui uma proteção contra predadores e infestantes. Os monoterpenos, mentol (**1**) e mentona (**2**), isolado de *Mentha arvensis* (Lamiaceae), por exemplo, são inibidores do crescimento de vários tipos de larvas (SIMÕES *et al.*, 2004).

Alguns sesquiterpenos como o micheliolido (**3**), isolado de *Michelia compressa* (Magnoliaceae) apresentou atividade citotóxica em cultura de células de carcinoma de nasofaringe (OGURA, 1978). O diterpeno, taxol (**4**), isolado de *Taxus brevifolia* (Taxaceae), é uma importante droga com propriedade anticancerígena que age na inibição da mitose (**Figura 3**) (DEWICK, 2002).

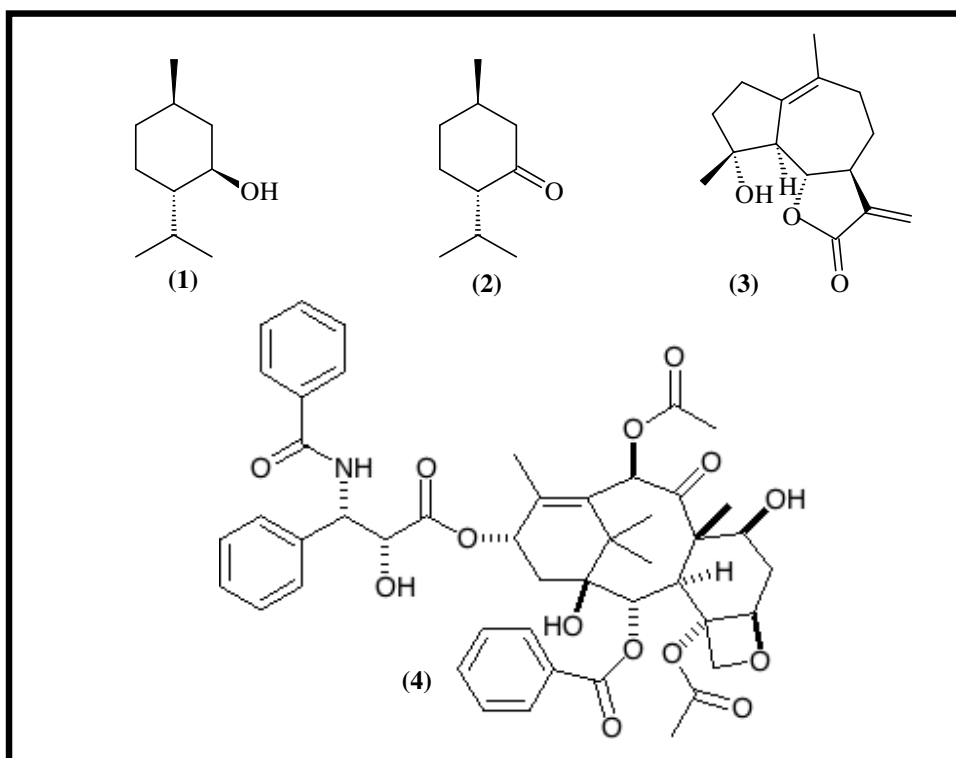


Figura 3: Terpenos com atividade biológica na planta e no homem.

1.1.3 Lignóides

Entre os mais importantes grupos de metabólitos secundários vegetais citam-se tradicionalmente os alcalóides, os terpenóides e os flavonóides, mas recentemente ficou claro que os lignóides também ocupam um lugar de destaque, por estar amplamente distribuído no reino vegetal, apresentando importância não só para as plantas que as produzem, servindo como marcadores do processo evolutivo, como para o homem que as extrai ou sintetiza, fato que já levou a aplicações terapêuticas importantes (GOTTLIEB & YOSHIDA, 1984).

É um grupo com uma grande variação estrutural resultando na grande diversidade de classes encontrados na natureza como lignanas, neolignanas, alolignanas, norlignanas, oligolignóides e heterolignóides, sendo as lignanas e neolignanas as classes mais numerosas.

Os lignóides são micromoléculas cujo esqueleto é formado exclusivamente, ou adicionalmente a outros grupos, pelo grupo fenilpropânico $(C_6.C_3)_n$, sendo n restrito a poucas unidades, 1 a 3.

Sua ocorrência na natureza se limita a plantas vasculares que possuem o tecido enriquecido por ligninas, macromoléculas dotadas de um esqueleto em $(C_6.C_3)_n$, n abrangendo usualmente muitas unidades, de 2 até talvez 5000, que se depositam nas paredes das células vegetais, conferindo a estas notáveis rigidez (GOTTLIEB & YOSHIDA, 1984).

A biossíntese dos lignóides envolve os metabólitos primários finais da via metabólica do chiquimato. O caminho biossintético dos arilpropanóides, precursores primários dos lignóides, desenvolve-se a partir da fenilalanina ou da tirosina, pela via redutora, que envolve a formação de ácidos cinâmicos, aldeídos cinâmicos e álcoois cinâmicos. Se o álcool for convertido a pirofosfato, o éter resultante será altamente susceptível ao ataque nucleofílico, fato conhecido em muitas reduções biológicas. A ação enzimática de NADPH conduziria aos alil e propenil fenóis. Portanto, quatro monômeros estão envolvidos no acoplamento oxidativo do processo biogenético dos lignóides: ácido cinâmico, álcool cinâmico, propenilfenóis e alilfenóis (**Figura 4**).

As lignanas são dímeros formados através do acoplamento oxidativo de álcoois cinâmicos entre si ou destes com ácidos cinâmicos, apresentando o carbono gama (C-9) oxigenado, enquanto que as neolignanas são dímeros oxidativos de alilfenóis e de propenilfenóis, entre si ou cruzados e não apresentam o carbono gama (C-9) oxigenado.

Assim o acoplamento oxidativo entre esses radicais (propenila, alila, cinamoila e cinamila) seguidos da adição de um ou dois íons hidretos, adição de íon hidreto mais hidroxila inter ou intramolecular e ciclização e aromatização, produzem a vários tipos de neolignanas e lignanas. Aspectos configuracionais desempenham um papel de grande importância na química e bioquímica dos lignóides. Com algumas exceções, possuem dois, três, cinco e até mais centros assimétricos. Os grupos arila dos precursores são comumente substituídos por grupos hidroxila, metoxila e metilenodioxo, por exemplo, guaiacila (3-OCH₃, 4-OH), veratril (3,4-OCH₃), piperonila (3,4-O₂CH₂), metóxi-piperonila (3-OCH₃, 4,5-O₂CH₂), siringila (3,5-OCH₃) e tri-metóxi-fenila (3,4,5-OCH₃) (SIMÕES *et al.*, 2004).

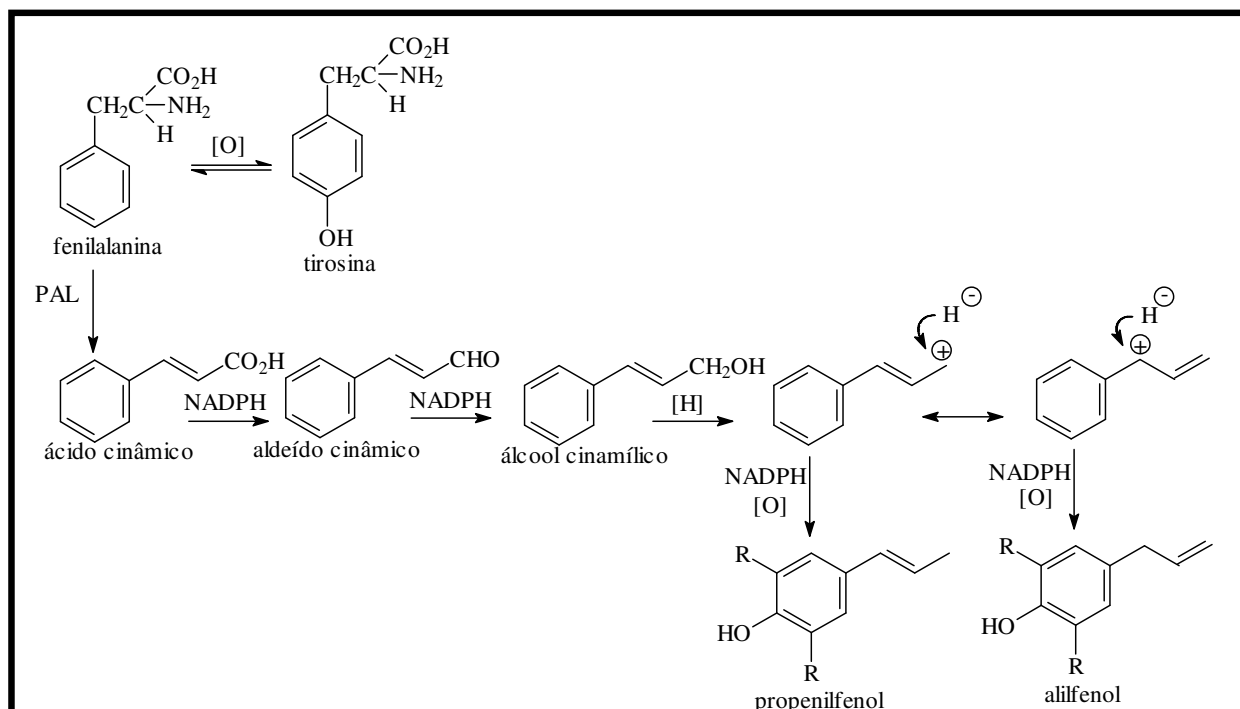


Figura 4: Rota biossintética dos fenilpropanóides (DEWICK, 2002; SIMÕES *et al.*, 2004).

(PAL: enzima fenilalanina amônia liase; NADPH: redução; [H]: redução; [O]: oxidação).

As lignanas foram detectadas em 75 famílias, estando bem representadas em angiospermas e em poucas gimnospermas. Já as neolignanas têm se concentrado em poucos *taxa* morfológicamente aparentados como Magnoliales, Laurales e Piperales.

O elevado número de lignanas e neolignanas distribuídas no reino vegetal leva à suposição de que as propriedades biológicas dessas substâncias sejam essenciais ao desenvolvimento do próprio vegetal e ao controle deste sobre a vida circunjacente. Por isso não é de admirar que também essas substâncias possam ser aproveitadas diretamente pelo homem ou servindo de modelo para a síntese de fármacos.

Com base em fitoquímica comparada, foi mostrado que os lignóides são indicadores do processo evolutivo em angiospermas e desempenham um papel na adaptação ecológica. Há evidências de que esse grupo de substâncias esteja envolvido em interações de plantas com fungos, insetos ou com outras plantas, e também em aplicações farmacológicas. Sabe-se que as neolignanas acumulam em madeiras como resposta a ferimentos mecânicos ou ao ataque de microrganismos e que exibem propriedades de defesa contra insetos, como o efeito

antialimentar induzido pela pipereno (**5**), isolada de *Piper futokadsura* Siebold (Piperaceae), enquanto que no homem algumas neolignanas possuem atividade biológica comprovada, como o magnolol (**6**), que é sedativo e honoquinol (**7**), relaxante muscular, isolados de *Magnolia officinalis*; e magnoshinina (**8**), antiinflamatória, isolada de *Magnolia salicifolia* (GOTTLIEB & YOSHIDA, 1984). Muitas outras neolignanas, algumas com atividade biológica foram isoladas de Magnoliaceae (SONG E FISCHER, 1999). Recentemente as neolignanas do tipo 2,5-diaril-3,4-dimetiltetrahidrofurano (**Figura 8**, pág. 16), isoladas em *Talauma hodgsonii*, mostraram moderada, mas interessante atividade antitumoral e imunomoduladora, provando que este tipo de neolignanas são uma fonte promissora de compostos bioativos (NASCIMENTO *et al.*, 2004). Algumas lignanas também possuem atividade biológica comprovada, como siringaresinol (**9**), com atividade antifúngica, que foi isolada de *Michelia champaca* (Magnoliaceae); e podofilotoxina (**10**), antimetabólico e antineoplásico, isolada de *Podophyllum hexandrum* (Berberidaceae) (**Figura 5**) (MONTEIRO *et al.*, 2007; SIMÕES *et al.*, 2004).

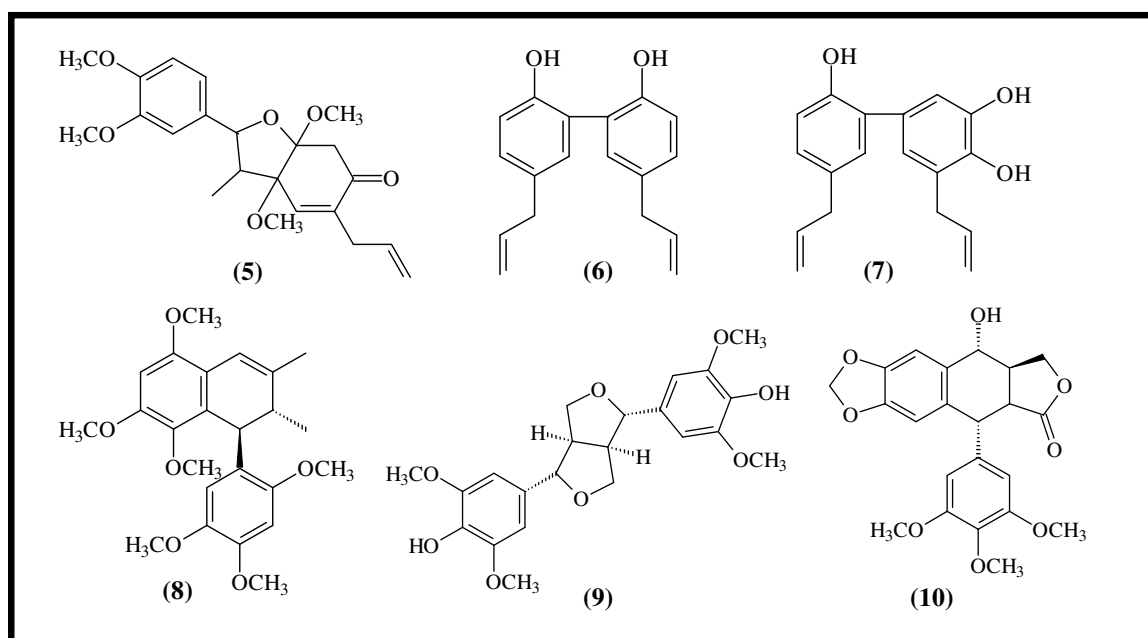


Figura 5: Neolignanas e lignanas com atividade biológica na planta e no homem.

1.2 O gênero *Talauma* Juss

O gênero é constituído por cerca de 50 espécies que vão da Ásia até o Arquipélago Malaio e na América tropical, do sul do México até o Brasil.

Talauma é o único nativo do Brasil, sendo reconhecidas quatro espécies brasileiras: *T. ovata* St. Hil., *T. sellowiana* St.Hil., *T. irwiniana* G.Lozano-C. e *T. amazonica* Ducke (TRNTA & SANTOS, 1996).

A química desse gênero é ainda pouco explorada, com relativamente poucas espécies com algum tipo de estudo químico.

Os primeiros estudos químicos no gênero foram realizados com *T. mexicana*, conhecida como “*yolloxochitl*”. Das flores foram extraídos óleo essencial, o flavonóide quercetina (46), resinas e taninos. Na análise química das sementes e cascas foram encontrados três alcalóides: talaumina, um alcalóide líquido e espesso de cor amarela, de estrutura desconhecida; aztequina (18), um alcalóide do tipo bisbenzilisoquinolínico, cuja proposta de estrutura química foi motivo de controvérsia e até mesmo sua existência permanece em dúvida; liriodenina (16), um aporfínico e tiramina (45), uma monoamina derivada do aminoácido tirosina. Também foram isolados: o esteroide sitosterol (27), a lactona sesquiterpênica costunolido (23), e as substâncias *p*-hidroxibenzofenona (47), ácido trimésico (48) e quercitol (49). Uma revisão dos estudos químicos e farmacológicos conduzidos com esta espécie foi publicada recentemente (BUCAY, 2002).

T. hodgsonii teve dois estudos químicos. O primeiro, realizado com folhas, cascas do tronco e das raízes resultou no isolamento dos alcalóides aporfínicos liriodenina (16) e lanuginosina (17), e das lignanas, sesamina (31), fargesina (32) e o éter dimetílico do pinosinol (33), além de sitosterol (27) (TALAPATRA *et al.*, 1977). Posteriormente, em outro estudo, foram isoladas três neolignanas do tipo 2,5-diaril-3,4-dimetiltetrahydrofurano: galbacina (28), talaumidina (29) e éter metílico da talaumidina (30) (VIEIRA *et al.*, 1998).

T. obovata teve apenas um estudo químico das cascas do tronco, que rendeu os alcalóides aporfínicos asimilobina (11), anolobina (12), xilopina (13) e lanuginosina (17) (PLANTINET *et al.*, 1985).

As cascas do tronco de *T. betongensis* forneceram duas lignanas do tipo tetrahydrofurofuranoide: aschantina (34) e yangambina (35); um alcalóide bisbenzilisoquinolínico: cuspidalina (19) e quatro alcalóides aporfínicos, comuns em

Magnoliaceae: asimilobina (**11**), anolobina (**12**), norushinsunina (**15**) e liriidenina (**16**) (LE RAY *et al.*, 1989).

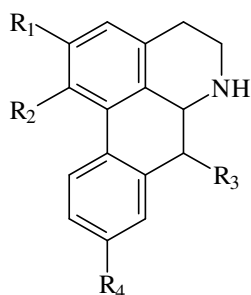
As folhas de *T. gitingensis* forneceram os alcalóides aporfínicos, xilopina (**13**), anonaina (**14**) e liriidenina (**16**) (NONATO *et al.*, 1990).

As espécies *T. giôl* e *T. gloriensis* tiveram apenas estudos de óleo essencial. Em *T. giôl* predominam os terpenos nos óleos essenciais de folhas e tronco e fenilpropanóides nos óleos de cascas e frutos. Os constituintes principais foram cânfora (**21**), β -cariofileno(**22**), elimicina (**50**), metileugenol (**51**) e safrol (**52**) (DUNG *et al.* 1997). O óleo das folhas de *T. gloriensis* é constituído apenas de terpenos, predominando mirceno (**20**) e germacrano D (**24**) (HABER *et al.*, 2008).

Estudos biológicos e farmacológicos foram realizados com algumas dessas plantas. Em *T. mexicana* o efeito cardioativo das folhas foi atribuído aos alcalóides aztequina (**18**) e talaumina (BUCAI, 2002). Em *T. gloriensis* o óleo essencial das folhas mostrou notável toxicidade para o teste de letalidade para artemia, mas foi desprovido de atividade citotóxica e antibacteriana (HABER *et al.*, 2008).

Um estudo *in vitro* com o extrato diclorometânico das folhas de *Talauma hernandezii*, demonstrou uma forte capacidade antioxidante. Este resultado sugere que esta planta pode prevenir ou retardar a formação de radicais relacionados com estresse oxidativo, e talvez ter um importante papel na proteção contra danos de funções de membrana (PUERTAS *et al.*, 2005).

Alcalóides noraporfínicos



(11) $R_1=OH$, $R_2=OCH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$ (*T.betongensis*, *T.obovata*)

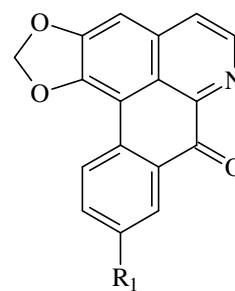
(12) $R_1=R_2=OCH_2O$, $R_3=H$, $R_4=OH$ (*T.betongensis*, *T.obovata*, *T.ovata*)

(13) $R_1=R_2=OCH_2O$, $R_3=H$, $R_4=OCH_3$ (*T.obovata*, *T.gitingensis*, *T.ovata*)

(14) $R_1=R_2=OCH_2O$, $R_3=R_4=H$ (*T.gitingensis*)

(15) $R_1=R_2=OCH_2O$, $R_3=OH$, $R_4=H$ (*T.betongensis*)

Alcalóides oxaporfínicos



(16) $R_1=H$ (*T.betongensis*, *T.mexicana*,
T.hodgsonii, *T.gitingensis*)

(17) $R_1=OCH_3$ (*T.obovata*, *T.hodgsonii*)

Alcalóides bisbenzilisoquinolínicos

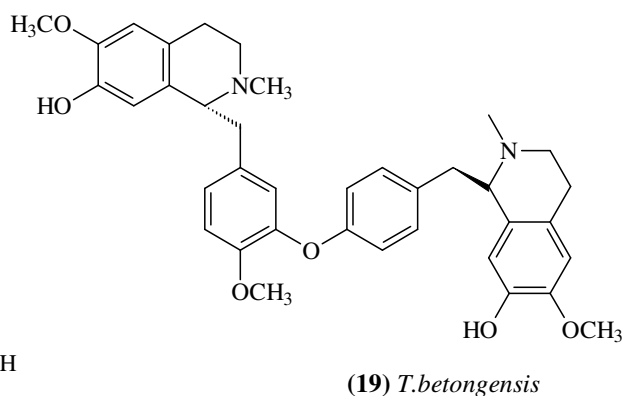
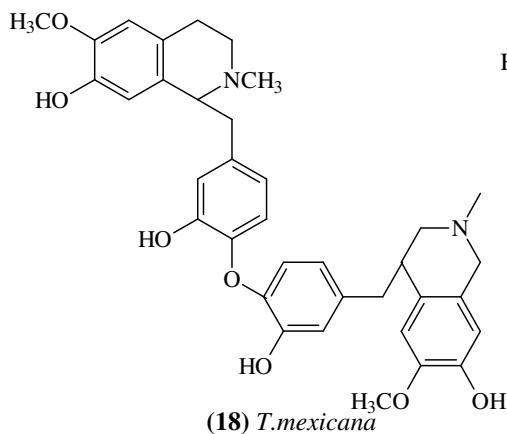


Figura 6: Alcalóides aislados de *Talauma* spp.

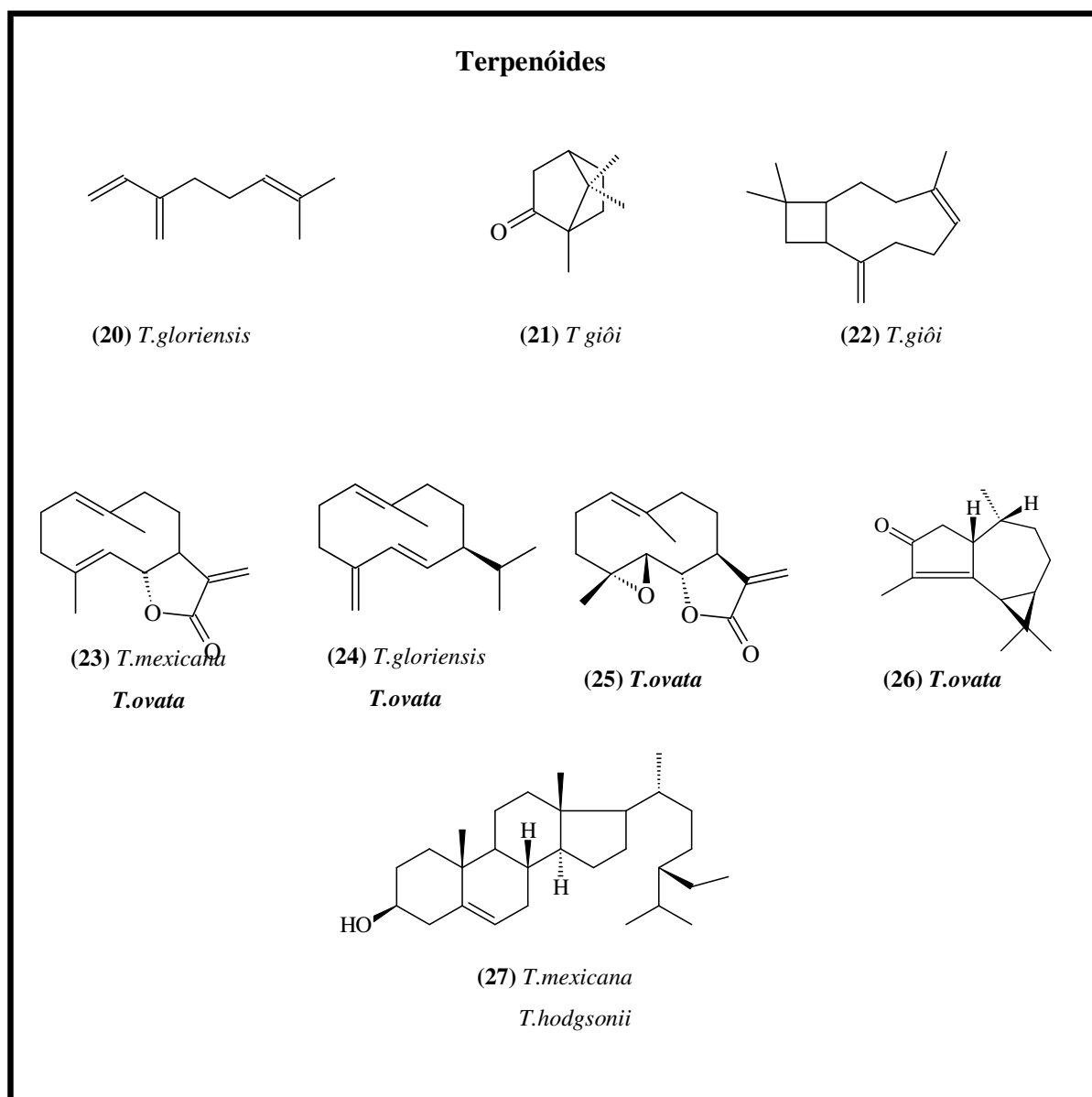
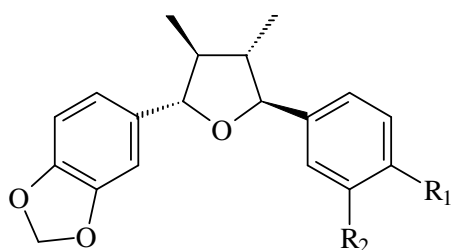


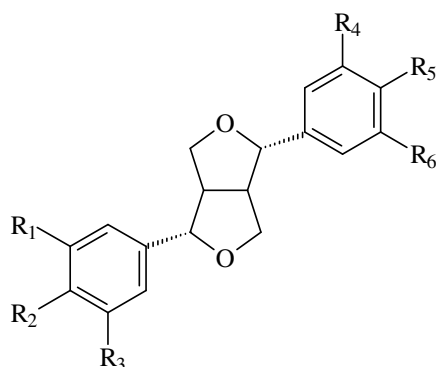
Figura 7: Terpenóides isolados de *Talauma* spp.

**Neolignan
Diarildimetiltetrahydrofurano (8.8',7.O.7')**



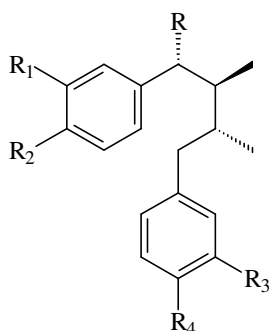
- (28) $R_1=R_2=OCH_2O$ (*T.hodgsonii*)
 (29) $R_1=OH, R_2=OCH_3$ (*T.hodgsonii*)
 (30) $R_1=OCH_3, R_2=OCH_3$ (*T.hodgsonii*)

**Lignan
Tetrahydrofurofurano (8.8',9.O.7',7.O.9')**



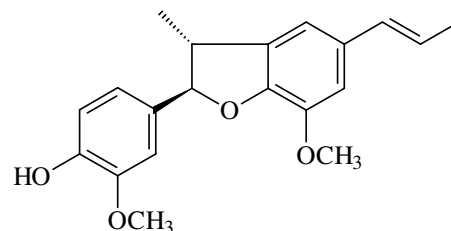
- (31) $R_1=R_2=R_5=R_6=OCH_2O, R_3=R_4=H$ (*T.hodgsonii*)
 (32) $R_1=R_2=OCH_3, R_5=R_6=OCH_2O, R_3=R_4=H$ (*T.hodgsonii*)
 (33) $R_1=R_2=R_5=R_6=OCH_3, R_3=R_4=H$ (*T.hodgsonii*)
 (34) $R_1=R_2=OCH_2O, R_3=H, R_4=R_5=R_6=OCH_3$ (*T.betongensis*)
 (35) $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=R_6=OCH_3$ (*T.betongensis*)

**Neolignan
Diarildimetilbutano (8.8')**



- (36) $R = H; R_1 = R_3 = OCH_3; R_2 = R_4 = OH$ (*T.ovata*)
 (37) $R = H; R_1 = R_2 = OCH_2O; R_3 = OCH_3; R_4 = OH$ (*T.ovata*)
 (38) $R = H; R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = OCH_2O$ (*T.ovata*)
 (39) $R = OH; R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = OCH_2O$ (*T.ovata*)
 (40) $R = R_4 = OH; R_1 = R_2 = OCH_2O; R_3 = OCH_3$ (*T.ovata*)
 (41) $R = OAc; R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = OCH_2O$ (*T.ovata*)
 (42) $R = OAc; R_1 = R_2 = OCH_2O; R_3 = OCH_3; R_4 = OH$ (*T.ovata*)
 (43) $R = OAc; R_1 = R_2 = R_3 = OCH_3; R_4 = OH$ (*T.ovata*)

**Neolignana
Benzofuranica (7.O.4', 8.5')**



(44) *T.ovata*

Figura 8: Lignóides isolados de *Talauma* spp.

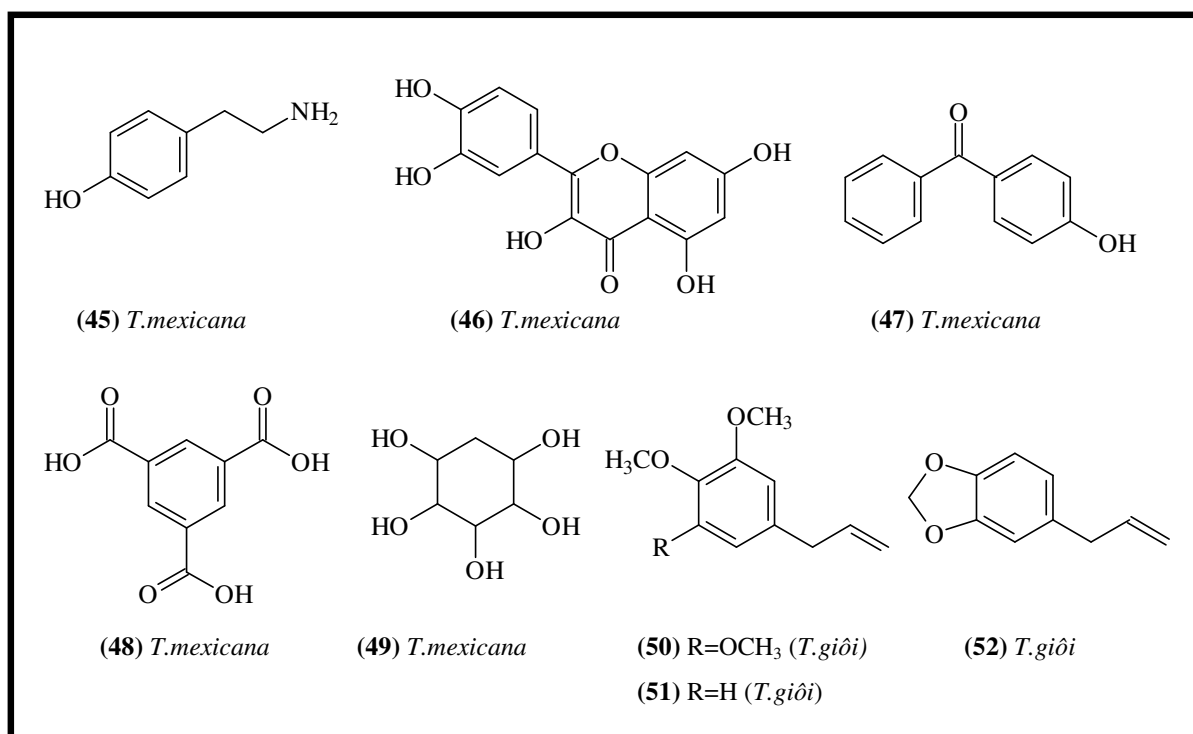


Figura 9: Substâncias de outras classes isoladas de *Talauma* spp.

1.3 *Talauma ovata* A. St. Hil.

T. ovata é uma espécie brasileira, que dentro do gênero *Talauma* é a que possui maior dispersão, ocorrendo em todo o centro-sul do Brasil, nas florestas do Sudeste e Sul, acompanhando o litoral até o Rio Grande do Sul e na região dos cerrados perto de rios, onde habita as florestas de galeria até o norte de Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (TRINTA & SANTOS, 1996; LOZANO-CONTRERAS, 1990).

É uma árvore de grande porte de tronco retilíneo, que atinge 20-30 m de altura, 60-90 cm de diâmetro (**Figura 10A**) com ramificações cimosas, grossas, tortuosas, com copa ampla e densifoliada. Folhas de 25-30 cm de comprimento, com lâminas coriáceas, ovadas, largamente elípticas ou obovado-arredondadas, ápice obtuso até agudo, fortemente reticuladas e longamente pecioladas até 6,5 cm de comprimento (**Figura 10B**). Produz flores grandes,

terminais, solitárias, hermafroditas, brancas e aromáticas durante os meses de outubro até meados de dezembro, que são polinizadas por besouros dinastídeos do gênero *Augoderia* (**Figura 10B**). A maturação dos frutos ocorre entre agosto e setembro. Os frutos são grandes e lenhosos, semelhantes a uma pinha (**Figura 10C**). Quando maduros se abrem, expondo as sementes vermelhas, que são consumidas e dispersadas por pássaros, principalmente sabiás. Devido à forma do fruto e a preferência por áreas alagadiças na beira de rios (matas ciliares), essa planta recebeu o nome popular de pinha-do-brejo, mas também é conhecida como baguaçu (LORENZI, 2002). As folhas são empregadas na medicina popular para o tratamento de diabetes e a casca do tronco é considerada febrífuga (MORS *et al.*, 2000).

A árvore apresenta características ornamentais que o recomendam para o paisagismo em geral. Como planta pioneira adaptada a terrenos brejosos, é ótima para reflorestamentos mistos em áreas ciliares degradadas destinados à recomposição da vegetação. Suas sementes oleaginosas, com teor de até 40%, poderia ser utilizado como lubrificante ou combustível. Sua madeira tem diversas finalidades, entre elas o emprego na indústria da caixotaria pequena para perfumes, brinquedos, espulas, forros, obras internas de carpintaria, lambril, caixão-de-defunto, embalagens e caixotaria em geral (TRINTA & SANTOS, 1996; LORENZI, 2002).



(A)



(B)



(C)

Figura 10 – (A) Foto da árvore. (B) Foto da folha e flor. (C) Foto do fruto e semente de *Talauma ovata*.

Os estudos fitoquímicos já realizados mostraram que a química desta espécie é bastante diversificada. O primeiro trabalho publicado foi realizado por pesquisadores americanos, que isolaram o costunolido (**23**) a partir das raízes (HOFFMAN *et al.*, 1977).

Posteriormente as folhas também foram analisadas. A partir de um exemplar do estado de São Paulo foram isoladas as lactonas sesquiterpênicas costunolido (**23**) e partenolido (**25**) e as neolignanas oleiferina-C (**39**) e licarina-A (**44**) (TOMA, 1988).

Um estudo químico realizado com as cascas do tronco levou ao isolamento de treze substâncias, pertencentes a três classes diferentes: dois alcalóides aporfínicos, anolobina (**12**) e xilopina (**13**); três sesquiterpenos, costunolido (**23**), partenolido (**25**) e ciclocoloronona (**26**); oito neolignanas do tipo diarildimetilbutano, ác.dihidroguaiarético (**36**), austrobailignana-6 (**37**), austrobailignana-5 (**38**), oleiferina-C (**39**) e oleiferina-F (**40**), acetil-oleiferina-C (**41**), acetil-oleiferina-F (**42**) e acetil-oleiferina-G (**43**) (STEFANELLO *et al.*, 1997; 2002). Além disso, foi demonstrado que nas cascas do tronco a presença predominante de sesquiterpenos ou neolignanas estava relacionada ao local de crescimento da planta. Plantas crescendo ao norte do Rio Grande, em Minas Gerais, acumulam neolignanas enquanto as plantas que crescem ao sul acumulam sesquiterpenos, esses dois quimiotipos podem ter se desenvolvido devido ao isolamento geográfico das populações. (STEFANELLO *et al.*, 2005).

Os constituintes voláteis dos frutos foram estudados pelo método de aeração, e o constituinte principal foi identificado como naftaleno (STEFANELLO & MELLO-SILVA, 2005). Vários sesquiterpenos não oxigenados também estavam presentes como constituintes minoritários, entre eles o germacrano D (**24**), que também foi encontrado no óleo essencial das folhas de *T. gloriensis*.

Alguns estudos farmacológicos também foram realizados com *T. ovata*. O primeiro estudo foi com o extrato em éter de petróleo das raízes, que mostrou atividade citotóxica *in vitro*. A atividade foi atribuída à presença de costunolido (**23**) (HOFFMANN *et al.*, 1977).

O extrato etanólico das folhas também foi avaliado quanto a sua atividade antidiabética. Essa atividade não foi comprovada, mas os extratos das folhas mostraram elevada toxidez relacionada com a presença de alcalóides e saponinas. Entretanto os compostos não foram isolados e identificados (MORATO *et al.*, 1989). É possível que a indicação popular para o tratamento de diabetes seja um engano causado por um dos nomes populares atribuídos a *T. ovata* (bagaçu). Algumas espécies de Myrtaceae (*Syzygium cumini* (L.) Skeels e *Eugenia umbelliflora* Berg) também são conhecidas como bagaçu e são

freqüentemente usadas na medicina popular como hipoglicemiantes (TRINTA & SANTOS, 1996).

O óleo essencial extraído das folhas apresentou atividade tóxica para os leucócitos e atividade antimicrobiana para *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (APEL *et al.*, 2006).

O extrato hexânico dos galhos de *T. ovata* apresentou uma atividade moderada contra *Rhodnis milesi*, que é um dos vetores na transmissão da doença de Chagas (COELHO *et al.*, 2006).

2. OBJETIVOS

Realizar o estudo fitoquímico e avaliar as atividades antimicrobiana e antioxidante das folhas de um exemplar de *T. ovata* do estado de São Paulo, a fim de contribuir para ampliar o conhecimento da química e das propriedades farmacológicas desta espécie.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Procedimentos gerais

Nas separações por cromatografia clássica em coluna (CC) utilizou-se Sílica-gel 7734 da Merck ou similar. A proporção de sílica utilizada para empacotar a coluna foi de aproximadamente 20 vezes a massa da amostra a ser purificada.

Para a cromatografia em camada delgada, placas cromatográficas foram preparadas espalhando-se uma suspensão de sílica-gel em água destilada sobre placas de vidro, usando-se um espalhador do tipo Quickft. Nas placas de cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) foi usada a espessura de 0,25 mm e nas preparativas (CCDP), 1,00 mm de espessura. A Sílica-gel utilizada foi 7747 (60PF 254).

As placas foram reveladas sob luz ultravioleta nos comprimentos de onda 254 e 366 nm e solução de ácido sulfúrico em etanol a 5% (revelador universal) seguida por aquecimento (HARBONE, 1998).

Foram usados solventes PA da marca Synth, tanto para a eluição como para a purificação dos compostos. Os solventes foram evaporados sob pressão reduzida, usando-se evaporador rotativo.

As frações obtidas de colunas foram agrupadas por semelhança após análise por CCDC. O critério de pureza adotado foi o aparecimento de uma única mancha quando a substância era submetida a CCDC em três diferentes sistemas de solventes.

As substâncias isoladas foram identificadas através de técnicas espectrométricas (RMN de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, HSQC, HMBC, UV e IV) bem como comparação com dados da literatura.

Os espectros de RMN de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtidos foram registrados em um espectrômetro Brucker, operando a 200 MHz e a 400 MHz para hidrogênio e 100MHz e a 50 MHz para carbono. O HSQC e HMBC foram registrados no aparelho operando a 400 MHz. Foi usado aproximadamente 0,5 mL de clorofórmio deuterado como solvente e tetrametilsilano (TMS) como referência interna ($\delta = 0$ ppm) e ajuste da homogeneidade do campo magnético. Os deslocamentos químicos estão expressos em ppm (δ) e são dados em relação ao TMS. As constantes de acoplamento (J) foram medidas em Hertz (Hz).

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em pastilhas de Brometo de Potássio (KBr), em um espectrômetro Ftir Biorad (632,8 nm). As amostras foram previamente dissolvidas em diclorometano e transferidas torno de 2 a 3 gotas para aproximadamente 150,0 mg de Brometo de Potássio (KBr), a mistura foi macerada em um gral e transferido para o empastilhador, para ser confeccionado a pastilha.

Os espectros na região ultravioleta foram registrados em espectrômetro Hewlett Packard (HP) usando-se como solvente metanol.

As medidas de rotação específica foram realizadas em polarímetro Rudolph Research, modelo Autopol III com lâmpada de sódio (589 nm) e clorofórmio como solvente, à temperatura de 20°C. Os valores de rotação específica foram calculados utilizando-se a seguinte fórmula

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\text{rotação observada em graus} \times 100}{\text{comprimento da cubeta (dm)} \times \text{concentração g/100mL}}$$

Os pontos de fusão foram determinados no aparelho Koffler, de Reicheirt (Áustria).

A medida da absorbância dos ensaios para avaliação da atividade antioxidante foram feitas em um espectrofotômetro com leitor de ELISA da marca Biotek, modelo μ Quanti em um comprimento de onda (λ) 517 nm.

3.2 Estudo Fitoquímico

3.2.1 Coleta e identificação do material botânico

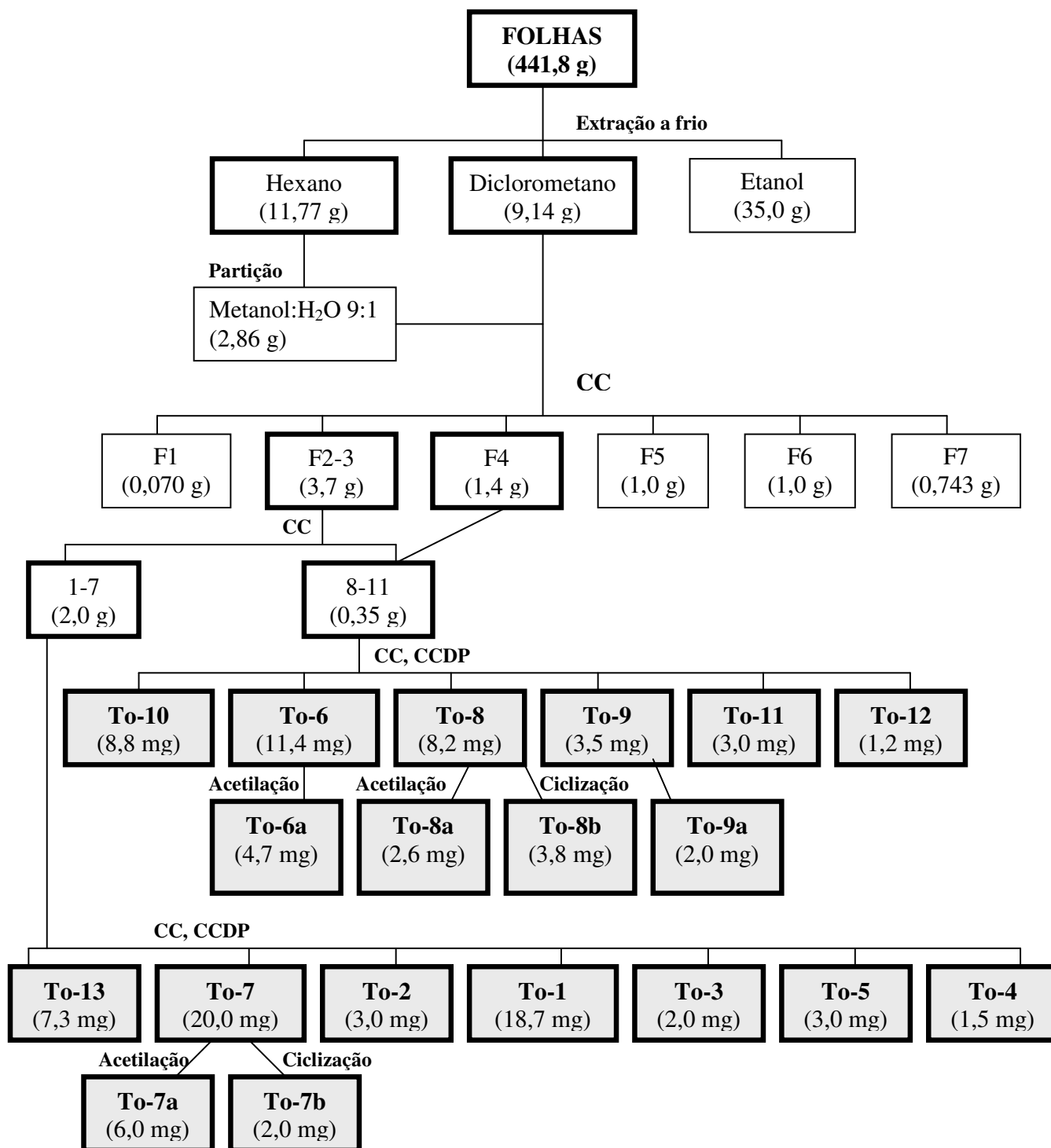
As folhas de um exemplar de *Talauma ovata* foram coletadas em janeiro/2003, cultivado no Bosque da Biologia da USP, São Paulo. A planta foi identificada pelo botânico Dr. Renato Mello-Silva. Uma excisata foi depositada no herbário da USP (UPCB 1820).

3.2.2 Obtenção dos extratos

O material fresco foi secado em estufa a 40°C e moído. As folhas (442,0 g), foram extraídas, com solventes em ordem crescente de polaridade: hexano, diclorometano e etanol. A extração foi sucessiva e a frio. Os extratos resultantes foram filtrados e concentrados em evaporador rotativo, obtendo-se os seguintes extratos: extrato das folhas em hexano (11,8 g), extrato das folhas em diclorometano (9,1 g) e extrato das folhas em etanol (35,0 g). A análise comparativa por CCDC dos três extratos (hexano, diclorometano e etanol), mostrou que os extratos em hexano e diclorometano eram mais ricos em substâncias e apresentavam semelhanças em sua composição, sendo, portanto os extratos escolhidos para a análise.

3.2.3 Fracionamento dos extratos em hexano e diclorometano

O extrato em hexano das folhas, foi redissolvido em hexano e submetido à partição com metanol:água 9:1. A fração hidroalcolica (2,9 g) foi reunida ao extrato em diclorometano, rendendo 12,0 g de material, que foi submetido a uma coluna rápida principal, eluída com éter de petróleo puro, éter de petróleo: acetato de etila nas proporções de 9:1, 8:2, 7:3, 1:1, acetato de etila puro e finalmente metanol puro. Foram recolhidas 7 frações, agrupadas em seis (F1, F2-3, F4, F5, F6 e F7) após análise por CCDC e reveladas sob luz ultravioleta e solução de ácido sulfúrico em etanol a 5% seguida de aquecimento. As frações F2-3 (3,7 g) e F4 (1,4 g) foram trabalhadas, enquanto que as frações F1 (0,070 g), F5 (1,0 g), F6 (1,0 g) e F7 (0,743 g) continham apenas substâncias alifáticas de cadeia longa e foram desprezadas (**Esquema 1**).



Esquema 1 – Fracionamento dos extratos em hexano e diclorometano

3.2.4 Análise detalhada do fracionamento das frações F2-3 e F4

A fração F2-3 (3,7 g) foi cromatografada em coluna de sílica-gel (70,0 g) eluída com éter de petróleo:acetato de etila nas proporções de 7:3 e 1:1 (v/v). Foram recolhidas 34 subfrações agrupadas em três (**1-7**, **8-11** e 12-34).

A subfração 1-7 (2,0 g) foi cromatografada em coluna de sílica-gel (40,0 g) eluída com hexano:acetato de etila nas proporções de 9:1, 8:2 e 7:3 (v/v). Foram recolhidas 41 subfrações agrupadas em sete (1-4, **5-10**, **11-15**, 16, **17-18**, **19-22** e 23-41).

As subfrações 5-10 e 11-15 continham a mesma substância impura. Escolheu-se para trabalhar a subfração 5-10 (65,0 mg), que por CCDP eluída com hexano:acetato de etila 1:0,1. Obteve-se 7,3 mg da substância **To-13** (**Esquema 2**).

A subfração 17-18 (408,0 mg) foi cromatografada em coluna de sílica-gel (8,2 g) eluída com hexano:acetato de etila 4,5:1,0 (v/v). Foram recolhidas 19 subfrações agrupadas em três (1-5, **6-13** e 14-19). A subfração 6-13 (217,0 mg) foi cromatografada em coluna de sílica-gel (4,3 g) eluída com diclorometano:acetato de etila 5:0,1 (v/v). Foram recolhidas 17 subfrações agrupadas em três (1-2, **3-5** e 6-17). A subfração 3-5 (36,0 mg) foi submetida a uma CCDP eluída com hexano:acetona 8:2 (v/v), obtendo-se 20,0 mg da substância **To-7**. Foi feita uma reação de acetilação com 12,0 mg de To-7, obtendo-se 6,0 mg da substância **To-7a** e uma reação de ciclização com 8,0 mg de To-7, obtendo-se 2,0 mg da substância **To-7b** (**Esquema 3**).

A subfração 19-22 (562,0 mg) foi cromatografada em coluna de sílica-gel (11,2 g) eluída com diclorometano:acetato de etila 5:0,5 (v/v). Foram recolhidas 54 subfrações agrupadas em quatro (1-2, **3-9**, **10-17** e 18-54). A subfração 3-9 (110,0 mg) foi submetida a uma CCDP eluída três vezes sucessivas com diclorometano puro, obtendo-se 10,0 mg de **To-2** e 19,0 mg de **To-1** (**Esquema 4**). A subfração 10-17 (94,0 mg) foi cromatografada em coluna de sílica-gel (1,9 g) eluída com hexano:acetona 8:2 (v/v). Foram recolhidas 19 subfrações agrupadas em cinco (1-4, **5-8**, 9, **10-12**, 19). As subfrações 5-8 (17,0 mg) e 10-12 (6,0 mg) foram submetidas a CCDP eluída com hexano:acetona 8:2 (v/v), obtendo-se 2,0 mg de **To-3**, 3,0mg de **To-5** e 1,5 mg de **To-4** (**Esquema 5**).

A subfração 8-11 (0,35 g), vinda da fração F2-3, foi agrupada com a fração F4 (1,4 g) da coluna principal, rendendo 1,75 g de material, que foi cromatografada em coluna de sílica-

gel (35,0 g) eluida com hexano:acetona nas proporções de 8:2 e 7:3 (v/v). Foram recolhidas 55 subfrações agrupadas em cinco (1-5, **6-9**, **10-13**, **14-21** e 22-55).

A subfração 6-9 (128,0 mg) foi cromatografada em coluna de sílica-gel (2,6 g) eluida com diclorometano:acetona 9,8:0,2 (v/v). Foram recolhidas 73 subfrações agrupadas em quatro (1-14, **15-24**, **25-45**, 46-73). As subfrações 15-24 (42,0 mg) e 25-45 (20,0 mg) continham as mesmas substâncias que por CCDP foram eluidas com hexano:acetato de etila:metanol 8:2:1 (v/v), obtendo-se 8,8 mg de **To-10**, 11,4 mg de **To-6** e 8,2 mg de **To-8** (**Esquema 6**). Com 10,0 mg de To-6 foi feita uma reação de acetilação, obtendo-se 4,7 mg de **To-6a**. Com 3,7 mg de To-8 foi feita uma reação de acetilação, obtendo-se 2,6 mg de **To-8a** e com 4,5 mg de To-8 foi feita uma reação de ciclização, obtendo-se 3,8 mg de **To-8b**.

A subfração 10-13 (16,0 mg) foi submetida a uma CCDP eluida com éter etílico:éter de petróleo 3:2 (v/v), gerando 8 manchas (A, B, C, D, E, F, G, H). A mancha E continha 3,5 mg de **To-9** impura. Na espera para a realização dos experimentos HSQC e HMBC To-9 ciclizou espontaneamente no tubo. Foi feita uma CCDP eluida com hexano:diclorometano:metanol 5:5:0,5 (v/v), para purificá-la, obtendo 1,0 mg de **To-9a** (**Esquema 7**).

A subfração 14-21 (81,0 mg) foi submetida a uma CCDP eluida com hexano:acetona 8:2 (v/v), obtendo-se 3,0 mg de **To-11** e 1,2 mg de **To-12** (**Esquema 8**).

3.2.5 Transformações químicas

Acetilação com anidrido acético e piridina (**To-6**, **To-7** e **To-8**)

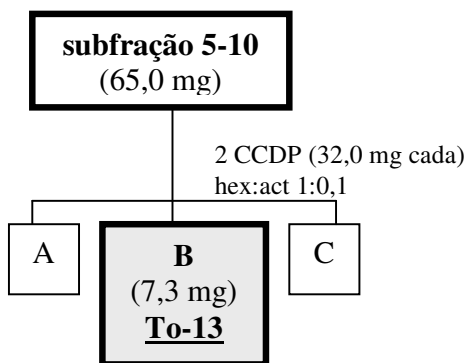
Os compostos **To-6** (10,0 mg), **To-7** (12,0 mg) e **To-8** (3,7 mg) foram dissolvidos, separadamente, em 0,1 mL de piridina e 1,0 mL de anidrido acético. O frasco foi fechado e deixado em repouso, a temperatura ambiente, por 24 horas. Após esse tempo foi adicionado 5 mL de uma solução aquosa de ácido clorídrico a 5% e a mistura extraída com diclorometano (3 vezes 5 mL). A fase aquosa foi desprezada. A fase orgânica foi lavada com água destilada (3 vezes 5 mL) e secada com sulfato de sódio anidro. A evaporação do solvente forneceu os produtos acetilados: **To-6a** (4,7 mg), **To-7a** (6,0 mg) e **To-8a** (2,6 mg).

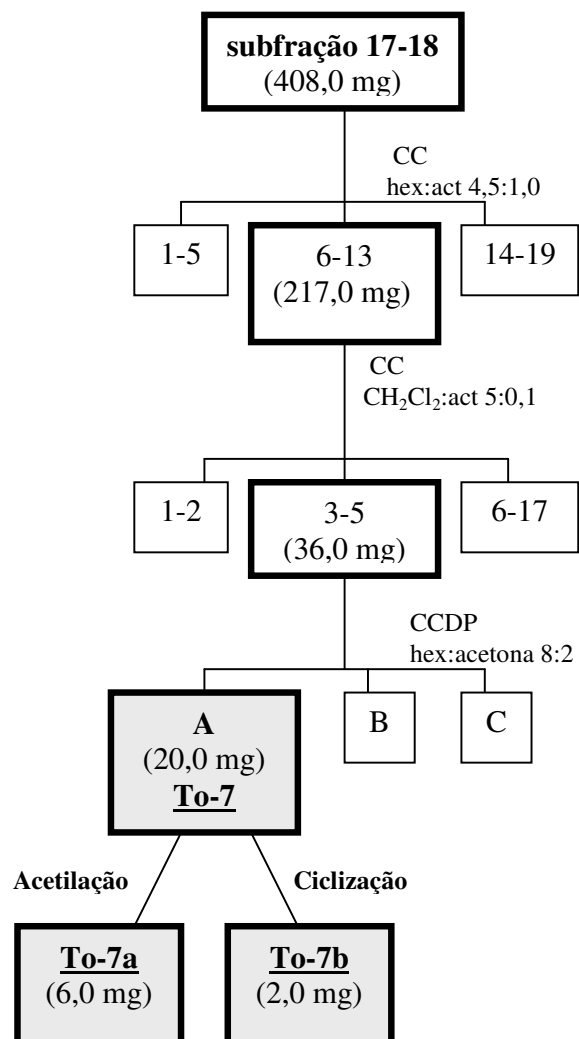
Ciclização em meio ácido (To-7 e To-8)

Os compostos To-7 (8,0 mg) e To-8 (4,5 mg) foram dissolvidos em cerca de 2,0 mL de diclorometano. O catalisador, ácido *p*-toluenosulfônico (0,5 mg) foi dissolvido no menor volume possível de diclorometano e adicionado à solução da amostra. A mistura reacional foi deixada em repouso à temperatura ambiente. Após duas horas foi verificado através de cromatografia em camada delgada que a reação havia se completado. Foi então adicionado 2,0 mL de uma solução de bicarbonato de sódio a 20% e a mistura extraída com diclorometano. A fase aquosa foi desprezada. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro. A evaporação do solvente forneceu os produtos ciclizados: To-7b (2,0 mg) e To-8b (3,8 mg).

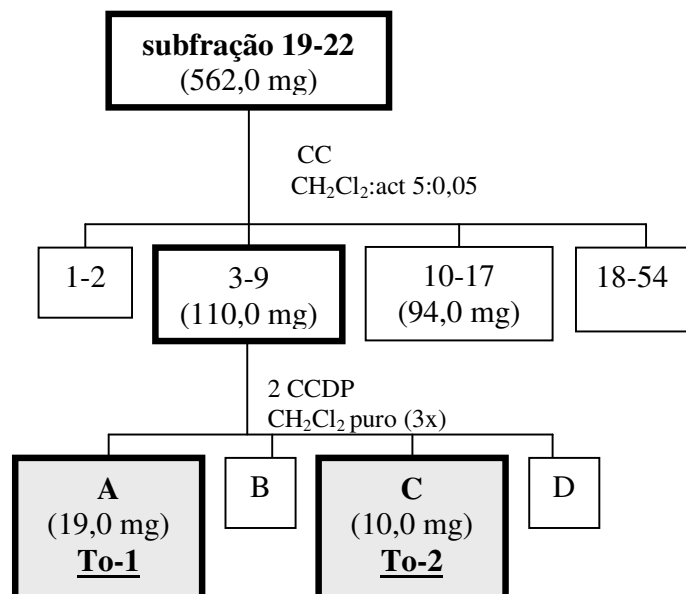
Os esquemas a seguir correspondem às purificações por CC e/ou CCDP, resultando no isolamento das substâncias cujas subfrações destacadas é o produto natural isolado ou o derivado.

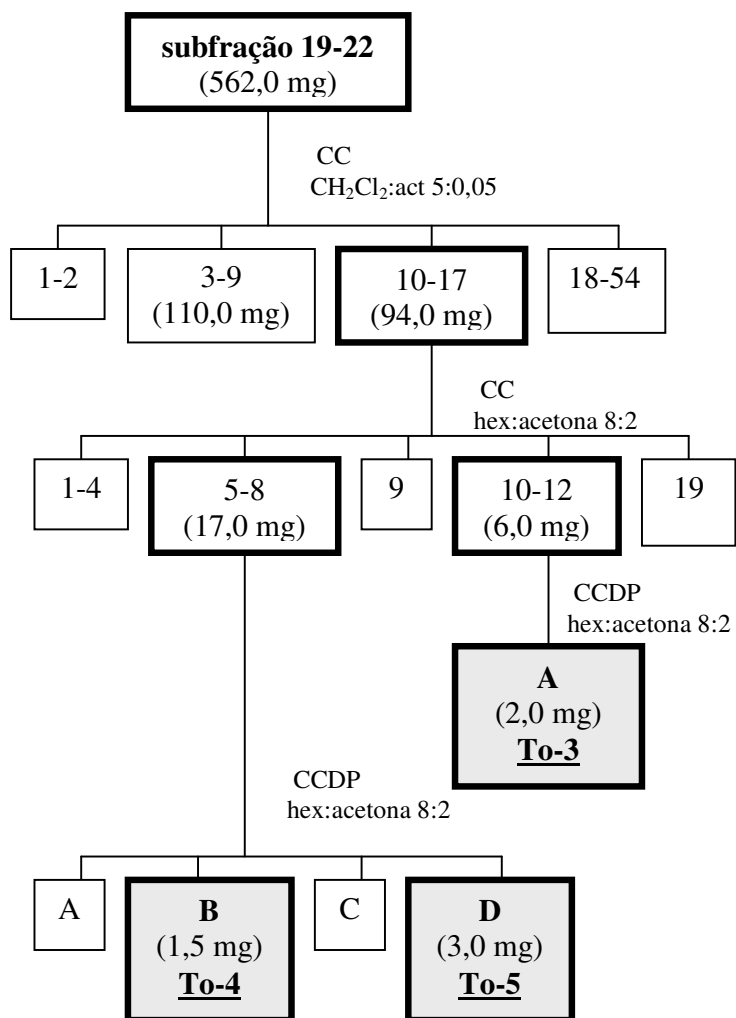
Esquema 2 – Obtenção da substância To-13 a partir da subfração 5-10



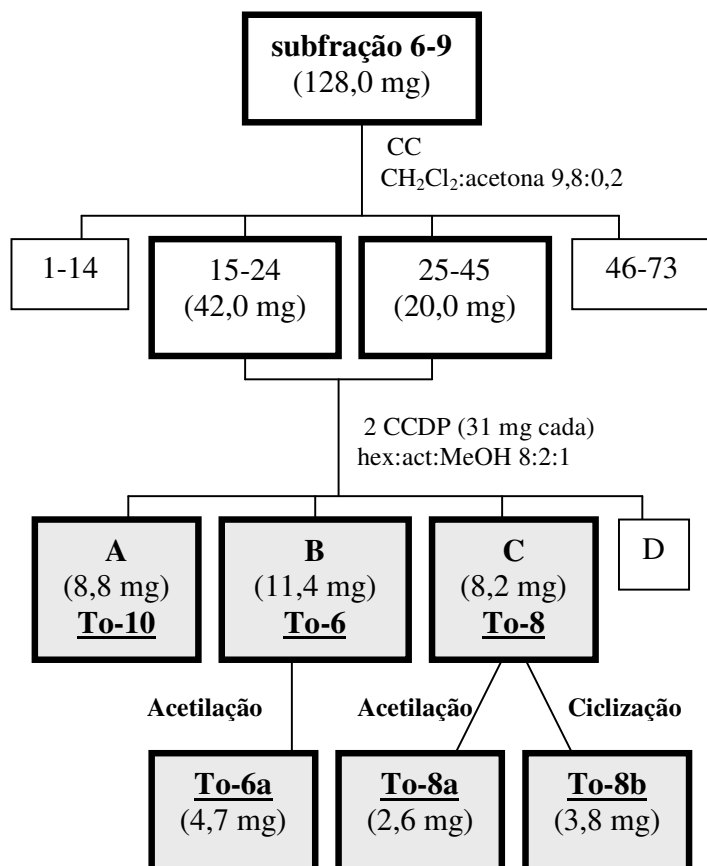
Esquema 3 – Obtenção das substâncias To-7, To-7a e To-7b a partir da subfração 17-18

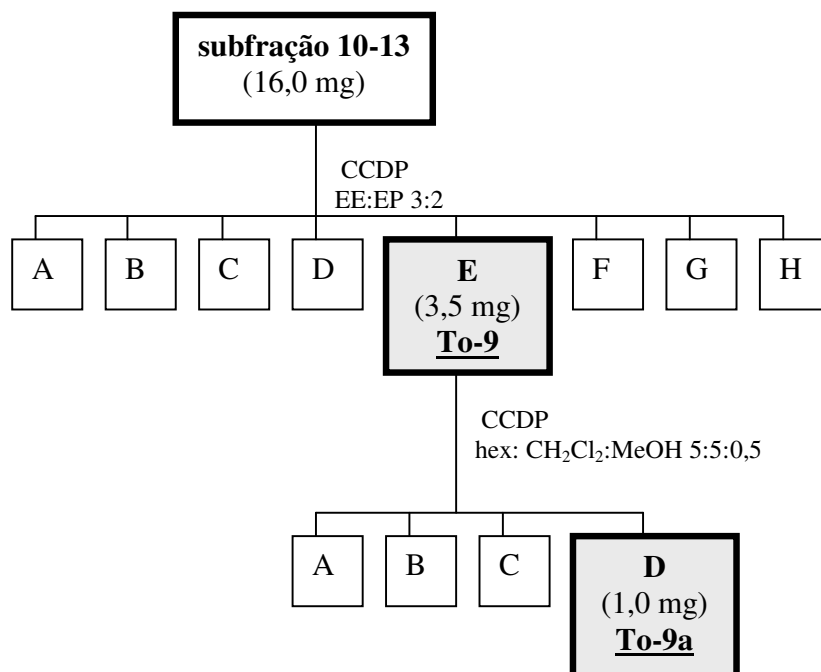
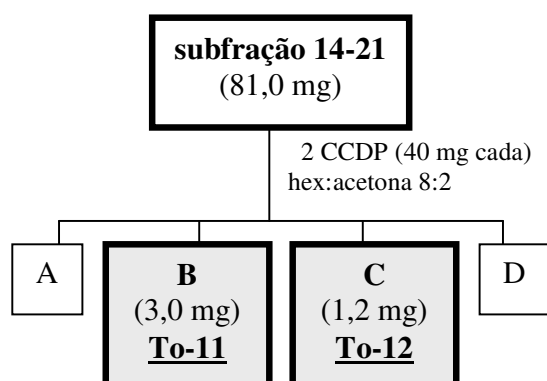
Esquema 4 – Obtenção das substâncias To-1 e To-2 a partir da subfração 19-22



Esquema 5 – Obtenção das substâncias To-3, To-4 e To-5 a partir da subfração 19-22

Esquema 6 – Obtenção das substâncias To-6, To-6a, To-8, To-8a, To-8b e To-10 a partir da subfração 6-9



Esquema 7 – Obtenção das substâncias To-9 e To-9a a partir da subfração 10-13**Esquema 8 – Obtenção das substâncias To-11 e To-12 a partir da subfração 14-21**

3.3 Dados físicos e espectrométricos das substâncias isoladas e derivados

To-1

(+)-**licarina-A**: óleo amarelo; massa molecular: 326,15186 (C₂₀H₂₂O₄)

[α]_D²⁰ = +47,68 (C=0,95 g.mL⁻¹; CHCl₃); Lit.: +43,5 (Nascimento *et al.*, 2000)

RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC: **Tabela 1** pág. 41; **E1-4** pág. 42-43

To-2

(+)-**acuminatina**: óleo amarelo; massa molecular: 340,16752 (C₂₁H₂₄O₄)

[α]_D²⁰ = +25,55 (C=0,45 g.mL⁻¹; CHCl₃); Lit.: +8,5 (Nascimento *et al.*, 1999)

RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC: **Tabela 2** pág. 46; **E5-8** pág. 47-48

To-3

(+)-**aldeído derivado da licarina-A**: óleo amarelo; massa molecular: 314,11544 (C₁₈H₁₈O₅)

[α]_D²⁰ = +30,0 (C=0,1 g.mL⁻¹; CHCl₃); Lit.: +28,6 (Nascimento *et al.*, 1999)

RMN de ¹H, HSQC, HMBC: **Tabela 3** pág. 50; **E9-11** pág. 51-52

To-4

(+)-**kadsurenina-M**: óleo amarelo; massa molecular: 328,1311(C₁₉H₂₀O₅)

[α]_D²⁰ = +14,0 (C=0,05 g.mL⁻¹; CHCl₃); Lit.: +25,1 (Nascimento *et al.*, 1999; 2000)

RMN de ¹H: **Tabela 3** pág. 50; **E12** pág. 52

To-5

(+)-**oleiferina-C**: óleo amarelo; massa molecular: 342,14676 (C₂₀H₂₂O₅)

[α]_D²⁰ = +6,0 (C=0,05 g.mL⁻¹; CHCl₃); Literatura: +44,0 (Fernandes *et al.*, 1993)

RMN de ¹H, HSQC, HMBC: **Tabela 4** pág. 55; **E13-15** pág. 56-57

To-6

(+)-oleiferina-A: óleo amarelo; massa molecular: 358,17808 (C₂₁H₂₆O₅)

[α]_D²⁰ = +35,4 (C=0,5 g.mL⁻¹; CHCl₃); Lit.: +41,4 (Fernandes *et al.*, 1993)

RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC: **Tabela 5** pág. 60; **E16-19** pág. 61-62

To-6a

(+)-acetil-oleiferina-A: sólido amorfo; massa molecular: 400,18864 (C₂₃H₂₈O₆)

[α]_D²⁰ = +81,5 (C= 0,26 g.mL⁻¹; CHCl₃)

UV máx (MeOH) (log ϵ): 285 (3,94); 232 (4,24); 208 (4,81); **E20** pág. 65

IV máx (CH₂Cl₂) (cm⁻¹): 2960; 2931; 1736; 1516; 1237; 1029; **E21** pág. 65

RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC: **Tabela 6** pág. 64; **E22-25** pág. 66-67

To-7

(+)-talaumina-A (7S*, 8R*, 8'R* - 3,4: 3',4'-bis-(metilenodioxi)-lignana-7-ol): óleo incolor;

massa molecular: 342,14676 (C₂₀H₂₂O₅); [α]_D²⁰ = +27,33 (C=0,15 g.mL⁻¹; CHCl₃)

UV máx (MeOH) (log ϵ): 291 (3,78); 239 (3,85); 208 (4,59); **E26** pág. 71

IV máx (CH₂Cl₂) (cm⁻¹): 3434; 2962; 2889; 1491; 1248; 1034; **E27** pág. 71

RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC: **Tabela 7** pág. 70; **E28-31** pág. 72-73

To-7a

(+)-acetil-talaumina-A: sólido branco; massa molecular: 384,15732 (C₂₂H₂₄O₆)

P.f.=50-53°C; [α]_D²⁰ = +34,3 (C=0,3 g.mL⁻¹; CHCl₃)

UV máx (MeOH) (log ϵ): 291,07 (4,12); 239,94 (4,18); 207,99 (4,87); **E32** pág.77

IV máx (CH₂Cl₂) (cm⁻¹): 2962; 2925; 1736; 1488; 1248; 1043; **E33** pág. 77

RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC: **Tabela 8** pág. 76; **E34-37** pág. 78-79

To-7b

(-)-isocagaianina : (7'R*, 8 R*, 8'R* - 3,4: 3',4' – bis- (metilenodioxo)-6,7'-ciclolignana)
 óleo incolor; massa molecular: 324,1362 (C₂₀H₂₀O₄); $[\alpha]_D^{20} = -48,0$ (C=0,1 g.mL⁻¹; CHCl₃)
UV máx (MeOH) (log ε): 293,85 (3,74); 244,15 (3,78); 209,98 (4,53) ; **E38** pág. 81
IV máx (CH₂Cl₂) (cm⁻¹): 2960; 2923; 1486; 1232; 1040; **E39** pág. 81
 RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC: **Tabela 9** pág. 80; **E40-43** pág. 82-83

To-8

(+)-talaumina-B (7S*, 8R*,8'R* - 3',4'- dimetoxi- 3,4-metilenodioxo-lignana-7-ol): óleo incolor; massa molecular: 358,17808 (C₂₁H₂₆O₅); $[\alpha]_D^{20} = +10,6$ (C=0,245 g.mL⁻¹; CHCl₃)
UV máx (MeOH) (log ε): 287,05 (3,84); 233,94 (4,11); 208,06 (4,68); **E44** pág. 87
IV máx (CH₂Cl₂) (cm⁻¹): 3436; 2960; 2925; 1519; 1247; 1031; **E45** pág. 87
 RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC: **Tabela 10** pág. 86; **E46-49** pág. 88-89

To-8a

(+)-acetil-talaumina-B: sólido branco; massa molecular: 400,18864 (C₂₃H₂₈O₆)
P.f.=77-79°C; $[\alpha]_D^{20} = +34,0$ (C=0,05 g.mL⁻¹; CHCl₃)
UV máx (MeOH) (log ε): 285,30 (3,83); 228,78 (4,16); 206,10 (4,74); **E50** pág. 93
IV máx (CH₂Cl₂) (cm⁻¹): 2960; 2923; 1722; 1247; **E51** pág. 93
 RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC: **Tabela 11** pág. 92; **E52-55** pág. 94-95

To-8b

(-)-éter metílico do iso-otobafenol (7'R*, 8 R*, 8'R* - 3,4-dimetoxi- 3',4'– metilenodioxo-6,7'-ciclolignana): óleo amarelo; massa molecular: 340,16752 (C₂₁H₂₄O₄)
 $[\alpha]_D^{20} = -11,7$ (C=0,12 g.mL⁻¹; CHCl₃)
UV máx (MeOH) (log ε): 289,39 (3,73); 235,38 (3,93); 208,01 (4,58); **E56** pág. 97
IV máx (CH₂Cl₂) (cm⁻¹): 2957; 2931; 1516; 1486; 1249 ; **E57** pág. 97
 RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC: **Tabela 12** pág. 96; **E58-61** pág. 98-99

To-9

Talaumina-C (7S, 8R, 8'R – 3, 4 : 3',4'- tetrametoxi-lignana-7-ol):: óleo amarelo; massa molecular: 374,2094 (C₂₂H₃₀O₅)

RMN de ¹H, HSQC, HMBC: **Tabela 13** pág. 102; **E62-64** pág. 103-104

To-9a

(-)-isogalbulina (éter dimetílico da isoguaiacina) (7'R, 8'R, 8R): óleo amarelo; massa molecular: 356,19884 (C₂₂H₂₈O₄)

[α]_D²⁰ = -62,0 (C=0,05 g.mL⁻¹; CHCl₃); Lit.: -49,0 (Konno, 1989)

RMN de ¹H, ¹³C, HMBC: **Tabela 14** pág. 106; **E65-67** pág. 107-108

To-10

(-)-partenolido: cristais incolores; Massa molecular: 248,1413 (C₁₅H₂₀O₃)

P.f.= 105-108°C (Acosta et.al., 1993)

[α]_D²⁰ = -20,8 (C=0,75 g.mL⁻¹; CHCl₃)

RMN de ¹H, ¹³C: **Tabela 15** pág. 110; **E68-69** pág. 111

To-11

(-)-michelenolido: sólido amorfo; Massa molecular: 264,1362 (C₁₅H₂₀O₄)

[α]_D²⁰ = -10,66 (C=0,15 g.mL⁻¹; CHCl₃)

RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC: **Tabela 16** pág. 114; **E70-73** pág. 115-116

To-12

(-)-11,13-dehidrocompressanolido: sólido amorfo; Massa molecular: 248,1413 (C₁₅H₂₀O₃)

[α]_D²⁰ = -56,0 (C=0,05 g.mL⁻¹; CHCl₃);

RMN de ¹H, ¹³C, HMBC: **Tabela 17** pág. 119; **E74-76** pág. 120-121

To-13

(-)-espatulenol: óleo incolor; Massa molecular: 220,18282 (C₁₅H₂₄O)

[α]_D²⁰ = -4,1 (C=0,365 g.mL⁻¹; CHCl₃).

RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC: **Tabela 18** pág. 124; **E77-80** pág. 125-126

3.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

A atividade antibacteriana e antifúngica foi determinada *in vitro* pelo método de difusão em ágar pela técnica de poço em camada dupla e pelo método de microdiluição (ANVISA, 2008; OKEKE *et al.*, 2001; NCCLS, 1998; ESPINEL-INGROFF *et al.*, 1995; NCCLS, 1993; GROVE & RANDALL, 1955) seguindo a adequação de metodologia como descrita por SALVADOR *et al.*, 2004^b; SALVADOR *et al.*, 2003^b.

Para a execução dos ensaios foram utilizadas as bactérias e leveduras, cepas padrão e cepas de campo: gram-negativas *Escherichia coli* - ATCC 10799 e *Pseudomonas aeruginosa* - ATCC 15442; gram-positivas *Staphylococcus aureus* - ATCC 14458; ATCC 6538; ATCC 25923; ATCC 25213; *S. aureus* penicilinase positivo (7+) – cepa de campo e *S. aureus* penicilinase negativo (8-) – cepa de campo, *Staphylococcus epidermidis* – ATCC 12228; *S. epidermidis* (6 ep) – cepa de campo, cultivadas por 24 horas a 37°C em Müller Hinton (Difco)-MHb; as leveduras, *Candida tropicalis* ATCC 157, *Candida glabrata* - ATCC 30070, *Candida dubliniensis* ATCC - 777 e ATCC 778157, cultivadas por 24 horas a 37°C em ágar Sabouraud dextrose.

Na etapa de triagem empregou-se o método de difusão em ágar, técnica do poço, determinando quais as drogas testes apresentavam ou não efeito antimicrobiano. Para tanto, procedeu-se o plaqueamento das bactérias onde foram utilizados 20,0 mL de Müller Hinton Medium (Difco)-MHb, a cerca de 50°C, inoculados (5.10^6 ufc/mL), independentemente, com as cepas de bactérias em placas de 20 x 150 mm. A seguir foram confeccionados poços com 5,0 mm de diâmetro. Para o plaqueamento das leveduras foram utilizados 20,0 mL de ágar Sabouraud dextrose, a cerca de 50°C, inoculados (5.10^6 ufc/mL), independentemente, com as cepas de leveduras em placas de 20 x 150 mm. Em seguida foram confeccionados poços com 5,0 mm de diâmetro.

Em cada poço foram aplicados 20 µL das soluções controle (positivo e negativo) e drogas-teste, soluções estas, preparadas em dimetilsulfoxido (DMSO)/ água esterilizada estéril (5:95) nas concentrações de 5,0 mg/mL para o extrato bruto de diclorometano (DCM) e 1,0 mg/mL para as substâncias puras na triagem. Como controle positivo foram utilizados bacitracina (0,20 UI/mL) e cetoconazol (100,0 µg/mL) e como controle negativo DMSO/água estéril (5:95).

As placas-testes foram mantidas à temperatura ambiente por cerca de 2 horas e depois incubadas a 37⁰C por cerca de 24/48 horas para as bactérias e leveduras, respectivamente. Decorrido o período de incubação, as zonas de inibição do desenvolvimento microbiano foram mensuradas em termos de diâmetro (halo) e aro da borda do poço a início do desenvolvimento. Os experimentos foram realizados pelo menos em duplicata, para cada cepa indicadora utilizada.

Para as drogas testes que se mostraram ativas na triagem preliminar, procedeu-se à determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Na determinação da CIM, empregou-se o método de microdiluição (ANVISA 2008). Em uma placa de microdiluição estéril de 96 poços, em poços individuais foi aliqotado 50 µL dos caldos *Tryptone Soy Broth-TSb* (para as cepas de bactérias) ou *Sabouraud dextrose-ASD* (para as cepas de Levedura), 50 µL das drogas teste (extrato vegetal ativo, substâncias puras (concentração final de 5 mg/mL para extrato ou de 1,0 mg/mL ou 0,5 mg/mL para as substâncias puras) e controles) e 5 µL da suspensão de microrganismos com turvação equivalente ao padrão 0,5 da escala de Mac Farland, o que corresponde aproximadamente a 10⁶ ufc/mL.

Como controles positivos foram utilizados cetoconazol (100,0 µg/mL) e bacitracina (0,2 UI/mL). Como controle negativo foi utilizado o diluente DMSO/água estéril (5:95), além do controle do inóculo e do controle do meio de cultura.

Foi considerada como CIM a menor concentração onde se observou a presença de inibição do desenvolvimento microbiano (SALVADOR *et al.*, 2002; OKEKE *et al.*, 2001). Quando em dúvida quanto a presença de inibição total, o material foi inoculado (estrias) em placas contendo meio MHb ou ASD para a verificação se o efeito era biocida ou não.

As placas-testes foram incubadas a 37⁰C por cerca de 24/48 horas para as bactérias e leveduras, respectivamente. Decorrido o período de incubação, os resultados foram expressos em termos de CIM (mg/mL). Os experimentos foram realizados pelo menos em duplicata, para cada cepa indicadora utilizada.

3.5 Avaliação da atividade antioxidante - Ensaio para avaliação da redução do radical DPPH

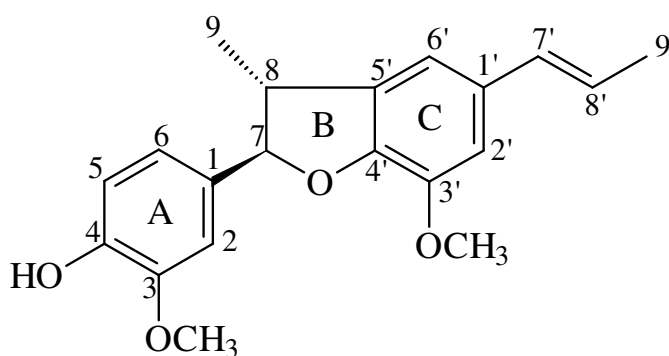
O radical DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) é estável, de coloração púrpura, porém quando reduzido passa a ter coloração amarela. Através deste ensaio foi avaliada a capacidade das amostras-teste e amostra-padrão de reduzir o radical DPPH. Para tanto, o extrato ou substâncias isoladas (5,20 mg para extrato ou 1,30 mg para substâncias isoladas) foram dissolvidos em etanol (1,0 mL), obtendo-se uma solução estoque. Várias diluições foram preparadas em etanol a fim de se obter concentrações finais no ensaio de 3,125 a 100,0 µg/mL (extratos) ou de 1,5625 a 100,0 µg/mL (substâncias puras). Para cada amostra (10,0 µL) foram adicionados 100,0 µL de etanol, 100,0 µL de tampão fosfato (100 mM) e 50,0 µL de solução de DPPH (250 µM). Decorridos 30 min a absorbância foi medida em espectrofotômetro ($\lambda=517$ nm) e a porcentagem de redução do radical foi calculada pela equação: %redução = $100 - [(Abs. amostra - Abs. controle negativo)/Abs. controle DPPH - Abs. controle negativo] \times 100$ (HUANG; OU; PRIOR, 2005; CUENDET et al., 1997). Como controle negativo foi utilizado o diluente das amostras e como controle positivo o flavonóide quercetina e/ou Trolox (análogo da vitamina E) (1,5625 a 50 ppm). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Para cada tipo de análise foi utilizado o teste estatístico mais adequado (por exemplo, ANOVA e Probite). Os resultados foram apresentados como média (coeficiente de variação, %CV) e IC₅₀: concentração que inibe 50%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fração hidroalcoólica do extrato em hexano das folhas de *Talauma ovata* foi reunida com o extrato em diclorometano após análise prévia por CCDC e comparação de dados espectrais, mostrando que ambos possuíam composição semelhante. O fracionamento cromatográfico dessa mistura resultou no isolamento de 13 substâncias (To-1 a To-13).

4.1 Identificação da substância To-1



To-1

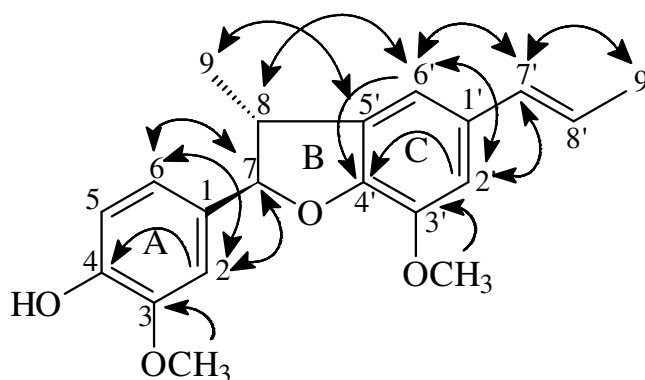
O espectro de RMN de ^1H , (**Tabela 1; E1**) dessa substância apresentou sinais referentes a hidrogênio de duas metilas, sendo uma ligada a um carbono sp^3 (δ 1,37, *d*, $J=6,8$ Hz) e a outra, mais desprotegida, ligada a um carbono sp^2 (δ 1,87, *dd*, $J=1,6$ e $6,8$ Hz). Também foram observados sinais característicos de um anel hidrofurânico (δ 3,45, *dq*, $J=9,2$ e $6,8$ Hz; δ 5,09, *d*, $J=9,2$ Hz).

Na região dos hidrogênios metoxílicos, observou-se sinais referentes a duas metoxilas ligadas a carbono sp^2 (δ 3,87, *s* e δ 3,89, *s*) e um sinal de hidroxila em (δ 5,67, *sl*).

Na região dos hidrogênios ligados a carbonos sp^2 , foram observados sinais de hidrogênios olefínicos α e β , de um grupo propenila ligado ao anel aromático (δ 6,36, *dd*, $J=1,6$ e $15,6$ Hz; δ 6,11, *dq*, $J=6,8$ e $15,6$ Hz) e cinco hidrogênios aromáticos, sendo dois em acoplamento orto e três em acoplamento meta.

O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Tabela 1; E2), mostrou a presença de 20 carbonos, sendo 2 metílicos, 1 metínico, 2 metoxílicos, 1 oxibenzílico, e 14 que apresentam deslocamentos químicos típicos de carbonos sp^2 , sendo que 12 correspondem a 2 anéis aromáticos e 2 ao grupo propenila.

A análise do experimento HSQC (Tabela 1; E3) confirmou as relações dos hidrogênios com seus respectivos carbonos, enquanto que o HMBC (Tabela 1; E4) mostrou as correlações entre o sinal da metoxila em δ 3,87 (3-OCH₃) com δ 146,6 (C-3); o sinal em δ 6,97 (H-2) com δ 93,7 (C-7), δ 119,9 (C-6) e δ 145,7 (HOC-4), confirmando que a metoxila e a hidroxila estão ligados ao anel aromático A, conhecido como guaiacila (3-OCH₃, 4-OH). Ainda pelo HMBC, observou-se as correlações entre o sinal da metoxila em δ 3,89 (3'-OCH₃) com δ 144,1 (C-3'); o sinal em δ 6,77 (H-6') com δ 45,6 (C-8), δ 109,3 (C-2'), δ 130,9 (C-7') e δ 146,5 (C-4'); o sinal em δ 6,79 (H-2') com δ 113,3 (C-6'), δ 130,9 (C-7') e δ 146,5 (C-4'), confirmando que estes sinais correspondem ao anel aromático C. A estrutura pôde ser confirmada através dessas correlações, conforme mostradas abaixo.

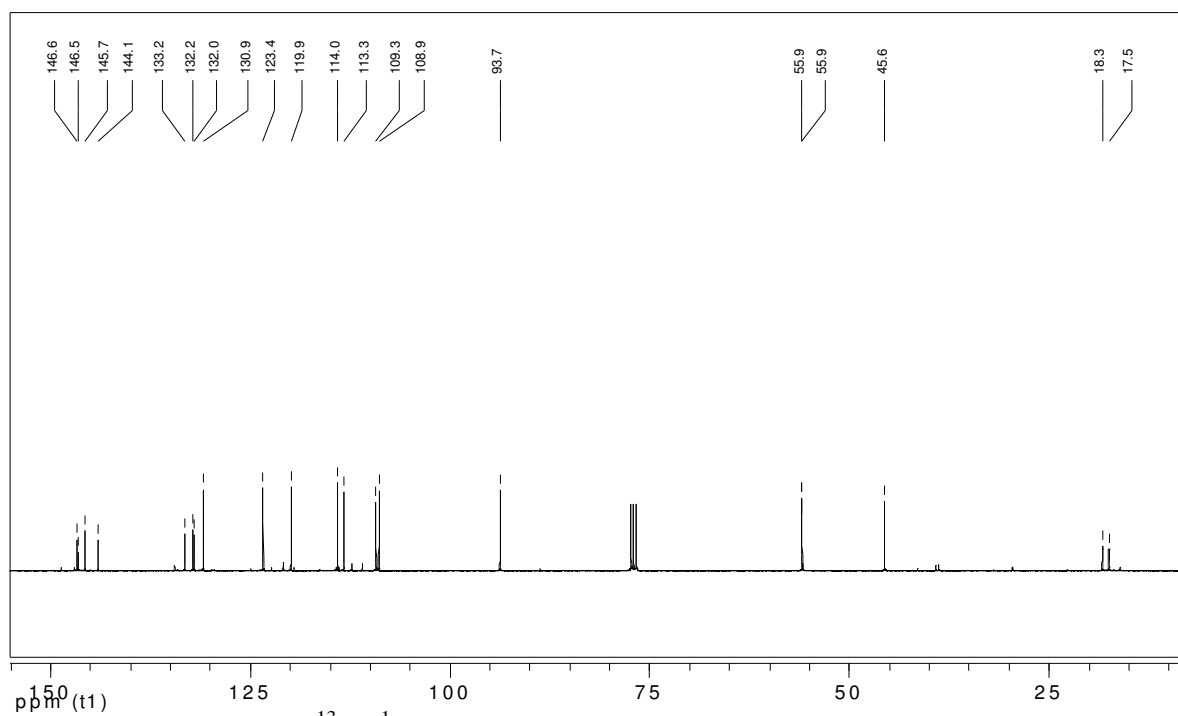
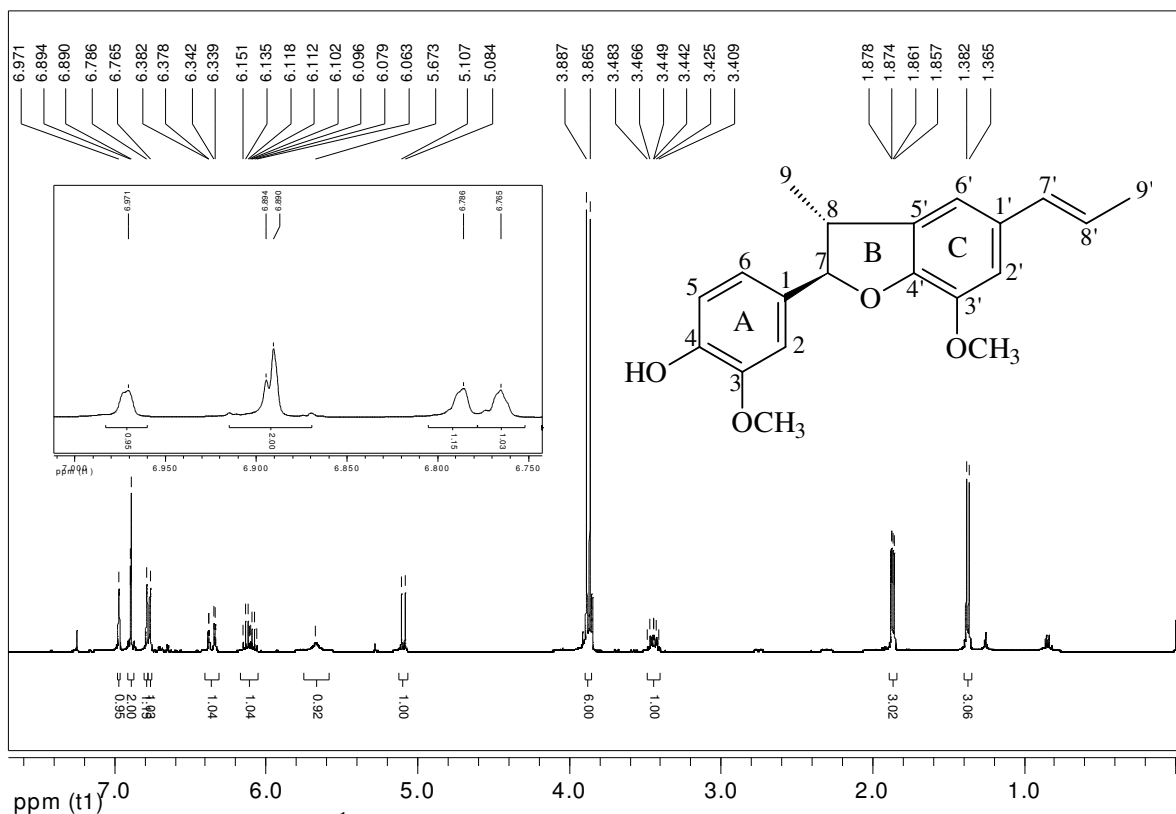


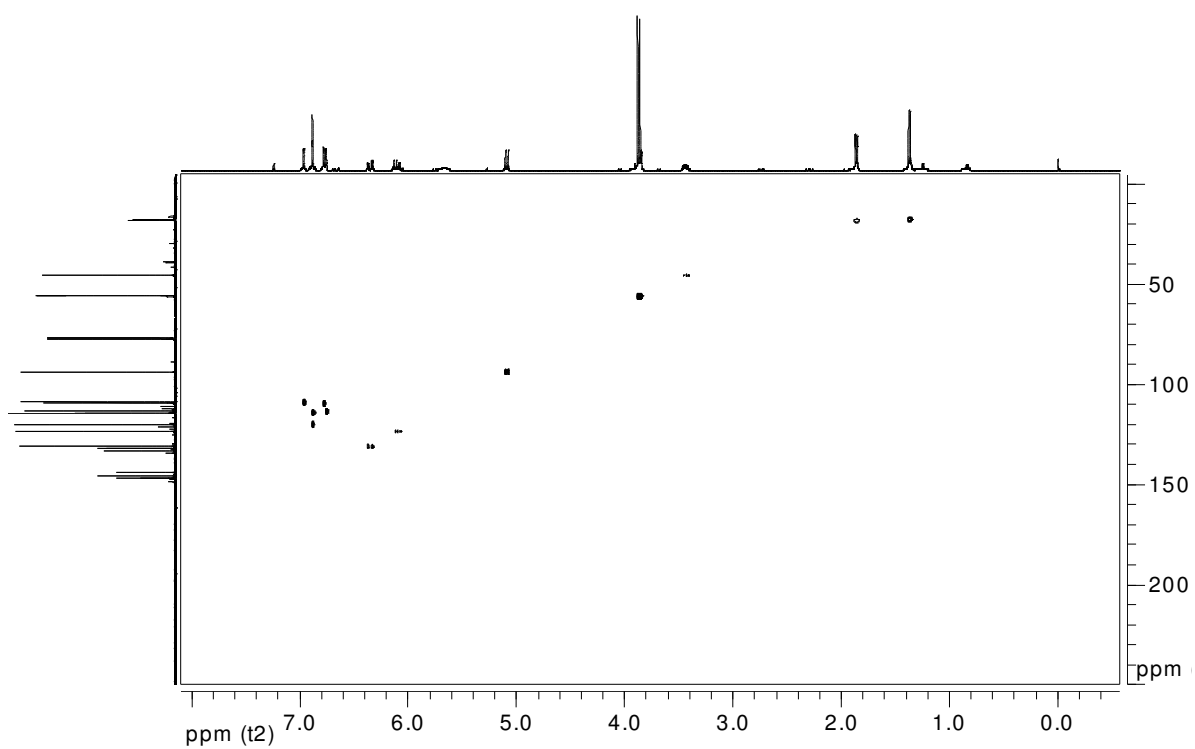
Segundo estas análises e comparação com os dados de RMN de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e rotação específica da literatura (JUHÁSZ *et al.*, 2000; NASCIMENTO *et al.*, 1999, 2000), foi possível identificar essa substância como uma neolignana benzofuranica (7.O.4', 8.5'), conhecida como (+)-licarina-A, cuja configuração absoluta é 7R, 8R. As neolignanas benzofuranicas são comumente encontradas no gênero *Magnolia*, sendo licarina-A isolada em *M. kachirachirai* (Magnoliaceae) (SONG *et al.*, 1999). Essa substância já foi encontrada anteriormente nas folhas de *Talauma ovata*, porém esses dados não foram publicados (TOMA, 1988).

Tabela 1: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-1**.

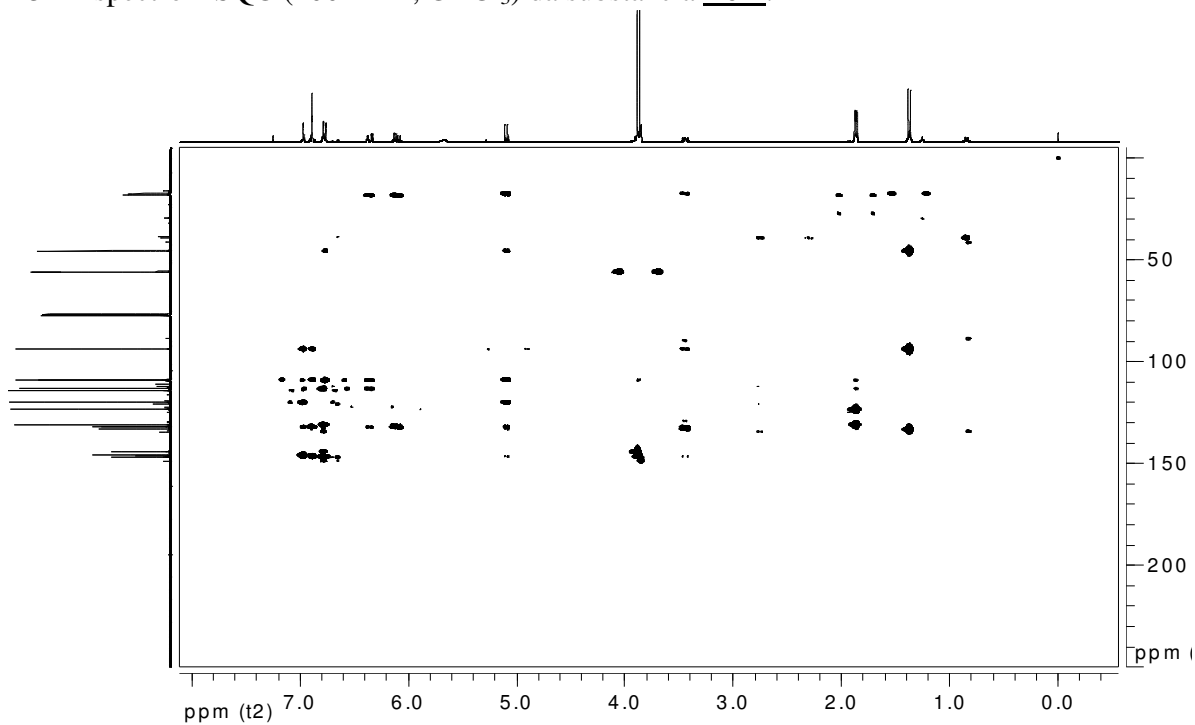
Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	-	132,0	-
2	6,97 (1H; d ; 1,2)	108,9	4, 6, 7; 1 (fraco)
3	-	146,6	-
4	-	145,7	-
5	6,89; m	114,2	1, 2, 3, 7
6	6,89; m	119,9	1, 2, 3, 7
7	5,09 (1H; d ; 9,2)	93,7	2, 6, 8, 9
8	3,45 (1H; dq ; 9,2 e 6,8)	45,6	1, 7, 9, 5'
9	1,37 (3H; d ; 6,8)	17,5	1, 7, 8, 5'
1'	-	132,2	-
2'	6,79 (1H; sl)	109,3	4', 5', 6', 7'; 1', 3' (fraco)
3'	-	144,1	-
4'	-	146,5	-
5'	-	133,2	-
6'	6,77 (1H; sl)	113,3	8, 2', 4', 7'; 3' (fraco)
7'	6,36 (1H; dd ; 1,6 e 15,6)	130,9	1', 2', 6', 9'
8'	6,11 (1H; dq ; 6,8 e 15,6)	123,4	1', 9'; 7' (fraco)
9'	1,87 (3H; dd ; 1,6 e 6,8)	18,3	7', 8'; 6' (fraco)
3-OCH ₃	3,87 (3H; s)	55,90	3; 2 (fraco)
4-OH	5,67 (1H; sl)	-	-
3'-OCH ₃	3,89 (3H; s)	55,92	3'; 2' (fraco)

* Atribuição inequívoca através de análise do experimento do HSQC



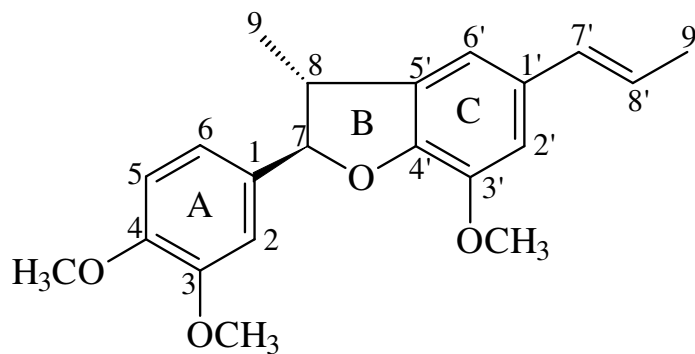


E3 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-1**.



E4 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-1**.

4.2 Identificação da substância **To-2**



To-2

O espectro de RMN de ^1H da substância **To-2**, mostrou muito semelhante (**Tabela 2; E5**) ao da substância **To-1**, apresentando sinais referentes a hidrogênio de duas metilas, sendo uma ligada a um carbono sp^3 (δ 1,39, *d*, $J=6,8$ Hz) e a outra, mais desprotegida, ligada a um carbono sp^2 (δ 1,87, *dd*, $J=1,6$ e $6,4$ Hz). Também foram observados sinais característicos de um anel hidrofurânico (δ 3,46, *dq*, $J=9,6$ e $6,8$ Hz; δ 5,12, *d*, $J=9,6$ Hz).

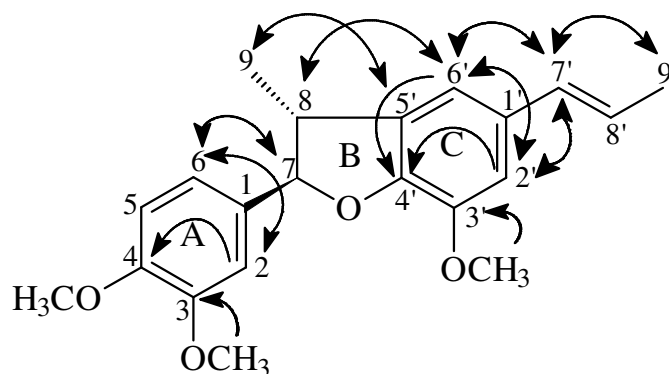
Na região dos hidrogênios ligados a carbonos sp^2 , foram observados sinais de hidrogênios olefínicos α e β , de um grupo propenila ligado ao anel aromático (δ 6,36, *dd*, $J=1,6$ e $15,6$ Hz; δ 6,11, *dq*, $J=6,4$ e $15,6$ Hz) e cinco hidrogênios aromáticos, sendo dois em acoplamento orto e três em acoplamento meta.

A diferença entre as duas substâncias esta na região dos hidrogênios metoxílicos. O espectro de **To-1** apresenta sinais característico de duas metoxilas e um sinal de hidroxila, enquanto que o espectro de **To-2**, apresenta sinais característico de três metoxilas (δ 3,87, *s*, δ 3,88, *s* e δ 3,90, *s*).

O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, (**Tabela 2; E6**) mostrou a presença de 21 carbonos, sendo 2 metílicos, 1 metínico, 3 metoxílicos, 1 oxibenzílico, e 14 que apresentam deslocamentos químicos típicos de carbonos sp^2 , sendo que 12 correspondem a 2 anéis aromáticos e 2 ao grupo propenila.

A análise do experimento HSQC (**Tabela 2; E7**) confirmou as relações dos hidrogênios com seus respectivos carbonos, enquanto que o HMBC (**Tabela 2; E8**) comparado com o da substância anterior, permitiu determinar que duas metoxilas estão ligadas

ao anel aromático A, conhecido como veratrila (3,4-OCH₃) e a terceira ao anel aromático C. A estrutura pôde ser confirmada através dessas correlações, conforme mostradas abaixo.

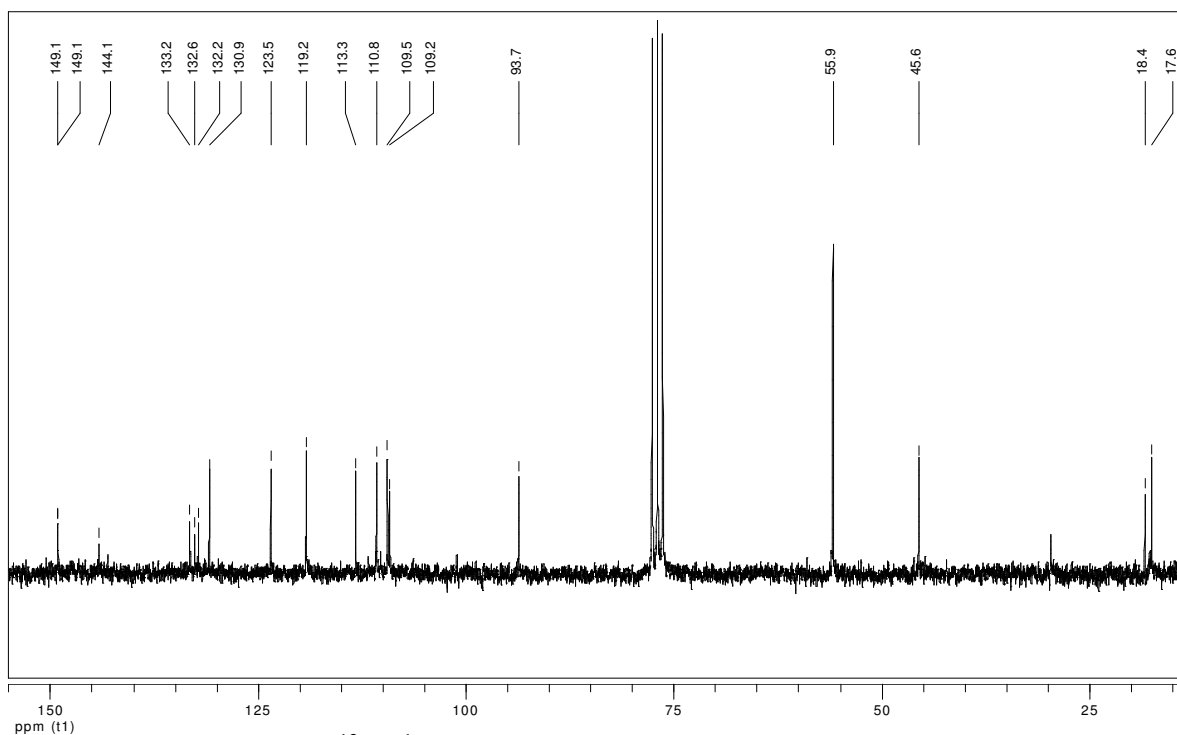
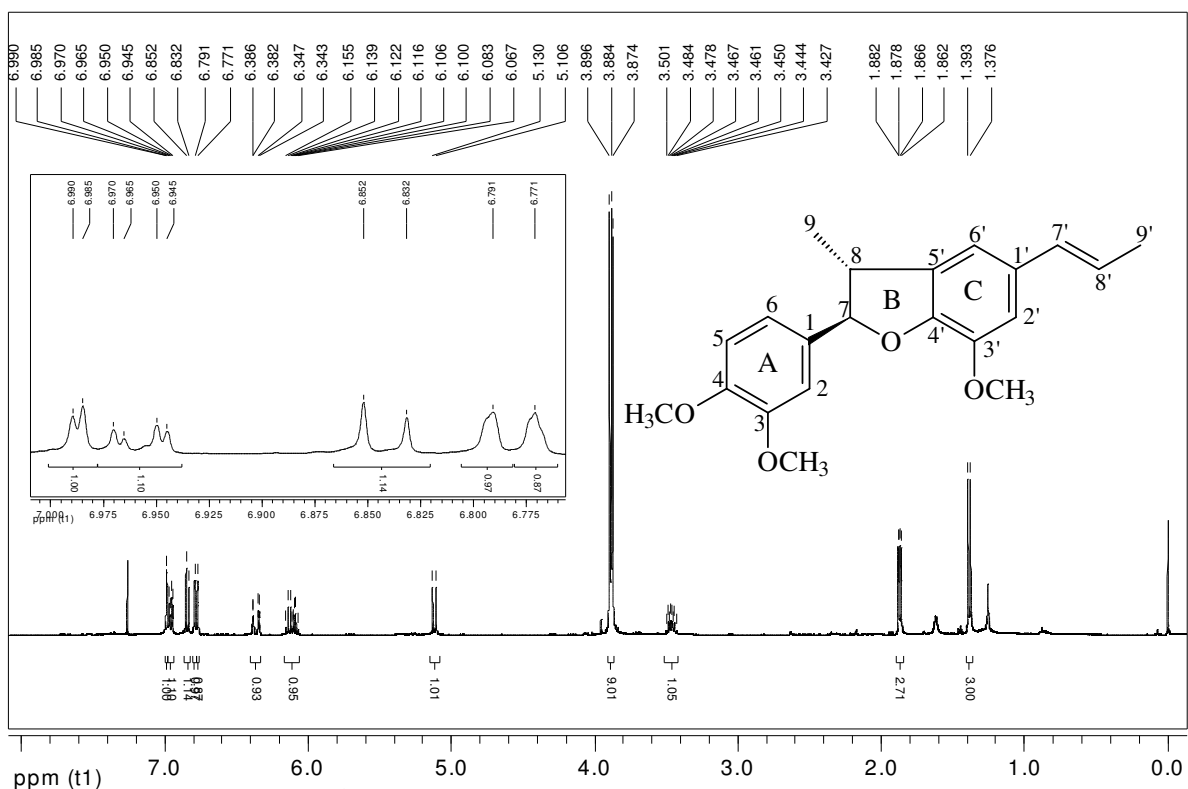


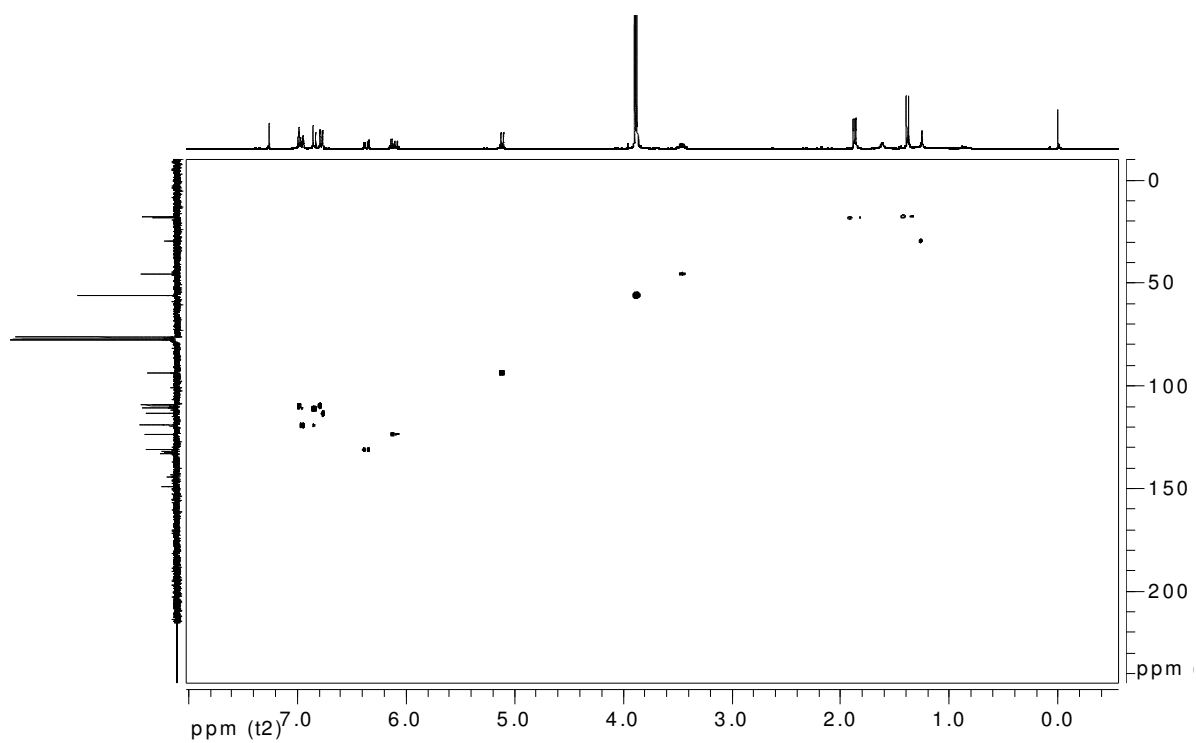
Segundo estas análises e comparação com os dados de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e rotação específica da literatura (EL-FERALY *et al.*, 1982; NASCIMENTO *et al.*, 1999), foi possível identificar essa substância como neolignana benzofuranica (7.O.4', 8.3'), conhecida como (+)-acuminatina, derivada da (+)-licarina-A, por metilação. A acuminatina foi isolada em *Magnolia denudata* (Magnoliaceae) (LI *et al.*, 2005).

Tabela 2: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-2**.

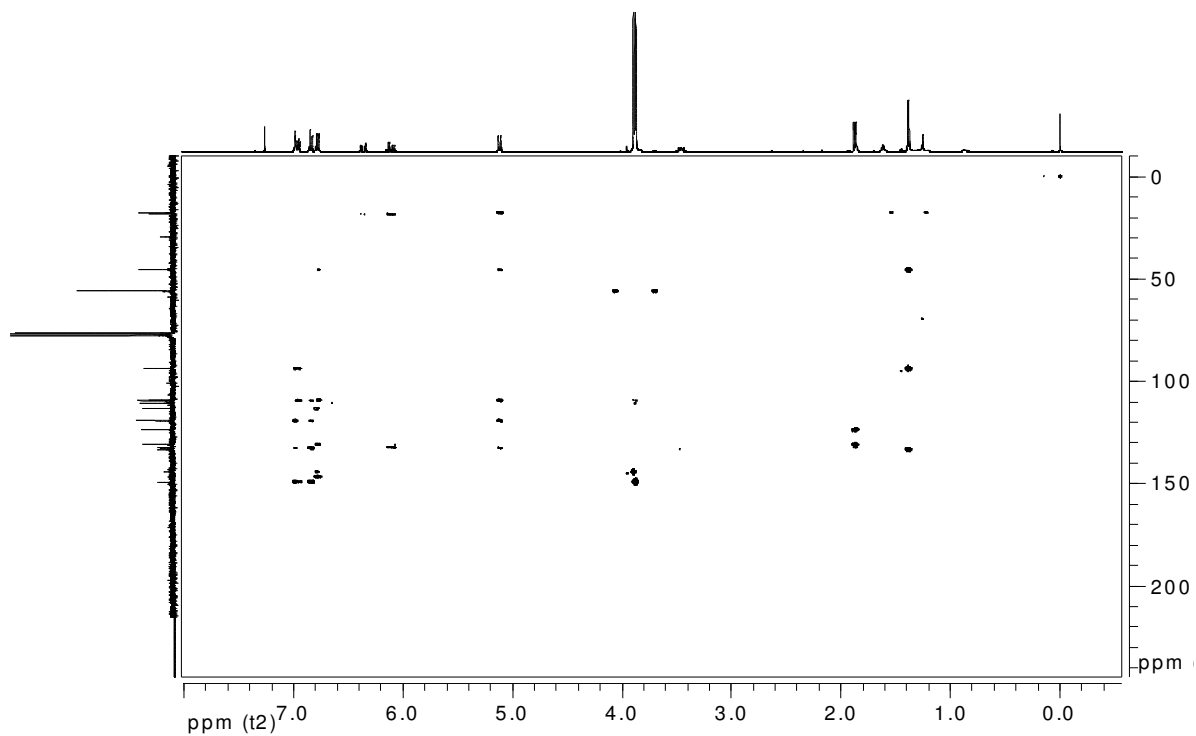
Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	-	132,6	-
2	6,99 (1H; d ; 2,0)	109,5	4, 6, 7; 1 (fraco)
3	-	149,10	-
4	-	149,11	-
5	6,84 (1H; d ; 8,0)	110,8	1, 3; 6 (fraco)
6	6,96 (1H; dd ; 2,0 e 8,0)	119,2	2, 4, 7
7	5,12 (1H; d ; 9,6)	93,7	2, 6, 8, 9
8	3,46 (1H; dq ; 9,6 e 6,8)	45,6	1, 7, 9, 5'
9	1,39 (3H; d ; 6,8)	17,6	1, 7, 8, 5'
1'	-	132,2	-
2'	6,79 (1H; d ; 1,2)	109,2	3', 4', 6', 7'
3'	-	144,1	-
4'	-	146,6	-
5'	-	133,2	-
6'	6,77 (1H; d ; 1,2)	113,3	8, 2', 4', 7'
7'	6,36 (1H; dd ; 1,6 e 15,6)	130,9	2', 6', 9'; 1'(fraco)
8'	6,11 (1H; dq ; 6,4 e 15,6)	123,5	1', 9'; 7'(fraco)
9'	1,87 (3H; dd ; 1,6 e 6,4)	18,4	7', 8'; 2'(fraco)
3-OCH ₃	3,87 (3H; s)	55,90	3; 2 (fraco)
4-OCH ₃	3,88 (3H; s)	55,90	4; 5 (fraco)
3'-OCH ₃	3,90 (3H; s)	55,92	3'; 2'(fraco)

* Atribuição inequívoca através de análise do experimento do HSQC



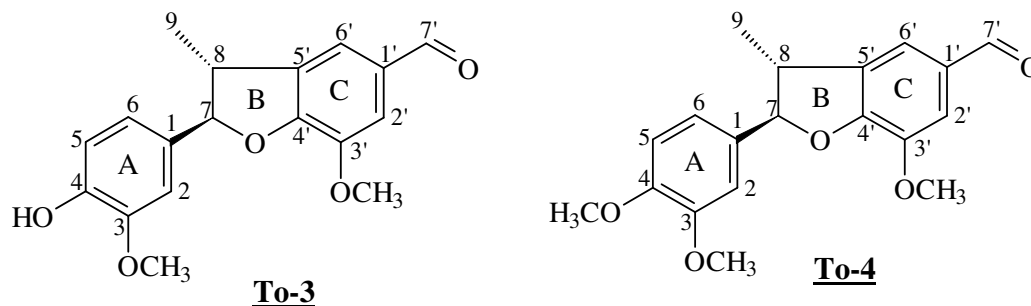


E7 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-2**.



E8 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-2**.

4.3 Identificação das substâncias **To-3** e **To-4**



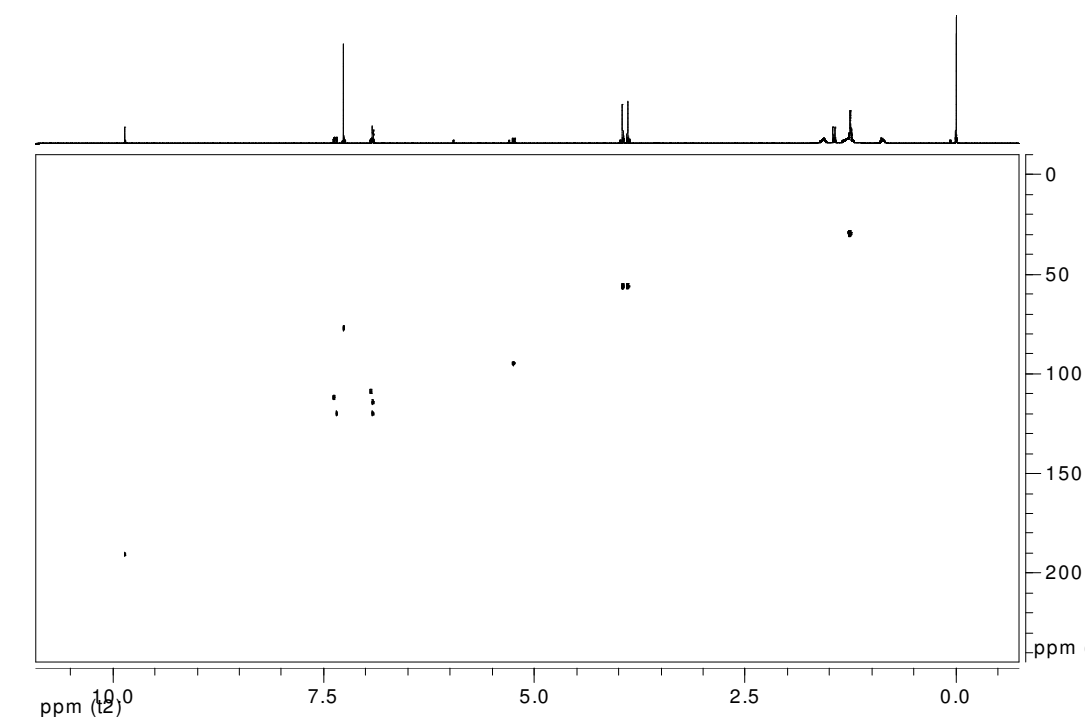
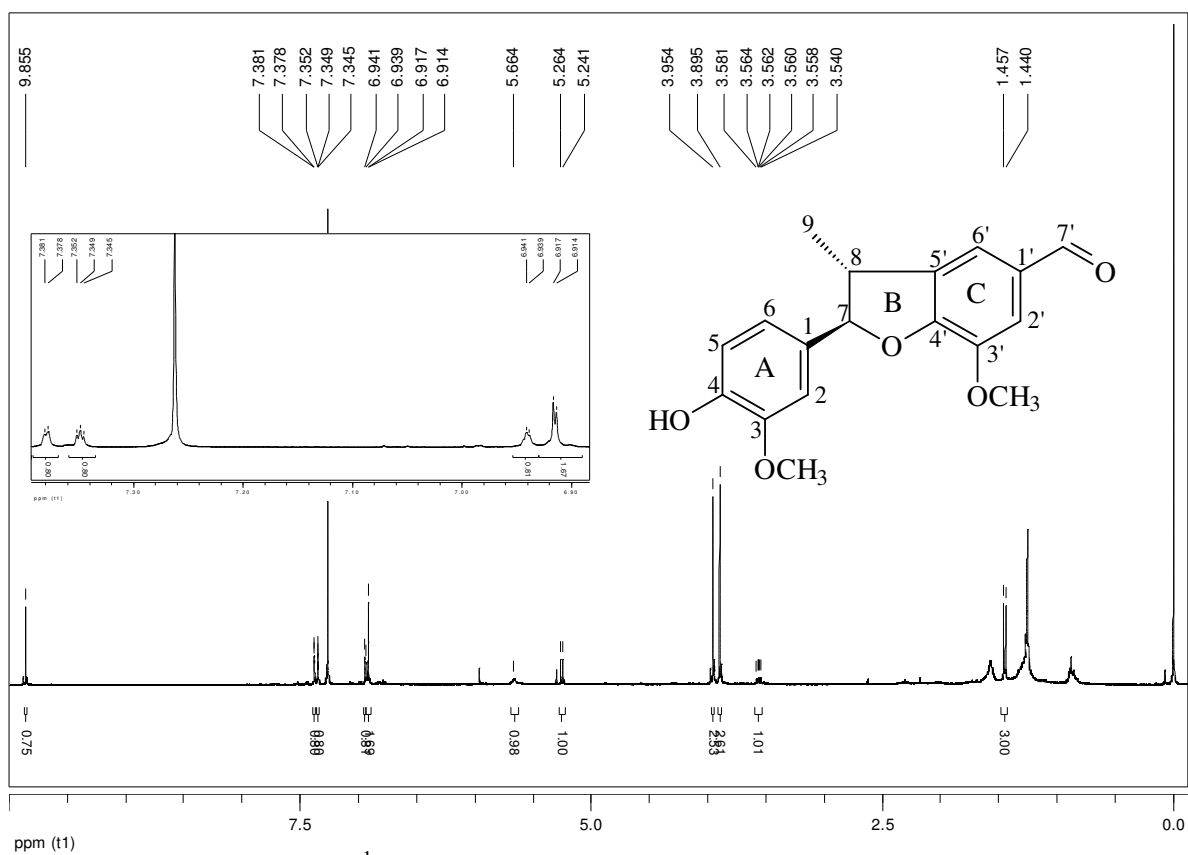
O espectro de RMN de ^1H da substância **To-3** (Tabela 3; E9) apresentou-se muito semelhante ao da substância To-1 com a diferença que os sinais referentes ao grupo propenila não foram observados. Mas foi observado um sinal característico de um hidrogênio de aldeído (δ 9,86; *s*). O espectro de RMN de ^1H da substância **To-4** (Tabela 3; E12) mostrou-se muito semelhante ao da **To-3**, diferindo pela presença de 3 metoxilas, o que sugere um grupo veratrilas em substituição ao grupo guaiacila de **To-3**.

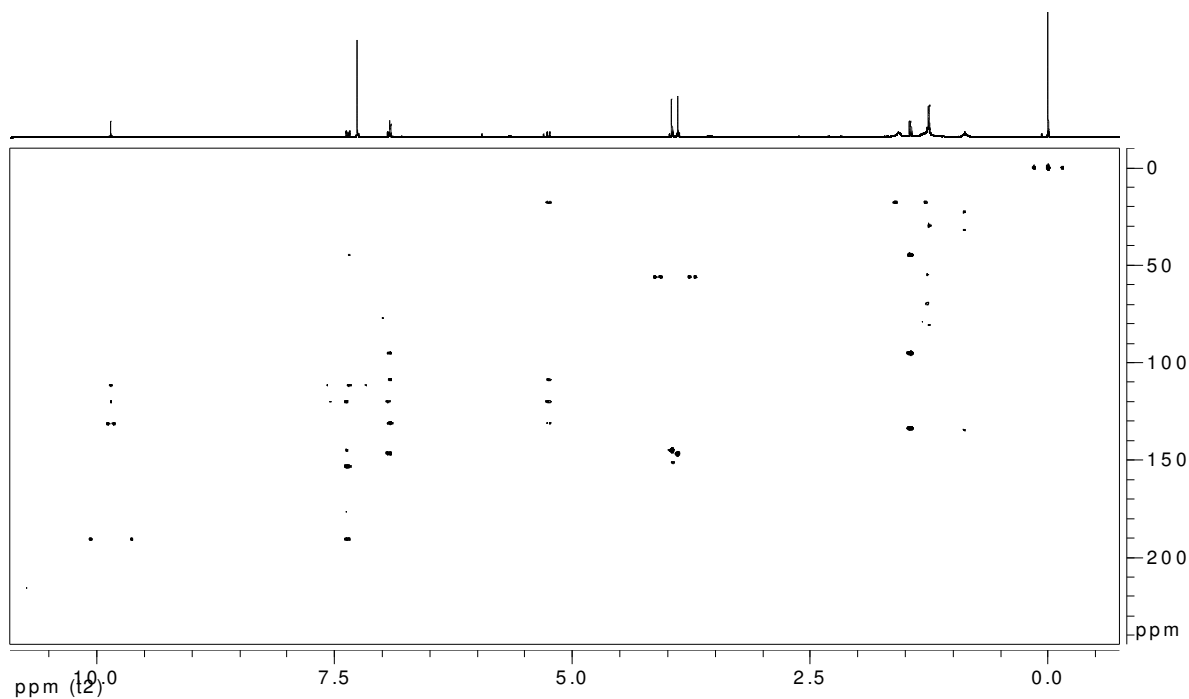
A análise dos experimentos HSQC e HMBC de **To-3** (Tabela 3; E10-11) confirmou a estrutura proposta. Comparação dos dados obtidos com a literatura mostrou que essa substância já é conhecida, tendo sido isolada de *Aristolochia pubescens* (NASCIMENTO *et al.*, 1999). Esta substância pode ser considerada derivada da (+)-licarina-A por oxidação do grupo propenila. Os dados de RMN de ^1H de **To-4** coincidiram com aqueles apresentados pelo composto conhecido como (+)-kadsurenina-M (JUHÁSZ *et al.*, 2000; NASCIMENTO *et al.*, 1999). Da mesma forma que o composto anterior, este é derivado da acuminatina.

Tabela 3: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-3** e dados de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-4**.

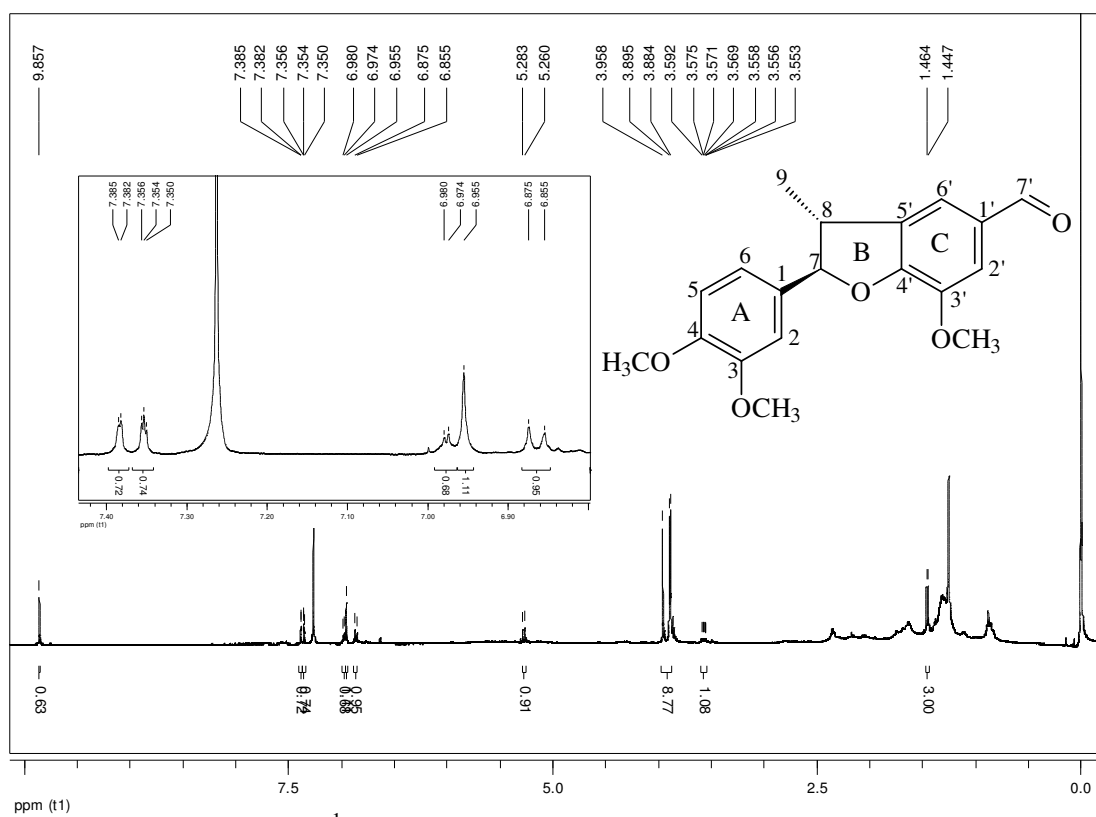
Posição	To-3			To-4
	^1H δ (multiplicidade; <i>J</i> em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC $^1\text{H}-^{13}\text{C}$	^1H δ (multiplicidade; <i>J</i> em Hz)
1	-	131,0	-	-
2	6,94 (1H; <i>dd</i> ; 1,1 e 1,6)	108,8	1, 3, 6, 7	6,98 (1H; <i>d</i> ; 2,0)
3	-	146,7	-	-
4	-	144,9	-	-
5	6,92; <i>m</i>	114,3	1, 3	6,86 (1H; <i>d</i> ; 8,0)
6	6,92; <i>m</i>	120,0	1, 2, 7	6,96 (1H; <i>s</i>)
7	5,25 (1H; <i>d</i> ; 9,2)	94,9	1, 2, 6, 9	5,27 (1H; <i>d</i> ; 9,2)
8	3,56 (1H; <i>m</i>)	44,8	-	3,57 (1H; <i>m</i>)
9	1,45 (3H; <i>d</i> ; 6,8)	17,7	7, 8, 5'	1,46 (3H; <i>d</i> ; 6,8)
1'	-	131,4	-	-
2'	7,38 (1H; <i>d</i> ; 1,2)	111,8	3', 4', 6', 7'	7,38 (1H; <i>d</i> ; 1,6)
3'	-	145,1	-	-
4'	-	153,2	-	-
5'	-	133,6	-	-
6'	7,347 (1H; <i>d</i> ; 1,2) 7,350	120,1	8, 2', 4', 7'	7,352 (1H; <i>d</i> ; 1,6) 7,355
7'-COH	9,86 (1H; <i>s</i>)	190,6	1', 2', 6'	9,86 (1H; <i>s</i>)
3-OCH ₃	3,90 (3H; <i>s</i>)	56,03	3	3,88 (3H; <i>s</i>)
4-OCH ₃	-	-	-	3,90 (3H; <i>s</i>)
4-OH	5,66 (1H; <i>sl</i>)	18,4	-	-
3'-OCH ₃	3,95 (3H; <i>s</i>)	56,13	3'	3,96 (3H; <i>s</i>)

* Atribuição inequívoca através de análise do experimento do HSQC e HMBC



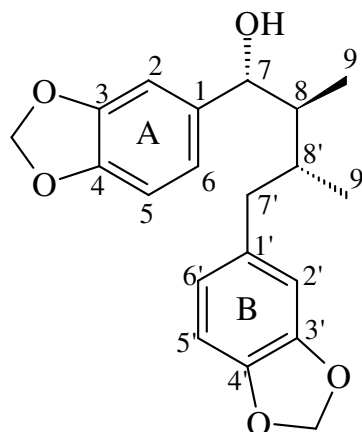


E11 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-3**.



E12 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-4**.

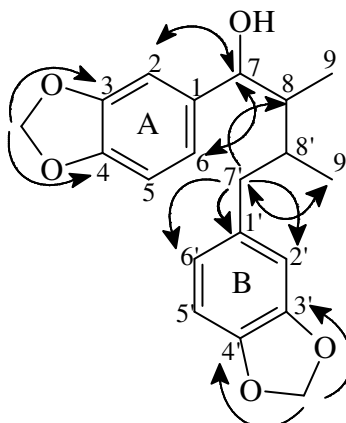
4.4 Identificação da substância To-5



To-5

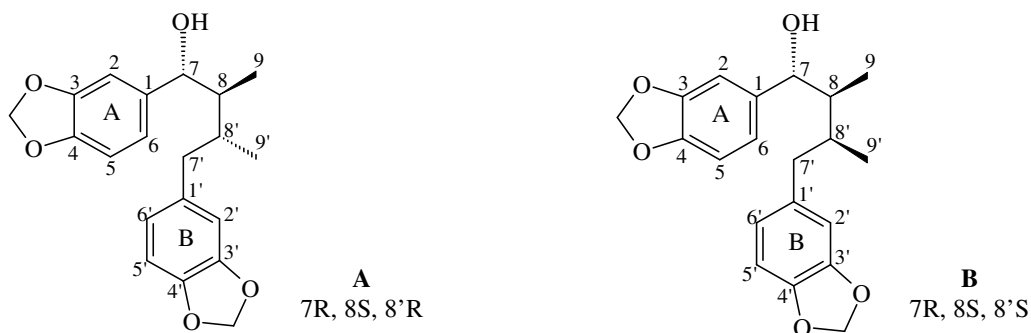
O espectro de RMN de ^1H (**Tabela 4; E13**) apresentou sinais referentes a duas metilas (δ 0,76, *d*, $J=6,8$ Hz; δ 1,00, *d*, $J=6,8$ Hz), dois hidrogênios metínicos (δ 1,52, *m*; δ 1,74, *m*), um sinal de hidroxila (δ 1,57, *sl*), dois hidrogênios benzílicos (δ 2,37, *dd*, $J=7,6$ e 13,6 Hz; δ 2,44, *dd*, $J=8,0$ e 13,6 Hz), um hidrogênio carbinólico (δ 4,39, *dd*, $J=8,8$ e 2,8 Hz), dois grupos metilenodioxí (δ 5,92, *s* e δ 5,95, *d*, $J=1,6$ Hz; δ 5,97, *d*, $J=1,6$ Hz) e finalmente seis hidrogênios aromáticos, sendo quatro em acoplamento orto e dois em acoplamento meta.

A análise do experimento HSQC (**Tabela 4; E14**) confirmou as relações dos hidrogênios com seus respectivos carbonos, enquanto que o HMBC (**Tabela 4; E15**) mostrou as correlações entre o sinal do hidrogênio carbinólico em δ 4,39 (H-7) com δ 106,5 (C-2) e δ 119,4 (C-6); o sinal em δ 6,66 (H-2) com δ 77,7 (C-7), δ 119,4 (C-6), δ 146,5 (C-4) e δ 147,5 (C-3); os sinais em δ 5,96 e δ 5,97 (OCH₂O) com δ 146,5 (C-4) e δ 147,5 (C-3), confirmando que estes sinais correspondem ao anel aromático A. Ainda pelo HMBC, observou-se as correlações entre os sinais dos hidrogênios metilênicos em δ 2,37 e δ 2,44 (H-7') com δ 14,5 (C-9'), δ 35,3 (C-8'), δ 42,1 (C-8), δ 108,9 (C-2'), δ 121,3 (C-6') e δ 134,2 (C-1'); o sinal em δ 6,47 (H-2') com δ 121,9 (C-6'), δ 145,3 (C-4') e δ 147,2 (C-3'); o sinal em δ 5,92 (OCH₂O) com δ 145,3 (C-4') e δ 147,2 (C-3'), confirmando que estes sinais correspondem ao anel aromático B. A estrutura pôde ser confirmada através dessas correlações, conforme mostradas.



Essa estrutura é de uma neolignana do tipo 8.8'.7-ol, comumente chamada de diarildimetilbutanol (SIMÕES *et al.*, 2004). Moléculas desse tipo possuem três estereocentros: 7, 8 e 8', podendo existir oito estereoisômeros. As configurações relativas podem ser estabelecidas com base no valor da constante de acoplamento dos H-7/H-8 e H-8/H-8'.

Analisando o espectro de RMN de ^1H foi observado um duplo duplete em δ 4,39 que foi atribuído ao hidrogênio carbinólico do C-7, cuja constante de acoplamento H-7/H-8 ($J=8,8$ Hz) indica uma relação *trans* entre eles. Não foi possível observar a constante de acoplamento H-8/H-8' porque os sinais destes hidrogênios formam um multiplete. Portanto **To-5** pode apresentar a configuração relativa **A** ou **B**.

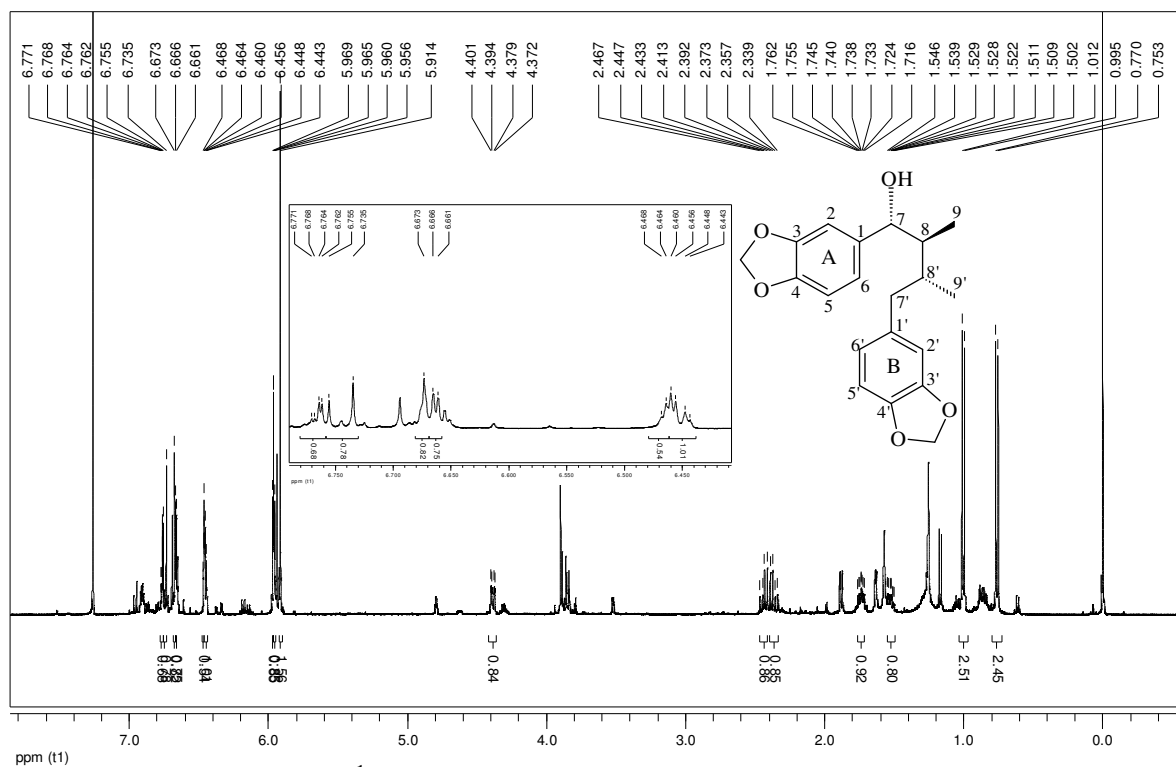


Seus dados espectrais e rotação específica foram comparados com a literatura, identificando **To-5** como a neolignana (+)-oleiferina-C, com configuração absoluta 7R, 8S, 8'R (estrutura **A**) (FERNANDES *et al.*, 1993; 1994). Esta substância já foi encontrada anteriormente nas cascas do tronco de *Talauma ovata* (STEFANELLO *et al.*, 2002).

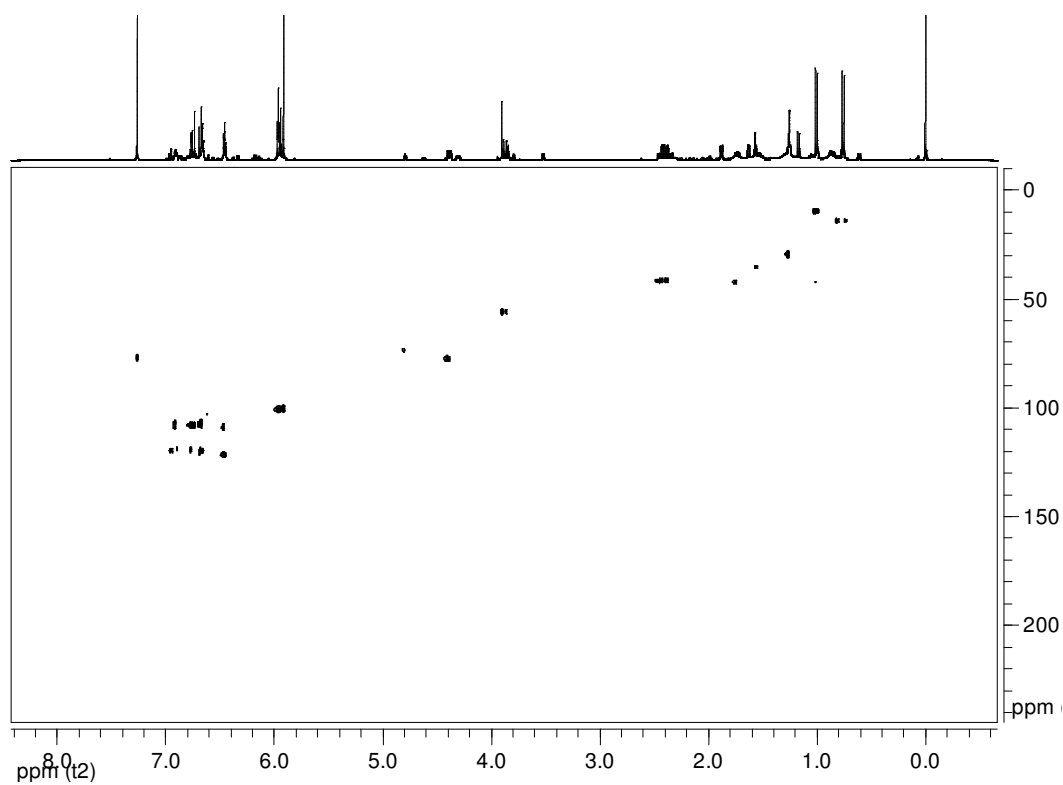
Tabela 4: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-5**.

Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	-	138,1	-
2	6,66; <i>m</i>	106,5	3, 4, 6 e 7
3	-	147,5	-
4	-	146,5	-
5	6,75 (1H; <i>dl</i> ; 8,0)	107,6	1, 3 e 4
6	6,66; <i>m</i>	119,4	1, 2 e 4
7	4,39 (1H; <i>dd</i> ; 2,8 e 8,8)	77,7	2, 6 (fraco)
8	1,74 (1H; <i>m</i>)	42,1	7 (fraco)
9	1,00 (3H; <i>d</i> ; 6,8)	9,4	7, 8, 8'
1'	-	134,2	-
2'	6,47 (1H; <i>d</i> ; 1,6)	108,9	3', 4', 6'
3'	-	147,2	-
4'	-	145,3	-
5'	6,67 (1H; <i>sl</i>)	107,5	1', 3', 4', 6'
6'	6,45 (1H; <i>dd</i> ; 1,6 e 5,2)	121,3	2', 4', 5'
7'	2,37 (1H; <i>dd</i> ; 7,6 e 13,6) 2,44 (1H; <i>dd</i> ; 8,0 e 13,6)	41,4	8, 1', 2', 6', 8', 9'
8'	1,52 (1H; <i>m</i>)	35,3	-
9'	0,76 (3H; <i>d</i> ; 6,8)	14,5	8, 7', 8'
7-OH	1,57 (1H; <i>sl</i>)	-	-
OCH ₂ O	5,91 (2H; <i>s</i>)	100,0	3', 4'
OCH ₂ O	5,96 (1H; <i>d</i> ; 1,6) 5,97 (1H; <i>d</i> ; 1,6)	100,3	3, 4

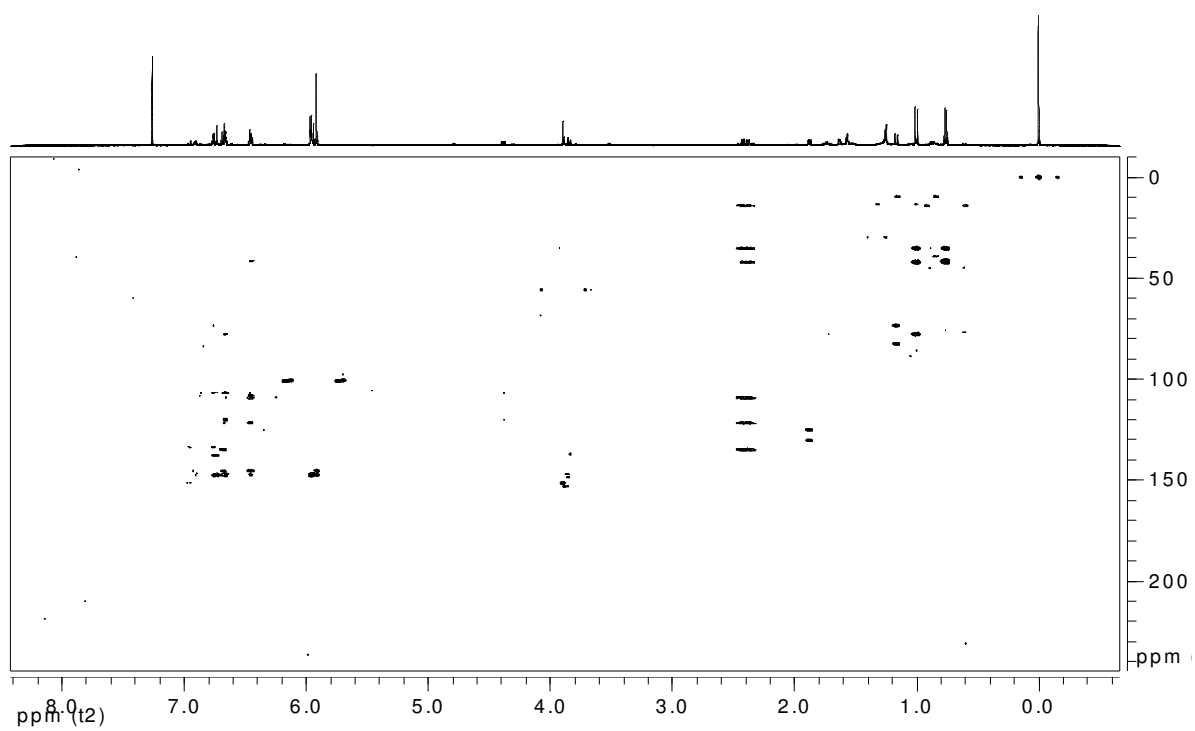
*Atribuição inequívoca através de análise dos experimentos do HSQC e HMBC



E13 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **To-5**.

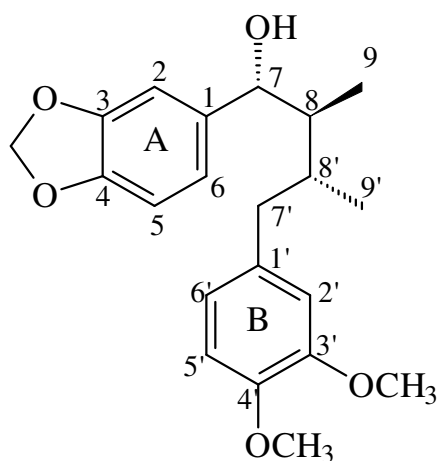


E14 - Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância **To-5**.



E15 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-5**.

4.5 Identificação estrutural da substância To-6 e determinação estrutural da substância To-6a



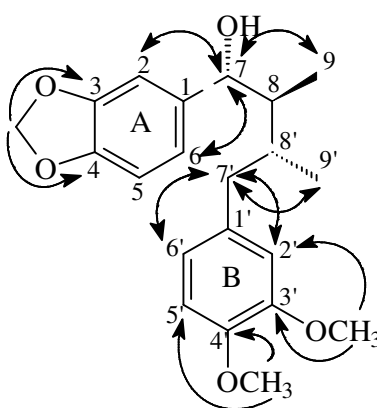
To-6

O espectro de RMN de ^1H (**Tabela 5; E16**) apresentou sinais referentes a duas metilas (δ 0,79, *d*, $J=6,8$ Hz; δ 1,01, *d*, $J=6,8$ Hz), dois hidrogênios metínicos (δ 1,58, *m*; δ 1,72, *m*), um sinal de hidroxila (δ 1,68, *sl*), dois hidrogênios benzílicos (δ 2,40, *dd*, $J=7,2$ e 14,0 Hz; δ 2,45, *dd*, $J=8,4$ e 14,0 Hz), um hidrogênio carbinólico (δ 4,37, *d*, $J=8,8$ Hz), sinais referentes a duas metoxilas ligadas a carbono sp^2 (*s*, δ 3,79 e δ 3,86), um grupo metilenodioxi (δ 5,94, *d*, $J=1,2$ Hz; δ 5,95, *d*, $J=1,2$ Hz) e finalmente seis hidrogênios aromáticos, sendo quatro em acoplamento orto e dois em acoplamento meta.

O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (**Tabela 5; E17**), mostrou a presença de 21 carbonos, sendo 2 metílicos, 1 metilênico, 2 metínicos, 1 carbinólico, 2 metoxílicos, 1 metilenodioxi e 12 que apresentam deslocamentos químicos típicos de anel aromático, sendo que destes, seis são quaternários. Pode-se supor a presença de dois anéis aromáticos trissubstituídos.

A análise do experimento HSQC (**Tabela 5; E18**) confirmou as relações dos hidrogênios com seus respectivos carbonos, enquanto que o HMBC (**Tabela 5; E19**) mostrou as correlações entre o sinal do hidrogênio carbinólico em δ 4,37 (H-7) com δ 9,6 (C-9), δ 41,7 (C-8), δ 107,9 (C-2), δ 120,2 (C-6) e δ 137,9 (C-1); o sinal em δ 6,65 (H-2) com δ 77,9 (C-7), δ 106,8 (C-5), δ 120,2 (C-6), δ 137,9 (C-1), δ 146,9 (C-4) e δ 147,7 (C-3); os sinais em δ 5,94 e δ 5,95 (OCH_2O) com δ 146,9 (C-4) e δ 147,7 (C-3), confirmando que estes sinais

correspondem ao anel aromático A. Ainda pelo HMBC, observou-se as correlações entre os sinais dos hidrogênios metilênicos em δ 2,40 e δ 2,45 (H-7') com δ 14,3 (C-9'), δ 35,2 (C-8'), δ 41,7 (C-8), δ 111,8 (C-2'), δ 120,9 (C-6') e δ 133,6 (C-1'); o sinal em δ 6,47 (H-2') com δ 41,4 (C-7'), δ 110,9 (C-5'), δ 120,9 (C-6'), δ 133,6 (C-1'), δ 147,1 (C-4') e δ 148,7 (C-3'); o sinal em δ 3,79 (OCH₃) com δ 111,8 (C-2') e δ 148,7 (C-3'); o sinal em δ 3,86 (OCH₃) com δ 110,9 (C-5') e δ 147,1 (C-4'), confirmando que estes sinais correspondem ao anel aromático B. A estrutura pôde ser confirmada através dessas correlações, conforme mostradas abaixo.

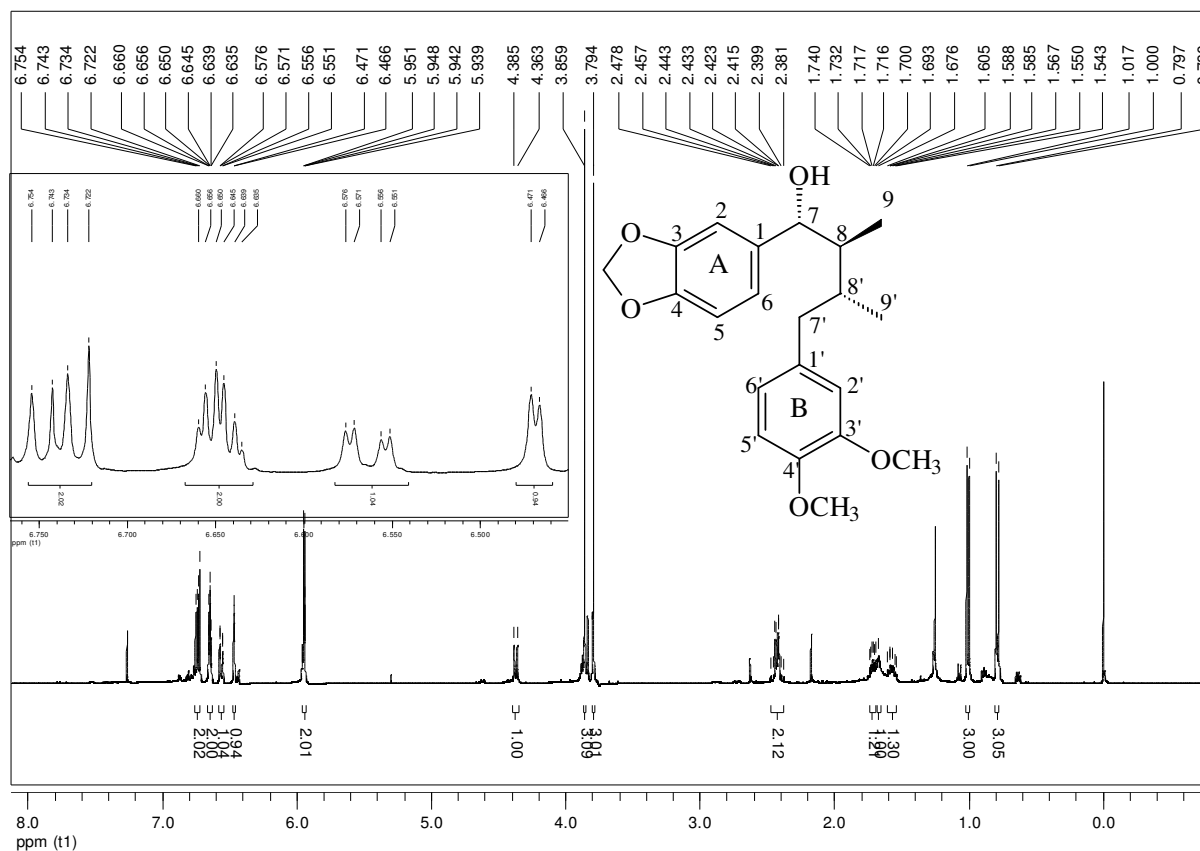


Os espectros de RMN de ¹H, HSQC e HMBC da substância **To-6** mostraram-se muito semelhantes ao da substância **To-5**, diferindo somente nos substituintes do anel aromático B. Da mesma forma que a substância anterior, a constante de acoplamento H-7'/H-8' ($J=8,8$ Hz) indica uma relação *trans* entre eles. Seus dados espectrais e rotação específica foram comparados com a literatura, identificando **To-6** como a neolignana (+)-oleiferina-A, com configuração absoluta 7R, 8S, 8'R, tendo sido isolada pela primeira vez nas folhas de *Virola oleifera* (Myristicaceae) (FERNANDES *et al.*, 1993; 1994).

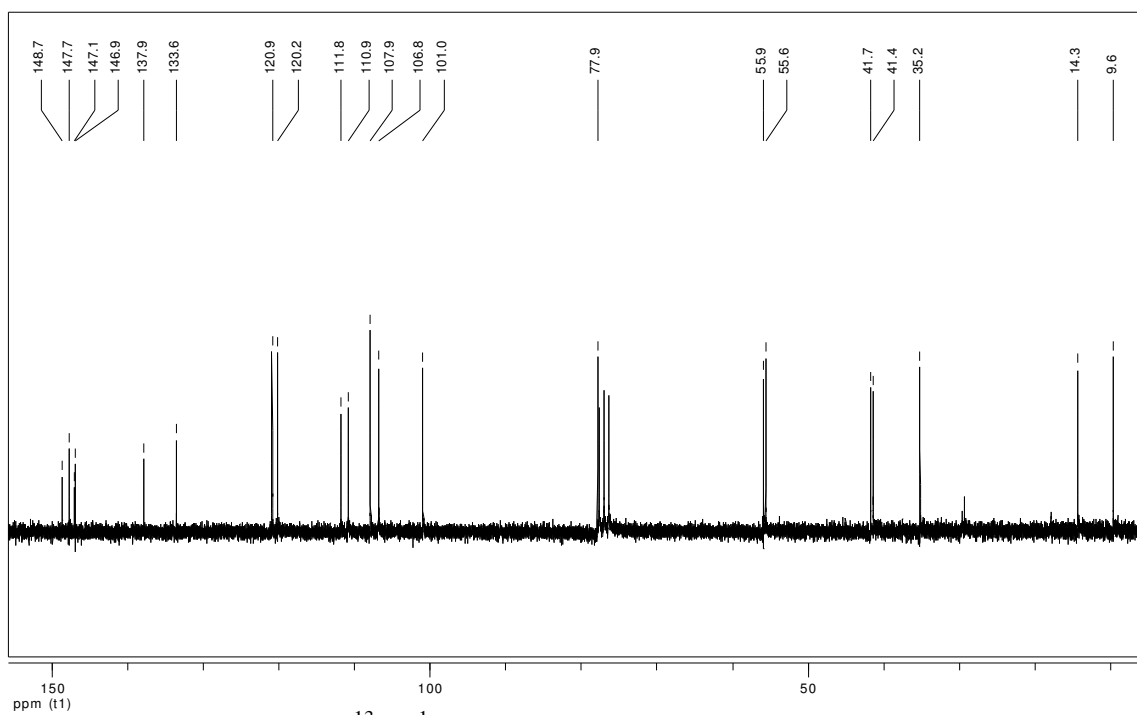
Tabela 5: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-6**.

Posição	^1H δ (multiplicidade; <i>J</i> em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	-	137,9	-
2	6,65 (1H; <i>d</i> ; 2,0)	107,9	1, 3, 4, 5, 6, 7
3	-	147,7	-
4	-	146,9	-
5	6,73 (1H; <i>d</i> ; 8,4)	106,8	1, 3, 4; 6, 7 (fraco)
6	6,65 (1H; <i>dd</i> ; 2,0 e 8,4)	120,2	2, 4, 5, 7
7	4,37 (1H; <i>d</i> ; 8,8)	77,9	1, 2, 6, 8, 9
8	1,72 (1H; <i>m</i>)	41,7	1, 7, 9'; 9', 8' (fraco)
9	1,01 (3H; <i>d</i> ; 6,8)	9,6	7, 8, 8'
1'	-	133,6	-
2'	6,47 (1H; <i>d</i> ; 2,0)	111,8	1', 3', 4', 6', 7'; 5' (fraco)
3'	-	148,7	-
4'	-	147,1	-
5'	6,74 (1H; <i>d</i> ; 8,0)	110,9	1', 2', 3', 4', 6'; 7' (fraco)
6'	6,57 (1H; <i>dd</i> ; 2,0 e 8,0)	120,9	2', 3', 4', 5', 7'
7'	2,40 (1H; <i>dd</i> ; 7,2 e 14,0) 2,45 (1H; <i>dd</i> ; 8,4 e 14,0)	41,4	8, 1', 2', 6', 8', 9'
8'	1,58 (1H; <i>m</i>)	35,2	1'; 7, 8, 9, 9' (fraco)
9'	0,79 (3H; <i>d</i> ; 6,8)	14,3	8, 7', 8'
7-OH	1,68 (1H; <i>sl</i>)	-	-
OCH ₂ O	5,94 (1H; <i>d</i> ; 1,2) 5,95 (1H; <i>d</i> ; 1,2)	101,0	3, 4
3'-OCH ₃	3,79 (3H; <i>s</i>)	55,6	2', 3'
4'-OCH ₃	3,86 (3H; <i>s</i>)	55,9	4', 5'

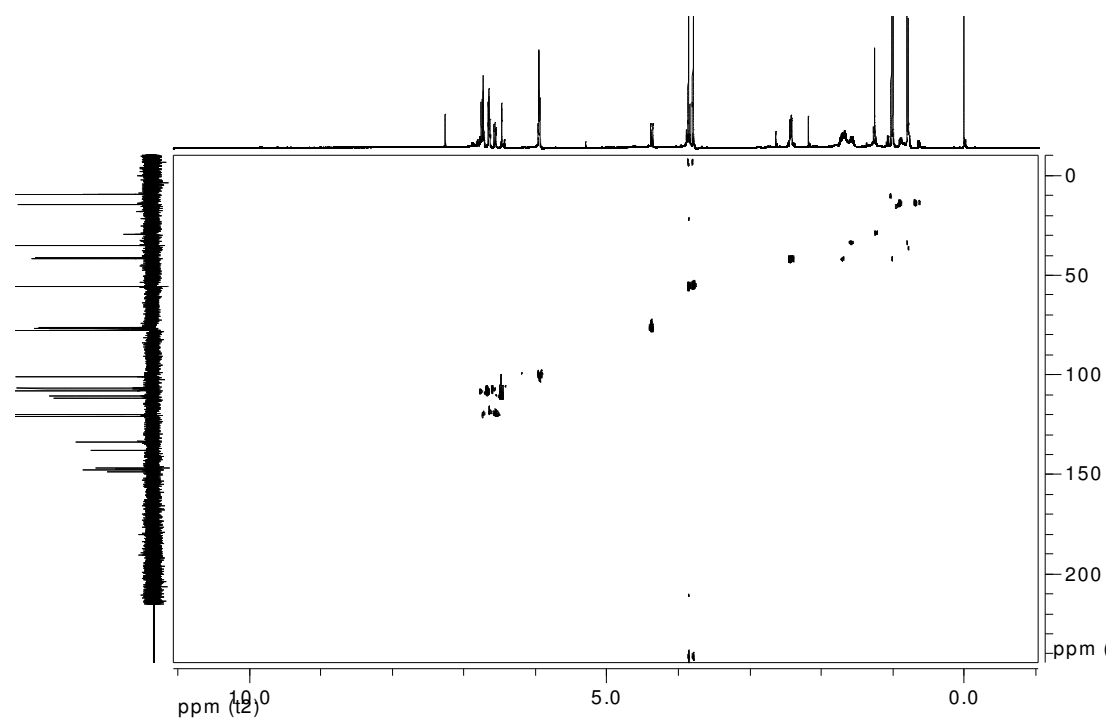
*Atribuição inequívoca através de análise do experimento do HSQC



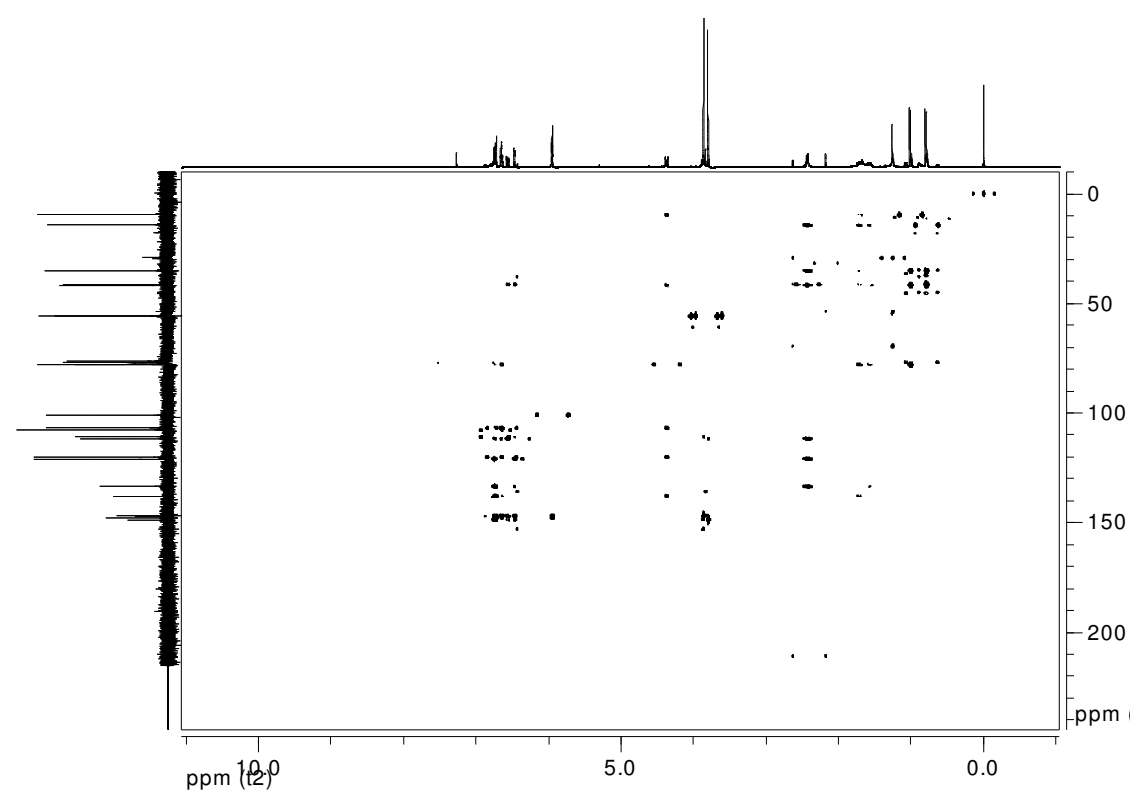
E16 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-6**.



E17 - Espectro de RMN de ¹³C {¹H} (50MHz, CDCl₃) da substância **To-6**.



E18 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância **To-6**.



E19 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância **To-6**.

Apesar de ser uma substância conhecida, o derivado acetilado ainda não havia sido preparado. Por essa razão **To-6** foi submetida a uma reação de acetilação com anidrido acético em piridina, na qual o grupo hidroxila foi substituído pelo grupo acetato (**To-6a**).

A formação do acetato foi confirmada no espectro de RMN de ^1H do derivado, no qual observou-se que o H-7 foi desprotegido de cerca de 1,1 ppm de acordo com o esperado (SILVERSTEIN, 2006). Também foi observado o sinal do grupo acetato (δ 1,99, s).

No espectro de IV foi observada a presença de uma banda de absorção característica de grupo carbonila de éster em 1736 cm^{-1} . Os dados espectrais de RMN de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, HSQC, HMBC, UV e IV (**Tabela 6; E20-25**) confirmaram a formação do produto **To-6a**, que é inédito.

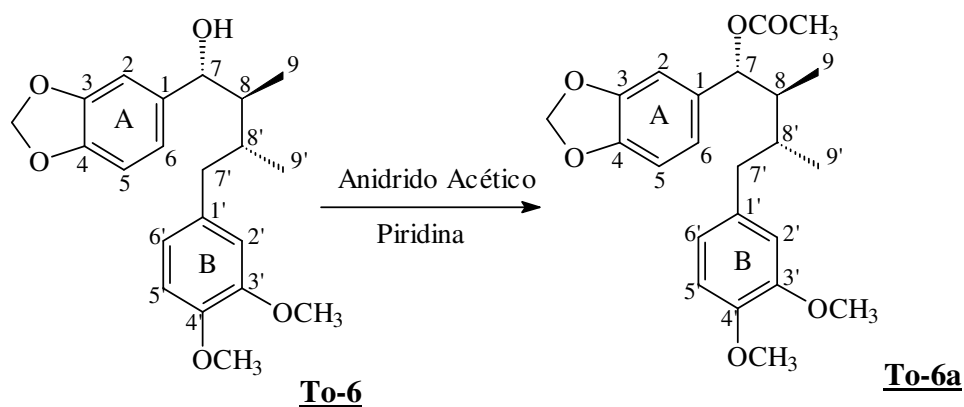
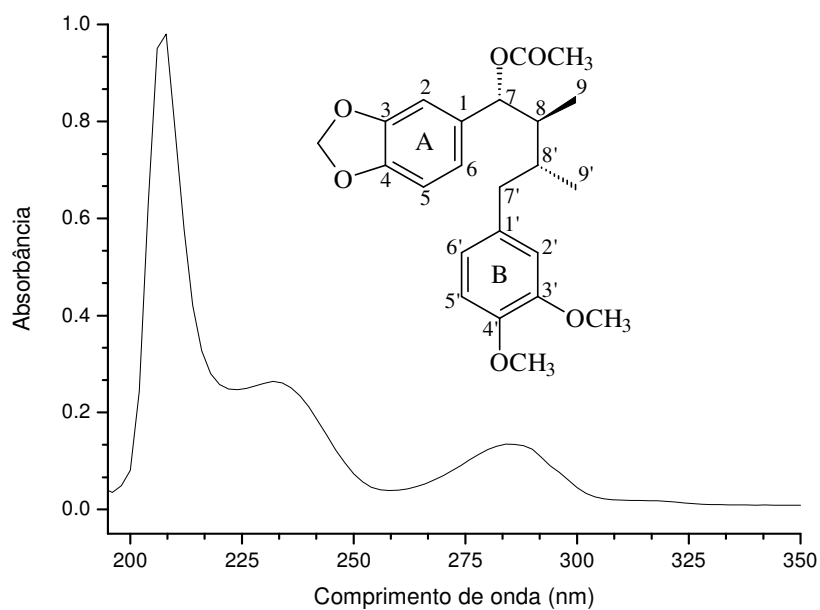


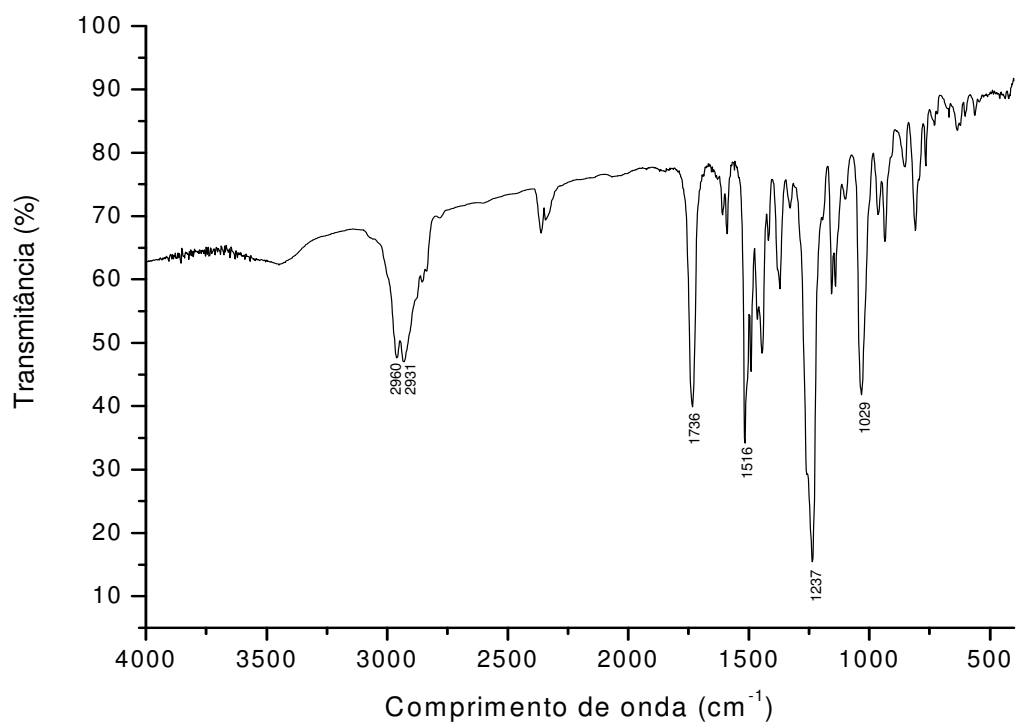
Tabela 6: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-6a**.

Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	-	133,6	-
2	6,62 (1H; d ; 1,6)	107,5	4, 6, 7; 1, 5, 3 (fraco)
3	-	147,6	-
4	-	147,1	-
5	6,72 (1H; d ; 8,0)	107,9	1, 3, 4
6	6,68 (1H; dd ; 1,6 e 8,0)	121,3	2, 4, 5, 7; 3 (fraco)
7	5,50 (1H; d; 10,0)	79,3	1, 2, 6, 8, 8', 9', OCOCH_3
8	1,88 (1H; m)	39,2	1, 7, 9, 7', 9'; 8' (fraco)
9	0,92 (3H; d ; 6,8)	14,0	7, 8, 8'
1'	-	133,3	-
2'	6,46 (1H; d ; 2,0)	111,7	3', 4', 6', 7'; 1' (fraco)
3'	-	148,7	-
4'	-	147,1	-
5'	6,76 (1H; d ; 8,4)	110,8	1', 3', 4', 6'; 2' (fraco)
6'	6,55 (1H; dd ; 2,0 e 8,4)	120,9	2', 4', 5', 7'; 3' (fraco)
7'	2,43 (2H; m)	41,2	8, 1', 2', 6', 8', 9'
8'	1,57 (1H; m)	34,4	7, 9', 7'; 1', 8, 9 (fraco)
9'	0,82 (3H; d ; 6,8)	9,6	8, 7', 8'; 1' (fraco)
3'- OCH_3	3,80 (3H; s)	55,6	3'; 2' (fraco)
4'- OCH_3	3,87 (3H; s)	55,9	4'; 5' (fraco)
OCH_2O	5,94 (1H; d ; 1,2) 5,95 (1H; d ; 1,2)	101,0	3, 4
OCOCH_3	1,99 (3H; s)	21,2	7, OCOCH_3
		170,4	-

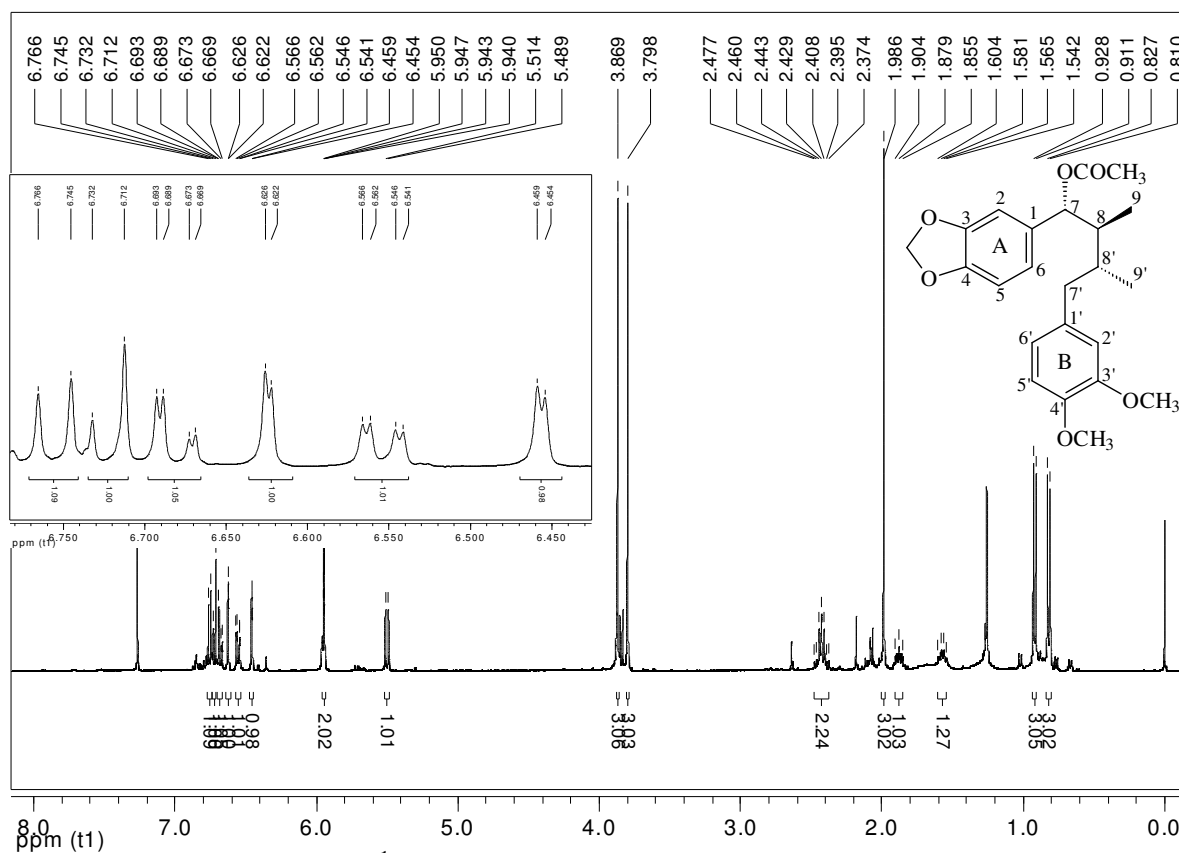
*Atribuição inequívoca através de análise do experimento do HSQC



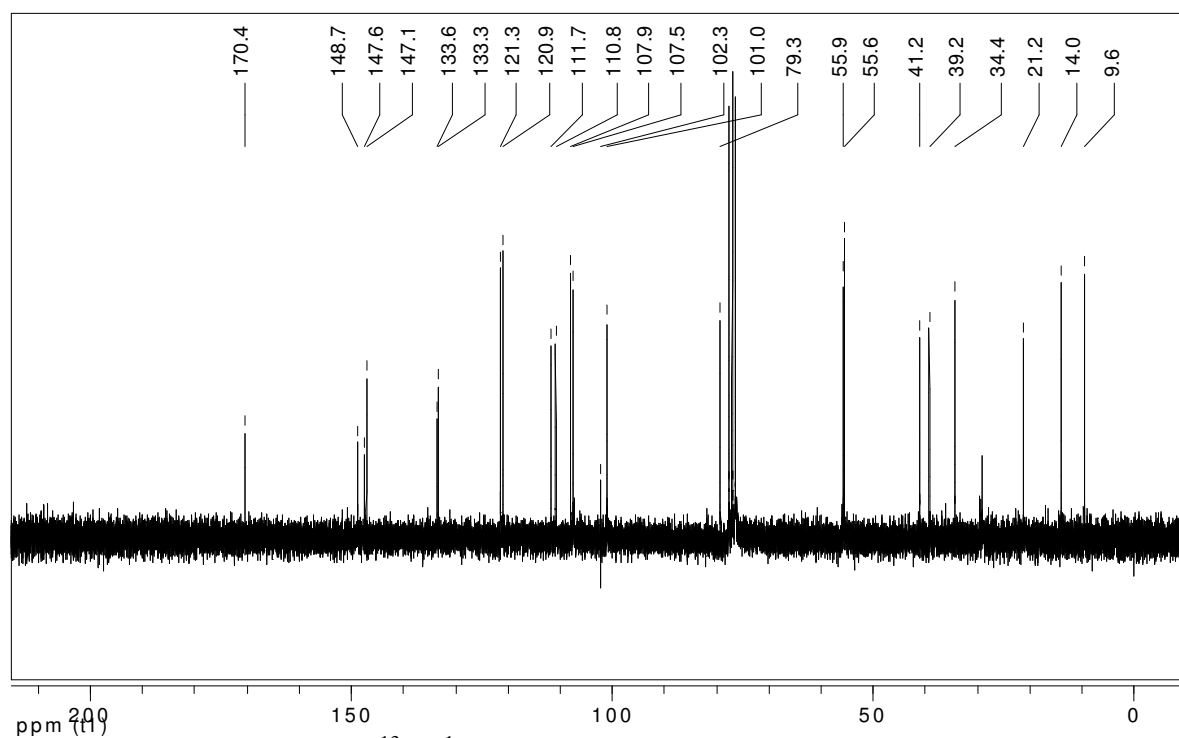
E20 – Espectro no UV da substância **To-6a**.



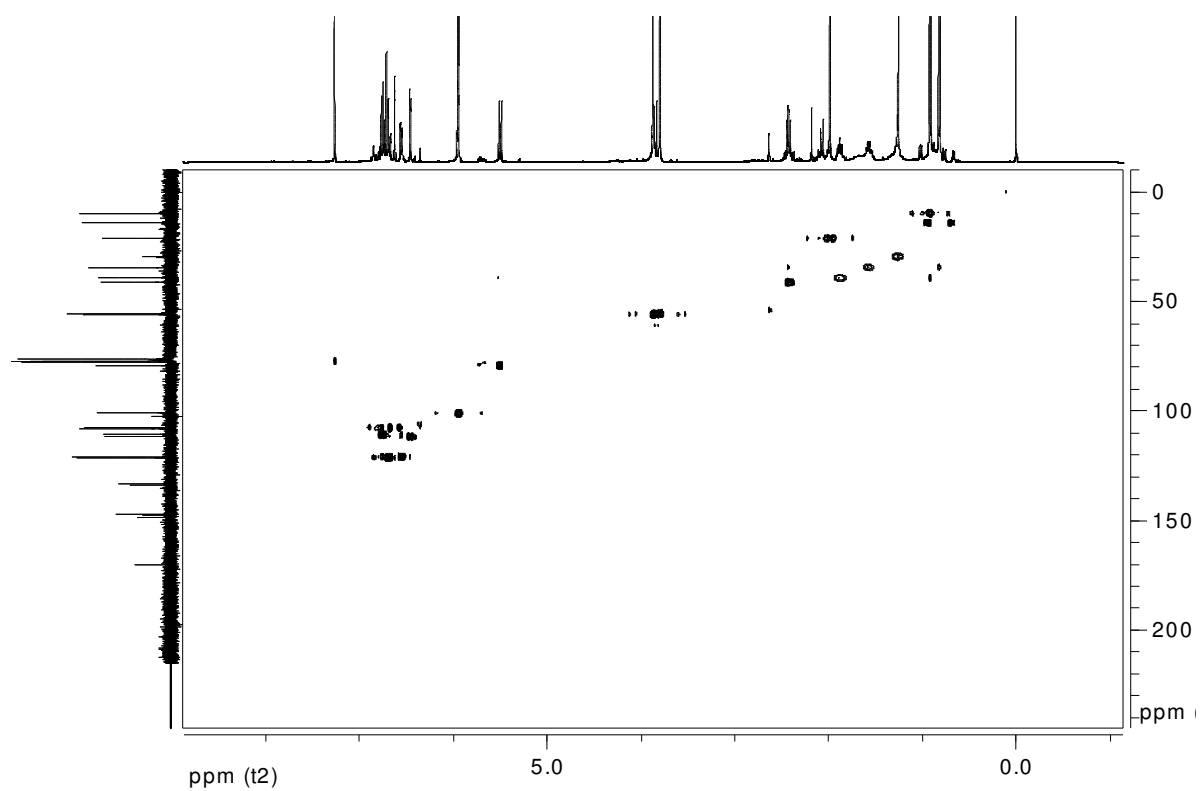
E21 – Espectro no IV da substância **To-6a**.



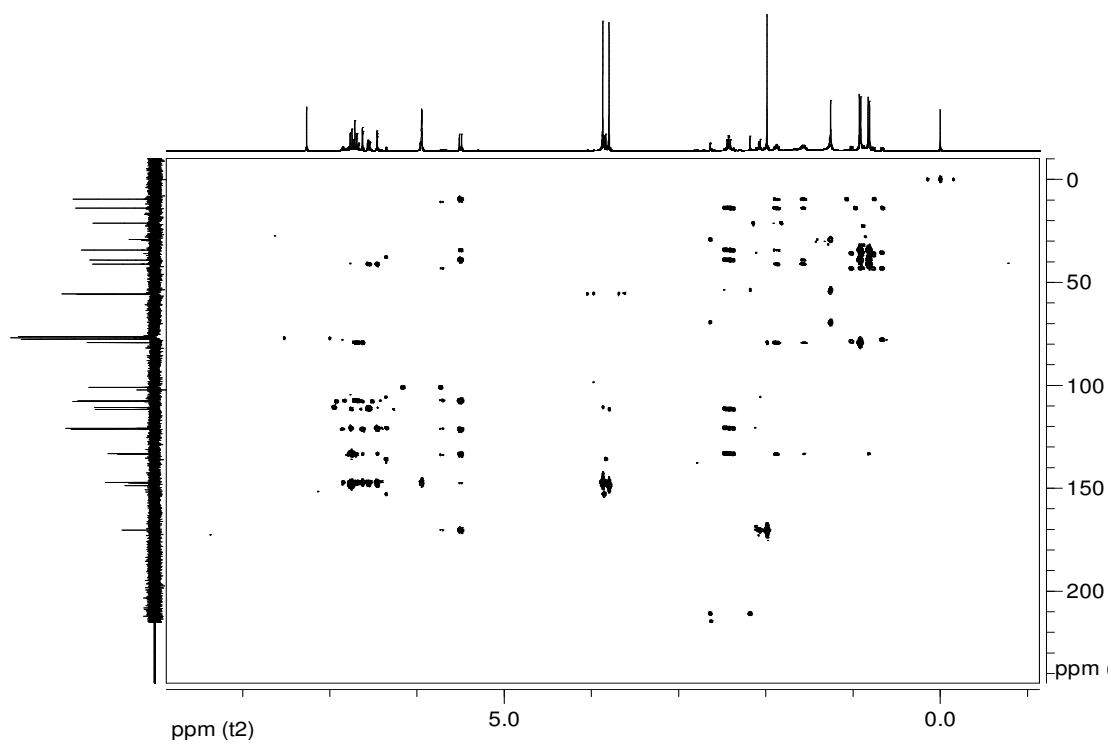
E22 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-6a**.



E23 - Espectro de RMN de ¹³C {¹H} (50MHz, CDCl₃) da substância **To-6a**.

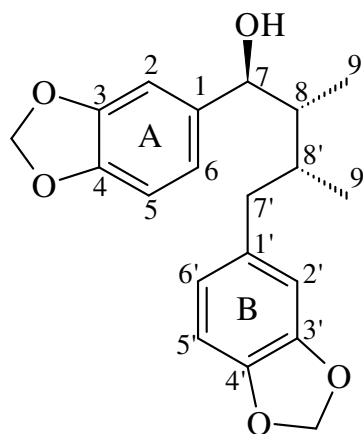


E24 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-6a**.



E25 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-6a**.

4.6 Determinação estrutural das substâncias To-7, To-7a e To-7b



To-7

O espectro no UV (**E26**) apresenta máximo de absorção em 291 nm, um segundo máximo em 239 nm e um terceiro em 208 nm. Esses dados são típicos do cromóforo benzeno substituído.

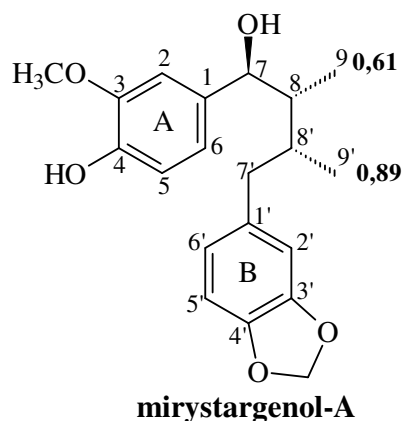
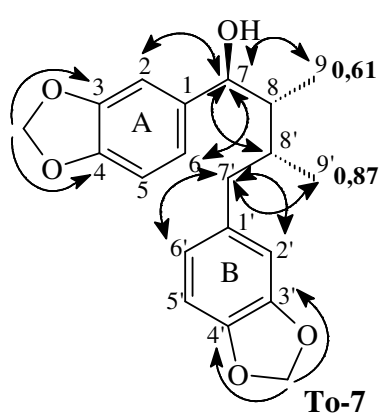
O espectro no IV (**E27**) mostra uma banda larga 3434 cm^{-1} , indicando a presença do grupo hidroxila na molécula.

O espectro de RMN de ^1H apresentou sinais referentes a duas metilas (δ 0,61, *d*, $J=7,2$ Hz; δ 0,87, *d*, $J=7,2$ Hz), dois hidrogênios metínicos (δ 1,82, *m*; δ 2,32, *m*), dois hidrogênios benzílicos (δ 2,14, *dd*, $J=10,8$ e $13,2$; δ 2,84, *dd*, $J=3,6$ e $13,2$ Hz), um hidrogênio carbinólico (δ 4,41, *d*, $J=9,6$ Hz), dois grupos metilenodioxí (δ 5,92, *s*; δ 5,95, *s*) e finalmente seis hidrogênios aromáticos, sendo quatro em acoplamento orto e dois em acoplamento meta. O sinal da hidroxila encontra-se encoberto pelo multiplete de um dos hidrogênios metínicos em δ 1,81.

O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, mostrou a presença de 20 carbonos, sendo 2 metílicos, 1 metilênico, 2 metínicos, 1 carbinólico, 2 metilenodioxí e 12 que apresentam deslocamentos químicos típicos de anel aromático, sendo que destes, seis são quaternários. Pode-se supor a presença de dois anéis aromáticos trissubstituídos.

A análise do experimento HSQC confirmou as relações dos hidrogênios com seus respectivos carbonos, enquanto que o HMBC mostrou as correlações entre o sinal do hidrogênio carbinólico em δ 4,41 (H-7) com δ 11,4 (C-9), δ 35,2 (C-8'), δ 45,0 (C-8), δ 107,0

(C-2), δ 120,4 (C-6) e δ 138,5 (C-1); o sinal em δ 6,86 (H-2) com δ 76,9 (C-7), δ 120,4 (C-6), δ 138,5 (C-1), δ 147,0 (C-4) e δ 147,8 (C-3); o sinal em δ 5,95 (OCH₂O) com δ 147,0 (C-4) e δ 147,8 (C-3), confirmando que estes sinais correspondem ao anel aromático A. Ainda pelo HMBC, observou-se as correlações entre os sinais dos hidrogênios metilênicos em δ 2,14 e δ 2,84 (H-7') com δ 17,7 (C-9'), δ 35,2 (C-8'), δ 45,0 (C-8), δ 109,5 (C-2'), δ 121,9 (C-6') e δ 136,0 (C-1'); o sinal em δ 6,72 (H-2') com δ 37,2 (C-7'), δ 107,92 (C-5'), δ 109,5 (C-2'), δ 121,9 (C-6'), δ 136,0 (C-1'), δ 145,4 (C-4') e δ 147,4 (C-3'); o sinal em δ 5,92 (OCH₂O) com δ 145,4 (C-4') e δ 147,4 (C-3'), confirmando que estes sinais correspondem ao anel aromático B. A estrutura pôde ser confirmada através dessas correlações, conforme mostradas abaixo.

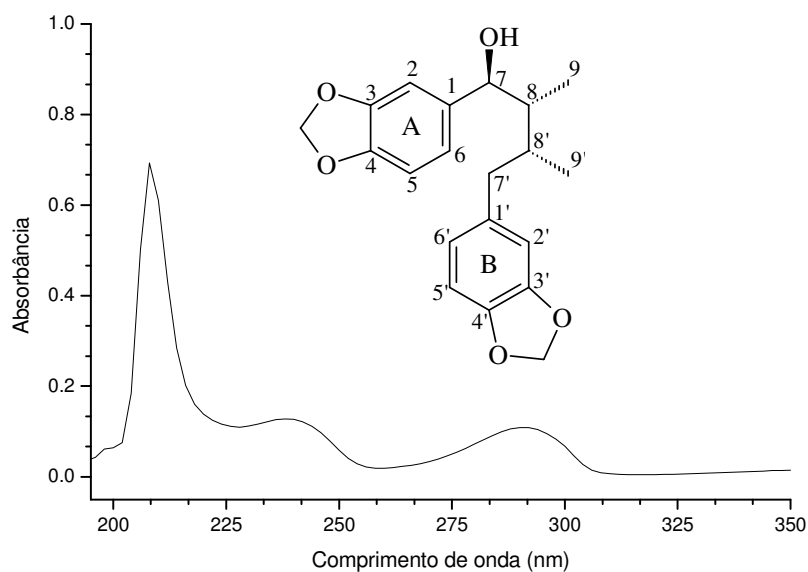


Os espectros de RMN de ¹H, ¹³C{¹H}, HSQC e HMBC da substância **To-7** (Tabela 7; E28-31), mostraram-se muito semelhantes aos da substância **To-5**, diferindo principalmente no deslocamento químico dos grupos metila, cujos valores correspondem aos de uma neolignana com uma estereoquímica diferente. Estes valores são compatíveis com uma estereoquímica relativa *trans-cis*, como no composto mirystargenol-A, que possui configuração 7S, 8R, 8'R (NAKATANI *et al.*, 1988). Portanto **To-7** apresenta configuração relativa 7S, 8R, 8'R, sendo um diastereoisômero da oleiferina-C. Essa substância está sendo descrita pela primeira vez e recebeu o nome comum de (+)-talaumina-A.

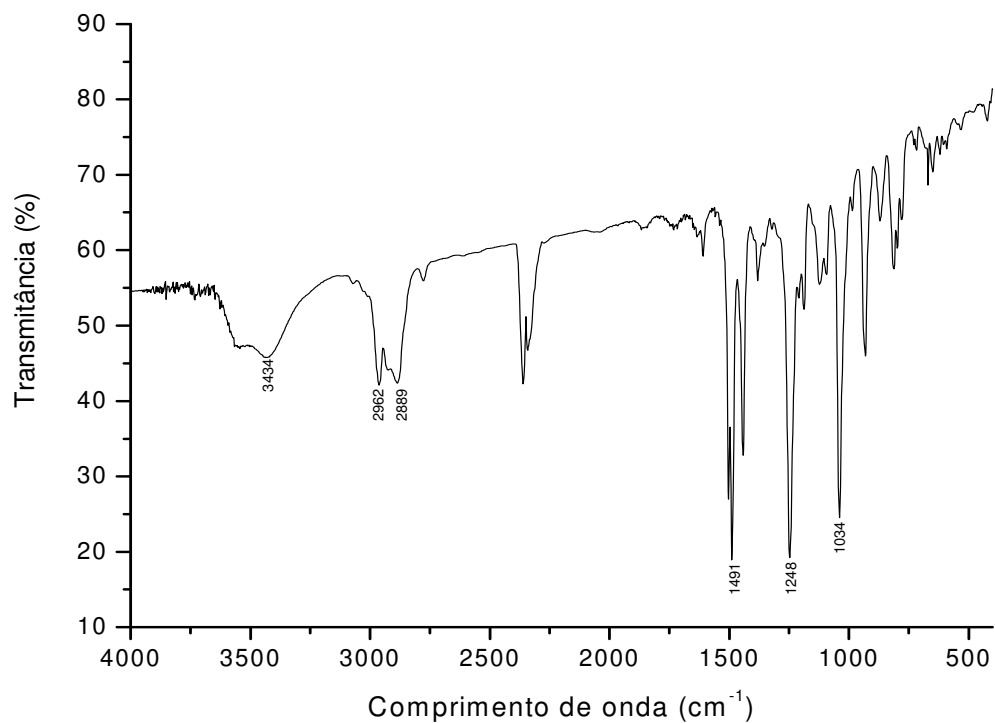
Tabela 7: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-7**.

Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	-	138,5	-
2	6,86 (1H; <i>s</i>)	107,0	3, 4, 6, 7; 1 (fraco)
3	-	147,8	-
4	-	147,0	-
5	6,76 (1H; <i>s</i>)	107,85	1, 2, 3, 4, 7
6	6,77 (1H; <i>s</i>)	120,4	1, 2, 4, 7
7	4,41 (1H; <i>d</i> ; 9,6)	76,9	1, 2, 6, 8, 9, 8'
8	1,82; <i>m</i>	45,0	7; 1, 8, 9, 7', 9'(fraco)
9	0,61 (3H; <i>d</i> ; 7,2)	11,4	7, 8, 8'
1'	-	136,0	-
2'	6,72 (1H; <i>d</i> ; 1,6)	109,5	1', 2', 3', 4', 6', 7'; 5'(fraco)
3'	-	147,4	-
4'	-	145,4	-
5'	6,73 (1H; <i>d</i> ; 7,6)	107,92	1', 2', 3', 4', 6'
6'	6,65 (1H; <i>dd</i> ; 1,6 e 7,6)	121,9	2', 3', 4', 7'
7'	2,14 (1H; <i>dd</i> ; 10,8 e 13,2) 2,84 (1H; <i>dd</i> ; 3,6 e 13,2)	37,2	8, 1', 2', 6', 8', 9'
8'	2,32 (1H; <i>m</i>)	35,2	7, 1'(fraco)
9'	0,87 (3H; <i>d</i> ; 7,2)	17,7	8, 7', 8'
7-OH	1,81; <i>m</i>	-	-
OCH ₂ O	5,92 (2H; <i>s</i>)	100,7	3', 4'
OCH ₂ O	5,95 (2H; <i>s</i>)	101,0	3, 4

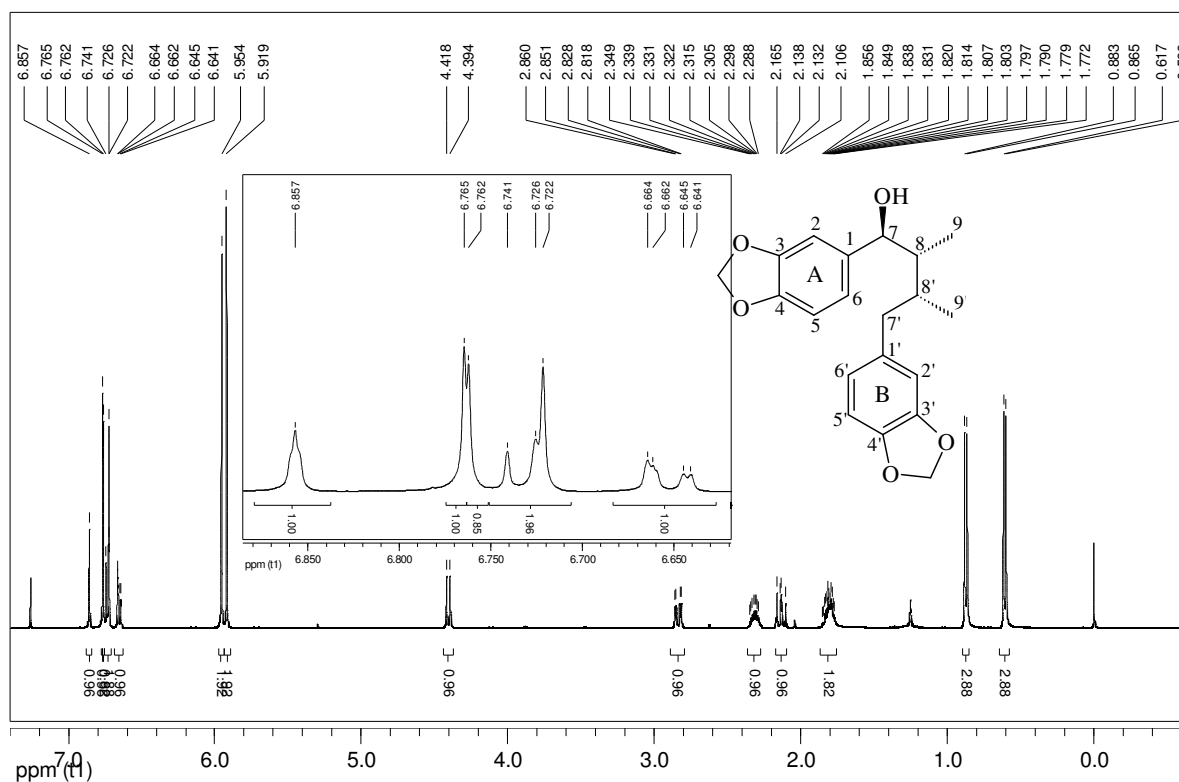
*Atribuição inequívoca através de análise do experimento do HSQC



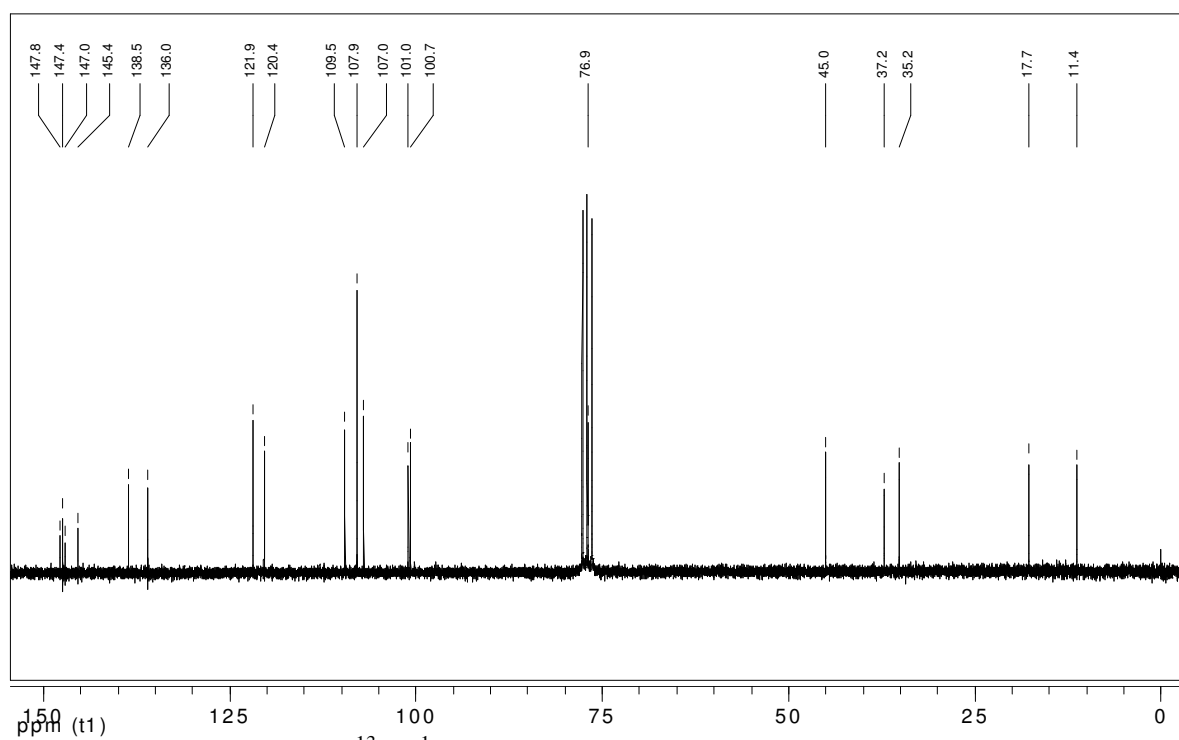
E26 – Espectro no UV da substância **To-7**.



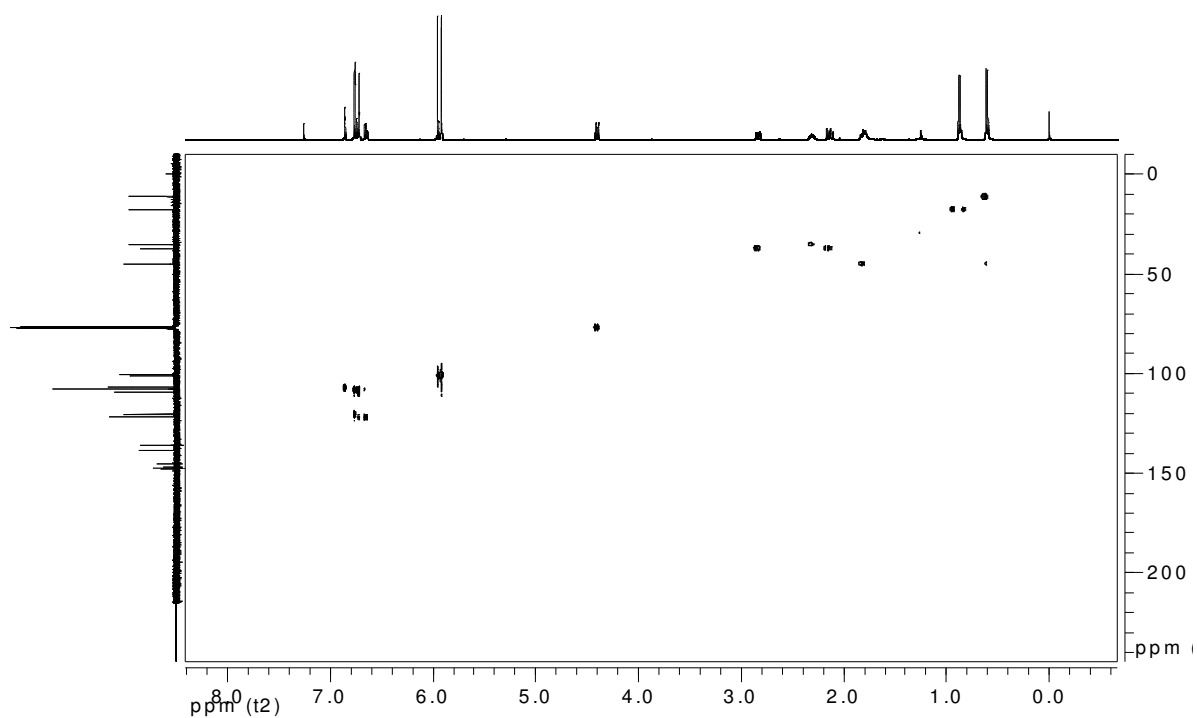
E27 – Espectro no IV da substância **To-7**.



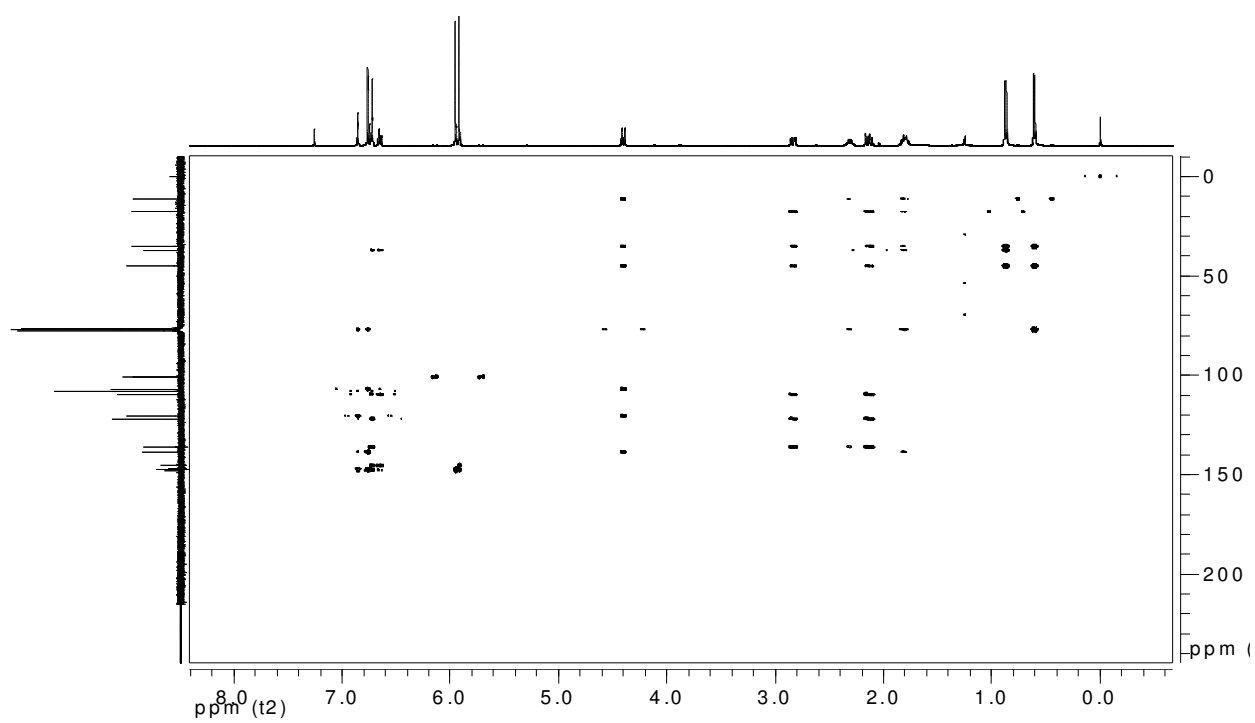
E28 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **To-7**.



E29 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância **To-7**.



E30 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-7**.



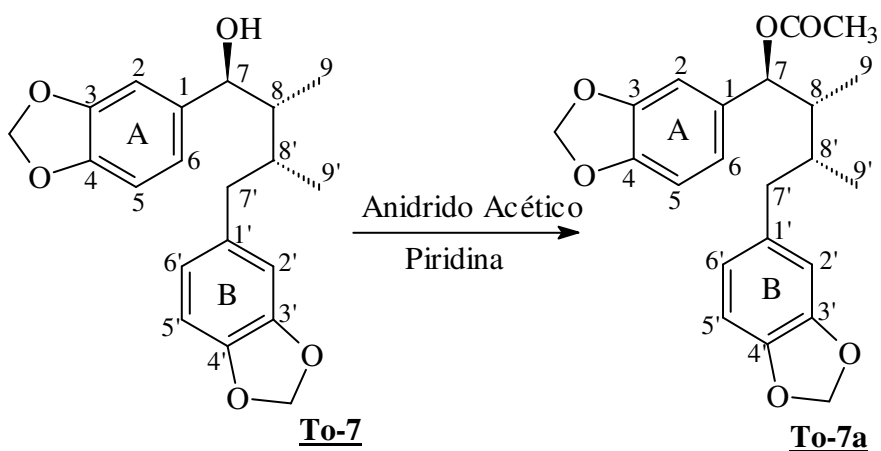
E31 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-7**.

Para confirmar a proposta estrutural, **To-7** foi submetida a duas reações: uma acetilação com anidrido acético em piridina, na qual o grupo hidroxila foi substituído pelo grupo acetato (**To-7a**) e uma reação de ciclização (**To-7b**).

A formação do acetato foi confirmada no espectro de RMN de ^1H do derivado, no qual observou-se que o H-7 foi desprotegido de cerca de 1,2 ppm de acordo com o esperado (SILVERSTEIN, 2006). Também foi observado o sinal do grupo acetato (δ 2,09, s).

No espectro de IV houve o aparecimento de uma banda de absorção característico de grupo carbonila de éster em 1736 cm^{-1} e desaparecimento da banda do grupo hidroxila.

Os dados espectrais de RMN de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, HSQC, HMBC, UV e IV (**Tabela 8; E32-37**) confirmaram a formação do produto **To-7a**, que também é inédito.



A ciclização das neolignanas tipo diarildimetilbutanol leva a formação de ariltetralinas. A reação se dá em meio ácido, ocorrendo inversão de configuração em C-7 (S_N2). Os dados espectrais de RMN de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, HSQC, HMBC, UV e IV (**Tabela 9; E38-42**) confirmaram a formação do produto **To-7b** que também é inédito. Observou-se no espectro de

RMN de ^1H o desaparecimento do sinal do hidrogênio carbinólico, surgindo em seu lugar o sinal de um hidrogênio dibenzílico (δ 3,61, *d*). Além disso, foram observadas mudanças significativas nos deslocamentos químicos dos grupos metila e apenas cinco hidrogênios aromáticos, dois dos quais como singletos. No espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ foi observado um sinal em 51,2 ppm, característico do carbono dibenzílico das ariltetralinas.

No espectro de IV houve o desaparecimento da banda de absorção característico do grupo hidroxila.

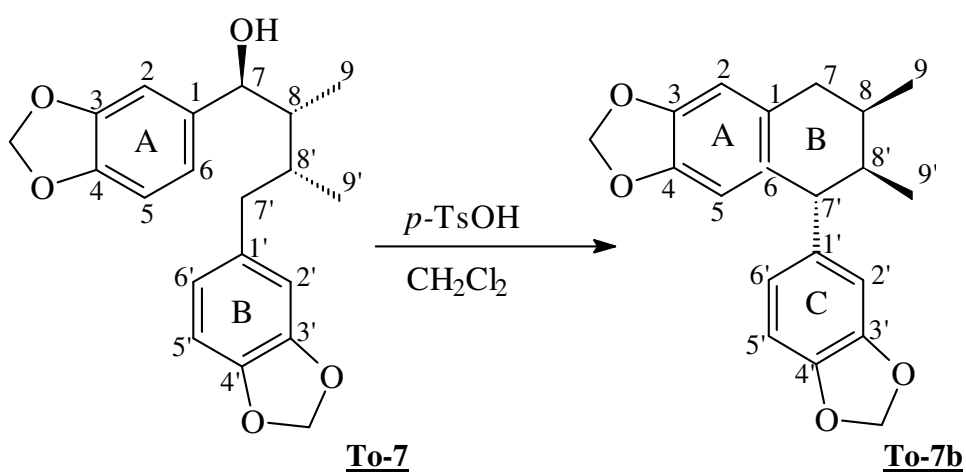
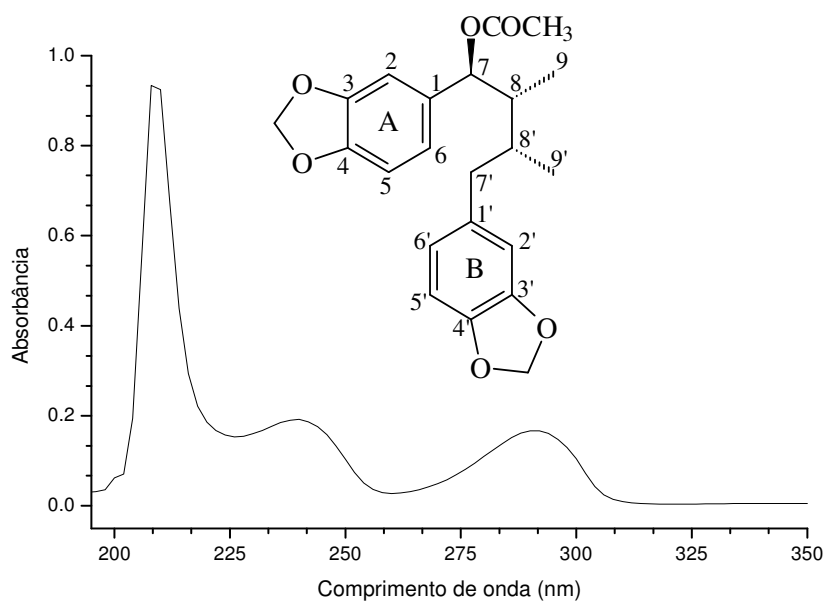


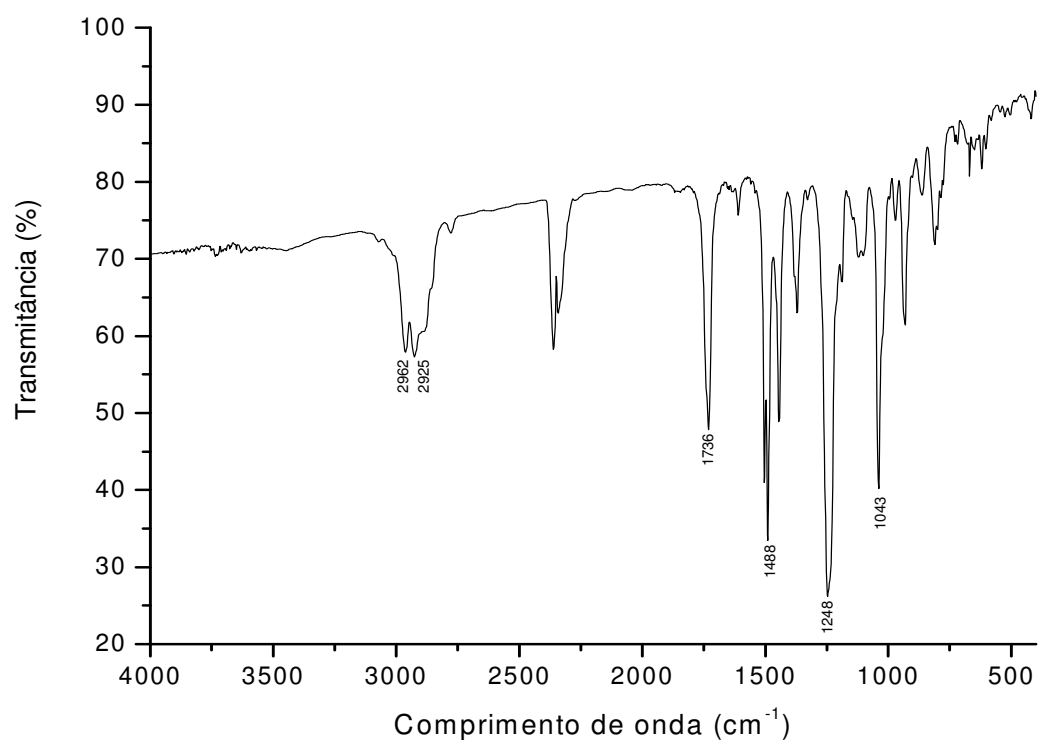
Tabela 8: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-7a**.

Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	-	134,1	-
2	6,83 (1H; d ; 1,4)	107,5	3, 4, 6, 7; 1 (fraco)
3	-	147,7	-
4	-	147,2	-
5	6,76 (1H; d ; 7,8)	108,0	1, 2, 3, 4
6	6,82 (1H; dd ; 1,4 e 7,8)	121,3	2, 3, 4, 7
7	5,59 (1H; d; 10,4)	77,9	1, 2, 6, 8, 9, 8', OCOCH_3
8	2,02 (1H; m)	43,0	7, 9'; 9(fraco)
9	0,61 (3H; d ; 7,2)	11,3	7, 8, 8'
1'	-	135,5	-
2'	6,61 (1H; d ; 1,6)	109,4	3', 4', 6', 7'
3'	-	147,4	-
4'	-	145,5	-
5'	6,73 (1H; d ; 8,0)	107,9	1', 3', 4'
6'	6,57 (1H; dd ; 1,6 e 8,0)	121,9	2', 4', 7'; 3' (fraco)
7'	2,11 (1H; dd ; 10,8 e 12,8) 2,76 (1H; dd ; 3,2 e 12,8)	37,2	8, 1', 2', 6', 8', 9'
8'	2,00 (1H; m)	35,6	7, 9; 8, 7', 9'(fraco)
9'	0,88 (3H; d ; 6,4)	17,5	8, 7', 8'
OCH_2O	5,93 (2H; s)	100,7	3', 4'
OCH_2O	5,95 (1H; d ; 1,4) 5,96 (1H; d ; 1,4)	101,0	3, 4
OCOCH_3	2,09 (3H; s)	21,3	7, OCOCH_3
		170,2	-

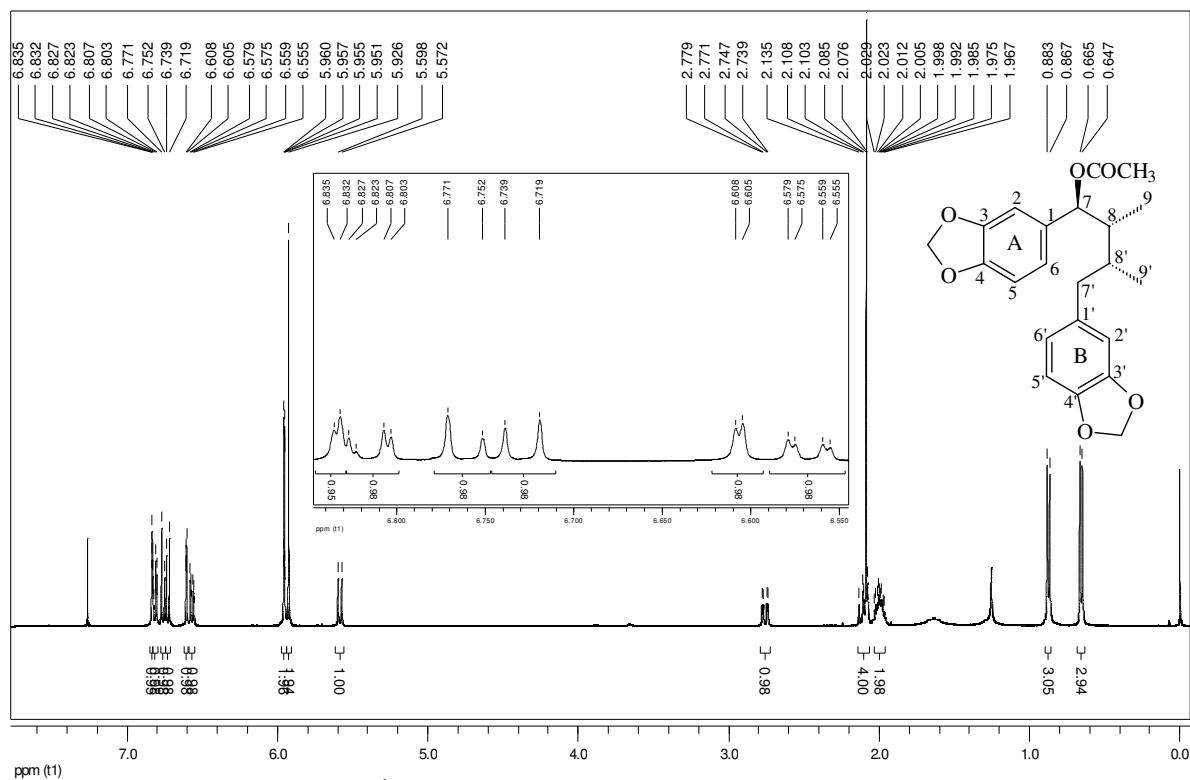
*Atribuição inequívoca através de análise do experimento do HSQC



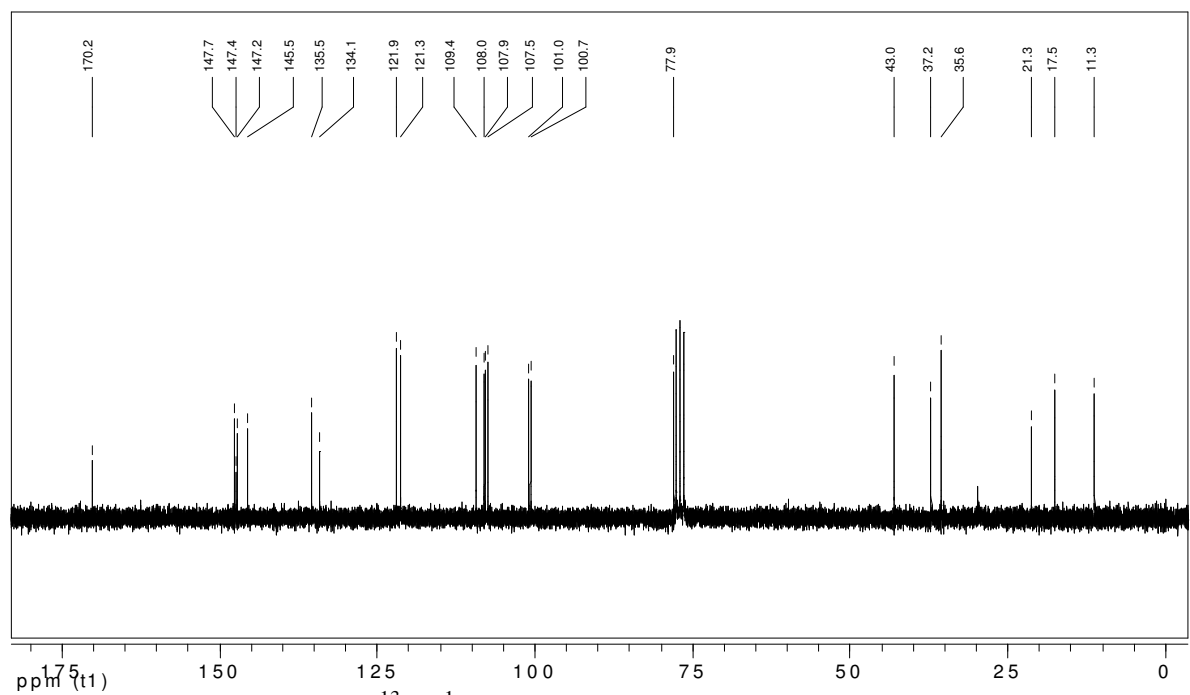
E32 – Espectro no UV da substância **To-7a**.



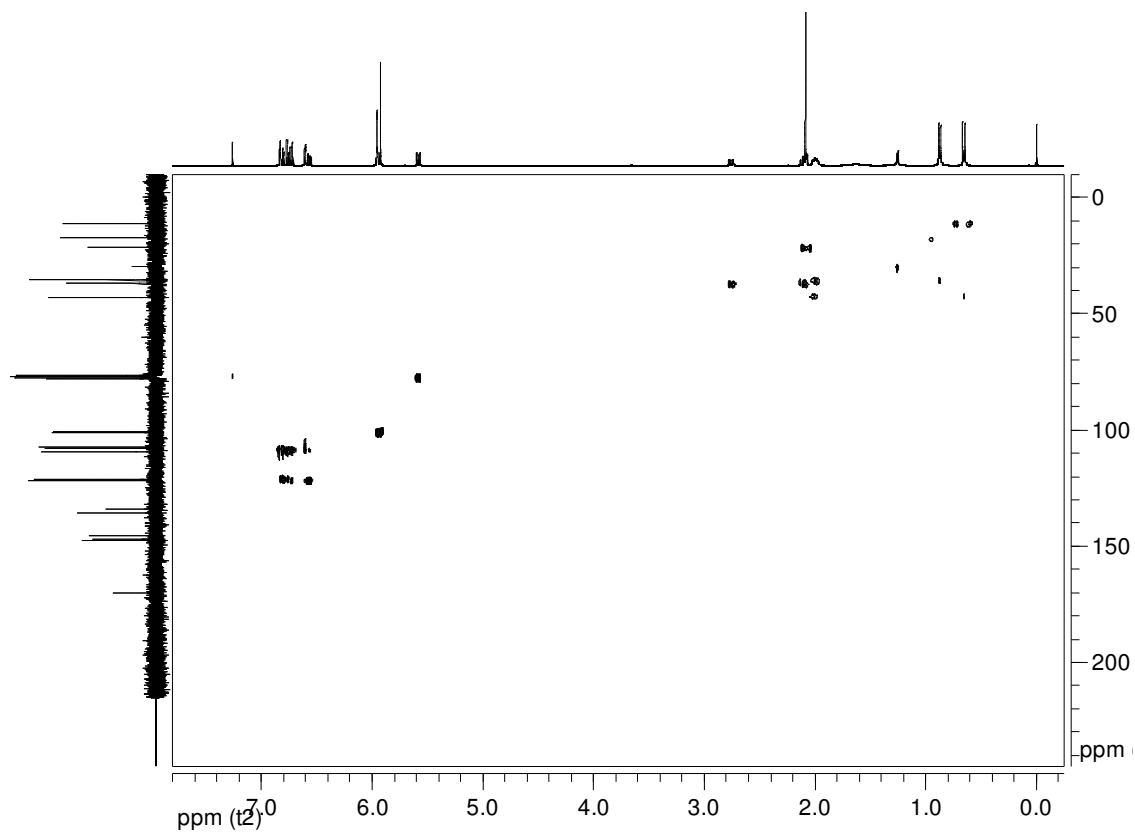
E33 – Espectro no IV da substância **To-7a**.



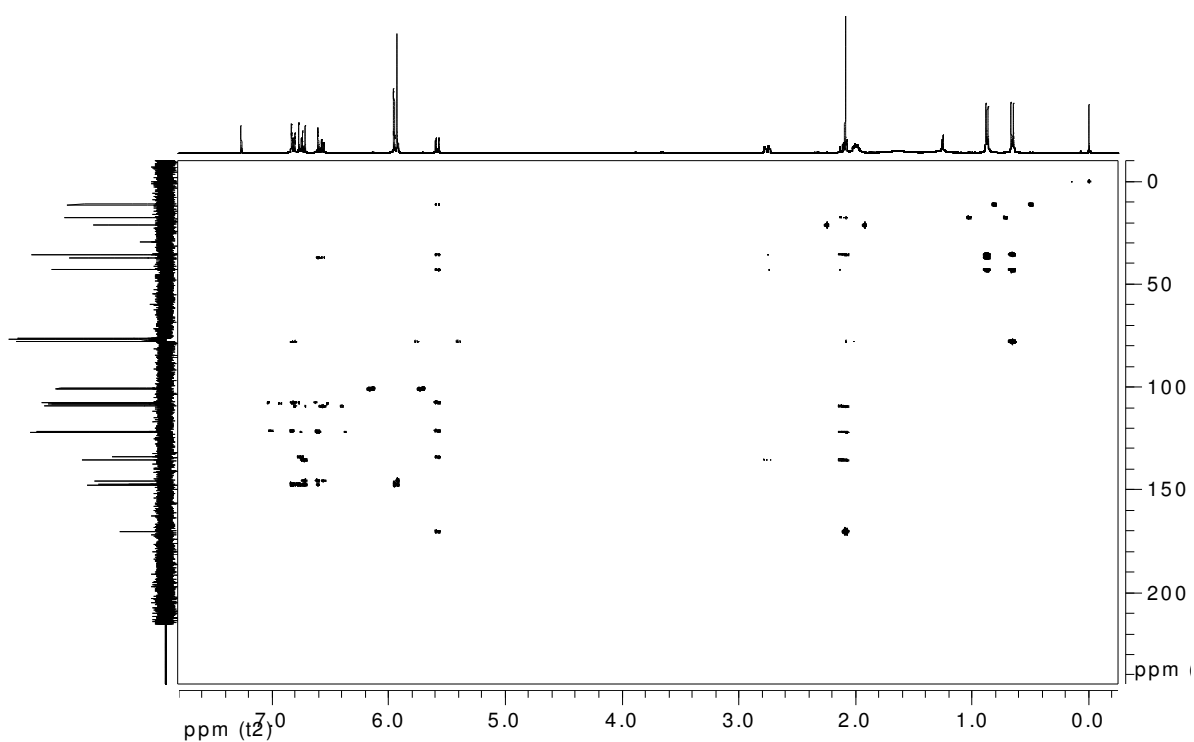
E34 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-7a**.



E35 - Espectro de RMN de ¹³C {¹H} (50 MHz, CDCl₃) da substância **To-7a**.



E36 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-7a**.

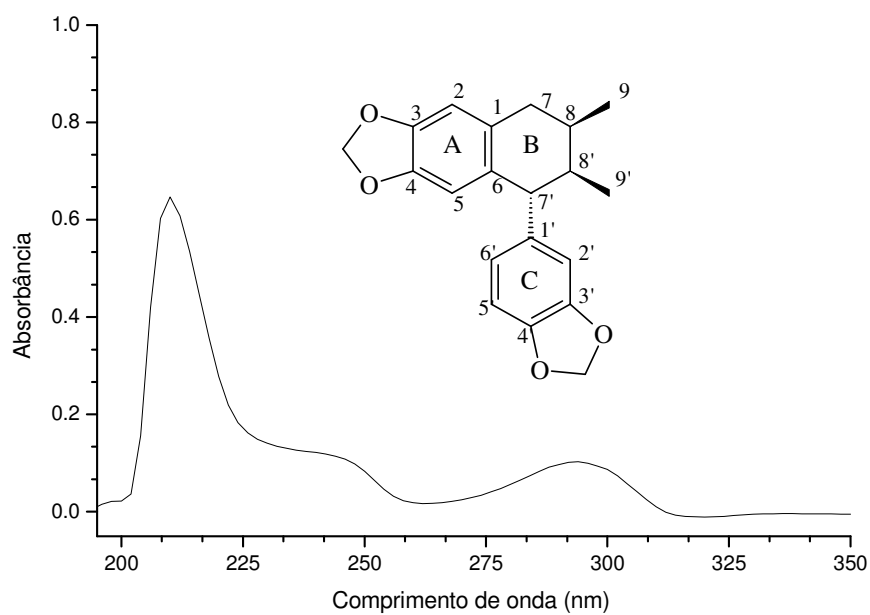


E37 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-7a**.

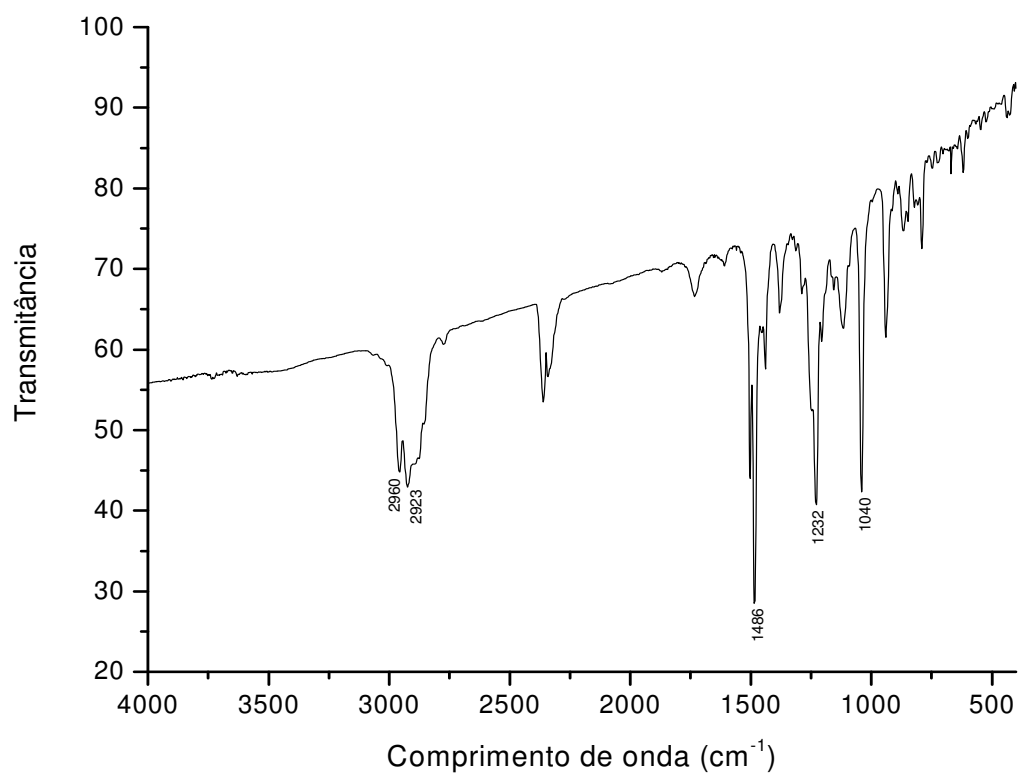
Tabela 9: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-7b**.

Posição	^1H δ (multiplicidade; <i>J</i> em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	-	129,3	-
2	6,56 (1H; <i>sl</i>)	108,3	3, 4, 6, 7
3	-	145,7	-
4	-	145,8	-
5	6,31 (1H; <i>sl</i>)	109,3	1, 3, 4, 7'
6	-	130,7	-
7	2,44 (1H; <i>dd</i> ; 7,6 e 16,4) 2,85 (1H; <i>dd</i> ; 5,6 e 16,4)	35,4	1, 2, 6, 8, 9, 8'
8	2,02 (1H; <i>m</i>)	28,8	-
9	0,89 (3H; <i>d</i> ; 6,8)	16,0	7, 8, 7', 8'
1'	-	141,1	-
2'	6,48 (1H; <i>d</i> ; 1,6)	107,6	3', 4', 6'; 7' (fraco)
3'	-	147,4	-
4'	-	145,6	-
5'	6,70 (1H; <i>d</i> ; 8,0)	110,1	1', 3', 4', 6'
6'	6,51 (1H; <i>dd</i> ; 1,6 e 8,0)	122,2	2', 4', 5', 7'
7'	3,61 (1H; <i>d</i> ; 6,4)	51,2	1, 5, 6, 8, 1', 6', 8', 9'
8'	1,89 (1H; <i>m</i>)	40,7	-
9'	0,89 (3H; <i>d</i> ; 6,8)	15,5	7, 8, 7', 8'
OCH ₂ O	5,85 (2H; <i>s</i>)	100,5	3, 4
OCH ₂ O	5,91 (1H; <i>d</i> ; 1,4) 5,92 (1H; <i>d</i> ; 1,4)	100,8	3', 4'

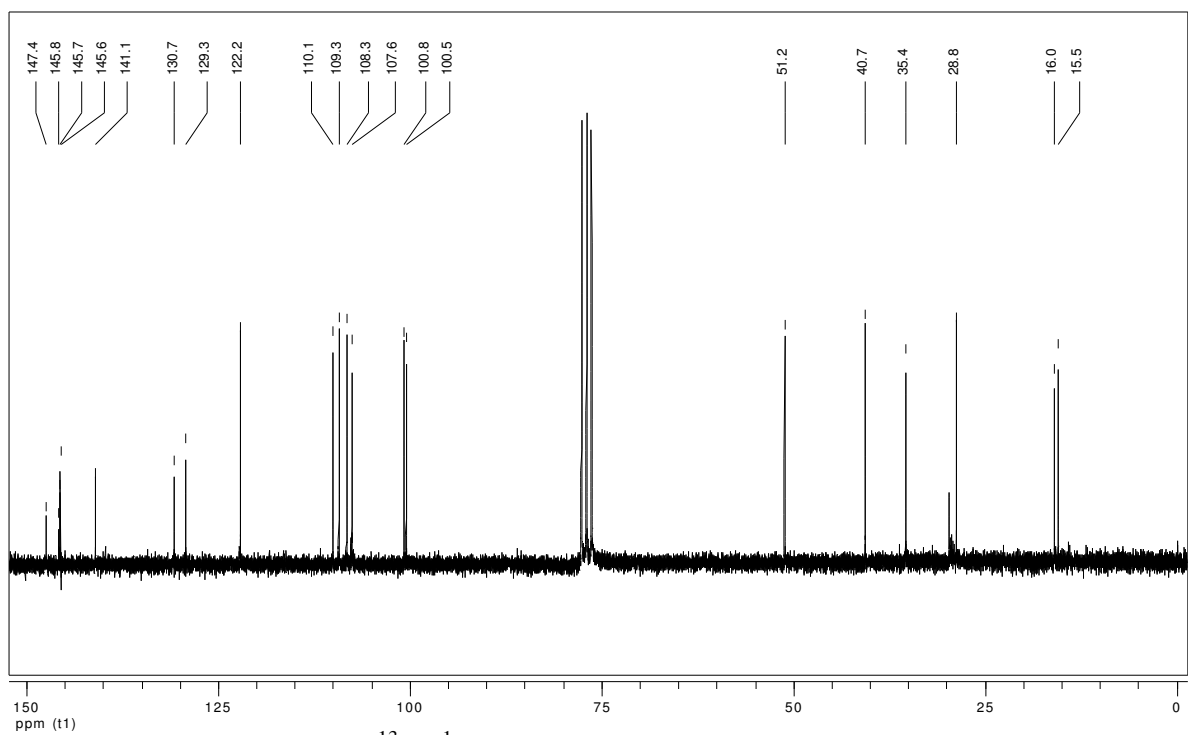
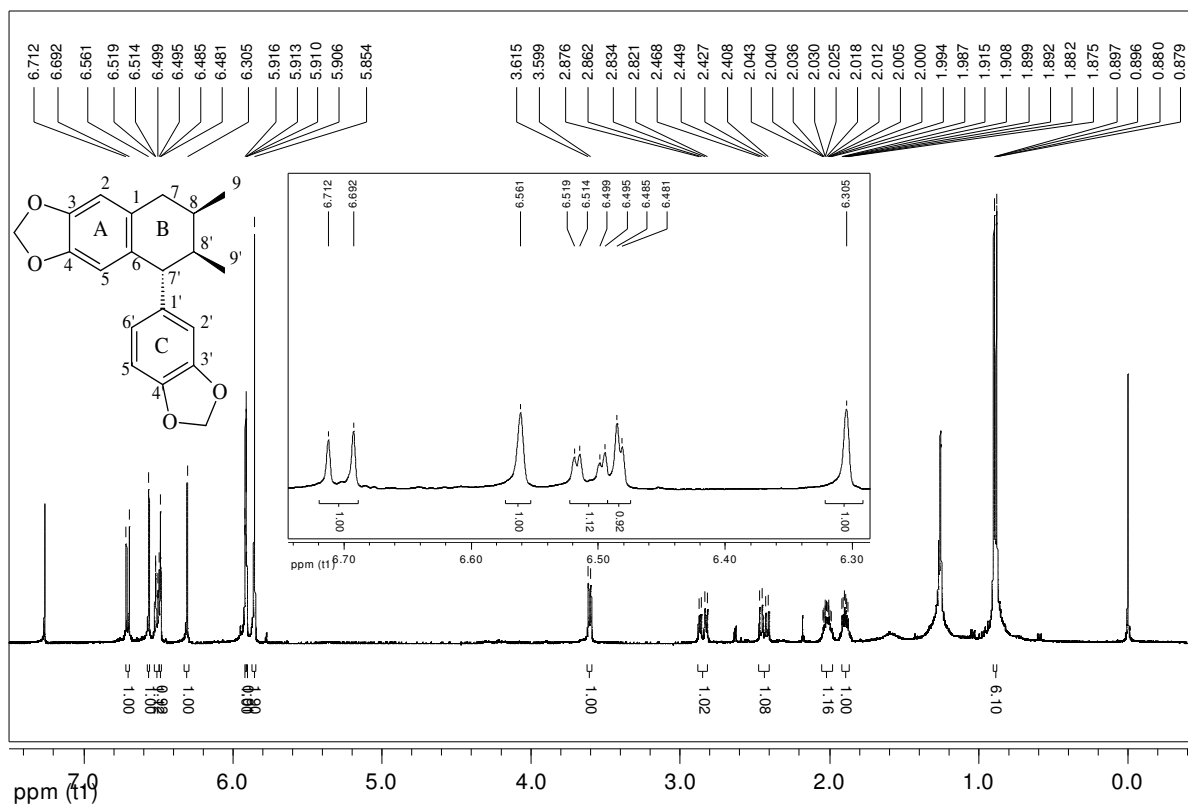
*Atribuição inequívoca através de análise do experimento do HSQC

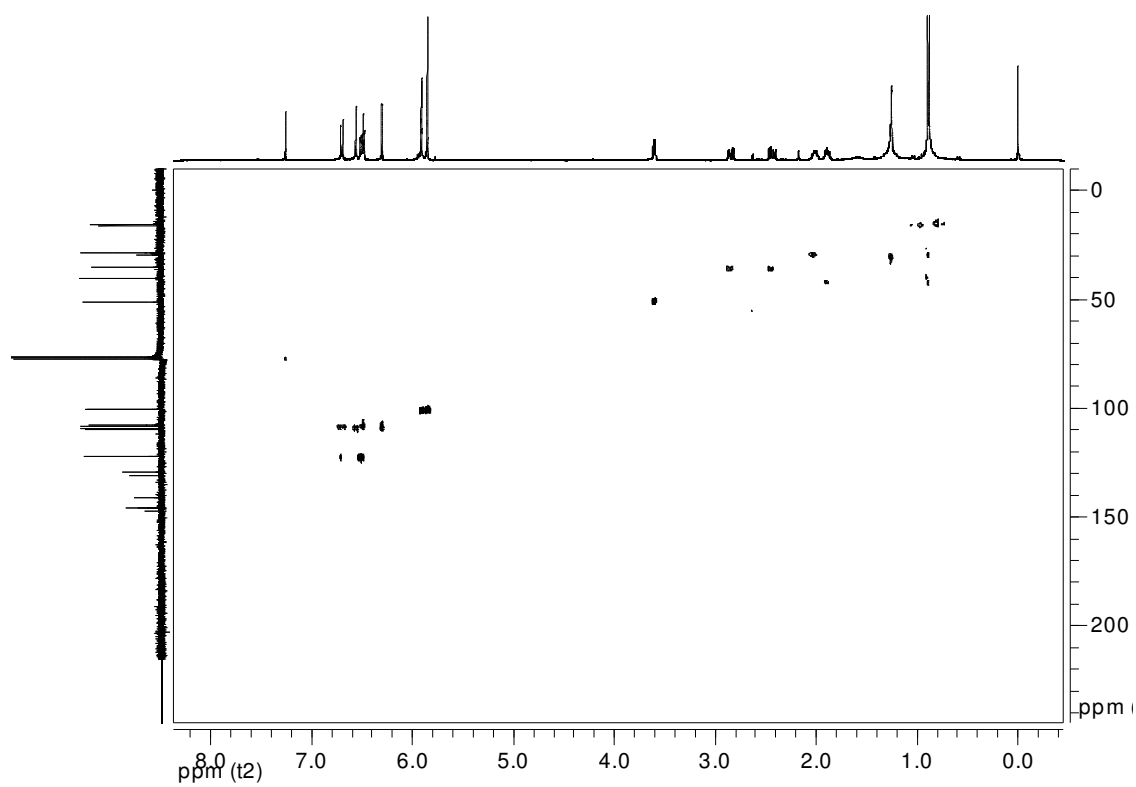


E38 – Espectro no UV da substância **To-7b**.

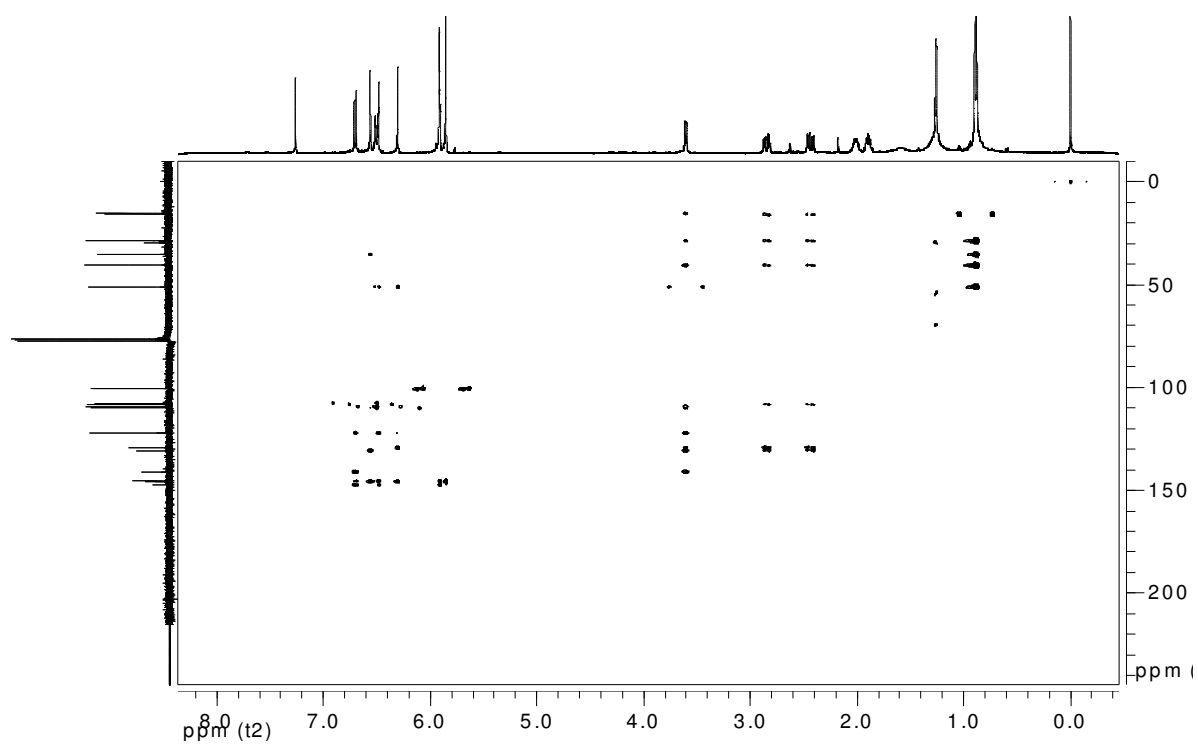


E39 – Espectro no IV da substância **To-7b**.



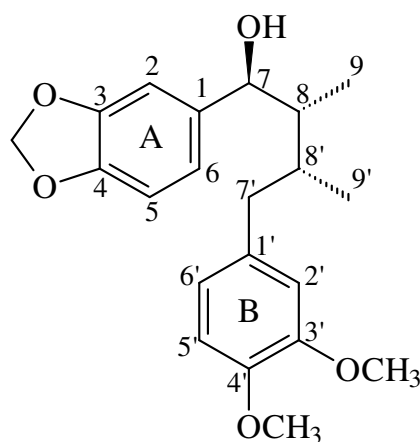


E42 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-7b**.



E43 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-7b**.

4.7 Determinação estrutural das substâncias To-8, To-8a e To-8b



To-8

O espectro no UV (**E44**) apresenta máximo de absorção em 287 nm, um segundo máximo em 234 nm e um terceiro em 208 nm. Esses dados são típicos do cromóforo benzeno substituído.

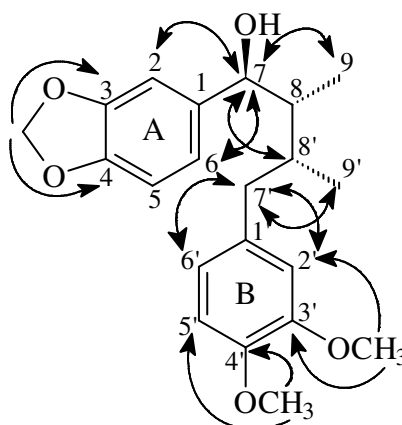
O espectro no IV (**E45**) mostra uma banda de absorção em 3436 cm⁻¹, indicando a presença do grupo hidroxila na molécula.

O espectro de RMN de ¹H apresentou sinais referentes a duas metilas (δ 0,63, *d*, *J*=7,2 Hz; δ 0,89, *d*, *J*=6,8 Hz), dois hidrogênios metínicos (δ 1,83, *m*; δ 2,36, *m*), um sinal de hidroxila (δ 1,76, *sl*), dois hidrogênios benzílicos (δ 2,18, *dd*, *J*=10,4 e 13,2 Hz; δ 2,88, *dd*, *J*=3,6 e 13,2 Hz), um hidrogênio carbinólico (δ 4,42, *d*, *J*=9,6 Hz), sinais referentes a duas metoxilas ligadas a carbono sp² (δ 3,87, *s* e δ 3,88, *s*), um grupo metilenodioxí (δ 5,96, *s*) e finalmente seis hidrogênios aromáticos, sendo quatro em acoplamento orto e dois em acoplamento meta.

O espectro de RMN de ¹³C{¹H} mostrou a presença de 21 carbonos, sendo 2 metílicos, 1 metilênico, 2 metínicos, 1 carbinólico, 2 metoxílicos, 1 metilenodioxí e 12 que apresentam deslocamentos químicos típicos de anel aromático, sendo que destes, seis são quaternários. Pode-se supor a presença de dois anéis aromáticos trissubstituídos.

A análise do experimento HSQC confirmou as relações dos hidrogênios com seus respectivos carbonos, enquanto que o HMBC mostrou as correlações entre o sinal do hidrogênio carbinólico em δ 4,42 (H-7) com δ 11,4 (C-9), δ 35,0 (C-8'), δ 45,1 (C-8), δ 106,9 (C-2), δ 120,4 (C-6) e δ 138,5 (C-1); o sinal em δ 6,87 (H-2) com δ 77,0 (C-7), δ 120,4 (C-6),

δ 138,5 (C-1), δ 147,0 (C-4) e δ 147,8 (C-3); o sinal em δ 5,96 (OCH₂O) com δ 147,0 (C-4) e δ 147,8 (C-3), confirmando que estes sinais correspondem ao anel aromático A. Ainda pelo HMBC, observou-se as correlações entre os sinais dos hidrogênios metilênicos em δ 2,18 e δ 2,88 (H-7') com δ 17,9 (C-9'), δ 35,0 (C-8'), δ 45,1 (C-8), δ 112,4 (C-2'), δ 121,0 (C-6') e δ 134,8 (C-1'); o sinal em δ 6,76 (H-2'/H-6') com δ 37,2 (C-7'), δ 112,4 (C-2') e δ 121,0 (C-6'); os sinais das metoxilas em δ 3,87 (4'-OCH₃) com δ 111,0 (C-5') e δ 147,0 (C-4') e δ 3,88 (3'-OCH₃) com δ 112,4 (C-2') e δ 148,7 (C-3'), confirmando que estes sinais correspondem ao anel aromático B. A estrutura pôde ser confirmada através dessas correlações, conforme mostradas abaixo.

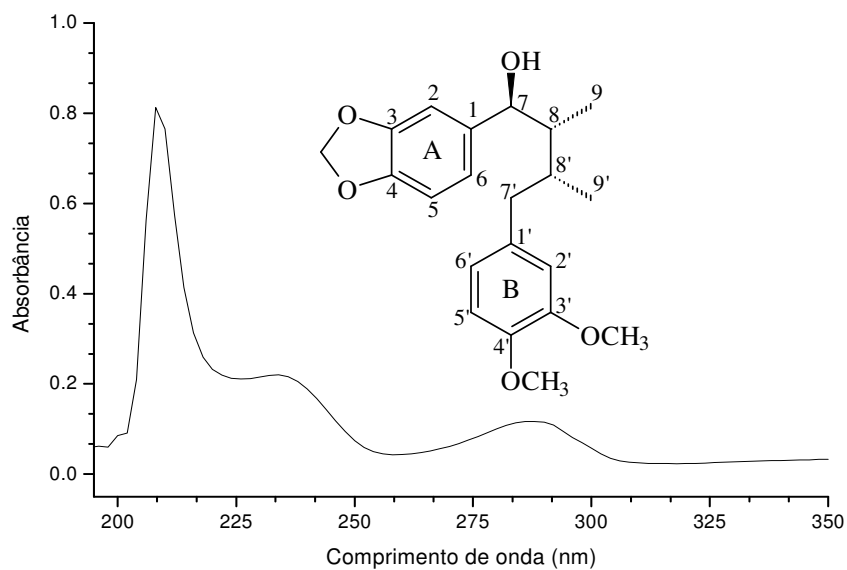


Os espectros de RMN de ¹H, ¹³C{¹H}, HSQC e HMBC da substância **To-8** (Tabela 10; E46-49), mostraram-se muito semelhantes ao da substância To-6, diferindo somente no deslocamento químico dos grupos metila, o que sugere a mesma situação observada entre a To-5 e To-7. Portanto **To-8** deve ser um diastereoisômero da oleiferina-A, com a configuração relativa 7S, 8R, 8'R. Essa substância está sendo descrita pela primeira vez e foi denominada (+)-talaumina-B.

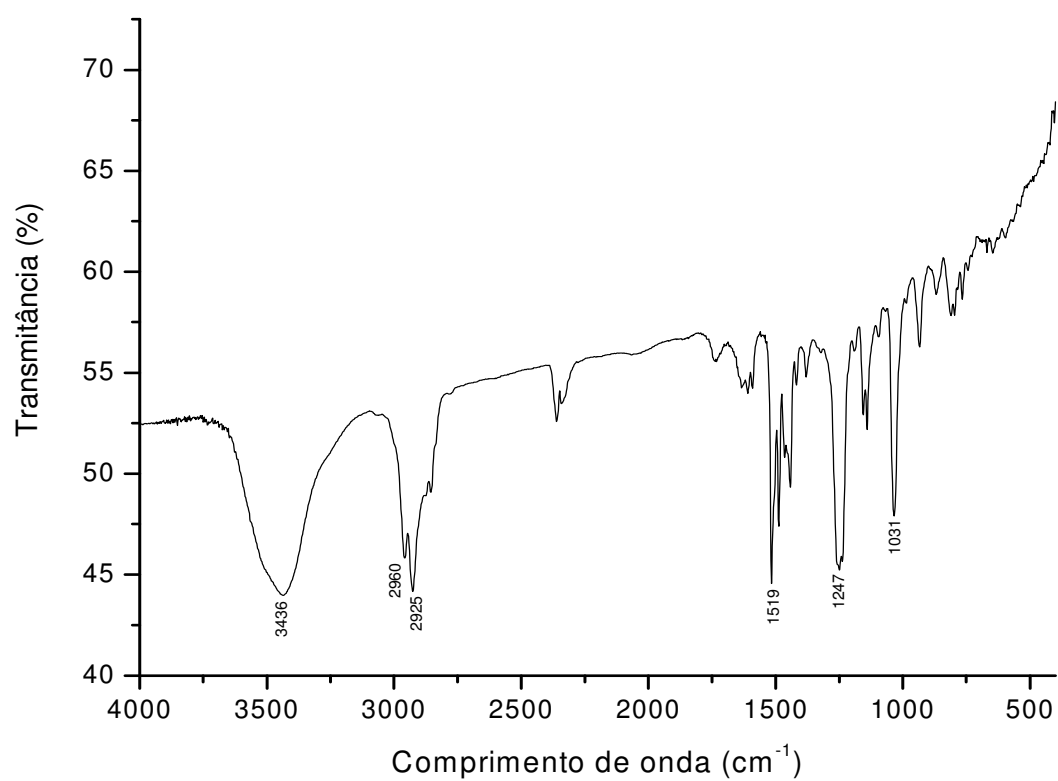
Tabela 10: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-8**.

Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	-	138,5	-
2	6,87 (1H; <i>sl</i>)	106,9	3, 4, 6, 7; 1, 5 (fraco)
3	-	147,8	-
4	-	147,0	-
5	6,79; <i>m</i>	107,9	1, 2, 3, 4
6	6,79; <i>m</i>	120,4	1, 2, 4, 7
7	4,42 (1H; <i>d</i> ; 9,6)	77,0	1, 2, 6, 8, 9, 8'
8	1,83 (1H; <i>m</i>)	45,1	7, 9, 7', 9' (fraco)
9	0,63 (3H; <i>d</i> ; 7,2)	11,4	7, 8, 8'
1'	-	134,8	-
2'	6,76; <i>m</i>	112,4	6', 7'
3'	-	148,7	-
4'	-	147,0	-
5'	6,76; <i>m</i>	111,0	-
6'	6,76; <i>m</i>	121,0	2', 7'
7'	2,18 (1H; <i>dd</i> ; 10,4 e 13,2) 2,88 (1H; <i>dd</i> ; 3,6 e 13,2)	37,0	8, 1', 2', 6', 9'; 8' (fraco)
8'	2,36 (1H; <i>m</i>)	35,0	9, 7', 9' (fraco)
9'	0,89 (3H; <i>d</i> ; 6,8)	17,9	8, 7', 8'
7-OH	1,76 (1H; <i>sl</i>)	-	-
4'-OCH ₃	3,87 (3H, <i>s</i>)	55,8	4', 5'
3'-OCH ₃	3,88 (3H, <i>s</i>)	55,9	2', 3'
OCH ₂ O	5,96 (2H; <i>s</i>)	101,0	3, 4

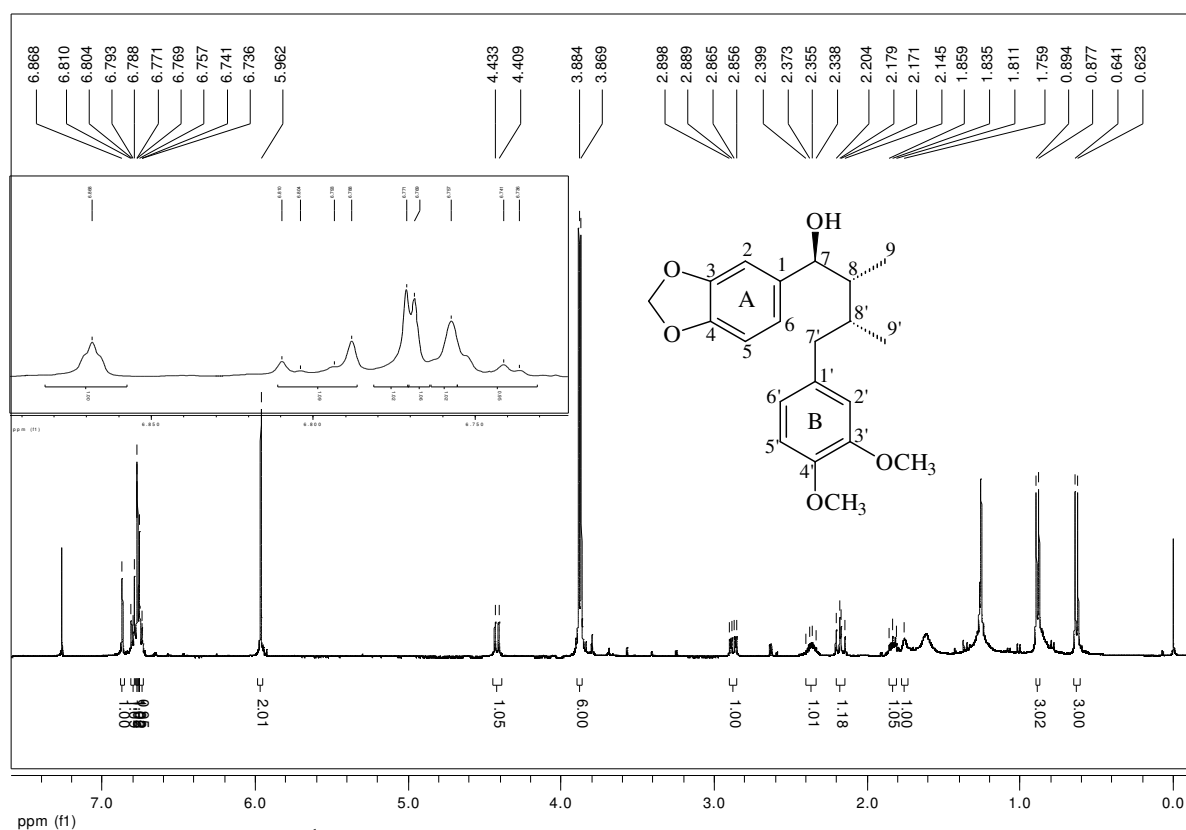
*Atribuição inequívoca através de análise do experimento do HSQC



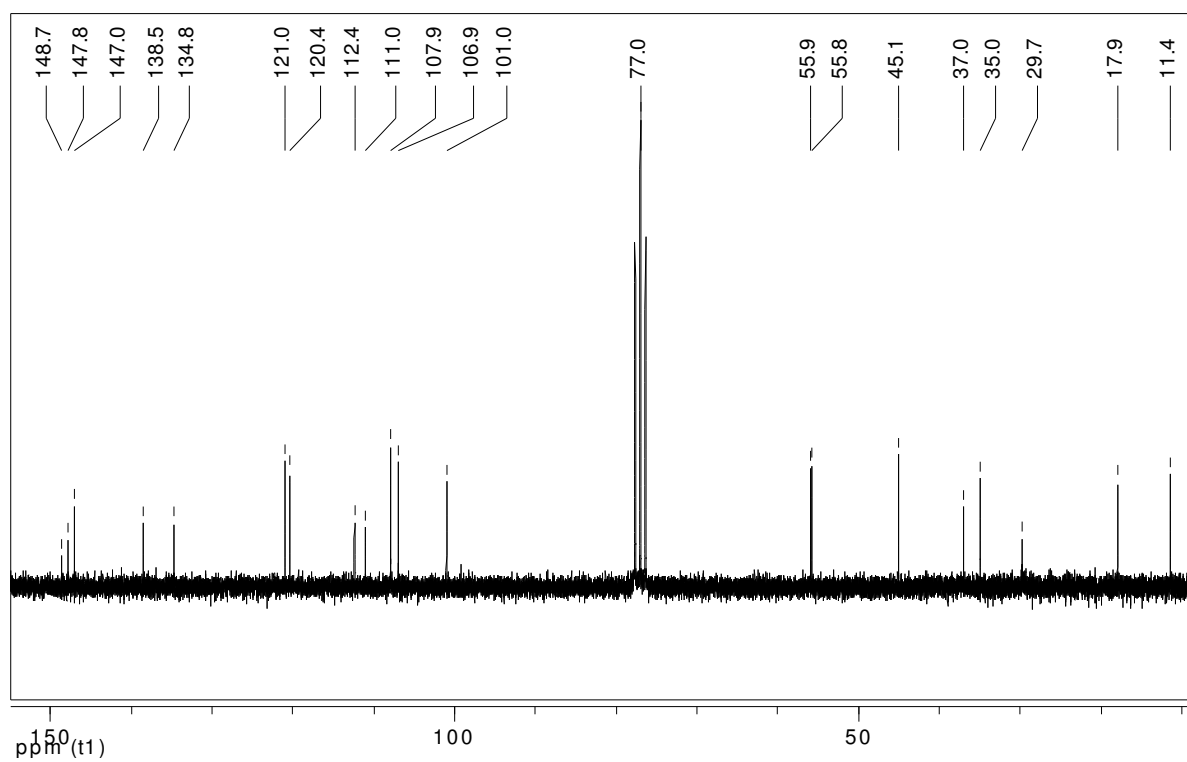
E44 – Espectro no UV da substância **To-8**.



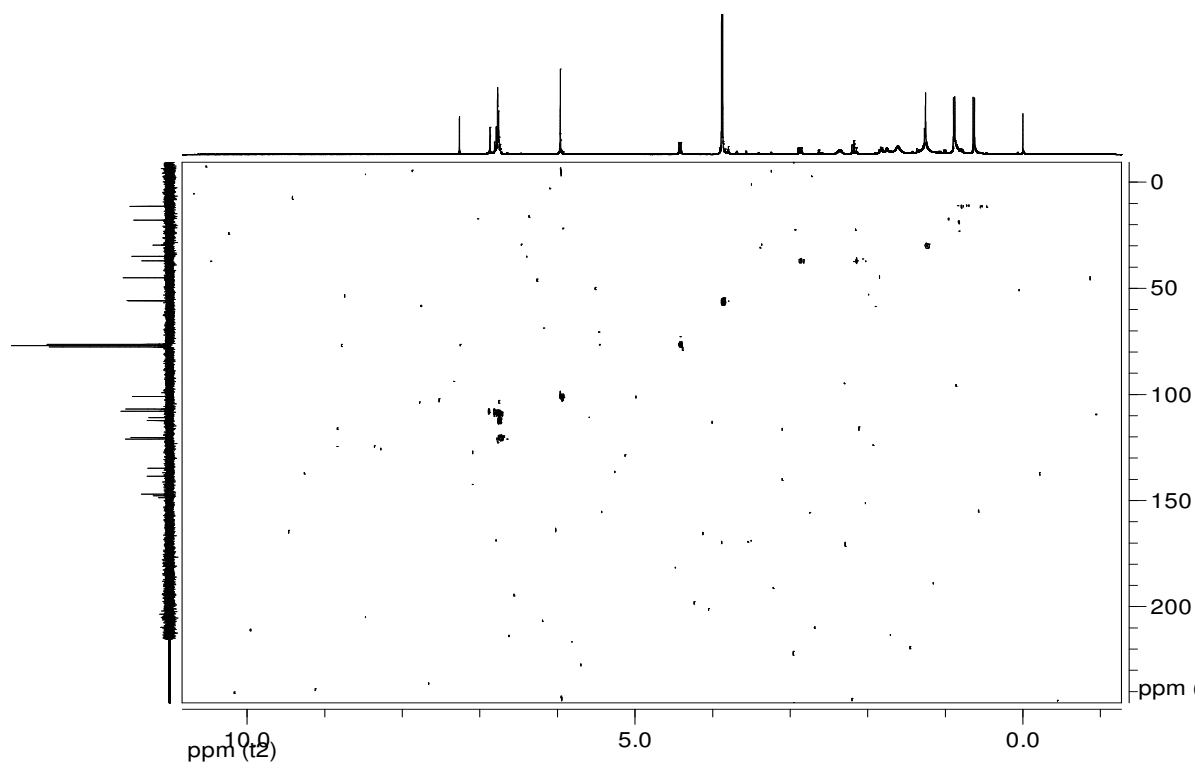
E45 – Espectro no IV da substância **To-8**.



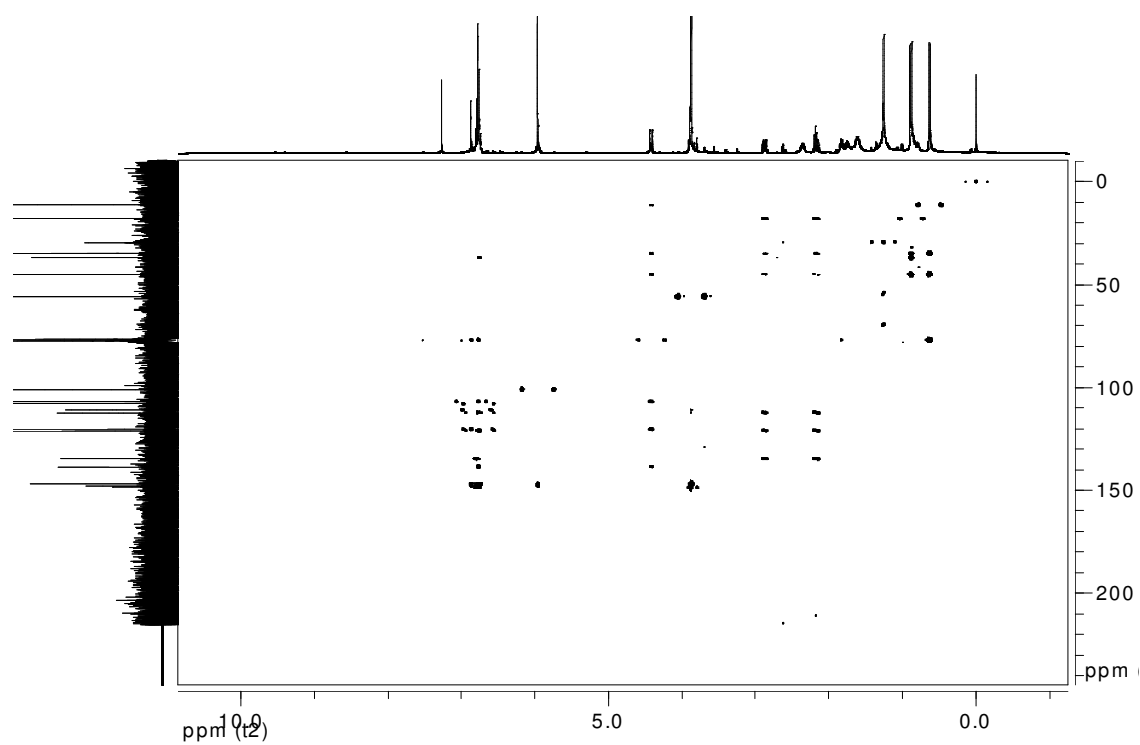
E46 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-8**.



E47 - Espectro de RMN de ¹³C {¹H} (50 MHz, CDCl₃) da substância **To-8**.



E48 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-8**.



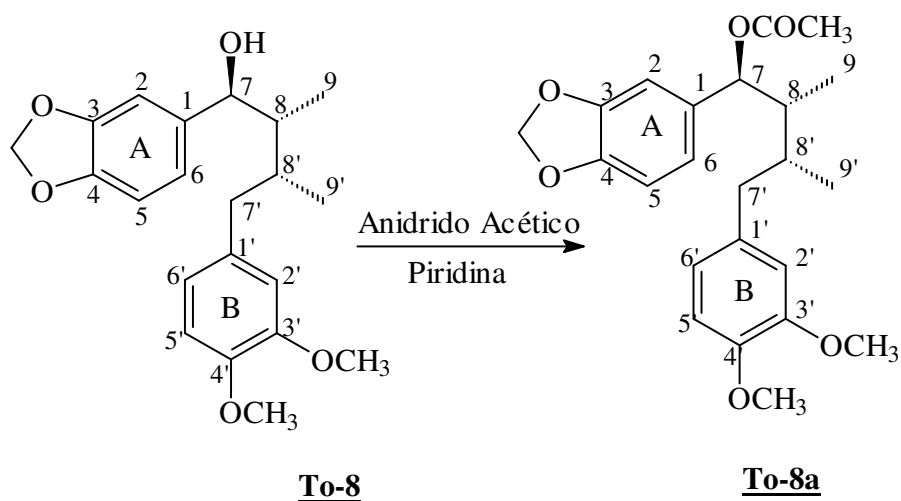
E49 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-8**.

Para confirmar a proposta estrutural, **To-8** foi submetida a duas reações: uma acetilação com anidrido acético em piridina, na qual o grupo hidroxila foi substituído pelo grupo acetato (**To-8a**) e uma reação de ciclização (**To-8b**).

A formação do acetato foi confirmada no espectro de RMN de ^1H do derivado, no qual observou-se que o H-7 foi desprotegido de cerca de 1,2 ppm de acordo com o esperado (SILVERSTEIN, 2006). Também foi observado o sinal do grupo acetato (δ 2,08, s).

No espectro de IV houve o aparecimento de uma banda de absorção característico de grupo carbonila de éster em 1722 cm^{-1} . A banda do grupo hidroxila quase desapareceu, restando uma banda fraca que pode ser atribuída à umidade na amostra.

Os dados espectrais de RMN de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, HSQC, HMBC, UV e IV (**Tabela 11; E50-55**) confirmaram a formação do produto **To-8a**, que também é inédito.



A ciclização levou a formação de um produto inédito (**To-8b**) que foi confirmado pelos dados espectrais de RMN de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, HSQC, HMBC, UV e IV (**Tabela 12; E56-61**).

Observou-se no espectro de RMN de ^1H o desaparecimento do sinal do hidrogênio carbinólico, surgindo em seu lugar o sinal de um hidrogênio dibenzílico (δ 3,67, d). Além disso, foram observadas mudanças significativas nos deslocamentos químicos dos grupos metila e apenas cinco hidrogênios aromáticos, dois dos quais como singletos. No espectro de

RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ foi observado um sinal em 51,0 ppm, característico do carbono dibenzílico das ariltetralinas.

No espectro de IV houve a diminuição da intensidade da banda de absorção característica do grupo hidroxila. A banda fraca observada deve ser decorrente da presença de umidade.

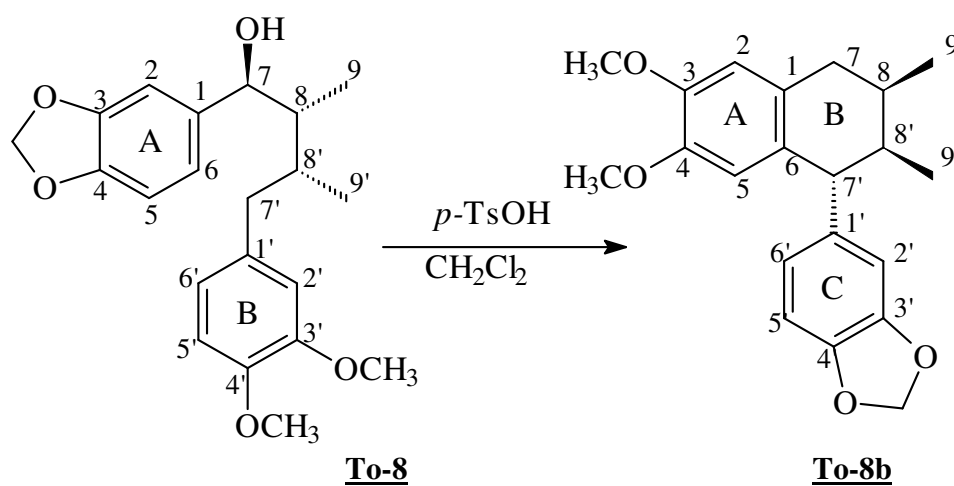
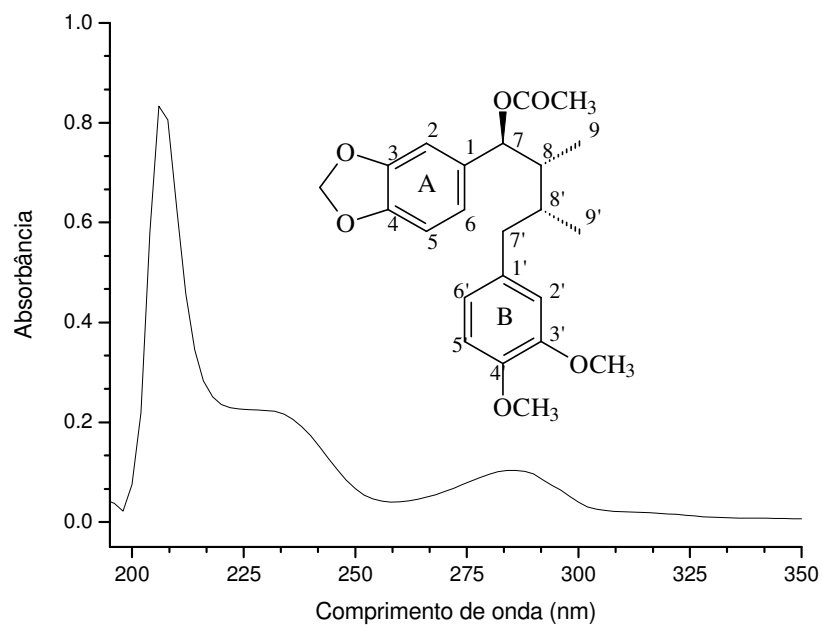


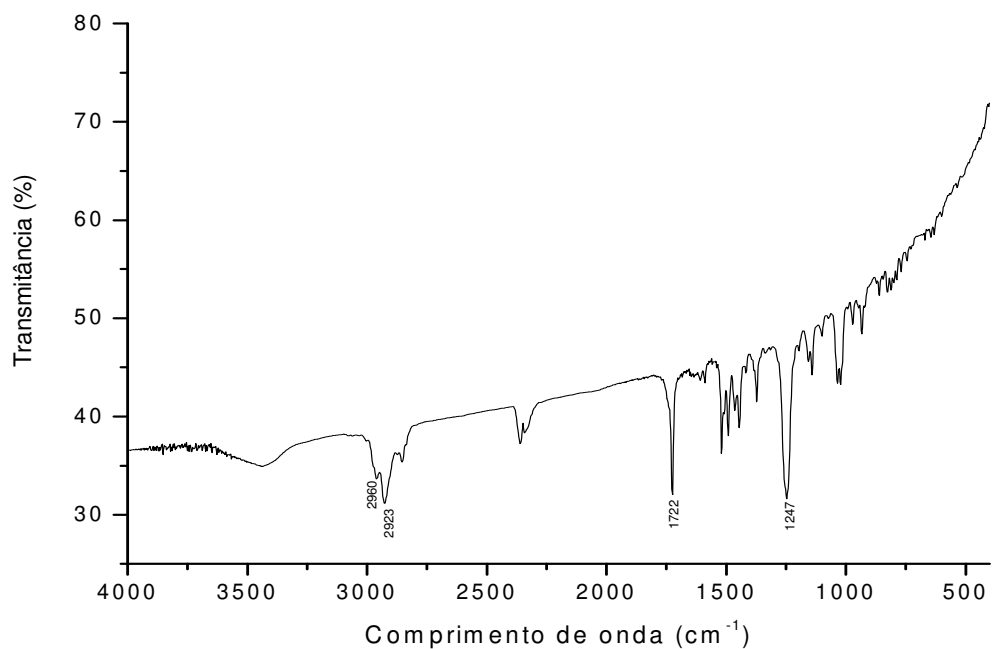
Tabela 11: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-8a**.

Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	-	134,0	-
2	6,85 (1H; d ; 1,6)	107,5	6, 7
3	-	147,7	-
4	-	147,2	-
5	6,77 (1H; d ; 8,0)	108,0	1, 4
6	6,79; m	121,3	2, 7
7	5,67 (1H; d; 10,4)	77,9	1, 2, 6, 8; 8', OCOCH_3 (fraco)
8	2,02 (1H; m)	43,2	7, OCOCH_3 (fraco)
9	0,67 (3H; d ; 6,8)	11,2	7, 8, 8'
1'	-	134,4	-
2'	6,68; m	112,3	1', 6'
3'	-	147,4	-
4'	-	145,5	-
5'	6,79 (1H; d ; 8,8)	108,0	1', 3'; 6' (fraco)
6'	6,68; m	121,0	1', 2' (fraco)
7'	2,08 (1H; dd ; 2,8 e 13,2) 2,80 (1H; dd ; 3,2 e 13,2)	37,0	1', 2', 6', 8', 9'
8'	2,02 (1H; m)	35,7	7 (fraco)
9'	0,88 (3H; d ; 6,4)	17,6	8, 7', 8'
3'- OCH_3	3,88 (3H, s)	55,7	3'
4'- OCH_3	3,87 (3H, s)	55,9	4'
OCH_2O	5,96 (1H; d ; 1,4) 5,97 (1H; d ; 1,4)	101,1	3, 4
OCOCH_3	2,08 (3H; s)	21,4	OCOCH_3
		170,2	-

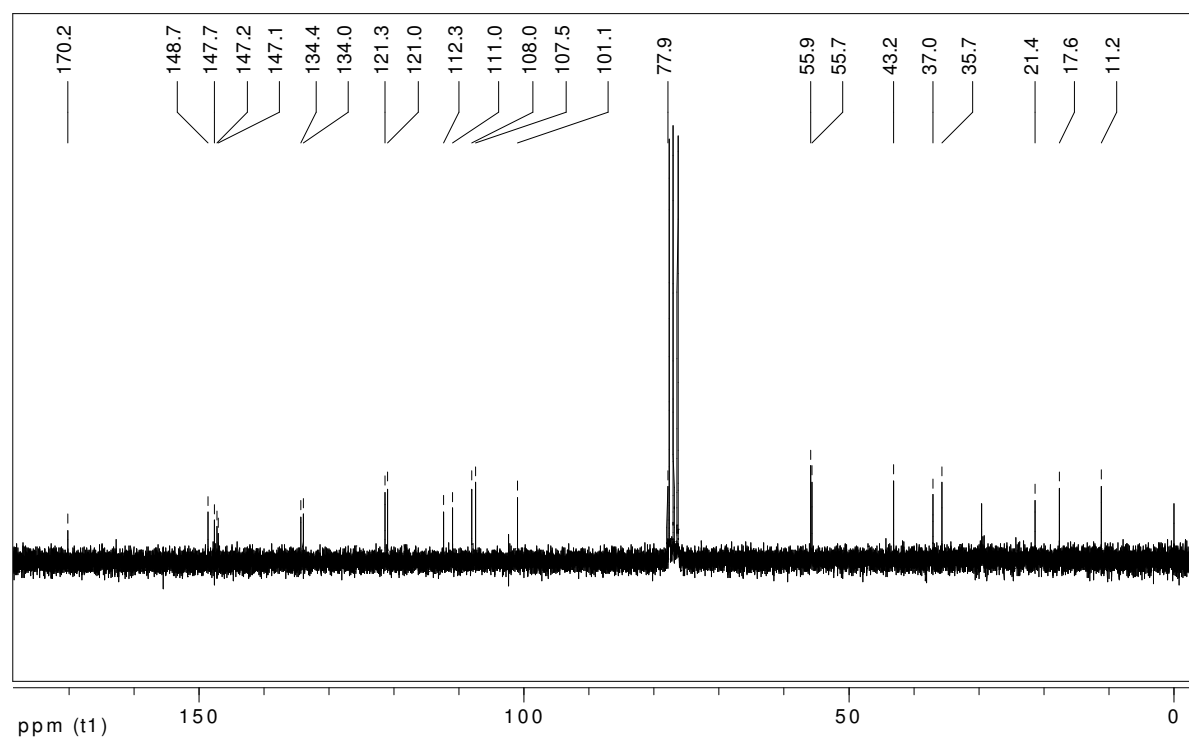
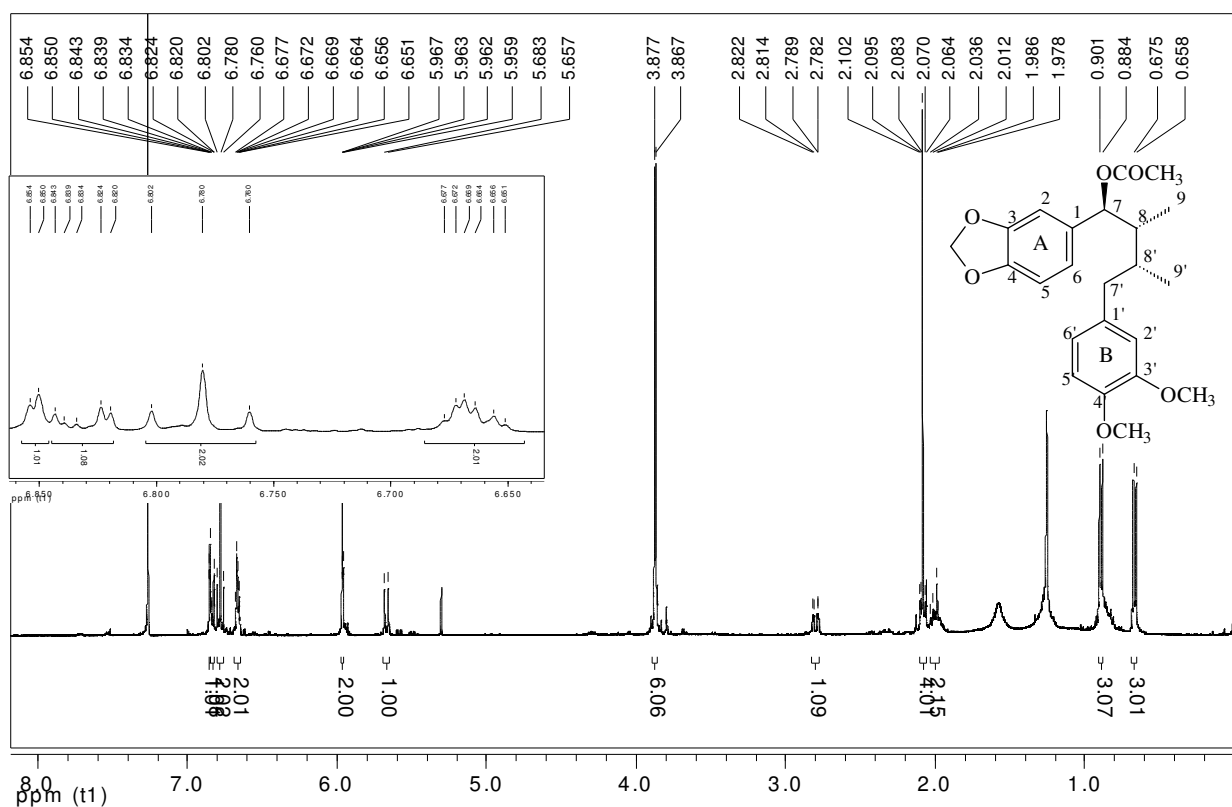
*Atribuição inequívoca através de análise do experimento do HSQC

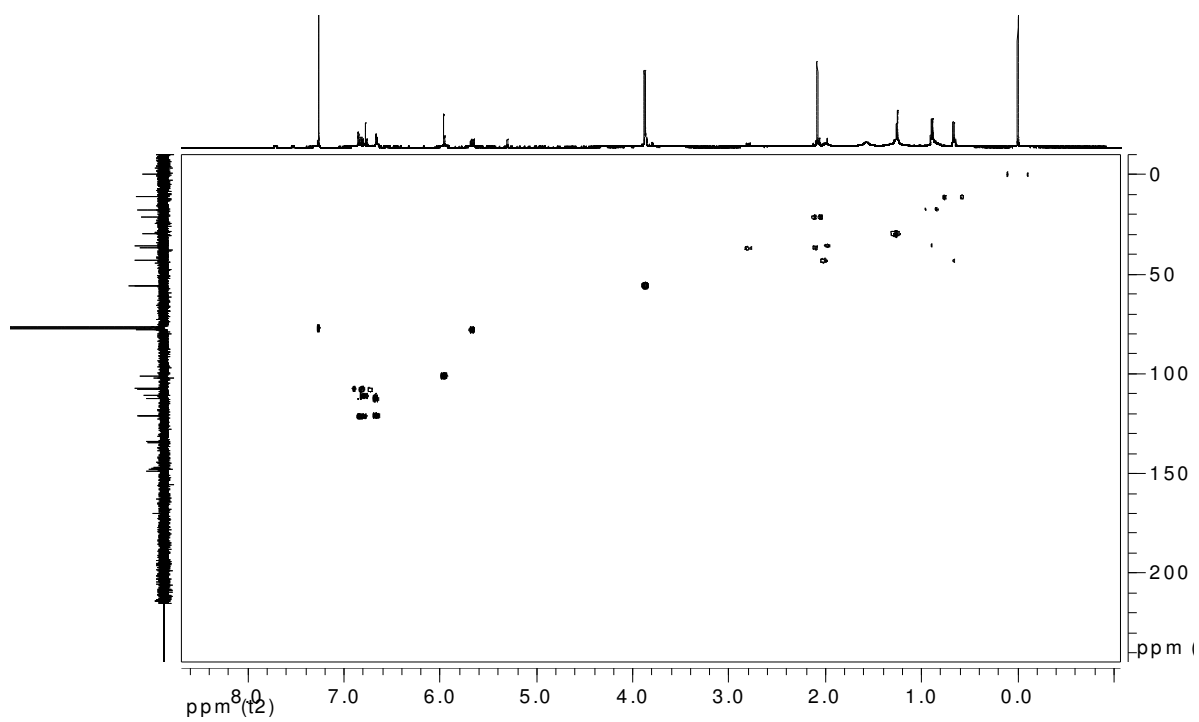


E50 – Espectro no UV da substância **To-8a**.

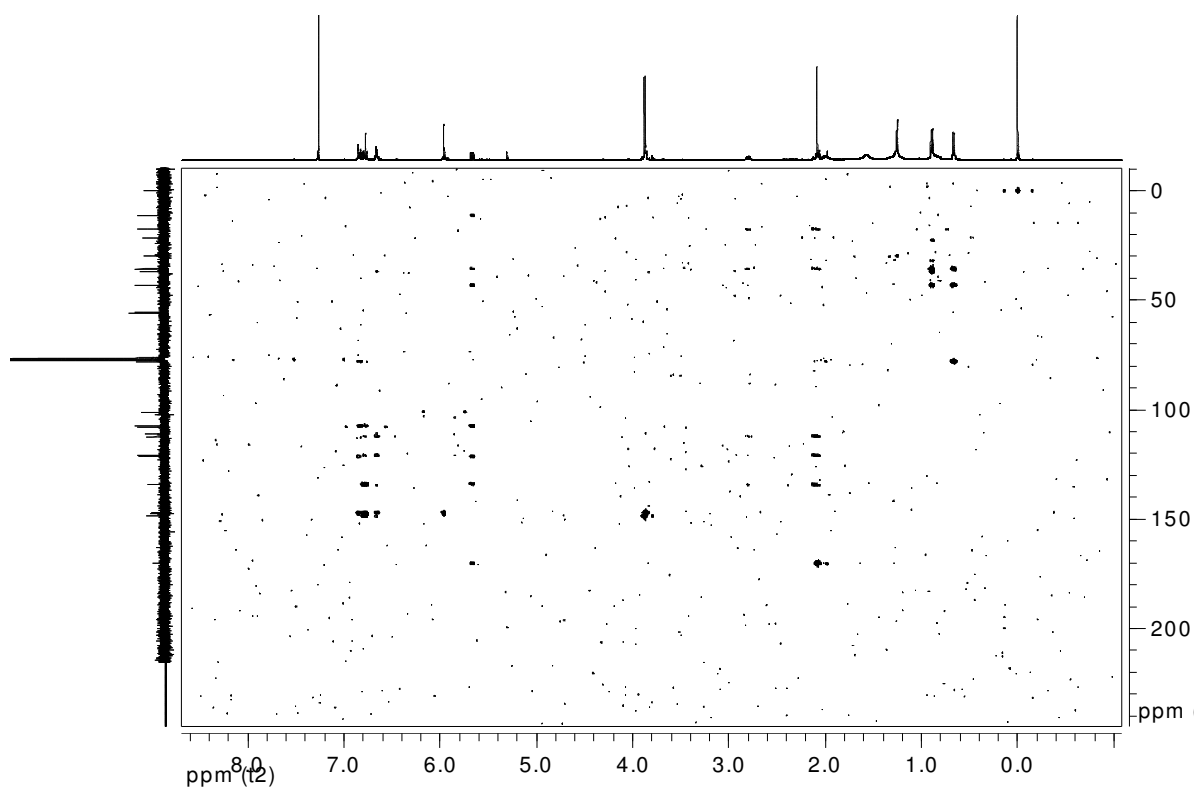


E51 – Espectro no IV da substância **To-8a**.





E54 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância **To-8a**.

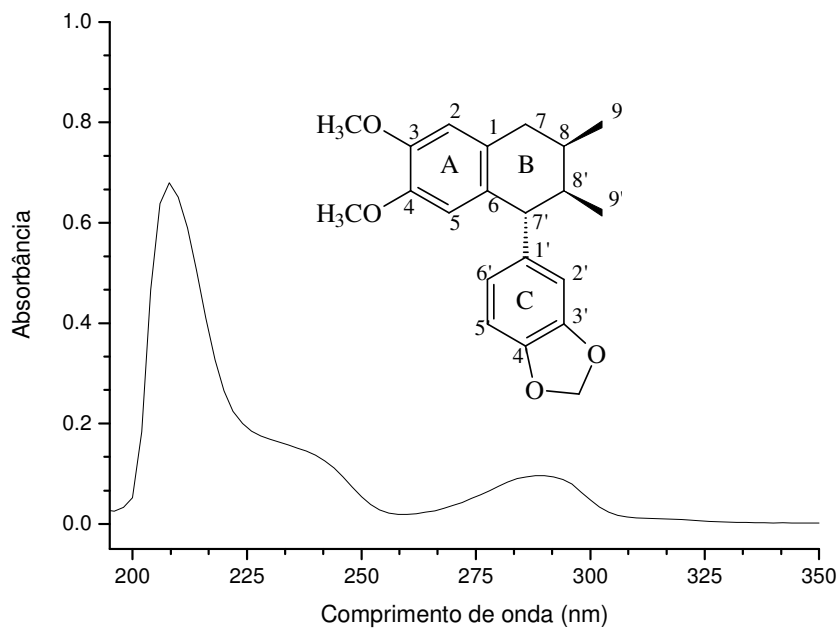


E55 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância **To-8a**.

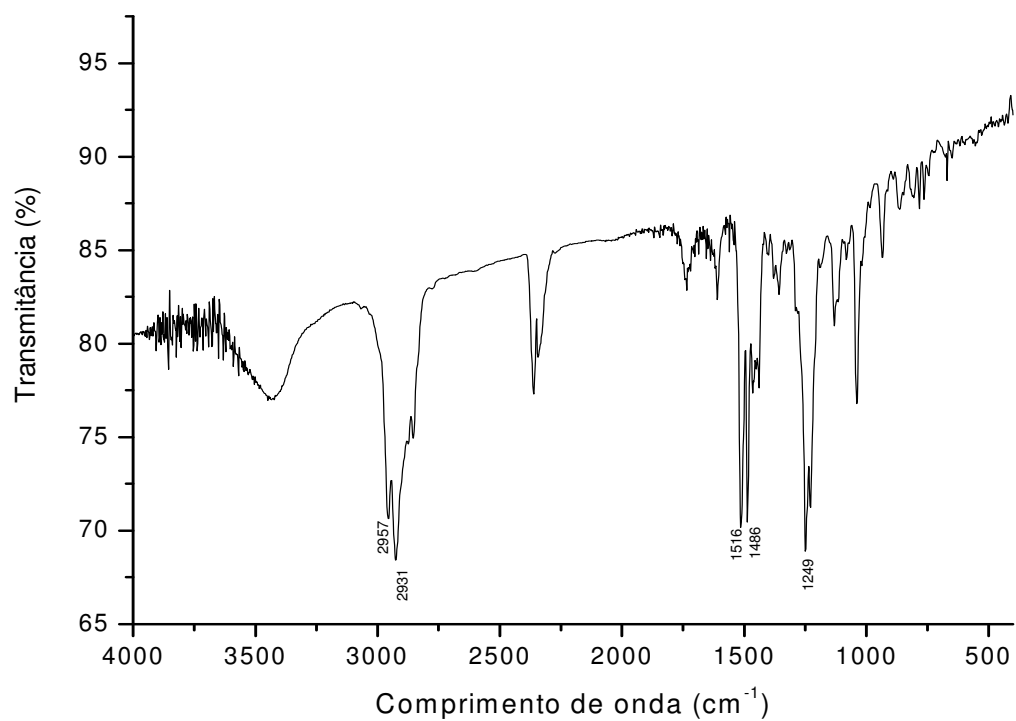
Tabela 12: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-8b**.

Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	-	128,4	-
2	6,59 (1H; <i>sl</i>)	111,2	3, 4, 6, 7
3	-	147,1	-
4	-	147,4	-
5	6,34 (1H; <i>sl</i>)	113,3	1, 3, 4, 7
6	-	129,3	-
7	2,45 (1H; <i>dd</i> ; 8,0 e 16,4) 2,84 (1H; <i>dd</i> ; 5,6 e 16,4)	34,6	1, 2, 8, 9, 8'
8	2,02 (1H; <i>m</i>)	28,4	-
9	0,90 (3H; <i>d</i> ; 6,8)	16,6	7,7'
1'	-	141,3	-
2'	6,49 (1H; <i>d</i> ; 1,6)	109,4	4', 6'; 3',7'(fraco)
3'	-	147,3	-
4'	-	145,5	-
5'	6,70 (1H; <i>d</i> ; 8,4)	107,6	1', 3', 6'; 4'(fraco)
6'	6,49 (1H; <i>dd</i> ; 1,6 e 8,4)	122,1	4', 5'; 2', 3'(fraco)
7'	3,67 (1H; <i>d</i> ; 5,6)	51,0	1, 5, 8, 1', 6', 8', 9'; 2'(fraco)
8'	1,90 (1H; <i>m</i>)	40,9	-
9'	0,91 (3H; <i>d</i> ; 7,2)	15,3	8, 8'
3-OCH ₃	3,69 (3H; <i>s</i>)	55,8	3, 4
4-OCH ₃	3,87 (3H; <i>s</i>)	55,7	3, 4
OCH ₂ O	5,92 (2H; <i>s</i>)	100,8	3', 4'

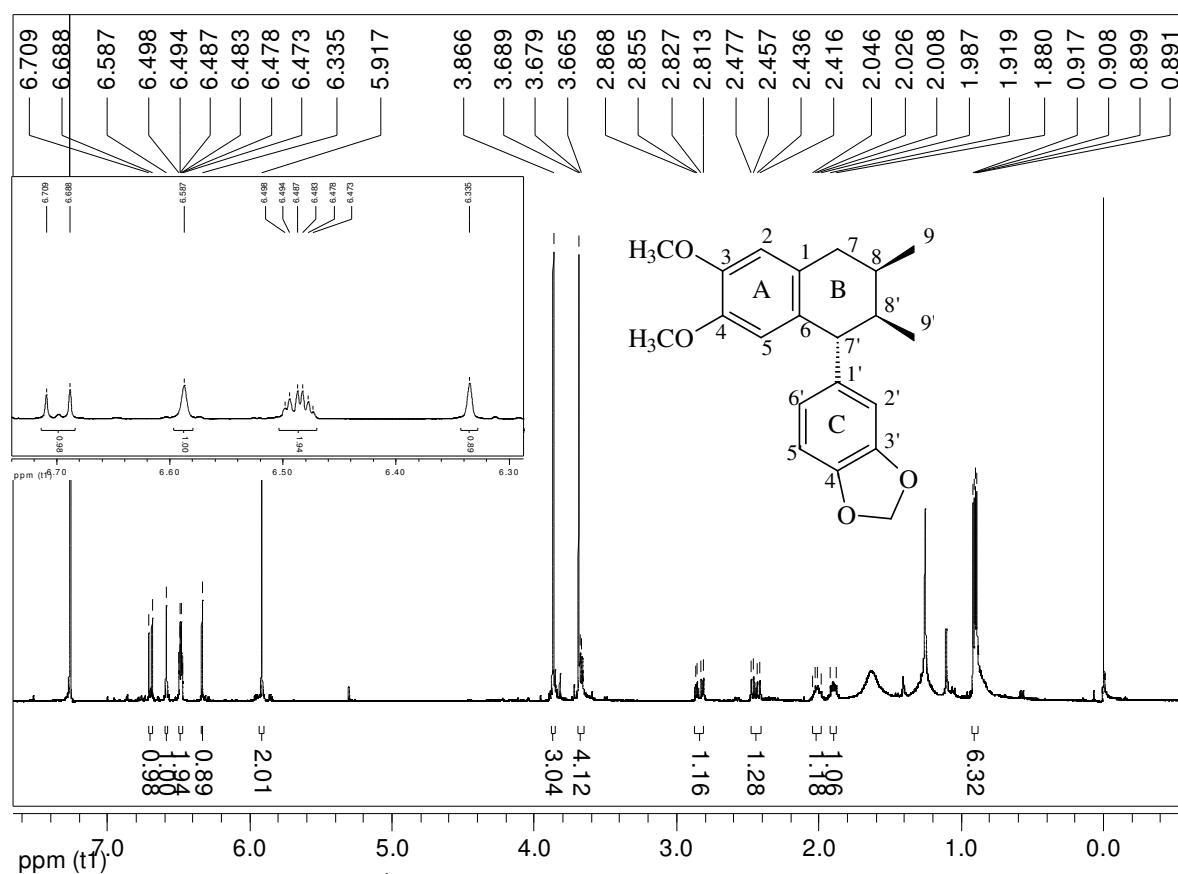
*Atribuição inequívoca através de análise dos experimentos do HSQC e HMBC



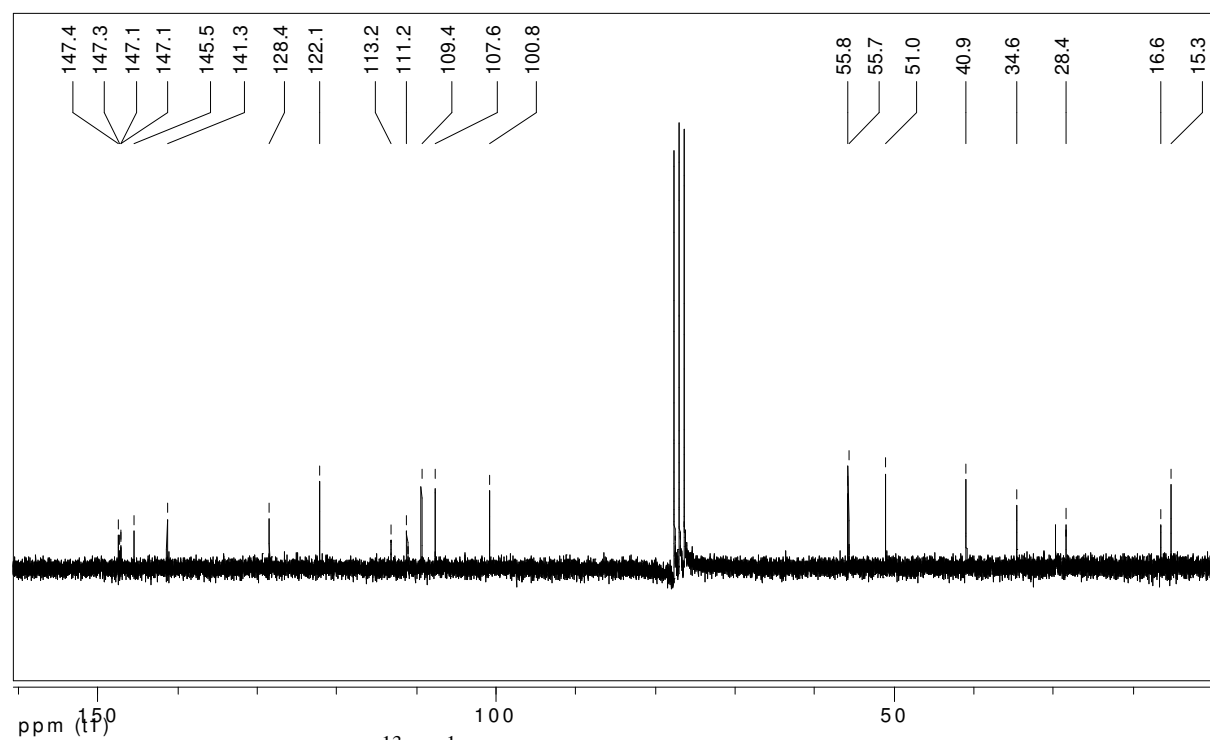
E56 – Espectro no UV da substância **To-8b**.



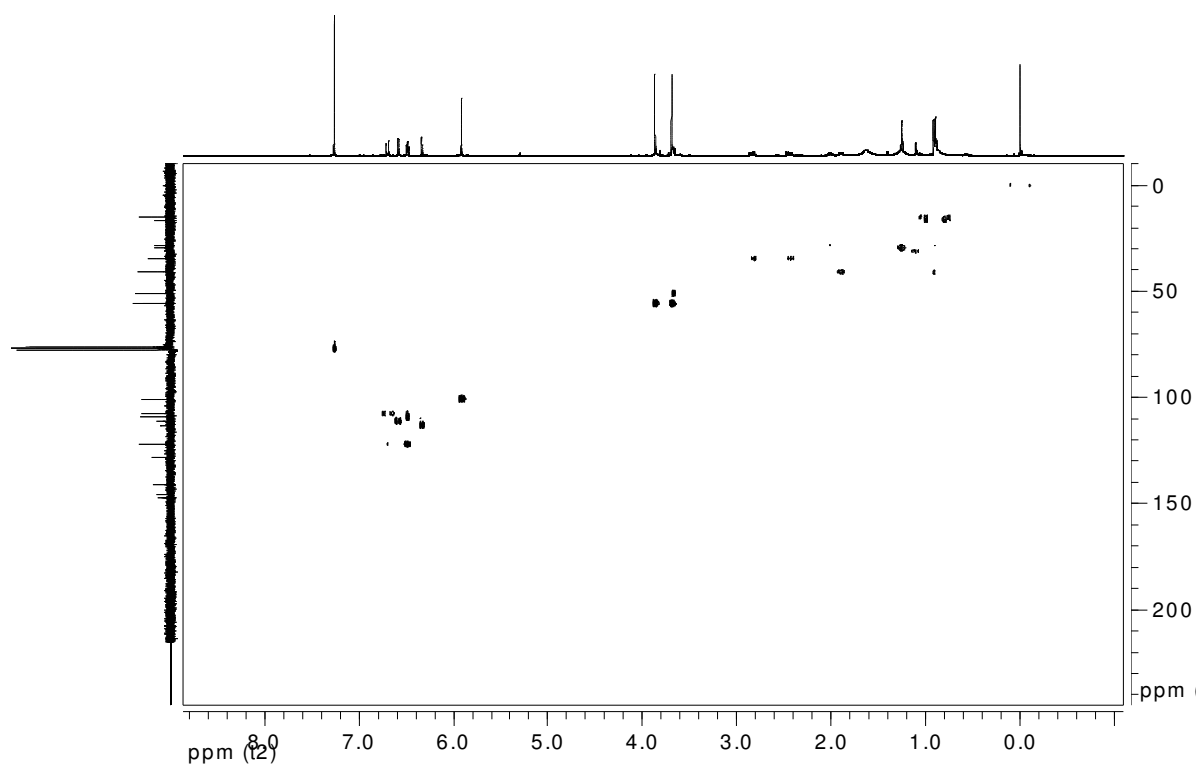
E57 – Espectro no IV da substância **To-8b**.



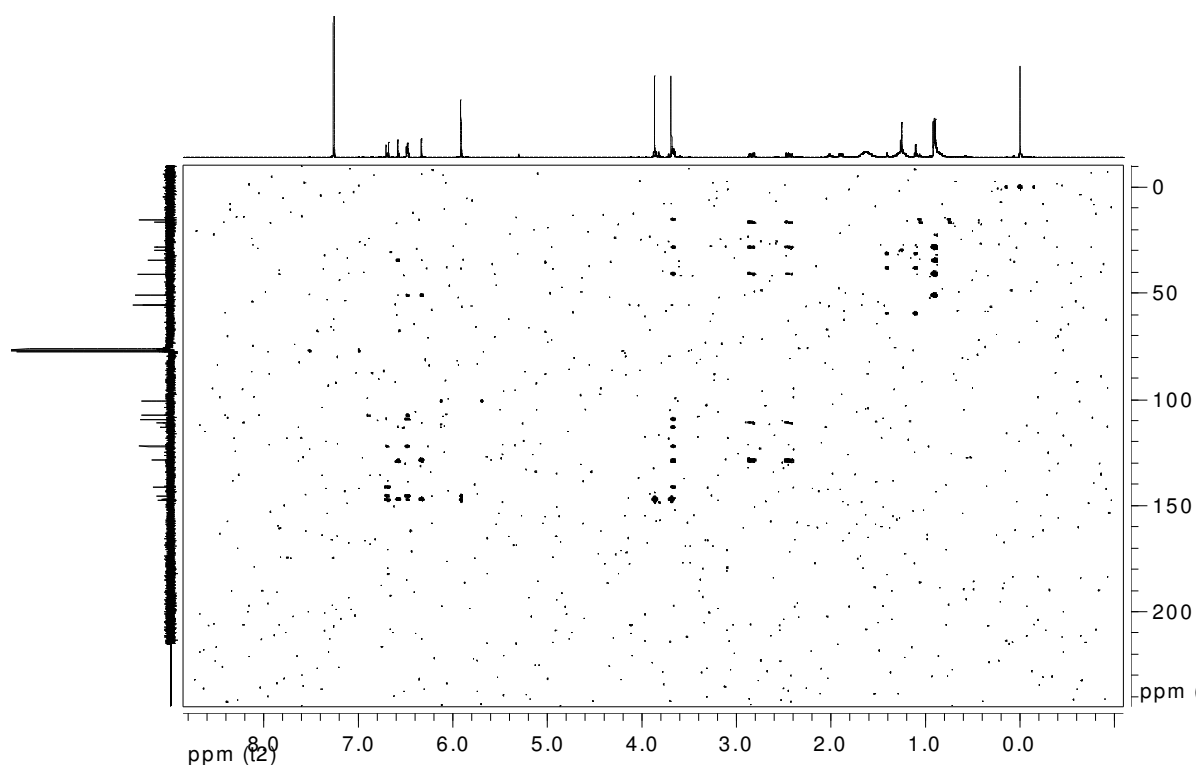
E58 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-8b**.



E59 - Espectro de RMN de ¹³C {¹H} (50 MHz, CDCl₃) da substância **To-8b**.

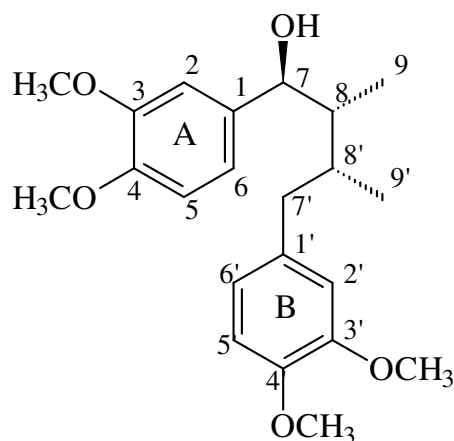


E60 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-8b**.



E61 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-8b**.

4.8 Determinação estrutural da substância **To-9** e identificação estrutural da substância **To-9a**



To-9

A substância **To-9** foi obtida acompanhada de outra não identificada. Apesar disso foi possível identifica-la, através da observação dos sinais principais e comparação com as anteriores (To-7 e To-8).

O espectro de RMN de ^1H (**Tabela 13; E62**) mostrou claramente sinais referentes a duas metilas (δ 0,63, *d*, $J=6,8$ Hz; δ 0,90, *d*, $J=6,8$ Hz), um hidrogênio carbinólico (δ 4,47, *d*, $J=9,6$ Hz), quatro grupos metoxilas (δ 3,87, *s*; δ 3,88, *s*; δ 3,89, *s* e δ 3,91, *s*) e finalmente seis hidrogênios aromáticos, sendo quatro em acoplamento orto e dois em acoplamento meta. Na região dos hidrogênios metínicos e benzílicos foram observados vários multipletos correspondentes tanto a To-9 como ao outro composto, não sendo possível fazer atribuições devido à sobreposição dos sinais. O deslocamento químico dos grupos metila foi similar àqueles observados para To-7 e To-8, indicando a mesma estereoquímica relativa.

A análise do experimento HSQC (**Tabela 13; E63**) confirmou as relações de alguns hidrogênios com seus respectivos carbonos, enquanto que o HMBC (**Tabela 13; E64**) mostrou as correlações entre o sinal do hidrogênio carbinólico em δ 4,47 (H-7) com δ 109,3 (C-2) e δ 119,3 (C-6); o sinal em δ 6,91 (H-2) com δ 76,9 (C-7), δ 119,3 (C-6) e δ 149,1 (C-3),

confirmando que estes sinais correspondem ao anel aromático A. Ainda pelo HMBC, observou-se as correlações entre os sinais dos hidrogênios em δ 6,77 (H-2') com δ 36,8 (C-7'), δ 121,0 (C-6'), δ 148,6 (C-4') e δ 147,1 (C-3'); o sinal em δ 6,80 (H-5') com δ 134,7 (C-1'), confirmando que estes sinais correspondem ao anel aromático B. A estrutura pôde ser confirmada através dessas correlações, conforme mostradas abaixo. Como as anteriores, esta substância também é inédita na literatura e recebeu o nome de (+)-talaumina-C.

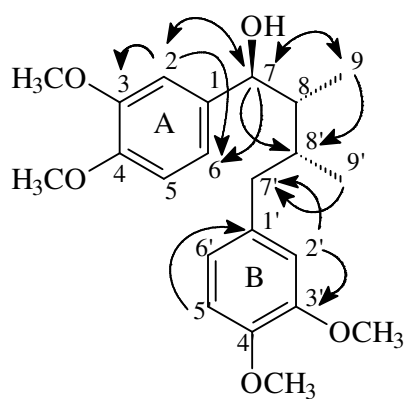
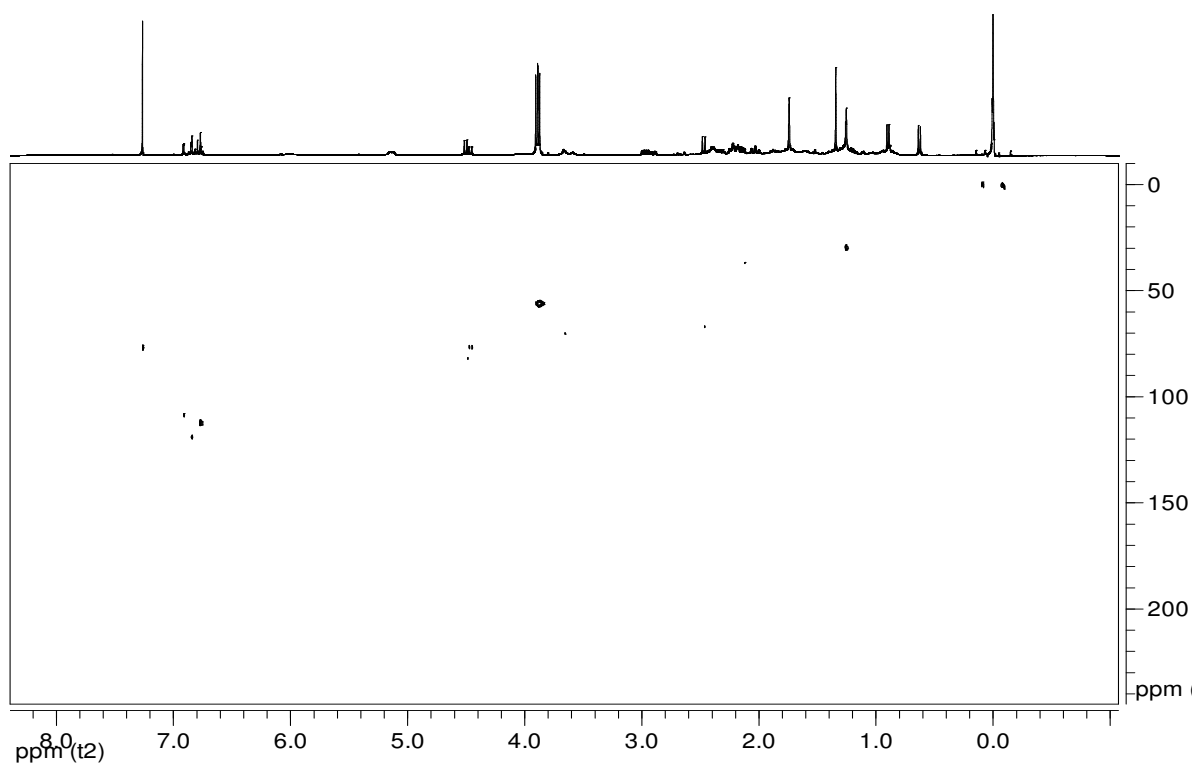
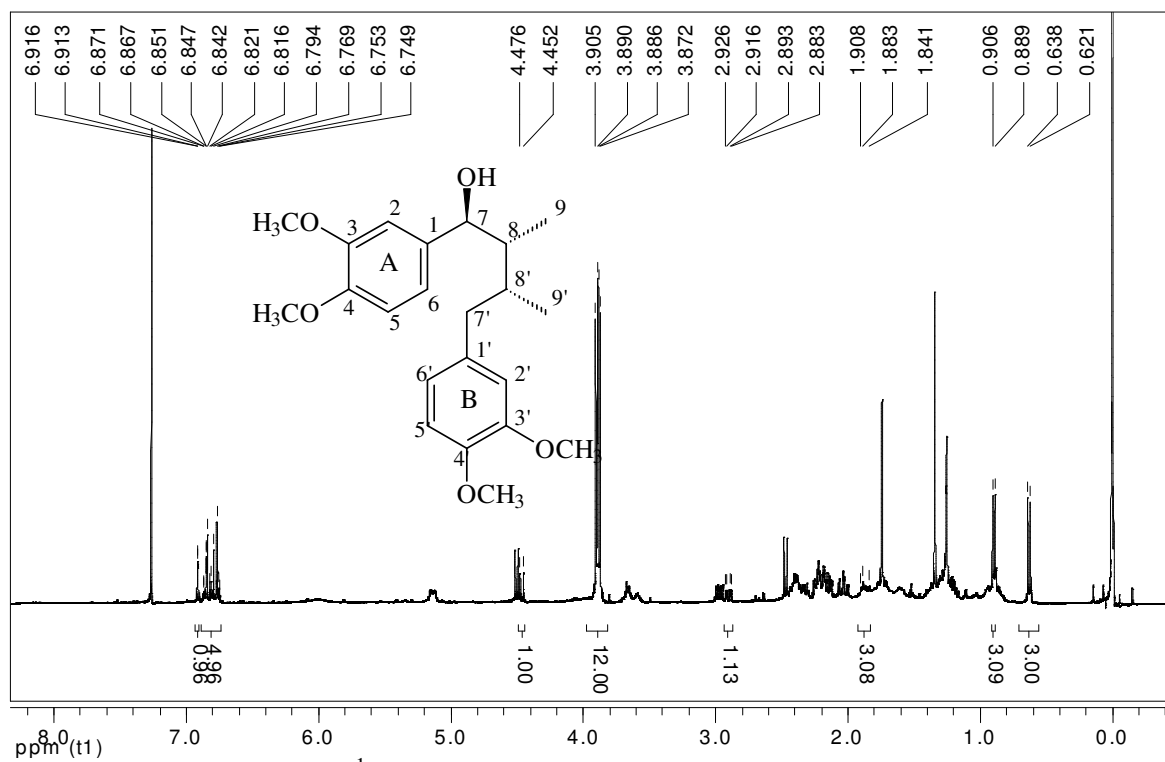
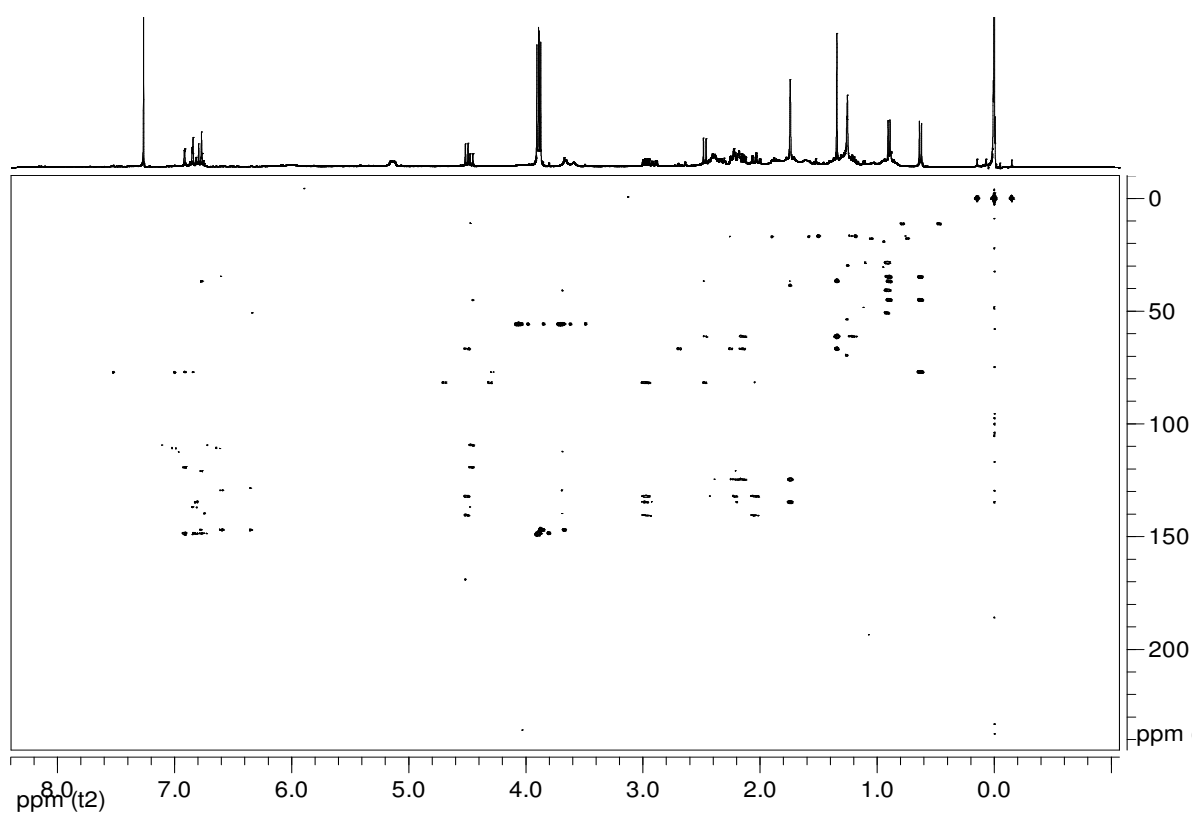


Tabela 13: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-9**.

Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	-	137,0	-
2	6,91 (1H; d ; 1,2)	109,3	3, 6, 7
3	-	149,1	-
4	-	148,5	-
5	6,83; m	110,6	1
6	6,83; m	119,3	1
7	4,47 (1H; d ; 9,6)	76,9	2, 6, 8
8	1,90; m	45,1	-
9	0,63 (3H; d ; 6,8)	11,3	7, 8, 8'
1'	-	134,7	-
2'	6,77 (1H; d ; 1,6)	111,4	3', 4', 6', 7'
3'	-	147,1	-
4'	-	148,6	-
5'	6,80; m	112,6	1', 3'
6'	6,75; m	121,0	1'
7'	1,90; m 2,91 (1H; dd ; 3,8 e 13,1)	36,8	-
8'	1,90; m	35,0	-
9'	0,90 (3H; d ; 6,8)	17,8	8, 7', 8'
7-OH	1,90; sl	-	-
3'-OCH ₃	3,87 (3H; s)	56,2	3'
4-OCH ₃	3,88 (3H; s)	56,2	4
4'-OCH ₃	3,89 (3H; s)	56,2	4'
3-OCH ₃	3,91 (3H; s)	56,2	3

*Atribuição inequívoca através de análise dos experimentos do HSQC e HMBC



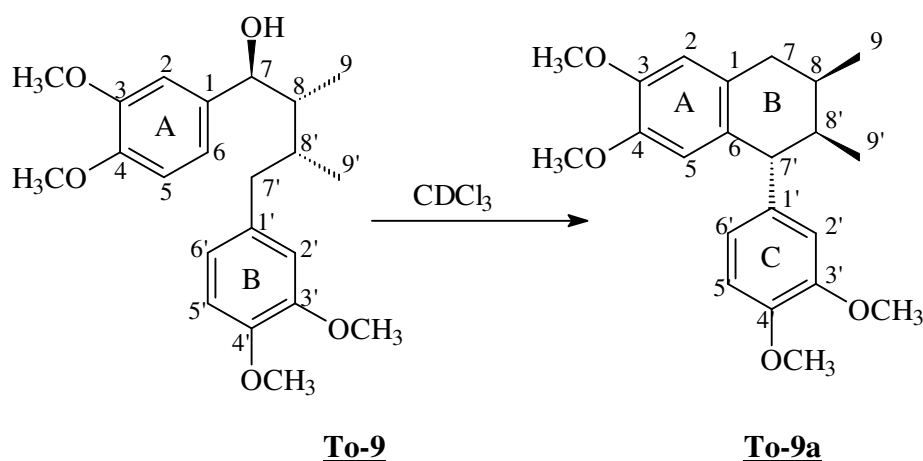


E64 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância **To-9**.

Durante a obtenção dos espectros bidimensionais da mistura contendo **To-9**, esta ciclizou espontaneamente, como é comum com esta classe de neolignanas (LOPES *et al.*, 1984).

A ciclização levou a formação de **To-9a** que foi confirmado pelos dados espectrais de RMN de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e HMBC (Tabela 14; E65-67).

Observou-se no espectro de RMN de ^1H o desaparecimento do sinal do hidrogênio carbinólico, surgindo em seu lugar o sinal de um hidrogênio dibenzílico (δ 3,69, *d*). Além disso, foram observadas mudanças significativas nos deslocamentos químicos dos grupos metila e apenas cinco hidrogênios aromáticos, dois dos quais como singletos. No espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ foi observado um sinal em 50,9 ppm, característico do carbono dibenzílico das ariltetralinas.

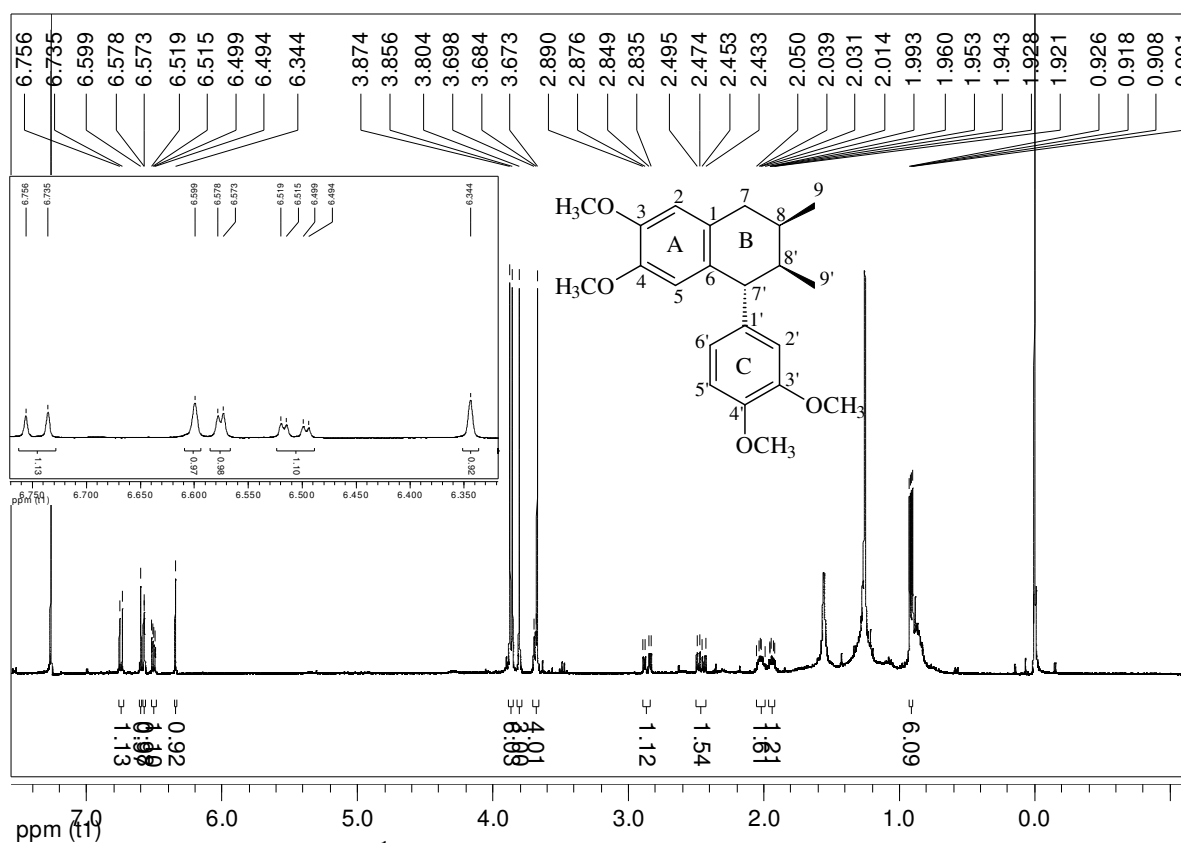


Seus dados espectrais e rotação específica foram comparados com a literatura, identificando **To-9a** como a neolignana conhecida (-)-isogalbulina (éter dimetílico da isoguaiacina) que apresenta configuração absoluta (7'R, 8'R, 8R) (KONNO *et al.*, 1989). Como a ciclização ocorre com inversão de configuração no C-7, podemos afirmar que a substância To-9 tem a configuração absoluta 7S, 8R, 8'R. É provável que as demais neolignanas ciclizadas também tenham essa configuração absoluta, pois apresentaram o mesmo sinal de rotação específica.

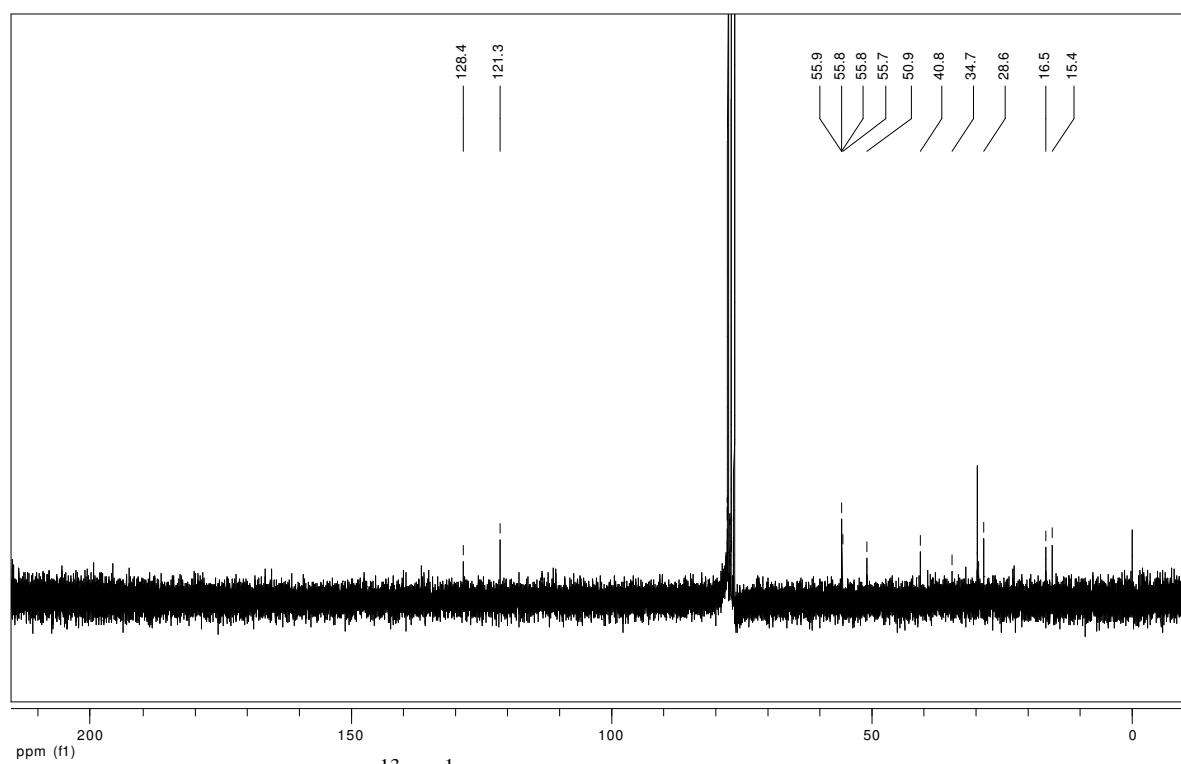
Tabela 14: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz) e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-9a**.

Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	-	128,4	-
2	6,60 (1H; <i>sl</i>)	110,9	4, 6, 7
3	-	147,0	-
4	-	147,1	-
5	6,34 (1H; <i>sl</i>)	112,1	1, 3, 7'
6	-	129,4	-
7	2,46 (1H; <i>dd</i> ; 8,0 e 16,4) 2,86 (1H; <i>dd</i> ; 5,6 e 16,4)	34,7	1, 2, 8, 9, 8'(fraco)
8	2,03 (1H; <i>m</i>)	28,6	-
9	0,91 (3H; <i>d</i> ; 6,8)	16,5	7, 8, 7', 8'
1'	-	139,7	-
2'	6,58 (1H; <i>d</i> ; 2,0)	110,5	4', 6'; 3'(fraco)
3'	-	148,5	-
4'	-	146,9	-
5'	6,75 (1H; <i>d</i> ; 8,4)	113,1	1', 3'; 4'(fraco)
6'	6,51 (1H; <i>dd</i> ; 2,0 e 8,4)	121,3	2', 5'(fraco)
7'	3,69 (1H; <i>d</i> ; 5,6)	50,9	5, 6, 1', 6', 8'; 8, 9'(fraco)
8'	1,94 (1H; <i>m</i>)	40,7	-
9'	0,92 (3H; <i>d</i> ; 7,2)	15,4	7, 8, 7', 8'
4'-OCH ₃	3,67 (3H; <i>s</i>)	55,77	4'
3'-OCH ₃	3,80 (3H; <i>s</i>)	55,8	3'
3-OCH ₃	3,86 (3H; <i>s</i>)	55,9	3
4-OCH ₃	3,87 (3H; <i>s</i>)	55,70	4

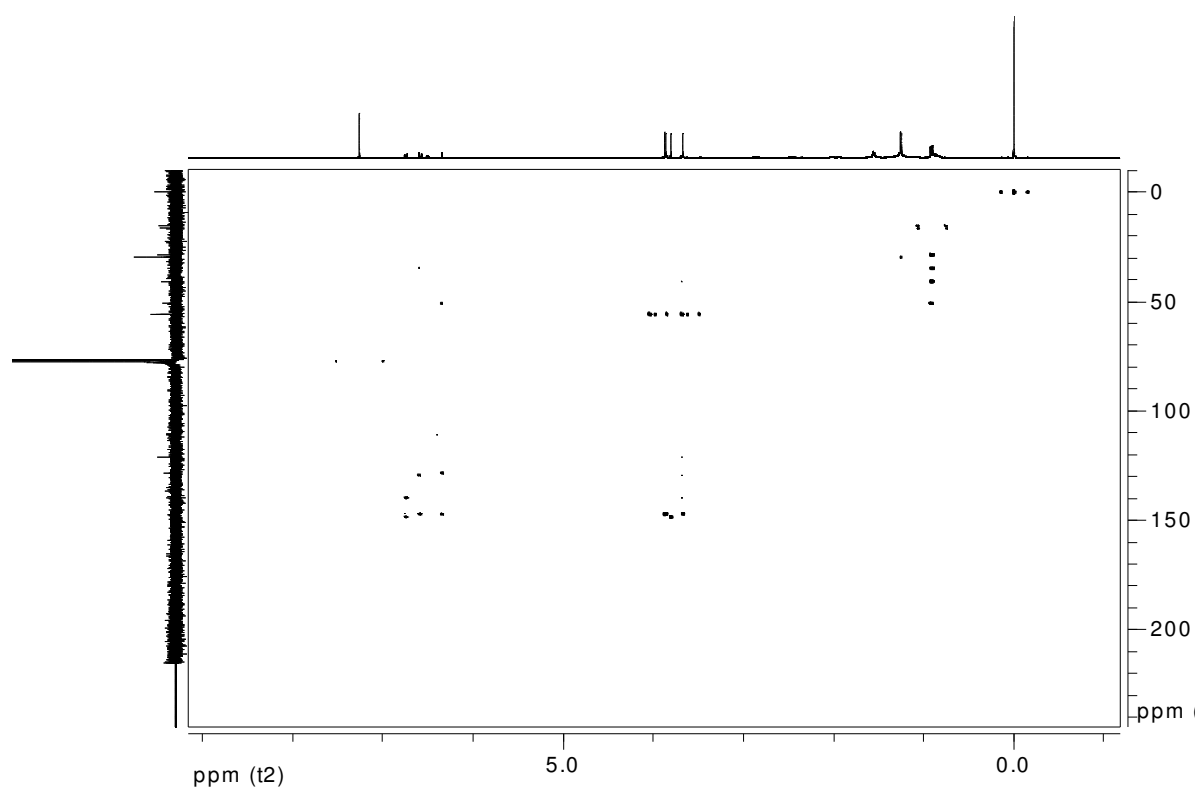
*Atribuição inequívoca através de análise do experimento do HMBC



E65 - Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-9a**.

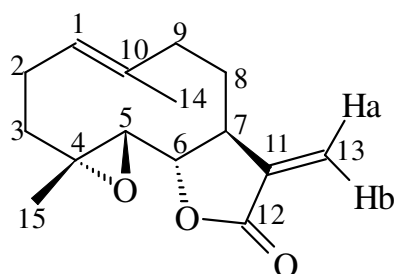


E66 - Espectro de RMN de ¹³C {¹H} (50 MHz, CDCl₃) da substância **To-9a**.



E67 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-9a**.

4.9 Identificação estrutural da substância **To-10**



To-10

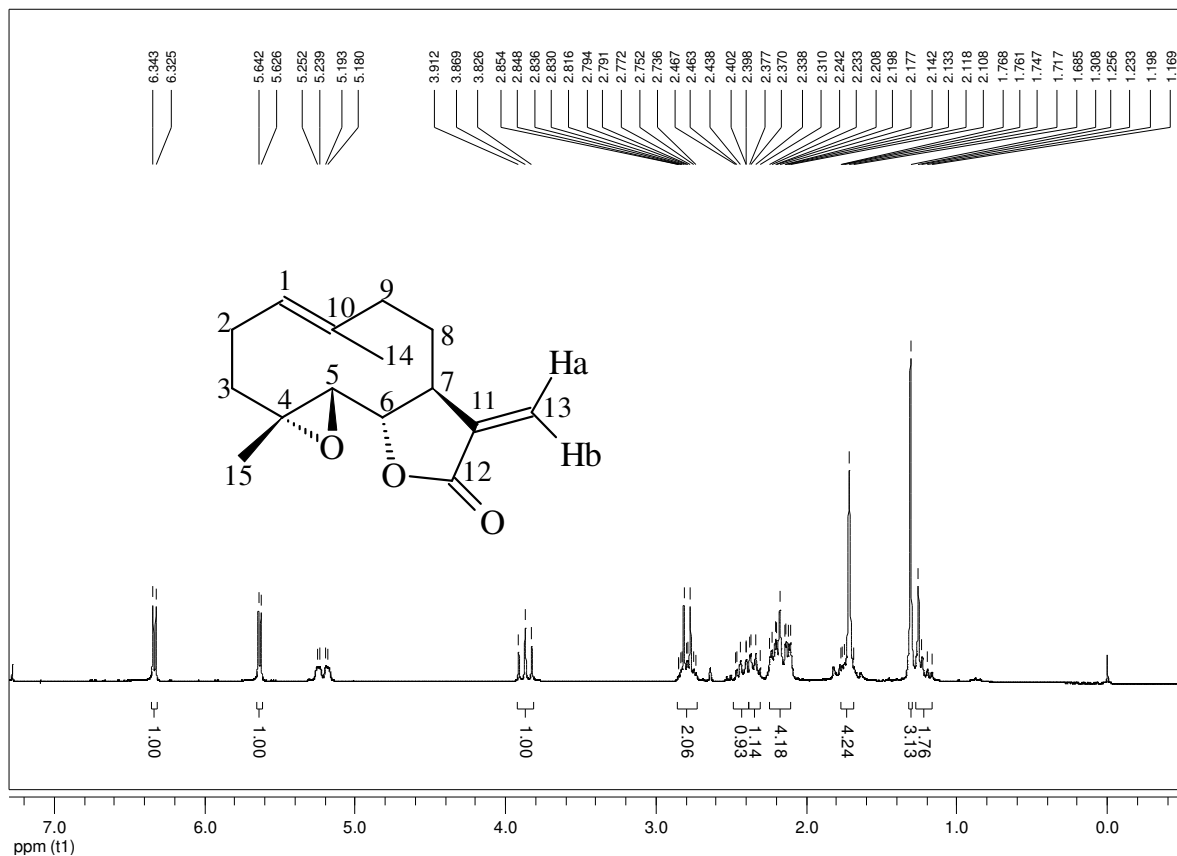
O espectro de RMN de ^1H da substância **To-10** (Tabela 15; E68), apresenta sinais característicos de lactona sesquiterpênica (δ 3,87, *t*, $J=8,8$ Hz), com uma ligação dupla exocíclica (δ 5,63, *d*, $J=3,2$ Hz; δ 6,33, *d*, $J=3,6$ Hz), duas metilas, sendo uma mais desprotegida, com deslocamento químico característico de metila ligada a carbono sp^2 (δ 1,31, *s*; δ 1,72, *s*). Além disso, pode ser observado o sinal de um hidrogênio olefínico (δ 5,22, *dd*, $J=2,6$ e 11,8 Hz).

O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Tabela 15; E69), mostrou a presença de 15 carbonos, sendo 2 metílicos, 4 metilênicos, 1 metínico, 3 ligados a oxigênio, 4 com deslocamentos químicos típicos de carbonos sp^2 e 1 do grupo carbonila de éster.

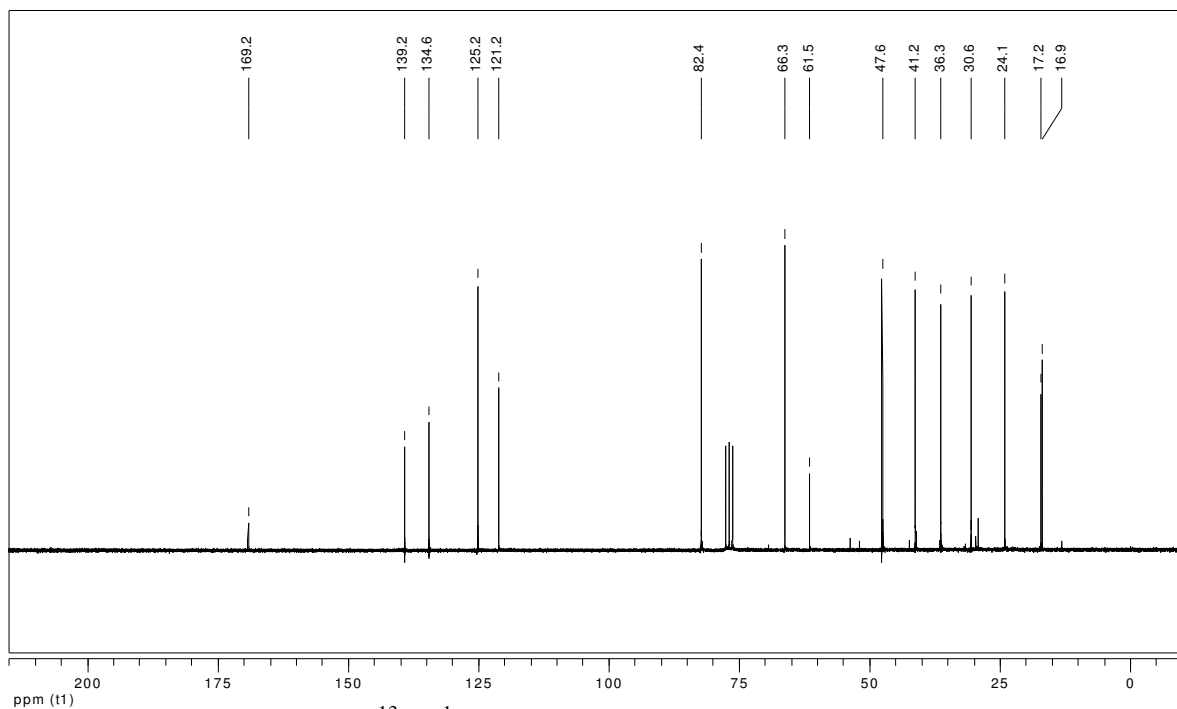
Dados de RMN de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da literatura (ACOSTA *et al.*, 1993; WONG *et al.*, 2002), mostraram que **To-10** é uma lactona sesquiterpênica do tipo germacranolido, conhecida como (-)-partenolido, tendo já sido isolado anteriormente das cascas do tronco de *Talauma ovata* (STEFANELLO *et al.*, 2002) e de outras espécies de Magnoliaceae (ACOSTA *et al.*, 1993; OGURA *et al.*, 1978).

Tabela 15: Dados de RMN de ^1H (200 MHz) e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz) em CDCl_3 da substância **To-10**.

Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ
1	5,22 (1H; <i>dd</i> ; 2,6 e 11,8)	134,6
2a	2,17 (1H; <i>m</i>)	30,6
2b	2,43 (1H; <i>m</i>)	
3a	1,21 (1H; <i>m</i>)	36,3
3b	2,17 (1H; <i>m</i>)	
4	-	61,5
5	2,79 (1H; <i>d</i> ; 8,8)	66,3
6	3,87 (1H; <i>t</i> ; 8,8)	82,4
7	2,80 (1H; <i>m</i>)	47,6
8a	1,73 (1H; <i>m</i>)	24,1
8b	2,17 (1H; <i>m</i>)	
9a	2,17 (1H; <i>m</i>)	41,2
9b	2,35 (1H; <i>m</i>)	
10	-	125,2
11	-	139,2
12	-	162,2
13a	5,63 (1H; <i>d</i> ; 3,2)	121,2
13b	6,33 (1H; <i>d</i> ; 3,6)	
14	1,72 (3H; <i>s</i>)	16,9
15	1,31 (3H; <i>s</i>)	17,2

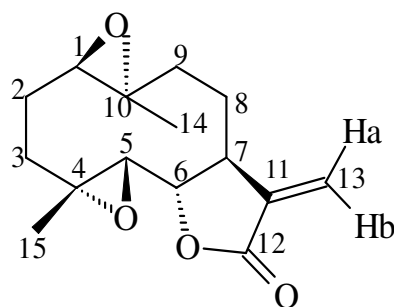


E68 - Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) da substância **To-10**.



E69 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância **To-10**.

4.10 Identificação estrutural da substância **To-11**



To-11

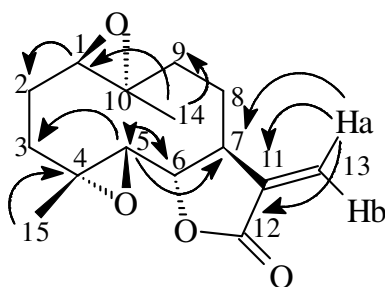
O espectro de RMN de ^1H da substância **To-11** (Tabela 16; E70), mostrou-se muito semelhantes ao da substância **To-10**, apresentando sinais característicos de lactona sesquiterpênica (δ 3,95, *t*, $J=8,8$ Hz), com uma ligação dupla exocíclica (δ 5,63, *d*, $J=3,2$ Hz; δ 6,36, *d*, $J=3,6$ Hz).

A principal diferença entre as duas substâncias está no deslocamento químico dos grupos metila, onde **To-11** apresenta as duas metilas com deslocamentos químicos muito semelhantes (δ 1,35, *s*; δ 1,41, *s*). Além disso, foi observado o sinal de um hidrogênio ligado a um grupo epóxido (δ 2,86, *dd*, $J=1,4$ e 10,8 Hz) em substituição ao hidrogênio olefínico presente na substância anterior

O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Tabela 16; E71), mostrou a presença de 15 carbonos, sendo 2 metílicos, 4 metilênicos, 1 metínico, 5 ligados a oxigênio, 2 com deslocamentos químicos típicos de carbonos sp^2 e 1 do grupo carbonila de éster.

A análise do experimento HSQC (Tabela 16; E72) confirmou as relações dos hidrogênios com seus respectivos carbonos, enquanto que o HMBC (Tabela 16; E73) mostrou as correlações entre o sinal dos hidrogênios metílicos em δ 1,35 (CH_3 -14) com δ 40,1 (C-9), δ 60,7 (C-10) e δ 63,7 (C-1); o sinal em δ 1,40 (CH_3 -15) com δ 35,1 (C-3), δ 60,5 (C-4) e δ 64,6 (C-5); o sinal em δ 2,49 (Hb-9) com δ 25,9 (C-8), δ 47,7 (C-7), δ 60,7 (C-10) e δ 63,7 (C-1); o sinal em δ 2,86 (H-1) com δ 23,9 (H-2); o sinal em δ 2,91 (H-5) com δ 35,1 (C-3), δ 47,7 (C-7), δ 60,5 (C-4) e 81,7 (C-6). Ainda pelo HMBC, observou-se as correlações entre os sinais do hidrogênio 3,95 (H-6) com δ 25,9 (C-8), δ 60,5 (C-4) e δ 64,6 (C-5) e dos

hidrogênios geminais da dupla exocíclica em δ 5,63 (Ha-13) e δ 6,36 (Hb-13) com δ 47,7 (C-7), δ 138,8 (C-11) e δ 168,8 (C-12). A estrutura pôde ser confirmada através dessas correlações, conforme mostradas abaixo.

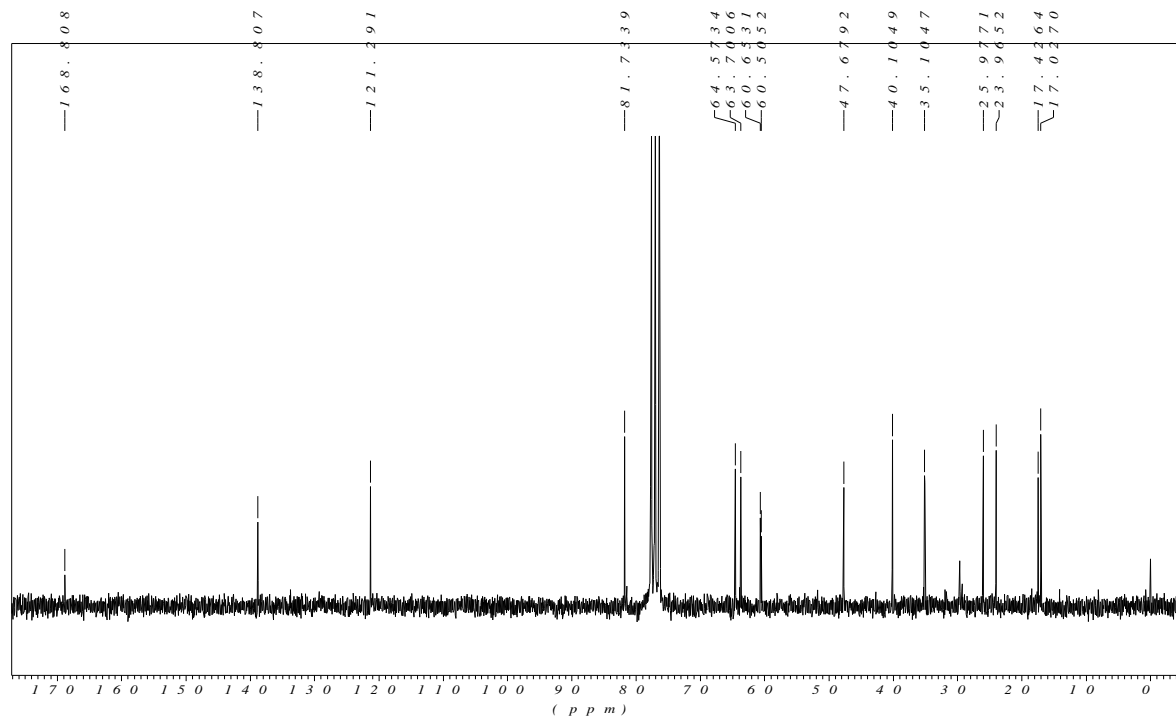
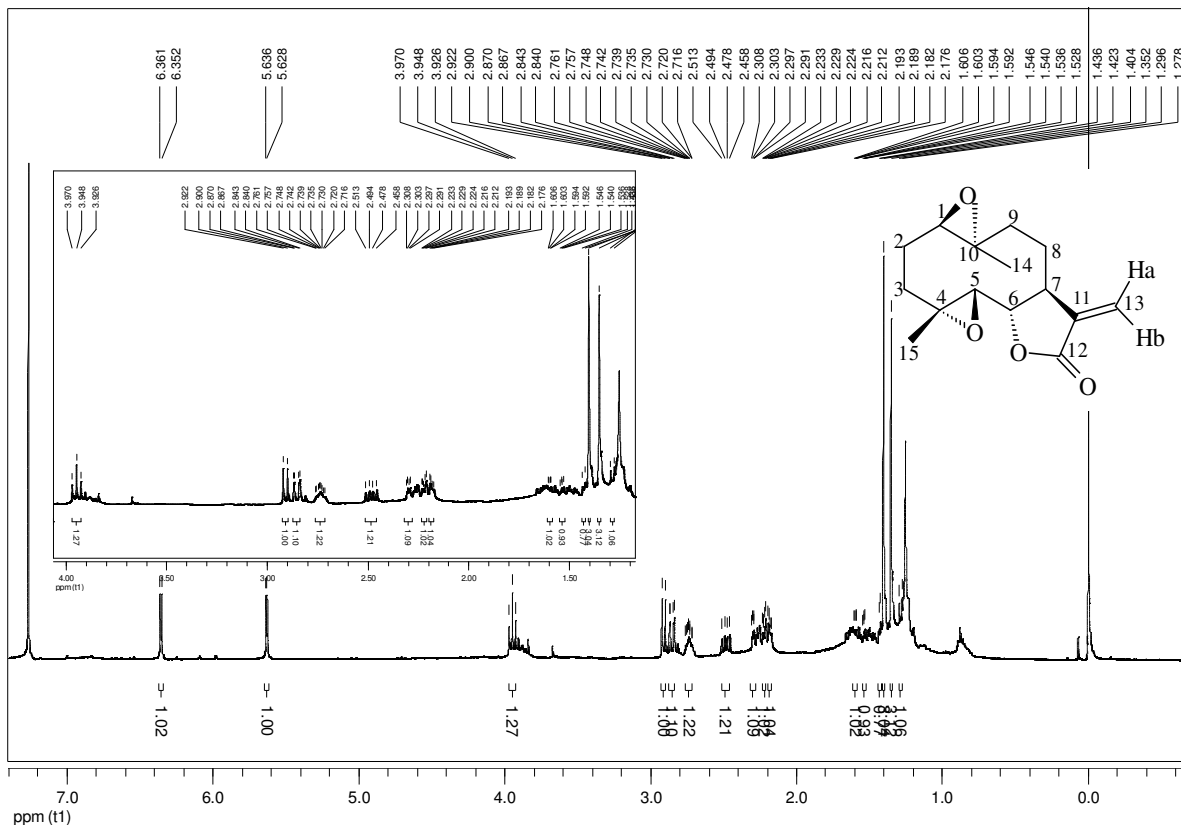


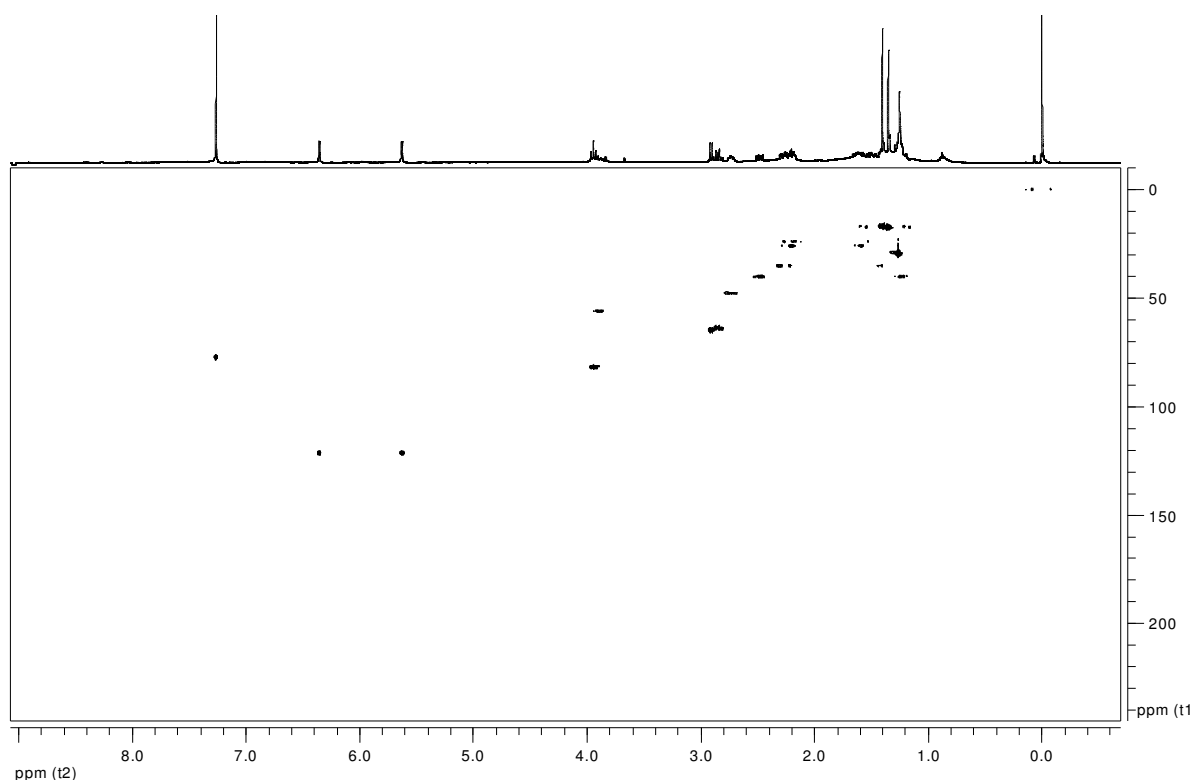
Dados de RMN de ^1H da literatura (OGURA *et al.*, 1978), mostraram que **To-11** também é germacranolido, conhecido como (-)-michelenolido, tendo sido isolado da casca da raiz de *Michelia compressa* (Magnoliaceae). Não há dados de ^{13}C para este composto na literatura consultada.

Tabela 16: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-11**.

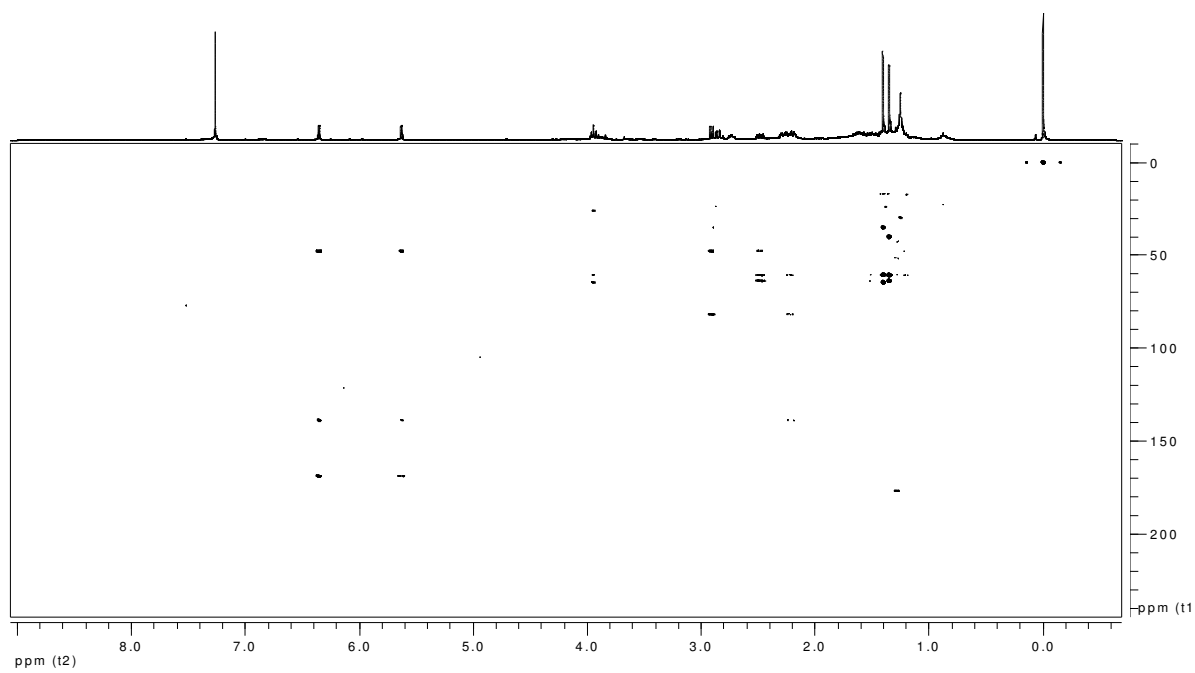
Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	2,86 (1H; <i>dd</i>; 1,4 e 10,8)	63,7	2
2a	1,54 (1H; <i>m</i>)	23,9	10; 1, 3 (fraco)
2b	2,19 (1H; <i>m</i>)		4, 10
3a	1,42 (1H; <i>m</i>)	35,1	2,15
3b	2,30 (1H; <i>m</i>)		2, 4; 5 (fraco)
4	-	60,5	-
5	2,91 (1H; <i>d</i> ; 8,8)	64,6	3, 6, 7; 4 (fraco)
6	3,95 (1H; <i>t</i> ; 8,8)	81,7	4, 5, 8
7	2,74 (1H; <i>m</i>)	47,7	-
8a	1,60 (1H; <i>m</i>)	25,9	6, 7, 9, 10 (fraco)
8b	2,22 (1H; <i>m</i>)		6, 10, 11; 7, 9 (fraco)
9a	1,28 (1H; <i>m</i>)	40,1	7, 10, 14; 8 (fraco)
9b	2,49 (1H; <i>dd</i> ; 7,8 e 14,3)		1, 7, 10; 8 (fraco)
10	-	60,7	-
11	-	138,8	-
12	-	168,8	-
13a	5,63 (1H; <i>d</i> ; 3,2)	121,3	7, 11, 12
13b	6,36 (1H; <i>d</i> ; 3,6)		
14	1,35 (3H; <i>s</i>)	17,4	1, 9, 10,
15	1,40 (3H; <i>s</i>)	17,0	3, 4, 5

*Atribuição inequívoca através de análise do experimento do HSQC



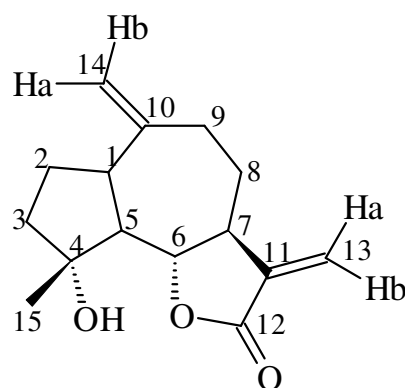


E72 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-11**.



E73 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-11**.

4.11 Identificação estrutural da substância **To-12**



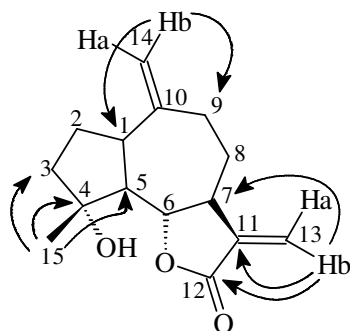
To-12

O espectro de RMN de ^1H da substância **To-12** (Tabela 17; E74) também apresentou sinais característicos de uma lactona sesquiterpênica (δ 4,06, *dd*, $J=8,8$ e $11,6$ Hz) com uma ligação dupla exocíclica (δ 5,53, *d*, $J=3,2$ Hz; δ 6,240, *d*, $J=3,6$ Hz). Além disso, foi observado o sinal referente a um único grupo metila (δ 1,32, *s*) e sinais de uma outra dupla exocíclica (δ 4,98, *sl*; δ 5,01, *sl*).

O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Tabela 17; E75), mostrou a presença de 15 carbonos, sendo, 1 metílico, 4 metilênicos, 3 metínicos, 2 oxigenados, 4 com deslocamentos químicos típicos de carbonos sp^2 e 1 do grupo carbonila de éster.

Pela análise do HMBC (Tabela 17; E76) mostrou as correlações entre os sinais do hidrogênio metílico em 1,32 (CH_3 -15) com δ 40,2 (C-3), δ 55,7 (C-5) e δ 79,7 (C-4), o sinal dos hidrogênios geminais da dupla exocíclica em δ 4,98 (Ha-14) e δ 5,01 (Hb-14) com δ 39,3 (C-9) e δ 44,0 (C-1). Ainda pelo HMBC, observou-se as correlações entre os sinais dos hidrogênios geminais da dupla exocíclica do anel lactônico em δ 5,53 (Ha-13) e δ 6,24 (Hb-13) com δ 47,4 (C-7), δ 138,7 (C-11) e δ 169,7 (C-12).

A estrutura pôde ser confirmada através dessas correlações, conforme mostradas.

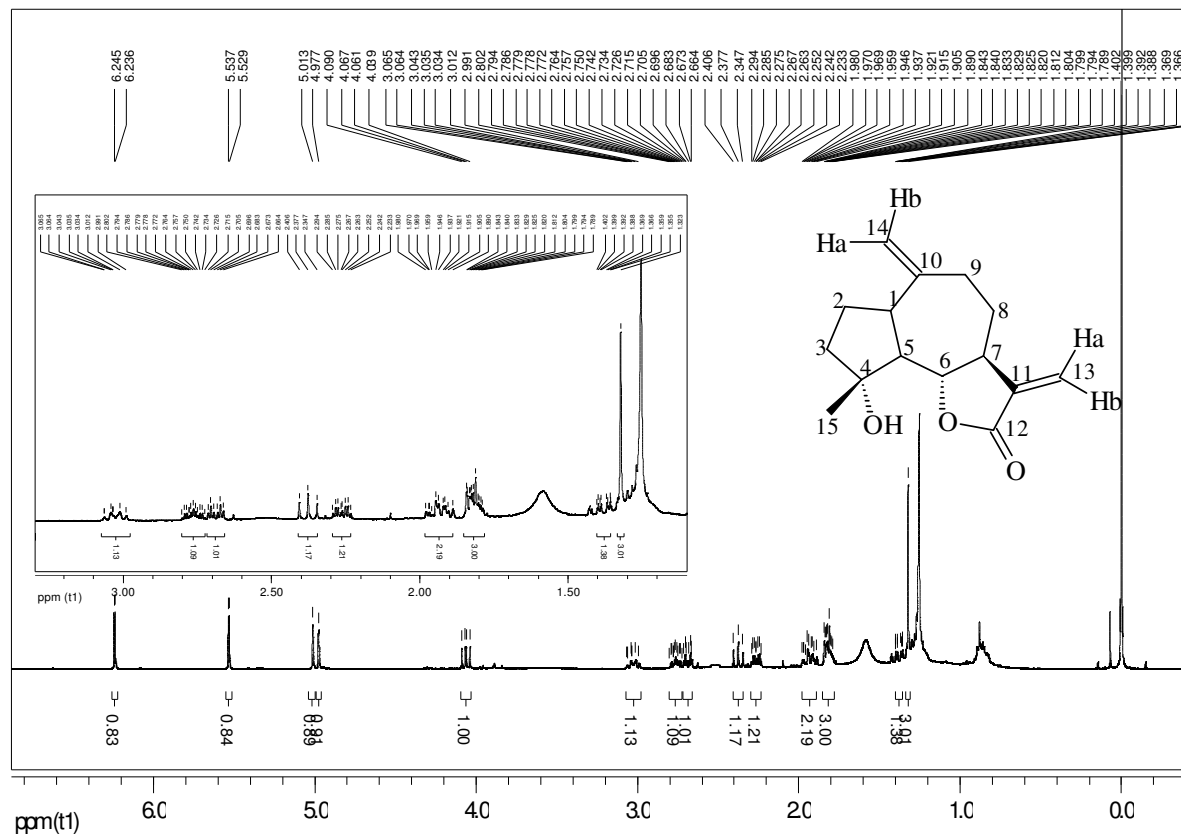


Dados de RMN de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da literatura (ACOSTA *et al.*, 1993), mostraram que **To-12**, também é uma lactona sesquiterpênica, mas com esqueleto guaiano, conhecida como (-)-11,13-dehidrocompressanolido.

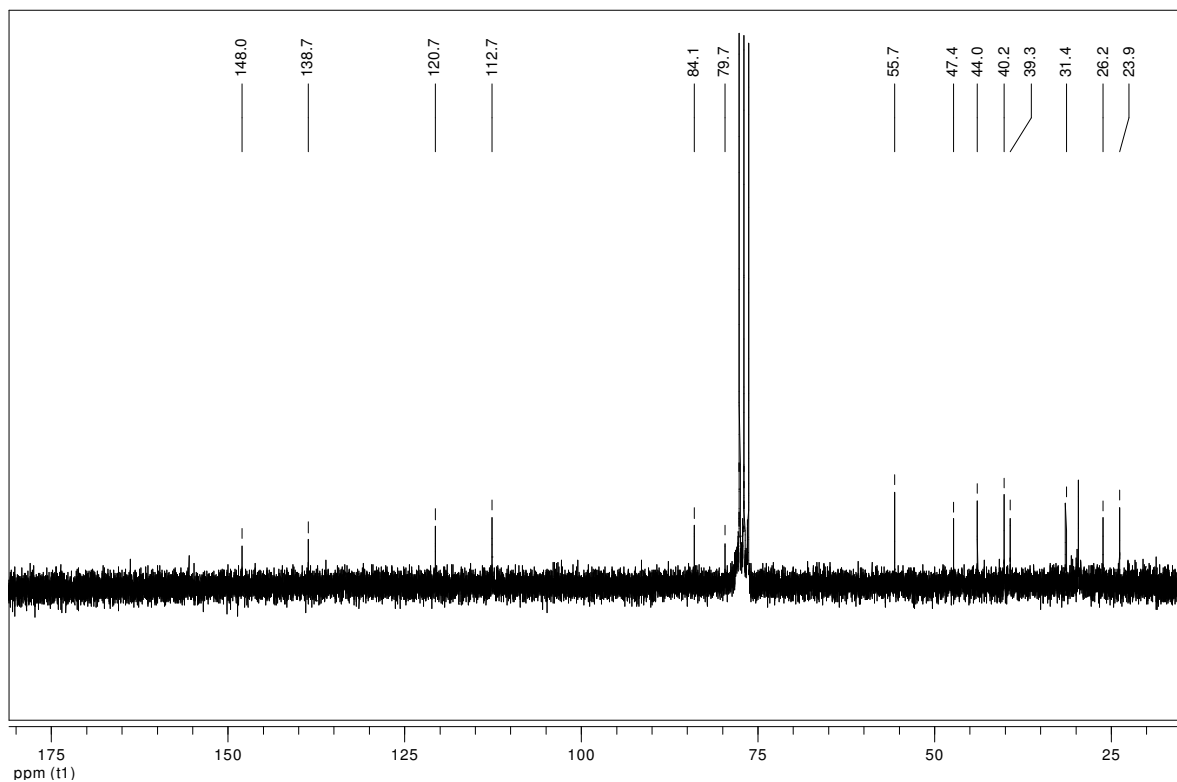
Tabela 17: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz) e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-12**.

Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ	HMBC ^1H - ^{13}C
1	3,03 (1H; <i>m</i>)	44,0	-
2	1,82 (2H; <i>m</i>)	26,2	-
3a	1,82 (1H; <i>m</i>)	40,2	
3b	1,94 (1H; <i>m</i>)		
4	-	79,4	-
5	2,38 (1H; <i>t</i> ; 11,6)	55,7	-
6	4,06 (1H; <i>dd</i> ; 11,6 e 8,8)	84,1	-
7	2,77 (1H; <i>m</i>)	47,4	-
8a	1,38 (1H; <i>m</i>)	31,4	-
8b	2,26 (1H; <i>ddd</i> ; 3,6; 7,6 e 13,6)		
9a	1,94 (1H; <i>m</i>)	39,3	-
9b	2,69 (1H; <i>dt</i> ; 3,6 e 12,8)		
10	-	148,0	-
11	-	138,7	-
12	-	169,7	-
13a	5,53 (1H; <i>d</i> ; 3,2)	120,7	7, 11, 12
13b	6,24 (1H; <i>d</i> ; 3,6)		
14a	4,98 (1H; <i>sl</i>)	112,7	1, 9
14b	5,01 (1H; <i>sl</i>)		
15	1,32 (3H; <i>s</i>)	23,9	3, 4, 5

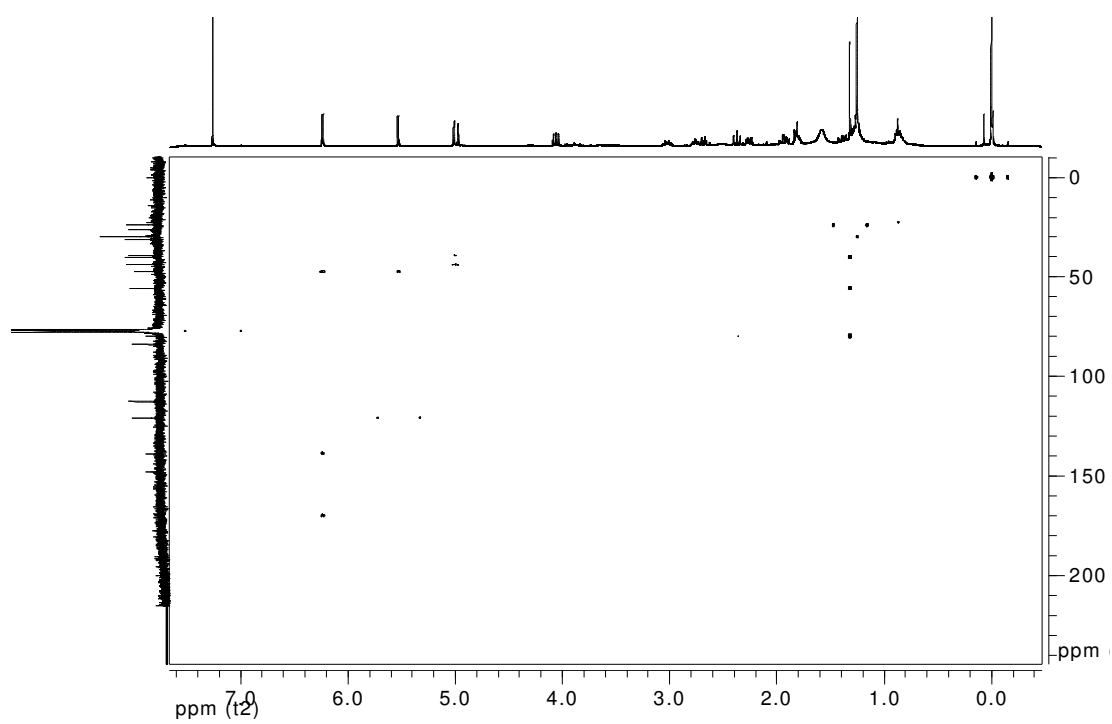
*Atribuição inequívoca através de análise do experimento do HMBC



E74 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **To-12**.

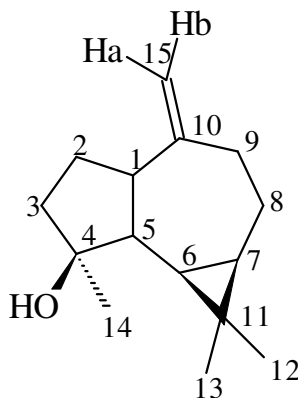


E75 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância **To-12**.



E76 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-12**.

4.12 Identificação da substância **To-13**



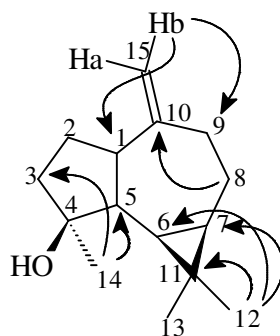
To-13

O espectro de RMN de ^1H da substância **To-13** (Tabela 18; E77) apresenta sinais referentes a três metilas, sendo uma mais desprotegida devido a presença do grupo hidroxila (δ 1,04, *s*; δ 1,06, *s* e δ 1,29, *s*). Também foram observados sinais característicos de uma dupla exocíclica (δ 4,67, *sl* e δ 4,69, *sl*).

O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Tabela 18; E78), mostrou a presença de 15 carbonos, sendo, 3 metílicos, 4 metilênicos, 4 metínicos, 2 quartenários, sendo 1 carbinólico, e 2 com deslocamentos químicos típicos de carbonos sp^2 , correspondentes a dupla exocíclica.

A análise do experimento HSQC (Tabela 18; E79) confirmou as relações dos hidrogênios com seus respectivos carbonos, enquanto que o HMBC (Tabela 18; E80) mostrou as correlações entre o sinal do hidrogênios metílicos em δ 1,04 (CH_3 -13) com δ 20,3 (C-11), δ 27,6 (C-7), δ 28,7 (C-12) e δ 30,0 (C-6), em δ 1,06 (CH_3 -12) com δ 16,4 (C-13), δ 20,3 (C-11), δ 27,6 (C-7) e δ 30,0 (C-6), em δ 1,29 (CH_3 -14) com δ 41,8 (C-3), δ 54,4 (C-5) e δ 81,0 (C-4). O sinal em δ 1,31 (H-5) com δ 20,3 (C-11), δ 30,0 (C-6), δ 53,4 (C-1), δ 81,0 (C-4) e δ 153,5 (C-10), o sinal em δ 2,20 (H-1) com δ 26,8 (H-2), δ 30,0 (C-6), δ 54,4 (C-5), δ 106,3 (C-15) e 153,5 (C-10). Ainda pelo HMBC, observou-se as correlações entre os sinais dos hidrogênios geminais da dupla exocíclica em δ 4,67 (Ha-15) e δ 4,69 (Hb-15) com δ 38,9 (C-9) e δ 53,4 (C-1).

A estrutura pôde ser confirmada através dessas correlações, conforme apresentada.

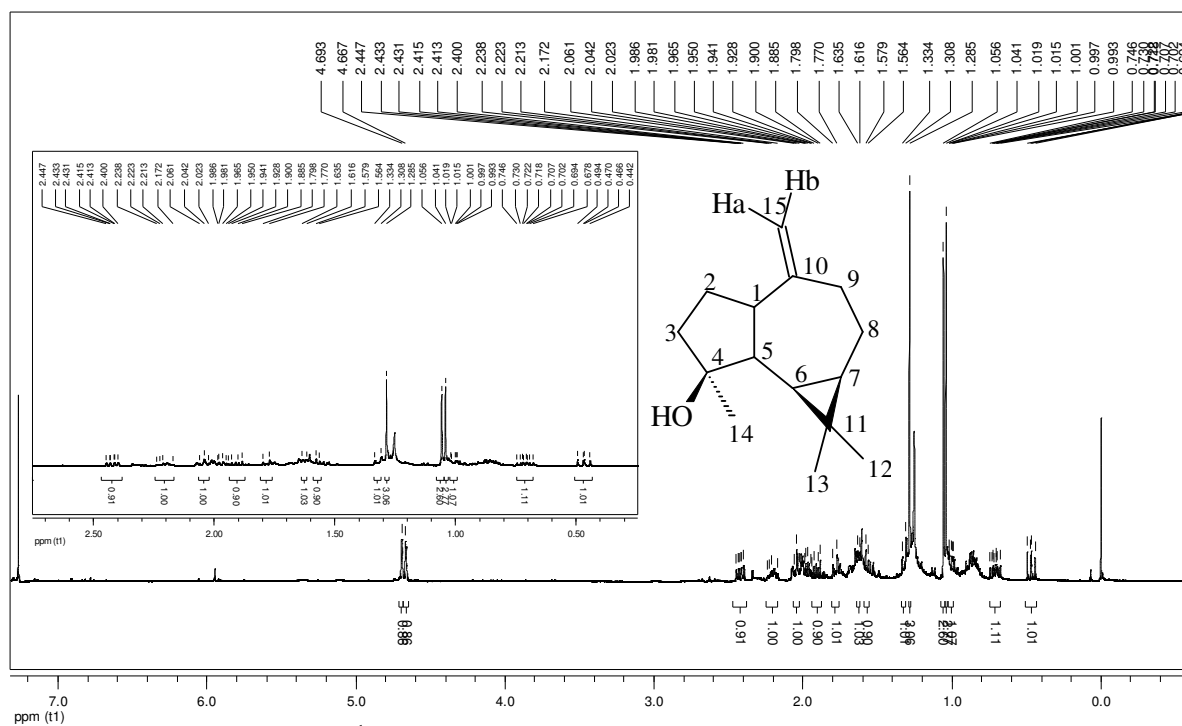


Segundo estas análises e comparação com os dados de RMN de ^1H e RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, com os da literatura (KREBS *et al.*, 1990; RAGASA *et al.*, 2003; KOSAR *et al.*, 2008), foi possível identificar essa substância como um álcool sesquiterpênico do tipo aromadendrano, conhecido como (-)-espatulenol.

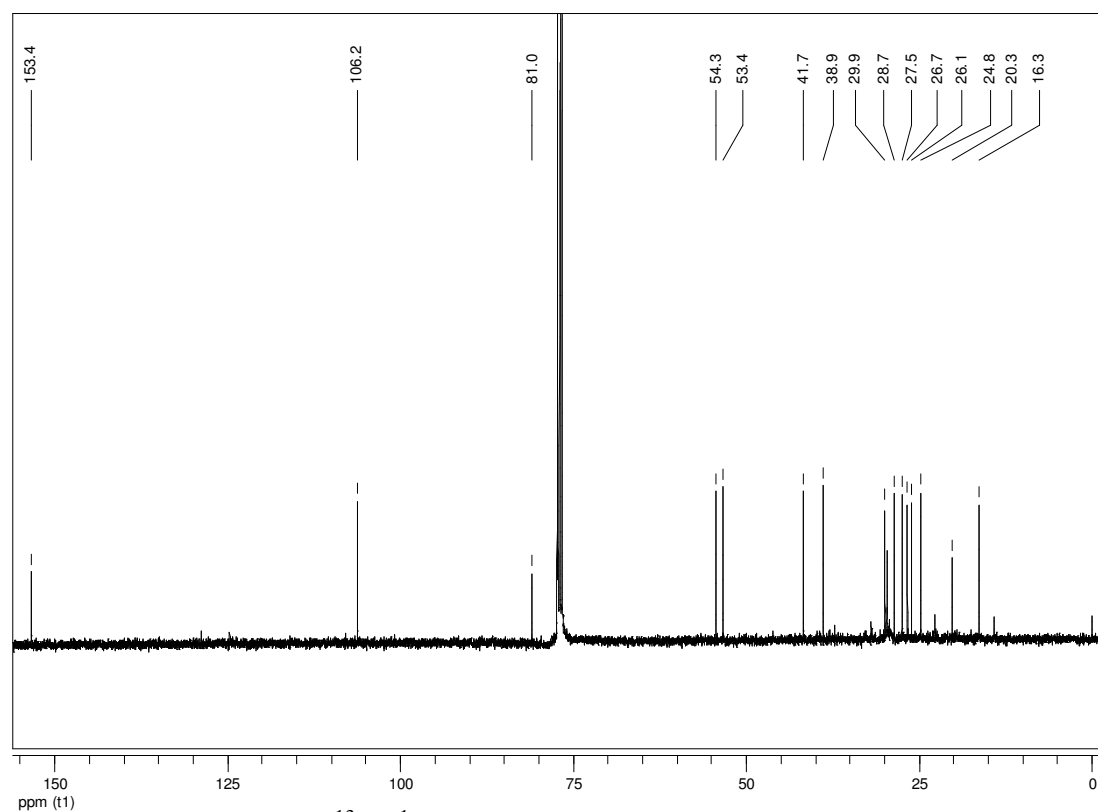
Tabela 18: Dados de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz), HSQC e HMBC (400 MHz) em CDCl_3 da substância **To-13**.

Posição	^1H δ (multiplicidade; J em Hz)	$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ δ *	HMBC ^1H - ^{13}C
1	2,20 (1H; <i>m</i>)	53,4	5, 6; 2, 10, 15 (fraco)
2a	1,63 (1H; <i>m</i>)	26,8	1, 3, 4, 5, 10
	1,91 (1H; <i>m</i>)		
3a	1,57 (1H; <i>m</i>)	41,8	1, 2, 4, 5
3b	1,78 (1H; <i>m</i>)		
4	-	81,0	-
5	1,31 (1H; <i>m</i>)	54,4	1, 4, 6, 10, 11
6	0,47 (1H; <i>dd</i> ; 9,6 e 11,2)	30,0	4, 12; 1, 7, 8, 11, 13 (fraco)
7	0,71 (1H; <i>ddd</i> ; 6,4; 9,6 e 11,2)	27,6	11, 12; 5, 13 (fraco)
8a	1,02 (1H; <i>m</i>)	24,9	6, 7, 9, 10; 5 (fraco)
8b	1,96 (1H; <i>m</i>)		
9a	2,05 (1H; <i>m</i>)	38,9	1, 7, 8, 10, 15
9b	2,42 (1H; <i>ddd</i> ; 0,8; 6,4 e 13,6)		
10	-	153,5	-
11	-	20,3	-
12	1,06 (3H; <i>s</i>)	28,7	6, 7, 11, 13
13	1,04 (3H; <i>s</i>)	16,4	6, 7, 11, 12
14	1,29 (3H; <i>s</i>)	26,1	3, 4, 5
15a	4,67 (1H; <i>sl</i>)	106,3	1, 2
15b	4,69 (1H; <i>sl</i>)		

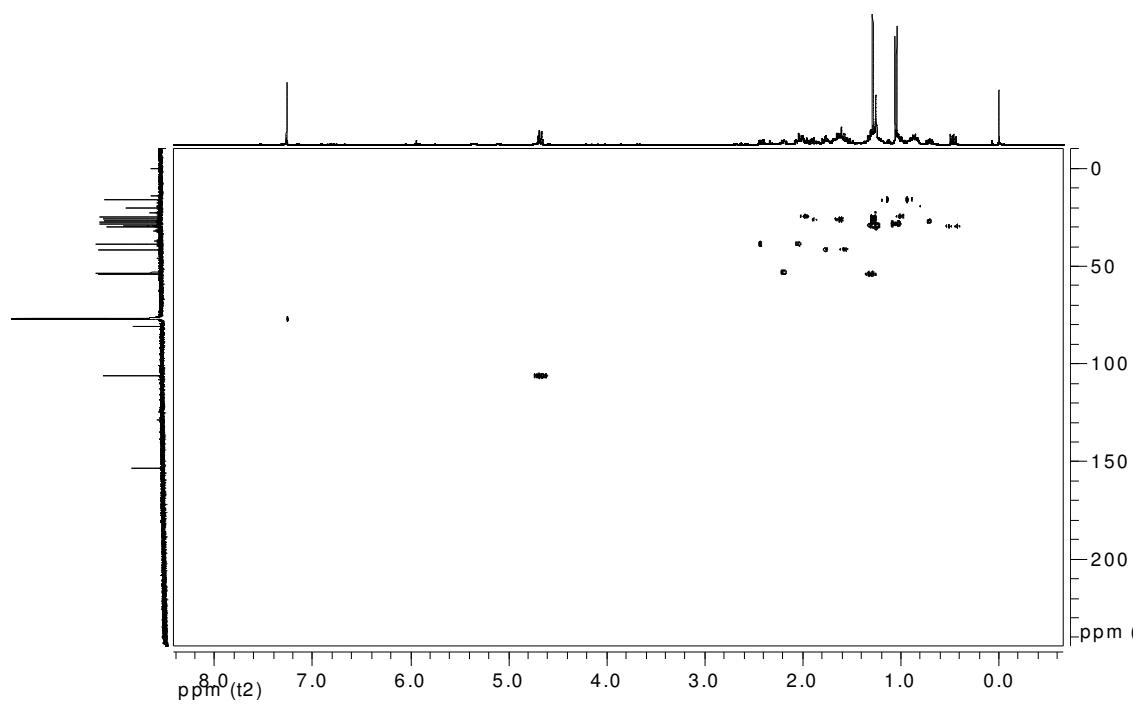
*Atribuição inequívoca através de análise do experimento do HSQC



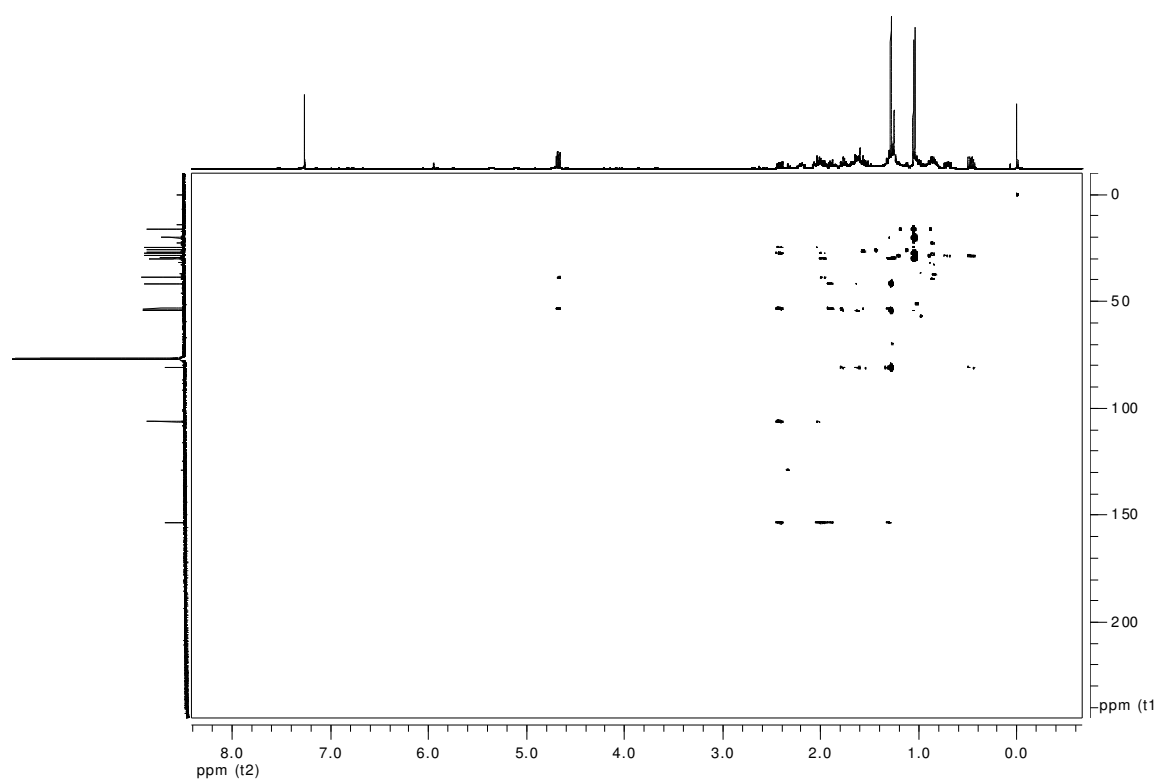
E77 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **To-13**.



E78 - Espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CDCl_3) da substância **To-13**.



E79 – Espectro HSQC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-13**.



E80 – Espectro HMBC (400 MHz, CDCl₃) da substância **To-13**.

4.13 – Ensaios de atividade antimicrobiana e antioxidante

No ensaio de atividade antimicrobiana, o extrato em diclorometano das folhas mostrou-se fracamente ativo contra algumas cepas de *Staphylococcus* sp e *Candida* sp, enquanto que as substâncias isoladas **(+)-licarina-A (To-1)** e **(+)-talaumina-A (To-7)** mostraram-se moderadamente ativas somente contra algumas cepas de *Cândida* sp; e **(-)-partenolido (To-10)**, mostrou-se moderadamente ativo contra algumas cepas de *Staphylococcus* sp (Tabela 19). No ensaio de atividade antioxidante somente **licarina-A** apresentou moderada atividade antioxidante (IC₅₀=56,10ppm) (Tabela 20).

Acuminatina e licarina-A são neolignanas benzofurânicas que diferem entre si apenas pela substituição no anel aromático. A primeira tem um grupo veratril e a segunda um grupo guaiacila. A neolignana (+)-talaumina-A é do tipo diarildimetilbutanol e apresenta dois grupos piperonila. Licarina-A mostrou moderada atividade antifúngica e antioxidante, mas não apresentou atividade antibacteriana. Esses resultados parecem associados à presença da hidroxila fenólica, uma vez que acuminatina foi completamente inativa. A neolignana talaumina-A também apresentou moderada atividade antifúngica, sugerindo que a presença de um grupo hidroxila (alcoólico ou fenólico) pode ser importante para a bioatividade.

Tabela 19: Atividade antimicrobiana do extrato bruto em diclorometano (DCM) e substâncias isoladas de *Talauma ovata* expressa em termos de concentração inibitória mínima - CIM (mg/mL).

Microrganismos	Atividade antimicrobiana (CIM mg/mL)							
	DCM	To-1	To-2	To-7	To-10	To-11	C-	C+
<i>Staphylococcus aureus</i> penicilinase negativo (8-)	*	*	*	*	-	-	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i> penicilinase positivo (7+)	*	*	*	*	0,1	-	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	*	*	*	*	0,1	-	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 14458	1	-	-	-	*	*	-	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	1	-	-	-	*	*	-	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	-	-	-	-	*	*	-	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10799	-	-	-	-	*	*	-	+
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 157	5	-	-	-	*	*	-	+
<i>Candida glabrata</i> ATCC 30070	5	0,75	-	0,75	*	*	-	+
<i>Candida dubliniensis</i> ATCC 777	5	0,75	-	0,75	*	*	-	+
<i>C. dubliniensis</i> ATCC 778157	5	0,75	-	0,75	*	*	-	+

-: Ausência de inibição do desenvolvimento microbiano, até a maior concentração avaliada; +: Completa inibição do desenvolvimento microbiano; C-: controle negativo = solvente DMSO/água destilada estéril (5:95); C+: controles positivos = bacitracina (0,2 UI/mL) para as bactérias e cetoconazol (100µg/mL) para os fungos; *: não avaliado.

Tabela 20: Porcentagem de redução do radical DPPH do extrato bruto em diclorometano (DCM) e substâncias isoladas de *Talauma ovata* e controles positivos (quercetina e Trolox).

Amostras	6,25 µg/mL	12,5 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	IC ₅₀ µg/mL
DCM	-	-	-	-	-	-
To-1	-2,21 (4,70)	17,54 (0,41)	30,07 (9,70)	46,85 (6,06)	72,66 (2,53)	56,10 (1,20) ^a
To-2	-	-	-	-	-	-
To-7	-	-	-	-	-	-
Quercetina*	36,98 (4,12)	45,62 (3,38)	57,39 (1,29)	48,43 (1,40)	Na	13,06 (9,14) ^b
Trolox*	77,75 (11,53)	79,04 (13,70)	80,50 (2,60)	50,20 (1,80)	Na	2,22 (7,45) ^c

Dados expressos como média (coeficiente de variação, %CV=(desvio padrão/média).100) do ensaio em triplicata; -: não ativo até 100 µg/mL; Na: não avaliado; IC₅₀= Concentração que reduz em 50% o radical DPPH; *: controles positivos. Estatísticas: (a ≠ b ≠ c), P<0,001. (ANOVA e Tukey's post-hoc test)

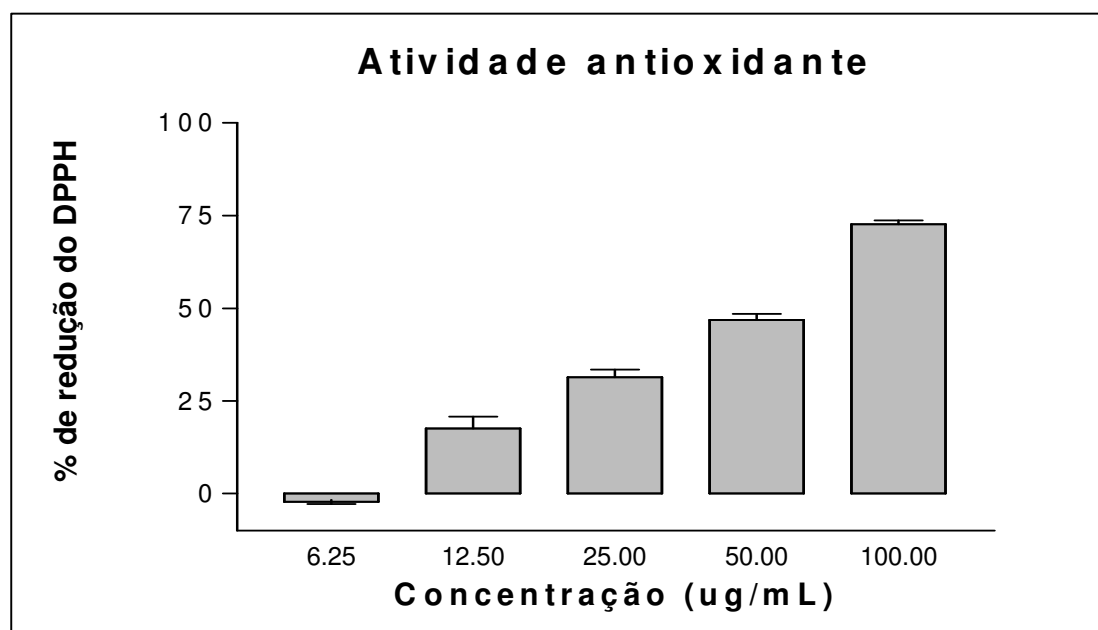


Figura 11: Avaliação da capacidade de redução do radical DPPH de **To-1**.

5. CONSIDERAÇÕES BIOSINTÉTICAS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS

5.1 Neolignanans

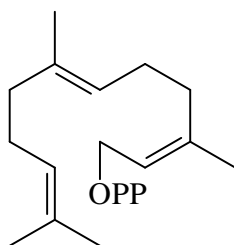
As neolignanans são definidas biogeneticamente como derivadas do acoplamento oxidativo de propenil e/ou alilfenóis, não apresentando o carbono C-9 oxigenado (**Figura 12**).

As diversas possibilidades de combinação entre esses radicais e os rearranjos posteriores levam a grande variedade estrutural apresentada por essa classe de substâncias.

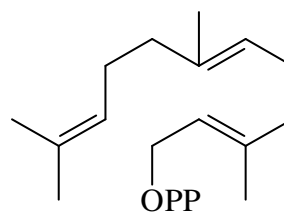
As neolignanans isoladas neste trabalho originam-se do acoplamento oxidativo entre radicais de propenilfenol. As benzofurânicas se originaram pelo acoplamento de dois radicais diferentes de propenilfenol (**Figura 13**) e as diarildimetilbutanol se originaram pelo acoplamento de dois radicais iguais de propenilfenol (**Figura14**).

5.2 Sesquiterpenos

Os sesquiterpenos são uma grande classe de substâncias derivadas da ciclização do pirofosfato de *cis*-farnesila (**53**) ou pirofosfato de *trans*-farnesila (**54**).



53



54

Os sesquiterpenos isolados neste trabalho são derivados do isômero *trans* e apresentam esqueletos carbônicos do tipo germacrano, guaiano e aromadendrano (**Figura 15**).

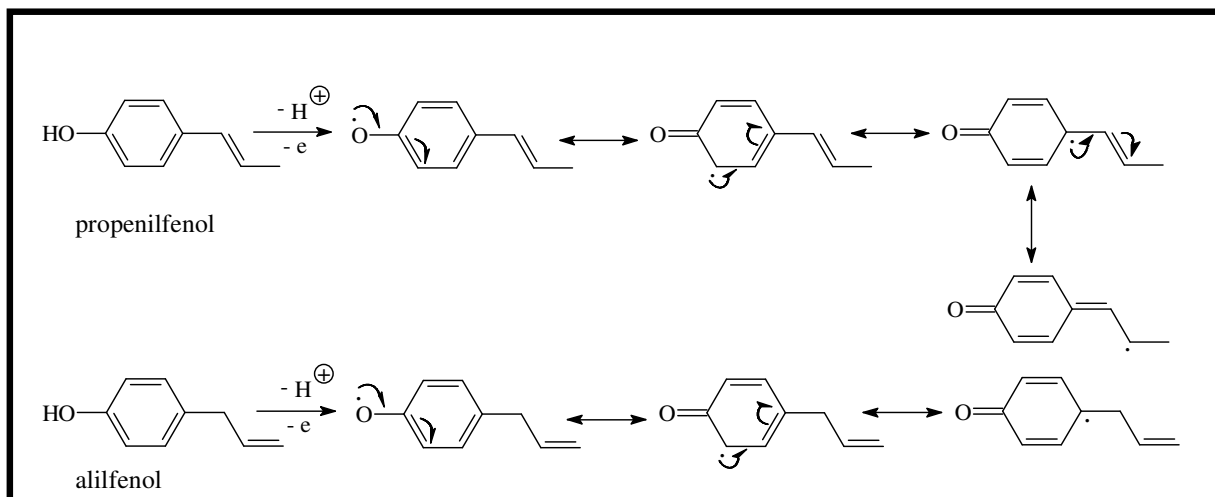


Figura 12: Radicais de propenil e/ou alilfenóis.

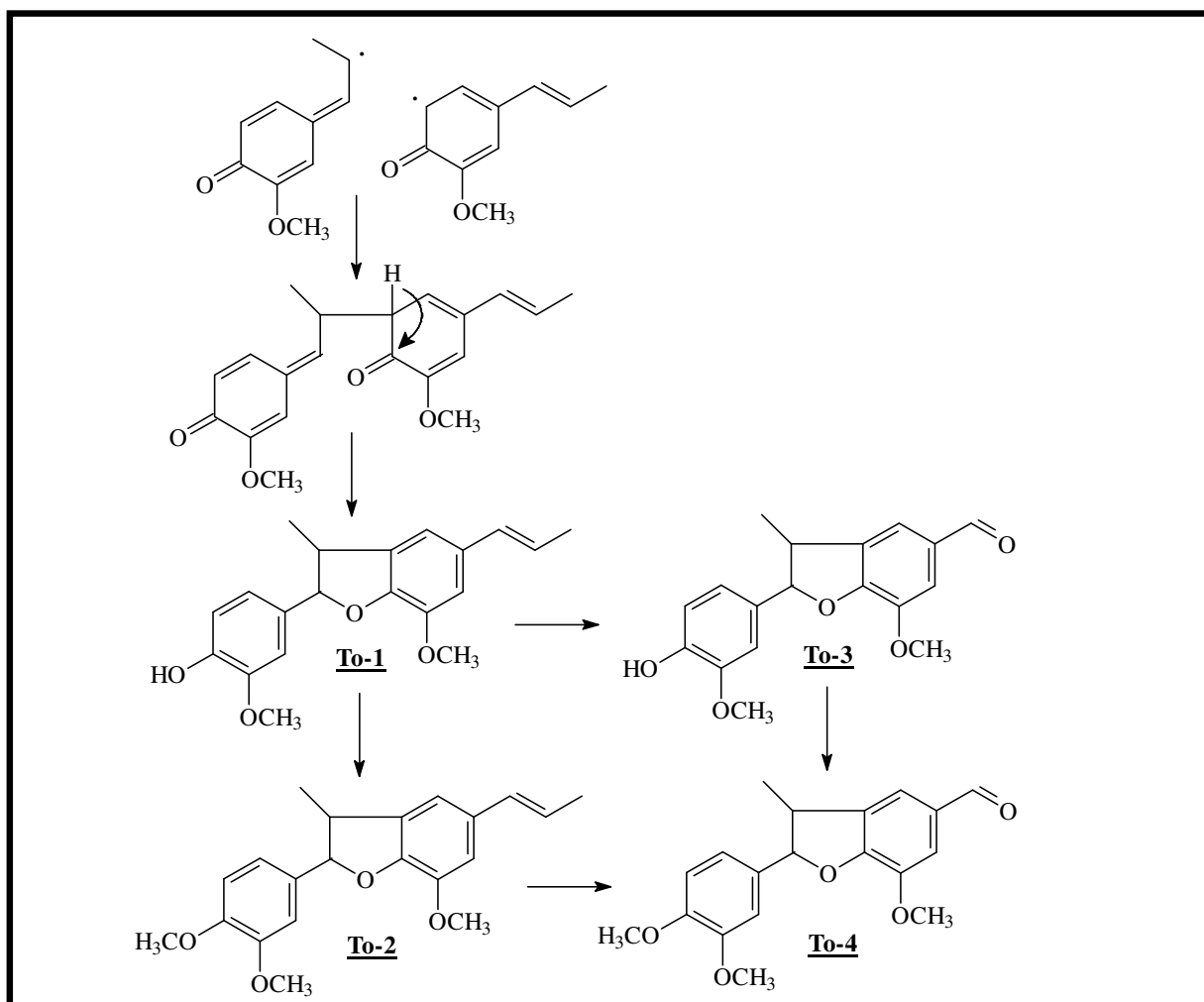


Figura 13: Biossíntese proposta para as neolignanas e *bis*-norneolignanas benzofurânicas isoladas.

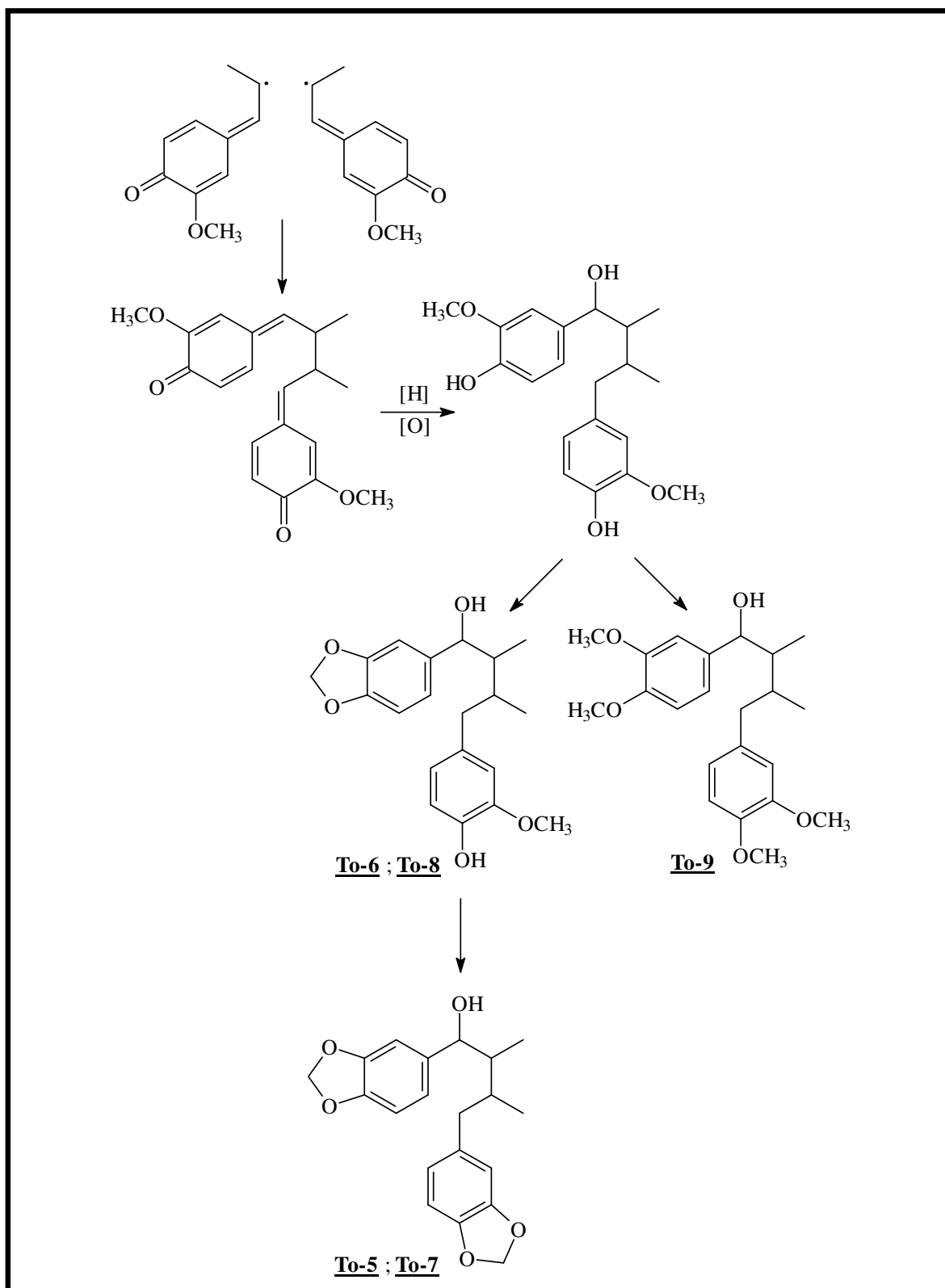


Figura 14: Biossíntese proposta para as neolignanas diarildimetilbutanol isoladas.

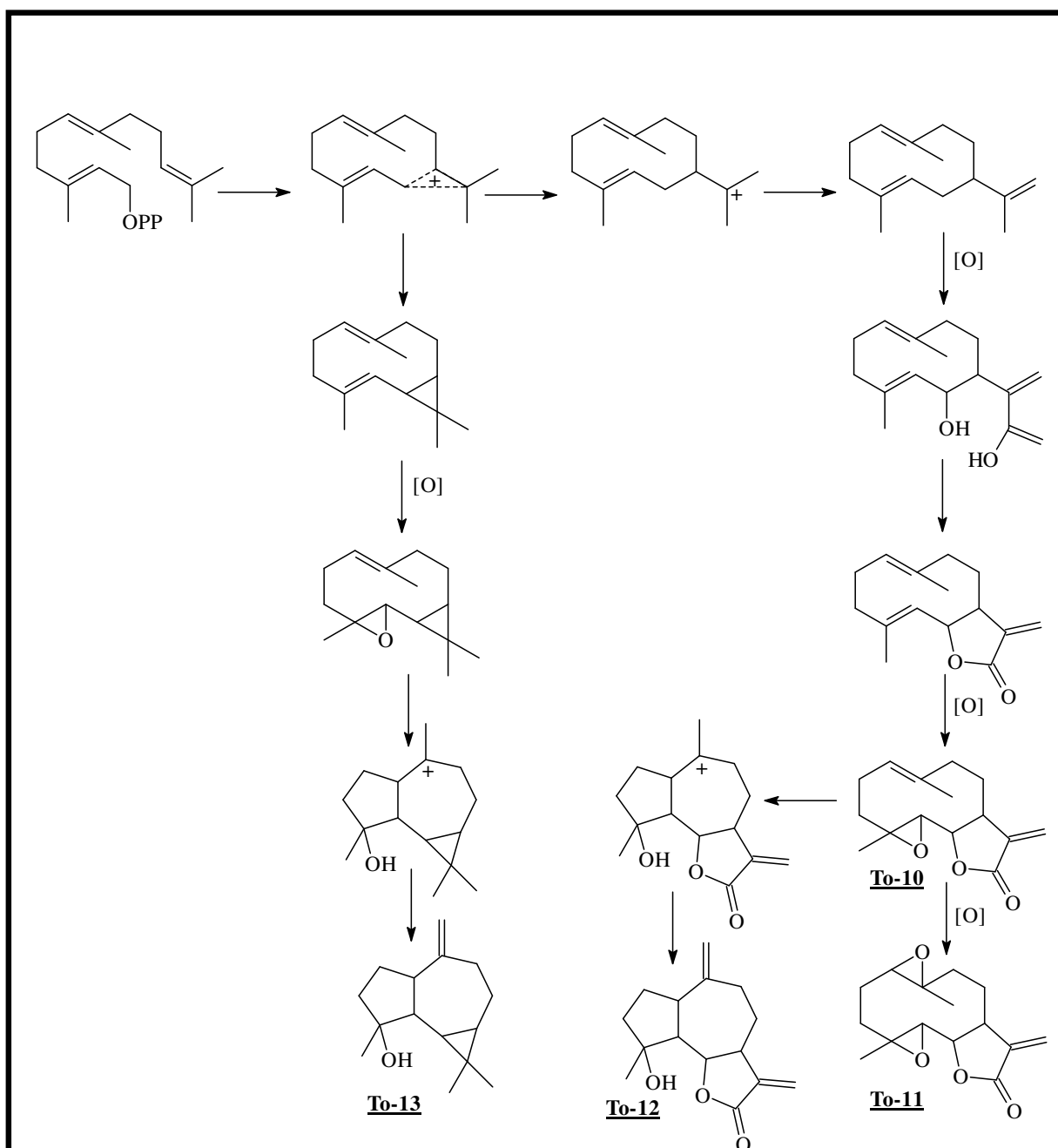


Figura 15: Biosíntese proposta para os sesquiterpenos isolados.

6. CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico das folhas de *Talauma ovata* resultou na identificação de dezenove substâncias, sendo treze naturais e seis sintéticas, pertencentes à classe dos lignóides e sesquiterpenóides.

Entre as substâncias conhecidas identificadas somente **(+)-licarina-A** (isolada das folhas), **(+)-oleiferina-C** e **(-)-partenolido** (isoladas da casca do tronco) haviam sido encontradas em *T. ovata*, sendo as demais inéditas no gênero *Talauma*, mostrando que essa planta tem uma grande diversidade química que pode ser resultado de fatores ambientais, época e região da coleta do material ou à parte da planta estudada.

Por essa razão, o estudo fitoquímico de uma dada espécie não pode se limitar a um único órgão ou a um único exemplar. Além disso, isso pode justificar o uso medicinal de diferentes órgãos da planta para diferentes doenças (apenas as cascas são usadas contra febre).

A presença de lignóides e sesquiterpenóides é de grande importância quimiotaxônomica para caracterizar o gênero, pois o número de espécies estudadas é relativamente pequeno. Compostos destas classes são de larga ocorrência na família Magnoliaceae e o seu isolamento em espécies de *Talauma* confirma a sua classificação botânica.

A atividade antimicrobiana do extrato e substâncias testadas foi fraca a moderada. Entretanto, não se pode afirmar que a espécie seja inútil no controle de infecções, pois a mesma apresenta uma grande variabilidade química. Outros estudos deverão ser conduzidos para avaliar a influência de outros fatores na bioatividade desta espécie.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA, 2008), Manual Clinical And Laboratory Standards Institute – CLSI (antigo NCCLS). WWW.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi.asp (acesso em 19/06/2008).
- ACOSTA, J.C.; FISCHER, N.H., *Biomimetic Transformations of Parthenolide*. J. Nat. Prod., v. 56, n. 1, p. 90-98, January 1993.
- APEL, M.A.; LIMA, M.E.L.; SOUZA, A.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M.C.M.; SOBRAL, M.E.G.; SUFFREDINI, I.B.; MORENO, P.R.H., *Screening of the Biological Activity from Essential Oils of native Species from the Atlantic Rain Forest*. Pharmacologyonline v. 3 p. 376-383, 2006.
- BRESOLIN, T.M.B.; FILHO, V.C., *Ciências Farmacêuticas: Contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos*. Editora: UNIVALI-SC, p. 11-18, 2003.
- BUCAY, J. W., *Uso Tradicional e Investigación científica de Talauma mexicana (D.C.) Don., o flor del corazón*. Revista Mexicana de Cardiología, v. 13, n. 1, p. 31-38, marzo 2002.
- COELHO, A.A.M.; PAULA, J.E.; ESPÍNDOLA, L.S., *Insecticidal Activity of Cerrado Plant Extracts on Rhodnius milesi Carcavallo, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), Under Laboratory Conditions*. Neotropical Entomology, v. 35, n.1. 2006.
- CRONQUIST, A., *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York: Columbia Univ. Press, 1981.
- CUENDET, M.; HOSTETTMANN, K.; POTTERAT, O.; DYATMIKO, W. *Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from Fagraea blumei*. Helvetica Chimica Acta, v. 80, p. 1144-1152, 1997.
- DEY, P.M.; HARBONE, J.B., *Plant Biochemistry*, London, 1997.
- DEWICK, P.M., *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. Chichester: 2^a ed. John Wiley & Sons, Ltda, 2002.
- DUNG, N.X.; THÂM, N.T.; KHIÊN, P.V.; QUANG, N.T.; LÊ, H.T.; LECLEREQ, P.A., *Characterization of the Oils from Various Parts of Talauma giõi Aug. Chev. (Magnoliaceae) from Vietnam*. J. Essent. Oil Res., v. 9, p. 119-121, 1997.

- ESPINEL-INGROFF, A.; DAWSON, K.; PFALLER, M.; ANAISSIE, E.; BRESLIN, B.; DIXON, D.; FOTHERGILL, A.; PAETZNICK, V.; PETER, J.; RINALDI, M.; WALSH, T. *Comparative and collaborative evaluation of standardization of antifungal susceptibility testing for filamentous fungi*. Antimicrob. Agents Chemother., v. 39 p. 314-319, 1995.
- EL-FERALY, F.S.; CHEATHAM, S.F.; HUFFORD, C.D.; LI, W.S., *Optical Resolution of (±)-Dehydrodiisoeugenol: Structure Revision of Acuminatin*. Phytochemistry, v. 21, n. 5, p. 1133-1135, 1982.
- FERNANDES, A.M.A.P.; BARATA, L.E.S.; FERRI, P.H., *Lignans and a neolignan from Virola oleifera*. Phytochemistry, v. 32, n. 6, p. 1567-1572, 1993.
- FERNANDES, A.M.A.P.; BARATA, L.E.S.; FERRI, P.H., *Absolute configuration of the lignan oleiferins from Virola oleifera*. Phytochemistry, v. 36, n.2, p. 533-534, 1994.
- FISHER, N.H.; WEIDENHAMER, J.D.; RIOPEL, J.L.; QUIJANOS, L.; MENELAOU, M.A., *Stimulation of Witchweed Germination by Sesquiterpene Lactones: A Structure-Activity Study*. Phytochemistry, v. 29, n. 8, p. 2479-2483, 1990.
- GOTTLIEB, O.T.; YOSHIDA, M., *Lignóides: Com Atenção Especial à Química das Neolignanas*. Química Nova, p. 250-269, 1984.
- GROVE, D. C.; RANDALL, W. A. *Assay methods of antibiotics: a laboratory manual* (Antibiotics monographs, 2). New York: Medical Encyclopedia Inc., 1955.
- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVE, A., *Aporphine Alkaloids*. Lloyd v. 38, n. 4, 275p, 1975.
- HABER, W.A.; AGIUS, B. R.; STOKES, S.L.; SETZER, W.N., *Bioactivity and Chemical Composition of the Leaf Essential Oil of Talauma gloriensis Pittier (Magnoliaceae) from Monteverde, Costa Rica*. Rec. Nat. Prod. 2:1 p. 1-5, 2008.
- HARBONE, J.B., *Introduction to Ecological Biochemistry*. London: Academic Press, 1982, 278p.
- HARBORNE, J. B.; BAXTER, H., *Phytochemical Dictionary: a Handbook of Bioactive Compounds from Plants*, Taylor & Francis, London, 1995.
- HARBONE, J.B., *Phytochemical Methods. A guide to Modern Technique of Plant Analysis*, 3th ed., Chapman & Hal, Londron, 1998.

- HOFFMANN, J.J.; STERLING, S.J.; WIEDHOPF, R.W.; COLE, J.R., *Cytotoxic Agents from Michelia champaca and Talauma ovata: Parthenolide and Costunolide*. J. Pharm. Sci., v. 66, n. 6, p. 883-884, 1977.
- HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. *The chemistry behind antioxidant capacity assays*. J. Agric. Food Chem., v. 53, p. 1841-1856, 2005.
- JUHÁSZ, L.; KÜRTI, L.; ANTUS, S., *Simple Synthesis of Benzofuranoid Neolignans from Myristica fragrans*. J. Nat. Prod., v. 63, p. 866-870, 2000.
- KIM, S.; PARK, C.W.; KIM, Y.D.; SUH, Y., *Phylogenetic Relationships in Family Magnoliaceae Inferred from NDHF Sequences*. American Journal of Botany, v. 88, n. 4, p. 717-728, 2001.
- KONNO, C.; XUE, H.Z.; LU, Z.Z.; MA, B.X.; ERDELMEIER, C.A.J.; CHEN, C.T.; CORDELL, G.A.; SOEJARTO, D.D.; WALLER, D.P.; FONG, H.H.S.; *1-Aryl Tetralin Lignans from Larrea tridentate*. Journal of Natural Products, v. 32, n. 5, p. 1113-1117, 1989.
- KOSAR, M.; DEMIRCI, B.; DEMIRCI, F.; BASER, K., *Effect of Maturation on the Composition and Biological Activity of the Essential oil of a Commercially Important Satureja Species from Turkey: Satureja cuneifolia Ten (Lamiaceae)*. J. of Agricultural and Food Chemistry, v.56, n.6, p. 2260-2265, 2008.
- KREBS, H.C.; RAKOTOARIMANGA, J.V.; HABERMEHL, G.G., *Isolation of Spatulanol and (-)-Caryophyllene Oxide from Vernonia mollissima Don and ¹H and ¹³C Reassignment by Two-Dimensional NMR Spectroscopy*. Magnetic Resonance in Chemistry, v. 28, p. 124-128, 1990.
- KUBITZKI, K.; ROHWER, J.G.; BITTRICH, V., *The Families and Genera of Vascular Plants. II Flowering Plants. Dicotyledons*, 1993.
- LE RAY, A. M.; LAVAULT, M.; BRUNETON, J.; CHAN, K.C.; SEVENET, B.D., *Lignans and Isoquinoline Alkaloids from Talauma betongensis, a Malaysian Magnoliaceae*, Fitoterapia v. LX, n. 5, 1989.
- LI, J.; TANAKA, M., KURASAWA, K.; IKEDA, T.; NOHARA, T., *Lignan and Neolignan Derivatives from Magnolia denudate*. Chem. Pharm. Bull, v. 53, n. 2, p. 235-237, 2005.
- LOPES, L.M.X., YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R., *Further Lignoids from Virola sebifera*. Phytochemistry, v. 23, n. 11, p. 2647-2652, 1984.

- LORENZI, H., *Árvores Brasileiras*. Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda. - S.P., v. 1, 247p, 2002.
- LOZANO-CONTRERAS, G., Magnoliaceae nativas del Brasil. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.*, v. 57, p. 579-583, 1990.
- MONTEIRO, M.C.M; LEPTOKARYDIS, I. H.; SILVA, G.H.; SILVA, V.C.; BOLZANI, V.S.; YOUNG, M.C.M.; LOPES, M.N.; *Constituintes Químicos isolados dos Caules de Michelia Champaca*. *Eclética Química*, v. 32, n. 3, p. 13-18, 2007.
- MORATO, G.S.; CALIXTO, J.B.; CORDEIRO, L.; LIMA, T.C.M.; MORATO, E.F.; NICOLAU, M.; RAE, G.A.; TAKAHASHI, R.N.; VALLE, M.R. E YUNES, R.A., *Chemical and Pharmacological Studies on Talauma ovata St. Hil. (Magnoliaceae)*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 28, p. 277-286, 1989.
- MORS, W.B.; RIZZINI, C.T.; PEREIRA, N.A., *Medicinal Plants of Brazil*, Reference Publications Inc., Michigan, p. 216, 2000.
- NAKATANI, N.; IKEDA, K.; KIKUZAKI, H.; KIDO, M.; YAMAGUCHI, Y., *Diaryldimethylbutane Lignans from Myristica Argentea and their Antimicrobial Action Against Streptococcus Mutans*. *Phytochemistry* v. 27, n. 10, p. 3127-3129, 1988.
- NASCIMENTO, I.R.; LOPES, L.M.X., *2,3-Dihydrobenzofuran neolignans from Aristolochia pubescens*. *Phytochemistry*, v. 52, p. 345-350, 1999.
- NASCIMENTO, I.R.; LOPES, L.M.X.; DAVIN, L.B.; LEWIS, N.G., *Stereoselective Synthesis of 8,9-Licarinediols*. *Tetrahedron*, v. 56, p. 9181-9193, 2000.
- NASCIMENTO, M.S.J.; PEDRO, M.; CERQUEIRA, F.; BASTOS, M.; VIEIRA, L.M.; KIJOIA, A.; PINTO, M.M.M., *Effect of Natural 2,5-Diaryl-3,4-dimethyltetrahydrofuran Lignans on Complement Activation, Lymphocyte Proliferation, and Growth of Tumors Cell Lines*. *Pharmaceutical Biology*, v. 42, n. 6; p. 449-453, 2004.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Methods for dilution in antimicrobial susceptibility tests*. Approved standard M2-A5. National Committee for Clinical Laboratory Standard, Villanova, PA, 1993.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-*

forming filamentous fungi. Proposed standard M38-P. National Committee for Clinical Laboratory Standard, Wayne, p.28, 1998.

- NONATO, M.G.; GARSON, M.J.; TRUSCOTT, R.J.W.; CARVER, J.A., *¹H-NMR Assignments of Anonaine and Xylopinine Derivatives from Talauma gitingensis*. Journal of Natural Products, v. 53, n. 6, p. 1623-1627, 1990.
- OGURA, M.; CORDELL, G.A.; FARNSWORTH, N.R., *Anticancer sesquiterpene lactones of Michelia compressa (Magnoliaceae)*. Phytochemistry, v. 17, n. 5, p. 957-961, 1978.
- OKEKE, M.J.; IROEGBU, C.U.; EZE, E.N.; OKOLI, A.S.; ESIMONE, C.O. *Evaluation of extracts of the root of Landolphia owerrience for antibacterial activity*. J. Ethnopharmacol., v. 78, p. 119-127, 2001.
- PLANTINET, C.; SEVENET, T.; CHAN, K.C.; BRUNETON, J., *Alcaloides de Talauma cf T. obovata Korthals. Considérations Chimiotaxonomiques*. Ann. Pharmaceutiques Françaises, v. 43, n. 2, p. 189-191, 1985.
- PUERTAS, M.A.; MESA, A.M.V.; SÁEZ, J.A.V., *In Vitro Radical Scavenging Activity of Two Columbian Magnoliaceae*. Naturwissenschaften v. 92, p. 381-384, 2005.
- RAGASA, C.Y.; GANZON, J.; HOFILINA, J.; TAMBOONG, B.; RIDEOUT, J.A., *A New Furanoid Diterpene from Caesalpinia pulcherrima*. Chem. Pharm. Bull. v. 51, n. 10, p.1208-1210, 2003.
- RIOS, J.L.; SIMEON, S., *Pharmacological activity of aporphinoid alkaloids. A Review*. Fitoterapia v. LX, n. 5, 1989.
- SALVADOR, M. J.; FERREIRA, E. O.; PRAL, E. M. F.; ALFIERI, S. C.; ALBUQUERQUE, S.; ITO, I. Y.; DIAS, D. A. *Bioactivity of crude extracts and some constituents of Blutaparon portulacoides (Amaranthaceae)*. Pytomedicine, v. 9, p. 566-571, 2002.
- SALVADOR, M.J.; PEREIRA, P.S.; FRANÇA, S.C.; CANDIDO, R.C.; ITO, I.Y.; DIAS, D.A. *Comparative study of antibacterial and antifungal activity of callus culture and adults plants extracts from Alternanthera maritima (Amaranthaceae)*. Brazilian Journal of Microbiology, v. 34, p. 131-136, 2003.

- SALVADOR, M.J.; ZUCCHI, O.L.A.D.; CANDIDO, R.C.; ITO, I.Y.; DIAS, D.A. *In vitro antimicrobial activity of crude extracts and isolated constituents of Alternanthera maritima (Amaranthaceae)*. *Pharmaceutical Biology*, v. 42, p. 138-148, 2004.
- SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J., *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*, 7ª ed., Editora LTC, 2006, 147p.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., *Farmacognosia da Planta ao Medicamento*, 5ª ed., Editora da UFRGS/UFSC, 2004.
- SONG, Q.; FISCHER, N.H., *Biologically Active Lignans and Neolignans from Magnolia Species*. *Revista de la Sociedad Química de México*, v. 43, n. 6, p.211-218, 1999.
- STEFANELLO, M.E.A.; ALVARENGA, M.A., *Constituents of Talauma ovata bark*. *Fitoterapia*, v. 68, p.475-476, 1997.
- STEFANELLO, M.E.A.; ALVARENGA, M.A.; TOMA, I.N., *New neolignans from Talauma ovata*. *Fitoterapia*, v. 73, p.135-139, 2002.
- STEFANELLO, M.E.A.; ALVARENGA, M.A.; TOMA, I.N.; MELLO-SILVA, R., *Ocorrência de quimiotipos em Talauma ovata, uma planta medicinal brasileira*. *Rev. Brás. de Plantas Mediciniais*, v. 8, n.1, p.4-8, 2005.
- STEFANELLO, M.E.A.; MELLO-SILVA, R., *Volatile constituents of Talauma ovata A. St. Hil. Fruits*. *J. Essential Oil Res.*, v. 17, p. 455-456, 2005.
- TALAPATRA, S.K.; MUKHOPADHYAY, S.K.; TALAPATRA, B., *Lignans and Alkaloids of Talauma hodgsoni*. *J. Indian Chem. Soc.* v. LIV, p. 790-791, August 1977.
- TOMA, I.N., *Estudo Químico de Talauma ovata St. Hil.* Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo- Instituto de Química, 1988.
- TRINTA, E.F.; SANTOS, E.; *Flora Ilustrada Catarinense: As Plantas Magnoliaceae*, Itajaí-SC, 1996.
- TSICHRITZIS, F; JAKUPOVIC, J.; BOHLMANN, F., *Sesquiterpene lactones and farnesol derivatives from Arctotis and Arctotheca species*. *Phytochemical*, v. 29, n.1, p. 195-203, 1990.
- VERPOORTE, R. In: *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 2000.

- VIEIRA, L.M.; KIJJOA, A.; SILVA, A.M.S.; MONDRANONDRA, I.O.; HERZ, W., *2,5-Diaryl-3,4-Dimethyltetrahydrofuran Lignans from Talauma hodgsonii*. *Phytochemistry*, v. 48, n. 6, p. 1079-1081, 1998.
- WONG, H; BROWN, G.D., *Germacranolides from Artemisia myriantha and their conformation*. *Phytochemistry*, v.59, p. 529-536, 2002.