

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

UNICAMP

**FLAVONÓIDES DE *Lonchocarpus muehlbergianus* E
SÍNTESE DE FLAVANAS 4-OXIGENADAS**

TESE DE DOUTORADO

IVANI DA SILVA BLANCO



ORIENTADORA: PROF^a DR^a EVA GONÇALVES MAGALHÃES

DEZEMBRO - 1995



**A Vanda e a Zilá
cujo apoio e carinho foram fundamentais
para a realização deste trabalho.**

**Não acumuleis para vós outros tesouros sobre a Terra,
onde a traça e a ferrugem corroem e onde os ladrões escavam e roubam:
mas ajuntai para vós outros tesouros no céu, onde traça
nem ferrugem corrói, e onde ladrões não escavam nem roubam:
porque onde está o teu tesouro, aí estará também o teu coração.**

Mt 6.19,21

Agradecimentos

- Ao Prof. Dr. Aderbal Farias Magalhães pelas sugestões que contribuíram para a realização deste trabalho.
- Aos Profs. Drs. Rogério Custódio e Sérgio Galembeck pela colaboração na realização dos cálculos teóricos e ao Prof. Dr. Fred Fujiwara pelo empenho e dedicação na realização da simulação dos espectros.
- A Esilia, Paula, Iara, Bel, Rose, dona Nena, Ana Lúcia e ao Laurindo, Toninho, Pimpim, Sebastião, Fontana e Erivaldo pela alegre convivência e pelos inúmeros auxílios prestados.
- A Sônia Fanelli pelos espectros no Bruker AC-80 e a Sônia Queiroz pelo auxílio nas análises por CLAE.
- A Cleusa, Gilvandete, Valéria, Fabíola, Lídia, Carmem, Denise, Vera, Cáritas, Adriana, Raquel, Marta, Catarina, Cecília e ao Péricles, Domingos, Antônio, Ari e Beto pelos bons momentos compartilhados.
- Aos novos amigos conquistados no laboratório e em especial aos companheiros de grupo Marisa, Valéria, Fernanda, Anne, Alexandre e Giordano.
- A CAPES e a FAEP pelo suporte financeiro.

Agradecimentos especiais

- A Prof^a. Dra. Eva Gonçalves Magalhães pela orientação e amizade conquistada.
- A Prof^a. Dra. Anita Jocelyn Marsaioli meu agradecimento especial pela amizade e por todo o auxílio prestado.
- A Paula Pilli e Sônia Crisóstomo pela amizade, carinho e principalmente pela dedicação na confecção dos espectros de RMN.
- A Beatriz Helena, Shirlei, Graça e Márcia pelo carinho e amizade.
- A Alana pela amizade e auxílio nas horas de aperto.
- Ao Sílvio meu colaborador paciente na execução dos cálculos.
- A Maria que como um anjo-de-guarda sempre esteve presente colaborando para o êxito do trabalho, mas principalmente pelo seu carinho e amizade constantes.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

aq	aquoso
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
CC	cromatografia em coluna
CCD	cromatografia em camada delgada
CCP	cromatografia em camada preparativa
CCPC	cromatografia em camada preparativa circular, acelerada por centrifugação
COLOC	espectro bidimensional de correlação heteronuclear (C _x H) a três ligações
COSY	espectro bidimensional de correlação homonuclear (H _x H) a três ligações
DEPT	espectro de RMN ¹³ C utilizando transferência de polarização
d	dublete
dd	duplo dublete
ddd	duplo duplo dublete
dt	duplo tripleto
EM	espectro de massas
EP	éter de petróleo
eV	elétron-volt
Et ₂ O	éter etílico
HETCOR	espectro bidimensional de correlação heteronuclear (C _x H) a uma ligação
Hz	hertz
IV	infravermelho
J	constante de acoplamento
m/z	relação massa carga
M	íon molecular
m	multiplete
NOE	efeito nuclear Overhauser
ppm	partes por milhão
Ph	fenila
p.f.	ponto de fusão

RDA	retro Diels-Alder
RMN ^1H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ^{13}C	ressonância magnética nuclear de carbono-13
t.a.	temperatura ambiente
THF	tetraidrofurano
TMS	tetrametilsilano
t	triplete
δ	deslocamento químico em partes por milhão
$[\alpha]_D$	rotação ótica específica
UV	ultravioleta

CONTEÚDO

Resumo

Abstract

1 - Introdução	01
2 - Objetivos	18
3 - Resultados e Discussão	19
3.1 - Estudo Fitoquímico	19
3.2 - Análise Quantitativa do Extrato Éter de Petróleo por CLAE ..	61
3.3 - Síntese de Flavanos 4-Oxigenados	65
3.4 - Análise Conformacional da Flavona 9	82
4 - Considerações Finais	87
5 - Parte Experimental	91
6 - Referências Bibliográficas	141
Apêndice I: Espectros	
Apêndice II: Cromatogramas e Curvas de Calibração	

RESUMO

O estudo fitoquímico do extrato éter de petróleo das raízes de *Lonchocarpus muehlbergianus* resultou no isolamento de nove flavonóides (9, 37-44), dos quais sete são inéditos (37-43). A flavana 9 já tinha sido isolada apenas de *Lonchocarpus subglaucescens* enquanto o flavonol 44 ocorre em espécies do gênero *Derris*. Vale ressaltar que dentre estas substâncias inéditas as flavanas 2,4-dioxigenadas, 37-40, possuem um padrão de substituição do anel C não encontrado na literatura. Por outro lado os flavonóides 41 e 42 são derivados inéditos do dibenzoilmetano, cujo esqueleto é raramente encontrado na natureza.

A quantificação do extrato estudado, realizada através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa, mostrou que dentre as substâncias isoladas a mais abundante foi a flavana 40.

A análise dos produtos da reação de hidrólise da flavana 9 (9a e 9b) permitiu a atribuição da configuração relativa de um composto descrito na literatura, 16, como sendo *trans*.

A síntese das flavanas 4-oxigenadas, 64 e 65, foi muito importante porque possibilitou um estudo comparativo dos respectivos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C , mostrando que a feição das bandas dos hidrogênios do anel C praticamente não varia para os dois isômeros (2,4-*cis* e 2,4-*trans*), observando-se entretanto uma nítida diferença entre os deslocamentos químicos dos hidrogênios correspondentes a cada um deles. A análise destes dados permitiu corrigir a atribuição da configuração relativa de um composto descrito na literatura. Através da comparação dos dados do composto 14 com os de 64 e 65 observa-se que a configuração relativa é *cis* e não *trans* como atribuída inicialmente.

Foi realizado também um estudo combinado de cálculos semi-empíricos (SPARTAN-AM1) e simulação de espectros de RMN ^1H para se determinar a conformação preferida do anel C na flavana 9.

ABSTRACT

Light petroleum extract from the roots of *Lonchocarpus muehlbergianus* was submitted to chromatographic analysis and furnished nine flavonoids (9, 37-44) including seven new ones (37-43).

The flavan 9 has been already isolated from *L. subglaucescens* while flavonol 44 occurs in *Derris* species.

Among the new compounds, flavans 37-44, also exhibit a new C-ring substitution pattern, while flavonoids 41 and 42 belong to the class of dibenzoylmethane derivatives which are of rare natural occurrence.

Quantitative analysis of the extract mentioned above, by using HPLC in reverse phase showed that the new flavan 40 is the most abundant compound.

Through NMR ^1H spectra of the products obtained from the hydrolysis of flavan 9 it was possible to assign trans relative configuration for compound 16 found in the literature with undetermined stereochemistry.

The synthesis of 4-oxygenated flavans (64 and 65) was very important because the respective NMR ^1H spectra showed that C-ring hydrogens absorptions pattern are almost identical in both diastereoisomers (2,4-*cis* and 2,4-*trans*) but the corresponding chemical shifts are clearly different. Based on these data it was possible to conclude that compound 14 is *cis* and not *trans* as previously assigned.

Semi-empirical calculations (SPARTAN-AM1) and NMR ^1H spectra simulations were also performed in order to determine the most stable conformation of C-ring in flavan 9.

1 - INTRODUÇÃO

A planta *Lonchocarpus muehlbergianus* é classificada da seguinte forma.¹

Família: *Leguminosae*

Sub-família: *Papilionoideae*

Tribo: *Milletieae*

Gênero: *Lonchocarpus*

Sub-gênero: *Punctati*

Espécie: *Muehlbergianus*

A família *Leguminosae* é uma das maiores dentre as dicotiledôneas, superada somente pelas famílias *Compositae* e *Orchidaceae*. Compreende aproximadamente treze mil espécies, reunidas em mais de seiscentos gêneros.^{2,3} Está sub-dividida em três sub-famílias: *Mimosoideae*, *Caesalpinioideae* e *Papilionoideae*, as quais são consideradas famílias independentes por alguns taxonomistas, dentre eles Hutchinson.⁴ As duas primeiras são encontradas principalmente em regiões tropicais, enquanto que a sub-família *Papilionoideae* apresenta distribuição mundial.

O gênero *Lonchocarpus* contém cerca de 150 espécies, distribuídas na América Central, Antilhas e África, sendo que a maior concentração de espécies ocorre nas Américas do Sul e Central. Aproximadamente um total de 50 espécies foram registradas para o Brasil. O único trabalho que trata o gênero como um todo no Brasil foi realizado por Benthon (1862).¹

As várias posições sistemáticas propostas para o gênero *Lonchocarpus* mostram a ausência de um consenso entre os diversos estudiosos do grupo, porque várias de suas características se intersectam com as de outros gêneros tais como *Derris*, *Pongamia*, *Milletia*, *Deguelia*, *Piscidia* e *Muelleria*. Recentemente foi realizado um novo levantamento das espécies *Lonchocarpus* que ocorrem no Brasil levando-se em conta a estrutura da inflorescência, o que resultou no reconhecimento de 23 espécies. Propôs-se ainda que o gênero seja

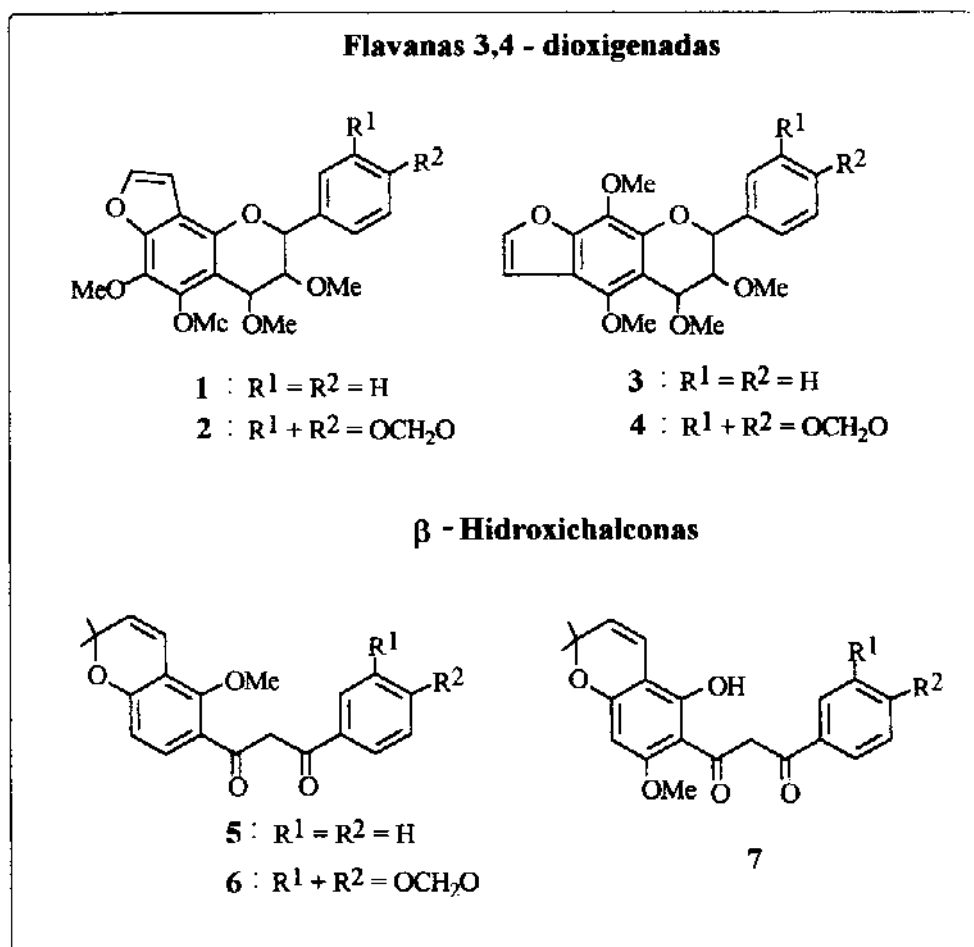
Introdução

dividido em dois sub-gêneros: *Lonchocarpus* sub-gênero *Punctati* e *Lonchocarpus* sub-gênero *Lonchocarpus* que encontra-se dividido em cinco seções. Das 23 espécies brasileiras reconhecidas, oito foram alocadas no sub-gênero *Punctati* e as demais no sub-gênero *Lonchocarpus*.¹

A espécie *L. muehlbergianus* é uma árvore de médio porte (5-10m de altura) quando em formações vegetais mais abertas, ou de grande porte (até 20m de altura) quando em matas. Encontra-se distribuída na região centro-sul de Minas Gerais, estendendo-se pelos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e atingindo até o norte do estado do Rio Grande do Sul. Ocorre também na Argentina e no Paraguai em latitudes semelhantes aquelas onde são encontradas no Brasil. É conhecida popularmente por Embira-do-sapo, Bodoque, Guanhanã ou Guaianã em São Paulo, Ingá-seco e Timbó no Paraná, Rabo na Argentina e Rabo-mole e Ka,a Vusú no Paraguai.

Lonchocarpus muehlbergianus apresenta similaridade com as demais espécies do subgênero *Punctati*, especialmente com *Lonchocarpus subglaucescens*^{1,5} e *Lonchocarpus grandiflorum*.¹

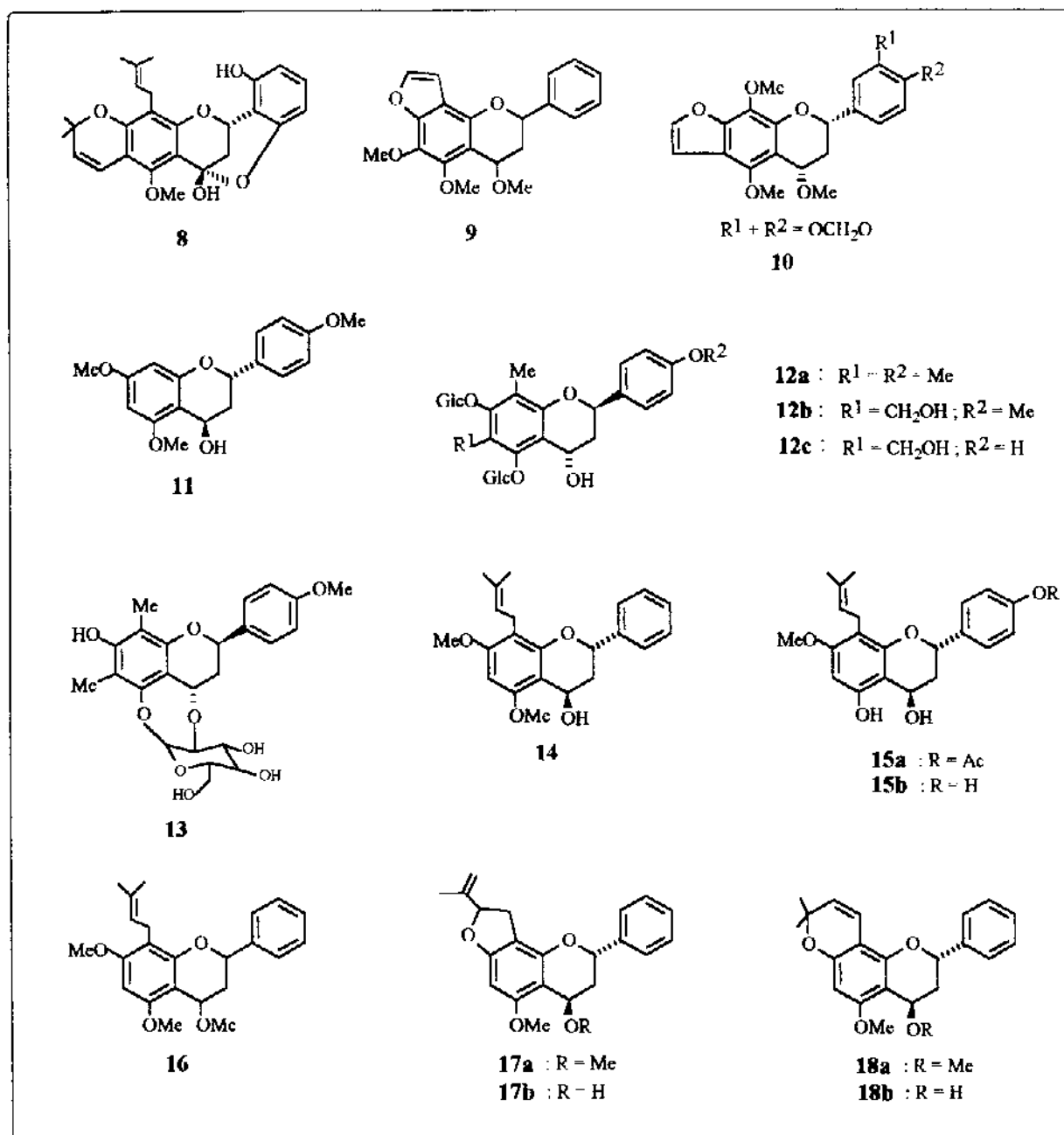
Os dados fitoquímicos obtidos com as 32 espécies do gênero *Lonchocarpus* já estudadas mostraram a predominância de diversos tipos de flavonóides. Até agora não foi encontrado nenhum registro sobre a ocorrência de flavanas 2,4-dioxigenadas na natureza. Embora flavanas 3,4-dioxigenadas e β -hidroxichalconas já tenham sido isoladas em diversas espécies, apenas três destas pertencem ao gênero *Lonchocarpus* (Quadro 1)⁵⁻⁷ e a ocorrência de flavanas 4-oxigenadas foi observada somente em *Lonchocarpus subglaucescens*.⁵



Quadro 1 - Flavanas 3,4-dioxigenadas^{5,6} e β -hidroxichalconas^{5,7} encontradas no gênero *Lonchocarpus*.

Por outro lado somente dezesseis flavanas 4-oxigenadas encontram-se descritas na literatura como produtos naturais (Quadro 2), das quais 8 foi isolada de *Lonchocarpus orotinus*⁸, 9 e 10 de *Lonchocarpus subglaucens*⁵ e as demais (11 - 18) de outros gêneros.⁹⁻¹⁴

Introdução



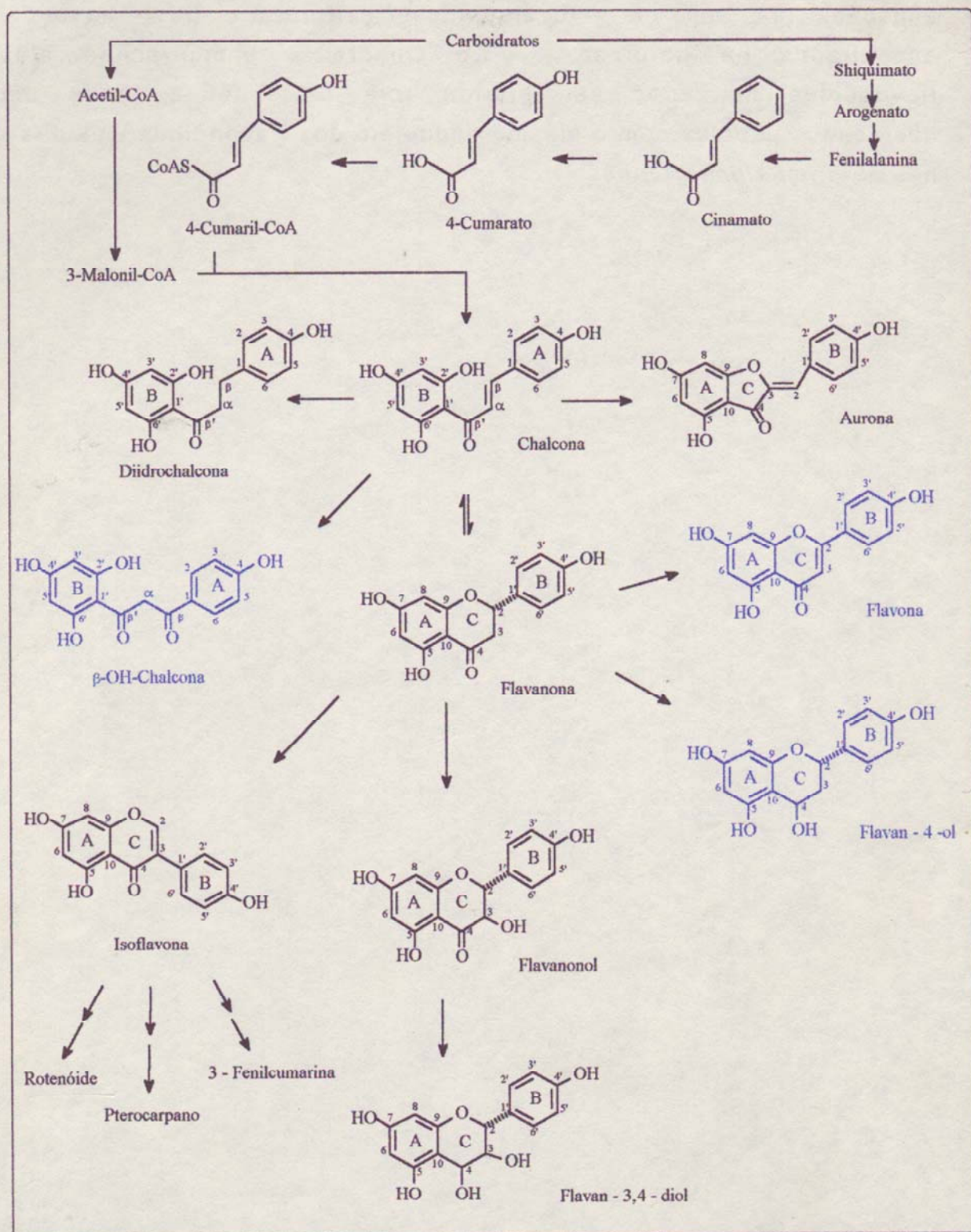
Quadro 2 - Flavanos 4-oxigenados encontrados na natureza.

Os flavonóides são produtos naturais constituídos de dois anéis benzênicos (A e B) ligados por uma cadeia de três átomos de carbono, originados da condensação de três moléculas de éster CoA do ácido malônico com uma do éster CoA do ácido cinâmico adequado, levando ao intermediário chalcona que existe em equilíbrio com a flavanona correspondente. Várias reações enzimáticas subsequentes, incluindo oxidação, redução, alquilação, glicosilação e

Introdução

acilação, resultam na diversidade estrutural de flavonóides encontrados na natureza.¹⁵ No Quadro 3 encontram-se alguns flavonóides derivados da referida rota biossintética, onde estão destacados aqueles com o mesmo esqueleto dos flavonóides isolados por nós de *L. muehlbergianus*.

Introdução



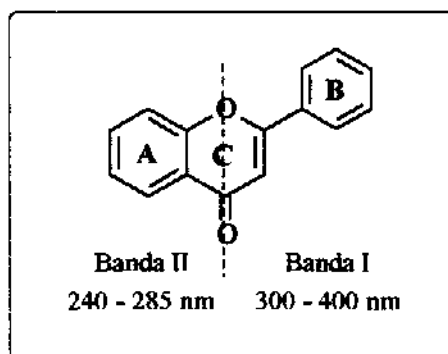
Quadro 3 - Rota biogénica para os flavonóides.

A determinação da estrutura de flavonóides no passado era feita através da aplicação de métodos químicos de degradação, sendo que a confirmação final da estrutura dependia da síntese do composto

Introdução

natural. Nas últimas três décadas, estes métodos clássicos de determinação estrutural têm sido substituídos por análises espectroscópicas destacando-se: UV(ultravioleta)^{16,17}, IV(infravermelho)¹⁷, EM(espectrometria de massas)¹⁷ e RMN (ressonância magnética nuclear).^{17,18}

Os espectros UV da maioria dos flavonóides apresentam duas absorções máximas na faixa de 240-285 nm (banda II, associada ao anel A - sistema benzoíla) e 300-400 nm (banda I, associada ao anel B - sistema cinamoíla). A posição precisa e a intensidade relativa destas bandas fornece informações valiosas sobre a natureza do esqueleto flavonoídico e seu padrão de oxigenação.

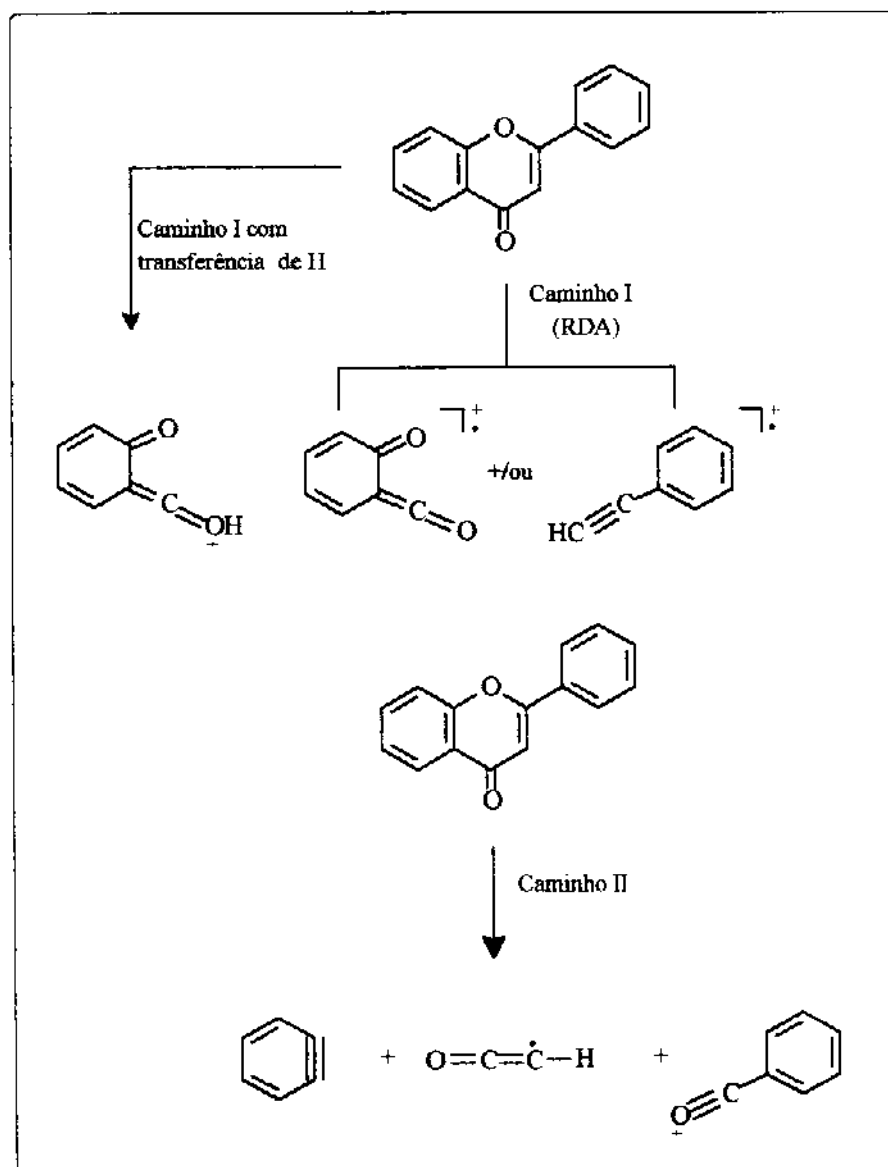


A espectroscopia no IV fornece informações importantes principalmente na região de $1500-1600\text{ cm}^{-1}$ referente ao padrão de substituição do anel aromático B, na faixa de $1620-1670\text{ cm}^{-1}$ onde se observa a presença do grupo carbonila e na faixa de $3300-3450\text{ cm}^{-1}$ a presença do grupo hidroxila. Outras absorções características são observadas em torno de 925 cm^{-1} e 1400 cm^{-1} referentes aos grupos metilenodióxido e dimetila geminado, respectivamente.

A espectrometria de massas tem recebido considerável atenção. Embora muitas vezes seu uso como técnica isolada não seja suficiente para estabelecer a estrutura dos flavonóides, os processos de fragmentação são de fundamental importância, pois dependem do tipo de esqueleto e podem dar informações valiosas sobre a posição dos substituintes no mesmo.

Introdução

As duas fragmentações mais comuns dos flavonóides são representadas através dos caminhos I e II, sendo que o primeiro corresponde a uma clivagem RDA (retro Diels-Alder) do anel C. O caminho dominante é determinado pelo tipo de flavonóide (Quadro 4).¹⁷



Quadro 4 - Caminhos de fragmentação de massa para a flavona.

A espectroscopia de RMN ^1H e RMN ^{13}C fornece o maior número de informações necessárias para a determinação das estruturas dos flavonóides. A identificação dos hidrogênios e carbonos que caracterizam o anel C favorece de modo considerável a identificação de

Introdução

uma substância, mostrando ainda a influência do seu nível de oxidação em relação aos anéis A e B. Aliado a isto têm-se as técnicas bidimensionais tais como COSY, HETCOR e COLOC que auxiliam na determinação dos sinais pelas correlações através de ligações. A aplicação concomitante do experimento de diferença de efeito NOE têm sido muito empregada. Neste sentido destaca-se a determinação da configuração relativa do anel C, a determinação dos deslocamentos químicos dos hidrogênios carbinólicos e a caracterização de regioisômeros em flavonóides contendo o anel A totalmente substituído e fundido a um anel furano tomando como exemplo duas novas flavanas 3,4-dioxigenadas (1 e 3, Figura 1) isoladas de *L. subglaucensens*.⁵

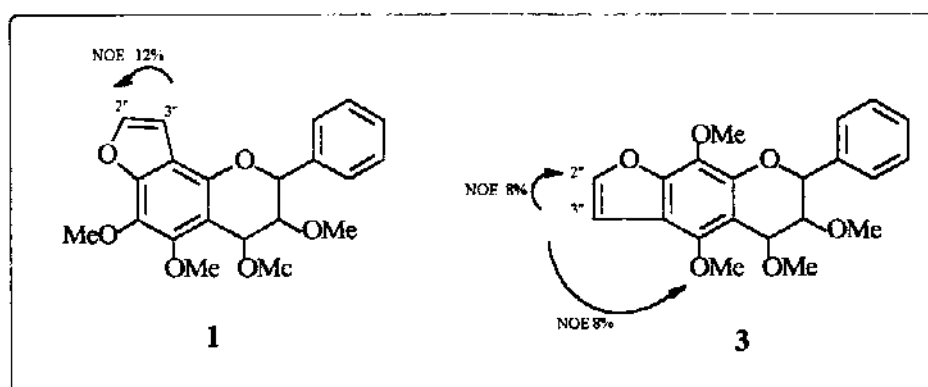


Figura 1 - Efeito NOE observado para as flavanas regioisoméricas 1 e 3.⁵

A determinação da estereoquímica para o anel C (diidropirano) de flavanas é um problema difícil, já que muitas das regras para a análise conformacional de cicloexanos não são válidas para flavanas.¹⁹ Quando se pretende analisar estruturas de flavanas 4-substituídas (4-OH ou 4-OMe) a dificuldade é ainda mais acentuada, uma vez que até o momento são poucos os exemplos de flavanas com este tipo de substituição descritos na literatura.

Antes do advento do RMN a determinação da estereoquímica relativa de flavanas 4-substituídas era um processo incerto, já que nenhum dado químico poderia distinguir entre as configurações 2,4-*cis* e 2,4-*trans* de maneira inequívoca. Na ausência de informações sobre a

estereoquímica relativa das configurações, foi adotada a designação α e β para os isômeros *cis* (19) e *trans* (20) respectivamente (Figura 2).²⁰

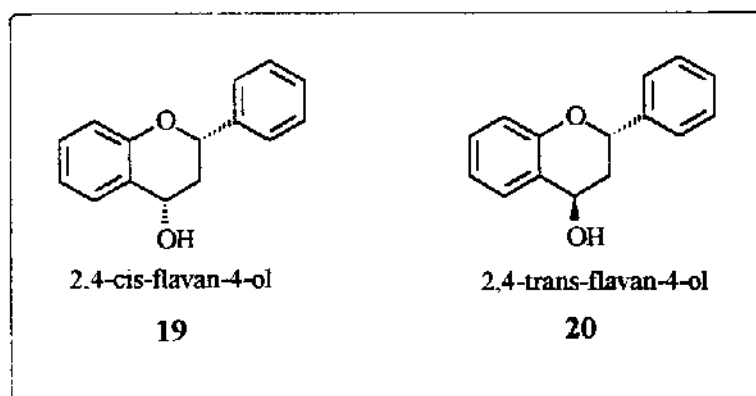


Figura 2- Formas *cis* (19) e *trans* (20) para as flavanas 4-substituídas.

Duas conformações para o anel C são propostas: meia-cadeira (21) e sofá (22) (Figura 3).

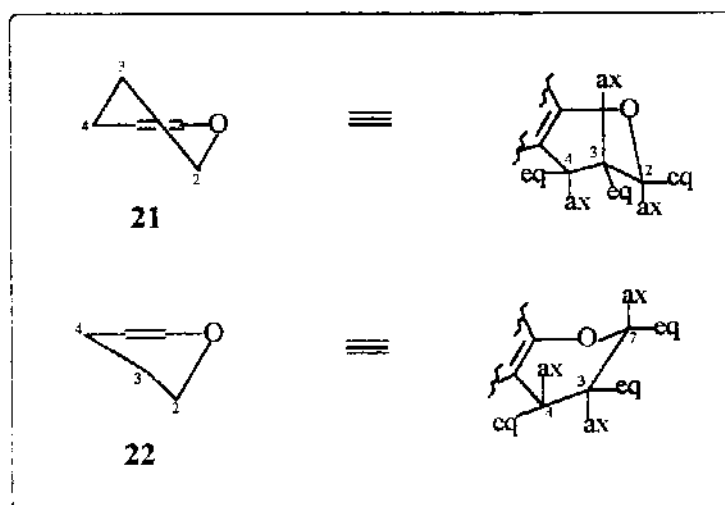


Figura 3 - Conformações propostas para o anel C de flavanas.

Clark-Lewis et al²¹ mostraram não ser possível distinguir entre estas duas conformações para flavanas substituídas com base nos valores das constantes de acoplamento utilizando a equação de Karplus. Contudo, a dependência conformacional do efeito de grupos eletronegativos sobre as constantes de acoplamento vicinais são muito

Introdução

similares entre flavanas 4-substituídas e cicloexanos na conformação cadeira. Isto sugere que a conformação sobre a ligação C-3-C-4 (semelhante na conformação cadeira do cicloexano) é significativamente mais próxima da conformação meia-cadeira (21) do que na conformação sofá (22). Por esta razão foi proposto que a conformação preferencial para o anel C seja a meia-cadeira ou que no caso de um equilíbrio entre as duas conformações exista uma predominância da conformação 21 em relação a 22.

Os dados observados e valores calculados das conformações 21, 21a, 22 e 22a (Figura 4) para *cis*-flavan-4-ol e *trans*-flavan-4-ol, indicam uma predominância das conformações 21 e 22, onde o grupo 2-fenila ocupa uma posição equatorial em ambos os isômeros *cis* e *trans* (Tabela 1).

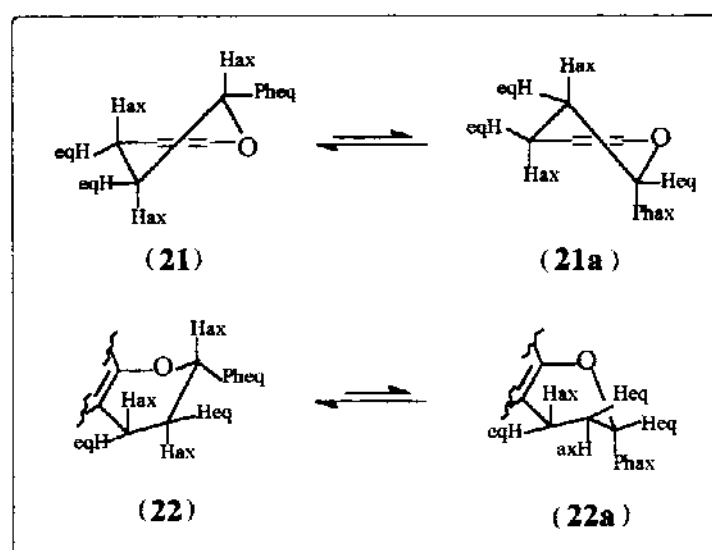


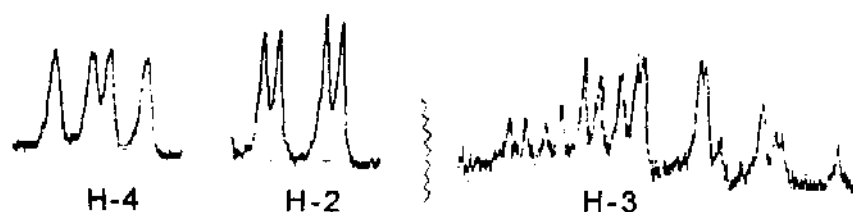
Figura 4 - Conformações propostas para o anel C nas formas meia-cadeira e sofá com relação ao grupo fenila ocupar a posição equatorial (21 ou 22) ou axial (21a ou 22a).²¹

Introdução

Tabela 1- Soma das constantes de acoplamento H-2/H-3 e H-3/H-4 em flavan-4-ols.²¹

	$J_{2,3a} + J_{2,3b}$	2,4- <i>cis</i> $J_{3a,4} + J_{3b,4}$	2,4- <i>trans</i> $J_{3a,4} + J_{3b,4}$
observado	13,7	16,2	
observado	12,8	15,0	
observado	14,9		6,0
calculado para o modelo 21	11,6	14,4	3,7
calculado para o modelo 22	12,4	15,0	7,3
calculado para o modelo 21a	3,4	3,7	14,4
calculado para o modelo 22a	3,3	7,3	15,0

Foi proposto também por Clark-Lewis²⁰ que as configurações relativas dos isômeros seriam facilmente determinadas através da análise do sinal de H-4 que ocorreria como um quarteto no isômero *cis* ($J_{4,3}=16,4 - 17,1$ Hz) (Figura 5) e como um triplete no isômero *trans* ($J_{4,3}=5,5 - 6,0$ Hz) (Figura 6).

Figura 5 - Espectro de RMN ¹H de H-2, H-3 e H-4 para o isômero *cis*.

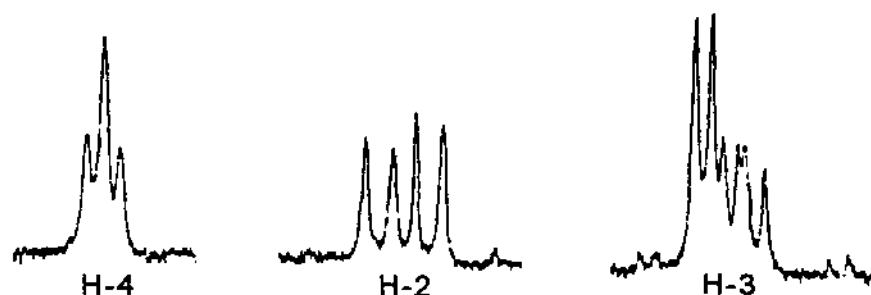
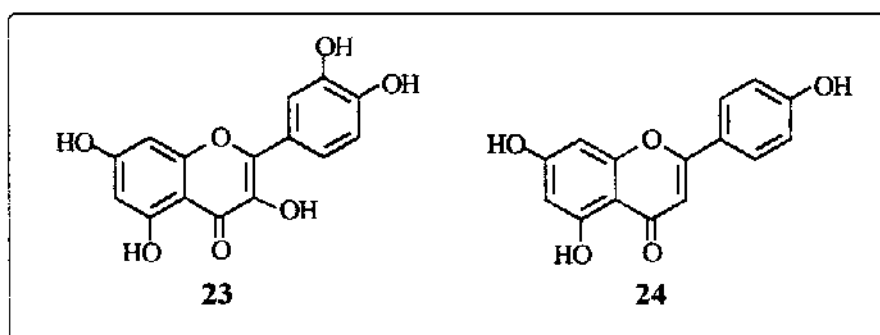


Figura 6 - Espectro de RMN ^1H de H-2, H-3 e H-4 para o isômero *trans*.

- Funções no organismo vegetal

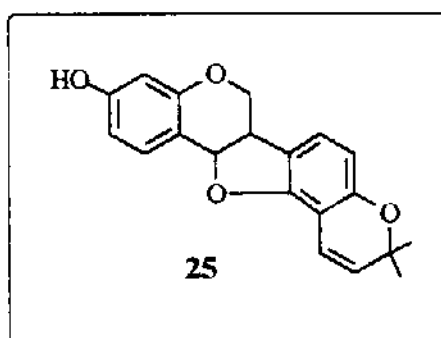
→ Pigmentação²²

O mais importante grupo de pigmentos de flores são os flavonóides. Sua função principal é a de atrair insetos e pássaros com a finalidade de polinização e dispersão de sementes. Estes pigmentos compreendem antocianinas (mais importantes), chalconas, auronas, certos flavonóis e flavonas. Como exemplo podemos citar o flavonol **quercetina 23** e a flavona **apigenina 24**, ambos responsáveis pela cor marfim ou branca de pétalas de flores.

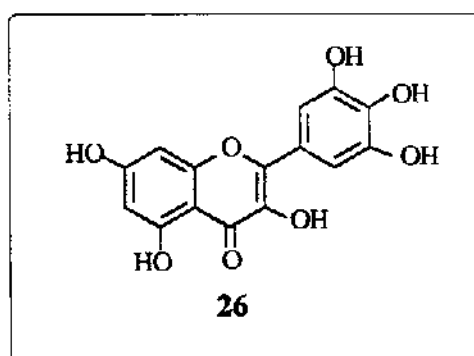


→ Defesa Química (Fitoalexinas)

Muitas plantas produzem substâncias com propriedades antimicrobianas em resposta a invasão de seus tecidos por microorganismos como bactérias, vírus e principalmente fungos. As fitoalexinas compreendem um grupo quimicamente heterogêneo que inclui terpenos, estilbenos, poliacetilenos e flavonóides. Em geral, somente um ou dois tipos de fitoalexinas são encontrados em determinada família. Por exemplo, em *Leguminosae*, as fitoalexinas são isoflavonóides.²³ Abaixo é ilustrado um exemplo representativo de fitoalexina, o pterocarpano "phaseollin" 25.²²

**→ Antioxidante¹⁷**

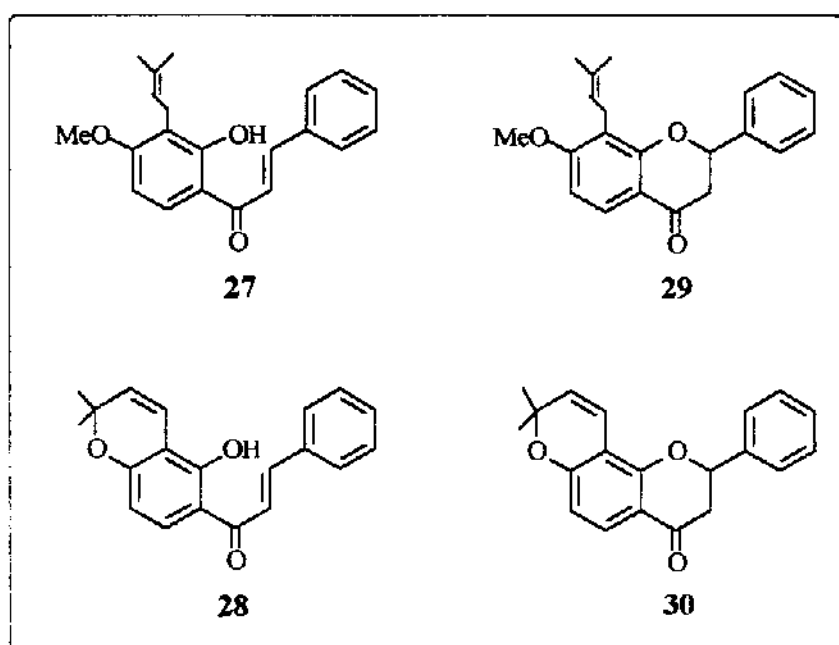
Vários flavonóides atuam como antioxidantes para ácido ascórbico. Como exemplo temos o flavonol miricetina 26.



→ Antiestimulante alimentar²⁴

Muitas espécies de plantas da família *Leguminosae* são protegidas do ataque de insetos pela presença de substâncias que têm propriedades tóxicas ou antiestimulantes (ou ambas).

Estudos feitos com uma série de 21 flavonóides (chalconas, flavanas e flavanonas) isolados dos gêneros *Lonchocarpus* e *Tephrosia*, contra larvas de *Spodoptera littoralis* e *S. exempta*, mostraram atividade antiestimulante significativa. Destacam-se desta série as chalconas **27** e **28** e suas flavanonas correspondentes **29** e **30**, ativas contra ambas as espécies de larvas.

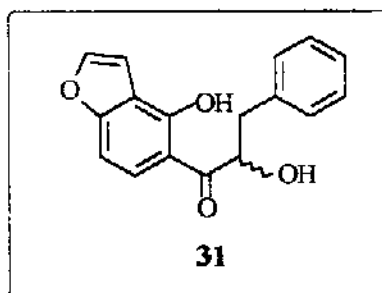


- Funções no Organismo Animal

→ Atividade antimicrobiana²⁵

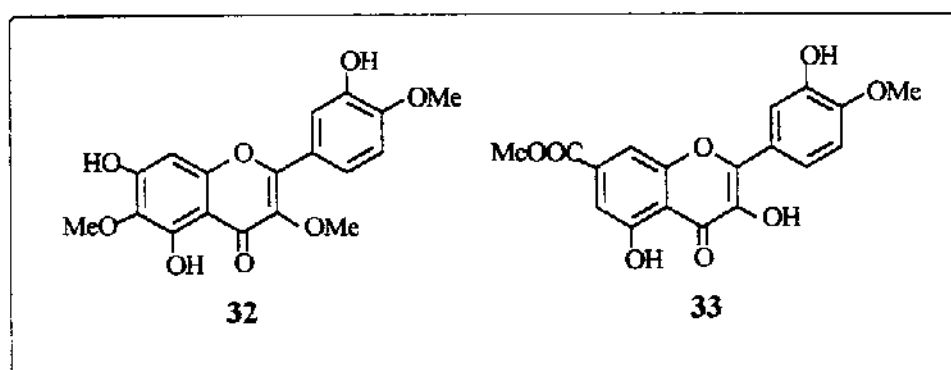
Certos flavonóides isolados de *Lonchocarpus castilloi* apresentaram atividade fungistática contra *Lenzites trabea*. A diidrochalcona **31** mostrou ser o composto mais ativo.

Introdução



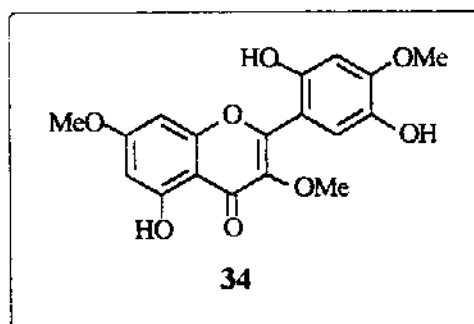
→ Atividade farmacológica²⁶

Os flavonóides, 32 e 33, isolados de *Tanacetum microphyllum* apresentaram atividade anti-inflamatória.



→ Atividade citotóxica²⁷

“Oxyyanin A” 34, um flavonol isolado de espécies do gênero *Chrysosplenium* (família *Saxifragaceae*), mostrou potente atividade antitumoral.

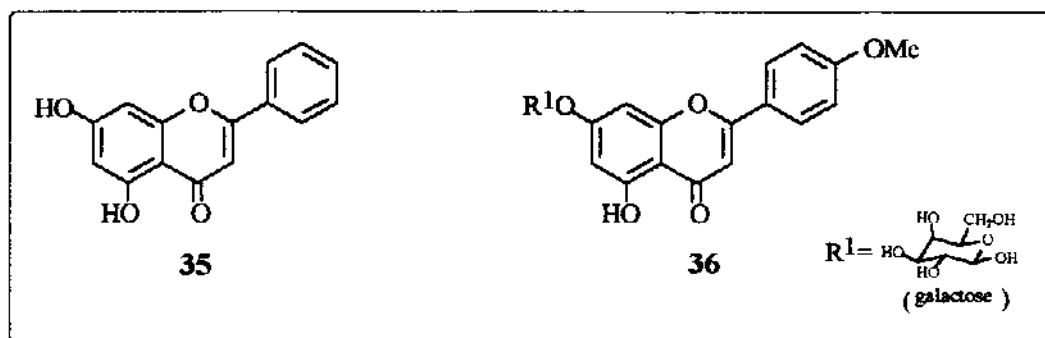


→ Inibição do HIV²⁸

Estudos da atividade anti-HIV de flavonóides mostraram que a flavona “chrysin” 35 apresentou um alto índice terapêutico. Dos

Introdução

flavonóides estudados, aqueles que possuem grupos hidroxila nas posições C-5 e C-7 e a dupla ligação C-2-C-3, foram os inibidores mais potentes. A flavona isolada de *Chrysanthemum morifolium*, “**acacetin-7-O- β -galactopyranoside**” **36**, também apresentou boa atividade anti-HIV com baixa toxicidade.



2 - OBJETIVOS

♣O nosso grupo de pesquisa está desenvolvendo o estudo químico das espécies brasileiras de *Lonchocarpus*, que ainda não foram estudadas, para comparar o perfil de flavonóides apresentado pelas espécies do sub-gênero *Punctati* com as do sub-gênero *Lonchocarpus*. Para tanto contamos com a colaboração da Dra. Ana Maria Tozzi (Departamento de Botânica - Unicamp) responsável pela última proposta de classificação do gênero conforme já mencionado.¹

♣Estudo fitoquímico das raízes de *Lonchocarpus muehlbergianus* com ênfase no isolamento e determinação estrutural de flavonóides. Trata-se de um trabalho fitoquímico inédito na literatura.

♣Análise qualitativa e quantitativa do extrato éter de petróleo por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) e análise qualitativa dos extratos clorofórmico e metanólico.

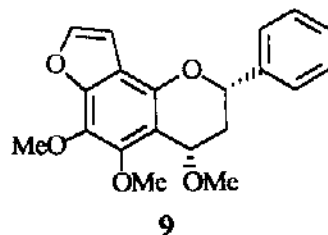
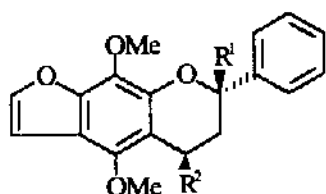
♣Síntese de flavanas 4-oxigenadas visando a obtenção dos diastereoisômeros 2,4-*cis* e 2,4-*trans* para estudar os respectivos espectros de RMN ¹H e RMN ¹³C junto àqueles obtidos para as novas flavanas 4-oxigenadas isoladas no nosso grupo de pesquisa.

♣Cálculos semi-empíricos (SPARTAN-AM1) e simulação de espectros de RMN ¹H para determinar a conformação preferida para o anel C da flavana 9.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

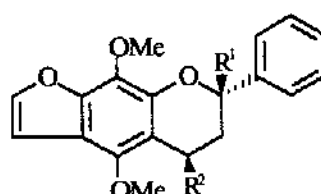
3.1 - Estudo Fitoquímico

Através de extração em soxhlet foram preparados os extratos éter de petróleo, clorofórmico e metanólico das raízes de *L. muehlbergianus*. Uma análise comparativa dos três extratos em CCD mostrou que o extrato éter de petróleo continha uma grande concentração de substâncias e foi o primeiro a ser estudado, fornecendo nove flavonóides (Quadro 5): cinco flavanas (9,37-40), duas β -hidroxichalconas (41,42), uma flavona (43) e um flavonol (44). Destas substâncias sete são inéditas, enquanto a flavana 9 já foi isolada de *L. subglaucescens*⁵ e o flavonol 44 isolado de *Derris araripensis*⁸ e *Derris obtusa*.²⁹

FLAVANA 4-OXIGENADA**FLAVANAS 2,4-DIOXIGENADAS**

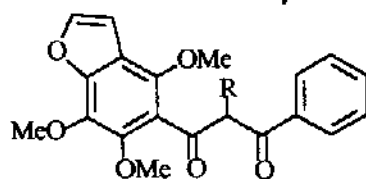
37 : $R_1 = \text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$, $R_2 = \text{OH}$

38 : $R_1 = \text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$, $R_2 = \text{OMe}$



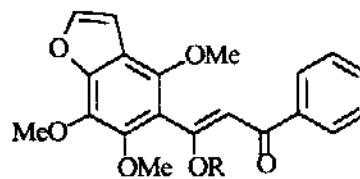
39 : $R_1 = \text{OMe}$, $R_2 = \text{OH}$

40 : $R_1 = \text{OMe}$, $R_2 = \text{OMe}$

 β -HIDROXICHALCONAS

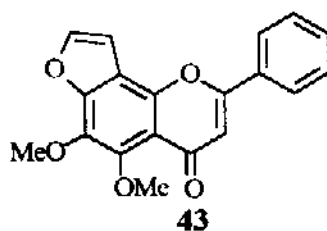
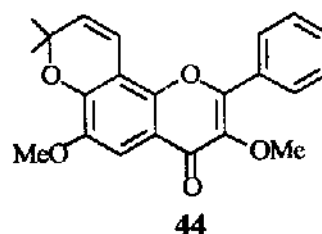
$R = \text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}=\text{CH}_2$

41



$R = \text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}=\text{CH}_2$

42

FLAVONA**FLAVONOL**

Quadro 5 - Substâncias isoladas do extrato éter de petróleo das raízes de *Lonchocarpus muehlbergianus*.

Resultados e Discussão

A determinação estrutural das substâncias isoladas foi realizada através da análise dos dados espectrais, cuja discussão foi feita separadamente para cada classe.

Flavanas

No espectro de RMN ^1H (Tabela 2, pág. 98; E-01) da flavana 9 foi observado o sinal de H-2 como um duplo dublete a 5,17 ppm ($J=9,7$ e $3,0$ Hz), o sinal de H-3_{ax} como um duplo duplo dublete a 2,40 ppm ($J=13,8$; $9,9$ e $7,2$ Hz), o sinal de H-3_{eq} como um duplo duplo dublete a 2,62 ppm ($J=13,9$; $7,0$ e $3,2$ Hz) e o sinal de H-4 aparece como um triplete a 4,84 ppm ($J=7,2$ Hz). Os dois dubletes a 7,51 e 6,82 ppm ($J=2,2$ Hz) são atribuídos aos hidrogênios H-2'' e H-3'' do anel furano. O multiplete a 7,47-7,32 ppm, cuja integração corresponde a cinco hidrogênios, é atribuído ao anel B não substituído. A 4,07, 3,99 e 3,36 ppm aparecem como singletes os sinais correspondentes as duas metoxilas aromáticas e uma metoxila alifática, provavelmente ligada a C-4.

A análise da soma das constantes de acoplamento obtidas para os hidrogênios do anel C da flavana 9 ($J_{2,3\text{ax}} + J_{2,3\text{eq}} = 12,7$ Hz e $J_{4,3\text{ax}} + J_{4,3\text{eq}} = 14,4$ Hz), em comparação com os dados da literatura, são mais coerentes com o isômero de configuração relativa *cis* entre H-2/H4 (Figura 7) e apesar da banda do H-4 se apresentar como um triplete a constante de acoplamento não corresponde a esperada para uma configuração relativa *trans*.²¹

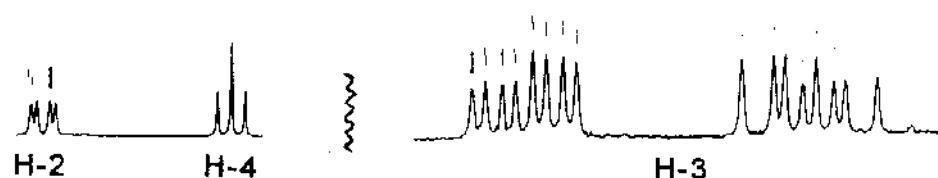


Figura 7 - Espectro de RMN ^1H de H-2, H-3 e H-4 para a flavana 4-OMe 9.

Os dados obtidos pelo espectro COSY (^1H - ^1H) (Tabela 3, E-02) mostraram as correlações esperadas para a estrutura proposta de 9.

Tabela 3 - Correlações observadas no espectro COSY (^1H - ^1H) de 9.

Hidrogênio (δ ppm)	Hidrogênio correlacionado
H-2 (5,17)	H-3ax, H-3eq
H-3ax (2,40)	H-2, H-3eq, H-4
H-3eq (2,62)	H-2, H-3ax, H-4
H-4 (4,84)	H-3ax, H-3eq
H-3" (6,82)	H-2"

A análise do experimento de diferença de efeito NOE (Tabela 4) mostrou interações entre H-2/H-4, o que é esperado para o isômero de configuração relativa *cis* entre C-2/C-4 e não a configuração *trans*, proposta na literatura com base na feição espectral (triplete) de H-4. Argumentava-se que o triplete se devia ao fato da ligação C-4-H bissectar o ângulo diedro H-C-3-H no isômero *trans*. Este estudo foi importante pois mostrou que nem sempre podemos determinar a

Resultados e Discussão

configuração relativa tendo como base somente os dados de feição espectral da banda relativa a H-4. Através deste experimento foi confirmada a fusão angular (anel furano ligado nos carbonos C-7 e C-8) do anel furano com o anel A e também foi possível fazermos a atribuição correta das duas metoxilas aromáticas ligadas a C-5 e C-6, onde observamos um efeito NOE de 2% em 3,99 ppm (sinal atribuído a metoxila ligada a C-5), quando se irradiou a metoxila ligada a C-4.

Tabela 4- Efeitos NOE observados para 9.

Irradiação (δ ppm)	Sinal com aumento de intensidade (δ ppm) [%]
H-2 (5,17)	H-2' e H-6' (7,47-7,32) [14] H-3ax (2,40) [1] H-3eq (2,62) [5] H-4 (4,84) [3]
OMe (3,36)	H-2' e H-6' (7,47-7,32) [2] H-3ax (2,40) [1] H-4 (4,84) [5] OMe (3,99) [2]
H-3" (6,82)	H-2" (7,51) [16]

A análise dos espectros RMN ^{13}C (Tabela 5, pág. 98; E-03a) e DEPT 90° e 135° (E-03b) confirma a estrutura da flavana 4-OMe 9, principalmente através dos sinais de C-2 (CH), C-3 (CH₂) e C-4 (CH), que apresentaram deslocamentos característicos a 77,2, 35,7 e 71,6 ppm respectivamente.¹⁸ Estes deslocamentos estão concordantes com as correlações ^{13}C - ^1H obtidas através do experimento HETCOR (Tabela 6, E-04).

Resultados e Discussão

Tabela 6 - Correlações observadas no espectro HETCOR (^{13}C - ^1H) de 9.

Hidrogênio (δ ppm)	Carbono correlacionado (δ ppm)
H-2 (5,17)	C-2 (77,2)
H-3ax (2,40)	C-3 (35,7)
H-3eq (2,62)	
H-4 (4,84)	C-4 (71,6)
H-2" (7,51)	C-2" (143,9)
H-3" (6,82)	C-3" (104,5)
H-2' e H-6' (7,47-7,32)	C-2' e C-6' (126,0)
H-4' (7,47-7,32)	C-4' (127,9)
H-3' e H-5' (7,47-7,32)	C-3' e C-5' (128,6)

Através das correlações obtidas na análise do espectro HETCOR foi possível também confirmar a atribuição das metoxilas ligadas a C-5 (61,7 ppm) e a C-6 (61,1 ppm).

As correlações a longa distância ($^3J=8-10$ Hz) obtidas através da análise do espectro COLOC (Tabela 7, E-05) permitiram a atribuição dos carbonos quaternários do anel A, sendo particularmente favorecida a atribuição de C-7 e C-8. As correlações observadas estão de acordo com a fusão do tipo angular do anel furano com o anel A proposta para 9 (Figura 8).

Resultados e Discussão

Tabela 7 - Correlações a longa distância observadas no espectro COLOC de 9.

Hidrogênio (δ ppm)	Carbono
H-2 (5,17)	C-2*
H-2" (7,51)	C-3"*, C-7*, C-8*, C-2"*
H-3" (6,82)	C-2"*, C-7*
OMe (3,36)	C-4*
OMe (3,99)	C-5*
OMe (4,07)	C-6*

* correlação a uma ligação

* correlação a duas ligações

* correlação a três ligações

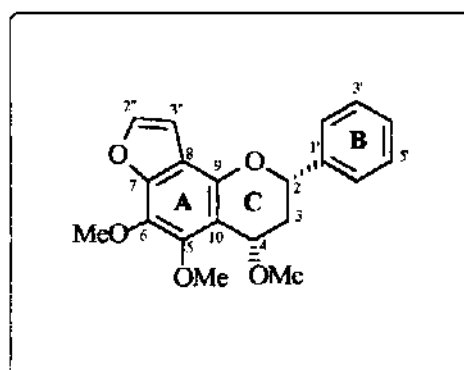


Figura 8 - Fusão do tipo angular proposta para 9.

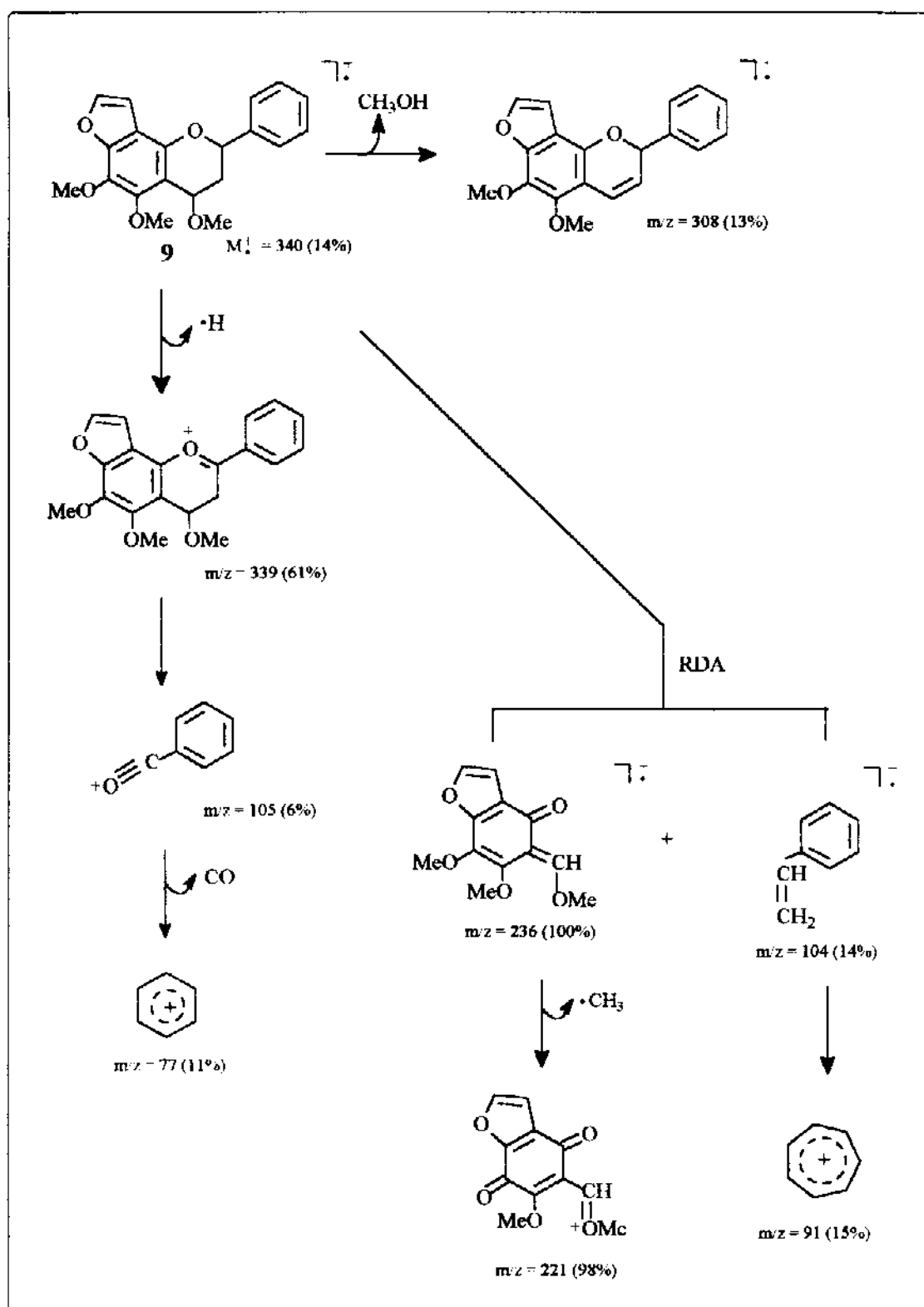
No espectro de UV (E-06) observamos duas absorções de baixa intensidade a 254 e 284 nm e uma mais intensa a 292 nm. Estas bandas correspondem ao sistema benzoíla e evidenciam a ausência do sistema cinamoíla.

No espectro de IV (E-07) as principais absorções aparecem a 1627, 1479, 1365, 698 cm^{-1} (C=C) , 1108, 1068 cm^{-1} (C-O). Observamos a

Resultados e Discussão

ausência da absorção correspondente ao grupo carbonila.

O espectro de massas (E-08) mostrou o íon molecular $M^+=340$ (14%) e os picos $m/z=236$ (100%) e $m/z=104$ (14%) relativos a clivagem RDA do anel C, confirmando a presença do anel B não substituído e do anel A totalmente substituído. Outros picos significativos aparecem em $m/z=308$ (13%), $m/z=339$ (61%) e $m/z=221$ (98%). No Esquema 1 estão apresentados os principais fragmentos propostos para 9.



Esquema 1 - Fragmentação proposta para 9.

Resultados e Discussão

A flavana **9** foi submetida a uma reação de hidrólise³⁰ a fim de compararmos os seus espectros de RMN ^1H , diferença de efeito NOE e RMN ^{13}C com aqueles dos diastereoisômeros que esperávamos obter (**9a**, **9b** ou **9b'** e **9c** ou **9c'**), baseados no mecanismo de hidrólise proposto mostrado na Figura 9. Dois produtos majoritários foram obtidos: a flavana 4-OMe **9a** (50%) de configuração relativa *trans* e a flavana 4-OH **9b** ou **9b'** (27%) de configuração relativa *cis*, sendo recuperado também parte do material de partida (21%). Os dois produtos foram caracterizados por RMN ^1H , RMN ^{13}C , EM, UV e IV e a configuração relativa de H-2/H-4 foi atribuída com base nos deslocamentos químicos, nas constantes de acoplamento e nos dados obtidos através do experimento de diferença de efeito NOE.

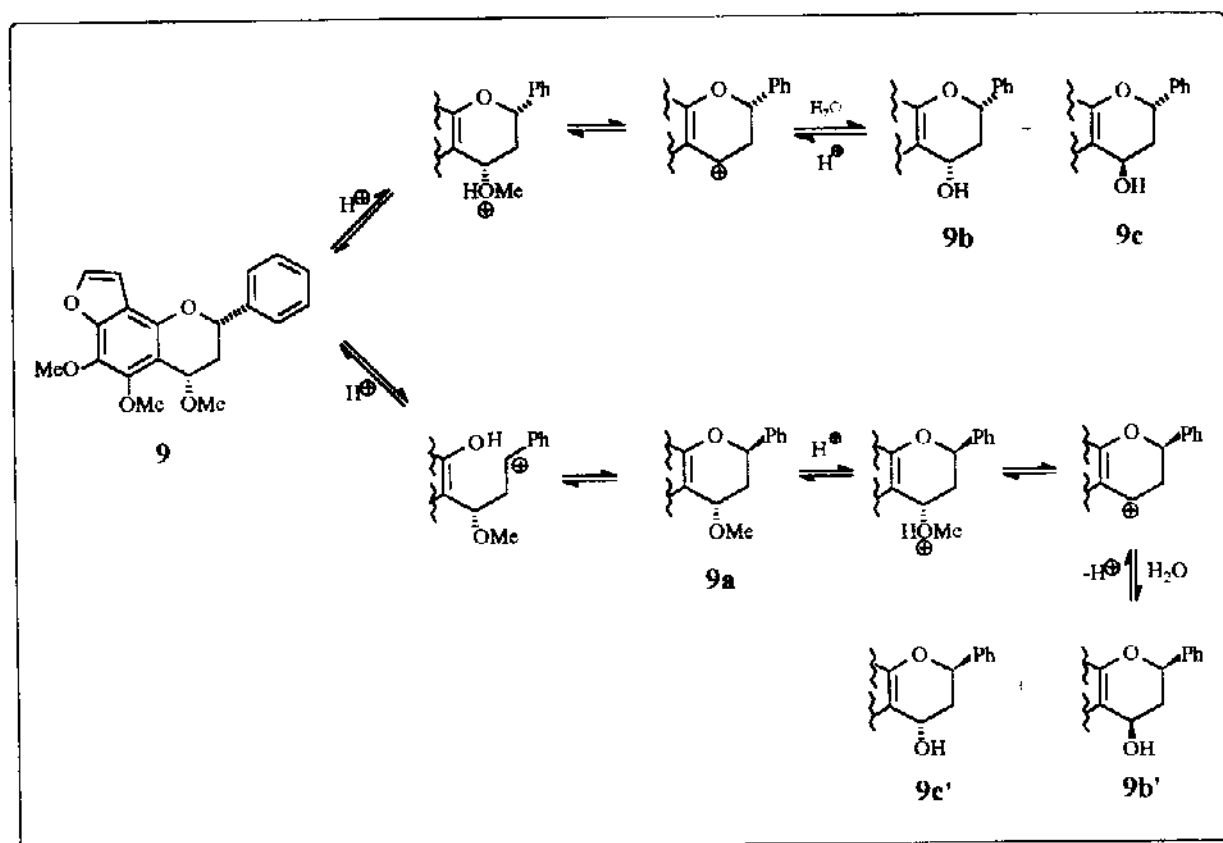


Figura 9 - Mecanismo de hidrólise proposto para a flavana **9**.

Resultados e Discussão

Através da análise detalhada dos dados espectroscópicos de **9a** foi proposta a estrutura de uma flavana 4-OMe com configuração relativa *trans* entre H-2/H-4. Isto considerando principalmente os valores das somas das constantes de acoplamento obtidas, onde temos: $J_{2,3ax} + J_{2,3eq} = 14,1\text{Hz}$ e $J_{4,3ax} + J_{4,3eq} = 5,4\text{ Hz}$, que estão próximas dos valores atribuídos a configuração relativa *trans* (Tabela 1, pág. 12). A feição espectral de H-2, H-3 e H-4 de **9a** (Figura 10), também é nitidamente diferente da feição espectral da flavana 4-OMe **9**, de configuração relativa *cis* (Figura 7, pág. 22). Os dados de RMN ^1H estão apresentados na Tabela 8 (pág. 119) (E-09). A confirmação foi feita através do experimento de diferença de efeito NOE (Tabela 9), onde observamos que a irradiação de H-2 causa um efeito NOE de 9% na absorção de H-2' e H-6' (hidrogênios "orto" do anel B) e nenhum efeito é observado para o sinal de H-4, o que seria esperado para uma configuração relativa *cis* entre H-2/H-4.

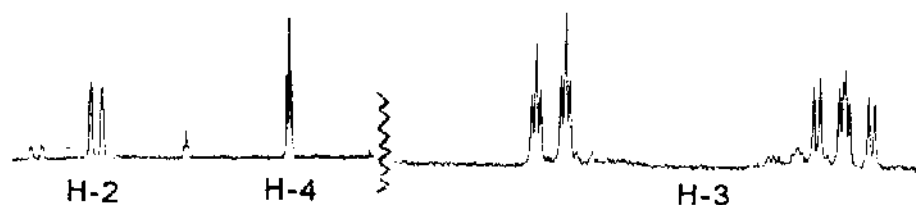


Figura 10 - Espectro de RMN ^1H de H-2, H-3 e H-4 para a flavana 4-OMe **9a**.

Resultados e Discussão

Tabela 9 - Efeitos NOE observados para 9a.

Irradiação (δ ppm)	Sinal com aumento de intensidade (δ ppm) [%]
H-2 (5,28)	H-2' e H-6' (7,67 - 7,35) [9]
H-3ax (1,94)	H-2' e H-6' (7,67 - 7,35) [6] H-2 (5,28) [1] H-3eq (2,42) [18] H-4 (4,60) [7]
H-3eq (2,42)	H-2' e H-6' (7,67 - 7,35) [5] H-3ax (1,94) [24] H-2 (5,28) [9] H-4 (4,60) [6] OMe (3,55) [7]
OMe (3,55)	H-4 (4,60) [3]
H-2" (7,51)	H-3" (6,82)[4]
H-3" (6,82)	H-2" (7,51)[11]

Os sinais dos carbonos do anel C apresentaram seus deslocamentos mais protegidos em relação a flavana natural **9**, onde C-2=73,3, C-3=34,5 e C-4=68,6 ppm. Os dados de RMN ^{13}C estão na Tabela 10 (pág. 120) (E-10a) e DEPT 90° e 135° (E-10b).

A obtenção do produto de hidrólise **9b** (flavana 4-OH) foi confirmada pelo desaparecimento, no espectro de RMN ^1H (Tabela 11, pág. 121; E-11), do sinal correspondente ao grupo metoxila ligado a C-4 e do aparecimento de um singlete largo a 2,63 ppm, que foi atribuído ao grupo hidroxila.

Levando em conta a feição espectral de H-2, H-3 e H-4 (Figura 11) a princípio propusemos uma configuração relativa *trans* entre H-2/H-4. Estudos posteriores, comparando os dados obtidos de **9b** com os de duas flavanas 4-OH diastereoisoméricas sintetizadas **64** e **65** (*cis* e *trans*, respectivamente), no entanto, mostraram que a

Resultados e Discussão

configuração relativa de **9b** é *cis* e não *trans* como havia sido atribuído inicialmente. Uma análise mais detalhada é apresentada junto a discussão dos dados espectroscópicos dos diastereoisômeros **64** e **65** sintetizados (pp 77-80).

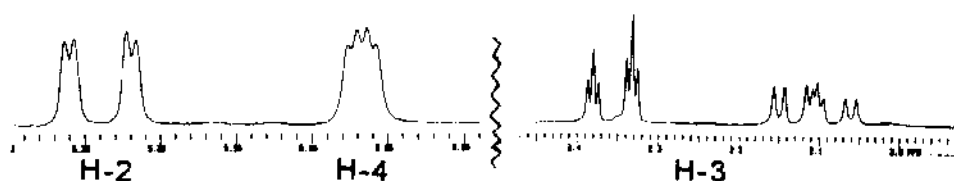


Figura 11 - Espectro de RMN ¹H de H-2, H-3 e H-4 para a flavana 4-OH **9b**.

A análise do experimento de diferença de efeito NOE também mostrou as interações esperadas para a configuração relativa proposta. As interações mais significativas estão apresentadas na Tabela 12.

Resultados e Discussão

Tabela 12 - Efeitos NOE observados para 9b.

Irradiação (δ ppm)	Sinal com aumento de intensidade (δ ppm) [%]
H-2 (5,24)	H-2' e H-6' (7,55 - 7,52) [8] H-3ax (2,10) [1] H-3eq (2,36) [4]
H-3ax (2,10)	H-3eq (2,36) [12] H-4 (5,06) [20] H-2' e H-6' (7,55 - 7,52) [2]
H-3eq (2,36)	H-3ax (2,10) [20] H-4 (5,06)[18] OMe (4,08)[2]
H-4 (5,06)	H-2' e H-6' (7,55 - 7,52) [2] H-3ax (2,10) [7] H-3eq (2,36) [7]
OH (2,63)	H-4 (5,06)[7]
H-2" (7,54)	H-3" (6,84)[3]
H-3" (6,84)	H-2" (7,54)[11]

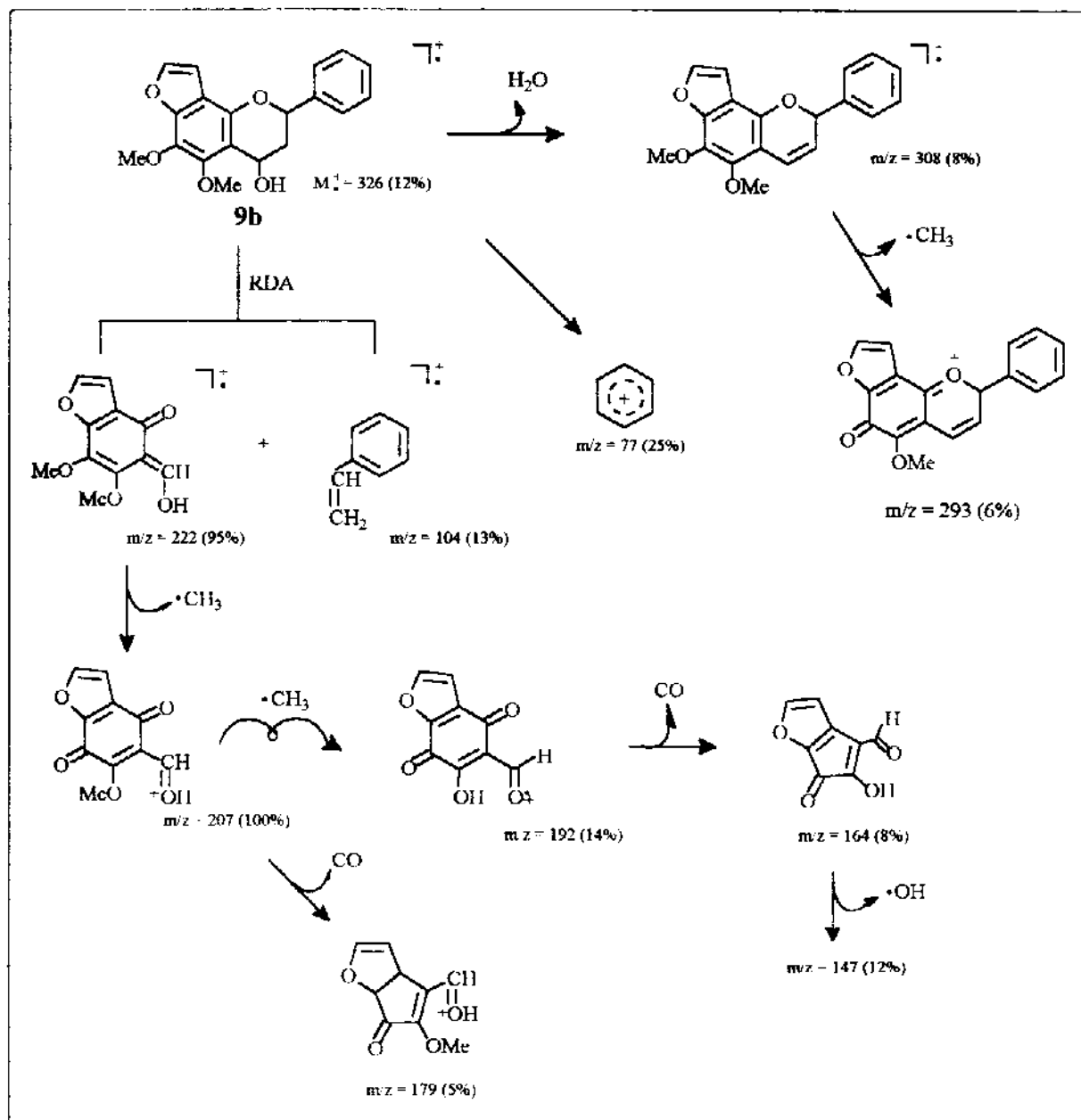
Os deslocamentos dos hidrogênios do anel C e suas respectivas constantes de acoplamento estão de acordo com a estrutura proposta, assim como os dados de RMN ^{13}C (Tabela 13, pág. 121; E-12a) e DEPT 90° e 135° (E-12b).

O espectro UV (E-13) apresentou absorções correspondentes ao sistema benzoíla na faixa de 289 a 216 nm.

O espectro de IV (E-14) mostrou absorções a 3364 cm^{-1} (OH), 1618, 1542, 1482, 699 cm^{-1} (C=C) e 1067 cm^{-1} (C-O).

Resultados e Discussão

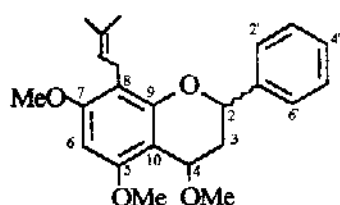
No espectro de massas (E-15) o ion molecular aparece a $M^+ = 326$ (12%) e os picos correspondentes a clivagem RDA a $m/z = 222$ (95%) e $m/z = 104$ (13%). O pico base aparece a $m/z = 207$ (100%). A fragmentação proposta é apresentada abaixo no Esquema 2.



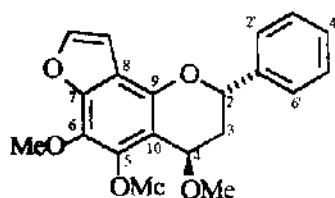
Esquema 2 - Fragmentação proposta para 9b.

Resultados e Discussão

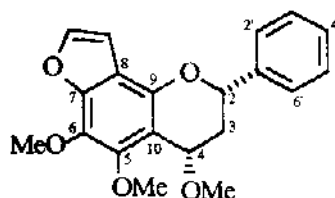
Um estudo comparativo dos dados de RMN ^1H da flavana natural **9** e de seu produto de hidrólise **9a** possibilitou a atribuição da configuração relativa de um composto descrito na literatura^{13, 10}, como sendo *trans*.

**16**

H-2	5,29 ppm (1H; dd; 12,0 e 4,0 Hz)
H-3	2,34 ppm (2H; m)
H-4	4,54 ppm (1H; t; 3,0 Hz)
Anel B	7,39 ppm (5H; m)
OMe	3,46 ppm (3H; s)

**9a**

H-2	5,28 ppm (1H; dd; 12,1 e 2,0 Hz)
H-3ax	1,94 ppm (1H; ddd; 14,4; 12,6 e 3,0 Hz)
H-3eq	2,42 ppm (1H; dt; 14,4 e 2,2 Hz)
H-4	4,60 ppm (1H; t; 2,7 Hz)
Anel B	7,67 - 7,35 ppm (5H; m)
OMe	3,55 ppm (3H; s)

**9**

H-2	5,17 ppm (1H; dd; 9,7 e 3,0 Hz)
H-3ax	2,40 ppm (1H; ddd; 13,8; 9,9 e 7,2 Hz)
H-3eq	2,62 ppm (1H; ddd; 13,9; 7,0 e 3,2 Hz)
H-4	4,84 ppm (1H; t; 7,2 Hz)
Anel B	7,47 - 7,32 ppm (5H; m)
OMe	3,36 ppm (3H; s)

A análise dos dados de RMN ^1H (Tabela 14, pág. 101; E-16) da segunda flavana isolada, 37, em comparação com os dados da flavana 4-OMe 9, discutida anteriormente, forneceu algumas informações que foram fundamentais para a determinação de sua estrutura. A ausência do sinal de absorção de H-2 sugere que o carbono C-2 encontra-se totalmente substituído, o que também está de acordo com a nítida separação observada para os sinais dos hidrogênios aromáticos do anel B, que aparecem agora como dois multipletos a 7,72-7,68 ppm (H-2' e H-6') e a 7,49-7,37 ppm (H-3', H-4' e H-5'). Outra característica importante, observada nas substâncias isoladas que apresentaram funções oxigenadas nos carbonos C-2 e C-4, foi a simplificação dos hidrogênios metilênicos de C-3, que aparecem agora como dois duplos dubletes a 2,08 ppm ($J=14,9$ e $4,8$ Hz) e 2,70 ppm ($J=14,2$ e $1,8$ Hz). Como substituinte de C-2 aparece o grupo O-prenila, cujos sinais atribuídos são duas metilas a 1,58 ppm, um multiplete referente ao hidrogênio olefínico a 5,13 ppm e dois multipletos que correspondem aos hidrogênios metilênicos ligados ao oxigênio a 3,97-3,91 ppm e 3,87-3,75 ppm. H-4 aparece como um duplo duplo dublete a 5,01 ppm ($J=10,9$; $4,7$ e $1,8$ Hz) devido ao acoplamento com os hidrogênios metilênicos H-3ax, H-3eq e com o grupo hidroxila a 4,34 ppm ($J=10,9$ Hz). A atribuição da hidroxila em C-4 foi confirmada através do espectro de RMN ^1H com água deuterada. Como sinais adicionais, aparecem dois grupos metoxila de caráter aromático a 4,16 e 4,12 ppm e dois dubletes a 7,54 ppm ($J=2,2$ Hz) e 6,93 ppm ($J=2,3$ Hz) que correspondem aos hidrogênios H-2'' e H-3'' do anel furano, respectivamente.

As irradiações obtidas pelo experimento de diferença de efeito NOE (Tabela 15), indicaram a fusão linear (anel furano ligado nos carbonos C-6 e C-7) do anel furano com o anel A e sugerem configuração relativa *cis* entre os substituintes O-prenila e OH ligados respectivamente aos carbonos C-2 e C-4. Quanto a configuração relativa, chamamos a atenção para os efeitos observados pelas irradiações dos hidrogênios

Resultados e Discussão

H-4, H-2'' e H-3'' mostrando que H-4 e o grupo O-prenila devem estar em direções opostas no anel C.

Tabela 15 - Efeitos NOE observados para 37.

Irradiação (δ ppm)	Sinal com aumento de intensidade (δ ppm) [%]
H-3ax (2,08)	H-2' e H-6' (7,72-7,68) [2] H-3eq (2,70) [24] H-4 (5,01) [11]
H-3eq (2,70)	H-2' e H-6' (7,72-7,68) [12] H-3ax (2,08) [31] H-4 (5,01) [5] OH (4,34) [4]
H-4 (5,01)	H-2' e H-6' (7,72-7,68) [2] H-3ax (2,08) [7] H-3eq (2,70) [3] OH (4,34) [2]
H-2'' (7,54)	H-3'' (6,93) [10]
H-3'' (6,93)	H-2'' (7,54) [14] OMe (4,12) [9]
H-2''' (3,90)	H-2' e H-6' (7,72-7,68) [7] H-3''' (5,13) [5] Me (1,58) [3] OMe (4,16) [7]
H-3''' (5,13)	Me (1,58) [8]

Outras informações importantes são obtidas pelo espectro de RMN ^{13}C (Tabela 16, pág. 101; E-17a), onde observamos o sinal de C-2 com um deslocamento característico a 101,7 ppm. Este deslocamento também foi observado em todas as flavanas isoladas que apresentaram substituintes oxigenados em C-2. Isto é confirmado

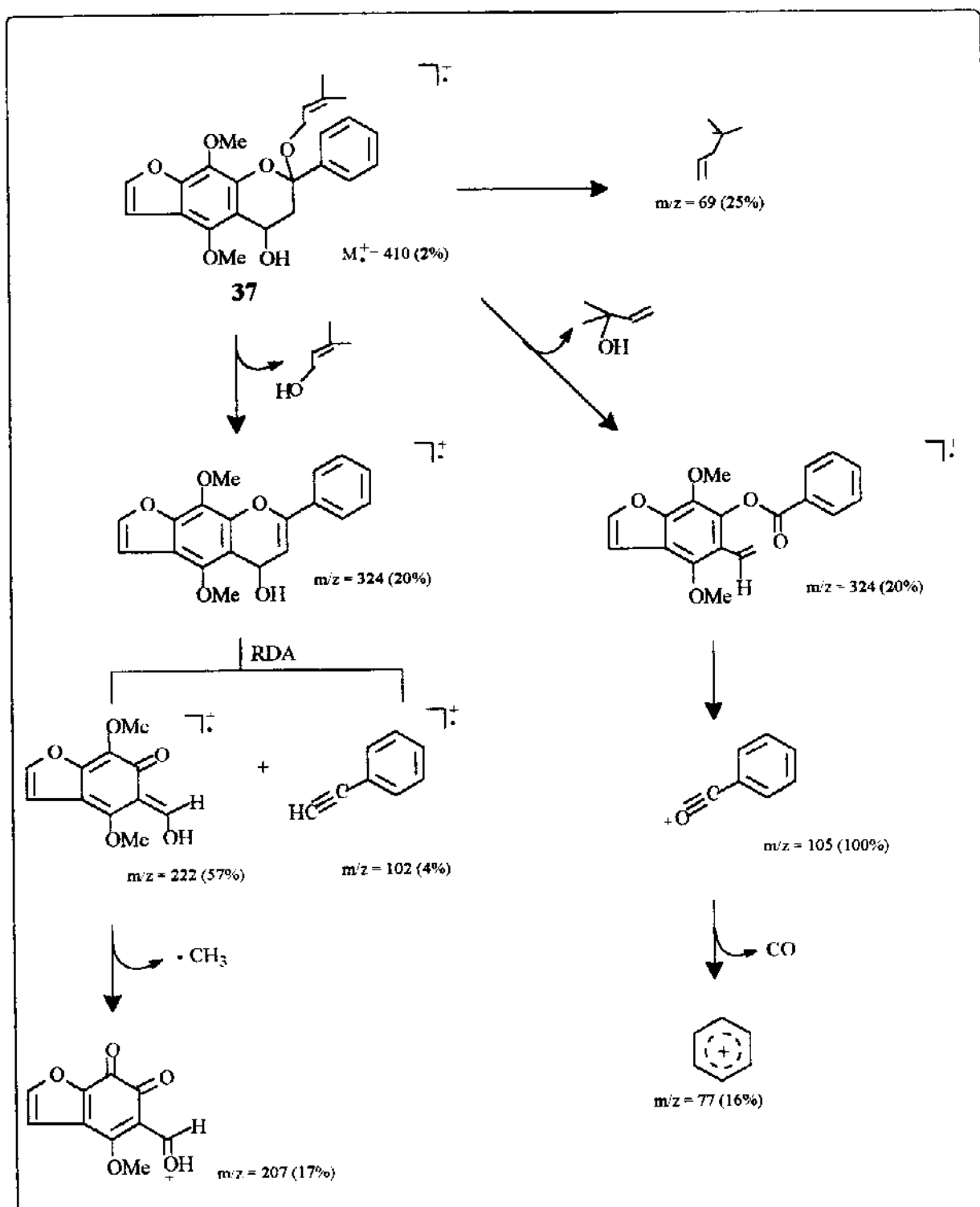
Resultados e Discussão

DEPT 90° e 135° (E-17b), onde ocorre o desaparecimento do sinal C-2-H, que aparece na faixa de 75,6-78,7 ppm.¹⁶ Os outros carbonos do anel C aparecem a 42,1 e 60,9 e correspondem a C-3 e C-4, respectivamente.

O espectro UV (E-18) mostra duas bandas de absorção a 256 e 217 nm referentes ao sistema benzofila.

No espectro IV (E-19) observamos absorções a 3526 cm⁻¹ (OH), 1627, 1485 cm⁻¹ (C=C), 1353, 1247, 1113, 1061 cm⁻¹ (C-O).

No espectro de massas de 37, (E-20), observa-se o íon molecular M⁺ a m/z=410 (2%) e o pico base m/z=105 (100%). A fragmentação proposta é mostrada no Esquema 3.



Esquema 3 - Fragmentação proposta para 37.

A análise da flavana **38** foi feita em comparação com os dados discutidos anteriormente para a flavana **37**. Através do espectro de RMN ^1H (Tabela 17, pág. 105; E-21) observamos os sinais característicos do grupo O-prenila a 1,58 ppm (duas metilas), 5,20 ppm (multiplete referente ao hidrogênio olefínico) e dois multipletes referentes aos hidrogênios metilênicos ligados ao oxigênio, centrados a 4,00 e 3,86 ppm. A diferença é observada no substituinte de C-4, onde ao invés de uma hidroxila é observado o sinal de um grupo metoxila que aparece a 3,54 ppm. Os demais hidrogênios pertencentes ao anel C aparecem como duplos dubletes a 1,96 ppm ($J=15,0$ e $5,3$ Hz), 2,76 ppm ($J=15,0$ e $1,8$ Hz) e 4,56 ppm ($J=5,4$ e $1,8$ Hz) e correspondem a H-3ax, H-3eq e H-4, respectivamente. Os sinais correspondentes aos hidrogênios do anel B aparecem também como dois multipletes a 7,68-7,66 ppm (H-2' e H-6') e 7,45-7,35 ppm (H-3', H-4' e H-5'). Este padrão de substituição já foi descrito antes na discussão dos dados da flavana **37** e foram característicos para as flavanas 2,4-dioxigenadas isoladas. As duas metoxilas aromáticas aparecem a 4,11 e 4,10 ppm. A 7,52 e 6,89 ppm aparecem como dubletes ($J=2,3$ Hz) os sinais de H-2'' e H-3'' (anel furano). A fusão linear do anel furano foi confirmada através das interações observadas pelo experimento de diferença de efeito NOE (Tabela 18).

Tabela 18 - Principais efeitos NOE observados de **38**.

Irradiação (δ ppm)	Sinal com aumento de intensidade (δ ppm) [%]
H-4 (4,56)	H-3ax (1,96) [5] H-3eq (2,76) [1]
OMe (3,54)	OMe (4,11) [7] H-4 (4,56) [2]
H-3'' (6,89)	H-2'' (7,52) [10] OMe (4,11) [8]

Resultados e Discussão

A ausência de efeito NOE entre H-4 e qualquer dos hidrogênios do grupo O-prenila sugere a configuração relativa *cis* entre os dois grupos oxigenados, um ligado a C-2 e outro a C-4.

Os dados obtidos pelo espectro COSY (^1H - ^1H), (Tabela 19; E-22), mostraram as correlações esperadas para a estrutura proposta de **38**.

Tabela 19 - Correlações observadas no espectro COSY (^1H - ^1H) de **38**.

Hidrogênio (δ ppm)	Hidrogênio correlacionado
H-3ax (1,96)	H-3eq, H-4
H-3eq (2,76)	H-3ax, H-4
H-4 (4,56)	H-3ax, H-3eq
H-2" (7,52)	H-3"
H-3" (6,89)	H-2"
H-2' e H-6' (7,68-7,66)	H-3', H-4' e H-5'

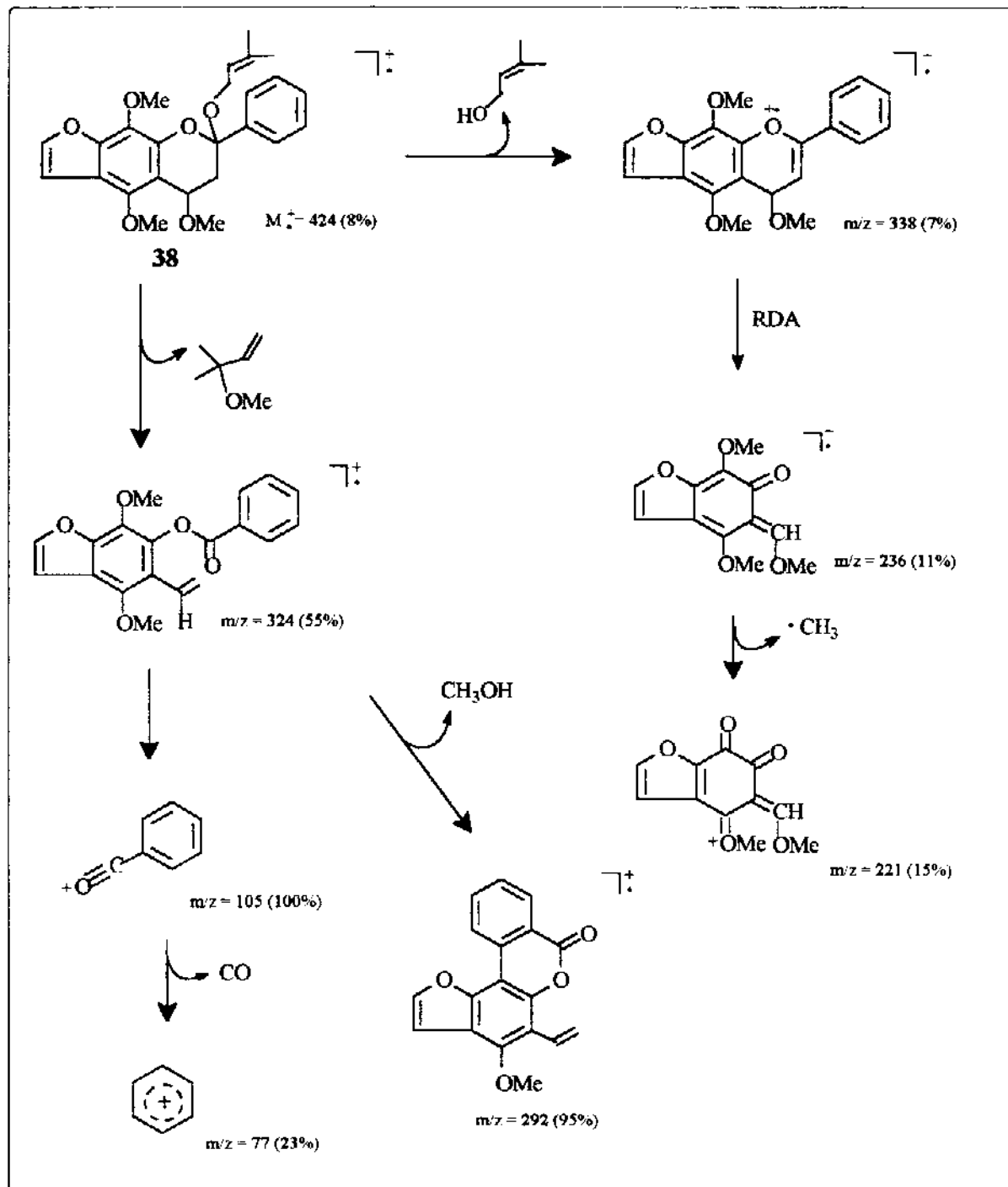
A análise do espectro de RMN ^{13}C (Tabela 20, pág. 105; E-23a) foi realizada com o auxílio dos dados obtidos pelo espectro DEPT 90° e 135° (E-23b) e confirmou a estrutura de **38**. A análise dos sinais dos carbonos do anel C mostrou os deslocamentos esperados, onde: C-2=100,5 ppm, C-3=39,0 ppm e C-4=68,6 ppm. Os demais sinais observados também confirmam a estrutura proposta.

O espectro de IV (E-24) mostrou absorções mais intensas a 1635, 1484, 736, 703 cm^{-1} (C=C), 1265 cm^{-1} (C-O).

No espectro de massas (E-25) o íon molecular aparece a $M^+=424$ (8%) e o pico base a $m/z=105$ (100%). O fragmento $m/z=324$ (55%) pode ser interpretado como mais uma indicação da configuração relativa 2,4-*cis*, já que a perda da molécula neutra indicada não ocorreria

Resultados e Discussão

se os grupos O-prenila e metoxila estivessem em direções opostas. A fragmentação proposta é apresentada no Esquema 4.



Esquema 4 - Fragmentação proposta para 38.

Resultados e Discussão

As outras duas flavanas isoladas **39** e **40** tiveram suas estruturas determinadas por analogia com as estruturas das flavanas **37** e **38**, já que apresentaram um padrão de substituição semelhante. A diferença é observada em C-2, onde se observa agora a presença de um grupo metoxila ao invés do grupo O-prenila.

Para a flavana **39** a análise por RMN ^1H (Tabela 21, pág. 108; E-26) forneceu as seguintes informações: para o anel C aparecem a 3,14 ppm o sinal referente a uma metoxila de caráter alifático, dois duplos dubletes a 2,12 ppm ($J = 15,0$ e $4,9$ Hz) e 2,71 ppm ($J = 15,0$ e $1,8$ Hz) correspondentes aos hidrogênios metilênicos, um duplo duplo dublete a 5,03 ppm ($J = 10,4$; $4,9$ e $1,7$ Hz) atribuído a H-4 e a 4,10 ppm como um dublete ($J = 10,8$ Hz) o sinal de um grupo hidroxila. Foram também observados os sinais referentes ao anel B não substituído, que aparecem como dois multipletos a 7,70 - 7,69 ppm (H-2' e H-6') e 7,50 - 7,40 ppm (H-3', H-4' e H-5'), os sinais de duas metoxilas aromáticas a 4,17 e 4,13 ppm e os sinais relacionados ao anel furano como dubletes a 7,54 ppm ($J = 2,3$ Hz) e 6,93 ppm ($J = 2,2$ Hz) correspondendo a H-2'' e H-3'', respectivamente. A Tabela 22 (E-27) mostra as principais correlações obtidas a partir do espectro COSY ^1H - ^1H de acordo com o esperado para a estrutura proposta.

Tabela 22 - Correlações observadas no espectro COSY (^1H - ^1H) de **39**.

Hidrogênio (δ ppm)	Hidrogênio correlacionado
H-3ax (2,12)	H-3eq, H-4
H-3eq (2,71)	H-3ax, H-4
H-4 (5,03)	H-3ax, H-3eq
H-2'' (7,54)	H-3''
H-3'' (6,93)	H-2''

Pela análise do experimento de diferença de efeito NOE (Tabela 23) constatamos a fusão linear do anel furano no anel A e sugerimos que a configuração relativa entre C-2/C-4 deve ser *cis*, considerando que os substituintes oxigenados ligados aos carbonos C-2 e C-4 estão do mesmo lado em relação ao anel C, pois não observamos efeito NOE entre H-4 e o grupo metoxila ligado a C-2.

Tabela 23 - Principais efeitos NOE observados para 39.

Irradiação (δ ppm)	Sinal com aumento de intensidade (δ ppm) [%]
H-3ax (2,12)	H-3eq (2,71) [25] H-4 (5,03) [11]
H-3eq (2,71)	H-2' e H-6' (7,70-7,69) [9] H-3ax (2,12) [26] H-4 (5,03) [5]
OMe (3,14)	H-2' e H-6' (7,70-7,69) [3] OMe (4,13) [2]
H-4 (5,03)	H-3ax (2,12) [7] H-3eq (2,71) [3]
H-3" (6,93)	H-2" (7,54) [10] OMe (4,17) [11]

A análise dos espectros RMN ^{13}C (Tabela 24, pág. 109; E-28a) e DEPT 90° e 135° (E-28b) confirmam a estrutura da flavana 39, principalmente através dos sinais dos carbonos do anel C, que aparecem a 101,9, 41,9 e 60,1 ppm e correspondem a C-2, C-3 e C-4 respectivamente. Estes deslocamentos estão de acordo com a correlações ^{13}C - ^1H obtidas através do experimento HETCOR (Tabela 25, E-29).

Resultados e Discussão

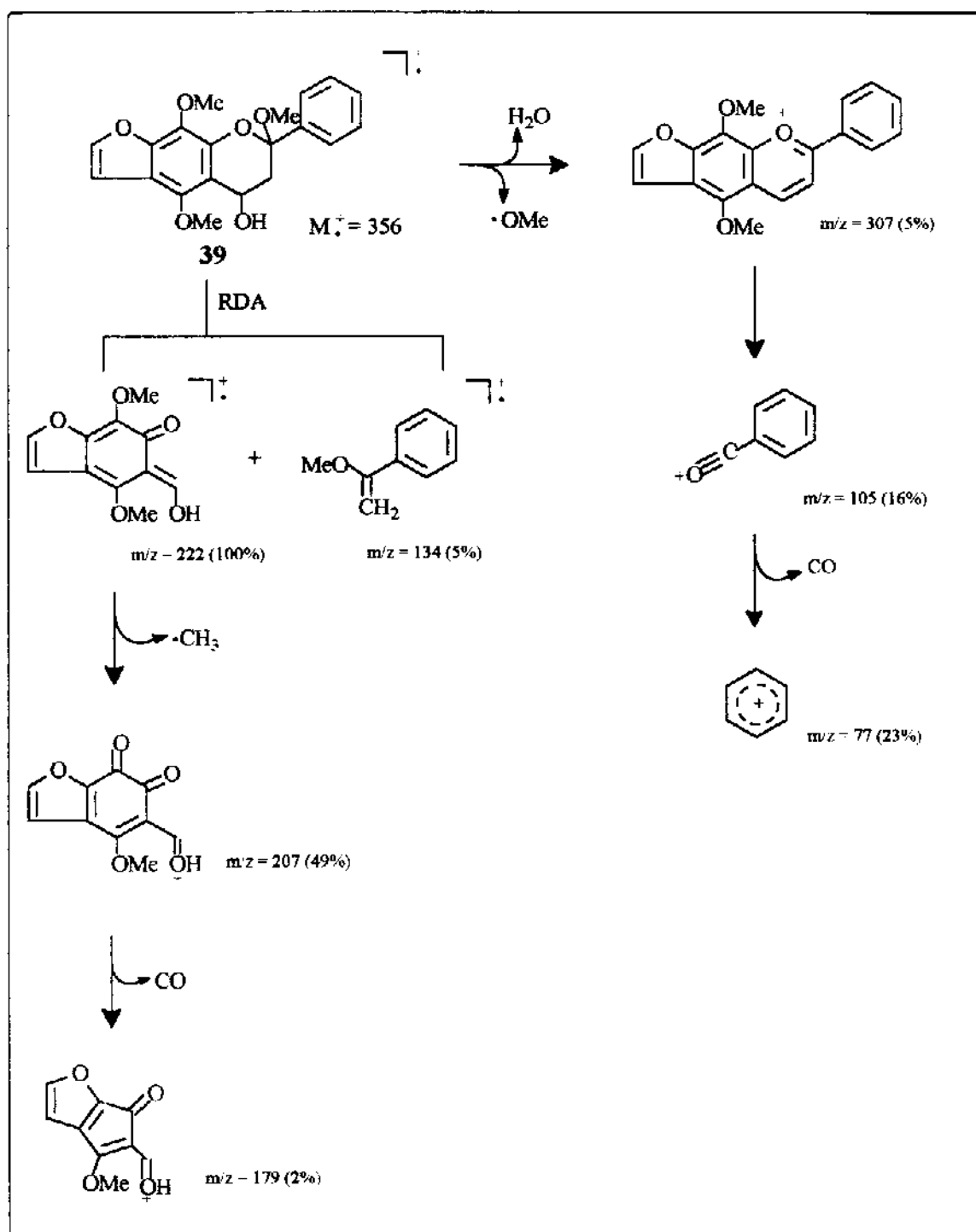
Tabela 25 - Correlações observadas no espectro HETCOR (^{13}C - ^1H) de 39.

Hidrogênio (δ ppm)	Carbono correlacionado (δ ppm)
H-3ax (2,12) H-3eq (2,71)	C-3 (41,9)
H-4 (5,03)	C-4 (60,1)
H-2" (7,54)	C-2" (143,8)
H-3" (6,93)	C-3" (105,2)
H-2' e H-6' (7,70-7,69)	C-2' e C-6' (126,4)
H-4' (7,50-7,40)	C-4' (128,7)
H-3' e H-5' (7,50-7,40)	C-3' e C-5' (128,7)

No espectro UV (E-30) aparece somente uma banda de absorção intensa a 257 nm referente ao sistema benzoíla.

O espectro IV (E-31) mostrou uma absorção intensa a 3508 cm^{-1} referente ao grupo hidroxila. Observou-se também absorções a 1629 , 1485 , 736 e 702 cm^{-1} atribuídas ao anel aromático e a 1265 , 1063 cm^{-1} atribuídas a ligação C-O-C.

No espectro de massas (E-32) não foi observado o pico correspondente ao íon molecular e o pico base, também proveniente da clivagem RDA, aparece a $m/z=222$ (100%) (Esquema 5).

Esquema 5 - Fragmentação proposta para **39**.

Resultados e Discussão

Os deslocamentos observados no espectro de RMN ^1H (Tabela 26, pág. 107; E-33) para a flavana **40** foram similares aos da flavana **39**. Além do grupo metoxila ligado a C-2 aparece outro sinal correspondendo a uma metoxila de caráter alifático a 3,60 ppm atribuída a C-4. Os sinais de H-3eq, H-3ax e H-4 aparecem como duplos dubletes. Os deslocamentos dos hidrogênios foram confirmados através do espectro COSY ^1H - ^1H (E-34).

A análise do experimento NOE (Tabela 27) confirmou a fusão linear do anel furano no anel A e também sugere a configuração relativa *cis* considerando as metoxilas ligadas em C-2 e C-4.

Tabela 27 - Efeitos NOE observados para **40**.

Irradiação (δ ppm)	Sinal com aumento de intensidade (δ ppm) [%]
H-3ax (1,97)	H-2' e H-6' (7,70-7,67) [1] H-3eq (2,76) [26] H-4 (4,55) [12]
H-3eq (2,76)	H-2' e H-6' (7,70-7,67) [8] H-3ax (1,97) [27] H-4 (4,55) [3] OMe (3,60) [5]
H-4 (4,55)	OMe (3,60) [10] H-3ax (1,97) [7] H-3eq (2,76) [2]
H-3" (6,89)	H-2" (7,53) [9] OMe (4,12) [8]
OMe (3,17)	H-2' e H-6' (7,70-7,67) [2] OMe (4,11) [1]
OMe (3,60)	H-3eq (2,76) [1] H-4 (4,55) [4] OMe (4,12) [1]

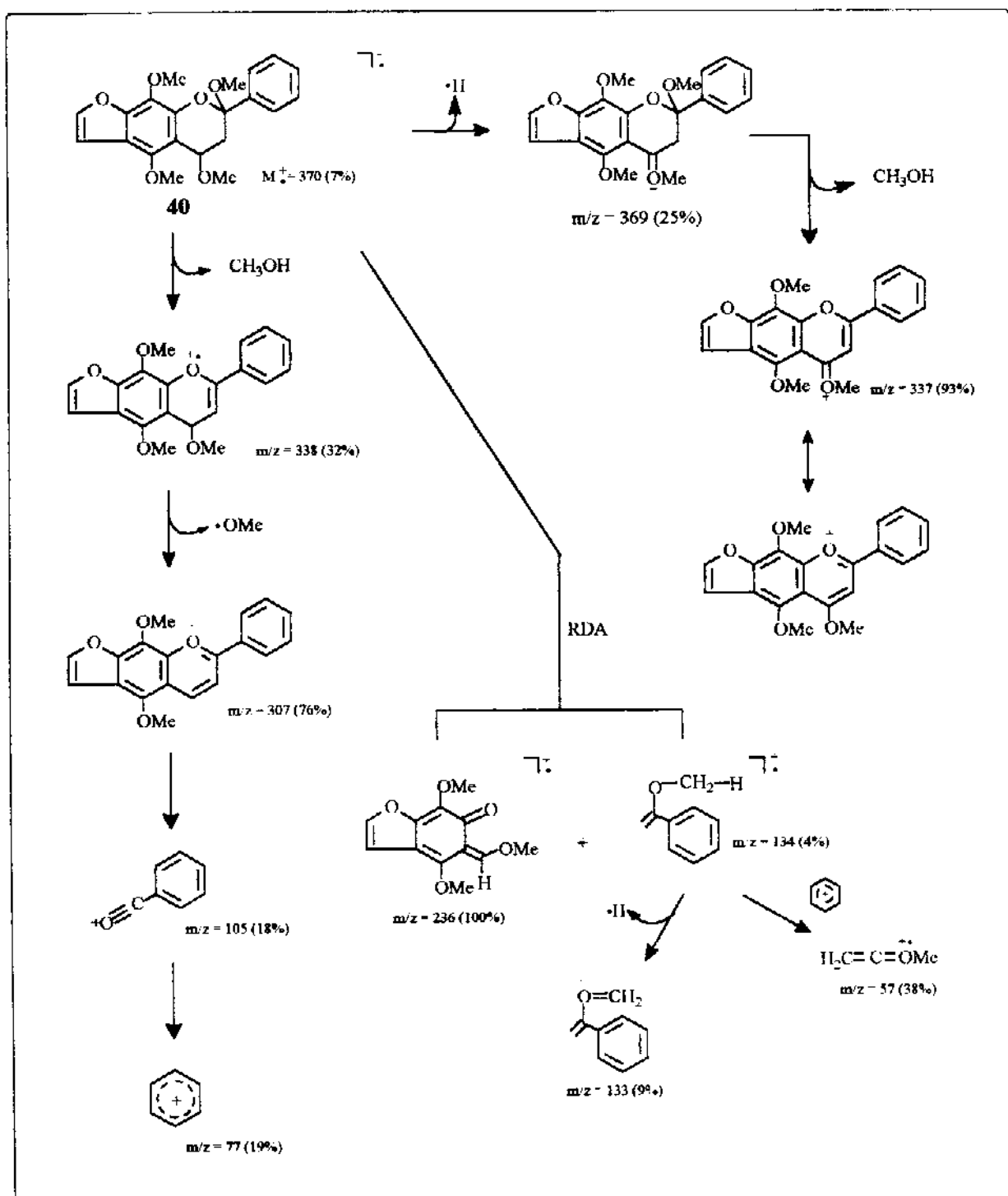
A análise do espectro RMN ^{13}C (Tabela 28, pág. 107; E-35a) mostrou deslocamentos semelhantes para C-2 e C-3, enquanto que C-4 apresenta uma desproteção acentuada (+8,8 ppm) devido a substituição do grupo hidroxila pelo grupo metoxila e aparece a 68,9 ppm. As atribuições feitas estão de acordo com os dados observados nos espectros DEPT 90° e 135° (E-35b) e HETCOR (E-36).

O espectro UV (E-37) semelhante ao da flavana 39 mostrou uma banda de absorção intensa a 257 nm referente ao sistema benzoíla.

No espectro IV (E-38) aparecem as absorções a 1628, 1484, 701 cm^{-1} (C=C), 1251, 1159, 1118, 1054 cm^{-1} (C-O).

Os principais sinais observados no espectro de massas (E-39) correspondem ao ion molecular $M^+=370$ (7%), o pico base $m/z=236$ (100%) referente a clivagem RDA do anel C e os fragmentos $m/z=307$ (76%) e $m/z=337$ (93%) ambos totalmente aromáticos e gerados conforme o caminho de fragmentação proposto no Esquema 6.

Resultados e Discussão



Esquema 6 - Fragmentação proposta para 40.

β-Hidroxichalconas

A análise dos dados espectroscópicos de **41** levou a estrutura de uma chalcona β-oxigenada. No espectro de RMN ¹H (Tabela 29, pág. 102; E-40), os dois multipletes em campo baixo, correspondendo a integração de cinco hidrogênios, podem ser atribuídos a um anel A não substituído; enquanto os dois dubletes centrados a 7,53 e 6,80 ppm (J=2,2 Hz), característicos de um anel furano e os sinais de três metoxilas de caráter aromático podem ser atribuídos a um anel B totalmente substituído. Restam para compor a estrutura os sinais correspondentes aos hidrogênios da cadeia central, sendo um singlete a 5,40 ppm, que pode ser atribuído a um hidrogênio ligado ao carbono α a duas carbonilas e os sinais correspondentes a um grupo dimetilalila [-C(CH₃)₂CH=CH₂]. As interações observadas no experimento de diferença de efeito NOE (Tabela 30) estão concordantes com a estrutura proposta de um dibenzoilmetano contendo um grupo dimetilalila ligado a C-8.

Tabela 30 - Principais efeitos NOE observados para 41.

Irradiação (δ ppm)	Sinal com aumento de intensidade (δ ppm) [%]
H-8 (5,40)	H-2 e H-6 (7,92-7,89) [11] H-2'' (6,14) [2] Me (1,28 e 1,26) [4]
H-2'' (7,53)	H-3'' (6,80) [2] H-8 (5,40) [1]
H-3'' (6,80)	H-2'' (7,53) [4] OMe (3,79) [7]
H-2''' (6,14)	H-3''' (4,95-4,90) [4] Me (1,28-1,26) [3]
H-3''' (4,95-4,90)	Me (1,28-1,26) [3] H-2''' (6,14) [3]
OMe (3,79-3,78)	H-3'' (6,80) [1]
Me (1,28-1,26)	H-8 (5,40) [1] H-2''' (6,14) [1] H-3''' (4,95-4,90) [1]

A análise do espectro de RMN ^{13}C (Tabela 31, pág. 103; E-41a), forneceu mais informações que são coerentes com a estrutura proposta para 41, principalmente em relação aos sinais de baixa intensidade de duas carbonilas a 196,4 e 194,8 ppm^{7,31} e o carbono metínico a 68,1 ppm, que pode se encontrar deslocado para campo mais alto por estar sob a proteção do anel A (abaixo ou acima do plano do anel). A não coplanaridade dos anéis poderia ser ocasionada pelo grupo alquil volumoso ligado a C-8 (C α as duas carbonilas).

O fato de a forma enólica 45 (Figura 12) não ser observada, pode se atribuído a um deslocamento do equilíbrio para a esquerda, favorecendo a forma dicarbonílica devido ao grande impedimento estérico causado pelo grupo dimetilalila, ligado a C-8.

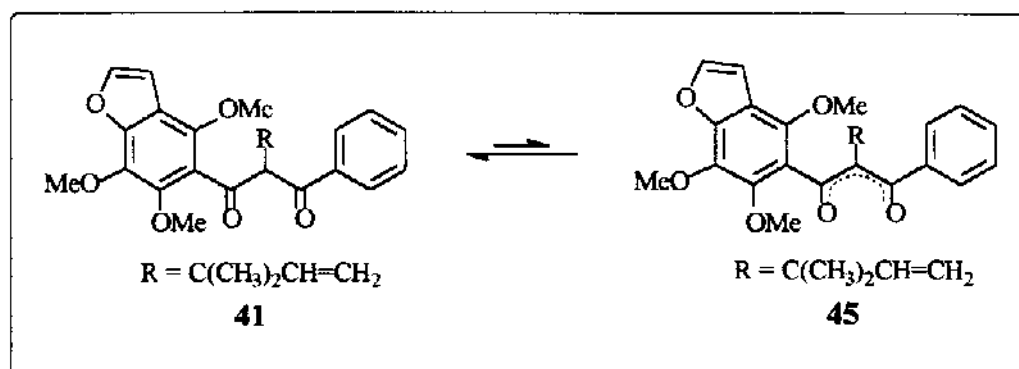


Figura 12 - Equilíbrio ceto-enólico para 41.

As informações obtidas pelo espectro DEPT 90° e 135° (E-41b) também auxiliaram na determinação da estrutura de 41. Os carbonos metínicos a 128,6 (2C), 128,3 (2C) e 132,5 ppm (1C) possuem os deslocamentos característicos para compor o anel A; enquanto os carbonos metínicos a 144,5 e 105,2 ppm são atribuídos a um anel furano. Resta o sinal correspondente a outro carbono metínico a 68,1 ppm, que foi atribuído a C-8.

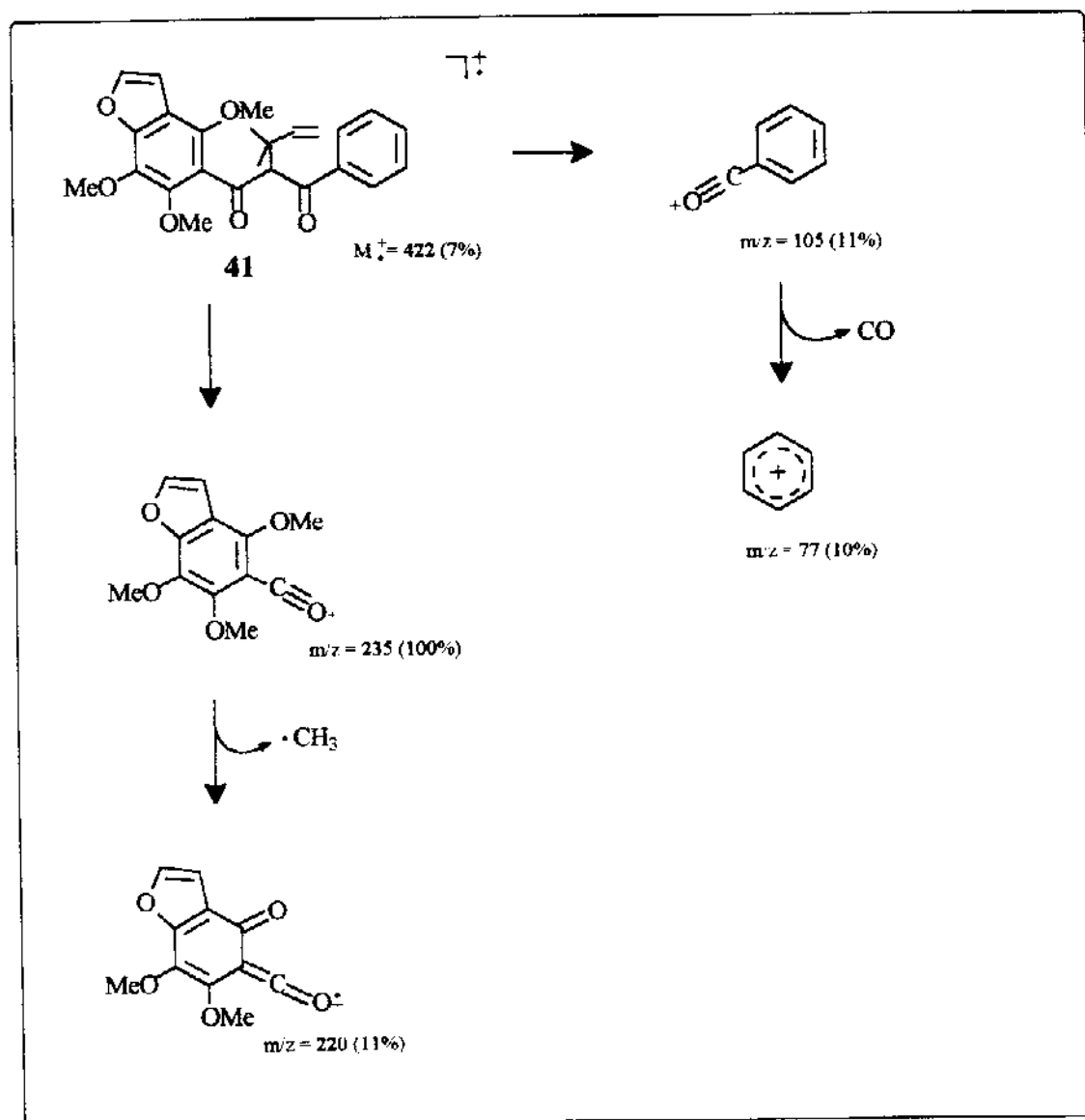
A análise do espectro UV (E-42) mostrou apenas uma banda com absorção a 247 nm que está associada ao sistema benzóila. A ausência da banda referente ao sistema cinamoila é um indicativo da inexistência de conjugação entre os anéis e novamente sugere que no caso de existir um equilíbrio ceto-enólico este esteja largamente deslocado para a forma ceto (dicarbonílica).

Para confirmar a existência (ou não) da forma enólica a substância 41 foi submetida a metilação com excesso de diazometano.³² A reação acompanhada por CCD indicou que não ocorreu a formação do composto metilado correspondente a forma enólica 45. Isto também serviu para corroborar a existência somente da substância 41 na forma dicarbonílica.

O espectro IV (E-43) mostrou absorções a 1709 cm^{-1} (C=O), 1478, 1347, 735 cm^{-1} (C=C) e 1265, 1067 cm^{-1} (C-O).

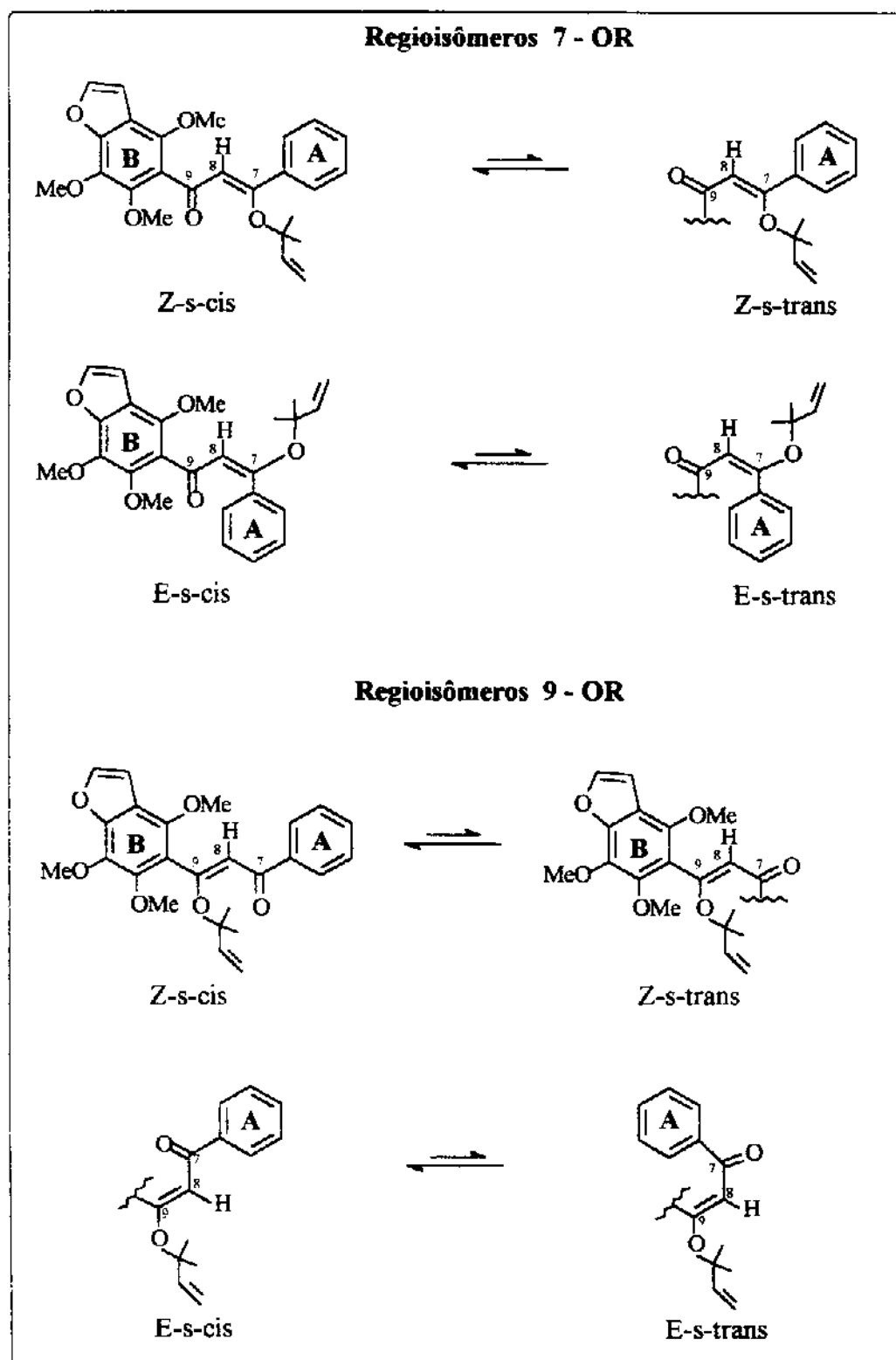
Resultados e Discussão

O espectro de massas (E-44) mostrou o ion molecular esperado M^+ a $m/z=422$ (7%), o pico base a $m/z=235$ (100%) e outros picos significativos a $m/z=220$ (11%), $m/z=105$ (11%) e $m/z=77$ (10%), os quais foram consistentes com a estrutura proposta para 41. A proposta de fragmentação está apresentada abaixo no Esquema 7.



Esquema 7 - Fragmentação proposta para 41.

A análise da substância **42** foi feita em comparação com todos os dados espectroscópicos de **41**. Os principais sinais observados no espectro de RMN ^1H (Tabela 32, pág. 112; E-45) em relação aos anéis A e B foram muito semelhantes. Observamos os dois multipletos referentes aos cinco hidrogênios aromáticos do anel A não substituído, os dois dubletos que correspondem ao anel furano e os sinais das três metoxilas aromáticas que podem ser atribuídas ao anel B. Os outros sinais observados que também foram semelhantes aos de **41**, correspondem ao grupo dimetilalila. O sinal do hidrogênio metínico atribuído a C-8 está mais desprotegido, o que nos levou a propor que se tratava do enoléter correspondente. Para tanto, além dos possíveis regioisômeros 7-OR e 9-OR consideramos também os respectivos isômeros configuracionais Z e E (Quadro 6).



Quadro 6 - Regioisômeros propostos para 42.

Resultados e Discussão

Através do experimento de diferença de efeito NOE (Tabela 33) sugerimos que se trata do regioisômero 9-OR, pois não observamos efeito NOE entre os hidrogênios do anel A e os do grupo dimetilalila. Por outro lado o grande efeito NOE observado pela irradiação de H-8 somente sobre os hidrogênios H-2 e H-6 descarta o isômero configuracional E.

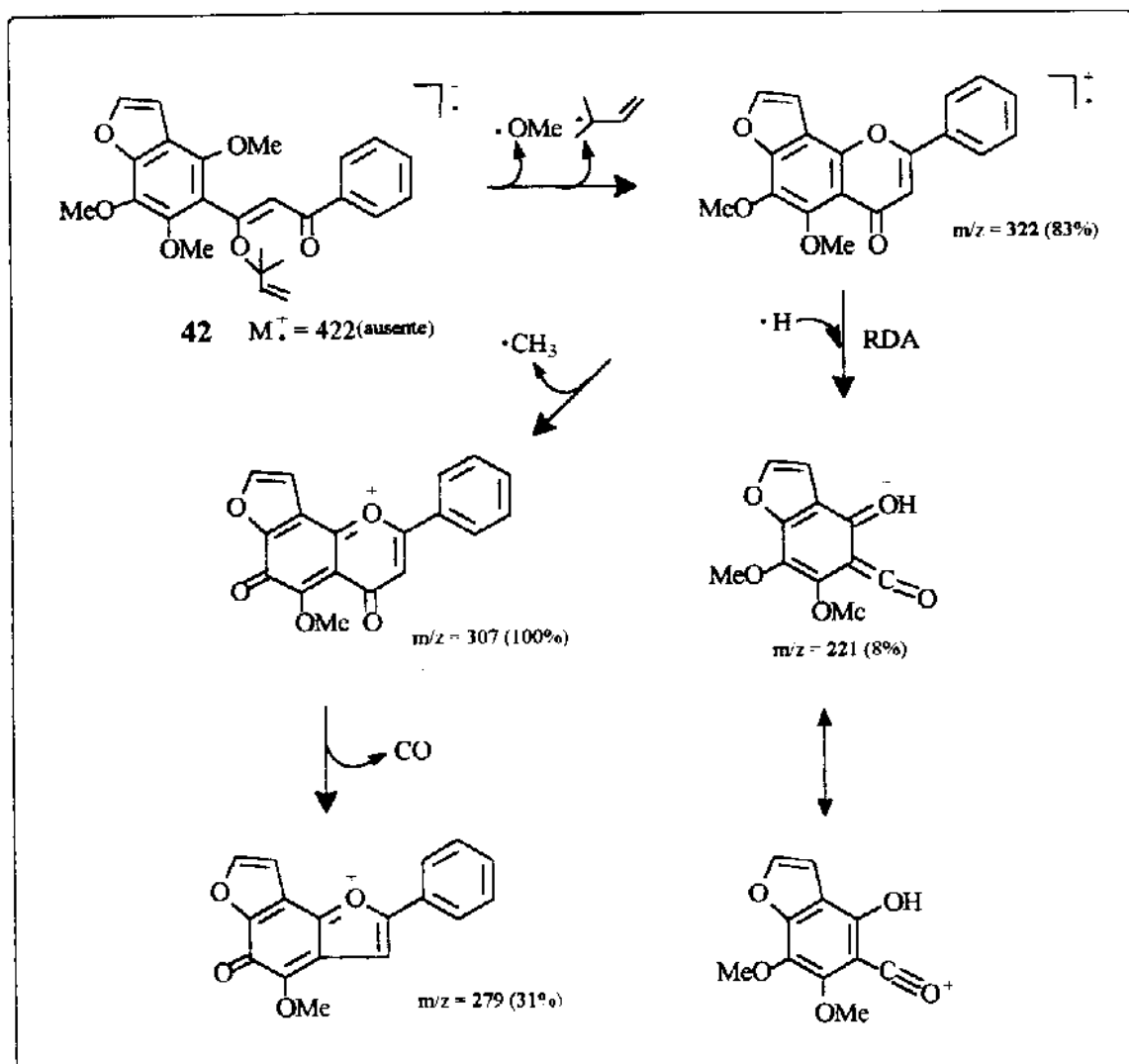
Tabela 33 - Principais efeitos NOE observados para 42.

Irradiação (δ ppm)	Sinal com aumento de intensidade (δ ppm) [%]
H-8 (6,74)	H-2 e H-6 (8,00 - 7,97) [21]
H-2" (7,66)	H-3" (7,05) [5]
H-3" (7,05)	H-2" (7,66) [6] OMe (4,11) [3]
H-2' e H-6' (8,00 - 7,97)	H-3', H-4'e H-5' (7,57 - 7,53) [13] H-8 (6,74) [12]

No espectro de RMN ^{13}C (Tabela 34, pág. 112; E-46) não aparecem mais os sinais relativos as duas carbonilas (C-7 e C-9), mas sim dois sinais muito fracos a 191,6 e 169,1 ppm, que poderiam ser atribuídos a C-7 e C-9, respectivamente. Para o carbono olefinico C-8 é atribuído o sinal a 107,4 ppm. Os sinais dos carbonos quaternários não estão bem definidos no espectro.

Outra evidência da existência de um sistema conjugado é observada no espectro UV (E-47) onde aparece agora, além das bandas correspondentes ao sistema benzoíla a 272 e 214 nm, uma banda a 341 nm que se refere ao sistema cinamoíla.

No espectro de massas (E-48) o sinal correspondente ao íon molecular M^+ não foi observado. O pico base aparece a $m/z=307$ (100%) (Esquema 8).



Esquema 8 - Fragmentação proposta para 42.

Flavona

Os espectros de IV e UV da substância 43 sugeriram a estrutura de uma flavona. No espectro IV (E-52) é observada uma banda intensa a 1641 cm^{-1} indicativo da presença do grupo carbonila no sistema e nos espectro UV (E-51) foram observadas as bandas de absorção referentes ao sistema benzoila (270 nm) e ao sistema cinamoila

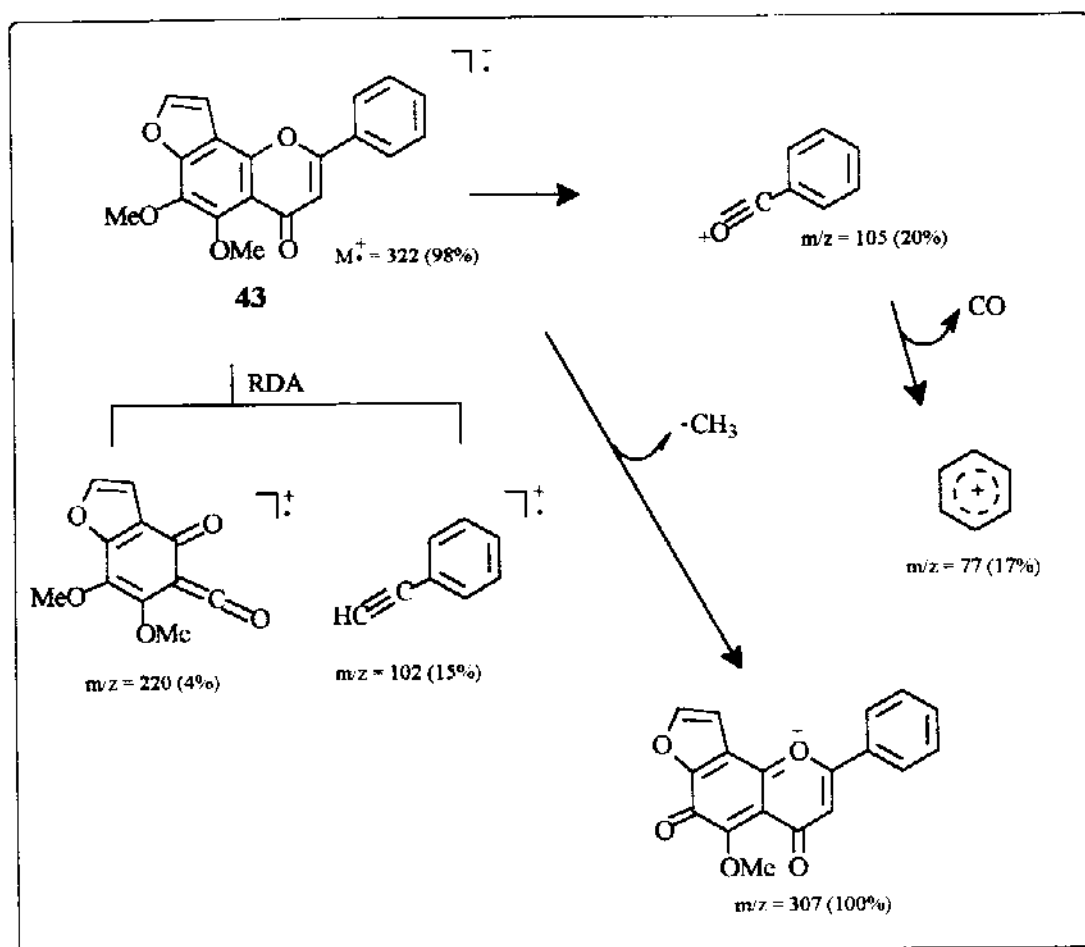
Resultados e Discussão

(350 nm), indicando claramente a existência da conjugação entre os anéis A e B.

O singlete a 6,74 ppm no espectro de RMN ^1H (Tabela 35, pág. 110; E-49) apresenta o deslocamento característico do hidrogênio H-3 de flavonas¹⁷ e confirma o esqueleto proposto para 43. Para o anel A são atribuídos os sinais de duas metoxilas aromáticas a 4,11 e 4,27 ppm e os dois dubletes dos hidrogênios do anel furano a 7,66 e 7,06 ppm ($J=2,2$ Hz). Para o anel B são atribuídos os dois multipletes a 8,01-7,99 ppm (H-2' e H-6') e a 7,56-7,54 ppm (H-3', H-4' e H-5').

No espectro de RMN ^{13}C (Tabela 36, pág. 111; E-50a) os sinais dos carbonos do anel C mostraram os deslocamentos esperados para este tipo de esqueleto, onde C-2 aparece a 161,6 ppm, C-3 a 107,6 ppm e C-4 a 178,9 ppm (C=O). O espectro DEPT 90° e 135° (E-50b) também mostrou os sinais esperados.

O espectro de massas (E-53) forneceu o íon molecular M^+ a $m/z=322$ (98%). O pico base (M^+-15) a $m/z=307$ (100%) pode ser interpretado como uma evidência de um grupo metoxila ligado a C-6, uma vez que a saída do radical metila gera um íon com estrutura quinoidal totalmente conjugado. Embora não tenhamos realizado o experimento de diferença de efeito NOE, este fato nos leva a sugerir que o anel furano encontra-se angular em relação ao anel A. Outros fragmentos importantes são $m/z=220$ (4%) e $m/z=102$ (15%), que correspondem a clivagem RDA do anel C e os fragmentos $m/z=77$ (17%) e $m/z=105$ (20%), comprovando a presença de um anel B não substituído (Esquema 9).

Esquema 9 - Fragmentação proposta para **43**.

Flavonol

A substância **44** pertence a classe dos flavonóis e já foi isolada antes em espécies do gênero *Derris*.^{6,29}

Os sinais característicos para a determinação de sua estrutura por RMN 1H (Tabela 37, pág. 114; E-54) foram os dois grupos metoxila a 3,89 e 3,98 ppm ligados a C-3 e C-6, respectivamente e o singlete a 7,52 ppm atribuído ao hidrogênio aromático H-5. A fusão angular do anel 2,2-dimetilcromeno anteriormente proposta considerando-se questões biossintéticas, agora foi confirmada através

Resultados e Discussão

do experimento de diferença de efeito NOE (Tabela 38), assim também como a posição do grupo metoxila ligado a C-6.

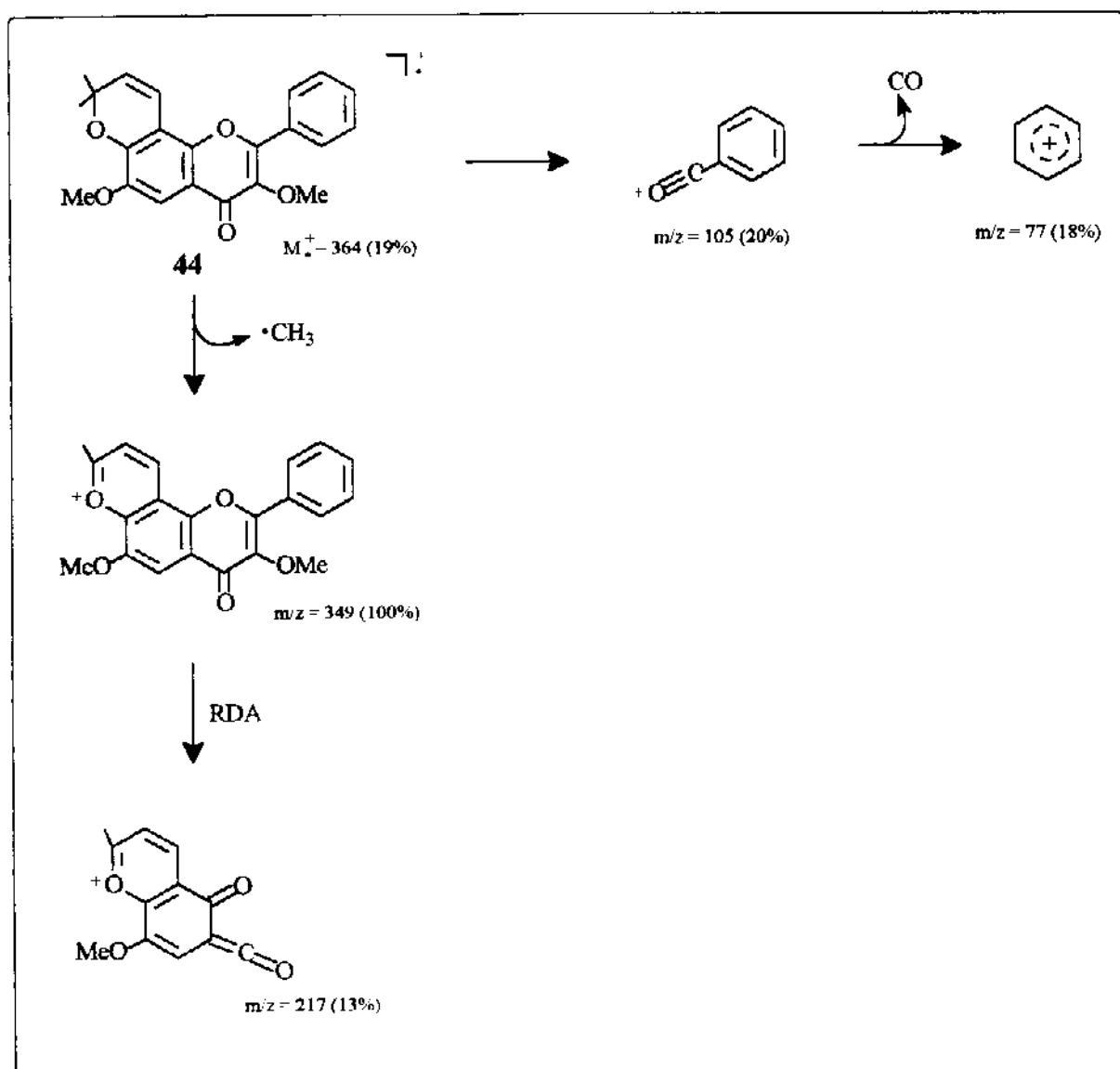
Tabela 38 - Efeitos NOE observados para **44**.

Irradiação (δ ppm)	Sinal com aumento de intensidade (δ ppm) [%]
H-5 (7,52)	OMe (3,98) [3]
OMe (3,89)	H-2' e H-6' (8,10-8,07) [2]
OMe (3,98)	H-5 (7,52) [10]
H-2' e H-6' (8,10-8,07)	H-3', H-4' e H-5' (7,55-7,49) [14] OMe (3,89) [3]
H-3'' (5,76)	H-4'' (6,89) [14]
H-4'' (6,89)	H-3'' (5,76) [9]

Os dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C (Tabela 39, pág. 114; E-55a), DEPT 90° e 135° (E-55b), UV (E-56) e IV (E-57) estão de acordo com os dados da literatura e confirmam a estrutura proposta.

O espectro de massas (E-58) forneceu o íon molecular M^+ a $m/z=364$ (19%) e o pico base a $m/z=349$ (100%), que corresponde a perda de um radical metila do núcleo 2,2-dimetilcromeno. Esta é uma fragmentação característica em flavonóides que possuem um anel 2,2-dimetilcromeno, porque origina um íon totalmente aromático (Esquema 10).

Resultados e Discussão



Esquema 10 - Fragmentação proposta para 44.

3.2 - Análise Quantitativa do Extrato Éter de Petróleo por CLAE

A CLAE é uma técnica analítica muito utilizada para a separação de flavonóides. Métodos usando CLAE em combinação com espectrometria de massas (ionização química a pressão atmosférica)³³, ou em combinação com a espectroscopia no ultravioleta (sistema "on-line")³⁴ ou ainda usando coluna de fase reversa³⁵ e padrões internos³⁶ têm sido desenvolvidos para análises qualitativa e quantitativa de flavonóides nas últimas décadas.

Análise Qualitativa

Para a análise qualitativa do extrato éter de petróleo foram feitas co-injeções dos padrões das substâncias isoladas em amostras do extrato. Através da comparação dos tempos de retenção dos picos de cada padrão pode-se identificá-los nos cromatogramas dos extratos.

Seleção da Fase Móvel

A seleção da fase móvel foi feita utilizando-se uma alíquota do extrato éter de petróleo. Nos primeiros testes, manteve-se a fase móvel constante e variou-se o λ a fim de se obter o melhor comprimento de onda para o detector (Tabela 40).

Resultados e Discussão

Tabela 40 - Seleção do comprimento de onda (λ).

λ (nm)	Fase Móvel (%)	Figura*
245	CH ₃ OH (100)	13
250	CH ₃ OH (100)	14
275	CH ₃ OH (100)	15
280	CH ₃ OH (100)	16
320	CH ₃ OH (100)	17
350	CH ₃ OH (100)	18

*As Figuras estão apresentadas no Apêndice II.

Conforme indicado na Tabela 40 foi selecionado $\lambda=275$ nm (Figura 15) por ter permitido a detecção de um maior número de compostos do extrato analisado.

Após os testes para a escolha do λ a ser utilizado foram realizados testes para a escolha do(s) solvente(s) mais(s) adequado(s) para a fase móvel (Tabela 41).

Tabela 41 - Seleção da fase móvel ($\lambda = 275$ nm).

Fase Móvel	%	Figura*
CH ₃ OH : H ₂ O	90 : 10	19
CH ₃ OH : H ₂ O	80 : 20	20
CH ₃ OH : H ₂ O	70 : 30	21
CH ₃ CN : H ₂ O	70 : 30	22
CH ₃ CN : H ₂ O	65 : 35	23
CH ₃ CN : H ₂ O	60 : 40	24

*As Figuras estão apresentadas no Apêndice II.

A fase móvel mais adequada para a separação mostrou ser CH₃OH:CH₃CN (70:30), porque foi a que apresentou a melhor resolução e menor sobreposição dos picos. Utilizou-se uma eluição isocrática e um fluxo de 0,8 ml/min.

Resultados e Discussão

A análise qualitativa do extrato clorofórmico (Figura 25, Apêndice II) mostrou-se muito semelhante a do extrato éter de petróleo, enquanto que a do extrato metanólico (Figura 26, Apêndice II) indicou a presença de substâncias bem mais polares.

Análise Quantitativa

Para a quantificação do extrato éter de petróleo utilizou-se o "Método do Padrão Externo".³⁷ Este método consiste na comparação da área da substância a ser quantificada na amostra com as áreas obtidas desta mesma substância em soluções padrões de concentrações conhecidas. Obtém-se o cromatograma correspondente a cada uma delas e em um gráfico relacionam-se as áreas obtidas com as concentrações. Este gráfico permite calcular a concentração da substância na amostra. As equações obtidas através das curvas de calibração estão apresentadas na Tabela 42.

A equação da reta utilizada para a elaboração das curvas de calibração foi:

$$y = a + bx$$

onde: y= área absoluta dos picos (fornecida pelo integrador)

x= concentração do padrão (mg amostra/ml solvente)

Resultados e Discussão

Tabela 42 - Equações da reta obtidas através das curvas de calibração dos padrões.

Padrão	Equação da Reta	Figura*
9	$y = 1,424E02 + 8,140E05x$	27
39	$y = 1,219E03 + 3,339E05x$	28
40	$y = 2,532E04 + 1,069E06x$	29
41	$y = 2,119E03 + 6,653E05x$	30
43	$y = 2,612E04 + 4,735E06x$	31
44	$y = 2,124E04 + 4,309E06x$	32

* As Figuras estão apresentadas no Apêndice II.

Utilizando as curvas de calibração e os cromatogramas obtidos calculou-se as concentrações dos padrões no extrato EP (Tabela 43).

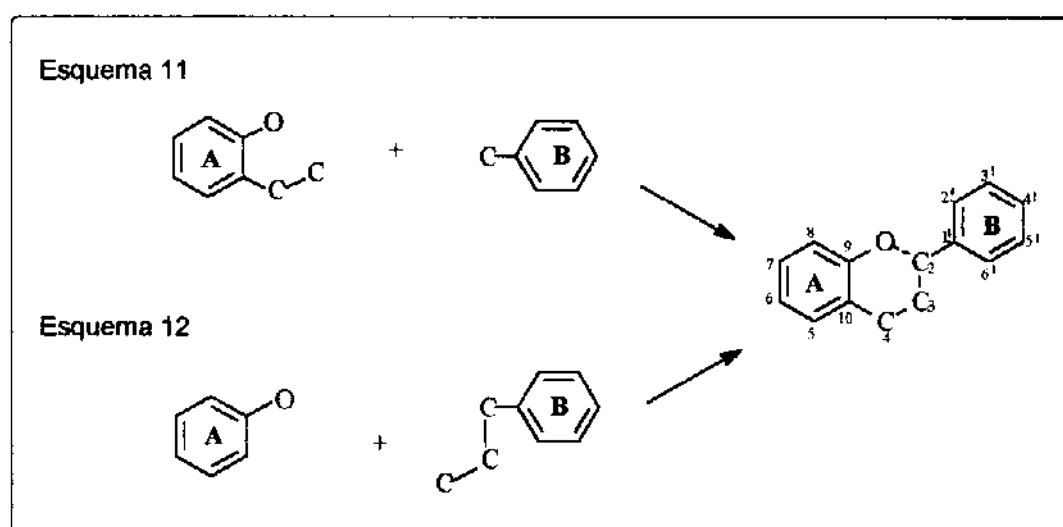
Tabela 43 - Quantificação do extrato EP por CLAE.

Padrão	mg de padrão / g de raiz
9	7,3
39	4,8
40	26,3
41	5,2
43	25,3
44	15,5

Os resultados obtidos através da quantificação do extrato éter de petróleo indicaram que a substância isolada mais abundante é a flavana 2,4-di-OMe 40.

3.3 - Síntese de Flavanas 4-Oxigenadas

A etapa chave na elaboração de uma rota sintética de flavonóides é a escolha de um método adequado para a construção do anel C. Duas rotas sintéticas podem ser utilizadas. Na primeira procede-se a condensação de uma acetofenona adequadamente substituída com um aldeído aromático (Esquema 11). Na segunda rota o procedimento utilizado é a acilação de derivados fenólicos com derivados do ácido cinâmico (Esquema 12).¹⁷

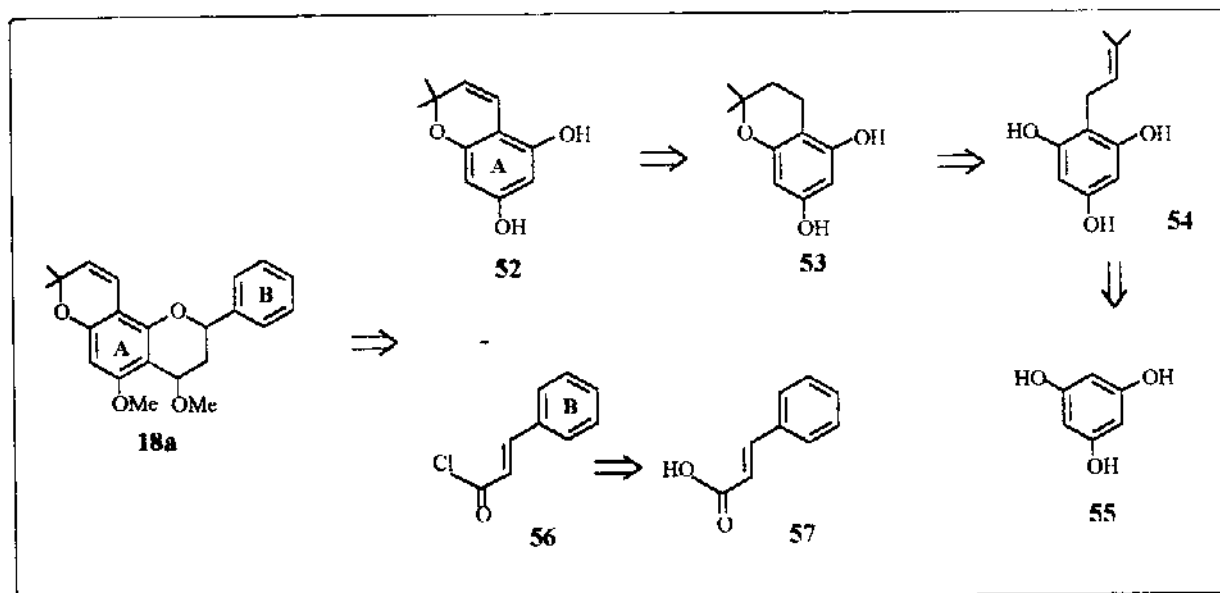
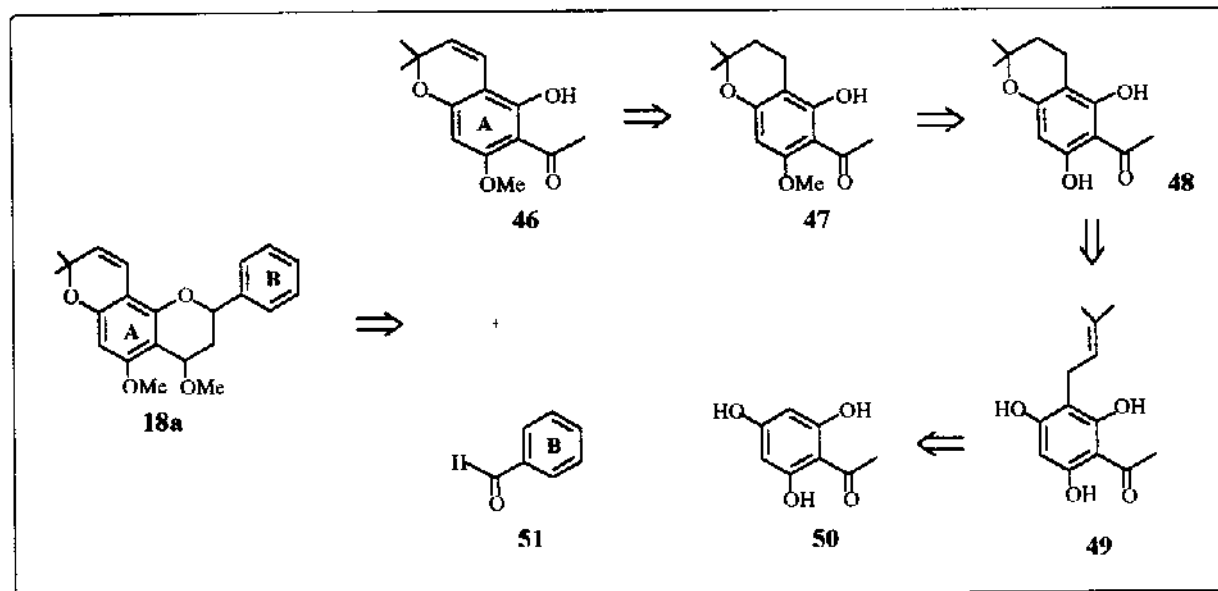


O principal cuidado na escolha da rota sintética foi a obtenção de um flavonóide cujo esqueleto possuísse um padrão de substituição semelhante aos compostos isolados de *L. muehlbergianus*, principalmente em relação ao anel C. Optamos pela síntese de 18a que é uma flavana oxigenada na posição 4 e portanto adequada a um dos objetivos do trabalho, que é o estudo da configuração relativa dos carbonos do anel C (C-2 e C-4) de flavanas oxigenadas.

A flavana 18a é um produto natural, já isolado de *Tephrosia hildebrandtii*¹⁴, cuja síntese total ainda não foi realizada.

Resultados e Discussão

Duas rotas para a síntese de **18a** foram estudadas, cujas retrossínteses estão apresentadas abaixo, nos Esquemas 13 e 14.

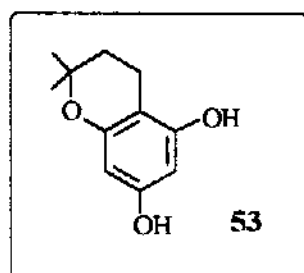


Resultados e Discussão

Optamos por seguir o Esquema 14, onde se procede a reação de acilação de Friedel-Crafts entre um derivado 2,2-dimetilcromeno do floroglucinol (52) e o cloreto de cinamoíla (56), que correspondem aos anéis A e B de 18a, respectivamente. 56, que corresponde ao anel B, foi obtido através da reação de acilação do ácido cinâmico³⁸ (Rend.15%). O espectro IV (E-59) do cloreto de cinamoíla 56, mostrou uma banda intensa referente a absorção da carbonila a 1751 cm^{-1} .

Para a construção do anel A fizemos a reação de prenilação do floroglucinol (55). Na literatura são encontrados vários métodos de prenilação usando os seguintes reagentes: brometo de 2,2-dimetilalila³⁹, 2-metil-2-cloro-but-3-ino⁴⁰, 2-metil-but-3-en-2-ol⁴¹⁻⁴³ e isopreno.⁴⁴ Devido a maior disponibilidade no laboratório, as reações foram feitas utilizando 2-metil-but-3-en-2-ol como reagente alquilante.

A reação de prenilação forneceu predominantemente o cromano 53 (17%), cujos dados de RMN ^1H estão apresentados na Tabela 44 (pág. 123) e em pequena quantidade o produto monoprenilado 54.

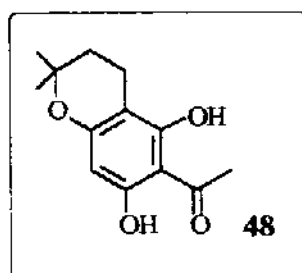


A próxima etapa consistiu na obtenção de 52. Esta reação de desidrogenação foi feita segundo os procedimentos descritos na literatura, que empregam DDQ (2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona) como o reagente mais adequado para se efetuar a desidrogenação no anel cromano.^{44,45} Devido ao baixo rendimento da reação tentamos fazer a próxima etapa da síntese, que é a acilação de Friedel-Crafts, utilizando-se como reagente o cromano 53 ao invés do cromeno 52. Observou-se a decomposição da maior parte do reagente e não foi possível se verificar a formação da chalcona desejada.

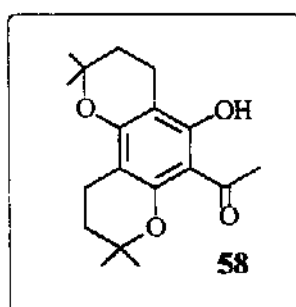
Resultados e Discussão

Devido as dificuldades encontradas, mudamos a rota e tentamos a síntese de **18a** seguindo a proposta sintética apresentada no Esquema 13.

A reação de prenilação da floroacetofenona (**50**) na primeira tentativa forneceu pequena quantidade do cromano **48** (dados de RMN ^1H na Tabela 45, pág. 126) e grande parte do material de partida foi recuperada.



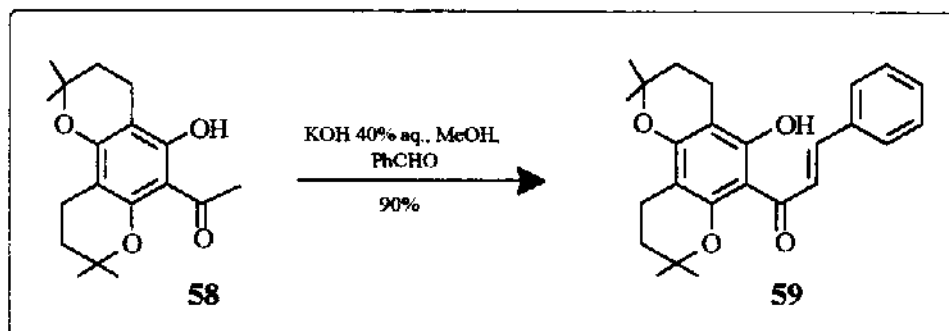
Na segunda tentativa, utilizamos a mesma relação molar usada na primeira reação (1:1; floroacetofenona: 2-metil-but-3-en-2-ol), mas o tempo de reação foi aumentado de 24 para 48 horas. Novamente, o rendimento do produto **48** foi muito baixo e houve a formação de um produto majoritário (17%), cuja análise por RMN ^1H (Tabela 46, pág. 127) indicou a estrutura do dicromano **58**, mostrado abaixo.



Foram feitas várias tentativas de desidrogenação com DDQ, mas obtivemos apenas a formação de um anel cromeno. Quando utilizamos excesso de DDQ, para garantir a formação dos dois anéis cromenos, houve a decomposição de **58**.

Resultados e Discussão

O dicromano **58** ao ser submetido a reação de condensação com benzaldeído em meio básico^{42,46} forneceu a chalcona **59** (90%), com um sistema benzodipirano angular, como mostrado abaixo no Esquema 15.



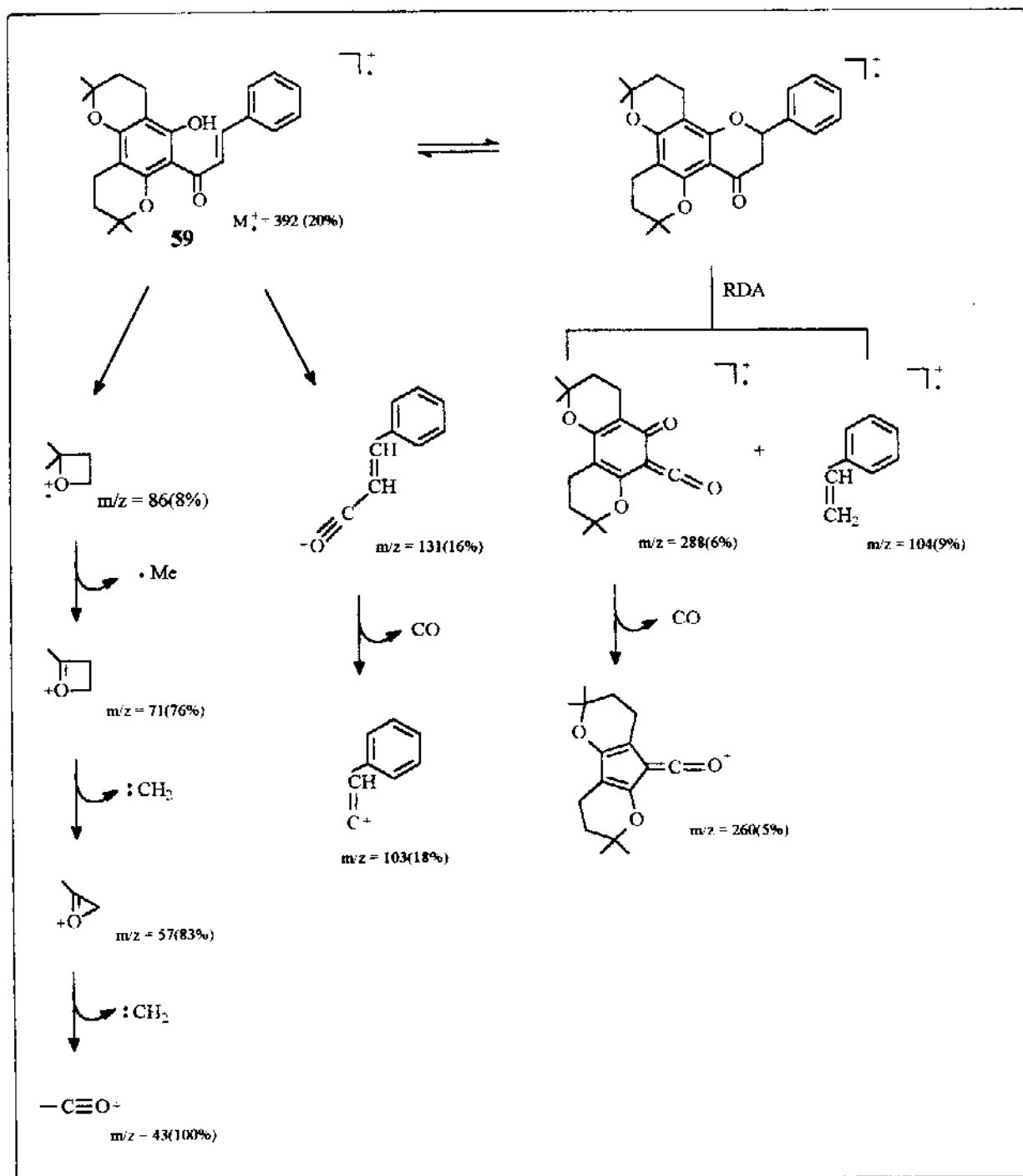
Esquema 15 - Reação de condensação do dicromano **58**.

O espectro no IV (E-62) de **59** mostrou uma absorção intensa a 1615 cm^{-1} relativa ao grupo carbonila e a 3420 cm^{-1} relativa ao grupo hidroxila.

No espectro de RMN ^1H (Tabela 47, pág. 128; E-60) observamos um par de dubletes atribuídos aos prótons *trans* olefínicos α e β da chalcona a 7,72 e 8,09 ppm ($J=15,7 \text{ Hz}$), respectivamente. A análise do espectro de RMN ^{13}C (Tabela 48, pág. 129; E-61a) e DEPT 90° e 135° (E-61b), também mostrou sinais que confirmam a estrutura de **59**.

No espectro de massas (E-63) o íon molecular aparece a $M^+ = 392$ (20%) e o pico base a $m/z=43$ (100%) (Esquema 16).

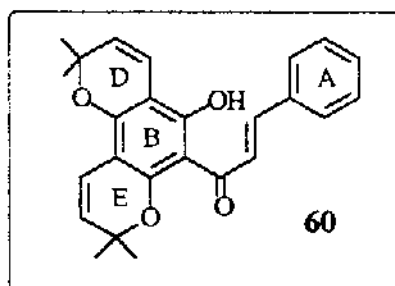
Resultados e Discussão



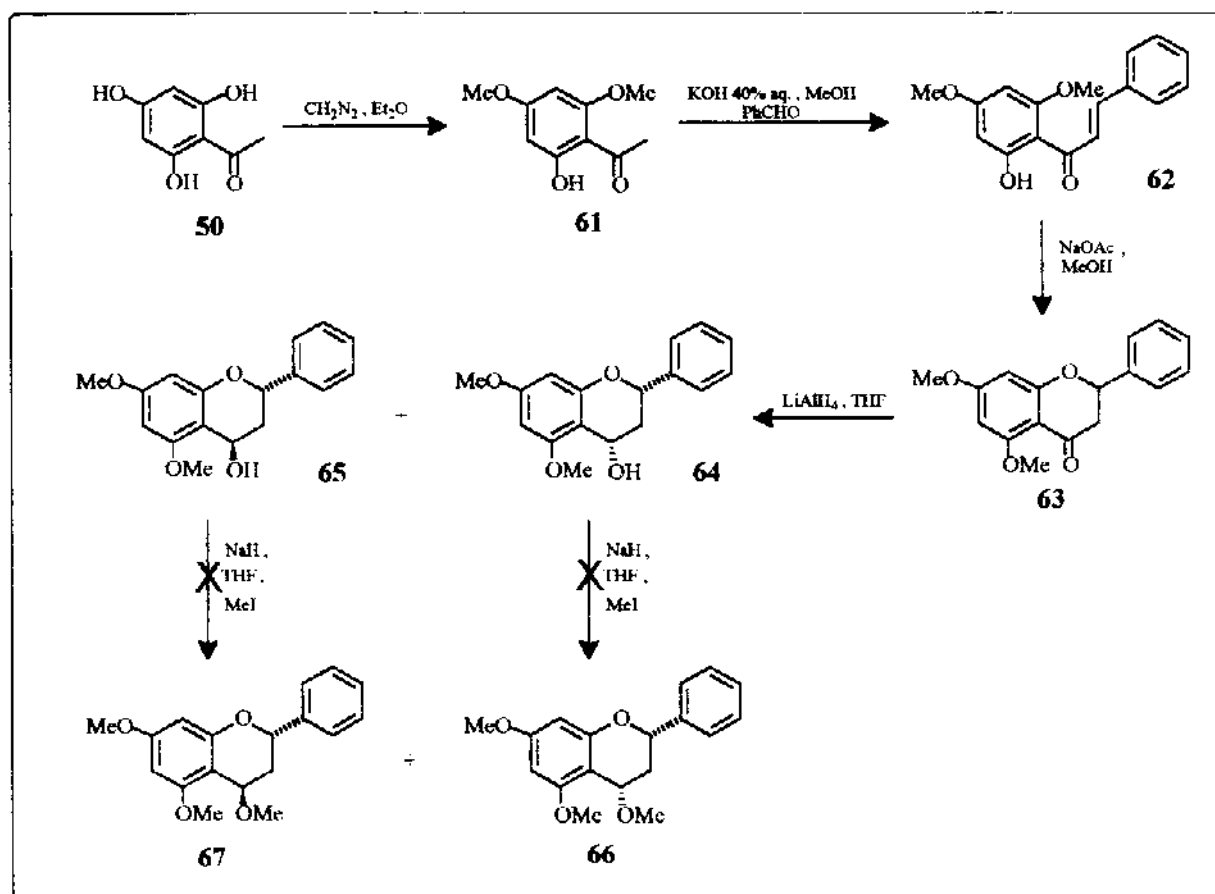
Esquema 16 - Fragmentação proposta para 59.

A 2'-hidroxichalcona 59 já foi obtida antes, através da hidrogenação catalítica de uma chalcona natural (60), encontrada em *Flemingia fruticulosa*.⁴⁷

Resultados e Discussão



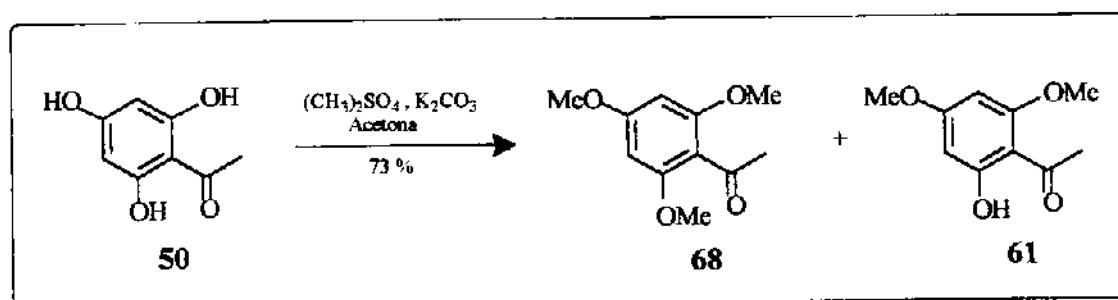
Não realizamos a síntese da flavanona correspondente a chalcona **59** já que a mesma apresentaria sobreposição nos sinais dos hidrogênios metilênicos dos anéis C, D e E, dificultando desse modo a atribuição dos hidrogênios do anel C. Optamos então pela síntese de um modelo mais simples, como mostra o Esquema 17.



Esquema 17 - Proposta retrossintética.

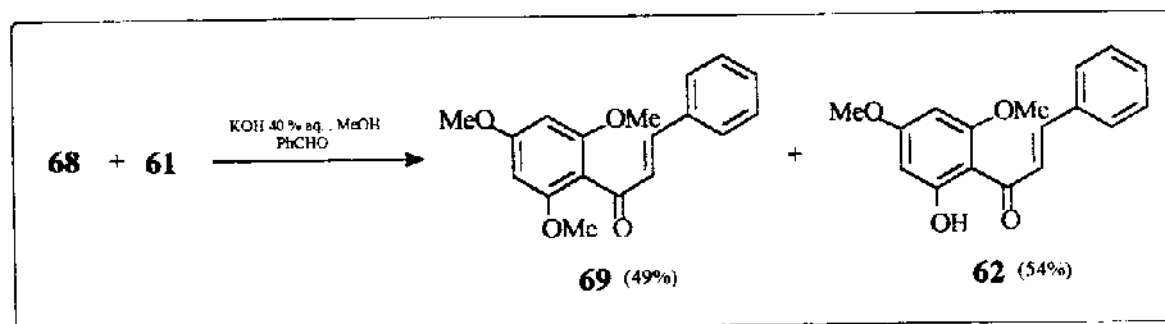
Resultados e Discussão

A primeira etapa da síntese foi a reação de metilação, tendo-se o cuidado na escolha do reagente a ser utilizado, já que era necessário que uma das hidroxilas permanecesse na forma "livre". O uso de $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ (Sulfato de dimetila)^{41,44} mostrou ser este reagente alquilante muito drástico, uma vez que obtivemos o composto trimetoxilado em maior proporção que o composto dimetoxilado, numa relação de 6:1, respectivamente (Rendimento da mistura 73%) (Esquema 18).



Esquema 18 - Metilação da floroacetofenona **50** com sulfato de dimetila.

A mistura dos dois produtos (**68** e **61**) foi submetida a reação de condensação com benzaldeído e forneceu a 2',4',6'-trimetoxichalcona **69** (49%) e a chalcona **62** (54%) (Esquema 19).

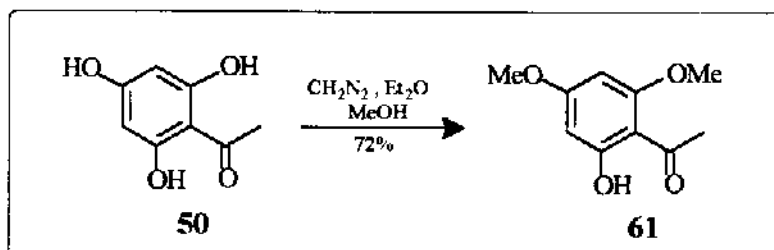


Esquema 19 - Condensação de **68** e **61** com benzaldeído.

Os dados de RMN ^1H (Tabela 49, pág. 131; E-64), RMN ^{13}C (Tabela 50, pág. 131; E-65a), DEPT 90° e 135° (E-65b), UV (E-66) e IV (E-67) confirmam a estrutura da chalcona **69**.

Resultados e Discussão

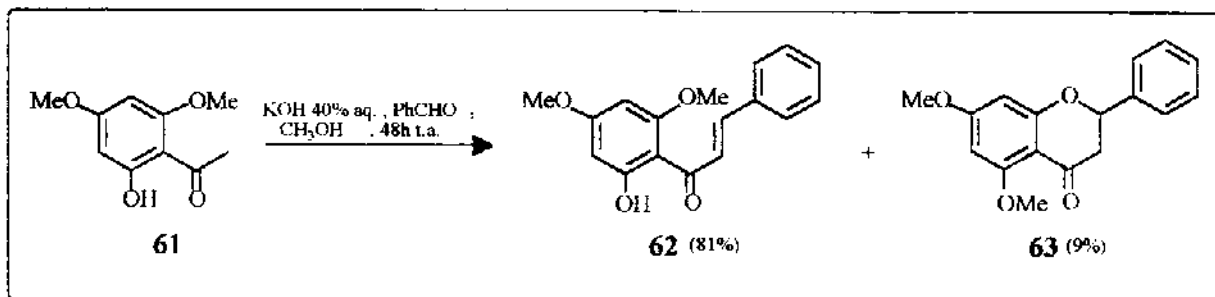
A floroacetofenona (**50**) foi então submetida a reação de metilação com diazometano³², onde obtivemos somente o composto dimetoxilado (**61**) com um rendimento de 72% (Esquema 20).



Esquema 20 - Metilação da floroacetofenona **50** com diazometano.

A análise por RMN ^1H (Tabela 51, pág. 132) mostrou os sinais esperados para as duas metoxilas a 3,70 ppm e a hidroxila quelatogênica a 14,20 ppm.

Na etapa seguinte o composto dimetoxilado (**61**), foi submetido a reação de condensação com benzaldeído em meio básico^{42,46}, formando a 2'-hidroxichalcona **62** (81%) e a flavanona correspondente **63** (9%), como demonstrado no Esquema 21.



Esquema 21 - Reação de condensação de **61**.

Na análise por RMN ^1H (Tabela 52, pág. 134; E-68) observamos os dois dubletos a 7,79 e 7,92 ppm ($J=15,7$ e $15,6$ Hz), correspondentes aos hidrogênios α e β , respectivamente, da chalcona **62**.

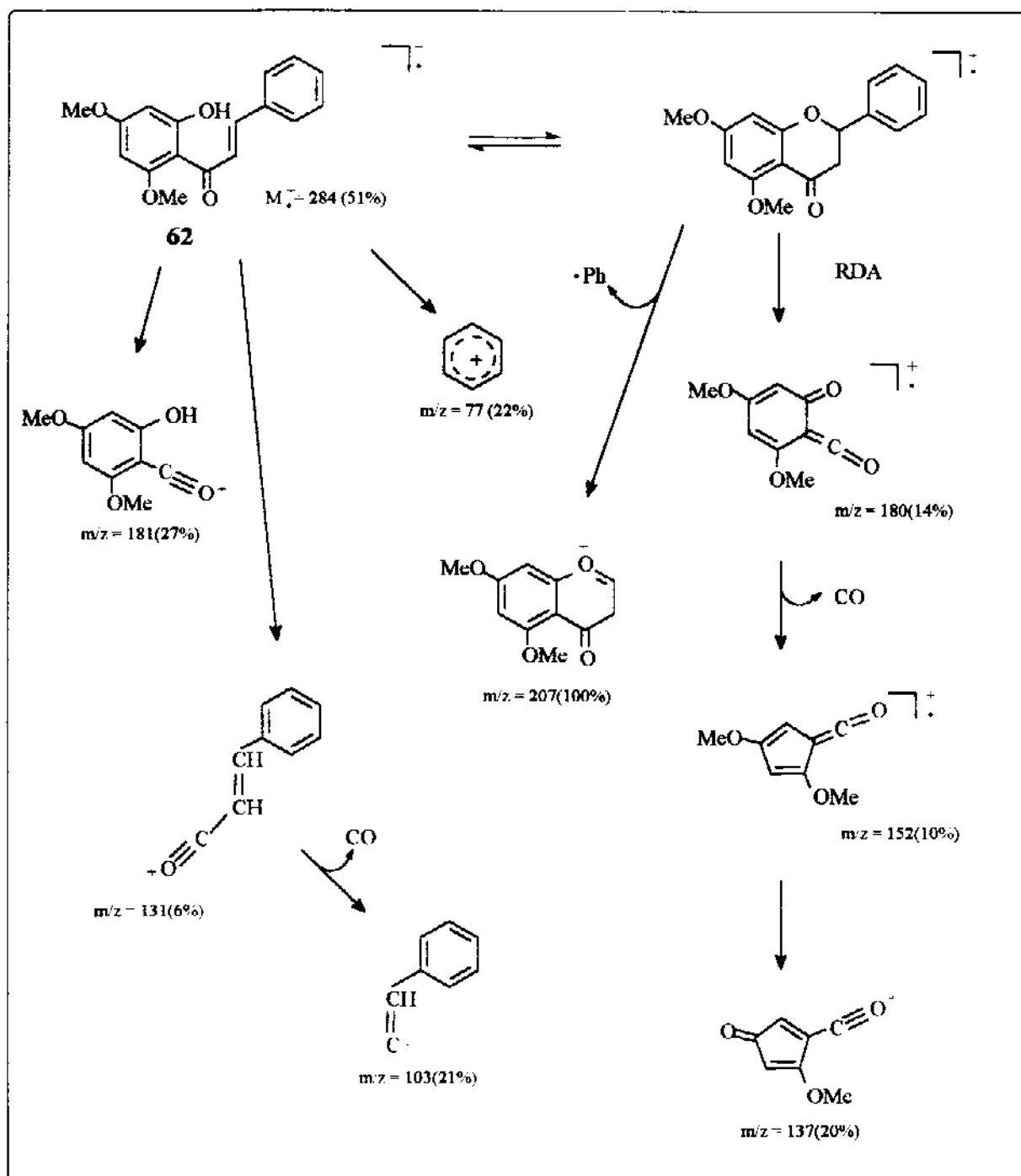
Resultados e Discussão

No espectro RMN ^{13}C (Tabela 53, pág. 134; E-69a) observamos os sinais dos carbonos α e β a 127,8 e 142,6 ppm, respectivamente e o sinal da carbonila a 193,0 ppm. Estes deslocamentos, característicos de um esqueleto de uma chalcona, estão de acordo com os dados experimentais encontrados na literatura.⁴⁸ O espectro DEPT 90° e 135° (E-69b) também apresentou os sinais esperados.

No espectro UV (E-70) são observadas as bandas referentes ao sistema benzoíla a 204 nm e ao sistema cinamoíla a 339 nm.

No espectro IV (E-71) de 62 as bandas de absorção da hidroxila e da carbonila aparecem a 3429 e 1628 cm^{-1} , respectivamente.

O espectro de massas (E-72) mostrou o íon molecular a $M^+=284$ (51%) e o pico base a $m/z=207$ (100%) (Esquema 22).



Esquema 22 - Fragmentação proposta para 62.

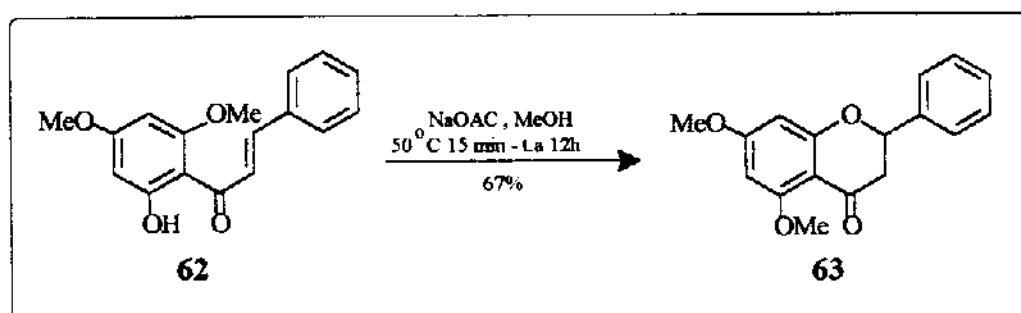
Resultados e Discussão

A 2'-hidroxi-4'-6'-dimetoxichalcona **62**, também conhecida como "Flavokawin-B", é um produto natural⁴⁸⁻⁵¹, cuja síntese já foi realizada.⁴⁸

As flavanonas, que são isoméricas com as chalconas, podem ser obtidas a partir da catálise ácida ou básica das correspondentes 2'-hidroxichalconas.

Foram feitas algumas tentativas de isomerização ácida, usando procedimentos descritos na literatura.⁵² Mesmo com algumas modificações nas condições de reação o produto **63**, na forma ciclizada, não foi obtido. Tentamos então a isomerização básica.⁵³

A isomerização da chalcona foi realizada com acetato de sódio e forneceu a flavanona **63** (67%), como mostra o Esquema 23.



Esquema 23 - Reação de isomerização de **62**.

A flavanona **63**, 5,7-di-O-metilpinocembrina, também é um produto natural.⁵⁴

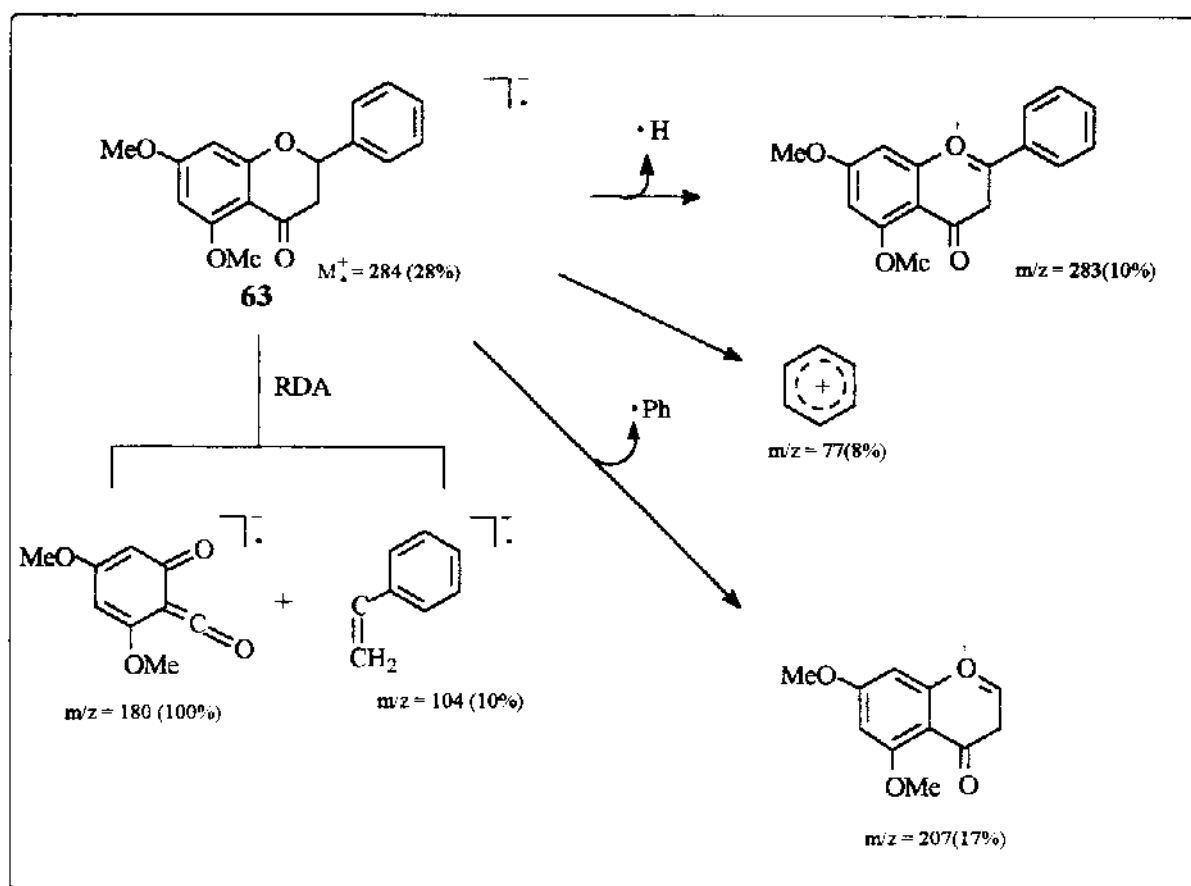
A análise dos dados de RMN ¹H (Tabela 54, pág. 136; E-73), RMN ¹³C (Tabela 55, pág. 136; E-74a) e DEPT 90° e 135° (E-74b), em comparação com os dados da literatura, confirmam a estrutura de **63**.

No espectro UV (E-75) observa-se as bandas de absorção correspondentes ao sistema benzoila a 283, 226 e 214 nm.

Resultados e Discussão

No espectro IV (E-76) as principais bandas aparecem a 1673 cm^{-1} (C=O), 1606 , 1568 , 1467 , 1422 cm^{-1} (C=C), 1260 , 1216 , 1110 cm^{-1} (C-O).

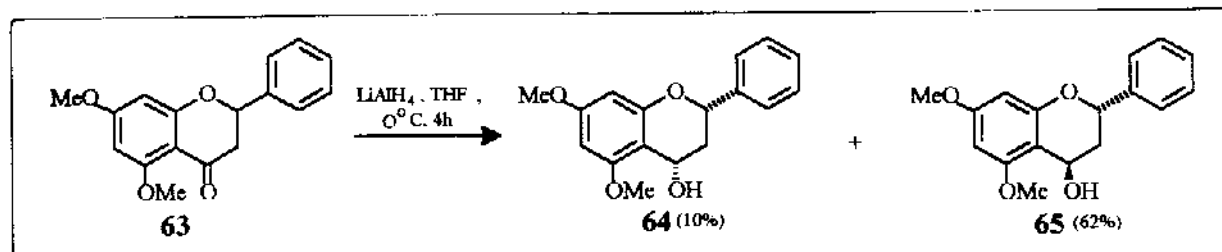
O espectro de massas (E-77) mostrou o íon molecular $M^+ = 284$ (28) e o pico base referente a clivagem RDA a $m/z = 180$ (100%) (Esquema 24).



A redução da flavanona 63 foi feita com LiAlH_4 ⁵⁵ (Esquema 25) e forneceu uma mistura de dois álcoois diastereoisoméricos: 64 (10%) e 65 (62%), correspondendo aos álcoois de configuração relativa *cis* e *trans*, respectivamente, que foram separados por CC. A atribuição dos

Resultados e Discussão

sinais foi feita com base nos dados de RMN ^1H (Tabela 57, pág. 138; E-78 para 64; e Tabela 59, pág. 139; E-80 para 65) e RMN ^{13}C (Tabela 58, pág. 138; E-79a para 64; e Tabela 60, pág. 139; E-81a para 65) e a configuração relativa entre H-2/H-4 com base nos dados do espectro de diferença de efeito NOE (Tabela 60).



Esquema 25 - Reação de redução de 63.

Tabela 60 - Efeitos NOE observados para 64 e 65.

Irradiação (δ ppm)		Sinal com aumento de intensidade(δ ppm) [%]	
64	65	64	65
H-2 (5,16)	(5,34)	H-2' e H-6' (7,50 - 7,45) [6]	7,54 - 7,52 [7]
		H-3eq (2,26) [3]	(2,86) [2]
		H-4 (5,00) [2]	(4,90) [-]
H-3ax (2,05)	(2,00)	H-3eq (2,26) [11]	(2,86) [14]
		H-4 (5,00) [2]	(4,90) [5]
H-3eq (2,26)	(2,86)	H-2 (5,16) [8]	(5,34) [6]
		H-3ax (2,05) [13]	(2,00) [14]
		H-4 (5,00) [10]	(4,90) [10]
H-4 (5,00)	(4,90)	H-3ax (2,05) [2]	(2,00) [2]
		H-3eq (2,26) [5]	(2,86) [6]

Comparando os espectros de RMN ^1H de 64 (Figura 33) e 65 (Figura 34), observamos que a feição espectral dos sinais de H-2, H-3ax, H-3eq e H-4 são muito semelhantes em ambas as estruturas, mas

Resultados e Discussão

notamos uma nítida diferença nas absorções dos sinais que correspondem aos hidrogênios H-2 e H-3eq. Para o álcool 65, os deslocamentos químicos de H-2 e H-3eq (5,34 e 2,86 ppm, respectivamente) aparecem em campo bem mais baixo, em relação aos sinais observados no álcool 64 (5,16 e 2,26 ppm, respectivamente). Provavelmente esta diferença nos deslocamentos possa ser explicada se considerarmos que no álcool 64 (configuração relativa *cis* entre H-2/H-4) a hidroxila ligada a C-4 assumia uma posição pseudo-equatorial (considerando para o anel C a conformação meia-cadeira), de tal maneira que se forme uma ligação de hidrogênio entre a hidroxila e o grupo metoxila ligado a C-5. A formação deste anel de 6 membros explicaria também a proteção desta metoxila que aparece a 3,52 ppm enquanto a metoxila equivalente de 65 aparece a 3,72 ppm.

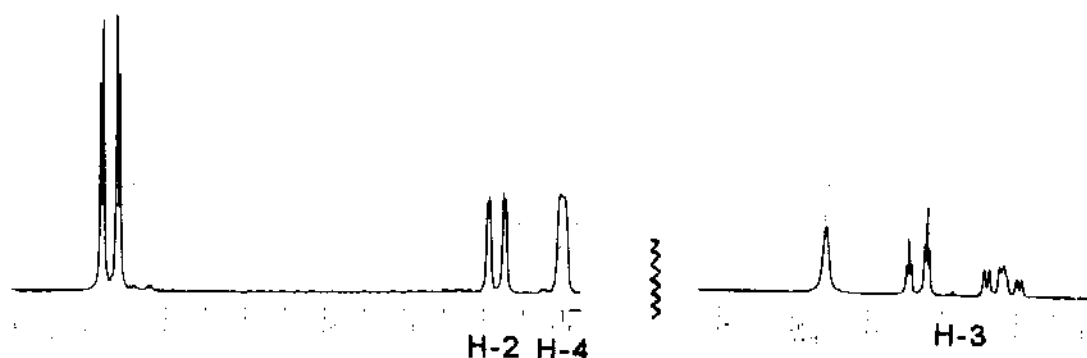


Figura 33 - Espectro de RMN ^1H de H-2, H-3 e H-4 para o álcool 64.



Figura 34 - Espectro de RMN ^1H de H-2, H-3 e H-4 para o álcool 65.

Resultados e Discussão

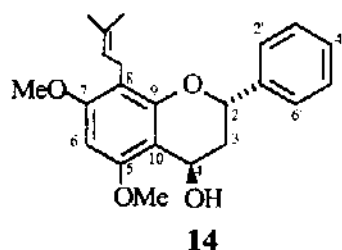
Já no álcool 65 a hidroxila ligada a C-4 ocupa uma posição pseudo-axial, ocasionando um efeito de desproteção tanto de H-2 como de H-3eq, como observado no espectro de RMN ^1H .

A orientação do grupo hidroxila em C-4 influencia fortemente os deslocamentos químicos dos carbonos C-3 e C-4. Comparando-se os sinais de absorção destes carbonos nos dois álcoois, observamos que o carbono metilênico C-3 aparece mais desprotegido (+4,9 ppm) a 37,6 ppm em 64 e a 32,7 ppm em 65. Em relação a absorção de C-4, observamos o contrário, isto é, um efeito de proteção (-4,4 ppm) para 64, onde C-4 absorve a 59,3 ppm e em 65 a 63,7 ppm. A atribuição dos carbonos foi realizada com o auxílio de dados da literatura de flavan-4-ols^{10,14,56,57} e também em comparação com os dados obtidos para os produtos da reação de hidrólise de 9 (9a e 9b, pp 28-33). Os dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C dos álcoois diastereoisoméricos 64 e 65 e dos produtos de hidrólise 9a e 9b foram estudados conjuntamente e mostraram multiplicidades (RMN ^1H) e deslocamentos químicos (RMN ^1H e RMN ^{13}C) muito semelhantes e que também estão coerentes com os dados da literatura para compostos análogos.

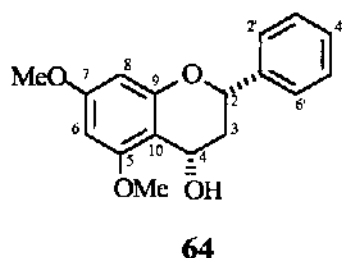
Através dos espectros DEPT 90° e 135° (E-79b para 64 e E-81b para 65) foi confirmada as atribuições de C-4 como sendo 59,3 ppm e 63,7 ppm para 64 e 65, respectivamente.

A análise dos dados espectroscópicos dos álcoois diastereoisoméricos 64 e 65 permitiu a correção da configuração relativa de um composto descrito na literatura.¹¹ Através da comparação dos dados do composto 56 com os dados de 65 e 66, observamos que a configuração relativa de 14 é *cis* e não a configuração relativa *trans* atribuída inicialmente.

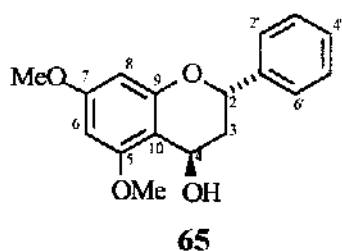
Resultados e Discussão



H-2	5,15 ppm (1H; dd; 12,0 e 3,0 Hz)
H-3ax	2,20 ppm (2H; m)
H-4	5,00 ppm (1H; dd; 4,0 e 3,0 Hz)
Anel B	7,36 ppm (5H; m)



H-2	5,16 ppm (1H; dd; 12,1 e 1,8 Hz)
H-3ax	2,05 ppm (1H; ddd; 4,0 Hz)
H-3eq	2,26 ppm (1H; dt; 14,4 e 1,9 Hz)
H-4	5,00 ppm (1H; m)
Anel B	7,50 - 7,45 ppm (2H; m) 7,43 - 7,31 ppm (3H; m)



H-2	5,34 ppm (1H; dd; 11,0 Hz)
H-3ax	2,00 ppm (1H; ddd)
H-3eq	2,86 ppm (1H; dt; 13,9 Hz)
H-4	4,90 ppm (1H; m)
Anel B	7,54 - 7,52 ppm (2H; m) 7,46 - 7,34 ppm (3H; m)

Submetemos os álcoois **64** e **65** a reação de metilação com NaH e MeI⁵⁸ na tentativa de obter os compostos 4-metoxilados correspondentes (**66** e **67**). Entretanto, não obtivemos os produtos desejados e recuperamos os reagentes de partida (**64** e **65**).

3.4 - Análise Conformacional da Flavana 9

Com a finalidade de determinar a conformação preferida do anel C da flavana 9, realizamos um estudo combinado de cálculos semi-empíricos e simulação de espectros de RMN ^1H .^{59,60}

Tendo como base as informações encontradas na literatura^{21,61} propusemos dois confôrmers preferenciais levando em conta a posição do grupo fenila (substituinte de C-2) estar na equatorial (confômero E) ou na axial (confômero A).

A geometria dos confôrmers E e A foi calculada pelo método semi-empírico AM1 (SPARTAN) usando como confômero inicial o de mais baixa energia, isto é, os cálculos foram repetidos até chegar a um valor de menor energia possível para ter certeza de que não estávamos partindo de um mínimo local.

A diferença de energia entre os dois confôrmers foi de 1,22 kcal/mol, sendo o confômero E (-96,71 kcal/mol) mais estável que o confômero A (-95,48 kcal/mol). A conformação bote (confômero B) é o estado de transição de mais alta energia, (-92,51 kcal/mol), para a conversão dos confôrmers A para E. Relacionando-se a diferença de energia entre os dois confôrmers, calculamos a distribuição de Boltzmann:

$$pE/pA = e^{-\Delta E/RT}$$

que mostrou a ocorrência predominantemente do confômero E (90-80%) em relação ao confômero A (10-20%).

A partir das geometrias minimizadas dos dois confôrmers foram realizados cálculos de energia em função de ângulos diedros variáveis (0° a 180°). A barreira rotacional de energia de 4,2 kcal/mol foi calculada sobre a ligação C-9-Oxig.-C-2-C-1' (Figuras 35 e 36).

Resultados e Discussão

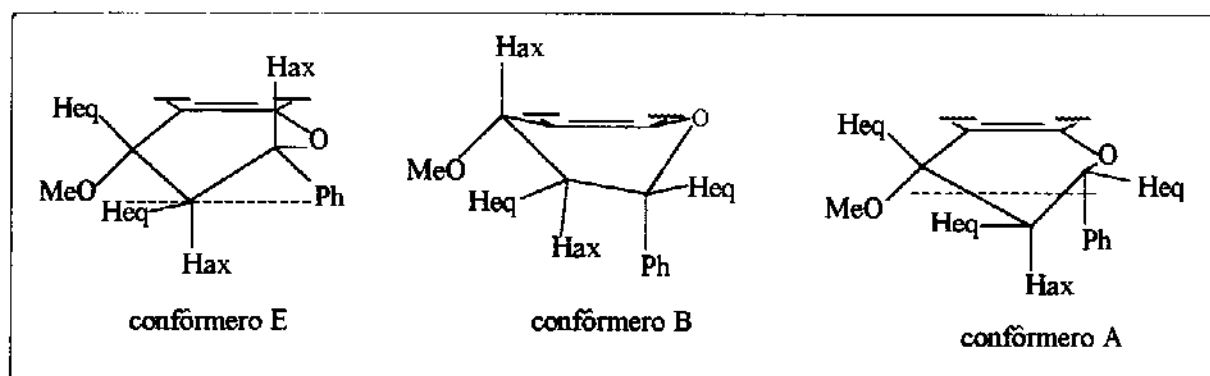


Figura 35 - Confôrmers.

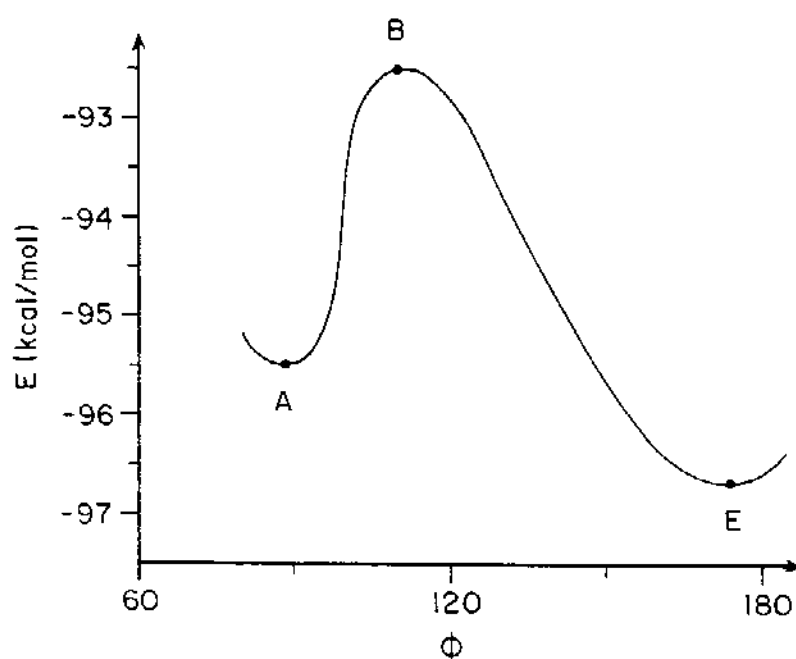


Figura 36 - Barreira rotacional calculada.

As constantes de acoplamento ${}^3J_{2,3eq}$, ${}^3J_{2,3ax}$, ${}^3J_{3eq,4}$ e ${}^3J_{3ax,4}$ (Tabela 61) foram determinadas através da equação de Karplus^{62,63}, mostrada abaixo:

$${}^3J_{HH} = A + B \cos \phi + C \cos 2\phi$$

Resultados e Discussão

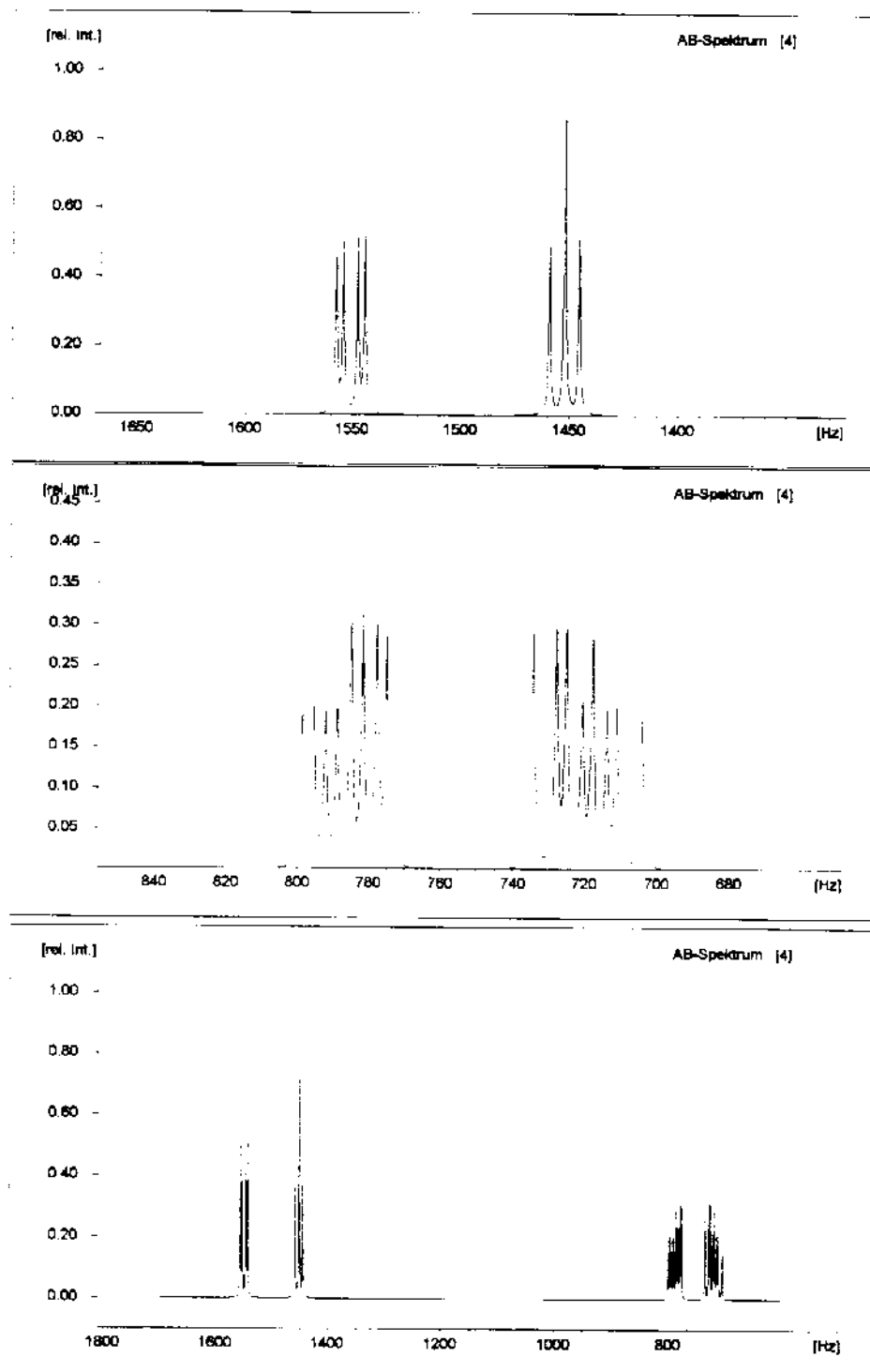
sendo que os parâmetros empíricos utilizados foram : A = 7,0 Hz, B = -1,0 Hz e C = 5,0 Hz.

Tabela 61 - Valores de $^3J_{HH}$ calculados e experimentais.

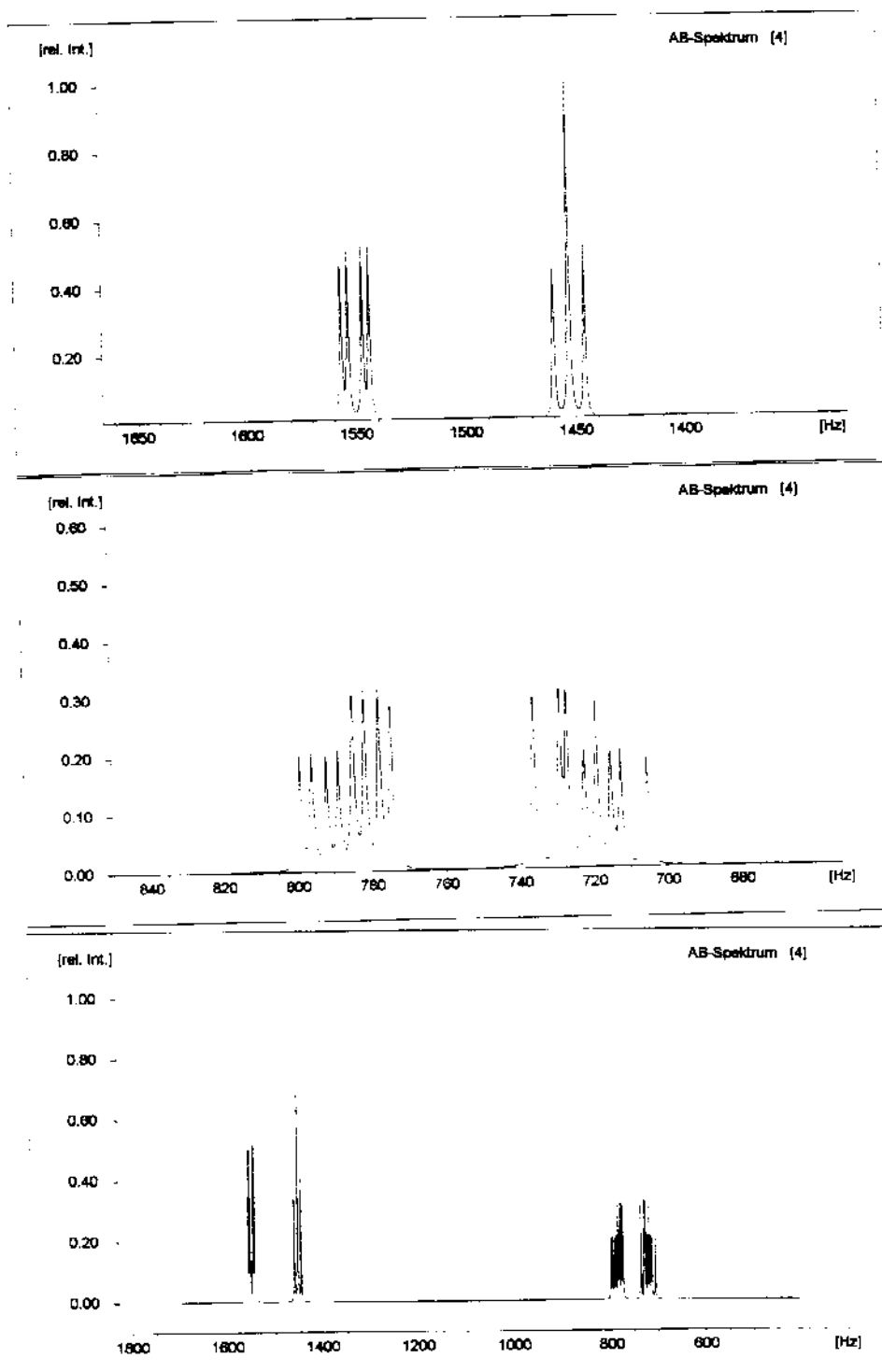
	Flavana 9 (experimental)	Confômero E (calculado)	Confômero A (calculado)
$^3J_{2,3ax}$ (Hz)	9,71	12,98	6,77
$^3J_{2,3eq}$ (Hz)	3,15	3,50	2,33
$^3J_{3ax,4}$ (Hz)	7,28	11,14	6,48
$^3J_{3eq,4}$ (Hz)	6,99	6,81	2,48

A partir dos dados obtidos foram realizados os espectros de RMN 1H simulados cujos resultados, ilustrados nas Figuras 37 e 38, mostraram uma boa concordância com os resultados experimentais.

Resultados e Discussão

Figura 37 - Espectro de RMN ^1H experimental.

Resultados e Discussão

Figura 38 - Espectro de RMN ^1H simulado a partir do experimental.

4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Lonchocarpus subglaucescens, *L. muehlbergianus* e *L. araripensis* foram agrupadas em *Lonchocarpus* sub-gênero *Punctati*.¹ As duas primeiras foram submetidas a mesma metodologia de análise em nosso grupo de pesquisa. A espécie *Lonchocarpus araripensis* já foi estudada anteriormente e agora está sendo reinvestigada em nosso laboratório seguindo a mesma metodologia.

Entre os 32 flavonóides isolados 23 são inéditos onde predominam aqueles contendo o anel A totalmente substituído pelos mesmos grupos, isto é, anel furano e duas metoxilas.

As três espécies se caracterizam pela ocorrência de flavanas apresentando funções oxigenadas em diferentes posições do anel C (Tabela 62).

Tabela 62 - Padrão de oxigenação do anel C nas flavanas isoladas de *L. araripensis*, *L. muehlbergianus* e *L. subglaucescens*.

	4-oxigenada	2,4-dioxigenada	3,4-dioxigenada
<i>L. araripensis</i>			X
<i>L. muehlbergianus</i>	X	X	
<i>L. subglaucescens</i>	X		X

Com base na proposta de Harbone¹⁵ para explicar a origem biossintética da 2-OH-flavanona isolada de *Populus nigra*⁶⁴ podemos sugerir que *L. subglaucescens* e *L. muehlbergianus* seguem preferencialmente a rota biossintética derivada da oxidação da chalcona precursora (caminho 1) uma vez que formaram em maior abundância respectivamente um derivado do dibenzoilmetano 72 e uma flavana 2,4-dioxigenada 73. No caso de *L. araripensis* a rota principal deve ser o caminho 2 pois nesta espécie predomina uma flavana 3,4-dioxigenada 75 (Figura 39).

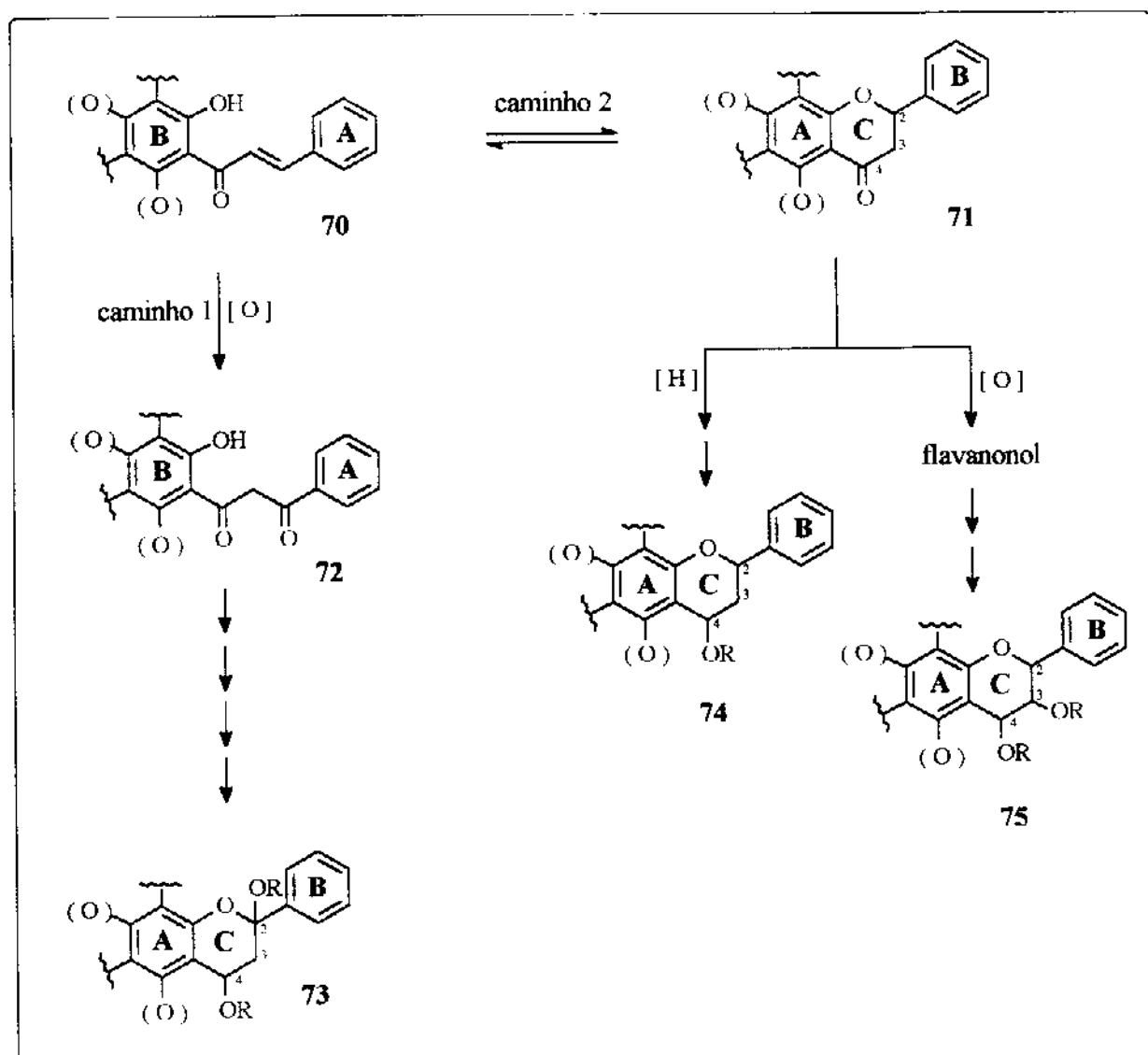


Figura 39 - Proposta biossintética para as flavanas 2,4-dioxigenadas.

Todos os flavonóides isolados de *L. muehlbergianus* possuem o anel B livre enquanto que naqueles encontrados em *L. araripensis* e *L. subglaucescens* ora o anel B é livre ora possui o grupo 3'-4'-metilenodióxido. Neste sentido *L. subglaucescens* destaca-se pelo fato de fornecer pares de flavonóides apresentando como única diferença o fato de terem o grupo 3'-4'-metilenodióxido ou não.

Conclusão

Vale ainda salientar que *L. muehlbergianus* e *L. subglaucescens* ocorrem na região de Campinas enquanto *L. araripensis* é uma espécie nativa na região nordeste do Brasil.

A análise de um dos produtos da reação de hidrólise da flavana 9 por RMN ^1H , RMN ^{13}C e experimento de diferença de efeito NOE foi importante pois possibilitou a confirmação da configuração relativa atribuída para 9 e também permitiu atribuir a de um composto descrito na literatura, 16, como sendo *trans*.

A síntese das duas flavanas 4-oxigenadas 64 e 65 de configuração relativa *cis* e *trans*, respectivamente, foi especialmente elucidativa uma vez que nos seus respectivos espectros de RMN ^1H as bandas relativas aos hidrogênios do anel C apresentaram-se muito semelhantes, mostrando que a determinação da configuração relativa não pode se limitar as constantes de acoplamento refletida na feição das bandas de absorção. Neste sentido os valores de deslocamentos químicos aliados aos dados de diferença de efeito NOE são muito mais confiáveis. Este estudo nos permitiu determinar a configuração relativa do álcool obtido da hidrólise da flavana 9 como sendo *cis* e corrigir a de uma flavana 4-oxigenada, 14, descrita na literatura.

A análise conformacional da flavana 9 indicou que os valores experimentais de $^3J_{\text{H-H}}$ obtidos estão de acordo com os cálculos semi-empíricos realizados. Não conseguimos maior exatidão nos resultados devido ao uso de uma curva de energia não adequada já que não encontramos parâmetros empíricos para este tipo de sistema. Os resultados mostraram a existência de dois confômeros de mais baixa energia (mais estáveis). No confômero E (mais estável) o grupo fenila assume uma posição equatorial e adquire uma conformação do tipo sofá na qual cinco átomos permanecem no plano do anel A e o carbono C-2 ou C-3 sai fora do plano. No confômero A o grupo fenila assume uma posição axial e adquire uma conformação do tipo meia-cadeira. Os resultados indicaram a predominância do confômero E. É importante salientar que devemos considerar também as contribuições de pequenos

Conclusão

mínimos locais intermediários (confômeros menos estáveis) que devem estar ocasionando distorções nos resultados observados. Isto está de acordo com o esperado já que os dois confômeros estão em equilíbrio dinâmico rápido com uma barreira de energia pequena de 4,2 kcal/mol.

5. PARTE EXPERIMENTAL

Métodos Gerais

▪ Os pontos de fusão foram obtidos em placas de aquecimento tipo Kofler, instalada em um microscópio modelo Thermopan (C. Reichert Optische Werke A G) e não sofreram correção.

▪ Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo 1600 (FTIR), em pastilhas de KBr (para sólidos) ou em filmes sobre cela de NaCl (para líquidos). A referência utilizada foi a absorção em 1601 cm^{-1} de um filme de poliestireno.

▪ Os espectros de absorção na região do ultravioleta foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin-Elmer, modelo Lambda 3A. Os solventes utilizados foram CHCl_3 ou CH_3OH (grau espectroscópico), cela de quartzo de 1cm e os valores das absorvidades molares (ϵ) obtidos através da seguinte fórmula:

$$m(\text{mg}) = A \times \text{Mol} \times V(\text{ml}) / \epsilon \times l(\text{cm})$$

onde: m = massa do composto em solução (mg)

V = volume total da solução (ml)

A = absorvância da solução em λ

ϵ = absorvidade molar do composto em λ

l = caminho ótico (cm)

Mol = peso molecular do composto

▪ Os valores de rotação ótica ($[\alpha]_D$) foram medidos em um polarímetro Carl Zeiss Jena Polamat A com lâmpada de mercúrio (546 nm) e posteriormente corrigidos para o sódio segundo as relações abaixo:

$$[\alpha]_{\text{Hg}} = \frac{[\alpha]_{\text{obs}}}{c \times l}$$

Parte experimental

$$[\alpha]_{Hg} = 1,175 [\alpha]_{Na}$$

$$[\alpha]_{obs.} = [\alpha]_{20^{\circ}} [1 + 0,000143 (t - 20)]$$

onde: c = concentração da amostra (mg/ml)

l = comprimento da cela (0,1 dm)

$[\alpha]_{obs.}$ = rotação ótica lida no aparelho

t = temperatura (°C)

▪ Os espectros de massas foram obtidos nos espectrômetros Varian Mat 311 por impacto eletrônico à 70 eV e HP 5970 acoplado a um cromatógrafo a gás HP 5890-II.

▪ Os espectros de RMN 1H , RMN ^{13}C , DEPT, diferença de NOE, COSY, HETCOR e COLOC foram obtidos nos espectrômetros Bruker AC-300/P e Varian-Gemini 300. Para o experimento COLOC foi utilizada uma constante de acoplamento $J=8-10$ Hz. Os solventes utilizados foram clorofórmio deuterado ($CDCl_3$) ou acetona deuterada ($(CD_3)_2CO$), usando como referência interna tetrametilsilano (TMS). Os deslocamentos químicos (δ) são indicados em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

▪ A análise qualitativa por CLAE foi realizada em um cromatógrafo Varian modelo 9010 com detector de UV ($\lambda = 275$ nm). Utilizou-se uma coluna de fase reversa Varian C18, MCH 10 μm (300 mm x 4,0 mm) e uma eluição isocrática CH_3CN/H_2O (70:30) com um fluxo de 0,8 ml/min.

▪ A análise quantitativa por CLAE foi feita em um cromatógrafo Waters modelo 600E com detector de UV (275 nm). Utilizou-se uma coluna de fase reversa Régis C18, 5 μm (25 cm x 10 mm) e como fase móvel CH_3CN 100% com um fluxo de 2,0 ml/min.

Métodos Cromatográficos

▪ As cromatografias em camada delgada (CCD) foram feitas em silicagel G e GF₂₅₄ da Merck na proporção de 1:1, sobre suporte

Parte experimental

de vidro (espessura 0,25 mm) e a detecção das substâncias foi feita sob irradiação com lâmpadas de UV (366 e 254 nm) e nebulização com uma solução de ácido acético : ácido sulfúrico : anisaldeído (100 ml : 2,0 ml : 1,0 ml), seguida de revelação por aquecimento.

- As cromatografias em camada preparativa (CCP) foram feitas em silicagel G e silicagel GF₂₅₄ da Merck na proporção de 2:1, sobre suporte de vidro (espessura de 1 mm) e os compostos foram detectados por irradiação com lâmpada ultravioleta (366 e 254 nm).

- As cromatografias em coluna relâmpago (flash) foram feitas em silicagel 60 (230 - 400 mesh) da Merck.⁶⁵

- As cromatografias em coluna (CC) foram empacotadas com silicagel 60 (35 - 70 mesh) da Merck, utilizando-se aproximadamente 50 g de sílica para 1 g de amostra analisada.

- As cromatografias em camada preparativa circular, acelerada por centrifugação (CCPC) foram feitas com o auxílio de um Cromatotron, utilizando-se placas de vidro circulares com 12 cm de diâmetro, revestidas com uma camada de silicagel PF₂₅₄ e sulfato de cálcio 10% com espessura de 2,0 mm. As cromatografias foram desenvolvidas com acetato de etila e éter de petróleo em proporções variáveis, num fluxo de 3-4 ml/min.

Reagentes e Solventes

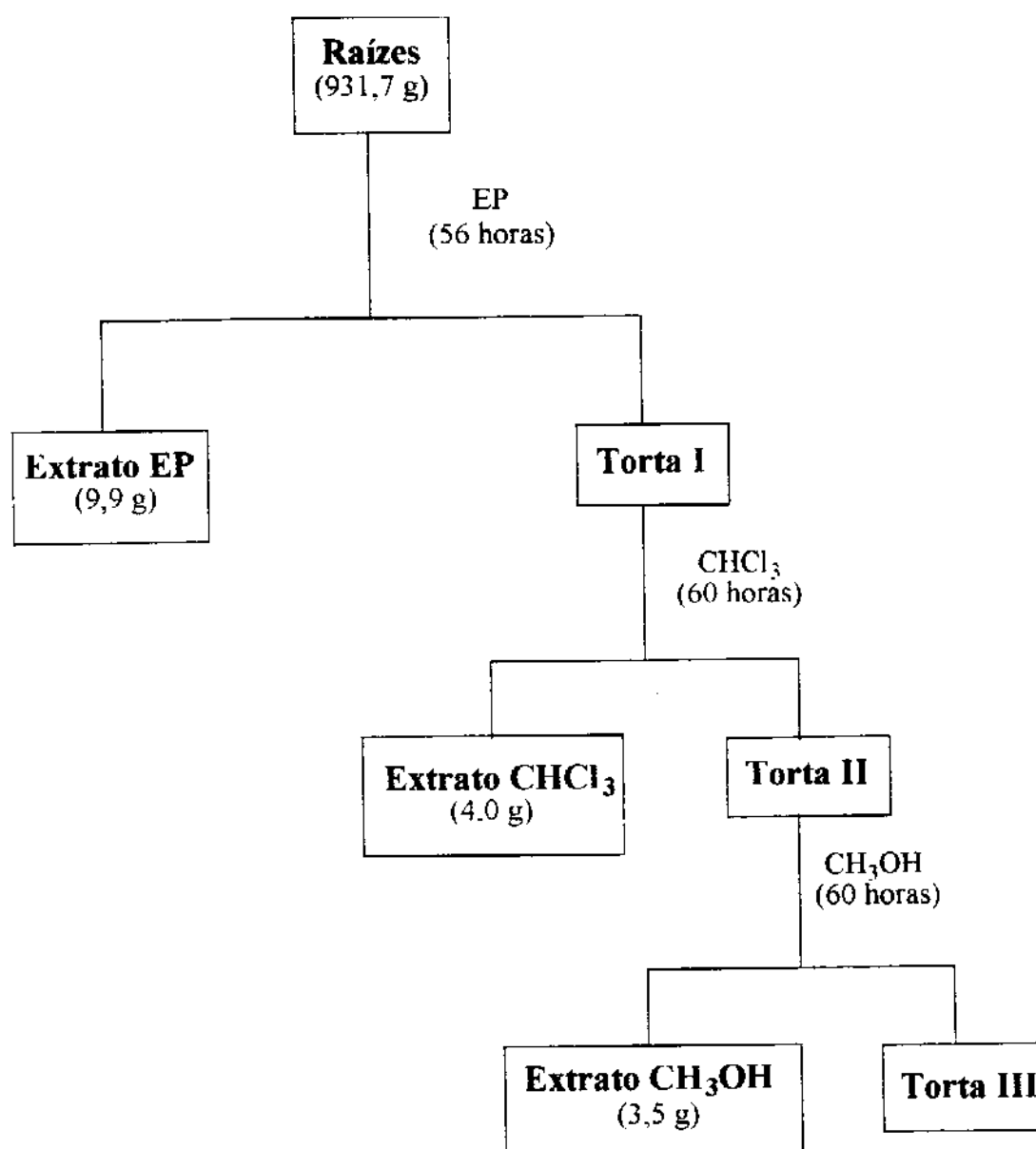
- Os reagentes e solventes foram purificados, quando necessário, segundo as técnicas descritas por Perrin e colaboradores.⁶⁶

Coleta e Tratamento das Raízes

As raízes de *Lonchocarpus muehlbergianus* foram coletadas em fevereiro de 1992 no Parque Ecológico (Unicamp), sob a orientação da Profa. Dra. Ana Maria Tozzi (Departamento de Botânica - Unicamp).

Parte experimental

As raízes foram lavadas com água, cortadas, secas ao ar livre e depois colocadas em estufa (45°) por 72 horas. Em seguida foram moídas, pesadas (931,7 g) e extraídas em extrator Soxhlet, obtendo-se então os extratos éter de petróleo (9,9 g), clorofórmico (4,0 g) e metanólico (3,5 g) (Esquema 26), após evaporação dos respectivos solventes em evaporador rotativo.



Esquema 26 - Extratos obtidos das raízes de *Lonchocarpus muehlbergianus*.

Estudo do Extrato Éter de Petróleo

Uma análise comparativa dos três extratos, por CCD, mostrou ser o extrato éter de petróleo o que continha a maior concentração de substâncias, sendo por isso o primeiro a ser estudado. Uma coluna de vidro com diâmetro 8 cm foi empacotada com 658 g de silicagel (35-70 mesh - Merck) para iniciar a análise de 9,9 g de amostra. Como eluente utilizamos inicialmente éter de petróleo e gradativamente aumentamos a polaridade com acetato de etila até 100%. Foram coletadas 230 frações de aproximadamente 200 ml cada. Estas foram posteriormente analisadas por CCD (cromatografia de camada delgada) e as frações semelhantes agrupadas (Tabela 63). A partir daí as frações foram estudadas e purificadas por CCP (cromatografia de camada preparativa) e/ou CCPC (cromatografia de camada preparativa circular, acelerada por centrifugação). A ordem de prioridade para prosseguir a análise de cada fração agrupada foi estabelecida com base na quantidade de material e menor complexidade da mistura.

Tabela 63 - Eluição utilizada e frações coletadas.

Eluente	Frações	Frações Reunidas (...)*	Massa (mg)
EP	1 - 9	1 - 15 (F-1)	53,8
EP:EtOAc 1,0%	10 - 20	16 - 19 (F-16)	151,2
EP:EtOAc 2,0%	21 - 30	20 - 27 (F-20)	74,3
EP:EtOAc 2,5%	31 - 62	28 - 33 (F-28)	241,0
EP:EtOAc 5,0%	63 - 88	34 - 38 (F-34)	50,4
EP:EtOAc 7,5%	89 - 120	39 - 46 (F-39)	72,9

Parte experimental

EP:EtOAc 10,0%	121 - 145	47 - 57 (F-47) [#]	463,3
EP:EtOAc 15,0%	146 - 153	58 - 74 (F-58)	725,1
EP:EtOAc 20,0%	154 - 165	75 - 81 (F-75)	475,4
EP:EtOAc 25,0%	166 - 183	82 - 86 (F-82)	139,7
EP:EtOAc 30,0%	184 - 189	87 - 99 (F-87)	340,3
EP:EtOAc 40,0%	190 - 194	100 - 102 (F-100) [#]	123,6
EP:EtOAc 50,0%	195 - 203	103 - 108 (F-103)	314,5
EP:EtOAc 75,0%	204 - 213	109 - 120 (F-109) [#]	612,0
EtOAc 100,0%	214 - 220	121 - 135 (F-121)	861,1
EtOAc:MeOH 50,0%	221 - 230	136 - 137 (F-136)	114,1
		138 - 143 (F-138)	164,2
		144 - 151 (F-144) [#]	846,4
		152 - 163 (F-152)	411,0
		164 - 175 (F-164) [#]	935,0
		176 - 194 (F-176)	672,2
		195 - 199 (F-195) [#]	193,8
		200 - 209 (F-200)	154,6
Total			8189,9

(...)* Código utilizado para identificação das frações agrupadas.

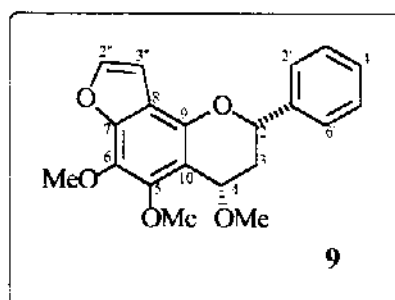
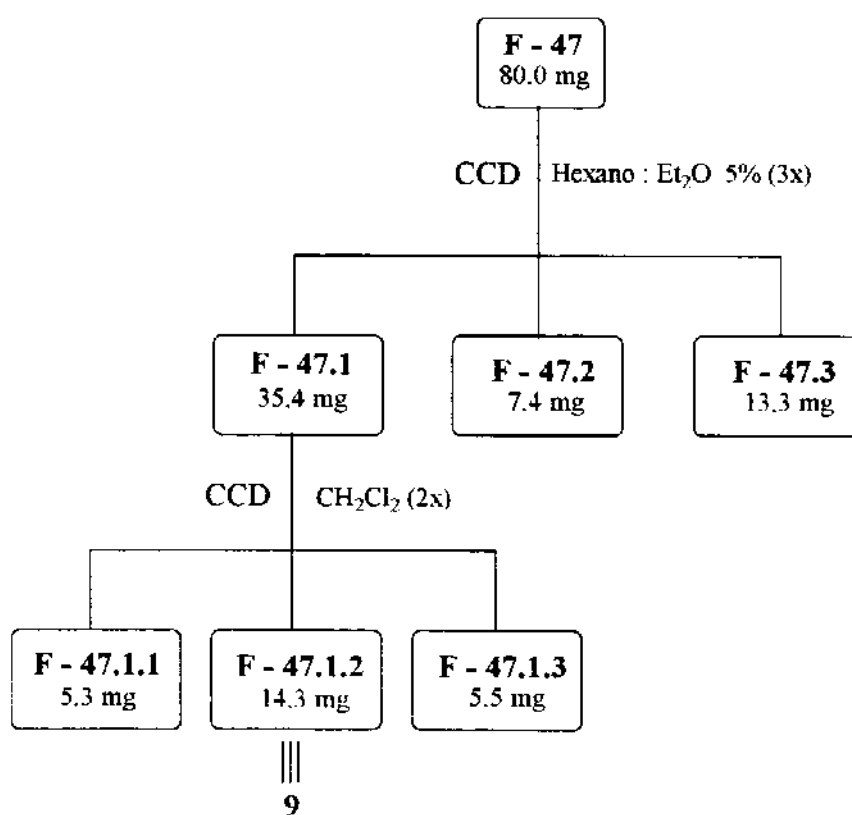
* Frações estudadas.

Parte experimental

As demais frações se apresentaram muito semelhantes as frações estudadas.

A seguir serão apresentados os fluxogramas que esquematizam as frações estudadas, os métodos utilizados para a purificação dos compostos e os dados espectrais dos flavonóides isolados.

Fluxograma da Fração F-47



Parte experimental

Tabela 2 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **9** (E-01).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
2	5,17 (1H; dd; 9,7 e 3,0)
3ax	2,40 (1H; ddd; 13,8; 9,9 e 7,2)
3eq	2,62 (1H; ddd; 13,9; 7,0 e 3,2)
4	4,84 (1H; t; 7,2)
2',3' 4', 5' e 6'	7,47 - 7,32 (5H; m)
2''	7,51 (1H; d; 2,2)
3''	6,82 (1H; d; 2,2)
OMe (C-4)	3,36 (3H; s)
OMe (C-5)	3,99 (3H; s)
OMe (C-6)	4,07 (3H; s)

Tabela 5 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de **9** (E-03a).

C	δ ppm
2	77,2 (CH)
3	35,7 (CH_2)
4	71,6 (CH)
5	149,9 (C)
6	134,6 (C)
7	149,3 (C)
8	114,7 (C)
9	145,5 (C)
10	112,2 (C)
1'	141,3 (C)
2'	126,0 (CH)
3'	128,6 (CH)
4'	127,9 (CH)
5'	128,6 (CH)
6'	126,0 (CH)
2''	143,9 (CH)
3''	104,5 (CH)
OMe (C-4)	55,9 (CH_3)
OMe (C-5)	61,7 (CH_3)
OMe (C-6)	61,1 (CH_3)

Parte experimental

UV (E-06) ($c=0,0129$ mg/ml; CH_3OH ; $b=1$ cm³) λ_{max} nm (log ε): 292(3,14), 284(3,15), 254(3,86).

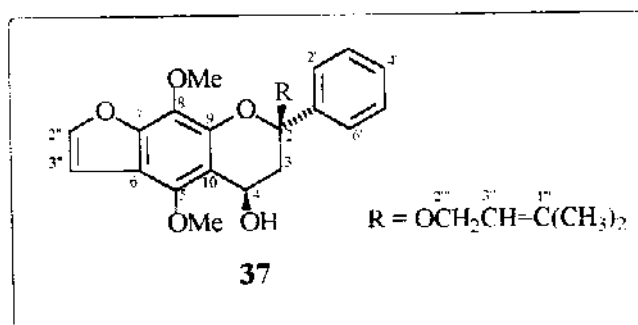
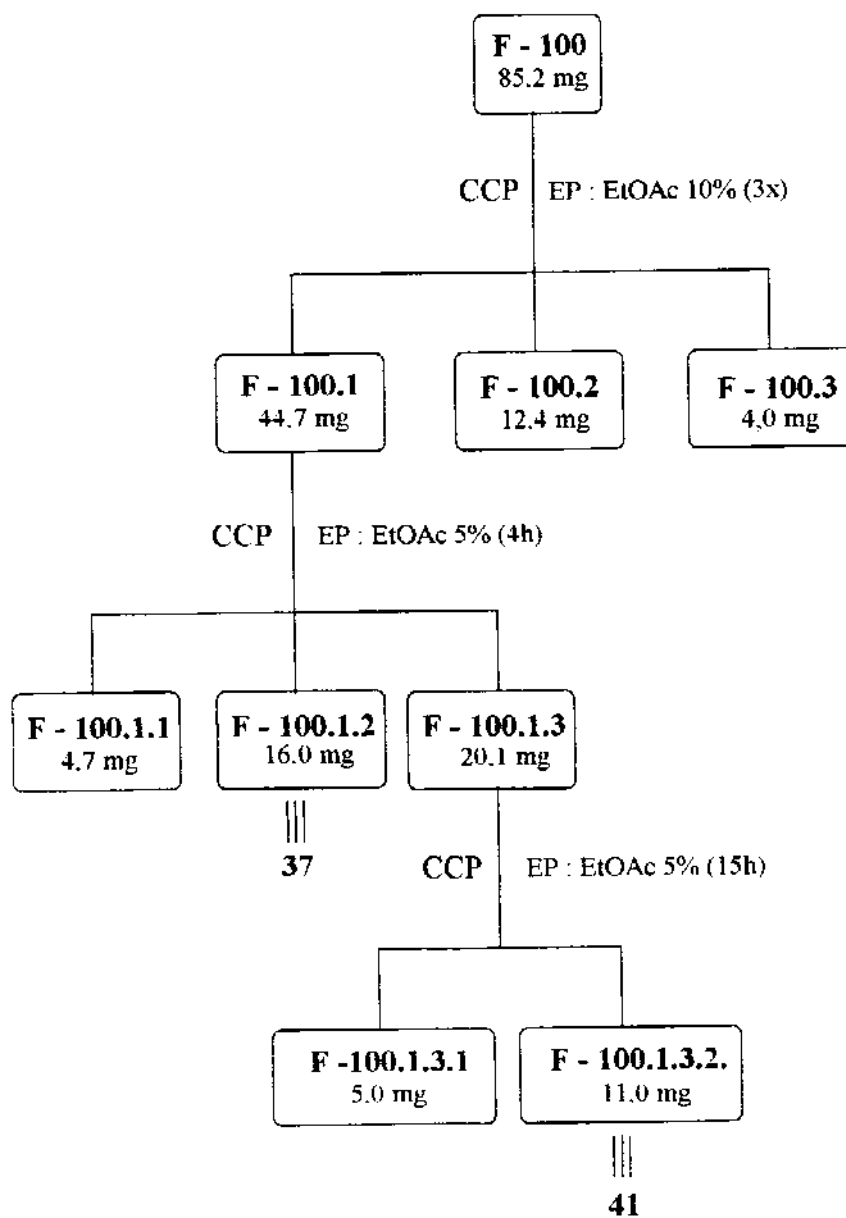
IV (E-07) ν_{max} cm⁻¹ (KBr): 2943, 1627, 1479, 1408, 1365, 1354, 1263, 1195, 1161, 1130, 1108, 1068, 1002, 964, 907, 877, 842, 764, 746, 698.

EM (E-08) $m/z(\%)$: 340(M^+ ,14), 339(61), 308(13), 236(100), 221(98), 105(6), 104(14), 91(15), 77(11).

$[\alpha]_{\text{D}}$ ($c=22,00$ mg/ml; CHCl_3 ; $l=0,1$ dm): - 28,98.

PF(°C): 59 - 61 (EtOH).

Fluxograma da Fração F-100



Parte experimental

Tabela 14 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **37** (E-16).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
3ax	2,08 (1H; dd; 14,9 e 4,8)
3eq	2,70 (1H; dd; 14,2 e 1,8)
4	5,01 (1H; ddd; 10,9; 4,7 e 1,8)
2' e 6'	7,72 - 7,68 (2H; m)
3', 4' e 5'	7,49 - 7,37 (3H; m)
2''	7,54 (1H; d; 2,2)
3''	6,93 (1H; d; 2,3)
2'''	3,97 - 3,91 (1H; m) 3,87 - 3,75 (1H; m)
3'''	5,13 (1H; m)
OH (C-4)	4,34 (1H; d; 10,9)
OMe (C-5)	4,16 (3H; s)#
OMe (C-8)	4,12 (3H; s)#
Me (C-4'')	1,58 (6H; s)

valores intercambiáveis

Tabela 16 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de **37** (E-17a).

C	δ ppm
2	101,7 (C)
3	42,1 (CH_2)
4	60,9 (CH)
5	147,6 (C)#
6	113,6 (C)
7	148,9 (C)#
8	140,7 (C)
9	147,2 (C)
10	113,2 (C)
1'	141,1 (C)
2'	128,7 (CH)
3'	126,3 (CH)
4'	126,3 (CH)
5'	126,3 (CH)
6'	128,7 (CH)
2''	143,7 (CH)
3''	105,2 (CH)
2'''	60,2 (CH_2)
3'''	120,2 (CH)
4'''	128,9 (C)
OMe (C-5)	60,9 (CH_3)*
OMe (C-8)	61,7 (CH_3)*
Me (C-4'')	17,8 (CH_3)
Me (C-4'')	25,6 (CH_3)

#,* valores intercambiáveis

Parte experimental

UV (E-18) ($c = 0,023 \text{ mg/ml}$; CH_3OH ; $b = 1 \text{ cm}^3$) $\lambda_{\text{máx}}$ nm ($\log \varepsilon$): 256(3,76), 217(4,31).

IV (E-19) $\nu_{\text{máx}} \text{cm}^{-1}$ (CH_2Cl_2): 3526, 2924, 2852, 1627, 1485, 1353, 1247, 1150, 1113, 1061, 989, 761, 738, 700.

EM (E-20) m/z (%): 410(M^+ , 2), 324(20), 222(57), 207(17), 149(17), 105(100), 102(4), 77(16), 69(25).

$[\alpha]_D$ ($c = 5,66 \text{ mg/ml}$; CHCl_3 ; $l = 0,1 \text{ dm}$): + 84,18.

PF(°C): oleoso.

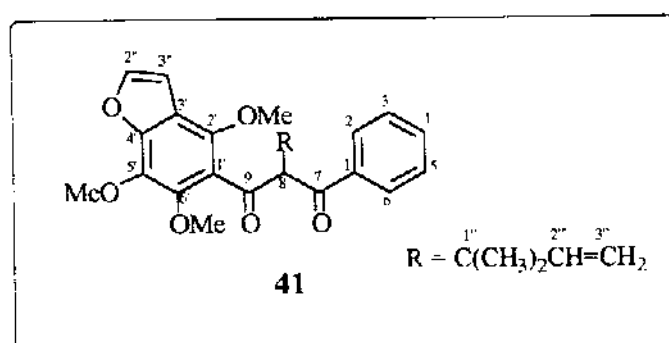


Tabela 29 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **41** (E-40).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
2 e 6	7,92 - 7,89 (2H; m)
3, 4 e 5	7,49 - 7,39 (3H; m)
8	5,40 (1H; s)
2''	7,53 (1H; d; 2,2)
3''	6,80 (1H; d; 2,2)
2'''	6,14 (1H; dd; 10,2 e 5,0)
3'''	4,95 (1H; dd; 5,0 e 1,2) 4,90 (1H; dd; 10,2 e 1,2)
OMe (C-2')	3,78 (3H; s)#
OMe (C-5')	3,79 (3H; s)#
OMe (C-6')	4,02 (3H; s)#
Me (C-1'')	1,26 (3H; s)
Me (C-1''')	1,28 (3H; s)

valores intercambiáveis

Parte experimental

Tabela 31 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de 41 (E-41a).

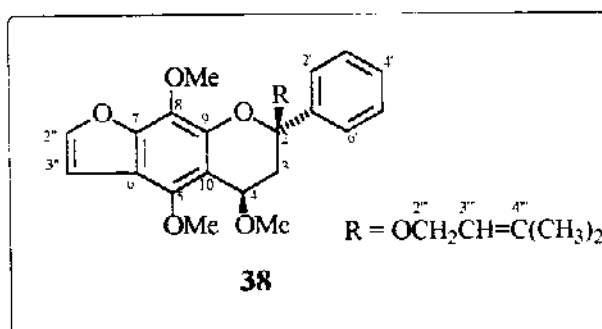
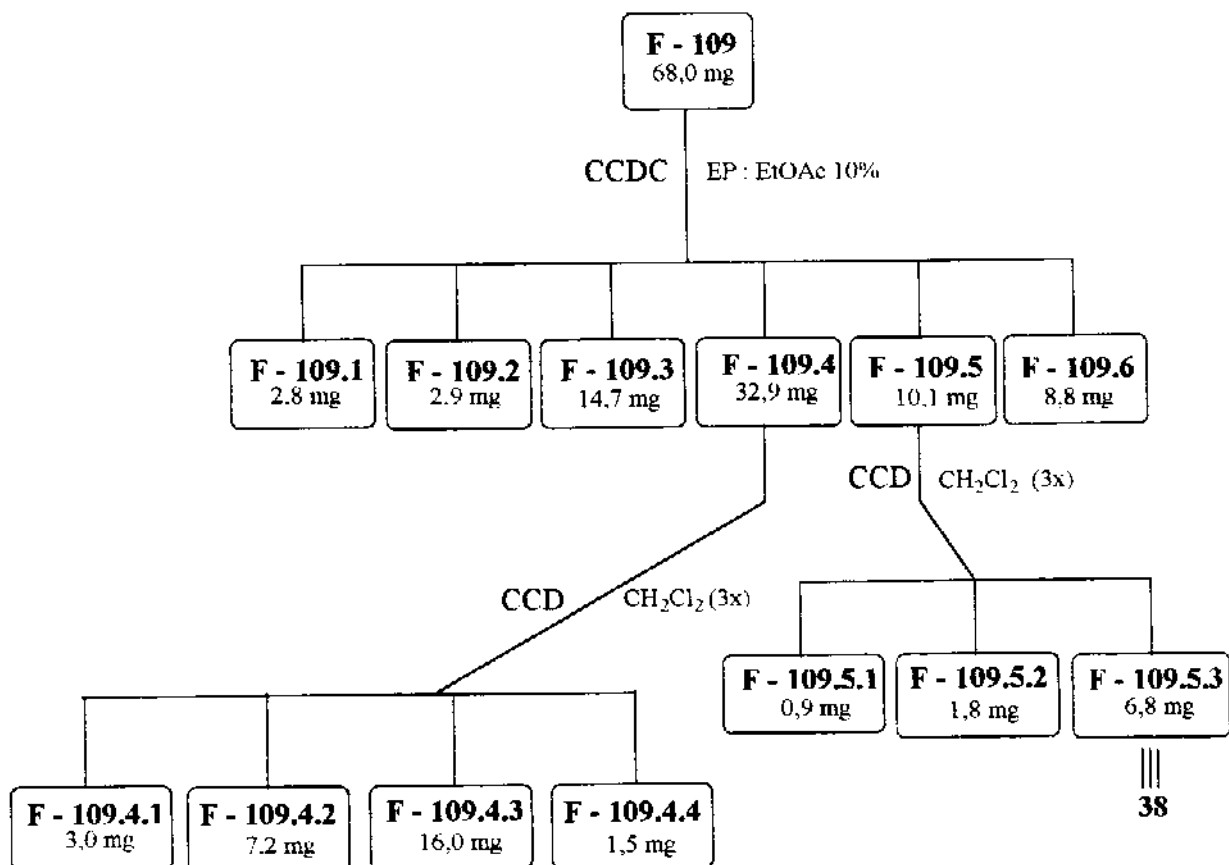
C	δ ppm
1	135,0 (C)
2	128,6 (CH)
3	128,3 (CH)
4	132,5 (CH)
5	128,3 (CH)
6	128,6 (CH)
7	194,8 (C=O)#
8	68,1 (CH)
9	196,4 (C=O)#
1'	128,2 (C)
2'	138,6 (C)
3'	117,4 (C)
4'	148,9 (C)
5'	134,5 (C)
6'	144,7 (C)
2''	144,5 (CH)
3''	105,2 (CH)
1'''	104,6 (C)
2'''	146,0 (CH)
3'''	111,4 (CH_2)
OMe (C-2')	61,0 (CH_3)*
OMe (C-5')	61,1 (CH_3)*
OMe (C-6')	62,4 (CH_3)
Me (C-1'')	25,5 (CH_3)
Me (C-1''')	25,7 (CH_3)

#,* valores intercambiáveis

UV (E-42) ($c=0,247$ mg/ml; CH_3OH ; $b=1$ cm^3) λ_{max} nm (log ϵ): 247(3,89).IV (E-43) ν_{max} cm^{-1} (CH_2Cl_2): 3386, 2936, 1709, 1594, 1478, 1423, 1347, 1265, 1133, 1108, 1067, 736, 701.EM (E-44) m/z (%): 422(M^+ , 7), 323(9), 235(100), 220(11), 177(4), 105(11), 77(10).PF($^\circ\text{C}$): oleoso.

Parte experimental

Fluxograma da Fração F-109



Parte experimental

Tabela 17- Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **38** (E-21).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
3ax	1,96 (1H; dd; 15,0 e 5,3)
3eq	2,76 (1H; dd; 15,0 e 1,8)
4	4,56 (1H; dd; 5,4 e 1,8)
2' e 6'	7,68 - 7,66 (2H; m)
3', 4' e 5'	7,45 - 7,35 (3H; m)
2''	7,52 (1H; d; 2,3)
3''	6,89 (1H; d; 2,3)
2'''	4,00 (1H; m)
	3,86 (1H; m)
3'''	5,20 (1H; m)
OMe (C-4)	3,54 (3H; s)
OMe (C-5)	4,11 (3H; s)
OMe (C-8)	4,10 (3H; s)
Me (C-4'')	1,58 (6H; s)

Tabela 20 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de **38** (E-23a).

C	δ ppm
2	100,5 (C)
3	39,0 (CH_2)
4	68,6 (CH)
5	147,4 (C)#
6	135,3 (C)
7	149,1 (C)#
8	113,4 (C)
9	142,5 (C)
10	111,1 (C)
1'	142,6 (C)
2'	126,5 (CH)
3'	128,6 (CH)
4'	128,3 (CH)
5'	128,6 (CH)
6'	126,5 (CH)
2''	143,6 (CH)
3''	105,1 (CH)
2'''	60,6 (CH_2)
3'''	121,8 (CH)
4'''	129,9 (C)
OMe (C-4)	56,8 (CH_3)
OMe (C-5)	61,6 (CH_3)*
OMe (C-8)	61,7 (CH_3)*
Me (C-4'')	17,9 (CH_3)
Me (C-4'')	25,6 (CH_3)

#,* valores intercambiáveis

Parte experimental

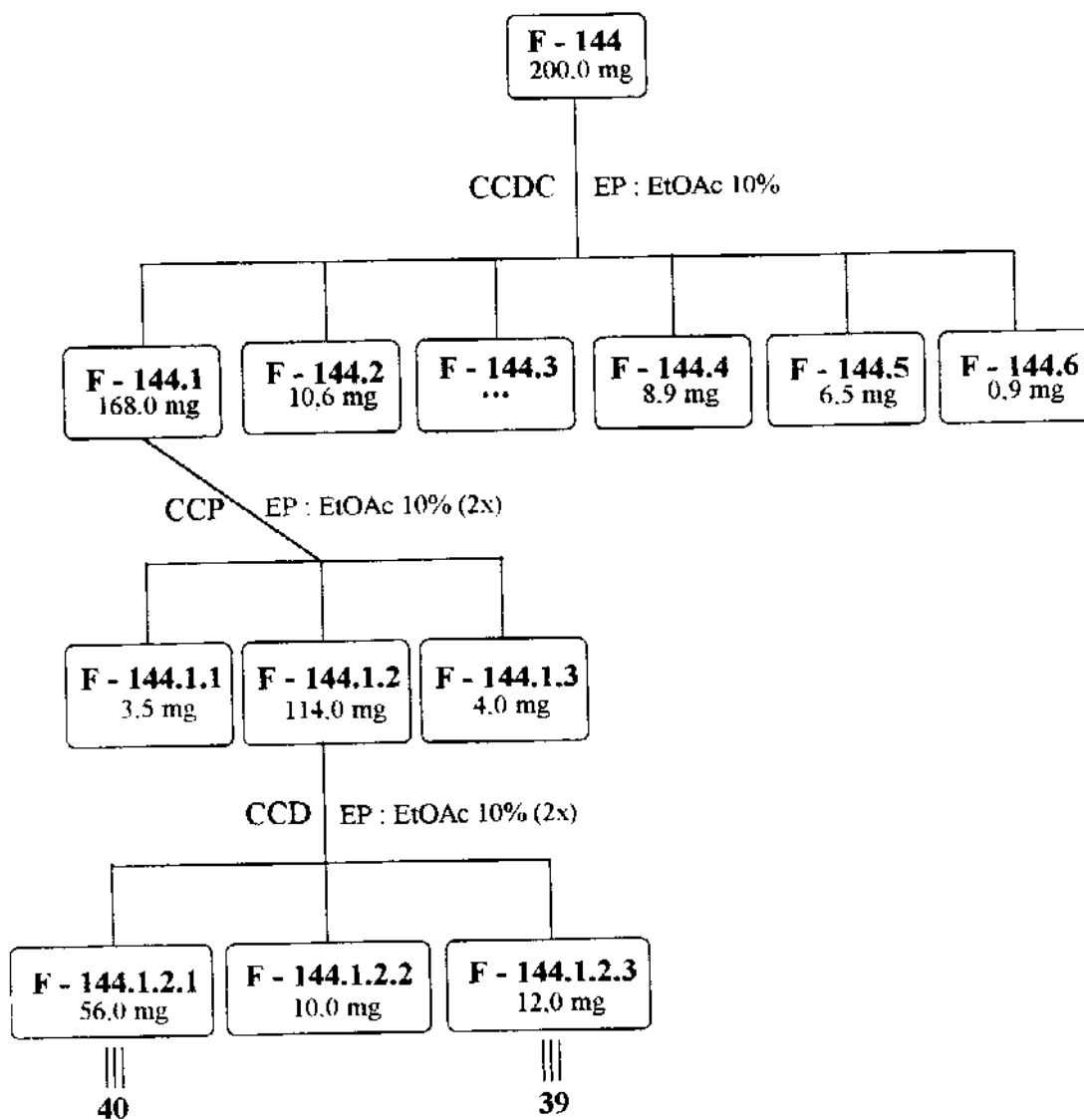
IV (E-24) $\nu_{\max}$ cm^{-1} (CH_2Cl_2): 3044, 2922, 1635, 1484, 1364, 1265, 1117, 1065, 736, 703.

EM (E-25) m/z (%): 424(M, 8), 338(7), 324(55), 292(95), 236(11), 221(15), 105(100), 77(23), 69(15).

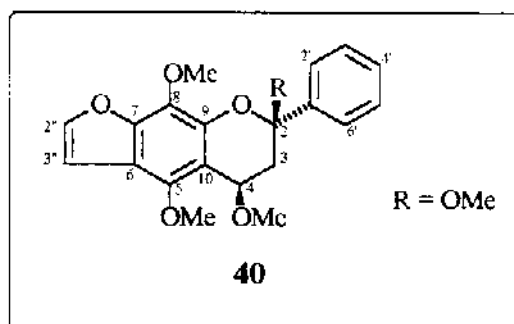
$[\alpha]_D$ ($c=2,83$ mg/ml; CHCl_3 ; $l=0,1$ dm) : + 60,11.

PF($^{\circ}\text{C}$): oleoso.

Fluxograma da Fração F-144



Parte experimental

Tabela 26 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **40** (E-33).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
3ax	1,97 (1H; dd; 15,1 e 5,4)
3eq	2,76 (1H; dd; 15,1 e 1,4)
4	4,55 (1H; dd; 5,4 e 1,4)
2' e 6'	7,70 - 7,67 (2H; m)
3', 4' e 5'	7,47 - 7,35 (3H; m)
2"	7,53 (1H; d; 2,2)
3"	6,99 (1H; d; 2,2)
OMe (C-2)	3,17 (3H; s)
OMe (C-4)	3,60 (3H; s)
OMe (C-5)	4,12 (3H; s)
OMe (C-8)	4,11 (3H; s)

Tabela 28 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz, CDCl_3/TMS) de **40** (E-35a).

C	δ ppm
2	100,4 (C)
3	38,8 (CH_2)
4	68,9 (CH)
5	147,6 (C)
6	113,8 (C)
7	149,1 (C)
8	130,1 (C)
9	142,0 (C)
10	111,2 (C)
1'	141,6 (C)
2'	126,5 (CH)
3'	128,7 (CH)
4'	128,4 (CH)
5'	128,7 (CH)
6'	126,5 (CH)
2"	143,7 (CH)
3"	105,0 (CH)
OMe (C-2)	51,0 (CH_3)
OMe (C-4)	57,4 (CH_3)
OMe (C-5)	60,8 (CH_3)
OMe (C-8)	61,7 (CH_3)

Parte experimental

UV (E-37) ($c=0,050$ mg/ml; CH_3OH ; $b=1$ cm³) $\lambda_{\text{m\acute{a}x}}$ nm ($\log \epsilon$): 257(3,66).

IV (E-38) $\nu_{\text{m\acute{a}x}}$ cm⁻¹ (CH_2Cl_2): 2933, 2833, 1628, 1545, 1484, 1449, 1408, 1364, 1251, 1188, 1159, 1118, 1090, 1054, 1044, 990, 967, 921, 760, 701.

EM (E-39) m/z (%): 370(M^+ ,7), 369(25), 338(32), 337(93), 307(76), 236(100), 134(4), 133(9), 105(18), 77(19), 57(38).

$[\alpha]_D$ ($c=21,95$ mg/ml; CHCl_3 ; $l=0,1$ dm): +100,59.

PF(°C): oleoso.

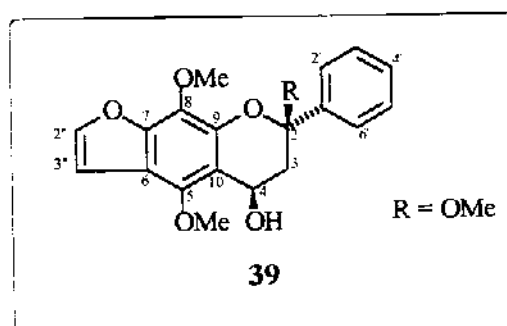


Tabela 21 - Dados de RMN ¹H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **39** (E-26).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
3ax	2,12 (1H; dd; 15,0 e 4,9)
3eq	2,71 (1H; dd; 15,0 e 1,8)
4	5,03 (1H; ddd; 10,4; 4,9 e 1,7)
2' e 6'	7,70 - 7,69 (2H; m)
3', 4' e 5'	7,50 - 7,40 (3H; m)
2''	7,54 (1H; d; 2,3)
3''	6,93 (1H; d; 2,2)
OH (C-4)	4,10 (1H; d; 10,8)
OMe (C-2)	3,14 (3H; s)
OMe (C-5)	4,17 (3H; s)
OMe (C-8)	4,13 (3H; s)

Parte experimental

Tabela 24 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de 39 (E-28a).

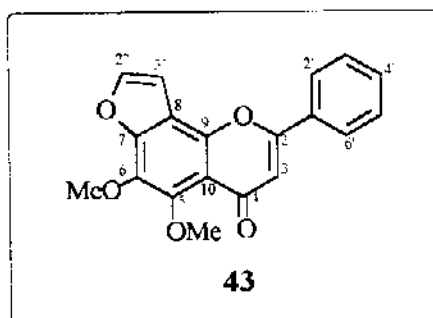
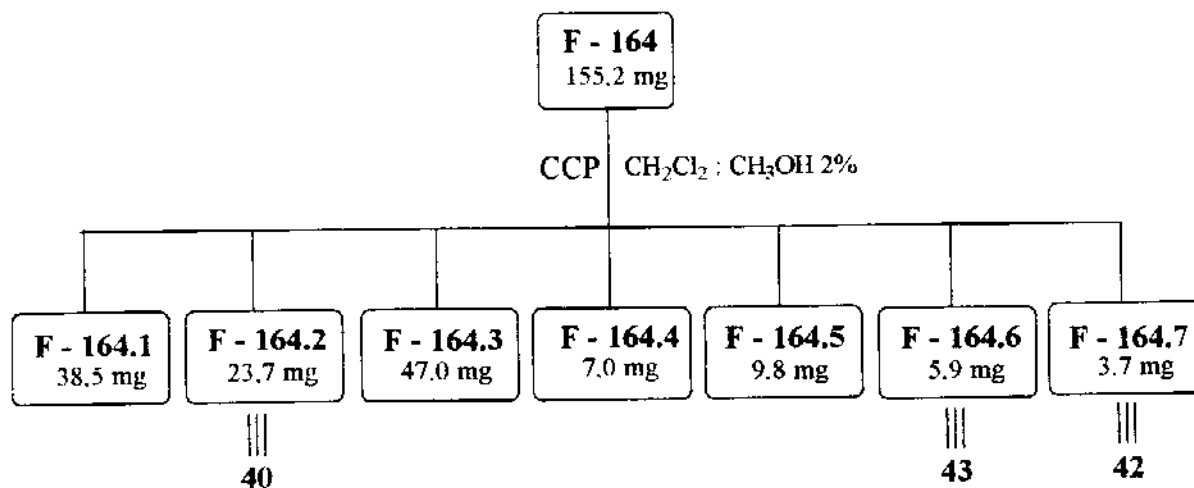
C	δ ppm
2	101,9 (C)
3	41,9 (CH_2)
4	60,1 (CH)
5	143,8 (C)#
6	113,8 (C)
7	147,2 (C)#
8	130,0 (C)
9	141,0 (C)
10	113,2 (C)
1'	140,1 (C)
2'	126,4 (CH)
3'	128,7 (CH)
4'	128,7 (CH)
5'	128,7 (CH)
6'	126,4 (CH)
2''	143,8 (CH)
3''	105,2 (CH)
OMe (C-2)	50,7 (CH_3)
OMe (C-5)	61,0 (CH_3)*
OMe (C-8)	61,7 (CH_3)*

#,* valores intercambiáveis

UV (E-30) ($c=0,026$ mg/ml; CH_3OH ; $b=1$ cm^3) $\lambda_{\text{máx}}$ nm ($\log \epsilon$): 257(3,51).IV (E-31) $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} (CH_2Cl_2): 3508, 3055, 2932, 2850, 1629, 1545, 1485, 1437, 1407, 1364, 1265, 1189, 1155, 1116, 1063, 991, 736, 702.EM (E-32) m/z (%): 356(M, ausente), 307(5), 222(100), 207(49), 179(2), 134(5), 105(16), 77(23). $[\alpha]_D$ ($c=4,45$ mg/ml; CHCl_3 ; $l=0,1$ dm): + 103,25.PF($^{\circ}\text{C}$): oleoso.

Parte experimental

Fluxograma da Fração F-164

Tabela 35 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **43** (E-49).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
3	6,74 (1H; s)
2' e 6'	8,01 - 7,99 (2H; m)
3', 4' e 5'	7,56 - 7,54 (3H; m)
2''	7,66 (1H; d; 2,2)
3''	7,06 (1H; d; 2,2)
OMe (C-5)	4,11 (3H; s)
OMe (C-6)	4,27 (3H; s)

Parte experimental

Tabela 36 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de **43** (E-50a).

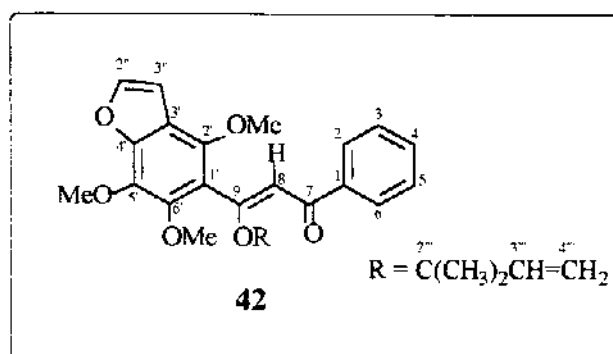
C	δ ppm
2	161,6 (C)
3	107,6 (CH)
4	178,9 (C=O)
5	?
6	116,0 (C)
7	147,0 (C)
8	119,8 (C)
9	149,5 (C)
10	114,0 (C)
1'	131,9 (C)
2'	129,3 (CH)
3'	131,7 (CH)
4'	131,7 (CH)
5'	131,7 (CH)
6'	129,3 (CH)
2''	145,8 (CH)
3''	105,5 (CH)
OMe (C-5)	61,8 (CH_3)
OMe (C-6)	62,5 (CH_3)

UV (E-51) ($c=0,061$ mg/ml; CH_3OH ; $b=1$ cm^3) λ_{max} nm (log ϵ): 350(3,87), 270(4,72).

IV (E-52) ν_{max} cm^{-1} (CH_2Cl_2): 3450, 3044, 2930, 2855, 1641, 1479, 1450, 1370, 1265, 1195, 1132, 1067, 738, 704.

EM (E-53) m/z (%): 322(M^+ ,98), 307(100), 220(4), 105(20), 102(15), 77(17).

PF($^\circ\text{C}$): oleoso.



Parte experimental

Tabela 32 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **42** (E-45).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
2 e 6	8,00 - 7,97 (2H; m)
3, 4 e 5	7,57 - 7,53 (3H; m)
8	6,74 (1H; s)
2''	7,66 (1H; d; 2,2)
3''	7,05 (1H; d; 2,2)
3'''	6,00 (1H; dd; 17,4 e 10,7)
4'''	5,21 (1H; dd; 17,3 e 1,1) 4,99 (1H; dd; 10,7 e 1,1)
OMe (C-2')	3,71 (3H; s)#
OMe (C-6')	4,27 (3H; s)#
OMe (C-5')	4,11 (3H; s)#
Me (C-2'')	1,25 (3H; s)
Me (C-2''')	1,32 (3H; s)

valores intercambiáveis

Tabela 34 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de **42** (E-46).

C	δ ppm
1	?
2	126,2 (CH)
3	129,1 (CH)
4	131,5 (CH)
5	129,1 (CH)
6	126,2 (CH)
7	191,6 (C=O)#
8	107,4 (CH)
9	169,1 (C=O)#
1'	?
2'	?
3'	?
4'	?
5'	?
6'	?
2''	145,6 (CH)
3''	105,3 (CH)
2'''	?
3'''	?
4'''	?
OMe (C-2')	61,7 (CH ₃)*
OMe (C-5')	62,4 (CH ₃)*
OMe (C-6')	?
Me (C-2'')	29,4 (CH ₃)
Me (C-2''')	29,6 (CH ₃)

#,*valores intercambiáveis

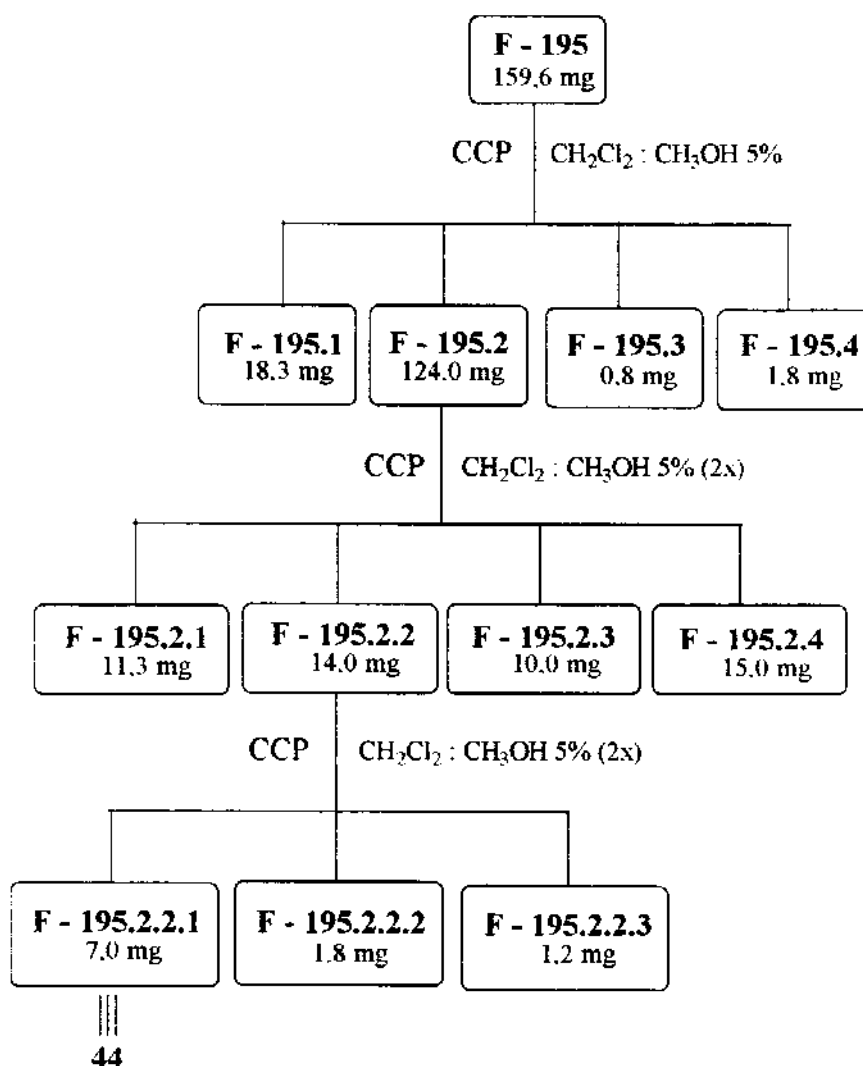
Parte experimental

UV (E-47) ($c=0,010\text{mg/ml}$; CH_3OH ; $b=1\text{ cm}^3$) $\lambda_{\text{m\acute{a}x}}$ nm ($\log \epsilon$): 341(3,50), 272(4,35), 214(4,36).

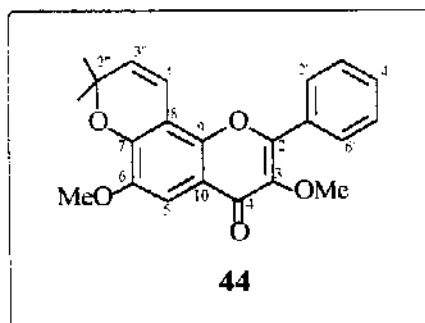
EM (E-48) m/z (%): 422 (M^+ , ausente), 322(83), 307(100), 279(31), 221(8), 107(17), 77(8).

PF(°C): oleoso.

Fluxograma da Fração F-195



Parte experimental

Tabela 37 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **44** (E-54).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
5	7,52 (1H; s)
2' e 6'	8,10 - 8,07 (2H; m)
3', 4' e 5'	7,55 - 7,49 (3H; m)
3"	5,76 (1H; d; 10,0)
4"	6,89 (1H; d; 10,0)
OMe (C-3)	3,89 (3H; s)
OMe (C-6)	3,98 (3H; s)
Me	1,58 (3H; s) / 1,56 (3H; s)

Tabela 39 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de **44** (E-55a).

C	δ ppm
2	147,6 (C)
3	142,0 (C)
4	174,6 (C=O)
5	104,6 (CH)
6	147,2 (C)
7	154,8 (C)
8	110,4 (C)
9	146,8 (C)
10	115,6 (C)
1'	131,6 (C)
2'	128,5 (CH)
3'	128,8 (CH)
4'	130,6 (CH)
5'	128,8 (CH)
6'	128,5 (CH)
2"	78,4 (C)
3"	130,7 (CH)
4"	117,6 (CH)
OMe (C-3)	56,5 (CH_3)
OMe (C-6)	60,3 (CH_3)
Me	28,1 (CH_3)
Me	28,1 (CH_3)

Parte experimental

UV (E-56) ($c=0,050$ mg/ml; CHCl_3 ; $b=1$ cm³) λ_{max} nm (log ϵ): 340(3,77), 282(3,80), 245(4,07).

IV (E-57) ν_{max} cm⁻¹ (CH_2Cl_2): 3054, 2986, 1623, 1472, 1438, 1400, 1265, 895, 738, 705.

EM (E-58) m/z (%): 364(M^+ , 19), 349(100), 217(13), 105(20), 77(18).

PF(°C): 206 (EtOH).

Análise por CLAE

Purificação dos Padrões

Os padrões utilizados para as análises foram purificados por CCP (CHCl_3), filtrados em filtros especiais (Millipore) e depois concentrados em evaporador rotativo (Tabela 64).

Tabela 64 - Padrões utilizados para o preparo das curvas de calibração.

Padrão	massa (mg)	Figura
9	2,4	27
39	2,1	28
40	2,7	29
41	1,9	30
43	2,4	31
44	2,7	32

Purificação dos Solventes

A acetonitrila (grau de pureza para HPLC-Aldrich) e a água (bidestilada e deionizada) utilizadas foram filtradas em filtro de teflon e degaseificadas por aplicação de vácuo e ultra-som.

Preparo da Soluções Padrão

Para o preparo das soluções utilizadas na construção das curvas de calibração foram feitas as diluições mostradas na Tabela 65, a partir dos padrões previamente preparados (Tabela 64), em balões volumétricos de 10ml (C^2), 5ml (C) e 2ml (C^1). As soluções foram diluídas em acetonitrila e filtradas (filtros Millipore).

Parte experimental

Tabela 65 - Diluições dos padrões.

Padrão	[C](mg/ml)	[C ¹](mg/ml)	[C ²](mg/ml)
9	0,048	0,080	0,24
39	0,042	0,105	0,21
40	0,054	0,135	0,27
41	0,038	0,095	0,19
43	0,048	0,120	0,24
44	0,054	0,135	0,27

Preparo da Solução Padrão do Extrato

A alíquota do extrato utilizada como padrão para a quantificação foi submetida aos mesmos procedimentos usados no preparo e purificação dos padrões das substâncias isoladas (Tabela 66).

Tabela 66 - Preparo do padrão do extrato éter de petróleo.

Padrão do Extrato	[C] (mg/ml)
EP	0,19

Construção das Curvas de Calibração

As soluções preparadas em diferentes concentrações foram injetadas utilizando-se um volume de injeção igual a 10 µl. Procurou-se manter as mesmas condições durante todas as análises, para evitar que ocorressem grandes variações nos tempos de retenção das substâncias analisadas. Através dos cromatogramas obtidos foram construídas as curvas de calibração, relacionando-se as áreas obtidas com as concentrações (Tabela 67).

Parte experimental

Tabela 67 - Dados utilizados para a construção das curvas de calibração.

Padrão	Concentração (mg/ml)	Area	Curva de Calibração (Figura)
9	0,048	35674	27
	0,080	70007	
	0,240	195633	
39	0,042	14021	28
	0,105	38228	
	0,210	70600	
40	0,054	71736	29
	0,135	187712	
	0,270	307144	
41	0,038	25512	30
	0,095	68352	
	0,190	131808	
43	0,048	234014	31
	0,120	625334	
	0,240	1150896	
44	0,054	253944	32
	0,270	1184748	

Reação de Hidrólise da Flavana 9³⁰

A flavana 9 (17,4 mg; 0,05mmol) foi solubilizada em CHCl_3 (2 ml) e lentamente adicionou-se HCl 0,1N (0,5 ml). A reação permaneceu 48 horas sob agitação a temperatura ambiente. Após lavagem com H_2O (3x), tratamento da fase orgânica com MgSO_4 anidro e eliminação do solvente em evaporador rotativo, o produto bruto foi submetido a CCP de modo contínuo, utilizando-se CHCl_3 como eluente e forneceu os produtos 9a (8,4 mg; 50%) e 9b (4,5 mg; 27%), sendo também recuperado o material de partida (3,6 mg; 21%).

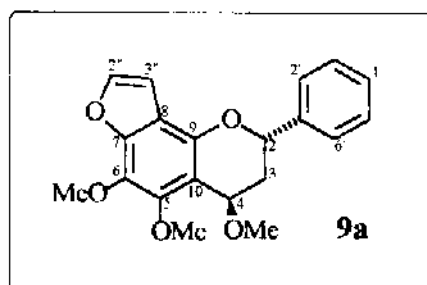


Tabela 8 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de 9a (E-09).

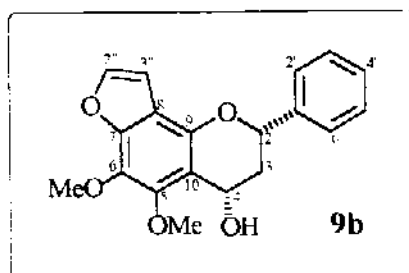
H	δ ppm (mult.; J=Hz)
2	5,28 (1H; dd; 12,1 e 2,0)
3ax	1,94 (1H; ddd; 14,4; 12,6 e 3,0)
3eq	2,42 (1H; dt; 14,4 e 2,2)
4	4,60 (1H; t; 2,7)
2', 3' 4', 5' e 6'	7,67 - 7,35 (5H; m)
2''	7,51 (1H; d; 2,1)
3''	6,82 (1H; d; 2,2)
OMe (C-4)	3,55 (3H; s)
OMe (C-5)	4,03 (3H; s)
OMe (C-6)	4,08 (3H; s)

Parte Experimental

Tabela 10 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de **9a** (E-10a).

C	δ ppm
2	73,3 (CH)
3	34,5 (CH_2)
4	68,6 (CH)
5	148,0 (C)#
6	132,7 (C)
7	143,7 (C)#
8	114,5 (C)
9	142,0 (C)
10	110,2 (C)
1'	141,3 (C)
2'	126,4 (CH)
3'	128,5 (CH)
4'	128,0 (CH)
5'	128,5 (CH)
6'	126,4 (CH)
2''	143,6 (CH)
3''	104,5 (CH)
OMe (C-4)	56,1 (CH_3)
OMe (C-5)	61,2 (CH_3)*
OMe (C-6)	61,1 (CH_3)*

#,* valores intercambiáveis



Parte Experimental

Tabela 11- Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **9b** (E-11).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
2	5,24 (1H; dd; 12,3 e 1,9)
3 _{ax}	2,10 (1H; ddd; 14,5; 12,3 e 4,0)
3 _{eq}	2,36 (1H; dt; 14,4 e 2,0)
4	5,06 (1H; m)
2' e 6'	7,55 - 7,52 (2H; m)
3',4' e 5'	7,47 - 7,35 (3H; m)
2''	7,54 (1H; d; 2,2)
3''	6,84 (1H; d; 2,2)
OH (C-4)	2,63 (1H; s)
OMe (C-5)	4,08 (3H; s)
OMe (C-6)	4,08 (3H; s)

Tabela 13 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de **9b** (E-12a).

C	δ ppm
2	73,6 (CH)
3	38,1 (CH_2)
4	60,3 (CH)
5	148,5 (C)#
6	132,5 (C)
7	147,7 (C)#
8	114,8 (C)
9	143,8 (C)
10	112,3 (C)
1'	141,3 (C)
2'	126,5 (CH)
3'	128,8 (CH)
4'	128,3 (CH)
5'	128,8 (CH)
6'	126,5 (CH)
2''	144,0 (CH)
3''	104,7 (CH)
OMe (C-5)	61,8 (CH_3)*
OMe (C-6)	61,2 (CH_3)*

#,* valores intercambiáveis

UV (E-13) ($c = 0,017$ mg/ml; CHCl_3 ; $b = 1$ cm) λ_{max} nm (log ϵ): 289(3,39), 283(3,40), 257(4,05), 254(4,06), 216(4,53).

Parte Experimental

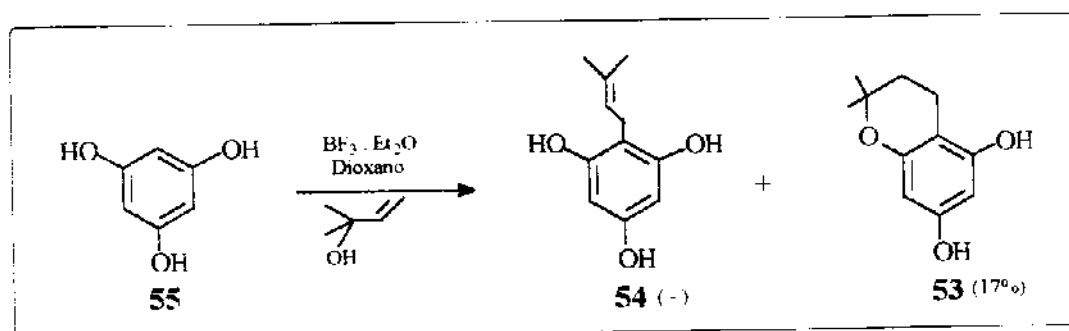
IV (E-14) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$ (KBr): 3364, 2934, 1618, 1542, 1482, 1348, 1310, 1245, 1067, 954, 761, 699.

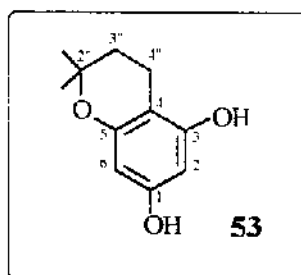
EM (E-15) m/z (%): 326(M^+ ,12), 309(5), 293(6), 222(95), 207(100), 192(14), 179(5), 164(8), 147(12), 104(13), 77(25).

UV(°C): 126 - 128 (EtOH).

Reação de Prenilação do Floroglucinol⁴¹⁻⁴³

Num balão de 25 ml dissolveu-se floroglucinol (2,120 g: 3,08 mmol) em dioxano seco (8 ml) e a solução foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 15 minutos. Em seguida adicionou-se 4-buten-2-ol (1,36 ml; 13,08 mmol) em suspensão com dioxano seco (10 ml) e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0,6 ml). A reação permaneceu sob agitação durante 17 horas. A mistura reacional foi então diluída com Et_2O (10 ml). A solução etérea lavada com H_2O (3 x 15 ml) e tratada com Na_2SO_4 anidro. Após eliminação do solvente, a mistura reacional foi cromatografada numa coluna "flash"⁷⁴ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ 5%) e forneceu predominantemente o produto **53** (0,428 g : 17%).



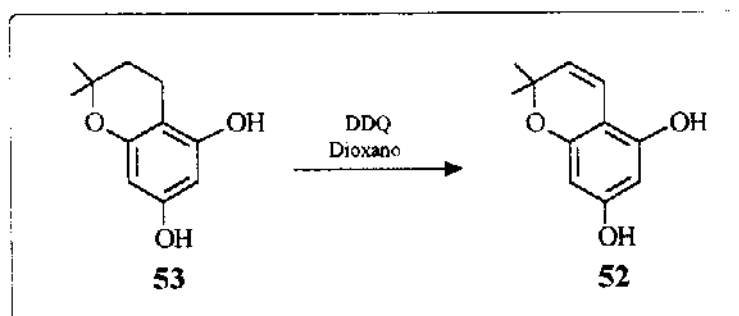
Tabela 44 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; $(\text{CD}_3)_3\text{CO/TMS}$) de **53**.

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
2	5,79 (1H; d; 2,3)
6	5,96 (1H; d; 2,3)
3"	1,72 (2H; t; 6,8)
4"	2,54 (2H; t; 6,8)
Me	1,26 (3H; s)
Me	1,26 (3H; s)
OH (C-1)	8,19 (1H; s)
OH (C-3)	8,00 (1H; s)

Reação de Desidrogenação do Cromano **53**^{44,45}

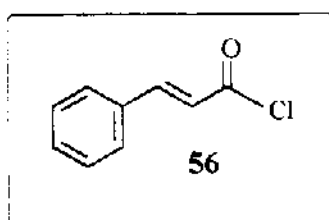
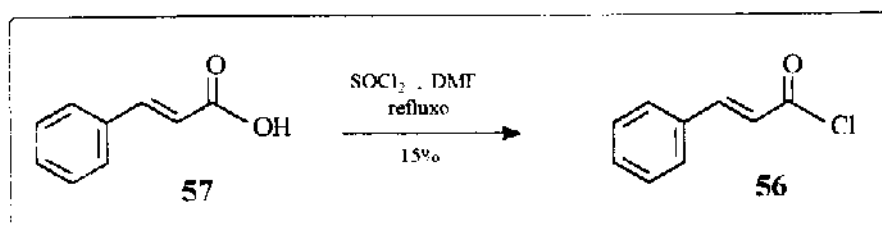
A uma solução do cromano **53** (0,098 g; 0,50 mmol) em dioxano seco (5 ml) , adicionou-se DDQ (0,113 g; 0,50 mmol) suspenso em dioxano seco (5 ml). A mistura reacional foi mantida em refluxo por 48 horas. Evaporou-se o solvente em evaporador rotativo e fez-se a purificação por CCP (CH_2Cl_2 : CH_3OH 10%), obtendo-se o produto **52** em baixo rendimento.

Parte Experimental



Obtenção do Cloreto de Cinamoíla³⁸

Num balão de fundo redondo, equipado com condensador de refluxo, colocou-se ácido cinâmico (3,780 g; 25,5 mmol) previamente recristalizado em CH_3OH e H_2O , SOCl_2 (3,65 ml; 50 mmol) e 3 gotas de DMF. A mistura reacional foi então refluxada até o término da evolução de gases (SO_2 e HCl). Destilou-se a temperatura ambiente o cloreto de tionila colocado em excesso e então procedeu-se a destilação a pressão reduzida (4 mm Hg) do cloreto de cinamoíla. Obteve-se 0,449 g (15%) do produto puro.



Parte Experimental

IV (E-59) $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} (KBr): 1751, 1610, 1572, 1448, 1331, 1116, 1035, 876, 761, 742, 691, 635, 606, 563, 480, 432.

PF(°C): 35 - 37.

Reação de Acilação de Friedel-Crafts³⁸

Num balão de 25 ml colocou-se o cromano **53** (0,110 g; 0,57 mmol), previamente seco em bomba de vácuo, 3,0 ml de nitrobenzeno seco e o cloreto de cinamoíla (0,066 g; 0,4 mmol). Em seguida adicionou-se AlCl_3 (0,126 g; 0,95 mmol) sob atmosfera inerte. A reação permaneceu sob agitação a temperatura ambiente durante 48 horas. Após adicionou-se gelo picado e HCl concentrado e a fase orgânica foi então extraída com Et_2O , seca sobre Na_2SO_4 e concentrada em evaporador rotativo. O nitrobenzeno foi extraído da reação através de destilação por arraste de vapor. A purificação foi feita por CCP ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ 10%). Obteve-se 0,087 g (47 %) do produto impuro.

Reação de Prenilação da Floroacetofenona**→ 1ª Tentativa**

O procedimento utilizado foi o mesmo da reação de prenilação do floroglucinol. Obteve-se o cromano **48** (10%), o produto monoprenilado **49** em pequena quantidade e recuperou-se a maior parte do reagente de partida. Os dados de RMN ^1H de **48** estão apresentados na Tabela 45.

Parte Experimental

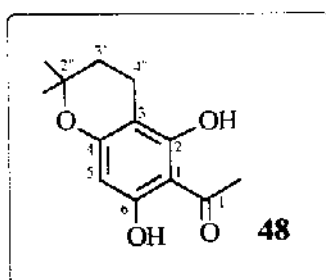
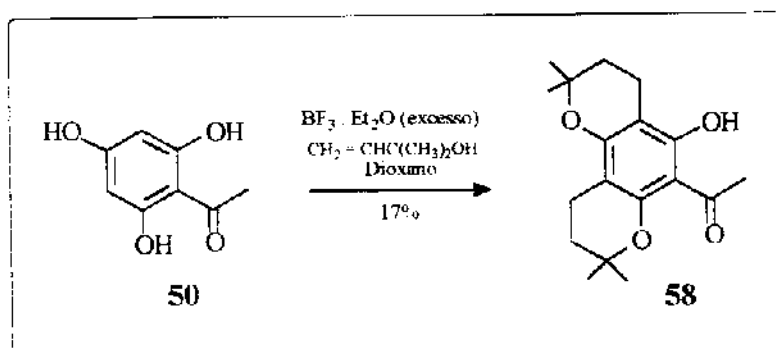


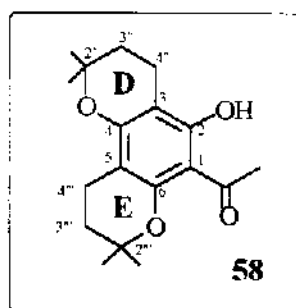
Tabela 45 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **48**.

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
5	5,90 (1H; s)
3"	1,76 (2H; t; 6,8)
4"	2,53 (2H; t; 6,8)
Me (C-2")	1,30 (3H; s)
Me (C-2")	1,30 (3H; s)
Me (C-1')	2,59 (3H; s)
OH (C-2)	14,12 (1H; s)
OH (C-6)	9,89 (1H; s)

→ 2ª Tentativa

Utilizou-se a mesma relação molar usada na 1ª tentativa (1:1; floroacetofenona : 2-metil-but-3-en-3-ol), mas colocou-se um excesso de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ e o tempo de reação foi aumentado para 48 horas. Após o tratamento usual da reação, fêz-se a purificação por coluna "flash"⁶⁵ (EP:EtOAC 5%). Obteve-se 0,297 g (17%) do dicromano **58**.



Tabela 46 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **58**.

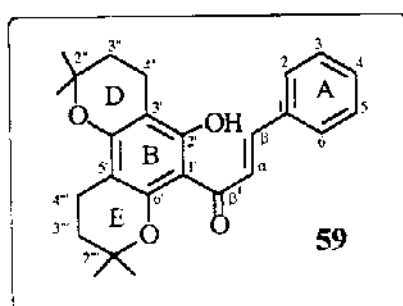
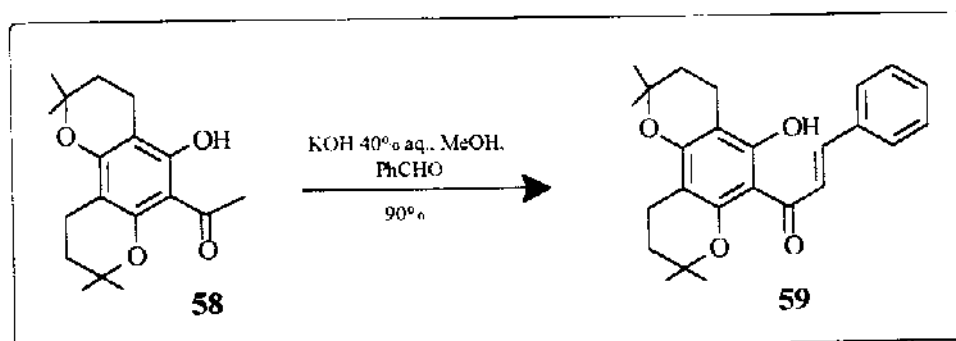
H	δ ppm (mult.; J=Hz)
3" (Anel D)*	1,75 (2H; t; 6,9)
4" (Anel D)#	2,53 (2H; t; 6,9)
Me (Anel D)@	1,33 (6H; s)
3'" (Anel E)*	1,77 (2H; t; 6,8)
4'" (Anel E)#	2,61 (2H; t; 6,9)
Me (Anel E)@	1,36 (6H; s)
OH	14,21 (1H; s)
Me (C-1')	2,62 (3H; s)

*, #, @ valores intercambiáveis

Reação de Condensação do Dicromano **58^{42,48}**

O dicromano **58** (0,071 g; 0,23 mmol) foi dissolvido em CH_3OH (5 ml). Uma solução aquosa de KOH 40% foi adicionada, seguida pela adição gota a gota de benzaldeído (0,024 ml; 0,23 mmol). A reação permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 48 horas. A mistura reacional foi então acidificada com HCl diluído até pH=2 e diluída com Et_2O . A fração etérea foi lavada com uma solução saturada de NaCl e H_2O , respectivamente. A fase orgânica foi seca sobre Na_2SO_4 , concentrada em evaporador rotativo e purificada por CCP (EP:EtOAc 20%). Obteve-se 0,082 g (90%) da 2'-hidroxichalcona **59**.

Parte Experimental

Tabela 47 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **59** (E-60).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
α	7,72 (1H; d; 15,7)
β	8,09 (1H; d; 15,7)
2 e 6	7,61 - 7,58 (2H; m)
3, 4 e 5	7,41 - 7,35 (3H; m)
3" (anel D)	1,79 (2H; t; 6,8)
4" (anel D)	2,55 (2H; t; 6,8)
Me (anel D)	1,35 (6H; s)
3"' (anel E)	1,79 (2H; t; 6,8)
4"' (anel E)	2,64 (2H; t; 6,8)
Me (anel E)	1,42 (6H; s)
OH (C-2')	14,49 (1H; s)

Tabela 48 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de **59** (E-61a).

C	δ ppm
α	128,6 (CH)
β	140,8 (CH)
β'	192,7 (C=O)
1	136,0 (C)
2	128,8 (CH)
3	128,1 (CH)
4	129,6 (CH)
5	128,1 (CH)
6	128,8 (CH)
1'	105,5 (C)
2'	163,4 (C)
3'	100,6 (C)#
4'	158,8 (C)*
5'	100,7 (C)#
6'	159,3 (C)*
2''	75,5 (C)▲
3''	31,9 (CH_2)@
4''	16,2 (CH_2)◆
Me (anel D)	27,0 (CH_3)
2'''	75,9 (C)▲
3'''	32,1 (CH_2)@
4'''	16,6 (CH_2)◆
Me (anel E)	27,0 (CH_3)

#,*,@,▲,◆ valores intercambiáveis

IV(E-62) ν_{max} cm^{-1} (CH_2Cl_2): 3420, 2973, 2922, 1615, 1551, 1360, 1160, 1116.

EM(E-63) m/z (%): 392(M^+ ,20), 337(8), 304(24), 281(13), 249(51), 233(47), 193(42), 177(36), 149(84), 85(56), 71(76), 43(100).

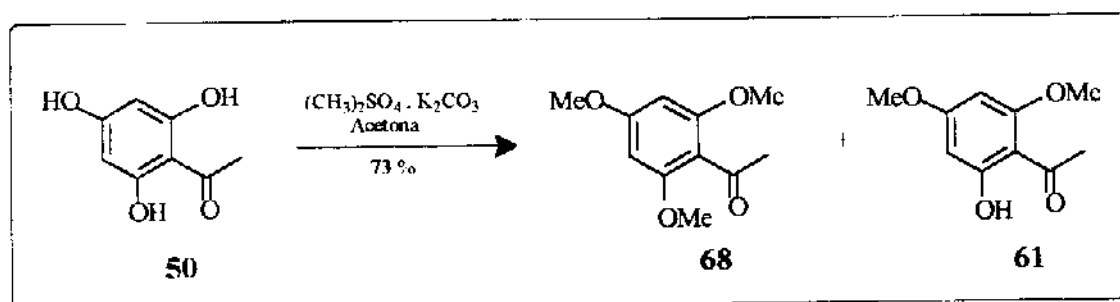
Reação de Metilação da Floroacetofenona

→ 1ª Tentativa^{41,44}

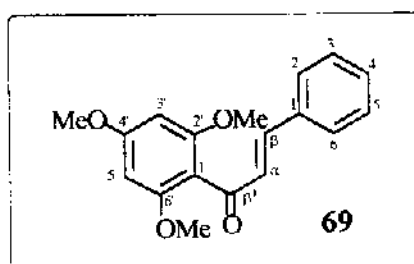
Floroacetofenona **50** (0,100 g; 0,59 mmol) em acetona seca (25 ml) foi refluxada por 5 horas com sulfato de dimetila (0,13 ml;

Parte Experimental

1,41mmol) na presença de K_2CO_3 anidro (0,390 g; 2,82 mmol). Após filtração, o sal inorgânico foi lavado com acetona quente. Evaporou-se o solvente, adicionou-se H_2O e extraiu-se a fração aquosa com EtOAc. A fase orgânica foi tratada com Na_2SO_4 , concentrada em evaporador rotativo e purificada por CCP ($CH_2Cl_2:CH_3OH$ 5%) fornecendo 0,125 g (73%) da mistura dos produtos **68** e **61** na proporção 6:1, respectivamente.



A mistura dos produtos **68** e **61** (0,125 g) foi submetida a reação de condensação com benzaldeído (0,59 mmol; 0,06 ml) e após purificação por CCP (CH_2Cl_2) forneceu 0,075 g da chalcona **69** (49%) e 0,014 g da chalcona **62** (54%).



Parte Experimental

Tabela 49 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de 69 (E-64).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
α	6,97 (1H; d; 16,0)
β	7,37 (1H; d; 16,0)
2 e 6	7,54 - 7,51 (2H; m)
3, 4 e 5	7,39 - 7,34 (3H; m)
3'	6,17 (1H; s)
5'	6,17 (1H; s)
OMe (C-2')	3,77 (3H; s)
OMe (C-4')	3,86 (3H; s)
OMe (C-6')	3,77 (3H; s)

Tabela 50 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de 69 (E-65a).

C	δ ppm
α	129,3 (CH)
β	144,3 (CH)
β'	194,6 (C=O)
1	135,3 (C)
2	128,6 (CH)
3	129,0 (CH)
4	130,4 (CH)
5	129,0 (CH)
6	128,6 (CH)
1'	112,0 (C)
2'	159,2 (C)
3'	90,9 (CH)
4'	162,7 (C)
5'	90,9 (CH)
6'	?? (C)
OMe (C-2')	56,0 (CH_3)
OMe (C-4')	55,6 (CH_3)
OMe (C-6')	56,0 (CH_3)

UV (E-66) ($c=0,127$ mg/ml; CH_3OH ; $b=1$ cm^3) $\lambda_{\text{máx}}$ nm ($\log \epsilon$): 293(3,97), 205(4,40).

IV (E-67) $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} (CH_2Cl_2): 3054, 2927, 2853, 1605, 1457, 1413, 1365, 1265, 1227, 1206, 1157, 1130, 1086, 1030, 816, 738, 704.

Parte Experimental

→ 2ª Tentativa³²

A floracetofenona **50** (0,200 g; 1,19 mmol) foi solubilizada em Et₂O (8 ml) e CH₃OH (2 ml) e colocada em um banho de gelo. Adicionou-se aos poucos diazometano, suspenso em Et₂O, até que a reação se completasse. A reação foi acompanhada por CCD, concentrada em evaporador rotativo e purificada por CCP (EP:EtOAc 20%). Obteve-se 0,195 g (84%) do produto desejado.

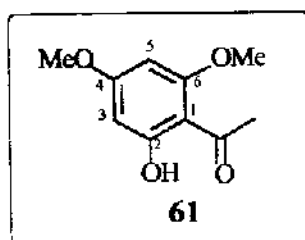
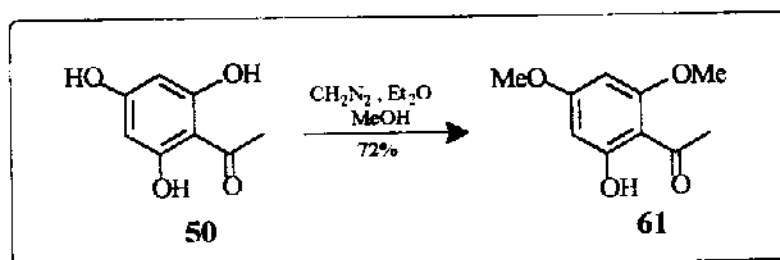


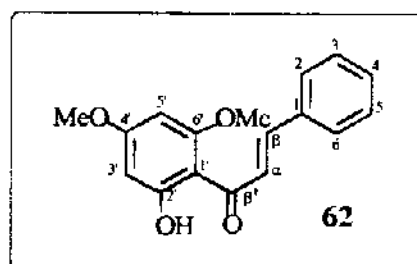
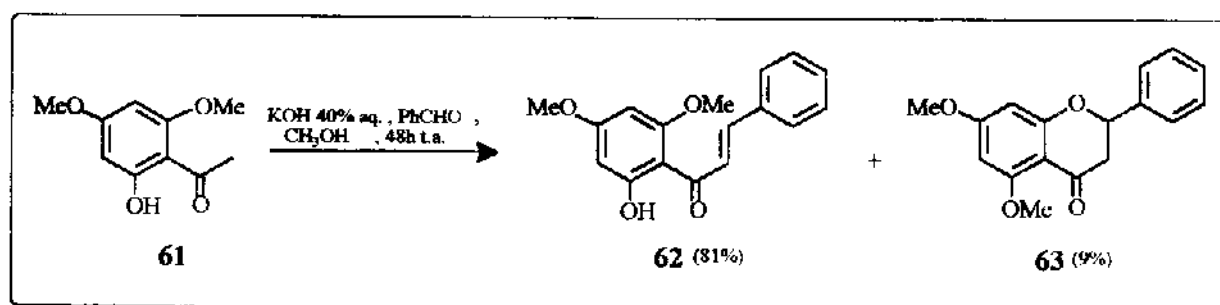
Tabela 51 - Dados de RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃/TMS) de **61**.

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
3	6,02 (1H; d; 2,3)
5	5,90 (1H; d; 2,3)
OMe (C-4)	3,70 (3H; s)
OMe (C-6)	3,70 (3H; s)
Me	2,50 (3H; s)
OH	14,2 (1H; s)

PF(°C): 76 - 78 (EtOH).

Síntese da Chalcona 62^{42,46}

A floracetofenona metilada **61** (0,360 g; 1,82 mmol) foi dissolvida em CH₃OH (10 ml). Uma solução aquosa de KOH 40% foi adicionada, seguida pela adição gota a gota de benzaldeído (0,18 ml; 1,82 mmol). A reação permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 48 horas. A mistura reacional foi então acidificada com HCl diluído até pH=2 e diluída com Et₂O. A fração etérea foi lavada com uma solução saturada de NaCl e H₂O, respectivamente. A fase orgânica foi seca sobre Na₂SO₄, concentrada em evaporador rotativo e purificada por CCP (EP:EtOAc 20%). Obteve-se 0,420 g (81%) da 2'-hidroxichalcona **62** e 0,049 g (9%) da flavanona **63** correspondente.



Parte Experimental

Tabela 52 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de 62 (E-68).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
α	7,79 (1H; d; 15,6)
β	7,92 (1H; d; 15,7)
2 e 6	7,63 - 7,60 (2H; m)
3, 4 e 5	7,42 - 7,40 (3H; m)
3'	5,98 (1H; d; 2,3)
5'	6,12 (1H; d; 2,4)
OH (C-2')	14,31 (1H; s)
OMe (C-4')	3,85 (3H; s)
OMe (C-6')	3,93 (3H; s)

Tabela 53 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de 62 (E-69a).

C	δ ppm
α	127,8 (CH)
β	142,6 (CH)
β'	193,0 (C=O)
1	135,9 (C)
2	129,1 (CH)
3	128,6 (CH)
4	130,3 (CH)
5	128,6 (CH)
6	129,1 (CH)
1'	106,6 (C)
2'	166,6 (C)
3'	94,0 (CH)
4'	168,7 (C)
5'	91,5 (CH)
6'	162,8 (C)
OMe (C-4')	55,7 (CH_3)#
OMe (C-6')	56,0 (CH_3)#

valores intercambiáveis

UV (E-70) ($c=0,690$ mg/ml; CH_3OH ; $b=1$ cm^3) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (log ϵ): 339(3,74), 204(3,82).

IV (E-71) $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} (CH_2Cl_2): 3429, 2925, 2855, 1628, 1580, 1449, 1342, 1217, 1158, 1113.

Parte Experimental

EM (E-72) m/z (%): 284(M⁺,51), 252(3), 207(100), 181(27), 137(19), 103(21),77(22), 69(14).

PF(°C): 85 - 88 (EtOH).

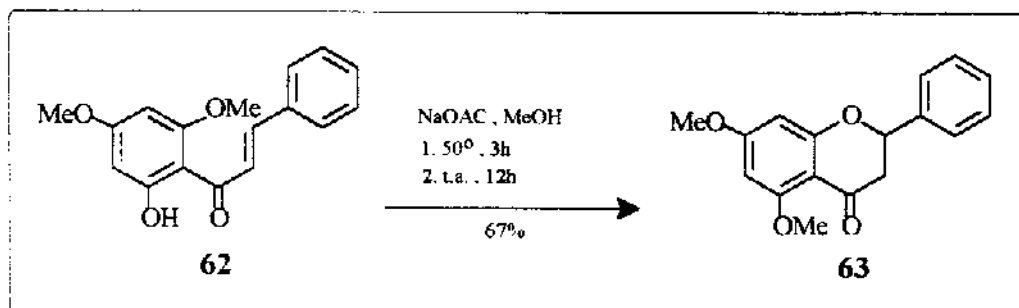
Reação de Ciclização da 2'-Hidroxichalcona 62

→ 1a Tentativa⁵²

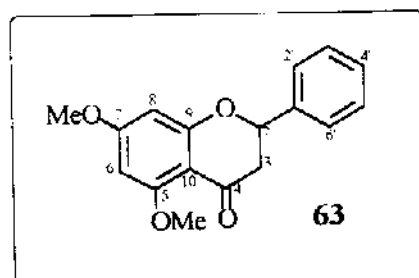
A uma solução da 2'-hidroxichalcona **62** (0,085 g; 0,29 mmol) em CH₃OH (3 ml), adicionou-se HCl aquoso (3%) até o aparecimento de uma turbidez permanente. A reação permaneceu 24 horas sob agitação a temperatura ambiente e, então foi aquecida sob refluxo por 48 horas. O acompanhamento da reação feito por CCD (CH₂Cl₂) mostrou somente a presença do material de partida, indicando que a reação não havia ocorrido.

→ 2a Tentativa⁵³

A uma solução da 2'-hidroxichalcona **62** (0,100 g; 0,59 mmol) em CH₃OH (10 ml), adicionou-se acetato de sódio (2,250 g; 27,4 mmol). A mistura reacional foi aquecida a 50°C por 3 horas e depois permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 12 horas. Evaporou-se o CH₃OH, adicionou-se CHCl₃ (10 ml), filtrou-se, concentrou-se em evaporador rotativo e fez-se a purificação por CCP (EP:EtOAc 20%). Obteve-se 0,067 g (67%) da flavanona **63** e 0,030 g (30%) da chalcona **62** de partida.



Parte Experimental

Tabela 54 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **63** (E-73).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
2	5,41 (1H; dd; 13,0 e 3,0)
3ax	3,03 (1H; dd; 16,5 e 13,2)
3eq	2,80 (1H; dd; 16,6 e 3,0)
6	6,09 (1H; d; 2,3)
8	6,12 (1H; d; 2,4)
2', 3' 4', 5' e 6'	7,48 - 7,37 (5H; m)
OMe (C-5)	3,90 (3H; s)
OMe (C-7)	3,82 (3H; s)

Tabela 55 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de **63** (E-74a).

C	δ ppm
2	79,2 (CH)
3	45,6 (CH_2)
4	189,2 (C=O)
5	165,0 (C)
6	93,6 (CH)
7	166,0 (C)
8	93,1 (CH)
9	162,3 (C)
10	106,0 (C)
1'	138,7 (C)
2' e 6'	126,1 (CH)
3' e 5'	128,8 (CH)
4'	128,7 (CH)
OMe (C-5)	56,2 (CH_3)
OMe (C-7)	55,6 (CH_3)

Parte Experimental

UV (E-75) ($c=0,207$ mg/ml; CH_3OH ; $b=1$ cm^3) $\lambda_{\text{máx}}$ nm ($\log \epsilon$): 283(4,30), 226(4,29), 214(4,33).

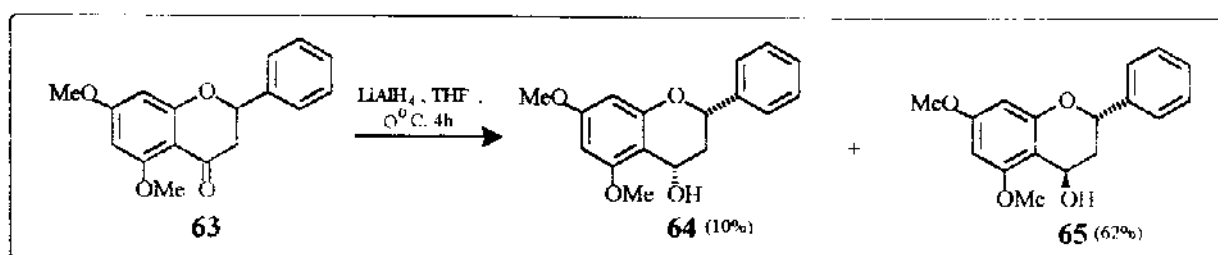
IV (E-76) $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} (CH_2Cl_2): 3434, 1673, 1606, 1568, 1467, 1422, 1373, 1335, 1260, 1241, 1216, 1198, 1161, 1110, 1066, 821, 767, 703.

EM (E-77) m/z (%): 284(M^+ ,28), 283(10), 241(2), 207(17), 180(100), 137(35), 104(10), 77(8), 69(10).

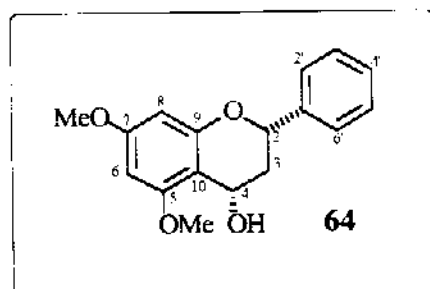
PF(°C): 136 - 138 (EtOH).

Reação de Redução da Flavanona 63⁵⁵

A flavanona **63** (0,040 g; 0,14 mmol), previamente seca em bomba de vácuo por 4 horas, foi solubilizada em THF seco (3 ml). Adicionou-se então LiAlH_4 (0,011g; 0,32 mmol) sob atmosfera de argônio e a reação foi mantida sob agitação a 0°C por 2 horas. O excesso de LiAlH_4 foi destruído com Et_2O e H_2O e a mistura reacional acidificada com HCl diluído até pH ácido. Fez-se a extração com Et_2O , secou-se sobre Na_2SO_4 e concentrou-se a fase orgânica em evaporador rotativo. Obteve-se 0,034 g (84%) do produto bruto, o qual foi purificado através de CC (CH_2Cl_2 100%) e forneceu uma mistura de dois álcoois diastereoisoméricos **64** (0,004 g; 10%) e **65** (0,024 g; 62%).



Parte Experimental

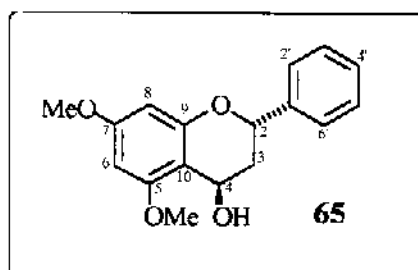
Tabela 57 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **64** (E-78).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
2	5,16 (1H; dd; 12,1 e 1,8)
3ax	2,05 (1H; ddd; 4,0)
3eq	2,26 (1H; dt; 14,4 e 1,9)
4	5,00 (1H; m)
6	6,12 (1H; d; 2,3)
8	6,16 (1H; d; 2,3)
2' e 6'	7,50 - 7,45 (2H; m)
3', 4' e 5'	7,43 - 7,31 (3H; m)
OH (C-4)	2,51 (1H; s)
OMe (C-5)	3,72 (3H; s)
OMe (C-7)	3,87 (3H; s)

Tabela 58 - Dados de RMN ^{13}C (75,4 MHz; CDCl_3/TMS) de **64** (E-79a).

C	δ ppm
2	73,7 (CH)
3	37,6 (CH_2)
4	59,3 (CH)
5	156,4 (C)
6	93,4 (CH)
7	161,2 (C)
8	91,8 (CH)
9	159,3 (C)
10	106,1 (C)
1'	140,9 (C)
2'	126,3 (CH)
3'	128,5 (CH)
4'	128,0 (CH)
5'	128,5 (CH)
6'	126,3 (CH)
OMe (C-5)	55,4 (CH_3)
OMe (C-7)	55,6 (CH_3)

Parte Experimental

Tabela 59 - Dados de RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3/TMS) de **65** (E-80).

H	δ ppm (mult.; J=Hz)
2	5,34 (1H; dd; 11,0)
3ax	2,00 (1H; ddd)
3eq	2,86 (1H; dt; 13,9)
4	4,90 (1H; m)
6	6,03 (1H; d; 2,3)
8	6,07 (1H; d; 2,3)
2' e 6'	7,54 - 7,52 (2H; m)
3', 4' e 5'	7,46 - 7,34 (3H; m)
OH (C-4)	3,72 (1H)
OMe (C-5)	3,52 (3H; s)
OMe (C-7)	3,72 (3H; s)

Tabela 60 - Dados de RMN ^{13}C (75,4MHz; CDCl_3/TMS) de **65** (E-81a).

C	δ ppm
2	73,8 (CH)
3	32,7 (CH_2)
4	63,7 (CH)
5	157,2 (C)
6	93,2 (CH)
7	161,3 (C)
8	91,6 (CH)
9	159,4 (C)
10	104,1 (C)
1'	141,1 (C)
2'	127,3 (CH)
3'	128,5 (CH)
4'	128,3 (CH)
5'	128,5 (CH)
6'	127,3 (CH)
OMe (C-5)	55,3 (CH_3)
OMe (C-7)	55,7 (CH_3)

Reação de Metilação dos Álcoois 64 e 65⁵⁸

A uma mistura dos álcoois **64** e **65** (0,036 g; 0,12 mmol), solubilizados em THF seco (3 ml), adicionou-se NaH (0,003 g; 0,12 mmol) e a reação foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 45 minutos. Após colocou-se MeI (0,017 g; 0,12 mmol) e manteve-se a agitação por mais 45 minutos. A mistura reacional foi solubilizada com 10 ml de éter, lavada com uma solução aquosa de K₂CO₃ 10% (10ml), brine (10 ml), seca sobre Na₂SO₄ e concentrada em evaporador rotativo. Após purificação por CCP (EP:EtOAc 10%) recuperou-se os reagentes de partida. A reação foi repetida aumentando-se o tempo de duração para 24 horas, mas o resultado manteve-se inalterado.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tozzi, A.M.A. "Estudos Taxonômicos dos Gêneros *Lonchocarpus* Kunth e *Deguelia* Aubl no Brasil", Tese de Doutorado, Instituto de Biologia - Unicamp, SP, 1989.
2. Joly, A.B. *Botânica: Introdução a Taxonomia Vegetal*; 4ª ed. Ed. Nacional: São Paulo, 1977; pp 371-382.
3. Heywood, J. *The Leguminosae - A Systematic Purview* In: Harbone, J.B.; Boulter, D.; Turner, B.L. *Chemotaxonomy of the Leguminosae*, Academic: London, 1971; pp 1-29.
4. Hutchinson, J. *The Genera of Flowering Plants*, Oxford: London, 1971; pp 221-489.
5. Sales, B.H.L.N. "Flavonóides de *Lonchocarpus subglaucescens* (BENTH)-*Leguminosae* e Síntese de β -Hidroxichalconas", Tese de Doutorado, Instituto de Química - Unicamp, SP, 1994.
6. Nascimento, M.C. e Mors, W.B. *Phytochemistry* 1981, 20, 147.
7. Waterman, P.G. e Mahmoud, E.N. *Phytochemistry* 1985, 24, 571.
8. Waterman, P.G. e Mahmoud, E.N. *Phytochemistry* 1987, 26, 1189.
9. Lam, J. e Wrang, P. *Phytochemistry* 1975, 14, 1621.
10. Tanaka, N.; Murakami, T.; Wada, H.; Gutierrez, A.B.; Saiki, Y. e Chen, C. *Chem. Pharm. Bull.* 1985, 33, 5231.
11. Gómez, F.; Quijano, L.; Calderón, J.S.; Rodriguez, C. e Ríos, T. *Phytochemistry*, 1985, 24, 1057.
12. Bohlmann, F.; Jakupovic, J.; King, R.M. e Robinson, H. *Phytochemistry* 1980, 19, 1815.
13. Gómez-Garibay, F.; Quijano, L.; Calderón, J.S.; Morales, S. e Ríos, T. *Phytochemistry*, 1988, 27, 2971.
14. Monache, F.D.; Labbiento, L.; Marta, M. e Lwande, W. *Phytochemistry* 1986, 25, 1711.
15. Harbone, J.B. *The Flavonoids*; Chapman and Hall: London, 1988.
16. Mabry, T.J.; Markham, K.R. e Thomas, M.B. *The Systematic Identification of Flavonoids*; Springer-Verlag: New York, 1970.

Referências Bibliográficas

17. Harbone, J.B.; Mabry, T.J. e Mabry, H. *The Flavonoids*; Academic: New York, vols. 1 e 2, 1975.
18. Agrawal, P.K. *Carbon-13 NMR of Flavonoids*; Elsevier Science: Amsterdam, 1989.
19. Bolger, B.J.; Hirwe, A.; Marathe, K.G.; Philbin, E.M.; Vickars, M.A. e Lillya, C.P. *Tetrahedron* **1966**, *22*, 621.
20. Clark-Lewis, J.W. *Aust. J. Chem.* **1968**, *21*, 2059.
21. Clark-Lewis, J.W.; Jackman, L.M. e Spotswood, T.M. *Aust. J. Chem.* **1964**, *17*, 632.
22. Harbone, J.B. *Introduction to Ecological Biochemistry*; Academic: London, 1988.
23. Koes, R.E.; Quattrocchio, F. e Mol, J.N.M. *BioEssays* **1994**, *16*, 123.
24. Simmonds, M.S.J.; Blaney, W.M.; Monache, F.D. e Bettolo, G.B.M. *Journal of Chemical Ecology* **1990**, *16*, 365.
25. Gómez-Garibay, F.; Chilpa, R.R.; Quijano, L.; Pardo, J.S.C. e Castillo, T.R. *Phytochemistry*, **1990**, *29*, 459.
26. Abad, M.J.; Bermejo, P.; Villar, A. e Valverde, S. *Journal of Natural Products* **1993**, *56*, 1164.
27. Arisawa, M.; Shimizu, M.; Satomi, Y.; Nishino, A.; Nishino, H. e Iwashima, A. *Phytotherapy Research* **1995**, *9*, 222.
28. Hu, C.Q.; Chen, K.; Shi, Q.; Kilkuskie, R.E.; Cheng, Y.C. e Lee, K.H. *Journal of Natural Products* **1994**, *57*, 42.
29. Nascimento, M.C.; Dias, R.L.V. e Mors, W.B. *Phytochemistry* **1976**, *15*, 1553.
30. Talapatra, B.; Mallik, A.K. e Talapatra, S.K. *J. Indian Chem. Soc.* **1985**, *62*, 408.
31. Venkataratnam, G.; Rao, E.V. e Vilain, C. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I.* **1987**, 2723.
32. Pine, S.H. *Organic Chemistry*; McGraw-Hill: Singapore, 1988, pp 368-369.
33. Aramendia, M.A.; García, I.; Lafont, F. e Marinas, J.M. *Rapid Communications In Mass Spectrometry* **1995**, *9*, 503.

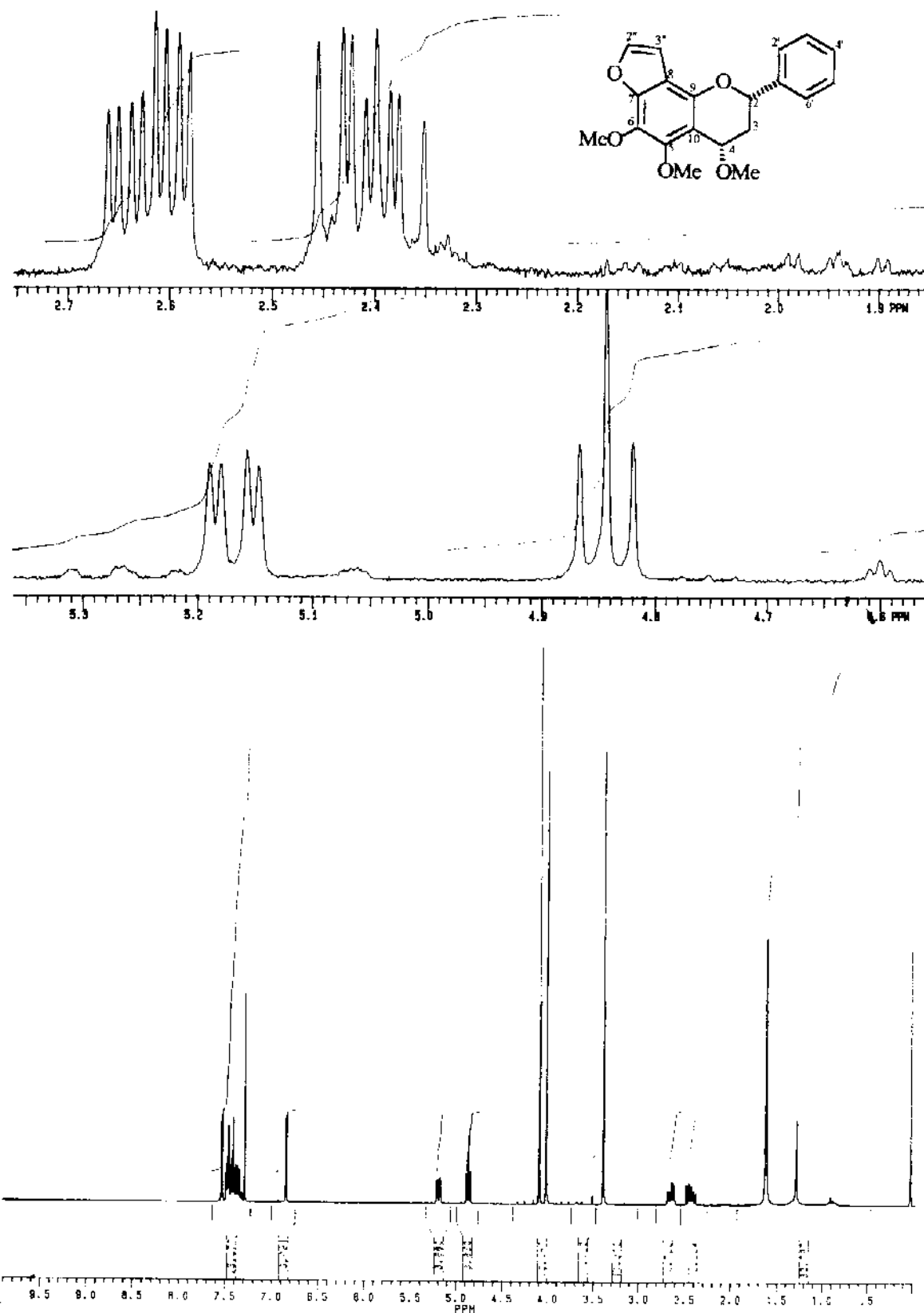
Referências Bibliográficas

34. Treutter, D.; Santos-Buelga, C.; Gutmann, M. e Kolodziej, H. *Journal of Chromatography A* **1994**, 667, 290.
35. Koupai-Abyazani, M.R.; McCallum, J. e Bohm, B.A. *Journal of Cromatography* **1992**, 594, 117.
36. Bankova, V.S.; Popov, S.S. e Marekov, N.L. *Journal of Cromatography* **1982**, 242, 135.
37. Willis, W.V. *Laboratory Experiments in Liquid Cromatography*; CRC: Florida, 1991.
38. Vogel, A.I. *A Text Book of Pratical Organic Chemistry*; Longman Green and Co:New York, 1985.
39. Jain, A.C.; Lal, P. e Seshadri, T.R. *Indian Journal of Chemistry* **1969**, 7, 1072.
40. Bajwa, B.S.; Lal, P. e Seshadri, T.R. *Indian Journal of Chemistry* **1971**, 9, 17.
41. Jain, A.C.; Lal, P. e Seshadri, T.R. *Tetrahedron* **1970**, 26, 2631.
42. Iyer, M.R. e Trivedi, G.K. *Journal of Natural Products* **1993**, 56, 268.
43. Burkhardt, G.; Becker, H.; Grubert, M.; Thomas, J. e Eicher, T. *Phytochemistry* **1994**, 37, 1593.
44. Ahluwalia, V.K. e Arora, K.K. *Tetrahedron* **1981**, 37, 1437.
45. Subramanian, M.; Kumaraswami, K. e Prasad, K.J.R. *Journal of Natural Products* **1992**, 55, 1213.
46. Ichino, K.; Tanaka, H.; Ito, K.; Tanaka, T. e Mizuno, M. *Journal of Natural Products* **1988**, 51, 906.
47. Khattri, P.S.; Sahai, M.; Dasgupta, B. e Ray, A.B. *Heterocycles* **1984**, 22, 249.
48. Itokawa, H.; Morita, M. e Mihashi, S. *Phytochemistry* **1981**, 20, 2503.
49. Wollenweber, E.; Rehre, C. e Dietz, V.H. *Phytochemistry* **1981**, 20, 1167.
50. Wollenweber, E.; Kohorst, G.; Mann, K. e Bell, J.M. *J. Plant. Physiol.* **1985**, 117, 423.
51. Patra, A.; Ghosh, G.; Sengupta, P.K. e Nath, S. *Magnetic Resonance In Chemistry* **1987**, 25, 734.

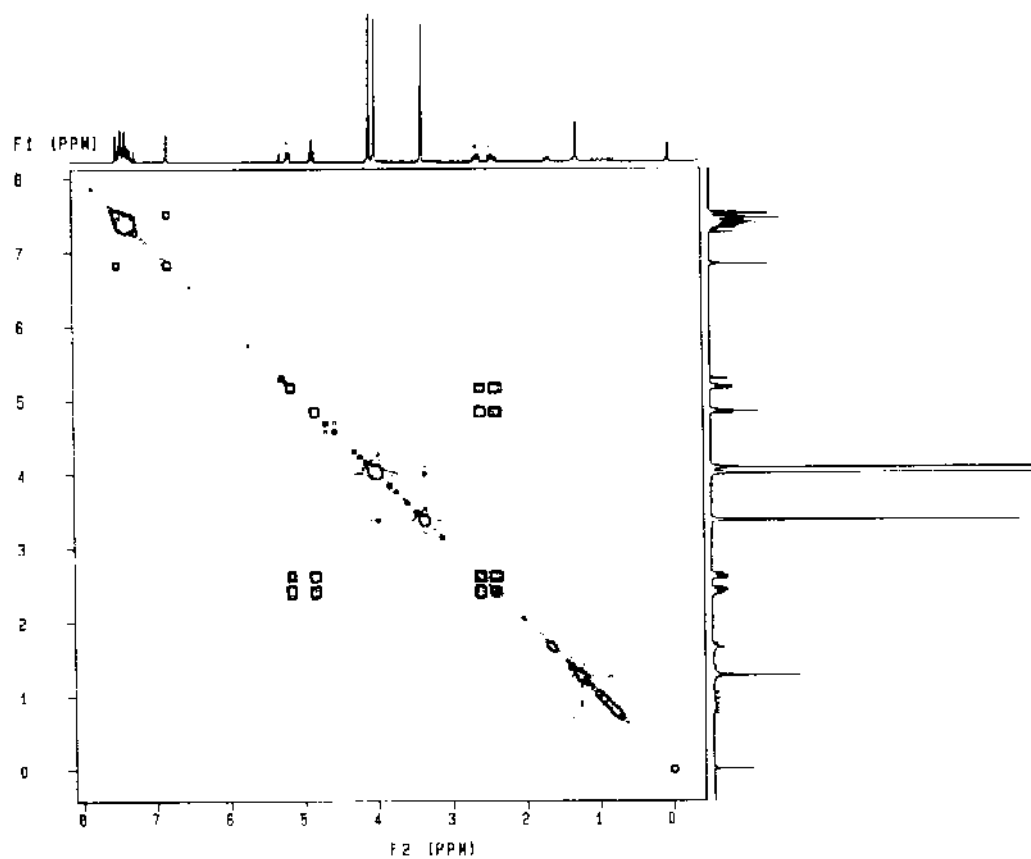
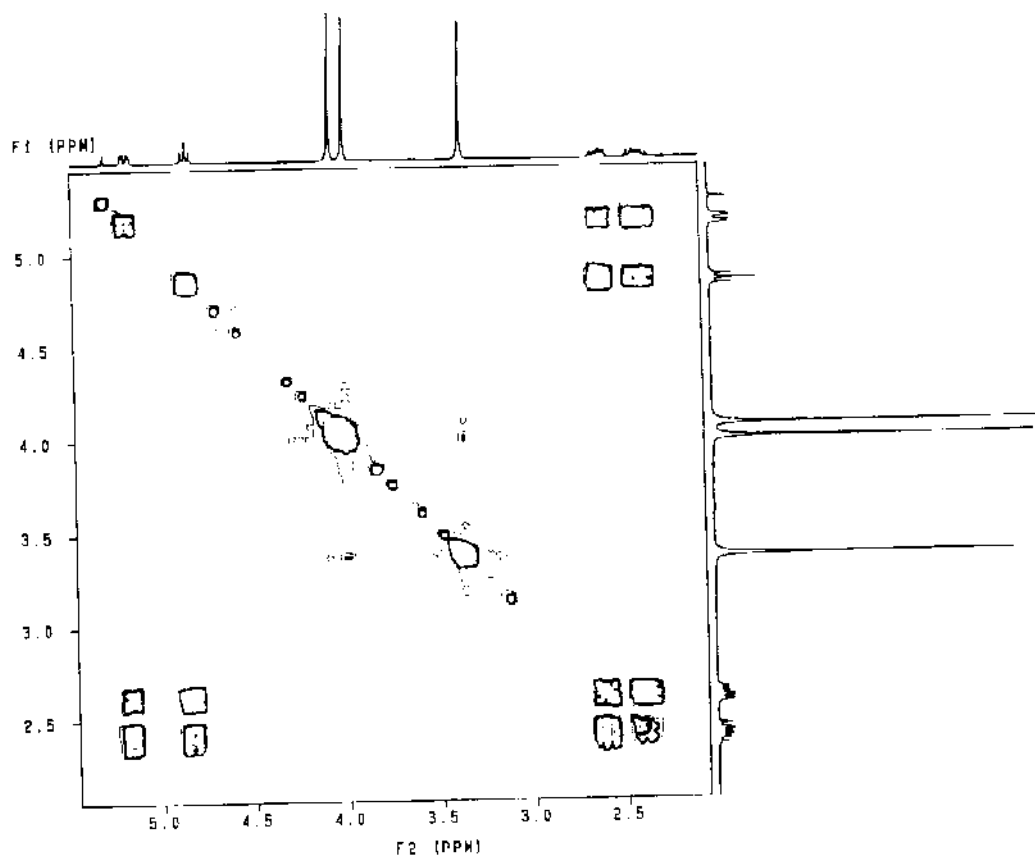
Referências Bibliográficas

52. Geissman, T.A. e Clinton, R.O. *J. Chem. Soc.* **1946**, 697.
53. Malik, S.B.; Sharma, P. e Seshadri, T.R. *Indian Journal of Chemistry* **1977**, *15B*, 493.
54. Jaipetch, T.; Reutrakul, V.; Tuntiwachwuttikul, P. e Santisuk, T. *Phytochemistry* **1983**, *22*, 625.
55. Clark-Lewis, J.W.; Spotswood, T.M. e Williams, L.R. *Aust. J. Chem.* **1963**, *16*, 107.
56. Senda, Y.; Ishiyama, J.; Imaizumi, S. e Hanaya, K. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I.* **1977**, 217.
57. Agrawal, P.K. *Indian J. Chem.* **1986**, *25B*, 1228.
58. McDougal, P.G.; Rico, J.G.; Oh, Y. e Condon, B.D. *J.Org.Chem.* **1986**, *51*, 3388.
59. Vrielynck, L.; Cornard, J.P.; Merlin, J.C. e Bopp, P. *Journal of Molecular Structure* **1993**, 227.
60. Vivas, N.; Laguerre, M.; Glories, Y.; Bourgeois, G. e Vitry, C. *Phytochemistry* **1995**, *39*, 1193.
61. Porter, L.J.; Wong, R.Y.; Benson, M.; Chan, B.G.; Vishwanadhan, V.N.; Gandour, R.D. e Mattice, W.L. *J.Chem.Research. (S)* **1986**, 86.
62. Gil, V.M.S. e Geraldês, C.F.G.C. *Ressonância Magnética Nuclear*; Fundação Calouste Gulbenkian-Lisboa, 1987, pp 328-354.
63. Haasnoot, C.A.G.; Leeuw, F.A.A.M. e Altona, C. *Tetrahedron* **1980**, *36*, 2783.
64. Bankova, V.S.; Popov, S.S. e Marekov, N.L. *Journal of Natural Products* **1983**, *46*, 471.
65. Still, W.C.; Kahn, M. e Mitra, A. *J.Org.Chem.* **1978**, *43*, 2923.
66. Perrin, D.D.; Amarego, W.L.F. e Perrin, D.R. *Purification of Laboratory Chemicals*; Pergamon: New York, 1980.

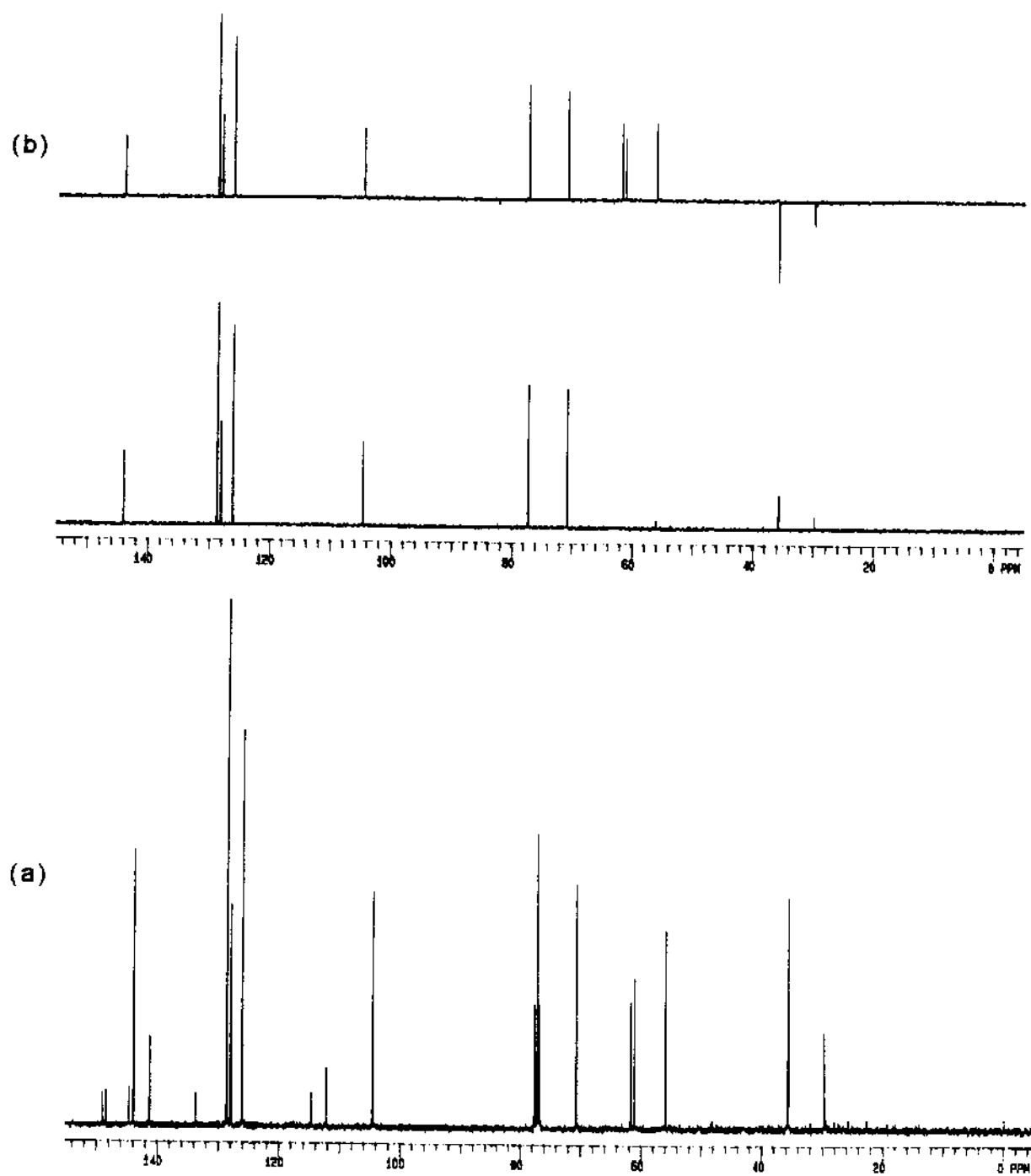
APÊNDICE I



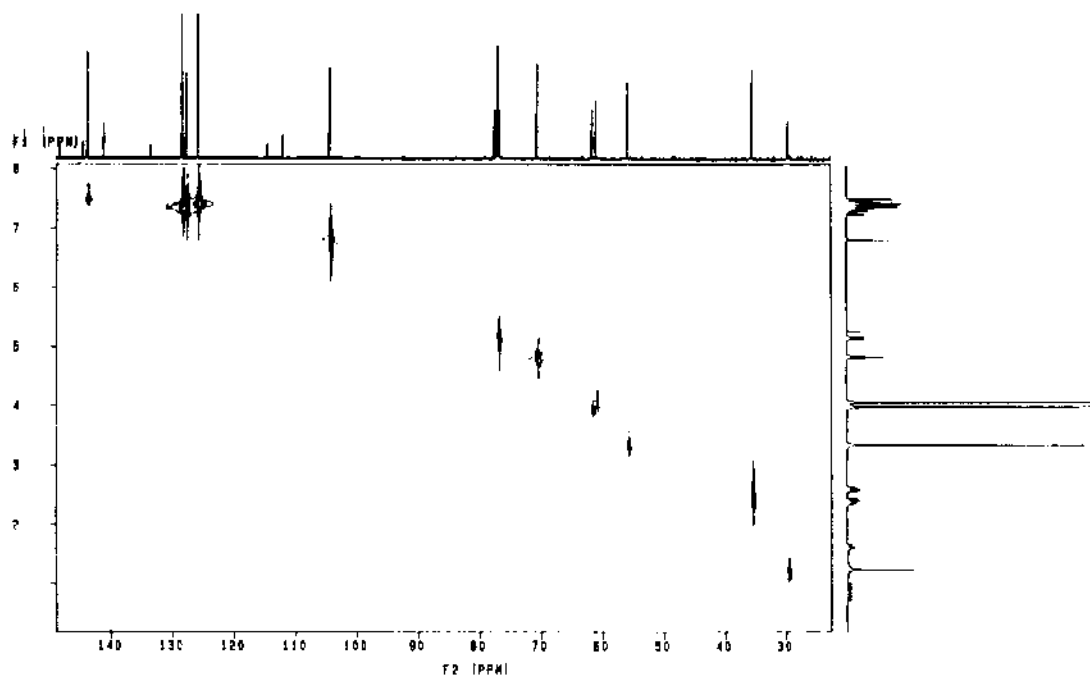
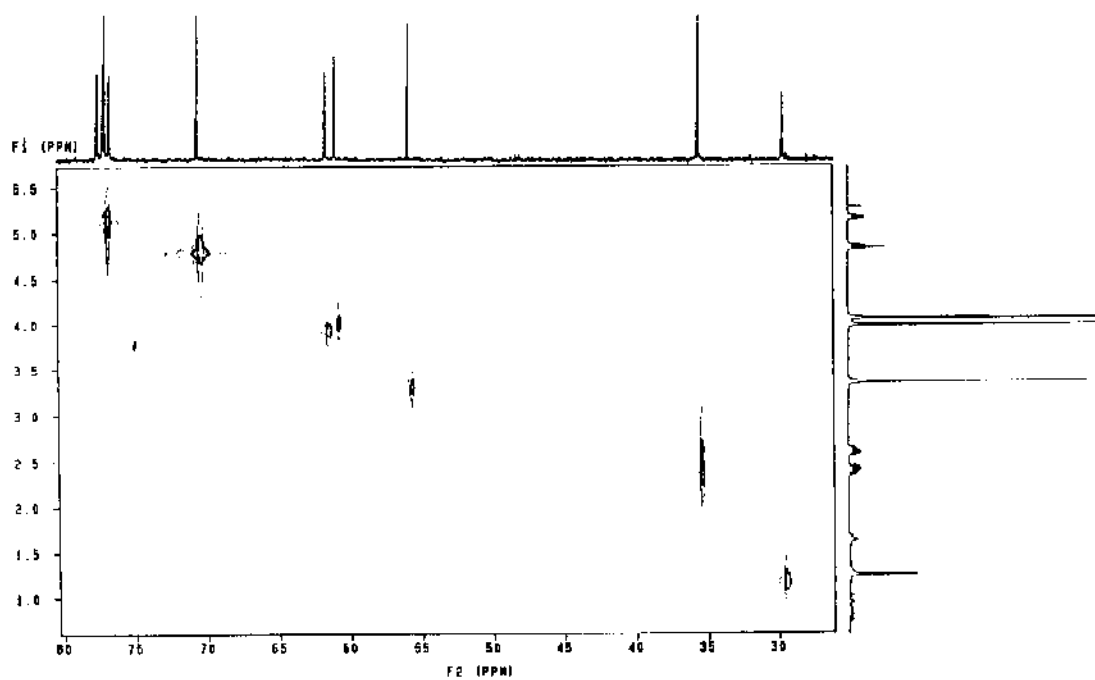
E-01 - Espectro de RMN ^1H da flavana 9.



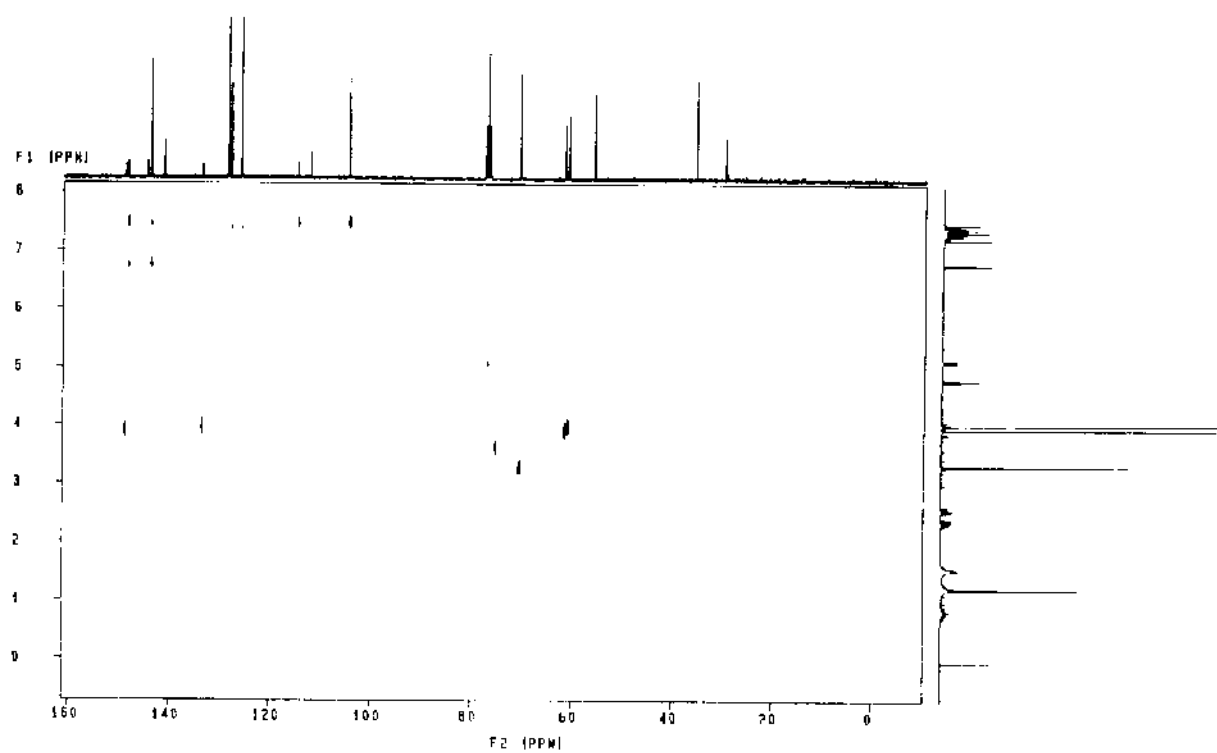
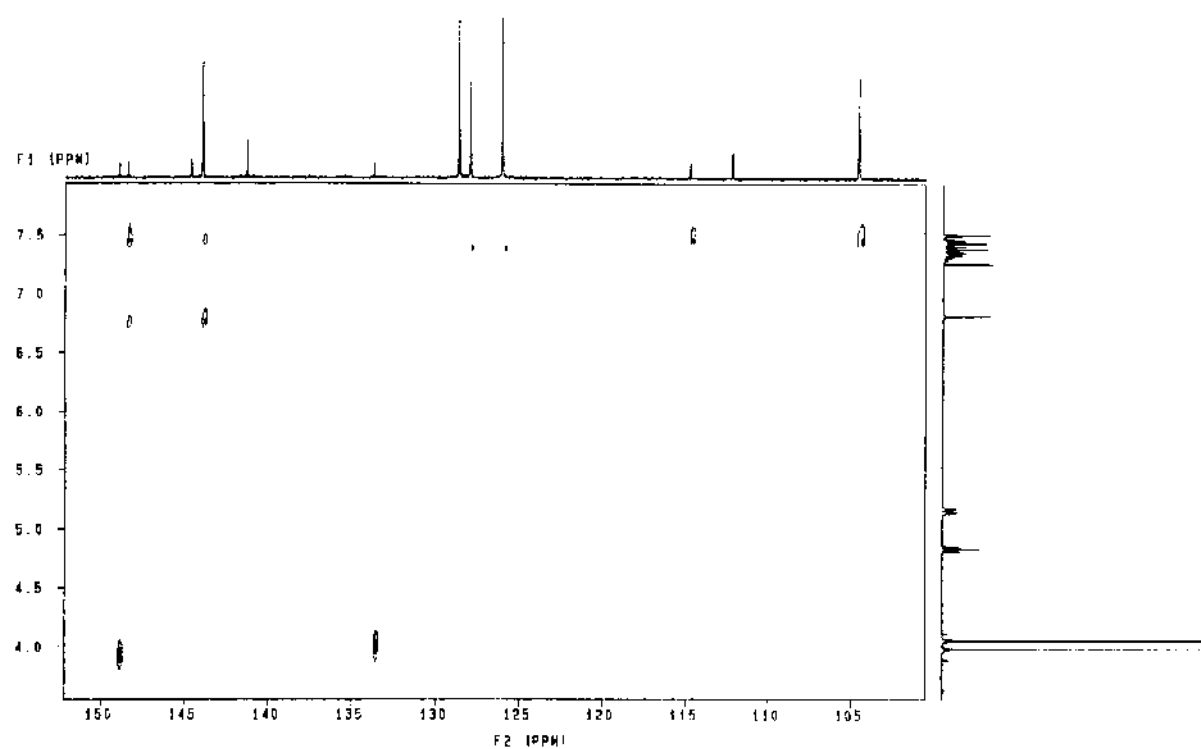
E-02 - Espectro COSY ^1H - ^1H da flavana 9.



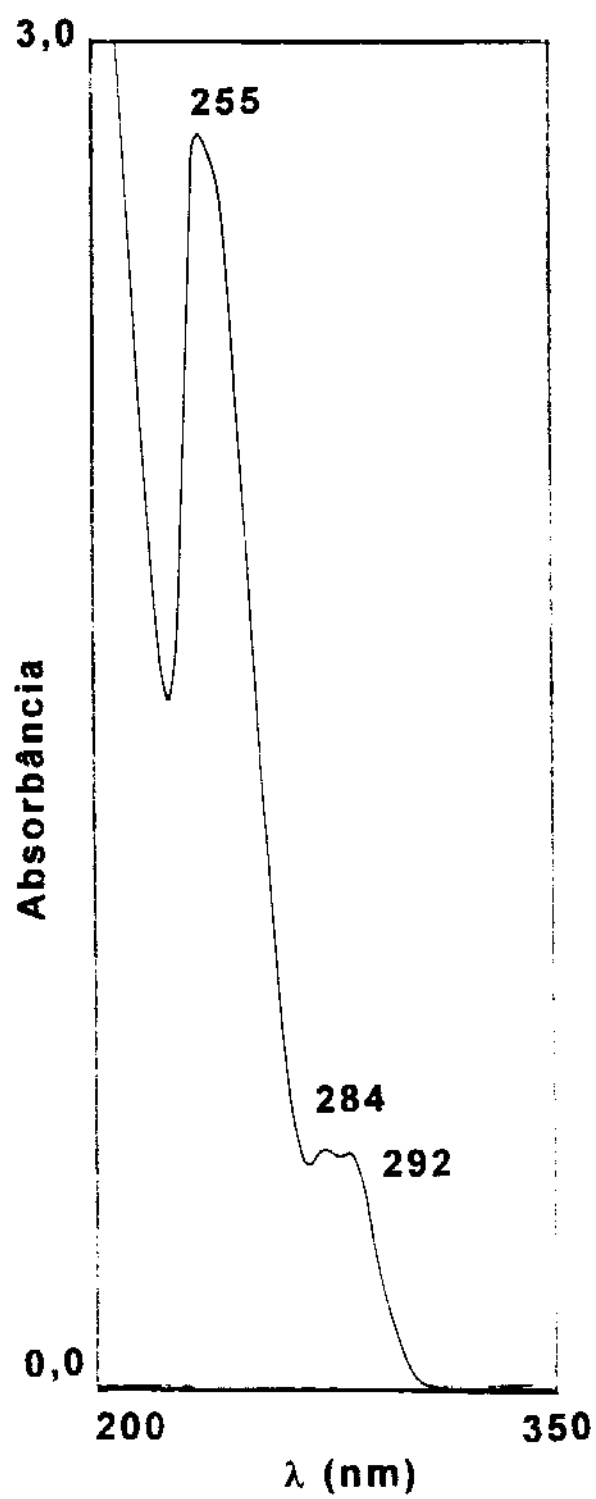
E-03 - (a) Espectro de RMN ^{13}C da flavana 9. (b) Espectro DEPT da flavana 9.



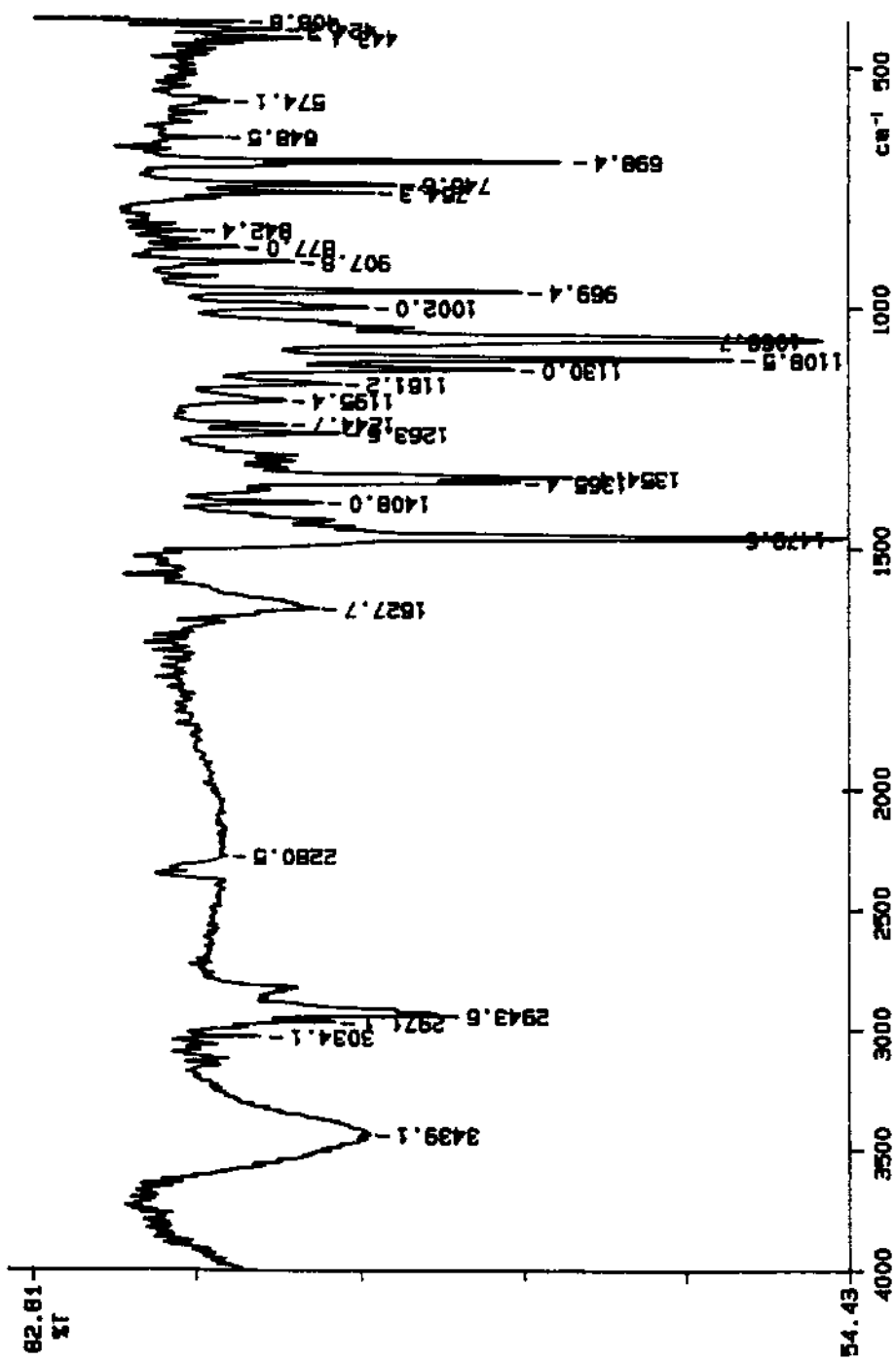
E-04 - Espectro HETCOR ^1H - ^{13}C da flavana 9.



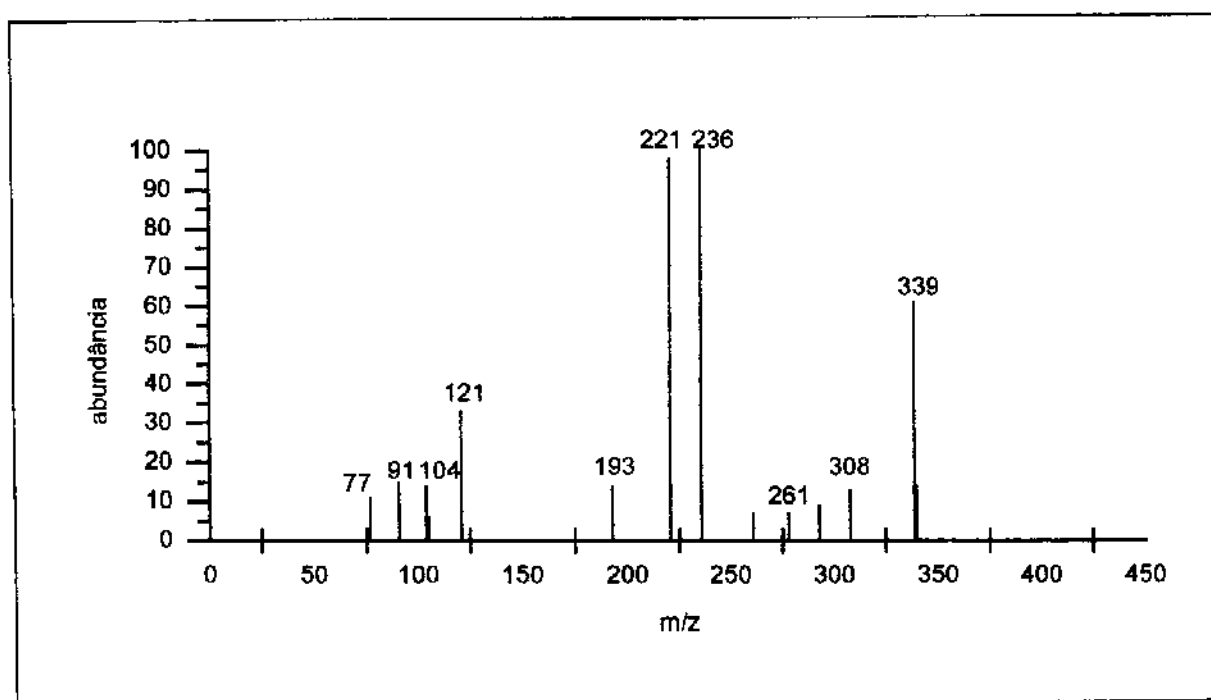
E-05 - Espectro COLOC da flavana 9.



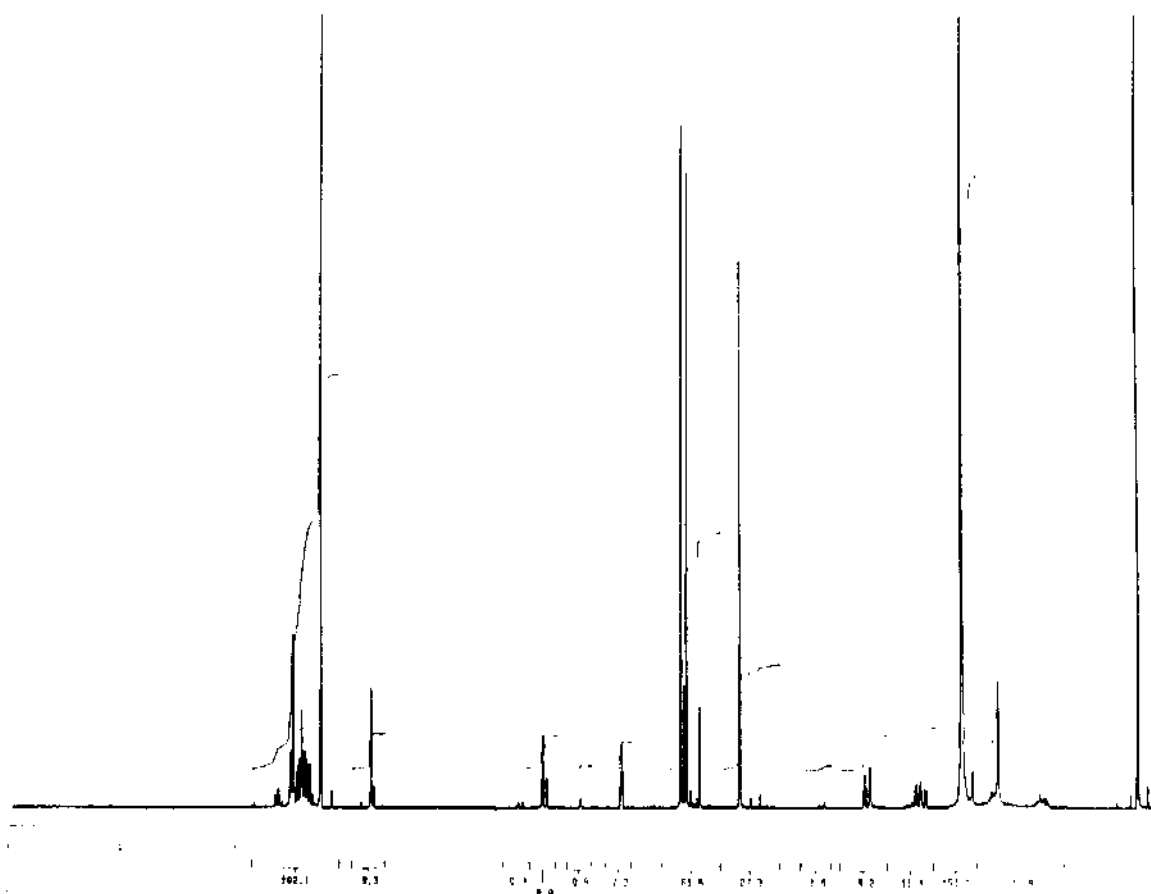
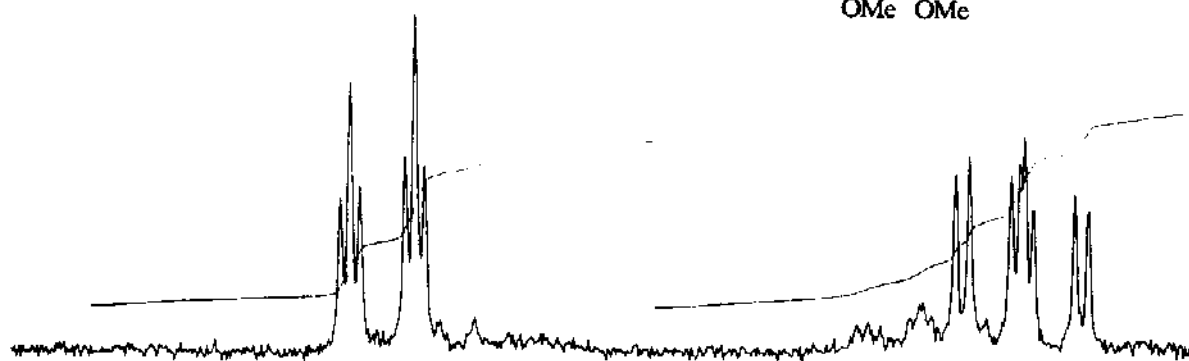
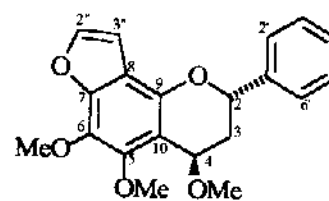
E-06 - Espectro UV da flavana 9.



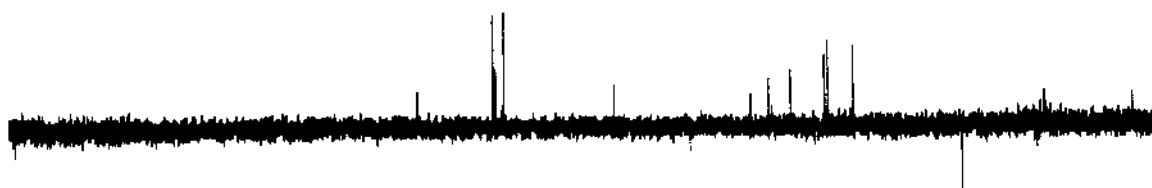
E-07 - Espectro IV da flavana 9.



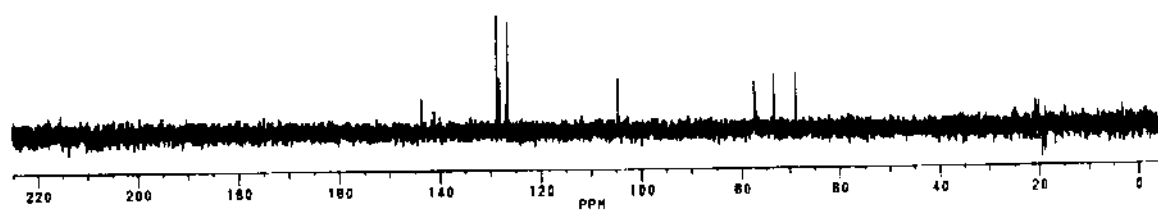
E-08 - Espectro de massas da flavana 9.



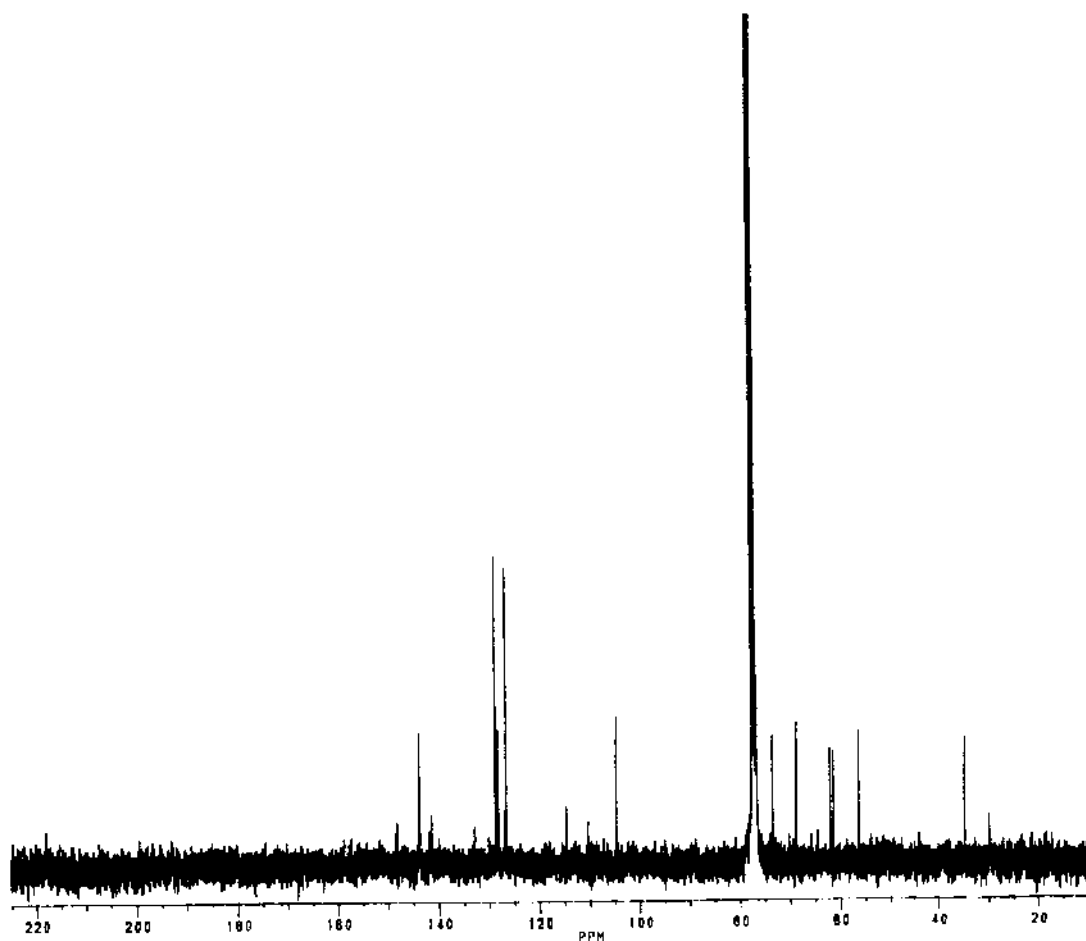
E-09 - Espectro de RMN ^1H da flavana 9a.



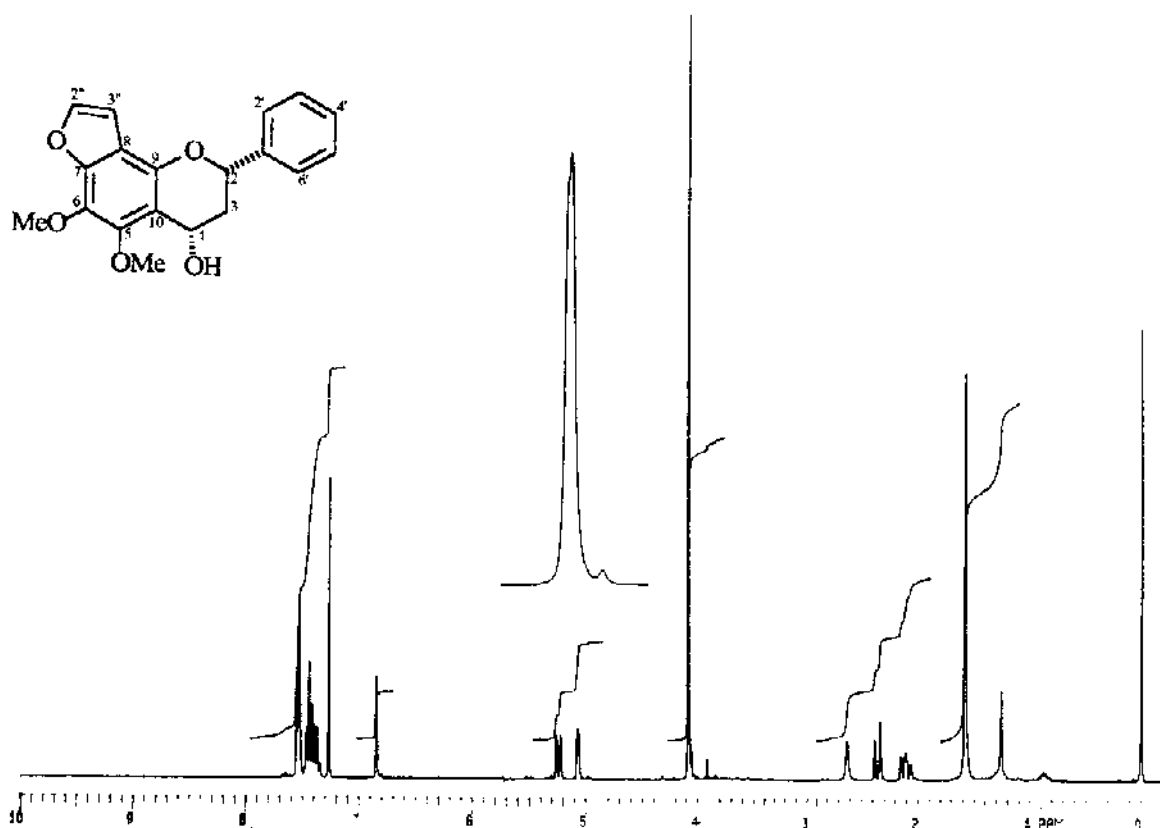
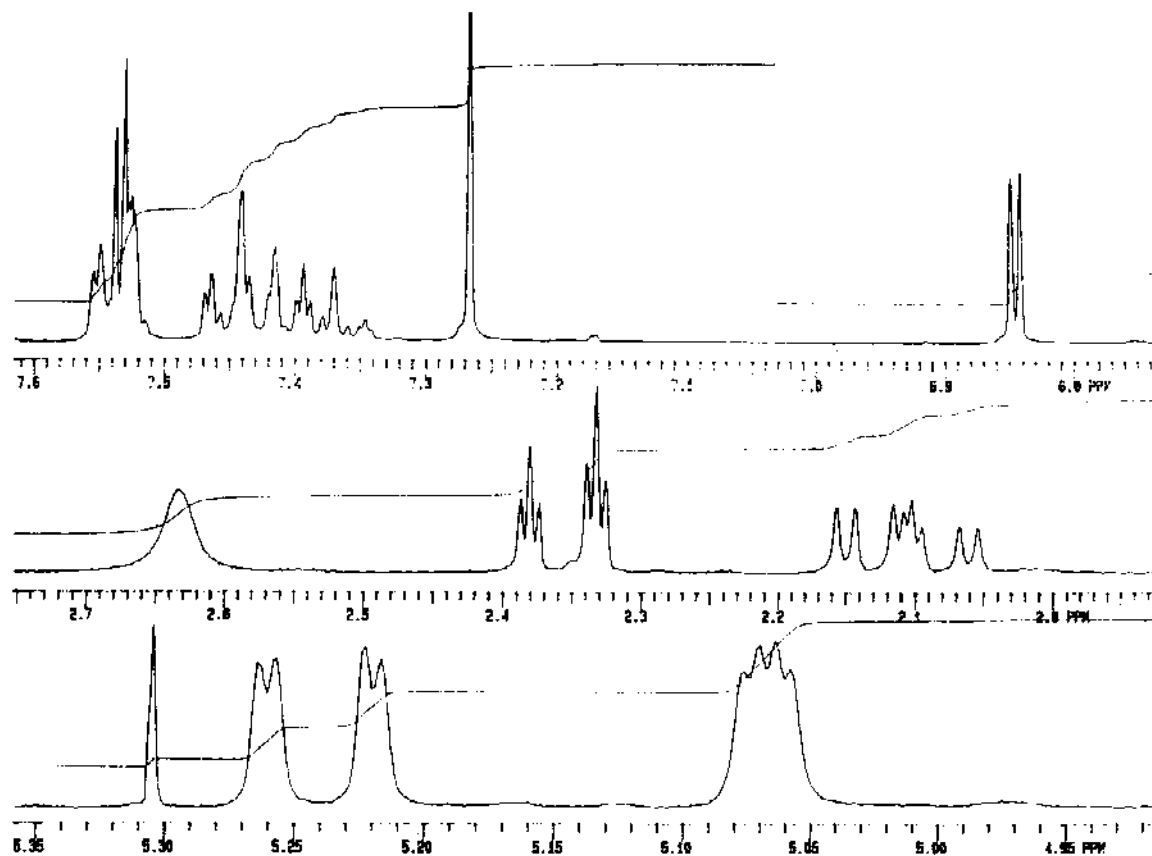
(b)



(a)



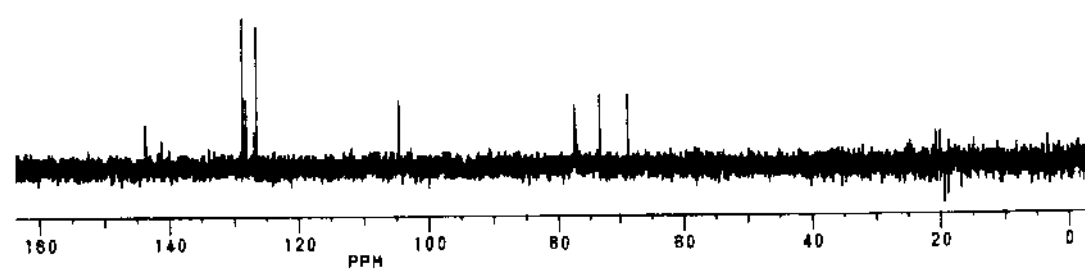
E-10 - (a) Espectro de RMN ^{13}C da flavana 9a. (b) Espectro DEPT da flavana 9a.



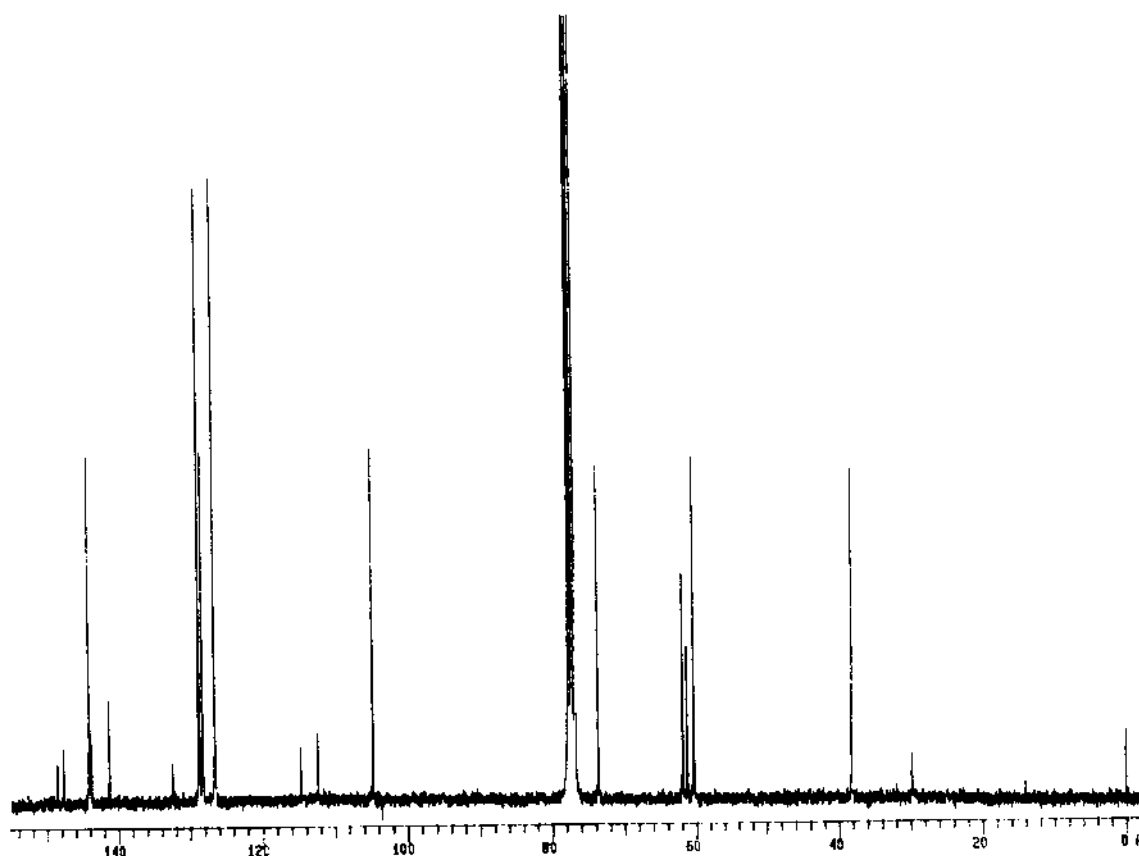
E-11 - Espectro de RMN ^1H da flavana 9b.



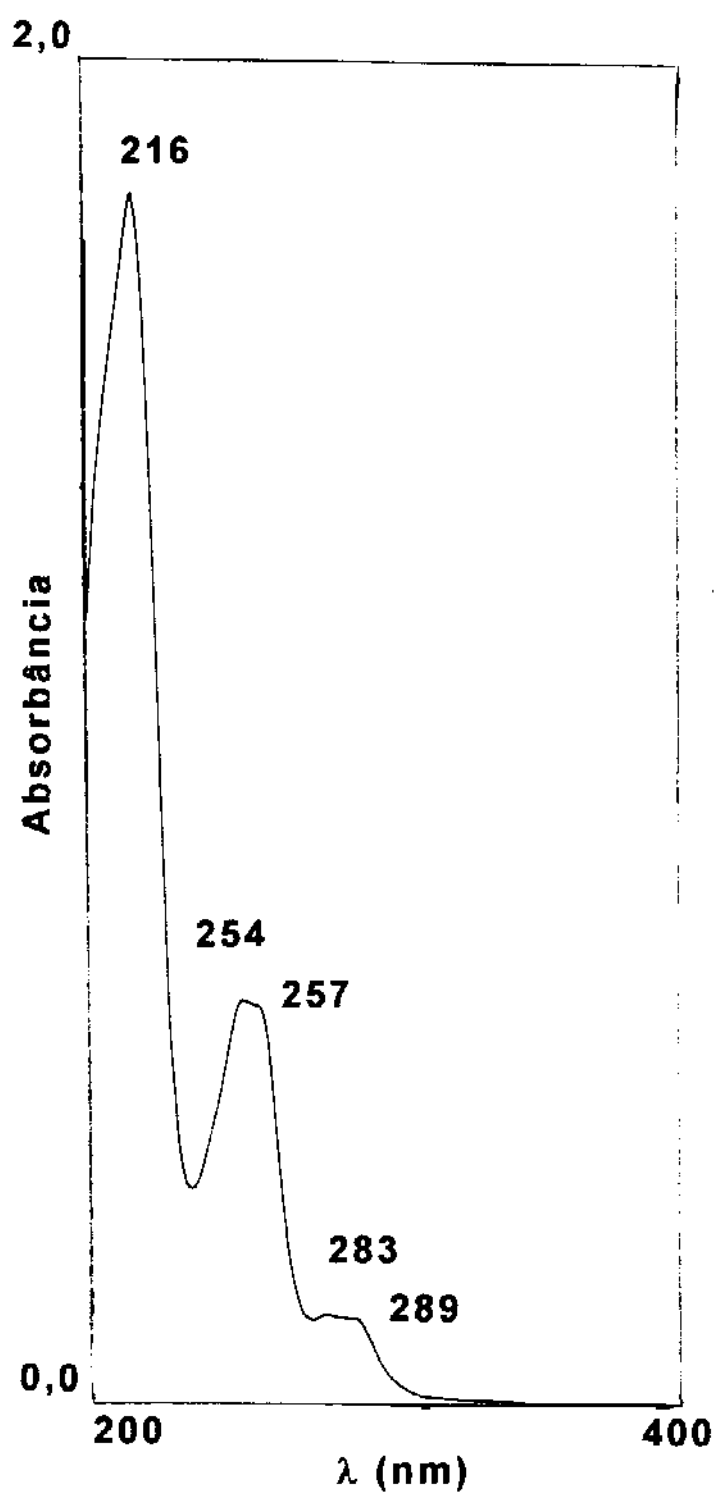
(b)



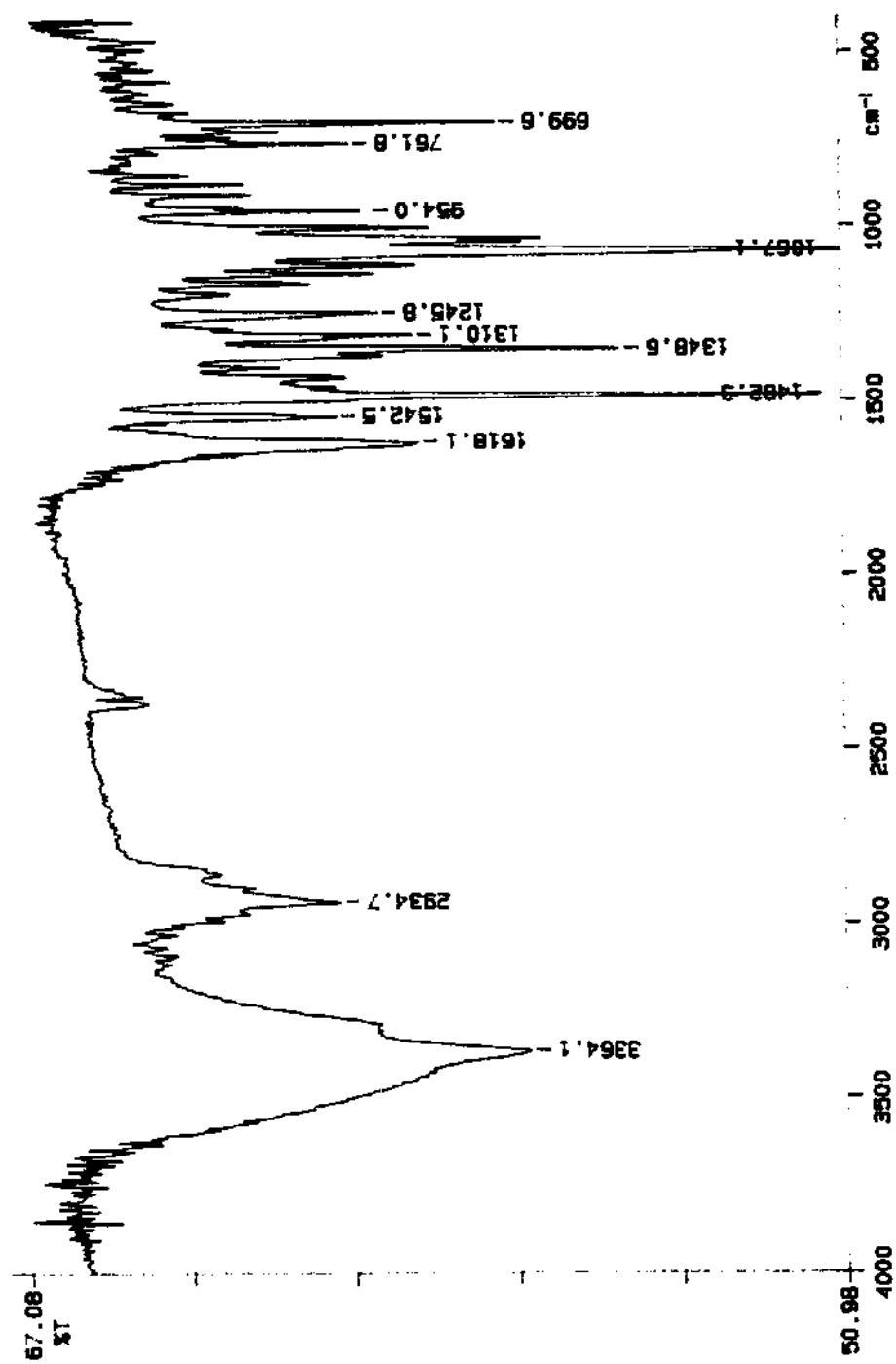
(a)



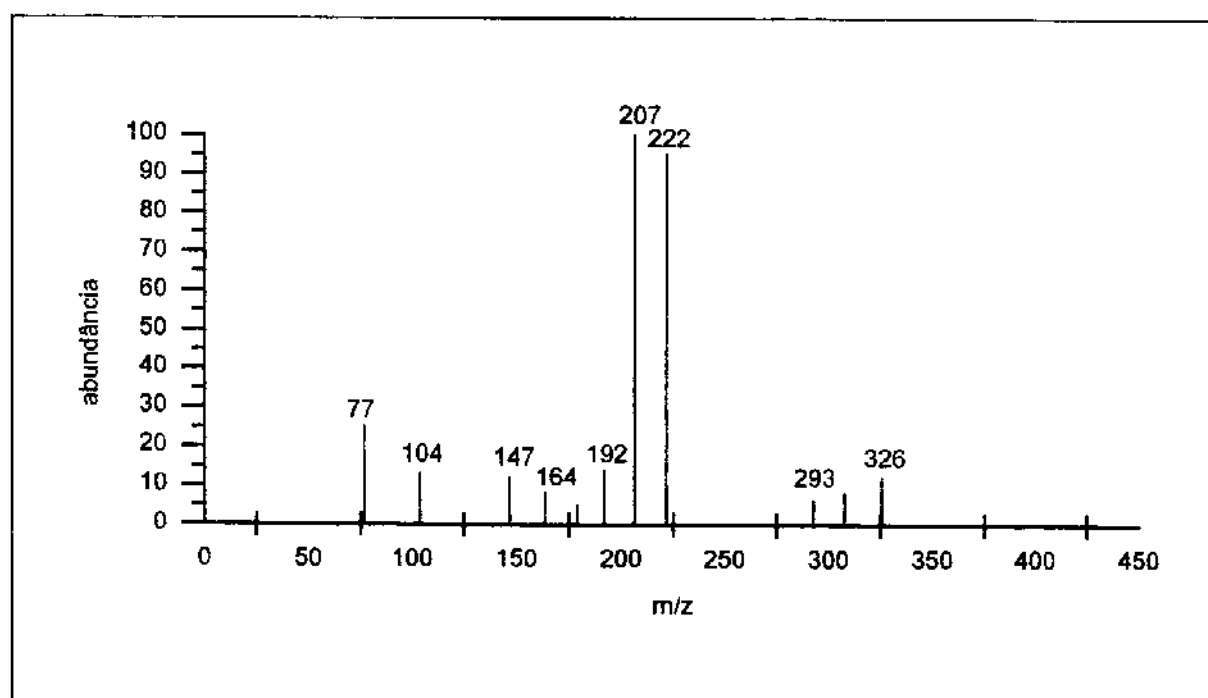
E-12 - (a) Espectro de RMN ^{13}C da flavana 9b. (b) Espectro DEPT da flavana 9b.



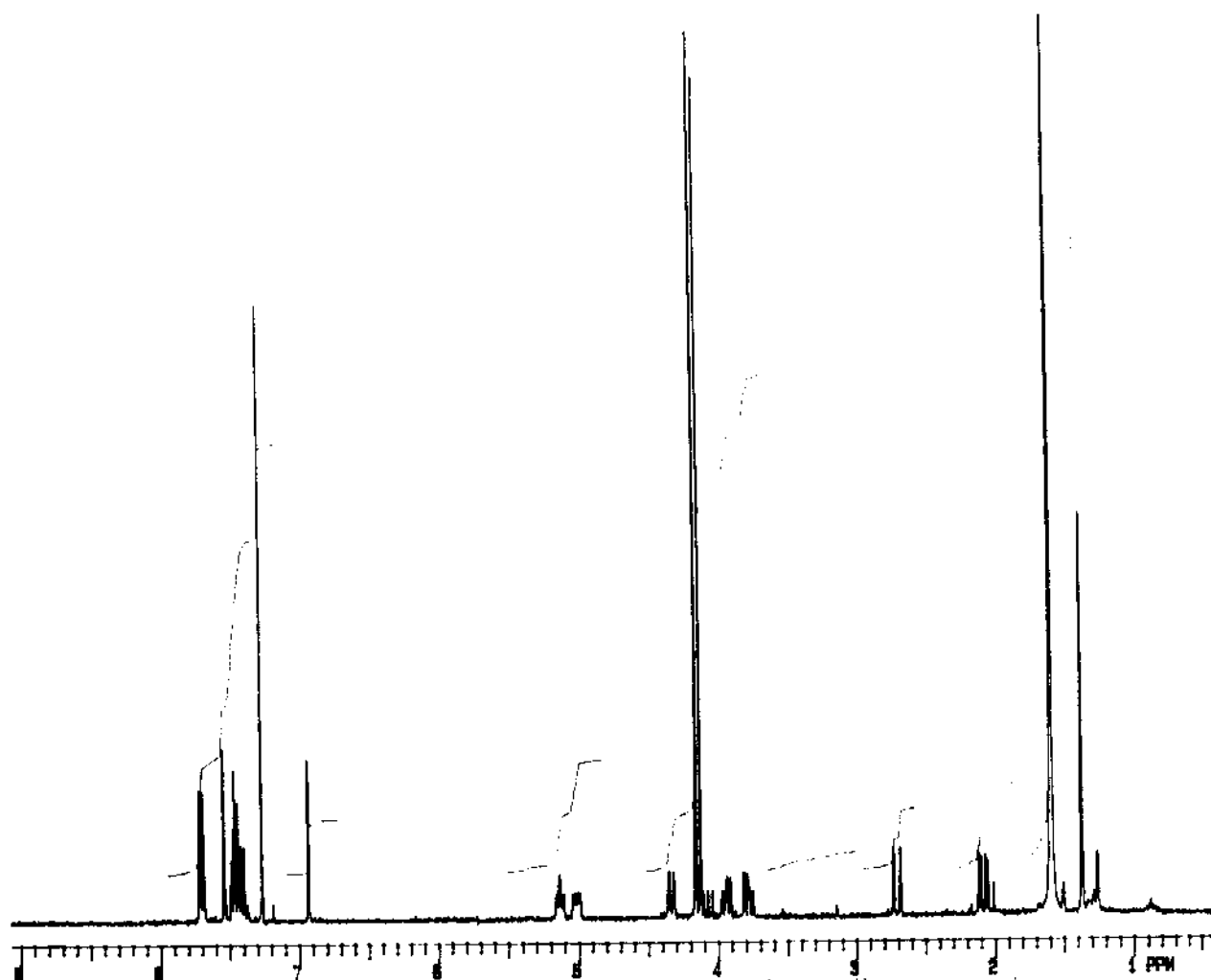
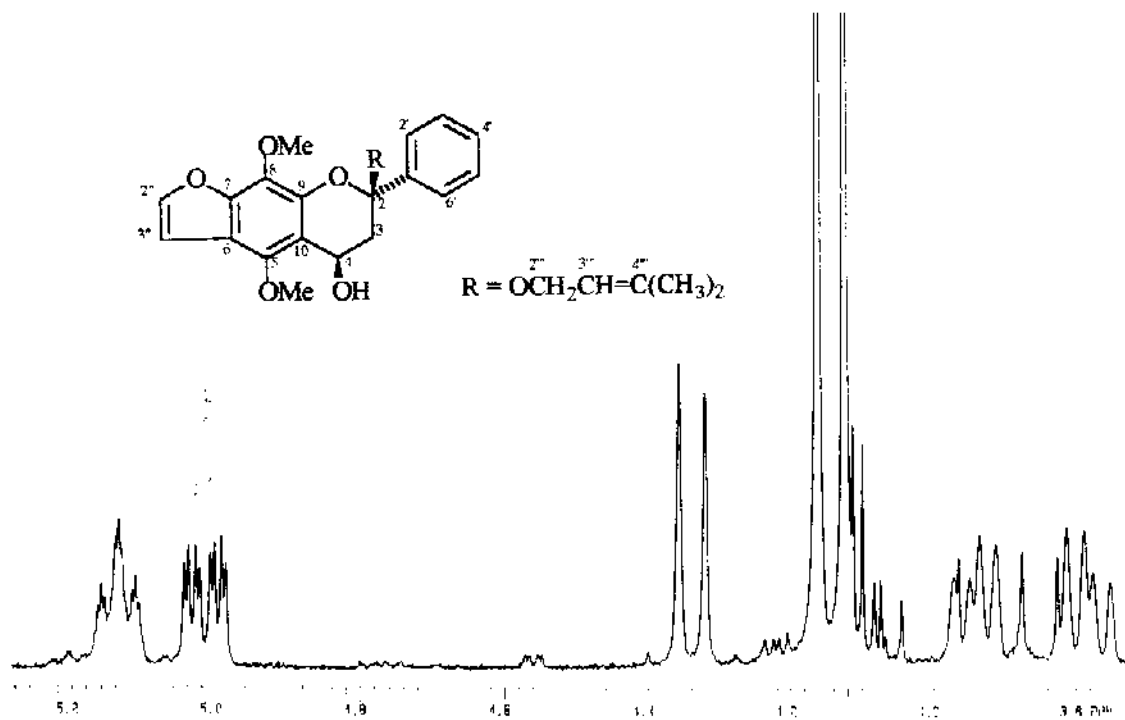
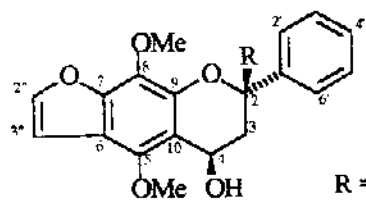
E-13 - Espectro UV da flavana 9b.



E-14 - Espectro IV da flavana 9b.



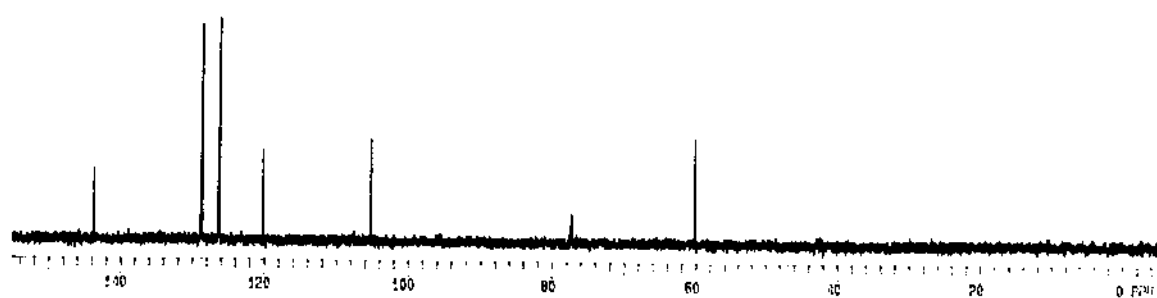
E-15 - Espectro de massas da flavana 9b.



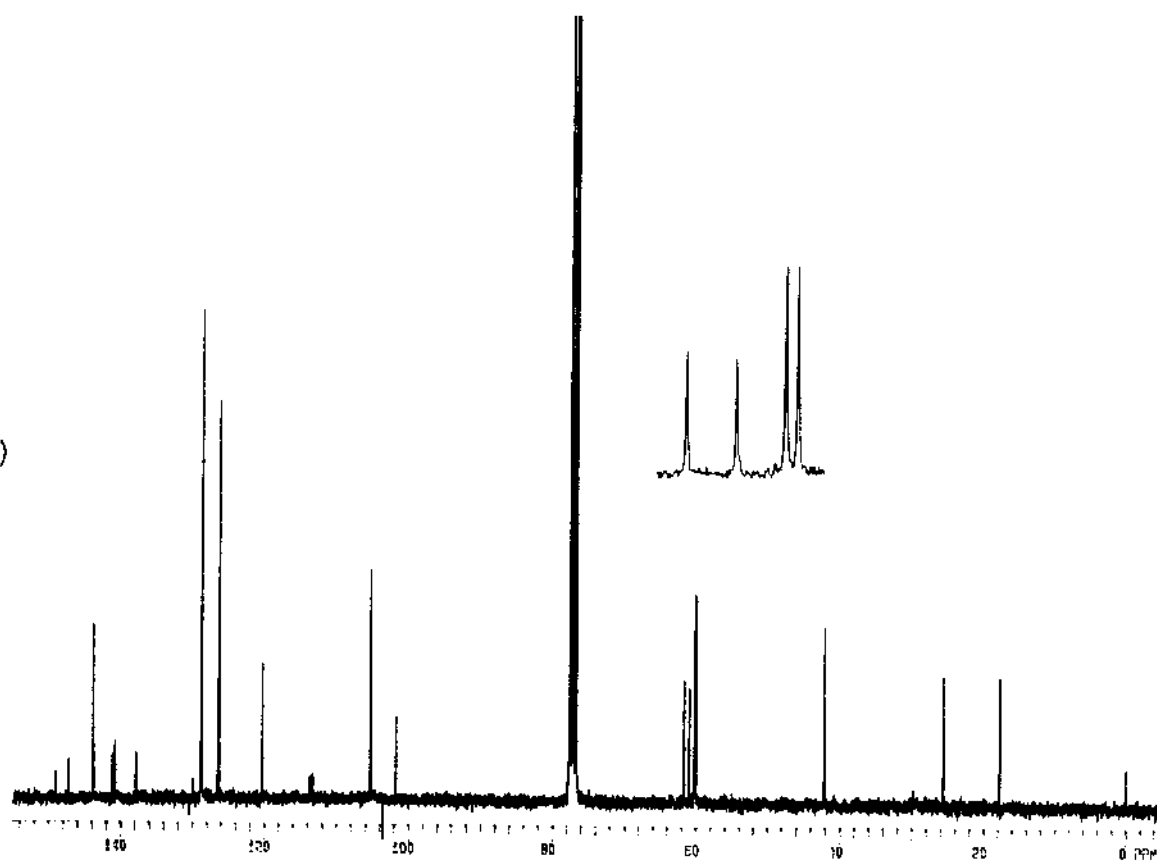
E-16 - Espectro de RMN ^1H da flavana 37.



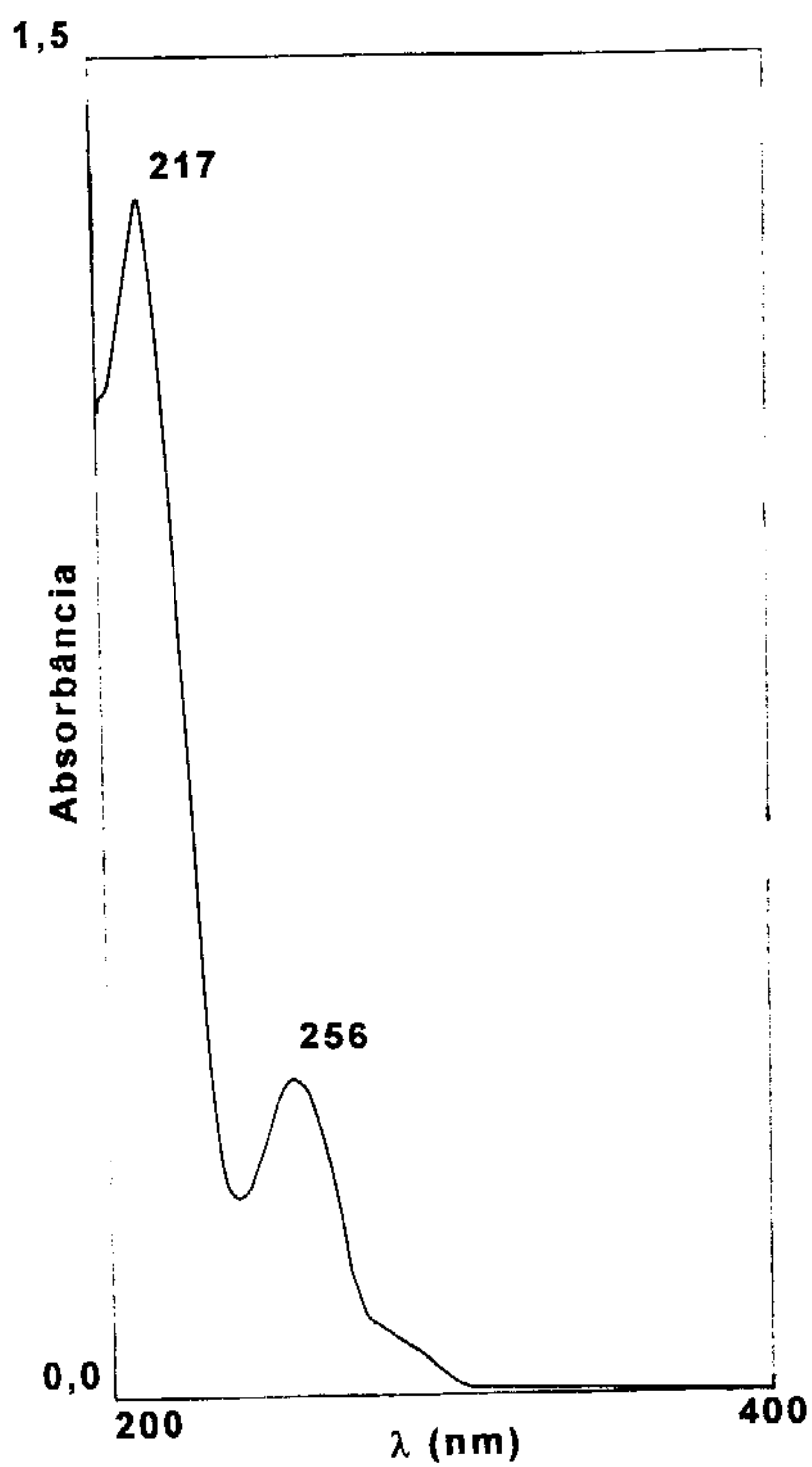
(b)



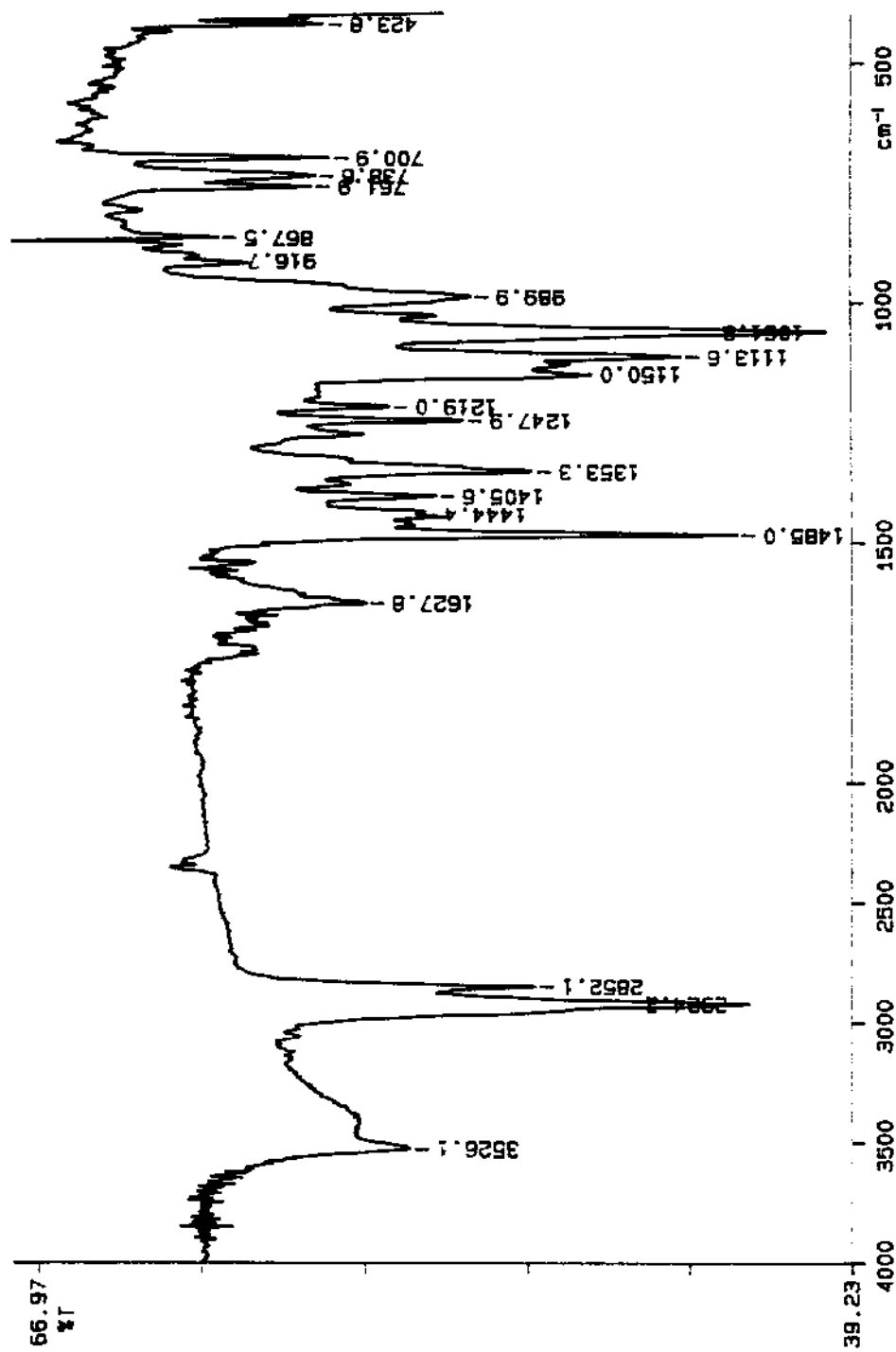
(a)



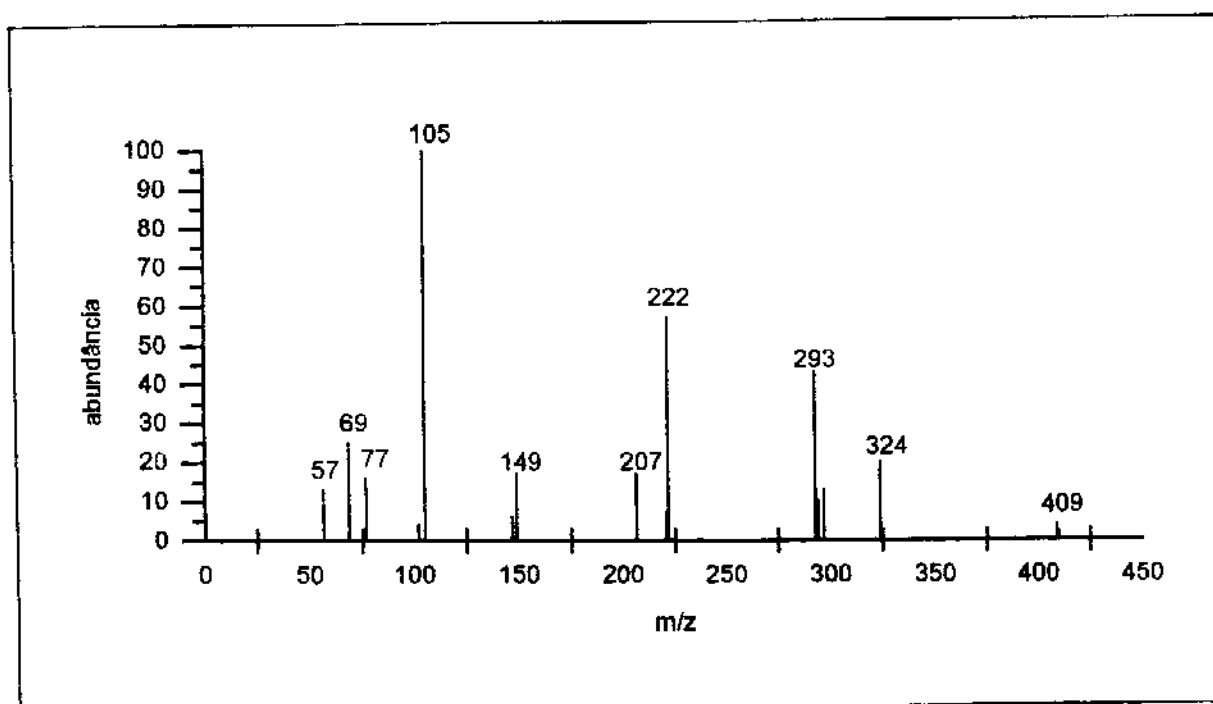
E-17 - (a) Espectro de RMN ^{13}C da flavana 37. (b) Espectro DEPT da flavana 37.



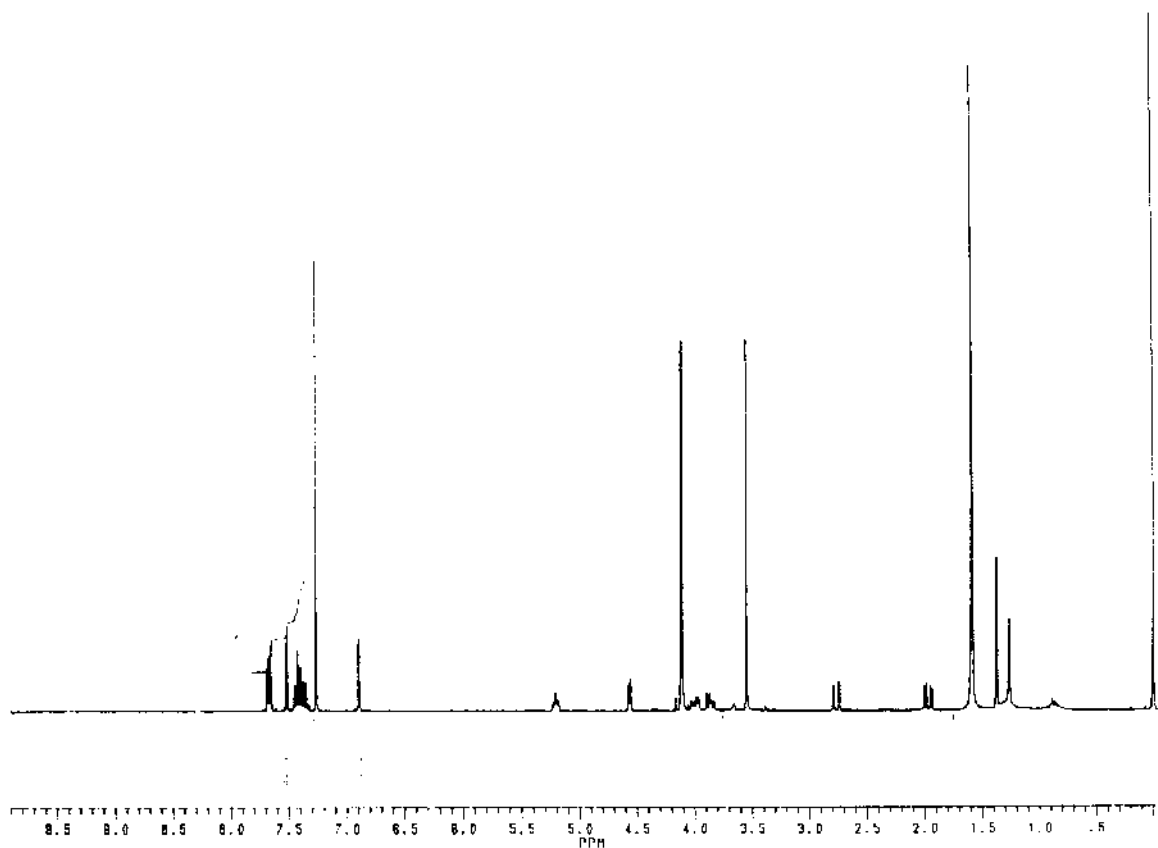
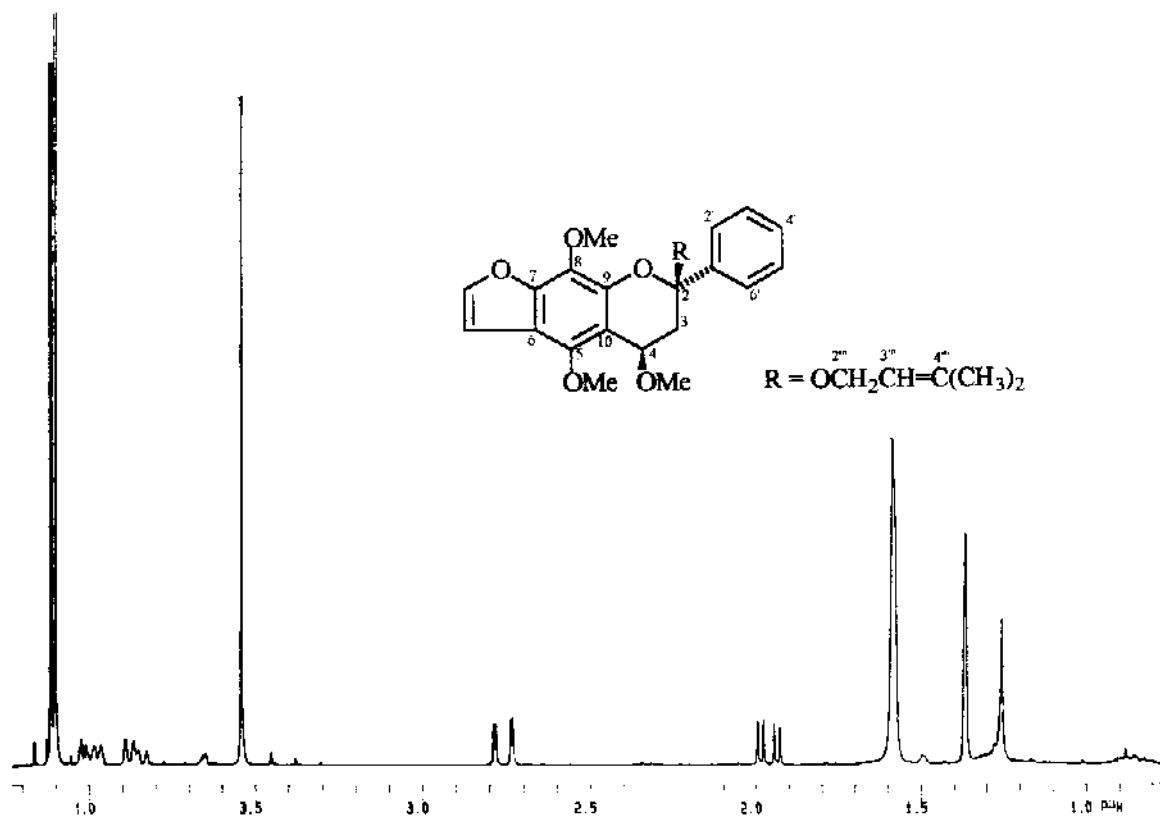
E-18 - Espectro UV da flavana 37.



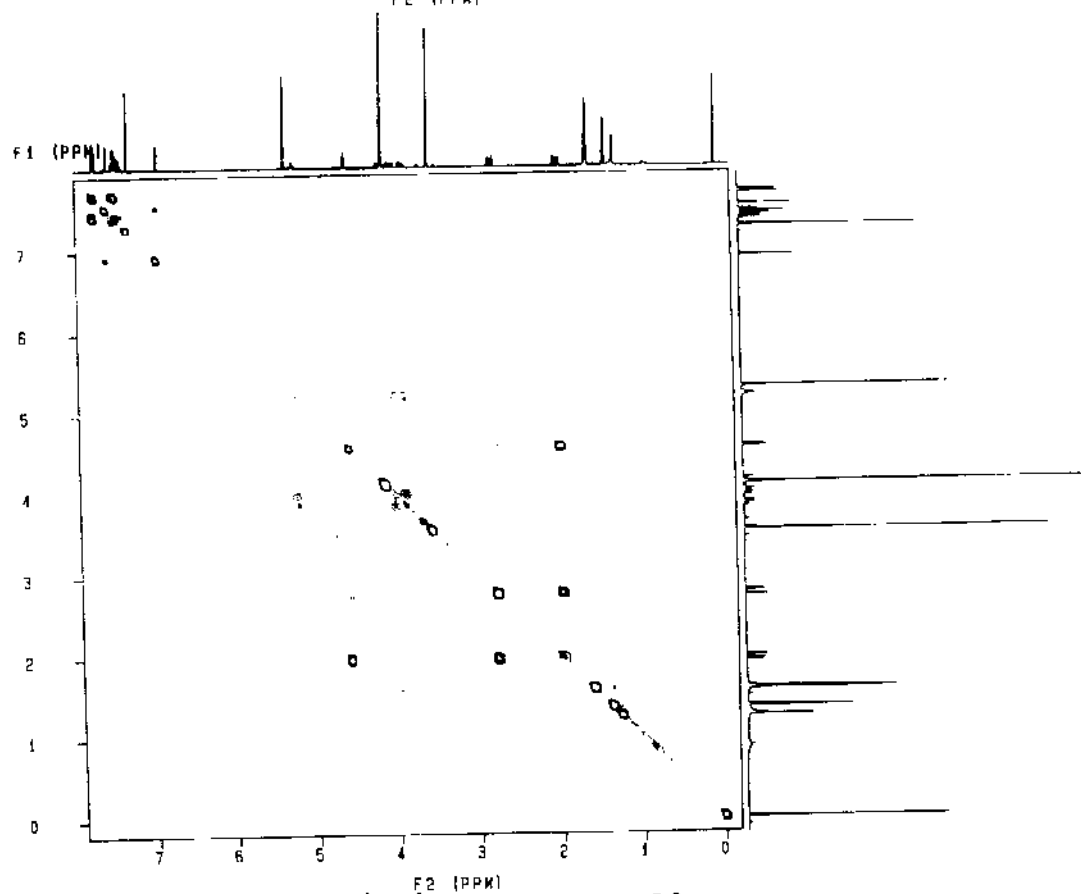
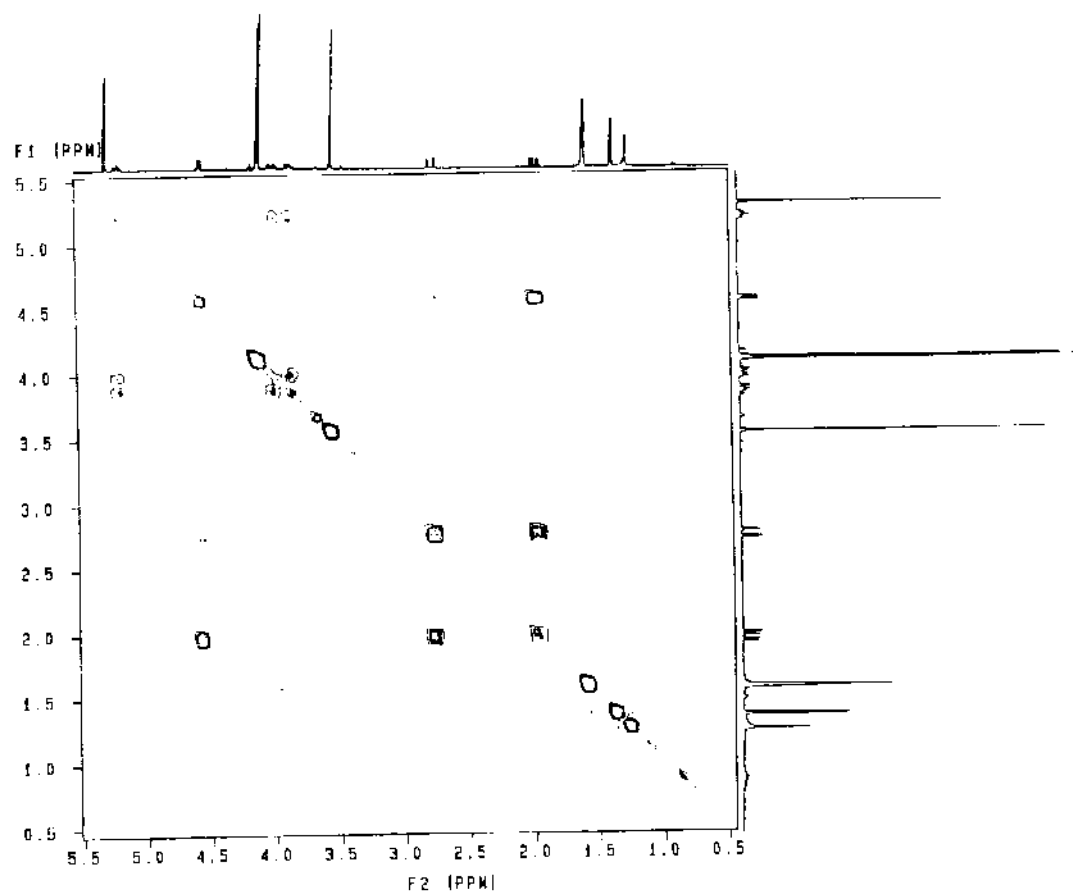
E-19 - Espectro IV da flavana 37.



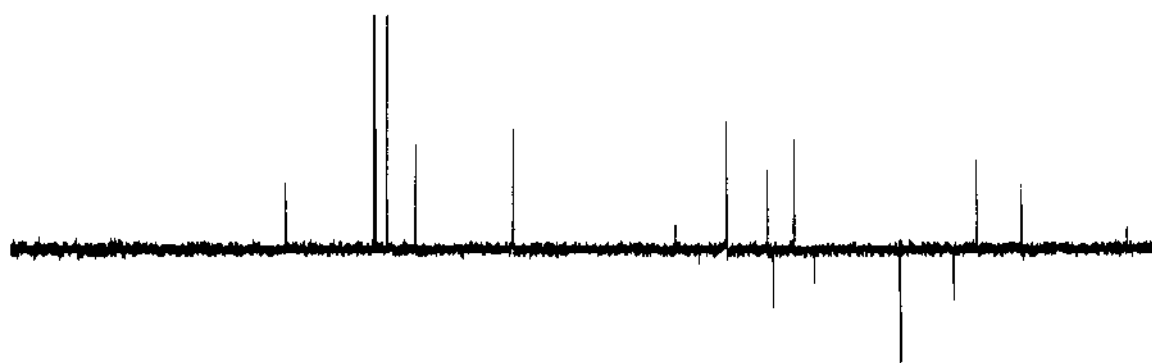
E-20 - Espectro de massas da flavana 37.



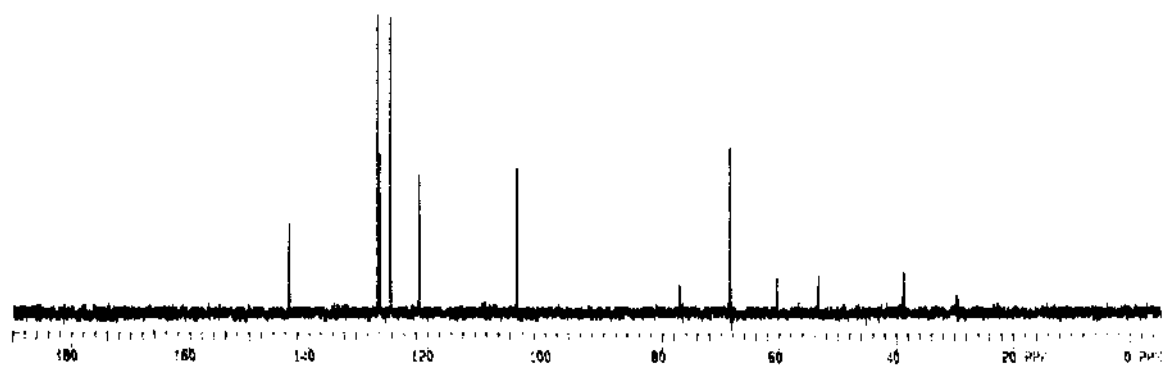
E-21 - Espectro de RMN ^1H da flavana 38.



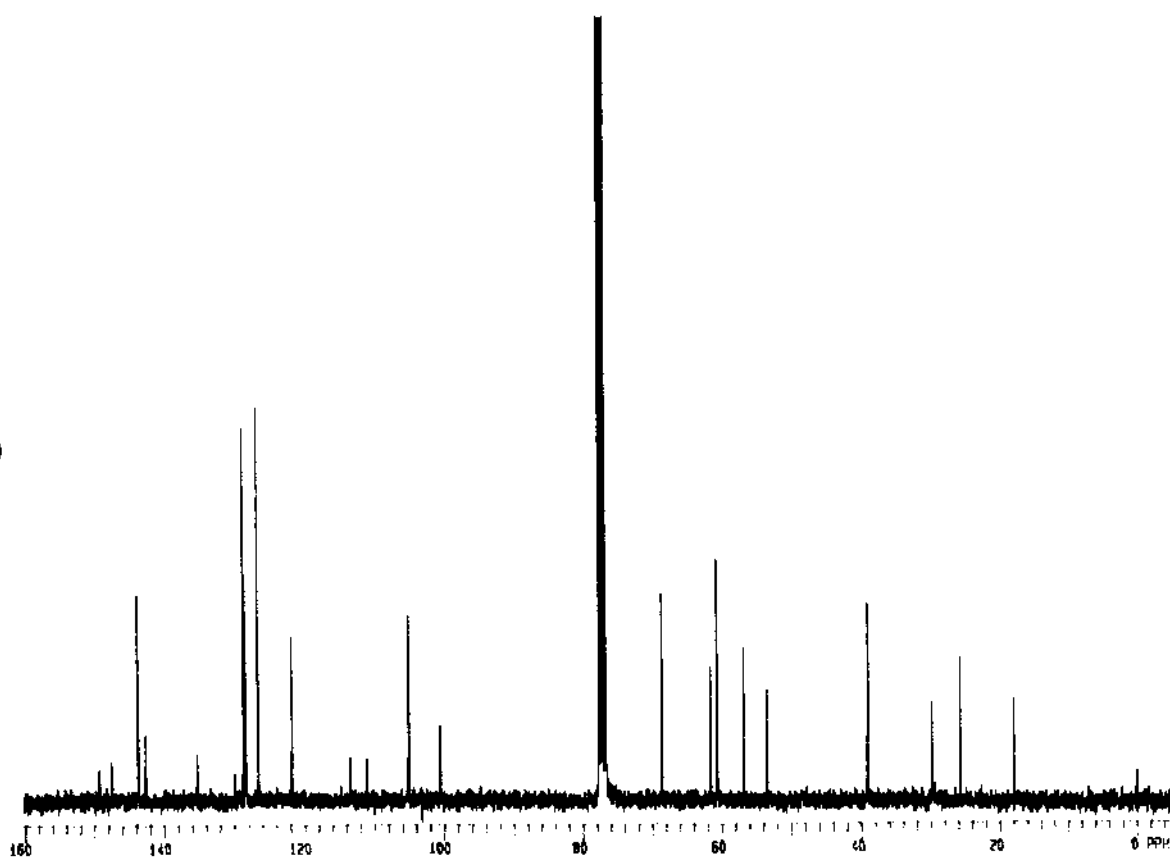
E-22 - Espectro COSY ¹H-¹H da flavana 38.



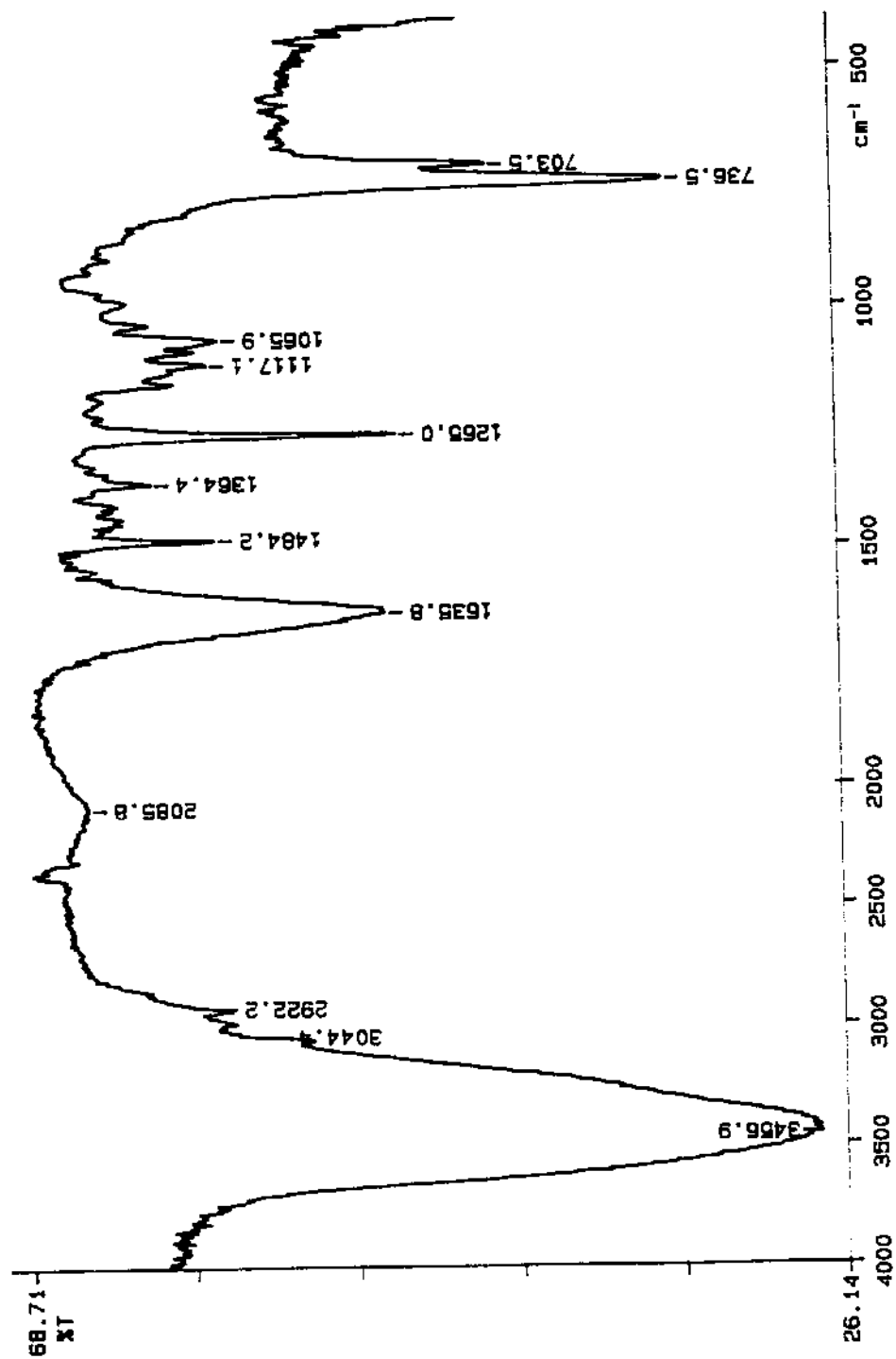
(b)



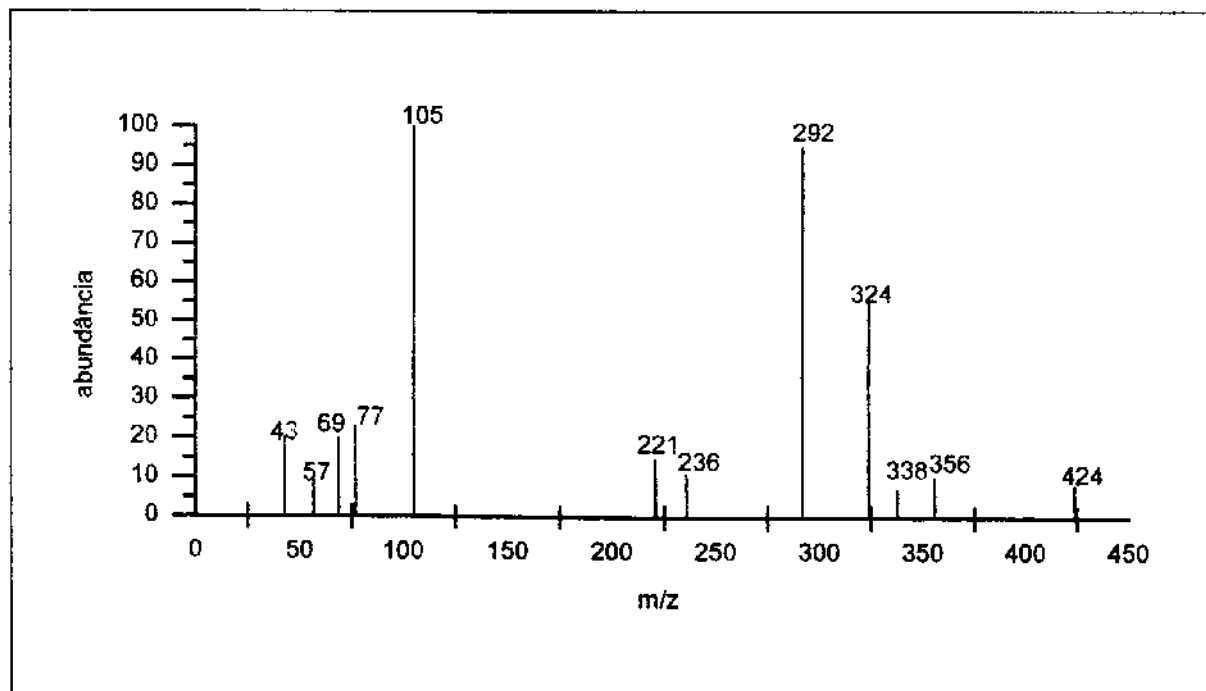
(a)



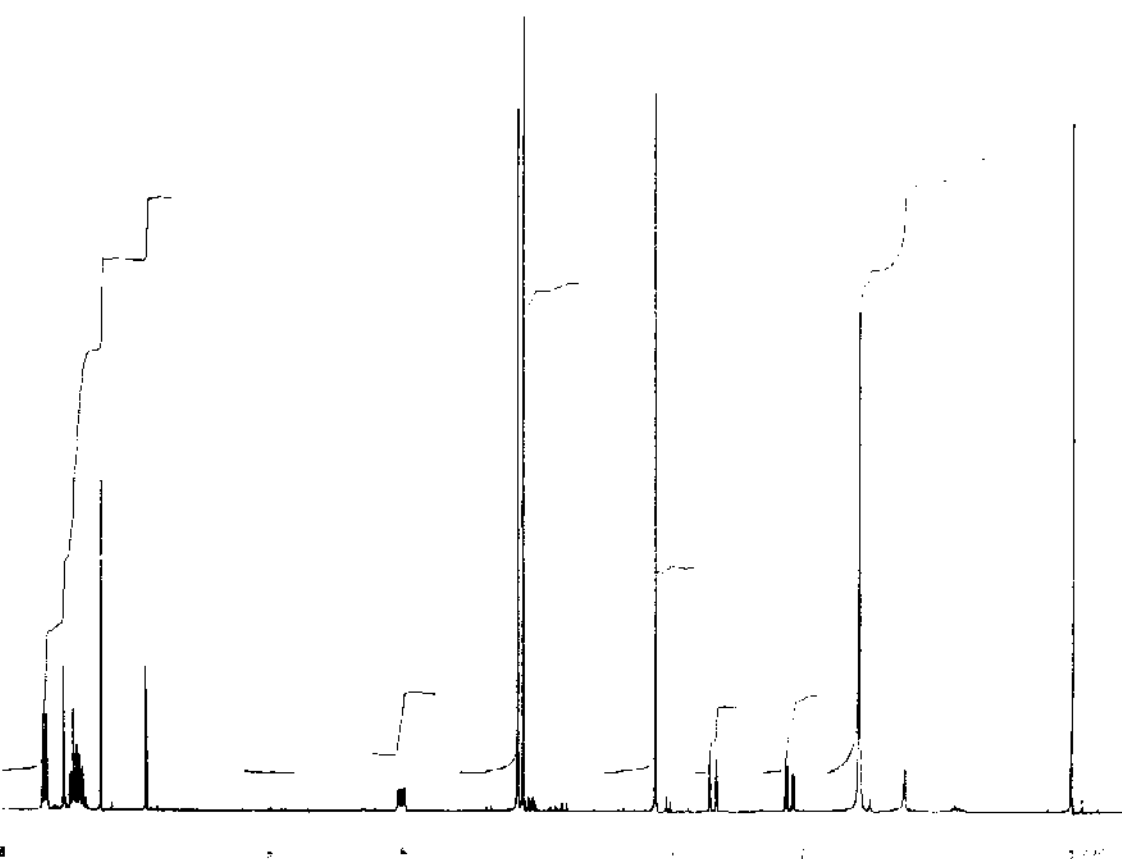
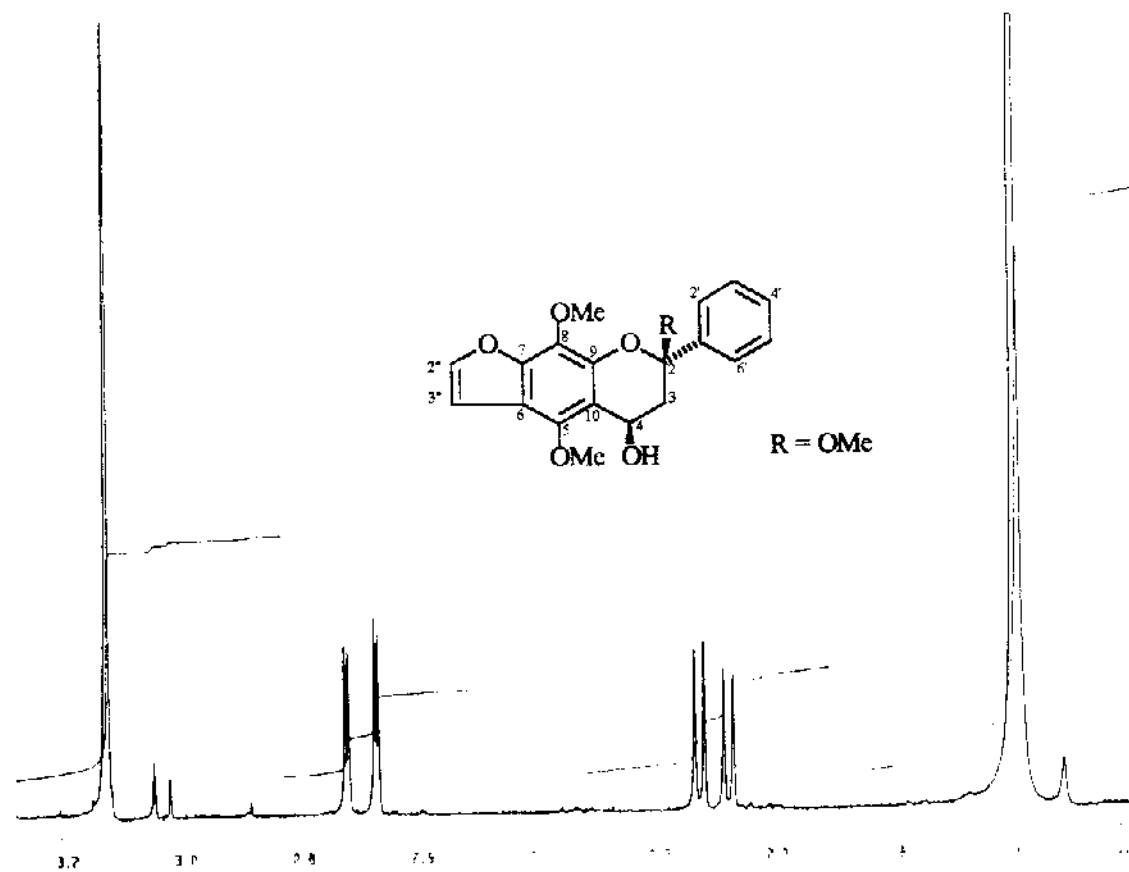
E-23 - (a) Espectro de RMN ^{13}C da flavana 38. (b) Espectro DEPT da flavana 38.



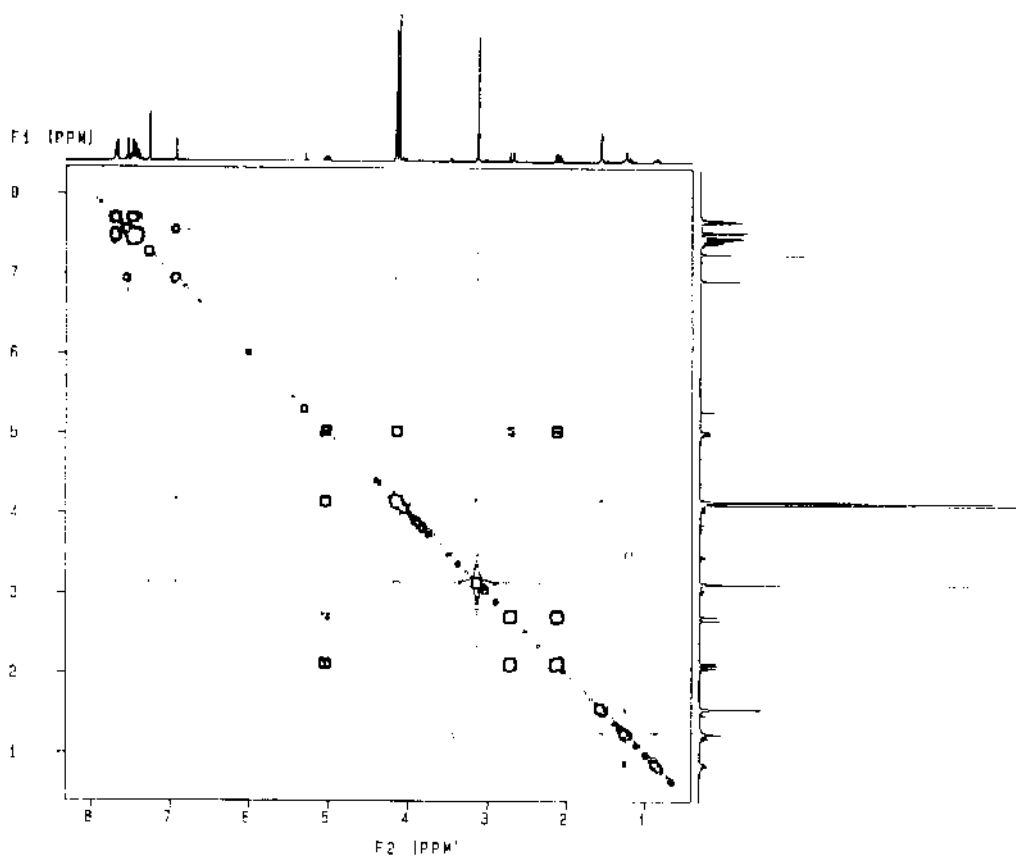
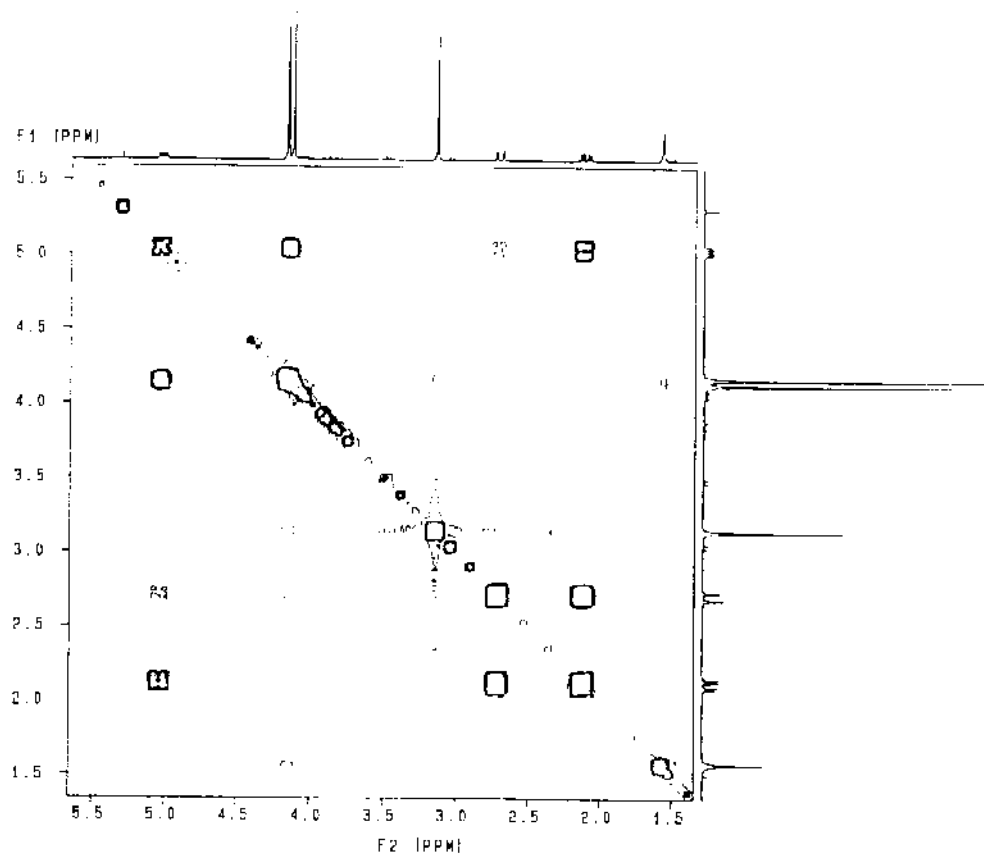
E-24 - Espectro IV da flavana 38.



E-25 - Espectro de massas da flavana 38.

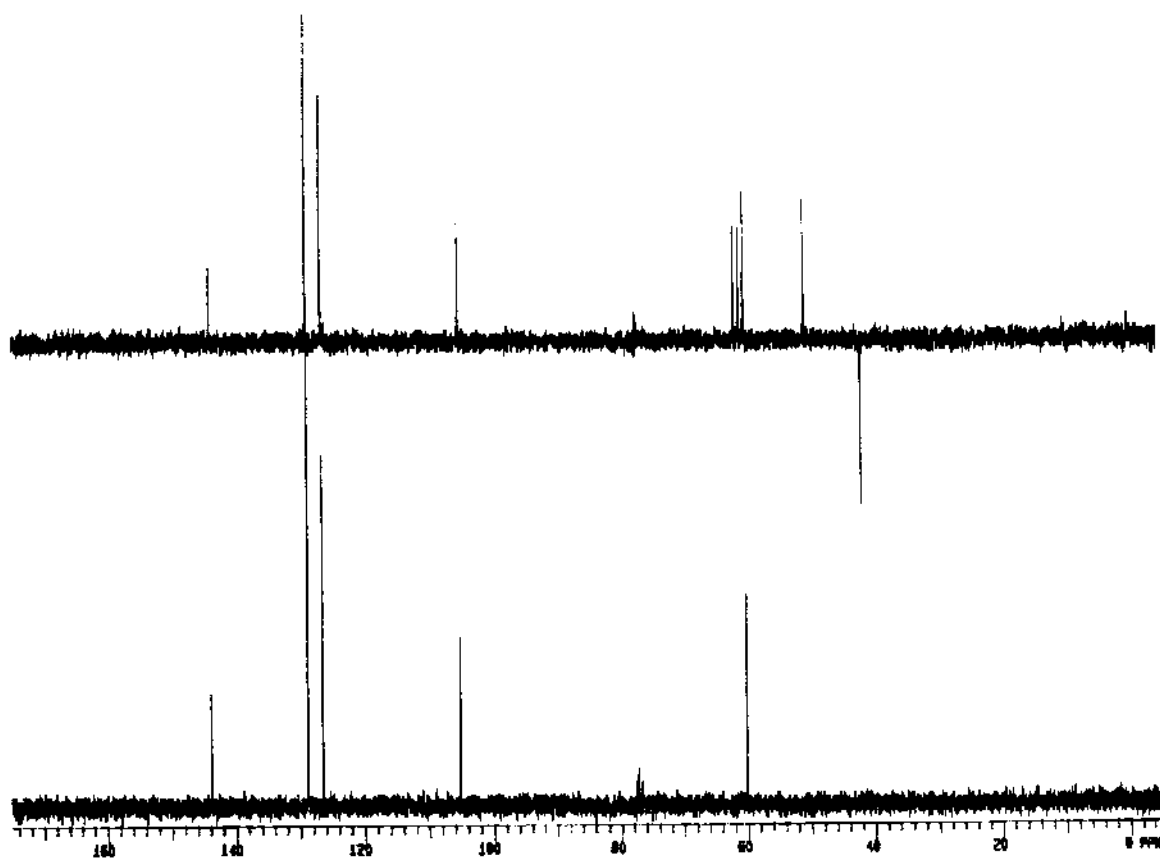


E-26 - Espectro de RMN ^1H da flavana 39.

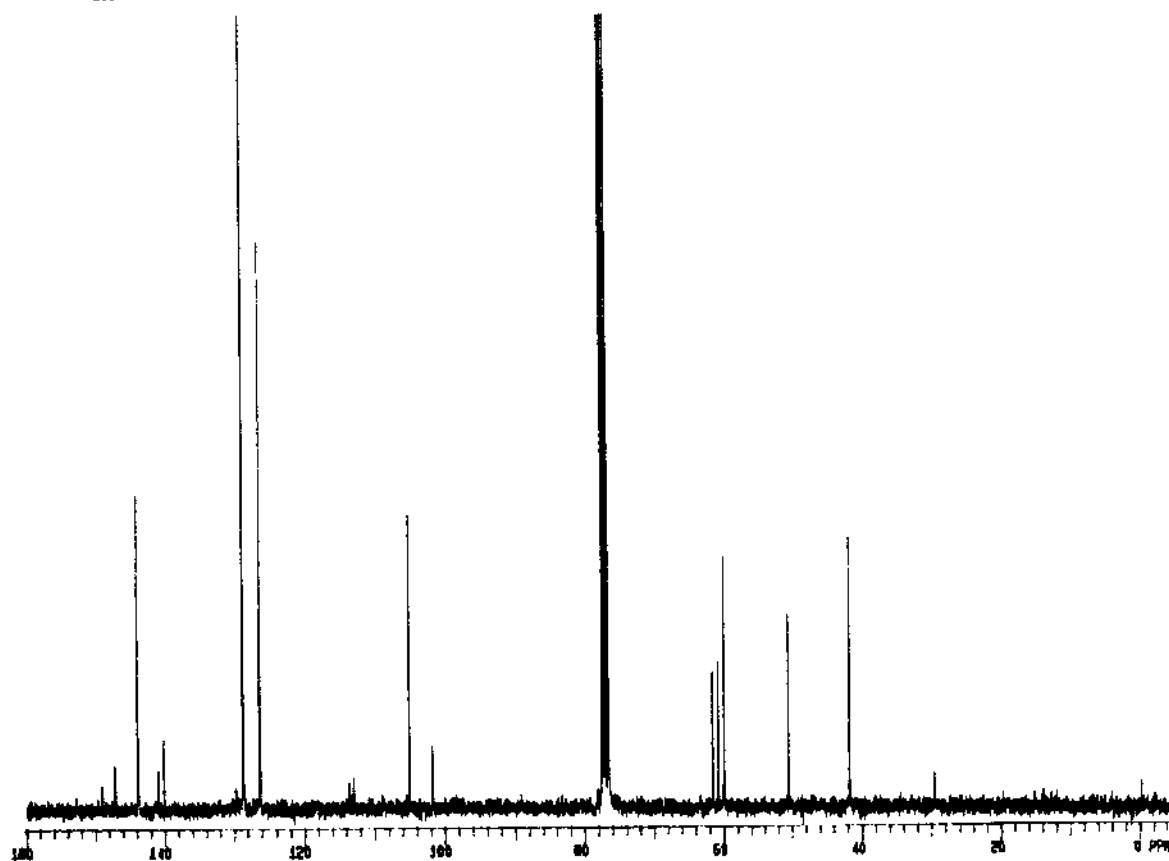


E-27 - Espectro COSY ^1H - ^1H da flavana 39.

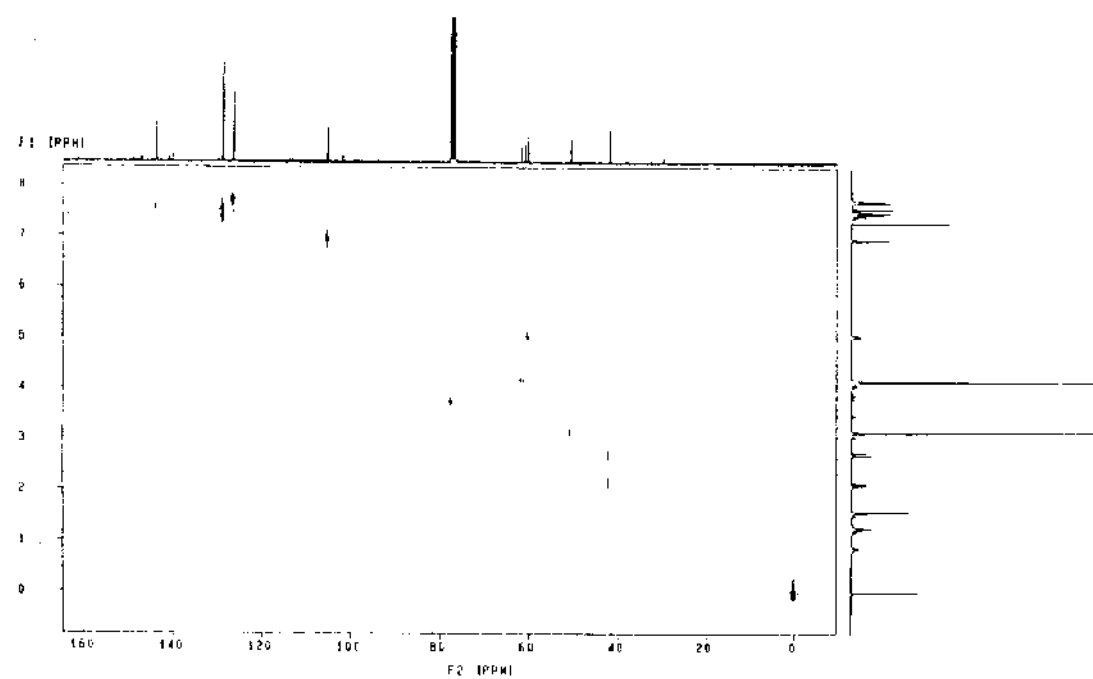
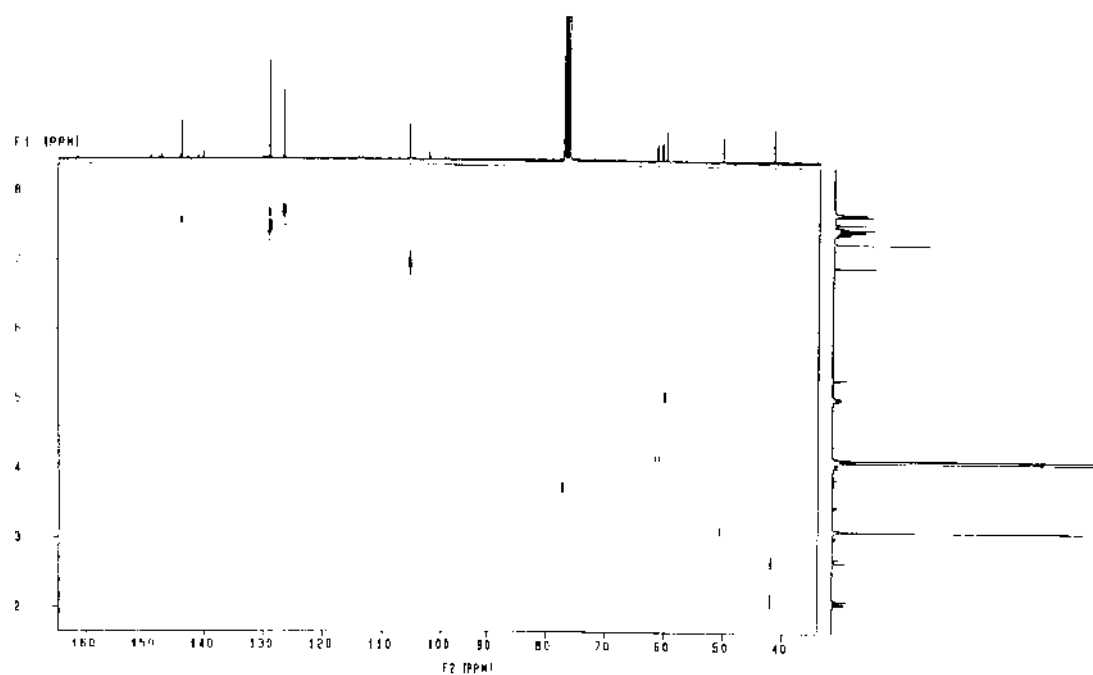
(b)



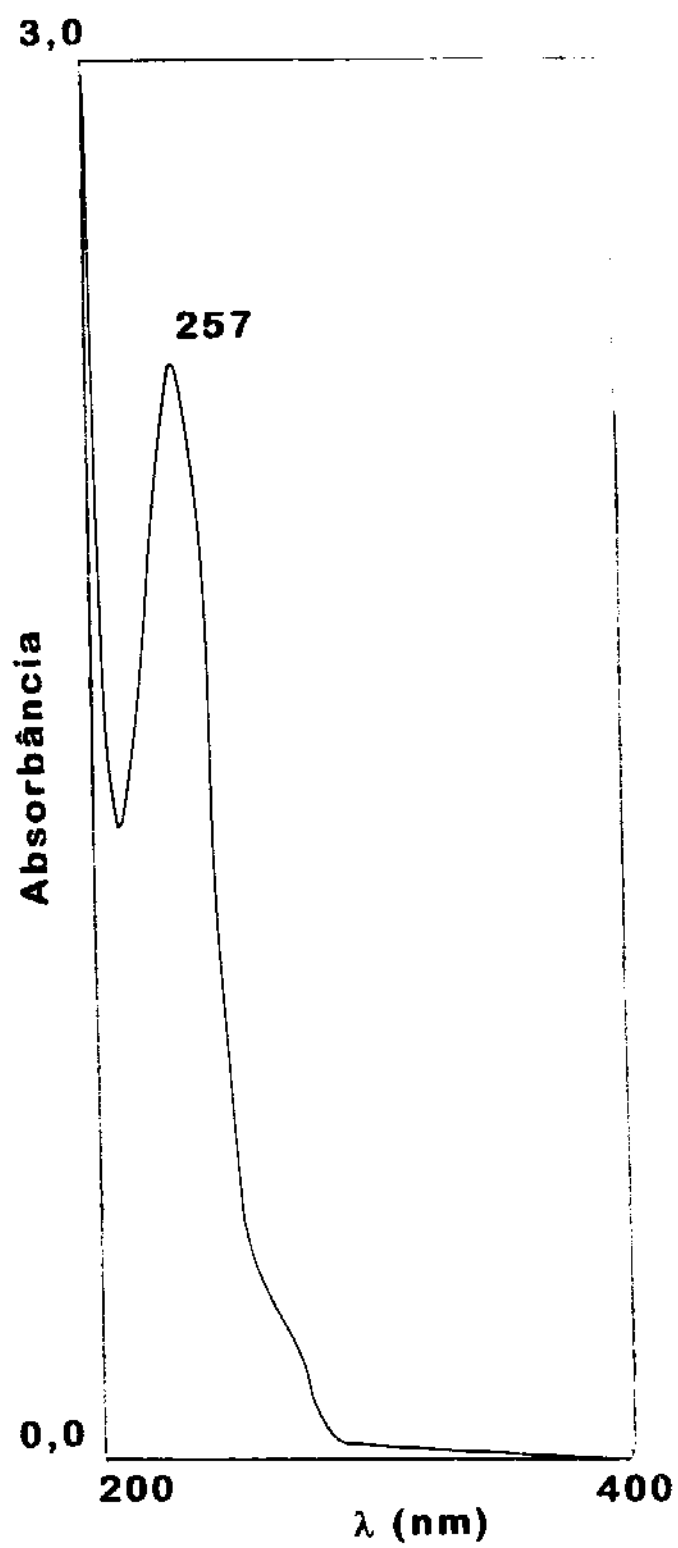
(a)



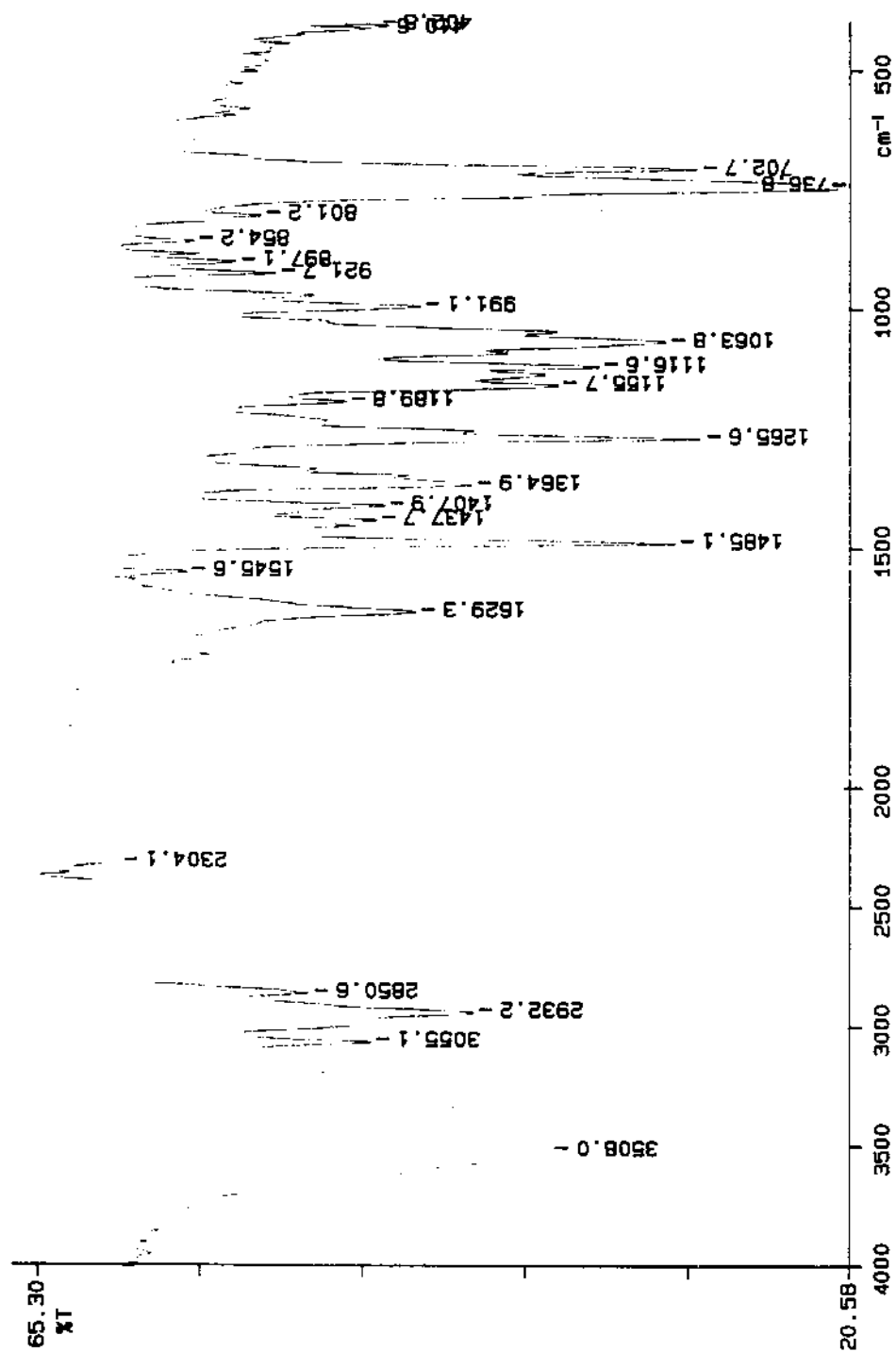
E-28 - (a) Espectro de RMN ^{13}C da flavana 39. (b) Espectro DEPT da flavana 39.



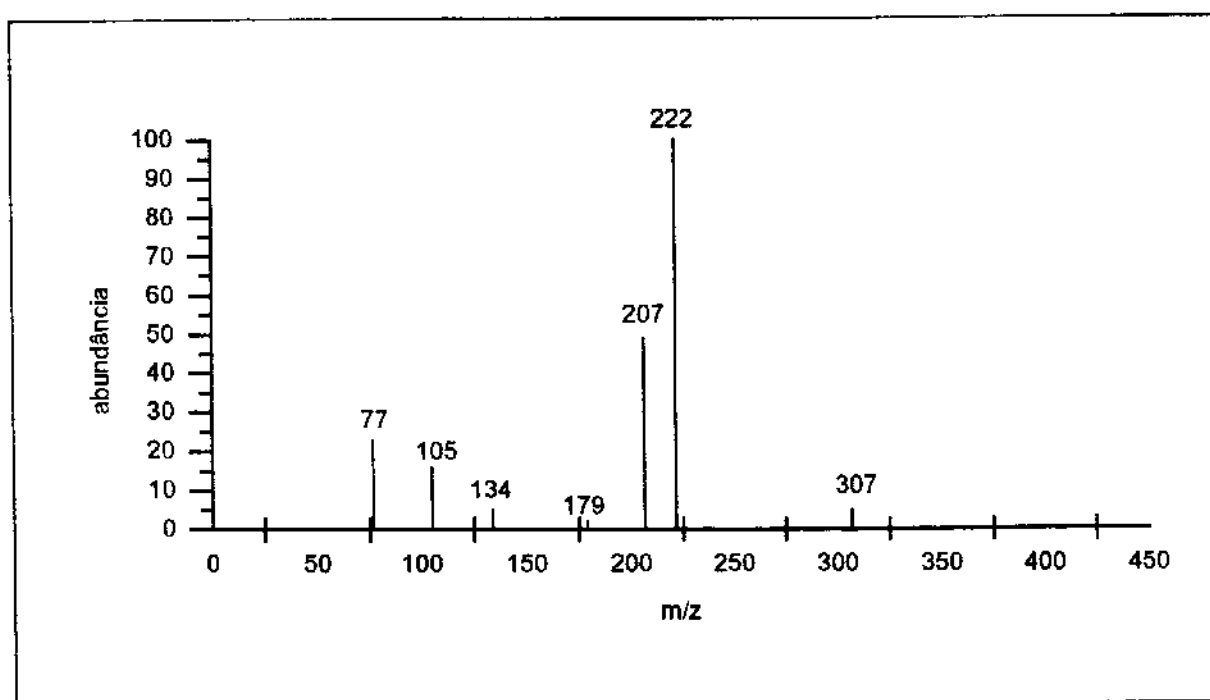
E-29 - Espectro HETCOR ^1H - ^{13}C da flavana 39.



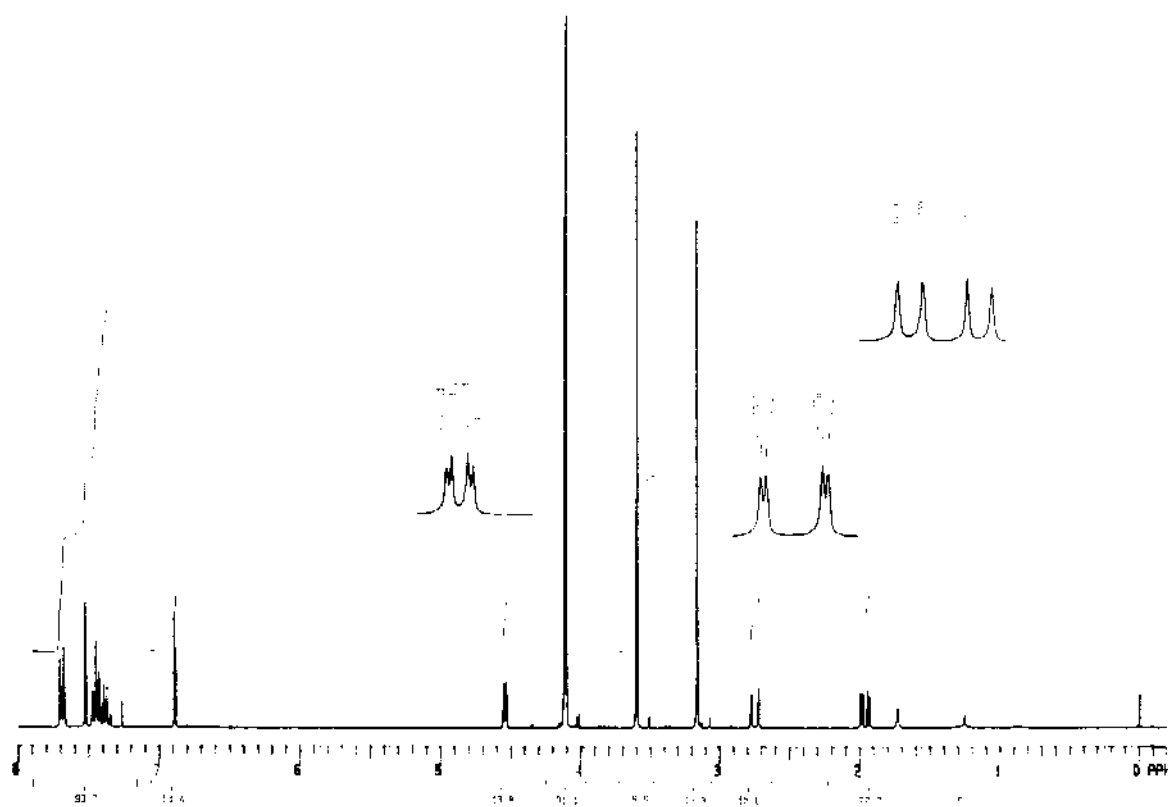
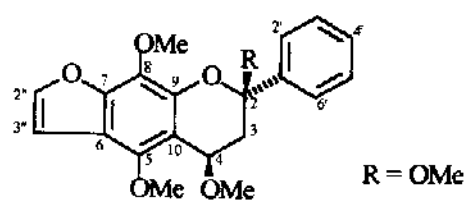
E-30 - Espectro UV da flavana 39.



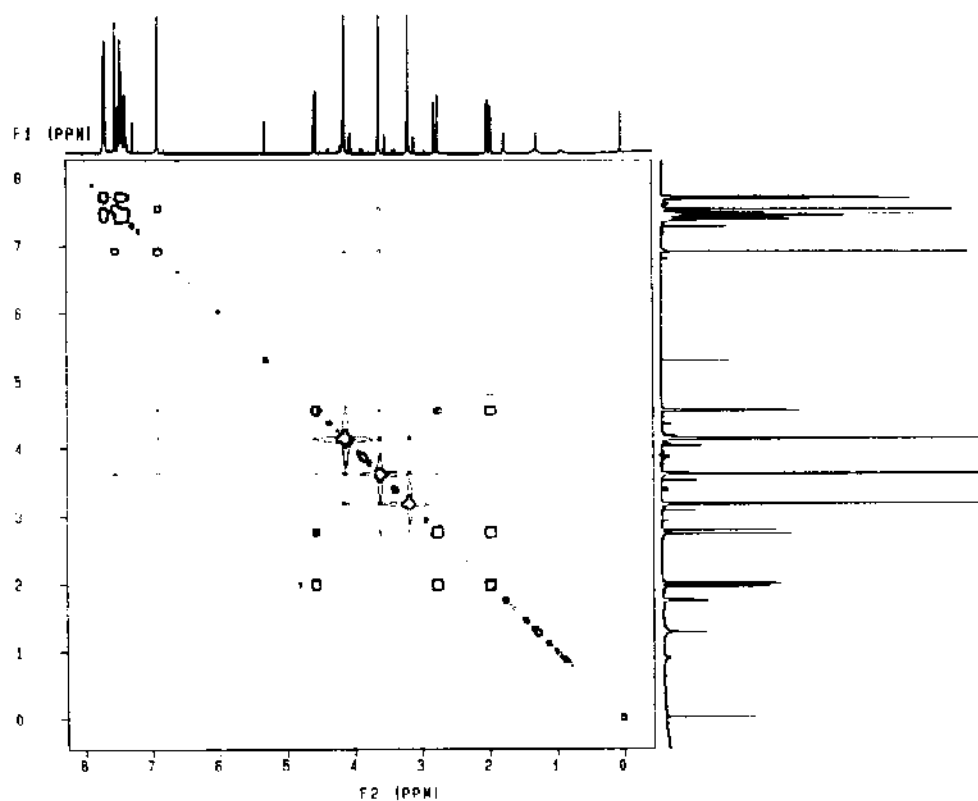
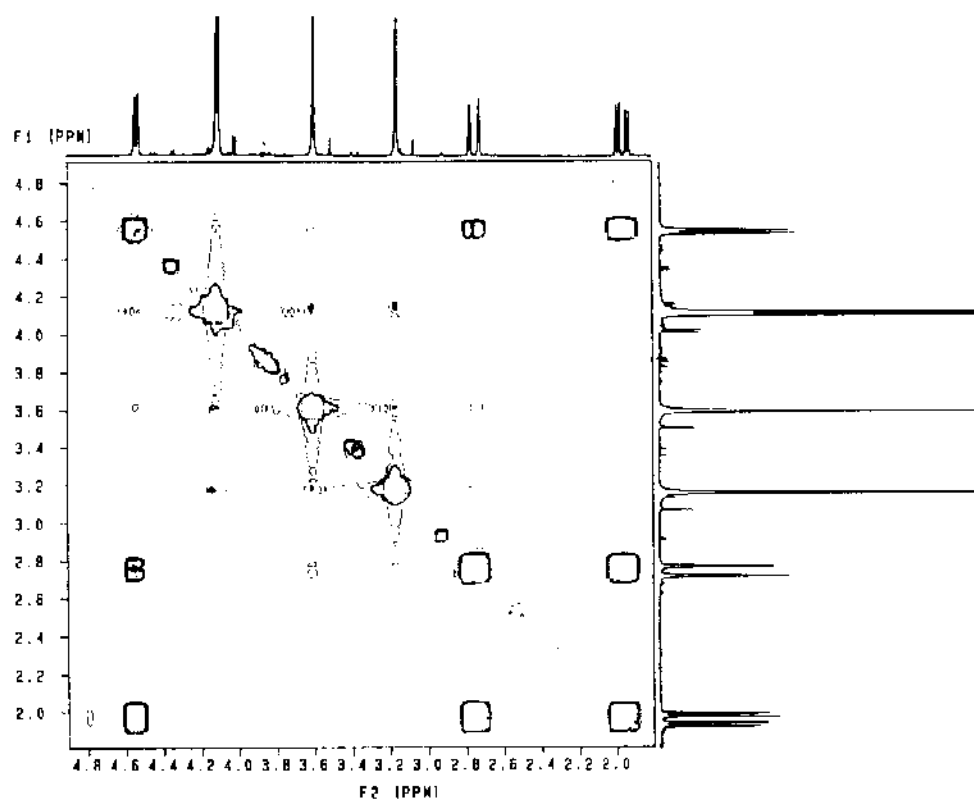
E-31 - Espectro IV da flavana 39.



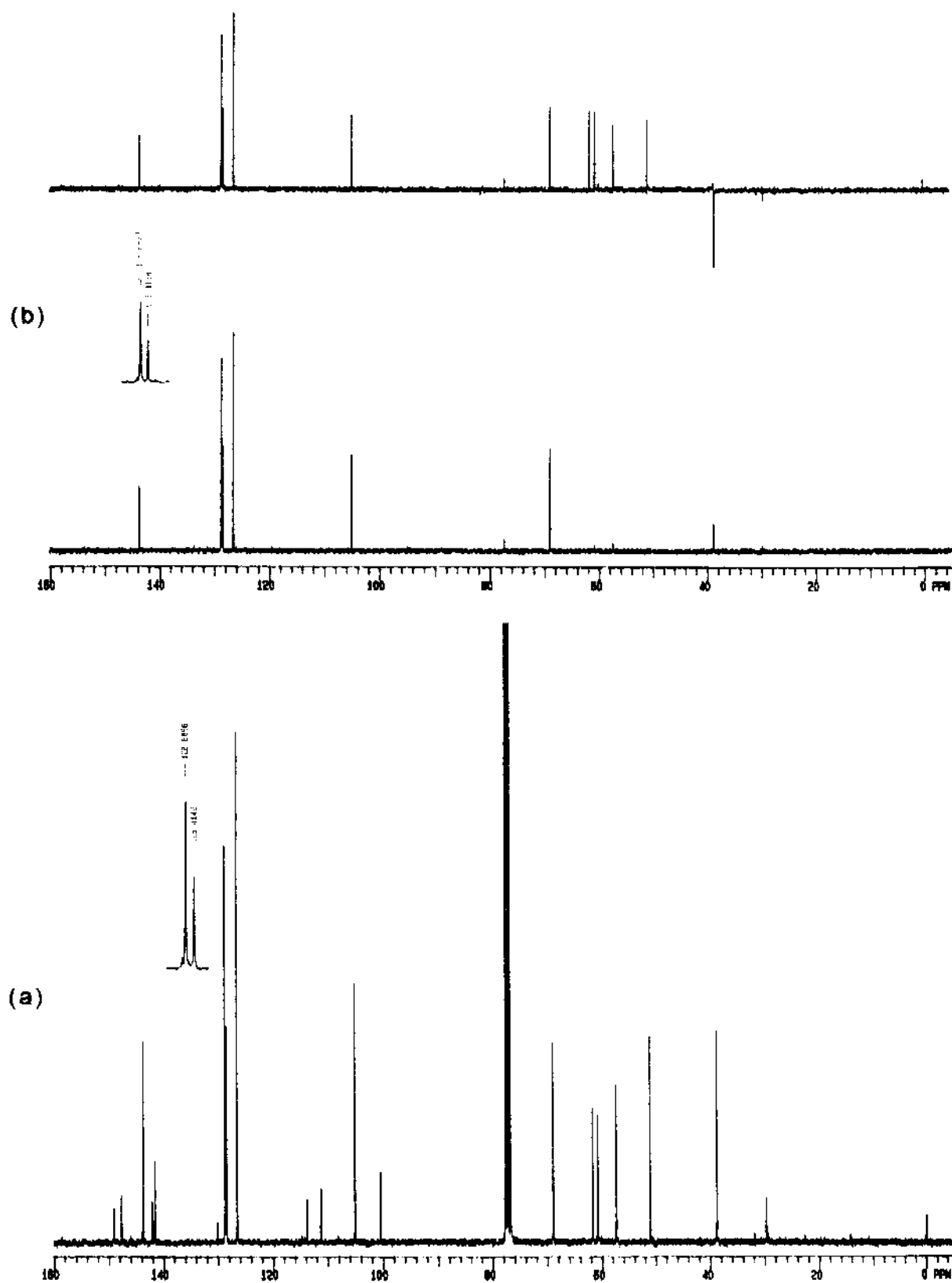
E-32 - Espectro de massas da flavana 39.



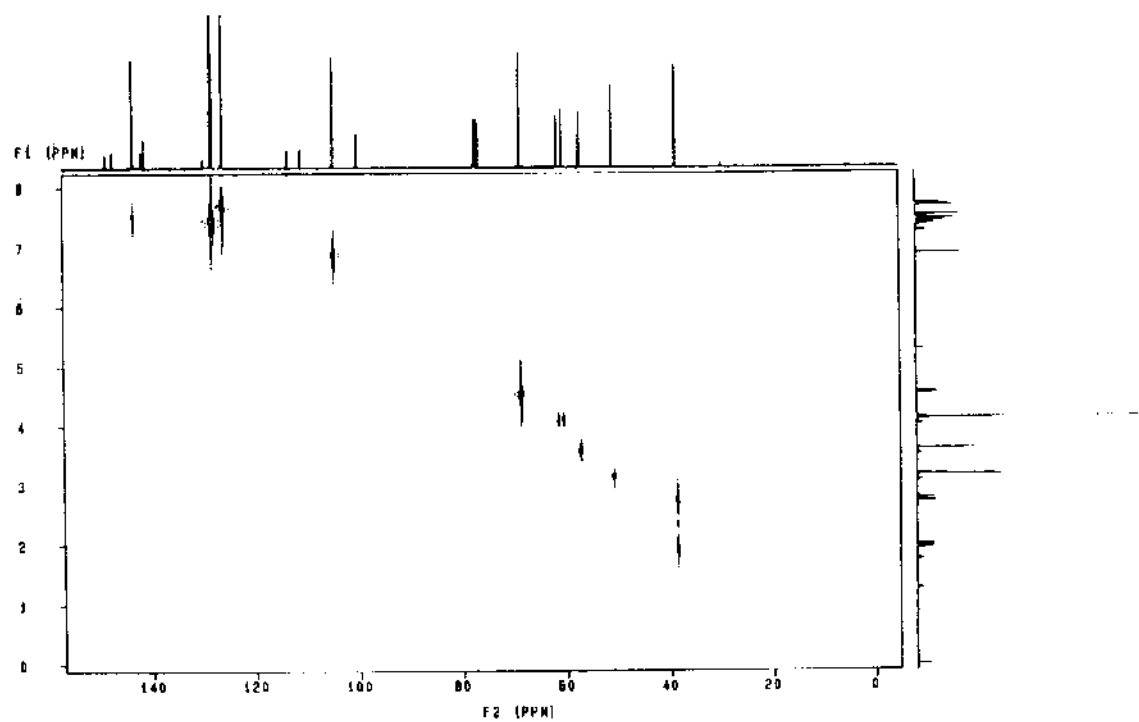
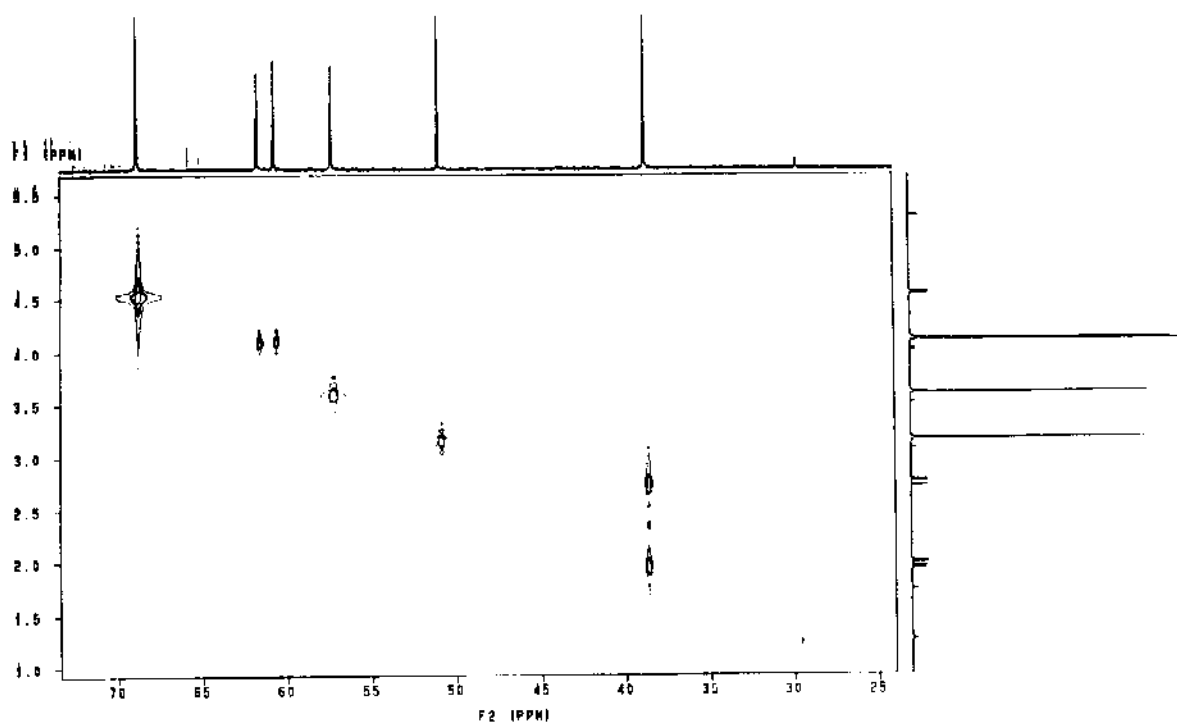
E-33 - Espectro de RMN ¹H da flavana 40.



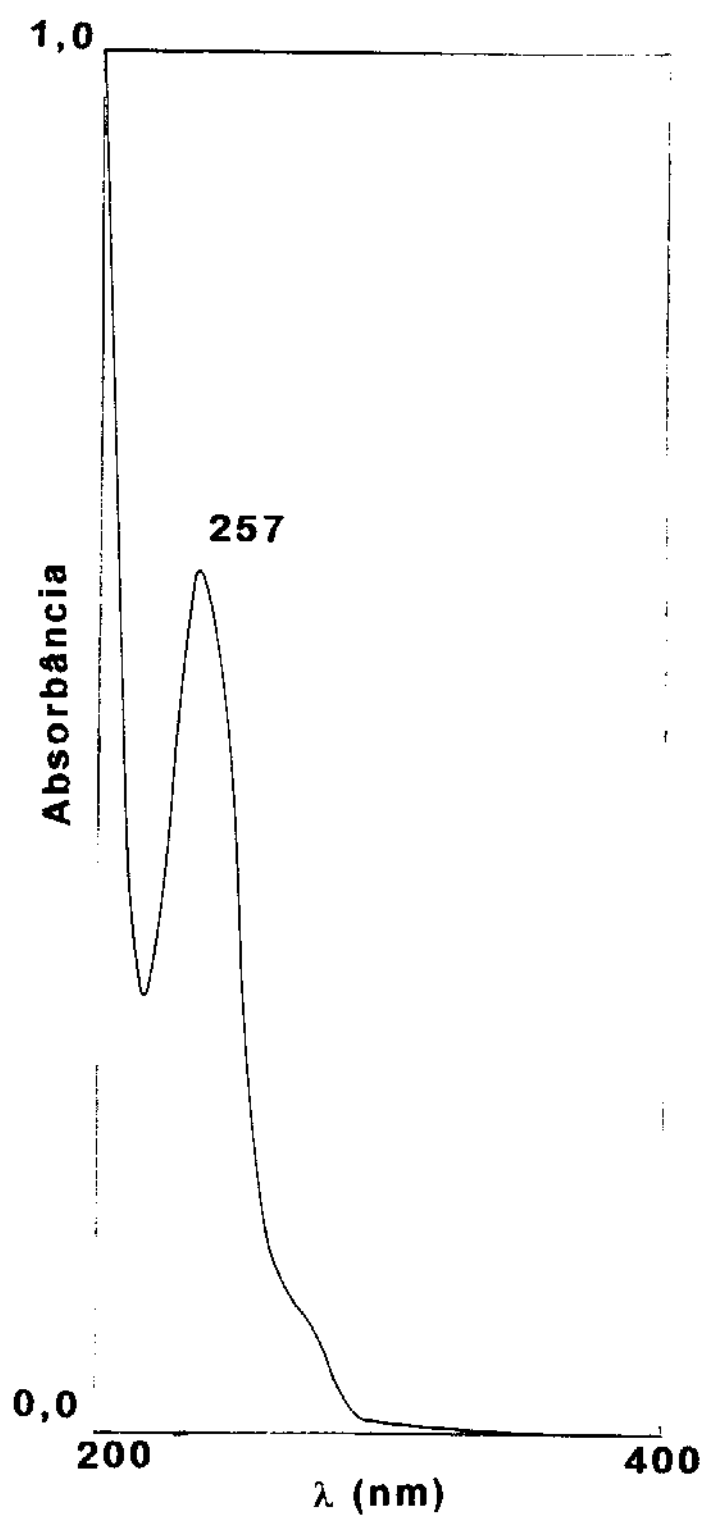
E-34 - Espectro COSY ^1H - ^1H da flavana 40.



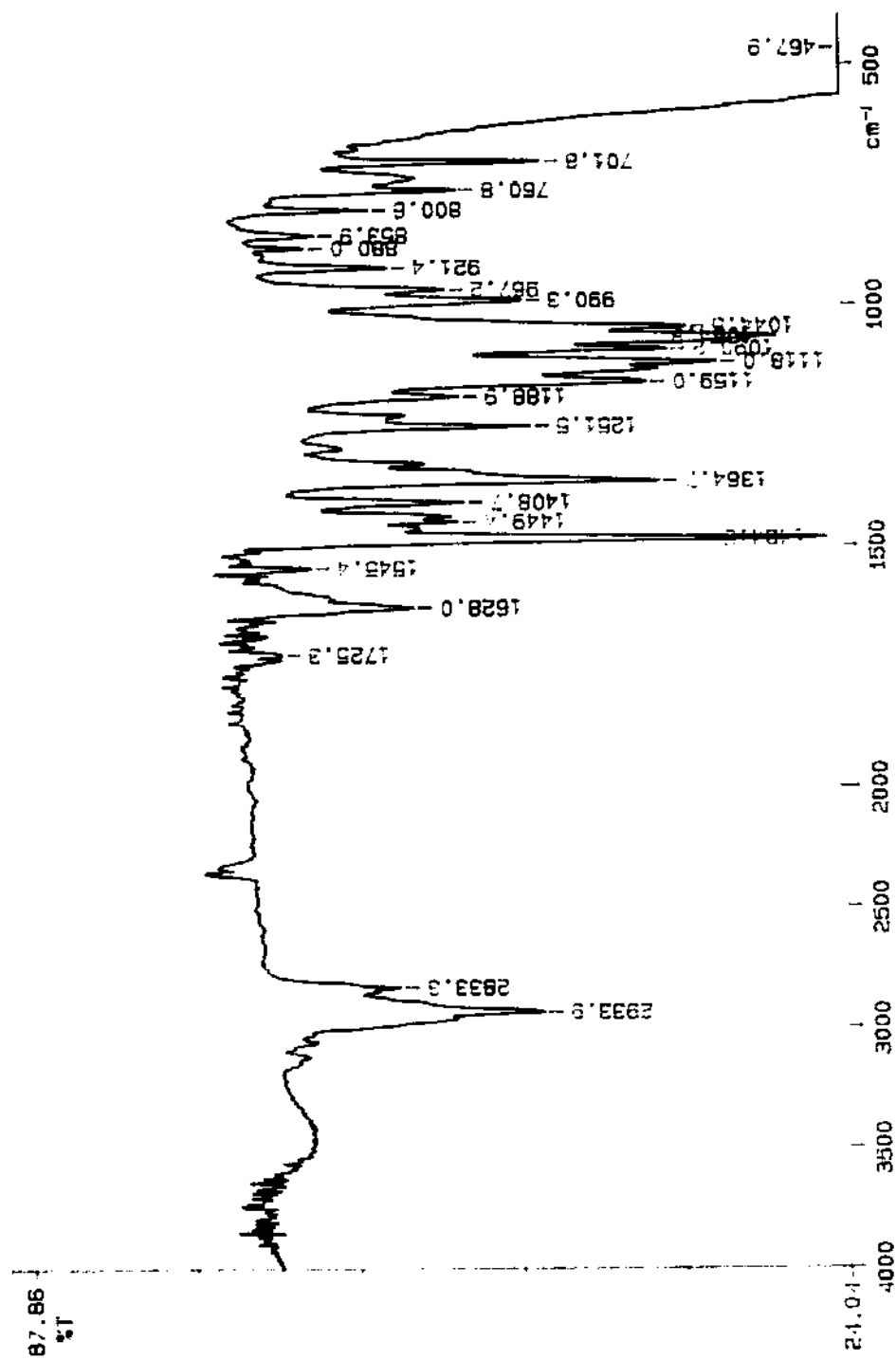
E-35 -(a) Espectro de RMN ^{13}C da flavana 40. (b) Espectro DEPT da flavana 40.



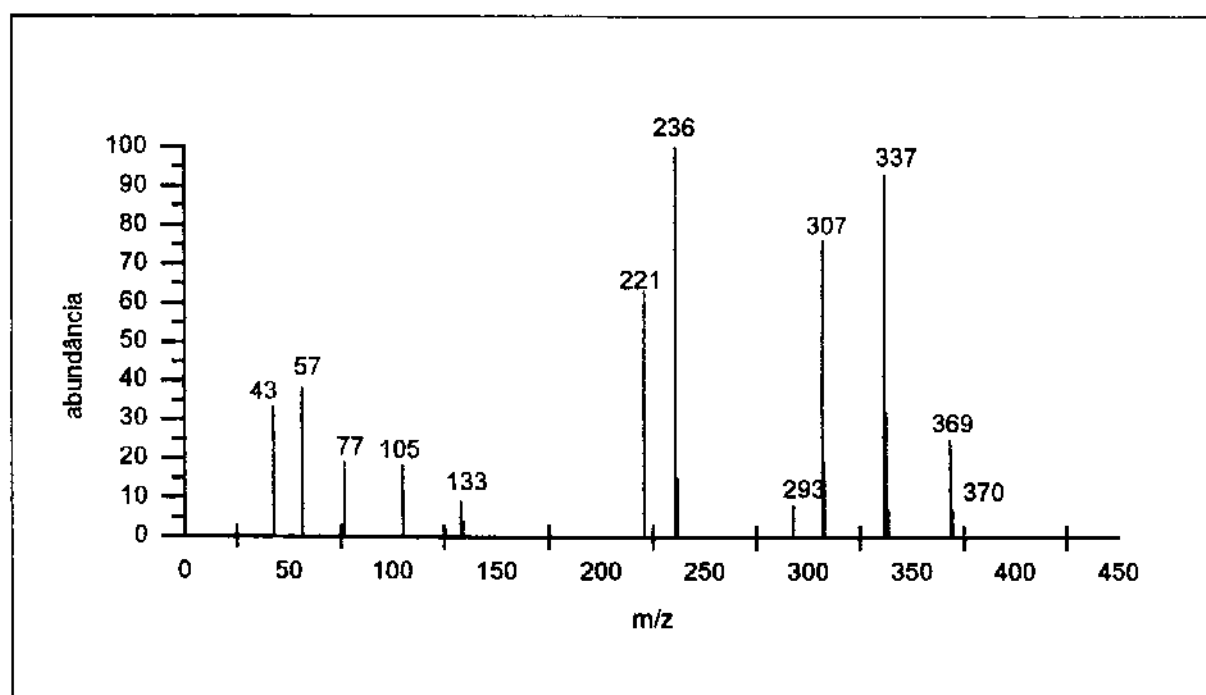
E-36 - Espectro HETCOR ^1H - ^{13}C da flavana 40.



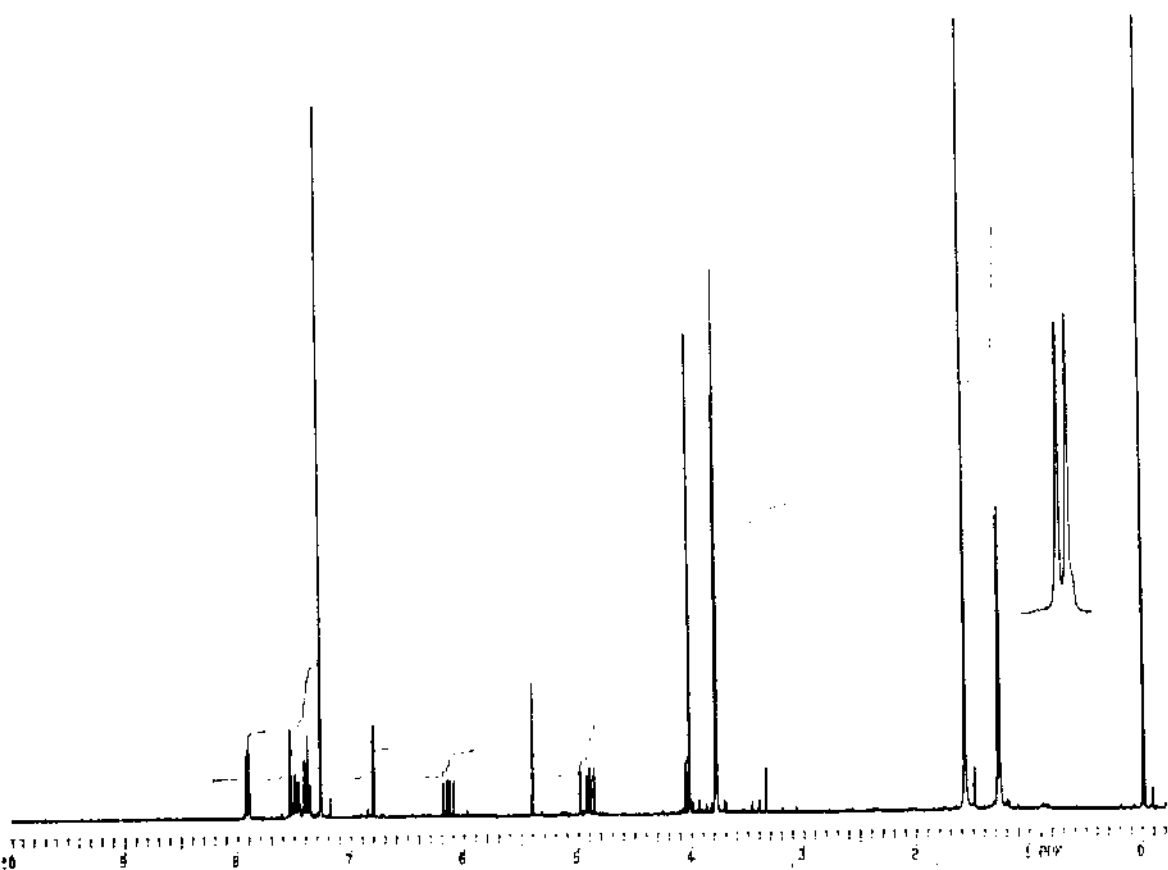
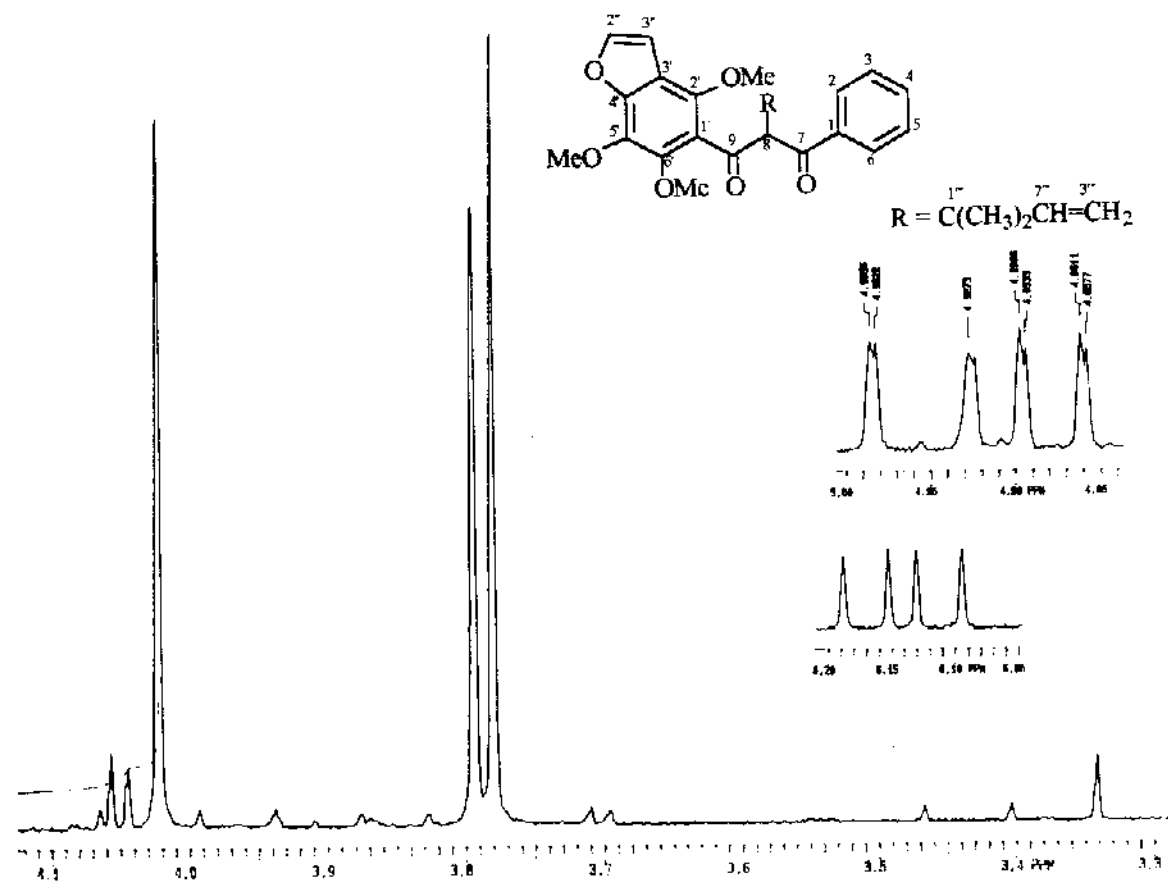
E-37 - Espectro UV da flavana 40.



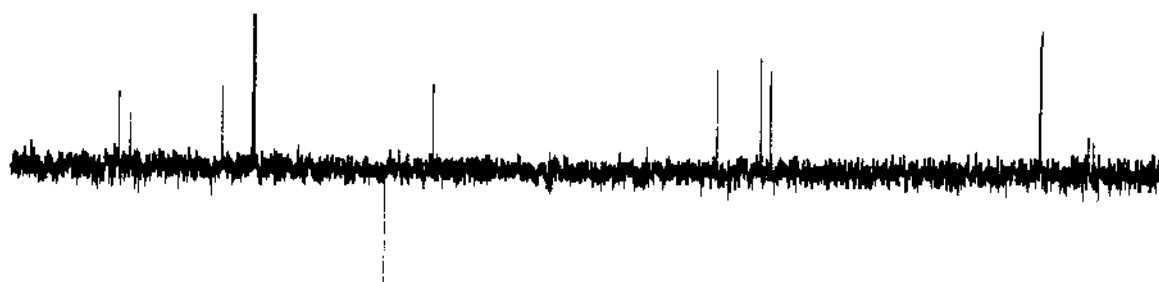
E-38 - Espectro IV da flavana 40.



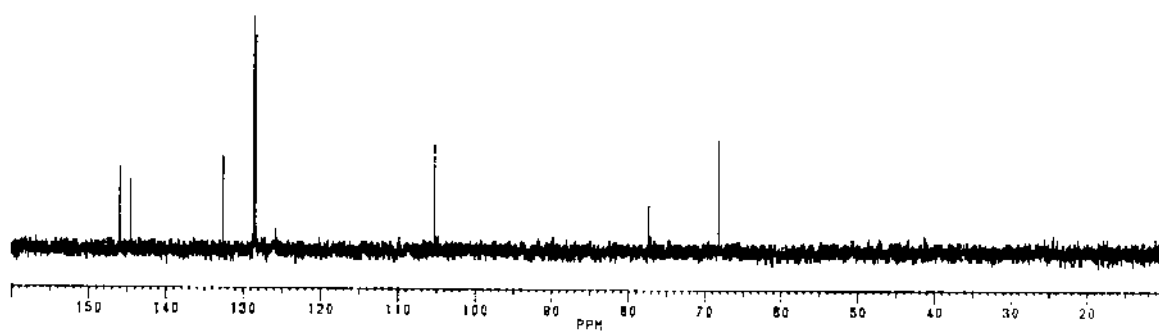
E-39 - Espectro de massas da flavana 40.



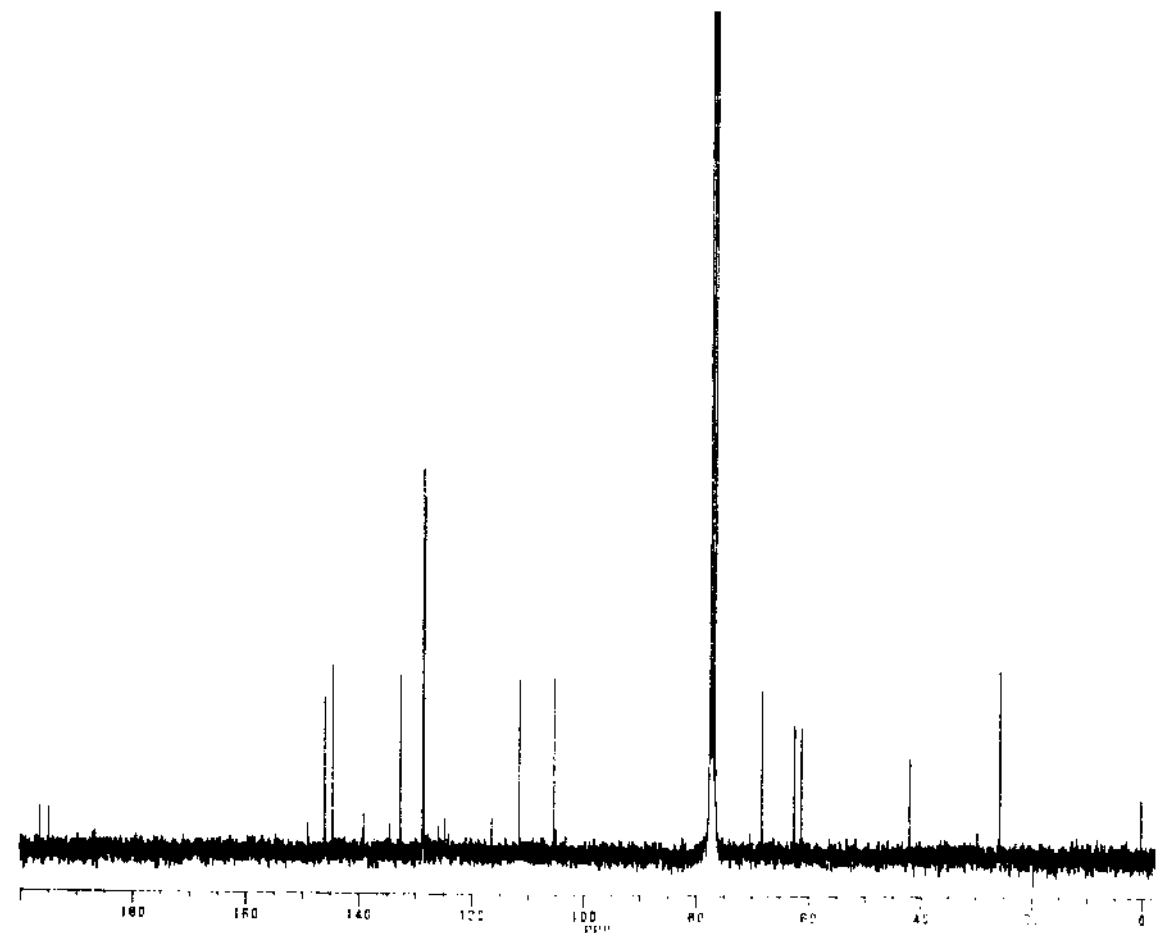
E-40 - Espectro de RMN 1H da β -hidroxichalcona 41.



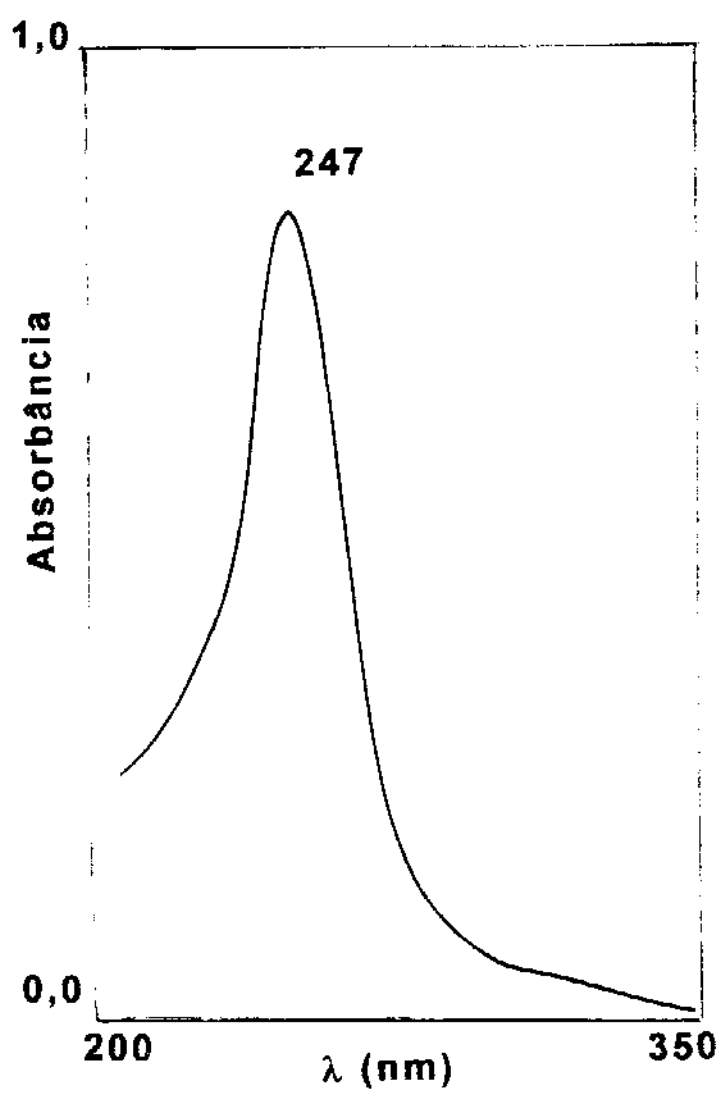
(b)



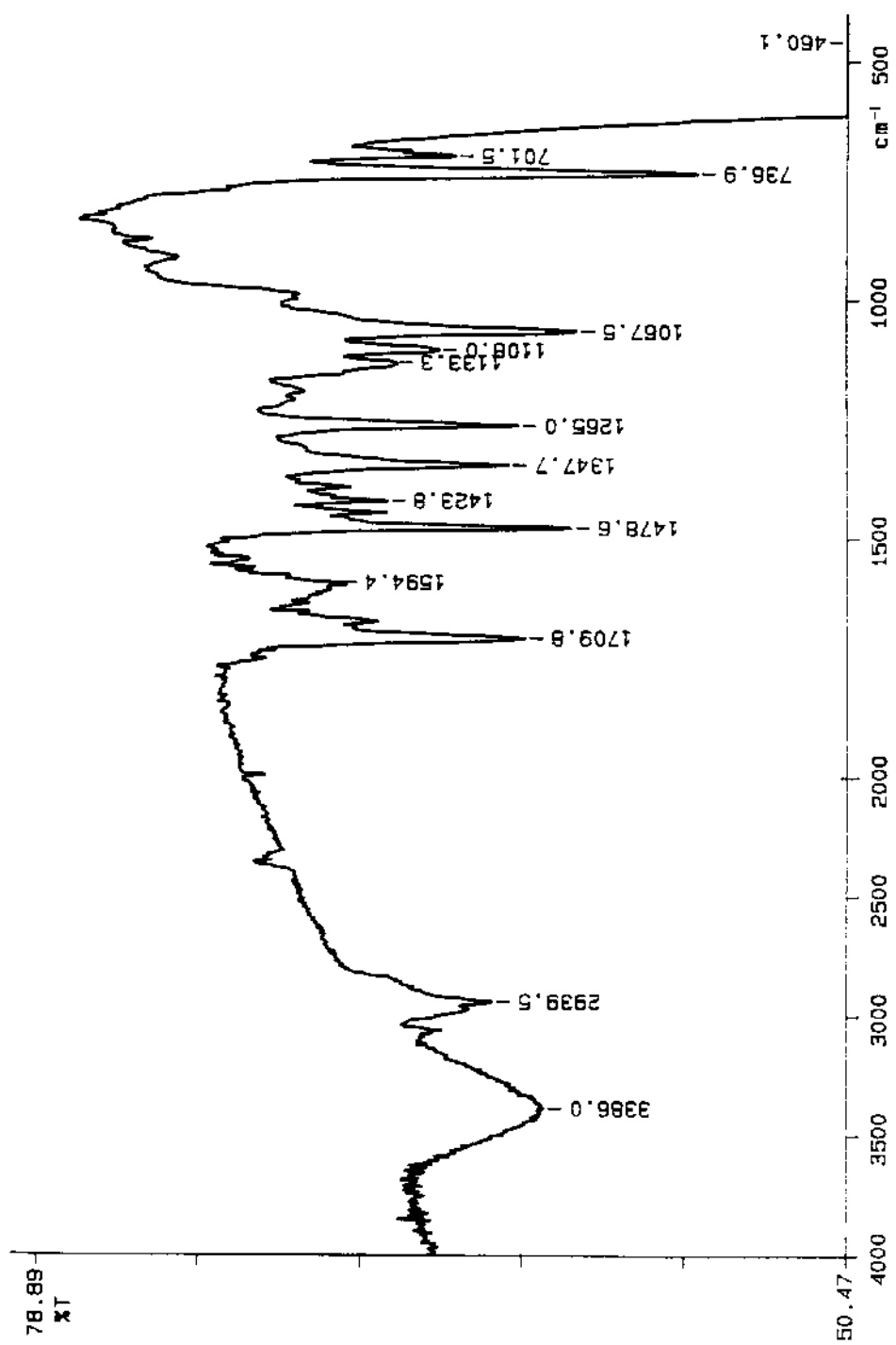
(a)



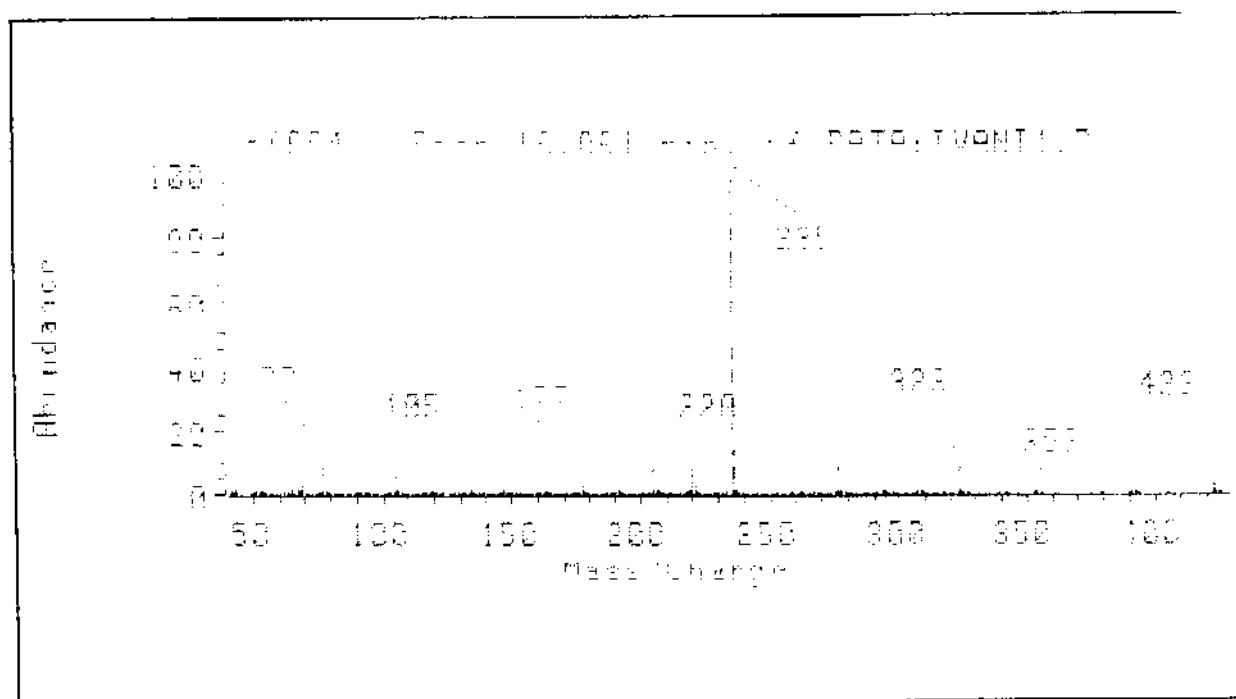
E-41 - (a) Espectro de RMN ^{13}C da β -hidroxichalcona **41**. (b) Espectro DEPT da β -hidroxichalcona **41**.



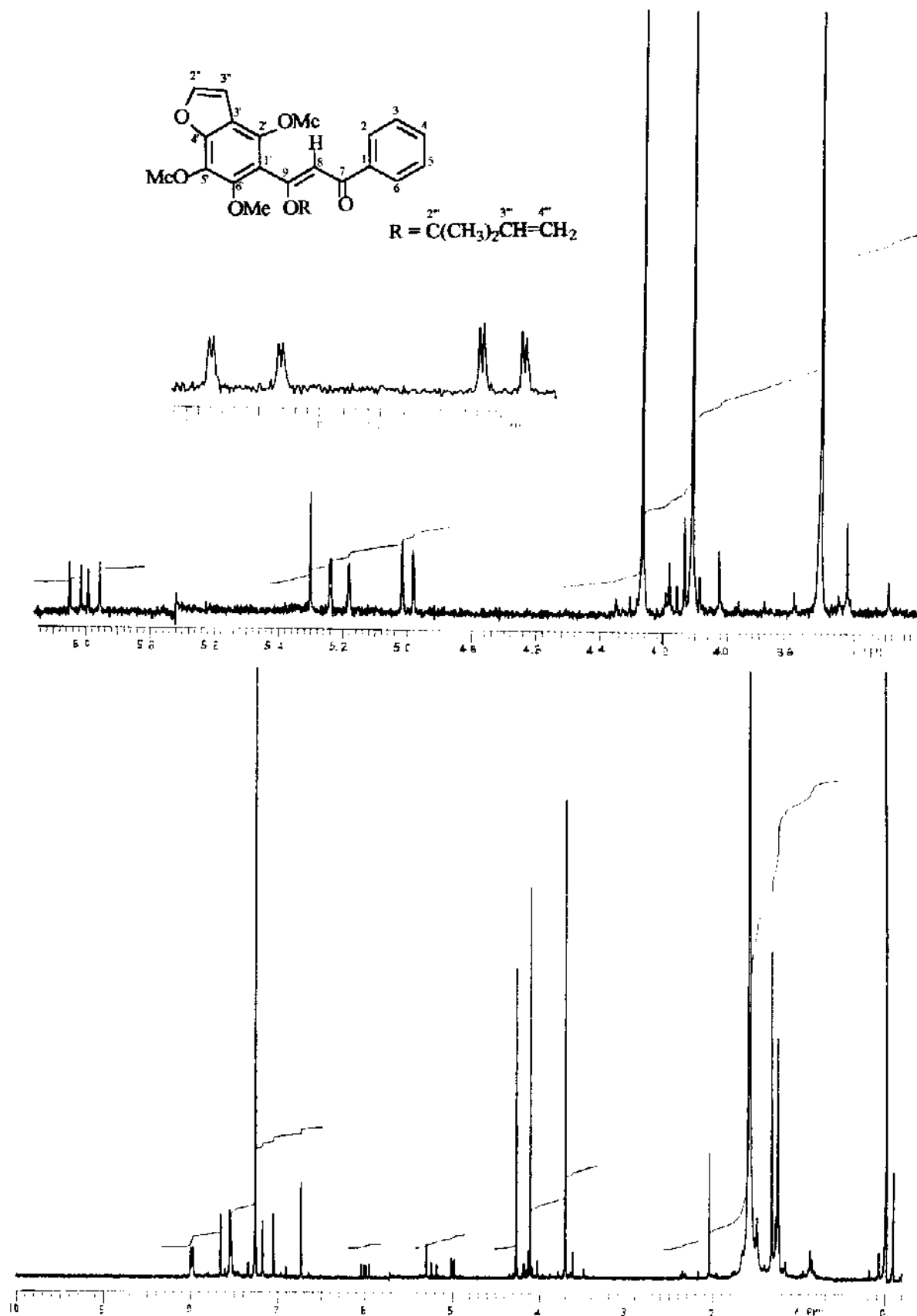
E-42 - Espectro UV da β -hidroxichalcona 41.



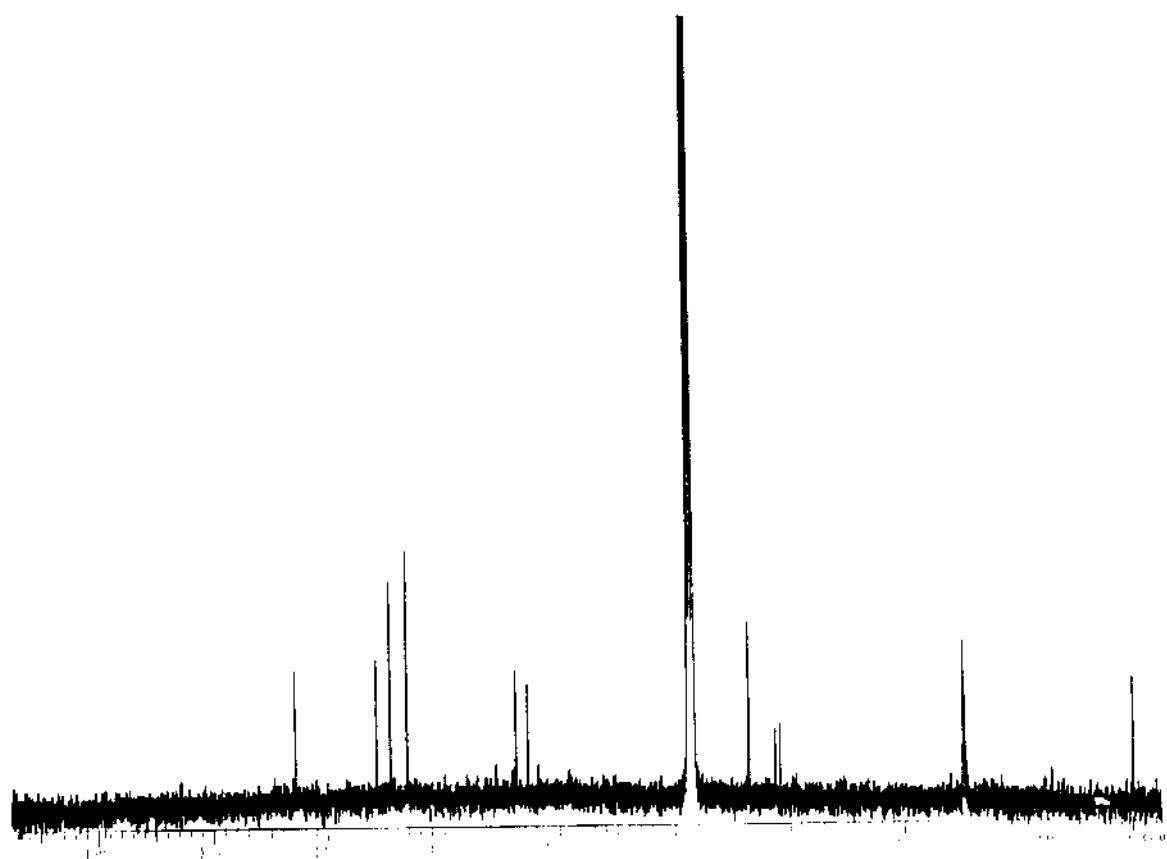
E-43 - Espectro IV da β -hidroxichalcona 41.



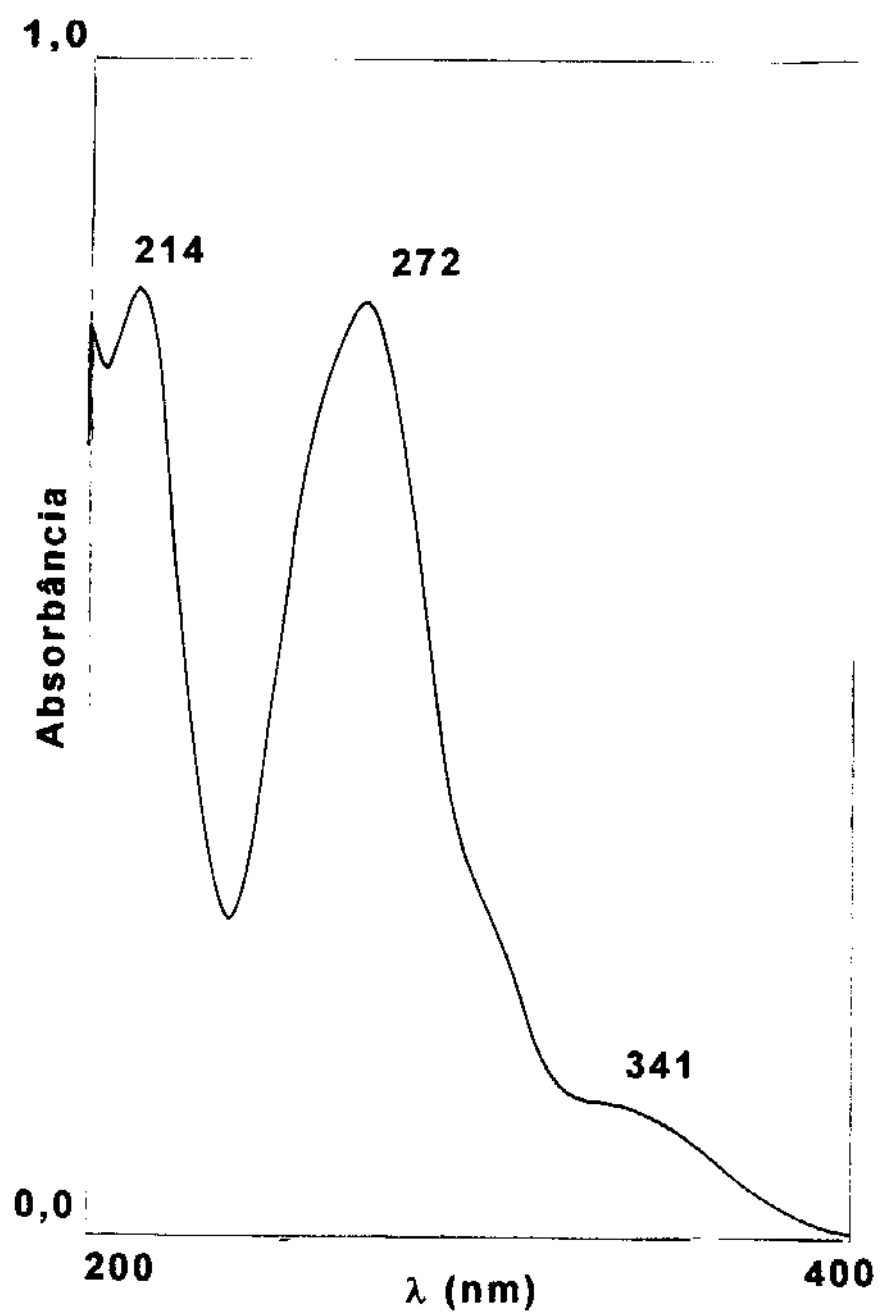
E-44 - Espectro de massas da β -hidroxichalcona 41.



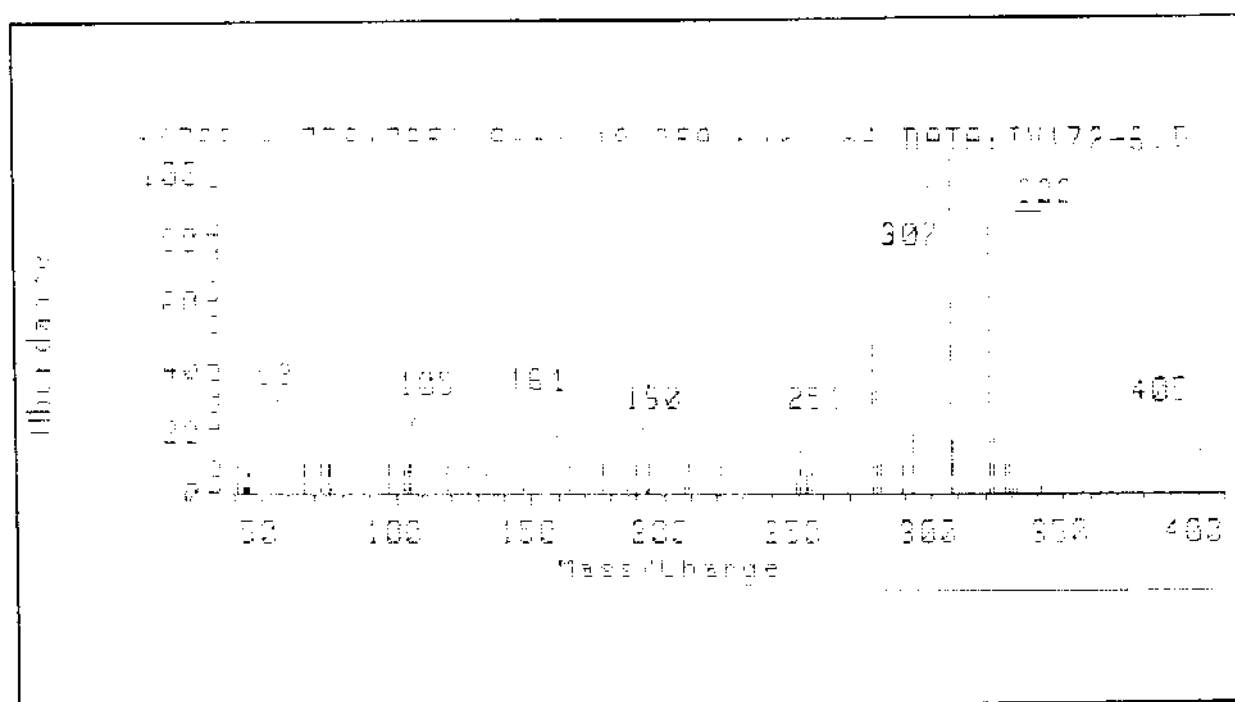
E-45 - Espectro de RMN ^1H da β -hidroxichalcona 42.



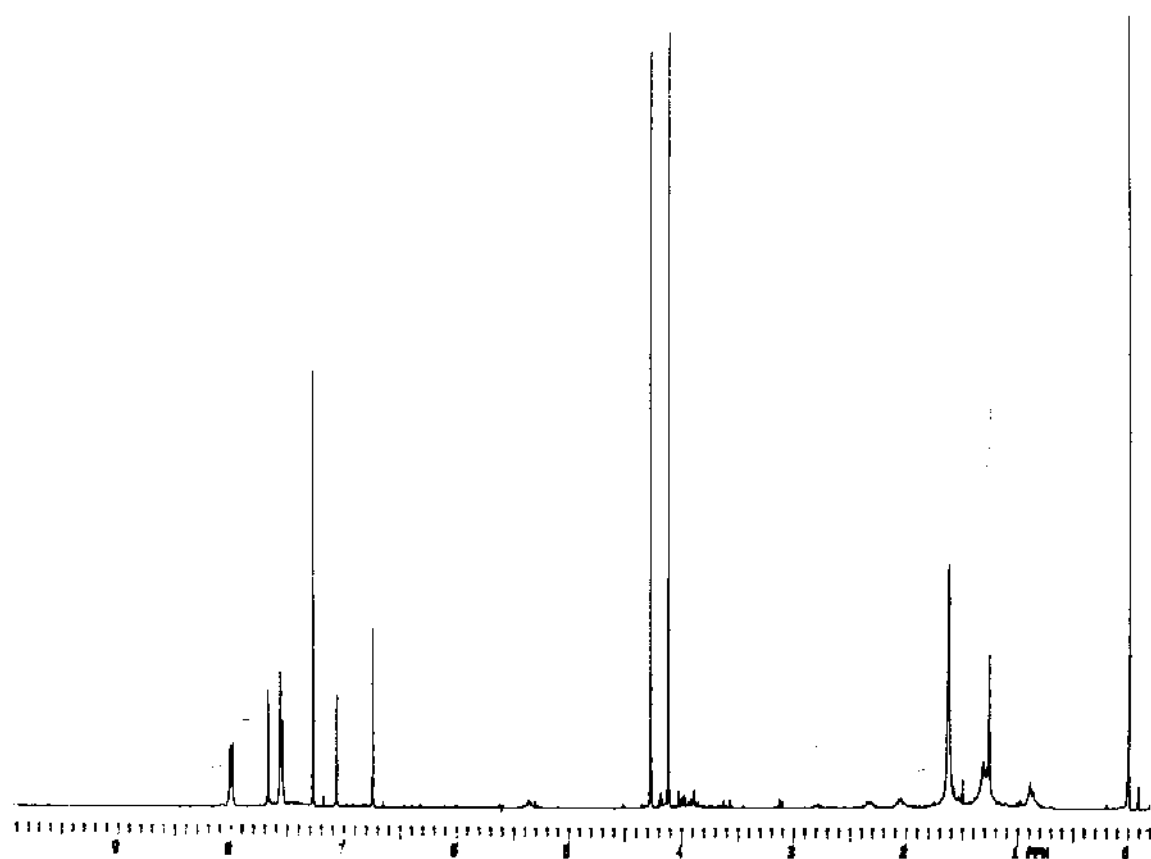
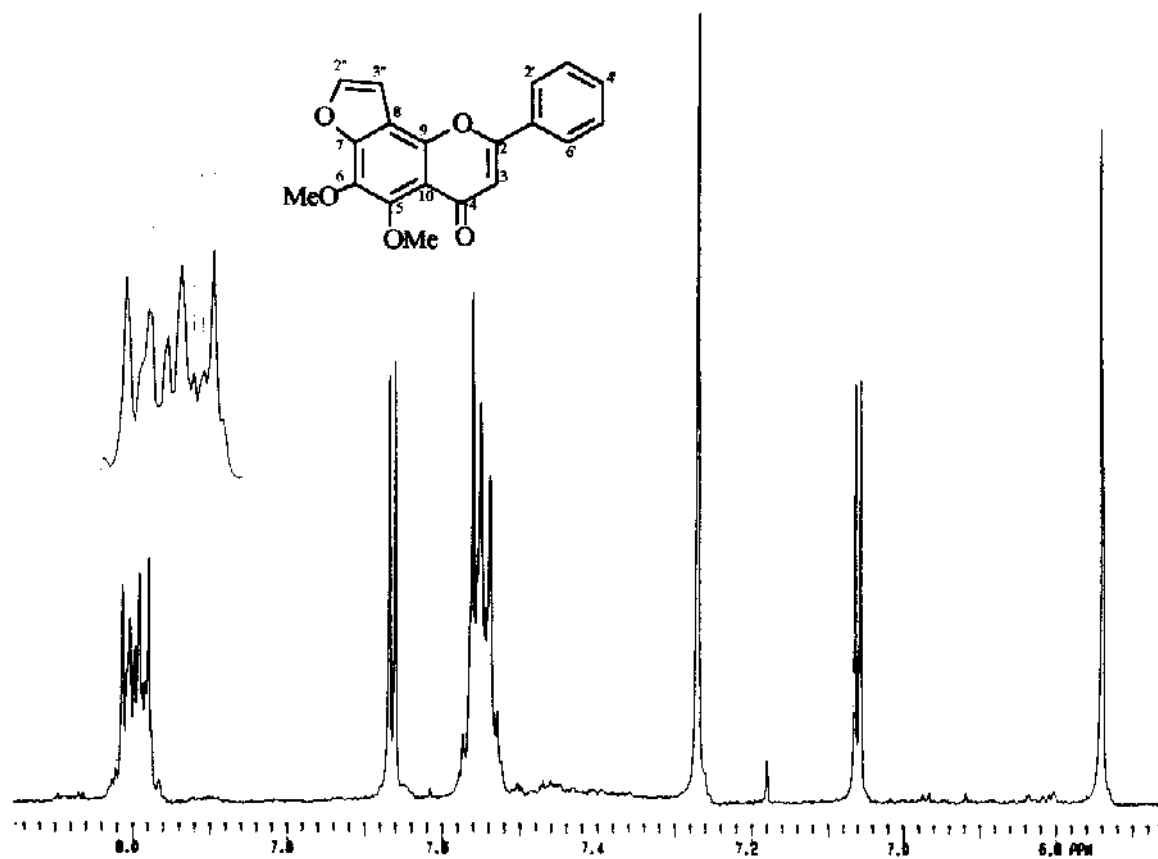
E-46 - Espectro de RMN ^{13}C da β -hidroxichalcona 42.



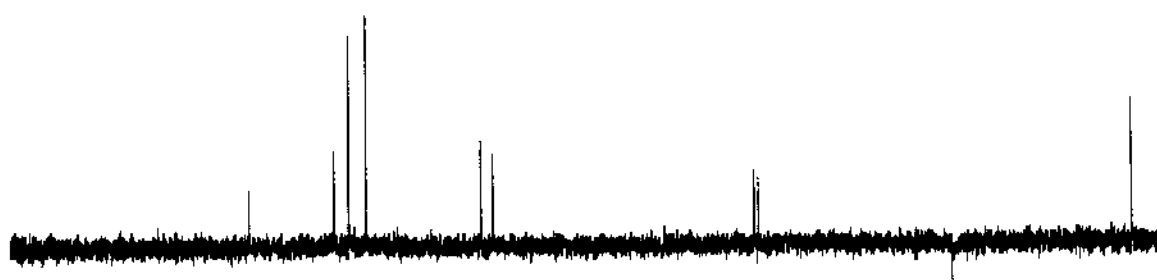
E-47 - Espectro UV da β -hidroxichalcona 42.



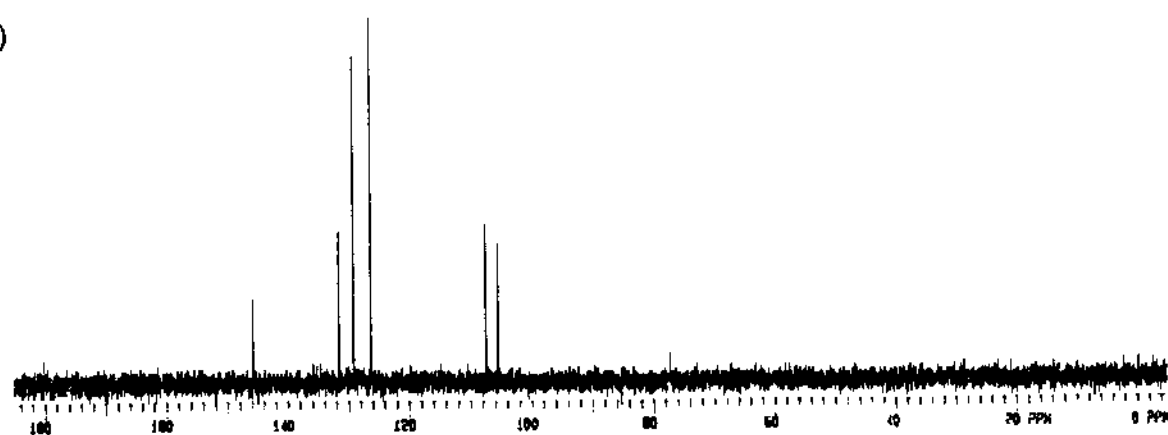
E-48 - Espectro de massas da β -hidroxichalcona 42.



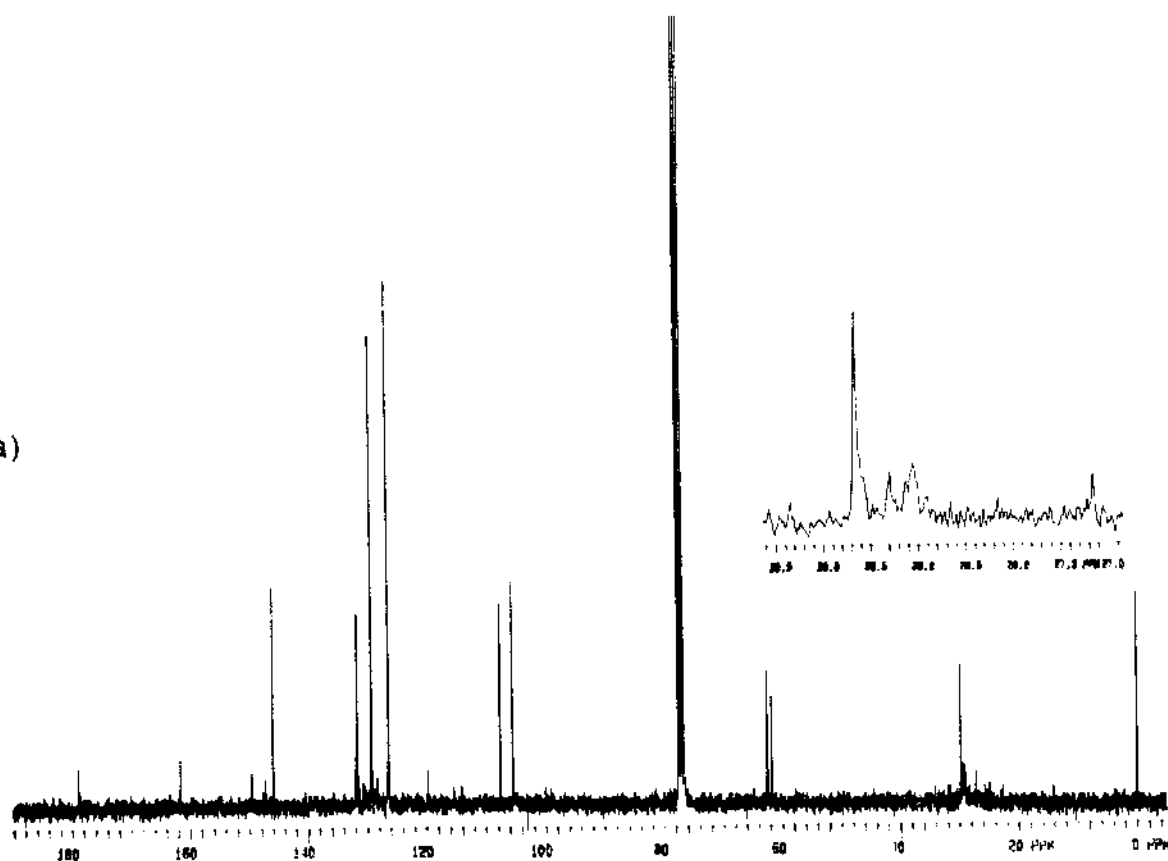
E-49 - Espectro de RMN ^1H da flavona 43.



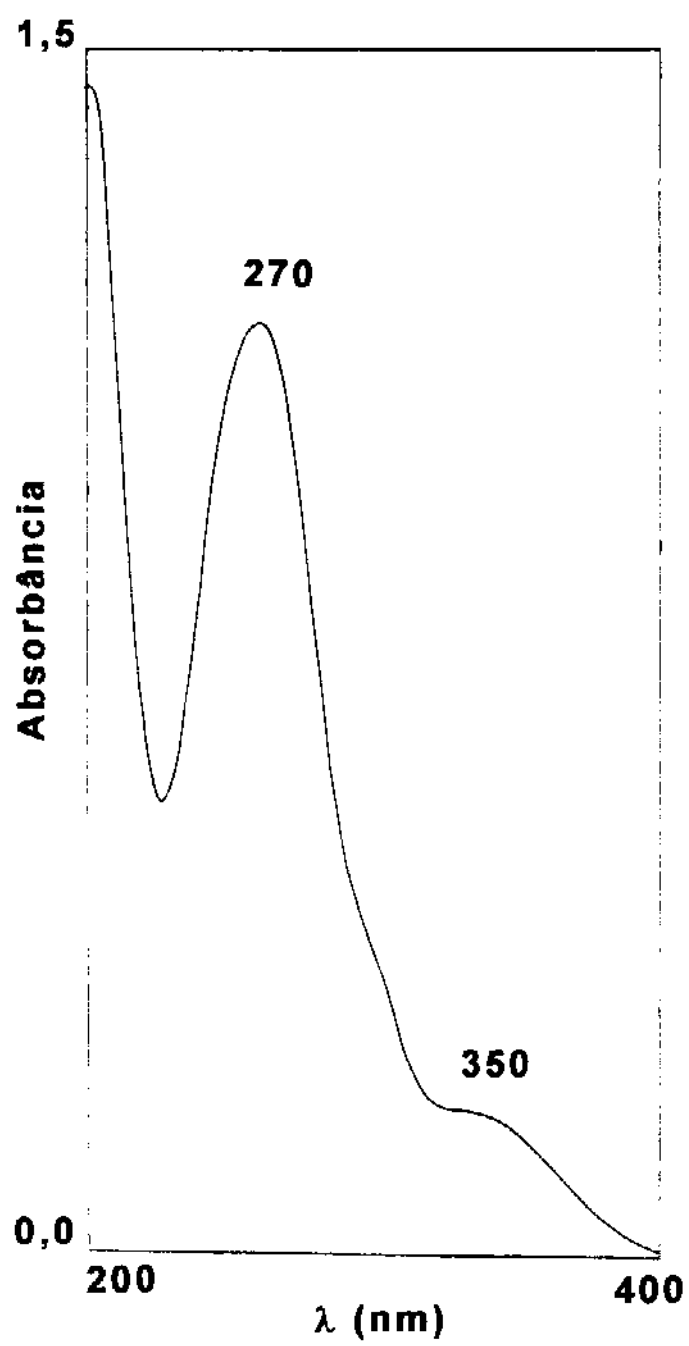
(b)



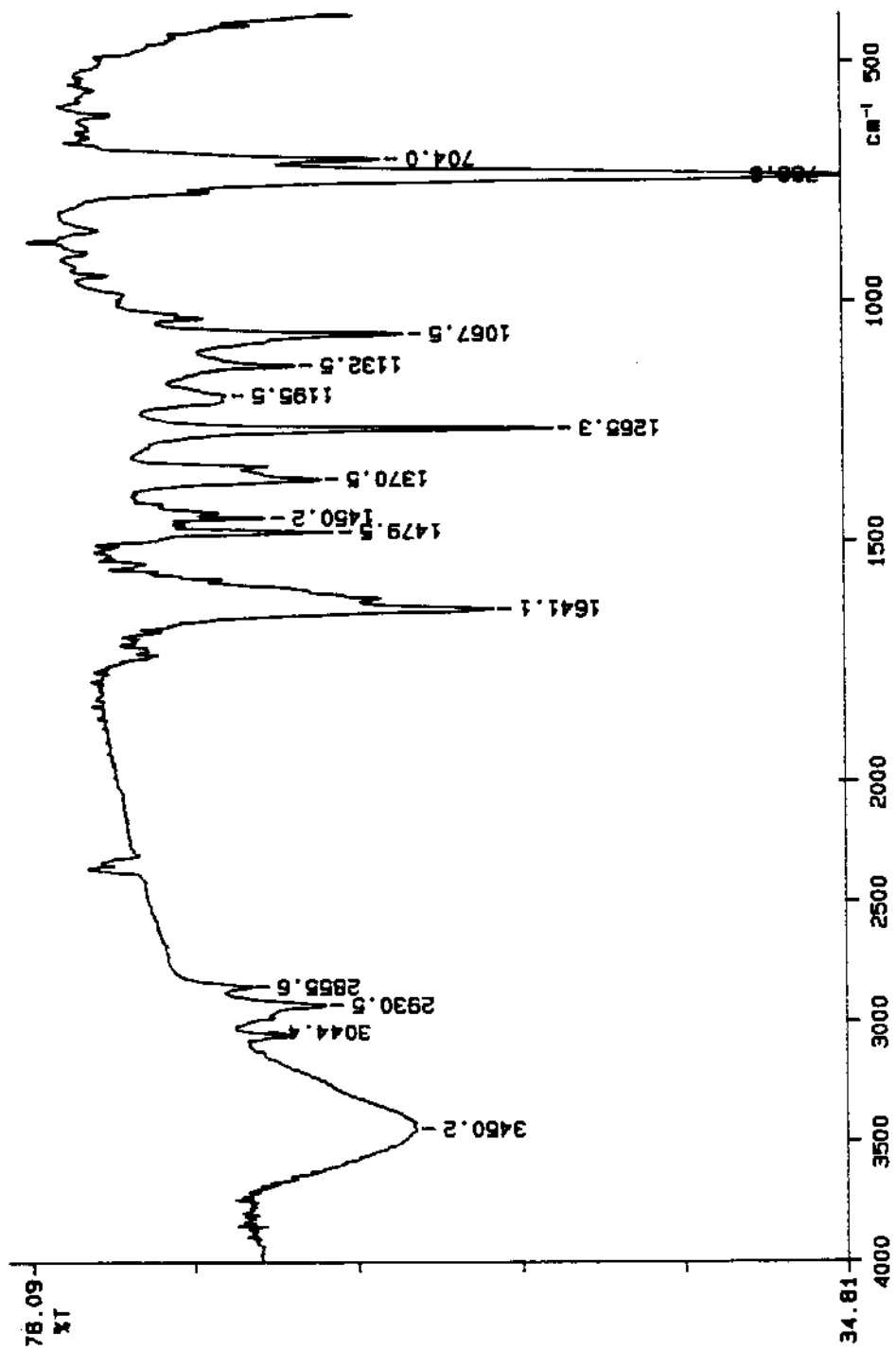
(a)



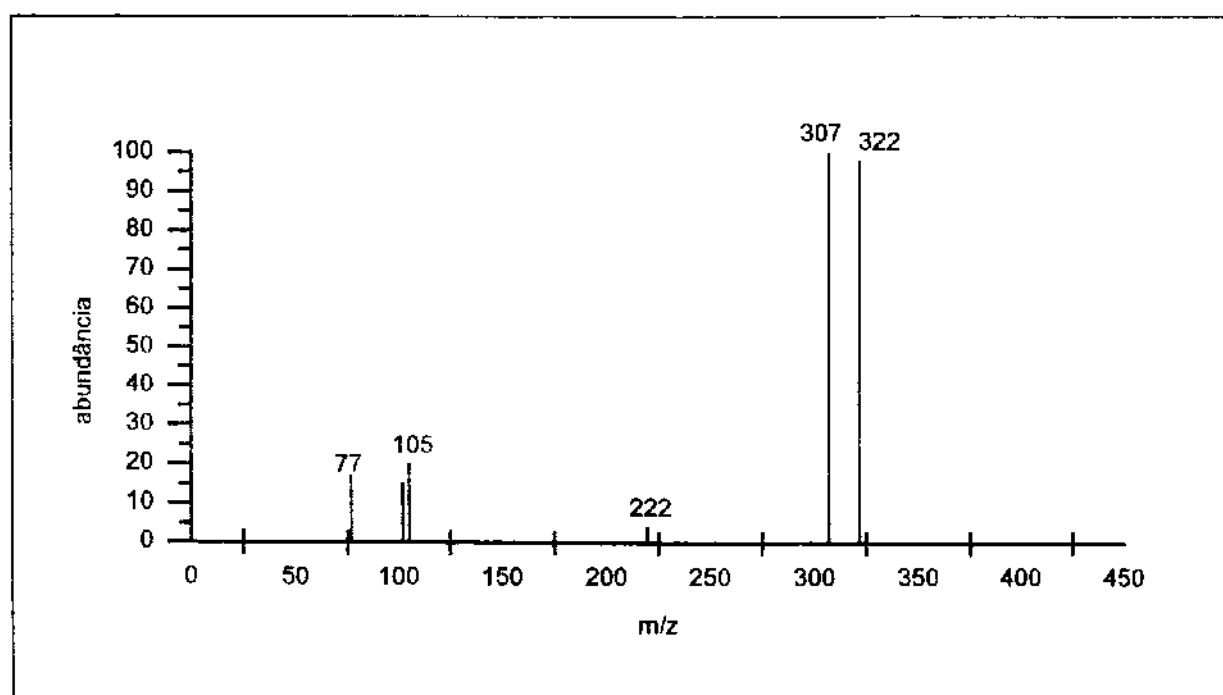
E-50 - (a) Espectro de RMN ^{13}C da flavona 43. (b) Espectro DEPT da flavona 43.



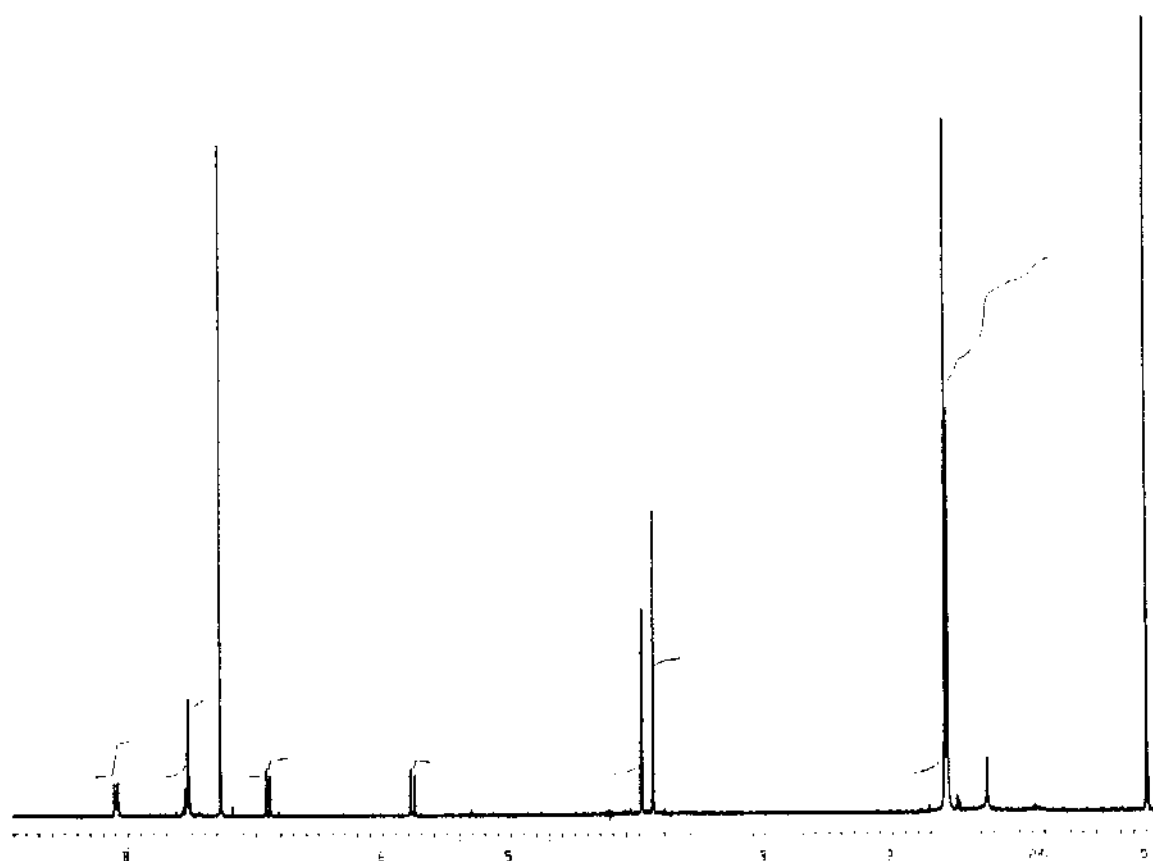
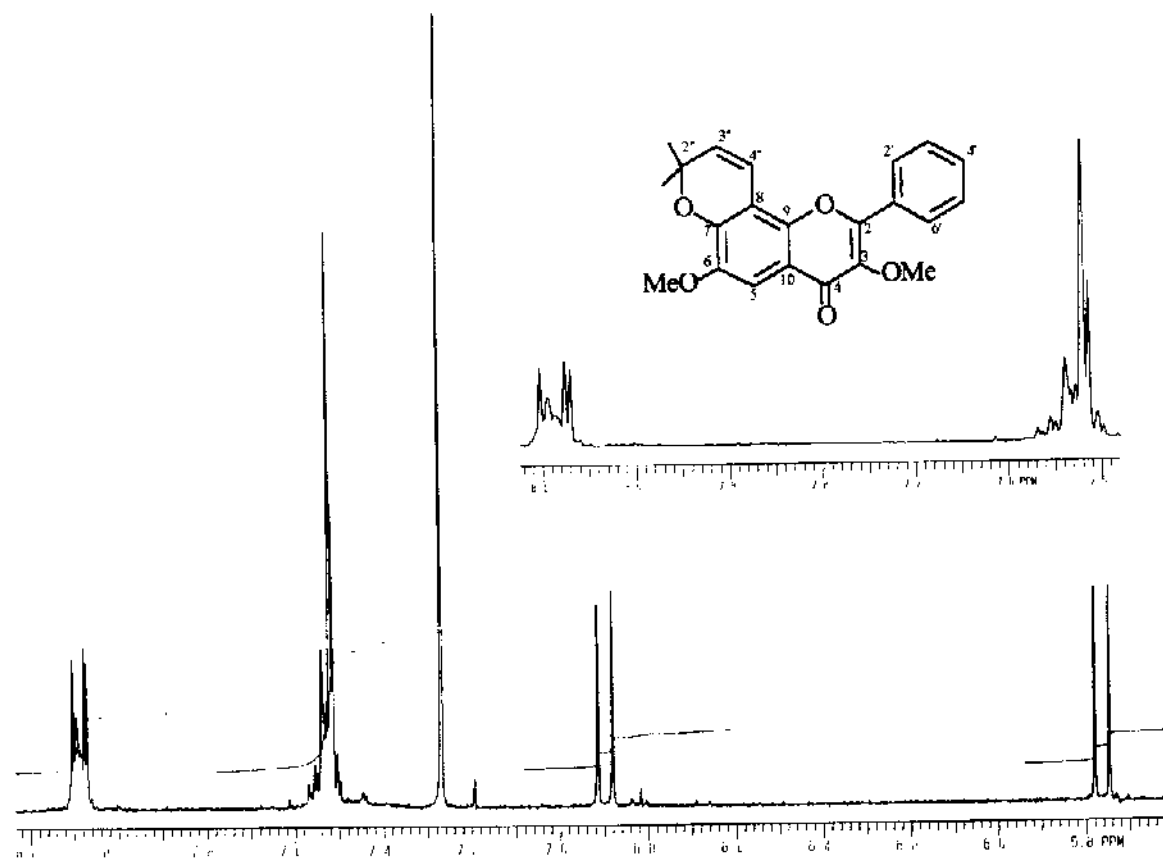
E-51 - Espectro UV da flavona 43.



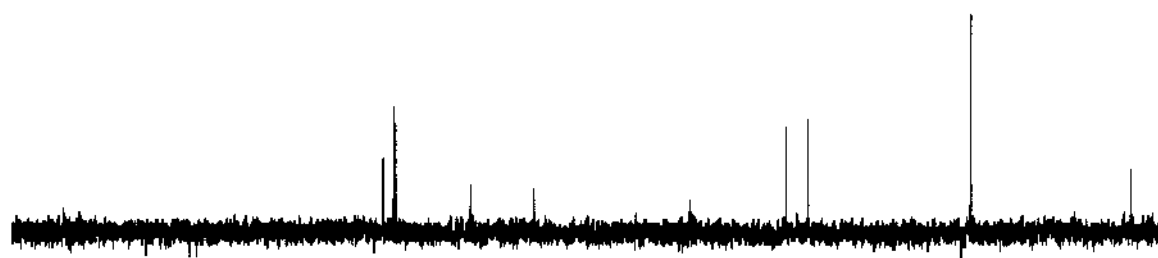
E-52 - Espectro IV da flavona 43.



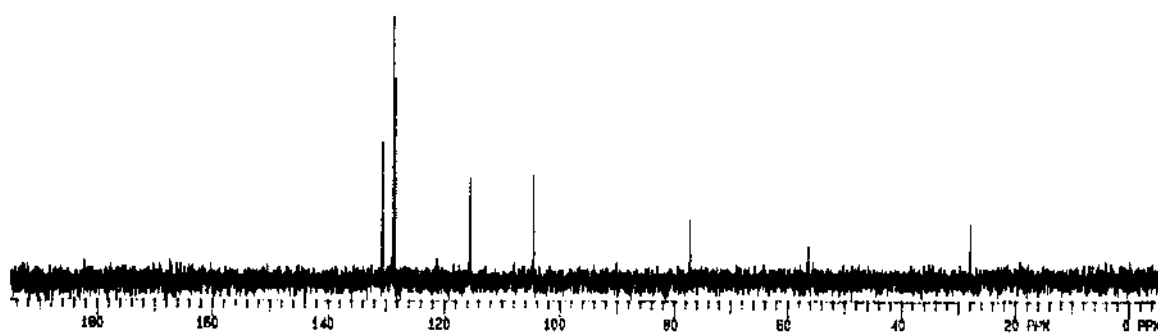
E-53 - Espectro de massas da flavona 43.



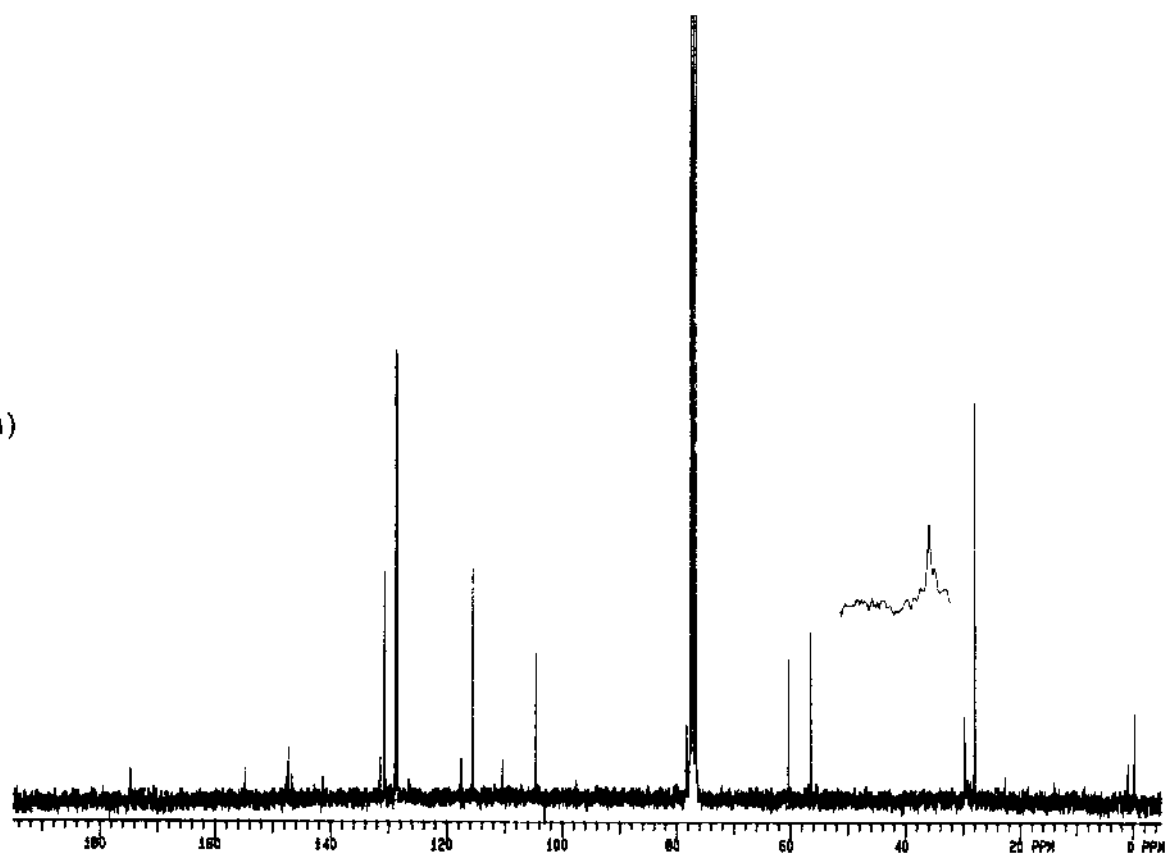
E-54 - Espectro de RMN ^1H do flavonol 44.



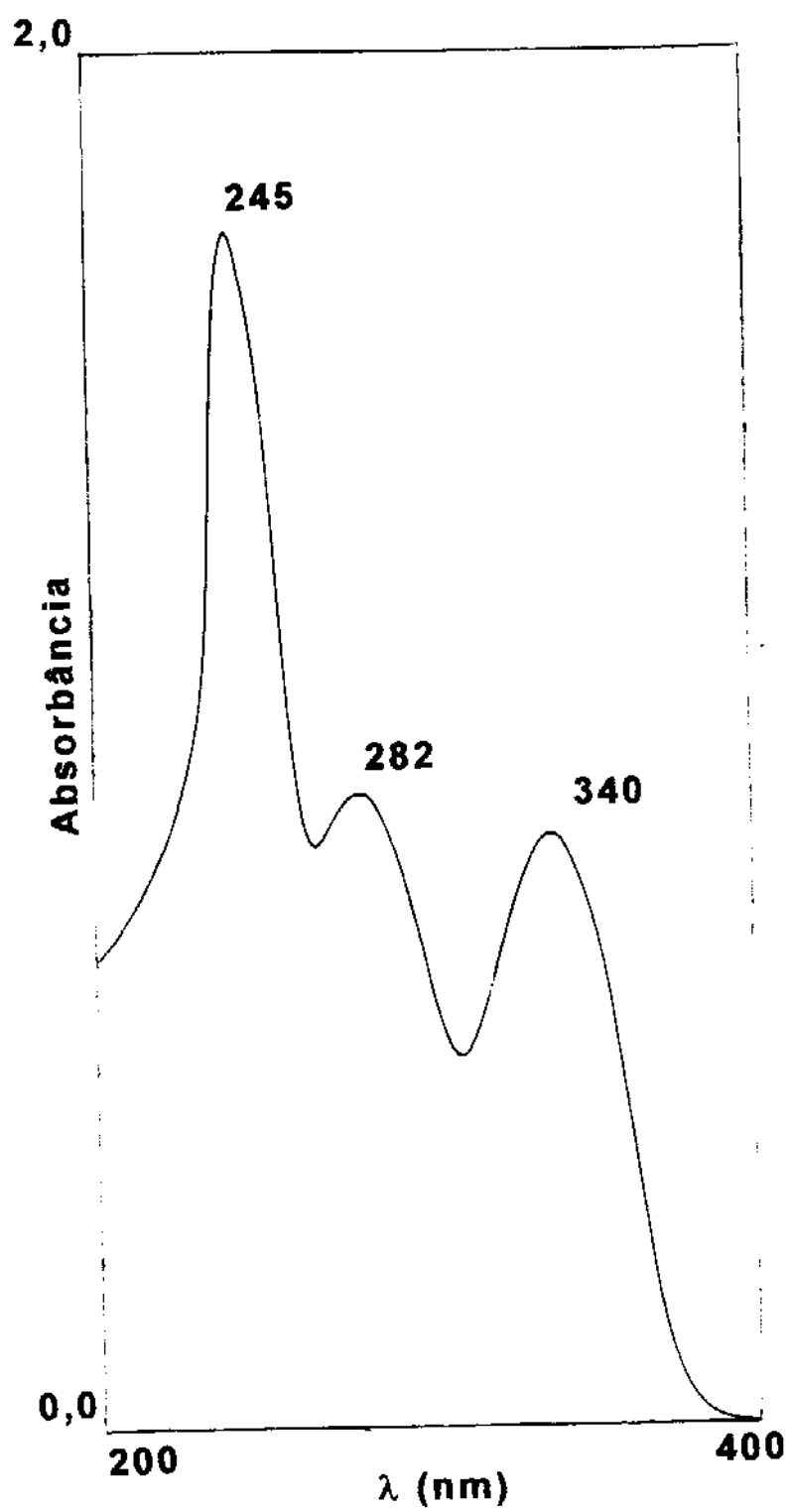
(b)



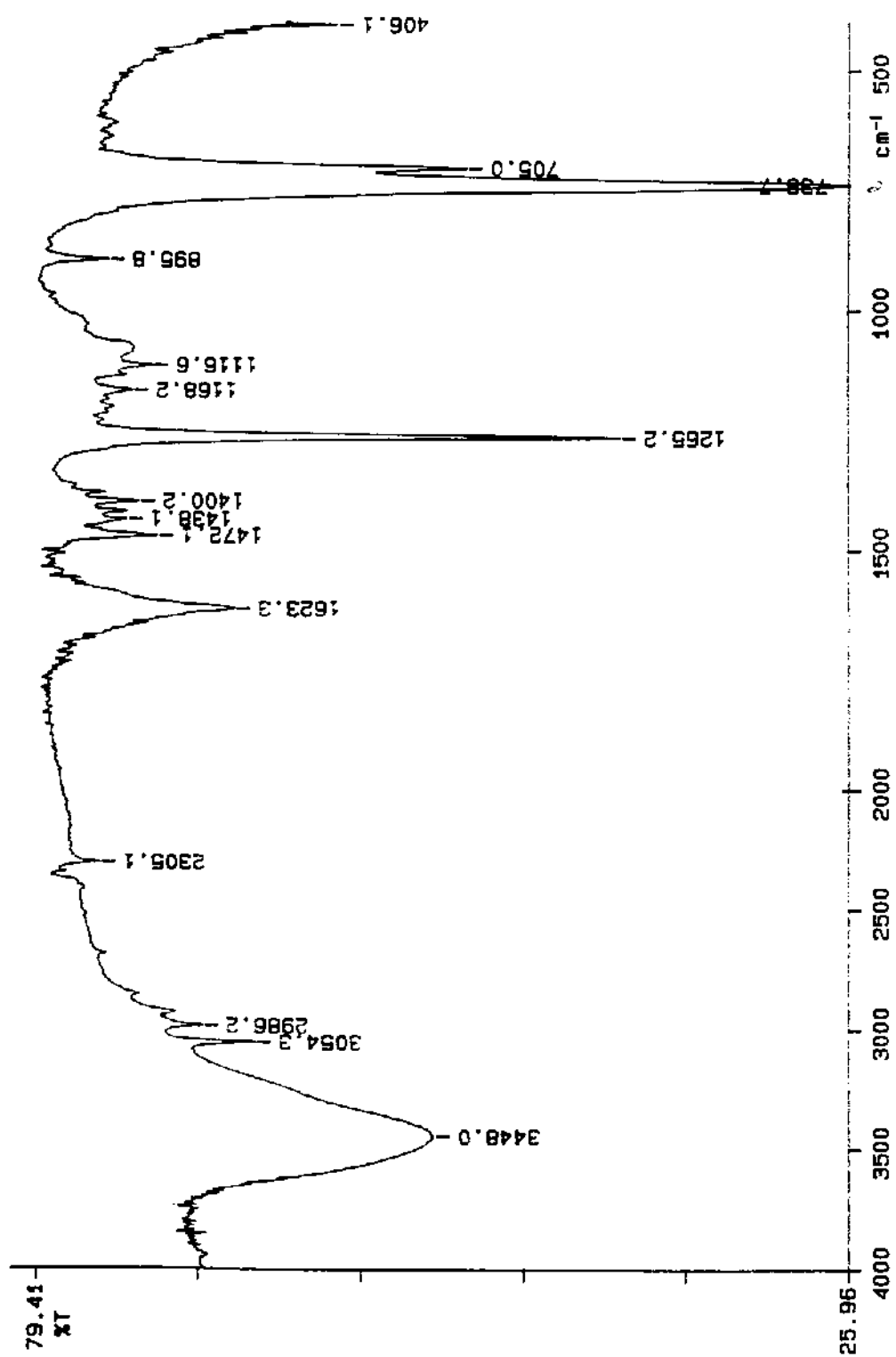
(a)



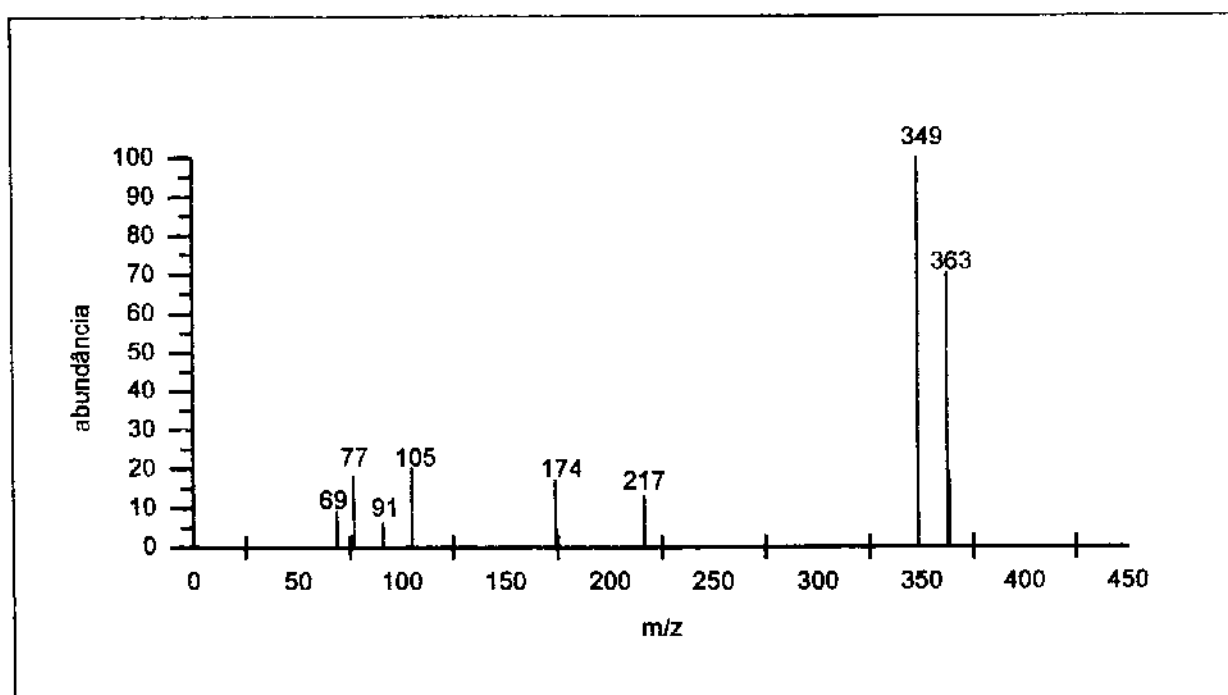
E-55 - (a) Espectro de RMN ^{13}C do flavonol 44. (b) Espectro DEPT do flavonol 44.



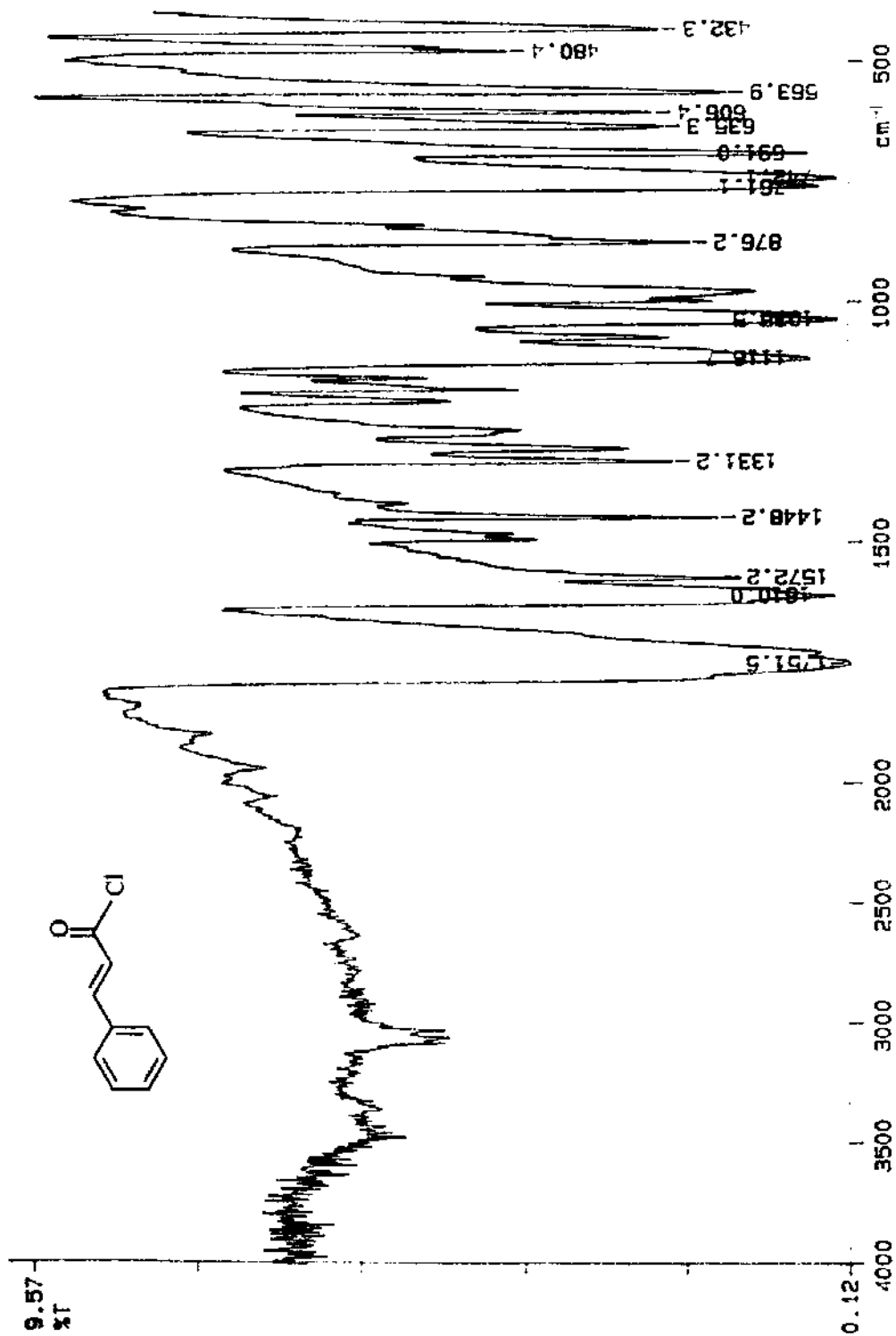
E-56 - Espectro UV do flavonol 44.



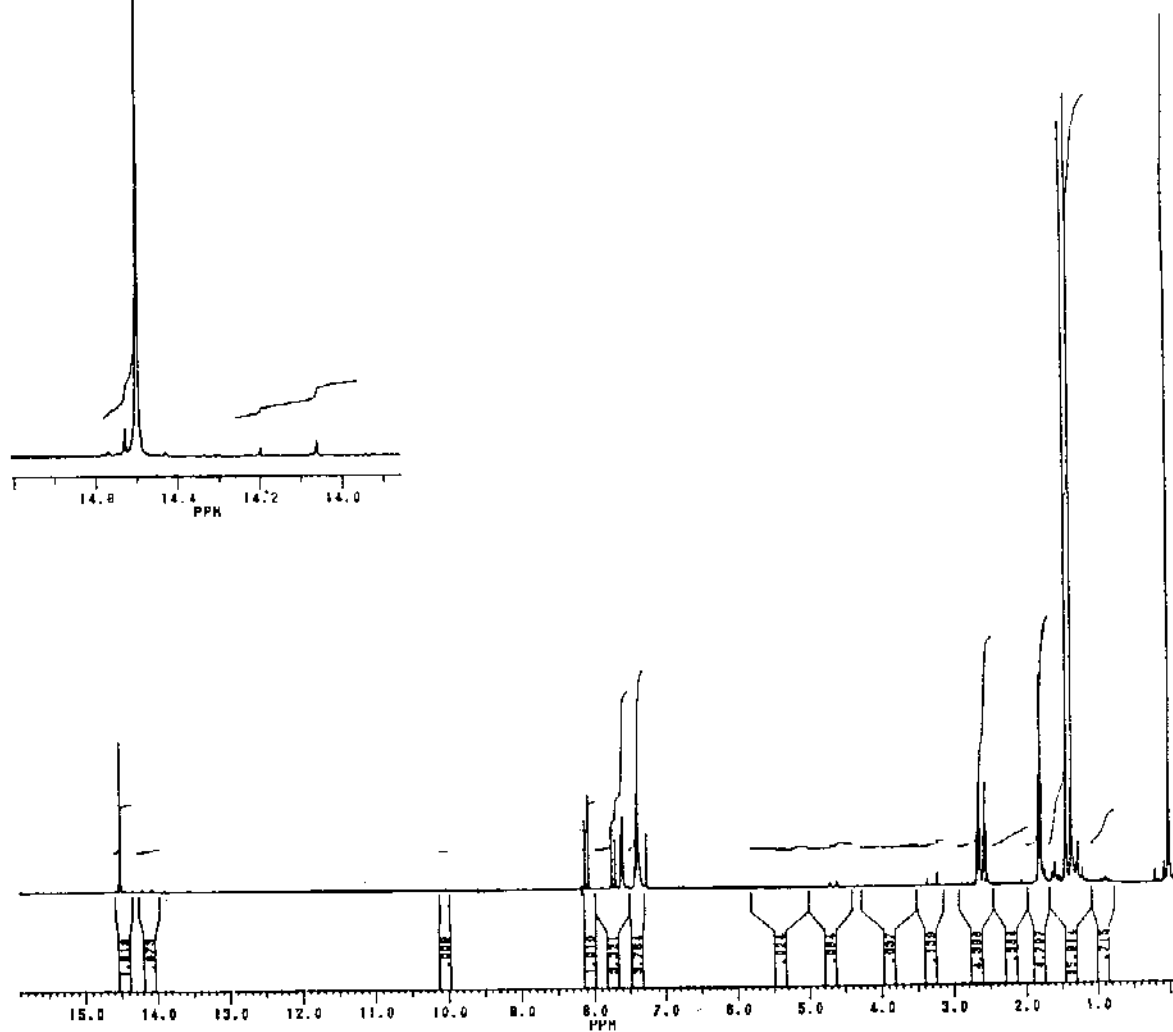
E-57 - Espectro IV do flavonol 44.



E-58 - Espectro de massas do flavonol 44.

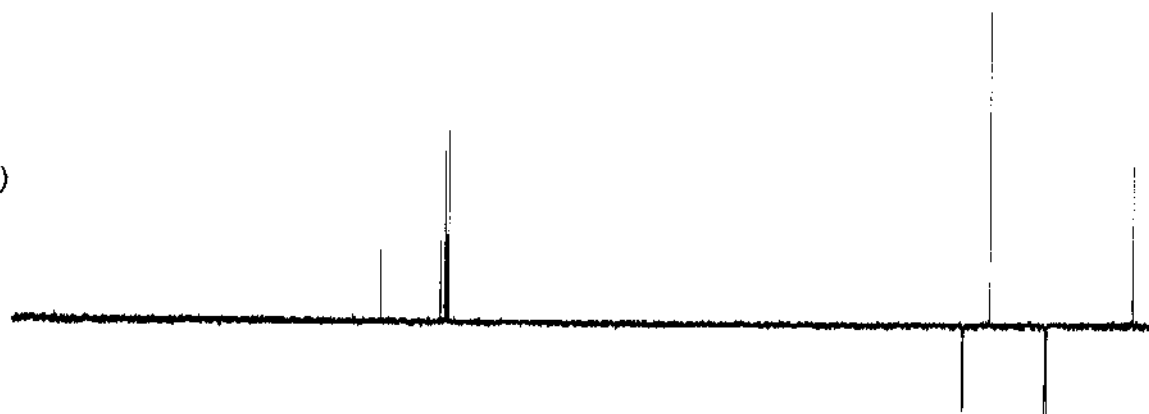


E-59 - Espectro IV do cloreto de cinamoila 56.

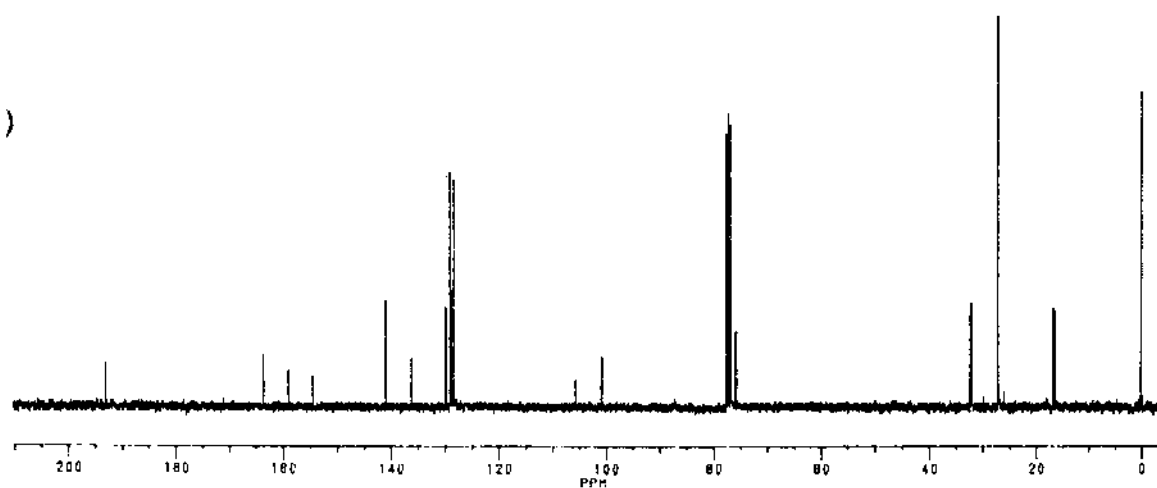


E-60 - Espectro de RMN ^1H da chalcona 59.

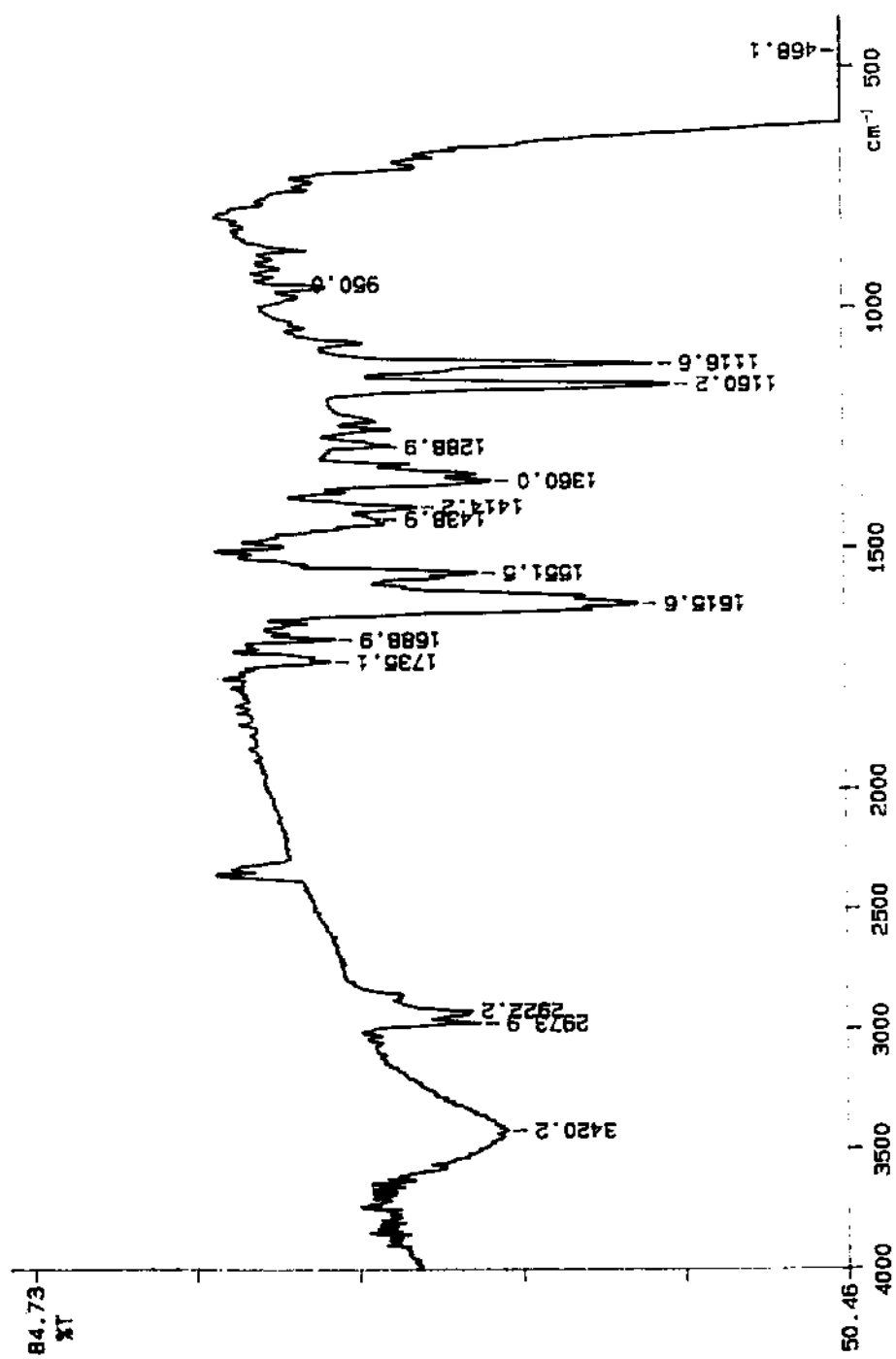
(b)



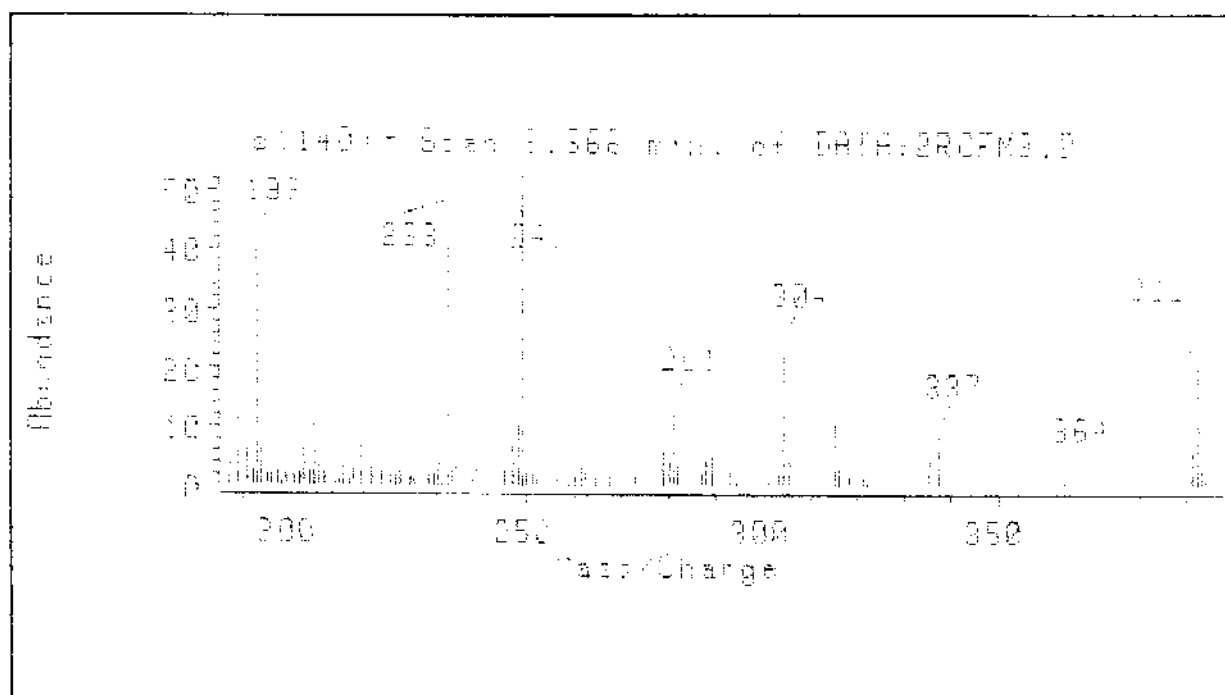
(a)



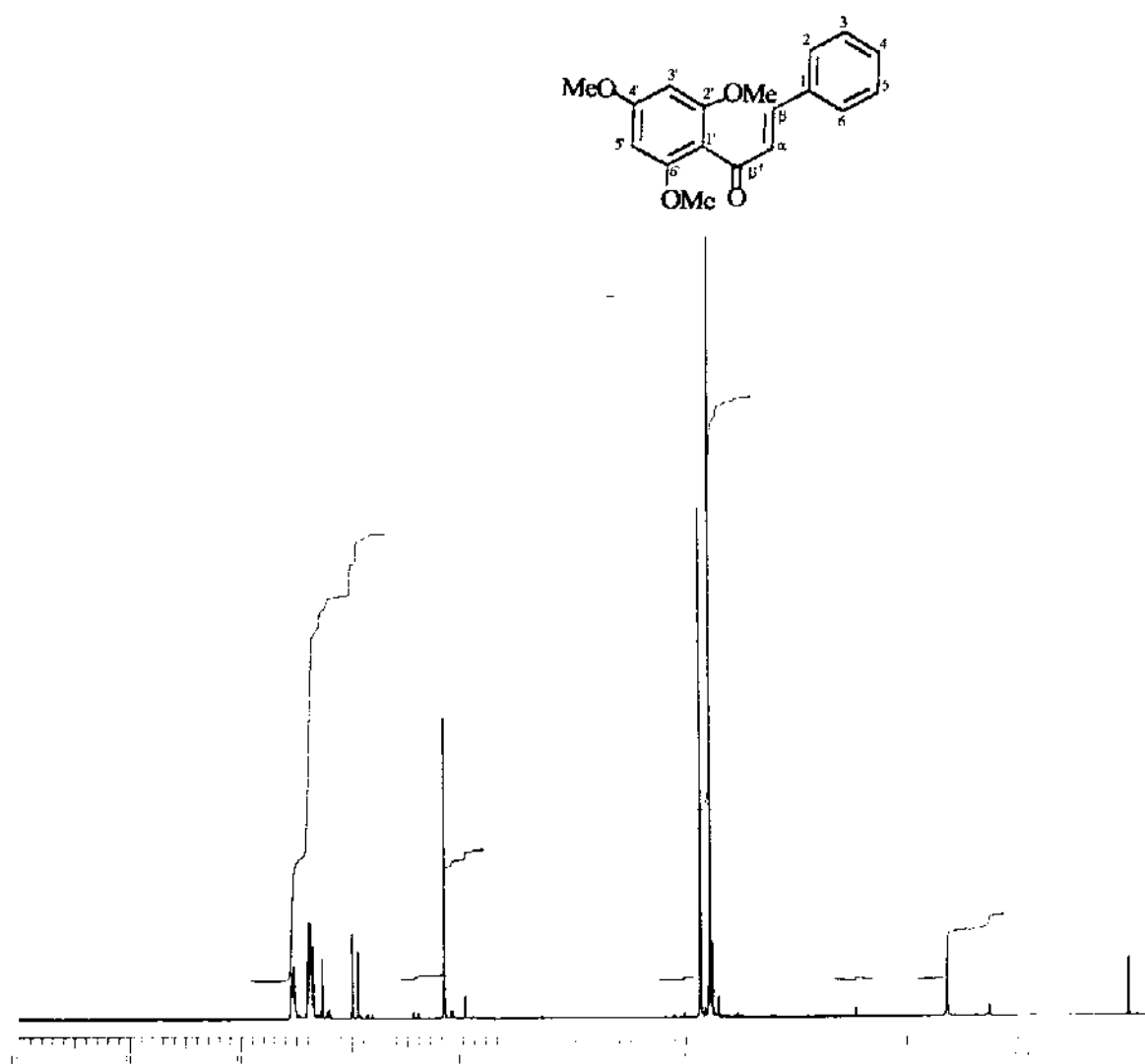
E-61 - (a) Espectro de RMN ¹³C da chalcona 59. (b) Espectro DEPT da chalcona 59.



E-62 - Espectro IV da chalcona 59.

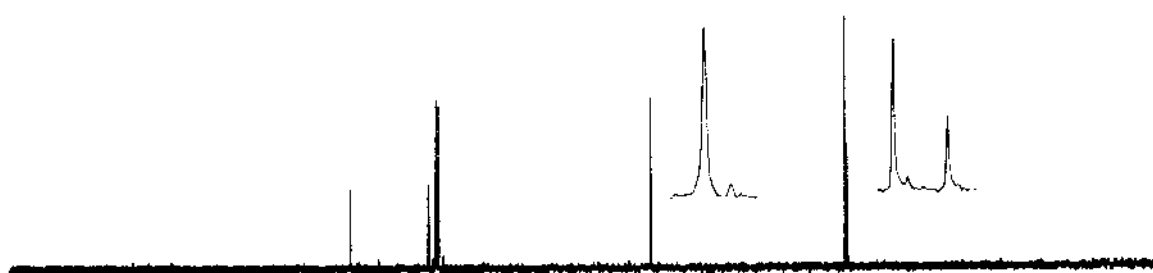


E-63 - Espectro de massas da chalcona 59.

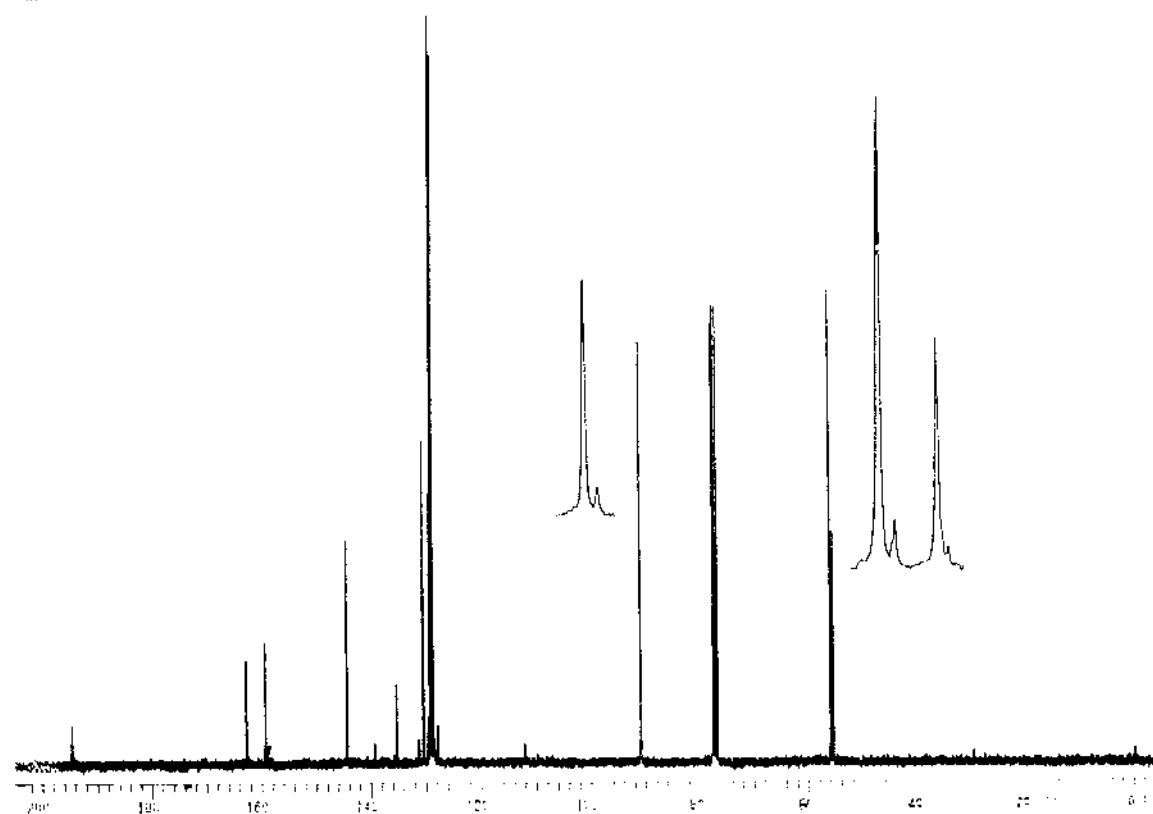


E-64 - Espectro de RMN ^1H da chalcona 69.

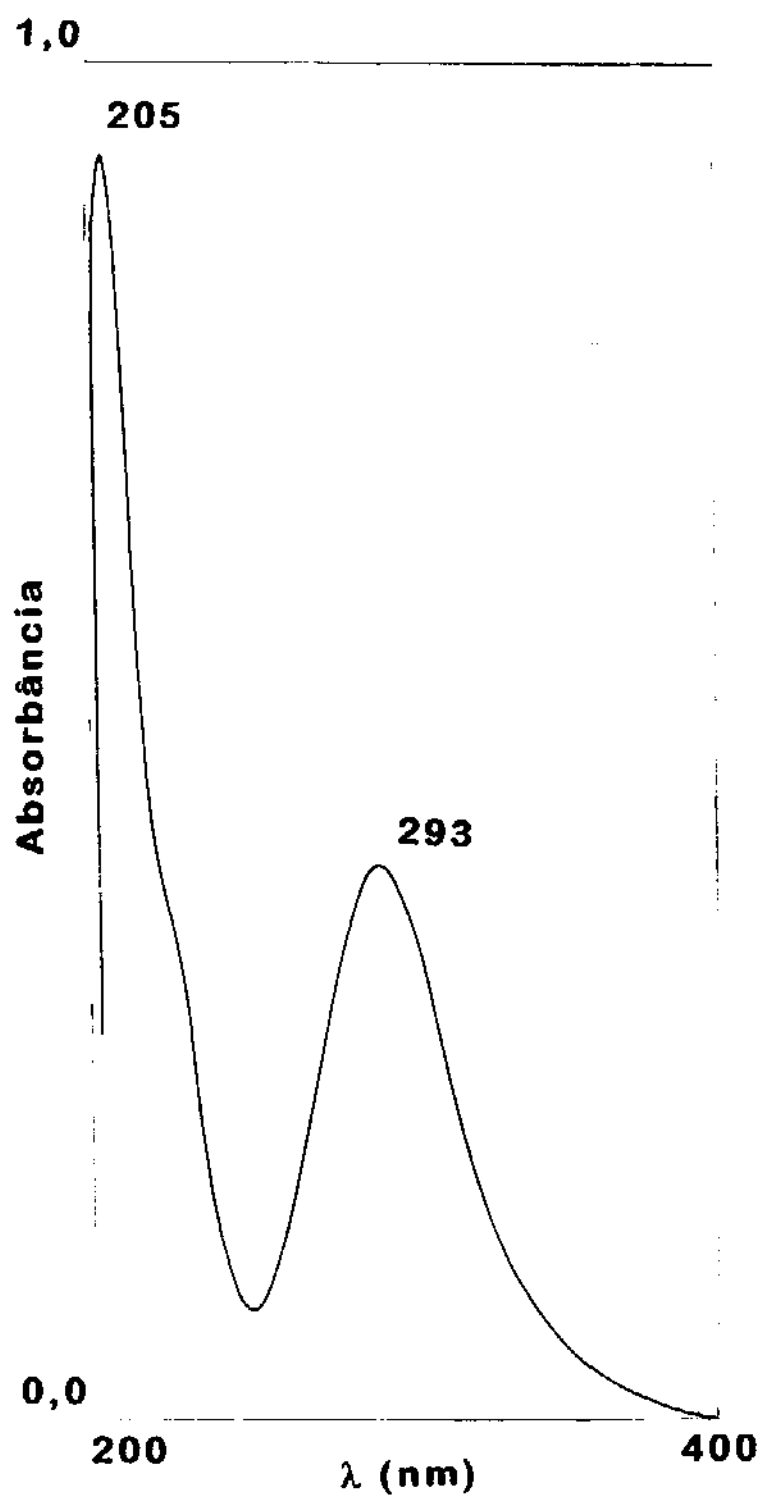
(b)



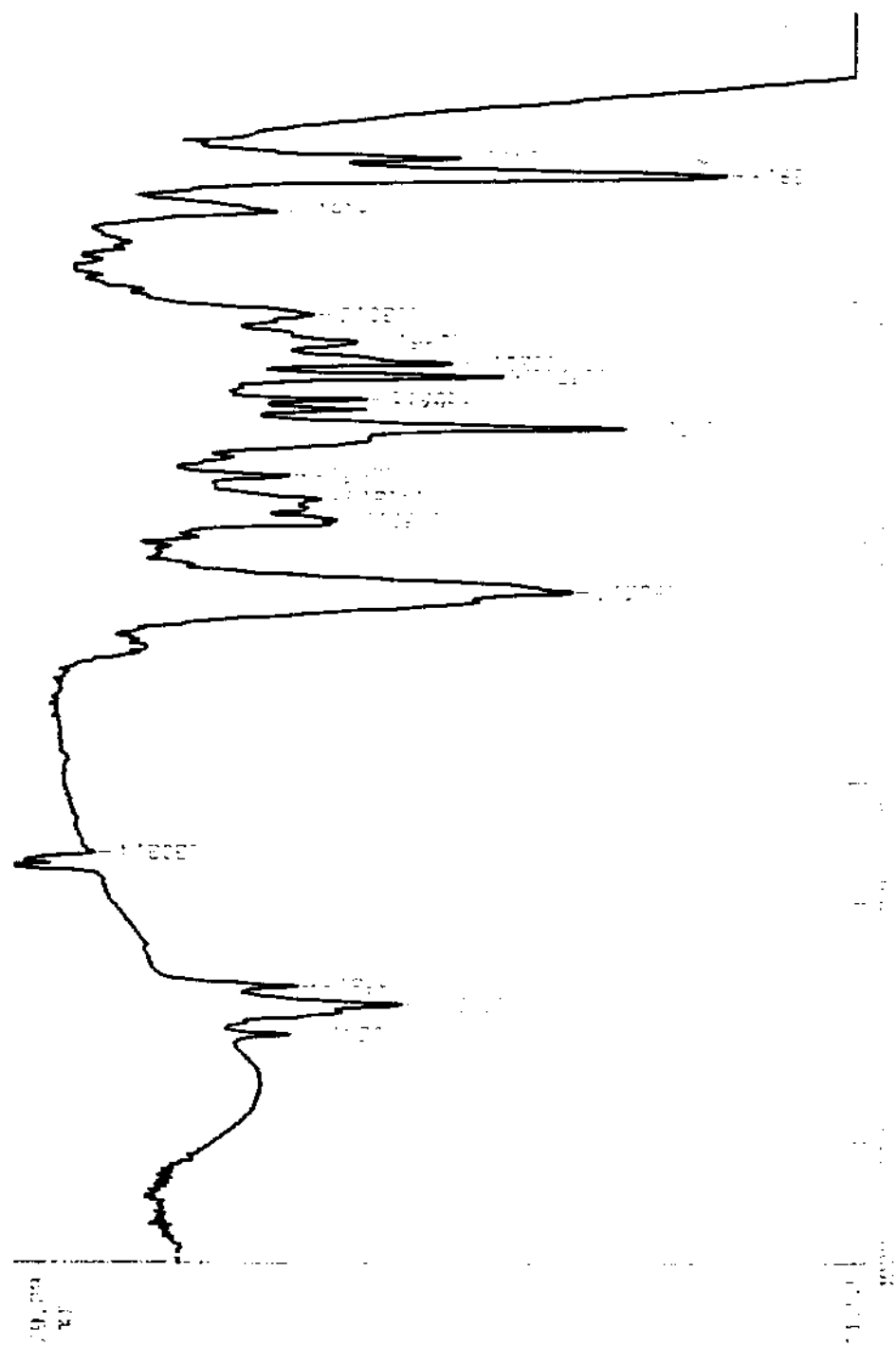
(a)



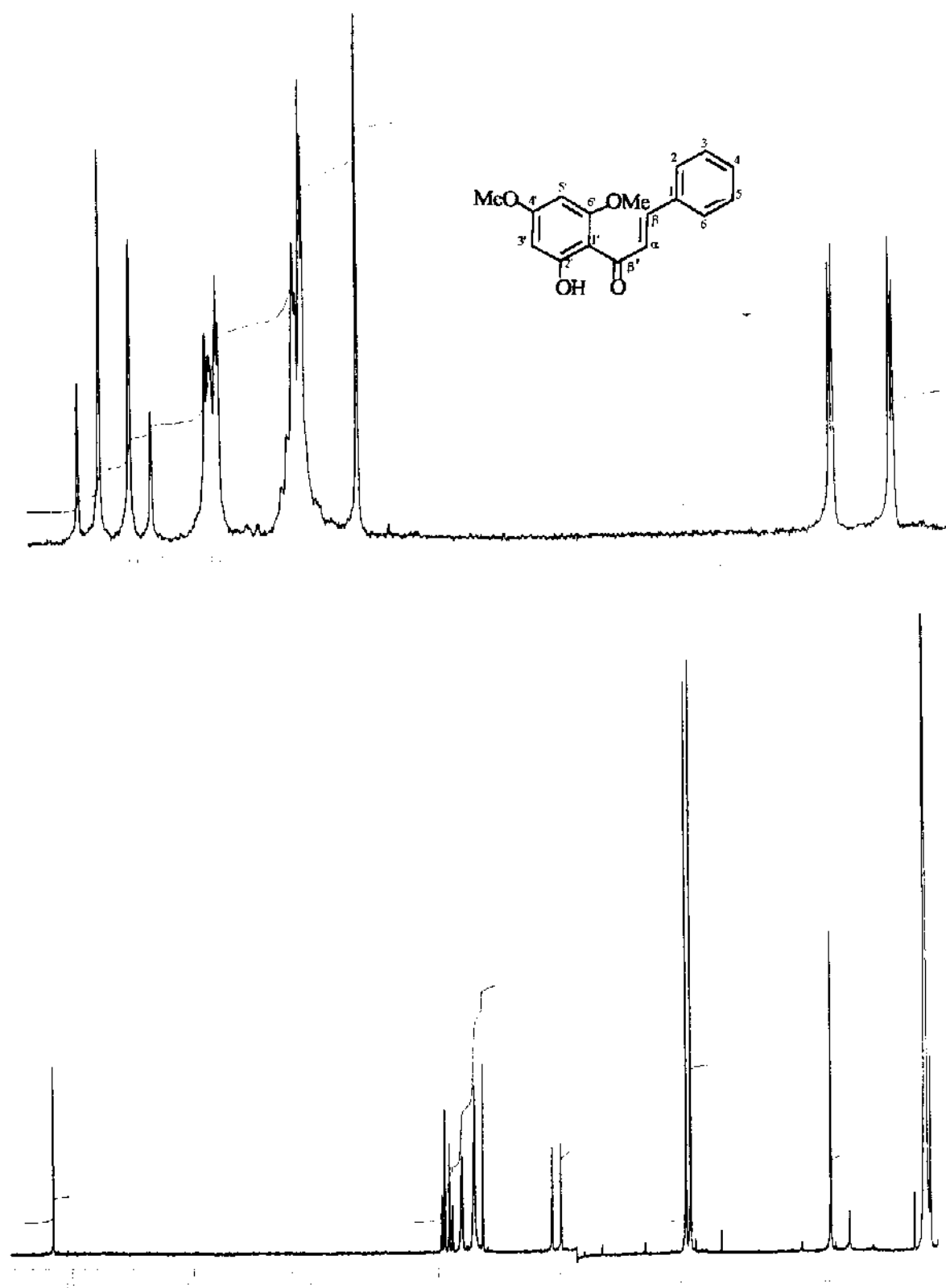
E-65 - (a) Espectro de RMN ¹³C da chalcona 69. (b) Espectro DEPT da chalcona 69.



E-66 - Espectro UV da chalcona 69.

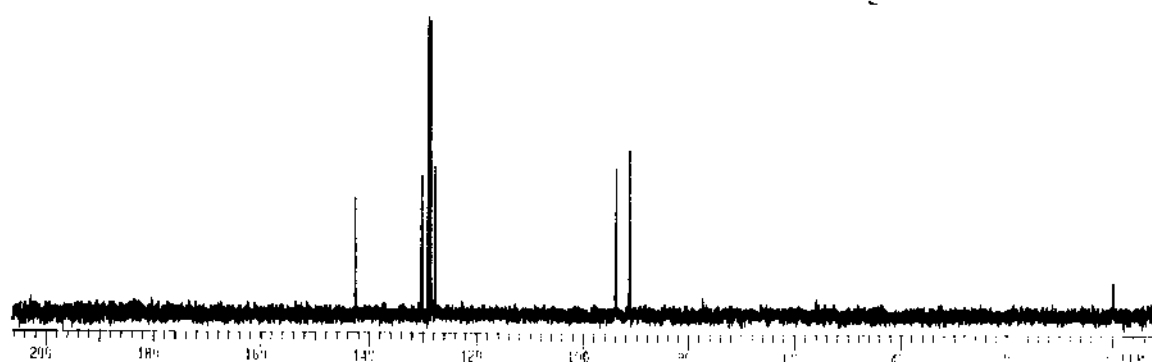


E-67 - Espectro IV da chalcona 69.

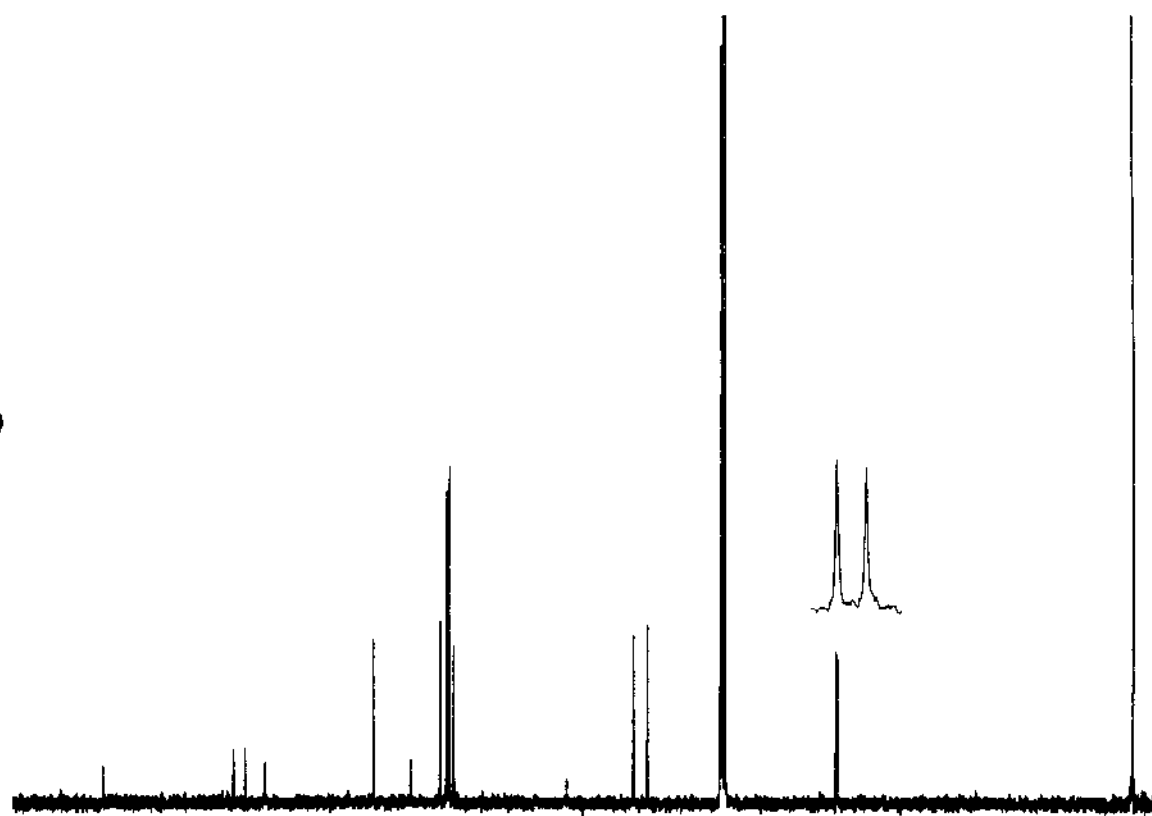


E-68 - Espectro de RMN ^1H da chalcona 62.

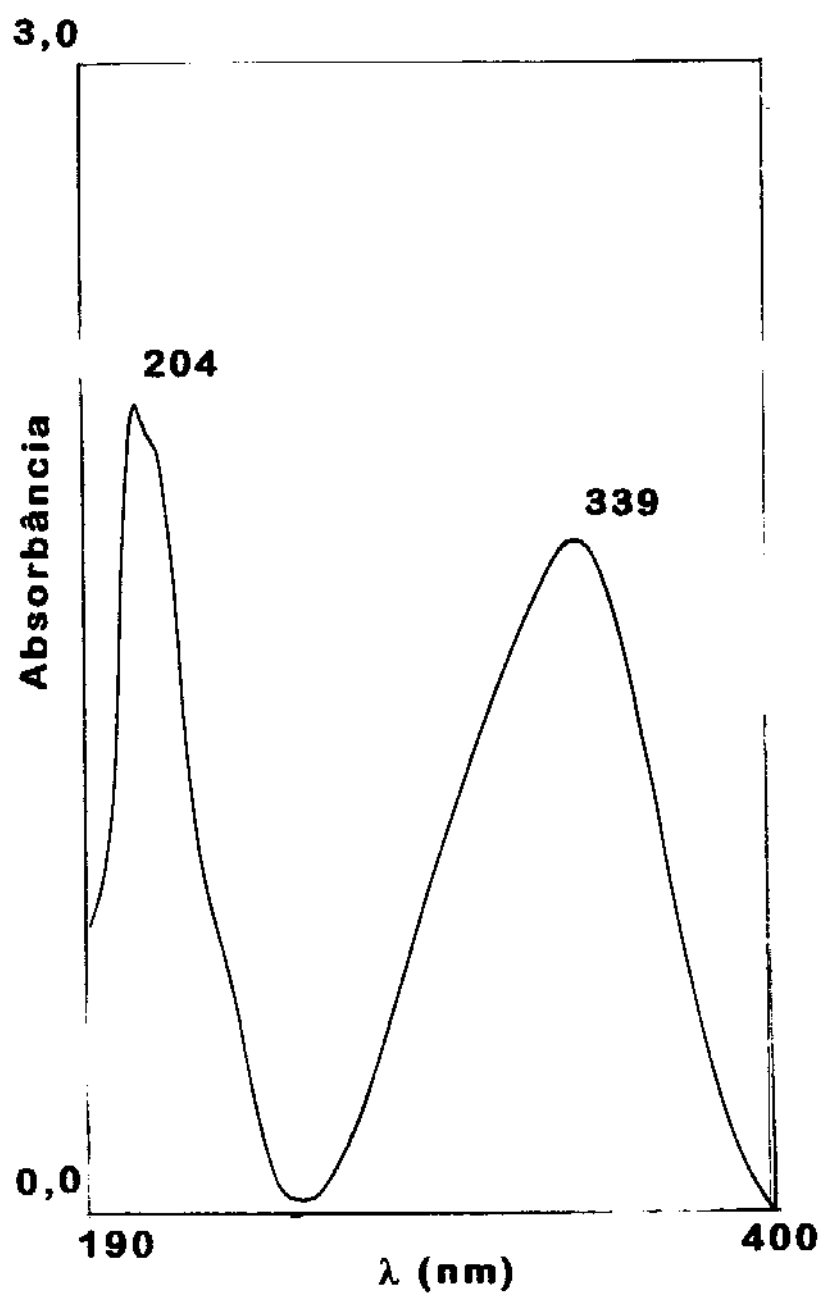
(b)



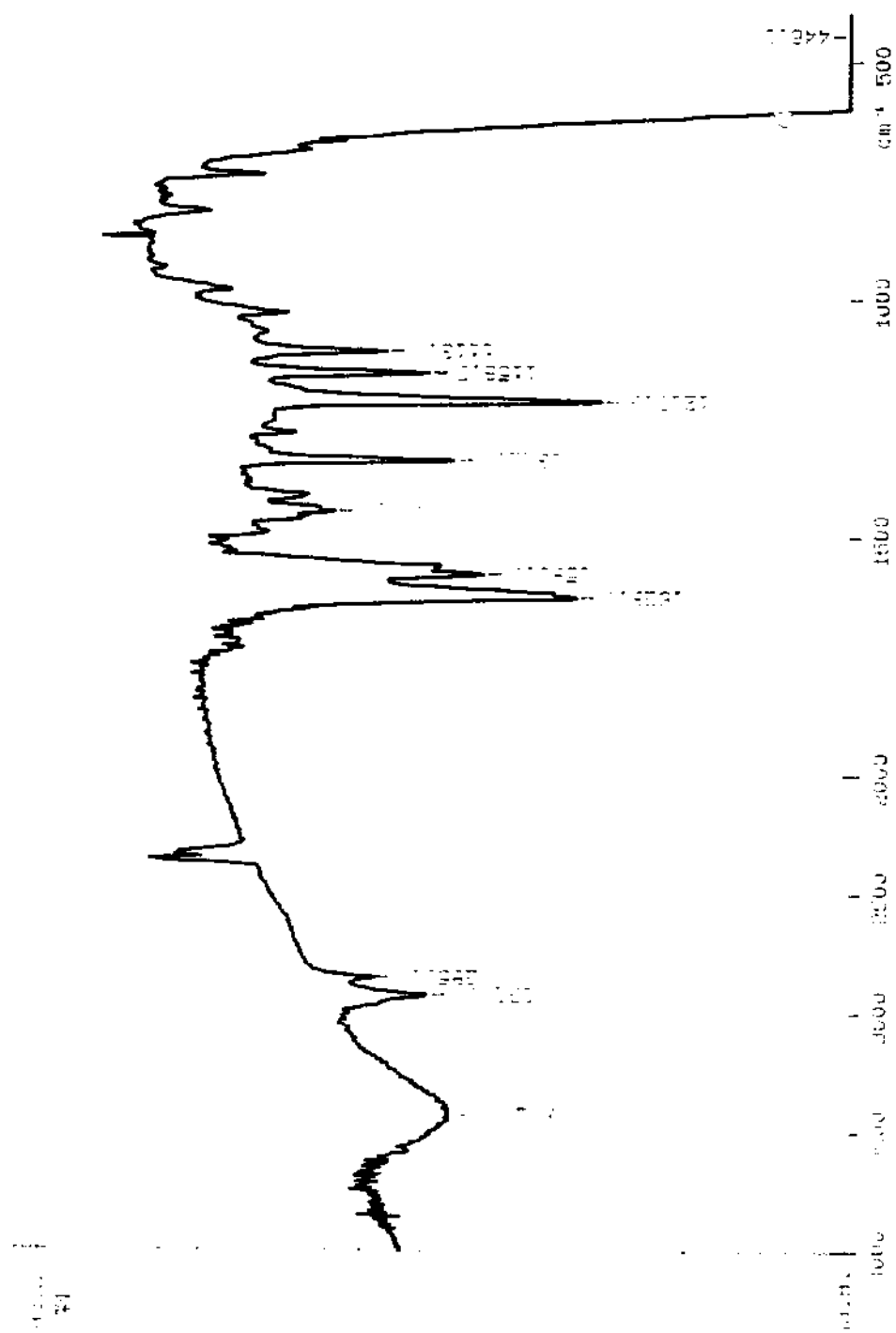
(a)



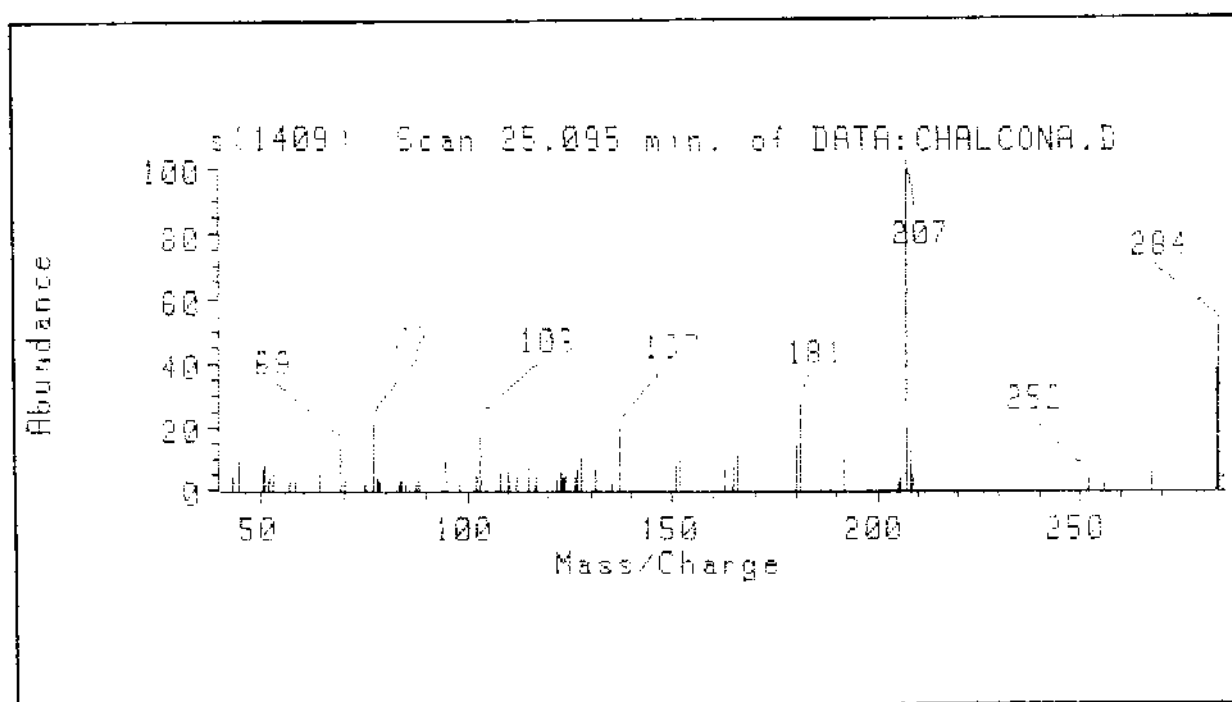
E-69 - (a) Espectro de RMN ^{13}C da chalcona 62. (b) Espectro DEPT da chalcona 62.



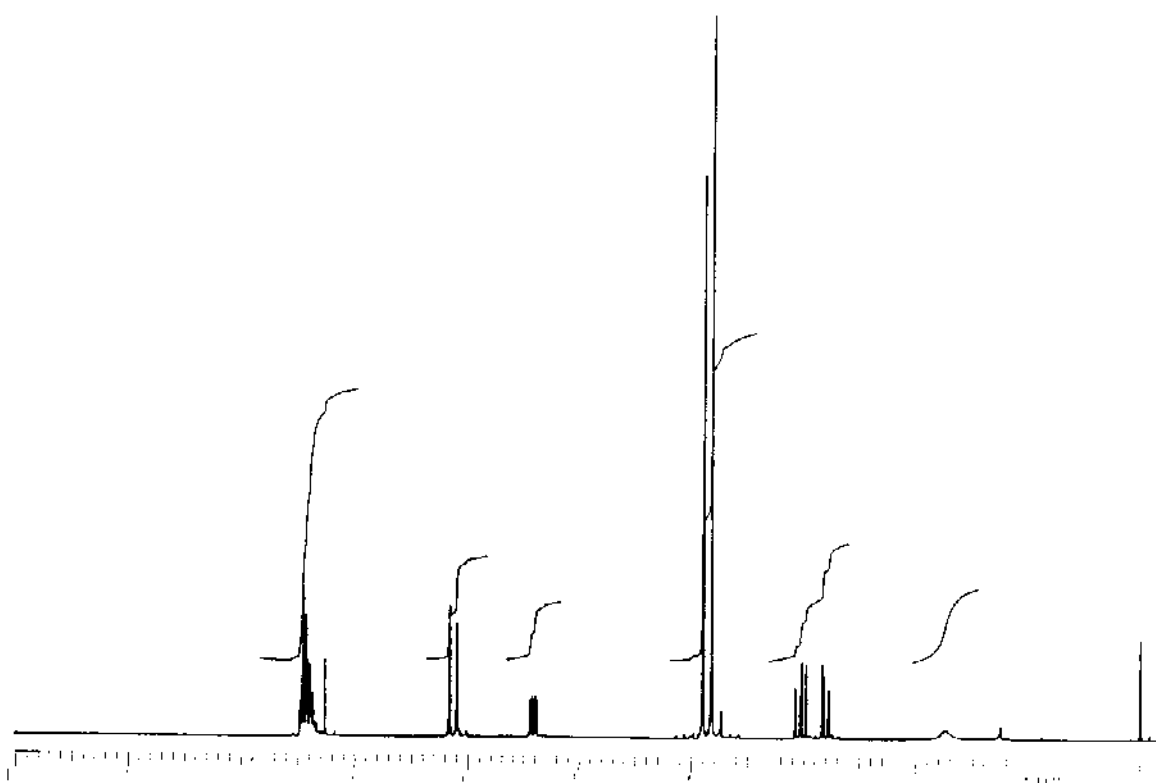
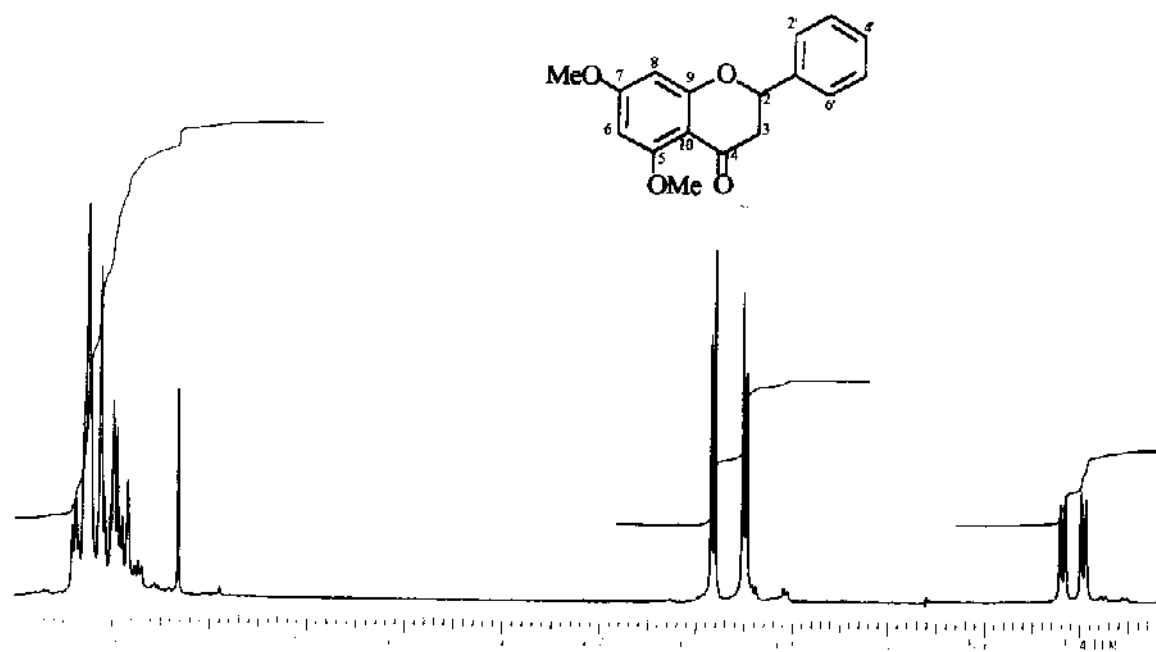
E-70- Espectro UV da chalcona 62.



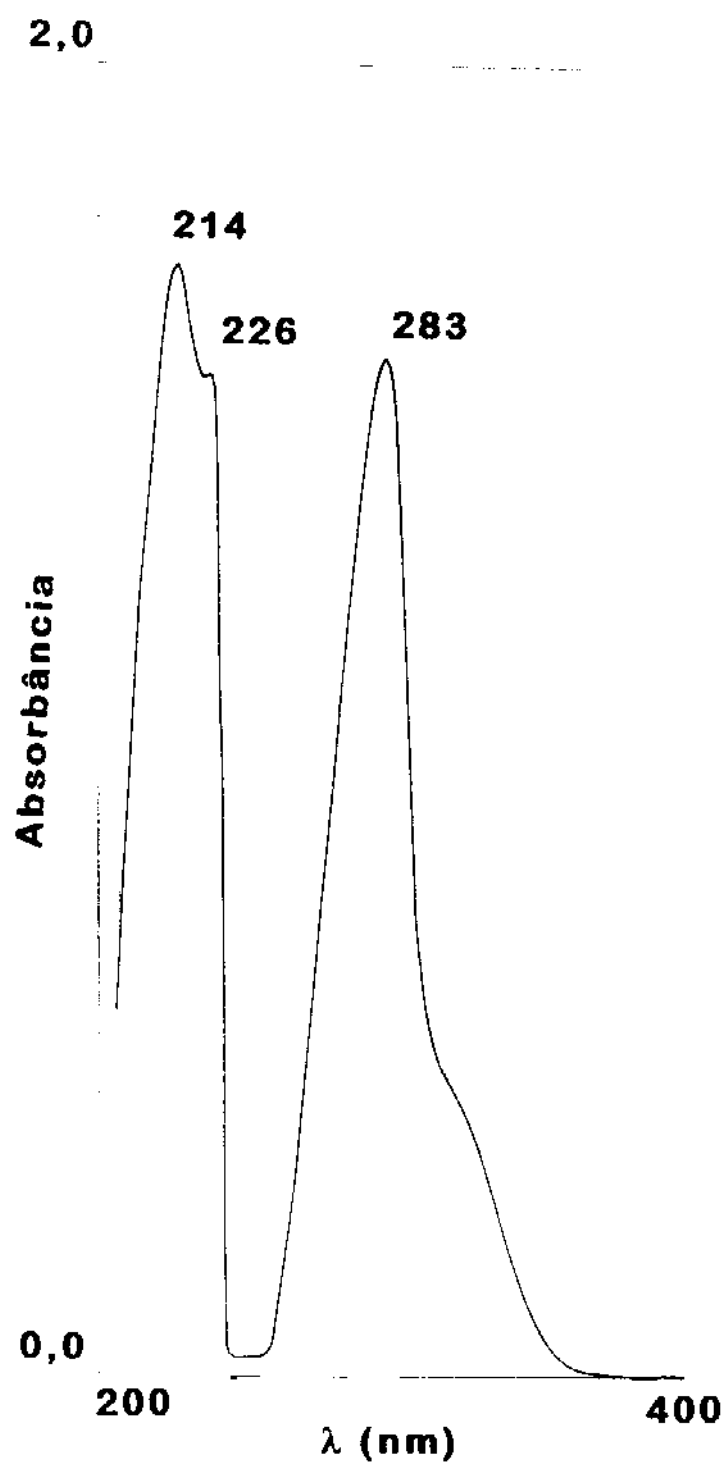
E-71 - Espectro IV da chalcona 62.



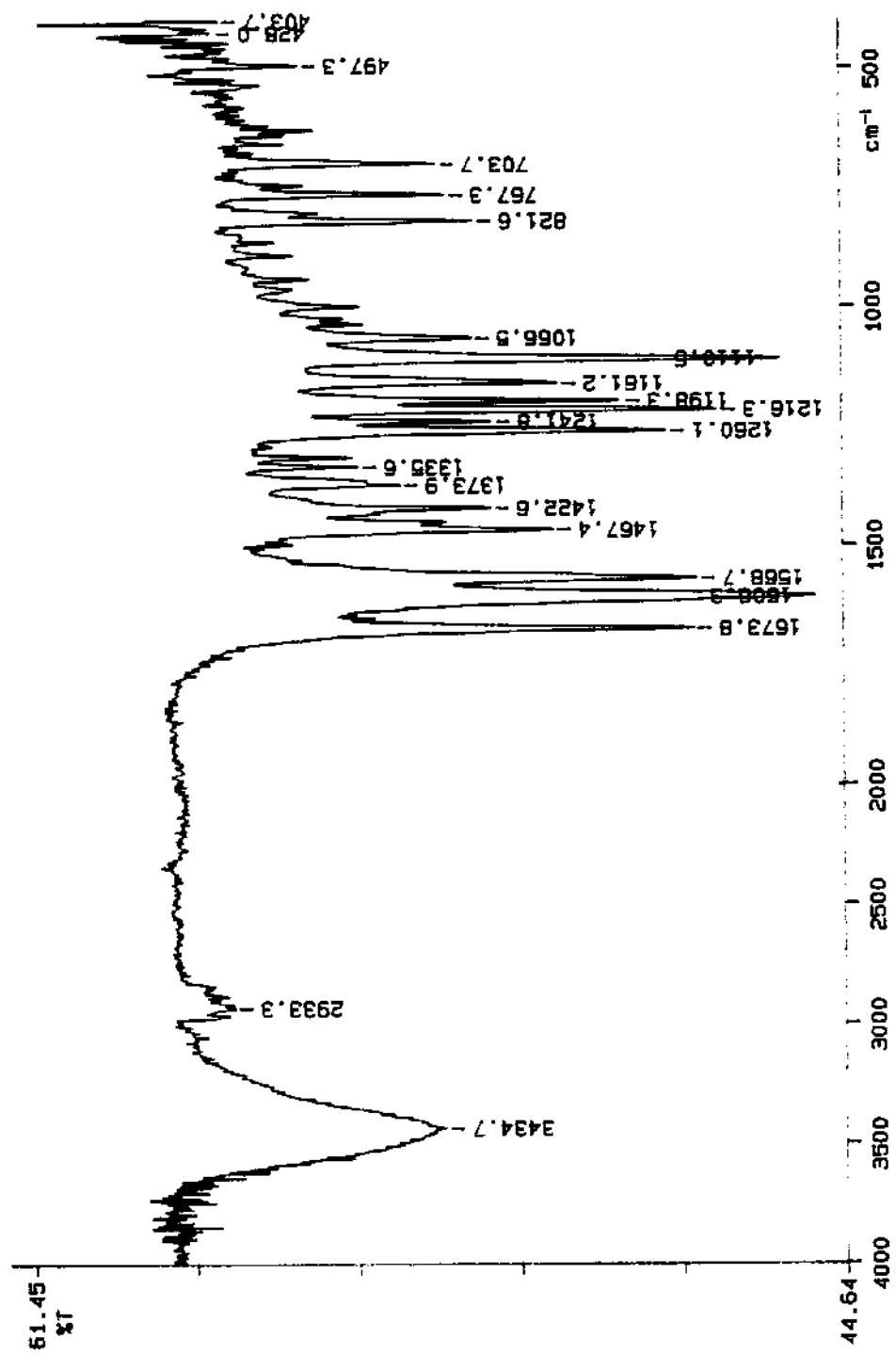
E-72 - Espectro de massas da chalcona 62.



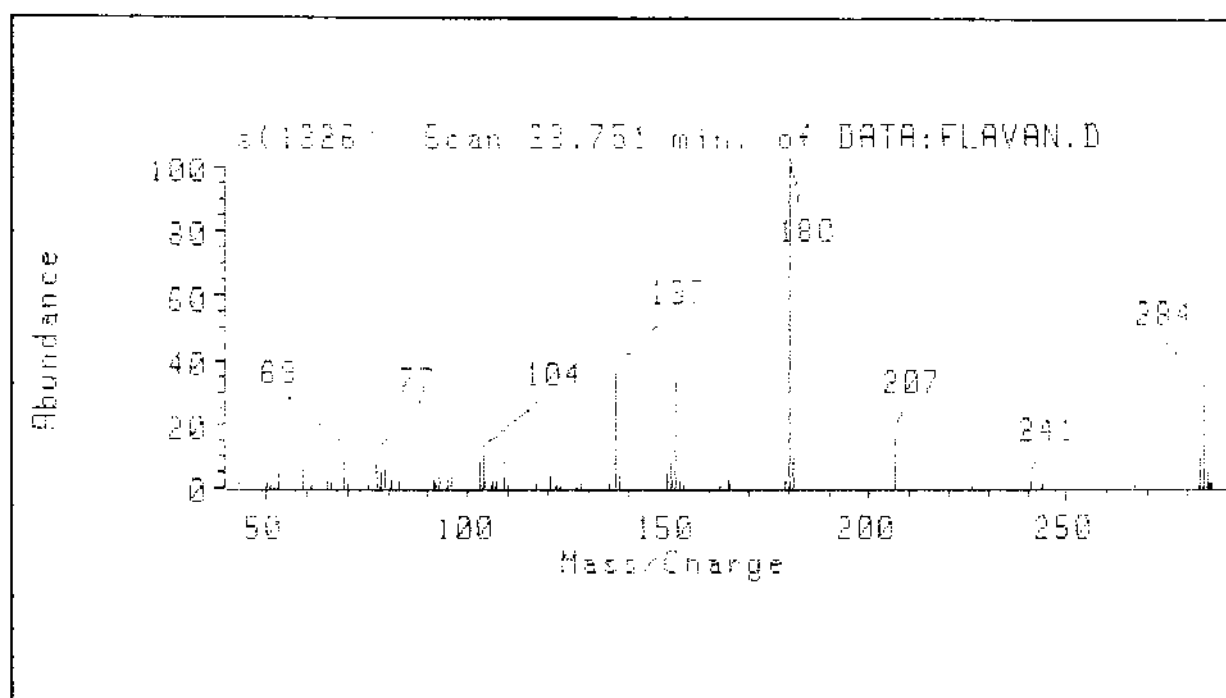
E-73 - Espectro de RMN ^1H da flavanona 63.



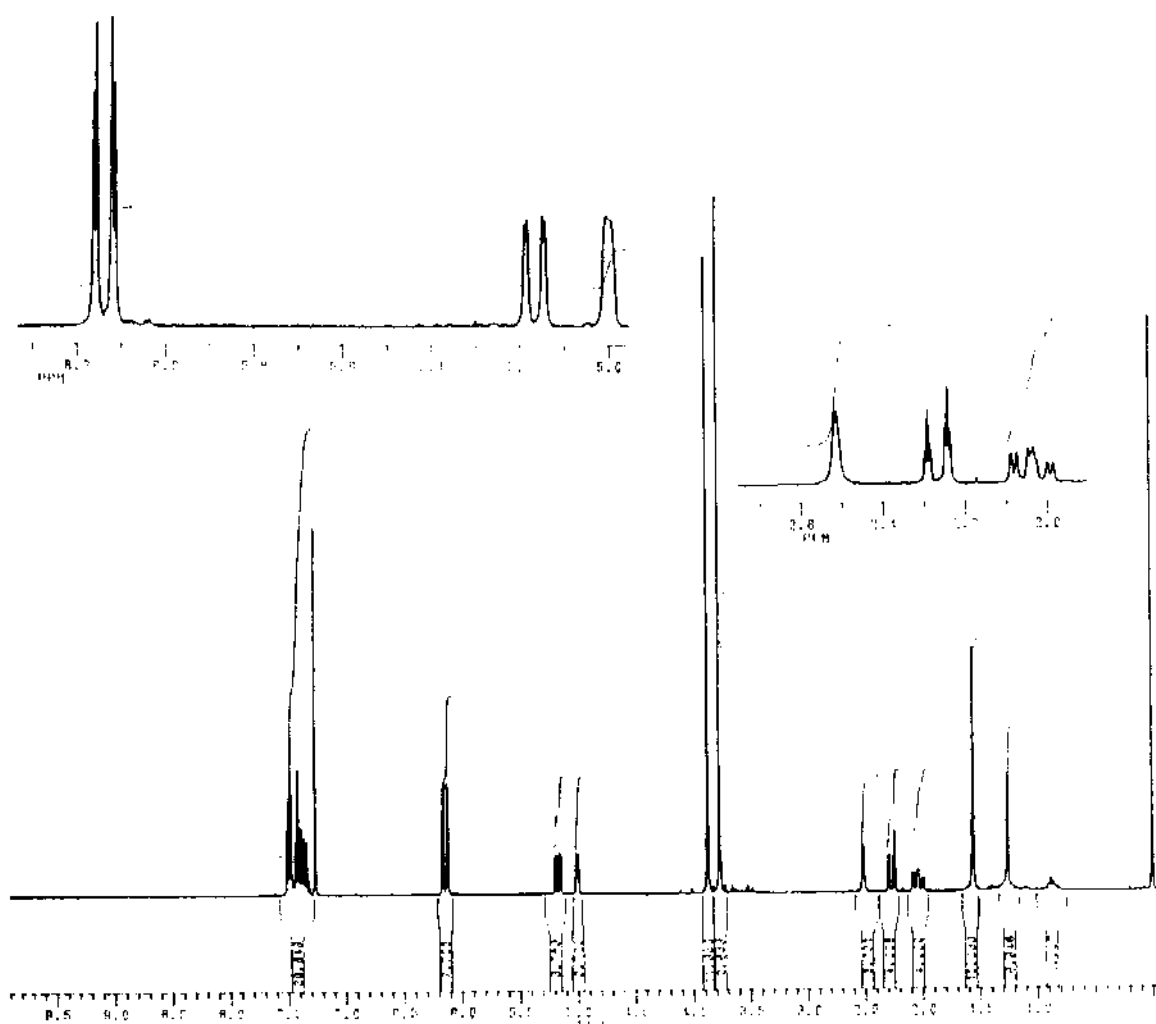
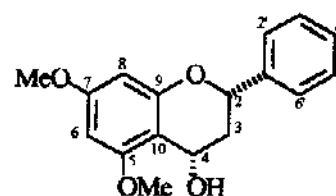
E-75 - Espectro UV da flavanona 63.



E-76 - Espectro IV da flavanona 63.

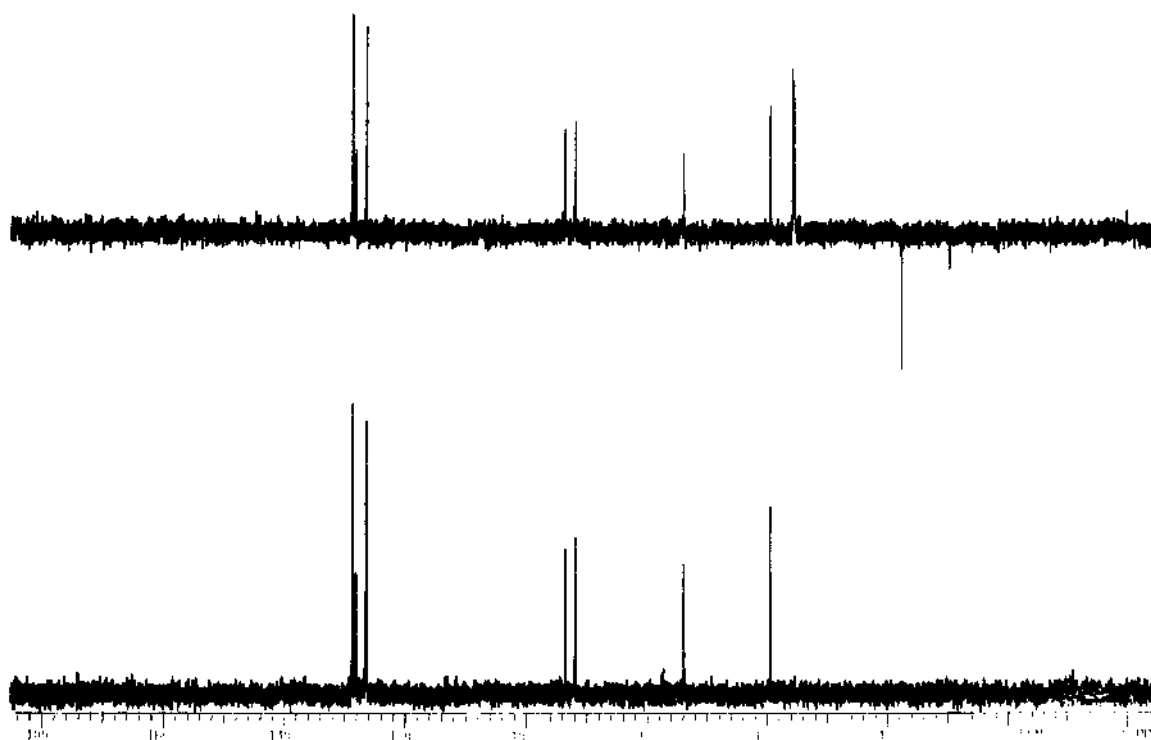


E-77 - Espectro de massas da flavanona 63.

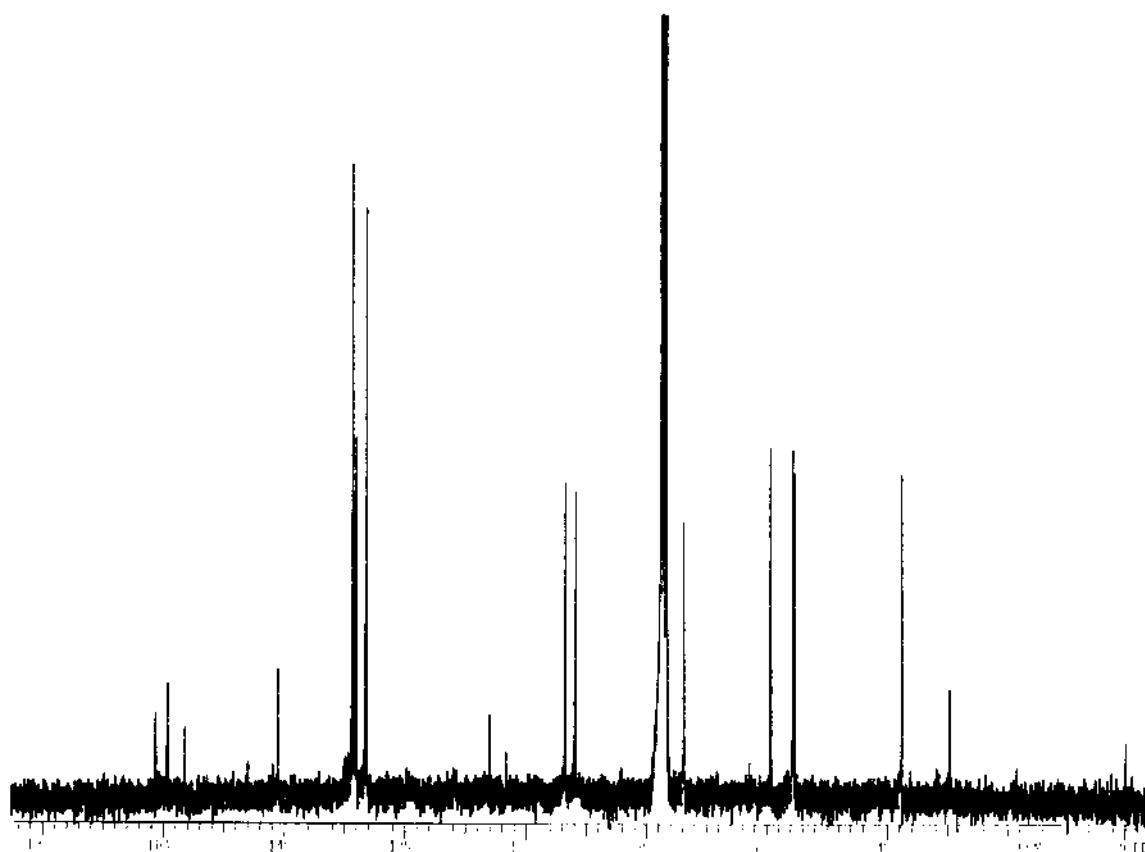


E-78 - Espectro de RMN ^1H da flavana 64.

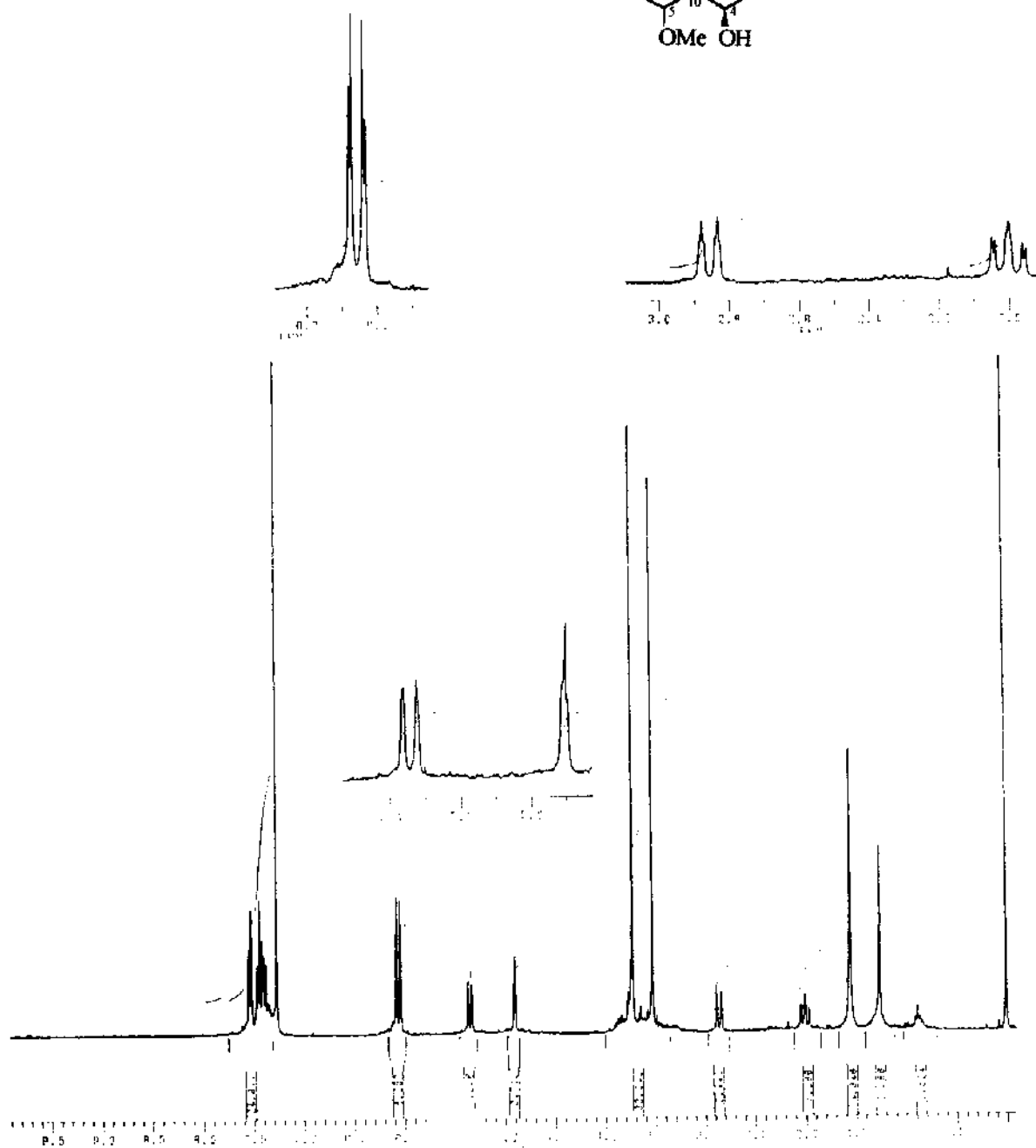
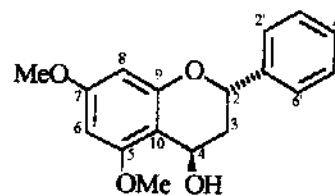
(b)



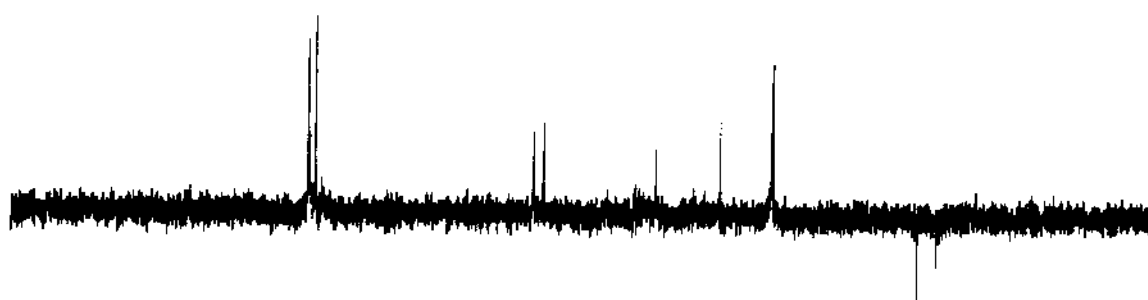
(a)



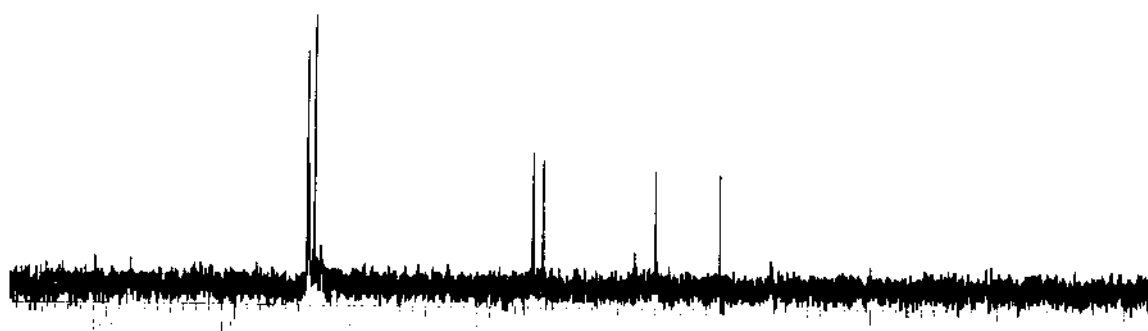
E-79 - (a) Espectro de RMN ^{13}C da flavana 64. (b) Espectro DEPT da flavana 64.



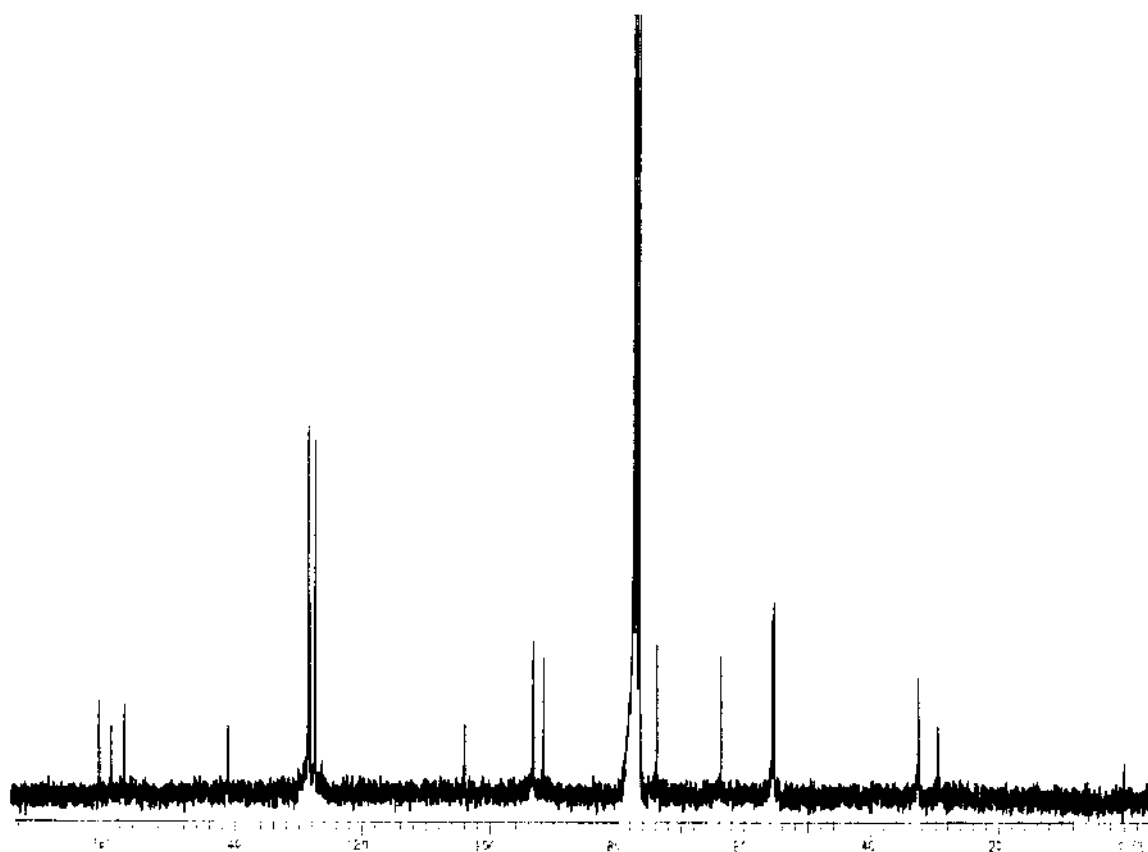
E-80 - Espectro de RMN ¹H da flavana 65.



(b)



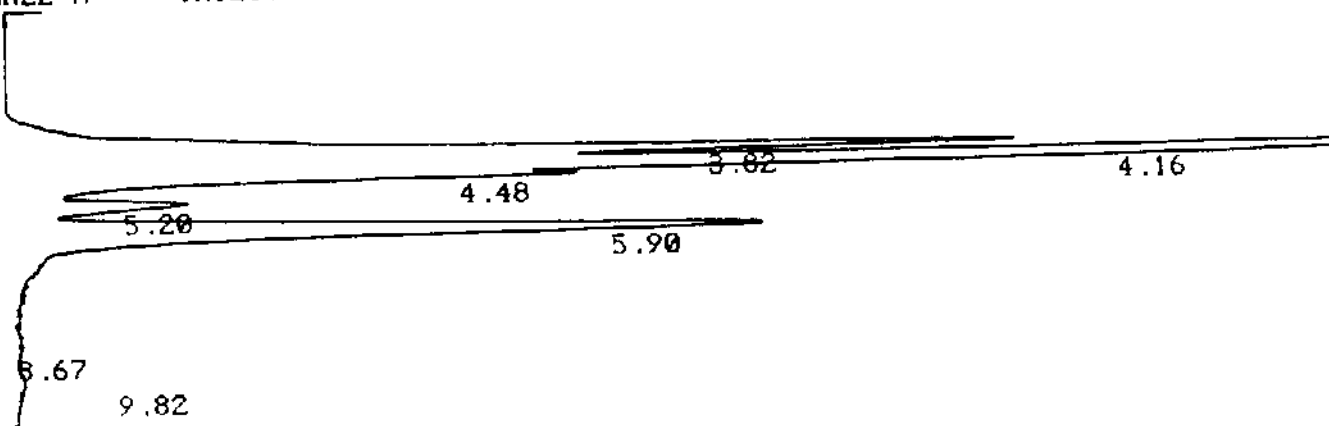
(a)



E-81 - (a) Espectro de RMN ^{13}C da flavana 65. (b) Espectro DEPT da flavana 65.

APÉNDICE II

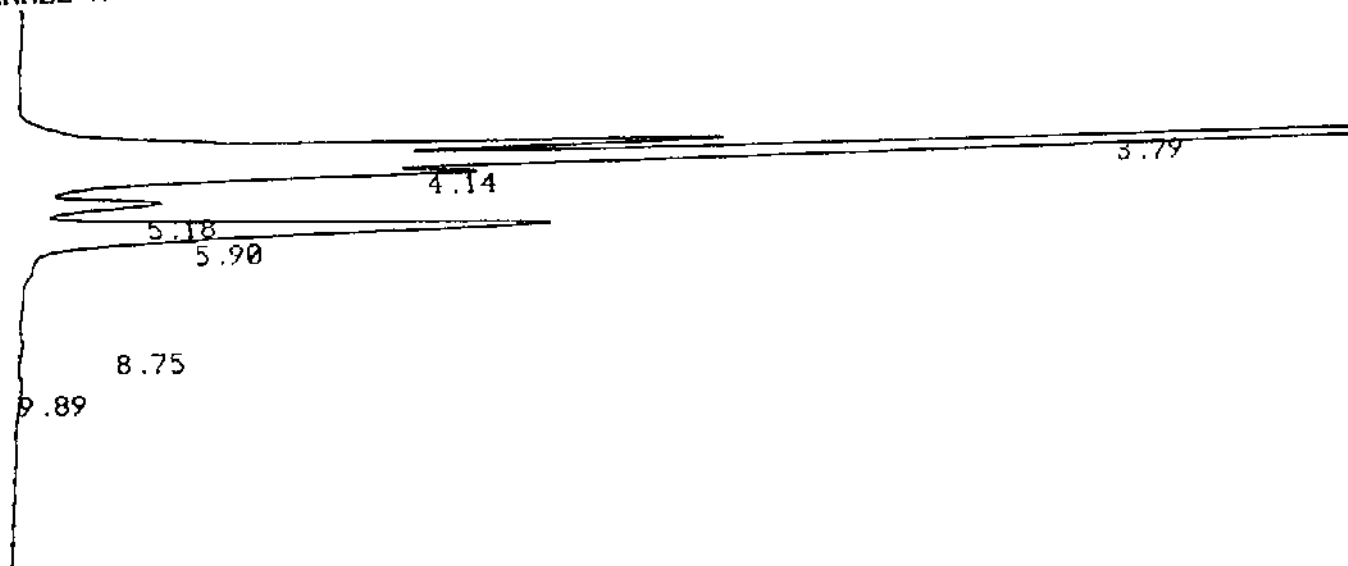
CHANNEL A INJECT 04-01-94 12:32:12 STORED TO BIN # 117



DATA SAVED TO BIN # 117

Figura 13 - Cromatograma do extrato éter de petróleo das raízes de *L. muehlbergianus* obtido em CH₃OH (λ = 245 nm).

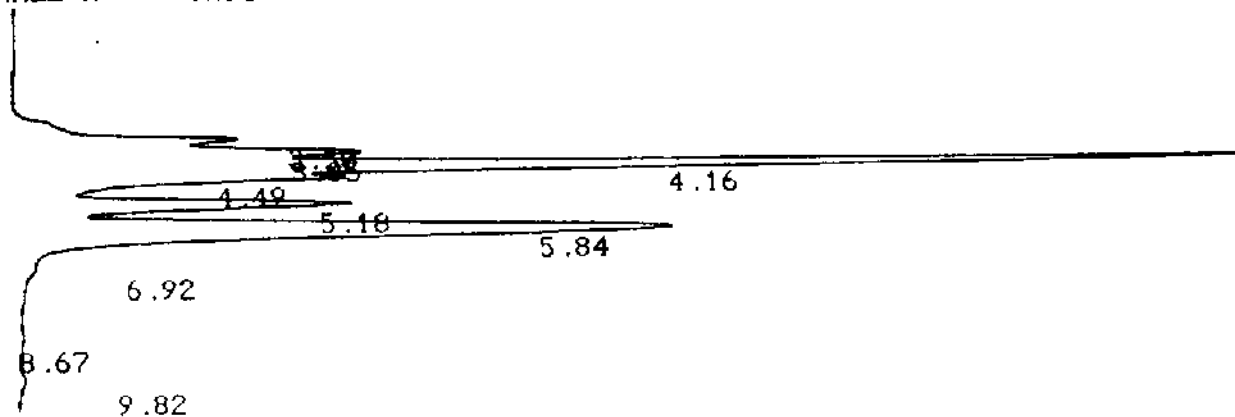
CHANNEL A INJECT 04-01-94 09:50:51 STORED TO BIN # 112



DATA SAVED TO BIN # 112

Figura 14 - Cromatograma do extrato éter de petróleo *L. muehlbergianus* obtido em CH₃OH (λ = 250 nm).

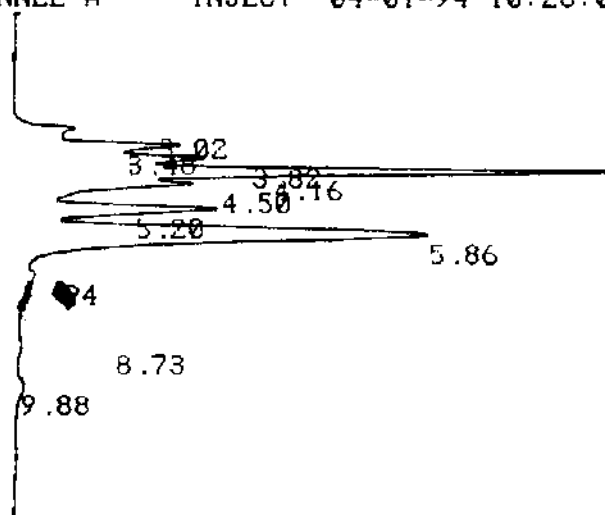
CHANNEL A INJECT 04-01-94 12:44:56 STORED TO BIN # 118



DATA SAVED TO BIN # 118

Figura 15 - Cromatograma do extrato éter de petróleo das raízes de *L. muehlbergianus* obtido em CH₃OH (λ = 275 nm).

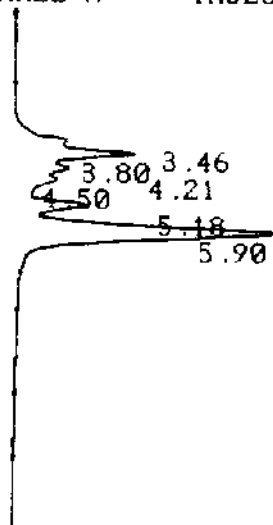
CHANNEL A INJECT 04-01-94 10:28:04 STORED TO BIN # 114



DATA SAVED TO BIN # 114

Figura 16 - Cromatograma do extrato éter de petróleo das raízes de *L. muehlbergianus* obtido em CH₃OH (λ = 280 nm).

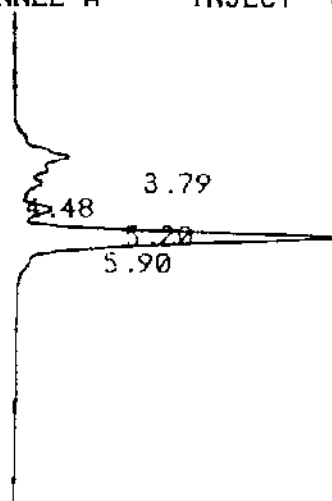
CHANNEL A INJECT 04-01-94 12:01:26 STORED TO BIN # 115



DATA SAVED TO BIN # 115

Figura 17 - Cromatograma do extrato éter de petróleo das raízes de *L. muehlbergianus* obtido em CH₃OH (λ = 320 nm).

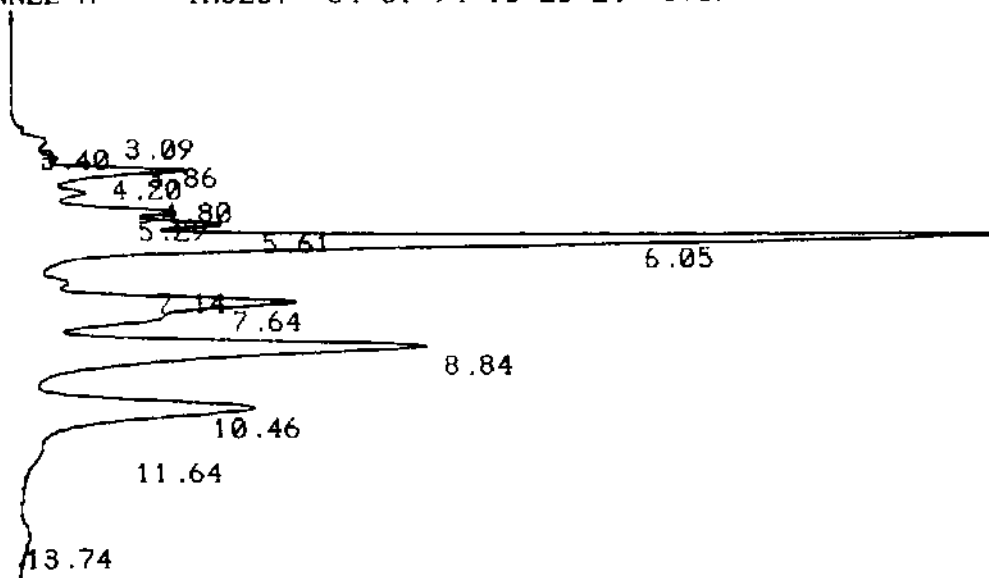
CHANNEL A INJECT 04-01-94 12:17:11 STORED TO BIN # 116



DATA SAVED TO BIN # 116

Figura 18 - Cromatograma do extrato éter de petróleo das raízes de *L. muehlbergianus* obtido em CH₃OH (λ = 350 nm).

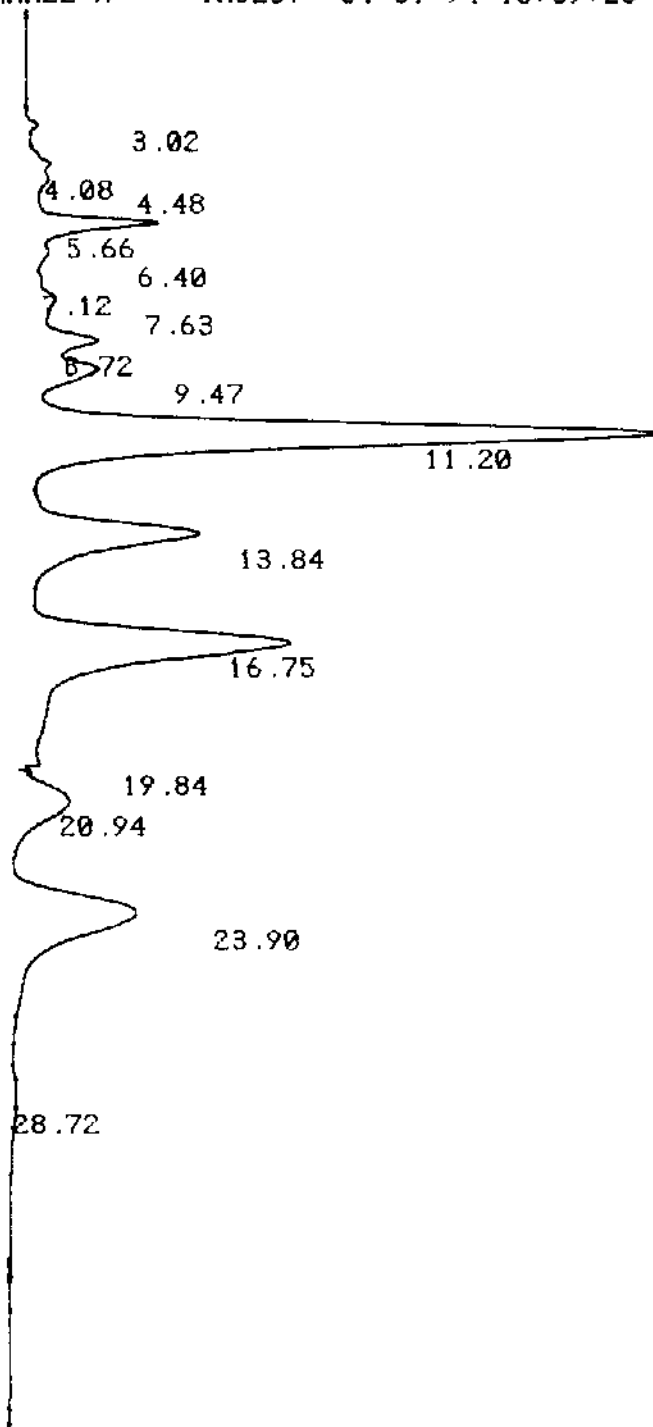
CHANNEL A INJECT 04-01-94 13:25:24 STORED TO BIN # 119



DATA SAVED TO BIN # 119

Figura 19 - Cromatograma do extrato éter de petróleo das raízes de *L. muelhbergianus* obtido em CH₃OH:H₂O (90:10).

CHANNEL A INJECT 04-01-94 13:59:28 STORED TO BIN # 120



DATA SAVED TO BIN # 120

Figura 20 - Cromatograma do extrato éter de petróleo das raízes de *L. muelhbergianus* obtido em CH₃OH:H₂O (80:20).

CHANNEL A INJECT 25-02-94 16:33:17 REPLAYED FROM BIN # 9

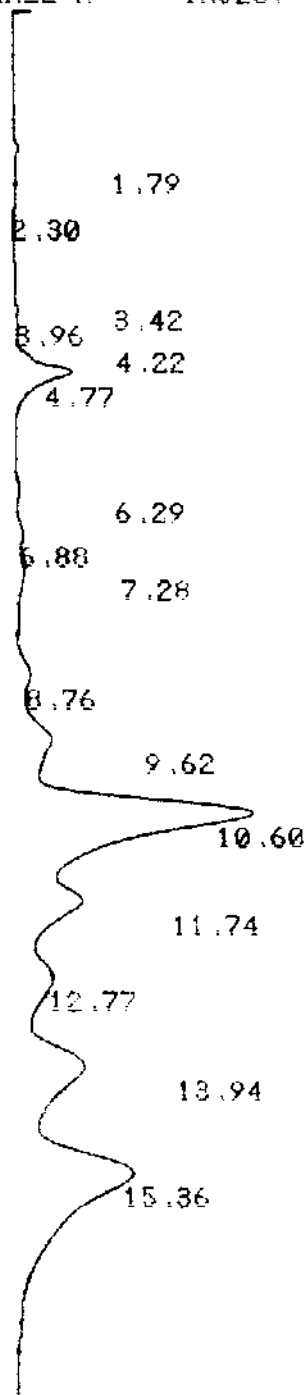
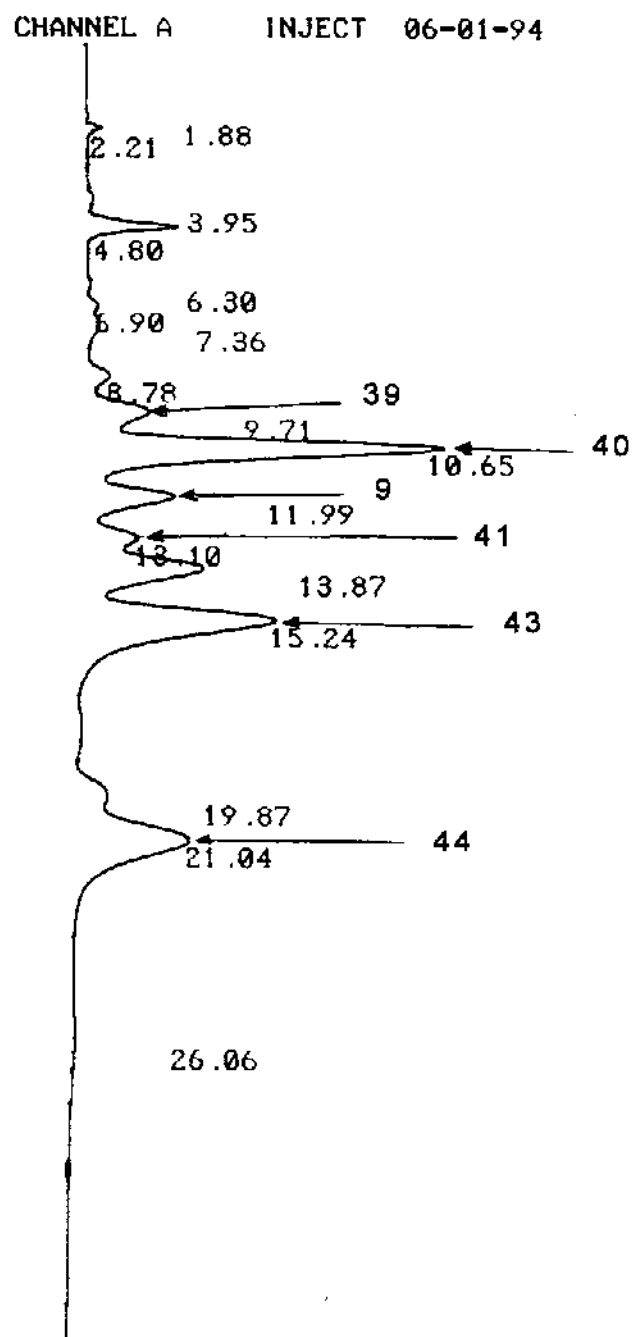


Figura 21 - Cromatograma do extrato éter de petróleo das raízes de *L. muelhbergianus* obtido em CH₃OH:H₂O (70:30).



DATA SAVED TO BIN # 123

Figura 22 - Cromatograma do extrato éter de petróleo das raízes de *L. muehlbergianus* obtido em CH₃CN:H₂O (70:30).

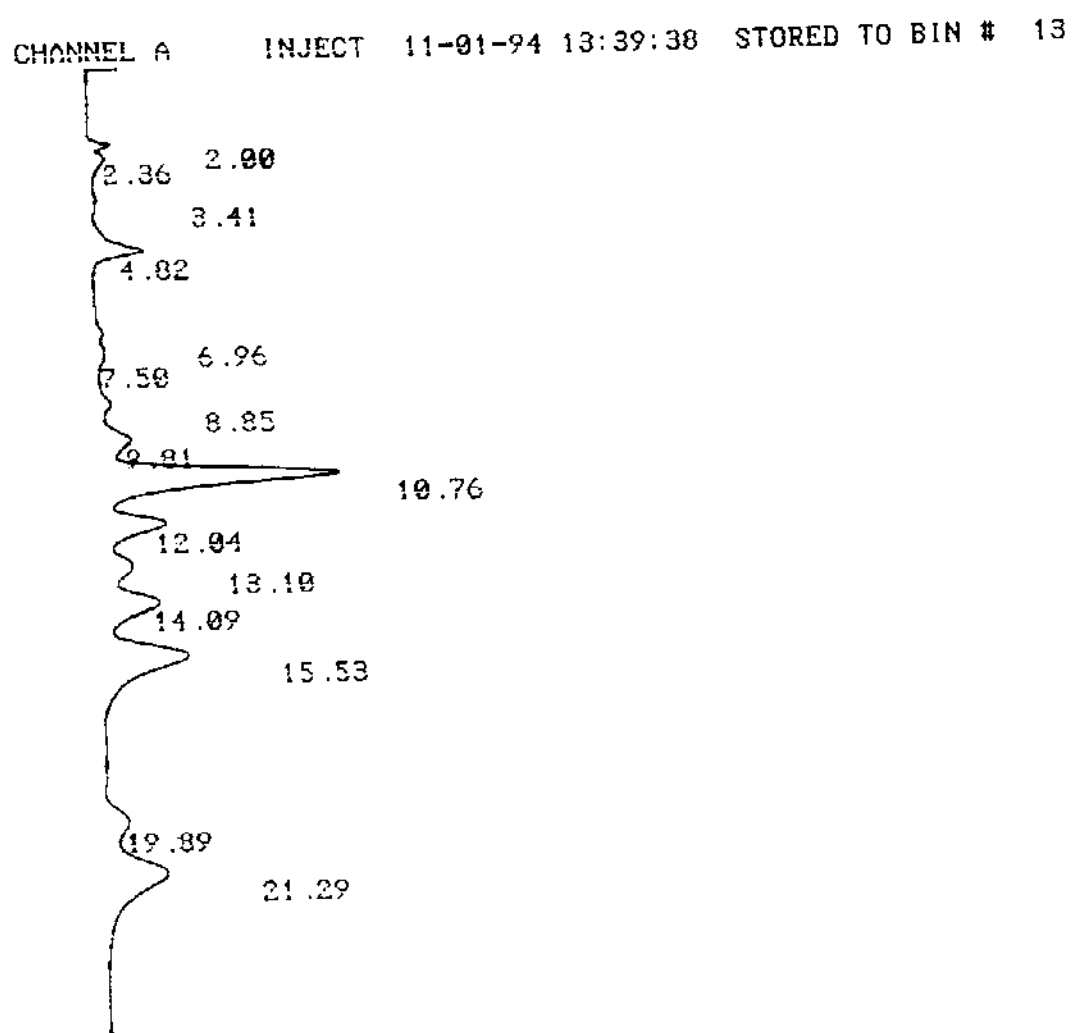
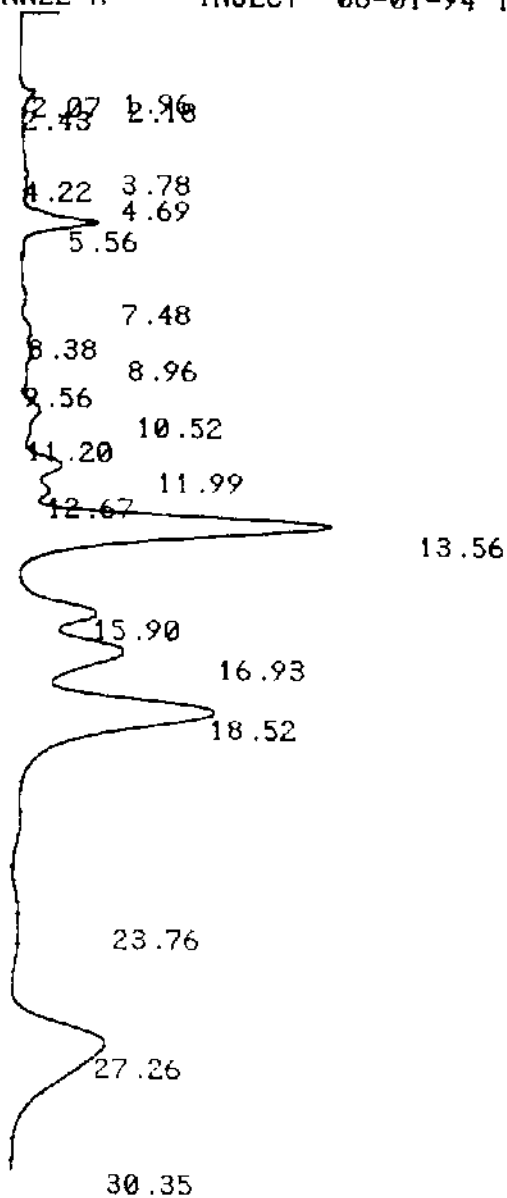


Figura 23 - Cromatograma do extrato éter de petróleo das raízes de *L. muehlbergianus* obtido em $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (65:35).

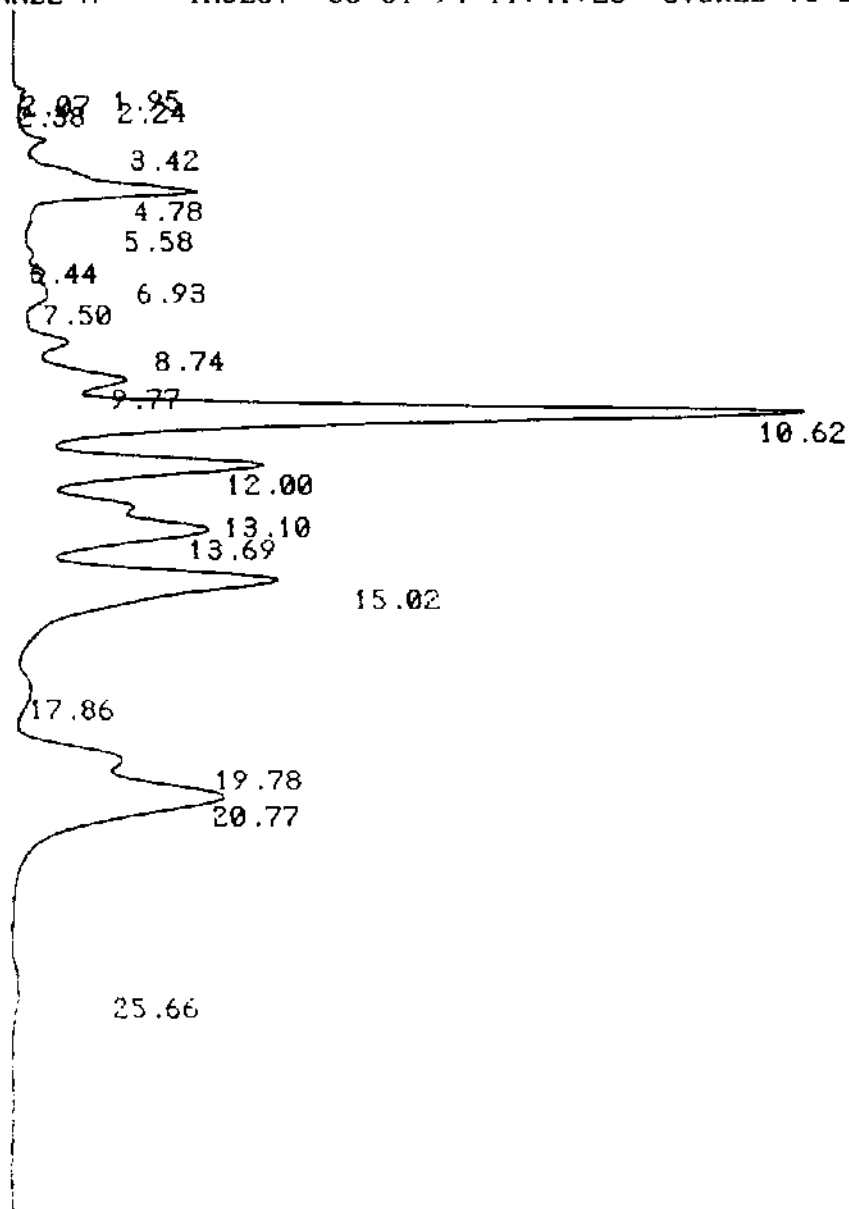
CHANNEL A INJECT 06-01-94 10:50:24 STORED TO BIN # 124



DATA SAVED TO BIN # 124

Figura 24 - Cromatograma do extrato éter de petróleo das raízes de *L. muehlbergianus* obtido em $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (60:40).

CHANNEL A INJECT 06-01-94 11:41:26 STORED TO BIN # 125



DATA SAVED TO BIN # 125

Figura 25 - Cromatograma do extrato clorofórmico das raízes de *L. muehlbergianus* obtido em CH₃CN:H₂O (70:30).

CHANNEL A INJECT 11-01-94 11:46:52 STORED TO BIN # 12

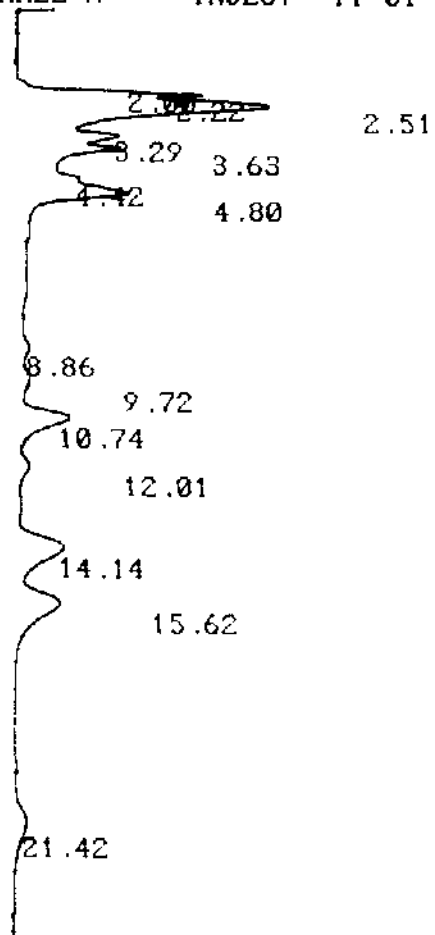


Figura 26 - Cromatograma do extrato metanólico da raízes de *L. muehlbergianus* obtido em $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (70:30).

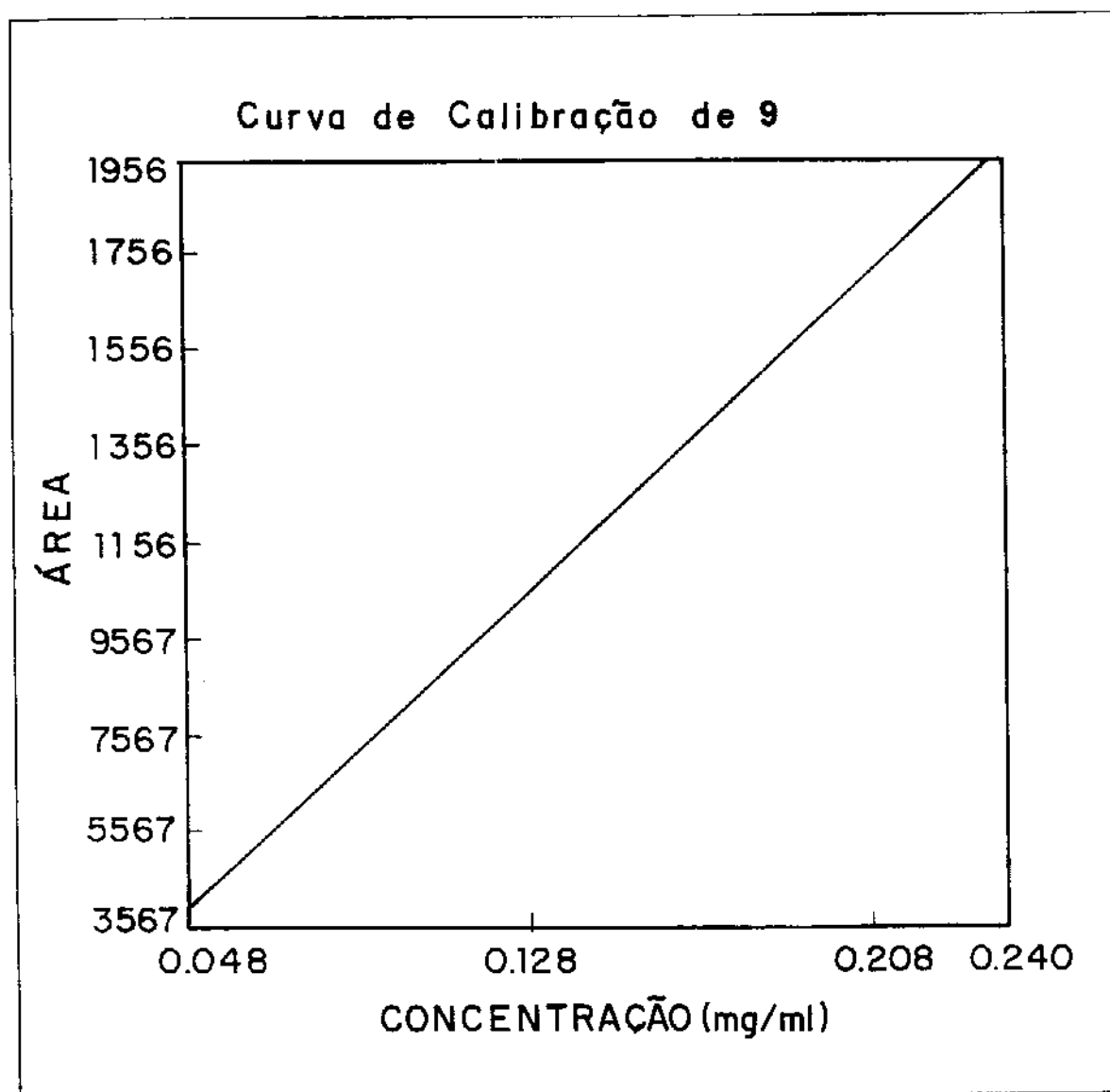


Figura 27 - Curva de calibração da flavana 9.

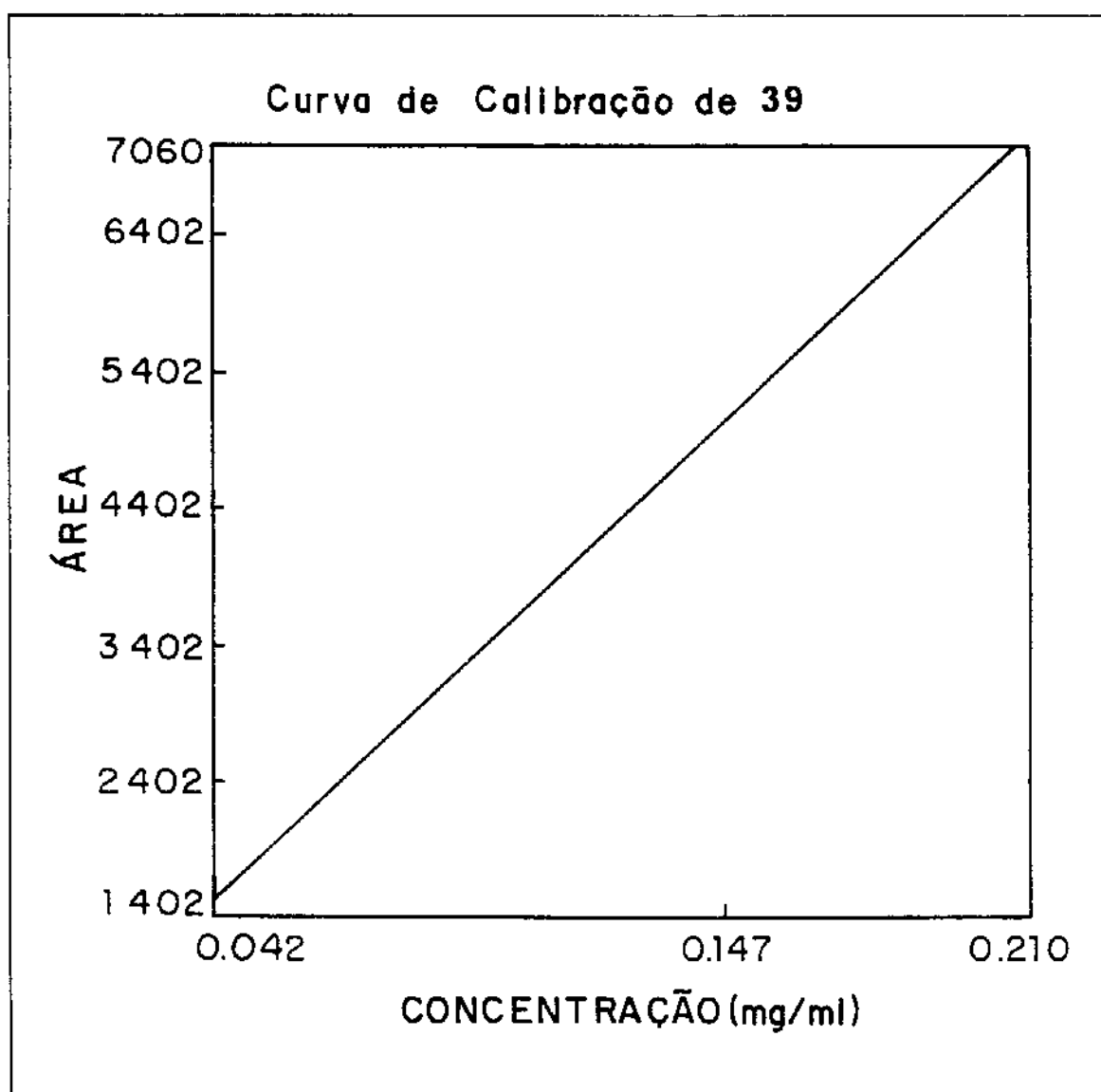


Figura 28 - Curva de calibração da flavana 39.

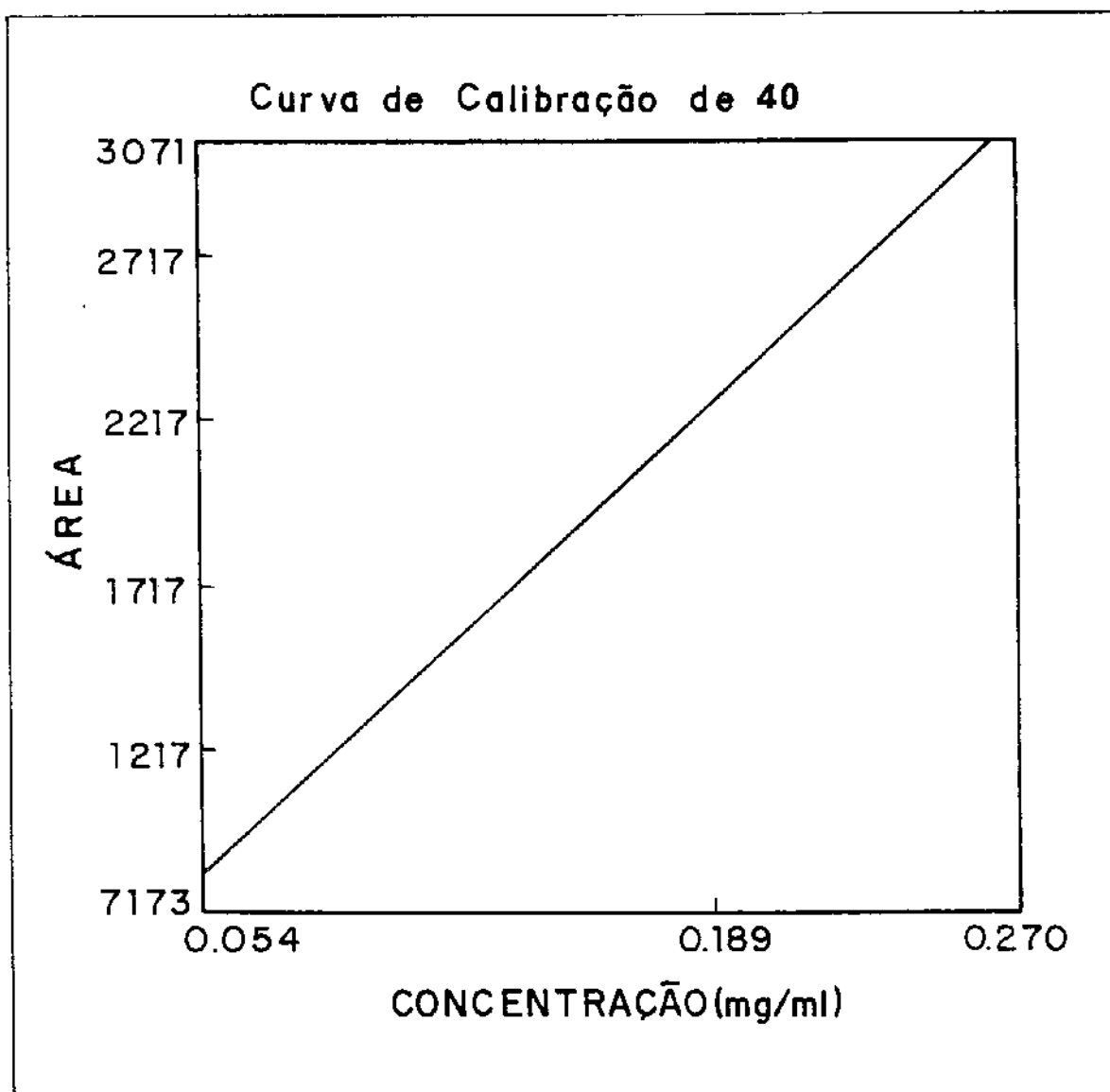


Figura 29 - Curva de calibração da flavana 40.

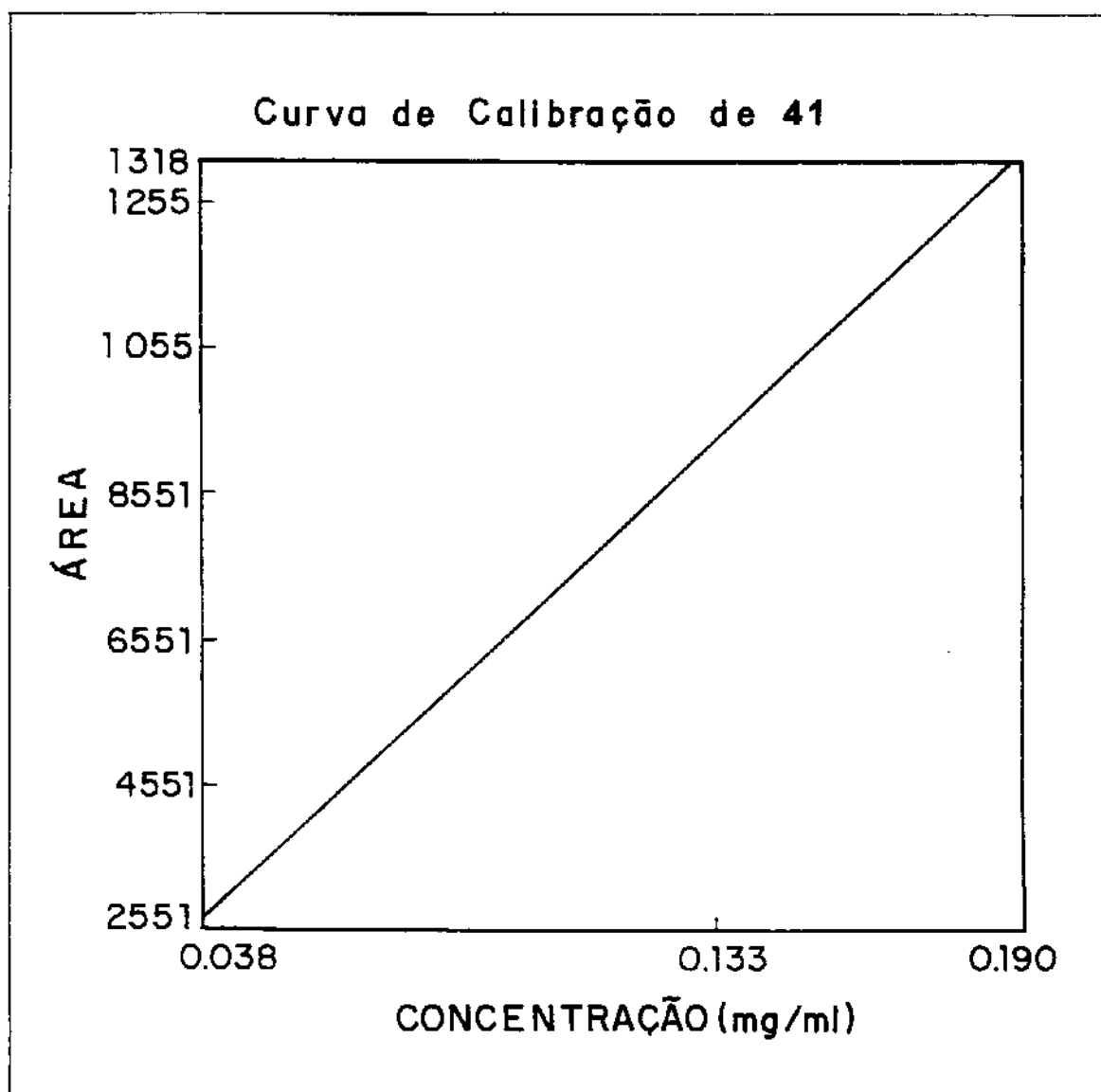


Figura 30 - Curva de calibração da β -hidroxichalcona 41.

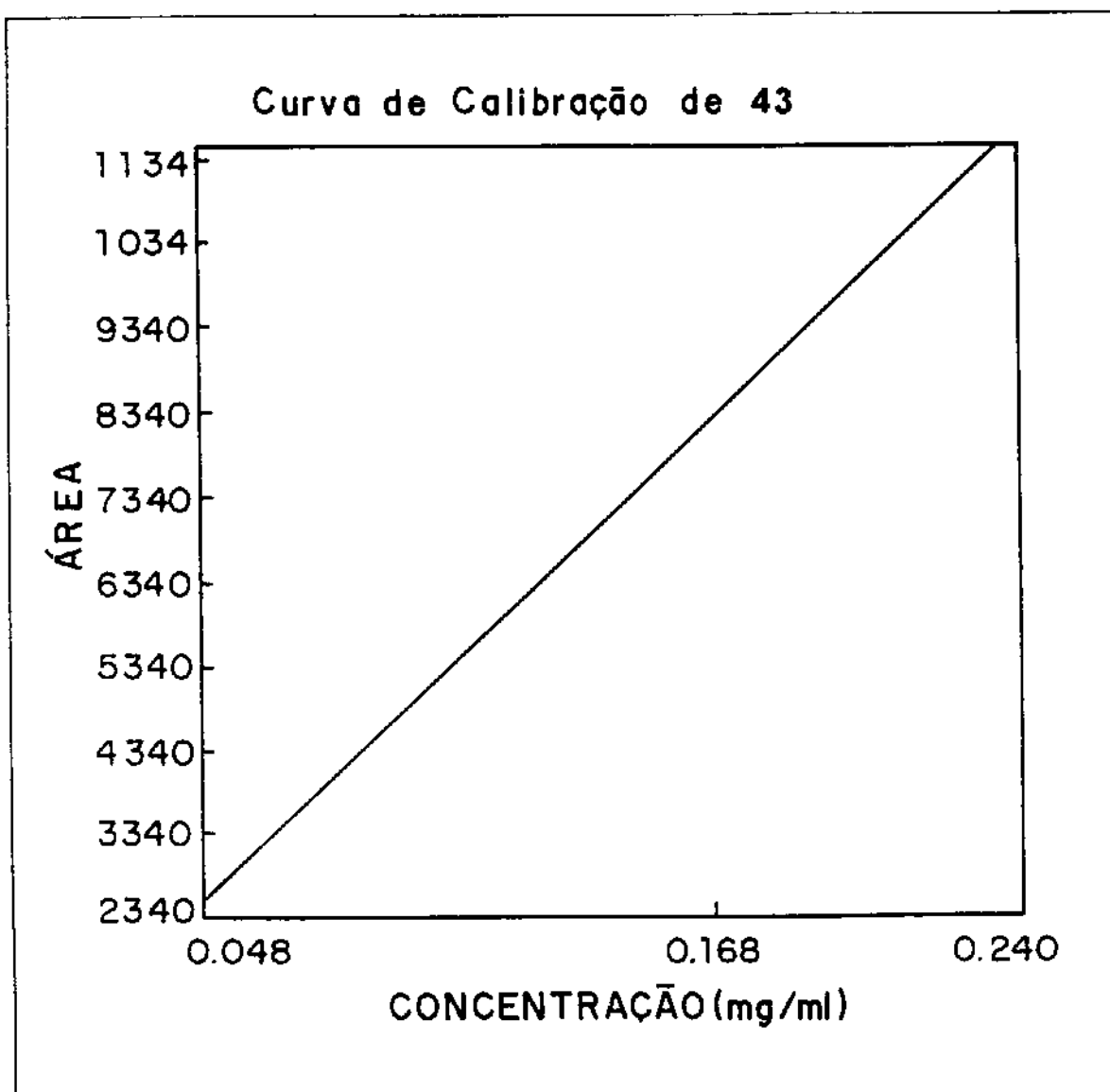


Figura 31 - Curva de calibração da flavona 43.

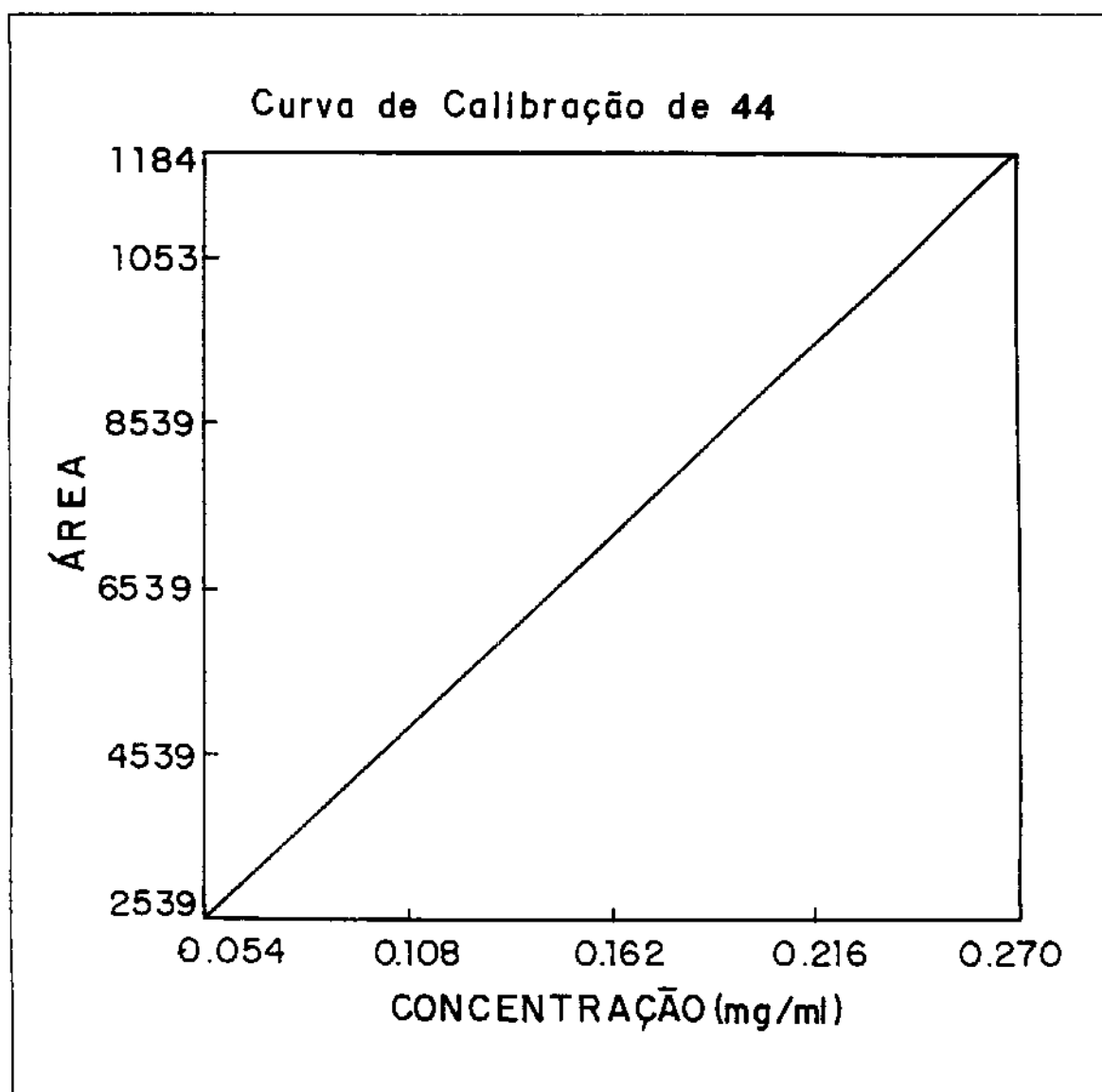


Figura 32 - Curva de calibração do flavonol 44.