



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

**Estudo Químico, Antitermítico e Antifúngico da
madeira de lei *Anadenanthera colubrina* (Vell.)
Brenan var. *Cebil* (Griseb.) von Reis Alt.
(Angico-de-Caroço)**

ANDRÉA LOPES BANDEIRA DELMIRO SANTANA

Recife, 2011

ANDRÉA LOPES BANDEIRA DELMIRO SANTANA

**Estudo Químico, Antitermítico e Antifúngico da
madeira de lei *Anadenanthera colubrina* (Vell.)
Brenan var. *Cebil* (Griseb.) von Reis Alt.
(Angico-de-Caroço)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Química da Universidade
Federal de Pernambuco como requisito final
à obtenção do título de Doutor em Química.
Área de concentração: Química Orgânica.

ORIENTADOR: PROF. DR. LOTHAR WILHELM BIEBER
CO-ORIENTADORA: PROFA. DRA. MÁRCIA SILVA DO NASCIMENTO

Recife, 2011

Catálogo na fonte
Bibliotecária Joana D'Arc L. Salvador, CRB 4-572

Santana, Andréa Lopes Bandeira Delmiro.
Estudo químico, Antitermítico e Antifúngico da
madeira de lei *Anadenanthera colubrina* (Vell.)
Brenan var-cebril (Griseb) von Reis Alt. (Angico-de-
Caroço) / Andréa Lopes Bandeira Delmiro Santana. -
Recife: O Autor, 2011.
xx,187 f.: fig. tab.

Orientador: Lothar Wilhelm Bieber.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de
Pernambuco. CCEN. Química Fundamental, 2011.

Inclui bibliografia e anexo.

1. Química vegetal. 2. Leguminosa. 3. Fungicida.
4. Inseticidas vegetais. I. Bieber, Lothar Wilhelm,
(orientador). II. Título.

Tese submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Doutor em Química.

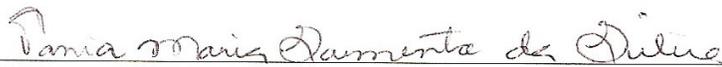
Aprovada:



Prof. Lothar Wilhelm Bieber
(Orientadora)
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco



Prof.ª Fernanda Rodrigues Garcez
Departamento de Química
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul



Prof.ª Tânia Maria Sarmento da Silva
Departamento de Química
Universidade Federal Rural de Pernambuco



Prof. Fernando Hallwass
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco



Prof.ª Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

**"Estudo Químico, Antitermítico e Antifúngico da Madeira de Lei
Anadenanthera colubrina (Vell.) Brenan var. *Cebil* (Griseb.)
Von reis Alt. (Angico-de-Caroço)"**

por

Andréa Lopes Bandeira Delmiro Santana

Departamento de Química Fundamental
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Universidade Federal de Pernambuco
Recife-PE-Brasil
25 de março de 2011

Dedico este trabalho às pessoas mais especiais em minha vida: minha filha Gabriela, meu esposo Ednaldo Jr., meus pais Alda e Josué e minha irmã Andrêsa, pelas manifestações de amor e dedicação em todas as horas.

Muitas vezes, as pessoas são egocêntricas, ilógicas e insensatas.

Perdoe-as, assim mesmo.

Se você é gentil, as pessoas podem acusá-lo de egoísta, interesseiro.

Seja gentil, assim mesmo.

Se você é um vencedor, terá alguns falsos amigos e inimigos verdadeiros.

Vença, assim mesmo.

Se você é honesto e franco, as pessoas podem enganá-lo.

Seja honesto e franco, assim mesmo.

Se você tem paz e é feliz, as pessoas podem sentir inveja.

Seja feliz, assim mesmo.

O bem que você faz hoje, pode ser esquecido amanhã.

Faça o bem, assim mesmo.

Dê ao mundo o melhor de você, mas isso pode nunca ser o bastante.

Dê o melhor de você, assim mesmo.

Veja você que, no final das contas,

É ENTRE VOCÊ E DEUS.

Nunca, entre você e as outras pessoas!

(Madre Teresa de Calcutá)

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado força e vontade para a conclusão deste trabalho.

Ao professor Lothar W. Bieber pela orientação e ensinamentos.

À professora Márcia Nascimento pela co-orientação, amizade, ensinamentos além do carinho constante no decorrer do trabalho e apoio durante minha gravidez.

Às professoras Cláudia Maranhão, Janaína Versiani e à mestranda Luciana Oliveira pelas colaborações oferecidas neste trabalho, amizade, incentivo e pelos bons momentos compartilhados.

Ao veterinário Gustavo e seus pais por terem permitido a coleta da planta na fazenda Jatobá e alojamento em sua casa na cidade de Serra Talhada.

À professora Suzene Izídio pela identificação da planta.

À professora Daniela Navarro por ter cedido seu laboratório para a realização do teste de atividade antitermítica, por ter disponibilizado os padrões de alcanos e ésteres metílicos e à sua aluna Geane por ter realizado a co-injeção da minha amostra com padrões no cromatógrafo gasoso.

À professora Norma Gusmão e à Rita de Cássia pela realização do teste de atividade antifúngica.

À professora Vera Arroxelas por ter disponibilizado material, equipamentos e instalações do seu laboratório para a realização do teste de atividade antioxidante.

À professora Auristela Albuquerque e ao seu aluno Franklin Magiliano pela orientação para a realização do teste de atividade antitermítica.

Ao colega Jefferson Cunha pelo apoio durante a realização da atividade antitermítica, coleta de cupins e troca de conhecimentos.

Aos técnicos da Central Analítica, Eliete, Conceição, Lúcio, Elias, Severino e Ricardo não só pela realização dos experimentos GC-MS e NMR, mas principalmente pela paciência e manifestações de carinho durante minha gravidez e em especial à técnica Abene Ribeiro por quase um ano de luta no LC-MS e ajuda.

Aos colegas de doutorado e amigos conquistados no primeiro ano de curso, em especial à Vanessa Brustein, Ricardo (Ninja), Rita de Cássia, Prazeres, Fabíola Soraia, Ana Rosa e Carmem Tavares pelos estudos em grupo, companheirismo e carinho durante minha gravidez.

À Universidade Federal de Pernambuco, especialmente ao Departamento de Química Fundamental e a todos do quadro de docentes e funcionários que contribuíram para esta formação.

À CNPq pela bolsa de estudo concedida.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE EQUAÇÕES	XIII
ABREVIATURAS E SÍMBOLOS UTILIZADOS	XIV
RESUMO	XVI
ABSTRACT	XVII
SUBSTÂNCIAS ISOLADAS E/OU IDENTIFICADAS NO PRESENTE TRABALHO	XVIII
1. INTRODUÇÃO	
1.1 Considerações preliminares	1
1.2 Bioma Caatinga	2
1.3 O Gênero <i>Anadenanthera</i>	2
1.3.1 Aspectos taxonômicos	2
1.3.2 Aspectos químicos	3
1.3.3 Potencial biológico dos extratos brutos e substâncias isoladas de espécies de <i>Anadenanthera</i>	11
1.3.4 A espécie <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan var. <i>Cebil</i> (Griseb.) Von Reis Alt.	12
1.4 Madeira de lei	15
1.5 Composição química da madeira	15
1.5.1 Polissacarídeos	16
1.5.2 Lignina	17
1.5.3 Componentes de baixa massa molecular	20
1.5.3.1 Componentes Orgânicos (Extrativos)	20
• Substâncias alifáticas	20
• Terpenóides e esteróides	21
• Compostos fenólicos	23
Fenóis simples e ácidos fenólicos	23
Flavonóides	24
Cumarinas e Lignanas	25

Xantonas e Estilbenos	26
Taninos	26
1.4.3.2 Componentes Inorgânicos (Cinzas)	29
1.6 Biodegradação da Madeira	29
2. JUSTIFICATIVA/OBJETIVOS	34
3. MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1 Coleta do material vegetal	35
3.2 Determinação de Lignina Insolúvel	35
3.3 Determinação de Lignina Solúvel	36
3.4 Determinação do Teor de Extrativos e Fenóis Totais	37
3.5 Ensaio Fitoquímicos	38
3.5.1 Alcaloides	38
3.5.2 Esteroides e Terpenos	39
3.5.3 Flavonoides	39
3.5.4 Saponinas	39
3.5.5 Taninos	40
3.6 Obtenção das fases em cicloexano, diclorometano, acetato de etila e <i>n</i> -butanol	40
3.6.1 Fracionamento da fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	42
3.6.2. Fracionamento da fase em diclorometano da madeira de <i>A. colubrina</i>	45
3.6.3. Fracionamento da fase em acetato de etila da madeira de <i>A. colubrina</i>	48
3.7 Testes de atividades com a madeira, fases e substâncias obtidas de <i>Anadenanthera colubrina</i>	51
3.7.1 Atividade sequestradora de radicais livres	51
3.7.2 Atividade antifúngica	51
3.7.3 Atividade antitermítica	52
3.8 Reações de Derivatização (acetilação) e cálculo do Índice de Kovats	53
3.9 Especificação do material e equipamentos utilizados	54
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56

4.1 Determinação de Lignina Solúvel e Insolúvel	56
4.2 Determinação do Teor de Extrativos	57
4.3 Determinação de Fenóis Totais e Atividade seqüestradora de radicais livres	57
4.4 Ensaios Fitoquímicos	58
4.5 Atividade Antifúngica	59
4.6 Identificação e caracterização estrutural dos extrativos presentes na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	61
4.6.1 Identificação de ácidos graxos e derivados	63
4.6.1.1 Identificação das substâncias 1 a 8 (Ésteres de metila)	68
4.6.1.2 Identificação das substâncias 9 a 14 (Ésteres de etila)	71
4.6.1.3 Identificação da substância 15 (Éster de butila)	74
4.6.1.4 Identificação das substâncias 16 e 17 (Ésteres de pentila)	78
4.6.1.5 Identificação das substâncias 18 a 24 (Ácidos graxos saturados)	81
4.6.1.6 Identificação das substâncias 25 a 28 (Ésteres e ácidos graxos insaturados)	84
4.6.2 Identificação dos triterpenos	88
4.6.2.1 Identificação da substância 29 (lupeol)	90
4.6.2.2 Identificação da substância 30 (lupenona)	94
4.6.3. Identificação dos esteroides	96
4.6.3.1 Identificação da substância 31 (diidrobrassicasterol)	109
4.6.3.2 Identificação da substância 32 (β -sitosterol)	111
4.6.3.3 Identificação da substância 33 (stigmasterol)	114
4.6.3.4 Identificação da substância 34 (stigmast-4-en-3-ona)	116

4.6.3.5 Identificação da substância 35 (ergost-4-en-3-ona)	118
4.6.3.6. Identificação da substância 36 (estigmasta-3,5-dien-7-ona)	120
4.6.4. Identificação dos norisoprenoides	122
4.6.4.1 Identificação da substância 37 (α -ionona)	124
4.6.6.2 Identificação da substância 38 (5,6-epóxi- β -ionona)	126
4.6.6.3 Identificação da substância 39 (diidroactinidiolida)	128
4.7 Identificação e caracterização estrutural dos extrativos presentes na fase em diclorometano da madeira de <i>A. colubrina</i>	130
4.7.1 Identificação de flavonas	131
4.7.1.1 Identificação da substância 40 (luteolina)	132
4.7.2 Identificação de Flavonóis	136
4.7.2 .1 Identificação da substância 41 (quercetina)	137
4.7.3 Identificação de Flavanonóis	141
4.7.2.1 Identificação da substância 42 (taxifolina)	142
4.7.4 Identificação de Chalconas	146
4.7.4.1 Identificação da substância 43 (ocanina)	148
4.7.4.2 Identificação da substância 44 (isoliquiritigenina)	151
4.8 Identificação e caracterização estrutural dos extrativos presentes na fase em acetato de etila e n-butanol da madeira de <i>A. colubrina</i>	152
4.8.2 Identificação de flavonoides e proantocianidinas por espectrometria de massas na interface APCI	154
4.9 Atividade antitermítica	164
5.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS	167
6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	169

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Metabólitos secundários isolados de plantas do gênero <i>Anadenanthera</i>	4
Tabela 2. Testes específicos para identificar as principais classes de compostos presentes nas plantas.	38
Tabela 3. Fracionamento da fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	42
Tabela 4. Fracionamento da fase em diclorometano da madeira de <i>A. colubrina</i>	45
Tabela 5. Fracionamento da fase em acetato de etila da madeira de <i>A. colubrina</i>	49
Tabela 6. Percentual de lignina solúvel, insolúvel e total nas madeiras de <i>A. colubrina</i> e <i>D. regia</i> .	56
Tabela 7. Percentual de extrativos nas madeiras de <i>A. colubrina</i> e <i>D. regia</i> .	57
Tabela 8. Quantificação de fenóis totais e atividade sequestradora de radicais livres das madeiras de <i>A. colubrina</i> e <i>D. regia</i>	58
Tabela 9. Resultados dos ensaios fitoquímicos da madeira de <i>A. colubrina</i> e <i>Delonix regia</i>	59
Tabela 10. Substâncias identificadas por GC-MS na fase em cicloexano com seus tempos de retenção e índice de similaridade (IS) com a biblioteca de espectros WILEY e intensidade relativa (IR) calculada em área	62
Tabela 11. Fragmentos presentes nos espectros de massas das substâncias 1 a 8 identificadas na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	70
Tabela 12. Fragmentos presentes nos espectros de massas das substâncias 9 a 14 identificadas na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	73
Tabela 13. Fragmentos presentes nos espectros de massas da substância 15 identificada na fase em cicloexano da madeira de <i>A.</i>	77

colubrina

- Tabela 14.** Fragmentos presentes nos espectros de massas das substâncias **16** e **17** identificadas na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina* e os fragmentos dos ésteres hexadecanoato de isoamila (**A**) e hexadecanoato de sec-amila (**B**) citados na literatura. 80
- Tabela 15.** Fragmentos presentes nos espectros de massas das substâncias **18** a **24** identificadas na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina* 83
- Tabela 16.** Fragmentos presentes nos espectros de massas das substâncias **25** a **28** identificadas na fase em cicloexano na madeira de *A. colubrina* 87
- Tabela 17.** Dados de RMN de ^1H da substância (**29**) obtido de *A. colubrina* (300 MHz) e do lupeol citado na literatura (400 MHz), ambos em clorofórmio- d_1 . 92
- Tabela 18.** Dados de RMN de ^{13}C da substância (**29**) obtido de *A. colubrina* (75 MHz) e do lupeol citado na literatura (100 MHz), ambos em clorofórmio- d_1 . 93
- Tabela 19.** Dados de RMN de ^{13}C do esteróide (**32**) obtido de *A. colubrina* (75 MHz) e do β - sitosterol citado na literatura (25 MHz), ambos em clorofórmio- d_1 . 113
- Tabela 20.** Dados de RMN de ^1H da flavona (**40**) obtida de *A. colubrina* (300 MHz) e de luteolina citada na literatura (500 MHz), ambos em DMSO- d_6 . 134
- Tabela 21.** Dados de RMN de ^{13}C da flavona (**40**) obtida de *A. colubrina* (75 MHz) e de luteolina citada na literatura (125 MHz), ambos em DMSO- d_6 . 135
- Tabela 22.** Dados de RMN de ^1H da flavononol (**41**) obtida de *A. colubrina* (300 MHz, acetona- d_6) e de quercetina citada na literatura (400 MHz, DMSO- d_6) 139
- Tabela 23.** Dados de RMN de ^{13}C da flavona (**42**) obtida de *A. colubrina* (125 MHz, acetona- d_6) e de quercetina citada na literatura (125 MHz, metanol- d_4). 140
- Tabela 24.** Dados de RMN de ^1H do flavanonol (**42**) obtido de *A.* 144

colubrina e de taxifolina citada na literatura, ambos em acetona- d_6 e 300 MHz.

Tabela 25. Dados de RMN de ^{13}C do flavanonol (**42**) obtido de *A. colubrina* e de taxifolina citada na literatura, ambos em acetona- d_6 e 75 MHz. 145

Tabela 26. Dados de RMN de ^1H (300 MHz, acetona- d_6) e ^{13}C (75 MHz, acetona- d_6) da chalcona (**43**) obtida de *A. colubrina* 150

Tabela 27. Dados de RMN de ^1H da chalcona (**44**) obtida de *A. colubrina* (400 MHz) e de isoliquiritigenina citada na literatura (400 MHz), ambas em acetona- d_6 . 152

Tabela 28. Fragmentos identificados nos espectros APCI-MS² dos flavonoides **40**, **42**, e **43**. 159

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fotografia da árvore, folhas, flores, vagens, frutos, casca e madeira de um exemplar de <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan var. <i>Cebil</i> (Griseb.) Von Reis Alt	14
Figura 2. Esquema geral da composição química da madeira	16
Figura 3. Estrutura da celulose (1→4 β-D-glucopiranosose)	17
Figura 4. Principais precursores da lignina: 1. álcool coniferílico, 2. álcool sinapílico, 3. álcool p-cumarílico	18
Figura 5. Possíveis ligações entre as unidades fenilpropanoides em ligninas	19
Figura 6. Estruturas de alguns compostos alifáticos presentes na madeira	21
Figura 7. Estrutura do isopreno	21
Figura 8. Exemplos de monoterpenos (C ₁₀) e sesquiterpenos (C ₁₅)	22
Figura 9. Exemplo de triterpeno	22
Figura 10. Estrutura de alguns esteróides comuns no reino vegetal	23
Figura 11. Exemplos de fenóis simples e ácidos fenólicos	24
Figura 12. Exemplos de flavonoides	25
Figura 13. Exemplo de cumarina e lignana	25
Figura 14. Exemplo de xantona e estilbeno	26
Figura 15. Resíduo galoíla	27
Figura 16. Exemplos de taninos	28
Figura 17. Obtenção das fases em cicloexano, diclorometano, acetato de etila e <i>n</i> -butanol da madeira de <i>A. colubrina</i>	41
Figura 18. Fracionamento cromatográfico da fase em cicloexano obtido da madeira de <i>Anadenanthera colubrina</i>	44
Figura 19. Fracionamento cromatográfico da fase em diclorometano obtido da madeira de <i>Anadenanthera colubrina</i>	47
Figura 20. Fracionamento cromatográfico da fase em acetato de etila obtido da madeira de <i>Anadenanthera colubrina</i>	50
Figura 21. Operário e soldado da espécie <i>Nasutitermes corniger</i> (Motschulsky)	52
Figura 22. O crescimento de <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	59

exibidos nas madeiras com extrativos e sem extrativos de *A. colubrina* (A) e *D. regia* (B). A esquerda madeira com extrativos e na direita madeira sem extrativos

- Figura 23.** Perfil do cromatograma em fase gasosa da fase em cicloexano de *A. colubrina* (compostos majoritários estão identificados em vermelho) 61
- Figura 24.** Formação do íon acílio em ésteres graxos 64
- Figura 25.** Formação do fragmento $[\text{RCO}_2\text{H}_2]^+$ em ésteres graxos 65
- Figura 26.** Rearranjo de McLafferty para ésteres graxos contendo hidrogênio γ na cadeia acila. 65
- Figura 27.** Rearranjo de McLafferty para ésteres graxos contendo hidrogênio γ na cadeia alcoxila. 66
- Figura 28.** Formação do íon $[\text{CH}_2\text{CHCOHOR}]^+$ em ésteres graxos 66
- Figura 29.** Formação dos fragmentos m/z 60 e m/z 73 em ácidos graxos 67
- Figura 30.** Substâncias **1** a **8** identificadas na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina* 68
- Figura 31.** Formação do fragmento m/z 74 68
- Figura 32.** Formação do fragmento m/z 87 69
- Figura 33.** Substâncias **9** a **14** identificadas na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina* 71
- Figura 34.** Formação do fragmento m/z 88 71
- Figura 35.** Formação do íon em m/z 101 72
- Figura 36.** Substância **15** identificada na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina* 74
- Figura 37.** Formação do fragmento m/z 257 75
- Figura 38.** Formação do fragmento m/z 56 75
- Figura 39.** Substâncias **16** e **17** identificadas na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina* 78
- Figura 40.** Formação do fragmento m/z 271 79
- Figura 41.** Formação do fragmento m/z 70 79
- Figura 42.** Substâncias **18** a **24** identificadas na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina* 81

Figura 43. Substâncias 25 a 28 identificadas na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	84
Figura 44. Esqueletos mais comuns dos triterpenos	88
Figura 45. Substância 29 identificada na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	90
Figura 46. Substância 30 identificada na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	94
Figura 47. Principais fragmentações observadas no espectro de massas da substância 30	95
Figura 48. Esqueleto esteroidal	96
Figura 49. Formação do fragmento referente à perda da cadeia lateral	97
Figura 50. Formação de fragmentos referentes à clivagem do anel D	98
Figura 51. Formação de fragmentos referentes à clivagem do anel C	99
Figura 52. Formação do fragmento referente à reação de Retro-Diels-Alder	99
Figura 53. Primeira proposta para a formação do fragmento [M-139] ⁺	100
Figura 54. Segunda proposta para a formação do fragmento [M-139] ⁺	100
Figura 55. Formação do fragmento [M-85] ⁺	101
Figura 56. Formação do fragmento [M-111] ⁺	102
Figura 57. Formação do fragmento <i>m/z</i> 271	103
Figura 58. Formação do fragmento <i>m/z</i> 300	104
Figura 59. Formação do fragmento <i>m/z</i> 124	105
Figura 60. Formação do fragmento [M-123] ⁺	105
Figura 61. Formação do fragmento [M-42] ⁺	106
Figura 62. Formação do fragmento [M-85] ⁺	106
Figura 63. Formação do fragmento <i>m/z</i> 206	107
Figura 64. Formação dos fragmentos <i>m/z</i> 193 e 219	108
Figura 65. Substância 31 identificada na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	109
Figura 66. Principais fragmentos observados no espectro de	110

massas da substância 31	
Figura 67. Substância 32 identificada na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	111
Figura 68. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância 32	112
Figura 69. Substância 33 identificada na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	114
Figura 70. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância 33	115
Figura 71. Substância 34 identificada na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	116
Figura 72. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância 34	117
Figura 73. Substância 35 identificada na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	118
Figura 74. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância 35	119
Figura 75. Substância 36 identificada na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	120
Figura 76. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância 36	121
Figura 77. Formação de β -ionona a partir de β -caroteno	122
Figura 78. Alguns dos principais norisoprenoides	123
Figura 79. Substância 37 identificada na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	124
Figura 80. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância 37	125
Figura 81. Substância 38 identificada na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	126
Figura 82. Principal fragmento observado no espectro de massas da substância 38	127
Figura 83. Substância 39 identificada na fase em cicloexano da madeira de <i>A. colubrina</i>	128

Figura 84. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância 39	129
Figura 85. Esqueleto básico das flavonas	131
Figura 86. Substância 40 identificada na fase em diclorometano obtida da madeira de <i>A. colubrina</i>	132
Figura 87. Esqueleto básico dos flavonóis	136
Figura 88. Substância 41 identificada na fase em diclorometano obtida da madeira de <i>A. colubrina</i>	137
Figura 89. Esqueleto básico dos flavanonóis	141
Figura 90. Substância 42 identificada na fase em diclorometano obtida da madeira de <i>A. colubrina</i>	142
Figura 91. Esqueleto básico de chalconas	146
Figura 92. Nomenclatura e íons diagnósticos de chalconas desprotonadas	147
Figura 93. Substância 43 identificada na fase em diclorometano obtida da madeira de <i>A. colubrina</i>	148
Figura 94. Correlações observadas no espectro $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC da substância 43	149
Figura 95. Substância 44 identificada na fase em diclorometano obtida da madeira de <i>A. colubrina</i>	151
Figura 96. Nomenclatura e íons diagnósticos para flavonas, flavanonas e flavonóis desprotonados	155
Figura 97. Nomenclatura das subunidades de proantocianidinas	158
Figura 98. Proposta de fragmentação do íon $[\text{M}-\text{H}]^-$ de m/z 561 presente no espectro APCI-MS em modo negativo dos extratos em acetato de etila e <i>n</i> -butanol	160
Figura 99. Proposta de fragmentação do íon $[\text{M}+\text{H}]^+$ de m/z 291 presente no espectro APCI-MS em modo positivo das fases em acetato de etila e <i>n</i> -butanol	162
Figura 100. Proposta de fragmentação do íon $[\text{M}-\text{H}]^-$ de m/z 271 presente no espectro APCI-MS em modo negativo das fases em acetato de etila e <i>n</i> -butanol	163
Figura 101. Efeito do contato das fases obtidas da madeira de <i>A.</i>	165

colubrina com *N. corniger*

ÍNDICE DE EQUAÇÕES

Equação 1. Percentual de lignina insolúvel na madeira em %	36
Equação 2. Concentração de lignina solúvel em g.L ⁻¹	36
Equação 3. Percentual de lignina solúvel nas amostras	36
Equação 4. Percentual de metabólitos secundários extraídos	37
Equação 5. Concentração de compostos fenólicos em µg.mL ⁻¹	38
Equação 6. % Sequestro do radical DPPH	51
Equação 7. Índice de Kovats	53
Equação 8. Concentrações dos fenóis totais em mg/g	57

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS UTILIZADOS

APCI-MS- Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry

ax – axial

CCDA – cromatografia em camada delgada analítica

CID- Collision-induced dissociation

CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência

COSY – correlation spectroscopy

δ – deslocamento químico

d – duplete

dd – duplo duplete

dl-duplete largo

dt-duplo tripleto

DMSO-*d*₆- dimetilsulfóxido perdeuterado

DPPH- 1,1-Difenil-2-picril-hidrazila

eq – equatorial

EAG – equivalentes de ácido gálico

ESI-MS- Electrospray Ionization Mass Spectrometry

GC-MS- Gas Chromatography Mass Spectrometry

Glc- β -D- glucopiranosila

HMBC- Heteronuclear Multiple Bond Coherence

HMQC-Heteronuclear Multiple Quantum Coherence

Hz – Hertz

IK – índice de Kovats

IR- intensidade relativa

IS – índice de similaridade

J – constante de acoplamento

LH-20 – Sephadex LH-20

LC-MS- Liquid Chromatography- Mass Spectrometry

LC₅₀- Lethal Concentration

LK- lignina de Kason

MM- massa molar

Me- metila

mult.– multiplicidade

m – multipleteo

MEA – Extrato de Malte Ágar

MHz – megahertz

nm – nanômetro

OMe – metoxila

Ph- fenila

PF_{exp} - Ponto de fusão experimental

PF_{lit.} - Ponto de fusão citado na literatura

RDA- Retro-Diels-Alder

RMN de ¹H – ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMN de ¹³C – ressonância magnética nuclear de carbono-13

s – simpleto

s/ – simpleto largo

UV – ultravioleta

Xyl- Xilopiranosila

λ - comprimento de onda

RESUMO

Anadenanthera colubrina (Vell.) Brenan var. *Cebil* (Griseb.) Von Reis Alt., conhecida popularmente como angico, angico-de-carçoço, angico-vermelho, angico-do-campo, angico-preto, arapiraca, curupaí e angico-de-casca, é uma árvore pertencente a família Fabaceae. A madeira de *A. colubrina* é usada em móveis, construção e indústria naval devido à sua elevada resistência a fungos responsáveis pela podridão branca e cupins. Da partição do extrato etanólico da madeira de *A. colubrina* foram obtidos quatro fases: cicloexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol. Da fase em cicloexano foram identificados por GC-MS dezenove ésteres graxos saturados e insaturados, nove ácidos graxos saturados e insaturados, dois triterpenos (lupeol e lupenona), seis esteróides (diidrobrassicasterol, estigmasterol, β -sitosterol, estigmast-4-en-3-ona, ergost-4-en-3-ona e estigmasta-3,5-dien-7-ona) e três norisoprenóides (α -ionona, 5,6-epoxi- β -ionona e diidroactinidiolida). Apenas o β -sitosterol e lupeol foram isolados e tiveram suas estruturas caracterizadas utilizando-se as técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C juntamente com a espectrometria de massas. O estudo químico da fase em diclorometano resultou no isolamento e identificação de cinco flavonoides, compreendendo uma flavona (luteolina), um flavonol (quercetina), um flavanonol (taxifolina) e duas chalconas (ocanina e isoliquiritigenina). Estes flavonóides foram identificados com base em dados espectroscópicos de RMN de ^1H e de ^{13}C (uni- e bidimensionais), de espectrometria de massas, nos valores de ponto de fusão e pela comparação com dados espectrais disponíveis na literatura. No estudo químico das fases em acetato de etila e n-butanol utilizando-se a técnica APCI-MS² foi identificado como componente majoritário uma proantocianidina dimérica. Também foi observada em menor proporção, a presença dos flavonoides naringenina, catequina além de taxifolina, ocanina e luteolina que foram isolados do extrato em diclorometano. Entre todos os 47 metabólitos encontrados apenas os esteróides β -sitosterol e estigmasterol e os triterpenos lupeol e lupenona já haviam sido identificados anteriormente no cerne e partes aéreas de *A. colubrina*, sendo assim as demais substâncias inéditas no gênero *Anadenanthera*. A madeira de *A. colubrina* apresentou alto teor de extrativos, especialmente de compostos fenólicos, o que explica em boa parte a atividade antioxidante e atividade antifúngica frente à *Phanerochaete chrysosporium*. As quatro fases obtidas da madeira de *A. colubrina* apresentam propriedades tóxicas e deterrentes frente à espécie de cupins *Nasutitermes corniger* quando comparados com o controle correspondente. A melhor fase termiticida de *A. colubrina* foi a acetato de etila ($\text{LC}_{50} = 17,3 \text{ mg.mL}^{-1}$ após 4 dias) provavelmente devido ao conteúdo de proantocianidinas. O extrato em cicloexano que é constituído principalmente por ésteres e ácidos graxos, triterpenos e esteróides foi o segundo mais ativo de *A. colubrina* ($\text{LC}_{50} = 67,4 \text{ mg.mL}^{-1}$ após 4 dias).

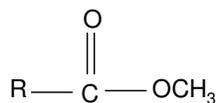
Palavras-chave: Fabaceae; *Anadenanthera colubrina*; Atividade Biológica

ABSTRACT

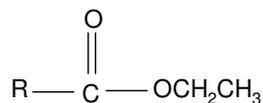
Anadenanthera colubrina (Vell.) Brenan var. *Cebil* (Griseb.) Von Reis Alt., popularly known as *angico*, *angico-de-carço*, *angico-vermelho*, *angico-do-campo*, *angico-preto*, *arapiraca*, *curupaí* e *angico-de-casca*, is a tree belonging to Fabaceae family. *A. colubrina* wood is used in furniture, building and naval industries due to its reputed natural resistance to soft-rot fungi and termites. The ethanolic extract obtained from *A. colubrina* wood was partitioned to give four phases: cyclohexane, dichloromethane, ethyl acetate and n-butanol. In the cyclohexane phase were identified by GC-MS nineteen saturated and unsaturated fatty esters, nine saturated and unsaturated fatty acids, two triterpenes (lupeol and lupenone), six steroids (dihydrobrassicasterol, stigmasterol, β -sitosterol, stigmast-4-en-3-one, ergost-4-en-3-one and stigmast-3,5-dien-7-one) and three norisoprenoids (α -ionone, 5,6-epoxy- β -ionone and dihydroactinidiolide). Only β -sitosterol and lupeol were isolated and their structures were characterized using the ^1H and ^{13}C NMR techniques together with mass spectrometry. Whereas the chemical study of dichloromethane phase resulted in the isolation and identification of five flavonoids, comprising one flavone (luteolin), one flavonol (quercetin), one flavanonol (taxifolin) and two chalcones (okanin and isoliquiritigenin). These flavonoids were identified based on spectroscopic data of ^1H and ^{13}C NMR (uni- and two-dimensional), mass spectrometry, of melting point and by comparison with data available in literature. The chemical study of ethyl acetate and n-butanol phases using the technique APCI-MS² led to the identification of a proanthocyanidin dimer as major component. Minor components were the flavonoids naringenin and catechin, besides taxifolin, luteolin and okanin isolated before from the dichloromethane extract. Between all metabolites found only the steroids β -sitosterol and stigmasterol and the triterpenes lupeol and lupenone have been identified previously in *A. colubrina* heartwood and aerial parts, all other substances are unreported in the genus *Anadenanthera*. *A. colubrina* wood showed a high level of extractives, especially phenolic compounds, which can explain the antioxidant activity and high activity against the fungus *Phanerochaete chrysosporium*. The four phases from the *A. colubrina* wood show toxic and antifeedant properties against the termites *Nasutitermes corniger* when compared with the corresponding control. The best termiticide phase of *A. colubrina* was ethyl acetate ($\text{LC}_{50} = 17,3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ after 4 days) probably due to proanthocyanidins content. The cyclohexane phase which consists mainly of esters, fatty acids, triterpenes and steroids was the second most active extract from *A. colubrina* ($\text{LC}_{50} = 67,4 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ after 4 days).

Key Words: Fabaceae; *Anadenanthera colubrina*; Biological Activity

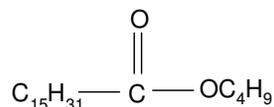
SUBSTÂNCIAS ISOLADAS E/OU IDENTIFICADAS NO PRESENTE TRABALHO



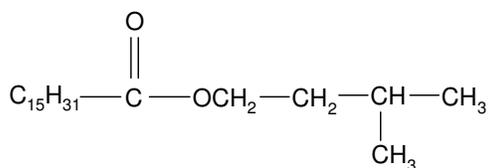
- 1** R = C₁₅H₃₁
2 R = C₁₆H₃₃
3 R = C₁₇H₃₅
4 R = C₁₉H₃₉
5 R = C₂₁H₄₃
6 R = C₂₂H₄₅
7 R = C₂₃H₄₇
8 R = C₂₅H₅₁



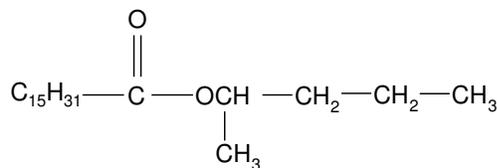
- 9** R = C₁₅H₃₁
10 R = C₁₆H₃₃
11 R = C₁₇H₃₅
12 R = C₂₁H₄₃
13 R = C₂₃H₄₇
14 R = C₂₅H₅₃



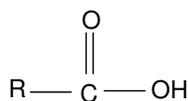
15



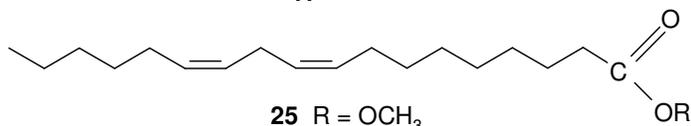
16



17

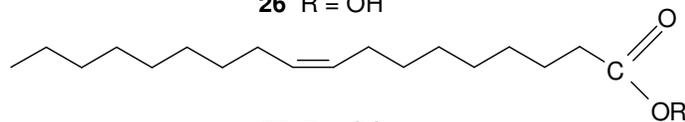


- 18** R = C₁₁H₂₃
19 R = C₁₃H₂₇
20 R = C₁₄H₂₉
21 R = C₁₅H₃₁
22 R = C₁₆H₃₃
23 R = C₁₇H₃₅
24 R = C₁₉H₃₉



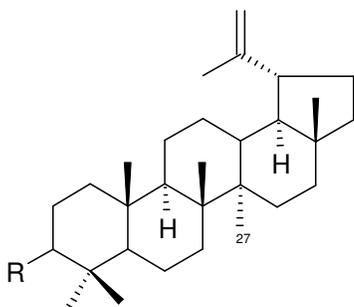
25 R = OCH₃

26 R = OH



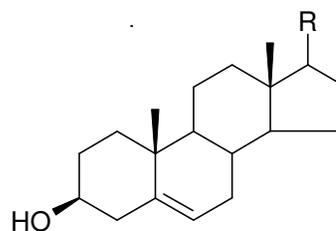
27 R = OCH₃

28 R = OH



29 R = OH

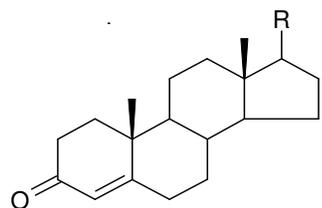
30 R = O



31 R = C₉H₁₉

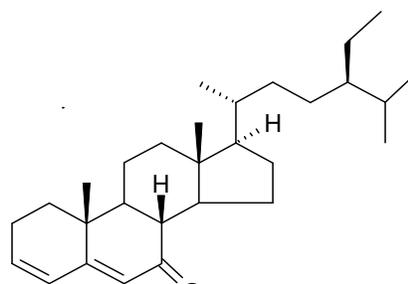
32 R = C₁₀H₂₁

33 R = C₁₀H₁₉

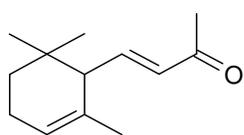


34 R = C₁₀H₂₁

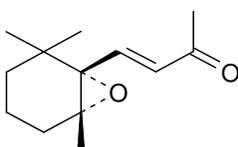
35 R = C₉H₁₉



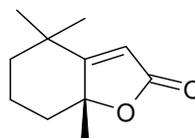
36



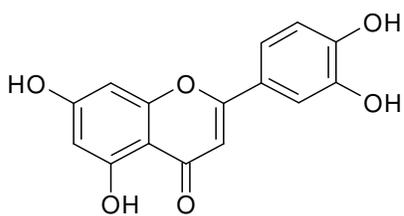
37



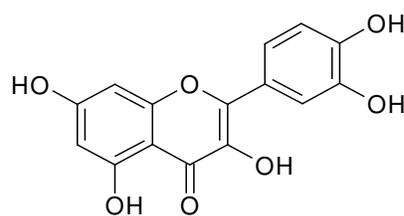
38



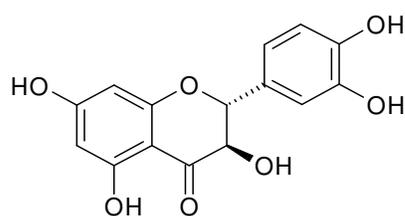
39



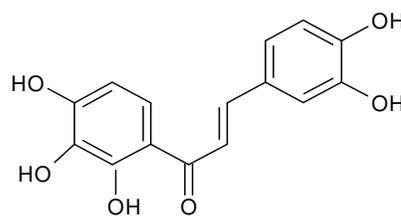
40



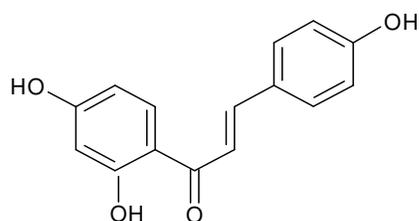
41



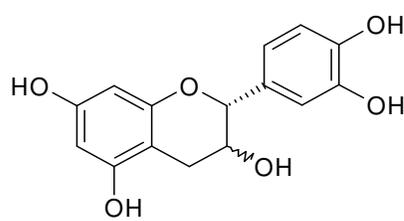
42



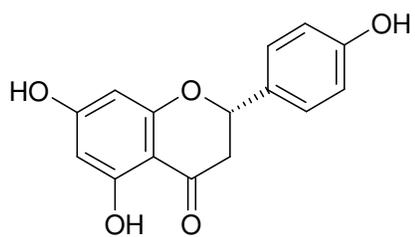
43



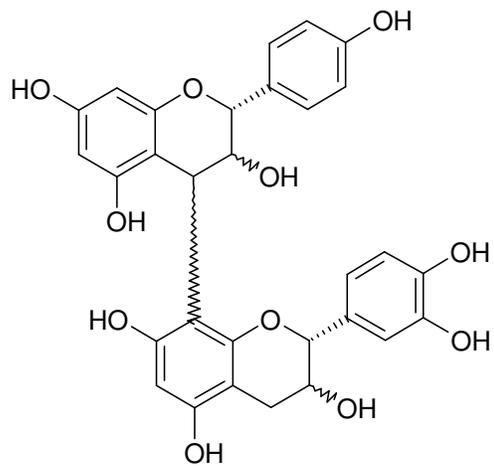
44



45



46



47

1. INTRODUÇÃO

1.1 Considerações preliminares

As plantas constituem uma fonte importante de metabólitos secundários, também designados por Gottlieb *et al.* (1996) como metabólitos especiais. Estes, embora não essenciais para o organismo produtor como os metabólitos primários, também não se constituem em refugos desprovidos de significado, conceito que imperou até a metade do século XX, uma vez que eles garantem vantagem para a sobrevivência e perpetuação da espécie que a produz, por meio de defesa contra insetos, fungos, bactérias, vírus, parasitas, moluscos e animais superiores, contra raios UV e alelopatias [HAENEN, 1985]. Assim, as plantas são possuidoras de várias vias metabólicas secundárias que dão origem a diversas classes de compostos, destacando-se os alcalóides, flavonóides, taninos, cumarinas, terpenos, classes que, por vezes, são específicas a determinadas famílias, gêneros ou espécies, e cujas funções, até pouco tempo eram desconhecidas. Muitos são de importância comercial tanto na área farmacêutica quanto nas áreas alimentícia, agrônômica, perfumaria, entre outras [SIMÕES *et al.*, 2000].

Nas últimas décadas tem-se verificado um crescente uso de produtos naturais na fabricação de fitoterápicos, cosméticos ou como matéria-prima para síntese de substâncias bioativas (especialmente fármacos); desta forma, faz-se necessária a investigação destes por meio de estudos fitoquímico, farmacológico e toxicológico [OKUNADE *et al.*, 2004; DREWES *et al.*, 2003]. Assim, muitos trabalhos têm sido realizados com os objetivos de isolar e caracterizar os metabólitos especiais oriundos de plantas, bem como identificar os constituintes que possuam atividades biológica ou farmacológica [KINGSTON, 2000; VEROTA *et al.*, 2000].

1.2 Bioma Caatinga

A caatinga (semi-árido) é o único bioma exclusivamente brasileiro, o que significa que grande parte do seu patrimônio biológico não pode ser encontrada em nenhum outro lugar do planeta. É o principal ecossistema nordestino, uma vez que a região nordeste do Brasil tem uma área de 1.548.672 Km² e o semi-árido ocupa 788.064Km² desta área [SOUZA *et al.* 2003].

Na região semi-árida, principalmente em baixas altitudes, a caatinga apresenta uma vegetação predominantemente xerófila, constituindo uma floresta tropical seca tipicamente decídua com variações fisionômicas e florísticas [ANDRADE-LIMA, 1981; RIZZINI, 1971]. Pela presença espaçada das árvores e arbustos, este ecossistema é considerado menos denso do que as florestas tropicais úmidas, com grande intensidade de luz atingindo o solo. A temperatura média nesta região está entre 23 e 27°C, e a disponibilidade hídrica para as plantas durante grande parte do ano (7 a 9 meses) é baixa, devido à distribuição irregular das chuvas que é a principal característica da caatinga [SAMPAIO, 1995].

Até o ano de 2003, haviam sido registradas cerca de 1000 espécies vegetais neste bioma, estimando-se que podem chegar a um total de 3000 [SOUZA *et al.*, 2003]. Apesar disso é o menos estudado e conhecido ecossistema do país, uma vez que, além da importância biológica, a caatinga apresenta um potencial econômico ainda pouco valorizado. A literatura relata a utilização de várias espécies da caatinga em propriedades rurais como forrageiras, frutíferas, medicinais e madeireiras para usos diversos. Entre as espécies medicinais e de potencialidade madeireira destacam-se as do gênero *Anadenanthera* (Fabaceae-Mimosoideae) [PAES *et al.*, 2003].

1.3 O Gênero *Anadenanthera*

1.3.1 Aspectos taxonômicos

O gênero *Anadenanthera* pertence à seção Mimosoideae da família Fabaceae. Este gênero foi por muito tempo confundido com o gênero *Piptadenia* devido à semelhança morfológica, contudo a diferença entre eles foi estabelecida por Brenan em 1955.

O gênero *Anadenanthera* proposto por Brenan (1955) consistia de quatro espécies anteriormente incluídas no gênero *Piptadenia*. Altschul (1964), em uma revisão taxonômica do gênero *Anadenanthera* considerou que ele é composto apenas por duas espécies, *A. peregrina* (L.) Speg. e *A. colubrina* (Vell.) Brenan, cada uma delas contendo duas variedades. As duas variedades de *Anadenanthera peregrina* são *A. peregrina* (L.) Speg. var. *peregrina* Reis Altschul e *A. peregrina* (L.) Speg. var. *falcata* (Benth.) Reis Altschul. As variedades de *A. colubrina* são *A. colubrina* (Vell.) Brenan var. *colubrina* Reis Altschul e *A. colubrina* (Vell.) Brenan var. *Cebil* (Griseb.) Reis Altschul.

Altschul distinguiu estas duas espécies por meio de poucos caracteres morfológicos consistentes e suas correlações com localizações geográficas particulares. O gênero *Anadenanthera* tem uma larga distribuição na América do Sul e as duas espécies têm uma preferência por habitat de savana, embora eles pareçam ser adaptáveis também a outros habitats [ALTSCHUL, 1964].

A espécie *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *Cebil* (Griseb.) von Reis Alt., alvo deste estudo, apresenta diversos sinônimos [ALTSCHUL, 1964], que são listados abaixo:

Acacia cebil (Griseb.)

Piptadenia macrocarpa Benth.

Piptadenia macrocarpa Benth. var. *vestita* Chod. & Hass.

Piptadenia macrocarpa Benth. var. *genuine* Chod. & Hass.

Piptadenia macrocarpa Benth. var. *Cebil* (Griseb.) Chod. & Hass.

Anadenanthera macrocarpa (Benth.) Brenan

Piptadenia cebil (Griseb.) Griseb.

Piptadenia microphylla Benth.

Piptadenia hassleriana Chod.

Piptadenia hassleriana Chod. var. *fruticosa* Chod. & Hass.

1.3.2 Aspectos químicos

As espécies do gênero *Anadenanthera* são conhecidas como fontes de alcaloides, flavonoides, taninos, triterpenos e esteroides conforme mostrado na

Tabela1. Embora existam muitos estudos das duas espécies deste gênero relacionados à quantificação e extração de taninos para emprego na indústria de curtume, não há registros na literatura de estruturas definidas de substâncias desta classe [MONTEIRO *et al.*, 2006a; MONTEIRO *et al.*, 2006b; MONTEIRO *et al.*, 2005; VITTI *et al.*, 2005; LEITÃO *et al.*, 1999; DOAT, 1978; PRADO & RICCI, 1956; ANON, 1928].

Tabela 1. Metabólitos secundários isolados de plantas do gênero *Anadenanthera*

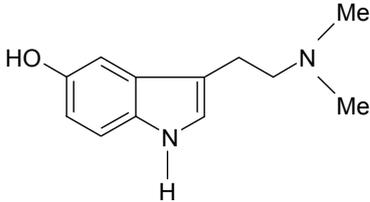
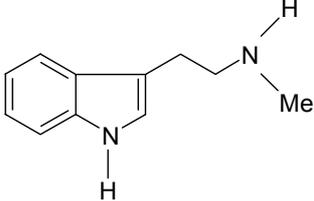
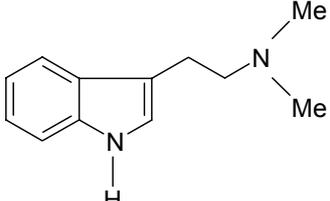
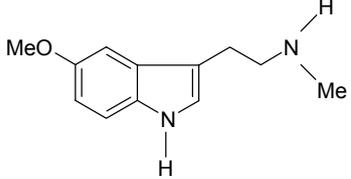
Metabólitos secundários isolados	Planta	Parte da planta	Referências bibliográficas
 <p>bufotenina</p>	<i>A. colubrina</i>	Vagens	IACOBUCCI <i>et al.</i> , 1964
		Sementes	PACHTER <i>et al.</i> , 1959 FISCH <i>et al.</i> , 1955 IACOBUCCI <i>et al.</i> , 1964 YAMASATO <i>et al.</i> , 1972
	<i>A. peregrina</i>	Sementes	FISCH <i>et al.</i> , 1955 GIESBRECHT, 1960 PARIS <i>et al.</i> , 1967 YAMASATO <i>et al.</i> , 1972
 <p>N-metiltryptamina</p>	<i>A. peregrina</i>	cascas	LEGLER & TSCHESCHE, 1963 HOLMSTEDT & LINDGREN, 1979
 <p>N,N-dimetiltryptamina</p>	<i>A. colubrina</i>	sementes	IACOBUCCI <i>et al.</i> , 1964 YAMASATO <i>et al.</i> , 1972
		vagens	FISCH <i>et al.</i> , 1955
	<i>A. peregrina</i>	sementes	YAMASATO <i>et al.</i> , 1972
		vagens	FISCH <i>et al.</i> , 1955
		cascas	HOLMSTEDT & LINDGREN, 1979
 <p>5-metóxi-N-metiltryptamina</p>	<i>A. colubrina</i>	cascas	IACOBUCCI <i>et al.</i> , 1964
	<i>A. peregrina</i>	cascas	LEGLER & TSCHESCHE, 1963 HOLMSTEDT & LINDGREN, 1979

Tabela 1(Continuação). Metabólitos secundários isolados de plantas do gênero *Anadenanthera*

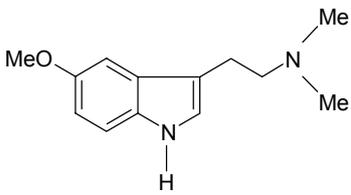
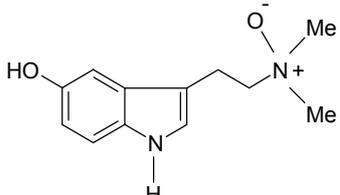
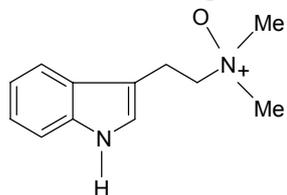
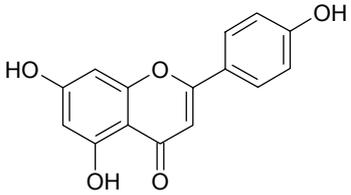
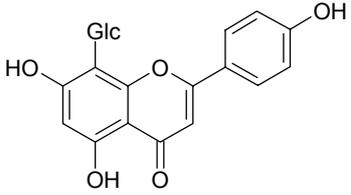
Metabólitos secundários isolados	Planta	Parte da planta	Referências bibliográficas
Alcaloides			
 <p>5-metóxi-N,N-dimetiltriptamina</p>	<i>A. peregrina</i>	sementes	HOLMSTEDT & LINDGREN, 1979
		casacas	LEGLER & TSCHESCHE, 1963 HOLMSTEDT & LINDGREN, 1979
 <p>óxido de bufotenina</p>	<i>A. colubrina</i>	sementes	FISCH <i>et al.</i> , 1955
	<i>A. peregrina</i>	sementes	FISCH <i>et al.</i> , 1955 PARIS <i>et al.</i> , 1967
 <p>óxido de N,N-dimetiltriptamina</p>	<i>A. colubrina</i>	sementes	FISCH <i>et al.</i> , 1955
	<i>A. peregrina</i>	sementes	FISCH <i>et al.</i> , 1955
Flavonoides			
 <p>apigenina</p>	<i>A. colubrina</i>	partes aéreas	GUTIERREZ-LUGO <i>et al.</i> , 2004
 <p>vitexina</p>	<i>A. peregrina</i>	folhas	PARIS <i>et al.</i> , 1967

Tabela 1 (Continuação). Metabólitos secundários isolados de plantas do gênero *Anadenanthera*

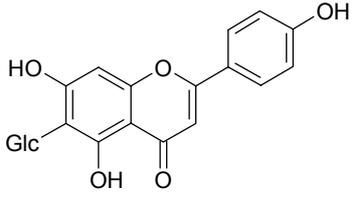
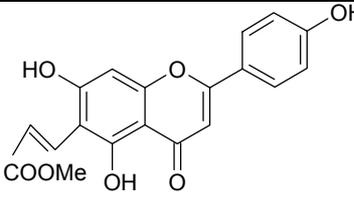
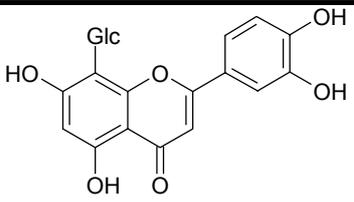
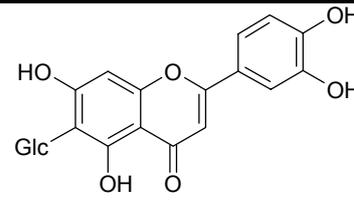
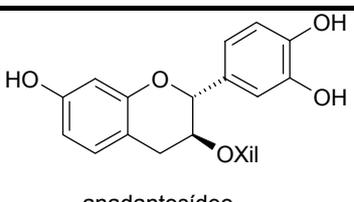
Metabólitos secundários isolados	Planta	Parte da planta	Referências bibliográficas
<p>Flavonoides</p>  <p>isovitexina</p>	<i>A. peregrina</i>	folhas	PARIS <i>et al.</i> , 1967
 <p>anadantoflavona</p>	<i>A. colubrina</i>	partes aéreas	GUTIERREZ-LUGO <i>et al.</i> , 2004
 <p>orientina</p>	<i>A. peregrina</i>	folhas	PARIS <i>et al.</i> , 1967
 <p>isoorientina</p>	<i>A. peregrina</i>	folhas	PARIS <i>et al.</i> , 1967
 <p>anadantosideo</p>	<i>A. colubrina</i>	cascas	PIACENTE <i>et al.</i> , 1999

Tabela 1 (Continuação). Metabólitos secundários isolados de plantas do gênero *Anadenanthera*

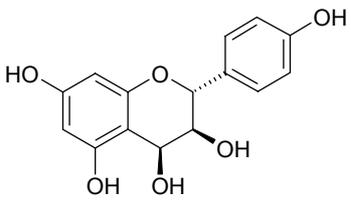
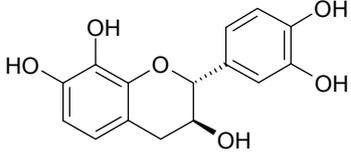
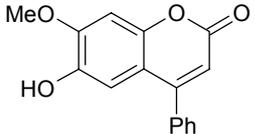
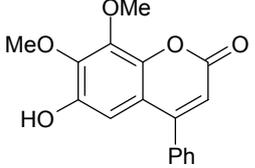
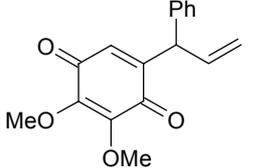
Metabólitos secundários isolados	Planta	Parte da planta	Referências bibliográficas
<p>Flavonoides</p>  <p>leucopelargonidol</p>	<i>A. peregrina</i>	vagens	PARIS <i>et al.</i> , 1967
		cascas	PARIS <i>et al.</i> , 1967
 <p>prosopina</p>	<i>A. colubrina</i>	cerne	MIYAUCHI <i>et al.</i> , 1976
<p>Outros compostos aromáticos</p>  <p>dalbergina</p>	<i>A. colubrina</i>	cerne	MIYAUCHI <i>et al.</i> , 1976
 <p>kulmanina</p>	<i>A. colubrina</i>	cerne	MIYAUCHI <i>et al.</i> , 1976
 <p>3,4-dimetoxidalbergiona</p>	<i>A. colubrina</i>	cerne	MIYAUCHI <i>et al.</i> , 1976

Tabela 1 (Continuação). Metabólitos secundários isolados de plantas do gênero *Anadenanthera*

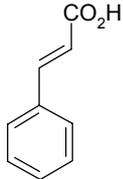
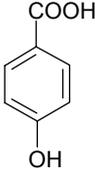
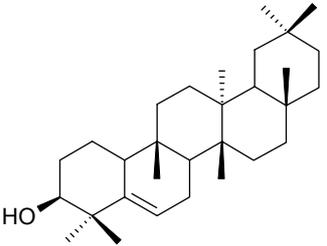
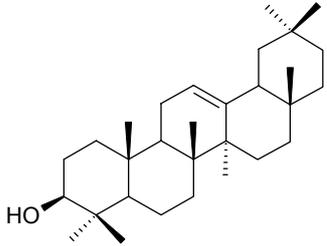
Metabólitos secundários isolados	Planta	Parte da planta	Referências bibliográficas
<p>Outros compostos aromáticos</p>  <p>ácido cinâmico</p>	<i>A. colubrina</i>	partes aéreas	GUTIERREZ-LUGO <i>et al.</i> , 2004
 <p>ácido 4-hidroxibenzóico</p>	<i>A. colubrina</i>	partes aéreas	GUTIERREZ-LUGO <i>et al.</i> , 2004
<p>Terpenoides</p>  <p>alnusenol</p>	<i>A. colubrina</i>	partes aéreas	GUTIERREZ-LUGO <i>et al.</i> , 2004
 <p>β-amirina</p>	<i>A. colubrina</i>	partes aéreas	GUTIERREZ-LUGO <i>et al.</i> , 2004

Tabela 1 (Continuação). Metabólitos secundários isolados de plantas do gênero *Anadenanthera*

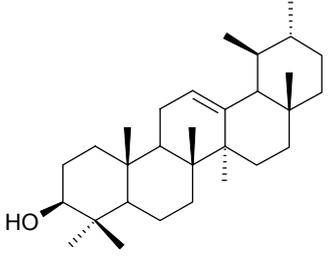
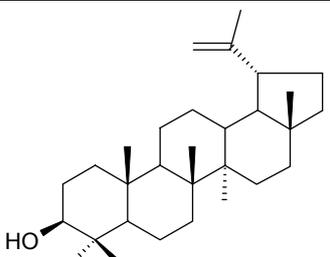
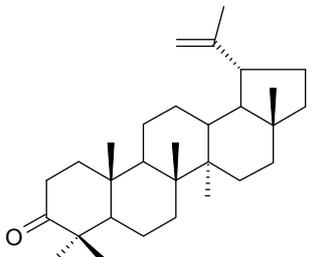
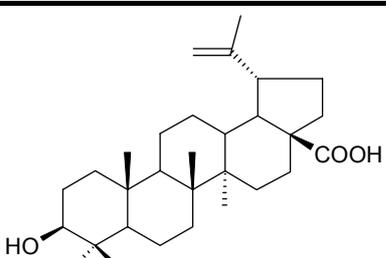
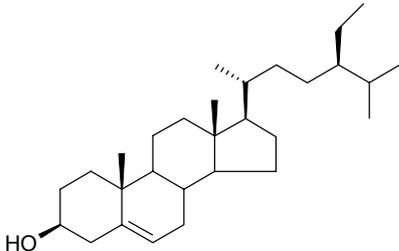
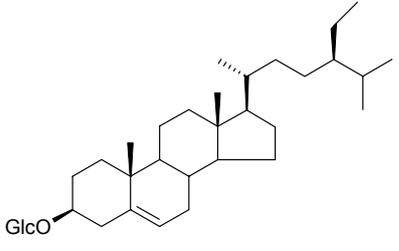
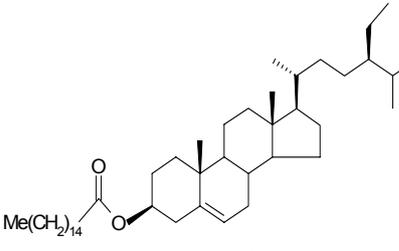
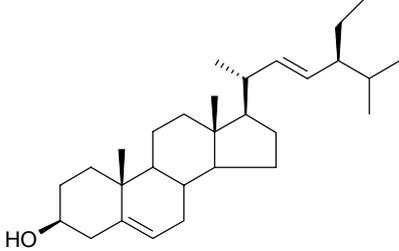
Metabólitos secundários isolados	Planta	Parte da planta	Referências bibliográficas
<p>Terpenoides</p>  <p>α-amirina</p>	<i>A. colubrina</i>	partes aéreas	GUTIERREZ-LUGO <i>et al.</i> , 2004
 <p>lupeol</p>	<i>A. colubrina</i>	partes aéreas	GUTIERREZ-LUGO <i>et al.</i> , 2004
		cerne	MIYAUCHI <i>et al.</i> , 1976
 <p>lupenona</p>	<i>A. colubrina</i>	partes aéreas	GUTIERREZ-LUGO <i>et al.</i> , 2004
		cerne	MIYAUCHI <i>et al.</i> , 1976
 <p>ácido betulínico</p>	<i>A. colubrina</i>	partes aéreas	GUTIERREZ-LUGO <i>et al.</i> , 2004

Tabela 1 (Continuação). Metabólitos secundários isolados de plantas do gênero *Anadenanthera*

Metabólitos secundários isolados	Planta	Parte da planta	Referências bibliográficas
 <p>β-sitosterol</p>	<i>A. colubrina</i>	partes aéreas	GUTIERREZ-LUGO <i>et al.</i> , 2004
		cerne	MIYAUCHI <i>et al.</i> , 1976
 <p>daucoesterol</p>	<i>A. colubrina</i>	cerne	MIYAUCHI <i>et al.</i> , 1976
 <p>palmitato de β-sitosterila</p>	<i>A. colubrina</i>	cerne	MIYAUCHI <i>et al.</i> , 1976
 <p>estigmasterol</p>	<i>A. colubrina</i>	partes aéreas	GUTIERREZ-LUGO <i>et al.</i> , 2004

1.3.3 Potencial biológico dos extratos brutos e substâncias isoladas de espécies de *Anadenanthera*

Os índios sul-americanos foram os primeiros a familiarizar-se com as propriedades das espécies de *Anadenanthera*, das quais eles faziam uso inalando ou fumando o pó feito das sementes [COLON, 1944]. Pardal (1937) mencionou que as sementes, assim como o tabaco, foram as primeiras substâncias que os acompanhantes de Cristóvão Colombo utilizaram, por intermédio dos índios, como alucinógenos. Descreveu ainda que os nomes que os índios designavam à droga variavam com os lugares, existindo numerosas sinonímias entre as quais citou coboba, cohoba, yupa, yopa, pariká, kurupa, hatax e jataj.

Amorin (1974) relatou que o pó obtido das sementes torradas de *Anadenanthera peregrina* Speg. foi usado para fins alucinógenos por muitas tribos indígenas sulamericanas.

Fisch *et al.* (1955) estudaram a composição química das sementes e vagens de duas espécies, *A. peregrina* Benth. e *A. colubrina* Benth. Nas sementes e vagens de ambas as espécies foram encontradas quatro bases indólicas. As vagens continham o composto N,N-dimetiltriptamina e as sementes as substâncias bufotenina e os óxidos dessas duas substâncias (Tabela 1, pag 4). Os autores citaram ainda a presença dessa substância como o alcaloide majoritário nas espécies estudadas. De acordo com Pachter *et al.* (1959), as sementes de *A. colubrina* constituem-se em uma rica fonte de alcaloides, sendo também bufotenina (Tabela 1, pag 4) o alcalóide mais abundante.

Paula (1981) mencionou que os usos farmacêuticos da espécie *A. colubrina* originam-se das propriedades adstringentes de sua casca que são usadas largamente como um medicamento popular devido ao conteúdo de bufotenina como componente ativo. A decocção da casca ralada é utilizada para complicações do fígado, gonorréia, leucorréia, infecção dos ovários e como depurativo do sangue. O xarope da casca e da resina é tomado para bronquites e anginas. Também a decocção da casca e resina é utilizada em gargarejos e no tratamento da piorréia. Para dores de cabeça, resfriados e catarros são realizadas inalações com sementes previamente secas ao sol, assadas e moídas, em pequenas quantidades.

Embora muitos metabólitos sejam relatados neste gênero (Tabela 1, pag 4), poucos trabalhos foram realizados mostrando a importância biológica de seus

compostos puros. Gutierrez-Lugo *et al.* (2004), estudando os inibidores da lipoxigenase, verificaram que entre os 12 compostos isolados das partes aéreas de *A. colubrina*, os mais ativos foram: anadanthoflavona, lupenona, lupeol, α -amirina e apigenina. A inibição da lipoxigenase é uma área de pesquisa significativa devido a implicações no câncer, arterosclerose e uma variedade de doenças inflamatórias [STEELE *et al.*, 1999; BRASH, 1999; NADLER & NATARAJAN, 1996].

Desmarchelier *et al.* (1999) relataram que o extrato metanólico das cascas do caule dessa mesma espécie suprimiu a geração de radicais peroxila e a degradação do DNA mediado pelo radical hidroxila, como também inibiu a peroxidação lipídica em ratos. Desta forma, os resultados obtidos sugeriram que tal atividade antioxidante pode desempenhar um papel importante na atividade antiinflamatória descrita para esta planta.

Em outra investigação relacionada com *A. colubrina*, comprovou-se que o extrato etanólico das cascas de sua madeira apresentou toxicidade contra *Artemia salina* [Luna *et al.*, 2005]. De acordo com McLaughlin *et al.* (1991) este ensaio é considerado uma ferramenta útil para a avaliação preliminar de toxicidade geral e tem mostrado boa correlação com atividade citotóxica contra tumores sólidos humanos.

1.3.4 A espécie *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *Cebil* (Griseb.) Von Reis Alt.

Anadenanthera colubrina (Vell.) Brenan var. *Cebil* (Griseb.) Von Reis Alt., conhecida popularmente como angico, angico-de-carço, angico-vermelho, angico-do-campo, angico-preto, arapiraca, curupaí e angico-de-casca, é uma árvore de caule tortuoso e inerme de 13 até 20 m de altura (Figura 1). Sua casca é vermelha, grossa, muito rugosa e fendida, folhas compostas, folíolos rígidos, flores brancas dispostas em capítulos globosos, fasciculados, axilares; fruto vagem achatado, até 32 cm de comprimento [LORENZI, 1998, CORRÊA, 1984].

Fornece madeira vermelho-escura, compacta, não elástica, rija, pesada (densidade 1,07 g/cm³), de grande durabilidade, própria para construção naval e civil, dormentes, marcenaria, carpintaria, lenha e carvão [LORENZI, 1998, CORRÊA, 1984].

A casca é rica em taninos e uma das mais empregadas pelos nossos curtumes; dela exsuda abundante goma-resina com aplicações industriais e medicinais, podendo-se destacar a sua aplicação no combate a bronquites [LORENZI, 1998, CORRÊA, 1984].

Tem as sinonímias apresentadas no capítulo 1 (Item 1.3.1) e ocorre do Maranhão até São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso de Sul. Floresce exuberantemente todos os anos durante os meses de setembro a novembro, o que a torna muito ornamental e própria para arborização de parques e praças. Os frutos (vagens) amadurecem de agosto a setembro [LORENZI, 1998].



Figura 1. Fotografia da árvore, folhas, flores, vagens, frutos, casca e madeira de um exemplar de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *Cebil* (Griseb.) Von Reis Alt. [LORENZI, 1998]

1.4 Madeira de lei

A madeira é um material que apresenta algumas propriedades úteis, tais como: energética, medicinal, química, alimentícia e especialmente madeireira, que desde os primórdios da humanidade, fizeram-na destacar-se no desenvolvimento da civilização [LEPAGE *et al.*, 1970].

A expressão “madeira de lei” tem origem em uma lei do período imperial que incumbia aos juízes de paz das províncias, a fiscalização das matas e zelar pela interdição do corte das madeiras de construção em geral [PEREIRA, 1950]. Esta expressão chegou até nossos dias ainda como sinônimo de madeira de construção civil e naval, ou seja, madeira dura ou rija, própria para construções e trabalhos expostos às intempéries. O contrário de madeira de lei é madeira-branca que se refere à qualquer essência florestal de textura mole, e de segunda qualidade, seja qual for a cor do seu lenho.

1.5 Composição química da madeira

Os principais constituintes da parede celular da madeira (Figura 2) são de natureza polimérica como celulose (30-50%), hemicelulose (20-30%) e lignina (20-40%). Os componentes orgânicos de baixo peso molecular, comumente chamados de extrativos, são menos abundantes (3-10%) e de natureza química variada [RICHTER & BURGER, 1978]. A parte inorgânica é sumariamente obtida como cinzas que apresenta conteúdo inferior a 1% em madeiras oriundas de zonas temperadas, e um conteúdo superior (até 5%) em madeiras de zonas tropicais [BRITO, 1981].

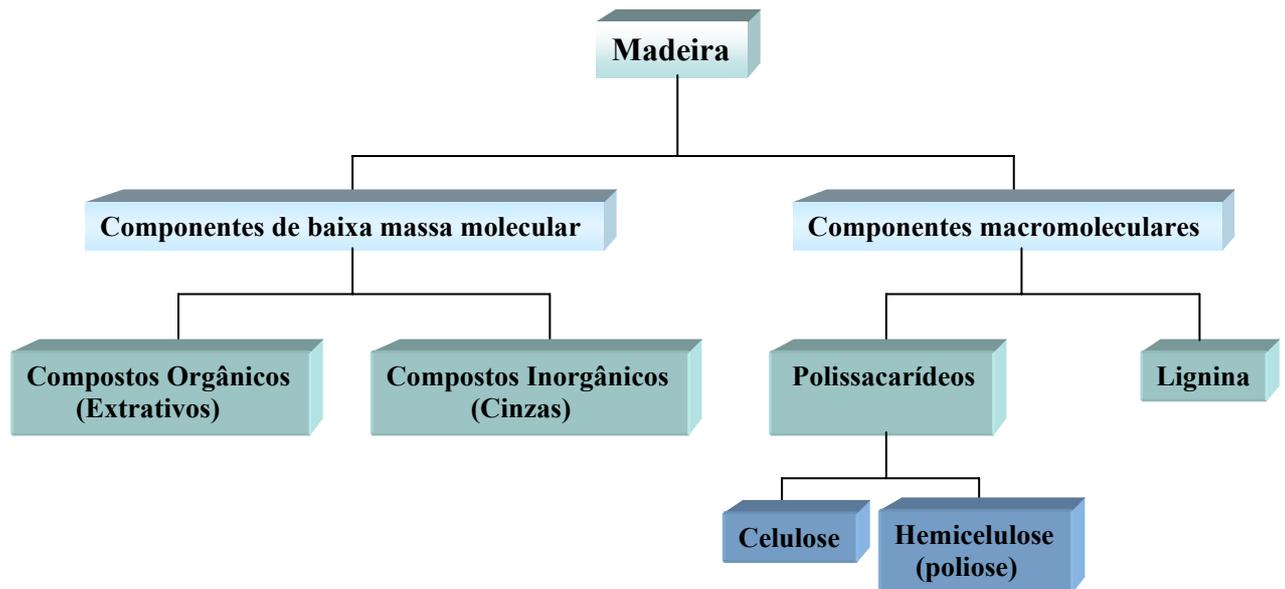


Figura 2. Esquema geral da composição química da madeira

A composição química e a quantidade de cada componente da parede celular variam dependendo da espécie, da zona de onde é retirada a amostra, do estado de maturação e de fatores ambientais (solo, clima, etc.). Outro fator de discrepância entre os diferentes valores pode estar relacionado com a utilização de diferentes métodos de determinação dos componentes [PASCOAL *et al.*, 1997; SJÖSTRÖM, 1993].

1.5.1 Polissacarídeos

Os polissacarídeos, juntamente com a lignina, são responsáveis pela estrutura de suporte das paredes celulares, e são constituídos por dois tipos de polímeros (celulose e hemicelulose), conjuntamente designados por holocelulose.

A celulose, constituinte maioritário do lenho, é constituída por cadeias lineares de unidades de β -D-glucopiranosose, em conformação de cadeira, unidas por ligações glucosídicas $\beta(1-4)$ (Figura 3) [SJÖSTRÖM, 1993].

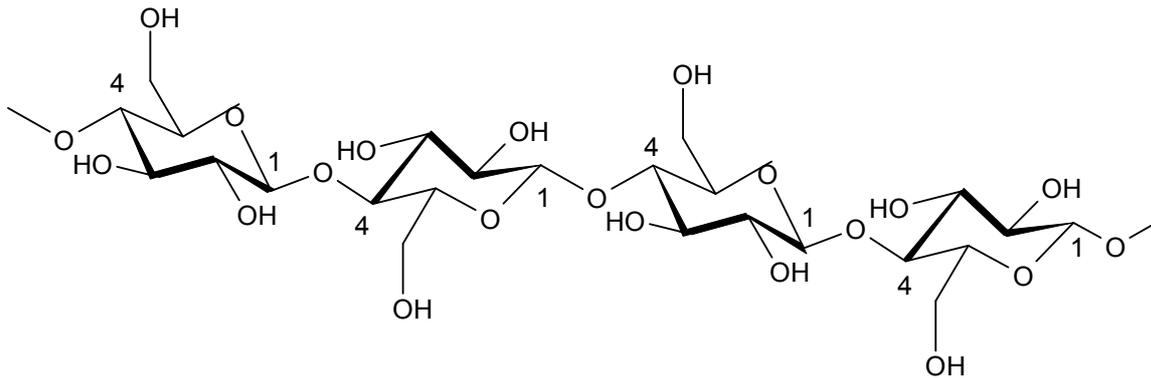


Figura 3. Estrutura da celulose (1→4 β-D-glucopiranosose)

As moléculas de celulose têm uma forte tendência para formar ligações de hidrogênio intra e intermoleculares [SJÖSTRÖM, 1993], as quais influenciam a morfologia, rigidez, orientação e resistência das cadeias [GARCIA, 2003].

As hemiceluloses são heteropolissacarídeos que, como a celulose, têm a função de suporte nas paredes celulares, além de desempenharem funções na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas [GARCIA, 2003; SJÖSTRÖM, 1993]. São constituídas por diferentes tipos de açúcares formando cadeias mais curtas e com ramificações. Como possuem baixo grau de polimerização, tornam-se relativamente fáceis de serem hidrolisadas por ácidos. Os açúcares presentes podem ser divididos em diferentes grupos, como pentoses (D-xilose, L-arabinose), hexoses (D-glucose, D-manose, D-galactose), ácidos hexurônicos (ácido 4-O-metilglucurônico e ácido D-galacturônico) e desoxiexoses (L-ramnose e fucose) [PINTO, 2000].

1.5.2. Lignina

Depois da celulose, a lignina é o polímero mais abundante e importante na madeira, estando as suas funções relacionadas com a proteção contra microorganismos, insetos, agentes abióticos (umidade, temperatura elevada, luminosidade excessiva), além de manter as células unidas e desempenhar um importante papel no transporte de metabólitos, nutrientes e água na planta. A associação entre a lignina e os polissacarídeos confere rigidez e resistência

estrutural à parede celular dos tecidos vegetais [SJÖSTRÖM, 1993]. A quantidade, localização e estrutura da lignina numa planta são muitas vezes considerada como o fator base para definir a aplicabilidade da madeira [KLOCK *et al.*, 2005].

A lignina é biosintetizada nos tecidos das plantas pelo acoplamento oxidativo de derivados do álcool cinâmico, principalmente os álcoois coniferílico, sinapílico e *p*-cumarílico, mostrados na Figura 4. Esses álcoois, denominados monolignóis, possuem diferenças nos grupos substituintes e são os respectivos precursores primários das unidades conhecidas como guaiacila (G), siringila (S) e *p*-hidroxifenila (H) [GARCIA, 2003].

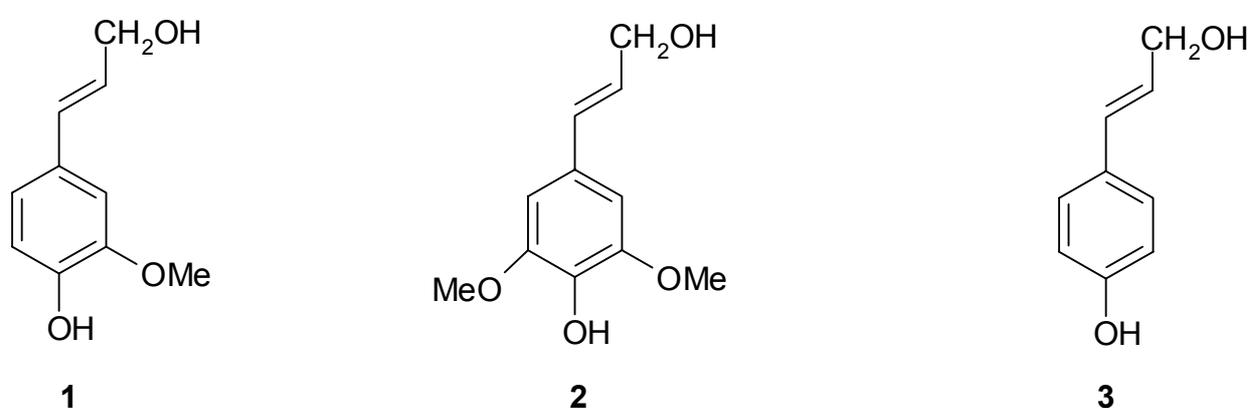


Figura 4. Principais precursores da lignina: 1. álcool coniferílico, 2. álcool sinapílico, 3. álcool *p*-cumarílico

Diferentes tipos de ligações entre as unidades derivadas de fenilpropanoides podem ser formadas dependendo da posição do elétron livre nos dois radicais que são acoplados, nela os substituintes no anel aromático são indicados por um R. No caso de resíduos H ambos os substituintes são hidrogênios, enquanto que em resíduos do tipo G os átomos de carbono C-3 apresentam um grupo metoxila, e nos resíduos S ambos os átomos de carbono C-3 e C-5 contêm metoxilas.

A ligação mais comum na lignina é a β -O-4 (Figura 5). Outros tipos de acoplamento incluem: 5-O-4', β -1, 5-5', β - β ', β -5, e a ligação dibenzodioxocina [BRUNOW *et al.*, 1999]. As ligações envolvendo carbono β são favorecidas enquanto as

ligações 5-5' e 5-O-4' estão presentes apenas em pequenas quantidades, e tendem a ser originados a partir de oligômeros já formados ao invés da adição de novos radicais monolignóis [RALPH *et al.*, 2004].

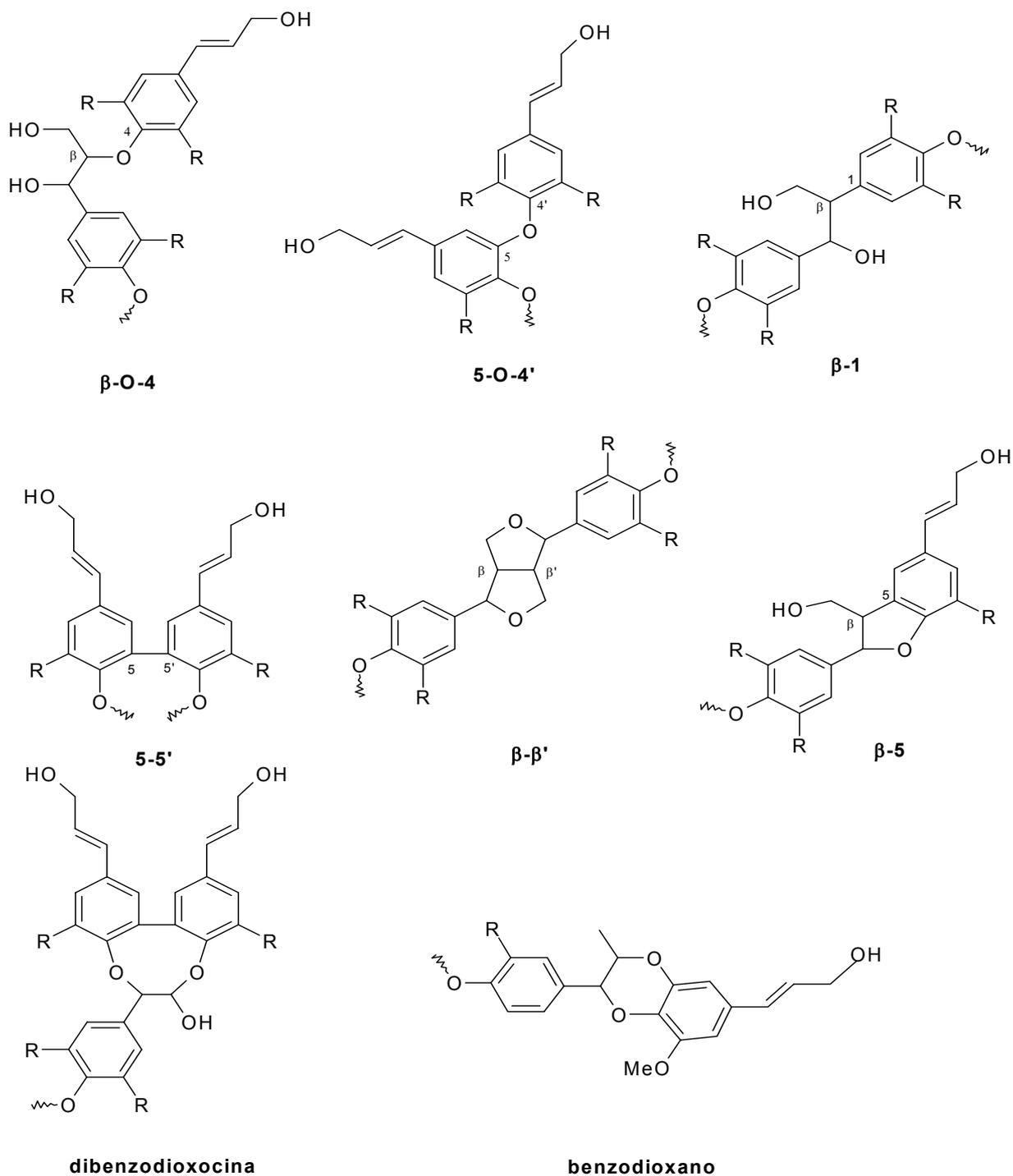


Figura 5. Possíveis ligações entre as unidades fenilpropanoides em ligninas

A ligação benzodioxano foi identificada em plantas que acumulam quantidades substanciais de álcool 5-hidroxiconiferílico como resultado da diminuição da atividade da enzima ácido caféico-O-metiltransferase. Esta é uma união singular entre duas unidades envolvendo uma ligação β -O-4' e uma α -O-5' [RALPH *et al.*, 2004].

1.5.3. Componentes de baixa massa molecular

Estes componentes estão presentes numa proporção muito menor que os outros constituintes, mas têm grande influência nas propriedades da madeira. Estes pertencem a diferentes classes de compostos químicos mas, simplificando, podem-se dividir em dois tipos: orgânicos e inorgânicos [KLOCK *et al.*, 2005].

1.5.3.1. Componentes Orgânicos (Extrativos)

Os extrativos existem na madeira em menor proporção que os outros constituintes, no entanto, compõem uma extraordinária diversidade de compostos como terpenos, esteroides, ácidos e ésteres graxos, flavonoides, taninos, etc.

Consistem de compostos orgânicos tanto lipofílicos como hidrofílicos, que não formam parte da parede celular e que podem ser extraídos com solventes orgânicos [SJÖSTRÖM, 1993].

- **Substâncias alifáticas**

A fração extraída com solventes apolares e de média polaridade como hexano, clorofórmio e diclorometano, inclui compostos alifáticos tais como alcanos (C16 a C24), álcoois (C20 a C26), ceras (ésteres de álcoois alifáticos) e ácidos graxos esterificados e livres, saturados ou insaturados (Figura 6). Os ácidos graxos mais abundantes e mais importantes na madeira têm entre 16 a 24 átomos de carbonos [SJÖSTRÖM, 1993].

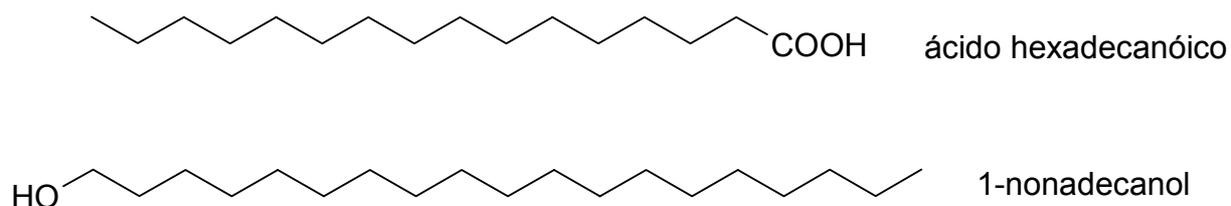


Figura 6. Estruturas de alguns compostos alifáticos presentes na madeira

- **Terpenoides e esteroides**

Os terpenos formam uma família ampla e estruturalmente diversificada de produtos naturais, sendo derivados da união de unidades isoprênicas (C_5) (Figura 7). Desta maneira, são classificados de acordo com o número de tais unidades em: monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), sesterpenos (C_{25}), triterpenos (C_{30}), carotenoides (C_{40}) e borracha (C_5)_n [MANN, 1986; DEWICK, 1997].

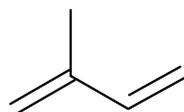


Figura 7. Estrutura do isopreno

Os terpenoides são terpenos substituídos com mais de um grupo funcional, predominantemente oxigenado, como: -OH, -OR, -OAc, -COOH, -COOR, =O [MAHATO & KUNDU, 1994].

A composição química do óleo volátil ou “essencial” das madeiras resinosas contém um grande número de monoterpenos e seus derivados hidroxílicos, assim como pequenas quantidades de sesquiterpenos (Figura 8) [SJÖSTRÖM, 1993].

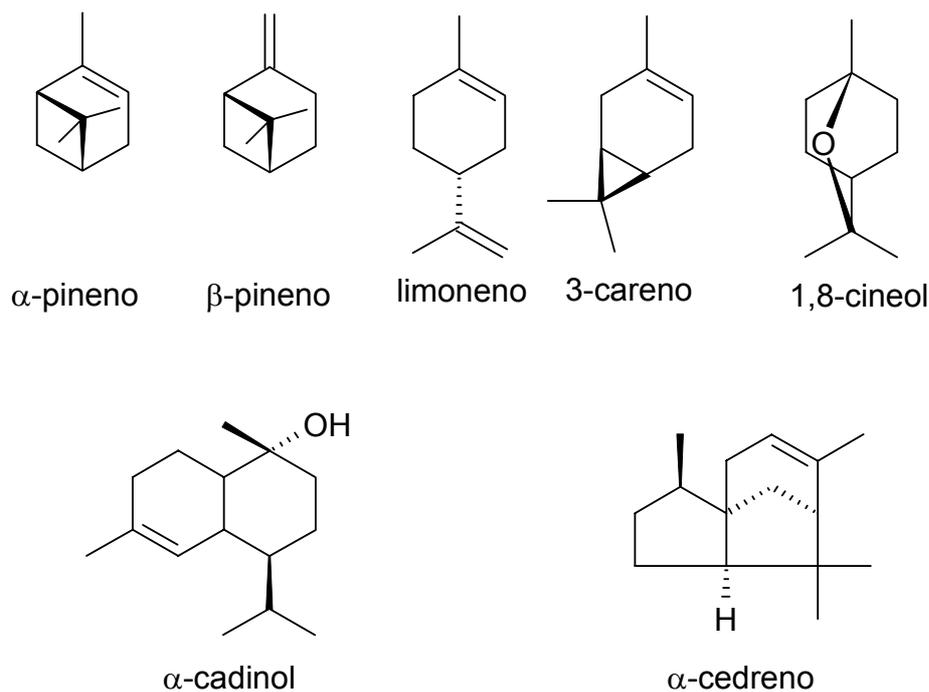


Figura 8. Exemplos de monoterpenos (C_{10}) e sesquiterpenos (C_{15})

Os triterpenoides constituem um dos maiores grupos de compostos naturais; as plantas madeireiras possuem mais de 1500 estruturas químicas com cerca de 40 tipos de esqueletos distintos. A maioria destes compostos possui um sistema pentacíclico com um grupo hidroxila ou carbonila no átomo de carbono C-3, que pode surgir tanto na forma livre como esterificada. A Figura 9 mostra a estrutura do ácido arjunólico (triterpeno) encontrado na madeira de *Terminalia fagifolia* [GARCEZ *et al.*, 2006].

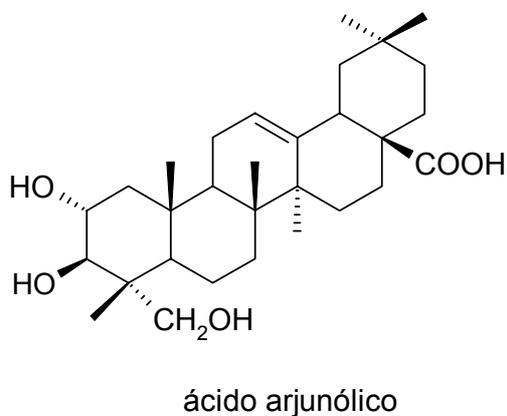


Figura 9. Exemplo de triterpeno pentacíclico

Os triterpenos pentacíclicos são frequentemente encontrados na forma de saponinas triterpênicas. Saponinas são glicosídeos que, até mesmo em baixas concentrações, produzem uma espuma em solução aquosa em virtude de suas propriedades surfactantes [DEWICK, 1997].

Os esteroides das plantas, também designados por fitoesteroides (Figura 10), têm a mesma origem biossintética dos triterpenoides, possuindo um esqueleto tetracíclico, com um número de carbonos que varia entre 28-32, grupos funcionais como hidroxila e uma cadeia lateral de comprimento variável em C-17. Podem também conter alguns grupos metila, carbonila e insaturações em diversas posições. Estes compostos podem ser encontrados nas plantas na forma livre ou esterificados com ácidos graxos, ou ainda formar glicosídeos com diversos açúcares, sendo, geralmente, o β -D-glucopiranosídeo o mais abundante [DEWICK, 1997].

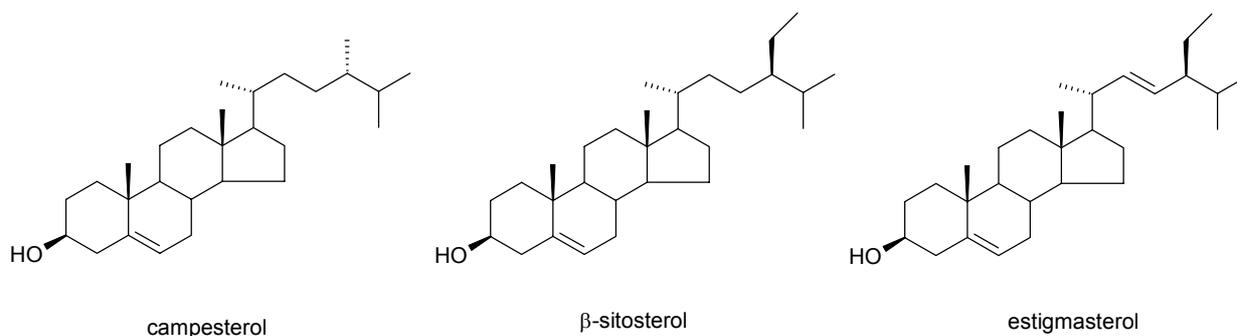


Figura 10. Estrutura de alguns esteroides comuns no reino vegetal

- **Compostos fenólicos**

A expressão “compostos fenólicos” abrange uma vasta gama de substâncias orgânicas com uma variedade de funções no crescimento, desenvolvimento e defesa das plantas, a qual pode ser dividida nos seguintes grupos [VERMERRIS & NICHOLSON, 2006]:

➤ **Fenóis simples e ácidos fenólicos** (derivados dos ácidos benzóico e cinâmico): o fenol é o composto mais simples desta família. Os derivados do ácido benzóico (C6-C1), como o ácido vanílico e os seus aldeídos correspondentes são

componentes comuns de muitas plantas. Os ácidos podem estar presentes como glicosídeos, ésteres ou na forma livre. Os quatro ácidos do tipo cinâmico (C₆-C₃), *p*-cumárico, caféico, ferúlico e sinápico, ocorrem principalmente na forma esterificada nas plantas superiores (Figura 11).

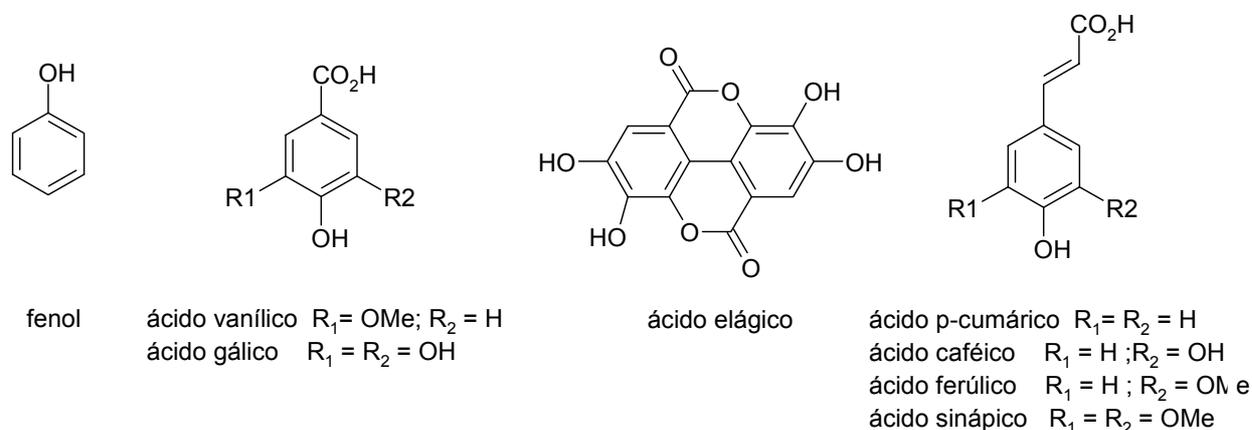


Figura 11. Exemplos de fenóis simples e ácidos fenólicos

➤ **Flavonoides:** Constituem uma das classes de produtos naturais mais diversa e ampla, ocupando uma posição importante entre os fenóis naturais [HARBONE *et al.*, 1975; SIMÕES *et al.*, 2000].

O termo flavonoide engloba um grupo de compostos que apresenta uma estrutura comum caracterizada por 15 átomos de carbono (C₆-C₃-C₆), em dois anéis aromáticos ligados por uma cadeia de três carbonos (acíclica ou heterocíclica) (Figura 12). Esta classe é formada por mais de 4000 compostos fenólicos e inclui vários subgrupos como flavanonas, flavanonóis, flavonas, flavonóis, flavanas, flavanóis, chalconas, diarilpropanóides e outros [HARBONE *et al.*, 1975].

As diferenças entre os subgrupos resultam em modificações na cadeia de três carbonos (entre os dois anéis aromáticos) que pode ser: acíclica ou heterocíclica, saturada ou insaturada, podendo ou não apresentar grupos funcionais, tais como –OH ou =O. Já as diferenças individuais dentro de cada subgrupo resultam de uma variação no número e posição dos grupos hidroxila, pelo grau de metilação, glicosilação e prenilação.

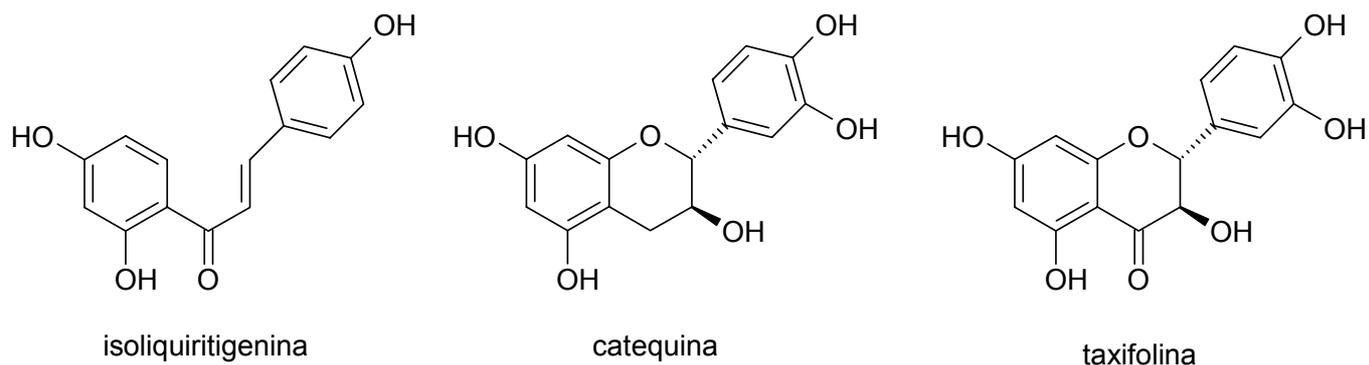


Figura 12. Exemplos de flavonóides

➤ **Cumarinas e Lignanas:** As cumarinas são lactonas derivadas do ácido cinâmico (Figura 13). Existem inúmeras cumarinas e muitas desempenham nas plantas um papel na resistência de pragas e doenças, bem como tolerância à luz UV [VERMERRIS & NICHOLSON, 2006].

Lignanas são dímeros ou oligômeros formadas por unidades de fenilpropano (C6-C3), as quais estão ligadas por acoplamento oxidativo (Figura 13). Desempenham um papel como deterrentes de insetos e algumas apresentam propriedades medicinais [VERMERRIS & NICHOLSON, 2006].

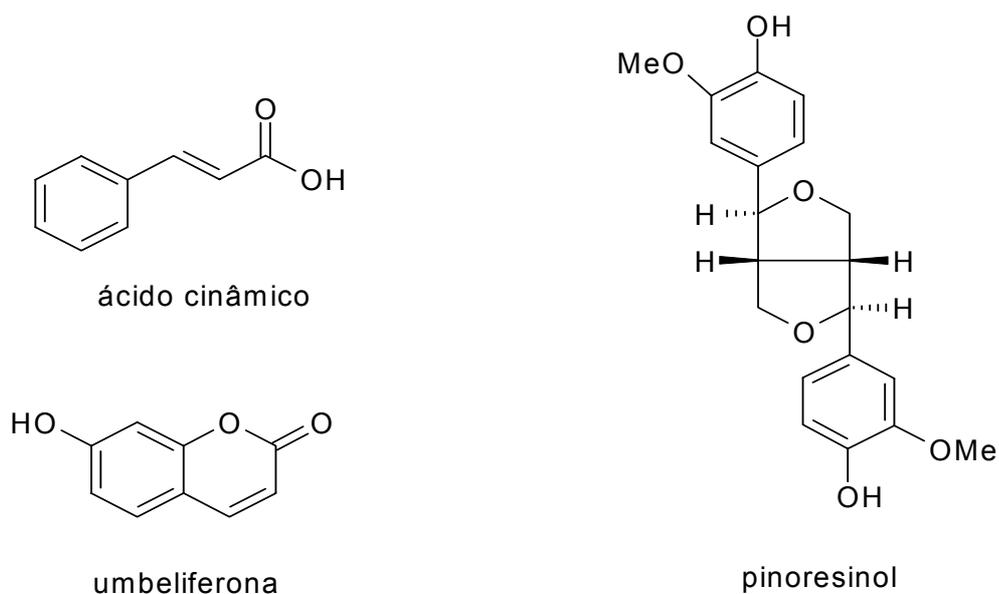


Figura 13. Estrutura do ácido cinâmico e exemplo de cumarina e lignana

➤ **Xantonas e Estilbenos:** Xantonas têm uma estrutura C6-C1-C6 enquanto estilbenos apresentam uma estrutura C6-C2-C6. As xantonas constituem uma classe importante de compostos fenólicos encontrados em plantas superiores, sendo restritas a algumas famílias vegetais. Estilbenos possuem um sistema de ligações duplas conjugadas, sendo que a maioria dos compostos isolados de fontes naturais apresenta configuração *trans* (E). Esta classe é pequena, porém constitui um importante grupo de produtos naturais encontrados na madeira (Figura 14) [VERMERRIS & NICHOLSON, 2006].

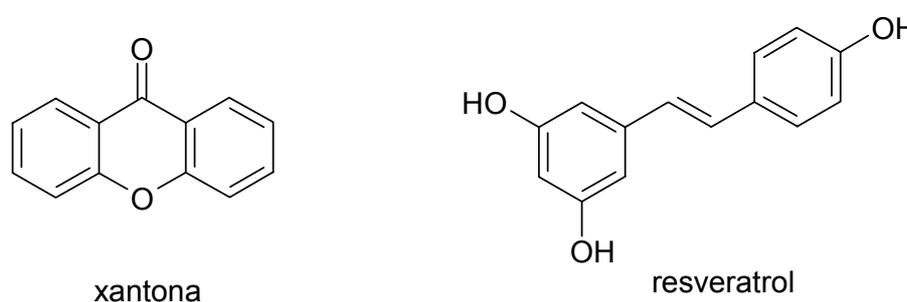


Figura 14. Exemplo de xantona e estilbeno

➤ **Taninos:** São compostos oligoméricos ou poliméricos, com múltiplas unidades estruturais com grupos fenólicos livres, de peso molecular entre 500 e 20000. As estruturas polifenólicas dos taninos são necessárias, mas não requisitos suficientes para classificá-los [KHANBABAEE & van REE, 2001].

Devido à diversidade estrutural dos taninos, criou-se um sistema de classificação baseado nas suas características estruturais e propriedades químicas. A observação de que muitos taninos podem ser fracionados hidroliticamente em seus componentes básicos levou à classificação de tais taninos como “taninos hidrolisáveis”. Os classificados como “taninos condensados” são oligoméricos não-hidrolisáveis e proantocianidínicos poliméricos [SIMÕES *et al.*, 2000; WURDING & WOLLER, 1989].

As estruturas de taninos caracterizados e classificados como **hidrolisáveis** apresentam resíduos galoíla (Figura 15) que podem estar glicosilados, ligados entre si ou a um outro resíduo, através de seus carbonos aromáticos e/ou átomos de oxigênio fenólicos. No entanto, nem todos os taninos apresentam necessariamente uma unidade galoíla ou derivados. Exemplos deste tipo são encontrados nos taninos

denominados **condensados**, que são formados a partir de precursores de flavonoides. Os taninos condensados, construídos por pelo menos duas unidades de catequina, podem alternativamente apresentar os resíduos galoíla ligados através dos carbonos aromáticos ao grupo hidroxila em C-3.

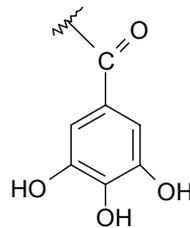


Figura 15. Resíduo galoíla

O termo “taninos hidrolisáveis” inclui tanto os galotaninos (derivados do ácido gálico) como os elagitaninos (derivados do ácido elágico) (Figura 16) [SIMÕES *et al.*, 2000; WEINGES & PLIENINGER, 1999]. No entanto, deve-se mencionar que existem elagitaninos que não são hidrolisáveis, por causa do posterior acoplamento C-C dos seus resíduos polifenólicos com uma unidade poliol (ex. D-glucose), mas que são incluídos no grupo dos hidrolisáveis devido a argumentos históricos.

De acordo com Khanbabaee e van Ree (2001), estes exemplos mostram claramente que a divisão dos taninos em apenas dois grupos, hidrolisáveis e condensados não engloba a diversidade estrutural destas substâncias. Com base nestas características estruturais, foi possível dividir os taninos em quatro grupos maiores (KHANDABAE & van REE, 2001):

- Galotaninos; são todos os taninos em que as unidades galoíla ou derivados são ligadas a diversas unidades poliol-, catequina- ou triterpenoide.
- Elagitaninos; são aqueles taninos em que pelo menos duas unidades galoíla são acopladas C-C mutuamente, e não contém uma unidade catequina ligada glicosidicamente.
- Taninos complexos; são taninos em que uma unidade catequina é ligada glicosidicamente a uma unidade galotanino ou elagitanino.
- Taninos condensados; são todas as proantocianidinas oligoméricas e poliméricas formadas pela ligação do C-4 de uma catequina com C-8 ou C-6 da próxima catequina monomérica.

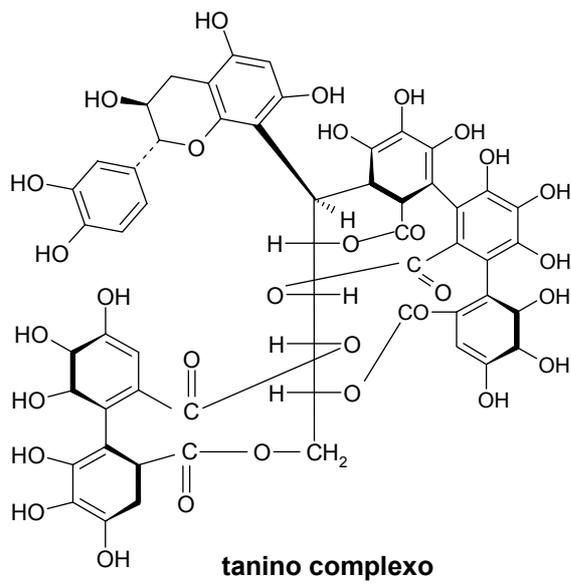
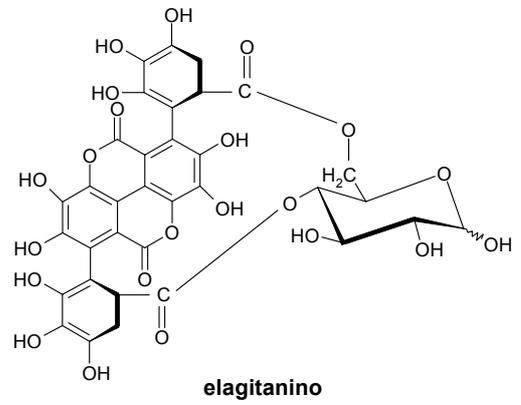
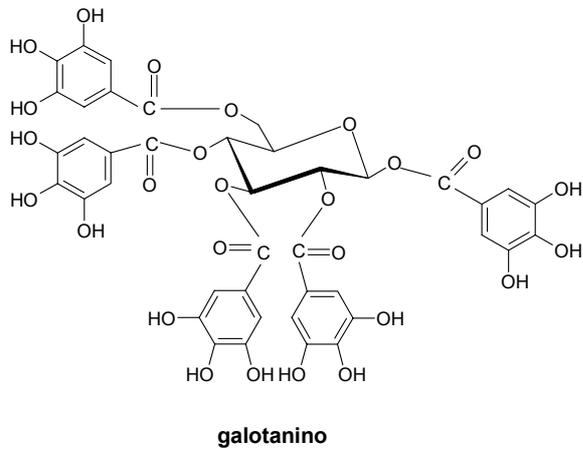


Figura 16. Exemplos de taninos

1.5.3.2. Componentes inorgânicos (Cinzas)

A composição mineral da madeira é obtida através do seu teor de cinzas, o qual é determinado após calcinação da amostra em mufla elétrica a 550-600°C. Fundamentalmente, estes compostos são sais inorgânicos de cálcio, potássio e magnésio, e formam carbonatos, silicatos, oxalatos e fosfatos [KLOCK *et al.*, 2005].

1.6 Biodegradação da madeira

Em virtude da sua estrutura e constituição química, a madeira está sujeita à degradação por organismos que dela se alimentam. No lenho estão presentes substâncias nutritivas que constituem a base alimentar de uma infinidade de organismos, entre os quais, fungos, bactérias, insetos, moluscos e crustáceos. Estes organismos que degradam a madeira são conhecidos como xilófagos [CARBALLEIRA LOPEZ & MILANO, 1986; OLIVEIRA *et al.*, 1986; CAVALCANTE, 1982; HUNT & GARRATT, 1967].

Os cupins (térmitas) e fungos são, indubitavelmente, os organismos que mais causam danos à madeira, e cujo desenvolvimento é favorecido pelas características edafoclimáticas do semi-árido brasileiro (caatinga). As madeiras empregadas no meio rural e urbano em construções, móveis, bem como as utilizadas nos monumentos históricos, são impiedosamente consumidas quando estes organismos nelas se instalam [OLIVEIRA *et al.*, 1986; FINDLAY, 1985; HUNT & GARATT, 1967].

Entre os fungos responsáveis pelo apodrecimento da madeira, destaca-se a classe dos basidiomicetos, na qual se encontram os fungos responsáveis pela podridão-parda e pela podridão-branca, que possuem características enzimáticas próprias, quanto à decomposição dos componentes macromoleculares da madeira.

A podridão branca é causada por fungos com alta capacidade de degradação, uma vez que atacam indistintamente tanto os polissacarídeos quanto a lignina [OLIVEIRA *et al.*, 1986]. Dentre os fungos responsáveis pela podridão branca destaca-se *Phanerochaete chrysosporium*, um basidiomiceto (reprodução sexuada) conhecido

popularmente como orelhas-de-pau, tipo cogumelo, que apresenta a capacidade de degradar a lignina [OLIVEIRA et al., 2005].

O problema dos cupins tem preocupado, sobretudo, os pesquisadores brasileiros. Lelis (1994) estimou, ao se realizar um levantamento em duzentas e quarenta edificações, na cidade de São Paulo no período de 1973 a 1993, um prejuízo de US\$ 3,5 bilhões, causado pelos térmitas. Serpa (1986) constatou também a presença de cupins do gênero *Cryptotermes*, destruindo obras sacras, molduras de quadros, altares, vigas, caibros, ripas e constituintes do madeiramento das coberturas das edificações da cidade histórica de Olinda, em Pernambuco.

Nasutitermes corniger Motschulsky é uma das espécies de cupins mais amplamente distribuídas, sendo encontrada desde o sul do México até o norte da Argentina. No Brasil, *N. corniger* ocorre em praticamente todo o território nacional, sendo inclusive considerado uma praga urbana em diversas cidades do país. Esta espécie é altamente adaptável à colonização em ambientes naturais ou modificados pela espécie humana e consome a madeira em quase toda forma, como madeiras duras e moles, que estão secas, úmidas ou parcialmente decompostas [SCHEFFRAHN et al., 2002; SCHEFFRAHN et al., 2005], e depende de bactérias simbióticas presentes em seu intestino para degradar a lignocelulose [BREZNAK, 1982].

Um dos fatores que limita a ampla utilização da madeira é a sua baixa resistência à degradação. A durabilidade natural da madeira é interpretada pela capacidade que a mesma possui de resistir à ação dos agentes agressores, tanto os biológicos como os físico-químicos, podendo desta forma apresentar alta, média ou baixa resistência à ação desses agentes.

Embora os componentes estruturais da parede celular contribuam para a resistência da madeira [SILVA et al., 2007; BULTMAN et al., 1979], os extrativos como alcaloides, terpenos, taninos e outras substâncias fenólicas, que são nocivas aos organismos xilófagos por apresentarem, isoladamente ou simultaneamente, toxicidade, deterrência alimentar ou repelência, também têm um efeito significativo sobre sua durabilidade [GANAPATY et al., 2004; CABRERA et al., 2001; SIMÕES et al., 2000; CHANG et al., 1999, OLIVEIRA et al., 1986; LELLES & REZENDE, 1986; FINDLAY, 1985, HUNT & GARRATT, 1967].

De acordo com os dados citados na literatura, terpenos (de monoterpenos a triterpenos) têm mostrado propriedades tóxicas, deterrentes alimentares e repelentes

contra organismos xilófagos [LAJIDE *et al.*, 1995; VIEGAS JR, 2003; BLASKE *et al.*, 2003; PARK & SHIN, 2005; WATANABE *et al.*, 2005]. A maioria dos trabalhos publicados refere-se a monoterpenos como substâncias tóxicas e repelentes, enquanto triterpenos são relatados como deterrentes.

A toxicidade de alcaloides aos animais, incluindo insetos é bem conhecida [WINK, 1987]. Um estudo recente realizado com alcaloides obtidos de *Sophora flavescens* (Fabaceae) contra térmitas subterrâneos mostrou elevada toxicidade e forte deterrência alimentar [MAO & HENDERSON, 2007].

Dentre os fenólicos de plantas os flavonoides [SIMMONDS, 2001] e taninos [MONTEIRO *et al.*, 2005] são os deterrentes alimentares mais conhecidos. Quercetina, taxifolina e outros flavonoides foram relatados por impedirem fortemente a alimentação de cupins [REYES-CHILPA *et al.*, 1995; MORIMOTO *et al.*, 2000; OHMURA *et al.*, 2000; CHEN *et al.*, 2004; MORIMOTO *et al.*, 2006]. Além da forte deterrência alimentar, os flavonóides também são conhecidos por sua toxicidade aos térmitas [MORIMOTO *et al.*, 2006] e por inibirem o crescimento de fungos [MALTERUD *et al.*, 1985].

Taninos, devido às suas propriedades de complexar proteínas e inibir várias enzimas digestivas, são considerados fortes adstringentes. A precipitação de proteínas glucosalivares que ocasiona a perda do poder lubrificante, parece ser a principal causa da ingestão reduzida de alimentos em mamíferos herbívoros [MONTEIRO *et al.*, 2005]. Provavelmente, devido à esta capacidade de complexar proteínas e outras macromoléculas, os taninos também apresentam efeitos tóxicos. Ayres *et al.* (1997) verificaram que a rápida mortalidade de insetos tratados com taninos condensados parece ser devido às propriedades tóxicas destes compostos e não pela inibição da digestibilidade.

Alguns pesquisadores assumiram que existe uma relação significativa entre substâncias antioxidantes e a sobrevivência de térmitas e fungos. Ragon *et al.* (2008) hipotetizou que cupins detectam e evitam a madeira que contém extrativos com um nível mínimo de antioxidantes, em função destes interferirem na digestão da lignocelulose pelos simbiossomas dos térmitas. De acordo com Amusant *et al.* (2007), não há dúvidas de que as propriedades antioxidantes e fungicida dos extrativos são os fatores mais importantes que influenciam a durabilidade da madeira.

Os estudos realizados com térmitas são menos numerosos e mais recentes em relação àqueles com fungos xilófagos, em função dos fungos serem considerados os

principais agentes deterioradores da madeira utilizada em contato com o solo. No entanto, madeiras empregadas em batentes de portas, janelas, lambris, assoalhos, forros e escadas, por estarem em locais protegidos e longe do contato com o solo, estão livres do ataque de fungos, mas não dos insetos [MENDES & ALVES, 1986].

As madeiras de lei são ainda muito procuradas e utilizadas, em virtude de sua elevada durabilidade natural, ou seja, elevada resistência ao apodrecimento e ao ataque de cupins, além de serem pesadas e munidas de um cerne de alta densidade. Entre as madeiras de lei de elevada durabilidade natural mais usadas em peças de sustentação das cercas (mourões), porteiras, batentes de portas e janelas, além de outros usos em construções rurais e urbanas destaca-se a da espécie *A. colubrina* [PAES *et al.*, 2003].

Cientificamente, pouco se conhece a respeito do comportamento real da madeira desta espécie em relação à resistência ao ataque de organismos xilófagos. Um estudo realizado com o objetivo de avaliar a resistência de nove madeiras do semi-árido brasileiro revelou que *A. colubrina* foi resistente, à ação de cupins *Nasutitermes corniger*, de fungos *Pycnoporus sanguineus* (um dos responsáveis pela podridão-branca) e *Gloeophyllum trabeum* (um dos responsáveis pela podridão-parda), bem como frente aos térmitas de madeira seca *Cryptotermes brevis* [PAES *et al.*, 2003; SILVA *et al.* 2007].

O método tradicional de combate aos cupins tem como princípio a utilização de produtos químicos sintéticos. Estes inseticidas, hoje principalmente organofosforados e piretroides, apresentam toxicidade para o homem e outros seres vivos e risco de contaminação ambiental [CABRERA *et al.*, 2001]. Relatos publicados revelaram que muitas madeiras possuem resistência natural à infestação de térmitas, mas somente um número limitado delas foi examinado [GANAPATY *et al.*, 2004].

Por essas razões muitos pesquisadores estão direcionando suas pesquisas para a separação e identificação de extrativos de algumas madeiras duráveis e avaliando suas bioatividades em busca de compostos naturais como alternativas no controle de térmitas [CHENG *et al.*, 2007; PARK *et al.*, 2005; WATANABE *et al.*, 2005; GANAPATY *et al.*, 2004; CHANG & CHENG, 2002; CABRERA *et al.*, 2001; CHANG *et al.*, 2001; CHANG *et al.*, 1999; CARTER, 1978].

Assim, o conhecimento das substâncias químicas produzidas pelo vegetal que são tóxicas aos organismos xilófagos é de grande importância para a indústria de produtos químicos utilizados no tratamento de madeiras de baixa durabilidade a fim de

imunizá-las contra deterioração biológica, evitando, desta forma, os gastos desnecessários com a reposição de peças deterioradas e reduzindo os impactos sobre as florestas remanescentes.

2. JUSTIFICATIVA/OBJETIVOS

Tendo em vista todas as informações supracitadas aliadas à importância de estudar espécies do bioma caatinga como *Anadenanthera colubrina*, justifica-se a sua investigação química, bem como a avaliação da atividade biológica dos seus extratos e compostos obtidos.

Assim, o presente trabalho teve como objetivos:

GERAL

A busca de constituintes químicos biologicamente ativos de madeiras de lei ocorrentes na caatinga.

ESPECÍFICOS

- Investigar a composição química da madeira de um espécime de *Anadenanthera colubrina* (Fabaceae-Mimosoideae), visando o isolamento e elucidação estrutural de seus metabólitos secundários.
- Testar os extratos e os constituintes químicos obtidos quanto às suas atividades antifúngica frente ao fungo *Phanerochaete chrysosporium*, antitermítica frente à espécie de cupins *Nasutitermes corniger* e sequestradora de radicais livres
- Comparar os resultados com os obtidos da madeira de *Delonix regia* (Fabaceae-Caesalpinoideae) não resistente ao ataque de organismos xilófagos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta do material vegetal

Anadenanthera colubrina foi coletada na Fazenda Jatobá, localizada na cidade de Serra Talhada em Pernambuco. A planta foi identificada pela Profa Dra. Suzene Izídio da Silva (Universidade Federal Rural de Pernambuco). Uma exsicata foi depositada no herbário da referida universidade sob o número PE UFR-49643. Um galho de 20 cm de diâmetro e 100 cm de comprimento foi seco à temperatura ambiente, descascado e posteriormente moído.

3.2 Determinação de Lignina Insolúvel

A determinação de lignina insolúvel, ou lignina de Klason (LK), foi realizada de acordo com a metodologia da TAPPI (1999).

Pequena quantidade da madeira moída (1g) foi extraída com cicloexano em sistema de Soxhlet por 4 horas. Posteriormente o mesmo procedimento foi repetido utilizando etanol. Em seguida, a madeira seca foi transferida para um béquer de 150 mL contendo 100 mL de água destilada, o qual foi tampado com um vidro de relógio e deixado em banho-maria em ebulição por 3 horas.

Após filtração e secagem, a madeira (resíduo) foi tratada com 15 mL de H₂SO₄ 72%, controlando-se a temperatura para 13°C ±2°C, a partir da adição do ácido sulfúrico. Depois disto o sistema foi coberto por um vidro de relógio e deixado sob agitação magnética vigorosa mantendo-se a temperatura controlada a 19°C ± 2°C, por 2 horas.

A mistura ácida resultante foi diluída para 3% adicionando-se 560 mL de água destilada e mantida sob refluxo por 4 horas. Após esse período, a solução foi deixada em repouso, para sedimentar o material insolúvel (lignina), que foi filtrado e colocado para secar em estufa a 105°C ±2°C até peso constante. A lignina seca foi transferida para dessecador, para então ser pesada em balança analítica.

Três repetições foram realizadas e a quantificação da lignina insolúvel foi determinada usando-se a equação 1.

$$L_i\% = \left[\frac{M_{lg}}{M_f} \right] \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

$L_i\%$ - Percentual de lignina insolúvel na madeira em %;

M_{lg} – Massa de lignina insolúvel seca em g;

M_f – Massa da madeira seca, em g.

3.3 Determinação de Lignina Solúvel

300 mg da madeira foi extraída com cicloexano em sistema de Soxhlet por 4 horas e em seguida com etanol. Foram adicionados 3 mL de H_2SO_4 75% à madeira sem extrativos mantendo-se sob agitação magnética por 1 minuto.

A amostra foi transferida para banho-maria por 60 minutos a $\pm 30^\circ C$. Em seguida foi colocada em erlenmeyer de 250 mL e diluída para 4% pela adição de 84 mL de água deionizada. A amostra foi transferida para autoclave vertical - Phoenix (Araraquara –SP), a $121^\circ C$ durante 30 minutos.

Em seguida, a amostra foi filtrada e sua absorbância registrada em um espectrofotômetro a 280 nm. O experimento foi realizado em triplicata e o cálculo da lignina solúvel foi determinado através das equações a seguir (Equações 2 e 3) que relacionam a medida da absorbância para cada amostra as suas respectivas concentrações [ASTM METHODS, 1956].

$$C_{LS} = (41,87 \times A_{bs280} - 0,3279) \times 10^{-3} \text{ g.L}^{-1} \quad (\text{Equação 2})$$

$$L_s\% = \left[\frac{C_{LS}}{M_i} \right] \times 1000 \quad (\text{Equação 3})$$

Em que:

C_{LS} – Concentração de lignina solúvel em g.L^{-1} ;

A_{bs} – Absorbância da amostra a 280 nm;

$L_s\%$ - Percentual de lignina solúvel nas amostras;

M_i – Massa inicial da madeira em g.

3.4 Determinação do Teor de Extrativos e Fenóis Totais

Na etapa de determinação de lignina insolúvel foram realizadas em triplicata duas extrações em aparelho de Soxhlet, a primeira usando cicloexano e a segunda com etanol. Os extratos foram concentrados sob pressão reduzida e suas massas obtidas em balança analítica.

O rendimento dos extratos obtidos foi determinado através da equação 4.

$$\text{Ext}\% = \left[\frac{M_{ms}}{M_f} \right] \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Em que:

Ext % - Percentual de metabólitos secundários extraídos;

M_{ms} – Massa dos extrativos secos em g;

M_f – Massa inicial da madeira seca contendo os extrativos em g.

Para a determinação de fenóis totais foi utilizada a metodologia descrita na literatura por Waterman e Simon (1994). Desta forma, a 1g da madeira foi adicionado 30 mL de MeOH/H₂O (na proporção 8:2 v/v). A mistura foi deixada em repouso por 24 horas em ambiente escuro e em seguida foi filtrada. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida até a eliminação de todo o metanol. Em seguida, separou-se uma alíquota de 50 µL do extrato e adicionou-se 25 mL de água destilada. Desta nova solução, transferiu-se uma alíquota de 500 µL para um tubo de ensaio. A este tubo foram adicionados 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu 10% e 2,0 mL de solução aquosa de Na₂CO₃ 7,5%. O branco consistiu em 2,5 mL de Folin-Ciocalteu 10% e 2,0 mL de solução aquosa de Na₂CO₃ a 7,5% com 500 µL de água destilada.

Os tubos de ensaio foram levados a banho-maria a 50°C por 5 min. As amostras foram analisadas imediatamente após o aquecimento em um espectrofotômetro, para a leitura da absorbância a 760 nm. A concentração de fenóis totais foi avaliada através de uma curva padrão de ácido gálico nas concentrações de 0,78; 1,56; 3,125; 6,25; 12,5; 25 e 50 µg/mL. O experimento foi realizado em triplicata e a concentração de fenóis totais foi determinada através da equação da reta mostrada a seguir (Equação 5), obtida da curva padrão do ácido gálico.

$$X = \frac{y - B}{A} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde:

X - Concentração de compostos fenólicos em µg/mL;

Y – Absorbância das amostras a 760 nm;

B – Constante da reta;

A – Coeficiente angular da reta.

3.5 Ensaio fitoquímicos

Neste procedimento foram utilizados testes específicos, segundo a metodologia descrita por Costa (1982), para identificar as principais classes de compostos (Tabela 2) presentes na madeira.

Tabela 2. Testes para identificar as principais classes de compostos presentes nas plantas.

Classes de compostos	Testes
Alcaloides	Dragendorff, Mayer
Esteroides e Terpenos	Liebermann-Buchard
Flavonoides	Shinoda, oxalo-bórica
Saponinas	Espuma
Taninos	Cloreto férrico

3.5.1 Alcaloides

A 1 g da madeira seca e moída foram adicionados 10 mL de H₂SO₄ 1% e, em seguida a mistura foi aquecida em banho-maria a 100 °C por 2 minutos e posteriormente filtrada. Alíquotas do filtrado foram testadas com os reagentes de Dragendorff e de Mayer. Assim, na presença de alcaloides o reagente de Dragendorff

forma um precipitado laranja-avermelhado, enquanto que o reagente de Mayer origina um precipitado branco.

3.5.2 Esteroides e terpenos

Foram adicionados a 1 g de madeira seca e moída 3 mL de clorofórmio e em seguida a mistura foi submetida à filtração. Ao filtrado foi acrescentado 2 mL de anidrido acético e agitado vagarosamente. Posteriormente foi adicionada à solução obtida 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado. O aparecimento sucessivo de cores rosa ao azul e verde caracteriza a presença de terpenos e esteroides.

3.5.3 Flavonoides

Para constatar a presença de flavonoides foram utilizados os seguintes testes:

Teste de Shinoda - Foram adicionados 5ml de MeOH a 1g de madeira seca e moída; a solução obtida foi filtrada e em seguida, adicionado 1ml de HCl concentrado. Esta solução foi deixada reagir com 1cm de fita de magnésio. O aparecimento de uma coloração rosa caracteriza a presença de flavonoides.

Reação oxalo-bórica - Foram adicionados 10 mL de acetona a 1g do material seco e moído. A mistura obtida foi filtrada e concentrada em banho-maria até 0,5ml. Foi adicionado ao concentrado 0,05 mg de ácido oxálico e a mesma quantidade de ácido bórico; esta solução foi então aquecida em banho-maria durante 5 minutos e adicionada a ela 10ml de éter etílico. O aparecimento de fluorescência na luz UV indica a presença de flavonoides.

3.5.4 Saponinas

A 1 g de madeira seca e moída foram adicionados 5 mL de água destilada. A mistura foi agitada vigorosamente durante 5 minutos. A formação de espuma persistente durante 30 minutos caracteriza a presença de saponinas na amostra.

3.5.5 Taninos

Foram adicionados 10 mL de água destilada a 1 g da madeira seca e moída. Posteriormente a mistura foi filtrada e ao filtrado foi gotejada lentamente uma solução de cloreto férrico 1%. O aparecimento de uma coloração ou precipitado verde ou azul indica reação positiva para taninos.

3.6 Obtenção das fases em cicloexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol

A madeira (1943 g) seca e moída de *A. colubrina* foi extraída com 10 L de etanol (4 vezes) à temperatura ambiente.

O extrato etanólico (60,5625 g) obtido foi particionado, após concentração sob pressão reduzida, entre metanol/água 9:1 (300 mL) e 300 mL de cicloexano (3 vezes). A solução hidrometanólica e a fase em cicloexano foram concentradas sob pressão reduzida. Ao primeiro concentrado foram adicionados 300 mL de metanol/água 1:1 e a solução resultante foi submetida à partição com diclorometano (300 mL). Após quatro extrações com diclorometano a solução hidrometanólica resultante foi submetida à extração com 300 mL de acetato de etila (3 vezes) e posteriormente com o mesmo volume de *n*-butanol (2 vezes). As fases em diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol foram concentradas sob pressão reduzida. A metodologia acima descrita está apresentada na figura 17.

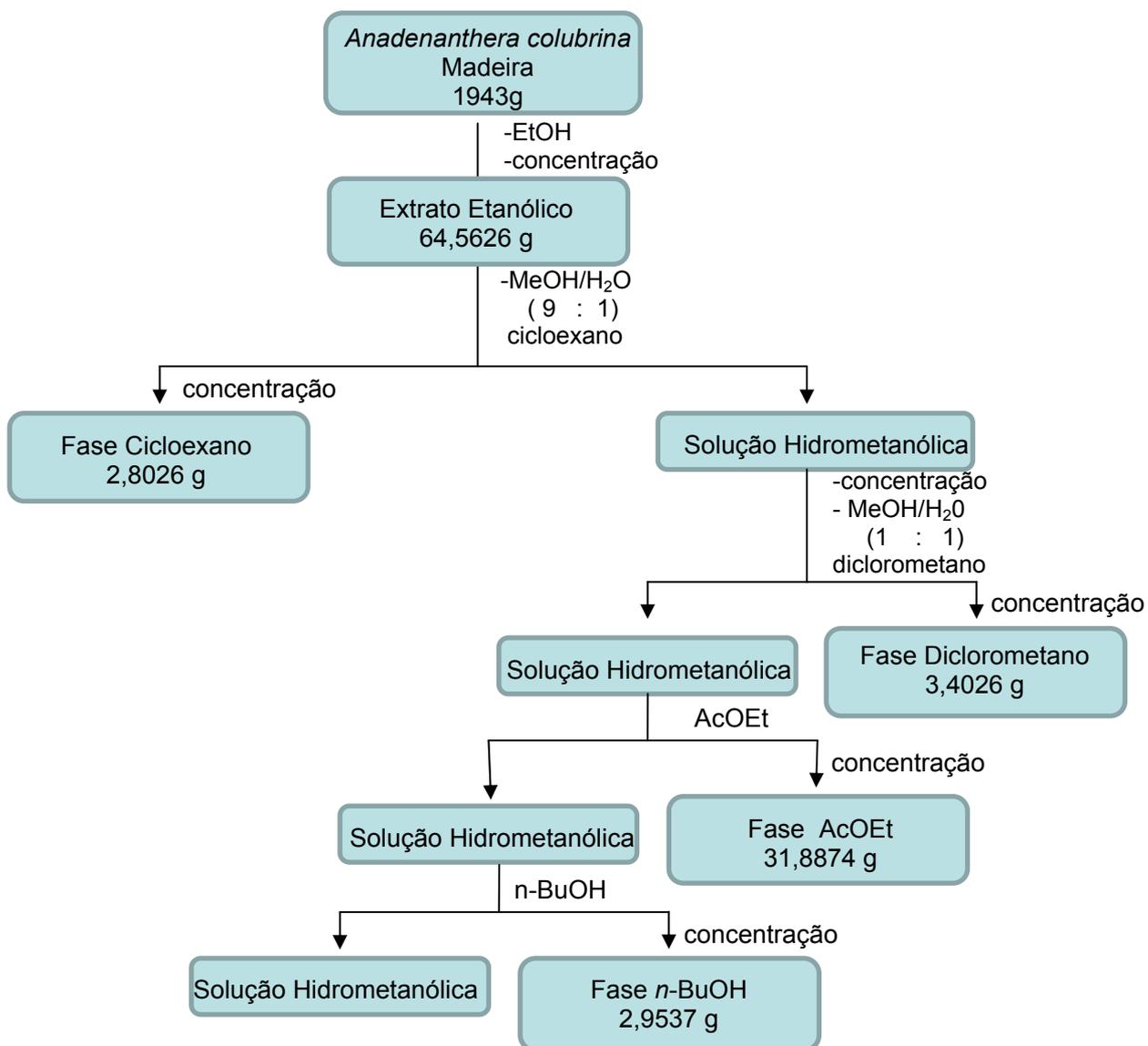


Figura 17. Obtenção das fases em cicloexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol da madeira de *A. colubrina*

3.6.1 Fracionamento da fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

Parte do material presente na fase em cicloexano (2,0 g) foi submetida inicialmente a uma cromatografia em coluna (coluna ACC-A), utilizando-se para tal 120 g de sílica gel 60 (70-230 Mesh). O sistema foi eluído com cicloexano, cicloexano/acetato de etila e acetato de etila em gradiente de polaridade crescente. Foram coletadas 46 frações (Tabela 3) e todas foram analisadas por CCDA seguida de revelação em solução de anisaldeído.

Tabela 3. Fracionamento da fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

ELUENTE	FRAÇÃO	VOLUME (mL)	MASSA (mg)
Cicloexano	ACC-A 1	250	0,5
Cicloexano	ACC-A 2	50	1,9
Cicloexano	ACC-A 3	50	2,0
Cicloexano	ACC-A 4	50	2,0
Cicloexano	ACC-A 5	100	31,6
Cicloexano	ACC-A 6	125	1,2
Cicloexano	ACC-A 7	125	0,2
Cicloexano	ACC-A 8	125	1,7
Cicloexano	ACC-A 9	125	11,8
Cicloexano	ACC-A 10	125	26,95
Cicloexano /AcOEt (19:1)	ACC-A 11	125	33,4
Cicloexano /AcOEt (19:1)	ACC-A 12	125	32,4
Cicloexano /AcOEt (19:1)	ACC-A 13	125	29,3
Cicloexano /AcOEt (19:1)	ACC-A 14	125	25,7
Cicloexano /AcOEt (19:1)	ACC-A 15	125	32,6
Cicloexano /AcOEt (19:1)	ACC-A 16	125	492,9
Cicloexano /AcOEt (19:1)	ACC-A 17	125	229,05
Cicloexano /AcOEt (19:1)	ACC-A 18-20	125	240,3
Cicloexano /AcOEt (9:1)	ACC-A 21-26	125	390,85
Cicloexano /AcOEt (8:2)	ACC-A 27-32	125	83,0
Cicloexano /AcOEt (1:1)	ACC-A 33-35	125	188,3
Cicloexano /AcOEt (1:1)	ACC-A 36-40	125	195,5
AcOEt	ACC-A 41-42	125	94,9
AcOEt	ACC-A 43-46	125	50,7

Em seguida, além da fase em cicloexano, as seguintes frações foram selecionadas para estudo por GC-MS: ACC-A1, ACC-A2, ACC-A4, ACC-A6, ACC-A7, ACC-A8, ACC-A9, ACC-A11, ACC-A12, ACC-A13, ACC-A14, ACC-A15, ACC-A16,

ACC-A17, ACC-A18-20, ACC-A21-26, ACC-A27-32, ACC-A33-35, ACC-A36-40, ACC-A41-42 e ACC-A43-46.

Somente as frações ACC-A16, ACC-A 18-20 e ACC-A 21-26 foram selecionadas para fracionamentos posteriores, uma vez que apresentaram os componentes majoritários dessa fase.

A metodologia utilizada para separação dos componentes das frações ACC-16, ACC-A18-20 e ACC-A21-26 foi, respectivamente, a cromatografia por permeação em gel empregando-se Sephadex LH-20, sílica gel (70-230 Mesh) e (200-400 Mesh, “flash”). Somente na fração ACC-16, na etapa final de purificação, foi realizada recristalização.

A seguir, está esquematizado sob a forma de fluxograma (Figura 18) o fracionamento cromatográfico realizado com estas frações, que levou à obtenção das substâncias **29** e **32**.

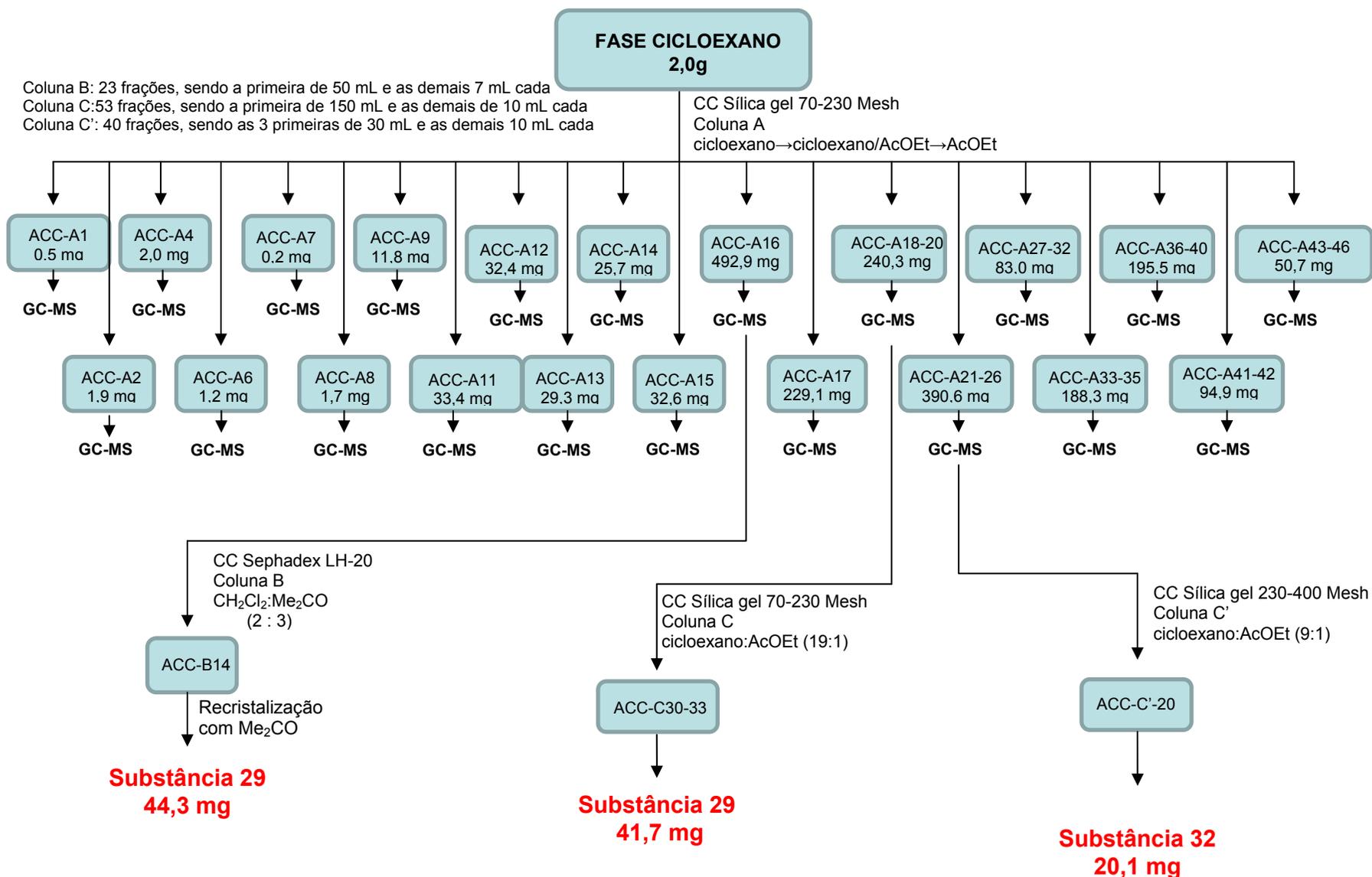


Figura 18. Fracionamento cromatográfico da fase em ciclohexano obtida da madeira de *Anadenanthera colubrina*

3.6.2. Fracionamento da fase em diclorometano da madeira de *A. colubrina*

Uma parte da fase em diclorometano (2,5 g) foi dividida em duas frações e cada uma delas foi submetida ao fracionamento cromatográfico utilizando Sephadex LH-20 (Colunas ACD-A e A'). O sistema foi eluído com CHCl_3 :MeOH (3:2) e foram coletadas 21 frações em cada coluna. Todas as frações obtidas foram analisadas por CCDA seguida de revelação em solução de anisaldeído.

Tabela 4. Fracionamento da fase em diclorometano da madeira de *A. colubrina*

ELUENTE	FRAÇÃO	VOLUME (mL)	MASSA (mg)
CHCl_3 /MeOH (3 : 2)	ACD-A1	50	7,7
	ACD-A2	30	334,0
	ACD-A3	15	770,6
	ACD-A4	10	251,3
	ACD-A5	10	111,2
	ACD-A6	10	135,6
	ACD-A7	10	83,7
	ACD-A8	10	76,5
	ACD-A9	10	81,0
	ACD-A10	10	143,5
	ACD-A11	10	129,1
	ACD-A12	10	39,2
	ACD-A13	10	102,5
	ACD-A14	10	69,4
	ACD-A15	10	19,8
	ACD-A16	10	5,8
	ACD-A17	50	7,1
	ACD-A18	30	6,8
	ACD-A19	15	5,0
	ACD-A20	10	4,6
	ACD-A21	10	3,4

Visando-se o isolamento de flavonóides, foi estabelecida uma ordem de prioridade para a purificação de algumas frações agrupadas, partindo-se daquelas que indicaram conter, através da análise por CCDA, grande concentração de substâncias aromáticas e apresentavam uma quantidade de amostra suficiente para prosseguir

com o trabalho de isolamento. As frações ACD-A 2-9 foram analisadas por GC-MS e mostraram composição química semelhante à da fase em cicloexano.

Desta forma, foram selecionadas para fracionamentos cromatográficos as frações ACD-A10-12 e ACD-A 13-15. A metodologia utilizada para separação dos componentes destas frações, as quais levaram à obtenção das substâncias **40**, **41**, **42** e **43**, foi a cromatografia em coluna de sílica gel (70-230 Mesh) e de Sephadex LH-20 (Figura 19).

Coluna B: 65 frações, sendo a primeira de 70 mL e as demais de 10 mL cada
 Coluna C: 21 frações, sendo a primeira de 30 mL e as demais de 5 mL cada
 Coluna E: 60 frações, sendo a primeira de 100 mL, da segunda a quinta de 50 mL e as demais de 10 mL

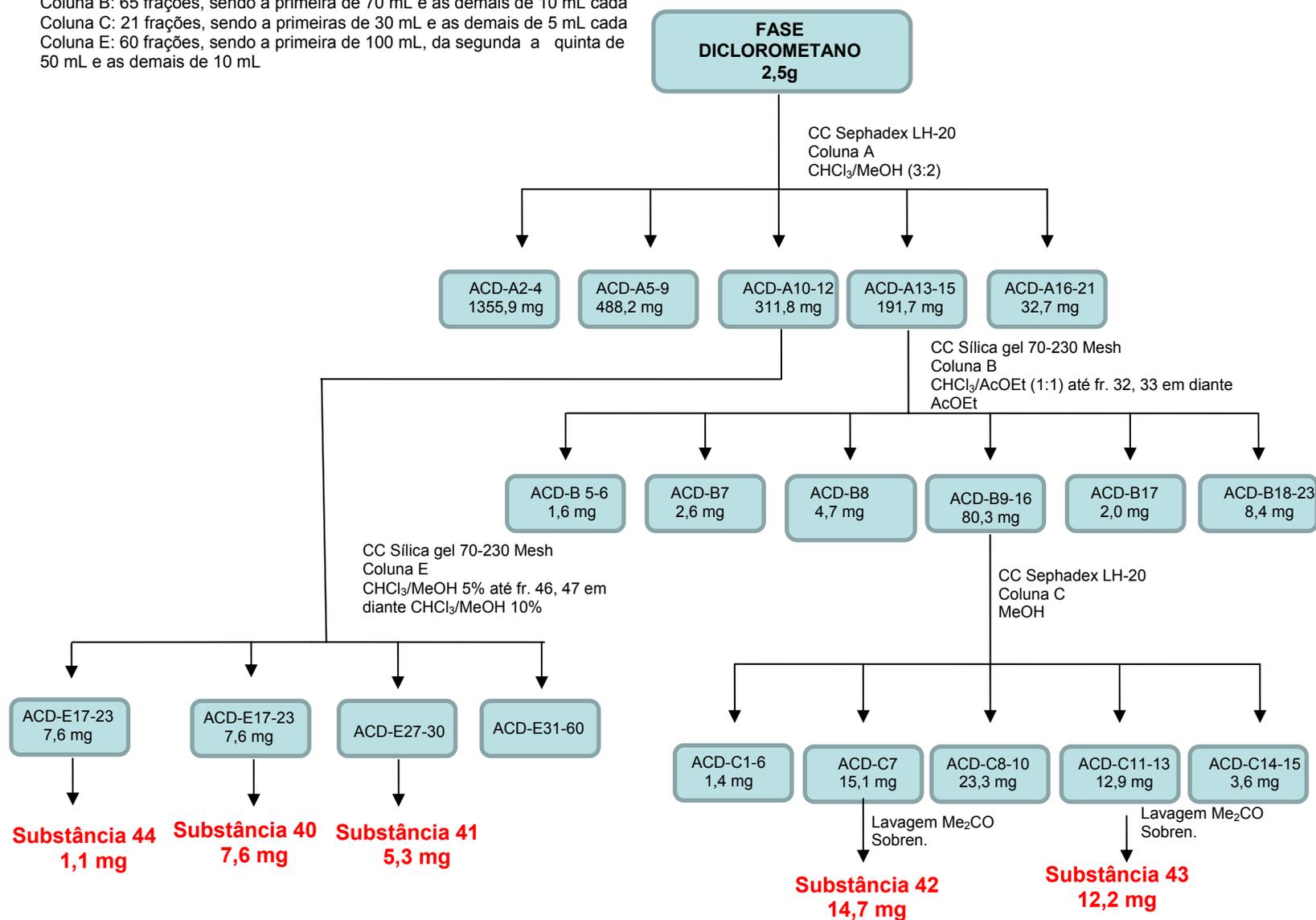


Figura 19. Fracionamento cromatográfico da fase em diclorometano obtida da madeira de *Anadenanthera colubrina*

3.6.3. Fracionamento da fase em acetato de etila da madeira de *A. colubrina*

Partindo-se de 30 g da fase em acetato de etila foi iniciado o seu fracionamento utilizando-se coluna de sílica gel 60 (70-230 Mesh, 400 g) (Coluna ACA-F). O sistema foi eluído com clorofórmio/acetato de etila, acetato de etila, acetato de etila/metanol e metanol. Foram coletadas 40 frações (Tabela 5) e todas foram analisadas por CCDA utilizando-se clorofórmio/etanol/ácido acético (70:20:3) como fase móvel e solução de anisaldeído para revelação.

Em função do resultado obtido da análise por CCDA e da grande quantidade de amostra, a fração ACA-F 17 foi a primeira selecionada para purificação cromatográfica. Com o objetivo de isolar seus constituintes majoritários, esta fração foi dividida em duas partes, sendo a primeira submetida à cromatografia em permeação em gel utilizando-se Sephadex LH-20 (Coluna G) (Figura 20). Em virtude da ausência de bons resultados, a outra parte foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel (70-230 Mesh) (Coluna G'). Apesar da grande retenção de compostos na coluna e da dificuldade na secagem das frações obtidas, a segunda fase estacionária mostrou-se mais eficiente na separação dos constituintes da fração ACA-F 17 do que a primeira.

Devido à alta polaridade do material, a fração ACA-G'13 foi acetilada para facilitar o isolamento de seus constituintes em sílica gel, no entanto não houve resultados satisfatórios.

As frações ACA-F 3-15 não foram trabalhadas, pois revelaram conter, através da análise por CCDA e/ou APCI-MS, como constituintes majoritários os mesmos que foram isolados no extrato em diclorometano.

As demais frações da coluna ACA-F não foram submetidas ao fracionamento cromatográfico em virtude de serem constituídas por misturas complexas de substâncias semelhantes às aquelas presentes na fração ACA-F 17.

Tabela 5. Fracionamento da fase em acetato de etila da madeira de *A. colubrina*

ELUENTE	FRAÇÃO	VOLUME (mL)	MASSA (mg)
CHCl ₃ /AcOEt (1 : 1)	ACA-F1	500	—*
CHCl ₃ /AcOEt (1 : 1)	ACA-F2	125	—*
CHCl ₃ /AcOEt (1 : 1)	ACA-F3	125	13,2
CHCl ₃ /AcOEt (1 : 1)	ACA-F4	125	5,8
CHCl ₃ /AcOEt (1 : 1)	ACA-F5	125	9,6
CHCl ₃ /AcOEt (1 : 1)	ACA-F6	125	3,3
CHCl ₃ /AcOEt (1 : 1)	ACA-F7	125	9,9
CHCl ₃ /AcOEt (1 : 1)	ACA-F8	125	10,4
CHCl ₃ /AcOEt (1 : 1)	ACA-F9	125	19,6
CHCl ₃ /AcOEt (1 : 1)	ACA-F10	125	30,6
CHCl ₃ /AcOEt (1 : 1)	ACA-F11	125	33,8
AcOEt	ACA-F12	125	39,9
AcOEt	ACA-F13	125	75,4
AcOEt	ACA-F14	125	85,7
AcOEt	ACA-F15	125	87,0
AcOEt	ACA-F16	125	425,5
AcOEt	ACA-F17	125	3589,0
AcOEt	ACA-F18	125	3498,9
AcOEt	ACA-F19	125	2748,7
AcOEt	ACA-F20	125	1556,5
AcOEt	ACA-F21	125	723,0
AcOEt	ACA-F22	125	948,5
AcOEt	ACA-F23	125	754,7
AcOEt	ACA-F24	125	690,8
AcOEt	ACA-F25	125	622,0
AcOEt	ACA-F26	125	604,3
AcOEt	ACA-F27	125	570,0
AcOEt	ACA-F28	125	998,4
AcOEt	ACA-F29	125	730,6
AcOEt	ACA-F30	125	539,8
AcOEt/MeOH (9 : 1)	ACA-F31	125	389,4
AcOEt/MeOH (9 : 1)	ACA-F32	125	259,5
AcOEt/MeOH (9 : 1)	ACA-F33	125	216,7
AcOEt/MeOH (1 : 1)	ACA-F34	125	179,5
AcOEt/MeOH (1 : 1)	ACA-F35	125	143,9
AcOEt/MeOH (1 : 1)	ACA-F36	125	58,8
AcOEt/MeOH (1 : 1)	ACA-F37	125	76,4
AcOEt/MeOH (1 : 1)	ACA-F38	125	58,7
AcOEt/MeOH (1 : 1)	ACA-F39	125	45,2
MeOH	ACA-F40	125	157,4

*Estas frações não mostraram constituintes químicos através da análise por CCDA

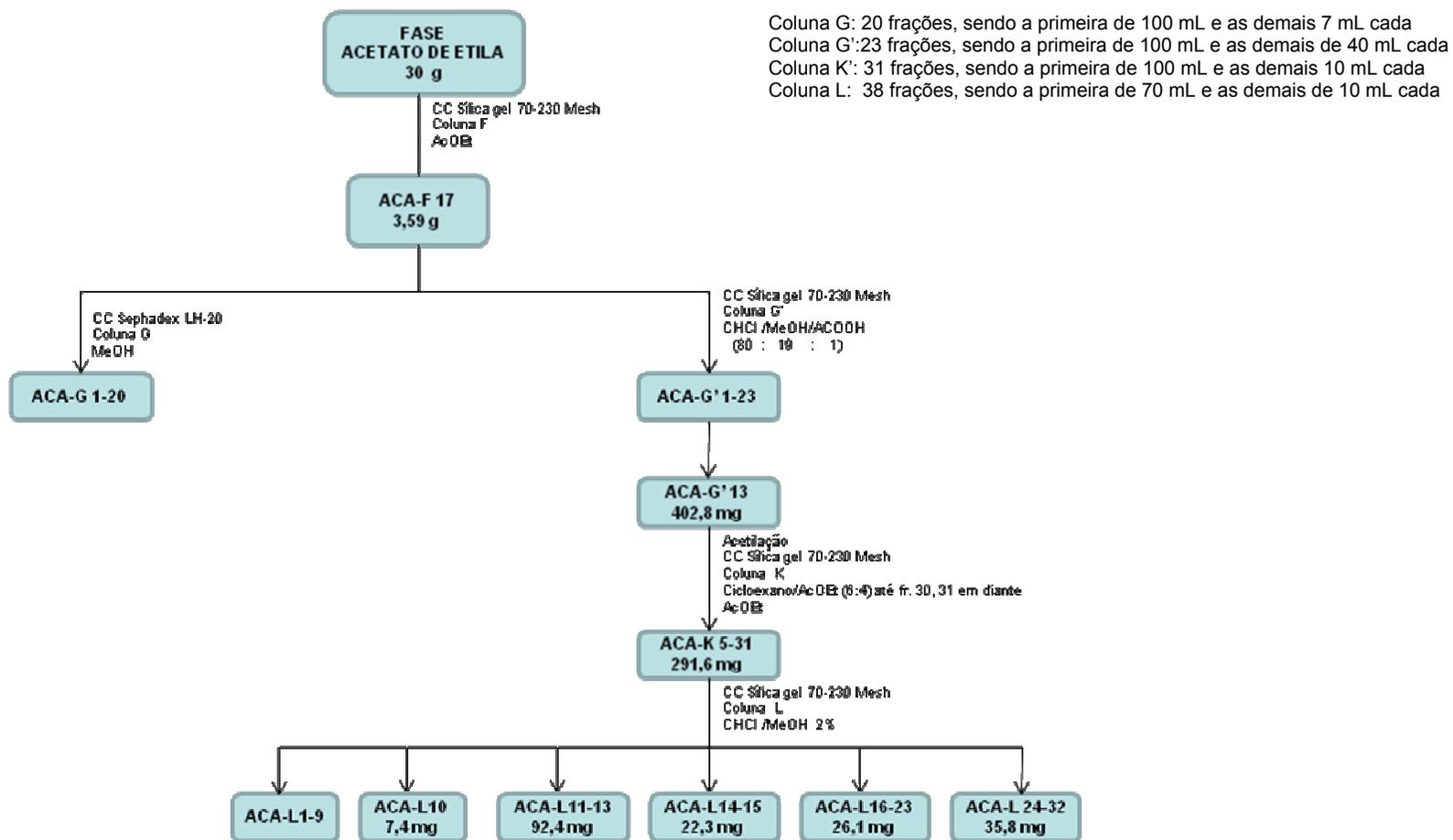


Figura 20. Fracionamento cromatográfico da fase em acetato de etila obtida da madeira de *Anadenanthera colubrina*

3.7 Testes de atividades com a madeira e fases obtidas de *Anadenanthera colubrina*

3.7.1 Atividade sequestradora de radicais livres

Com o extrato etanólico obtido no processo de determinação de lignina (item 3.2 pag. 35) foi realizada a atividade sequestradora de radicais livres, baseado na captura do radical DPPH (1,1-Difenil-2-picril-hidrazila) por antioxidantes de acordo com a metodologia descrita por Brand-Willians *et al.* (1995) com algumas modificações. 0,2 mL do extrato etanólico (100 µg ml⁻¹ em metanol) foi adicionado a 4 mL da solução metanólica de DPPH (43 µg ml⁻¹). A reação foi conduzida por 30 minutos no escuro e sob temperatura ambiente, o decréscimo da absorbância foi medido espectrofotometricamente a 515 nm e a porcentagem de sequestro calculada através da Equação 6. O experimento foi realizado em triplicata.

$$\% \text{ Sequestro} = \frac{\text{Absorbância (branco)} - \text{Absorbância (amostra)}}{\text{Absorbância (branco)}} \quad (\text{Equação 6})$$

3.7.2 Atividade antifúngica

O basidiomiceto, *Phanerochaete chrysosporum*, da coleção de cultura microbiana da Fundação André Tosello (CCT 1999) foi utilizado no teste de atividade fungicida, utilizando-se a metodologia descrita por Kamida *et al.*, 2005 com algumas modificações. Inicialmente o fungo foi inoculado em meio de Extrato de Malte Ágar (MEA) e incubado a 30°C por dez dias para crescimento. O meio é composto de 15 g de extrato de malte, 15 g de ágar, 1L de água destilada e pH neutro.

Pesaram-se três amostras com cerca de 5 g da madeira: sem extrativos (SE), com extrativos (CE) e a madeira com extrativos para controle abiótico (CA), que foram colocados em erlenmeyers de 125 mL com 1 mL de água potável. Cada um deles foi inoculado com três bloquinhos de ± 6 mm do meio de cultura sólido contendo o fungo crescido e incubado em estufa a 30°C por 30 dias para posterior observação do crescimento do fungo.

3.7.3 Atividade antitermítica

O método descrito por Kang *et al.* (1990), com alguns ajustes, foi empregado para avaliar a atividade antitermítica das fases em cicloexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol. Amostras de 1,25; 2,5; 5,0; 10 e 20 mg de cada fase foram dissolvidas em 200 μL de solvente obtendo-se assim soluções de 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente e em seguida 40 μL de cada solução foi aplicada sobre um disco de papel de filtro (Whatman No. 3, 2,0 cm de diâmetro). Papel de filtro tratado somente com solvente foi usado como um controle.

Após evaporação do solvente os discos impregnados com a amostra e controle foram colocados em placas de Petri (9 cm de diâmetro e 2 cm de altura) juntamente com 20 térmitas (16 operários e 4 soldados) da espécie *Nasutitermes corniger* (Motschulsky). Segundo Paes (1997), as colônias de *Nasutitermes* sp. são compostas por aproximadamente 82% de operários.

As placas testes tampadas foram mantidas a 27,0 °C e 80% de umidade relativa. Um pedaço de algodão embebido com água destilada foi colocado na parte superior de cada placa e monitorado diariamente. Três repetições foram realizadas para cada concentração de amostra incluindo o controle, e a porcentagem de sobrevivência dos térmitas foi contada diariamente por sete dias. A análise estatística foi realizada no Origin 7.0, usando o teste-t de Student.

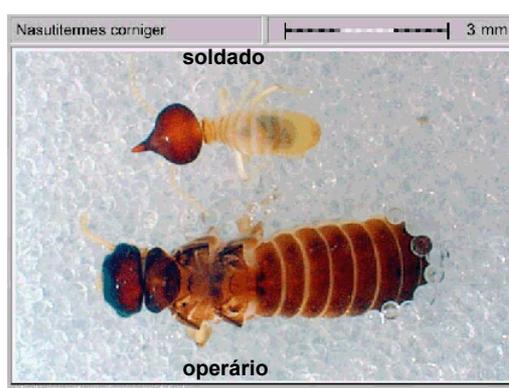


Figura 21. Operário e soldado da espécie *Nasutitermes corniger* (Motschulsky)

[www.naturalsciences.be/.../220794_corniger.htm]

3.8 Reação de Derivatização (acetilação) e cálculo do índice de Kovatz

A fração ACA-G' 13 (402,8 mg) oriunda da fase em acetato de etila foi acetilada através da adição de 2 mL de piridina e 2 mL de anidrido acético. A mistura foi deixada em repouso à temperatura ambiente até que toda a matéria-prima houvesse sido consumida, monitorada por CCDA. Ao final de 24 horas, foi adicionada água gelada e a mistura transferida para um funil de separação e extraída com clorofórmio (3 vezes). A fase clorofórmica foi lavada 3 vezes com HCl 10% (20 mL). A solução obtida foi seca com sulfato de sódio anidro e após evaporação do solvente sob pressão reduzida obteve-se o produto acetilado.

Foi realizado o cálculo do índice de Kovats (IK) para algumas substâncias da fase em cicloexano utilizando-se a equação 7 [CAZES & DEKKER, 2004] como um dos parâmetros de identificação da substância na amostra. O índice de Kovats relaciona o tempo de retenção da substância com o tempo de retenção de uma série de hidrocarbonetos homólogos. Desta forma, foi realizada a co-injeção no cromatógrafo gasoso das frações obtidas da fase em cicloexano com mistura padrão de *n*-alcanos.

$$IK = 100y + 100(z - y) \frac{t(r)x - t(r)y}{t(r)z - t(r)y} \text{ (Equação 7)}$$

Onde:

IK = Índice de Kovats

y = número de carbonos do hidrocarboneto utilizado como padrão localizado à esquerda da substância considerada;

z = número de carbonos do hidrocarboneto utilizado como padrão localizado à direita da substância considerada;

t(r)x = tempo de retenção da substância considerada;

t(r)y = tempo de retenção do hidrocarboneto utilizado como padrão localizado à esquerda da substância considerada;

t(r)z = tempo de retenção do hidrocarboneto utilizado como padrão localizado à direita da substância considerada.

3.9 Especificação do material e equipamentos utilizados

A madeira de *A. colubrina* foi moída em moinho FRITSCH-pulverisette 14.

Foram utilizadas para extração e técnicas cromatográficas solventes do grau P.A. (Merck, Vetec, Cinética e Synth).

Nos testes utilizados para identificar a presença de alcalóides na planta foram utilizados os reagentes de:

- Dragendorff-solução de $K(BiI_4)$ em ácido
- Mayer-solução de $K_2(HgI_4)$

O DPPH (1,1-Difenil-2-picril-hidrazila) utilizado no teste de atividade antioxidante foi da marca Sigma.

O reagente de Folin – Ciocalteau e o ácido gálico utilizados na determinação de fenóis totais foram da Cromato Produtos Químicos (CPQ) Ltda e NUCLEAR, respectivamente.

Nos processos cromatográficos foram utilizados:

- gel de sílica do tipo 60GF₂₅₄ (5x10 cm, Merck e 5-40 μ m, Vetec) para CCDA.
- gel de sílica do tipo 60, partículas 63-200 μ m (Merck) e 40-63 μ m (Merck), e Sephadex LH-20, partículas 25-100 μ m (Sigma) para cromatografia em coluna.

A revelação dos cromatogramas em placas de camada delgada analítica foi feita empregando-se solução de anisaldeído (0,5 mL de anisaldeído, 10 mL de ácido acético glacial, 85 mL de metanol e 5 mL de H_2SO_4 concentrado).

Os espectros de RMN, uni- e bidimensionais foram registrados em espectrômetros Varian Unity Plus 300 MHz. As amostras foram solubilizadas em clorofórmio-*d*₁, acetona-*d*₆, piridina-*d*₅ e DMSO-*d*₆, da marca Merck.

O espectro de massas de alta resolução da substância **40** foi obtido em aparelho Bruker Daltonics Microtof Electrospray. Os espectros de massas das fases em acetato de etila e *n*-butanol foram obtidos em aparelho SHIMADZU IT-TOF no método de inserção direta: Fase móvel Metanol/água 50:50 Fonte de ionização APCI, Voltagem da Interface 4,5kV (modo positivo), -2,5kV (modo negativo). Temperatura da interface: 400 °C, temperatura do CDL 250 °C, fluxo do gás nebulizador 2.5L/min, 200 °C. Tempo de corrida 2 min, volume injetado 5 μ L.

Os pontos de fusão das substâncias foram realizados utilizando aparelho digital de ponto de fusão da marca Microquímica Indústria e Comércio, modelo MQAPF-301.

As absorvâncias nos testes de lignina solúvel e fenóis totais foram registradas em um espectrofotômetro UV/visível Hewlett Packard - HP-8453E. Enquanto que para o teste da atividade antioxidante foi usado um espectrofotômetro Shimadzu UV/visível 1650PC.

Foi utilizado o cromatógrafo gasoso CG-17A (Shimadzu), temperatura de 175-289 °C, coluna DB-5 (30 mm x 0,25 mm), gás N₂, acoplado ao espectrômetro de massas MS-QP5050 (Shimadzu) na análise do extrato em cicloexano e frações obtidas deste extrato. Os padrões utilizados na co-injeção foram: ésteres metílicos da marca Supelco (F.A.M.E. Mix C₄-C₂₄) e hidrocarbonetos da marca Sigma-Aldrich (C₈-C₃₀).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nas determinações de lignina, fenóis totais, teor de extrativos, ensaios fitoquímicos, atividade antioxidante e fungicida na madeira de *Anadenanthera colubrina* são comparados com os valores obtidos para a madeira de *Delonix regia*, madeira não resistente ao ataque de organismos xilófagos e publicados por Oliveira *et al.* (2010).

4.1 Determinação de Lignina Solúvel e Insolúvel

Os teores de lignina solúvel e insolúvel de *A. colubrina* são apresentados na Tabela 6. Analisando os resultados desta tabela podemos observar que a madeira de *A. colubrina* apresentou um mais alto teor de lignina solúvel e insolúvel do que *D. regia*. Santana e Okino (2007) analisando 36 espécies de madeiras tropicais observaram teores de lignina solúvel entre 0,66% e 1,81% e lignina insolúvel entre 26,7% e 37%. Os valores de lignina para *A. colubrina* encontrados situam-se entre aqueles típicos de madeiras tropicais resistentes e, como esperado, *D. regia* cai claramente fora deste intervalo.

Este resultado sugere que as diferenças no conteúdo e na estrutura de lignina podem influenciar a resistência à degradação causada por fungos apodrecedores de madeira [SYAFH *et al.*, 1988].

Tabela 6: Percentual de lignina solúvel (LS), insolúvel (LI) e total (LT) nas madeiras de *A. colubrina* e *D. regia*.

Amostras	LS (%)*	LI (%)*	LT (%)*
<i>Anadenanthera colubrina</i>	1,81 ± 0,03	25,9 ± 0,9	27,6 ± 0,9
<i>Delonix regia</i>	0,3 ± 0,1	22,0 ± 1	22,3 ± 1

*média ± desvio padrão

4.2 Determinação do Teor de Extrativos

A Tabela 7 mostra o teor de extrativos das madeiras de *A. colubrina* e *D. regia*. O conteúdo total de extrativos foi mais elevado em *A. colubrina* (9%) do que em *D. regia* (5%). No estudo realizado por Santana e Okino (2007), o conteúdo de extrativos variou entre 0,9%-17,3%, sendo que apenas oito tiveram um teor acima de 10%. Sabe-se que um teor elevado de extrativos contribui para uma elevada durabilidade da madeira à biodegradação [WINDEISEN *et al.*, 2002].

Tabela 7: Percentual de extrativos nas madeiras de *A. colubrina* e *D. regia*.

Extrativos (%)	<i>Anadenanthera colubrina</i> *	<i>Delonix regia</i> *
Cicloexano	0,33 ± 0,08	0,8 ± 0,4
Etanol	8 ± 2	4 ± 1
Total	8,4 ± 2	5 ± 1

*média ± desvio padrão

4.3 Determinação de Fenóis Totais e Atividade Sequestradora de Radicais Livres

A quantificação de fenóis totais foi determinada usando-se a equação da reta (Equação 8) mostrada a seguir, obtida da curva padrão do ácido gálico e expressa em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) / g de extrato, sendo o coeficiente de correlação para a curva obtida de $R^2 = 0,99$. As absorvâncias medidas para as amostras estão representadas por Y e as concentrações dos fenóis totais em mg/g, por X.

$$Y = 0,004663X + 0,0565 \quad (\text{Equação 8})$$

O reativo de Folin-Ciocalteu na presença de composto fenólico muda a coloração de amarelo para azul e a intensidade da coloração resultante é maior quanto maior a quantidade de compostos fenólicos na solução, sendo necessário medir a absorvância.

Os valores de fenóis totais estão apresentados na Tabela 8. Foi possível observar que a madeira de *A. colubrina* apresenta uma maior quantidade de fenóis totais do que a de *D. regia*. Segundo Queiroz *et al.* (2002) uma elevada quantidade de

extrativos fenólicos é um dos principais responsáveis pela alta resistência natural de madeiras à degradação química e biológica.

Como mostrado na Tabela 8, existe uma estreita relação entre a quantidade de fenóis totais e a porcentagem de captura do radical DPPH. O extrato etanólico de *A. colubrina* apresentou um mais alto teor de fenóis totais e, conseqüentemente uma mais elevada atividade antioxidante.

Tabela 8: Quantificação de fenóis totais e atividade antioxidante das madeiras de *A. colubrina* e *D. regia*

Amostras	mg EAG/g extrato*	% sequestro DPPH*
<i>Anadenanthera colubrina</i>	0,231 ±0,003	71.90 ± 0.099
<i>Delonix regia</i>	0,092 ±0,007	3.07 ± 0.14

*média ± desvio padrão

4.4 Ensaios fitoquímicos

Os resultados dos ensaios fitoquímicos das madeiras estão apresentados na Tabela 9 e mostram que, entre as duas madeiras estudadas, há diferenças tanto na quantidade como na composição de extrativos. De acordo com a metodologia utilizada, pode-se observar a presença de terpenos, esteroides e flavonoides nas duas madeiras. A presença de taninos foi muito forte em *A. colubrina*. Não foi detectada a presença de saponinas nem de alcalóides em *A. colubrina* e *D. regia*.

Os extrativos estão presentes em todas as plantas geralmente como misturas que podem ser altamente diversificadas. Um grande número de estudos demonstrou a importância desses metabólitos nas defesas das plantas. Compostos fenólicos, como taninos e flavonoides, apresentam propriedades antimicrobiana e antioxidante que estão envolvidas na defesa contra insetos, fungos e outros microorganismos [BOUDET, 2007].

De acordo com Castellano e Spinosa-Garcia (1997) uma alta diversidade de extrativos em elevadas concentrações fornece uma proteção mais efetiva contra herbívoros do que uma única classe de compostos ou baixa diversidade, tanto em

baixas quanto em altas concentrações. A diversidade como também a concentração de compostos fenólicos foi mais pronunciada em *A. colubrina* do que em *D. regia*.

Tabela 9. Resultados dos ensaios fitoquímicos da madeira de *A. colubrina* e *D. regia*.

METABÓLITO SECUNDÁRIO	<i>Anadenanthera colubrina</i> *	<i>Delonix regia</i> *
Alcaloides	(-)	(-)
Terpenos e Esteroides	(++)	(++)
Flavonoides	(+++)	(+)
Saponinas	(-)	(-)
Taninos	(+++)	(-)

* (+++) Forte Intensidade; (++) Média Intensidade; (+) Fraca Intensidade; (-) Não reativo.

4.5 Atividade antifúngica

A influência dos extrativos no crescimento de *Phanerochaete chrysosporium* nas duas madeiras testadas é mostrada na Figura 22 (A-B). Em *A. Colubrina* a influência dos extrativos foi bem observada, pois na madeira com extrativos o crescimento do fungo foi completamente inibido, enquanto que na madeira sem extrativos o fungo apresentou um crescimento moderado (Figura 22-A).



Figura 22. O crescimento de *P. chrysosporium* nas madeiras com extrativos e sem extrativos de *A. colubrina* (A) e *D. regia* (B). A esquerda madeira com extrativos e na direita madeira sem extrativos.

O comportamento de *D. regia* frente à *P. chrysosporium* está representado na Figura 22 B. Esta madeira com extrativos não apresentou atividade antifúngica. *D. regia*, em comparação com *A. colubrina* apresentou baixo teor de extrativos (Tabela 7, pag. 57) bem como de compostos fenólicos (Tabela 8, pag 58). Estes fatores podem ser considerados os responsáveis pela sua baixa resistência frente à *P. chrysosporium*. *D. regia* é uma madeira conhecida como de baixa resistência [MENEGETTI, 2003] e, portanto apresenta como esperado, baixos teores de compostos fenólicos.

Rowell (2005) afirma que a resistência da madeira ao ataque de fungos é atribuída principalmente à presença de extrativos, que são tóxicos aos organismos xilófagos, fornecendo assim a durabilidade natural das madeiras. Além disso, *A. colubrina* apresentou um alto conteúdo de fenóis totais, bem como uma excelente resistência ao ataque de outros organismos xilófagos [SILVA *et al.*, 2007; SANTANA *et al.*, 2010].

Ligninas são resistentes à degradação enzimática em virtude de seu tamanho, complexidade estrutural e da estabilidade química de suas ligações intermoleculares. A única maneira de desmontar uma estrutura tão recalcitrante parece ser através da reversão dos mecanismos envolvidos em sua formação. Isto é exemplificado pelo fungo de podridão branca, que usa peroxidases extracelulares para induzir uma oxidação enzimática da macromolécula. A reação é iniciada através da geração do cátion arila e radical fenoxi, ou via peroxidação direta das moléculas de lignina fenólica e não fenólica por lignina peroxidases, ou indiretamente por Mn-peroxidase formando Mn^{3+} altamente reativo. Uma cascata de reações espontâneas secundárias conduz à fragmentação do núcleo da lignina, liberando uma mistura de monômeros aromáticos, dímeros e oligômeros mais complexos como produtos de despolimerização [BREZNAK & BRUNE, 1994].

De acordo com Schultz e Nicholas (2000), a atividade antioxidante de compostos fenólicos sobre a atividade da peroxidase pode indicar seu potencial de inibição do desenvolvimento fúngico.

Para o estudo químico, os extrativos presentes na madeira de *A. colubrina* foram distribuídos em cinco fases, cicloexano, diclorometano, acetato de etila, *n*-butanol e hidrometanólica conforme metodologia apresentada no capítulo 3.

4.6 Identificação e caracterização estrutural dos extrativos presentes na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

A fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina* foi analisado por GC-MS. O cromatograma obtido mostrou, baseado na biblioteca de espectros WILEY e de acordo com a literatura, um perfil dessa fase constituído por uma multiplicidade de compostos, principalmente ésteres e ácidos graxos saturados e insaturados, hidrocarbonetos, esteróides e triterpenos (Figura 23, Tabela 10). Alguns dos compostos não puderam ser caracterizados apenas pela análise da fase bruta, em virtude da baixa resolução de alguns picos e por isso o fracionamento foi necessário.

O estudo prévio por CCDA das frações obtidas do fracionamento cromatográfico em sílica gel da fase em cicloexano (Capítulo 3, pag 42) resultou em cromatogramas ricos em números de manchas, predominantemente de cores roxa e azul, de polaridades próximas, após eluição em misturas de cicloexano/acetato de etila e revelação em solução de anisaldeído.

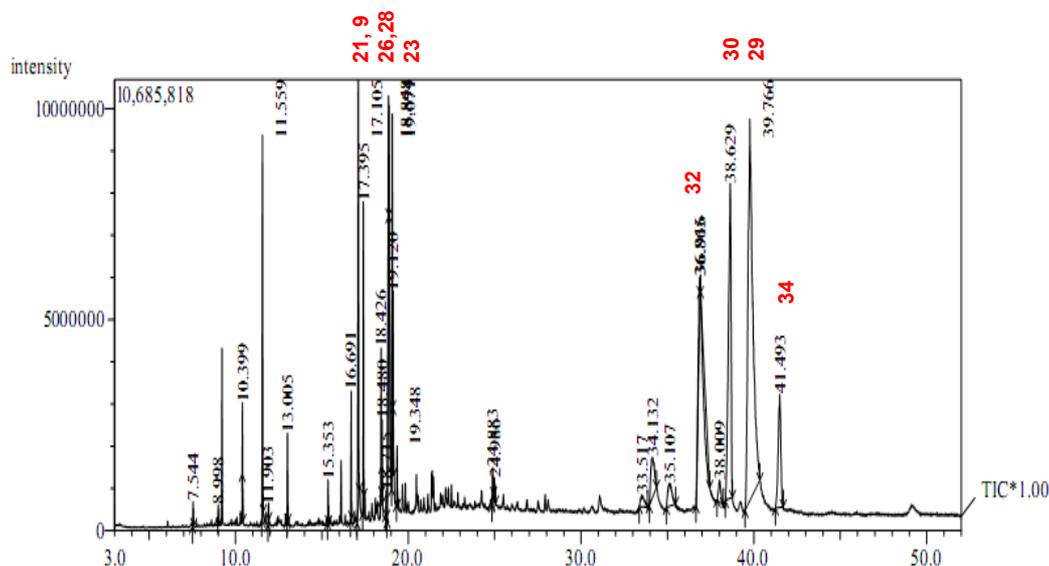


Figura 23. Perfil do cromatograma em fase gasosa da fase em cicloexano de *A. colubrina* (compostos majoritários estão identificados em vermelho)

Tabela 10. Substâncias identificadas por GC-MS na fase em cicloexano com seus tempos de retenção, índice de similaridade (IS) com a biblioteca de espectros WILEY e intensidade relativa (IR) calculada em área.

Tempo de retenção (min)	Substância	IS %	IR %
7,54	dodecano	95	0,19
8,99	tridecano	95	0,07
10,39	hexadecano	98	0,46
11,56	ácido furanoacético	87	3,40
13,01	hexadecano	97	0,67
15,35	octadecano	96	0,34
16,69	hexadecanoato de metila (1)	97	0,96
17,11	ácido hexadecanóico (21)	94	5,11
17,40	hexadecanoato de etila (9)	95	2,54
18,43	(Z,Z)-9,12-octadecadienoato de metila (25)	94	1,10
18,48	(Z)-9-octadecenoato de metila (27)	92	0,33
18,72	octadecanoato de metila (3)	94	0,18
18,85	ácido (Z,Z)-9,12-octadecadienóico (26)	92	2,14
18,91	ácido (Z) 9-octadecenóico (28)	91	0,40
19,12	ácido ocatadecanóico (23)	93	2,77
19,35	octadecanoato de etila (11)	93	0,89
24,88	Substância não identificada	—	0,43
24,99	tetracosanoato de etila* (13)	—	0,22
33,52	substância não identificada	—	0,73
34,13	diidrobrassicasterol (31)	94	2,64
35,11	estigmasterol (33)	93	1,66
36,92	β -sitosterol (32)	94	19,13
38,01	ergost-4-en-3-ona* (35)	—	0,84
38,63	lupenona (30)	90	14,81
39,77	lupeol* (29)	—	32,22
39,89	estigmasta-3,5-dien-7-ona (36)	91	0,58
41,49	estigmast-4-en-3-ona (34)	93	5,18

*Substância não identificada pela biblioteca de espectros WILEY

Na análise por GC-MS, alguns dos compostos foram identificados utilizando-se apenas o banco de dados da biblioteca WILEY. Para os compostos não identificados pela biblioteca de espectros de massas, seus espectros depois de analisados foram comparados com substâncias da mesma classe citadas na literatura. Alguns compostos só tiveram suas estruturas confirmadas após comparação de seus índices

de Kovats com os citados na literatura, enquanto que, para a confirmação de outros, foi realizado a co-injeção com padrões. Em apenas dois casos (substâncias **29** e **32**) foi utilizada a espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos isolados e purificados.

4.6.1 Identificação de ácidos graxos e derivados

Os ácidos graxos mais comuns de origem vegetal e animal têm cadeias pares de 16 a 22 átomos de carbono com zero a seis ligações duplas na configuração *cis*. A natureza também fornece inúmeras exceções, como ácidos graxos com quase cem átomos de carbonos, com número ímpares de carbono, configuração *trans* e pode haver outras características estruturais, incluindo pontos de ramificação, anéis, funções oxigenadas dentre outras [CHRISTIE, 1998].

Os ácidos graxos são analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS), mas seus espectros de massas nem sempre contêm íons indicativos de características estruturais. Como exemplo, pode-se citar as posições de ligações duplas que não podem ser determinadas de forma inequívoca, uma vez que sob impacto de elétrons uma ligação dupla se move na cadeia e sua posição original não pode ser determinada com fiabilidade. Sendo assim a confirmação da identidade dos compostos pode ser realizada com a co-injeção do extrato ou frações com padrões autênticos. No entanto, estes padrões são extremamente caros e alguns não são comercializados.

Outra ferramenta analítica que pode ser utilizada como auxílio para identificação estrutural se baseia no cálculo do Índice de Kovats de cada componente, através da comparação do tempo de retenção na coluna cromatográfica de uma substância em relação a padrões de n-alcenos. Isto, juntamente com os dados do espectro de massas, pode sugerir que algumas estruturas são mais plausíveis que outras.

Embora apresentem espectros de massas distinguíveis, os ácidos graxos saturados são mais frequentemente analisados na forma de ésteres metílicos. A derivatização é necessária uma vez que ácidos graxos, ao serem injetados diretamente, diminuem a resolução cromatográfica [FONSECA *et al.*, 2006]. Os ésteres metílicos são os derivados de ácidos graxos mais amplamente usados para

análise em geral, e por isso é disponível uma grande quantidade de informação sobre suas propriedades cromatográficas e espectroscópicas incluindo a espectrometria de massas com ionização por impacto de elétrons [RYHAGE & STENHAGEN, 1959].

Os espectros de massas de ésteres de ácidos graxos saturados de cadeia linear podem ser facilmente identificados através de alguns tipos de picos resultantes de fragmentações básicas [KEEN & HAMMING, 1971]. Os quatro primeiros picos são:

1. O íon molecular M^+ detectável.
2. O pico do cátion acílio ($RC\equiv O^+$) resultante da quebra da ligação α entre o carbono da carbonila e o oxigênio do radical alcoxila.
3. O pico correspondente ao rearranjo de McLafferty para ésteres contendo hidrogênio γ na cadeia acila.
4. O intenso pico do íon $[CH_2=CHCOHOR']^+$, cujo valor de m/z é 13 unidades superior ao pico correspondente ao fragmento obtido do rearranjo de McLafferty.

Muitos picos adicionais podem ser utilizados como identificadores de confirmação ou para esclarecer situações ambíguas.

1. Espectros de ésteres de alta massa molecular mostram usualmente um pico do íon molecular de intensidade apreciável, o qual pode ser útil para identificação. No entanto, muitos ésteres de peso molecular entre 130 e 200 produzem picos do íon molecular pequenos demais para ser úteis, especialmente se a pureza é incerta.

2. O fragmento $RC\equiv O^+$ geralmente dá origem a um dos picos mais úteis na identificação. Ésteres que mostram ambos o íon molecular e o pico $RC\equiv O^+$ podem ser rapidamente identificados. O valor de m/z correspondente ao pico $RC\equiv O^+$ pode ser subtraído do valor do m/z do pico do íon molecular para identificar a cadeia alcoxila (OR') do éster (Figura 24).

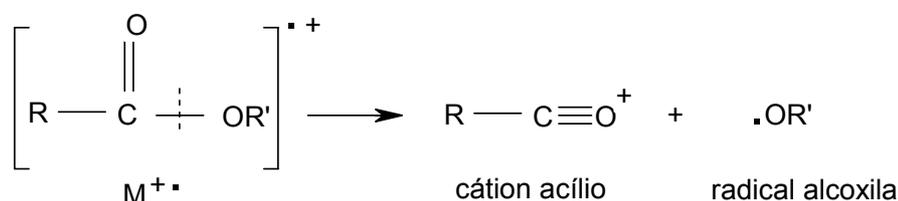


Figura 24. Formação do íon acílio em ésteres graxos

Quando o radical alcoxila é derivado de um álcool de três carbonos ou mais, o pico $RC\equiv O^+$ é acompanhado por um pico cujo valor de m/z é 18 unidades de massa superior, devido à eliminação do grupo alquila com transferência de dois átomos de

hidrogênio para o fragmento que contém os dois átomos de oxigênio (Figura 25) [KEEN & HAMMING, 1971].

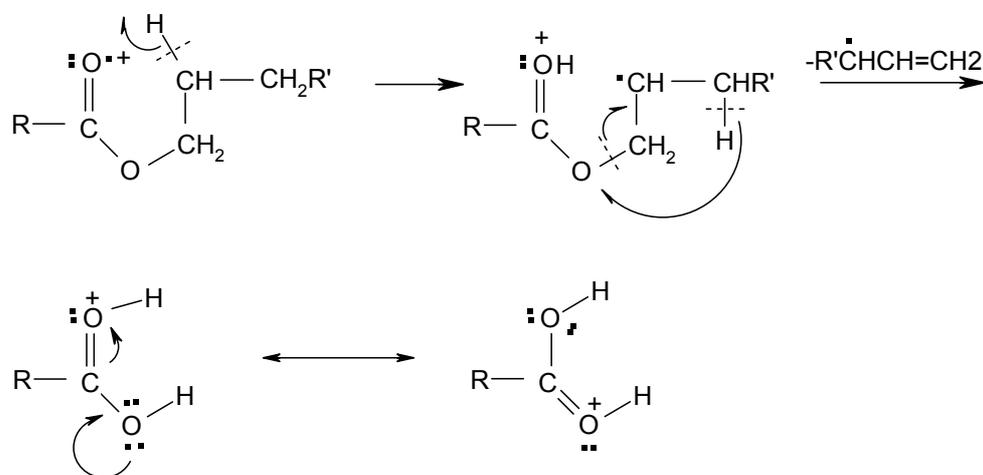


Figura 25. Formação do fragmento $[\text{RCO}_2\text{H}_2]^+$ em ésteres graxos

3. Para muitos ésteres, um recurso de fragmentação dominante é o rearranjo de McLafferty (Figura 26), com quebra de ligação β acompanhada pela transferência de hidrogênio γ da cadeia acila para o átomo de oxigênio do grupo $\text{C}=\text{O}$.

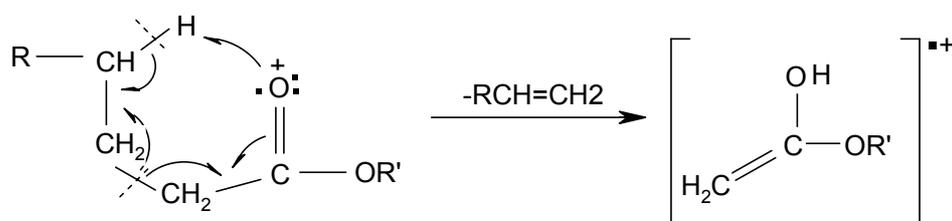


Figura 26. Rearranjo de McLafferty para ésteres graxos contendo hidrogênio γ na cadeia acila.

De acordo com Keen e Hamming (1971) a intensidade do pico correspondente a esse rearranjo de McLafferty decresce à medida que a cadeia do radical alcoxila aumenta. Na maioria dos casos os picos desse rearranjo são úteis somente para a caracterização de ésteres de metila, etila e propila.

Ésteres de álcoois de três ou mais carbonos mostram um pico correspondente à perda de uma molécula de ácido. A formação do cátion radical olefina é resultante do rearranjo de McLafferty que envolve a transferência do hidrogênio γ do radical alcoxila para o oxigênio da carbonila (Figura 27).

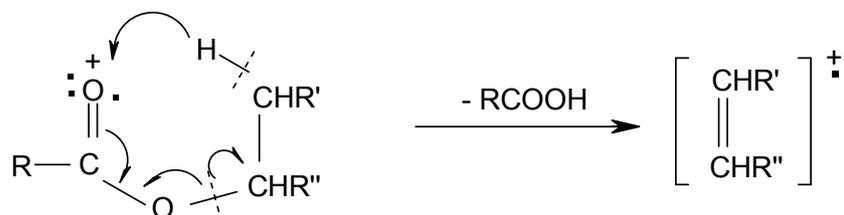


Figura 27. Rearranjo de McLafferty para ésteres graxos contendo hidrogênio γ na cadeia alcoxila.

Além dos picos citados aparecem também, nos espectros de massas de ésteres de ácidos graxos, picos correspondentes aos íons resultantes das quebras das ligações C-C. Essas sucessivas fragmentações dão origem aos íons alquila (m/z 29, 43, 57,....) e aos íons contendo oxigênio, $\text{C}_n\text{H}_{2n-1}\text{O}_2^+$ (m/z 59, 73, 87, 101 ...) [SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000].

4. O pico correspondente ao rearranjo de McLafferty na cadeia acila é usualmente acompanhado por um intenso pico cujo valor de m/z é 13 unidades de massa superior, correspondente ao íon $\text{C}_n\text{H}_{2n-1}\text{O}_2^+$ (Figura 28).

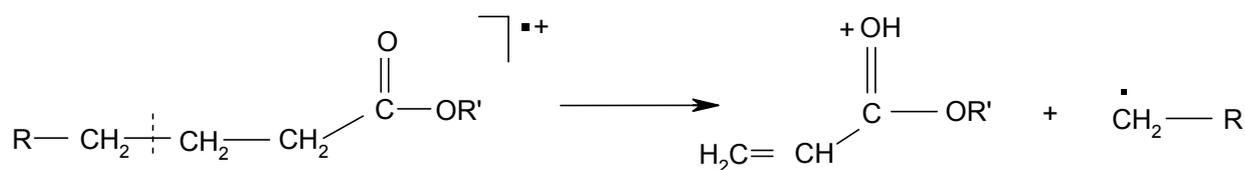


Figura 28. Formação do íon $[\text{CH}_2\text{CHCOHOR}']^+$ em ésteres graxos

Os espectros de massas de ácidos graxos saturados apresentam o mesmo padrão de fragmentação supracitado. Os picos mais abundantes estão em m/z 60, correspondente ao íon resultante do rearranjo McLafferty, e em m/z 73 (Figura 29). O íon molecular é claramente observado e há íons representando fragmentações entre a

maioria dos grupos metílicos. O pequeno pico correspondente a $[M-17]^+$ reflete a perda de OH^\cdot do grupo carboxila.

Os espectros de massas dos ácidos graxos e ésteres insaturados são bastante diferentes, com íons de baixa massa formados por hidrogênios e carbonos sendo os mais abundantes. Seus espectros não dão informações que permitem localizar as posições das ligações duplas, uma vez que estas podem migrar para qualquer posição quando a molécula é ionizada no espectrômetro de massa, bem como isômeros *cis/trans* são indistinguíveis. No entanto, eles permitem determinar o peso molecular e isto combinado com o tempo de retenção no sistema GC pode ser valioso.

Na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina* foram identificados 19 ésteres e 9 ácidos graxos. A caracterização destes compostos foi realizada através da análise dos espectros de massa do extrato e das frações oriundas de seu fracionamento (Espectros 1 a 52) e comparação com a biblioteca de espectros de massas WILEY. A confirmação das estruturas dos ésteres de metila foi realizada através da co-injeção com padrão comercial, enquanto que as demais substâncias só tiveram suas estruturas confirmadas após comparação dos seus índices de Kovats, calculado usando padrão de *n*-alcanos, com valores citados na literatura.

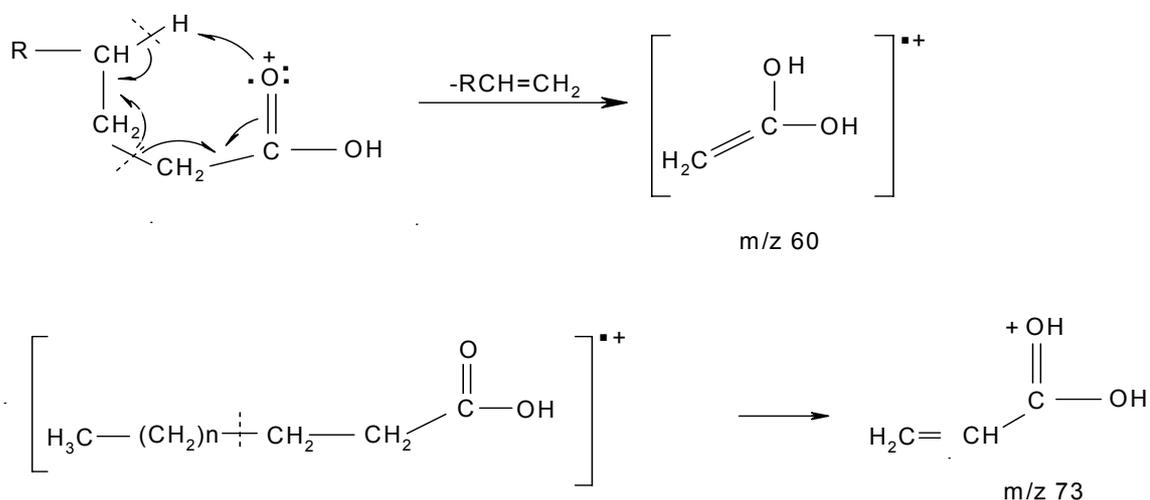
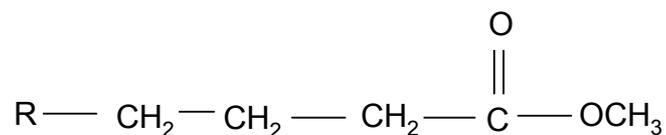


Figura 29. Formação dos fragmentos m/z 60 e m/z 73 em ácidos graxos

4.6.1.1 Identificação das substâncias 1 a 8 (Ésteres de metila)



- 1 R = C₁₂H₂₅ hexadecanoato de metila (palmitato de metila)
- 2 R = C₁₃H₂₇ heptadecanoato de metila (margarato de metila)
- 3 R = C₁₄H₂₉ octadecanoato de metila (estearato de metila)
- 4 R = C₁₆H₃₃ eicosanoato de metila (araquidato de metila)
- 5 R = C₁₈H₃₇ docosanoato de metila (beenato de metila)
- 6 R = C₁₉H₃₉ tricosanoato de metila
- 7 R = C₂₀H₄₁ tetracosanoato de metila (lignocerato de metila)
- 8 R = C₂₂H₄₅ hexacosanoato de metila (ceroato de metila)

Figura 30. Substâncias **1** a **8** identificadas na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

As substâncias **1** a **8** presentes na fase em cicloexano de acordo com o fracionamento cromatográfico apresentado no capítulo 3 (Tabela 3, pag 42), foram identificadas por GC-MS nas frações ACC-A11, ACC-A12-16 e ACC-A13 (Tabela 11). As substâncias **1** e **3** também foram identificadas na análise da fase bruta (Tabela 10, pag 62).

A análise dos espectros de massas dessas substâncias (Espectros 1 a 16) mostrou dois picos de alta intensidade correspondentes a m/z 74 (pico base) e 87, característicos de fragmentações de ésteres metílicos de ácidos graxos (Figuras 31 e 32).

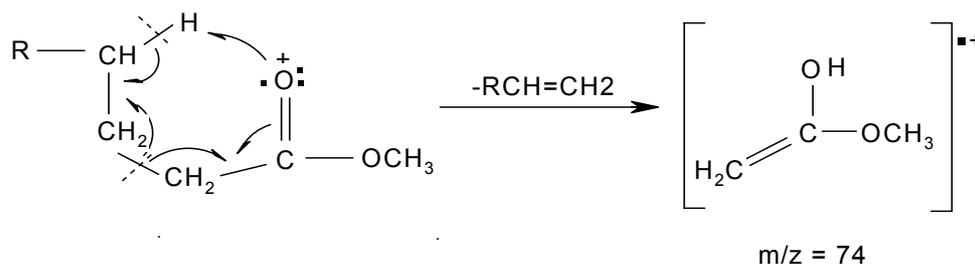


Figura 31. Formação do fragmento m/z 74

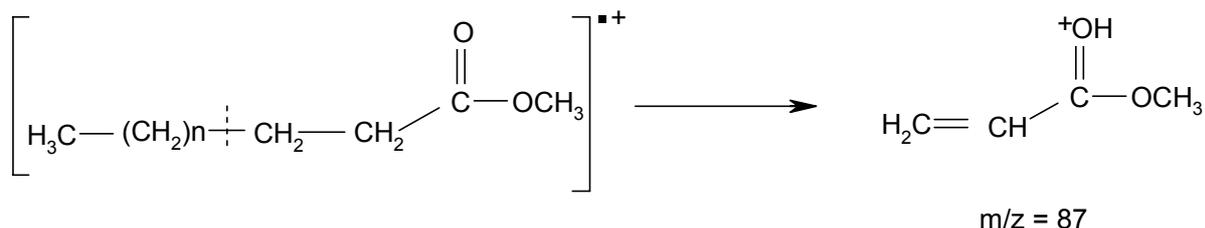


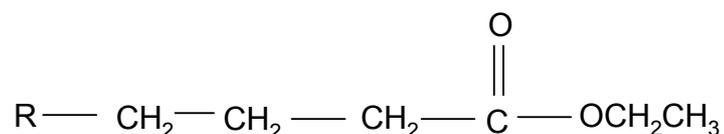
Figura 32. Formação do fragmento m/z 87

Esses dados aliados à presença do pico do íon molecular e do pico $[\text{M}-31]^+$, que representa a perda do grupo metoxila, reforçam a proposta de que os compostos **1 a 8** se tratam de ésteres de metila.

Os demais íons presentes nos espectros de massa analisados apresentam fragmentação sucessiva C-C que formam aglomerados hidrocarbônicos com intervalos de massa de 14 unidades (CH_2). Essa longa série homóloga de íons relacionados em $m/z = 59, 73, 87, 101, 115, 129, 143, 157, 199$, etc, de fórmula geral $[\text{CH}_3\text{OCO}(\text{CH}_2)_n]^+$ é evidência de que há pouca probabilidade da presença de outros grupos funcionais na cadeia [RYHAGE & STENHAGEN, 1959].

Assim, todos os dados espectrométricos dos compostos **1 a 8** mostraram-se compatíveis com os citados na literatura para os ésteres apresentados na Tabela 11. A comparação dos espectros de massa desses compostos com os da biblioteca WILEY apresentou um grau de similaridade acima de 90% (Espectros 1 a 16). Os ésteres **1 a 6** tiveram suas estruturas confirmadas (Figura 29) após a co-injeção com uma mistura padrão comercial que continha ésteres de metila com cadeia de carbonos que variavam de C-10 a C-23.

4.6.1.2 Identificação das substâncias 9 a 14 (Ésteres de etila)



- 9** R = C₁₂H₂₅ hexadecanoato de etila (palmitato de etila)
10 R = C₁₃H₂₇ heptadecanoato de etila (margarato de etila)
11 R = C₁₄H₂₉ octadecanoato de etila (estearato de etila)
12 R = C₁₈H₃₇ docosanoato de etila (beenato de etila)
13 R = C₂₀H₄₃ tetracosanoato de etila
14 R = C₂₂H₄₇ hexacosanoato de etila

Figura 33. Substâncias **9** a **14** identificadas na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

Nas frações ACC-A 11-16 oriundas da fase em cicloexano (Tabela 3, pag 42) foram identificadas por GC-MS as substâncias designadas por **9** a **14** (Tabela 12). Apenas as substâncias **9**, **11** e **13** foram também identificadas na análise da fase bruta (Tabela 10, pag 62).

Os espectros de massas destas substâncias (Espectros 17 a 26) se assemelham aos dos ésteres metílicos (substâncias **1** a **8**), exceto que o íon McLafferty (o pico base) está em $m/z = 88$ em vez de 74 e o outro pico de menor intensidade em m/z 101 ao invés de 87 (Figuras 34 e 35). Após o íon molecular há um pico $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5]^+$ representando a perda do grupo etila e outro que caracteriza a perda do grupamento etóxido ($[\text{M}-45]^+$).

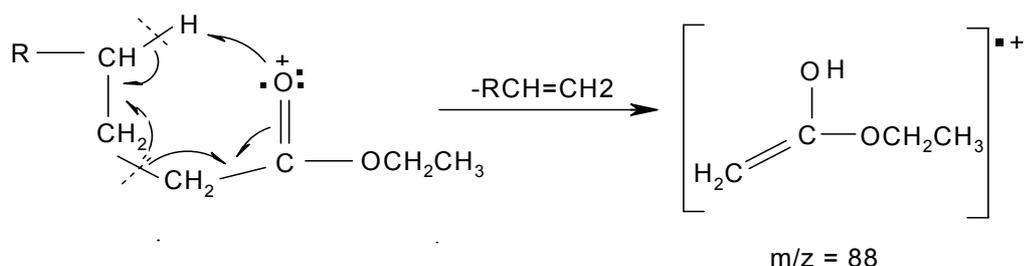


Figura 34. Formação do fragmento m/z 88

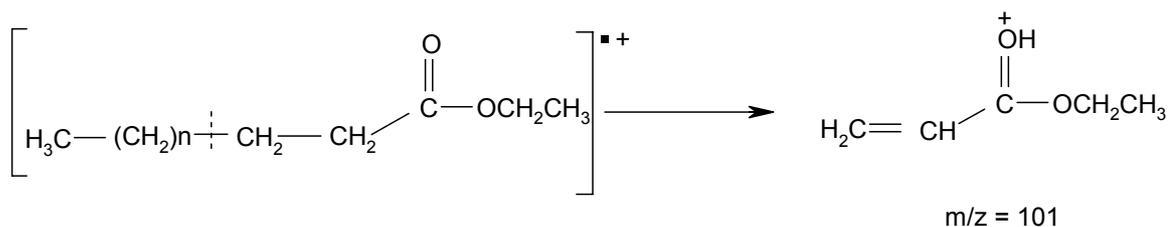


Figura 35. Formação do íon m/z 101

Desta forma, a análise conjunta dos dados permitiu concluir que as substâncias **9** a **14** correspondiam a ésteres de etila. Os fragmentos mostrados na Tabela 12 para estas substâncias mostraram-se concordantes com os citados na literatura. Os seus espectros de massa mostraram uma similaridade superior a 90% para os ésteres da biblioteca WILEY hexadecanoato de etila (**9**), heptadecanoato de etila (**10**), ocatadecanoato de etila (**11**), docosanoato de etila (**12**), tetracosanoato de etila (**13**) e hexacosanoato de etila (**14**) (Figura 33). Os valores calculados dos índices de Kovats para as substâncias **9** a **11** foram compatíveis com os citados na literatura (Tabela 12), enquanto na mesma não foram encontrados valores relacionados às substâncias **12** a **14**.

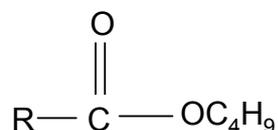
Tabela 12. Fragmentos presentes nos espectros de massas das substâncias 9 a 14 identificadas da fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

FRAÇÕES	SUBSTÂNCIAS					
	9	10	11	12	13	14
ACC-A	13-16	ACC-A 13	ACC-A 13-15	ACC-A 11-13	ACC-A 11-13	ACC-A 11-13
Tr (min)	17,39	18,39	19,33	22,86	24,97	27,91
IK calculado	1989	2089	2190	2591	2720	2799
IK literatura	1983 ^a	2075 ^b	2197 ^c	— *	— *	— *
FRAGMENTOS	m/z					
M ⁺	284	298	312	368	396	424
[C ₄ H ₈ O ₂] ⁺	88	88	88	88	88	88
[M-C ₂ H ₅] ⁺	255	269	283	339	367	395
[M-C ₃ H ₇] ⁺	241	255	269	325	353	381
[M-OCH ₂ CH ₃] ⁺	239	253	267	323	351	379
[M-C ₄ H ₉] ⁺	227	241	255	311	339	367
[M-C ₅ H ₁₁] ⁺	213	227	241	297	325	353
[M-C ₆ H ₁₃] ⁺	199	213	227	283	311	339
[M-C ₇ H ₁₅] ⁺	185	199	213	269	297	325
[M-C ₈ H ₁₇] ⁺	171	185	199	255	283	311
[M-C ₉ H ₁₉] ⁺	157	171	185	241	269	297
[M-C ₁₀ H ₂₁] ⁺	143	157	171	227	255	283
[M-C ₁₁ H ₂₃] ⁺	129	143	157	213	241	269
[M-C ₁₂ H ₂₅] ⁺	115	129	143	199	227	255
[M-C ₁₃ H ₂₇] ⁺	101	115	129	185	213	241
[M-C ₁₄ H ₂₉] ⁺	87	101	115	171	199	227
[M-C ₁₅ H ₃₁] ⁺	73	87	101	157	185	213
[M-C ₁₆ H ₃₃] ⁺	—	73	87	143	171	199
[M-C ₁₇ H ₃₅] ⁺	—	—	73	129	157	185
[M-C ₁₈ H ₃₇] ⁺	—	—	—	115	143	171
[M-C ₁₉ H ₃₉] ⁺	—	—	—	101	129	157
[M-C ₂₀ H ₄₁] ⁺	—	—	—	87	115	143
[M-C ₂₁ H ₄₃] ⁺	—	—	—	73	101	129
[M-C ₂₂ H ₄₅] ⁺	—	—	—	—	87	115
[M-C ₂₃ H ₄₇] ⁺	—	—	—	—	73	101
[M-C ₂₄ H ₄₉] ⁺	—	—	—	—	—	87
[M-C ₂₅ H ₅₁] ⁺	—	—	—	—	—	73
[C ₅ H ₁₁] ⁺	71	71	71	71	71	71
[C ₄ H ₉] ⁺	57	57	57	57	57	57
[C ₃ H ₇] ⁺	43	43	43	43	43	43

^aMcDANIEL *et al.*, 1992 ^bCOSTA & ANASTASIOU, 2010 ^cPINO & QUERIS, 2008

IK- índice de Kovats * valor não encontrado

4.6.1.3 Identificação da substância 15 (Éster de butila)



15 R = C₁₅H₃₁ hexadecanoato de butila (palmitato de butila)

Figura 36. Substância **15** identificada na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

Na fração ACC-A11 (Tabela 3, pag 42), foi identificada por GC-MS a substância designada por **15**. A análise de seu espectro de massas (Espectro 27) mostrou que este componente também apresentava uma natureza graxa, pela presença de picos com modelo de fragmentação semelhante aos das substâncias **1** a **14**.

Por analogia com os espectros de massas dos ésteres anteriores, observou-se que o íon acílio em m/z 239 ($[M-73]^+$) reflete a perda da cadeia radical alcoxila sendo este de fórmula molecular C₄H₉O e sugere uma cadeia acila saturada formada por 16 átomos de carbonos. De posse desta informação, o pico em m/z 257 ($[M-55]^+$) pode ser atribuído ao fragmento C₁₅H₃₁C(OH)₂ referente à eliminação do grupo butenila (Figura 37).

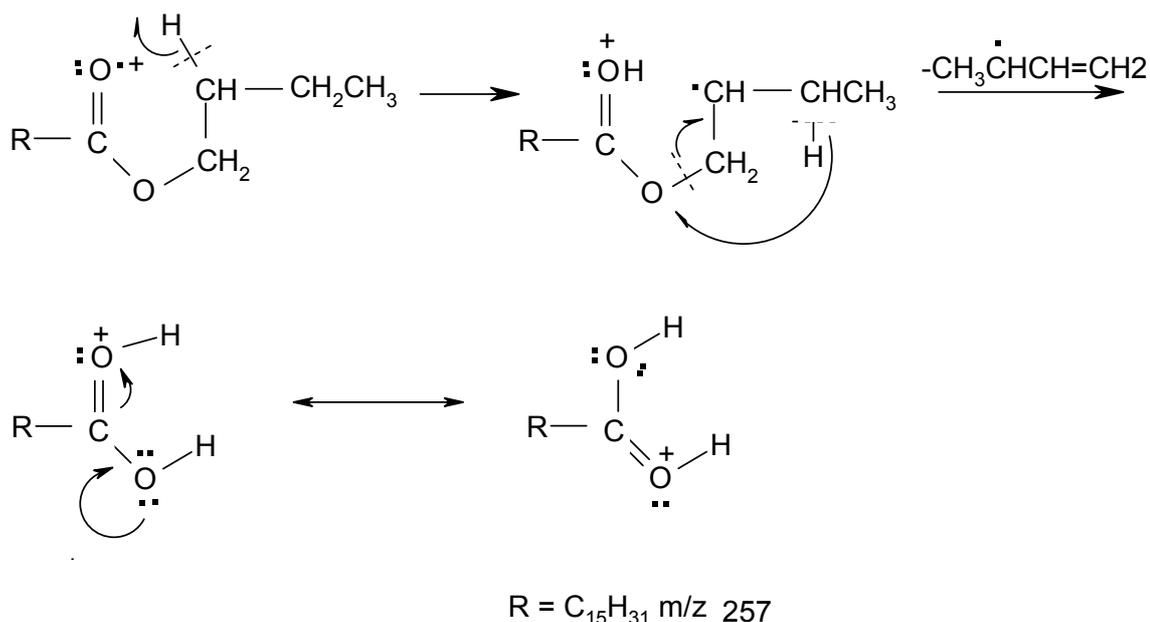


Figura 37. Formação do fragmento m/z 257

Para a substância **15** a fragmentação dominante também é o rearranjo de McLafferty envolvendo o hidrogênio γ da cadeia alcoxila em m/z 56 (Figura 38). O íon referente ao rearranjo de McLafferty da cadeia acila (m/z 116) como presumido é de baixa intensidade (pag 65). Juntamente com o pico base foi observado outro pico de alta intensidade em m/z 57 correspondente ao íon $[C_4H_9]^+$.

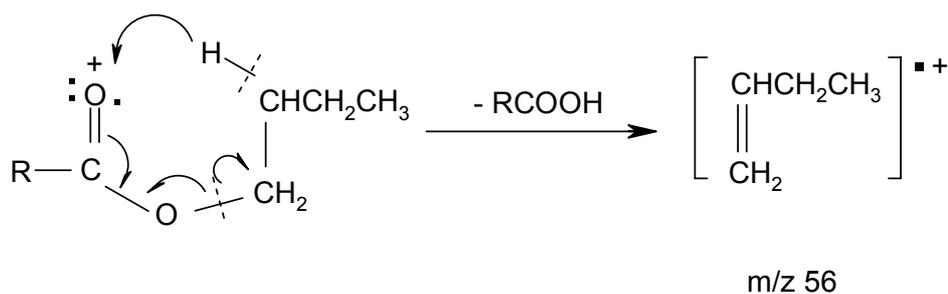


Figura 38. Formação do fragmento m/z 56

Além do pico em m/z 57, os demais picos observados no espectro de massas de **15** correspondem aos íons alquila (m/z 43, 71, 85 e 99), íons contendo oxigênio (m/z 101, 115, 129, 143, 157, 171, 185, 199, 213, 227 e 255) resultantes das quebras das ligações C-C (Tabela 13).

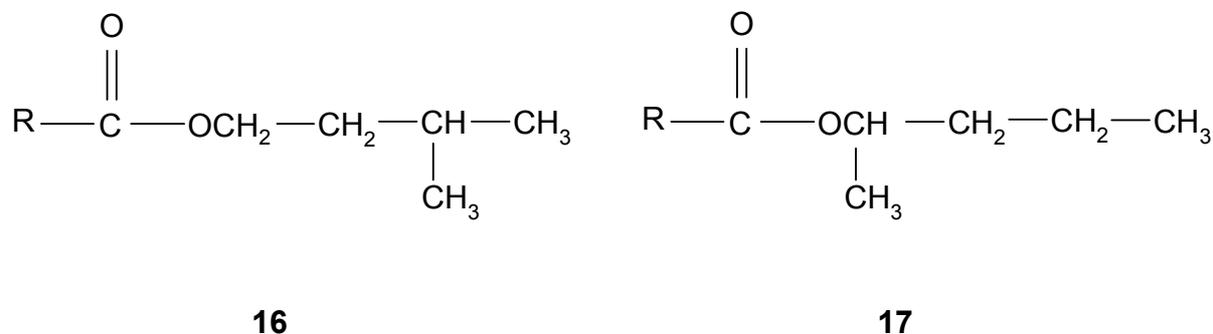
Estas informações, em conjunto com os dados da literatura apresentados no Item 4.6.1, levaram à definição da estrutura do hexadecanoato de butila para esta substância. No entanto, os dados de seu espectro de massas não forneceram informações valiosas quanto ao tipo de radical butila que a substância **15** apresenta. Através da comparação sobre outros ésteres de butila, foi encontrado na biblioteca de espectros WILEY uma correlação com apenas 84% de similaridade com o decanoato de isobutila (Espectros 27 e 28), cuja diferença estrutural com relação a **15** reside no tamanho da cadeia acila. Apesar do índice de Kovats calculado para **15** ter sido próximo ao encontrado na literatura para o hexadecanoato de isobutila (Tabela 13), não foi possível confirmar o tipo do substituinte butila para esta substância.

Tabela 13. Fragmentos presentes nos espectros de massas da substância **15** identificada na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

SUBSTÂNCIA 15	
FRAÇÃO	ACC-A 11
Tr (min)	18,88
IK calculado	2144
IK literatura	2174 ^a
FRAGMENTOS	m/z
M^+	312
$[C_4H_8]^+$	56
$[M-C_4H_9]^+$	255
$[M-C_5H_{11}]^+$	241
$[M-OC_4H_9]^+$	239
$[M-C_6H_{13}]^+$	227
$[M-C_7H_{15}]^+$	213
$[M-C_8H_{17}]^+$	199
$[M-C_9H_{19}]^+$	185
$[M-C_{10}H_{21}]^+$	171
$[M-C_{11}H_{23}]^+$	157
$[M-C_{12}H_{25}]^+$	143
$[M-C_{13}H_{27}]^+$	129
$[M-C_{14}H_{29}]^+$	115
$[M-C_{15}H_{31}]^+$	101
$[C_7H_{15}]^+$	99
$[C_6H_{13}]^+$	85
$[C_5H_{11}]^+$	71
$[C_4H_9]^+$	57
$[C_3H_7]^+$	43

IK- índice de Kovats ^aBOATRIGT & CRUM, 1997

4.6.1.4 Identificação das substâncias 16 e 17 (Ésteres de pentila)



16 R = C₁₆H₃₃ hexadecanoato de isoamila (palmitato de isoamila)

17 R = C₁₆H₃₃ hexadecanoato de sec-amila (palmitato de sec-amila)

Figura 39. Substâncias **16** e **17** identificadas na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

As substâncias **16** e **17** presentes na fração ACC-A11 (Tabela 3, pag 42) da fase em cicloexano, apresentaram dados espectrométricos bem semelhantes entre si, inclusive o mesmo valor de m/z para o íon molecular, os quais foram sugestivos de substâncias isômeras (Espectros 29 e 30). Foi possível identificar que estas substâncias são ésteres cuja cadeia alcoxila apresenta fórmula molecular C₅H₁₁O, em função do resultado obtido da subtração da massa correspondente ao íon molecular (m/z 326) da massa do fragmento acílio (m/z 239). Através deste último valor também foi possível determinar o tamanho da cadeia acila como C₁₆H₃₃.

Da mesma forma que a substância **15** os espectros de **16** e **17** mostram o pico referente à perda de olefina na cadeia alcoxila (m/z 271), este fragmento é comumente observado quando esta cadeia possui três ou mais carbonos (Figura 40).

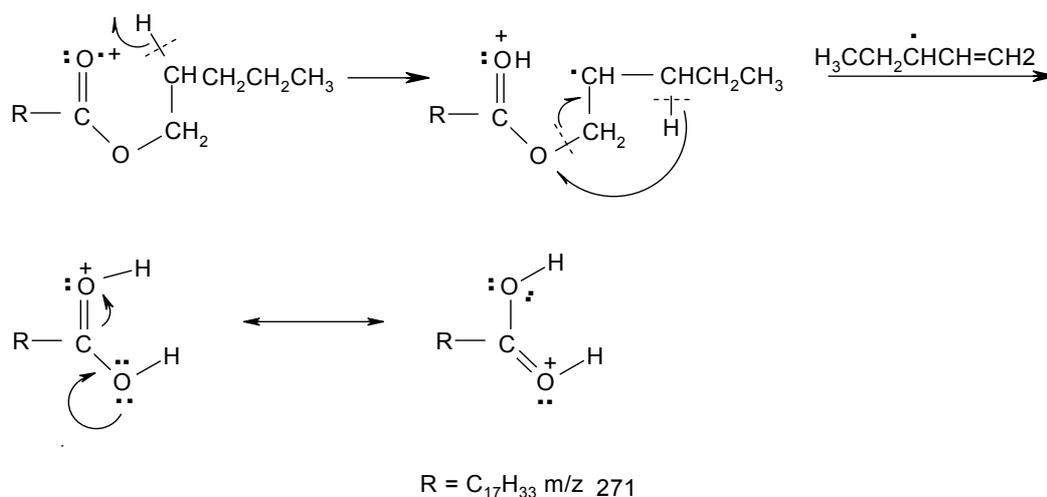


Figura 40. Formação do fragmento *m/z* 271

Com base nestas informações e na presença do pico base em *m/z* 70 (Figura 41), correspondente ao fragmento resultante do rearranjo de McLafferty, foi proposta a estrutura do hexadecanoato de pentila para as substâncias **16** e **17**.

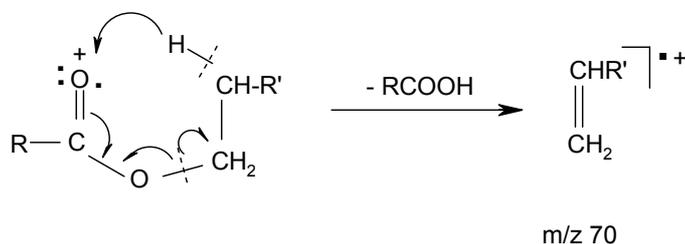


Figura 41. Formação do fragmento *m/z* 70

Todos os dados descritos até o momento para as substâncias **16** e **17** juntamente com os demais picos resultantes de fragmentações hidrocarbônicas estão apresentados na Tabela 14.

De acordo com estes dados, tanto os grupos amila, sec-amila ou isoamila poderiam estar ligados ao oxigênio da carboxila, em virtude de existirem em seus espectros de massas pequenas diferenças, basicamente com relação às intensidades de alguns fragmentos. No entanto, os índices de Kovats calculado para **16** e **17** foram determinantes na identificação destas substâncias, uma vez que tanto os seus valores quanto as massas e intensidades dos fragmentos obtidos, foram compatíveis com os

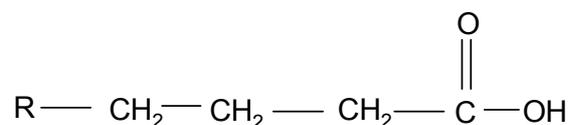
dados revelados por Radulovic *et al.* (2009) para o hexadecanoato de isoamila e sec-amila, respectivamente (Tabela 14).

Tabela 14. Fragmentos presentes nos espectros de massas das substâncias **16** e **17** identificadas na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina* e os fragmentos dos ésteres hexadecanoato de isoamila (**A**) e hexadecanoato de sec-amila (**B**) citados na literatura.

FRAÇÃO	SUBSTÂNCIAS			
	16	17	A*	B*
ACC-A	11	11	—	—
Tr (min)	19,82	19,86	—	—
IK calculado	2246	2251	—	—
IK literatura	—	—	2245	2250
FRAGMENTOS	m/z (IR)			
M ⁺	326 (1,3)	326 (0,3)	326 (3)	326 (1)
[M-CH ₃] ⁺	311(0,2)	312(0,09)	311 (1)	—
[M-C ₃ H ₇] ⁺	283 (0,25)	283 (0,04)	283 (1)	—
[M-C ₅ H ₁₁ O] ⁺	239(2,2)	239(5,3)	239 (8)	—
[M-C ₇ H ₁₅]	227 (0,4)	227 (0,3)	227 (1)	227 (1)
[M-C ₈ H ₁₇]	213 (0,8)	213 (0,8)	213 (2)	213 (3)
[M-C ₉ H ₁₉]	199 (0,7)	199 (0,08)	199 (1)	199 (1)
[M-C ₁₀ H ₂₁]	185 (0,7)	185 (0,7)	185 (1)	185 (2)
[M-C ₁₁ H ₂₃]	171 (0,3)	171 (0,3)	171 (1)	171 (2)
[M-C ₁₂ H ₂₅]	157 (0,8)	157 (0,8)	157 (1)	157 (2)
[M-C ₁₃ H ₂₇]	143 (1)	143 (1)	143 (3)	143 (2)
[M-C ₁₄ H ₂₉]	129 (0,14)	129 (0,14)	129 (3)	129 (5)
[M-C ₁₅ H ₃₁]	115 (2,5)	115 (2,5)	115 (3)	115 (4)
[C ₇ H ₁₃]	97 (3,6)	97 (3,6)	97 (3)	97 (5)
[C ₆ H ₁₁]	83 (4,3)	83 (4,3)	83 (4)	83 (7)
[C ₅ H ₁₁] ⁺	71 (45)	71 (50)	71 (45)	71 (51)
[C ₅ H ₁₀] ⁺	70 (100)	70 (100)	70 (100)	70 (100)
[C ₄ H ₉] ⁺	57 (15)	57 (18)	57 (11)	57 (18)
[C ₃ H ₇] ⁺	43(50)	43(56)	43(33)	43(37)
[C ₃ H ₅] ⁺	41(21)	41(26)	41(13)	41(16)

IK- Índice de Kovats IR- Intensidade relativa *Radulovic *et al.*, 2009

4.6.1.5 Identificação das substâncias 18 a 24 (ácidos graxos saturados)



- 18** R = C₈H₁₇ ácido dodecanóico (ácido láurico)
19 R = C₁₀H₂₁ ácido tetradecanóico (ácido mirístico)
20 R = C₁₁H₂₃ ácido pentadecanóico
21 R = C₁₂H₂₅ ácido hexadecanóico (ácido palmítico)
22 R = C₁₃H₂₇ ácido heptadecanóico (ácido margárico)
23 R = C₁₄H₂₉ ácido octadecanóico (ácido esteárico)
24 R = C₁₆H₃₃ ácido eicosanóico (ácido araquídico)

Figura 42. Substâncias **18** a **24** identificadas na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

As substâncias **18** a **24** foram identificadas por GC-MS nas frações ACC-A17 a 19 (Tabela 3, pag 42) oriundas do fracionamento cromatográfico da fase em cicloexano. Apenas as substâncias **21** e **23** foram identificadas no extrato bruto (Tabela 10, pag 62).

Na análise dos espectros de massas destas substâncias (Espectros 31 a 43) foram observados os picos correspondentes aos seus respectivos íons moleculares, que juntamente com os demais fragmentos (Tabela 14) sugeriram serem correspondentes a ácidos graxos saturados.

Destacaram-se em seus espectros os picos em m/z 60 resultante do rearranjo de McLafferty, m/z 73 (Figura 29) representado pelo fragmento contendo oxigênio [C₃H₅O₂]⁺ e em m/z 43 representado pelo fragmento alquila [C₃H₇]⁺.

As clivagens α à carbonila originaram os fragmentos [M-OH]⁺ e [CO₂H]⁺ cujo valor de m/z é 45. O demais picos observados correspondem aos fragmentos hidrocarbônicos do tipo C_nH_{2n+1} e fragmentos contendo oxigênio do tipo [(CH₂)_nCO₂H]⁺ resultantes das quebras C-C (Tabela 15).

Diante dos dados espectrométricos de **18** a **24** foi possível propor para estas substâncias as estruturas dos ácidos dodecanóico, tetradecanóico, pentadecanóico, hexadecanóico, octadecanóico e eicosanóico, respectivamente.

Os dados supracitados aliados aos seus índices de Kovats e às correlações observadas com modelos disponíveis na literatura bem como na biblioteca de espectros de massas WILEY foram coerentes com as estruturas propostas.

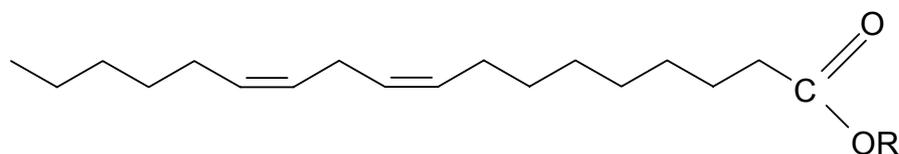
Tabela 15. Fragmentos presentes nos espectros de massas das substâncias 18 a 24 identificadas na fase em ciclohexano na madeira de *A. colubrina*

FRAÇÕES	SUBSTÂNCIAS						
	18	19	20	21	22	23	24
	ACC-A 17-19	ACC-A 18-19	ACC-A 18-19	ACC-A 17-19	ACC-A 18-19	ACC-A 17-19	ACC-A 19
Tr (min)	12,51	14,88	16,02	17,13	18,10	19,12	20,93
IK calculado	1568	1768	1871	1977	2036	2179	2300
IK literatura	1568 ^a	1768 ^b	1844 ^c	1984 ^d	2022 ^e	2200 ^f	2327 ^g
FRAGMENTOS	m/z						
M ⁺	200	228	242	256	270	284	312
[C ₂ H ₄ O ₂] ⁺	60	60	60	60	60	60	60
[M-OH] ⁺	183	211	225	239	253	267	295
[M-C ₂ H ₅] ⁺	171	199	213	227	241	255	283
[M-C ₃ H ₇] ⁺	157	185	199	213	227	241	269
[M-C ₄ H ₉] ⁺	143	171	185	199	213	227	255
[M-C ₅ H ₁₁] ⁺	129	157	171	185	199	213	241
[M-C ₆ H ₁₃] ⁺	115	143	157	171	185	199	227
[M-C ₇ H ₁₅] ⁺	101	129	143	157	171	185	213
[M-C ₈ H ₁₇] ⁺	87	115	129	143	157	171	199
[M-C ₉ H ₁₉] ⁺	73	101	115	129	143	157	185
[M-C ₁₀ H ₂₁] ⁺	59	87	101	115	129	143	171
[M-C ₁₁ H ₂₃] ⁺	45	73	87	101	115	129	157
[M-C ₁₂ H ₂₅] ⁺	—	59	73	87	101	115	143
[M-C ₁₃ H ₂₇] ⁺	—	45	59	73	87	101	129
[M-C ₁₄ H ₂₉] ⁺	—	—	45	59	73	87	115
[M-C ₁₅ H ₃₁] ⁺	—	—	—	45	59	73	101
[M-C ₁₆ H ₃₃] ⁺	—	—	—	—	45	59	87
[M-C ₁₇ H ₃₅] ⁺	—	—	—	—	—	45	73
[M-C ₁₈ H ₃₇] ⁺	—	—	—	—	—	—	59
[M-C ₁₉ H ₃₉] ⁺	—	—	—	—	—	—	45
[C ₅ H ₁₁] ⁺	71	71	71	71	71	71	71
[C ₄ H ₉] ⁺	57	57	57	57	57	57	57
[C ₃ H ₇] ⁺	43	43	43	43	43	43	43
[C ₃ H ₅] ⁺	41	41	41	41	41	41	41

^aADAMS, 1995; ^bLEFFINGWELL & ALFORD, 2005; ^cPINO & MARBOT, 2001;

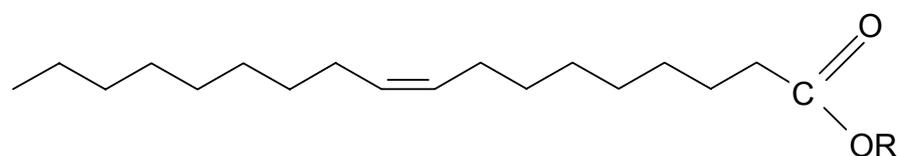
^dPRIESTAP *et al.*, 2003; ^fBEAULIEU & GRIMM, 2001; ^gALBERTS *et al.*, 1992

4.6.1.6 Identificação das substâncias 25 a 28 (ésteres e ácidos graxos insaturados)



25 (Z,Z)-9,12-octadecadienato de metila R = OCH₃

26 (Z,Z)-ácido 9,12-octadecadienóico R = H



27 (Z)-9-octadecenoato de metila R = OCH₃

28 (Z)-ácido 9-octadecenóico R = H

Figura 43. Substâncias **25** a **28** identificadas na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

As substâncias **25** a **28** foram identificadas por GC-MS nas frações ACC-A 15-18, ACC-A 18-30, ACC-A 15, ACC-A 17-19, provenientes do fracionamento cromatográfico da fase em cicloexano (Tabela 3, pag 42), bem como na fase bruta (Tabela 10, pag 62). A análise de seus espectros de massas evidenciou que tais substâncias eram de natureza graxa insaturada em virtude de picos intensos e característicos na região de menor massa.

A comparação dos espectros de massas de **25** e **26** (Espectros 45 e 47) mostrou que suas estruturas eram muito semelhantes, apresentando inclusive os mesmos fragmentos típicos de uma substância graxa com duas insaturações. Em conformidade com estas informações, foi observado em seus espectros de massas o pico base em m/z 67 juntamente com outros picos que dominaram no intervalo de

menor massa (m/z 41, 55, 81, 95, etc.) atribuíveis a fragmentos hidrocarbônicos de fórmula $[C_nH_{2n-3}]^+$ resultantes de clivagens alílica.

No entanto, foram observadas diferenças concernentes aos valores de m/z dos íons moleculares de **25** e **26** que foram 294 e 280, respectivamente, que indicaram a presença de um grupo metileno a mais em **25**. Foram ainda observadas apenas no espectro de **25** fragmentações básicas de ésteres metílicos como a presença do pico em m/z 263 referente ao fragmento $[M-OCH_3]^+$ e em m/z 74 (Figura 31) correspondente ao rearranjo de McLafferty, embora de baixa intensidade. Enquanto no espectro da substância **26** o cátion resultante deste rearranjo apareceu em m/z 60, que é característico de ácidos graxos.

Diante de tais informações, foi possível atribuir a estrutura correspondente ao octadecadienoato de metila para **25** e ao ácido octadecadienóico para a substância **26**, o que justificaria a diferença entre suas massas moleculares.

A análise dos espectros de massas de **25** e **26** não forneceu evidências de íons que pudessem servir para localizar as posições de suas insaturações. Apesar do espectro da substância **25** apresentar 94% de similaridade com o espectro do (Z,Z) 9,12-octadecadienoato de metila (linoleato de metila) presente na biblioteca de espectros WILEY (Espectros 45 e 46), sua estrutura só foi confirmada como tal após co-injeção com amostra autêntica.

Em virtude da falta de disponibilidade de padrões de ácidos graxos, a estrutura da substância **26** não pôde ser confirmada da mesma forma que **25**. Sendo assim seu espectro de massas foi comparado com os da biblioteca WILEY (Espectros 47 e 48) e por 94% de similaridade obteve-se a estrutura do ácido (Z,Z) 9,12-octadecadienóico (ácido linoléico). O índice de Kovats calculado para **26** foi 2152 muito próximo ao valor encontrado na literatura (2173) correspondente ao ácido linoléico [ALVESA *et al.*, 2005].

Os dados de GC-MS das substâncias **27** e **28** identificadas nas frações apresentadas na Tabela 16, evidenciaram que tais substâncias eram, da mesma maneira que **25** e **26**, de natureza graxa insaturada, em função do número significativo de fragmentos com valores de m/z entre 40 e 115.

Dentre os picos presentes em seus espectros (Espectros 49 e 51), foram destacados os mais intensos (m/z 41, 55, 69, 83, 97 e 111), além dos fragmentos associados aos de clivagens de ligações alílicas.

Da mesma forma que **25**, a substância **27** pôde ser identificada como um éster metílico em virtude dos fragmentos característicos $[M-OCH_3]^+$ e $[C_3H_6O_2]^+$ em m/z 74, sendo este último com abundância relativa média. Em função da presença do cátion resultante do rearranjo de McLafferty com valor de m/z 60, a substância **28** também foi identificada como um ácido carboxílico da mesma maneira que **26**.

A comparação dos espectros de massas de **27** e **28** com os de **25** e **26** permitiu constatar que os dois primeiros apresentam apenas uma ligação dupla. Assim, a análise conjunta dos dados permitiu definir **27** e **28** como sendo octadecenoato de metila e ácido octadecenóico, respectivamente. Os espectros de **27** e **28** (Espectros 49 e 51) apresentaram uma boa correlação (índice de similaridade superior a 90%) com os espectros encontrados na biblioteca WILEY para (Z) 9-octadecenoato de metila (oleato de metila) e ácido (Z) 9-octadecenóico (ácido oléico), respectivamente (Espectros 50 e 52). A estereoquímica da substância **27** não foi possível ser confirmada da mesma forma que a da substância **25**, através da co-injeção de amostra padrão de ésteres metílicos, em virtude dos isômeros não terem sido distinguidos no padrão. No entanto, seu índice de Kovats calculado mostrou-se compatível com o apresentado na literatura para o oleato de metila (Tabela 16) [PINO *et al.*, 2005].

Tabela 16. Fragmentos presentes nos espectros de massas das substâncias **25** a **28** identificadas da fase em ciclohexano da madeira de *A. colubrina*

FRAÇÕES	SUBSTÂNCIAS			
	25	26	27	28
	ACC-A 15-18	ACC-A 18-30	ACC-A 15	ACC-A 17-19
Tr (min)	18,43	18,86	18,49	18,92
IK calculado	2106	2152	2113	2158
IK literatura	2092 ^a	2173 ^b	2103 ^c	2161 ^d
FRAGMENTOS	<i>m/z</i>			
M ⁺	294	280	296	282
McLafferty	74	60	74	60
[M-OCH ₃] ⁺	263	—	—	—
[M-HOCH ₃] ⁺	262	—	264	—
[M-OH] ⁺	—	263	—	—
[M-H ₂ O] ⁺	—	—	—	—
[C ₁₀ H ₁₇] ⁺	137	137	137	137
[C ₉ H ₁₅] ⁺	123	123	—	—
[C ₈ H ₁₅] ⁺	—	—	111	111
[C ₈ H ₁₃] ⁺	109	109	—	—
[C ₇ H ₁₃] ⁺	—	—	97	97
[C ₇ H ₁₁] ⁺	95	95	—	—
[C ₆ H ₁₁] ⁺	—	—	83	83
[C ₆ H ₉] ⁺	81	81	—	—
[C ₅ H ₉] ⁺	—	—	69	69
[C ₅ H ₇] ⁺	67	67	—	—
[C ₄ H ₇] ⁺	55	55	55	55
[C ₃ H ₅] ⁺	41	41	41	41

^aTELEZ *et al.*, 2002 ^bALVESA *et al.*, 2005 ^cPINO *et al.*, 2005

^dPRIESTAP *et al.*, 2003

4.6.2 Identificação dos triterpenos

Existe uma grande ocorrência de triterpenos em plantas, principalmente os tetracíclicos e pentacíclicos e comumente vários deles em uma mesma espécie. A amplitude desta classe de compostos é dada em função da diversidade de esqueleto carbônico existente e de funcionalização. É comum a ocorrência de triterpenos com mais de um grupo funcional, predominantemente oxigenado, como: -OH, -OR, -OAc, -COOH, -COOR, =O [MAHATO & KUNDU, 1994].

Os triterpenos apresentam o óxido de squaleno como seu precursor biossintético o qual, por sua vez, ao ciclizar numa conformação cadeira- cadeira- cadeira- bote e de acordo com dois tipos de rearranjos, pode originar esqueletos tetracíclicos ou pentacíclicos [MANN, 1987; DEWICK, 1997].

Os triterpenos pentacíclicos podem ser divididos, segundo seu esqueleto, em três grupos principais: oleanano, ursano e lupano (Figura 44). Os triterpenos de esqueleto oleanano apresentam duas metilas em C-20 enquanto que os de esqueleto ursano apresentam uma metila em C-20 e outra em C-19. Nestes esqueletos, a estereoquímica referente à junção dos anéis A/B, B/C e C/D é *trans*, e entre D/E é *cis*. Já o esqueleto do tipo lupano difere dos anteriores na estereoquímica *trans* entre os anéis D/E. Além disso, o anel E é pentagonal.

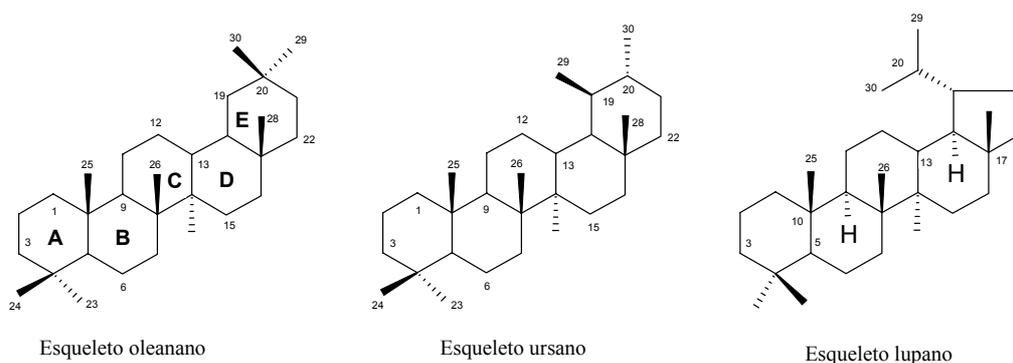


Figura 44. Esqueletos mais comuns dos triterpenos

A atribuição dos sinais presentes no espectro de RMN de ^{13}C aos átomos de carbono de um triterpeno desconhecido pode ser feita em muitos casos, com boa margem de segurança, por comparação dos seus dados espectrais com os de modelos disponibilizados na literatura, uma vez que um grande número de dados de

deslocamentos químicos de ^{13}C tem sido compilado. Em alguns casos, são necessárias informações provenientes das técnicas bidimensionais HMBC e HMQC para a completa atribuição dos dados de RMN de ^{13}C [MAHATO & KUNDU, 1994].

Devido ao fato de misturas de triterpenos com estruturas semelhantes apresentarem difícil separação frente a técnicas cromatográficas convencionais, foi proposta por Olea e Roque (1990) uma metodologia para a identificação dos esqueletos triterpênicos. Esta metodologia consiste na análise dos deslocamentos químicos dos sinais presentes na região de carbonos olefínicos. A observação do número e intensidade dos sinais nesta região permite definir, também, o número e a abundância relativa dos componentes da mistura. Assim, os triterpenos que possuem esqueleto do tipo lup-20(29)-eno podem ser identificados pelos sinais em torno de 150,5 δ e 109,3 δ , relativos aos carbonos olefínicos C-20 e C-29, respectivamente. Enquanto os que apresentam os esqueletos urs-12-eno e olean-12-eno são identificados através dos sinais referentes aos carbonos olefínicos C-12 e C-13 em torno de 124,1 e 139,4 δ para o urs-12-eno e 121,7 e 145,1 δ para o olean-12-eno.

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) é uma técnica que também pode ser empregada para a análise e caracterização de misturas complexas de triterpenos com vários tipos de esqueletos [ASSIMOPOULOU & PAPAGEORGIOU, 2005]. De acordo com Budzikiewicz *et al.* (1963), os picos mais característicos nos espectros de massas dos triterpenos com esqueletos olean-12-eno e urs-12-eno são resultantes da reação de retro-Diels-Alder no anel C. A carga é retida na parte dieno, porém pode ser observada com menos importância no outro fragmento.

Outra fragmentação do anel C que não envolve RDA, e sim transferência de H^+ ocorre em menor intensidade, sendo, porém a principal fragmentação dos triterpenos que não apresentam insaturação entre os átomos de carbono C-12 e C-13, em particular os lupanos [BUDZIKIEWICZ *et al.*, 1963].

Os triterpenos que ocorrem com mais frequência em plantas do gênero *Anadenanthera* apresentam estruturas pentacíclicas do tipo lupano, porém há também relatos da ocorrência de triterpenos que possuem esqueleto oleanano e ursano (Tabela 1, pag 8-10).

Foram identificados dois triterpenos com esqueleto lupano na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*: lupeol (**29**) e lupenona (**30**). O lupeol foi identificado por GC-MS como o componente majoritário na fase em cicloexano (Tabela 10, pag 62). Por este motivo foi isolado e teve sua estrutura definida utilizando-se as técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C , juntamente com a espectrometria de massas. Embora a lupenona tenha sido identificada como o terceiro componente em maior quantidade presente neste extrato, o seu isolamento não foi possível. Desta forma, este triterpeno foi caracterizado apenas com base em seu espectro de massas. Tanto o lupeol quanto a lupenona já haviam sido isolados do cerne e partes aéreas de *A. colubrina* (Tabela 1, pag 9).

4.6.2.1 Identificação da substância 29 (lupeol)

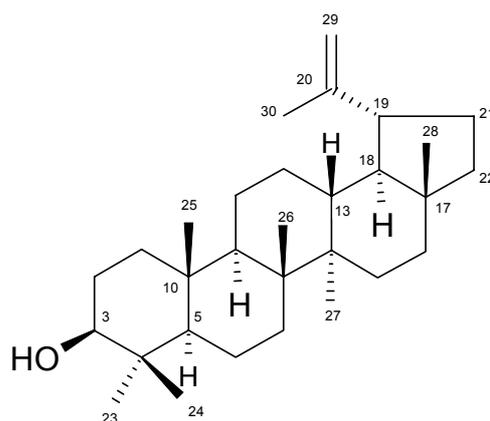


Figura 45. Substância **29** identificada na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

A substância **29** obtida como um sólido cristalino branco ($\text{PF}_{\text{exp.}} = 213\text{ }^\circ\text{C}$; $\text{PF}_{\text{lit.}} = 213\text{ }^\circ\text{C}$ [JAIN & BARI, 2010]) das frações ACC-A16 e ACC-A18-20 (Tabela 3, pag 42), apresentou uma mancha roxa quando submetida à CCDA e revelada com solução de anisaldeído. O seu espectro de massas (Espectro 58) revelou um íon molecular em m/z 426 enquanto que o espectro de RMN de ^1H (Espectros 53-55) apresentou vários

sinais na região de 0,76 δ a 1,68 δ , característicos de metilas de substância de natureza triterpênica.

Um duplete largo em 4,69 δ (1H, $^2J = 2,4$ Hz) juntamente com um multiplete em 4,57 δ (1H) no espectro de RMN 1H (Espectros 53-55), indicaram a presença de uma ligação dupla do tipo vinílica ($R_2C=CH_2$). No espectro de RMN ^{13}C (Espectro 56), os picos a 109,3 δ (CH_2) e 151,0 δ (C tetrassubstituído) confirmaram essa proposta. Estes dados juntamente com o sinal a 1,68 δ no espectro de RMN 1H (Espectro 55) atribuído a um grupo metila ligado a carbono olefínico sugeriram que o composto **29** teria o esqueleto lupano.

A presença de um duploduplete em 3,19 δ (1H, $^3J = 5,1$ e $^3J = 11,0$ Hz) no espectro de RMN de 1H juntamente com um sinal em 79,0 δ no espectro de RMN de ^{13}C sugeriu a presença de uma hidroxila em C-3.

Ao compararmos as informações obtidas dos espectros de RMN de 1H e ^{13}C (Tabelas 17 e 18) e DEPT 135° (Espectro 57) da substância **29** com informações da literatura [FOTIE *et al.*, 2006; MAHATO & KUNDU, 1994], foi confirmado que tratava-se do lupeol, triterpeno amplamente distribuído no reino vegetal.

Tabela 17. Dados de RMN ^1H da substância (**29**) obtido de *A. colubrina* (300 MHz) e do lupeol citado na literatura (400 MHz), ambos em clorofórmio- d_1 .

H	3 δ ^1H [mult., J (Hz)]	lupeol* δ ^1H [mult., J (Hz)]
3	3,19 dd (5,1; 11,0)	3,19 dd (4,8; 11,6)
19	2,38 dt (5,5; 11,0)	2,38 dt (4,0; 9,6)
Me-23	0,76 s	0,77 s
Me-24	0,79 s	0,80 s
Me-25	0,83 s	0,84 s
Me-26	0,94 s	0,95 s
Me-27	0,97 s	0,97 s
Me-28	1,03 s	1,03 s
29a	4,69 dl (2,4)	4,68 sl
29b	4,57 m	4,57 sl
Me-30	1,68 s	1,70 s

* FOTIE *et al.*, 2006

Tabela 18. Dados de RMN ^{13}C da substância (**29**) obtido de *A. colubrina* (75 MHz) e do lupeol citado na literatura (100 MHz), ambos em clorofórmio- d_1 .

C	$3 \delta^{13}\text{C}$	lupeol *$\delta^{13}\text{C}$
1	38,7	38,7
2	27,4	27,4
3	79,0	78,9
4	38,8	38,8
5	55,2	55,3
6	18,3	18,3
7	34,2	34,2
8	40,8	40,8
9	50,4	50,4
10	37,1	37,1
11	20,9	20,9
12	25,1	25,1
13	38,0	38,0
14	42,8	42,8
15	27,4	27,4
16	35,5	35,5
17	43,0	43,0
18	48,3	48,2
19	48,0	47,9
20	151,0	150,9
21	29,8	29,8
22	40,0	40,0
23	28,0	28,0
24	15,4	15,4
25	16,1	16,1
26	15,9	15,9
27	14,5	14,5
28	18,0	18,0
29	109,3	109,3
30	19,3	19,3

* MAHATO & KUNDU, 1994

4.6.2.2 Identificação da substância 30 (lupenona)

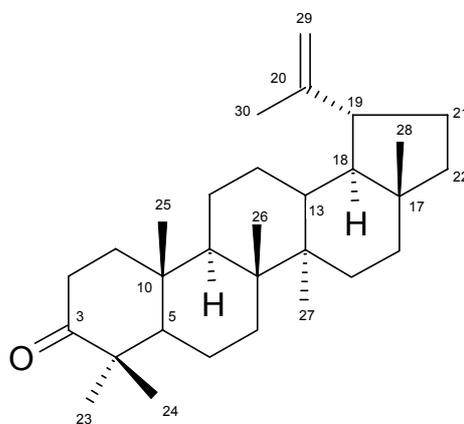


Figura 46. Substância **30** identificada na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

A substância **30** foi identificada por CG-MS tanto na fase em cicloexano (Tabela 10, pag 62) como na fração ACC-A16 obtida do fracionamento desta fase (Tabela 3, pag 42). Através do seu espectro de massas (Espectro 59), perfil de fragmentação e comparação com o espectro da substância **29** (Espectro 58) foi possível deduzir que se tratava de um triterpeno.

Dentre os fragmentos característicos encontra-se o íon molecular em m/z 424, o pico em m/z 381 referente à perda da cadeia lateral, além do pico em m/z 409 atribuído a perda de metila. O mais importante fragmento ocorre em m/z 205 e corresponde ao íon resultante da ruptura do anel C com transferência de hidrogênio (Figura 47, pag 95) cuja intensidade é característica de esqueleto lupano possuindo grupo ceto na posição 3 [BUDZIKIEWICZ *et al.*, 1963]. O pico em m/z 218 corresponde ao outro fragmento resultante da clivagem do anel C e a ausência de perda de água exclui a presença de uma hidroxila no C-3.

Estes dados nos levaram a sugerir que **30** é a 3-lupenona cuja fórmula molecular é $C_{30}H_{48}O$ (MM= 424), e a comparação com a biblioteca de espectros de massas WILEY e dados da literatura confirmaram esta proposta. Destaca-se que o

espectro de massas da substância **30** mostrou coincidência de 90% com o espectro da 3-lupenona presente na biblioteca WILEY.

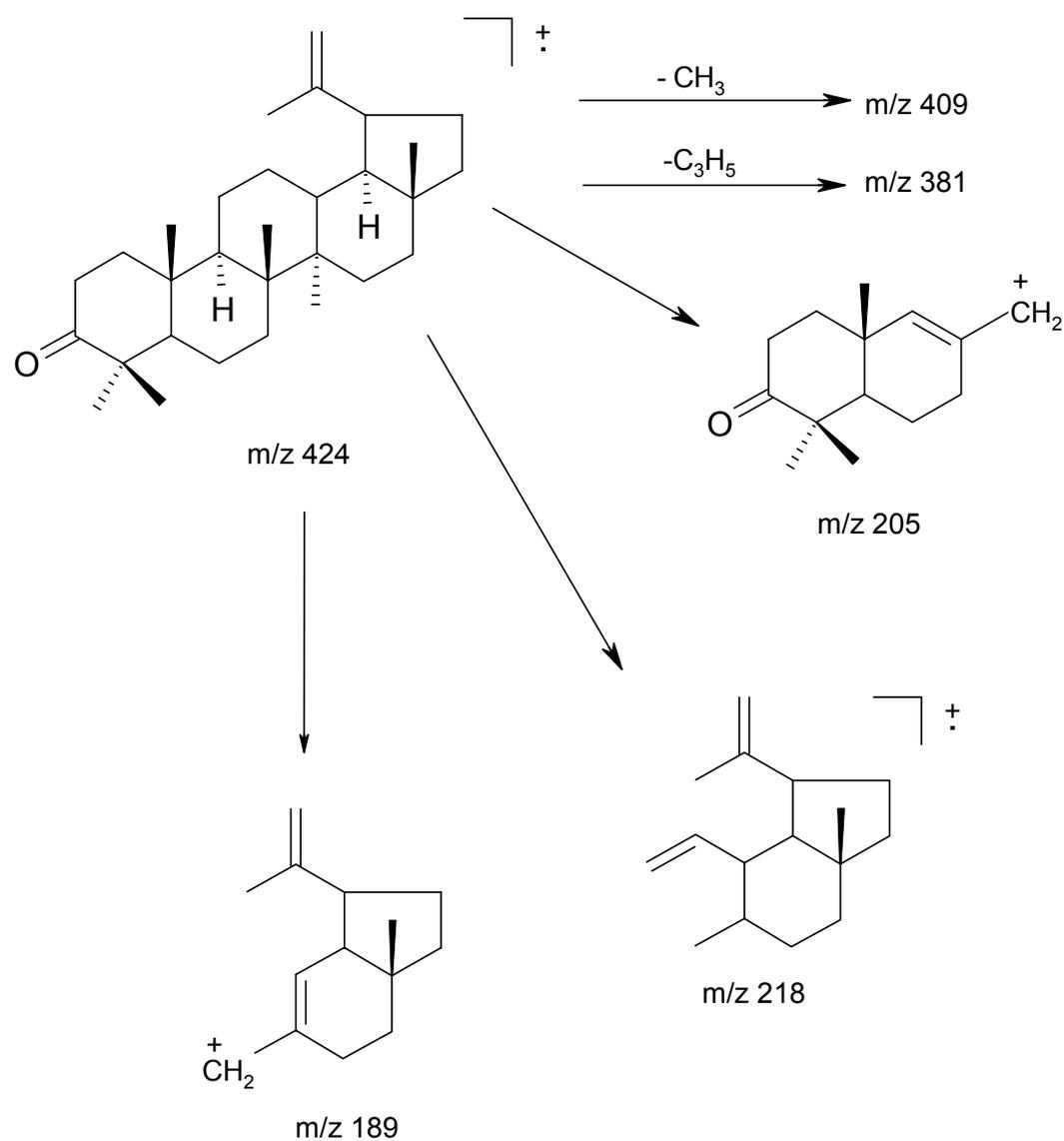


Figura 47. Principais fragmentações observadas no espectro de massas da substância **30**

4.6.3. Identificação dos esteroides

Os esteroides têm a mesma origem biossintética dos triterpenos, só que a ciclização ocorre na conformação cadeira-bote-cadeira-bote. Na maioria dos esteróides as ligações dos anéis B/C e C/D são *trans* e a ligação dos anéis A/B, pode ser *cis* ou *trans* (Figura 48). O esteróide mais comum isolado de animais é o colesterol e os mais comumente encontrados em plantas são o β -sitosterol e estigmasterol [DEWICK, 1997; AHMAD & RAHMAN, 1994].

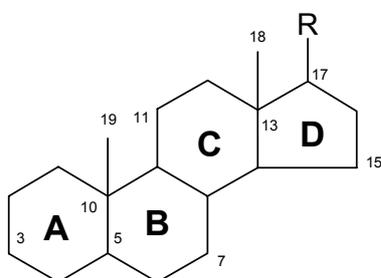


Figura 48. Esqueleto esteroidal

A espectrometria de massas, particularmente em combinação com a cromatografia gasosa, provou ser uma ferramenta poderosa e comumente utilizada na identificação e elucidação estrutural de esteróides [WYLLIE *et al.*, 1977]. Os principais picos nos espectros de massas dos esteróides devem-se às clivagens comuns do esqueleto como:

1. Perda do radical metila. Este tipo de fragmentação, por si só ou em combinação com outra quebra na molécula, é característica de todos os esteróides. Estes radicais eliminados são grupos metilas angulares [FRIEDLAND *et al.*, 1959].

2. Perda de água. Para compostos com o grupo hidroxila na posição 3, os espectros invariavelmente mostram um pico corresponde à perda de água a partir do íon molecular. Além disso, a formação de muitos dos principais íons envolve a perda

de água em combinação com outros mecanismos de fragmentação [FRIEDLAND *et al.*, 1959].

3. A perda da cadeia lateral. Este substituinte, se alquila, é rapidamente perdido por si só ou acompanhado da perda de água e/ou ocasionalmente metila. A perda do substituinte no carbono C-17 também é comum aos esteróides, embora a intensidade relativa do pico resultante desta fragmentação varie entre os compostos. A presença da ligação dupla no carbono C-5 auxilia este tipo de fragmentação, aumentando desta forma sua intensidade relativa (Figura 49) [WYLLIE *et al.*, 1977].

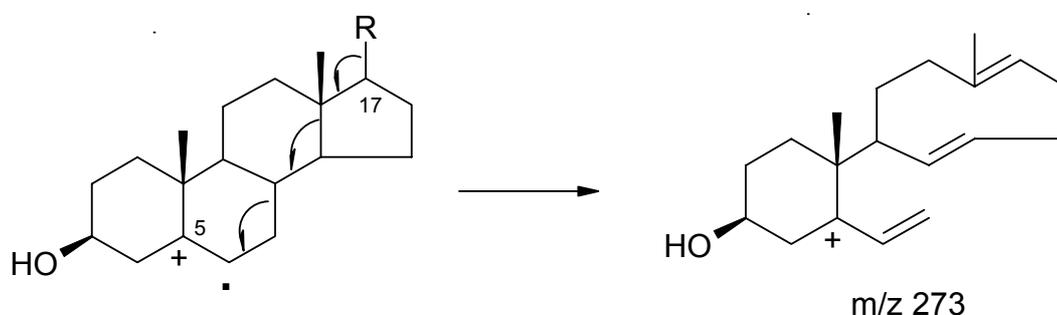


Figura 49. Formação do fragmento referente à perda da cadeia lateral

Também é muito comum ocorrer, juntamente com esta fragmentação, a perda de três átomos de carbono do anel D e um hidrogênio (Figura 50), provavelmente do carbono C-14 [WYLLIE *et al.*, 1977].

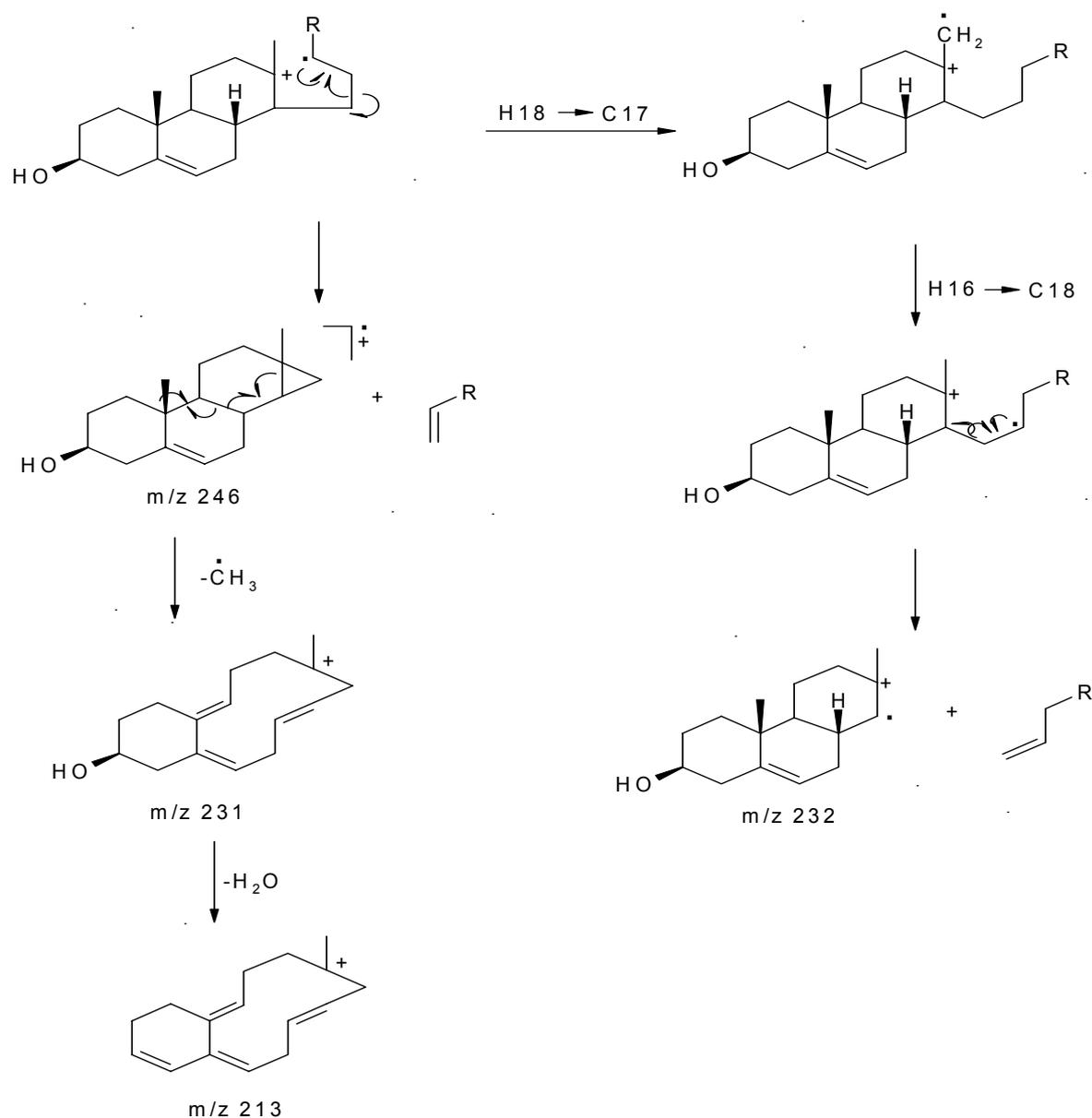


Figura 50. Formação de fragmentos referentes à clivagem do anel D de esteroides

4. A ruptura do anel C. O anel C é quebrado através das clivagens das ligações entre os átomos de carbono C 8-C14 e C 9-C11, permanecendo intactos os anéis A e B (Figura 51). Desta forma, através do valor de m/z desse íon é possível determinar o número de ligações duplas. Usualmente, compostos contendo um grupo hidroxila na posição 3 também apresentam um pico resultante da perda de água.

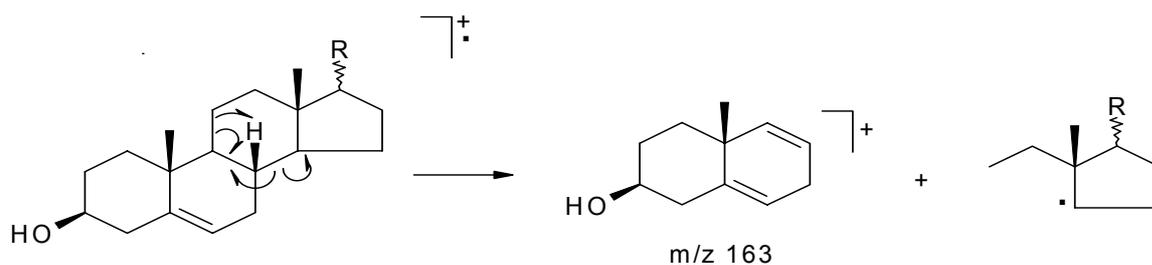


Figura 51. Formação de fragmentos referentes à clivagem do anel C

5. A ruptura do anel B. A presença da insaturação no carbono C-5 controla a fragmentação de Retro-Diels-Alder que envolve a perda do anel A e parte do anel B, pela clivagem das ligações 7-8 e 9-10 (Figura 52). Outros íons característicos de esteróides com insaturação em C-5 e hidroxila em C-3, envolvem também a ruptura do anel B levando à formação dos íons $[M-85]^+$, $[M-111]^+$ e $[M-139]^+$.

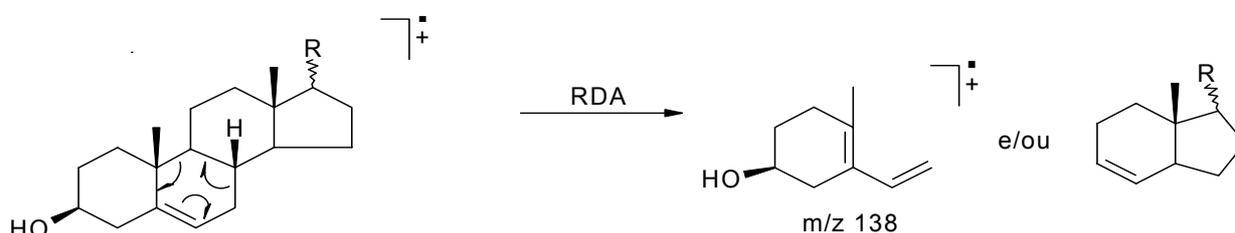


Figura 52. Formação do fragmento referente à reação de Retro-Diels-Alder

Wyllie *et al.* (1977) propuseram dois mecanismos de fragmentações para a formação do íon $[M-139]^+$. No primeiro, a fragmentação se inicia pela ruptura da ligação alílica 9-10 seguida de duas transferências sucessivas dos átomos de hidrogênio das posições 8β e 14α , e da quebra da ligação alílica 7-8 que leva à formação do íon $[M-139]^+$ e mais um radical, ambos alilicamente estabilizados (Figura 53).

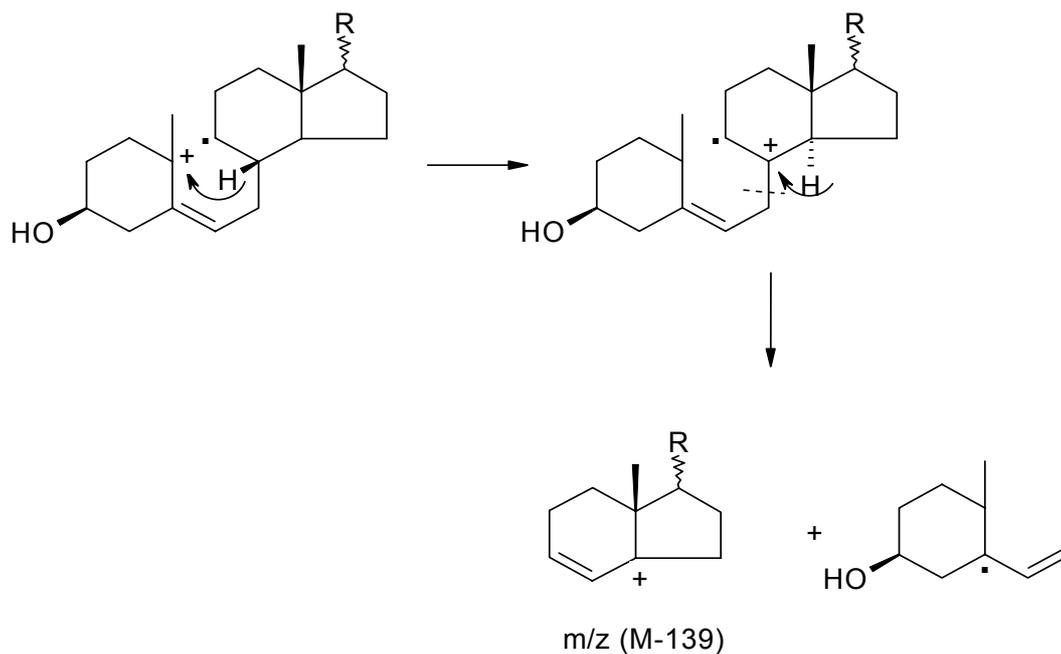


Figura 53. Primeira proposta para a formação do fragmento $[M-139]^+$

O outro mecanismo, o qual envolve a perda do átomo de hidrogênio da posição alílica 9α , pode iniciar com a ruptura simultânea das ligações 7-8 e 13-14. Localizando-se a carga no átomo de carbono C-9, pode-se formar a ligação com o radical isolado do C-13 resultando assim num anel de quatro membros. A ruptura da ligação 9-10, duplamente alílica, leva à formação do íon $[M-139]^+$ e mais um radical (Figura 54).

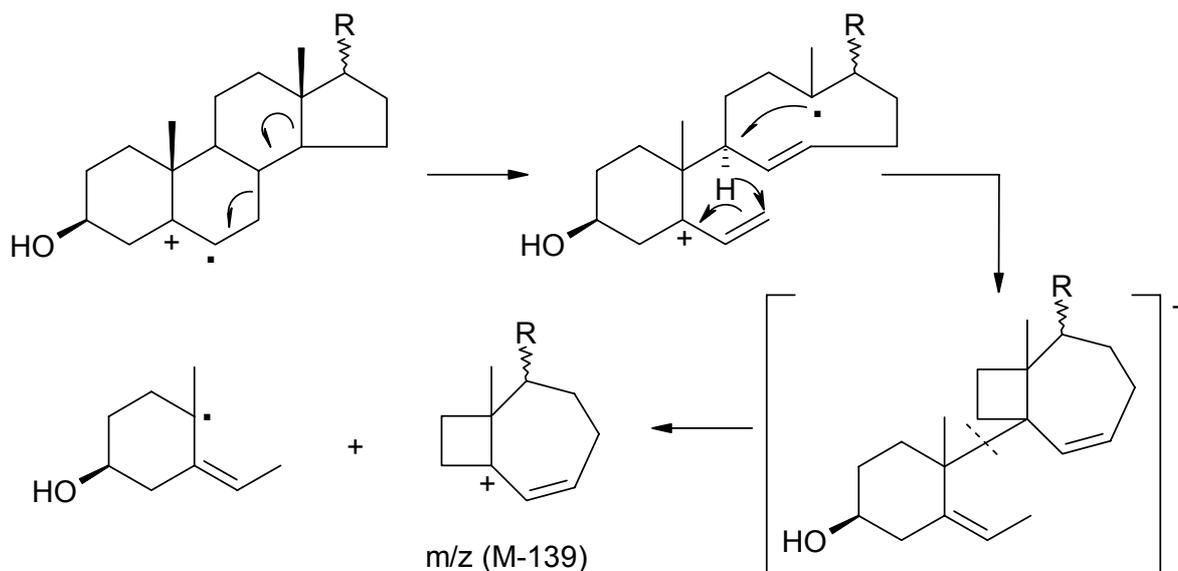


Figura 54. Segunda proposta para a formação do fragmento $[M-139]^+$

Quanto à formação dos íons $[M-85]^+$ e $[M-111]^+$, foram propostas as mais diversas fragmentações do esqueleto esteroidal. Naqvi (1973) sugeriu uma fragmentação para o primeiro íon que envolve a ruptura das ligações 1-10, 5-10 e 5-6 e mais a perda de um próton. Estas fragmentações (Figuras 55 e 56) foram confirmadas por Willie *et al.* (1977) através de estudos das fragmentações do colesterol deuterado.

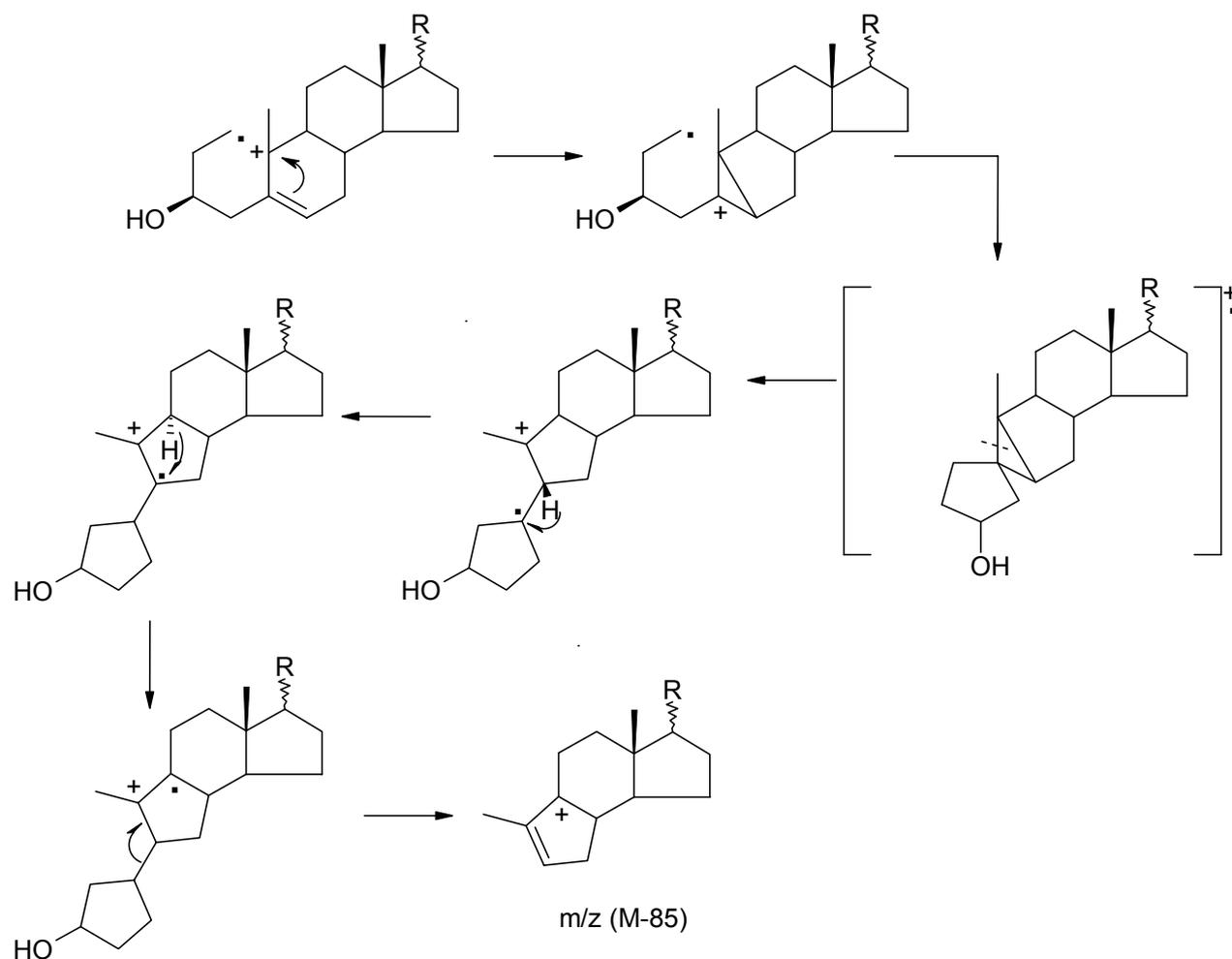


Figura 55. Formação do fragmento $[M-85]^+$

O mecanismo de formação do íon $[M-111]^+$ também recebeu várias proposições. Um provável mecanismo envolve a formação de uma ligação entre os átomos de carbono C-1 e C-5, seguida da ruptura da ligação 7-8 e da transferência de um átomo de hidrogênio da posição 9α para o carbocátion adjacente. A homólise da ligação 5-10 resulta na formação do íon alílico mais um radical, como mostrado na figura a seguir.

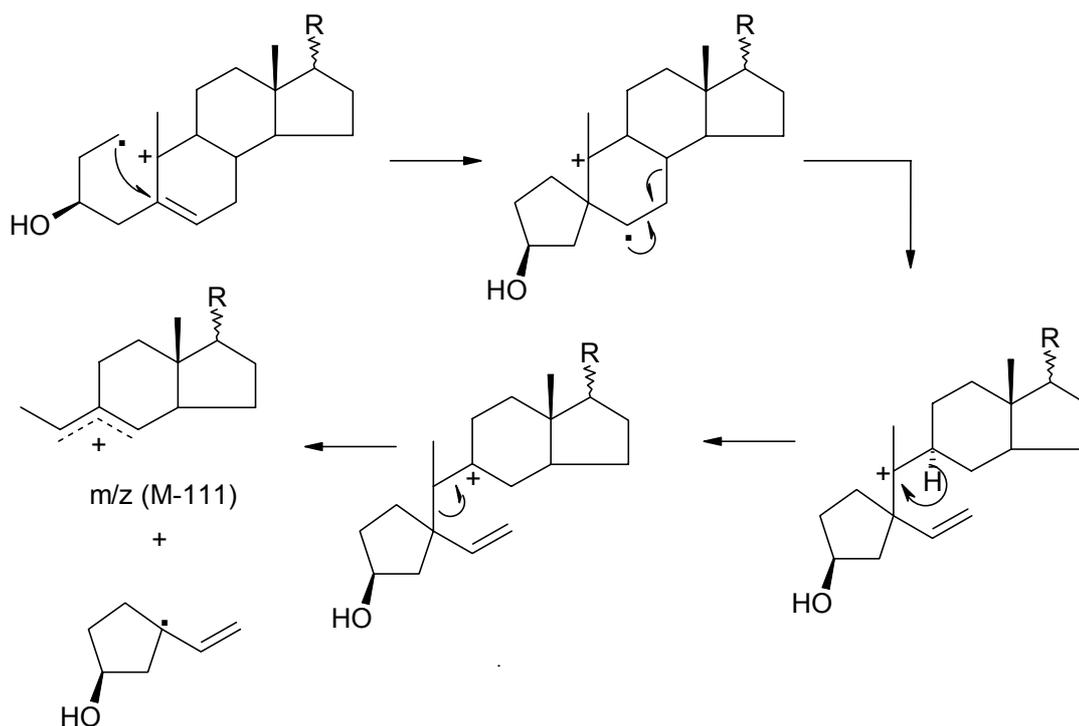


Figura 56. Formação do fragmento $[M-111]^+$

Na análise dos espectros de massas de vários esteróides de ocorrência natural, tornou-se evidente a importância de picos referentes às fragmentações associadas à presença de ligação dupla na cadeia lateral e que não são encontrados nos seus análogos saturados [WYLLIE & DJERASSI, 1968]. A presença do pico cujo valor de m/z é 271 indica que o esteróide provavelmente tem um núcleo Δ^5 -3-ol juntamente com uma ligação dupla na lateral. Segundo Wyllie e Djerassi (1968), nos esteróides Δ^{22} observa-se a perda da cadeia lateral envolvendo a quebra da ligação 17-20 e a transferência de dois átomos de hidrogênio, um dos quais é proveniente do átomo de carbono C-17 (Figura 57).

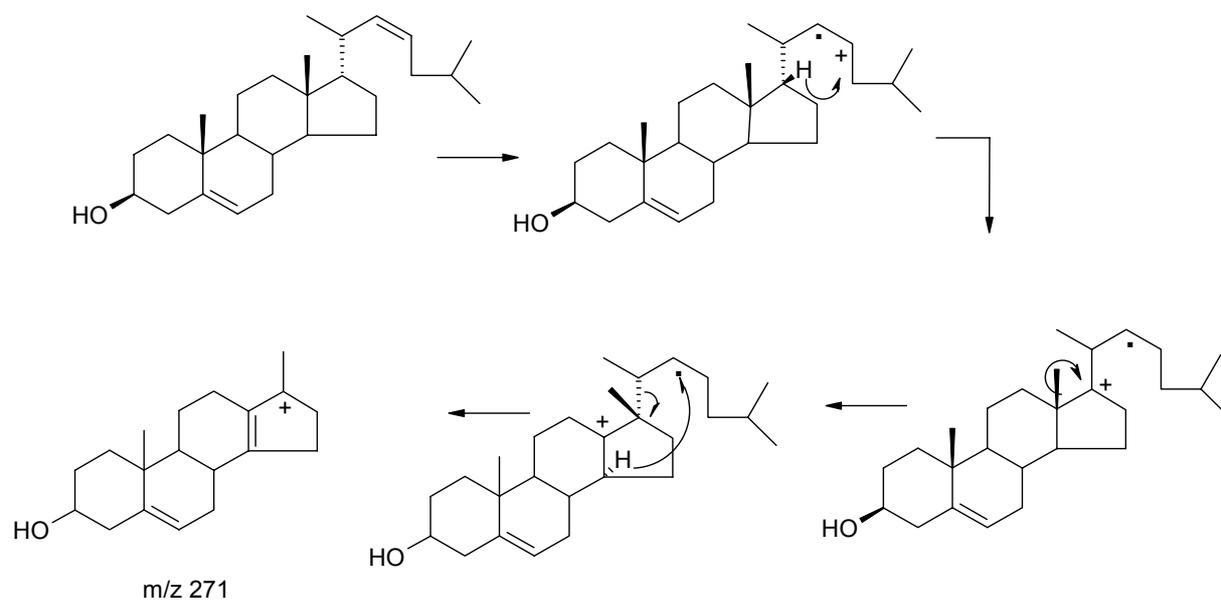
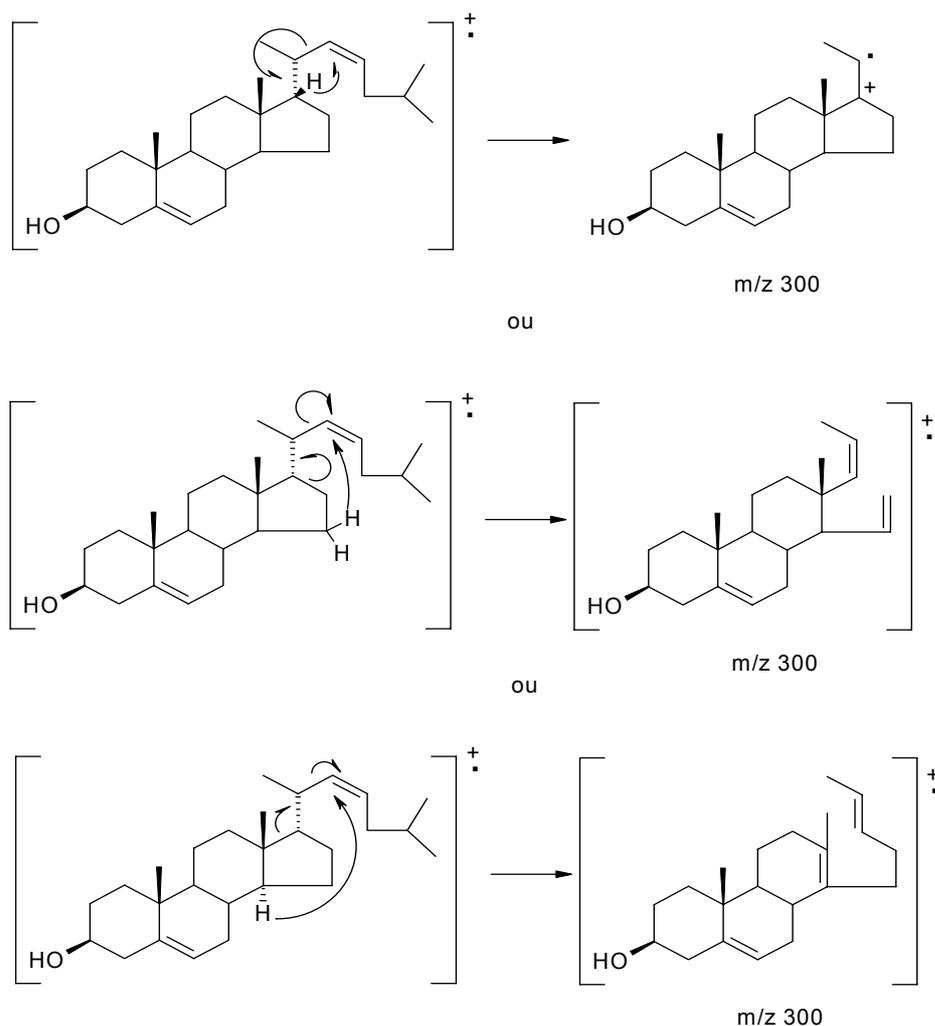


Figura 57. Formação do fragmento m/z 271

Além do pico m/z 271, os espectros de massas de esteroides com insaturação no átomo de carbono C-22 mostram um pico com valor de m/z 300. Este é resultante da clivagem vinílica, formalmente muito desfavorável, juntamente com a transferência de um átomo de hidrogênio. Foram propostos possíveis mecanismos para a formação do íon radical favoravelmente estabilizado de massa 300 (Figura 58), de acordo com a origem do hidrogênio transferido [WYLLIE & DJERASSI, 1968].

Figura 58. Formação do fragmento m/z 300

Outro pico também característico de esteroides com insaturação na posição C-22 é do íon $[M-43]^+$, que corresponde à perda do grupo isopropila terminal através da clivagem alílica [KNIGHTS, 1967].

De acordo com Djerassi (1978) a presença do intenso pico de m/z 124 é o diagnóstico de Δ^4 -3-oxo-esteroides. Sua formação parece envolver a ruptura do anel B com transferência de dois átomos de hidrogênio. Este processo pode ser representado de três maneiras diferentes, dependendo da origem do átomo de hidrogênio que migra em primeiro lugar. O segundo hidrogênio migra de uma posição alilicamente ativada. Djerassi (1978), em seu estudo com esteróides deuterados, observou que o átomo de hidrogênio da posição 8 é o principal iniciante desse processo (Figura 59).

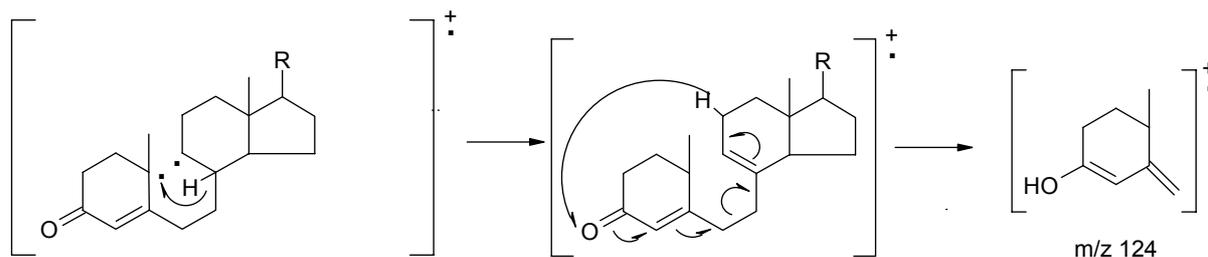


Figura 59. Formação do fragmento m/z 124

Um íon $[M-123]^+$ resultante da ruptura das ligações 6-7 e 9-10, mas agora com a carga retida na parte da molécula formada pelos anéis C e D, foi observado no espectro de várias Δ^4 -3-cetonas [BROWN & DJERASSI, 1980]. Os dados obtidos nos estudos de Brown e Djerassi (1980) provaram que há transferência de um átomo de hidrogênio para a parte da molécula que não reterá a carga. De acordo com os autores, a transferência deste hidrogênio não é muito específica e contribuições significativas são feitas pelos átomos de hidrogênio das posições 8 (33%), 14 (25%), 15 (24%) e 9 (17%). Em todos os casos a ionização da ligação alílica 9-10 inicia o processo que leva a formação do íon $[M-123]^+$.

O mecanismo mostrado a seguir é o processo mais simples e majoritário, onde ocorre a transferência direta do próton do átomo de carbono C-8 para C-10 o que facilita a ruptura da ligação 6-7 e fornece o cátion alilicamente estabilizado $[M-123]^+$ mais o radical livre [BROWN & DJERASSI, 1980].

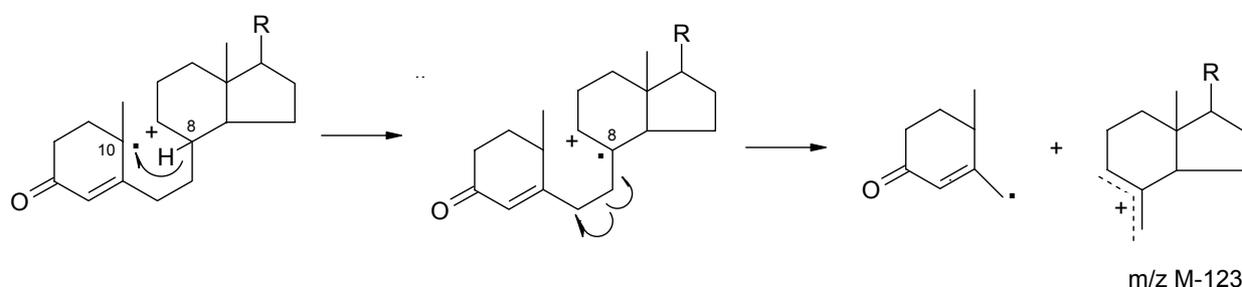


Figura 60. Formação do fragmento $[M-123]^+$

Esteroides Δ^4 -3-oxo bem como seu isômero Δ^1 , sob impacto de elétrons perdem os elementos cetene ($\text{CH}_2=\text{C}=\text{O}$) do anel A. O mecanismo de fragmentação proposto por Shapiro e Djerassi, 1964 pode ser observado na figura 61. No entanto, somente os Δ^4 -3-oxo-esteroides exibem o pico base em m/z 124 e o pico correspondente ao íon $M-85$ para a quebra do anel B.

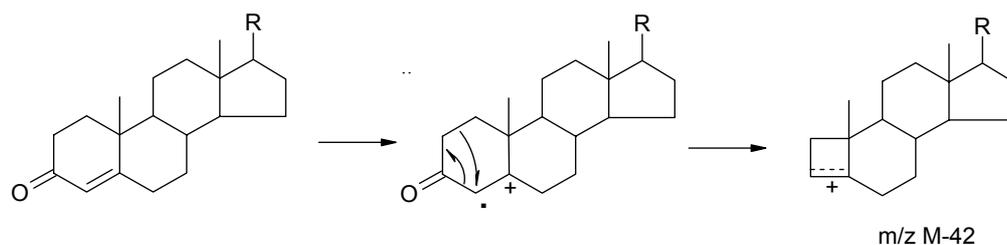


Figura 61. Formação do fragmento $[M-42]^+$

Segundo Shapiro e Djerassi, 1964, a ruptura do anel B mostrou claramente que os átomos de carbono C-2, C-3 e C-19 são perdidos, enquanto C-4, C-6, C-7, C-11 e C-17 estão no fragmento que retém a carga. Também ficou evidente a transferência do átomo de hidrogênio localizado na posição 8. Estes dados levaram a suposição sensata de que os átomos de carbono C-1 e C-10 são também perdidos. O segundo átomo de hidrogênio pode ser oriundo dos átomos de carbono C-12 ou C-18 ou ainda do anel D onde o átomo de hidrogênio 14α parece ser o candidato mais razoável embora os autores não tivessem derivados deuterados disponíveis para confirmar esta suposição. Desta forma, os autores sugeriram o seguinte mecanismo, o qual satisfaz as supracitadas quebras, como também a perda dos hidrogênios das posições 8 e 14 (Figura 62).

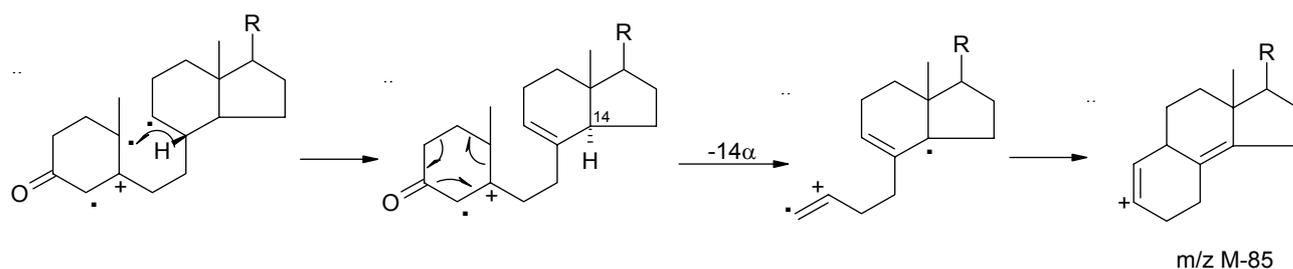


Figura 62. Formação do fragmento $[M-85]^+$

Posteriormente, Brown e Djerassi (1980) provaram através dos estudos com esteróides deuterados que o átomo de carbono C-8 é a fonte predominante (77%) do primeiro átomo de hidrogênio transferido e que o segundo tem múltiplas origens, sendo o átomo de carbono C-14 o maior sítio contribuinte (51%).

O principal pico (pico base) nos espectros de massas dos 7-oxo-esteróides como colestano-7-ona, lanostano-7-ona e sitostano-7-ona, que apresentam substituintes no átomo de carbono C-17, envolve a perda dos anéis C e D. Por outro lado, a perda do anel A é a principal quebra nos esteróides (5 α -androstano-7-ona) com a ausência da cadeia lateral [MUCCINO & DJERASSI, 1973; BEUGELMANS *et al.*, 1964].

O pico base do lanostano-7-ona (m/z 206) envolve as quebras das ligações 8-14 e 11-12 do anel C (Figura 63). Uma prévia quebra da ligação 13-17 foi sugerida por Muccino e Djerassi (1973) para otimizar a distância interatômica entre os átomos de oxigênio (grupo oxo) e hidrogênio (H-15) e explicaria o diferente mecanismo de fragmentação observado para os 7-oxo-esteróides contendo cadeia lateral. A ruptura da ligação 13-17 em hidrocarbonetos esteróides com cadeia lateral (colestano e pregnano) é um processo favorecido [EADON *et al.*, 1972; TOKÉS *et al.*, 1968], enquanto a ruptura do anel A prevalece na ausência da cadeia lateral [TOKÉS & DJERASSI, 1969].

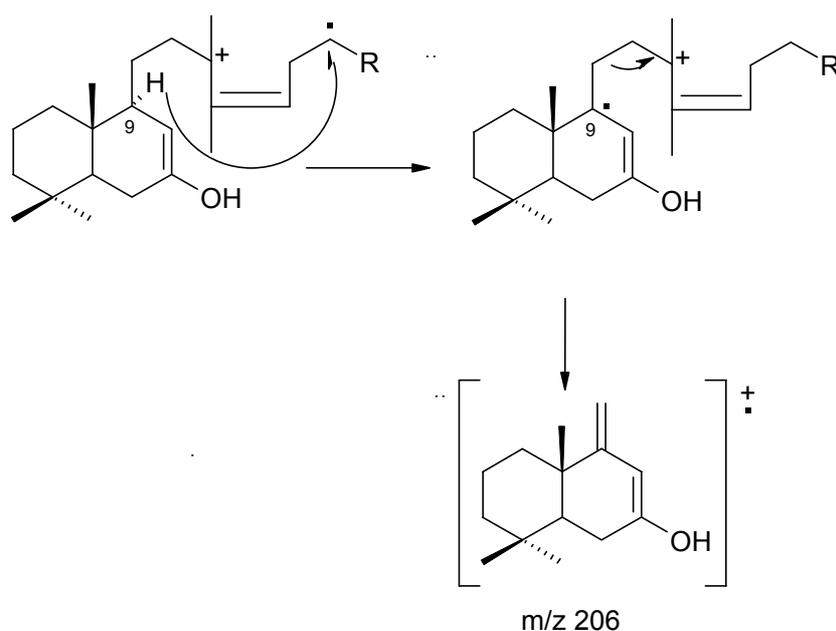


Figura 63. Formação do fragmento m/z 206

De acordo com Muccino e Djerassi (1973) o pico base dos 7-oxo-esteroides acompanha dois picos de menor intensidade. Um dos picos homólogos apresenta valor de m/z 13 unidades em massa superior ao pico base e o outro 13 unidades de massa inferior, os quais podem ser atribuídos às quebras das ligações 9-11 e 12-13, respectivamente (Figura 64).

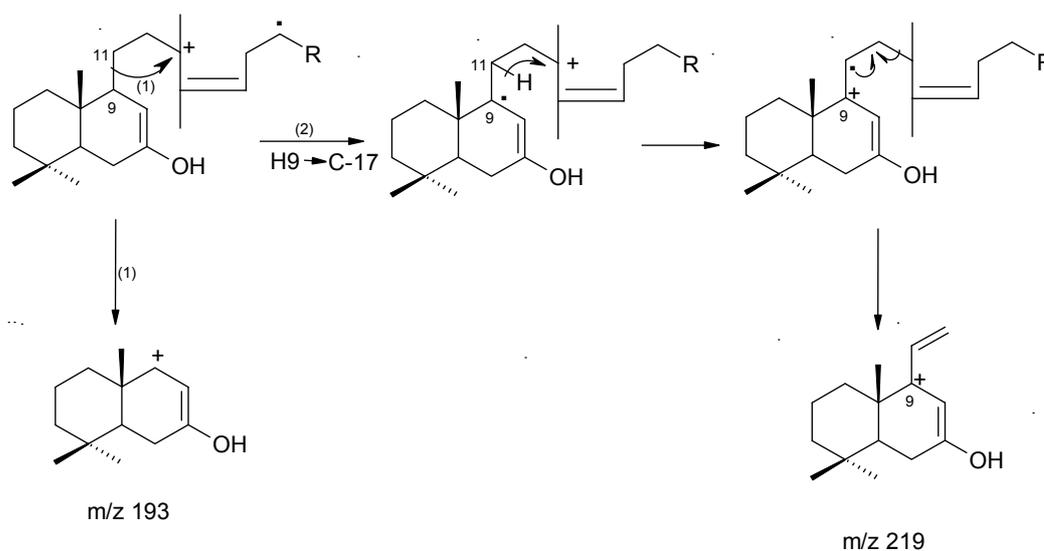


Figura 64. Formação dos fragmentos m/z 193 e 219

Foram identificados cinco esteroides na fase em cicloexano de *A. colubrina* utilizando a técnica GC-MS: diidrobrassicasterol (**31**), estigmasterol (**33**), estigmast-4-en-3-ona (**34**), ergost-4-en-3-ona (**35**) e estigmasta-3,5-dien-7-ona (**36**). O β -sitosterol (**32**) foi isolado e teve sua estrutura caracterizada utilizando as técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C juntamente com a espectrometria de massas, em virtude desta substância ter sido identificada por GC-MS como o segundo componente majoritário dessa fase (Tabela 10, pag 62).

Apenas os esteroides β -sitosterol (**32**) e estigmasterol (**33**) já foram identificados anteriormente em *A. colubrina* (Tabela 1, pag 4). Os outros esteroides são inéditos no gênero *Anadenanthera*.

4.6.3.1. Identificação da substância 31 (diidrobrassicasterol)

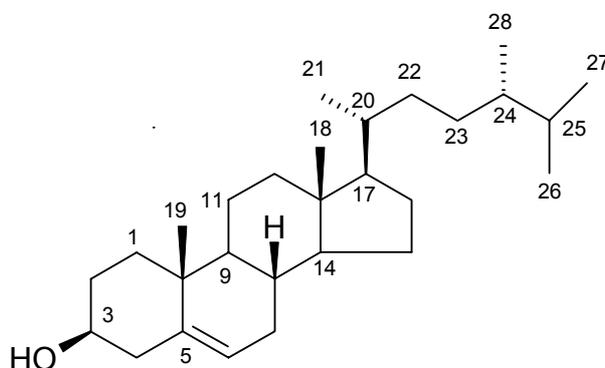


Figura 65. Substância **31** identificada na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

A substância designada por **31** foi identificada por GC-MS no extrato em cicloexano (Tabela 10, pag 62) bem como nas frações ACC-A 21-26 obtidas do fracionamento deste extrato (Tabela 3, pag 42).

O espectro de massas da substância **31** (Espectro 61) apresentou um pico com m/z 400 correspondente ao íon molecular e fragmentações comuns de esteróides. Foram observadas ainda a presença de íons resultantes de fragmentações do esqueleto esteroidal com insaturação no carbono 5 (m/z 315, 289, 261, 138, 120, 105) além dos picos em m/z 273, 246, 232 e 231 relativos à perda da cadeia lateral, sendo os quatro últimos em conjunto com outros carbonos do esqueleto. Os valores de m/z desses fragmentos sugeriram uma cadeia lateral saturada de fórmula C_9H_{19} . A perda de água a partir do íon molecular (m/z 382) e a partir de outros fragmentos onde o anel A está intacto (m/z 213, 145 e 120) corrobora a presença do grupo hidroxila localizado no carbono 3 (Figura 66).

Assim, os dados espectrométricos da substância **31** definida como ergost-5-en-3-ol mostraram-se idênticos (similaridade de 94%) aos desse esteróide encontrado na biblioteca WILEY também conhecido como diidrobrassicasterol (Espectro 62).

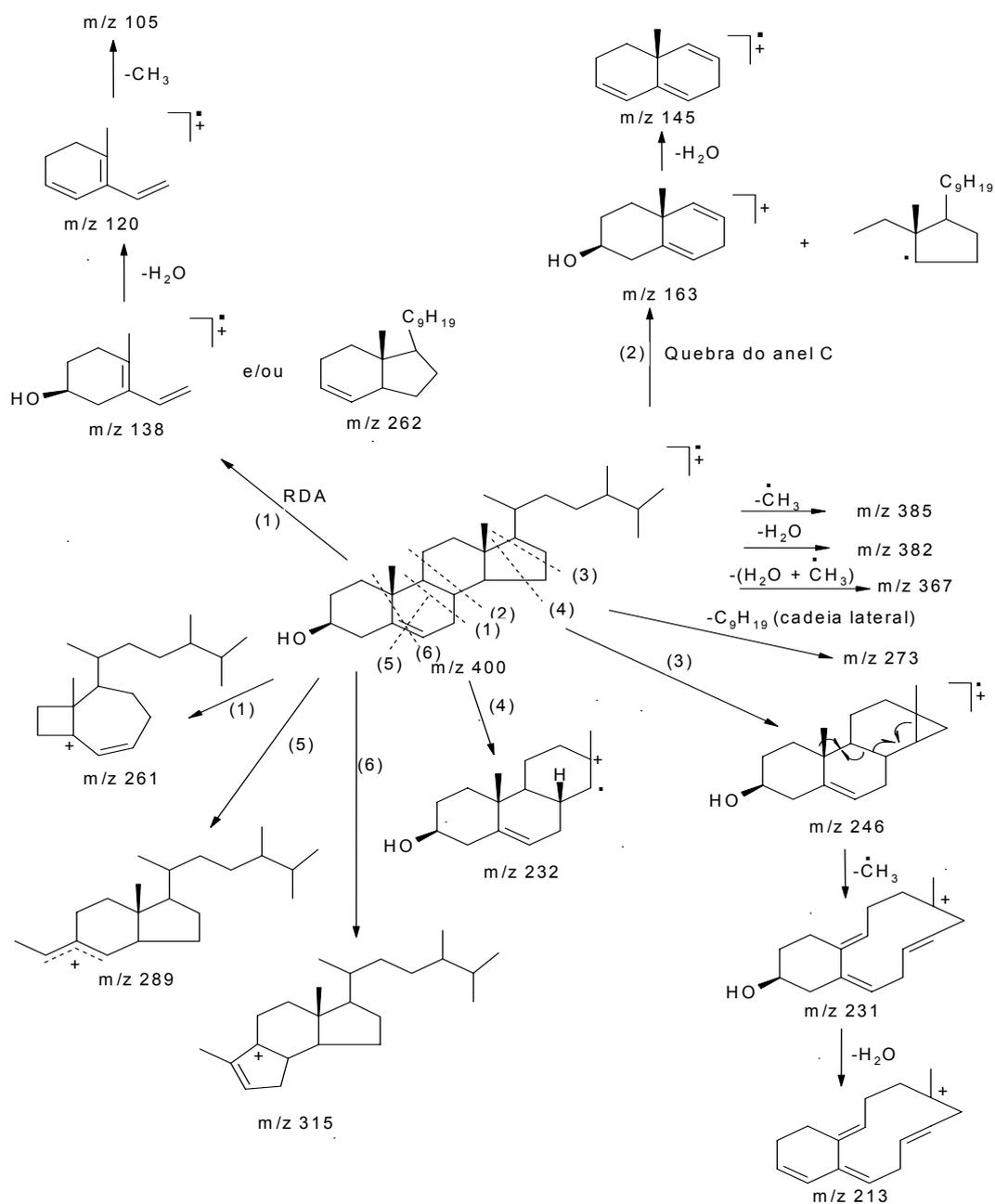


Figura 66. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância 31

4.6.3.2. Identificação da substância 32 (β -sitosterol)

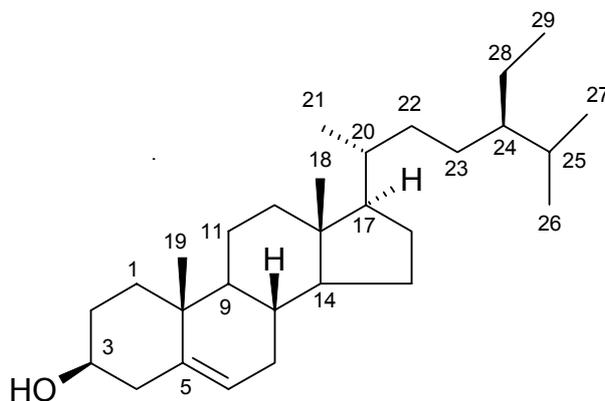


Figura 67. Substância **32** identificada na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

A substância designada por **32** é um sólido cristalino branco ($PF_{exp.} = 132\text{ }^{\circ}\text{C}$, $PF_{lit.} = 130\text{-}135\text{ }^{\circ}\text{C}$ [JAIN *et al.*, 2009]) e foi obtida da fração ACC-C' 20 (Figura 18, pag, 44). O espectro de RMN ^1H desta substância (Espectros 63 e 64) de **32** mostrou vários sinais na região de 0,68 a 2,29 δ , um sinal múltiplo na região de 3,53 δ (hidrogênio carbinólico) e um dubleto a 5,35 δ (1H, $^3J = 5,1\text{ Hz}$) que indicou a presença de um hidrogênio olefínico.

Os espectros de RMN ^{13}C (Espectros 65 e 66) e DEPT 135 $^{\circ}$ (Espectro 67) apresentaram sinais relativos a seis metilas (duas delas a 11,8 e 11,9 δ) um carbono carbinólico a 71,8 δ e dois carbonos olefínicos a 140,7 δ (C tetrassubstituído) e 121,6 δ (CH), sugestivos de um esqueleto esteroidal [GARCEZ *et al.*, 1997, POUCHERT & BEHNKE, 1983].

A comparação dos espectros de massas das substâncias **32** e **31** (Espectros 68 e 61) indicou que suas estruturas são semelhantes, apresentando inclusive os mesmos valores de m/z relativos aos picos correspondentes à fragmentação de Retro-Diels-Alder, os quais indicaram a insaturação no carbono 5. Diferenças significativas foram, no entanto, observadas com relação ao valor correspondente ao pico do íon molecular (m/z 414) e conseqüentemente aos valores de m/z dos fragmentos característicos da perda de metila (m/z 399), perda de água (m/z 396) e perda de água juntamente com metila (m/z 381) (Figura 68).

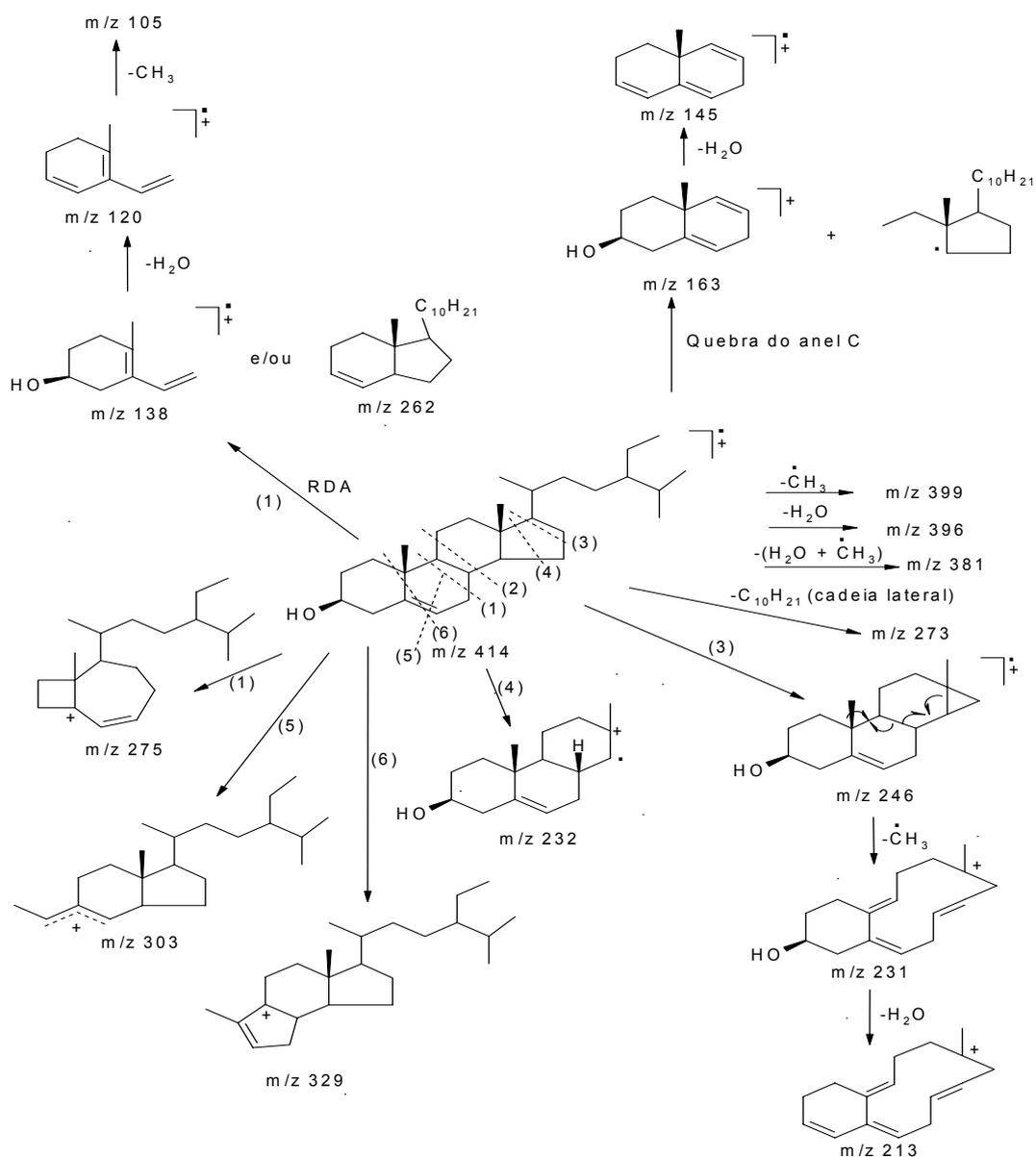


Figura 68. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância **32**

Após comparação dos dados espectrais supracitados com informações da literatura pôde-se constatar que a substância **32** refere-se ao β-sitosterol, cuja fórmula molecular é C₂₉H₅₀O (MM = 414) [WRIGHT *et al.*, 1978, SHIRAIISHI, 1978].

Tabela 19. Dados de RMN ^{13}C do esteroide (**32**) obtido de *A. colubrina* (75 MHz) e do β -sitosterol citado na literatura (25 MHz), ambos em clorofórmio- d_1 .

C	32 $\delta^{13}\text{C}$	β -sitosterol* $\delta^{13}\text{C}$
1	37,2	37,3
2	31,6	31,6
3	71,8	71,7
4	42,3	42,3
5	140,7	140,8
6	121,6	121,6
7	31,9	31,9
8	31,9	31,9
9	50,1	50,2
10	36,5	36,5
11	21,0	21,1
12	39,7	39,8
13	42,3	42,3
14	56,7	56,8
15	24,3	24,3
16	28,2	28,9
17	56,0	56,1
18	11,8	11,9
19	19,4	19,4
20	36,1	36,2
21	19,0	18,8
22	33,9	34,0
23	26,0	26,1
24	45,8	45,9
25	29,1	29,2
26	19,8	19,8
27	19,3	19,1
28	23,0	23,1
29	11,9	12,3

* WRIGHT *et al.*, 1978

4.6.3.3 Identificação da substância **33** (estigmasterol)

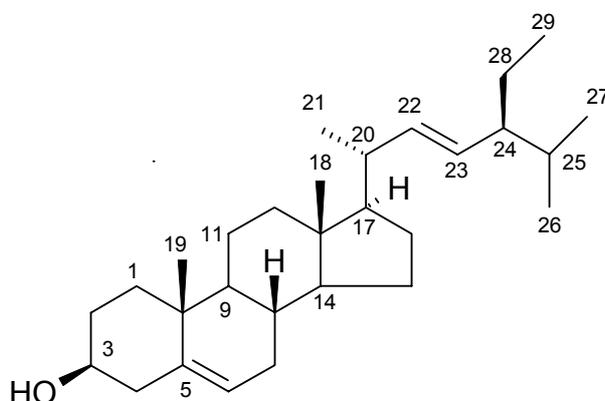


Figura 69. Substância **33** identificada na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

A substância **33** foi identificada por GC-MS na fração ACC-A 21-25 resultante do fracionamento do extrato em cicloexano (Tabela 3, pag 42) como também identificada em pequena proporção na fase bruta (Tabela 10, pag 62).

O espectro de massas da substância **33** (Espectro 70) apresentou o pico de m/z 412 correspondente ao íon molecular, além dos fragmentos de perda de metila (m/z 397), água (m/z 394) e metila juntamente com água (m/z 379). Ao lado dos picos correspondentes às fragmentações comuns de esteróides (Figura 69) e às fragmentações características do esqueleto esteroidal Δ^5 -3-ol (m/z 327, 301, 273, 138, 120 e 105), há também notáveis picos correspondentes às fragmentações características de esteróides com insaturação na posição C-22 (m/z 369, 300 e 271).

Desta forma, a estrutura de **33** foi definida como um esteroide $\Delta^{5,22}$ -3-ol de fórmula molecular C₂₉H₄₈O (MM = 412). Os dados espectrométricos de **33** apresentaram uma boa correlação (similaridade de 93%) com o espectro de massas do stigmasterol da biblioteca WILEY (Espectros 70 e 71).

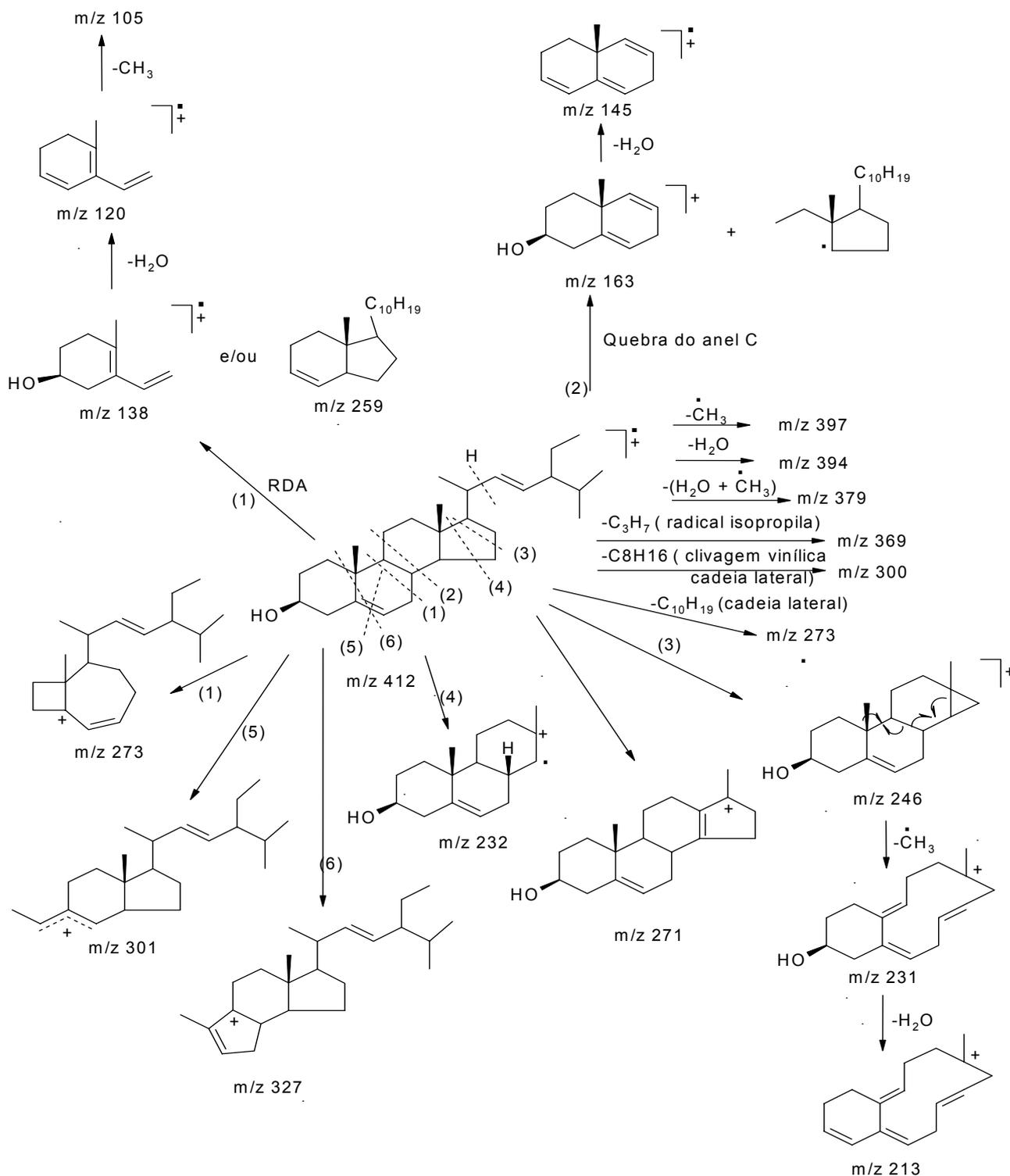


Figura 70. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância 33

4.6.3.4 Identificação da substância **34** (estigmast-4-en-3-ona)

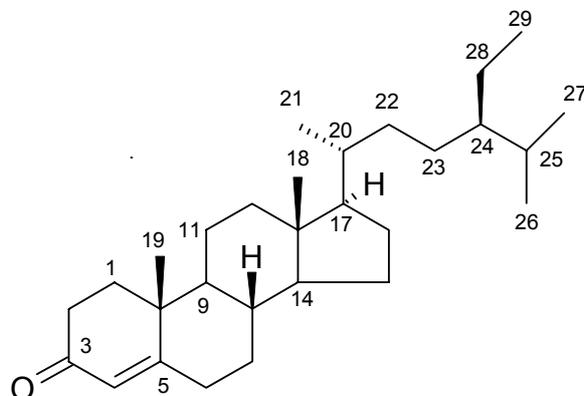


Figura 71. Substância **34** identificada na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

A substância designada por **34** foi identificada por GC-MS na fase em cicloexano (Tabela 10, pag 62) bem como nas frações ACC-A 21-26 oriundas desta fase (Tabela 3, pag 42).

O Espectro de massas da substância **34** (Espectro 72) mostrou o íon molecular em m/z 412 e um perfil de fragmentação que sugeriu tratar-se de um esteróide. Dentre os fragmentos característicos, observa-se o pico de m/z 271, referente à perda da cadeia lateral, além de outros que representam a perda de moléculas neutras referentes à ruptura do anel D (m/z 244 e 230). Os valores de m/z destes fragmentos sugerem uma cadeia lateral saturada de fórmula $C_{10}H_{21}$. A ausência da perda de água exclui a presença de 3-OH, que, juntamente com a presença dos picos em m/z 124 (pico base) e m/z 370 (perda de $CH_2=C=O$), são fortes indicações da presença do grupo oxo na posição 3 e insaturação na posição 4 [BROWN & DJERASSI, 1980; DJERASSI, 1978; FLANAGAN *et al.*, 1975; SAPHIRO & DJERASSI, 1964]. Este fato é corroborado pela presença do pico correspondente à perda dos átomos de carbono C-1, C-2, C-3, C-10 e C-19 (m/z 327). Desta forma, os dados supracitados nos levaram a sugerir que **34** é a estigmast-4-en-3-ona, cuja fórmula molecular é $C_{29}H_{48}$ (MM = 412).

A comparação com os dados citados na literatura [TEIXEIRA, 2003, JAMALUDDIN *et al.*, 1995, FLANAGAN *et al.*, 1975] e com a biblioteca WILEY (similaridade de 92%) confirmaram esta proposta (Espectros 72 e 73).

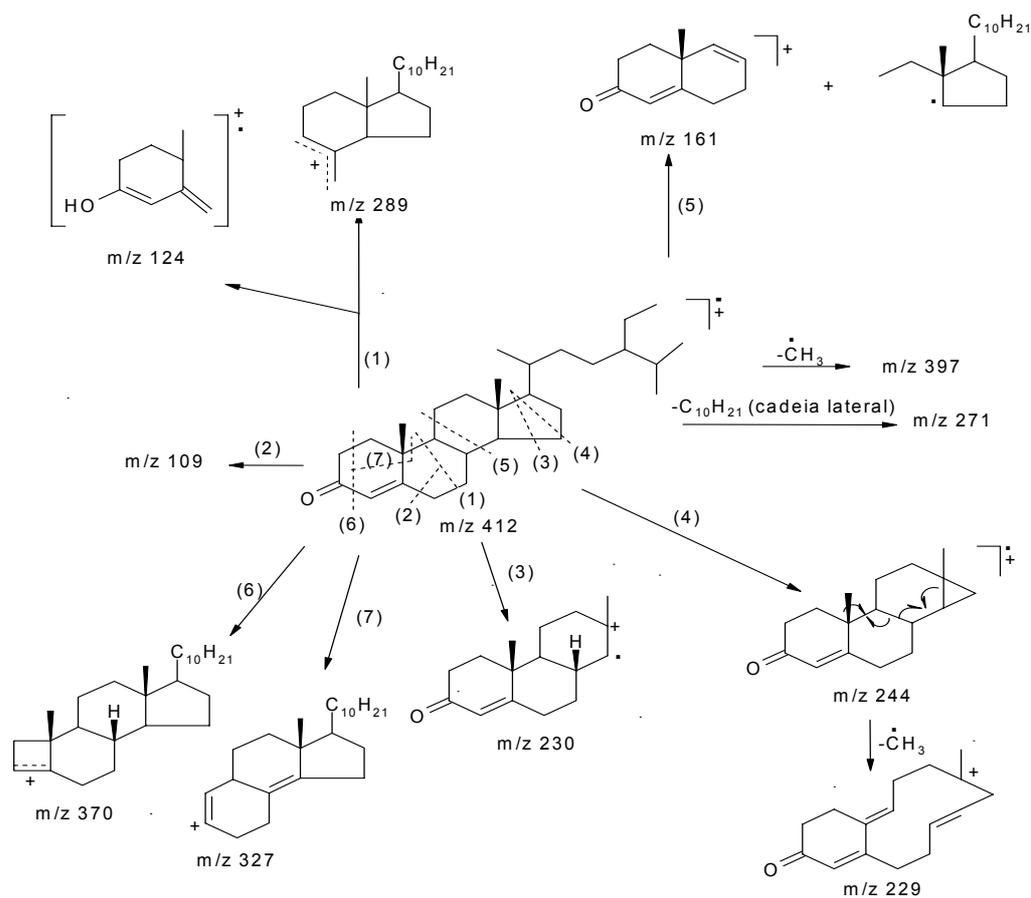


Figura 72. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância 34

4.6.3.5 Identificação da substância 35 (ergost-4-en-3-ona)

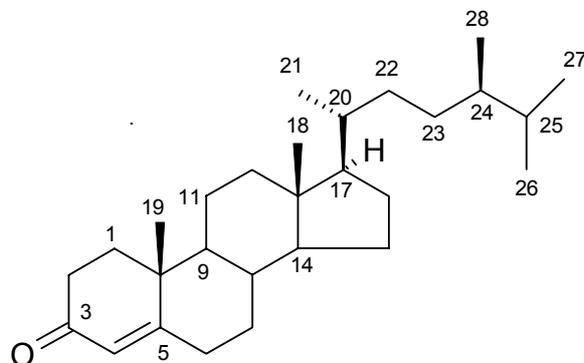


Figura 73. Substância **35** identificada na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

Na fase em cicloexano foi identificada por GC-MS em pequena quantidade a substância **35** (Tabela 10, pag 62). Esta substância foi também identificada nas frações ACC-A 21-22 obtidas do fracionamento desta fase (Tabela 3, pag 42).

A análise do espectro de massas da substância **35** (Espectro 74) revelou um íon molecular em m/z 398 e um pico base em m/z 124 condizentes com a estrutura de um Δ^4 -3-oxo esteróide de fórmula molecular $C_{28}H_{46}O$. Os fragmentos no espectro de massas de **35** (Figura 74) são praticamente os mesmos de **34** (Figura 72), tendo em vista que a diferença entre as duas substâncias é apenas um grupo metileno. Estes dados aliados aos resultados obtidos em um levantamento bibliográfico realizado sobre fitoesteroides, nos levaram a sugerir a presença de um grupamento metila na posição 24. O espectro de massas de **35** apresentou uma boa correlação com o espectro da ergost-4-en-3-ona (campestenona) citado na literatura [TEIXEIRA, 2003] (Espectros 74 e 75).

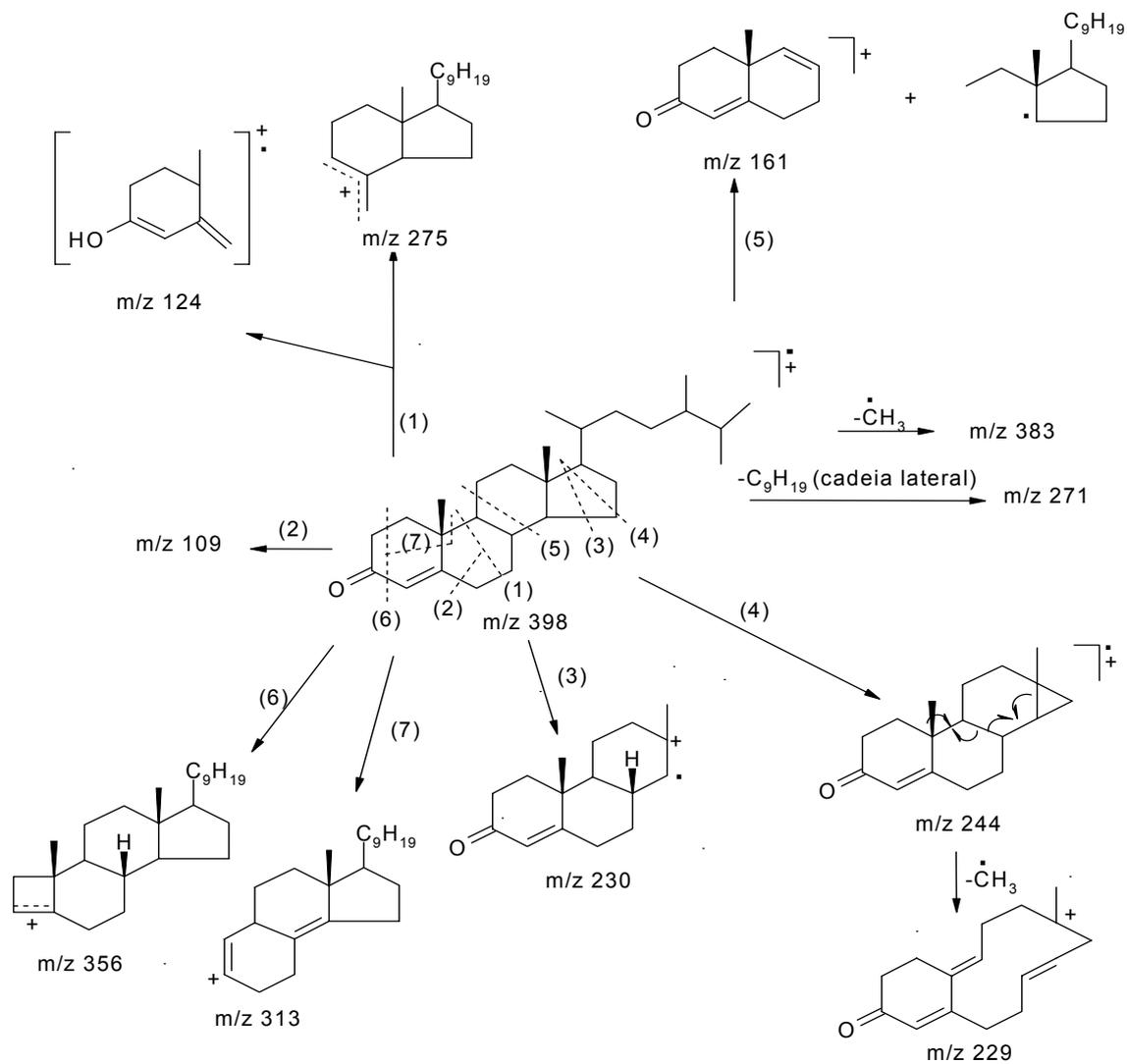


Figura 74. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância 35

4.6.3.6 Identificação da substância 36 (estigmasta-3,5-dien-7-ona)

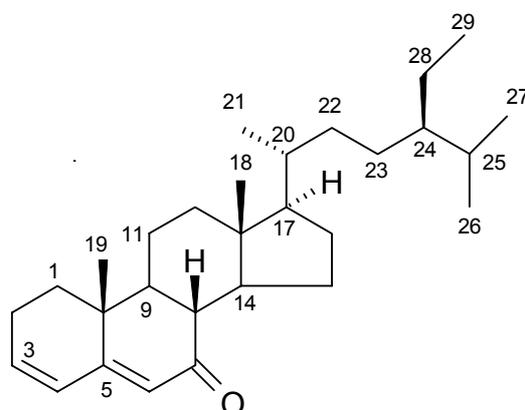


Figura 75. Substância **36** identificada na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

A substância **36** foi identificada em pequena proporção na fase em cicloexano (Tabela 10, pag 62) bem como nas frações ACC-A 25-26 obtidas do fracionamento desta fase (Tabela 3, pag 42).

O espectro de massas da substância **36** (Espectro 76) apresentou um pico em m/z 410 como íon molecular e o pico base em m/z 174 que sugeriram um esqueleto esteroidal $\Delta^{3,5}$ -7-ona. Juntamente com o pico base, este espectro mostrou os seus dois picos homólogos, m/z 161 e 187, correspondentes às fragmentações típicas do anel C de 7-oxo-esteróides. Além destes picos, foi observada a presença dos picos relativos à perda de metila (m/z 395), perda da cadeia lateral (m/z 271) e fragmentações do anel D (m/z 227 e 228).

A partir destas considerações, foi proposta a estrutura para **36** como sendo estigmat-3,5-dien-7-ona, de fórmula molecular $C_{29}H_{46}O$ (MM = 410). Esta proposta foi corroborada após comparação do espectro de **36** (Espectro 76) com o da tremulona, apresentando um índice de similaridade de 91%, quando comparado com o espectro desta substância na biblioteca WILEY (Espectro 77).

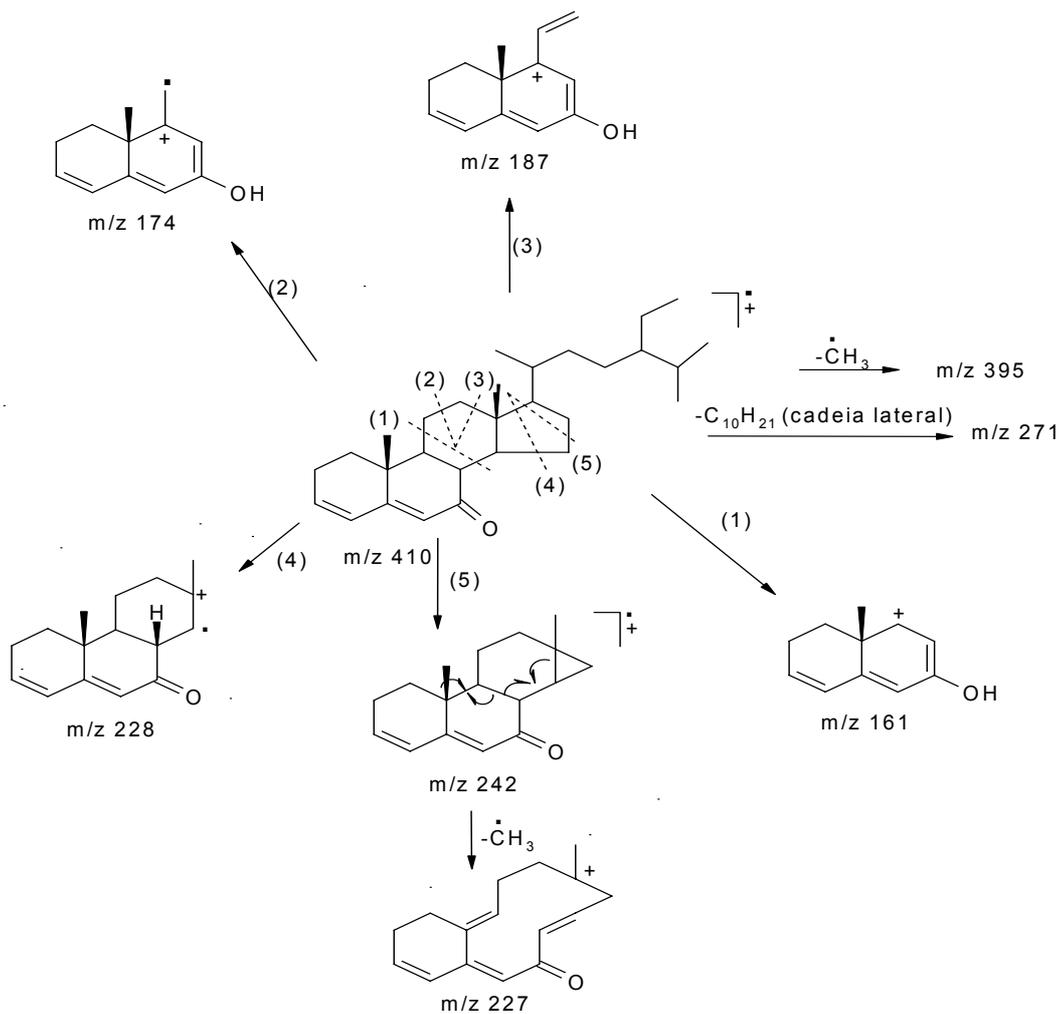


Figura 76. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância **36**

4.6.4. Identificação dos norisoprenoides

Os tetraterpenos são representados por apenas um grupo de compostos, os carotenoides, embora várias centenas de variantes estruturais naturais sejam conhecidas [DEWICK, 1997]. Ciclização, hidrogenação, desidrogenação, migração de duplas ligações, encurtamento ou alongamento da cadeia, rearranjo, isomerização, introdução de funções com oxigênio ou a combinação destes processos resultam na diversidade de estruturas dos carotenoides [RODRIGUES-AMAYA, 1999].

A degradação de carotenoides é considerada chave na formação de muitos compostos de aroma em plantas e em produtos vegetais, também conhecidos como norisoprenoides. Os carotenóides servem como substrato, mas a natureza dos mecanismos bioquímicos (enzimáticos ou não enzimáticos) mediante degradações oxidativas ainda não está bem elucidada [LEWINSOHN *et al.*, 2005].

O mais amplo grupo de derivados dos carotenoides encontrado na natureza é formado por compostos C13 (norisoprenoides), através da quebra das ligações 9,10, como mostrado na Figura 77, para a formação da β -ionona a partir do β -caroteno. Muitos deles são compostos aromáticos importantes, exibindo considerável diversidade estrutural [UENOJO *et al.*, 2007].

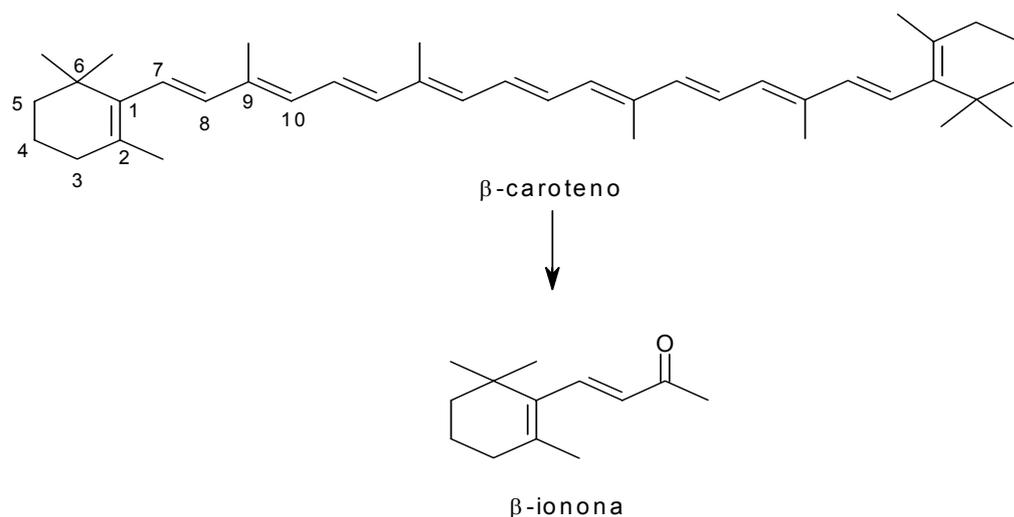


Figura 77. Formação de β -ionona a partir de β -caroteno

Os norisoprenoides têm atraído a atenção de químicos e aromistas há algum tempo, o que resultou no isolamento a partir de plantas e elucidação de suas estruturas químicas. Compostos como β -ionona, α -ionona, diidroactinidiolida, β -damascenona e β -ciclocitral (Figura 78) são alguns dos voláteis derivados de carotenóides que, nas plantas, têm a função antifúngica e de afastar herbívoros [UENOJO *et al.*, 2007].

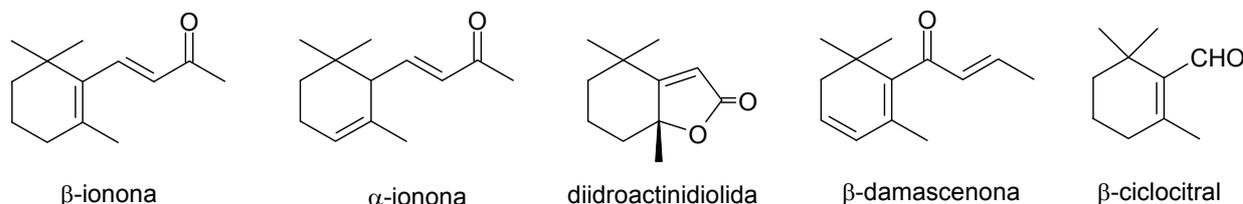


Figura 78. Alguns dos principais norisoprenóides

Os norisoprenoides podem ser diferenciados através de seus espectros de massas obtidos por impacto de elétrons. Os espectros de massas de α - e β -ionona representam exemplos de dois isômeros com muitas diferenças em seus espectros. Embora estes dois isômeros difiram somente na posição de uma das ligações duplas, seus espectros são marcadamente diferentes e portanto, podem ser diferenciados somente a partir de seus espectros de massas, sem a necessidade de outros dados espectrais.

Enquanto que α -ionona significativamente dissocia formando o fragmento em m/z 136 com a perda de isobutileno via reação de Retro-Diels-Alder, seu isômero β -ionona exibe principalmente um intenso sinal $[M-CH_3]^+$. A perda favorecida da metila neste isômero é devida aos substituintes metílicos geminais estarem em posição alílica à ligação dupla do anel e assim, a perda de um grupo metila origina um íon terciário alílico termodinamicamente favorável [GROSS, 2004].

Na fração ACC-A4 obtida do fracionamento cromatográfico da fase em cicloexano de *A. colubrina* (Tabela 3, pag 42) foram identificados os norisoprenoides α -ionona (**37**), 5,6-epóxi- β -ionona (**38**) e diidroactinidiolida (**39**). Para a confirmação de suas estruturas, além da análise de seus espectros de massas, foram calculados seus índices de Kovats e comparados com dados da literatura. Estas substâncias não foram identificadas na análise por GC-MS do extrato bruto (Tabela 10, pag 62).

Não foi encontrado nenhum relato dos norisoprenoides mencionados nas duas espécies de *Anadenanthera*, sendo, portanto inéditas neste gênero.

4.6.4.1 Identificação da substância 37 (α -ionona)

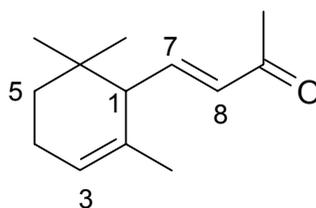


Figura 79. Substância **37** identificada na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

A substância **37** foi identificada por GC-MS na fração ACC-A4 resultante do fracionamento da fase em cicloexano esquematizado no capítulo 3 (Tabela 3, pag 42). Seu espectro de massas (Espectro 78) apresentou íon molecular em m/z 192, pico base em m/z 121 e um importante pico em m/z 136, fragmento característico resultante de reação Retro-Diels-Alder de compostos do tipo α -ionona (Figura 80).

O pico em m/z 121 é resultante da perda de metila a partir do cátion radical $[M-56]^+$ e a subsequente formação dos fragmentos com valores de m/z 93 e 91, correspondem à perda de monóxido de carbono e formação do íon tropílio, respectivamente (Figura 80).

De acordo com Splitter e Turecek (1994) a configuração da ligação dupla 7,8 tem um efeito muito marcado na fragmentação dos compostos da série α -ionona. Desta forma a favorecida degradação Retro-Diels-Alder dos seus isômeros *E* que leva à formação do cátion radical $[M-56]^+$ é suprimida no caso do isômero *Z*, o qual preferencialmente passa por ciclização e extrusão de um grupo metila com formação de um pico intenso em m/z 177.

Assim, os fragmentos supracitados nos levaram a propor que a substância **37** é a (*E*) α -ionona. Esta proposta foi confirmada pela comparação do seu espectro de massas com o da biblioteca WILEY, que mostrou coincidência de 90% (Espectros 78 e

79), além da comparação de seu índice de Kovats calculado (1432) com o citado na literatura (1426) em coluna DB-5 para esta substância [ADAMS, 1995]

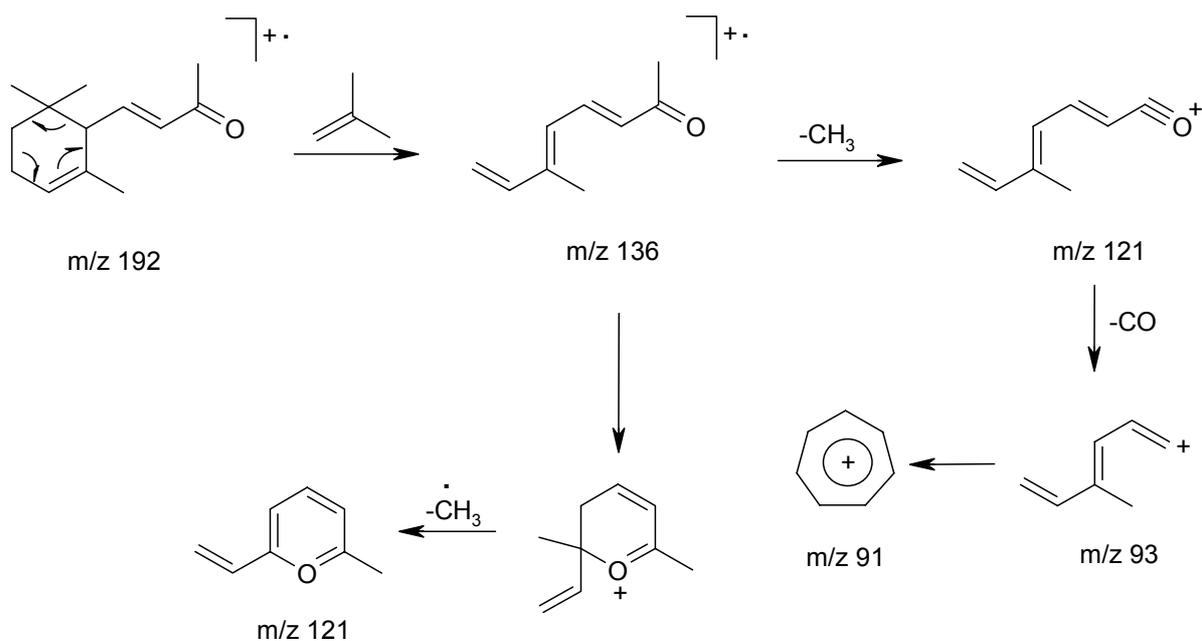


Figura 80. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância **37**

4.6.6.2 Identificação da substância 38 (5,6-epóxi- β -ionona)

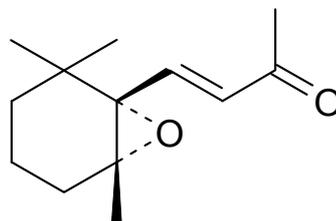


Figura 81. Substância **38** identificada na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

Da fração ACC-A4 obtida do fracionamento cromatográfico da fase em cicloexano (Tabela 3, pag 42), também foi identificada por CG-EM a substância **38**. O espectro de massas de **38** (Espectro 80) mostrou o pico base em m/z 123 além de outros fragmentos de baixa intensidade. A comparação de seu espectro de massas com espectros da biblioteca WILEY mostrou uma similaridade de 90% com o do norisoprenoide 5,6-epóxi- β -ionona (Espectro 81). A origem do pico base desta substância mostrada na Figura 82 foi explicada por Splitter e Turecek (1994).

O sinal relacionado ao íon molecular não foi observado em m/z 208 e sim em m/z 207, provavelmente devido à baixa resolução do pico relativo a esta substância no cromatograma obtido do sistema GC.

O índice de Kovats calculado para a substância **38** foi 1941 e mostrou-se semelhante ao valor de 1459, citado na literatura por Habu *et al.* (1985) em coluna DB-1 para o referido norisoprenoide. Estas informações, em conjunto com os dados espectrométricos da literatura [ZELENA *et al.*, 2009], levaram à definição da estrutura do 5,6-epóxi- β -ionona para esta substância.

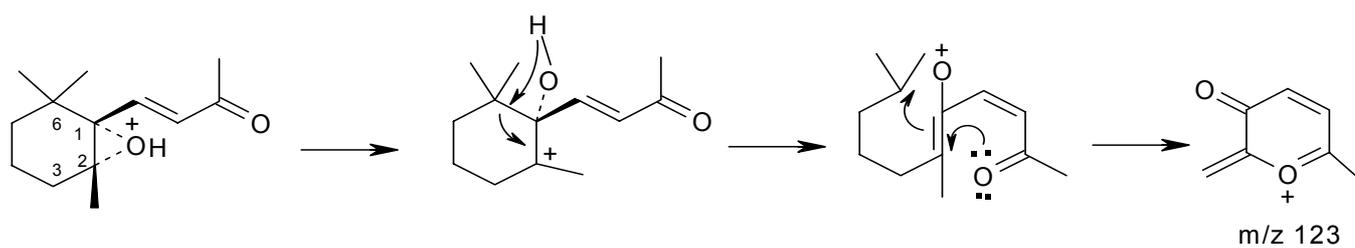


Figura 82. Principal fragmento observado no espectro de massas da substância **38**

4.6.6.3 Identificação da substância 39 (diidroactinidiolida)

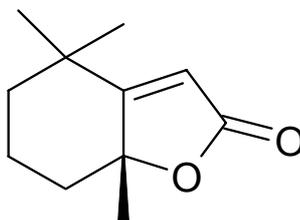


Figura 83. Substância **39** identificada na fase em cicloexano da madeira de *A. colubrina*

A substância **39** também foi identificada por GC-MS na fração ACC-A4 resultante do fracionamento cromatográfico da fase em cicloexano, apresentado no capítulo 3 (Tabela 3 pag 42). Seu espectro de massas (Espectro 82) apresentou o pico referente ao íon molecular em m/z 180 e pico base em m/z 111.

A comparação com a biblioteca de espectros WILEY mostrou coincidência de 90% com o espectro da diidroactinidiolida, cujo valor do índice de Kovats (1539) apresentado por Leffingwell e Alford (2005) em coluna HP-5 é semelhante ao calculado (1542) para esta substância.

A Figura 84 apresenta uma proposta de fragmentação da estrutura da substância **39**. Dentre os fragmentos foi possível observar o pico correspondente as perdas de metila (m/z 165) e monóxido de carbono (m/z 152) além de fragmentos resultantes da clivagem alílica.

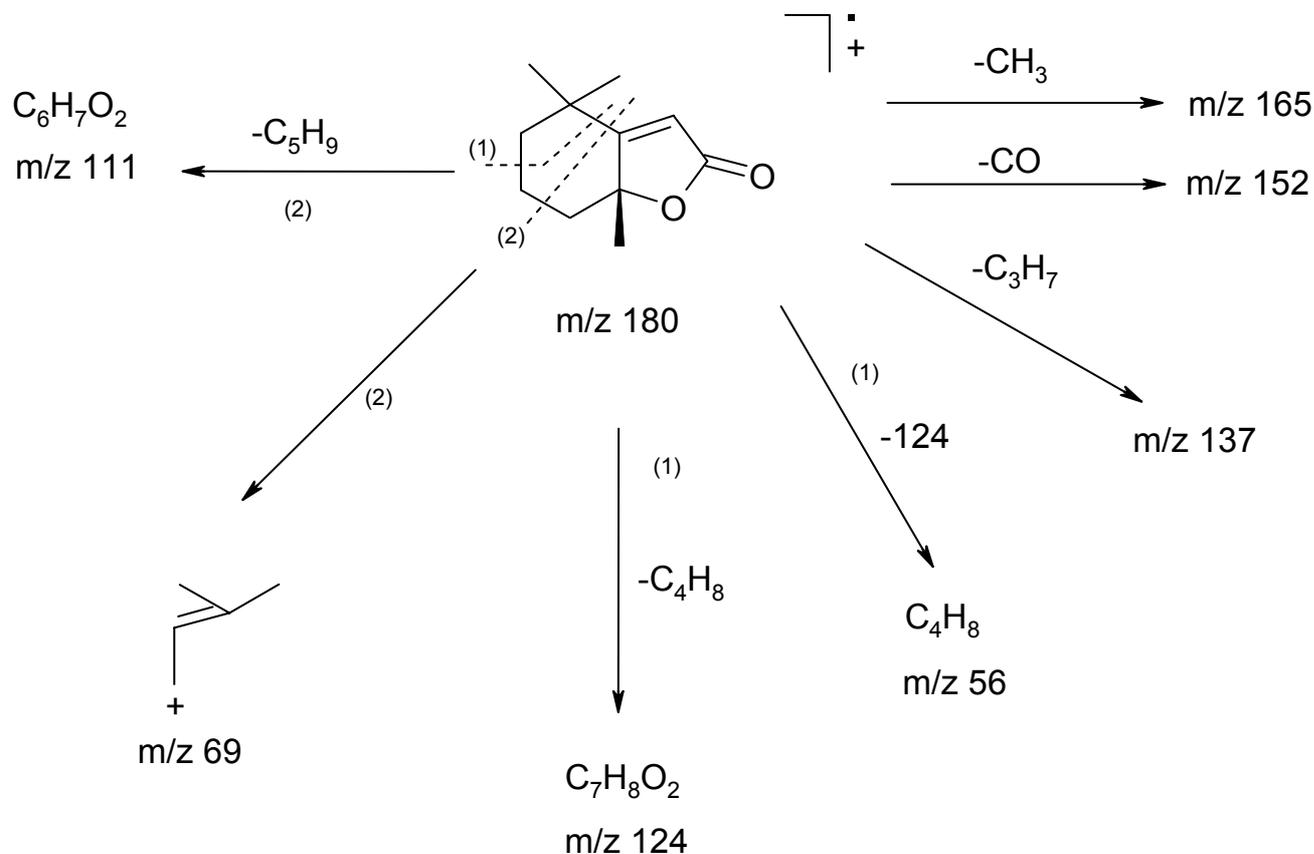


Figura 84. Principais fragmentos observados no espectro de massas da substância **39**

Portanto, o estudo químico por GC-MS da fase em cicloexano sugeriu que o mesmo é constituído principalmente por triterpenos (47,03%), esteroides (30,03%) e substâncias de natureza graxa (16,64%) (Tabela 10, pag 62).

4.7 Identificação e caracterização estrutural dos extrativos presentes no extrato em diclorometano da madeira de *A. colubrina*

A análise prévia da fase em diclorometano por CCDA sugeriu que o material presente neste extrato era rico em metabólitos secundários de natureza terpênica ou esteroidal e aromática, uma vez que o cromatograma apresentou um grande número de manchas amarela, alaranjada e azul após eluição em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 5% e revelação com revelador de anisaldeído.

Com a finalidade de separar os compostos aromáticos dos demais, o extrato foi submetido inicialmente à cromatografia em permeação em gel utilizando Sephadex LH-20 conforme mostrado no capítulo 3. As frações ACD-A 2-9 foram analisadas por GC-MS e mostraram composição graxa, esteroidal e terpênica semelhante à do extrato em cicloexano. As substâncias oriundas das demais frações deste extrato são de natureza aromática e tiveram suas estruturas caracterizadas com base em dados espectrométricos (ESI-MS e APCI-MS/MS) e espectroscópicos de RMN de ^1H e ^{13}C , incluindo técnicas bidimensionais (COSY ^1H - ^1H , HMQC e HMBC), como também por comparação com dados espectrais existentes na literatura.

Da fase em diclorometano oriundo da madeira de *A. colubrina* foram isolados na forma pura ou com pequenas impurezas cinco flavonoides (Figura 19, pag 47), compreendendo uma flavona (**40**), um flavonol (**41**), um diidroflavonol (**42**) e duas chalconas (**43** e **44**). De acordo com a literatura os flavonóides que ocorrem com mais frequência em plantas do gênero *Anadenanthera* são as flavonas, embora haja relatos de flavanóis (catequinas) (Tabela 1, pag 4).

4.7.1 Identificação de flavonas

Flavonas são flavonoides que apresentam dois anéis aromáticos ligados por um anel heterocíclico de três carbonos formado via ciclização com um átomo de oxigênio de um dos anéis aromáticos. Os anéis aromáticos são denominados A e B e o anel heterocíclico chamado de C (Figura 85). A numeração é iniciada pelo anel C em direção ao anel A. Uma segunda numeração é utilizada para o anel B. Todas as flavonas apresentam um grupo ceto na posição 4 e uma insaturação entre os carbonos 2 e 3 do anel heterocíclico [HARBONE *et al.*, 1975; MANN, 1986].

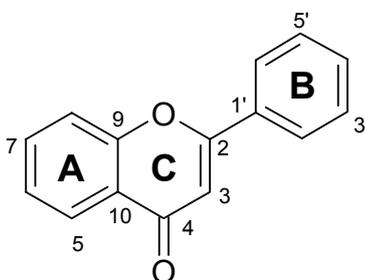


Figura 85. Esqueleto básico das flavonas

De acordo com Harbone *et al.* (1975), as espectroscopias de RMN de ^1H e ^{13}C são bastante utilizadas para a caracterização de compostos deste subgrupo. Desta forma, os sinais de RMN de ^1H característicos do único hidrogênio do anel C é um singlete na região de 6,5 e 6,9 δ , correspondente ao hidrogênio em C-3. Já os sinais referentes aos hidrogênios dos anéis A e B dependem do grau de oxidação destes anéis.

Os carbonos C-2 e C-3 são prontamente identificados nos espectros de RMN de ^{13}C , através de sinais na região de 160,5-165,5 δ e 103,0-111,8 δ , respectivamente. Sinais na região de 176,3-184,0 δ são atribuídos a C-4 e esse valor de deslocamento químico depende da substituição em C-5 [HARBONE, 1988; AGRAWAL, 1989].

Na fase em diclorometano da madeira de *A. colubrina* foi identificada a flavona luteolina (**40**). Para a identificação estrutural desse composto foram utilizados dados espectroscópicos de RMN de ^1H e ^{13}C , incluindo técnicas bidimensionais (COSY ^1H - ^1H e HMQC) e a espectrometria de massas.

Não foi encontrado nenhum relato da luteolina (**40**) nas duas espécies de *Anadenanthera*, sendo portanto inédita neste gênero.

4.7.1.1 Identificação da substância **40** (luteolina)

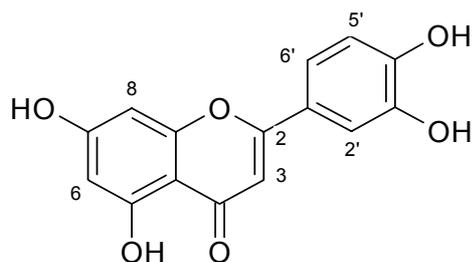


Figura 86. Substância **40** identificada na fase em diclorometano obtida da madeira de *A. colubrina*

O composto **40** foi isolado como um sólido amorfo amarelo ($PF_{\text{exp.}} = 329\text{ }^{\circ}\text{C}$, $PF_{\text{lit.}} = 328\text{-}330\text{ }^{\circ}\text{C}$ [LI *et al.*, 2009]) da fração ACD-E 17-23, de acordo com os fracionamentos cromatográficos mostrados no capítulo 3 (Figura 19, pag 47). Esta substância apresentou uma mancha de cor amarela após ser cromatografada em CCDA e revelada em solução de anisaldeído.

A análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C mostrou que a substância **40** era de natureza aromática, em virtude da presença de sinais na região de 6,19 a 7,42 δ (Espectros 84 e 85) e de 93,9 a 164,1 δ (Espectro 86), respectivamente. O experimento ESI-MS - alta resolução em modo negativo de **40** mostrou o pico do íon pseudomolecular a m/z 285,0397 $[\text{M-H}]^-$ levando à fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$ (m/z 286,0477) (Espectro 91).

O espectro de RMN de ^1H de **40** (Espectros 84 e 85) apresentou dois dupletos em 6,19 δ (1H, $^4J = 1,8\text{ Hz}$) e 6,44 δ (1H, $^4J = 1,8\text{ Hz}$), indicativos da presença de dois hidrogênios com orientação *meta* em um anel aromático tetrassubstituído. Apresentou também um duplo duplete em 7,42 δ (1H, $^3J = 8,4\text{ Hz}$ e $^4J = 2,4\text{ Hz}$) e mais dois dupletos em 7,39 δ (1H, $^4J = 2,4\text{ Hz}$) e em 6,89 δ (1H, $^3J = 8,4\text{ Hz}$) formando um sistema ABX, referentes à hidrogênios com orientações *orto/meta*, *meta* e *orto*

respectivamente, em um outro anel aromático, sendo este trissubstituído. A existência de tais acoplamentos foi confirmada através das correlações observadas no espectro ^1H - ^1H COSY (Espectro 89).

Estes dados aliados à presença de um simpleto em 6,68 δ (1H) no espectro de RMN de ^1H (Espectro 85) sugeriram que **40** refere-se a uma flavona, sendo este sinal, que apresentou correlação com o carbono metínico a 102,9 δ no espectro HMQC (Espectro 90), atribuído a H-3. No espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 86), os sinais de C-2 a 163,9 δ juntamente com o sinal a 181,7 δ referente a um grupo carbonila, corroboraram a proposta desta estrutura.

Com base nas informações presentes nos espectros de RMN de ^{13}C (Espectro 86), DEPT 135° (Espectro 87) e HMQC (Espectro 90), foi possível estabelecer a correlação entre os hidrogênios referentes aos dois anéis aromáticos e os carbonos metínicos correspondentes a 98,9; 93,9; 113,4; 116,0 e 119,0 δ . O espectro de RMN de ^1H apresentou ainda quatro simpletos em 12,98; 10,85; 9,93 e 9,42 δ , sugestivos da presença de quatro hidroxilas, sendo a primeira localizada na posição 5. Uma vez que foi definido o padrão de substituição dos dois anéis aromáticos, as demais hidroxilas estariam localizadas em C-7, C3' e C4'.

Assim, a estrutura **40** foi definida como 5,7,4',5'-tetraidroxiflavona, cujos dados espectrais (Tabelas 20 e 21) apresentaram uma boa correlação com os descritos na literatura para a luteolina [HAN *et al*, 2007], flavona já relatada em várias espécies vegetais.

Tabela 20. Dados de RMN ^1H da flavona (**40**) obtida de *A. colubrina* (300 MHz) e de luteolina citada na literatura (500 MHz), ambos em DMSO- d_6 .

	40	luteolina*
H	δ ^1H [mult., J (Hz)]	δ ^1H [mult., J (Hz)]
3	6,68 s	6,65 s
6	6,19 d (1,8)	6,23 d (1,6)
8	6,44 d (1,8)	6,48 d (1,6)
2'	7,39 d (2,4)	7,43 d (2,1)
5'	6,89 d (8,4)	6,93 d (8,2)
6'	7,42 dd (8,4; 2,4)	7,46 dd (8,2; 2,1)
OH-5	12,98 s	13,0 s
OH-7, 3'e 4'	9,42; 9,93; 10,85 sl	—

*HAN *et al.*, 2007

Tabela 21. Dados de RMN ^{13}C da flavona (**40**) obtida de *A. colubrina* (75 MHz) e de luteolina citada na literatura (125 MHz), ambos em DMSO- d_6 .

	40	luteolina*
C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{13}\text{C}$
2	163,9	163,9
3	102,9	102,9
4	181,7	181,6
5	161,5	161,6
6	98,8	98,8
7	164,1	164,1
8	93,9	93,8
9	157,3	157,3
10	103,7	103,7
1'	121,5	121,5
2'	113,4	113,4
3'	145,7	145,7
4'	149,7	149,7
5'	116,0	116,0
6'	119,0	118,9

*HAN *et al.*, 2007

4.7.2 Identificação de Flavonóis

Flavonóis também são flavonoides que apresentam dois anéis aromáticos ligados por um anel heterocíclico (Figura 87), sendo que este além da insaturação entre os carbonos 2 e 3 apresentam uma hidroxila na posição 3 [HARBONE, 1975].

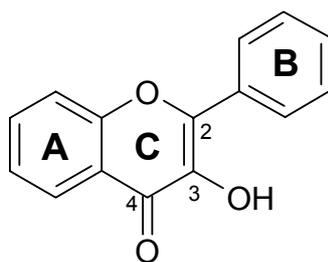


Figura 87. Esqueleto básico dos flavonóis

Uma vez que não possuem hidrogênios no anel C, em seu espectro de RMN de ^1H só podem ser observados sinais relativos aos hidrogênios aromáticos. Os valores de deslocamento químico e multiplicidade dos sinais destes hidrogênios dependem do grau de substituição dos anéis A e B.

Além dos efeitos devido às mudanças no padrão de oxigenação, as mais notáveis diferenças entre os espectros de RMN de ^{13}C de flavonas e flavonóis são aquelas observadas nas ressonâncias dos carbonos do anel C. O sinal referente ao carbono C-4 de flavonas apresenta-se entre 175-178 δ quando o oxigênio da carbonila não forma ligações de hidrogênio com grupamento hidroxila na posição C-5, mas na presença deste grupo o sinal é deslocado para cerca de 182 δ . A presença concomitante da hidroxila em C-3 e C-5 desloca o sinal da carbonila para 176 δ , mas a presença apenas em C-3 origina um sinal em torno de 171-173 δ . Já os sinais no espectro de RMN de ^{13}C referentes aos carbonos C-2 e C-3 dos flavonóis são facilmente identificados na região entre 145-150 δ e 136-139 δ , respectivamente [HARBONE, 1988].

Na madeira de *A. colubrina* foi identificado o flavonol quercetina (**41**). Embora a quercetina seja amplamente distribuída em plantas da família Fabaceae este é o seu primeiro relato no gênero *Anadenanthera*.

Os dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C e a comparação com dados da literatura foram suficientes para a identificação da quercetina (**41**) na madeira de *A. colubrina*, sendo este o primeiro relato deste flavonol no gênero *Anadenanthera*.

4.7.2.1 Identificação da substância **41** (quercetina)

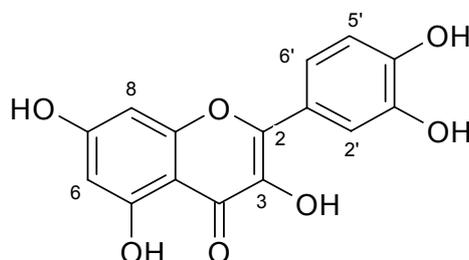


Figura 88. Substância **41** identificada na fase em diclorometano obtida da madeira de *A. colubrina*

A substância **41** foi isolada na forma de um sólido amarelo ($\text{PF}_{\text{exp.}} = 313\text{-}315^\circ\text{C}$, $\text{PF}_{\text{lit.}} = 312\text{-}314^\circ\text{C}$ [AWAAD *et al.*, 2006]) da fração ACD-E 27-30, de acordo com os fracionamentos cromatográficos mostrados no capítulo 3 (Figura 19, pag 47).

O seu espectro de RMN de ^1H (Espectros 92 e 93) mostrou na região de campo baixo sinais característicos para a estrutura de um flavonóide. Desta forma, foi observada a presença de um sistema ABX de sinais, identificados por dois dupletos em $6,99\ \delta$ (1H , $^3J = 8,5\ \text{Hz}$) e $7,82\ \delta$ (1H , $^4J = 1,8\ \text{Hz}$) e um duplo duplete em $7,69\ \delta$ (1H , $^4J = 1,8$ e $^3J = 8,5\ \text{Hz}$) atribuíveis a hidrogênios em um anel aromático trissubstituído. Foi possível observar também a presença de mais dois dupletos em $6,26\ \delta$ (1H , $^4J = 1,8\ \text{Hz}$) e $6,52\ \delta$ (1H , $^4J = 1,8\ \text{Hz}$) característicos de hidrogênios em um outro anel

aromático em acoplamento *meta*. O espectro de RMN de ^1H apresentou ainda dois simpletos, sendo o primeiro em 12,18 δ integrado para um hidrogênio, característico de um grupo hidroxila em C-5 fazendo ligação intramolecular com a carbonila e o segundo em 8,71 δ correspondentes a outros 4 grupos hidroxilas. A combinação dos dados supracitados e a ausência de sinais referentes à hidrogênios diretamente ligados ao anel C sugeriram que a substância **41** poderia ser um 5, 7, 3', 4'- tetraidroxi-flavon-3-ol.

Estes dados aliados à presença de 15 sinais no espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 94), os quais foram atribuídos, de acordo com as informações do espectro DEPT 135° (Espectro 95), a 5 carbonos metínicos aromáticos, 10 carbonos não-hidrogenados na região de carbonos aromáticos juntamente com o sinal em 176,2 δ atribuído a um grupo carbonila, confirmaram a proposta desta estrutura.

Assim, foram observados os sinais em 161,9 e 164,8 δ compatíveis com a presença de um anel aromático com dois grupos hidroxilas orientados em *meta*, sinais em 146,7 e 145,5 δ coerentes com a presença de outro anel aromático do tipo *orto*-dioxigenado e sinais atribuíveis aos carbonos C-2 e C-3 de um esqueleto flavon-3-ol em 148 e 136,4 δ , respectivamente. Ao serem comparados os dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C desta substância (Tabelas 22 e 23) com os relatados na literatura [CHEN *et al.*, 2008] para flavonóis possuindo o mesmo padrão de oxigenação verificou-se que a substância **41** é a quercetina, flavonol já obtido de diversas espécies de vegetais, porém inédita no gênero *Anadenanthera*.

Tabela 22. Dados de RMN ^1H do flavonol (**41**) obtida de *A. colubrina* (300 MHz, acetona- d_6) e de quercetina citada na literatura (400 MHz, DMSO- d_6)

	41	quercetina*
H	δ ^1H [mult., <i>J</i> (Hz)]	δ ^1H [mult., <i>J</i> (Hz)]
6	6,26 d (1,8)	6,26 d (2,0)
8	6,52 d (1,8)	6,41 d (2,0)
2'	7,82 d (1,8)	7,78 d (1,8)
5'	6,99 d (8,5)	6,95 d (9,0)
6'	7,69 dd (8,5; 1,8)	7,65 dd (9,0; 1,8)
OH-5	12,18 s	—
OH-7, 3'e 4'	8,71 sl	—

* NICKAVAR *et al.*, 2003

Tabela 23. Dados de RMN ^{13}C do flavonol (**41**) obtida de *A. colubrina* (125 MHz, acetona- d_6) e de quercetina citada na literatura (125 MHz, metanol- d_4).

	41	quercetina*
C	$\delta^{13}\text{C}$	δ^{13}
2	148,0	147,4
3	136,4	135,9
4	176,2	175,9
5	161,9	161,2
6	98,8	97,9
7	164,8	164,2
8	94,1	93,0
9	157,4	156,8
10	103,7	103,2
1'	123,4	122,8
2'	115,8	114,6
3'	146,7	146,6
4'	145,5	144,9
5'	115,4	114,9
6'	121,1	120,3

*CHEN *et al.*, 2008

4.7.3 Identificação de Flavanonóis

Flavanonóis também conhecidos como diidroflavonóis, são flavonoides que apresentam estrutura semelhante aos flavonóis sendo que não exibem a insaturação entre os carbonos 2 e 3 (Figura 89).

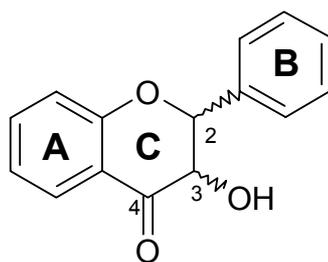


Figura 89. Esqueleto básico dos flavanonóis

Os sinais no espectro de RMN de ^1H referentes aos hidrogênios alifáticos (Anel C) são facilmente distinguíveis. Desta forma, podem ser observados dois dupletos entre 4,2-5,0 δ , correspondentes aos H-2 e H-3, resultantes de seus acoplamentos vicinais. Enquanto que os deslocamentos químicos e multiplicidades dos sinais correspondentes aos hidrogênios dos anéis aromáticos A e B dependem do grau de substituição destes anéis.

Uma aplicação importante da espectroscopia de RMN de ^1H de flavanonóis refere-se à determinação da estereoquímica de C-2 e C-3. Nos flavanonóis de ocorrência natural, os valores de constantes de acoplamento dos hidrogênios nesses carbonos apontam para uma localização α (equatorial) do anel B e β (equatorial) da hidroxila em C-3.

No espectro de RMN de ^{13}C , o deslocamento químico do carbono carbonílico na posição 4, é como nas flavonas e flavonóis, influenciado pela presença de um grupo hidroxila em C-5.

Na fase em diclorometano da madeira de *A. colubrina* foi identificado o favanonol taxifolina (**42**). Para a elucidação da estrutura desse composto os dados espectrais RMN de ^1H e ^{13}C e a comparação com dados da literatura foram satisfatórios.

Não foi encontrado nenhum relato da taxifolina (**42**) nas espécies de *Anadenanthera*, sendo, portanto inédita neste gênero.

4.7.2.1 Identificação da substância 42 (taxifolina)

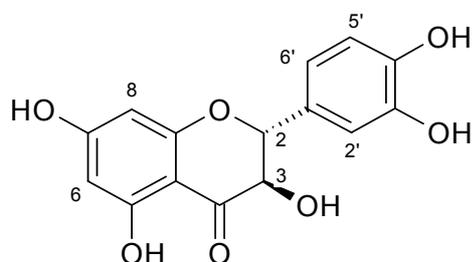


Figura 90. Substância **42** identificada na fase em diclorometano obtida da madeira de *A. colubrina*

A substância **42** foi isolada como um sólido bege ($\text{PF}_{\text{exp.}} = 221\text{ }^\circ\text{C}$ (degradação), $\text{PF}_{\text{lit.}} = 233\text{ }^\circ\text{C}$ [HASEGAWA & SHIRATO, 1954]) da fração ACD-C7, obtida a partir dos fracionamentos cromatográficos esquematizados no capítulo 3 (Figura 19, pag 47). O espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 98) desta fração apresentou um número significativo de picos com valores de deslocamentos químicos, que aliados aos dados de RMN de ^1H (Espectros 96 e 97) seriam atribuíveis a um flavonoide.

No espectro de RMN de ^1H (Espectro 97) foram observados para o composto **42** da mesma forma que **40** e **41** dois dupletos, um em $5,91\ \delta$ (1H, $^4J = 1,8$ Hz) e outro em $5,95\ \delta$ (1H, $^4J = 1,8$ Hz) característicos de um anel aromático A com substituintes oxigenados nas posições 5 e 7. Foram também observados três sinais

formando um sistema de spins ABX, referentes aos três hidrogênios do anel aromático B do tipo *orto*-dioxigenado: 6,88 δ (1H, dd, $^3J = 8,1$ e $^4J = 1,5$ Hz); 6,84 δ (1H, d, $^3J = 8,1$ Hz) e 7,05 δ (1H, d, $^4J = 1,5$ Hz). A natureza do anel C foi proposta também com base no espectro de RMN 1H , o qual mostrou ainda dois dupletos a 4,57 e 4,97 δ , compatíveis com a funcionalização de um flavanonol. A relação diaxial de H-2 e H-3 pôde ser confirmada pelo valor de 11,4 Hz da constante de acoplamento (3J) entre estes hidrogênios.

Estes dados, aliados à presença de 15 sinais no espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 98), os quais foram atribuídos, de acordo com as informações do espectro DEPT 135° (Espectro 99), a 5 carbonos metínicos, 7 carbonos não hidrogenados de anel aromático e dois carbonos metínicos carbinólicos a 83,8 δ e 72,7 δ (C-2 e C-3, respectivamente), juntamente com o sinal a 197,2 δ correspondente a um grupo carbonila, confirmaram a proposta desta estrutura. Assim, a substância **42** foi caracterizada como sendo 3, 5, 7, 3', 4'-pentaidroxiflavanona.

De acordo com a busca efetuada na literatura, verificou-se que **42** trata-se da taxifolina [KUO *et al*, 1998], flavanonol já isolado de várias espécies vegetais.

Tabela 24. Dados de RMN ^1H do flavanonol (**42**) obtido de *A. colubrina* e de taxifolina citada na literatura, ambos em acetona- d_6 e 300 MHz.

	42	taxifolina*
H	δ ^1H [mult., <i>J</i> (Hz)]	δ ^1H [mult., <i>J</i> (Hz)]
2_{ax}	4,97 d (11,4)	5,03 d (11,4)
3_{ax}	4,57 d (11,4)	4,63 d (11,4)
6	5,91 d (1,8)	5,94 d (0,8)
8	5,95 d (1,8)	5,98 d (0,8)
2'	7,05 d (1,5)	7,06 d (1,9)
5'	6,84 d (8,1)	6,82 d (8,1)
6'	6,88 dd (8,1; 1,5)	6,89 dd (8,1; 1,9)

*KUO *et al*, 1998.

Tabela 25. Dados de RMN ^{13}C do flavanonol (**42**) obtido de *A. colubrina* e de taxifolina citada na literatura, ambos em acetona- d_6 e 75 MHz.

C	42 $\delta^{13}\text{C}$	taxifolina* $\delta^{13}\text{C}$
2	83,8	84,3
3	72,4	73,0
4	197,2	198,0
5	164,2	164,8
6	96,6	96,9
7	168,5	167,6
8	95,7	95,8
9	163,4	164,0
10	100,5	101,4
1'	129,0	129,3
2'	115,2	115,7
3'	145,2	145,5
4'	146,0	146,4
5'	115,1	115,6
6'	120,0	120,7

*KUO *et al*, 1998.

4.7.4 Identificação de Chalconas

Chalconas são flavonoides destituídos do anel C, contendo os dois anéis aromáticos ligados por três átomos de carbono em um sistema α , β -insaturado (Figura 91). São de grande importância biossintética, uma vez que são considerados os precursores dos demais flavonoides [HARBONE *et al.*, 1975].

A numeração do esqueleto das chalconas é oposta à do das flavonas e flavonóis, isto é, o anel A é numerado com números ordinários seguidos de uma linha (') e o B apenas com números ordinários, devido ao fato de que as primeiras chalconas identificadas foram comparadas às acetofenonas, para as quais é empregado este sistema de numeração [HARBONE *et al.*, 1975; SIMÕES *et al.*, 2000]. O átomo de carbono central do sistema α , β -insaturado é designado com C- α e os outros carbonos como C- β (adjacente ao anel B) e C- β' (adjacente ao anel A).

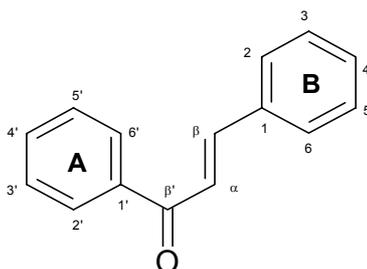


Figura 91. Esqueleto básico de chalconas

No espectro de RMN de ^1H , os sinais dos hidrogênios H- α e H- β em disposição *trans* aparecem como dupletos ($J \cong 17$ Hz) na região de 6,7-7,4 δ e 7,3-7,7 δ , respectivamente. Da mesma forma que as flavanonas, os deslocamentos químicos e multiplicidades dos sinais referentes aos hidrogênios dos anéis A e B são afetados pelo padrão de substituição nestes anéis.

No espectro de RMN de ^{13}C , o deslocamento químico do carbono carbonílico β' , na região de 188-195 δ é, como nas flavonas, influenciado pela presença de um grupo hidroxila em C-2'. Já C- α e C- β originam sinais na região de 116-128 δ e 136-146 δ , respectivamente, ambos sendo afetados pela substituição no anel B [PELTER *et al.*, 1976; HARBONE, 1988].

A espectrometria de massas especialmente associada às fontes brandas de ionização como eletrospray (ESI) e ionização química à pressão atmosférica (APCI) tem sido frequentemente utilizada na caracterização de flavonoides. Uma melhor explanação a respeito desta técnica é feita no item 4.8.2 (pág 153). As principais fragmentações observadas nos espectros de massas (APCI-MS²) de chalconas (Figura 92) fornecem informações em padrão de fragmentação específico dos anéis A e B. De acordo com Ma *et al.*, (1997), os fragmentos do tipo A⁻ ou B⁻ significam que o composto retém o anel A- ou B- enquanto o outro é perdido. Os fragmentos ^{0,1}A⁻ e ^{1,2}A⁻ são diagnósticos para a substituição do anel A, assim como o fragmentos B⁻ são indicativos do grau de substituição do anel B. Além disso, pequenas perdas neutras de CO, CO₂, H₂O, C₂H₂O e H₂ são observadas [PORTET *et al.*, 2008].

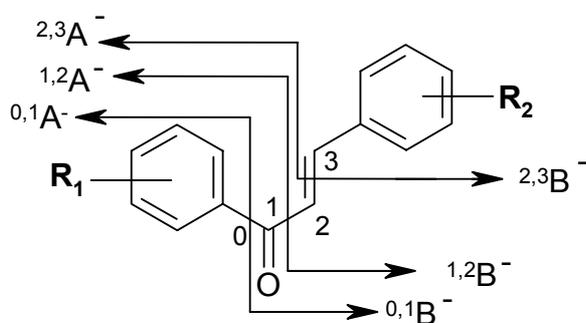


Figura 92. Nomenclatura e íons diagnósticos de chalconas desprotonadas

As chalconas são encontradas em diversas partes das plantas, mas principalmente nas flores. Grande parte da coloração amarela das plantas é devido à presença de carotenoides, mas no caso de certos membros das famílias Asteraceae, Oxalidaceae, Scrophulariaceae, Gesneriaceae, Acanthaceae e Liliaceae, as chalconas contribuem de maneira significativa para a pigmentação da corola [HARBONE *et al.*, 1975].

Na madeira de *A. colubrina* foram identificadas as chalconas ocanina (**43**) e isoliquiritigenina (**44**). Para a elucidação estrutural da okanina (**43**) foi necessária a utilização das técnicas de RMN de ¹H e ¹³C, bem como, a realização dos experimentos bidimensionais COSY ¹H-¹H, HMQC e HMBC. A isoliquiritigenina (**44**) teve sua estrutura caracterizada utilizando-se apenas a técnica de RMN de ¹H e APCI-MS².

Isoliquiritigenina já foi anteriormente isolada em espécies de Fabaceae como *Glycyrrhiza glabra* [VAYA *et al.*, 1997], porém este é o primeiro relato de sua ocorrência no gênero *Anadenanthera*. Conforme levantamento bibliográfico efetuado, não foi encontrado relato de ocanina **43** em espécies de Fabaceae, sendo portanto inédita nesta família.

4.7.4.1 Identificação da substância **43** (ocanina)

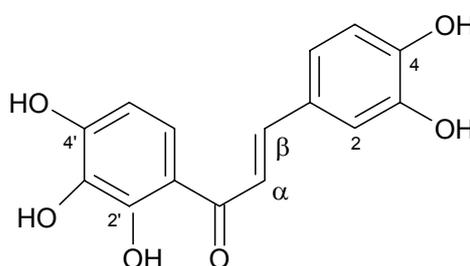


Figura 93. Substância **43** identificada na fase em diclorometano obtida da madeira de *A. colubrina*

A substância **43** foi obtida como sólido cristalino de cor laranja ($PF_{exp.} = 201\text{ }^{\circ}\text{C}$ (degradação), $PF_{lit.} = 235\text{-}242\text{ }^{\circ}\text{C}$ [SHIMOKORIYAMA, 1957]) de acordo com os fracionamentos cromatográficos esquematizados no capítulo 3 (Figura 19, pag 47).

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C de **43** sugeriram que esta substância era de natureza aromática em virtude dos sinais na região de 6,48 a 7,78 δ no espectro de RMN de ^1H e de 108,0 a 153,7 δ no espectro de RMN de ^{13}C .

O espectro de RMN de ^1H (Espectros 100 e 101) de **43** apresentou dois dupletos em 6,50 δ (1H, $^3J = 8,7\text{ Hz}$) e em 7,66 δ (1H, $^3J = 8,7\text{ Hz}$), referentes à hidrogênios com orientação *orto* em um anel aromático tetrassubstituído. Apresentou ainda um duplodupletos em 7,18 δ (1H, $^3J = 8,3\text{ Hz}$ e $^4J = 2,4\text{ Hz}$) e mais dois dupletos em 7,33 δ (1H, $^4J = 2,4\text{ Hz}$) e 6,89 δ (1H, $^3J = 8,3\text{ Hz}$), indicativos de um outro anel aromático, sendo este *orto* dioxigenado além de dois dupletos em 7,65 δ (1H, $^3J = 15,3$

Hz) e 7,75 δ (1H, $^3J = 15,3$ Hz) cujos acoplamentos foram constatados no espectro ^1H - ^1H COSY (Espectro 104) sugestivos de um sistema carbonílico α , β - insaturado.

A existência dos acoplamentos dos hidrogênios aromáticos também foi evidenciada no espectro ^1H - ^1H COSY (Espectro 104). Com base nas informações presentes no espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 102) e as correlações presentes no espectro HMQC (Espectro 105) foi possível atribuir aos hidrogênios do sistema olefínico os carbonos representados pelos sinais a 117,8 δ e 145,2 δ , respectivamente. As correlações presentes no espectro HMBC (Espectros 106 a 108, Figura 94, Tabela 26) permitiram fazer a atribuição completa dos valores de deslocamento químico desta substância.

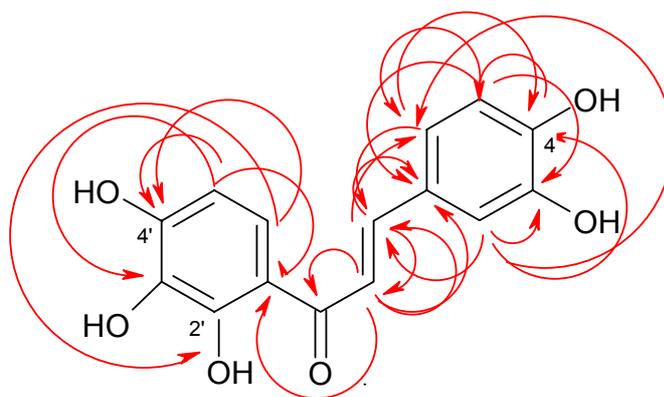


Figura 94. Correlações observadas no espectro $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC da substância **43**

Estas informações, em conjunto com os dados da literatura apresentados no item 4.7.4, levaram à definição da estrutura 3,4,2',3',4'-pentaidroxi-chalcona para a substância **43**.

A ocanina é uma chalcona anteriormente isolada em plantas da espécie *Bidens*, pertencente à família Asteraceae [HART, 1979]. No entanto, não foram encontrados na literatura dados de RMN de ^{13}C para esta substância, os quais são apresentados no presente trabalho (Tabela 26).

Tabela 26. Dados de RMN de ^1H (300 MHz, acetona- d_6) e ^{13}C (75 MHz, acetona- d_6) da chalcona (**43**) obtida de *A. colubrina*

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{HMQC}$		$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{HMBC}$	
	$\delta ^1\text{H}$ [mult., J (Hz)]	$\delta ^{13}\text{C}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
α	7,65 d (15,3)	117,8	H- β	
β	7,75 d (15,3)	145,2	H- α	H-6, H-2, H-6'
β'	—	192,9	H- α	
1'	—	114,3		H- α , H-5'
2'	—	153,7		H-6'
3'	—	133,0	H-5'	
4'	—	152,6	H-5'	H-6'
5'	6,50 d (8,7)	108,0		
6'	7,66 d (8,7)	122,7		
1	—	127,5	H- β	H- α , H-5
2	7,33 d (2,4)	115,4		H- β , H-6
3	—	146,2	H-2	H-5
4	—	149,3	H-5, H-6	H-2
5	6,89 d (8,3)	116,0	H-6	
6	7,18 dd (8,3; 2,4)	123,1	H-5, H-2	H- β

4.7.4.2 Identificação da substância 44 (isoliquiritigenina)

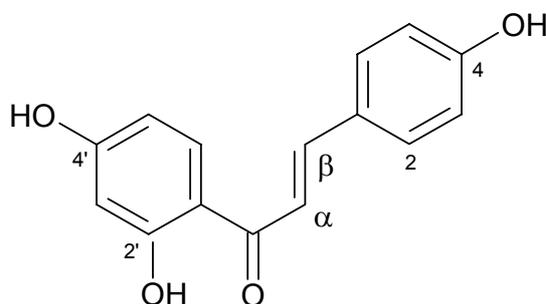


Figura 95. Substância **44** identificada no extrato em diclorometano obtida da madeira de *A. colubrina*

A substância **44** foi obtida como sólido amarelo da fração ACD-E 13-15, de acordo com os fracionamentos cromatográficos apresentados no capítulo 3 (Figura 19, pag 47). Em virtude da pequena quantidade de material obtida, só foi possível obter o espectro de RMN de ^1H e o espectro de massas (MS^1 e MS^2) usando a ionização química à pressão atmosférica (APCI) em modo negativo desta substância. Também não foi possível determinar o ponto de fusão desta substância em função da amostra ter sido perdida no espectrômetro de massas.

No espectro de massas (MS^1) de **44** (Espectro 111) foi observado o pico do íon pseudomolecular a 255,0586 $[\text{M}-\text{H}]^-$, que levou à fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$ (m/z 256, 0736).

O espectro de RMN de ^1H de **44** (Espectros 109 e 110) mostrou da mesma forma que o da substância **43**, dois dupletos correspondentes a dois prótons olefínicos com orientação *trans*, H_α e H_β , respectivamente, que levaram à definição de um esqueleto chalcona. Sendo, um duplete em 7,75 δ (1H, $^3J = 14,8$ Hz) e o outro em 7,78 δ (1H, $^3J = 14,8$ Hz).

O espectro APCI- MS^2 (Espectro 112) do íon precursor $[\text{M}-\text{H}]^-$ (m/z 255) de **44**, mostrou $^{1,2}\text{A}^- - 2\text{H}$ (m/z 135) como principal fragmento, e os fragmentos $^{1,2}\text{A}^-$ (m/z 137), $^{1,2}\text{B}^-$ (m/z 119) em menor intensidade. Apresentou ainda o pico em m/z 213, referente ao fragmento $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^-$ e em m/z 91, correspondente a perda de CO a partir do fragmento $^{1,2}\text{B}^-$. Assim, os dados espectrométricos da substância **44** foram indicativos

de uma chalcona com anéis aromáticos B e A contendo uma e duas hidroxilas, respectivamente.

A existência de dois dupletos no espectro de RMN de ^1H , em 6,93 e 7,75 δ ($^3J = 8,4$ Hz), formando um sistema de spins A_2X_2 e integrados para dois hidrogênios, seria referente a hidrogênios em um anel aromático dissubstituído (anel B) apresentando um padrão de substituição *para*.

Além destes sinais, o espectro de RMN de ^1H apresentou dois dupletos em 6,37 δ ($^4J = 2,4$ Hz) e 8,12 δ ($^3J = 8,8$ Hz) e um duploduplete em 6,47 δ ($^3J = 8,8$ Hz e $^4J = 2,4$ Hz), formando um sistema ABX de spins, atribuíveis à hidrogênios com orientações *meta*, *orto/meta* e *orto*, respectivamente, em um anel aromático trissubstituído (anel A).

Assim, foi proposta para a substância **44** a estrutura correspondente a 2',4',4'-triidróxi-chalcona.

Os dados de RMN de ^1H da chalcona **44** mostraram-se semelhantes aos da isoliquiritigenina (Tabela 27) isolada das raízes de *Glycyrrhiza glabra* (Fabaceae) [VAYA *et al.*, 1997].

Tabela 27. Dados de RMN de ^1H da chalcona (**44**) obtida de *A. colubrina* (400 MHz) e de isoliquiritigenina citada na literatura (400 MHz), ambas em acetona- d_6 .

H	44 δ ^1H [mult., J (Hz)]	Isoliquiritigenina* δ ^1H [mult., J (Hz)]
α	7,75 d (14,8)	7,75 d (15,3)
β	7,78 d (14,8)	7,79 d (14,3)
2 e 6	7,75 d (8,4)	7,73 d (8,5)
3 e 5	6,93 d (8,4)	6,92 d (8,7)
3'	6,37 d (2,4)	6,35 d (2,4)
5'	6,47 dd (8,8; 2,4)	6,45 dd (8,9; 2,4)
6'	8,12 d (8,8)	8,11 d (8,9)

*VAYA *et al.*, 1997

4.8 Identificação e caracterização estrutural dos extrativos presentes nas fases em acetato de etila e *n*-butanol da madeira de *A. colubrina*

A avaliação por CCDA das fases em acetato de etila e *n*-butanol resultou em cromatogramas ricos em manchas grandes de coloração vinho, correspondentes a constituintes químicos de polaridades bem próximas, após eluição em misturas de clorofórmio/etanol/ácido acético e revelação em anisaldeído. Estas informações aliadas à análise de seus espectros de RMN de ^1H (Espectros 113 e 114) sugeriu que o material presente nestas fases era de natureza aromática predominantemente proantocianidinas.

Apesar da fase em acetato de etila ter sido submetido a vários procedimentos cromatográficos e reação de derivatização (acetilação) conforme mostrado no capítulo 3 (Figura 20, pag 50), não foi possível isolar seus constituintes majoritários (Espectros 115 a 120). Em função da ineficiência das técnicas cromatográficas convencionais no processo de separação da fase em acetato de etila, esta juntamente com a fase em *n*-butanol foi submetida à inserção direta no espectrômetro de massas usando a ionização química à pressão atmosférica (APCI) tanto no modo positivo quanto negativo.

A análise do espectro de massas destas duas fases mostrou que suas composições são semelhantes (Espectros 121 a 124). Em seguida o espectro MS^2 foi obtido por dissociação induzida por colisão (CID) a partir dos íons $[\text{M}+\text{H}]^+$ e $[\text{M}-\text{H}]^-$. De posse do espectro MS^2 foi proposto um esquema plausível de fragmentação para alguns dos compostos presentes. Na fase em acetato de etila também foram detectados três dos principais flavonóides obtidos da fase em diclorometano: taxifolina (**42**), ocanina (**43**) e luteolina (**40**).

Comparando as análises de todas as fases, foi possível detectar que a fase em acetato de etila concentra a maior parte dos compostos fenólicos presentes na madeira de *A. colubrina*, além de apresentar o melhor rendimento.

4.8.2 Identificação de flavonóides e procianidinas por espectrometria de massas na interface APCI

A espectrometria de massas especialmente associada às fontes brandas de ionização como electrospray (ESI) e ionização química à pressão atmosférica (APCI) geram principalmente íons pseudo-moleculares para metabólitos de plantas, tais como flavonoides. A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS) bem como a injeção direta no espectrômetro de massas está se transformando em uma importante ferramenta para a identificação de compostos em extratos brutos de plantas. Além disso, LC-MSⁿ tem sido usado para diferenciar O-glicosídeos, C-glicosídeos e O,C-glicosídeos [CUYCKENS *et al.*, 2001] bem como a posição de alguns grupos funcionais em flavonoides [CLIFFORD *et al.*, 2005]. Nas interfaces APCI e ESI, tanto a ionização positiva quanto negativa é aplicada. ESI era mais frequentemente usado em análises de flavonoides, mas APCI está ganhando popularidade e, em alguns casos melhores respostas são obtidas neste modo [BOUÉ *et al.*, 2003].

De acordo com a maioria dos estudos, para ambos APCI e ESI o modo negativo fornece a melhor sensibilidade. Contudo, o modo positivo não deve ser negligenciado, uma vez que informações complementares úteis são obtidas frequentemente em estudos relacionados com a identificação de compostos desconhecidos. Deve-se estar ciente de que, com todos os quatro modos de operação, a resposta do analito pode variar consideravelmente e um pouco inesperadamente, a partir de uma subclasse para outra, e até mesmo dentro de uma subclasse [DE RIJKE *et al.*, 2003].

Os espectros de massas de flavonoides obtidos com instrumentos quadrupolo e armadilha de íons (“ion trap”) geralmente são muito semelhantes, embora a abundância relativa de fragmentos e adutos apresentem diferenças. Portanto, a comparação direta dos espectros com estes dois instrumentos é permitida. A principal vantagem do “ion trap”, é a possibilidade de realizar experimentos MSⁿ que permitem a confirmação do mecanismo de reação proposto para os fragmentos.

A reação de Retro-Diels-Alder é uma reação importante de fragmentação de flavonóide. Fragmentos RDA são especialmente importantes para a caracterização estrutural de agliconas e a parte aglicona de flavonóides conjugados.

Para facilitar as discussões sobre as fragmentações das agliconas, Ma *et al.* (1997) propuseram uma nomenclatura para descrever de forma inequívoca os fragmentos resultantes das clivagens do anel C. No modo positivo, os íons que são formados após a quebra de duas ligações no anel C, são indicadas como $^{i,j}A^+$ e $^{i,j}B^+$, com íon A contendo o anel A e o íon B, o anel B. Os índices *i* e *j* representam as ligações do anel C que são quebradas. Quando o modo negativo é utilizado, os íons são denotados $^{i,j}A^-$ e $^{i,j}B^-$, respectivamente. Íons derivados da fragmentação pela perda de um fragmento X, são denotados $[^{i,j}A^+-X]$ e $[^{i,j}B^+-X]$, respectivamente. Assim, os produtos das clivagens do anel C podem ser usados para determinar o número e a natureza dos substituintes dos anéis A e B.

Informações importantes sobre os principais fragmentos formados após clivagem do anel C das principais subclasses de flavonoides no modo positivo e negativo estão esquematizados na Figura 96.

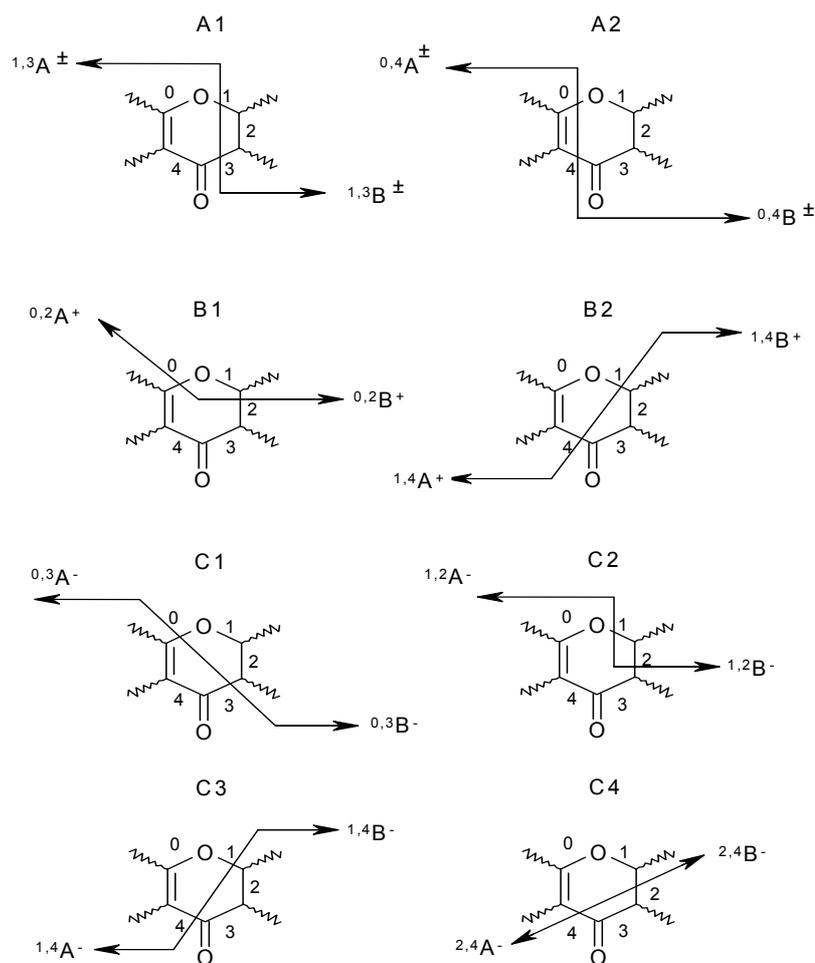


Figura 96. Nomenclatura e íons diagnósticos para flavonas, flavanonas e flavonóis desprotonados

No modo positivo a clivagem RDA que gera os fragmentos $^{1,3}A^+$ e $^{1,3}B^+$ (Figura 96, A1) é o mais importante mecanismo de fragmentação para flavanonas, flavonas, flavanóis e flavonóis, mas também ocorre com isoflavonas. As três primeiras subclasses mostram $^{1,3}A^+$ como o produto mais proeminente. O fragmento $^{1,3}B^+$ é também observado e foi proposto como um íon de diagnóstico para flavonas, contudo é também formado com flavanonas tal como naringenina [HUGHES *et al.*, 2001]. O fragmento $^{1,3}A^+$ foi também relatado em uma chalcona, embora com 20% a menos de abundância relativa [PRASAIN *et al.*, 2003].

Para flavonas e flavonols a ruptura das ligações 0 e 2 (Figura 96, B1) é o mecanismo de fragmentação do anel C mais comum. Vários autores relataram a formação do íon $^{0,2}B^+$ com abundância relativa variando de 1 a 90%. O íon correspondente $^{0,2}A^+$ pode ser usado para distinguir flavonols, uma vez que não ocorrem nos espectros de outras subclasses de flavonóides. Curiosamente, os íons devido às clivagens das ligações 0 e 2 não ocorrem no modo negativo [MA *et al.*, 1997].

A presença dos íons $^{0,4}B^+$ pode ser considerada diagnóstico para flavonas. As quebras das ligações 1 e 4 do anel C (Figura 96, B2) foram relatadas somente uma vez para explicar o íon em m/z 147 ($^{1,4}A^+$) no espectro da naringenina [HUGHES *et al.*, 2001]. Contudo, deve-se acrescentar que o fragmento em m/z 147 pode também corresponder ao íon $^{0,4}B^+$ após perda de água. Outros fragmentos menos característicos são os decorrentes da perda de H_2O , CO , C_2H_2O e a perda sucessiva de H_2O e CO . Também tem sido observada a sucessiva perda de C_2H_2O e C_2H_2 que envolve um processo de fragmentação mais complexo, tem sido sugerido como indicativo de flavonas.

No modo negativo, as clivagens das ligações 1 e 3 do anel C por RDA que produz os íons $^{1,3}A^-$ e $^{1,3}B^-$ (Figura 96, A1) são, da mesma forma que no modo positivo, o mais importante mecanismo de fragmentação. Outras clivagens do anel C geram os fragmentos $^{0,3}A^-$ e/ou $^{0,3}B^-$. Em um estudo com 14 isoflavonas, flavonas e flavanonas, $^{0,3}B^-$ só foi observado em duas isoflavonas e uma flavona [HUGHES *et al.*, 2001]. Os fragmentos $^{0,4}A^-$ e $^{0,4}B^-$ são encontrados em pequena abundância nos espectros de massas de algumas subclasses de flavonóides como flavonas, flavonóis e flavanonas [FABRE *et al.*, 2001; JUSTESEN, 2000]. Os fragmentos obtidos das clivagens das ligações 1 e 2 do anel C ($^{1,2}A^-$ e $^{1,2}B^-$) parecem ser específicos de 3',4'-diidroxiflavonol

uma vez que outros flavonoides não mostram estes fragmentos em seus espectros de massas [FABRE *et al.*, 2001].

A perda de pequenos fragmentos tais como CO e H₂O ocorre tanto no modo positivo quanto no negativo. Por exemplo, após a quebra das ligações 2 e 4 a molécula desprotonada perde duas moléculas de CO, mas não forma os fragmentos ^{2,4}A⁻ e ^{2,4}B⁻ [HUGHES *et al.*, 2001]. O modelo de fragmentação proposto por Ma *et al.* (1997) para chalconas é apresentado no Item 4.7.4 (Figura 92, pag 147).

Na elucidação das estruturas de proantocianidinas é geralmente utilizada a técnica de RMN seguida de prévia purificação. No entanto, a multiplicidade e alargamento dos sinais de ressonância associados com isomerismo rotacional e conformacional frequentemente complicam a interpretação de suas sequências [KARCHESY *et al.*, 1986].

Portanto, a espectrometria de massas acoplada à cromatografia líquida tem atraído maior atenção devido à sua capacidade para uma análise confiável e a necessidade de pequenas amostras. Por muito tempo, “thermospray” foi a interface mais ampla, versátil e poderosa do acoplamento LC-MS. Com esta interface a elucidação estrutural de proantocianidinas foi bem estabelecida, embora haja algumas desvantagens como a alta degradação na fonte de íons o que muitas vezes resulta em um íon pseudomolecular muito pequeno [FRIEDRICH *et al.*, 2000].

Nos últimos anos, as técnicas de ionização branda “electrospray” (ESI) e ionização química à pressão atmosférica (APCI) têm sido utilizadas para compostos polares com alta sensibilidade térmica. Em muitos estudos, a aplicação predominante do ESI e APCI na análise de proantocianidinas é a detecção do íon pseudomolecular com a finalidade de determinar o grau de polimerização [FRIEDRICH *et al.*, 2000] e em poucos trabalhos o mecanismo de fragmentação desses compostos tem sido discutido.

Com o objetivo de distinguir as unidades flavanol em proantocianidinas Porter *et al.* (1988) desenvolveram uma nomenclatura que depende das posições das ligações interflavanol nos anéis A e C: unidade-T (topo) apresenta apenas uma ligação interflavanol no átomo de carbono C-4, enquanto a unidade-M (meio) tem uma ligação adicional no átomo de carbono C-6 ou C-8 (Figura 97). Se todas as três posições estão envolvidas em ligações C-C o monômero é uma unidade-J. Um monômero com uma ligação C-C no átomo de carbono C-8 ou C-6 é chamado de unidade-B (base).

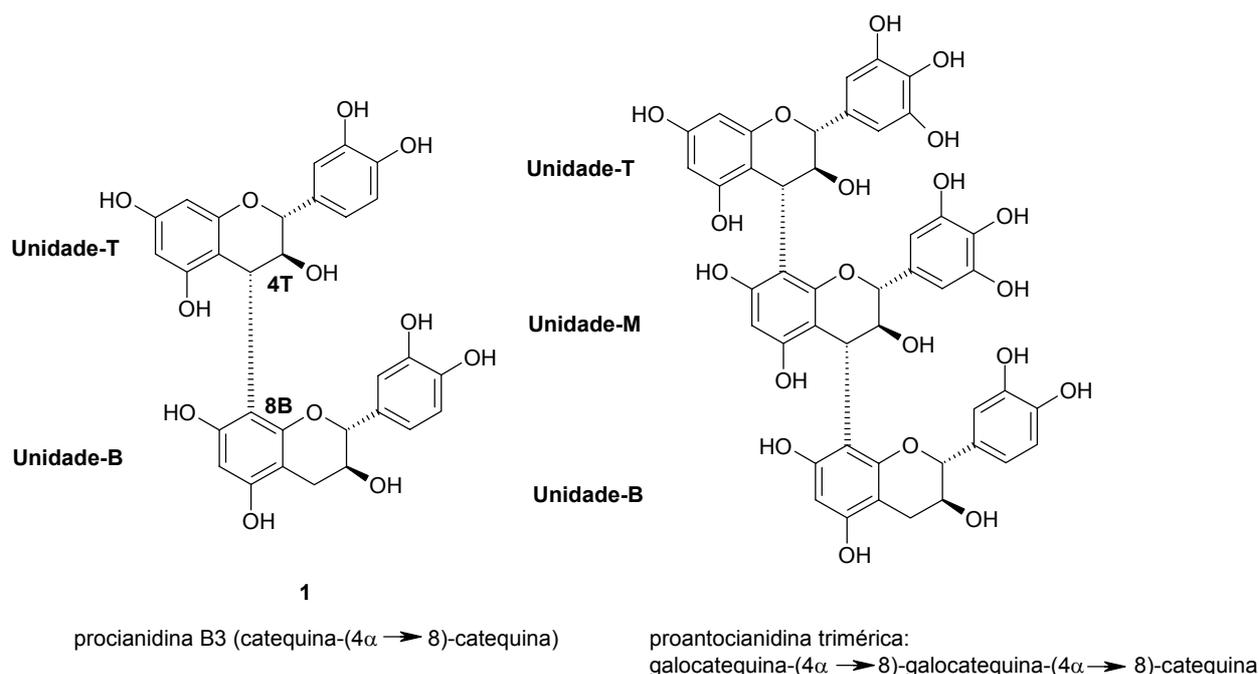


Figura 97. Nomenclatura das subunidades de proantocianidinas

Nos experimentos ESI-MS² em modo negativo com proantocianidinas diméricas realizados por Friedrich *et al.* (2000), foi observada a clivagem da ligação interflavanol. Uma possibilidade de mecanismo é a quebra direta desta ligação levando ao fragmento [M_B-H]⁻ para a unidade base e um fragmento [M_T-3H]⁻ para a unidade superior. A unidade base é o íon mais abundante nos espectros MS² [FRIEDRICH *et al.*, 2000]. Reação análoga foi observada para APCI em modo positivo [STEVENS & DEINZER, 1997].

De acordo com Friedrich *et al.* (2000) a reação de Retro-Diels-Alder na unidade-T é a mais importante fragmentação para a elucidação da estrutura de dímeros. O produto da subsequente eliminação de água foi detectado frequentemente em quantidades significativas, algumas vezes superior aos produtos da RDA. O íon resultante da RDA na unidade-B foi detectado em pequena intensidade. Desta forma, foi concluído que em ESI-MS² o principal mecanismo de fragmentação de dímeros leva à perda do anel B da unidade-T.

No caso de APCI-MS², Stevens e Deinzer (1997) relataram que a clivagem RDA do íon precursor representa uma via de fragmentação minoritária e que ocorre na unidade-B em vez da unidade-T.

Os espectros de massas das fases em acetato de etila e *n*-butanol (Espectros 121 a 124) obtidos por inserção direta na interface APCI no intervalo de massa *m/z* 100-3000 (“full scan”) mostraram majoritariamente no modo negativo a presença dos íons $[M-H]^-$ de *m/z* 561,1299; 545,1341; 409,0854; 391,0755; 289,0667 e 271,0559 os quais foram refragmentados (MS^2). Também foi observada, sendo em menor proporção, a presença dos íons referentes a três flavonoides que foram previamente isolados na fase em diclorometano, taxifolina (**42**), okanina (**43**) e luteolina (**40**), cujos fragmentos MS^2 estão apresentados na Tabela 28. Assim, a atribuição dos fragmentos aos flavonóides mencionados foi realizada com base na comparação de seus respectivos espectros MS^2 com os espectros das amostras puras.

Tabela 28. Fragmentos identificados nos espectros APCI- MS^2 dos flavonoides **40**, **42**, e **43**.

Substância	Íon precursor (<i>m/z</i>)	Fragmentos MS^2 (<i>m/z</i>)
luteolina (40)	$[M-H]^-$ 285,0267	$[M-H-H_2O]^-$ 267,0187; $[M-H-CO]^-$ 257,0299; $[M-H-C_2H_2O]^-$ 243,0143; $[M-H-CO_2]^-$ 241,0132; $[M-H-C_3O_2]^-$ 217,0403; $[M-H-CO_2-CO]^-$ 213,0321; $[M-H-C_2H_2O-CO_2]^-$ 199,0302; $[M-H-C_3O_2-C_2H_2O]^-$ 175,0323; $^{1,3}A^-$ 150,9984 $^{1,3}B^-$ 133,0243 (Espectro 130)
taxifolina (42)	$[M+H]^+$ 305,0691	$[M+H-H_2O]^+$ 287,0515; $[M+H-H_2O-CO]^+$ 259,0561; $[M+H-C_3O_2-C_2H_2O]^+$ 195,0091; $^{1,3}A^+$ 153,0171 (Espectro 131)
okanina (43)	$[M-H]^-$ 287,0442	$[M-H-H_2O]^-$ 269,0340; $[M-H_2O-CO]^-$ 241,0409; $^{0,1}A^-$ 124,0235; $^{1,2}B^-$ 135,0410; $^{1,2}A^- - H$ 150,9983 (Espectro 132)

O espectro de massas MS^2 do íon precursor em *m/z* 561,1299 $[M-H]^-$ (Espectro 125) mostrou como íon principal o pico em *m/z* 289,0645 $[M_B-H]^-$, possivelmente resultante da clivagem de uma ligação interflavan-3-ol [SOUZA *et al.*, 2008; FRIEDRICH *et al.*, 2000]. O íon em *m/z* 289,0645 corresponderia à unidade catequina

ou epicatequina, uma vez que estes isômeros não podem ser distinguidos em um espectro de segunda ordem.

Estes dados, aliados à presença do pico em m/z 271,0532 correspondente ao íon $[M_T-3H]^-$ sugeriram que a unidade-T corresponderia à substância afzelequina ou epiafzelequina. Além dos fragmentos supracitados foi possível observar a presença dos picos em m/z 408,9790 referente ao fragmento resultante da reação de Retro-Diels-Alder na unidade-B $[M-H^{-1,3}B]^-$ e o pico em m/z 391,0723 referente à subsequente perda de água.

Assim, com base nos dados observados no espectro MS^2 e em comparação com dados presentes na literatura [SOUZA *et al.*, 2008; FRIEDRICH *et al.*, 2000], a substância (substância **47**) correspondente ao íon precursor $[M-H]^-$ de m/z 561,1299 pode ser uma procianidina formada provavelmente pelas unidades catequina (ou epicatequina) e afzelequina (ou epiafzelequina). A figura 98 apresenta uma proposta de fragmentação para este íon baseada no mecanismo de fragmentação da prodelfinidina B_3 proposto por Friedrich *et al.* (2000).

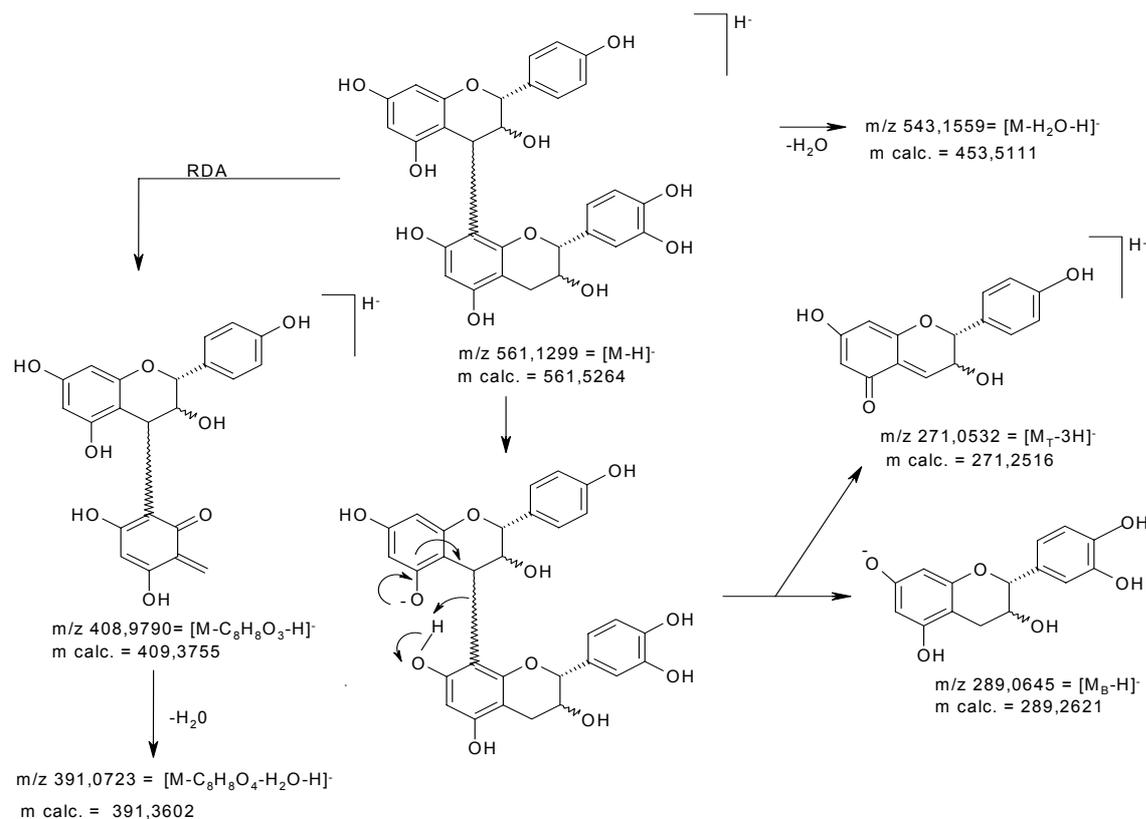


Figura 98. Proposta de fragmentação do íon $[M-H]^-$ de m/z 561,1299 presente no espectro APCI-MS em modo negativo das fases em acetato de etila e *n*-butanol

A substância referente ao íon $[M-H]^-$ de m/z 545,1341 não pôde ser identificada em virtude de seu espectro MS^2 apresentar muito ruído, mas de acordo com dados citados na literatura [SOUZA *et al.*, 2008] pode corresponder a um outro dímero 3-flavanol.

Foi efetuada uma busca na literatura na tentativa de identificação das substâncias relativas aos íons $[M-H]^-$ de m/z 409,0854 e 391,0755, no entanto não houve sucesso.

Embora os fragmentos encontrados no espectro MS^2 (Espectro 126) em modo negativo do íon $[M-H]^-$ de m/z 289,0667 sejam semelhantes aos citados na literatura para a catequina (Espectro 127) [PACHECO-PALENCIA *et al.*, 2009; BRAVO *et al.*, 2006], só foi justificado por Bravo *et al.*, (2006) a formação dos íons de m/z 179,0 (perda do anel B) e 205,1 (perda do anel A). No espectro 126 não foram observados como esperados os fragmentos em m/z 137 e 151 resultantes da reação de Retro-Diels-Alder.

Entretanto, o espectro MS^2 obtido em modo positivo do íon de m/z 291,0812 $[M+H]^+$ (Espectro 128) mostrou um dos fragmentos resultantes desta reação em m/z 139,0835 ($^{1,3}A^+$) como principal fragmento. Além deste pico, foram observados também os fragmentos em m/z 147,0494 ($^{0,4}B^+$), 123,0366 ($^{1,2}B^+$) e 104,3129.

A figura 99 apresenta uma proposta de fragmentação para o íon de m/z 291,0812 $[M+H]^+$ com base no mecanismo proposto por Li e Deinzer (2007) para a catequina/epicatequina. Portanto, a substância (**45**) correspondente a este íon precursor pode ser tanto a catequina quanto a epicatequina, uma vez que o experimento MS^2 não diferencia estes isômeros.

Como mencionado anteriormente, no espectro APCI-MS em modo negativo foi observada ainda a presença do íon de m/z 271,0559 $[M-H]^-$. A refragmentação deste íon resultou em um espectro de massas MS^2 (Espectro 129) contendo picos referentes aos fragmentos de m/z 253,0377; 151,0014; 135,0075; 119,0490 e 106,9915. Estas informações, em conjunto com os dados apresentados na literatura de APCI- MS^2 em modo negativo para flavonoides [JUSTESEN, 2000] permitiram chegar à definição da estrutura da naringenina designada de substância **46**. Na Figura 100 é apresentada uma proposta de fragmentação para esta substância baseada nas fragmentações propostas por Fabre *et al.*, (2001) para a flavanona isosakuranetina.

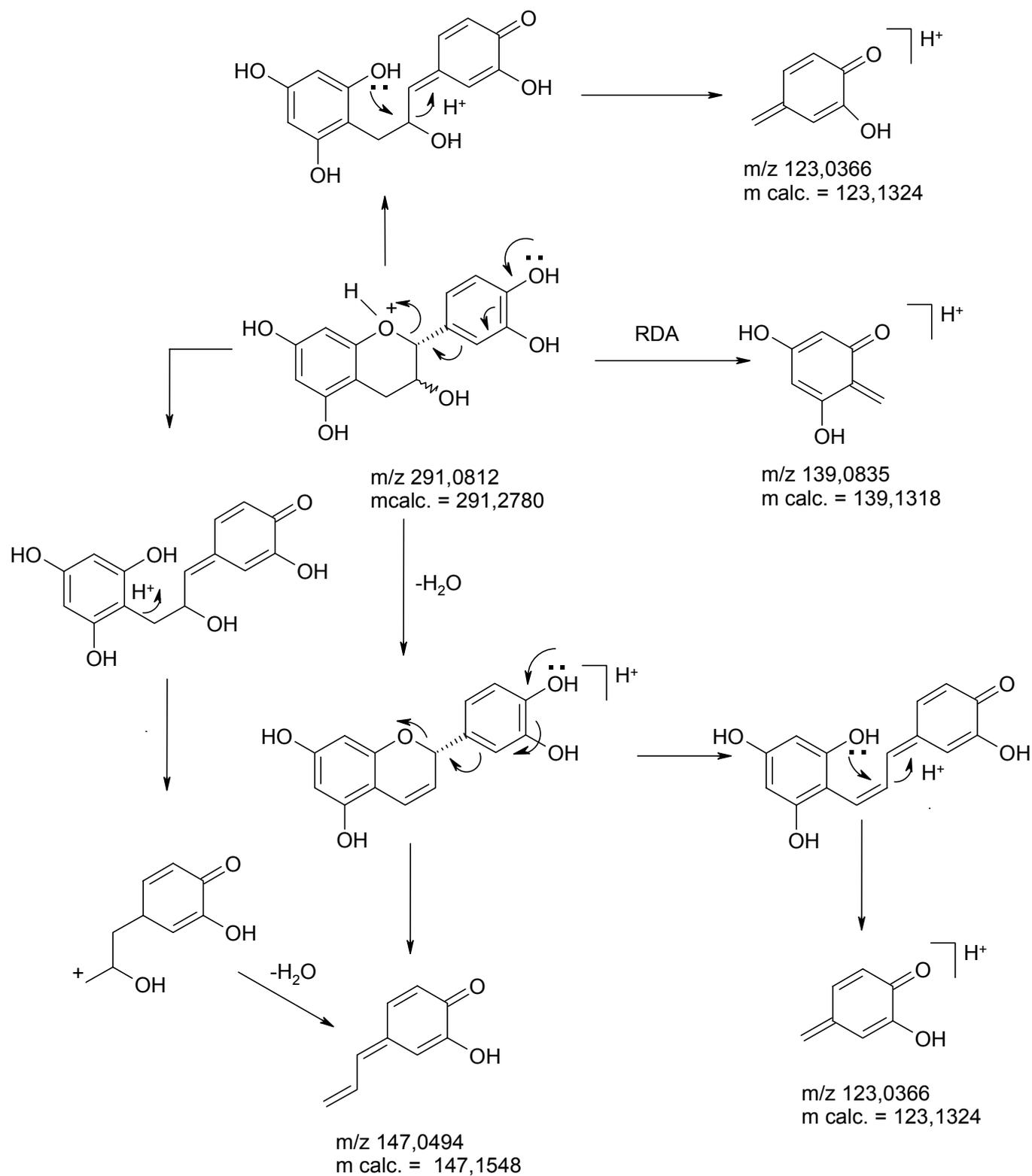


Figura 99. Proposta de fragmentação do íon $[M+H]^+$ de m/z 291,0812 presente no espectro APCI-MS em modo positivo das fases em acetato de etila e *n*-butanol

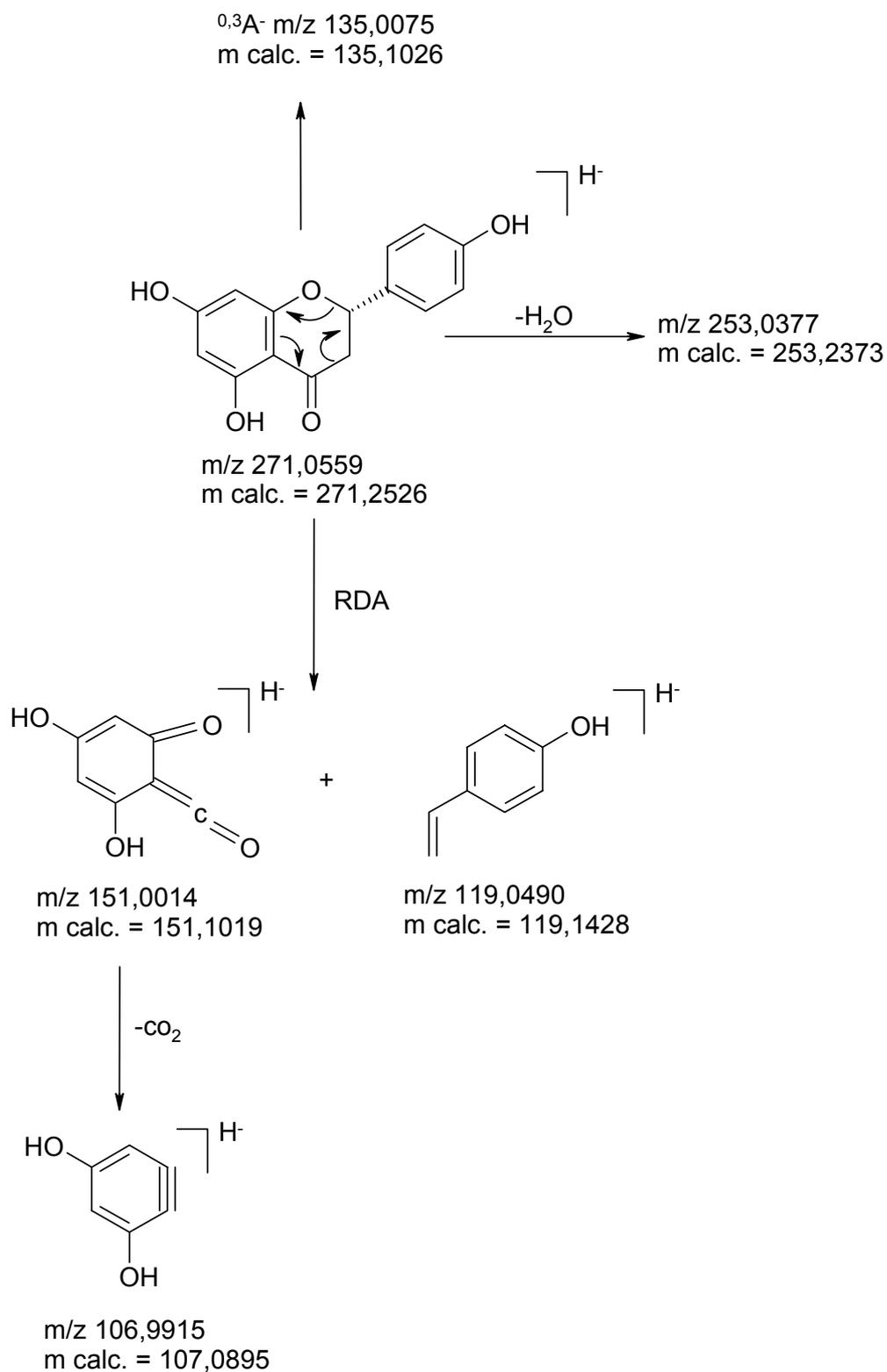


Figura 100. Proposta de fragmentação do íon $[M-H]^-$ de m/z 271,0559 presente no espectro APCI-MS em modo negativo das fases em acetato de etila e *n*-butanol

4.9 Atividade antitermítica

Extrativos obtidos de madeiras resistentes a térmitas têm sido investigados há vários anos e muitos são promissores no controle de térmitas em função de serem fontes ricas de compostos bioativos que oferecem, juntos ou separadamente, toxicidade, deterrência alimentar ou repelência [SCHEFFRAHN, 1991; ESCOUBAS *et al.*, 1995; CHEN *et al.*, 2004].

O resultado das fases em cicloexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol obtidos da madeira de *A. colubrina* avaliadas quanto às suas atividades antitermítica estão representados na Figura 101 (A-D). Todas as fases reduziram a sobrevivência dos térmitas em comparação com o controle correspondente, mostrando atividade significativa frente *Nasutitermes corniger*.

A exposição de *N. corniger* à fase em acetato de etila (Figura 100, C) revelou nenhuma sobrevivência dos térmitas após 7 dias de tratamento nas concentrações de 25, 50, and 100 mg.mL⁻¹ e o valor de LC₅₀ após 4 dias foi de 17,3 mg.mL⁻¹. A ordem de sobrevivência após 7 dias a 100 mg.mL⁻¹ para as outras fases foi: *n*-butanol (28.3%) > diclorometano (13.3%) > cicloexano (0%).

A fase em cicloexano foi a segunda mais ativa de *A. colubrina*. A análise por GC-MS desta fase (item 4.6, pag 61) mostrou que a mesma é constituída principalmente por, triterpenos (47,03%), esteroides (30,03%), ésteres e ácidos graxos (16,64%). De acordo com a literatura, terpenoides (monoterpenos a triterpenos) apresentam propriedades tóxicas, deterrentes e repelentes contra térmitas e outros insetos [LAJIDE *et al.*, 1995; VIEGAS JR, 2003; BLASKE *et al.*, 2003; PARK & SHIN, 2005; WATANABE *et al.*, 2005].

Como evidenciado na figura 19 (pag 47), a fase em diclorometano de *A. colubrina* mostrou um teor de 21% de flavonoides. Entre os compostos fenólicos de plantas os flavonoides são bem conhecidos como deterrentes alimentares [SIMONDS, 2001]. Taxifolina (**42**), quercetina (**41**) e outros flavonoides são conhecidos na literatura por impedirem a alimentação de térmitas [REYES-CHILPA *et al.*, 1995. MORIMOTO *et al.*, 2000; OHMURA *et al.*, 2000; CHEN *et al.*, 2004; MORIMOTO *et al.*, 2006]. Alguns pesquisadores assumiram que existe uma relação significativa entre atividade antioxidante de flavonoides e a sobrevivência de térmitas. Ragon *et al.* (2008) hipotetizou que os cupins detectam e evitam a madeira que contém extrativos com um

certo nível de substâncias antioxidantes, porque eles podem interferir na digestão da lignocelulose pelos simbiossitos existentes no estômago dos térmitas

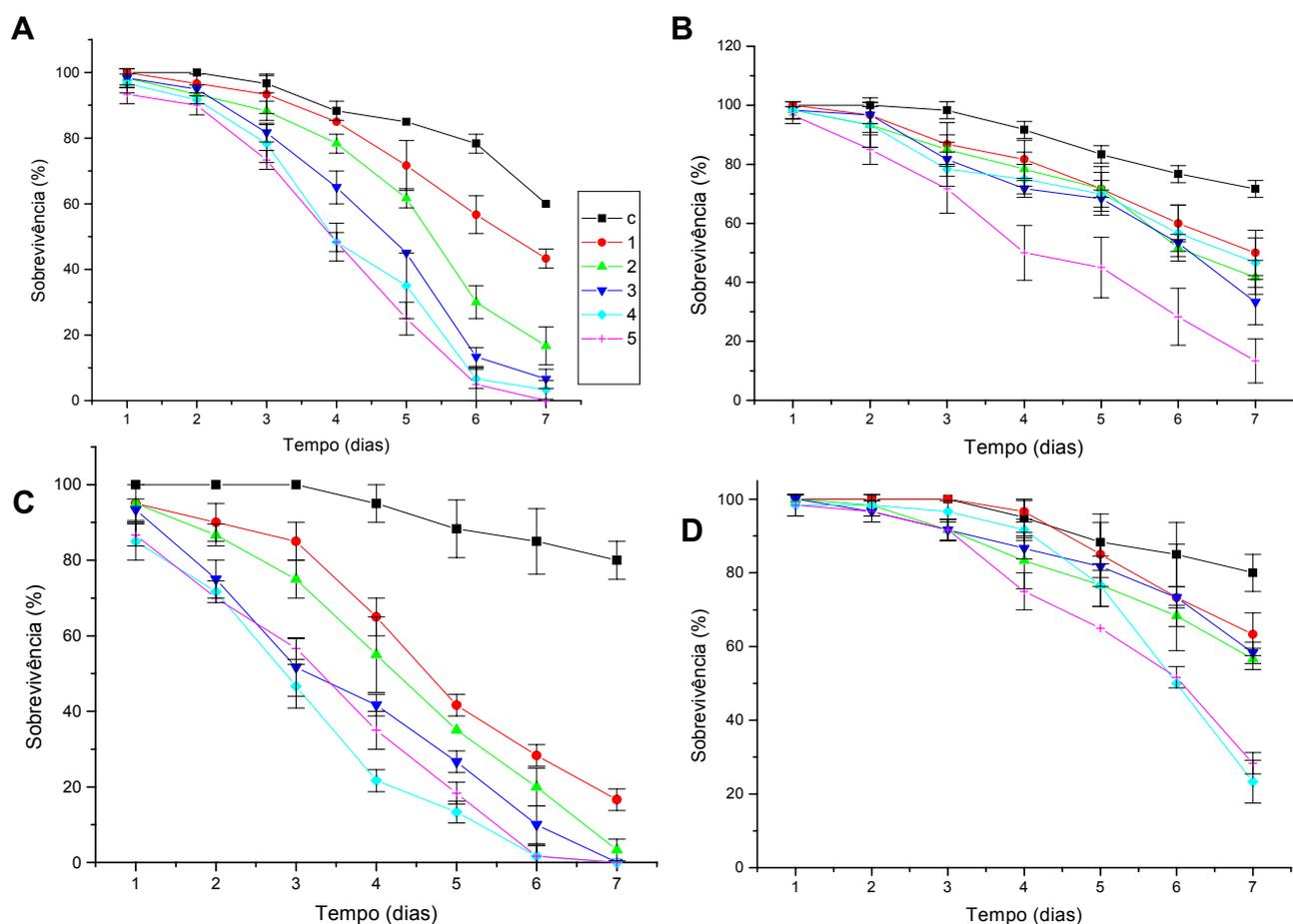


Figura 101. Efeito do contato das fases obtidas da madeira de *A. colubrina* com *N. corniger*. Fase em ciclohexano (A) diclorometano (B) acetato de etila (C) *n*-butanol (D). Concentrações das fases de 6,25 (1), 12,5(2), 25(3), 50(4) e 100 (5) mg mL⁻¹. Clorofórmio foi usado como controle negativo (c) em A, acetona em B e metanol em C and D. Cada ponto representa a média ± desvio padrão de três repetições.

A melhor fase termitocida de *A. colubrina* foi a de acetato de etila em função do seu conteúdo de proantocianidinas (taninos condensados) detectado por APCI-MS.

Taninos condensados e hidrolizáveis, em função de sua propriedade de se complexar com proteínas e inibir muitas enzimas digestivas, são conhecidos como fortemente adstringentes [MONTEIRO *et al.*, 2005]. Ayres *et al.* (1997) verificaram que a elevada mortalidade de insetos tratados com taninos condensados parece ser devida às propriedades tóxicas destes compostos, e não em função da inibição da digestão.

A fase mais polar de *A. colubrina* (*n*-butanol) apresenta composição semelhante à fase em acetato de etila. No entanto, esta fase mostra baixa mortalidade frente *N. corniger*, possivelmente devido à menor concentração de proantocianidinas.

Embora este experimento não tenha sido especificamente designado para testar efeitos repelentes, foi observado que as fases não apresentaram repelência, uma vez que foi observado que os cupins se mantiveram a maior parte do tempo sobre o papel de filtro. Neste trabalho, o efeito de deterrência alimentar não pôde ser avaliado diretamente, uma vez que não foi realizada a quantificação de substrato consumido. Contudo, estes dados são indicações que os extrativos de *A. colubrina* contêm algumas substâncias ou grupos de substâncias, que mostram propriedades tóxicas e deterrentes contra *N. corniger*.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Do estudo químico da madeira de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *Cebil* (Griseb.) von Reis Alt. foram obtidas as fases em cicloexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol.

A análise fase em cicloexano por GC-MS levou a identificação de oito ésteres metílicos graxos saturados e dois insaturados, seis ésteres etílicos graxos, um éster butílico graxo, dois ésteres pentílicos graxos, sete ácidos graxos saturados e dois insaturados, um triterpeno (lupenona), cinco esteroides (diidrobrassicasterol, estigmasterol, estigmast-4-en-3-ona, ergost-4-en-3-ona e estigmasta-3,5-dien-7-ona) e três norisoprenoides (α -ionona, 5,6-epoxi- β -ionona e diidroactinidiolida).

Apenas o β -sitosterol e lupeol foram isolados e tiveram suas estruturas caracterizadas utilizando-se as técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C juntamente com a espectrometria de massas.

Dentre as substâncias identificadas na fase em cicloexano, apenas os esteróides β -sitosterol e estigmasterol e os triterpenos lupeol e lupenona já foram descritos anteriormente no cerne e partes aéreas de *A. colubrina* (Tabela 1, pag 4). As outras substâncias são inéditas no gênero *Anadenanthera*.

O estudo químico da fase em diclorometano resultou no isolamento e identificação de cinco flavonoides, compreendendo uma flavona (luteolina), um flavonol (quercetina), um flavanonol (taxifolina) e duas chalconas (ocanina e isoliquiritigenina). Estes flavonóides foram identificados com base em dados espectroscópicos de RMN de ^1H e de ^{13}C (uni- e bidimensionais), na espectrometria de massas, nos valores de ponto de fusão e pela comparação com dados espectrais disponibilizados na literatura. A obtenção destas substâncias é de grande importância quimiotaxonômica, uma vez que a chalcona ocanina está sendo descrita pela primeira vez em Fabaceae e os demais flavonoides são inéditos no gênero *Anadenanthera*.

No estudo químico das fases em acetato de etila e *n*-butanol utilizando-se a técnica APCI-MS² foi identificado como componente majoritário uma proantocianidina dimérica. Também foi observada, sendo em menor proporção, a presença dos flavonóides naringenina e catequina e/ou epicatequina, além de taxifolina, ocanina e luteolina isoladas da fase em diclorometano.

A definição da estrutura da proantocianidina merece destaque, uma vez que existem muitos estudos das duas espécies do gênero *Anadenanthera* relacionados à quantificação e extração de taninos condensados para emprego na indústria de curtume, mas não há registros na literatura de substâncias desta classe isoladas e/ou caracterizadas das espécies deste gênero.

A madeira de *A. colubrina* apresentou alto teor de extrativos, sobretudo de compostos fenólicos, bem como elevada sequestradora do radical DPPH e antifúngica frente à *Phanerochaete chrysosporium*. Estes fatores podem ser, de certa forma, considerados os responsáveis pela sua elevada resistência frente a este fungo.

As quatro fases obtidas da madeira de *A. colubrina* mostraram atividade antitermítica significativa frente à *Nasutitermes corniger* quando comparados com o controle correspondente. O melhor extrato termiticida de *A. colubrina* foi o acetato de etila, provavelmente em função do seu conteúdo de proantocianidinas que apresentam propriedades tóxicas. O extrato em cicloexano foi o segundo mais tóxico de *A. colubrina*. A análise por GC-MS deste extrato mostrou que, dentre os constituintes identificados, os triterpenos são os principais componentes (47,03%) seguidos pelos esteroides (30,03%) e ésteres e ácidos graxos (16,64%).

Deve-se ressaltar também que até o momento não haviam sido relatados na literatura dados sobre atividade antitermítica para os extrativos de *A. colubrina*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, 1995.
- AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 NMR of flavonoids**. Elsevier, 1989.
- AHMAD, V. U.; RAHMAN, A. V. **Pentacyclic triterpenoids**. In: **Handbook of Natural Products Data**. v. 2. Elsevier, Amsterdam, 1994.
- ALBERTS, A. C.; SHARP, T.R.; WERNER, D. I.; WELDON, P. J. Seasonal variation of lipids in femoral gland secretions of male green Iguanas (*Iguana iguana*). **Journal of Chemical Ecology**, v. 18, p. 703, 1992.
- ALTSCHUL, S. R. A taxonomic study of the genus *Anadenanthera*. **Contrib. Gray Herb.**, v.193, p. 3, 1964.
- ALVESA, R. J. V.; PINTO, A. C.; DA COSTA, A.V. M.; REZENDE, C. M. *Zizyphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae) and the chemical composition of its floral fecal odor. **Journal of the Brazilian and Chemical Society**, v. 16, p. 654, 2005.
- AMORIN, J. L. Plantas de la flora argentina relacionadas con alucinógenos americanos- **Publicaciones de la Academia Argentina de Farmacia y Bioquímica**, v. 33, p. 63, 1974.
- AMUSANT, N.; MORETTI, C.; RICHARD, B.; PROST, E.; NUZILLARD, J. M.; THEVENON, M. F. Chemical compounds from *Eperua falcata* and *Eperua grandiflora* heartwood and their biological activities against wood destroying fungus (*Coriolus versicolor*). **European Journal of Wood and Wood Products**, v. 65, p. 23, 2007.
- ANDRADE-LIMA, D. DE. The caatingas dominium. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 4, p. 149, 1981.
- ANON. Tanning materials of Bahia (Brazil). **Ledertechnische Rundschau**, v. 20, p. 49, 1928.
- ASSIMOPOULOU, A. N.; PAPAGEORGIOU, V. P. GC-MS analysis of penta- and tetracyclic triterpenes from resins of *Pistacia* species. Part I. *Pistacia lentiscus* var. Chia. **Biomedical Chromatography**, v. 19, p. 285, 2005.
- ASTM METHODS, D271- 48. **Standard test methods for lignin in wood**. 1956.

- AWAAD, A. S.; MAITLAND, D. J.; SOLIMANC, G. A. Hepatoprotective activity of *Schouwia thebica* webb. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, p. 4624, 2006.
- AYRES, M. P.; CLAUSEN, T. P.; MACLEAN, S. F.; REDMAN, A. M.; REICHARDT, P. B. Diversity of structure and anti-herbivore activity in condensed tannins. **Ecology**, v. 78, p. 1696, 1997.
- BEAULIEU, J. C.; GRIMM, C. C. Identification of volatile compounds in cantaloupe at various developmental stages using solid phase microextraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p.1345, 2001.
- BEUGELMANS, Y. R.; SHAPIRO, R. H.; DURHAM, L. J.; WILLIAMS, D. H.; BUDZIKIEWICZ, H.; DJERASSI, C. Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. LI. Mass Spectral and Enolization Studies on 7-Keto-5 α -androstanes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 86, p. 2832, 1964.
- BLASKE, V. -U.; HERTEL, H.; FORSCHLER, B. T. Repellent effects of isoborneol on subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae) in soils of different composition. **Household and Structural Insects**, v. 96, p. 1267, 2003.
- BOATRIGT, W. L.; CRUM, A. D. Nonpolar-Volatile Lipids from Soy Protein Isolates and Hexane-Defatted Flakes. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 74, p. 461, 1997.
- BOUDET, A. M. Evolution and current status of research in phenolic compounds. **Phytochemistry**, v. 68, p. 22, 2007.
- BOUÉ, S. M.; CARTER-WIENTJES, C. H.; SHIH, B. Y.; CLEVELAND, T. E. Identification of flavone aglycones and glycosides in soybean pods by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 991, p. 61, 2003.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25, 1995.
- BRASH, A. R. Lipoxygenase: occurrence, functions, catalysis and acquisition of substrate. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, p. 23679, 1999.

- BRAVO, M.N.; SILVA, S.; COELHO, A. V.; VILAS BOAS, L.; BRONZE, M. R. Analysis of phenolic compounds in Muscatel wines produced in Portugal. **Analytica Chimica Acta**, v. 563, p. 84, 2006.
- BRENAN, J. P. M. Notes on Mimosoideae:1. **Kew Bulletin**, v. 10, p. 161, 1955.
- BREZNAK, J. A. Intestinal microbiota of termites and other xylophagous insects. **Annual Review of Microbiology**, v. 36, p. 323, 1982.
- BREZNAK, J. A.; BRUNE, A. Role of microorganisms in the digestion of lignocellulose by termites. **Annual Review of Entomology**, v. 39, p. 453, 1994.
- BRITO, J. O.; BARRICHELO, L. E. G. **Considerações sobre a produção de carvão vegetal com madeiras da Amazônia**. N.2, p.25, 1981, (série técnica IPEF).
- BROWN, F. J.; DJERASSI, C. Elucidation of the Course of the Electron Impact Induced Fragmentation of α,β -Unsaturated 3-Keto Steroids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 102, p. 807, 1980.
- BRUNOW, G.; LUNDQUIST, K.; GELLERSTEDT, G. LIGNIN. In: Sjöström, E. and Alén R., (eds.) **Analytical Methods in Wood Chemistry, Pulping, and Papermaking**. Springer-Verlag, Germany, pp. 77, 1999.
- BUDZIKIEWICZ, H.; WILSON, J. M.; DJERASSI, C. Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. XXXII. Pentacyclic Triterpenes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, p. 3688, 1963.
- BULTMAN, J. D.; BEAL, R. H.; AMPONG, F. F. K. Natural resistance of some tropical African woods to *Coptotermes formosanus* Shiraki. **Forest Product Journal**, v. 29, p. 46, 1979.
- CABRERA, R. R.; LELIS, A. T.; BERTI-FILHO, E. Ação dos extratos das madeiras de Ipê (*Tabebuia* sp., Bignoniaceae) e de Itaúba (*Mezilaurus* sp., Lauraceae) sobre o cupim-de-madeira-seca *Cryptotermes brevis* (Isoptera, Kalotermitidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 68, p. 103, 2001.
- CARBALLEIRA LOPEZ, G. A.; MILANO, S. Avaliação de durabilidade natural da madeira e de produtos usados na sua proteção. In: **Manual de preservação da madeira**. São Paulo: IPT, v. 2, p. 473-521, 1986.
- CARTER, F. L.; GARLO, A. M.; STANELY, J. B. Termiticidal components of wood extracts: 7-methyl-juglone from *Diospyros virginiana*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 26, p. 869, 1978.

- CASTELLANOS, I.; ESPINOSA-GARCIA, F. J. Plant Secondary Metabolite Diversity as a Resistance trait against Insects: a Test with *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and Seed Secondary Metabolites. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 25, p. 591, 1997.
- CAVALCANTE, M. S. **Deterioração biológica e preservação de madeiras**. São Paulo: IPT, p.40, 1982.
- CAZES, J.; DEKKER, M. Encyclopedia of Chromatography. Update Supplement, Ed. Jake Cazes, New York, 2004.
- CHANG, S.-T.; CHENG, S. S. Antitermitic activity of leaf essential oils and components from *Cinnamomum osmophleum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 1389-1392, 2002.
- CHANG, S.-T.; CHENG, S.-S.; WANG, S.-Y. Antitermitic activity of essential oils and components from *Taiwania* (*Taiwania cryptomerioides*). **Journal of Chemical Ecology**, v. 27, p. 717, 2001.
- CHANG, S.-T.; WANG, S.-Y.; WU, C.-L.; SU, Y.-C.; KUO, Y. -H. Antigungal compounds in the ethyl acetate soluble fraction of the extractives of *Taiwania* (*Taiwania cryptomerioides* Hayata) heartwood. **Holzforschung**, v. 53, p. 487, 1999.
- CHEN, K.; OHMURA, W.; DOI, S.; AOYAMA, M. Termite feeding deterrent from Japanese Larch wood. **Bioresource Technology**, v. 95, p. 129, 2004.
- CHEN, Z.; LIU, Y.-M.; YANG, S.; SONG, B.-A.; XU, G.-F.; BHADURY, P. S.; JIN, L.-H.; HU, D.-Y.; LIU, F.; XUE, W.; ZHOU, X. Studies on the chemical constituents and anticancer activity of *Saxifraga stolonifera* (L) Meeb. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 1337, 2008.
- CHENG, S.-S.; CHANG, H.-T.; WU, C.-L.; CHANG, S.-T. Anti-termite activities of essential oils from coniferous trees against *Coptotermes formosanus*. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 456, 2007.
- CHRISTIE, W.W. Gas chromatography mass spectrometry methods for structural analysis of fatty acids. **Lipids**, v. 33, p. 343, 1998.
- CLIFFORD, M. N.; KNIGHT, S.; KUHNERT, N. Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MSn. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 3821, 2005.
- COLON, F. **Historia Del Amirante de las Indias D. Cristobal Colón. Colección de Fuentes de Historia de América**. Buenos Aires, 1944

- CORRÊA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro. Imprensa Nacional, v.1, p. 367, 1984.
- COSTA, A. F. **Farmacognosia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2ª Ed., v. III, 1982.
- COSTA, N. C.; ANASTASIOU, T. J. Analysis of Volatiles in Limoncello Liqueur and Aging Study with Sensory. **Flavors in Noncarbonated Beverages**, v. 1036, p. 177, 2010.
- CUYCKENS, F.; ROZENBERG, R.; DE HOFFMAN, E.; CLAEYS, M. Structure characterization of flavonoid O-glycosides by positive and negative nano-electrospray ionization ion trap mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 36, p. 1203, 2001.
- DE RIJKE, E.; ZAPPEY, H.; ARIESE, F.; GOOIJER, C.; BRINKMAN U. A.T., Liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization and electrospray ionization mass spectrometry of flavonoids with triple-quadrupole and ion-trap instruments. **Journal of Chromatography A**, v. 984, p. 45, 2003.
- DESMARCHELIER, C.; ROMÃO, R. L.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. Antioxidant and free radical scavenging activities in extracts from medicinal trees used in the 'Caatinga' region in northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, p. 69, 1999.
- DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: a biosynthetic Approach**. John Wiley and Sons, p. 201, 1997.
- DJERASSI, C. Recent advances in the mass spectrometry of steroids. **Pure and Applied Chemistry**, v. 50, p. 171, 1978.
- DOAT, J. Tannins in tropical woods. **Bois et Forêts des Tropiques**, v. 182, p. 37, 1978.
- DREWES, S. E.; GEORGE, J.; KHAN, F. Recent findings on natural products with erectile-dysfunction activity. **Phytochemistry**, v. 62, p. 1019-1025, 2003.
- EADON, G.; POPOV, S.; DJERASSI, C. Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. CCXI. Effect of structural variations on the electron impact-induced fragmentations of steroid hydrocarbons. **Journal of the American Chemical Society**, v. 94, p. 1282, 1972.
- ESCOUBAS, P.; LAJIDE, L.; MIZUTANI, J. Termite antifeedant activity in *Afromomum melegueta*. **Phytochemistry**, v. 40, p. 1097, 1995.

- FABRE, N.; RUSTAN, I.; DE HOFFMAN, E.; QUETIN-LECLERCQ, J. Determination of flavone, flavonol, and flavanone aglycones by negative ion liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 12, p. 707, 2001.
- FINDLAY, W. P. K. The nature and durability of wood. In: FINDLAY, W. P. K. (Ed). **Preservation of timber in the tropics**. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, p. 1-13, 1985.
- FISCH, M. S.; JOHNSON, N. M.; HORNING, E. C. Piptadenia alkaloids. Indole base of *P. peregrina* (L.) Benth. and related species. **Journal of the American Chemical Society**, v. 77, p. 5892-5895, 1955.
- FLANAGAN, V. P.; FERRETTI, A.; SCHWARTZ, D. P.; RUTH, J. M. Characterization of 2 steroidal ketones and 2 isoprenoid alcohols in dairy-products. **Journal of Lipid Research**, v. 16, p. 97, 1975.
- FONSECA, E. N.; FIGER, A.; FURTADO, D. T.; LOPES, D.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S.; LEITÃO, S. G. Análise química e atividade antimicrobiana do óleo essencial dos frutos de *Vitex cymosa* Bertero. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, p. 87, 2006.
- FOTIE, J.; BOHLE, D. S.; LEIMANIS, M. L.; GEORGES, E.; RUKUNGA, G.; NKENGFAK, A. E. Lupeol Long-Chain Fatty Acid Esters with Antimalarial Activity from *Holarrhena floribunda*. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 62, 2006.
- FRIEDLAN, S. S.; LANE, G. H. Mass Spectra of Steroids. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 169, 1959.
- FRIEDRICH, W.; EBERHARDT, A.; GALENSA, R. Investigation of proanthocyanidins by HPLC with electrospray ionization mass spectrometry. **European food research and technology**, v. 211, p. 56, 2000.
- GANAPATY, S.; THOMAS, P. S.; FOTSO, S.; LAATSCH, H. Antitermitic quinines from *Diospyros sylvatica*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 1265, 2004.
- GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; SANTANA, A. L. B. D.; ALVES, M. M.; MATOS, M. D. C.; SCALIANTE, A. D. Bioactive flavonoids and triterpenes from *Terminalia fagifolia* (Combretaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, p. 1223, 2006.
- GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; TSUTSUMI, M. T.; ROQUE, N. F. Limonoids from *Trichilia elegans* ssp. *elegans*. **Phytochemistry**, v. 45, p. 141, 1997.

- GARCÍA, O. **Utilización de fibras de lino en la fabricación de papel. Nuevas secuencias de blanqueo y aplicación de sistemas enzimáticos.** Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Cataluña, España, 2003.
- GIESBRECHT, A. M. Bufotenine occurrence in *Piptadenia falcata* seeds. **Anais da Associação Brasileira de Química**, v. 19, p. 117, 1960.
- GOTTLIEB, O. R., KAPLAN, M. A. C.; BORIN, M. R. DE M. **Biodiversidade: um enfoque químico-biológico.** Editora UFRJ, Rio de Janeiro, 1996.
- GROSS, J. H. **Mass spectrometry: A textbook.** Springer-Verlag. 2004.
- GUTIERREZ-LUGO, M. T.; DESCHAMPS, J. D.; HOLMAN, T. R.; SUAREZ, E. Lipoxygenase Inhibition by Anadanthoflavone, a new flavonoid from aerial parts of *Anadenanthera colubrina*. **Planta Medica**, v. 70, p. 263, 2004.
- HABU, T.; FLATH, R. A.; MON, T. R.; MORTON, J. F. Volatile components of Rooibos tea (*Aspalathus linearis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 33, p. 249, 1985.
- HAENEN, J. M. Phytoalexins-Antibiotic substances from higher-plants. **Pharmacy International**, v. 7, p. 194-196, 1985.
- HAN, X. H.; HONG, S. S.; HWANG, J. S.; LEE, M. K.; HWANG, B. Y.; RO, J. S. Monoamine Oxidase Inhibitory Components from *Cayratia japonica*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 30, p. 13, 2007.
- HARBONE, J. B. **The Flavonoids: advances in research since 1980.** Chapman and Hall, New York, 1988.
- HARBONE, J. B.; MABRY, T. J.; MABRY, H. **The flavonoids.** Academic Press, New York, 1975.
- HART, C. R. Systematics of the bidens-ferulaefolia complex (compositae). **Systematic Botany**, v. 4, p. 130, 1979.
- HASEGAWA, M.; SHIRATO, T. Flavonoids of Various Prunus Species. III. The Flavonoids in the Wood of *Prunus campanulata*. **Journal of the American Chemical Society**, v. 76, p. 5560, 1954.
- HOLMSTEDT, B.; LINDGREN, J. E. Chemical constituents and pharmacology of South American snuffs. **Ethnopharmacol. Search Psychoact. Drugs**, p. 339, 1979.
- HUGHES, R. J.; CROLEY, T. R.; METCALFE, C. D.; MARCH, R. E. A tandem mass spectrometric study of selected characteristic flavonoids. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 210, p. 371, 2001.

- HUNT, G. M.; GARRAT, G. A. **Wood preservation**. 3ª ed. Mc Graw Hill, New York, p. 433, 1967.
- IACOBUCCI, G. A.; RÚVEDA, E. A. Bases derived from tryptamine in argentine *Piptadenia* species. **Phytochemistry**, v. 3, p. 465-467, 1964.
- JAIN, P. S.; BARI, S. B. Isolation of Lupeol, Stigmasterol and Campesterol from petroleum ether extract of wood stem of *Wrightia tinctoria*. **Asian Journal of Plant Sciences**, v. 9, p. 163, 2010.
- JAIN, V.; THAKUR, A.; HINGORANI, L.; LADDHA, K. S. Lipid Constituents from *Cissus quadrangularis* Leaves. **Pharmacognosy Research**, v. 1, p. 231, 2009.
- JAMALUDDIN, F.; MOHAMED, S.; LAJISB, N. Hypoglycaemic effect of Stigmast-4-en-3-one, from *Parkia speciosa* empty pods. **Food Chemistry**, v. 54, p. 9, 1995.
- JUSTESEN, U. Negative atmospheric pressure chemical ionisation low-energy collision activation mass spectrometry for the characterisation of flavonoids in extracts of fresh herbs. **Journal of Chromatography A**, v. 902, p. 369, 2000.
- KAMIDA, H. M.; DURRAN, T. L. R., MONTEIRO, R. T. R., ARMAS, E. D. Biodegradação de efluente têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. **Química Nova**, v. 28, p. 629, 2005.
- KANG, H. Y.; MATSUSHIMA, N.; SAMESHIMA, K.; TAKAMURA, N. Termite resistance testes of hardwoods of Kochi growth I. The strong termiticidal activity of kagonoki (*Litsea coreana* Léveillé). **Mokuzai Gakkaishi**, v. 36, p. 78, 1990.
- KARCHESY, J. J.; HEMINGWAY, R. W.; FOO, L. Y.; BAROFSKY, E.; BAROFSKY, D. F. Sequencing procyanidin oligomers by fast-atom-bombardment mass-spectrometry. **Analitical Chemistry**, v. 58, p. 2563, 1986.
- KEEN, G. W.; HAMMING, M. C. Mass spectrometry analysis of aliphatic esters. **Mass spectroscopy**, v. 19, p. 308, 1971.
- KHANBABAEE, R.; van REE, T. Tannins: Classification and definition. **Natural Product Reports**, v. 18, p. 641, 2001.
- KINGSTON, D. G. Recents advances in Chemistry of taxol. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 726-734, 2000.
- KLOCK, U.; MUÑIZ, G. I. B.; HERNANDEZ, J. A.; ANDRADE, A. S. **Química da madeira**, Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal, 3ª. Edição revisada, 2005.

- KNIGHTS, B. A. Identification of plant sterols using combined glc/mass spectrometry. **Journal of Gas Chromatography**, v. 5, p. 273, 1967.
- KUO, Y-H.; YEH, M-H.; HUANG, S-L. A novel 6-butyl-3-hydroxyflavanone from heartwood of *Bauhinia purpurea*. **Phytochemistry**, v. 49, p. 2529, 1998.
- LAJIDE, L.; ESCOUBAS, P.; MIZUTANI, J. 1995. Termite antifeedant activity in *Xylopia aethiopica*. **Phytochemistry**, v. 40, p. 1105, 1995.
- LEFFINGWELL, J. C.; ALFORD, E. D. Volatile constituents of perique tobacco. **Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 4, p. 899, 2005
- LEGLER, G.; TSCHESCHE, R. The isolation of N-methyltryptamine, 5-methoxy-N-methyltryptamine, and 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine from the bark of *Piptadenia peregrina*. **Naturwissenschaften**, v. 50, p. 94, 1963.
- LEITÃO, G. G.; MENSOR, L. L.; AMARAL, L. F.; FLORIANO, N.; LIMEIRA, V. L. G.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, S. G. Phenolic content and antioxidant activity: A study on plants eaten by a group of howler monkeys (*Alouatta fusca*). **Basic Life Sciences**, v. 66, p. 883, 1999.
- LELIS, A. T. Termite problem in São Paulo city Brazil. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL UNION FOR THE STUDY OF SOCIAL INSECTS, 12., 1994, Paris. **Proceedings...**, p. 42-46, 1994
- LELLES, J. G.; REZENDE, J. L. P. Considerações gerais sobre tratamento preservativo da madeira de eucalipto. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 12, n. 141, p. 83-90, 1986.
- LEPAGE, E. S.; GERALDO, F. C.; ZANOTTO, P. A.; MILANO, S. Métodos de tratamento. In: LEPAGE, E. S. (Coord.). **Manual de preservação de madeiras**. São Paulo, v. 1, n. 4, p. 205-216, 1970.
- LEWINSOHN, E.; SITUT, Y.; BAR, E.; AZULAY, Y.; IBDAH, M.; MEIR, A.; YOSEF, E.; ZAMIR, D.; TADMOR, Y. Carotenoid degradation as a link between color and aroma in tomato and watermelon fruit. **Trends in Food Science and Technology**, v. 16, p. 407, 2005.
- LI, J.; JIANG, H.; SHI, R. A new acylated quercetin glycoside from the leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Natural Product Research**, v. 23, p. 1378, 2009.
- LI, H.-J.; DEINZER, M. L. Tandem Mass Spectrometry for Sequencing Proanthocyanidins. **Analytical Chemistry**, v. 79, p. 1739, 2007.

- LORENZI, H. **Árvores brasileiras- Manual de Identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, São Paulo, v. 2, p. 97, 1998.
- LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; LIMA, M. R. F.; OMENA, M. C.; MENDONÇA, F. A. C.; BIEBER, L. W.; SANT'ANA, A. E. G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 199, 2005.
- MA, Y. L.; LI, Q. M.; VAN DEN HEUVEL, H.; CLAYES, M. Characterization of flavone and flavonol aglycones by collision-induced dissociation tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 11, p. 1357, 1997
- MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ^{13}C NMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids. A compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, p. 1517, 1994.
- MALTERUD, K. E.; BREMNES, T. E.; FAEGRI, A.; MOE, T.; DUGSTAD, E. K. S. Flavonoids from the Wood of *Salix caprea* as inhibitors of Wood-destroying fungi. **Journal of Natural Products**, v. 48, p. 559, 1985.
- MANN, J. **Secondary metabolism**. 2ª Ed. Oxford University Press, New York, 1986.
- MAO, L.; HENDERSON, G. Antifeedant Activity and Acute and Residual Toxicity of Alkaloids from *Sophora flavescens* (Leguminosae) Against Formosan Subterranean Termites (Isoptera: Rhinotermitidae). **Household and Structural Insects**, v. 100, p. 866, 2007.
- MCDANIEL, C. A.; SCHMIDT, J. O.; HOWARD, R. W. Mandibular gland secretions of the male beewolves *Philanthus crabroniformis*, *P. barbatus*, and *P. pulcher* (Hymenoptera: Sphecidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 18, p. 27, 1992.
- MCLAUGHLIN, J. L.; CHANG, C.; SMITH, D.. Bench-top' bioassays for the discovery of bioactive natural products: an update. In: **Atta-Ur Rahman (Ed.), Studies in Natural Product Chemistry**. Pergamon Press, London, vol. 9, p. 383, 1991.
- MENDES, A. S.; ALVES, M. V. S. **Curso sobre a degradação da madeira e sua preservação**. Brasília: IBDF, p. 51, 1986.
- MENEGHETI, G. I. P. Estudo de dois métodos de amostragem para inventário da arborização de ruas dos bairros da orla marítima do município de Santos, SP. **Dissertação-Recursos Florestais-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, Piracicaba, SP, 2003.

- MIYAUCHI, Y.; YOSHIMOTO, T.; MINAMI, K. Extractives from the heartwood of *Piptadenia* sp. **Mokuzai Gakkaishi**, v. 22, p. 47-50, 1976
- MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAUJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Tannins: from chemistry to ecology. **Química Nova**, v. 28, p. 892, 2005.
- MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; LINS NETO, E. M. F.; ARAUJO, E. L.; ALBUQUERQUE, M. M.; AMORIM, E. L. C. The effects of seasonal climate changes in the Caatinga on tannin levels in *Myracroduron urundeuva* (Engl.) Fr. All. and *Anadenanthera colubrine* (Vell.) Brenan. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 338, 2006a.
- MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; LINS NETO, E. M. F.; ARAUJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Use patterns and knowledge of medicinal species among two rural communities in Brazil's semi-arid northeastern region. **Journal of ethnopharmacology**, v. 105, p. 173, 2006b.
- MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M. F.; CALVALCANTI DE AMORIM, E. L.; STRATTMANN, R. R.; ARAUJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P. Tannin concentration in three sympatric medicinal plants from Caatinga vegetation. **Revista Arvore**, v. 29, p. 999, 2005.
- MORIMOTO, M.; FUKUMOTO, H.; HIRATANI, M.; CHAVASIRI, W.; KOMAI, K. Insect Antifeedants, Pterocarpol, in Heartwood of *Pterocarpus macrocarpus* Kruz. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 70, p. 1864, 2006.
- MUCCINO, R. R.; DJERASSI, C. Mass-spectrometry in structural and stereochemical problems .249. Effect of a 14 alpha-angular methyl-group upon mass-spectral fragmentation of 11-keto and 7-keto steroids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 95, p. 8726, 1973.
- NADLER, J. L.; NATARAJAN, R. Human leukocyte 12-lipoxygenase and its role in the pathogenesis of disease states. **PCT Int. Appl**, p. 94, 1996.
- NAQVI, S. H. M. Chemical synthesis and mass-spectrometric characterization of some C-27 steroids. **Steroids**, v. 22, p. 285, 1973.
- NICKAVAR, B.; GHOLAMREZA, A.; MEHREGANB, N. Quercetine, a Major Flavonol Aglycon from *Tanacetum balsamita* L. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 2, p. 249, 2003.

- OHMURA, W.; DOI, S.; AOYAMA, M. Antifeedant activity of flavonoids and related compounds against the subterranean termite *Coptotermes formosanus* Shiraki. **Journal of Wood Science**, v. 46, p. 149, 2000.
- OKUNADE, A. L.; ELVIN-LEWIS, P. F. MEMORY; LEWIS, W. H. Natural antimicrobial metabolites: current status. **Phytochemistry**, v. 65, p. 1017-1032, 2004.
- OLEA, R. S. G.; ROQUE, N. F. Análise de misturas de triterpenos por RMN de ¹³C. **Química Nova**, v. 13, p. 278, 1990.
- OLIVEIRA, J. T. S.; SOUZA, L. C.; DELLA LUCIA, R. M.; SOUZA JÚNIOR, W. P. Influência dos Extrativos na resistência ao apodrecimento de seis espécies de madeiras. **Revista Árvore**, v. 29, p. 819, 2005.
- OLIVEIRA, A. M. F.; LELIS, A. T.; LEPAGE, E. S.; CARBALLEIRA LOPEZ, G. A.; OLIVEIRA, L. C. S.; CAÑEDO, M. D.; MILANO, S. Agentes destruidores da madeira. In: LEPAGE, E. S. (Coord.). **Manual de preservação das madeiras**. IPT- Divisão de Madeiras, São Paulo, v.1, p. 99-278, 1986.
- OLIVEIRA, L. S.; SANTANA, A. L. B. D.; MARANHÃO, C. A.; DE MIRANDA, R. C. M.; GALVÃO DE LIMA, V. L. A.; SILVA, S. I.; NASCIMENTO, M. S.; BIEBER, L. W. Natural resistance of five woods to *Phanerochaete chrysosporium* degradation. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 64, p. 711, 2010.
- PACHECO-PALENCIA, L. A.; DUNCAN, C. E; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. **Food Chemistry**, v. 115, p. 1199, 2009.
- PACHTER, I. J.; ZACHARIAS, D. E.; RIBEIRO, O. Indole alkaloids of *Acer saccharinum* (The Silver Maple), *Dictyoloma incanescens*, *Piptadenia columbrina*, and *Mimosa hostiles*. **Journal of Organic Chemistry**, v. 24, p. 1285, 1959.
- PAES, J. B. **Efeitos da purificação e do enriquecimento do creosoto vegetal em suas propriedades preservativas**. Viçosa, MG, 1997. Tese (Doutorado em Ciência Florestal)-Universidade Federal de Viçosa.
- PAES, J. B.; MORAIS, V. M.; SOBRINHO, D. W.; BAKKE, O. A. resistência natural de nove madeiras do semi-árido brasileiro a cupins subterrâneos, em ensaios de laboratório. **Cerne**, v. 9, p. 36-47, 2003.
- PARDAL, R. **Medicina Aborígen Americana, Las Piptadenias**, cap. XV, p. 333-341, 1937.

- PARIS, R. R.; SAINT-FIRMIN, A.; ETCHEPARE, S. Alkaloids and flavonoids of *Piptadenia peregrina* from Haiti. Absence of alkaloids in *Piptadenia africana*. **Annales Pharmaceutiques Francaises**, v. 25, p. 509, 1967.
- PARK, I.-K.; SHIN, S.-C. Fumigant activity of plant essential oils and components from garlic (*Allium sativum*) and clove bud (*Eugenia caryophyllata*) oils against the Japanese termite (*Reticulitermes speratus* Kolbe). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4388, 2005.
- PASCOAL, C.N.; SECA, A.; NUNES, A.M.; COIMBRA, M.A.; DOMINGUES, F.; EVTUGUIN, D.; SILVESTRE, A.J.D; CAVALEIRO, J.A.S. Variations in chemical composition and structure of macromolecular components in different morphological regions and maturity stages of *Arundo donax*. **Industrial Crops and Products**, v. 6, p. 51, 1997.
- PAULA, J. E. Estudo das estruturas internas das madeiras de dezesseis espécies da Flora Brasileira visando o aproveitamento econômico para a produção de álcool, carvão, coque e papel. **Brasil Florestal II**, v. 47, p. 23-50, 1981.
- PELTER, A.; WARD, R. S.; GRAY, T. I. The Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Flavonoids and related Compounds. **Journal of the Chemical Society- Perkin Transactions1**, i. 23, p. 2475, 1976.
- PEREIRA, O. D. **Direito florestal brasileiro**. Borsoi, Rio de Janeiro, p. 96, 1950.
- PIACENTE, S.; BALDERRAMA, L.; DE TOMMASI, N.; MORALES, L.; VARGAS, L.; PIZZA, C. Anadanthoside: a flavanol-3-O- β -D-xylopyranoside from *Anadenanthera macrocarpa*. **Phytochemistry**, v. 51, p. 709, 1999.
- PINO, J. A.; MARBOT, R. Volatile Flavor Constituents of Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) Fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5880, 2001.
- PINO, J. A.; QUERIS, O. Differences of volatile constituents between unripe, partially ripe and ripe guayabita del pinar (*Psidium salutare* H.B.K.) fruit macerates. **Food Chemistry**, v. 109, p. 722, 2008.
- PINO, J.A.; MESA, J.; MUNOZ, Y.; MARTI, M.P.; MARBOT, R. Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2213, 2005.
- PINTO, P. C. R. **Comportamento da lenhina de *Eucalyptus globulus* durante o processo de deslenhificação Kraft**. Aveiro, 2000.

- PORTER, L. J. In: Harborne JB (ed) *The flavonoids: advances in research since 1980*. Chapman and Hall, London, pp 21-62, 1988.
- PORTET, B.; FABRE, N.; ROZENBERG, R.; HABIB-JIWAN, J. L.; MOULIS, C.; QUETIN-LECLERCQ, J. Analysis of minor flavonoids in *Piper hostmannianum* var. *berbicense* using liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1210, p. 45, 2008.
- POUCHERT, C. J.; BEHNKE, J. **The aldrich library of ¹³C and FT NMR spectra**. V.2. Aldrich Chemical Company, Inc., Milwaukee, 1983.
- PRADO, L. L.; RICCI, E. Systematic study of the tannin content of various indigenous species. **Anales admin. Nacl. Bosques**, Rep. Arg., p. 7, 1956
- PRASAIN, J. K.; JONES, K.; KIRK, M.; WILSON, L.; SMITH-JOHNSON, M.; WEAVER, C.; BARNES, S. Profiling and quantification of isoflavonoids in kudzu dietary supplements by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 4213, 2003.
- PRIESTAP, H. A.; VAN BAREN, C. M.; DI LEO LIRA, P.; COUSSIO, J. D.; BANDONI, A.L. Volatile constituents of *Aristolochia argentina*. **Phytochemistry**, v. 63, p. 221, 2003.
- QUEIROZ, C. R. A; dos A.; MORAIS, S. A. L. de e NASCIMENTO, E. A. do. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v. 26, p.493, 2002.
- RADULOVIC, N. S.; ĐORĐEVIC, A. S.; ZLATKOVIC, B. K.; PALIC, R. M. GC-MS analyses of flower ether extracts of *Prunus domestica* L. and *Prunus padus* L. (Rosaceae). **Chemical Papers**, v. 63, p. 377, 2009.
- RAGON, K.W.; NICHOLAS, D. D.; SCHULTZ, T. P. Termite Effect of the Non-Biocidal Antioxidant Properties of the Extractives (Isoptera: Rhinotermitidae). **Sociobiology**, v. 52, p. 47, 2008.
- RALPH, J.; LUNDQUIST, K.; BRUNOW, G.; LU, F.; KIM, H.; SCHATZ, P. F.; MARITA, J. M.; HATFIELD, R. D.; RALPH, S. A.; CHRISTENSEN, J. H.; BOERJAN, W. Lignins: Natural polymers from oxidative coupling of 4-hydroxyphenylpropanoids. **Phytochemistry Reviews**, v. 3, p. 29, 2004.

- REYES-CHILPA, R.; VIVEROS-RODRÍGUEZ, N.; GOMEZ-GARIBAY, F.; ALVAREZ-SOLANO, D. Antitermitic activity of *Lonchocarpus castilloi* flavonoids and heartwood extracts. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, p. 455, 1995.
- RICHTER, H. G.; BURGER, L.M. **Anatomia da Madeira**. 2.ed. Universidade do Paraná- UFPR, Curitiba, 1978.
- RIZZINI, C. T. Plantas do Brasil. Árvores e madeiras úteis do Brasil. **Manual de dendrologia brasileira**. Ed. Edgar Blücher e Ed. USP, São Paulo, 1971.
- RODRIGUES-AMAYA, D. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**, OMNI Research: ILSI Press, Washington D. C. 1999.
- ROWELL, R. M.; PETTERSEN, R.; HAN, J. S.; ROWELL, J. S.; TSHABALALA, M. A. **Cell wall chemistry**. In: Rowell, R.M. (Eds.), *Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites*, Washington, p. 35, 2005.
- RYHAGE, R.; STENHAGEN, E. Mass spectrometric studies. I. Saturated normal long-chain methyl esters. **Arkiv for Kemi**, v. 13, p. 523, 1959.
- SAMPAIO, E. V. S. B. Overview of the Brazilian caatinga. In: Bullock, S.; Mooney, H. A. & Medina, E. **Seasonally Dry tropical forests**. Cambridge University Press., p. 450, 1995.
- SANTANA, A. L. B. D.; MARANHÃO, C. A.; SANTOS, J. C.; CUNHA, F. M.; CONCEIÇÃO, G. M.; BIEBER, L. W.; NASCIMENTO, M. S. Antitermitic activity of extractives from three Brazilian hardwoods against *Nasutitermes corniger*. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 64, p. 7, 2010.
- SANTANA, M. A. E.; OKINO, E. Y. A. Chemical composition of 36 Brazilian Amazon forest wood Species. **Holzforschung**, v. 61, p. 469, 2007.
- SCHEFFRAHN, R. H.; CABRERA, B.J.; KERN JR., W. H.; SU, N. -Y. *Nasutitermes costalis* (Isoptera: Termitidae) in Florida: first record of a non-endemic establishment by a higher termite. **Florida Entomologist**, v. 85, p. 273, 2002.
- SCHEFFRAHN, R.H. Allelochemical resistance of wood to termites. **Sociobiology**, v. 19, p. 257, 1991.
- SCHEFFRAHN, R.H.; KRECEK, J.; SZALANSKI, A. L.; AUSTIN, J. W. Synonymy of the Neotropical arboreal termites, *Nasutitermes corniger* and *N. costalis* (Isoptera: Termitidae: Nasutitermitinae), with evidence from morphology, genetics, and biogeography. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 98, p. 273, 2005.

- SCHULTZ, T. P.; NICHOLAS, D. D. Naturally durable heartwood: evidence for a proposed dual defensive function of the extractives. **Phytochemistry**, v. 54, p. 47, 2000.
- SERPA, F.G. Cupim, uma ameaça a Olinda, patrimônio da humanidade. **ABPM**, São Paulo, Boletim 40, p. 8, 1986.
- SHAPIRO, R. H.; DJERASSI, C. Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. L. Fragmentation and Hydrogen Migration Reactions of α , β -Unsaturated 3-Keto Steroids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 86, p. 2825, 1964.
- SHIMOKORIYAMA, M. Anthochlor pigments of *Coreopsis tinctoria*. **Journal of the American Chemical Society**, v. 79, p. 214, 1957.
- SHIRAISHI, R. T. **CG-EM dos esteróis da esponja *Tedania ignis* e espectrometria de massa dos derivados do colesterol**. Dissertação de mestrado, Campinas, São Paulo, 1978.
- SILVA, C. A.; MONTEIRO, M. B. B.; BRAZOLIN, S.; LOPEZ, G. A. C.; RICHTER, A.; BRAGA, M. R. Biodeterioration of brazilwood *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae—Caesalpinioideae) by rot fungi and termites. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 60, p. 285, 2007.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação Espectroscópica de Compostos Orgânicos**. Editora LTC, Rio de Janeiro, 2000.
- SIMMONDS, M. S. J. Importance of flavonoids in insect-plant interactions: feeding and oviposition. **Phytochemistry**, v. 56, p. 245, 2001.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2ª Ed. rev. Ed. Universidade, UFRGS/ Ed. da UFSC, Florianópolis, Porto Alegre, 2000.
- SJÖSTRÖM, E. **Wood chemistry: Fundamentals and applications**. Academic Press, INC, New York, 1993
- SOUZA, L. .; CIPRIANI, T. R.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A. J.; SASSAKI, G. L. HPLC/ESI-MS and NMR analysis of flavonoids and tannins in bioactive extract from leaves of *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 47, p. 59, 2008.
- SOUZA, R. G.; MAIA, L. C.; SALES, M. F. ; TRUFEN, S. F. B. Diversity and infectivity potential of arbuscular mycorrhizal fungi in a área of “Caatinga” in the Xingó

- Region, State of Alagoas, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p. 49-69, 2003.
- SPLITTER, J. S.; TURECEK, F. **Applications of mass spectrometry to organic stereochemistry**. WILEY VCH, New York, 1994.
- STEELE, V. E.; HOLMES, C. A.; HAWK, E. T.; KOPELOVICH, L.; LUBET, R. A.; CROWELL, J. A. Lipoxygenase inhibitors as potencial cancer chemopreventives. **Cancer Epidemmiol Biomarkers Prev.**, v. 8, p. 476, 1999.
- STEVENS, J. F.; DEINZER, M. L. **45th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics**. Palm Springs, CA, USA, 1997.
- SYAFH, W. A.; YOSHIMOTO, T.; SAMEJIMA, M. Effect of lignin structure on decay resistance of some tropical wood. **Bulletin of the Tokyo University Forests**, v. 80, p. 69, 1988.
- TAPPI TEST METHOD T 222 om-88, **Acid-insoluble lignin in wood and pulp**, In: Tappi Test Methods. Atlanta: Tappi Press, 1999.
- TEIXEIRA, D. F. **Estudo químico e avaliação biológica de attalea excelsa mart. ex spreng.(urucuri) e Pterodon emarginatus vog. (sucupira branca) em aedes aegypti**. Tese apresentada como um dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, junto à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.
- TELLEZ, M. R.; KHAN, I. A.; KOBASISY, M.; SCHRADER, K. K.; DAYAN, F. E.; OSBRINK, W. 2002. Composition of the essential oil of *Lepidium meyenii* (Walp.). **Phytochemistry**, v. 61, p. 149, 2002.
- TOKÉS, L.; DJERASSI, C. Mass spectrometry in structural and stereochemical problems .176. Course of electron impact induced fragmentation of androstane. **Journal of the American Chemical Society**, v. 91, p. 5017, 1969.
- TOKÉS, L.; JONES, G.; DJERASSI, C. Mass spectrometry in structural and stereochemical problems .161. Elucidation of course of characteristic ring d fragmentation of steroids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 90, p. 5465, 1968.
- UENOJO, M.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R.; PASTORE, G. M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, v. 30, p. 616, 2007.

- VAYA, J.; BELINKY, P. A.; AVIRAM, M. Antioxidant constituents from licorice roots: isolation, Structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 23, p. 302, 1997.
- VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. Phenolic compound Biochemistry. Springer, USA, 2006.
- VEROTA, L.; APPENDINO, G.; JAKUPOVIC, J.; BOMBARDELLI, E. Hyperforine analogues from St. John's worth (*Hypericum perforatum*). **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 412-415, 2000.
- VIEGAS Jr, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390, 2003.
- VIEGAS JR, C.. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390, 2003.
- VITTI, D. M. S.S.; NOZELLA, E. F.; ABDALLA, A. L.; BUENO, I. C. S.; SILVA FILHO, J. C.; COSTA, C.; BUENO, M. S.; LONGO, C.; VIEIRA, M. E. Q.; CABRAL FILHO, S. L. S.; GODOY, P. B.; MUELLER-HARVEY, I. The effect of drying and urea treatment on nutritional and anti-nutritional components of browses collected during wet and dry seasons. **Animal feed Science and Technology**, v. 122, p. 123, 2005.
- WATANABE, Y.; MIHARA, R.; MITSUNAGA, T. Termite repellent sesquiterpenoids from *Callitris glaucophylla* heartwood. **Journal of Wood Science**, v. 51, p. 514, 2005.
- WATERMAN, P. G.; SIMON, M. **Analysis of phenolic plant metabolites**, Oxford, Blackwell Scientific Publications, London, 1994.
- WEINGES, K.; PLIENINGER, P. Karl Johann Freudenberg (1886-1983)- In memorian. **European Journal of Organic Chemistry**, i. 3, p. 707, 1999.
- WINDEISEN, E.; WEGENER, G.; LESNINO, G.; SCHUMACHER, P. Investigation of the correlation between extractives content and natural durability in 20 cultivated larch trees. **Holz als Roh- und Werkstoff**, v. 60, p. 373, 2002.
- WINK, M. Chemical ecology of quinolizidine alkaloids. **ACS Symposium Series**, v. 330, p. 524, 1987.
- WRIGHT, J. L. C.; McINNES, A. G.; SHIMIZU, S.; SMITH, D. G.; WALTER, J. A.; IDLER, D.; KHALIL, W. Identification of C-24 alkyl epimers of marine sterols by

- ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 56, p. 1898, 1978.
- WURDING, G.; WOLLER, R. **Chemie des Weines**, Eugen Ulmer GmbH, Stuttgart, 1989.
- WYLLIE S. G.; AMOS B. A.; TOKÉS L. Electron impact induced fragmentation of cholesterol and related C-5 unsaturated steroids. **Journal of Organic Chemistry**, v. 42, p. 725, 1977.
- WYLLIE, S. G.; DJERASSI, C. Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. CXLVI. Mass Spectrometric Fragmentations Typical of Sterols with Unsaturated Side Chains. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 33, p. 305-313, 1968.
- YAMASATO, S.; KAWANISHI, K.; KATO, A.; HASHIMOTO, Y. Organic bases from Brazilian *Piptadenia* species. **Phytochemistry**, v.11, p. 737-739, 1972.
- ZELENA, K.; HARDEBUSCH, B.; HULSDAU, B.; BERGER, R. G.; ZORN, H. Generation of Norisoprenoid Flavors from Carotenoids by Fungal Peroxidases. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 9951, 2009.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

**Estudo Químico, Antitermítico e Antifúngico da
madeira de lei *Anadenanthera colubrina* (Vell.)
Brenan var. *Cebil* (Griseb.) von Reis Alt.
(Angico-de-Caroço)**

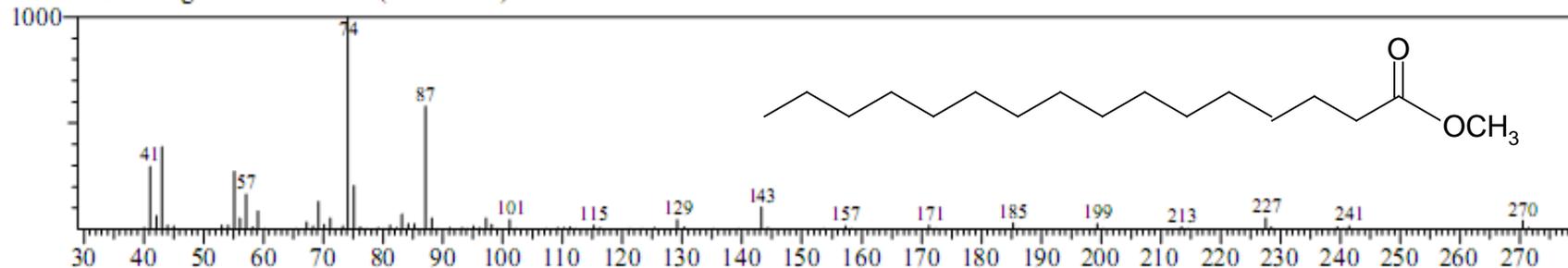
ANDRÉA LOPES BANDEIRA DELMIRO SANTANA

ANEXO-ESPECTROS

Recife, 2011

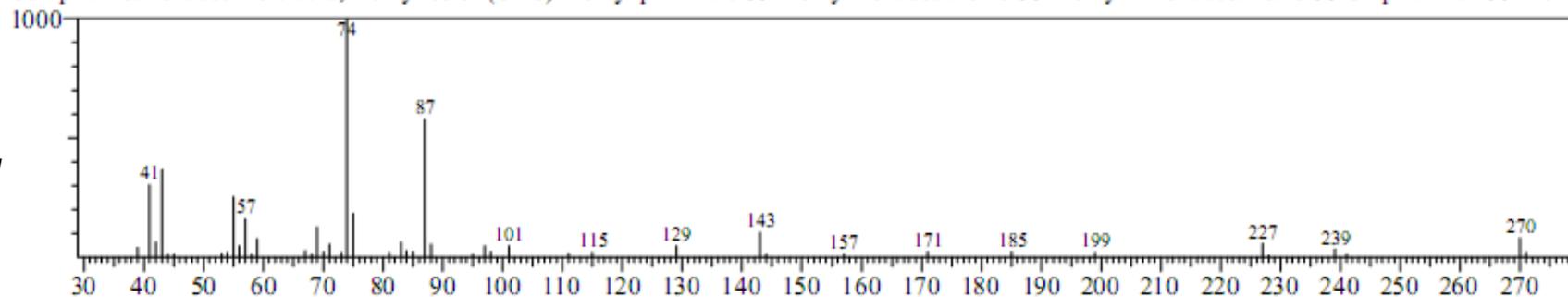
Spectrum1 #Data# H1123-33.qgd R.Time:16.692(Scan#:1644)
MassPeaks:104
RawMode:Averaged 16.658-16.758(1640-1652) BasePeak:74.15(1000)
BG Mode:Averaged 17.950-18.175(1795-1822)

1



Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:124619 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:74.00(1000)
CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uniphat A60 SS Metho

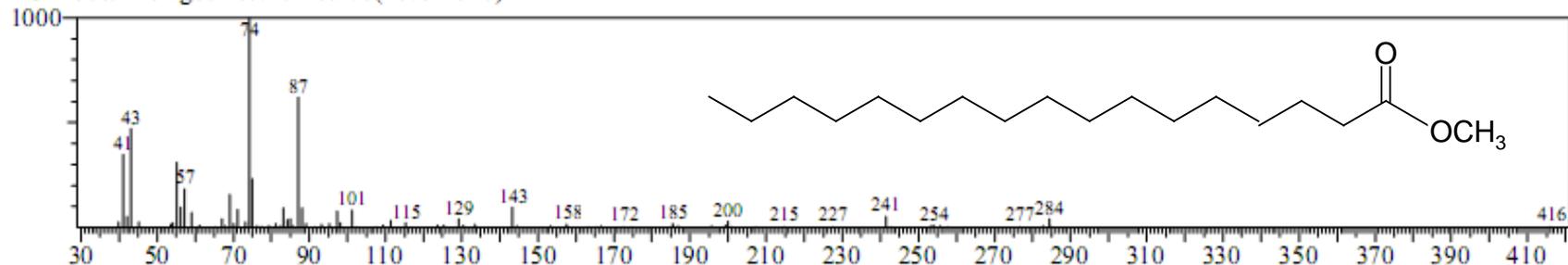
2



Espectros 1 e 2: Espectro de massas da substância 1 (1) e o espectro de massas do hexadecanoato de metila da biblioteca WILEY (2)

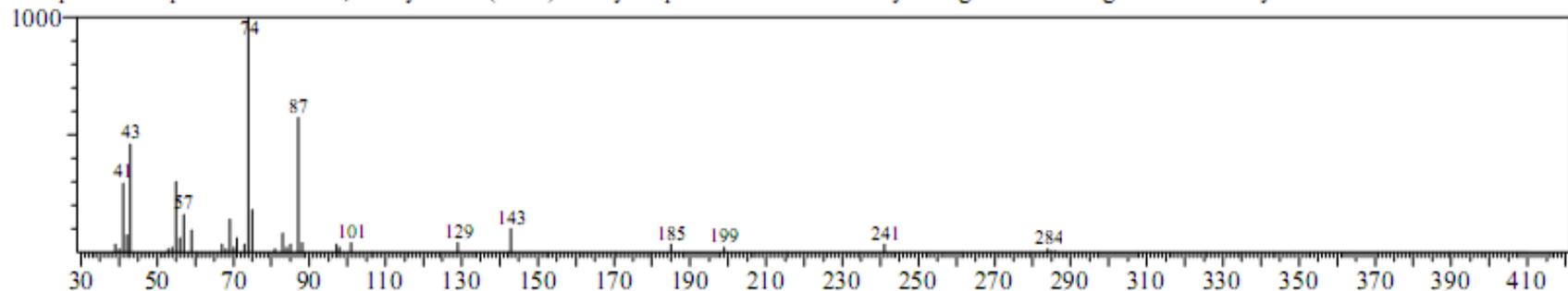
3

Spectrum1 #Data# H1123-33.qgd R.Time:17.725(Scan#:1768)
MassPeaks:87
RawMode:Averaged 17.708-17.758(1766-1772) BasePeak:74.15(1000)
BG Mode:Averaged 18.017-18.208(1803-1826)



4

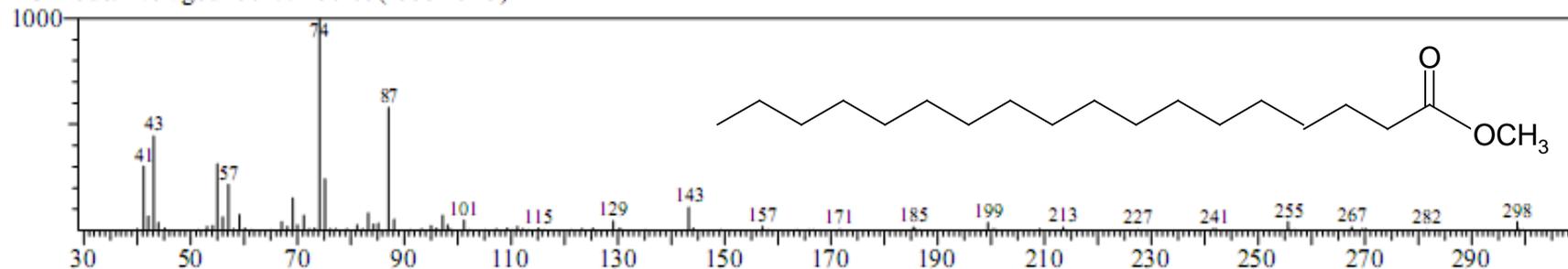
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:134646 Formula:C18 H36 O2 CAS:1731-92-6 MolWeight:284 RetIndex:0
MassPeaks:36 BasePeak:74.00(1000)
CompName:Heptadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl heptadecanoate SS Methyl margarate SS Margaric acid methyl ester SS



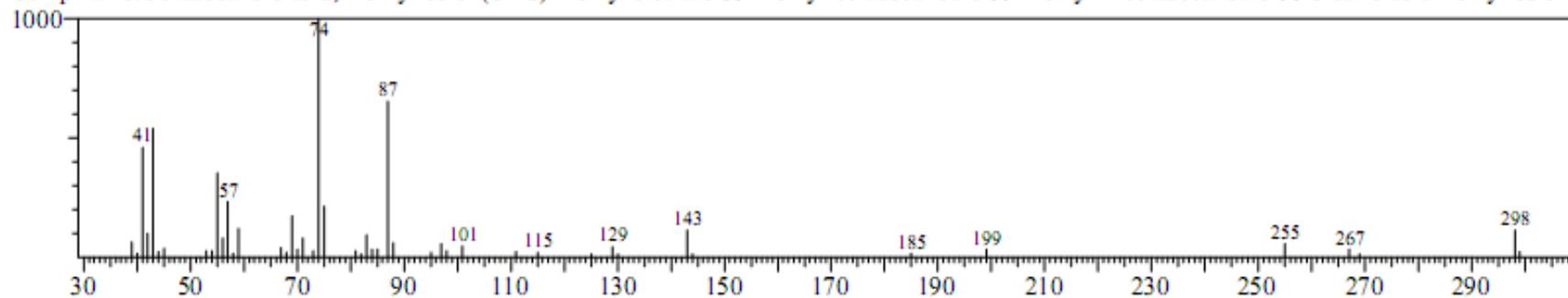
Espectros 3 e 4: Espectro de massas da substância 2 (3) e o espectro de massas do heptadecanoato de metila da biblioteca WILEY (4)

5

Spectrum1 #Data# H1123-33.qgd R.Time:18.717(Scan#:1887)
MassPeaks:109
RawMode:Averaged 18.667-18.775(1881-1894) BasePeak:74.15(1000)
BG Mode:Averaged 19.100-19.183(1933-1943)

**6**

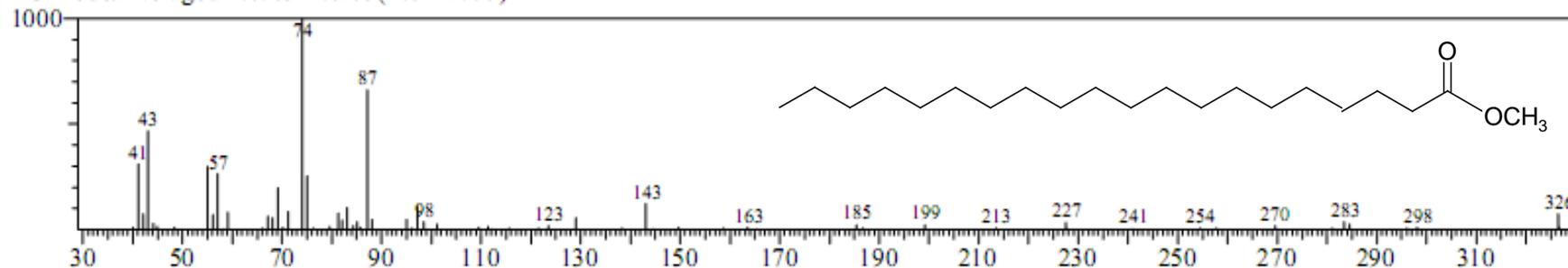
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:144206 Formula:C19 H38 O2 CAS:112-61-8 MolWeight:298 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:74.00(1000)
CompName:Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate SS Methyl octadecanoate SS Methyl n-octadecanoate SS Stearic acid methyl ester S



Espectros 5 e 6: Espectro de massas da substância **3** (5) e o espectro de massas do octadecanoato de metila da biblioteca WILEY (6)

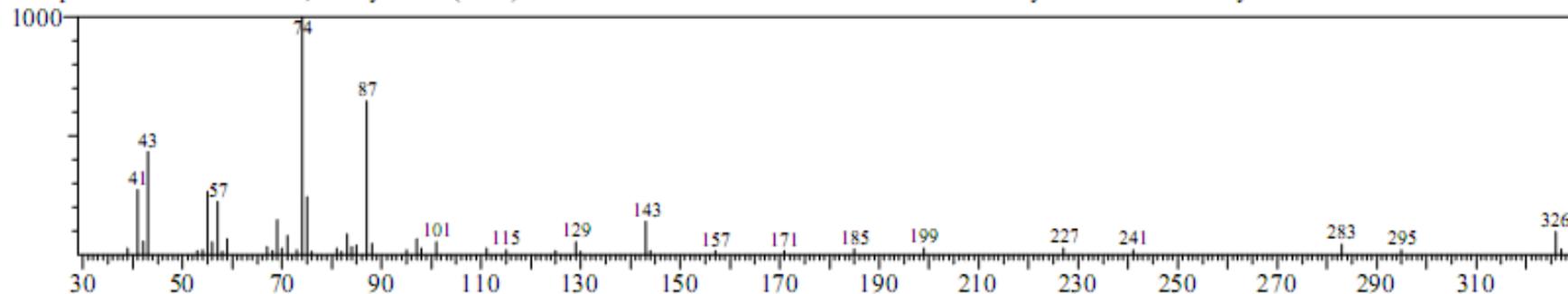
7

Spectrum1 #Data# I0312-4.QGD R.Time:20.558(Scan#:2108)
MassPeaks:66
RawMode:Averaged 20.525-20.592(2104-2112) BasePeak:74.05(1000)
BG Mode:Averaged 20.083-20.283(2051-2075)



8

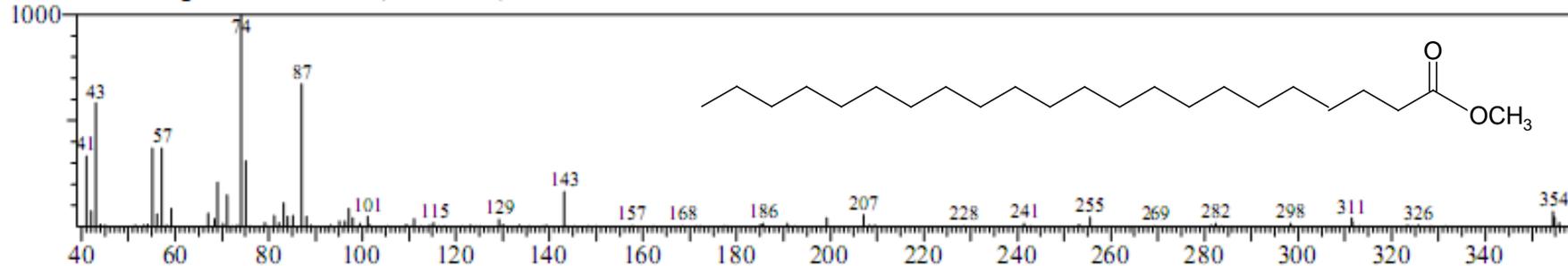
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:161703 Formula:C21 H42 O2 CAS:1120-28-1 MolWeight:326 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:74.00(1000)
CompName:Eicosanoic acid, methyl ester (CAS) ARACHIDIC ACID METHYL ESTER SS Methyl arachate SS Methyl eicosanoate SS METHYL N-E



Espectros 7 e 8: Espectro de massas da substância 4 (7) e o espectro de massas do eicosanoato de metila da biblioteca WILEY (8)

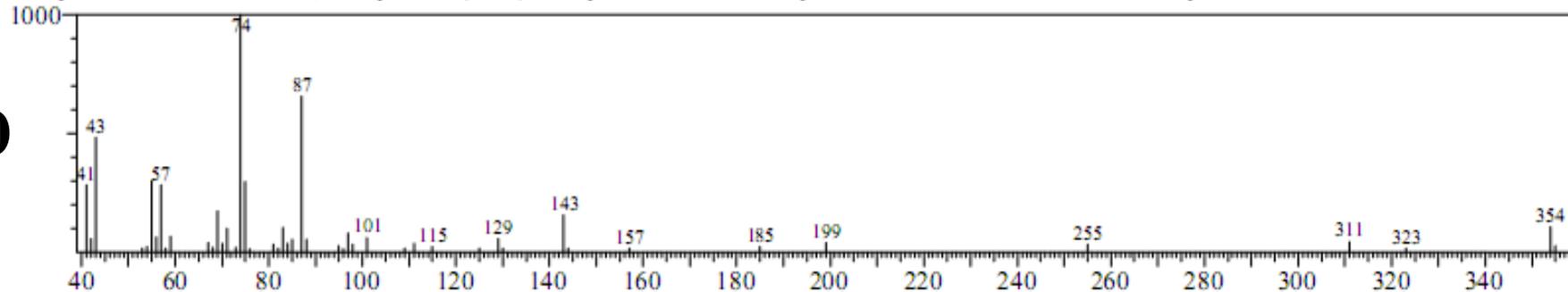
9

Spectrum1 #Data# 10312-4.QGD R.Time:22.275(Scan#:2314)
MassPeaks:106
RawMode:Averaged 22.242-22.300(2310-2317) BasePeak:74.05(1000)
BG Mode:Averaged 20.858-20.975(2144-2158)



10

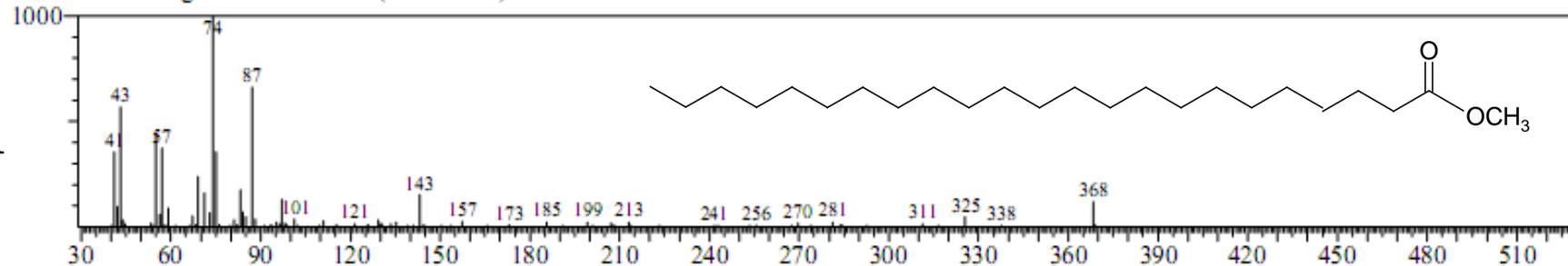
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:176083 Formula:C23 H46 O2 CAS:929-77-1 MolWeight:354 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:74.00(1000)
CompName:Docosanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl behenate SS Methyl docosanoate SS Behenic acid methyl ester SS



Espectros 9 e 10: Espectro de massas da substância 5 (9) e o espectro de massas do docosanoato de metila da biblioteca WILEY (10)

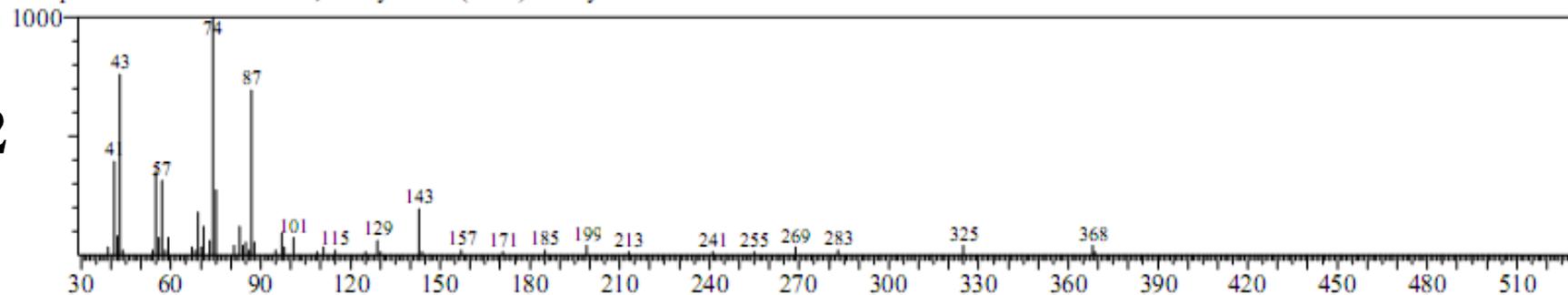
11

Spectrum1 #Data# I0312-4.QGD R.Time:23.192(Scan#:2424)
MassPeaks:93
RawMode:Averaged 23.175-23.217(2422-2427) BasePeak:74.00(1000)
BG Mode:Averaged 21.758-21.833(2252-2261)



12

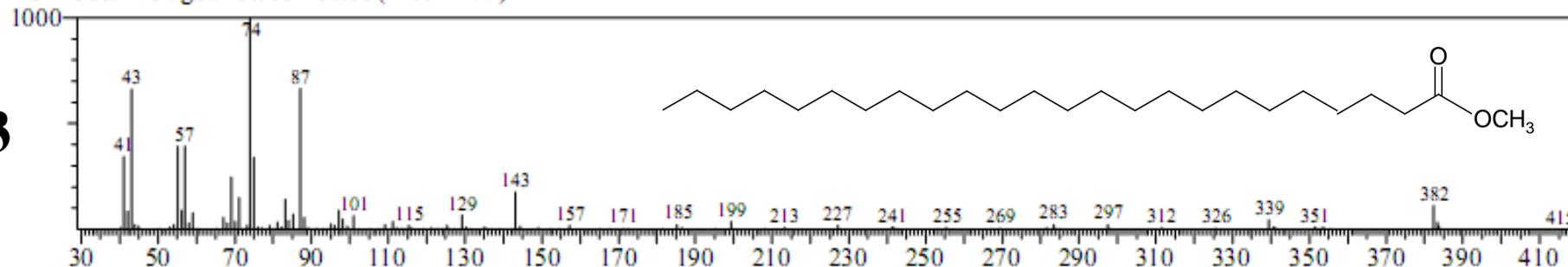
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:182151 Formula:C24 H48 O2 CAS:2433-97-8 MolWeight:368 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:74.00(1000)
CompName:Tricosanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl tricosanoate SS



Espectros 11 e 12: Espectro de massas da substância 6 (11) e o espectro de massas do tricosanoato de metila da biblioteca WILEY (10)

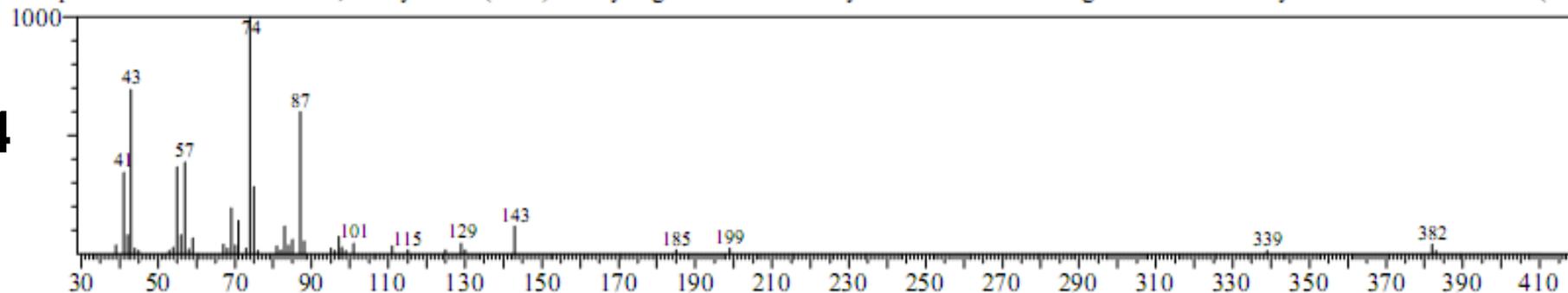
13

Spectrum1 #Data# 10312-4.QGD R.Time:24.225(Scan#:2548)
MassPeaks:148
RawMode:Averaged 24.183-24.292(2543-2556) BasePeak:74.05(1000)
BG Mode:Averaged 23.533-23.633(2465-2477)



14

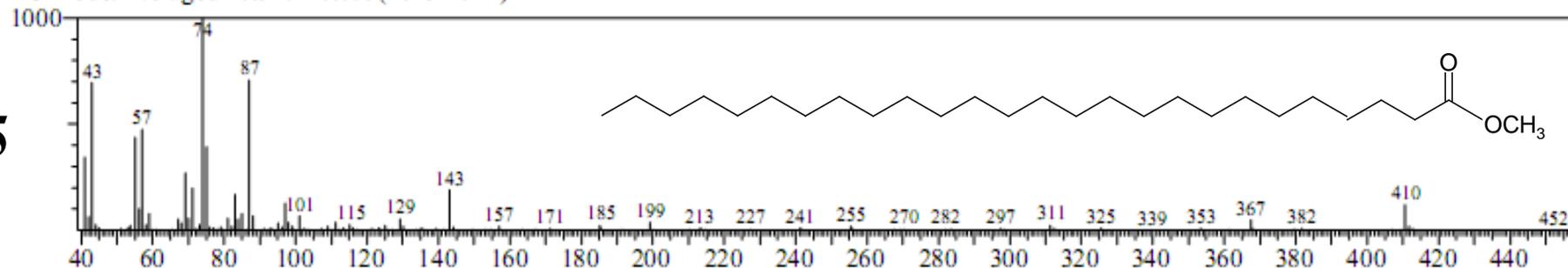
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:187516 Formula:C₂₅H₅₀O₂ CAS:2442-49-1 MolWeight:382 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:74.00(1000)
CompName:Tetracosanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl lignocerate SS Methyl tetracosanoate SS Lignoceric acid methyl ester SS tetracosanoic (24



Espectros 13 e 14: Espectro de massas da substância 7 (13) e o espectro de massas do tetracosanoato de metila da biblioteca WILEY (14)

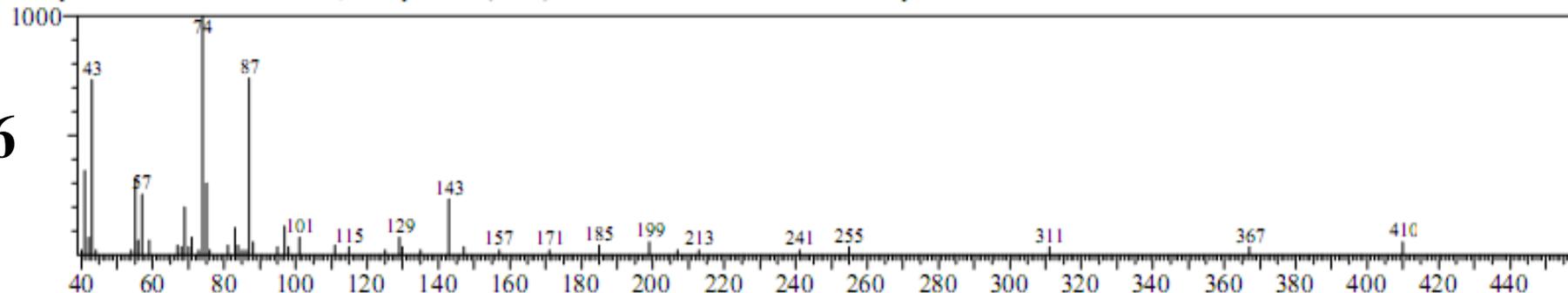
15

Spectrum1 #Data# I0312-4.QGD R.Time:26.850(Scan#:2863)
MassPeaks:159
RawMode:Averaged 26.783-26.933(2855-2873) BasePeak:74.05(1000)
BG Mode:Averaged 26.517-26.675(2823-2842)



16

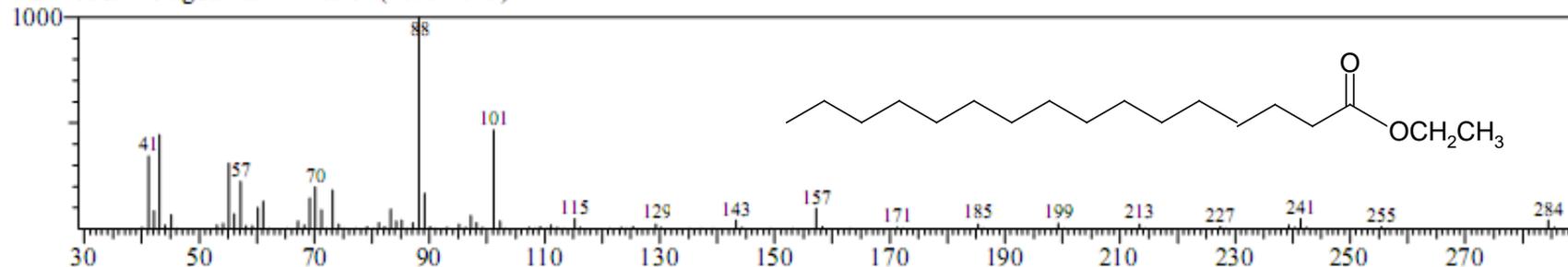
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:197095 Formula:C27 H54 O2 CAS:5802-82-4 MolWeight:410 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:74.00(1000)
CompName:Hexacosanoic acid, methyl ester (CAS) METHYL CEROTATE SS Methyl hexacosanoate SS



Espectros 15 e 16: Espectro de massas da substância **8** (15) e o espectro de massas do hexacosanoato de metila da biblioteca WILEY (16)

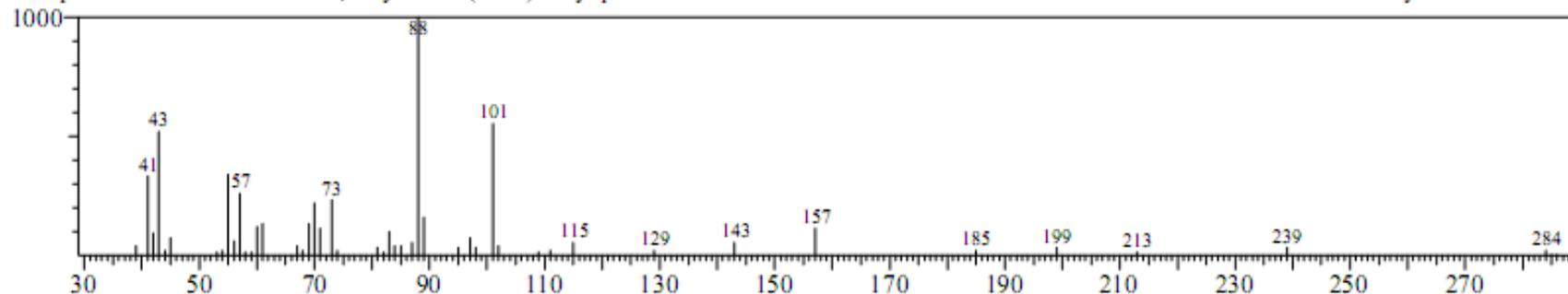
17

Spectrum1 #Data# H1123-33.qgd R.Time:17.392(Scan#:1728)
MassPeaks:121
RawMode:Averaged 17.358-17.433(1724-1733) BasePeak:88.15(1000)
BG Mode:Averaged 18.042-18.150(1806-1819)



18

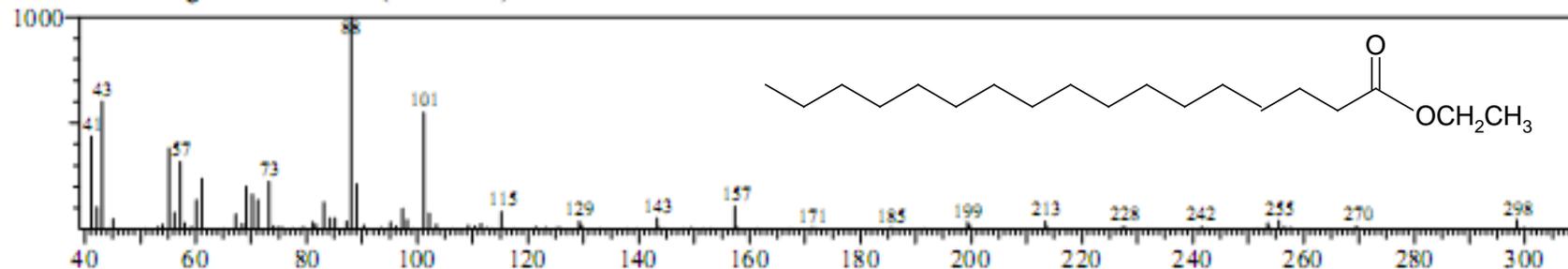
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:134669 Formula:C18 H36 O2 CAS:628-97-7 MolWeight:284 RetIndex:0
MassPeaks:48 BasePeak:88.00(1000)
CompName:Hexadecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl palmitate SS HEXADECANOIC ACID ETHYL ESTER SS Palmitic acid ethyl ester SS Palmit



Espectros 17 e 18: Espectro de massas da substância 9 (17) e o espectro de massas do hexadecanoato de etila da biblioteca WILEY (18) 97% IS

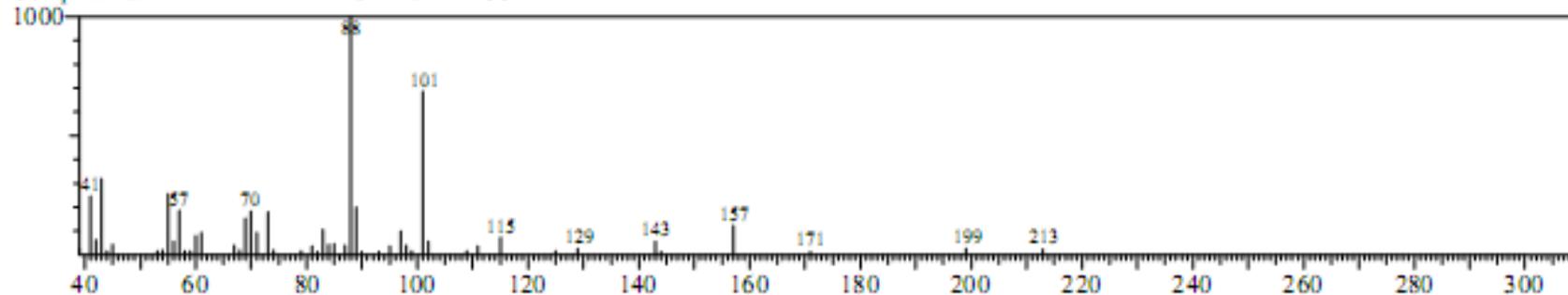
19

Spectrum1 #Data# H1123-33.qgd R.Time:18.392(Scan#:1848)
MassPeaks:109
RawMode:Averaged 18.375-18.442(1846-1854) BasePeak:88.15(1000)
BG Mode:Averaged 17.858-18.000(1784-1801)



20

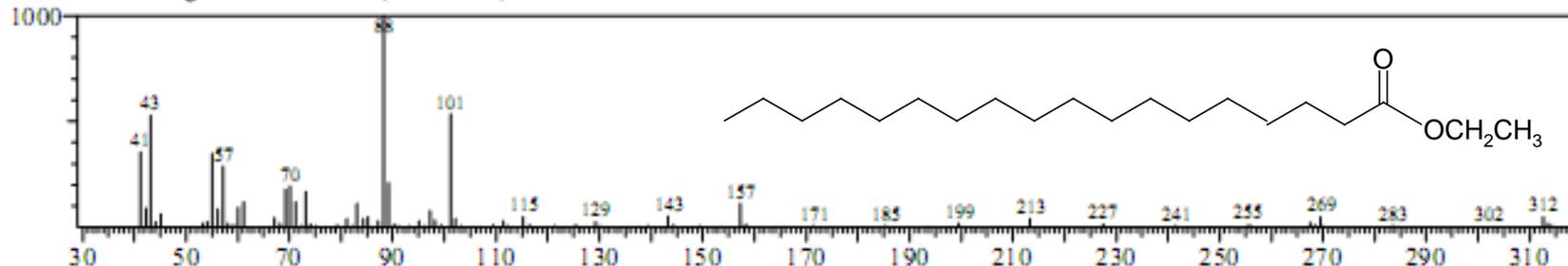
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:144249 Formula:C19 H38 O2 CAS:14010-23-2 MolWeight:298 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:88.00(1000)
CompName:ETHYL HEPTADECANOATE \$\$



Espectros 19 e 20: Espectro de massas da substância 10 (19) e o espectro de massas do heptadecanoato de etila da biblioteca WILEY (20) 90% IS

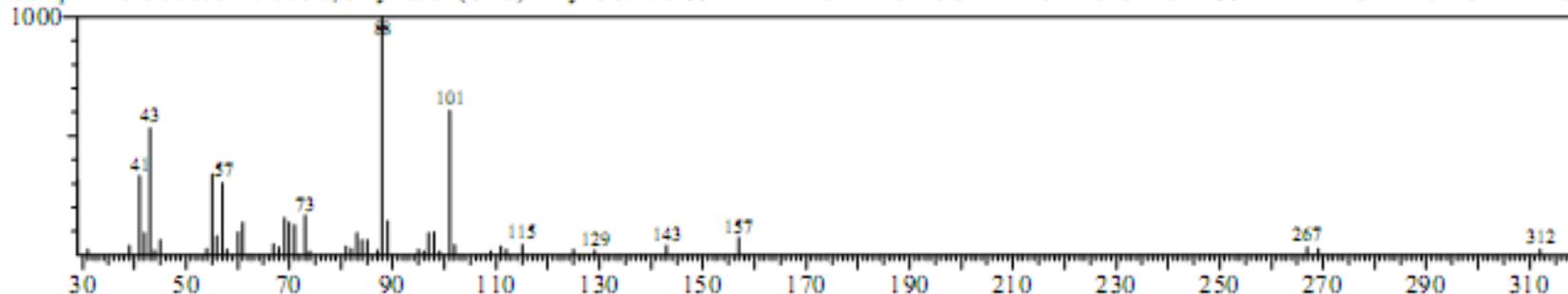
21

Spectrum1 #Data# H1123-33.qgd R.Time:19.350(Scan#:1963)
MassPeaks:138
RawMode:Averaged 19.317-19.392(1959-1968) BasePeak:88.20(1000)
BG Mode:Averaged 19.075-19.208(1930-1946)



22

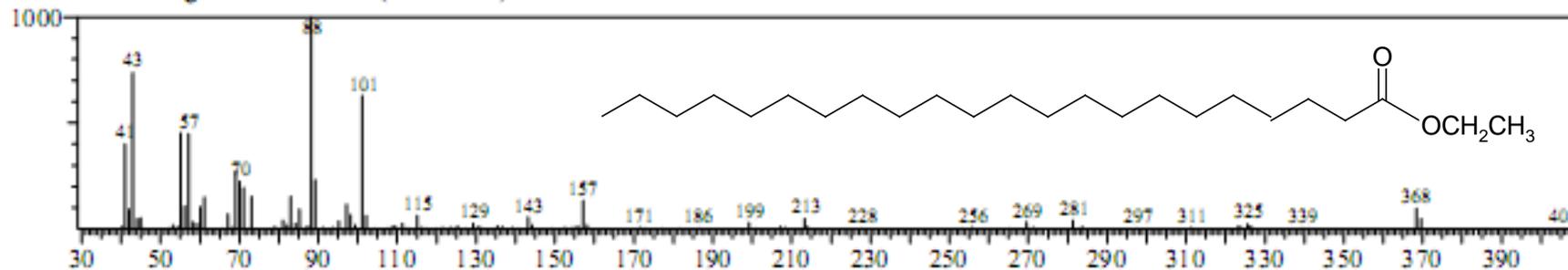
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:153340 Formula:C20 H40 O2 CAS:111-61-5 MolWeight:312 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:88.00(1000)
CompName:Octadecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl stearate \$\$ ETHYL ESTER OF OCTADECANOIC ACID \$\$ ETHYL ESTER OF STEARIC /



Espectros 21 e 22: Espectro de massas da substância 11 (21) e o espectro de massas do octadecanoato de etila da biblioteca WILEY (22) 95% IS

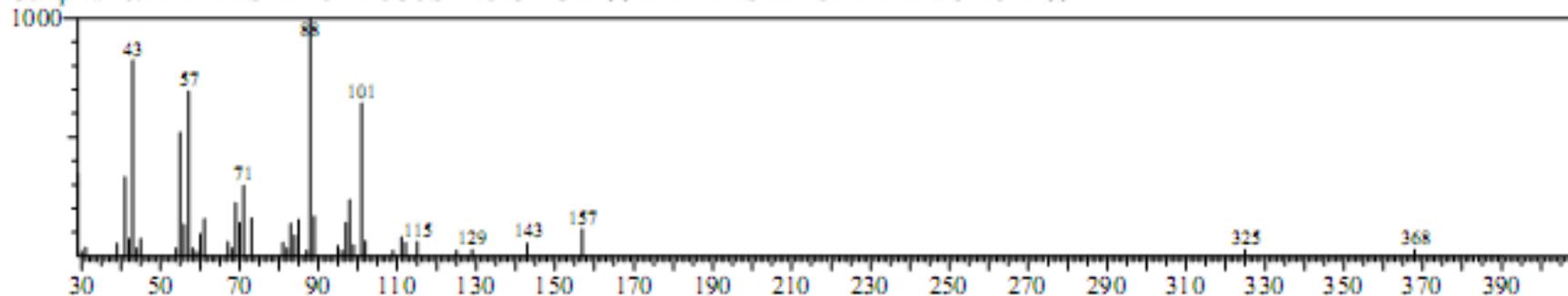
23

Spectrum1 #Data# 10312-4.QGD R.Time:22.858(Scan#:2384)
MassPeaks:114
RawMode:Averaged 22.817-22.908(2379-2390) BasePeak:88.10(1000)
BG Mode:Averaged 22.625-22.683(2356-2363)



24

Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:182162 Formula:C24 H48 O2 CAS:0-0-0 MolWeight:368 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:88.00(1000)
CompName:ETHYL ESTER OF DOCOSANOIC ACID \$\$ ETHYL ESTER OF BEHENIC ACID \$\$



Espectros 23 e 24: Espectro de massas da substância **12** (23) e o espectro de massas do docosanoato de etila da biblioteca WILEY (24) 92% IS

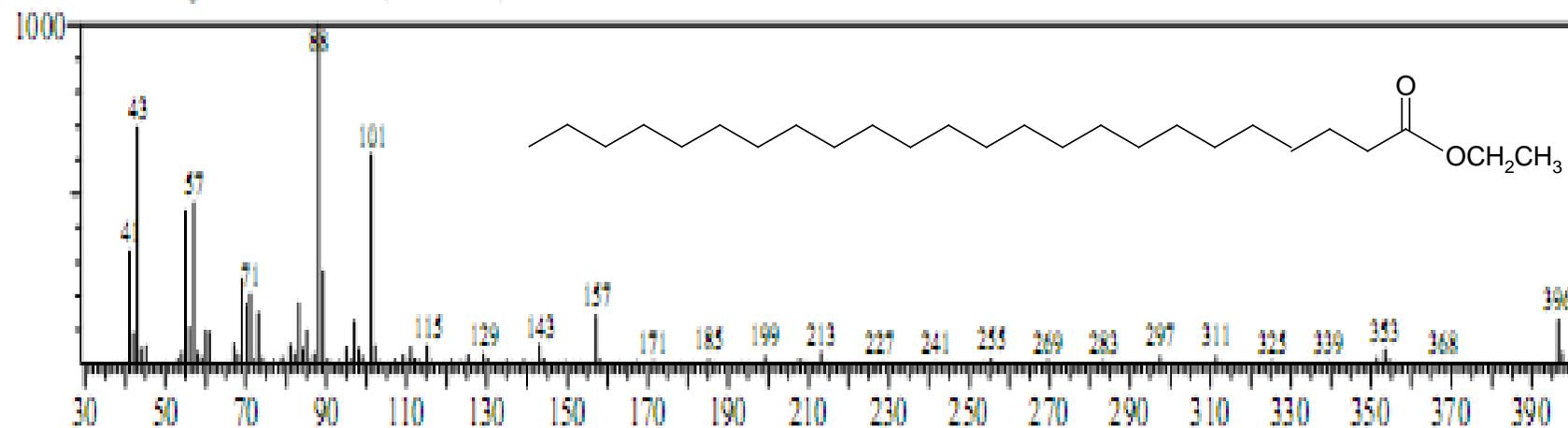
Spectrum1 #Data# 10312-4. QGD R.Time:24.975(Scan#:2638)

MassPeaks:174

RawMode:Averaged 24.908-25.050(2630-2647) BasePeak:88.05(1000)

BG Mode:Averaged 24.633-24.767(2597-2613)

25



Espectro 25: Espectro de massas da substância 13

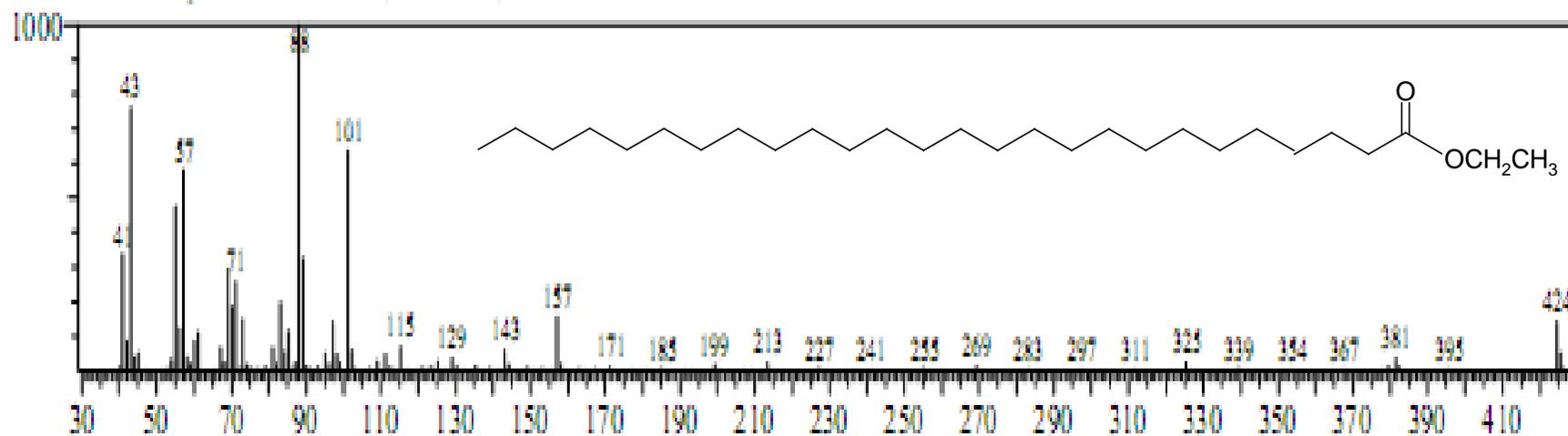
Spectrum1 #Data# 10312-4.QGD R.Time:27.908(Scan#:2990)

MassPeaks:176

RawMode:Averaged 27.825-27.983(2980-2999) BasePeak:88.00(1000)

BG Mode:Averaged 27.400-27.558(2929-2948)

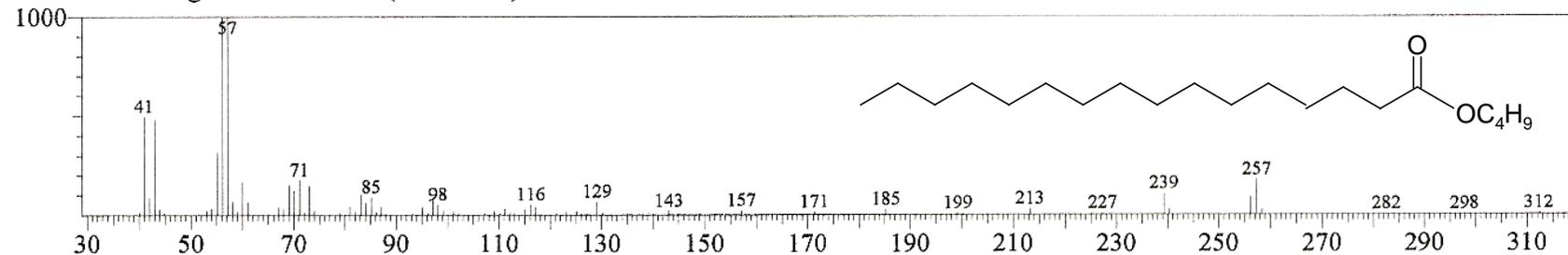
26



Espectro 26: Espectro de massas da substância 14

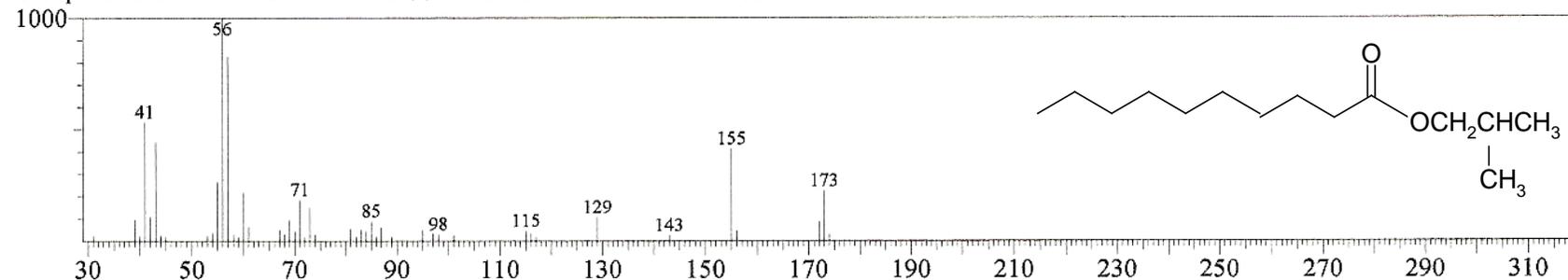
27

Spectrum1 #Data# I0312-4.QGD R.Time:18.883(Scan#:1907)
MassPeaks:143
RawMode:Averaged 18.842-18.925(1902-1912) BasePeak:57.10(1000)
BG Mode:Averaged 19.450-19.608(1975-1994)



28

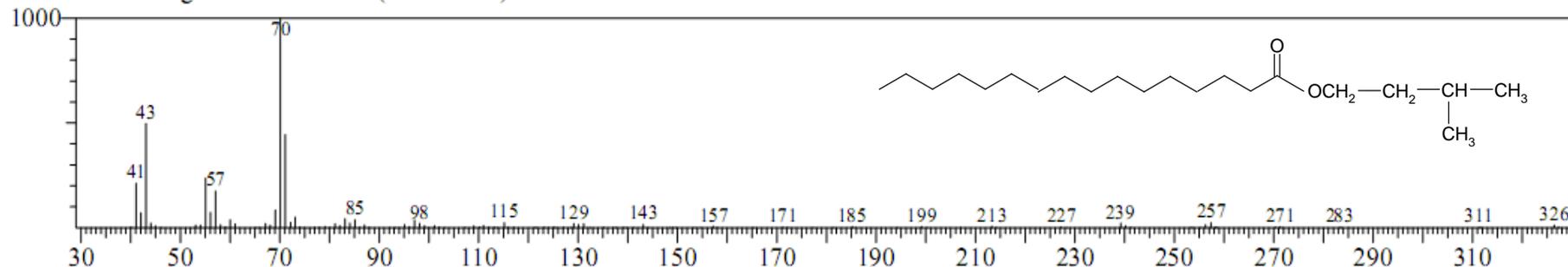
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:91718 Formula:C14 H28 O2 CAS:30673-38-2 MolWeight:228 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:56.00(1000)
CompName:ISOBUTYL CAPRATE \$\$ ISOBUTYL DECANOATE \$\$



Espectros 27 e 28: Espectro de massas da substância 15 (27) e o espectro de massas do decanoato de isobutila da biblioteca WILEY (28) 84% IS

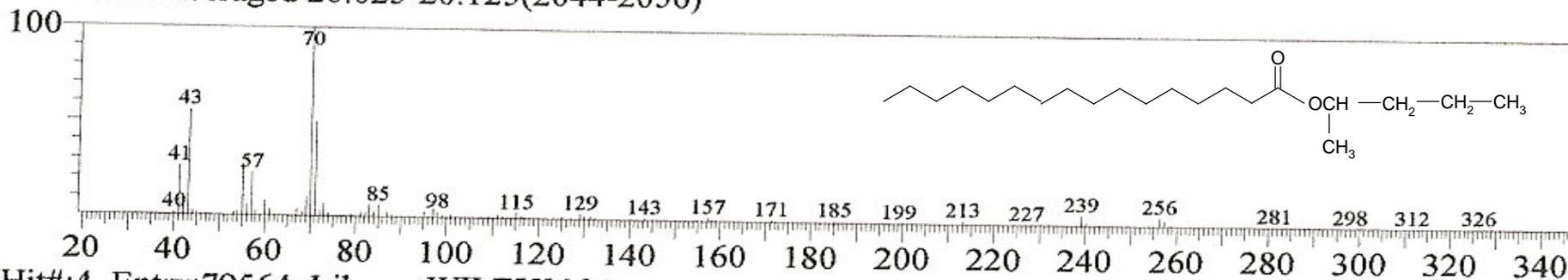
29

Spectrum1 #Data# I0312-4.QGD R.Time:19.817(Scan#:2019)
MassPeaks:123
RawMode:Averaged 19.767-19.842(2013-2022) BasePeak:70.10(1000)
BG Mode:Averaged 19.967-20.008(2037-2042)



30

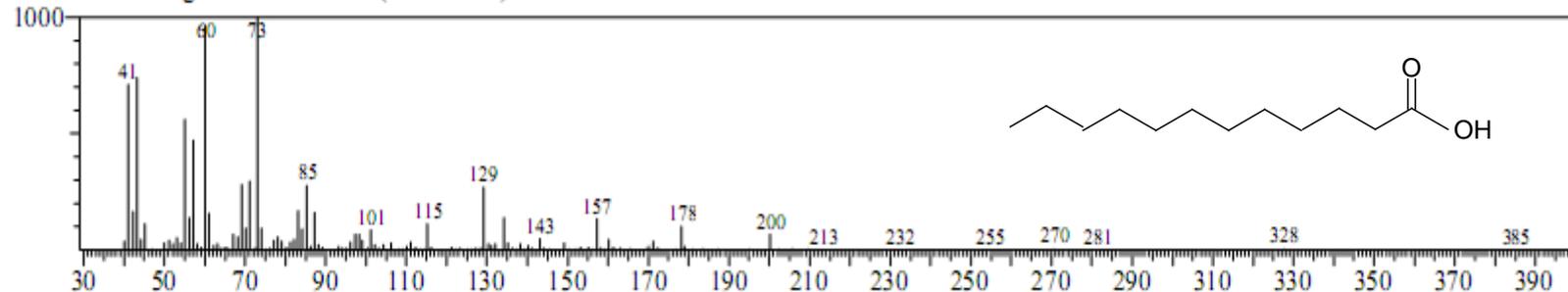
<< Target >>
Line#:1 R.Time:19.858(Scan#:2024) MassPeaks:127
RawMode:Averaged 19.842-19.917(2022-2031) BasePeak:70.10(130418)
BG Mode:Averaged 20.025-20.125(2044-2056)



Espectros 29 e 30: Espectro de massas da substância 16 (29) e 17 (30)

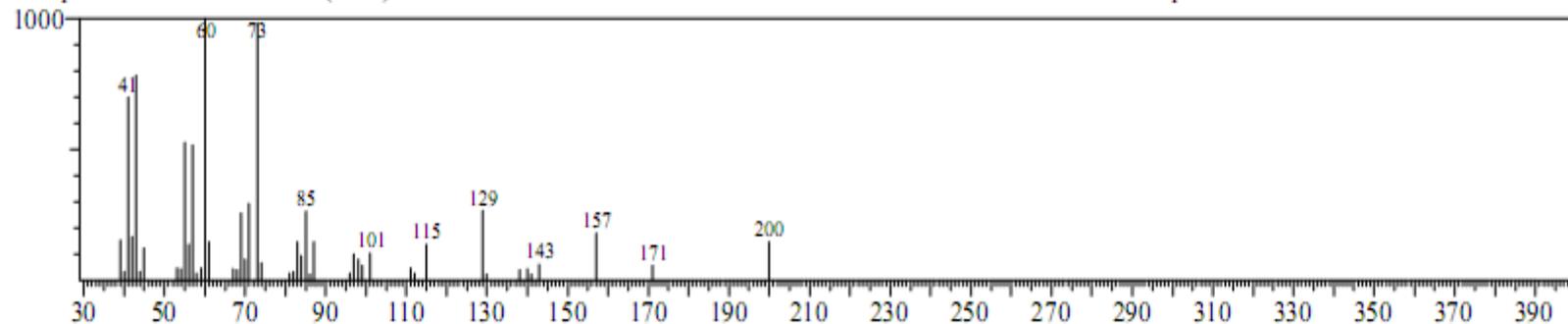
31

Spectrum1 #Data# 10316-12.QGD R.Time:12.508(Scan#:1142)
MassPeaks:158
RawMode:Averaged 12.475-12.542(1138-1146) BasePeak:73.10(1000)
BG Mode:Averaged 12.583-12.617(1151-1155)



32

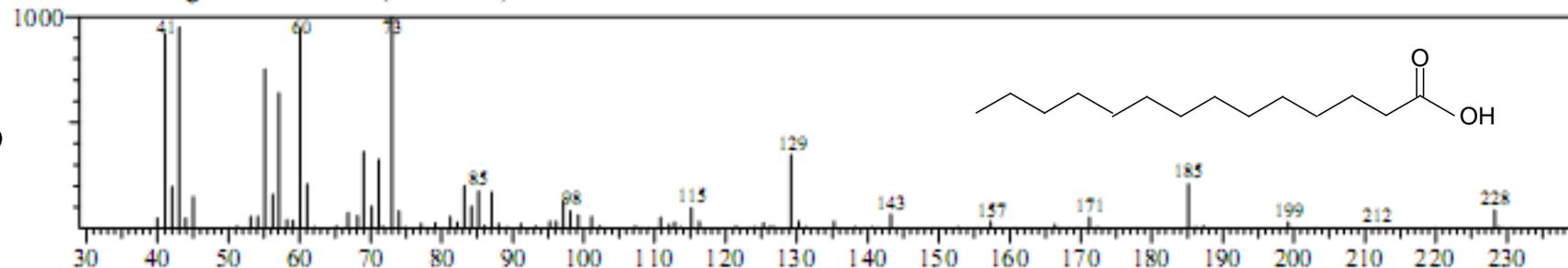
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:67386 Formula:C12 H24 O2 CAS:143-7-7 MolWeight:200 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:60.00(1000)
CompName:Dodecanoic acid (CAS) Lauric acid SS ABL SS Neo-Fat 12 SS Vulvic acid SS Univol U-314 SS Aliphat No. 4 SS Neo-Fat 12-43 SS Dodec



Espectros 31 e 32: Espectro de massas da substância **18 (31)** e o espectro de massas do ácido dodecanóico biblioteca WILEY **(32)** 93% IS

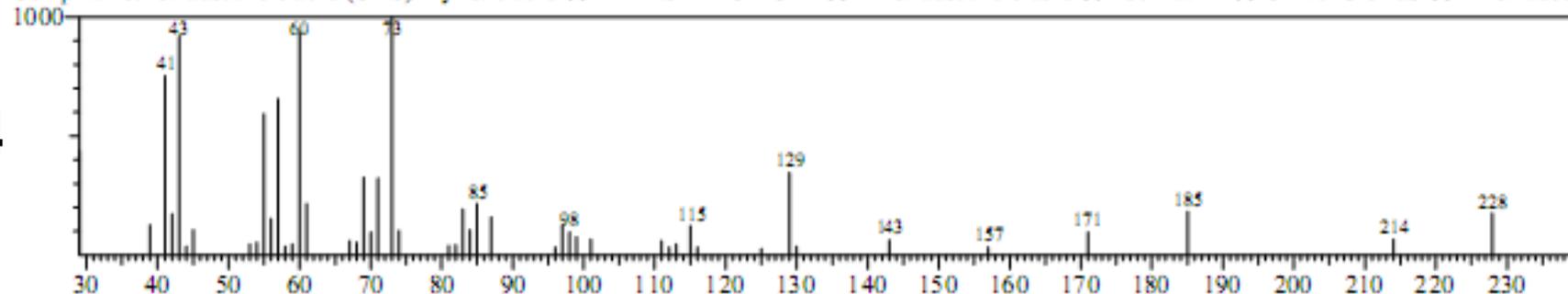
33

Spectrum1 #Data# 10316-11.QGD R.Time:14.883(Scan#:1427)
MassPeaks:113
RawMode:Averaged 14.842-14.925(1422-1432) BasePeak:73.05(1000)
BG Mode:Averaged 15.292-15.433(1476-1493)



34

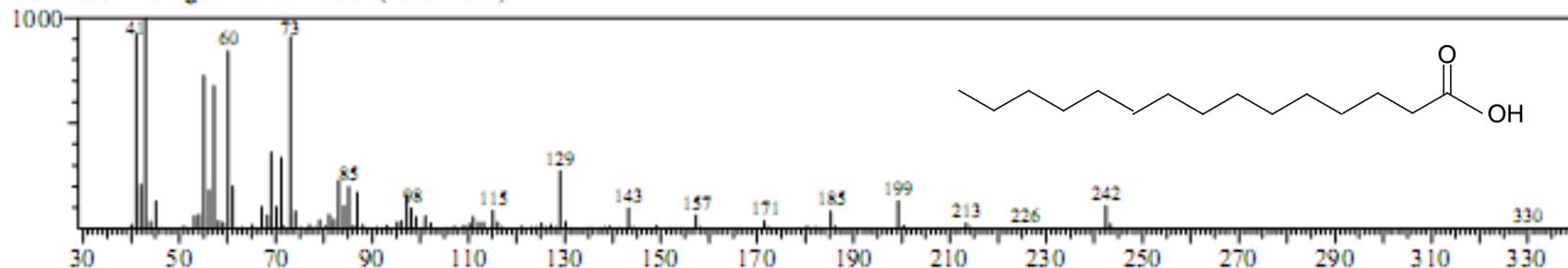
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:91666 Formula:C14H28O2 CAS:544-63-8 MolWeight:228 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:73.00(1000)
CompName:Tetradecanoic acid (CAS) Myristic acid SS MYRISTIC ACID SS n-Tetradecanoic acid SS neo-Fat 14 SS Univol U 3 16S SS n-Tetradeco



Espectros 33 e 34: Espectro de massas da substância 19 (33) e o espectro de massas do ácido tetradecanóico biblioteca WILEY (34) 96% IS

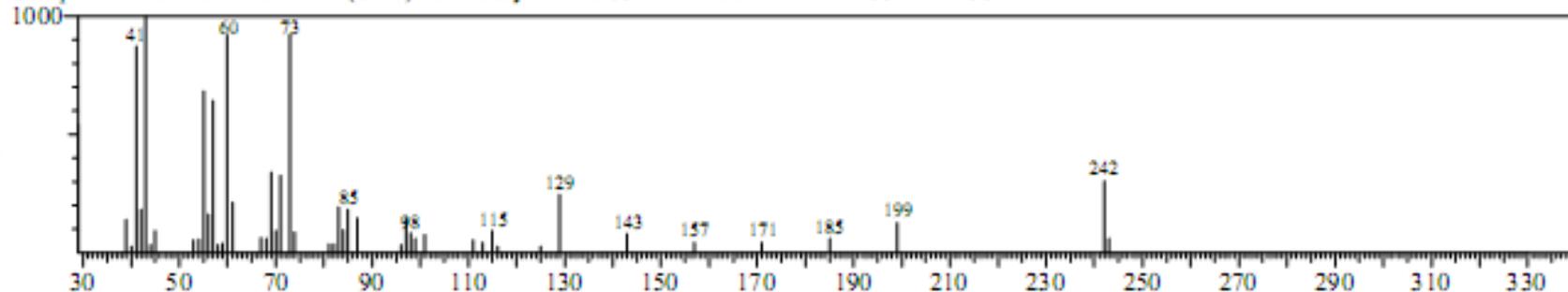
35

Spectrum1 #Data# 10316-11.QGD R.Time:16.017(Scan#:1563)
MassPeaks:142
RawMode:Averaged 15.958-16.058(1556-1568) BasePeak:43.05(1000)
BG Mode:Averaged 16.267-16.392(1593-1608)



36

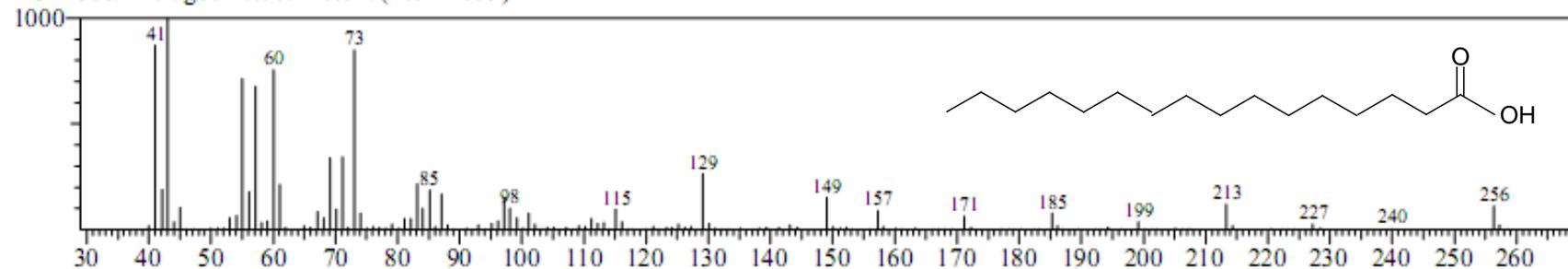
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:103139 Formula:C15 H30 O2 CAS:1002-84-2 MolWeight:242 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:43.00(1000)
CompName:Pentadecanoic acid (CAS) Pentadecylic acid SS n-Pentadecanoic acid SS 14FA SS



Espectros 35 e 36: Espectro de massas da substância **20 (35)** e o espectro de massas do ácido pentadecanóico da biblioteca WILEY (**36**) 96% IS

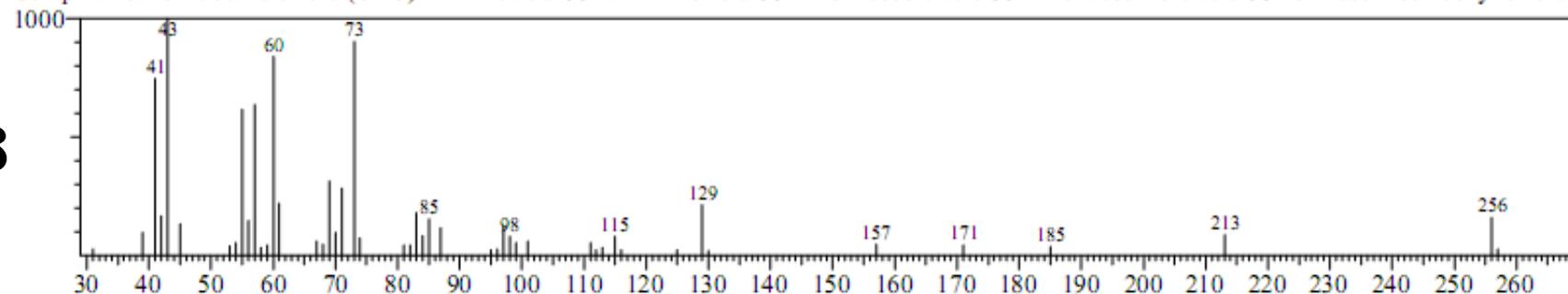
37

Spectrum1 #Data# I0316-10.QGD R.Time:17.108(Scan#:1694)
MassPeaks:167
RawMode:Averaged 17.025-17.150(1684-1699) BasePeak:43.05(1000)
BG Mode:Averaged 16.775-16.817(1654-1659)



38

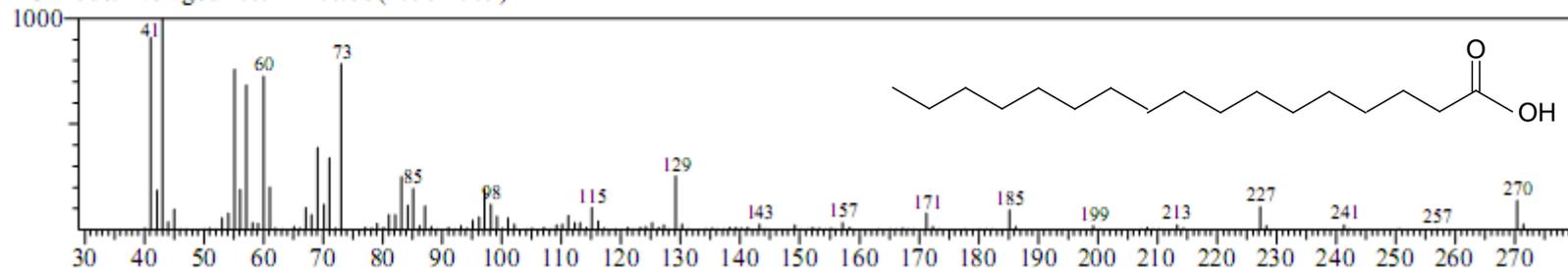
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:114038 Formula:C16 H32 O2 CAS:57-10-3 MolWeight:256 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:43.00(1000)
CompName:Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid SS Palmitinic acid SS n-Hexadecanoic acid SS n-Hexadecanoic acid SS Pentadecanecarboxylic acid S



Espectros 37 e 38: Espectro de massas da substância 21 (37) e o espectro de massas do ácido hexadecanóico da biblioteca WILEY (38) 95% IS

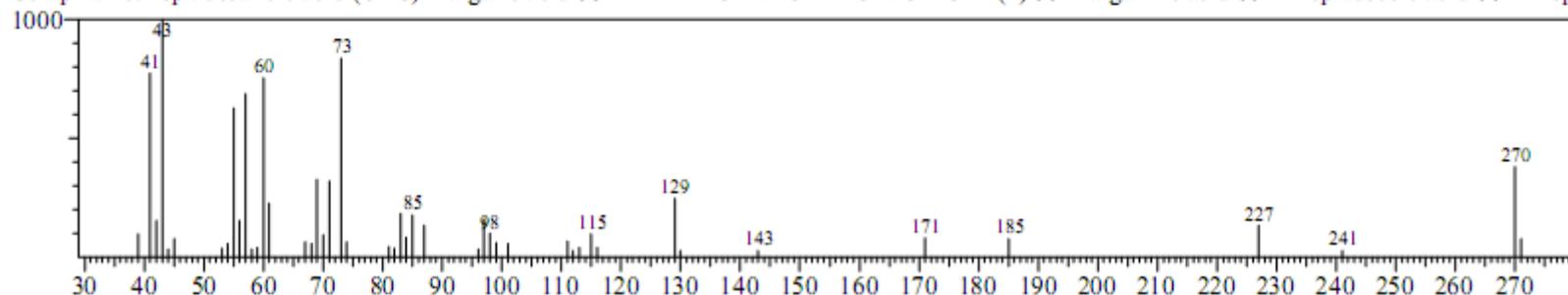
39

Spectrum1 #Data# 10316-11.QGD R.Time:18.175(Scan#:1822)
MassPeaks:168
RawMode:Averaged 18.108-18.217(1814-1827) BasePeak:43.05(1000)
BG Mode:Averaged 17.642-17.733(1758-1769)



40

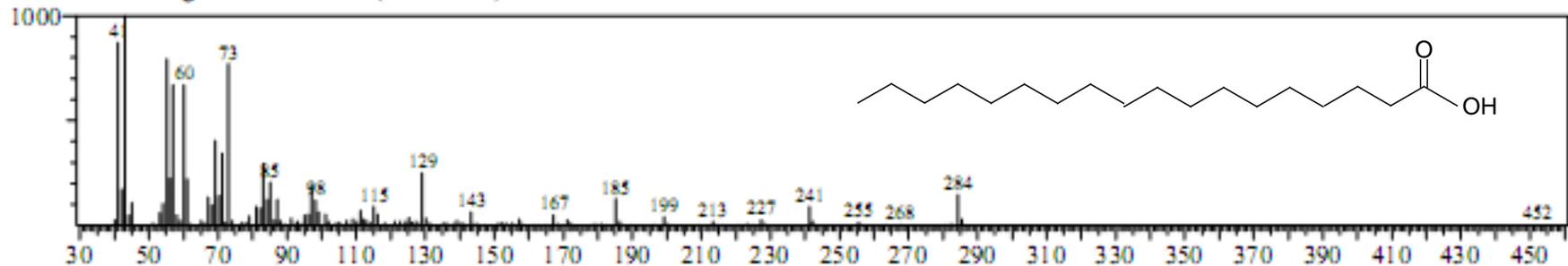
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:124615 Formula:C17 H34 O2 CAS:506-12-7 MolWeight:270 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:43.00(1000)
CompName:Heptadecanoic acid (CAS) Margaric acid SS HEXADECANECARBONIC ACID-(1) SS Margaric acid SS n-Heptadecic acid SS n-Hept



Espectros 39 e 40: Espectro de massas da substância **22 (39)** e o espectro de massas do ácido heptadecanóico da biblioteca WILEY (**40**) 95% IS

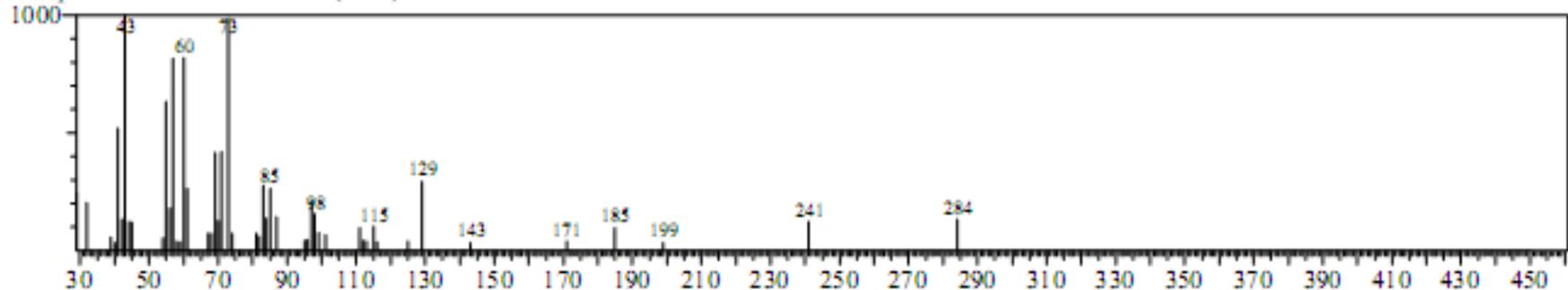
41

Spectrum1 #Data# 10316-10.QGD R.Time:19.075(Scan#:1930)
MassPeaks:181
RawMode:Averaged 19.025-19.117(1924-1935) BasePeak:43.05(1000)
BG Mode:Averaged 18.383-18.508(1847-1862)



42

Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:134629 Formula:C18 H36 O2 CAS:57-11-4 MolWeight:284 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:43.00(1000)
CompName:Octadecanoic acid (CAS) Stearic acid \$\$ n-Octadecanoic acid \$\$ PD 185 \$\$ NAA 173 \$\$ Vanicol \$\$ Kam 3000 \$\$ Kam 1000 \$\$ Kam 20



Espectros 41 e 42: Espectro de massas da substância **23 (41)** e o espectro de massas do ácido octadecanóico da biblioteca WILEY (**42**) 93% IS

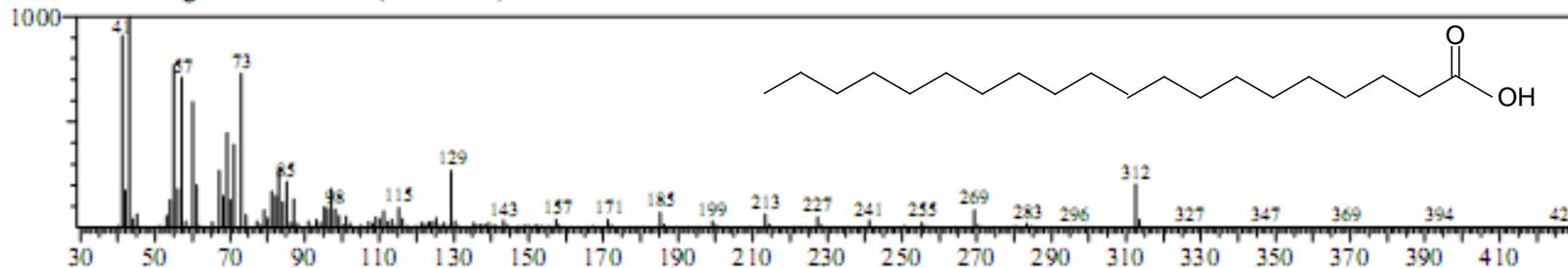
43

Spectrum1 #Data# I0316-12.QGD R.Time:20.925(Scan#:2152)

MassPeaks:224

RawMode:Averaged 20.892-20.950(2148-2155) BasePeak:43.15(1000)

BG Mode:Averaged 21.158-21.333(2180-2201)

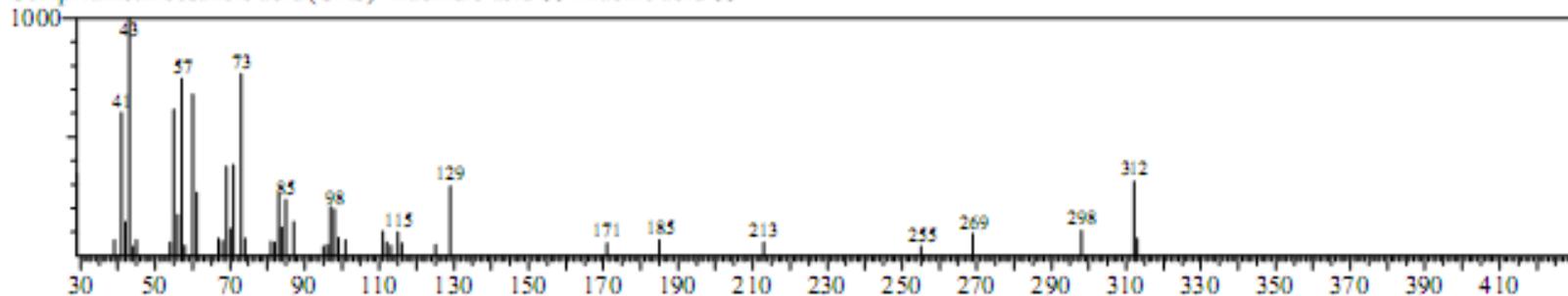


44

Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:153308 Formula:C20 H40 O2 CAS:506-30-9 MolWeight:312 RetIndex:0

MassPeaks:50 BasePeak:43.00(1000)

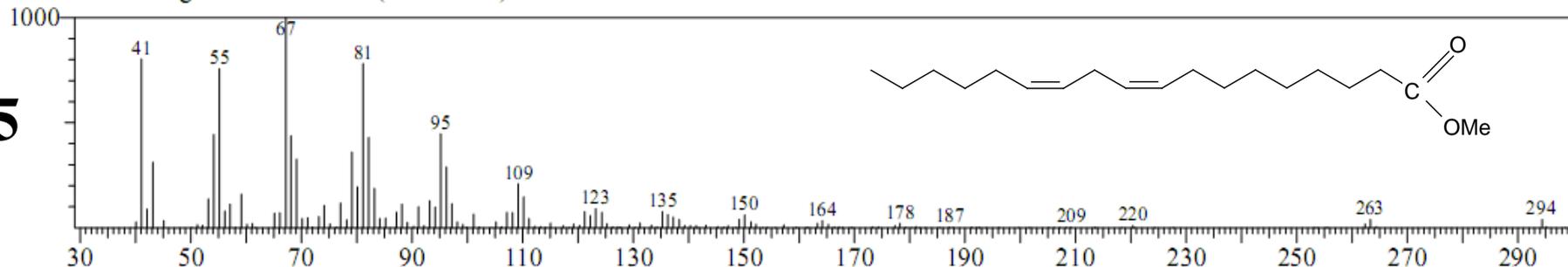
CompName:Eicosanoic acid (CAS) Arachidic acid SS Arachic acid SS



Espectros 43 e 44: Espectro de massas da substância **24 (43)** e o espectro de massas do ácido eicosanóico da biblioteca WILEY **(44)** 92% IS

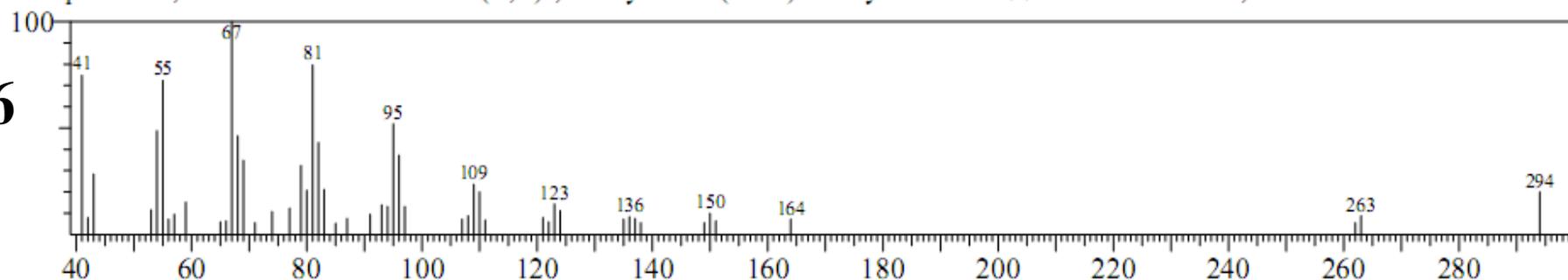
Spectrum1 #Data# H1123-35.qgd R.Time:18.433(Scan#:1853)
MassPeaks:158
RawMode:Averaged 18.400-18.458(1849-1856) BasePeak:67.15(1000)
BG Mode:Averaged 18.258-18.292(1832-1836)

45



Hit#:1 Entry:141543 Library:
SI:? Formula:C19 H34 O2 CAS:112-63-0 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS) Methyl linoleate \$\$ METHYL CIS-9,CIS-12-OCTADECADIEN

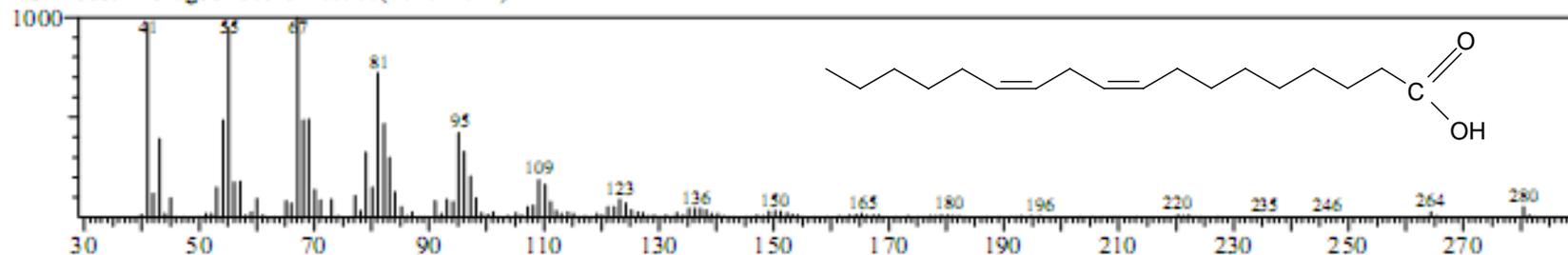
46



Espectros 45 e 46: Espectro de massas da substância **25 (45)** e o espectro de massas do (Z,Z)-9,12-octadecadienoato de metila da biblioteca WILEY (**46**) 94% IS

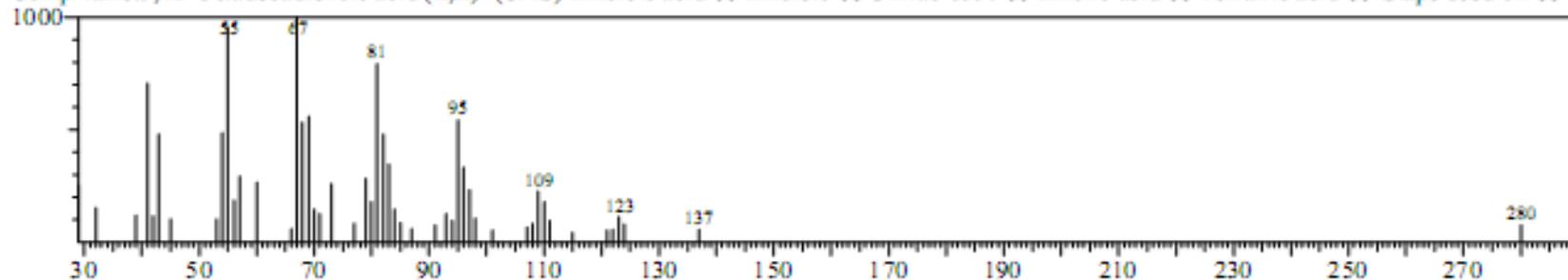
47

Spectrum1 #Data# I0316-11.QGD R.Time:19.100(Scan#:1933)
MassPeaks:197
RawMode:Averaged 18.750-19.117(1891-1935) BasePeak:67.10(1000)
BG Mode:Averaged 19.825-20.000(2020-2041)



48

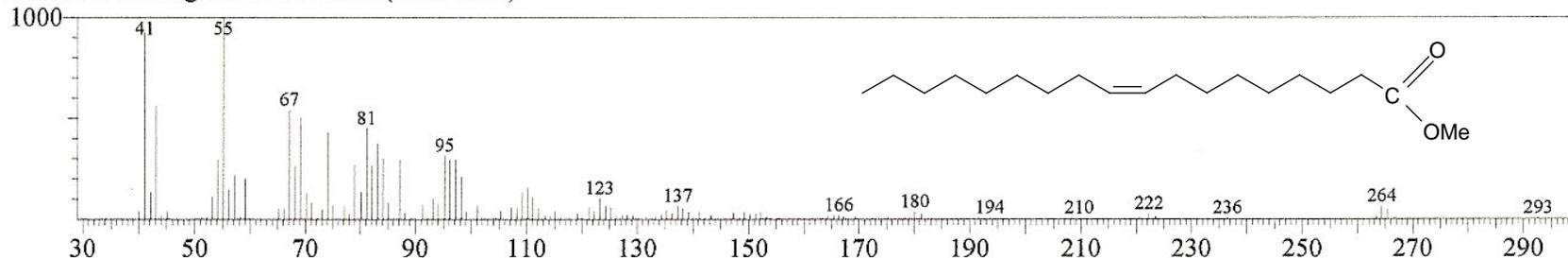
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:131789 Formula:C18 H32 O2 CAS:60-33-3 MolWeight:280 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:67.00(1000)
CompName:9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- (CAS) Linoleic acid SS Linoleic SS Unifac 6550 SS Linolic acid SS Telfairic acid SS Grape seed oil SS P



Espectros 47 e 48: Espectro de massas da substância **26 (47)** e o espectro de massas do ácido linoléico da biblioteca WILEY **(48)**
94% IS

49

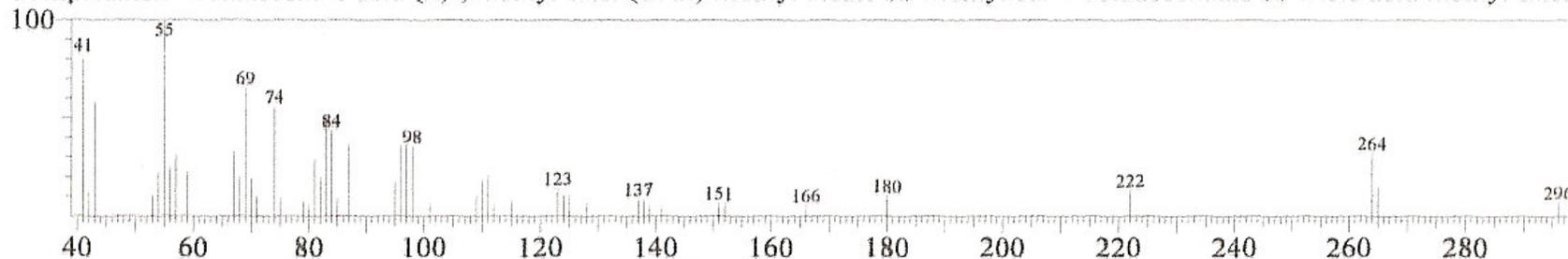
Spectrum1 #Data# H1123-35.qgd R.Time:18.492(Scan#:1860)
MassPeaks:151
RawMode:Averaged 18.458-18.517(1856-1863) BasePeak:55.10(1000)
BG Mode:Averaged 18.875-18.958(1906-1916)



50

Compound Information

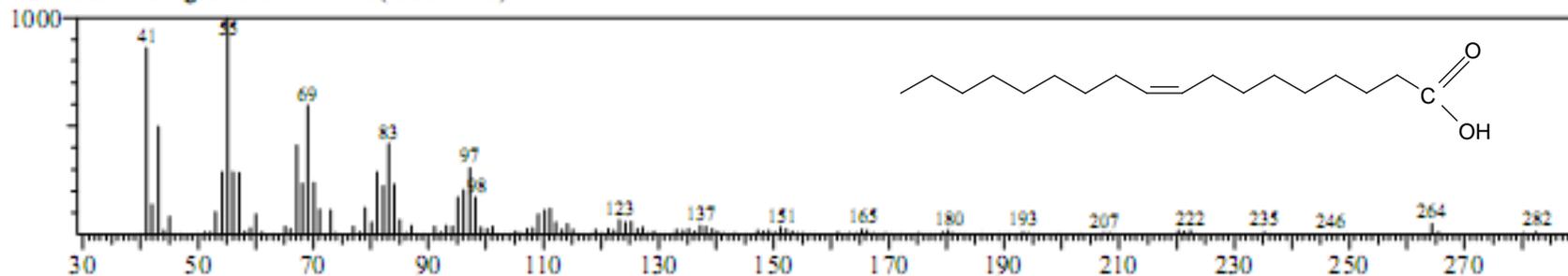
Hit#:1 Entry:142894 Library:
SI:? Formula:C19 H36 O2 CAS:112-62-9 MolWeight:296 RetIndex:0
CompName:9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS) Methyl oleate \$\$ Methyl cis-9-octadecenoate \$\$ Oleic acid methyl ester \$



Espectros 49 e 50: Espectro de massas da substância 27 (49) e o espectro de massas do (Z)-9-octadecenoato de metila da biblioteca WILEY (50) 91% IS

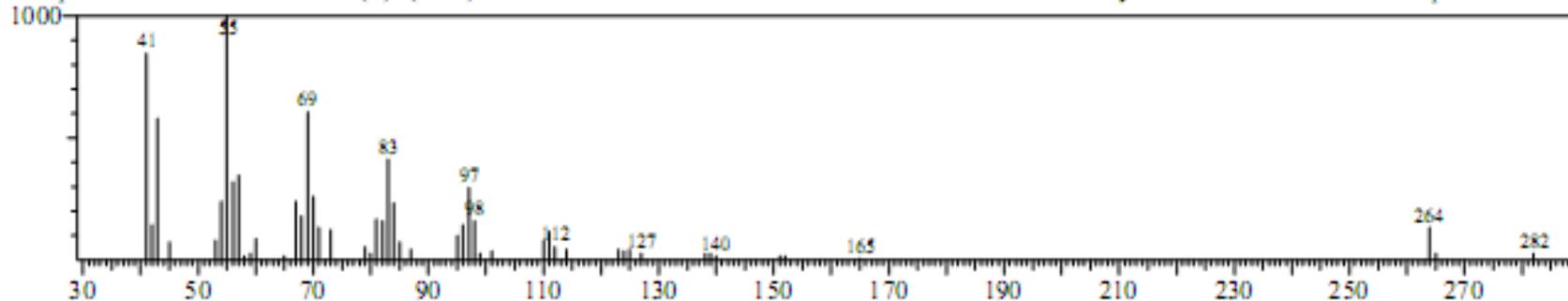
51

Spectrum1 #Data# I0316-11.QGD R.Time:19.183(Scan#:1943)
MassPeaks:184
RawMode:Averaged 19.158-19.233(1940-1949) BasePeak:55.10(1000)
BG Mode:Averaged 19.642-19.867(1998-2025)



52

Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:133169 Formula:C18 H34 O2 CAS:112-80-1 MolWeight:282 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:55.00(1000)
CompName:9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) Oleic acid \$\$ Red oil \$\$ Oelsauree \$\$ Oleine 7503 \$\$ Pamolyn 100 \$\$ Emersol 211 \$\$ Vopcolene 27 \$\$



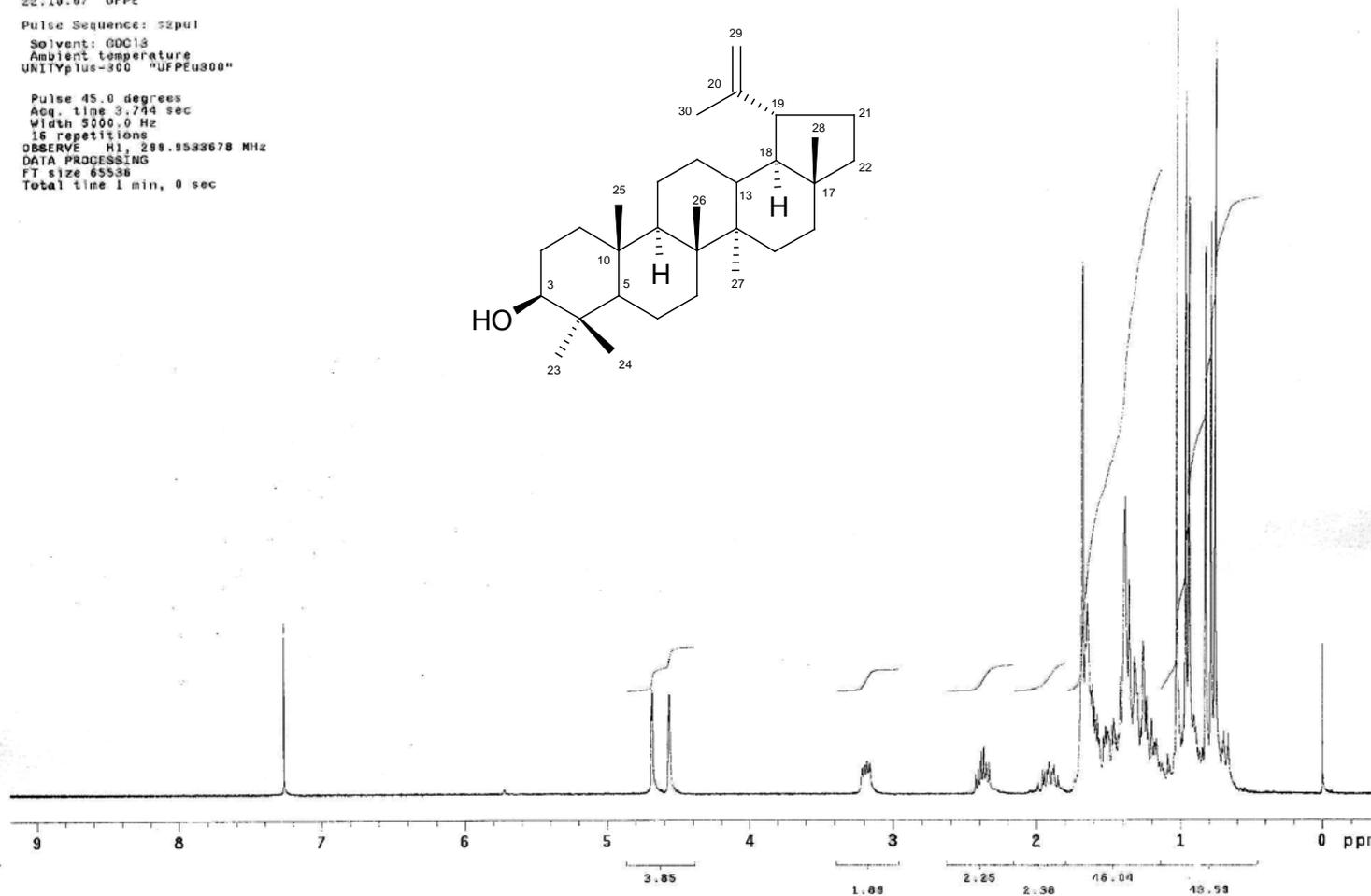
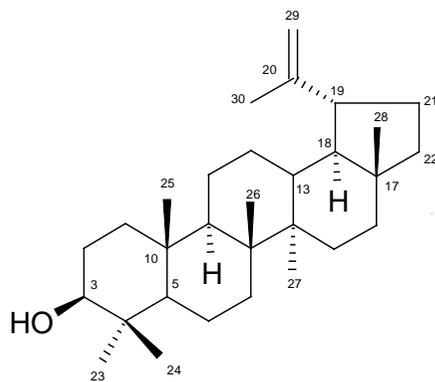
Espectros 51 e 52: Espectro de massas da substância **28(51)** e o espectro de massas do ácido oléico da biblioteca WILEY (**52**) 94% IS

53

Andrea
Amostra PMMCB'-4
Solubilizacao N. F0919_12
22.10.07 UFPE

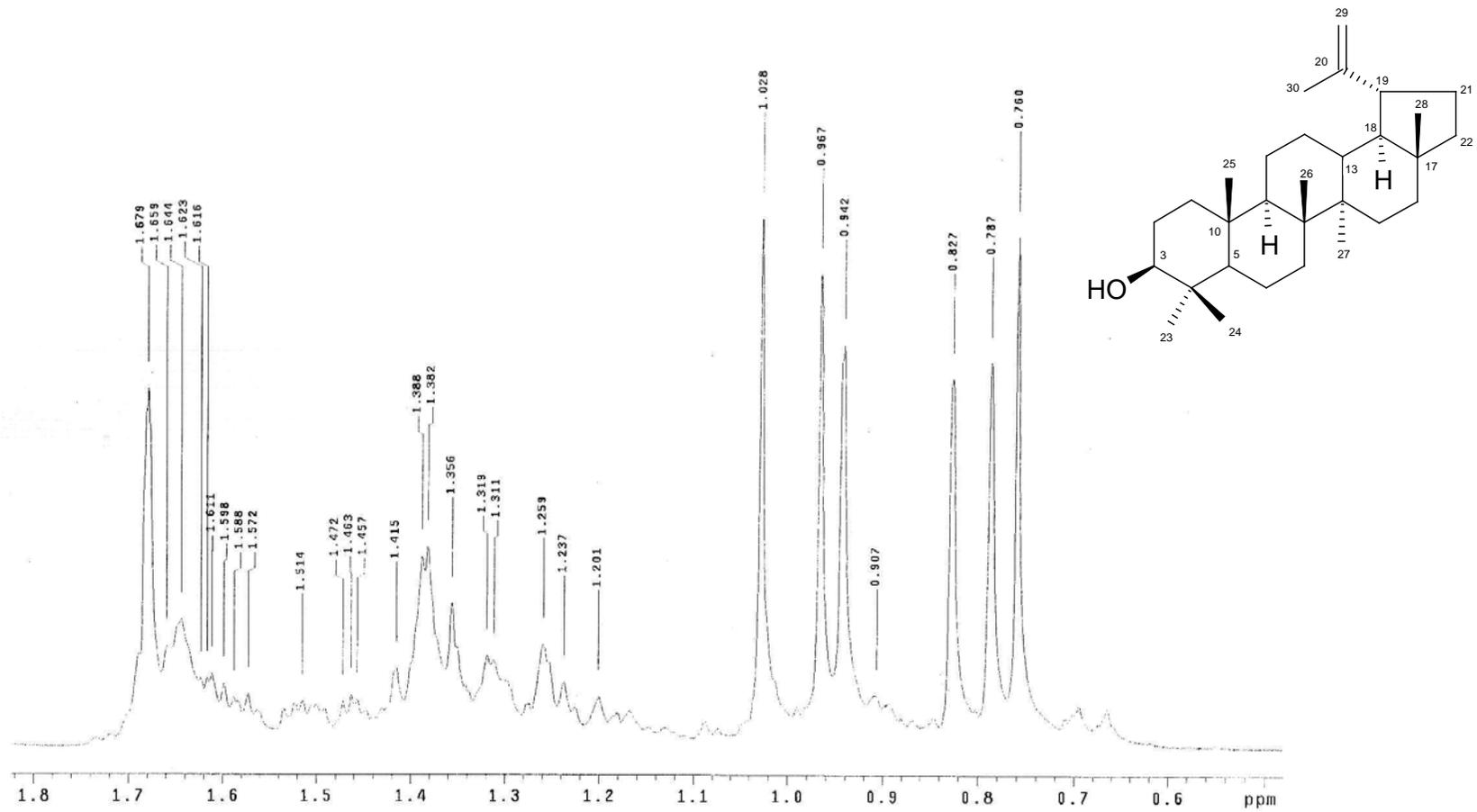
Pulse Sequence: zgpg30
Solvent: CDCl3
Ambient Temperature
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.744 sec
Width 5000.0 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 299.9533678 MHz
DATA PROCESSING
FT size 65536
Total time 1 min, 0 sec



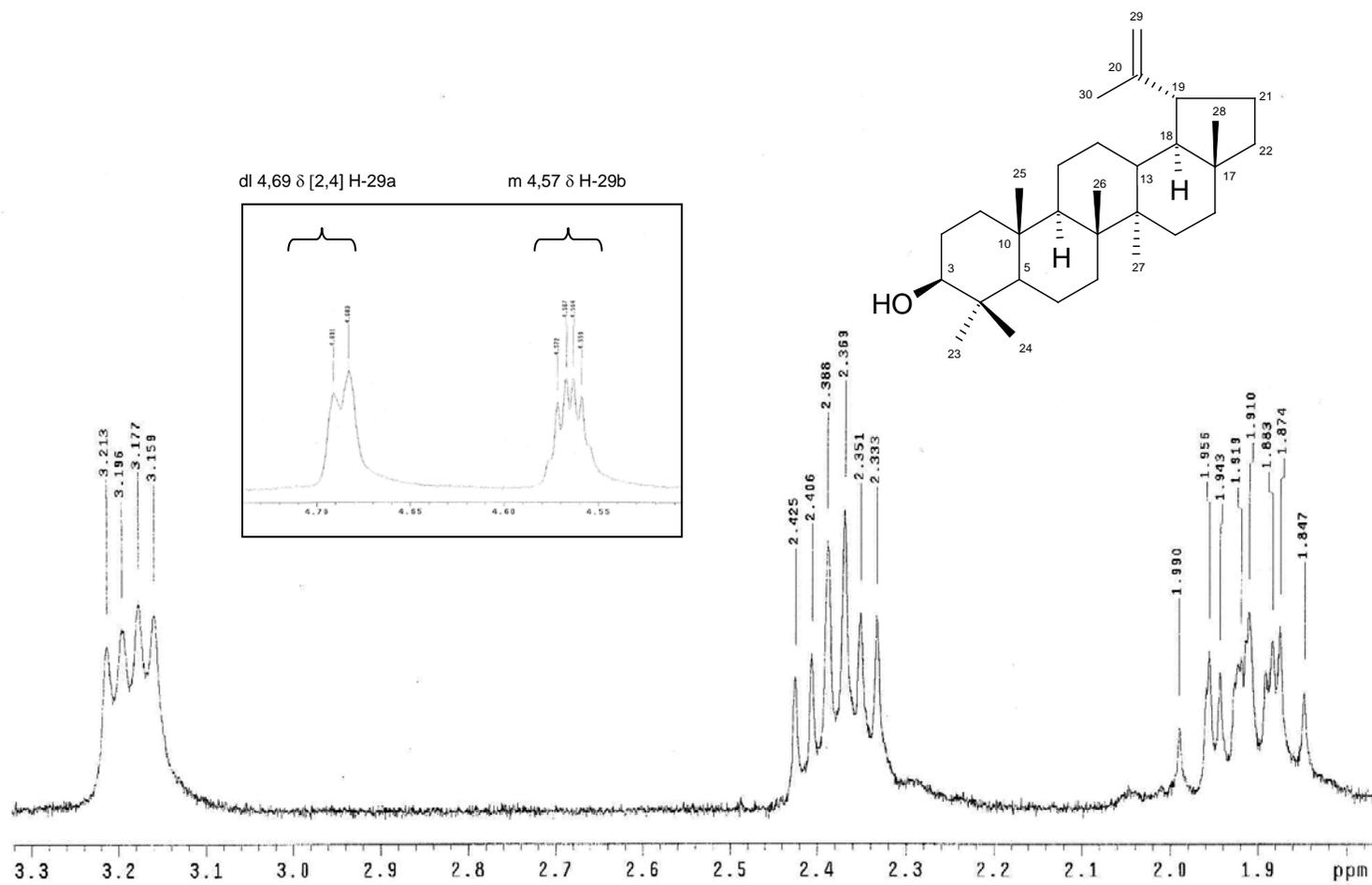
Espectro 53: Espectro de RMN de ^1H de **29** (300 MHz, clorofórmio- d_1)

54



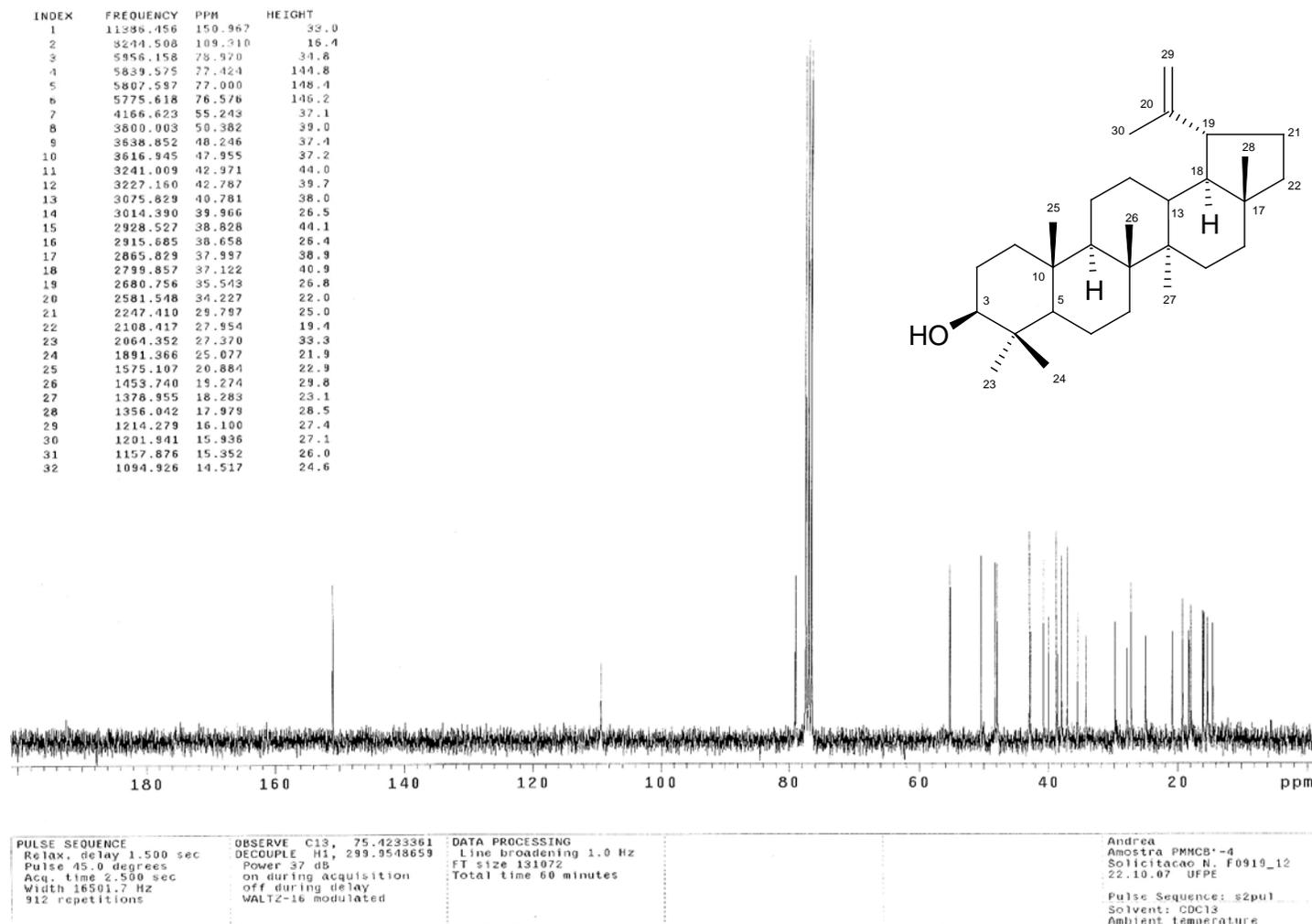
Espectro 54: Ampliação do espectro de RMN de ¹H de 29 (300 MHz, clorofórmio-*d*₁)

55



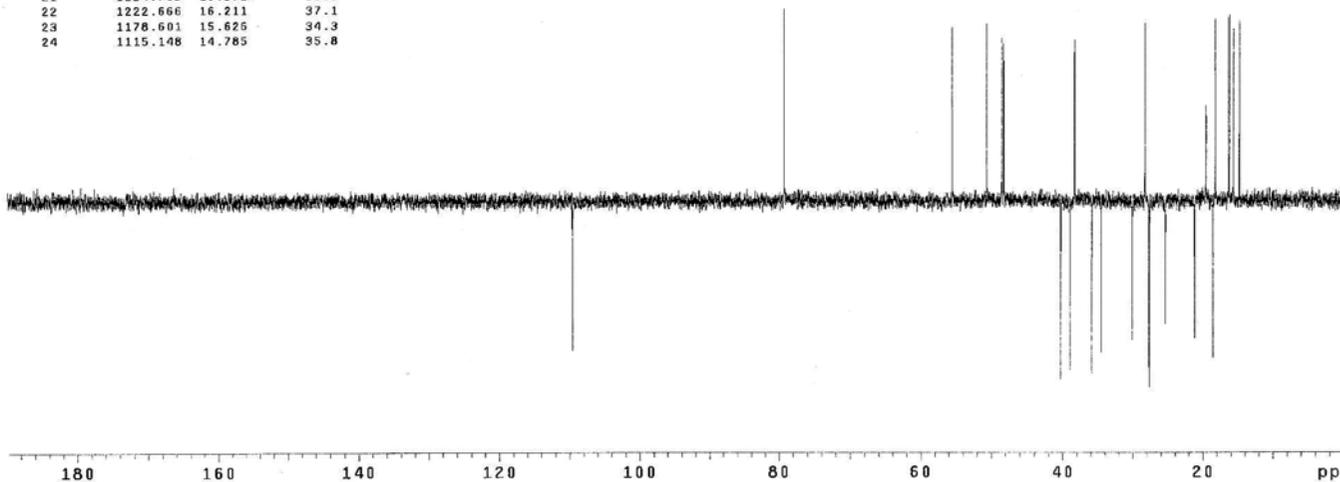
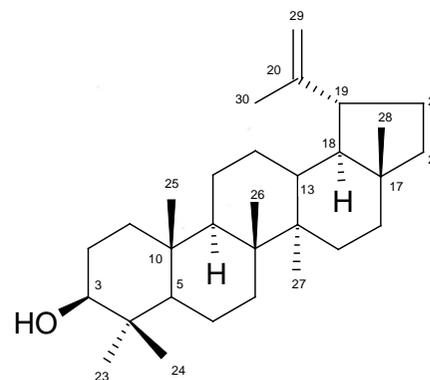
Espectro 55: Ampliação do espectro de RMN de ¹H de **29** (300 MHz, clorofórmio-*d*₁)

56



Espectro 56: Espectro de RMN de ^{13}C de **29** (75 MHz, clorofórmio- d_1)

INDEX	FREQUENCY	PPM	HEIGHT
1	6264.982	109.581	-29.8
2	5976.129	79.231	38.3
3	4187.086	55.515	31.6
4	3820.477	50.654	35.3
5	3659.326	48.517	32.5
6	3637.167	48.223	31.4
7	3035.116	40.241	-35.6
8	2936.159	38.929	-33.7
9	2886.302	38.268	32.1
10	2701.230	35.814	-31.5
11	2602.021	34.499	-30.2
12	2267.884	30.069	-27.8
13	2129.395	28.233	35.4
14	2087.092	27.672	-34.9
15	2084.826	27.642	-37.2
16	1911.840	25.348	-24.5
17	1595.832	21.158	-27.4
18	1474.465	19.548	18.9
19	1399.429	18.554	-31.1
20	1376.264	18.247	36.2
21	1234.753	16.371	35.6
22	1222.666	16.211	37.1
23	1178.601	15.626	34.3
24	1115.148	14.785	35.8



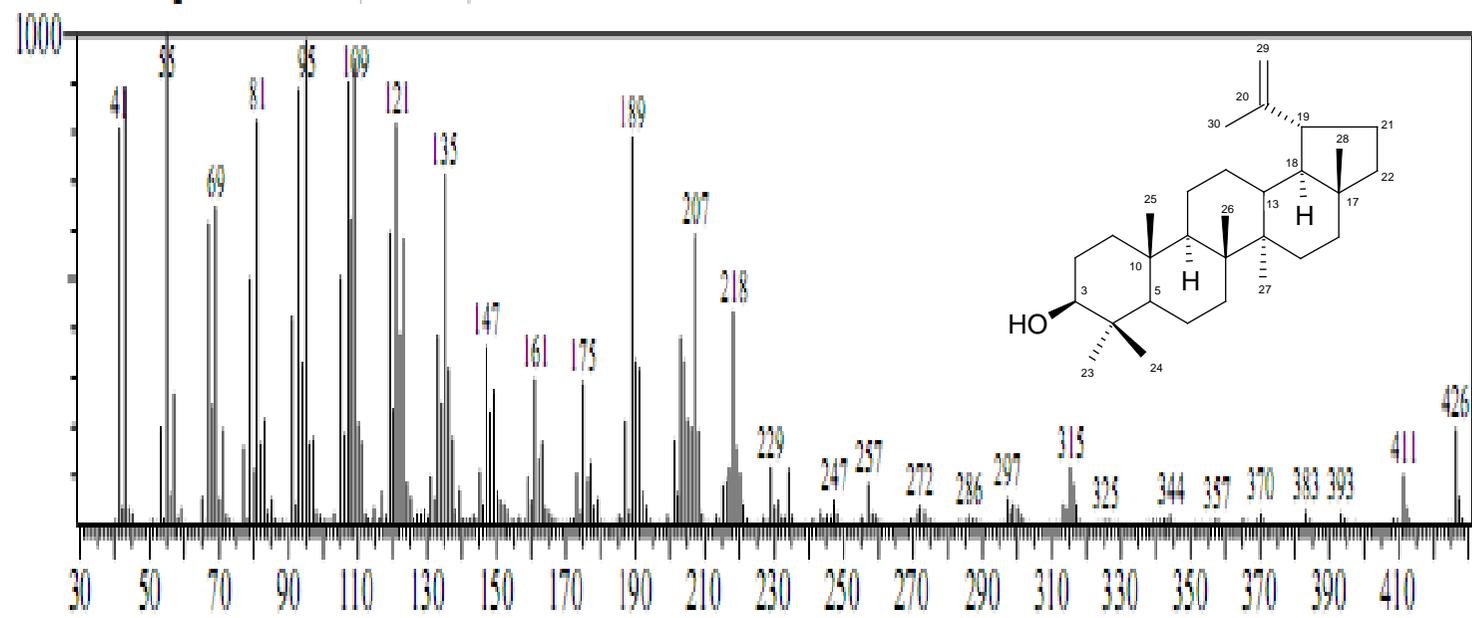
57

PULSE SEQUENCE: dept	OBSERVE C13, 75.4233159	DATA PROCESSING	Andrea
Relax. delay 2.000 sec	DECOUPLE H1, 299.9548659	Line broadening 1.0 Hz	Amostra PHMOC B-4
Pulse 90.0 degrees	Power 36 dB	FT size 131072	Solicitacao N. F1207_8
Acq. time 2.500 sec	on during acquisition	Total time 19 minutes	12.12.07 UFPE
Width 16501.7 Hz	off during delay		Pulse Sequence: dept
256 repetitions	WALTZ-16 modulated		Solvent: cdcl3
			Ambient temperature

Espectro 57: Espectro DEPT 135° de 29 (75 MHz, clorofórmio- d_1)

58

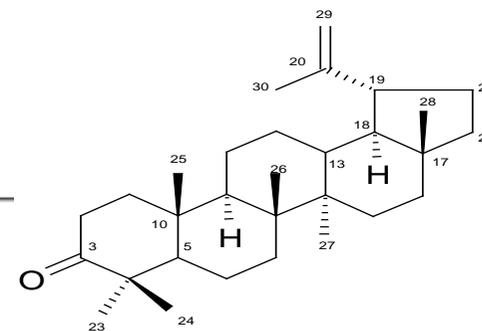
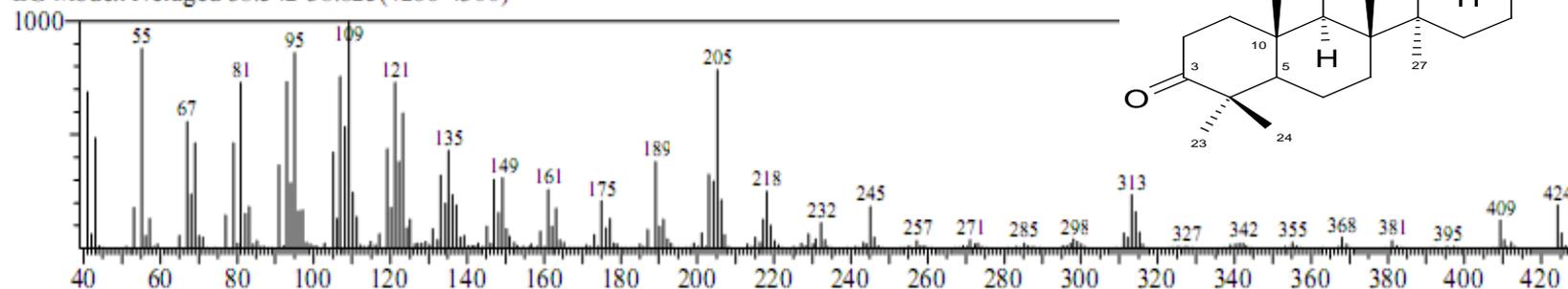
BG Mode: Averaged 30.300-30.767(3277-3333)



Espectro 58: Espectro de massas (EI) da substância 29

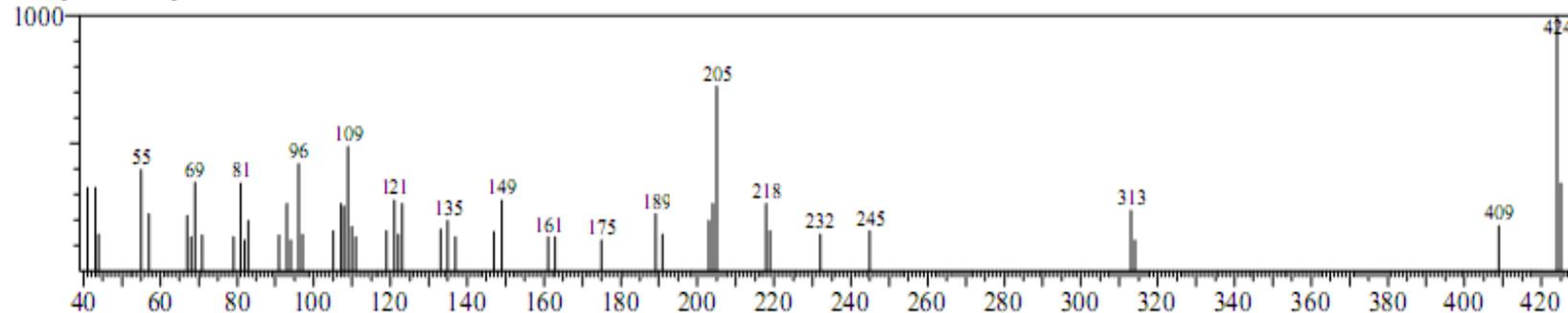
59

Spectrum1 #Data# H0515-14.QGD R.Time:40.517(Scan#:4503)
MassPeaks:308
RawMode:Averaged 39.467-40.583(4377-4511) BasePeak:109.15(1000)
BG Mode:Averaged 38.542-38.825(4266-4300)



60

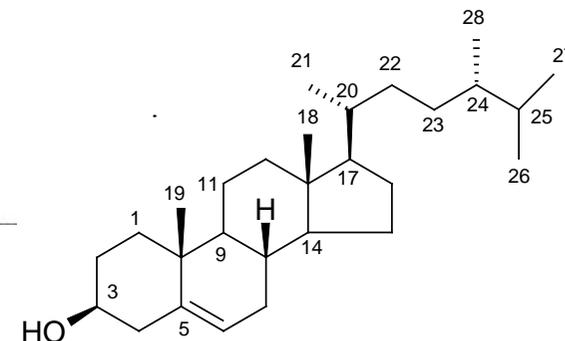
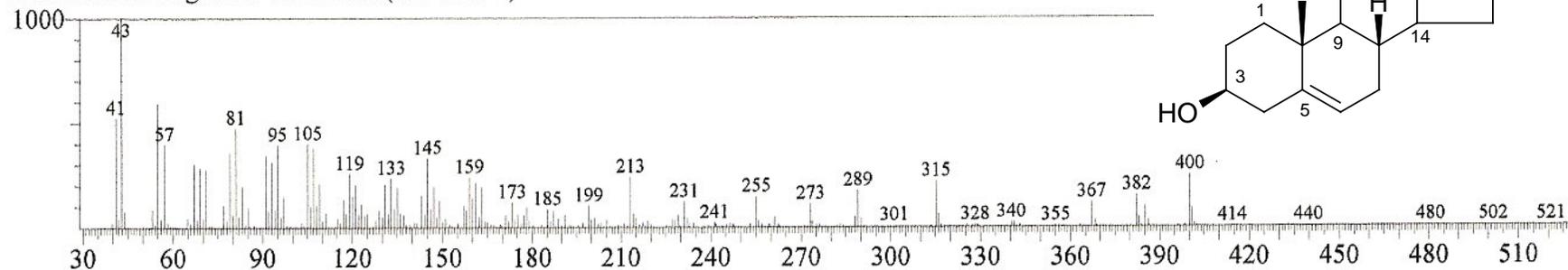
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:201310 Formula:C30 H48 O CAS:0-0-0 MolWeight:424 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:424.00(1000)
CompName:Lupene-3-one SS



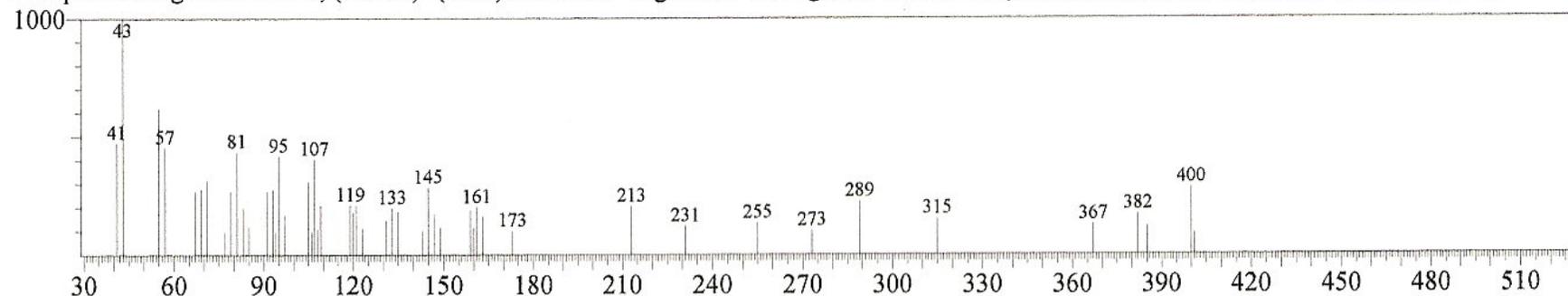
Espectros 59 e 60: Espectro de massas (EI) da substância 30 (59) e o espectro de massas da lupenona da biblioteca WILEY (60) 90% IS

61

Spectrum1 #Data# I0316-32.QGD R.Time:34.133(Scan#:3737)
MassPeaks:308
RawMode:Averaged 33.950-34.350(3715-3763) BasePeak:42.90(1000)
BG Mode:Averaged 32.442-32.967(3534-3597)

**62**

Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:194138 Formula:C₂₈H₄₈O CAS:4651-51-8 MolWeight:400 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:43.00(1000)
CompName:Ergost-5-en-3-ol, (3.beta.)- (CAS) .DELTA.5-Ergostenol \$\$ Ergost-5-enol \$\$ Dihydrobrassicasterol \$\$ Ergost-5-en-3.beta.-ol \$\$ 22-Dih

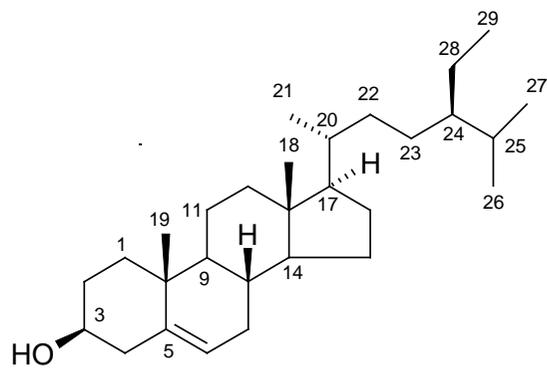


Espectros 61 e 62: Espectro de massas da substância **31** (61) e o espectro de massas do diidrobrassicasterol da biblioteca WILEY (62) 94% IS

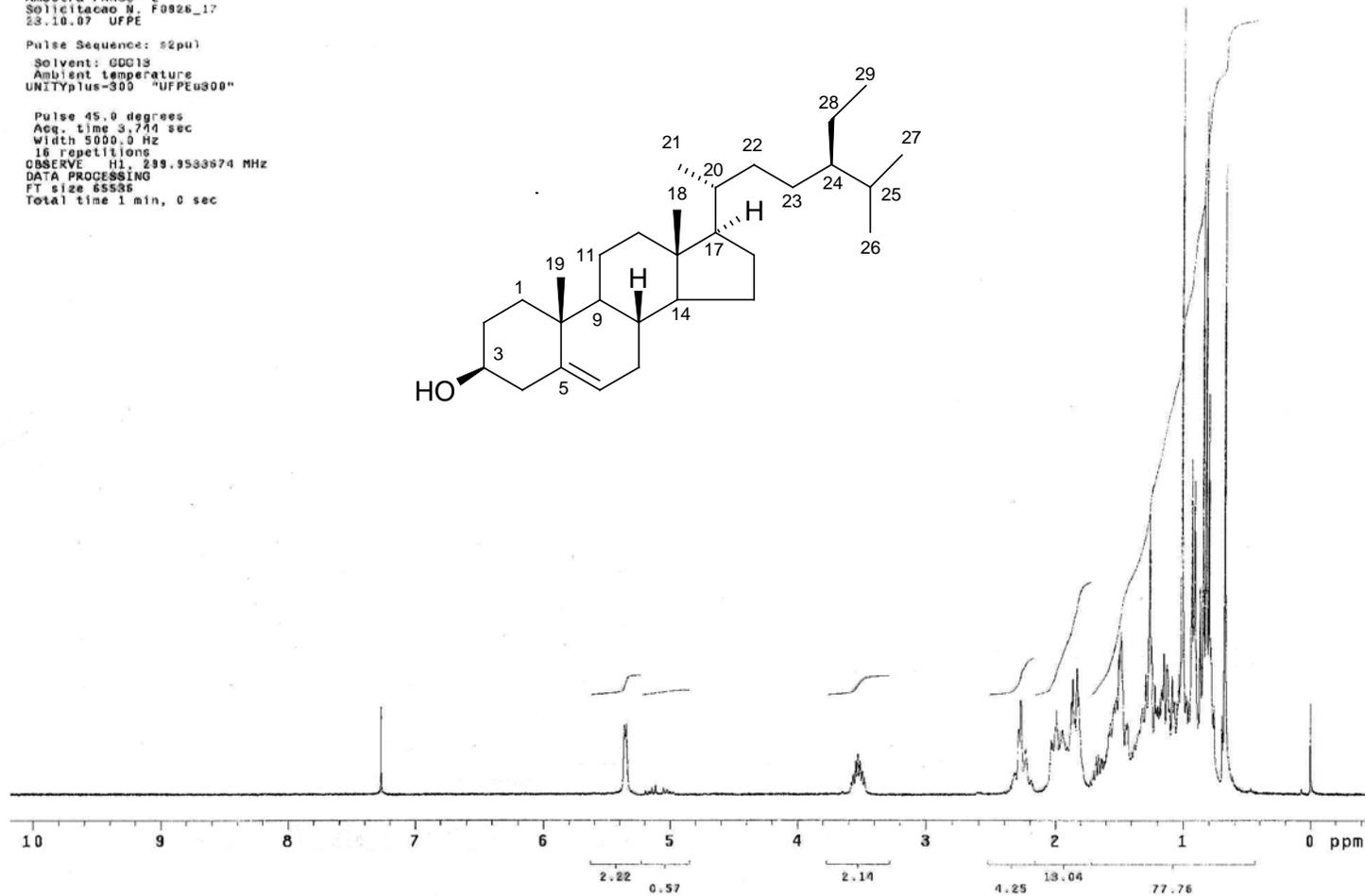
Andrea
Amostra PMOC*-2
Solicitacao N. F0926_17
28.10.07 UFPE

Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: CDCl3
Ambient temperature
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.744 sec
Width 5000.0 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1: 299.9533674 MHz
DATA PROCESSING
FT size 65536
Total time 1 min, 0 sec

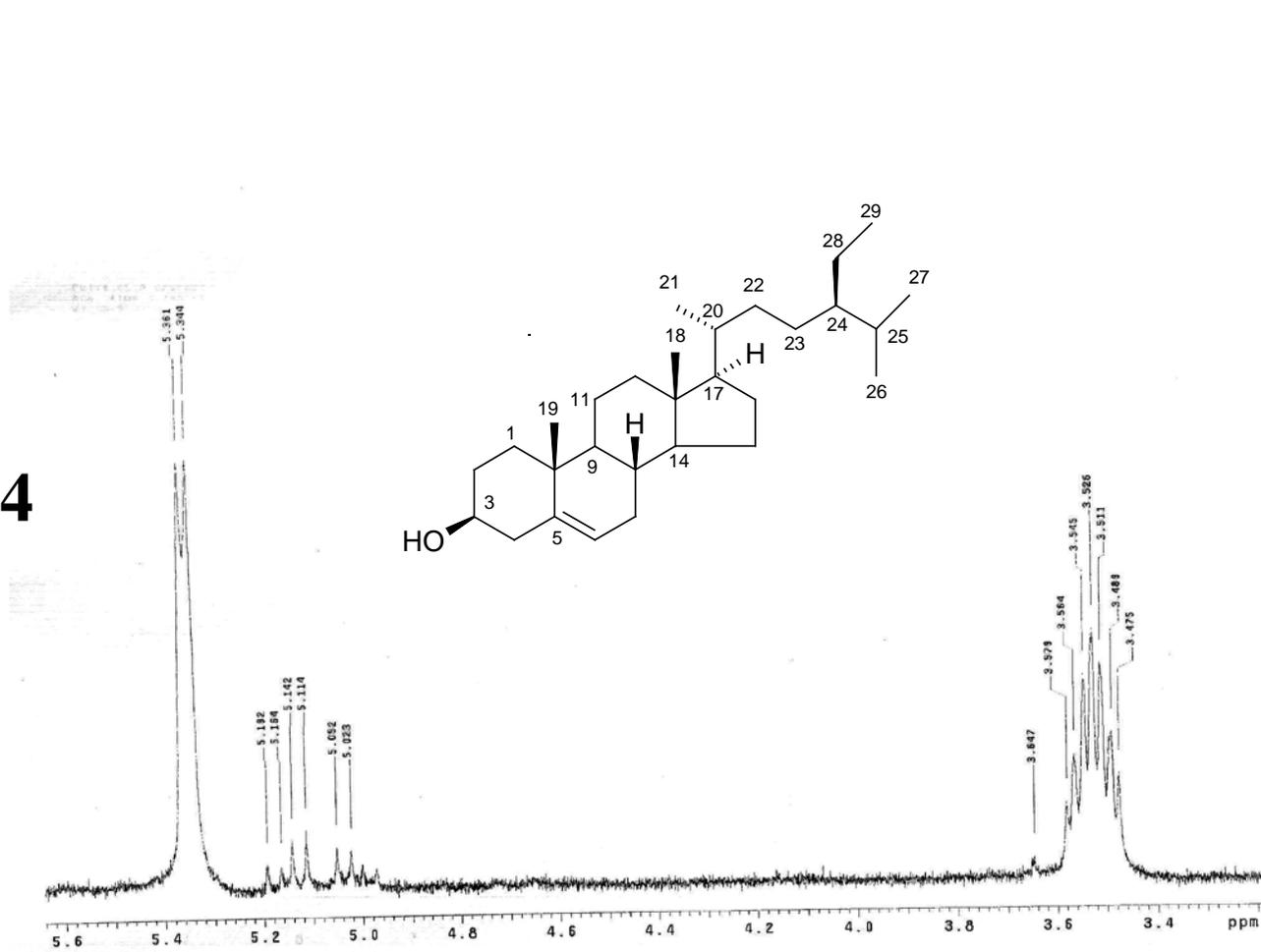


63



Espectro 63: Espectro de RMN de ^1H de **32** (300 MHz, clorofórmio- d_1)

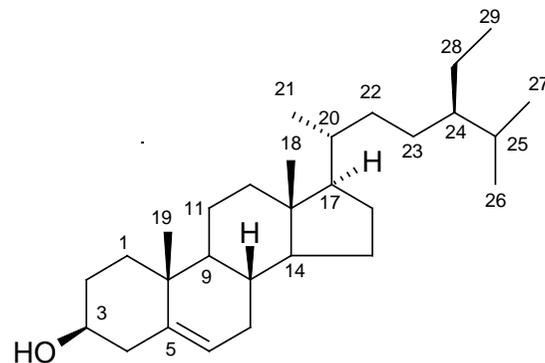
64



Espectro 64: Ampliação do espectro de RMN de ¹H de 32 (300 MHz, clorofórmio-*d*₁)

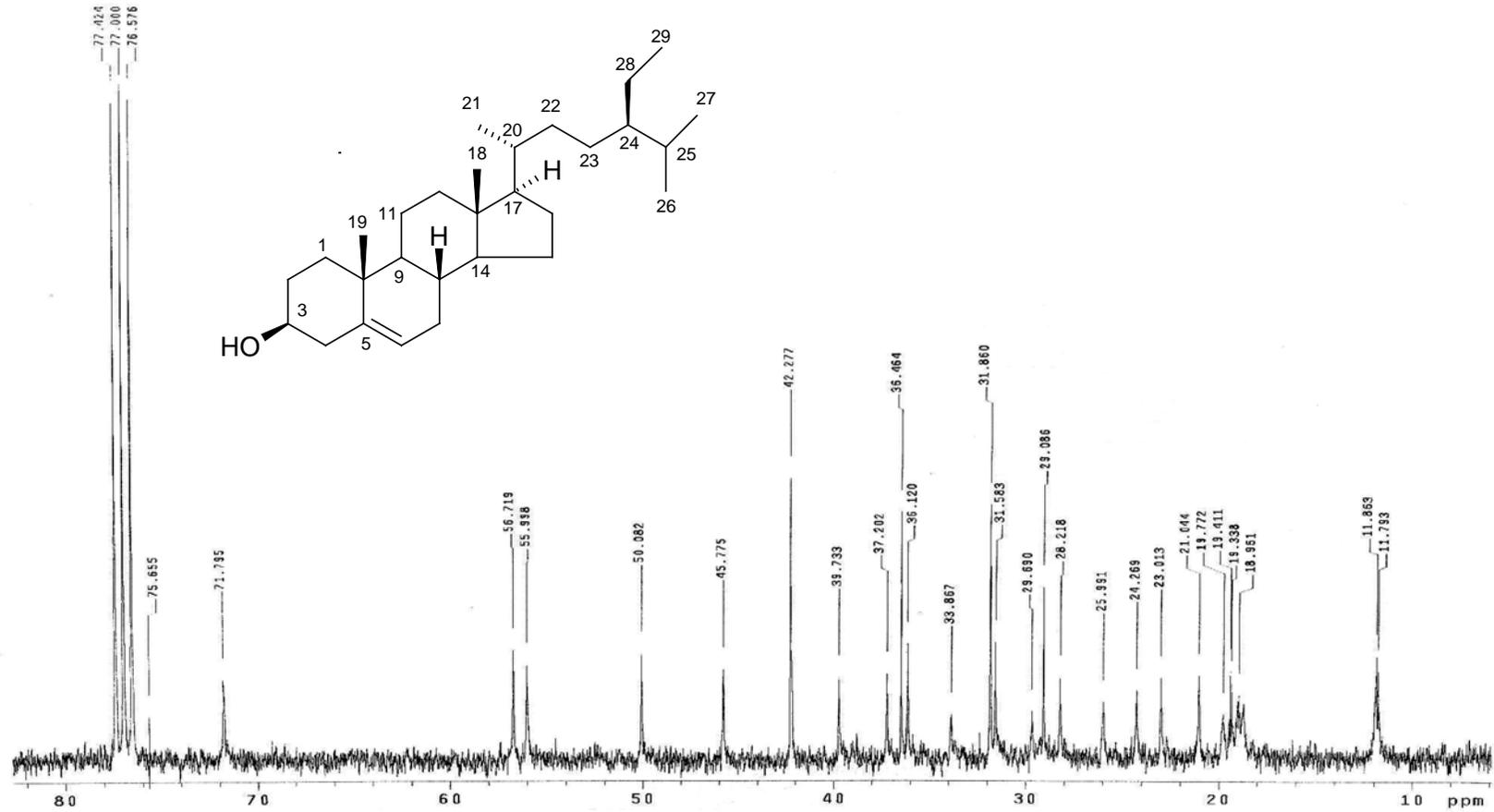
Andrea
Amostra PMMOG'-2
Solicitação N. F0926_17
22.10.07 UFPE
Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: CDCl3
Ambient temperature
UNITYplus-300 "UFPEus00"
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.000 sec
Width 18501.7 Hz
864 repetitions
OBSERVE C13, 75.4233364 MHz
DECOUPLE H1, 299.9548659 MHz
Power 37 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 131072
Total time 2 hr, 30 min, 32 sec

65



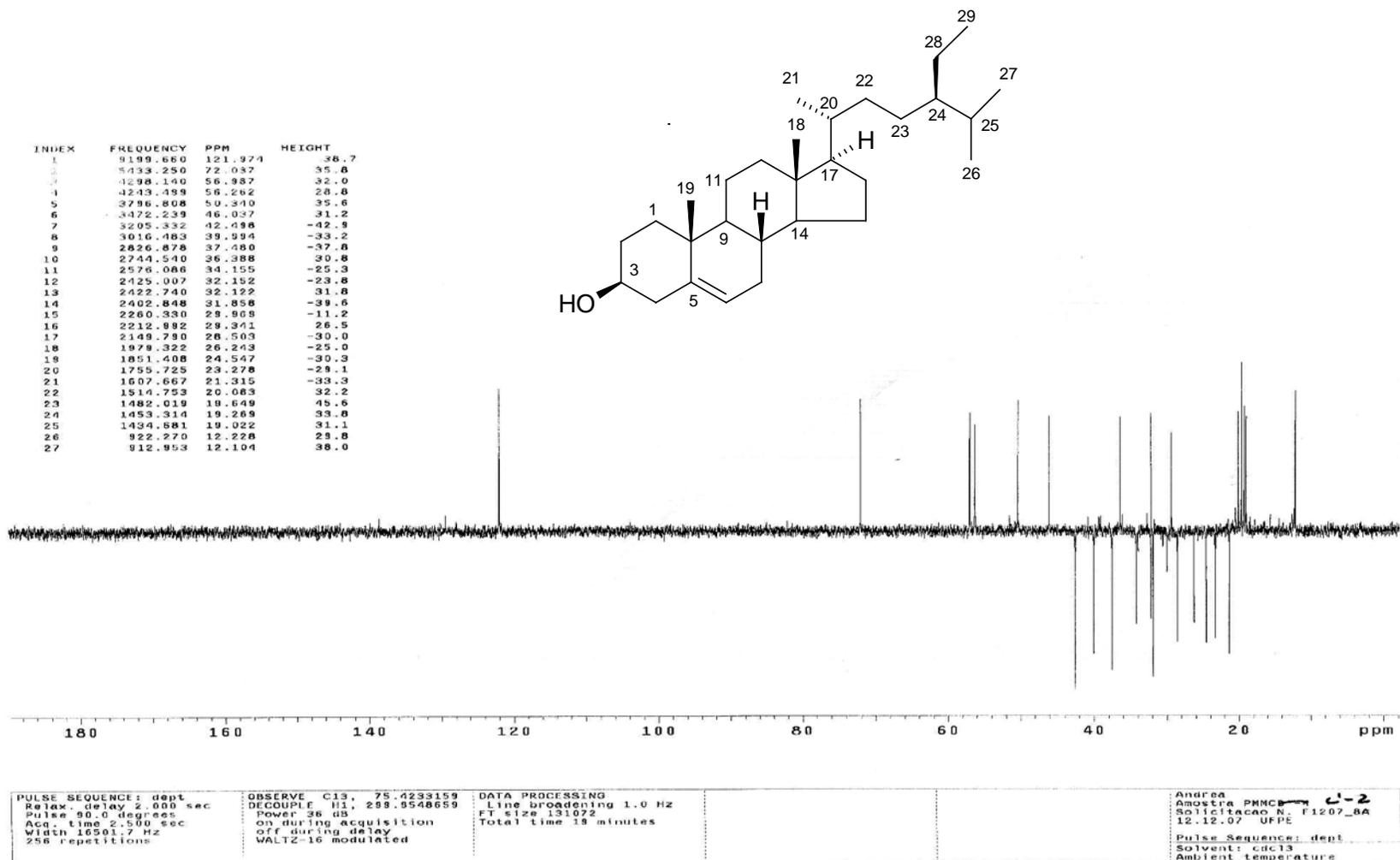
Espectro 65: Espectro de RMN de ^{13}C de **32** (75 MHz, clorofórmio- d_1)

66



Espectro 66: Ampliação do espectro de RMN de ¹³C de 32 (75 MHz, clorofórmio-*d*₁)

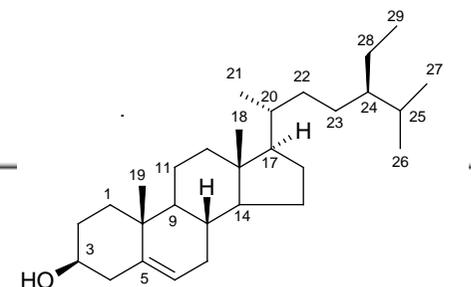
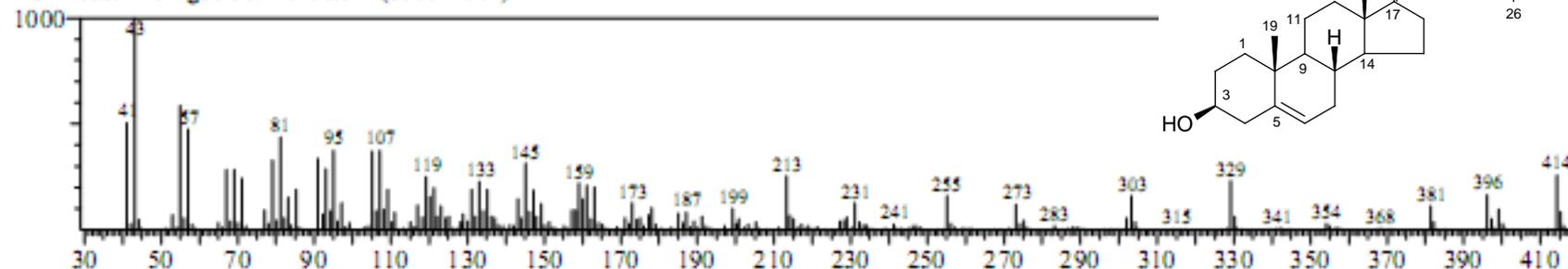
67



Espectro 67: Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C de **32** (75 MHz, clorofórmio- d_1)

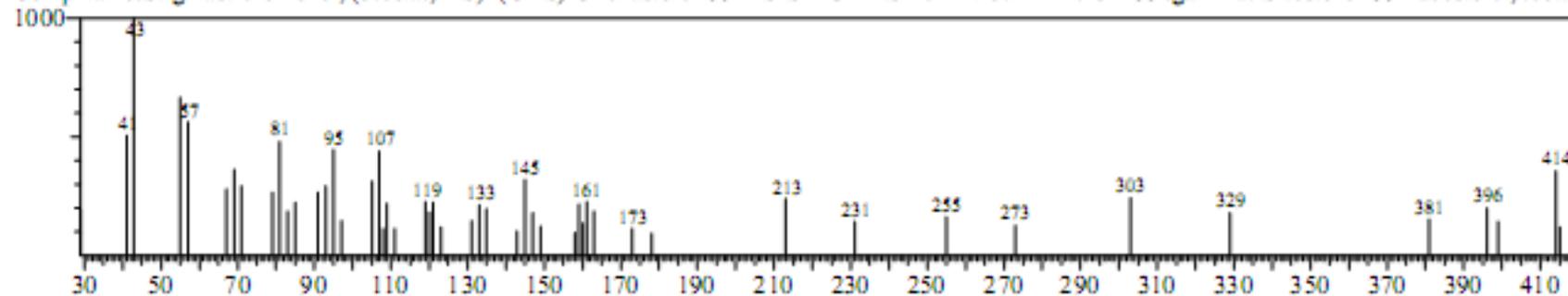
68

Spectrum1 #Data# 10316-32.QGD R.Time:36.917(Scan#:4071)
 MassPeaks:300
 RawMode:Averaged 36.892-37.442(4068-4134) BasePeak:43.05(1000)
 BG Mode:Averaged 36.117-36.342(3975-4002)



69

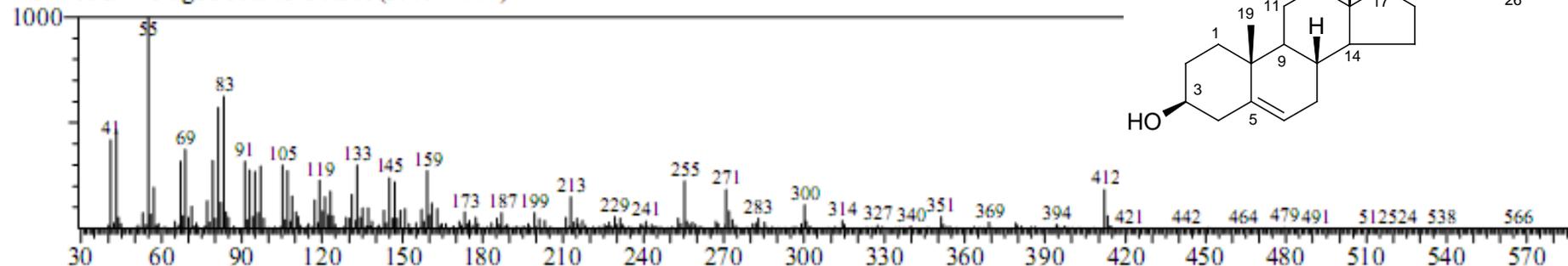
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:198557 Formula:C29 H50 O CAS:83-47-6 MolWeight:414 RetIndex:0
 MassPeaks:50 BasePeak:43.00(1000)
 CompName:Stigmast-5-en-3-ol, (3.β.,24S)- (CAS) Clionasterol SS 24S-STIGMAST-5-EN-3.BETA.-OL SS .γ.-Sitosterol SS Fucosterol, .β.



Espectros 68 e 69: Espectro de massas da substância **32** (68) e o espectro de massas do β-sitosterol da biblioteca WILEY (69)
 94% IS

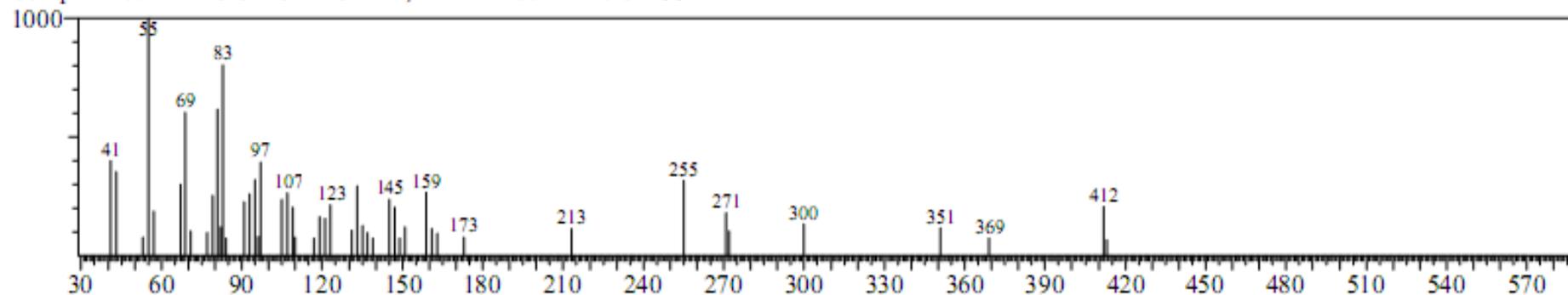
70

Spectrum1 #Data# 10316-32.QGD R.Time:35.108(Scan#:3854)
MassPeaks:319
RawMode:Averaged 34.908-35.550(3830-3907) BasePeak:55.00(1000)
BG Mode:Averaged 35.983-36.383(3959-4007)



71

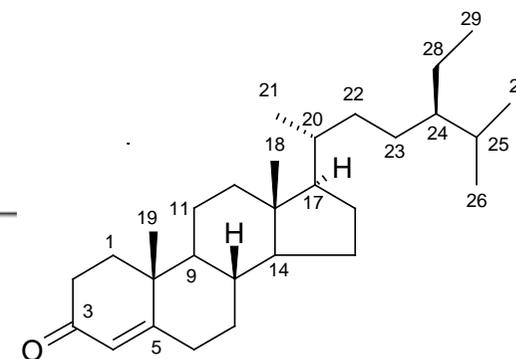
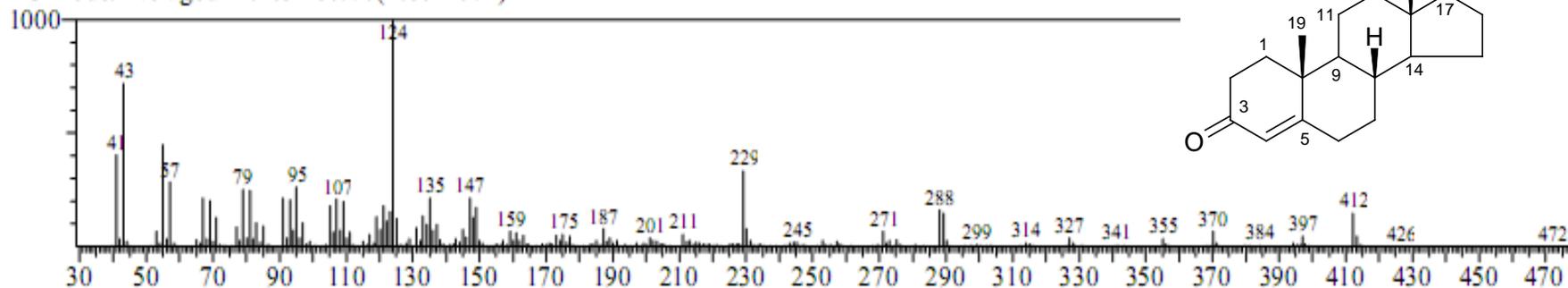
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:197736 Formula:C₂₉H₄₈O CAS:83-48-7 MolWeight:412 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:55.00(1000)
CompName:TRANS-STIGMASTA-5,22-DIEN-3.BETA.-OL SS



Espectros 70 e 71: Espectro de massas da substância **33** (70) e o espectro de massas do estigmasterol da biblioteca WILEY (71)
93% IS

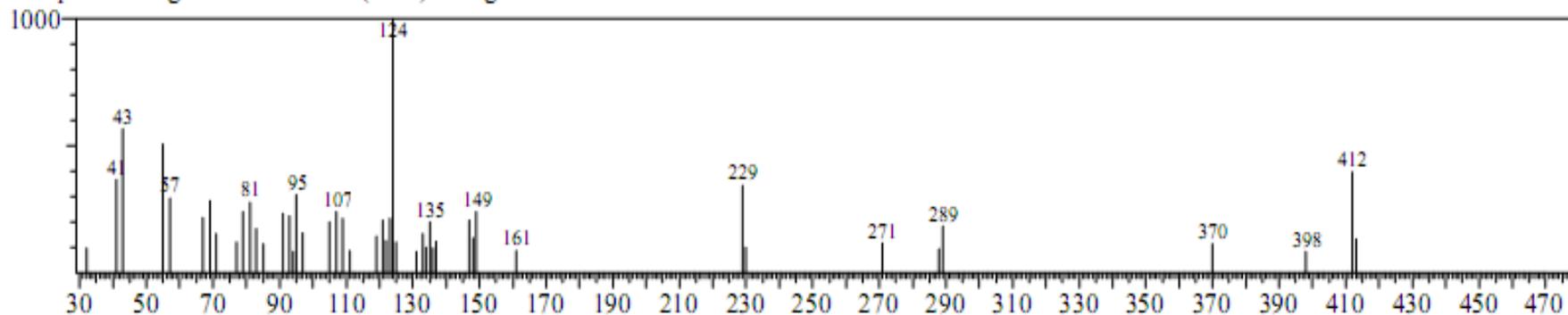
72

Spectrum1 #Data# I0316-32.QGD R.Time:41.492(Scan#:4620)
 MassPeaks:298
 RawMode:Averaged 41.250-41.683(4591-4643) BasePeak:124.10(1000)
 BG Mode:Averaged 42.483-43.008(4739-4802)



73

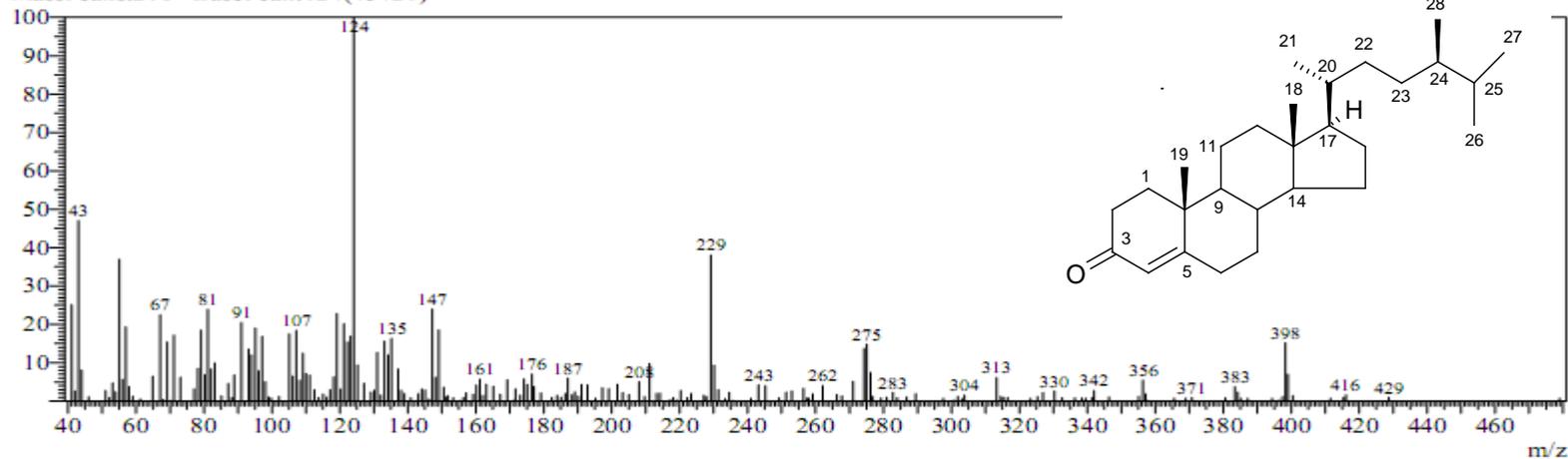
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:197743 Formula:C₂₉H₄₈O CAS:1058-61-3 MolWeight:412 RetIndex:0
 MassPeaks:50 BasePeak:124.00(1000)
 CompName:Stigmast-4-en-3-one (CAS) 4-Stigmasten-3-one SS .DELTA.4-Sitosterol-3-one SS



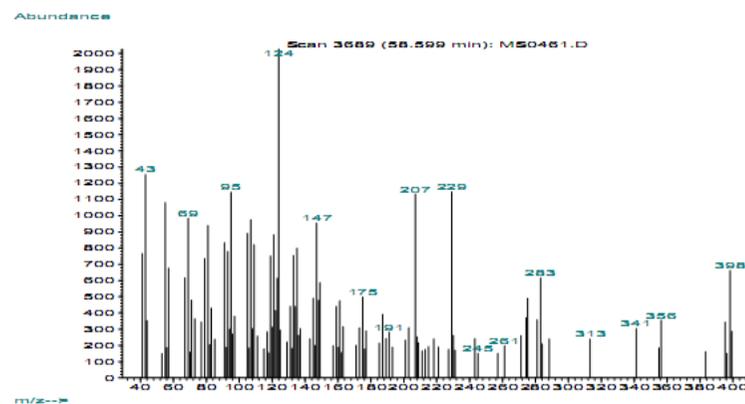
Espectros 72 e 73: Espectro de massas da substância 34 (72) e o espectro de massas do estigmast-4-en-3-ona da biblioteca WILEY (73) 92% IS

74

Peak#:26 R.Time:38.0(Scan#:4202)
MassPeaks:210 BasePeak:124(45421)



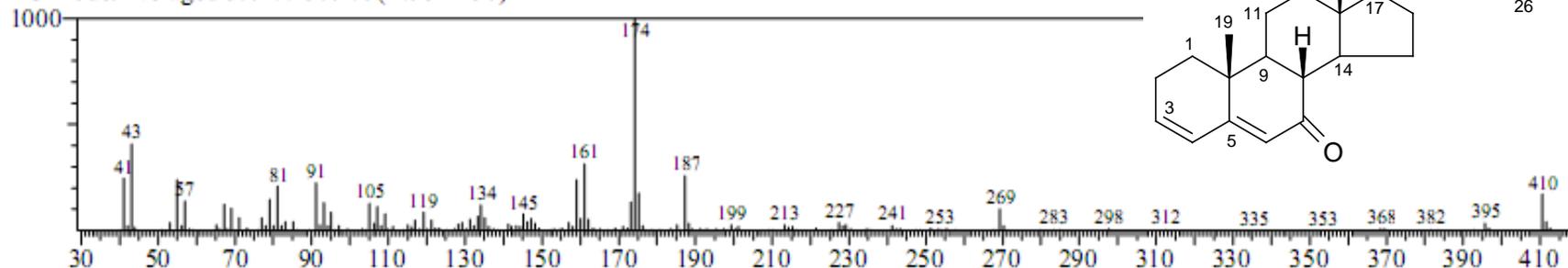
75



Espectros 74 e 75: Espectro de massas da substância **35** (74) e o espectro de massas do ergost-4-en-3-ona (75) citada na literatura [TEIXEIRA, 2003]

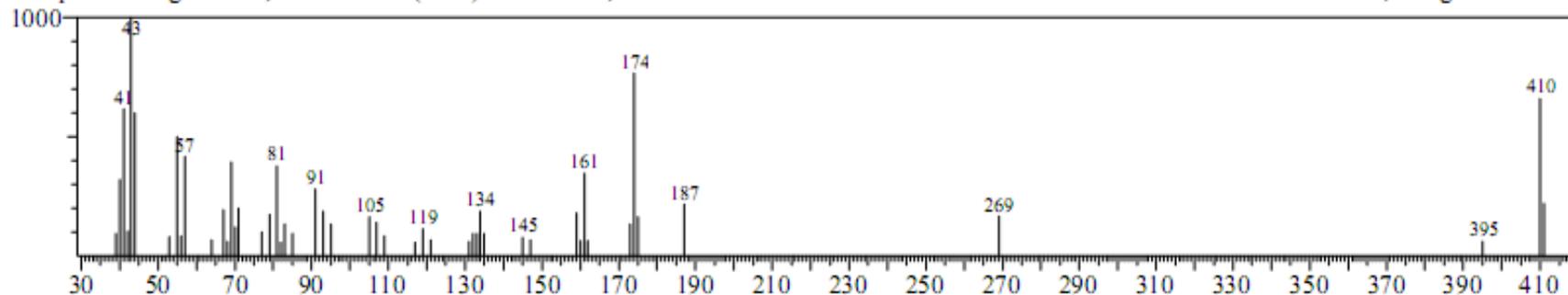
76

Spectrum1 #Data# H1123-37.qgd R.Time:39.892(Scan#:4428)
MassPeaks:224
RawMode:Averaged 39.700-40.042(4405-4446) BasePeak:174.20(1000)
BG Mode:Averaged 37.100-37.475(4093-4138)



77

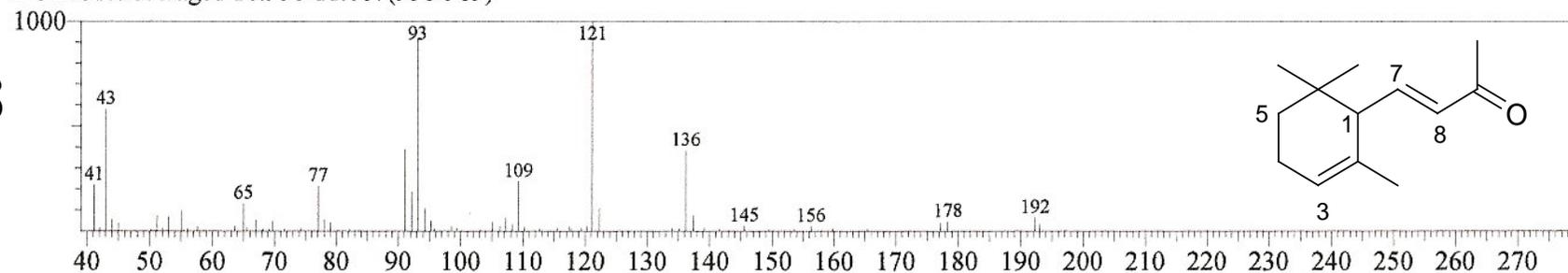
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:197141 Formula:C₂₉H₄₆O CAS:2034-72-2 MolWeight:410 RetIndex:0
MassPeaks:50 BasePeak:43.00(1000)
CompName:Stigmasta-3,5-dien-7-one (CAS) .DELTA.-3,5-SITOSTADIENE-7-ONE SS Tremulone SS .beta.-Saccharostenone SS 3,5-Stigmastadien-7-



Espectros 76 e 77: Espectro de massas da substância **36** (76) e o espectro de massas do estigmast-3,5-dien-7-ona da biblioteca WILEY (77) 91% IS

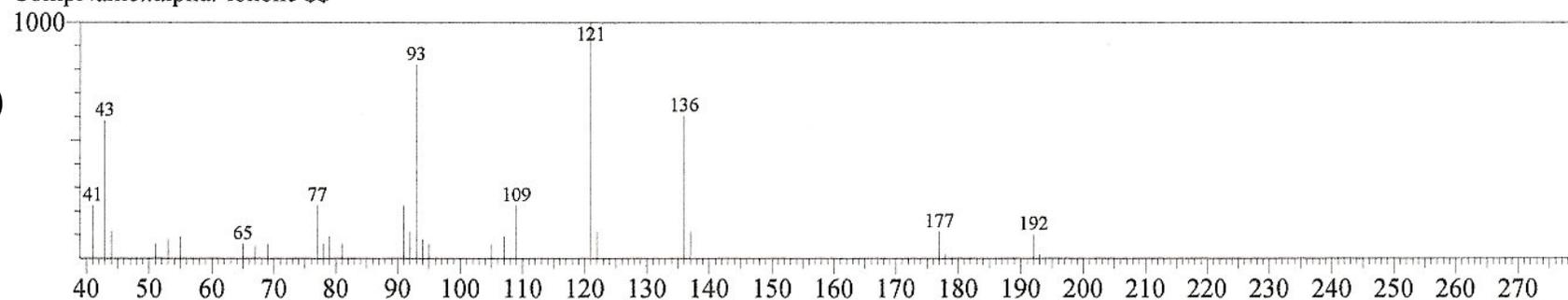
78

Spectrum1 #Data# H1123-26.qgd R.Time:10.842(Scan#:942)
MassPeaks:68
RawMode:Averaged 10.808-10.892(938-948) BasePeak:121.15(1000)
BG Mode:Averaged 10.958-11.067(956-969)



79

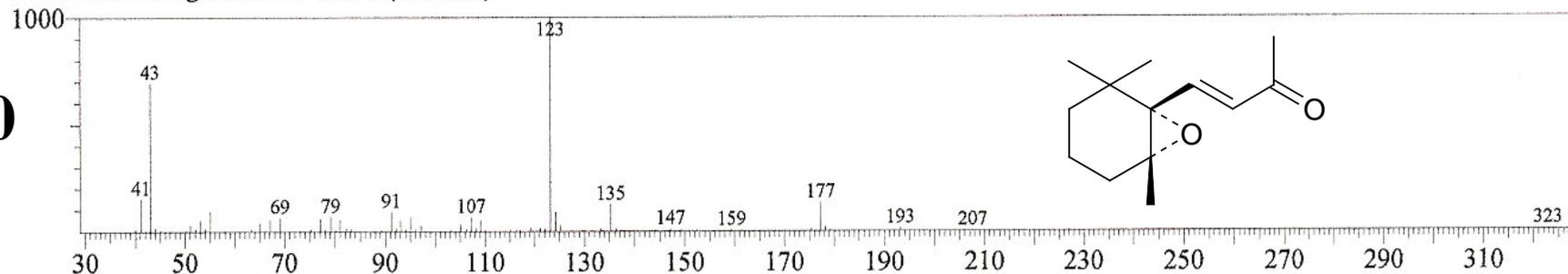
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:60545 Formula:C13 H20 O CAS:24190-29-2 MolWeight:192 RetIndex:0
MassPeaks:36 BasePeak:121.00(1000)
CompName:.alpha.-ionone \$\$



Espectros 78 e 79: Espectro de massas da substância **37** (78) e o espectro de massas do α -ionona da biblioteca WILEY (79)
90% IS

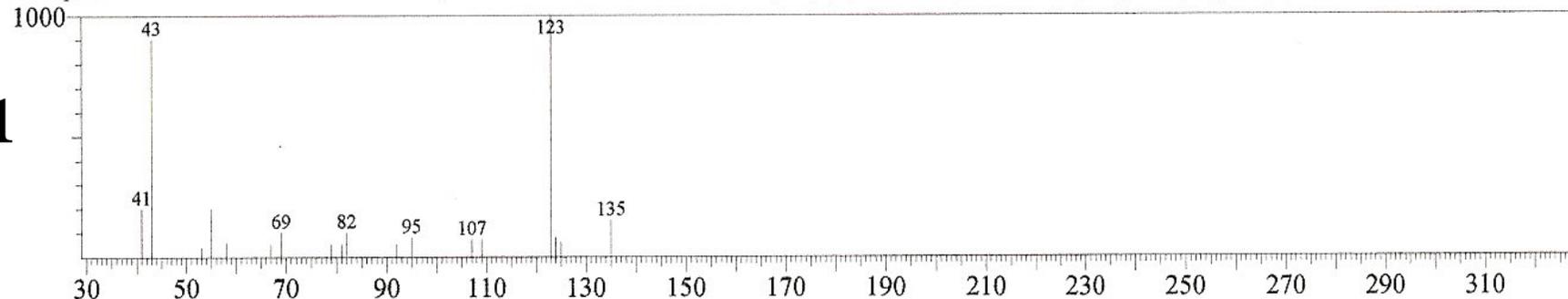
Spectrum1 #Data# H1123-26.qgd R.Time:11.625(Scan#:1036)
MassPeaks:87
RawMode:Averaged 11.583-11.667(1031-1041) BasePeak:123.20(1000)
BG Mode:Averaged 11.200-11.308(985-998)

80



Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:74458 Formula:C13 H20 O2 CAS:23267-57-4 MolWeight:208 RetIndex:0
MassPeaks:20 BasePeak:123.00(1000)
CompName:TRANS-.BETA.-IONON-5,6-EPOXIDE \$\$ 3-Buten-2-one, 4-(2,2,6-trimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]hept-1-yl)- (CAS) .beta.-Ionone epoxy

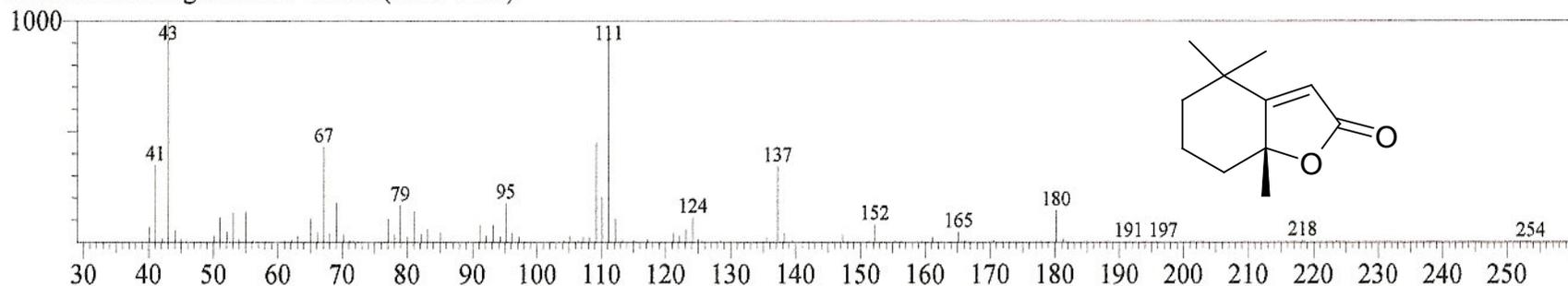
81



Espectros 80 e 81: Espectro de massas da substância **38** (80) e o espectro de massas do 5,6-epóxi- β -ionona da biblioteca WILEY (81) 90% IS

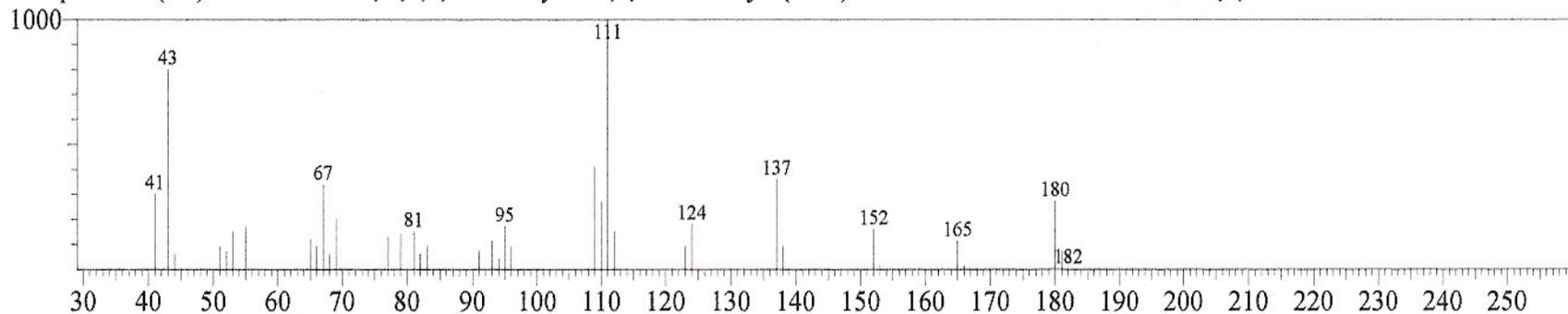
82

Spectrum1 #Data# H1123-26.qgd R.Time:12.275(Scan#:1114)
MassPeaks:99
RawMode:Averaged 12.217-12.333(1107-1121) BasePeak:43.05(1000)
BG Mode:Averaged 12.567-12.642(1149-1158)



83

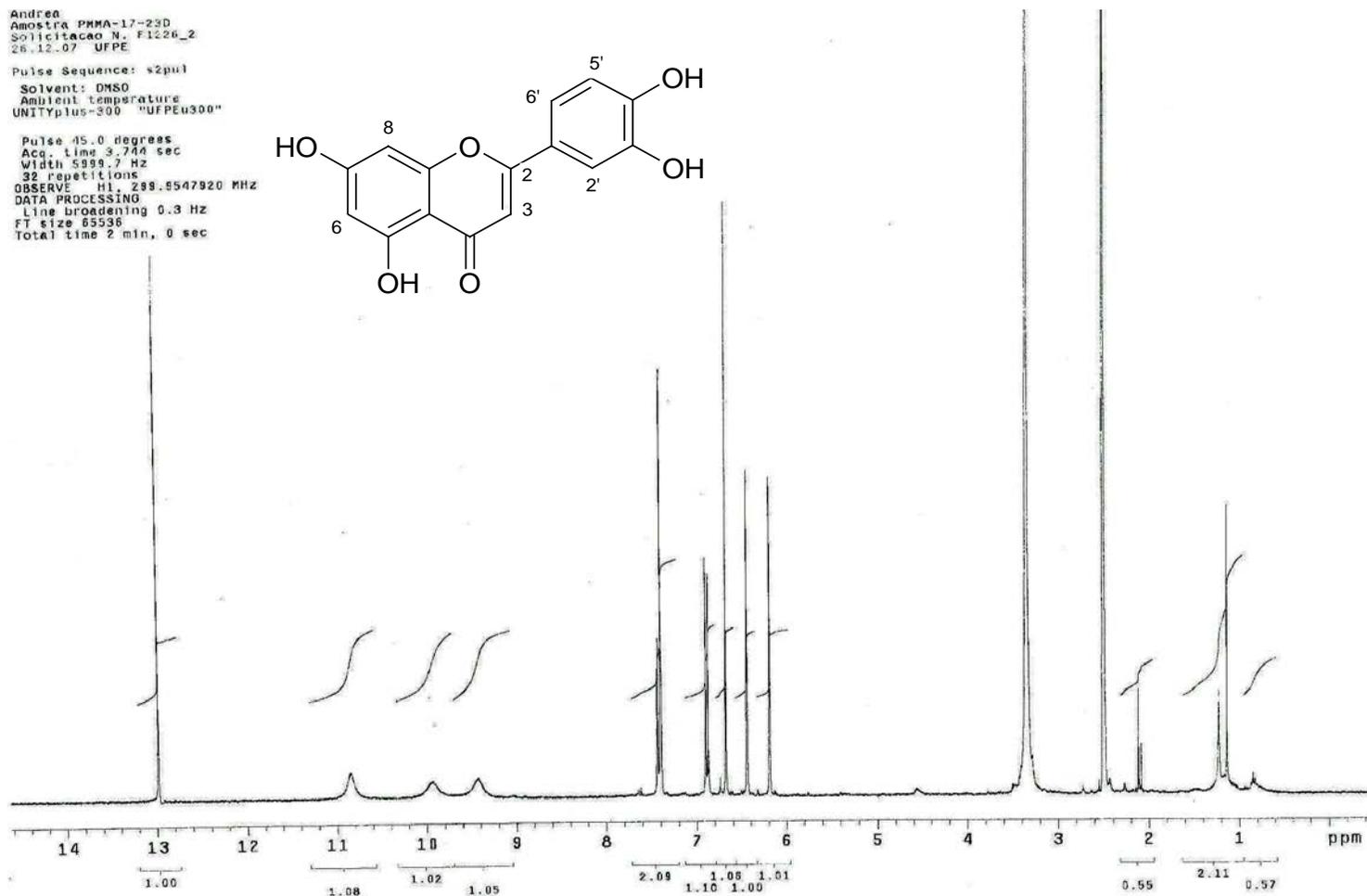
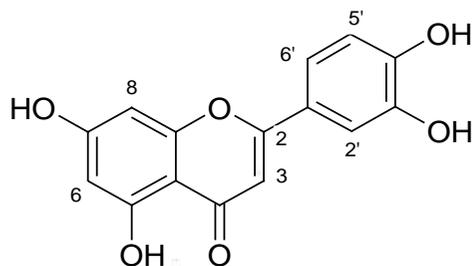
Spectrum2 #Library# WILEY229.LIB Entry:50836 Formula:C11 H16 O2 CAS:15356-74-8 MolWeight:180 RetIndex:0
MassPeaks:42 BasePeak:111.00(1000)
CompName:2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl- (CAS) DIHYDROACTINIDIOLIDE \$\$ 2,2,6-TRIMETHYL-7-OXA-8-KET



Espectros 82 e 83: Espectro de massas da substância **39** (82) e o espectro de massas do diidroactinidiolida da biblioteca WILEY (83) 90% IS

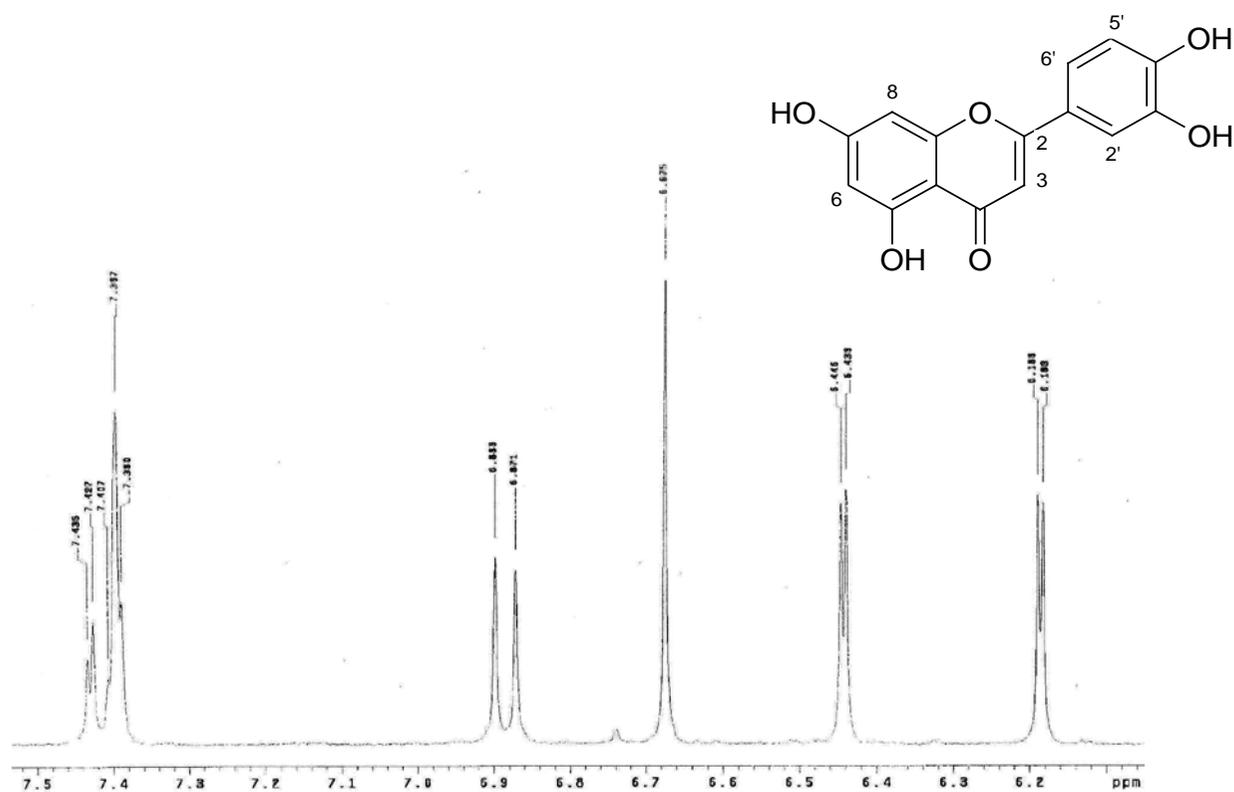
84

Andrea
Amostra PHMA-17-23D
Solicitacao N. F1226_2
26.12.07 UFPE
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: DMSO
Ambient temperature
UNITYplus-300 "UFPEu300"
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.744 sec
Width 5999.7 Hz
32 repetitions
OBSERVE H1, 299.5547920 MHz
DATA PROCESSING
Line broadening 0.3 Hz
FT size 65536
Total time 2 min, 0 sec



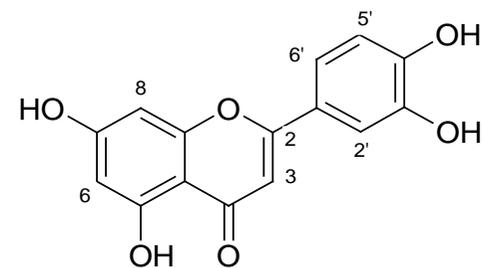
Espectro 84. Espectro de RMN de ¹H da substância **40** (300 MHz, DMSO-d₆)

85

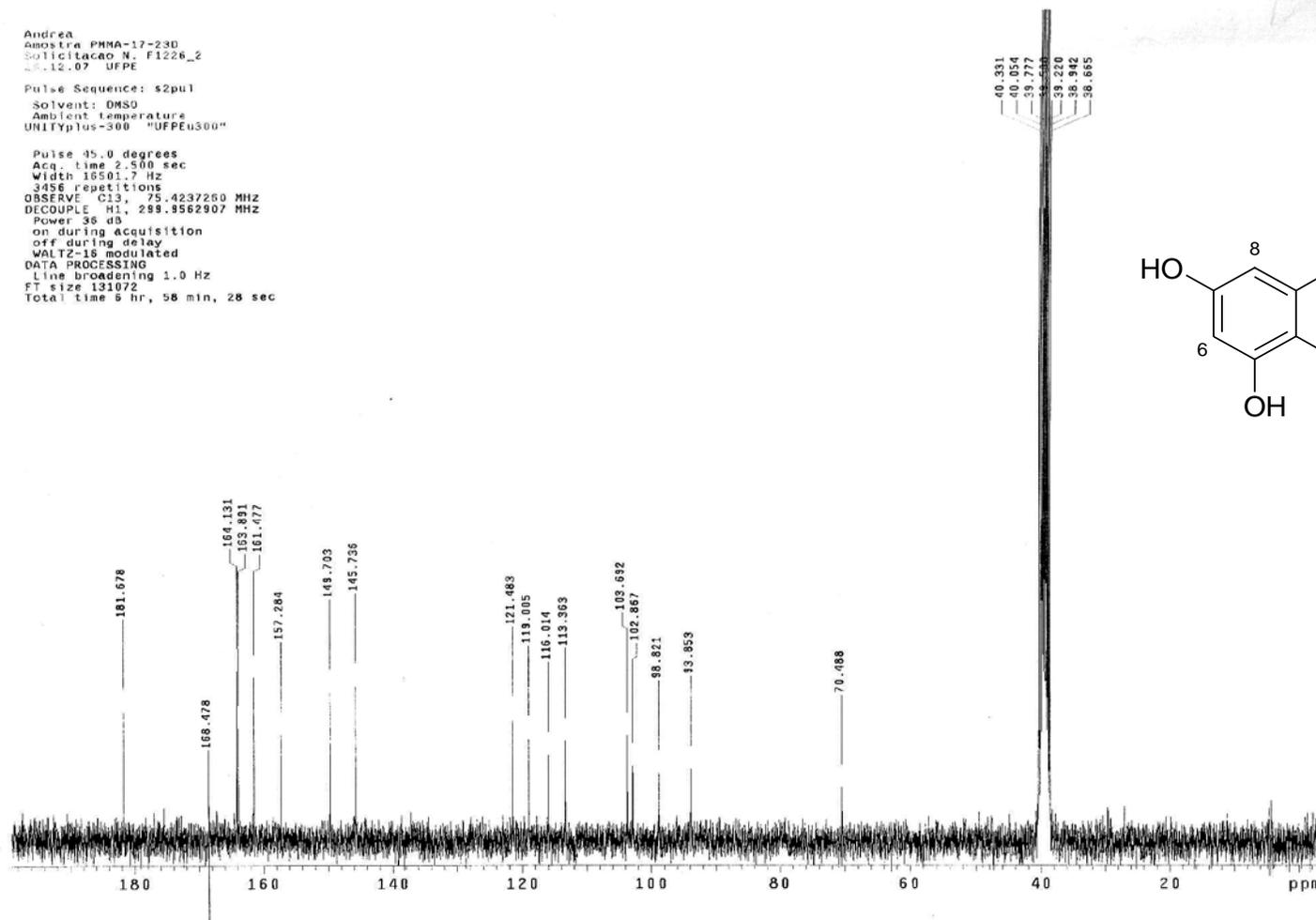


Espectro 85: Ampliação do espectro de RMN de ¹H da substância **40** (300 MHz, DMSO-d₆)

Andrea
 Amostra PHMA-17-230
 Sollicitacao N. F1226_2
 28.12.07 UFPE
 Pulse Sequence: s2pul
 Solvent: DMSO
 Ambient temperature
 UNIFYplus-300 "UFPEu300"
 Pulse 15.0 degrees
 Acq. time 2.500 sec
 Width 16501.7 Hz
 3456 repetitions
 OBSERVE C13, 75.4237260 MHz
 DECOUPLE H1, 299.8562907 MHz
 Power 36 dB
 on during acquisition
 off during delay
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 131072
 Total time 5 hr, 58 min, 28 sec

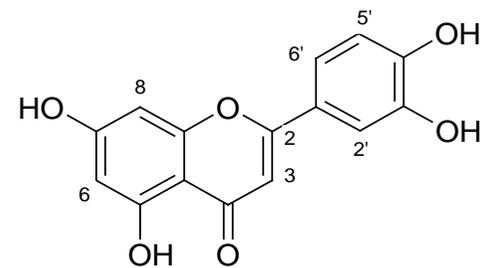


86

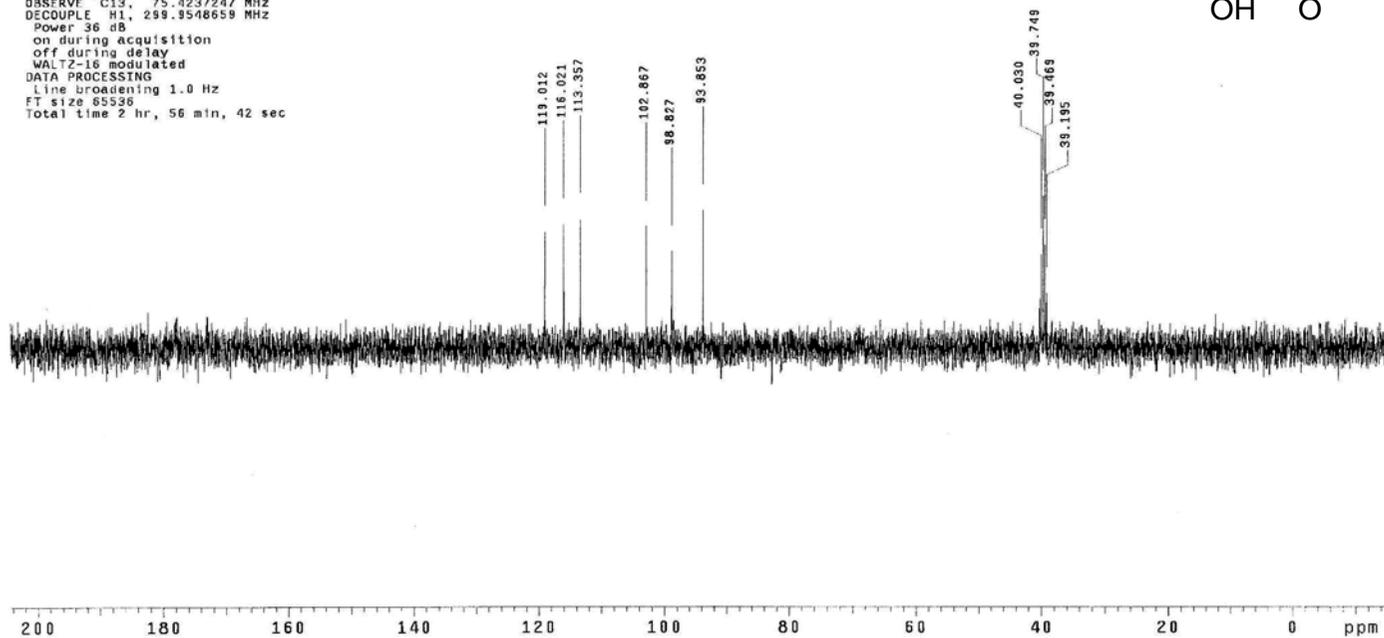


Espectro 86: Espectro de RMN de ^{13}C da substância **40** (75 MHz, DMSO- d_6)

Andrea
 Amostra PMNA-17-23D
 Solucao N. F1226_2
 03.01.03 UFPE
 Pulse Sequence: dept
 Solvent: cdc13
 Ambient temperature
 UNITYplus-300 "UFPEu300"
 Relax. delay 2.000 sec
 Pulse 90.0 degrees
 Acq. time 1.500 sec
 Width 16501.7 Hz
 2208 repetitions
 OBSERVE C13, 75.4237247 MHz
 DECOUPLE H1, 299.9548659 MHz
 Power 36 dB
 on during acquisition
 off during delay
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 85536
 Total time 2 hr, 56 min, 42 sec

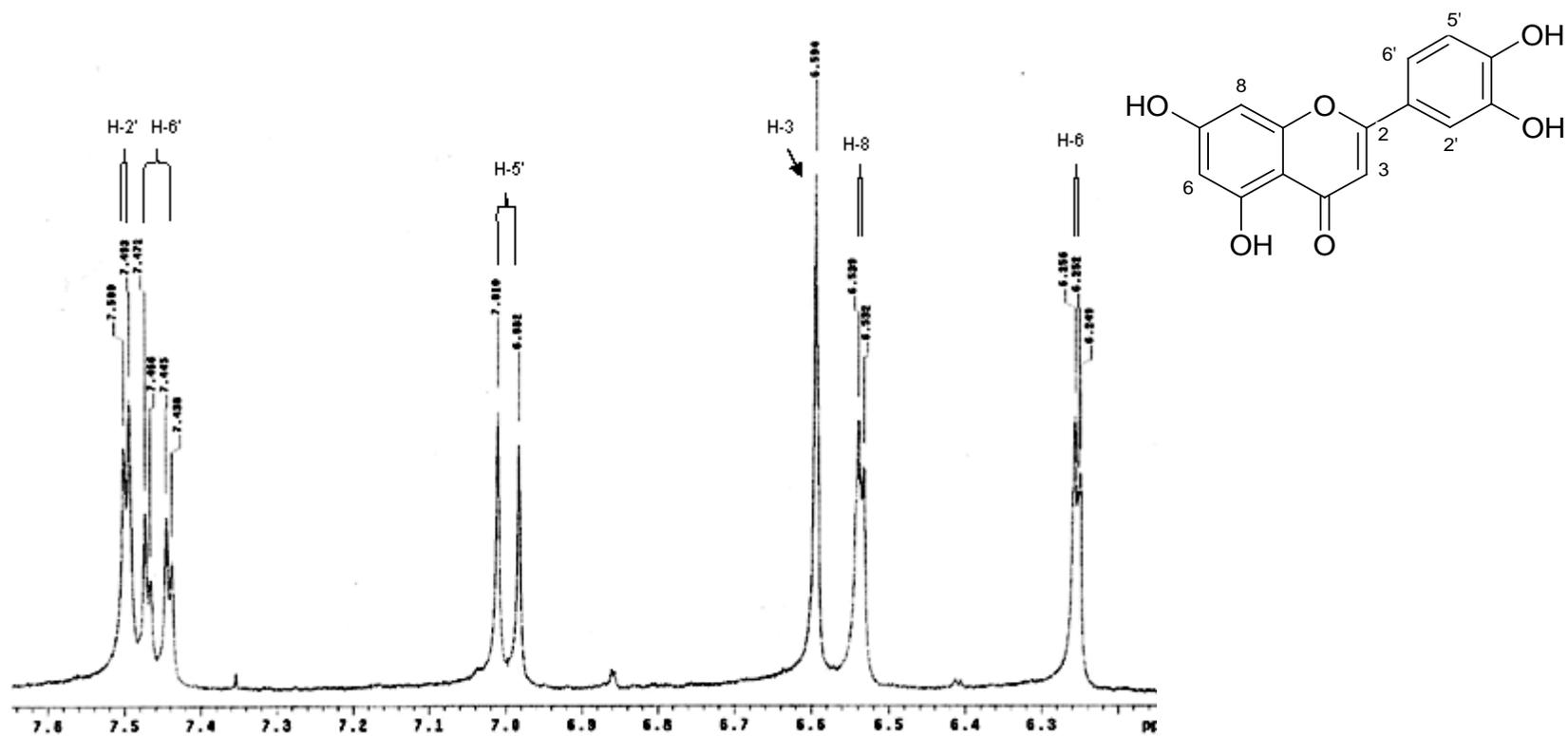


87



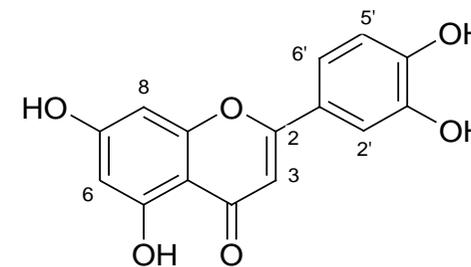
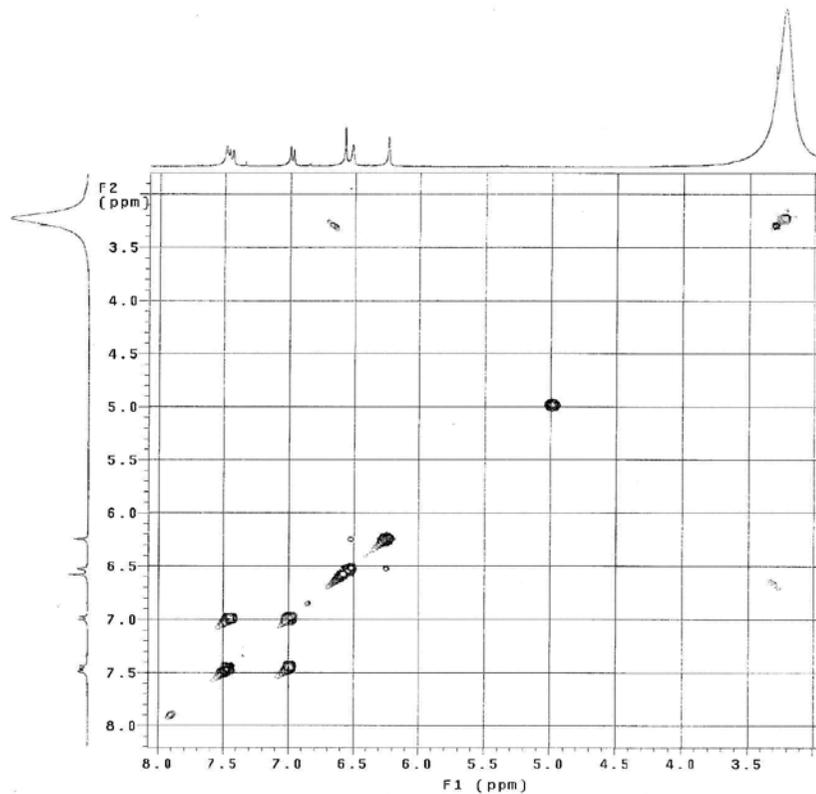
Espectro 87: Espectro DEPT 135° de **40** (75 MHz, DMSO- d_6)

88



Espectro 88: Espectro de RMN de ^1H de **40** (300 MHz, acetona- d_6)

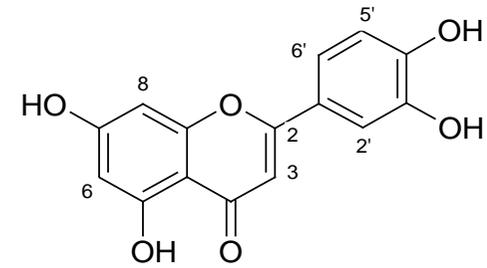
Andrea PMMAS4-17-23
 Sol: ilicaco N. F0809_21
 09.08.07 UFPE
 Pulse Sequence: gcosy
 Solvent: Acetone
 Ambient temperature
 UNITYplus-300 "UPPEu300"
 Relax. delay 1.000 sec
 Acq. Line 0.171 sec
 Width 5999.7 Hz
 2D Width 5999.7 Hz
 Single scan
 512 increments
 OBSERVE F1, 299.9549261 MHz
 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.085 sec
 F1 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.043 sec
 F1 size 2048 x 2048
 Total Line 10 min, 31 sec



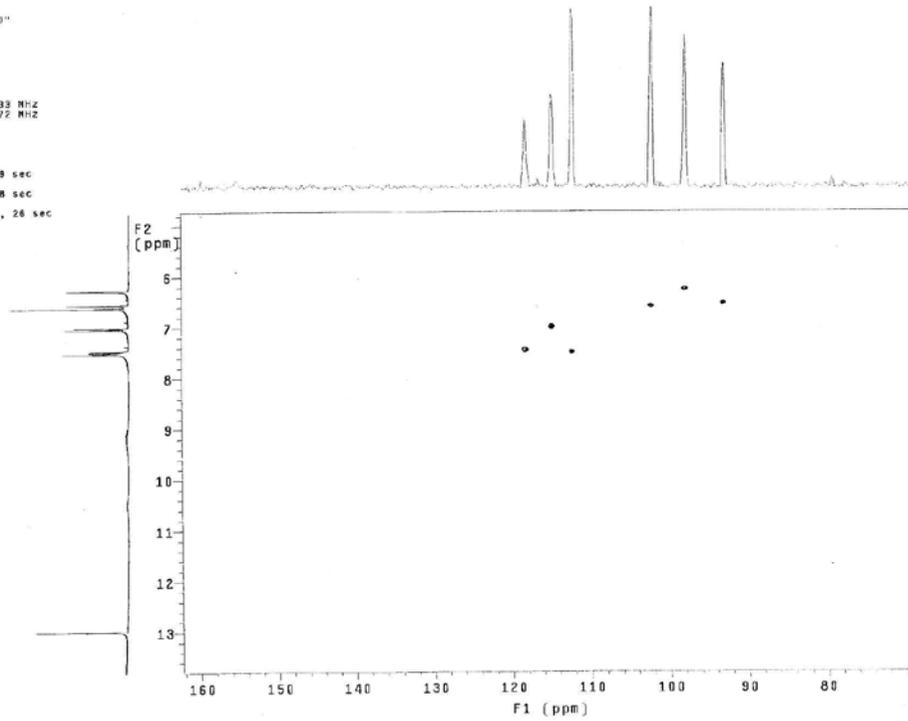
89

Espectro 89: Espectro ^1H - ^1H COSY de **40** (300 MHz, acetona- d_6)

Andrea
 Sollicitacao N. F0906_12
 20.12.07 UFPE
 Pulse Sequence: HMQC
 Solvent: Acetone
 Ambient temperature
 UNITYplus-300 "UFPcu300"
 Relax. delay 1.000 sec
 Acq. time 0.213 sec
 Width 4001.3 Hz
 2D Width 20501.7 Hz
 4 repetitions
 2 x 512 increments
 OBSERVE F1, 298.8548233 MHz
 DECOUPLE C13, 75.4912672 MHz
 Power 34.00
 on during acquisition
 off during delay
 GARP-1 modulated
 DATA PROCESSING
 Gauss apodization 0.089 sec
 F2 DATA PROCESSING
 Gauss apodization 0.018 sec
 FT size 2048 x 8192
 Total time 1 hr, 50 min, 26 sec

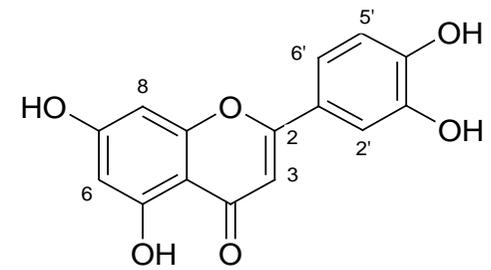
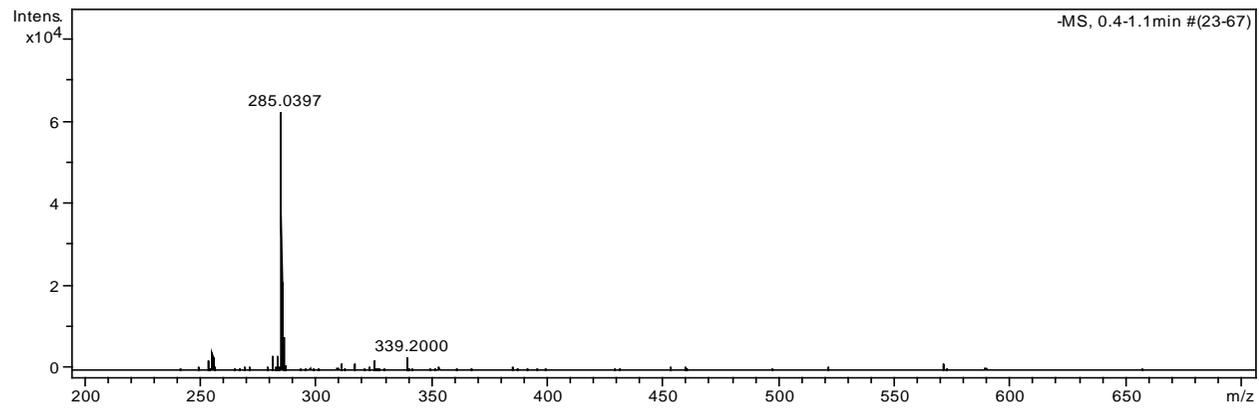


90

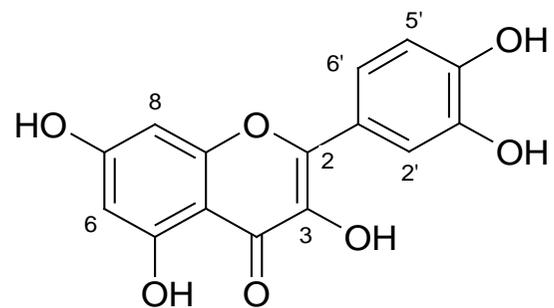


Espectro 90: Espectro HMQC da substância **40** (75 MHz, acetona-d₆)

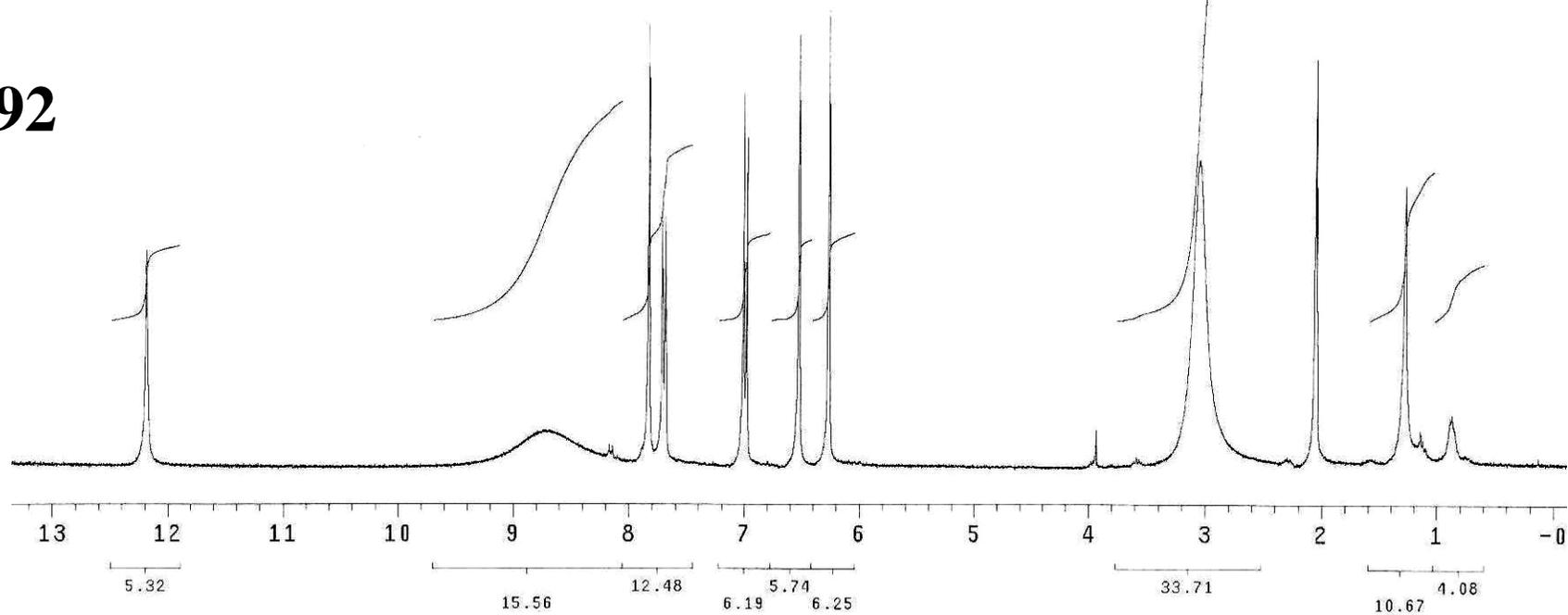
91



Espectro 91: Espectro de massas de **40** (negativo MICROTOF ESI-MS - alta resolução)

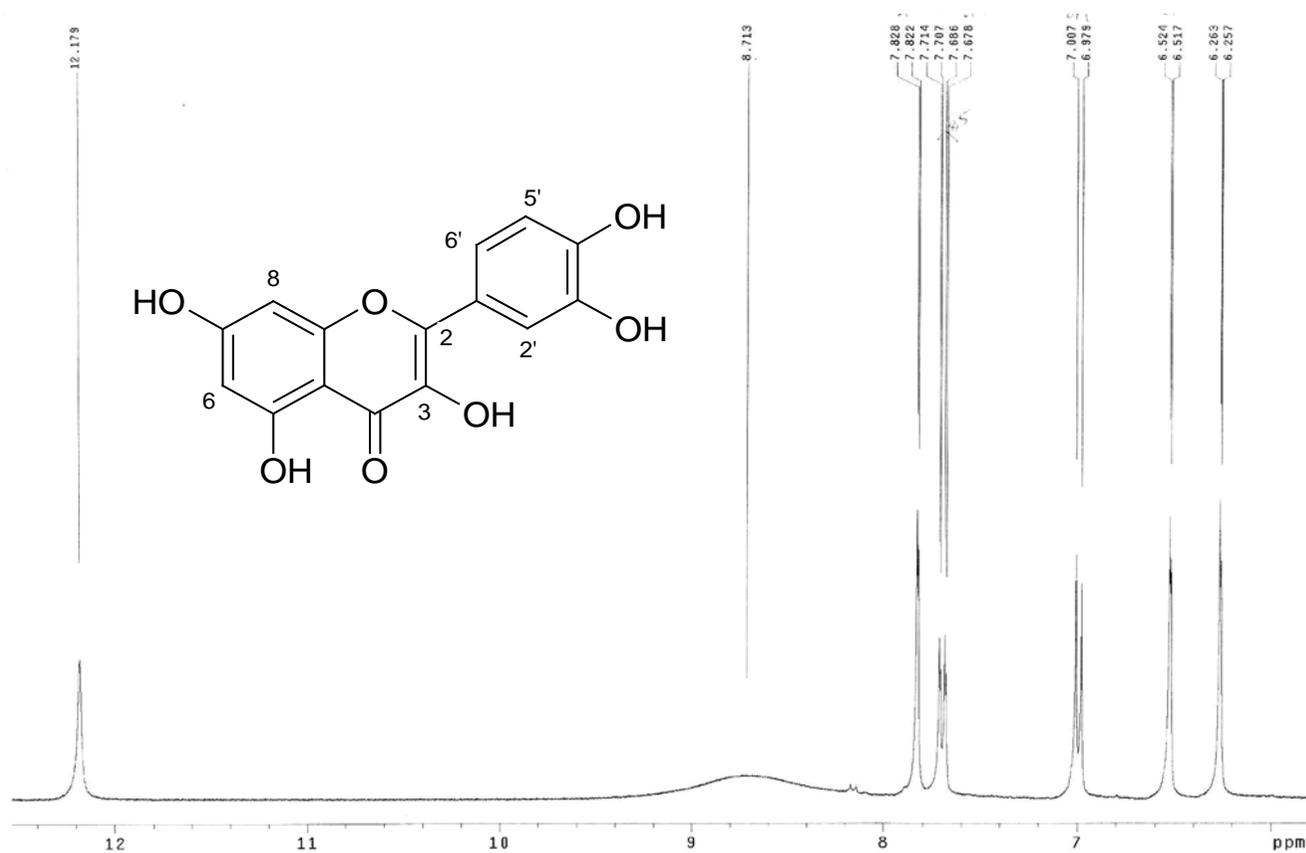


92



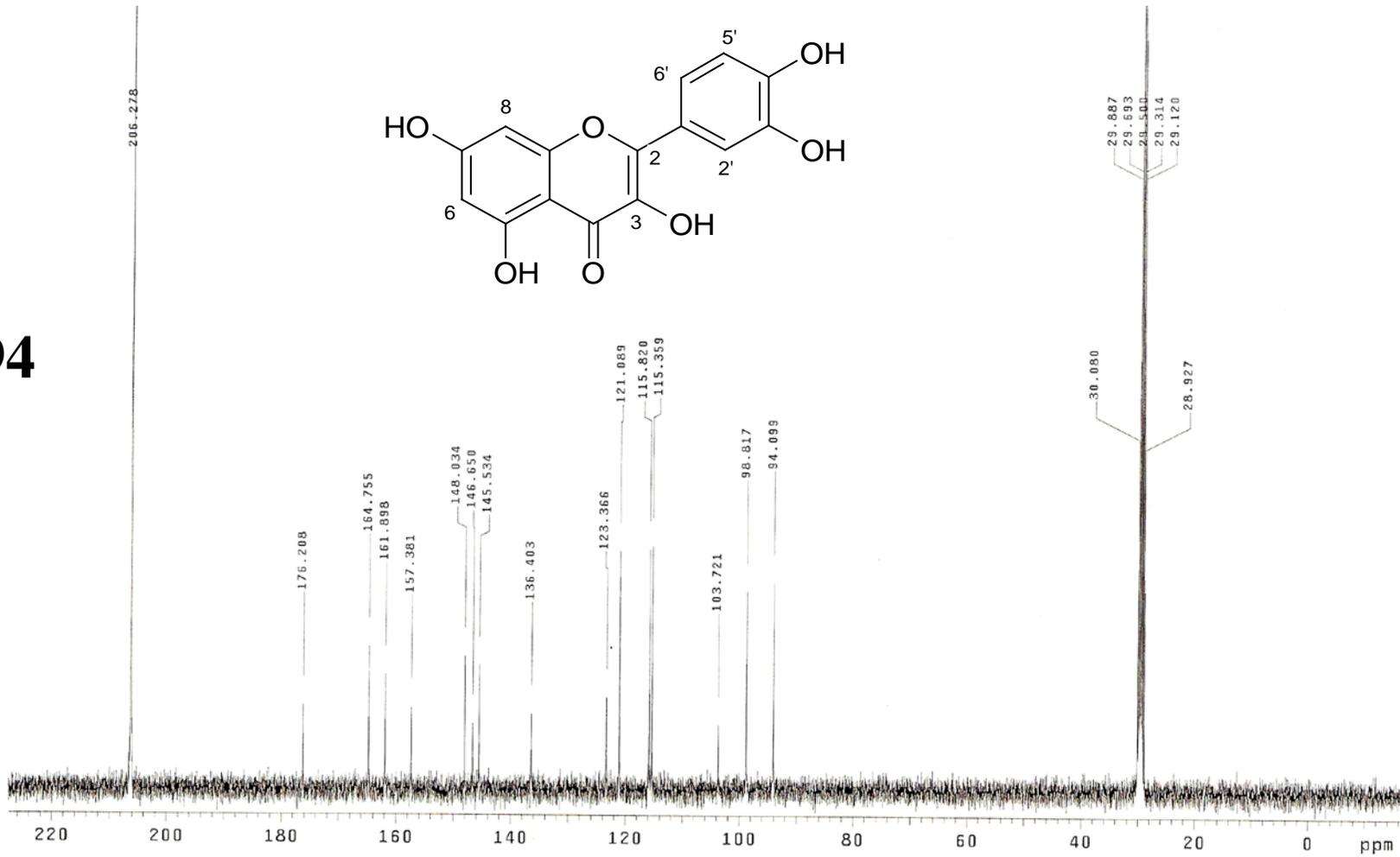
Espectro 92: Espectro de RMN de ^1H da substância **41** (300 MHz, acetona- d_6)

93



Espectro 93: Ampliação do espectro de RMN de ¹H da substância 41 (300 MHz, acetona-d₆)

94



Espectro 94: Espectro de RMN de ¹³C da substância 41 (100 MHz, acetona-d₆)

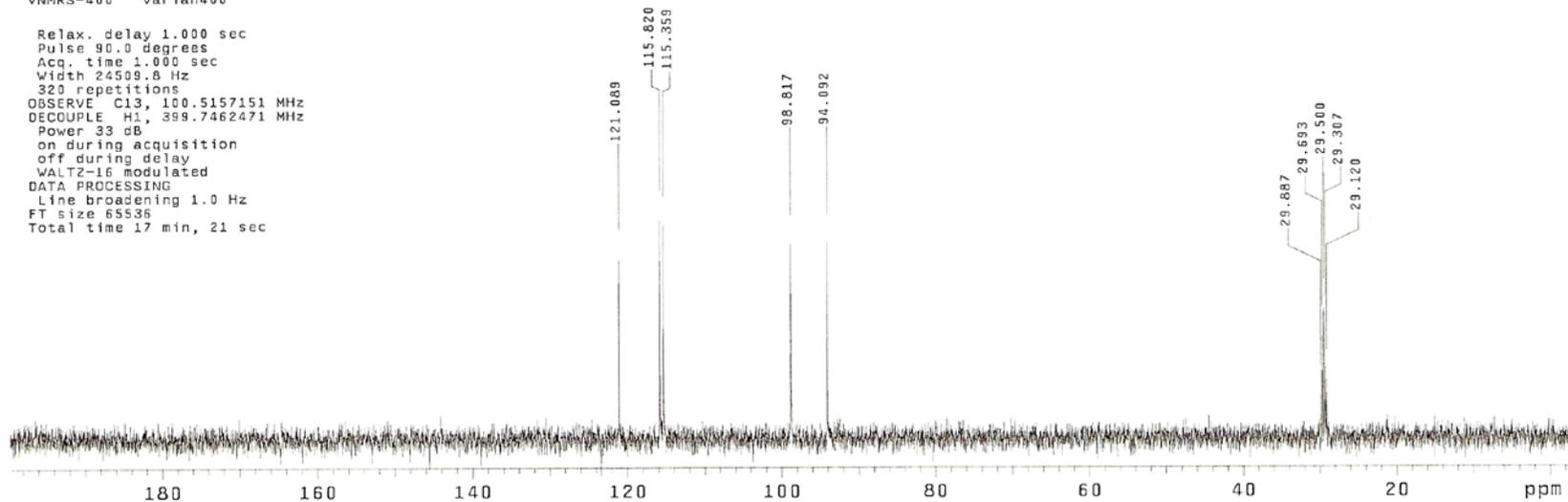
Andrea
Amostra QC
Solicitacao N. I0319_16
14.06.10 UFPE

File: exp

Pulse Sequence: DEPT

Solvent: acetone
Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: ricardo
VNMR5-400 "varian400"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Acq. time 1.000 sec
Width 24509.8 Hz
320 repetitions
OBSERVE C13, 100.5157151 MHz
DECOUPLE H1, 399.7462471 MHz
Power 33 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 17 min, 21 sec



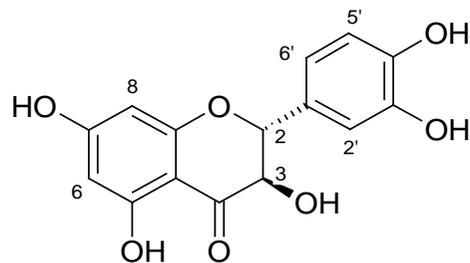
95

Espectro 95: Espectro DEPT 135° da substância **41** (100 MHz, acetona- d_6)

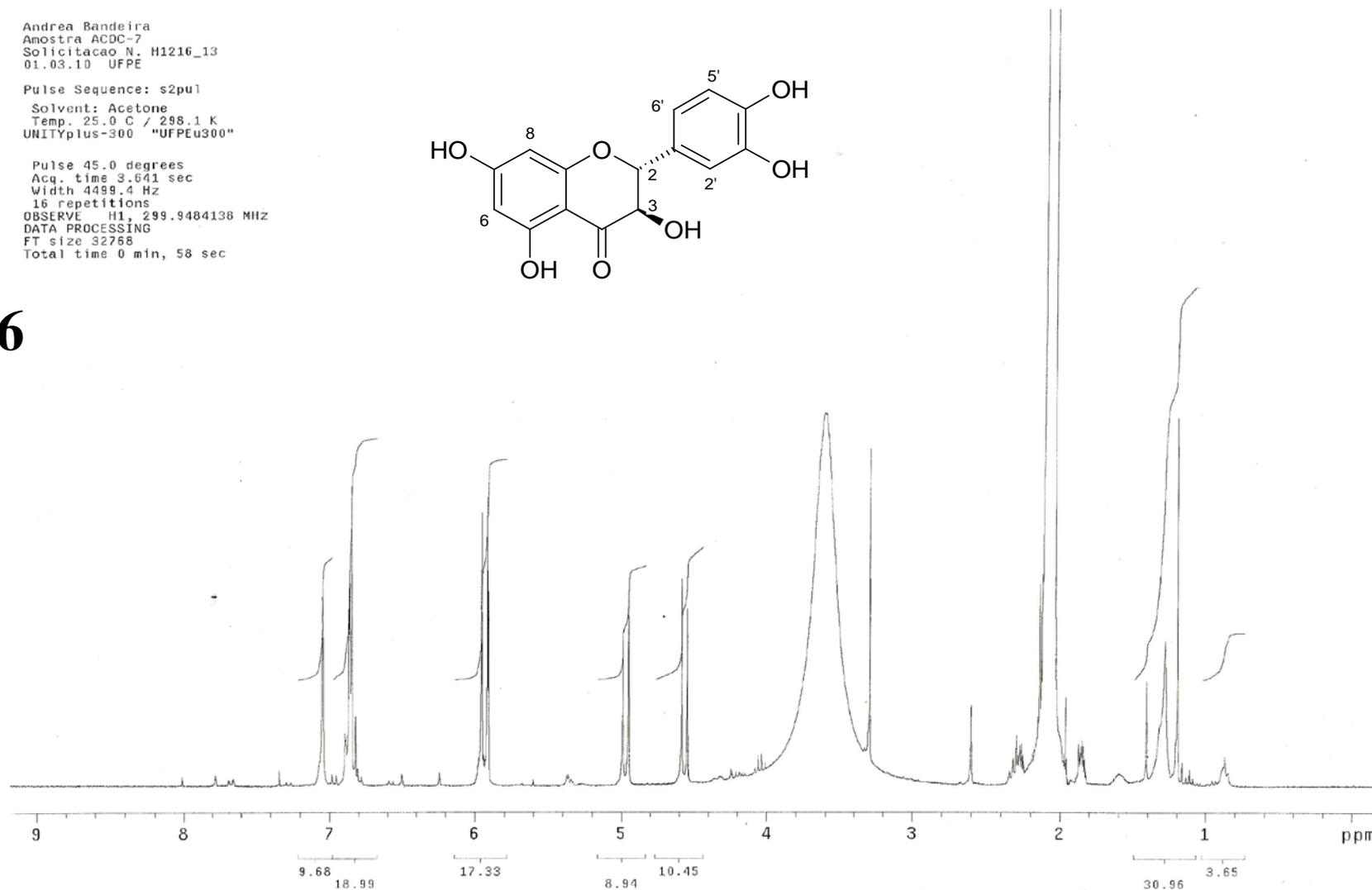
Andrea Bandeira
Amostra ACDC-7
Solicitacao N. H1216_13
01.03.10 UFPE

Pulse Sequence: s2pul
Solvent: Acetone
Temp. 25.0 C / 298.1 K
UNITYplus-300 "UFPEu300"

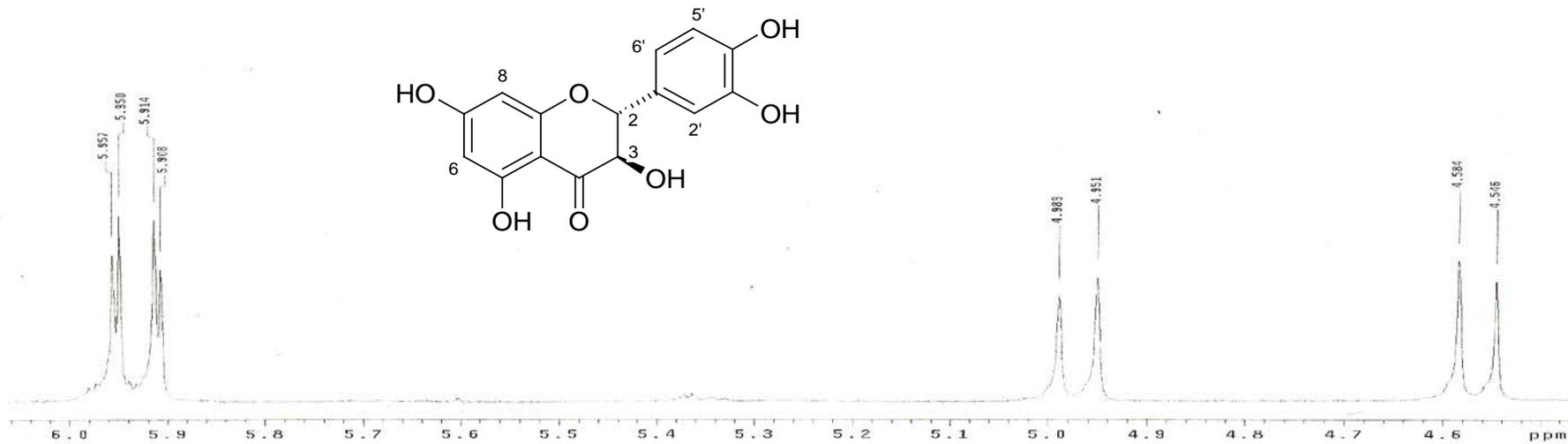
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.641 sec
Width 4499.4 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 299.9484138 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min, 58 sec



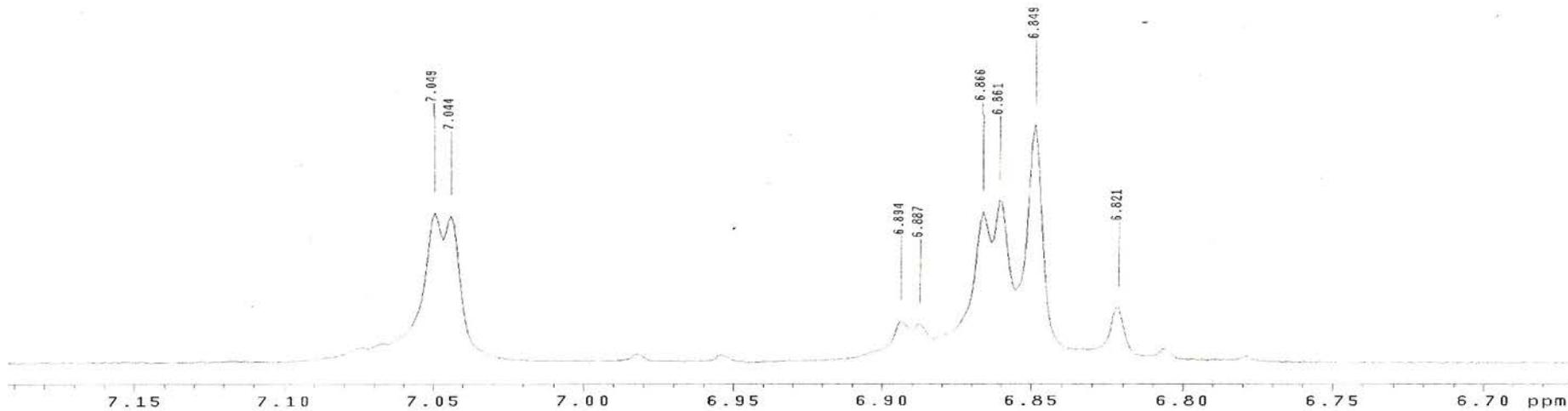
96



Espectro 96: Espectro de RMN de ¹H da substância 42 (300 MHz, acetona-d₆)



97

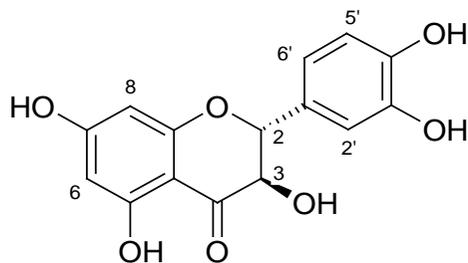


Espectro 97: Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **42** (300 MHz, $\text{acetone-}d_6$)

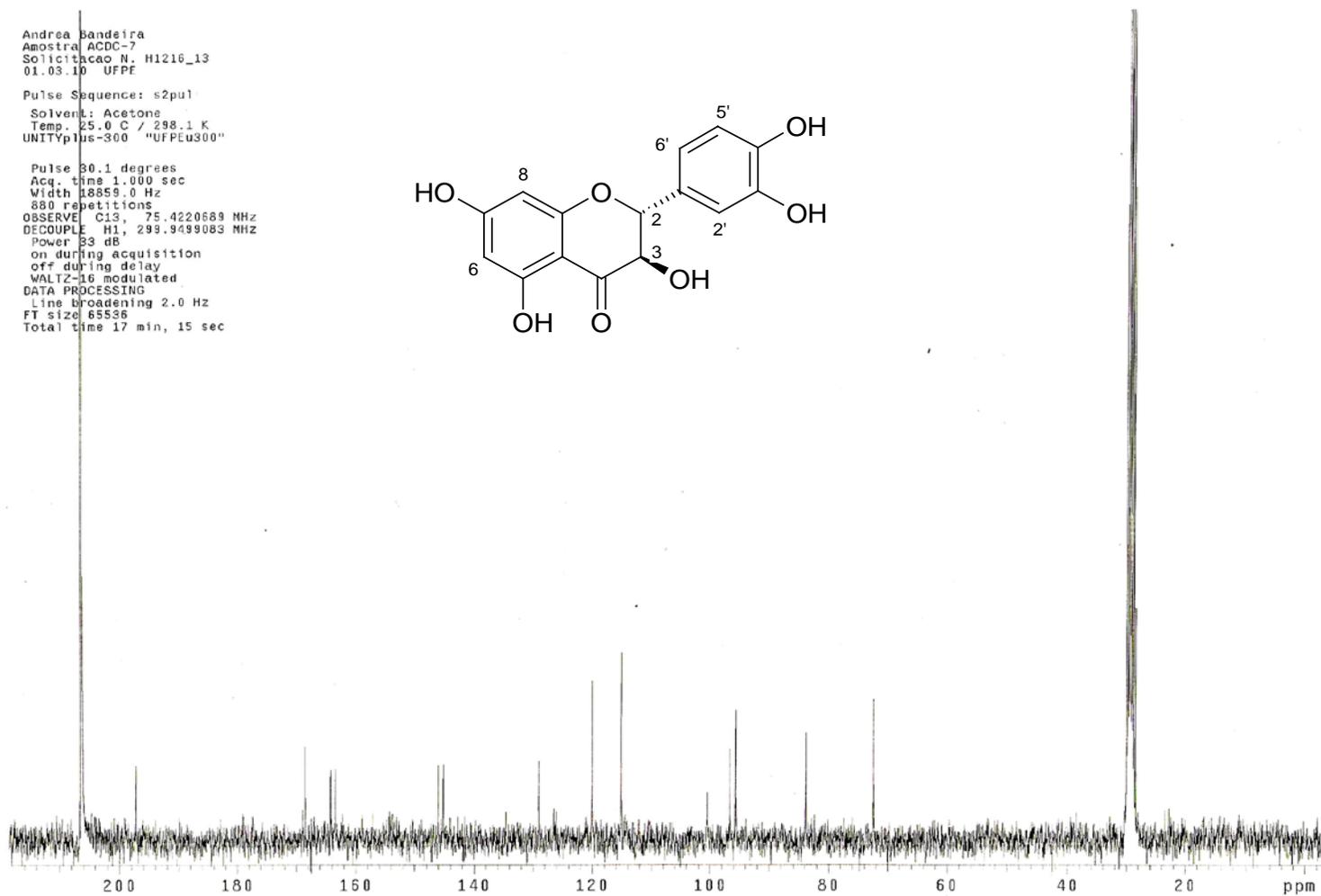
Andrea Bandeira
Amostra ACDC-7
Solicitacao N. H1216_13
01.03.10 UFPE

Pulse Sequence: s2pul
Solvent: Acetone
Temp. 25.0 C / 298.1 K
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Pulse 30.1 degrees
Acq. time 1.000 sec
Width 18859.0 Hz
880 repetitions
OBSERVE C13, 75.4220683 MHz
DECOUPLE H1, 299.9499083 MHz
Power 83 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 2.0 Hz
FT size 65536
Total time 17 min, 15 sec



98

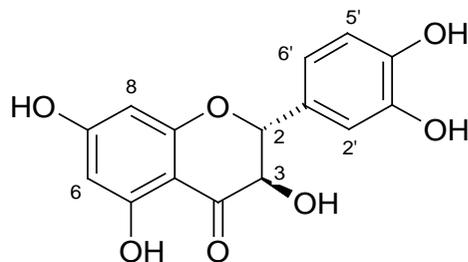


Espectro 98: Espectro de RMN de ¹³C da substância **42** (75 MHz, acetona-*d*₆)

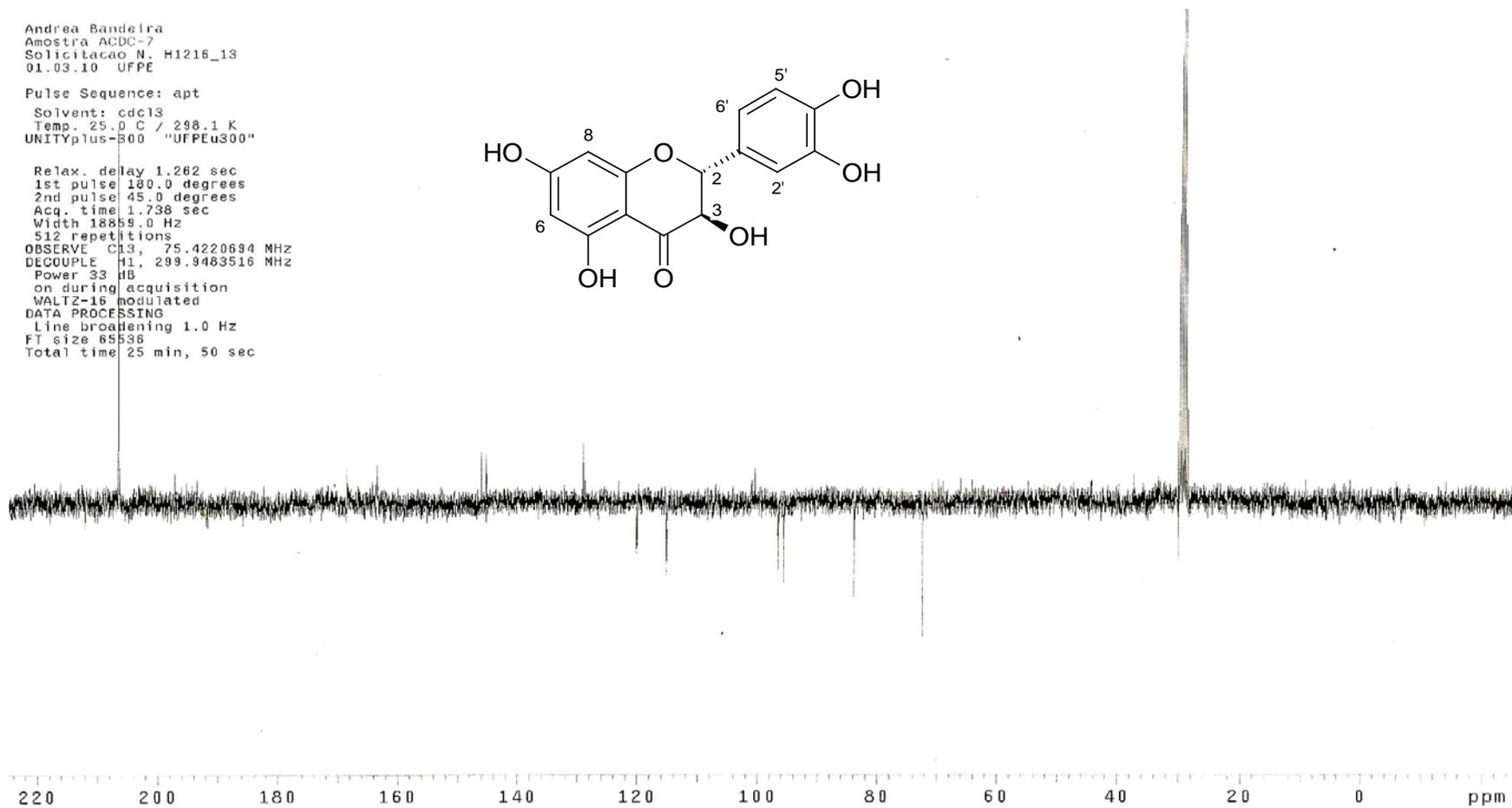
Andrea Bandeira
Amostra ACDC-7
Solicitacao N. H1216_13
01.03.10 UFPE

Pulse Sequence: apt
Solvent: cdc13
Temp. 25.0 C / 298.1 K
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Relax. delay 1.262 sec
1st pulse 180.0 degrees
2nd pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.738 sec
Width 18859.0 Hz
512 repetitions
OBSERVE C13, 75.4220694 MHz
DECOUPLE H1, 299.9483516 MHz
Power 33 dB
on during acquisition
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 6538
Total time 25 min, 50 sec



99

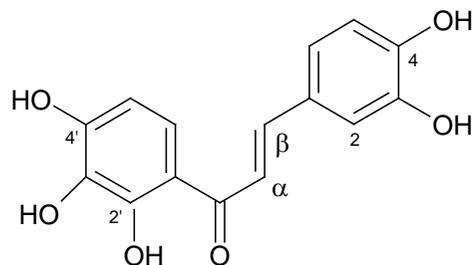


Espectro 99: Espectro APT da substância **42** (75 MHz, acetona- d_6)

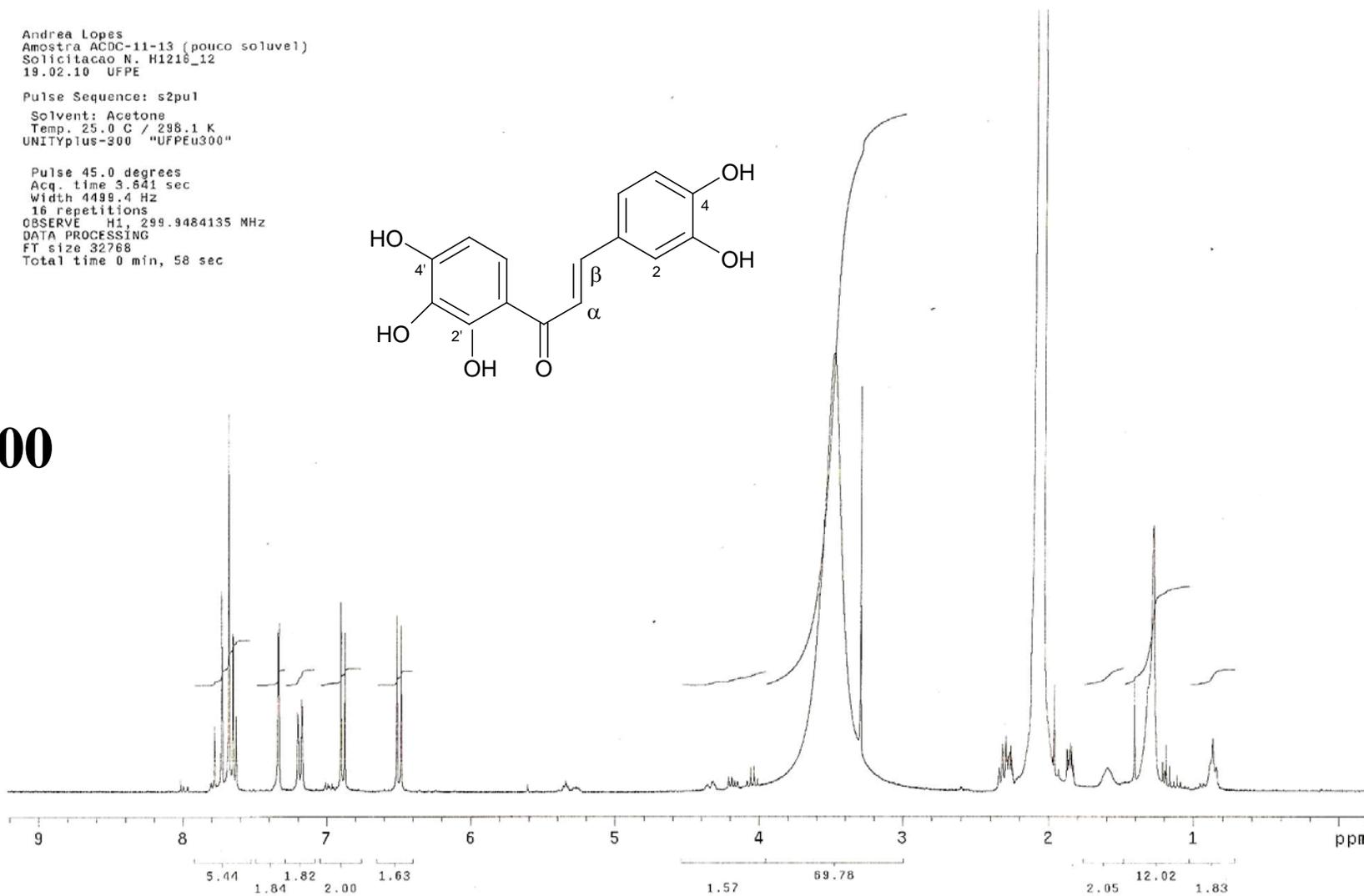
Andrea Lopes
Amostra ACDC-11-13 (pouco soluvel)
Solicitacao N. H1216_12
19.02.10 UFPE

Pulse Sequence: s2pul
Solvent: Acetone
Temp. 25.0 C / 298.1 K
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.641 sec
Width 4499.4 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 299.9484135 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min, 58 sec

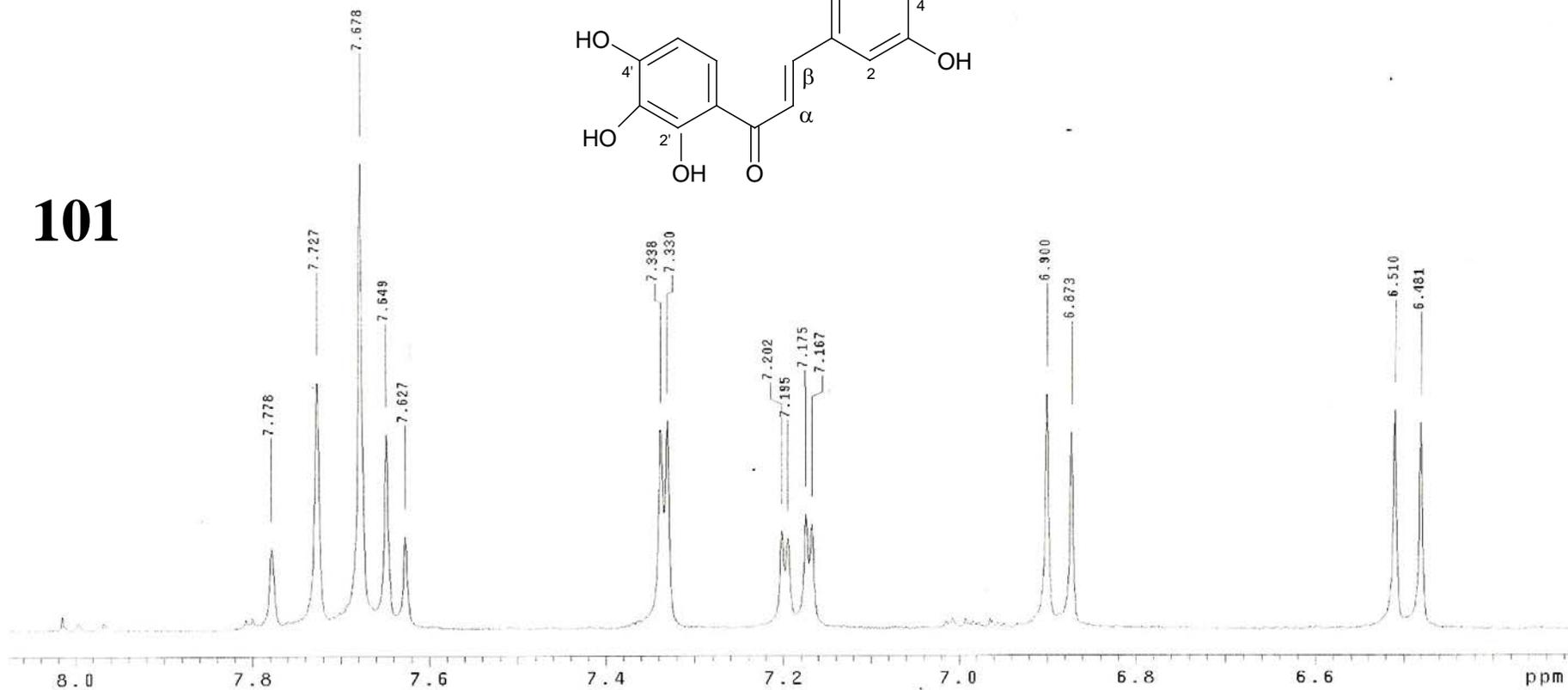
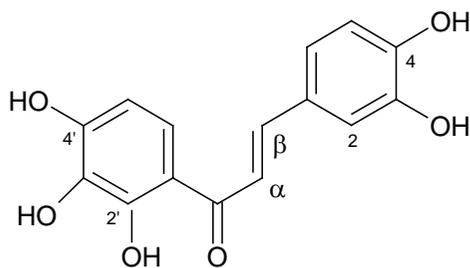


100



Espectro 100: Espectro de RMN de ^1H da substância **43** (300 MHz, acetona- d_6)

101

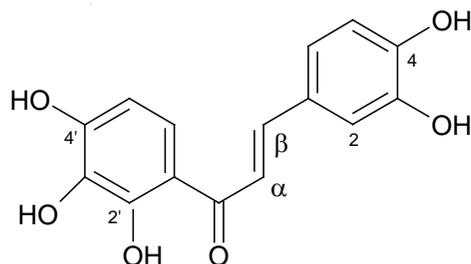


Espectro 101: Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **43** (300 MHz, acetona- d_6)

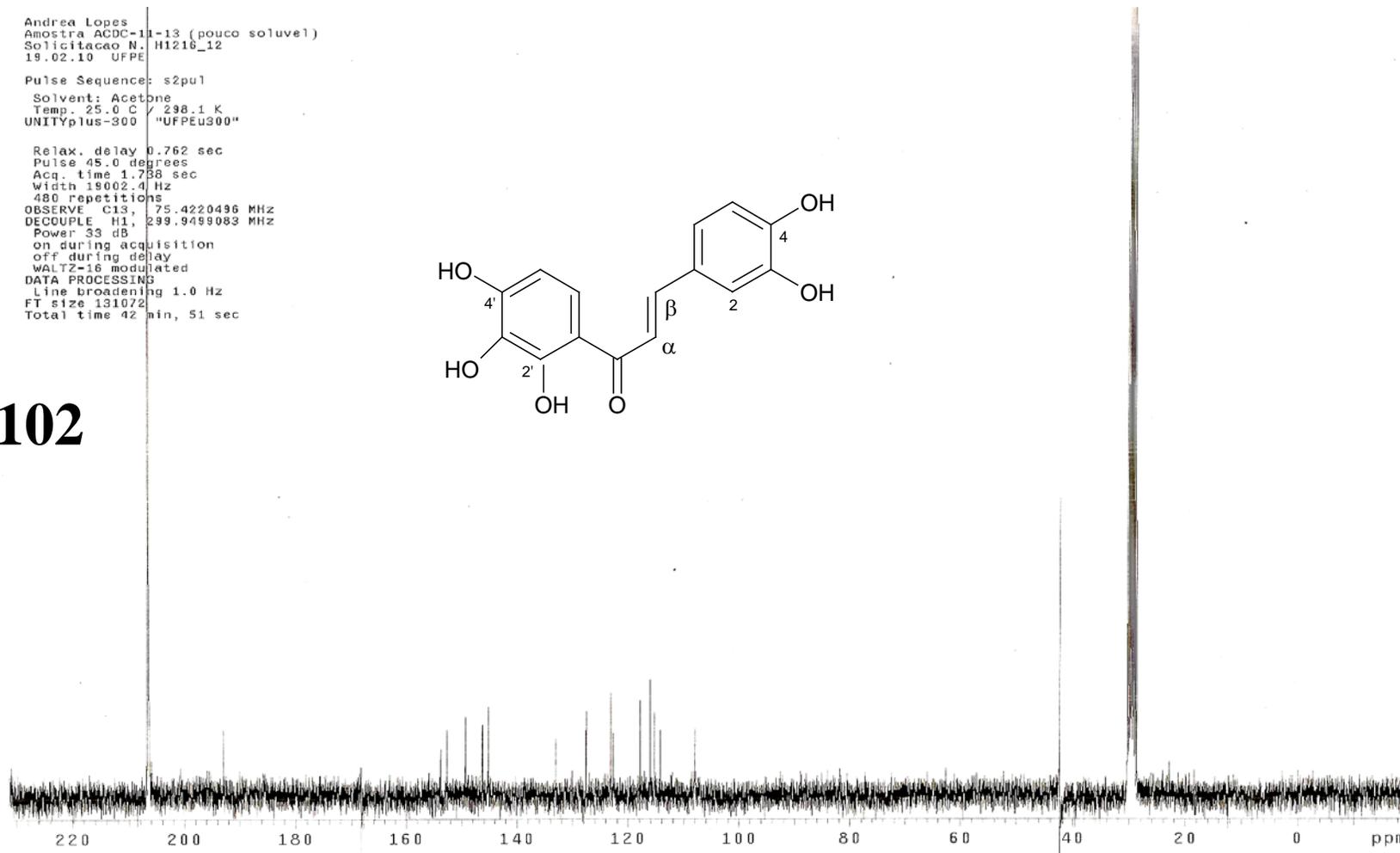
Andrea Lopes
Amostra ACDC-11-13 (pouco solúvel)
Solicitacao N. H1216_12
19.02.10 UFPE

Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: Acetone
Temp: 25.0 C / 298.1 K
UNITYplus-300 "UFPEU300"

Relax. delay 0.762 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.758 sec
Width 19002.4 Hz
480 repetitions
OBSERVE C13, 75.4220496 MHz
DECOUPLE H1, 299.9499083 MHz
Power 33 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 131072
Total time 42 min, 51 sec

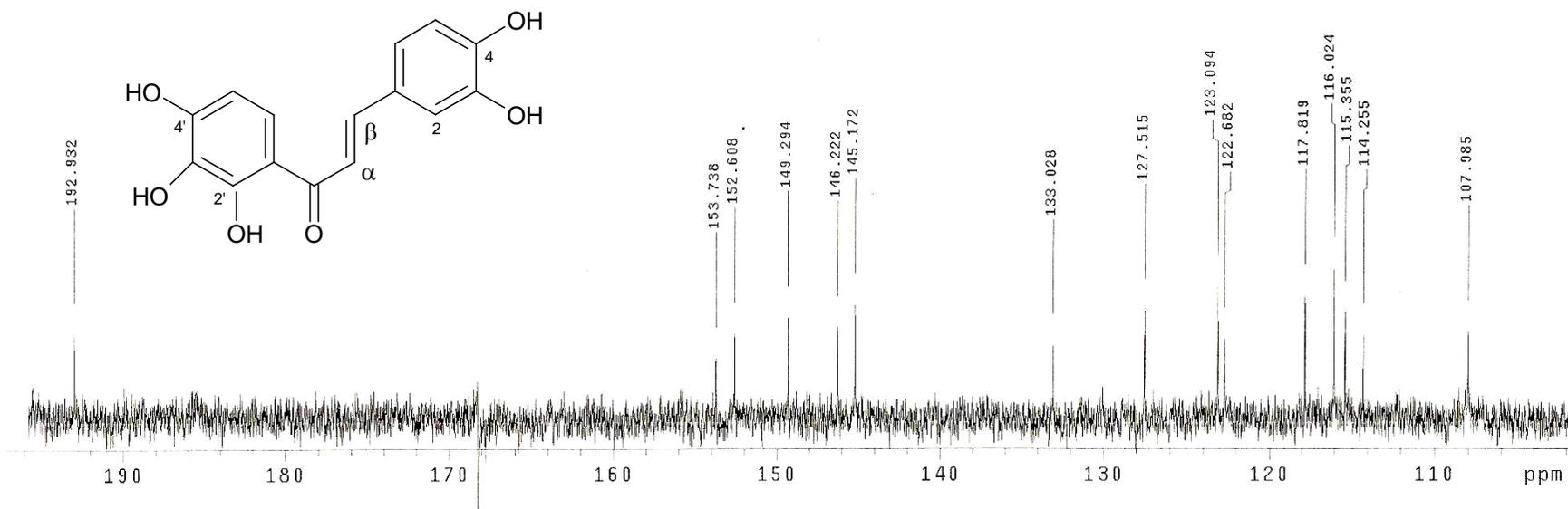


102



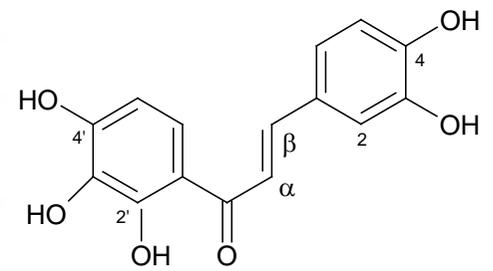
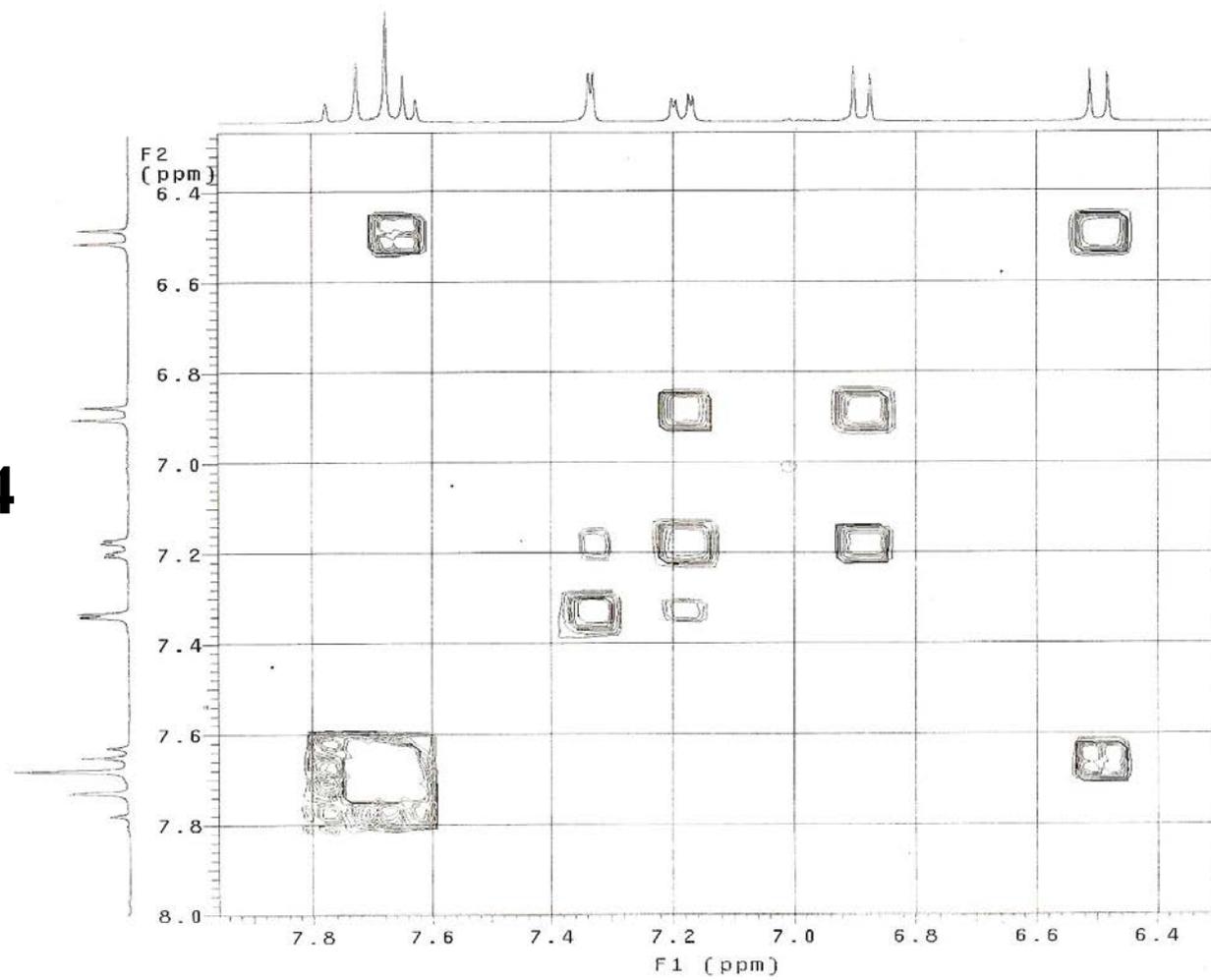
Espectro 102: Espectro de RMN de ^{13}C da substância **43** (75 MHz, acetona- d_6)

103



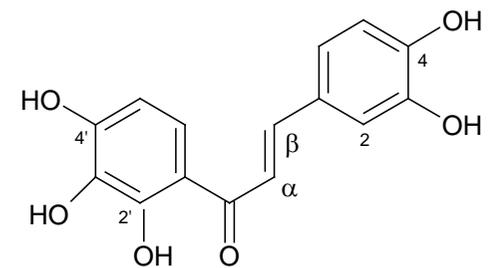
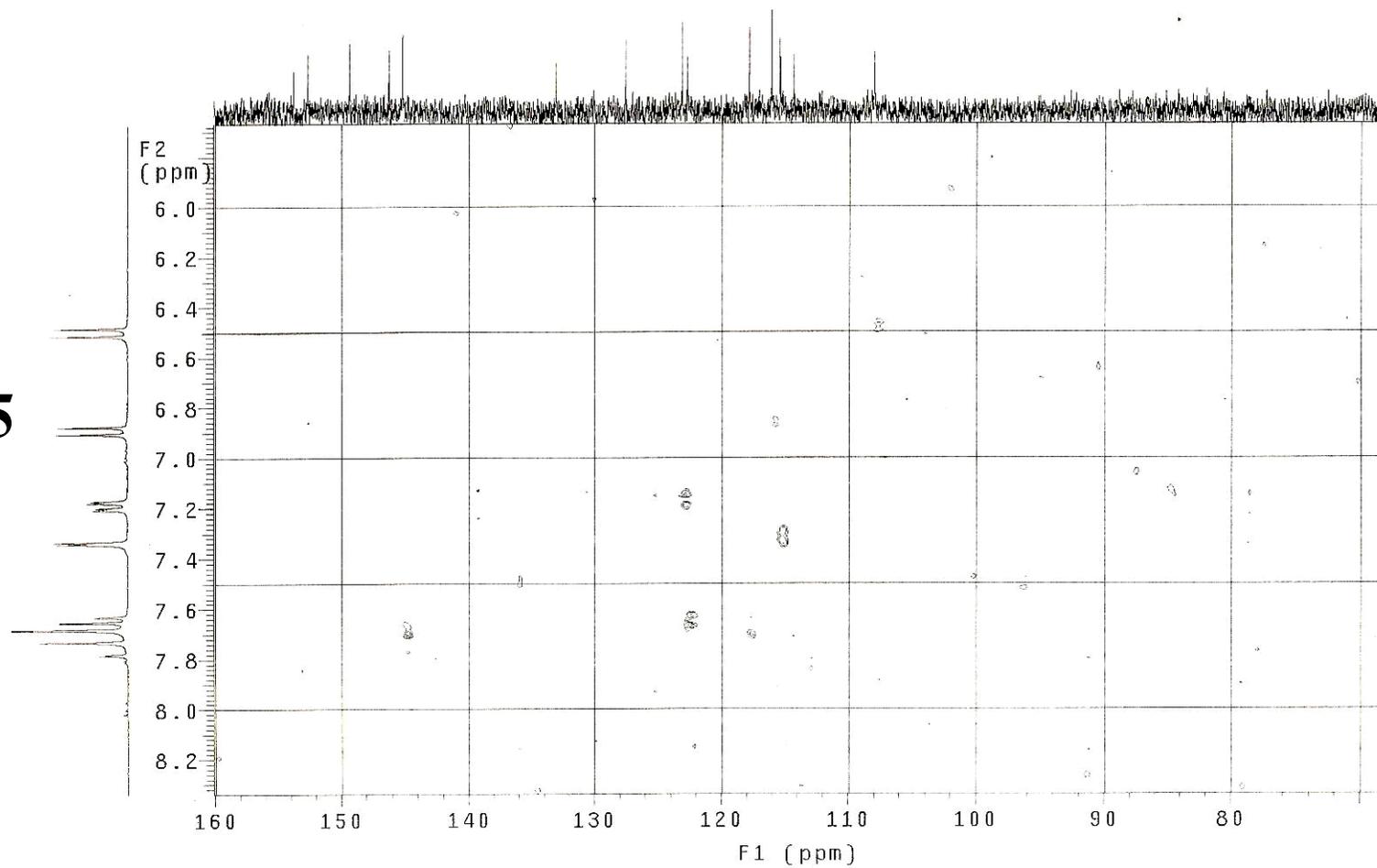
Espectro 103: Ampliação do espectro de RMN de ¹³C da substância **43** (75 MHz, acetona-d₆)

104



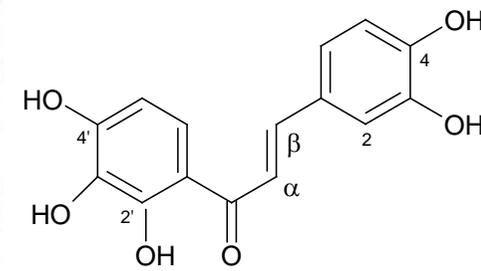
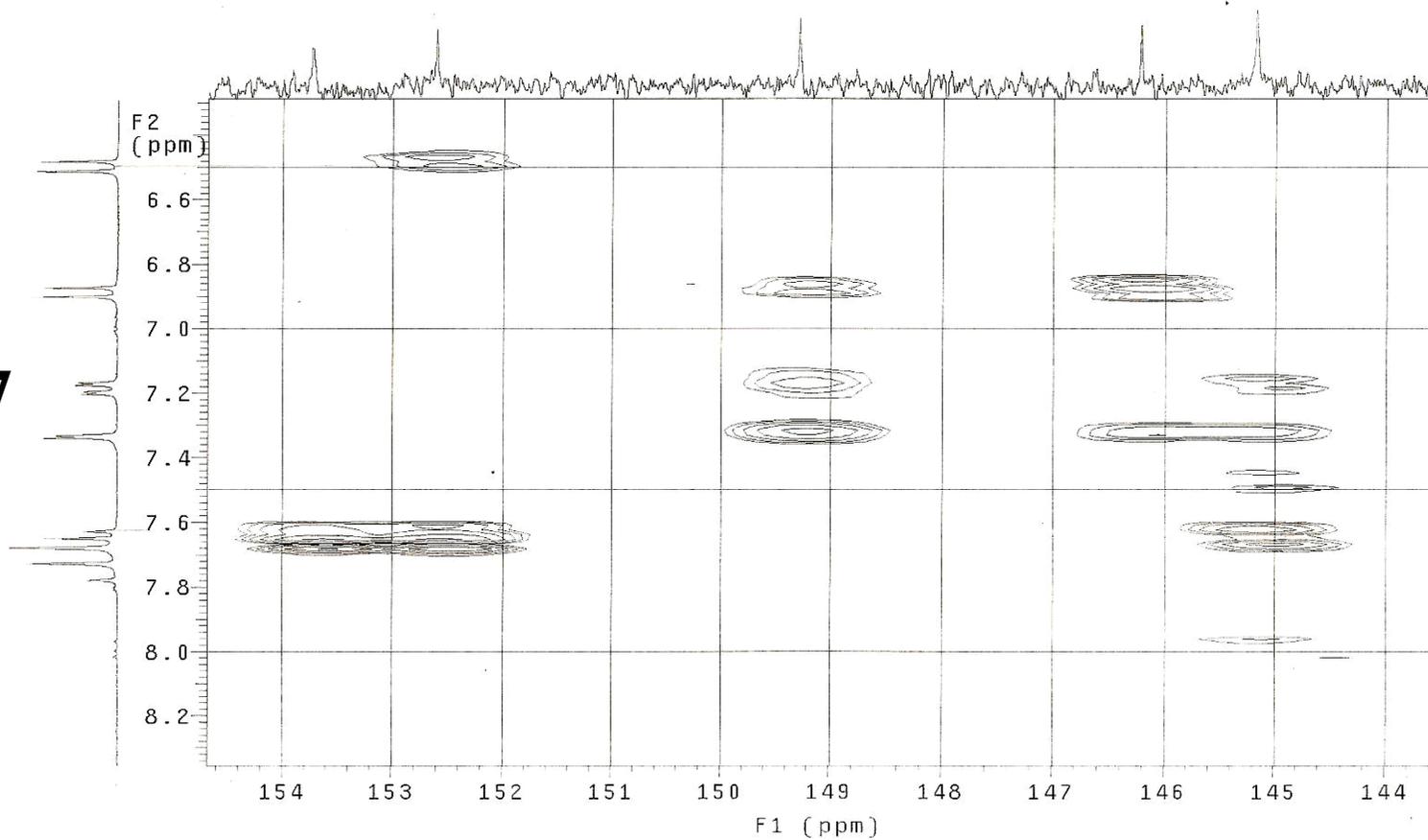
Espectro 104: Espectro ^1H - ^1H COSY da substância **43** (300 MHz, acetona- d_6)

105

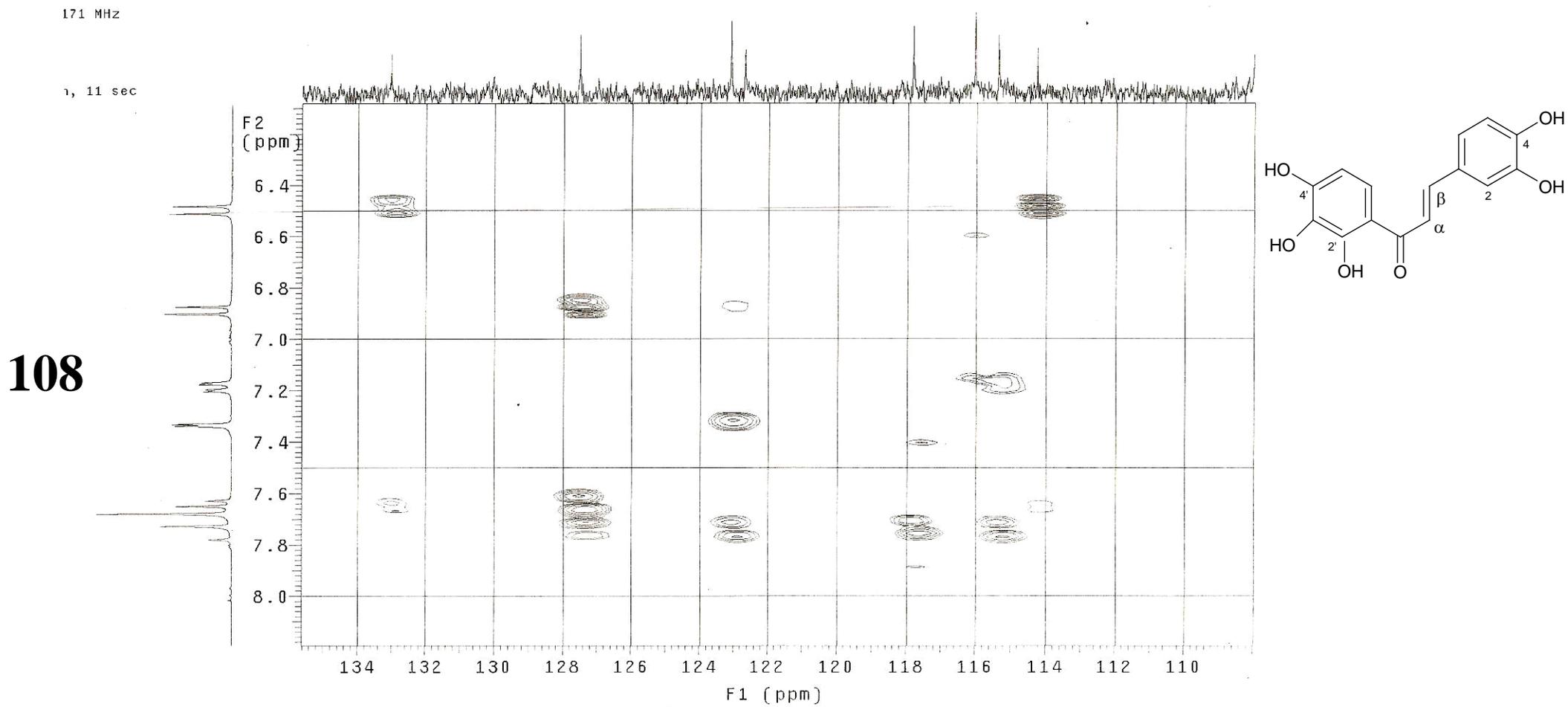


Espectro 105: Espectro HMQC da substância **43** (75 MHz, acetona- d_6)

107

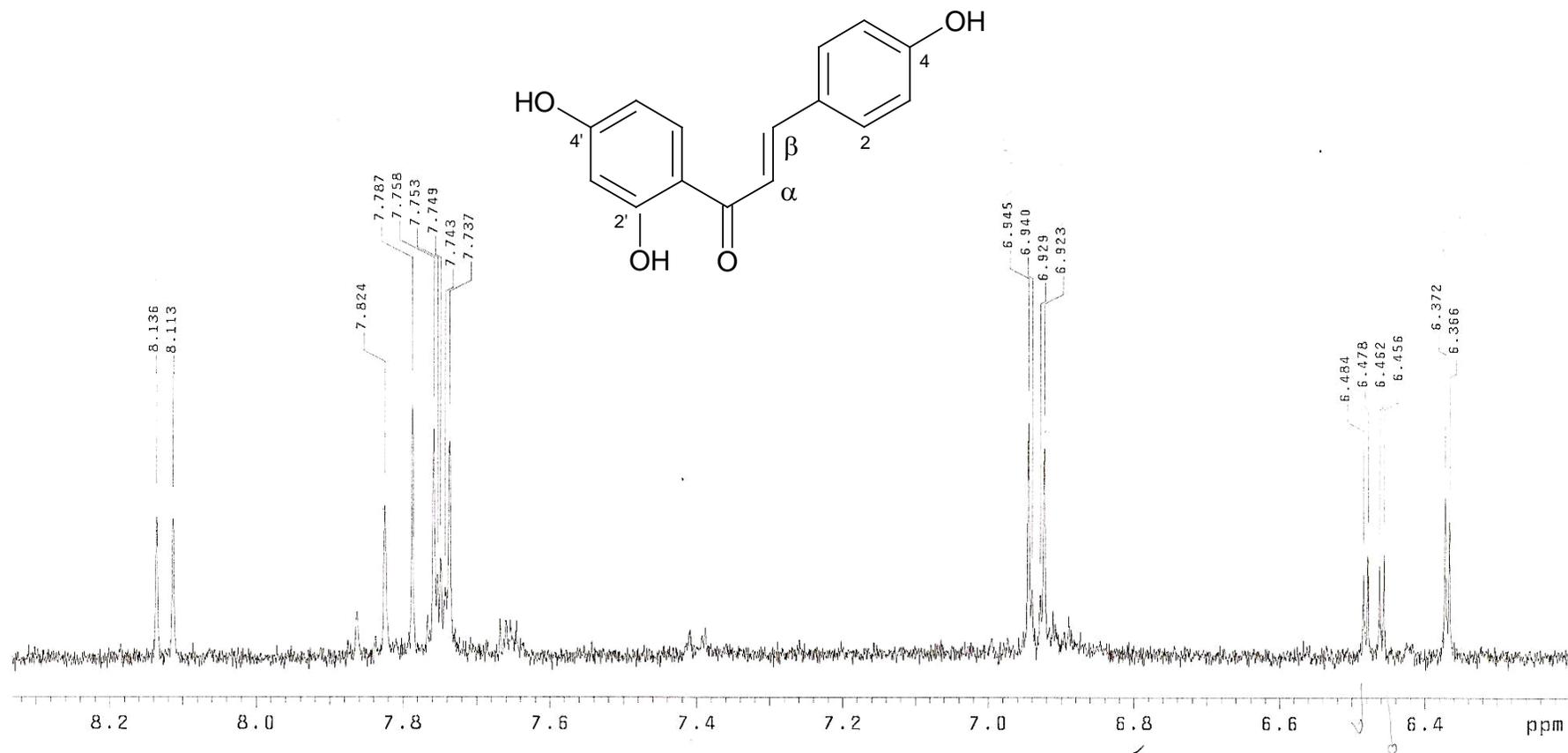


Espectro 107: Espectro HMBC da substância **43** (75 MHz, acetona- d_6)



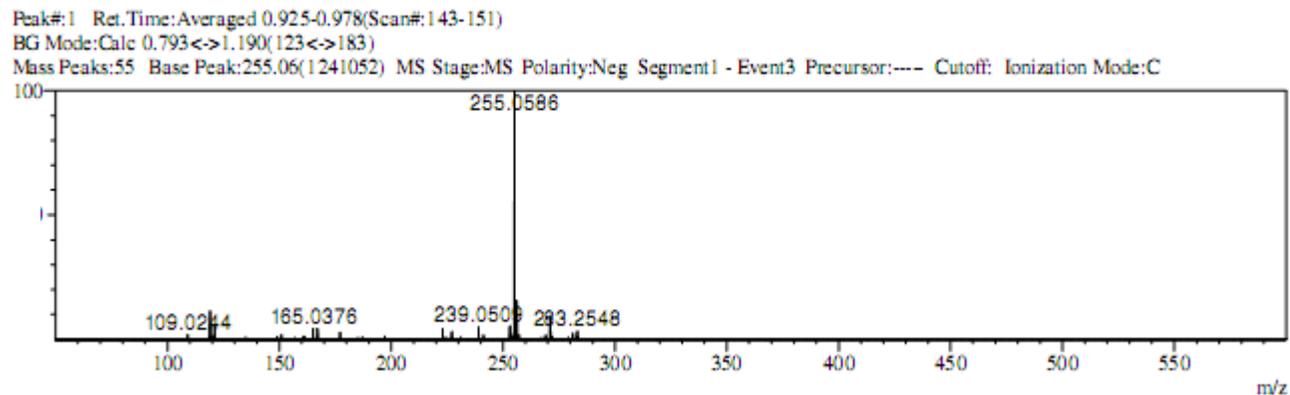
Espectro 108: Espectro HMBC da substância **43** (75 MHz, acetona- d_6)

110

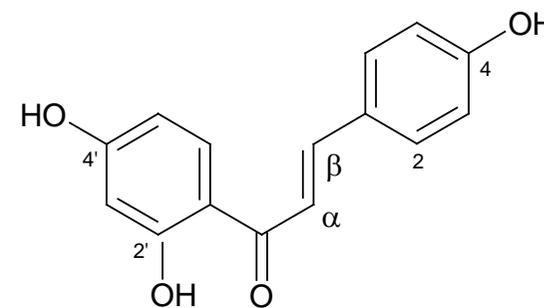
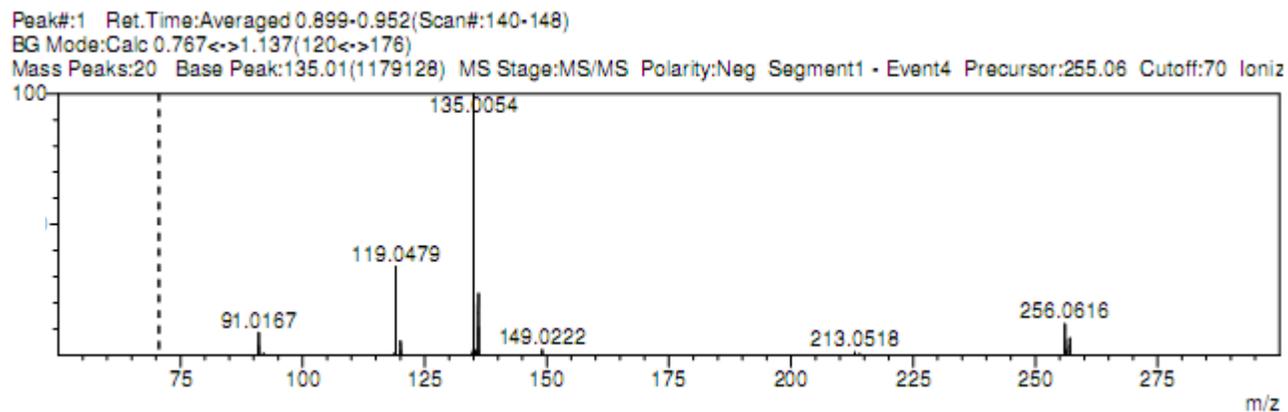


Espectro 110: Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **44** (400 MHz, acetona- d_6)

111



112



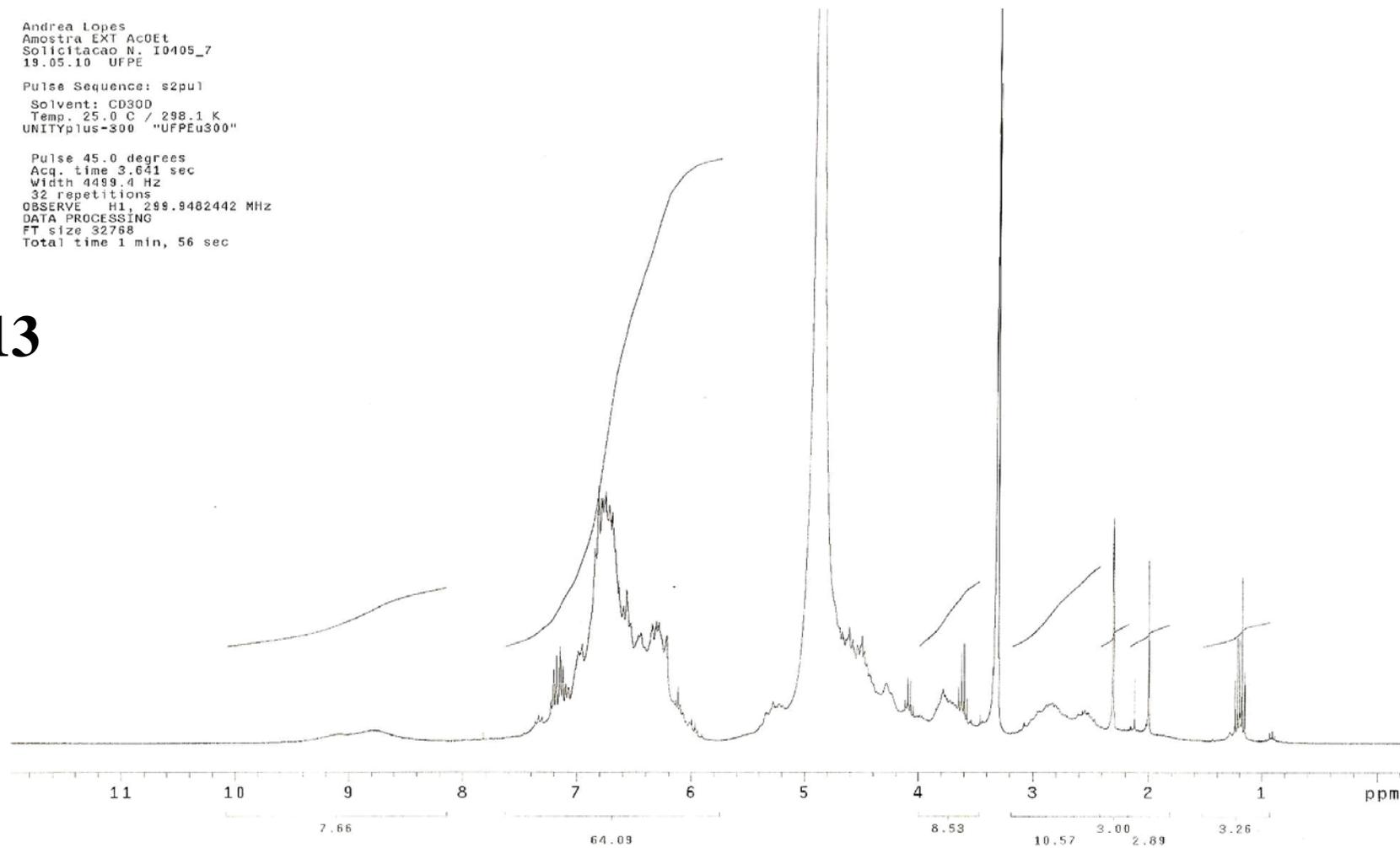
Espectros 111 e 112: Espectros de massas da substância **44** – negativo-APCI-MS (111) e negativo-APCI-MS² (112) (ITTOF - alta resolução)

Andrea Lopes
Amostra EXT AcOEt
Solicitacao N. I0405_7
19.05.10 UFPE

Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: CD30D
Temp. 25.0 C / 298.1 K
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.641 sec
Width 4499.4 Hz
32 repetitions
OBSERVE H1, 299.9482442 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 1 min, 56 sec

113



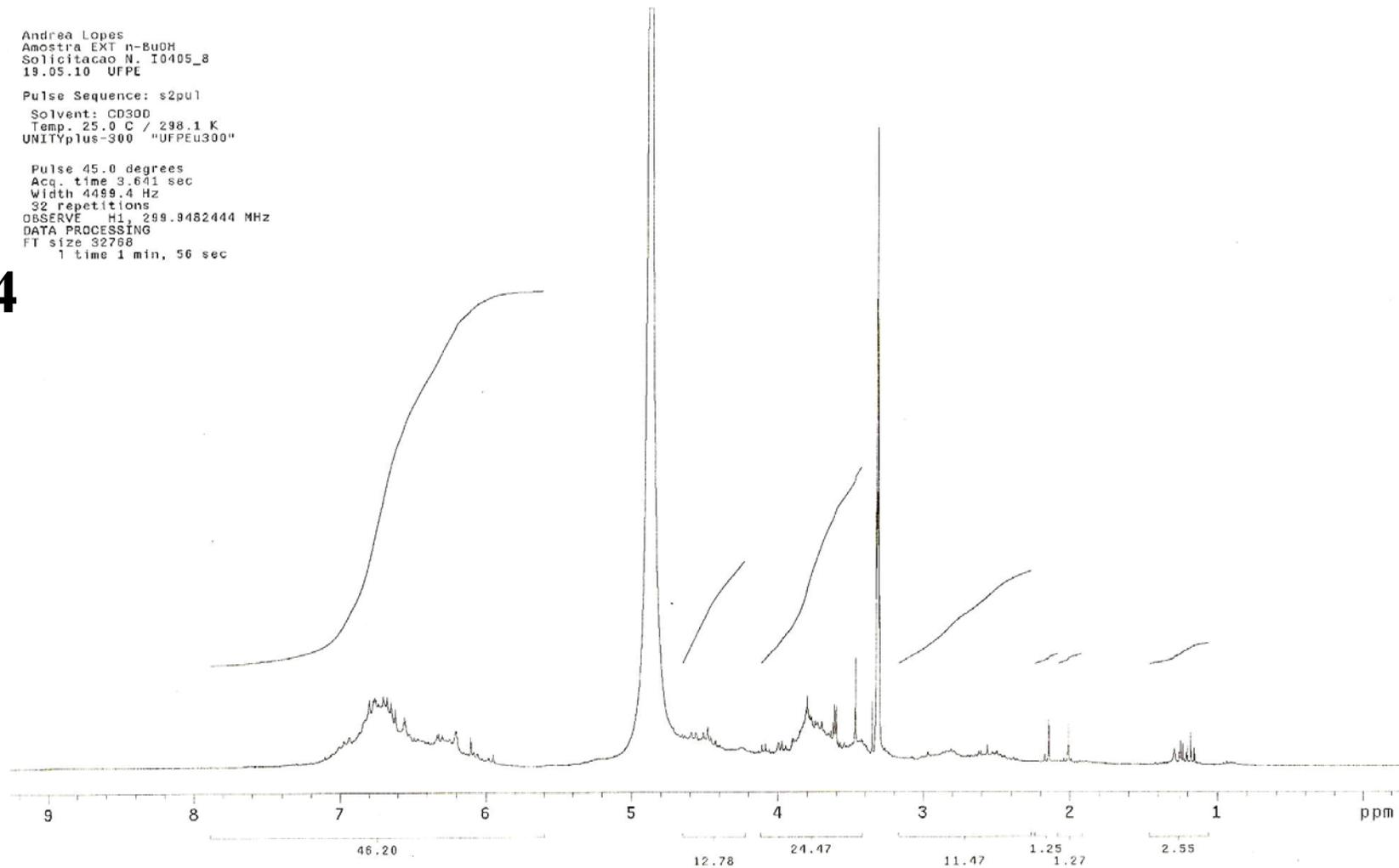
Espectro 113: Espectro de RMN de ¹H do Extrato AcOEt (300 MHz, acetona-d₆)

Andrea Lopes
Amostra EXT n-BuOH
Solicitacao N. I0405_8
19.05.10 UFPE

Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: CD300
Temp. 25.0 C / 298.1 K
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.641 sec
Width 4489.4 Hz
32 repetitions
OBSERVE H1 299.9482444 MHz
DATA PROCESSING
F1 size 32768
F1 time 1 min, 56 sec

114



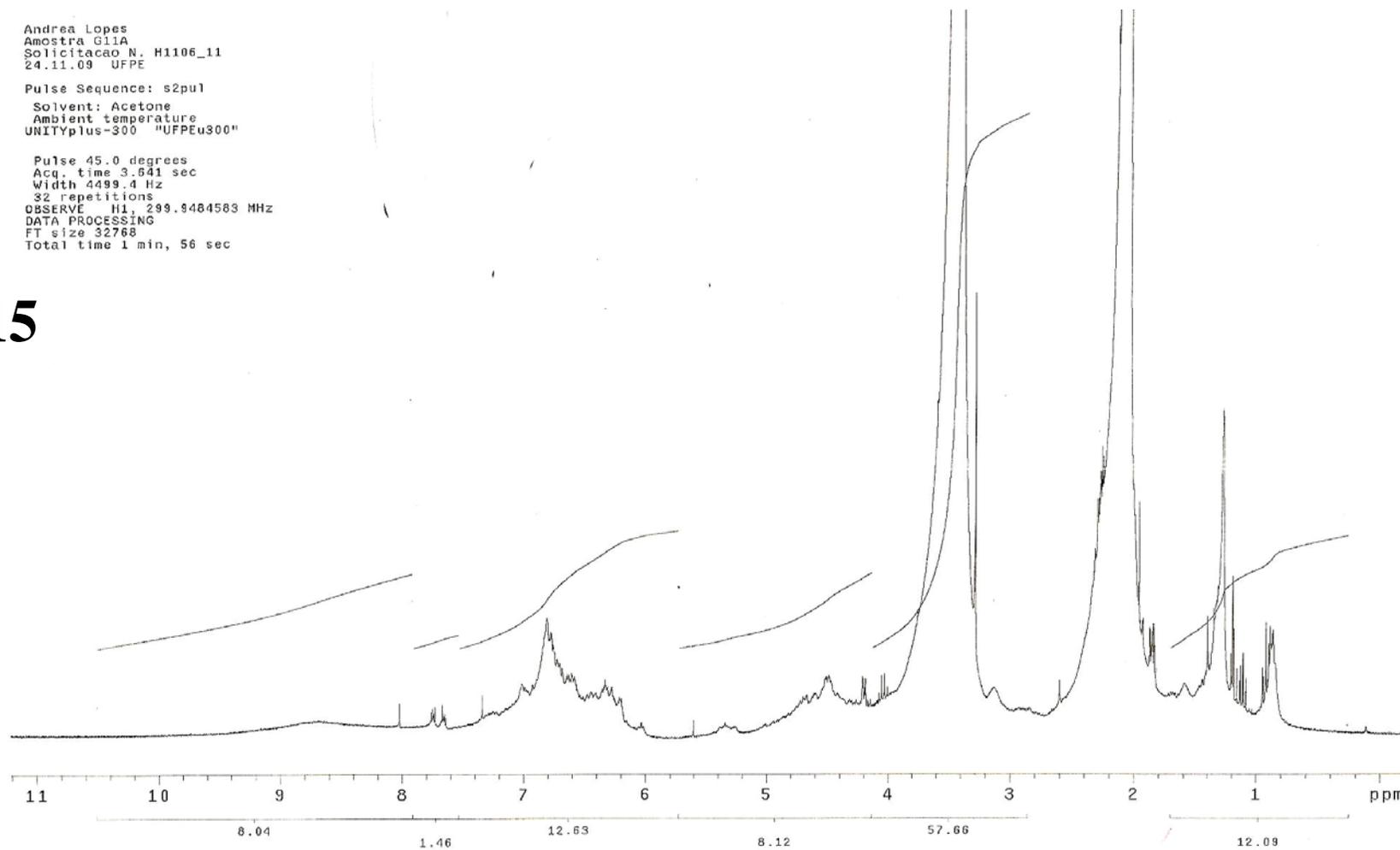
Espectro 114: Espectro de RMN de ^1H do Extrato *n*-BuOH (300 MHz, acetona- d_6)

Andrea Lopes
Amostra G11A
Solicitacao N. H1106_11
24.11.09 UFPE

Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: Acetone
Ambient temperature
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.541 sec
Width 4499.4 Hz
32 repetitions
OBSERVE H1, 299.9464583 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 1 min, 56 sec

115



Espectro 115: Espectro de RMN de ¹H da fração ACA-G11A (300 MHz, acetona-*d*₆)

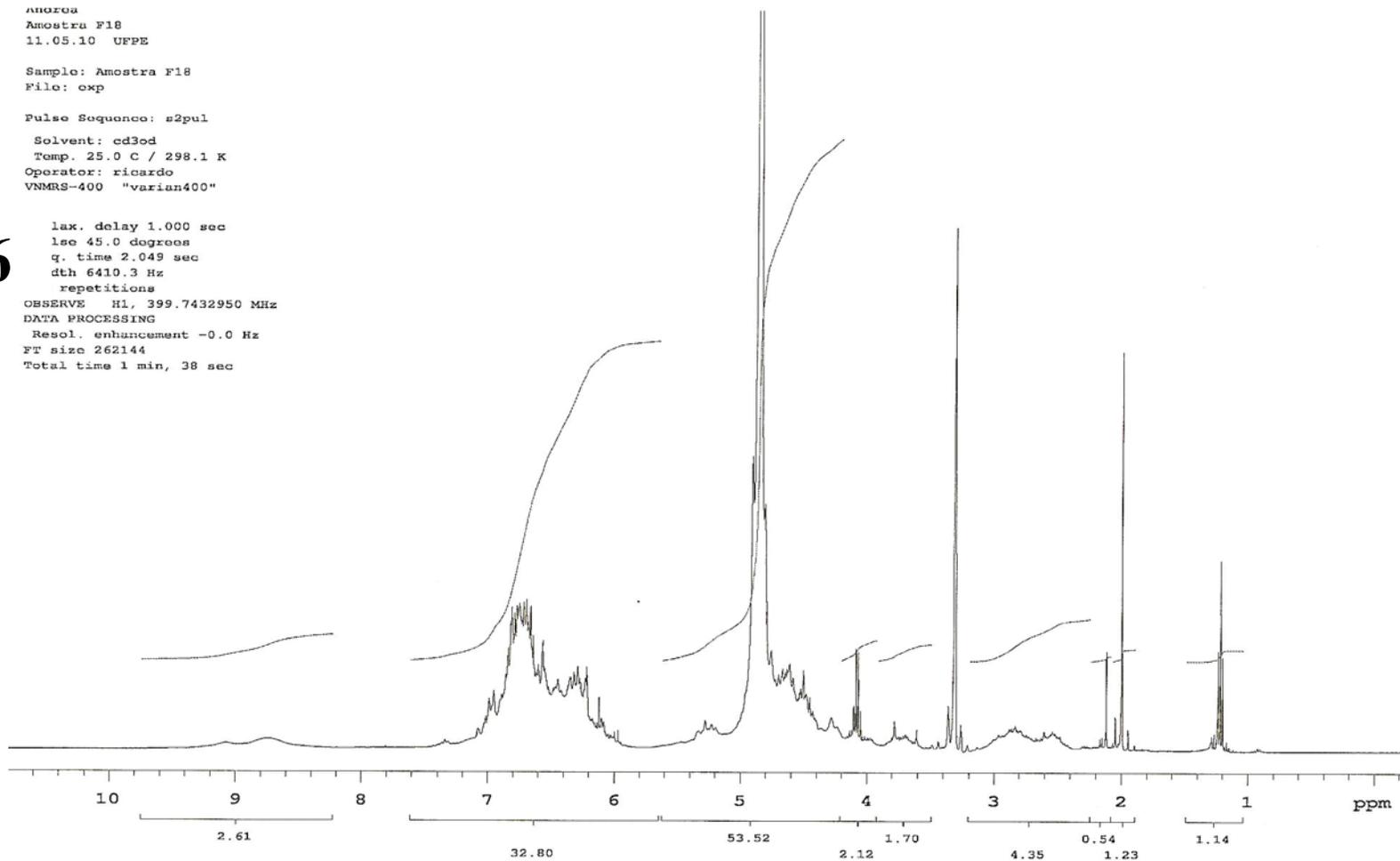
116

Amoza
Amoza F18
11.05.10 UFPE

Sample: Amoza F18
File: exp

Pulse Sequence: s2pul
Solvent: cd3od
Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: ricardo
VMRS-400 "varian400"

lax. delay 1.000 sec
lsc 45.0 degrees
q. time 2.049 sec
dth 6410.3 Hz
repetitions
OBSERVE H1, 399.7432950 MHz
DATA PROCESSING
Resol. enhancement -0.0 Hz
FT size 262144
Total time 1 min, 38 sec



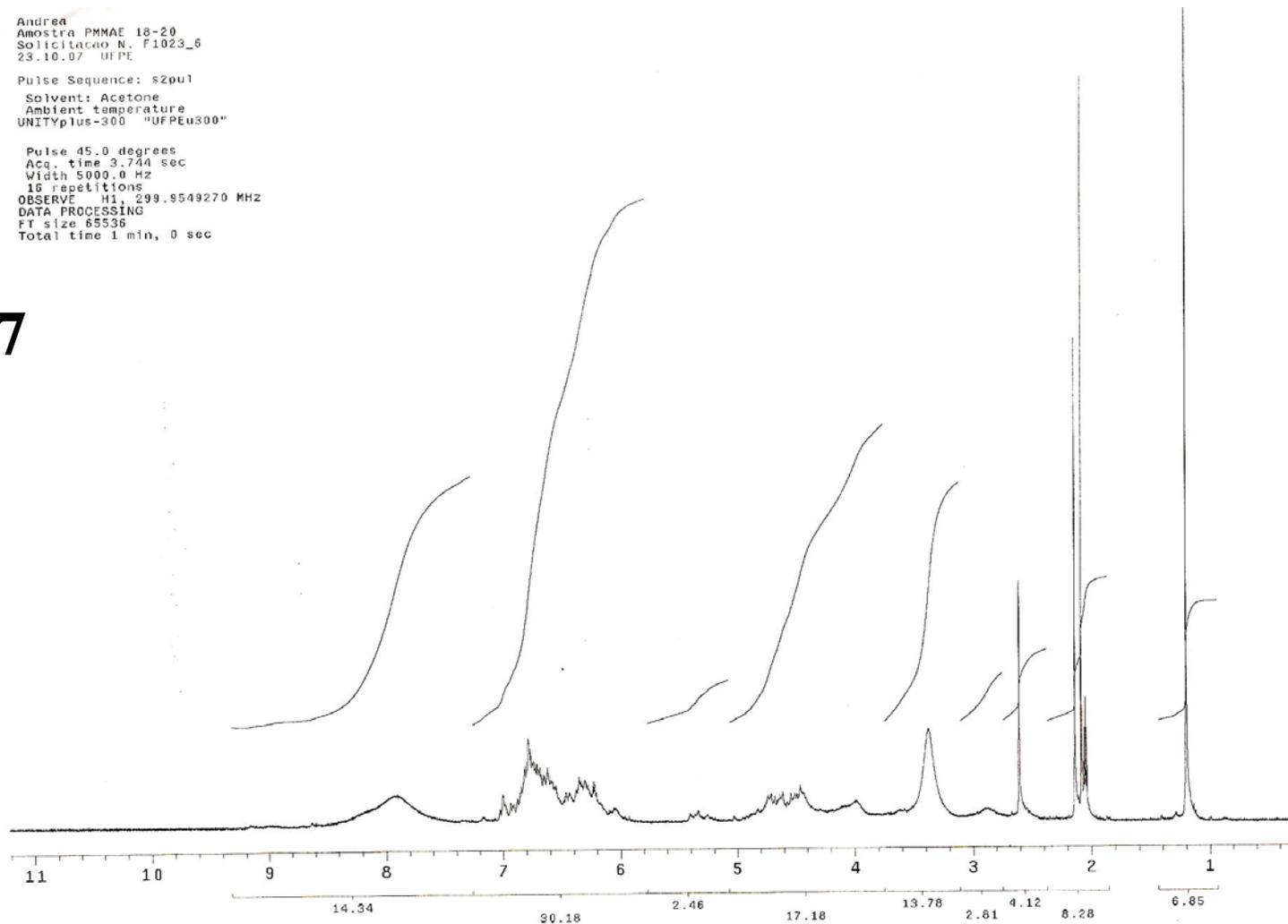
Espectro 116: Espectro de RMN de ¹H da fração ACA-F18 (300 MHz, acetona-d₆)

Andrea
Amostra PMMAE 18-20
Solicitação N. F1023_6
23.10.07 UFPE

Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: Acetone
Ambient temperature
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.744 sec
Width 5000.0 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 299.9549270 MHz
DATA PROCESSING
FT size 65536
Total time 1 min, 0 sec

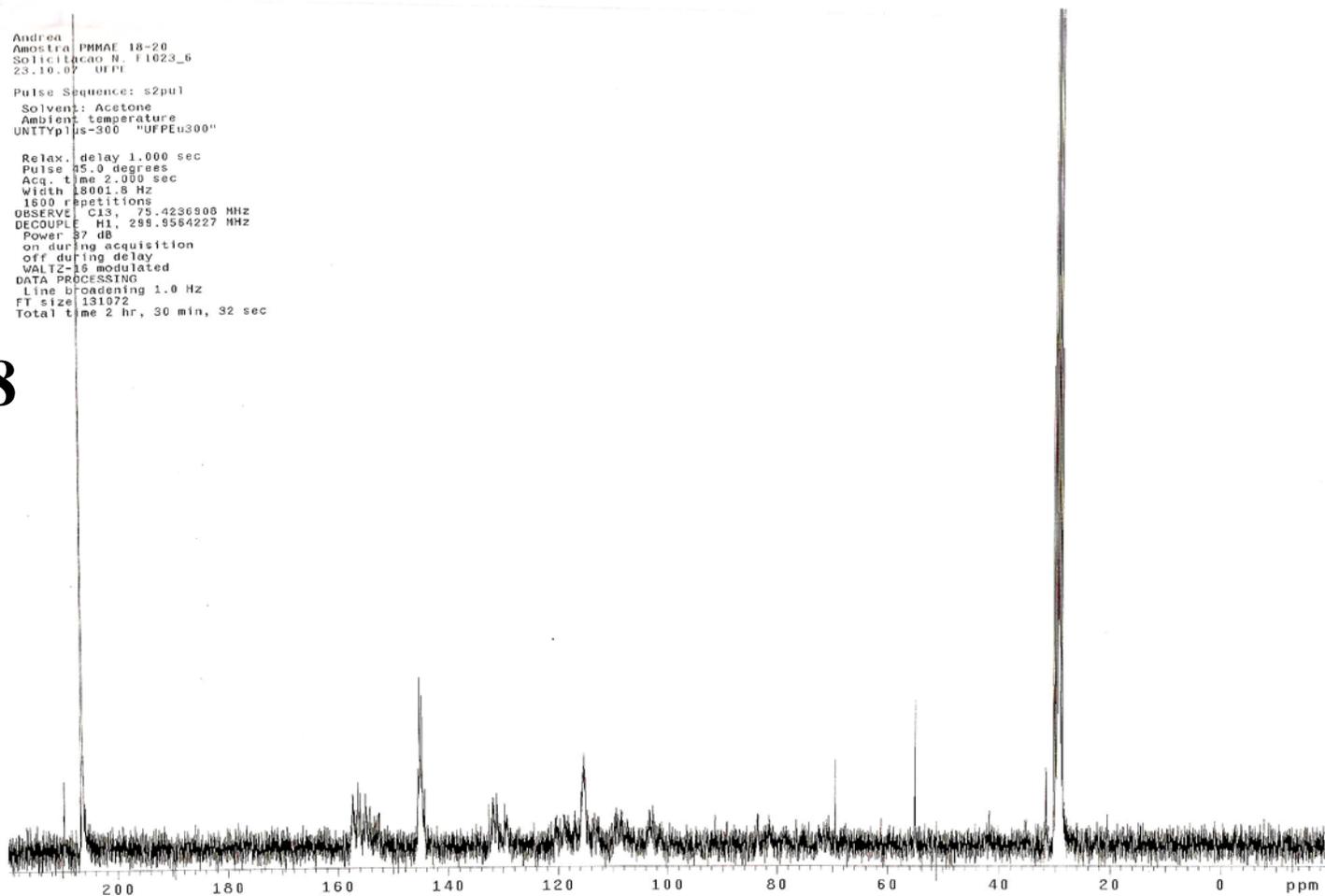
117



Espectro 117: Espectro de RMN de ^1H da fração ACA-E18-20 (300 MHz, acetona- d_6)

Andrea
Amostra PMMAE 18-20
Solicitação N. F1023_6
23.10.07 UFPE
Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: Acetone
Ambient temperature
UNITY1 ps-300 "UFFEu300"
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.000 sec
Width 18001.8 Hz
1800 repetitions
OBSERVE C13, 75.4236908 MHz
DECOUPLE H1, 299.9564227 MHz
Power 37 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 131072
Total time 2 hr, 30 min, 32 sec

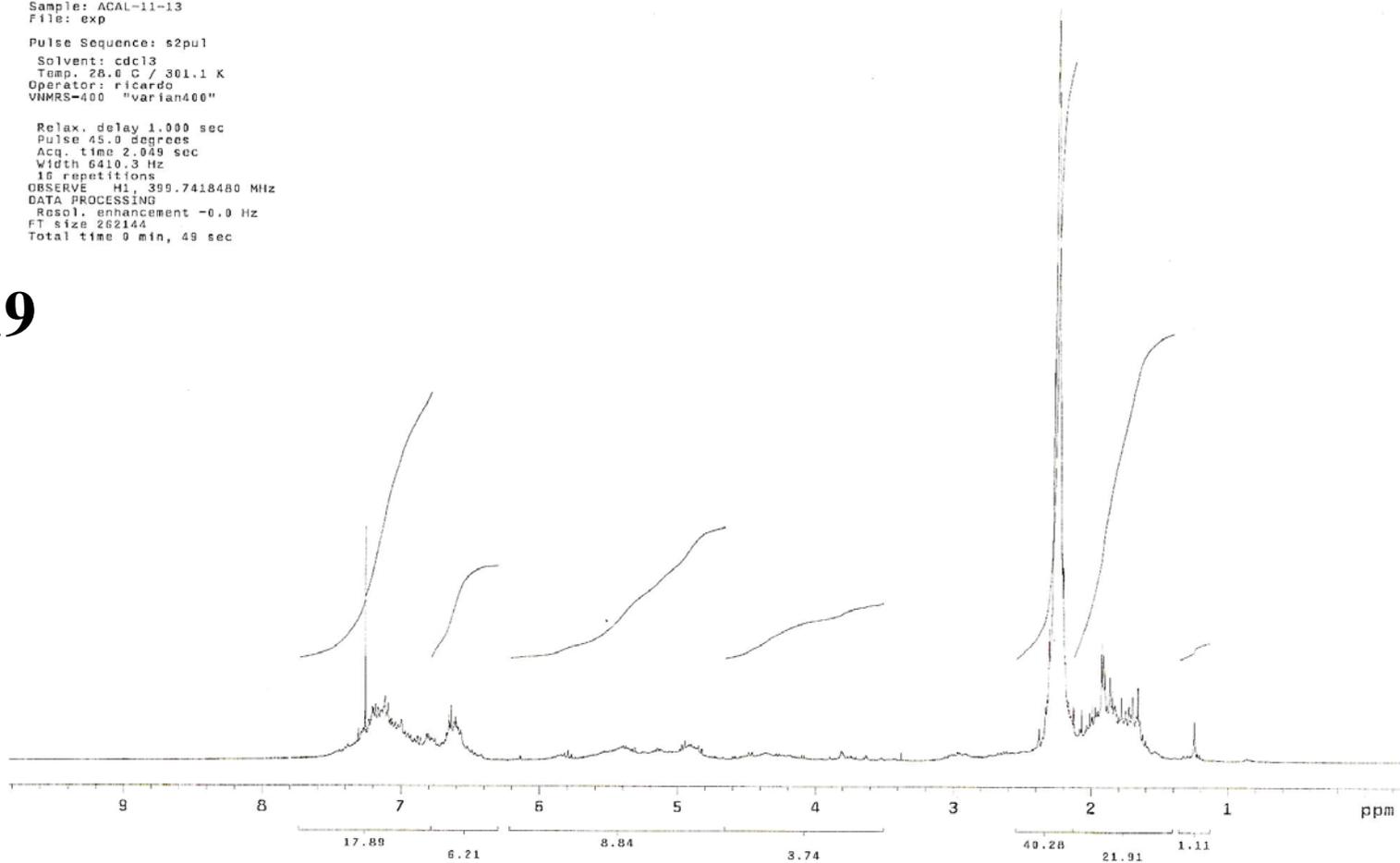
118



Espectro 118: Espectro de RMN de ¹³C da fração ACA-E18-20 (75 MHz, acetona-d₆)

Andra
Amostra ACAL-11-13
Solicitacao N. I0319_21
12.04.10 UFPE
Sample: ACAL-11-13
File: exp
Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: cdcl3
Temp. 28.0 C / 301.1 K
Operator: ricardo
VNMR5-400 "varian400"
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.049 sec
Width 6419.3 Hz
16 repetitions
OBSERVE M1, 399.7418480 MHz
DATA PROCESSING
Resol. enhancement -0.0 Hz
FT size 262144
Total time 0 min, 49 sec

119

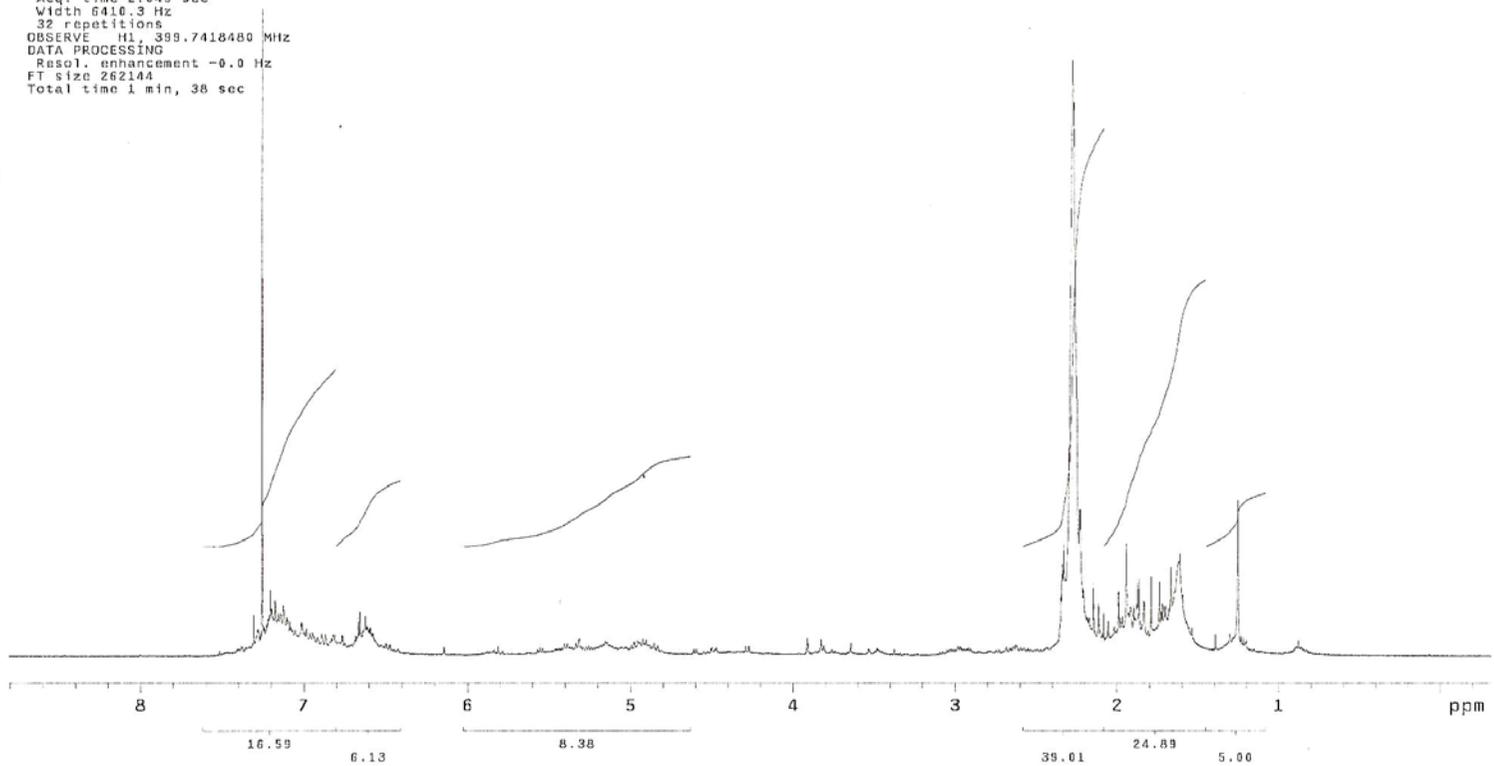


Espectro 119: Espectro de RMN de ^1H da fração acetilada ACA-L 11-13 (400 MHz, CDCl_3)

Andrea
Amostra ACA-L10
Solicitação N. 10319_20
12.04.10 UFPE
Sample: ACA-L10
File: exp
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: cdcl3
Temp. 28.0 C / 301.1 K
Operator: ricardo
VNMRS-400 "varian400"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.049 sec
Width 6410.3 Hz
32 repetitions
OBSERVE H1, 399.7418480 MHz
DATA PROCESSING
Resol. enhancement -0.0 Hz
FT size 262144
Total time 1 min, 38 sec

120



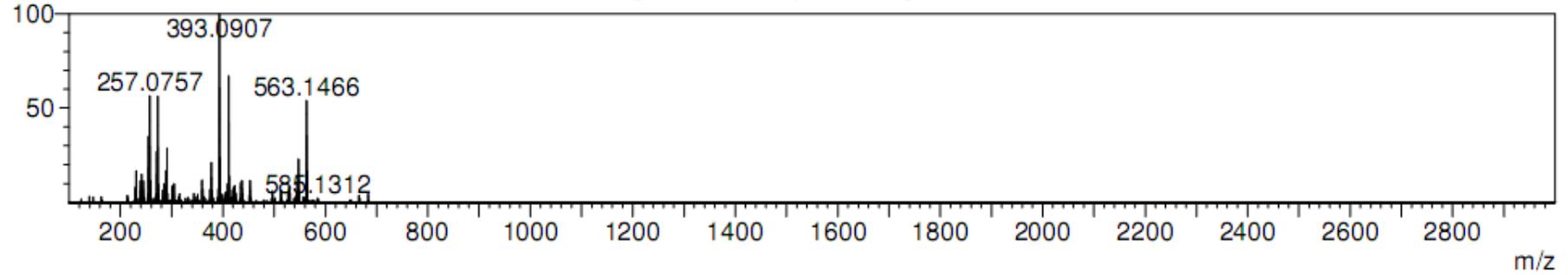
Espectro 120: Espectro de RMN de ^1H da fração acetilada ACA-L 10 (400 MHz, CDCl_3)

121

Peak#:1 Ret.Time:Averaged 0.627-0.653(Scan#:95-99)

BG Mode:Calc 0.440<->0.867(67<->131)

Mass Peaks:170 Base Peak:393.09(801954) MS Stage:MS Polarity:Pos Segment1 - Event1 Precursor:----- Cutoff: Ionization Mode:



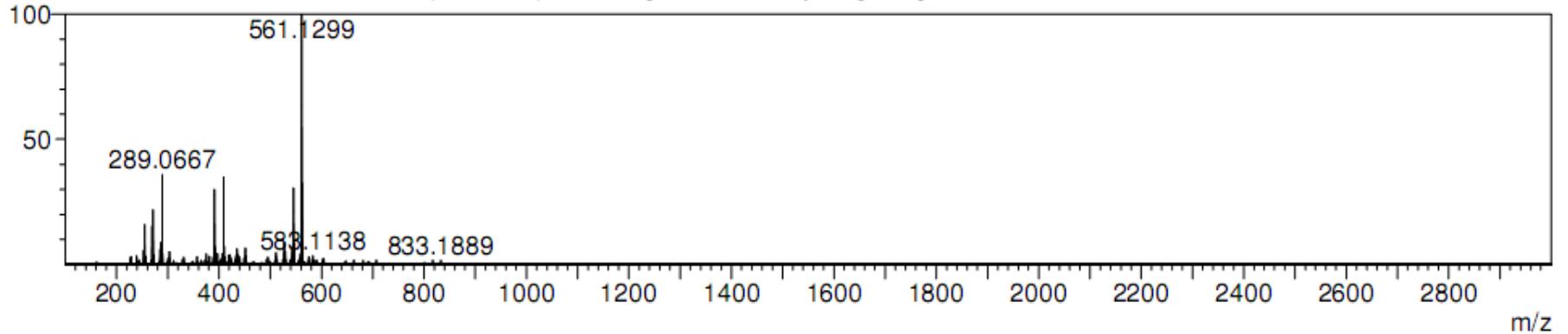
MS Spectrum Graph

122

Peak#:1 Ret.Time:Averaged 0.627-0.653(Scan#:96-100)

BG Mode:Calc 0.440<->0.867(68<->132)

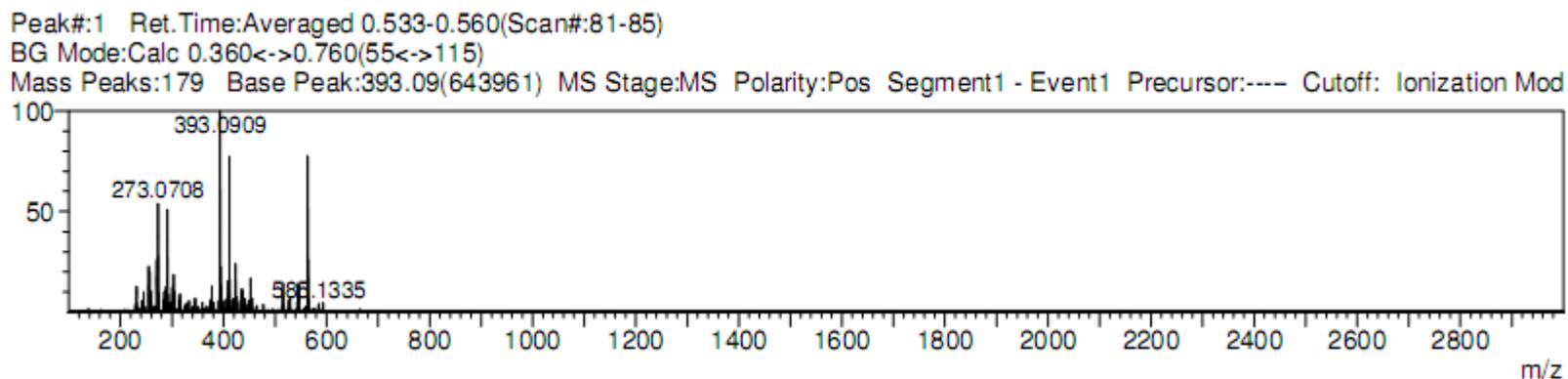
Mass Peaks:206 Base Peak:561.13(1954803) MS Stage:MS Polarity:Neg Segment1 - Event2 Precursor:----- Cutoff: Ionization Mode:



Espectros 121 e 122: Espectros de massas do extrato AcEOt – positivo-APCI-MS (121) e negativo-APCI-MS (122) (ITTOF - alta resolução)

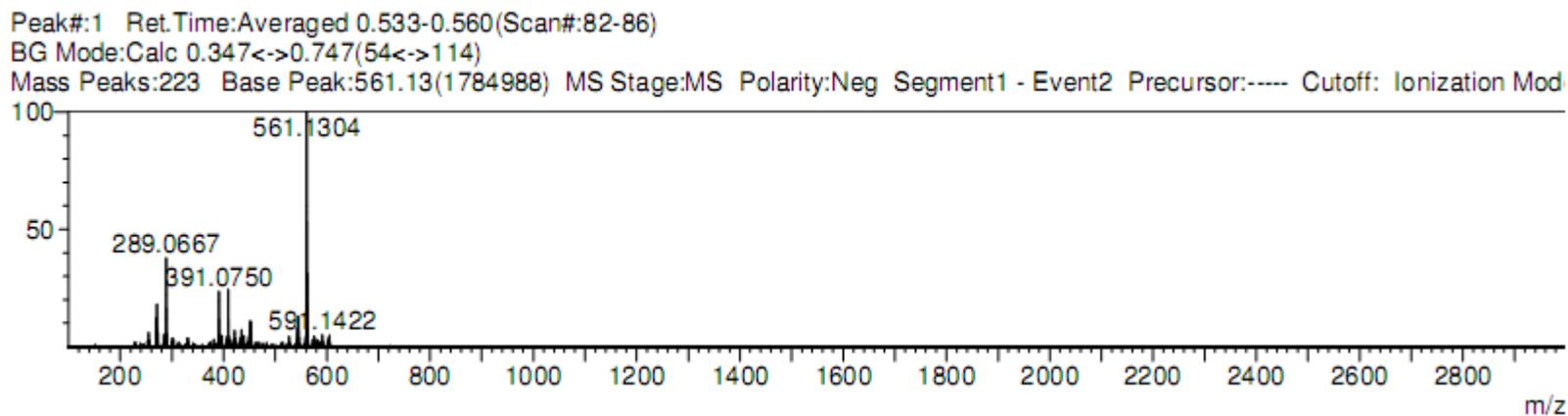
123

MS Spectrum Graph



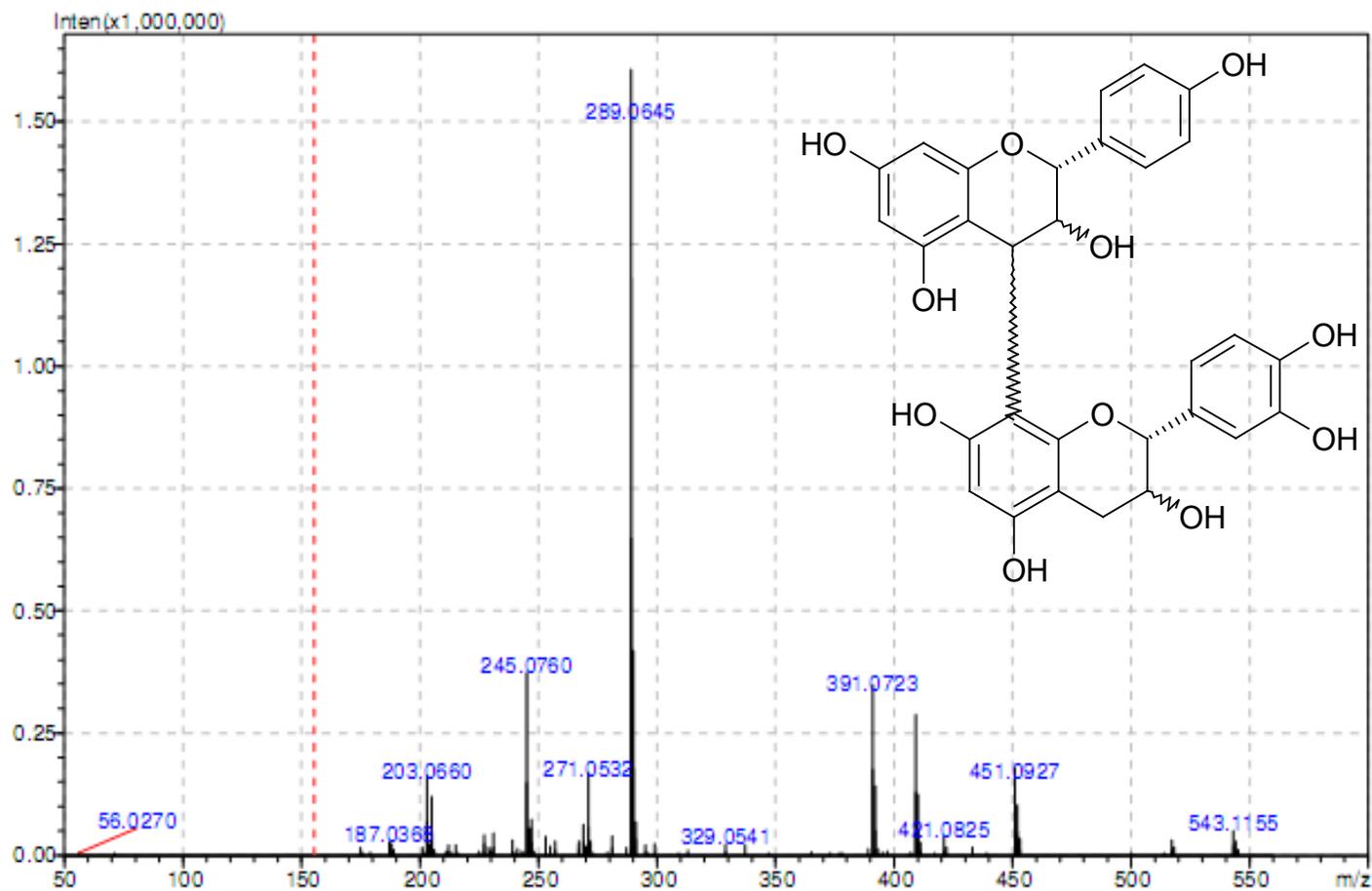
124

MS Spectrum Graph



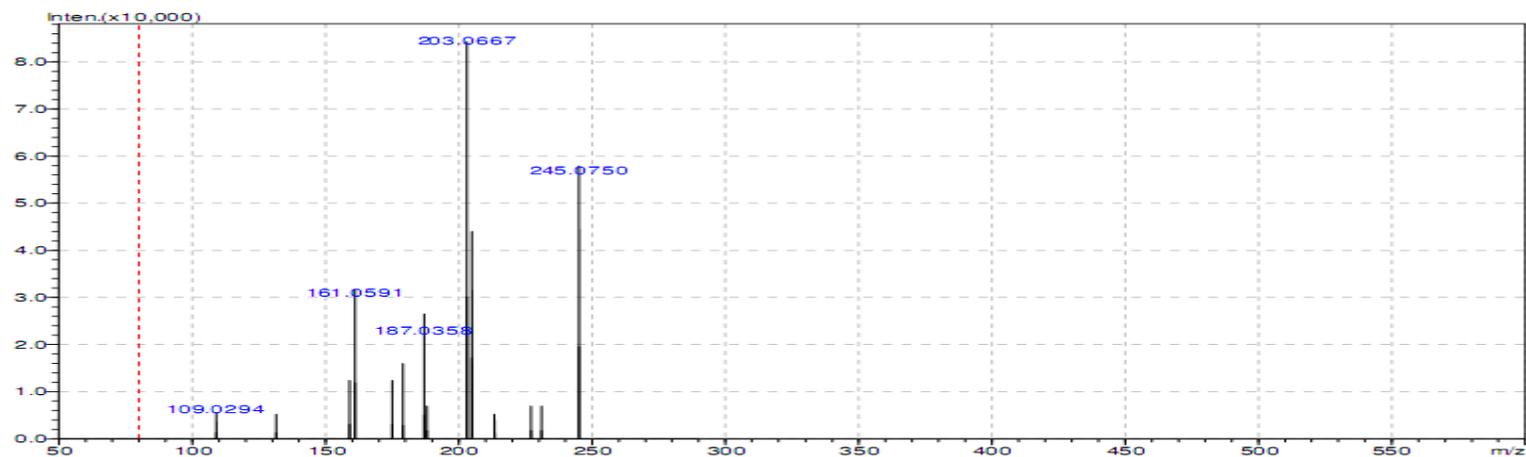
Espectros 123 e 124: Espectros de massas do extrato *n*-BuOH – positivo-APCI-MS (123) e negativo-APCI-MS (124) (ITTOF - alta resolução)

125

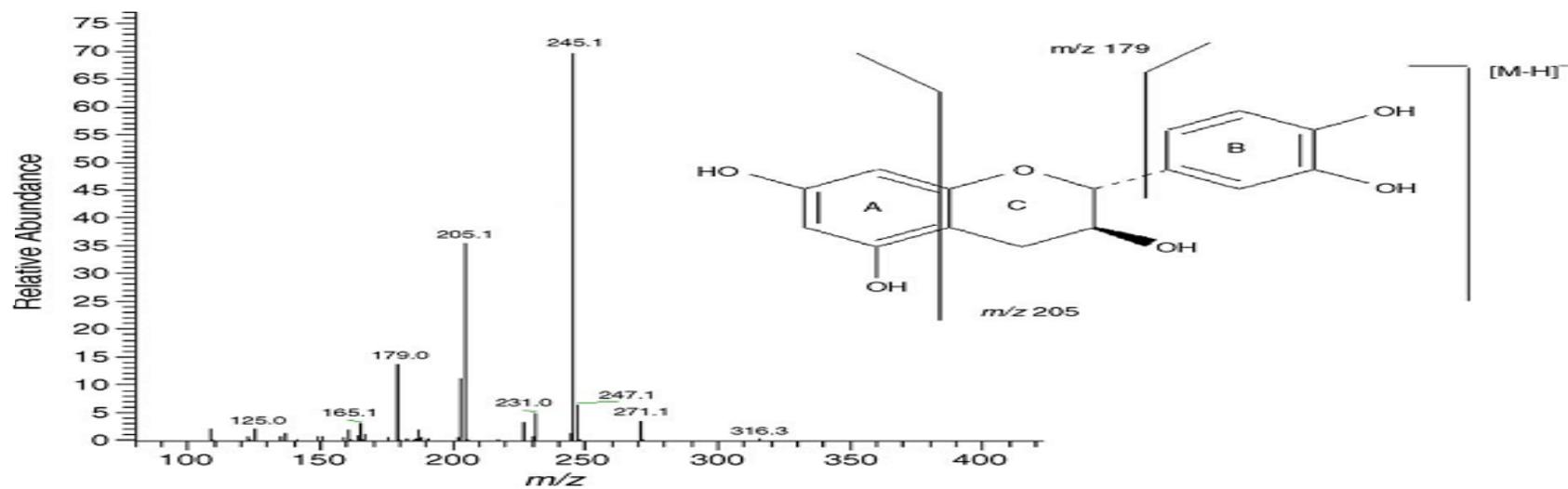


Espectros 125: Espectros de massas do íon precursor m/z 561,1299 [M-H]⁻ - negativo-APCI-MS² (ITTOF - alta resolução)

126

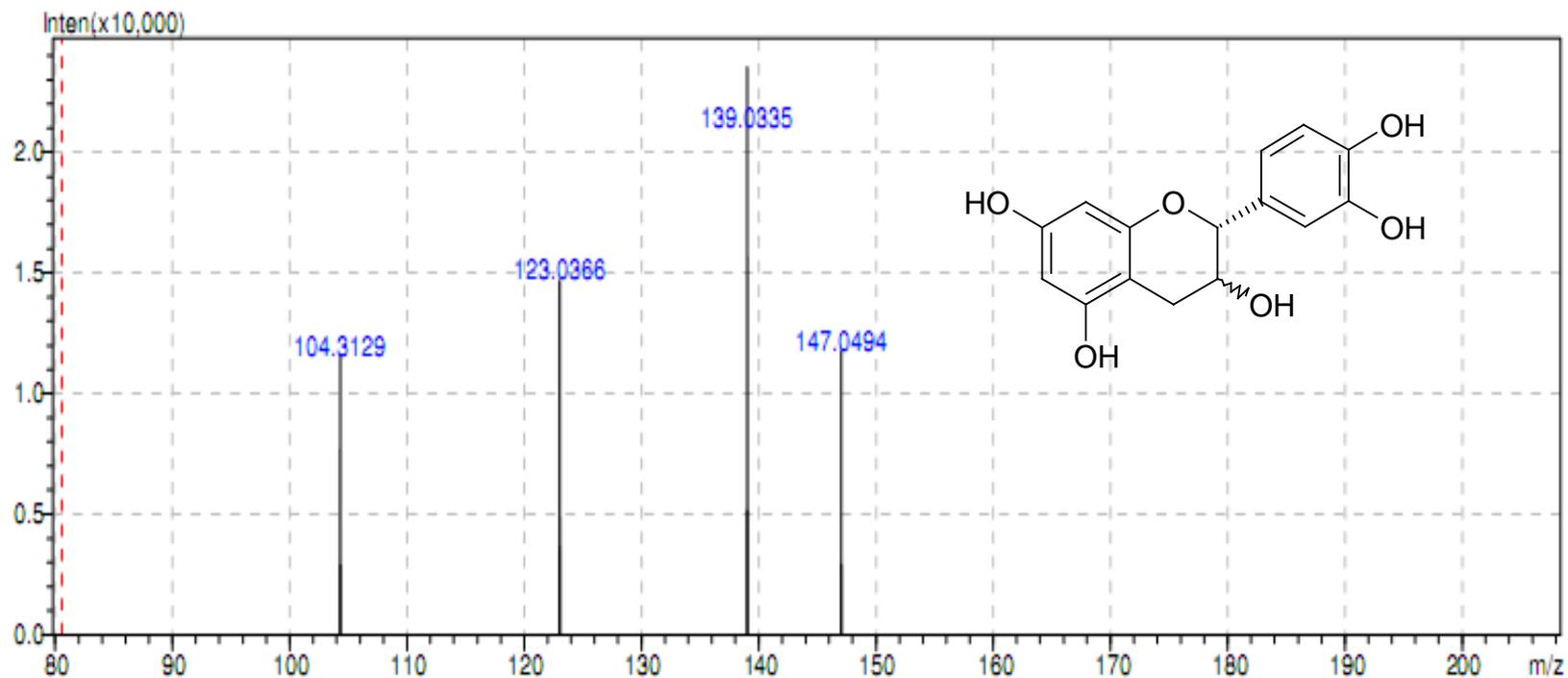


127



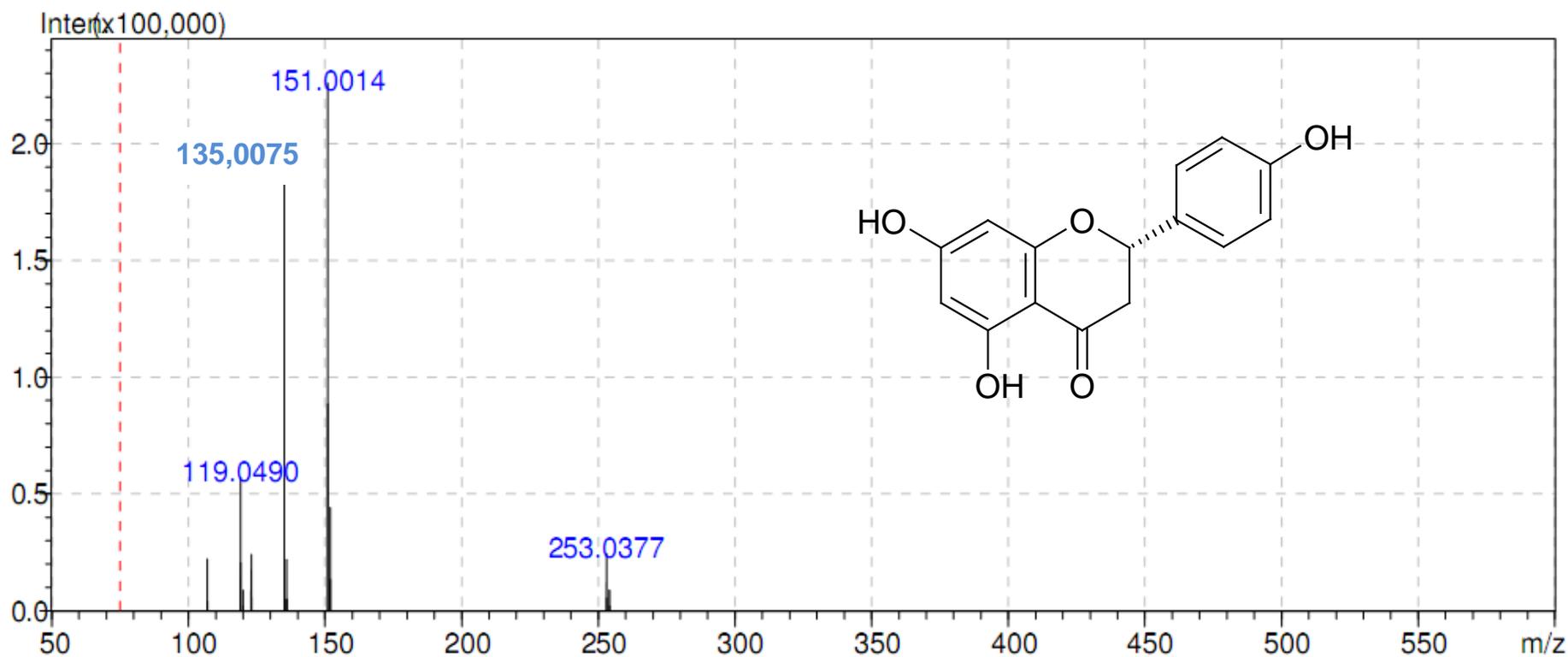
Espectros 126 e 127: Espectros de massas do íon precursor m/z 289,0667 $[M-H]^-$ - negativo-APCI-MS² (ITTOF - alta resolução) (126) e o espectro de massas da catequina citada na literatura [BRAVO *et al.*, 2006] (127)

128



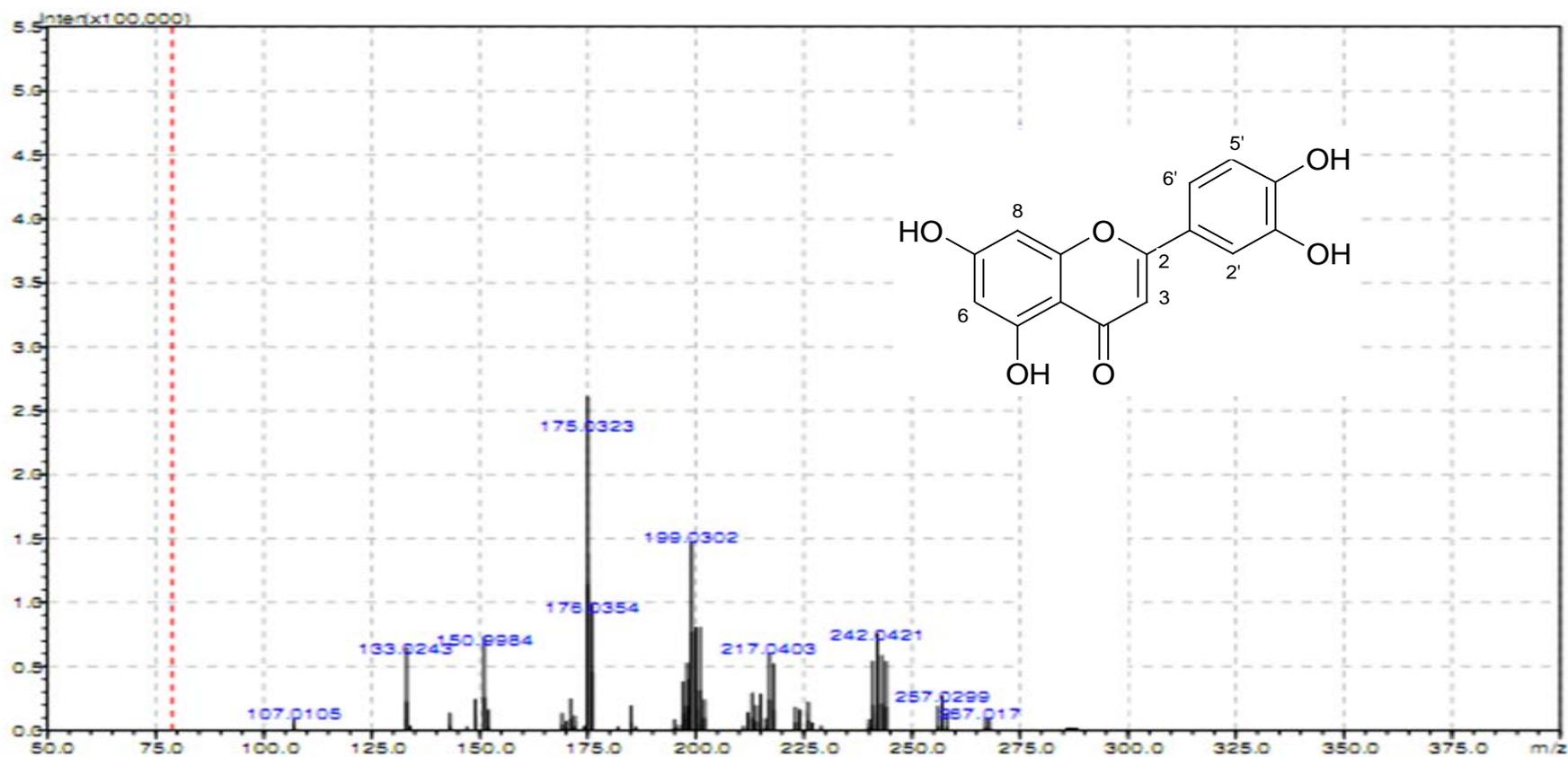
Espectros128: Espectro de massas do íon precursor m/z 291,0812 [M+H]⁺ - positivo-APCI-MS² (ITTOF - alta resolução)

129



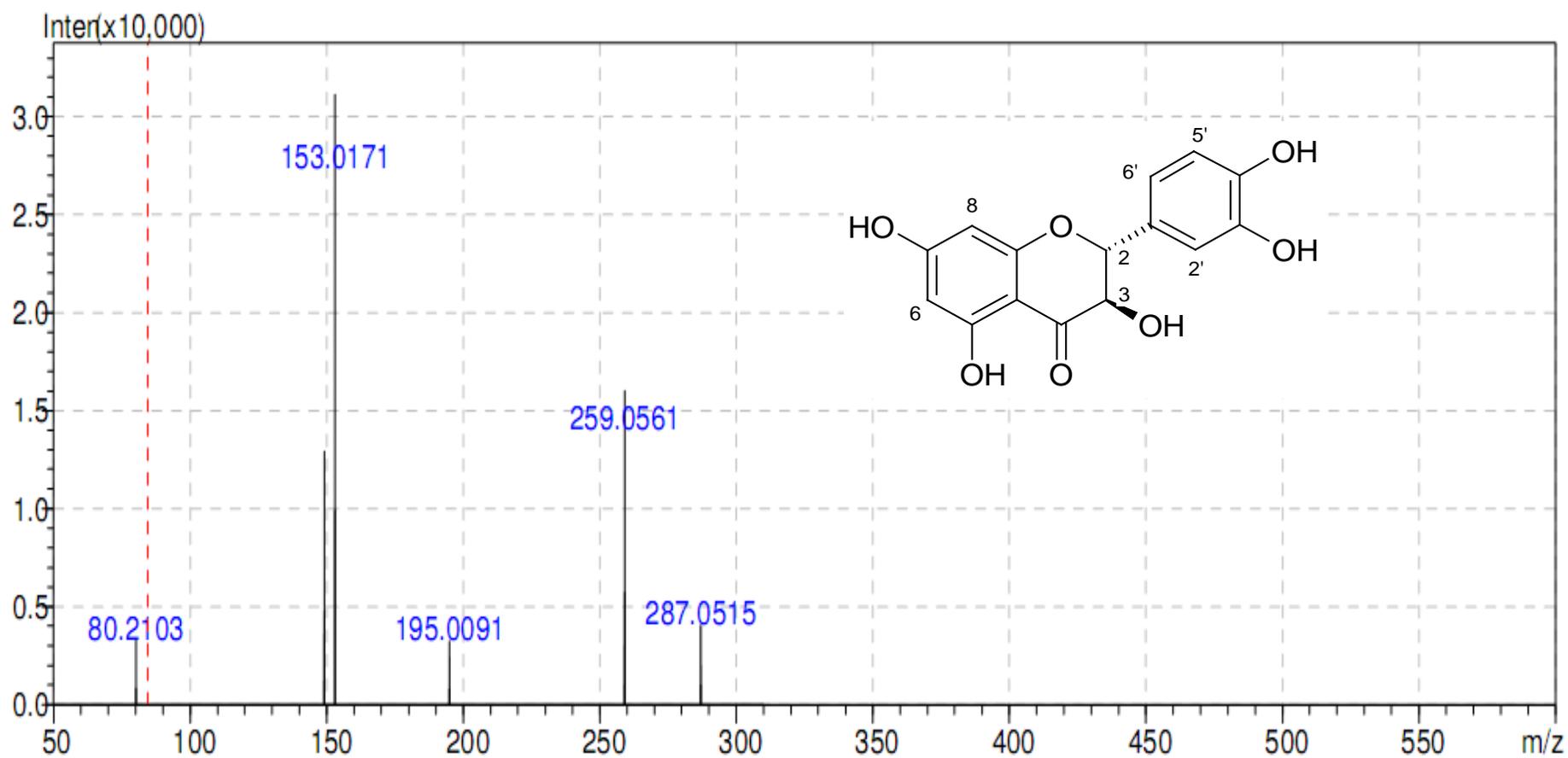
Espectros129: Espectro de massas do íon precursor m/z 271,0559 [M-H]⁻ - negativo-APCI-MS² (ITTOF - alta resolução)

130



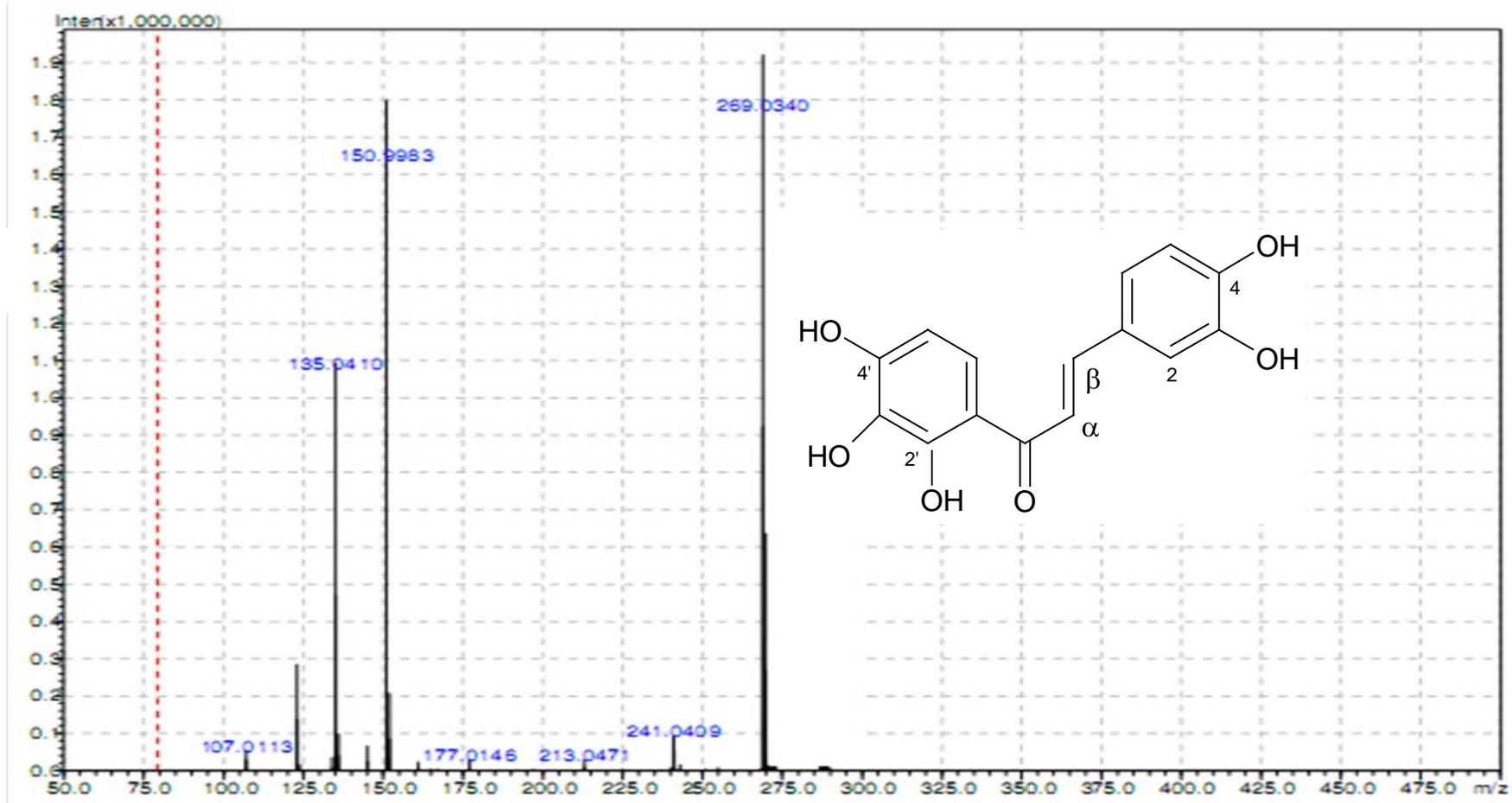
Espectros130: Espectro de massas do íon precursor m/z 285,0267 [M-H]⁻ - negativo-APCI-MS² (ITTOF - alta resolução)

131



Espectros131: Espectro de massas do íon precursor m/z 305,0691 [M+H]⁺ - positivo-APCI-MS² (ITTOF - alta resolução)

132



Espectros132 Espectro de massas do íon precursor m/z 287,0442 [M-H]⁻ - negativo-APCI-MS² (ITTOF - alta resolução)