

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**OBTENÇÃO DE INSETICIDA E FUNGICIDA CONTRA  
FORMIGAS CORTADEIRAS E SEU FUNGO SIMBIONTE EM  
*Myracrodruon urundeuva* E DE COMPLEXOS DE  
COORDENAÇÃO COM METAIS DE COMPOSTOS ATIVOS  
PARA CONTROLE DESTA PRAGA**

**André Lúcio Franceschini Sarria\***

Tese apresentada como parte dos requisitos  
para obtenção do título de DOUTOR EM  
CIÊNCIAS, área de concentração: QUÍMICA  
ORGÂNICA.

**Orientador: João Batista Fernandes**

**\* bolsista FAPESP**

**São Carlos - SP  
2012**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

S247oi

Sarria, André Lúcio Franceschini.

Obtenção de inseticida e fungicida contra formigas cortadeiras e seu fungo simbionte em *Myracrodruon urundeuva* e de complexos de coordenação com metais de compostos ativos para controle desta praga / André Lúcio Franceschini Sarria. -- São Carlos : UFSCar, 2012.  
259 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2012.

1. Química orgânica. 2. Produtos naturais. 3. *Myracrodruon urundeuva*. 4. Complexos metálicos. 5. Fungo simbionte. 6. Formigas cortadeiras. I. Título.

CDD: 547 (20<sup>a</sup>)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
*Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia*  
*Departamento de Química*  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**  
**Curso de Doutorado**

---

*Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de tese de doutorado do candidato André Lucio Franceschini Sarria, realizada em 31 de agosto de 2012:*



---

Prof. Dr. João Batista Fernandes



---

Profa. Dra. Lucia Maria Xavier Lopes



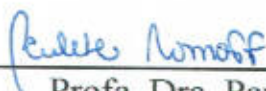
---

Prof. Dr. André Rodrigues



---

Prof. Dr. Antonio Gilberto Ferreira



---

Profa. Dra. Paulete Romoff

*“Esperamos pela luz, mas contemplamos a escuridão.”*  
Isaías, 59:9

*Dedico aos meus pais que me deram à vida e ao meu  
irmão Eduardo que não deixou que eu a perdesse.*

## AGRADECIMENTOS

Aos meus quatro sobrinhos que cada um a seu jeito me ensinaram muitas coisas da vida: a Tauara de que às vezes a vida não é como imaginamos ao Juninho de que podemos ver beleza numa simples bola de plástico ao Guilherme que devemos aceitar os problemas e não deixar de lado boas músicas e ao Gabriel que as coisas são simples e nós que dificultamos tudo;

À Minha querida família, que apesar das perdas, nos mantemos sempre unidos: Meus irmãos Mauro e Eduardo (meus braços e minhas pernas), Tia Cila (minha mãe de coração), Vovó Maria, minhas duas primas irmãs Márcia e Paula e o mais novo membro a Gabriela que só veio pra trazer luz;

A Miriam Bellido uma pessoa que mesmo vivendo do outro lado do oceano nunca me deixou por um só dia.

Ao meu orientador que aqui o chamarei de João, uma pessoa que me ensinou mais que química, que me ensinou a trabalhar com ética e respeito aos demais e a amar o que se faz; uma pessoa que abriu as portas e se hoje defendo minha tese foi graças a sua confiança em mim;

A Prof<sup>a</sup> Clélia que não me abandonou quando estive hospitalizado e sempre que me encontra pelos corredores do DQ me recebe com um sorriso imenso;

Aos meus amigos de Cajobi: Denis, Gilberto, Carolina, Régis, Rafael (Barata), Nilo e Lucas: Boas companhias para todas as horas, simplesmente amigos...

A Valéria, Ari e Priscila Alexandre, Nivair Sandrini, Renato Marcelo, Roselena, Cleonice Teixeira, pessoas de Cajobi...

Aos grandes amigos que fiz em São Carlos: O Rodrigo (Japa) um amigo de sempre e uma das pessoas mais honestas e corretas que conheci; a Karlinha Malaquias um exemplo de amor e amizade; ao Lucas Curcino e ao Paulo pelos tempos de república; e a família PN: Israel, Leila, Roberta, Moacir, Wesley, Tati Bondancia, Evandro, Kátia, Marsele, Cristovam, Sâmia, Bárbara, Lia, Vanessa, Jaqueline, Lívia, Fabiana, Keylla, Marcela e Leonardo, mesmo quem não estava ligado diretamente ao meu projeto foram grandes companhias durante o meu doutorado;

Ao meu aluno de IC Rodney;

Aos amigos “das antigas” Tati Albarici, Richele, Anna Sylvia, Sabá e Tiagão (hoje difícil chamá-los de professor Sebastião e professor Tiago) cinco pessoas que literalmente me deram comida na boca;

A Dra. Ana Paula Terezan e seus alunos de IC pelos ensaios com o fungo;

Ao Murilo, Regina, Márcia, Carol, Angélica e Marília pela grande ajuda na parte inorgânica e pelos ensaios com a enzima AChE;

Aos amigos de Rio Claro: Marcela, Amanda, Ita e professor Odair, pelos ensaios com as formigas e pela amizade e disposição de sempre ajudar;

Ao Elenilson e sua esposa Lorena e o professor Tiago pelos experimentos de g-NOESY;

À Luciana Vizotto e Paulo pelos espectros de RMN e CHN;

Às “meninas da secretaria” Cris, Ariani e Lu que sem elas não teríamos nem um documento e por me aguentar a todo tempo;

Ao professor Norberto Peporine e seu técnico Tomaz da USP-Ribeirão pelas análises de massas de alta resolução;

A professora Carmen L. Cardoso da USP – Ribeirão Preto, Professora Quézia B Cass e as alunas Kênia e Julia pelos ensaios com as enzimas;

Ao professor Otaciro da USP-SC pelas análises de dicrósmos circular;

À Dorai pelos experimentos de massas;

Aos professores do DQ pela grande ajuda profa Arlene (por autorizar o uso de seu laboratório), prof<sup>a</sup> Fátima, prof<sup>o</sup>. Paulo César e prof<sup>o</sup> Edinho (pelos papos nos corredores sobre mecanismos, biossíntese e espectroscopia de massas) ao prof<sup>o</sup> Gilberto;

À FAPESP pela bolsa oferecida.

**SIMBOLOS E ABREVIATURAS**

$\lambda$  - Comprimento de onda  
 $\emptyset$  – Diâmetro e h – Altura  
AChE – Acetilcolinesterase  
RMN  $^{13}\text{C}$  – Ressonância magnética nuclear de carbono 13  
RMN  $^1\text{H}$  – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio  
 $J$  – Constante de acoplamento  
 $\delta$  – Deslocamento químico  
 $t$  – Triplete  
 $s/$  – Singleto largo  
 $s$  – Singleto  
 $dd$  – Duplo dubleto  
 $d$  - Dubleto  
 $m$  – Multiplete  
gNOESY – Nuclear Overhauser effect spectroscopy  
HMBC – Heteronuclear multiple quantum correlation  
HSQC – Heteronuclear single quantum coherence  
COSY – Correlated spectroscopy  
Acetona- $d_6$  – Acetona deuterada  
 $\text{CDCl}_3$  – Triclorometano deuterado  
MeOD- $d_4$  – Metanol deuterado  
DMSO- $d_6$  – Dimetilsulfóxido deuterado  
C18 – octadecil silano  
CCD – Cromatografia em camada delgada  
CG-EM – Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas  
CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência  
CHN – Análise elementar de C,H,N  
TR – Tempo de retenção  
ESI – Electrospray ionization  
EtOH – Etanol  
DCM – Diclorometano  
ACN – Acetonitrila  
EDA – Etilenodiamina  
TEA – Trietilamina  
MeOH – Metanol  
Fen – 1,10'-Fenantrolina em alguns casos pode ser representado por X  
Bipy – 2',2'-bipiridina em alguns casos pode ser representado por X  
FLAV – Flavonóide  
HESP – Hesperidina (3',5,7-Trihidroxi-4-metoxiflavanona 7-ramnoglicosídeo)  
HPT – Hesperitina 3',5,7-Trihidroxi-4-metoxiflavanona  
NAR – Naringina (4',5,7-Trihidroxiflavanona 7-ramnoglicosídeo)  
NNINA – Naringenina (4',5,7-Trihidroxiflavanona)  
AcCu – Acetato de Cobre  
L – Ligantes obtidos a partir de lausona via reação de Mannich  
 $S_{50}$  – Sobrevivência mediana das operárias de *Atta sexdens rubropilosa*  
DC – Dicroísmo circular  
AP.I – Apêndice I  
AP. II – Apêndice II



## LISTA DE FIGURAS

|   |      |
|---|------|
| FIGURA 1.1. Esquema do mecanismo de hidrólise da enzima AChE.   | 7    |
| FIGURA 3.1. Cromatograma de CLAE da fração FAA2.2.  | 26   |
| FIGURA 3.2. Cromatograma de CLAE da fração FAA2.4.  | 26   |
| FIGURA 3.3. Cromatograma Gasoso da fração FAA4.3.3.   | 28   |
| FIGURA 3.4. Cromatograma de CLAE da fração FAA8.3.  | 30   |
| FIGURA 3.5. Cromatograma de CLAE da fração FAA8.5.  | 31   |
| FIGURA 3.6. Cromatograma de CLAE da fração FAA9.5.  | 33   |
| FIGURA 3.7. Cromatograma de CLAE da fração FAM3.3.2.  | 36   |
| FIGURA 3.8. Cromatograma de CLAE da fração FAM3.5.2.  | 36   |
| FIGURA 3.9. Cromatograma de CLAE da fração FAM4.4.2.  | 38   |
| FIGURA 3.10. Cromatograma gasoso da fração GAD4.2.3.  | 41   |
| FIGURA 3.11. Cromatograma gasoso da fração GAD4.4.2.  | 42   |
| FIGURA 3.12. Cromatograma gasoso de GAD4.5.3.   | 43   |
| FIGURA 3.13. Cromatograma gasoso de GAD442A.  | 44   |
| FIGURA 3.14. Cromatograma gasoso de GAD442B.  | 44   |
| FIGURA 3.15. Cromatograma gasoso de GAD4.6 metilado( <b>A</b> ) e sua ampliação ( <b>B</b> ).   | 45   |
| FIGURA 3.16. Cromatograma de CLAE da fração GAA3.3.2.   | 49   |
| FIGURA 3.17. Cromatograma de CLAE sobrepostos da fração GAA4.2.3.   | 50   |
| FIGURA 3.18. Cromatogramas utilizando várias misturas de solventes da fração GAA4.2.3.  | 51   |
| FIGURA 3.19. Cromatograma HPLC preparativo da substância GAA3.4.3.  | 51   |
| FIGURA 3.20. Cromatograma de CLAE da fração GAA5.3.2A.  | 53   |
| FIGURA 3.21. Cromatograma de CLAE da fração GAA5.4.3.   | 54   |
| FIGURA 3.22. Rota sintética para reação de Mannich.   | 56   |
| FIGURA 3.23. Substâncias sintetizadas a partir de benzaldeídos e aminas primárias.  | 58   |
| FIGURA 3.24. Catálise da acetilcolina e reação de Ellman.   | 61   |
| FIGURA 3.25. O percentual de inibição foi obtido comparando-se a atividade da enzima na presença do inibidor ( $V_i$ ) com a atividade inicial da enzima ( $V_0$ ), de acordo com a equação: (% de inibição = $1 - [V_i - V_0] \times 100$ ). | 63   |
| FIGURA 4.1. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>FA1</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.2. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>FA2</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 200 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.3. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>FA3</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.4. Mapa de correlações H-H COSY da substância <b>FA3</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.5. Mapa de contorno HSQC da substância <b>FA3</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.6. Mapa de contorno HMBC da substância <b>FA3</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.7. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>FA4</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.8. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância <b>FA4</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.9. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ das substâncias <b>FA5</b> e <b>FA6</b> (Acetona <i>d</i> -6, 200 MHz).   | 82   |
| FIGURA 4.10. Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ das substâncias <b>FA5</b> e <b>FA6</b> (Acetona <i>d</i> -6, 200 MHz).   | 82   |
| FIGURA 4.11. Espectro de massas de <b>FA5</b> , banda cromatográfica 1.   | 83   |
| FIGURA 4.12. Espectro de massas de <b>FA6</b> , banda cromatográfica 2.   | 84   |
| FIGURA 4.13. Proposta de formação do íon de $m/z$ 179.  | 84   |
| FIGURA 4.14. Proposta de formação para os íons $m/z$ 267 e 281.   | 85   |
| FIGURA 4.15. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>FA7</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.16. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância <b>FA7</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 100 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.17. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>FA8</b> (DMSO- <i>d</i> 6, 200 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.18. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>FA9</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.19. Mapa de contorno H-H COSY da substância <b>FA9</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.20. Mapa de contorno HSQC da substância <b>FA9</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.21. Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ da substância <b>FA10</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).   | 90   |
| FIGURA 4.22. Mapa de contorno H-H COSY da substância <b>FA10</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).   | 91   |
| FIGURA 4.23. Mapa de contorno HSQC da substância <b>FA10</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).   | 92   |
| FIGURA 4.24. Mapa de contorno HMBC da substância <b>FA10</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).   | 92   |
| FIGURA 4.25. Espectro de massas de alta resolução da substância <b>FA10</b> (modo negativo).  | 95   |
| FIGURA 4.26. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (com ampliação) da substância <b>FA11</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).   | 97   |
| FIGURA 4.27. Mapa de contorno H-H COSY da substância <b>FA11</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).   | 98   |
| FIGURA 4.28. Mapa de contorno HSQC (divididos em duas partes) da substância <b>FA11</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).  | 99   |

|   |      |
|---|------|
| FIGURA 4.29. Mapa de contorno HMBC (divididos em duas partes) da substância <b>FA11</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).                      | 100  |
| FIGURA 4.30. Espectro de massas de alta resolução para a substância <b>FA11</b> (modo positivo).  | 103  |
| FIGURA 4.31. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância <b>FA12</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).                                     | 105  |
| FIGURA 4.32. Mapa de contorno H-H COSY da substância <b>FA12</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).   | 106  |
| FIGURA 4.33. Mapa de contorno HSQC da substância <b>FA12</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).   | 106  |
| FIGURA 4.34. Mapa de contorno HMBC da substância <b>FA12</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).   | 107  |
| FIGURA 4.35. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância <b>FA13</b> (DMSO- <i>d</i> 6, 400 MHz).                                     | AP.I |
| FIGURA 4.36. Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da substância <b>FA13</b> (DMSO- <i>d</i> 6, 100 MHz).                                    | AP.I |
| FIGURA 4.37. Mapa de contorno H-H COSY (com ampliação) da substância <b>FA13</b> (DMSO- <i>d</i> 6, 400 MHz).                             | AP.I |
| FIGURA 4.38. Mapa de contorno HSQC da substância <b>FA13</b> (DMSO- <i>d</i> 6, 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.39. Mapa de contorno HMBC da substância <b>FA13</b> (DMSO- <i>d</i> 6, 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.40. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância <b>FA14</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).                                     | AP.I |
| FIGURA 4.41. Mapa de contorno H-H COSY da substância <b>FA14</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.42. Mapa de contorno HSQC da substância <b>FA14</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.43. Mapa de contorno HMBC (ampliação) da substância <b>FA14</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).                                     | AP.I |
| FIGURA 4.44. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância <b>FA15</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).                                     | AP.I |
| FIGURA 4.45. Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da substância <b>FA15</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 100 MHz).                                    | AP.I |
| FIGURA 4.46. Mapa de contorno H-H COSY da substância <b>FA15</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.47. Mapa de contorno HSQC da substância <b>FA15</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.48. Mapa de contorno HMBC da substância <b>FA15</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.49. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância <b>FA16</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).                                     | AP.I |
| FIGURA 4.50. Mapa de contorno H-H COSY (ampliado em duas partes) da substância <b>FA16</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).                   | AP.I |
| FIGURA 4.51. Mapa de contorno HSQC da substância <b>FA16</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.5. Mapa de contorno HMBC da substância <b>FA16</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.53. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância <b>FA17</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).                                     | AP.I |
| FIGURA 4.54. Mapa de contorno H-H COSY da substância <b>FA17</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.55. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância <b>GA1</b> (CDCl <sub>3</sub> ; 200 MHz).                                    | AP.I |
| FIGURA 4.56. Espectro de Massas da substância <b>GA1</b> .  | AP.I |
| FIGURA 4.57. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H das substâncias <b>GA2</b> e <b>GA3</b> (CDCl <sub>3</sub> , 200 MHz).                     | AP.I |
| FIGURA 4.58. Espectro de RMN de <sup>13</sup> C das substâncias <b>GA2</b> e <b>GA3</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz).                    | AP.I |
| FIGURA 4.59. Espectro de Massas da banda cromatográfica com tempo de retenção 41,001 (massa 438 D) da substância <b>GA2</b> .             | AP.I |
| FIGURA 4.60. Espectro de Massas da banda cromatográfica com tempo de retenção 43,270 (massa 424 D) da substância <b>GA3</b> .             | AP.I |
| FIGURA 4.61. Proposta do pico <i>m/z</i> 300.   | 118  |
| FIGURA 4.62. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H das substâncias <b>GA4</b> e <b>GA5</b> (CDCl <sub>3</sub> ; 200 MHz).                     | AP.I |
| FIGURA 4.63. Espectro de Massas da substância <b>GA4</b> .  | AP.I |
| FIGURA 4.64. Espectro de Massas da substância <b>GA5</b> .  | AP.I |
| FIGURA 4.65. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H das substâncias <b>GA6</b> e <b>GA7</b> (CDCl <sub>3</sub> , 200 MHz).                     | AP.I |
| FIGURA 4.66. Espectro de Massas da substância <b>GA6</b> .  | AP.I |
| FIGURA 4.67. Espectro de Massas da substância da substância <b>GA7</b> .  | AP.I |
| FIGURA 4.68. Proposta de fragmentação da substância <b>GA7</b> .  | 122  |
| FIGURA 4.69. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H das substâncias presentes em GA8 (Acetona- <i>d</i> 6, 200 MHz).                           | AP.I |
| FIGURA 4.70. Espectro de Massas das substâncias presentes em <b>GA8</b>   | AP.I |
| FIGURA 4.71. Ampliação do espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância <b>GA9</b> (Acetona- <i>d</i> 6; 400 MHz).                      | 125  |
| FIGURA 4.72. Ampliação do espectro de RMN de <sup>1</sup> H na região compreendida entre 6,48 – 6,43 ppm. (Acetona- <i>d</i> 6; 400 MHz). | 125  |
| FIGURA 4.73. Mapa de contorno H-H COSY da substância <b>GA9</b> (Acetona- <i>d</i> 6; 400 MHz).   | 126  |
| FIGURA 4.74. Mapa de contorno HSQC da substância <b>GA9</b> (Acetona- <i>d</i> 6; 400 MHz).   | 128  |
| FIGURA 4.75. Mapa de contorno HMBC da substância <b>GA9</b> (Acetona- <i>d</i> 6; 400 MHz).   | 128  |
| FIGURA 4.76. Experimento (1) de gNOESY da substância <b>GA9</b> (Acetona- <i>d</i> 6, 400 MHz).   | 133  |
| FIGURA 4.77. Experimento (2) de gNOESY da substância <b>GA9</b> (Acetona- <i>d</i> 6, 400 MHz).   | 133  |
| FIGURA 4.78. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (ampliação) da substância <b>GA10</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).                         | 136  |
| FIGURA 4.79. Mapa de contorno H-H COSY da substância <b>GA10</b> (MeOD- <i>d</i> 4, 400 MHz).   | 137  |
| FIGURA 4.80. Mapa de contorno HSQC da substância <b>GA10</b> (MeOD- <i>d</i> 4; 400 MHz).   | 138  |

|  |      |
|--|------|
| FIGURA 4.81. Mapa de contorno HMBC da substância <b>GA10</b> (MeOD- <i>d3</i> ; 400 MHz).  | 139  |
| FIGURA 4.82. Espectro massas de alta resolução da substância <b>GA10</b> (modo positivo).  | 140  |
| FIGURA 4.83. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>GA11</b> (Acetona- <i>d6</i> ; 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.84. Mapa de contorno H-H COSY da substância <b>GA11</b> (Acetona- <i>d6</i> ; 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.85. Mapa de contorno HSQC da substância <b>GA11</b> (Acetona- <i>d6</i> ; 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.86. Mapa de contorno HMBC da substância <b>GA11</b> (Acetona- <i>d6</i> ; 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.87. Espectro de Alta Resolução da substância <b>GA11</b> (modo negativo).   | AP.I |
| FIGURA 4.88. Espectro RMN $^1\text{H}$ da substância <b>GA12</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.89. Mapa de contorno H-H COSY da substância <b>GA12</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.90. Mapa de contorno HSQC da substância <b>GA12</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.91. Mapa de contorno HMBC da substância <b>GA12</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.92. Espectro de Massas Alta Resolução da substância <b>GA12</b> (modo positivo).  | AP.I |
| FIGURA 4.93. Experimento (1) de gNOESY da substância <b>GA12</b> (Acetona- <i>d6</i> , 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.94. Experimento (2) de gNOESY da substância <b>GA12</b> (Acetona- <i>d6</i> , 400 MHz).   | AP.I |
| FIGURA 4.95. Proposta de formação do íon 527,1331 da substância <b>GA12</b> .  | 146  |
| FIGURA 4.96. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>GA13</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 400 MHz).  | 148  |
| FIGURA 4.97. Mapa de contorno H-H COSY da substância <b>GA13</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 400 MHz).  | 149  |
| FIGURA 4.98. Mapa de contorno HSQC da substância <b>GA13</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 400 MHz).  | 151  |
| FIGURA 4.99. Mapa de contorno HMBC da substância <b>GA13</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 400 MHz).  | 151  |
| FIGURA 4.100. Espectro de alta resolução da substância <b>GA13</b> (modo negativo).  | 154  |
| FIGURA 4.101. Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>GA14</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 400 MHz).  | 156  |
| FIGURA 4.102. Mapa de contorno H-H COSY da substância <b>GA14</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 400 MHz).   | 157  |
| FIGURA 4.103. Mapa de contorno HSQC da substância <b>GA14</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 400 MHz).   | 158  |
| FIGURA 4.104. Mapa de contorno HMBC da substância <b>GA14</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 400 MHz).   | 158  |
| FIGURA 4.105. Espectro de massas de alta resolução da substância <b>GA14</b> (modo positivo).  | 160  |
| FIGURA 4.106. Proposta de fragmentação da substância <b>GA14</b> e seu intermediário mais estável.   | 161  |
| FIGURA 4.107. Experimento (1) de gNOESY da substância <b>GA14</b> (Acetona- <i>d6</i> , 400 MHz).  | 162  |
| FIGURA 4.108. Experimento (2) de gNOESY da substância <b>GA14</b> (Acetona- <i>d6</i> , 400 MHz).  | 163  |
| FIGURA 4.109. Espectro RMN $^1\text{H}$ da substância <b>GA15</b> (Acetona- <i>d6</i> ; 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.110. Mapa de contorno H-H COSY (dividido em duas partes) da substância <b>GA15</b> (Acetona- <i>d6</i> ; 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.111. Mapa de contorno HSQC (dividido em duas partes) da substância <b>GA15</b> (Acetona- <i>d6</i> ; 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.112. Mapa de contorno HMBC (dividido em duas partes) da substância <b>GA15</b> (Acetona- <i>d6</i> ; 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.113. Espectro de Massas de Alta Resolução da substância <b>GA15</b> (modo positivo).  | AP.I |
| FIGURA 4.114. Experimento (1) de gNOESY da substância <b>GA15</b> (Acetona- <i>d6</i> , 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.115. Experimento (2) de gNOESY da substância <b>GA15</b> (Acetona- <i>d6</i> , 400 MHz).  | AP.I |
| FIGURA 4.116. Proposta de formação do íon 527,1391 da substância <b>GA15</b> .   | 167  |
| FIGURA 4.117. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (ampliação) da substância <b>GA16</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 600 MHz).   | 169  |
| FIGURA 4.118. Mapa de contorno H-H COSY da substância <b>GA16</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 600 MHz).   | 170  |
| FIGURA 4.119. Mapa de contorno HSQC da substância <b>GA16</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 600 MHz).   | 171  |
| FIGURA 4.120. Mapa de contorno HMBC da substância <b>GA16</b> (MeOD- <i>d4</i> ; 600 MHz).   | 171  |
| FIGURA 4.121. Espectro de massas de alta resolução da substância <b>GA16</b> (modo negativo).  | 174  |
| FIGURA 4.122. Espectro de absorção na região UV-Vis da substância <b>G10</b> ( $\lambda^{\text{MeOH}}$ 500).   | 175  |
| FIGURA 4.123. Espectro de absorção na região UV-Vis da substância <b>G12</b> ( $\lambda^{\text{MeOH}}$ 400).   | AP.I |
| FIGURA 4.124. Espectro de absorção na região UV-Vis da substância <b>G13</b> ( $\lambda^{\text{MeOH}}$ 500).   | AP.I |
| FIGURA 4.125. Espectro de absorção na região UV-Vis da substância <b>G14</b> ( $\lambda^{\text{MeOH}}$ 400).   | AP.I |
| FIGURA 4.126. Espectro de absorção na região UV-Vis da substância <b>G15</b> ( $\lambda^{\text{MeOH}}$ 400).   | AP.I |
| FIGURA 4.127. Molécula modelo para os cálculos de configuração absoluta (-)-(5 <i>S</i> ,6 <i>S</i> )-5,6-dihidro-3,8,10-trihidroxi-5-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-6-hidroxi-2,4-dimetoxi-7 <i>H</i> -benzo[ <i>c</i> ]xanthen-7-one. | 176  |
| FIGURA 4.128. Espectro de DC da substância <b>GA9</b> .  | 177  |
| FIGURA 4.129. Configuração absoluta (7'' <i>S</i> , 8'' <i>S</i> ) da substância <b>GA9</b> .  | 177  |
| FIGURA 4.130. Espectro de DC da substância <b>GA12</b> .   | AP.I |
| FIGURA 4.131. Configuração absoluta (7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,7'' <i>S</i> ,8'' <i>R</i> ) da substância <b>GA12</b> .  | 178  |
| FIGURA 4.132. Espectro de DC da substância <b>GA13</b> .   | AP.I |
| FIGURA 4.133. Enantiômeros (7'' <i>S</i> ,8'' <i>S</i> ) e (7'' <i>R</i> ,8'' <i>R</i> ) da substância <b>GA13</b> .   | 178  |
| FIGURA 4.134. Espectro de DC da substância <b>GA14</b> .   | AP.I |

|  |       |
|--|-------|
| FIGURA 4.135. (7''S, 8''R,7R,8R) da substância <b>GA14</b> .   | 179   |
| FIGURA 4.136. Espectro de DC da substância <b>GA15</b> .   | AP.I  |
| FIGURA 4.137. Configuração absoluta como (7''S,8''S,7R,8S) da substância <b>GA15</b> .   | 179   |
| FIGURA 4.138. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>1,2-Di(4'-iminoNAR)etano</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 400 MHz).           | AP.II |
| FIGURA 4.139. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>1,2-Di(4'-iminoNNINA)etano</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 400 MHz).         | AP.II |
| FIGURA 4.140. Substâncias sintetizadas a partir da lausona.  | 191   |
| FIGURA 4.141. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>L1</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 400 MHz).                                 | AP.II |
| FIGURA 4.142. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância <b>L1</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 100 MHz).                              | AP.II |
| FIGURA 4.143. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>L2</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 400 MHz).                                 | AP.II |
| FIGURA 4.144. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância <b>L2</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 100 MHz).                              | AP.II |
| FIGURA 4.145. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>L3</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 400 MHz).                                 | AP.II |
| FIGURA 4.146. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância <b>L3</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 100 MHz).                              | AP.II |
| FIGURA 4.147. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>L4</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 400 MHz).                                 | AP.II |
| FIGURA 4.148. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância <b>L4</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 100 MHz).                              | AP.II |
| FIGURA 4.149. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>L5</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 400 MHz).                                 | AP.II |
| FIGURA 4.150. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância <b>L5</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 100 MHz).                              | AP.II |
| FIGURA 4.151. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>L6</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 400 MHz).                                 | AP.II |
| FIGURA 4.152. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância <b>L6</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 100 MHz).                              | AP.II |
| FIGURA 4.153. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>L7</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 400 MHz).                                 | AP.II |
| FIGURA 4.154. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância <b>L7</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 100 MHz).                              | AP.II |
| FIGURA 4.155. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>L8</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 400 MHz).                                 | AP.II |
| FIGURA 4.156. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância <b>L8</b> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 100 MHz).                              | AP.II |
| FIGURA 4.157. Parte da substância com sinais similares para todas elas.  | 192   |
| FIGURA 4.158. Espectro de Massas da substância <b>L1</b> (modo positivo).  | AP.II |
| FIGURA 4.159. Espectro de Massas da substância <b>L2</b> (modo positivo).  | AP.II |
| FIGURA 4.160. Espectro de Massas da substância <b>L3</b> (modo positivo).  | AP.II |
| FIGURA 4.161. Espectro de Massas da substância <b>L4</b> (modo positivo).  | AP.II |
| FIGURA 4.162. Espectro de Massas da substância <b>L5</b> (modo positivo).  | AP.II |
| FIGURA 4.163. Espectro de Massas da substância <b>L6</b> (modo positivo).  | AP.II |
| FIGURA 4.164. Espectro de Massas da substância <b>L7</b> (modo positivo).  | AP.II |
| FIGURA 4.165. Espectro de Massas da substância <b>L8</b> (modo positivo).  | AP.II |
| FIGURA 4.166. Proposta de fragmentação para as substâncias L's.  | 192   |
| FIGURA 4.167. Complexos do tipo Cu(FLAV) <sub>2</sub> sintetizados   | 193   |
| FIGURA 4.168. Espectro de massas do complexo <b>Cu(NAR)<sub>2</sub></b> .  | 194   |
| FIGURA 4.169. Proposta de fragmentação do complexo do complexo <b>Cu(NAR)<sub>2</sub></b> .  | 194   |
| FIGURA 4.170. Espectro de massas do complexo <b>Cu(NNINA)<sub>2</sub></b> .  | 195   |
| FIGURA 4.171. Proposta de fragmentação para o complexo <b>Cu(NNINA)<sub>2</sub></b> .  | 195   |
| FIGURA 4.172. Espectro de massas com sua ampliação do complexo <b>Cu(HESP)<sub>2</sub></b> .   | 196   |
| FIGURA 4.173. Proposta de formação do íon <i>m/z</i> 1219,2 do complexo <b>Cu(HESP)<sub>2</sub></b> a partir de rearranjo da ramnose terminal. | 196   |
| FIGURA 4.174. Espectro de massas do complexo <b>Cu(HPT)<sub>2</sub></b> (modo positivo).   | 197   |
| FIGURA 4.175. Eletroferogramas do flavonóide <b>NAR</b> e de <b>Cu(NAR)<sub>2</sub></b> respectivamente.                                       | 198   |
| FIGURA 4.176. Complexos do tipo <b>Cu(X)(FLAV)</b> sintetizados.   | 200   |
| FIGURA 4.177. Espectro de massas de alta resolução do complexo <b>Cu(BIPY)(NAR)</b> .  | 201   |
| FIGURA 4.178. Proposta de fragmentação do complexo <b>Cu(BIPY)(NAR)</b> .  | 201   |
| FIGURA 4.179. Espectro de massas de alta resolução (ampliação) do complexo <b>Cu(FEN)(NAR)</b> (modo positivo).                                | 202   |
| FIGURA 4.180. Espectro de massas do complexo <b>Cu(BIPY)(NNINA)</b> .  | 202   |
| FIGURA 4.181. Proposta de fragmentação do complexo <b>Cu(BIPY)(NNINA)</b> .  | 203   |
| FIGURA 4.182. Espectro de massas de alta resolução do complexo <b>Cu(FEN)(NNNINA)</b> (modo positivo).   | 203   |
| FIGURA 4.183. Espectro de massas do complexo <b>Cu(FEN)(HESP)</b> (modo positivo).   | 205   |
| FIGURA 4.184. Espectro de massas do complexo <b>Cu(BIPY)(HPT)</b> (modo positivo).   | 206   |
| FIGURA 4.185. Espectro de massas de alta resolução do complexo <b>Cu(FEN)(HPT)</b> (modo positivo).  | 207   |
| FIGURA 4.186. Eletroferogramas do flavonóide NNNINA e de seu complexo <b>Cu(BIPY)(NNINA)</b> .   | 208   |
| FIGURA 4.187. Complexos do tipo <b>Cu(iminoFLAV)</b> sintetizados.   | 209   |
| FIGURA 4.188. Espectro de massas de alta resolução do complexo <b>Cu(1,2-Di-(4'-iminoNAR)-etano)</b> (modo positivo).                          | 209   |

|   |       |
|---|-------|
| FIGURA 4.189. Espectro de massas de alta resolução do complexo <b>Cu(iminoNNINA)</b> (modo positivo).   | 210   |
| FIGURA 4.190. Espectro de IV do flavonóide <b>NAR</b> (pastilhas de KBr).   | AP.II |
| FIGURA 4.191. Espectro de IV do flavonóide <b>NNINA</b> (pastilhas de KBr).   | AP.II |
| FIGURA 4.192. Espectro de IV do flavonóide <b>HESP</b> (pastilhas de KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.193. Espectro de IV do flavonóide <b>HPT</b> (pastilhas de KBr).   | AP.II |
| FIGURA 4.194. Espectros de IV (ampliação) do flavonóide <b>NAR</b> e do complexo <b>[Cu(NAR)<sub>2</sub>]</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.195. Espectros de IV (ampliação) do flavonóide <b>NNINA</b> e do complexo <b>[Cu(NNINA)<sub>2</sub>]</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.196. Espectros de IV (ampliação) do flavonóide <b>HESP</b> e do complexo <b>[Cu(HESP)<sub>2</sub>]</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.197. Espectros de IV (ampliação) do flavonóide <b>HPT</b> e do complexo <b>[Cu(HPT)<sub>2</sub>]</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.198. Espectro de IV para o complexo <b>[Cu(BIPY)(NAR)]</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.199. Espectro de IV para o complexo <b>[Cu(BIPY)(NNINA)]</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.200. Espectro de IV para o complexo <b>[Cu(FEN)(HESP)]</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.201. Espectro de IV para o complexo <b>[Cu(BIPY)(HPT)]</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.202. Espectros de IV do derivado Imínico <b>(1,2-Di(4-iminoNAR)etano)</b> e de seu complexo (pastilhas KBr).   | AP.II |
| FIGURA 4.203. Espectros de IV do derivado Imínico <b>(1,2-Di(4-iminoNNINA)etano)</b> e de seu complexo.   | AP.II |
| FIGURA 4.204. Estrutura básica de flavonóides.  | 214   |
| FIGURA 4.205. Cromóforo cinamoil do flavonóide ( $\lambda^{\text{EtOH}}_{\text{max}} 246 \text{ nm}$ ).   | 215   |
| FIGURA 4.206. Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o flavonóide <b>NNINA</b> e seu complexo <b>[Cu(NNINA)<sub>2</sub>]</b> .                                 | AP.II |
| FIGURA 4.207. Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o flavonóide <b>HESP</b> e seu complexo <b>[Cu(HESP)<sub>2</sub>]</b> .                                   | AP.II |
| FIGURA 4.208. Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o flavonóide <b>HPT</b> e seu complexo <b>[Cu(HPT)<sub>2</sub>]</b> .                                     | AP.II |
| FIGURA 4.209. Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o flavonóide <b>NAR</b> e seu complexo <b>[Cu(BIPY)(NAR)]</b> .   | AP.II |
| FIGURA 4.210. Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o flavonóide <b>NAR</b> e seu complexo <b>[Cu(FEN)(NAR)]</b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.211. Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o flavonóide <b>NNINA</b> e seu complexo do tipo <b>[Cu(BIPY)(NNINA)]</b> .                               | AP.II |
| FIGURA 4.212. Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o flavonóide <b>NNINA</b> e seu complexo <b>[Cu(FEN)(NNINA)]</b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.213. Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o flavonóide <b>HESP</b> e seu complexo <b>[Cu(FEN)(HESP)]</b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.214. Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o flavonóide <b>HPT</b> e seu complexo <b>[Cu(BIPY)(HPT)]</b> .   | AP.II |
| FIGURA 4.215. Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o flavonóide <b>HPT</b> e seu complexo <b>[Cu(FEN)(HPT)]</b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.216. Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o ligante <b>(1,2-Di(4'-iminoNAR)etano)</b> e de seu complexo <b>[Cu(1,2-Di(4'-iminoNAR)etano)]</b> .     | AP.II |
| FIGURA 4.217. Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o ligante <b>(1,2-Di(4'-iminoNNINA)etano)</b> e de seu complexo <b>[Cu(1,2-Di(4'-iminoNNINA)etano)]</b> . | AP.II |
| FIGURA 4.218. Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{400}$ ) para o flavonóide <b>NAR</b> e seu complexo <b>Cu(NAR)<sub>2</sub></b> .                                       | 216   |
| FIGURA 4.219. Voltamogramas cíclicos para os flavonóides <b>NAR</b> , <b>HESP</b> e complexos do tipo <b>Cu(FLAV)<sub>2</sub></b> .   | 218   |
| FIGURA 4.220. Voltamogramas cíclicos para os complexos do tipo <b>Cu(BIPY)(FLAV)</b> .  | 218   |
| FIGURA 4.221. Estruturas dos complexos do tipo <b>Cu(Ln)<sub>2</sub></b> .  | 219   |
| FIGURA 4.222. Espectro de massas do complexo <b>Cu(L1)<sub>2</sub></b> (modo positivo).   | 220   |
| FIGURA 4.223. Proposta de formação dos íons para o composto <b>Cu(L1)<sub>2</sub></b> .   | 220   |
| FIGURA 4.224. Espectro de Massas do complexo <b>Cu(L2)<sub>2</sub></b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.225. Espectro de Massas do complexo <b>Cu(L3)<sub>2</sub></b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.226. Espectro de Massas do complexo <b>Cu(L4)<sub>2</sub></b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.227. Espectro de Massas do complexo <b>Cu(L5)<sub>2</sub></b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.228. Espectro de Massas do complexo <b>Cu(L6)<sub>2</sub></b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.229. Espectro de Massas do complexo <b>Cu(L7)<sub>2</sub></b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.230. Espectro de Massas do complexo <b>Cu(L8)<sub>2</sub></b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.231. Espectro de IV de <b>L1</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |

|   |       |
|---|-------|
| FIGURA 4.232. Espectro de IV de <b>Cu(L1)<sub>2</sub></b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.233. Espectro de IV de <b>L2</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.234. Espectro de IV de <b>Cu(L2)<sub>2</sub></b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.235. Espectro de IV de <b>L3</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.236. Espectro de IV de <b>Cu(L3)<sub>2</sub></b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.237. Espectro de IV de <b>L4</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.238. Espectro de IV de <b>Cu(L4)<sub>2</sub></b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.239. Espectro de IV de <b>L5</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.240. Espectro de IV de <b>Cu(L5)<sub>2</sub></b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.241. Espectro de IV de <b>L6</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.242. Espectro de IV de <b>Cu(L6)<sub>2</sub></b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.243. Espectro de IV de <b>L7</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.244. Espectro de IV de <b>Cu(L7)<sub>2</sub></b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.245. Espectro de IV de <b>L8</b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.246. Espectro de IV de <b>Cu(L8)<sub>2</sub></b> (pastilhas KBr).  | AP.II |
| FIGURA 4.247. Principais transições de UV-Vis observadas para as naftoquinonas  | 225   |
| FIGURA 4.248. Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o ligante <b>L1</b> e seu complexo <b>Cu(L1)<sub>2</sub></b> .  | 226   |
| FIGURA 4.249. Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o ligante <b>L2</b> e seu complexo do tipo <b>Cu(L2)<sub>2</sub></b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.250. Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o ligante <b>L3</b> e seu complexo do tipo <b>Cu(L3)<sub>2</sub></b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.251. Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{800}$ ) para o ligante <b>L4</b> e seu complexo do tipo <b>Cu(L4)<sub>2</sub></b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.252. Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o ligante <b>L5</b> e seu complexo do tipo <b>Cu(L5)<sub>2</sub></b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.253. Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o ligante <b>L6</b> e seu complexo do tipo <b>Cu(L6)<sub>2</sub></b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.254. Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o ligante <b>L7</b> e seu complexo do tipo <b>Cu(L7)<sub>2</sub></b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.255. Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o ligante <b>L8</b> e seu complexo do tipo <b>Cu(L8)<sub>2</sub></b> .  | AP.II |
| FIGURA 4.256. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com extratos das folhas de <i>M. urundeuva</i> na concentração de 2%.                        | 228   |
| FIGURA 4.257. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com frações de FAA a de <i>M. urundeuva</i> na concentração de 2%.                           | 228   |
| FIGURA 4.258. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a fração FAM3 a de <i>M. urundeuva</i> uma concentração de 2%.                           | 229   |
| FIGURA 4.259. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a fração FAM4a de <i>M. urundeuva</i> na concentração de 2%.                             | 230   |
| FIGURA 4.260. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância <b>FA2</b> na concentração de 2%.   | 230   |
| FIGURA 4.261. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância <b>FA4</b> na concentração de 2%.   | 231   |
| FIGURA 4.262. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a mistura de substâncias <b>FA5</b> e <b>FA6</b> na concentração de 2%.                  | 232   |
| FIGURA 4.263. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância <b>FA8</b> na concentração de 2%.   | 232   |
| FIGURA 4.264. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância <b>FA17</b> na concentração de 2%.  | 233   |
| FIGURA 4.265. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com extratos dos galhos de <i>M. urundeuva</i> na concentração de 2%.                        | 234   |
| FIGURA 4.266. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com frações de GA de <i>M. urundeuva</i> na concentração de 2%.                              | 235   |
| FIGURA 4.267. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância <b>L1</b> e <b>Cu(L1)<sub>2</sub></b> em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%). | 237   |
| FIGURA 4.268. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância <b>L2</b> e <b>Cu(L2)<sub>2</sub></b> em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%). | 238   |
| FIGURA 4.269. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância <b>L3</b> e <b>Cu(L3)<sub>2</sub></b> em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%). | 238   |
| FIGURA 4.270. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância <b>L4</b> e <b>Cu(L4)<sub>2</sub></b> em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%). | 238   |
| FIGURA 4.271. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância <b>L5</b> e <b>Cu(L5)<sub>2</sub></b> em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%). | 239   |
| FIGURA 4.272. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância <b>L6</b> e <b>Cu(L6)<sub>2</sub></b> em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%). | 239   |
| FIGURA 4.273. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância <b>L7</b> e <b>Cu(L7)<sub>2</sub></b> em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%). | 239   |
| FIGURA 4.274. Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância <b>L8</b> e <b>Cu(L8)<sub>2</sub></b> em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%). | 240   |

|  |     |
|--|-----|
| FIGURA 4.275. Gráfico com as porcentagens de inibição para AChEe tratada com 200 µM <b>L1 a L4</b> e <b>Cu(L1-4)<sub>2</sub></b> .     | 249 |
| FIGURA 4.276. Gráfico com as porcentagens de inibição para AChEea tratada com 200 µM de <b>L5 a L8</b> e <b>Cu(L5-8)<sub>2</sub></b> . | 249 |
| FIGURA 4.277. Gráfico com as porcentagens de inibição para AChEe tratada com 200 µM para NAR, NNINA e seus complexos.                  | 251 |
| FIGURA 4.278. Gráfico com as porcentagens de inibição para AChEe tratada com 200 µM para HESP, HPT e seus complexos.                   | 251 |
| FIGURA 4.279. Gráfico de crescimento micelial com partições dos galhos GA.   | 252 |
| FIGURA 4.280. Gráficos de crescimento micelial com as substâncias <b>L1 – L4</b> e seus complexos.                                     | 253 |
| FIGURA 4.281. Gráficos de crescimento micelial com as substâncias <b>L5 – L6</b> e seus complexos.                                     | 254 |
| FIGURA 4.282. Gráficos de crescimento micelial com as substâncias <b>NAR</b> e seus complexos  | 256 |
| FIGURA 4.283. Gráficos de crescimento micelial com as substâncias <b>1,2-Di-(4'-iminoNAR)-etano</b> e seu complexo.                    | 256 |
| FIGURA 4.284. Gráficos de crescimento micelial com as substâncias <b>NNINA</b> e <b>HPT</b> e seus complexos.                          | 256 |
| FIGURA 4.285. Gráfico de crescimento micelial com Acetato de Cobre.  | 259 |

## LISTA DE TABELAS

|   |     |
|---|-----|
| TABELA 1.1. Iscas tóxicas granuladas existentes no mercado, grupo químico a que pertencem e estrutura do princípio ativo, marca comercial e modo de ação sobre formigas cortadeiras | 5   |
| TABELA 3.1. Extratos brutos obtidos de folhas e galhos de <i>M. urundeuva</i>   | 22  |
| TABELA 3.2. Fracionamento do extrato das folhas   | 23  |
| TABELA 3.3. Fracionamento do extrato dos galhos   | 23  |
| TABELA 4.1. Dados de RMN de $^1\text{H}$ da substância FA1 juntamente com os dados encontrados na literatura  | 78  |
| TABELA 4.2. Dados de RMN de $^1\text{H}$ da substância FA2 e encontrados na literatura  | 79  |
| TABELA 4.3. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ da substância FA3  | 79  |
| TABELA 4.4. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ da substância FA4 e encontrados na literatura  | 80  |
| TABELA 4.5. Dados de RMN de $^1\text{H}$ da mistura de substâncias substância FA5 e FA6   | 83  |
| TABELA 4.6. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ de FA7 e os encontrados na literatura  | 86  |
| TABELA 4.7. Dados de RMN de $^1\text{H}$ da substância FA8 e os encontrados na literatura   | 87  |
| TABELA 4.8. Dados de RMN de $^1\text{H}$ da substância FA9 e encontrados na literatura  | 88  |
| TABELA 4.9. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ da substância FA10 e os encontrados na literatura   | 93  |
| TABELA 4.10. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ da substância FA11 juntamente com os dados encontrados na literatura para a catequina e para o galato de metila      | 102 |
| TABELA 4.11. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ da substância FA12   | 107 |
| TABELA 4.12. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ da aglicona da substância FA13 e os encontrados na literatura  | 109 |
| TABELA 4.13. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ do rutinosídeo da substância FA13 e os encontrados na literatura   | 110 |
| TABELA 4.14. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ da substância FA14 e os encontrados na literatura  | 111 |
| TABELA 4.15. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ da substância FA15 e os encontrados na literatura  | 113 |
| TABELA 4.16. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ da substância FA16 e os encontrados na literatura  | 114 |
| TABELA 4.17. Dados de RMN de $^1\text{H}$ de FA17 e os encontrados na literatura  | 116 |
| TABELA 4.18. Dados de RMN de $^1\text{H}$ das substâncias GA2 e GA3 e os encontrados na literatura  | 117 |
| TABELA 4.19. Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância GA2 e os encontrados na literatura   | 118 |
| TABELA 4.20. Dados de RMN de $^1\text{H}$ das substâncias GA4 e GA5   | 120 |
| TABELA 4.21. Dados de RMN de $^1\text{H}$ da substância GA6 e os encontrados na literatura  | 121 |
| TABELA 4.22. Dados de RMN de $^1\text{H}$ da substância GA7   | 122 |
| TABELA 4.23. Dados de massas, tempo de retenção e substâncias presentes em GA8  | 123 |
| TABELA 4.24. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ da substância GA9 e os encontrados na literatura  | 130 |
| TABELA 4.25. Dados obtidos do experimento gNOESY da substância GA9  | 131 |
| TABELA 4.26. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ da substância GA10  | 139 |
| TABELA 4.27. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ da substância GA11 e os da literatura   | 141 |
| TABELA 4.28. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ da substância GA12 e da literatura  | 143 |
| TABELA 4.29. Dados obtidos do experimento gNOESY da substância GA12   | 145 |
| TABELA 4.30. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ da substância GA13 e da literatura  | 153 |
| TABELA 4.31. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ da substância GA14  | 159 |
| TABELA 4.32. Dados obtidos do experimento gNOESY da substância GA14   | 162 |
| TABELA 4.33. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ da substância GA15 comparadas com a substância GA12   | 164 |
| TABELA 4.34. Dados obtidos do experimento gNOESY da substância GA15   | 166 |
| TABELA 4.35. Dados de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ da substância GA16 e da literatura   | 172 |
| TABELA 4.36. Dados de alfaD ( $[\alpha]_D^{25}$ ) e Dicroísmo circular (nm) das substâncias GA9, GA12, GA13, GA14 e GA15  | 180 |
| TABELA 4.37. Dados de RMN de $^1\text{H}$ de 1,2-Di-(4-iminoNAR)-etano e os da literatura   | 189 |
| TABELA 4.38. Dados de RMN de $^1\text{H}$ de 1,2-Di-(4-iminoNNINA)-etano e os da literatura   | 190 |
| TABELA 4.39. Dados de CHN dos complexos do tipo $[\text{Cu}(\text{FLAV})_2]$  | 198 |
| TABELA 4.40. Características físico-químicas dos flavonóides e de seus complexos do tipo $\text{Cu}(\text{FLAV})_2$   | 199 |
| TABELA 4.41. Dados de análise elementar dos complexos do tipo $\text{Cu}(\text{X})(\text{FLAV})$  | 206 |
| TABELA 4.42. Características físico-químicas dos complexos do tipo $\text{Cu}(\text{X})(\text{FLAV})$   | 207 |
| TABELA 4.43. Dados de análise elementar dos complexos do tipo $\text{Cu}(\text{iminoFLAV})$   | 210 |
| TABELA 4.44. Características físico-químicas dos derivados e seus complexos do tipo $\text{Cu}(\text{iminoNNINA})$  | 210 |
| TABELA 4.45. Principais valores de IV encontrados ( $\text{cm}^{-1}$ ) para os compostos do tipo $\text{Cu}(\text{FLAV})_2$   | 212 |



|   |     |
|---|-----|
| TABELA 4.46. Principais valores de IV encontrados ( $\text{cm}^{-1}$ ) para os compostos do tipo Cu(X)(FLAV)  | 213 |
| TABELA 4.47. Principais valores de IV encontrados ( $\text{cm}^{-1}$ ) para os compostos do tipo Cu(iminoFLAV)  | 213 |
| TABELA 4.48. Faixa de absorção no UV-Vis para flavonóides   | 214 |
| TABELA 4.49. Dados para cálculo da banda principal (transição $\pi \rightarrow \pi^*$ ) de derivados de benzeno Ar—COG (em EtOH)  | 215 |
| TABELA 4.50. Valores de UV-Vis encontrados para os ligantes e seus complexos de flavonóides.  | 216 |
| TABELA 4.51. Principais íons observados nos EM de Cu(L2) <sub>2</sub> a Cu(L8) <sub>2</sub>   | 221 |
| TABELA 4.52. Dados de análise elementar dos compostos do tipo [Cu(L) <sub>2</sub> ]   | 221 |
| TABELA 4.53. Principais valores de IV encontrados ( $\text{cm}^{-1}$ ) para os compostos do tipo Cu(L) <sub>2</sub>   | 224 |
| TABELA 4.54. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com os extratos das folhas de <i>M. urundeuva</i> na concentração de 2,0 mg/mL                        | 228 |
| TABELA 4.55. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com as frações de FAA de <i>M. urundeuva</i> na concentração de 2%                                    | 229 |
| TABELA 4.56. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com a fração FAM3 de <i>M. urundeuva</i> na concentração de 2%  | 229 |
| TABELA 4.57. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com a fração FAM4 de <i>M. urundeuva</i> na concentração de 2%  | 230 |
| TABELA 4.58. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com a substância FA2 na concentração de 2%  | 231 |
| TABELA 4.59. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com a substância FA4 na concentração de 2%  | 231 |
| TABELA 4.60. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com as substâncias FA5 e FA6 na concentração 2%   | 232 |
| TABELA 4.61. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com a substância FA8 na concentração de 2%  | 233 |
| TABELA 4.62. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com a substância FA17 na concentração de 2%   | 233 |
| TABELA 4.63. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com as frações dos galhos de <i>M. urundeuva</i> na concentração de 2%                                | 234 |
| TABELA 4.64. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com as frações de GAA de <i>M. urundeuva</i> na concentração de 2,0%                                  | 235 |
| TABELA 4.65. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com as substâncias L's e seus complexos, nas concentrações de 0,1; 1,0 e 2,0 mg/mL                    | 240 |
| TABELA 4.66. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com os flavonóides e seus complexos de cobre, nas concentrações de 0,1 e 1,0 %                        | 244 |
| TABELA 4.67. Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com os derivados imínicos dos flavonóides e seus complexos de cobre, nas concentrações de 0,1 e 1,0 % | 247 |
| TABELA 4.68. Resultados dos ensaios de inibição com as enzimas AChE e BChE realizados com os glicosídeos em CCD e no biorreator para as substâncias L1 a L8 e seus complexos  | 248 |
| TABELA 4.69. Resultados dos ensaios de inibição com as enzimas AChE e BChE realizados com os glicosídeos em CCD e no biorreator para os flavonóides e seus complexos  | 250 |
| TABELA 4.70. Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> após 30 dias do experimento com as partições dos galhos (GA) de <i>M. urundeuva</i>  | 252 |

|   |     |
|---|-----|
| TABELA 4.71. Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> após 30 dias do experimento com as substâncias L1-L4 e seus complexos                        | 254 |
| TABELA 4.72. Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> após 30 dias do experimento com as substâncias L5-L8 e seus complexos                        | 255 |
| TABELA 4.73. Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> após 30 dias do experimento com o flavonóide NAR e seus complexos                            | 256 |
| TABELA 4.74. Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> após 30 dias do experimento com o flavonóide NNINA e seus complexos                          | 257 |
| TABELA 4.75. Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> após 30 dias do experimento com o flavonóide HPT e seus complexos                            | 258 |
| TABELA 4.76. Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> após 30 dias do experimento com o derivado Imínico 1,2-Di-(4'-iminoNAR)-etano e seu complexo | 258 |
| TABELA 4.77. Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> após 30 dias do experimento com AcCu   | 259 |

## LISTA DE FLUXOGRAMA

|  |    |
|--|----|
| FLUXOGRAMA 3.1. Fracionamento da partição FAA            | 24 |
| FLUXOGRAMA 3.2. Refracionamento da fração FAA2           | 25 |
| FLUXOGRAMA 3.3. Refracionamento da fração FAA3           | 27 |
| FLUXOGRAMA 3.4. Refracionamentos da fração FAA4 e FAA4.3 | 30 |
| FLUXOGRAMA 3.5. Fracionamento da fração FAA8             | 32 |
| FLUXOGRAMA 3.6. Fracionamento da fração FAA9             | 32 |
| FLUXOGRAMA 3.7. Refracionamento da fração FAA11          | 33 |
| FLUXOGRAMA 3.8. Fracionamento da partição FAM            | 34 |
| FLUXOGRAMA 3.9. Refracionamento da fração FAM3           | 35 |
| FLUXOGRAMA 3.10. Fracionamento da fração FAM             | 37 |
| FLUXOGRAMA 3.11. Fracionamento da fração GAD             | 39 |
| FLUXOGRAMA 3.12. Fracionamento da fração GAD4            | 40 |
| FLUXOGRAMA 3.13. Fracionamento da partição GAA           | 47 |
| FLUXOGRAMA 3.14. Fracionamento da fração GAA3.3          | 48 |
| FLUXOGRAMA 3.15. Fracionamento da fração GAA4.2          | 49 |
| FLUXOGRAMA 3.16. Fracionamento da fração GAA5.3          | 52 |
| FLUXOGRAMA 3.17. Fracionamento da fração GAA5.4          | 53 |
| FLUXOGRAMA 3.18. Fracionamento da fração GAA7.3          | 54 |

## RESUMO

OBTENÇÃO DE INSETICIDA E FUNGICIDA CONTRA FORMIGAS CORTADEIRAS E SEU FUNGO SIMBIONTE EM *Myracrodruon urundeuva* E DE COMPLEXOS DE COORDENAÇÃO COM METAIS DE COMPOSTOS ATIVOS PARA CONTROLE DESTA PRAGA. Os insetos são os grandes competidores por alimento em relação ao ser humano. As formigas cortadeiras (saúvas e quenquéns) constituem as principais pragas de diversas culturas e nas áreas de reflorestamento brasileiro representam mais de 75% dos custos do tempo e dispêndio financeiro no controle das mesmas e, obviamente, limitam o pleno desenvolvimento agrícola e florestal. A tecnologia envolvida na busca de agrotóxicos visando o controle de pragas representa uma das fronteiras da ciência, a qual envolve diferentes aspectos multidisciplinares e pode contribuir muito para o avanço da agricultura. Um desses aspectos diz respeito aos produtos naturais, onde novas moléculas isoladas de plantas podem servir de modelos para novos protótipos inseticidas. Este trabalho teve como objetivo o estudo fitoquímico de *Myracrodruon urundeuva* em busca de substâncias com atividade inseticida e a síntese de complexos metálicos de cobre com moléculas com conhecida atividade. O estudo fitoquímico propiciou o isolamento e a identificação/caracterização estrutural de 34 metabólitos secundários, sendo sete inéditas e dentre os compostos isolados destacam-se as chalconas diméricas, isoladas apenas em duas espécies de Anacardiaceas. Foram sintetizadas 31 substâncias: oito delas tendo os ligantes obtidos via reação de Mannich com a 2-hidroxi-1,4-naftoquinona; oito complexos a partir desses ligantes; dois derivados imínicos a partir do flavonóide naringina e naringenina; dois complexos a partir desses ligantes; quatro complexos do tipo  $\text{Cu}(\text{FLAV})_2$  a partir de flavonóides e sete complexos do tipo  $\text{Cu}(\text{X})(\text{FLAV})$  onde X é 2,2'-Bipiridina ou 1,10'-Fenantrolina. Extratos da espécie vegetal, substâncias isoladas e os complexos metálicos foram testados em ninhos de *Atta sexdens rubropilosa* (teste de toxicidade por ingestão); em inibição enzimática da AChE e teste fungicida no fungo mutualista de *A. sexdens rubropilosa* (*Leucoagaricus gongylophorus*) com resultados significativos.

## ABSTRACT

OBTAINMENT OF INSECTICIDE AND FUNGICIDE AGAINST LEAF CUTTING ANTS AND THEIR SYMBIOTIC FUNGI FROM *Myracrodruon urundeuva* AND OF COORDINATION COMPLEX OF METALS WITH BIOACTIVE COMPOUNDS FOR THE CONTROL OF THIS PLAGUE. Insects are the major competitors for food in relation to humans. Ants ("sauvas" and "quenquéns") are the major pests of several culture and in reforestation areas in Brazil represent more than 75% of the time and financial expenditure in the control of forest pests and obviously limit the full development of agriculture and forestry. The technology involved in the search for pesticides for the control of pests is in the frontiers of science, which involves different aspects of multidisciplinary and can contribute greatly to the agriculture advancement. One of these aspects is related to natural products, where new molecules isolated from plants can serve as prototypes for new insecticides. The aim of this study was the phytochemical study of *Myracrodruon urundeuva* in order to search for compounds with insecticidal activity and the synthesis of metal complexes of copper with molecules that present biological activity. The phytochemical study led to the isolation and structural identification/characterization of 34 secondary metabolites, being seven unique and among them, are the dimeric chalcones, only identified in two species of Anacardiaceae. 31 compounds were synthesized: eight of them have the ligands obtained by Mannich reaction with 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone; eight complexes from these ligands; two iminic derived from the flavonoid naringine and naringenine; two complex from these ligands; four complexes of the type  $\text{Cu}(\text{FLAV})_2$  and seven complexes of the type  $\text{Cu}(\text{X})(\text{FLAV})$  where X is 2,2'-Bipyridine or 1,10'-Phenanthroline. The extracts of *M. urundeuva*, isolated compounds and metal complexes were tested in nests of *Atta sexdens rubropilosa* (test of toxicity by ingestion), enzyme inhibition in AChE and fungicide test in ants symbiotic fungus (*Leucoagaricus gongylophorus*) with significant results.

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| 1. Introdução.....  | 1  |
| 1.1. Formigas cortadeiras.....  | 3  |
| 1.1.1. Aspectos Gerais de Formigas Cortadeiras.....                             | 3  |
| 1.1.2. Relação de simbiose com o fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> ..... | 3  |
| 1.1.3. Controle.....  | 5  |
| 1.1.4. Métodos de controle por inibição enzimática.....                         | 6  |
| 1.2. Espécie vegetal estudada.....  | 7  |
| 1.2.1. Ordem Sapindales.....  | 7  |
| 1.2.2. A Família Anacardiaceae.....   | 8  |
| 1.2.3. Perfil fitoquímico do gênero <i>Myracrodruon urundeuva</i> .....         | 8  |
| 1.3. Complexos metálicos.....   | 9  |
| 2. Objetivos.....   | 13 |
| 3. Procedimento experimental.....   | 17 |
| 3.1. Equipamentos.....  | 19 |
| 3.1.1. Espectrômetros de Ressonância Magnética Nuclear.....                     | 19 |
| 3.1.2. Espectrofotômetro de Ultravioleta (UV).....                              | 19 |
| 3.1.3. Cromatógrafo por CLAE.....   | 19 |
| 3.1.4. Espectrômetro de massas.....   | 19 |
| 3.1.5. Espectrômetro de Massas de Alta Resolução.....                           | 19 |
| 3.1.6. Espectrofotômetro no Infravermelho (IV).....                             | 19 |
| 3.1.7. Espectrofotômetro de dicroísmo circular (DC).....                        | 19 |
| 3.1.8. Polarímetro.....   | 19 |
| 3.1.9. Potenciostato.....   | 20 |
| 3.1.10. Determinador de Ponto de fusão.....                                     | 20 |
| 3.1.11. Analisador elementar.....   | 20 |
| 3.1.12. Estufa de secagem e esterilização.....                                  | 20 |
| 3.1.13. Eletroforese capilar.....   | 20 |
| 3.1.14. Rotaevaporadores.....   | 20 |
| 3.2. Materiais para cromatografias.....   | 20 |
| 3.2.1. Cromatografia em Camada Delgada Comparativa (CCDC).....                  | 20 |
| 3.2.2. Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP).....                  | 20 |
| 3.2.3. Colunas para CLAE.....   | 20 |
| 3.2.4. Fases estacionárias.....   | 21 |
| 3.2.5. Colunas cromatográficas de bancadas de vidro.....                        | 21 |
| 3.2.6. Solventes para cromatografia.....  | 21 |
| 3.2.7. Solventes para obtenção dos espectros de RMN.....                        | 21 |
| 3.2.8. Reveladores para CCD.....  | 21 |
| 3.3. Reagentes.....   | 21 |
| 3.4. Coleta do material botânico.....   | 22 |
| 3.5. Metodologia de extração.....   | 22 |
| 3.6. Fracionamentos dos extratos brutos.....                                    | 22 |
| 3.7. Estudo fitoquímico das folhas de <i>M. urundeuva</i> .....                 | 23 |
| 3.7.1. Estudo fitoquímico das folhas - fração acetato de etila (FAA).....       | 24 |
| 3.7.1.1. Isolamento das substâncias FA1, FA2 e FA3.....                         | 24 |
| 3.7.1.2. Isolamento da substância FA4.....                                      | 27 |
| 3.7.1.3. Isolamento das substâncias FA5 e FA6.....                              | 27 |
| 3.7.1.4. Isolamento das substâncias FA7, FA8 e FA9.....                         | 29 |
| 3.7.1.5. Isolamento das substâncias FA10 e FA11.....                            | 31 |
| 3.7.1.6. Isolamento da substância FA12.....                                     | 33 |
| 3.7.2. Estudo fitoquímico das folhas - fração metanol (FAM).....                | 33 |
| 3.7.2.1. Isolamento da substância FA13.....                                     | 34 |
| 3.7.2.2. Isolamento das substâncias FA14, FA15 e FA16.....                      | 34 |
| 3.7.2.3. Isolamento da substância FA17.....                                     | 37 |
| 3.8. Estudo fitoquímico dos galhos de <i>M. urundeuva</i> .....                 | 38 |
| 3.8.1. Estudo fitoquímico dos Galhos da fração DCM (GAD).....                   | 38 |
| 3.8.1.1. Isolamento da substância GA1.....                                      | 39 |
| 3.8.1.2. Isolamento das substâncias GA2 e GAD3.....                             | 41 |
| 3.8.1.3. Isolamento das substâncias GA4 e GAD5.....                             | 41 |
| 3.8.1.4. Isolamento das substâncias GA6 e GAD7.....                             | 42 |

|   |     |
|---|-----|
| 3.8.1.5. Identificação das substâncias presentes em GA8.....                              | 44  |
| 3.8.2. Estudo fitoquímico dos Galhos da fração acetato de etila (GAA) .....               | 46  |
| 3.8.2.1. Isolamento das substâncias GA9 e GA10.....                                       | 48  |
| 3.8.2.2. Isolamento das substâncias GA11, GA12 e GA13.....                                | 49  |
| 3.8.2.3. Isolamento das substâncias GA14 e GA15.....                                      | 52  |
| 3.8.2.4. Isolamento da substância GA16.....   | 54  |
| 3.9. Complexos metálicos.....   | 55  |
| 3.9.1. Sínteses.....  | 55  |
| 3.9.1.1. Complexos do tipo [Cu(Flav) <sub>2</sub> ] .....                                 | 56  |
| 3.9.1.2. Complexos do tipo [Cu(X)(Flav)] .....  | 57  |
| 3.9.1.3. Ligantes derivados imínicos (Base de Schiff) .....                               | 57  |
| 3.9.1.4. Complexos do tipo [Cu(1,2-Di(4-iminoFLAV)etano)] .....                           | 57  |
| 3.9.1.5. Ligantes a partir de reação de Mannich's com lausona.....                        | 58  |
| 3.9.1.6. Complexos metálicos de cobre a partir dos derivados da lausona.....              | 59  |
| 3.10. Metodologia dos ensaios.....  | 59  |
| 3.10.1. Teste de toxicidade por ingestão com <i>Atta sexdens rubropilosa</i> .....        | 59  |
| 3.10.2. Ensaio enzimáticos.....   | 61  |
| 3.10.3. Ensaio biológicos com o fungo simbiote <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> .....   | 64  |
| 4. Resultados e Discussão.....  | 67  |
| 4.1. Estudo fitoquímico.....  | 69  |
| 4.1.1. Substâncias isoladas.....  | 69  |
| 4.1.2. Determinações e identificações estruturais.....                                    | 78  |
| 4.1.2.1. Identificação estrutural de FA1.....   | 78  |
| 4.1.2.2. Identificação estrutural de FA2.....   | 78  |
| 4.1.2.3. Determinação estrutural de FA3.....  | 79  |
| 4.1.2.4. Identificação estrutural de FA4.....   | 80  |
| 4.1.2.5. Identificação estrutural de FA5 e FA6.....                                       | 81  |
| 4.1.2.6. Identificação estrutural de FA7.....   | 85  |
| 4.1.2.7. Identificação estrutural de FA8.....   | 86  |
| 4.1.2.8. Identificação estrutural de FA9.....   | 87  |
| 4.1.2.9. Identificação estrutural de FA10.....  | 88  |
| 4.1.2.10. Determinação estrutural de FA11.....  | 95  |
| 4.1.2.11. Determinação estrutural de FA12.....  | 103 |
| 4.1.2.12. Identificação estrutural de FA13.....   | 108 |
| 4.1.2.13. Determinação estrutural de FA14.....  | 110 |
| 4.1.2.14. Identificação estrutural de FA15.....   | 112 |
| 4.1.2.15. Identificação estrutural de FA16.....   | 114 |
| 4.1.2.16. Identificação estrutural de FA17.....   | 115 |
| 4.1.2.17. Identificação estrutural de GA1.....  | 116 |
| 4.1.2.18. Identificação estrutural de GA2 e GA3.....                                      | 117 |
| 4.1.2.19. Identificação estrutural de GA4 e GA5.....                                      | 119 |
| 4.1.2.20. Identificação estrutural de GA6.....  | 121 |
| 4.1.2.21. Identificação estrutural de GA7.....  | 121 |
| 4.1.2.22. Identificação estrutural de GA8.....  | 123 |
| 4.1.2.23. Identificação estrutural de GA9.....  | 124 |
| 4.1.2.24. Determinação estrutural de GA10.....  | 134 |
| 4.1.2.25. Identificação estrutural de GA11.....   | 140 |
| 4.1.2.26. Identificação estrutural de GA12.....   | 142 |
| 4.1.2.27. Identificação estrutural de GA13.....   | 147 |
| 4.1.2.28. Determinação estrutural de GA14.....  | 154 |
| 4.1.2.29. Identificação estrutural de GA15.....   | 163 |
| 4.1.2.30. Determinação estrutural de GA16.....  | 167 |
| 4.1.3. Determinação da configuração absoluta.....   | 174 |
| 4.1.3.1. Discussão de UV-Vis.....   | 174 |
| 4.1.3.2. Discussão de DC.....   | 175 |
| 4.2. Estudo dos complexos metálicos.....  | 180 |
| 4.2.1. Substâncias sintetizadas.....  | 180 |
| 4.2.2. Determinação estrutural.....   | 189 |
| 4.2.2.1. Identificação e dados de RMN <sup>1</sup> H de 1,2-Di-(4'-iminoNAR)-etano.....   | 189 |
| 4.2.2.2. Identificação e dados de RMN <sup>1</sup> H de 1,2-Di-(4'-iminoNNINA)-etano..... | 190 |
| 4.2.2.3. Determinação estrutural dos derivados da lausona.....                            | 190 |
| 4.2.2.4. Determinação estrutural dos complexos do tipo [Cu(FLAV) <sub>2</sub> ].....      | 192 |

|  |     |
|--|-----|
| 4.2.2.4.1. Cu(NAR) <sub>2</sub> .....  | 193 |
| 4.2.2.4.2. Cu(NNINA) <sub>2</sub> .....  | 195 |
| 4.2.2.4.3. Cu(HESP) <sub>2</sub> .....   | 196 |
| 4.2.2.4.4. Cu(HPT) <sub>2</sub> .....  | 197 |
| 4.2.2.5. Determinação estrutural dos complexos do tipo Cu(X)(FLAV).....              | 199 |
| 4.2.2.5.1. Cu(BIPY)(NAR) .....   | 200 |
| 4.2.2.5.2. Cu(FEN)(NAR) .....  | 201 |
| 4.2.2.5.3. Cu(BIPY)(NNINA) .....   | 202 |
| 4.2.2.5.4. Cu(FEN)(NNINA) .....  | 203 |
| 4.2.2.5.5. Cu(FEN)(HESP) .....   | 204 |
| 4.2.2.5.6. Cu(BIPY)(HPT) .....   | 205 |
| 4.2.2.5.7. Cu(FEN)(HPT) .....  | 205 |
| 4.2.2.6. Determinação estrutural dos complexos do tipo Cu(IMINOFLAV).....            | 208 |
| 4.2.2.6.1. Cu(iminoNAR) .....  | 209 |
| 4.2.2.6.2. Cu(iminoNNINA) .....  | 209 |
| 4.2.2.7. Discussão de Infra-vermelho dos complexos de flavonóides.....               | 211 |
| 4.2.2.8. Discussão de UV-Vis dos complexos de flavonóides.....                       | 213 |
| 4.2.2.9. Discussão de voltametria cíclica dos complexos de flavonóides.....          | 217 |
| 4.2.2.10. Determinação estrutural dos complexos do tipo Cu(L) <sub>2</sub> .....     | 218 |
| 4.2.2.11. Discussão de Infra-vermelho dos complexos do tipo Cu(L) <sub>2</sub> ..... | 222 |
| 4.2.2.12. Discussão de UV-Vis dos complexos do tipo Cu(L) <sub>2</sub> .....         | 225 |
| 4.2.3. Atividades biológicas.....  | 226 |
| 4.2.3.1. Ensaio de toxicidade por ingestão com <i>Atta sexdens rubropilosa</i> ..... | 226 |
| 4.2.3.1.1. Extratos, frações e substâncias isoladas de <i>M. urundeuva</i> .....     | 226 |
| 4.2.3.1.2. Derivados da lausona (L1-L8) e seus complexos Cu(L) <sub>2</sub> .....    | 235 |
| 4.2.3.1.3. Flavonóides e seus complexos de cobre. ....                               | 241 |
| 4.2.3.2. Ensaio enzimáticos.....   | 248 |
| 4.2.3.2.1. Derivados da lausona (L1-L8) e seus complexos Cu(L) <sub>2</sub> .....    | 248 |
| 4.2.3.2.2. Flavonóides e seus complexos de cobre. ....                               | 250 |
| 4.2.3.3. Ensaios fungicidas com <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> .....             | 251 |
| 4.2.3.3.1. Frações dos galhos de <i>M. urundeuva</i> .....                           | 251 |
| 4.2.3.3.2. Derivados da lausona (L1-L8) e seus complexos Cu(Ln) <sub>2</sub> .....   | 252 |
| 4.2.3.3.3. Flavonóides e seus complexos de cobre.....                                | 255 |
| 5. Conclusões.....   | 261 |
| 6. Bibliografia.....   | 265 |
| Apêndice I   |     |
| Apêndice II  |     |



# **1- INTRODUÇÃO**

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. FORMIGAS CORTADEIRAS

### 1.1.1. ASPECTOS GERAIS DE FORMIGAS CORTADEIRAS

As formigas estão presentes em todos os ecossistemas terrestres (VILELA e DELLA LUCIA, 2003), sendo capazes de ocupar nichos diferenciados onde dominam em relação à biomassa animal (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990).

São consideradas formigas cortadeiras as espécies do gênero *Atta*, popularmente conhecidas como saúvas e do gênero *Acromyrmex*, conhecidas como quenquéns. Elas pertencem à classe Insecta da ordem Hymenoptera. Todas as formigas cortadeiras estão reunidas numa única família denominada Formicidae. A tribo Attini é classificada dentro da subfamília Myrmicinae e reúne as formigas cultivadoras de fungo e entre essas os gêneros *Atta* e *Acromyrmex*.

O poder de destruição de um grande número de espécies vegetais e o prejuízo econômico causado à agricultura e silvicultura, principalmente nas espécies de *Eucalyptus* e *Pinus*, fazem destas formigas alvos de muitos estudos (BERTI FILHO *et al.*, 1992; BOARETTO e FORTI, 1997; MARICONI, 1972). Muitas culturas são atacadas e danificadas pelas formigas que cortam as folhas e ramos tenros, podendo destruir completamente as plantas. Elas chegam a consumir até 17 % da produção florestal em sistemas tropicais (CHERRETT, 1986). Estes insetos estão distribuídos desde o sul dos Estados Unidos até a região central da Argentina, não ocorrendo nas regiões transandinas da América do Sul e em algumas ilhas das Antilhas (FARJI-BRENNER e RUGGIERO, 1994). O Brasil é o país que possui o maior número de espécies de saúvas na América do Sul, seguido da Argentina e do Paraguai.

### 1.1.2. RELAÇÃO MUTUALÍSTICA COM O FUNGO *Leucoagaricus gongylophorus*

Vários estudos relatam a relação de simbiose existente entre as formigas cortadeiras e seu fungo *Leucoagaricus gongylophorus* (SINGER, 1986; FISHER *et al.*, 1994; MULLER *et al.*, 2005). Os fragmentos vegetais cortados e levados para os ninhos não são consumido diretamente pelas formigas, mas servem

como substrato para o desenvolvimento do fungo (RODIONOVA e BEZBORODOV, 1997). O fungo, por sua vez, produz enzimas digestivas e nutrientes que são facilmente assimilados pelas formigas (ERTHAL *et al.*, 2007). O fungo é o único alimento das larvas e complementa a dieta das operárias e rainhas (HÖLLDOBLER e WILSON, 1990). Esta relação perdura por cerca de 50 milhões de anos, e há indícios que esta coevolução gerou uma interdependência entre formigas *Attini* e o fungo simbiote, de modo que ambos não sobrevivem isoladamente (CURRIE, 2001; MUELLER *et al.*, 2005; SCHULTZ E BRADY, 2008).

O fungo simbiote produz despolimerases que degradam a matéria vegetal (SIQUEIRA *et al.*, 1998), gerando carboidratos simples que são assimilados pelas formigas. Entre estas despolimerases, amilases e pectinases parecem ser as mais importantes para a nutrição das formigas (SILVA *et al.*, 2003). Para o desenvolvimento deste fungo no formigueiro, o substrato vegetal coletado é preparado cuidadosamente pelas operárias que depositam os seus fluidos fecais, contendo enzimas, e que auxiliam na pré-degradação dos polissacarídeos foliares e facilitam o crescimento do fungo após este ser inoculado (WEBER, 1972). As pectinas presentes nos substratos vegetais que são fornecidos pela formiga ao fungo desempenham funções de agente hidratante e de material cimentador para a rede de fibras de celulose (SAKAI *et al.*, 1993; THAKUR *et al.*, 1997). As pectinas representam um terço do peso seco do tecido vegetal de dicotiledôneas e de algumas monocotiledôneas. Enzimas que degradam os polissacarídeos vegetais em açúcares redutores (mono e dissacarídeos) foram detectadas no fungo simbiote (SIQUEIRA *et al.*, 1998; SILVA, 1999; SILVA *et al.*, 2003). Elas também foram encontradas no líquido fecal de *A. colombica tonsipes* (MARTIN *et al.*, 1975) e de *A. sexdens rubropilosa* (SIQUEIRA, 1997; SILVA, 1999). Portanto, as formigas utilizam o fungo simbiote para promover esse processo de degradação, uma vez que não são capazes de degradar a pectina diretamente, tornando-se, as pectinases, um alvo factível para o controle dos formigueiros. O uso de bioensaio de inibição de pectinases tem perspectivas de ser um bom alvo para o controle de formigueiros, reduzindo a metabolização de polissacarídeos e, portanto, a principal fonte de energia do formigueiro.

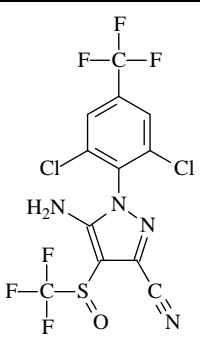
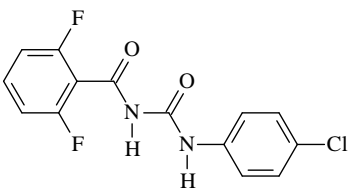
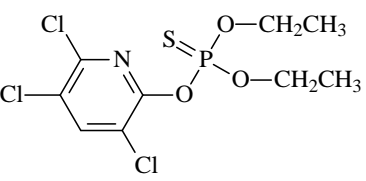
### 1.1.3. CONTROLE

A busca de novos agrotóxicos visando o controle de pragas agrícolas representa uma grande fronteira científica, pois a eficiência deve vir acompanhada de diversos fatores. O custo financeiro, muitos produtos lançados devem apresentar baixo custo, pois se deve pensar também em pequenos agricultores. Hoje se tornou consenso que novas formulações devam ser de baixo impacto ambiental, de baixa toxicidade a animais (terrestres ou marinhos) ao ambiente e ao próprio consumidor.

Empresas de reflorestamento têm empregado o controle químico de formigas cortadeiras de forma sistemática através de iscas tóxicas granuladas.

Estima-se que no Brasil são usadas aproximadamente 12.000 toneladas/ano de iscas tóxicas no combate de formigas cortadeiras (BOARETTO e FORTI, 1997). Na **Tabela 1.1** são mostrados os princípios ativos das principais iscas disponíveis no mercado e seus modos de ação.

TABELA 1.1 - Iscas tóxicas granuladas existentes no mercado, grupo químico a que pertencem e estrutura do princípio ativo, marca comercial e modo de ação sobre formigas cortadeiras

| Grupo químico                    | Nome Químico  | Marca comercial  | Modo de ação                            |
|----------------------------------|---|--|---|
| Fenilpyrazol<br>(Fipronil)       |  | Blitz  | Sistema GABA(ácido gama-aminobutírico)  |
| Benzoil-uréia<br>(Diflubenzuron) |  | Formilin 400   | Provavelmente na biossíntese de Quitina |
| Fosforado<br>(Clorpirifós)       |  | Pyrinex; Pik-isca<br>Pikapau;<br>Attafós; KI-Isca -<br>Nitrosin<br>Landrin; Urutu-Ag; Tatu<br>Formifós; Iskatoks | Transmissão sináptica                   |

|   |  |  |                        |
|---|--|--|------------------------|
| Sulfonas<br>Fluoralifáticas<br>(Sulfluramida) | $  \begin{array}{cccccccccccc}  & \text{F} & \text{F} & \text{F} & \text{F} & \text{F} & \text{F} & \text{F} & \text{F} & \text{O} & & \text{CH}_2\text{—CH}_3 \\  &   &   &   &   &   &   &   &   &    & & / \\  \text{F—} & \text{C} & \text{—C} & \text{—C} & \text{—C} & \text{—C} & \text{—C} & \text{—C} & \text{—C} & \text{—S} & \text{—N} & \\  &   &   &   &   &   &   &   &   &    & & \backslash \\  & \text{F} & \text{F} & \text{F} & \text{F} & \text{F} & \text{F} & \text{F} & \text{F} & \text{O} & & \text{H}  \end{array}  $ | Mirex-S;Attamex-S;<br>Pikapau-S;<br>Tamanduá Bandeira-S;<br>Dinagro-S;<br>Agripec. Fluramin. | Fosforilação oxidativa |
|---|--|--|------------------------|

(BOARETTO e FORTI, 1997)

Um inseticida para formigas cortadeiras deve apresentar algumas características diferenciadas de outros insetos:

Não deve apresentar toxicidade letal nos primeiros dias para que dessa maneira o ingrediente ativo contamine toda colônia e a isso deve estar associado também o caráter atrativo, isto é, o ingrediente ativo deve estar em iscas com substâncias que sejam atrativas aos insetos.

O alvo principal é que a substância cause mortalidade por ingestão, pois estes insetos apresentam carapaça de quitina que forma uma barreira natural contra ataques externos.

Tendo em vista esse cenário, obter substâncias com atividade inseticida e fungitóxica visando à busca de um controle altamente específico de formigas cortadeiras e de baixa toxicidade a outros organismos vivos, e metodologias de aplicação dos mesmos deve ser buscado.

#### 1.1.4. MÉTODOS DE CONTROLE POR INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

De acordo com LÓPEZ e BOLAÑOS, 2011 existem muitas maneiras de se levar um inseto a morte por intoxicação, esses modos de ação são baseada no fato de que as células dos seres vivos serem semelhantes do ponto de vista funcional. Muitas substâncias atuam em diferentes estágios do ciclo de vida do inseto ECOBICHON, 2001; GREGUS e KLAASSEN, 2001 organizaram em sete mecanismos e um deles diz respeito à ação em enzimas específicas onde a substância pode reagir com a enzima ou uma proteína de transporte e inibir sua função normal (STENERSEN, 2007) e dentre as enzimas citadas uma em especial é a acetilcolinesterase (AChE).

Esta enzima está amplamente distribuída em todas as membranas excitáveis de todo o reino animal (VENTER *et al.*, 1988 e FERNANDEZ *et al.*, 1996).

Elas funcionam nas sinapses neurais para rapidamente hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina para acetato e colina. Quando a AChE é inibida, a acetilcolina é acumulada, o nervo permanece polarizado e há uma superestimulação nas junções neuromusculares (WALKER e ASHER, 2005; MOSS e HENDERSON, 1999).

A enzima AChE está localizada principalmente no sistema nervoso central dos insetos, enquanto que nos mamíferos é encontrada em ambos os sistemas nervosos, central e periférico. Portanto, existem diferenças nos sintomas de envenenamento por anticolinesterásicos entre os dois grupos.

A reação entre acetilcolina e enzima AChE acontece em três etapas, como mostrado na **Figura 1.1**, onde (1) é a formação do complexode Michaelis entre o substrato acetilcolina e AChE; (2) é a acetilação da enzima e formação de colina; (3) a hidrólise da enzima acetilada para dar enzima livre e ácido acético. Essas reações ocorrem rapidamente, por isso, não há acumulação de acetilcolina na sinapse (DUBEY e PATYAL, 2007).

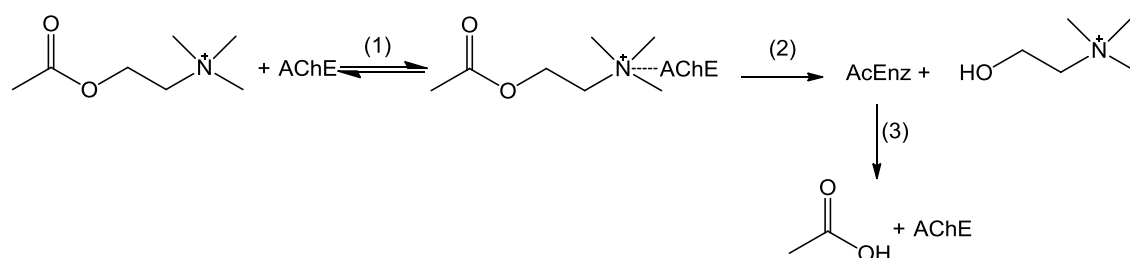


FIGURA 1.1- Esquema do mecanismo de hidrólise da enzima AChE.

A busca por inibidores dessa enzima passa a ser de extrema importância para se buscar novos meios de controle de insetos e, em especial, da *Atta sexdens rubropilosa*.

## 1.2. ESPÉCIE VEGETAL ESTUDADA

### 1.2.1. ORDEM SAPINDALES

A ordem Sapindales é composta pelas famílias Staphyceaceae, Melianthaceae, Bretschneideraceae, Akaniceae, Sapindaceae, Hippocastanaceae, Aceraceae, Burseraceae, Anacardiaceae, Julianiceae, Simaroubaceae, Cneoraceae,

Meliaceae, Rutaceae e Zygophyllaceae (CRONQUIST, 1981, 1988). Tal classificação é baseada em dados morfológicos e filogenéticos incluindo em seqüências de DNA nuclear e plátideo (MUELLNER *et al.*, 2003). As principais famílias estudadas pelo grupo de produtos naturais da UFSCar, Simaroubaceae, Meliaceae e Rutaceae pertencem a esta ordem.

### 1.2.2. A FAMÍLIA ANACARDIACEAE

A família Anacardiaceae é constituída por cerca de 76 gêneros e 600 espécies, cujos gêneros são subdivididos em cinco tribos: Anacardieae, Dobineae, Rhoeeae, Semecarpeae e Spondiadeae (PIO CORREA, 1984). *Mangifera*, *Rhus* (*Toxicodendron*), *Anacardium*, *Spondias*, *Lansea*, *Semecarpus*, *Schinus*, *Pistacia*, *Lithraea*, *Tapirira* e *Melanorrhoea* são os gêneros mais estudados nesta família do ponto de vista químico e *Mangifera*, *Rhus* e *Anacardium* são as mais investigadas com relação à suas composições químicas e atividades biológicas de seus extratos e metabólitos, destacando-se neste sentido *M. indica* e *A. occidentale*. Nesta família foi verificada a ocorrência de flavonóides, terpenos, esteróides, xantonas e, principalmente, dos lipídios fenólicos e derivados e na classe dos flavonóides os biflavonóides são os mais freqüentes (CORRÊA *et al.*, 2006).

Menos de 7 % das espécies conhecidas da família foram estudadas do ponto de vista fitoquímico e de atividade já realizados. Nesta família são conhecidos gêneros (em torno de 25 %) com efeitos tóxicos e causadores de dermatite de contato severa e praticamente as espécies venenosas desta família estão restritas às tribos Anacardieae, Rhoeeae e Semecarpeae (VOGL *et al.*, 1995; VOGL e MITCHELL 1996). A importância econômica, a diversidade de metabólitos e atividades biológicas têm justificado o enorme interesse no estudo de espécies desta família.

### 1.2.3. PERFIL FITOQUÍMICO DO GÊNERO MYRACRODRUON URUNDEUVA

*Myracrodruon urundeuva* tem como sinonímia *Astronium juglandifolium* Griseb, e *Astronium urundeuva* (Fr. All.) (Engl.). Ela é conhecida popularmente como aroeira-do-campo e aroeira-da-serra. *M. urundeuva* é nativa da caatinga do cerrado desde o Ceará até o Paraná. Encontrada também na Argentina, Paraguai e Bolívia.

*M. urundeuva* é super explorada devido a sua madeira resistente, e agrupamentos dessa árvore, que antigamente era dominante na caatinga, estão desaparecendo e ela está na lista de espécies ameaçadas de extinção. Sua madeira é usada em dormentes de linhas férreas, postes e na construção civil. Sua madeira é resistente ao ataque de cupins.

Existe um número muito reduzido de estudos em relação a espécies de *Myracrodruon* relacionados à constituição de produtos naturais; os trabalhos encontrados se referem às outras áreas de conhecimento (atividade biológica, classificação, manutenção de sementes, dentre outros). Apenas um trabalho foi realizado com o intuito de investigar a espécie *M. urundeuva* quanto à fitoquímica (BANDEIRA *et al.*, 2002), porém não há muitos estudos da atividade dessa espécie e atividade(s) biológica(s) principalmente inseticida e fungicida. Estudo envolvendo estas espécies de atividades sobre formigueiros têm perspectivas de sucesso baseado tanto no uso popular da mesma em construção civil para evitar o ataque de cupins.

A espécie *M. urundeuva* é conhecida por possuir quantidades apreciáveis de taninos (QUEIROZ, 2002) e alguns estudos ligam essas substâncias a atividades inseticidas em algumas espécies como *Aedes aegypti* (SILVA, 2004).

### 1.3. COMPLEXOS METÁLICOS

Os produtos naturais têm se mostrado bons modelos para modificações estruturais que ampliam suas ações biológicas, tais como medicamentos, inseticidas, fungicidas, etc. Assim, a coordenação de produtos naturais com ação sobre o formigueiro (inseticida, fungicida, etc) a íons metálicos, examinando seus modos de ligação e possíveis efeitos sinérgicos (potencialização ou inibição) constitui outra estratégia possível para controle das formigas cortadeiras.

Nestes estudos verificam-se a variação de parâmetros tais como: a capacidade  $\pi$ -receptora/doadora dos ligantes ancilares (2,2'-bipiridina e 2,2'-bipiridinas substituídas (Cl<sup>-</sup>, CH<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub><sup>-</sup>), força motora (diferentes metais: Mn(II/III), Co(II/III), Cu(II), Fe(II/III), Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Zn<sup>2+</sup>) e condições do meio interventor (diferentes solventes, pH, temperatura 10 – 40 °C).



A química dos metais da primeira série de transição é caracterizada por estados de oxidação de valência baixa, sendo considerados metais “duros” segundo a classificação por BASOLO e PEARSON, 1968. Como regra geral, metais duros ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) formam complexos estáveis com ligantes duros ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ROH}$ ,  $\text{RCO}_2^-$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{RNH}_2$ ). Por outro lado, estes metais não são agressivos ao meio ambiente. Estes elementos destacam-se por serem os elementos em maior abundância na natureza. Isso fornece uma forte força motora no mundo da seleção natural (JORDÃO *et al.*, 2000; MALAVOLTA, 1980; TATE, 1992). Por exemplo, os metais cálcio, magnésio, ferro, zinco, cobre, manganês e cobalto são geralmente requeridos por plantas e animais, pois atendem às necessidades nutricionais, uma vez que na sua ausência as plantas não completam o seu ciclo vital.

Alguns produtos naturais como: ricinina (ACÁCIO-BIGI *et al.*, 2004), catequina (CINTRA *et al.*, 2005a,b), arborinina (SANTOS *et al.*, 1998; AMBROZIN *et al.*, 2005), flavona, 7-metoxiflavona (AMBROZIN *et al.*, 2004), 3-(1',1'-dimetilalil)-7-hidroxi-8-metoxicumarina e xantiletina (GODOY *et al.*, 2005) mostraram atividades em ensaios sobre formigueiros em laboratórios, grupos fenólicos, anéis aromáticos, metoxilas, dentre outros, devem ser responsáveis pelas atividades destas substâncias e eles têm possibilidade de complexação com metais, levando, provavelmente, a novos compostos com maior ação sobre o ensaio (inseticida, fungicida, etc).

A escolha do produto natural com a atividade desejada e dos sistemas complexantes é fundamental para estabelecer um compromisso entre produção agrícola e um ambiente limpo e saudável. Com base no exposto, é conveniente realizar a coordenação dos compostos flavonóides e naftoquinonas a íons metálicos e a complexos polipiridínicos de Cobre (II).

Ligantes polipiridínicos são de interesse em compostos de coordenação uma vez que podem dar maior estabilidade ao complexo formado (COTTON *et al.*, 1998) e, portanto, podem fortalecer a interação metal-inseticida.

## **2- OBJETIVOS**

## 2. OBJETIVOS

Os objetivos desta tese foram:

- A- O estudo fitoquímico da espécie *Myracrodruon urundeuva* visando à obtenção de substâncias que possam ter atividade tóxica (inseticida) contra *Atta sexdens rubropilosa* (formiga-cortadeira), atividade fungitóxica e inibidoras da enzima acetilcolinesterase (AChE) e também contribuir com a quimiosistemática do gênero estudado, por este ser pouco conhecido sobre o ponto de vista químico;
- B- Obter complexos metálicos de cobre do tipo  $[Cu(X)(FLAV)]$  e  $[Cu(FLAV)_2]$  onde X são ligantes ancilares do tipo: 2,2'- Bipyridina e 1,10'- Fenatrolina e FLAV que são flavonóides conhecidos como Naringina, Naringenina, Hesperidina e Hesperitina;
- C- Obter complexos metálicos de cobre a partir de derivados de lausona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona) via reação de Mannich usando Benzaldeídos substituídos e aminas primárias;
- D- Avaliar a atividade tóxica contra *A. sexdens rubropilosa* dos complexos sintetizados (toxicidade por ingestão, inibidores de enzima AChE e fungicida).

## **3- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

### 3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

#### 3.1. EQUIPAMENTOS

##### 3.1.1. ESPECTRÔMETROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

As técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , COSY, HMBC, HSQC, NOESY foram realizadas nos seguintes aparelhos:

BRUKER modelo DRX 400 (9,4 Tesla); BRUKER modelo ARX 200 (4,7 Tesla); AVANCE III 400 NANO (9,4 Tesla); BRUKER 600 (14,1 Tesla) com Crio Sonda Inversa (CTCI).

##### 3.1.2. ESPECTROFOTÔMETRO DE ULTRAVIOLETA (UV)

8453 UV/Visible Spectrophotometer, G1103A, Agilent Technologies.

##### 3.1.3. CROMATÓGRAFO DE CLAE

SHIMADZU SCL-10AV (condições analíticas e preparativas com válvula de reciclo) E “loop” de 200  $\mu\text{L}$  com detector UV-Vis Shimadzu SPD-10AV;

##### 3.1.4. ESPECTRÔMETRO DE MASSAS

GC-EM Shimadzu QP 5000-ionização por impacto eletrônico- DQ/UFSCar. Sistema LC/MS/MS, modelo API 2000, AppliedByosystems (AB Sciex), munido de um triplo quadrupolo (QqQ). Fontes de ionização: ESI Turbo Ion Spray, APCI e software Analyst.

MICROMASS Quattro LC (triplo quadrupolo) equipado com uma fonte ESI/APCI “Z-spray” e gás de arraste argônio, utilizado em LC acoplado ao cromatógrafo líquido WATERS Alliance 2695-LaBioMMi- DQ/UFSCar.

##### 3.1.5. ESPECTRÔMETRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO

Bruker Daltonics, Billerica, EUA; modelo UltrOTOFQ - ESI-TOF, modo de detecção positivo e negativo. FCFRP-USP-Ribeirão Preto.

##### 3.1.6. ESPECTROFOTÔMETRO DE INFRAVERMELHO (IV)

BOMEM (BM-Séries Aridzone), utilizando placas de KBr.

##### 3.1.7. ESPECTROFOTÔMETRO DE DICROÍSMO CIRCULAR (DC)

JASCO, J-815 CD spectrometer. IF-USP - São Carlos

##### 3.1.8. POLARÍMETRO

PERKIN ELMER modelo 241 – UFSCar.

### **3.1.9. POTENCIOSTATO**

μ-Autolab Type III

### **3.1.10. DETERMINADOR DE PONTO DE FUSÃO**

BUCHI 535 melting point

### **3.1.11. ANALISADOR ELEMENTAR**

Fisons Instruments - EA1108 (CHNS-O)

### **3.1.12. ESTUFA DE SECAGEM E ESTERILIZAÇÃO**

FANEM –315 SE

### **3.1.13. ELETROFORESE CAPILAR**

P/ACE MDQ Beckman Coulter

### **3.1.14. ROTA-EVAPORADORES**

BUCHI, rotavapor R-114, equipado com banho BUCHI B-480 e recirculador refrigerado NESLAB, modelo CFT-25 mantido a 5 °C; BUCHI, rotavapor R-200, equipado com banho BUCHI 490 e recirculador refrigerado NESLAB, modelo CFT-25 mantido a 5 °C.

## **3.2. MATERIAIS PARA CROMATOGRAFIAS**

### **3.2.1. CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA COMPARATIVA (CCDC)**

Fases estacionárias para cromatografia em camada delgada:

Sílica gel 60 GF<sub>254</sub> MERCK em placas de vidro preparadas no laboratório, de dimensões 3 x 10 cm (0,25 mm espessura).

Sílica gel 60 GF<sub>254</sub> MERCK em placas de alumínio.

### **3.2.2. CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA PREPARATIVA (CCDP)**

Sílica gel 60 PF<sub>254</sub> (70 – 230 Mesh ASTM) em placas de vidro preparadas no laboratório, de dimensões 20 x 20 cm e 1 mm espessura.

### **3.2.3. COLUNAS PARA CLAE**

Coluna Gemini C-18 (fase de sílica modificada com ocatécilsilano), analítica (10 μm; 25,0 x 0,46 cm) e preparativa (10 μm; 31,0 x 1,0cm).

Coluna Phenomenex – Luna fenil-hexil, analítica (10 µm; 25,0 x 0,46 cm) e preparativa (10 µm; 30,0 x 0,8 cm).

#### **3.2.4. FASES ESTACIONÁRIAS**

Sílica 60 (230 – 400 Mesh ASTM) – “flash”.

Sílica 60 (70 – 230 Mesh ASTM) – “comum”.

Sephadex<sup>®</sup> LH – 20 (dextrana hidroxipropilada – Amersham Pharmacia Biotech).

Florisil (230 – 400 Mesh ASTM).

#### **3.2.5. COLUNAS CROMATOGRÁFICAS DE BANCADAS DE VIDRO**

As colunas utilizadas nas análises por CC foram confeccionadas na vidraria do DQ – UFSCar.

#### **3.2.6. SOLVENTES PARA CROMATOGRAFIA**

BRENNTAG e outros destilados na sala de destilação do Departamento de Química da UFSCar para obtenção de extratos e fracionamento dos mesmos; Solventes grau HPLC, TEDIA e J.T. BACKER.

#### **3.2.7. SOLVENTES PARA OBTENÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN**

Solventes deuterados (ACROS organics; CIL Cambridge Isotope Laboratories, Inc. e ALDRICH Chemical Company, Inc.).

#### **3.2.8. REVELADORES PARA CCD**

Câmara de luz ( $\lambda = 254$  nm e 365 nm);

Solução de Vanilina acidificada

Cloreto férrico (solução etanólica a 3%)

Vapor de amônia.

### **3.3. REAGENTES**

Os reagentes utilizados foram adquiridos pela SigmaAldrich

Hesperidina H5254 Sigma 80%; Hesperitina H4125-10G 90%; Naringenina N5893-5G >95%; Naringina N1376-25G >95%; Lausona H46805-25G; Cloreto de Cobre e Acetato de cobre; Benzaldeído; 4-Flúorbenzaldeído; 4-Clorobenzaldeído; Piperonal; 2,2' - biperidina; 1,10' - fenantrolina; Butilamina; Octilamina

### 3.4. COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO

Galhos e folhas de *M. urundeuva* foram coletados na região pertencente à bacia hidrográfica Turvo/Grande, no município de Cajobi/SP no dia 21 de abril de 2008. O material vegetal foi identificado pela botânica Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Inês Salgueiro Lima do Departamento de Botânica da UFSCar.

### 3.5. METODOLOGIA DE EXTRAÇÃO

Os galhos foram cortados em pedaços menores e as folhas separadas dos ramos e em seguida foram postos para secar em estufa de circulação de ar a 40 °C por três dias, em seguida o material vegetal (folhas e galhos) foram pulverizadas em moinho elétrico.

Os pulverizados, separadamente, foram extraídos à exaustão com etanol durante 8 dias à temperatura ambiente e o solvente trocado a cada dois dias onde o solvente era filtrado do material vegetal e concentrados em rotaevaporadores onde este mesmo solvente era reaproveitado e retornava para nova extração. Após a extração, o extrato foi guardado em vidros de “boca larga” e postos para secar a temperatura ambiente em capela. Os extratos foram pesados e nomeados de **GA** (galhos aroeira) e **FA** (folhas aroeira) os dados obtidos estão apresentados na (Tabela 3.1).

TABELA 3.1 - Extratos brutos obtidos de folhas e galhos de *M. urundeuva*

| Material vegetal seco (Kg) | Extratos Massa (g) | Código |
|----------------------------|--------------------|--------|
| Folhas (2,0)               | 25                 | FA     |
| Galhos (3,5)               | 53                 | GA     |

### 3.6. FRACIONAMENTOS DOS EXTRATOS BRUTOS

O extrato bruto das folhas (**FA**) foi submetido à cromatografia líquida sob pressão reduzida em funil de placa sinterizada (15h x 8Ø cm), utilizando sílica comum como fase estacionária e como fase móvel solventes: hexano, DCM, acetato de etila e metanol e a quantidade de cada um utilizado dependia de quanto material eluia (Tabela 3.2). Após cada eluição o material foi concentrado em



rotaevaporadores e posto para secar a temperatura ambiente, cada partição era novamente codificada de acordo com o solvente utilizado: FAH, FAD, FAA e FAM.

TABELA 3.2 – Fracionamento do extrato das folhas

| Extrato | Solvente | Massa (g) | Código |
|---------|----------|-----------|--------|
| FA      | Hexano   | 6,0       | FAH    |
|         | DCM      | 0,5       | FAD    |
|         | AcOEt    | 5,3       | FAA    |
|         | MeOH     | 6.6       | FAM    |

O extrato bruto dos galhos (**GA**) inicialmente foi submetido a uma partição líquido-líquido onde GA foi solubilizado em uma mistura de Metanol/H<sub>2</sub>O 3:1 e os solventes utilizados foram: hexano, DCM e acetato de etila. 14 g de extrato bruto foi solubilizado em 100 mL de solução de metanol/H<sub>2</sub>O 3:1 e foram particionados com 300 mL de solventes (3X100 mL).

Obteve-se 4 frações que foram concentradas em rotaevaporadores e postos para secar à temperatura ambiente (em capela) e após foram codificadas de acordo com o solvente utilizado, GAH, GAD, GAA, GAM (hidro-alcoólica) (**Tabela 3.3**), novamente estas partições foram enviadas para testes de toxicidade por ingestão.

TABELA 3.3 – Fracionamento do extrato dos galhos

| Extrato | Solvente              | Massa (g) | Código |
|---------|-----------------------|-----------|--------|
| GA      | Hex                   | 2,2       | GAH    |
|         | DCM                   | 3,8       | GAD    |
|         | AcOEt                 | 6,0       | GAA    |
|         | H <sub>2</sub> O/MeOH | 2,0       | GAM    |

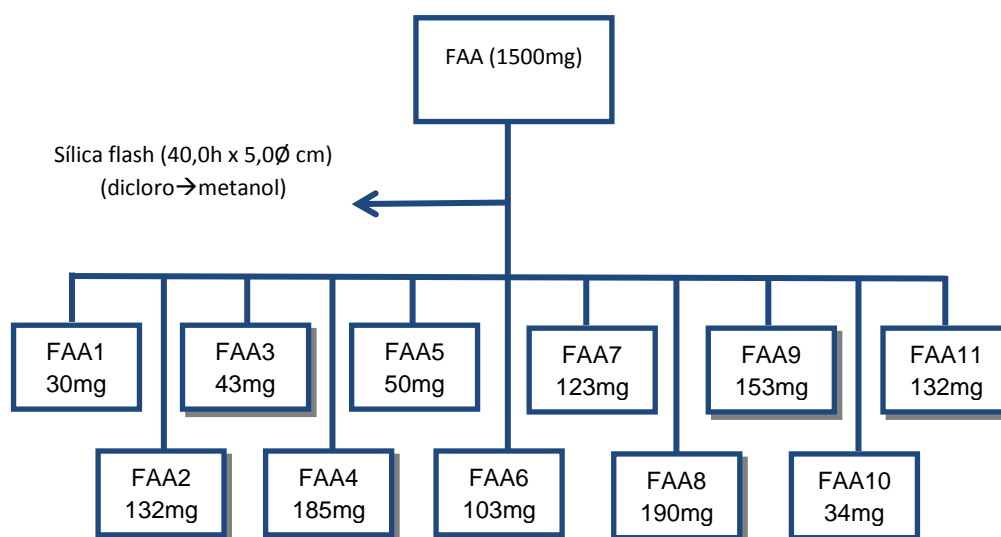
### 3.7. ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE *M. urundeuva*

Para este trabalho foram estudadas as folhas da fração acetato de etila (FAA) da fração metanol (FAM).

### 3.7.1. ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS - FRAÇÃO ACETATO DE ETILA (FAA)

O material foi fracionado em cromatografia de camada delgada em coluna recheada com sílica flash (40,0h x 5,0Ø cm) tendo no topo sílica florisil (3,0h x 5,0Ø cm), 1,5 g de FAA foram inicialmente macerados com um pouco de sílica até completa homogeneização e após foi acrescentada no topo da coluna e o sistema foi cromatografado utilizando sistema gradiente de eluição (DCM→ metanol) de onde foram coletados 23 subfrações que após análise por CCD foram agrupadas em 11 outras e numeradas de FAA1 a FAA11 (**Fluxograma 3.1**).

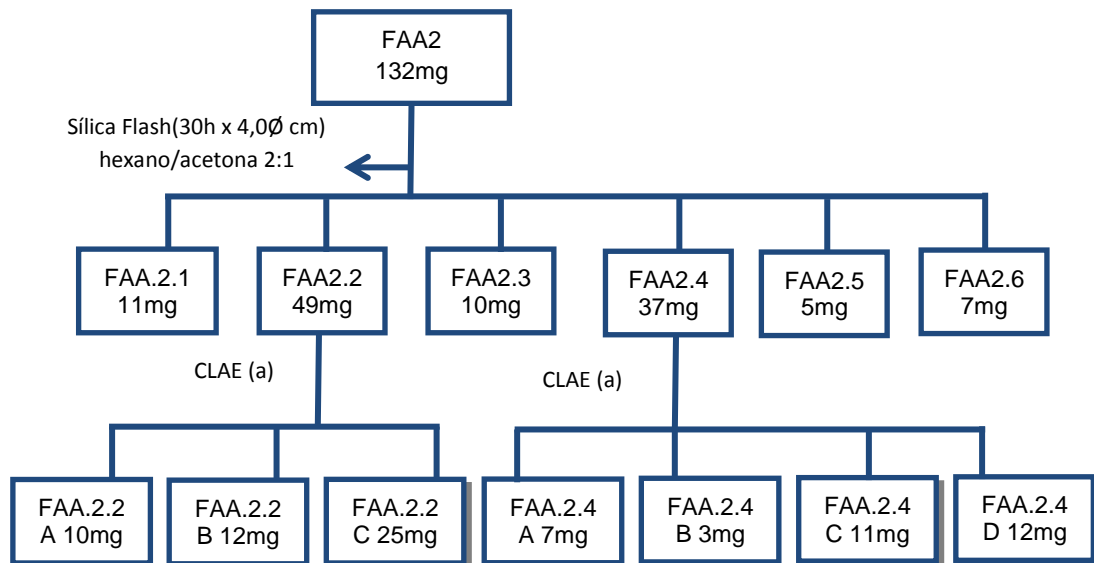
FLUXOGRAMA 3.1 – Fracionamento da partição FAA



#### 3.7.1.1. ISOLAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS FA1, FA2 E FA3

A fração FAA2 foi novamente refracionada utilizando para isso cromatografia em coluna recheada com sílica flash (30,0h x 4,0Ø cm) tendo como fase móvel uma mistura de hexano/acetona (2:1) (sistema isocrático de eluição) de onde se obteve 14 novas frações e que após análise por CCD (utilizando como revelador, vapor de amônia e vanilina ácida) foram agrupadas em 6 novas frações (**Fluxograma 3.2**), que foram renomeadas de FAA2.1 a FAA2.6.

FLUXOGRAMA 3.2 – Refracionamento da fração FAA2



Após experimento de RMN  $^1\text{H}$  verificou-se que as frações FAA2.2 e FAA2.4 apresentavam como uma mistura de duas ou mais substâncias e optou-se por separá-las utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As condições de separação para FAA2.2 e FAA2.4 foram: coluna semi-preparativa (30h x 0,78Ø cm) fenil-hexil; modo reverso de eluição: ACN 33% e MeOH 17%; Detector: UV-Vis 254 e 273 nm; Fluxo: 4 mL/min; sistema reciclante; seringa 200 µL num looping de 200 µL.

Para a fração FAA2.2 foram realizadas 8 injeções, o cromatograma (**Figura 3.1**) mostra o aparecimento de 4 bandas cromatográficas que foram coletadas inicialmente a primeira banda (chamada de A), as segundas e terceiras bandas (chamada de B) e a quarta banda (chamada de C) foi reciclada e após o primeiro reciclo foi coletada. Após, todas as bandas foram agrupadas e renomeadas de FAA2.2A, FAA2.2B e FAA2.2C após estarem secas foi realizado experimento de  $^1\text{H}$  RMN onde se constatou que FAA2.2C era uma substância pura (**FA1**).

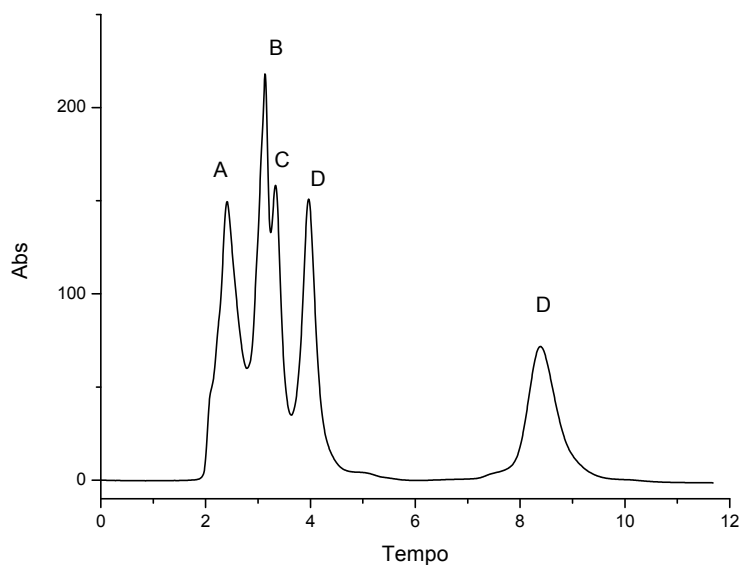


FIGURA 3.1 – Cromatograma de CLAE da fração FAA2.2.

Para a fração FAA2.4 foram realizadas 12 injeções. O cromatograma (**Figura 3.2**) mostra o aparecimento de 4 bandas cromatográficas que foram coletadas: inicialmente a primeira banda (chamada de A), a segunda banda (chamada de B) e a terceira banda (chamada de C) e a quarta banda (chamada de D) foram recicladas e após o primeiro reciclo foram coletadas. Após, todas as bandas foram agrupadas e renomeadas de FAA2.4A, FAA2.4B, FAA2.4C e FAA2.4D. Após estarem secas foi realizado experimento de RMN de  $^1\text{H}$  onde se constatou que FAA2.4C e FAA2.4D eram substâncias puras (**FA2** e **FA3** respectivamente).

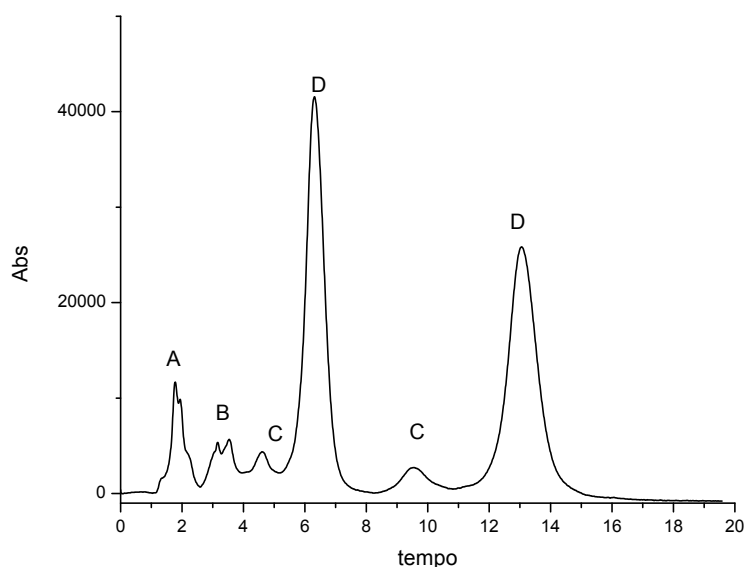
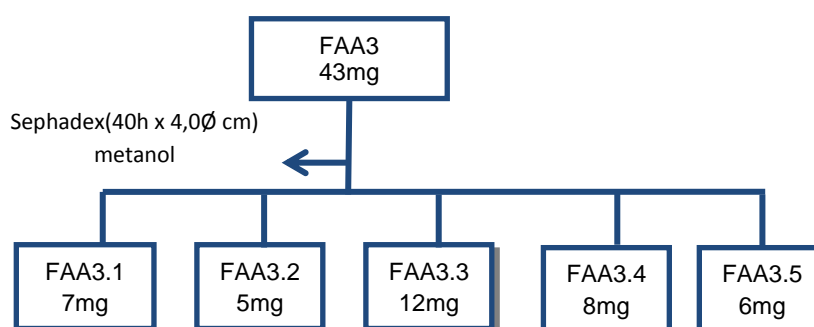


FIGURA 3.2 – Cromatograma de CLAE da fração FAA2.4.

### 3.7.1.2. ISOLAMENTO DA SUBSTÂNCIA FA4

A fração FAA3 foi cromatografada em coluna de sephadex LH-20 (40h x 4Ø cm) tendo como eluente metanol 100%. 43 mg do material foi solubilizado em uma quantidade mínima de metanol (necessário para solubilizar) e aplicada no topo da coluna. Foram coletadas 25 frações que, após análise por CCD, foram agrupadas em outras 5 e nomeadas de FAA3.1 a FAA3.5 (**Fluxograma 3.3**). A fração FAA3.3 apresentou-se como um sólido de coloração branca e após experimento de RMN <sup>1</sup>H verificou-se tratar de uma substância pura (**FA4**).

FLUXOGRAMA 3.3 – Refracionamento da fração FAA3



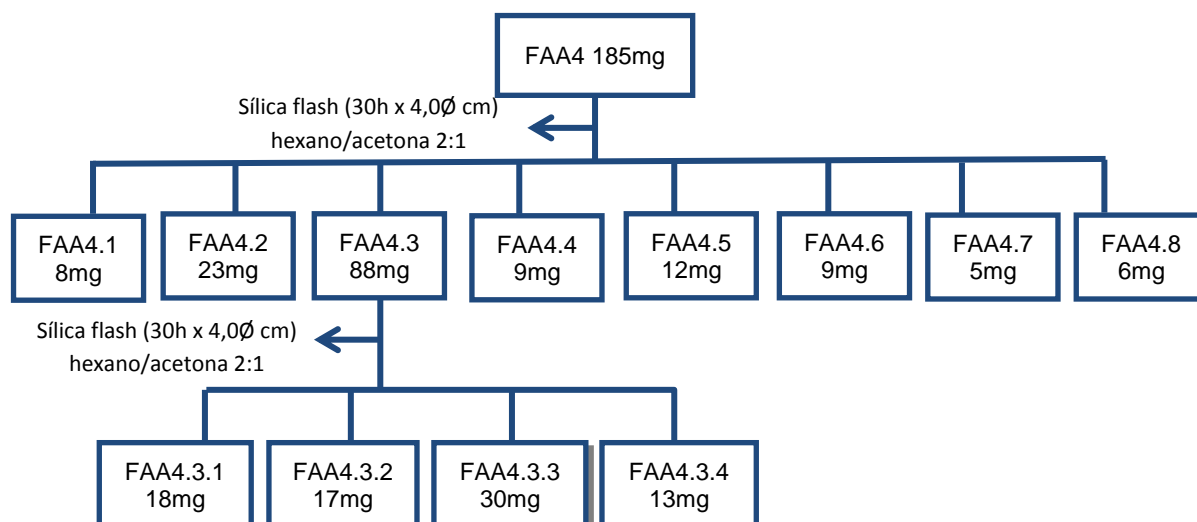
### 3.7.1.3. ISOLAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS FA5 E FA6

A fração FAA4 apresentou-se como uma pasta oleosa de coloração verde e após experimento de RMN <sup>1</sup>H o material foi recromatografado por cromatografia de camada delgada em coluna recheada com sílica flash (25,0h x 5,0Ø cm) tendo no topo sílica florisil (2,0h x 5,0Ø cm). 185 g de FAA4 foram inicialmente macerados com um pouco de sílica e sílica florisil até completa homogeneização e após foi acrescentada no topo da coluna e o sistema foi cromatografado utilizando sistema isocrático de eluição tendo como fase móvel uma mistura de hexano/acetona (3:1), de onde foram coletados 25 subfrações que após análise por CCD (vapor de amônia e vanilina ácida) foram agrupadas em 8 outras e numeradas de FAA4.1 a FAA4.8.

A fração FAA4.3 apresentou características de urushióis e novamente foi cromatografada por cromatografia em coluna recheada com sílica flash (12,0h x 2,0Ø cm). 88 g de FAA4.3 foi macerado em sílica flash até completa homogeneização e após foi acrescentada no topo da coluna tendo como fase móvel mistura de Acetato de etila/hexano (2:1), foram coletadas 7 novas frações que após

análise por CCD (vapor de amônia) foram agrupadas em 4 outras e numeradas de FAA4.3.1 a FAA4.3.4 (**Fluxograma 3.4**).

FLUXOGRAMA 3.4 – Refracionamentos da fração FAA4 e FAA4.3



A fração FAA4.3.3 apresentou-se como um óleo de coloração esverdeado e após RMN <sup>1</sup>H mostrou-se como uma mistura de duas substâncias cuja classe pertence a lipídios catecólicos que foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massas (CG-EM), porém antes as substâncias precisaram ser derivatizadas em suas hidroxilas fenólicas para éteres silílicos (**Box 1**). As condições de injeção no GC-EM foram: temperatura do injetor 250 °C, temperatura do detector 280 °C, e a rampa de aquecimento 50 °C/1min, 5 °C até 260 °C por 30 minutos e 15 °C até 290 °C por 20 minutos (**Figura 3.3**), o tempo de retenção das substâncias foram de 27,24 min para o composto 1 e 27,28min para o composto 2 que correspondem as substâncias **FA5** e **FA6**.

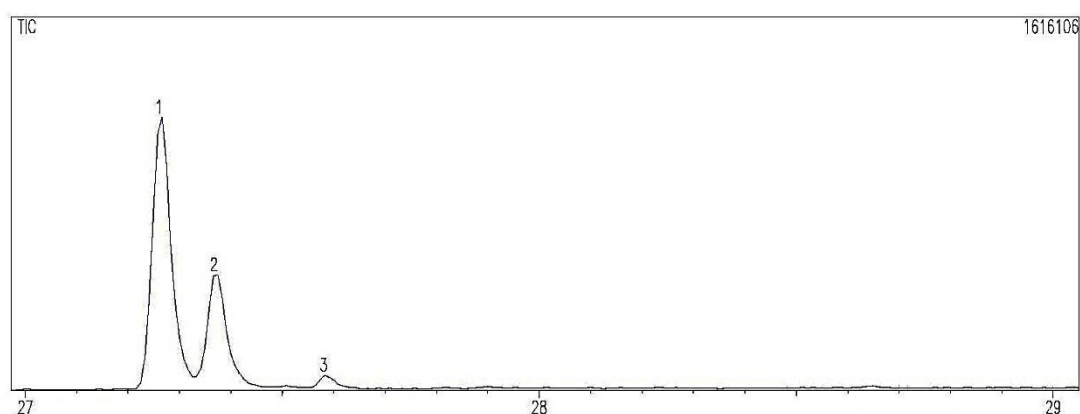


FIGURA 3.3 - Cromatograma gasoso da fração FAA4.3.3.

## BOX 1 - Procedimento para preparação dos derivados silílicos.

**Preparo dos éteres silílicos**

Em um *ependorf*, foi acrescentado um equivalente da mistura de lipídios catecólicos dissolvidos em DCM, em seguida foi acrescentado 3 equivalentes de piridina. O sistema reacional foi fechado e a mistura foi aquecida a uma temperatura de 60 °C por 5 minutos, após foi acrescentado 3 equivalentes de agente sililante, *N,N*-Dimethyltrimethylsilylamine e aquecido por mais 10 minutos. Após foi realizado a extração do sistema com ciclohexano e esta solução foi injetada no CG-EM.

**3.7.1.4 - ISOLAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS FA7, FA8 E FA9**

A fração FAA8 apresentou-se como um sólido de coloração laranja amarronzado e após experimento de RMN <sup>1</sup>H de onde se contatou sinais de flavonóides, o material foi refractionado por cromatografia de exclusão com sephadex LH 20 (90h x 8,0Ø cm) tendo como fase móvel metanol. 190 mg de FAA8 foi inicialmente solubilizado em uma quantidade mínima de metanol e filtrado em membrana 0,4 µm para recolher os sólidos que poderiam comprometer a separação, em seguida o filtrado foi acrescentado no topo da coluna e eluído com metanol. Foram coletados 50 frações (frascos de 30 mL) que após análise por CCD (revelado com vapor de amônia, cloreto férrico e vanilina ácida) foram agrupadas em 11 novas frações (**Fluxograma 3.5**) e nomeados de FAA8.1 a FAA8.11.

Após estarem secas, as frações foram submetidas a experimentos de RMN <sup>1</sup>H onde se verificou que a fração FAA8.3 e FAA8.5 apresentava sinais característicos de flavonóides e optou-se pela separação por CLAE. As condições de separação para FAA8.3 foram: coluna semi-preparativa (30h x 0,78Ø cm) C18 phenomenex; modo reverso de eluição: ACN 75%; detector: UV-Vis 217 e 270 nm; Fluxo: 4 mL/min; sistema reciclante; seringa 200 µL num looping de 200 µL.

Para a fração FAA8.3 foram realizadas 7 injeções. O cromatograma (**Figura 3.4**) mostra o aparecimento de 2 bandas cromatográficas que foram recicladas e coletadas no segundo reciclo a primeira banda (chamada de A) e a segunda (chamada de B). Após, todas as bandas foram agrupadas e renomeadas de FAA8.3A e FAA8.3B e após estarem secas foi realizado experimento de RMN <sup>1</sup>H onde se constatou que eram substâncias puras (**FA7 e FA8**).

FLUXOGRAMA 3.5 – Fracionamento de FAA8

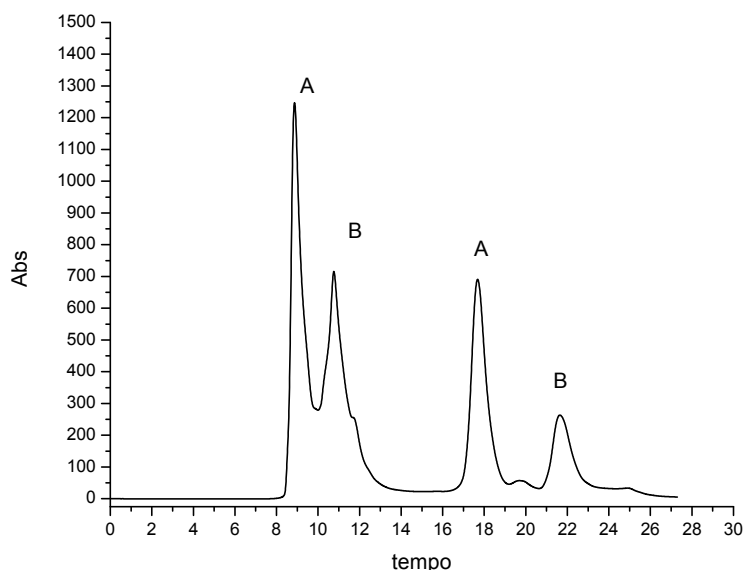
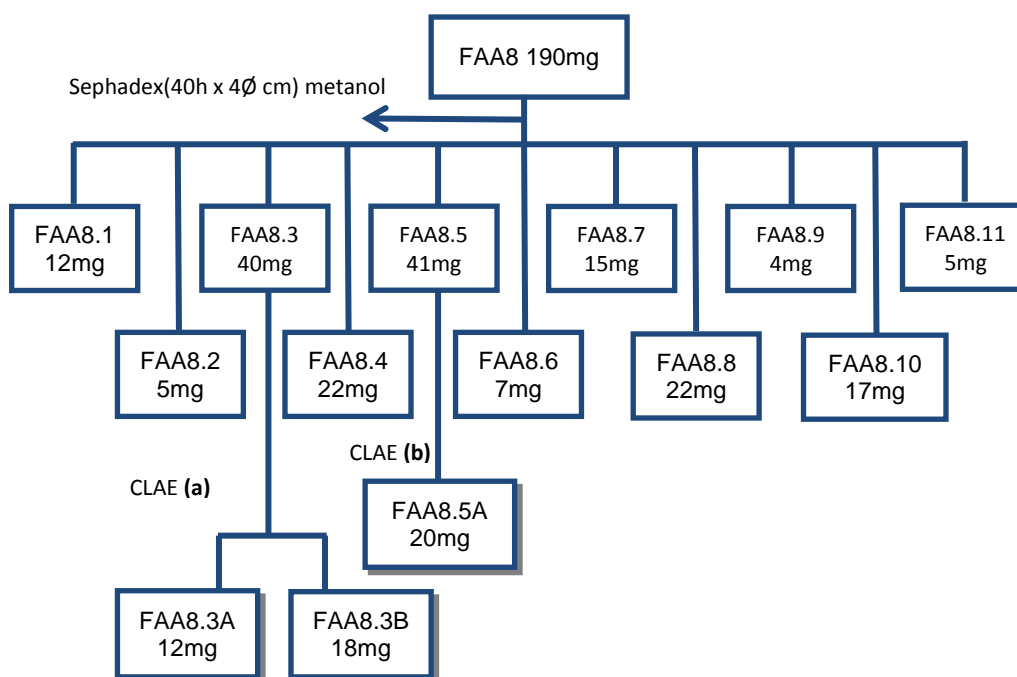


FIGURA 3.4 – Cromatograma de CLAE da fração FAA8.3.

As condições de separação para FAA8.5 foram: coluna semi-preparativa (30h x 0,78Ø cm) C18 phenomenex; modo reverso de eluição: ACN 25% MeOH 25%; detector: UV-Vis 254 nm; fluxo: 4 mL/min; sistema reciclante; seringa 200 µL num looping de 200 µL.

Para a fração FAA8.5 foram realizadas 3 injeções. O cromatograma (Figura 3.5) mostra o aparecimento de muitas bandas iniciais que foram coletadas e descartadas e a banda A foi reciclada e coletada no segundo reciclo (chamada de A)



e renomeadas de FAA8.5A e após estar seca foi realizado experimento de RMN  $^1\text{H}$  onde se constatou que era uma substância pura (**FA9**).

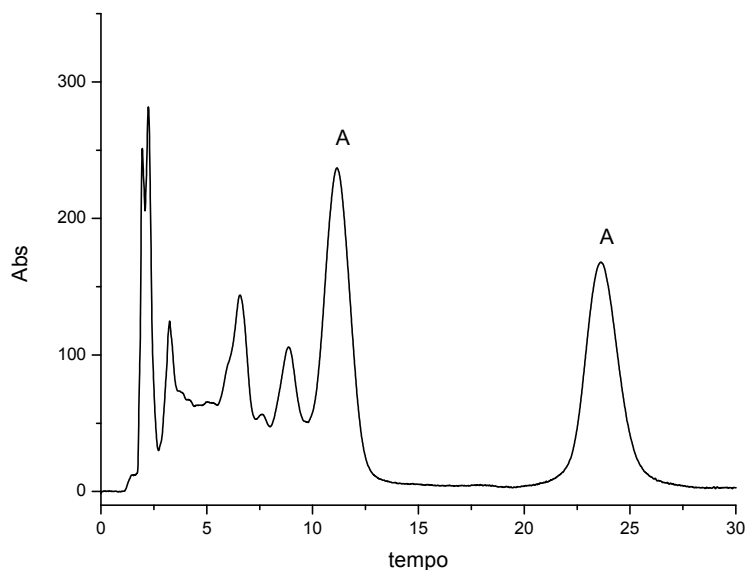


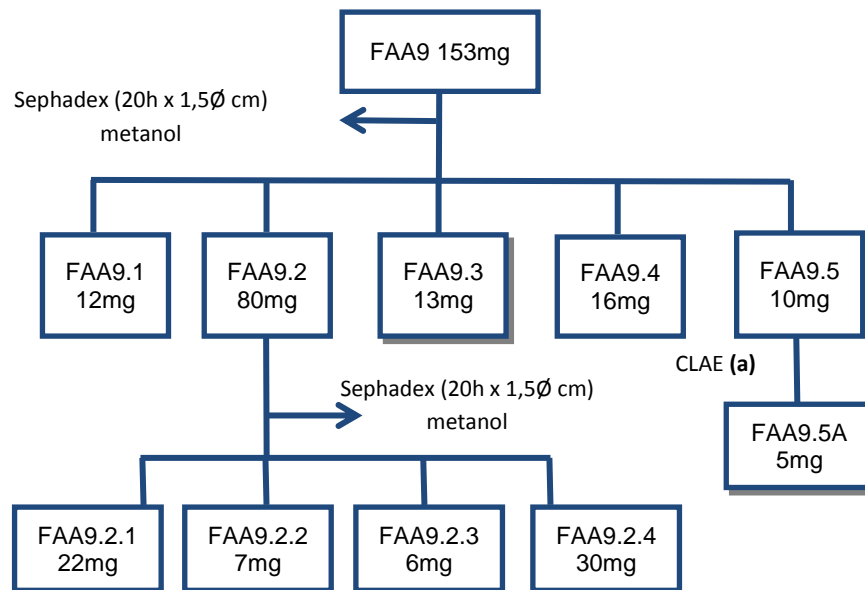
FIGURA 3.5 – Cromatograma de CLAE da fração FAA8.5.

#### 3.7.1.5. ISOLAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS FA10 E FA11

A fração FAA9 apresentou-se como um sólido de coloração laranja e após experimento de RMN  $^1\text{H}$  de onde se constatou sinais de flavonóides. O material foi refractionado por cromatografia de exclusão com sephadex LH-20 (20h x 1,5Ø cm) tendo como fase móvel metanol. 153 mg de FAA9 foi inicialmente solubilizado em quantidade mínima de metanol e acrescentado no topo da coluna e eluído com metanol. Foram coletados 15 frações (frascos de 30 mL) que após análise por CCD (revelado com vapor de amônia, cloreto férrico e vanilina ácida) foram agrupadas em 5 novas, e nomeadas de FAA9.1 a FAA9.5 (**Fluxograma 3.6**).

Após experimento de RMN  $^1\text{H}$  a fração FAA9.2 foi novamente cromatografado em coluna de sephadex (20h x 1,5Ø cm) tendo como fase móvel metanol. Foram obtidos 4 novas frações, que foram nomeadas de FAA9.2.1 a FAA9.2.5 e após estarem secas foi realizado experimento de RMN  $^1\text{H}$  e verificou-se que a fração FAA9.2.3 era uma substância pura (**FA10**).

FLUXOGRAMA 3.6 – Fracionamento de FAA9.



A fração FAA9.5 apresentou-se como um sólido de coloração amarelo ouro e após experimento de RMN  $^1\text{H}$  mostrou sinais de flavonóides e optou-se por purificar utilizando CLAE. As condições de separação para FAA8.3 foram: coluna semi-preparativa (30h x 0,78Ø cm) fenil-hexil; modo reverso de eluição: ACN 75%; detector: UV-Vis 254 e 270 nm; fluxo: 6 mL/min; seringa 200  $\mu\text{L}$  num looping de 200  $\mu\text{L}$ .

Para a fração FAA9.5 foram realizadas 4 injeções. O cromatograma (**Figura 3.6**) mostra o aparecimento de muitas bandas iniciais que foram coletadas e descartadas e a banda A foi coletada (chamada de A) e renomeadas de FAA9.5A e após estar seca foi realizado experimento de RMN  $^1\text{H}$  onde se constatou que era uma substância pura (**FA11**).

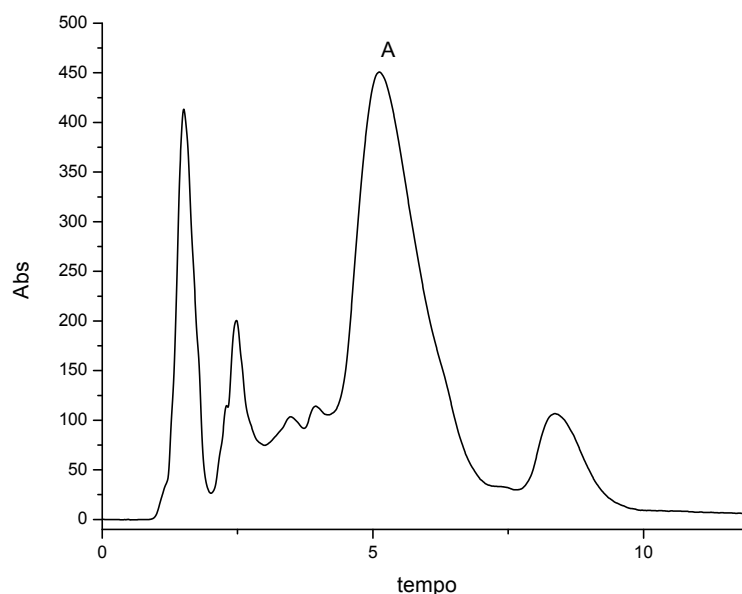
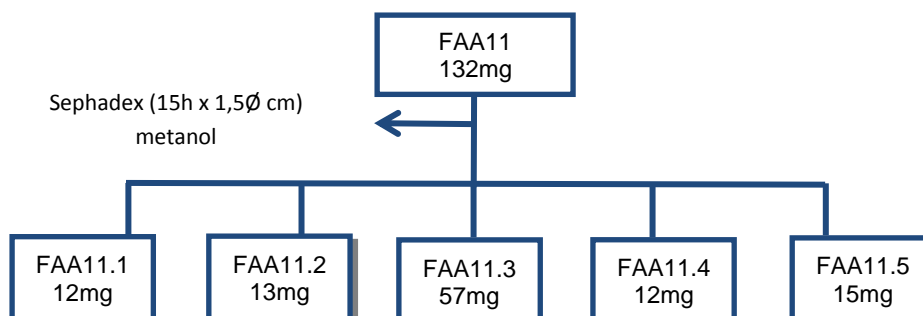


FIGURA 3.6 – Cromatograma de CLAE da fração FAA9.5.

### 3.7.1.6. ISOLAMENTO DA SUBSTÂNCIA FA12

A fração FAA11 apresentou-se como um sólido de aspecto gelatinoso e de coloração verde claro e após experimento de RMN  $^1\text{H}$ , o material foi refracionado por cromatografia de exclusão com sephadex LH-20 (15h x 1,5Ø cm) tendo como fase móvel metanol, 132 mg de FAA11 foi inicialmente solubilizado em quantidade mínima de metanol e acrescentado no topo da coluna e eluído com metanol. Foram coletados 5 frações (frascos de 30 mL) que foram nomeadas de FAA11.1 a FAA11.5 (**Fluxograma 3.7**), destas frações somente a FAA11.2 revelou em cloreto férrico. Após experimento de RMN  $^1\text{H}$  verificou-se que era uma substância pura (**FA12**).

FLUXOGRAMA 3.7 – Refracionamento da fração FAA11



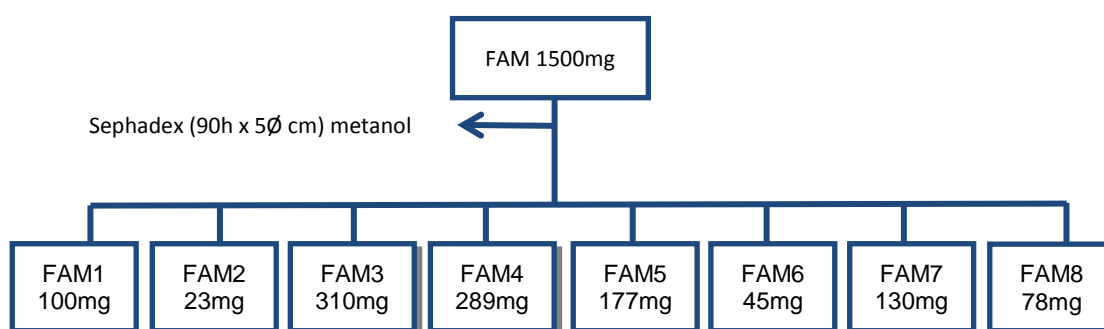
### 3.7.2. ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS - FRAÇÃO METANOL (FAM)

Devido ao caráter polar desta fração optou-se por utilizar somente cromatografia por exclusão utilizando sephadex LH-20. 1,5 g do extrato foi

solubilizado em acetona/metanol (2:1) de onde se formou um precipitado de coloração amarela, este precipitado foi separado por centrifugação e lavado várias vezes com a mesma mistura de solventes e foi nomeado de FAMP (75 mg).

O material solubilizado foi refractionado após evaporação do solvente através de cromatografia em coluna com sephadex LH-20 (90h x 5Ø cm) tendo metanol como eluente, 1,5 g do filtrado foi adicionado ao topo da coluna e foram coletadas 8 novas frações (**Fluxograma 3.8**) que foram nomeadas de FAM1 a FAM8. Após estarem secas foi realizado análise por CCD (utilizando vapor de amônia e vanilina ácida como reveladores).

FLUXOGRAMA 3.8 – Fracionamento da partição FAM



### 3.7.2.1. ISOLAMENTO DA SUBSTÂNCIA FA13

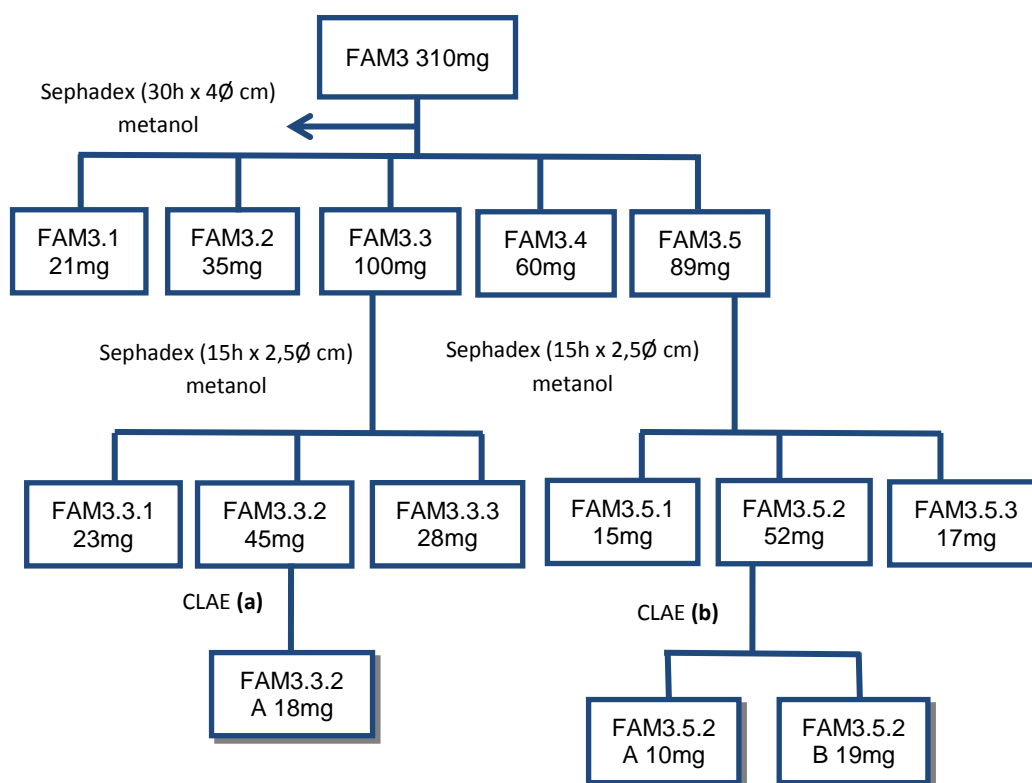
O precipitado FAMP, após estar bem seco, foi analisado por CCD (vapor de amônia e vanilina ácida) de onde se verificou um alto grau de pureza, e após experimentos de RMN se confirmou tratar de uma substância pura (**FA13**).

### 3.7.2.2. ISOLAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS FA14, FA15 E FA16

A fração FAM3 apresentou-se como um sólido de coloração laranja amarronzado e foi refractionado utilizando cromatografia por exclusão utilizando sephadex LH-20 (30h x 4Ø cm) eluído com metanol. 310 mg do material foi solubilizado em quantidade mínima de metanol e adicionado no topo da coluna, de onde foram obtidos 15 novas frações, que após análise por CCD (vapor de amônia e vanilina ácida), foram agrupadas em 5 novas frações e renomeadas por FAM3.1 a FAM3.5 (**Fluxograma 3.9**). Após estarem secas, elas foram submetidas a experimento de RMN <sup>1</sup>H e a fração FAM3.3 apresentou sinais de flavonóides e esta fração foi recromatografada utilizando sephadex LH-20 (15h x 2,5Ø cm) tendo como

eluente metanol. Seguindo o mesmo procedimento já descrito, a fração foi solubilizada em metanol e adicionada no topo da coluna e após foram recolhidas 3 novas frações (eram recolhidas com acompanhamento de luz UV-Vis) de onde foram renomeadas de FAM3.3.1 a FAM3.3.3. A fração FAM3.3.2 apresentou-se com um grau mediano de pureza e optou-se por purificá-la por CLAE.

FLUXOGRAMA 3.9 – Refracionamento de FAM3



A fração FAM3.5 também foi recromatografada utilizando sephadex LH-20 (15h x 2,5Ø cm) tendo como eluente metanol e foram recolhidas também 3 novas frações (eram recolhidas com acompanhamento de luz UV-Vis) nomeadas de FAM3.5.1 a FAM3.5.3. A fração FAM3.5.3 após experimento de RMN <sup>1</sup>H mostrou-se tratar de uma mistura de duas substâncias e optou-se por purificá-la por CLAE.

As condições de separação para FAM3.3.2 foram: coluna semi-preparativa (30h x 0,78Ø cm) fenil-hexil; modo reverso de eluição: ACN 75%; detector: UV-Vis 254 e 270 nm; fluxo: 4 mL/min; seringa 200 µL num looping de 200 µL.

Para a fração FAM3.3.2 foram realizadas 12 injeções. O cromatograma (Figura 3.7) mostra o aparecimento de muitas bandas iniciais que foram descartadas e a banda principal foi coletada, sem haver reciclo, sendo renomeada

de FAM3.3.2A e após estar seca foi realizado experimento de RMN  $^1\text{H}$  onde se constatou que era uma substância pura (**FA14**).

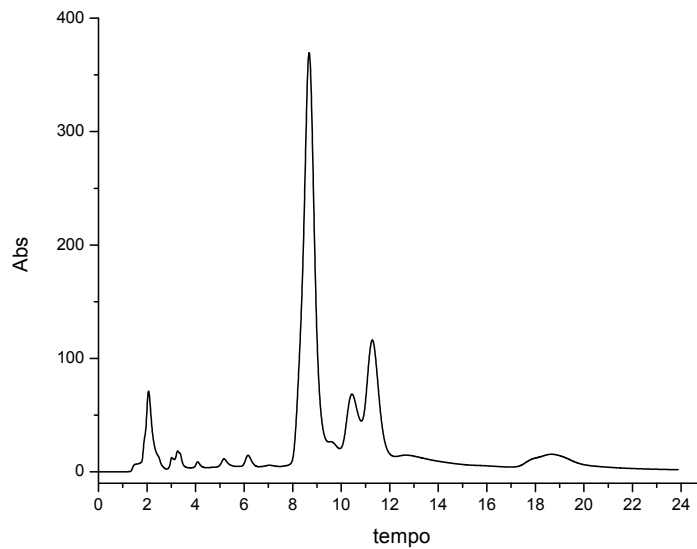


FIGURA 3.7 – Cromatograma de CLAE da fração FAM3.3.2.

As condições de separação para FAM3.5.2 foram: coluna semi-preparativa (30h x 0,78Ø cm) fenil-hexil; modo reverso de eluição: ACN 75%; detector: UV-Vis 254 e 270 nm; fluxo: 4 mL/min; Seringa 200  $\mu\text{L}$  num looping de 200  $\mu\text{L}$ . Para a fração FAM3.5.2 foram realizadas 14 injeções. O cromatograma (**Figura 3.8**) mostra o aparecimento de duas bandas que foram recicladas e coletadas no segundo reciclo A primeira banda, chamada de A e a segunda, chamada de B. Após as 4 injeções, todas as frações de bandas iguais foram agrupadas e renomeadas de FAM3.5.2A e FAM3.5.2B e após estarem secas foi realizado experimento de RMN  $^1\text{H}$  onde se constatou que eram substâncias puras (**FA15 e FA16**).

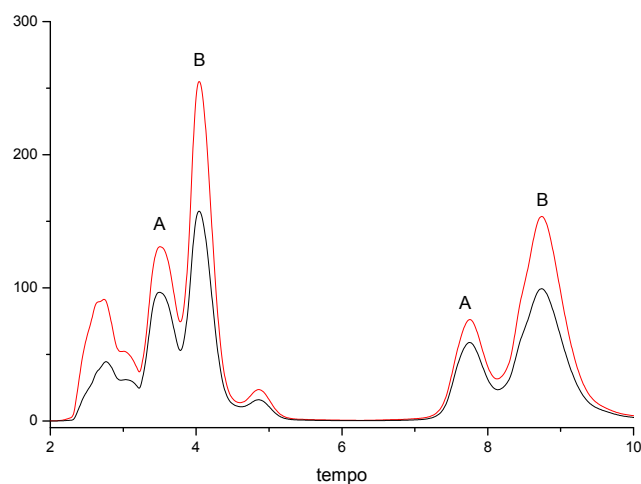
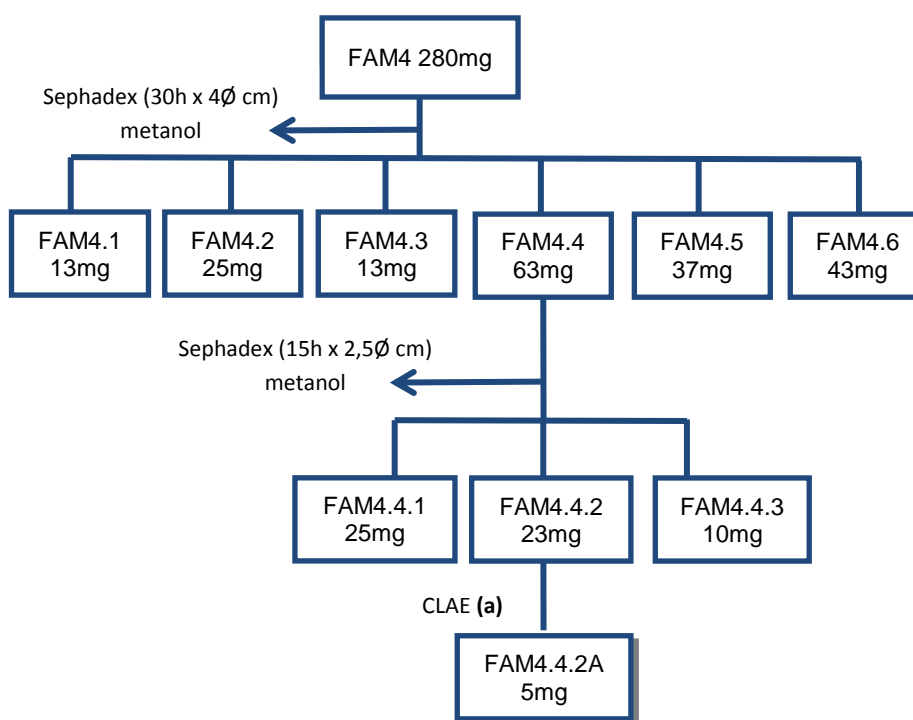


FIGURA 3.8 – Cromatograma de CLAE da fração FAM3.5.2.

### 3.7.2.3. ISOLAMENTO DA SUBSTÂNCIA FA17

A fração FAM4 apresentou-se como um sólido de coloração laranja amarronzado e foi refractionado utilizando cromatografia por exclusão utilizando sephadex LH-20 (30h x 4Ø cm) eluida com metanol. 280 mg do material foi solubilizado em quantidade mínima de metanol e adicionado no topo da coluna, de onde foram obtidos 6 novas frações que foram numeradas de FAM4.1 a FAM4.6. Após estarem bem secas, estas frações foram submetidas a análise por CCD e a fração FAM4.4 foi novamente cromatografada utilizando sephadex LH-20 (15h x 2,5 Ø cm) eluído com metanol. 289 mg do material foi solubilizado em quantidade mínima de metanol e adicionado no topo da coluna, de onde foram obtidas 3 novas frações, que foram numeradas de FAM4.4.1 a FAM4.4.3 (**Fluxograma 3.10**).

FLUXOGRAMA 3.10 – Fracionamento de FAM



Para a fração FAM4.4.2, após experimento de RMN <sup>1</sup>H, optou-se por purificar por CLAE e as condições de purificação foram: coluna semi-preparativa (30h x 0,78Ø cm) fenil-hexil; modo reverso de eluição: ACN 75%; detector: UV-Vis 254 e 270 nm; Fluxo: 4 mL/min; seringa 200 µL num looping de 200 µL.

Para a fração FAM4.4.2 foram realizadas 6 injeções. O cromatograma (**Figura 3.9**) mostra o aparecimento de cinco bandas de onde foram descartadas as

minoritárias e coletada a banda majoritária que foi renomeada de FAM4.4.2A e após estar seca, foi realizado experimento de RMN  $^1\text{H}$  onde se constatou que era uma substância pura (**FA17**).

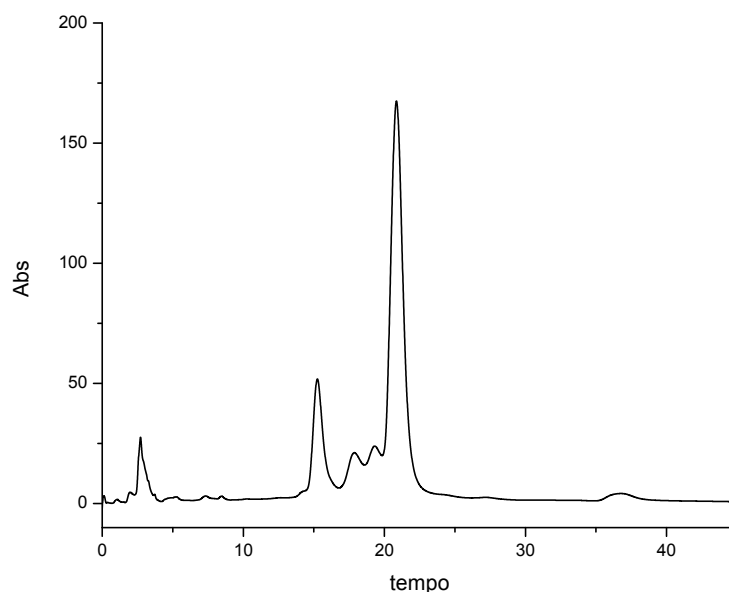


FIGURA 3.9 – Cromatograma de CLAE da fração FAM4.4.2.

### 3.8. ESTUDO FITOQUÍMICO DOS GALHOS DE *M. urundeuva*

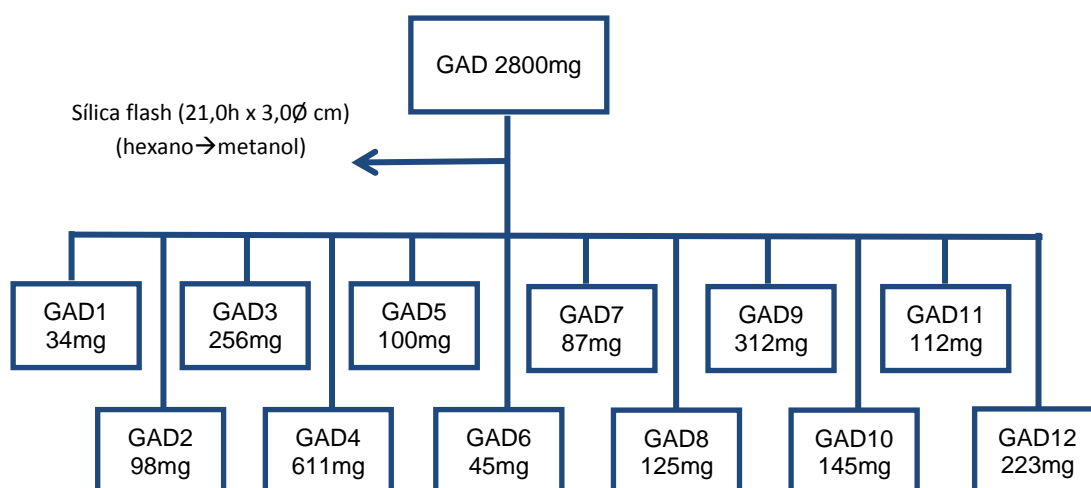
Para este trabalho foram estudadas as frações DCM (GAD) e acetato de etila (GAA) dos galhos.

#### 3.8.1. ESTUDO FITOQUÍMICO DOS GALHOS DA FRAÇÃO DCM (GAD)

O material foi fracionado em cromatografia em coluna recheada com sílica flash (21,0h x 3,0Ø cm), sendo que 2,8 g de GAD foram inicialmente macerados com um pouco de sílica até completa homogeneização e após foi acrescentada no topo da coluna e o sistema foi cromatografado utilizando sistema gradiente de eluição (hexano → metanol) de onde foram coletados 12 subfrações e numeradas de GAD1 a GAD12 (**Fluxograma 3.11**).



FLUXOGRAMA 3.11 – Fracionamento da fração GAD

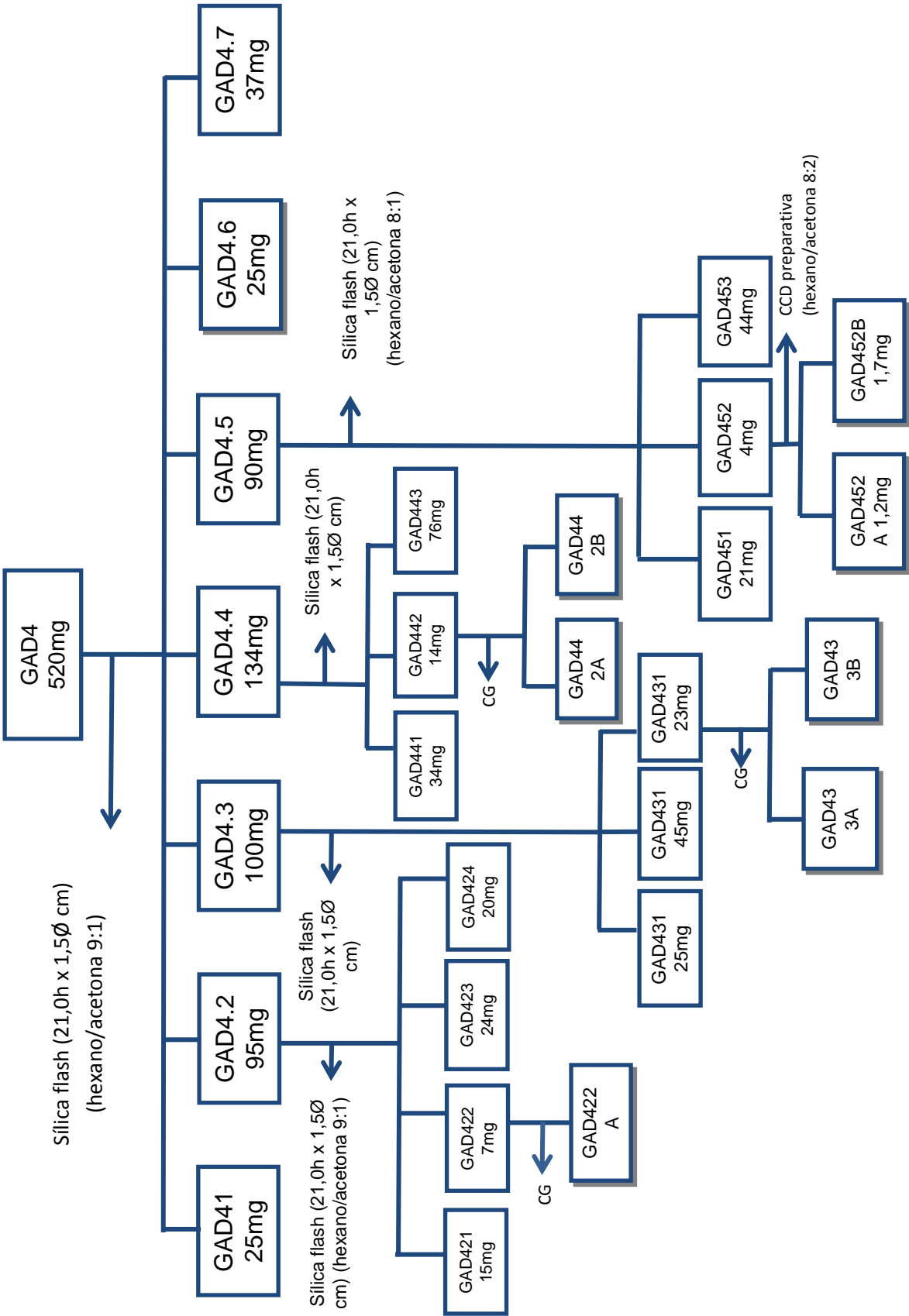


A fração GAD4 após experimento de RMN  $^1\text{H}$  foi novamente cromatografada em cromatografia em coluna recheada com sílica flash (21,0h x 1,5Ø cm), sendo que 611mg de GAD4 foram inicialmente macerados com um pouco de sílica até completa homogeneização e após foi acrescentada no topo da coluna. O sistema foi cromatografado utilizando sistema isocrático de eluição (hexano/acetona 9:1) de onde foram coletados 23 subfrações e após análise por CCD foram agrupadas em 7 outras e numeradas de GAD4.1 a GAD4.7 (**Fluxograma 3.12**).

**3.8.1.1 - ISOLAMENTO DA SUBSTÂNCIA GA1**

A fração GAD4.2 apresentou-se como um sólido branco e foi recromatografada em em coluna recheada com sílica flash (21,0h x 1,5Ø cm), sendo que 95 mg de GAD4.2 foram solubilizados em mínima quantidade de acetona e após foi acrescentada no topo da coluna e foi cromatografado utilizando sistema isocrático de eluição (hexano/acetona 9:1) de onde foram coletados 12 subfrações. Após análise por CCD foram agrupadas em 4 outras e numeradas de GAD4.2.1 a GAD4.2.4. A fração GAD4.2.2 apresentou-se como um sólido de coloração branca, prontamente solúvel em DCM e após experimento de RMN  $^1\text{H}$  e CG/EM tratou-se de uma substância pura (**GA1**) as condições de análise foram: temperatura do injetor 250 °C, 150 °C/min, 6 °C até 280 °C, por 40 minutos.

FLUXOGRAMA 3.12 – Fracionamento de GAD4



### 3.8.1.2 - ISOLAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS GA2 E GAD3

A fração GAD4.3 após experimento de RMN  $^1\text{H}$  foi novamente cromatografada em coluna recheada com sílica flash (21,0h x 1,5Ø cm), sendo que 100 mg de GAD4.3 foram solubilizados em mínima quantidade de acetona e após foi acrescentada no topo da coluna e cromatografado utilizando sistema isocrático de eluição (hexano/acetona 9:1) de onde foram coletados 6 subfrações e após análise por CCD foram agrupadas em 3 outras e numeradas de GAD4.3.1 a GAD4.3.3. A fração GAD4.2.3 apresentou-se como um sólido de coloração branca, prontamente solúvel em DCM e após experimento de RMN  $^1\text{H}$  e CG/EM tratou-se de uma mistura de duas substâncias. As condições de injeção no CG/EM foram as seguintes: temperatura do injetor 150 °C; temperatura detector 150 °C; rampa: 150 graus por um minuto, aumentando de 5 °C até atingir 280 °C e foi mantido nesta temperatura por 10 minutos.

No cromatograma gasoso (**Figura 3.10**) se observa a presença de duas bandas que foram nomeadas de GAD4.3.3A (**GAD2**) e GAD4.3.3B (**GAD3**).

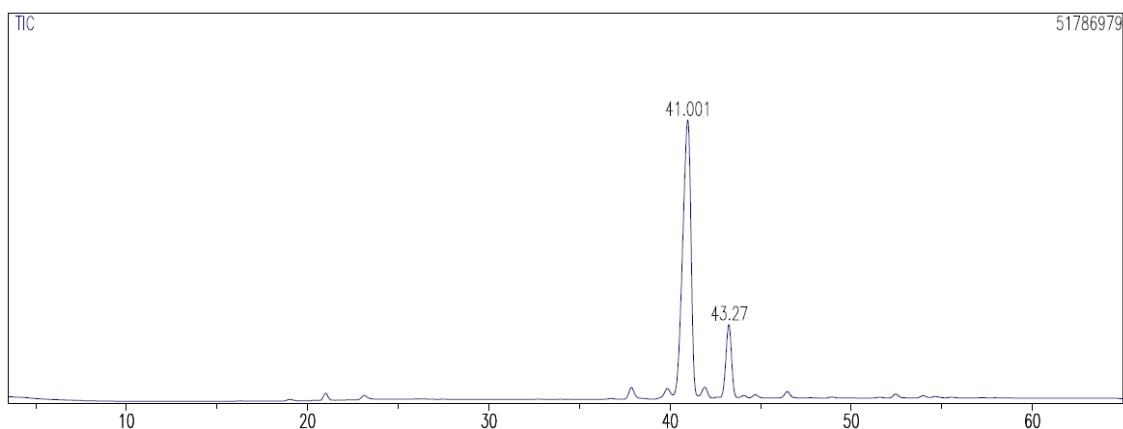


FIGURA 3.10 – Cromatograma gasoso da fração GAD4.3.3.

### 3.8.1.3 - ISOLAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS GA4 E GAD5

A fração GAD4.4 após experimento de RMN  $^1\text{H}$  foi novamente cromatografada em coluna recheada com sílica flash (21,0h x 1,5Ø cm), e as condições foram parecidas com o anterior, 134 mg de GAD4.4 foram solubilizados em mínima quantidade de acetona e após foi acrescentada no topo da coluna e cromatografado utilizando sistema isocrático de eluição (hexano/acetona 8:1) de onde foram coletados 5 subfrações e após análise por CCD foram agrupadas em 3 outras e numeradas de GAD4.4.1 a GAD4.4.3. A fração GAD4.4.2 apresentou-se

como um sólido de coloração branca, prontamente solúvel em DCM e após análises por RMN  $^1\text{H}$  e de CG/EM tratou-se de uma mistura de duas substâncias.

As condições de injeção no CG/EM foram as seguintes: temperatura do injetor  $150^\circ\text{C}$ ; temperatura detector  $150^\circ\text{C}$ ; Rampa:  $150^\circ\text{C}$  por um minuto, aumentando de  $5^\circ\text{C}$  até atingir  $280^\circ\text{C}$  e foi mantido nesta temperatura por 10 minutos.

No cromatograma gasoso (**Figura 3.11**) se observa a presença de duas bandas que foram nomeadas de GAD4.4.2A (**GAD4**) e GAD4.4.2B (**GAD5**).

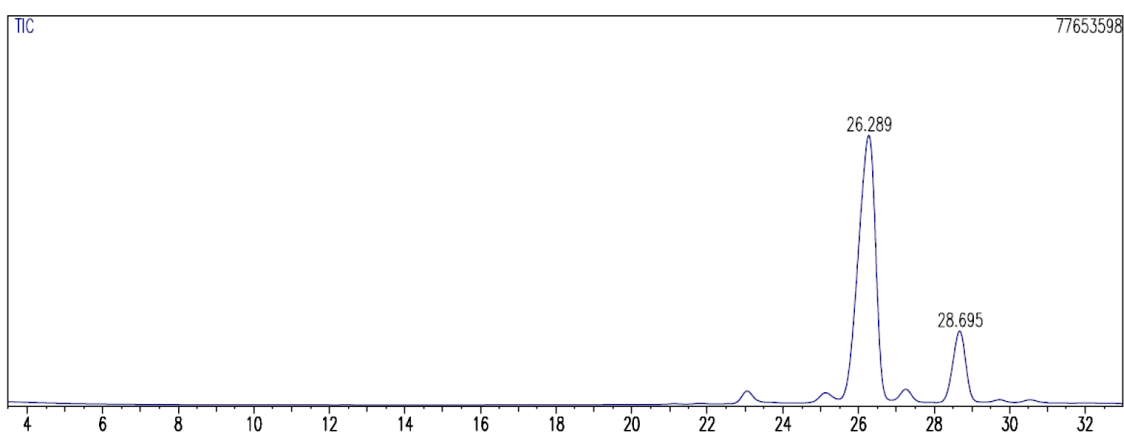


FIGURA 3.11 - Cromatograma gasoso da fração GAD4.4.2.

#### 3.8.1.4. ISOLAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS GA6 E GA7

A fração GAD4.5 após experimento de RMN  $^1\text{H}$  foi novamente cromatografada em coluna recheada com sílica flash (15,0h x 1,0 Ø cm), sendo que 90 mg de GAD4.5 foram solubilizados em mínima quantidade de acetona e acrescentada no topo da coluna e cromatografado utilizando sistema isocrático de eluição (hexano/acetona 8:1) de onde foram coletados 3 subfrações e após análise por CCD foram agrupadas em 3 outras e numeradas de GAD4.5.1 a GAD4.5.3.

A fração GAD4.5.2 apresentou-se como um sólido de coloração amarelo, prontamente solúvel em DCM e após análise por RMN  $^1\text{H}$  e CG/EM tratou-se de uma mistura de duas substâncias.

As condições de injeção no CG/EM foram as seguintes: temperatura do injetor  $150^\circ\text{C}$ ; temperatura detector  $150^\circ\text{C}$ ; rampa:  $100^\circ\text{C}$  por um minuto, aumentando de  $5^\circ\text{C}$  até atingir  $250^\circ\text{C}$  e foi mantido nesta temperatura por 10 minutos.

No cromatograma (**Figura 3.12**) obtido se observa a presença de duas bandas.

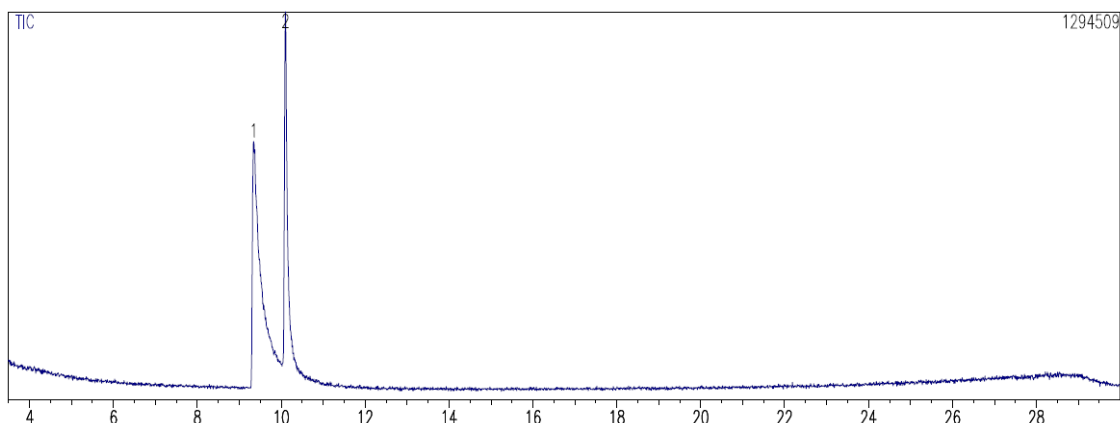


FIGURA 3.12 – Cromatograma gasoso de GAD4.5.2.

Pela análise em CCD foi possível observar duas “manchas” com uma diferença de RF de 0,5 cm, eluída com hexano/acetona 8:1 uma condição favorável a separação por CCD preparativa. Foi utilizada uma placa de vidro com sílica fixada (25x25 cm) e 4 mg do material foi cuidadosamente aplicado em toda a base da placa (a partir de 2 cm altura) com ajuda de um capilar e após, 100 mL de uma mistura hexano/acetona 8:1 foi adicionada em uma cuba de vidro e a placa cuidadosamente colocada no fundo da cuba. O sistema foi tampado e após um período até o solvente eluir por toda a placa, ela foi retirada e observada em luz UV (245 e 365 nm) de onde se observou uma boa separação com aproximadamente 1 cm de RF. Então estas duas manchas foram retiradas da placa (raspando a sílica) e acrescentadas em erlenmeyer de 50 mL contendo DCM. Os erlenmeyer foram sonicados por 10 minutos e após foi filtrado e postos para secar. Após estarem bem secos foram novamente injetados em CG/EM de onde se observou a separação. Os cromatogramas mostram que houve separação (**Figura 3.13 e 3.14**), elas foram nomeadas de GAD4.5.2A (**GA6**) e GAD4.5.2B (**GA7**).

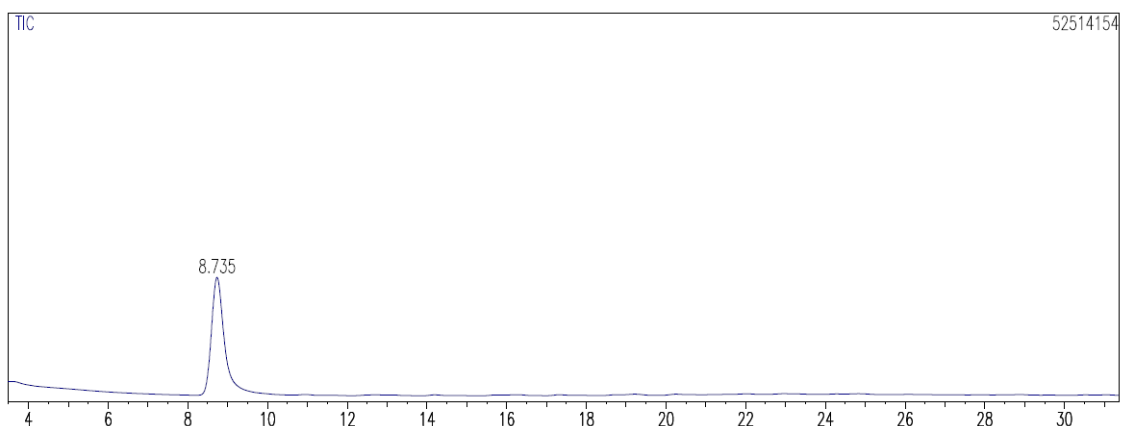


FIGURA 3.13 – Cromatograma gasoso de GAD442A.

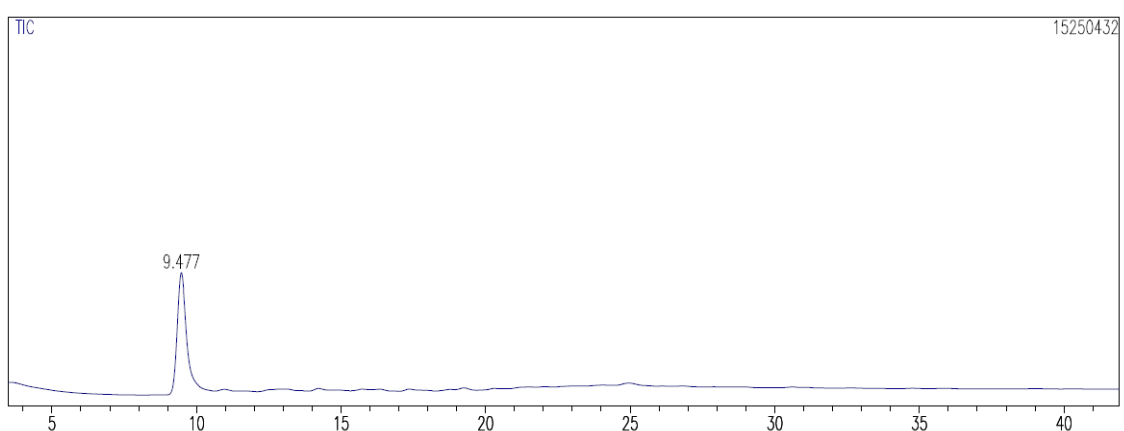


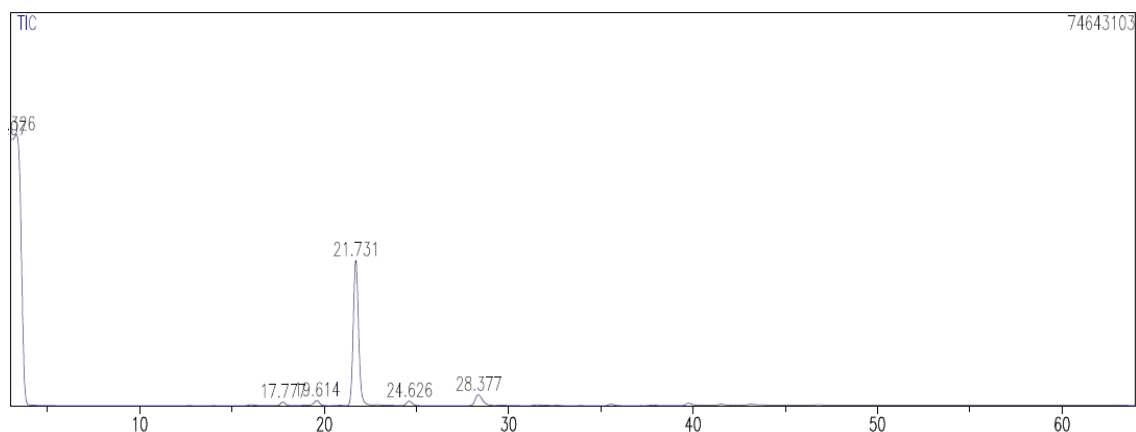
FIGURA 3.14 – Cromatograma gasoso de GAD442B.

### 3.8.1.5. Identificação das substâncias presentes em GA8

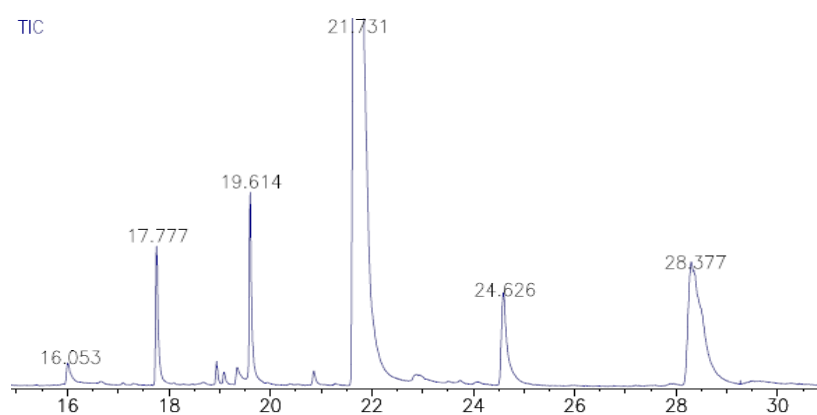
A fração GAD4.6 apresentou-se como um sólido de aspecto oleoso e após experimento de RMN  $^1\text{H}$  mostrou-se como uma mistura de ácidos graxos e a sua identificação foi obtida através de metilação (**Box 2**).

As condições de CG/EM foram: temperatura do injetor  $250\text{ }^\circ\text{C}$ ; temperatura do detector  $280\text{ }^\circ\text{C}$ ; rampa de aquecimento:  $100\text{ }^\circ\text{C}$  por 4 minutos, aumento de  $5\text{ }^\circ\text{C}$  até  $270\text{ }^\circ\text{C}$  e mantido por 60 minutos.

O cromatograma (**Figura 3.15**) mostrou que há uma substância em predominância, apresentando banda em tempo de retenção em 21,731, além de outras quatro minoritárias (representando elas juntas cerca de 6 % da área total)



**A**



**B**

FIGURA 3.15 - Cromatograma gasoso de GAD4.6 metilado( **A**) e sua ampliação (**B**).

**BOX 2 - Procedimento de metilação por diazometano**

**Preparo diazometano**

“A solução de diazometano foi preparada dissolvendo-se 2,14 g de *p*-toluilsulfonilmetilnitrosamida em 30 mL de éter etílico. Esta solução foi resfriada em banho de gelo e transferida para um balão de destilação, juntando-se uma solução de 0,4g de hidróxido de potássio em 10 mL de etanol 96 %. Deixou-se o sistema em repouso por 5 min em banho de gelo e em seguida iniciou-se a destilação em manta de aquecimento (60 °C). Terminando a destilação realizou-se a reação e o excesso de diazometano foi reagido com ácido acético glacial.” (TEREZAN, 2002)

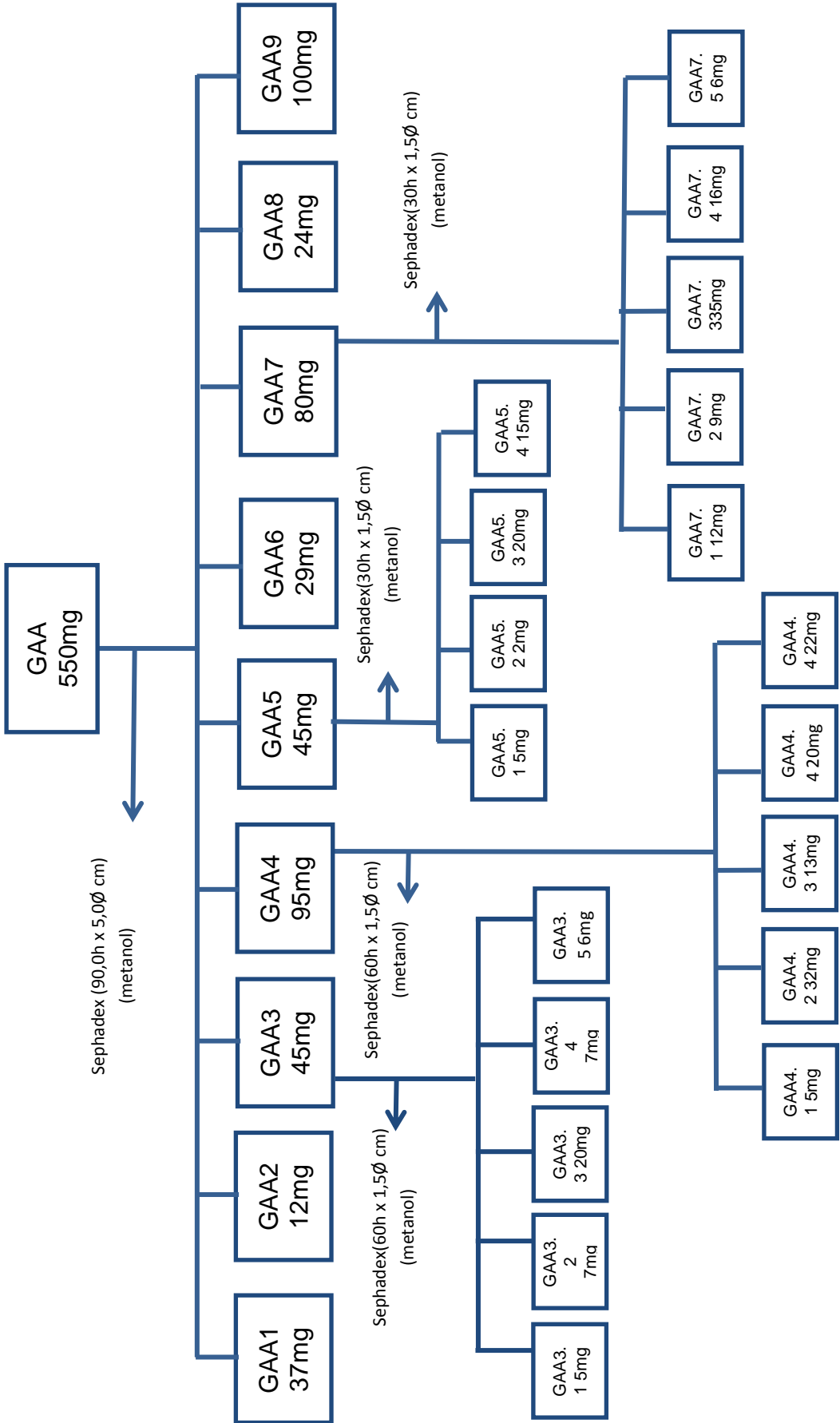
### 3.8.2. ESTUDO FITOQUÍMICO DOS GALHOS DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA (GAA)

A fração acetato de etila (GAA) apresentou-se como um sólido de coloração avermelhado e após análise por RMN  $^1\text{H}$  verificou-se a presença de muitos sinais na região de aromáticos e após análise de CCD (hexano/acetona 1:1) verificou-se que eluía uma grande mancha vermelha e no topo uma mancha amarelo ouro. A mancha avermelhada era taninos condensados e utilizou-se de um artifício para remover esses taninos do extrato. Utilizando cromatografia rápida sob pressão reduzida em uma coluna de vidro com placa sinterizada (40h x 5Ø cm) recheada com sílica comum e tendo no topo a fração GAA homogenizada em sílica. Foi adicionado 4 g de GAA e usando um sistema sob pressão reduzida e a fase móvel foi uma mistura de hexano/acetona (3:1). Ao iniciar o cromatograma, eluía na coluna um líquido amarelo ouro e a parte amarronzada ficou retida no topo, obteve-se 2 litros, que foram concentrados em rotaevaporador. Após estar bem seco, o resíduo foi analisado por RMN  $^1\text{H}$  e verificou-se tratar de uma mistura rica em chalconas diméricas e se manteve a nomenclatura de GAA, sendo obtido 1,5 g de material amarelo.

Devido ao caráter polar dessa classe de substâncias, o seu refracionamento foi realizado em sephadex LH-20, tendo como eluente metanol. Foi utilizado 550 mg de GAA em metanol e adicionado (100 mg por vez, de onde se procedeu cinco vezes) no topo de uma coluna (90 cm x 5Ø cm) e as amostras eram coletadas de acordo com a coloração que iam eluindo e se obteve 9 frações que foram concentradas em rotaevaporadores e renomeadas de GAA1 a GAA9. A fração GAA3, GAA4, GAA5 e GAA6 foram novamente cromatografadas em coluna de sephadex LH 20, tendo como eluente metanol, sendo que o material foi solubilizado em mínima quantidade de metanol e ao final foram obtidas novas subfrações, os códigos e condições de cromatografia estão apresentados no **(Fluxograma 3.13)**.



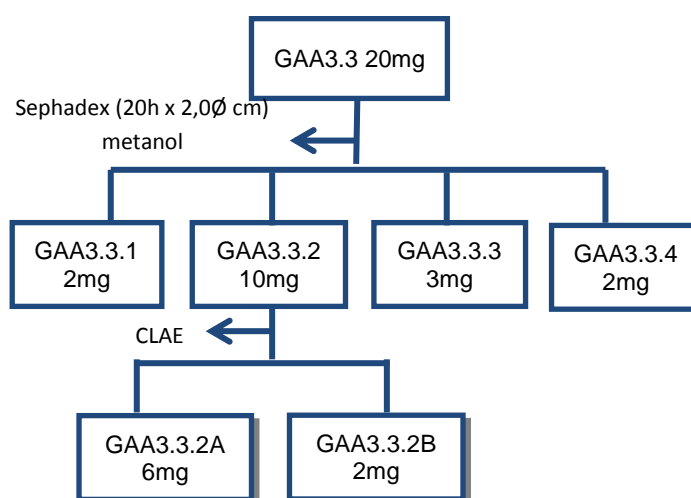
FLUXOGRAMA 3.13 – Fracionamento de GAA



### 3.8.2.1. ISOLAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS GA9 E GA10

A fração GAA3.3 foi novamente cromatografada em sephadex (20h x 2,0Ø cm) tendo metanol como eluente, sendo que 20 mg de GAA3.3 foram solubilizados em mínima quantidade de metanol e adicionado no topo da coluna, ao final foram obtidos 4 novas frações que foram numeradas de GAA3.3.1 a GAA3.3.4 (**Fluxograma 3.14**).

FLUXOGRAMA 3.14 – Fracionamento de GAA3.3



Após estarem secas, as frações obtidas foram analisadas por RMN  $^1\text{H}$  e a fração GAA3.3.2 apresentou-se como uma mistura de duas chalconas e optou-se pela sua separação utilizando CLAE e as condições de injeção foram: coluna semi-preparativa (30h x 0,78Ø cm) fenil-hexil; modo reverso de eluição: ACN 20% e MeOH 40%; detector: UV-Vis 254 nm; fluxo 4 mL/min; seringa 200 µL num looping de 200 µL.

Para a fração GAA3.3.2 foram realizadas 5 injeções. O cromatograma (**Figura 3.16**) mostra o aparecimento de 2 bandas cromatográficas que foram coletadas, a primeira banda (chamada de A) e a segunda (chamada de B). Após, todas as bandas foram agrupadas e renomeadas de GAA3.3.2A e GAA3.3.2B e após estarem secas, elas foram RMN  $^1\text{H}$  onde se constatou que eram substâncias puras (**GA9 e GA10**).

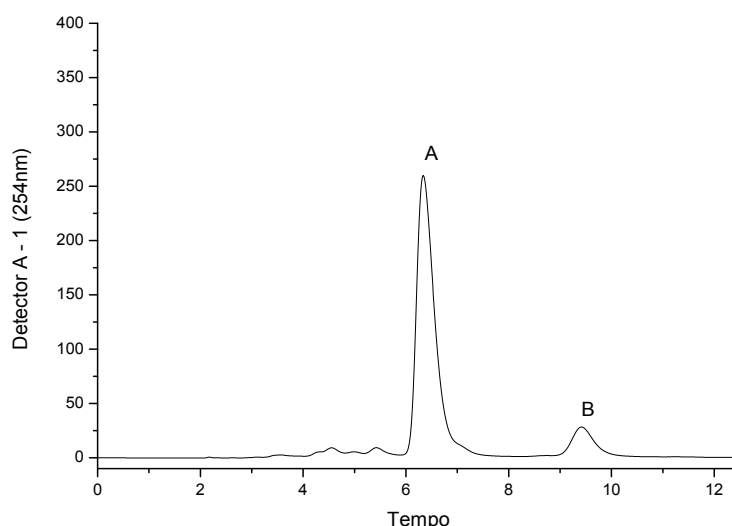
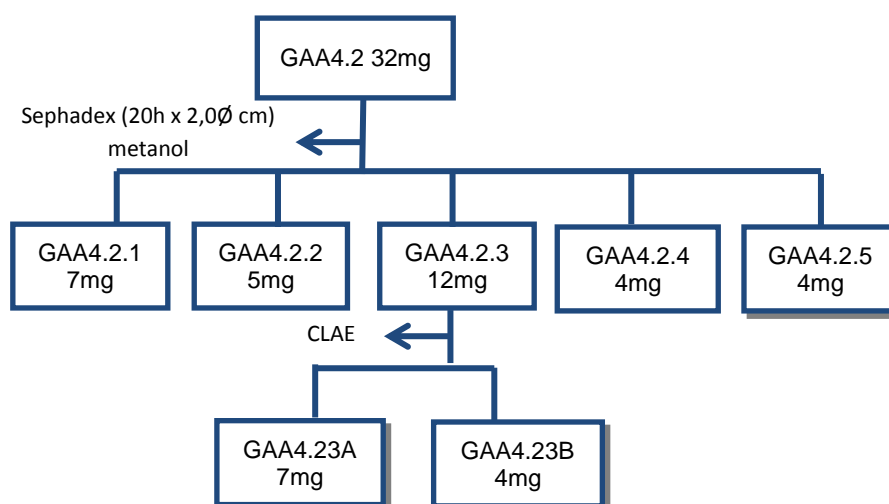


FIGURA 3.16 - Cromatograma de CLAE da fração GAA3.3.2.

### 3.8.2.2. ISOLAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS GA11, GA12 E GA13

A fração GAA4.2 foi novamente cromatografada em sephadex LH-20 (20h x 2,0Ø cm) tendo metanol como eluente, sendo que 32 mg de GAA4.2 foram solubilizados em mínima quantidade de metanol e adicionado no topo da coluna e ao final foram obtidos 5 novas frações que foram numeradas de GAA3.4.1 a GAA3.4.5 (**Fluxograma 3.15**).

FLUXOGRAMA 3.15 – Fracionamento de GAA4.2



Após estarem secas, as frações obtidas analisadas por RMN <sup>1</sup>H e a fração GAA4.2.3 apresentou-se como uma mistura de duas chalconas e optou-se pela sua separação utilizando CLAE e inicialmente se utilizou as condições de injeção: coluna semi-preparativa (30h x 0,78Ø cm) fenil-hexil; modo reverso de

eluição: ACN 20 % e MeOH 40 %; Detector: UV-Vis 254 nm; fluxo: 4 mL/min; seringa 200  $\mu$ L num looping de 200  $\mu$ L. Não se obteve separação nestas condições, pois era detectado apenas uma banda cromatográfica e experimento de RMN  $^1\text{H}$  de seu constituinte mostrava uma mistura de duas substâncias. Decidiu-se então realizar condições com várias concentrações de acetonitrila para obter a melhor separação desses compostos.

Iniciou-se com o modo analítico de eluição e posterior o modo preparativo. A (Figura 3.17) mostra dois cromatogramas (sobrepostos) da fração GAA3.2.3 numa corrida analítica no modo reverso de eluição onde são mostrados a utilização de dois fluxos distintos, um de 1 mL/min e outro de 0,5 mL/min e as condições foram: coluna analítica (250h x 0,75 mm) fenil-hexil; modo reverso de eluição: ACN 50%; detector: UV-Vis 254 nm, seringa 200  $\mu$ L num looping de 200  $\mu$ L. Nestas condições observa-se que a um fluxo de 0,5 mL/min há uma melhor separação entre duas bandas.

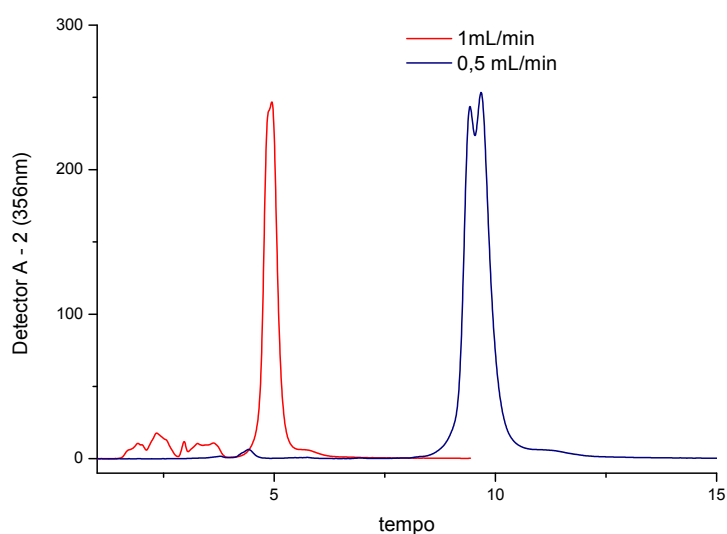


FIGURA 3.17 – Cromatograma de CLAE sobrepostos da fração GAA4.2.3.

Portanto, optou-se por o fluxo de 0,5 mL/min e manter 50 % de acetonitrila e ir variando a quantidade de água em razão de 10% em volume. A (Figura 3.18) mostra os cromatograma de cada corrida cromatográfica e optou-se por utilizar onde a proporção de  $\text{H}_2\text{O}$ /Acetonitrila é de 1,31:0,68.

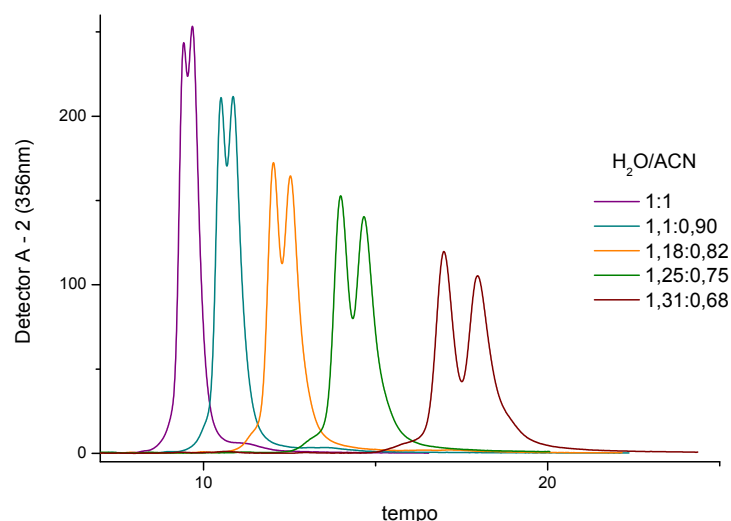


FIGURA 3.18 - Cromatogramas utilizando várias misturas de solventes da fração GAA4.2.3.

O próximo passo foi fazer a interpolação do modo analítico para o modo preparativo, e as condições de separação foram: coluna semi-preparativa (30h x 0,78Ø cm) fenil-hexil; modo reverso de eluição: ACN/H<sub>2</sub>O (0,68:1,31); detector: UV-Vis 254 e 365 nm; fluxo: 4 mL/min; sistema reciclante; seringa 200 µL num looping de 200 µL. Para a fração GAA4.2.3 foram realizadas 8 injeções. O cromatograma (**Figura 3.19**) mostra o aparecimento de 2 bandas cromatográficas que recicladas e no terceiro reciclo foram coletadas, a primeira banda (chamada de A) e a segunda (chamada de B). Após, todas as bandas foram agrupadas e renomeadas de GAA4.2.3A e GAA4.2.3B e após estarem secas foi realizado experimento de RMN <sup>1</sup>H onde se constatou que eram substâncias puras (**GA11** e **GA12**).

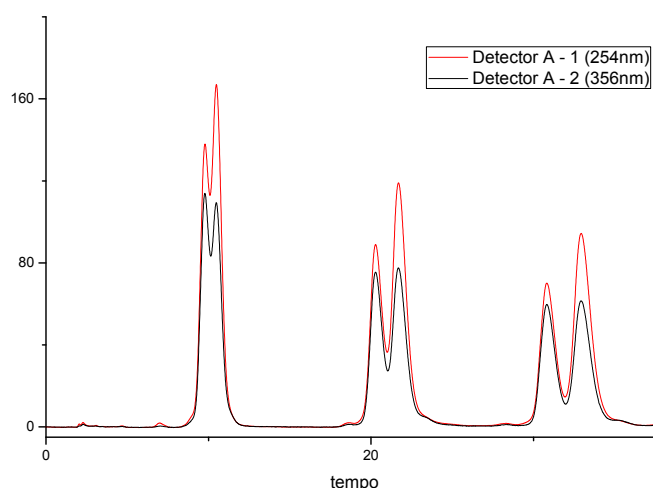


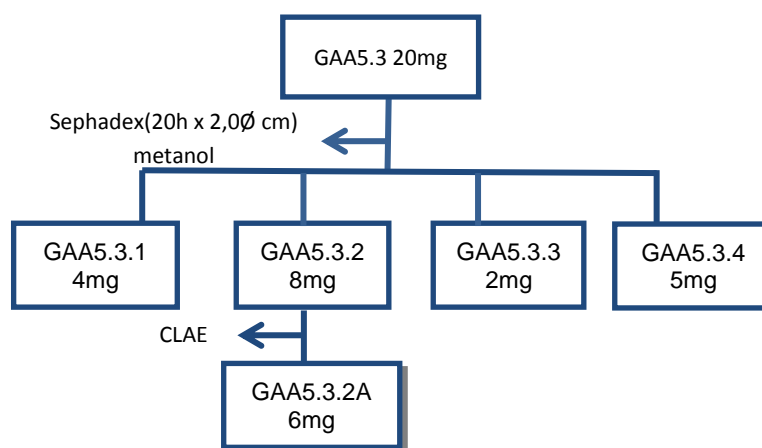
FIGURA 3.19 - Cromatograma HPLC preparativo da substância GAA3.4.3.

A fração GAA4.2.5 apresentou-se como um sólido de coloração amarelo pálido e após estar seca foi analisada por RMN <sup>1</sup>H e verificou-se tratar de uma substância pura (**GA13**).

### 3.8.2.3. ISOLAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS GA14 E GA15

A fração GAA5.3 foi novamente cromatografada em sephadex (20h x 2,0Ø cm) tendo metanol como eluente e 20mg de GAA5.3 foram solubilizados em mínima quantidade de metanol e adicionado no topo da coluna. Ao final foram obtidos 4 novas frações que foram numeradas de GAA5.3.1 a GAA5.3.4 (**Fluxograma 3.16**).

FLUXOGRAMA 3.16 – Fracionamento de GAA5.3



Após estarem secas, as frações obtidas foram analisadas por RMN <sup>1</sup>H e a fração GAA5.3.2 apresentou-se como uma chalcona e optou-se pela sua purificação utilizando CLAE e as condições de injeção foram: coluna semi-preparativa (30h x 0,78Ø cm) fenil-hexil; modo reverso de eluição: ACN/H<sub>2</sub>O (0,68:1,31); detector: UV-Vis 254 e 365 nm; fluxo: 4mL/min; sistema reciclante; seringa 200 µL num looping de 200 µL.

Para a fração GAA5.3.2 foram realizadas 4 injeções. O cromatograma (**Figura 3.20**) mostra o aparecimento de uma banda cromatográfica que foi reciclada, a banda (chamada de A) que foi coletada e renomeada de GAA5.3.2A e após estar seca foi analisada por RMN <sup>1</sup>H, onde se constatou que era uma substância pura (**GA14**).

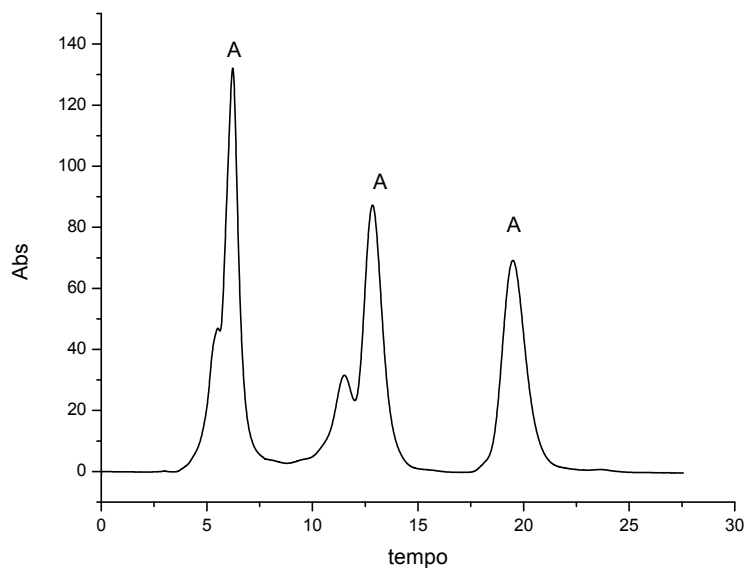
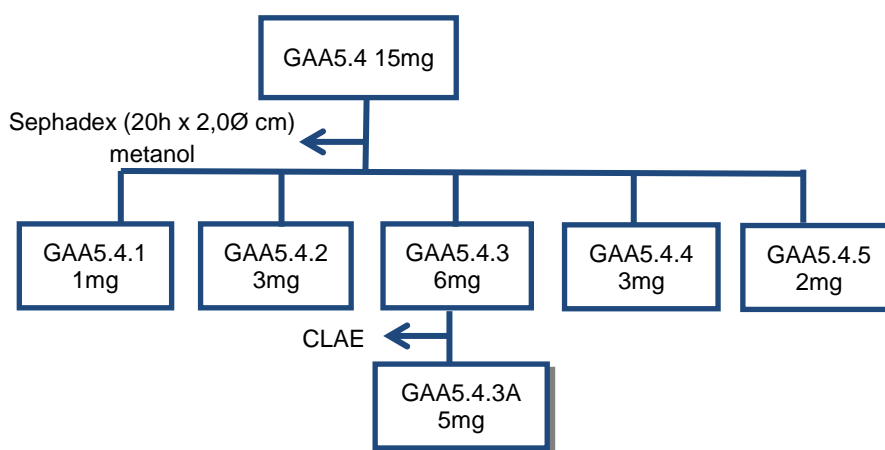


FIGURA 3.20 – Cromatograma de CLAE da fração GAA5.3.2A.

A fração GAA5.4 foi novamente cromatografada em sephadex LH-20 (20h x 2,0Ø cm) tendo metanol como eluente e 15 mg de GAA5.4 foram solubilizados em mínima quantidade de metanol e adicionado no topo da coluna e ao final foram obtidos 6 novas frações que foram numeradas de GAA5.4.1 a GAA5.4.6 (**Fluxograma 3.17**).

FLUXOGRAMA 3.17 – Fracionamento de GAA5.4



Após estarem secas, as frações obtidas foram analisadas por RMN  $^1\text{H}$  e a fração GAA5.4.3 apresentou-se como uma chalcona e optou-se pela sua purificação utilizando CLAE e as condições de injeção foram as mesmas que a anterior. Para a fração GAA5.4.3 foram realizadas 5 injeções. O cromatograma (**Figura 3.21**) mostra o aparecimento de uma banda cromatográfica majoritária que foi coletada após o segundo reciclo e a banda (chamada de A) foi coletada e

renomeadas de GAA5.4.3A e após estar seca foi analisada por RMN  $^1\text{H}$ , onde se constatou que era uma substância pura (**GA15**).

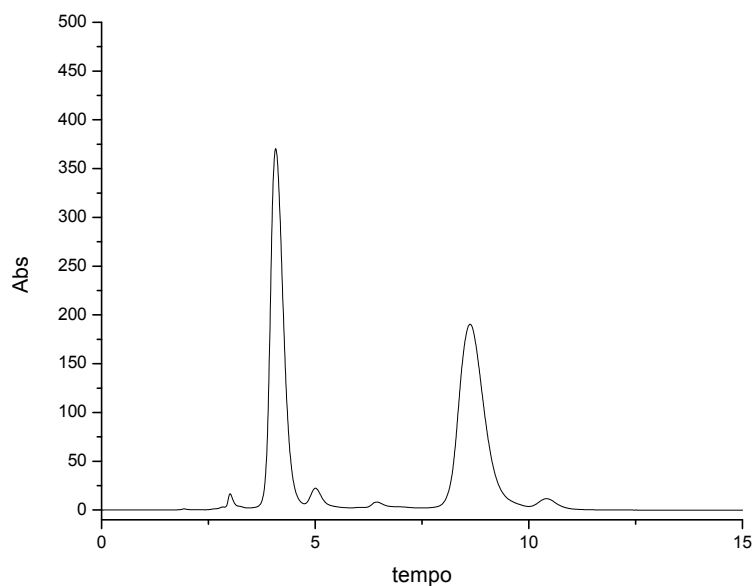
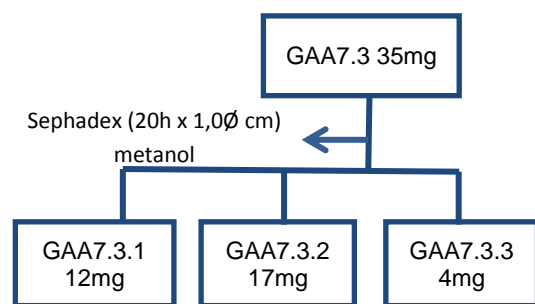


FIGURA 3.21 – Cromatograma de CLAE da fração GAA5.4.3.

#### 3.8.2.4 - ISOLAMENTO DA SUBSTÂNCIA GA16

A fração GAA7.3 foi novamente cromatografada em sephadex LH-20 (20h x 1,0Ø cm) tendo metanol como eluente, sendo que 35 mg de GAA7.3 foram solubilizados em mínima quantidade de metanol e adicionado no topo da coluna, ao final foram obtidos 3 novas frações que foram numeradas de GAA7.3.1 a GAA7.3.3 (**Fluxograma 3.18**). A fração GAA7.3.3 apresentou-se como um sólido amarelo e após estar seca foi analisada por RMN  $^1\text{H}$  e verificou-se que a substância era uma substância pura (**GA16**).

FLUXOGRAMA 3.18 – Fracionamento de GAA7.3





## 3.9. COMPLEXOS METÁLICOS

### 3.9.1. SÍNTESES

Para a realização desta parte do trabalho foram utilizados quatro flavonóides comerciais adquiridos da Fluka e Sigma, grau HPLC >98%, hesperidina (HESP) [7-O-rutinosídeo (Ramnosil-( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 6)-glicosehesperitina], sua aglicona a hesperitina (HPT), naringina (NAR) [7-O-rutinosídeo (Ramnosil-( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 2)-glicoseningenina] e a sua aglicona naringenina (NNINA). Foram realizados 4 tipos de complexos metálicos com os flavonóides, do tipo  $[\text{Cu}(\text{Flav})_2]$ ;  $[\text{Cu}(\text{X})(\text{Flav})]$  onde X é BIPY ou FEN e dois derivados imínicos com NAR e com NNINA do tipo tetradentado a partir de formação de bases de Schiff.

Foram sintetizados também derivados de 2 hidroxi-1,4- naftoquinona, conhecida como lausona. Estes derivados foram obtidos a partir de reação multicomponente conhecida como reação de Mannich, onde foram colocados para reagir uma amina, um aldeído e a lausona (**Figura 3.22**). Após estes derivados foram complexados com metal Cobre.

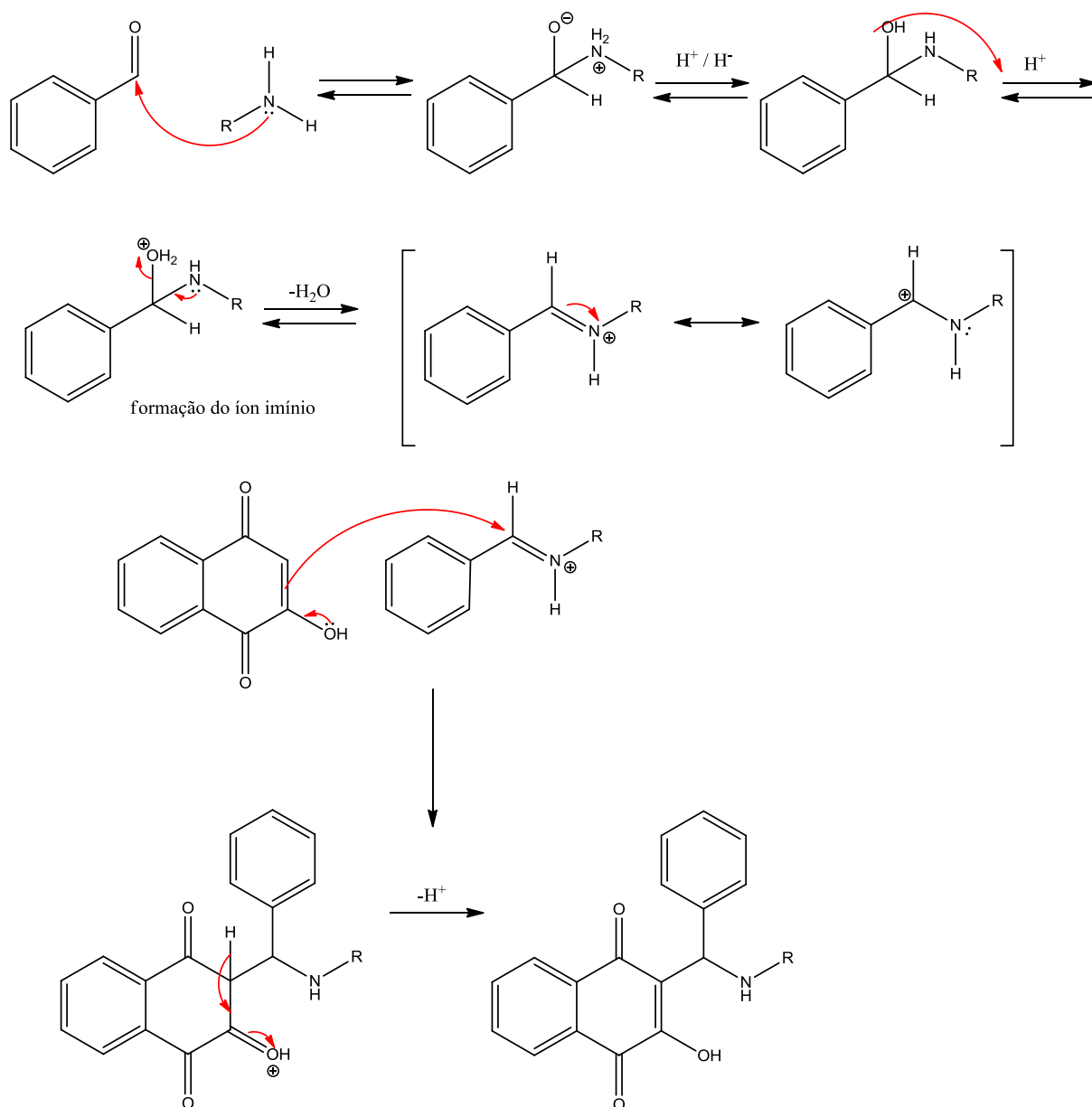


FIGURA 3.22 - Rota sintética para reação de Mannich.

### 3.9.1.1. COMPLEXOS DO TIPO $[Cu(FLAV)_2]$

A síntese foi baseada em SOUZA *et al.*, 2004 com modificações: em um erlenmeyer de 50 mL adicionou-se 0,175 mmol de flavonóide solubilizados em 10 mL de etanol grau HPLC e em seguida foi adicionado gotas de trietilamina (TEA), o sistema foi agitado com agitador magnético até completa solubilização, após foi adicionado gota a gota uma solução de aproximadamente 0,0875 mmol de acetato de cobre (II) solubilizado em 1,5 mL de água destilada. O sistema foi mantido em agitação por 3 horas com ausência de luz. Após este período houve a formação de um precipitado verde que foi filtrado sob pressão reduzida e lavado com acetona gelada e deixado para secar sob pressão reduzida.

### 3.9.1.2. COMPLEXOS DO TIPO [Cu(X)(FLAV)]

Na formação do complexo do tipo [Cu(X)(FLAV)] (onde X representa 2,2'-bipiridina ou 1,10'-fenantrolina), em um erlenmeyer de 50 mL foi adicionado 0,175 mmol de flavonóide e 0,175 mmol de X solubilizados em 10 mL de etanol grau HPLC e em seguida foi adicionado gotas de TEA, o sistema foi agitado com agitador magnético até completa solubilização, após foi adicionado gota a gota uma solução de 0,175 mmol de acetato de cobre solubilizado em 1,5 mL de água destilada. O sistema foi mantido em agitação por 6 horas sob escuridão. Após este período houve a formação de um precipitado verde intenso que foi filtrado sob pressão reduzida e lavado com acetona gelada e deixado para secar..

### 3.9.1.3. LIGANTES DERIVADOS IMÍNICOS (BASE DE SCHIFF)

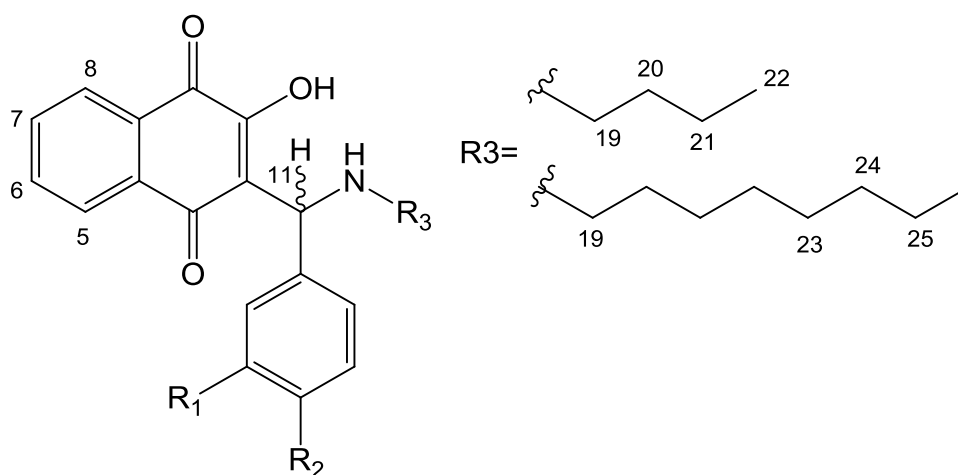
Em um balão de fundo redondo de duas bocas de 100 mL foi adicionado 22 mmol de flavonóide e 50 mL de etanol grau HPLC. Montou-se um sistema de refluxo que foi deixado em agitação magnética e em fluxo de nitrogênio por 30 minutos, em seguida foi adicionado gota a gota 10 mmol de etilenodiamina (EDA) sem parar a agitação e após 10 minutos foi adicionada quantidade catalítica de ácido acético. O sistema foi aquecido com manta e mantido em refluxo por 5 horas. Após o sistema foi resfriado e adicionado 20 mL de acetona gelada onde se observou a formação de um precipitado amarelo, que foi separado por filtração sob pressão reduzida.

### 3.9.1.4. COMPLEXOS DO TIPO [Cu(1,2-DI(4-IMINOFLAV)ETANO)]

Em um erlenmeyer de 30 mL foi adicionado 0,084 mmol do ligante e 17 mL de etanol grau HPLC, o sistema foi mantido sob agitação magnética até completa solubilização. Após, sem cessar a agitação, foi adicionado gotas de TEA e em seguida 0,084 mmol de cloreto de cobre (CuCl<sub>2</sub>). O sistema foi mantido sob agitação à temperatura ambiente por 8 horas, após o precipitado marrom formado foi separado por filtração sob pressão e lavado várias vezes com acetona gelada.

### 3.9.1.5. LIGANTES A PARTIR DE REAÇÃO DE MANNICH'S COM LAUSONA

As sínteses foram baseadas em Dalgies, 1949 e Neves, *et al.* 2009. Em um balão de fundo redondo de 20 mL foi acrescentado 1mmol de 2-hidroxi-naftoquinona (lausona) e 10 mL de etanol. O sistema foi agitado a temperatura ambiente sob atmosfera de nitrogênio até completa solubilização. Em seguida foi adicionado 1,1 mmol da amina sem cessar a agitação. Nesta reação forma-se imediatamente uma solução vermelha intenso, após 20 minutos foi adicionado 1,1 mmol de benzaldeído, o sistema foi protegido da luz e agitado por 12 horas até a formação de um precipitado laranja escuro. Após, o precipitado foi filtrado e lavado com etanol gelado e éter etílico. A **Figura 3.23** apresenta as substâncias sintetizadas juntamente com as aminas e benzaldeídos utilizados.



Onde:

- (L1)**  $R_1 = H$ ;  $R_2 = F$ ;  $R_3 = \text{Butilamina}$
- (L2)**  $R_1 = H$ ;  $R_2 = F$ ;  $R_3 = \text{Octilamina}$
- (L3)**  $R_1 = R_2 = H$ ;  $R_3 = \text{Butilamina}$
- (L4)**  $R_1 = R_2 = H$ ;  $R_3 = \text{Octilamina}$
- (L5)**  $R_1/R_2 = \text{metilenodióxi}$ ;  $R_3 = \text{Butilamina}$
- (L6)**  $R_1/R_2 = \text{metilenodióxi}$ ;  $R_3 = \text{Octilamina}$
- (L7)**  $R_1 = H$ ,  $R_2 = Cl$ ,  $R_3 = \text{Butilamina}$
- (L8)**  $R_1 = H$ ,  $R_2 = Cl$ ,  $R_3 = \text{Butilamina}$

FIGURA 3.23 – Substâncias sintetizadas a partir de benzaldeídos e aminas primárias.

### 3.9.1.6. COMPLEXOS METÁLICOS DE COBRE A PARTIR DOS DERIVADOS DA LAUSONA

A síntese dos complexos metálicos foi igual para todas as substâncias (L1-L8). Em um balão de fundo redondo foi adicionado 2 mmol de L e 10 mL de etanol, o sistema foi agitado a temperatura ambiente e sob atmosfera de nitrogênio. Em seguida, sem cessar a agitação, foi adicionado 10 gotas de trietilamina, após 10 minutos foi adicionado 1 mmol de cloreto de cobre ( $\text{CuCl}_2$ ) solubilizado em 5 mL de etanol e o sistema foi agitado por 8 horas. Após, o precipitado formado foi filtrado e lavado com etanol gelado.

## 3.10. METODOLOGIA DOS ENSAIOS

### 3.10.1. TESTE DE TOXICIDADE POR INGESTÃO COM *Atta sexdens rubropilosa*

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram coletadas operárias de *A. sexdens rubropilosa* com massa corpórea variando de 15 a 25 mg e largura da cápsula cefálica entre 2,0 e 2,8 mm. As formigas foram obtidas de um ninho adulto, mantido em sala climatizada com temperatura de  $24 \pm 1$  °C e U.R. acima de 70 % no Laboratório do Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS) do Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro.

Os formigueiros mantidos em laboratório são tratados, basicamente, com folhas de eucalipto e aveia em flocos e, ocasionalmente, bagaço de laranja, flores de *Hibiscus* e quireira de milho.

Para manutenção das formigas isoladas do formigueiro, conseqüentemente na ausência do fungo simbiote, foram preparadas dietas sólidas, cada uma contendo 5 % de glicose, 1 % de peptona bacteriológica, 0,1 % de extrato de levedura e 1,5 % de ágar bacteriológico, dissolvidos em 100 mL de água destilada (BUENO *et al.*, 1997). Após a mistura das substâncias, as dietas foram levadas ao forno microondas para melhor solubilização e homogeneização. Depois, foram autoclavadas a 120 °C e 1 atm por 15 minutos. Em uma sala esterilizada por raios UV, as dietas, ainda líquidas, foram vertidas em placas de Petri de 10 cm de diâmetro previamente esterilizadas na autoclave e, após o resfriamento das dietas, as placas foram envolvidas com filme PVC e mantidas na geladeira para melhor conservação durante o período dos bioensaios.

Com o auxílio de uma pinça entomológica realizou-se a coleta das formigas do ninho, sendo estas depositadas em uma bandeja de plástico com as bordas revestidas com Teflon-30 para evitar fugas. No interior da bandeja foi colocado um chumaço de algodão embebido em água para manter a umidade ideal às formigas.

Para cada uma das três concentrações utilizadas (0,2; 1,0 e 2,0 mg/mL) de cada um do material (extratos, frações, substâncias puras ou compostos sintetizados) foram separadas 5 placas de Petri com 10 cm de diâmetro, previamente esterilizadas e forradas com papel filtro, contendo 10 formigas em cada uma delas. Essas placas foram mantidas em estufa para B.O.D. com temperatura média de  $24 \pm 1$  °C e umidade relativa acima de 70 %. A cada 24 horas as dietas foram renovadas e, sempre que necessário, os papéis filtro foram trocados a fim de se evitar o desenvolvimento de microorganismos contaminantes, bem como manter o ambiente limpo para as formigas. Diariamente foram efetuadas as retiradas e anotações das formigas mortas. As dietas foram colocadas em pedaços de papel alumínio na quantidade aproximada de 0,4 a 0,5 g/placa.

Foi estipulado um período máximo de 25 dias para a realização dos experimentos de toxicidade levando em consideração o período normal de sobrevivência das formigas mantidas com uma dieta artificial fora do formigueiro (BUENO *et al.*, 1997).

Os extratos e substâncias foram incorporados na dieta utilizando o método dry-mix, que consiste em acrescentar o princípio ativo à glicose e os demais ingredientes secos da dieta e, posteriormente, à água destilada, não utilizando solvente. O extrato foi incorporado nas concentrações 0,1 mg/mL (0,1 %), 1,0 mg/mL (1 %) e 2,0 mg/mL (2 %).

No bioensaio foi utilizado um controle que constituiu no oferecimento de apenas dieta artificial com o intuito de verificar a interferência do manuseio na sobrevivência das formigas. Os dados foram avaliados graficamente e também submetidos à análise comparativa das curvas de sobrevivência dos vários tratamentos. Os dados do bioensaio por ingestão foram avaliados através da elaboração das curvas de sobrevivência, a partir da porcentagem de formigas vivas por dia, no conjunto das 5 placas. A comparação entre as curvas de sobrevivência das operárias do grupo controle com aquelas dos tratamentos foi realizada com o

emprego do Long-ranktest (HARVEY MOTULSKY, 1995), utilizando-se o software Graph-PadPrism (versão 3.0).

### 3.10.2. ENSAIOS ENZIMÁTICOS

As amostras foram submetidas a ensaios para determinação de atividade inibitória para as enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE). Os ensaios realizados foram: 1º Ensaio em Cromatografia de Camada Delgada (CCD); Ensaio de falso positivo Ellman (ELLMAN, G. L. *et al.*, 1961) e 2º Ensaio com os biorreatores (CARDOSO, C. L. *et al.*, 2003; CARDOSO, C. L. *et al.*, 2008; . SILVA, J.I. *et al.*, 2012).

Os ensaios de atividade foram feitos de acordo com o método modificado de Ellmann (ELLMAN, G. L. *et al.*, 1961). Tal método baseia-se na medida da velocidade de produção da tiocolina formada através da hidrólise do análogo do substrato da AChE, a acetiltiocolina. A tiocolina formada reage com o chamado Reagente de Ellman (ácido 5,5-ditiobis[2-nitrobenzóico]) formando uma mistura de dissulfetos e um ânion amarelo com intensa absorção em 412 nm, (Figura 3.24).

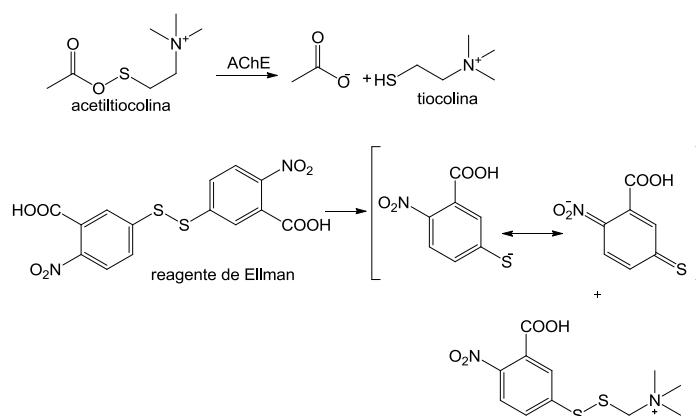


FIGURA 3.24 - Catálise da acetiltiocolina e reação de Ellman (CARDOSO, C. L. *et al.*, 2003).

Relatos na literatura indicam que compostos como aldeídos e aminas podem provocar resultados falso-positivo no ensaio de Ellman. Estes compostos impedem a reação entre a tiocolina (produto da reação enzimática) e o reagente de Ellman, o que impediria a formação do ânion amarelo e resultaria na formação do halo branco. No entanto, nesse caso não há inibição da atividade enzimática, e sim

da reação química entre o produto da reação e o corante. Assim, a fim de distinguir entre os compostos que atuam realmente na inibição da atividade enzimática e aqueles que atuam na reação química entre a tiocolina e o reagente de Ellman, as amostras foram submetidas ao teste de falso positivo.

Os biorreatores denominados ICERs de 30cm x 0,01mm em capilar de sílica fundida foram preparados pela imobilização de 3 colinesterase diferentes resultando em:

- ICER-AChE-ee – com a enzima Acetilcolinesterase (*Electrophorus electricus*) imobilizada;
- ICER-AChE-ee com a enzima Acetilcolinesterase de eritrócitos humanos;
- ICER-BChE-hu com a enzima butirilcolinesterase de eritrócitos humanos.

Os ICERs foram utilizados como colunas acopladas ao HPLC.

O Monitoramento do produto da reação enzimática pela observação da banda cromatográfica correspondente á formação do produto da reação enzimática foram realizados nas seguintes condições:

- Fase móvel: Tampão Tris-HCl 0,1M pH 8,0 e DTNB (ácido 5,5-ditiobis[2-nitrobenzóico] 0,1mM;
- Amostra injetada: 10 $\mu$ L da solução contendo: 1mM de Acetiltiocolina (substrato análogo da tiocolina em concentração de saturação) para as AChE e 50mM de butirilticolina quando ICER-BChE foi utilizado e 200  $\mu$ M do inibidor a ser testado;
- Vazão: 0,05 mL/min;
- Detector DAD-UV: 412nm;



Cromatograma representando (**Figura 3.25**) mostra a diminuição da banda cromatográfica referente ao produto na presença do inibidor padrão Tacrina.

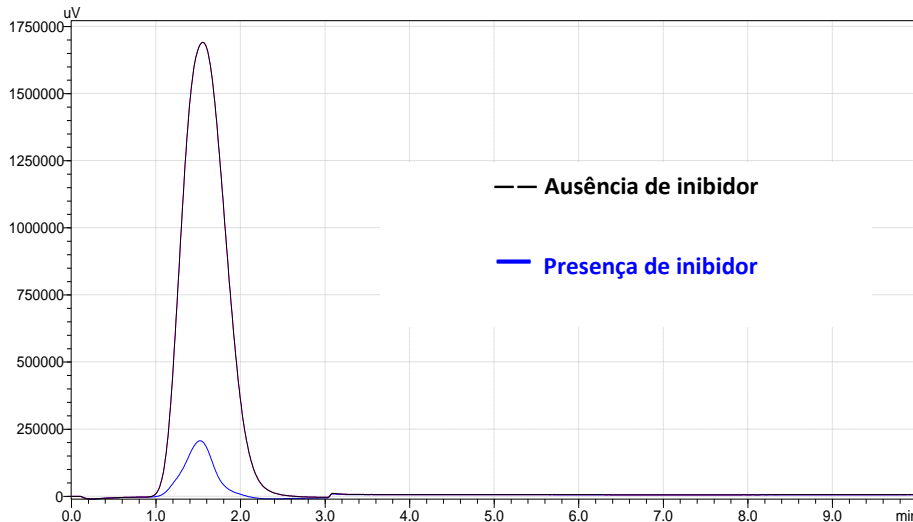


FIGURA 3.25 - O percentual de inibição foi obtido comparando-se a atividade da enzima na presença do inibidor ( $V_i$ ) com a atividade inicial da enzima ( $V_0$ ), de acordo com a equação: ( $\% \text{ de inibição} = 1 - [V_i - V_0] \times 100$ ).

As amostras foram preparadas na concentração de 1 mM e solubilizadas em 50% água 50% metanol. Para este ensaio foi preparada 1 placa cromatográfica de sílica gel 60 com a realização de eluição em uma fase  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$  65:30:5 (v/v). Volumes de 2,5  $\mu\text{L}$  de cada amostra foram aplicados nas placas.

As seguintes soluções foram preparadas e utilizadas no ensaio:

- A) 80 mL água deionizada + 0,1825g tris  $\rightarrow$  Tampão A (T.A.), pH= 8,0 (ajustar com HCl 10% v/v);
- B) 0,0099g reagente de Ellman + 25 mL de A (TA)
- C) 0,00723g ACTHl (iodeto de acetiltiocolina) + 25 mL A ( TA);
- D) 0,704 mg de AChE + 300  $\mu\text{L}$  água MiliQ;
- E) 0,025 g albumina sérica bovina (BSA) + 25 mL de TA;
- F) 15  $\mu\text{L}$  da solução D e misturar com 5 mL de solução E.

Após a eluição e secagem das placas, as soluções (C) e (F) foram borrifadas sobre as placas de sílica e incubados por 15 minutos à 37°C. Após, borrifou-se a solução de (B). O padrão utilizado foi a Galantamina e aplicado no final da cada placa.

Três biorreatores já preparados (CARDOSO, C. L. *et al.*, 2003; CARDOSO, C. L. *et al.*, 2008; . SILVA, J.I. *et al.*, 2012), ICER-AChE-e.e., ICER-AChE-*hu* e ICER-BChE-*hu* foram utilizados para este ensaio.

A partir da diluição das soluções estoque das amostras (1 mM) foram preparadas soluções de 200 µM para cada composto: 60 µL da solução de tampão trabalho, 20 µL da solução do inibidor e 20 µL da solução de ACTHl para o ensaio com o ICER-AChE e BTChI (200 mM) para o ensaio com ICER-BChE. O volume final em ambos os ensaios foi de 100 µL. As soluções foram preparadas em duplicatas e alíquotas de 10 µL foram injetadas em cada ICER independentemente. Os percentuais de inibição em ambos os casos acima foram obtidos comparando-se a atividade da enzima na presença do inibidor ( $A_i$ ) com a atividade inicial da enzima ( $A_0$ ), de acordo com a equação abaixo:

$$\% \text{ de inibição} = \left[ 1 - \frac{A_i}{A_0} \right] \times 100$$

### 3.10.3. ENSAIOS BIOLÓGICOS COM O FUNGO SIMBIONTE *Leucoagaricus gongylophorus*

Os ensaios com o fungo simbionte *L. gongylophorus* foram realizados no Laboratório de bioensaios do grupo de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

O fungo foi isolado de um ninho de formigas cortadeiras *A. sexdens rubropilosa* e mantido em condições de laboratório por transferências mensais no meio de cultura constituído por extrato de malte (20 g/L), peptona (5 g/L) extrato de levedura (2 g/L) e ágar (20 g/L). Os extratos e substâncias submetidos ao ensaio com o fungo simbionte foram incorporados ao meio de cultura e dissolvidos em água destilada, obtendo concentração final igual a 1000 g/mL. Em seguida, em cada tubo de ensaio foram adicionados 10 mL de meio de cultura/extrato. Os tubos de ensaio com o meio de cultura/extrato e placas de Petri (80 X 15 mm) foram autoclavados nas condições 120°C, 1,0 atm por 20 minutos. Após a esterilização do material, os

meios de cultura foram vertidos nas placas de Petri dentro da capela com fluxo laminar, previamente esterilizadas durante 30 minutos por luz ultravioleta. Após a solidificação do meio de cultura, cada placa de Petri foi inoculada na posição central com um disco de ágar de 8 mm de diâmetro previamente colonizado pelo fungo simbiote *L. gongylophorus*.

Cada substância testada foi preparado em quintuplicata ou quadruplicata, havendo um número idêntico de réplicas para o controle geral (meio de cultura e fungo simbiote). Após o tempo de incubação de 30 dias, a 25 °C foram realizadas as medidas do diâmetro médio final (cm<sup>2</sup>) para cada placa, em cada extrato.

A análise estatística foi realizada através da análise de variância (ANOVA) e teste comparativo de Tukey, ao nível 5% de probabilidade, para verificar se há diferença significativa entre as médias. O software utilizado foi o Graph-Pad InStat 3.10.

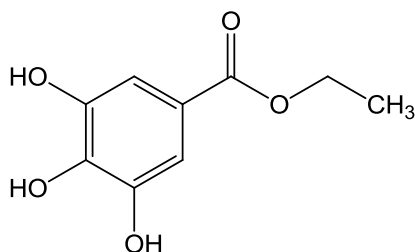
## **4- RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 4. RESULTADO E DISCUSSÃO

### 4.1. ESTUDO FITOQUÍMICO

#### 4.1.1. SUBSTÂNCIAS ISOLADAS

O estudo fitoquímico da planta *M. urundeuva* possibilitou o isolamento e identificação dos metabólitos secundários (descritos a seguir) com a indicação de suas estruturas, nomes, código de isolamento, procedência, massa obtida, página de isolamento e página da discussão de sua identificação ou determinação estrutural.



3,4,5-trihidroxibenzoato de etila  
(Galato de etila)

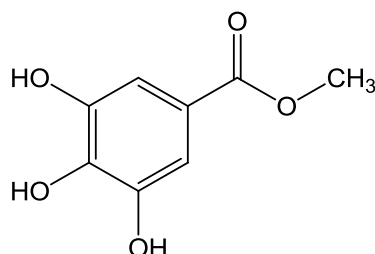
**FA1**

Procedência: Folhas (Fração acetato de etila)

Massa: 25 mg

Isolamento: p.24

Identificação: p. 78



3,4,5-trihidroxibenzoato de metila  
(Galato de metila)

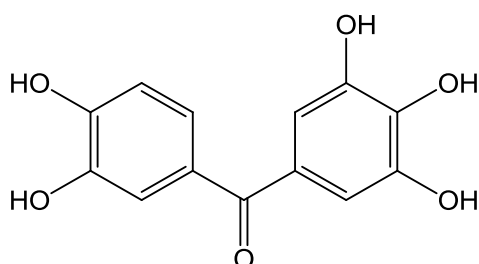
**FA2**

Procedência: Folhas (Fração acetato de etila)

Massa: 11 mg

Isolamento: p.24

Identificação: p.78



2',3,4,4',5 pentahidroxi-  
benzofenona

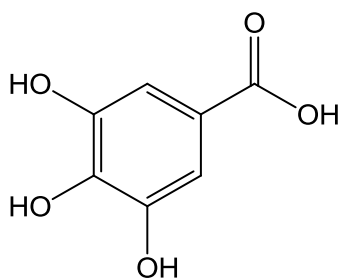
**FA3**

Procedência: Folhas (Fração acetato de etila)

Massa: 12 mg

Isolamento: p.24

Identificação: p.79



Ácido 3,4,5-trihidroxibenzóico  
(Ácido gálico)

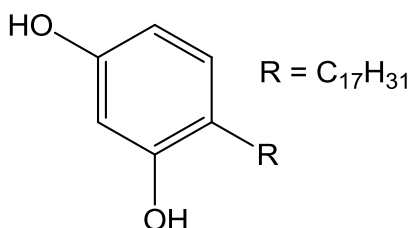
**FA4**

Procedência: Folhas (Fração acetato de etila)

Massa: 12 mg

isolamento: p.27

Identificação: p.80



heptadeca-9,11-dienilcardol  
(Cardol 1)

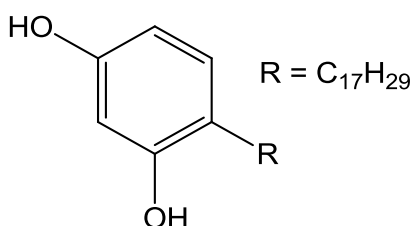
**FA5**

Procedência: Folhas (Fração acetato de etila)

Massa: 30 mg (junto FA6)

isolamento: p.27

Identificação: p.81



heptadeca-6,9,11-trienilcardol  
(Cardol 2)

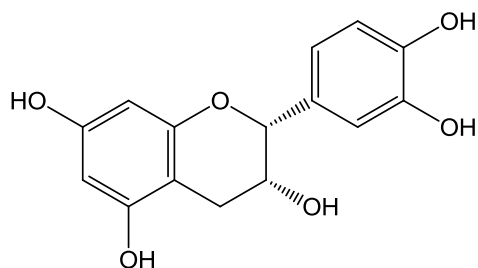
**FA6**

Procedência: Folhas (Fração acetato de etila)

Massa: 30 mg (junto FA5)

isolamento: p.27

Identificação: p.81



(3S) 3',4',5,7-pentahidroxiflavan-3-ol

(Epicatequina)

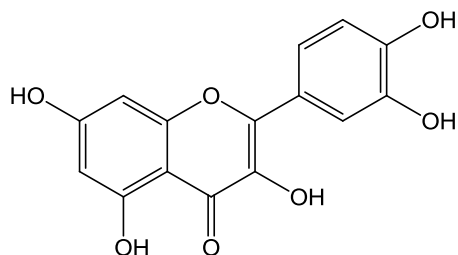
**FA7**

Procedência: Folhas (Fração acetato de etila)

Massa: 12 mg

isolamento: p.29

Identificação: p.85



3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona  
(Quercetina)

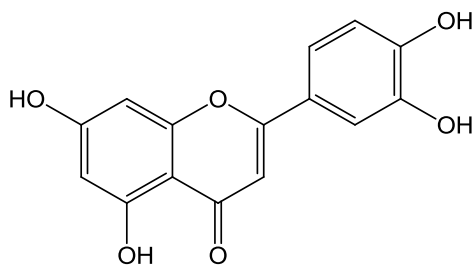
**FA8**

Procedência: Folhas (Fração acetato de etila)

Massa: 18 mg

isolamento: p.29

Identificação: p.86



3',4',5,7-tetrahydroxiflavona  
(Luteolina)

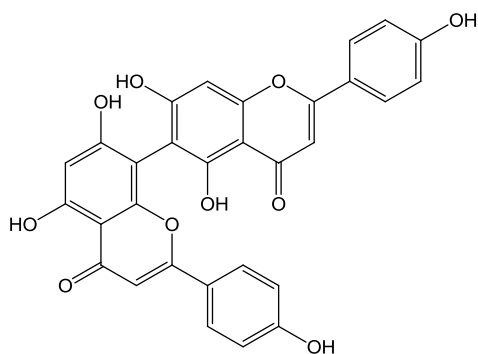
**FA9**

Procedência: Folhas (Fração  
acetato de etila)

Massa: 20 mg

isolamento: p.29

Identificação: p.87



Agatisflavona

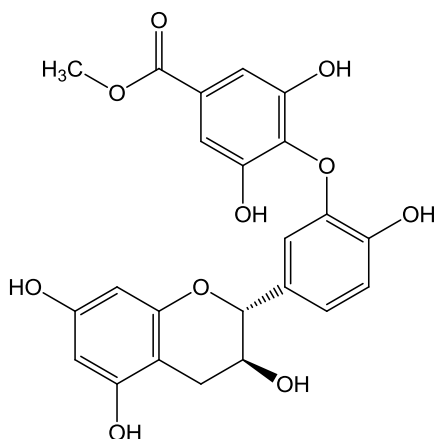
**FA10**

Procedência: Folhas (Fração  
acetato de etila)

Massa: 13 mg

isolamento: p.31

Identificação: p.88



4''-2'-epicatequínilgalato de metila

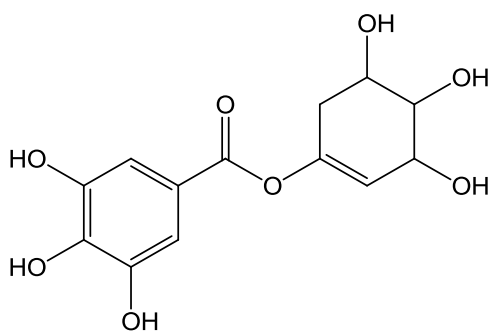
**FA11**

Procedência: Folhas (Fração  
acetato de etila)

Massa: 5 mg

isolamento: p.31

Identificação: p.95



Galato de 1-(3,4,5-  
trihidroxiciclohex-1-enila)

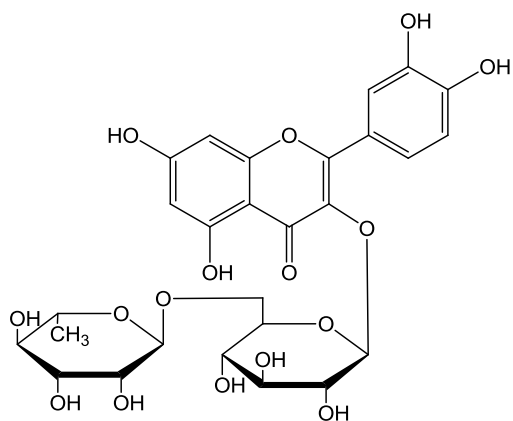
**FA12**

Procedência: Folhas (Fração  
acetato de etila)

Massa: 13 mg

isolamento: p.33

Identificação: p.103



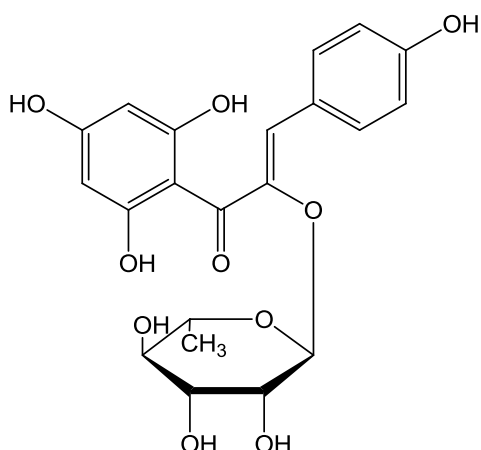
Rutina  
**FA13**

Procedência: Folhas (Fração metanol)

Massa: 75 mg

isolamento: p.34

Identificação: p.108



Chalcona naringenina 3-O-ranósideo

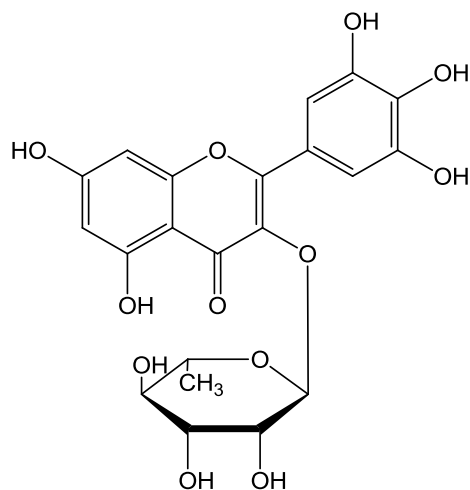
**FA14**

Procedência: Folhas (Fração metanol)

Massa: 18 mg

isolamento: p.34

Identificação: p.110



3',4',5',5',7-pentahidroxi-flavona-3-O-ranósil (Miricetrina).

**FA15**

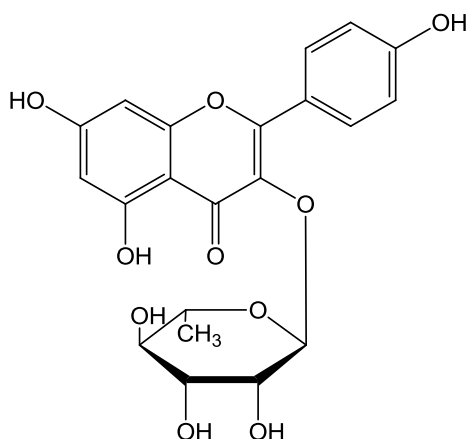
Procedência: Folhas (Fração metanol)

Massa: 10 mg

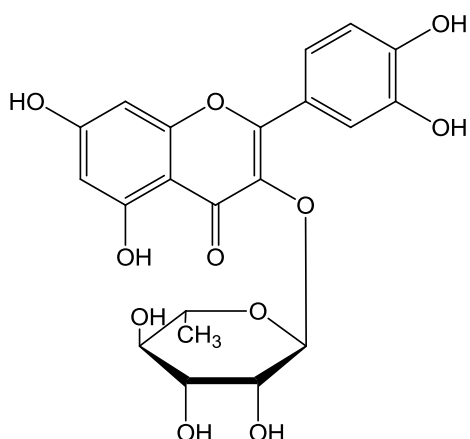
isolamento: p.34

Identificação: p.112

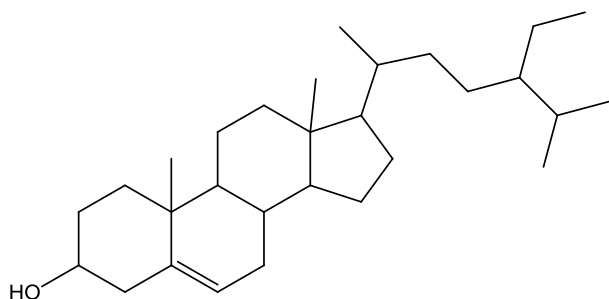




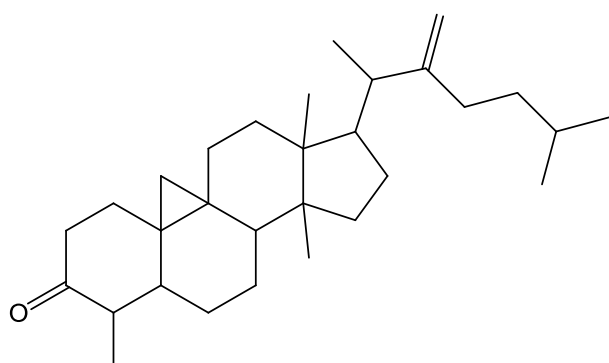
4',5,7-trihidroxi-flavona-3-O-ramnosil  
Apigenina 3-O-ramnosideo  
**FA16**  
Procedência: Folhas (Fração metanol)  
Massa: 19 mg  
isolamento: p.34  
Identificação: p.114



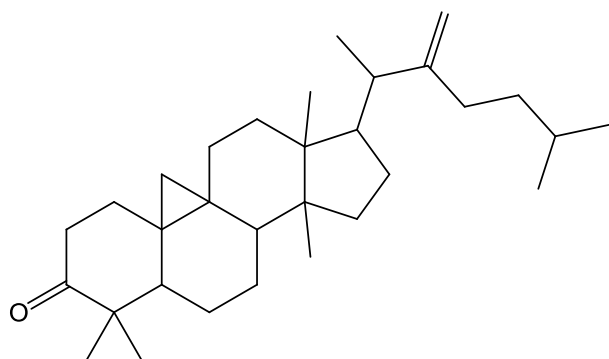
3',4',5,7-tetrahidroxi-flavona-3-O-ramnosil  
(Quercitrina)  
**FA17**  
Procedência: Folhas (Fração metanol)  
Massa: 5 mg  
isolamento: p.37  
Identificação: p.115



sitosterol  
**GA1**  
Procedência: Galhos (Fração diclorometano)  
Massa: 7 mg  
isolamento: p.39  
Identificação: p.116



Norciclopterospirmona  
**GA2**  
Procedência: Galhos (Fração diclorometano)  
Massa: 23 mg (junto GA3)  
isolamento: p.41  
Identificação: p.117



31-Norciclopterispermona

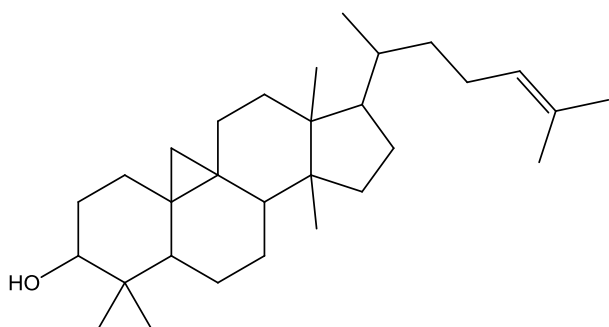
**GA3**

Procedência: Galhos (Fração diclorometano)

Massa: 23 mg (junto GA2)

isolamento: p.41

Identificação: p.117



Cicloartenol

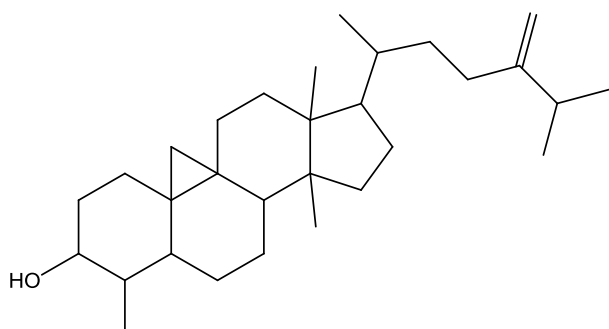
**GA4**

Procedência: Galhos (Fração diclorometano)

Massa: 14 mg (junto GA5)

isolamento: p.41

Identificação: p.119



Cycloeucalenol

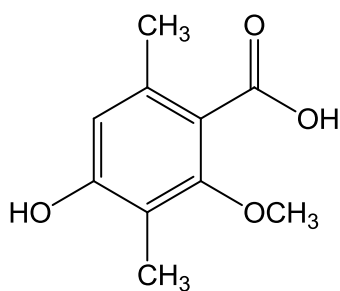
**GA5**

Procedência: Galhos (Fração diclorometano)

Massa: 14 mg (junto GA4)

isolamento: p.41

Identificação: p.119



Ácido 4-hidroxi- 3,6-dimetil-2-metóxi-benzóico

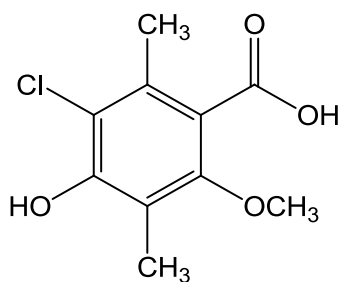
**GA6**

Procedência: Galhos (Fração diclorometano)

Massa: 1,2 mg

isolamento: p.42

Identificação: p.121



Ácido 5-cloro-4-hidroxi- 3,6-dimetil-2-metóxi-benzóico

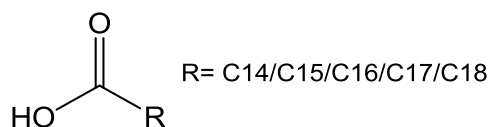
**GA7**

Procedência: Galhos (Fração diclorometano)

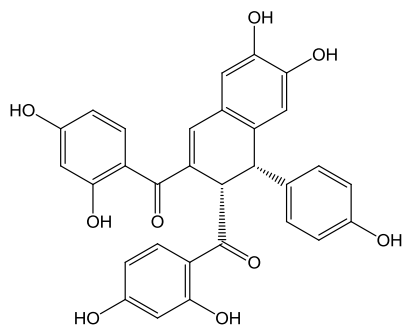
Massa: 1,7 mg

isolamento: p.42

Identificação: p.121

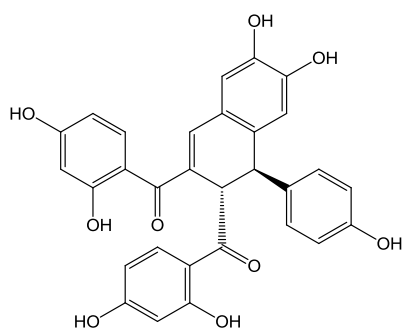


Ácidos graxos  
**GA8**  
 Procedência: Galhos (Fração diclorometano)  
 Massa: 25 mg  
 isolamento: p.44  
 Identificação: p.123

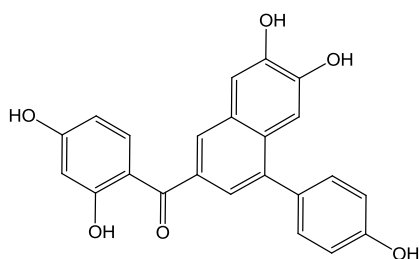


[[7''\*R,8''R)-(2',4,4',5-tetrahydroxichalcona-(2->7'', 8->8''))- 2''',4'',4'''-trihidroxi-7'',8''dihidroxi-chalcona]

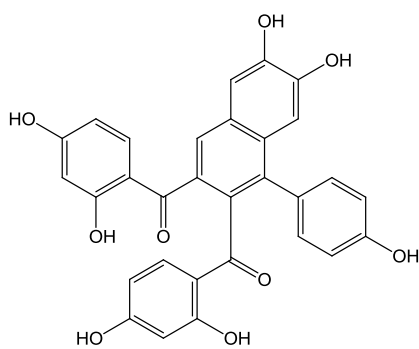
[[7''\*S,8''S)-(2',4,4',5-tetrahydroxichalcona-(2->7'', 8->8''))- 2''',4'',4'''-trihidroxi-7'',8''dihidroxi-chalcona]



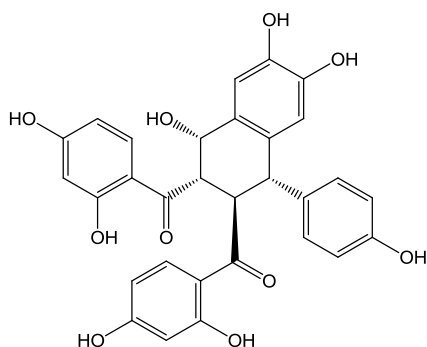
Urundeuvina A  
**GA9**  
 Procedência: Galhos (Fração acetato etila)  
 Massa: 6 mg  
 isolamento: p.48  
 Identificação: p.124



2',4,4',5-tetrahydroxichalcona-(2->7'',8->8'')-4''hidroxi-etilbenzeno  
 Cajobina-A  
**GA10**  
 Procedência: Galhos (Fração acetato etila)  
 Massa: 2 mg  
 isolamento: p.48  
 Identificação: p.134



2',4,4',5-tetrahydroxichalcona-(2->7'', 8->8'')- 2''',4'',4'''-trihidroxi-chalcona  
 Urundeuvina B  
**GA11**  
 Procedência: Galhos (Fração acetato etila)  
 Massa: 7 mg  
 isolamento: p.49  
 Identificação: p.140



(7<sup>\*</sup>S,8<sup>\*</sup>R,7<sup>''</sup>S,8<sup>''</sup>R)-2',4,4',5,7-pentahidrochalcona-(2→7'', 8→8'')

- 2''',4''',4''''-trihidroxi-7'',8'' dihidroxichalcona

Matosina

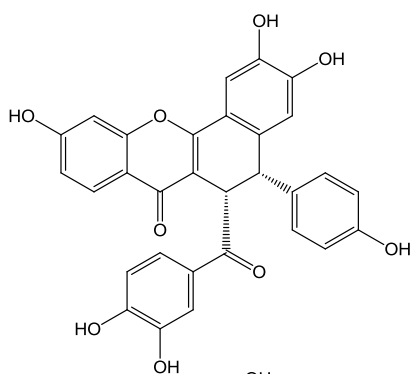
**GA12**

Procedência: Galhos (Fração acetato etila)

Massa: 7 mg

isolamento: p.49

Identificação: p.142



(7<sup>''\*</sup>S,8<sup>''\*</sup>S)-(4,4',5 trihidroxi-7,2'-oxo-chalcona-(2→7'',8→8'')

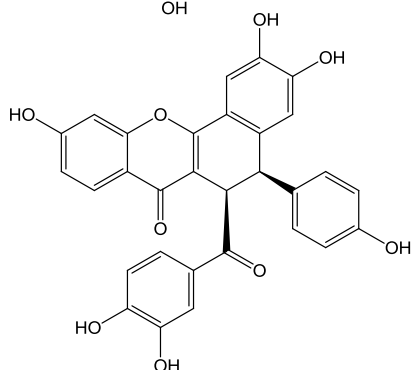
-2'',4'',2''',4''''-tetrahidroxi

7'',8'' dihidroxichalcona

(7<sup>''\*</sup>R,8<sup>''\*</sup>R)-(4,4',5 trihidroxi-7,2'-oxo-chalcona-(2→7'',8→8'')

-2'',4'',2''',4''''-tetrahidroxi

7'',8'' dihidroxichalcona



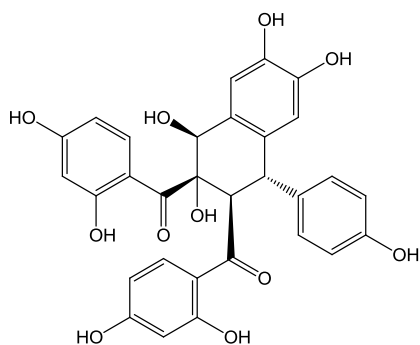
**GA13**

Procedência: Galhos (Fração acetato etila)

Massa: 4 mg

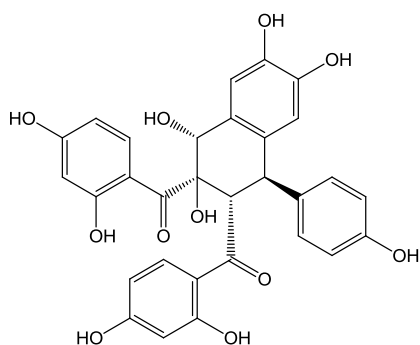
isolamento: p.49

Identificação: p.147



(7<sup>\*</sup>R,8<sup>\*</sup>R,7<sup>''</sup>S,8<sup>''</sup>R)-2',4,4',5,7,8-hexahidroxi-chalcona-(2→7<sup>''</sup>, 8→8<sup>''</sup>)- 2<sup>'''</sup>,4<sup>''</sup>,4<sup>'''</sup>-trihidroxi-7<sup>''</sup>,8<sup>''</sup> dihidroxichalcona

(7<sup>\*</sup>S,8<sup>\*</sup>S,7<sup>''</sup>R,8<sup>''</sup>S)-2',4,4',5,7,8-hexahidroxi-chalcona-(2→7<sup>''</sup>, 8→8<sup>''</sup>)- 2<sup>'''</sup>,4<sup>''</sup>,4<sup>'''</sup>-trihidroxi-7<sup>''</sup>,8<sup>''</sup> dihidroxichalcona



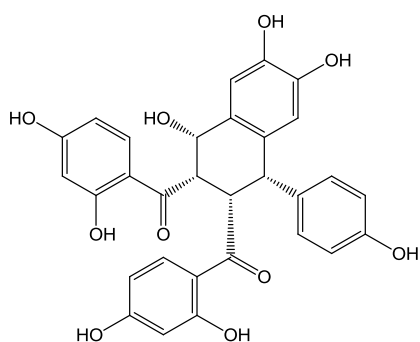
**GA14**

Procedência: Galhos (Fração acetato etila)

Massa: 6 mg

isolamento: p.52

Identificação: p.154



(7<sup>\*</sup>R,7<sup>''</sup>S,8<sup>''</sup>R)-2',4,4',5,7-pentahidroxi-chalcona-(2→7<sup>''</sup>, 8→8<sup>''</sup>)- 2<sup>'''</sup>,3<sup>'''</sup>,4<sup>'''</sup>-trihidroxi-7<sup>''</sup>,8<sup>''</sup> dihidroxichalcona

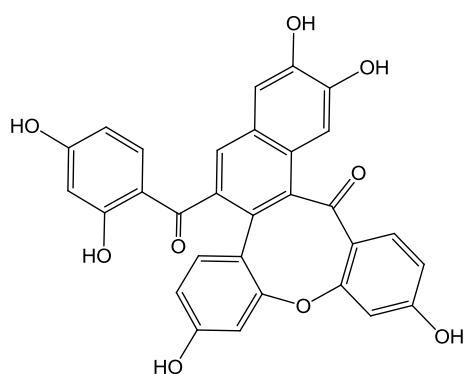
**GA15**

Procedência: Galhos (Fração acetato etila)

Massa: 5 mg

isolamento: p.52

Identificação: p.163



2',4',4',5, tetrahidroxi-chalcona-(2→8<sup>''</sup>, 8→7<sup>''</sup>)-(2<sup>''</sup>,2<sup>''</sup>) desoxi 4<sup>''</sup>,4<sup>'''</sup> bihidroxichalcona.

**GA16**

Procedência: Galhos (Fração acetato etila)

Massa: 4 mg

isolamento: p.54

Identificação: p.167

## 4.1.2. DETERMINAÇÕES E IDENTIFICAÇÕES ESTRUTURAIS

### 4.1.2.1. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE FA1

A substância **FA1** foi isolada da fração acetato de etila das folhas (**Fluxograma 3.2**, p.25). Sua identificação estrutural foi realizada utilizando experimento de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.1**, **Apêndice I**) e da comparação dos valores obtidos com os dados de literatura (MEHLA *et al.*, 2011, **Tabela 4.1**) e se trata do composto polifenólico conhecido como Galato de Etila.

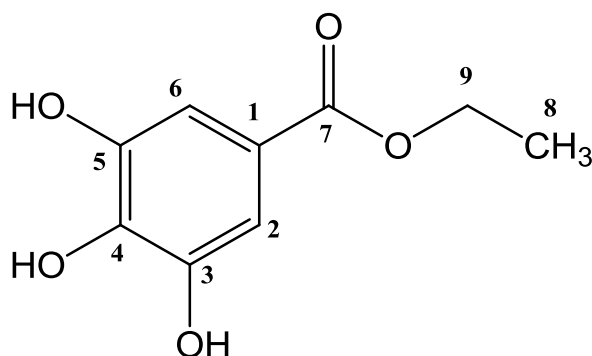


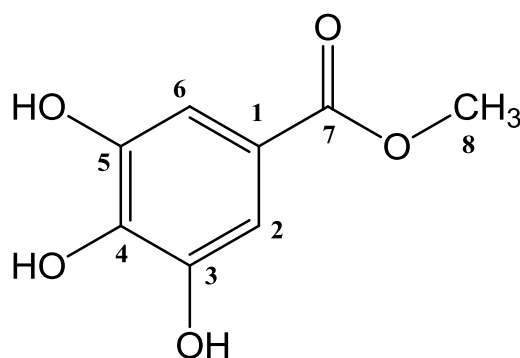
TABELA 4.1 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **FA1** juntamente com os dados encontrados na literatura

| H   | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), $J$ (Hz) |   |
|-----|-------------------------------------|---|
|     | FA1 <sup>a</sup>                    | MEHLA <i>et al.</i> (2011) <sup>b</sup> |
| 2/6 | 7,04 (s, 2H)                        | 7,06 (s, 2H)                            |
| 8   | 4,28 (q, $J = 8,0$ ; 2H)            | 4,28 (q, $J = 7,3$ ; 2H)                |
| 9   | 1,36 (t, $J = 8,0$ ; 3H)            | 1,36 (t, $J = 7,0$ ; 3H)                |

<sup>a,b</sup> [MeOD-*d*4, 400 MHz].

### 4.1.2.2. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE FA2

A substância **FA2** foi isolada da fração acetato de etila das folhas (**Fluxograma 3.2**, p.25). Sua identificação estrutural foi realizada utilizando experimento de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.2**, **Apêndice I**) e da comparação dos valores obtidos com os dados de literatura (CERUKS *et al.*, 2007, **Tabela 4.2**) e se trata do composto polifenólico conhecido como Galato de Metila.

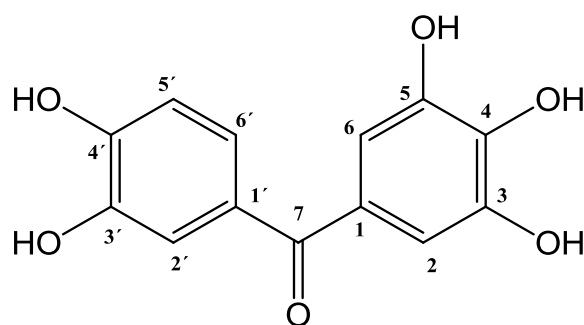
TABELA 4.2 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **FA2** e encontrados na literatura

| H   | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), J (Hz) |  |
|-----|-----------------------------------|--|
|     | FA2 <sup>a</sup>                  | CERUKS <i>et al.</i> (2007) <sup>b</sup> |
| 2/6 | 7,03 (s)                          | 6,92 (s)                                 |
| 8   | 3,90 (s)                          | 3,73 (s)                                 |

<sup>a</sup>[MeOD-*d*4, 200 MHz], <sup>b</sup>[MeOD-*d*4, 400 MHz].

#### 4.1.2.3. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE FA3

A substância **FA3** foi isolada da fração acetato de etila das folhas (**Fluxograma 3.2**, p.25) e sua determinação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , COSY, HSQC e HMBC (**Figuras 4.3 a 4.6**, **Apêndice I**) e os dados de RMN estão apresentados na **Tabela 4.3** e se conclui que a substância se trata de 3',3,4,4',5-pentahidroxibenzofenona (isolada pela primeira vez de uma espécie vegetal).

TABELA 4.3 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da substância **FA3**

| H/C   | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), J (Hz) | $\delta_{\text{C}}$ |
|-------|-----------------------------------|---------------------|
|       |                                   | (ppm)               |
| <hr/> |                                   |                     |

|       |                               |       |
|-------|-------------------------------|-------|
| 1     | -                             | 123,0 |
| 2 e 6 | 7,00 (s) 2H                   | 108,9 |
| 3     | -                             | 144,9 |
| 4     | -                             | 137,0 |
| 5     | -                             | 144,9 |
| 7     | -                             | 171,0 |
| 1'    | -                             | 124,0 |
| 2'    | 7,42 (d, $J = 8,0$ )          | 116,0 |
| 3'    | -                             | 149,0 |
| 4'    | -                             | 144,7 |
| 5'    | 6,75 (d, $J = 2,0$ e $8,0$ )  | 114,0 |
| 6'    | 7,39 (dd, $J = 2,0$ e $8,0$ ) | 122,0 |

#### 4.1.2.4. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE FA4

A substância **FA4** foi isolada da fração acetato de etila das folhas (**Fluxograma 3.3**, p.27). Sua identificação estrutural foi realizada utilizando experimento de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  (**Figura 4.7 e 4.8, Apêndice I**) e da comparação dos dados obtidos com os da literatura (CERUKS *et al.*, 2007, **Tabela 4.4**) e se trata do composto polifenólico conhecido como Ácido Gálico.

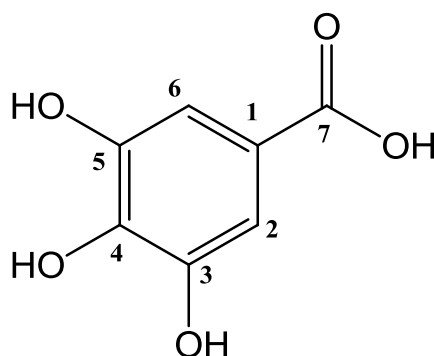


TABELA 4.4 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da substância **FA4** e encontrados na literatura

| H/C   | $\delta_{\text{H}}$ (80PM), $J$ (Hz) |  | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |  |
|-------|--------------------------------------|--|---------------------------|--|
|       | FA4 <sup>a</sup>                     | CERUKS <i>et al.</i> (2007) <sup>b</sup> | FA4 <sup>a</sup>          | CERUKS <i>et al.</i> (2007) <sup>b</sup> |
| 2 e 6 | 7,05 (s; 2H)                         | 7,06 (s, 2H)                             | 111,0                     | 111,0                                    |

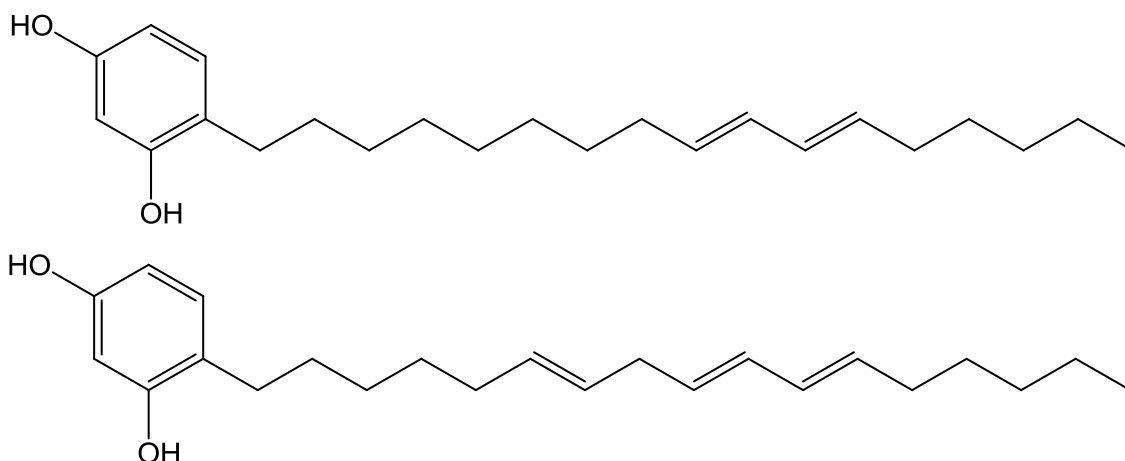


|     |   |   |       |       |
|-----|---|---|-------|-------|
| 1   | - | - | 123,1 | 123,0 |
| 4   | - | - | 146,4 | 145,0 |
| 3/5 | - | - | 139,5 | 138,0 |
| 7   | - | - | 170,5 | 169,4 |

<sup>a, b</sup> [MeOD-*d*4, 400 MHz (<sup>1</sup>H) e 100 (<sup>13</sup>C) MHz].

#### 4.1.2.5. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE FA5 E FA6

As substâncias **FA5** e **FA6** foram isoladas da fração acetato de etila das folhas (**Fluxograma 3.4**, p.30), apresentaram-se como um óleo de coloração amarelo esverdeado e sua identificação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de <sup>1</sup>H (**Figuras 4.9 e 4.10, Tabela 4.5**), CG-EM (**Figura 4.11 e 4.12**) e dados baseados na literatura (ELSOHLY, *et al.*, 1982; RIVERO-CRUZ, *et al.*, 1996; DRAPER, *et al.*, 2009) e se tratou de dois lipídios fenólicos conhecidos como cardol 1 (**FA5**) e cardol 2 (**FA6**).



O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (**Figura 4.9**) mostrou dois tripletos em  $\delta_H$  0,88 e 0,95 (t) correspondendo à metila de cada composto (cadeia alquílica longa), singlete largo em  $\delta_H$  1,28 (s) correspondendo aos metilenos da cadeia alquílica. Além de um tripleto em  $\delta_H$  1,54 (t,  $J = 8,0$ ) relativo aos metilenos alfa ao anel benzênico do composto, multiplete entre  $\delta_H$  2,8 – 3,00 (m) correspondendo a hidrogênios metilênicos vizinhos às duplas ligações. Observou-se também a presença de multiplete em  $\delta_H$  5,36 (m) correspondendo a hidrogênios ligados às duplas ligações. A presença do anel fenólico foi caracterizada pelos sinais em  $\delta_H$  6,63 (d,  $J = 8,0$  Hz),  $\delta_H$  6,59 (d,  $J = 2,0$  Hz),  $\delta_H$  6,47 (dd,  $J = 8,0$  e 2,0 Hz)

caracterizando substituição 1,2,4 (hidrogênios *orto* e *meta* relacionados) e que as duas hidroxilas sejam *meta* entre si.

Através dos cálculos de deslocamentos químicos para os modos de substituições no anel aromáticos com relação *orto* e *meta* leva aos seguintes valores calculados para a relação 1,2,4 de  $\delta_H$  6,84, 6,31, 6,21 e para 1,3,4 de  $\delta_H$  6,58, 6,57 e 6,48 que são próximas aos valores observados impedindo definir o modo de substituição usando estes dados.

Assim a proposta de localização das hidroxilas em 2 e 4 em relação ao grupo alquil é proposta pelos dados de espectrometria de massas como indicado adiante. A localização das posições das duplas ligações não foi possível com dados obtidos e estão indicadas na estrutura com base no maior número de localizações de produtos naturais nestas posições e as mesmas deverão ser confirmadas usando derivados de tioéteres em espectrometria de massas.

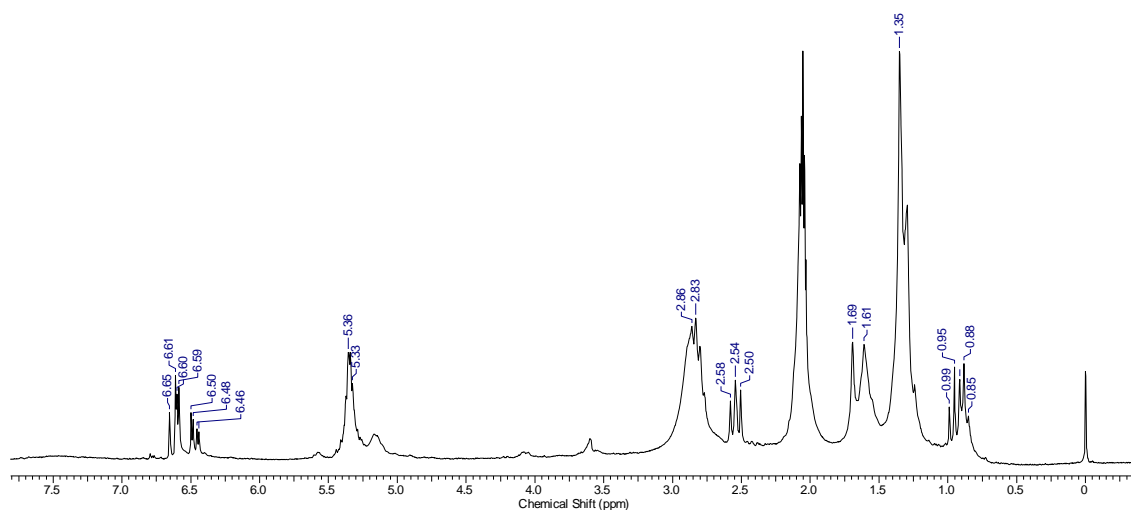


Figura 4.9 - Espectro de RMN de  $^1H$  das substâncias **FA5** e **FA6** (Acetona *d*-6, 200 MHz).

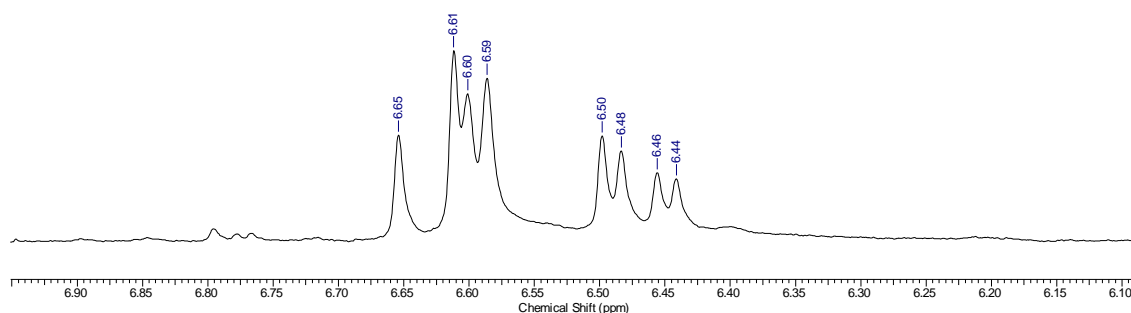


Figura 4.10 - Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  das substâncias **FA5** e **FA6** (Acetona  $d_6$ , 200 MHz).

TABELA 4.5 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  da mistura de substâncias substância **FA5** e **FA6**

| H/C                       | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), $J$ (Hz)  |
|---------------------------|--|
| $\text{CH}_3$             | 0,88 (t) e 0,95 (t)  |
| $-(\text{CH}_2)_n-$       | 1,28 (m)   |
| $-(\text{CH}_2)-(\alpha)$ | 1,54 (t, $J = 8,0$ )   |
| $\text{CH}_2$ (dupla)     | 2,8 – 3,00 (m)   |
| $=\text{CH}$              | 5,36 (m)   |
| Aromático                 | 6,63 (d, $J = 8,0$ );<br>6,59 (d, $J = 2,0$ );<br>6,47 (dd, $J = 2,0$ e 8,0) |

O espectro de massas do composto sililado (**Figura 4.11 e 4.12**) correspondente a banda 1 no cromatograma gasoso (**Figura 3.3, p. 28**) apresentou os seguintes picos de fragmentação:  $m/z$  73 (100%); 267 (10%); 281 (<1%) e 488 ( $\text{M}^+$ ). Para a banda 2 (**Figura 3.3, p.28**) apresentou os seguintes picos de fragmentação:  $m/z$  73 (100%); 267 (10%); 281 (<1%) e 486 ( $\text{M}^+$ ), duas unidades a menos que o primeiro, o que sugere uma insaturação a mais. A baixíssima intensidade pico com  $m/z$  179 indica que a relação entre as hidroxilas não podem ser orto, como mostra a proposta de sua formação (**Figura 4.13**) baseada na proposta de ELSOHLY *et al.*, 1982.

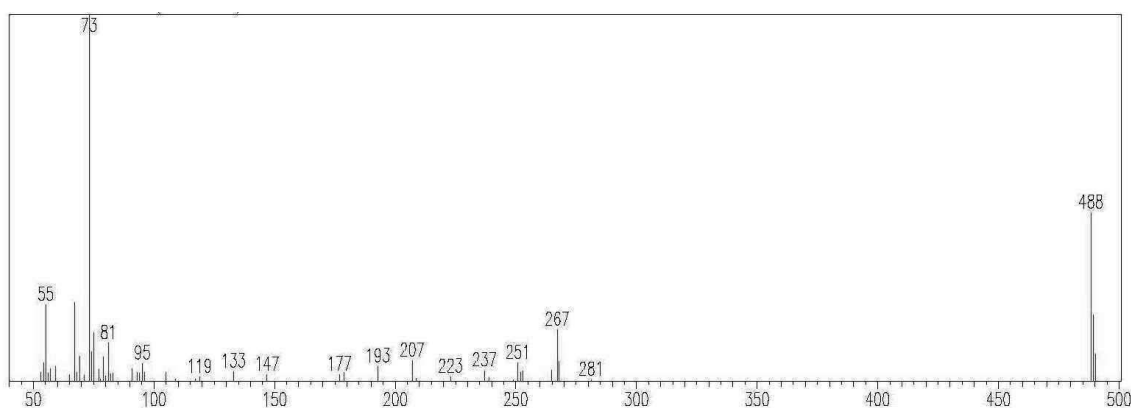


FIGURA 4.11 - Espectro de massas de **FA5**, banda cromatográfica 1.

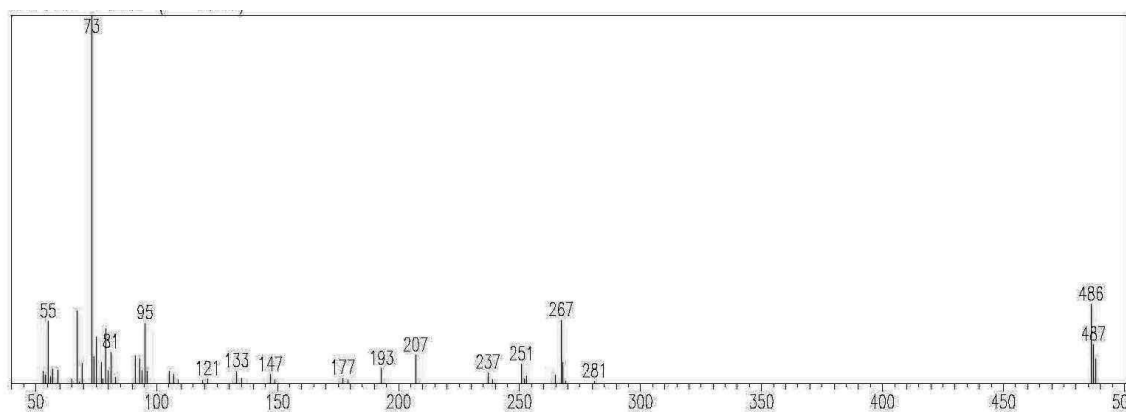


FIGURA 4.12 - Espectro de massas de **FA6**, banda cromatográfica 2.

A proposta de fragmentação está baseada em (DRAPER, *et al.*, 2009 e RIVERO-CRUZ, *et al.*, 1996). O íon  $m/z$  73, corresponde ao íon trimetilsilil  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3]^+$ . A perda do grupo alquil lateral forma o íon de  $m/z$  267 e também o íon  $m/z$  281, conforme proposta de fragmentação (Figura 4.14).

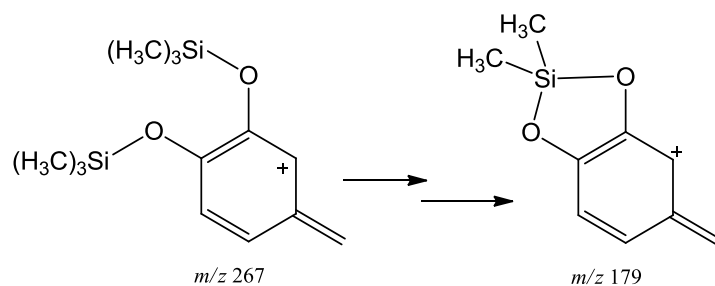
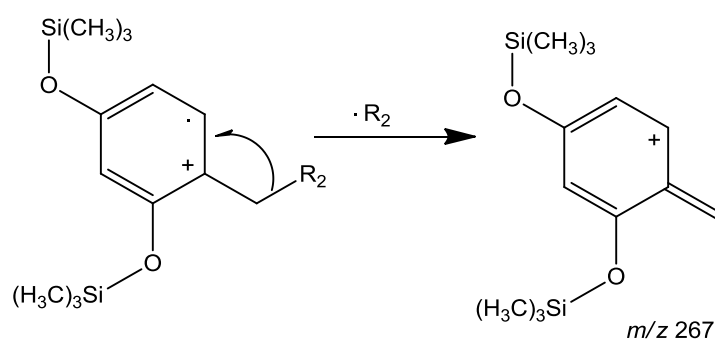


FIGURA 4.13- Proposta de formação do íon de  $m/z$  179.



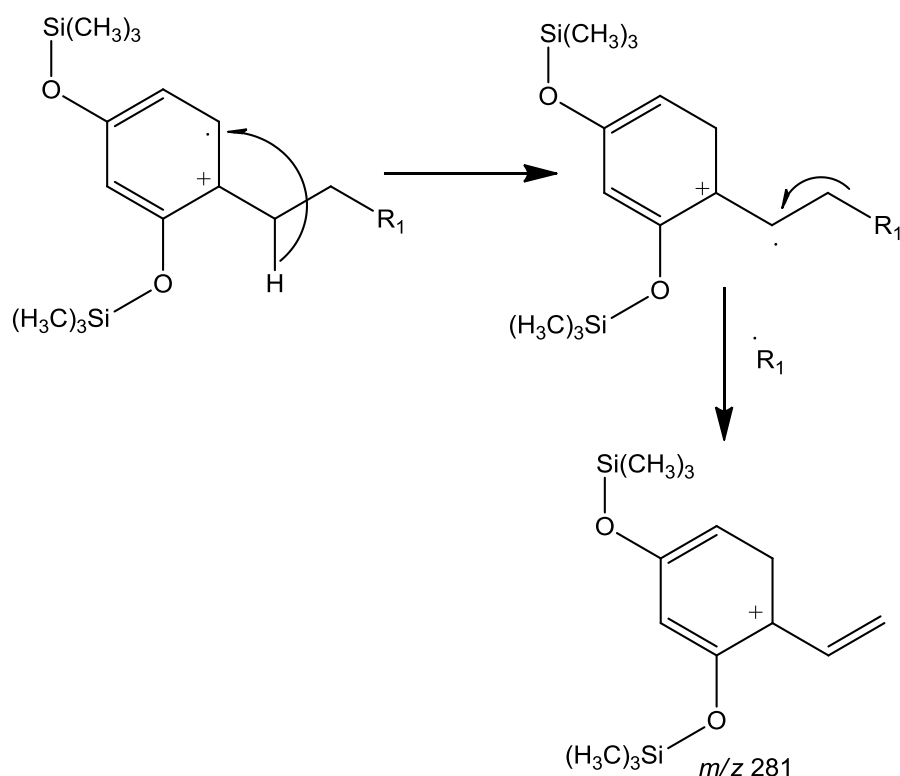
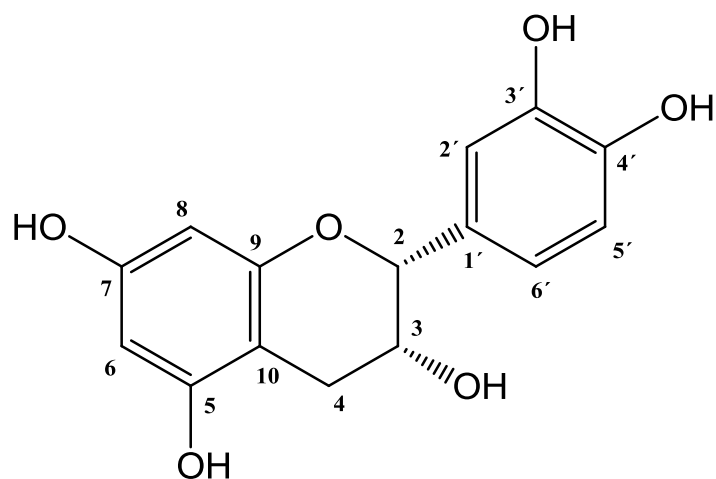


FIGURA 4.14 - Proposta de formação para os íons  $m/z$  267 e 281.

#### 4.1.2.6. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE FA7

A substância **FA7** foi isolada da fração acetato de etila das folhas (**Fluxograma 3.5**, p.32), sua identificação estrutural foi realizada através de dados de espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  (**Figuras 4.15 e 4.16, Apêndice I**) e a sua configuração relativa foi obtida através de experimento de  $[\alpha]_D$  e dados baseados na literatura (DUEÑAS *et al.*, 2012; **Tabela 4.6**). Assim pode-se concluir que a substância se trata do flavan-3-ol conhecido como Epicatequina.



A catequina ocorre em duas formas estereoisoméricas que podem ser diferenciadas pelo desvio da luz plano-polarizada, denominado  $[\alpha]_D$ . O  $[\alpha]_D$  determinado para a substância foi de -13,0, portanto, trata-se do isômero S da catequina ou a substância conhecida como epicatequina. A **Tabela 4.6** mostra os dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  juntamente com os encontrados da literatura.

TABELA 4.6 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de **FA7** e os encontrados na literatura

| H/C  | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), $J$ (Hz) |  | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |  |
|------|-------------------------------------|--|---------------------------|--|
|      | FA7 <sup>a</sup>                    | DUEÑAS <i>et al.</i> (2012) <sup>b</sup> | FA7 <sup>a</sup>          | DUEÑAS <i>et al.</i> (2012) <sup>b</sup> |
| 2    | 4,83 (s)                            | 4,88 (s)                                 | 79,9                      | 79,8                                     |
| 3    | 4,19 (m)                            | 4,16 (m)                                 | 67,5                      | 67,4                                     |
| 4 eq | 2,76 (dd, $J = 3,0; 16,0$ )         | 2,72 (dd, $J = 2,8; 16,8$ )              | 29,3                      | 29,2                                     |
| 4 ax | 2,88 (dd, $J = 4,0; 14,0$ )         | 2,85 (dd, $J = 4,5; 16,7$ )              | -                         | -  |
| 5    | -                                   | -  | 157,7                     | 157,6                                    |
| 6    | 5,94 (d, $J = 2,0$ )                | 5,90 (d, $J = 2,3$ )                     | 95,9                      | 95,8                                     |
| 7    | -                                   | -  | 158,0                     | 158,0                                    |
| 8    | 5,97 (d, $J = 2,0$ )                | 5,93 (d, $J = 2,3$ )                     | 96,4                      | 96,3                                     |
| 9    | -                                   | -  | 157,4                     | 157,3                                    |
| 10   | -                                   | -  | 100,1                     | 100,8                                    |
| 1'   | -                                   | -  | 132,3                     | 132,3                                    |
| 2'   | 6,99 (d, $J = 2,0$ )                | 6,96 (d, $J = 1,9$ )                     | 115,4                     | 115,3                                    |
| 3'   | -                                   | -  | 146,0                     | 146,0                                    |
| 4'   | -                                   | -  | 145,8                     | 145,7                                    |
| 5'   | 6,78 (d, $J = 8,0$ )                | 6,74 (d, $J = 8,1$ )                     | 116,0                     | 115,8                                    |
| 6'   | 6,84 (dd, $J = 2,0; 8,0$ )          | 6,79 (dd, $J = 1,9; 8,1$ )               | 119,5                     | 119,3                                    |

<sup>a</sup> [MeOD-*d*4, 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ )]; <sup>b</sup> [Acetona-*d*6, 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ )].

#### 4.1.2.7. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE FA8

A substância **FA8** foi isolada da fração acetato de etila das folhas (**Fluxograma 3.5**, p.32), e sua identificação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.17**, **Apêndice I**) e da literatura (SOUZA *et al.*,

2005; **Tabela 4.7**). Pode-se concluir que a substância se trata do Flavonóide 3,4',5,5'-tetrahidroxiflavona conhecida como Quercetina.

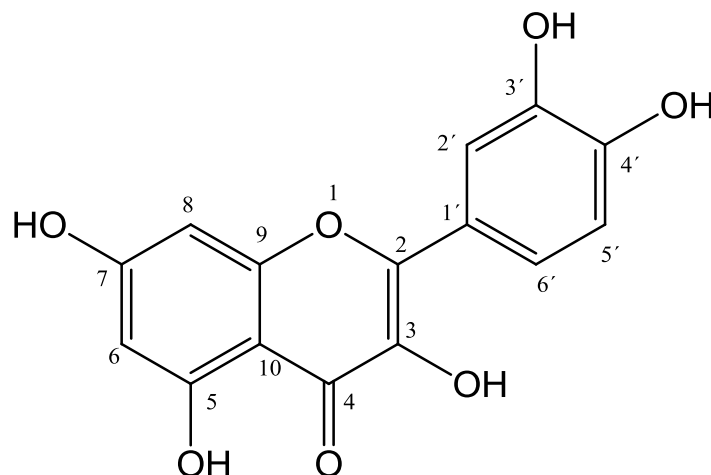


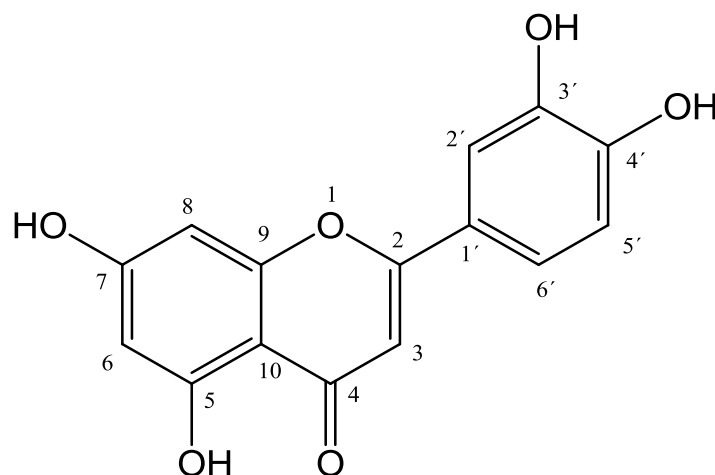
TABELA 4.7 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **FA8** e os encontrados na literatura

| H  | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), $J$ (Hz) |  |
|----|-------------------------------------|--|
|    | <b>FA8<sup>a</sup></b>              | <b>CERUKS <i>et al.</i> (2007)<sup>b</sup></b> |
| 6  | 6,40 ( <i>d</i> ; $J = 2,0$ )       | 6,38 ( <i>d</i> ; $J = 1,9$ )                  |
| 8  | 6,18 ( <i>d</i> ; $J = 2,0$ )       | 6,19 ( <i>d</i> ; $J = 1,9$ )                  |
| 2' | 6,87 ( <i>d</i> ; $J = 8,0$ )       | 6,89 ( <i>d</i> ; $J = 8,5$ )                  |
| 5' | 7,33 ( <i>d</i> ; $J = 2,0$ )       | 7,20 ( <i>sl</i> )                             |
| 6' | 7,67 ( <i>dd</i> ; $J = 2,0$ e 8,4) | 7,68 ( <i>dd</i> ; $J = 1,8$ e 8,0)            |
| OH | 12,4 ( <i>s</i> )                   | 12,5 ( <i>s</i> )                              |

<sup>a</sup>[DMSO-*d*6, 200 MHz ( $^1\text{H}$ )]; <sup>b</sup>[DMSO-*d*6, 400 MHz ( $^1\text{H}$ )].

#### 4.1.2.8. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE FA9

A substância **FA9** foi isolada da fração acetato de etila das folhas (**Fluxograma 3.5**, p.32), sua identificação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e mapa de contornos COSY e HSQC (**Figuras 4.18 a 4.20, Apêndice I**) e da literatura (JULLIAN *et al.*, 2010; **Tabela 4.8**) e ao final pode-se concluir que a substância se trata do flavonóide 4',5,5'-trihidroxiflavona conhecida como Luteolina.

TABELA 4.8 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **FA9** e encontrados na literatura

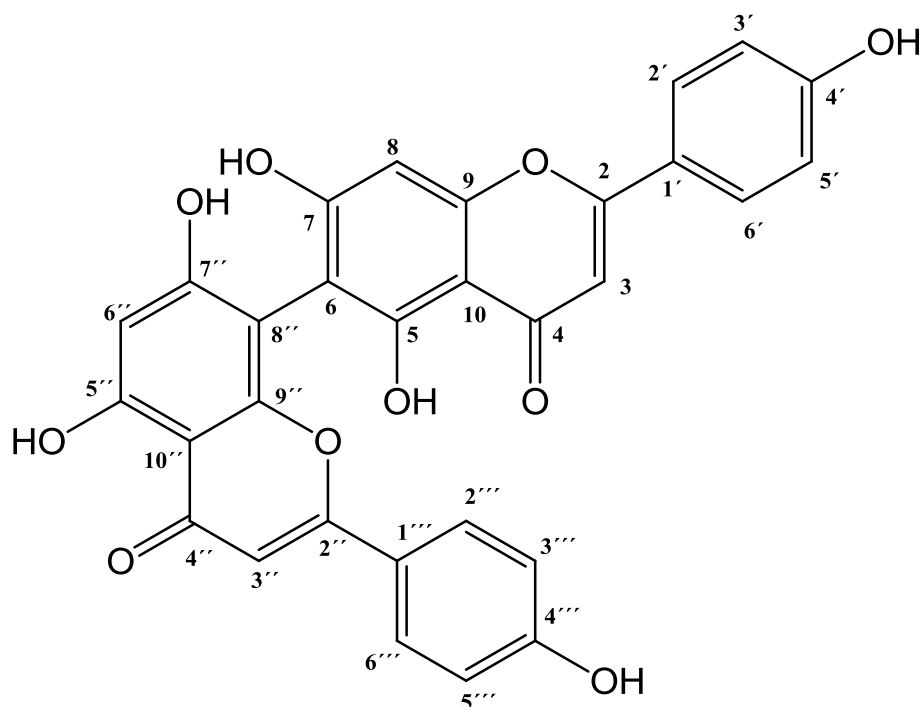
| H/C | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), $J$ (Hz) |  |
|-----|-------------------------------------|--|
|     | FA <sup>a</sup>                     | JULLIAN <i>et al.</i><br>(2010) <sup>b</sup> |
| 3   | 6,52 (s)                            | 6,40 (s)                                     |
| 6   | 6,42 (d, $J = 2,4$ )                | 6,30 (d, $J = 2,0$ )                         |
| 8   | 6,18 (d, $J = 2,4$ )                | 6,15 (d, $J = 2,0$ )                         |
| 2'  | 7,37 (s)                            | 7,28 (s)                                     |
| 5'  | 7,39 (d, $J = 8,8$ )                | 7,26 (d, $J = 8,0$ )                         |
| 6'  | 6,89 (d, $J = 8,8$ )                | 6,77 (d, $J = 8,0$ )                         |

<sup>a</sup> [MeOD-*d*4, 400 MHz ( $^1\text{H}$ )]; <sup>b</sup> [10% v/v MeOD em  $\text{D}_2\text{O}$ , 300 MHz ( $^1\text{H}$ )].

#### 4.1.2.9. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE FA10

A substância **FA10** foi isolada da fração acetato de etila das folhas (**Fluxograma 3.6, p.32**), apresentou-se como sólido amorfo de coloração amarelo claro e sua identificação estrutural foi realizada através de dados de espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.21**), COSY (**Figura 4.22**), HSQC (**Figura 4.23**), HMBC (**Figura 4.24**), EM de alta resolução (**Figura 4.25**) e comparados com os da literatura (BANDEIRA, 2002; **Tabela 4.9**). Pode-se concluir que a substância se trata do biflavonóide conhecido como Agathisflavona.





O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.21**) mostrou um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  7,93 (d,  $J = 9,0$  Hz) integrando para dois hidrogênios, acoplado em orto com o duplete em  $\delta_{\text{H}}$  6,98 (d,  $J = 9,0$  Hz) também integrando para dois hidrogênios, estes correspondem aos hidrogênios H-2'/6' e H-3'/5' e isto ocorre devido à livre rotação do anel este sistema de sinais diz respeito ao anel B da flavona I. O espectro de HSQC (**Figura 4.23**) mostrou a correlação dos sinais dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  7,93 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  127,6 (C-2'/6') e  $\delta_{\text{H}}$  6,98 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  115,2 (C-3'/5'). A análise do espectro de HMBC (**Figura 4.24**) mostra a correlação do sinal do duplete em  $\delta_{\text{H}}$  7,93 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  161,2 (C-4') e o duplete em  $\delta_{\text{C}}$  6,98 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  122,1 (C-1').

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.21**) mostrou também um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  7,61 (d,  $J = 8,0$  Hz) integrando para dois hidrogênios, acoplado em orto com o duplete em  $\delta_{\text{H}}$  6,73 (d,  $J = 8,0$  Hz) também integrando para dois hidrogênios, estes correspondem aos hidrogênios H-2'''/6''' e H-3'''/5''' e este sistema de sinais diz respeito ao anel B da flavona II. O espectro de HSQC (**Figura 4.23**) mostrou a correlação dos sinais dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  7,61 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  127,6 (C-2'''/6''') e  $\delta_{\text{H}}$  6,73 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  115,2 (C-3'''/5'). Estes valores são os mesmos encontrados para a flavona I (acima) e isso é justificado, pois são duas flavonas idênticas, assim, afim de não haver confusão nos valores, os carbonos serão reduzidos em 0,1 ppm e assim o carbono (C-2'''/6''') terá valor de 127,5 ppm e o carbono (C-3'''/5''') terá valor 115,1 ppm. A análise do espectro de HMBC

(Figura 4.24) mostra a correlação do sinal do duplete em  $\delta_{\text{H}}$  7,61 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  161,1 (C-4'') e o duplete em  $\delta_{\text{H}}$  6,73 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  122,0 (C-1''), novamente os valores foram idênticos e afim de se evitar confusão foram reduzidos em 0,1 ppm.

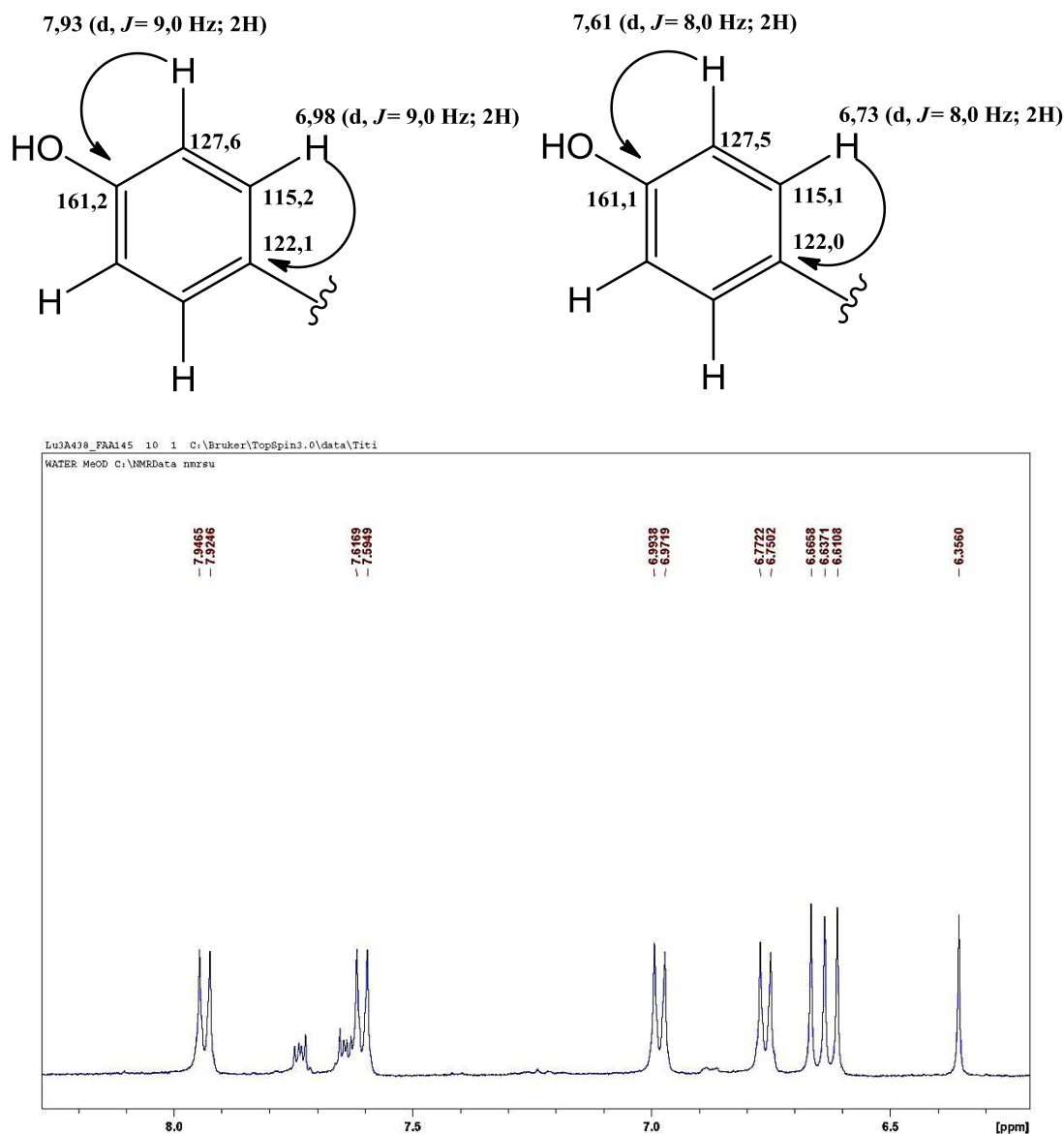


FIGURA 4.21 – Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **FA10** (MeOD- $d_4$ , 400 MHz).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 4.21) mostrou ainda quatro singletos, em  $\delta_{\text{H}}$  6,66 (s) referentes ao hidrogênio (H-3) e a análise do espectro de HSQC (Figura 4.23) mostra a correlação deste sinal com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  101,7 (C-3); um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  6,36 (s) referente ao hidrogênio (H-8) se correlacionando com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  94,7 (C-8); um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  6,61 (s) referente ao hidrogênio (H-3'') se correlacionando com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  101,5 (C-3'')

finalmente um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  6,35 (s) referente ao hidrogênio (H-6'') se correlacionando com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  99,7 (C-3').

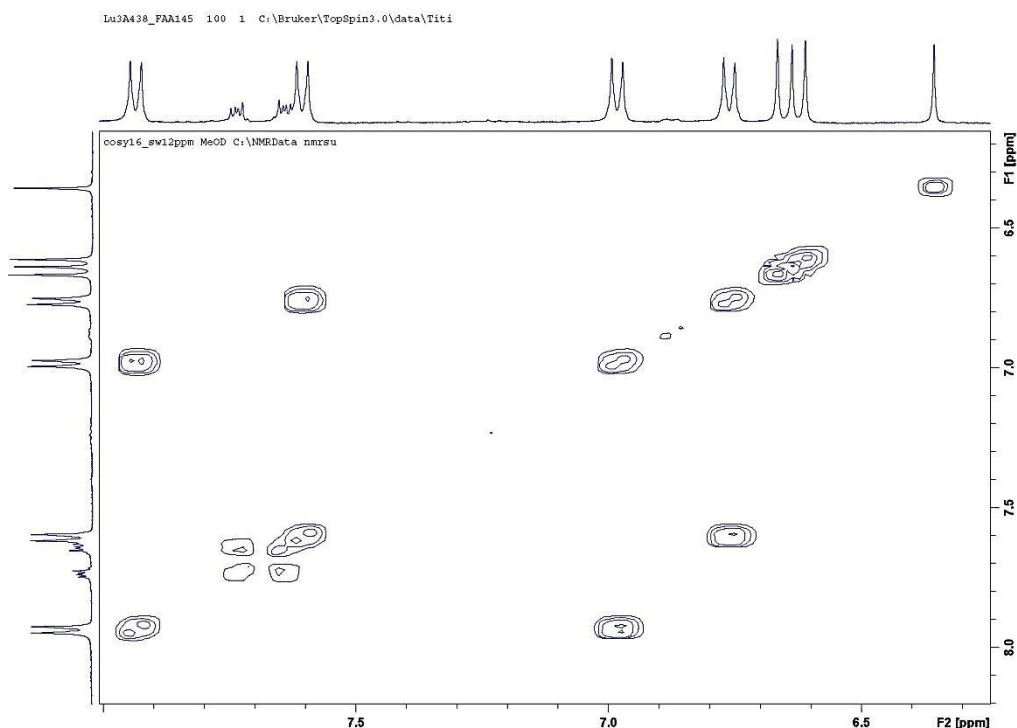
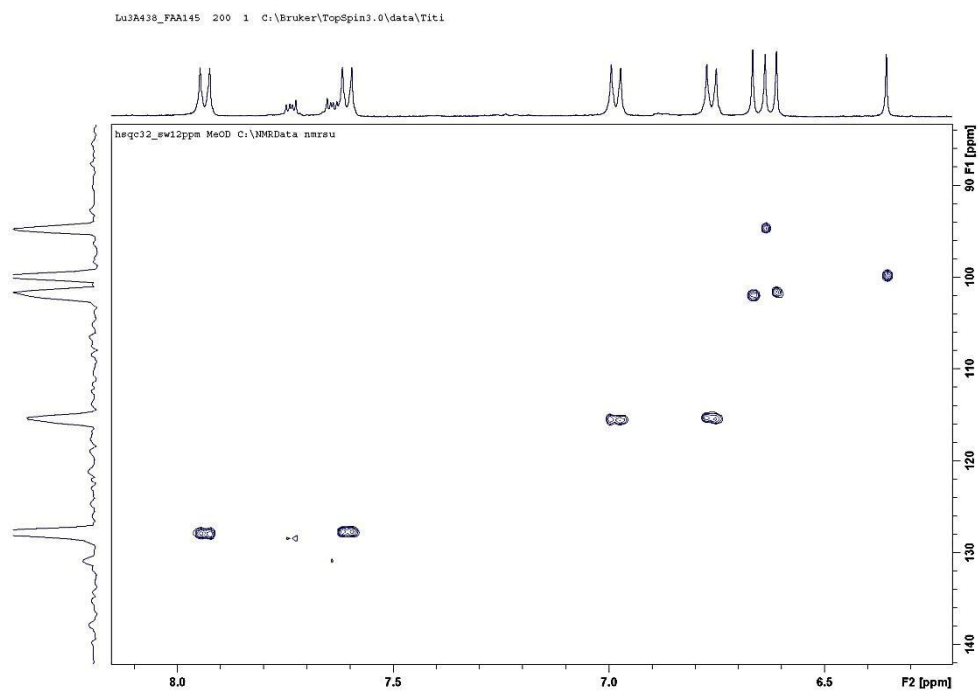
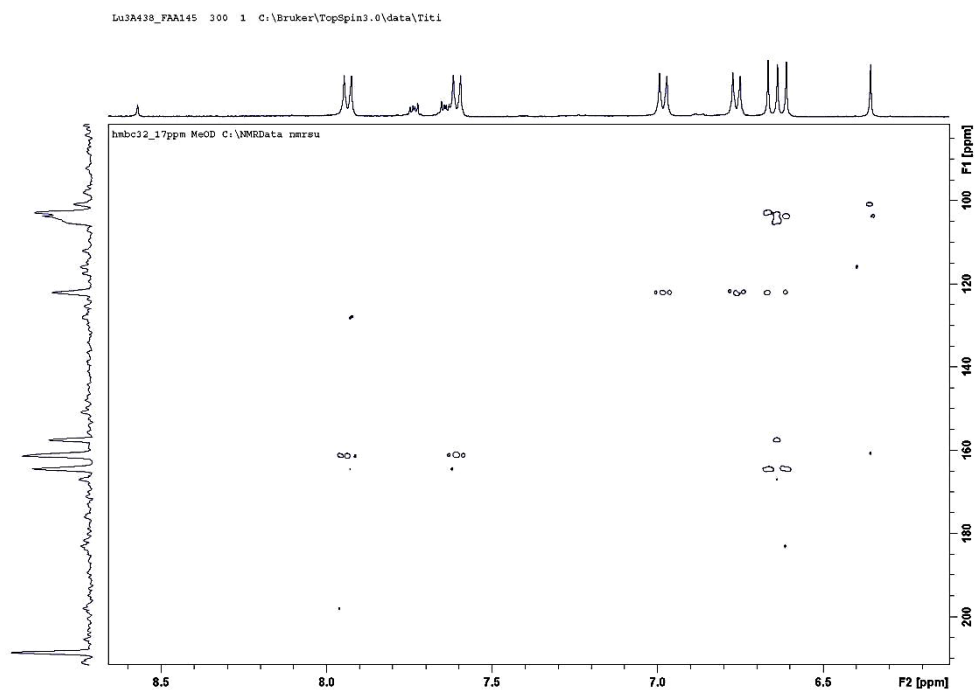


FIGURA 4.22 – Mapa de correlações H-H COSY da substância **FA10** (MeOD-*d*4, 400 MHz).

A análise do espectro de HMBC (**Figura 4.24**) mostra a correlação dos sinais de hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,66 com os de carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  122,1 (C-1') e 166,8 (C-2); o singlete em  $\delta_{\text{H}}$  6,63 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  157,0 (C-9); 103,7 (C-10) e 103,6 (C-6). Estes sistemas correspondem ao anel A e C da flavona I.

FIGURA 4.23 - Mapa de contorno HSQC da substância **FA10** (MeOD-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz).FIGURA 4.24 - Mapa de contorno HMBC da substância **FA10** (MeOD-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz).

Por fim os dois últimos singletos correspondem ao anel A e C da flavona II, onde está ligada pela posição 8'' com a posição 6 da outra flavona.

A análise do espectro de HMBC (**Figura 4.24**) mostra a correlação do sinal de hidrogênio em  $\delta_H$  6,61 (s) com os dos carbonos em  $\delta_C$  122,0 (C-1'') e 167,0 (C-2'') e por fim o singlete em  $\delta_H$  6,35 se correlaciona com o carbono em  $\delta_C$  101,0 (C-10'').

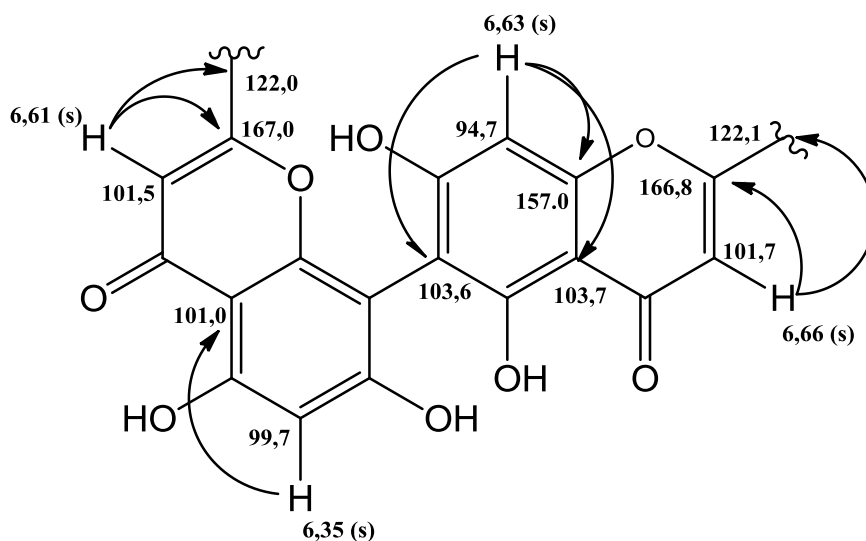


TABELA 4.9 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da substância FA10 e os encontrados na literatura

| H/C     | $\delta_H$ (ppm), J (Hz) |                                  | $\delta_C$ (ppm)  |                                  |
|---------|--------------------------|----------------------------------|-------------------|----------------------------------|
|         | FA10 <sup>a</sup>        | BANDEIRA,<br>(2002) <sup>b</sup> | FA10 <sup>a</sup> | BANDEIRA,<br>(2002) <sup>b</sup> |
| 2       | -                        | -                                | 166,8             | 164,9                            |
| 3       | 6,66 (s)                 | 6,67 (s)                         | 101,7             | 104,0                            |
| 4       | -                        | -                                | no                | 183,2                            |
| 5       | -                        | -                                | no                | 162,8                            |
| 6       | -                        | -                                | 103,6             | 104,7                            |
| 7       | -                        | -                                | no                | 165,2                            |
| 8       | 6,36 (s)                 | 6,75 (s)                         | 94,7              | 95,2                             |
| 9       | -                        | -                                | 157,0             | 158,6                            |
| 10      | -                        | -                                | 103,7             | 104,9                            |
| 1'      | -                        | -                                | 122,1             | 123,3                            |
| 2' e 6' | 7,93 (d, J = 9,0)        | 7,96 (d, J = 8,7)                | 127,6             | 129,3                            |
| 3' e 5' | 6,98 (d, J = 9,0)        | 7,04 (d, J = 8,7)                | 115,2             | 117,0                            |
| 4'      | -                        | -                                | 161,2             | 161,8                            |

|           |                      |                      |       |       |
|-----------|----------------------|----------------------|-------|-------|
| 2''       | -                    | -                    | 167,0 | 165,0 |
| 3''       | 6,61 (s)             | 6,62 (s)             | 101,5 | 103,7 |
| 4''       | -                    | -                    | no    | 183,5 |
| 5''       | -                    | -                    | no    | 162,1 |
| 6''       | 6,35                 | 6,39 (s)             | 99,7  | 100,3 |
| 7''       | -                    | -                    | no    | 164,7 |
| 8''       | -                    | -                    | no    | 100,4 |
| 9''       | -                    | -                    | no    | 156,6 |
| 10''      | -                    | -                    | 101,0 | 105,4 |
| 1'''      | -                    | -                    | 122,0 | 123,6 |
| 2''' 6''' | 7,61 (d, $J = 8,0$ ) | 7,66 (d, $J = 8,7$ ) | 127,5 | 129,1 |
| 3''' 5''' | 6,73 (d, $J = 8,0$ ) | 6,84 (d, $J = 8,7$ ) | 115,1 | 116,8 |
| 4'''      | -                    | -                    | 161,1 | 161,8 |

<sup>a</sup>[MeOD-*d*4, 400 MHz (<sup>1</sup>H) e 100 MHz (<sup>13</sup>C)]; <sup>b</sup>[acetona-*d*6, 500 MHz (<sup>1</sup>H) e 125 MHz (<sup>13</sup>C)];  
[no (não observado)].

O espectro de massas de alta resolução (**Figura 4.25**) foi realizado no modo negativo, pois a estrutura apresenta muitas hidroxilas que são mais facilmente ionizados nesse modo analisando o espectro se pode observar pico  $m/z$  537,0833 que coincide com a massa da estrutura proposta ( $C_{30}H_{18}O_{10} - H$ )

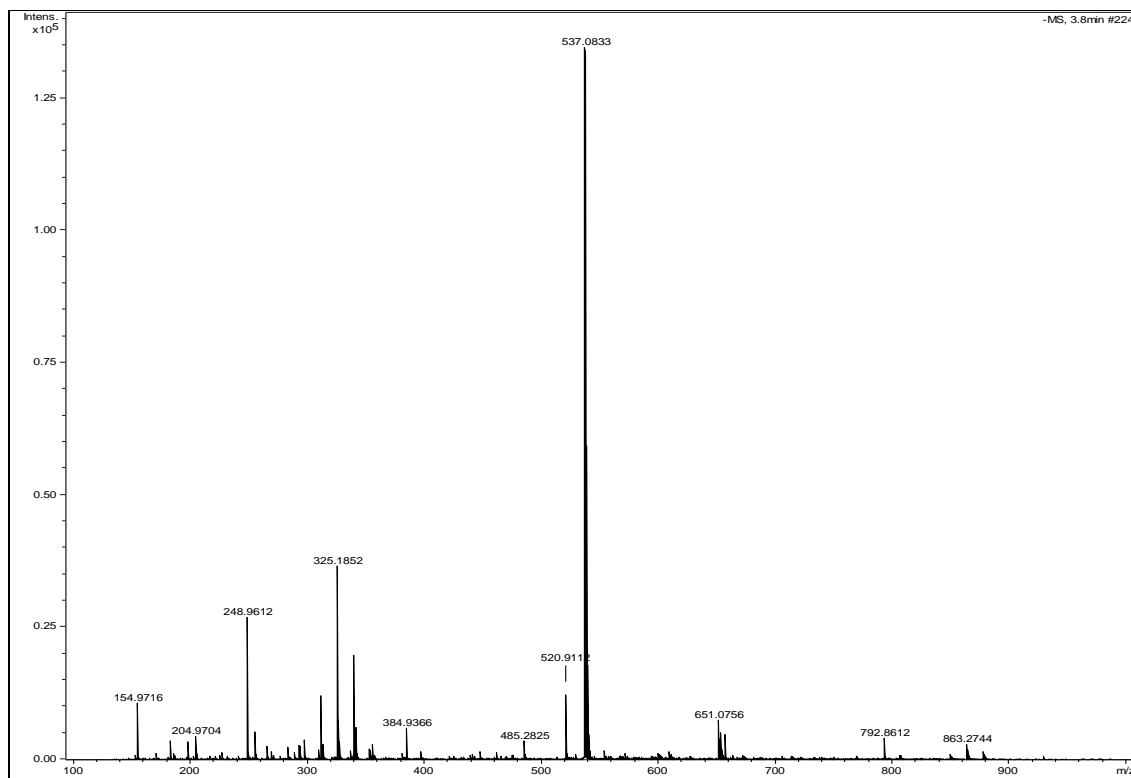
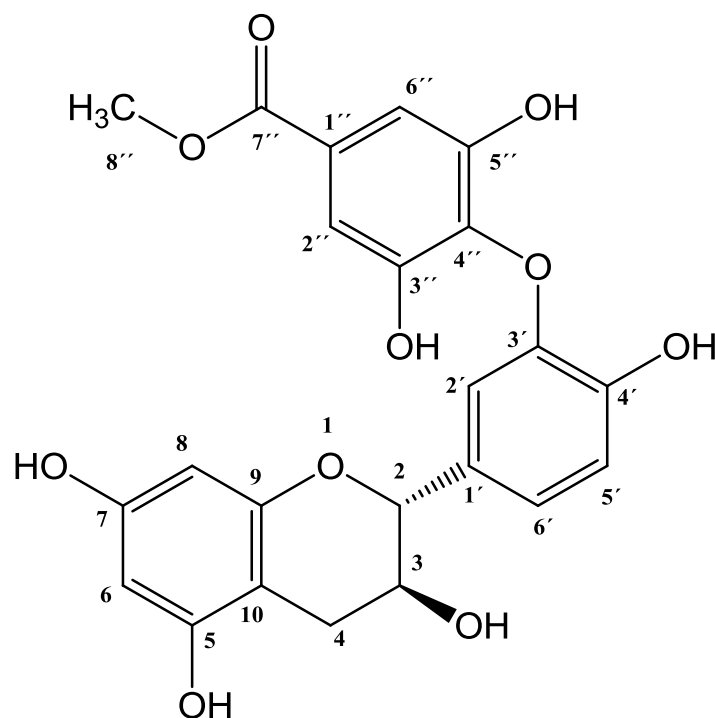


Figura 4.25 – Espectro de massas de alta resolução da substância **FA10** (modo negativo).

#### 4.1.2.10. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE FA11

A substância **FA11** foi isolada da fração acetato de etila das folhas (**Fluxograma 3.6**, p.32), apresentou-se como sólido amorfo de coloração avermelhada e sua determinação estrutural foi realizada através de dados de espectro de RMN de <sup>1</sup>H (**Figura 4.26**), COSY (**Figura 4.27**), HSQC (**Figura 4.28**), HMBC (**Figura 4.29**), espectroscopia de massas (**Figura 4.30**) e dados baseados da literatura considerando duas estruturas distintas: a catequina (DUEÑAS *et al.*, 2012) e o ácido gálico (CERUKS *et al.*, 2007; **Tabela 4.10**). Pode-se concluir que a substância se trata do flavan-3-ol catequina unido por uma ligação éter com um galato de metila na posição 5',4'' denominado 4"-5'-epicatequínilgalato de metila.



O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.26**) do composto mostrou um dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,85 (d,  $J = 2,0$  Hz) correspondendo ao hidrogênio (H-2') acoplado com um duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,74 (dd,  $J = 2,0$  e 8,0 Hz) correspondendo ao hidrogênio (H-6') e um dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,78 (d,  $J = 8,0$  Hz) correspondendo ao hidrogênio (H-5') com acoplamento em orto ao H-2' e meta ao H-6'. Este sistema de acoplamento diz respeito ao anel B do flavan-3-ol e seus acoplamentos foram confirmados pelo mapa de acoplamentos COSY (**Figura 4.27**). O espectro de HSQC (**Figura 4.28**) mostrou que o sinal do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,85 se correlaciona com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  113,7 (C-2'), o dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  6,74 e 6,78 se correlacionam com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  118,6 (C-6') e  $\delta$  114,6 (C-5') respectivamente. O espectro de HMBC (**Figura 4.29**) mostra que o sinal do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,85 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  81,5 (C-2); 118,6 (C-6') e 144,6 (C-4' ou C-5'), sendo este último um carbono fenólico. O sinal do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,74 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  81,5 (C-2); 113,7 (C-2'), 130,7 (C-1') e 144,6 (C-4' ou C-5'), pois apresentam o mesmo deslocamento químico e por fim o sinal do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,78 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  81,54 (C-2), 113,7 (C-2'), 130,7 (C-1') e  $\delta_{\text{C}}$  144,6 (C-4' ou C-5'). Com estas atribuições é possível propor o anel B do Flavan-3-ol.



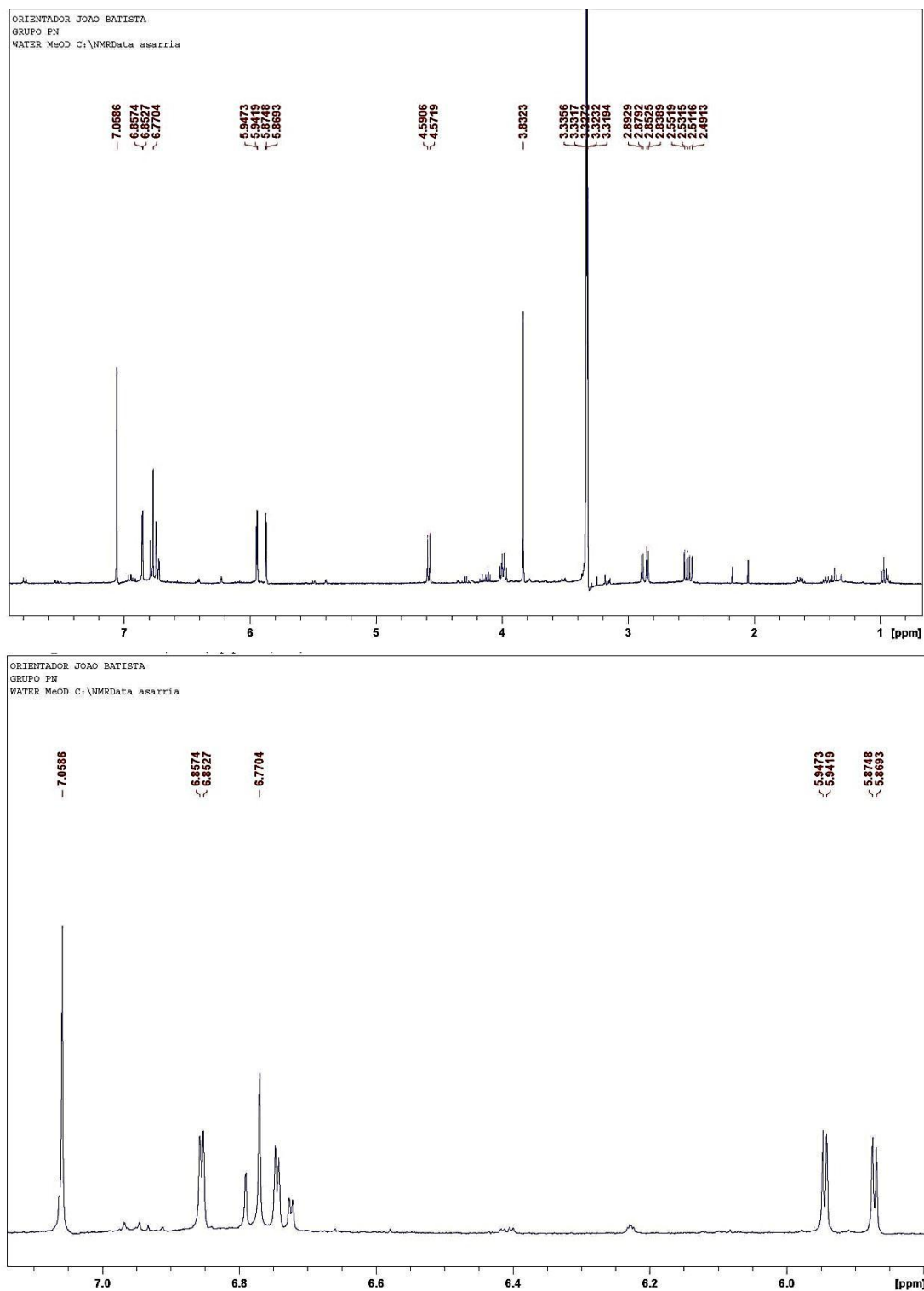


FIGURA 4.26 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (com ampliação) da substância FA11 (MeOD- $d_4$ ; 400 MHz).

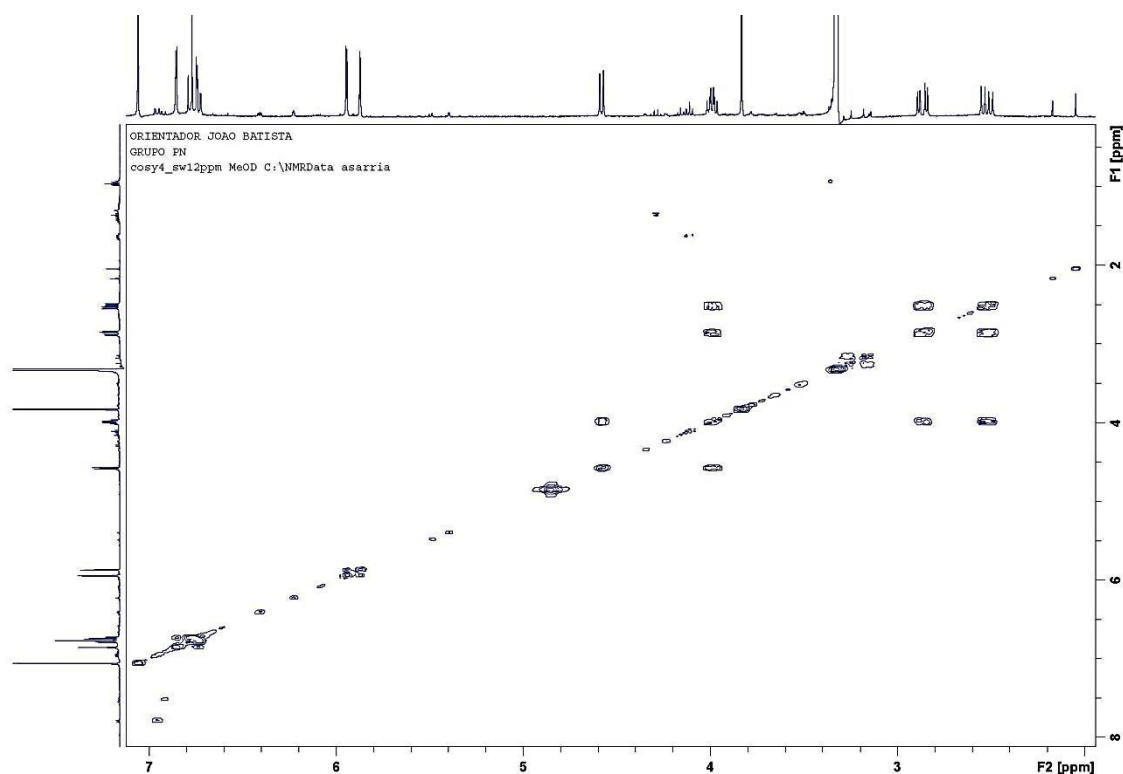


FIGURA 4.27 – Mapa de acoplamentos H-H COSY da substância **FA11** (MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

O anel A foi determinado pelos dois dubletos com acoplamento em meta em  $\delta_{\text{H}}$  5,94 (d,  $J = 2,0$  Hz) correspondendo ao hidrogênio (H-8) e  $\delta_{\text{H}}$  5,86 (d,  $J = 2,0$ ) correspondendo ao hidrogênio (H-6) e este acoplamento foi confirmado pelo mapa de acoplamentos COSY (**Figura 4.27**). O mapa de contornos HSQC (**Figura 4.28**) mostrou que estes dois hidrogênios estão se correlacionando com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  94,9 (C-8) e  $\delta_{\text{C}}$  93,9 (C-6) respectivamente. O espectro de HMBC (**Figura 4.29**) mostrou que o sinal do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,94 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  93,9 (C-6); 99,4 (C-10) e 156,4 (C-7), este último um carbono fenólico. Observou-se também que o sinal do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,86 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  94,9 (C-8); 99,4 (C-10) e 155,6 (C-5).

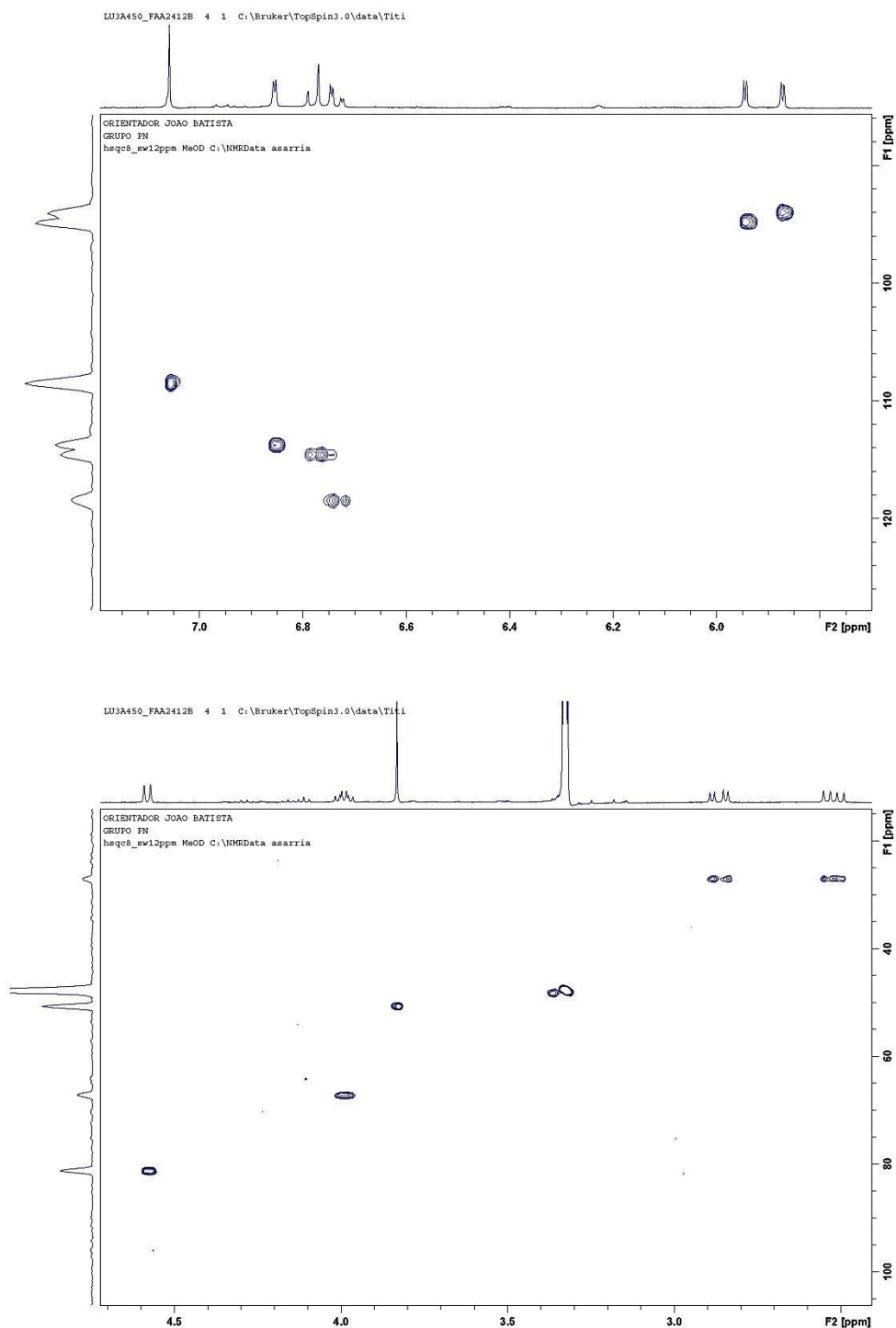


FIGURA 4.28 – Mapa de contorno HSQC (divididos em duas partes) da substância **FA11** (MeOD-*d*4; 400 MHz).

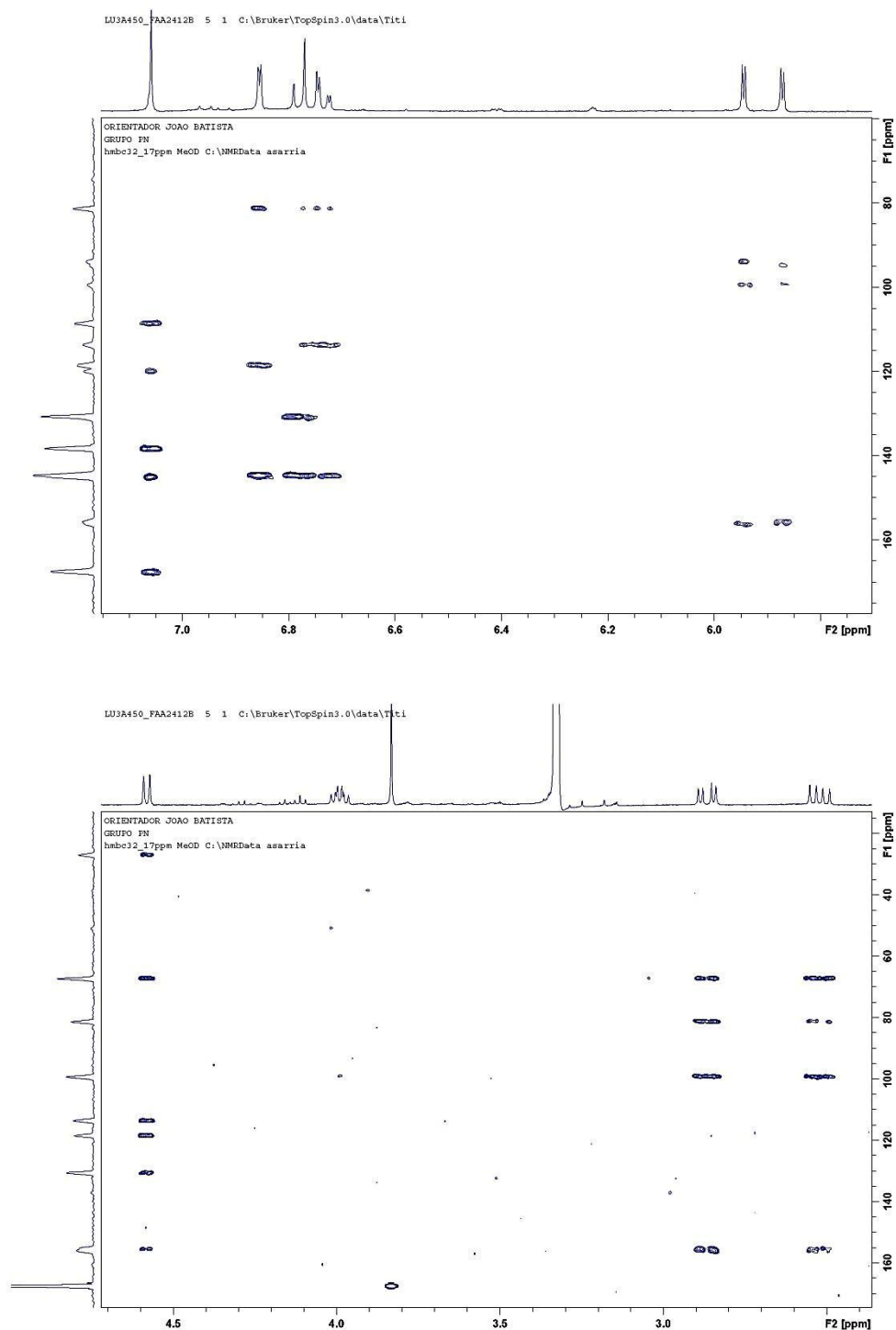


FIGURA 4.29 – Mapa de contorno HMBC (divididos em duas partes) da substância **FA11** (MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

O anel C foi determinado pelo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  4,58 (d,  $J = 8$  Hz) correspondendo ao hidrogênio (H-2), o multipletto em  $\delta_{\text{H}}$  4,00 (m) correspondendo ao hidrogênio carbinólico (H-3) e pelos dois duplos dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  2,86 (dd,  $J = 4,0$  e 16 Hz) correspondendo ao hidrogênio (H-4) axial e  $\delta_{\text{H}}$  2,52 (dd,  $J = 8,0$  e 16 Hz)

correspondendo ao hidrogênio (H-4) equatorial. O mapa de contornos HSQC (**Figura 4.28**) mostrou as correlações dos sinais dos hidrogênios em  $\delta_H$  4,58 com o do carbono em  $\delta_C$  81,5 (C-2),  $\delta_H$  4,00 com o do carbono em  $\delta_C$  67,2 (C-3) e  $\delta_H$  2,86/2,52 com o do carbono em  $\delta_C$  26,9 (C-5). O mapa de contornos HMBC (**Figura 4.29**) mostrou que o sinal do hidrogênio em  $\delta_H$  4,58 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_C$  26,9 (C-5), 67,2 (C-3), 113,7 (C-2'), 118,6 (C-6'), 130,7 (C-1') e 155,0 (C-9). Para o sinal do hidrogênio em  $\delta_H$  3,98 não se observou correlação à longa distância pelo HMBC e finalmente os dois sinais de hidrogênios em  $\delta_H$  2,86 e 2,54 se correlacionam com os dos carbonos em  $\delta_C$  67,2 (C-3); 81,5 (C-2); 99,4 (C-10) e 155,6 (C-5). Com estas atribuições foi possível propôr a estrutura como um flavan-3-ol, catequina, mas se observa também a presença de dois singletos um em  $\delta_H$  7,06 (s) integrando para 2 hidrogênios, que pelo HSQC (**Figura 4.28**) se correlaciona com o do carbono em  $\delta_C$  108,4 e o singlete em  $\delta_H$  3,83 (s) integrando para 3 hidrogênios e que pelo HSQC (**Figura 4.28**) se correlaciona com o do carbono em  $\delta_C$  50,6. Estes sinais são bem característicos de galato de metila o que poderia supor que se tinha uma mistura de flavan-3-ol (catequina) e galato de metila.

Sugere-se que a ligação éter (que une a catequina com o galato de metila) está sendo feita pela posição 3' da catequina, pois se observa um ligeiro deslocamento de carbono/hidrogênio de seu vizinho (posição 2) (**Tabela 4.10**) na catequina este deslocamento é 115,3 ppm e neste composto é 113,7 ppm o que pode ser sugerido que a posição 3' se encontra numa ligação éter com a hidroxila central do galato de metila, que também se sugere que seja a hidroxila central (posição 4'') pois não houve uma separação de sinais para o singlete em  $\delta_H$  7,06 (s) que continuou sendo simétrico.

TABELA 4.10 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da substância **FA11** juntamente com os dados encontrados na literatura para a catequina e para o galato de metila

| H/C     | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), $J$ (Hz) |  | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |  |       |
|---------|-------------------------------------|--|---------------------------|--|-------|
|         | FA11 <sup>a</sup>                   | DUEÑAS <i>et al.</i> (2012) <sup>b</sup> ;<br>CERUKS <i>et al.</i> (2007) <sup>c</sup> | FA11 <sup>a</sup>         | DUEÑAS <i>et al.</i> (2012) <sup>b</sup> ;<br>CERUKS <i>et al.</i> (2007) <sup>c</sup> |       |
| 2       | 4,58 (d, $J = 8,0$ )                | 4,88 (s)   | 81,5                      | 79,8   | -     |
| 3       | 4,00 (m)                            | 4,16 (m)   | 67,2                      | 67,4   | -     |
| 4 eq    | 2,86 (dd, $J = 4,0$ e $16,0$ )      | 2,72 (dd, $J = 2,8$ ; $16,8$ )   | 26,9                      | 29,2   | -     |
| 4 ax    | 2,52 (dd, $J = 8,0$ e $16,0$ )      | 2,85 (dd, $J = 4,5$ ; $16,7$ )   | -                         | -  | -     |
| 5       | -                                   | -  | 155,6                     | 157,6  | -     |
| 6       | 5,86 (d, $J = 2,0$ )                | 5,90 (d, $J = 2,3$ )   | 93,9                      | 95,8   | -     |
| 7       | -                                   | -  | 156,4                     | 158,0  | -     |
| 8       | 5,94 (d, $J = 2,0$ )                | 5,93 (d, $J = 2,3$ )   | 94,9                      | 96,3   | -     |
| 9       | -                                   | -  | 155,0                     | 157,3  | -     |
| 10      | -                                   | -  | 99,4                      | 100,8  | -     |
| 1'      | -                                   | -  | 130,7                     | 132,3  | -     |
| 2'      | 6,85 (d, $J = 2,0$ )                | 6,96 (d, $J = 1,9$ )   | 113,7                     | 115,3  | -     |
| 3'      | -                                   | -  | 144,6*                    | 145,9  | -     |
| 4'      | -                                   | -  | 144,6                     | 145,7  | -     |
| 5'      | 6,78 (d, $J = 8,0$ )                | 6,74 (d, $J = 8,1$ )   | 114,6                     | 115,8  | -     |
| 6'      | 6,74 (dd, $J = 2,0$ e $8,0$ )       | 6,79 (dd, $J = 1,9$ e $8,1$ )  | 118,6                     | 119,3  | -     |
| 1''     | -                                   | -  | 119,2                     | -  | 119,4 |
| 2''/6'' | 7,06 (s; 2H)                        | 6,92 (s; 2H)   | 110,0                     | -  | 108,6 |
| 4''     | -                                   | -  | 138,0                     | -  | 138,4 |
| 3''/5'' | -                                   | -  | 145,3                     | -  | 145,6 |
| 7''     | -                                   | -  | 167,7                     | -  | 166,4 |
| 8''     | 3,83 (s; 3H)                        | 3,73 (s; 3H)   | 50,7                      | -  | 51,7  |

<sup>a</sup> [MeOD- $d_3$ , 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ )], <sup>b</sup> [Acetona- $d_6$ , 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ )], <sup>c</sup> [MeOD- $d_3$ , 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ )]; [no (não observado)]; \* atribui-se o mesmo deslocamento ou deslocamentos muito próximos.

Para confirmar o peso molecular e como consequência a fórmula molecular da substância **FA11**, foi realizado o experimento de massas de alta

resolução no modo positivo e negativo. O modo positivo (**Figura 4.30**) apresentou a melhor resolução, já que o composto apresenta metoxila, sendo que se comportam melhor o ganho de próton e subsequente perda de metanol. Assim, através do resultado foi confirmando a massa de 425.2151 Da, onde se verificou o pico correspondente de  $[M - 32]^+$  e assim se confirma a proposta estrutural para o composto com fórmula molecular  $C_{23}H_{20}O_{10}$ .

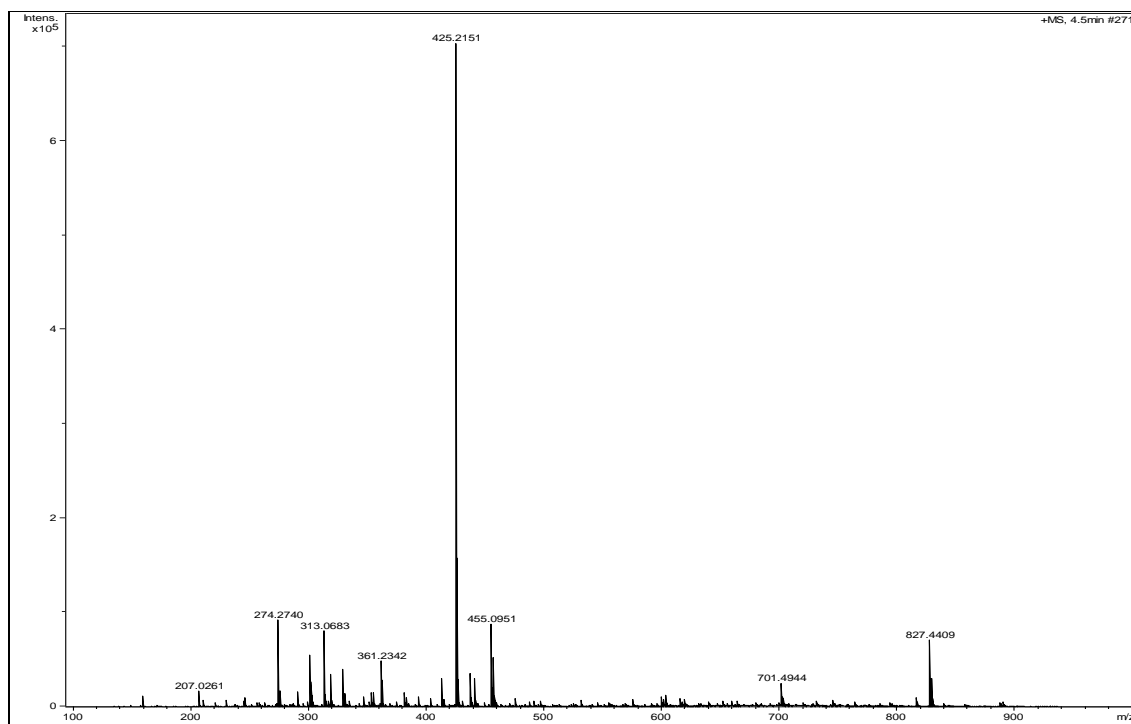
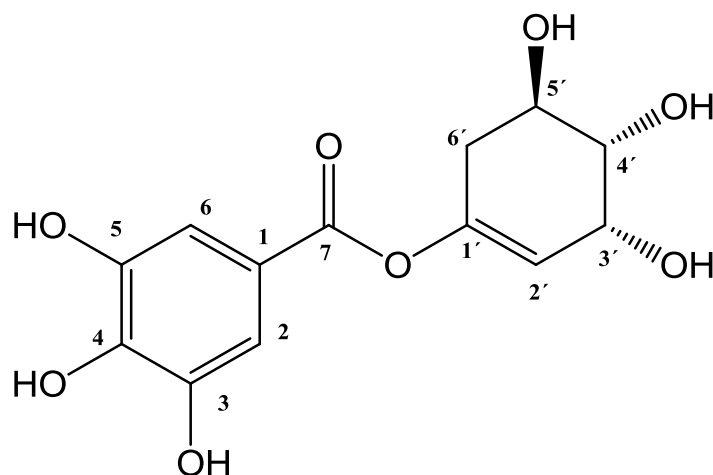


FIGURA 4.30 – Espectro de massas de alta resolução para a substância **FA11** (modo positivo).

#### 4.1.2.11. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE FA12

A substância **FA12** foi isolada da fração acetato de etila das folhas (**Fluxograma 3.7**, p.33), apresentou-se como sólido de aspecto oleoso translúcido de coloração verde claro, solúvel em metanol e água e sua determinação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de  $^1H$  (**Figura 4.31**), COSY (**Figura 4.32**), HSQC (**Figura 4.33**), HMBC (**Figura 4.34**) e os dados de RMN estão representados na **Tabela 4.11** e se trata de um derivado ácido gálico esterificado com 1-(3,4,5-trihidroxiciclohex-1-en), o galato de 1-(3,4,5-trihidroxiciclohex-1-enila).



No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.31**) observou-se um sistema de dois duplo dubletos, um em  $\delta_{\text{H}}$  2,19 (dd,  $J = 6,8$  e  $18,0$  Hz) que se acopla com o duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  2,81 (dd,  $J = 5,2$  e  $18,0$  Hz) este sistema é referente ao hidrogênio (H-6') um equatorial e outro axial, que acoplam também com o multipletto em  $\delta_{\text{H}}$  3,95 (m) referente ao hidrogênio (H-5').

Observou-se também um duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  3,58 (dd,  $J = 4,4$  e  $8,4$  Hz) referente ao hidrogênio (H-4') que se acopla com o multipletto em  $\delta_{\text{H}}$  4,33 (m) referente ao hidrogênio (H-3'). Também se observa um singletto largo em  $\delta_{\text{H}}$  6,6 (sl) referente ao hidrogênio (H-2') que acopla com o sinal do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  4,33 (m) (**Tabela 4.11**), sendo estes acoplamentos confirmados pela análise do mapa de acoplamentos COSY (**Figura 4.32**). As constantes de acoplamento são equivalentes àquelas do ácido chiquímico e esta sendo proposta como relativa 3R (OH  $\alpha$ ), 4S (OH  $\alpha$ ) e 5R (OH  $\beta$ ). Estes acoplamentos mostram a atribuição do anel ciclohexeno tetrasubstituído. O mapa de contornos HSQC (**Figura 4.33**) revelou as correlações dos sinais dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  2,19 e 2,81 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  33,8 (C-6'), a correlação do sinal do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  3,95 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  68,5 (C-5'), do  $\delta_{\text{H}}$  3,59 com  $\delta_{\text{C}}$  73,9 (C-4'), do  $\delta_{\text{H}}$  4,33 com  $\delta_{\text{C}}$  67,8 (C-3') e finalmente o  $\delta_{\text{H}}$  6,6 com o  $\delta_{\text{C}}$  133,7 (C-2'). A análise do mapa de contornos HMBC (**Figura 4.34**) mostra a correlação do sinal do duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  2,19 e 2,81 com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  68,5 (C-5'), 73,9 (C-4'), 133,7 (C-2') e 135,9 (C-1'); o duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  3,59 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  33,8 (C-6'), 68,5 (C-5') e 133,7 (C-2'); o multipletto em  $\delta_{\text{H}}$  3,95 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  67,8 (C-3'), 73,9 (C-4'), 133,7 (C-2') e 135,9 (C-1'); o tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  4,33 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  68,5 (C-5'), 73,9 (C-4'), 133,7 (C-2') e 135,9 (C-1') e finalmente o



singleto largo em  $\delta_H$  6,6 se correlaciona com os dois carbonos em  $\delta_C$  33,8 (C-6') e 73,9 (C-4'). Com estas atribuições é possível propor o anel 3,4,5-ciclohexen-1-ila.

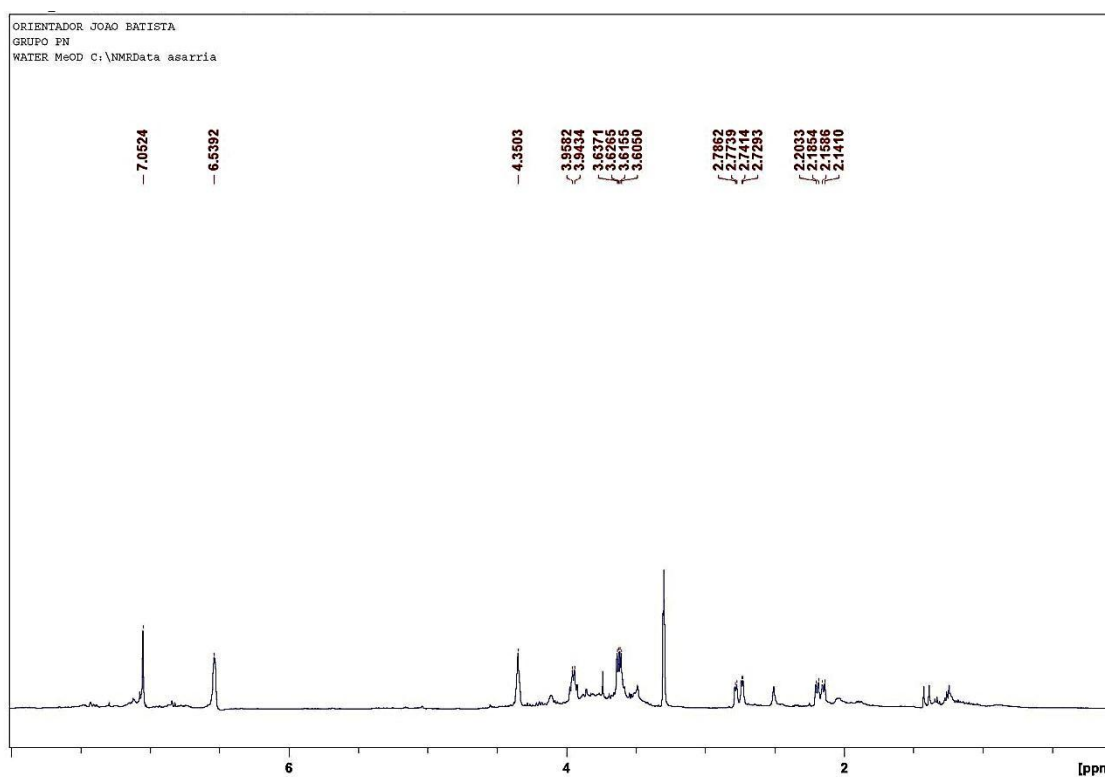
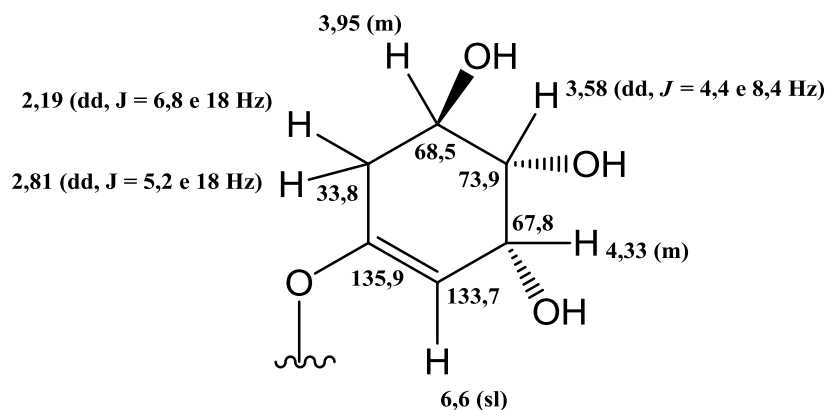


FIGURA 4.31 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **FA12** (MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

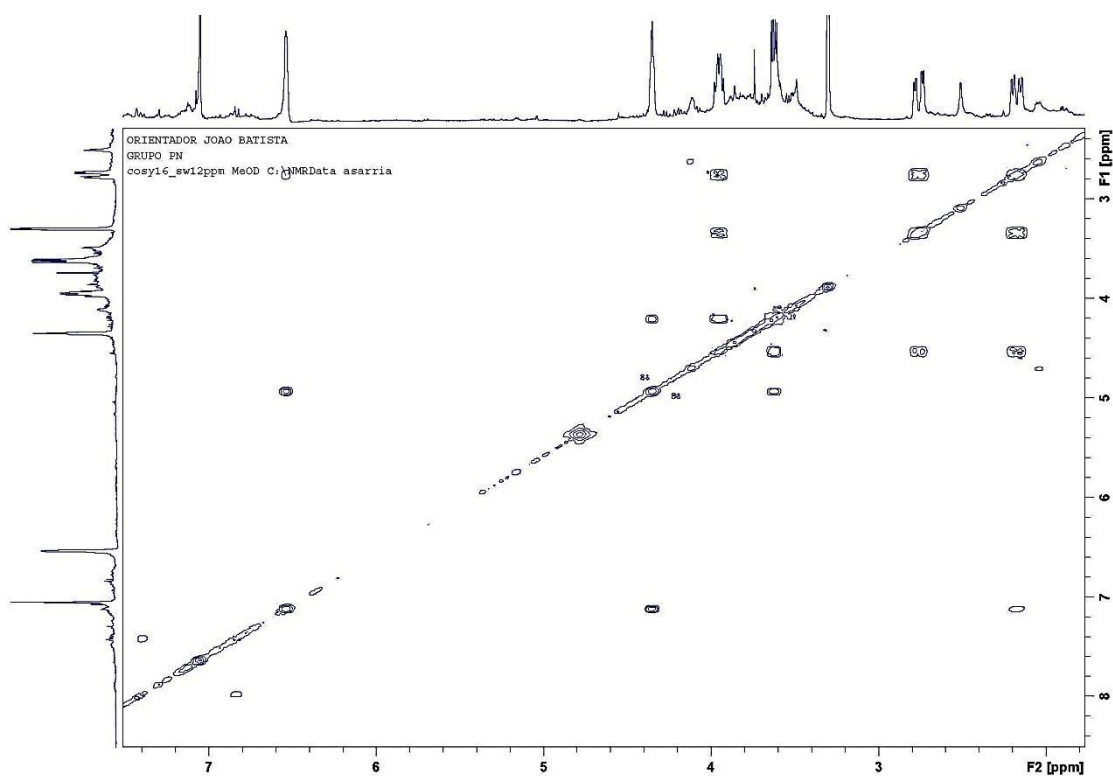


Figura 4.32 – Mapa de correlações H-H COSY da substância **FA12** (MeOD-*d*4; 400 MHz).

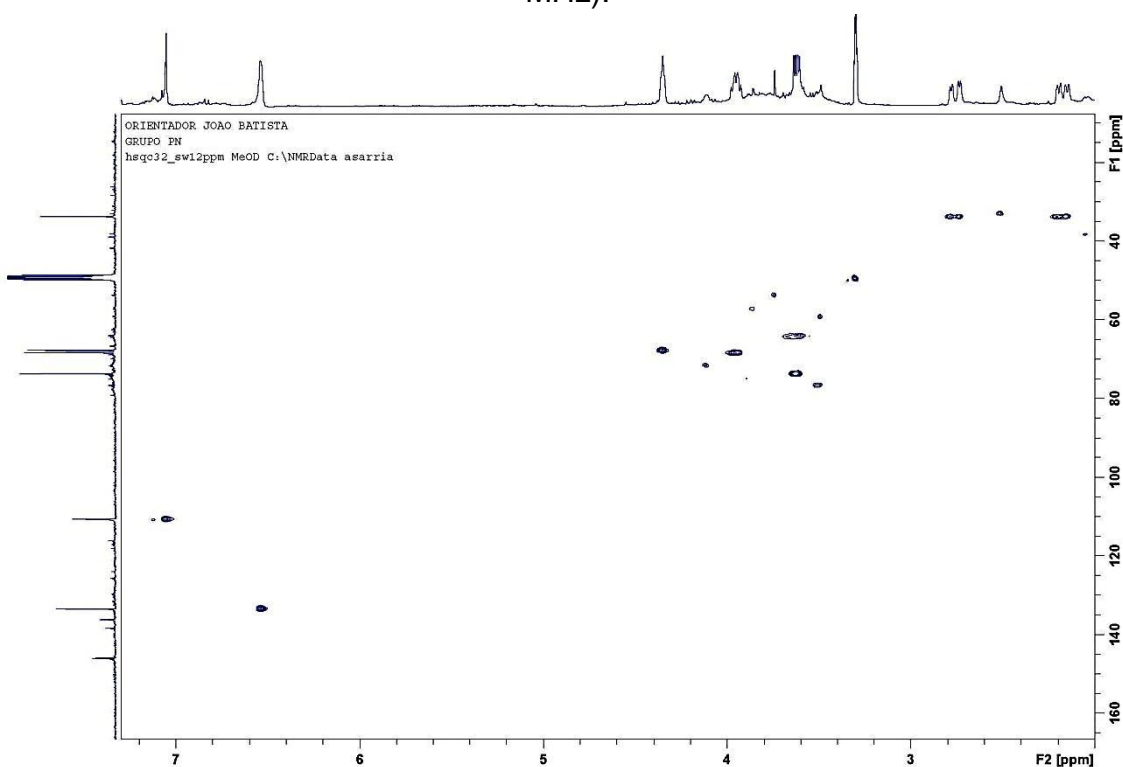


FIGURA 4.33 – Mapa de contorno HSQC da substância **FA12** (MeOD-*d*4; 400 MHz).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 4.31) mostrou também um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  7,06 (s) referente ao hidrogênio (H-2 e 6) e o mapa de contornos HSQC

(Figura 4.33) revelou que ele se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_C$  110,3 (C-2,6); pelo mapa de contorno HMBC (Figura 4.34) este hidrogênio se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_C$  125,7 (C-1); 138,4 (C-4); 146,2 (C-3,5) estes dois últimos são sinais de carbonos fenólicos e finalmente com o do carbono em 172,9 (C-7) (um carbono de carbonila).

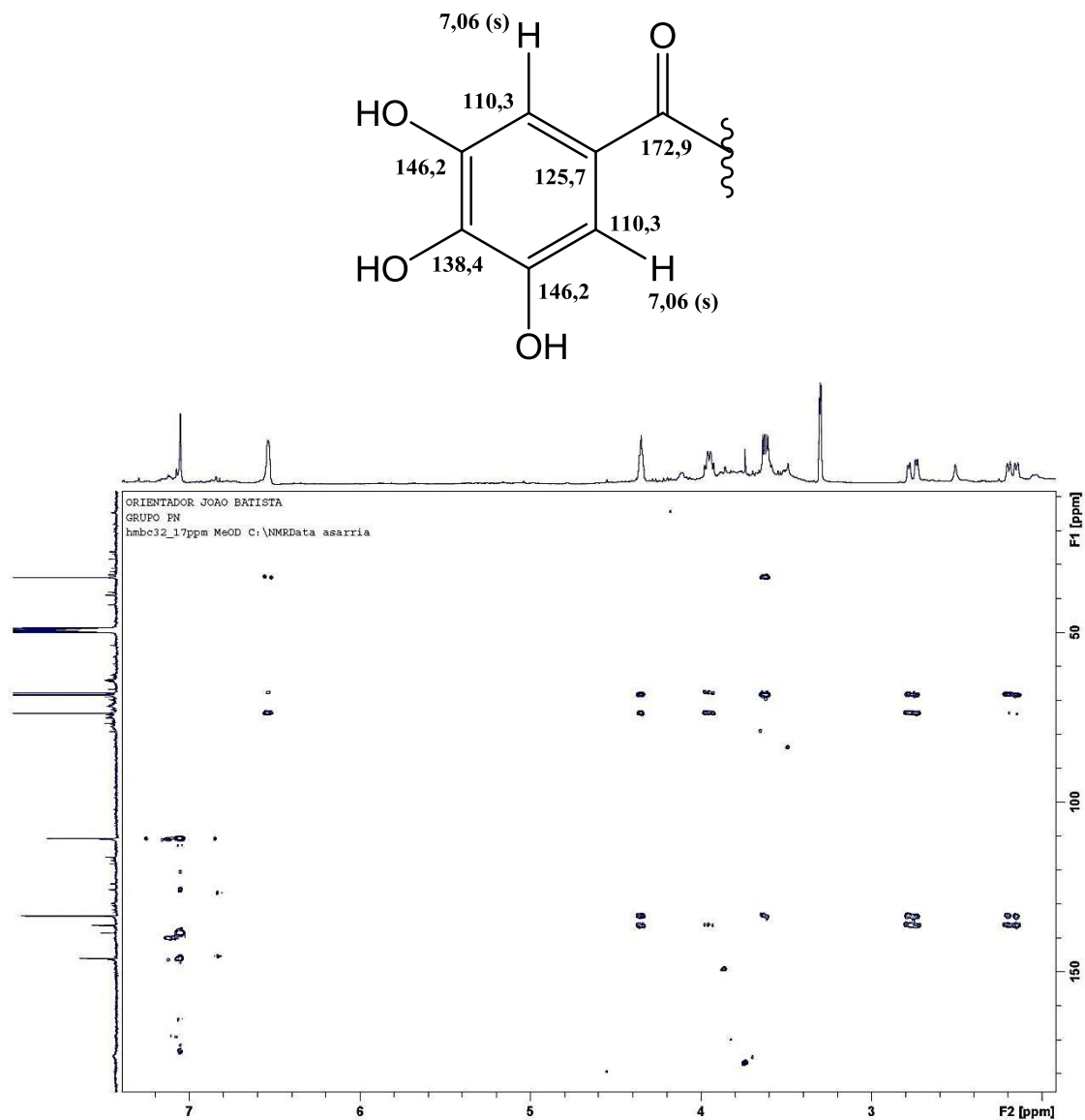


FIGURA 4.34 – Mapa de contorno HMBC da substância **FA12** (MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

TABELA 4.11 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da substância **FA12**

| H/C | $\delta_H$ (ppm), J (Hz) | $\delta_C$ (ppm) |
|-----|--------------------------|------------------|
|     | 1                        | -                |
| 2/6 | 7,06 (s; 2H)             | 110,3            |

|    |                                |       |
|----|--------------------------------|-------|
| 3  | -                              | 146,2 |
| 4  | -                              | 138,4 |
| 5  | -                              | 146,2 |
| 7  | -                              | 172,9 |
| 1' | -                              | 135,9 |
| 2' | 6,6 (sl)                       | 133,7 |
| 3' | 4,33 (m)                       | 67,8  |
| 4' | 3,58 (dd, $J = 4,4$ e $8,4$ )  | 73,9  |
| 5' | 3,95 (m)                       | 68,5  |
| 6' | 2,19 (dd, $J = 6,8$ e $18,0$ ) | 33,8  |
| -  | 2,81 (dd, $J = 5,2$ e $18,0$ ) | -     |

#### 4.1.2.12. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE FA13

A substância **FA13** foi isolada da fração metanólica das folhas (p.34), sua identificação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC e HMBC (**Figuras 4.35 a 4.39, Apêndice I**) e comparação com aqueles da literatura (MINGFU WANG *et al.*, 1999; MARKHAM e TERNAL, 1976; **Tabela 4.12 e 4.13**). Pode-se concluir que a substância se trata da do flavonóide glicosilado quercetina 3-O rutinosideo, conhecido como rutina.

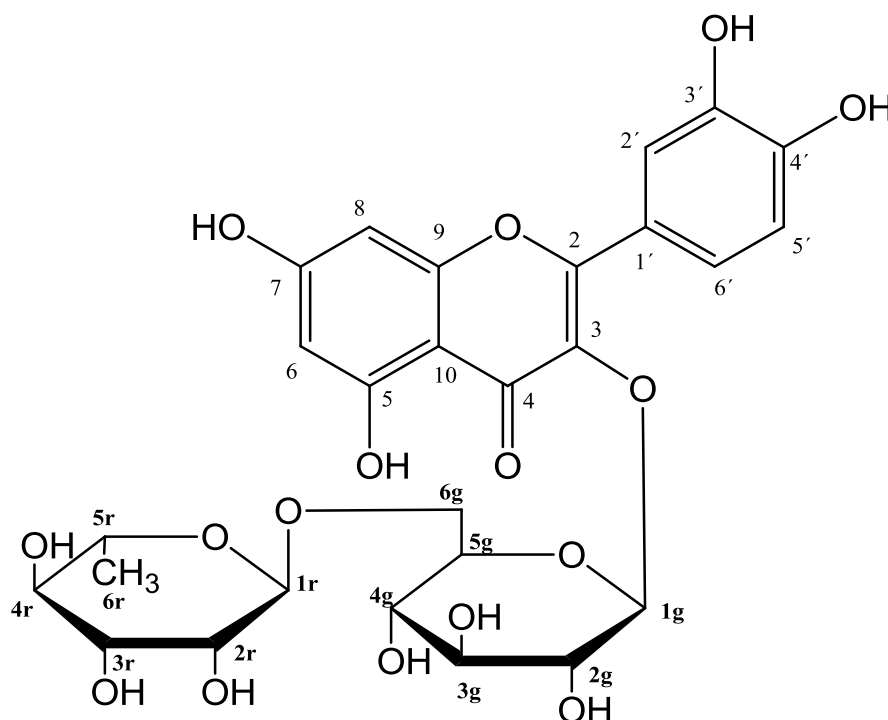


TABELA 4.12 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da aglicona da substância **FA13** e os encontrados na literatura

| H/C | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), $J$ (Hz) |   | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |   |
|-----|-------------------------------------|---|---------------------------|---|
|     | FA13 <sup>a</sup>                   | MINGFU <i>et al.</i><br>(1999) <sup>b</sup> | FA13 <sup>a</sup>         | MINGFU <i>et al.</i><br>(1999) <sup>b</sup> |
| 2   | -                                   | -   | 156,6                     | 156,4                                       |
| 3   | -                                   | -   | 133,3                     | 133,6                                       |
| 4   | -                                   | -   | 177,4                     | 177,4                                       |
| 5   | -                                   | -   | 161,2                     | 161,2                                       |
| 6   | 6,19 (d, $J = 2,0$ )                | 6,22 (s)                                    | 98,7                      | 98,8  |
| 7   | -                                   | -   | 164,0                     | 164,0                                       |
| 8   | 6,38 (d, $J = 2,0$ )                | 6,41 (sl)                                   | 93,6                      | 93,6  |
| 9   | -                                   | -   | 156,7                     | 156,6                                       |
| 10  | -                                   | -   | 104,0                     | 105,2                                       |
| 1'  | -                                   | -   | 121,4                     | 121,6                                       |
| 2'  | 7,55 (d, $J = 2,0$ )                | 7,56 (m)                                    | 116,4                     | 115,3                                       |
| 3'  | -                                   | -   | 144,8                     | 148,3                                       |
| 4'  | -                                   | -   | 144,3                     | 144,6                                       |
| 5'  | 6,84 (d, $J = 8,3$ )                | 6,86 (d, $J = 9,0$ )                        | 115,1                     | 116,5                                       |
| 6'  | 7,53 (dd, $J = 2,0$ e $8,3$ )       | 7,56 (m) <sup>c</sup>                       | 121,7                     | 121,6                                       |

<sup>a</sup> [DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ )]; <sup>b</sup> [DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 50 MHz ( $^{13}\text{C}$ )].

O rutinosídeo foi determinado pelos deslocamentos dos carbonos encontrados e os dados foram comparados com os da literatura, pois no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a região correspondente aos açúcares estão bem “congestionados” não sendo possível atribuir multiplicidades, mas já se pode atribuir alguns sinais como indiscutíveis quanto a sua posição: o dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  5,35 (d,  $J = 4,0$  Hz) que corresponde ao hidrogênio anomérico da glicose (H-1g) e pelo HSQC (**Figura 4.38, Apêndice I**) este hidrogênio se correlaciona com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  101,2 (C-1g) e pelo HMBC (**Figura 4.39, Apêndice I**) este hidrogênio se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  74,13 (C-2g) e 133,3 (C-3) da flavona. O dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  4,38 (d,  $J = 12,0$  Hz) que corresponde ao outro hidrogênio anomérico (H-1r) pertencente à ramnose, pelo HSQC este sinal de hidrogênio se correlaciona com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  100,7 (C-1r). O dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  3,70 (d,  $J = 0,7$  Hz) integra para dois hidrogênios e

corresponde aos hidrogênios metilênicos da posição (H-6g), pelo HSQC estes sinais de hidrogênios se correlacionam ao do carbono em  $\delta_C$  66,9 (C-6g). O duplete em  $\delta_H$  0,99 (d,  $J = 6,2$  Hz) corresponde à metila terminal da ramnose e pelo HSQC este sinal de hidrogênios se correlaciona com o do carbono em  $\delta_C$  17,1. Os outros sinais correspondem a multipletos entre  $\delta_H$  3,28 – 3,22 (m) e  $\delta_H$  3,10 – 3,05 (m), que correspondem aos hidrogênios carbinólicos das duas unidades do açúcar. Os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  do rutinosídeo estão apresentados na **Tabela 4.13** e seus valores foram comparados com os da literatura.

TABELA 4.13 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  do rutinosídeo da substância **FA13** e os encontrados na literatura

| H/C          | $\delta_H$ (ppm), $J$ (Hz) |                   | $\delta_C$ (ppm)  |                                      |
|--------------|----------------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------------|
|              | FA13 <sup>a</sup>          | FA13 <sup>a</sup> | FA13 <sup>a</sup> | MARKHAN e TERNAI (1976) <sup>b</sup> |
| 1g           | 5,35 (d, $J = 4,0$ )       |                   | 101,2             | 103,4                                |
| 1r           | 4,38 (d, $J = 12,0$ )      |                   | 100,7             | 102,0                                |
| 6g           | 3,70 (d, $J = 10,2$ )      |                   | 66,9              | 68,7                                 |
| 6r (ramnose) | 0,99 (d, $J = 6,2$ )       |                   | 17,1              | 18,6                                 |
| 2g           | -                          |                   | 74,0              | 75,3                                 |
| 3g           | -                          |                   | 78,4              | 77,4                                 |
| 4g           | -                          |                   | 70,0              | 71,1                                 |
| 5g           | -                          |                   | 75,9              | 76,6                                 |
| 2r           | -                          |                   | 70,3              | 71,5                                 |
| 3r           | -                          |                   | 70,5              | 71,7                                 |
| 4r           | -                          |                   | 71,8              | 73,2                                 |
| 5r           | -                          |                   | 68,2              | 69,7                                 |

<sup>a</sup> [DMSO-*d*6, 40-0 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ )]; <sup>b</sup> [DMSO-*d*6, 25,15 MHz ( $^{13}\text{C}$ )].

#### 4.1.2.13. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE FA14

A substância **FA14** foi isolada da fração metanólica das folhas (**Fluxograma 3.9**, p.35), sua determinação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , COSY, HSQC e HMBC (**Figura 4.40 a 4.43**, **Apêndice I**, **Tabela 4.14**) os dados de literatura utilizados foram para a aglicona: a substância

denominada Naringina Chalcona (SEIDEL *et al.*, 2000), pois é a mesma aglicona excetuando-se pela ausência de oxigênio na posição 8 e para a ramnose (ABRAHAM, *et al.*, 2007). Conclui-se que a substância se trata da chalcona apigenina 3-O- ramnosídeo ainda não descrita na literatura.

É importante ressaltar que estruturas desse tipo podem sofrer facilmente adição de Michael da hidroxila da posição 6' com a dupla ligação da posição 7, formando a flavona apigenina 3-O- ramnosídeo.

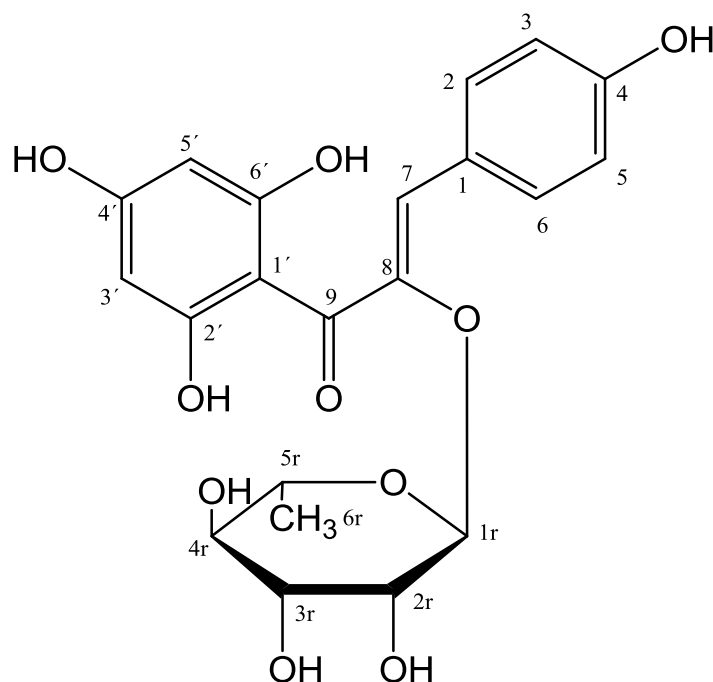


TABELA 4.14 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da substância **FA14** e os encontrados na literatura

| H/C | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), $J$ (Hz) |   | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |   |
|-----|-------------------------------------|---|---------------------------|---|
|     | FA14 <sup>a</sup>                   | SEIDEL <i>et al.</i> (2000) <sup>b</sup> e ABRAHAM, <i>et al.</i> (2007) <sup>c</sup> | FA14 <sup>a</sup>         | SEIDEL <i>et al.</i> (2000) <sup>b</sup> e ABRAHAM, <i>et al.</i> (2007) <sup>c</sup> |
| 1   | -                                   | -   | 123,0                     | 128,5   |
| 2/6 | 7,76 (d, $J = 8,8$ ; 2H)            | 7,57(d, $J = 8,8$ ; 2H)   | 131,9                     | 130,4   |
| 3/5 | 6,93 (d, $J = 8,8$ ; 2H)            | 6,94 (d, $J = 8,8$ ; 2H)  | 116,6                     | 114,6   |
| 4   | -                                   | -   | 161,8                     | 161,6   |
| 7   | 7,03* (s)                           | 7,81 (s)  | 110,2*                    | 125,3   |
| 8   | -                                   | 5,56 (s)  | 138,4                     | 142,9   |

|      |                          |                      |             |             |
|------|--------------------------|----------------------|-------------|-------------|
| 9    | -                        | -                    | 173,3       | 192,9       |
| 1'   | -                        | -                    | 109,6       | 106,8       |
| 2'   | -                        | -                    | 159,7       | 168,1       |
| 3'   | 6,20 (d, $J = 1,6$ )     | 6,04 (d, $J = 2,4$ ) | 99,7        | 97,0        |
| 4'   | -                        | -                    | 144,0       | -           |
| 5'   | 6,37 (d, $J = 1,6$ )     | 5,96 (d, $J = 2,4$ ) | 94,8        | 91,2        |
| 6'   | -                        | -                    | 146,4       | 163,4       |
| 1r   | 5,37 (d, $J = 1,6$ )     | 5,50 (d, $J = 2,3$ ) | 103,6       | 104,0       |
| 2-5r | 4,21-3,37 (m)            | 4,10 – 4,67 (m)      | 73,5 - 71,0 | 71,7 - 68,1 |
| 6r   | 0,92 (d, $J = 5,2; 3H$ ) | 0,79 (d, $J = 5,3$ ) | 17,2        | 17,8        |

<sup>a</sup> [MeOD-*d*3, 400 MHz (<sup>1</sup>H) e 100 MHz (<sup>13</sup>C)]; <sup>b</sup> [CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz (<sup>1</sup>H) e 100 MHz (<sup>13</sup>C)]; <sup>c</sup> [MeOD-*d*3, 500 MHz (<sup>1</sup>H) e 125,65 MHz (<sup>13</sup>C)]; \* valor diferente da referência pois neste caso é devido a ser vizinho do enol.

#### 4.1.2.14. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE FA15

A substância **FA15** foi isolada da fração metanólica das folhas (**Fluxograma 3.9**, p.35), sua identificação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de <sup>1</sup>H, RMN de <sup>13</sup>C, COSY, HSQC e HMBC (**Figuras 4.44 a 4.48, Apêndice I**) e dados da literatura (CERUKS *et al.*, 2007; **Tabela 4.15**). Pode-se concluir que a substância era o flavonóide glicosilado 3',4',5',5,7-pentahidroxiavona – 3-O- ramnosil conhecido como Miricetrina.



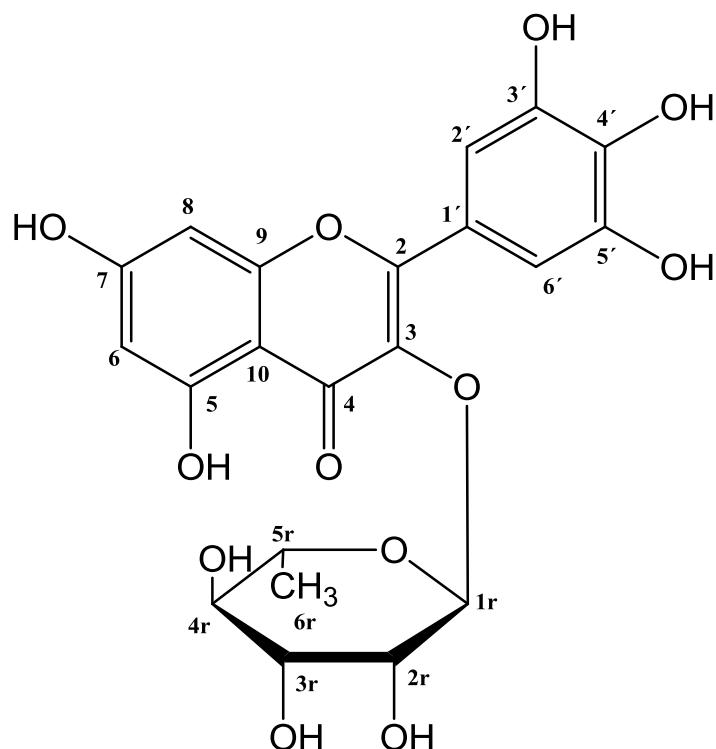


TABELA 4.15 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da substância **FA15** e os encontrados na literatura

| H/C     | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), $J$ (Hz) |  | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |  |
|---------|-------------------------------------|--|---------------------------|--|
|         | FA15 <sup>a</sup>                   | CERUKS <i>et al.</i> (2007) <sup>b</sup> | FA15 <sup>a</sup>         | CERUKS <i>et al.</i> (2007) <sup>b</sup> |
| 2       | -                                   | -  | 158,5                     | 158,3                                    |
| 3       | -                                   | -  | 136,3                     | 134,5                                    |
| 4       | -                                   | -  | 179,6                     | 177,9                                    |
| 5       | -                                   | -  | 163,2                     | 162,9                                    |
| 6       | 6,19 (d, $J = 2,4$ )                | 6,18 (d; 1,8)                            | 99,8                      | 99,9                                     |
| 7       | -                                   | -  | 166,0                     | 165,4                                    |
| 8       | 6,35 (d, $J = 2,4$ )                | 6,36 (d; 1,8)                            | 94,7                      | 94,3                                     |
| 9       | -                                   | -  | 159,5                     | 157,5                                    |
| 10      | -                                   | -  | 105,8                     | 105,0                                    |
| 1'      | 6,9 (s, 2H)                         | 7,04(s)                                  | 121,9                     | 122,5                                    |
| 2' e 6' | -                                   | -  | 109,5                     | 109,5                                    |
| 3'      | -                                   | -  | 146,8                     | 146,4                                    |
| 4'      | -                                   | -  | 137,9                     | 137,1                                    |
| 5'      | -                                   | -  | 146,8                     | 146,4                                    |

|      |                      |                      |             |             |
|------|----------------------|----------------------|-------------|-------------|
| 1r   | 5,33 (d, $J = 1,2$ ) | 5,43 (d, $J = 1,3$ ) | 103,6       | 102,0       |
| 2-5r | 3,3 - 4,2 (m)        | 3,1 - 4,0 (m)        | 71,8 - 73,3 | 69,6 - 71,3 |
| 6r   | 0,98 (d, $J = 6,4$ ) | 0,79 (d, $J = 5,3$ ) | 17,6        | 17,3        |

<sup>a</sup> [MeOD-*d*3, 400 MHz (<sup>1</sup>H) e 100 MHz (<sup>13</sup>C)]; <sup>b</sup> [DMSO-*d*6, 300 MHz (<sup>1</sup>H) e 75 MHz (<sup>13</sup>C)].

#### 4.1.2.15. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE FA16

A substância **FA16** foi isolada da fração metanólica das folhas (**Fluxograma 3.9**, p.35), sua identificação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de <sup>1</sup>H, COSY, HSQC e HMBC (**Figuras 4.49 a 4.52, Apêndice I**) e dados baseados na literatura (ABRAHAM, *et al.*, 2007; **Tabela 4.16**) e se trata do flavonóide glicosilado Apigenin-3-O- ramnosídeo.

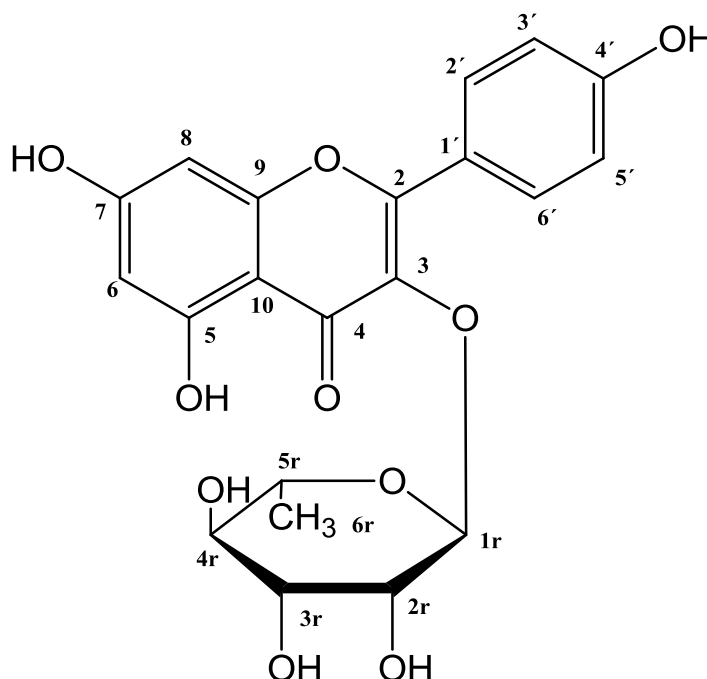


TABELA 4.16 - Dados de RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C da substância **FA16** e os encontrados na literatura

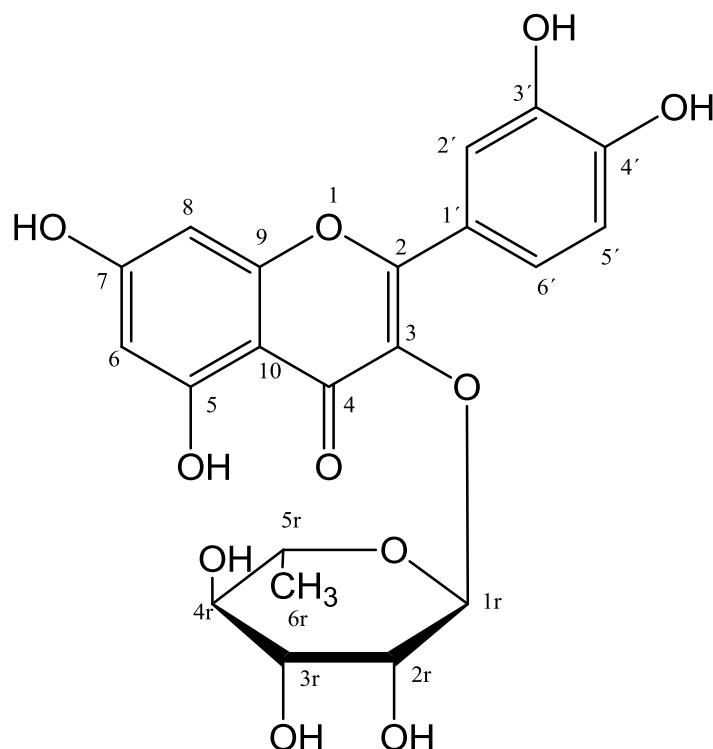
| H/C | $\delta_H$ (ppm), $J$ (Hz) |  | $\delta_C$ (ppm)  |  |
|-----|----------------------------|--|-------------------|--|
|     | FA16 <sup>a</sup>          | ABRAHAM, <i>et al.</i> (2007) <sup>b</sup> | FA16 <sup>a</sup> | ABRAHAM, <i>et al.</i> (2007) <sup>b</sup> |
| 2   | -                          | -  | 158,0             | 156,4                                      |
| 3   | -                          | -  | no                | 133,1                                      |

|         |                      |                      |             |             |
|---------|----------------------|----------------------|-------------|-------------|
| 4       | -                    | -                    | no          | 177,3       |
| 5       | -                    | -                    | 163,0       | 161,1       |
| 6       | 6,18 (d, $J = 2,0$ ) | 6,18 (d, $J = 1,3$ ) | 100,0       | 98,6        |
| 7       | -                    | -                    | 167,0       | 164,0       |
| 8       | 6,36 (d, $J = 2,0$ ) | 6,41 (d, $J = 1,3$ ) | 95,0        | 93,6        |
| 9       | -                    | -                    | 159,0       | 156,7       |
| 10      | -                    | -                    | 105,0       | 103,9       |
| 1'      | -                    | -                    | 122,9       | 120,8       |
| 2' e 6' | 6,86 (d, $J = 8,9$ ) | 6,86 (d, $J = 8,9$ ) | 131,9       | 130,8       |
| 3' e 5' | 8,05 (d, $J = 8,9$ ) | 8,05 (d, $J = 8,9$ ) | 116,6       | 115,0       |
| 4'      | -                    | -                    | 161,9       | 159,8       |
| 1r      | 5,34 (d, $J = 2,0$ ) | 5,50 (d, $J = 2,3$ ) | 103,6       | 104,0       |
| 2 – 5r  | 4,21 - 3,29 (m)      | 4,10 – 4,67 (m)      | 72,4 - 50,0 | 71,7 - 68,1 |
| 6r      | 0,92 (d, $J = 5,2$ ) | 0,79 (d, $J = 5,3$ ) | 17,3        | 17,8        |

<sup>a</sup> [MeOD-*d*3, 400 MHz (<sup>1</sup>H) e 100 MHz (<sup>13</sup>C)]; <sup>b</sup> [MeOD-*d*3, 500 MHz (<sup>1</sup>H) e 125,65 MHz (<sup>13</sup>C)]; [no (não observado)].

#### 4.1.2.16. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE FA17

A substância **FA17** foi isolada da fração metanólica das folhas (**Fluxograma 3.10**, p.37), sua identificação foi realizada através de dados de espectros de RMN de <sup>1</sup>H e COSY (**Figura 4.53 e 4.54, Apêndice I**) e da literatura (CERUKS *et al.*, 2007 e MARKHAM *et al.*, 1978; **Tabela 4.17**). Pode-se concluir que a substância se trata do flavonóide glicosilado quercetina 3-O ramnosídeo, conhecido como Quercitrina.

TABELA 4.17 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  de **FA17** e os encontrados na literatura

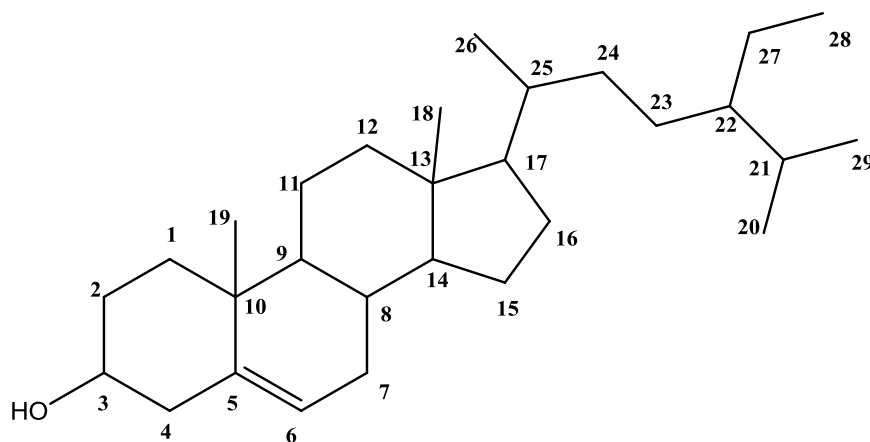
| H    | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), $J$ (Hz)    |  |
|------|--|--|
|      | <b>FA17</b> <sup>a</sup>               | <b>CERUKS et al. (2007)</b> <sup>b</sup> |
| 6    | 6,35 ( <i>d</i> ; $J = 2,0$ )          | 6,38 ( <i>d</i> ; $J = 1,9$ )            |
| 8    | 6,18 ( <i>d</i> ; $J = 2,0$ )          | 6,19 ( <i>d</i> ; $J = 1,9$ )            |
| 2'   | 7,33 ( <i>d</i> ; $J = 8,4$ )          | 7,20 ( <i>d</i> ; $J = 8,2$ )            |
| 5'   | 6,91 ( <i>dd</i> ; $J = 1,7$ e $8,4$ ) | 6,86 ( <i>dd</i> ; $J = 1,7$ e $8,2$ )   |
| 6'   | 7,30 ( <i>d</i> ; $J = 1,7$ )          | 7,21 ( <i>d</i> ; $J = 1,7$ )            |
| 1r   | 5,35 ( <i>d</i> ; $J = 1,6$ )          | 5,23 ( <i>d</i> ; $J = 1,0$ )            |
| 2-5r | 3,3 -3,9 (m)                           | 3,1 -3,9 (m)                             |
| 6r   | 0,94 ( <i>d</i> ; $J = 6,8$ )          | 0,79 ( <i>d</i> ; $J = 5,2$ )            |

<sup>a</sup> [MeOD-*d*4, 400 MHz ( $^1\text{H}$ )]; <sup>b</sup> [DMSO-*d*6, 400 MHz ( $^1\text{H}$ )].

#### 4.1.2.17. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE GA1

A substância **GA1** foi isolada da fração diclorometano dos galhos (**Fluxograma 3.12**; p.40), apresentou-se como um pó de coloração branca, prontamente solúvel em diclorometano e acetona e sua identificação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e EM (**Figuras 4.55 e 4.56**,

**Apêndice I)** e dos da literatura (ALBARICE, 2006). Ela foi identificada como o fitosteróide conhecido como  $\beta$ -sitosterol.



#### 4.1.2.18. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE GA2 E GA3

As substâncias **GA2** e **GA3** foram isoladas da fração diclorometano do extrato dos galhos (**Fluxograma 3.12**, p.40), sua identificação estrutural foi realizada através de dados de espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$  e EM (**Figuras 4.57 a 4.60**, **Apêndice I**) e os da literatura (ANJANEYULU *et al.*, 1987 e APLIN *et al.*, 1966; **Tabela 4.18 e 4.19**). Pode-se concluir que as substâncias são dois triterpenos do tipo cicloartano conhecidos como 30-Norciclopterospermona (**GA2**) e de um derivado C31 (**GA3**).

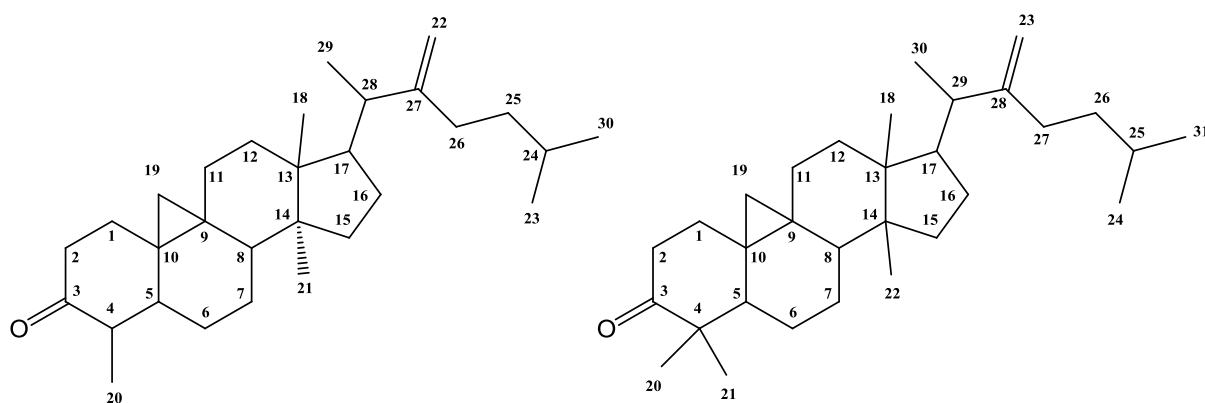


TABELA 4.18 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  das substâncias **GA2** e **GA3** e os encontrados na literatura

| H | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), J (Hz) |  |
|---|-----------------------------------|--|
|   | GA2 e GA3 <sup>a</sup>            | ANJANEYULU <i>et al.</i> (1987) <sup>b</sup> |

|                               |   |  |
|-------------------------------|---|--|
| 19 ciclopropil                | 0,61 (1H) ( <i>d</i> , <i>J</i> = 2,0)<br>0,41 (1H) ( <i>d</i> , <i>J</i> = 2,0)            | 0,61 (1H) ( <i>d</i> , <i>J</i> = 2,0)<br>0,34 (1H) ( <i>d</i> , <i>J</i> = 2,0) |
| Metilas<br>(CH <sub>3</sub> ) | 0,9 (s; 3H)<br>0,92 (s; 6H)<br>0,98 (s; 3H)<br>1,02 (s; 3H)<br>1,06 (s; 3H)<br>1,68 (s; 3H) | 0,88 (s; 3H)<br>0,96 (s; 3H)<br>1,03 (s; 15H)                                    |

<sup>a,b</sup> [CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz].

A fragmentação foi baseada na proposta de APLIN *et al.*, 1966 para compostos cicloartanos onde se propõe uma ionização nas posições 9 e 10, com migração de radical na ligação do carbono 6, restaurando a dupla ligação na posição 5, seguida da migração de hidrogênio da posição 11 e quebra da ligação da posição 19, com liberação de molécula neutra com massa de 124 D (com uma metila na posição 4) e massa 138 D (com duas metilas na posição 4). A proposta de fragmentação sugere que a metila se encontra na posição 4 do anel (**Figura 4.61**).

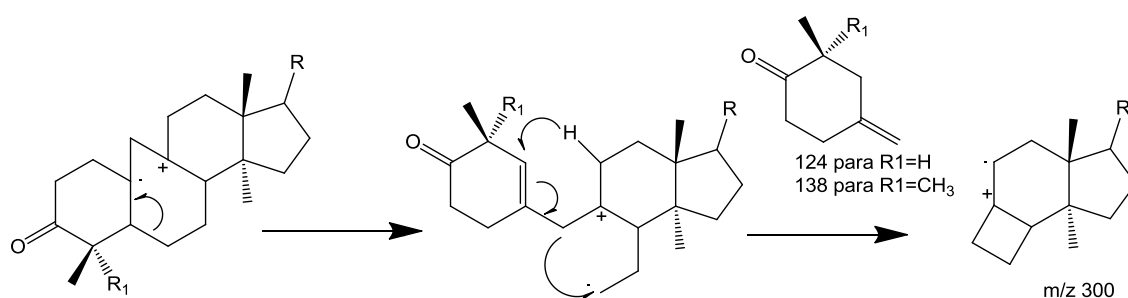


FIGURA 4.61 - Proposta de formação do pico *m/z* 300.

TABELA 4.19 - Dados de RMN de <sup>13</sup>C da substância **GA2** e os encontrados na literatura

| C | $\delta_c$ (ppm) |  |                  |
|---|------------------|--|------------------|
|   | GA2 <sup>a</sup> | ANJANEYULU <i>et al.</i> (1987) <sup>b</sup> | GA3 <sup>a</sup> |
| 1 | 31,3             | 30,8   | 31,3             |
| 2 | 35,0             | 34,0   | 35,0             |

---

|    |       |       |       |
|----|-------|-------|-------|
| 3  | 213,0 | 76,6  | 213,0 |
| 4  | 45,4  | 44,6  | 45,4  |
| 5  | 41,0  | 43,4  | 41,0  |
| 6  | 25,0  | 24,7  | 25,0  |
| 7  | 28,1  | 28,1  | 28,1  |
| 8  | 47,1  | 46,9  | 47,1  |
| 9  | 25,9  | 23,6  | 25,9  |
| 10 | 29,3  | 29,6  | 29,3  |
| 11 | 25,2  | 25,2  | 25,2  |
| 12 | -     | 55,1  | -     |
| 13 | 46,1  | 45,4  | 46,1  |
| 14 | 50,0  | 48,9  | 50,0  |
| 15 | 32,9  | 32,9  | 32,9  |
| 16 | 26,9  | 27,0  | 26,9  |
| 17 | 52,3  | 52,3  | 52,3  |
| 18 | 17,9  | 17,8  | 17,9  |
| 19 | 27,2  | 27,3  | 27,2  |
| 20 | 36,1  | 36,2  | 36,1  |
| 21 | 18,47 | 18,4  | 10,7  |
| 22 | 156,9 | 156,9 | 25,9  |
| 23 | 33,8  | 33,8  | 156,9 |
| 24 | 35,4  | 35,5  | 18,37 |
| 25 | 31,3  | 31,4  | 10,7  |
| 26 | 21,9  | 21,9  | 106   |
| 27 | 106,0 | 106,0 | 33,8  |
| 28 | 22,0  | 22,1  | 35,4  |
| 29 | 19,2  | 19,2  | 31,3  |
| 30 | 10,7  | 14,4  | 21,9  |
| 31 | -     | -     | 19,2  |

---

---

<sup>a, b</sup> [CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz (<sup>1</sup>H)].

#### 4.1.2.19. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE GA4 E GA5

As substâncias **GA4** e **GA5** foram isoladas da fração diclorometano do extrato dos galhos (**Fluxograma 3.12**, p.40), sua identificação estrutural foi realizada através de dados de espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e EM (**Figuras 4.62 e 4.64**, **Apêndice I**) e os dados comparados com os da literatura (GAN *et al.*, 2009 e APLIN *et al.*, 1966; **Tabela 4.20**). Pode-se concluir que as substâncias são dois triterpenos do tipo cicloartano conhecidos como cicloartenol (**GA4**) e cicloeucalenol (**GA5**).

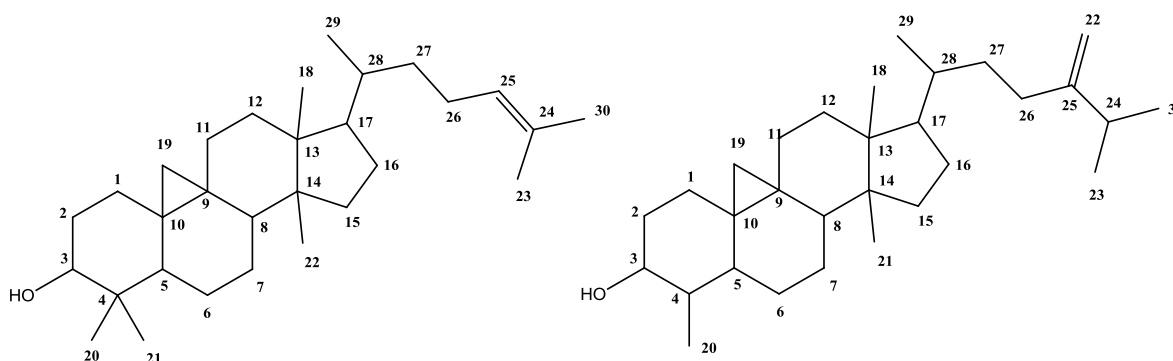


TABELA 4.20 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  das substâncias **GA4** e **GA5**

| H/C            | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), J (Hz) |
|----------------|-----------------------------------|
| 1, 2           | 1,2 – 1,6*                        |
| 3              | 3,5 (m)                           |
| 5              | 1,29                              |
| 6 $\alpha$     | 0,71                              |
| 6 $\beta$      | 1,60                              |
| 7 $\alpha$     | 1,90                              |
| 7 $\beta$      | 1,90                              |
| 8              | 1,51                              |
| 11, 12         | 1,2 – 2,0*                        |
| 15, 16, 17     | 1,5 – 1,7*                        |
| 25, 26, 27, 28 | 0,9 – 1,87*                       |
| 19 ciclobutano | 0,35 e 0,37 (d)                   |
| 18, 20, 21 CH3 | 0,88 – 0,91*                      |
| 29 CH3         | 1,2                               |
| 30 CH3         | 1,6                               |

\* Estes sinais correspondem a um intervalo onde aparecem.



#### 4.1.2.20. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE GA6

A substância **GA6** foi isolada da fração diclorometano do extrato dos galhos (**Fluxograma 3.12**, p.40) e sua identificação estrutural foi feita utilizando experimento de RMN de  $^1\text{H}$  e EM (**Figura 4.65 e 4.66, Apêndice I**) e os dados foram comparados com os da literatura (ELIX *et al.*, 1990; **Tabela 4.21**) e se trata da substância ácido 2-metóxi-4-hidroxi-3,6-dimetilbenzóico.

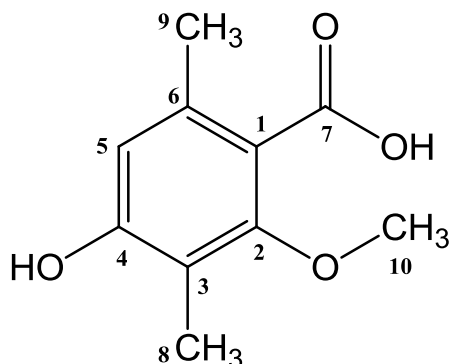


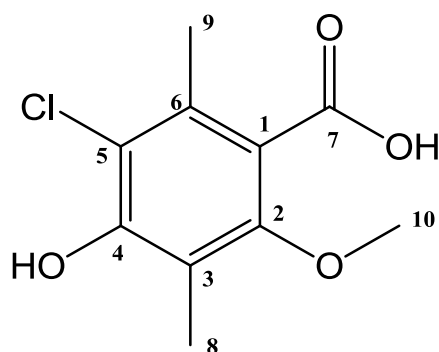
TABELA 4.21 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **GA6** e os encontrados na literatura

| H  | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), J (Hz) |  |
|----|-----------------------------------|--|
|    | GA6 <sup>a</sup>                  | ELIX <i>et al.</i> (1990) <sup>b</sup> |
| 10 | 3,93 (s)                          | 3,94 (s)                               |
| 9  | 2,47 (s)                          | 2,47 (s)                               |
| 8  | 2,11 (s)                          | 2,12 (s)                               |
| 5  | 6,22 (s)                          | 6,22 (s)                               |
| OH | 12,04 (s)                         | -                                      |

<sup>a</sup> [CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz ( $^1\text{H}$ )]; <sup>b</sup> [CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz ( $^1\text{H}$ )]

#### 4.1.2.21. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE GA7

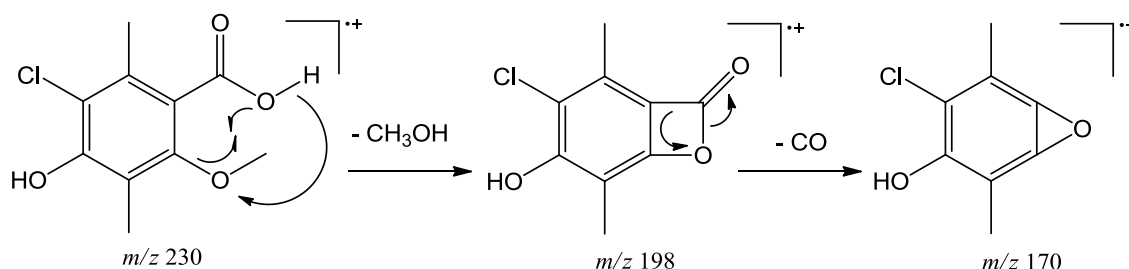
A substância **GA7** foi isolada da fração diclorometano do extrato dos galhos (**Fluxograma 3.12**, p.40), sua identificação estrutural foi feita utilizando experimento de RMN de  $^1\text{H}$  e EM (**Figuras 4.65 e 4.67, Apêndice I**) e os dados da literatura (ELIX *et al.*, 1990; **Tabela 4.22**) e se trata da substância ácido 2-metóxi-4-hidroxi-3,6 dimetil-5-clorobenzóico.

TABELA 4.22 - Sinais de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **GA7**

| H          | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), J (Hz) |
|------------|-----------------------------------|
| 10         | 3,95 (s)                          |
| 9          | 2,60 (s)                          |
| 8          | 2,17 (s)                          |
| OH (ácido) | 11,70 (s)                         |

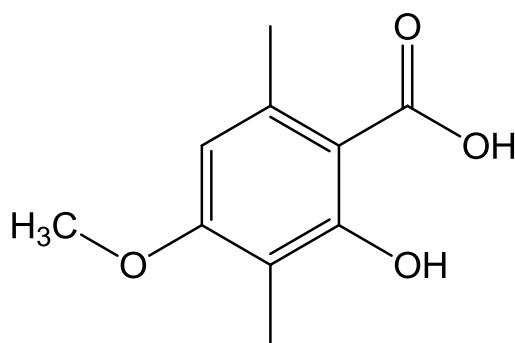
A proposta estrutural se baseia na substituição do hidrogênio ligado ao anel aromático na posição 5 por um átomo de cloro a proposta de fragmentação é observado perda de uma molécula neutra de metanol, seguida de perda de molécula de monóxido de carbono (**Figura 4.68**)

No espectro de massas por impacto eletrônico (**Figura 4.67, Apêndice I**) é possível notar a presença do pico  $M^+$ ,  $M+2$  com intensidade de aproximadamente 30% em relação ao pico  $M^+$ , este dado confirma a presença de átomo de cloro na estrutura do composto. A proposta de fragmentação para a substância anterior é a mesma que a representada na **Figura 4.68**.

FIGURA 4.68 - Proposta de fragmentação para a substância **GA7**.

Sobre as estruturas **GA6** e **GA7**, é importante discutir suas presenças como sendo metabólitos secundários da planta estudada, *M. urundeuva*, ou se elas

são substâncias encontradas num possível musgo existente nos galhos, pois estas substâncias são derivadas do ácido rhizinônico que foram encontradas até o momento somente em pteridófitas e líquens (SARGENT, *et al.*, 1976) elas foram isoladas em pequeníssimas quantidades dos galhos da aroeira, apesar dos cuidados em se retirar a maior quantidade de contaminantes nos galhos (raspagem com faca e lavagem com água) e baseando-se na hipótese de ainda ter existido líquen na camada superior dos galhos.



Ácido rhizinónico.

#### 4.1.2.22. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE GA8

As substâncias de **GA8** foram isoladas da fração diclorometano do extrato dos galhos (**Fluxograma 3.12**, p.40), a identificação estrutural delas foi realizada através de experimento de RMN de  $^1\text{H}$  e EM (**Figuras 4.69** e **4.70**, **Apêndice I**) e sem tratam de uma mistura de ácidos graxos insaturados de cadeia longa (**Tabela 4.23**).

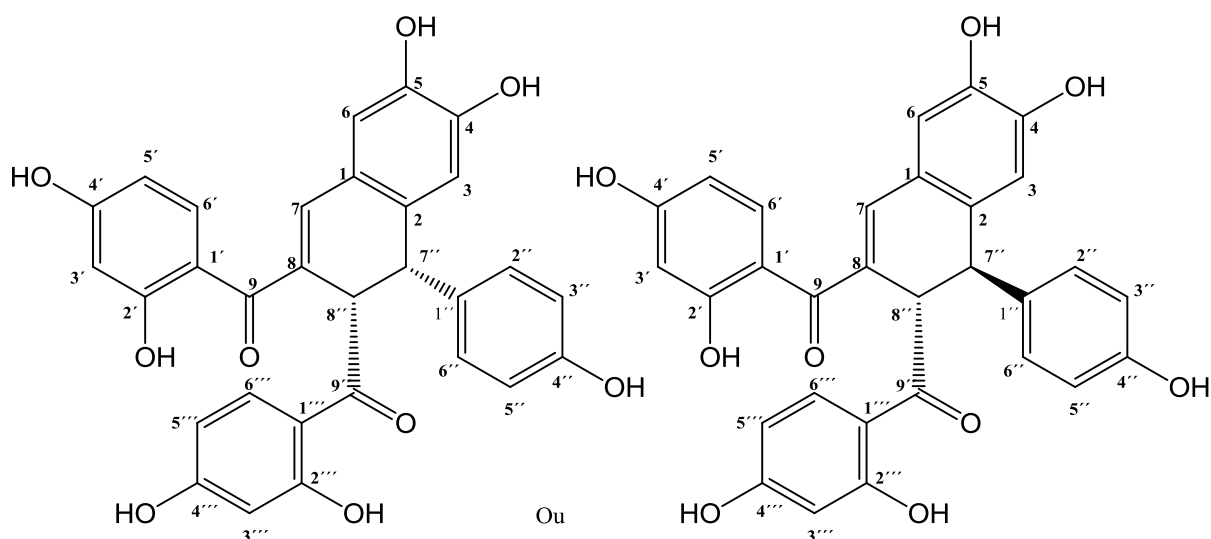
TABELA 4.23 -Dados de massas, tempo de retenção e substâncias presentes em GA8

| Tempos retenção | % bandas | Massas dos ésteres (em Da) | Ácidos representados       |
|-----------------|----------|----------------------------|----------------------------|
| 17,78           | 0,9%     | 242                        | Ácido tetradecanóico (C14) |
| 19,61           | 1,2 %    | 258                        | Ácido pentadecanóico (C15) |
| 21,73           | 94 %     | 270                        | Ácido hexadecanóico (C16)  |
| 24,63           | 2 %      | 284                        | Ácido heptadecanóico (C17) |
| 28,37           | 2,5%     | 298                        | Ácido octadecanóico (C18)  |

## 4.1.2.23. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE GA9

A substância **GA9** foi isolada da fração acetato de etila do extrato dos galhos (**Fluxograma 3.14**, p.48), apresentou-se como sólido amorfo de coloração amarelo ouro solúvel em metanol, acetona e insolúvel em diclorometano e sua identificação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.71** e **4.72**), COSY (**Figura 4.73**), HSQC (**Figura 4.74**), HMBC (**Figura 4.75**) e os da literatura (BANDEIRA *et al.*, 2003; **Tabela 4.24**) e se conclui se tratar de dois enantiômeros da chalcona dimérica conhecida como urundevina A.

A configuração absoluta foi determinada pela análise de experimentos de g-NOESY (**Figuras 4.76** e **4.77**; **Tabela 4.25**) e cálculos de constantes de acoplamento por diagrama de Karplus.



O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.71**) mostrou um sinal, considerado a princípio como um multipeto integrando para três hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  6,47 e ocasionou certa dificuldade em ser atribuído, porém, comparando os dados da literatura, os sinais referentes a este deslocamento representam dois duplos dubletos e um singlete, referentes aos hidrogênios da posição  $5'''$ , 3 e  $5'$ . A **Figura 4.72** mostra que um sinal do duplo dubleto se fundiu com o do outro duplo dubleto, dando a impressão de o sinal ser um tripleto. Assim, verifica-se um duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,48 (dd,  $J = 2,2$  e  $9,6$  Hz) correspondendo ao hidrogênio  $5'''$  e um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  6,47 (s) correspondendo ao hidrogênio da posição 3 e um outro duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,44 (dd,  $J = 2,4$  e  $8,8$  Hz) correspondendo ao hidrogênio  $5'$ .

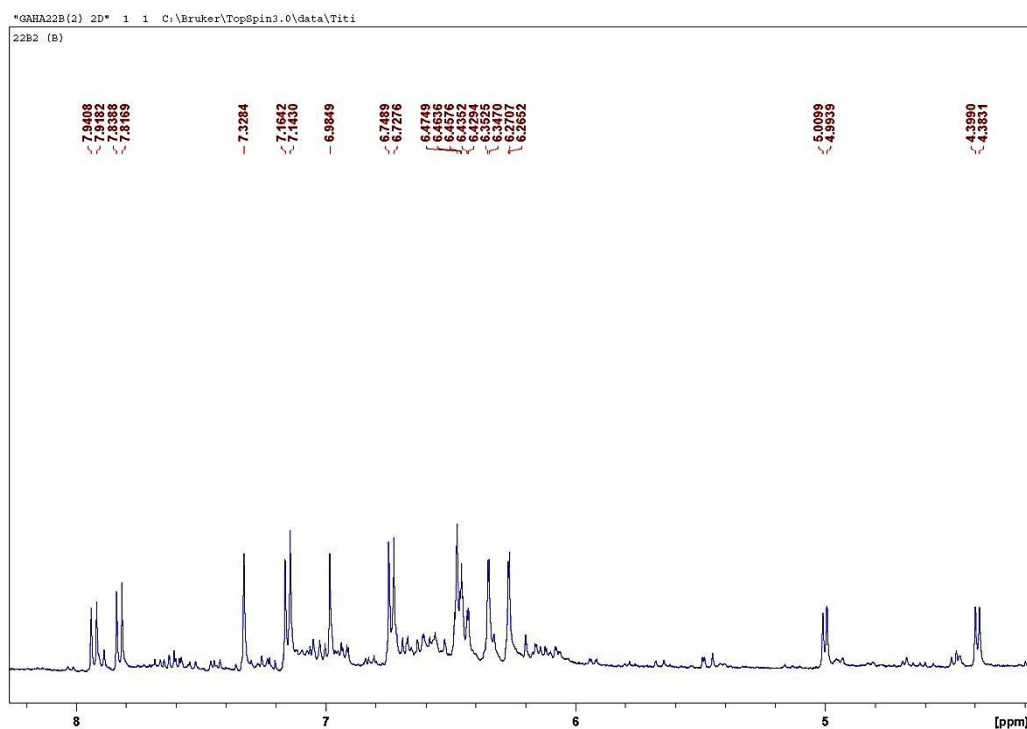


FIGURA 4.71 – Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **GA9** (Acetona- $d_6$ ; 400 MHz).

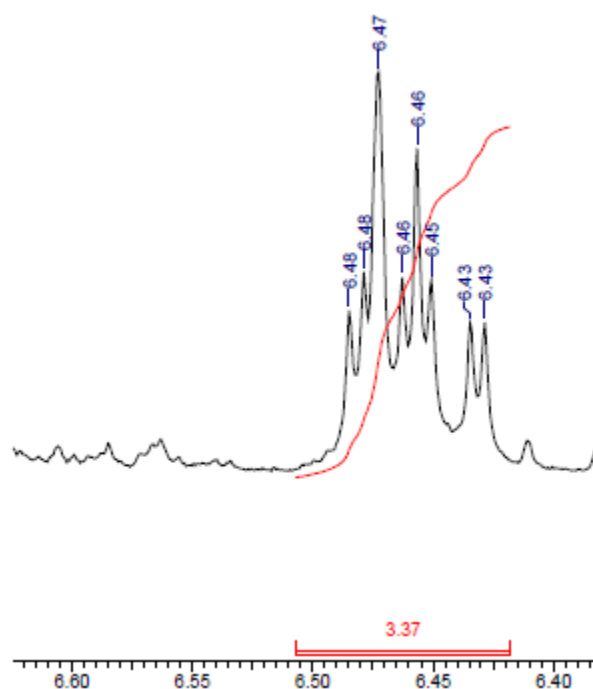


FIGURA 4.72 – Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  na região compreendida entre 6,48 – 6,43 ppm. (Acetona- $d_6$ ; 400 MHz).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 4.71) revelou então um duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,44 (dd,  $J = 2,4$  e  $8,8$  Hz) referente ao hidrogênio H-5' acoplado em

*meta* com um duplete em  $\delta_H$  6,26 (d,  $J = 2,4$  Hz) do hidrogênio H-3' e em *orto* com um duplete em  $\delta_H$  7,82 (d,  $J = 8,8$  Hz) referente ao hidrogênio H-6'. Estes sinais remetem ao anel A da unidade I da chalcona substituído nas posições 2' e 4', sendo estes acoplamentos confirmados pela análise do mapa de acoplamentos COSY (Figura 4.73).

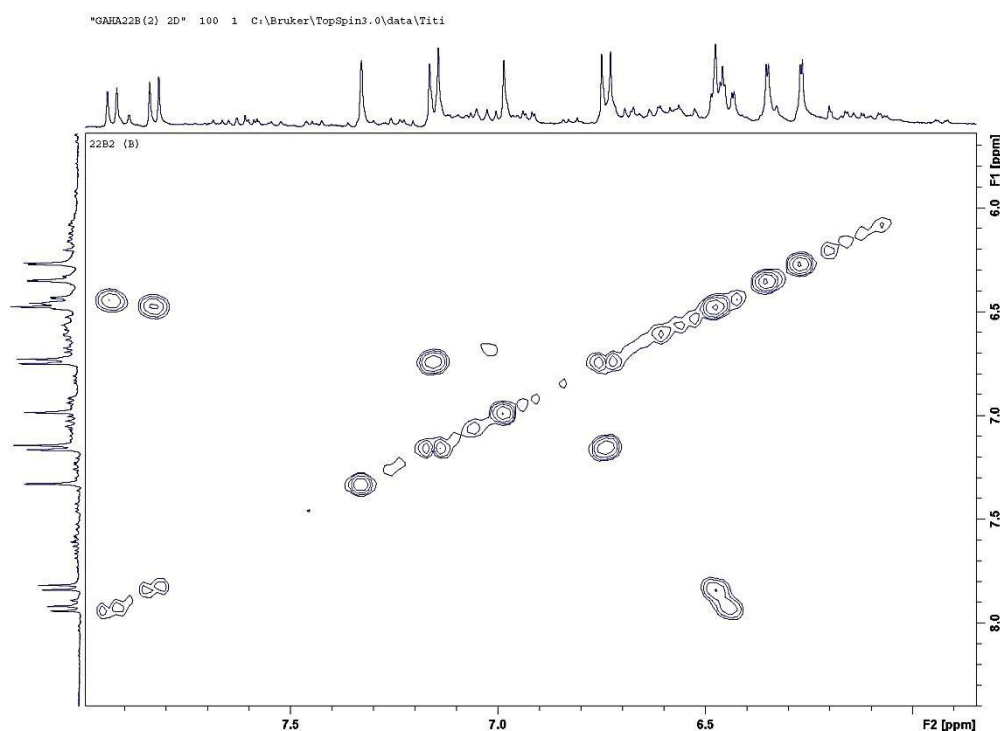
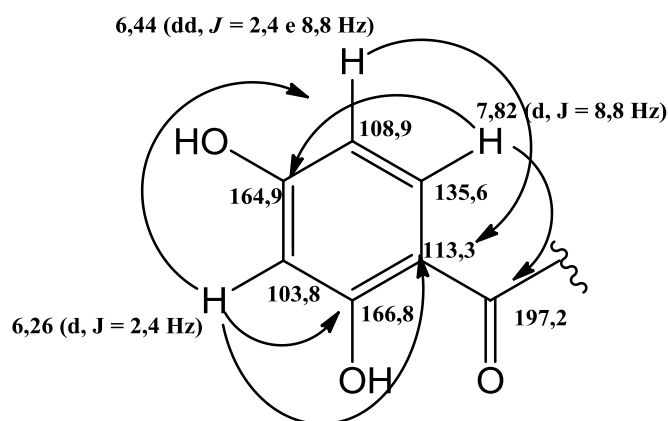
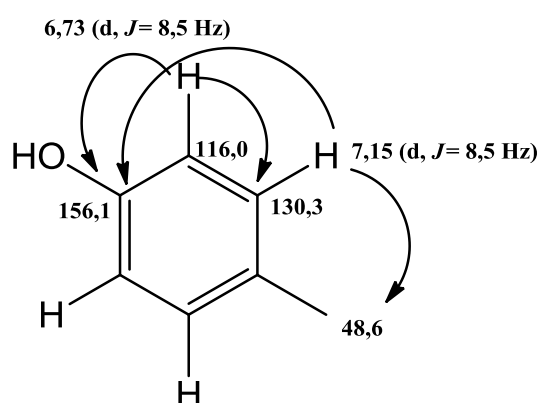


FIGURA 4.73 – Mapa de acoplamentos H-H COSY da substância **GA9** (Acetona- $d_6$ ; 400 MHz).

O mapa de correlações HSQC (Figura 4.74) apresentou a correlação dos sinais dos hidrogênios em  $\delta_H$  6,44 com o do carbono em  $\delta_C$  108,9 (C-5'), em  $\delta_H$  6,26 e  $\delta_H$  7,82 com os dos carbonos em  $\delta_C$  103,8 (C-3') e  $\delta_C$  135,6 (C-6'), respectivamente. A análise do mapa de correlações de HMBC (Figura 4.75) mostra a correlação dos sinais dos hidrogênios: em  $\delta_H$  6,44 com o do carbono em  $\delta_C$  113,3 (C-1'); o duplete em  $\delta_H$  6,26 com  $\delta_C$  108,9 (C-5'), 113,4 (C-1'), 166,8 (C-2'), este último um carbono fenólico e finalmente o duplete em  $\delta_H$  7,82 com  $\delta_C$  164,9 (C-4') e 197,2 (C-9) este um carbono de carbonila.



O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.71**) revelou também um dubleto  $\delta_{\text{H}}$  7,15 (d,  $J = 8,5$  Hz), integrando para dois hidrogênios e acoplado com o dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,73 (d,  $J = 8,5$  Hz) também integrando para dois hidrogênios, estes são característicos dos hidrogênios H-2''/6'' e H-3''/5'', pois estes são quimicamente equivalentes devido à livre rotação do anel. Este sistema corresponde ao do anel B da Unidade II, sendo estes acoplamentos confirmados pela análise do mapa de correlações COSY (**Figura 4.73**). O mapa de contorno HSQC (**Figura 4.74**) apresentou a correlação dos sinais dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  7,15 e  $\delta_{\text{H}}$  6,73 com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  130,3 (C-2''/6'') e  $\delta_{\text{C}}$  116,0 (C-3''/5''), respectivamente. A análise do mapa de contornos HMBC (**Figura 4.75**) revelou a correlação do sinal do dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  7,15 com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  48,6 (C-7'') e  $\delta_{\text{C}}$  156,1 (C-4''), este um carbono fenólico e finalmente o dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,73 com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  130,3 (C-2''/6'') e 156,1 (C-4''), este um carbono fenólico.



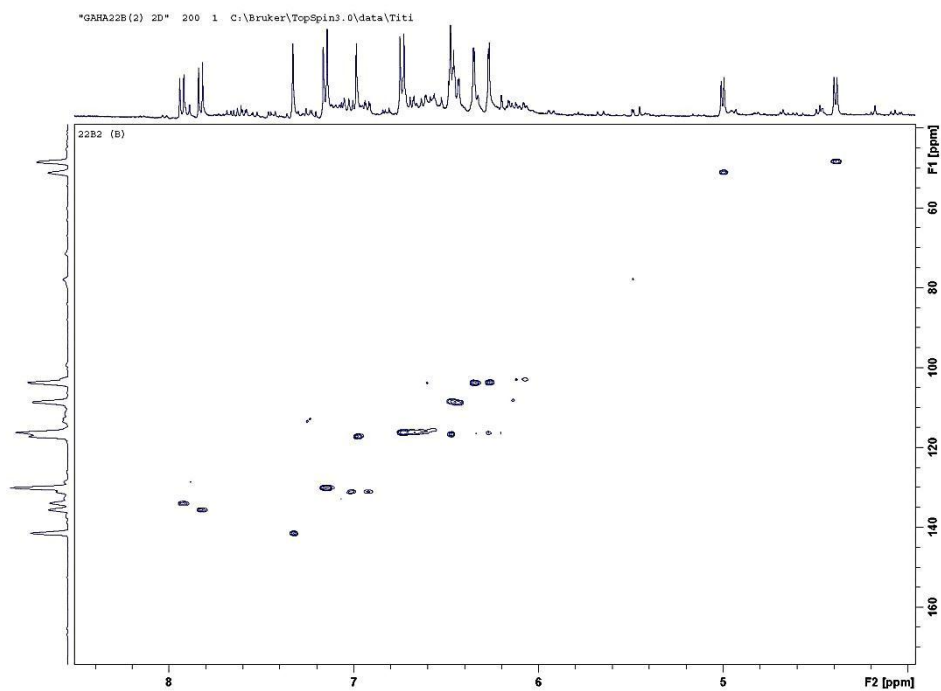


FIGURA 4.74 – Mapa de contorno HSQC da substância **GA9** (Acetona-*d*<sub>6</sub>; 400 MHz).

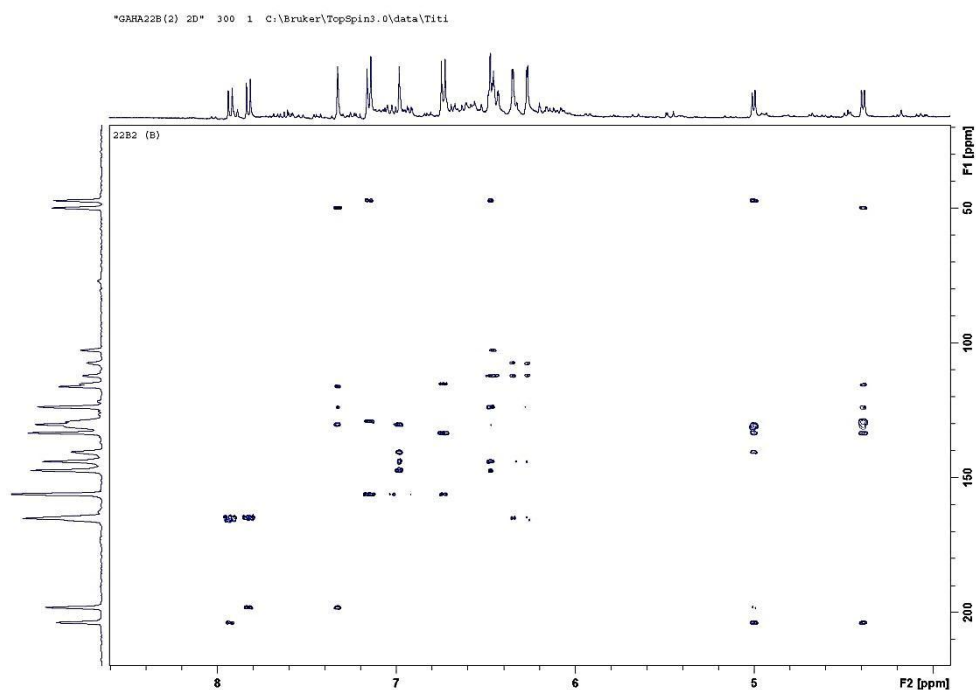
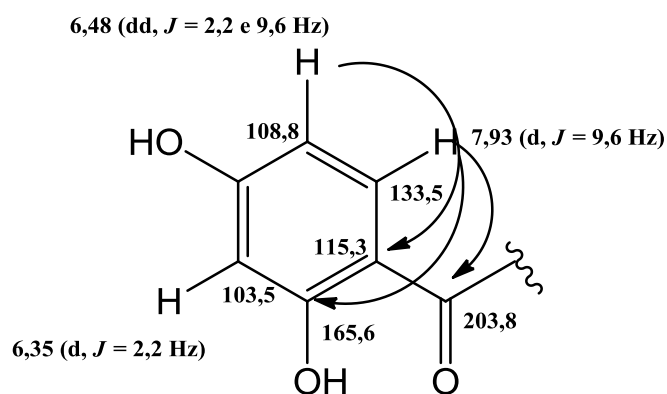


FIGURA 4.75 – Mapa de contorno HMBC da substância **GA9** (Acetona-*d*<sub>6</sub>; 400 MHz).

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (**Figura 4.71**) apresentou também um duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,48 (dd,  $J = 2,2$  e  $9,6$  Hz) correspondente ao hidrogênio (H-5’’’),



acoplando em meta com o dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,35 (d,  $J = 2,2$  Hz) referente ao hidrogênio (H-3'') e acoplando em *orto* com um dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  7,93 (d,  $J = 9,6$  Hz) do hidrogênio (H-6''). Estes sinais remetem ao anel A da unidade II da chalcona substituído nas posições 2''' e 4''', sendo estes acoplamentos confirmados pela análise do mapa de acoplamentos COSY (**Figura 4.73**). A análise do mapa de contornos HSQC (**Figura 4.74**) mostrou a correlação do sinal em  $\delta_{\text{H}}$  6,48 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  108,8 (C-5''') e os dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,35 e 7,93 se correlacionam com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  103,5 (C-3''') e 133,5 (C-6''') respectivamente. A análise do mapa de contornos HMBC (**Figura 4.75**) revelou a correlação do duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,48 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  115,3 (C-1'''), do dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  7,93 com  $\delta_{\text{C}}$  165,6 (C-2''') e 203,8 (C-9''), este último um carbono de carbonila.



O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.71**) apresentou ainda dois singletos, em  $\delta_{\text{H}}$  6,47 (s) e  $\delta_{\text{H}}$  6,98 (s) atribuídos aos hidrogênios H-3 e H-6, respectivamente. O mapa de contornos HSQC (**Figura 4.74**) revelou a correlação dos sinais dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  6,47 e  $\delta_{\text{H}}$  6,98 com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  116,6 (C-3) e  $\delta_{\text{C}}$  116,9 (C-6), respectivamente. O mapa de contornos HMBC (**Figura 4.75**) apresentou as correlações dos sinais: do singlete em  $\delta_{\text{H}}$  6,47 com os dos carbonos  $\delta_{\text{C}}$  48,6 (C-7'), 123,7 (C-1), 143,8 (C-4) e 147,4 (C-5), estes últimos são carbonos fenólicos; do singlete em  $\delta_{\text{H}}$  6,98 com  $\delta_{\text{C}}$  51,1 (C-8'), 116,6 (C-3), 124,0 (C-8), 130,6 (C-2) e 197,7 (C-9), este um carbono de carbonila. Estes sinais correspondem ao anel B da unidade I da chalcona substituído nas posições 4 e 5.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.71**) pode se verificar ainda um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  7,32 (s) atribuído ao hidrogênio H-7 e os dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  4,38 (d,  $J = 6,4$  Hz) atribuído ao hidrogênio H-7'' e 5,00 (d,  $J = 6,4$  Hz) atribuído ao hidrogênio H-8''. Através do mapa de acoplamentos COSY (**Figura 4.73**) pode-se observar que o sinal de hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  4,38 acopla com o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  5,00. O mapa de contornos

HSQC (**Figura 4.74**) apresentou correlações dos sinais dos hidrogênios em  $\delta_H$  7,32,  $\delta_H$  4,38 e  $\delta_H$  5,00 com os dos carbonos em  $\delta_C$  141,3 (C-7),  $\delta_C$  48,6 (C-7'') e  $\delta_C$  51,1 (C-8''), respectivamente. A análise do mapa de contornos HMBC (**Figura 4.75**) mostra as correlações: do singlete em  $\delta_H$  7,32 com sinais dos carbonos em  $\delta_C$  51,1 (C-8''), 116,9 (C-6), 124,0 (C-8), 130,6 (C-2) e 197,7 (C-9), este um carbono de carbonila; do dubleto em  $\delta_H$  4,38 com  $\delta_C$  51,1 (C-8''); 116,6 (C-3); 123,7 (C-1), 130,6 (C-2) e 203,8 (C-9''), este um carbono de carbonila e finalmente o dubleto em  $\delta_H$  5,00 com  $\delta_C$  48,6 (C-7''), 130,3 (C-2''/6''), 197,7 (C-9) e 203,8 (C-9''), os dois últimos são carbonos de carbonila.

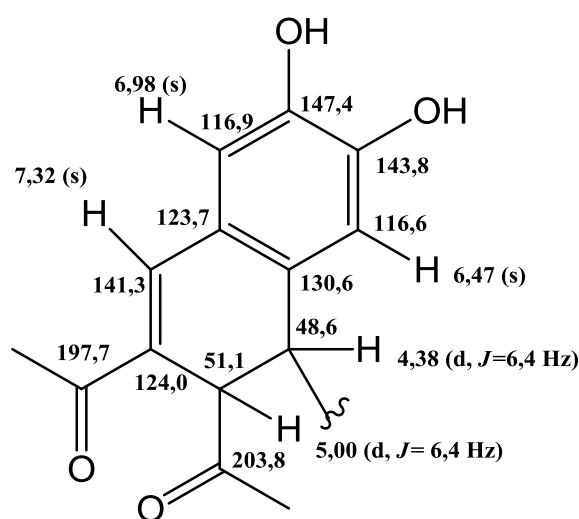


TABELA 4.24 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da substância **GA9** e os encontrados na literatura

| H/C | $\delta_H$ (ppm), J (Hz) |   | $\delta_C$ (ppm) |  |
|-----|--------------------------|---|------------------|--|
|     | GA9 <sup>a</sup>         | BANDEIRA <i>et al.</i><br>(2003) <sup>b</sup> | GA9 <sup>a</sup> | BANDEIRA<br><i>et al.</i><br>(2003) <sup>b</sup> |
|     | 1                        | -   | -                | 123,7  |
| 2   | -                        | -   | 130,6            | 131,4  |
| 3   | 6,47 (s)                 | 6,49 (s)                                      | 116,6            | 116,8  |
| 4   | -                        | -   | 143,4            | 148,7  |
| 5   | -                        | -   | 147,4            | 145,2  |
| 6   | 6,98 (s)                 | 7,05 (s)                                      | 116,9            | 117,3  |
| 7   | 7,32 (s)                 | 7,34 (s)                                      | 141,3            | 141,6  |
| 8   | -                        | -   | 124,0            | 124,8  |

|         |                            |                            |       |       |
|---------|----------------------------|----------------------------|-------|-------|
| 9       | -                          | -                          | 197,2 | 199,2 |
| 1'      | -                          | -                          | 113,3 | 113,4 |
| 2'      | -                          | -                          | 166,8 | 165,8 |
| 3'      | 6,26 (d, $J = 2,4$ )       | 6,36 (d, $J = 2,3$ )       | 103,8 | 103,9 |
| 4'      | -                          | -                          | 164,9 | 166,9 |
| 5'      | 6,44 (dd, $J = 2,4$ e 8,8) | 6,48 (dd, $J = 2,3$ e 8,7) | 108,9 | 108,6 |
| 6'      | 7,82 (d, $J = 8,8$ )       | 7,83 (d, $J = 8,7$ )       | 135,6 | 135,7 |
| 1''     | -                          | -                          | ne    | 134,7 |
| 2''/6'' | 7,15 (d, $J = 8,5$ )       | 7,16 (d, $J = 8,4$ )       | 130,3 | 130,2 |
| 3''/5'' | 6,73 (d, $J = 8,5$ )       | 6,75 (d, $J = 8,4$ )       | 116,0 | 116,3 |
| 4''     | -                          | -                          | ne    | 157,3 |
| 7''     | 4,38 (d, $J = 6,4$ )       | 4,40 (d, $J = 6,1$ )       | 48,6  | 48,4  |
| 8''     | 5,00 (d, $J = 6,4$ )       | 5,01 (d, $J = 6,1$ )       | 51,1  | 51,1  |
| 9''     | -                          | -                          | 203,8 | 204,7 |
| 1'''    | -                          | -                          | 115,3 | 113,1 |
| 2'''    | -                          | -                          | 165,6 | 165,7 |
| 3'''    | 6,35 (d, $J = 2,2$ )       | 6,28 (d, $J = 2,2$ )       | 103,5 | 103,8 |
| 4'''    | -                          | -                          | ne    | 166,4 |
| 5'''    | 6,48 (dd, $J = 2,2$ e 9,6) | 6,46 (dd, $J = 2,2$ e 9,1) | 108,8 | 108,9 |
| 6'''    | 7,93 (d, $J = 9,6$ )       | 7,94 (d, $J = 9,1$ )       | 133,5 | 133,9 |

<sup>a</sup> [Acetona-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz (<sup>1</sup>H) e 100 MHz (<sup>13</sup>C)]; <sup>b</sup> [MeOD-*d*<sub>3</sub>, 500 MHz (<sup>1</sup>H) e 125 MHz (<sup>13</sup>C)]; ne [não encontrado].

Para a identificação da configuração relativa de **GA9**, foram realizados os experimentos gNOESY (**Figura 4.76, 4.77 e Tabela 4.25**). Nestes experimentos foram observados efeitos NOE quando foram irradiados os sinais de hidrogênios em  $\delta$ H 7,82 (H-6'); 7,32 (H-7); 7,15 (H-2''); 6,98 (H-6); 6,47 (H-3); 5,00 (H-8''); 4,38 (H-7'').

TABELA 4.25 - Dados obtidos do experimento gNOESY da substância **GA9**

| H ( $\delta$ H) Irradiado | g-NOESY ( $\delta$ H) |
|---------------------------|-----------------------|
| 6' (7,82)                 | 7 (7,32)<br>5' (6,44) |
| 7 (7,32)                  | 6' (7,82)             |

|                  |  |
|------------------|--|
|                  | 6 (6,98)   |
| 2'' / 6'' (7,15) | 3'' (6,73)<br>6''' (7,93)f<br>7'' (4,38)<br>8'' (5,00)<br>5''' (6,48)f |
| 6 (6,98)         | 8'' (5,00)f<br>7 (7,32)<br>6''' (7,93)<br>6' (7,82)f                   |
| 3 (6,47)         | 6' (7,82)f<br>7'' (4,38)   |
| 8'' (5,00)       | 7'' (4,38)<br>6''' (7,93)<br>2'' (7,15)                                |
| 7'' (4,38)       | 8'' (5,00)<br>3 (6,47)<br>2'' (7,15)<br>6''' (7,93)                    |

Algumas irradiações não permitiram obter conclusões sobre a configuração, mas sim para confirmar a posição dos hidrogênios atribuídos anteriormente. Irradiando-se os hidrogênios da posição 2''/6'' pertencentes ao anel B da unidade II da chalcona foi possível observar um incremento de intensidade no hidrogênio 5''' ( $\delta_H$  6,48) pertencente ao anel A da unidade II, o que mostrou que estes hidrogênios estão "próximos" (2Å) o que só é observado quando os dois anéis estiverem em cis. A configuração cis dos anéis também foi confirmada com as irradiações dos hidrogênios das posições 7'' ( $\delta_H$  4,40) onde se observou um incremento do hidrogênio 8'' ( $\delta_H$  5,00) e vice-versa (**Figuras 4.77 e 4.78**).

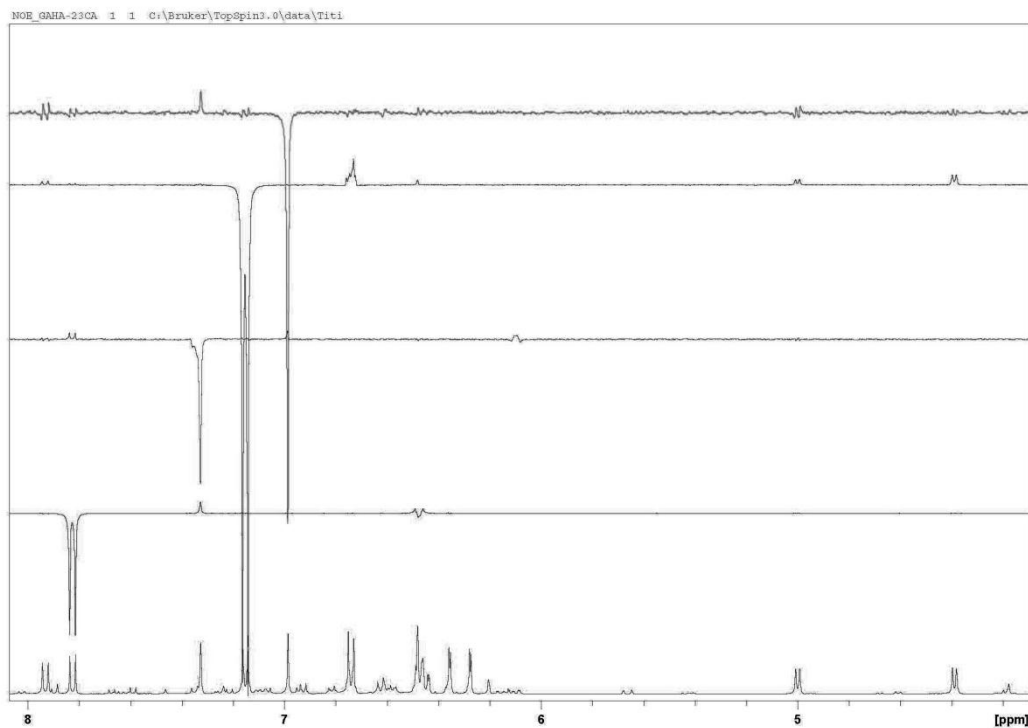


FIGURA 4.76 – Experimento (1) de gNOESY da substância **GA9** (Acetona-*d*6, 400 MHz).

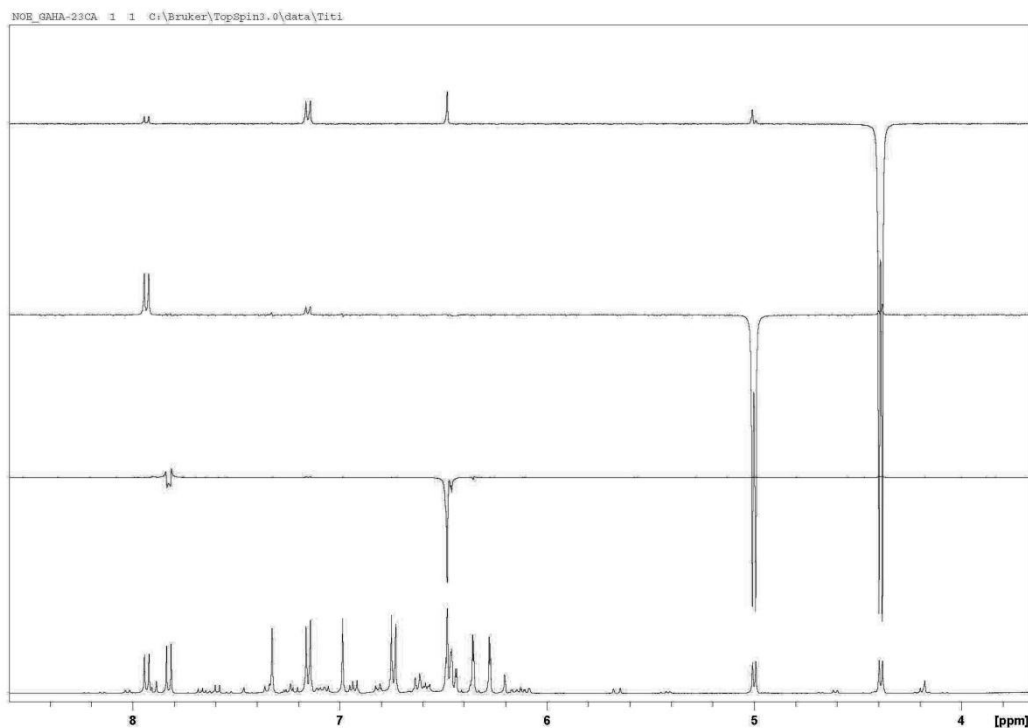


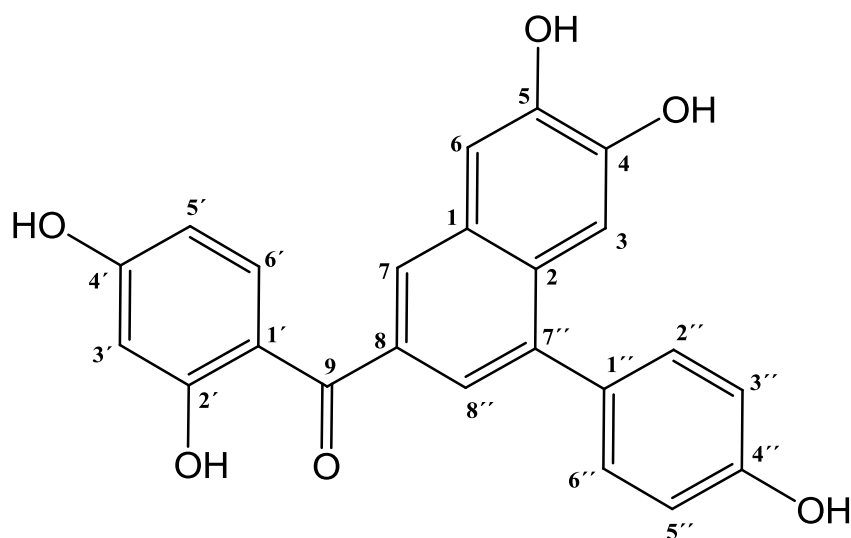
FIGURA 4.77 – Experimento (2) de gNOESY da substância **GA9** (Acetona-*d*6, 400 MHz).

A partir da constante de acoplamento foi possível propor os ângulos diedros entre os hidrogênios 7'' e 8'' utilizando o Diagrama de Karplus (SILVERSTEIN *et al.*, 1994) da substância **GA9**. Os hidrogênios 7'' e 8'' com relação diaxial entre si e constante de acoplamento de 6,4 Hz, apresentam um ângulo de aproximadamente 30° entre os hidrogênios 8'' e 7'' e que eles também dever ser diaxiais. Esta análise permite explicar as diferenças de deslocamentos químicos e constantes de acoplamentos da substância.

Ao se realizar experimento de  $[\alpha]_D^*$  observou-se que a substância não mostrou modificação do plano da luz polarizada obtendo um ângulo de 0°, que permite inferir que a substância apresenta-se como uma mistura racêmica (dois enantiômeros) (7''R, 8''R e 7''S, 8''S) com os anéis em *cis*.

#### 4.1.2.24. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE GA10

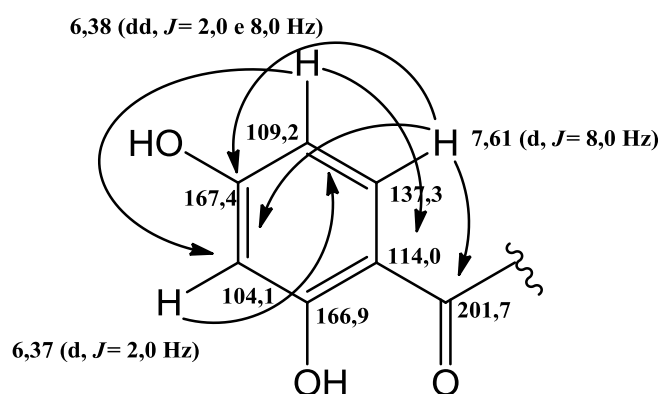
A substância **GA10** foi isolada da fração acetato de etila do extrato dos galhos (**Fluxograma 3.14**, p.48), sua determinação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.78**), COSY (**Figura 4.79**), HSQC (**Figura 4.80**), HMBC (**Figura 4.81**) e EM de alta resolução (**Figura 4.82**), os dados de RMN estão apresentados na **Tabela 4.26** e pode-se concluir que a substância se trata de uma chalcona dimérica com ausência do anel A da unidade II, inédita na literatura cujo nome é. 2', 4, 4', 5 – tetrahidroxichalcona - (2→7'',8→8'') - 4'' hidroxietilbenzeno e será conhecida como Cajobina –A.



No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.78**) foi observado um duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,38 (dd,  $J = 8,0$  e  $2,0$  Hz) referente ao hidrogênio (H-5') acoplado

em *meta* com um dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,37 (d,  $J = 2,0$  Hz) referente ao hidrogênio (H-3') e em *orto* com um dubleto  $\delta_{\text{H}}$  7,61 (d,  $J = 8,0$  Hz) referente ao hidrogênio (H-6'), formando um sistema de três hidrogênios *orto-meta* no anel aromático A da unidade I da chalcona, substituído nas posições 2' e 4', sendo estes acoplamentos confirmados pela análise do mapa de acoplamentos COSY (**Figura 4.79**). O mapa de contornos HSQC (**Figura 4.80**) revelou a correlação dos sinais do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,38 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  109,2 (C-5'), a correlação dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  6,37 e  $\delta_{\text{H}}$  7,61 com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  104,1 (C-3') e  $\delta_{\text{C}}$  137,3 (C-6'), respectivamente. A análise do mapa de contornos HMBC (**Figura 4.81**) mostra as correlações: do sinal do duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,38 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  164,8 (C-2'), este pertencente a carbono fenólico; o do dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  7,42 com  $\delta_{\text{C}}$  104,1 (C-3') e 114,0 (C-1'); o dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,37 com  $\delta_{\text{C}}$  109,2 (C-5') e finalmente o dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  7,61 com  $\delta_{\text{C}}$  167,4 (C-4'), um carbono fenólico, 104,1 (C-3') e 201,7 (C-9), um carbono de carbonila.

Para este composto não foi encontrado outro agrupamento semelhante a este (o que indica a ausência do anel A da unidade II).



O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.78**) mostrou também um dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,93 (d,  $J = 8,0$  Hz) integrando para dois hidrogênios, acoplado com o dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  7,32 (d,  $J = 8,0$  Hz) também integrando para dois hidrogênios e estes são hidrogênios H-2''/H-6'' e H-3''/H-5''. Este sistema corresponde ao do anel B da Unidade II. O mapa de contornos HSQC (**Figura 4.80**) mostrou a correlação dos sinais dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  7,32 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  132,0 (C-3''/5'') e  $\delta_{\text{H}}$  6,56 com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  116,4 (C-2''/6''). A análise do mapa de contornos de HMBC (**Figura 4.81**) mostra a correlação do sinal do dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,93 com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  133,3 (C-1'') e 158,2 (C-4'') um carbono fenólico; e o dubleto em  $\delta_{\text{H}}$

7,32 com os carbonos em  $\delta_C$  158,2 (C-4'') e 140,2 (C-7'') este um dos carbonos que faz a junção da Unidade I.

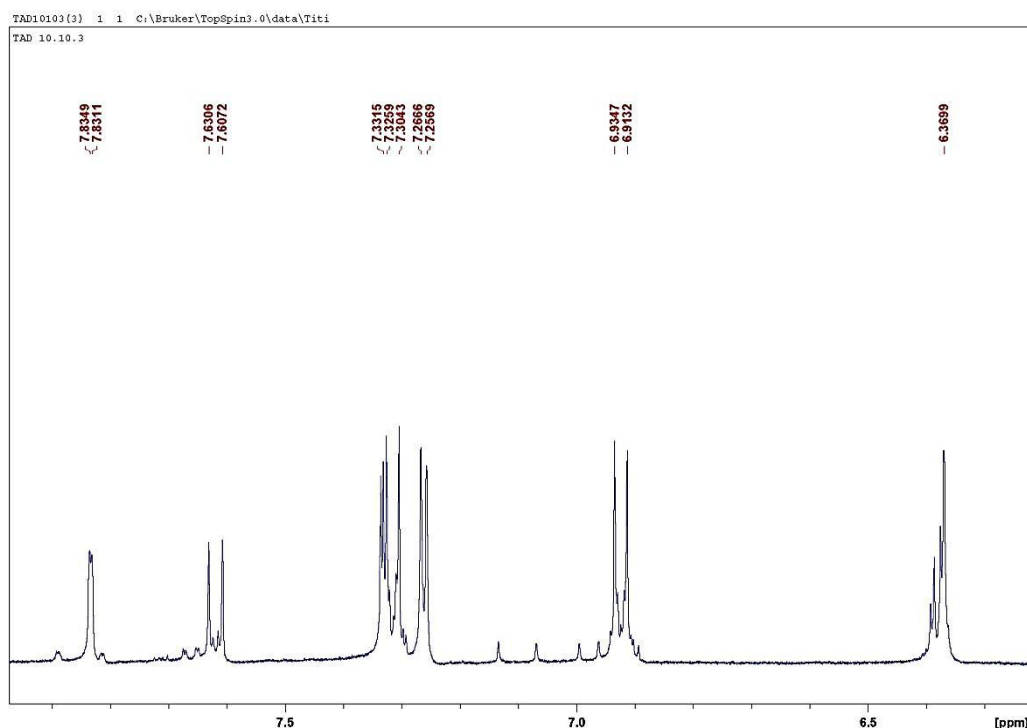
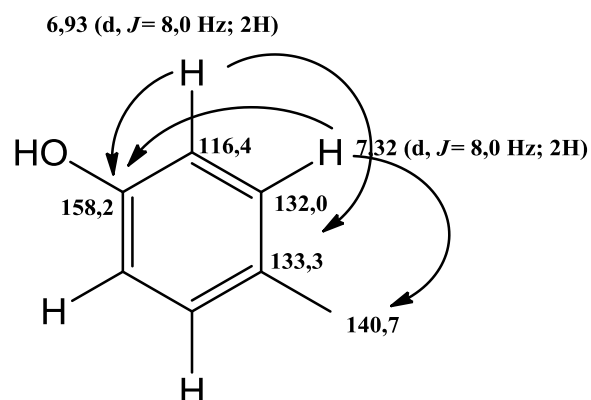


FIGURA 4.78 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (ampliação) da substância **GA10** (MeOD- $d_4$ ; 400 MHz).



O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.78**) mostrou também um dubleto em  $\delta_H$  7,83 (d,  $J = 1,6$  Hz, H-7), acoplado com o dubleto em  $\delta_H$  7,34 (d,  $J = 1,6$  Hz), este é o hidrogênio (H-8''), sendo estes acoplamentos confirmados pela análise do mapa de acoplamentos COSY (**Figura 4.79**). O mapa de contornos HSQC (**Figura 4.80**) mostrou a correlação dos sinais dos hidrogênios em  $\delta_H$  7,83 com o do carbono em  $\delta_C$  128,5 (C-7) e  $\delta_H$  7,34 com o do carbono em  $\delta_C$  124,7 (C-8''). A análise do mapa de correlações HMBC (**Figura 4.81**) mostra a correlação do sinal do dubleto



em  $\delta_H$  7,83 com os dos carbonos em  $\delta_C$  112,2 (C-5), 131,0 (C-2), 140,2 (C-7''), 124,7 (C-8'') e 201,7 (C-9), este último um carbono de carbonila, e o duplete em  $\delta_H$  7,34 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_C$  128,5 (C-7), 201,7 (C-9), 131,0 (C-2) e 133,3 (C-1'').

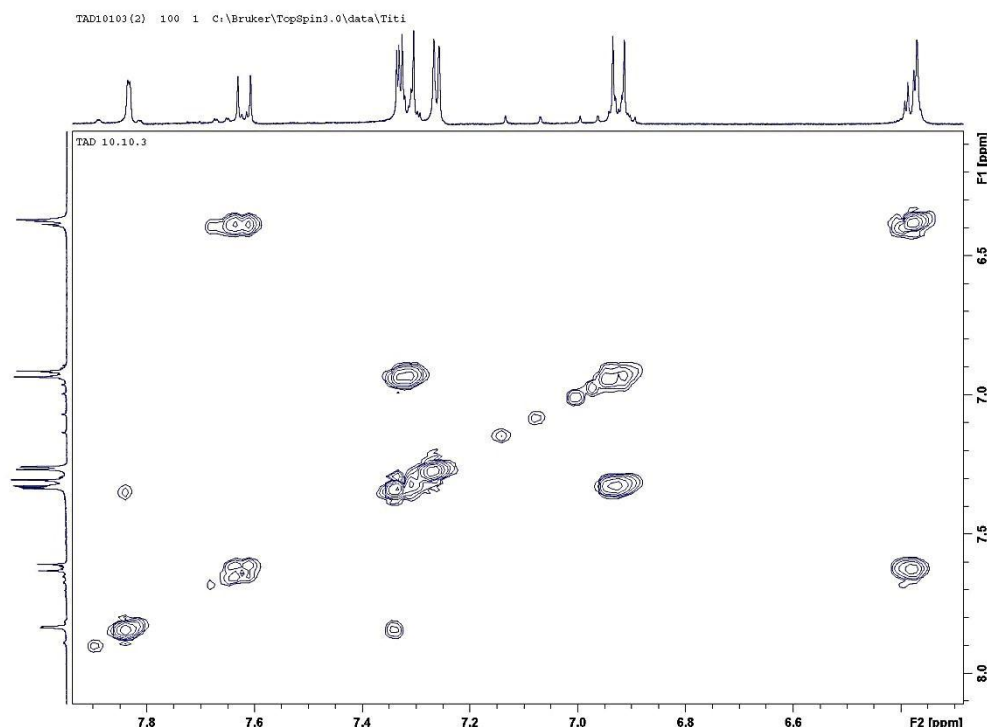


FIGURA 4.79 – Mapa de acoplamentos H-H COSY da substância **GA10** (MeOD-*d*4, 400 MHz).

Finalmente o anel B da unidade I foi determinado pelos dois singletos em  $\delta_H$  7,27 (s) pertencente ao hidrogênio H-6 e 7,26 (s) pertencente ao hidrogênio H-3. O mapa de contornos HSQC (**Figura 4.80**) mostrou a correlação destes sinais com os dos carbonos em  $\delta_C$  112,2 (C-6) e 109,2 (C-3), respectivamente. A análise do mapa de correlações HMBC (**Figura 4.81**) mostra que o singlete em  $\delta_H$  7,27 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_C$  130,2 (C-1), 131,0 (C-2), 150,1 (C-5), este um carbono fenólico e o singlete em  $\delta_H$  7,26 com os dos carbonos em  $\delta_C$  130,2 (C-1), 131,0 (C-2), 140,2 (C-7'') e 148,7 (C-4) e 150,1 (C-5), ambos carbonos fenólicos.

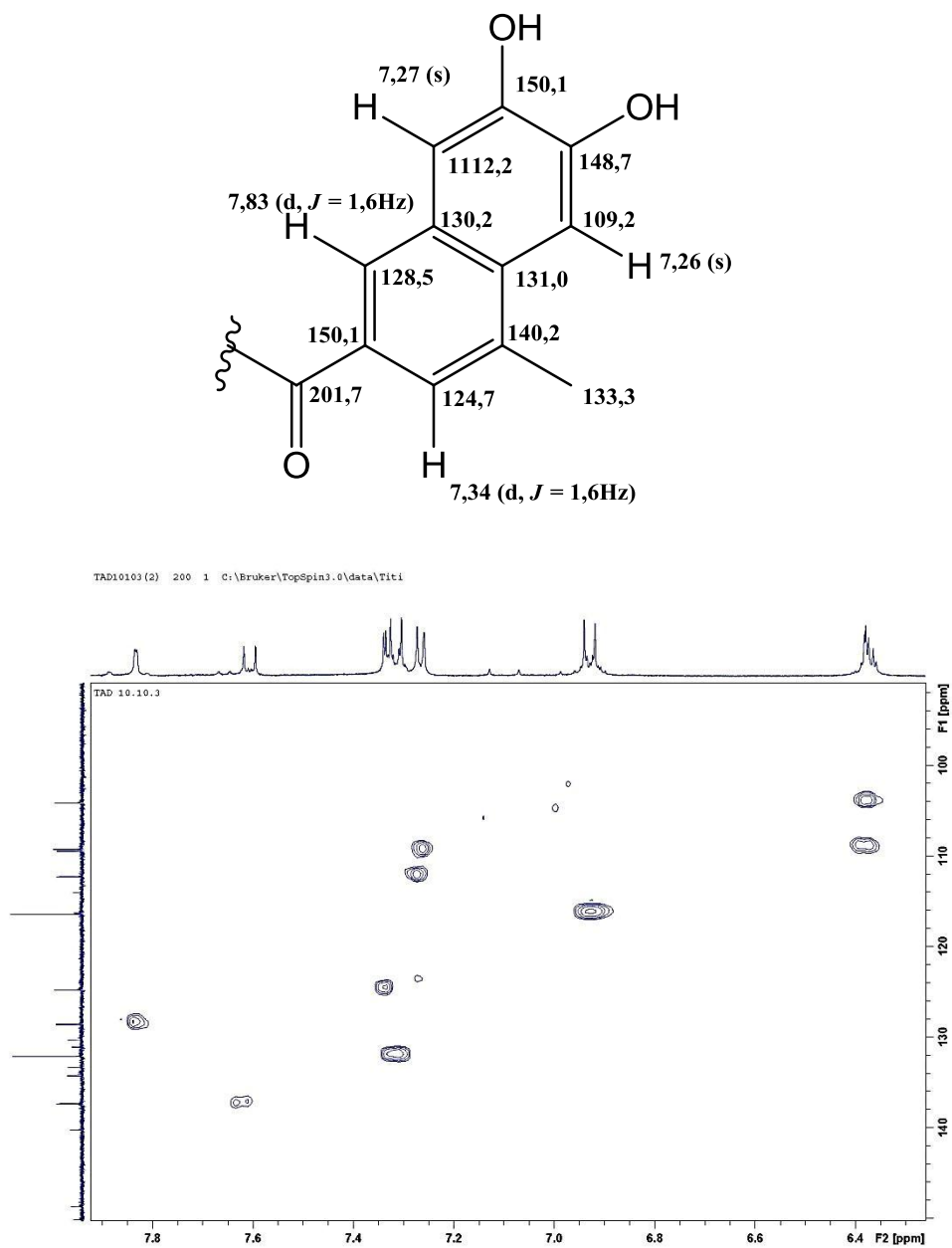


FIGURA 4.80 - Mapa de correlações HSQC da substância **GA10** (MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

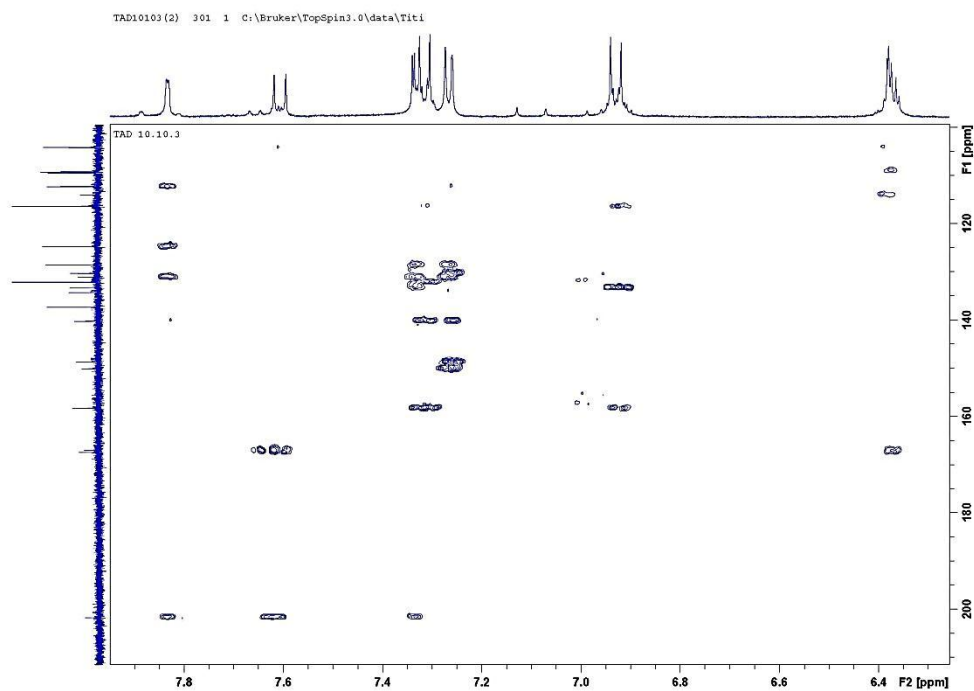


FIGURA 4.81 - Mapa de correlações HMBC da substância **GA10** (MeOD-*d*<sub>3</sub>; 400 MHz).

TABELA 4.26 - Dados de RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C da substância **GA10**

| H/C | $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hz)   |                  |
|-----|---------------------------------|------------------|
|     | $\delta_H$ (ppm), <i>J</i> (Hz) | $\delta_C$ (ppm) |
| 1   | -                               | 130,2            |
| 2   | -                               | 127,9            |
| 3   | 7,26 (s)                        | 109,2            |
| 4   | -                               | 148,7            |
| 5   | -                               | 150,1            |
| 6   | 7,27 (s)                        | 112,2            |
| 7   | 7,83 (d, <i>J</i> = 1,6)        | 128,5            |
| 8   | -                               | 131,0            |
| 9   | -                               | 201,7            |
| 1'  | -                               | 114,0            |
| 2'  | -                               | 166,9            |
| 3'  | 6,37 (d, <i>J</i> = 2,0)        | 104,1            |
| 4'  | -                               | 167,5            |
| 5'  | 6,38 (dd, <i>J</i> = 2,0 e 8,0) | 109,2            |

|         |                          |       |
|---------|--------------------------|-------|
| 6'      | 7,61 (d, $J = 8,0$ )     | 137,3 |
| 1''     | -                        | 133,3 |
| 2''/6'' | 7,32 (d, $J = 8,0$ ; 2H) | 132,0 |
| 3''/5'' | 6,93 (d, $J = 8,0$ ; 2H) | 116,4 |
| 4''     | -                        | 158,2 |
| 7''     | -                        | 140,2 |
| 8''     | 7,34 (d, $J = 1,6$ )     | 124,7 |

Para confirmar o peso molecular e como consequência a fórmula molecular da substância **GA10**, foi realizado o experimento de massas de alta resolução no modo positivo e negativo. O modo positivo (**Figura 4.82**) apresentou a melhor resolução. Assim, através do resultado foi confirmando a massa de ( $[M+H]^+$  389,1019 Da) que corresponde à fórmula molecular  $C_{23}H_{16}O_6+H$ .

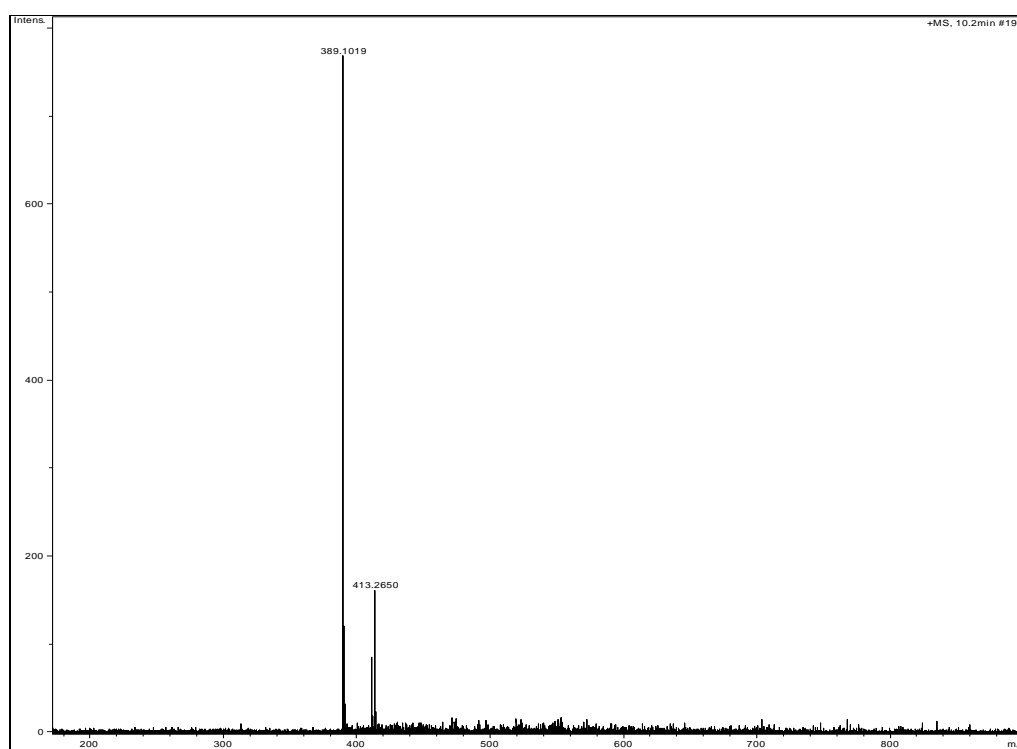


FIGURA 4.82 - Espectro massas de alta resolução da substância **GA10** (modo positivo).

#### 4.1.2.25. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE GA11

A substância **GA11** foi isolada da fração acetato de etila do extrato dos galhos (**Fluxograma 3.15**, p.49), sua identificação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de  $^1H$ , COSY, HSQC, HMBC e EM de alta resolução

(Figuras 4.83 a 4.87, Apêndice I) e os dados foram comparados com os da literatura (BANDEIRA *et al.*, 2003; VILLARI, 2011; Tabela 4.27) e foi concluído tratar-se de uma chalcona dimérica conhecida como Urundevina B.

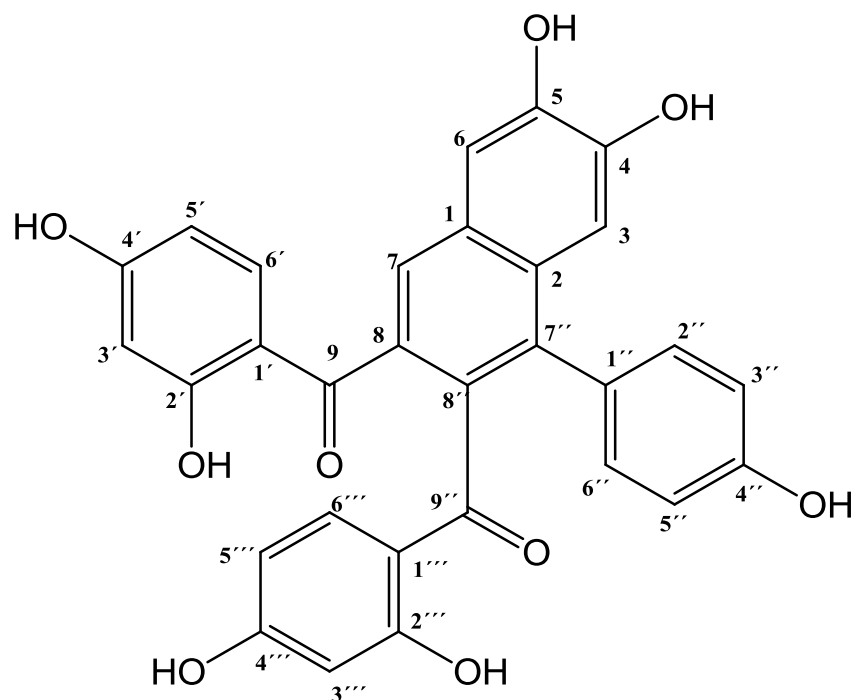


TABELA 4.27 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da substância **GA11** e os da literatura

| H/C | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), J (Hz) |   | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |   |
|-----|-----------------------------------|---|---------------------------|---|
|     | GA11 <sup>a</sup>                 | BANDEIRA <i>et al.</i> (2003) <sup>b</sup> ; VILLARI, (2011) <sup>c</sup> | GA11 <sup>a</sup>         | BANDEIRA <i>et al.</i> (2003) <sup>b</sup> ; VILLARI, (2011) <sup>c</sup> |
| 1   | -                                 | -   | 129,5                     | 129,4   |
| 2   | -                                 | -   | 127,9                     | 130,1   |
| 3   | 7,05 (s)                          | 7,05 (s)  | 109,0                     | 109,8   |
| 4   | -                                 | -   | 149,0                     | 150,0   |
| 5   | -                                 | -   | 148,5                     | 149,3   |
| 6   | 7,46 (s)                          | 7,45 (s)  | 110,6                     | 111,8   |
| 7   | 7,88 (s)                          | 7,88 (s)  | 127,6                     | 128,7   |
| 8   | -                                 | -   | 132,4                     | 130,3   |
| 9   | -                                 | -   | 200,0                     | 200,7   |
| 1'  | -                                 | -   | 113,5                     | 114,2   |
| 2'  | -                                 | -   | 167,0                     | 166,7   |

|         |                               |                               |       |       |
|---------|-------------------------------|-------------------------------|-------|-------|
| 3'      | 6,36 (d, $J = 2,0$ )          | 6,36 (sl)                     | 103,8 | 103,7 |
| 4'      | -                             | -                             | 167,5 | 167,1 |
| 5'      | 6,45 (dd, $J = 2,4$ e $8,8$ ) | 6,44 (dl, $J = 8,7$ )         | 108,0 | 108,9 |
| 6'      | 7,67 (d, $J = 8,8$ )          | 7,67 (d, $J = 8,7$ )          | 136,0 | 137,4 |
| 1''     | -                             | -                             | -     | 132,4 |
| 2''/6'' | 6,77 (m)                      | 6,80 (m)                      | 114,9 | 115,7 |
| 3''/5'' | 7,08 (dl, $J = 8,0$ )         | 7,08 (dl, $J = 7,4$ )         | 131,9 | 132,8 |
| 4''     | -                             | -                             | 156,7 | 157,7 |
| 7''     | -                             | -                             | 136,7 | 137,8 |
| 8''     | -                             | -                             | -     | 133,4 |
| 9''     | -                             | -                             | 201,0 | 202,6 |
| 1'''    | -                             | -                             | 115,3 | 116,3 |
| 2'''    | -                             | -                             | 156,5 | 165,2 |
| 3'''    | 6,12 (d, $J = 2,0$ )          | 6,11 (d, $J = 2,0$ )          | 102,8 | 102,9 |
| 4'''    | -                             | -                             | 164,0 | 165,7 |
| 5'''    | 6,15 (d, $J = 2,0$ e $8,4$ )  | 6,15 (dd, $J = 2,0$ e $8,7$ ) | 107,5 | 108,3 |
| 6'''    | 7,21 (d, $J = 8,4$ )          | 7,21 (d, $J = 8,7$ )          | 135,9 | 137,0 |

<sup>a,c</sup> [Acetona-*d*6, 400 MHz (<sup>1</sup>H) e 100 MHz (<sup>13</sup>C)]; <sup>b</sup>[CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz (<sup>1</sup>H) e 125 MHz (<sup>13</sup>C)].

Para confirmar o peso molecular e como consequência a fórmula molecular da substância **GA11**, foi realizado o experimento de massas de alta resolução no modo positivo e negativo. O modo negativo apresentou a melhor resolução, já que o composto apresenta grupos hidroxilas, sendo que estas comportam melhor a perda do próton, tornando-as com carga negativa devido à grande eletronegatividade do átomo de oxigênio. Assim, através do resultado foi confirmada a massa de ([M-H] 523,1037 Da) que corresponde à fórmula molecular para o composto de C<sub>30</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub>.

#### 4.1.2.26. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE GA12

A substância **GA12** foi isolada da fração acetato de etila do extrato dos galhos (**Fluxograma 3.15**, p.49), apresentou-se como sólido amorfo de coloração amarela solúvel em metanol e sua identificação estrutural foi realizado através de dados de espectros de RMN de <sup>1</sup>H, COSY, HSQC, HMBC e EM de alta resolução (**Figuras 4.88 a 4.92, Apêndice I**). Os dados foram comparados com os da literatura

(BANDEIRA *et al.*, 2003; VILLARI, 2011, **Tabela 4.28**,) e conclui se tratar da chalcona dimérica conhecida como Matosina.

A configuração relativa foi obtida por análises de experimentos de g-NOESY (**Figura 4.93 e 4.94, Apêndice I, Tabela 4.29**) e cálculos de constantes de acoplamento por diagrama de Karplus.

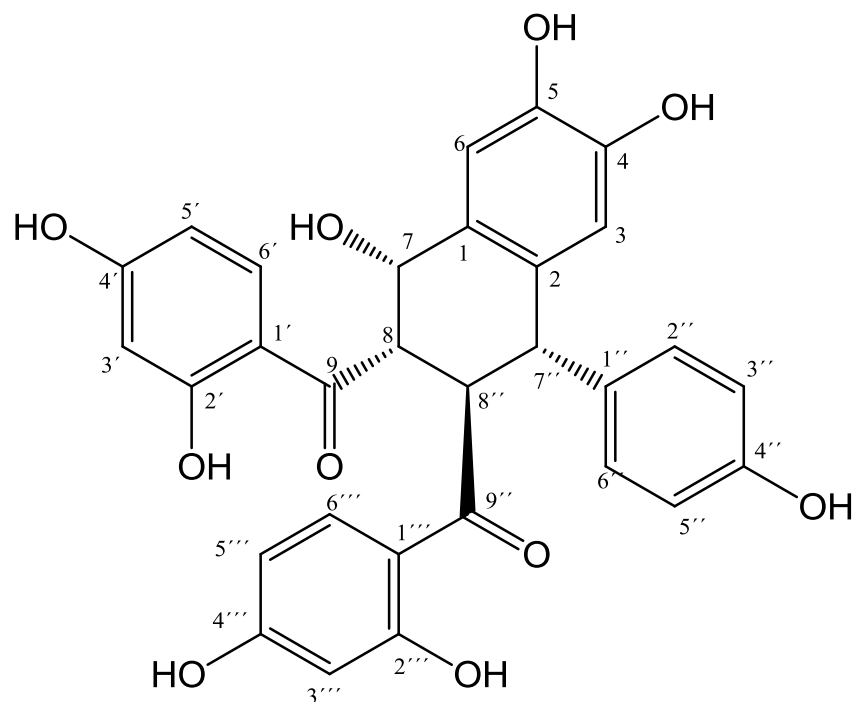


TABELA 4.28 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da substância **GA12** e da literatura

| H/C | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), J (Hz) |   | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |   |
|-----|-----------------------------------|---|---------------------------|---|
|     | GA12 <sup>a</sup>                 | BANDEIRA <i>et al.</i> (2003) <sup>b</sup> ; VILLARI, (2011) <sup>c</sup> | GA12 <sup>a</sup>         | BANDEIRA <i>et al.</i> (2003) <sup>b</sup> ; VILLARI, (2011) <sup>c</sup> |
| 1   | -                                 | -   | 124,5                     | 121,8   |
| 2   | -                                 | -   | 131,2                     | 130,5   |
| 3   | 6,29 (s)                          | 6,28 (s)  | 116,7                     | 113,9   |
| 4   | -                                 | -   | 148,0                     | 145,2   |
| 5   | -                                 | -   | 145,3                     | 142,5   |
| 6   | 6,88 (s)                          | 6,88 (s)  | 117,3                     | 114,6   |

|         |                             |                          |       |       |
|---------|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|
| 7       | 5,38 (d, $J = 2,4$ )        | 5,38 (sl)                | 78,4  | 75,7  |
| 8       | 3,07 (dd, $J = 2,4$ e 11,0) | 3,08 (dl; $J = 11,0$ )   | 51,4  | 48,6  |
| 9       | -                           | -                        | 193,1 | 190,5 |
| 1'      | -                           | -                        | 113,0 | 111,1 |
| 2'      | -                           | -                        | 164,8 | 161,9 |
| 3'      | 6,41 (d, $J = 2,4$ )        | 6,46 (sl)                | 103,6 | 100,8 |
| 4'      | -                           | -                        | 169,4 | 163,8 |
| 5'      | 6,42 (dd, $J = 2,4$ e 8,3)  | 6,45 (dl; $J = 8,3$ )    | 113,1 | 109,5 |
| 6'      | 7,42 (d, $J = 8,3$ )        | 7,43 (d, $J = 8,3$ )     | 130,1 | 127,7 |
| 1''     | -                           | -                        | 135,9 | 133,0 |
| 2''/6'' | 6,95 (d, $J = 8,4$ ; 2H)    | 6,95 (d, $J = 8,2$ ; 2H) | 131,2 | 128,4 |
| 3''/5'' | 6,63 (d, $J = 8,4$ ; 2H)    | 6,62 (d, $J = 8,2$ ; 2H) | 116,3 | 113,6 |
| 4''     | -                           | -                        | 157,2 | 154,4 |
| 7''     | 4,46 (d, $J = 11,0$ )       | 4,43 (d, $J = 11,0$ )    | 48,5  | 46,7  |
| 8''     | 4,38 (d, $J = 11,0$ )       | 4,43 (d, $J = 11,0$ )    | 45,8  | 43,2  |
| 9''     | -                           | -                        | 204,8 | 202,4 |
| 1'''    | -                           | -                        | 115,2 | 112,7 |
| 2'''    | -                           | -                        | 167,2 | 163,8 |
| 3'''    | 6,06 (d, $J = 2,0$ )        | 6,09 (sl)                | 103,7 | 100,7 |
| 4'''    | -                           | -                        | 165,0 | 164,4 |
| 5'''    | 5,79 (dd, $J = 2,0$ ; 9,0)  | 5,80 (dl, $J = 9,0$ )    | 108,9 | 105,7 |
| 6'''    | 6,75 (d, $J = 9,0$ )        | 6,75 (d, $J = 9,0$ )     | 132,9 | 130,1 |

<sup>a, c</sup> [Acetona-*d*6, 400 MHz (<sup>1</sup>H) e 100 MHz (<sup>13</sup>C)]; <sup>b</sup> [MeOD-*d*3, 500 MHz (<sup>1</sup>H) e 125 MHz (<sup>13</sup>C)].

Para a identificação da configuração relativa de **GA12**, foram realizados os experimentos gNOESY (Figura 4.93 e 4.94, Apêndice I e Tabela 4.29). Nestes experimentos foram observados efeitos NOE quando foram irradiados os sinais de hidrogênios  $\delta_{\text{H}}$  7,82 (H-6'); 7,30 (H-7); 7,15 (H-2''); 6,99 (H-6); 6,47 (H-3); 5,00 (H-8''); 4,40 (H-7''). Algumas irradiações não permitiram obter conclusões sobre a configuração, mas sim para confirmar a posição dos hidrogênios atribuídos anteriormente. Irradiando-se os hidrogênios do anel B da unidade II: 2''/6'' ( $\delta_{\text{H}}$  6,95) não se observou incrementos para os hidrogênios do anel A da unidade II e a ausência de incrementos pode ser um indício de que os anéis estejam em *trans* o que ocasionaria uma maior distancia e não sendo observado efeito NOE. Outro



indício de que os anéis A e B da unidade II estão em *trans* é que ao se irradiar os hidrogênios da posição 2''/6'' ( $\delta_H$  6,95) se observou um incremento no hidrogênio 8'' ( $\delta_H$  4,38) mostrando que este hidrogênio se encontra mais próximo do anel B que o hidrogênio 7''. Ao se irradiar os hidrogênios do anel A da Unidade A 6''' ( $\delta_H$  6,75) foi observado um incremento no hidrogênio da posição 7'' ( $\delta_H$  4,46) e assim como no anel B este hidrogênio está mais próximo ao anel A. Irradiando-se o hidrogênio 7 ( $\delta_H$  5,38) se observou um incremento no hidrogênio da posição 8 ( $\delta_H$  3,07) mostrando que estes hidrogênios encontram-se vizinhos (acoplado). Ao se irradiar o hidrogênio 8 ( $\delta_H$  3,07) foi observado um incremento no hidrogênio da posição 7 ( $\delta_H$  5,38) e também um incremento do hidrogênio da posição 7'' ( $\delta_H$  4,46) indicando uma relação de proximidade entre eles, indicando que eles estão do mesmo lado no anel.

A partir da constante de acoplamento foi possível propor os ângulos diedros entre os hidrogênios 7'' e 8'', 7 e 8 utilizando o Diagrama de Karplus (SILVERSTEIN *et al.*, 1994) de **GA12** e pelas análises de g-NOESY observou-se que os anéis A e B da unidade II estão em *trans*, os hidrogênios 7'' e 8'' com relação diaxial entre si e constante de acoplamento de 11,0 e 11,0 Hz, apresentam um ângulo de aproximadamente 120° entre si e que eles também dever ser diaxiais. A constante de acoplamento dos hidrogênios 7 e 8 mostram que o anel A da unidade I e a hidroxila da posição 7 estão em *cis*, uma vez que os hidrogênios 7 e 8 apresentam constante de acoplamento de 2,4 Hz e um ângulo de aproximadamente 60°.

TABELA 4.29 - Dados obtidos do experimento gNOESY da substância **GA12**

| H ( $\delta_H$ ) Irradiado | g-NOESY ( $\delta_H$ )                    |
|----------------------------|---|
| 6'(7,42)                   | 5'(6,42)                                  |
| 2''/6'' (6,95)             | 3''/5'' (6,63)<br>3 (6,29)f<br>8'' (4,38) |
| 6 (6,88)                   | 7 (5,38)                                  |
| 6'''(6,75)                 | 5'''(5,79)f<br>7'' (4,46)f                |
| 3 (6,29)                   | 7'' (4,46)f                               |

|            |  |
|------------|--|
|            | 2''/6'' (6,95)f                        |
| 7 (5,38)   | 6 (6,88)<br>8 (3,07)                   |
| 7'' (4,46) | 3 (6,29)<br>8 (3,07)<br>2''/6'' (6,95) |
| 8'' (4,38) | 2''/6'' (6,95)<br>6 (6,88)             |
| 8 (3,07)   | 7 (5,38)<br>7'' (4,46)                 |

Para confirmar o peso molecular e como consequência a fórmula molecular da substância **GA12**, foi realizado o experimento de massas de alta resolução no modo positivo e negativo (por eletrospray). O modo positivo (**Figura 4.92, Apêndice I**) apresentou a melhor resolução, já que o composto apresenta grupos hidroxilas que são facilmente desidratadas se comportando melhor com ganho de elétron. Assim, através do resultado foi confirmando a massa de 527,1331 Da onde se verificou a desidratação e o pico correspondente é de  $[M-H_2O+H]^+$  que corresponde à fórmula molecular  $C_{30}H_{23}O_9$ . Ao se desidratar o intermediário adquire conjugação estabilizando o íon, conforme proposta apresentada na **Figura 4.95**.

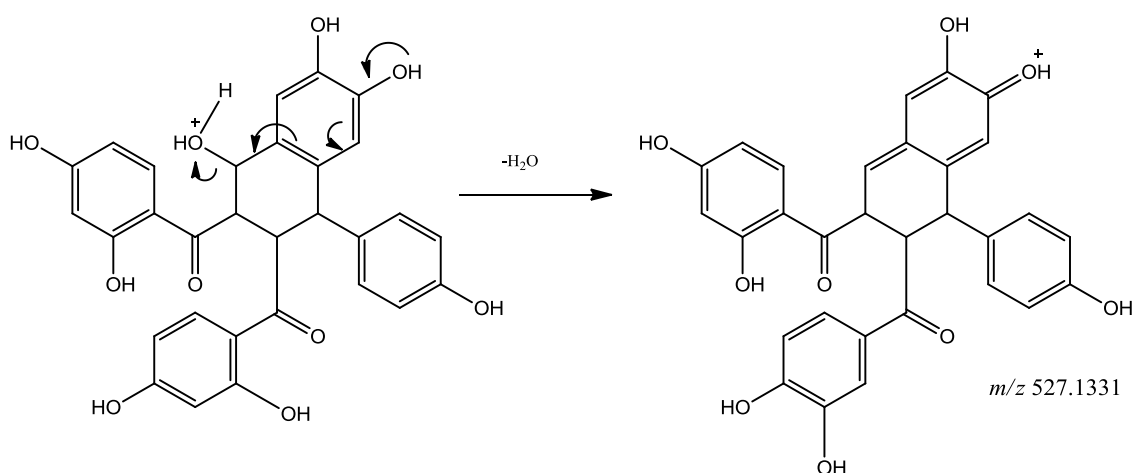
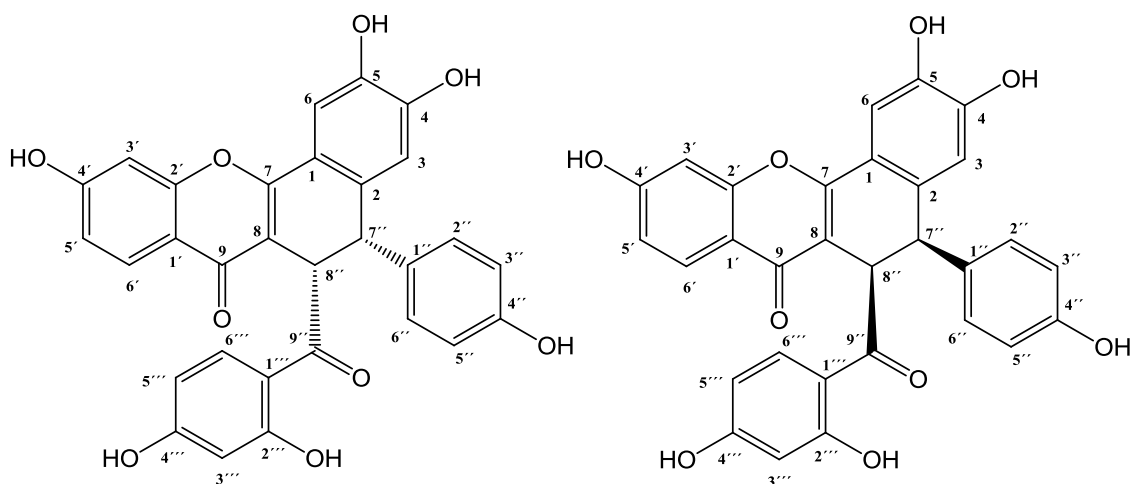


FIGURA 4.95 – Proposta de formação do íon 527,1331 da substância **GA12**.

## 4.1.2.27. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE GA13

A substância **GA13** foi isolada da fração acetato de etila do extrato dos galhos (**Fluxograma 3.15**, p.49), apresentou-se como sólido amorfo de coloração amarela ouro, solúvel em metanol, sua identificação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.96**), COSY (**Figura 4.97**), HSQC (**Figura 4.98**), HMBC (**Figura 4.99**), EM de alta resolução (**Figura 4.100**) e os dados de RMN foram comparados com os da literatura (VILLARI, 2011; **Tabela 4.30**). A sua configuração relativa e absoluta foi realizada utilizando constantes de acoplamento e  $[\alpha]_D^{25}$  e ao final pode-se concluir que a substância se trata da chalcona dimérica com uma condensação de uma flavona Unidade I com uma chalcona unidade II a 4, 5, 4' dihidroxi-7,2'-oxo-chalcona- (2 $\rightarrow$ 7'',8 $\rightarrow$ 8'')-2'',4'', 4'', 2''',4'''- trihidroxichalcona.



No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.96**) observou-se um duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,86 (dd,  $J = 8,8$  e  $2,8$  Hz) referente ao hidrogênio H-5' acoplado em *meta* com um dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,95 (d,  $J = 2,8$  Hz) referente ao hidrogênio H-3' e em *orto* com um dubleto  $\delta_{\text{H}}$  7,86 (d,  $J = 8,8$  Hz) referente ao hidrogênio H-6', formando um sistema de três hidrogênios *orto-meta* no anel aromático A da unidade I da flavona substituído na posição 4', sendo estes acoplamentos confirmados pela análise do espectro de acoplamento COSY (**Figura 4.97**). O mapa de contornos HSQC (**Figura 4.98**) revelou a correlação do sinal do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,86 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  116,4 (C-5'); a correlação dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  6,95 e  $\delta_{\text{H}}$  7,86 com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  104,0 (C-3') e  $\delta_{\text{C}}$  127,6 (C-6') respectivamente. A análise do mapa de contornos HMBC (**Figura 4.99**) mostra a correlação do sinal do duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,86 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  115,0 (C-1'); o dubleto em  $\delta_{\text{H}}$

6,95 com os carbonos em  $\delta_C$  127,6 (C-6'), 157,7 (C-2'), 115,0 (C-1') e 164,4 (C-2'), este um carbono fenólico e por fim o dubleto em  $\delta_H$  7,86 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_C$  157,7 (C-4'), 164,4 (C-2') e 177,0 (C-9), este um carbono de carbonila.

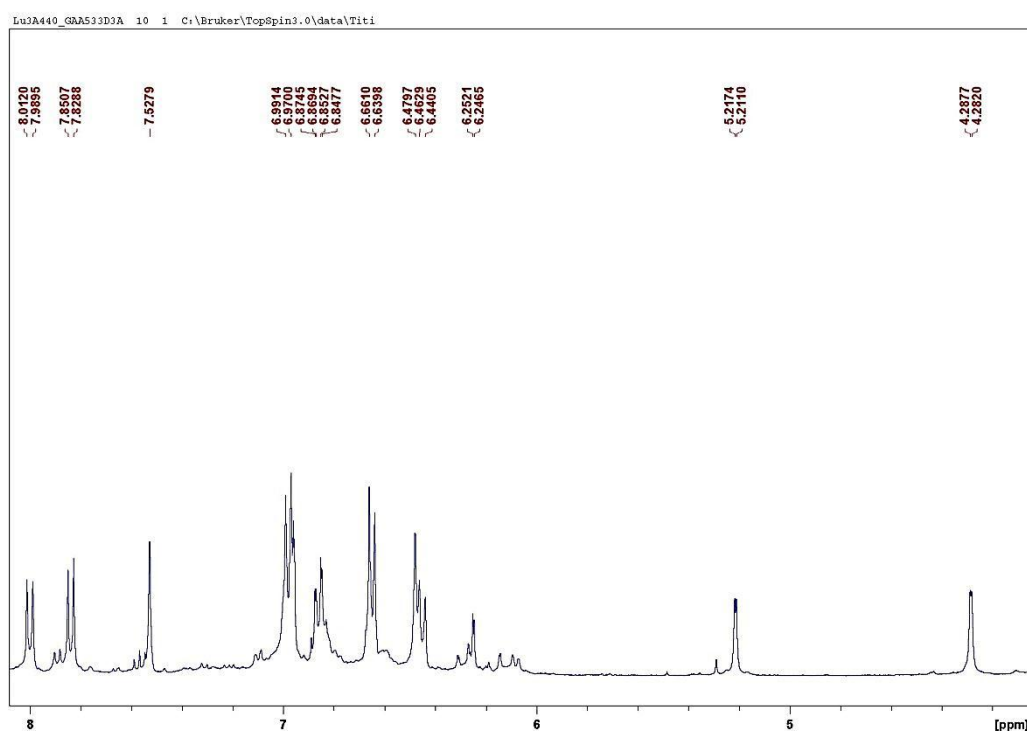
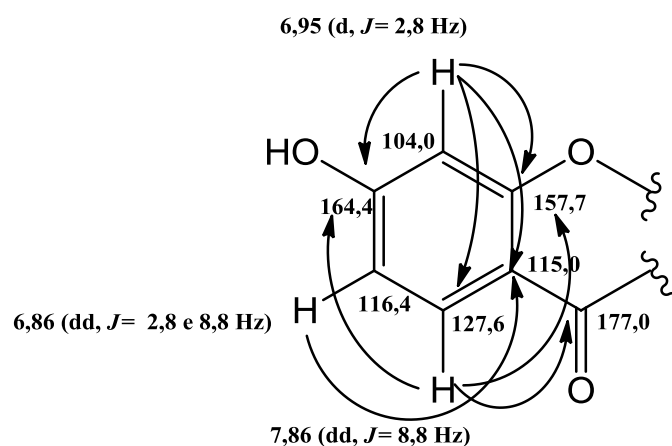


FIGURA 4.96 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **GA13** (MeOD- $d_4$ ; 400 MHz).

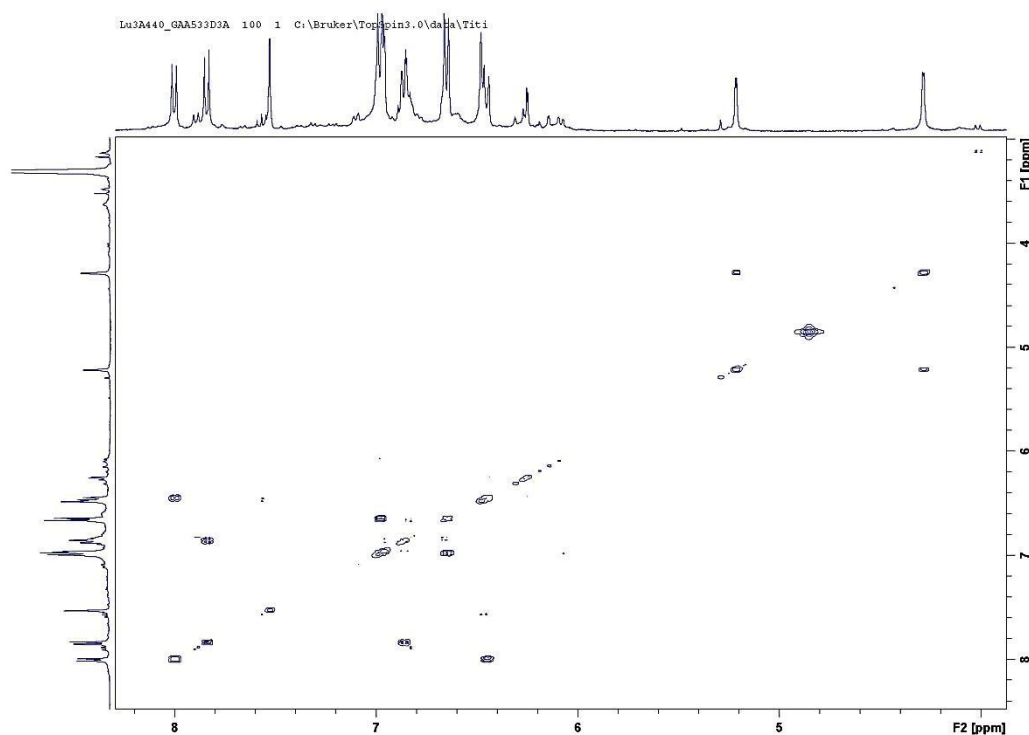
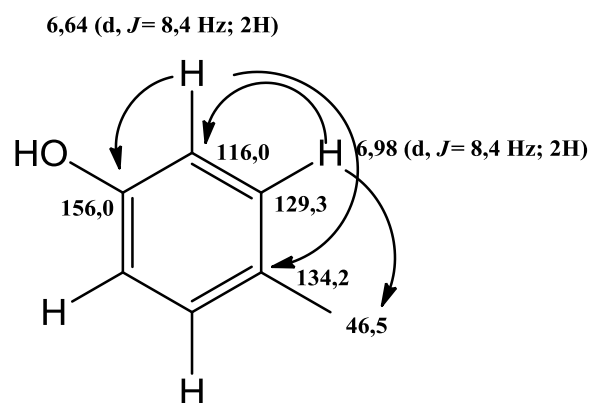
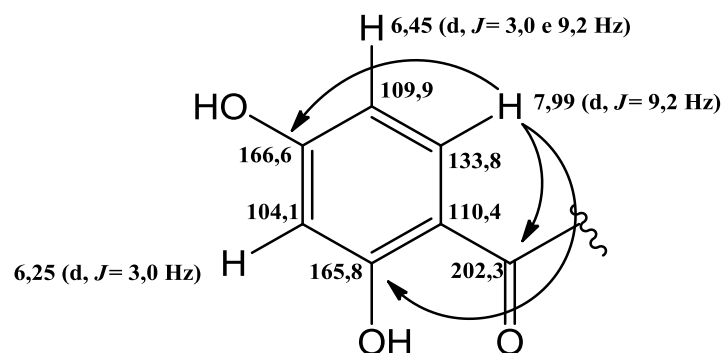


FIGURA 4.97 – Mapa de acoplamentos H-H COSY da substância **GA13** (MeOD-*d*4; 400 MHz).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.96**) mostrou também um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  6,98 (d,  $J = 8,4$  Hz) integrando para dois hidrogênios, acoplado com o duplete em  $\delta_{\text{H}}$  6,64 (d,  $J = 8,4$  Hz) também integrando para dois hidrogênios atribuídos aos hidrogênios H-2''/H-6'' e H-3''/H-5'' e este sistema monosubstituído na posição 4'' diz respeito ao anel B da Unidade II, sendo estes acoplamentos confirmados pela análise do mapa de acoplamentos COSY (**Figura 4.97**). O mapa de contornos HSQC (**Figura 4.98**) mostrou a correlação dos sinais dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  6,98 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  129,3 (C-2''/6'') e  $\delta_{\text{H}}$  6,64 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  116,0 (C-3''/5''). A análise do mapa de contornos HMBC (**Figura 4.99**) mostra as correlações dos sinais: do duplete em  $\delta_{\text{H}}$  6,98 com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  46,5 (C-7'''), um dos carbonos que faz a condensação das duas unidades, 157,0 (C-4'') um carbono fenólico e o duplete em  $\delta_{\text{H}}$  6,64 com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  157,0 (C-4'') e 134,2 (C-1'').



O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.96**) mostrou ainda, um dubleto em  $\delta_{\text{H}} 6,45$  (dd,  $J = 9,2$  e  $3,0$  Hz) referente ao hidrogênio H-5''' acoplado em *orto* com o dubleto em  $\delta_{\text{H}} 7,99$  (d,  $J = 9,2$  Hz) referente ao hidrogênio H-6''' e com o hidrogênio da posição 3''', meta, em  $\delta_{\text{H}} 6,25$  (d,  $J = 3,0$ ). A análise do mapa de contornos HSQC (**Figura 4.98**) mostra a correlação do sinal em  $\delta_{\text{H}} 7,99$  com o do carbono em  $\delta_{\text{C}} 133,8$  (C-6''') e dos sinais em  $\delta_{\text{H}} 6,45$  e  $6,25$  com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}} 109,9$  (C-5''') e  $104,1$  (C-3'''). A análise do mapa de contornos HMBC (**Figura 4.99**) mostra a correlação do sinal em  $\delta_{\text{H}} 7,99$  com os carbonos em  $\delta_{\text{C}} 166,6$  (C-4''');  $165,8$  (C-2''') ambos carbonos fenólicos e  $202,3$  (C-9'') um carbono de carbonila e o dubleto em  $\delta_{\text{H}} 6,45$  com o carbono em  $\delta_{\text{C}} 110,4$  (C-1''').



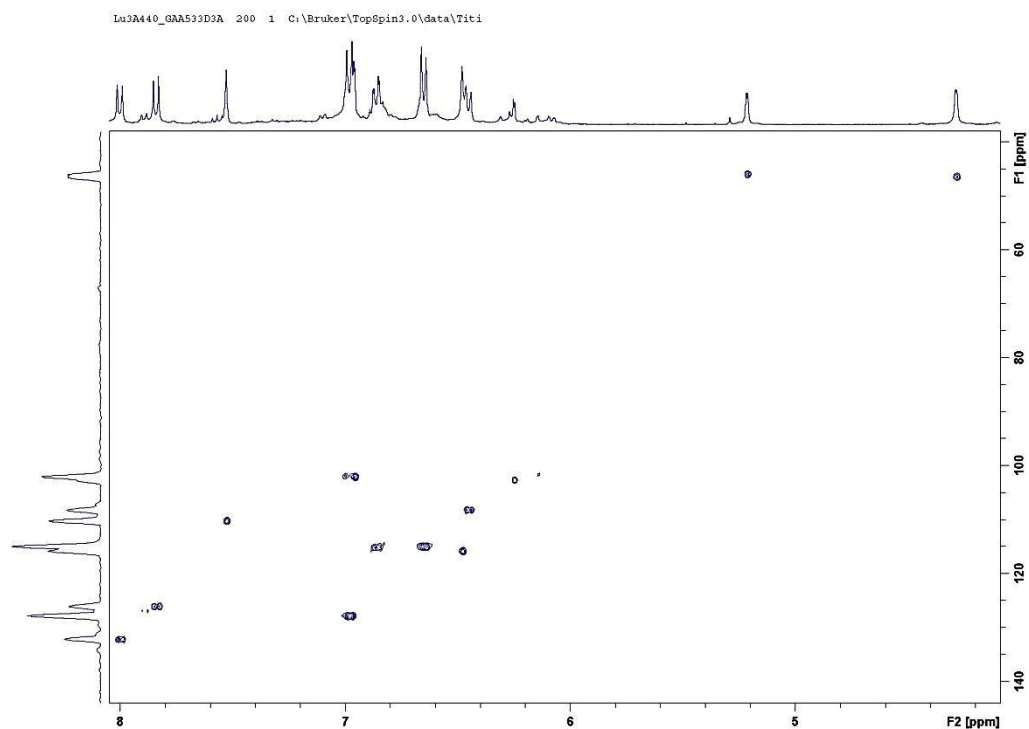


FIGURA 4.98 – Mapa de contorno HSQC da substância **GA13** (MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

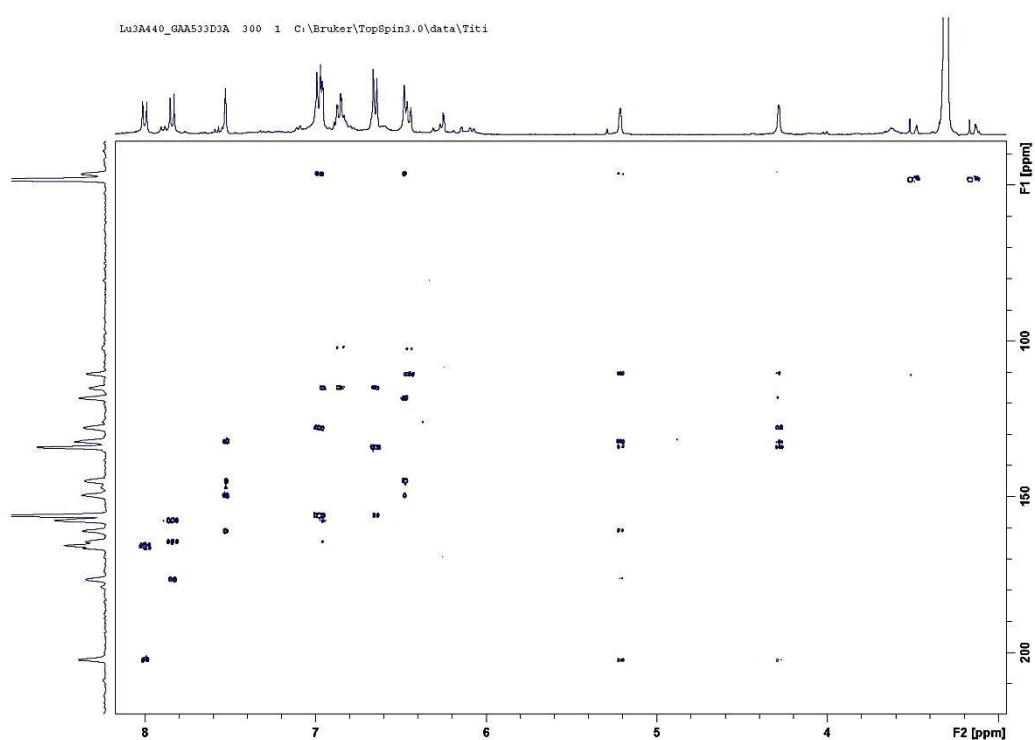


FIGURA 4.99 – Mapa de contorno HMBC da substância **GA13** (MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

A análise da região de sinais de hidrogênios ligados a carbonos  $sp^3$  que corresponde às regiões de condensação das duas chalconas, no espectro de RMN de  $^1H$  (**Figura 4.96**) mostrou um dubleto em  $\delta_H$  5,21 (d,  $J = 3,2$  Hz) referente ao hidrogênio (H-8'') acoplado com o dubleto em  $\delta_H$  4,28 (d,  $J = 3,2$  Hz) correspondendo ao hidrogênio (H-7''). Estes acoplamentos são confirmados pelo mapa de acoplamentos COSY (**Figura 4.97**). O mapa de contorno HSQC (**Figura 4.98**) mostrou a correlação dos sinais dos hidrogênios em  $\delta_H$  5,21 ao carbono em  $\delta_C$  48,5 (C-8'') e  $\delta_H$  4,28 ao carbono em  $\delta_C$  46,5 (C-7''). A análise do mapa de contorno HMBC (**Figura 4.99**) mostrou a correlação dos sinais:  $\delta_H$  5,21 com os dos carbonos  $\delta_C$  177,0 (C-9); 202,3 (C-9'') ambos carbonos de carbonila (referentes as duas unidades); 161,0 (C-7); 46,5 (C-7'') e 134,2 (C-1'') e finalmente o dubleto em  $\delta_H$  4,28 se correlaciona com o carbono em  $\delta_C$  202,3 (C-9''); 134,2 (C-1''); 129,0 (C-1); 132,1 (C-2), 129,3 (C-2'',6'').

A análise do anel B da unidade I foi mostrada pelos dois singletos em  $\delta_H$  6,48 (s) correspondendo ao hidrogênio da posição (H-3) que pelo mapa de contornos HSQC (**Figura 4.98**) está correlacionando com o do carbono em  $\delta_C$  117,7 e o singlete em  $\delta_H$  7,54 (s) correspondendo ao hidrogênio da posição (H-6) que está se correlacionando com o do carbono em  $\delta_C$  111,9. O mapa de correlações HMBC (**Figura 4.99**) mostra que o sinal em  $\delta_H$  6,48 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_C$  46,5 (C-7''), 161,0 (C-7), 145,0 (C-4) e 149,7 (C-5). O sinal em  $\delta_H$  7,54 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_C$  161,0 (C-7); 145,0 (C-5) e 149,7 (C-4).

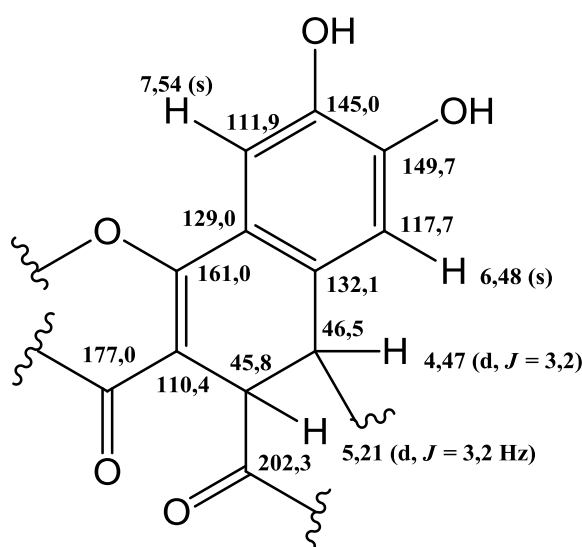




TABELA 4.30 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da substância **GA13** e da literatura

| H/C     | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), $J$ (Hz) |                               | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |                              |
|---------|-------------------------------------|-------------------------------|---------------------------|------------------------------|
|         | GA13 <sup>a</sup>                   | VILLARI, (2011) <sup>b</sup>  | GA13 <sup>a</sup>         | VILLARI, (2011) <sup>b</sup> |
| 1       | -                                   | -                             | 129,0                     | 129,3                        |
| 2       | -                                   | -                             | 132,1                     | 133,5                        |
| 3       | 6,48 (s)                            | 6,48 (s)                      | 117,7                     | 117,4                        |
| 4       | -                                   | -                             | 149,7                     | 150,6                        |
| 5       | -                                   | -                             | 145,0                     | 146,2                        |
| 6       | 7,54 (s)                            | 7,50 (s)                      | 111,9                     | 111,8                        |
| 7       | -                                   | -                             | 161,0                     | 162,1                        |
| 8       | -                                   | -                             | 110,4                     | 112,0                        |
| 9       | -                                   | -                             | 177,0                     | 178,0                        |
| 1'      | -                                   | -                             | 116,4                     | 117,0                        |
| 2'      | -                                   | -                             | 164,4                     | 165,0                        |
| 3'      | 6,95 (d, $J = 2,8$ )                | 6,92 (d, $J = 2,4$ )          | 104,0                     | 104,1                        |
| 4'      | -                                   | -                             | 157,7                     | 159,1                        |
| 5'      | 6,86 (dd, $J = 2,8$ e $9,6$ )       | 6,87 (dd, $J = 2,4$ ; $8,4$ ) | 113,0                     | 111,8                        |
| 6'      | 7,86 (d, $J = 8,8$ )                | 7,84 (d, $J = 8,4$ )          | 127,6                     | 127,5                        |
| 1''     | -                                   | -                             | 134,2                     | 135,3                        |
| 2''/6'' | 6,98 (d, $J = 8,4$ )                | 6,98 (d, $J = 9,2$ )          | 129,3                     | 129,3                        |
| 3''/5'' | 6,64 (d, $J = 8,4$ )                | 6,66 (d, $J = 9,2$ )          | 116,0                     | 116,3                        |
| 4''     | -                                   | -                             | 157,0                     | 157,5                        |
| 7''     | 4,28 (d, $J = 3,2$ )                | 4,30 (d, $J = 4,8$ )          | 46,5                      | 47,5                         |
| 8''     | 5,21 (d, $J = 3,2$ )                | 5,20 (d, $J = 4,8$ )          | 48,5                      | 49,5                         |
| 9''     | -                                   | -                             | 202,3                     | 203,3                        |
| 1'''    | -                                   | -                             | 110,4                     | 111,9                        |
| 2'''    | -                                   | -                             | 165,8                     | 162,1                        |
| 3'''    | 6,25 (d, $J = 3,0$ )                | 6,25 (d, $J = 3,6$ )          | 104,1                     | 104,1                        |
| 4'''    | -                                   | -                             | 166,6                     | 167,3                        |
| 5'''    | 6,45 (dd, $J = 9,2$ e $3,0$ )       | 6,46 (dd, $J = 3,6$ ; $9,2$ ) | 109,9                     | 109,6                        |
| 6'''    | 7,99 (d, $J = 9,2$ )                | 8,01 (d, $J = 9,2$ )          | 133,8                     | 133,4                        |

<sup>a</sup> [MeOD-*d*4, 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ )]; <sup>b</sup> [MeOD-*d*4, 400 e 600 MHz].

A partir da constante de acoplamento foi possível propor os ângulos diedros entre os hidrogênios 7'' e 8'' utilizando o Diagrama de Karplus (SILVERSTEIN *et al.*, 1994) do composto. Os hidrogênios 7'' e 8'' com relação diaequatorial entre si e constante de acoplamento de 3,4 Hz, apresentam ângulo de 45°. Com esta constante é possível inferir que os anéis A e B da unidade II se encontram em posição cis entre si.

Para confirmar o peso molecular e como consequência a fórmula molecular da substância **GA13**, foi realizado o experimento de massas de alta resolução no modo positivo e negativo. O modo negativo (**Figura 4.100**) apresentou a melhor resolução, já que o composto apresenta grupos hidroxilas, sendo que estas comportam melhor a perda do próton, tornando-as com carga negativa devido a grande eletronegatividade do átomo de oxigênio. Assim, através do resultado foi confirmando a massa de 523,1020 Da, onde se verificou o pico correspondente de  $[M - H]^-$  que corresponde à fórmula molecular  $C_{30}H_{20}O_9$ .

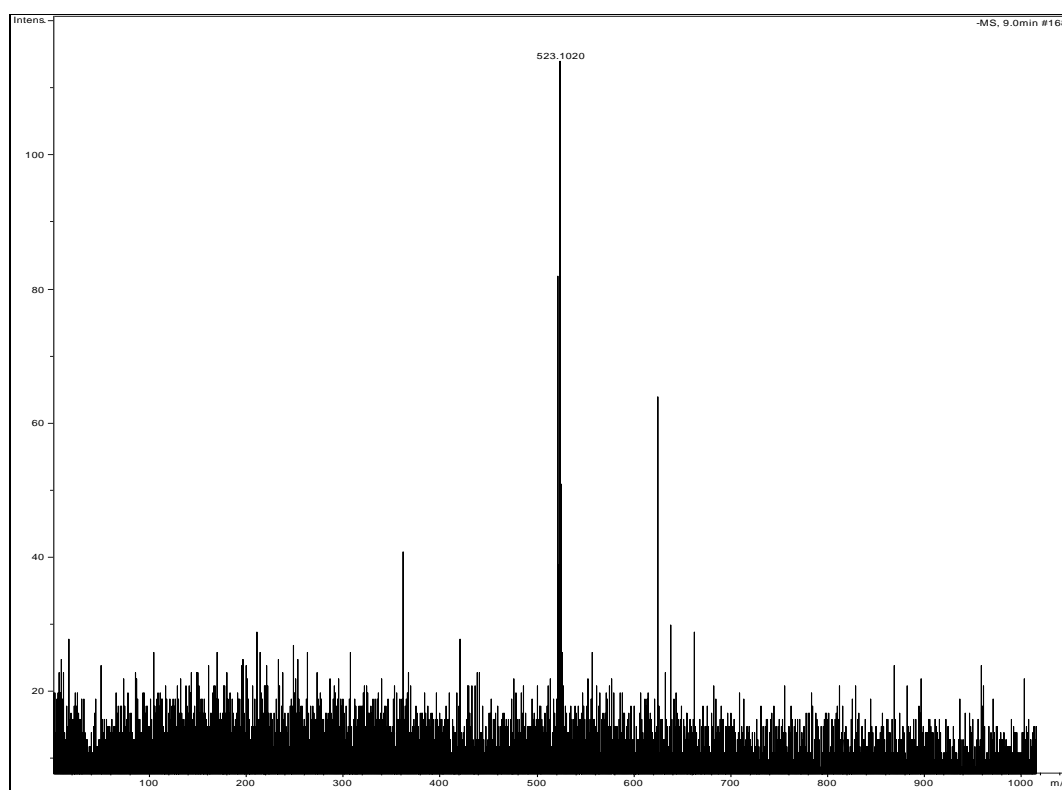


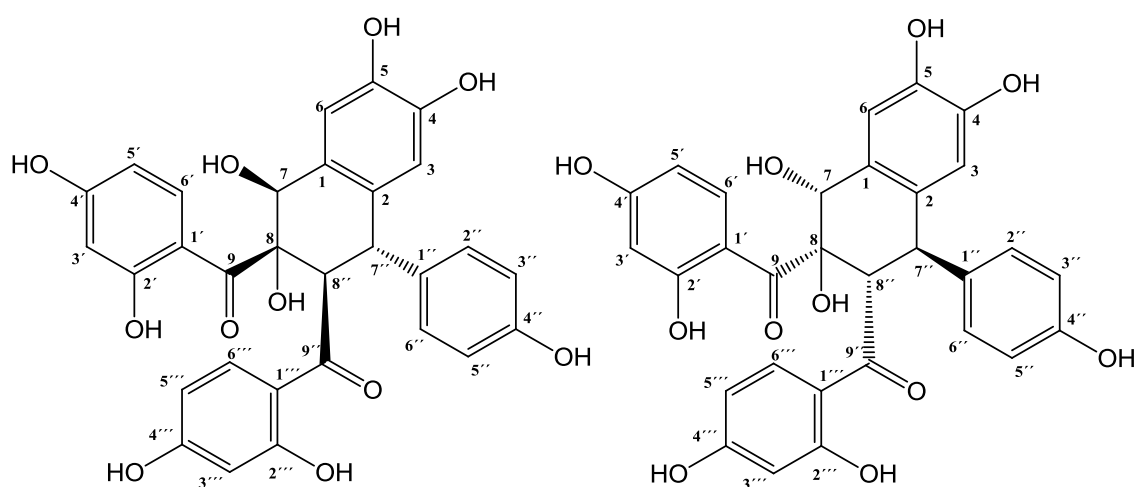
FIGURA 4.100 – Espectro de alta resolução da substância **GA13** (modo negativo).

#### 4.1.2.28. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE GA14

A substância **GA14** foi isolada da fração acetato de etila do extrato dos galhos (**Fluxograma 3.16**, p.52), apresentou-se como sólido amorfo de coloração

amarelo ouro, solúvel em metanol e sua determinação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 4.101), COSY (Figura 4.102), HSQC (Figura 4.103), HMBC (Figura 4.104) e EM alta resolução (Figura 4.105) e conclui se tratar da chalcona dimérica inédita, seguindo a nomenclatura proposta por Bandeira *et al.*, 1994 esta chalcona passará a ter o nome comum de urundeuvina D.

A estereoquímica da substância **GA14** foi obtida por análises de experimentos de g-NOESY (Figuras 4.107 e 4.108; Tabela 4.31) e cálculos de constantes de acoplamento por diagrama de Karplus.



A análise dos dados de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 4.101) levou a identificação de sinais correspondentes a 4 anéis aromáticos semelhantes aqueles das estruturas discutidas anteriormente e sugerindo que **GA14** seja uma chalcona dimérica.

Os dados constam da TABELA 4.31 e se basearam na comparação com as estruturas já discutidas e nos mapas de contorno.

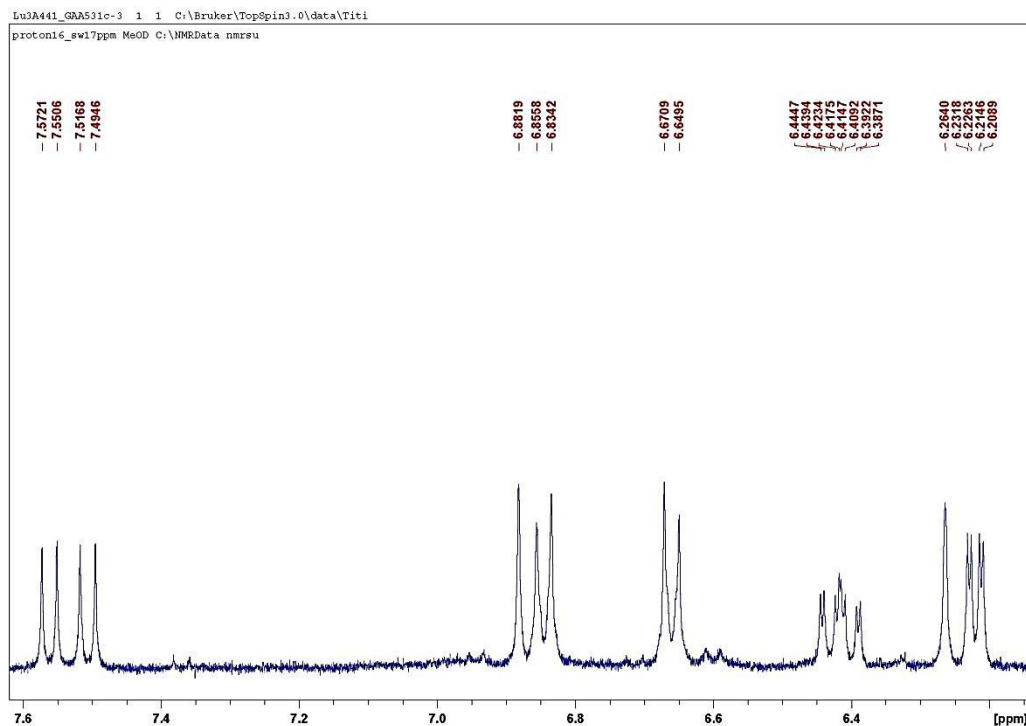


FIGURA 4.101 – Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **GA14** (MeOD- $d_4$ ; 400 MHz).

A análise da região de sinais de hidrogênios ligados a carbonos  $\text{sp}^3$  que corresponde à região de condensação das duas chalconas, no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.101**) mostrou um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  5,25 (s) referente ao hidrogênio (H-7) não acoplado com nenhum outro hidrogênio, o que leva a conclusão de que o carbono da posição 8 é um carbono quaternário. Mostrou também um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  3,12 (d,  $J = 8,8$  Hz) correspondendo ao hidrogênio (H-8'') acoplado com o duplete em  $\delta_{\text{H}}$  4,00 (d,  $J = 8,8$  Hz) correspondendo ao hidrogênio da posição (H-7').

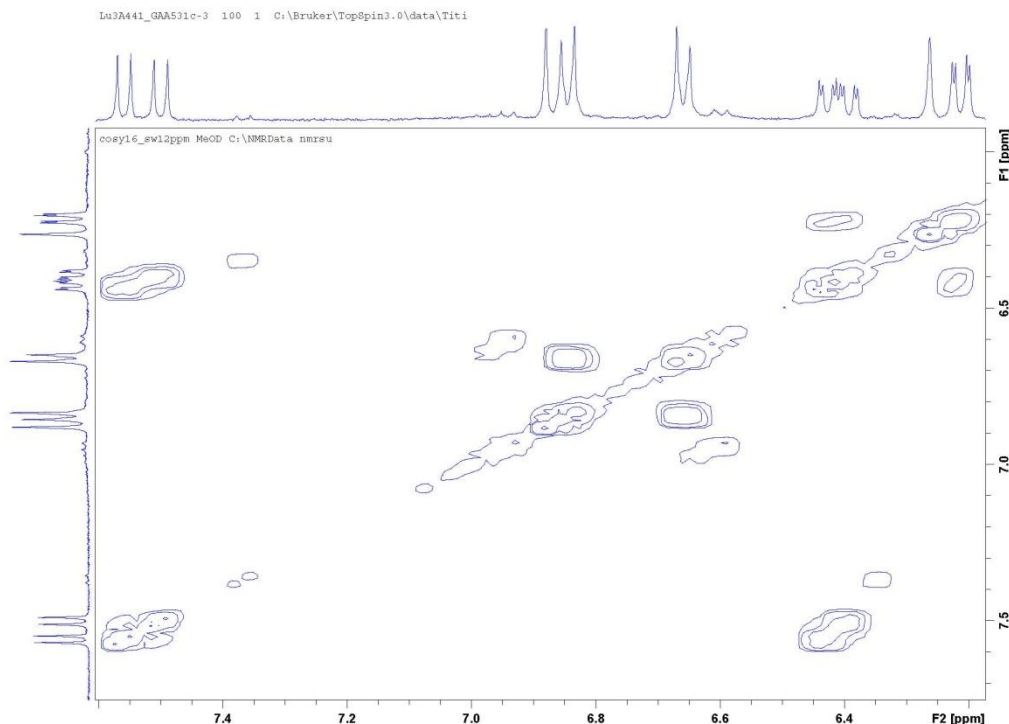


FIGURA 4.102 – Mapa de acoplamentos H-H COSY da substância **GA14** (MeOD-*d*4; 400 MHz).

Este acoplamento foi confirmado no mapa de acoplamentos COSY (**Figura 4.102**). O mapa de contornos HSQC (**Figura 4.103**) mostrou as correlações dos sinais dos hidrogênios em:  $\delta_{\text{H}}$  5,25 ao do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  79,2 (C-7), um carbono carbinólico;  $\delta_{\text{H}}$  3,12 ao do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  51,7 (C-8'') e em  $\delta_{\text{H}}$  4,00 ao do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  47,3 (C-7'). A análise do mapa de contorno HMBC (**Figura 4.104**) mostrou a correlação dos sinais:  $\delta_{\text{H}}$  5,25 com os dos carbonos  $\delta_{\text{C}}$  51,7 (C-8''); 123,4 (C-2); 190,1 (C-9) um carbono de carbonila e  $\delta_{\text{C}}$  82,2 (C-8), este outro carbono carbinólico, agora quaternário. O duplete em  $\delta_{\text{H}}$  3,12 se correlaciona com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  192,5 (C-9') um carbono de carbonila, 47,3 (C-7''); e 136,7 (C-1''), e finalmente o duplete em  $\delta_{\text{H}}$  4,00 se correlaciona com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  51,7 (C-8''); 116,3 (C-3'/5''); 123,4 (C-2); 131,1 (C-2''/6''); 132,4 (C-1); 136,7 (C-1'') e 192,5 (C-9'), um carbono de carbonila.

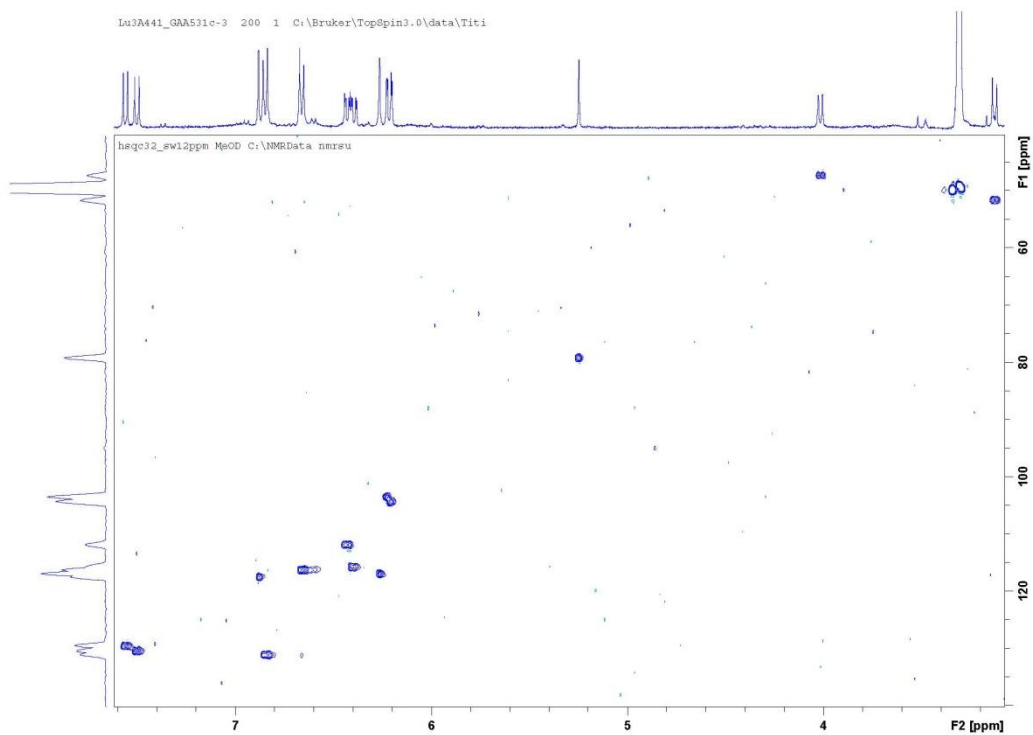


FIGURA 4.103 – Mapa de contorno HSQC da substância **GA14** (MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

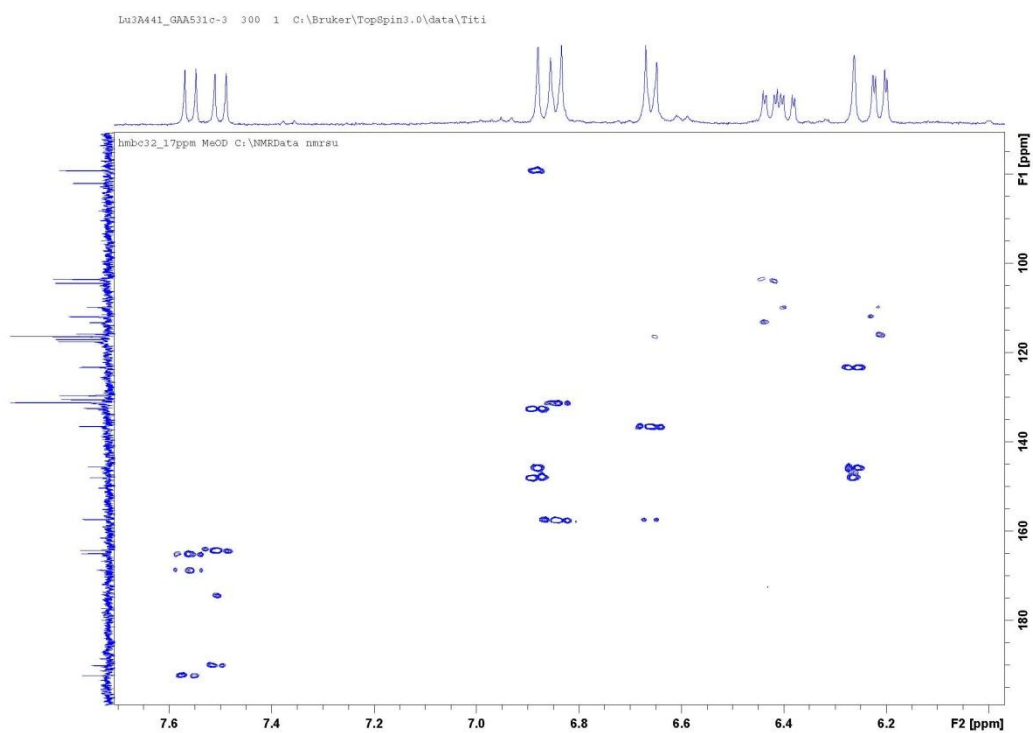


FIGURA 4.104 – Mapa de contorno HMBC da substância **GA14** (MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

A análise do anel B da unidade I foi confirmada pelos dois singletos em  $\delta_H$  6,26 (s) que corresponde ao hidrogênio da posição (H-3) que pelo mapa de contornos HSQC (**Figura 4.103**) está correlacionando com o do carbono em  $\delta_C$  117,0 e o singlete em  $\delta_H$  6,88 (s) que corresponde ao hidrogênio da posição (H-6) que está se correlacionando com o do carbono em  $\delta_C$  117,5 (C-6). O mapa de contorno HMBC (**Figura 4.104**) mostra que o sinal em  $\delta_H$  6,26 se correlaciona com os carbonos em  $\delta_C$  47,3 (C-7''); 123,4 (C-2); 145,7 (C-4) e 148,0 (C-5), estes últimos carbonos fenólicos. O sinal em  $\delta_H$  6,88 se correlaciona com os dos carbonos em  $\delta_C$  79,22 (C-7); 132,4 (C-1); 145,7 (C-4) e 148,0 (C-5).

TABELA 4.31 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da substância **GA14**

| H/C     | $\delta_H$ (ppm), J (Hz)   | $\delta_C$ (ppm) |
|---------|----------------------------|------------------|
| 1       | -                          | 132,4            |
| 2       | -                          | 123,4            |
| 3       | 6,26 (s)                   | 117,0            |
| 4       | -                          | 145,7            |
| 5       | -                          | 148,0            |
| 6       | 6,88 (s)                   | 117,5            |
| 7       | 5,25 (s)                   | 79,2             |
| 8       | -                          | 82,2             |
| 9       | -                          | 190,1            |
| 1'      | -                          | 109,8            |
| 2'      | -                          | 174,6            |
| 3'      | 6,20 (d, $J = 2,0$ )       | 104,4            |
| 4'      | -                          | 164,1            |
| 5'      | 6,40 (dd, $J = 2,0$ e 8,8) | 115,8            |
| 6'      | 7,50 (d, $J = 8,8$ )       | 130,5            |
| 1''     | -                          | 136,7            |
| 2''/6'' | 6,84 (d, $J = 8,4$ ; 2H)   | 131,1            |
| 3''/5'' | 6,65 (d, $J = 8,4$ ; 2H)   | 116,3            |
| 4''     | -                          | 157,0            |
| 7''     | 4,0 (d, $J = 8,8$ )        | 47,3             |

|      |                               |       |
|------|-------------------------------|-------|
| 8''  | 3,12 (d, $J = 8,8$ )          | 51,7  |
| 9''  | -                             | 192,5 |
| 1''' | -                             | 113,2 |
| 2''' | -                             | 165,0 |
| 3''' | 6,22 (d, $J = 2,2$ )          | 103,5 |
| 4''' | -                             | 168,8 |
| 5''' | 6,43 (dd, $J = 2,2$ e $8,8$ ) | 112,0 |
| 6''' | 7,56 (d, $J = 8,8$ )          | 129,6 |

Para confirmar o peso molecular e como consequência a fórmula molecular de **GA14**, foi realizado o experimento de massas de alta resolução no modo positivo e negativo. O modo positivo (**Figura 4.105**) apresentou a melhor resolução, pois se verificou duas desidratações que foram favorecidas pelo modo positivo de ionização. Assim, através do resultado foi verificada a massa de 525,1193 Da onde se verificou que esta massa não é do composto em questão e sim de um rearranjo para um derivado mais estável (**FIGURA 4.106**).

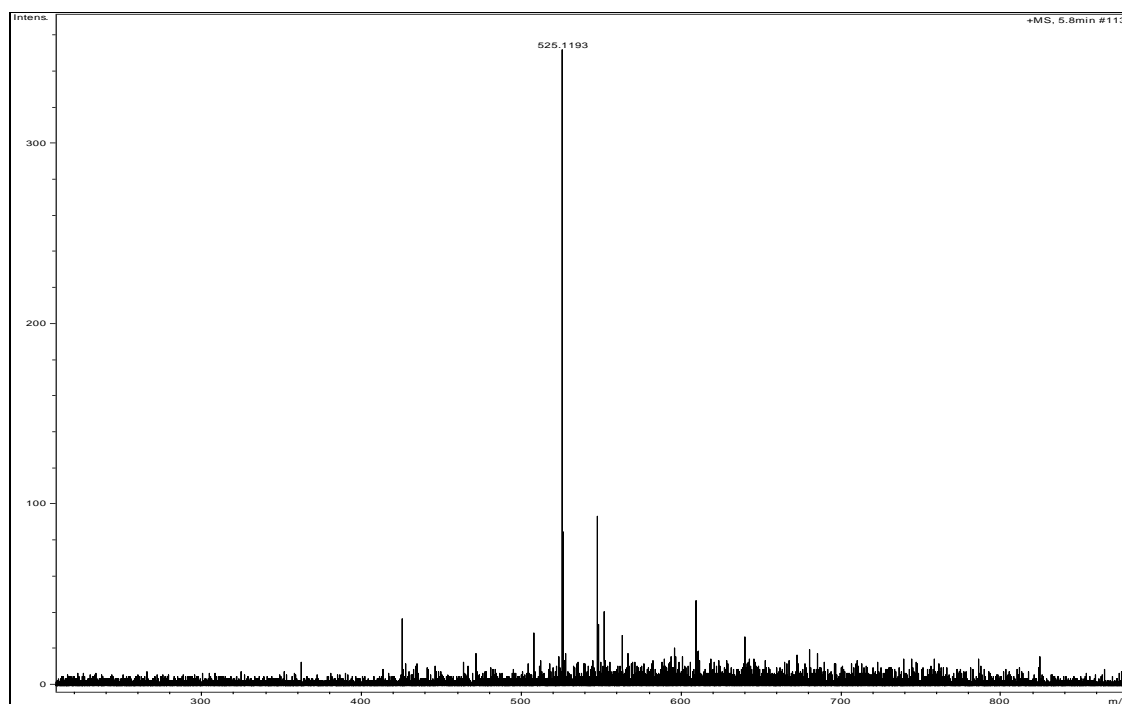


FIGURA 4.105 – Espectro de massas de alta resolução da substância **GA14** (modo positivo).



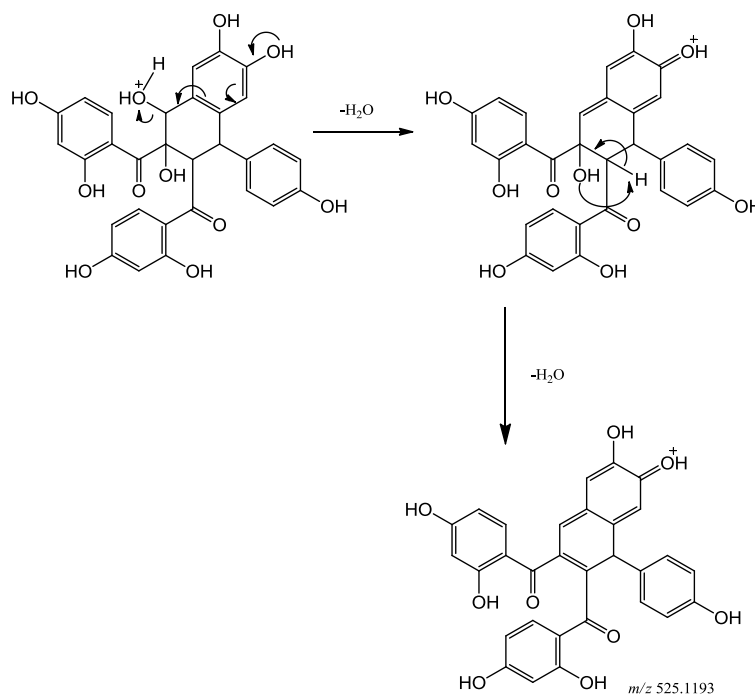


FIGURA 4.106 – Proposta de fragmentação da substância **GA14** e seu intermediário mais estável.

Para a determinação da configuração relativa de **GA14**, foram realizados os experimentos gNOESY (**Figura 4.107**, **4.108** e **Tabela 4.32**). Nestes experimentos foram observados efeitos NOE quando foram irradiados os sinais de hidrogênios em  $\delta_H$  6,88 (H-6); 6,84 (H-2''/6''); 4,00 (H-7'') e 3,12 (8''). Algumas irradiações não permitiram obter conclusões sobre a configuração, mas sim para confirmar a posição dos hidrogênios atribuídos anteriormente. Irradiando-se os hidrogênios do anel B da unidade II: 2''/6'' ( $\delta_H$  6,84) não se observou incrementos para os hidrogênios da anel A da unidade II e a ausência de incrementos é indício de que os anéis estejam em *trans* o que ocasionaria uma maior distância e não sendo observado efeito NOE. Outra informação que suporta que os anéis A e B da unidade II estão em *trans* é que ao se irradiar os hidrogênios da posição 7'' ( $\delta_H$  4,00) não se observou incrementos para o hidrogênio 8'' ( $\delta_H$  3,12) e vice-versa. Estas observações juntamente com a constante de acoplamento (8,8 Hz) entre os hidrogênios 7'' e 8'' que indica que os mesmos devem ser di-axiais e os substituintes destes carbonos di-equatoriais. A estereoquímica de H-7 como beta (hidroxila alfa) é sugerido pela ausência de efeito NOE quando é irradiado o sinal de H-8'', que deveria ocorrer caso estivessem do mesmo lado sendo 1,3-diaxiais. Para estabelecer a estereoquímica em C-8 comparou-se os deslocamentos químicos de H-7 ( $\delta_H$  5,25 para **GA14** e 5,38 para **GA12**) que deve ter a mesma estereoquímica

do composto **GA14** e estar relacionado ao anel aromático vizinho *trans*, pois caso contrário o efeito do anel e da carbonila sobre este H-7 apareceria e se esperaria um deslocamento muito diferente entre eles. Esta estereoquímica em C-8 também é corroborada pela abertura de epóxidos que deve ocorrer com o ataque do nucleófilo no lado oposto, levando a relação das hidroxilas em C-7 e C-8 *trans*. Os espectros obtidos de g-NOESY constam nas **Figura 4.107** e **4.108** e os valores observados estão apresentados na **Tabela 4.32**.

TABELA 4.32 - Dados obtidos do experimento gNOESY da substância GA14

| H ( $\delta$ H) Irradiado | g-NOESY ( $\delta$ H)                      |
|---------------------------|--|
| 2''/6'' (6,84)            | 5''/3'' (6,65)<br>8'' (3,12)<br>7'' (4,00) |
| 6 (6,88)                  | 7 (5,25)                                   |
| 7 (5,25)                  | 6 (6,88)                                   |
| 7'' (4,00)                | 2''/6'' (6,84)<br>3 (6,26)                 |
| 8'' (3,12)                | 2''/6'' (6,84)                             |

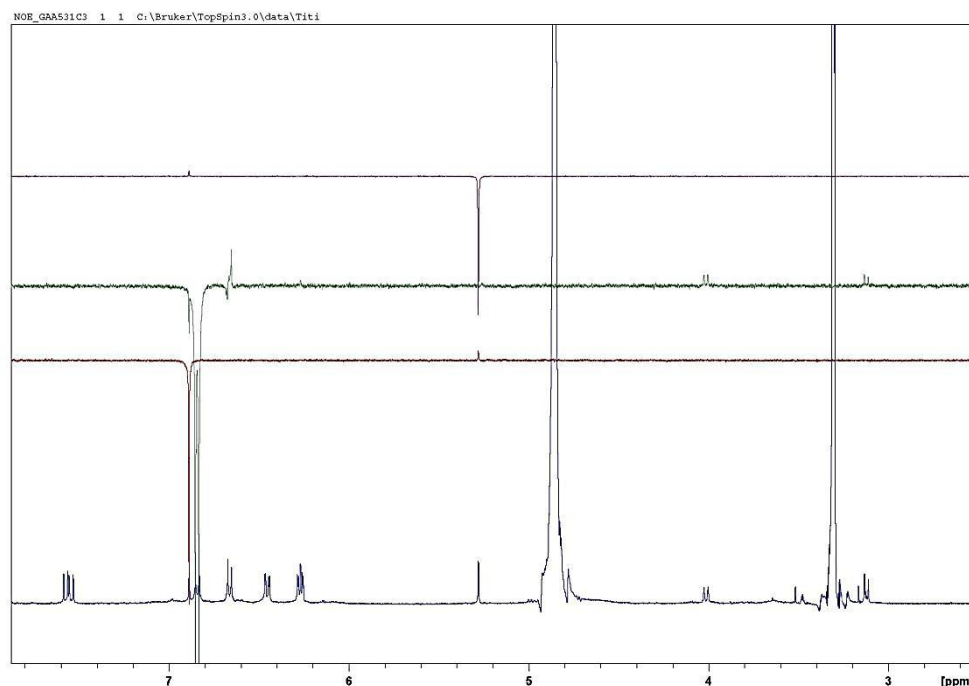


FIGURA 4.107 – Experimento (1) de gNOESY da substância **GA14** (Acetona-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

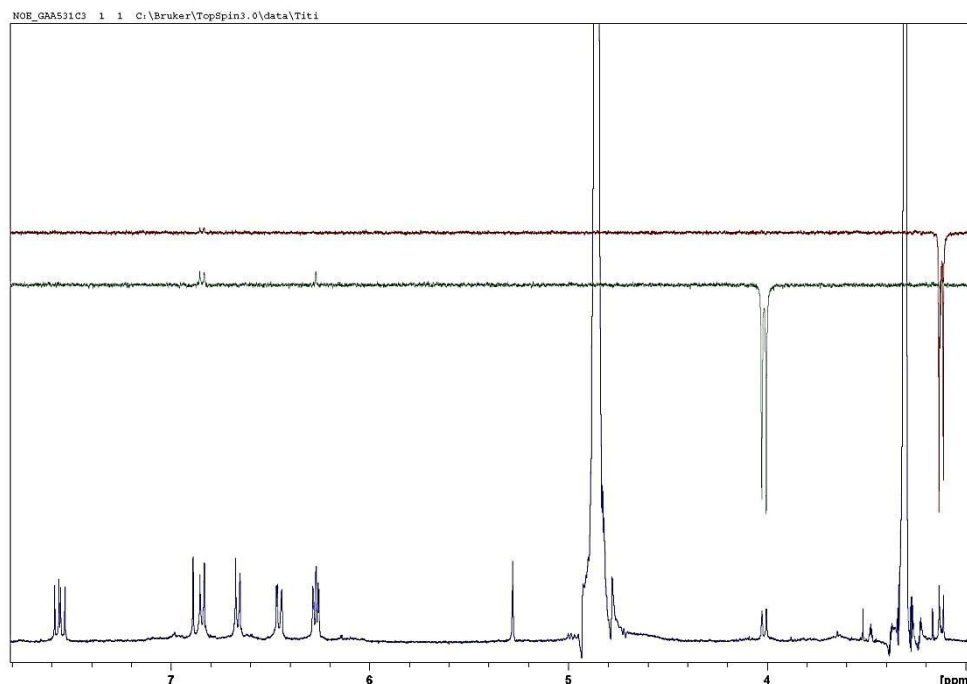


FIGURA 4.108 – Experimento (2) de gNOESY da substância **GA14** (Acetona-*d*6, 400 MHz).

Ao se realizar experimento de  $[\alpha]_D^*$  observou-se que a substância causa desvio da luz plano polarizada, obtendo um valor de -0,098 mostrando que a substância está enantiomericamente pura ou um enantiômero em maior concentração.

#### 4.1.2.29. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE GA15

A substância **GA15** foi isolada da fração acetato de etila do extrato dos galhos (**Fluxograma 3.17**, p.53), sua determinação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , COSY, HSQC, HMBC e EM de alta resolução (**Figuras 4.109 a 4.113**, **Apêndice I**) e os dados foram comparados com os da substância **GA12** e estão representados na **Tabela 4.33** e conclui tratar de uma chalcona dimérica que diferem entre si na união dos dímeros. A configuração relativa foi proposta com base na análise de experimentos de g-NOESY (**Figuras 4.114 e 4.115**, **Apêndice I**) e cálculos de constantes de acoplamento por diagrama de Karplus.

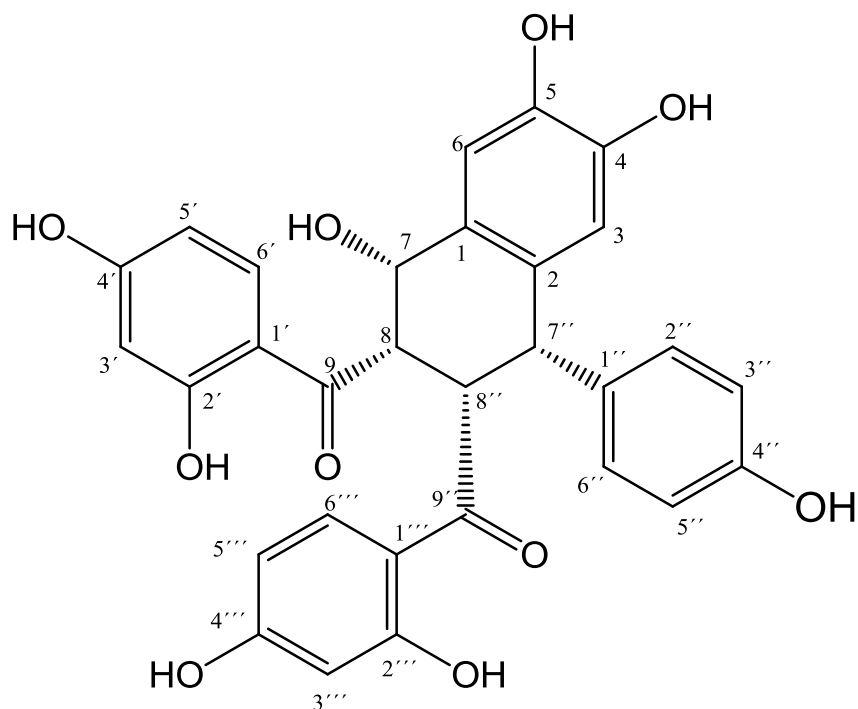


TABELA 4.33 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da substância **GA15** comparadas com a substância **GA12**

| H/C | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), $J$ (Hz) |                                | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) |                   |
|-----|-------------------------------------|--------------------------------|---------------------------|-------------------|
|     | GA15 <sup>a</sup>                   | GA12 <sup>b</sup>              | GA15 <sup>a</sup>         | GA12 <sup>b</sup> |
| 1   |                                     | -                              | 124,6                     | 124,5             |
| 2   | -                                   | -                              | 133,0                     | 131,2             |
| 3   | 6,26 (s)                            | 6,29 (s)                       | 116,3                     | 116,7             |
| 4   | -                                   | -                              | 147,2                     | 148,0             |
| 5   | -                                   | -                              | 144,7                     | 145,3             |
| 6   | 6,97 (s)                            | 6,88 (s)                       | 116,9                     | 117,3             |
| 7   | 5,48 (d, $J = 2,9$ )                | 5,38 (d, $J = 2,4$ )           | 77,7                      | 78,4              |
| 8   | 3,13 (dd, $J = 2,0$ e $9,6$ )       | 3,07 (dd; $J = 2,4$ ; $11,0$ ) | 50,9                      | 51,4              |
| 9   | -                                   | -                              | 190,4                     | 193,1             |
| 1'  | -                                   | -                              | 114,1                     | 113,0             |
| 2'  | -                                   | -                              | 165,8                     | 164,8             |
| 3'  | 6,52 (d, $J = 2,4$ )                | 6,41 (d, $J = 2,4$ )           | 103,5                     | 103,6             |
| 4'  | -                                   | -                              | 163,7                     | 169,4             |
| 5'  | 6,50 (dd, $J = 2,9$ e $6,0$ )       | 6,42 (dd; $J = 2,4$ e $8,3$ )  | 111,7                     | 113,1             |
| 6'  | 7,43 (d, $J = 9,6$ )                | 7,42 (d, $J = 8,3$ )           | 130,1                     | 130,1             |

|         |                            |                            |       |       |
|---------|----------------------------|----------------------------|-------|-------|
| 1''     | -                          | -                          | 135,3 | 135,9 |
| 2''/6'' | 7,02 (d, $J = 8,4$ ; 2H)   | 6,95 (d, $J = 8,4$ , 2H)   | 130,9 | 131,2 |
| 3''/5'' | 6,68 (d, $J = 8,4$ ; 2H)   | 6,63 (d, $J = 8,4$ , 2H)   | 116,1 | 116,3 |
| 4''     | -                          | -                          | 157,0 | 157,2 |
| 7''     | 4,47 (sl)                  | 4,46 (d, $J = 11,0$ )      | 47,7  | 48,5  |
| 8''     | 4,46 (dl, $J = 2,0$ )      | 4,38 (t, $J = 11,0$ )      | 45,2  | 45,8  |
| 9''     | -                          | -                          | 205,0 | 204,8 |
| 1'''    | -                          | -                          | 115,1 | 115,2 |
| 2'''    | -                          | -                          | 166,2 | 167,2 |
| 3'''    | 6,15 (d, $J = 2,4$ )       | 6,06 (d, $J = 2,0$ )       | 104,0 | 103,7 |
| 4'''    | -                          | -                          | 164,0 | 165,0 |
| 5'''    | 5,93 (dd, $J = 2,4$ e 9,0) | 5,79 (dd, $J = 2,0$ e 9,0) | 108,2 | 108,9 |
| 6'''    | 6,94 (d, $J = 9,0$ )       | 6,75 (d, $J = 9,0$ )       | 132,8 | 132,9 |

<sup>a</sup> [MeOD-*d*3, 400 MHz (<sup>1</sup>H) e 125 MHz (<sup>13</sup>C)]; <sup>b</sup> [Acetona-*d*6, 400 MHz (<sup>1</sup>H) e 100 MHz (<sup>13</sup>C)].

A substância **GA15** apresenta grande semelhança de seus dados de RMN com a substância **GA12** (Tabela 4.28, p. 143) sendo a diferença praticamente nos sinais de deslocamentos químicos relativos aqueles da junção dos dímeros e neste caso entre os dos hidrogênios H-7'' e H-8'' e dos carbonos C-7'' e C-8''.

Para a determinação da configuração relativa de **GA15**, foram realizados os experimentos gNOESY (Figura 4.114 e 4.115, Apêndice I e Tabela 4.34) e as constantes de acoplamentos. Nos experimentos gNOESY foram observados efeitos NOE quando foram irradiados os sinais de hidrogênios  $\delta_H$  7,43 (H-6'); 5,48 (H-7); 7,02 (H-2''); 6,97 (H-6); 6,26 (H-3); 4,46 (H-8''); 4,47 (H-7''). Algumas irradiações não permitiram obter conclusões sobre a configuração, mas sim para confirmar a posição dos hidrogênios atribuídos anteriormente. Através das constantes de acoplamento entre os hidrogênios H-7, H-8, H-8" e H-7" verifica-se em relação ao composto **GA12** que alterou-se a constante entre H-8 e H-8" e H-8" e H-7" indicando que o H-8" deve estar em **GA15** *cis* a H-8 e a H-7". Como não houve alteração da constante de acoplamento entre H-7 e H-8 e o deslocamento químico destes sinais permaneceram inalterados em relação a **GA12**, é proposto que eles tenham as mesmas estereoquímica, OH-7 alfa, grupo benzil alfa. A relação entre os hidrogênios H-8 e H-7" estando do mesmo lado (1,3-diaxiais) é confirmado pelo efeito NOE obtido ao se irradiar o sinal de 8 ( $\delta_H$  3,13) que causa um incremento no

hidrogênio da posição 7'' ( $\delta_H$  4,47). Ao se irradiar os hidrogênios da posição 2''/6'' ( $\delta_H$  7,02) se observou um incremento no hidrogênio 7'' ( $\delta_H$  4,47) mostrando que este hidrogênio se encontra mais próximo do anel B. Ao se irradiar os hidrogênios do anel A da Unidade II 6''' ( $\delta_H$  6,94) foi observado um incremento no hidrogênio da posição 8'' ( $\delta_H$  4,46). Irradiando-se o hidrogênio 8 ( $\delta_H$  3,13) se observou um incremento no hidrogênio da posição 8'' ( $\delta_H$  4,46). Pelas irradiações do experimento de g-NOESY não foi possível obter a configuração da hidroxila da posição 7. A partir da constante de acoplamento foi possível propor os ângulos diedros entre os hidrogênios 7'' e 8'' utilizando o Diagrama de Karplus (SILVERSTEIN *et al.*, 1994) do composto. Os hidrogênios 7'' e 8'' com relação axial-equatorial entre si e constante de acoplamento de 2,0 Hz para o hidrogênio H-8'' e não observado para H-7'', todos eles apresentam um ângulo de aproximadamente 70-90° entre si. Com base nestes dados propõe-se a configuração relativa de **GA15** como 7R,8S,7''S,8''S, onde a OH-7 alfa, benzoil-8 alfa, benzoil-8'' alfa e fenil-7'' alfa.

TABELA 4.34 - Dados obtidos do experimento gNOESY da substância **GA15**

| H ( $\delta_H$ ) Irradiado | g-NOESY ( $\delta_H$ )                    |
|----------------------------|---|
| 2''/6'' (7,02)             | 5''/3'' (6,68)<br>8'' (4,46) e 7'' (4,47) |
| 5''' (6,94)                | 6'''(5,93)<br>7'' (4,47) e 8'' (4,46)     |
| 6' (7,43)                  | 5' (6,50) e 3' (6,52)                     |
| 3''/5'' (6,68)             | 2''/6'' (7,02)                            |
| 5''' (5,93)                | 2''' (6,15)<br>6''' (6,94)                |
| 8 (3,13)                   | 7'' (4,47)                                |

Ao se realizar experimento de  $[\alpha]_D$  em metanol observou-se que a substância desvia o plano da luz plano polarizada obtendo um valor de -0,098 mostrando que a substância está enantiomericamente pura ou um enantiômero em maior concentração.

Para confirmar o peso molecular e como consequência a fórmula molecular de **GA15**, foi realizado o experimento de massas de alta resolução no

modo positivo e negativo. O modo positivo apresentou a melhor resolução, já que o composto apresenta grupos hidroxilas que são facilmente desidratadas. Assim, através do resultado foi confirmando a massa de 527,1391 Da onde se verificou a desidratação e o pico correspondente é de  $([M-H_2O+H]^+)$  que corresponde à fórmula molecular  $C_{30}H_{23}O_9$  ao se desidratar o intermediário adquire conjugação estabilizando o íon, conforme proposta apresentada (**Figura 4.116**).

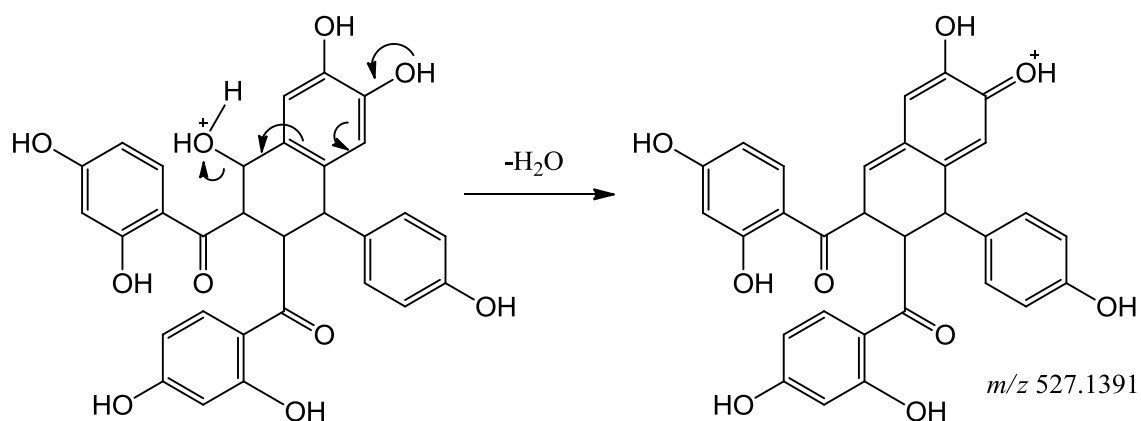
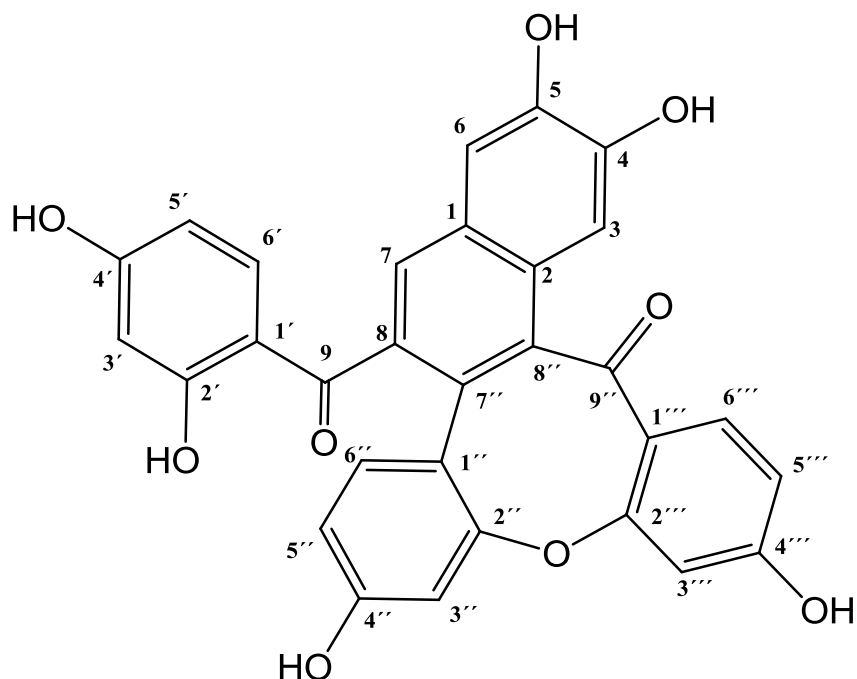


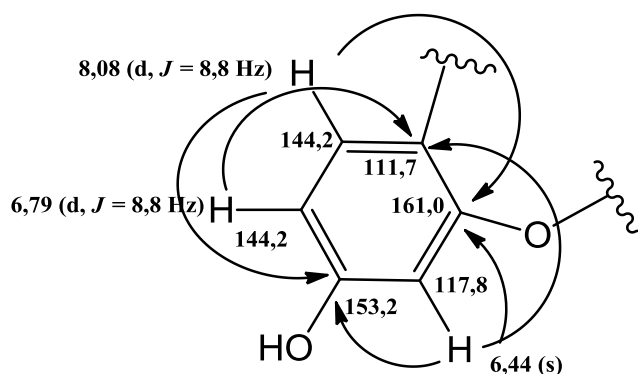
FIGURA 4.116 – Proposta de formação do íon 527,1391 da substância **GA15**.

#### 4.1.2.30. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE GA16

A substância **GA16** foi isolada da fração acetato de etila do extrato dos galhos (**Fluxograma 3.18**, p. 54), apresentou-se como sólido amorfo de coloração amarelo ouro e a sua determinação estrutural foi realizada através de dados de espectros de RMN de  $^1H$  (**Figura 4.117**), COSY (**Figura 4.118**), HSQC (**Figura 4.119**), HMBC (**Figura 4.120**), EM de alta resolução (**Figura 4.121**) os dados de RMN estão representados na **Tabela 4.35**. Pode-se concluir que a substância se trata de uma chalcona dimérica inédita.



No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.117**) observou-se um dupletto em  $\delta_{\text{H}}$  6,79 (d,  $J = 8,8$  Hz) referente ao hidrogênio H-5'' acoplado em *orto* com um dupletto  $\delta_{\text{H}}$  8,08 (d,  $J = 8,8$  Hz) referente ao hidrogênio H-6'' e um sinal de hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,44 (s) formando um sistema de três hidrogênios *orto-meta* no anel aromático A da unidade II da flavona substituída na posição 4''. O mapa de correlações HSQC (**Figura 4.119**) revelou a correlação dos sinais dos hidrogênios: em  $\delta_{\text{H}}$  6,79 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  131,6 (C-5''), em  $\delta_{\text{H}}$  6,44 e  $\delta_{\text{H}}$  8,08 com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  117,8 (C-3'') e  $\delta_{\text{C}}$  144,2 (C-6'') respectivamente. A análise do mapa de correlações HMBC (**Figura 4.120**) mostra as correlações dos sinais: do dupletto em  $\delta_{\text{H}}$  6,79 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  111,7 (C-1''); do dupletto em  $\delta_{\text{H}}$  6,44 com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  111,7 (C-1''), 153,2 (C-4'') e 161,0 (C-2'') e por fim o dupletto em  $\delta_{\text{H}}$  8,08 com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  153,2 (C-14'') e 161,0 (C-2'').





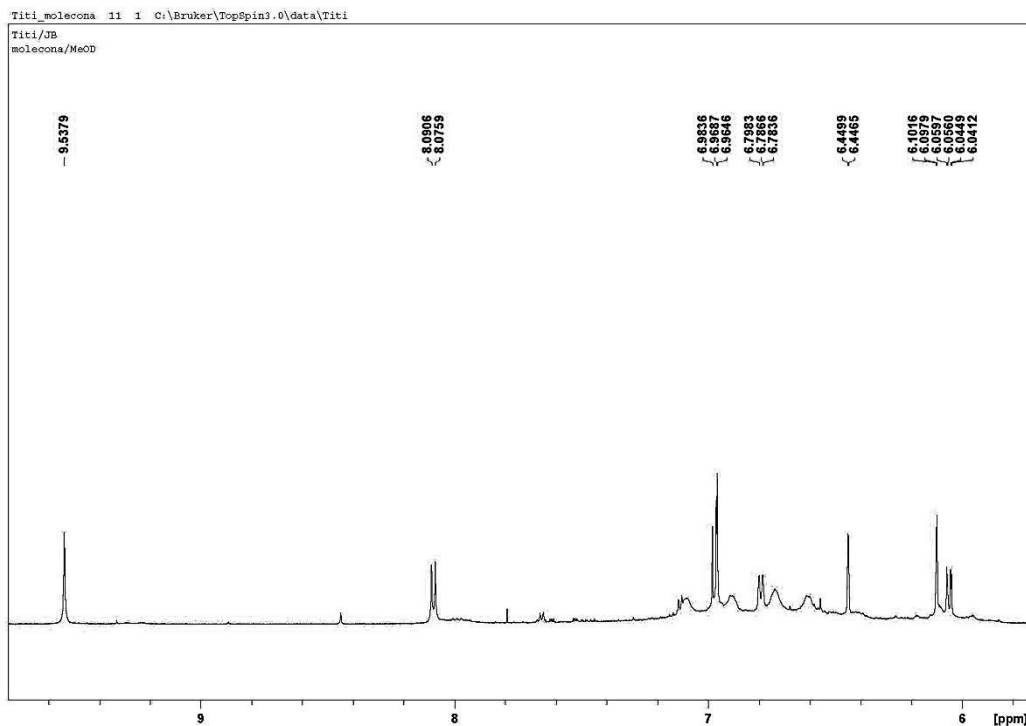


FIGURA 4.117 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (ampliação) da substância **GA16** (MeOD- $d_4$ ; 600 MHz).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.117**) mostrou ainda um conjunto de sinais para dois sistemas de três hidrogênios acoplado *orto-meta*: duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,04 (dd,  $J = 2,0$  e 8,8 Hz) referente aos hidrogênios (H-5' e H-5'') acoplado em *orto* com o dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,97 (d,  $J = 8,8$  Hz) referente aos hidrogênios (H-6' e H-6'') e em *meta* com o dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,10 (d,  $J = 2,0$  Hz) referente aos hidrogênios (H-3' e H-3''). A análise do mapa de correlações HSQC (**Figura 4.119**) mostra as correlações dos sinais dos hidrogênios: em  $\delta_{\text{H}}$  6,04 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  125,6 (C-5' e C-5''), em  $\delta_{\text{H}}$  6,10 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  118,9 (C-3' e C-3'') e em  $\delta_{\text{H}}$  6,97 com o do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  127,0 (C6' e C-6''). A análise do mapa de correlações HMBC (**Figura 4.120**) mostra a correlação dos sinais: em  $\delta_{\text{H}}$  6,04 com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  110,7 (C-1' e C-1''); em  $\delta_{\text{H}}$  6,10 com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  110,7 (C-1' e C-1'');  $\delta_{\text{C}}$  162,0 (C-2' e C-2'') e  $\delta_{\text{C}}$  163,5 (C-4' e C-4''), ambos carbonos fenólicos e em  $\delta_{\text{H}}$  6,97 com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  194,8 (C-9 e C-9''), carbonos de carbonilas e  $\delta_{\text{C}}$  162,0 (C-2' e C-2'') e  $\delta_{\text{C}}$  163,5 (C-4' e C-4'').

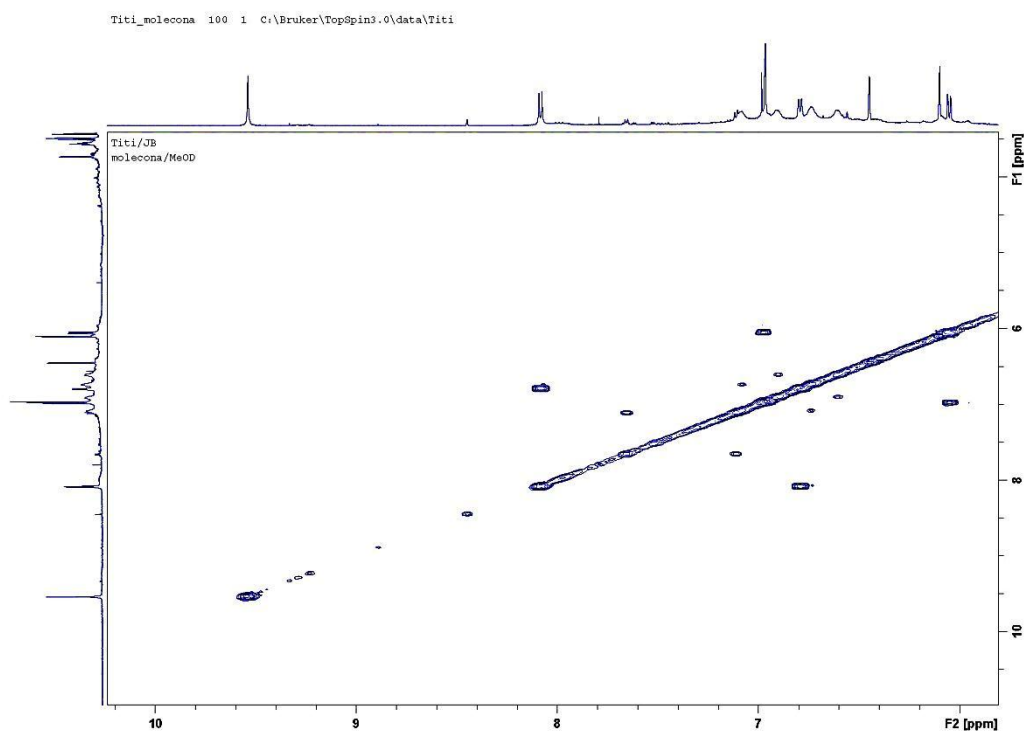
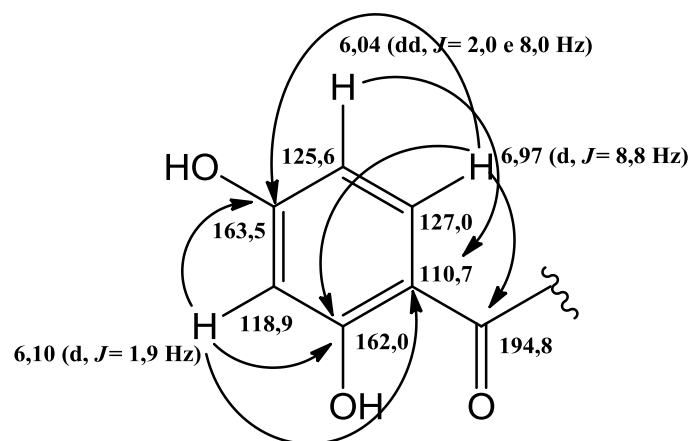


FIGURA 4.118 – Mapa de acoplamentos H-H COSY da substância **GA16** (MeOD- $d_3$ ; 600 MHz).

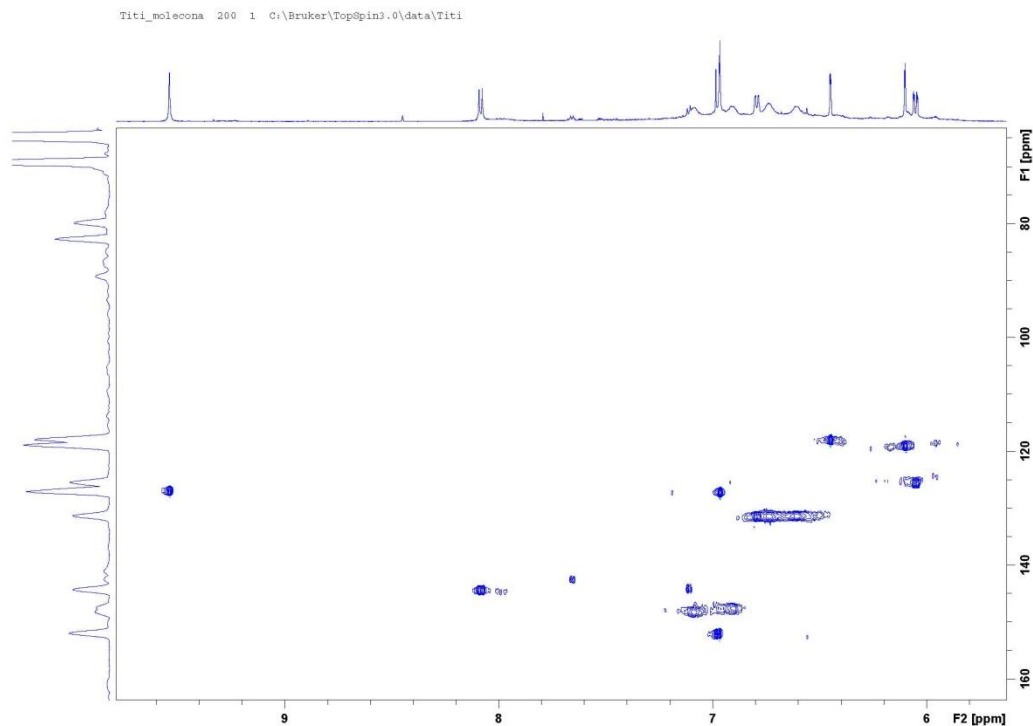


FIGURA 4.119 – Mapa de contorno HSQC da substância **GA16** (MeOD-*d*<sub>3</sub>; 600 MHz).

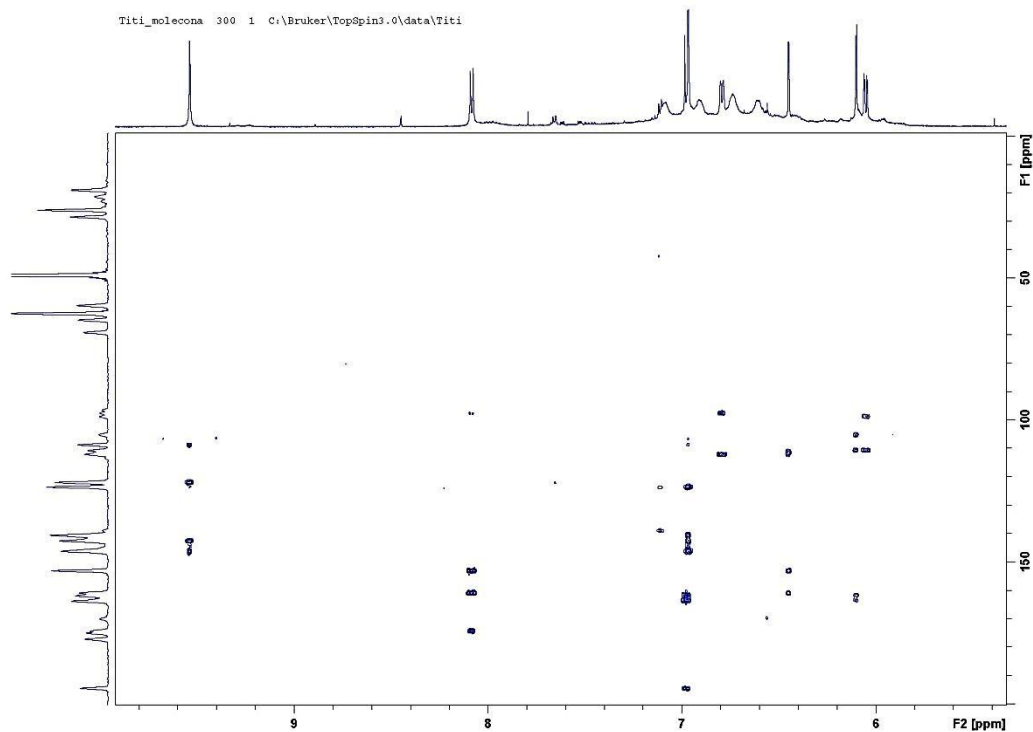


FIGURA 4.120 – Mapa de contorno HMBC da substância **GA16** (MeOD-*d*<sub>3</sub>; 600 MHz).

Por fim, o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 4.117**) mostrou três singletos: em  $\delta_{\text{H}}$  6,45 referente ao hidrogênio (H-6), em  $\delta_{\text{H}}$  6,96 (s) referente ao hidrogênio (H-7) que pelo HSQC (**Figura 4.119**) se correlacionam respectivamente com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  117,8 e 152,0 (C-7) e este último tem deslocamento bastante desblindado em razão do efeito das carbonilas e por último em  $\delta_{\text{H}}$  9,53 (s) que se correlaciona com o carbono em  $\delta_{\text{H}}$  127,1 (C-3). A justificativa desse hidrogênio estar muito desblindado é que ele está sob efeito da carbonila vizinha ao anel A da unidade II no o cone de desblindagem da mesma. A análise do mapa de correlações HMBC (**Figura 4.120**) mostrou as correlações dos sinais: em  $\delta_{\text{H}}$  6,45 com os dos carbonos em  $\delta_{\text{H}}$  123,5 (C-1) e 162,3 (C-8); em  $\delta_{\text{H}}$  6,96 com os dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  123,5 (C-1), 142,4 (C-5), 146,4 (C-4) e finalmente, em  $\delta_{\text{H}}$  9,53 se correlaciona com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  108,7 (C-8'); 121,8 (C-2); 142,4 (C-5) e 146,4 (C-4).

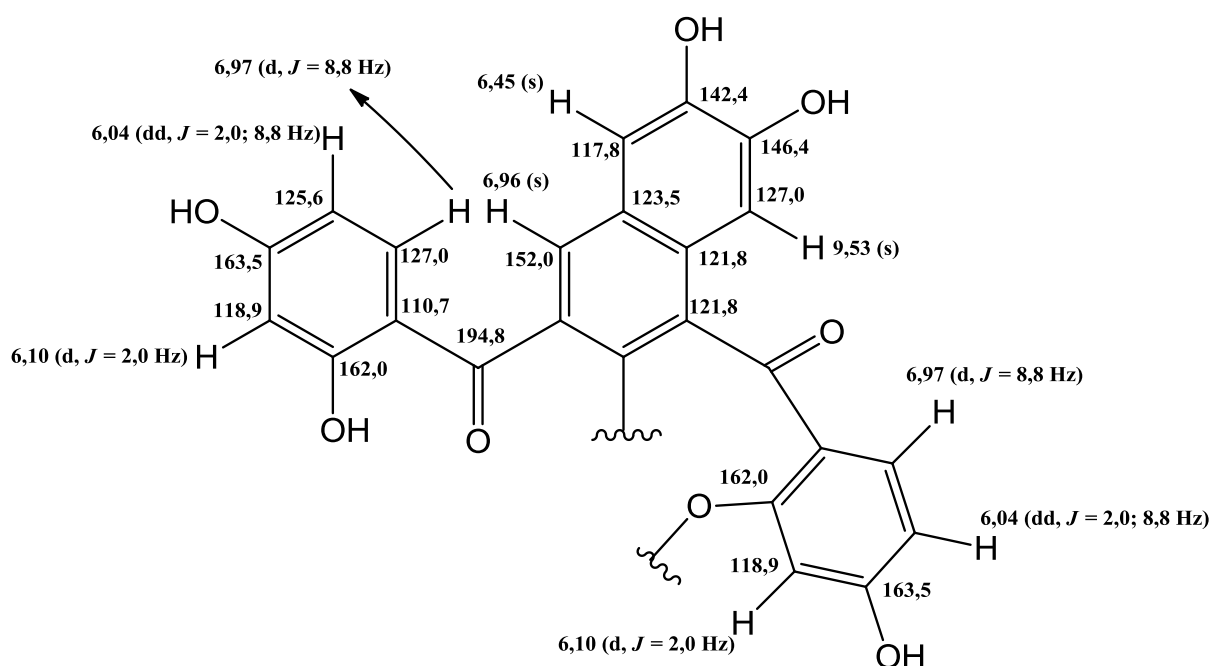


TABELA 4.35 - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da substância **GA16**

| H/C | $\delta_{\text{H}}$ (ppm), $J$ (Hz) | $\delta_{\text{C}}$ (ppm) | correlações HMBC        |
|-----|-------------------------------------|---------------------------|-------------------------|
| 1   | -                                   | 123,5                     |                         |
| 2   | -                                   | 121,8                     |                         |
| 3   | 9,53 (s)                            | 127,1                     | 108,7/121,8/142,4/146/4 |
| 4   | -                                   | 146,4                     |                         |

|      |                               |       |                         |
|------|-------------------------------|-------|-------------------------|
| 5    | -                             | 142,4 |                         |
| 6    | 6,45 (s)                      | 117,8 | 123,5/162,3             |
| 7    | 6,96 (s)                      | 152,0 | 123,5/142,4/162,3/194,8 |
| 8    | -                             | 162,3 |                         |
| 9    | -                             | 194,8 |                         |
| 1'   | -                             | 110,7 |                         |
| 2'   | -                             | 162,0 |                         |
| 3'   | 6,10 (d, $J = 2,0$ )          | 118,9 | 110,7/162,0/163,5       |
| 4'   | -                             | 163,5 |                         |
| 5'   | 6,04 (dd, $J = 2,0$ e $8,8$ ) | 125,6 | 110,7                   |
| 6'   | 6,97 (d, $J = 8,8$ )          | 127,0 | 194,8/162,0/163,5       |
| 1''  | -                             | 111,7 |                         |
| 2''  | -                             | 161,0 |                         |
| 3''  | 6,44 (s)                      | 117,8 | 111,7/153,2/161,0       |
| 4''  | -                             | 153,2 |                         |
| 5''  | 6,79 (d, $J = 8,8$ )          | 131,6 | 111,7                   |
| 6''  | 8,08 (d, $J = 8,8$ )          | 144,2 | 153,2/161,0/174,0       |
| 7''  | -                             | 174,0 |                         |
| 8''  | -                             | 108,7 |                         |
| 9''  | -                             | 194,8 |                         |
| 1''' | -                             | 110,7 |                         |
| 2''' | -                             | 162,0 |                         |
| 3''' | 6,10 (d, $J = 2,0$ )          | 118,9 | 110,7/162,0/163,5       |
| 4''' | -                             | 163,5 |                         |
| 5''' | 6,04 (dd, $J = 2,0$ e $8,8$ ) | 125,6 | 110,7                   |
| 6''' | 6,97 (d, $J = 8,8$ )          | 127,0 | 194,8/162,0/163,5       |

Para confirmar o peso molecular e como consequência a fórmula molecular da substância **GA16**, foi realizado o experimento de massas de alta resolução no modo positivo e negativo. O espectro no modo negativo (**Figura 4.121**) apresentou a melhor resolução, assim, através do resultado foi confirmando a massa de 521,0889 Da, pico correspondente corresponde à fórmula molecular  $C_{30}H_{17}O_9$  confirmando a massa da estrutura proposta.

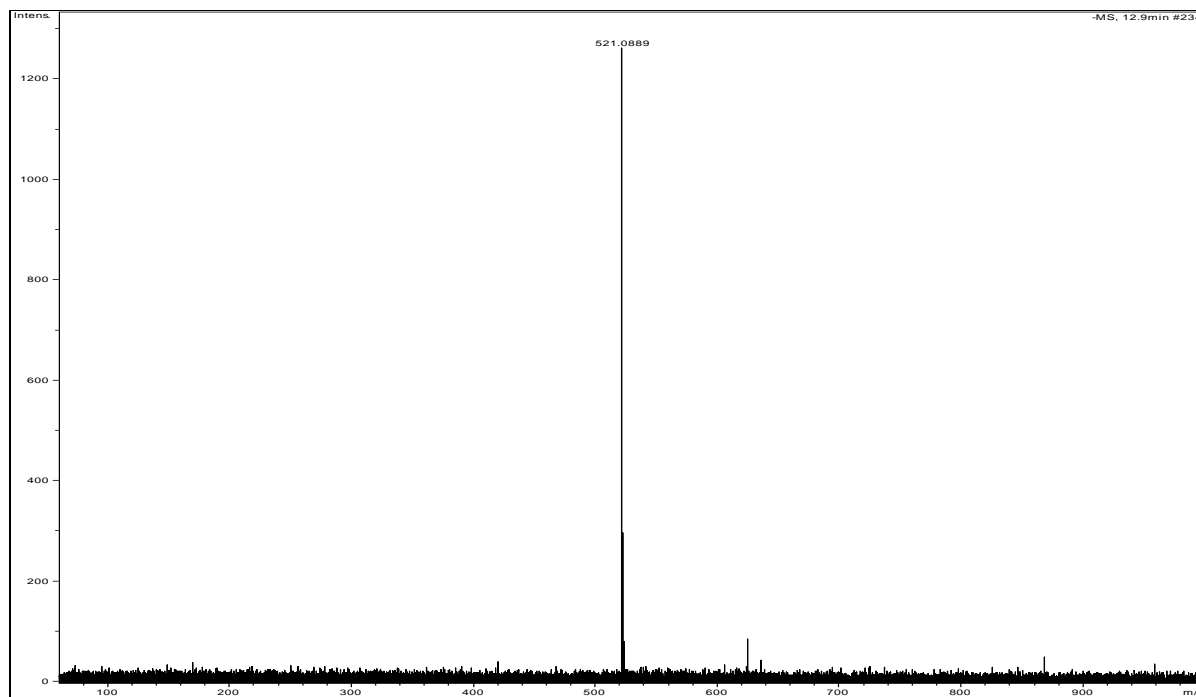


Figura 4.121 - Espectro de massas alta resolução da substância GA16 (modo negativo).

### 4.1.3. DETERMINAÇÃO DA CONFIGURAÇÃO ABSOLUTA

#### 4.1.3.1. DISCUSSÃO DE UV-VIS

Para esta classe de substâncias são encontradas 4 bandas de absorção (excetuando-se a substância **GA10**) e para a atribuição de cada uma das bandas citadas foram utilizadas informações daquelas características de sistemas aromáticos e cálculos teóricos para aqueles que têm carbonilas ligadas diretamente aos anéis (regras empíricas, SILVERSTEIN *et al.*, 1994; PAVIA *et al.*, 2010). A banda na região de 230 nm corresponde ao grupamento 2,3-dihidroxi-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno (Anel B da unidade I) transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  de anel aromático, de acordo com os dados de literatura (IVERSON *et al.*, 1995). A banda de absorção na região de 214 nm corresponde a fenol *para* monossubstituído (anel B da unidade II). A bandas de absorção nas duas regiões compreendidas entre aproximadamente 289 nm e aproximadamente 315 nm referem-se ao fragmento da molécula correspondente ao derivado do benzeno substituído com carbonila no anel A das unidades I e II, tomando como base o valor de 246 nm (ArCOR), juntamente com os incrementos de duas hidroxilas nas posições *para* (+ 25) resultando assim no valor teórico de 281 nm confirmando o valor o observado correspondente ao anel A da Unidade II. A banda por volta de 315 nm corresponde ao anel A da unidade I e a

presença de substituintes na posição 7 (hidroxilas ou insaturações) podem ter acarretado deslocamentos batocrômicos. A **Figura 4.122** corresponde ao espectro de absorção na região de UV-Vis para a chalcona **GA10**, os espectros de UV das outras substâncias estão nas **Figuras 4.123 a 4.126** do **Apêndice I**.

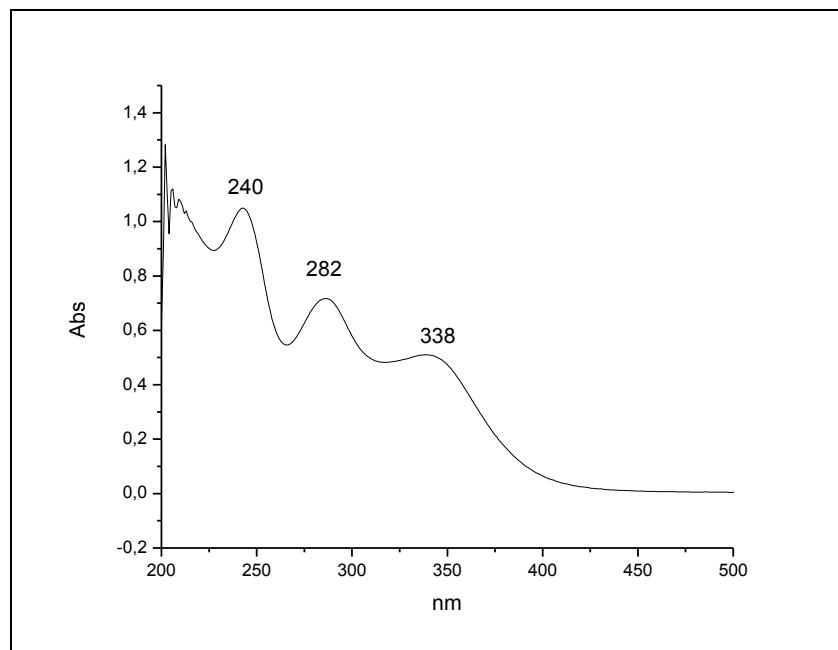


FIGURA 4.122 – Espectro de absorção na região UV-Vis da substância **G10** ( $\lambda^{\text{MeOH}}$  500).

#### 4.1.3.2. DISCUSSÃO DE DC

As configurações absolutas de **GA9**, **GA12**, **GA13**, **GA14** e **GA15** foram determinadas baseado na regra dos quadrantes de compostos com carbonos benzílicos assimétricos (DE ANGELIS & WILDMAN, 1969), utilizando a estrutura modelo (**Figura 4.127**) para determinar a configuração absoluta dos compostos e dos dados de DC e  $[\alpha]_D^*$  estão representados na **Tabela 4.36**.

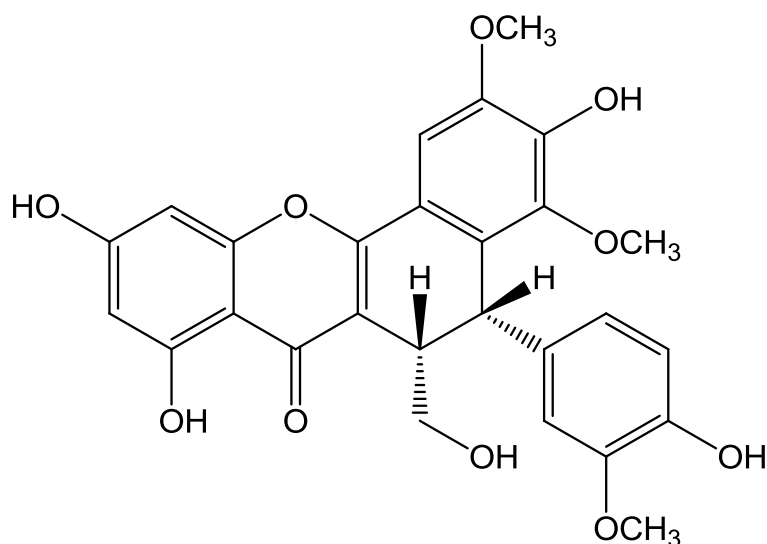


FIGURA 4.127 – Molécula modelo para os cálculos de configuração absoluta (-)-(5S,6S)-5,6-dihidro-3,8,10-trihidroxi-5-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-6-hidroxiometil-2,4-dimetoxi-7H-benzo[c]xanthen-7-one.

A aplicação da regra dos quadrantes para o composto modelo (**Figura 4.127**) em que o sinal na curva de dicroísmo circular (DC) em 268 é negativo e 280-290 é positivo, implicando na estereoquímica absoluta no carbono 7''S. Como os compostos apresentam sinal positivo para esta região (283 nm) a estereoquímica deles devem ser também 7''S.

Para o composto **GA9** o espectro de g-NOESY mostrou que os hidrogênios 7'' e 8'' estão em *cis*. Os dados de DC (**Figura 4.128**) mostram que o hidrogênio 7'' é S então o hidrogênio 8'' será S também (7''S, 8''S), substituintes aril alfa e benzoil beta) (**Figura 4.129**).



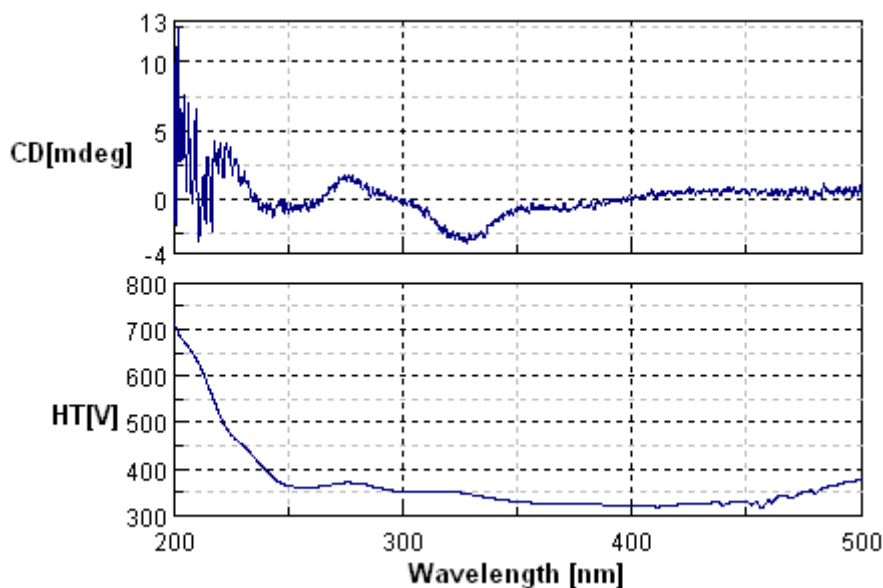


FIGURA 4.128 – Espectro de DC da substância **GA9** (juntamente com seu espectro de UV).

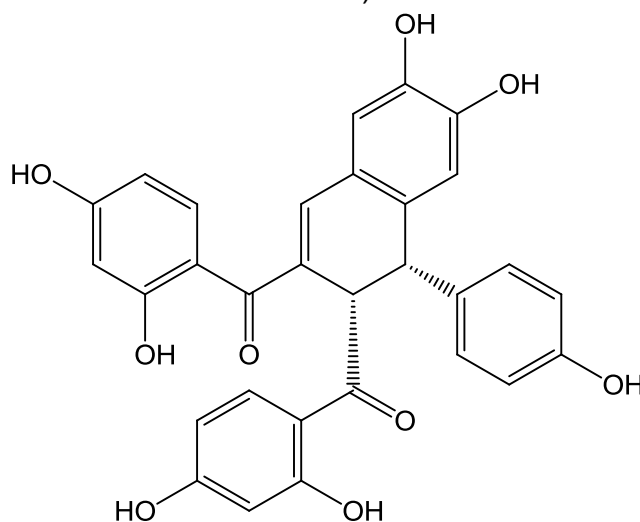


FIGURA 4.129 – Configuração absoluta ( $7''S$ ,  $8''S$ ) da substância **GA9**.

Para o composto **GA12** o espectro de g-NOESY mostrou que os hidrogênios  $7''$  e  $8''$  estão em *trans*. Os dados de DC (**Figura 4.130, Apêndice I**) mostram que o hidrogênio  $7''$  é S então o hidrogênio  $8''$  será R ( $7''S$ ,  $8''R$ , substituintes aril alfa e benzoil beta) e em C-8 o grupo benzoil deve estar em alfa, e a hidroxila beta levando a configuração relativa ( $7S,8S$ ) (**Figura 4.131**).

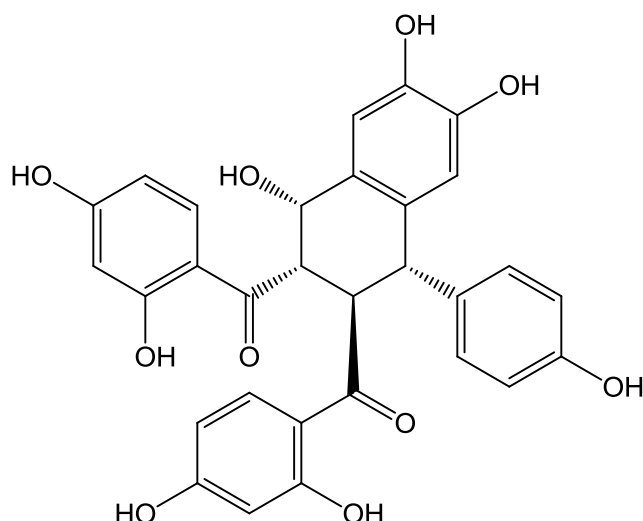


FIGURA 4.131 – Configuração absoluta ( $7S,8S,7''S,8''R$ ) da substância **GA12**.

Para o composto **GA13** não foi possível a realização de experimento de g-NOESY e o composto não demonstrou atividade no espectro de DC (**Figura 4.132, Apêndice I**), nem no  $[\alpha]_D$  (substância não dicróica), e as constantes de acoplamento, sugerem que os hidrogênios  $7''$  e  $8''$  estão *cis* entre si. Os resultados indicam que há mistura racêmica dos dois enantiômeros ( $7''R,8''R$ ) e ( $7''S,8''S$ ) (**Figura 4.133**).

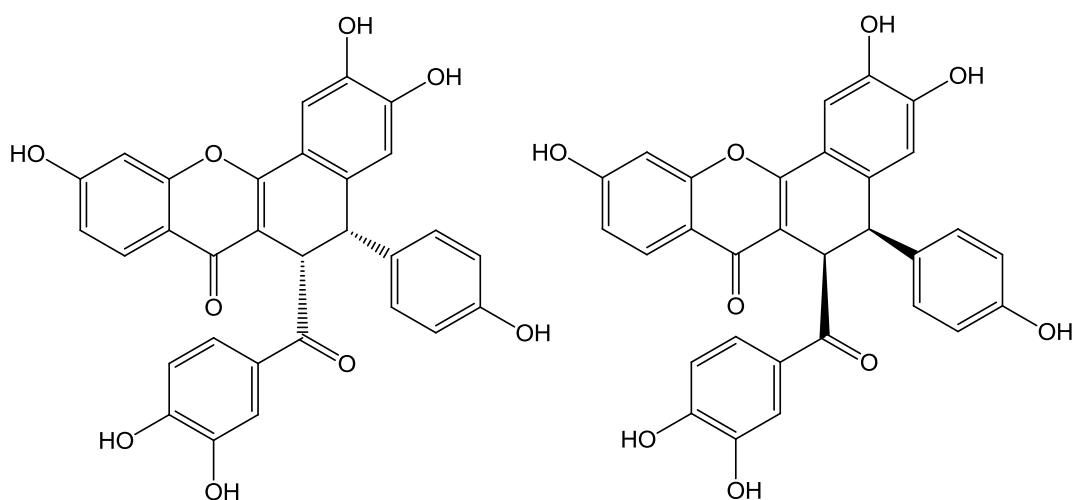


FIGURA 4.133 – Enantiômeros ( $7''S,8''S$ ) e ( $7''R,8''R$ ) da substância **GA13**.

Para o composto **GA14** o espectro de g-NOESY mostrou que os hidrogênios  $7''$  e  $8''$  estão em *trans*. Os dados de DC (**Figura 4.134, Apêndice I**) mostram que o hidrogênio  $7''$  é S então o hidrogênio  $8''$  será R ( $7''S, 8''R$ , substituintes aril alfa e benzoi beta) (**Figura 4.135**). O experimento de  $[\alpha]_D^*$  não

mostrou desvio da luz plano polarizada o que indica que na raia D do sódio não há desvio do plano da luz plano polarizada.

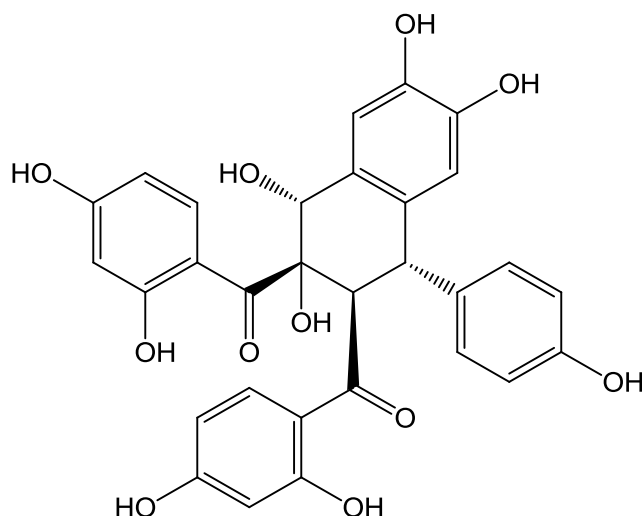


FIGURA 4.135 – ( $7''S, 8''R, 7R, 8R$ ) da substância **GA14**.

Para determinar a estereoquímica do composto **GA15** foram usadas as constante de acoplamentos entre os hidrogênios, experimento de gNOESY (Figuras 4.114 e 4.115, Apêndice I) que mostrou que para o composto os hidrogênios  $7''$  e  $8''$  estão em *cis* e que os hidrogênios 8 e  $7''$  estão em *cis*. Os dados de DC (Figura 4.136, Apêndice I) mostra que o hidrogênio  $7''$  é S então o hidrogênio  $8''$  será S e o hidrogênio 8 é beta este carbono será S e sendo OH-7 alfa este carbono será R e assim se obtém para o composto a configuração absoluta  $7''S, 8''S, 7R, 8S$  (Figura 4.137).

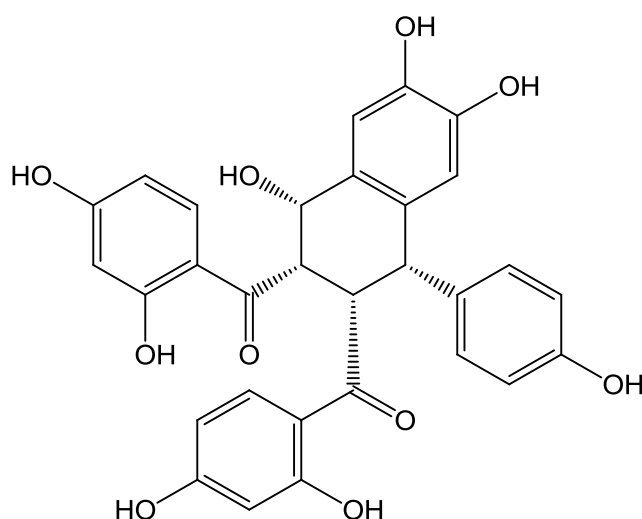


FIGURA 4.137 – Configuração absoluta como ( $7''S, 8''S, 7R, 8S$ ) da substância **GA15**.

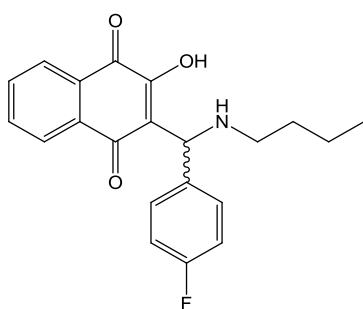
TABELA 4.36 - Dados de  $[\alpha]_D$  e Dicroísmo circular (nm) das substâncias **GA9**, **GA12**, **GA13**, **GA14** e **GA15**

| Subs.       | UV-Vis (nm)         | $[\alpha]_D$ | CD $\lambda$ nm $[\theta]$ |          |          |          |
|-------------|---------------------|--------------|----------------------------|----------|----------|----------|
|             |                     |              | 214                        | 233      | 289      | 315      |
| <b>GA9</b>  | 214; 230; 281 e 315 | -90          | 214<br>-                   | 233<br>+ | 289<br>+ | 315<br>- |
| <b>GA12</b> | 214; 231; 281 e 320 | +52          | 214<br>+                   | 231<br>+ | 281<br>+ | 320<br>- |
| <b>GA13</b> | 214; 231; 283 e 368 | 0            | no                         | no       | no       | no       |
| <b>GA14</b> | 214; 233; 289 e 315 | 0            | 214<br>-                   | 233<br>+ | 289<br>+ | 315<br>- |
| <b>GA15</b> | 214; 230; 283 e 319 | -98          | 214<br>+                   | 230<br>- | 283<br>+ | 319<br>- |

## 4.2. ESTUDO DOS COMPLEXOS METÁLICOS

### 4.2.1. SUBSTÂNCIAS SINTETIZADAS

As sínteses dos ligantes e complexos são descritos a seguir com a indicação de suas estruturas, nomes, página de síntese e página da discussão de sua caracterização.



#### L1

RMN  $^1\text{H}$  Figura 4.141, Apêndice II

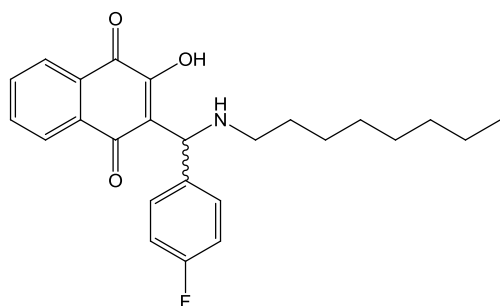
RMN  $^{13}\text{C}$  Figura 4.142, Apêndice II

EM Figura 4.158, Apêndice II

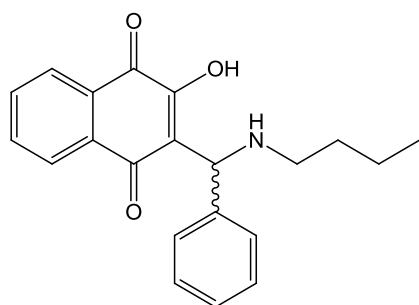
UV Figura 4.248, p.226

IV Figura 4.231, Apêndice II e

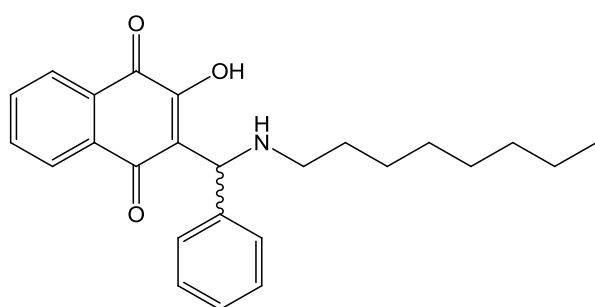
Tabela 4.53, p. 224

**L2**

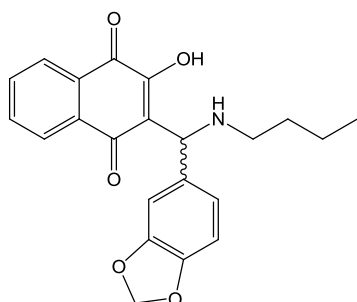
RMN  $^1\text{H}$  Figura 4.143, Apêndice II  
 RMN  $^{13}\text{C}$  Figura 4.144, Apêndice II  
 EM Figura 4.159, Apêndice II  
 UV Figura 4.249, Apêndice II  
 IV Figura 4.233, Apêndice II e  
 Tabela 4.53, p. 224

**L3**

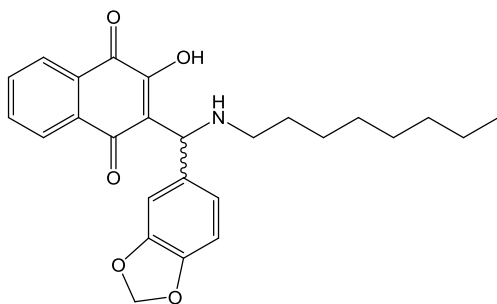
RMN  $^1\text{H}$  Figura 4.145, Apêndice II  
 RMN  $^{13}\text{C}$  Figura 4.146, Apêndice II  
 EM Figura 4.160, Apêndice II  
 UV Figura 4.250, Apêndice II  
 IV Figura 4.250, Apêndice II e  
 Tabela 4.53, p. 224

**L4**

RMN  $^1\text{H}$  Figura 4.147, Apêndice II  
 RMN  $^{13}\text{C}$  Figura 4.148, Apêndice II  
 EM Figura 4.161, Apêndice II  
 UV Figura 4.251, Apêndice II  
 IV Figura 4.237, Apêndice II e  
 Tabela 4.53, p. 224

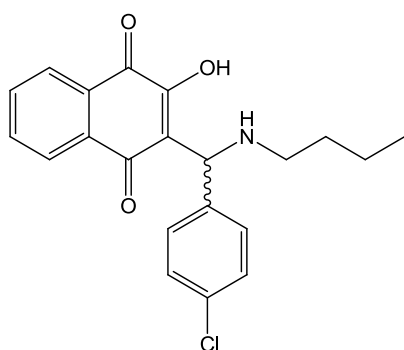
**L5**

RMN  $^1\text{H}$  Figura 4.149, Apêndice II  
 RMN  $^{13}\text{C}$  Figura 4.150, Apêndice II  
 EM Figura 4.162, Apêndice II  
 UV Figura 4.252, Apêndice II  
 IV Figura 4.239, Apêndice II e  
 Tabela 4.53, p. 224



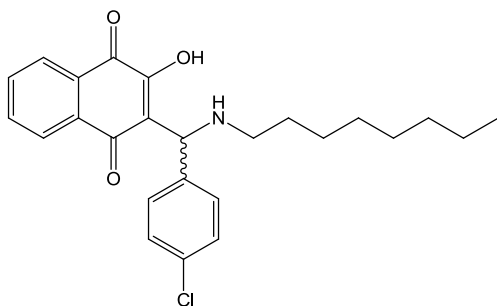
**L6**

RMN  $^1\text{H}$  Figura 4.151, Apêndice II  
 RMN  $^{13}\text{C}$  Figura 4.152, Apêndice II  
 EM Figura 4.163, Apêndice II  
 UV Figura 4.253, Apêndice II  
 IV Figura 4.241, Apêndice II e  
 Tabela 4.53, p. 224



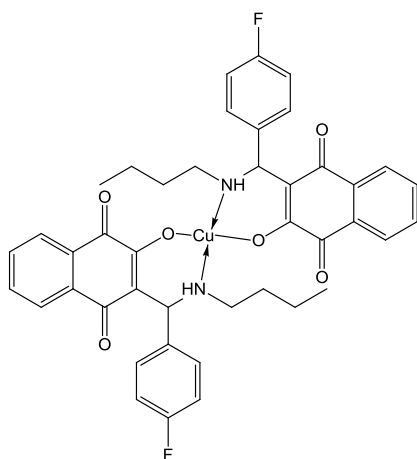
**L7**

RMN  $^1\text{H}$  Figura 4.153, Apêndice II  
 RMN  $^{13}\text{C}$  Figura 4.154, Apêndice II  
 EM Figura 4.164, Apêndice II  
 UV Figura 4.254, Apêndice II  
 IV Figura 4.243, Apêndice II e  
 Tabela 4.53, p. 224



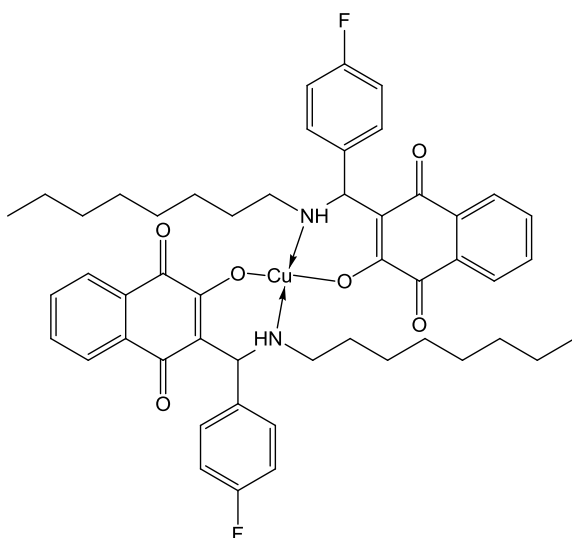
**L8**

RMN  $^1\text{H}$  Figura 4.155, Apêndice II  
 RMN  $^{13}\text{C}$  Figura 4.156, Apêndice II  
 EM Figura 4.165, Apêndice II  
 UV Figura 4.255, Apêndice II  
 IV Figura 4.245, Apêndice II e  
 Tabela 4.53, p. 224



**[Cu(L1)<sub>2</sub>]**

CHN Tabela 4.52, p. 221  
 EM Figura 4.222, p. 220  
 UV Figura 4.249, Apêndice II  
 IV Figura 4.234, Apêndice II e  
 Tabela 4.53, p. 224

**[Cu(L2)<sub>2</sub>]**

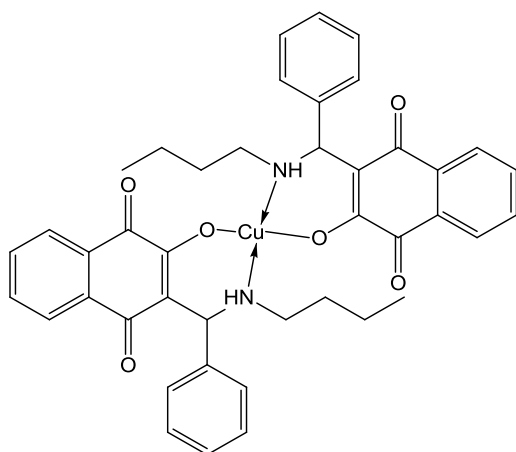
CHN Tabela 4.52, p. 221

EM Figura 4.224, Apêndice II

UV Figura 4.249, Apêndice II

IV Figura 4.234, Apêndice II e

Tabela 4.53, p. 224

**[Cu(L3)<sub>2</sub>]**

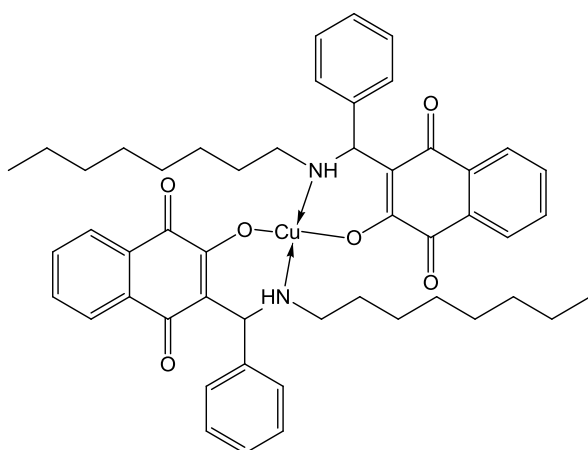
CHN Tabela 4.52, p. 221

EM Figura 4.225, Apêndice II

UV Figura 4.250, Apêndice II

IV Figura 4.236, Apêndice II e

Tabela 4.53, p. 224

**[Cu(L4)<sub>2</sub>]**

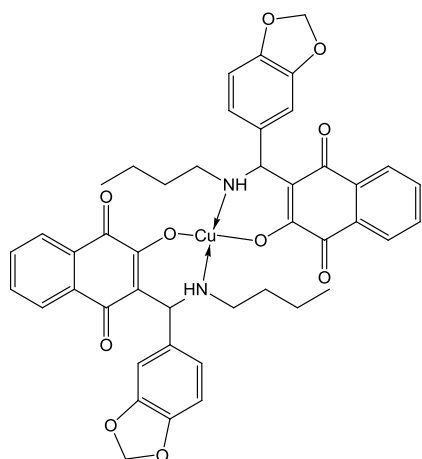
CHN Tabela 4.52, p. 221

EM Figura 4.226, Apêndice II

UV Figura 4.251, Apêndice II

IV Figura 4.238, Apêndice II e

Tabela 4.53, p. 224



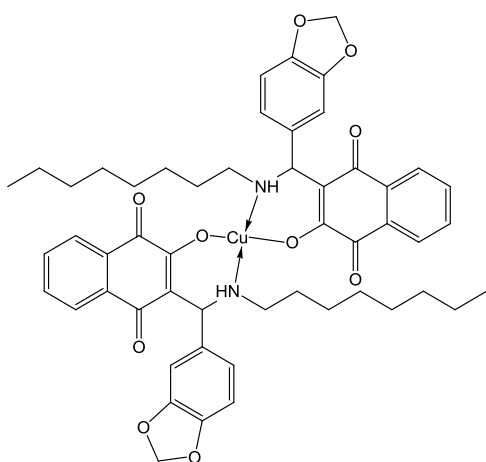
**[Cu(L5)<sub>2</sub>]**

CHN Tabela 4.52, p. 221

EM Figura 4.227, Apêndice II

UV Figura 4.252, Apêndice II

IV Figura 4.240, Apêndice II e  
Tabela 4.53, p. 224



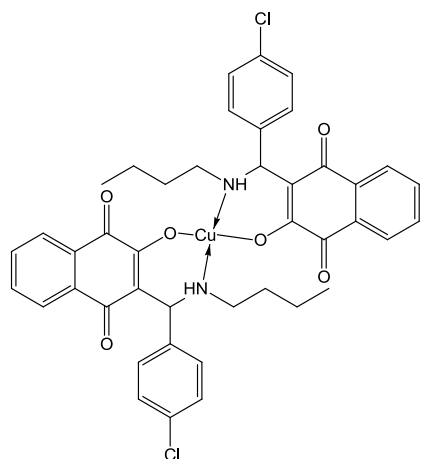
**[Cu(L6)<sub>2</sub>]**

CHN Tabela 4.52, p. 221

EM Figura 4.228, Apêndice II

UV Figura 4.253, Apêndice II

IV Figura 4.242, Apêndice II e  
Tabela 4.53, p. 224



**[Cu(L7)<sub>2</sub>]**

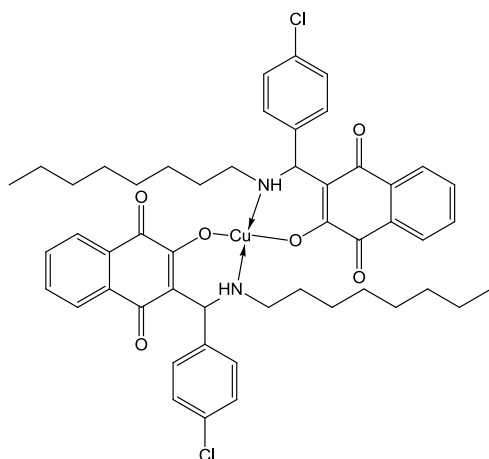
CHN Tabela 4.52, p. 221

EM Figura 4.229, Apêndice II

UV Figura 4.254, Apêndice II

IV Figura 4.244, Apêndice II e  
Tabela 4.53, p. 224





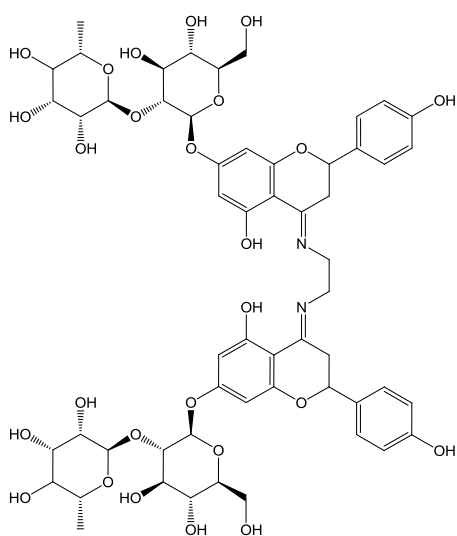
**[Cu(L8)<sub>2</sub>]**

CHN Tabela 4.52, p. 221

EM Figura 4.230, Apêndice II

UV Figura 4.255, Apêndice II

IV Figura 4.246, Apêndice II e  
Tabela 4.53, p. 224

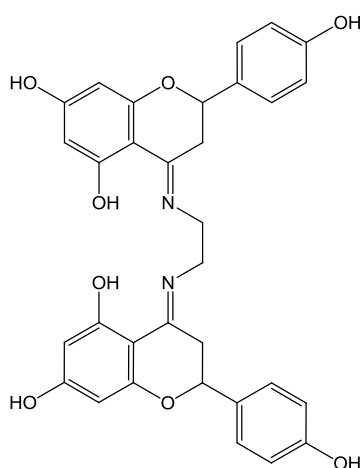


**1,2-Di-(4'-iminoNAR)-etano**

RMN <sup>1</sup>H Figura 4.138, Apêndice II e  
Tabela 4.37, p.189

UV Figura 4.216, Apêndice II

IV Figura 4.202, Apêndice II e  
Tabela 4.47, p. 213

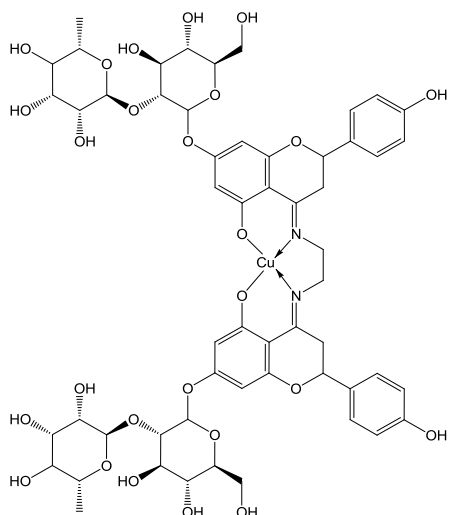


**1,2-Di-(4'-iminoNNINA)-etano**

RMN <sup>1</sup>H Figura 4.139, Apêndice II e  
Tabela 4.38, p.190

UV Figura 4.217, Apêndice II

IV Figura 4.203, Apêndice II e  
Tabela 4.47, p. 213



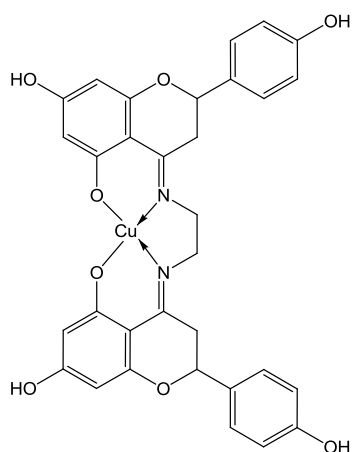
**Cu(1,2-Di(4'-iminoNAR)-etano)**

EM Figura 4.188, p 209

CHN Tabela 4.43, p. 210

UV Figura 4.216, Apêndice II

IV Figura 4.202, Apêndice II, Tabela 4.47, p.213



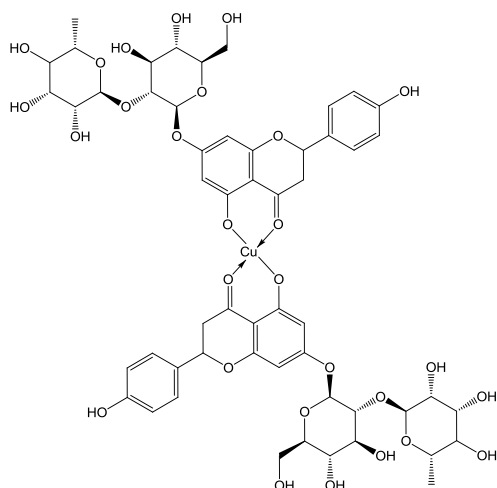
**Cu(1,2-Di-(4'-iminoNNINA)-etano)**

EM Figura 4.189, p 210

CHN Tabela 4.43, p. 210

UV Figura 4.217, Apêndice II

IV Figura 4.203, Apêndice II, Tabela 4.47, p.213



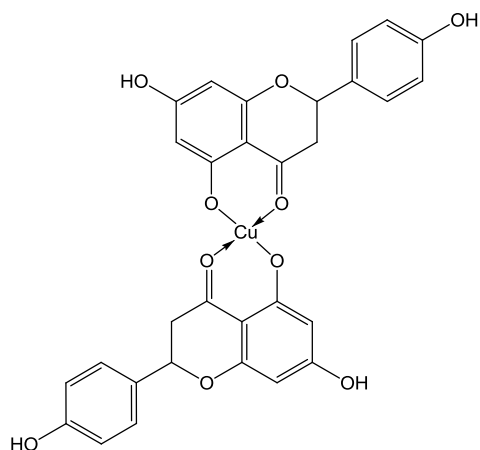
**Cu(NAR)<sub>2</sub>**

EM Figura 4.168, p. 194

CHN Tabela 4.39, p. 198

UV Figura 4.218, p. 216

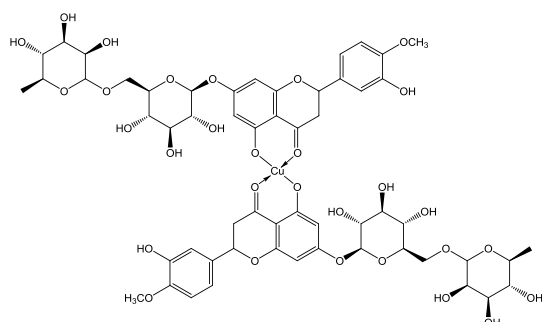
IV Figura 4.194, Apêndice II e Tabela 4.45, p.212

**Cu(NNINA)<sub>2</sub>**

EM Figura 4.170, p. 195

CHN Tabela 4.39, p. 198

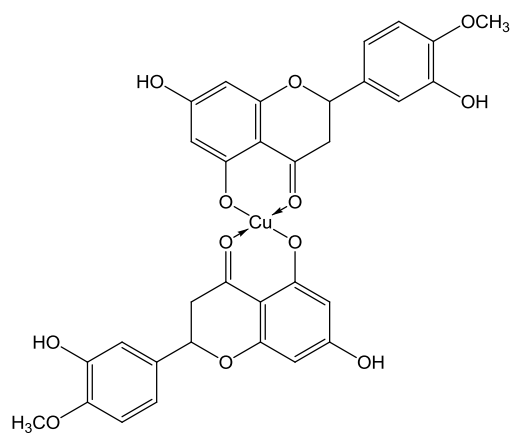
UV Figura 4.206, Apêndice II

IV Figura 4.195, Apêndice II e  
Tabela 4.45, p. 212**Cu(HESP)<sub>2</sub>**

EM Figura 4.172, p. 196

CHN Tabela 4.39, p. 198

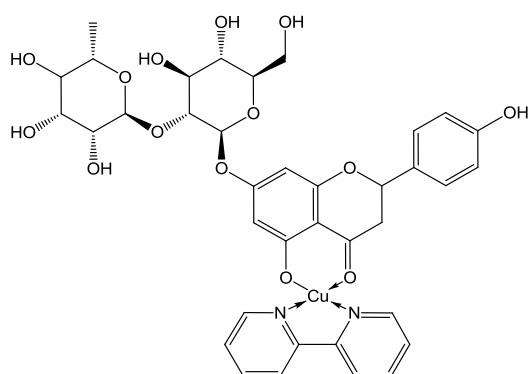
UV Figura 4.207, Apêndice II

IV Figura 4.196, Apêndice II e  
Tabela 4.45, p. 212**Cu(HPT)<sub>2</sub>**

EM Figura 4.174, p. 197

CHN Tabela 4.39, p. 198

UV Figura 4.208, Apêndice II

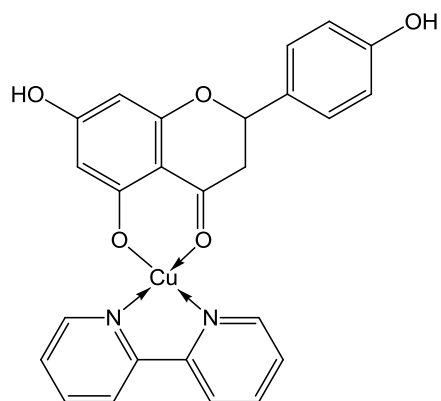
IV Figura 4.197, Apêndice II e  
Tabela 4.45, p. 212**Cu(BIPY)(NAR)**

EM Figura 4.177, p. 201

CHN Tabela 4.41, p. 206

UV Figura 4.209, Apêndice II

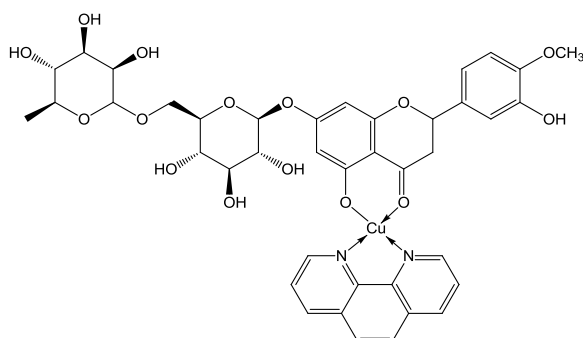
IV Figura 4.198, Apêndice II e  
Tabela 4.46, p. 213

**Cu(BIPY)(NNINA)**

EM Figura 4.180, p. 202

CHN Tabela 4.41, p. 206

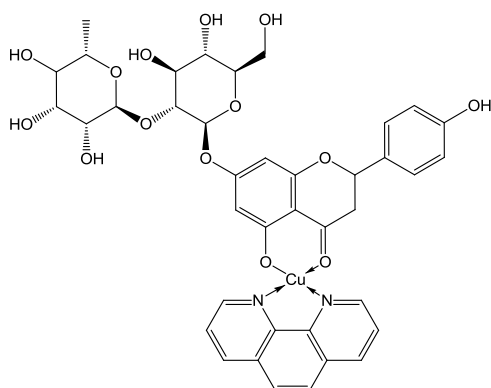
UV Figura 4.211, Apêndice II

IV Figura 4.199, Apêndice II e  
Tabela 4.46, p. 213**Cu(FEN)(HESP)**

EM Figura 4.183, p. 204

CHN Tabela 4.41, p. 206

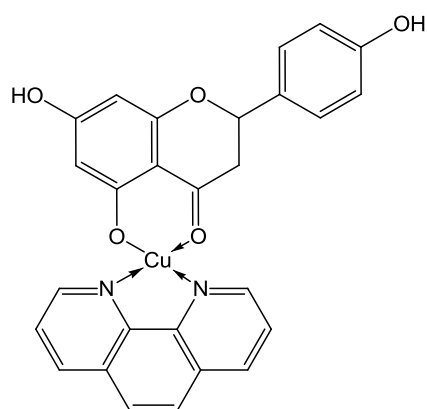
UV Figura 4.213, Apêndice II

IV Figura 4.200, Apêndice II e  
Tabela 4.46, p. 213**Cu(FEN)(NAR)**

EM Figura 4.179, p. 202

CHN Tabela 4.41, p. 206

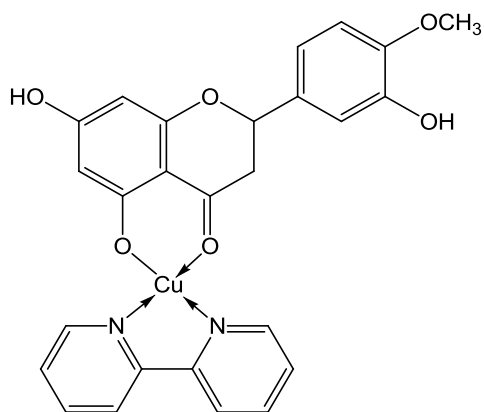
UV Figura 4.210, Apêndice II

**Cu(FEN)(NNINA)**

EM Figura 4.182, p. 204

CHN Tabela 4.41, p. 206

UV Figura 4.212, Apêndice II

**Cu(BIPY)(HPT)**

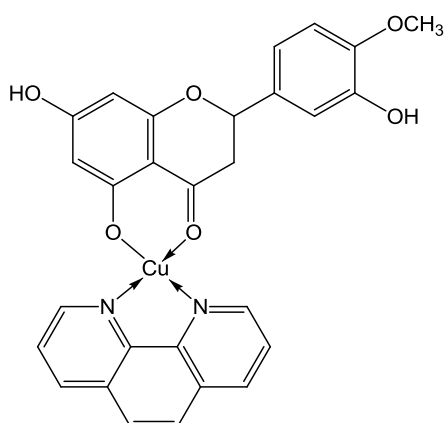
EM Figura 4.184, p. 205

CHN Tabela 4.41, p. 206

UV Figura 4.214, Apêndice II

IV Figura 4.201, Apêndice II e

Tabela 4.46, p. 213

**Cu(FEN)(HPT)**

EM Figura 4.185, p. 206

CHN Tabela 4.41, p. 206

UV Figura 4.215, Apêndice II

**4.2.2. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL****4.2.2.1. IDENTIFICAÇÃO E DADOS DE RMN DE <sup>1</sup>H DE 1,2-DI-(4'-IMINONAR)-ETANO**

A identificação desta substância foi realizada pela análise do espectro de RMN de <sup>1</sup>H que se encontra na **Figura 4.138** do **Apêndice II** e comparação com modelo da literatura (**Tabela 4.37**).

TABELA 4.37 - Dados de RMN de <sup>1</sup>H de 1,2-Di-(4-iminoNAR)-etano e os da literatura

| H   | $\delta_H$ (ppm), J (Hz) |                                      |
|-----|--------------------------|--------------------------------------|
|     | <sup>a</sup>             | Li <i>et al.</i> (2008) <sup>b</sup> |
| 1/2 | 3,43 (m)                 | 3,70 (m)                             |
| 2'  | 5,11 (dl, J = 4)         | 5.11 (dd, J = 3 e 12.3)              |
| 3'  | 3,20 (m)                 | 3,14 (dd, J = 3 e 17)                |
| 6'  | 5,82 (sl)                | 5,60 (s)                             |

|                 |                       |                      |
|-----------------|-----------------------|----------------------|
| 2''/6''         | 7,27 (dl, $J = 8,0$ ) | 7,22 (d, $J = 8,0$ ) |
| 3''/5''         | 6,79 (dl, $J = 8,0$ ) | 6,70 (d, $J = 8,0$ ) |
| 5'(OH)          | 15,7 (s)              | 15,60 (s)            |
| CH <sub>3</sub> | 1,15 (d, $J = 2,3$ )  | -                    |

<sup>a, b</sup> [DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz (<sup>1</sup>H)].

#### 4.2.2.2. IDENTIFICAÇÃO E DADOS DE RMN DE <sup>1</sup>H DE 1,2-DI-(4'-IMINONNINA)-ETANO

A identificação desta substância foi realizada pela análise do espectro de RMN de <sup>1</sup>H que se encontra na **Figura 4.139** do **Apêndice II** e comparação com dados da literatura (**Tabela 4.38**).

TABELA 4.38 - Dados de RMN de <sup>1</sup>H de 1,2-Di-(4-iminoNNINA)-etano e os da literatura

| H       | $\delta_H$ (ppm), $J$ (Hz)            |                                       |
|---------|---------------------------------------|---------------------------------------|
|         | <sup>a</sup>                          | Li <i>et al.</i> (2008) <sup>b</sup>  |
| 1/2     | 3,40 (m)                              | 3,70 (m)                              |
| 2'      | 5,06 (ddl, $J = 12$ e $4,0$ )         | 5,11 ( <i>dd</i> , $J = 3$ e $12,3$ ) |
| 3'      | 2,70 (m)                              | 3,14 ( <i>dd</i> , $J = 3$ e $17,0$ ) |
| 6'      | 5,52 (sl)                             | 5,60 (s)                              |
| 2''/6'' | 7,25 ( <i>dd</i> , $J = 8$ e $28,0$ ) | 7,22 (d, $J = 8,0$ )                  |
| 3''/5'' | 6,78 (t)                              | 6,70 (d, $J = 8,0$ )                  |

<sup>a, b</sup> [DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz (<sup>1</sup>H)].

#### 4.2.2.3. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS DERIVADOS DA LAUSONA

Foram sintetizados 8 derivados a partir da lausona (**Figura 4.140**). Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C (**Figuras 4.141 a 4.156**, **Apêndice II**) mostraram sinais muito similares em algumas posições comuns a todos os compostos (**Figura 4.157**).

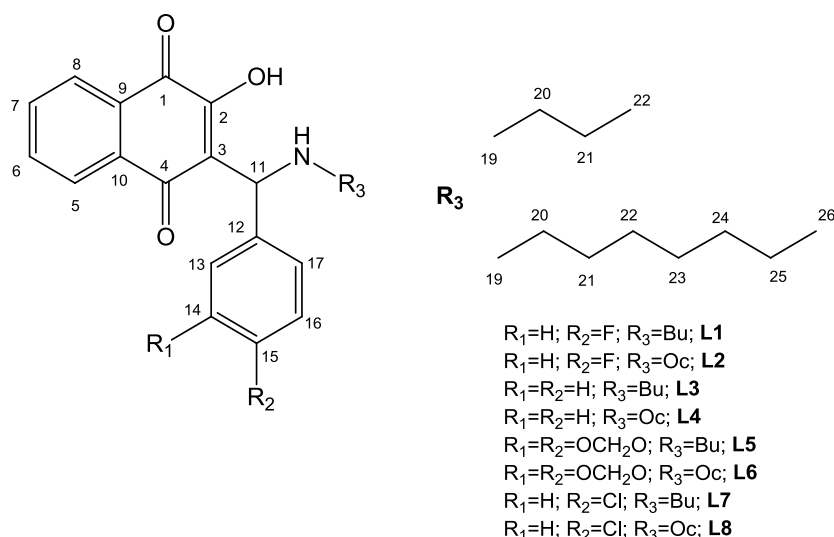


FIGURA 4.140 - Substâncias sintetizadas a partir da lausona.

Um duplo dubleto em  $\delta_H$  7,90 (dd,  $J = 1,5$  e  $8,0$  Hz) correspondendo ao hidrogênio da posição 5, acoplado em *orto* com o hidrogênio da posição 6 e em *meta* com o hidrogênio da posição 7; um duplo tripleto em  $\delta_H$  7,64 (dt,  $J = 1,5$  e  $8,0$  Hz) correspondendo ao hidrogênio da posição 6 com acoplamento em *orto* com os hidrogênios da posição 5 e 7 e acoplamento em *meta* com o hidrogênio na posição 8; um duplo tripleto em  $\delta_H$  7,70 (dt,  $J = 1,5$  e  $8,0$  Hz) correspondendo ao hidrogênio da posição 7 com acoplamento em *orto* com os hidrogênios da posição 8 e 6 e acoplamento em *meta* com o hidrogênio da posição 5; um duplo dubleto em  $\delta_H$  7,82 (dd,  $J = 1,5$  e  $8,0$  Hz) correspondendo ao hidrogênio da posição 8, acoplado em *orto* com o hidrogênio da posição 7 e em *meta* com o hidrogênio da posição 6. O hidrogênio da posição 11 (ligado a um carbono quiral) apresentou-se como um singleto em  $\delta_H$  5,5 (s). Os sinais dos hidrogênios da cadeia alquílica apresentaram-se como um tripleto em  $\delta_H$  0,83 (t) correspondendo ao grupo metil terminal, (posição 22 para butil e posição 26 para octil); dois multipletos em  $\delta_H$  1,27 e  $\delta_H$  1,58 (m) correspondentes aos hidrogênios metilênicos (posição 20 e 21 para butil), um tripleto em  $\delta_H$  2,85 (t) correspondendo aos hidrogênios metilênicos da posição 19, vizinhos ao nitrogênio. Os sinais de carbono encontrados: carbonos cadeia alquílica (com octilamina)  $\delta_C$  13,8 (C-26);  $\delta_C$  22,0 (C-25);  $\delta_C$  31,00 (C-24);  $\delta_C$  28,33 (C-23);  $\delta_C$  25,44 (C-22);  $\delta_C$  25,84 (C-21);  $\delta_C$  28,33 (C-20) e  $\delta_C$  45,60 (C-19) para carbonos da cadeia alquílica (com butilamina) os valores encontrados foram:  $\delta_C$  13,50 (C-12);  $\delta_C$  19,30 (C-21);  $\delta_C$  27,70 (C-20) e  $\delta_C$  45,45 (C-19), os demais sinais encontrados foram:  $\delta_C$  58,10 (C-11) carbono quiral; as duas carbonilas das posições 1 e 4 são respectivamente  $\delta_C$  184,3 (C-1) e  $\delta_C$  178,3 (C-4), carbono enólico da posição 2 em

$\delta_C$  150,2 (C-2);  $\delta_C$  125,3 (C5);  $\delta_C$  130,8 (C-6);  $\delta_C$  131,5 (C-7),  $\delta_C$  125,0 (C-8);  $\delta_C$  133,7 (C-9) e  $\delta_C$  134,6 (C-10).

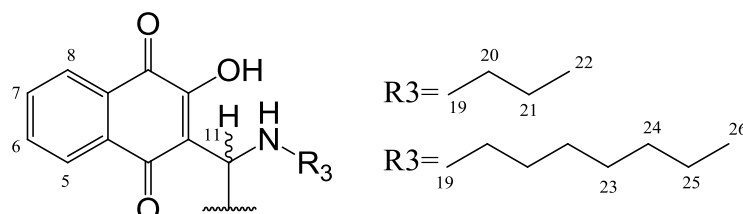


FIGURA 4.157 - Parte da substância com sinais similares para todas elas.

Os espectros de massas das substâncias (**Figuras 4.158 a 4.165, Apêndice II**) apresentaram os mesmos padrões de fragmentação, onde corresponde à perda da amina, gerando picos de massas (M-73) para compostos sintetizados a partir de butilamina e (M-129) para butilamina e gerando compostos bastante estáveis devido as conjugações formadas (**Figura 4.166**).

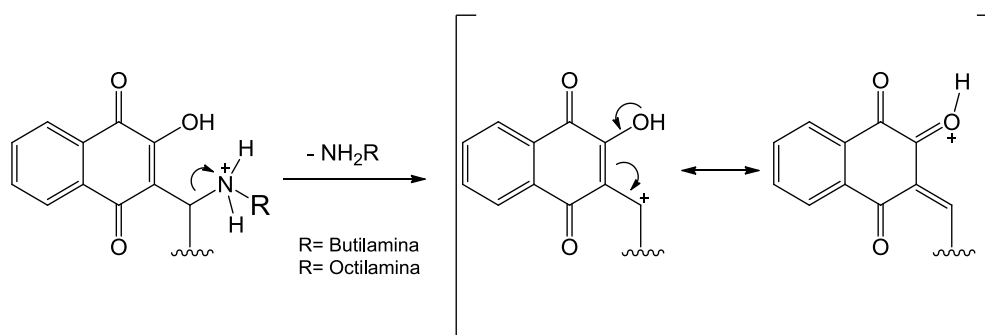
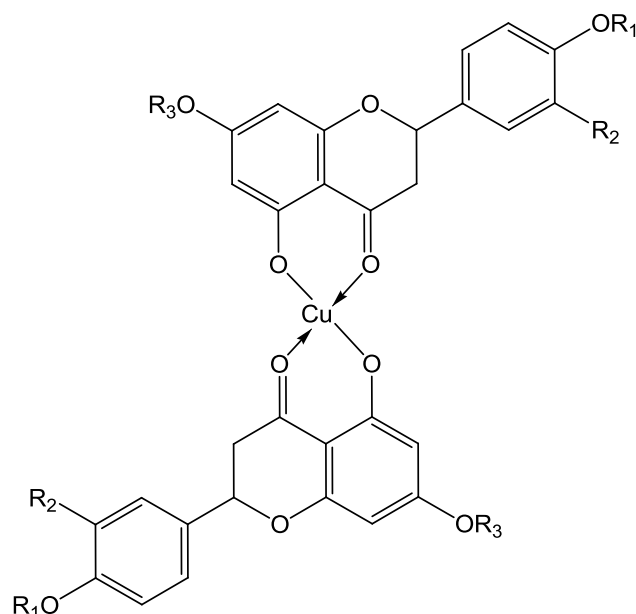


FIGURA 4.166 – Proposta de fragmentação para as substâncias L's.

#### 4.2.2.4. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS COMPLEXOS DO TIPO [Cu(FLAV)<sub>2</sub>]

A caracterização foi realizada a partir de experimentos de IV; UV-Vis; Análise Elementar (CHN) (**Tabela 4.39**); Voltametria Cíclica, dados físico-químicos (**Tabela 4.40**) e EM. O grau de pureza de algumas substâncias foi verificado através de cromatografia de eletroforese capilar e com esses resultados foi possível propor as estrutura indicadas (**Figura 4.167**).





R1= R2= H, R3=7-ramnoglicosideo **Cu(NAR)<sub>2</sub>**

R1= R2 = R3= H **Cu(NNINA)<sub>2</sub>**

R1=CH<sub>3</sub>, R2=OH, R3=7-rutinosideo **Cu(HESP)<sub>2</sub>**

R1=CH<sub>3</sub>, R2=OH, R3=H **Cu(NNINA)<sub>2</sub>**

FIGURA 4.167 - Complexos do tipo Cu(FLAV)<sub>2</sub> sintetizados

#### 4.2.2.4.1. Cu(NAR)<sub>2</sub>

O flavonóide NAR possui fórmula molecular C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>O<sub>14</sub> e massa molecular de 580,5 g/mol. Ao se analisar o espectro de massas (**Figura 4.168**) e em específico a fragmentação (**Figura 4.169**) pôde-se observar a formação do íon molecular (M+1) que corresponde a *m/z* 1222,4; significando que o composto é formada por duas moléculas de NAR tendo como átomo central o cobre conforme proposto.

O padrão de fragmentação se baseia quase que exclusivamente na perda do açúcar, quer seja a raminose ou a unidade glicosídica inteira. O mecanismo envolvido é a hidrólise ácida, onde o oxigênio da posição 7 que sofre protonação e posterior perda do açúcar. Os principais fragmentos encontrados foram *m/z* 496,1; 606,2; 642,3; 768,3; 914,2 e 1222,4. O fragmento *m/z* 606,2 corresponde às perdas das duas unidades glicosídicas do dímero, o fragmento *m/z* 642,2 corresponde na perda de um flavonóide, formando um monômero entre metal e o ligante; *m/z* 768,3 corresponde à perda de uma unidade glicosídica de um flavonóide e a raminose

terminal do outro flavonóide e  $m/z$  914,2 corresponde à perda de uma unidade glicosídica de um flavonóide do dímero.

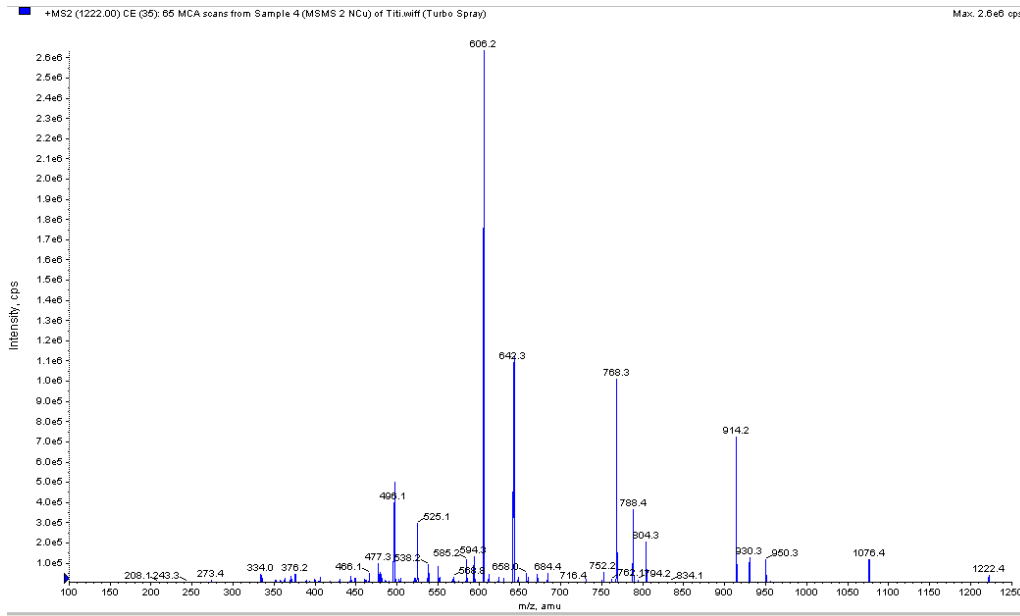


FIGURA 4.168 – Espectro de massas do complexo  $\text{Cu}(\text{NAR})_2$ .

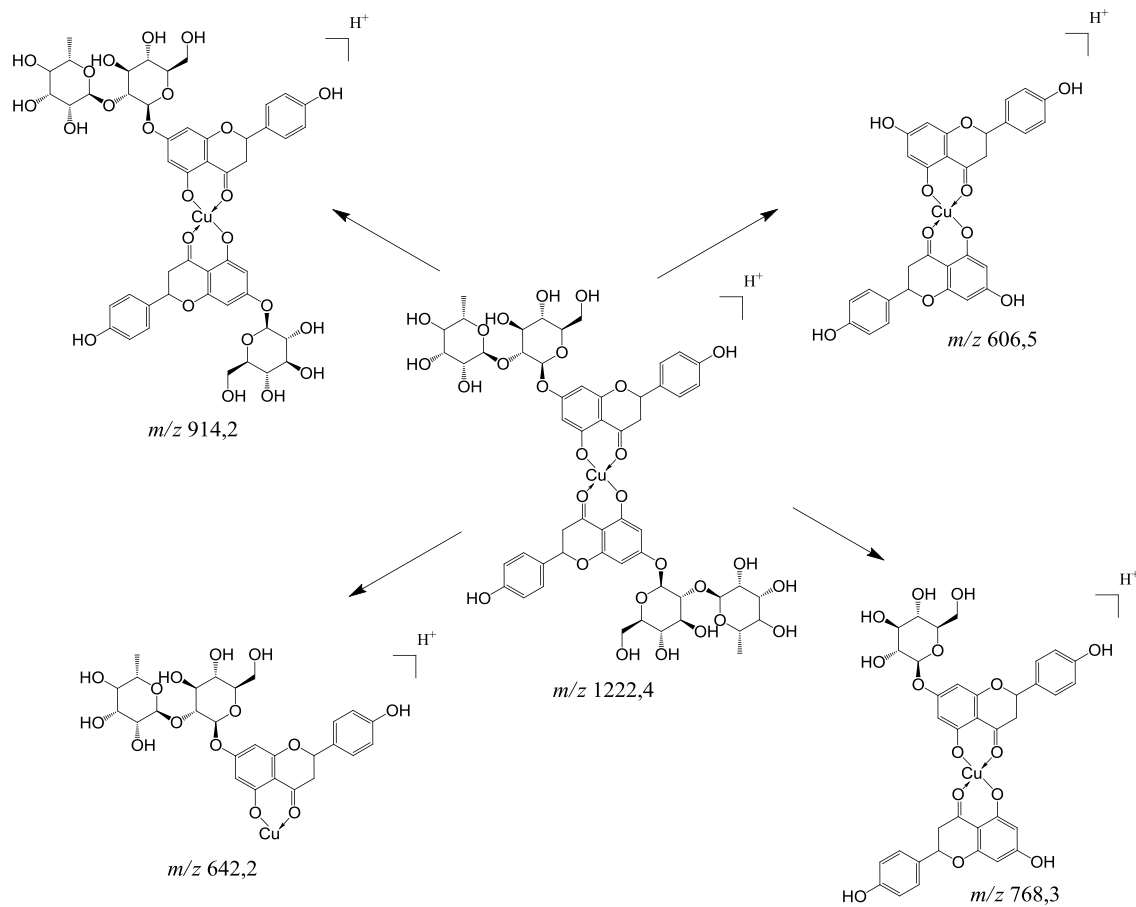


FIGURA 4.169 – Proposta de fragmentação do complexo do complexo  $\text{Cu}(\text{NAR})_2$ .

4.2.2.4.2.  $\text{Cu}(\text{NNINA})_2$ 

O flavonóide NNINA possui fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$  e massa molecular de 272,0 g/mol. Ao se analisar o espectro de massas (**Figura 4.170**) pôde-se observar a formação do íon  $m/z$  550,7 que não corresponde a massa do composto proposto (605,5 Da) mais um fragmento deste, com perda de  $\text{CH}_2=\text{CHC}=\text{O}$  (55 Da) que corresponde a uma perda do anel A de um dos flavonóides. O pico  $m/z$  522,6 corresponde a perda total do anel A; o pico  $m/z$  494,6 corresponde a perda total do anel A e mais uma perda de COH do anel B e finalmente o pico  $m/z$  441,3 corresponde a um rearranjo onde o segundo flavonóide sofre perda do anel A e B conforme proposta apresentada por ZHANG e BRODBELT, 2003. A proposta de fragmentação é apresentada na **Figura 4.171**.

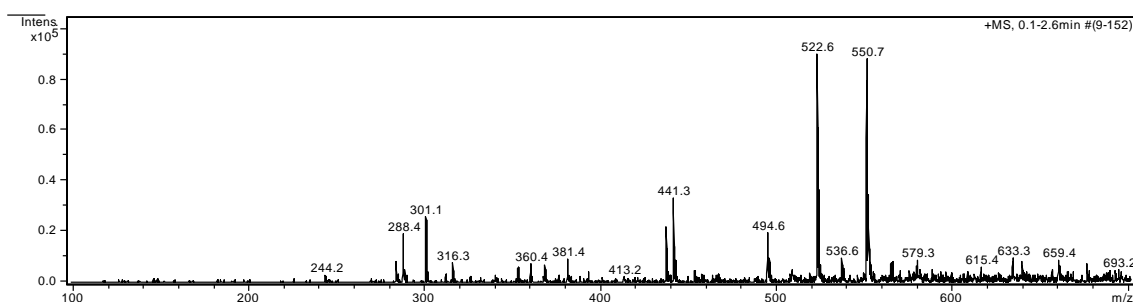


FIGURA 4.170 – Espectro de massas fullscan do complexo  $\text{Cu}(\text{NNINA})_2$ .

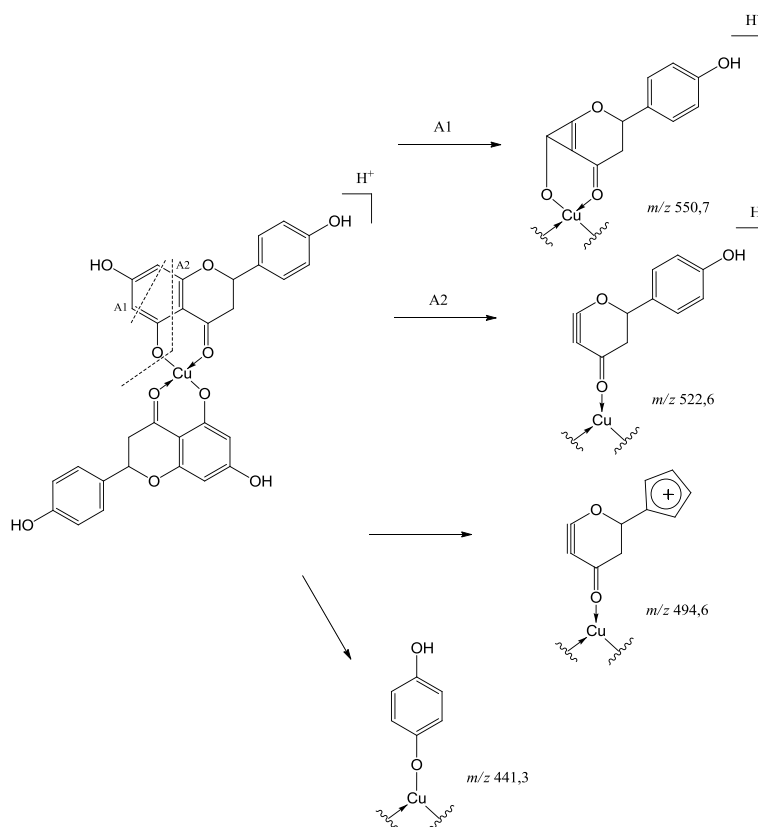


FIGURA 4.171 - Proposta de fragmentação para o complexo  $\text{Cu}(\text{NNINA})_2$ .

4.2.2.4.3. Cu(HESP)<sub>2</sub>

O flavonóide HESP possui fórmula molecular C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>O<sub>15</sub> e massa molecular de 610,0 g/mol. Ao se analisar o espectro de massas (**Figura 4.172**) no modo negativo, se observou a formação do íon  $m/z$  1219,2 o que não corresponde a massa do composto proposto (1280,5 Da), mas um fragmento deste, com perda de 61,3 Da e esta perda pode estar relacionada com rearranjo da ramnose terminal C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub> + H baseado em BALD, *et al.*, 2009 e o pico  $m/z$  609,0 mostra o flavonóide livre. A **Figura 4.173** mostra a proposta de formação do íon  $m/z$  1219,2 formado a partir de ramnose terminal. É importante ressaltar que a ampliação do pico  $m/z$  1219,2 mostra outros isótopos de cobre que representa uma proporção de 30 % mostrando a presença do metal neste fragmento.

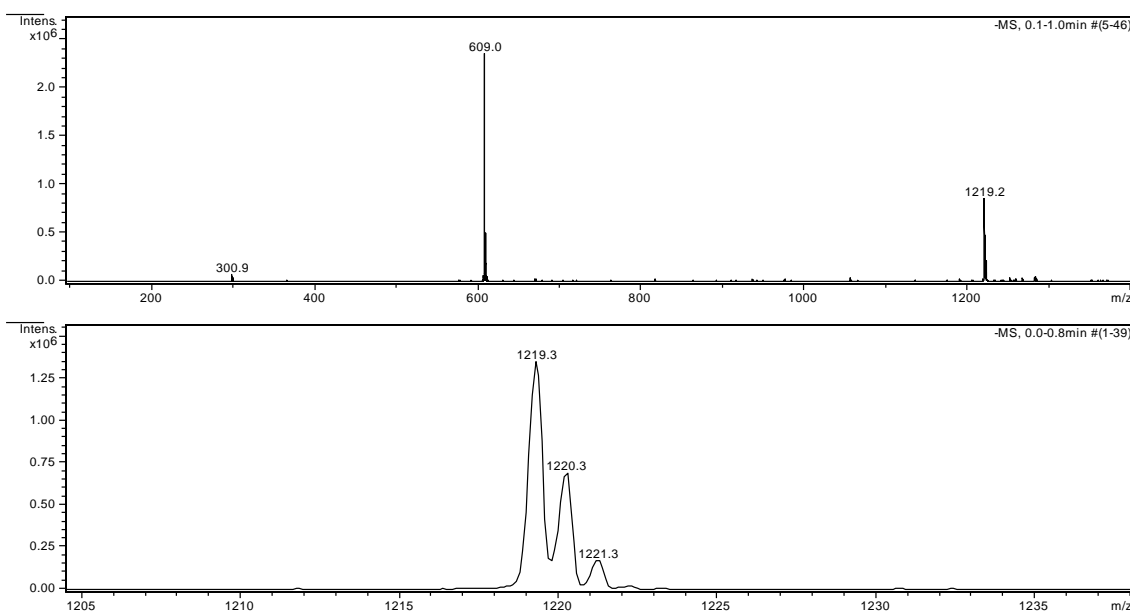


FIGURA 4.172 – Espectro de massas fullscan com sua ampliação do complexo Cu(HESP)<sub>2</sub>.

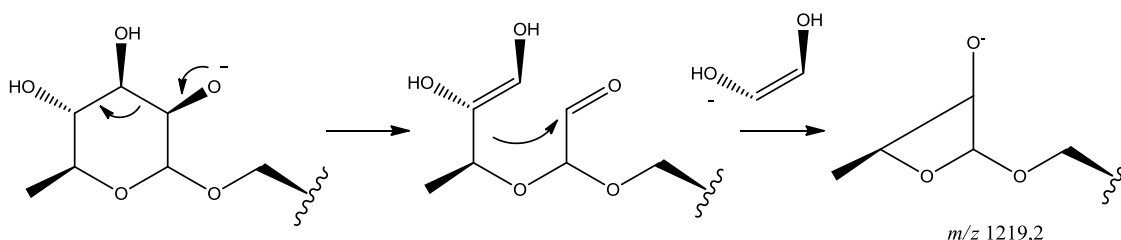


FIGURA 4.173 – Proposta de formação do íon  $m/z$  1219,2 do complexo Cu(HESP)<sub>2</sub> a partir de rearranjo da ramnose terminal.

#### 4.2.2.4.4. Cu(HPT)<sub>2</sub>

O flavonóide HPT possui fórmula molecular C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub> e massa molecular de 302,0 g/mol. Ao se analisar o espectro de massas (**Figura 4.174**) no modo positivo se observou a formação do íon *m/z* 647,5 que não corresponde a massa do composto proposto (665,5 uma), mas um fragmento deste, com perda de 183 u.m.a, esta perda significa perda de uma molécula de água; o pico *m/z* 619,4 mostra a perda de uma molécula de CO neutra (M-H<sub>2</sub>O-CO); o pico *m/z* 591,4 mostra a perda de uma segunda molécula de CO (M-H<sub>2</sub>O-2CO) e estas perdas de CO's são muito comuns em flavonóides e muitos correspondem a picos de grande intensidade. O pico *m/z* 487,0 corresponde a perda de duas moléculas de CO além do anel B de um dos flavonóides (M-2CO-Anel B) e finalmente o pico *m/z* corresponde a perda de um flavonóide sendo detectado o outro flavonóide ligado ao átomo de cobre.

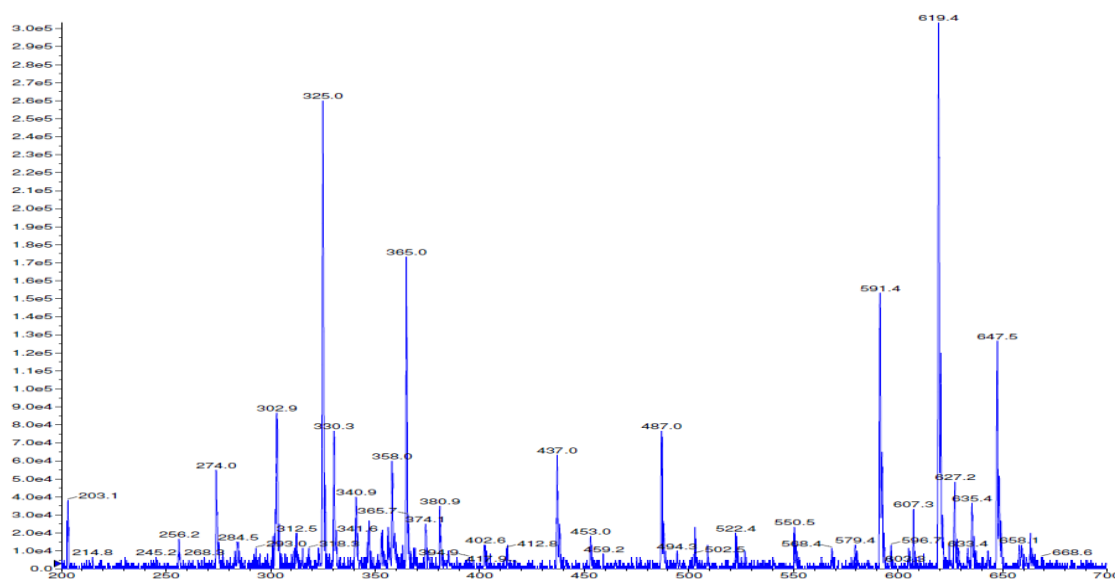


FIGURA 4.174 – Espectro de massas fullscan do complexo **Cu(HPT)<sub>2</sub>** (modo positivo).

Os eletroferogramas (**Figura 4.175**) do flavonóide NAR e de seu complexo metálico Cu(NAR)<sub>2</sub> indica um grau elevado de pureza das substâncias. As amostras foram injetadas a uma concentração de 1.10<sup>-3</sup> M, tendo como tampão formiato de amônio e o pH foi fixado em 8,4. As injeções foram feitas em capilar de 50 cm, a uma voltagem variando de 200 mV a 300 mV.

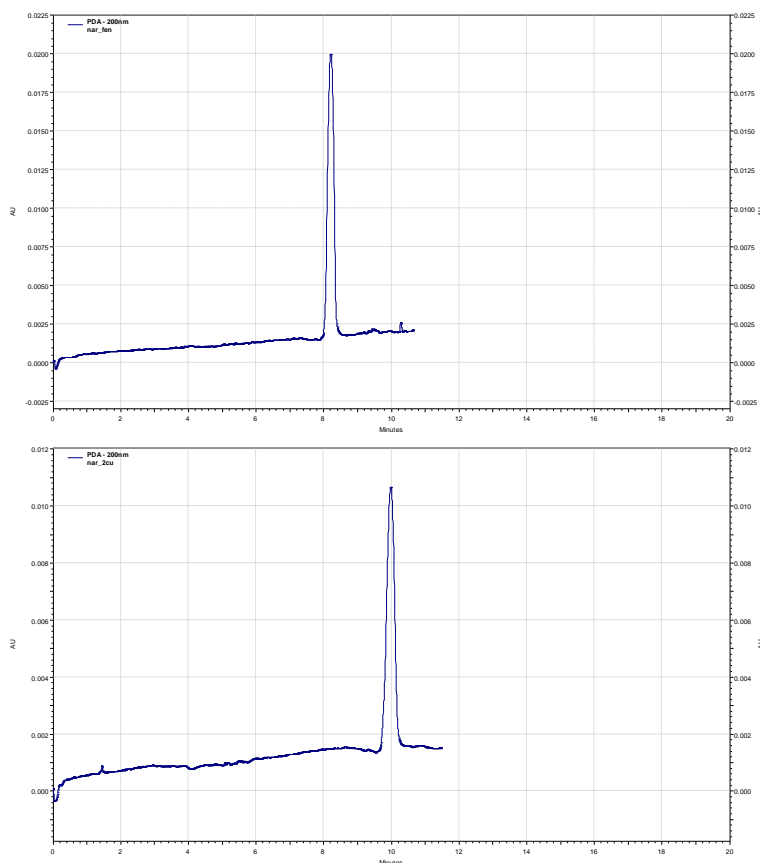


FIGURA 4.175 - Eletroferogramas do flavonóide **NAR** e de **Cu(NAR)<sub>2</sub>** respectivamente.

Na **Tabela 4.39** são apresentados dados de análise elementar (CHN) dos flavonóides e seus complexos com cobre.

TABELA 4.39 – Dados de CHN dos complexos do tipo [Cu(FLAV)<sub>2</sub>]

| Complexo   |               |       |            |       |
|--|---------------|-------|------------|-------|
| C <sub>54</sub> H <sub>62</sub> CuO <sub>28</sub><br>[Cu(NAR) <sub>2</sub> ]   | % C calculado | 53,05 | % C obtido | 47,68 |
|  | % H calculado | 5,11  | % H obtido | 5,04  |
|  | % O calculado | 36,64 | % O obtido | -     |
| C <sub>54</sub> H <sub>62</sub> CuO <sub>28</sub><br>[Cu(NNINA) <sub>2</sub> ] | % C calculado | 57,00 | % C obtido | 56,04 |
|  | % H calculado | 4,09  | % H obtido | 3,80  |
|  | % O calculado | 28,02 | % O obtido | -     |
| C <sub>56</sub> H <sub>66</sub> CuO <sub>30</sub><br>[Cu(HESP) <sub>2</sub> ]  | % C calculado | 51,00 | % C obtido | 51,35 |
|  | % H calculado | 5,35  | % H obtido | 5,67  |
|  | % O calculado | 38,83 | % O obtido | -     |
| C <sub>32</sub> H <sub>28</sub> CuO <sub>12</sub>                              | % C calculado | 54,74 | % C obtido | 55,04 |

|                         |               |       |            |      |
|-------------------------|---------------|-------|------------|------|
| [Cu(HPT) <sub>2</sub> ] | % H calculado | 4,31  | % H obtido | 4,03 |
|                         | % O calculado | 31,90 | % O obtido | Nc   |

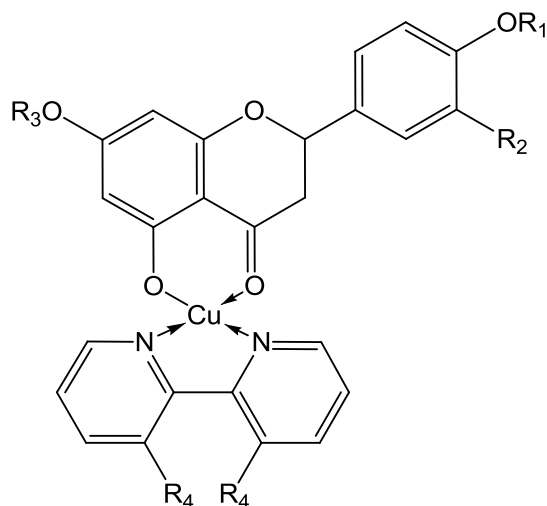
Na **Tabela 4.40** são apresentados características físico-químicas (cor, solubilidade, pf) dos flavonóides e seus complexos com cobre.

TABELA 4.40 - Características físico-químicas dos flavonóides e de seus complexos do tipo Cu(FLAV)<sub>2</sub>

| Composto                   | Cor                 | Solubilidade                  | PF (°C)   |
|----------------------------|---------------------|-------------------------------|-----------|
| NAR                        | sólido branco       | MeOH                          | 172 ± 8   |
| [Cu(NAR) <sub>2</sub> ]    | sólido verde escuro | Baixa MeOH e H <sub>2</sub> O | 242 ± 8   |
| NNINA                      | sólido bege         | MeOH e Acetona                | 170 ± 2,0 |
| [Cu(NNNINA) <sub>2</sub> ] | sólido verde escuro | Baixa MeOH e H <sub>2</sub> O | 245 ± 2,0 |
| HESP                       | sólido verde musgo  | Baixa Metanol                 | 253       |
| [Cu(HESP) <sub>2</sub> ]   | sólido verde escuro | Baixa MeOH e H <sub>2</sub> O | 312       |
| HPT                        | sólido verde        | MeOH e acetona                | 220 ± 2,0 |
| [Cu(HPT) <sub>2</sub> ]    | sólido verde escuro | Baixa MeOH e H <sub>2</sub> O | 310 ± 2,0 |

#### 4.2.2.5. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS COMPLEXOS DO TIPO Cu(X)(FLAV)

A caracterização destes complexos foi realizada a partir de experimentos de IV, UV-Vis, Análise Elementar (CHN) (**Tabela 4.41**), Voltametria Cíclica, dados físico-químicos (**Tabela 4.42**) e EM. O grau de pureza de algumas substâncias foi determinada através de cromatografia de eletroforese capilar e com esses resultados foi possível propor as estrutura indicadas (**Figura 4.176**). Onde X é 2,2'-Bipiridina ou 1,10'-Fenantrolina.



R1= R2= H, R3=7-ramnoglicosideo, R4=H **Cu(BIPY)(NAR)**

R1= R2 = R3= H, R4 = H **Cu(BIPY)(NNINA)**

R1=CH3, R2=OH, R3=H **Cu(BIPY)(NNINA)**

R1= R2= H, R3=7-ramnoglicosideo, R4= -CH-CH- **Cu(FEN)(NAR)**

R1= R2 = R3= H, R4 = -CH-CH- **Cu(FEN)(NNINA)**

R1=CH3, R2=OH, R3=7-rutinosideo, R4 = -CH-CH- **Cu(FEN)(HESP)**

R1=CH3, R2=OH, R3=H, R4 = -CH-CH- **Cu(FEN)(NNINA)**

FIGURA 4.176 - Complexos do tipo **Cu(X)(FLAV)** sintetizados.

#### 4.2.2.5.1. **Cu(BIPY)(NAR)**

Para se determinar a massa do complexo, cada um deles foi submetido à análise por espectrometria de massas. O complexo proposto possui fórmula molecular  $C_{37}H_{39}CuN_2O_{14}$  e massa 798,50 Da. Ao se analisar o espectro de massas (**Figura 4.177**) no modo positivo pôde-se observar a formação do íon  $m/z$  798,15, correspondente ao pico do íon molecular ( $M^+$ ). Observou-se também pico  $m/z$  544,89 mostrando perda de açúcar terminal (ramnose) seguido de rearranjo (cross ring sugar) do açúcar central. O pico  $m/z$  474,95 corresponde a hidrólise do açúcar ficando a carga no anel A e o pico  $m/z$  308,01 corresponde a hidrólise ficando a carga na ramnose seguido de rearranjo. A proposta de fragmentação está representada na **Figura 4.178**.



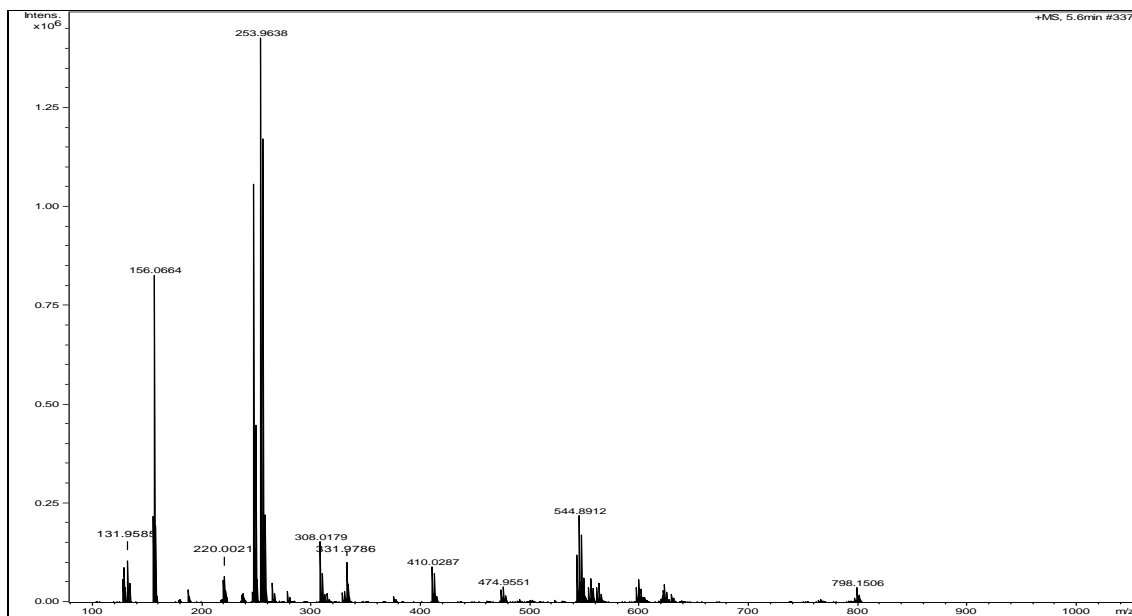


FIGURA 4.177 – Espectro de massas de alta resolução do complexo **Cu(BIPY)(NAR)**.

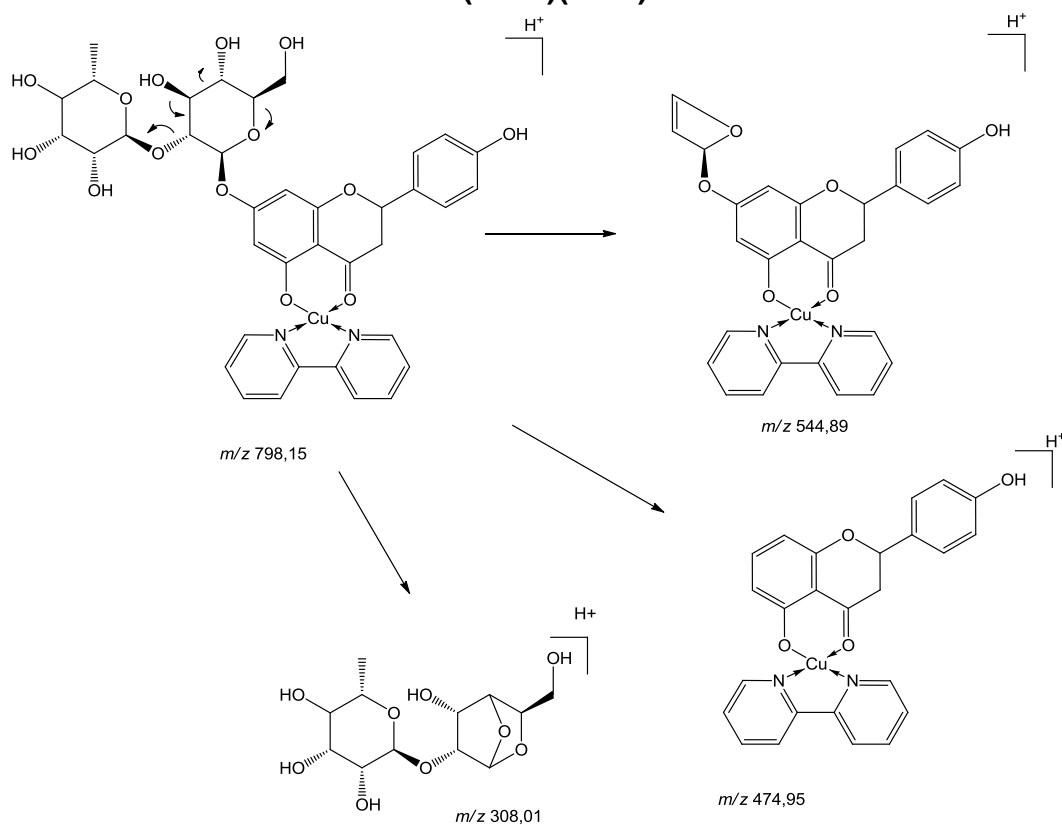


FIGURA 4.178 – Proposta de fragmentação do complexo **Cu(BIPY)(NAR)**.

#### 4.2.2.5.2. Cu(FEN)(NAR)

No espectro de massas (**Figuras 4.179**) no modo positivo pôde-se observar a formação do íon  $m/z$  822,1487 o pico molecular ( $M^+$ ) correspondendo a

proposta do composto, sendo formado por uma molécula de NAR, FEN e o metal cobre central.

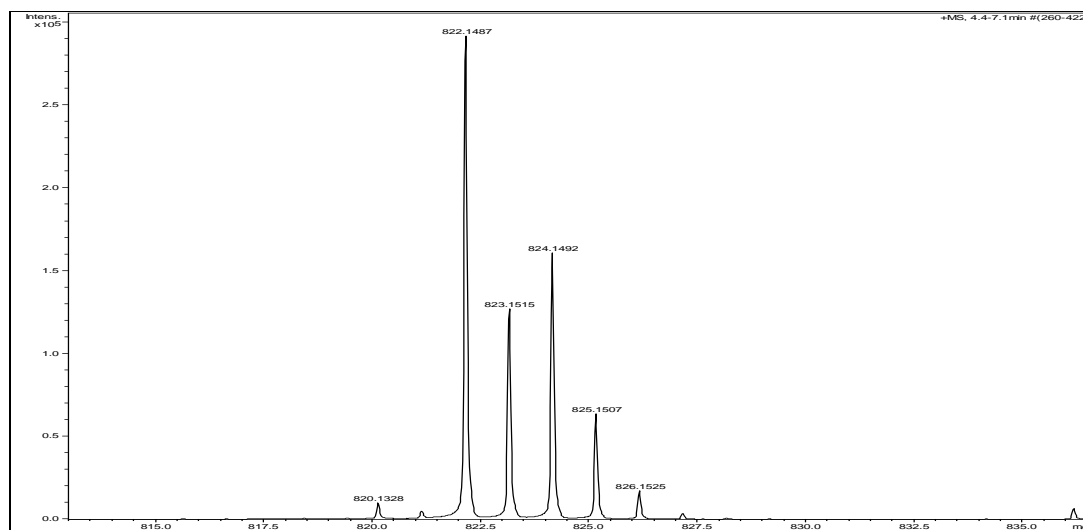


FIGURA 4.179 – Espectro de massas alta resolução (ampliação) do complexo **Cu(FEN)(NAR)** (modo positivo).

#### 4.2.2.5.3. Cu(BIPY)(NNINA)

Ao se analisar o espectro de massas no modo negativo de ionização (**Figura 4.180**) foi observado a formação do íon molecular (M-1) que corresponde a  $m/z$  488,2, o que mostra a massa molecular proposta para este complexo; o pico  $m/z$  381,4 corresponde a perda do anel B e de rearranjo do anel C com perda do éter cíclico e formação de ciclopentanona; o pico  $m/z$  353,3 corresponde a perda de CO e formação de ciclobutano; finalmente o pico  $m/z$  288,3 mostra um pseudo dies alder com perda do anel C, B e abertura anel A baseada em proposta apresentada ZHANG e BRODBELT, 2003. As propostas de fragmentação estão representadas na **Figura 4.181**.

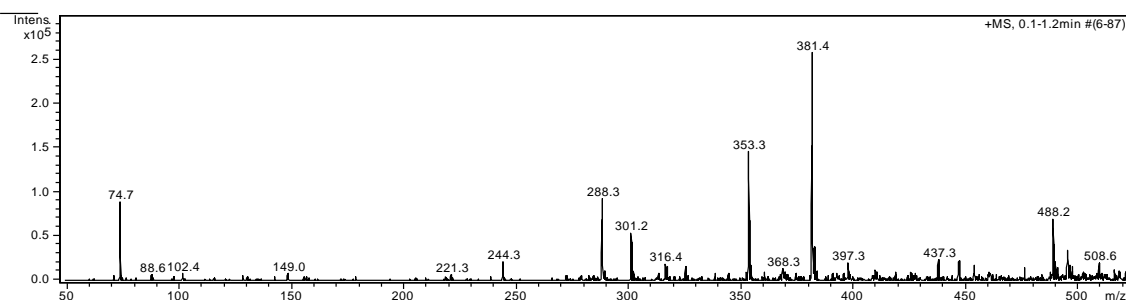


FIGURA 4.180 - Espectro de massas do complexo **Cu(BIPY)(NNINA)**.

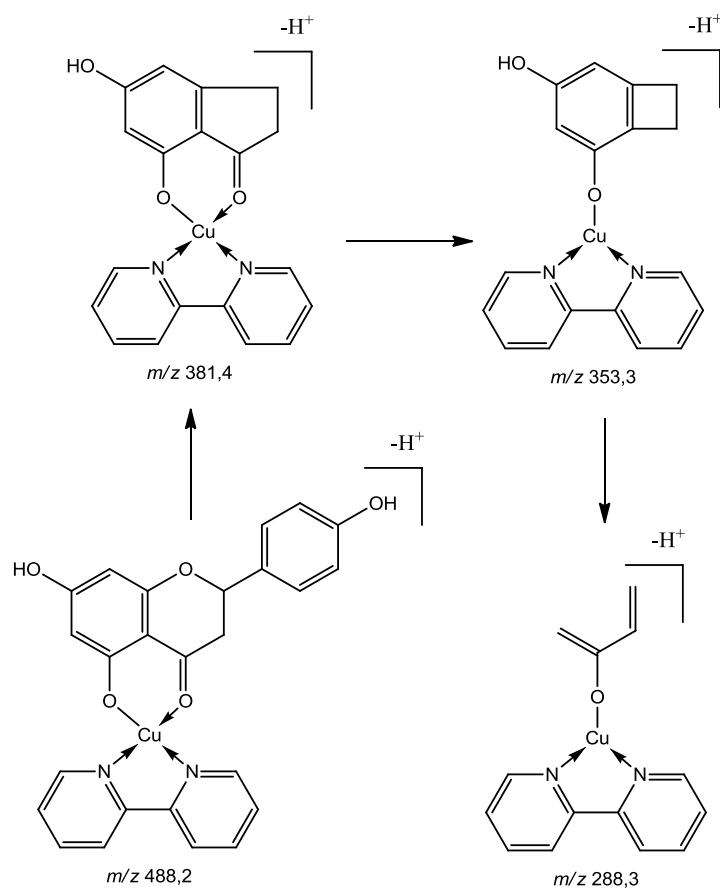


FIGURA 4.181 – Proposta de fragmentação do complexo  $\text{Cu}(\text{BIPY})(\text{NNINA})$ .

#### 4.2.2.5.4. $\text{Cu}(\text{FEN})(\text{NNINA})$

Ao se analisar o espectro de massas (**Figura 4.182**) no modo positivo pôde-se observar a formação do íon  $m/z$  514,05, o pico do íon molecular ( $\text{M}^+$ ) correspondendo ao proposto para o composto, sendo formado por uma molécula de NNINA, FEN e o metal cobre central. Este cromatograma de fullscan apresentou muitas impurezas, inviabilizando propostas de fragmentação e alguns picos encontrados não se pode afirmar se fazem parte de fragmentação do composto ou contaminantes, o pico  $m/z$  181,07 corresponde a molécula de fenantrolina que pode ter sido havido descomplexação do composto ou simplesmente composto em excesso da reação, assim também como o pico  $m/z$  271,00 que mostra uma molécula de CO complexada a fenantrolina e o cobre, o que pode ser uma fragmentação quase que total do flavonóide, restando apenas a carbonila da posição 4 ou simplesmente CO atmosférico que tenha complexado com o reagente fenantrolina; o pico  $m/z$  277,96 corresponde a uma molécula de fenantrolina

complexada com cobre e um átomo de cloro proveniente provavelmente do cloreto de cobre empregado na síntese.

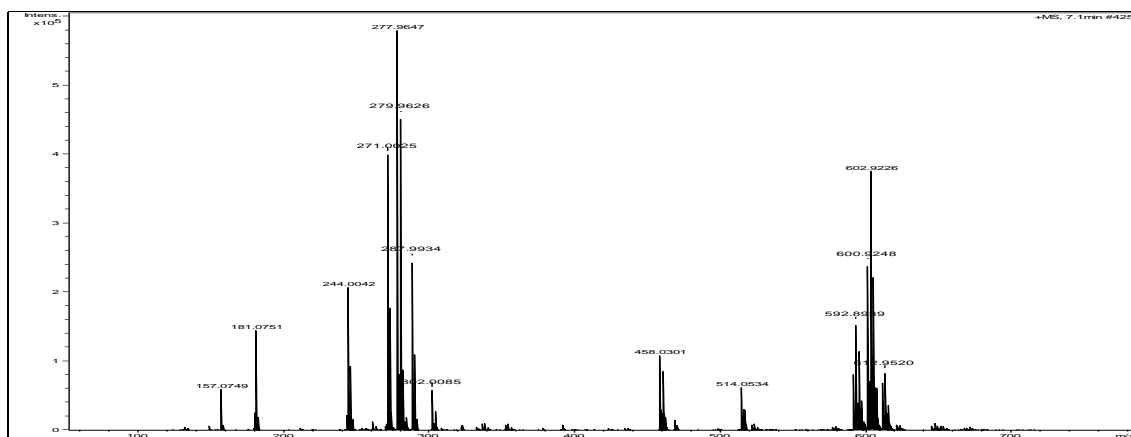


FIGURA 4.182 – Espectro de massas de alta resolução do complexo **Cu(FEN)(NNNINA)** (modo positivo).

#### 4.2.2.5.5. Cu(FEN)(HESP)

Ao se analisar o espectro de massas (**Figura 4.183**) no modo positivo de ionização foi observado a formação do íon molecular (M+1) que corresponde a  $m/z$  853,9, o que mostra a proposta para este complexo, sendo formado pelo flavonóide hesperidina e uma molécula de fenantrolina e o metal. O espectro apresenta ainda um fragmento em 546  $m/z$  que corresponde à hidrólise do glicosídeo do flavonóide formando a aglicona. Estes dados foram comparados com os da literatura (SATTERFIELD, *et al.*, 2001) confirmando a estrutura proposta.

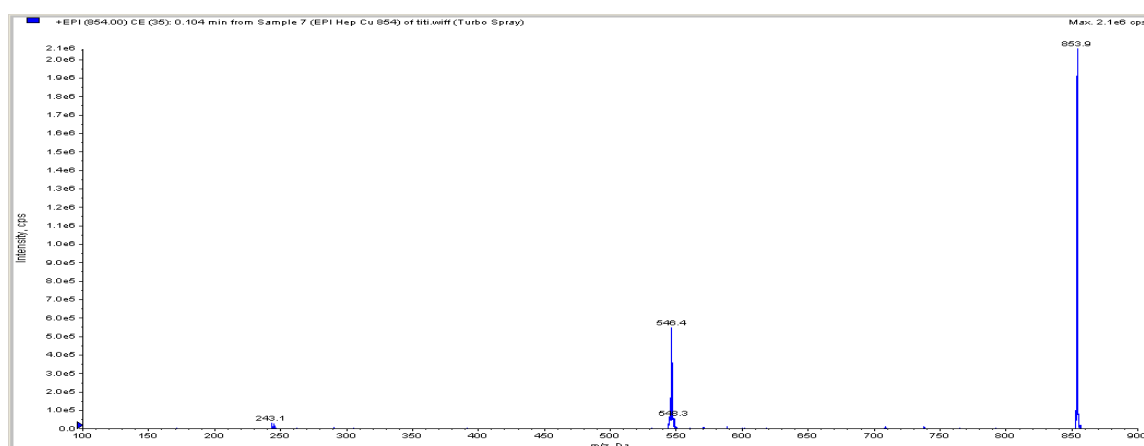


FIGURA 4.183 - Espectro de massas do complexo **Cu(FEN)(HESP)** (modo positivo).

#### 4.2.2.5.6. Cu(BIPY)(HPT)

Ao se analisar o espectro de massas (**Figura 4.184**) no modo positivo de ionização foi observado a formação do íon molecular ( $M+1$ ) que corresponde a  $m/z$  520,5; o que confirma a proposta para este complexo, sendo formado pelo flavonóide hesperitina e uma molécula de biperidina e o metal. O espectro apresenta ainda o pico  $m/z$  218,9 que mostra a descomplexação onde o fragmento mostra uma molécula de biperidina e o metal cobre.

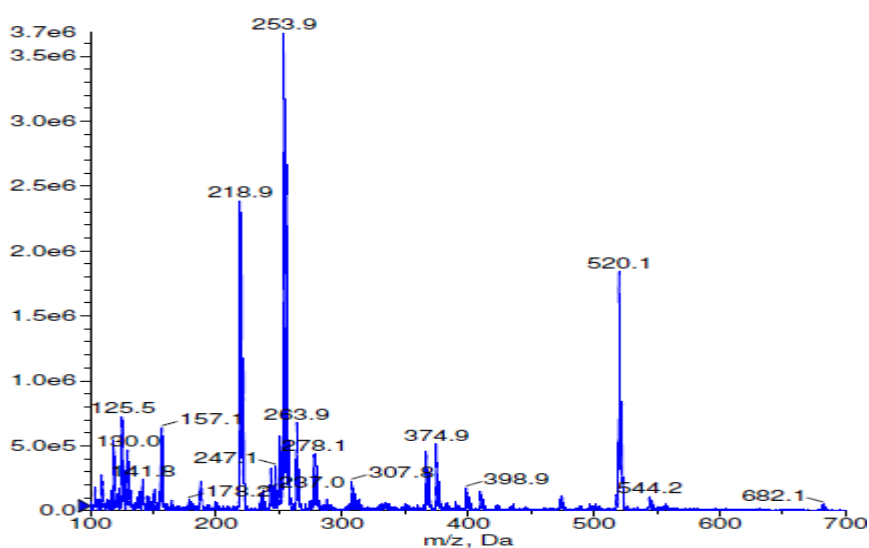


FIGURA 4.184 - Espectro de massas do complexo metálico de **Cu(BIPY)(HPT)** (modo positivo).

#### 4.2.2.5.7. Cu(FEN)(HPT)

Ao se analisar o espectro de massas (**Figura 4.185**) no modo positivo pôde-se observar a formação do íon  $m/z$  544,06; o pico do íon molecular ( $M^+$ ) correspondendo a proposta do composto, sendo formado por uma molécula de HPT, FEN e o metal cobre central. Este espectro de fullscan apresentou muitas impurezas, inviabilizando propostas de fragmentação e alguns picos encontrados não se pode afirmar se fazem parte de fragmentação do composto ou contaminantes, o pico  $m/z$  181,07 corresponde a molécula de fenantrolina que pode ter sido havido descomplexação do composto ou simplesmente composto em excesso da reação, assim também como o pico  $m/z$  271,00 que mostra uma molécula de CO complexada a fenantrolina e o cobre, o que pode ser uma fragmentação quase que total do flavonóide, restando apenas a carbonila da posição 4 ou simplesmente CO atmosférico que tenha complexado com o reagente.

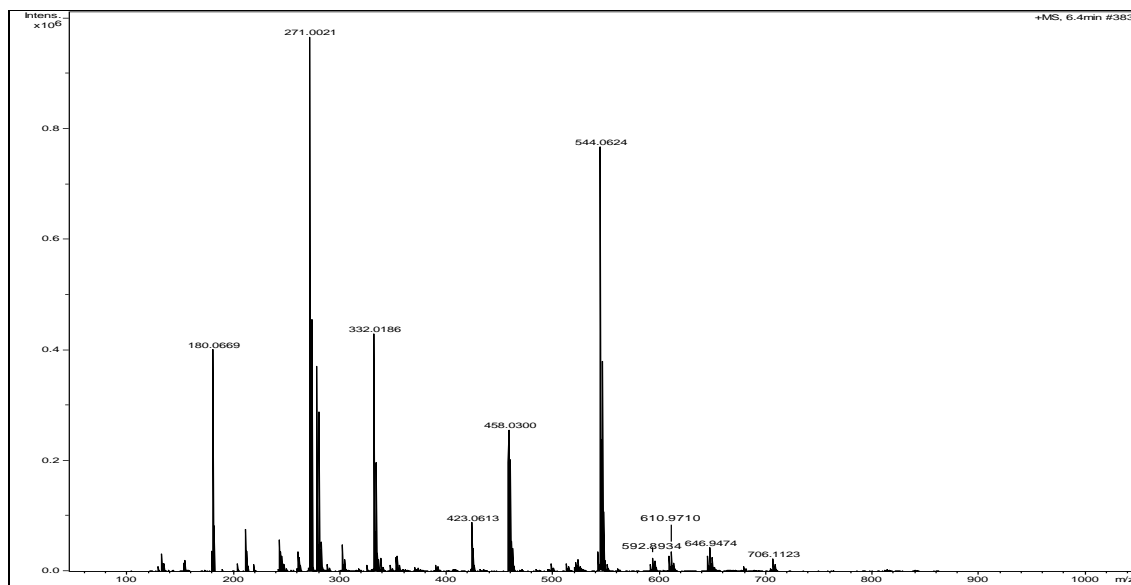


FIGURA 4.185 – Espectro de massas de alta resolução do complexo **Cu(FEN)(HPT)** (modo positivo).

TABELA 4.41 - Dados de análise elementar dos complexos do tipo **Cu(X)(FLAV)**

| Complexo                                     |               |       |            |       |
|--|---------------|-------|------------|-------|
| $C_{37}H_{39}CuN_2O_{14}$<br>[Cu(BIPY)(NAR)] | % C calculado | 51,07 | % C obtido | 46,58 |
|  | % H calculado | 4,52  | % H obtido | 3,20  |
|  | % N calculado | 3,22  | % N obtido | 2,99  |
|  | % O calculado | 25,74 | % O obtido | -     |
| $C_{26}H_{21}N_2O_6Cu$<br>[Cu(BIPY)(NNINA)]  | % C calculado | 56,98 | % C obtido | 41,52 |
|  | % H calculado | 4,40  | % H obtido | 3,04  |
|  | % N calculado | 5,32  | % N obtido | 9,49  |
|  | % O calculado | 21,25 | % O obtido | -     |
| $C_{26}H_{21}N_2O_6Cu$<br>[Cu(BIPY)(HPT)]    | % C calculado | 52,76 | % C obtido | 42,75 |
|  | % H calculado | 3,58  | % H obtido | 3,15  |
|  | % N calculado | 4,73  | % N obtido | 8,89  |
|  | % O calculado | 16,22 | % O obtido | -     |
| $C_{39}H_{39}CuN_2O_{14}$<br>[Cu(FEN)(NAR)]  | % C calculado | 54,55 | % C obtido | 41,38 |
|  | % H calculado | 4,58  | % H obtido | 2,99  |
|  | % N calculado | 3,26  | % N obtido | 9,58  |
|  | % O calculado | 26,08 | % O obtido | -     |
| $C_{27}H_{19}CuN_2O_5$                       | % C calculado | 58,91 | % C obtido | 59,12 |

|  |               |       |            |       |
|--|---------------|-------|------------|-------|
| [Cu(FEN)(NNINA)]   | % H calculado | 3,48  | % H obtido | 3,67  |
|  | % N calculado | 5,09  | % N obtido | 5,30  |
|  | % O calculado | 26,08 | % O obtido | -     |
| C <sub>40</sub> H <sub>41</sub> N <sub>2</sub> O <sub>15</sub> Cu<br>[Cu(FEN)(HESP)] | % C calculado | 56,30 | % C obtido | 55,80 |
|  | % H calculado | 4,84  | % H obtido | 4,93  |
|  | % N calculado | 3,28  | % N obtido | 3,50  |
|  | % O calculado | 28,12 | % O obtido | -     |
| C <sub>28</sub> H <sub>21</sub> CuN <sub>2</sub> O <sub>6</sub><br>[Cu(FEN)(HPT)]    | % C calculado | 57,94 | % C obtido | 58,13 |
|  | % H calculado | 3,65  | % H obtido | 4,03  |
|  | % N calculado | 4,83  | % N obtido | 5,01  |
|  | % O calculado | 16,54 | % O obtido | -     |

Alguns compostos apresentam certo grau de hidratação o que acarreta porcentagens diferentes quando comparados com os calculados.

Na **Tabela 4.42** são apresentados características físico-químicas (cor, solubilidade, pf) dos complexos com cobre do tipo **Cu(X)(FLAV)**, a **Tabela XX** os dados de análise elementar dos mesmos e a **Figura 4.186** os eletroferogramas da **NNINA** e de seu complexo **Cu(BIPY)(NNINA)**.

TABELA 4.42 - Características físico-químicas dos complexos do tipo **Cu(X)(FLAV)**

| Composto         | Cor                  | Solubilidade                  | PF (°C)   |
|------------------|----------------------|-------------------------------|-----------|
| [Cu(BIPY)(NAR)]  | sólido verde piscina | Baixa MeOH e H <sub>2</sub> O | 325 ± 2,0 |
| [Cu(FEN)(NAR)]   | sólido verde piscina | Baixa MeOH e H <sub>2</sub> O | 340 ± 2,0 |
| [Cu(FEN)(NNINA)] | sólido verde piscina | Baixa MeOH e H <sub>2</sub> O | 330 ± 2,0 |
| [Cu(FEN)(HPT)]   | sólido verde piscina | Baixa MeOH e H <sub>2</sub> O | 335 ± 2,0 |

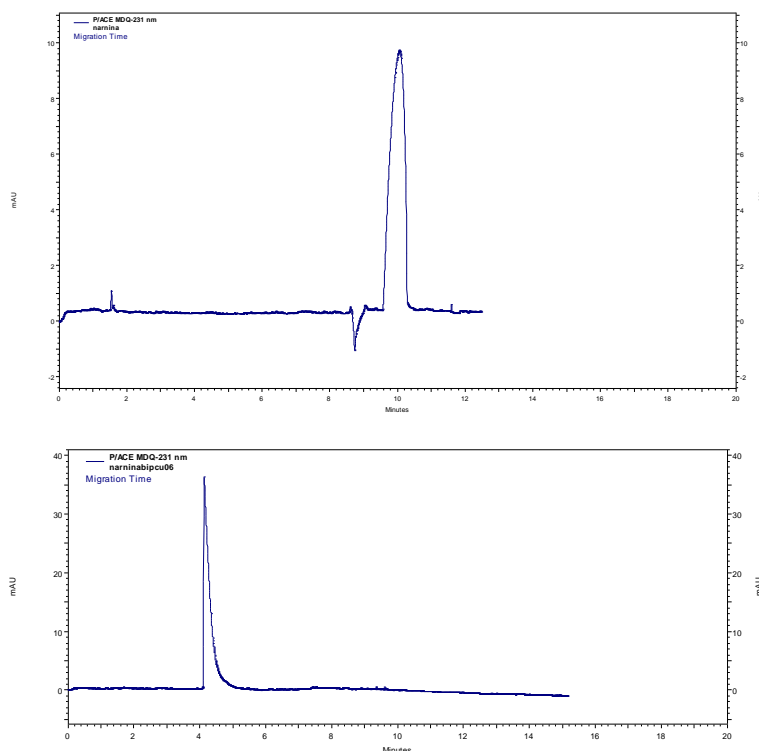
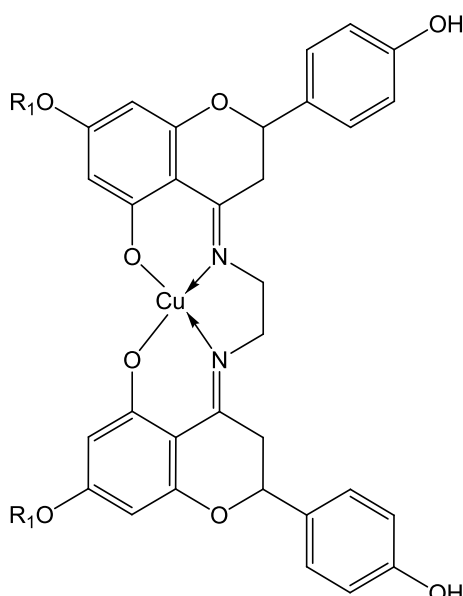


FIGURA 4.186 - Eletroferogramas do flavonóide NNNINA e de seu complexo **Cu(BIPY)(NNINA)**.

#### 4.2.2.6. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS COMPLEXOS DO TIPO **Cu(IMINOFLAV)**

A caracterização foi realizada a partir de experimentos de IV, UV-Vis, Análise Elementar (CHN) (**Tabela 4.43**), Voltametria Cíclica, dados físico-químicos (**Tabela 4.44**) e EM. Com resultados obtidos foi possível propor as estrutura indicadas na **Figura 4.187** dos complexos sintetizados.





R1= 7-ramnoglicosideo **Cu(iminoNAR)** e R1= H **Cu(iminoNNINA)**

FIGURA 4.187 - Complexos do tipo **Cu(iminoFLAV)** sintetizados.

#### 4.2.2.6.1. Cu(iminoNAR)

A proposta estrutural do composto tem fórmula molecular  $C_{56}H_{66}CuN_2O_{26}$  e sua massa de 1245,5 Da. Avaliando o espectro de massas (**Figura 4.188**) modo positivo não se observou o pico do íon molecular e sim o pico  $m/z$  992,25 o que corresponde a perda de 253,0 Da e que assim como o composto **Cu(Fen)(NAR)** foi observado esta mesma perda que corresponde a uma perda da ramnose (açúcar terminal) e um rearranjo (cross ring sugar) conforme se observa para aquela estrutura.

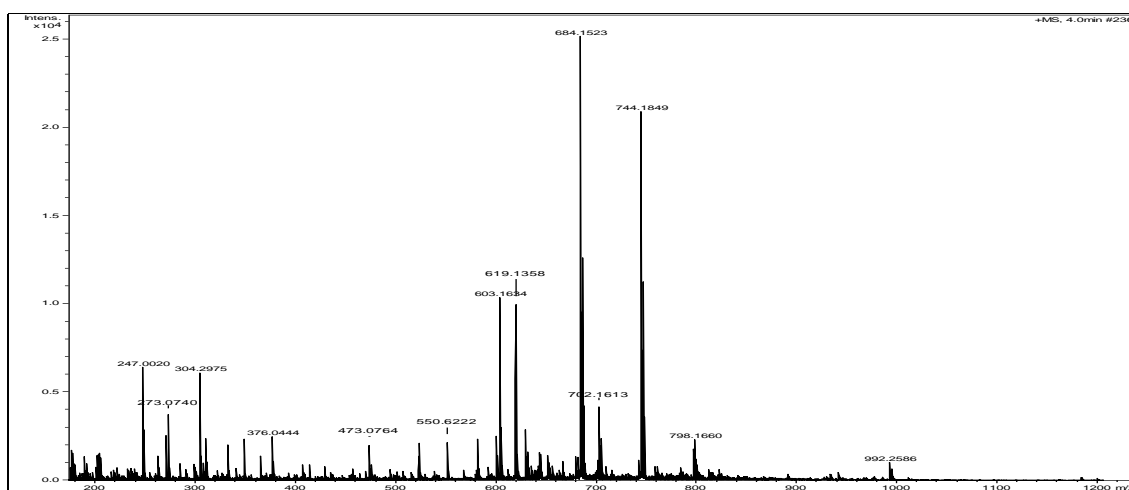


FIGURA 4.188 – Espectro de massas de alta resolução do complexo **Cu(1,2-Di-(4'-iminoNAR)-etano)** (modo positivo).

#### 4.2.2.6.2. Cu(iminoNNINA)

A proposta estrutural do composto ter fórmula molecular  $C_{32}H_{26}CuN_2O_8$  e sua massa de 629,55 Da foi avaliada através o espectro de massas (**Figura 4.189**) modo positivo foi possível encontrar o íon (M+H).

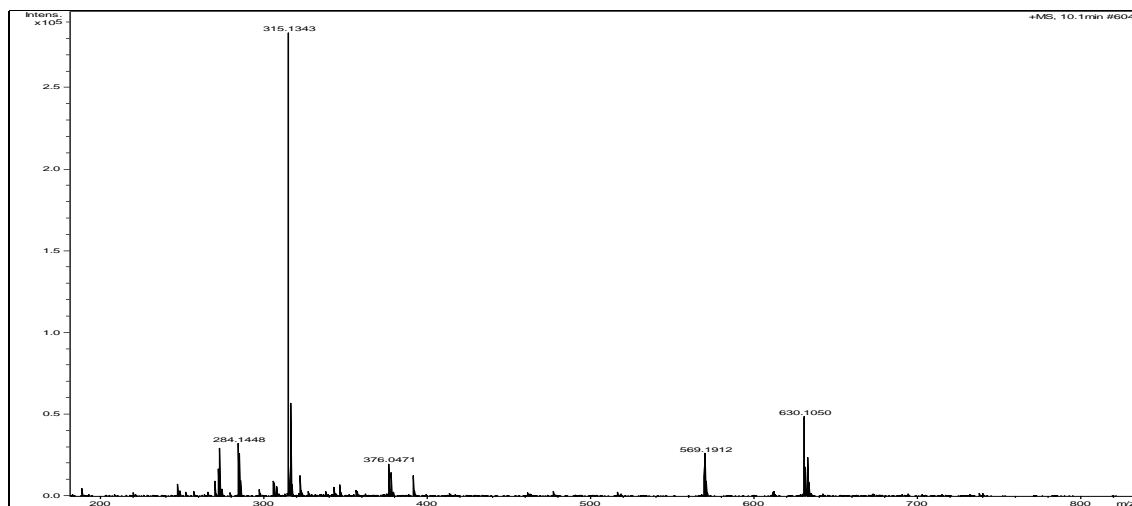


FIGURA 4.189 – Espectro de massas de alta resolução do complexo **Cu(iminoNNINA)** (modo positivo).

Na **Tabela 4.44** são apresentados características físico-químicas (cor, solubilidade e pf) dos complexos com cobre do tipo **Cu(X)(FLAV)**, a **Tabela 4.44** os dados de análise elemental dos mesmos.

TABELA 4.43 - Dados de análise elemental dos complexos do tipo **Cu(iminoFLAV)**

| Complexo   |               |       |            |       |
|--|---------------|-------|------------|-------|
| C <sub>56</sub> H <sub>66</sub> CuN <sub>2</sub> O <sub>26</sub><br>Cu(1,2-Di-(4'-iminoNAR)-<br>etano. | % C calculado | 51,05 | % C obtido | 46,15 |
|  | % H calculado | 5,05  | % H obtido | 5,02  |
|  | % N calculado | 2,13  | % N obtido | 2,69  |
|  | % O calculado | 31,57 | % O obtido | -     |
| C <sub>32</sub> H <sub>26</sub> CuN <sub>2</sub> O <sub>8</sub><br>Cu[1,2-Di-(4'-<br>iminoNINA)-etano] | % C calculado | 54,83 | % C obtido | 54,70 |
|  | % H calculado | 3,74  | % H obtido | 4,15  |
|  | % N calculado | 4,00  | % N obtido | 5,38  |
|  | % O calculado | 18,26 | % O obtido | -     |

TABELA 4.44 - Características físico-químicas dos derivados e seus complexos do tipo **Cu(iminoNNINA)**

| Composto                        | Cor           | Solubilidade | PF (°C)   |
|---------------------------------|---------------|--------------|-----------|
| 1,2-Di-(4'-iminoNNINA)-etano    | sólido marrom | Alta MeOH    | 312 ± 2,0 |
| Cu[1,2-Di-(4'-iminoNINA)-etano] | sólido marrom | Baixa MeOH   | -         |

|                                |                |            |           |
|--------------------------------|----------------|------------|-----------|
| 1,2-Di-(4'-iminoNAR)-etano     | sólido amarelo | Alta MeOH  | 315 ± 2,0 |
| Cu(1,2-Di-(4'-iminoNAR)-etano] | sólido marrom  | Baixa MeOH | -         |

#### 4.2.2.7. DISCUSSÃO DE INFRA-VERMELHO DOS COMPLEXOS DE FLAVONÓIDES

Os espectros de IV foram realizados em pastilhas de KBr com intervalo de varredura indo do 300 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  e os espectros são muito semelhantes entre os tipos de complexos formados [**Cu(FLAV)<sub>2</sub>**, **Cu(FEN)(FLAV)** e **Cu(BIPY)(FLAV)**] e estes dois últimos são ainda mais semelhantes e para evitar repetições em todas as discussões, os espectros serão discutidos em blocos e não individualmente.

Os espectros mostraram bandas de estiramentos características de flavonóides, principalmente por volta de 1645  $\text{cm}^{-1}$  característico de deformação axial no plano de carbonila (C=O) da posição 4 do anel C do flavonóide. Ao se complexar, este estiramento no complexo sofre um deslocamento em aproximadamente 30  $\text{cm}^{-1}$  e o valor observado foi por volta de 1612  $\text{cm}^{-1}$ , este valor está de acordo com a literatura e mostra que o íon metálico se complexou com a carbonila na posição 4 onde se percebe que o metal ocasiona aumento do comprimento da ligação na carbonila e conseqüentemente reduzindo o número de onda. Este talvez seja o mais importante deslocamento encontrado para justificar a formação do composto. Outro estiramento muito importante seria o de (C-O) de fenol (que também é complexado pelo metal na posição 5) que compreende a região de 1260 a 1000  $\text{cm}^{-1}$  e que se observou ligeiro deslocamento e uma redução em sua intensidade de seu complexo quando comparado a seu flavonóide livre; este ligeiro deslocamento não deve ser usado como diagnóstico de uma ligação metálica naquela posição, pois devido existir outras hidroxilas fenólicas no composto pode ocasionar erros. Outros estiramentos principais para flavonóides foram observados, mas eles não dizem muito a respeito sobre a formação do complexo, talvez o estiramento de CH<sub>2</sub> (posição 3 no anel C dos flavonóides) onde há um dobramento por volta de 1392  $\text{cm}^{-1}$ , foi observado uma redução (pequena) no número de onda para aproximadamente 1367  $\text{cm}^{-1}$ , o que poderia indicar alguma interação na vizinhança, neste caso a presença do metal. Os outros estiramentos como o de (C=C) aromático na região de aproximadamente 1475  $\text{cm}^{-1}$  não se observa mudança quando comparado o flavonóide livre e seu complexo. Para os flavonóides NAR e NNINA onde o anel B é *para*-substituído e existem duas bandas que mostram o

padrão de substituição de anéis aromáticos: uma banda muito pouco intensa em aproximadamente  $1800\text{ cm}^{-1}$  e uma banda de média intensidade de dobramento fora do plano em aproximadamente  $800\text{ cm}^{-1}$  o que foi observada o mesmo valor para os complexos, talvez esta banda poderia ser útil para flavanonas e não flavonas, pois por conjugação esta banda de deformação “sentiria” a modificação causada pelo metal na carbonila. Uma mesma situação poderia ser observada para HESP e HPT que apresentam metoxila no anel B e estes éteres fenilalquílicos geram duas bandas fortes em  $1263$  e  $1093\text{ cm}^{-1}$  causadas por estiramentos (C-O).

Para os complexos do tipo **Cu(X)(FLAV)**, além das bandas discutidas anteriormente também novas bandas que foram ocasionadas pelos anéis dos ligantes ancilares (Bipiridina e Fenantrolina) existem. A banda por volta de  $777\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento de (C=N) e foram observadas bandas de estiramento metal-oxigênio e metal-nitrogênio, bandas fracas em  $432\text{ cm}^{-1}$  (Cu-O) e  $310\text{ cm}^{-1}$  (Cu-N). Para os complexos do tipo **Cu(iminoFLAV)** apresentaram bandas vibracionais, principalmente de OH que são bandas largas de difícil conclusão e (C=N) (posição 4'); para o ligante livre a deformação axial no plano de (C=N) aparece em  $1550\text{ cm}^{-1}$  enquanto que para o complexo este valor aparece em  $1548\text{ cm}^{-1}$  onde se observa pouco deslocamento; a presença do metal que por eletronegatividade atrai os elétrons do nitrogênio, causando um pequeno aumento no comprimento da ligação (C=N) diminuindo, portanto, este deslocamento. O estiramento de C-O fenólico apareceu para o ligante livre em aproximadamente  $1164\text{ cm}^{-1}$  e para o complexo este valor foi para  $1168\text{ cm}^{-1}$  também um valor baixo de deslocamento. Os espectros também permitem indicar a ligação coordenada do metal Cu com o átomo de nitrogênio. Este sinal aparece fraco em  $484\text{ cm}^{-1}$  e significa deformação axial de (Cu-N) e o sinal em  $594\text{ cm}^{-1}$  mostra a ligação do metal com oxigênio (Cu-O).

As **Figuras 4.190 a 4.193** do **Apêndice II** mostram os espectros dos flavonóides livres e as **Figuras 4.194 a 4.203** do **Apêndice II** mostram as ampliações para os complexos e a **Tabela 4.45 a 4.47** mostra os principais valores encontrados dos flavonóides e seus complexos metálicos.

TABELA 4.45 - Principais valores de IV encontrados ( $\text{cm}^{-1}$ ) para os compostos do tipo **Cu(FLAV)<sub>2</sub>**

|  | v (C=O) | v (C-O) <sub>fenol</sub> | v (C-H) |
|--|---------|--------------------------|---------|
|--|---------|--------------------------|---------|

|                           |      |      |      |
|---------------------------|------|------|------|
| NAR                       | 1645 | 1178 | 1392 |
| [Cu(NAR) <sub>2</sub> ]   | 1612 | 1174 | 1367 |
| NNINA                     | 1629 | 1249 | 1396 |
| [Cu(NNINA) <sub>2</sub> ] | 1614 | 1228 | 1376 |
| HESP                      | 1647 | 1205 | 1361 |
| [Cu(HESP) <sub>2</sub> ]  | 1612 | 1176 | 1278 |
| HPT                       | 1637 | 1172 | 1307 |
| [Cu(HPT) <sub>2</sub> ]   | 1614 | 1164 | 1278 |

TABELA 4.46 - Principais valores de IV encontrados (cm<sup>-1</sup>) para os compostos do tipo **Cu(X)(FLAV)**

|                   | v (C=O) | v (C=N) | (Cu-O) | (Cu-N) |
|-------------------|---------|---------|--------|--------|
| [Cu(BIPY)(NAR)]   | 1640    | 838     | no     | no     |
| [Cu(BIPY)(NNINA)] | 1602    | 777     | 418    | 304    |
| [Cu(FEN)(HESP)]   | 1610    | 721     | 432    | 310    |
| [Cu(BIPY)(HPT)]   | 1602    | 777     | 418    | 304    |

TABELA 4.47 - Principais valores de IV encontrados (cm<sup>-1</sup>) para os compostos do tipo **Cu(iminoFLAV)**

|                                 | (C=N) | (C-O) <sub>fen</sub> | (Cu-O) | (Cu-N) |
|---------------------------------|-------|----------------------|--------|--------|
| 1,2-Di(4-iminoNAR)etano         | 1550  | 1174                 | -      | -      |
| [Cu(1,2-Di(4-iminoNAR)etano)]   | 1548  | 1160                 | no     | no     |
| 1,2-Di(4-iminoNNINA)etano       | 1596  | 1164                 | -      | -      |
| [Cu(1,2-Di(4-iminoNNINA)etano)] | 1589  | 1168                 | 598    | 486    |

#### 4.2.2.8. DISCUSSÃO DE UV-VIS DOS COMPLEXOS DE FLAVONÓIDES

A maioria dos flavonóides tem em comum um esqueleto fenil-benzopirano (**Figura 4.204**) e diferem entre si por grupos substituintes como metoxilas e hidroxilas e a presença ou não de dupla ligação entre os carbonos 2 e 3. As suas estruturas justificam as suas notáveis atividades antioxidantes devido ao seqüestro de radicais livres e metais. Elas podem neste último caso funcionar como agentes quelantes (MELLO, *et al.*, 2007).

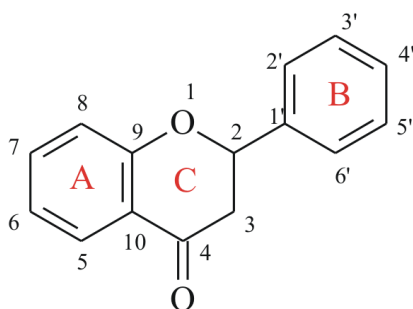


FIGURA 4.204 - Estrutura básica de flavonóides.

A absorção espectrofotométrica no UV é usada como auxiliar na identificação do tipo de flavonóide, indicando o padrão de oxigenação, a quelação e a complexação com metais. Em adição, o modo de substituição no núcleo flavonoidico por grupos hidroxifenólico não funcionalizados pode ser obtido por adição de reagentes que provoquem deslocamentos das bandas de absorção no UV (deslocamentos batocrômico ou hipsocrômico). O espectro basicamente consiste em duas absorções nas faixas entre 240-285 nm (banda II) e 300-500 nm (banda I) que correspondem às absorções do anel B e do anel A, respectivamente (**Tabela 4.48**).

TABELA 4.48 - Faixa de absorção no UV-Vis para flavonóides

| Banda II (nm)               | Banda I (nm) | Tipo de flavonóide                           |
|-----------------------------|--------------|--|
| 250-280                     | 310-350      | Flavona                                      |
| 250-280                     | 330-360      | Flavonol (3-OH substituído)                  |
| 250-280                     | 350-385      | Flavonol (3-OH livre)                        |
| 245-275                     | 310-330      | Isoflavonas                                  |
|                             | 320          | Isoflavonas (5-deoxi-6,7-dihidro adicionado) |
| 275-295                     | 300-330      | Flavanonas e Dihidroflavonóis                |
| 230-270 (baixa intensidade) | 340-390      | Chalconas                                    |
| 230-270 (baixa intensidade) | 380-430      | Auronas                                      |
| 270-280                     | 465-560      | Antocianidinas e antocianinas                |

De acordo com SILVERSTEIN *et al.*, 1986; as regras de aditividades podem ser úteis para a análise de espectros de UV de flavonóides. As regras são aplicadas tendo como cromóforo principal a cimanoila (**Figura 4.205**) cujo valor básico é de 246, e seguindo os valores da **Tabela 4.49**, se adiciona os valores para os substituintes.

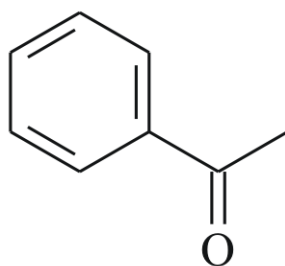


FIGURA 4.205 -Cromóforo principal cinamoil de flavonóide  $\lambda^{\text{EtOH}}_{\text{max}}$  246 nm.

TABELA 4.49 - Dados para cálculo da banda principal (transição  $\pi \rightarrow \pi^*$ ) de derivados de benzeno Ar—COG (em EtOH)

|   |                                  |
|---|----------------------------------|
| <b>Cromóforo principal: Ar =C<sub>6</sub>H<sub>6</sub><br/>G= alquila ou resíduo de anel (por exemplo, ArCOR)</b> | 246                              |
| Incremento por substituinte em Ar:  |                                  |
| Alquila ou resíduo de anel  | <i>o, m +3<br/>p +10</i>         |
| OH, OCH <sub>3</sub> , Oalq   | <i>o, m +7<br/>p +25</i>         |
| O <sup>-</sup> (oxiânion)   | <i>o +11<br/>m +20<br/>p +78</i> |
| Cl  | <i>o, m +0<br/>p +10</i>         |
| Br  | <i>o, m +2<br/>p +15</i>         |
| NH <sub>2</sub>   | <i>o, m +13<br/>p +58</i>        |
| NHCOCH <sub>3</sub>   | <i>o, m +20<br/>p +45</i>        |
| NHCH <sub>3</sub>   | <i>p + 73</i>                    |
| N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>  | <i>o, m +20<br/>p +85</i>        |

A análise dos espectros de absorção no ultravioleta dos compostos e seus respectivos complexos (**Figuras 4.206 a 4.217 do Apêndice II**) e a **Tabela 4.50** mostra os valores encontrados para os complexos, com varredura na faixa de  $\lambda$  200-400 nm. Os dados obtidos forneceram considerações importantes sobre a ligação do cobre no anel flavônico particularmente pela análise da banda I. A análise do espectro no UV em metanol permitiu observar dois máximos de absorção em  $\lambda$  máx acima 225 e acima 270 nm que caracterizam a banda II (absorção do anel A, sistema benzoil) e a banda I (anel B, sistema cinamoil), respectivamente, sendo

compatível com um flavanona. Ao se comparar o flavonóide livre com o complexo flavonóide-metal é possível observar um deslocamento batocrômico na banda II (absorção do anel A, sistema benzoil) acima de 300 nm o que indica a ligação do íon metálico nesta região, este deslocamento não ocorreu no anel B, indicando não ter ocorrido ligação metálica neste anel. A **Figura 4.218** apresenta o espectro para o flavonóide **NAR** e seu complexo **Cu(NAR)<sub>2</sub>**.

TABELA 4.50 – Valores de UV-Vis encontrados para os flavonóides e seus complexos.

| Composto                          | $\lambda$ (nm) |
|-----------------------------------|----------------|
| NAR                               | 230; 270       |
| NNINA                             | 226; 289       |
| HESP                              | 216; 288       |
| HPT                               | 213; 291       |
| Cu(NAR) <sub>2</sub>              | 230; 298       |
| Cu(NNINA) <sub>2</sub>            | 224; 304       |
| Cu(HESP) <sub>2</sub>             | 214; 294       |
| Cu(HPT) <sub>2</sub>              | 214; 300       |
| Cu(BIPY)(NAR)                     | 203; 300       |
| Cu(FEN)(NAR)                      | 224; 271       |
| Cu(BIPY)(NNINA)                   | 205; 300       |
| Cu(FEN)(NNINA)                    | 224; 271       |
| Cu(FEN)(HESP)                     | 204; 272       |
| Cu(BIPY)(HPT)                     | 204; 300       |
| Cu(FEN)(HPT)                      | 206; 270       |
| [Cu(1,2-Di(4'-iminoNAR)etano)].   | 301; 356       |
| [Cu(1,2-Di(4'-iminoNNINA)etano)]. | 226; 314       |

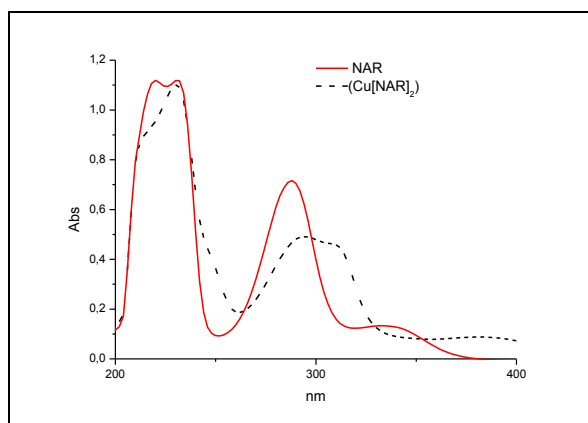


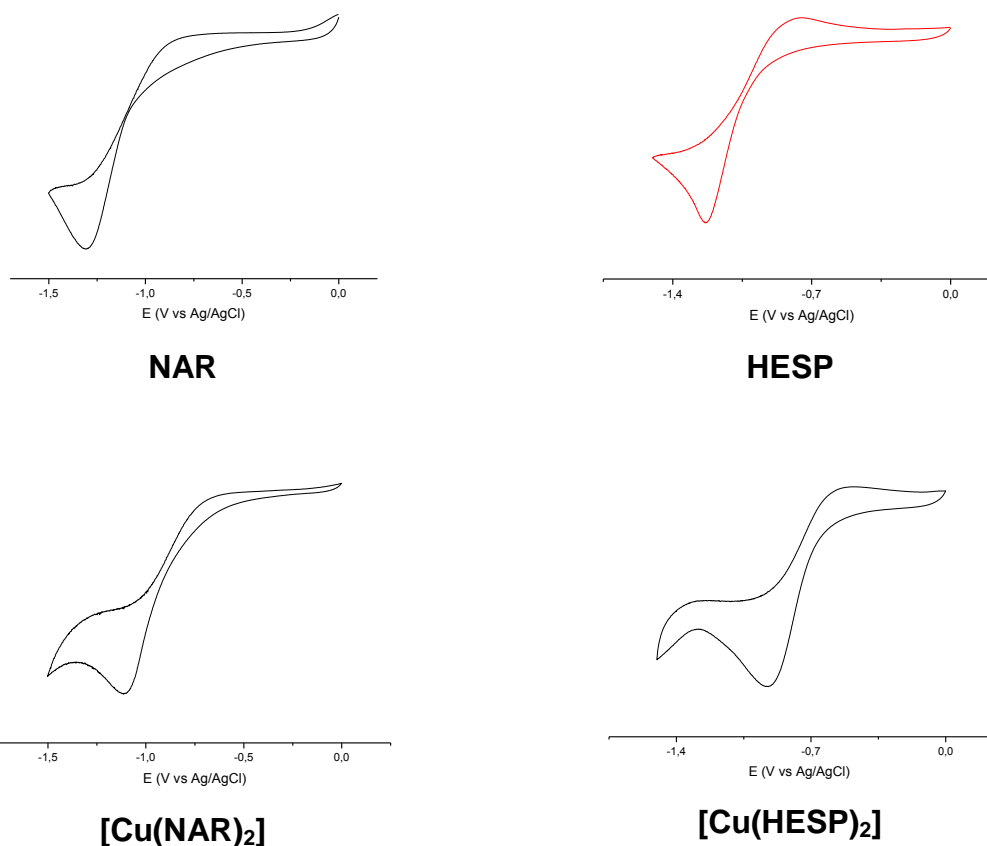
FIGURA 4.218 - Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{400}$ ) para o flavonóide **NAR** e seu complexo **Cu(NAR)<sub>2</sub>**.



#### 4.2.2.9. DISCUSSÃO DE VOLTAMETRIA CÍCLICA DOS COMPLEXOS DE FLAVONÓIDES

Todas as análises dos compostos foram realizadas em solução de DMF a uma concentração de  $10^{-3}$  M, com a velocidade de varredura de 100 mV/s e o eletrólito usado foi o  $\text{Bu}_4\text{NClO}_4$  (0.05 M). A **Figura 4.219** apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos para o flavonóide HESP e NAR e para os complexos do tipo  $\text{Cu}(\text{FLAV})_2$ , e a **Figura 4.220** apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos para os complexos com ligantes ancilares do tipo  $\text{Cu}(\text{BIPY})(\text{FLAV})$ .

Para todos os compostos observa-se a primeira varredura oxidativa com dois picos de oxidação, um devido a hidroxila da posição 3' do anel B e o outro correspondente à oxidação da hidroxila da posição 5 do anel A. De acordo com ZHOU, *et al.*, 2001 para complexos de cobre com flavonóides são observados estes dois picos de oxidação mas somente um de redução, o que mostra uma oxidação irreversível, provavelmente pela decomposição do complexo.



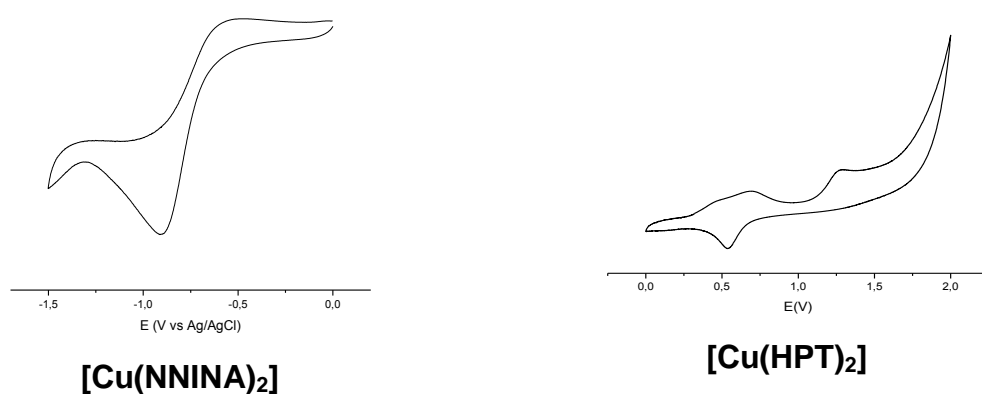


FIGURA 4.219 - Espectros de voltamogramas cíclicos para os flavonóides **NAR**, **HESP** e complexos do tipo **Cu(FLAV)<sub>2</sub>**.

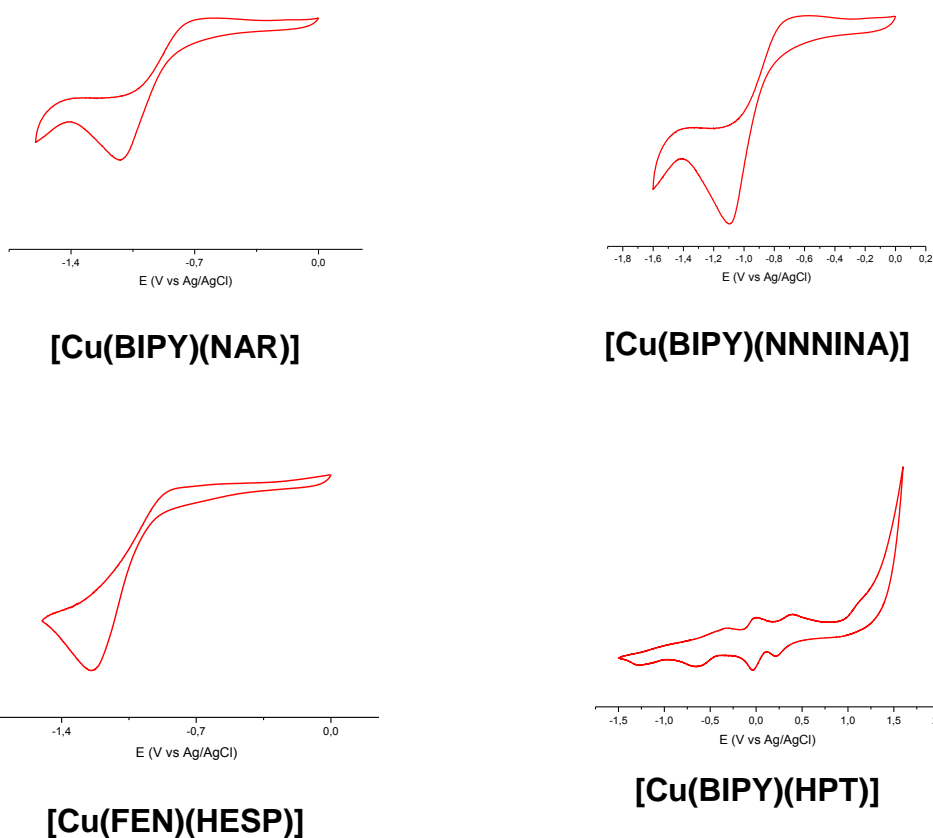
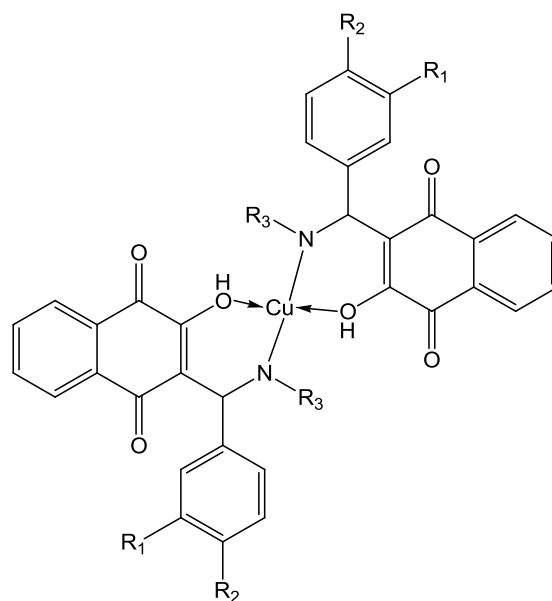


FIGURA 4.220 - Espectros de voltamogramas cíclicos para os complexos do tipo **Cu(BIPY)(FLAV)**.

#### 4.2.2.10. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS COMPLEXOS DO TIPO **Cu(L)<sub>2</sub>**

A caracterização foi realizada a partir de experimentos de IV, UV-Vis, EM (Tabela 4.51), Análise Elemental (CHN) (Tabela 4.52) e com os dados dos mesmos foi possível propor as estrutura indicadas na Figura 4.221.



$R_1=H$ ;  $R_2=F$ ;  $R_3=Bu$ ; **Cu(L1)<sub>2</sub>**

$R_1=H$ ;  $R_2=F$ ;  $R_3=Oc$ ; **Cu(L2)<sub>2</sub>**

$R_1=R_2=H$ ;  $R_3=Bu$ ; **Cu(L3)<sub>2</sub>**

$R_1=R_2=H$ ;  $R_3=Oc$ ; **Cu(L4)<sub>2</sub>**

$R_1=R_2=OCH_2O$ ;  $R_3=Bu$ ; **Cu(L5)<sub>2</sub>**

$R_1=R_2=OCH_2O$ ;  $R_3=Oc$ ; **Cu(L6)<sub>2</sub>**

$R_1=H$ ;  $R_2=Cl$ ;  $R_3=Bu$ ; **Cu(L7)<sub>2</sub>**

$R_1=H$ ;  $R_2=Cl$ ;  $R_3=Oc$ ; **Cu(L8)<sub>2</sub>**

Figura 4.221 – Estruturas dos complexos do tipo **Cu(Ln)<sub>2</sub>**.

O composto **Cu(L1)<sub>2</sub>** apresenta fórmula molecular  $C_{42}H_{38}CuF_2N_2O_6$  cuja massa é 767 DA, e o espectro de massas (**Figura 4.222**) no modo positivo mostrou os seguintes picos:  $m/z$  768,2 (M+H) correspondendo ao pico do íon molecular, além dos picos  $m/z$  707,2 (M-61),  $m/z$  461,0 e  $m/z$  561,9. Proposta de fragmentação destes dois picos estão na **Figura 4.223** e ambos estão envolvidos na perda de CO neutro seguido de rearranjos e perda de todo ou parte do anel naftoquinônico.

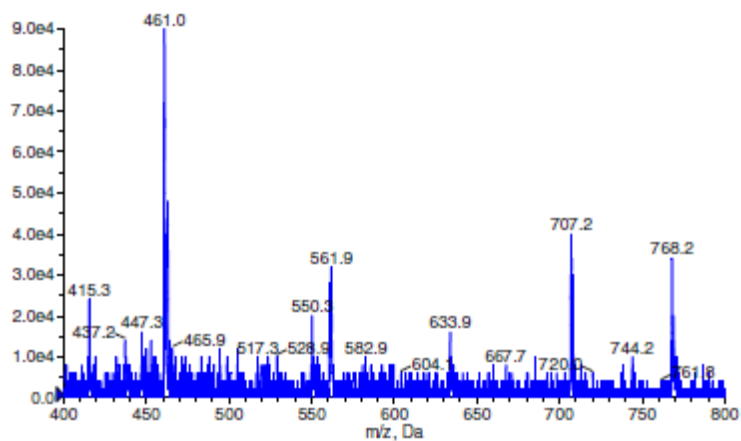


FIGURA 4.222 - Espectro de massas do complexo **Cu(L1)<sub>2</sub>** (modo positivo).

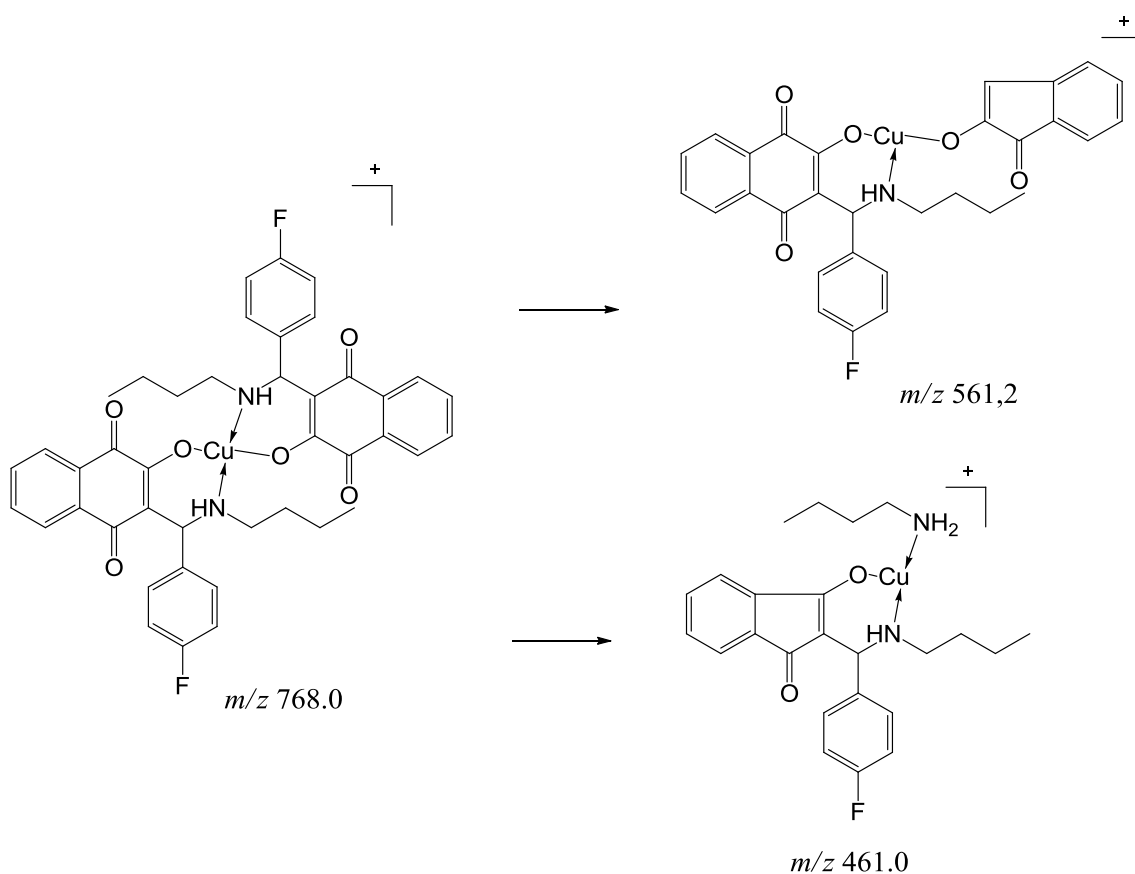


Figura 4.223 - Proposta de formação dos íons para o composto **Cu(L1)<sub>2</sub>**.

Os demais compostos **Cu(L2)<sub>2</sub>** a **Cu(L8)<sub>2</sub>** tiveram seus espectros de massas registrados (**Figuras 4.224 a 4.230, Apêndice II**) e a **Tabela 4.51** apresenta os principais íons detectados para estes complexos.

TABELA 4.51 - Principais íons observados nos EM de **Cu(L2)<sub>2</sub>** a **Cu(L8)<sub>2</sub>**

| Complexo  |                          |                            |
|---|--------------------------|----------------------------|
|   | M+H                      | Íons fragmentários (m/z)   |
| $C_{42}H_{38}CuF_2N_2O_6$<br><b>[Cu(L1)<sub>2</sub>]</b>  | 768,2                    | 707,2 (M-61); 461,0; 561,9 |
| $C_{50}H_{54}CuF_2N_2O_6$<br><b>[Cu(L2)<sub>2</sub>]</b>  | 880,2                    | 819,4 (M-61); 690,0        |
| $C_{42}H_{40}CuN_2O_6$<br><b>[Cu(L3)<sub>2</sub>]</b>     | 732,2                    | 671,22 (M-61)              |
| $C_{50}H_{56}CuN_2O_6$<br><b>[Cu(L4)<sub>2</sub>]</b>     | 844,5                    | 783,1 (M-61)               |
| $C_{42}H_{40}CuN_2O_6$<br><b>[Cu(L5)<sub>2</sub>]</b>     | -                        | 759,2 (M-61)               |
| $C_{50}H_{56}CuN_2O_6$<br><b>[Cu(L6)<sub>2</sub>]</b>     | 932,5 (M <sup>+</sup> )  | 871,31 (M-61)              |
| $C_{42}H_{38}Cl_2CuN_2O_6$<br><b>[Cu(L7)<sub>2</sub>]</b> | 799,9 (M <sup>+</sup> ). | 739,0; 729,0; 668,0        |
| $C_{50}H_{54}Cl_2CuN_2O_6$<br><b>[Cu(L8)<sub>2</sub>]</b> | 912,1                    | 851,1 (M-61)               |

A Tabela 4.52 apresenta os dados de análise elementar dos compostos do tipo **Cu(L)<sub>2</sub>**.

TABELA 4.52 - Dados de análise elementar dos compostos do tipo **[Cu(L)<sub>2</sub>]**

| Complexo  |               |       |            |       |
|---|---------------|-------|------------|-------|
| $C_{42}H_{38}CuF_2N_2O_6$<br><b>[Cu(L1)<sub>2</sub>]</b>  | % C calculado | 62,76 | % C obtido | 62,97 |
|   | % H calculado | 3,49  | % H obtido | 3,37  |
|   | % N calculado | 4,77  | % N obtido | 5,24  |
|   | % O calculado | 11,94 | % O obtido | -     |
| $C_{50}H_{54}CuF_2N_2O_6$<br><b>[Cu(L2)<sub>2</sub>].</b> | % C calculado | 65,56 | % C obtido | 65,98 |
|   | % H calculado | 5,94  | % H obtido | 5,03  |
|   | % N calculado | 3,06  | % N obtido | 3,45  |
|   | % O calculado | 10,48 | % O obtido | -     |
| $C_{42}H_{40}CuN_2O_6$<br><b>[Cu(L3)<sub>2</sub>]</b>     | % C calculado | 68,88 | % C obtido | 68,11 |
|   | % H calculado | 5,51  | % H obtido | 5,33  |
|   | % N calculado | 3,83  | % N obtido | 3,73  |

|   |               |       |            |       |
|---|---------------|-------|------------|-------|
|   | % O calculado | -     | % O obtido | -     |
| $C_{50}H_{56}CuN_2O_6$<br><b>[Cu(L4)<sub>2</sub>]</b>               | % C calculado | 71,11 | % C obtido | 71,32 |
|   | % H calculado | 6,68  | % H obtido | 6,80  |
|   | % N calculado | 3,32  | % N obtido | 3,42  |
|   | % O calculado | 11,37 | % O obtido | -     |
| $C_{42}H_{40}CuN_2O_6$<br><b>[Cu(L5)<sub>2</sub>]</b>               | % C calculado | 64,42 | % C obtido | 64,46 |
|   | % H calculado | 4,91  | % H obtido | 4,91  |
|   | % N calculado | 3,41  | % N obtido | 3,38  |
|   | % O calculado | 19,50 | % O obtido | -     |
| $C_{50}H_{56}CuN_2O_6$<br><b>[Cu(L6)<sub>2</sub>]</b>               | % C calculado | 58,07 | % C obtido | 59,06 |
|   | % H calculado | 6,00  | % H obtido | 5,91  |
|   | % N calculado | 2,60  | % N obtido | 2,65  |
|   | % O calculado | 20,83 | % O obtido | -     |
| $C_{42}H_{38}Cl_2CuN_2O_6$<br><b>[Cu(L7)<sub>2</sub>]</b>           | % C calculado | 57,80 | % C obtido | 51,06 |
|   | % H calculado | 4,85  | % H obtido | 4,12  |
|   | % N calculado | 3,21  | % N obtido | 3,20  |
|   | % O calculado | 14,67 | % O obtido | -     |
| $C_{50}H_{54}Cl_2CuN_2O$<br><b>[Cu(L8)<sub>2</sub>]<sub>6</sub></b> | % C calculado | 60,00 | % C obtido | 59,82 |
|   | % H calculado | 5,94  | % H obtido | 5,68  |
|   | % N calculado | 2,84  | % N obtido | 3,29  |
|   | % O calculado | 13,00 | % O obtido | -     |

Alguns compostos apresentam certo grau de hidratação o que acarreta porcentagens diferentes quando comparados com os calculados.

#### 4.2.2.11. DISCUSSÃO DE INFRA-VERMELHO DOS COMPLEXOS DO TIPO $Cu(L)_2$

Assim como ocorreu com os complexos derivados de flavonóides, para estes compostos muitos sinais apresentam os mesmos comportamentos, então se optou para fazer uma discussão única abrangendo todos os derivados.

O espectro de IV foi obtido em pastilhas de KBr, o intervalo de varredura foi de 300-4000  $cm^{-1}$  e apresentou estiramento em aproximadamente 3460  $cm^{-1}$  correspondente a hidroxila ( $\nu$  O-H) e este sinal não existe para os complexos,

isso é um indicativo que o oxigênio está desprotonado quando se ligou ao metal cobre. As bandas de estiramento da cadeia, tanto da octilamina, quanto da butilamina apareceram entre 2950 a 2850  $\text{cm}^{-1}$  correspondendo a estiramentos de (C-H  $\text{sp}^3$ ) e estas bandas não sofreram qualquer deslocamento quando comparado ao complexo metálico. As carbonilas da posição 1 e 4 dos ligantes apareceram em uma única banda em 1670  $\text{cm}^{-1}$  (C=O) e houve um pequeno deslocamento para 1679  $\text{cm}^{-1}$  para os complexos metálicos; duas bandas de estiramento da dupla ligação da posição 2 e 3 apareceram em 1622  $\text{cm}^{-1}$  e 1591  $\text{cm}^{-1}$  (C=C) duas bandas, pois estas duplas ligações estão se conjugando com as carbonilas, estas bandas sofreram um deslocamento quando comparados aos seus complexos metálicos indo para 1610  $\text{cm}^{-1}$  e 1589  $\text{cm}^{-1}$ , provavelmente devido a efeito do metal. A amina secundária da posição 12 apresenta um dobramento em 1552  $\text{cm}^{-1}$  (N-H) e quando comparado ao seu complexo este valor sofre um deslocamento indo para 1537  $\text{cm}^{-1}$ , aqui se observa que o nitrogênio que participa da complexação está com seu próton; a banda de absorção em 1373  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a estiramento de (C-N). A banda em 1276  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a ligação da hidroxila (C-O) e ao se complexar este valor é deslocado para 1265  $\text{cm}^{-1}$ . Para os outros grupos as bandas de absorção em 1099  $\text{cm}^{-1}$  e 1065  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a estiramento de flúor ligado a anel aromático (=C-F) (bandas observadas para os compostos **L1**, **L2** e seus complexos). A banda de absorção em 1095  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a estiramento de cloro ligado a anel aromático (=C-Cl), banda observada para os compostos **L7**, **L8** e seus complexos e por fim a banda observada em 1037  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a estiramento (C-O) de éter e representa o anel metilenodióxi nos compostos **L5**, **L6** e seus complexos, estas bandas “específicas” não sofreram deslocamentos quando complexadas. Duas bandas muito importantes foram observadas em 416  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a estiramento de (Cu-N) e outra em 378  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a estiramento de (Cu-O) indicam a presença do metal para os compostos complexados.

A **Tabela 4.53** mostra as principais bandas de absorção em IV para os ligantes e seus respectivos complexos e as **Figuras 4.231 a 4.246** do **Apêndice II** mostram os espectros de IV.

TABELA 4.53 - Principais valores de IV encontrados ( $\text{cm}^{-1}$ ) para os compostos do tipo  $\text{Cu(L)}_2$ 

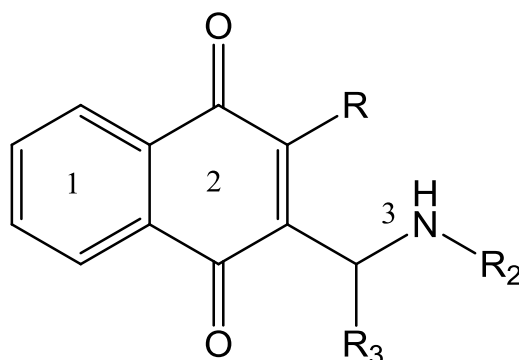
|                           | (O-H) | (C-H)     | (C=O) | (C=C)     | (N-H) | (C-O) | (C-N) | (=C-F)    | (=C-Cl) | (=C-O-C-) | (Cu-N) | (Cu-O) |
|---------------------------|-------|-----------|-------|-----------|-------|-------|-------|-----------|---------|-----------|--------|--------|
| <b>L1</b>                 | 3438  | 2958/2867 | 1672  | 1622/1591 | 1544  | 1276  | 1374  | 1049/1016 | -       | -         | -      | -      |
| <b>Cu(L1)<sub>2</sub></b> | -     | 2958/2871 | 1681  | 1589      | 1519  | 1269  | 1373  | No        | -       | -         | 574    | 379    |
| <b>L2</b>                 | 3458  | 2954/2852 | 1672  | 1614/1591 | 1541  | 1274  | 1367  | 1099/1066 | -       | -         | -      | -      |
| <b>Cu(L2)<sub>2</sub></b> | -     | 2954/2852 | 1674  | 1591      | 1525  | 1263  | 1365  | 1099/1066 | -       | -         | 437    | 378    |
| <b>L3</b>                 | 3460  | 2956/2871 | 1674  | 1622/1589 | 1541  | 1276  | 1377  | -         | -       | -         | -      | -      |
| <b>Cu(L3)<sub>2</sub></b> | -     | 2960/2884 | 1679  | 1589      | 1506  | 1272  | 1371  | -         | -       | -         | 570    | 430    |
| <b>L4</b>                 | 3461  | 2952/2852 | 1670  | 1622/1591 | 1552  | 1276  | 1373  | -         | -       | -         | -      | -      |
| <b>Cu(L4)<sub>2</sub></b> | -     | 2956/2854 | 1679  | 1589      | 1537  | 1373  | 1375  | -         | -       | -         | 567    | 432    |
| <b>L5</b>                 | 3525  | 2964/2875 | 1676  | 1618/1591 | 1542  | 1377  | 1387  | -         | -       | 1037      | -      | -      |
| <b>Cu(L5)<sub>2</sub></b> | -     | 2960/2873 | 1678  | 1591      | 1537  | 1373  | 1289  | -         | -       | 1035      | 428    | 378    |
| <b>L6</b>                 | 3446  | 2952/2854 | 1674  | 1622/1591 | 1548  | 1382  | 1276  | -         | -       | 1037      | -      | -      |
| <b>Cu(L6)<sub>2</sub></b> | -     | 2954/2854 | 1681  | 1589      | 1500  | 1377  | 1278  | -         | -       | 1041      | 424    | 376    |
| <b>L7</b>                 | 3446  | 2958/2932 | 1670  | 1522      | 1548  | 1391  | 1274  | -         | 1093    | -         | -      | -      |
| <b>Cu(L7)<sub>2</sub></b> | -     | 2960/2933 | 1679  | 1581      | 1519  | 1376  | 1274  | -         | 1095    | -         | 416    | 378    |
| <b>L8</b>                 | 3458  | 2952/2854 | 1676  | 1622/1591 | 1548  | 1373  | 1276  | -         | 1012    | -         | -      | -      |
| <b>Cu(L8)<sub>2</sub></b> | -     | 2956/2852 | 1672  | 1614      | 1525  | 1365  | 1274  | -         | 1014    | -         | 435    | 378    |



#### 4.2.2.12. DISCUSSÃO DE UV-VIS DOS COMPLEXOS DO TIPO $\text{Cu(L)}_2$

Para os compostos foram observadas 4 bandas de absorção no UV-Vis, uma ao redor de 203-211 e de acordo com LEYVA, *et al.*, 2011 esta banda corresponde a transições eletrônicas associadas do benzeno condensado a anel quinônico e corresponde a  $\pi-\pi^*$  e outra banda ao redor de 265-273 correspondem as transições  $\pi-\pi^*$  da porção quinônica e outra de menor energia ao redor de 310-330 nm correspondendo a transições  $\eta-\pi^*$ . Um banda na região do visível entre 438-480 corresponde a presença de grupamento amina em anel naftoquinônico e de acordo com NEVES, *et al.*, 2010 esta transição está envolvida na transferência de energia referente as transições  $\eta-\pi^*$  da carbonila, neste caso a carbonila da posição 4. Ao se complexar observa-se um ligeiro deslocamento hipsocrômico desta banda provavelmente pela doação de elétrons para o íon metálico (NEVES, *et al.*, 2009). As principais bandas observadas estão representadas na **Figura 4.247**.

A **Figura 4.248** mostra o espectro de absorção no UV para o ligantes (**L1**) e seu complexo  $[\text{Cu(L1)}_2]$ .



- (1) Transição a  $\pi-\pi^*$  benzeno condensado a uma quinona;
- (2) Duas transições  $\pi-\pi^*$  e  $\eta-\pi^*$  (ombro) anel quinônico;
- (3) Uma transição  $\eta-\pi^*$  referente a grupamento amínico  $\beta$  carbonila de quinona.

Figura 4.247 – Principais transições de UV-Vis observadas para as naftoquinonas

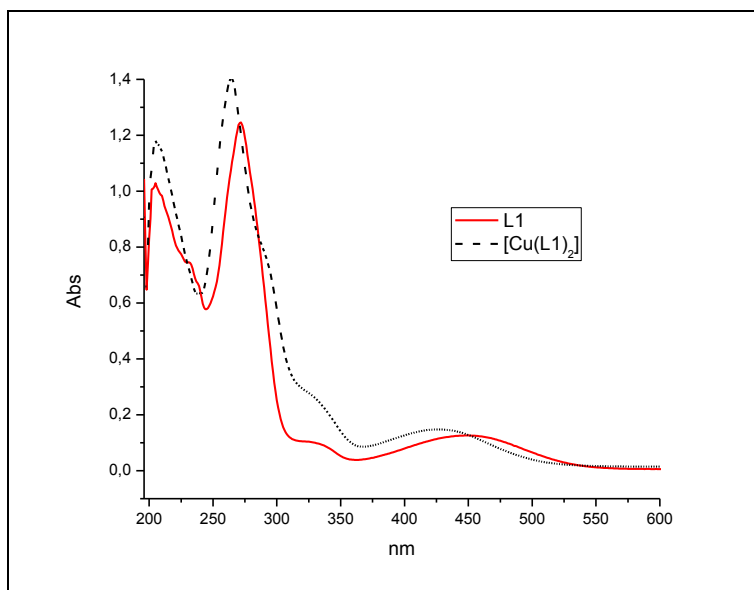


FIGURA 4.248 - Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}$ ) para o ligante **L1** e seu complexo **Cu(L1)<sub>2</sub>**.

Os espectros das demais substâncias estão nas **Figuras 4.249 a 4.255** do **Apêndice II**.

### 4.2.3. ATIVIDADES BIOLÓGICAS

#### 4.2.3.1. ENSAIO DE TOXICIDADE POR INGESTÃO COM *Atta sexdens rubropilosa*

##### 4.2.3.1.1. EXTRATOS, FRAÇÕES E SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *M. urundeuva*

As **Figuras 4.256 a 4.264** e as **Tabelas 4.54 a 4.62** mostram os resultados dos ensaios realizados com os extratos e frações das folhas e também de algumas substâncias isoladas, nos gráficos (o eixo X representa os dias e o eixo y representa a % de sobrevivência). Na análise dos resultados dos ensaios de toxicidades para operárias devem ser considerados basicamente três variantes, a primeira delas é a mortalidade a partir do terceiro dia, pois é o período em que a isca (contendo a substância) possa ser carregada e espalhada para o formigueiro todo; a segunda variante é o dia em que foram mortas 50% das operárias, o chamado  $S_{50}$ , quanto menor esse dia (maior que 3) melhor é o inseticida, pois deve-se analisar que

passados 3 dias, a isca se espalhou para o formigueiro todo e após esse dia conseguiu matar 50% da população de formigas; e a última variável é a quantidade de formigas mortas no final do experimento.

Pelas análise da **Figura 4.256** e **Tabela 4.54** observa-se que as partições do extrato etanólico das folhas apresentaram atividade inseticida, todas tiveram um  $S_{50}$  já no terceiro dia, isso é, que foram mortas metade das operárias submetidas ao tratamento. Ao final do experimento se observou que a partição FAH ocasionou mortalidade de 82% e as demais (FAD, FAA e FAM) apresentaram mortalidade de maior de 95% ao final do experimento.

A partição FAA foi fracionada e foram testadas as seguintes frações FAA2, FAA4, FAA8, FAA9 e FAA11. A **Figura 4.257** e a **Tabela 4.55** contém os resultados obtidos, onde todas apresentaram  $S_{50}$  menor que 5 dias, e para a fração FAA4 este valor foi atingido no segundo dia. Ao final do experimento a % de mortalidade foi de 78% para FAA2, 100% para FAA4 e FAA8, 96% para FAA9 e 88% para FAA11.

A fração FAM3 apresentou  $S_{50}$  no sexto dia e apresentou mortalidade de 96% no final do experimento (**Figura 4.258; Tabela 4.56**). Também foi testada a fração FAM4 (**Figura 4.259; Tabela 4.57**) que mostrou  $S_{50}$  no sétimo dia e mortalidade de 82% no final do experimento. Estes resultados demonstram que as folhas de *M. urundeuva*, apresentaram toxicidade para operárias de *A. sexdens rubropilosa* e os resultados foram bem promissores. Algumas substâncias isoladas foram submetidas ao ensaio de toxicidade, (muitas não foram, pois não se obteve massa suficiente).

A substância **FA2** (isolada da fração FAA2) (**Figura 4.260; Tabela 4.58**) apresentou  $S_{50}$  no 11º dia e uma mortalidade de 100% ao final do experimento. A substância **FA4** (isolada da fração FAA3) (**Figura 4.261; Tabela 4.59**) apresentou um  $S_{50}$  no 24º dia e mortalidade de 56 % ao final do experimento, observa-se que para esta substância os dias que se atingiu 50% de mortalidade se aproximou muito do final do experimento. A mistura das duas substâncias **FA5** e **FA6** (isoladas da fração FAA4) (**Figura 4.262; Tabela 4.60**) apresentou  $S_{50}$  no 5º dia e mortalidade de 82% ao final do experimento. A substância **FA8** (isolada da fração FAA8) (**Figura 4.263; Tabela 4.61**) apresentou  $S_{50}$  no 13º dia e mortalidade de 92% no final do experimento, e por fim, a

substância **FA17** (isolada da fração FAM4) (**Figura 4.264; Tabela 4.62**) apresentou S50 no 3º dia.

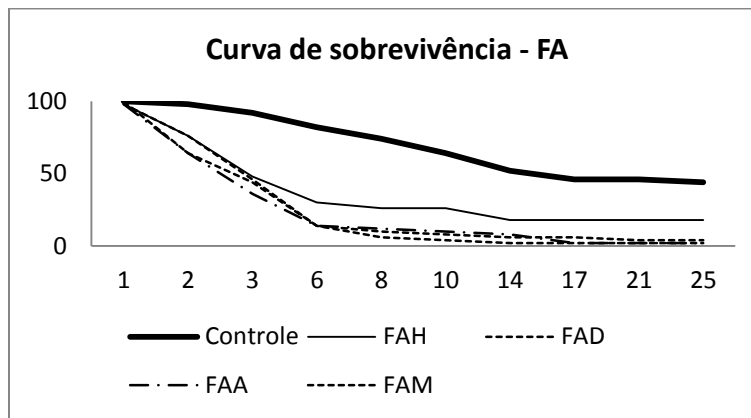


FIGURA 4.256 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com extratos das folhas de *M. urundeuva* na concentração de 2%.

TABELA 4.54 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com os extratos das folhas de *M. urundeuva* na concentração de 2,0 %

| Dias     | Mortalidade acumulada (%) por dia |    |    |    |    |    |    |    |    |    | Md* |
|----------|-----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
|          | 1                                 | 2  | 3  | 6  | 8  | 10 | 14 | 17 | 21 | 25 |     |
| Controle | 0                                 | 2  | 8  | 18 | 26 | 36 | 48 | 54 | 54 | 56 | 15a |
| FAH      | 2                                 | 24 | 52 | 70 | 74 | 74 | 82 | 82 | 82 | 82 | 3b  |
| FAD      | 2                                 | 24 | 54 | 86 | 94 | 96 | 98 | 98 | 98 | 98 | 3b  |
| FAA      | 2                                 | 36 | 64 | 86 | 88 | 90 | 92 | 98 | 98 | 98 | 3b  |
| FAM      | 0                                 | 36 | 56 | 86 | 90 | 92 | 94 | 94 | 96 | 96 | 3b  |

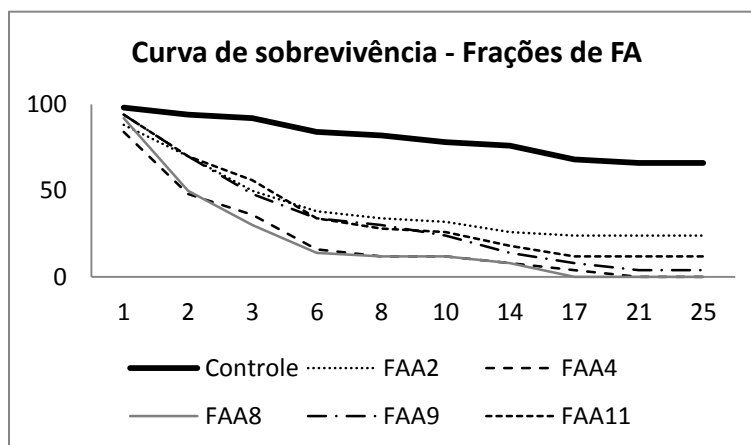


FIGURA 4.257 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com frações de **FAA** de *M. urundeuva* na concentração de 2%.

TABELA 4.55 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com as frações de FAA de *M. urundeuva* na concentração de 2%

| Mortalidade acumulada (%) por dia |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |                  |
|-----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|------------------|
| Dias                              | 1  | 2  | 3  | 6  | 8  | 10 | 14 | 17  | 21  | 25  | Md*              |
| Controle                          | 2  | 6  | 8  | 16 | 18 | 22 | 24 | 32  | 34  | 34  | >25 <sup>a</sup> |
| FAA2                              | 12 | 30 | 50 | 62 | 66 | 68 | 74 | 78  | 78  | 78  | 3,0 <sup>b</sup> |
| FAA4                              | 16 | 52 | 64 | 84 | 88 | 88 | 92 | 96  | 100 | 100 | 2,0 <sup>b</sup> |
| FAA8                              | 8  | 50 | 70 | 86 | 88 | 88 | 92 | 100 | 100 | 100 | 2,5 <sup>b</sup> |
| FAA9                              | 6  | 30 | 52 | 66 | 70 | 76 | 86 | 92  | 96  | 96  | 3,5 <sup>b</sup> |
| FAA11                             | 6  | 30 | 44 | 66 | 72 | 74 | 82 | 88  | 88  | 88  | 4,0 <sup>b</sup> |

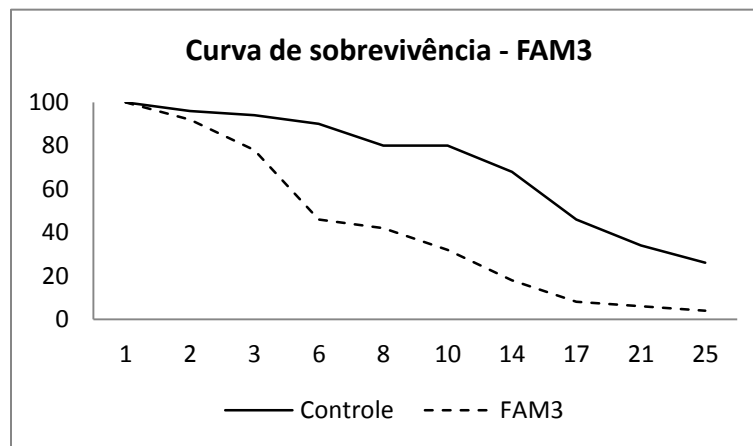


FIGURA 4.258 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a fração **FAM3** de *M. urundeuva* uma concentração de 2%.

TABELA 4.56 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com a fração FAM3 de *M. urundeuva* na concentração de 2%

| Mortalidade acumulada (%) por dia |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |                 |
|-----------------------------------|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|-----------------|
| Dias                              | 1 | 2 | 3  | 6  | 8  | 10 | 14 | 17 | 21 | 25 | Md*             |
| Controle                          | 0 | 4 | 6  | 10 | 20 | 20 | 32 | 54 | 66 | 74 | 17 <sup>a</sup> |
| FAM3                              | 0 | 8 | 22 | 54 | 58 | 68 | 82 | 92 | 94 | 96 | 6 <sup>b</sup>  |

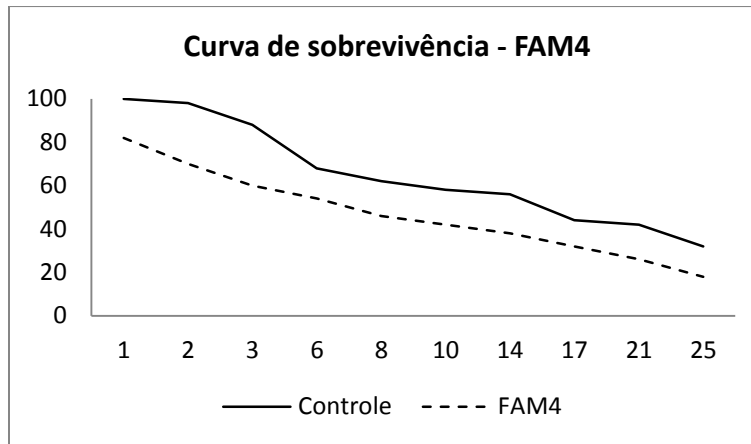


FIGURA 4.259 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a fração **FAM4** de *M. urundeuva* na concentração de 2%.

TABELA 4.57 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com a fração FAM4 de *M. urundeuva* na concentração de 2%

| Mortalidade acumulada (%) por dia |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
|-----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| Dias                              | 1  | 2  | 3  | 6  | 8  | 10 | 14 | 17 | 21 | 25 | Md* |
| Controle                          | 0  | 2  | 12 | 32 | 38 | 42 | 44 | 56 | 58 | 68 | 16a |
| FAM4                              | 18 | 30 | 40 | 46 | 54 | 58 | 62 | 68 | 74 | 82 | 7b  |

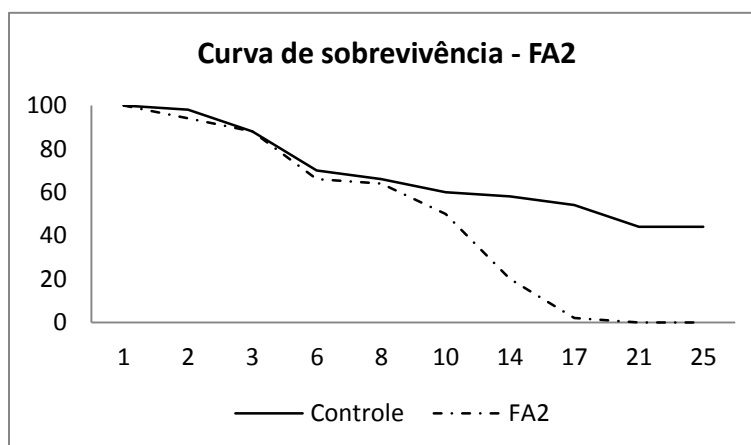


FIGURA 4.260 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância **FA2** na concentração de 2%.

TABELA 4.58 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com a substância **FA2** na concentração de 2%

| Mortalidade acumulada (%) por dia |   |   |    |    |    |    |    |    |     |     |                   |
|-----------------------------------|---|---|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-------------------|
| Dias                              | 1 | 2 | 3  | 6  | 8  | 10 | 14 | 17 | 21  | 25  | Md*               |
| Controle                          | 0 | 2 | 12 | 30 | 34 | 40 | 42 | 46 | 56  | 56  | 19.5 <sup>a</sup> |
| FA2                               | 0 | 6 | 12 | 34 | 36 | 50 | 80 | 98 | 100 | 100 | 11 <sup>b</sup>   |

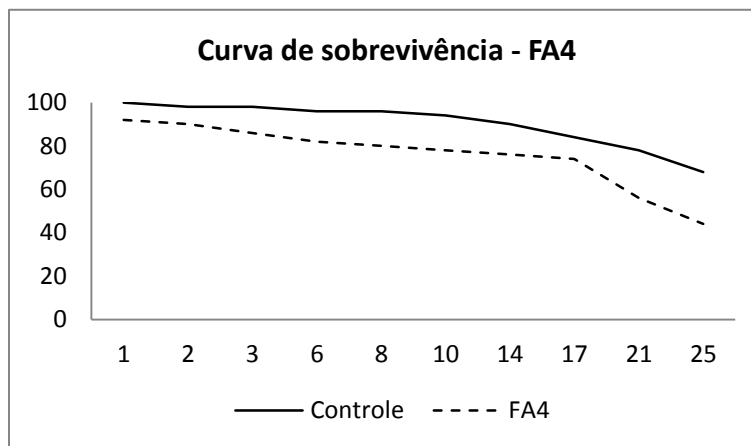


FIGURA 4.261 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância **FA4** na concentração de 2%.

TABELA 4.59 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com a substância **FA4** na concentração de 2%

| Mortalidade acumulada (%) por dia |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |                  |
|-----------------------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|------------------|
| Dias                              | 1 | 2  | 3  | 6  | 8  | 10 | 14 | 17 | 21 | 25 | Md*              |
| Controle                          | 0 | 2  | 2  | 4  | 4  | 6  | 10 | 16 | 22 | 32 | >25 <sup>a</sup> |
| FA4                               | 8 | 10 | 14 | 18 | 20 | 22 | 24 | 26 | 44 | 56 | 24 <sup>b</sup>  |

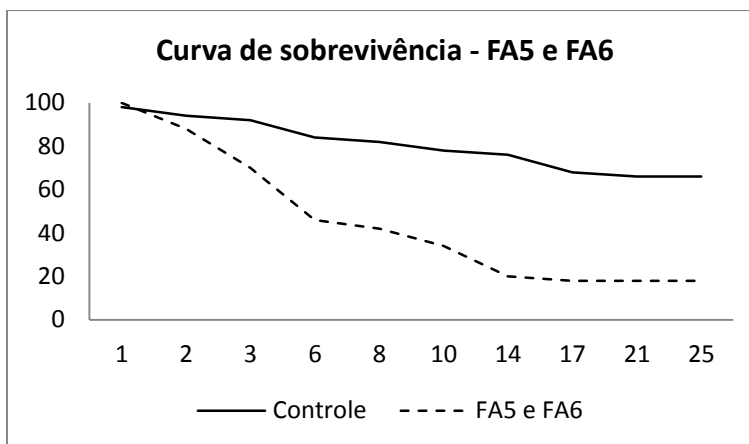


FIGURA 4.262 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a mistura de substâncias **FA5** e **FA6** na concentração de 2%.

TABELA 4.60 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com as substâncias **FA5** e **FA6** na concentração 2%

| Mortalidade acumulada (%) por dia |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |                  |
|-----------------------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|------------------|
| Dias                              | 1 | 2  | 3  | 6  | 8  | 10 | 14 | 17 | 21 | 25 | Md*              |
| Controle                          | 2 | 6  | 8  | 16 | 18 | 22 | 24 | 32 | 34 | 34 | >25 <sup>a</sup> |
| FA5/ 6                            | 0 | 12 | 30 | 54 | 58 | 66 | 80 | 82 | 82 | 82 | 5,0 <sup>b</sup> |

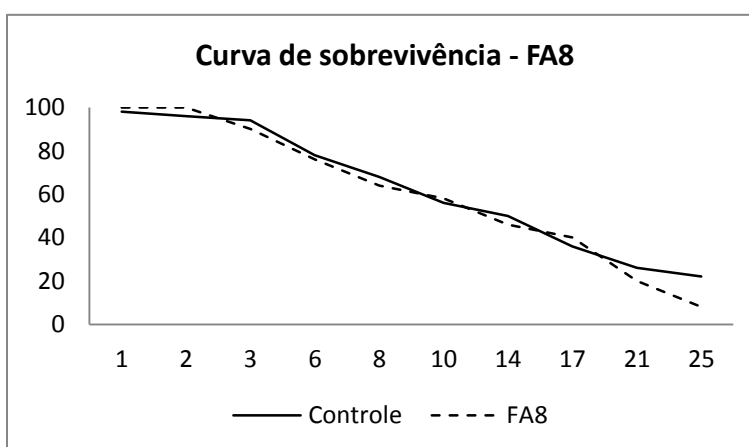


FIGURA 4.263 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância **FA8** na concentração de 2%.



TABELA 4.61 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com a substância **FA8** na concentração de 2%

| Mortalidade acumulada (%) por dia |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
|-----------------------------------|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| Dias                              | 1 | 2 | 3  | 6  | 8  | 10 | 14 | 17 | 21 | 25 | Md* |
| Controle                          | 2 | 4 | 6  | 22 | 32 | 44 | 50 | 64 | 74 | 78 | 14a |
| FA8                               | 0 | 0 | 10 | 24 | 36 | 42 | 54 | 60 | 80 | 92 | 13a |

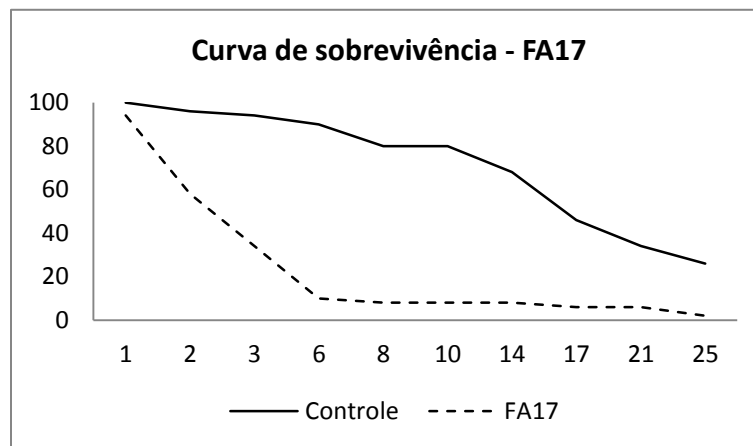


FIGURA 4.264 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância **FA17** na concentração de 2%.

TABELA 4.62 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com a substância **FA17** na concentração de 2%

| Mortalidade acumulada (%) por dia |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
|-----------------------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| Dias                              | 1 | 2  | 3  | 6  | 8  | 10 | 14 | 17 | 21 | 25 | Md* |
| Controle                          | 0 | 4  | 6  | 10 | 20 | 20 | 32 | 54 | 66 | 74 | 17a |
| FA17                              | 6 | 42 | 66 | 90 | 92 | 92 | 92 | 94 | 94 | 98 | 3b  |

As partições (**Figura 4.265, Tabela 4.63**) mostraram que GAH apresentou  $S_{50}$  já no 2º dia e as demais (GAD, GAA e GAM) mostraram  $S_{50}$  no 3º dia, todas mostraram atividade de 100% no final do experimento e algumas delas já no sexto dia se observou mortalidade de maior de 95%.

As frações de GAA (**Figura 4.266, Tabela 4.64**) também mostraram boas atividades, onde se observa que GAA7 apresentou  $S_{50}$  no 2º dia, enquanto as demais

(GAA4 e GAA5) mostraram  $S_{50}$  no 3º dia e apresentaram mortalidade de 100% no final do experimento e GAA3 apresentou mortalidade de 80% ao final do experimento e algumas delas já no 8º dia já demonstrava atividade maior de 95 %.

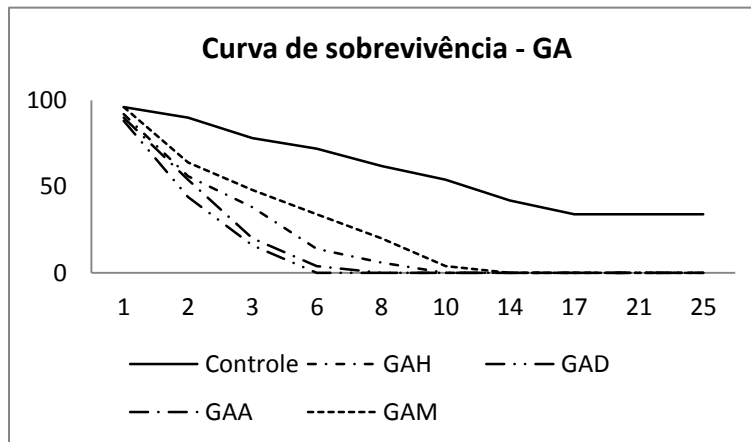


FIGURA 4.265 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com extratos dos galhos de *M. urundeuva* na concentração de 2%.

TABELA 4.63 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com as frações dos galhos de *M. urundeuva* na concentração de 2%

| Mortalidade acumulada (%) por dia |    |    |    |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----------------------------------|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Dias                              | 1  | 2  | 3  | 6   | 8   | 10  | 14  | 17  | 21  | 25  | Md* |
| Controle                          | 4  | 10 | 22 | 28  | 38  | 46  | 58  | 66  | 66  | 66  | 11a |
| GAH                               | 8  | 44 | 62 | 86  | 94  | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 3b  |
| GAD                               | 12 | 56 | 84 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 2b  |
| GAA                               | 10 | 46 | 80 | 96  | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 3b  |
| GAM                               | 4  | 36 | 52 | 66  | 80  | 96  | 100 | 100 | 100 | 100 | 3b  |

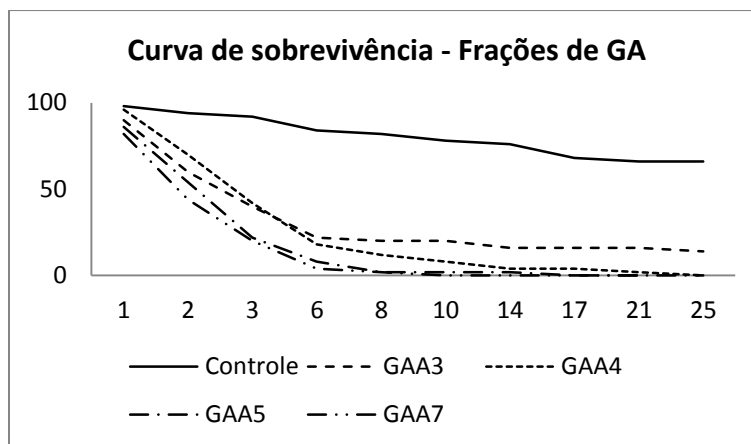


FIGURA 4.266 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com frações **GA** de *M. urundeuva* na concentração de 2%.

TABELA 4.64 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com as frações de GAA de *M. urundeuva* na concentração de 2,0%

| Mortalidade acumulada (%) por dia |    |    |    |    |    |     |     |     |     |     | Md*              |
|-----------------------------------|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|------------------|
| Dias                              | 1  | 2  | 3  | 6  | 8  | 10  | 14  | 17  | 21  | 25  |                  |
| Controle                          | 2  | 6  | 8  | 16 | 18 | 22  | 24  | 32  | 34  | 34  | >25 <sup>a</sup> |
| GAA3                              | 10 | 40 | 60 | 78 | 80 | 80  | 84  | 84  | 84  | 86  | 3,0 <sup>b</sup> |
| GAA4                              | 4  | 30 | 58 | 82 | 88 | 92  | 96  | 96  | 98  | 100 | 3,0 <sup>b</sup> |
| GAA5                              | 14 | 46 | 78 | 92 | 98 | 98  | 98  | 100 | 100 | 100 | 3,0 <sup>b</sup> |
| GAA7                              | 18 | 56 | 80 | 96 | 98 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 2,0 <sup>b</sup> |

#### 4.2.3.1.2. DERIVADOS DA LAUSONA (L1-L8) E SEUS COMPLEXOS [Cu(L)<sub>2</sub>]

A **Tabela 4.65** e as Figuras **4.267** a **4.274** apresentam os resultados de toxicidade por ingestão das substâncias testadas.

A uma concentração de 1%, as substâncias **L1**, **L3**, **L5** e **L7** apresentaram S<sub>50</sub> (causando mortalidade de 50%) no 8º dia para **L1** e **L5**, no 11º dia para **L3** e no 12º dia para **L7**. Ao se comparar estes resultados com **L2**, **L4**, **L6** e **L8** observa-se que o S<sub>50</sub> sofre um aumento passando a ser no 24º dia para **L2**, no 15º para **L4**, no 12º para **L6** e no 14º para **L8**; isso demonstra que ao se aumentar a cadeia alquílica há um aumento nos dias para se atingir S<sub>50</sub> e se conclui que as sínteses com cadeia lateral de 4C apresentaram melhor resultado do que as de 8C.

Ao se fazer esta mesma comparação, porém com os complexos destes derivados, se observa que os complexos a partir de derivados contendo 4C são mais ativos, onde se observou que o  $S_{50}$  no 3º dia para **Cu(L1)<sub>2</sub>** e para **Cu(L3)<sub>2</sub>** e **Cu(L5)<sub>2</sub>** no 10º dia. Enquanto seus derivados com 8C o  $S_{50}$  foi atingido no 9º dia para **Cu(L2)<sub>2</sub>**, 20,5º dia para **Cu(L4)<sub>2</sub>**, 8º dia para **Cu(L6)<sub>2</sub>** e 16º dia para **Cu(L8)<sub>2</sub>**. Excetuando-se **Cu(L6)<sub>2</sub>** pode-se concluir que os complexos metálicos a partir de derivados de 4C são mais ativos que os de 8C.

Ao se fazer um comparativo entre ligantes livres e complexados observa-se que **Cu(L1)<sub>2</sub>** apresenta melhor  $S_{50}$  que seu ligante livre **L1**, onde se observa uma redução de 5 dias. Para o composto **Cu(L2)<sub>2</sub>** observa-se uma redução ainda maior passando do 24º dia para **L2** indo para o 9º dia com o seu complexo **Cu(L2)<sub>2</sub>**, uma redução de 15 dias. Para as demais, houve pouca redução de dias, 01 dia para **L3** e quando comparado com seu complexo e 4 dias para **L6** e **L7** quando comparado com seus complexos.

Ao se analisar a % de mortalidade ao final do experimento, observa-se que alguns compostos tiveram suas atividades aumentadas ao se complexar, como é o caso do composto **L2** que ao final do experimento atinge 52% de mortalidade enquanto seu complexo **Cu(L2)<sub>2</sub>** a mortalidade atinge 96%. Para **L3**, **L6** e **L7** observou também um acréscimo da atividade ao final do experimento.

A uma concentração de 2% as substâncias **L1**, **L3**, **L5** e **L7** apresentaram  $S_{50}$  (causando mortalidade de 50%) no 10º dia para **L1** e **L3**, 3º dia para **L5** e 9,5º dia para **L7**. Ao se comparar estes resultados com **L2**, **L4**, **L6** e **L8** observa-se que o  $S_{50}$  sofre um aumento passando a ser 11º dia para **L2**, 6º para **L4**, 9º para **L6** e 12º para **L8**, isso demonstra que ao se aumentar a cadeia alquílica há um aumento nos dias para se atingir  $S_{50}$  e se conclui que as sínteses com cadeia lateral de 4C apresentaram melhor resultado do que as de 8C (excetuando-se o composto **L5**).

Ao se fazer esta mesma comparação, porém com os complexos destes derivados, se observa que os complexos a partir de derivados contendo 4C são mais ativos, onde se observou que o  $S_{50}$  no 4º dia para **Cu(L1)<sub>2</sub>** e para **Cu(L3)<sub>2</sub>** e no 8º dia para **Cu(L5)<sub>2</sub>** no 8,5º dia e para **Cu(L7)<sub>2</sub>** no 7º dia. Enquanto seus derivados com 8C o  $S_{50}$  foi atingido no 11º dia para **Cu(L2)<sub>2</sub>**, 12º dia para **Cu(L4)<sub>2</sub>**, 8º dia para **Cu(L6)<sub>2</sub>** e 13º

dia para **Cu(L8)<sub>2</sub>**. Excetuando-se **Cu(L5)<sub>2</sub>** pode-se concluir que os complexos metálicos a partir de derivados de 4C são mais ativos que os de 8C.

Ao se fazer um comparativo entre ligantes livres e complexados observa-se que **Cu(L1)<sub>2</sub>** apresenta melhor  $S_{50}$  que seu ligante livre **L1**, onde se observa uma redução de 6 dias. Para o composto **Cu(L2)<sub>2</sub>** não se observou mudança quando comparado com seu ligante livre. Para **Cu(L3)<sub>2</sub>** se observou uma redução de 2 dias quando comparado com seu ligante livre e redução de 2,5 dias para o composto **Cu(L7)<sub>2</sub>** quando comparado com seu ligante **L7**.

Ao se analisar a % de mortalidade ao final do experimento, observa-se que alguns compostos tiveram suas atividades aumentadas ao se complexar, como é o caso do composto **L2** que ao final do experimento atinge 68% de mortalidade enquanto seu complexo **Cu(L2)<sub>2</sub>** a mortalidade atinge a 86%. Para **L6** a mortalidade é de 88% enquanto seu complexo passa a ser 100% e **L7** a mortalidade é de 96% e seu complexo a mortalidade passa a ser 100%

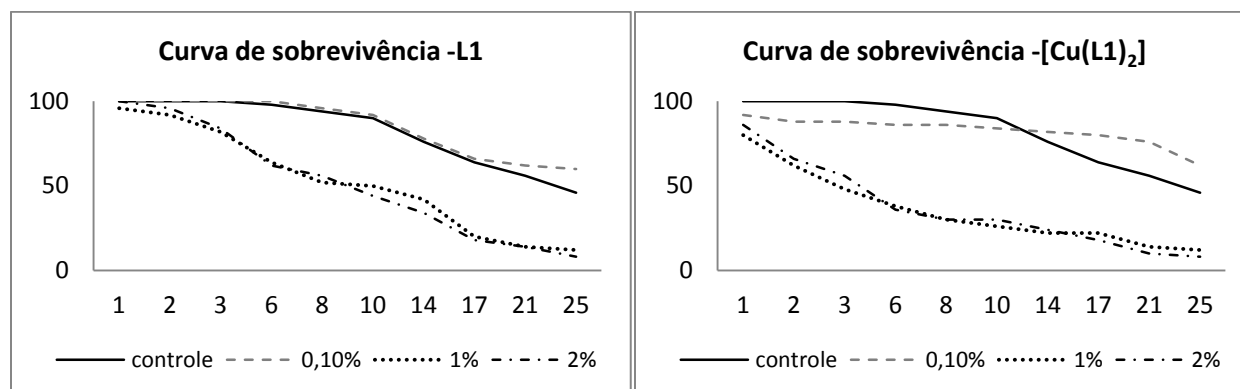


FIGURA 4.267 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância **L1** e **Cu(L1)<sub>2</sub>** em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%).

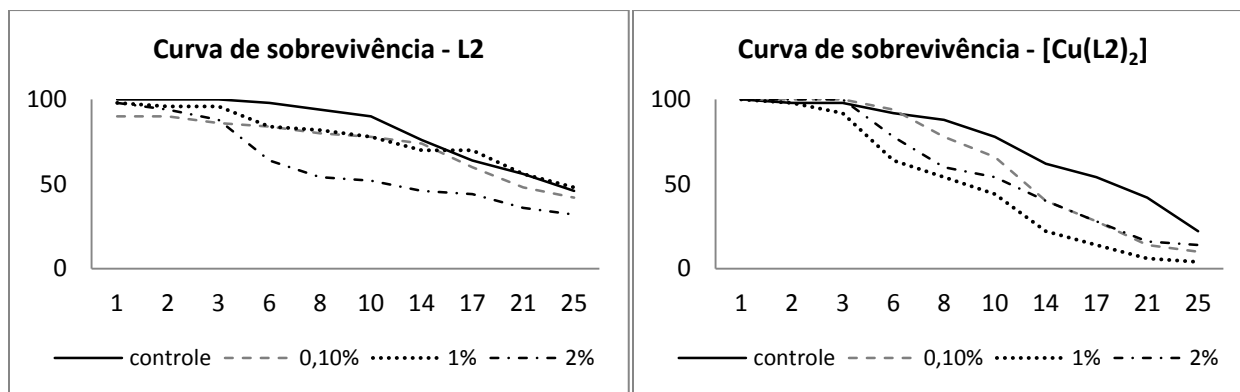


FIGURA 4.268 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância **L2** e **Cu(L2)<sub>2</sub>** em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%).

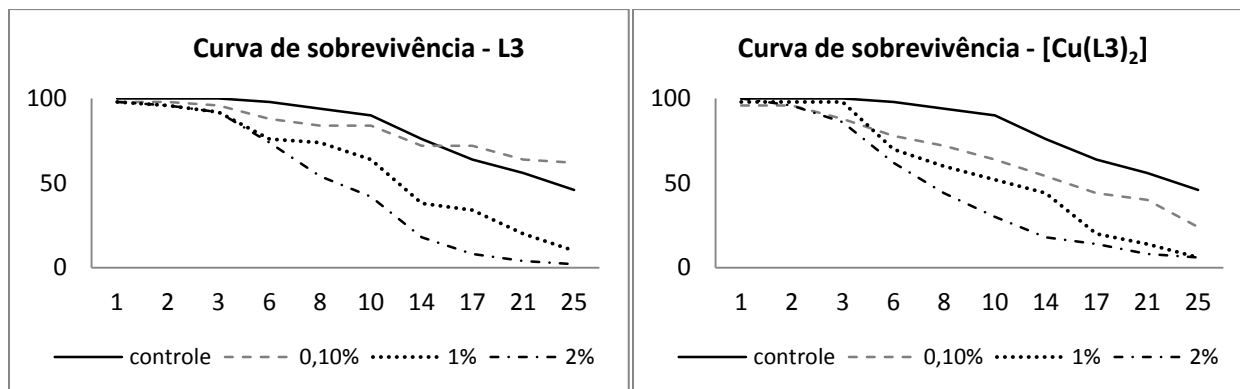


FIGURA 4.269 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância **L3** e **Cu(L3)<sub>2</sub>** em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%).

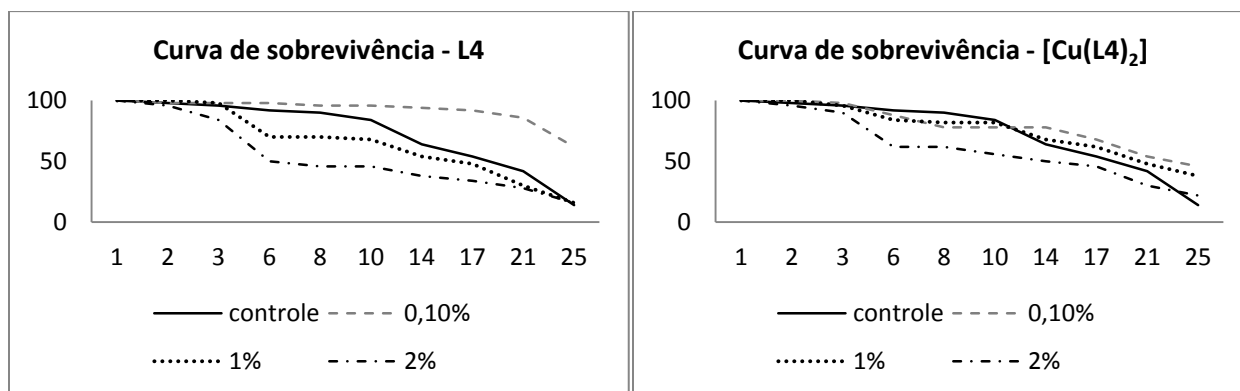


FIGURA 4.270 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância **L4** e **Cu(L4)<sub>2</sub>** em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%).

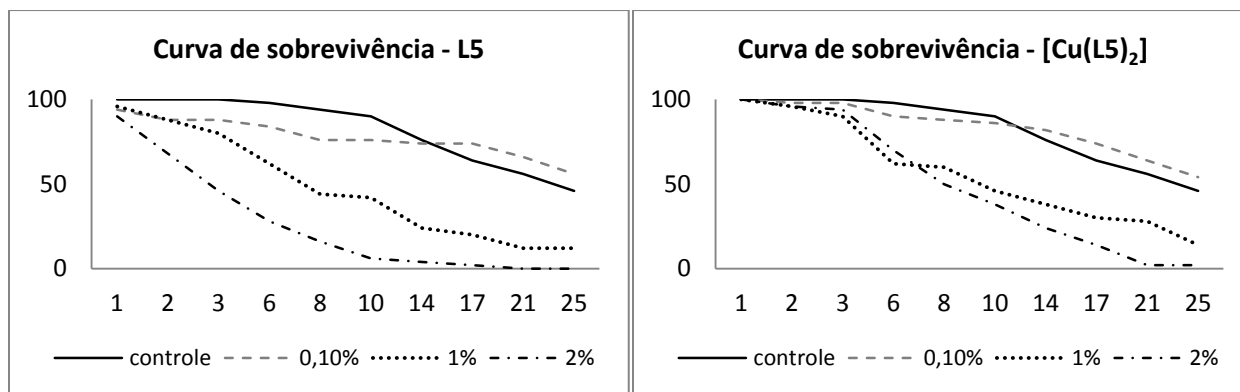


FIGURA 4.271 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância **L5** e **Cu(L5)<sub>2</sub>** em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%).

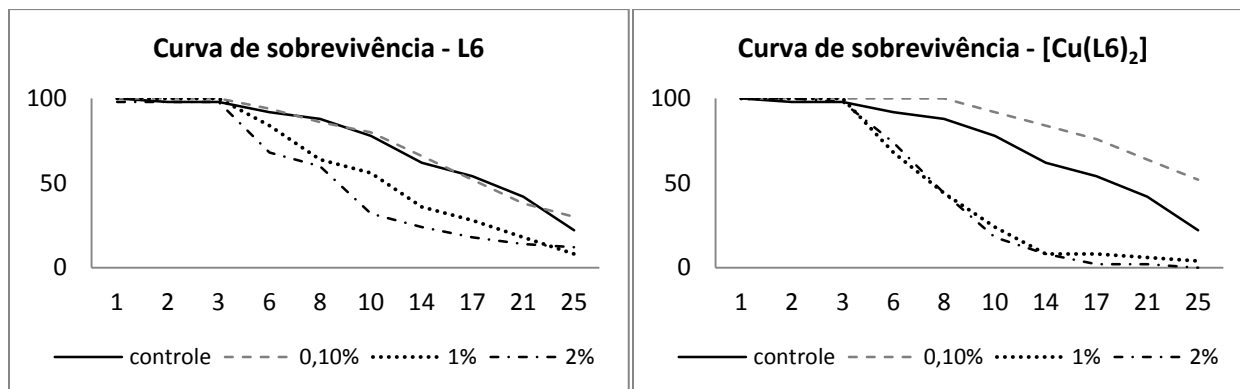


FIGURA 4.272 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância **L6** e **Cu(L6)<sub>2</sub>** em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%).

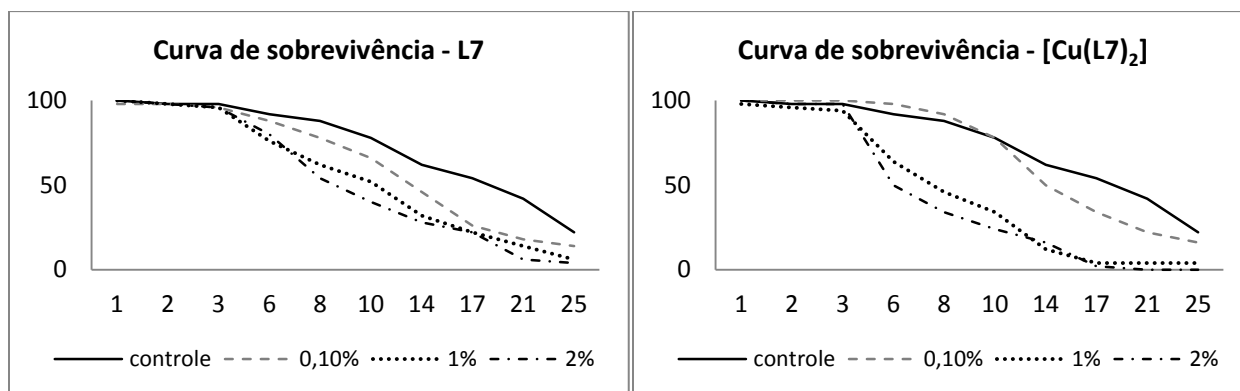


FIGURA 4.273 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância **L7** e **Cu(L7)<sub>2</sub>** em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%).

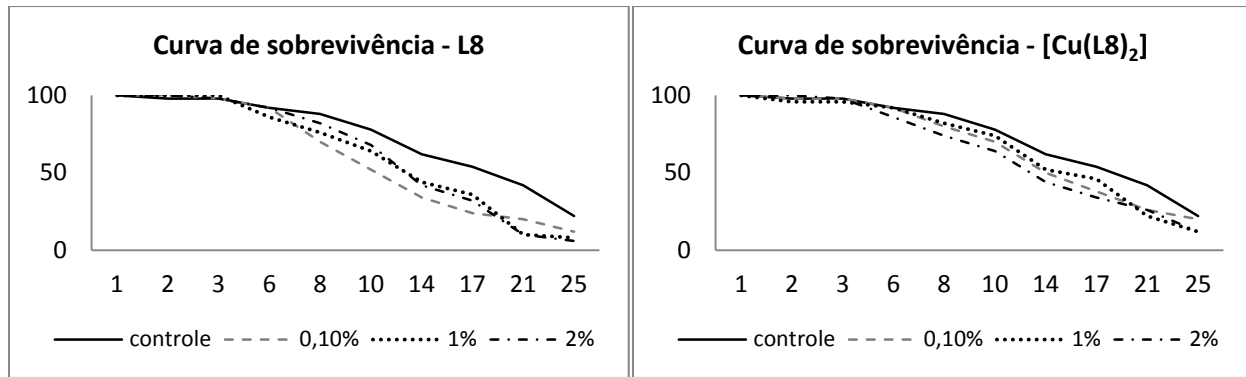


FIGURA 4.274 – Curvas de sobrevivências de operárias submetidas a ensaios de ingestão com a substância **L8** e **Cu(L8)<sub>2</sub>** em 3 concentrações (0,1; 1,0 e 2,0%).

TABELA 4.65 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com as substâncias **L's** e seus complexos, nas concentrações de 0,1; 1,0 e 2,0 mg/mL

| Mortalidade acumulada (%) por dia |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |      |
|-----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|------|
| Dias                              | 1  | 2  | 3  | 6  | 8  | 10 | 14 | 17 | 21 | 25 | Md*  |
| Dieta Pura                        | 0  | 0  | 0  | 2  | 6  | 10 | 24 | 36 | 44 | 54 | 24a  |
| L1 (0,1%)                         | 0  | 0  | 0  | 0  | 4  | 8  | 22 | 34 | 38 | 40 | >25a |
| L1 (1,0%)                         | 4  | 8  | 18 | 36 | 48 | 50 | 58 | 80 | 86 | 88 | 8b   |
| L1 (2,0%)                         | 0  | 4  | 16 | 38 | 44 | 56 | 66 | 82 | 86 | 92 | 10b  |
| Dieta Pura                        | 0  | 0  | 0  | 2  | 6  | 10 | 24 | 36 | 44 | 54 | 24a  |
| [Cu(L1) <sub>2</sub> ] (0,1%)     | 8  | 12 | 12 | 14 | 14 | 16 | 18 | 20 | 24 | 38 | >25a |
| [Cu(L1) <sub>2</sub> ] (1,0 %)    | 20 | 38 | 52 | 62 | 70 | 74 | 78 | 78 | 86 | 88 | 3b   |
| [Cu(L1) <sub>2</sub> ] (2,0%)     | 14 | 34 | 44 | 64 | 70 | 70 | 76 | 82 | 90 | 92 | 4b   |
| Dieta Pura                        | 0  | 0  | 0  | 2  | 6  | 10 | 24 | 36 | 44 | 54 | 24a  |
| L2 (0,1%)                         | 10 | 10 | 14 | 16 | 20 | 22 | 26 | 40 | 52 | 58 | 21a  |
| L2 (1,0%)                         | 2  | 4  | 4  | 16 | 18 | 22 | 30 | 30 | 44 | 52 | 24a  |
| L2 (2,0%)                         | 2  | 6  | 12 | 36 | 46 | 48 | 54 | 56 | 64 | 68 | 11b  |
| Dieta Pura                        | 0  | 2  | 2  | 8  | 12 | 22 | 38 | 46 | 58 | 78 | 18a  |
| [Cu(L2) <sub>2</sub> ] (0,1%)     | 0  | 0  | 0  | 6  | 22 | 34 | 60 | 72 | 86 | 90 | 13b  |
| [Cu(L2) <sub>2</sub> ] (1,0%)     | 0  | 2  | 8  | 36 | 46 | 56 | 78 | 86 | 94 | 96 | 9b   |
| [Cu(L2) <sub>2</sub> ] (2,0%)     | 0  | 0  | 0  | 22 | 40 | 46 | 60 | 72 | 84 | 86 | 11b  |
| Dieta Pura                        | 0  | 0  | 0  | 2  | 6  | 10 | 24 | 36 | 44 | 54 | 24a  |
| L3 (0,1%)                         | 2  | 2  | 4  | 12 | 16 | 16 | 28 | 28 | 36 | 38 | >25a |
| L3 (1,0%)                         | 2  | 4  | 8  | 24 | 26 | 36 | 62 | 66 | 80 | 90 | 11b  |
| L3 (2,0%)                         | 2  | 4  | 8  | 26 | 46 | 58 | 82 | 92 | 96 | 98 | 10b  |
| Dieta Pura                        | 0  | 0  | 0  | 2  | 6  | 10 | 24 | 36 | 44 | 54 | 24a  |
| [Cu(L3) <sub>2</sub> ] (0,1%)     | 4  | 4  | 12 | 22 | 28 | 36 | 46 | 56 | 60 | 76 | 16b  |
| [Cu(L3) <sub>2</sub> ] (1,0%)     | 2  | 2  | 2  | 30 | 40 | 48 | 56 | 80 | 86 | 94 | 11b  |
| [Cu(L3) <sub>2</sub> ] (2,0%)     | 0  | 4  | 14 | 38 | 56 | 70 | 82 | 86 | 92 | 94 | 8b   |
| Dieta Pura                        | 0  | 2  | 4  | 8  | 10 | 16 | 36 | 46 | 58 | 86 | 19a  |
| L4 (0,1%)                         | 0  | 2  | 2  | 2  | 4  | 4  | 6  | 8  | 14 | 38 | >25b |
| L4 (1,0%)                         | 0  | 0  | 2  | 30 | 30 | 32 | 46 | 52 | 70 | 84 | 15a  |
| L4 (2,0%)                         | 0  | 4  | 16 | 50 | 54 | 54 | 62 | 66 | 72 | 84 | 6a   |



|                               |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |       |
|-------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-------|
| Dieta Pura                    | 0  | 2  | 4  | 8  | 10 | 16 | 36 | 46 | 58  | 86  | 19a   |
| [Cu(L4) <sub>2</sub> ] (0,1%) | 0  | 0  | 2  | 12 | 22 | 22 | 22 | 32 | 46  | 54  | 24b   |
| [Cu(L4) <sub>2</sub> ] (1,0%) | 0  | 0  | 4  | 16 | 18 | 18 | 32 | 38 | 52  | 62  | 20,5b |
| [Cu(L4) <sub>2</sub> ] (2,0%) | 0  | 4  | 10 | 38 | 38 | 44 | 50 | 54 | 70  | 78  | 12a   |
| Dieta Pura                    | 0  | 0  | 0  | 2  | 6  | 10 | 24 | 36 | 44  | 54  | 24a   |
| L5 (0,1%)                     | 6  | 12 | 12 | 16 | 24 | 24 | 26 | 26 | 34  | 44  | >25a  |
| L5 (1,0%)                     | 4  | 12 | 20 | 38 | 56 | 58 | 76 | 80 | 88  | 88  | 8b    |
| L5 (2,0%)                     | 10 | 32 | 54 | 72 | 84 | 94 | 96 | 98 | 100 | 100 | 3b    |
| Dieta Pura                    | 0  | 0  | 0  | 2  | 6  | 10 | 24 | 36 | 44  | 54  | 24a   |
| [Cu(L5) <sub>2</sub> ] (0,1%) | 0  | 2  | 2  | 10 | 12 | 14 | 18 | 26 | 36  | 46  | >25a  |
| [Cu(L5) <sub>2</sub> ] (1,0%) | 0  | 4  | 10 | 38 | 40 | 54 | 62 | 70 | 72  | 86  | 10b   |
| [Cu(L5) <sub>2</sub> ] (2,0%) | 0  | 4  | 6  | 30 | 50 | 62 | 76 | 86 | 98  | 98  | 8,5b  |
| Dieta Pura                    | 0  | 2  | 2  | 8  | 12 | 22 | 38 | 46 | 58  | 78  | 18a   |
| L6 (0,1%)                     | 0  | 0  | 0  | 6  | 14 | 20 | 34 | 48 | 62  | 70  | 19a   |
| L6 (1,0%)                     | 0  | 0  | 0  | 16 | 36 | 44 | 64 | 72 | 82  | 92  | 12b   |
| L6 (2,0%)                     | 2  | 2  | 2  | 32 | 40 | 68 | 76 | 82 | 86  | 88  | 9b    |
| Dieta Pura                    | 0  | 2  | 2  | 8  | 12 | 22 | 38 | 46 | 58  | 78  | 18a   |
| [Cu(L6) <sub>2</sub> ] (0,1%) | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 8  | 16 | 24 | 36  | 48  | >25a  |
| [Cu(L6) <sub>2</sub> ] (1,0%) | 0  | 0  | 0  | 32 | 56 | 76 | 92 | 92 | 94  | 96  | 8b    |
| [Cu(L6) <sub>2</sub> ] (2,0%) | 0  | 0  | 2  | 26 | 56 | 82 | 92 | 98 | 98  | 100 | 8b    |
| Dieta Pura                    | 0  | 2  | 2  | 8  | 12 | 22 | 38 | 46 | 58  | 78  | 18a   |
| L7 (0,1%)                     | 2  | 2  | 4  | 12 | 22 | 34 | 54 | 74 | 82  | 86  | 13a   |
| L7 (1,0%)                     | 0  | 2  | 4  | 24 | 38 | 48 | 68 | 78 | 86  | 94  | 12b   |
| L7 (2,0%)                     | 0  | 2  | 4  | 20 | 46 | 60 | 72 | 78 | 94  | 96  | 9,5b  |
| Dieta Pura                    | 0  | 2  | 2  | 8  | 12 | 22 | 38 | 46 | 58  | 78  | 18a   |
| [Cu(L7) <sub>2</sub> ] (0,1%) | 0  | 0  | 0  | 2  | 8  | 22 | 50 | 66 | 78  | 84  | 15a   |
| [Cu(L7) <sub>2</sub> ] (1,0%) | 2  | 4  | 6  | 36 | 54 | 66 | 88 | 96 | 96  | 96  | 8b    |
| [Cu(L7) <sub>2</sub> ] (2,0%) | 0  | 2  | 2  | 50 | 66 | 76 | 84 | 98 | 100 | 100 | 7b    |
| Dieta Pura                    | 0  | 2  | 2  | 8  | 12 | 22 | 38 | 46 | 58  | 78  | 18a   |
| L8 (0,1%)                     | 0  | 0  | 2  | 8  | 30 | 48 | 66 | 76 | 80  | 88  | 11,5b |
| L8 (1,0%)                     | 0  | 0  | 0  | 14 | 24 | 36 | 56 | 64 | 90  | 92  | 14b   |
| L8 (2,0%)                     | 0  | 0  | 2  | 8  | 18 | 32 | 58 | 68 | 90  | 94  | 12b   |
| Dieta Pura                    | 0  | 2  | 2  | 8  | 12 | 22 | 38 | 46 | 58  | 78  | 18a   |
| [Cu(L8) <sub>2</sub> ] (0,1%) | 0  | 2  | 2  | 8  | 20 | 30 | 50 | 62 | 74  | 80  | 14a   |
| [Cu(L8) <sub>2</sub> ] (1,0%) | 0  | 4  | 4  | 8  | 18 | 26 | 48 | 54 | 78  | 88  | 16a   |
| [Cu(L8) <sub>2</sub> ] (2,0%) | 0  | 0  | 2  | 14 | 26 | 36 | 56 | 66 | 74  | 88  | 13a   |

#### 4.2.3.1.3. FLAVONÓIDES E SEUS COMPLEXOS DE COBRE

As porcentagens de mortalidade de *A. sexdens rubropilosa* para os flavonóides e seus complexos estão apresentadas na **Tabela 4.66**.

Para o flavonóide **NAR** observa-se que ele sem estar complexado atinge um S<sub>50</sub> no 6º dia e atinge uma mortalidade ao final do experimento de 70%. Ao se complexar o composto, **Cu(BIPY)(NAR)**, mostra uma ligeira redução para se atingir S<sub>50</sub> indo para 5,5º dia e um aumento de 100% de mortalidade final. Para o composto **Cu(FEN)(NAR)** houve um aumento no dia para se atingir o S<sub>50</sub>, indo para 11,5º dia,

quer dizer, houve um retardo nos dias, mas observou-se que houve um aumento na atividade ao final do experimento, atingindo 82% de operárias mortas.

Um fato interessante é que ao se reduzir em 10x a concentração observa-se que o complexo **Cu(FEN)(NAR)** atingiu um  $S_{50}$  no 6º dia e a mortalidade foi de 62% muito próxima ao flavonóide livre NAR em uma concentração 10X maior.

Para o flavonóide **NNINA** observa-se que ele sem estar complexado atinge um  $S_{50}$  no 21º dia a uma concentração de 1% e 23º dia a uma concentração de 0,1%, apresentando valores bem próximos; observa-se que ao complexar o composto, **Cu(NNINA)<sub>2</sub>**, ela mostra uma redução de 11 dias para atingir o  $S_{50}$  e há um aumento na mortalidade final onde sem complexar foi de 62% e ao se complexar foi para 82%. Observou-se também que ao se reduzir a concentração em 10X foi obtido o mesmo resultado que o flavonóide livre a uma concentração 10X maior, isso é o composto **Cu(HPT)<sub>2</sub>** a uma concentração 0,1% mostrou  $S_{50}$  no 23º dia e uma mortalidade final de 62%. Para o complexo **Cu(BIPY)(NNINA)** a uma concentração de 1% o  $S_{50}$  foi atingido no 4º dia e a mortalidade final foi de 100%, mas ao se reduzir em 10X a concentração, observou-se que houve um retardo nos dias para se atingir o  $S_{50}$ , indo para o 20,5º dia, mas a atividade final foi muito próxima de 94%. Para o complexo **Cu(FEN)(NNINA)** também se observou uma redução de dias ao se atingir o  $S_{50}$  indo para o 6º dia e atingindo uma mortalidade final também de 100%, mas este efeito não se observou ao se reduzir a concentração em 10X sendo o  $S_{50}$  atingido no 25º dia e a porcentagem de mortalidade foi de 50%.

Para o flavonóide **HESP** observa-se que ele apresenta um  $S_{50}$  no 25º dia a uma concentração de 0,1% e não atinge o  $S_{50}$  a uma concentração de 1%, e a mortalidade final do experimento foi de 42% na concentração de 1% e 50% na concentração de 0,1%. Para o complexo **Cu(FEN)(HESP)** o  $S_{50}$  é atingido no 6º dia e a mortalidade final é de 96% a uma concentração de 1%. Observou-se que ao reduzir a concentração em 10X atingiu-se o  $S_{50}$  no 8,5º dia e a mortalidade final foi de 88%.

Para o flavonóide **HPT** observa-se que ele apresenta um  $S_{50}$  no 15º dia para uma concentração de 1% e a porcentagem de mortalidade final é de 74%; ao se reduzir a concentração em 10% observa-se que atinge o  $S_{50}$  no 24º dia e a mortalidade final foi de 52%. Para o complexo **Cu(FEN)(HPT)** houve uma redução de 12 dias ao se

atingir o  $S_{50}$ , isso é foi no 3º dia e a porcentagem de mortalidade foi de 100% ao final do experimento. Para o complexo **Cu(BIPY)(HPT)** o  $S_{50}$  foi atingido no 6º dia e também apresentou 100% de mortalidade ao final do experimento. Ao se reduzir a concentração em 10X observa-se que o complexo apresenta as mesmas atividades que o flavonóide livre a uma concentração 10X maior, isso é, o complexo **Cu(FEN)(NNINA)** a uma concentração 0,1% apresentou  $S_{50}$  no 15º dia, igual a **HPT** a 1% e também ocasionou ligeiro aumento na mortalidade final, onde **HPT** a 1% mostrou uma mortalidade de 74% e o complexo a 0,1% mostrou mortalidade de 76%.

Excetuando-se **HPT**, é observado que todos os flavonóides apresentam maior porcentagem de mortalidade final quando se reduz a concentração, talvez isso esteja relacionado com a solubilidade deles, onde estão mais solúveis a uma menor concentração, ou também pela percepção por parte do inseto que ao “perceber” a presença da substância (em maior concentração) não se alimenta.

Foi realizado ensaio de toxicidade para os sais de cobre e também para a bipyridina, onde para os sais de cobre e para a bipyridina não se observou mortalidade e inclusive não se atingiu o  $S_{50}$ .

TABELA 4.66 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com os flavonóides e seus complexos de cobre, nas concentrações de 0,1 e 1,0 %

| Dias                             | Mortalidade acumulada (%) por dia |    |    |    |    |    |    |    |     |     | Md*   |
|----------------------------------|-----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-------|
|                                  | 1                                 | 2  | 3  | 6  | 8  | 10 | 14 | 17 | 21  | 25  |       |
| Dieta pura                       | 0                                 | 2  | 2  | 8  | 10 | 10 | 12 | 12 | 18  | 24  | 25a   |
| NAR(0,1%)                        | 4                                 | 16 | 28 | 32 | 36 | 40 | 68 | 82 | 96  | 100 | 14b   |
| NAR(1,0%)                        | 2                                 | 24 | 40 | 50 | 52 | 54 | 56 | 58 | 66  | 70  | 6b    |
| Dieta pura                       | 0                                 | 0  | 0  | 0  | 2  | 6  | 12 | 20 | 36  | 52  | 25a   |
| [Cu(NAR) <sub>2</sub> ] (0,1%)   | 0                                 | 0  | 0  | 4  | 8  | 10 | 18 | 28 | 46  | 56  | 24a   |
| [Cu(NAR) <sub>2</sub> ] (1,0%)   | 0                                 | 0  | 0  | 2  | 6  | 18 | 28 | 38 | 52  | 68  | 21a   |
| Dieta pura                       | 0                                 | 0  | 0  | 2  | 8  | 8  | 10 | 14 | 18  | 30  | >25a  |
| [Cu(BIPY)(NAR)](0,1%)            | 4                                 | 8  | 8  | 14 | 16 | 16 | 16 | 18 | 24  | 26  | >25a  |
| [Cu(BIPY)(NAR)](1,0%)            | 0                                 | 6  | 26 | 56 | 70 | 88 | 94 | 98 | 100 | 100 | 5,5b  |
| Dieta pura                       | 2                                 | 4  | 4  | 6  | 6  | 12 | 16 | 22 | 26  | 34  | >25a  |
| [Cu(FEN)(NAR)] (0,1%)            | 12                                | 28 | 42 | 50 | 50 | 50 | 50 | 54 | 58  | 62  | 6b    |
| [Cu(FEN)(NAR)] (1,0%)            | 4                                 | 4  | 8  | 30 | 36 | 44 | 66 | 74 | 80  | 82  | 11,5b |
| Dieta pura                       | 0                                 | 2  | 2  | 14 | 14 | 16 | 20 | 28 | 48  | 68  | 22a   |
| NNINA (0,1%)                     | 0                                 | 2  | 6  | 8  | 8  | 10 | 22 | 34 | 42  | 68  | 23a   |
| NNNA(1,0%)                       | 0                                 | 0  | 2  | 18 | 20 | 24 | 26 | 38 | 52  | 62  | 21a   |
| Dieta pura                       | 0                                 | 2  | 2  | 14 | 14 | 16 | 20 | 28 | 48  | 68  | 22a   |
| [Cu(NNINA) <sub>2</sub> ] (0,1%) | 0                                 | 0  | 2  | 6  | 8  | 10 | 12 | 22 | 32  | 62  | 23a   |
| [Cu(NNINA) <sub>2</sub> ] (1,0%) | 6                                 | 12 | 24 | 40 | 42 | 56 | 60 | 64 | 72  | 82  | 10b   |
| Dieta pura                       | 0                                 | 2  | 2  | 14 | 14 | 16 | 20 | 28 | 48  | 68  | 22a   |
| [Cu(BIPY)(NNINA)](0,1%)          | 0                                 | 2  | 10 | 12 | 12 | 14 | 16 | 32 | 58  | 94  | 20,5b |
| [Cu(BIPY)(NNINA)](1,0%)          | 0                                 | 18 | 44 | 80 | 82 | 88 | 96 | 98 | 100 | 100 | 4b    |
| Dieta pura                       | 0                                 | 0  | 0  | 0  | 2  | 8  | 12 | 18 | 24  | 34  | >25a  |
| [Cu(FEN)(NNINA)] (0,1%)          | 0                                 | 0  | 0  | 4  | 10 | 24 | 28 | 28 | 38  | 50  | 25a   |
| [Cu(FEN)(NNINA)] (1,0%)          | 0                                 | 0  | 8  | 60 | 70 | 76 | 88 | 92 | 100 | 100 | 6b    |

|                                 |    |    |    |    |     |     |     |     |     |     |       |
|---------------------------------|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|
| Dieta pura                      | 0  | 16 | 20 | 30 | 34  | 38  | 42  | 46  | 50  | 56  | 21,5a |
| HESP (0,1%)                     | 2  | 4  | 6  | 14 | 16  | 20  | 24  | 32  | 40  | 50  | 25a   |
| HESP (1,0%)                     | 10 | 18 | 22 | 22 | 26  | 26  | 32  | 32  | 32  | 42  | >25a  |
| Dieta pura                      | 0  | 0  | 0  | 2  | 2   | 4   | 12  | 14  | 28  | 46  | >25a  |
| [Cu(HESP) <sub>2</sub> ] (0,1%) | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 2   | 6   | 8   | 10  | 20  | >25b  |
| [Cu(HESP) <sub>2</sub> ] (1,0%) | 0  | 0  | 2  | 4  | 4   | 4   | 6   | 10  | 16  | 26  | >25b  |
| Dieta pura                      | 0  | 16 | 20 | 30 | 34  | 38  | 42  | 46  | 50  | 56  | 21,5a |
| [Cu(FEN)(HESP)](0,1%)           | 4  | 14 | 30 | 48 | 50  | 52  | 60  | 60  | 72  | 88  | 8,5b  |
| [Cu(FEN)(HESP)](1,0%)           | 4  | 24 | 32 | 52 | 56  | 64  | 86  | 90  | 92  | 96  | 6b    |
| Dieta Pura                      | 0  | 0  | 2  | 14 | 22  | 26  | 46  | 54  | 76  | 80  | 16a   |
| HPT (0,1%)                      | 2  | 4  | 6  | 6  | 12  | 16  | 28  | 40  | 48  | 52  | 24b   |
| HPT (1,0%)                      | 0  | 0  | 0  | 2  | 4   | 30  | 48  | 62  | 68  | 74  | 15a   |
| Dieta Pura                      | 0  | 0  | 2  | 14 | 22  | 26  | 46  | 54  | 76  | 80  | 16a   |
| [Cu(HPT) <sub>2</sub> ](0,1%)   | 0  | 0  | 2  | 6  | 12  | 16  | 28  | 32  | 44  | 52  | 24b   |
| [Cu(HPT) <sub>2</sub> ](1,0%)   | 2  | 2  | 2  | 2  | 4   | 8   | 8   | 16  | 22  | 26  | >25b  |
| Dieta Pura                      | 0  | 0  | 2  | 14 | 22  | 26  | 46  | 54  | 76  | 80  | 16a   |
| [Cu(BIPY)(HPT)] (0,1%)          | 0  | 0  | 2  | 2  | 8   | 8   | 20  | 34  | 44  | 56  | 24b   |
| [Cu(BIPY)(HPT)] (1,0%)          | 4  | 12 | 20 | 54 | 68  | 84  | 96  | 98  | 100 | 100 | 6b    |
| Dieta pura                      | 0  | 0  | 0  | 2  | 8   | 8   | 10  | 14  | 18  | 30  | >25a  |
| [Cu(FEN)(HPT)] (0,1%)           | 2  | 2  | 6  | 14 | 22  | 34  | 46  | 62  | 72  | 76  | 15b   |
| [Cu(FEN)(HPT)] (1,0%)           | 4  | 42 | 58 | 92 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 3b    |
| Dieta Pura                      | 0  | 12 | 12 | 12 | 18  | 18  | 18  | 18  | 20  | 22  | >25a  |
| BIPY (0,1%)                     | 2  | 2  | 6  | 8  | 16  | 16  | 22  | 22  | 24  | 26  | >25a  |
| Dieta Pura                      | 0  | 0  | 0  | 2  | 2   | 2   | 2   | 4   | 20  | 24  | >25a  |
| Acetato de Cobre 1%             | 0  | 6  | 6  | 14 | 18  | 18  | 18  | 22  | 28  | 32  | >25a  |
| Cloreto de Cobre 1%             | 0  | 0  | 2  | 6  | 10  | 14  | 18  | 22  | 32  | 42  | >25b  |

Para os derivados imínicos e seus complexos (**Tabela 4.67**) o composto **1,2-Di-(4'-iminoNAR)-etano** (IMIN-NAR) não se obteve o  $S_{50}$  ao final do experimento nas duas concentrações utilizadas e a mortalidade final foi de 48% para a concentração de 0,1% e 36% numa concentração de 1%. É notável que a menor concentração apresentou uma maior mortalidade, para os seus complexos o  $S_{50}$  só foi observado a uma concentração de 1% sendo no 24º dia e sua mortalidade final foi maior que o derivado livre, atingindo a mortalidade de 56% a uma concentração de 1% e 36% a uma concentração de 0,1%. Para o outro derivado **1,2-Di-(4'-iminoNNINA)-etano** (IMIN-NNINA) ambos apresentaram  $S_{50}$  no 24º dia para a concentração de 0,1% e 24,5º dia para a concentração de 1% e a mortalidade final observada foi de 52% para a concentração de 0,1% e 56% para a concentração de 0,1%. E para o seu complexo foi atingido  $S_{50}$  no 25º dia para as duas concentrações e o mesmo foi observado para a mortalidade final que foi de 50%.

TABELA 4.67 - Mortalidade acumulada e sobrevivência mediana (Md) de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio de incorporação em dieta artificial com os derivados iminicos dos flavonóides e seus complexos de cobre, nas concentrações de 0,1 e 1,0 %

| Dias                    | Mortalidade acumulada (%) por dia |    |    |    |    |    |    |    |    |    | Md*      |
|-------------------------|-----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----------|
|                         | 1                                 | 2  | 3  | 6  | 8  | 10 | 14 | 17 | 21 | 25 |          |
| Dieta Pura              | 2                                 | 4  | 4  | 6  | 6  | 12 | 16 | 22 | 26 | 34 | >25 $a$  |
| IMIN-NAR (0,1%)         | 4                                 | 12 | 18 | 24 | 24 | 24 | 24 | 24 | 28 | 48 | >25 $a$  |
| IMIN-NAR (1,0 %)        | 8                                 | 14 | 16 | 24 | 24 | 26 | 34 | 36 | 36 | 36 | >25 $a$  |
| Dieta Pura              | 0                                 | 0  | 0  | 4  | 8  | 8  | 16 | 30 | 54 | 76 | 19,5 $a$ |
| [Cu(IMIN-NAR)] (0,1%)   | 0                                 | 0  | 0  | 4  | 6  | 10 | 20 | 26 | 26 | 36 | >25 $b$  |
| [Cu(IMIN-NAR)] (1,0%)   | 2                                 | 2  | 2  | 2  | 4  | 8  | 10 | 26 | 44 | 56 | 24 $a$   |
| Dieta Pura              | 0                                 | 0  | 0  | 4  | 8  | 8  | 16 | 30 | 54 | 76 | 19,5 $a$ |
| IMIN-NNINA (0,1%)       | 0                                 | 0  | 0  | 4  | 10 | 12 | 16 | 22 | 28 | 52 | 24 $b$   |
| IMIN-NNINA (1,0%)       | 0                                 | 2  | 4  | 8  | 8  | 12 | 18 | 24 | 38 | 56 | 24,5 $b$ |
| Dieta Pura              | 0                                 | 0  | 0  | 4  | 8  | 8  | 16 | 30 | 54 | 76 | 19,5 $a$ |
| [Cu(IMIN-NNINA)] (0,1%) | 0                                 | 0  | 0  | 0  | 2  | 6  | 18 | 22 | 28 | 50 | 25 $b$   |
| [Cu(IMIN-NNINA)] (1,0%) | 0                                 | 0  | 0  | 0  | 2  | 10 | 26 | 32 | 36 | 50 | 25 $b$   |

### 4.2.3.2 ENSAIO ENZIMÁTICOS

#### 4.2.3.2.1. DERIVADOS DA LAUSONA (L1-L8) E SEUS COMPLEXOS [Cu(L)<sub>2</sub>]

Os derivados de lausona, seus complexos, os flavonóides e seus complexos foram utilizados em ensaios de inibição de Acetilcolinesterase humana e de enguia, assim como Butilcolinesterase.

Ao se observar a Tabela 4.68 e as **Figuras 4.275 e 4.276** verifica-se que todos os derivados da lausona apresentaram baixa inibição da enzima AChE<sub>ee</sub> e AChE<sub>hu</sub> ficando a porcentagem entre 1,2 e 22,2 % e os seus derivados complexados com cobre passam a inibir a enzima em até 90,1% e para todas são observados um aumento na inibição quando estão com o átomo cobre presente no composto. Não há inibição da Butilcolinesterase.

TABELA 4.68 - Resultados dos ensaios de inibição com as enzimas AChE e BChE realizados com os glicosídeos em CCD e no biorreator para as substâncias L1 a L8 e seus complexos

| Substância               | Falso-<br>positive | (%) inibição<br>BChE <sub>hua</sub><br>200 µM | (%) inibição<br>AChE <sub>ee</sub><br>200 µM | (%) inibição<br>AChE <sub>hua</sub><br>200 µM |
|--------------------------|--------------------|---|--|---|
| Eserina <sup>a</sup>     | -                  | 77,0  | -  | -   |
| Galantamina <sup>b</sup> | -                  | -   | 93,3   | 90,0  |
| L1                       | -                  | 0   | 4,9  | 4,3   |
| [Cu(L1) <sub>2</sub> ]   | -                  | 0   | 82,0   | 39,8  |
| L2                       | -                  | 0   | 1,2  | 0   |
| [Cu(L2) <sub>2</sub> ]   | -                  | 0   | 82,9   | 88,5  |
| L3                       | -                  | 0   | 3,8  | 0   |
| [Cu(L3) <sub>2</sub> ]   | -                  | 0   | 84,9   | 65,95   |
| L4                       | -                  | 0   | 50,3   | 0   |
| [Cu(L4) <sub>2</sub> ]   | -                  | 0   | 70,2   | 86,9  |
| L5                       | -                  | 0   | 1,98   | 0   |
| [Cu(L5) <sub>2</sub> ]   | -                  | 0   | 78,0   | 71,1  |
| L6                       | -                  | 0   | 7,0  | 0   |
| [Cu(L6) <sub>2</sub> ]   | -                  | 0   | 87,0   | 86,9  |



|                        |   |     |      |       |
|------------------------|---|-----|------|-------|
| L7                     | - | 0   | 22,2 | 0     |
| [Cu(L7) <sub>2</sub> ] | - | 0   | 90,1 | 88,8  |
| L8                     | - | 0   | 12,9 | 11,97 |
| [Cu(L8) <sub>2</sub> ] | - | 2,7 | 87,7 | 95,2  |

<sup>a</sup> [BChE inibidor]; <sup>b</sup> [AChE inibidor].

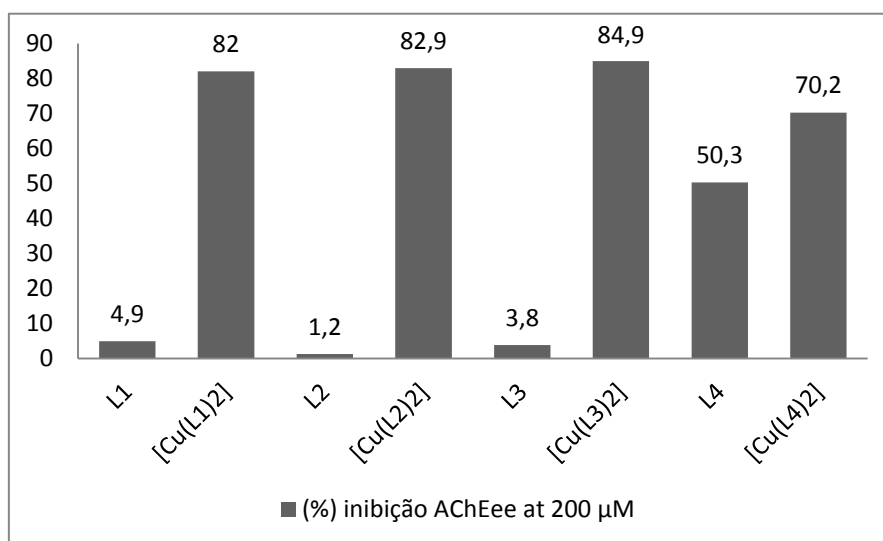


FIGURA 4.275 – Gráfico com as porcentagens de inibição para AChEe tratada com 200 µM L1 a L4 e Cu(L1-4)<sub>2</sub>.

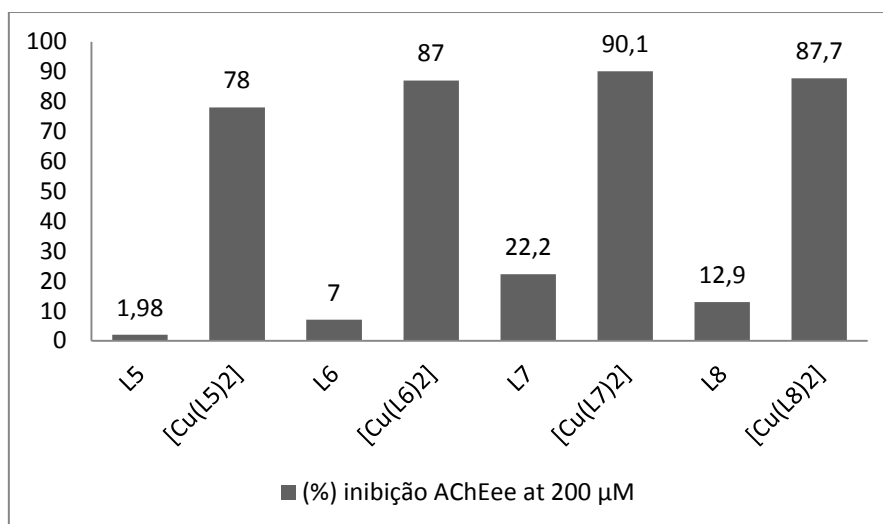


FIGURA 4.276 – Gráfico com as porcentagens de inibição para AChEe tratada com 200 µM de L5 a L8 e Cu(L5-8)<sub>2</sub>.

## 4.2.3.2.2. FLAVONÓIDES E SEUS COMPLEXOS DE COBRE.

Ao se observar a **Tabela 4.69** e as **Figuras 4.277** e **4.278** verifica-se que os flavonóides livres apresentaram uma porcentagem de inibição das AChE<sub>ee</sub> de 6,4% para NAR, 31,80% para **NNINA**, 80,9 para **HESP** e 75,1 para **HPT**, e ao se complexarem se observa que **Cu(NAR)<sub>2</sub>** a porcentagem de inibição vai para 73,2% e acima de 98% para os derivados com ligantes ancilares, e os demais se observa o mesmo, um aumento na porcentagem de inibição ao se complexarem. Um resultado interessante é que o complexo **Cu(FEN)(HESP)** não ocasionou inibição da enzima AChE<sub>ee</sub> e *hu* e inibiu BChE<sub>hu</sub>.

TABELA 4.69 - Resultados dos ensaios de inibição com as enzimas AChE e BChE realizados com os glicosídeos em CCD e no biorreator para os flavonóides e seus complexos

| Substância                | Falso-positivo | (%) inibição BChE <sub>hu</sub> 200 µM | (%) inibição AChE <sub>ee</sub> 200 µM | (%) inibição AChE <sub>hu</sub> 200 µM |
|---------------------------|----------------|--|--|--|
| Eserina <sup>a</sup>      | -              | 77,0                                   | -                                      | -                                      |
| Galantamina <sup>b</sup>  | -              | -                                      | 93,3                                   | 90,0                                   |
| NAR                       | -              | 0                                      | 6,4                                    | 0                                      |
| [Cu(NAR) <sub>2</sub> ]   | -              | 15,57                                  | 73,2                                   | 89,56                                  |
| [Cu(BIPY)(NAR)]           | -              | 83,20                                  | 98,3                                   | 0                                      |
| [Cu(FEN)(NAR)]            | -              | 74,64                                  | 98,9                                   | 0                                      |
| NNINA                     | -              | 0                                      | 31,80                                  | 0                                      |
| [Cu(NNINA) <sub>2</sub> ] | -              | -83,24                                 | 86,98                                  | 88,1                                   |
| [Cu(BIPY)(NNINA)]         | -              | 70,83                                  | 97,3                                   | 83,6                                   |
| HESP                      | -              | 1,46                                   | 80,9                                   | 0                                      |
| [Cu(HESP) <sub>2</sub> ]  | -              | 51,80                                  | 88,4                                   | 0                                      |
| [Cu(FEN)(HESP)]           | -              | 95,20                                  | 0                                      | 0                                      |
| HPT                       | -              | 0                                      | 75,1                                   | 0                                      |
| [Cu(HPT) <sub>2</sub> ]   | -              | 14,06                                  | 81,9                                   | 88,5                                   |
| [Cu(BIPY)(HPT)]           | -              | 97,25                                  | 89,99                                  | 0                                      |
| [Cu(FEN)(HPT)]            | -              | 58,84                                  | 97,5                                   | 0                                      |

<sup>a</sup>BChE inibidor; <sup>b</sup>AChE inibidor.

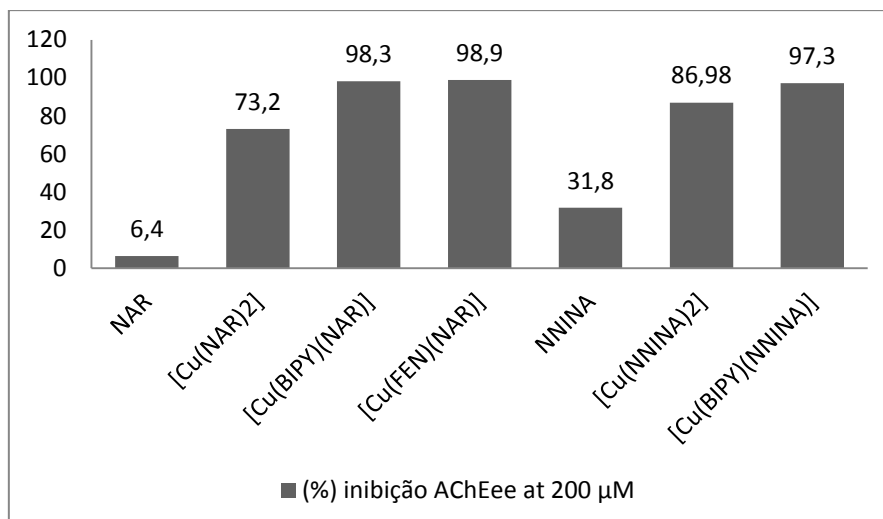


FIGURA 4.277 - Gráfico com as porcentagens de inibição para AChEe tratada com 200 µM para NAR, NNINA e seus complexos.

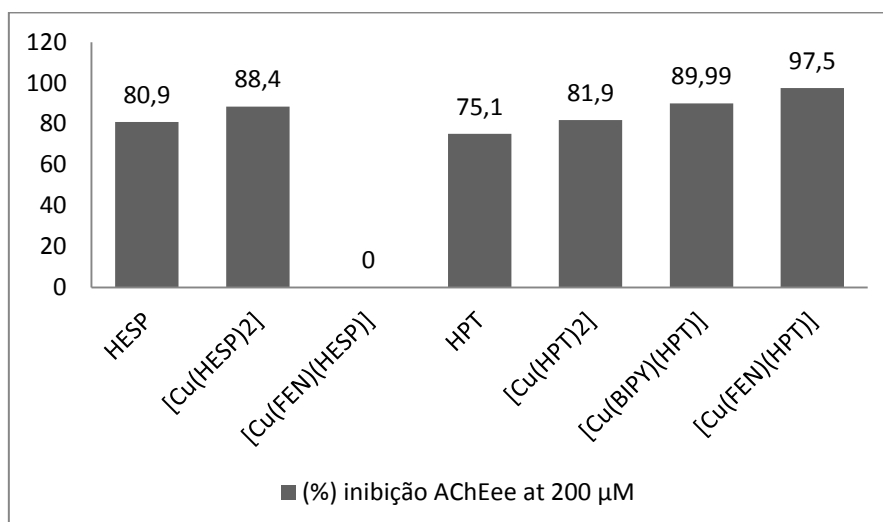


FIGURA 4.278 - Gráfico com as porcentagens de inibição para AChEe tratada com 200 µM para HESP, HPT e seus complexos.

#### 4.2.3.3. ENSAIOS FUNGICIDAS COM *Leucoagaricus gongylophorus*

##### 4.2.3.3.1. FRAÇÕES DOS GALHOS DE *M. urundeuva*

A **Figura 4.279** e a **Tabela 4.70** mostram o resultados de inibição com as frações dos galhos e é possível observar que apenas a fração acetato de etila (GAA) apresentou elevada inibição (89%) já a fração hexano (GAH) não apresentou atividade inibitória e a fração diclorometano (GAD) apresentou inibição moderada (25%).

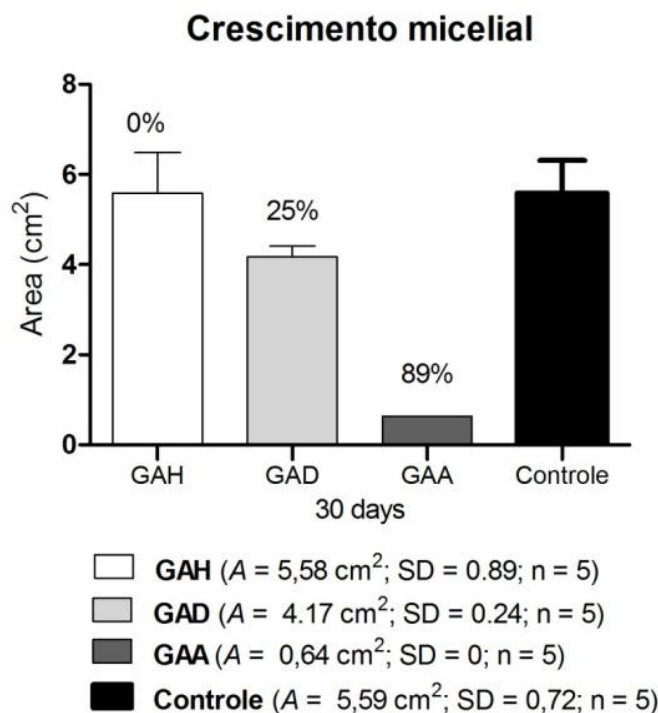


FIGURA 4.279 – Gráfico de crescimento micelial com partições dos galhos GA.

TABELA 4.70 - Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* após 30 dias do experimento com as partições dos galhos (GA) de *M. urundeuva*

| Réplicas             | GAH (cm <sup>2</sup> ) | GAD (cm <sup>2</sup> ) | GAA (cm <sup>2</sup> ) | Controle (cm <sup>2</sup> ) |
|----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------------|
| 1                    | 5,31                   | 3,87                   | 0,64                   | 5,06                        |
| 2                    | 7,16                   | 4,45                   | 0,64                   | 4,75                        |
| 3                    | 5,23                   | 4,01                   | 0,64                   | 5,72                        |
| 4                    | 5,31                   | 4,15                   | 0,64                   | 6,6                         |
| 5                    | 4,91                   | 4,37                   | 0,64                   | 5,81                        |
| <b>Média (áreas)</b> | 5,58                   | 4,17                   | 0,64                   | 5,59                        |
| <b>SD</b>            | 0,89                   | 0,24                   | 0                      | 0,72                        |
| <b>RSD</b>           | 16,1                   | 5,8                    | 0                      | 12,87                       |
| <b>Inibição</b>      | 0%                     | 25%                    | 89%                    | -                           |

Concentração das amostras: 100 µg/mL

#### 4.2.3.3.2. DERIVADOS DA LAUSONA (L1-L8) E SEUS COMPLEXOS Cu(Ln)<sub>2</sub>

As Figuras 4.280 e 4.281 e as Tabelas 4.71 e 4.72 mostram os resultados de inibição com os ligantes (L's) derivados da lausona e seus complexos observa-se que ao se complexar algumas substâncias tiveram suas atividades aumentadas significativamente, causando uma inibição no crescimento do fungo de

71% para  $\text{Cu}(\text{L2})_2$  enquanto que para seu ligante **L2** foi de 49%; 76% para  $\text{Cu}(\text{L3})_2$  enquanto que para seu ligante livre **L3** foi de 54% e para  $\text{Cu}(\text{L7})_2$  a porcentagem de inibição foi de 72% enquanto que para seu ligante livre **L7** foi de 44%; para  $\text{Cu}(\text{L6})_2$  houve um pequeno acréscimo 40% enquanto que para **L6** foi de 39%. Para os demais compostos não se observou um aumento na taxa de inibição quando complexado, o que demonstra que não é somente a presença do cobre responsável pelo acréscimo.

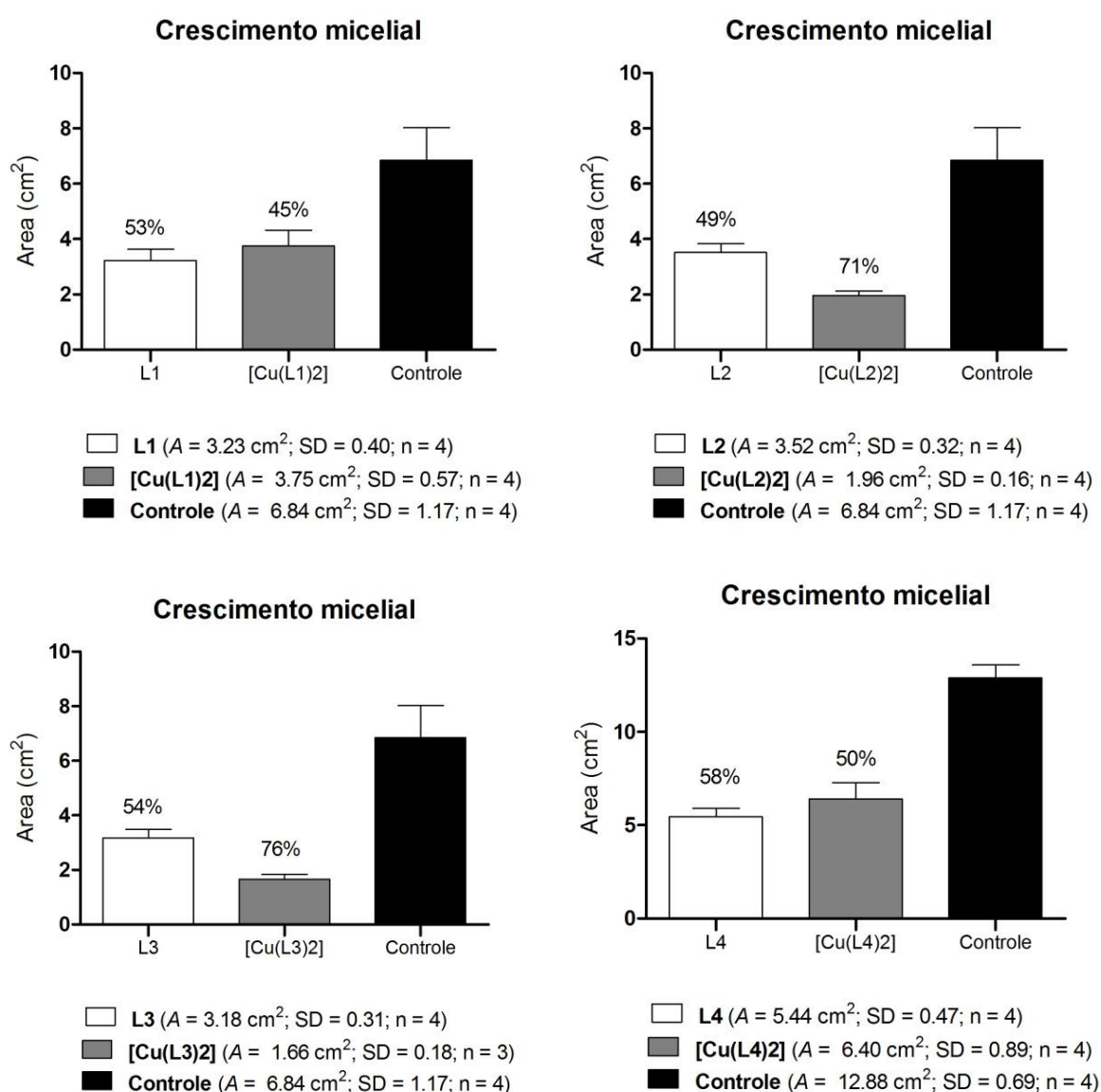


FIGURA 4.280 – Gráficos de crescimento micelial com as substâncias **L1 – L4** e seus complexos.

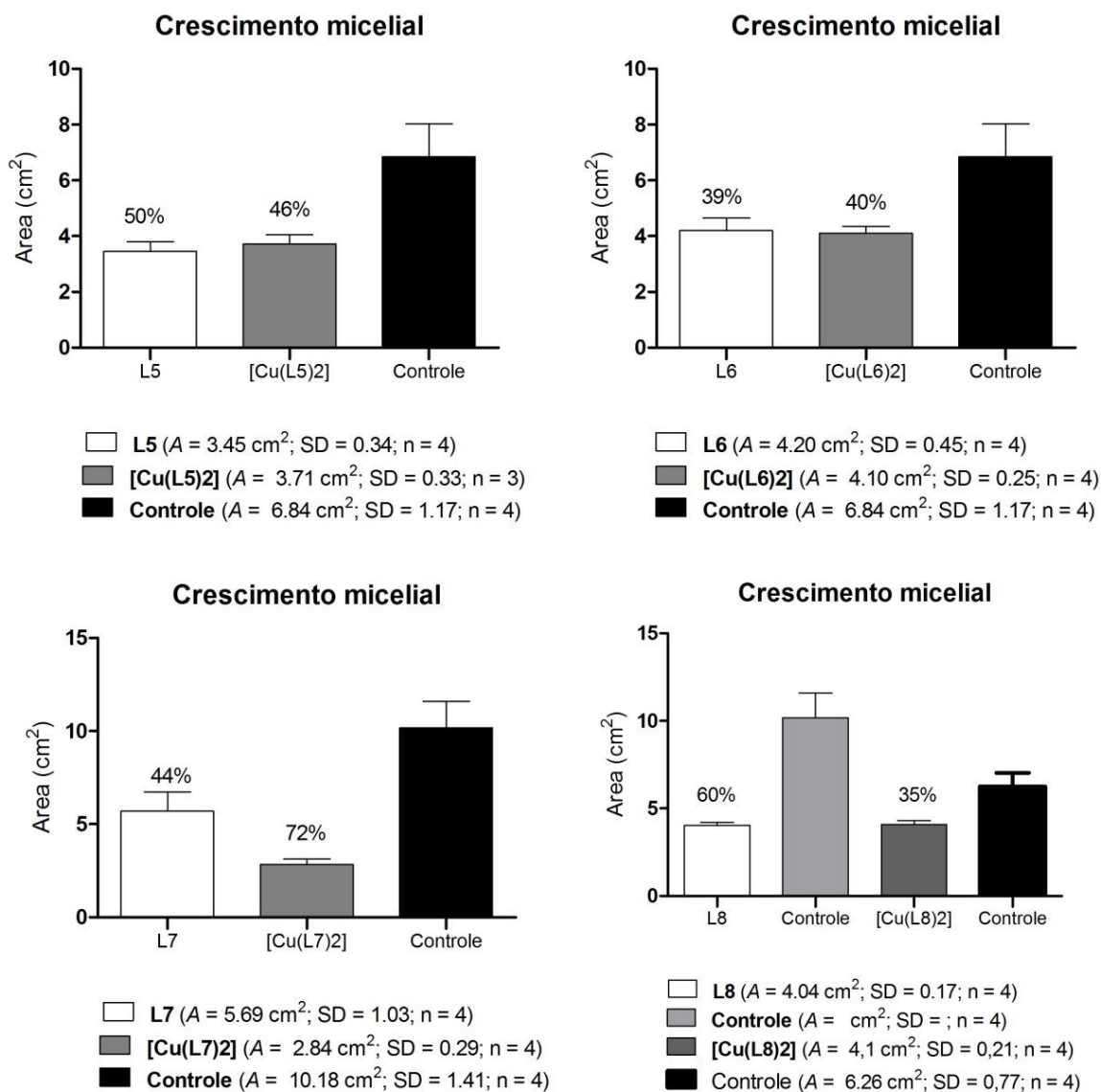


FIGURA 4.281 – Gráficos de crescimento micelial com as substâncias L5 – L6 e seus complexos.

TABELA 4.71 – Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* após 30 dias do experimento com as substâncias L1-L4 e seus complexos

| Réplicas     | L1 (cm <sup>2</sup> ) | [Cu(L1) <sub>2</sub> ] (cm <sup>2</sup> ) | L2 (cm <sup>2</sup> ) | [Cu(L2) <sub>2</sub> ] (cm <sup>2</sup> ) | L3 (cm <sup>2</sup> ) | [Cu(L3) <sub>2</sub> ] (cm <sup>2</sup> ) | L4 (cm <sup>2</sup> ) | [Cu(L4) <sub>2</sub> ] (cm <sup>2</sup> ) |
|--------------|-----------------------|---|-----------------------|---|-----------------------|---|-----------------------|---|
| 1            | 3,40                  | 4,52                                      | 3,33                  | 1,81                                      | 2,83                  | 1,54                                      | 5,89                  | 6,24                                      |
| 2            | 2,66                  | 3,80                                      | 2,54                  | 1,86                                      | 3,59                  | 1,86                                      | 5,72                  | 5,23                                      |
| 3            | 3,66                  | 2,66                                      | 3,94                  | 2,01                                      | 3,14                  | 1,58                                      | 5,31                  | 7,25                                      |
| 4            | 2,72                  | 3,20                                      | 3,20                  | 2,16                                      | 3,14                  | -   | 4,83                  | 6,88                                      |
| 5            | 3,14                  | 3,46                                      | 3,59                  | 2,01                                      | 2,83                  | -   | -                     | -   |
| <b>Média</b> | 3,11                  | 3,53                                      | 3,32                  | 1,97                                      | 3,11                  | 1,66                                      | 5,44                  | 6,40                                      |

| (áreas)         |       |       |       |      |       |       |      |       |
|-----------------|-------|-------|-------|------|-------|-------|------|-------|
| <b>SD</b>       | 0,43  | 0,69  | 0,52  | 0,14 | 0,31  | 0,18  | 0,47 | 0,89  |
| <b>RSD</b>      | 13,88 | 17,68 | 15,61 | 7,02 | 10,04 | 10,55 | 8,74 | 13,87 |
| <b>Inibição</b> | 54 %  | 48 %  | 51 %  | 71 % | 55 %  | 76 %  | 58 % | 50 %  |

Concentração das amostras: 100 µg/mL

TABELA 4.72 – Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* após 30 dias do experimento com as substâncias **L5-L8** e seus complexos

| Réplicas             | L5 (cm <sup>2</sup> ) | [Cu(L5) <sub>2</sub> ] (cm <sup>2</sup> ) | L6 (cm <sup>2</sup> ) | [Cu(L6) <sub>2</sub> ] (cm <sup>2</sup> ) | L7 (cm <sup>2</sup> ) | [Cu(L7) <sub>2</sub> ] (cm <sup>2</sup> ) | L8 (cm <sup>2</sup> ) | [Cu(L8) <sub>2</sub> ] (cm <sup>2</sup> ) |
|----------------------|-----------------------|---|-----------------------|---|-----------------------|---|-----------------------|---|
| 1                    | 3,33                  | 3,87                                      | 4,45                  | 4,01                                      | 6,88                  | 2,49                                      | 3,94                  | 4,15                                      |
| 2                    | 3,40                  | 3,33                                      | 4,67                  | 3,80                                      | 6,24                  | 3,14                                      | 3,87                  | 3,8                                       |
| 3                    | 3,14                  | 3,94                                      | 4,01                  | 4,23                                      | 4,91                  | 3,01                                      | 4,22                  | 4,3                                       |
| 4                    | 3,94                  | -   | 3,66                  | 4,37                                      | 4,75                  | 2,71                                      | 4,15                  | 4,1                                       |
| 5                    | -                     | -   | -                     | -   | -                     | -   | -                     | -   |
| <b>Média (áreas)</b> | 3,45                  | 3,71                                      | 4,20                  | 4,10                                      | 5,69                  | 2,84                                      | 4,04                  | 4,1                                       |
| <b>SD</b>            | 0,34                  | 0,33                                      | 0,45                  | 0,25                                      | 1,03                  | 0,29                                      | 0,17                  | 0,21                                      |
| <b>RSD</b>           | 9,92                  | 8,95                                      | 10,74                 | 6,11                                      | 18,17                 | 10,38                                     | 4,19                  | 5,13                                      |
| <b>Inibição</b>      | 50 %                  | 46 %                                      | 39 %                  | 40 %                                      | 44%                   | 72%                                       | 60%                   | 35%                                       |

Concentração das amostras: 100 µg/mL

#### 4.2.3.3.3. FLAVONÓIDES E SEUS COMPLEXOS DE COBRE

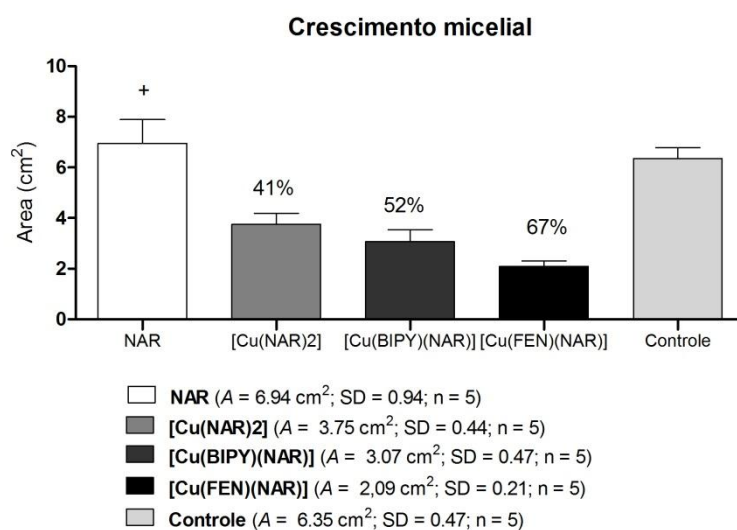


FIGURA 4.282 – Gráfico de crescimento micelial com as substâncias **NAR** e seus complexos

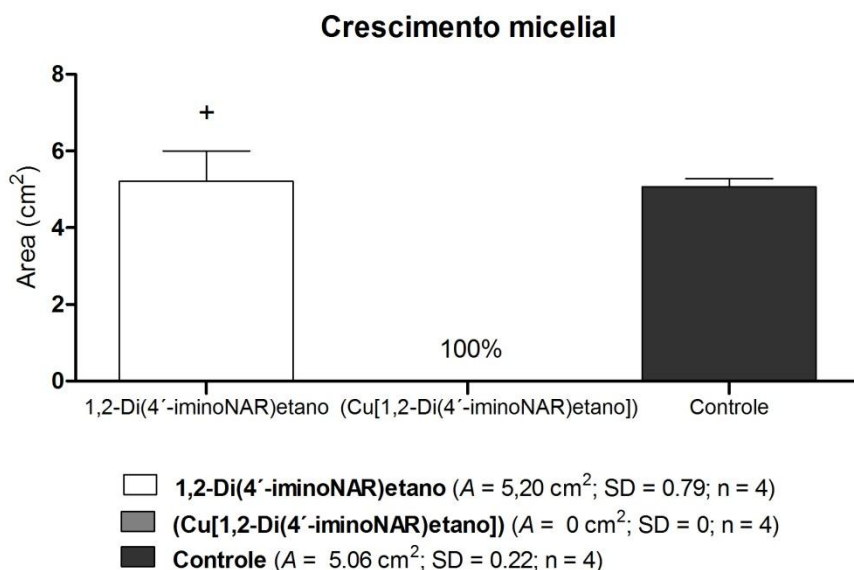


FIGURA 4.283 – Gráfico de crescimento micelial com as substâncias **1,2-Di-(4'-iminoNAR)-etano** e seu complexo.

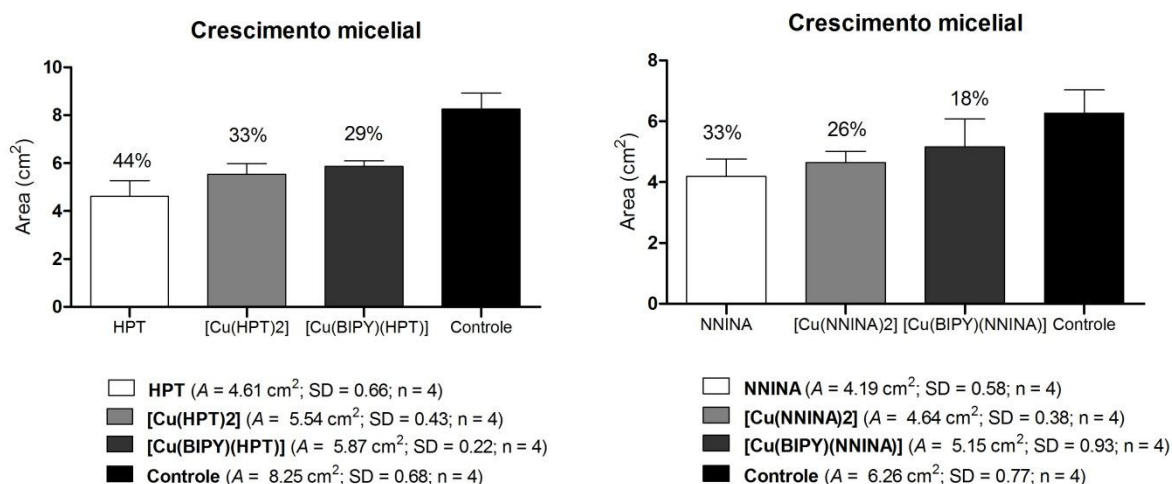


FIGURA 4.284 – Gráficos de crescimento micelial com as substâncias **NNINA** e **HPT** e seus complexos.

TABELA 4.73 – Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* após 30 dias do experimento com o flavonóide **NAR** e seus complexos

| Réplicas | NAR (cm²) | [Cu(NAR) <sub>2</sub> ] (cm²) | [Cu(BIPY)(NAR)] (cm²) | [Cu(FEN)(NAR)] (cm²) |
|----------|-----------|-------------------------------|-----------------------|----------------------|
| 1        | 7,45      | 3,59                          | 3,87                  | 2,27                 |
| 2        | 5,31      | 4,21                          | 2,89                  | 2,27                 |
| 3        | 6,97      | 3,14                          | 2,77                  | 1,77                 |
| 4        | 7,45      | 4,15                          | 2,71                  | 2,01                 |
| 5        | 7,54      | 3,66                          | 3,08                  | 2,16                 |



|                      |       |       |       |       |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|
| <b>Média (áreas)</b> | 6,94  | 3,75  | 3,07  | 2,09  |
| <b>SD</b>            | 0,94  | 0,44  | 0,47  | 0,21  |
| <b>RSD</b>           | 13,56 | 11,85 | 15,31 | 10,13 |
| <b>Inibição</b>      | -9%   | 41%   | 52%   | 67%   |

Concentração das amostras: 100 µg/mL

As **Figuras 4.282 e 4.283** e as **Tabelas 4.73 e 4.76** mostram os resultados de inibição com o Flavonóide **NAR** e seus complexos; observa-se que o Flavonóide não causou inibição no crescimento micelial mas um ligeiro aumento no crescimento ao se complexar observa-se que há um aumento na porcentagem de inibição sendo de 41% para **Cu(NAR)<sub>2</sub>**; 52% para **Cu(BIPY)(NAR)** e 67% para **Cu(FEN)(NAR)** um resultado bem interessante foi seu derivado Imínico, onde o ligante livre não apresentou inibição mas ao se complexar não houve crescimento micelial na concentração de 100 µg/mL.

A **Figura 4.284** e as **Tabelas 4.74 e 4.75** mostram os resultados para os flavonóides **NAR** e **HPT** e seus complexos, não se observou atividade fungitóxica ao se complexar estas substâncias, ficando seus flavonóides mais ativos do que seus complexos.

TABELA 4.74 – Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* após 30 dias do experimento com o flavonóide **NNINA** e seus complexos

| Réplicas             | <b>NNINA (cm<sup>2</sup>)</b> | <b>[Cu(NNINA)<sub>2</sub>] (cm<sup>2</sup>)</b> | <b>[Cu(BIPY)(NNINA)] (cm<sup>2</sup>)</b> |
|----------------------|-------------------------------|---|---|
| <b>1</b>             | 4,67                          | 5,06  | 4,37                                      |
| <b>2</b>             | 3,53                          | 4,45  | 6,33                                      |
| <b>3</b>             | 3,87                          | 4,83  | 5,47                                      |
| <b>4</b>             | 4,67                          | 4,23  | 4,45                                      |
| <b>Média (áreas)</b> | 4,19                          | 4,64  | 5,15                                      |
| <b>SD</b>            | 0,58                          | 0,38  | 0,93                                      |
| <b>RSD</b>           | 13,85                         | 8,11  | 18,05                                     |
| <b>Inibição</b>      | 33%                           | 26%   | 18%                                       |

Concentração das amostras: 100 µg/mL

TABELA 4.75 – Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* após 30 dias do experimento com o flavonóide **HPT** e seus complexos

| Réplicas             | HPT (cm <sup>2</sup> ) | [Cu(HPT) <sub>2</sub> ] (cm <sup>2</sup> ) | [Cu(BIPY)(HPT)] (cm <sup>2</sup> ) |
|----------------------|------------------------|--|------------------------------------|
| 1                    | 4,6                    | 5,72                                       | 6,07                               |
| 2                    | 4,52                   | 5,14                                       | 5,98                               |
| 3                    | 5,47                   | 5,23                                       | 5,55                               |
| 4                    | 3,87                   | 6,07                                       | 5,89                               |
| <b>Média (áreas)</b> | 4,61                   | 5,54                                       | 5,87                               |
| <b>SD</b>            | 0,66                   | 0,43                                       | 0,22                               |
| <b>RSD</b>           | 14,26                  | 7,84                                       | 6,07                               |
| <b>Inibição</b>      | 44%                    | 33%  | 5,98                               |

Concentração das amostras: 100 µg/mL

TABELA 4.76 – Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* após 30 dias do experimento com o derivado **Imínico 1,2-Di-(4'-iminoNAR)-etano** e seu complexo

| Réplicas             | 1,2-Di-(4'-iminoNAR)-etano (cm <sup>2</sup> ) | Cu[1,2-Di-(4'-iminoNAR)-etano] (cm <sup>2</sup> ) |
|----------------------|---|---|
| 1                    | 5,06  | 0,0   |
| 2                    | 4,23  | 0,0   |
| 3                    | 6,15  | 0,0   |
| 4                    | 5,39  | 0,0   |
| <b>Média (áreas)</b> | 5,20  | 0,00  |
| <b>SD</b>            | 0,79  | 0,00  |
| <b>RSD</b>           | 15,33   | 0,00  |
| <b>Inibição</b>      | -3  | 100%  |

Concentração das amostras: 100 µg/mL

A **Figura 4.85** e a **Tabela 4.77** mostram os resultados utilizando acetato de cobre, onde se observa que obteve baixa atividade inibitória, ocasionando apenas 30% de inibição no crescimento micelial.

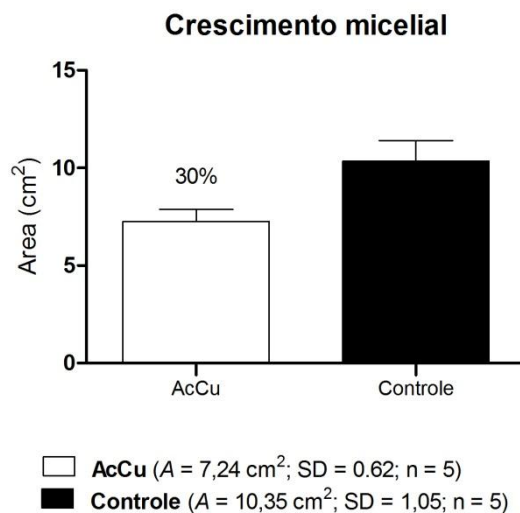


FIGURA 4.285 – Gráfico de crescimento micelial com Acetato de Cobre.

TABELA 4.77 – Médias das áreas do crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* após 30 dias do experimento com AcCu

| Réplicas             | AcCu (cm <sup>2</sup> ) | Controle (cm <sup>2</sup> ) |
|----------------------|-------------------------|-----------------------------|
| 1                    | 6,42                    | 9,83                        |
| 2                    | 7,94                    | 9,28                        |
| 3                    | 7,25                    | 11,81                       |
| 4                    | 6,88                    | 9,72                        |
| 5                    | 7,74                    | 11,09                       |
| <b>Média (áreas)</b> | 7,24                    | 10,35                       |
| <b>SD</b>            | 0,62                    | 1,05                        |
| <b>RSD</b>           | 8,56                    | 10,23                       |
| <b>Inibição</b>      | 30%                     |                             |

Concentração das amostras: 100 µg/mL

## APÊNDICE - I

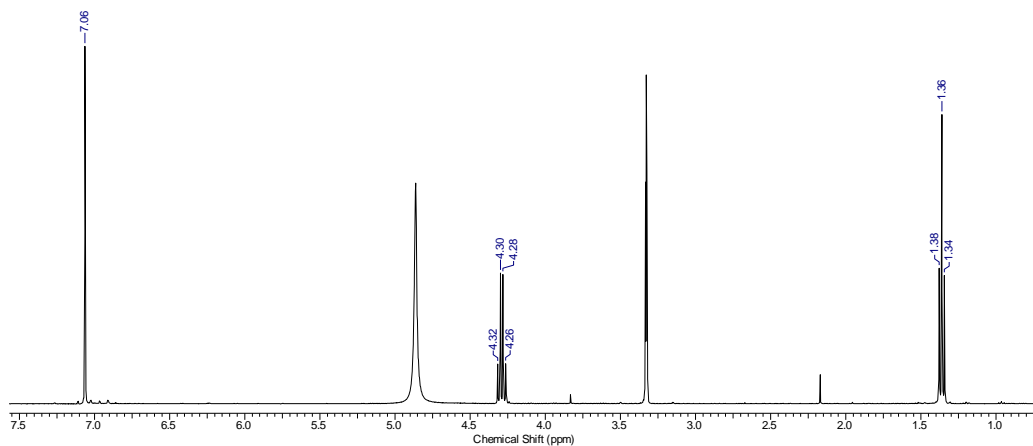


FIGURA 4.1 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **FA1** (MeOD-*d*4, 400MHz).

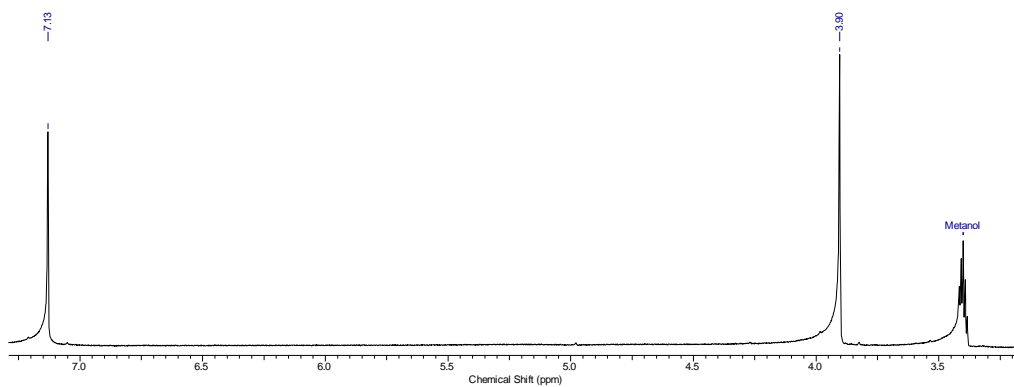


FIGURA 4.2 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **FA2** (MeOD-*d*4, 200 MHz).

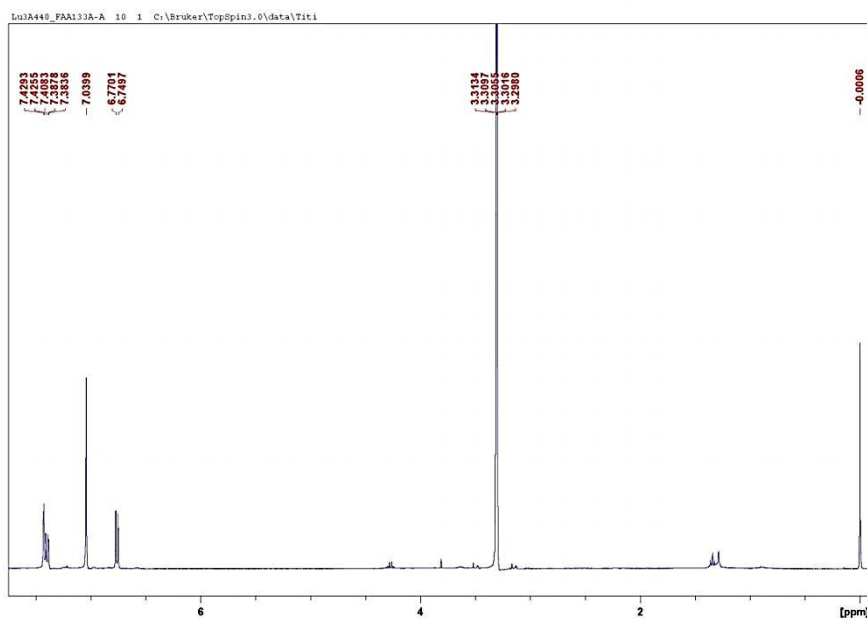


FIGURA 4.3 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **FA3** (MeOD-*d*4, 400 MHz).

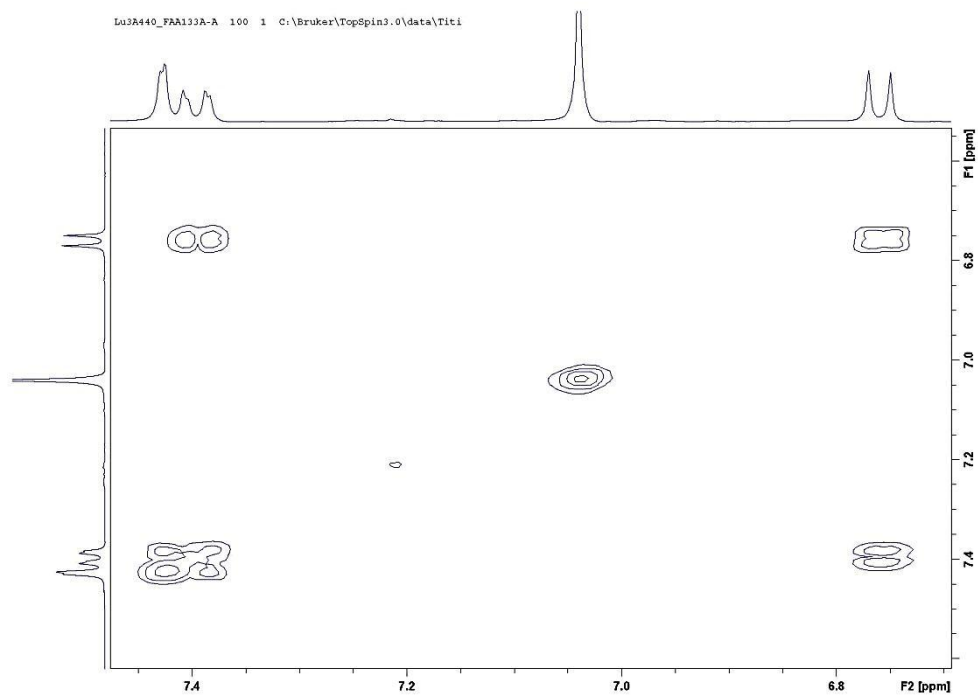


FIGURA 4.4 – Mapa de correlações H-H COSY da substância **FA3** (MeOD-*d*4, 400 MHz).

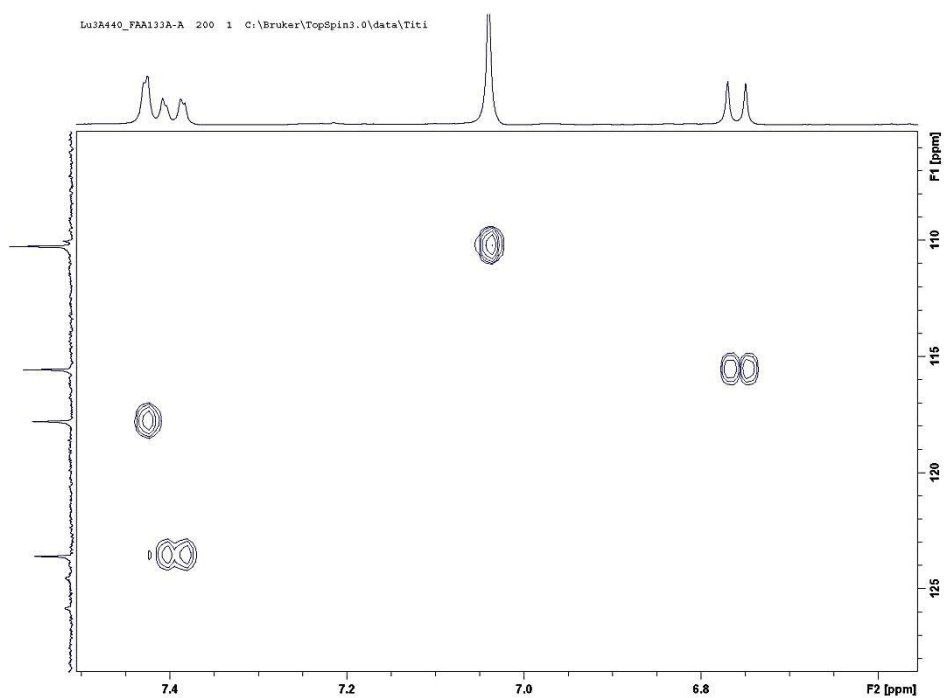


FIGURA 4.5 - Mapa de contorno HSQC da substância **FA3** (MeOD-*d*4, 400 MHz).

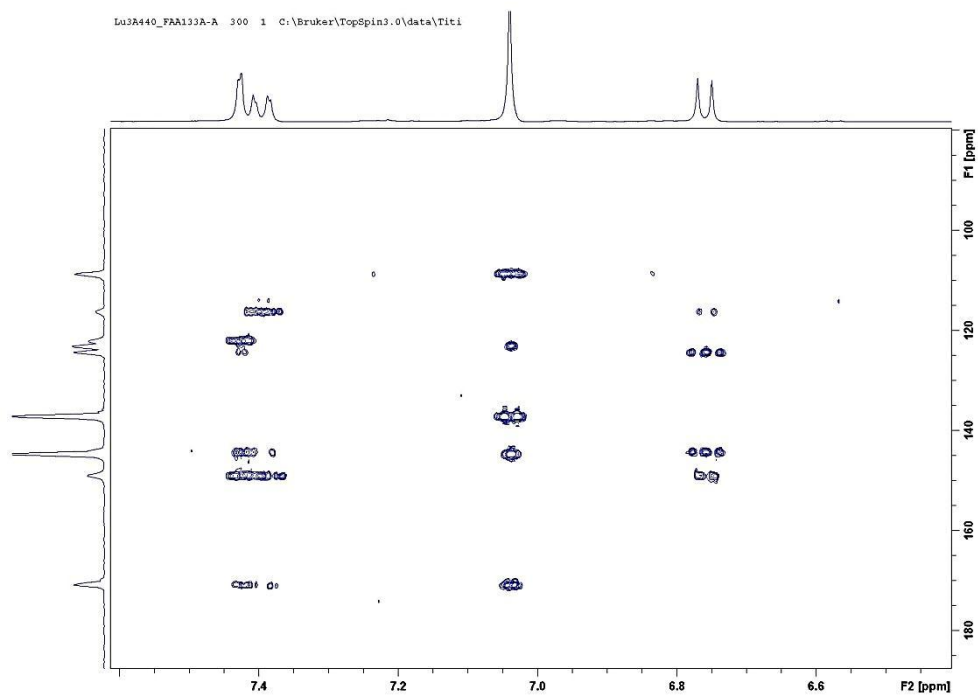


FIGURA 4.6 - Mapa de contorno HMBC da substância **FA3** (MeOD-*d*4, 400 MHz).

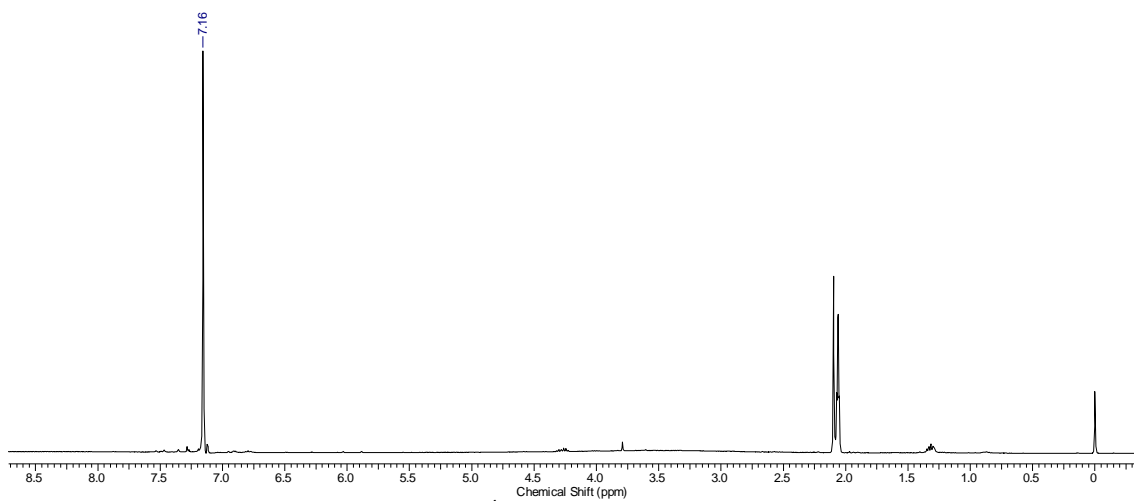


FIGURA 4.7 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **FA4** (MeOD-*d*4, 400 MHz).

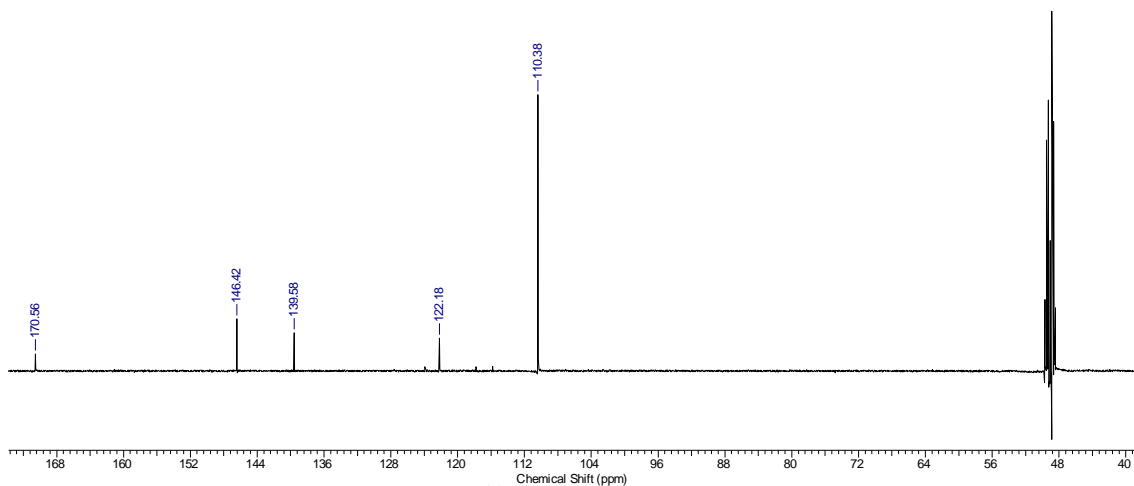


FIGURA 4.8 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância **FA4** (MeOD- $d_4$ , 400 MHz).

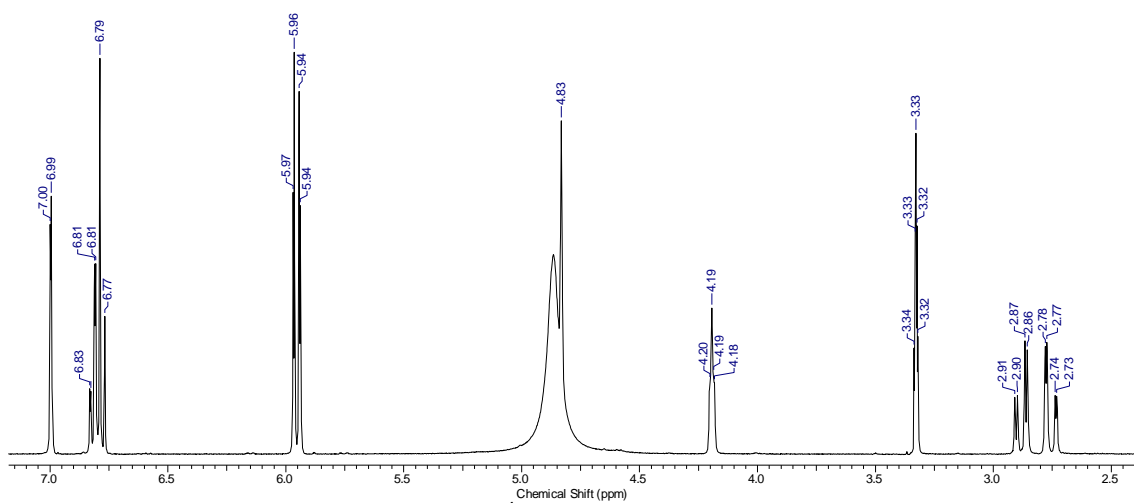


FIGURA 4.15 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **FA7** (MeOD- $d_4$ , 400MHz).

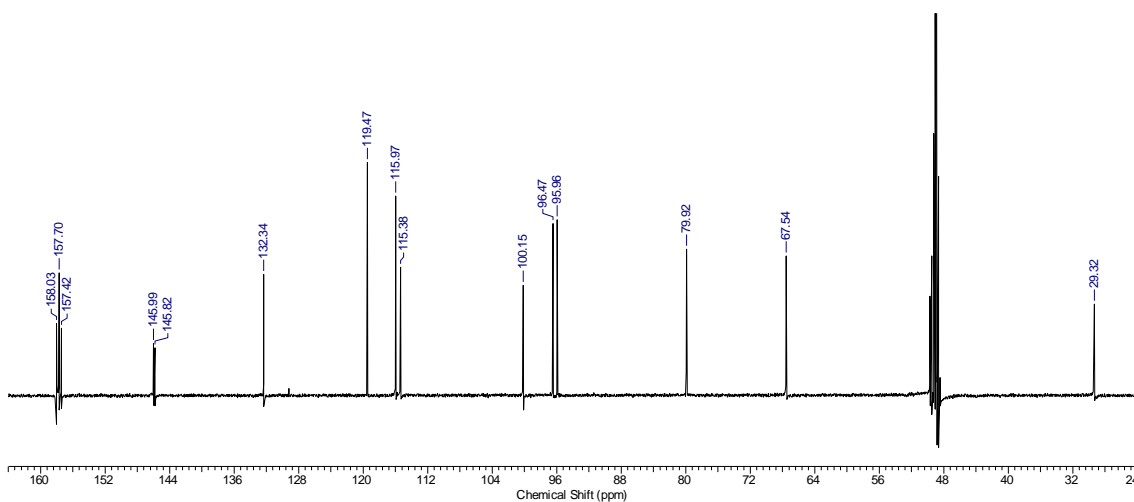


FIGURA 4.16 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância **FA7** (MeOD- $d_4$ , 100MHz).

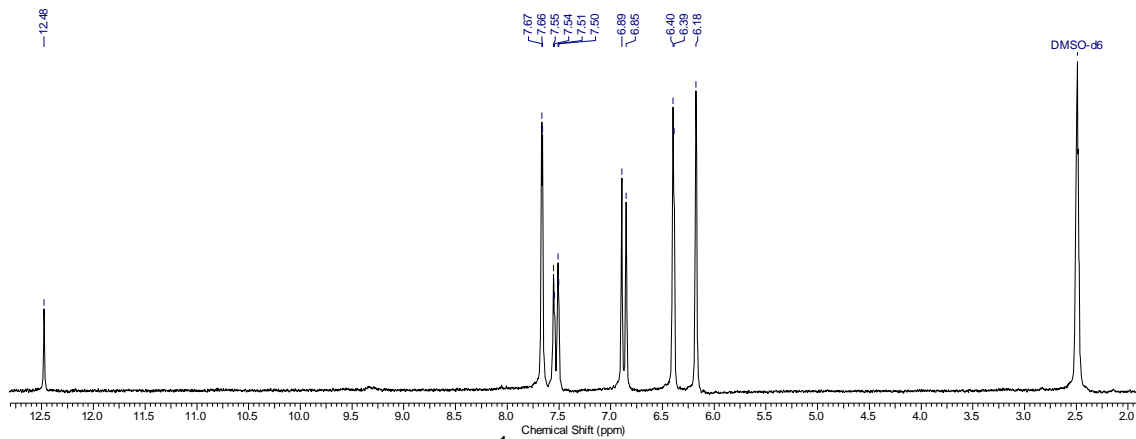


FIGURA 4.17 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **FA8** (DMSO- $d_6$ , 200 MHz).

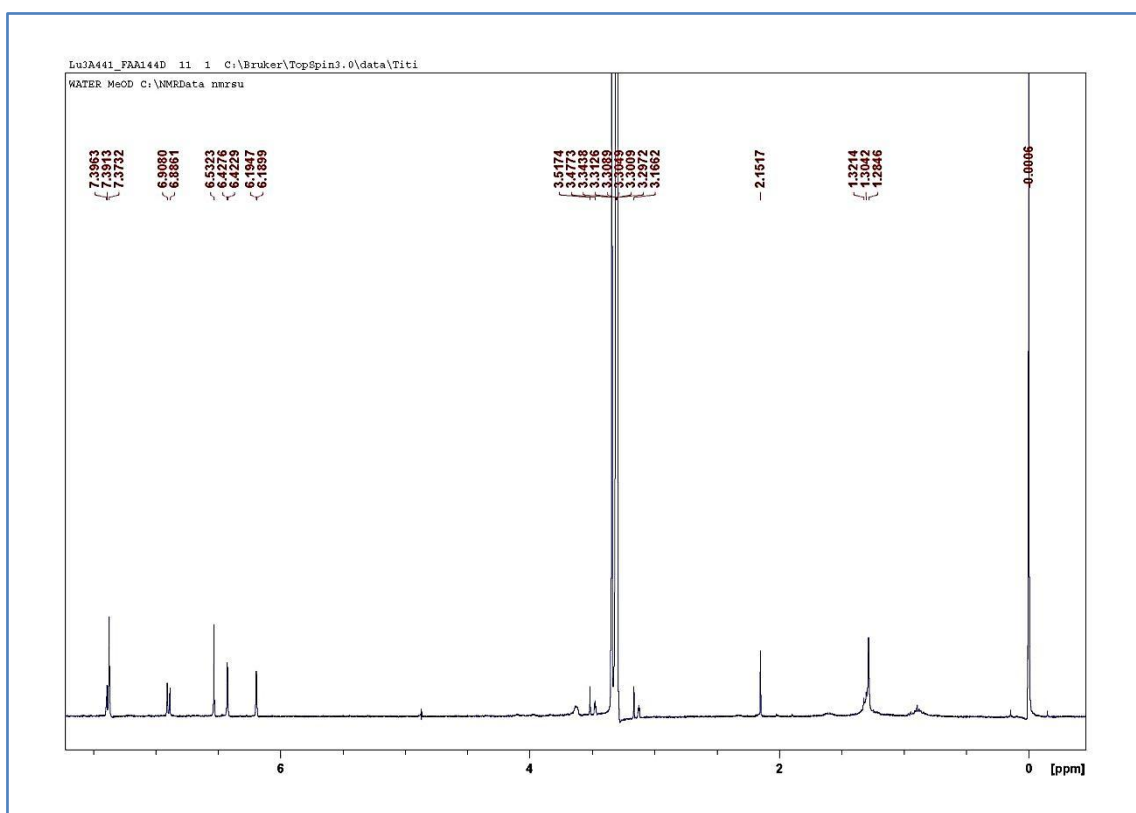


FIGURA 4.18 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **FA9** (MeOD- $d_4$ , 400 MHz).



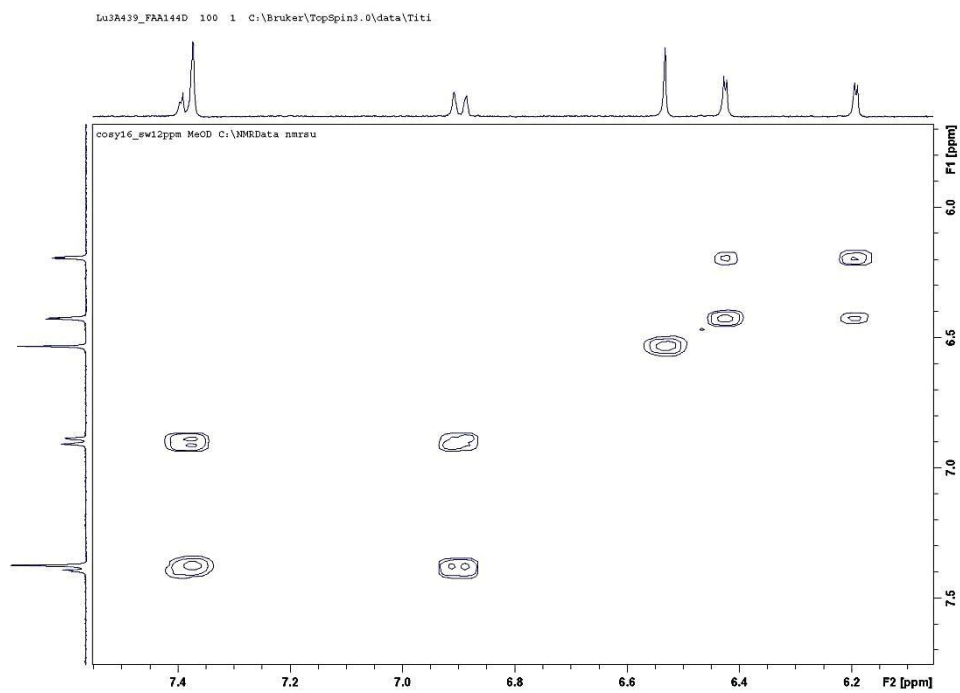


FIGURA 4.19 – Mapa de acoplamentos H-H COSY da substância **FA9** (MeOD-*d*4, 400 MHz).

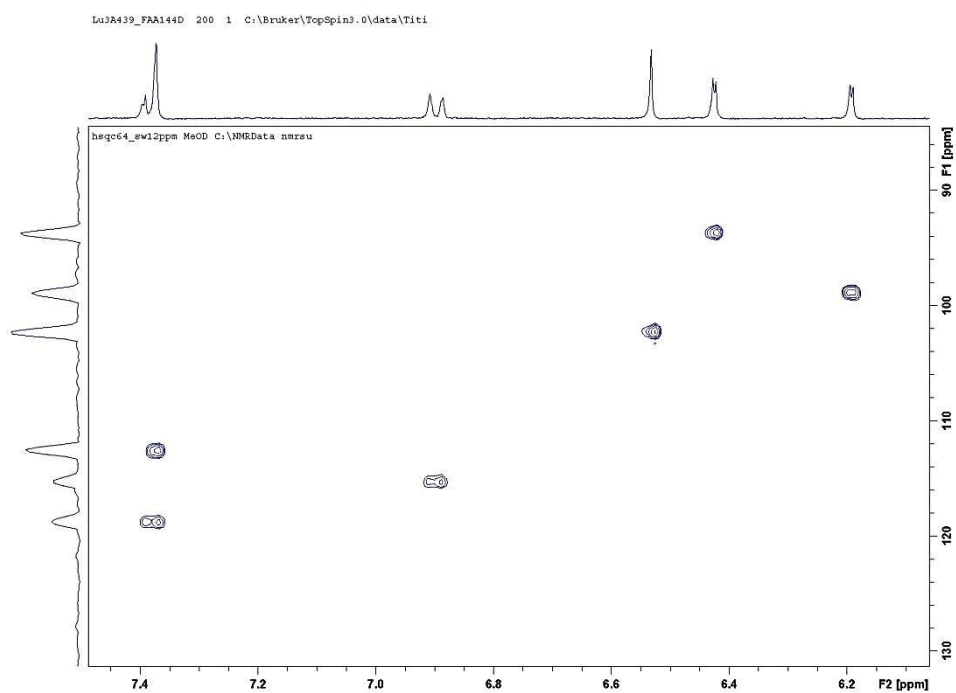


FIGURA 4.20 – Mapa de contorno HSQC da substância **FA9** (MeOD-*d*4, 400 MHz).

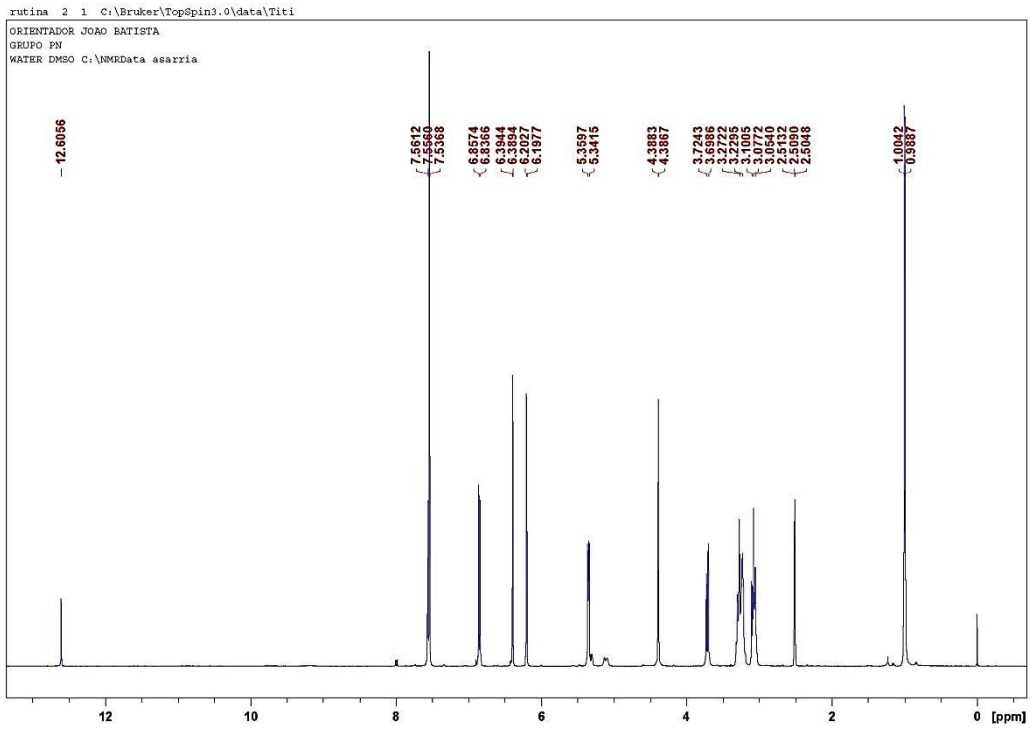


FIGURA 4.35 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **FA13** (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

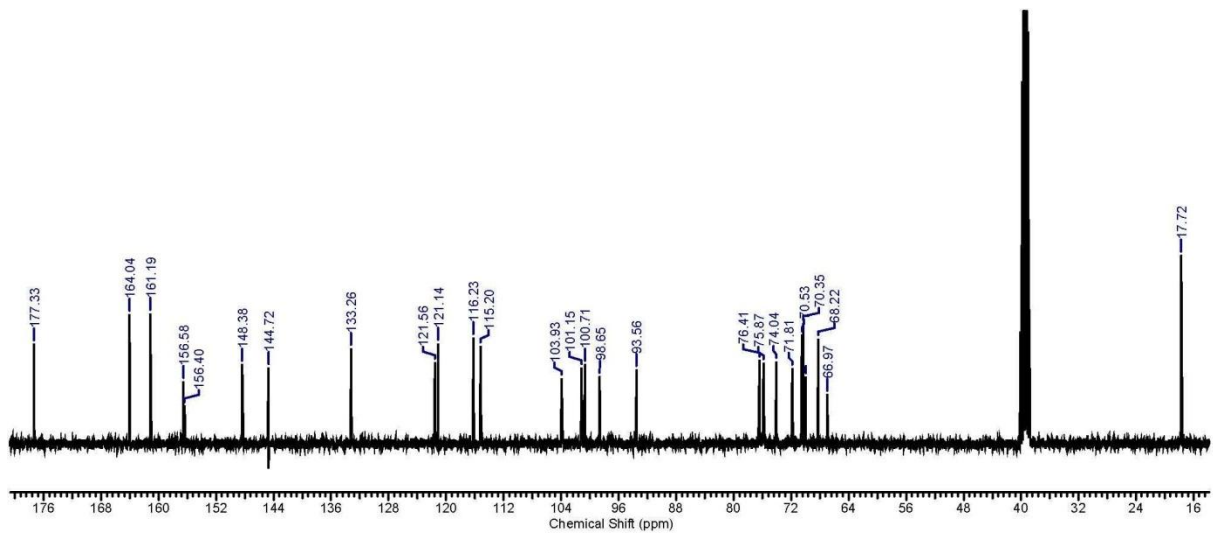


FIGURA 4.36 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância **FA13** (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

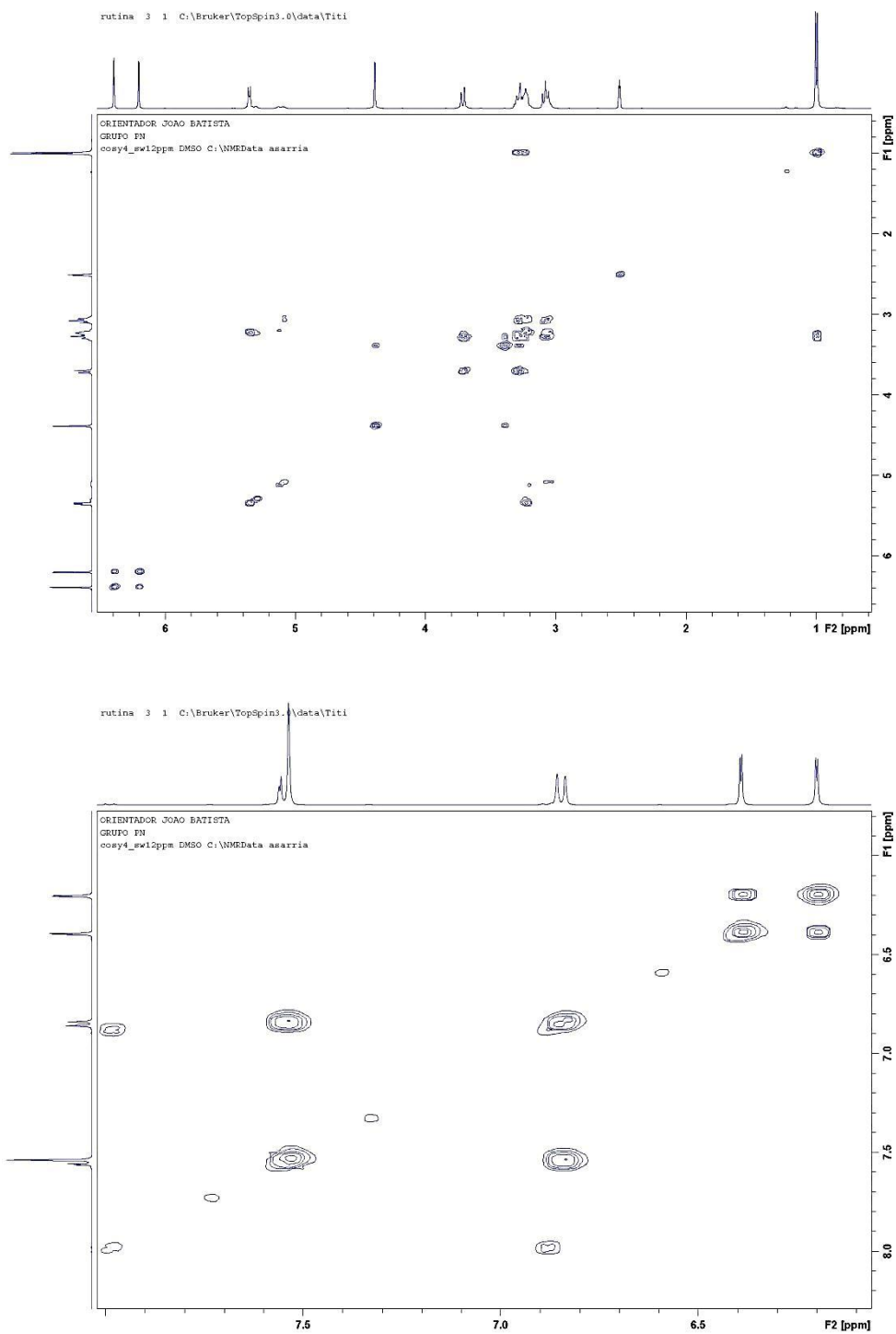


FIGURA 4.37 – Mapa de acoplamentos H-H COSY (com ampliação) da substância **FA13** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

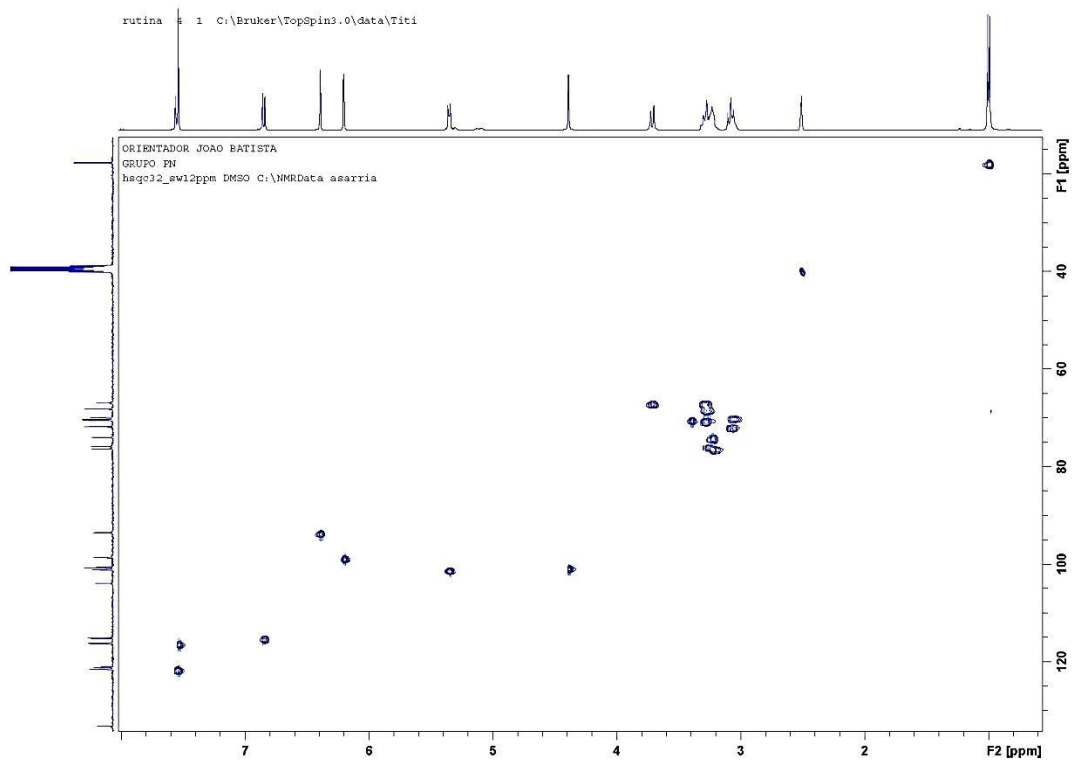


FIGURA 4.38 - Mapa de contorno HSQC da substância **FA13** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

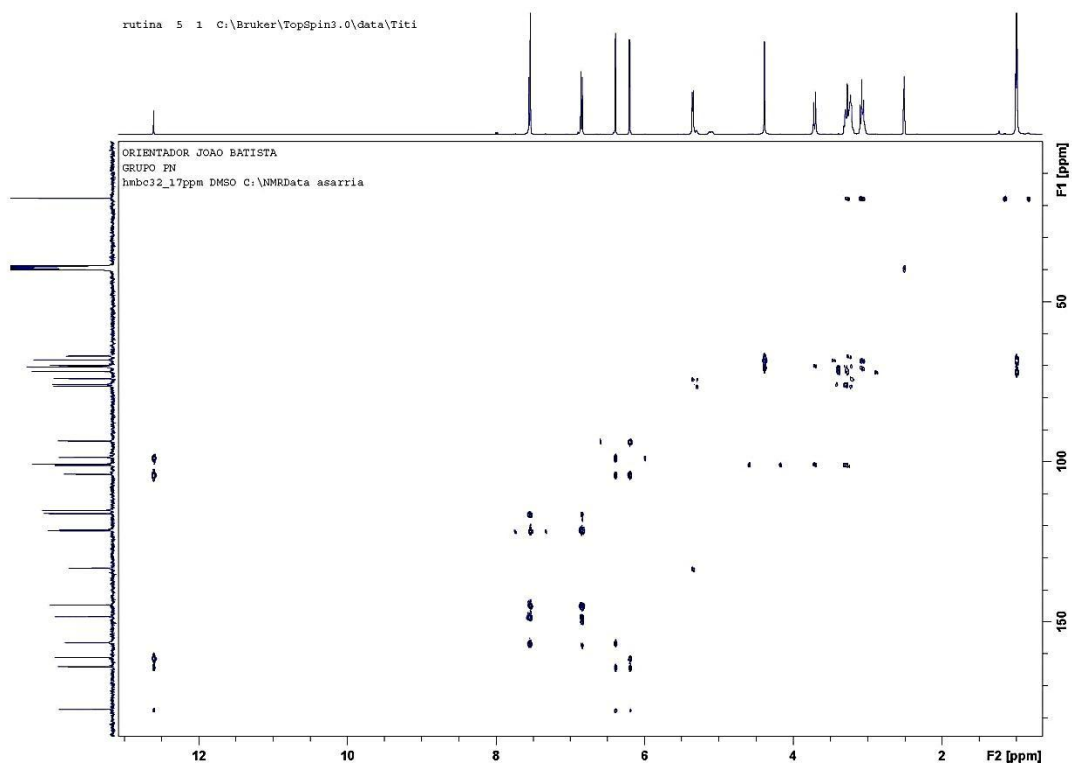


FIGURA 4.39 - Mapa de contorno HMBC da substância **FA13** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

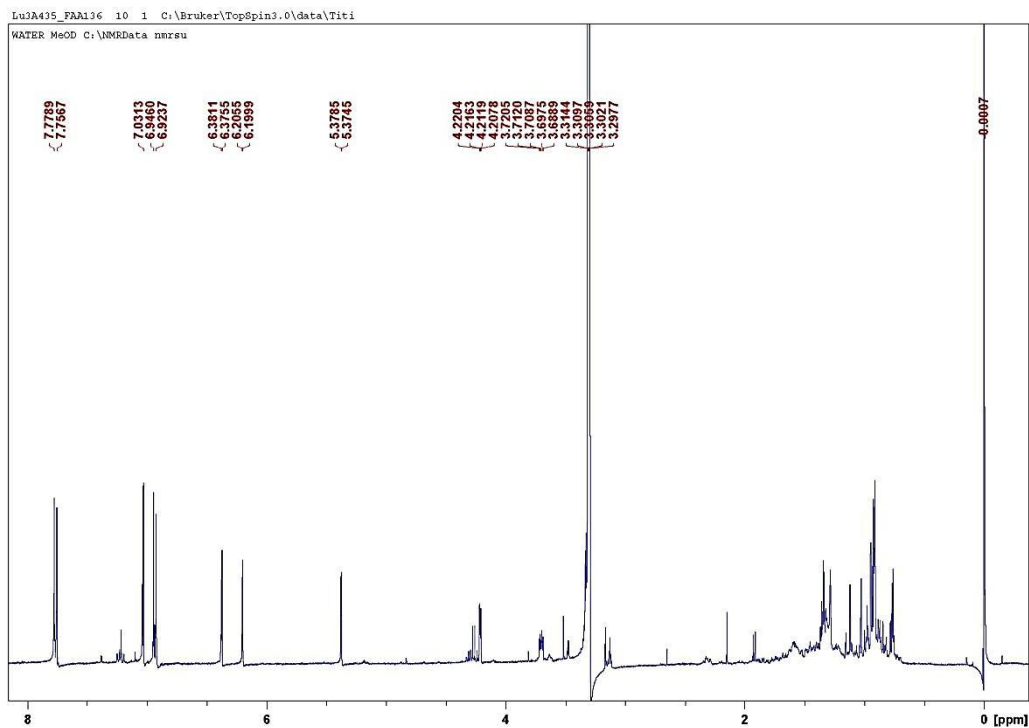


FIGURA 4.40 –Espectro RMN  $^1\text{H}$  da substância **FA14** (MeOD- $d_4$ ; 400 MHz).

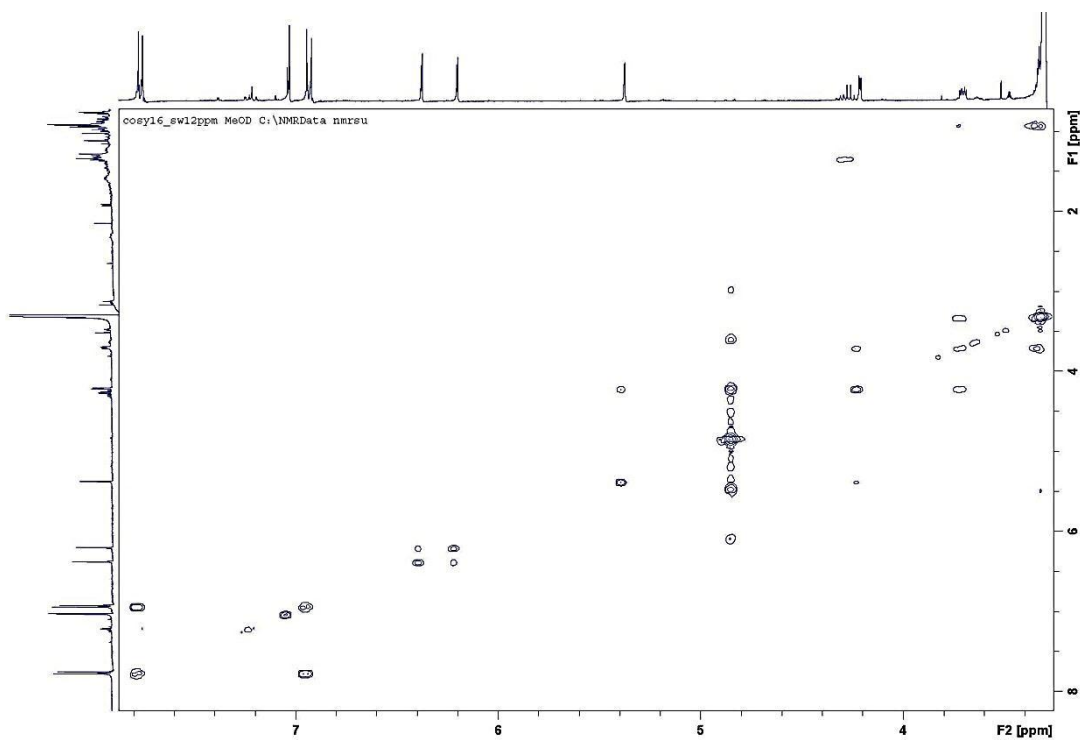


FIGURA 4.41 – Espectro de acoplamentos H-H COSY da substância **FA14** (MeOD- $d_4$ ; 400 MHz).

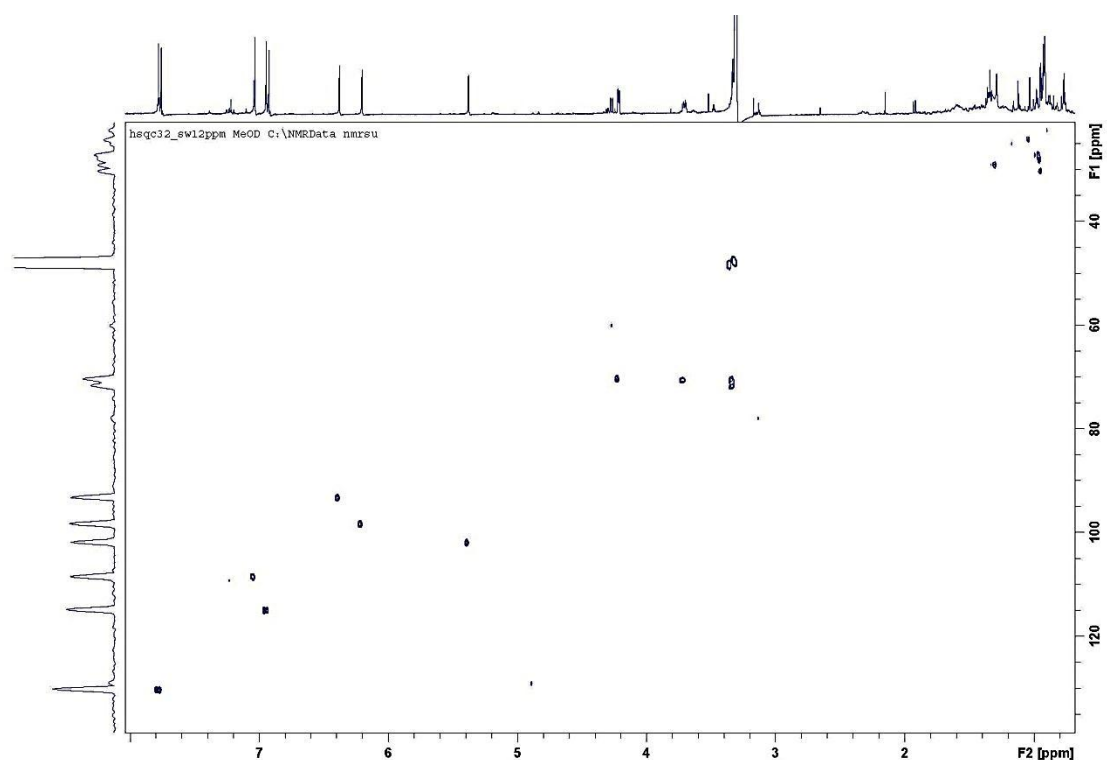


FIGURA 4.42 – Mapa de contorno HSQC da substância **FA14** (MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

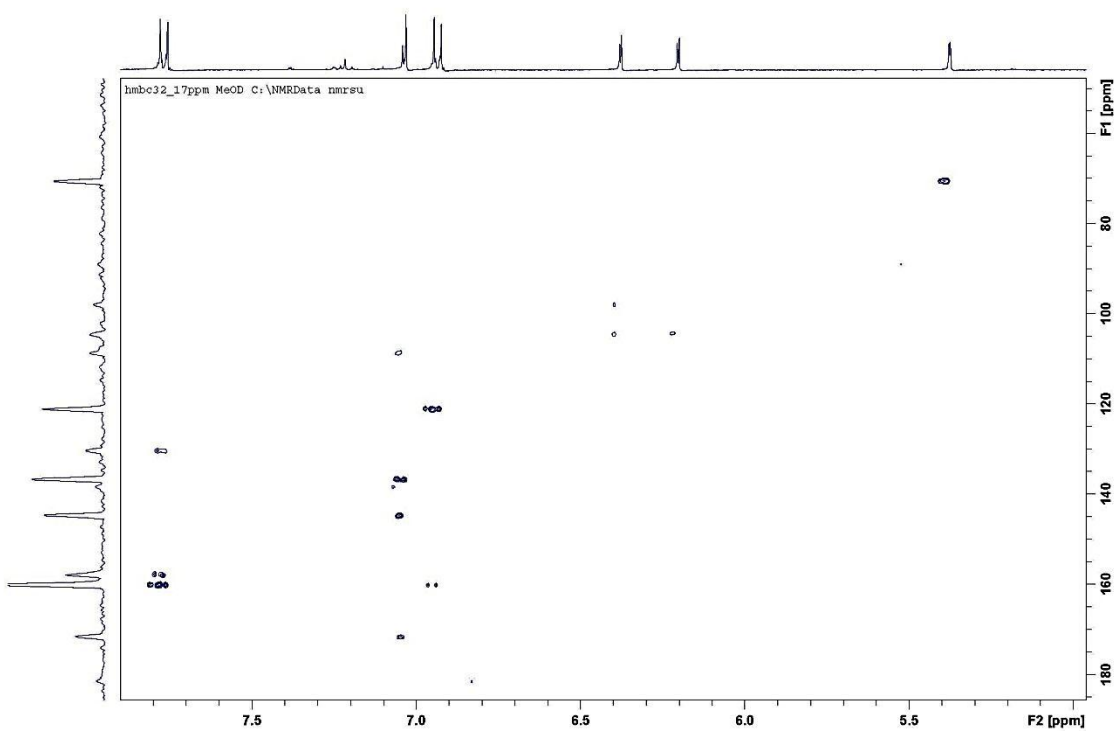


FIGURA 4.43 – Mapa de contorno HMBC (ampliação) da substância **FA14** (MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

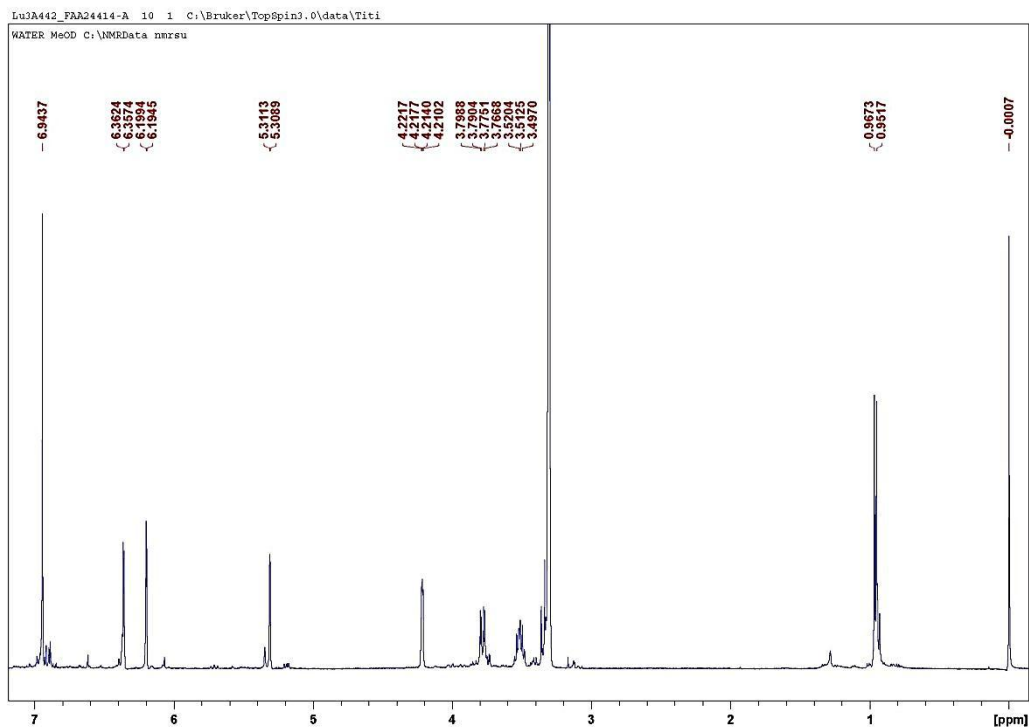


FIGURA 4.44 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **FA15** (MeOD- $d_4$ ; 400 MHz).

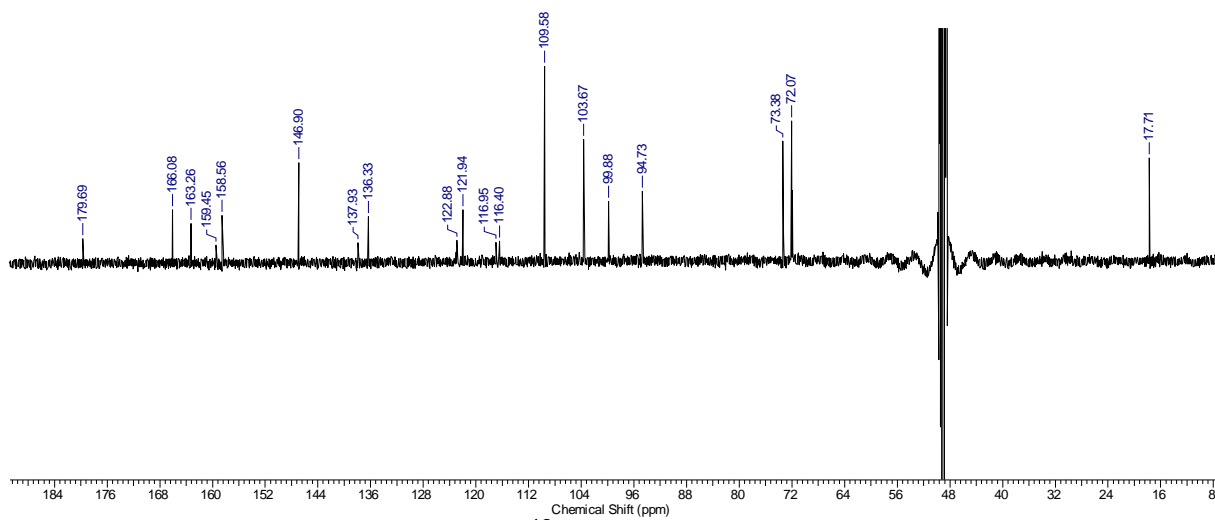


FIGURA 4.45 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância **FA15** (MeOD- $d_4$ ; 100 MHz).

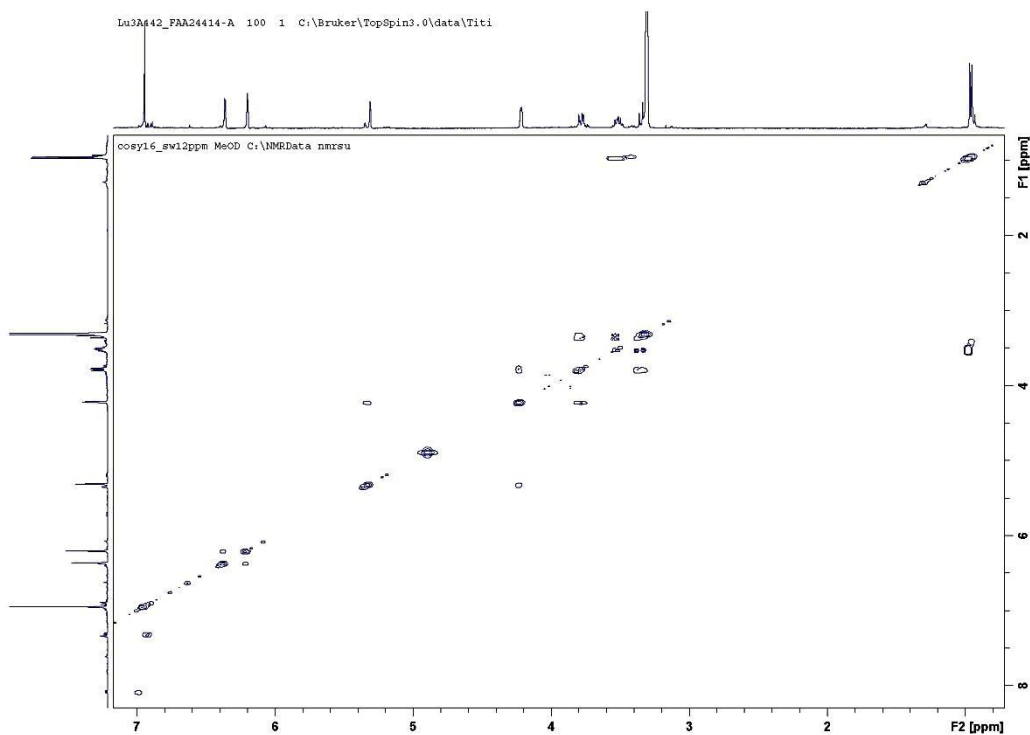


FIGURA 4.46 – Mapa de acoplamentos H-H COSY da substância **FA15**(MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

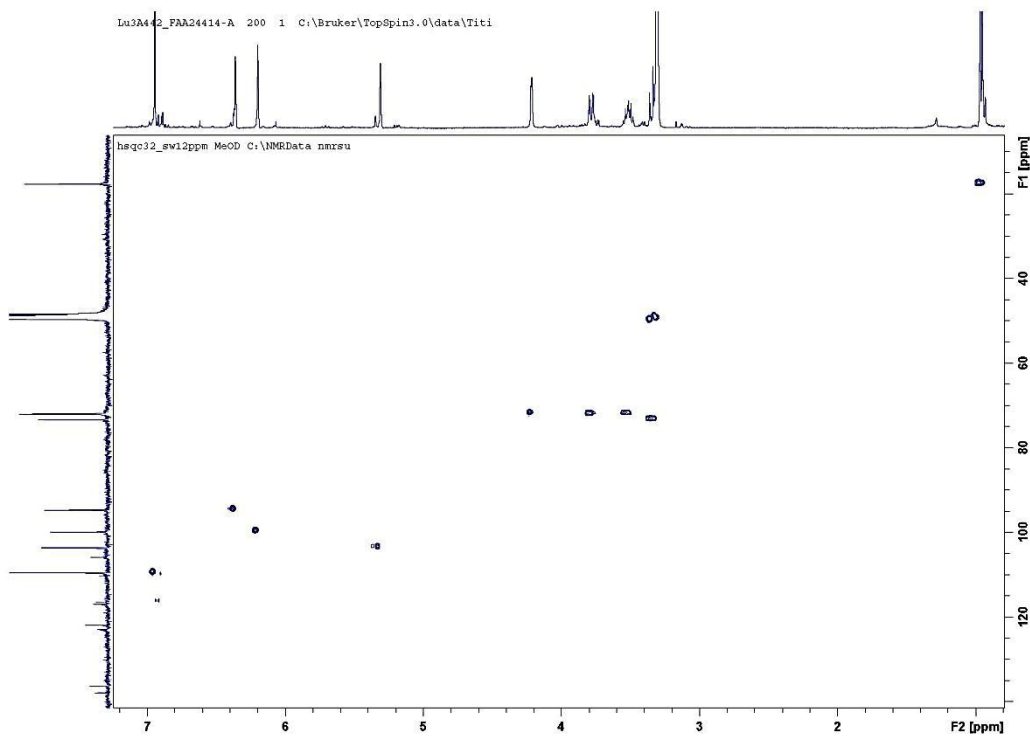


FIGURA 4.47 – Mapa de contorno HSQC da substância **FA15**(MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).



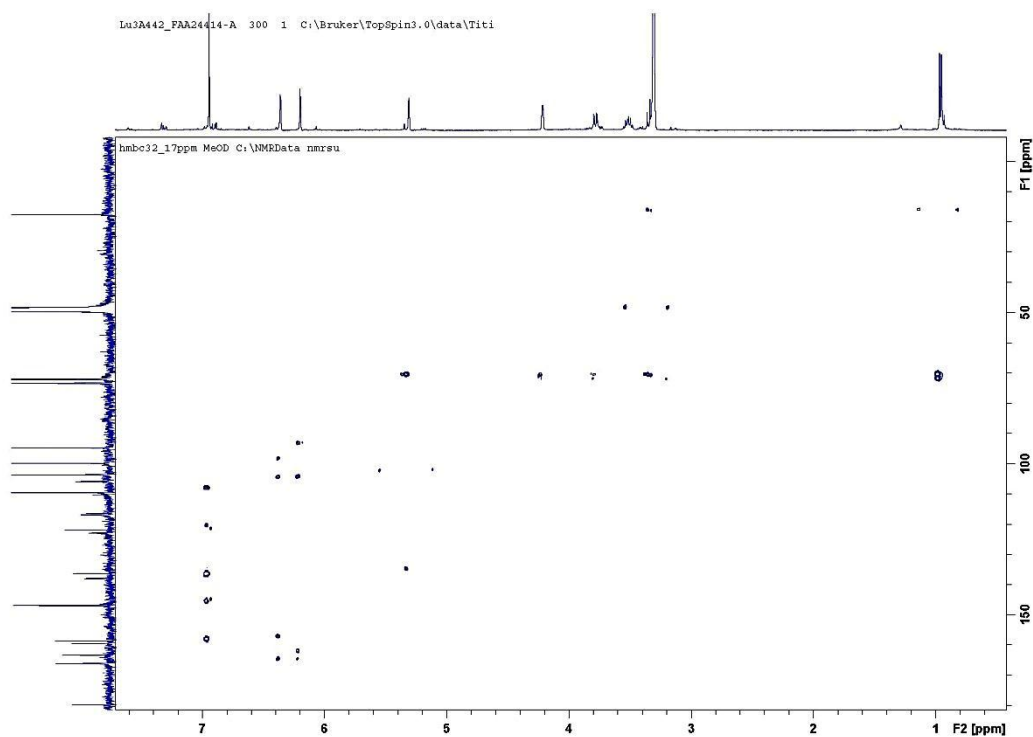


FIGURA 4.48 – Mapa de contorno HMBC da substância **FA15**(MeOD-*d*4; 400 MHz).

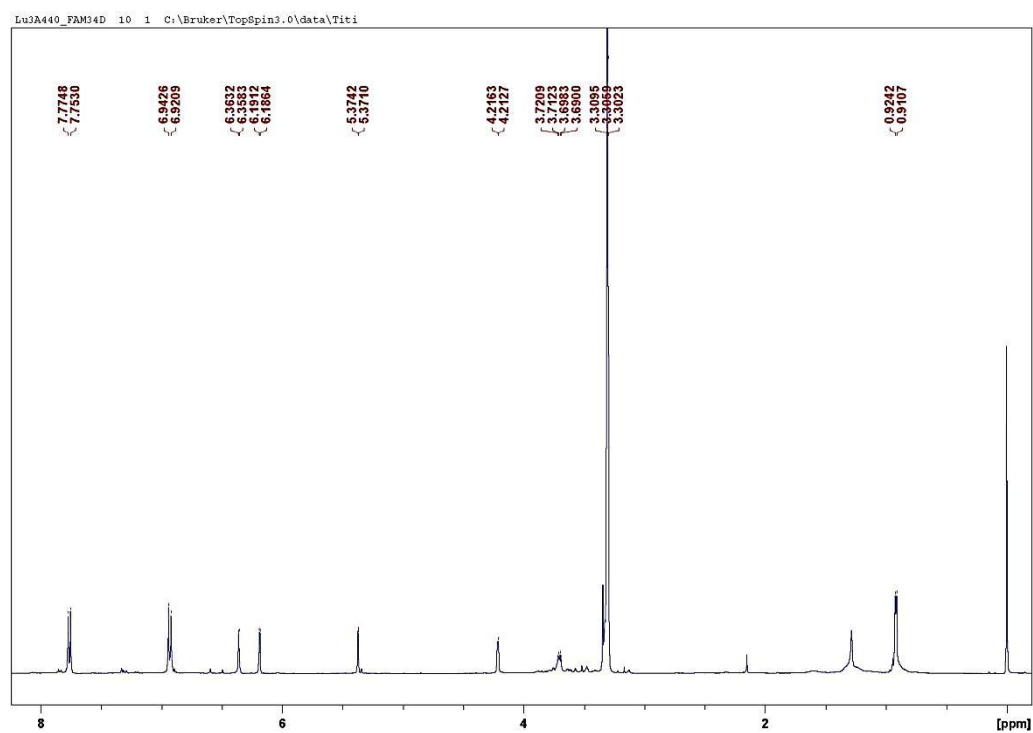


FIGURA 4.49 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **FA16** (MeOD-*d*4, 400 MHz).

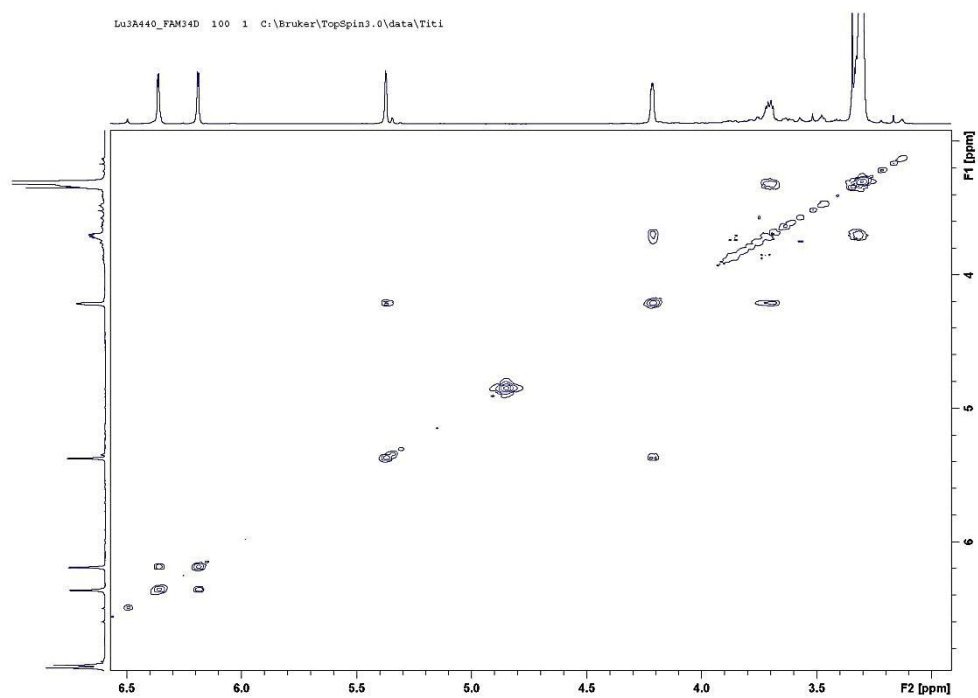
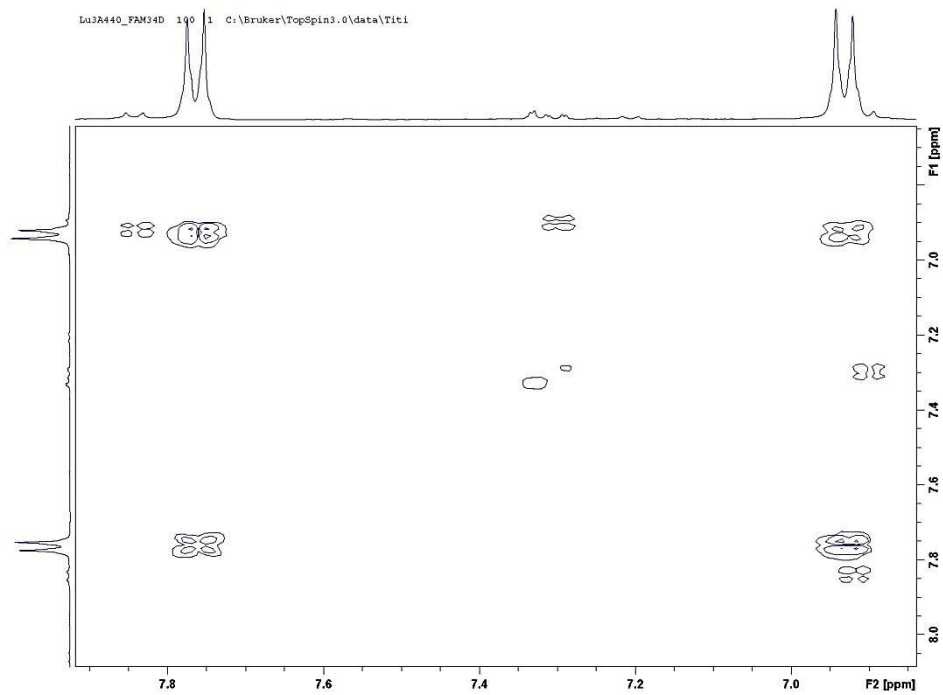


FIGURA 4.50 – Mapa de acoplamentos H-H COSY (ampliado em duas partes) da substância **FA16**(MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

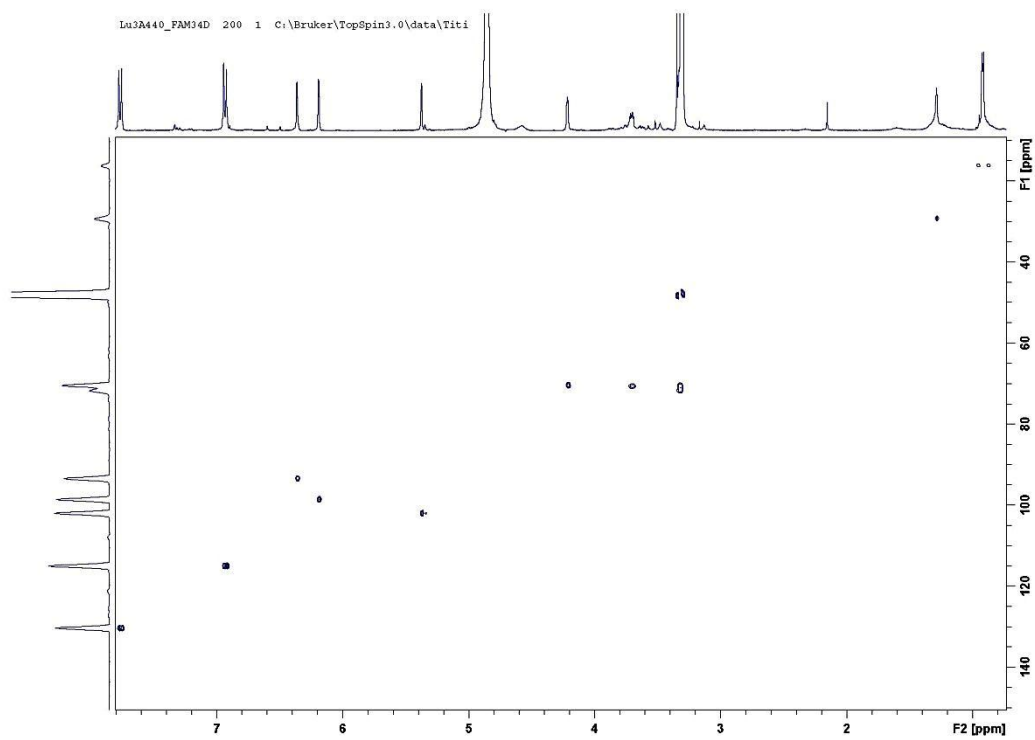


FIGURA 4.51 – Mapa de contorno HSQC da substância **FA16**(MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

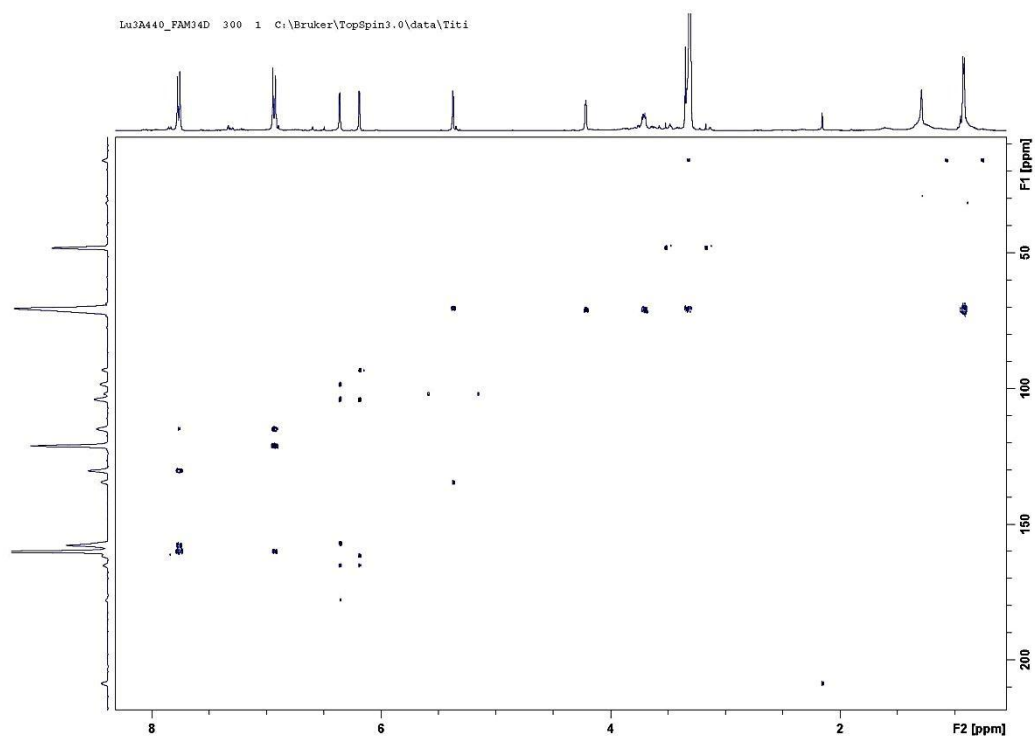


FIGURA 4.52 – Mapa de contorno HMBC da substância **FA16**(MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

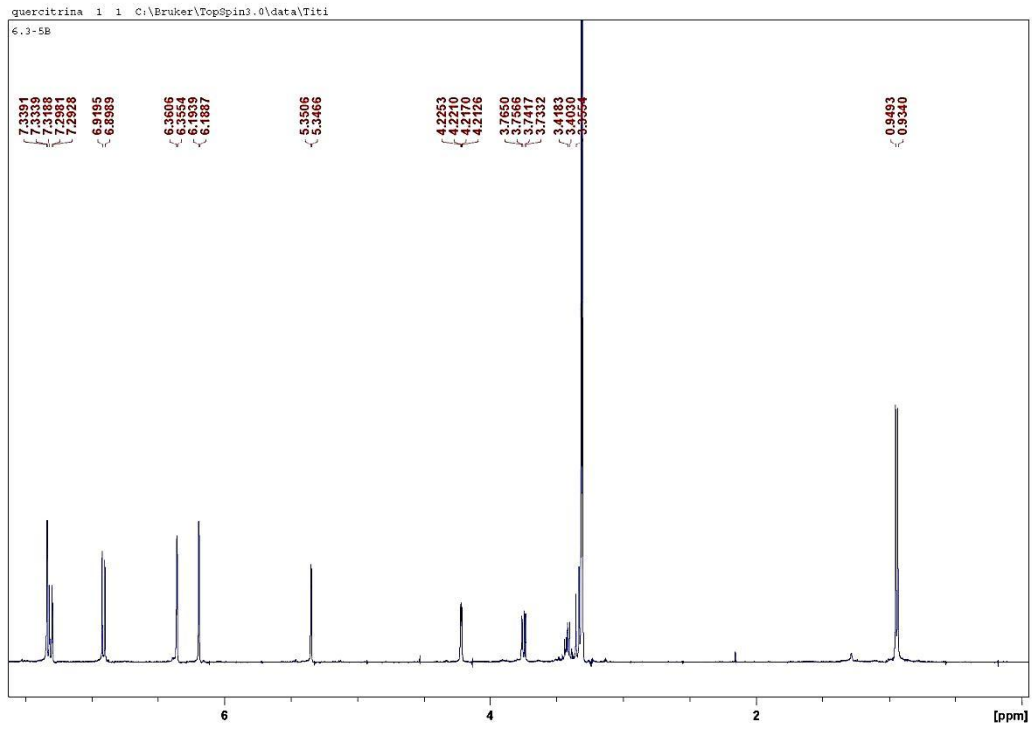


FIGURA 4.53 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **FA17** (MeOD- $d_4$ , 400MHz).

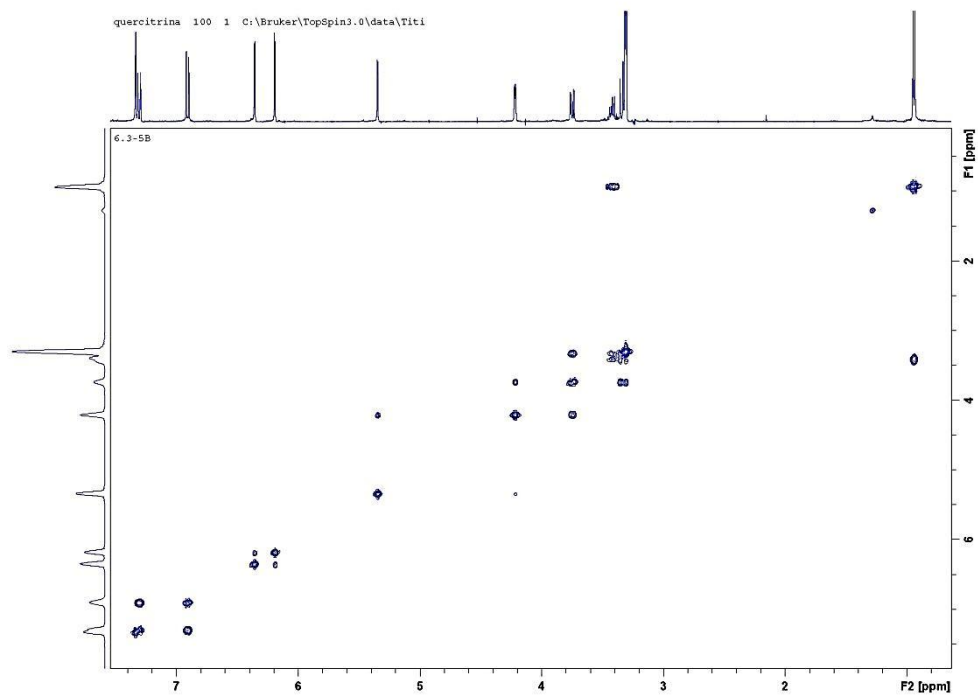


FIGURA 4.54 – Mapa de acoplamentos H-H COSY da substância **FA17** (MeOD- $d_4$ , 400 MHz).

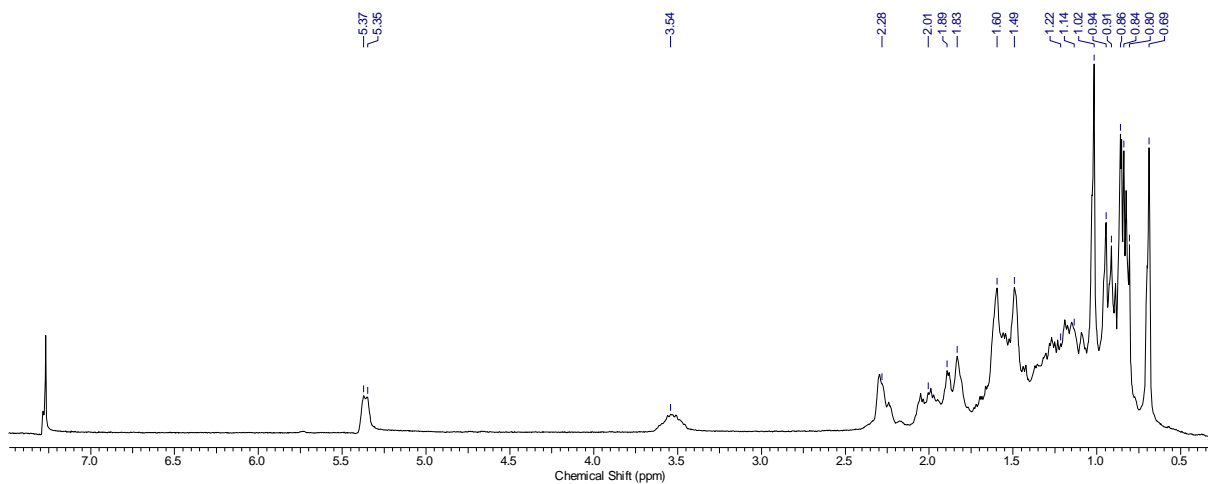


FIGURA 4.55 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **GA1** ( $\text{CDCl}_3$ ; 200 MHz).

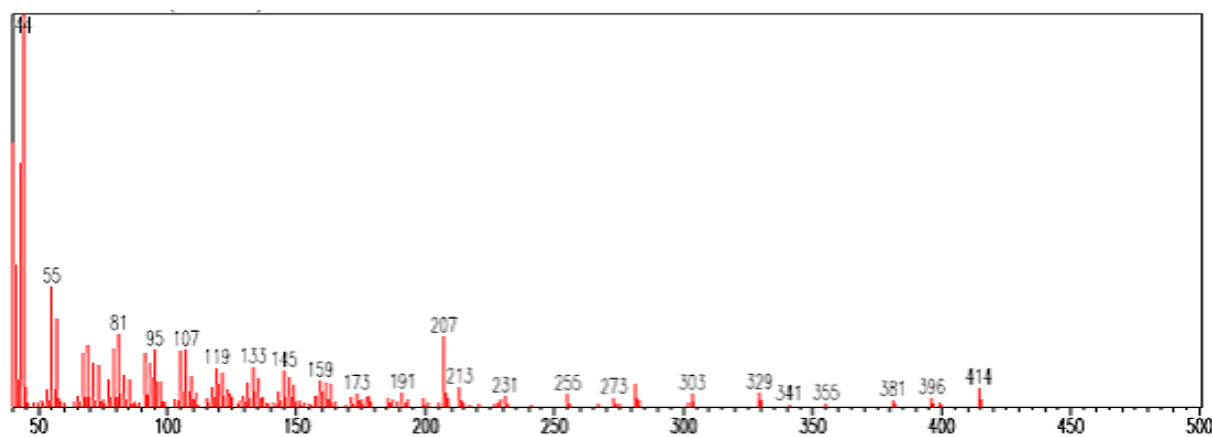


FIGURA 4.56 - Espectro de Massas da substância **GA1**.

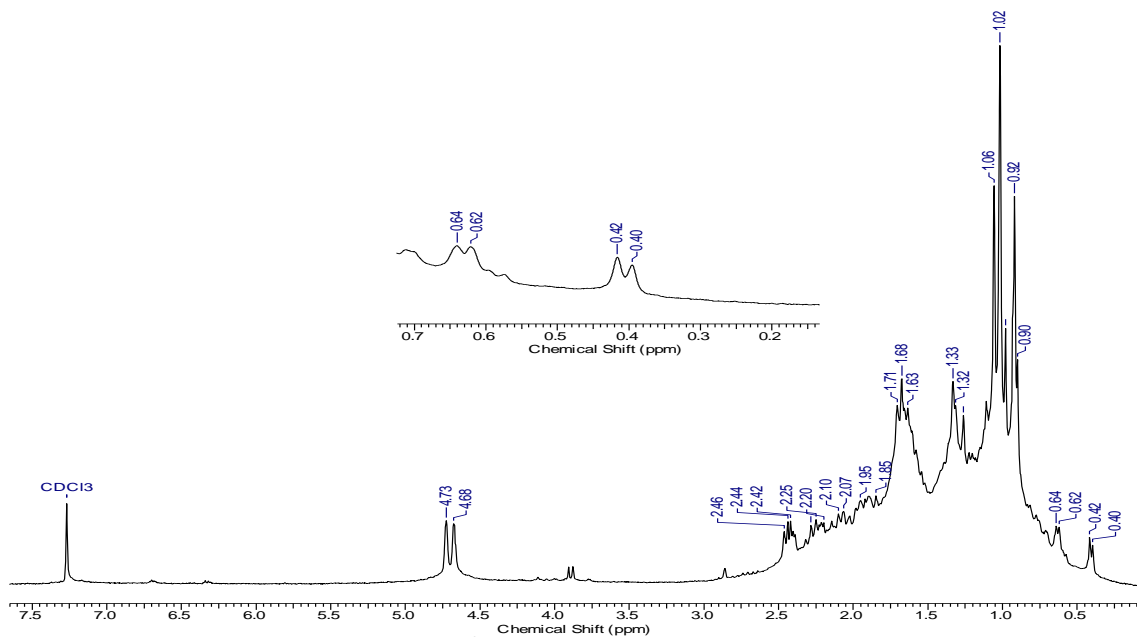


FIGURA 4.57 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  das substâncias **GA2** e **GA3** ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz).

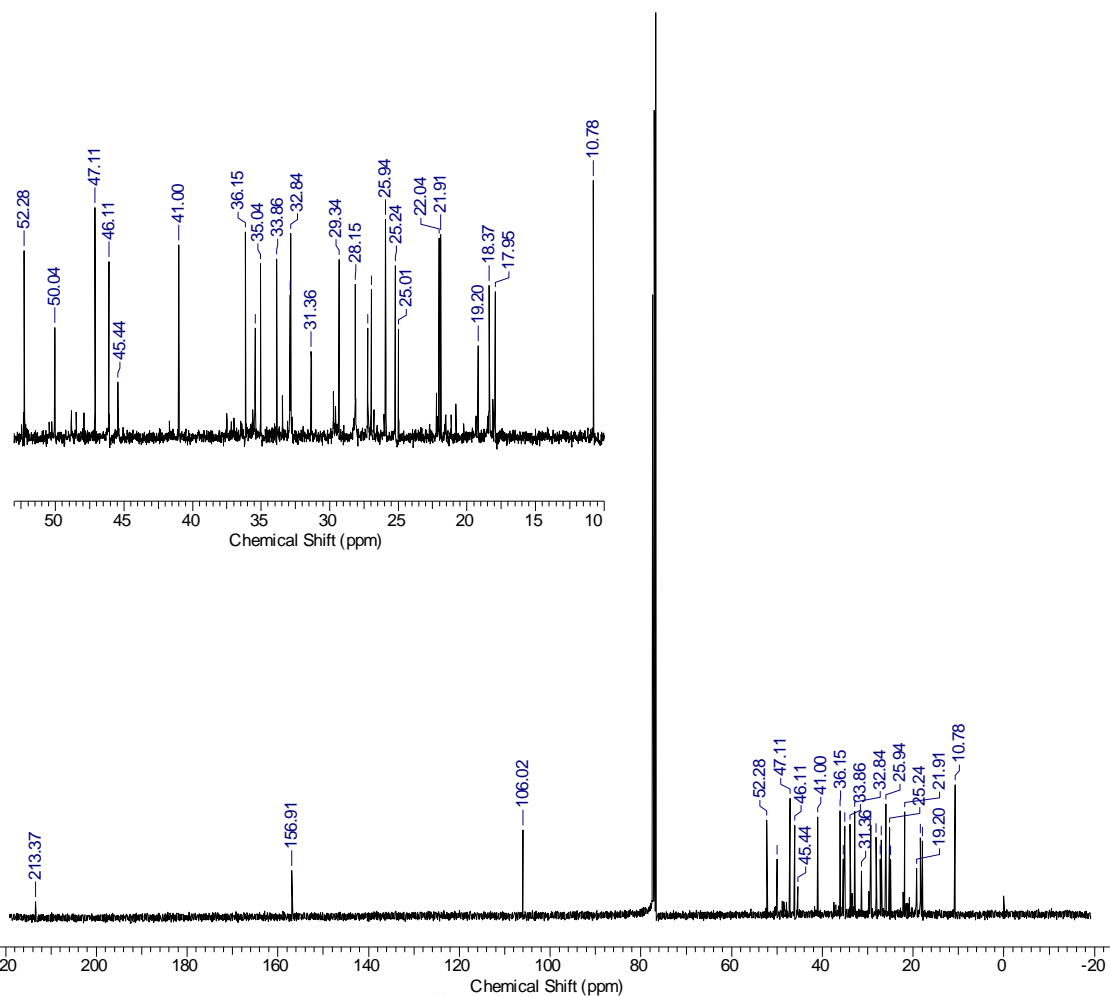


FIGURA 4.58 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  das substâncias **GA2** e **GA3** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).

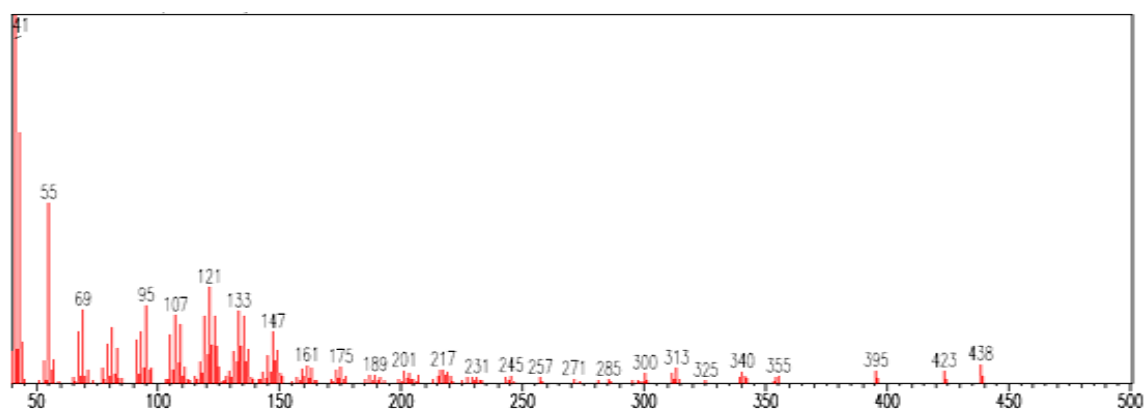


FIGURA 4.59 - Espectro de Massas da banda cromatográfica com tempo de retenção 41,001 (massa 438 D) da substância **GA2**.

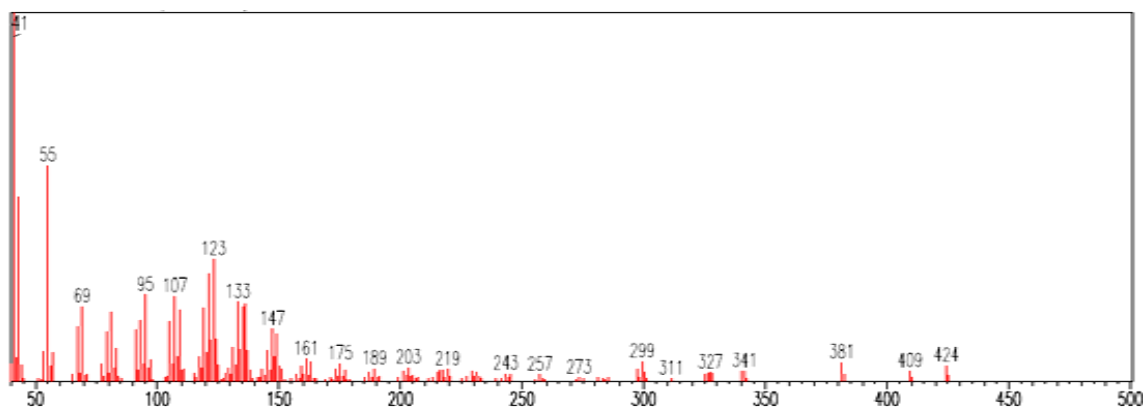


FIGURA 4.60 - Espectro de Massas da banda cromatográfica com tempo de retenção 43,270 (massa 424 D) da substância **GA3**.

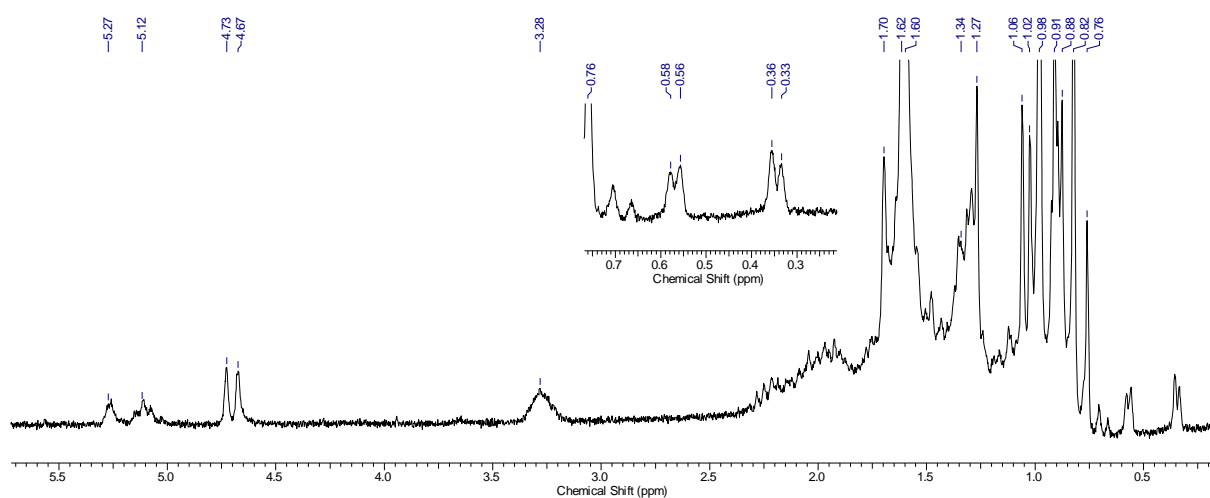


FIGURA 4.62 - Espectro de  $^1\text{H}$  RMN das substâncias **GA4** e **GA5** ( $\text{CDCl}_3$ ; 200 MHz).

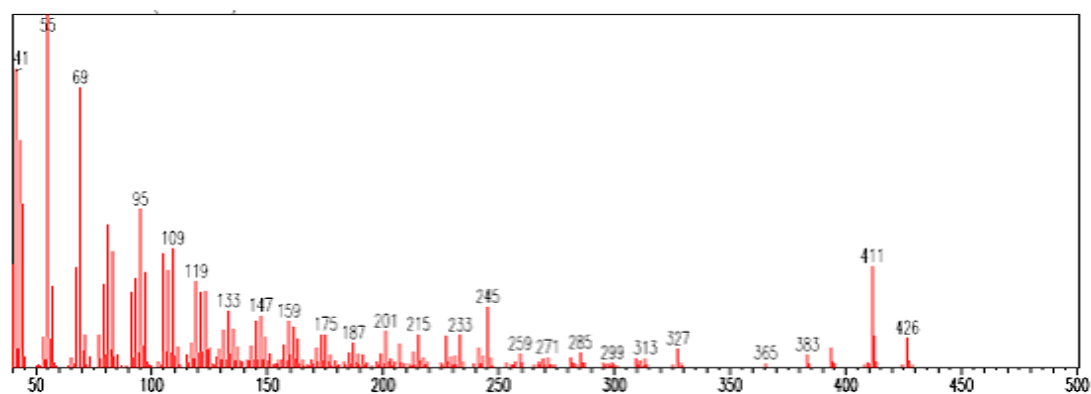


FIGURA 4.63 – Espectro de Massas da substância **GA4**.

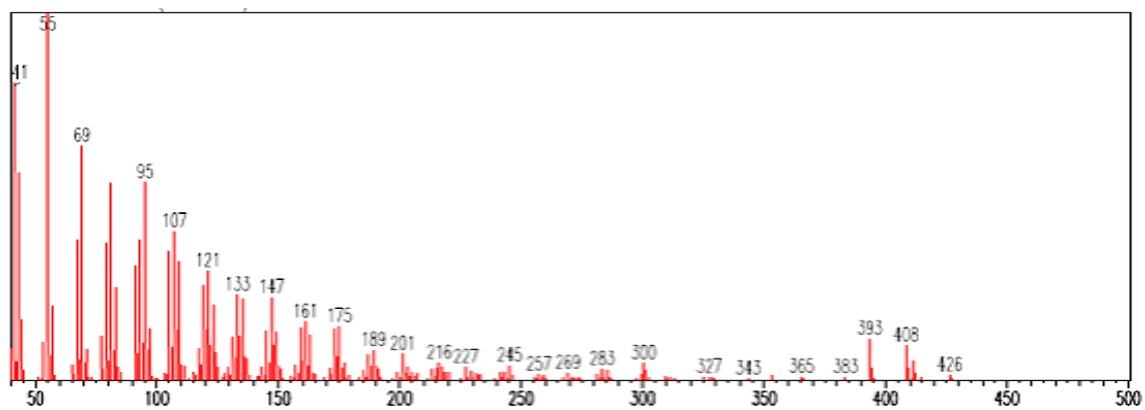


FIGURA 4.64 –Espectro de Massas da substância **GA5**.

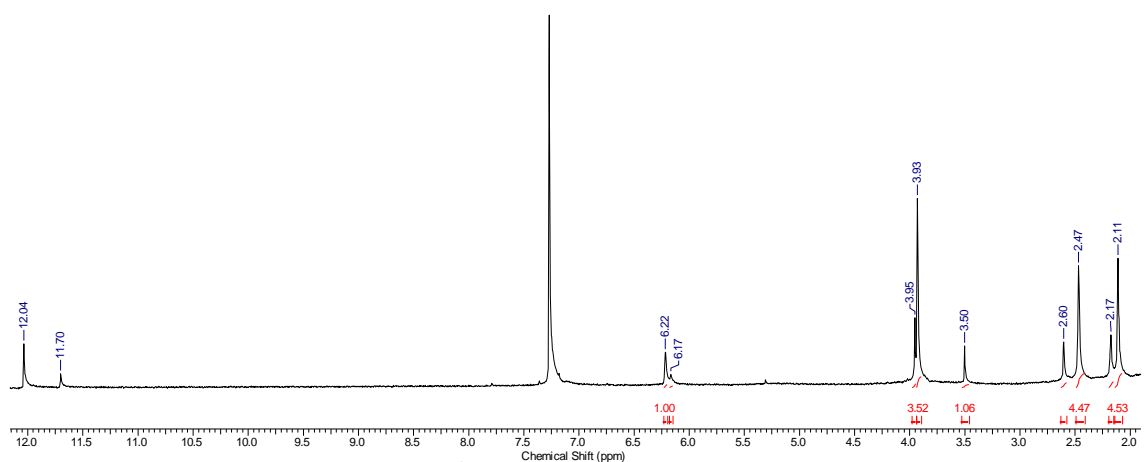


FIGURA 4.65- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  das substâncias **GA6** e **GA7** ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz).

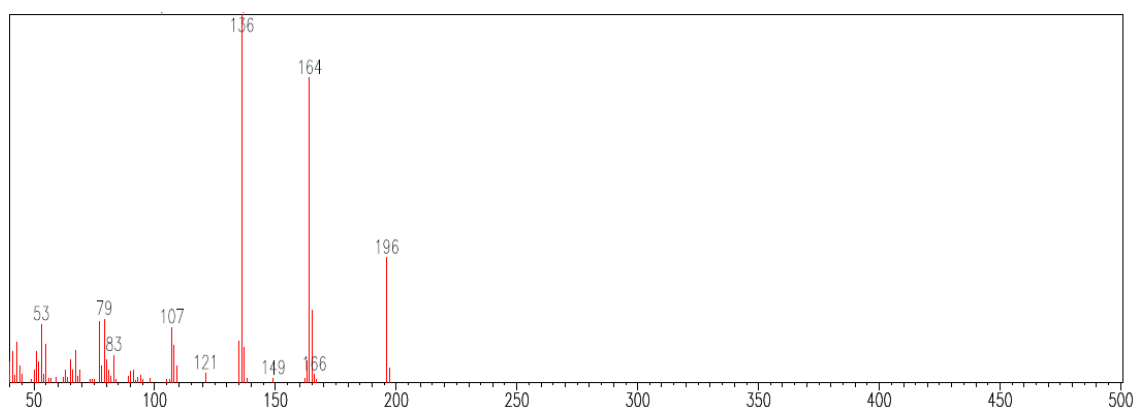


FIGURA 4.66 - Espectro de Massas da substância **GA6**.



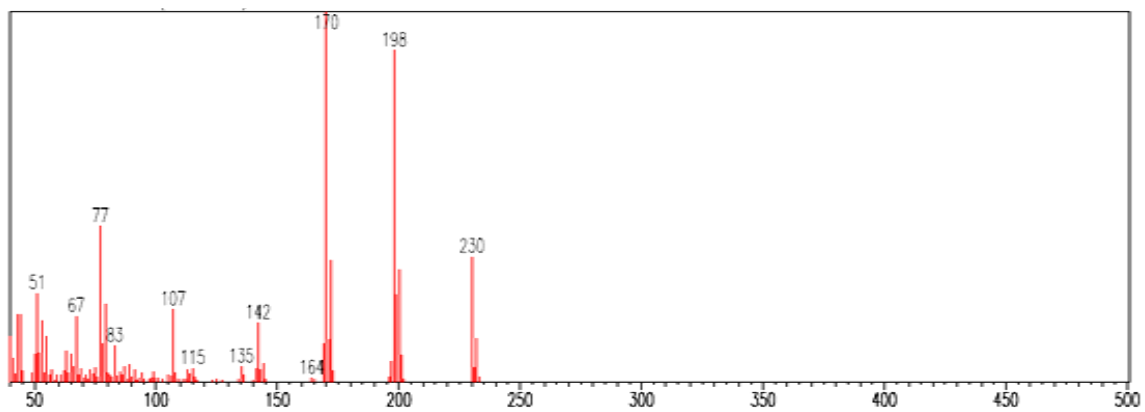


FIGURA 4.67 - Espectro de Massas da substância da substância **GA7**.

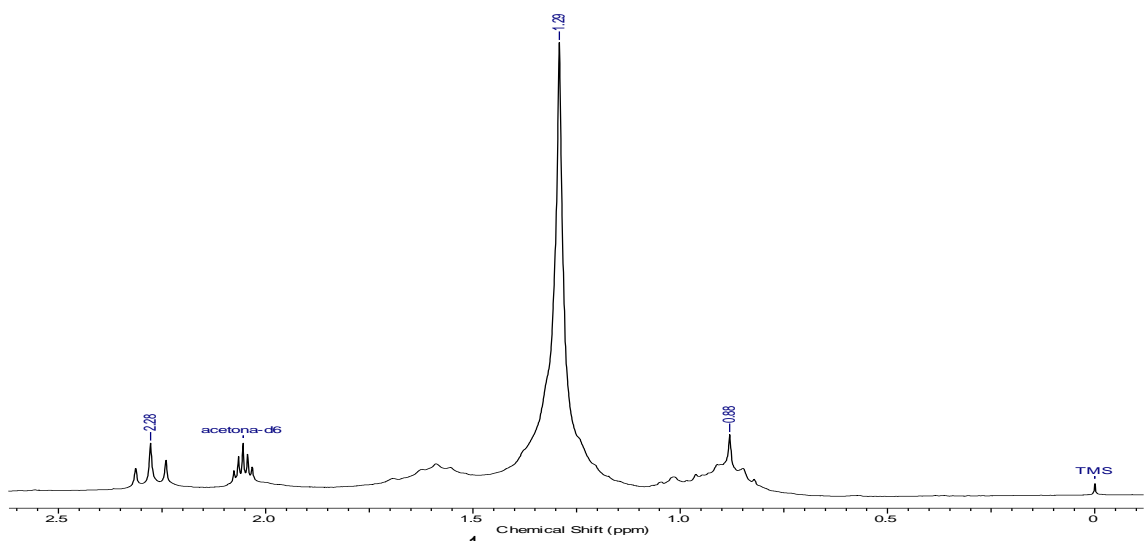
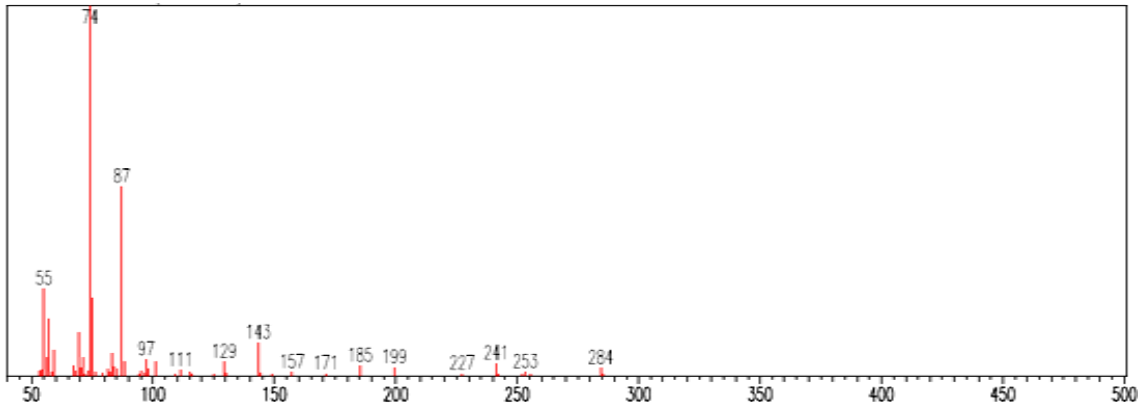
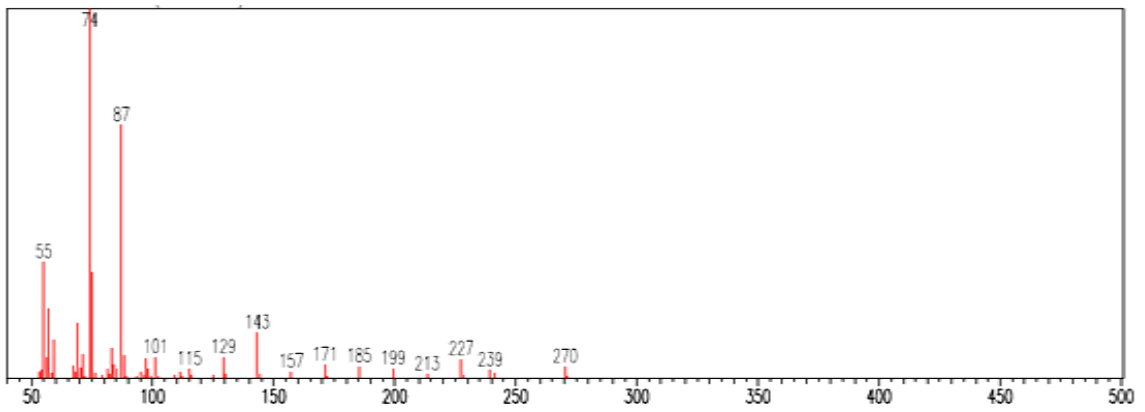
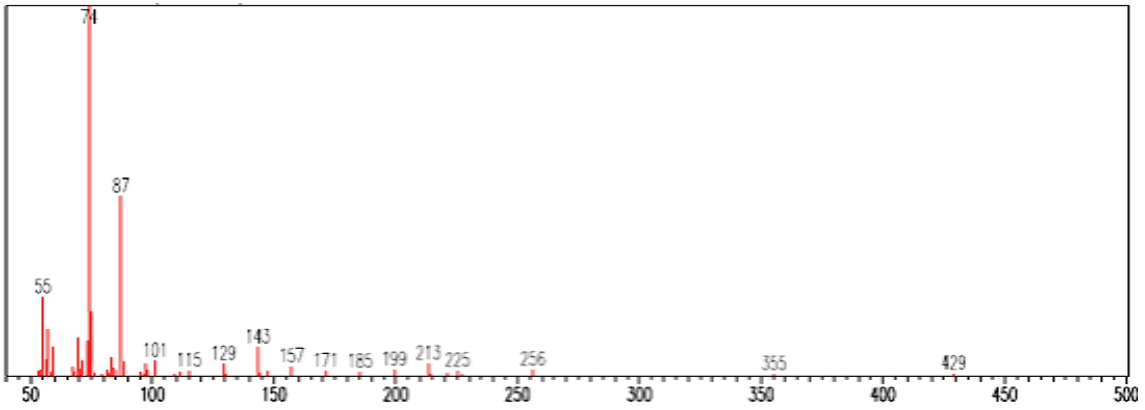
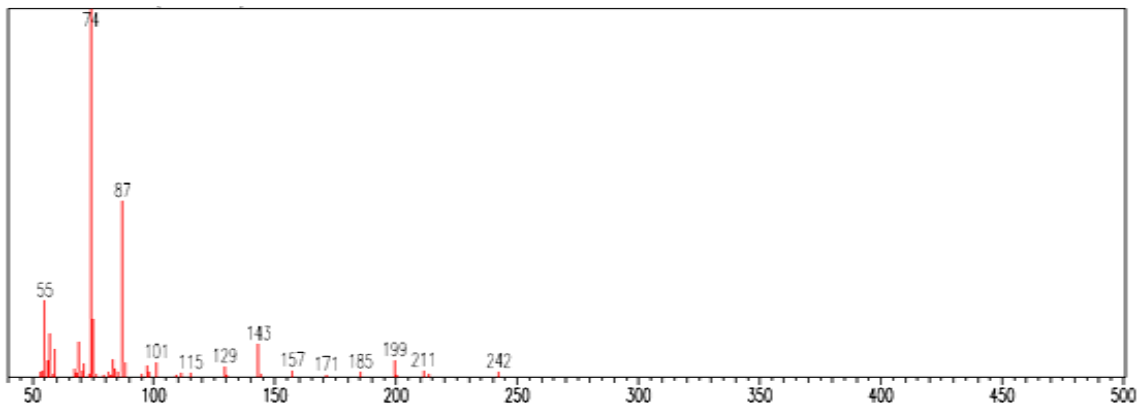


FIGURA 4.69 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  das substâncias presentes em GA8 (Acetona- $d_6$ , 200 MHz).



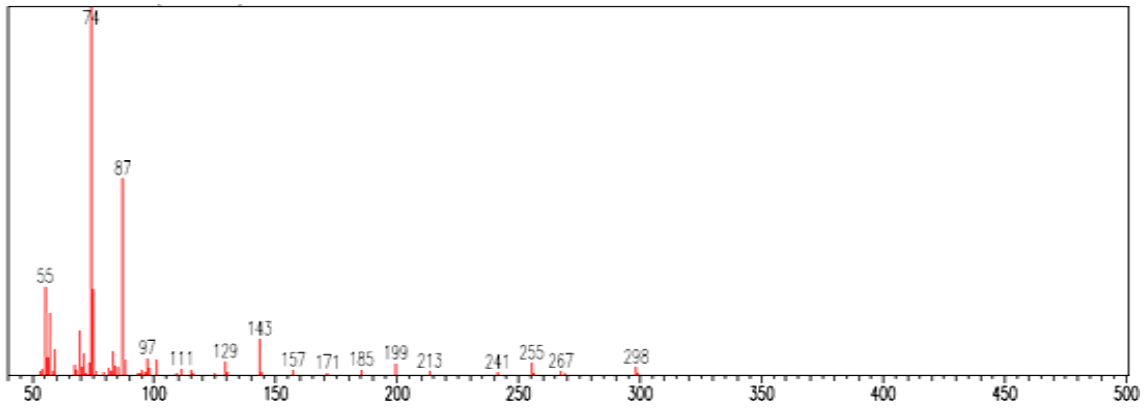


FIGURA 4.70 - Espectro de Massas das substâncias presentes em **GA8**.

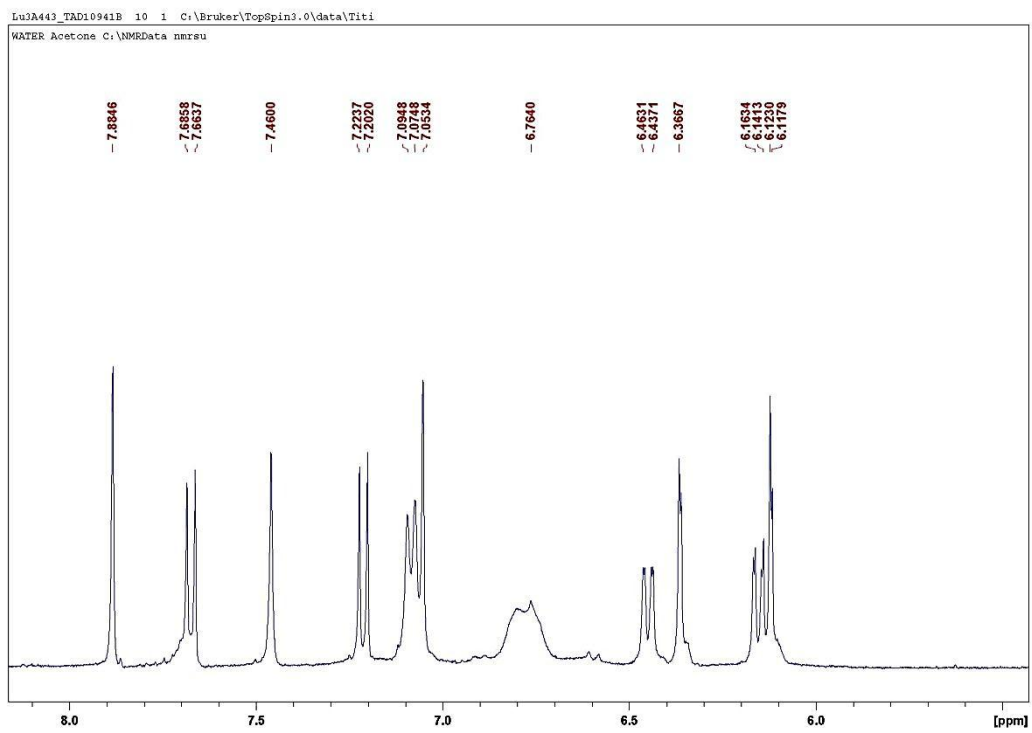


FIGURA 4.83 -Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância**GA11** (Acetona-*d*<sub>6</sub>; 400 MHz).

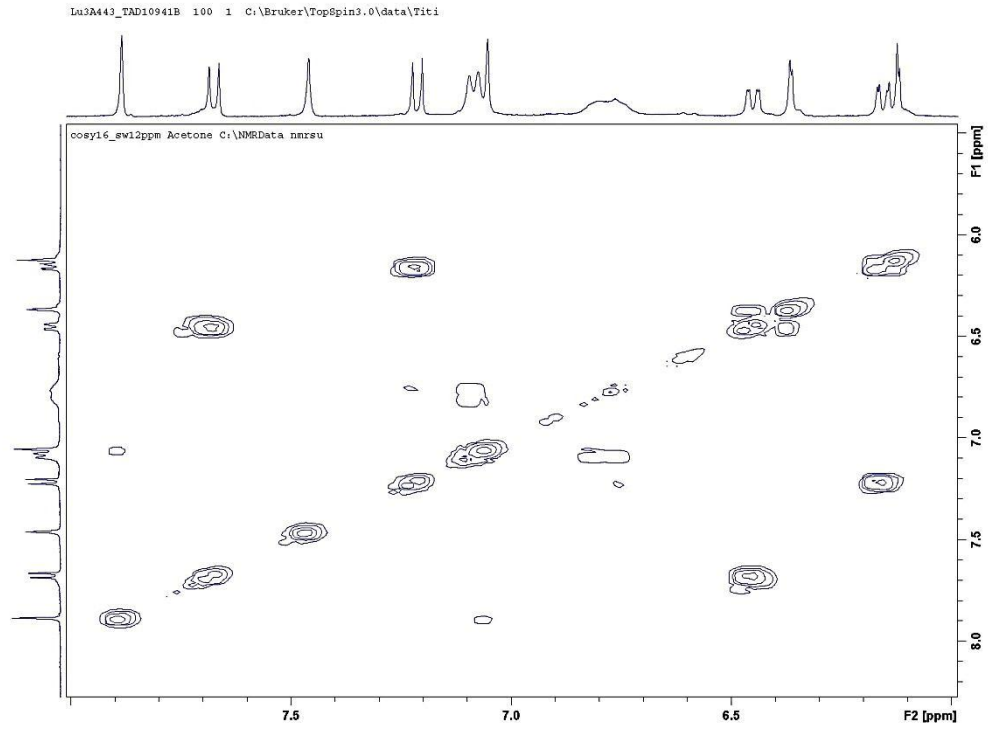


FIGURA 4.84 – Mapa de acoplamentos H-H COSY da substância **GA11**(Acetona-*d*<sub>6</sub>; 400 MHz).

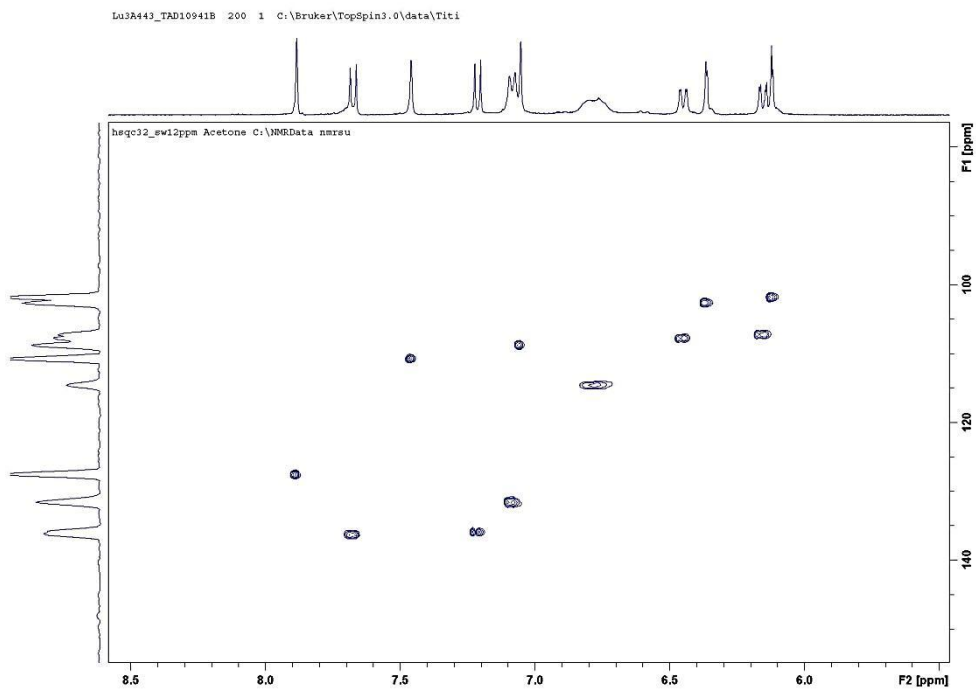


FIGURA 4.85 - Mapa de contorno HSQC da substância **GA11**(Acetona-*d*<sub>6</sub>; 400 MHz).

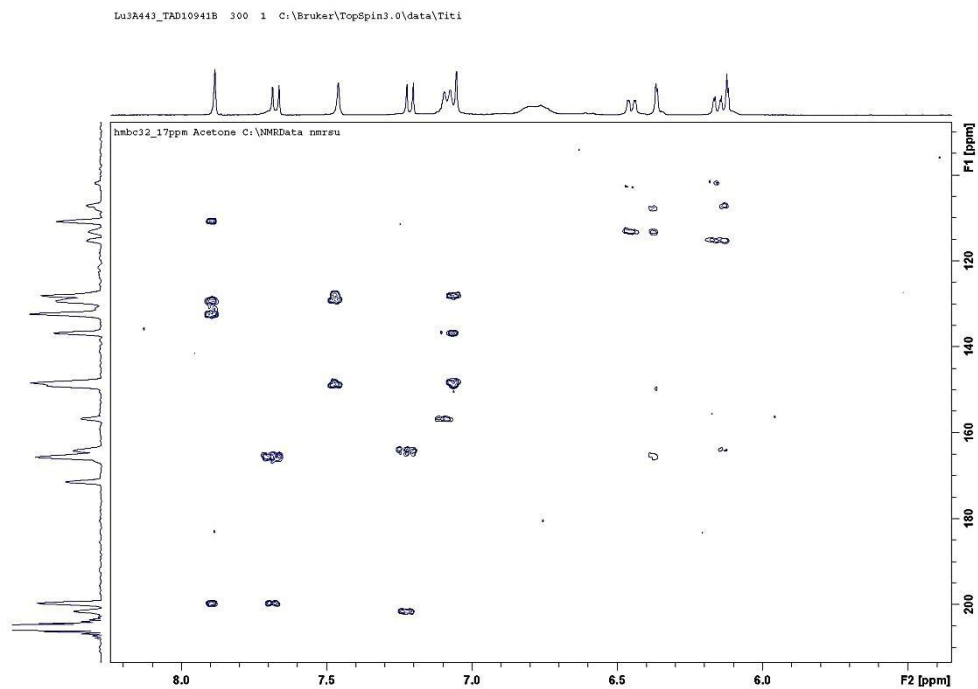


FIGURA 4.86 - Mapa de contorno HMBC da substância **GA11**(Acetona- $d_6$ ; 400 MHz).

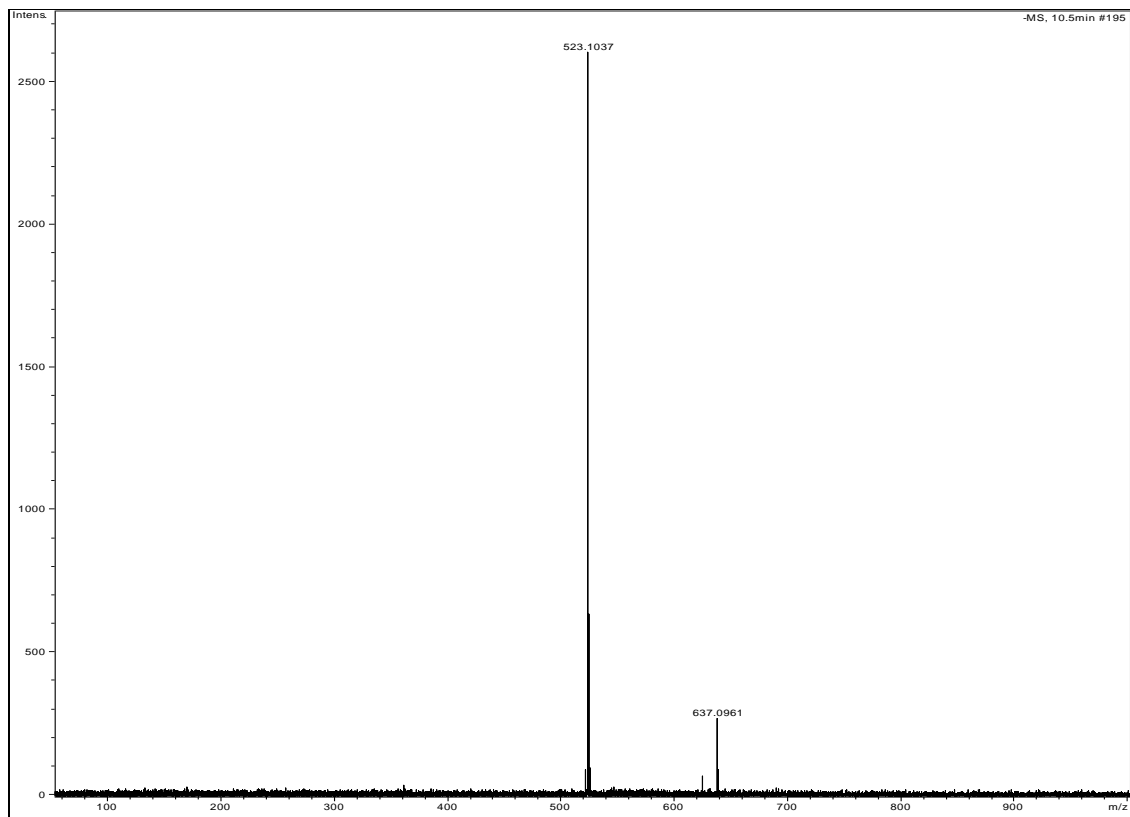


FIGURA 4.87 - Espectro de Alta Resolução da substância **GA11**(modo negativo).

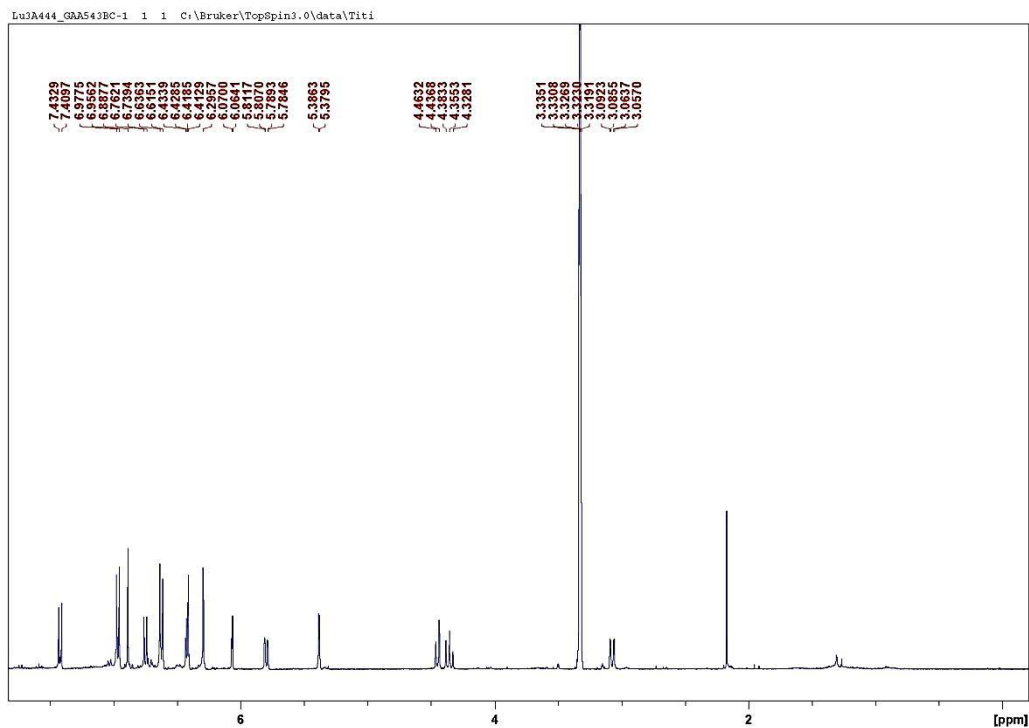


FIGURA 4.88 – Espectro RMN  $^1\text{H}$  da substância **GA12** (MeOD- $d_4$ ; 400 MHz).

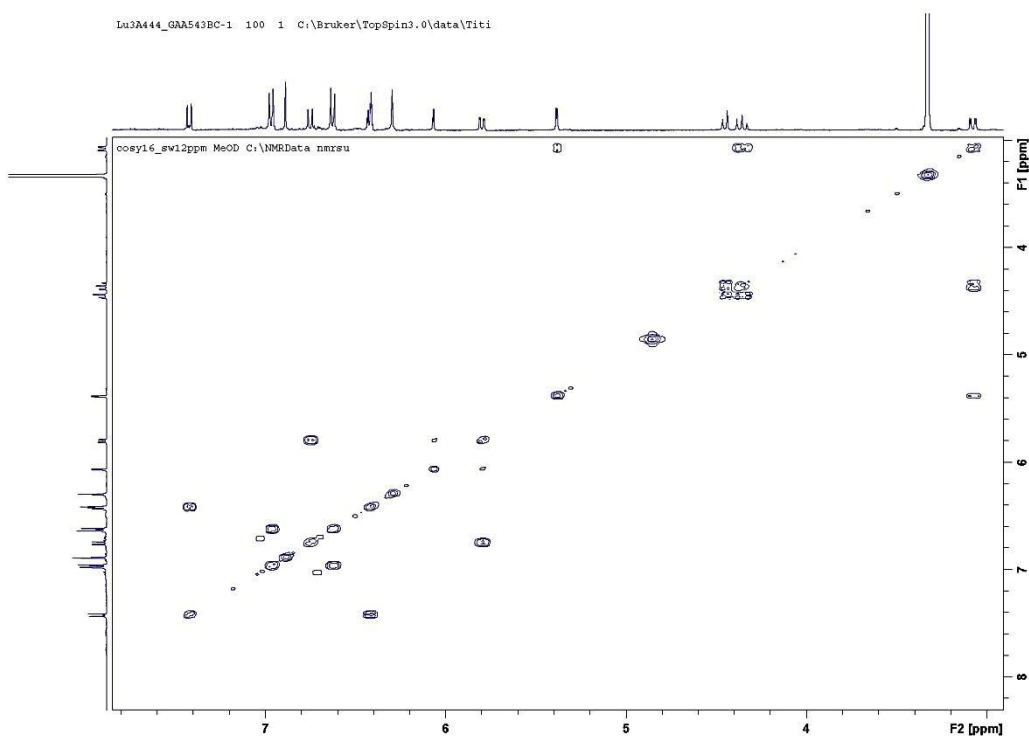


FIGURA 4.89 – Mapa de acoplamentos H-H COSY da substância **GA12** (MeOD- $d_4$ ; 400 MHz).

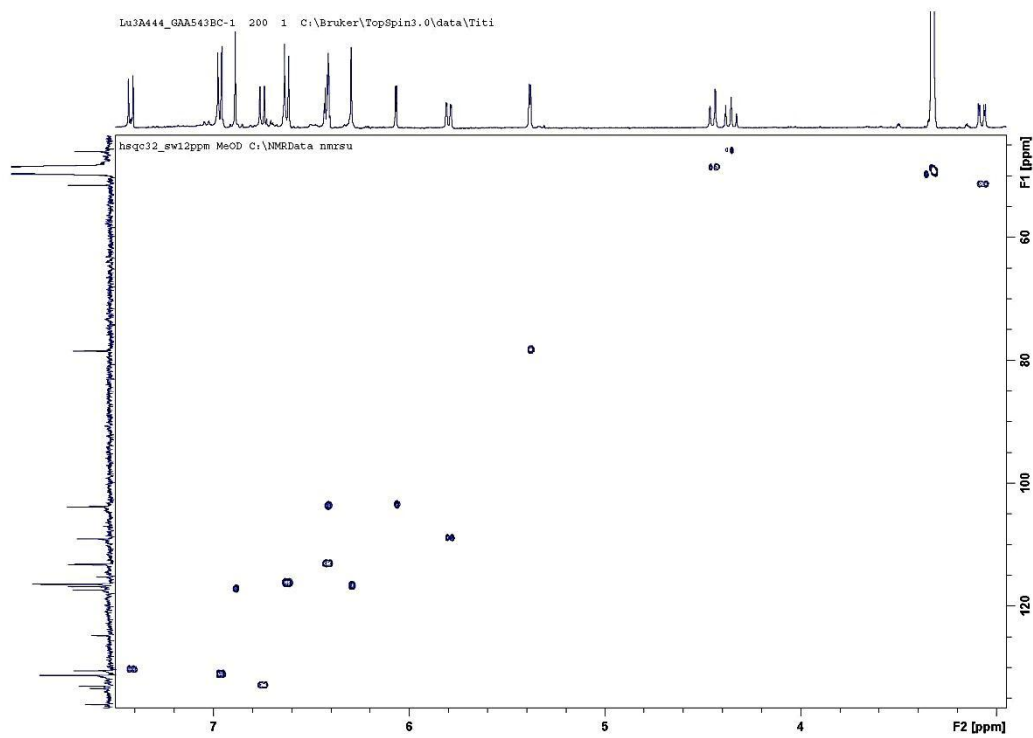


FIGURA 4.90 – Mapa de contorno HSQC da substância **GA12**(MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

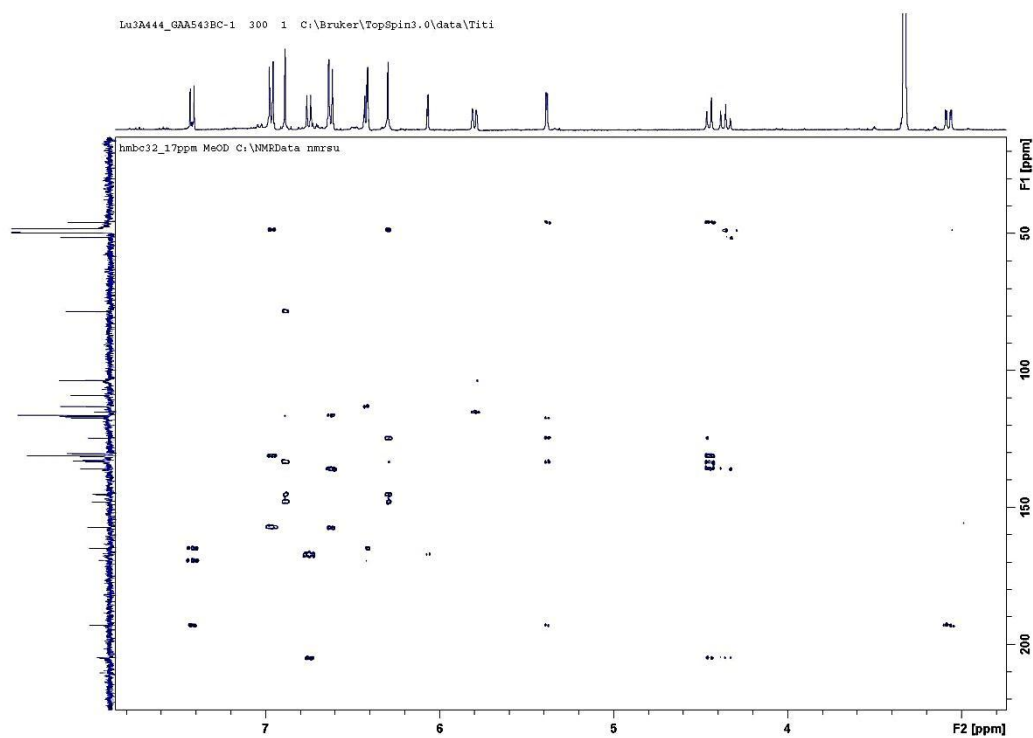


FIGURA 4.91 – Mapa de contorno HMBC da substância **GA12**(MeOD-*d*<sub>4</sub>; 400 MHz).

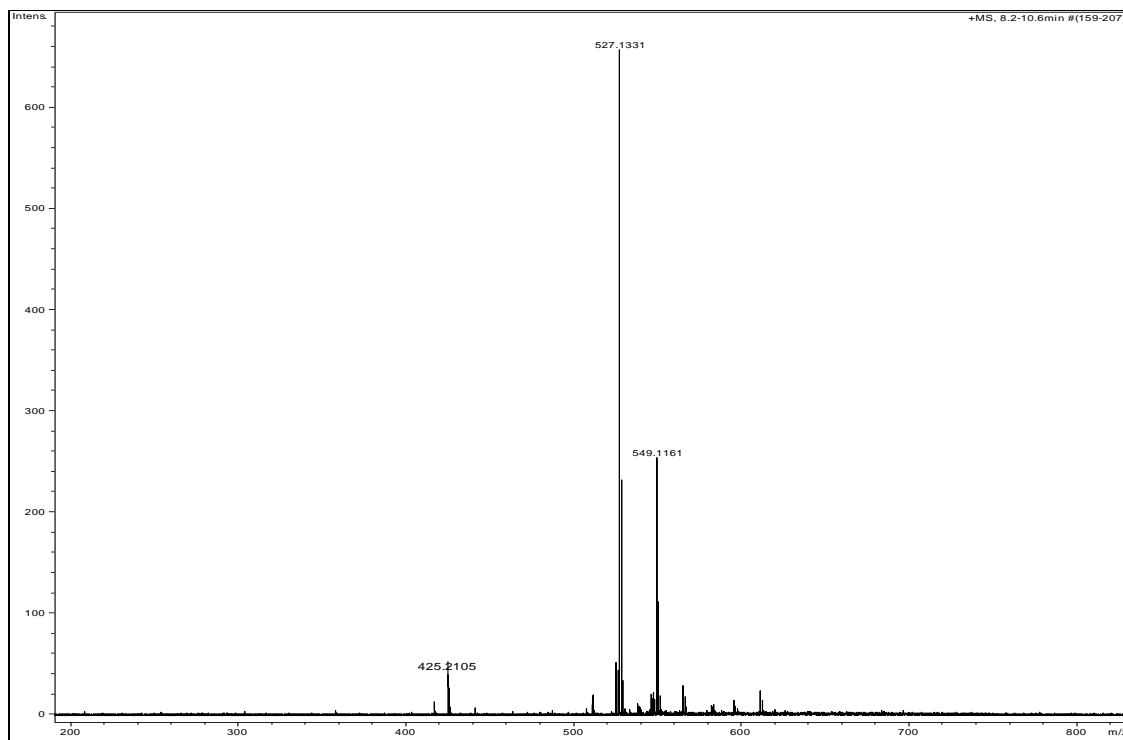


Figura 4.92 – Espectro de MassasAlta Resolução da substância **GA12** (modo positivo).

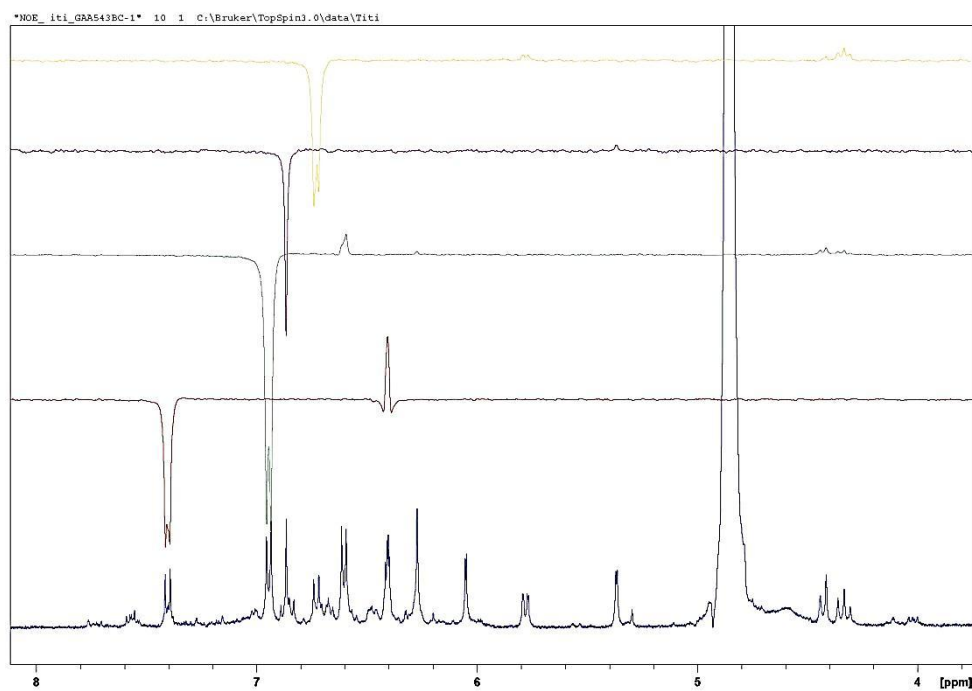


FIGURA 4.93 – Experimento (1) de gNOESY da substância **GA12** (Acetona-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).



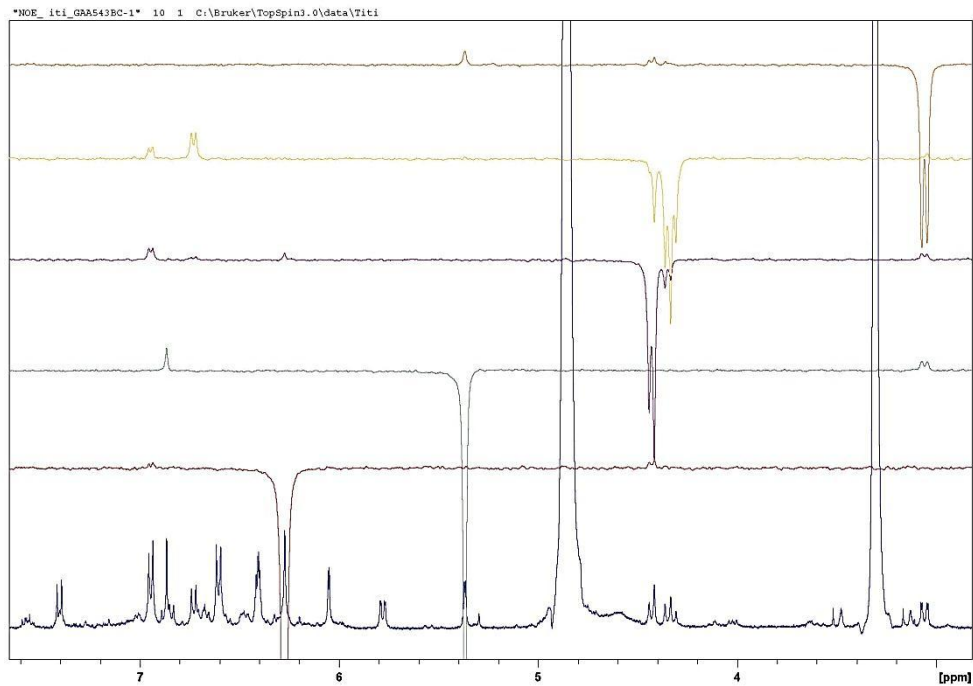


FIGURA 4.94 – Experimento (2) de gNOESY da substância **GA12** (Acetona-*d*6, 400 MHz).

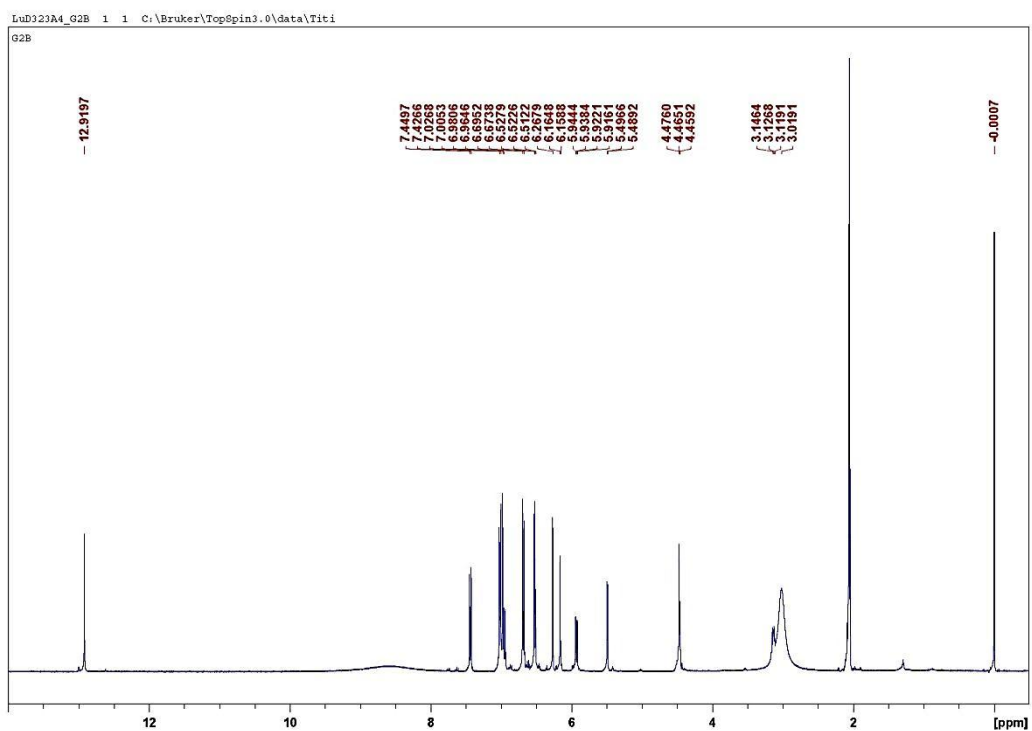


FIGURA 4.109 – Espectro RMN  $^1\text{H}$  da substância **GA15** (Acetona-*d*6; 400 MHz).

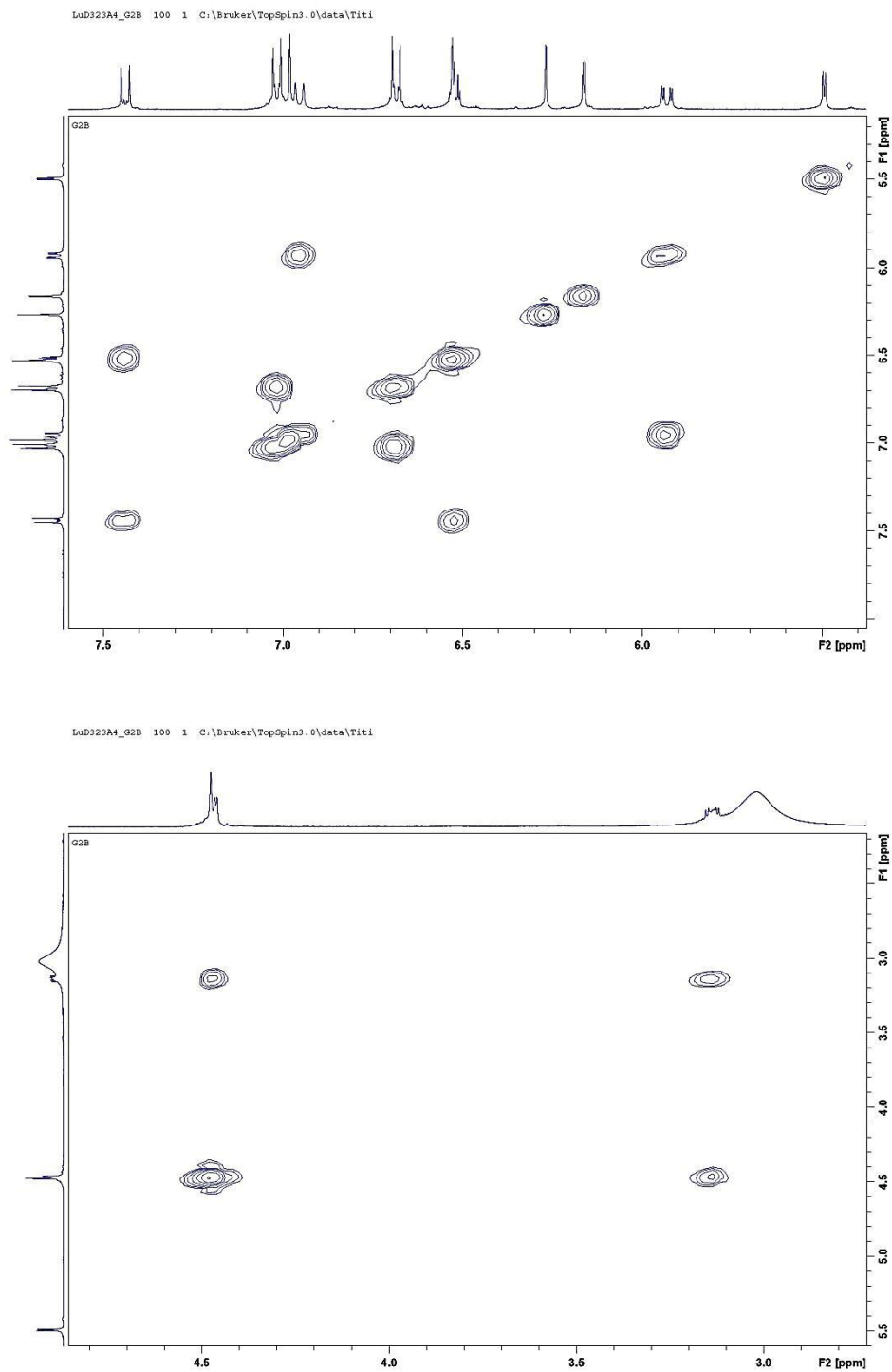


FIGURA 4.110 – Mapa de acoplamentos H-H COSY (dividido em duas partes) da substância **GA15** (Acetona-*d*<sub>6</sub>; 400 MHz).

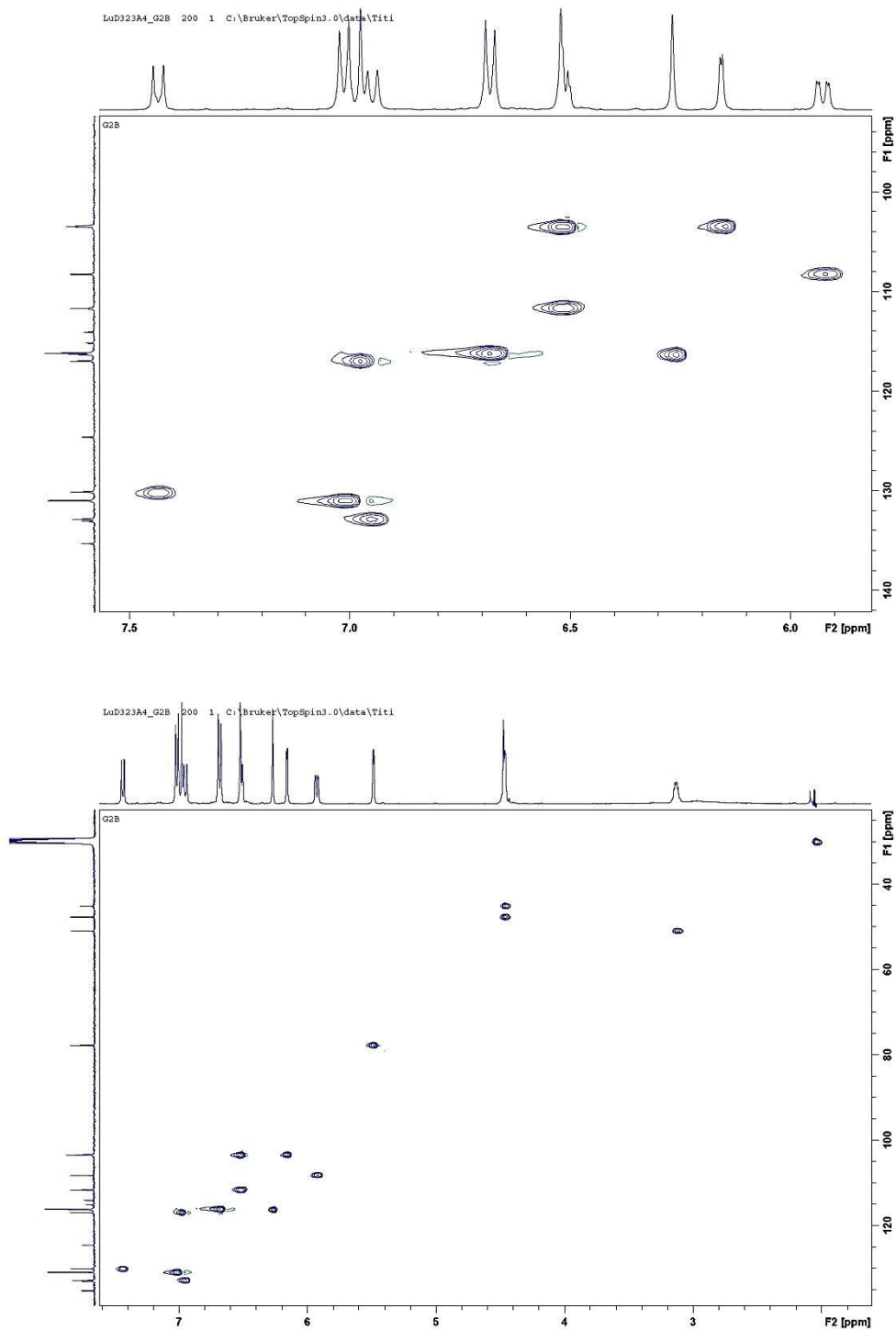


FIGURA 4.111 – Mapa de contorno HSQC (dividido em duas partes) da substância **GA15** (Acetona-*d*<sub>6</sub>; 400 MHz).

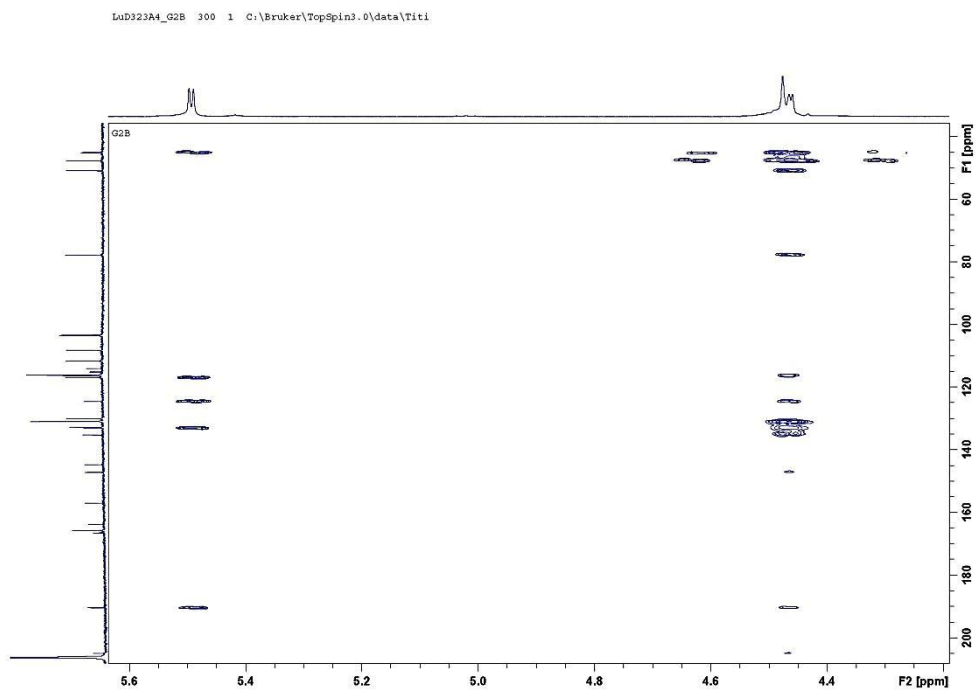
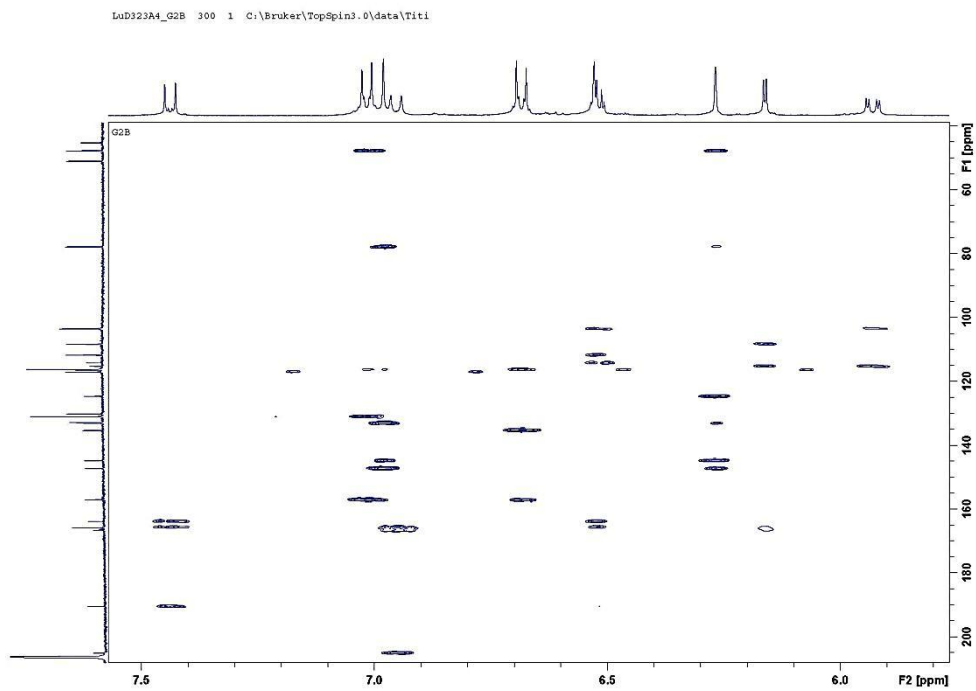


FIGURA 4.112 – Mapa de contorno HMBC (dividido em duas partes) da substância **GA15** (Acetona-*d*<sub>6</sub>; 400 MHz).

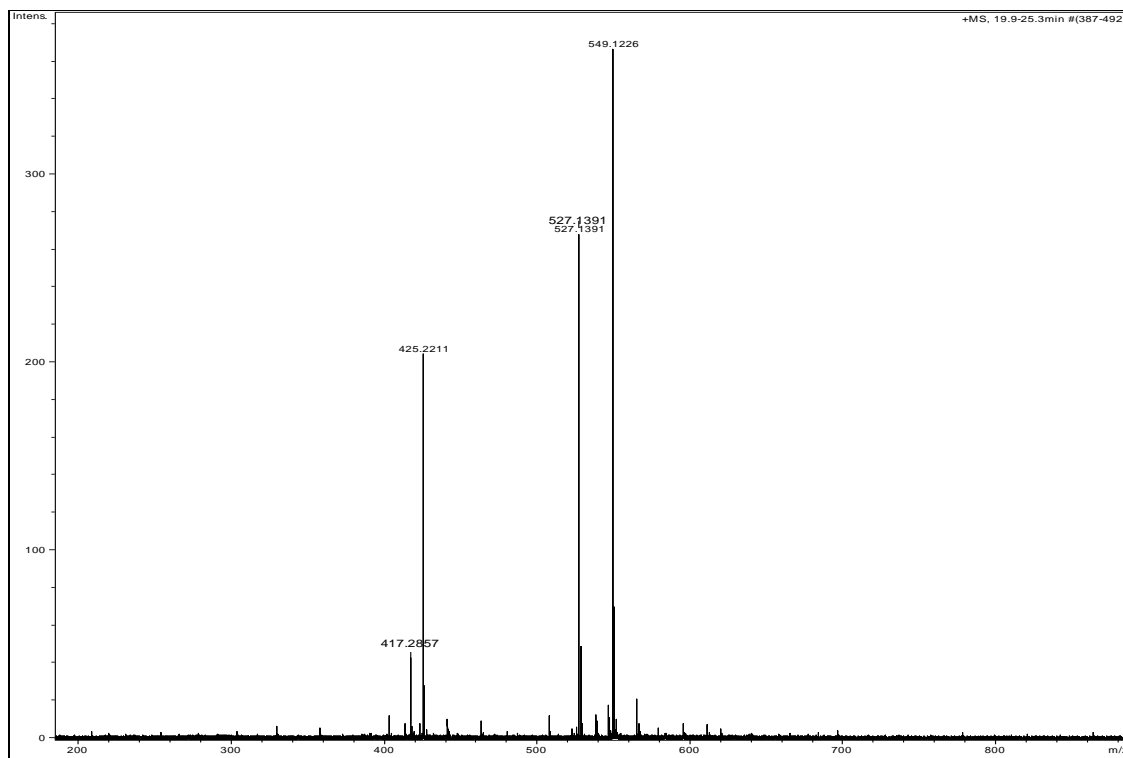


FIGURA 4.113 – Espectro de MassasAlta Resolução da substância **GA15** (modo positivo).

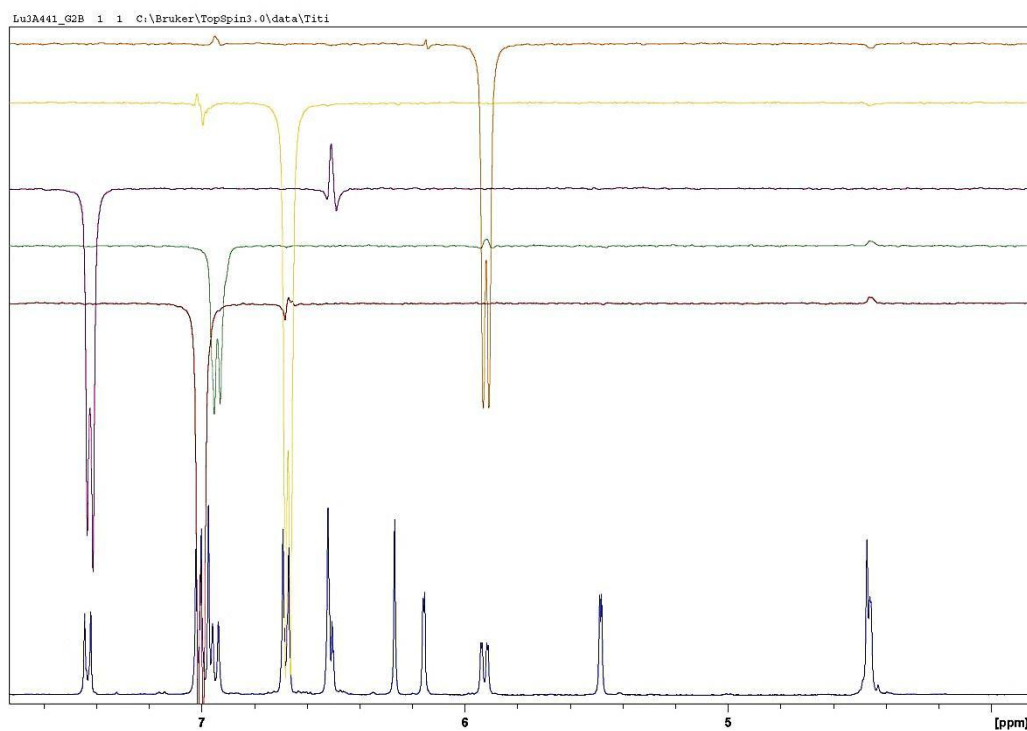


FIGURA 4.114 – Experimento (1) de gNOESY da substância **GA15** (Acetona-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

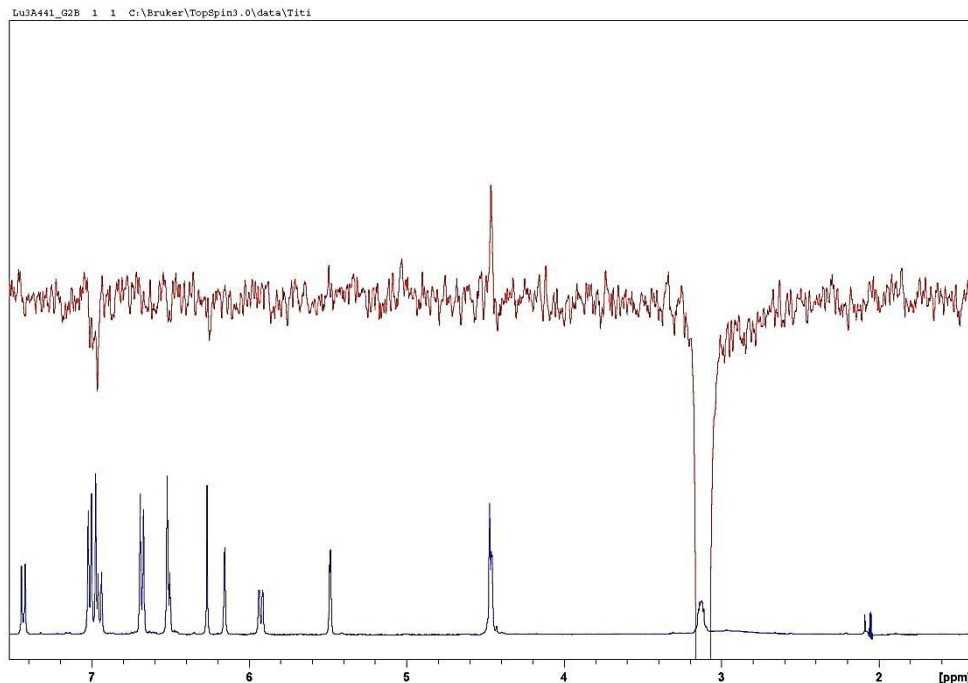


FIGURA 4.115 – Experimento (2) de gNOESY da substância **GA15** (Acetona- $d_6$ , 400 MHz).

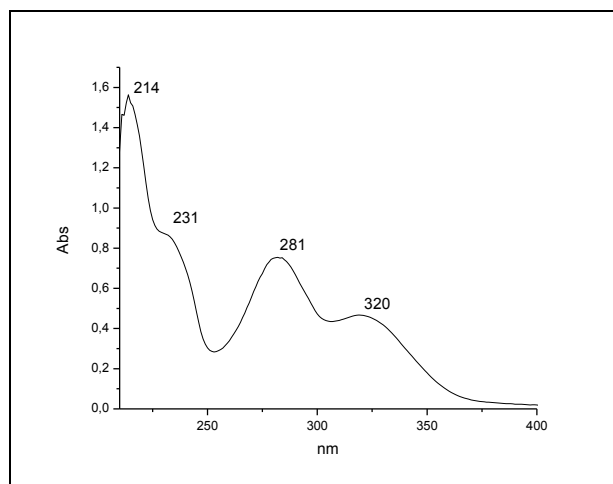


FIGURA 4.123 –Espectro de absorção na região UV-Vis da substância **G12** ( $\lambda^{\text{MeOH}}$  400)

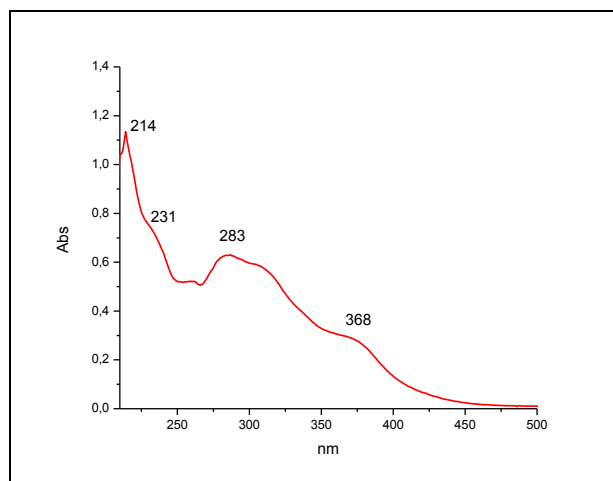


FIGURA 4.124 –Espectro de absorção na região UV-Vis da substância **G13** ( $\lambda^{\text{MeOH}}$  500).

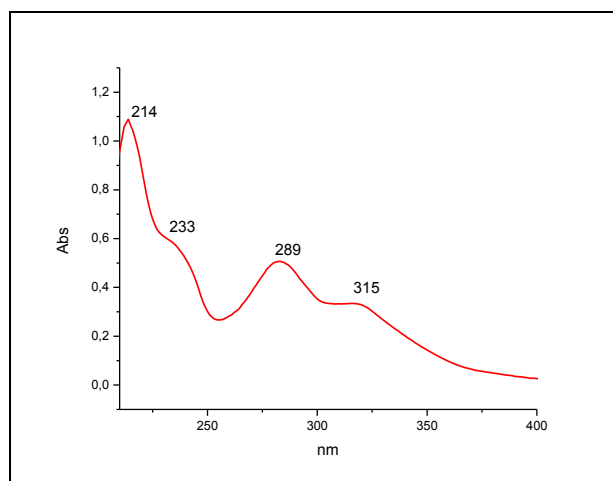


FIGURA 4.125 –Espectro de absorção na região UV-Vis da substância **G14** ( $\lambda^{\text{MeOH}}$  400).

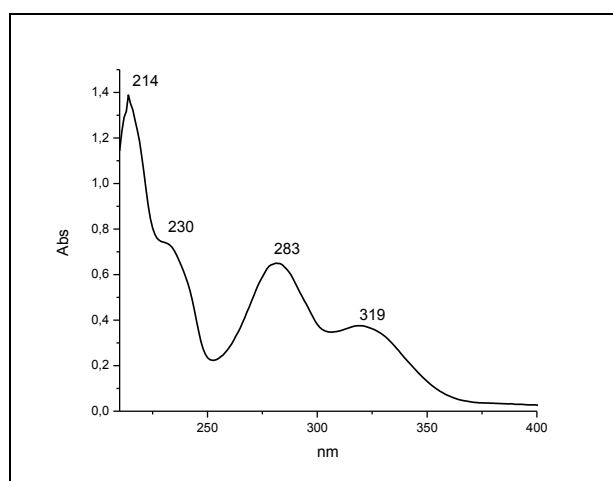


FIGURA 4.126 –Espectro de absorção na região UV-Vis da substância **G15** ( $\lambda^{\text{MeOH}}$  400).

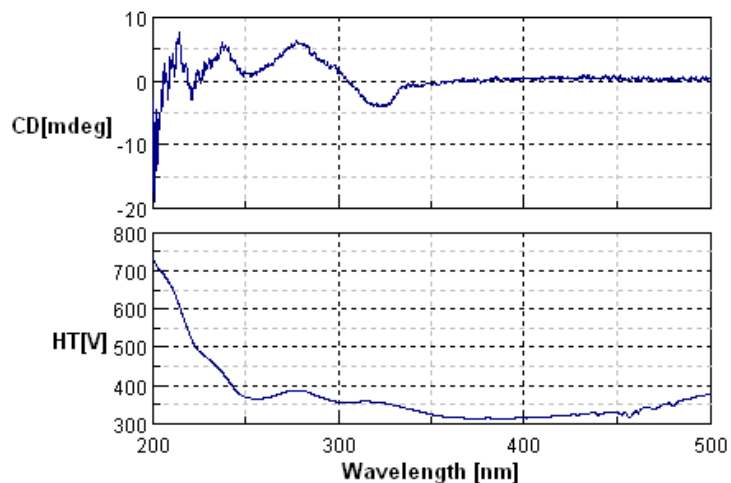


FIGURA 4.130 – Espectro de DC da substância **GA12**.

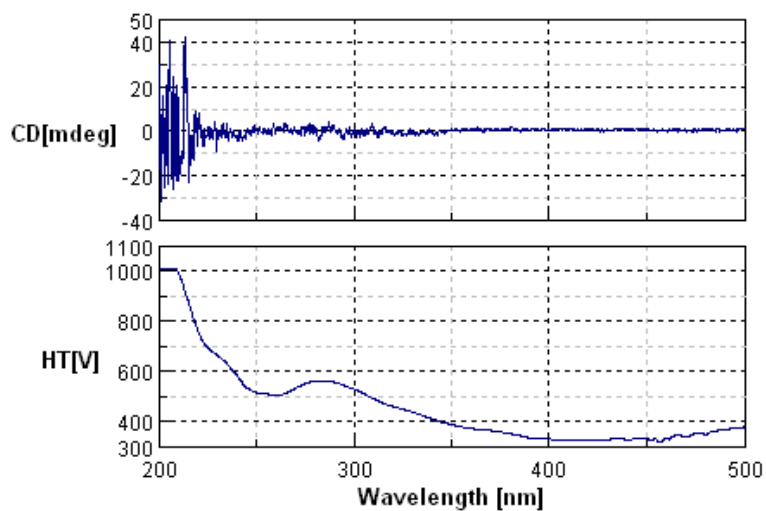


FIGURA 4.132 – Espectro de DC da substância **GA13**.

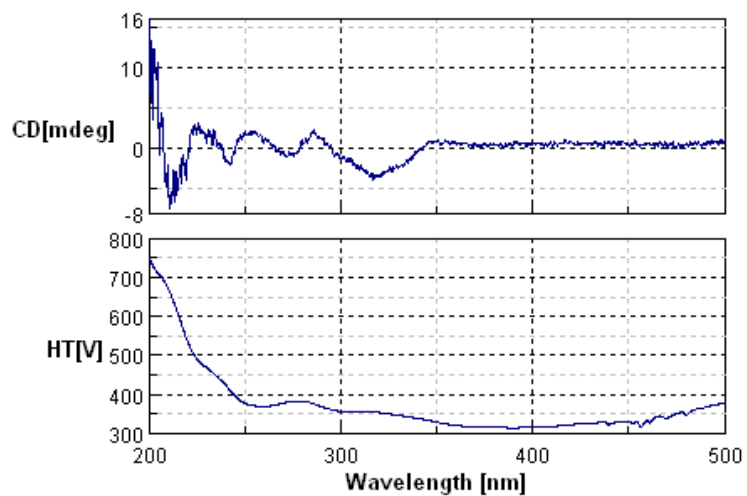


FIGURA 4.134 – Espectro de DC da substância **GA14**.



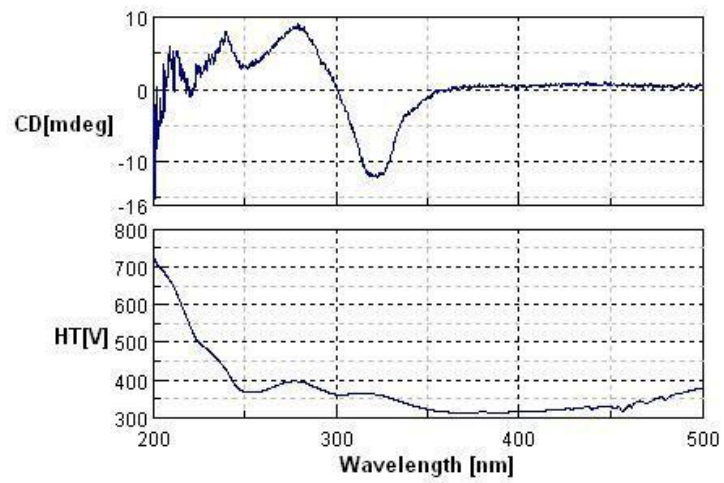


FIGURA 4.136 – Espectro de DC da substância **GA15**.

## APÊNDICE -II

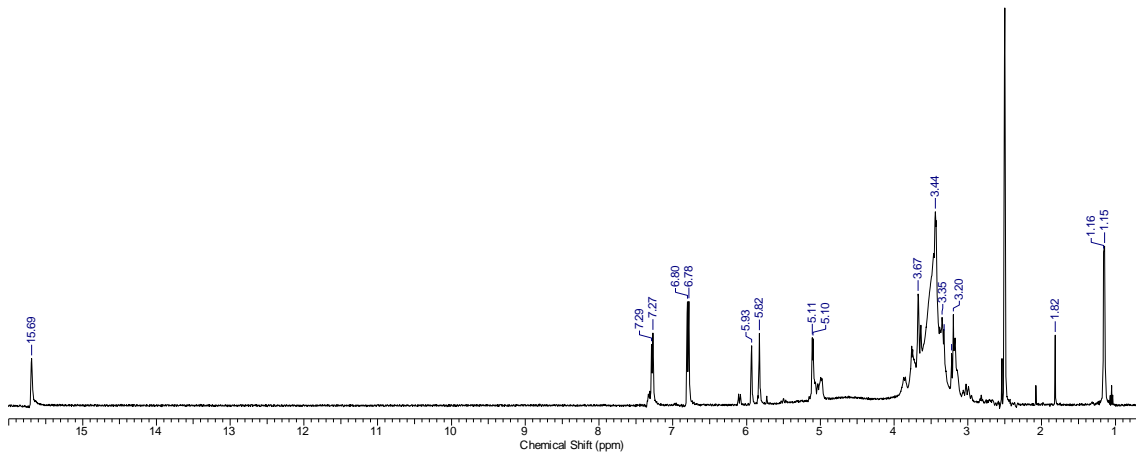


FIGURA 4.138- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **1,2-Di(4'-iminoNAR)etano** (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

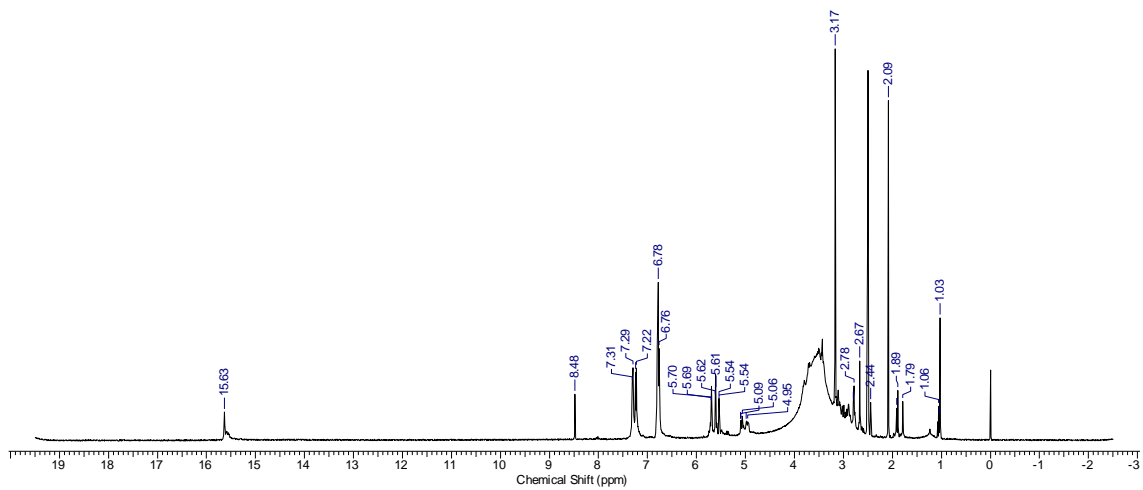


FIGURA 4.139 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **1,2-Di(4'-iminoNNINA)etano** (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

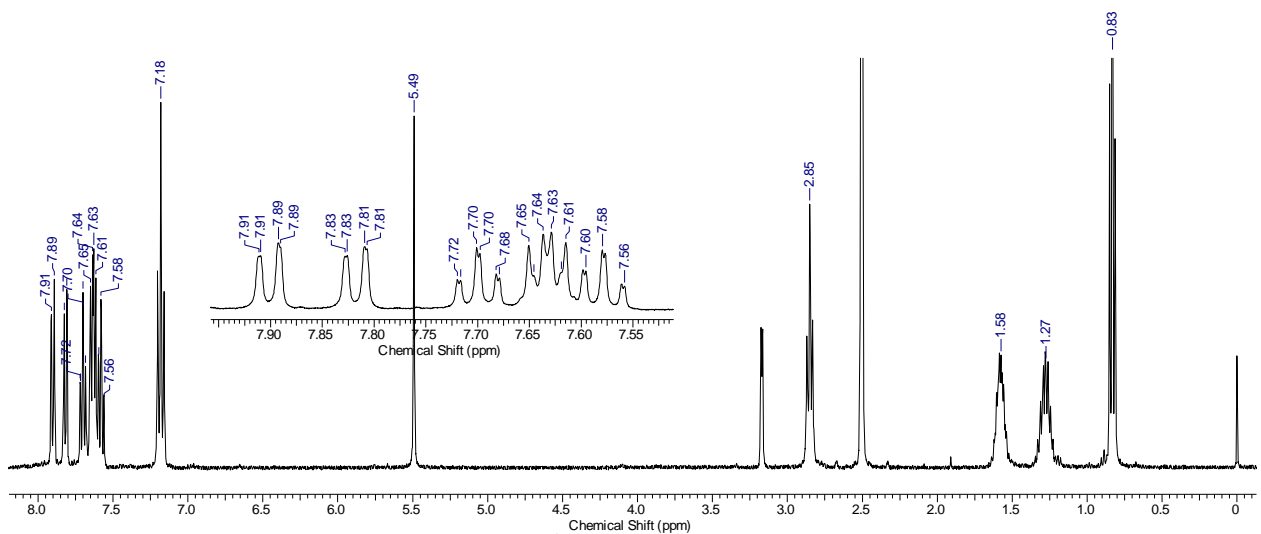


FIGURA 4.141- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **L1** (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

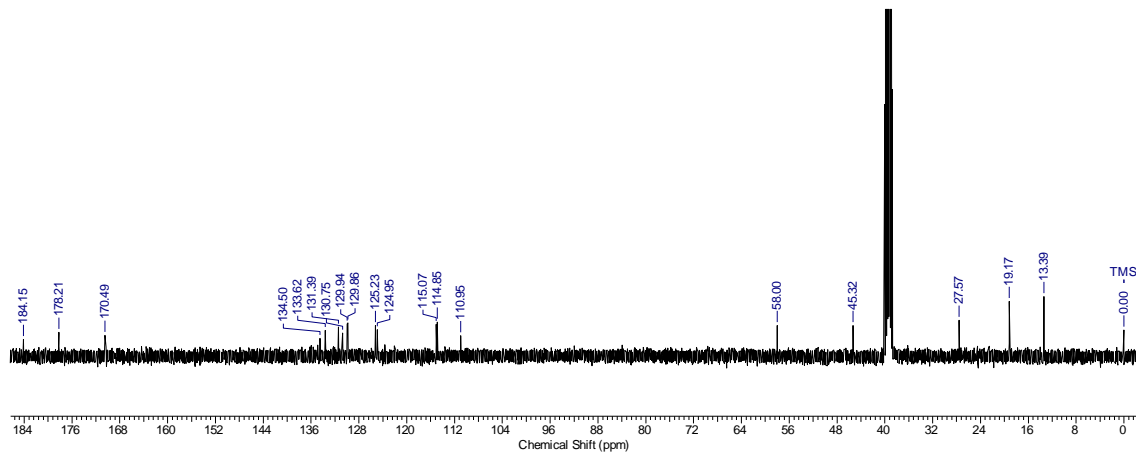


FIGURA 4.142- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância L1 (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

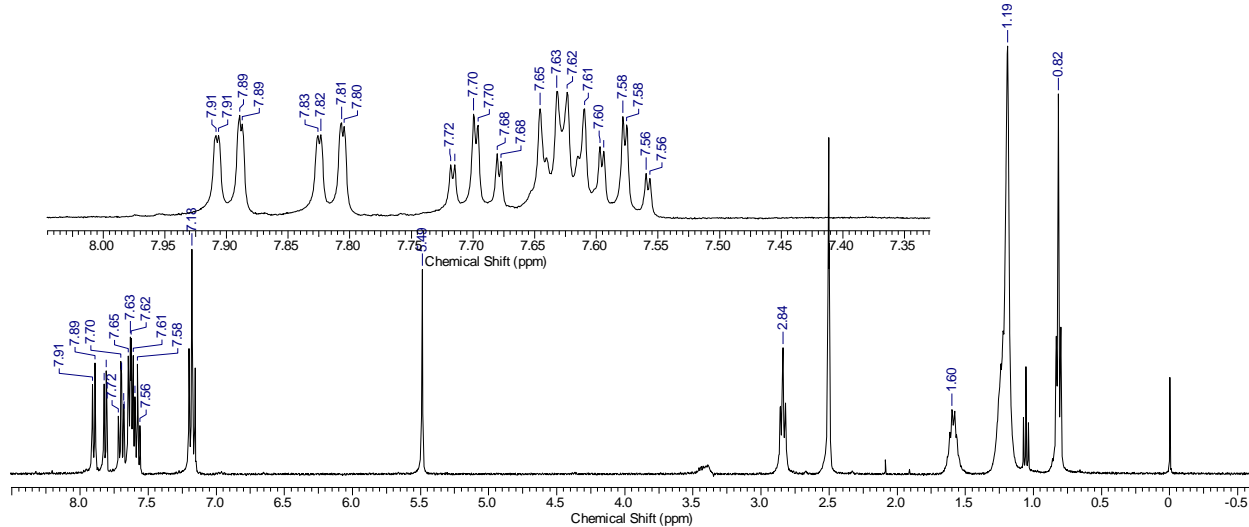


FIGURA 4.143- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância L2 (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

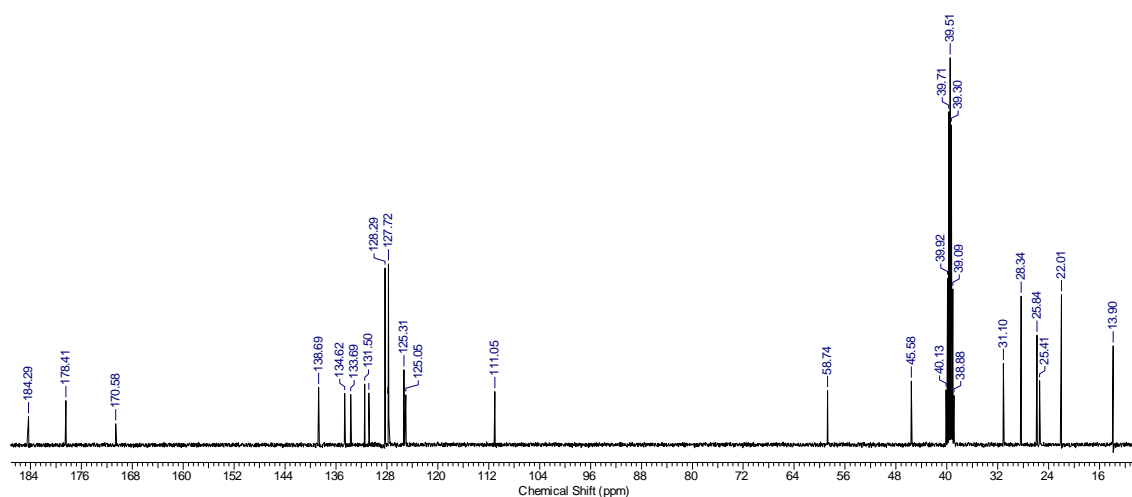


FIGURA 4.144- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância L2 (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

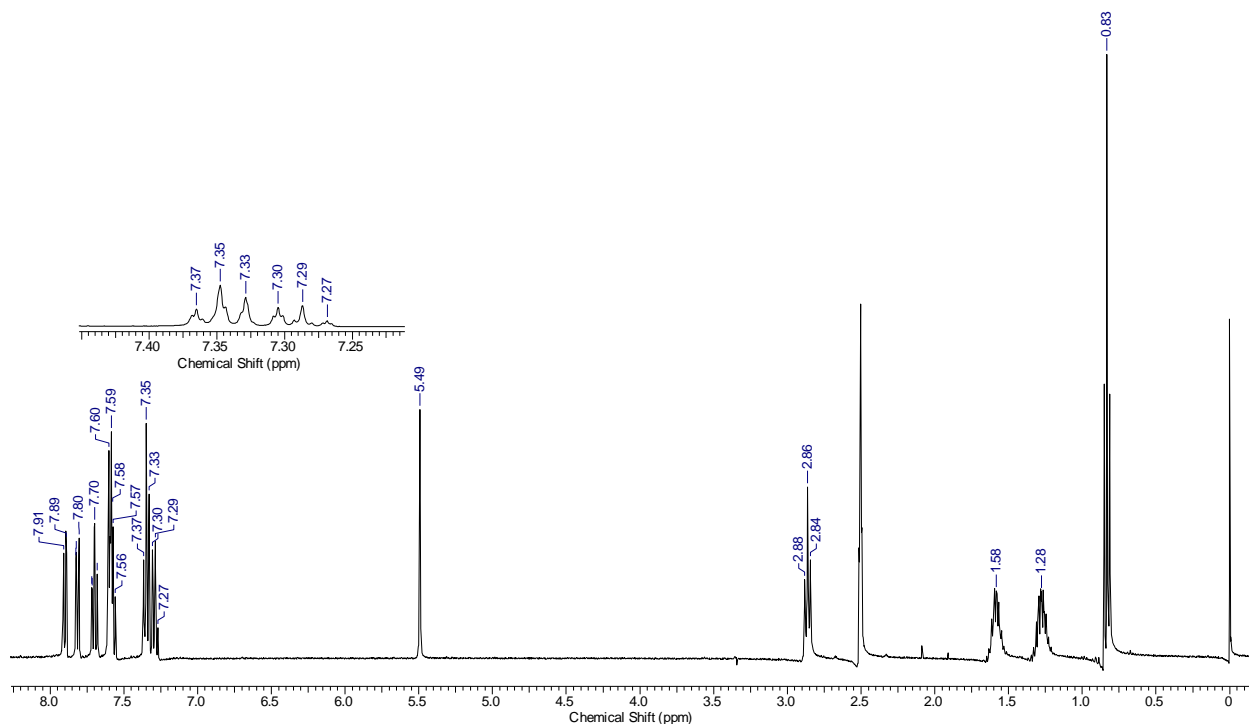


FIGURA 4.145- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **L3** (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

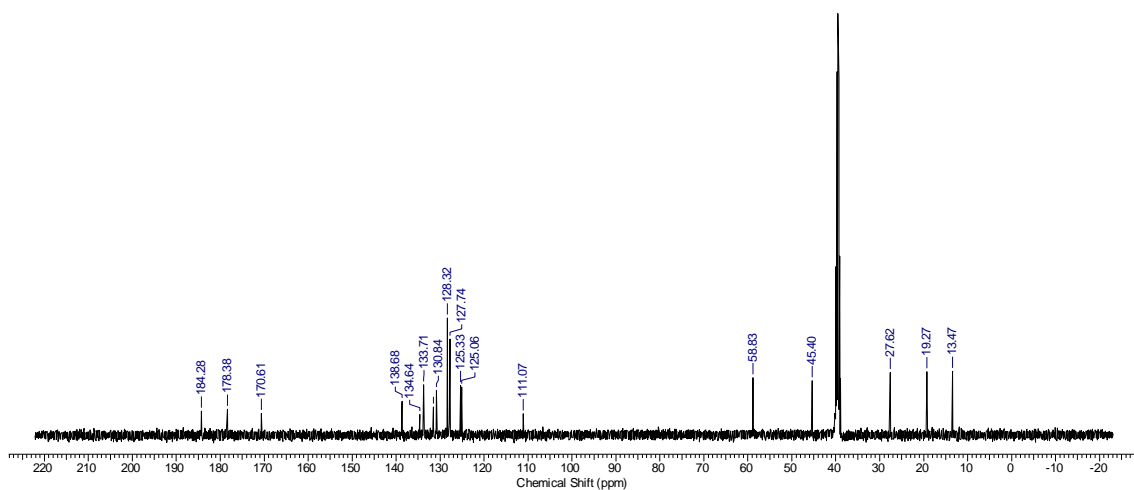


FIGURA 4.146- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância **L3** (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

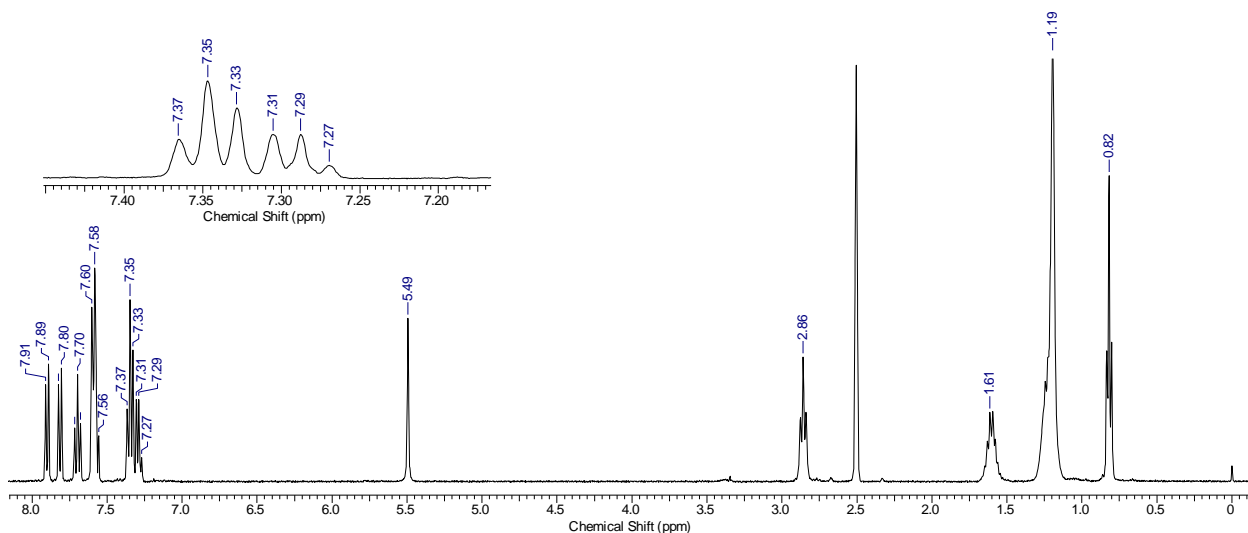


FIGURA 4.147- Espectro de RMN<sup>1</sup>H da substância L4 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

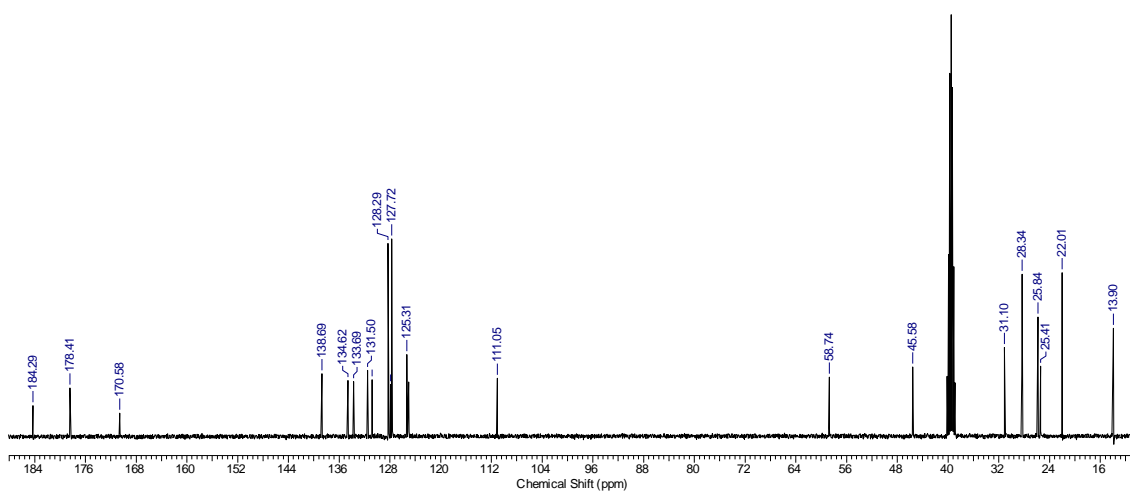


FIGURA 4.148- Espectro de RMN <sup>13</sup>C da substância L4 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz).

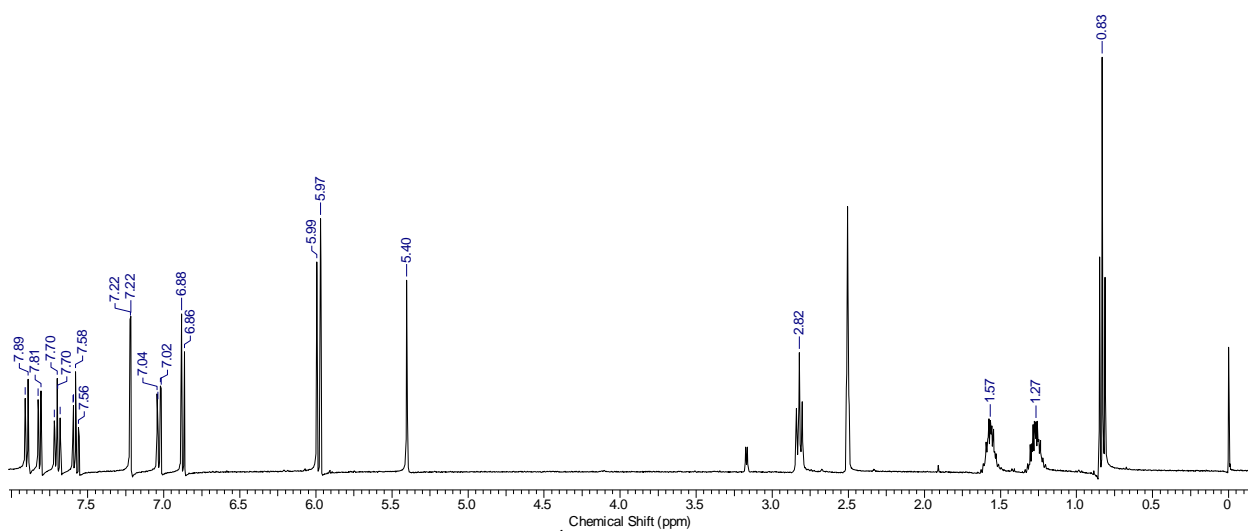


FIGURA 4.149- Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância L5 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

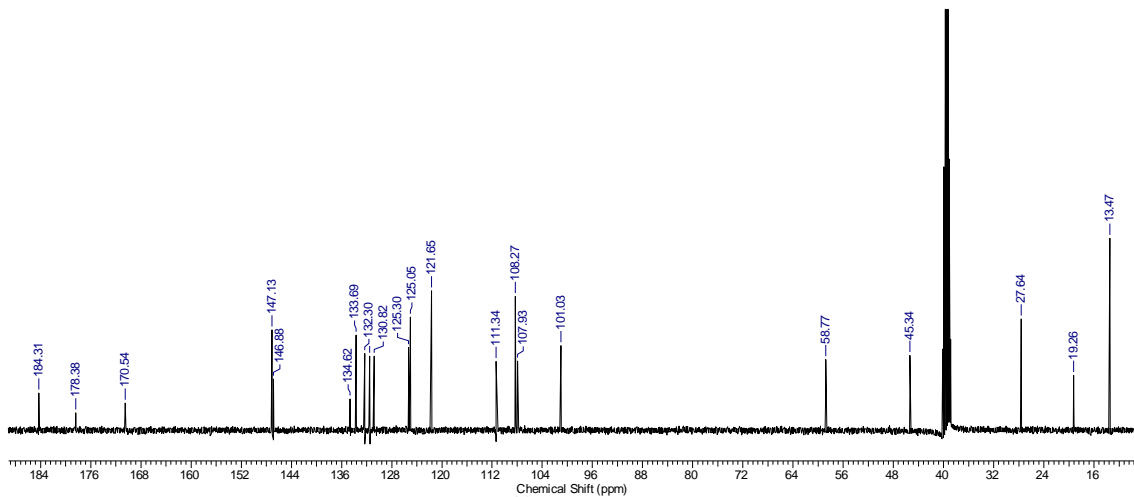


FIGURA 4.150- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância **L5** (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

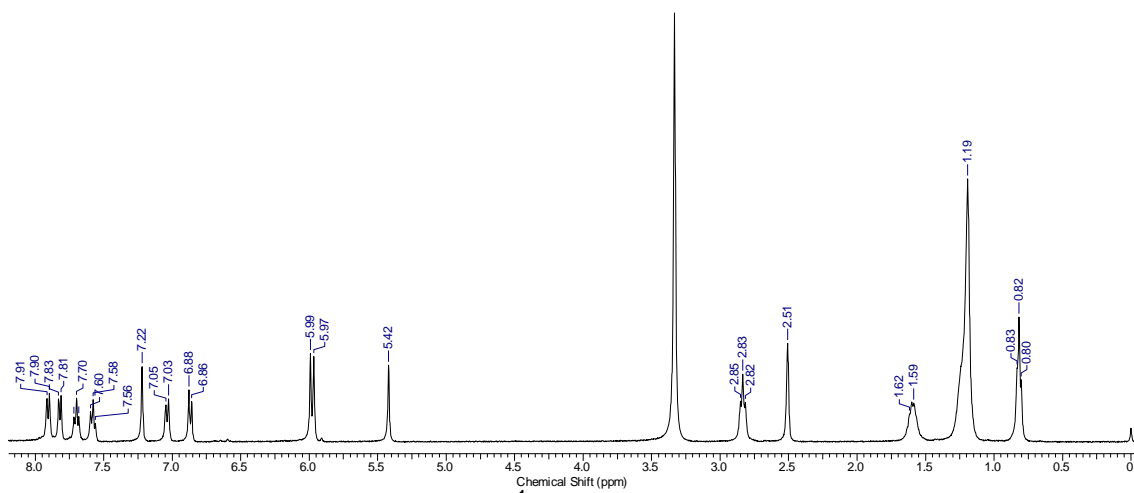


FIGURA 4.151- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **L6** (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

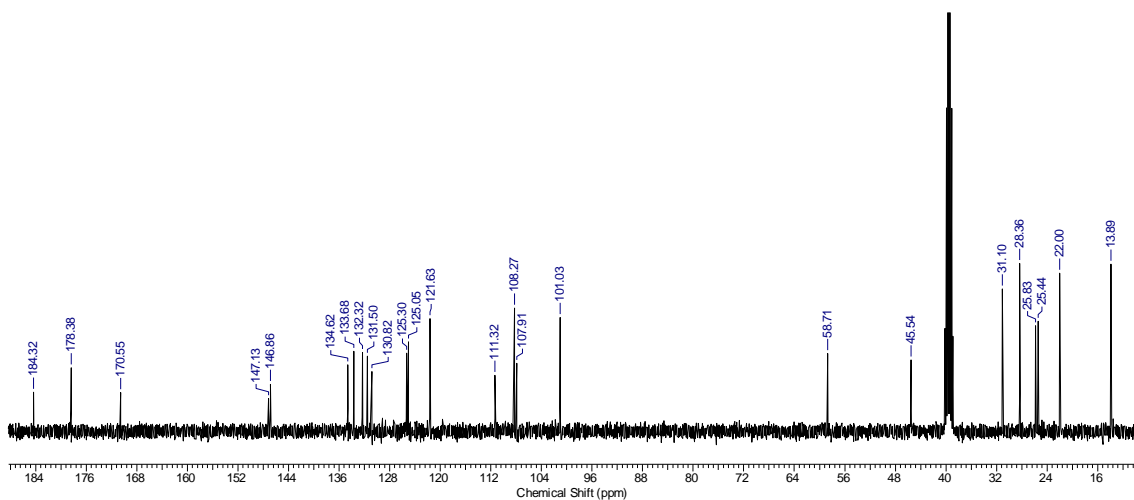


FIGURA 4.152- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância **L6** (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

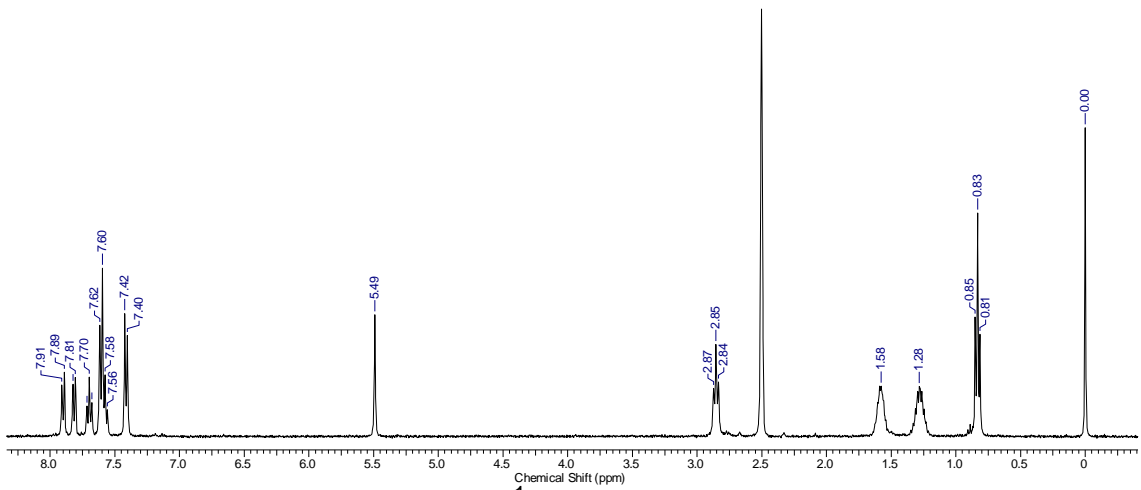


FIGURA 4.153- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância L7 (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

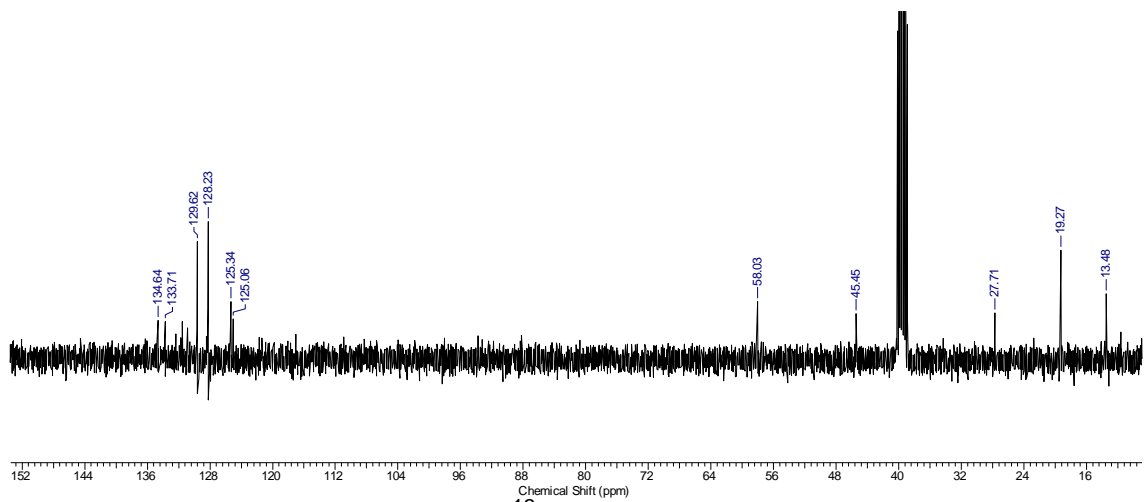


FIGURA 4.154- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância L7 (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

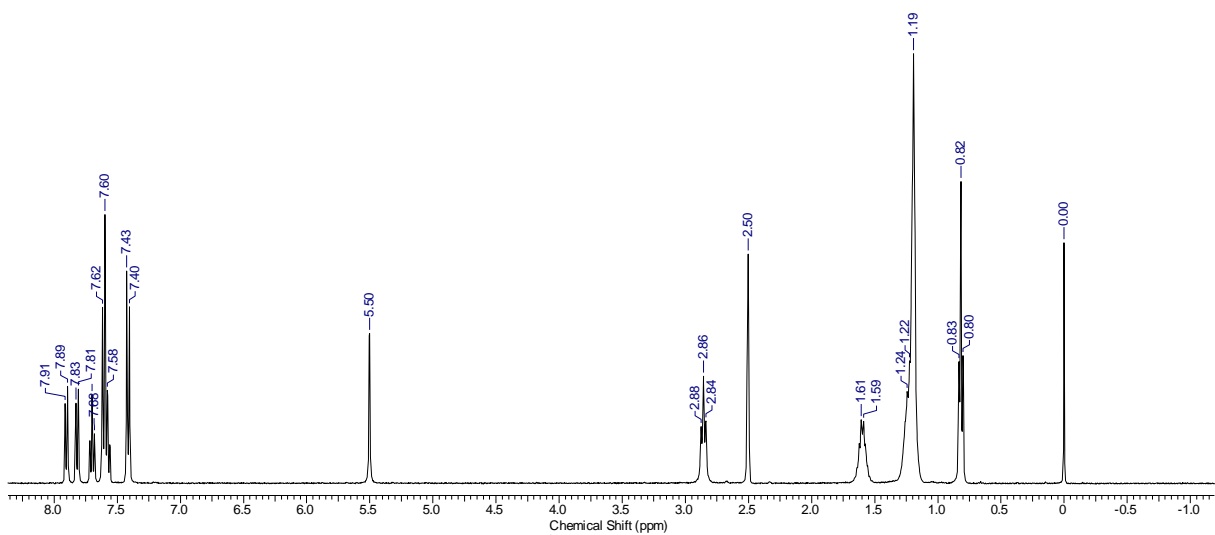


FIGURA 4.155- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância L8 (DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

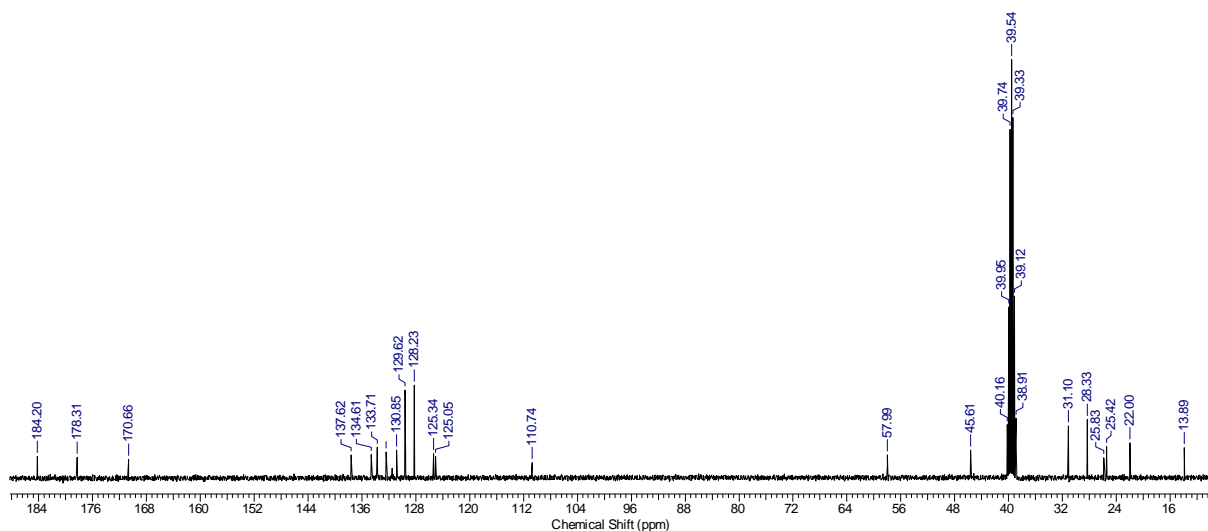


FIGURA 4.156- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância **L8** (DMSO- $d_6$ , 100 MHz).

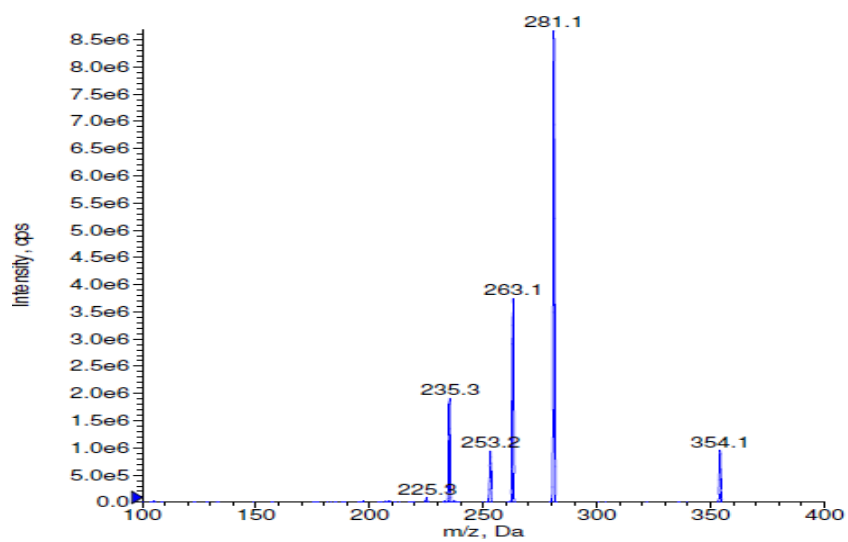


FIGURA 4.158 - Espectro de Massas da substância **L1** (modo positivo).

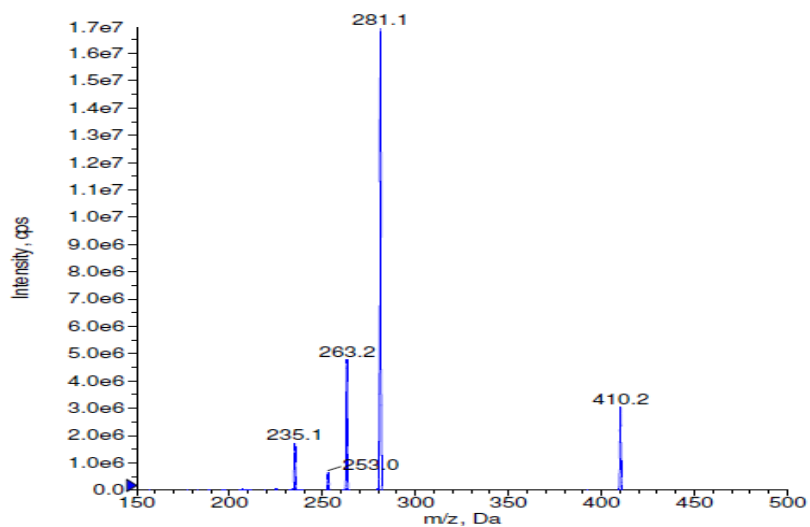


FIGURA 4.159 - Espectro de Massas da substância **L2** (modo positivo).



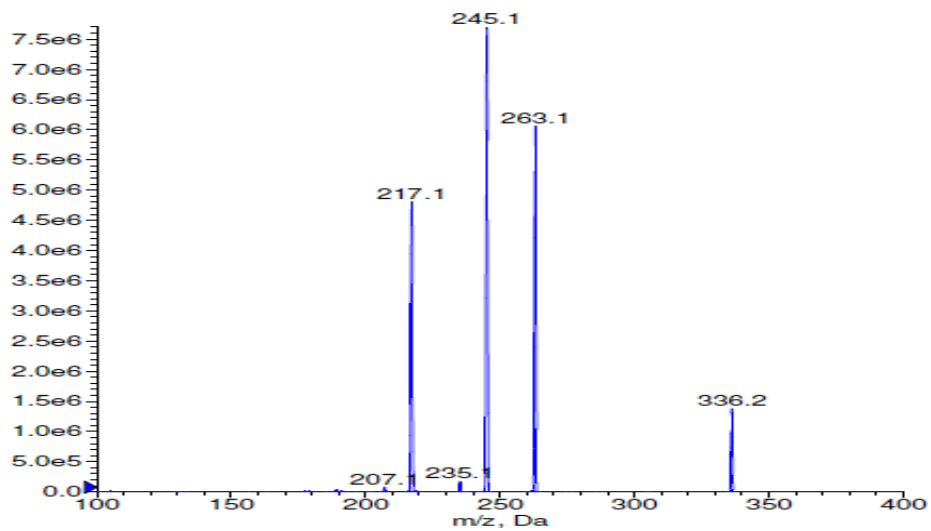


FIGURA 4.160 - Espectro de Massas da substância **L3** (modo positivo).

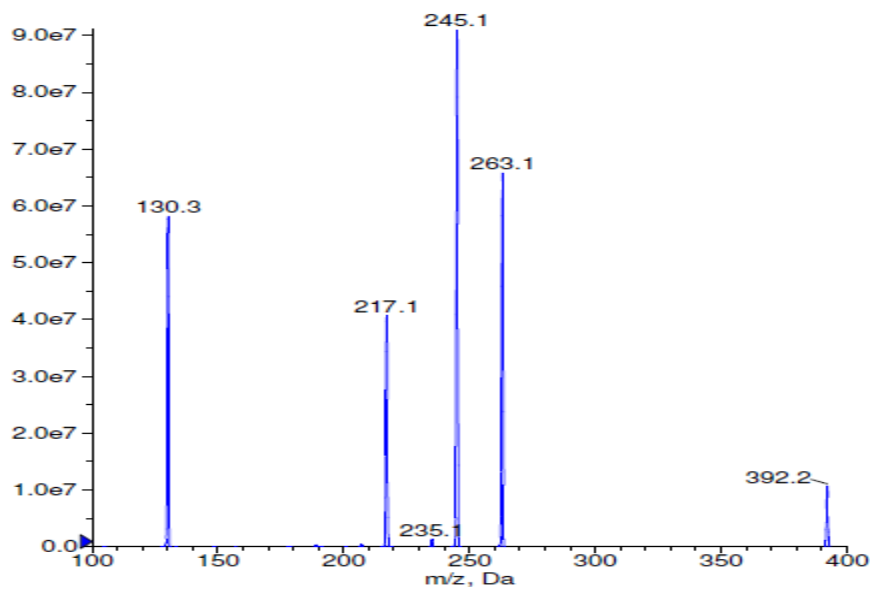


FIGURA 4.161 - Espectro de Massas da substância **L4** (modo positivo).

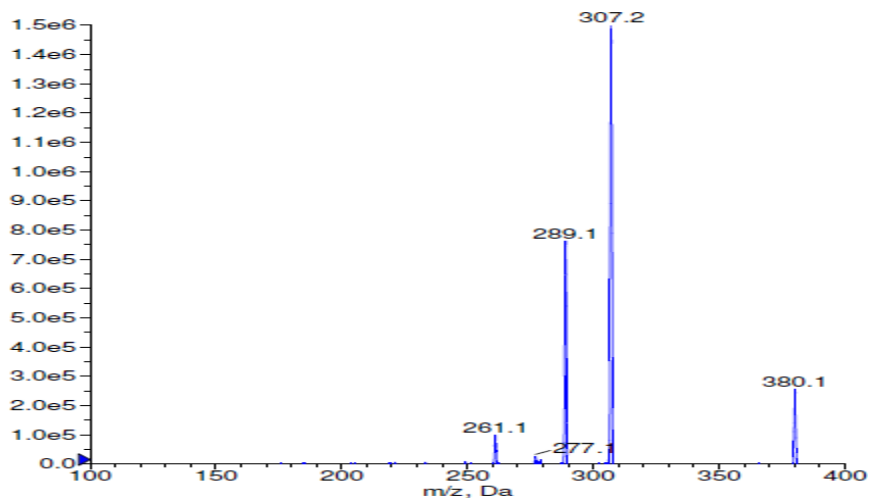


FIGURA 4.162 - Espectro de Massas da substância **L5** (modo positivo).

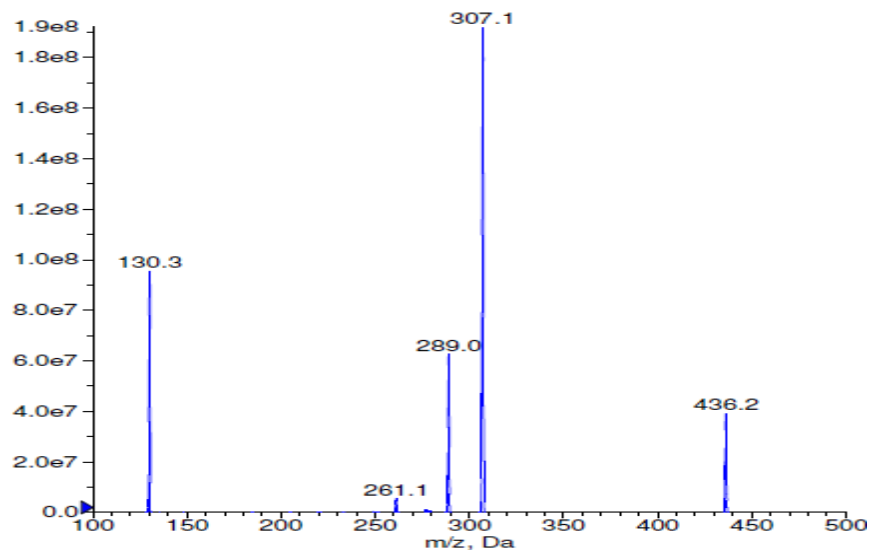


FIGURA 4.163 - Espectro de Massas da substância **L6** (modo positivo).

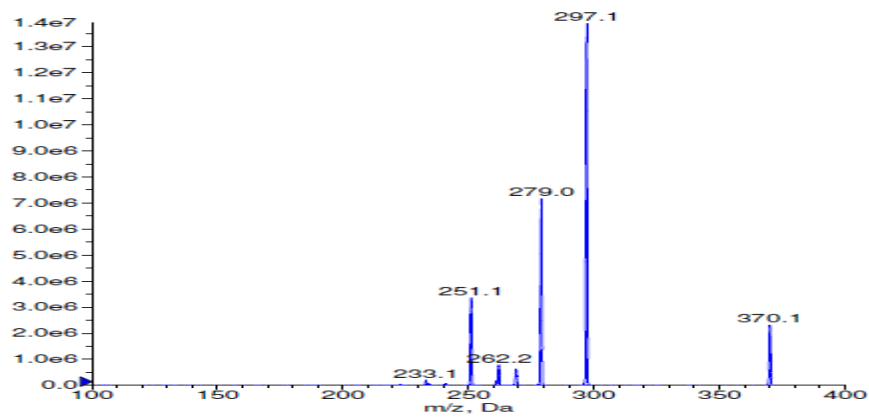


FIGURA 4.164 - Espectro de Massas da substância **L7** (modo positivo).

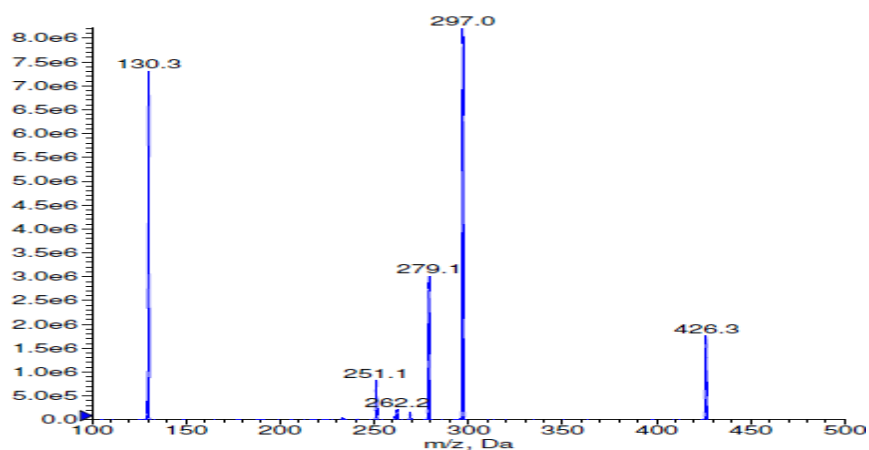


FIGURA 4.165 - Espectro de Massas da substância **L8** (modo positivo).

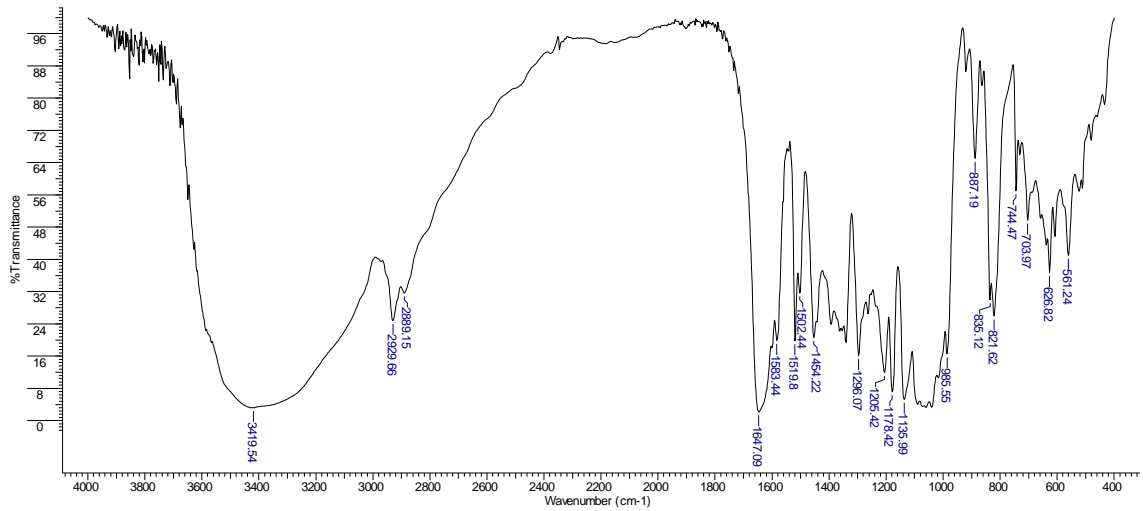


FIGURA 4.190 - Espectro de IV do flavonóide **NAR** (pastilhas de KBr).

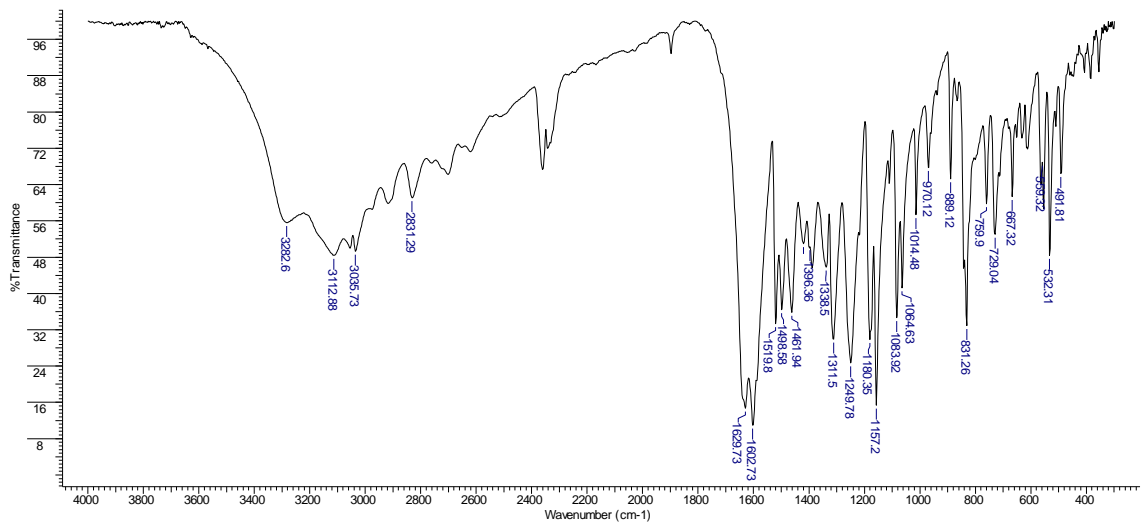


FIGURA 4.191 - Espectro de IV do flavonóide **NNINA** (pastilhas de KBr).

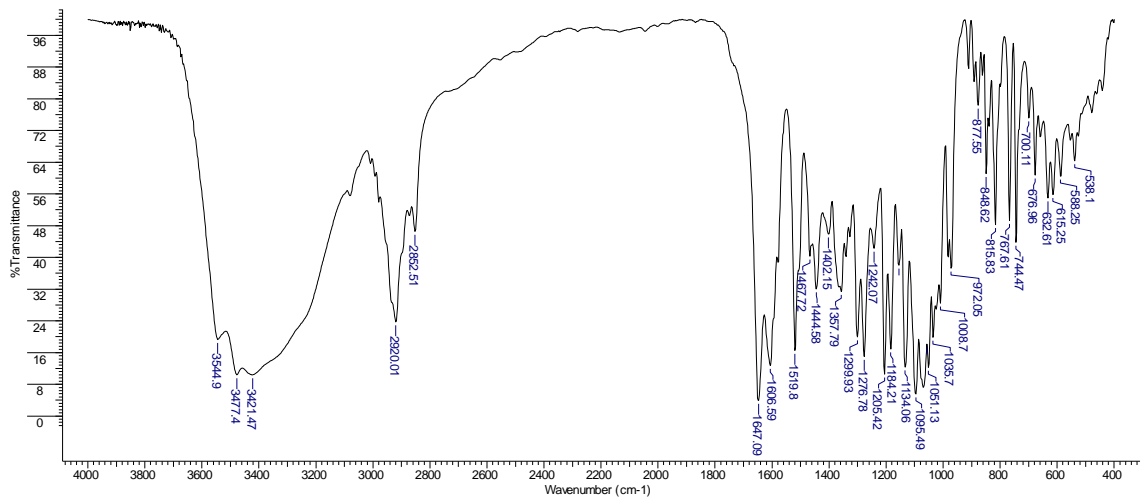


FIGURA 4.192 - Espectro de IV do flavonóide **HESP** (pastilhas de KBr).

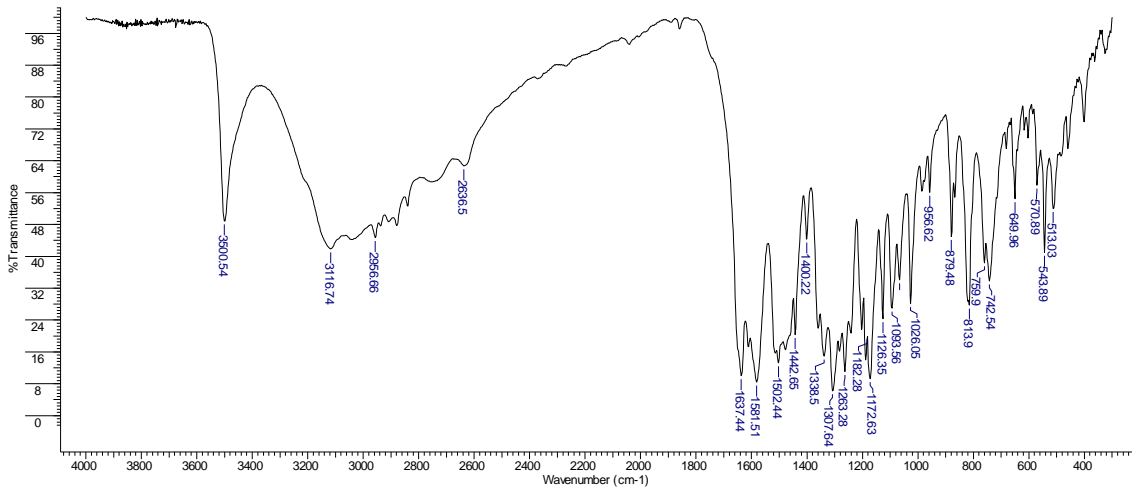


FIGURA 4.193 - Espectro de IV do flavonóide **HPT** (pastilhas de KBr).

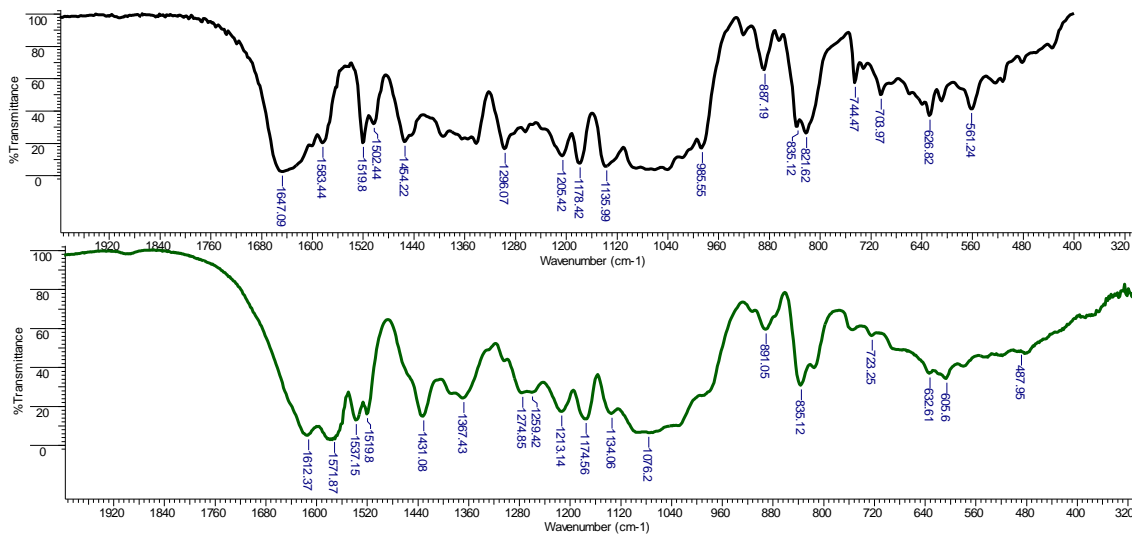


FIGURA 4.194 - Espectros de IV (ampliação) do flavonóide **NAR** e do complexo **[Cu(NAR)<sub>2</sub>]**(pastilhas KBr).

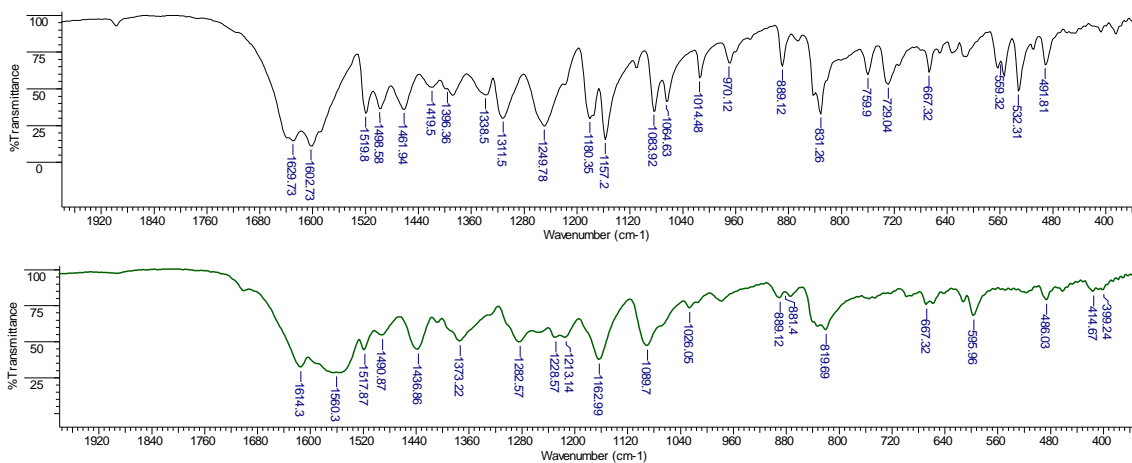


FIGURA 4.195 - Espectros de IV (ampliação) do flavonóide **NNINA** e do complexo **[Cu(NNINA)<sub>2</sub>]**(pastilhas KBr).

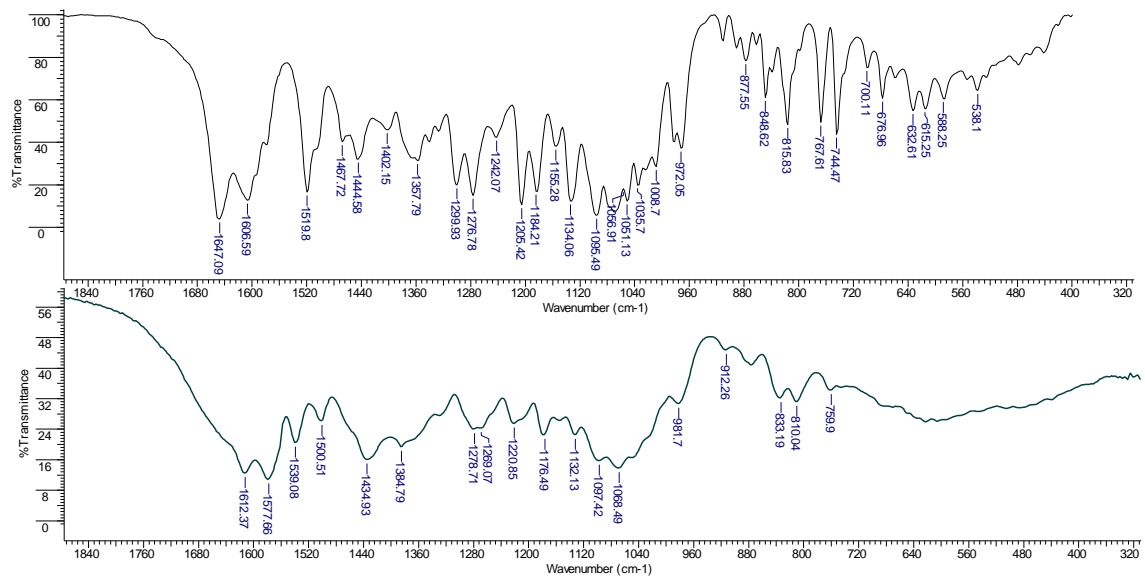


FIGURA 4.196 - Espectros de IV (ampliação) do flavonóide **HESP** e do complexo **[Cu(HESP)<sub>2</sub>](pastilhas KBr)**.

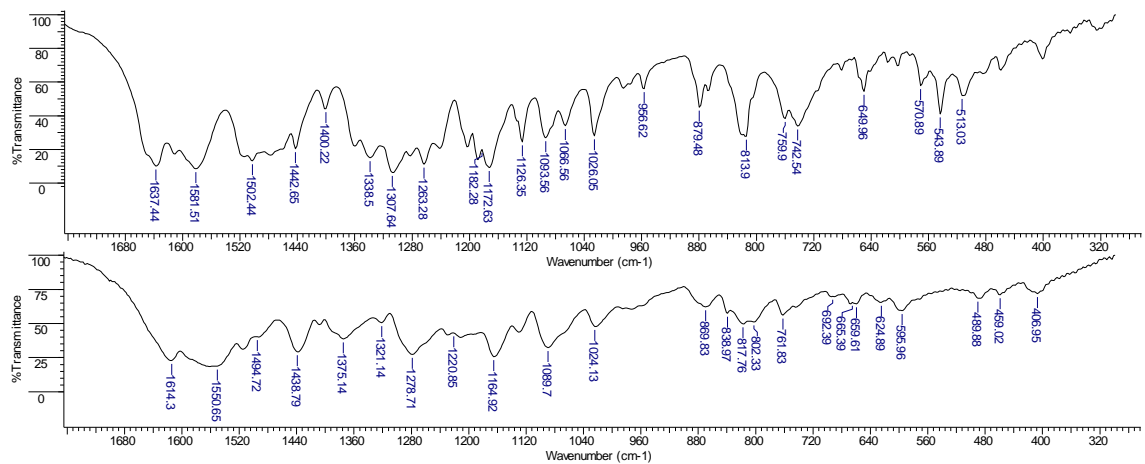


FIGURA 4.197 - Espectros de IV (ampliação) do flavonóide **HPT** e do complexo **[Cu(HPT)<sub>2</sub>](pastilhas KBr)**.

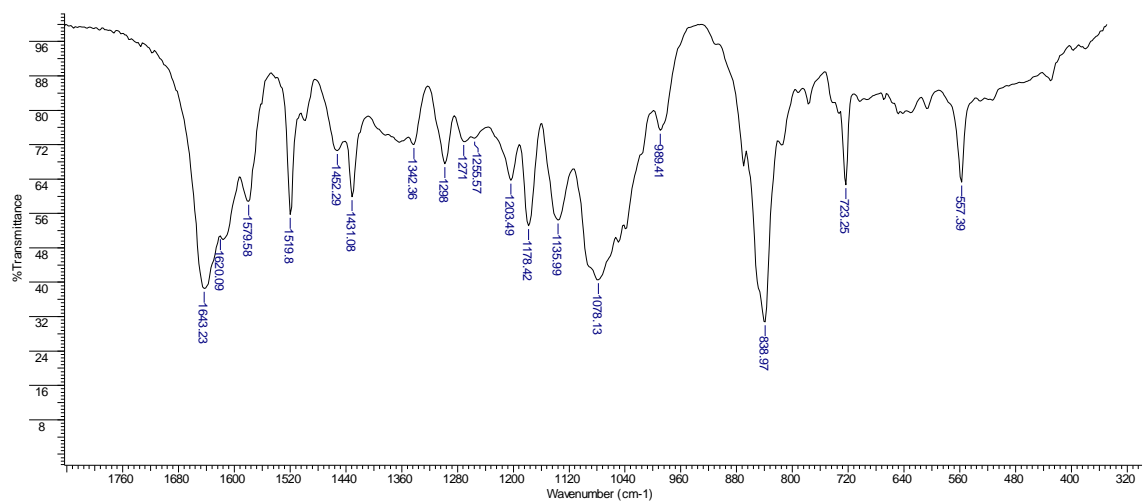


FIGURA 4.198 - Espectro de IV para o complexo **[Cu(BIPY)(NAR)](pastilhas KBr)**.

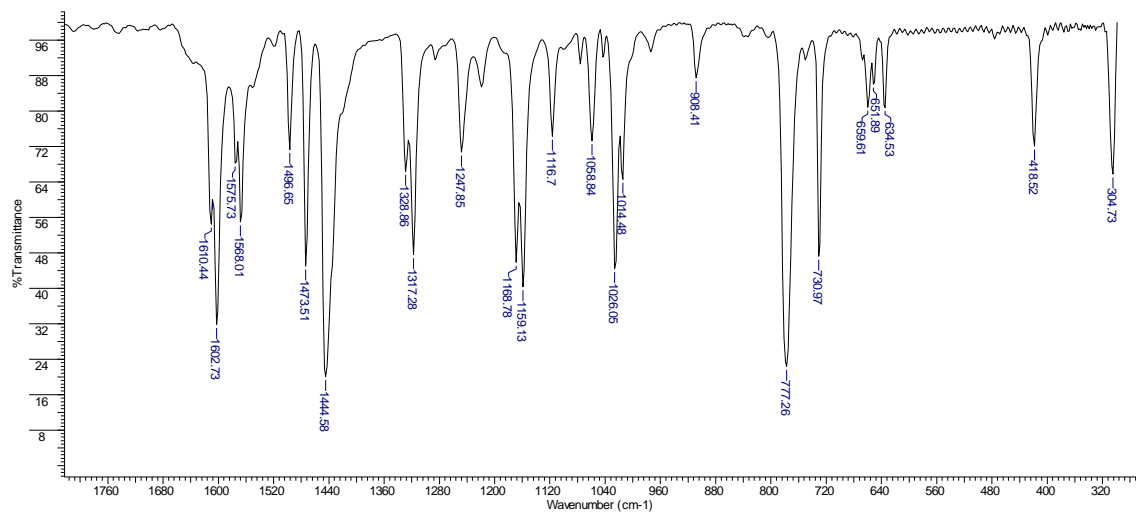


FIGURA 4.199 - Espectro de IV para o complexo  $[Cu(BIPY)(NNINA)]$ (pastilhas KBr).

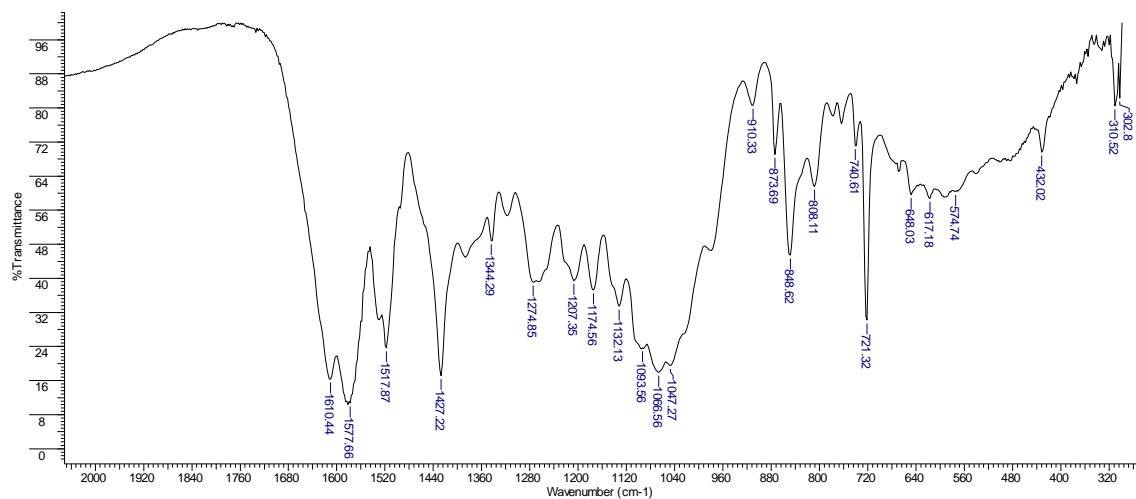


FIGURA 4.200 - Espectro de IV para o complexo  $[Cu(FEN)(HESP)]$  (pastilhas KBr).

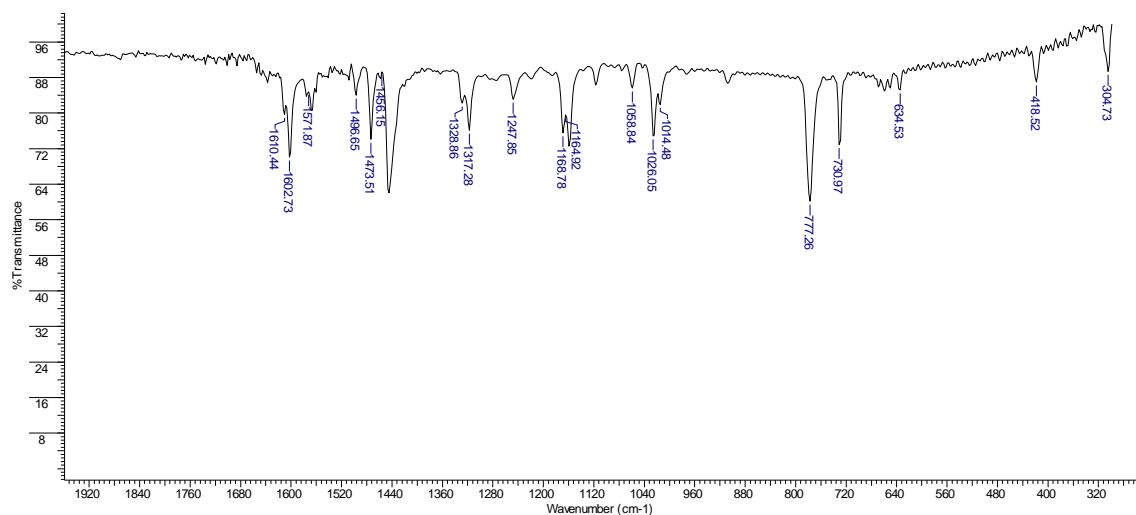


FIGURA 4.201 - Espectro de IV para o complexo  $[Cu(BIPY)(HPT)]$  (pastilhas KBr).

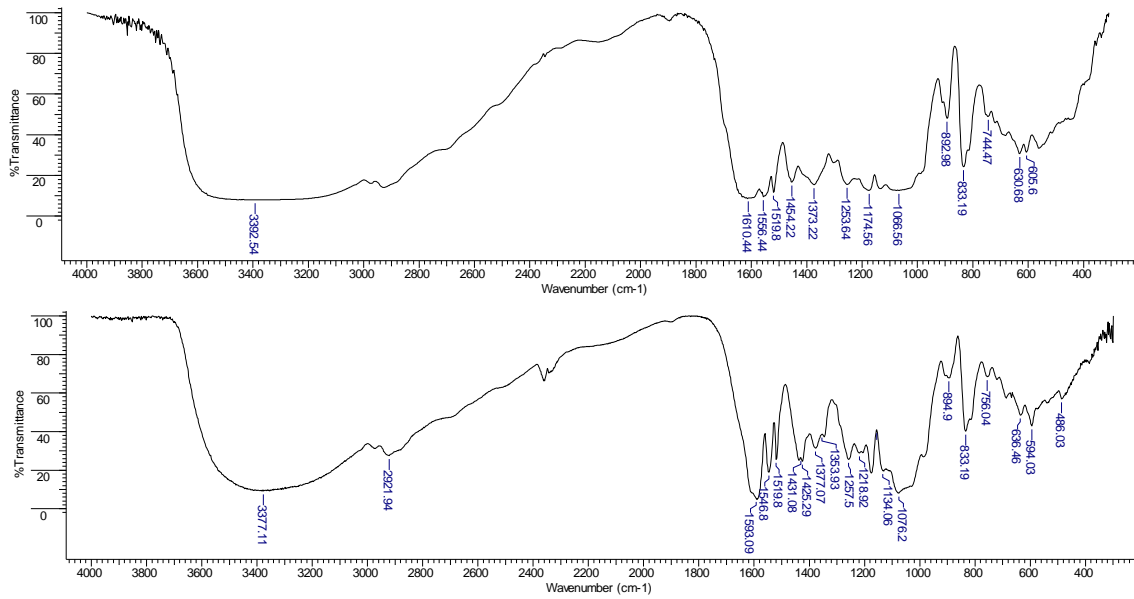


FIGURA 4.202 - Espectros de IV do derivado Imínico **[1,2-Di(4-iminoNARetano)]** e de seu complexo (pastilhas KBr).

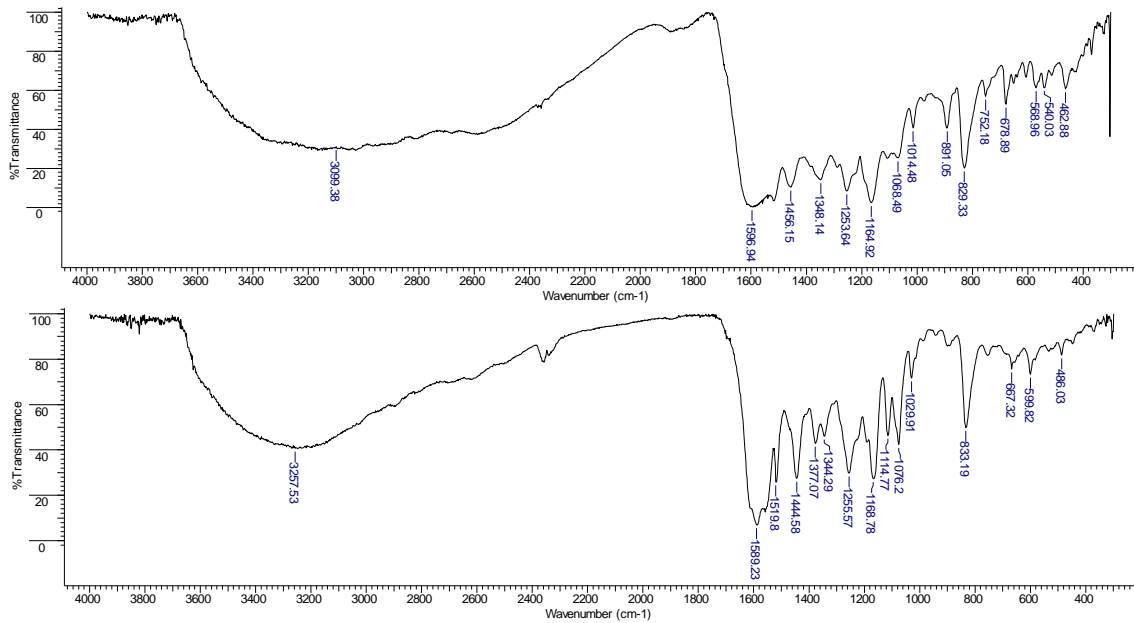


FIGURA 4.203 - Espectros de IV do derivado Imínico **[1,2-Di(4-iminoNNINAEtano)]** e de seu complexo.

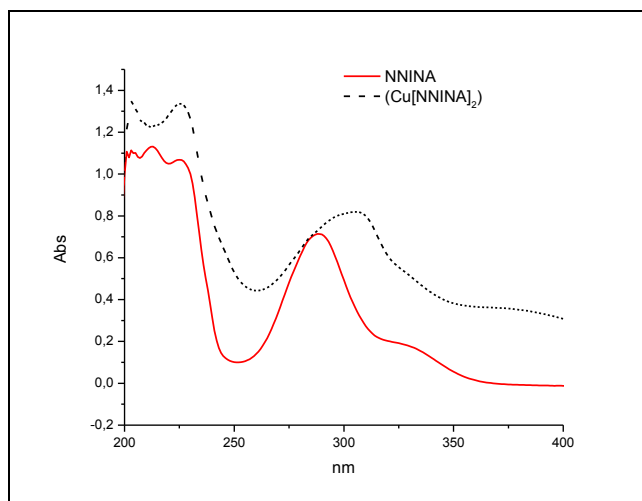


FIGURA 4.206 - Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o flavonóide **NNINA** e seu complexo **[Cu(NNINA)<sub>2</sub>]**.

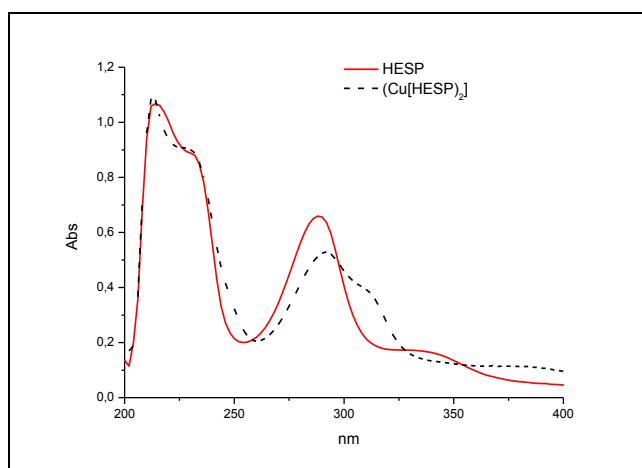


FIGURA 4.207- Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o flavonóide **HESP** e seu complexo **[Cu(HESP)<sub>2</sub>]**.

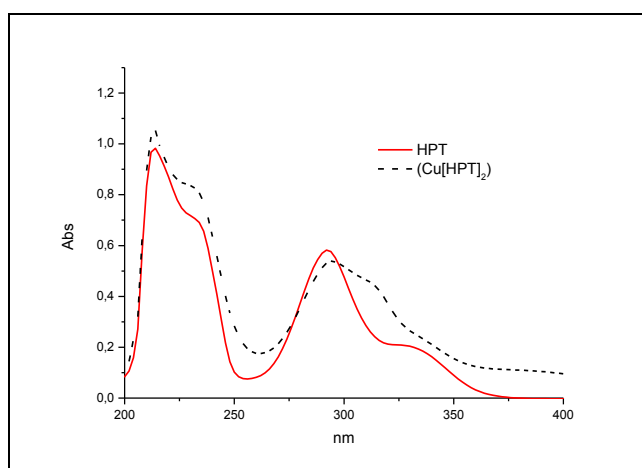


FIGURA 4.208 - Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o flavonóide **HPT** e seu complexo **[Cu(HPT)<sub>2</sub>]**.



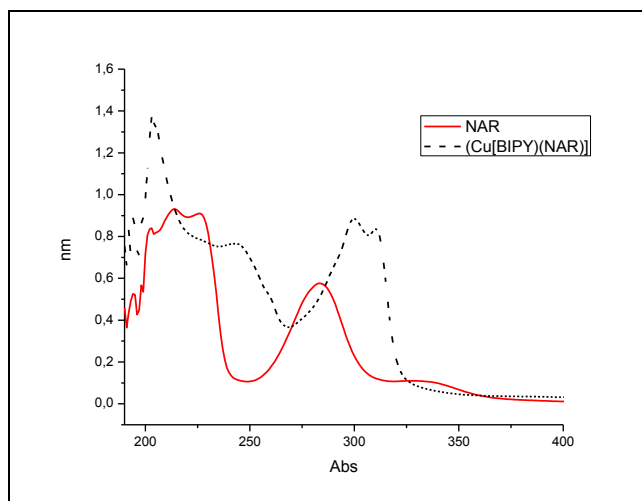


FIGURA 4.209 - Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o flavonóide **NAR** e seu complexo **[Cu(BIPY)(NAR)]**.

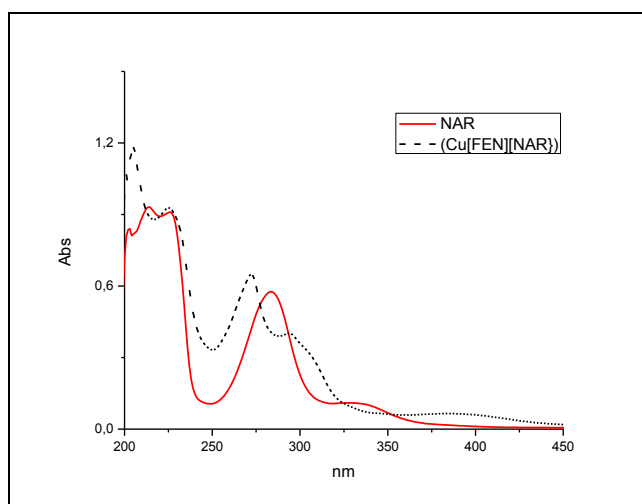


FIGURA 4.210- Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o flavonóide **NAR** e seu complexo **[Cu(FEN)(NAR)]**.

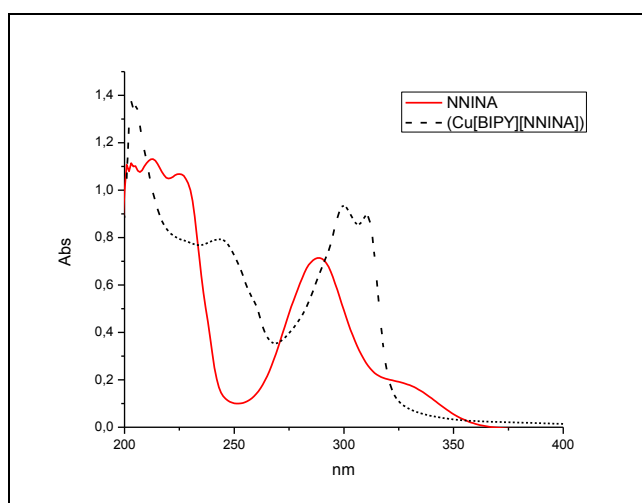


FIGURA 4.211- Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o flavonóide **NNINA** e seu complexo do tipo **[Cu(BIPY)(NNINA)]**.

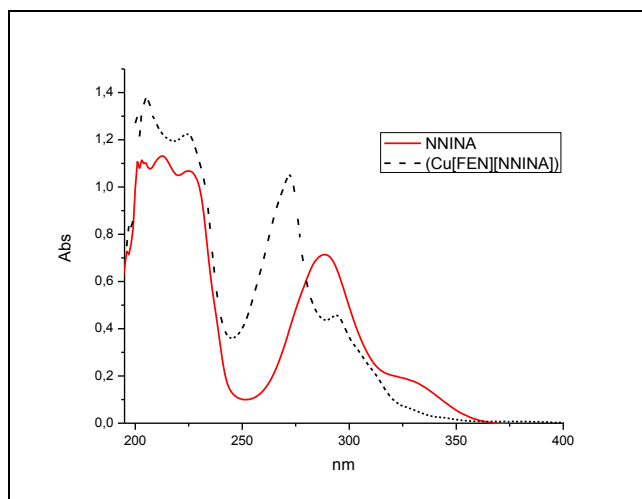


FIGURA 4.212 - Espectro de UV ( $\lambda_{600}^{\text{MeOH}}$ ) para o flavonóide **NNINA** e seu complexo **[Cu(FEN)(NNINA)]**.

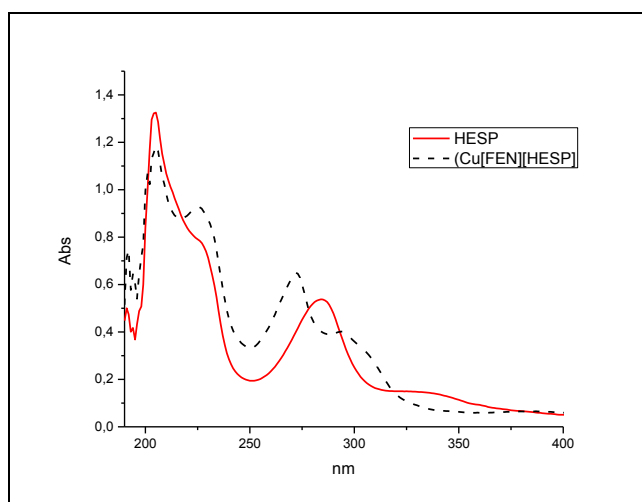


FIGURA 4.213 - Espectro de UV ( $\lambda_{600}^{\text{MeOH}}$ ) para o flavonóide **HESP** e seu complexo **[Cu(FEN)(HESP)]**.

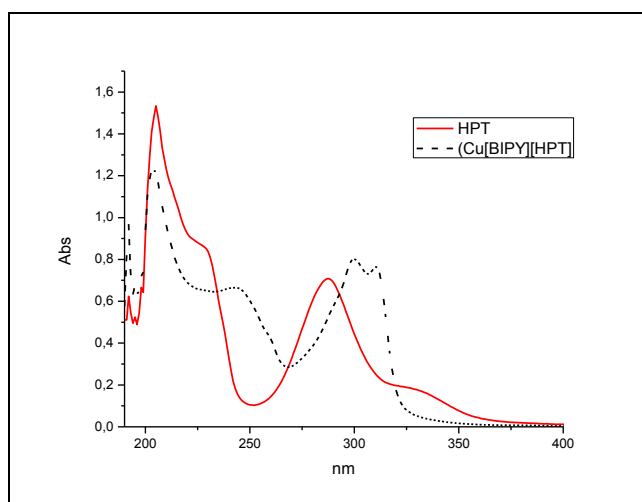


FIGURA 4.214 - Espectro de UV ( $\lambda_{600}^{\text{MeOH}}$ ) para o flavonóide **HPT** e seu complexo **[Cu(BIPY)(HPT)]**.

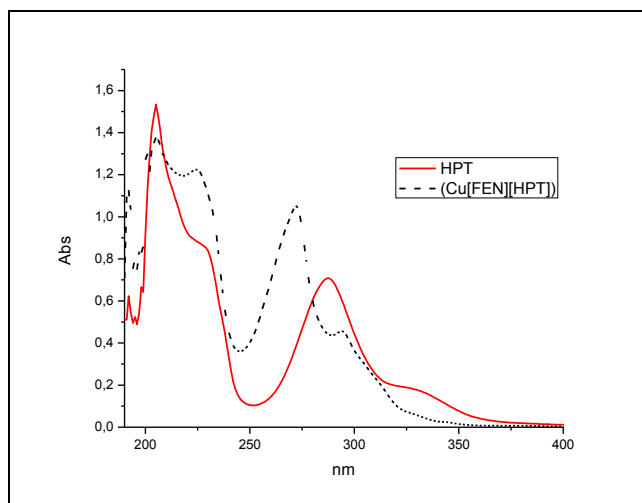


FIGURA 4.215 - Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o flavonóide **HPT** e seu complexo **[Cu(FEN)(HPT)]**.

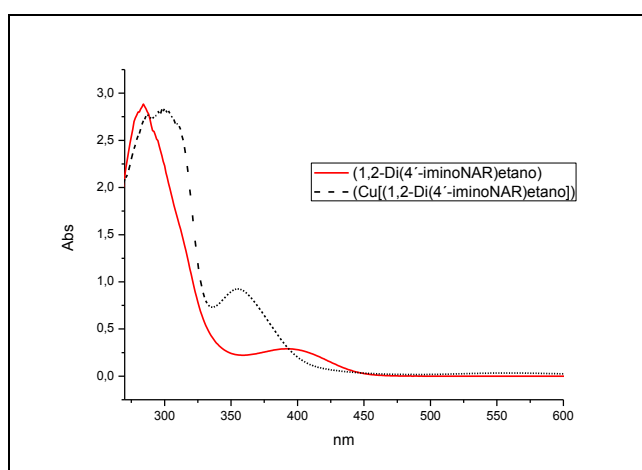


FIGURA 4.216 - Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o ligante **(1,2-Di(4'-iminoNAR)etano)** e de seu complexo **[Cu(1,2-Di(4'-iminoNAR)etano)]**.

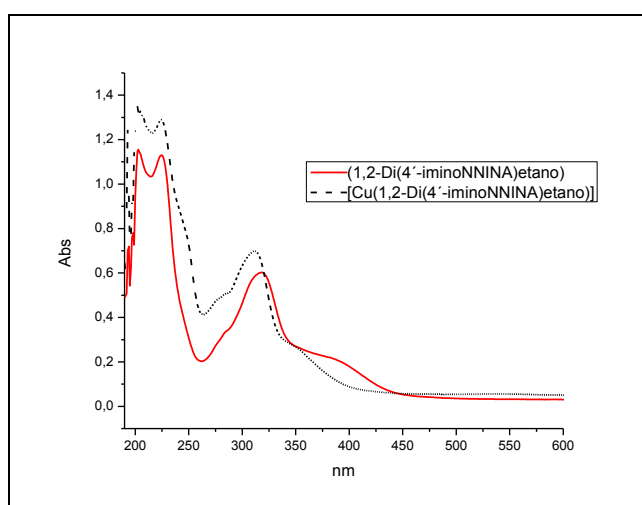


FIGURA 4.217 - Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o ligante **(1,2-Di(4'-iminoNNINA)etano)** e de seu complexo **[Cu(1,2-Di(4'-iminoNAR)etano)]**.

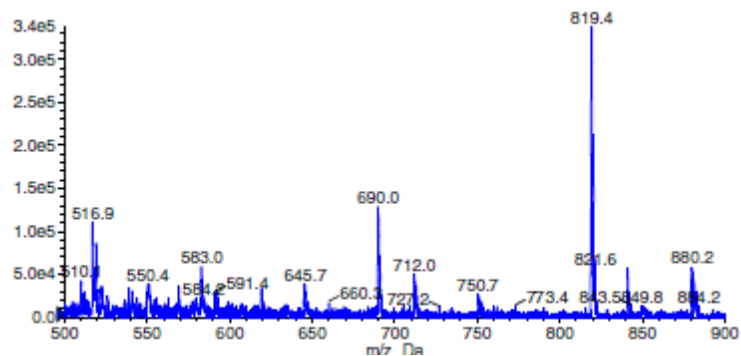


FIGURA 4.224 - Espectro de Massas do complexo  $\text{Cu(L2)}_2$ .

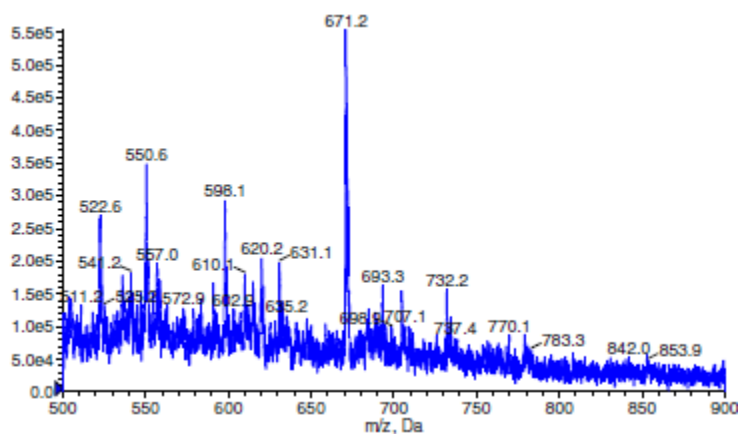


FIGURA 4.225 – Espectro de Massas do complexo  $\text{Cu(L3)}_2$ .

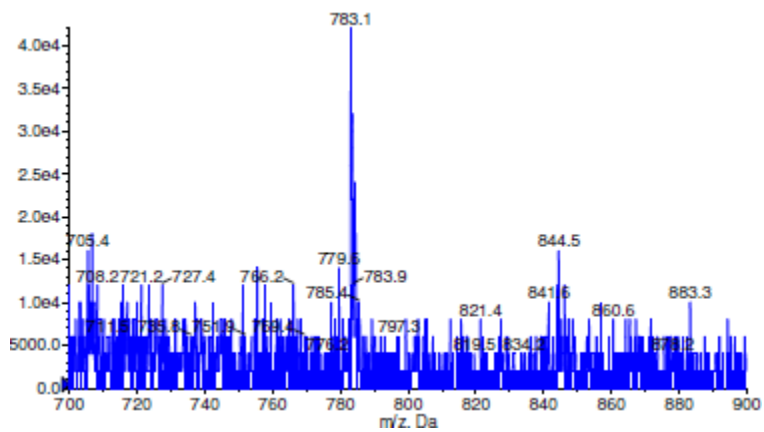


FIGURA 4.226 – Espectro de Massas do complexo  $\text{Cu(L4)}_2$ .

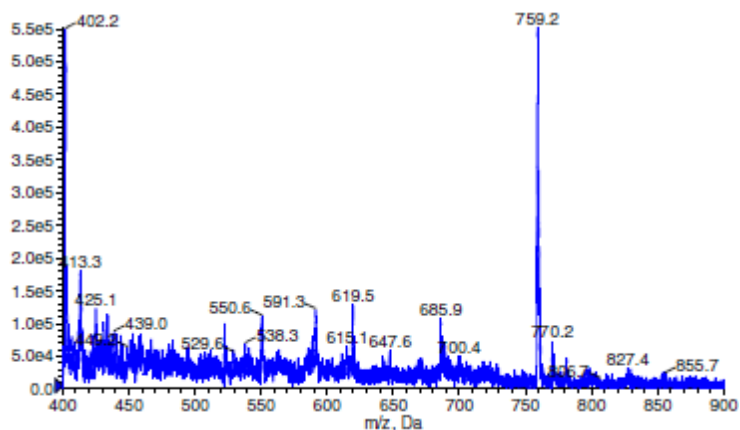


FIGURA 4.227 – Espectro de Massas do complexo  $\text{Cu(L5)}_2$ .

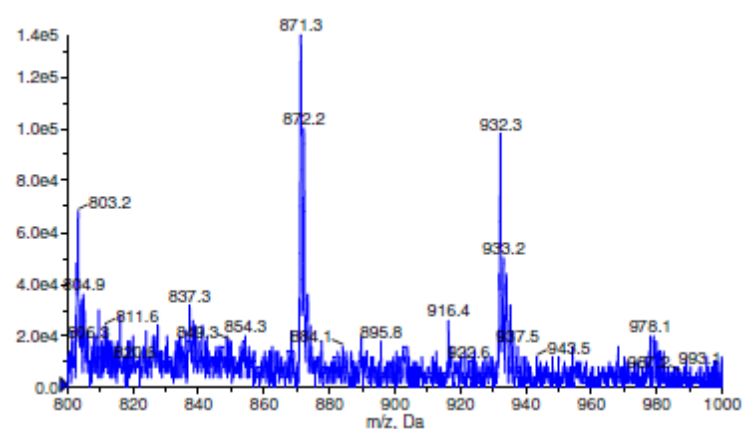


FIGURA 4.228 – Espectro de Massas do complexo  $\text{Cu(L6)}_2$ .

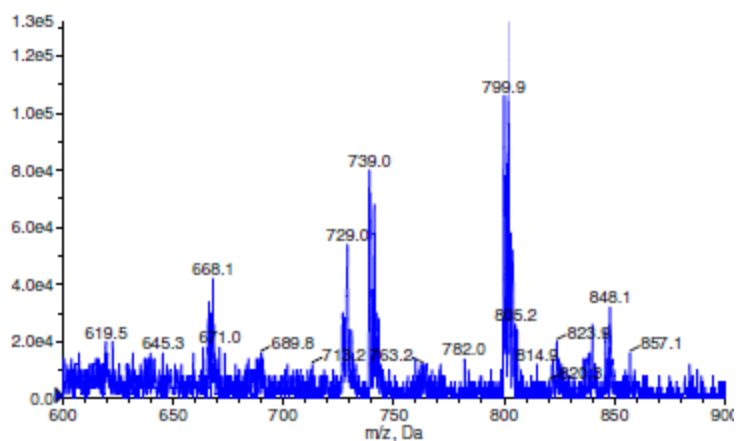


FIGURA 4.229 – Espectro de Massas do complexo  $\text{Cu(L7)}_2$ .

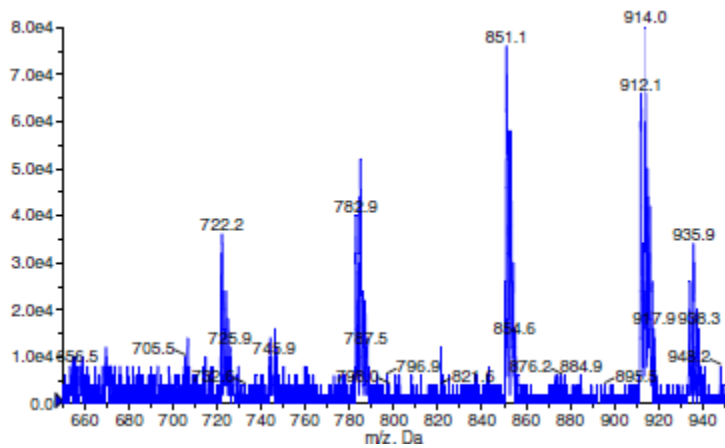


FIGURA 4.230 – Espectro de Massas do complexo **Cu(L8)<sub>2</sub>**.

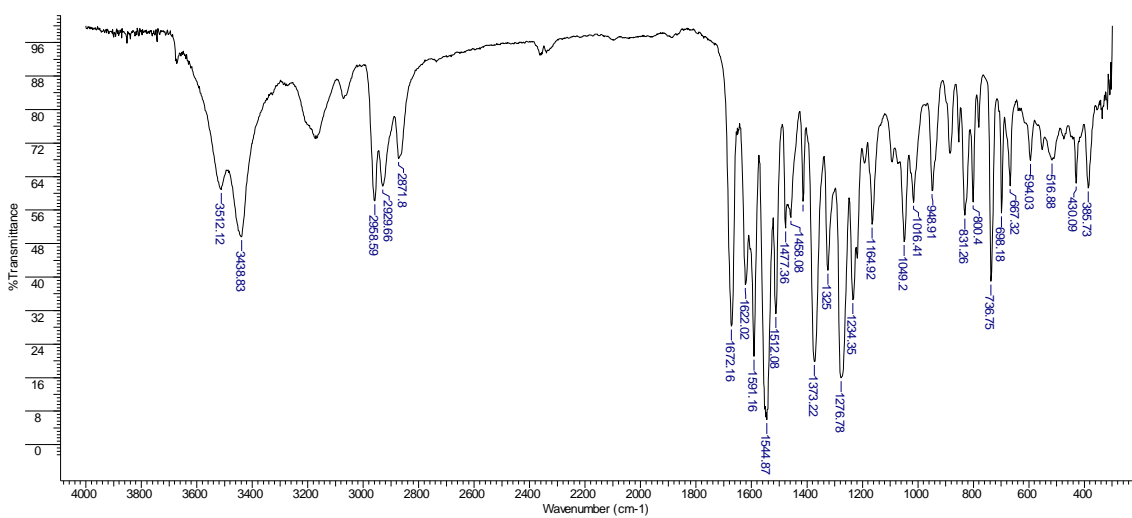


FIGURA 4.231 - Espectro de IV de **L1** (pastilhas KBr).

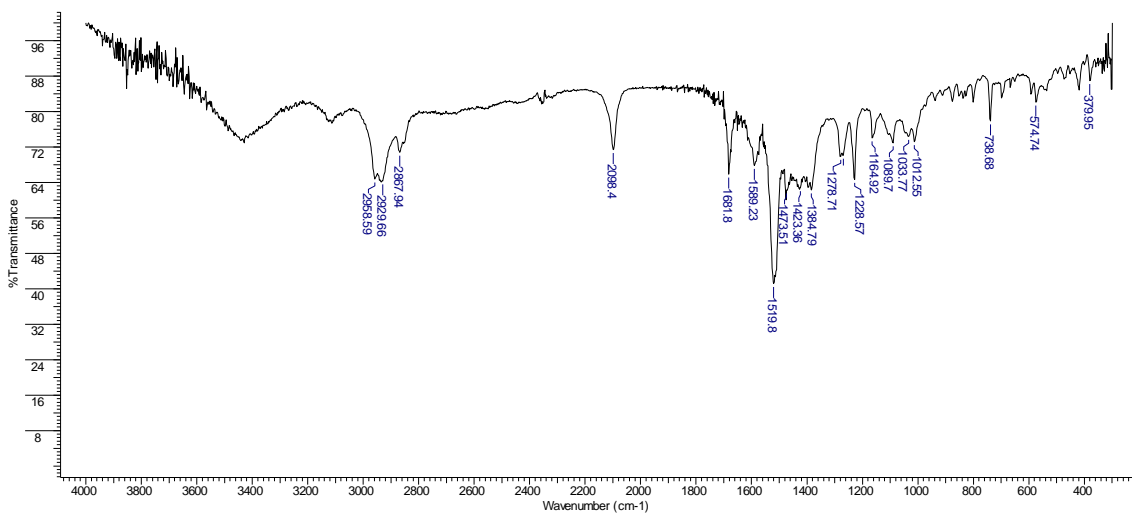


FIGURA 4.232 - Espectro de IV de **Cu(L1)<sub>2</sub>**(pastilhas KBr).

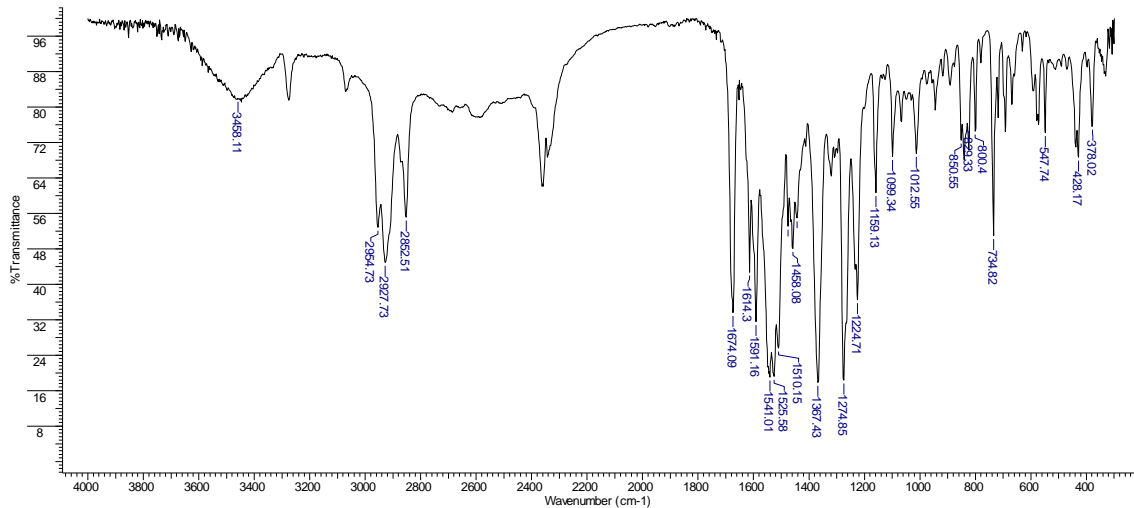


FIGURA 4.233 - Espectro de IV de L2 (pastilhas KBr).

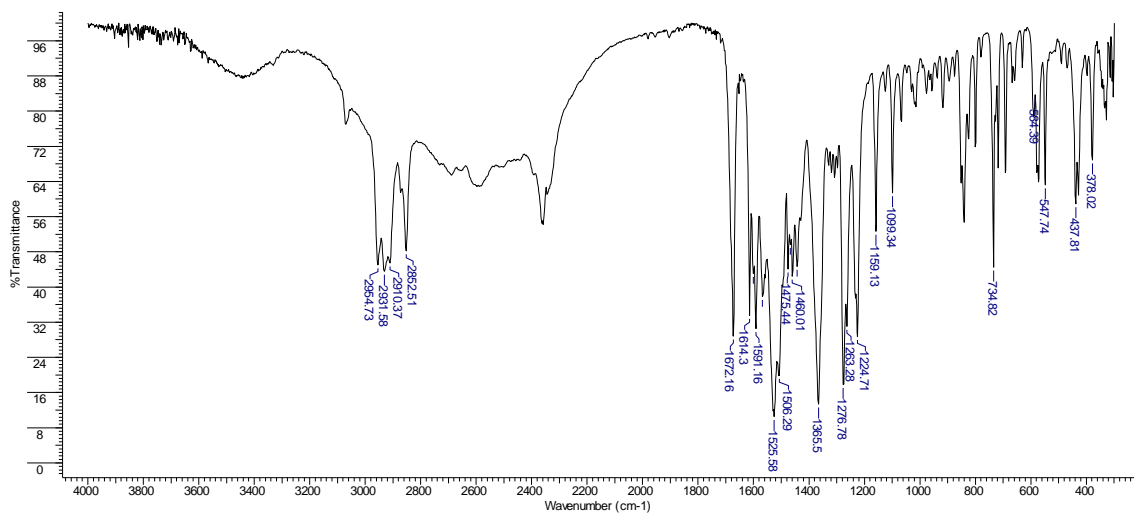


FIGURA 4.234 - Espectro de IV de Cu(L2)2 (pastilhas KBr).

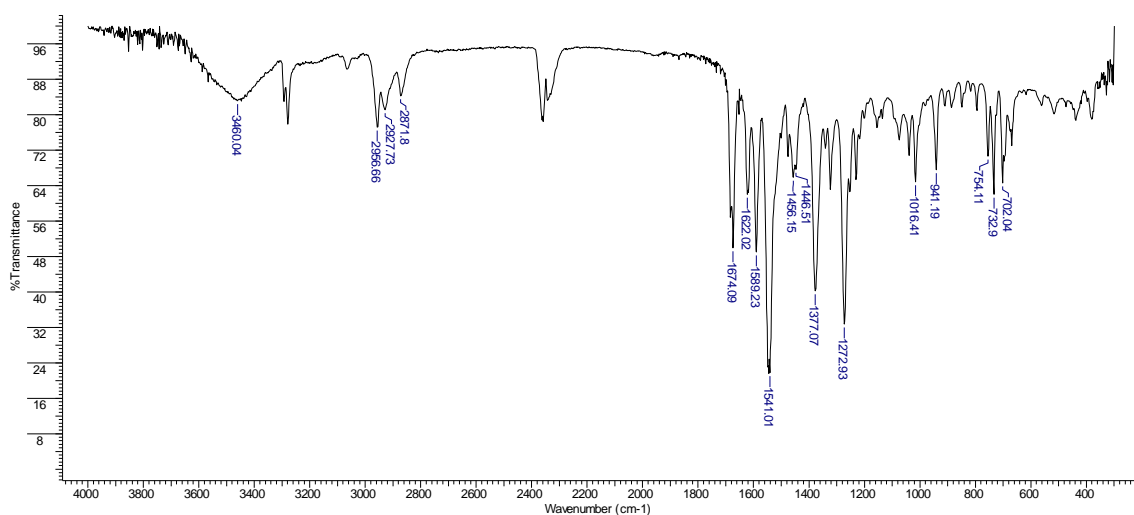


FIGURA 4.235 - Espectro de IV de L3 (pastilhas KBr).

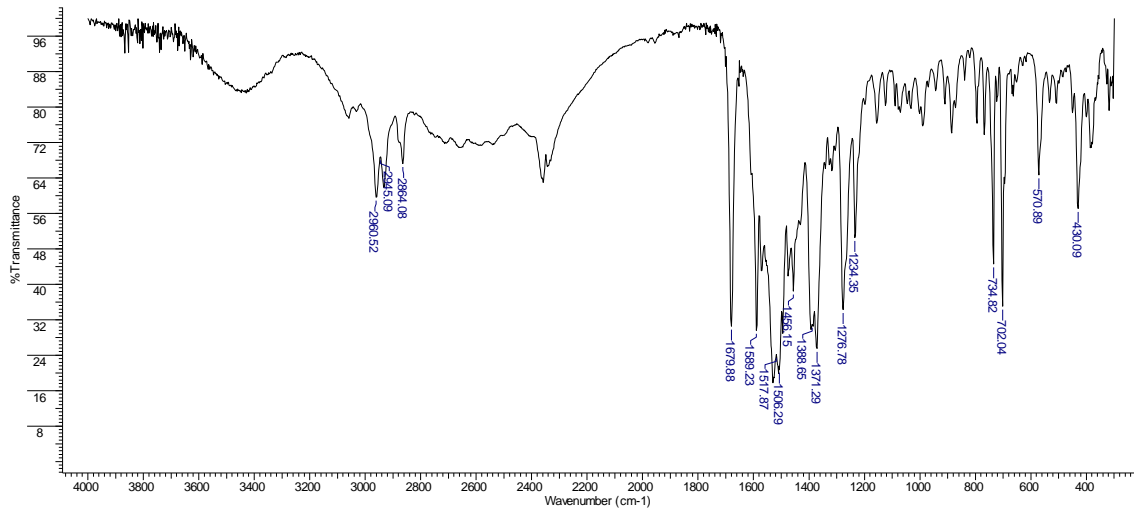


FIGURA 4.236 - Espectro de IV de  $\text{Cu(L3)}_2$  (pastilhas KBr).

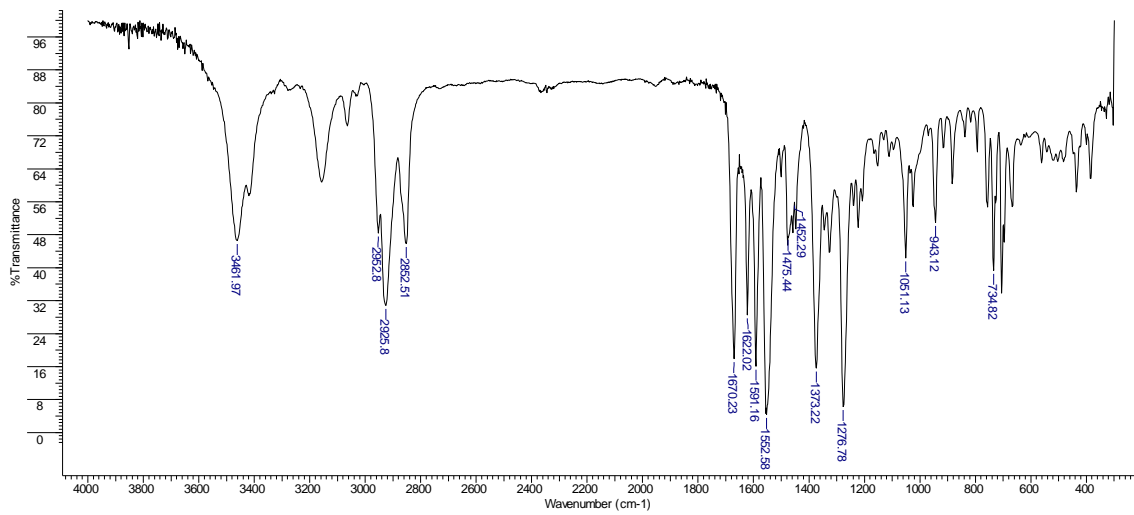


FIGURA 4.237 - Espectro de IV de L4 (pastilhas KBr).

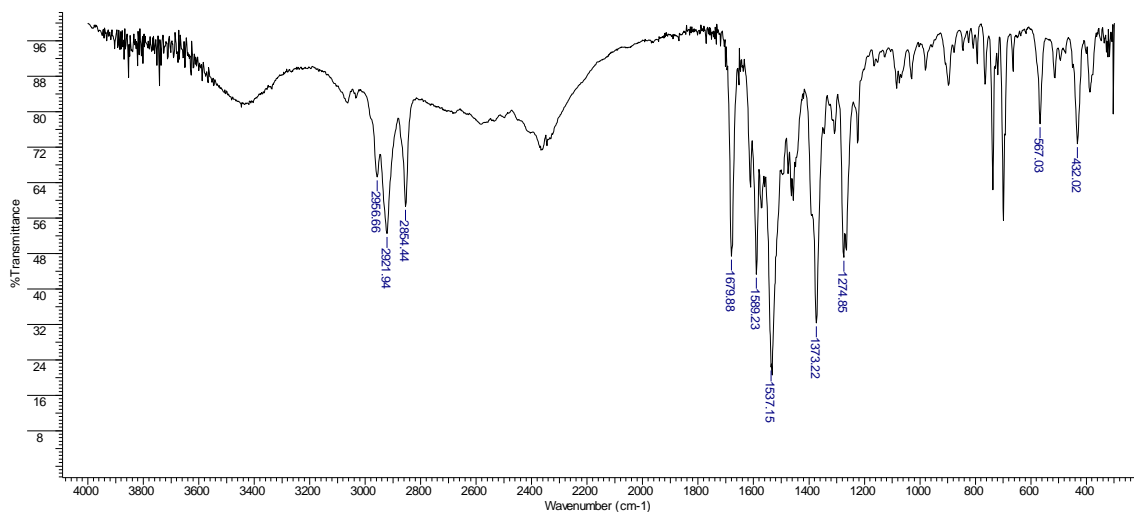


FIGURA 4.238 - Espectro de IV de  $\text{Cu(L4)}_2$  (pastilhas KBr).



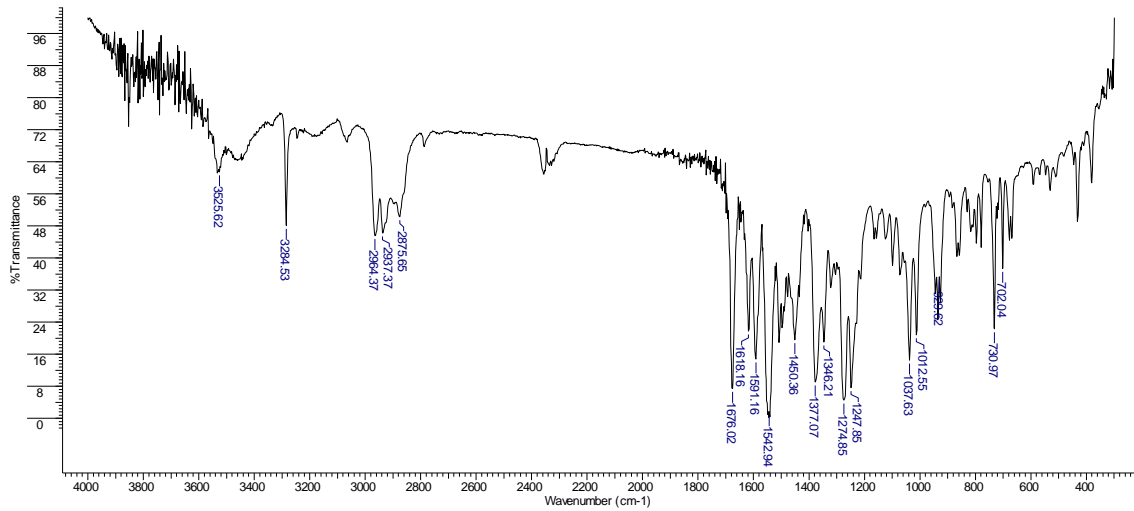


FIGURA 4.239 - Espectro de IV de L5 (pastilhas KBr).

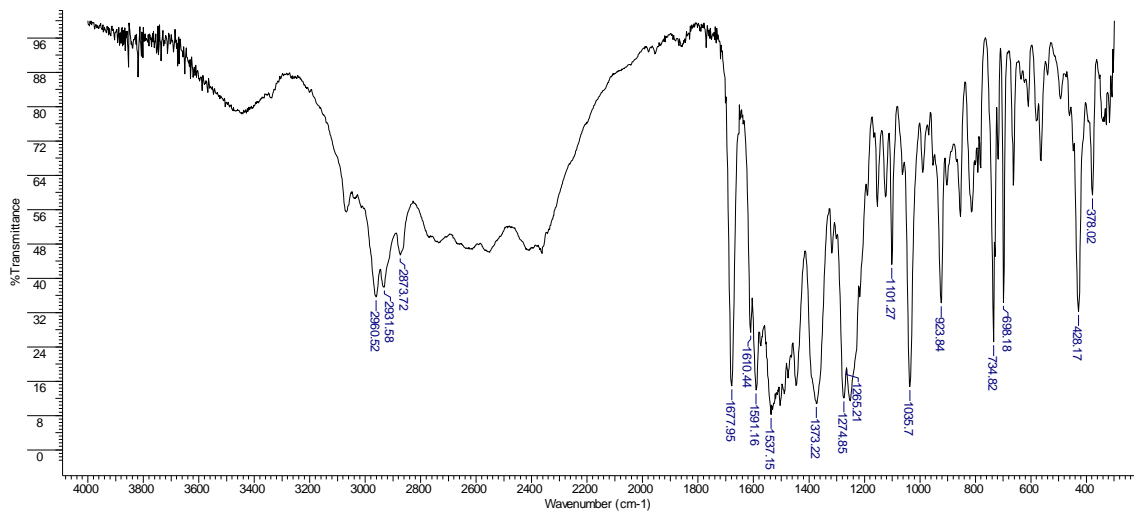


FIGURA 4.240 - Espectro de IV de Cu(L5)<sub>2</sub> (pastilhas KBr).

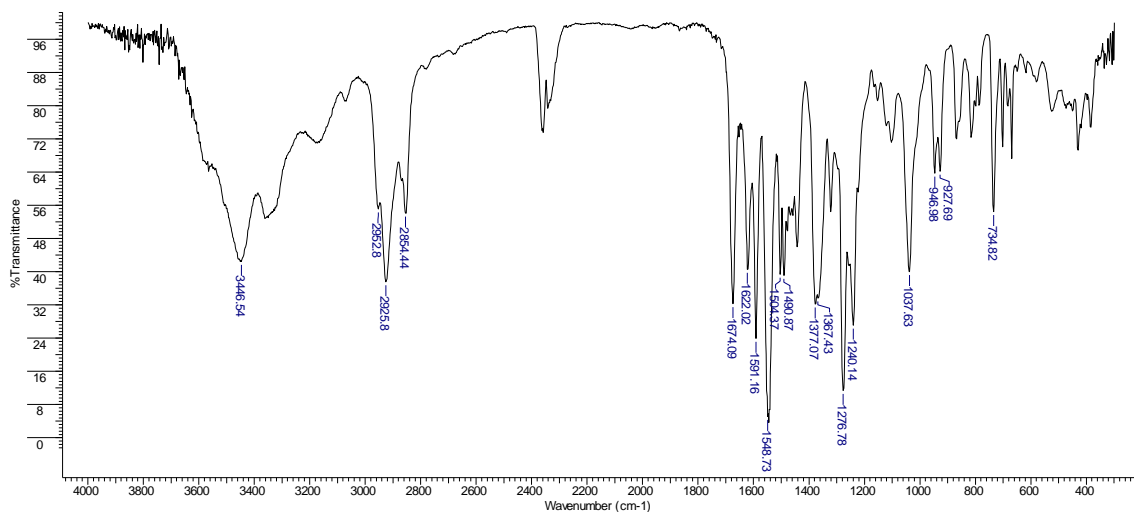


FIGURA 4.241 - Espectro de IV de L6 (pastilhas KBr).

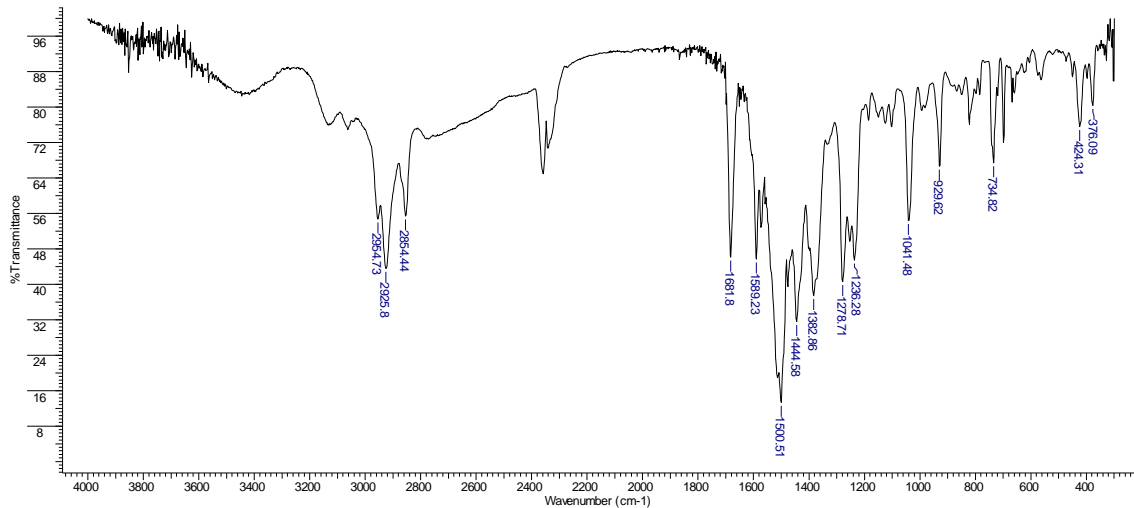


FIGURA 4.242 - Espectro de IV de  $\text{Cu(L6)}_2$ (pastilhas KBr).

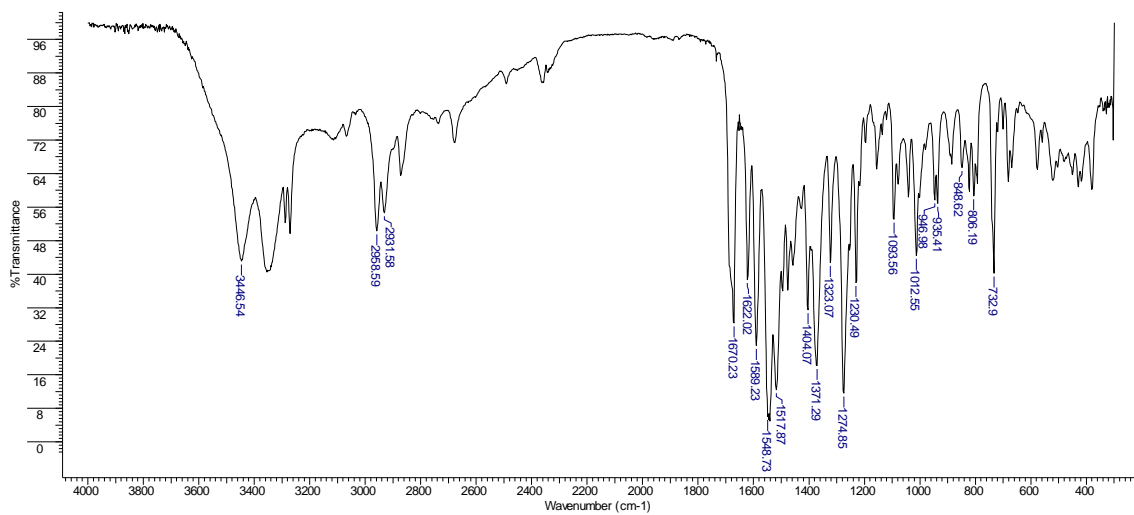


FIGURA 4.243 - Espectro de IV de L7 (pastilhas KBr).

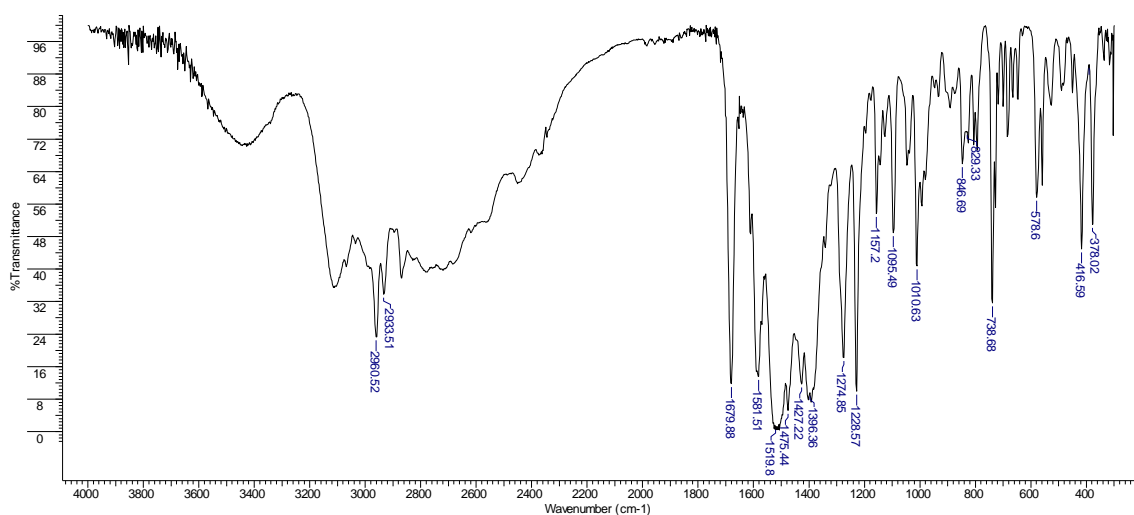


FIGURA 4.244 - Espectro de IV de  $\text{Cu(L7)}_2$ (pastilhas KBr).

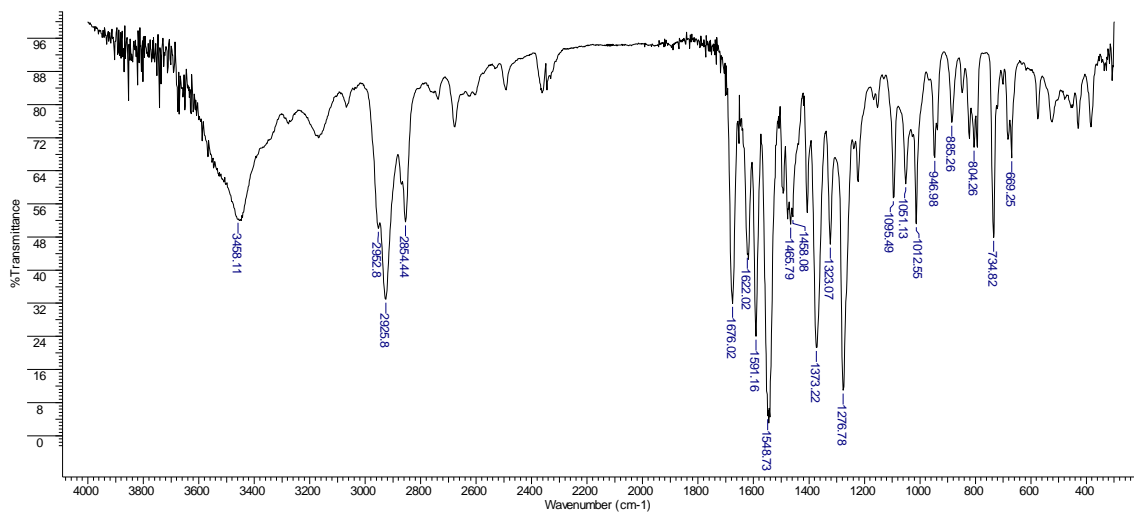


FIGURA 4.245 - Espectro de IV de L8 (pastilhas KBr).

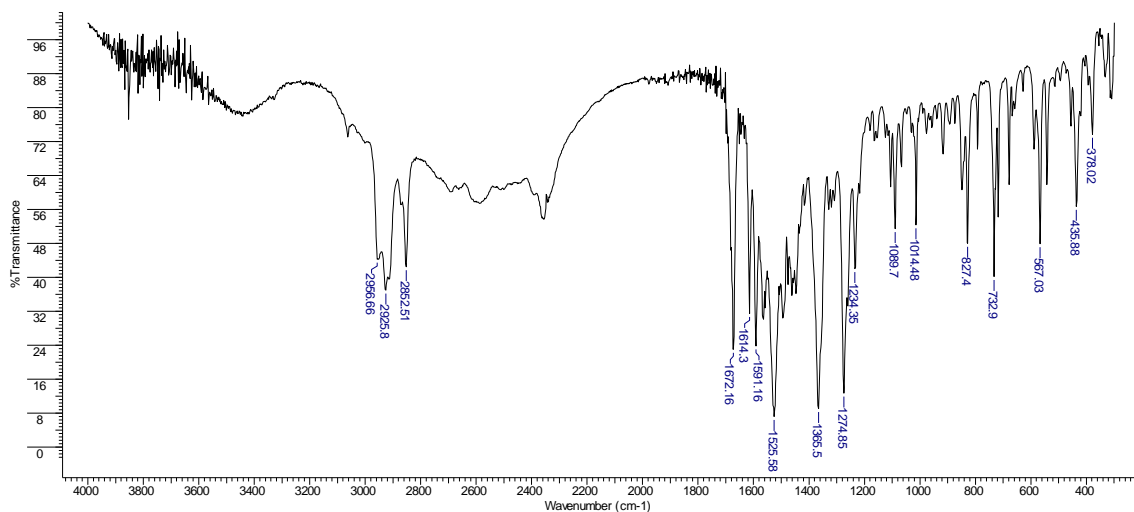


FIGURA 4.246 - Espectro de IV de Cu(L8)<sub>2</sub> (pastilhas KBr).

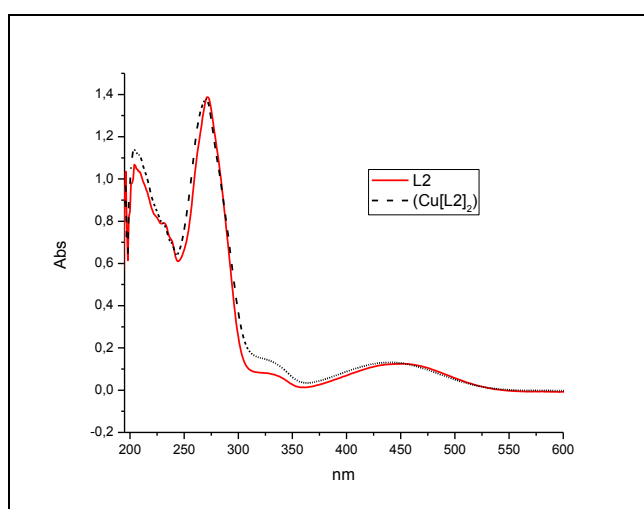


FIGURA 4.249 - Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o ligante L2 e seu complexo do tipo Cu(L2)<sub>2</sub>.

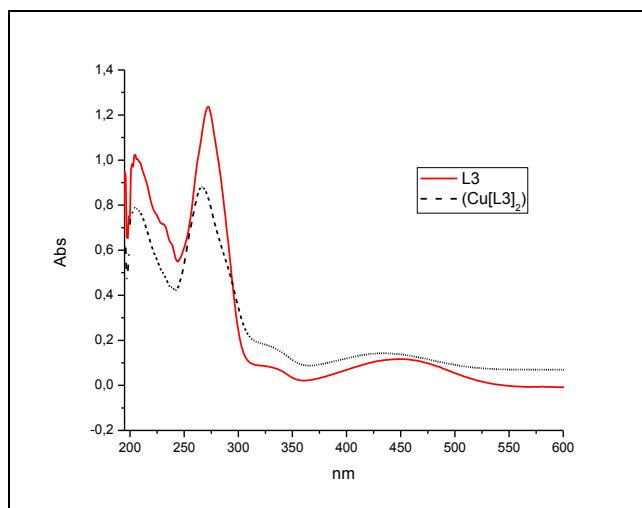


FIGURA 4.250- Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o ligante **L3** e seu complexo do tipo **Cu(L3)<sub>2</sub>**.

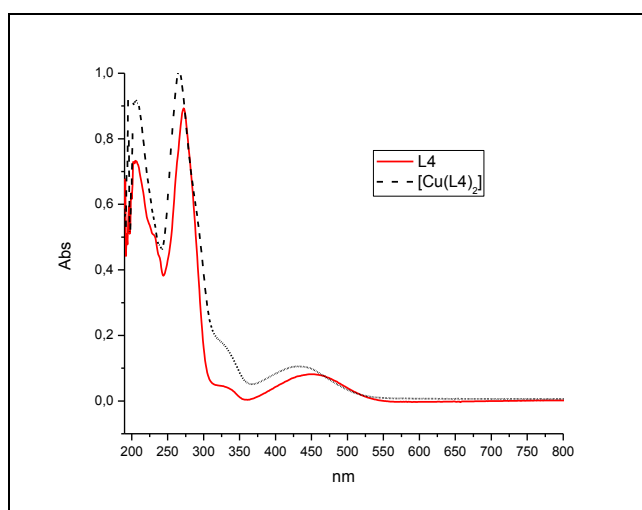


FIGURA 4.251 - Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{800}$ ) para o ligante **L4** e seu complexo do tipo **Cu(L4)<sub>2</sub>**.

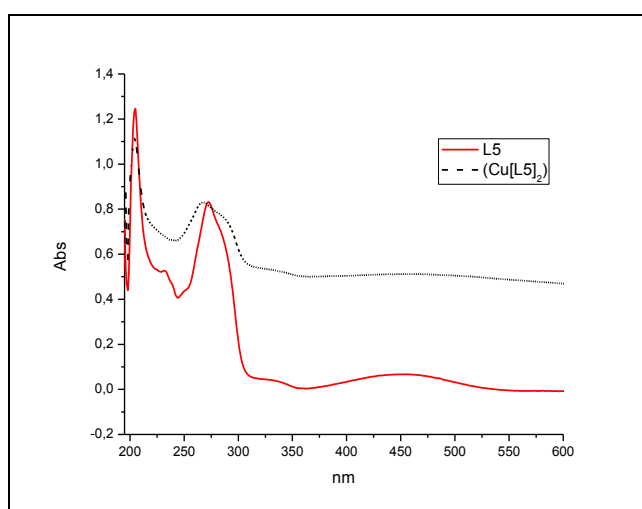


FIGURA 4.252 - Espectro de UV ( $\lambda^{\text{MeOH}}_{600}$ ) para o ligante **L5** e seu complexo do tipo **Cu(L5)<sub>2</sub>**.

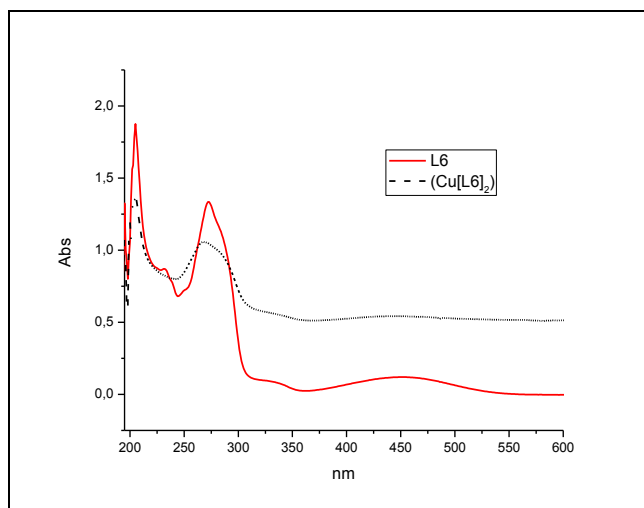


FIGURA 4.253 - Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o ligante **L6** e seu complexo do tipo **Cu(L6)<sub>2</sub>**.

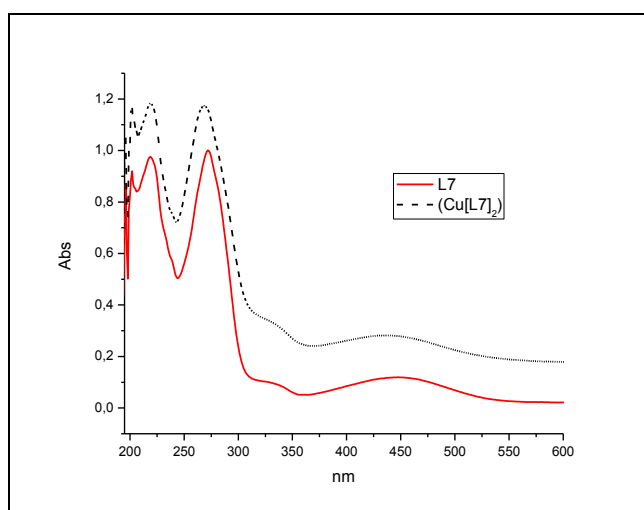


FIGURA 4.254 - Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o ligante **L7** e seu complexo do tipo **Cu(L7)<sub>2</sub>**.

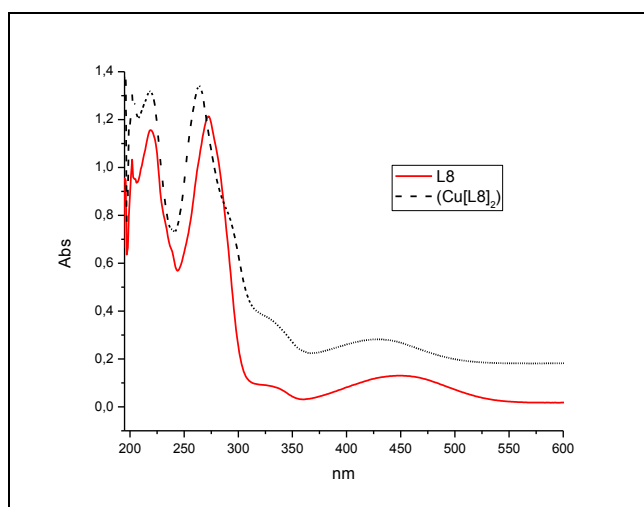


FIGURA 4.255 - Espectro de UV ( $\lambda_{\text{MeOH}}^{600}$ ) para o ligante **L8** e seu complexo do tipo **Cu(L8)<sub>2</sub>**.