

Daise Lopes

QUIMICA E FARMACOLOGIA DE
Ficus insipida & *Pourouma guyanensis*

1992

Ficha Catalográfica

Lopes, Daíse

Química e Farmacologia de *Ficus insipida*
e *Pourouma guyanensis*

Rio de Janeiro. NPPN. UFRJ. 1992

Tese: Mestre em Ciências / Química de Produtos Naturais

- | | |
|-------------------------------|----------------------------------|
| 1. Moraceae | 2. <i>Ficus insipida</i> |
| 3. <i>Pourouma guyanensis</i> | 4. Metabólitos Especiais |
| 5. Atividade Anti-helmíntica | 6. Atividade Fotossensibilizante |
| 7. Teses | |

I. UFRJ - II. Título

"Química e Farmacologia de *Ficus insipida* e de *Pourouma nensis*"

10-11-92

DAÍSE LOPES

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO NÚCLEO DE PESQUISAS DE PRODUTOS NATURAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO, COMO PARTE DOS REQUISITOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS

Aprovada por:

Maria Auxiliadora Coelho Kaplan

MARIA AUXILIADORA COELHO KAPLAN

Otto Richard Gottlieb

OTTO RICHARD GOTTLIEB

Jorge Pedro Pereira Carauta

JORGE PEDRO PEREIRA CARAUTA

RIO DE JANEIRO, 15 DE DEZEMBRO DE 1992.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
NUCLEO DE PESQUISAS DE PRODUTOS NATURAIS
CURSO DE POS-GRADUAÇÃO EM QUIMICA DE PRODUTOS NATURAIS

QUIMICA E FARMACOLOGIA DE
Ficus insipida & Pourouma guyanensis

DAISE LOPES

Rio de Janeiro

1992

Tese desenvolvida sob a orientação da professora
Maria Auxiliadora Coelho Kaplan, submetida como
requisito para a obtenção do grau de Mestre em
Ciências

Aos meus pais Cícero e Nelma
e ao meu irmão Célio

AGRADECIMENTOS

- A Professora Maria Auxiliadora Coelho Kaplan pela dedicada orientação e amizade.
- Ao Professor Jorge Pedro Pereira Carauta pelos valiosos ensinamentos de Botânica, pelo material bibliográfico fornecido e estímulo constante.
- Ao Professor Otto Richard Gottlieb pelas contribuições e conselhos.
- Aos Professores Alziro de Amorim e Helcio Resende Borba pela inestimável ajuda na realização do teste de atividade anti-helmíntica.
- Aos Professores Salatiel Menezes dos Santos e Célia R. Carlini pela inestimável ajuda na realização do teste de atividade fotosensibilizante e detecção de lectinas, respectivamente.
- Aos amigos Geraldo Luiz Gonçalves Soares e Marco Antonio Florenciano pela presença constante, apoio e paciência.
- A José Julio, Maria Aparecida e Henriette pelo carinho constante.
- Ao amigo e companheiro de bancada Carlos Tadeu Villela pela habilidosa contribuição no desenvolvimento da parte experimental do presente estudo.
- Aos amigos especiais de Lab. 016: Fábio, Izabel, Dorothea, Helena, Ester, Mara Zélia, **Marlene**, Leandro, Ana Cristina, Elisa,

Solange, Gilda, Suzana, Davidson, Mário, Filipe, Terezinha, Lídice, Kátia, Raquel, Maritza.

- Aos Companheiros de turma: Dida, Ricardo, Valéria, Athana, Clarissa, Alcides, Paulo César e Bizzo.
- Aos Funcionários do NFPN, em especial Marilú, Cristina e Seu José Terto.
- A todos que de alguma maneira contribuíram para a realização do presente estudo.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	iii
Índice de Tabelas.....	v
Índice de Esquemas.....	vii
Índice de Figuras.....	vii
Índice de Gráficos.....	ix
Índice de Cromatogramas.....	ix
Índice de Espectros.....	x
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
INTRODUÇÃO.....	001
Aspectos Botânicos.....	002
Aspectos Químicos.....	010
Aspectos Farmacológicos.....	025
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	030
Fitoquímica de <i>F. insipida</i>	030
Constituintes do Extrato Hexânico de <i>F. insipida</i>	030
Fitoquímica de <i>P. guyanensis</i>	060
Óleo Essencial de <i>P. guyanensis</i>	060
Constituintes do Extrato Hexânico de <i>P. guyanensis</i>	083
PARTE EXPERIMENTAL.....	094
Material e Métodos.....	094
Coleta e Preparo do Material Botânico.....	095

Obtenção dos Extratos.....	096
Fracionamento dos Extratos.....	098
Caracterização das estruturas.....	104
Extrato Hexânico de folhas de <i>F. insipida</i>	104
Extrato Hexânico de Folhas de <i>P. guyanensis</i>	106
ATIVIDADE BIOLÓGICA.....	108
Introdução.....	108
Atividade Anti-helmíntica do Látex de <i>F. insipida</i>	108
Detecção Biológica de Lectinas no Látex de <i>F. insipida</i>	111
Atividade Fotossensibilizante de <i>P. guyanensis</i>	116
CONCLUSÃO.....	118
BIBLIOGRAFIA.....	120

Lista de Abreviaturas e Símbolos

E.M.	- Espectro de Massas
I.V.	- Infravermelho
U.V.	- Ultravioleta
RMN- ¹ H	- Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN- ¹³ C	- Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
DEPT	- Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
APT	- Attached Proton Technique
COSY	- Correlação Homonuclear ou Heteronuclear
TMS	- Tetrametilssilano
AcOEt	- Acetato de Etila
MeOH	- Metanol
n-BuOH	- n-Butanol
RDA	- Retro Diels-Alder
δ	- Deslocamento Químico
λ	- Comprimento de Onda
J	- Constante de Acoplamento
s	- Sinal Simples
d	- Sinal Duplo
q	- Sinal Quádruplo
dd	- Duplo Sinal Duplo
M+	- Íon Molecular
m/z	- Abundância Relativa
v/v	- Diluição Volume para Volume

- ccd - Cromatografia em Camada Delgada
- ccd prep. - Cromatografia em Camada Delgada Preparativa
- cc - Cromatografia em Coluna
- CG - Cromatografia com Fase Gasosa

Índice de Tabelas

Tabela 01. Distribuição de alcalóides no gênero <i>Ficus</i>	013
Tabela 02. Distribuição de cumarinas no gênero <i>Ficus</i>	015
Tabela 03. Distribuição de flavonóides no gênero <i>Ficus</i>	017
Tabela 04. Distribuição de Terpenóides no gênero <i>Ficus</i>	020
Tabela 05. Etnofarmacologia do gênero <i>Ficus</i>	028
Tabela 06. Deslocamentos químicos dos espectros de RMN- ¹ H da isohopenolactona 14Fi(I) e das 22(29)-isohopeno (1) e 22(29)-hopeno (2).....	038
Tabela 07. Dados de RMN- ¹³ C para 14Fi(I) e para as substâncias modelo 22(29)-isohopeno (1) e Lupeolactona (3).....	039
Tabela 08. Deslocamentos químicos dos espectros de RMN- ¹ H de 14Fi(I) e das substâncias modelo 22(29)-isohopeno (1), lupeolactona (3) e moretenona (4).....	040
Tabela 09. Deslocamentos químicos dos espectros de RMN- ¹ H de 17Fi(I) e das substâncias modelo simiarenol (5), hancokinol (6) e ozonídeo do 5-adianeno (7).....	049
Tabela 10. Dados de COSY C-H do simiarenol 17Fi(I).....	050
Tabela 11. Fragmentos detectados nos espectros de massas das substâncias identificadas no óleo essencial de <i>P. guyanensis</i>	064

Tabela 12. Dados de RMN- ¹³ C para 33Pg(III) e a substância modelo Friedelina.....	085
Tabela 13. Fracionamento do extrato hexânico de folhas de <i>F. insipida</i> , por cromatografia em coluna de gel de sílica.....	097
Tabela 14. Fracionamento do extrato MeOH/H ₂ O de folhas de <i>F. insipida</i> , por cromatografia em coluna de gel de sílica desativada com 10% de água.....	100
Tabela 15. Fracionamento do extrato hexânico de folhas de <i>P. guyanensis</i> , por cromatografia em coluna de gel de sílica.....	103
Tabela 16. Resultados obtidos dos ensaios de atividade anti-helmíntica do látex de <i>F. insipida</i> em camundongos.....	112

Índice de Esquemas

Esquema 01. Fragmentação provável da isohopenolactona.....	041
Esquema 02. Fragmentação provável do simiarenol.....	047
Esquema 03. Fragmentação provável do psoraleno.....	058
Esquema 04. Fragmentação provável da friedelina.....	086
Esquema 05. Extração de folhas de <i>F. insipida</i> com solventes de polaridades diferentes.....	096
Esquema 06. Isolamento e purificação das substâncias contidas no extrato hexânico de <i>F. insipida</i>	099
Esquema 07. Fracionamento do extrato metanólico de folhas de <i>F. insipida</i>	100
Esquema 08. Resultados do teste de hemaglutinação do soro do látex de <i>F. insipida</i>	116

Índice de Figuras

Figura 01. Sistema de classificação de Dahlgren (1980) para Angiospermae.....	003
Figura 02. <i>Ficus insipida</i> Willdenow.....	006

Figura 03. <i>Pourouma guyanensis</i> Aublet.....	009
Figura 04. Distribuição de <i>P. guyanensis</i> Aublet.....	010
Figura 05. Alguns exemplos de tipos estruturais de substâncias isoladas da família Moraceae.....	012
Figura 06. Alcalóides do gênero <i>Ficus</i>	014
Figura 07. Cumarinas do gênero <i>Ficus</i>	016
Figura 08. Flavonóides do gênero <i>Ficus</i>	019
Figura 09. Terpenóides do gênero <i>Ficus</i>	023
Figura 10. Derivados monoterpenoídicos identificados no óleo essencial de folhas de <i>P. guyanensis</i>	062
Figura 11. Derivados sesquiterpenoídicos identificados no óleo essencial de <i>P. guyanensis</i>	062
Figura 12. Tipos sesquiterpenoídicos detectados no óleo essencial de folhas de <i>P. guyanensis</i>	063
Figura 13. Derivados fenilpropanoídicos identificados no óleo essencial da casca do tronco e de folhas de <i>P. guyanensis</i>	064
Figura 14. Extrator líquido-líquido modificado para obtenção do óleo essencial.....	102

Índice de Gráficos

Gráfico 01. Teor de polifenóis em <i>P. guyanensis</i>	082
Gráfico 02. Influência do látex na eliminação de <i>S. obvelata</i> em camundongos.....	113
Gráfico 03. Influência do látex na eliminação de <i>A. tetraptera</i> em camundongos.....	113
Gráfico 04. Influência do látex na eliminação de <i>V. nana</i> em camundongos.....	113

Índice de Cromatogramas

Cromatograma 01. Resultado da separação cromatográfica (CG) de 1Fi(I).....	032
Cromatograma 02. Resultado da separação cromatográfica (CG) de 1Fi(I) após seleção das substâncias com fragmentos m/z 71.....	033
Cromatograma 03. Resultado da separação cromatográfica (CG) de isohopenolactona.....	042
Cromatograma 04. Resultado da separação cromatográfica (CG) do óleo essencial de folhas de <i>P. guyanensis</i>	065

Cromatograma 05. Resultado da separação cromatográfica (CG) do óleo essencial de casca dos ramos de <i>P. guyanensis</i>	073
Cromatograma 06. Resultado da separação cromatográfica (CG) do óleo essencial de flores de <i>P. guyanensis</i>	076
Cromatograma 07. Separação cromatográfica do extrato hexânico de Folhas de <i>F. insipida</i>	099

Índice de Espectros

Espectro 01. Espectro na região do infravermelho de 1Fi(I)....	032
Espectro 02. Espectro de massas do heptacosano.....	033
Espectro 03. Espectro de massas do nonacosano.....	034
Espectro 04. Espectro de massas do hentriacontano.....	034
Espectro 05. Espectro de massas do dotriacontano.....	035
Espectro 06. Espectro de massas do tritriacontano.....	035
Espectro 07. Espectro de massas do esqualeno.....	036
Espectro 08. Espectro de massas do isohopenolactona.....	042
Espectro 09. Espectro na região do infravermelho da isohopenolactona.....	043

Espectro 10.	Espectro de RMN- ¹³ C da isohopenolactona.....	044
Espectro 11.	Espectro de RMN- ¹ H da isohopenolactona.....	045
Espectro 12.	Espectro de massas do simiarenol.....	051
Espectro 13.	Espectro na região do infravermelho do simiarenol.....	051
Espectro 14.	Espectro de RMN- ¹ H do simiarenol.....	052
Espectro 15.	Espectro de RMN- ¹³ C DEPT do simiarenol.....	053
Espectro 16.	Espectro de RMN- ¹³ C desacoplado do simiarenol....	054
Espectro 17.	Correlação heteronuclear (COSY C-H) para o simiarenol.....	055
Espectro 18.	Espectro de massas da mistura sitosterol e estigmasterol isolada de <i>F. insipida</i>	056
Espectro 19.	Espectro de massas do psoraleno.....	059
Espectro 20.	Espectro na região do ultravioleta do psoraleno..	059
Espectro 21.	Espectro de massas do óxido de linalol I.....	065
Espectro 22.	Espectro de massas do óxido de linalol II.....	066
Espectro 23.	Espectro de massas do linalol.....	066
Espectro 24.	Espectro de massas do 5-hidroxi-2,6,6-trimetil-2-viniltetraidropirano (I).....	067

Espectro 25.	Espectro de massas do 5-hidroxi-2,6,6-trimetil-2-viniltetrahidropirano (II).....	067
Espectro 26.	Espectro de massas do salicilato de metila isolado do óleo essencial de folhas de <i>P. guyanensis</i>	068
Espectro 27.	Espectro de massas do β -elemeno.....	068
Espectro 28.	Espectro de massas do β -bergamopteno.....	069
Espectro 29.	Espectro de massas do sesquiterpenóide bicíclico I (isômero eudesmano/selinano).....	069
Espectro 30.	Espectro de massas do aromadendreno.....	070
Espectro 31.	Espectro de massas do sesquiterpenóide bicíclico II (isômero eremofilano/valencano).....	070
Espectro 32.	Espectro de massas do sesquiterpenóide bicíclico III (isômero amorfano/cadinano/muuroolano/bulgarano)...	071
Espectro 33.	Espectro de massas do sesquiterpenóide bicíclico IV (isômero amorfano/cadinano/muuroolano/bulgarano)...	071
Espectro 34.	Espectro de massas do sesquiterpenóide bicíclico V (isômero eudesmano/selinano).....	072
Espectro 35.	Espectro de massas do sesquiterpenóide bicíclico VI (isômero amorfano/cadinano/muuroolano/bulgarano)...	072

Espectro 36. Espectro de massas de um sesquiterpenóide I (não identificado) isolado do óleo essencial de folhas de <i>P. guyanensis</i>	073
Espectro 37. Espectro de massas do tolueno.....	074
Espectro 38. Espectro de massas do etilbenzeno.....	074
Espectro 39. Espectro de massas do salicilato de metila, isolado do óleo essencial de casca do tronco de <i>P. guyanensis</i>	075
Espectro 40. Espectro de massas do cariofileno.....	075
Espectro 41. Espectro de massas de um sesquiterpenóide I (não identificado) isolado do óleo essencial de casca do tronco de <i>P. guyanensis</i>	076
Espectro 42. Espectro de massas de um sesquiterpenóide II (não identificado) isolado do óleo essencial de flores de <i>P. guyanensis</i>	073
Espectro 43. Espectro de massas do α -cedreno.....	077
Espectro 44. Espectro de massas de um sesquiterpenóide III (não identificado) isolado do óleo essencial de flores de <i>P. guyanensis</i>	078
Espectro 45. Espectro de massas de um sesquiterpenóide I (não identificado) isolado do óleo essencial de flores de <i>P. guyanensis</i>	073

Espectro 46. Espectro de massas do pentacosano.....	079
Espectro 47. Espectro de massas do hexacosano.....	079
Espectro 48. Espectro de massas do heptacosano.....	080
Espectro 49. Espectro de massas do nonacosano.....	080
Espectro 50. Espectro na região do UV/visível do extrato hidroal- cóblico de folhas de <i>P. guyanensis</i>	081
Espectro 51. Espectro na região do UV/visível do extrato hidroal- cóblico hidrolisado (1% HCl/Butanol) de folhas de <i>P. guyanensis</i>	082
Espectro 52. Espectro de massas da friedelina.....	087
Espectro 53. Espectro de RMN- ¹ H da friedelina.....	088
Espectro 54. Espectro desacoplado de RMN- ¹³ C da friedelina....	089
Espectro 55. Espectro APT RMN- ¹³ C da friedelina.....	090
Espectro 56. Espectro de massas da mistura sitosterol e estigmas- terol isolada de <i>P. guyanensis</i>	092
Espectro 57. Espectro de RMN- ¹ H da mistura sitosterol e estigmas- terol.....	093

RESUMO

Duas plantas medicinais brasileiras, *Ficus insipida* Willdenow e *Pourouma guyanensis* Aublet foram objeto de estudo fitoquímico e de avaliação da atividade biodinâmica.

O estudo dos constituintes do extrato hexânico de folhas de *F. insipida* resultou na identificação das seguintes substâncias: n-alcenos C₂₇-C₃₃, esqualeno, simiarenol, sitosterol, estigmasterol e psoraleno. Nessa fração também foi isolada isohopenolactona, um triterpenóide pentacíclico inédito da classe dos isohopenos.

O látex de *F. insipida* mostrou possuir uma ação anti-helmíntica tênue sobre *Vampirolepis nana* e sobre *Aspicularis tetraptera*. Entretanto, esse látex vegetal exibe uma elevada toxidez resultante de sua propriedade digestiva, a qual sugere a presença de enzimas proteolíticas (proteases). Esse fato, aliado a existência de outras drogas atualmente disponíveis com elevada eficácia e segurança no controle de helmintos, torna desaconselhável o uso de *F. insipida* para esse propósito.

P. guyanensis, usada popularmente como cicatrizante e anti-diarréico, teve a sua fração volátil analisada, o que resultou na identificação de mono- e sesquiterpenóides, além de salicilato de metila. Foi detectada a presença de taninos condensados (proantocianidinas) nos extratos hidroalcoólicos de folhas, cascas dos ramos, ramos e sementes. A análise do extrato hexânico de folhas resultou no isolamento de friedelina, sitosterol e estigmasterol. Tais constituintes justificam o uso popular de *P. guyanensis*.

ABSTRACT

Two Brazilian medicinal plants, *Ficus insipida* Willdenow and *Pourouma guyanensis* Aublet, were object of phytochemical study and evaluation of biodynamic activity.

The hexane extract from leaves of *F. insipida* contained the following substances: n-alkans (C₂₇-C₃₃), squalene, simiarenol, sitosterol, stigmasterol and psoralen. From this fraction isohopenelactone, a new pentacyclic triterpene, was isolated additionally.

The latex of *F. insipida* showed weak antihelminthic activity against *Vampirolepis nana* and *Aspiculuris tetraptera*. However, this latex exhibited a high toxicity because of its digestive properties, suggesting the presence of proteolytic enzymes (proteases). This fact, in addition to the availability of new drugs with high efficiency and security in the control of worms, makes the use of *F. insipida* for this propose unadvisable.

P. guyanensis, popularly used by the natives as cicatrizant and antidiarrheic, had its volatile fraction analyzed. This resulted in the identification of mono- and sesquiterpenes, and also of methyl salicylate. Condensed tannins (proanthocyanidins) were detected in the hydroalcoholic extracts from leaves, bark of stems, stems and seeds. The study of the hexane extract from leaves resulted in the identification of friedelin, sitosterol and stigmasterol. These substances justify the popular use of *P. guyanensis*.

INTRODUÇÃO

A Química de Produtos Naturais teve um grande progresso na segunda metade do século XX como resultado do aprimoramento de novas técnicas de extração, de fracionamento e de elucidação estrutural de metabólitos especiais de plantas; do melhor entendimento dos caminhos biossintéticos que levam à produção dessas substâncias; e da criação e desenvolvimento de uma nova disciplina científica - Quimiosistemática Micromolecular - que vem servindo como uma ferramenta básica na orientação da pesquisa fitoquímica.

Esses processos colocam à disposição do cientista um enorme número de dados que permitem correlacionar morfologia vegetal e micromoléculas, o que possibilita o estudo aprimorado da função dos produtos naturais nos organismos vivos, levando a maior compreensão do funcionamento da natureza.

O Brasil, com sua vasta extensão territorial possui cerca de 60.000 espécies de plantas superiores, englobando nada menos que 75% de todas as espécies florestais, é considerado atualmente o detentor da maior biodiversidade do globo terrestre.^{1,2}

A família Moraceae, de grande representatividade na Floresta Amazônica, não conta ainda com um estudo químico compatível com sua importância. Desse grupo vegetal foram selecionadas duas espécies, *Ficus insipida* e *Pourouma guyanensis*, para estudo químico e avaliação da atividade biodinâmica, com objetivo de dar início a um programa sistemático de estudo químico dessa família.

Aspectos Botânicos

A ordem Urticales é claramente natural e definida, provavelmente relacionada à Malvales e à Violales. Compreende cerca de 2300 espécies de hábito variadíssimo, ocorrendo como árvores, arbustos, subarbustos, de trepadeiras a hemi-epífitas e ervas. Esse grupo vegetal distribui-se desde as regiões temperadas do Hemisfério Norte até Regiões Subtropicais, estendendo-se do leste ao oeste da África e nas Américas Central e do Sul.^{3,4}

São caracteres comuns na ordem a presença de células e canais de mucilagem, sendo que Moraceae e algumas espécies de Urticaceae apresentam laticíferos.³

Segundo Dahlgren, 1980 (Figura 01, pág. 03),⁵ Urticales faz parte da superordem Malviflorae onde se incluem as famílias: Ulmaceae, **Moraceae**, Cecropiaceae, Barbeyaceae, Cannabaceae e Urticaceae. Por outro lado, Cronquist em 1968 considerou essa ordem formada apenas por 5 famílias,⁶ aceitando recentemente a criação da família Cecropiaceae, proposta por Berg em 1978 a partir de alguns gêneros de Moraceae.^{7,8} Filogenias satisfatórias das famílias e suas subdivisões ainda não são bem estabelecidas.³

A família Moraceae consta aproximadamente de 40 gêneros e 1000 espécies em sua maioria tropicais e com hábito predominantemente arbóreo.⁷ Nessa família destacam-se os gêneros *Ficus*, com mais de 500 espécies, e *Dorstenia*, com cerca de 100 espécies. Segundo Berg³, vários fatores e padrões de diferenciação sugerem a subdivisão desse grupo vegetal em duas subfamílias uma delas com uma única tribo Ficeae e a outra com as tribos Moreae, Dorstenieae, Castilleae e Artocarpeae.

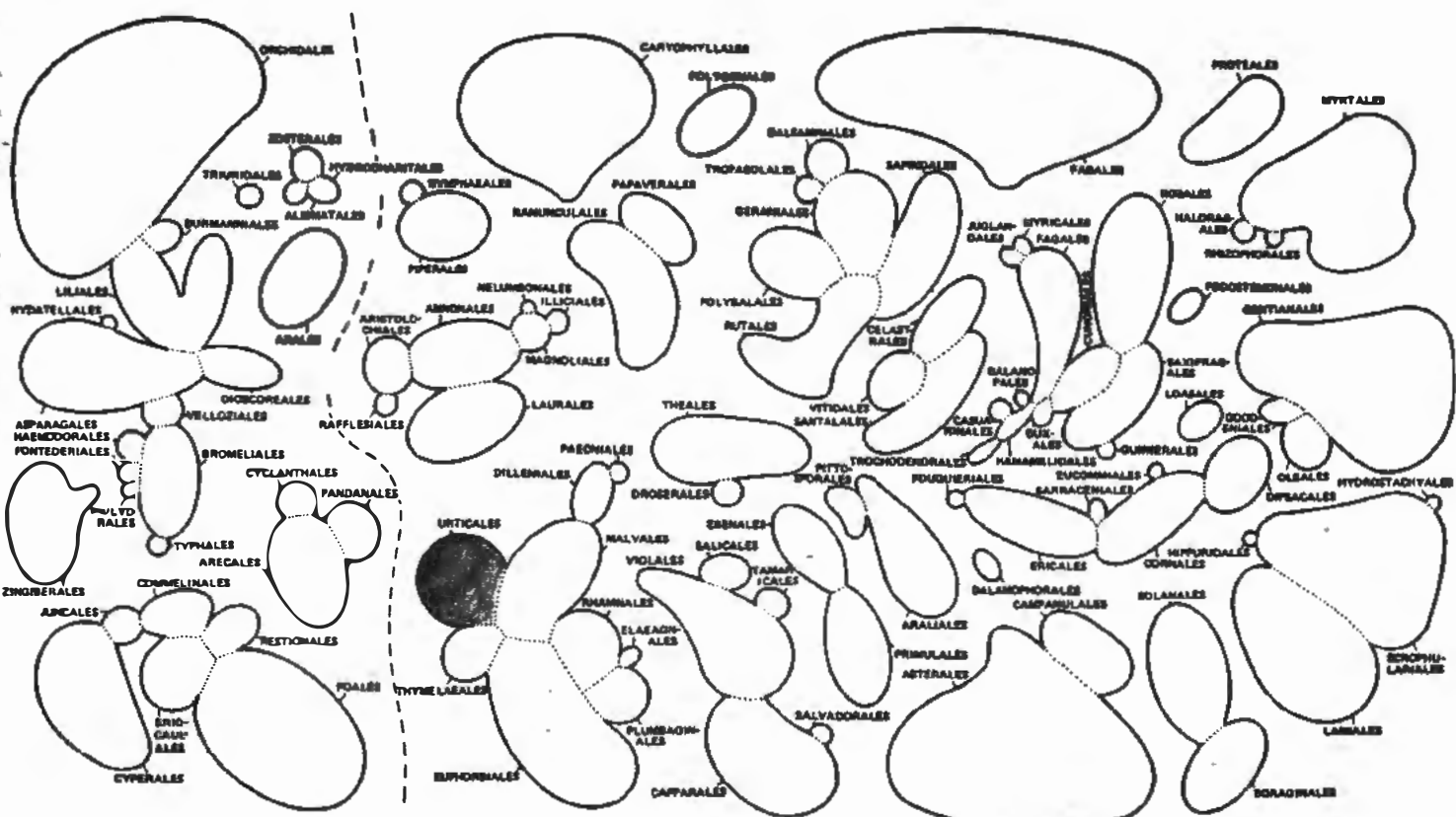


Figura 01. Sistema de classificação de Dahlgren (1980) para Angiospermae.

Segundo Carauta⁹ *Ficus* pertence a tribo monotípica Ficeae e é o maior gênero da família Moraceae. Esse gênero tem distribuição pantropical, sendo a Colômbia o país com o maior número de espécies descritas no continente americano. Possuem hábito variado, ocorrendo desde árvores, arbustos até trepadeiras e hemiepífitas, predominando o hábito arbóreo. São plantas lactescentes, de folhas frequentemente alternas-espiraladas, com margens inteiras a denteadas ou lobadas. A morfologia foliar é bastante variável, existindo espécies onde coexistem no mesmo indivíduo folhas de formatos diferentes (heterofilia). A inflorescência do tipo sicônio possui formato globoso ou piriforme, provido de uma abertura apical denominada ostiolo por onde passam os polinizadores. As inflorescências podem ocorrer nas axilas foliares, base dos ramos novos ou no caule (cauliflora). Após

a fecundação as inflorescências originam infrutescências também denominados de sicônio, no interior das quais se localizam pequenos frutos secos e indescentes do tipo aquênio. As estípulas são geralmente caducas e amplexicaules.

Muitas espécies asiáticas e africanas foram introduzidas no **Brasil** por Glaziou no final do século passado para a arborização **urbana**, devido a grande beleza de seus caules esculturais, copas majestosas e famosas raízes dos tipos tabular e estrangulante.¹⁰

F. insipida (Figura 02, pág. 06) pertence ao subgênero *Pharmacosyceae* e ocorre da América Central até a Argentina. No Brasil existe em todas regiões, preferindo locais mais úmidos como a Floresta Amazônica e a encosta litorânea. É denominada popularmente como **lombrigueira**, figueira branca ou simplesmente figueira e gameleira. **Árvore** mediana ou de grande porte, cujo diâmetro da copa frequentemente mostra-se menor que a altura do tronco nos indivíduos adultos. Possui folha inteira elíptica (5,0 a 30,0 cm de comprimento e 1,5 a 13,0 cm de largura), glabra, de base arredondada a obtusa e ápice agudo ou curtamente acuminado.¹⁰

F. insipida é uma árvore monóica, possuindo três tipos de flores as masculinas, as femininas sésseis e as galígenas estéreis. O fruto individual é um pequeno aquênio dentro do sicônio. Os sicônios crescem solitários em cada nó, verdes ou amarelo-esverdeados com o amadurecimento, têm formato globoso a ovóide, glabros, com 2,0 a 5,0 cm de diâmetro.¹⁰

A polinização dessa espécie foi descrita por Carauta¹⁰ que observou três fases: "na fase feminina as flores pistiladas crescem e tornam-se receptivas ao pólen trazido pela vespa *Blastophagus*

aeruminosa, que penetra no interior do sicônio através do ostíolo. Uma vez no interior do figo as vespas fecundam as flores femininas e depositam os ovos nas flores galígenas. Na fase masculina as flores estaminadas (masculinas) crescem próximas ao ostíolo, eclodem as vespas dos dois sexos e se dá o cruzamento entre elas. As vespas polinizadoras femininas são aladas e robustas, muito maiores que as vespas masculinas ápteras. Após a fecundação as vespas masculinas morrem dentro do sicônio e as femininas, carregadas de grãos de pólen, tentam evadir-se pelo ostíolo. Se conseguirem terão menos de 24h para encontrar outro figo na fase feminina para depositar seus ovos."

F. insipida possui como sinônimas *F. glabrata*, *F. anthelmintica*, *F. vermifuga*, *F. callophylla*, *F. helminthagoga*, *Pharmacosycea anthelmintica* e *Pharmacosycea vermifuga*. Essas sinônimas podem ser espécies distintas ou então variedades. O conhecimento bioecológico de espécies brasileiras do gênero *Ficus* ainda é insipiente para a solução dos vários problemas taxonômicos, como o exibido por *F. insipida*.¹⁰

A família Cecropiaceae com aproximadamente 200 espécies de hábito arbóreo e distribuição pantropical, consta dos seguintes gêneros: *Cecropia* (80-100), nos neotrópicos; *Coussapoa* (45), nos neotrópicos, *Mussanga* (2), na África; *Myrianthus* (7), na África; *Poikilospermum* (20), na Australásia; e *Pourouma* (25), nos neotrópicos.¹² Esses gêneros são considerados por alguns autores como pertencentes à família Moraceae.^{9,11}

O gênero *Pourouma* possui hábito predominantemente arbóreo. Suas espécies ocorrem desde a América Central até o Sudeste brasileiro, sendo que o seu centro de dispersão localiza-se na Bacia Amazônica e Guianas. As espécies de *Pourouma* habitam florestas úmidas em baixas

F. insipida.



Figura 02. *Ficus insipida* Willdenow.

altitudes (600-1400 m), ocorrendo frequentemente em ecossistemas submetidos à ação antrópica (matas secundárias).¹²

Suas folhas são inteiras ou palmitilobadas, coriáceas e pilosas, com margens inteiras a subcrenadas e tamanho variado, apresentando filotaxia alterna espiralada. As estípulas estão presentes e são do tipo amplexicaule. Em espécies com folhas lobadas frequentemente ocorre o fenômeno de heterofilia, marcado pelo aparecimento de folhas inteiras.¹²

As espécies de *Pourouma* são dióicas, cujas inflorescências são **cimeiras** terminais localizadas nas axilas foliares, onde ocorrem frequentemente aos pares. Nas inflorescências pistiladas (femininas) a ramificação é comumente mais reduzida do que nas estaminadas (masculinas). De uma forma geral, os frutos possuem formato ovóide, obtuso arredondado na base e bruscamente acuminado no ápice. Os frutos com mais de 1 cm de comprimento quando amadurecidos adquirem uma coloração que varia de púrpura ao marrom passando pelo vermelho escuro.¹²

A madeira das espécies de *Pourouma* é mole, quebradiça e possui **coloração** branca. Quando cortada exsuda um líquido claro que após a exposição ao ar torna-se vermelho até escurecer por completo. A **madeira** e outras partes do vegetal exalam um odor característico, denominado de "spearmint", "wintergreen", "balsam" ou "bengue".¹²

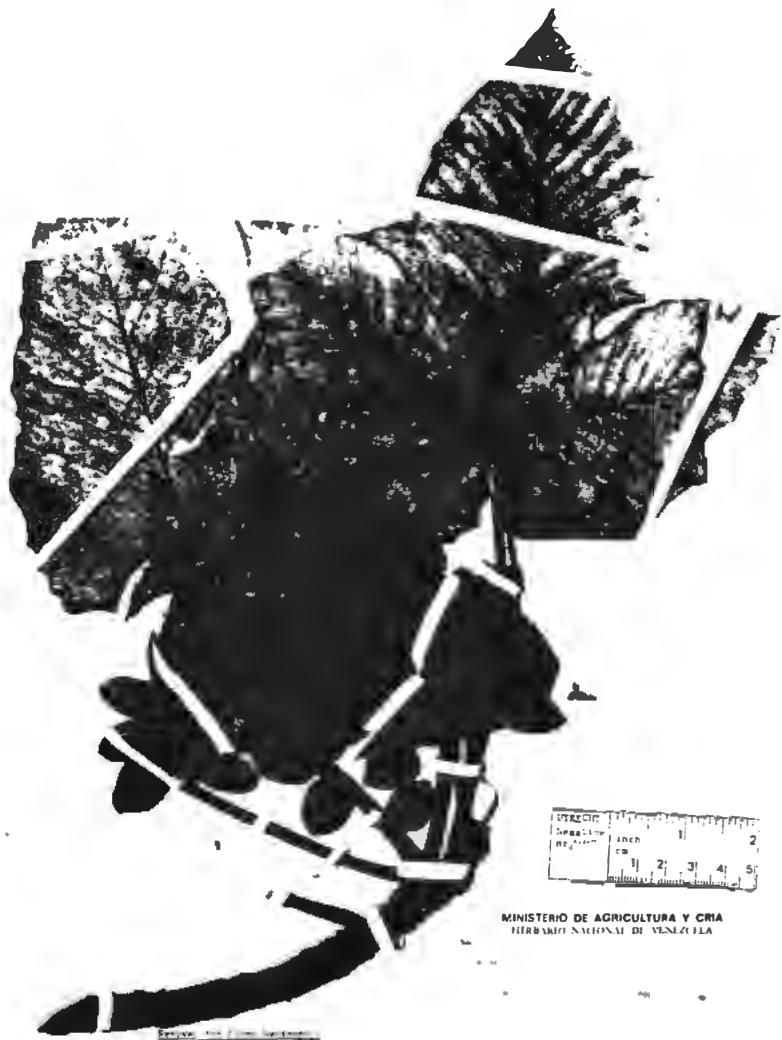
Pouco se sabe da biologia de *Pourouma*, contudo parece que a dispersão das sementes em alguns casos é realizada por morcegos, **pássaros** e macacos. Segundo Falcão & Lleras, abelhas atuam como agentes polinizadores em *P. cecropiifolia*. Não existe **na** literatura informações a respeito dos mecanismos de atração das inflorescências

pistiladas. Contudo, acredita-se que os pelos glandulares, abundantes nas inflorescências da maioria das espécies de *Pourouma*, atuam como atraentes.

Espécies de *Pourouma* não são exploradas economicamente. Entretanto, *P. cecropiifolia* (uva amazônica. imbaúba do vinho) é cultivada para produção de frutos destinados ao consumo humano, os quais possuem um mesocarpo (polpa) espesso e de sabor atraente. Os frutos de espécies de *Pourouma* servem ainda como matéria prima para uma bebida fermentada, sendo também muito apreciados como alimento por populações indígenas. Os frutos verdes são utilizados na forma de decocto para curar feridas, graças às substâncias tânicas que encerram.^{12,13}

O gênero *Pourouma* foi descrito por Aublet (1775) que caracterizou a espécie tipo *P. guyanensis*. Os indivíduos dessa espécie atingem aproximadamente 30 m, suas folhas são pecioladas trilobadas, glabras e ásperas na face superior, pilosas e esbranquiçadas na face inferior, de textura subcoriácea, possuindo base cordiforme e ápice acuminado. As estípulas são grandes e amplexicaules. As inflorescências pistiladas e estaminadas são do tipo cimeira saindo das axilas foliares em pedúnculos dicótomos. O fruto com o amadurecimento adquire coloração roxa, de formato ovóide, obtuso arredondado na base e bruscamente acuminado no ápice. Ocorre na Bacia Amazônica, **Suriname**, Guiana Francesa, Venezuela, Peru, Equador e no Brasil, na faixa litorânea de Fernanbuco até Santa Catarina (Figuras 03 e 04, págs. 09 e 10).^{12,14}

São inúmeros os nomes vulgares dentre os quais embaúba da mata, amapati, mapati, embaúba-torém, uvila blanca.¹²



ESTACION	1	2	3	4	5
Longitud	1	1	1	1	2
anch					
cm	1	2	3	4	5

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GRIA
HERBARIO NACIONAL DE VENEZUELA

Pourouma guianensis Aublet subsp.
venezuelensis (Cuatrecasas) C.C. Berg &
van Heusden
Det.: C.C. Berg (det.)
E.C.H. van Heusden

1-1 May 1912 (1) 1899 La Guayana Británica al nor de Trinidad
Flowers on the summit of the hill on the hillsides
of the Cordillera del Norte
1899 200-500 Meters
No. 1899 20 de Abril 1 de Mayo de 1912
Prof. J. A. Cuatrecasas y Victor Correll Legón

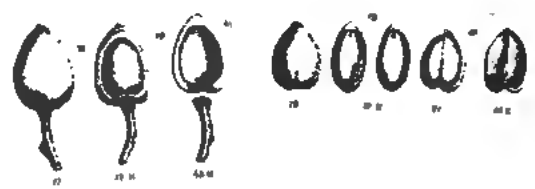
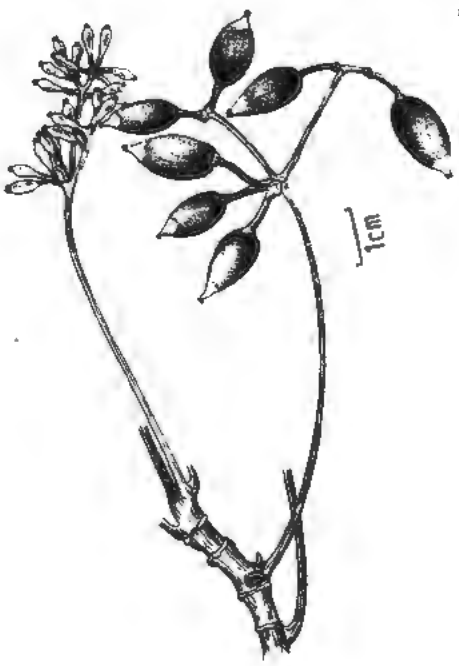


Figura 03. *Pourouma guianensis* Aublet.

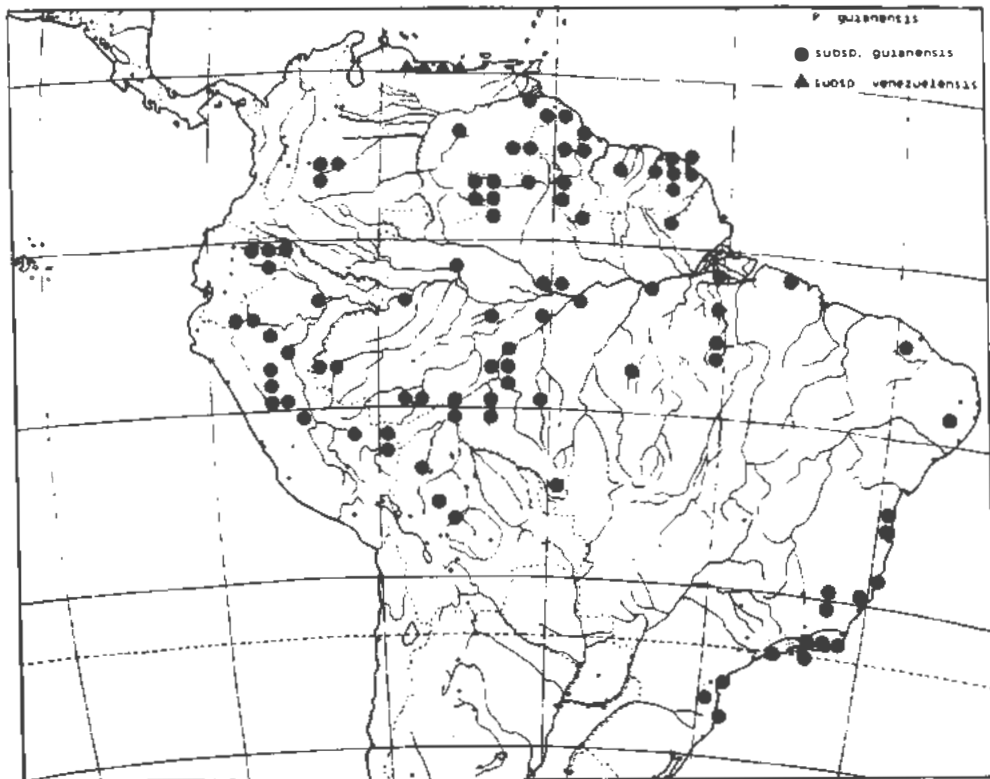


Figura 04. Distribuição de *P. guyanensis* Aublet.

Aspectos Químicos:

Moraceae ocupa uma posição primitiva dentro da ordem Urticales.¹⁵ De fato, o hábito de suas espécies é predominantemente arbóreo, o que é espelhado pela informação química desse grupo vegetal. Do ponto de vista químico, isto significa que muitos de seus constituintes micromoleculares devem derivar do caminho biossintético do ácido chiquímico. No entanto, observa-se ao mesmo tempo uma forte tendência à substituição dos derivados do chiquimato por unidades terpenoidicas.^{16,17}

Angiospermas primitivas da superordem Magnoliiflorae não têm os seus derivados do ácido chiquímico prenilados, o que parece indicar que, de maneira relativa dentro dessa divisão vegetal, Moraceae ocupa uma posicionamento evolutivo intermediário. Essa família não pode ser

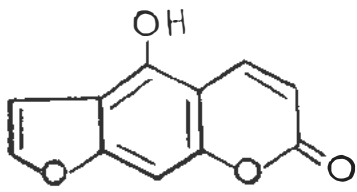
considerada muito primitiva, pois seus metabólitos especiais são frequentemente prenilados e também não pode ser considerada muito evoluída, pois sua química ainda repousa fundamentalmente em derivados da via do ácido chiquímico.¹⁷

Do ponto de vista químico, esse taxa foi muito bem trabalhado e é caracterizado pela ocorrência de cumarinas, lignanas, benzofenonas, xantonas, estilbenos, flavonóides, mono-, sesqui-, triterpenóides e esteróides, alcalóides indolizidínicos, piridínicos, bipiperidínicos e quinolizidínicos (Figura 05, pág. 12). Por outro lado, a família Cecropiaceae apesar de possuir 200 espécies, apresenta registro de apenas 29 substâncias, incluídas entre triterpenóides, esteróides e alcalóides espermidínicos.¹⁷

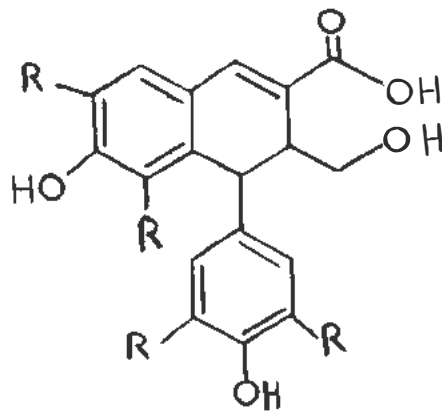
O levantamento bibliográfico das substâncias isoladas dos gêneros *Ficus* e *Pourouma* foi realizado consultando-se o "Chemical Abstracts", no período de 1907 até 1991.

O gênero *Pourouma* não possui qualquer registro de sua química. Por outro lado, o interesse no estudo do gênero *Ficus* é revelado pelo número de publicações referentes à sua química e farmacologia, muito embora possa ser considerado um taxa pouco trabalhado, considerando o número de espécies que ele engloba.

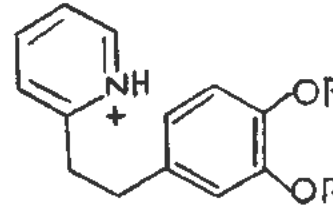
Quimicamente, *Ficus* se caracteriza pela capacidade de **produzir** substâncias micromoleculares dos seguintes tipos estruturais: cumarinas simples, furocumarinas lineares e angulares, flavonóis O-glicosilados e O-metilados, flavanonas, flavonas C- e O-glicosiladas, antocianinas, leucoantocianinas, taninos condensados, alcalóides indolizidínicos, fenantroindolizidínicos, mono-, sesqui- e triterpenóides, esteróides e ficaprenóides.



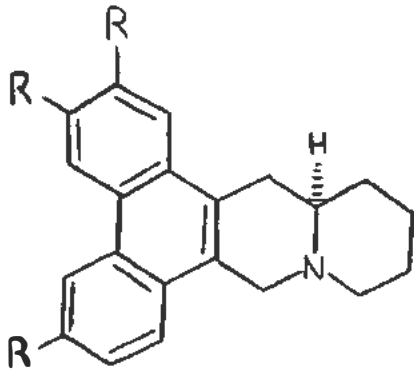
Furocumarina



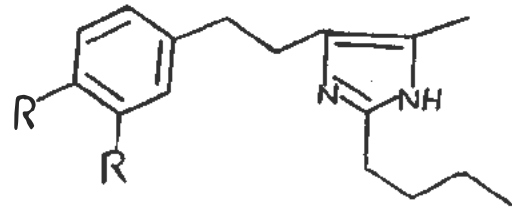
Lignana



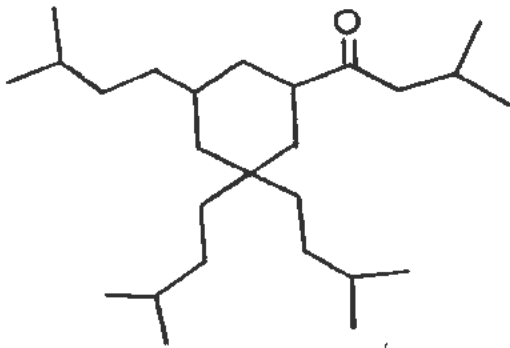
Álc. Piridínico



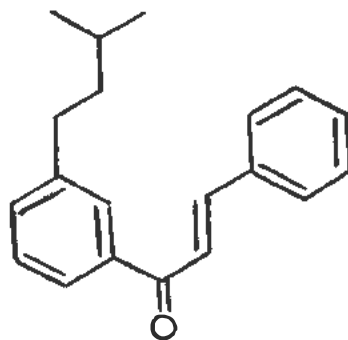
Álc. Quinolizidínico



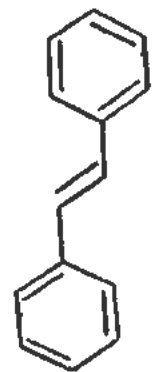
Álc. Imidazólico



Lupulona



Chalcona



Estilbeno

Figura 05. Alguns exemplos de tipos estruturais de substâncias isoladas da família Moraceae.

As substâncias podem ser classificadas de acordo com os processos biossintéticos que intervêm na sua formação. O primeiro desses processos se refere ao caminho metabólico do ácido chiquímico, cujos intermediários importantes são os ácidos aminados, fenilalanina e tirosina, os ácidos cinâmicos e seus produtos de redução, os álcoois cinâmicos. Como se sabe¹⁶, substâncias derivadas da via do chiquimato predominam em plantas lenhosas, razão pela qual em tais plantas ocorrem normalmente derivados biossintéticos dos intermediários mencionados, dentre os quais se destacam no gênero *Ficus* os alcalóides indolizidínicos, cumarinas e flavonóides, inclusive proantocianidinas (taninos condensados).

Alcalóides - A ocorrência dessas substâncias é registrada nas três espécies: *F. septica*, *F. hispida* e *F. pantoniana*. Alcalóides do tipo indolizidínico e fenantroindolizidínico são encontrados em *F. septica* e *F. hispida*, enquanto que alcalóides com esqueletos flavonoídicos e núcleo pirrolidínico foram pela primeira vez isolados de *F. pantoniana* (Tabela 01, pág. 13; Figura 06, pág. 14).

ESPECIE	SUBSTÂNCIA	PARTE ESTUDADA	REF.
<i>F. septica</i>	(-)-tiloforina	-	19
	(+)-tilocrebina	-	19
	septicina	-	19
	ficuseptina	folhas	22
	(+)-antofina	raiz e folhas	20
<i>F. hispida</i>	hispidina	-	21
	novo alcalóide indolizidínico	-	21
<i>F. pantoniana</i>	ficina	-	18
	isoficina	-	18

Tabela 01. Distribuição de alcalóides no gênero *Ficus*.

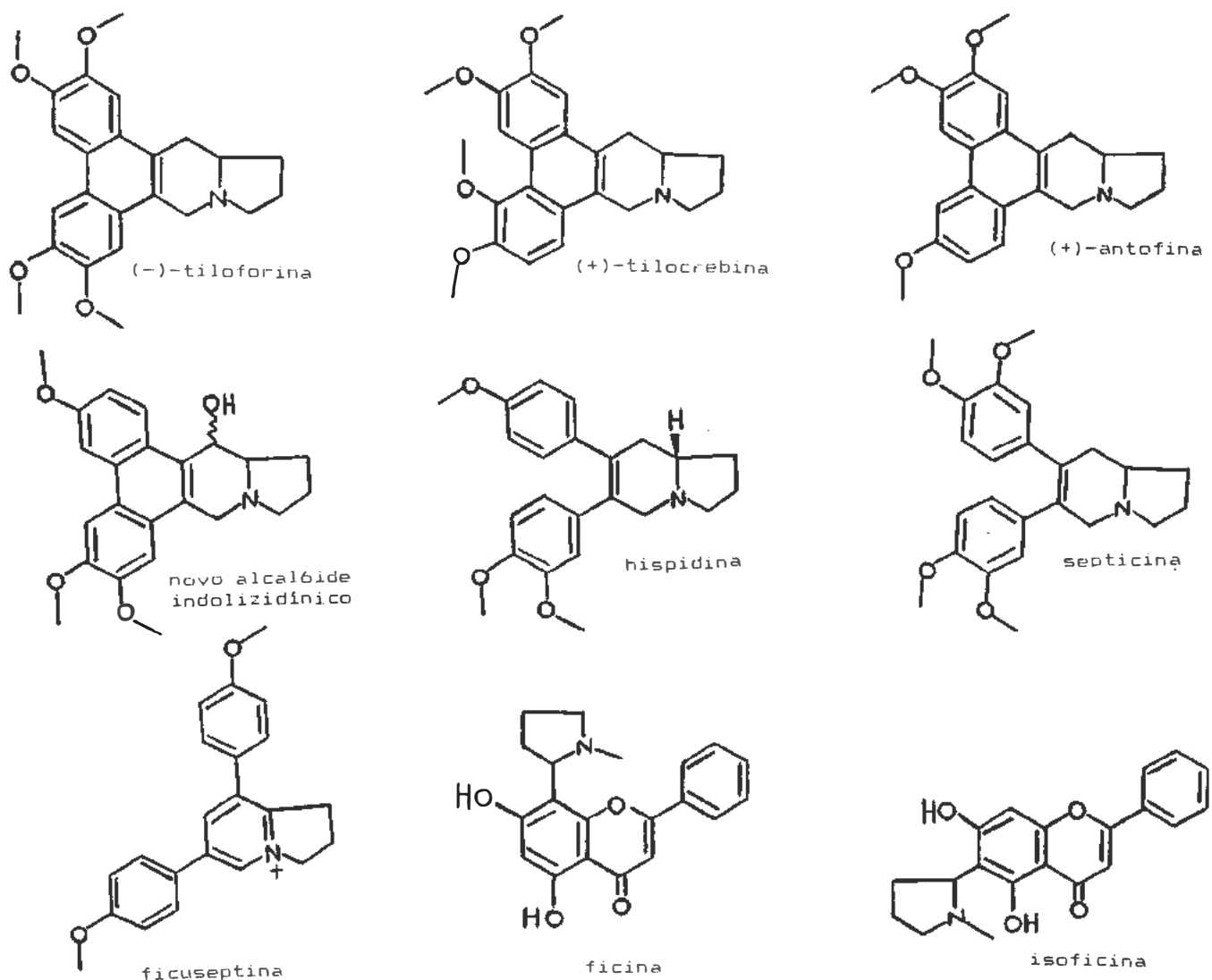


Figura 06. Alcalóides do gênero *Ficus*.

Cumarinas - A presença dessas substâncias parece ser geral nas espécies de *Ficus*, ocorrendo cumarinas simples, furocumarinas lineares e angulares (Tabela 02, págs 15-16; Figura 07, pág. 16). Justificando a fototoxicidade de muitas preparações medicinais populares feitas de extratos dessas plantas, as cumarinas mais comuns em *Ficus* são psoraleno e bergapteno. A pesquisa de fototoxinas vegetais para o tratamento da leucodermia (vitiligo) implicou num grande número de espécies trabalhadas, resultando no primeiro isolamento de psoraleno por Okahara.²³

SUBSTÂNCIA	OCORRÊNCIA	PARTE ESTUDADA	REF
bergapteno	<i>F. asprina</i>		31,35
	<i>F. benjamina</i>	frutos, látex	27,40
	<i>F. carica</i>	folhas	23,25
	<i>F. elastica</i>	látex	40
	<i>F. erioobtryoides</i>	folhas	37
	<i>F. hispida</i>		31
	<i>F. palmata</i>	folhas	34
	<i>F. salicifolia</i>	folhas e frutos	24,30
	<i>F. sycomorus</i>	folhas e látex	24,36,37
	<i>F. pumila</i>		29
	<i>F. ramentaceae</i>		29
bergaptol	<i>F. asprina</i>		31,35
xanthotoxina	<i>F. benjamina</i>	látex	40
	<i>F. carica</i>		31
psoraleno	<i>F. carica</i>	folhas	23,25
	<i>F. hispida</i>		31
	<i>F. insipida</i>	folhas	39
	<i>F. salicifolia</i>	fruto	30,32,36
	<i>F. sycomorus</i>	látex	36,37,40
4,5-diidropsoraleno	<i>F. carica</i>	folhas	23,25
umbelliferona	<i>F. carica</i>	folhas	23,25
	<i>F. cuninghamii</i>		37
	<i>F. salicifolia</i>		32,36
marmesina	<i>F. carica</i>	folhas	26,28,31
	<i>F. cuninghamii</i>		37
	<i>F. erioobtryoides</i>	folhas	37
	<i>F. salicifolia</i>		32,36
	<i>F. sycomorus</i>		36,37
nodakenetina	<i>F. carica</i>	folhas	26,28
ácido furocumárico O-β-D-glicofurano- sideo	<i>F. carica</i>	folhas	26,28
xanthotoxol	<i>F. carica</i>		31
herniarina	<i>F. cuninghamii</i>		37
	<i>F. platyphylla</i>		38
	<i>F. pumila</i>		29
	<i>F. ramentaceae</i>		29

Tabela 02. Distribuição de cumarinas no gênero *Ficus*.

SUBSTÂNCIA	OCORRÊNCIA	PARTE ESTUDADA	REF
isopimpinellina	<i>F. cuninghamii</i>		37
angelicina	<i>F. nitida</i>	folhas	33
cumarina	<i>F. radicans</i>	folhas	24
escopoletina	<i>F. salicifolia</i>	fruto	30
imperatorina	<i>F. sycomorus</i>	látex	40

Tabela 02. Continuação.

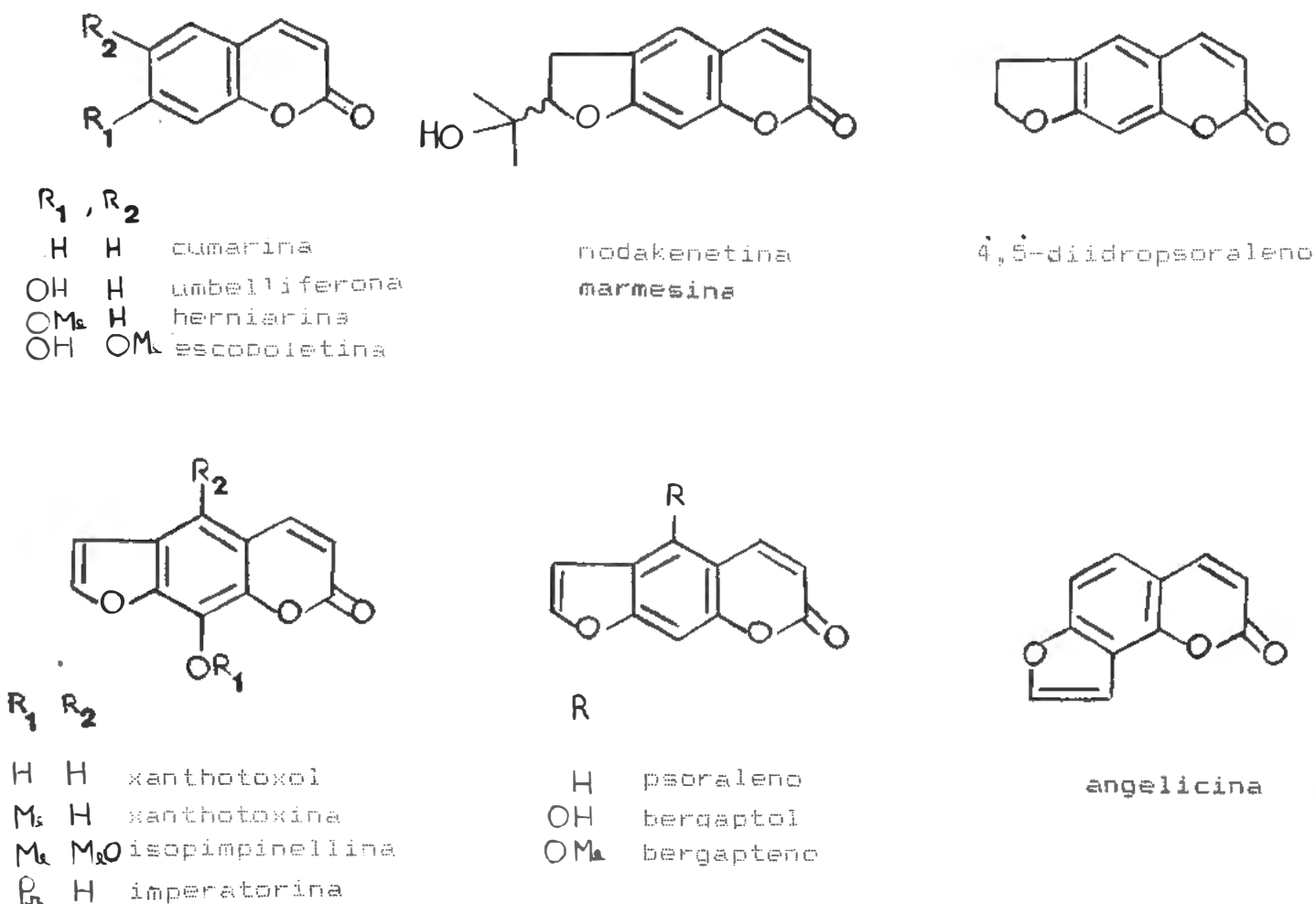


Figura 07. Cumarinas do gênero *Ficus*

O segundo processo metabólico envolvendo a produção de substâncias derivadas de biossíntese mista resulta da condensação de uma unidade de ácido cinâmico (caminho chiquimato), com unidades de ácido acético (caminho do acetato). Nessa classe encontram-se os flavonóis O-metilados e O-glicosilados, flavanonas, flavonas C- e O-glicosiladas, antocianinas, leucoantocianinas (Tabela 03, págs. 17-18, Figura 08, pág 19).

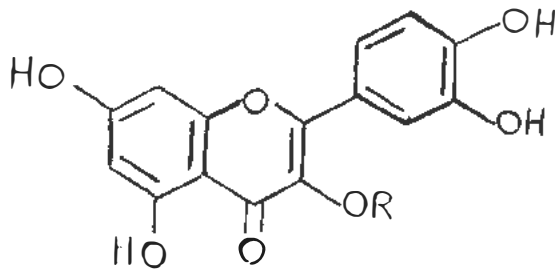
Em algumas espécies taníferas, *F. mysorensis*, *F. religiosa* e *F. bengalensis*, são caracterizados taninos condensados (proantocianidinas).

SUBSTÂNCIA	OCORRÊNCIA	PARTE ESTUDADA	REF
quercetina	<i>F. carica</i>		71
isoquercitrina	<i>F. carica</i>	folhas	71
3-O-metilquercetina	<i>F. capensis</i>	folhas	69
3-O-glicosiliso-rhamnetina	<i>F. capensis</i> <i>F. rumphii</i>	folhas casca do tronco	69 73
rutina	<i>F. carica</i> <i>F. simplex</i> <i>F. pumila</i> <i>F. platyphyla</i>	folhas folhas frutos	72 72 56 38
naringenina	<i>F. capensis</i>	folhas	69

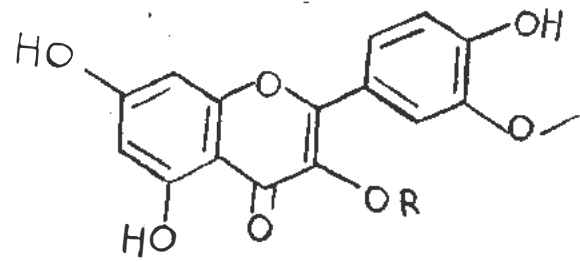
Tabela 03. Distribuição de flavonóides no gênero *Ficus*.

SUBSTÂNCIA	OCORRÊNCIA	PARTE ESTUDADA	REF
6-O-β-D-glicopiranosil-3'-O-α-L-rhamnosil-luteolina	<i>F. infectoria</i>	folhas	70
6-O-α-L-rhamnopyranosil-(1→2)-β-D-galactopiranosil-cutelareína	<i>F. infectoria</i>	folhas	67
schaftosídeo	<i>F. carica</i>	folhas	68
isoschaftosídeo	<i>F. carica</i>	folhas	68
3-O-monoglicosilcianidina	<i>F. carica</i>	frutos	64
3-O-rhamnoglicosilcianidina	<i>F. carica</i>	frutos	64
3,5-O-diglicosilcianidina	<i>F. carica</i>	frutos	64
3-O-rhamnoglicosilpelargonidina	<i>F. carica</i>	frutos	64
3-O-β-D-glicopiranosil-leucocianidina	<i>F. racemosa</i>	casca do tronco	65
3-O-α-D-glicopiranosil-(1→4)-O-β-D-galactopiranosil-leucocianidina	<i>F. hispida</i>	raízes	66
3-O-β-L-rhamnopyranosil-leucopelargonidina	<i>F. racemosa</i>	casca do tronco	65

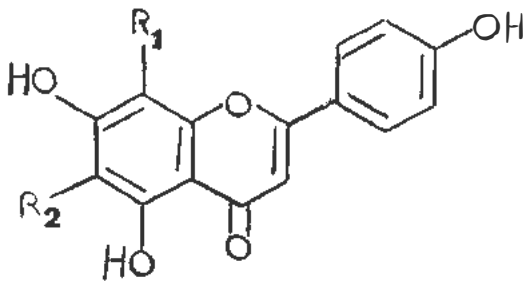
Tabela 03. Continuação



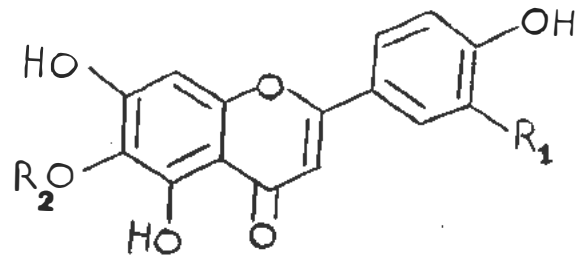
R
 Gli Rham rutina
 Gli isoquercitrina
 H quercetina



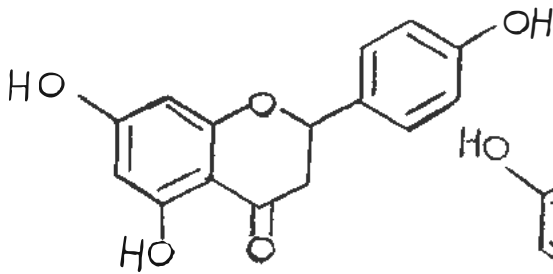
3-O-glicosiliso-
 rhamnetina
 3-O-metilquercetina



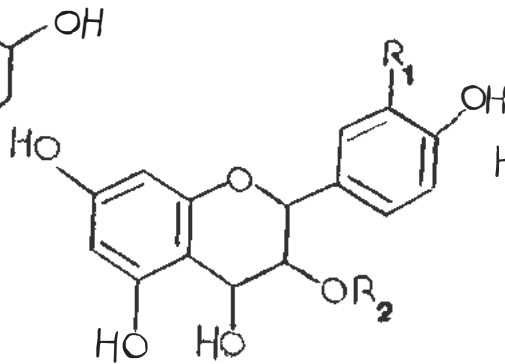
R₁ R₂
 Ara Gli eschaftosideo.
 Gli Ara isoschaftosideo



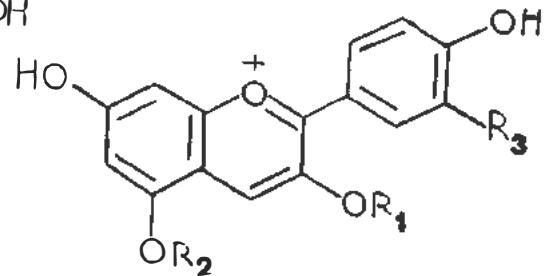
6-O-α-L-rhamnopira-
 nosil-(1→2)-β-D-
 galactopiranosiles-
 cutelareina
 6-O-β-D-glicopirano-
 sil-3'-O-α-L-rhamno-
 silluteolina



naringenina



R₁ R₂
 OH Gli 3-O-β-D-glicopira-
 nosilleucocianidina
 OH Gli 3-O-α-D-glicopira-
 nosil-(1→4)-O-β-D-
 GAL galactopiranosil-
 leucocianidina
 H.Rham 3-O-β-L-rhamnopira-
 nosilleucopelargo-
 nidina



R₁ R₂ R₃
 Gli H OH 3-O-monoglicosilo-
 anidina
 Rham H OH 3-O-rhamnoglicosi-
 pelargonidina
 Gli Gli OH 3,5-O-diglicosilo-
 anidina
 Rham H H 3-O-rhamnoglicosi-
 cianidina

Figura 08. Flavonóides do gênero *Ficus*.

Um outro grupo de substâncias produzidas por espécies do gênero *Ficus* se origina da via metabólica acetato-mevalonato e consta de mono-, sesqui- e triterpenóides, esteróides e ficaprenóis. É notável a predominância de triterpenóides pentacíclicos monoxigenados, como os metabólitos mais comuns e mais abundantes nas frações apolares. Os esteróides de *Ficus* são dos tipos mais comuns encontrados no Reino Vegetal (Tabela 04, págs. 20-22; Figura 09, págs. 23-24).

Existem registros da ocorrência de esteróides glicosilados na casca do tronco de *F. religiosa* e *F. glomerata*.^{74,75} A presença de 3-O-β-D-glicosil-sitosterol está relacionada com o uso dessas plantas como hipoglicemiantes.

SUBSTÂNCIA	OCORRÊNCIA	PARTE ESTUDADA	REF
linalol	<i>F. carica</i>	folhas	98
α-terpineol	<i>F. carica</i>	folhas	98
acetato de geranila	<i>F. carica</i>	folhas	98
epóxido de cariofileno	<i>F. carica</i>	folhas	98
nor-copaanona	<i>F. carica</i>	folhas	98
nor-cariofilen-2-ona	<i>F. carica</i>	folhas	98
nor-bourbonan-1-ona	<i>F. carica</i>	folhas	98
esqualeno	<i>F. elastica</i>	folhas	55
sitosterol	<i>F. benjamina</i>	frutos	27
	<i>F. salicifolia</i>	frutos, folhas	30,36
	<i>F. asprina</i>	folhas	31
	<i>F. racemosa</i>	casca do tronco	44
	<i>F. beecheyana</i>		41
	<i>F. palmata</i>	folhas	34
	<i>F. spragueana</i>		35
	<i>F. glomerata</i>	frutos	45
	<i>F. lacor</i>	folhas	48

Tabela 04 . Distribuição de terpenóides no gênero *Ficus*.

SUBSTÂNCIA	OCORRÊNCIA	PARTE ESTUDADA	REF
sitosterol	<i>F. carica</i>	folhas	52
	<i>F. sycomorus</i>	folhas	36
	<i>F. pumila</i>	frutos	56
	<i>F. religiosa</i>	folhas	58
	<i>F. erioobtryoides</i>	folhas	37
	<i>F. platyphylla</i>	folhas	38
	<i>F. insipida</i>	folhas	39
estigmasterol	<i>F. glomerata</i>	fruto	45
	<i>F. lacor</i>	folhas	48
	<i>F. religiosa</i>	casca do tronco	62
campesterol	<i>F. religiosa</i>	folhas	58
	<i>F. lacor</i>	folhas	48
28-isofucoesterol	<i>F. religiosa</i>	folhas	48
	<i>F. lacor</i>	folhas	48
colesterol	<i>F. lacor</i>	folhas	48
calotropina	<i>F. carica</i>	folhas	62
lanosterol	<i>F. religiosa</i>	casca da raiz	62
13a,14B, 17B(H), 20a(H)- lanosta- 8,22-dieno-3B-ol	<i>F. glomerata</i>	fruto	45
butirospermol	<i>F. macrophylla</i>	casca do tronco	57
cicloartenol	<i>F. macrophylla</i>	casca do tronco	57
24-metilenociclo- artanol	<i>F. carica</i>	folhas	61
a-amirina	<i>F. bengalensis</i>	látex	51
	<i>F. benjamina</i>	látex	40
	<i>F. elastica</i>	látex	40
	<i>F. lacor</i>	folhas	48
	<i>F. platyphylla</i>		38
	<i>F. racemosa</i>	casca da raiz	43
	<i>F. religiosa</i>	folhas	58
	<i>F. sycomorus</i>	látex	40
ácido ursólico	<i>F. platyphylla</i>		38
baurenol	<i>F. carica</i>	folhas	61
pseudotaraxasterol	<i>F. carica</i>	folhas	36

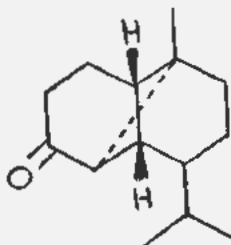
Tabela 04. continuação.

SUBSTÂNCIA	OCORRÊNCIA	PARTE ESTUDADA	REF
taraxasterol	<i>F. cuninghamii</i>	folhas	37
	<i>F. glomerata</i>	fruto	47
β-amirina	<i>F. asprina</i>	folhas	31
	<i>F. alba</i>	látex	50
	<i>F. carica</i>	folhas	36
	<i>F. eriobtryoides</i>	folhas	37
	<i>F. hispida</i>	folhas, casca do tronco	31,49
	<i>F. lacor</i>	folhas	48
	<i>F. platyphylla</i>		38
	<i>F. religiosa</i>	folhas	58
	<i>F. sycomorus</i>	folhas	36
ácido oleanólico	<i>F. carica</i>	folhas	63
	<i>F. microcarpa</i>	folhas	60
glutanol	<i>F. microcarpa</i>	folhas	60
taraxerol	<i>F. pumila</i>		56
	<i>F. microcarpa</i>	folhas	60
friedelina	<i>F. bengalensis</i>	folhas	
	<i>F. glomerata</i>	casca do tronco	59
	<i>F. microcarpa</i>	folhas	60
	<i>F. nitida</i>	folhas	33
	<i>F. roxburghii</i>		35
	<i>F. spragueana</i>		35
epi-friedelanol	<i>F. nitida</i>	folhas	33
	<i>F. roxburghii</i>		35
	<i>F. spragueana</i>		35
Lupeol	<i>F. alba</i>	látex	50
	<i>F. beecheyana</i>		41
	<i>F. carica</i>	folhas	63
	<i>F. glomerata</i>	casca do tronco, frutos	47
	<i>F. lacor</i>	folhas	48
	<i>F. microcarpa</i>	folhas	60
	<i>F. racemosa</i>	casca da raiz	43
	<i>F. sycomorus</i>	folhas	36
	<i>F. religiosa</i>	folhas	58
	<i>F. macrophylla</i>	casca do tronco	54
lupenona	<i>F. religiosa</i>	casca da raiz	62
moretenol	<i>F. macrophylla</i>	casca do tronco	57

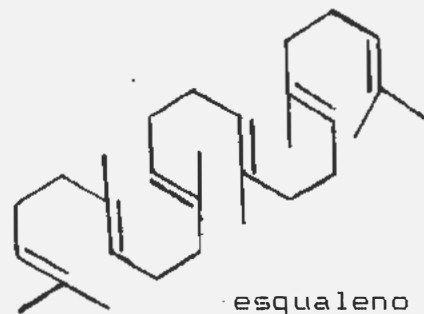
Tabela 04. continuação



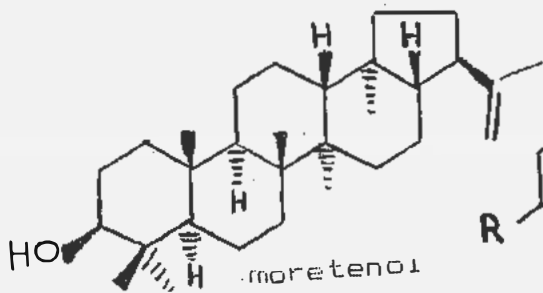
linalol



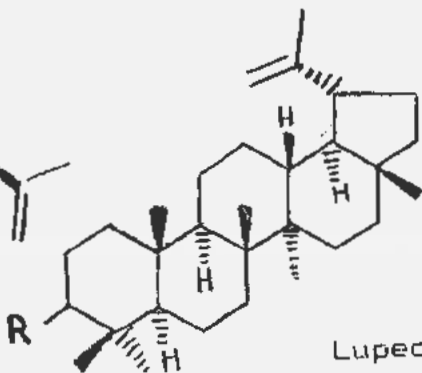
nor-copaanona



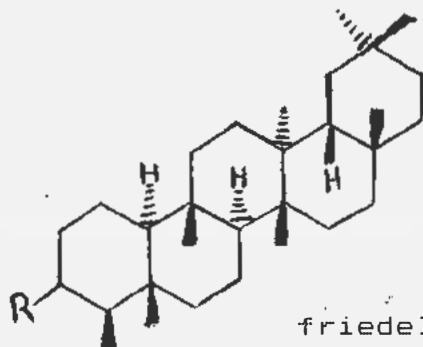
squaleno



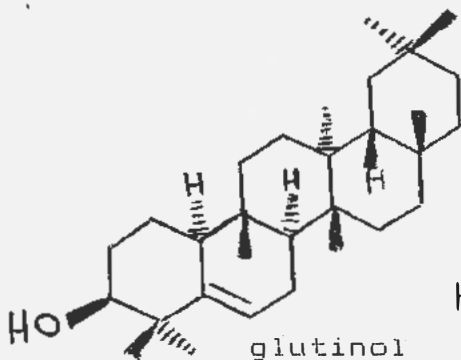
moretenol



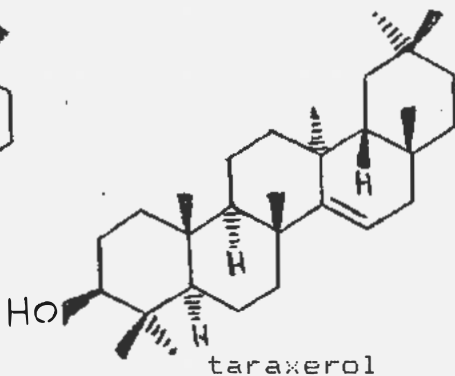
Lupeol
lupenona



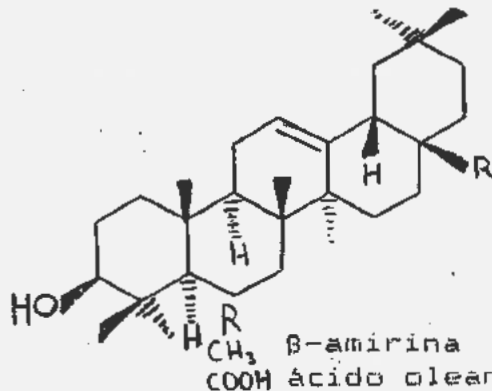
friedelina
epi-friedelina



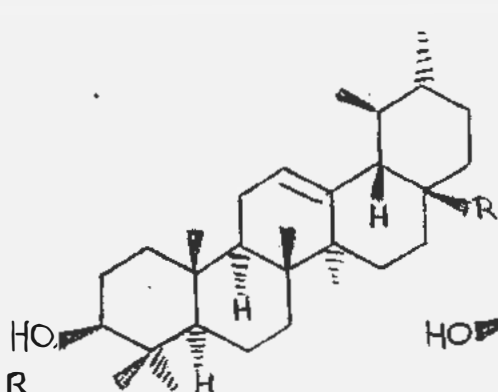
glutinol



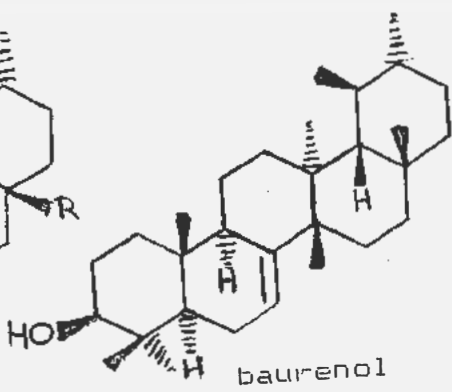
taraxerol



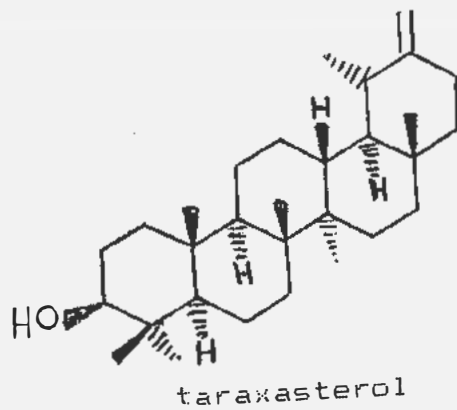
β -amirina
COOH ácido oleanólico



α -amirina
COOH ácido ursólico



baurenol



taraxasterol

Figura 09. Terpenóides do género *Ficus*.

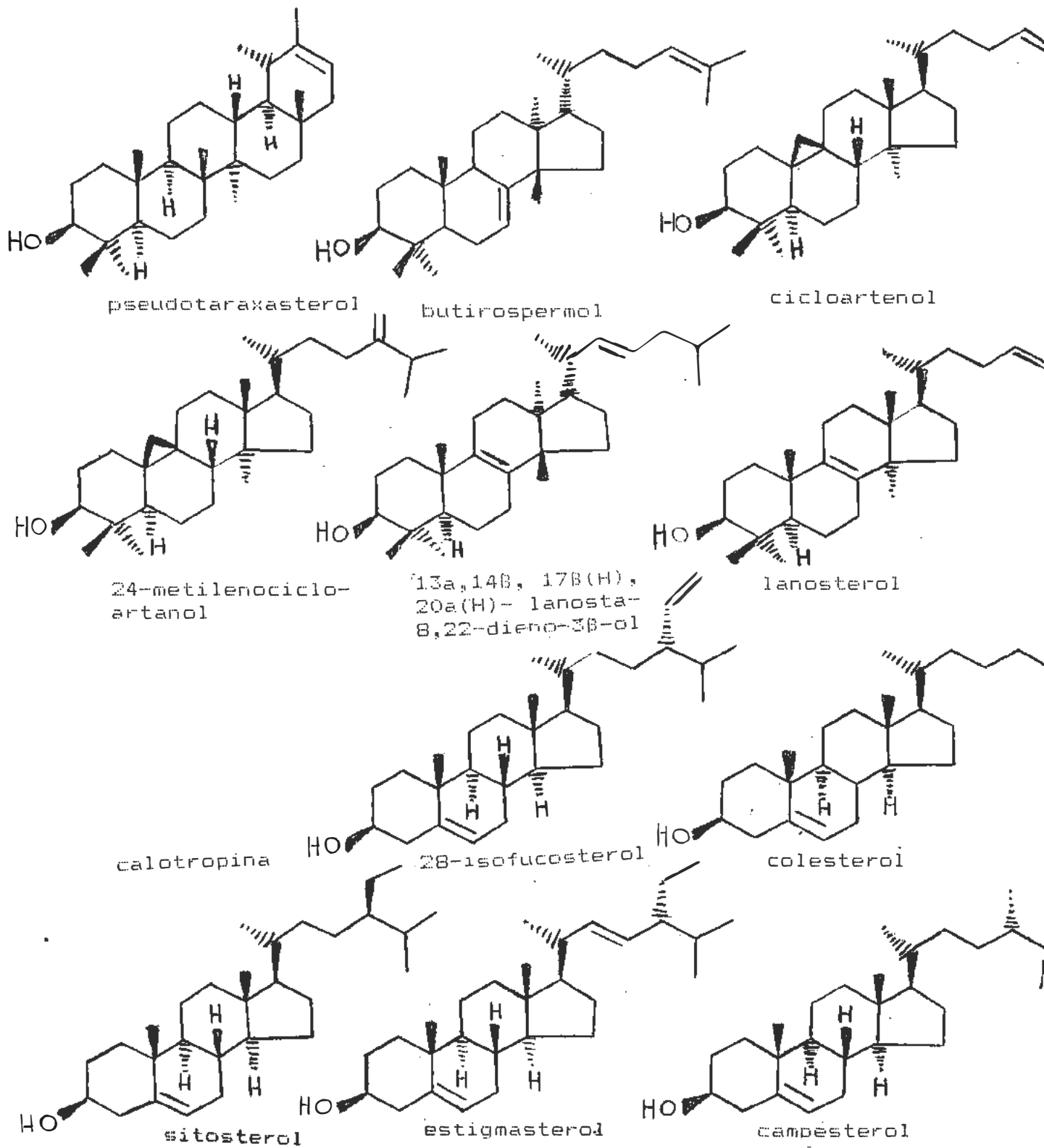


Figura 09. Continuação.

Aspectos Farmacológicos

O látex de muitas espécies de *Ficus* tem sido usado como droga desde há muitos séculos. Dioscorides⁷⁶ menciona o uso do látex de *F. sycomorus* e *F. carica* como remédio. Essas espécies foram usadas na Grécia antiga como laxantes, no tratamento da gota, da lepra, de doenças da pele, de mordedura de animais peçonhentos, da dor de dente e na coagulação do leite.

Em 1861 Peckolt⁷⁷ já mencionava o uso do látex de *Ficus* contra a ancilostomose no Brasil. Uma substância cristalina, denominada doliarina, e uma outra de natureza protéica, denominada urostigma papayotina, foram obtidas por Peckolt do látex de *F. doliaria*. Esse trabalho resultou no desenvolvimento de uma preparação farmacêutica que continha principalmente essas duas substâncias misturadas a uma forma de ferro assimilável (sem especificações). Essa mistura era vendida sob a denominação de "Pó de Doliarina e Ferro - Um Específico Contra a Opilação".

Nesse período o uso dessa droga foi difundida para outros países da América do Sul e da Europa, como pode ser visto no trabalho de Bozzolo⁷⁶ que informa sobre a existência no Brasil de um poderoso anti-helmíntico preparado por Peckolt a partir do látex de *F. doliaria*. Bozzolo, menciona que tal preparação foi usada com sucesso no tratamento da ancilostomose em sua clínica de Turin (Itália).

No final do século Moncorvo, um médico do Rio de Janeiro (Brasil), é citado no "The Lancet"⁷⁸, por utilizar o tratamento mais efetivo contra um tipo de anemia causada por *Ancylostoma duodenale*, que consistia na administração do látex de *Ficus doliaria* ou *F. gamellaria*. De acordo com o autor, esse é um remédio antigo dos índios

e as suas propriedades drásticas como vermífugo eram provavelmente devidas a doliarina, um tipo de pepsina vegetal, análoga, ou talvez idêntica a papaína de *Carica papaya*.

Theodoro e Gustavo Peckolt⁷⁶ em seu interessante livro, "Plantas Medicinais do Brazil", fornece um roteiro completo do uso medicinal do látex de diferentes espécies de *Ficus* (*F. anthelmintica*, *F. glabra* e *F. doliaria*) no tratamento de ancilostomose e ascaridose. Em outra publicação intitulada: "O valor dos anti-helmínticos brasileiros", Gustavo Peckolt⁷⁹ relaciona algumas espécies de *Ficus*, de *Carica* (Caricaceae) e de *Plumeria* (Apocynaceae) no tratamento de verminoses, ressaltando a necessidade de prudência no uso dessas plantas, chamadas por ele de "fontes de sucos pancreáticos vegetais". Relaciona *F. vermífuga*, *F. doliaria*, *F. radula* e *F. anthelmintica* como as utilizadas pela população.

Gerber⁸⁰ descreve o látex de *F. coronata* como um verdadeiro suco pancreático vegetal, devido a sua elevada atividade digestiva.

Em 1914 Monat-Biggs⁸¹ e Paez⁷⁶ registraram o tratamento de ancilostomose e tricurose com o látex de *F. laurifolia* e de *F. glabrata*. Esse tratamento foi adotado pelo governo venezuelano na supressão da ancilostomose no país. Existem também registros do uso do látex dessas espécies em países da América Central (Nicarágua, Panamá). Na Colômbia, Hall e Agustin⁸² administraram o látex de *F. laurifolia* em soldados para o tratamento de verminoses concluindo, porém, que esse material possuía uma atividade limitada.

Robbins⁸³ fez valiosas experiências com o látex de *F. laurifolia*, confirmando que o princípio ativo era de natureza protéica, designando-o ficina. Em um trabalho posterior, ele avaliou a

estabilidade dessa enzima e concluiu que a mesma não era do tipo pepsina, mas sim do tipo tripsina. Por essa época o látex de *Ficus* foi lançado na Colômbia com os nomes comerciais: Tricosan e Ficosan. Tais medicamentos foram indicados para o tratamento de infestação por *Ascaris*, *Trichuris* e *Necator*. Há registro do uso do látex de *F. anthelmintica* e de *F. glabrata* em populações indígenas peruanas.⁷⁶

Posteriormente, Walti⁸⁴ publicou a respeito do isolamento da ficina em sua forma cristalina, em laboratórios da Merck & Co.. Nesse trabalho também foi confirmada ser essa proteína a responsável pela atividade do látex de *Ficus*.

Em 1942 Jaffé⁸⁵ descreve ensaios em camundongos usando "leche de higuierón" (látex de *F. laurifolia* ou *F. glabrata*) verificando a ausência de toxidez desse material.

As informações atualmente disponíveis sobre a ficina indicam tratar-se de um conjunto de enzimas proteolíticas. Essas enzimas possuem geralmente um resíduo cisteínico participando da atividade enzimática, da mesma forma que a papaína. Ficina e papaína apresentam comportamento bioquímico similar, como por exemplo a especificidade pelo substrato, a atividade esterásica e a ativação por agentes redutores.^{86,87}

Apesar do gênero *Ficus* apresentar uma ampla distribuição na Região Tropical, ocorrendo nos continentes Asiático, Africano e Americano, desperta atenção o fato do uso de suas espécies como vermífugo estar restrito apenas as Américas Central e do Sul (Tabela 05, págs. 28-29).

ESPÉCIE	INDICAÇÕES	PARTE UTILIZADA	LOCAL	REF
<i>F. glabrata</i>	anti-helmíntico (uso interno)	látex, frutos	Colômbia Venezuela Peru	89 76
<i>F. laurifolia</i>	anti-helmíntico (uso interno)	látex	Venezuela Nicarágua	90
<i>F. pumila</i>	anti-helmíntico (uso interno)	látex	Porto Rico	76
	anti-diarreico (uso interno) tratamento do carbúnculo (uso externo) afecções da pele (uso externo)	folhas	China	76
<i>F. anthelmintica</i>	anti-helmíntico (uso interno)	látex, frutos e folhas	Brasil Peru	91 76
<i>F. bengalensis</i>	hipoglicemiante (uso interno)	casca do tronco	Índia	92 93
<i>F. glomerata</i>	hipoglicemiante (uso interno)	casca do tronco	Índia	75
<i>F. religiosa</i>	tratamento da úlcera (uso interno) hipoglicemiante (uso interno) anti-asmático (uso interno) tratamento de doenças respiratórias (uso interno)	casca do tronco	Índia	74
<i>F. infectoria</i>	tratamento da úlcera (uso interno)	casca do tronco	Índia	94
<i>F. septica</i>	anti-térmico (uso interno) anti-gripal (uso interno) anti-microbiano (uso externo)	folhas	Nova Guiné	95
<i>F. racemosa</i>	tônico	raiz	Índia	76

Tabela 05. Etnofarmacologia do gênero *Ficus*.

ESPÉCIE	INDICAÇÕES	PARTE UTILIZADA	LOCAL	REF
<i>F. caballina</i>	cicatrizante (uso externo)	látex	Peru	76
<i>F. sycomorus</i>	vítiligo (uso externo)	látex	Egito	36
<i>F. carica</i>	emoliente (uso externo) diurético (uso interno)		Índia	96
<i>F. indica</i>	anti-diarréico (uso interno) anti-inflamatório (uso interno) anti-reumático (uso interno)	látex	Índia	76
<i>F. doliaria</i>	anti-helmíntico (uso interno)	látex	Brasil	76
<i>F. elastica</i>	anti-helmíntico (uso interno)	látex	Panamá	76
<i>F. hispida</i>	vítiligo anti-cancerígeno (uso interno)	folhas	Índia Tailândia	97 98

Tabela . Continuação

Preparações populares feitas com espécies de *Ficus*, utilizadas no tratamento da leucodermia, são ainda hoje responsáveis por graves acidentes dermatológicos, devido a presença de furocumarinas lineares. Tais preparações são também potencialmente carcinogênicas, uma vez que, furocumarinas atuam como agentes mutagênicos, devido a sua capacidade de se ligarem covalentemente às bases pirimidínicas do DNA.⁸⁸

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Fitoquímica de *F. insipida*

Para estudo fitoquímico dessa espécie vegetal foram selecionados os extratos hexânico e metanólico de folhas, os quais forneceram dois triterpenóides pentacíclicos e um linear (simiarenol, isohopenolactona e esqualeno), dois esteróis (sitosterol e estigmasterol) e uma furocumarina linear (psoraleno), além de metabólitos primários: n-alcanos, sacarose, glicose.

Os extratos em diclorometano e em acetato de etila não foram trabalhados com sucesso. Apesar desses extratos apresentarem uma grande diversidade de substâncias, essas não ocorriam em quantidades suficientes o que dificultou a sua purificação e sua determinação estrutural. Foi possível detectar no extrato em diclorometano grande variedade de substâncias fluorescentes, o que o elege promissor na pesquisa de cumarinas nessa espécie vegetal.

Constituintes do Extrato Hexânico de *F. insipida*

Série homóloga de alcanos C₂₇-C₃₃ [1Fi(I)] - A fração eluída em hexano após ter sido cromatografada em camada delgada de gel de sílica, utilizando-se como revelador uma solução de CeSO₄ a 2% em H₂SO₄, indicou tratar-se de uma mistura. O espectro no infravermelho (Espectro 01, pág. 32) mostrou apenas os sinais correspondentes aos estiramentos e deformações de CH, sugerindo a presença de hidrocarbonetos saturados.

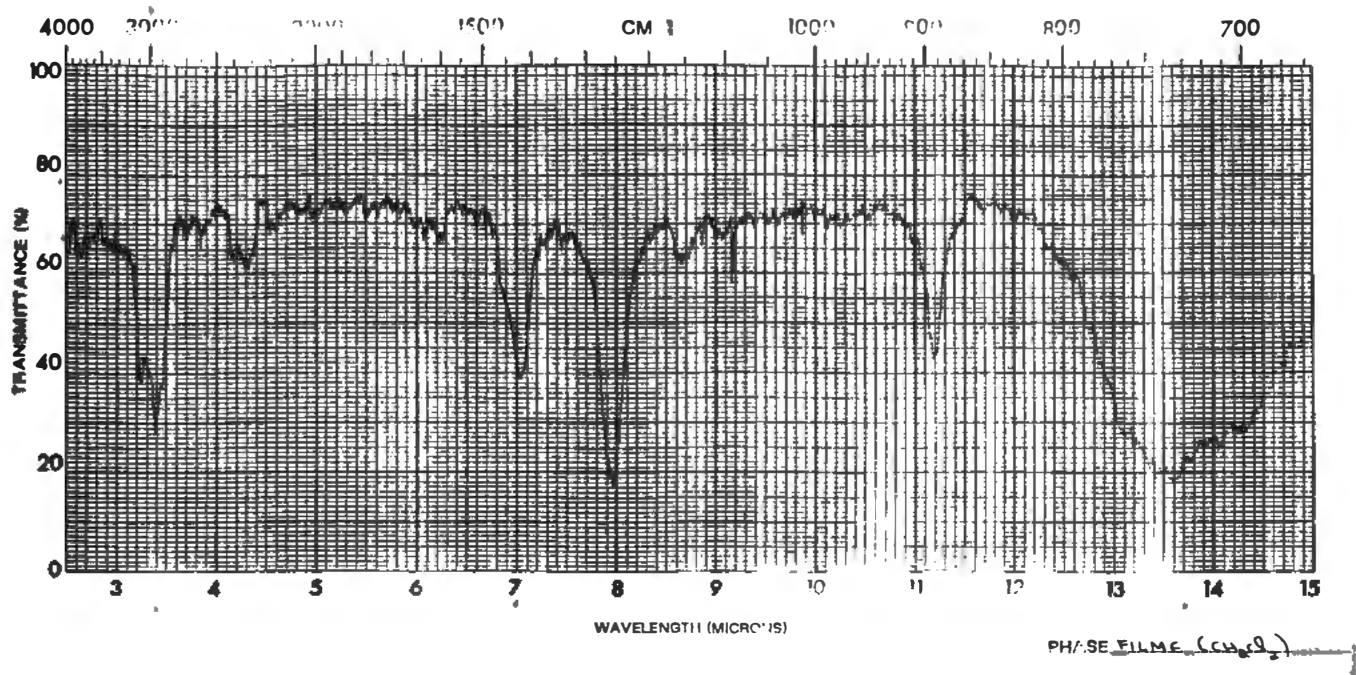
A mistura foi resolvida por cromatografia com fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (Cromatogramas 1-2, págs. 32-33). A série homóloga de alcanos pode ser visualizada no Cromatograma 2, no qual houve seleção apenas das substâncias que apresentavam o sinal correspondente ao fragmento m/z 71. Os espectros de massas apresentam um perfil de espectros de n-alcanos, caracterizados pela fórmula C_nH_{2n+2} , com abundância relativa inversamente proporcional ao aumento da massa de seus fragmentos característicos: m/z 71, 85, 99, 113, 127, C_nH_{2n+1} . Tais séries são típicas de íons pares em elétrons.¹¹⁹

Os componentes foram identificados por comparação de seus dados espectroscópicos com os da literatura,^{89,105} através do banco de dados do espectrômetro VG-AUTOSPEC. As substâncias identificadas foram: heptacosano, nonacosano, hentriacontano, dotriacontano e tritriacontano (Espectros 02-06, págs. 33-35). Nonacosano e hentriacontano predominam na mistura de n-alcanos.

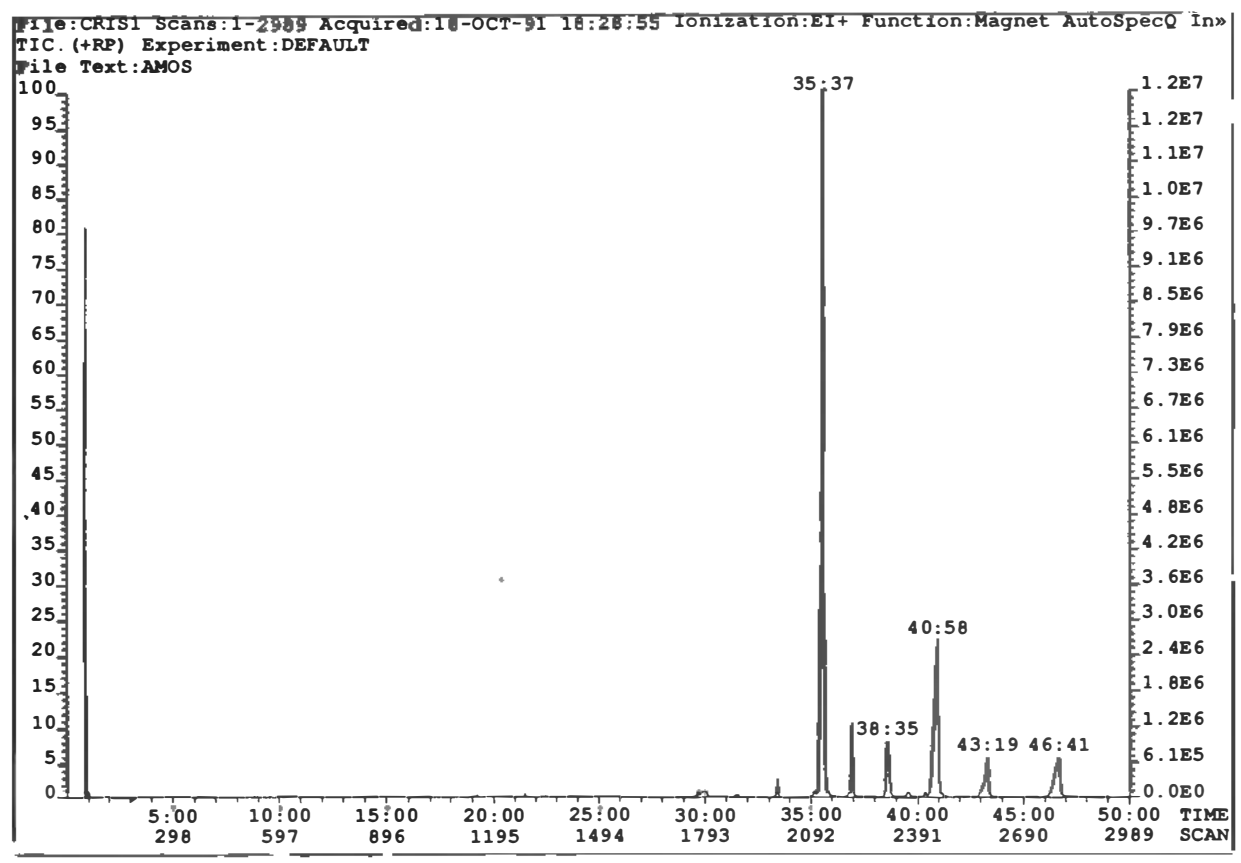
Esqualeno [1Fi(I)] - A mistura eluída em hexano forneceu como constituinte predominante o esqualeno em uma proporção de 64%, calculada pelos métodos de normalização da área dos sinais no cromatograma.

Seu espectro de massas (Espectro 07, pág. 36) mostra um sinal em m/z 410 relativo ao íon molecular, o que sugere a fórmula molecular $C_{30}H_{50}$.

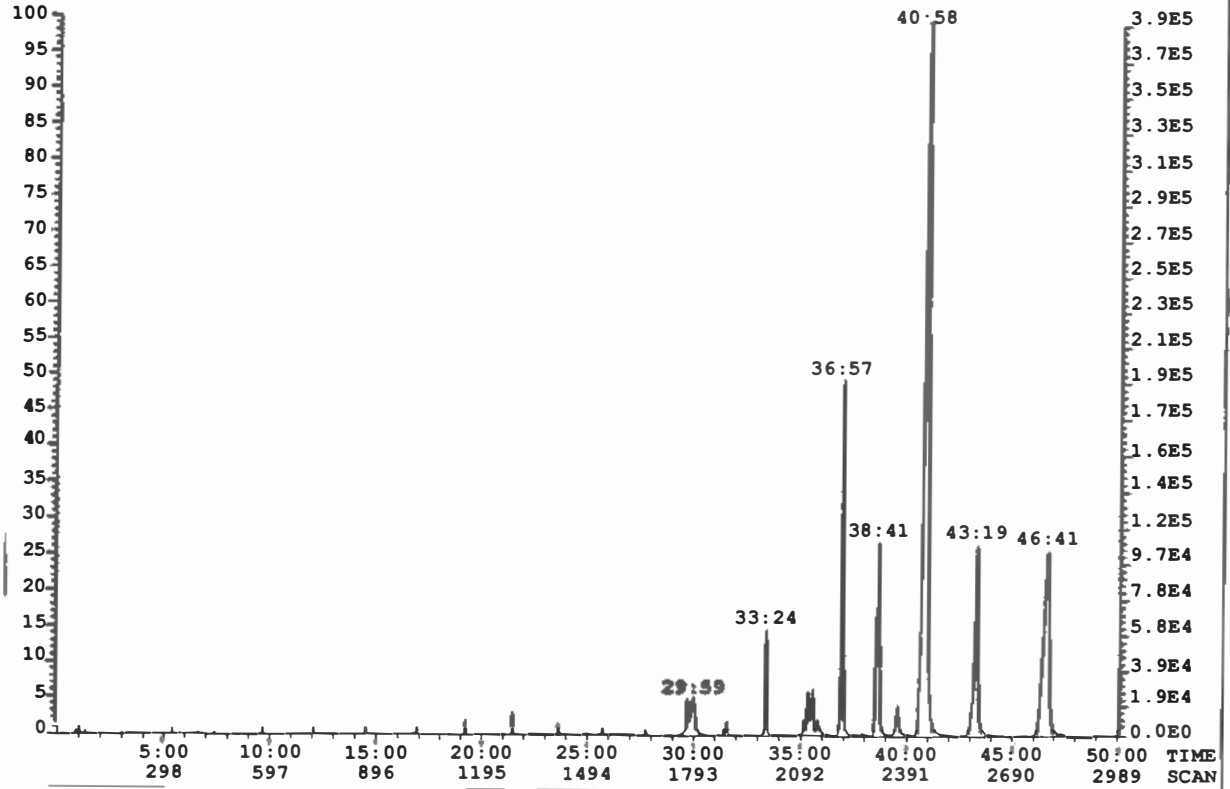
Os fragmentos neutros de massas 15, 43 e 69, além do sinal base 69, indicaram tratar-se de um triterpenóide. Através da comparação desses dados espectrais com outros obtidos na literatura⁸⁹, identificou-se a substância em questão como o esqualeno.



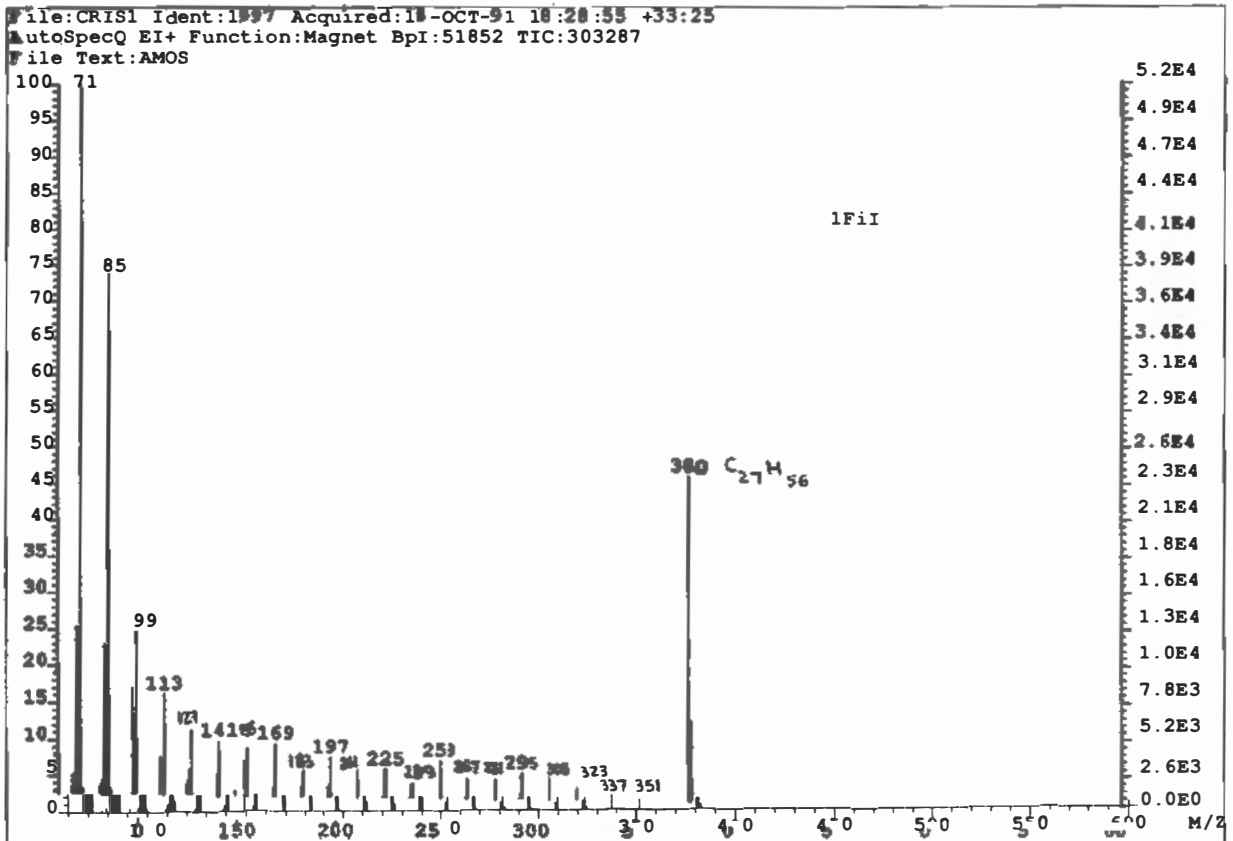
Espectro 01. Espectro na região do infravermelho de 1Fi(I)



Cromatograma 01. Resultado da separação cromatográfica (CG) de 1Fi(I)

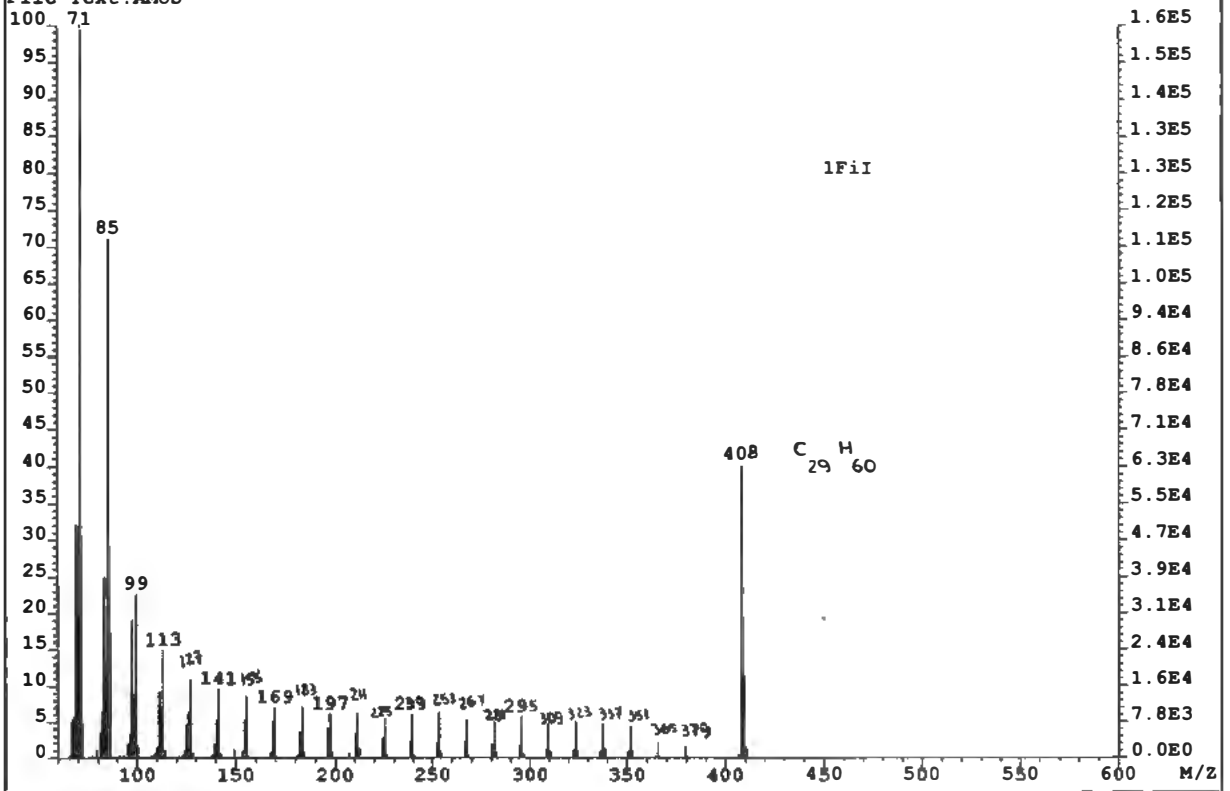


Cromatograma 02. Resultado da separação cromatográfica (CG) de 1Fi(I) após seleção das substâncias com fragmentos m/z 71.



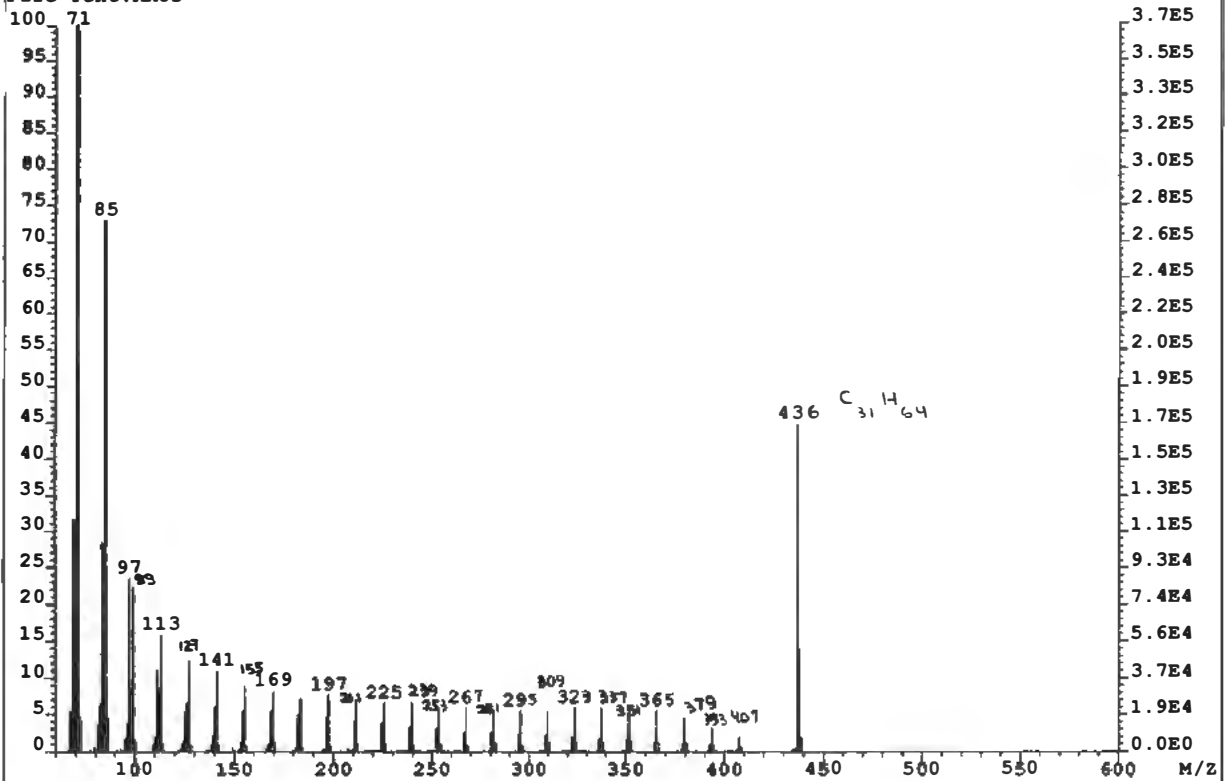
Espectro 02. Espectro de massas do heptacosano.

File:CRISI Ident:2207 Acquired:18-OCT-91 18:28:55 +36:56
AutoSpecQ EI+ Function:Magnet BpI:157013 TIC:969009
File Text:AMOS



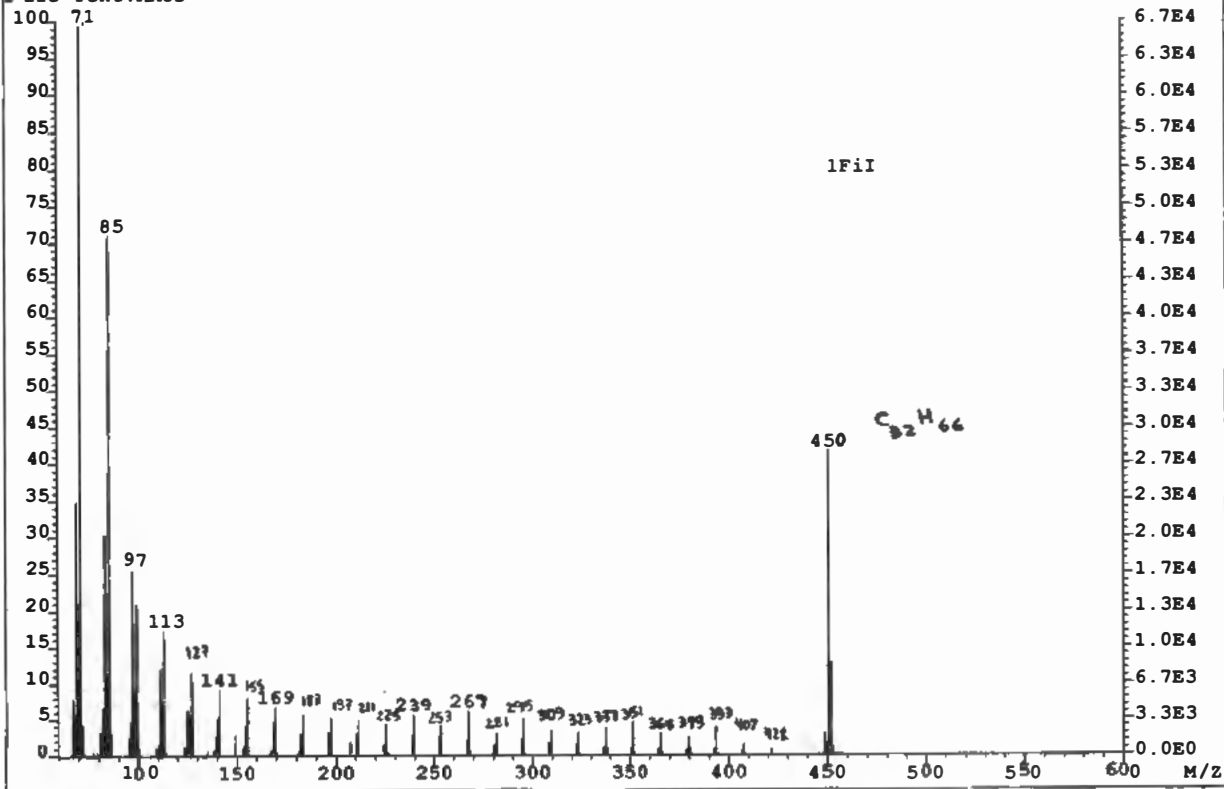
Espectro 03. Espectro de massas do nonacosano.

File:CRISI Ident:2448 Acquired:18-OCT-91 18:28:55 +40:57
AutoSpecQ EI+ Function:Magnet BpI:372103 TIC:2603220
File Text:AMOS



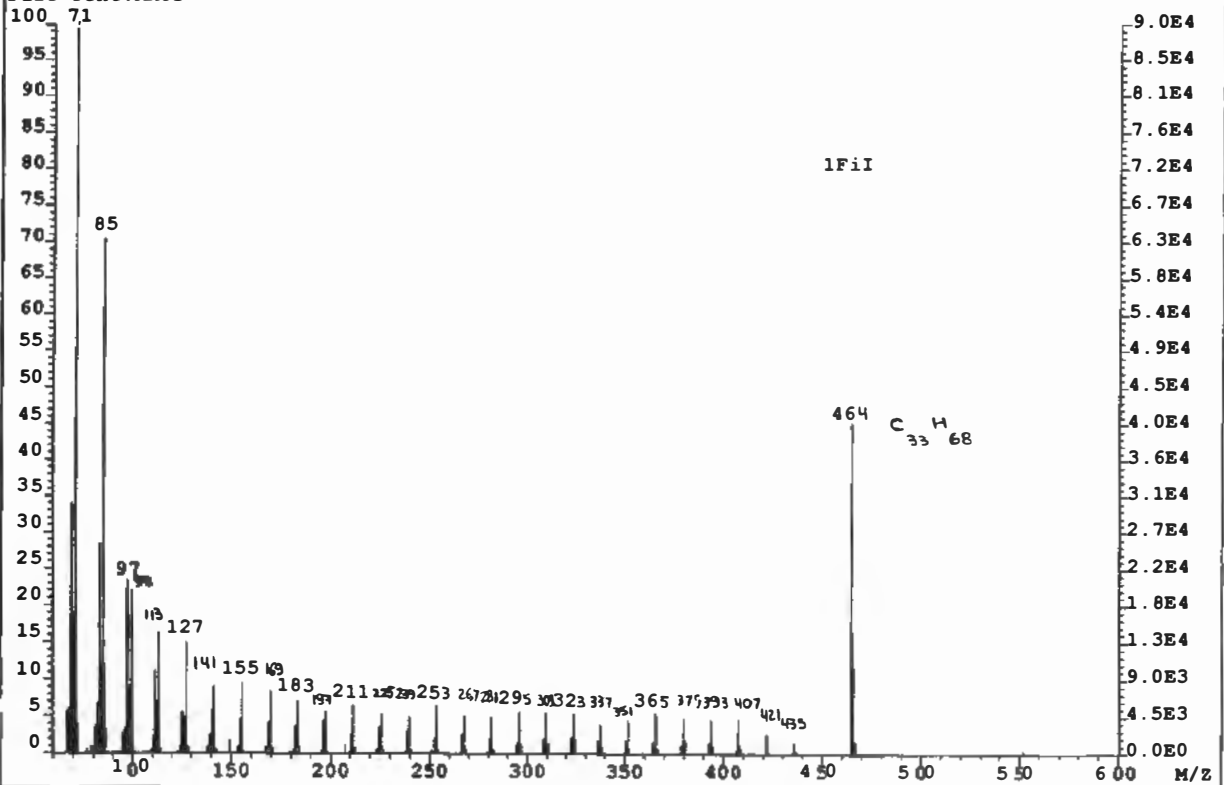
Espectro 04. Espectro de massas do hentriacontano.

File:CRIS1 Ident:2584 Acquired:18-OCT-91 18:28:55 +43:14
 AutoSpecQ EI+ Function:Magnet BpI:66795 TIC:433888
 File Text:AMOS

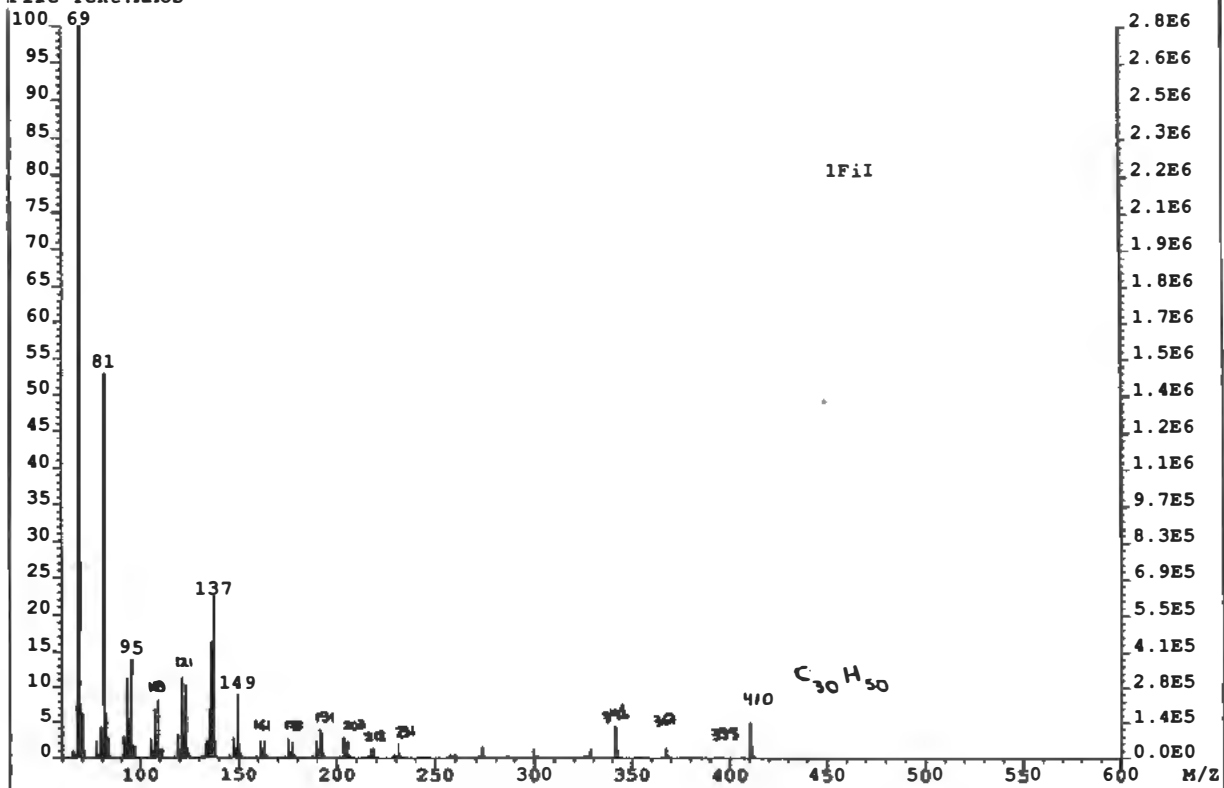


Espectro 05. Espectro de massas do doctriacontano.

File:CRIS1 Ident:2791 Acquired:18-OCT-91 18:28:55 +46:42
 AutoSpecQ EI+ Function:Magnet BpI:89655 TIC:616360
 File Text:AMOS

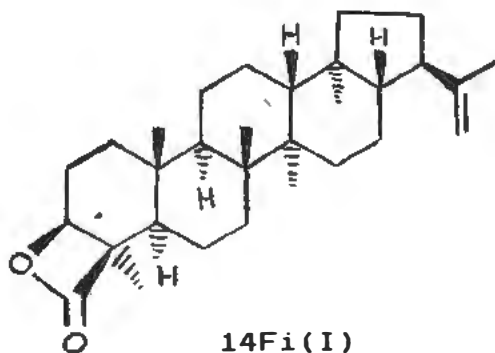


Espectro 06. Espectro de massas do tritriacontano.



Espectro 07. Espectro de massas do esqualeno.

Isohopenolactona [14Fi(I)] - As frações 12-14, eluídas em hexano/acetato de etila 3%, foram recromatografadas em coluna de gel de sílica, resultando num material cristalino que deu reação positiva com o reagente de Liebermann-Burchard e que se mostrou impuro em cromatografia em camada delgada. Cromatografia com fase gasosa (Cromatograma 03, pág. 42) revelou que a impureza estava em quantidade bastante inferior em relação ao componente majoritário. O estudo dos dados espectrais sugeriu a estrutura:



O espectro de massas (Espectro 08, pág. 42) mostra um sinal com m/z 438 relativo ao íon molecular, compatível com a fórmula molecular $C_{30}H_{46}O_2$, que reúne um número de 8 insaturações. O sinal base m/z 189 corresponde a um fragmento típico dos esqueletos lupano ou hopano com substituinte isopropenila e nenhum outro substituinte nos anéis D e E.^{90,91} A eliminação do fragmento neutro de massa 44 pode ser explicada pela perda de CO_2 . Todos esses dados são concordantes com a estrutura proposta.

O espectro na região do infravermelho (Espectro 09, pág. 43) apresenta sinais principais em 2933 e 2864 cm^{-1} , referentes às vibrações das ligações C-H de grupamentos metila e metileno; 1806 cm^{-1} , referente à vibração de C=O de uma β -lactona; um sinal largo e intenso entre 1200 e 1000 cm^{-1} pode estar relacionado com a vibração de deformação axial de C-O acoplada à vibração do mesmo tipo para ligações vizinhas C-C-O; 3074, 1644 e 882 cm^{-1} , referentes às vibrações de C=C e de C-H do grupo vinilideno. Sinais fracos em 3437 cm^{-1} e em 1725 cm^{-1} parecem ser devido à presença, como impureza, de pequena quantidade do ácido β -hidroxilado correspondente.

A presença dos grupos já mencionados pode ser evidenciada no espectro de RMN-¹³C (Espectro 10, pág. 44) como mostra a Tabela 07 (pág. 39) : δ 175,6 >C=O; 77,4 >CHO-; 109,5 >C=CH₂; 148,1 >C=CH₂. Das oito insaturações calculadas para a estrutura proposta três podem ser alocadas para o grupo carbonila, para o anel β -lactônico e para o grupo vinilidênico. As insaturações restantes correspondem aos anéis do esqueleto triterpenoídico pentacíclico. O pequeno sinal em 184 ppm pode ser devido à presença de um grupo carboxila na impureza.

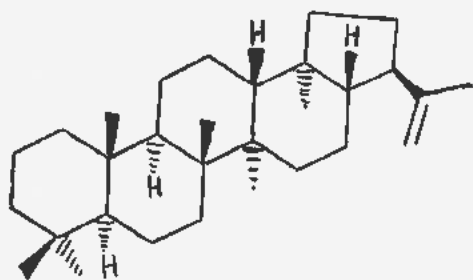
O espectro de RMN-¹H (Espectro 11, pág 45) revela a presença de cinco grupos metílicos terciários: δ 0,69 (d, J 1Hz); 0,92; 0,98; 1,05; 1,48 e um grupo isopropenila: δ 1,69 (s, largo); 4,67 (m); 4,69 (m).

A caracterização do tipo de esqueleto triterpenoídico de 14Fi(I) pode ser obtida por comparação entre os sinais referentes aos seus hidrogênios metílicos e os das substâncias modelo: 22(29)-isohopeno (1) e 22(29)-hopeno (2) (Tabela 06, pág. 38).⁹²

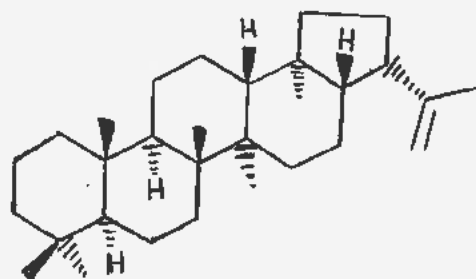
H-METÍLICO	14Fi(I)	(1)	(2)
H-23	1,48	0,84	0,84
H-24	-	0,79	0,79
H-25	0,92	0,82	0,82
H-26	1,05	0,95	0,95
H-27	0,98	0,98	0,96
H-28	0,69*	0,68*	0,73
H-29	4,67	4,67	4,78
H-30	1,68	1,67*	1,75

* (d, J 1,0 Hz)

Tabela 06. Deslocamentos químicos dos espectros de RMN-¹H da isohopanolactona 14Fi(I) e das substâncias modelo 22(29)-isohopeno (1) e 22(29)-hopeno (2).



(1)

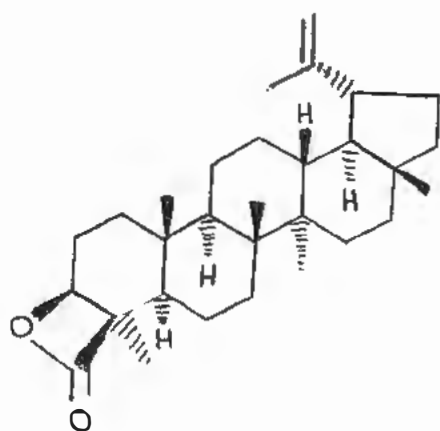


(2)

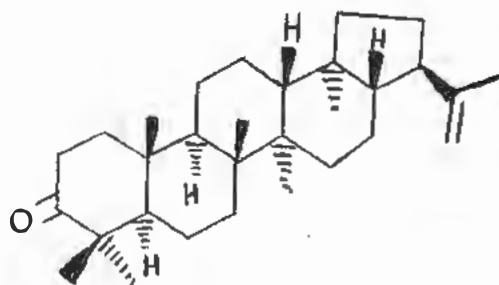
Esses dados sugerem que 14Fi(I) seja um triterpeno pentacíclico da série do isohopano com um grupamento β -lactônico. Esse fato foi confirmado por comparação dos espectros de RMN- ^1H e de ^{13}C de 14Fi(I) com os espectros correspondentes das substâncias: 22(29)-isohopeno (1)^{92,94}, lupeolactona (3)⁹³ e moretenona (4)⁹⁵ (Tabelas 07-08, págs. 39-40). Análise fitoquímica comparada possibilitou indicar concomitantemente o posicionamento do grupo β -lactônico na estrutura e alocar os sinais dos espectros de RMN- ^{13}C e de RMN- ^1H para os átomos de carbono e de hidrogênio da substância 14Fi(I).

CARBONO	SUBSTÂNCIA			CARBONO	SUBSTÂNCIA		
	14Fi(I)	(3)	(1)		14Fi(I)	(3)	(1)
C-1	36.7	36.8	40.4	C-16	20.8	35.6	21.0
C-2	23.8	23.7	18.8	C-17	53.8	43.0	54.0
C-3	77.4	77.3	42.2	C-18	44.1	48.0	44.3
C-4	55.4	55.4	33.3	C-19	40.1	48.2	40.3
C-5	52.6	52.7	56.2	C-20	27.5	150.7	27.4
C-6	19.6	19.4	18.8	C-21	47.9	29.8	48.0
C-7	32.6	33.7	33.4	C-22	148.1	40.0	148.3
C-8	41.8	40.9	42.3	C-23	22.9	22.8	33.5
C-9	47.9	47.9	50.5	C-24	175.6	175.5	21.7
C-10	35.6	35.6	37.5	C-25	12.6	12.7	16.0
C-11	21.3	21.1	21.0	C-26	16.6	16.1	16.7
C-12	23.8	25.1	24.1	C-27	16.9	14.4	16.9
C-13	48.5	37.9	48.8	C-28	15.0	18.0	15.2
C-14	42.4	43.0	42.0	C-29	109.5	109.3	109.5
C-15	32.5	27.3	32.7	C-30	19.2	19.2	19.7

Tabela 07. Dados de RMN- ^{13}C para 14Fi(I) e para as substâncias modelo 22(29)-isohopeno (1) e lupeolactona (3).



(3)



(4)

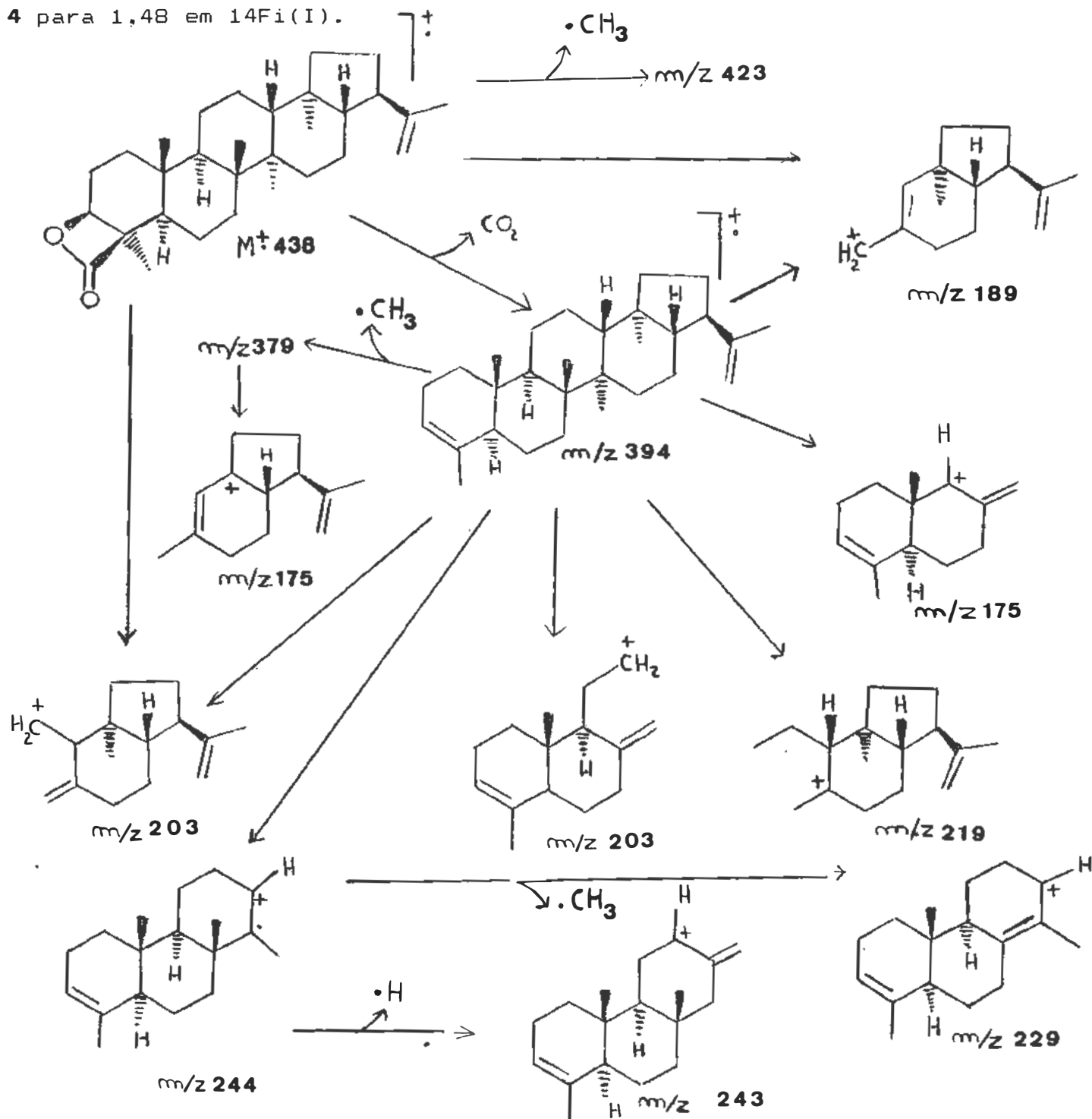
H-METÍLICO	14Fi(I)	(1)	(3)	(4)
H-23	1,48	0,84	1,43	1,08
H-24	-	0,79	-	1,03
H-25	0,92	0,82	0,92	0,93
H-26	1,05	0,95	1,08	1,02
H-27	0,98	0,98	0,97	0,95
H-28	0,69*	0,68*	0,78	0,69*
H-29	4,67	4,67	4,58	4,68
	4,69	4,67	4,70	4,70
H-30	1,69	1,67	1,68	1,68

* (d, J 1,0 Hz)

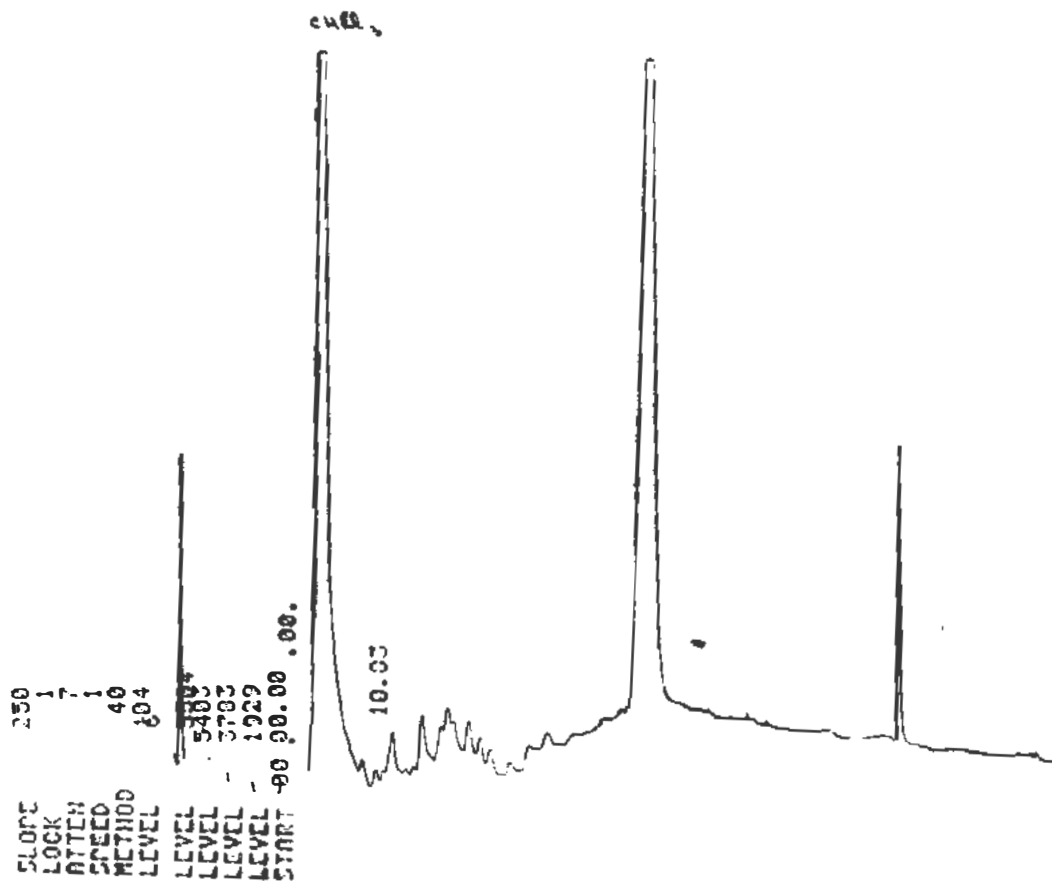
Tabela 08. Deslocamentos químicos dos espectros de RMN-¹H da 14Fi(I) e das substâncias modelo 22(29)-isohopeno (1, lupeolactona (3) e moretenona (4).

Observa-se assim que os deslocamentos dos sinais de 14Fi(I) e 3 são muito semelhantes exceto para os átomos de carbono dos anéis D e E. Os deslocamentos químicos relativos aos átomos de carbono dos anéis D e E mostram-se, entretanto, semelhantes aos observados para as substâncias 1 e 4. O sinal em 175,6 ppm relativo ao átomo de carbono da carbonila aparece no espectro de 14Fi(I) substituindo o sinal da

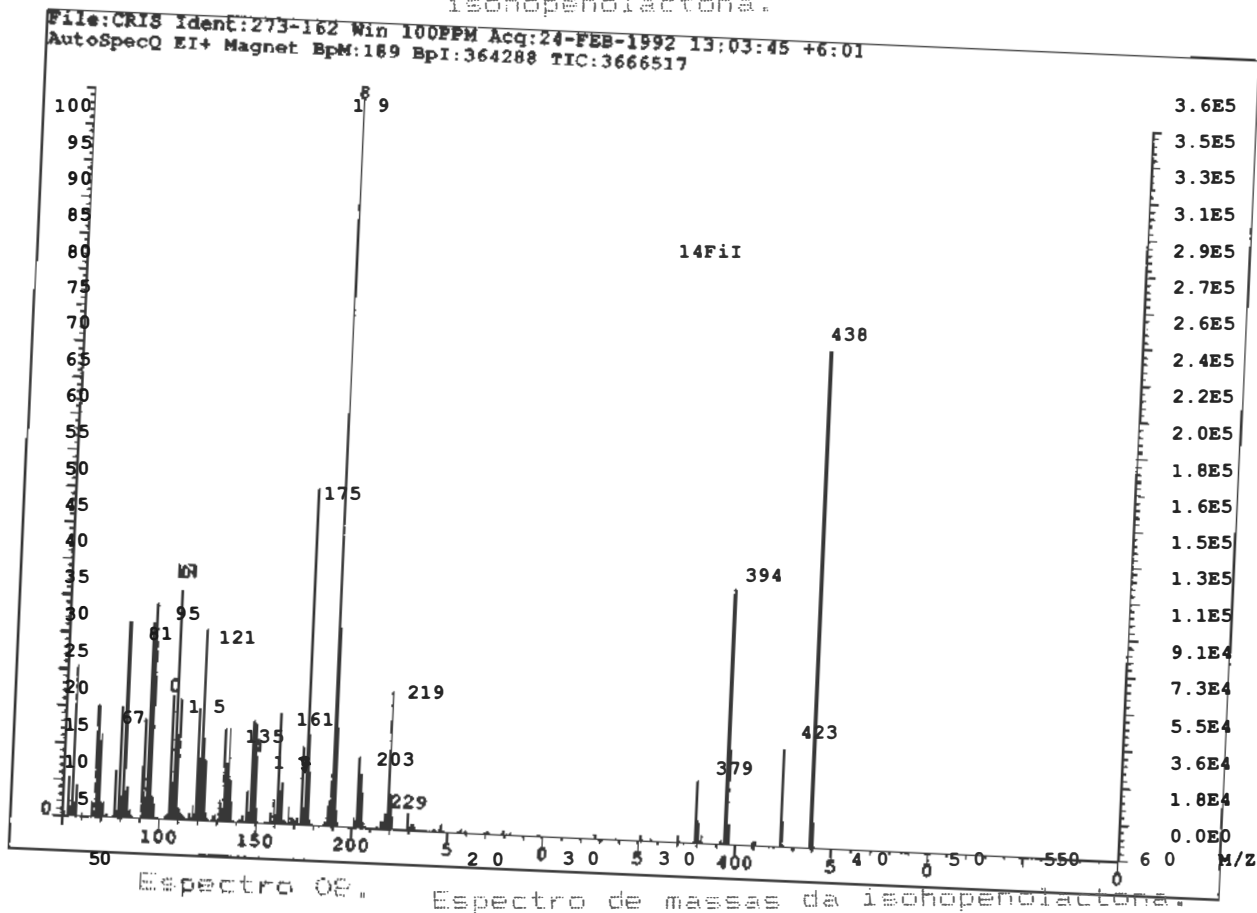
metila em C-24 no espectro de RMN-¹H. A análise da Tabela 08 (pág. 40) também evidencia um efeito de desproteção sobre o grupo metila 23 no espectro de ressonância magnética de hidrogênio, passando de 1,08 em 4 para 1,48 em 14Fi(I).

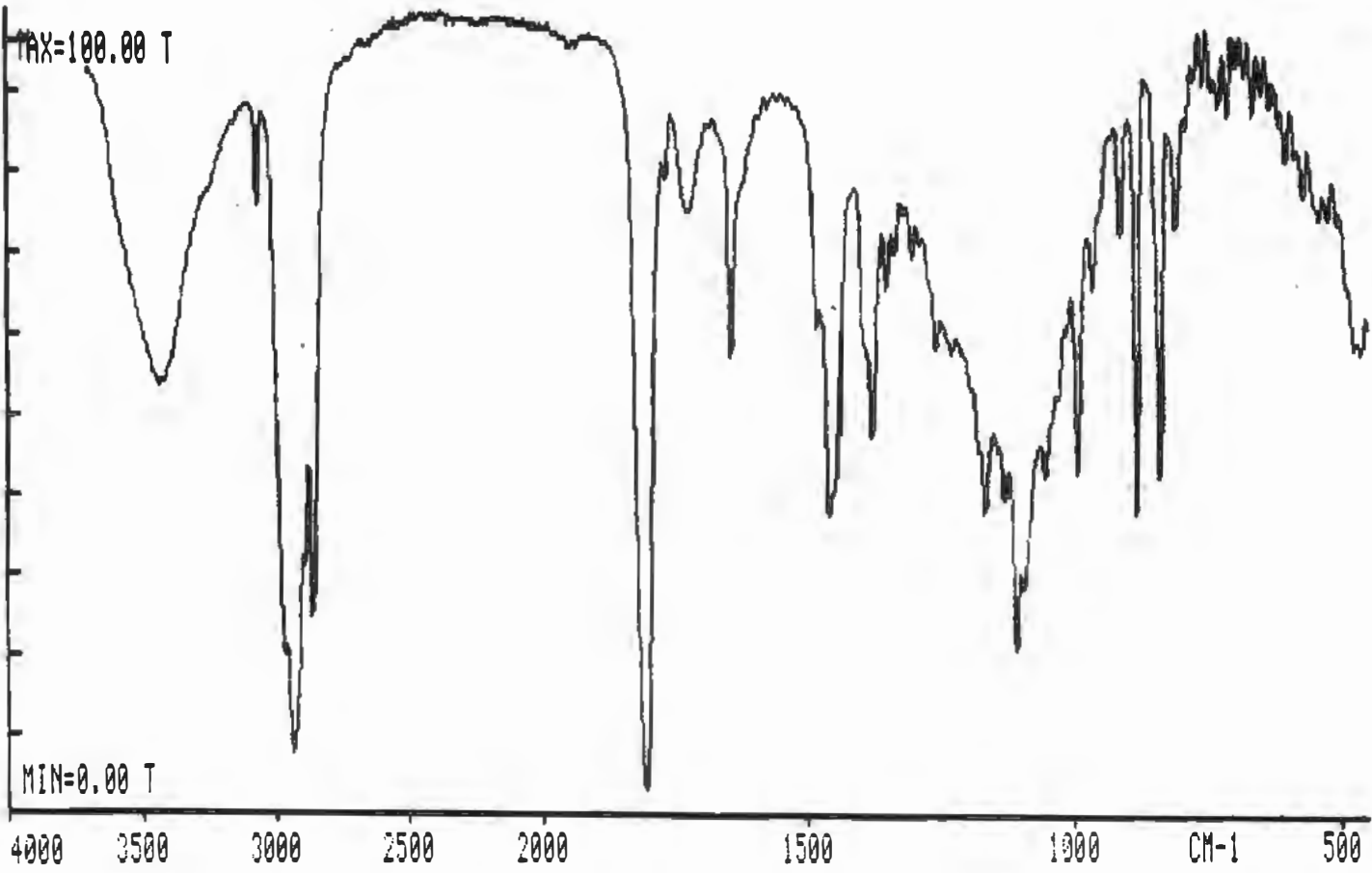


Esquema 01. Fragmentação provável da isohopenolactona



Cromatograma 03. Resultado da separação cromatográfica de isohoponolactona.



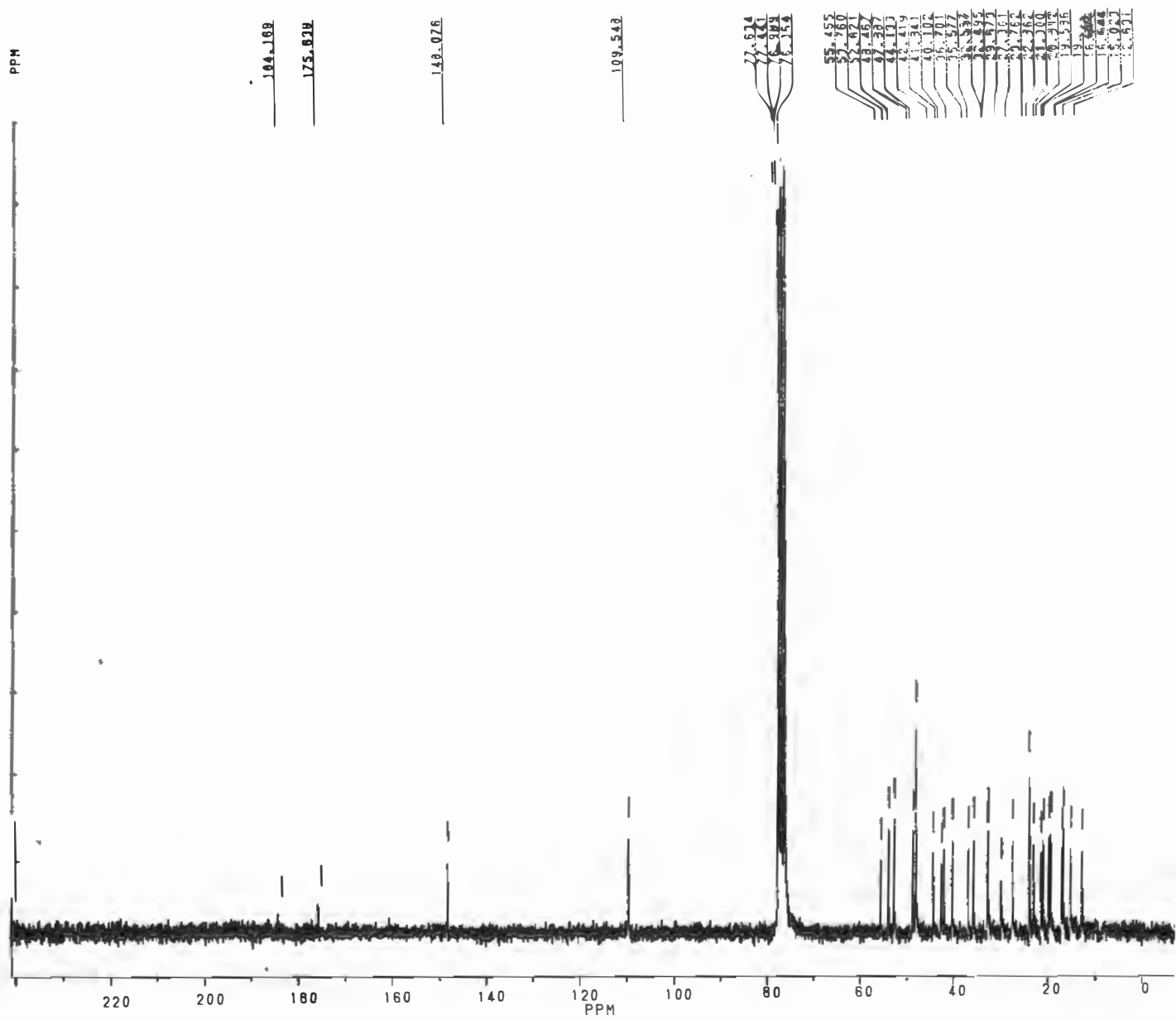


14 Fi (1) (Daise Lopes)

REF	4000	96.44	2000	98.19	450
3437	54.0	3074	72.4	2968	18.6
				2933	7.4
				2893	30.8
2864	24.7	1806	3.3	1725	75.3
				1644	56.0
				1481	61.0
1459	37.1	1378	47.0	1350	65.9
				1335	69.8
				1302	70.1
1257	58.5	1227	58.4	1165	37.9
				1129	39.8
				1108	20.1
1094	28.7	1054	42.9	993	43.1
				964	65.9
				913	72.0
882	37.5	839	41.6	810	73.1
				758	91.9
				729	88.7
712	87.7	697	93.3	681	92.6
				665	87.4
				650	90.5
633	88.1	604	81.3	571	77.4
				541	75.2
				526	74.8
463	58.3				

END 41 PEAKS FOUND

Espectro 09. Espectro na região do infravermelho da isohopnolactona.



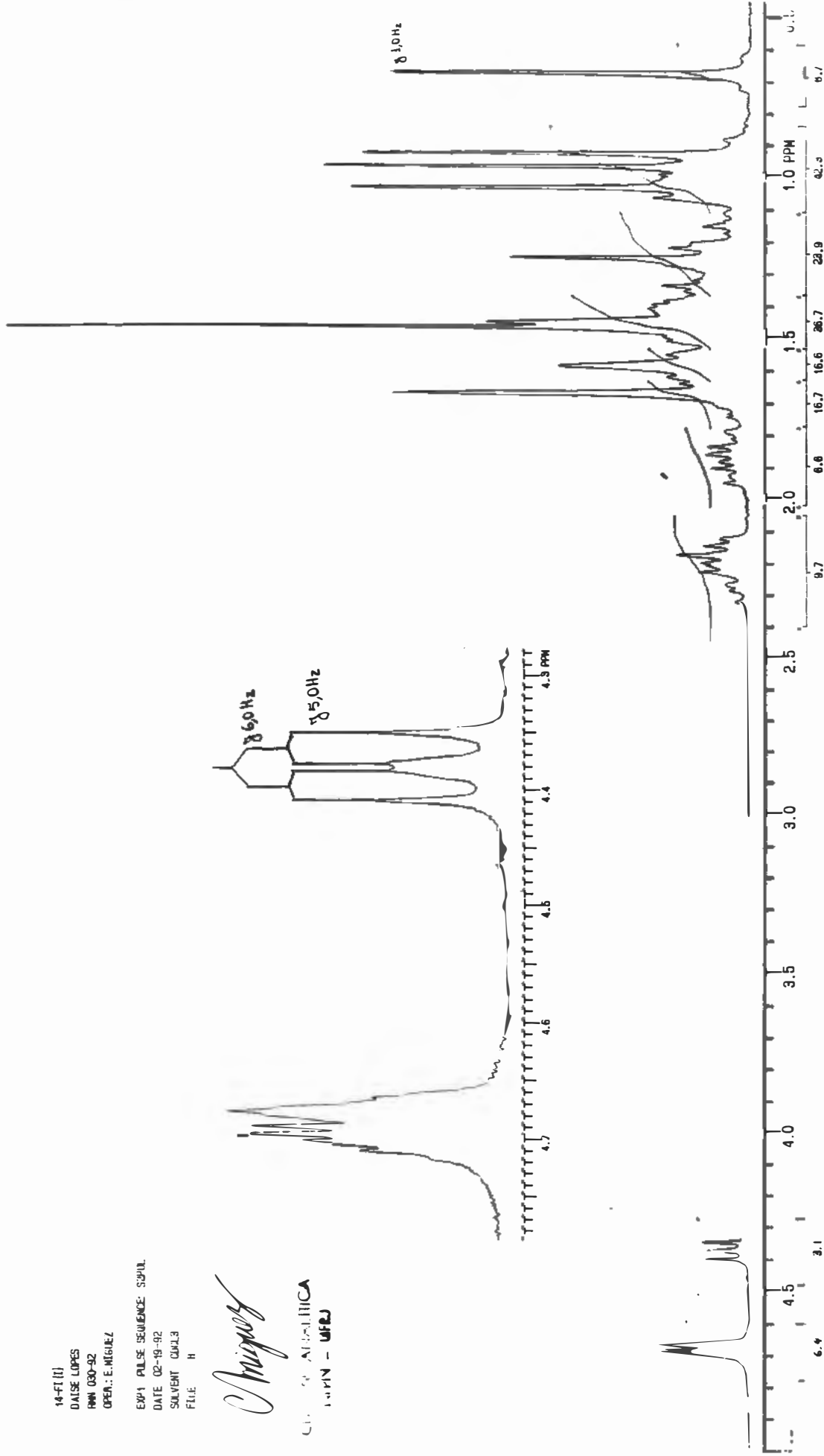
Espectro 10. Espectro de RMN-¹³C de isochopenolactona

14-FT (1)
DAISE LOPES
RMN 030-92
OPER.: E. MIGUELZ

EXP1 PULSE SEQUENCE: SQUIL
DATE 02-19-92
SOLVENT C6H12
FILE H

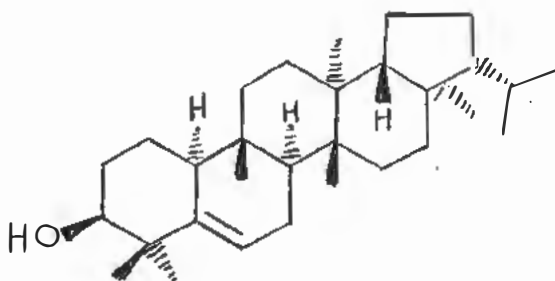
Amigos

LABORATORIO DE QUÍMICA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO



Espectro 11. Espectro de RMN-¹H da isohopenolactona.

Simiarenol [17Fi(I)] - Simples lavagem com hexano foi suficiente para a purificação das frações 15-19, eluídas da coluna cromatográfica com hexano/acetato de etila 4% e possibilitou isolar um material cristalino, que deu reação positiva com o reagente de Liebermann-Burchard e cujo teor no extrato era aproximadamente 1,6 %. A análise dos dados espectrais sugere a estrutura abaixo:



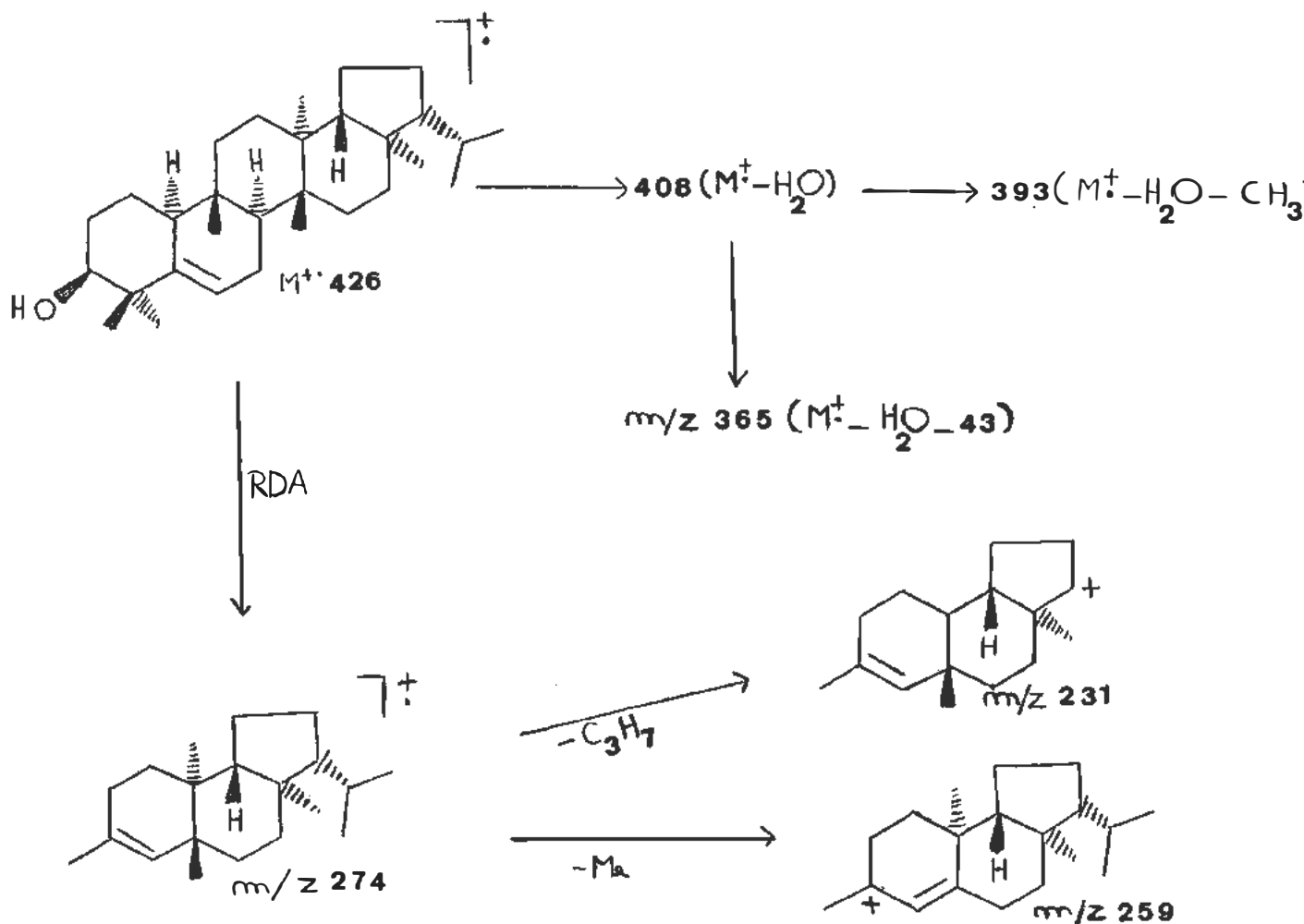
17Fi(I)

O espectro de massas (Espectro 12, pág. 51) mostra o sinal com m/z 426 relativo ao íon molecular, que está de acordo com a fórmula molecular $C_{30}H_{50}O$, reunindo seis insaturações.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Espectro 13, pág. 51) apresenta sinais principais em 3520 cm^{-1} , devido ao grupamento O-H; 2950 e 2890 cm^{-1} , referentes às vibrações das ligações C-H do esqueleto hidrocarbônico; 1390 e 1370 cm^{-1} , referentes às deformações angulares simétricas no plano de grupamentos metila geminais; 835 cm^{-1} relativo a C-H de ligação dupla trissubstituída.

Análise mais detalhada do espectro de massas indica tratar-se de um triterpeno com insaturação na posição 5 e nenhuma substituição adicional nos anéis C, D e E, devido a presença do sinal base m/z 274

provavelmente originário de uma reação tipo Retro Diels-Alder.⁹⁰ As perdas de fragmentos neutros de massa 43 indicam a presença de um substituinte isopropila e a perda de 18 unidades de massa, a partir do íon molecular, sugere a presença de hidroxila na substância (Esquema 02, pág. 47).



Esquema 02. Fragmentação provável do simiarenol.

O espectro de RMN-¹H (Espectro 14, pág. 52) mostra oito sinais em δ 0,78; 0,83 (d, J 6,0Hz); 0,89 (d, J 6,0Hz); 0,89; 0,93; 1,01; 1,05; 1,14 referentes ao deslocamento químico de hidrogênios metílicos, sendo dois deles desdobrados em dupletos com constantes de

acoplamento de 6Hz. O sinal em 3,48 ppm refere-se ao hidrogênio carbinólico. O sinal em 5,56 ppm refere-se ao hidrogênio vinílico de uma ligação dupla trissubstituída.

O espectro de RMN-¹³C de 17Fi(I) DEPT (Espectro 15, pág. 53) apresentou 25 sinais que tiveram suas multicplidades definidas:

CH ₃ δ (ppm)	CH ₂ δ (ppm)	CH δ (ppm)
14,87	17,94	30,65
15,62	19,79	44,10
15,94	23,92	50,11
17,73	27,64	51,60
21,84	28,19	59,89
22,80	28,86	76,19
25,34	29,60	121,78
28,95	34,02	-----
-----	35,29	-----
-----	-----	-----
C₈H₂₄	C₉H₁₈	C₇H₇

A sua posterior comparação com o espectro de RMN-¹³C desacoplado (Espectro 16, pág. 54) permitiu a identificação dos seis sinais relativos aos átomos de carbono tetrassubstituídos:

C δ (ppm)
34,68
38,46
39,17
40,66
42,65
141,85

C₆

Conhecidas as multiplicidades, pode-se expandir a fórmula molecular C₃₀H₅₀O para (C)₆, (CH)₇, (CH₂)₉, (CH₃)₈. Os sinais 121,78 (CH) e 141,85 (C) caracterizam a presença de ligação dupla

trissubstituída restando cinco insaturações que são alocadas para os anéis do esqueleto triterpenoídico pentacíclico.

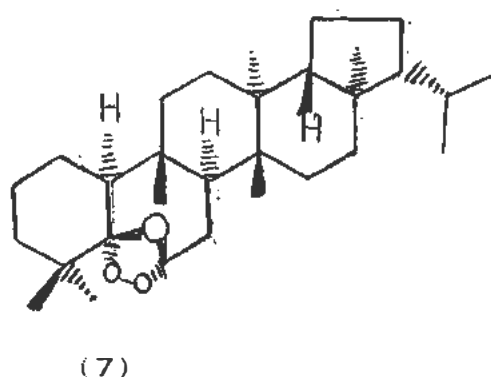
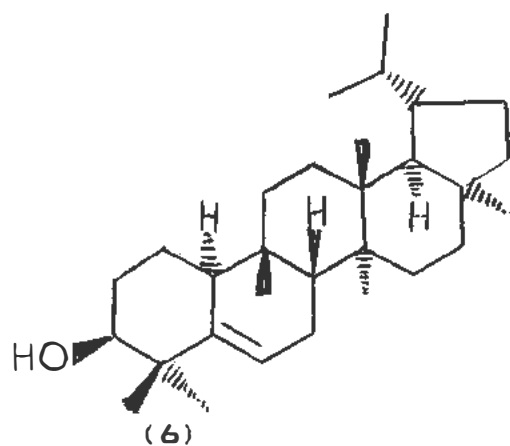
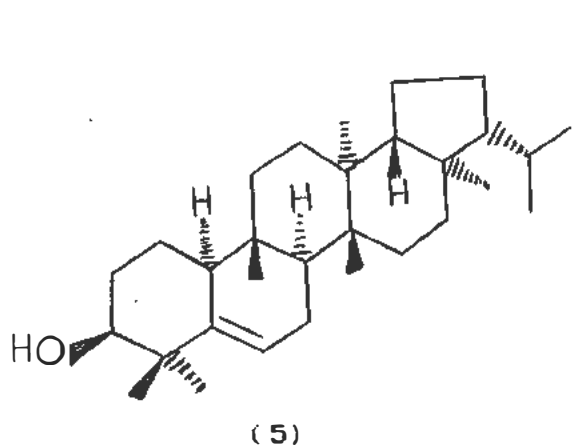
Existem três tipos de esqueletos de triterpenóides pentacíclicos conhecidos contendo insaturação em C-5 que são: fernano, oleanano e lupano.⁹⁰ A elucidação estrutural de 17Fi(I) foi concluída pela comparação dos deslocamentos químicos no seu espectro de RMN-¹H com as substâncias modelo simiarenol (5)⁹⁶, hancokinol (6)⁹⁷ e ozonídeo do 5-adianeno (7)⁹⁸ (Tabela 09, pág.49).

H-METÍLICO	SUBSTÂNCIA			
	17Fi(I)	(5)	(6)	(7)
H-23	1,05	1,04	1,04	0,95
H-24	1,14	1,14	1,13	1,18
H-25	0,89	0,89	0,90	0,95
H-26	1,01	1,01	0,80	1,01
H-27	0,93	0,92	0,88	0,94
H-28	0,78	0,78	0,93	0,80
H-29	0,83*	0,83**	0,87***	0,82*
H-30	0,89*	0,89**	0,90***	0,94*

* (d, J 6,0 Hz)
 ** (d, J 6,5 Hz)
 *** (d, J 6,8 Hz)

Tabela 09. Deslocamentos químicos dos espectros de RMN-¹H do simiarenol 17Fi(I) e das substâncias modelo simiarenol (5), hancokinol (6) e ozonídeo do 5-adianeno (7).

Comparação dos dados de RMN-¹H de 17Fi(I) com as três substâncias modelo foi útil para a confirmação da estrutura proposta. Além disso, esse tipo de análise permitiu a correlação dos deslocamentos químicos no espectro de ressonância magnética de hidrogênio dos respectivos grupamentos metílicos.

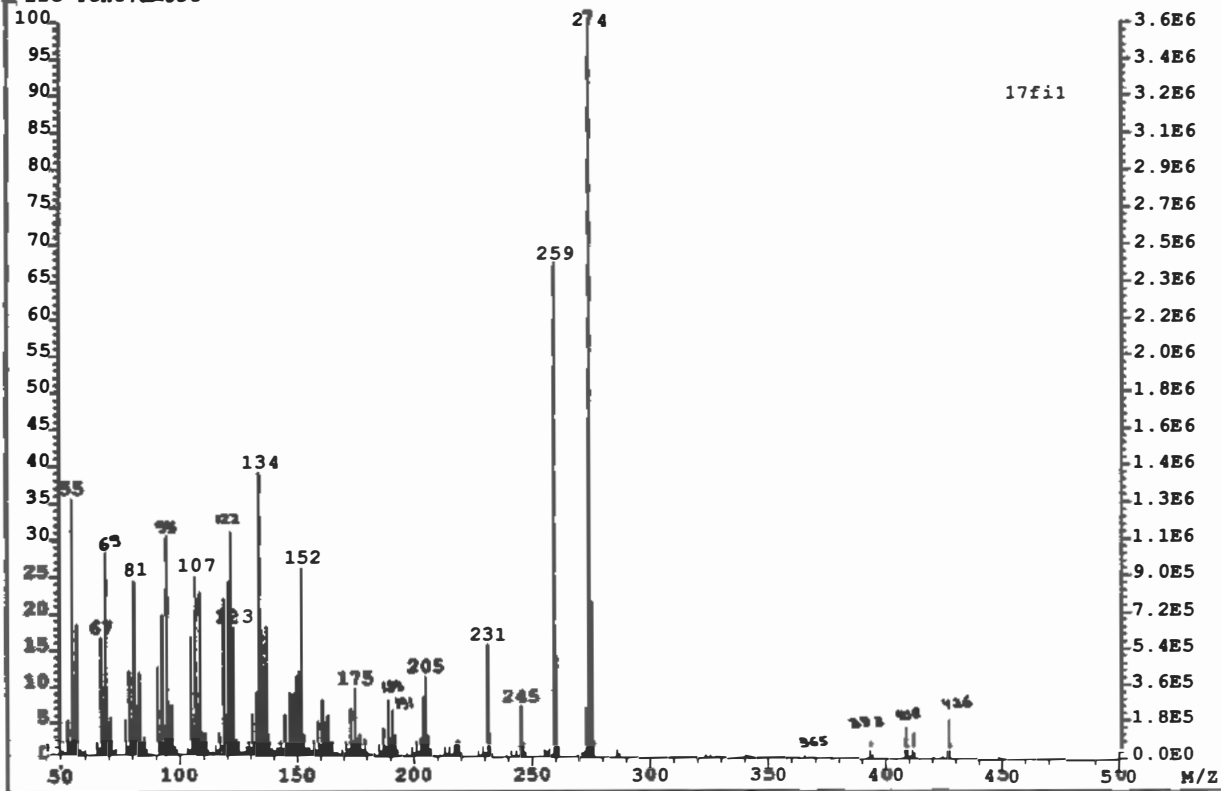


Espectro de COSY C-H (Espectro 17, pág. 55) fornece a correlação entre os deslocamentos químicos referentes aos átomos de hidrogênio metílicos e os deslocamentos químicos dos átomos de carbono correspondentes (Tabela. 10, pág. 50).

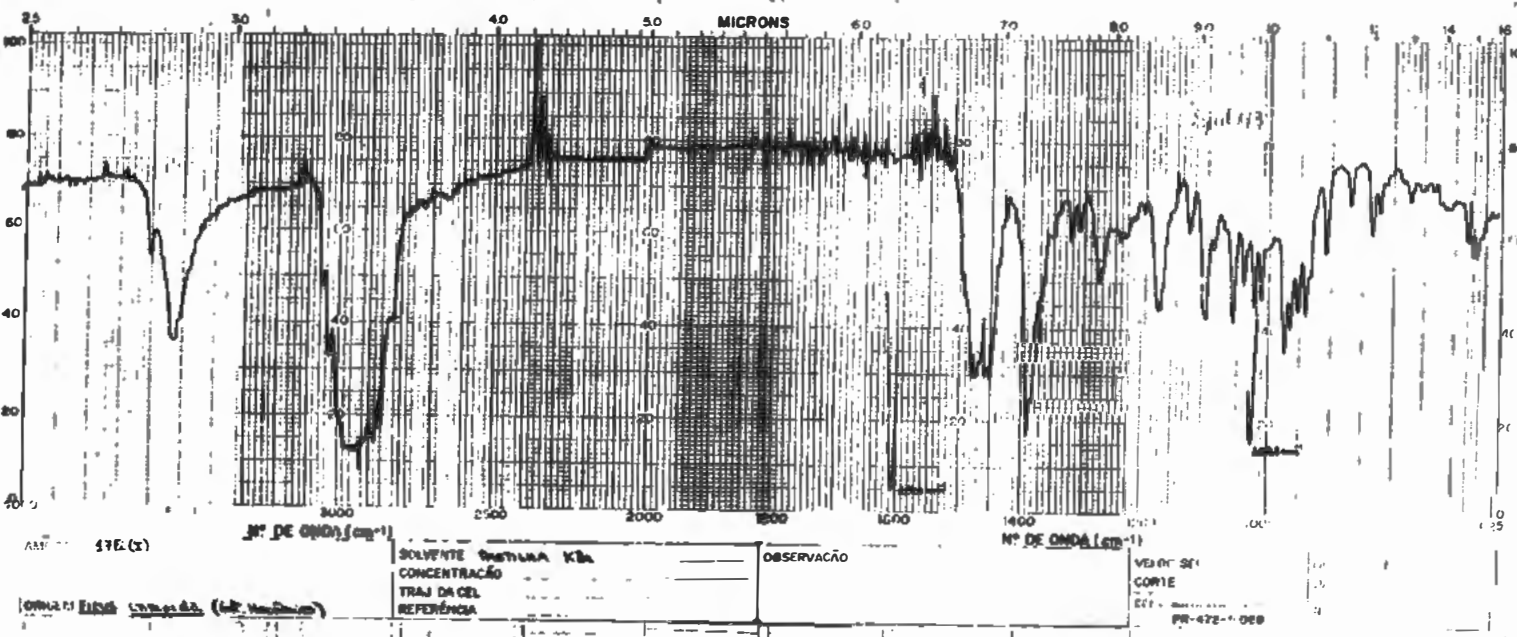
C-METILICOS	RMN- ¹³ C	RMN- ¹ H	C-METILICO	RMN- ¹³ C	RMN- ¹ H
C-23	28,95	1,05	C-27	14,87	0,93
C-24	25,34	1,14	C-28	15,94	0,78
C-25	17,73*	0,89	C-29	22,80	0,83
C-26	15,62	0,78	C-30	21,84*	0,89

*dados sujeitos à confirmação.

Tabela 10. Dados de COSY C-H do simiarenol 17Fi(I).



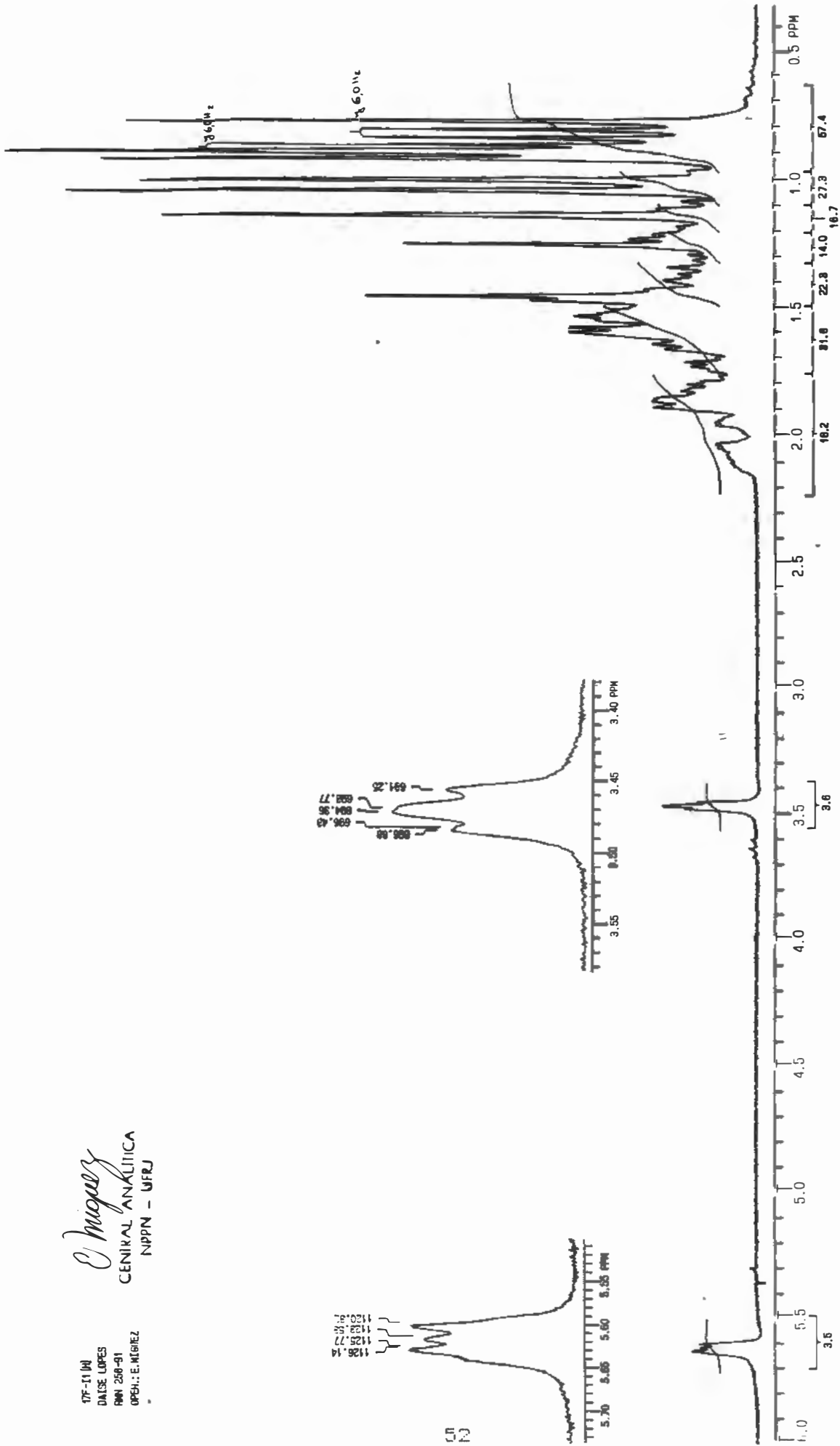
Espectro 12. Espectro de massas do simiarenol



Espectro 13. Espectro na região do infravermelho do simiarenol.

17F-1114
DAISE LOPES
RMN 200-91
OPERA.: E. MIEGUEZ

E. Mieguez
CENTRAL ANALITICA
NIPPIN - UFRJ



Espectro 14. Espectro de RMN- ^1H do simiarenol.

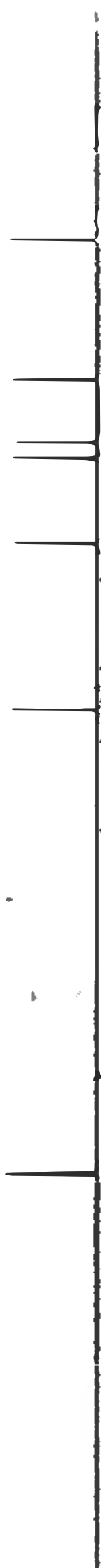
CH3 CARBONS



CH2 CARBONS



CH CARBONS



ALL PROTONATED CARBONS



PPM	INTEGRATION	CPD	SHIFT	DEPT	OPERATOR	DATE	INSTRUMENT	PROB	DEPT
158.000	1.000	1.000	64	---	---	---	---	---	DEPT
148.215	1.000	1.000	1.000	---	---	---	---	---	DEPT
1.001	1.000	0.28	7648.8	402.2	---	---	---	---	DEPT
27.5	411	28.5	---	---	---	---	---	---	DEPT

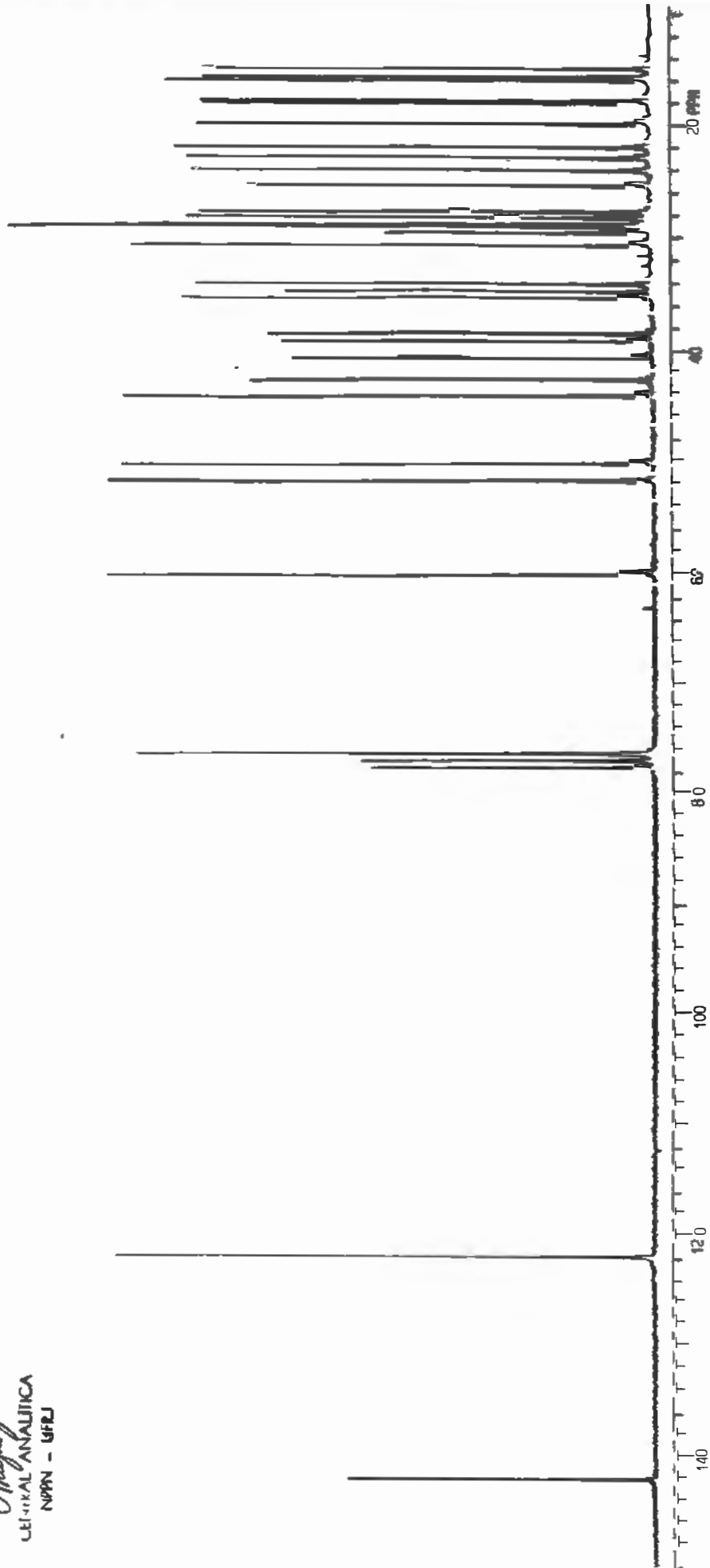
Shiquiz
 CENTRAL ANALITICA
 NPPN - UFRJ

Espectro 15. Espectro de RMN-¹³C DEPT do simiarenol.

17-11 (B-10 DES.)
DAISE LOPES
RMN 200-91
OPES - E. REGIEX

Química
LEIÃO ANALÍTICA
NPPN - UFPEL

EXPANSÃO NO VERSO

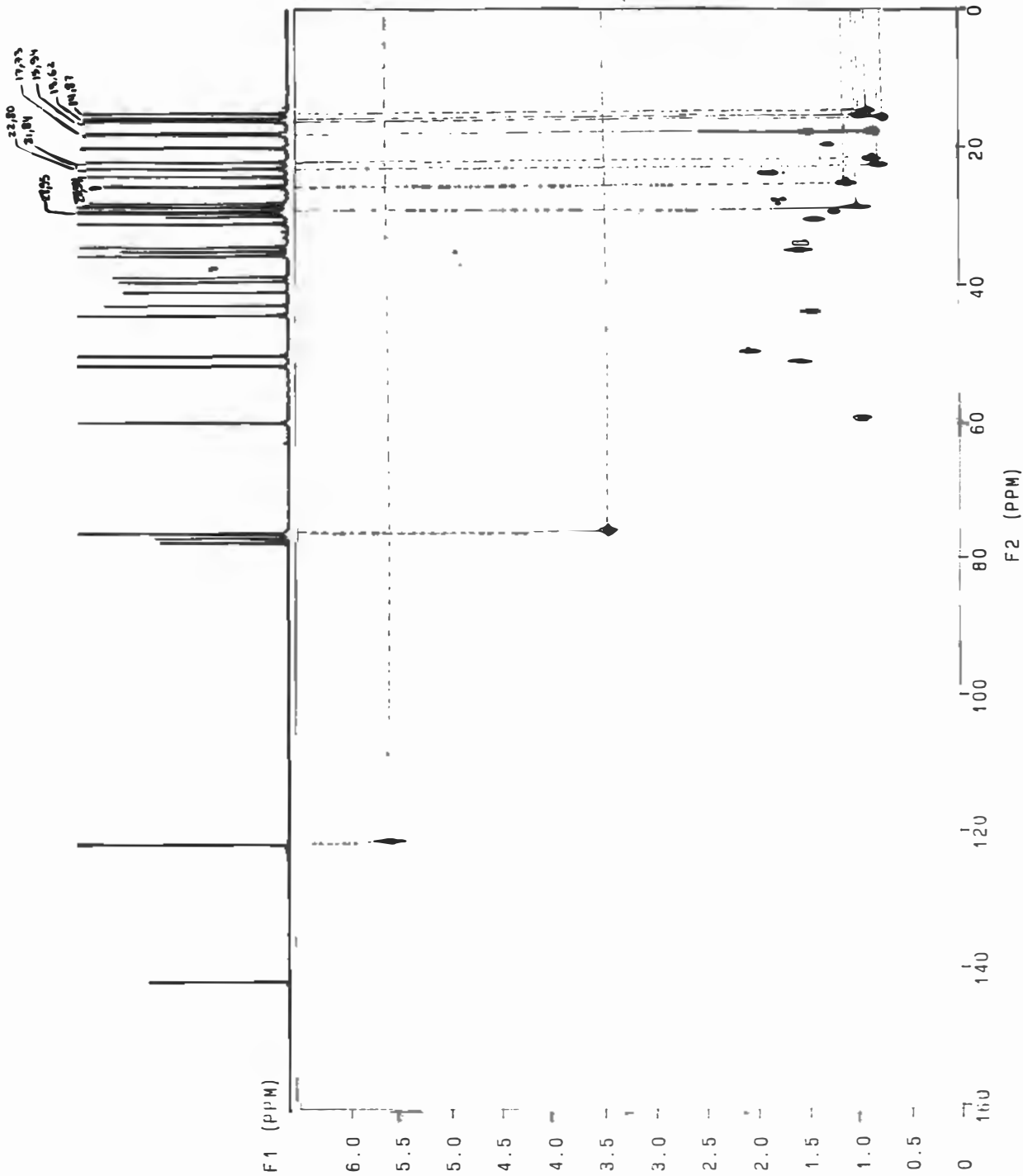


Espectro 16. Espectro de RMN-¹³C desacoplado do simiarenol.

17-17-1
 COSY C-H
 DAISE LUPES
 RM 08-42
 OPER.: E. LOPEZ
 CP4 PULSE SEQUENCE HETCOR
 DATE 08-17-82
 SOLVENT CDCl₃
 FILE HETCOR

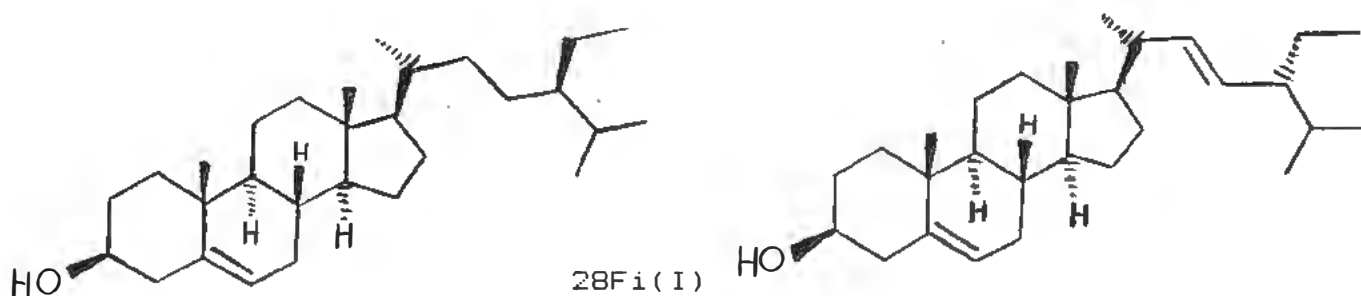
HETCOR PULSE SEQUENCE
 OBSERVE CHANNEL
 FREQUENCY 80.260 MHZ
 10 SPECTRAL WIDTH F2 14862.5 HZ
 20 SPECTRAL WIDTH F1 1289.7 HZ
 AQR, TDE 00.3 USEC
 RELAXATION DELAY 0.5 SEC.
 PULSE WIDTH 90 DEGREES
 AMBIENT TEMPERATURE
 NO. REPEATITIONS 640
 NO. INCREMENTS 128
 DECOUPLE PROTON
 LOW POWER 20 DB
 MULTIF-10 MODULATED
 DATA PROCESSING
 LINE BRIMMING 3.0 HZ
 FT SIZE 2K X 2K
 TOTAL TIME 14 HOURS
 9.4 HOURS

ELIQUIES
 CENTRAL ANALITICA
 NPPN - USP

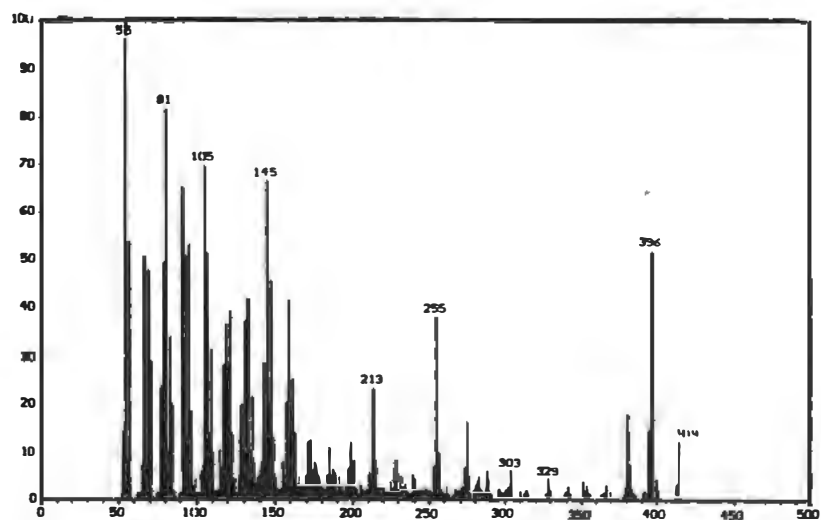


Espectro 17. Correlação heteronuclear (COSY C-H) para o simiarenol.

Sitosterol e estigmasterol [28Fi(I)] - As frações 27-29, eluídas em hexano/acetato de etila 15%, foram recromatografadas em coluna de gel de sílica. Obteve-se um material cristalino que deu reação positiva com vanilina sulfúrica, parecendo estar puro em cromatografia em camada delgada. A análise dos dados espectrais sugeriu:



O espectro de massas apresentou sinais relativos aos íons moleculares com m/z 414 e com m/z 412, indicando tratar-se de uma mistura de esteróis do tipo estigmastano, comumente identificados em diversas espécies do gênero *Ficus*. A comparação com espectros de substâncias padrão caracterizou a amostra como mistura de sitosterol e estigmasterol, com a presença majoritária do primeiro esterol (Espectro 18, pág. 56).⁸⁹

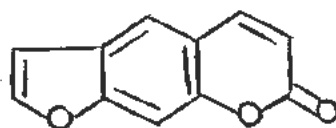


Espectro 18. Espectro de massas da mistura sitosterol e estigmasterol isoladas de *F. insipida*.

Psoraleno [36Fi(I)] - Das frações 36-38, eluídas em coluna cromatográfica com hexano/acetato de etila a 50%, foi isolado um material cristalino. Na análise cromatográfica em camada delgada se mostrou muito fluorescente quando revelado com radiação ultravioleta a 254 nm. Esse material apresentava como impureza uma grande quantidade de clorofila.

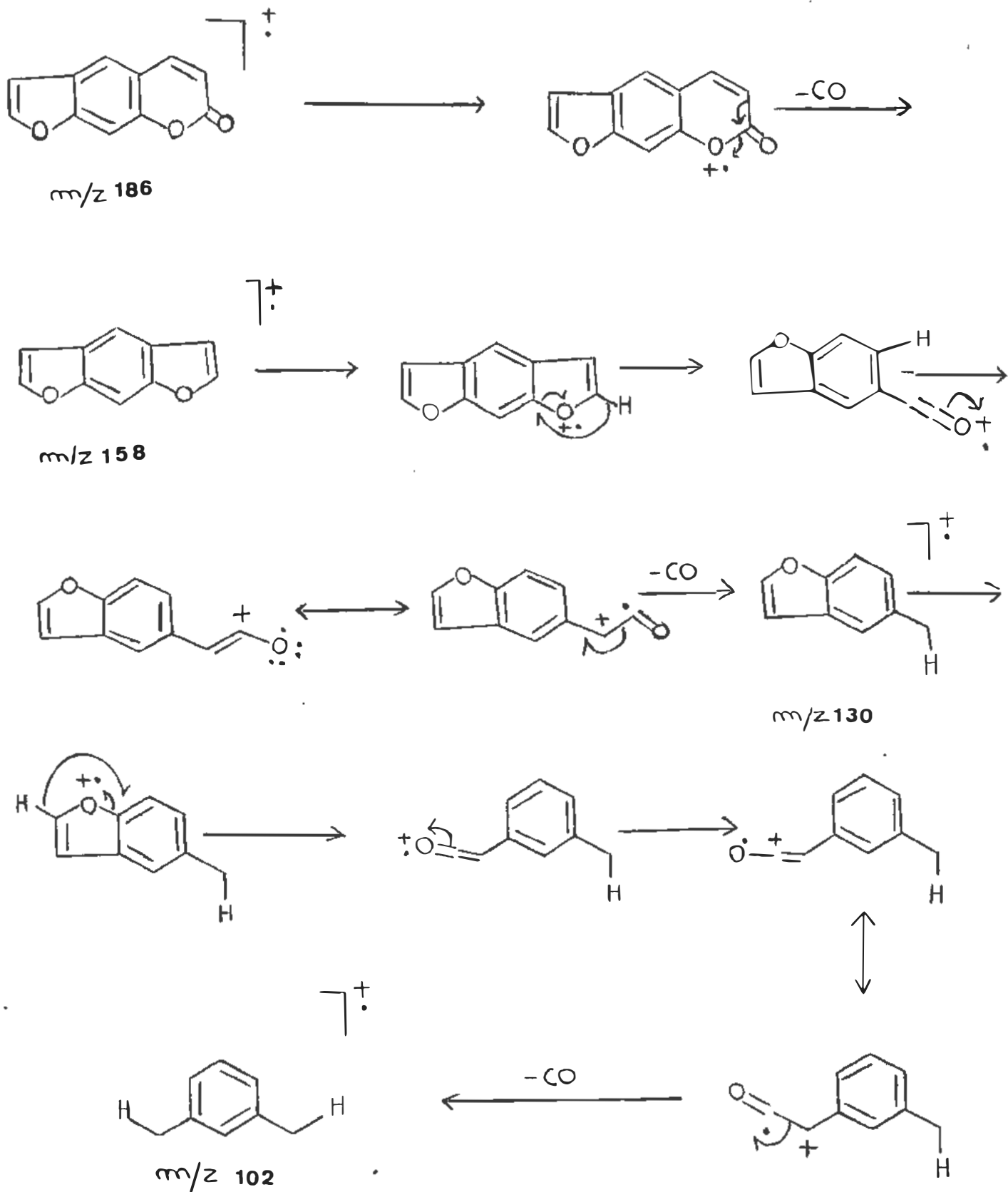
A intensificação da fluorescência quando tratado com solução de KOH a 5% em metanol e o odor característico de cumarina, direcionou a purificação do material por sublimação a pressão reduzida. Paralelamente, esse material foi tratado com carvão ativado como uma alternativa de purificação. O material recolhido do carvão ativado por extração com hexano/acetato de etila 5% foi então separado por cromatografia preparativa em camada delgada de gel de sílica (hexano/acetato de etila 50%).

O estudo dos dados espectrais sugeriu a seguinte estrutura:

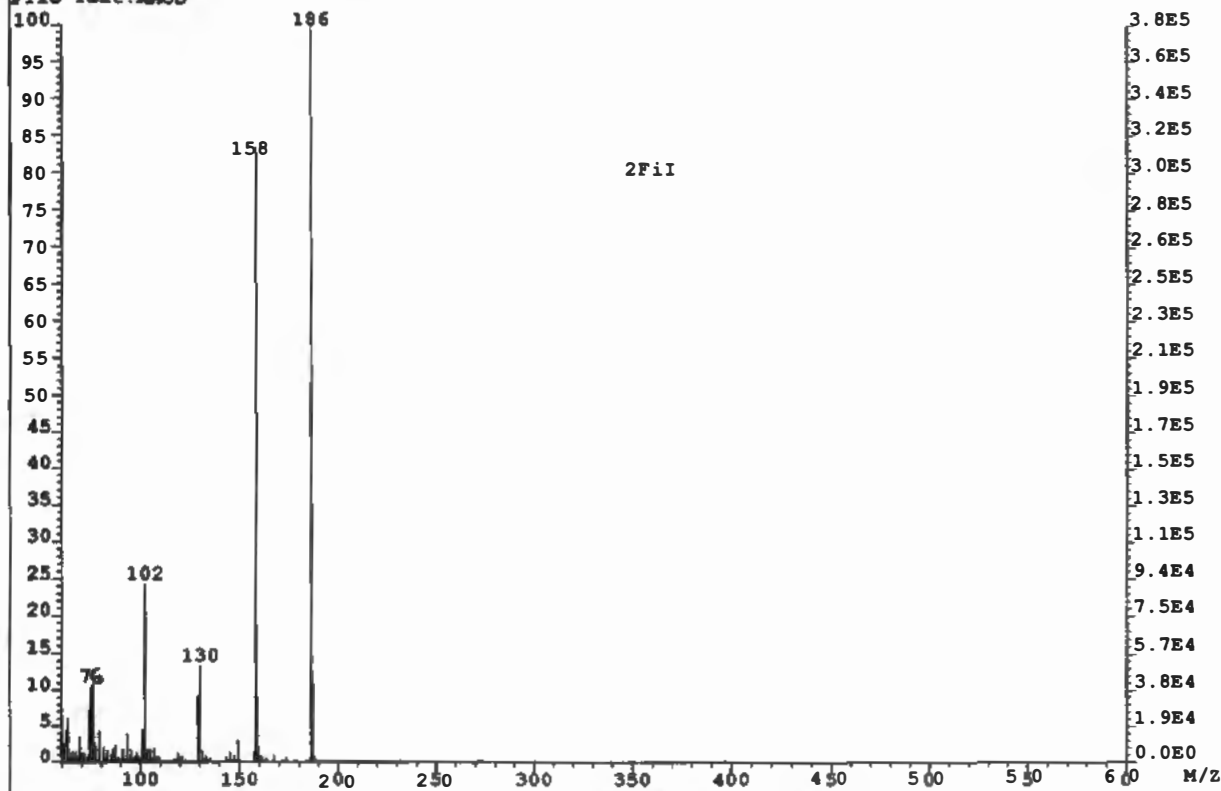


36Fi(I)

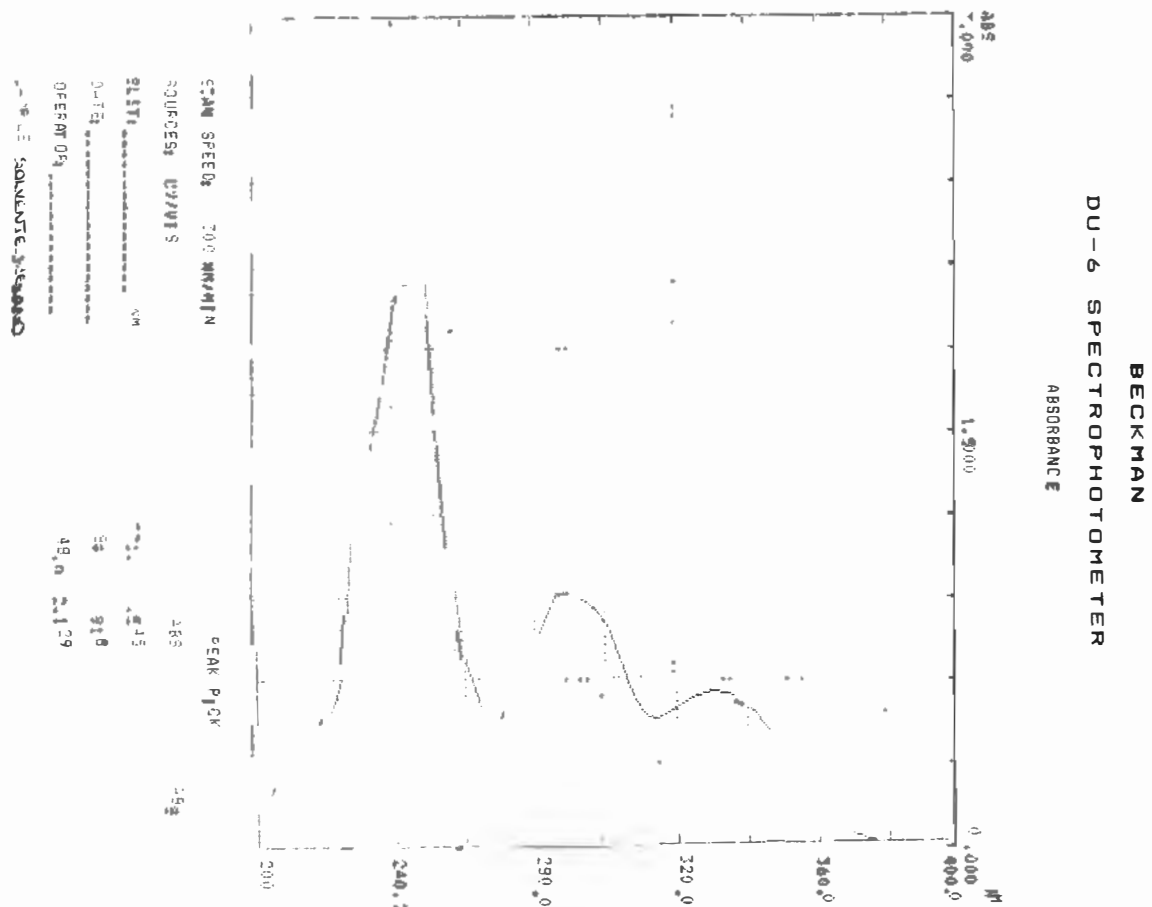
O sinal de relação massa/carga 186 no espectro de massas corresponde ao íon molecular que é plenamente concordante com a fórmula molecular $C_{11}H_6O_3$. A comparação do espectro de massas e do espectro na região do ultravioleta (Espectros 19-20, pág. 59) com dados semelhantes para outras cumarinas isoladas do gênero *Ficus*^{39,99} indicou tratar-se do psoraleno (Esquema 03, pág. 58).



Esquema 03. Fragmentação provável do psoraleno.



Espectro 19. Espectro de massas do psoraleno.



Espectro 20. Espectro na região do ultravioleta do psoraleno.

Fitoquímica de *P. guyanensis*

Para o estudo fitoquímico da fração volátil dessa espécie, foram obtidos óleos essenciais de flores masculinas, de folhas e da casca dos ramos que forneceram misturas de mono- e sesquiterpenóides, fenilpropanóides e hidrocarbonetos alifáticos.

A análise de polifenóis foi realizada nos extratos hidroalcoólicos de folhas, da casca dos ramos, dos ramos e de sementes de onde se detectou a presença predominante de proantocianidinas (taninos condensados).

A pesquisa fitoquímica do extrato hexânico de folhas forneceu um triterpenóide pentacíclico (friedelano) e dois esteróis (sitosterol e estigmasterol).

A ocorrência de cumarinas em taxa afins a *Pourouma* orientou a análise dos extratos de folhas em hexano, em diclorometano, em acetato de etila e em metanol por cromatografia em camada delgada de gel de sílica. Verificou-se, porém, pequena diversidade de substâncias fluorescentes nesses extratos.

Óleo Essencial de *P. guyanensis*

A análise de misturas voláteis são feitas atualmente com bastante rapidez e eficiência, utilizando cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM). Na elucidação dos constituintes dessas misturas, a consulta a uma biblioteca de espectros de massas em computador é um método largamente utilizado e consiste em comparar os espectros de substâncias padrão com a substância desconhecida.¹⁰⁰

A identificação inequívoca dessas substâncias, porém, precisa ser complementada por outros critérios de identificação tais como: espectroscopia na região do infravermelho, RMN-¹H e de ¹³-C. Uma das opções mais promissoras consistena comparação dos índices de Kovats como parâmetro de seleção. Isso é de grande relevância na análise de mono- e de sesquiterpenóides que frequentemente mostram espectros de massas semelhantes, diferindo muitas vezes somente em alguns aspectos quantitativos.¹⁰¹

O estudo do óleo essencial de *P. guyanensis* foi motivado pelo forte odor desprendido de várias partes da planta. A pesquisa desses constituintes limitou-se à análise por cromatografia com fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). Os espectros obtidos foram comparados aos contidos em banco de dados e em catálogos especializados.^{89,102,105}

As análises cromatográficas das frações voláteis provenientes de flores masculinas, de folhas e da casca do tronco indicaram tratar-se de misturas bastante complexas que continham mono- e sesquiterpenóides, derivados fenilpropanoídicos e hidrocarbonetos alifáticos. As substâncias identificadas não tiveram sua estereoquímica determinada devido às limitações da técnica utilizada (Cromatogramas 04-06, págs. 74, 65,73,76).

Fração monoterpenoídica - Monoterpenos detectados na mistura obtida de folhas constam de: linalol (Espectro 23, pág. 66) e seus derivados mais oxigenados de peso molecular 170, óxido de linalol e 5-hidroxi-2,6,6-trimetil-2-viniltetraidropirano (Espectros 21-25, págs. 65-67). Essas substâncias apareceram em suas formas isoméricas *cis-trans* (Figura 10, pág. 62).

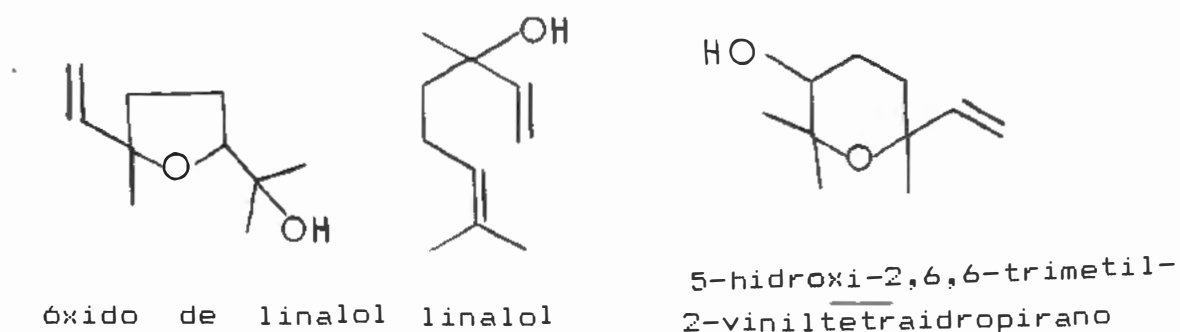


Figura 10. Derivados monoterpênoidicos identificados no óleo essencial de folhas de *P. guyanensis*.

Fração sesquiterpenoídica - Duas séries isoméricas de peso molecular 204 e 222 foram identificadas. O óleo essencial extraído de folhas mostrou maior riqueza em sesquiterpenóides, apresentando as duas séries isoméricas. A série de peso molecular 204 é constituída dos hidrocarbonetos sesquiterpenoídicos não saturados: aromadendreno, β -elemeno, α -cedreno, β -bergamopteno e cariofileno (Figura 11 , pág. 62).

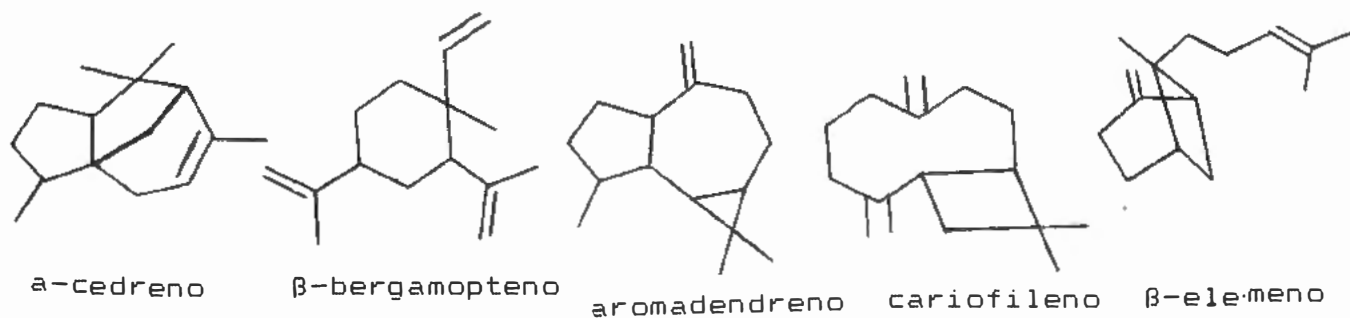


Figura 11. Derivados sesquiterpenoídicos identificados no óleo essencial de *P. guyanensis*

Sesquiterpenóides dos tipos amorfano, cadinano, bulgarano ou muuroiano; eremofileno ou valenceno; eudesmano ou selinano foram detectados em folhas, porém, as diferenças nos fragmentos eram tão sutis que não permitiram a identificação inequívoca dessas substâncias (Figura 12, pág. 63).^{103,104}

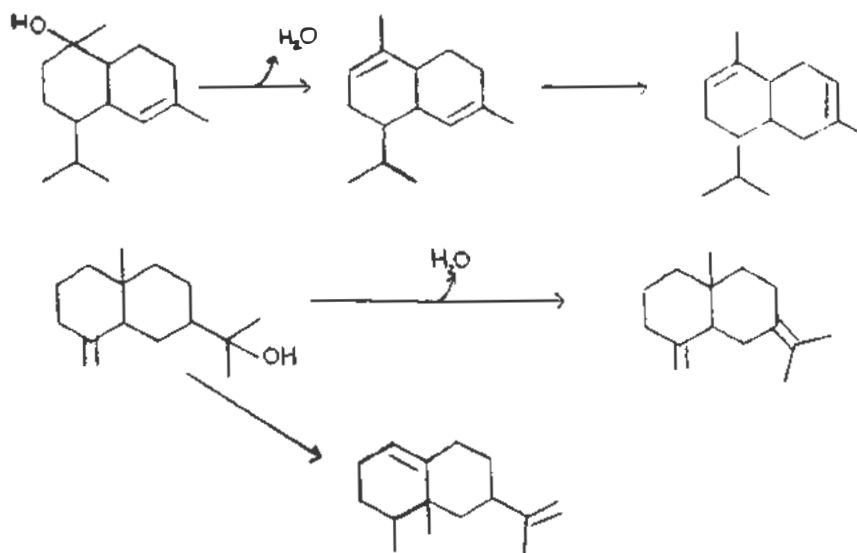


Figura 12. Tipos sesquiterpenoídicos detectados no óleo essencial de folhas de *P. guyanensis*.

Os sesquiterpenóides caracterizam-se principalmente pela presença de íons pares em elétrons na região do espectro correspondente aos fragmentos de menor massa. Os sinais detectados possuem m/z : 55, 67-69, 79-81, 91-93, 105-107, 119-121, 133, 147, 161, 175, 189 e 204. Esses tipos estruturais puderam ser caracterizados devido às diferenças nas intensidades relativas de cada sinal e a presença ou a ausência desses sinais (Tabela 11, pág. 64).

Dentre as substâncias não identificadas destacou-se uma de peso molecular 218 encontrada em todas as partes vegetais examinadas. Os sinais com m/z 107, 119, 137, 161 e 175 sugerem tratar-se de um sesquiterpenóide e a presença dos sinais com m/z 77 e 91 indicam a possibilidade de um núcleo aromático em sua estrutura. No óleo essencial de flores, essa substância, juntamente com os dois outros sesquiterpenóides não identificados da série isomérica 204, é o constituinte principal da mistura.

Derivados fenilpropanoídicos - O óleo essencial da casca do tronco mostrou como constituintes principais etilbenzeno, tolueno e salicilato de metila (Figura 13, pág. 64). Essa última substância foi

FRAGMENTO (m/z)	COMPOSIÇÃO ELEMENTAR
91	C ₇ H ₇
93	C ₇ H ₉
105	C ₈ H ₉
107	C ₈ H ₁₁
119	C ₉ H ₁₁
121	C ₉ H ₁₃

Tabela 11. Fragmentos detectados nos espectros de massa das substâncias identificadas no óleo essencial de *P. guyanensis*.

o único derivado fenilpropanoídico detectado na fração volátil de folhas e é, provavelmente, a responsável pelo odor peculiar exalado por *P. guyanensis* (Espectros 26 e 39, págs. 68 e 75)

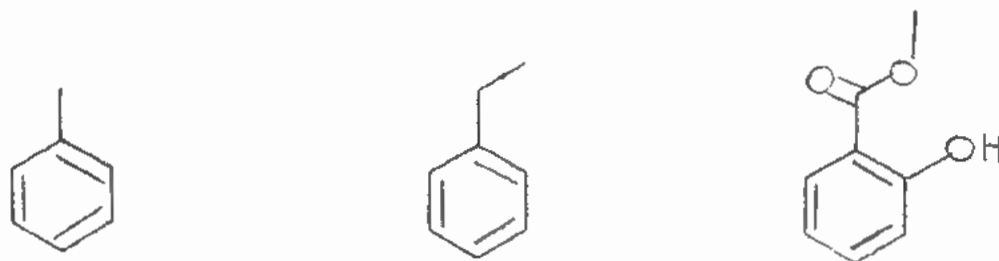
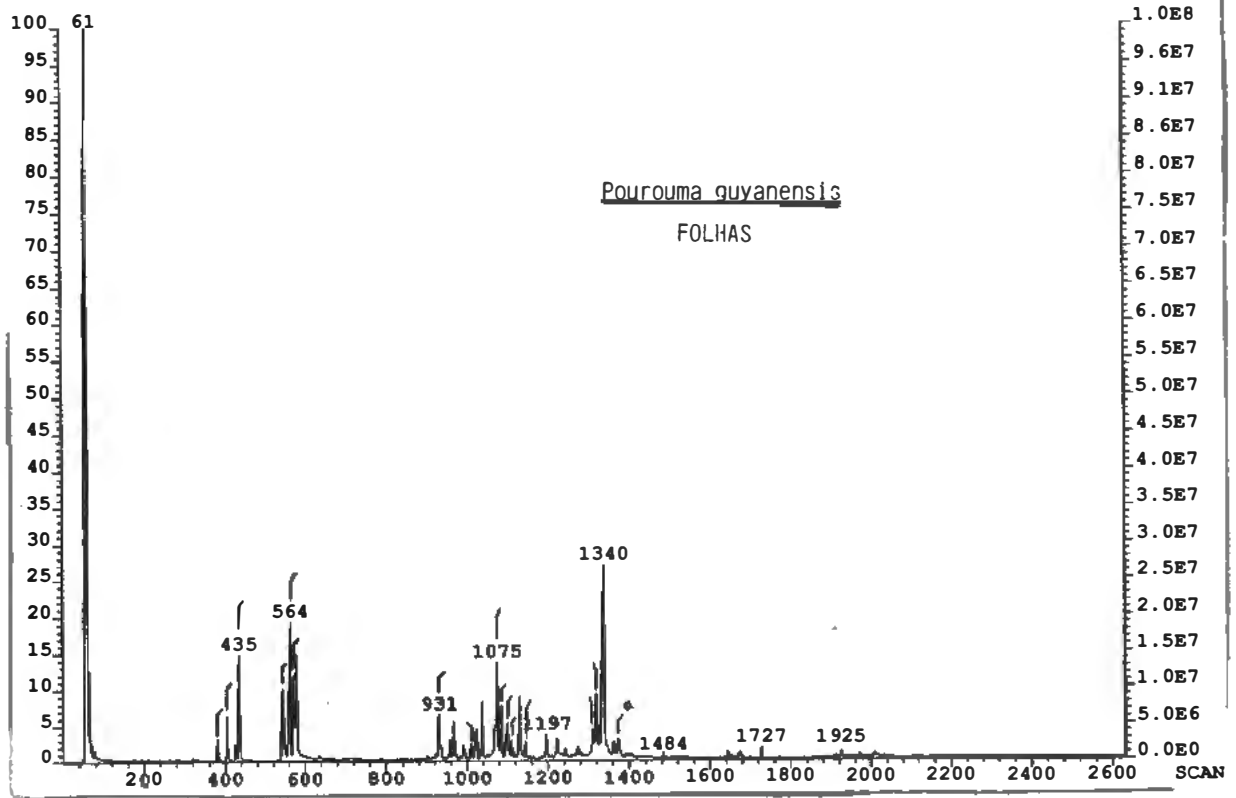
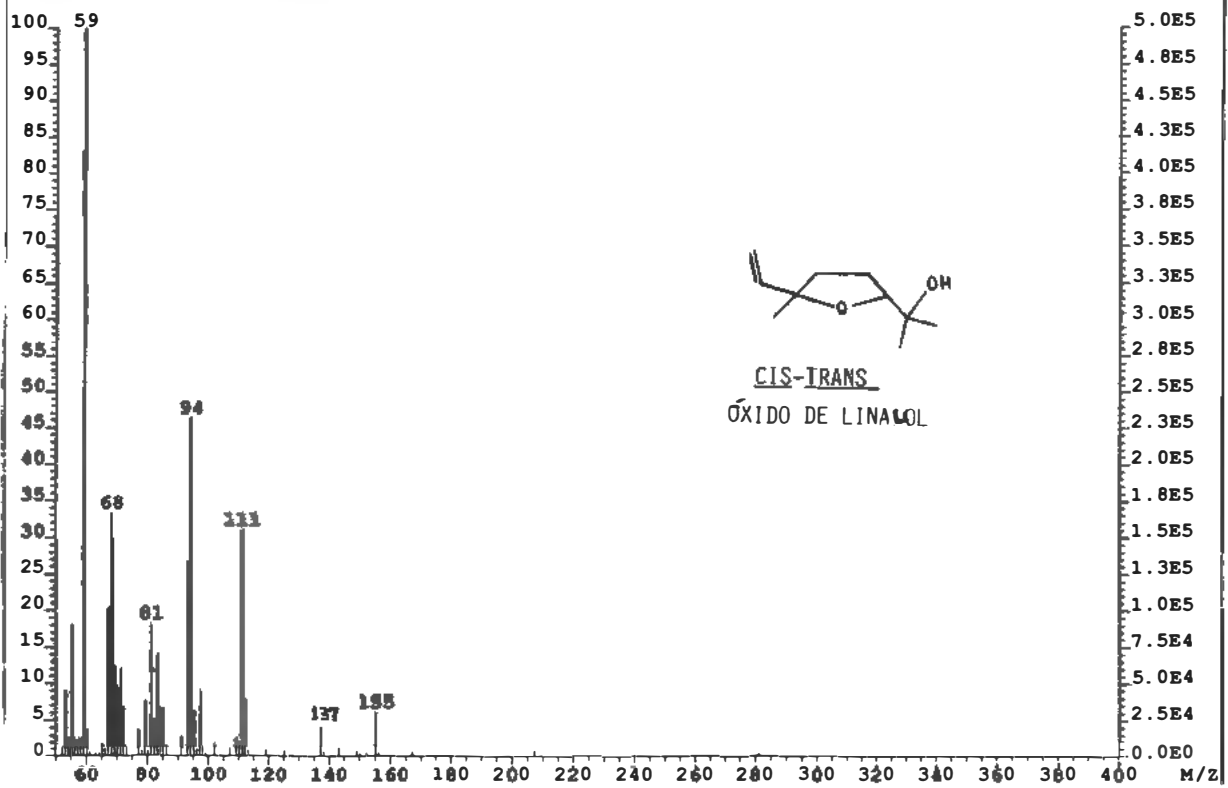


Figura 13. Derivados fenilpropanoídicos identificados no óleo essencial da casca do tronco e de folhas de *P. guyanensis*.

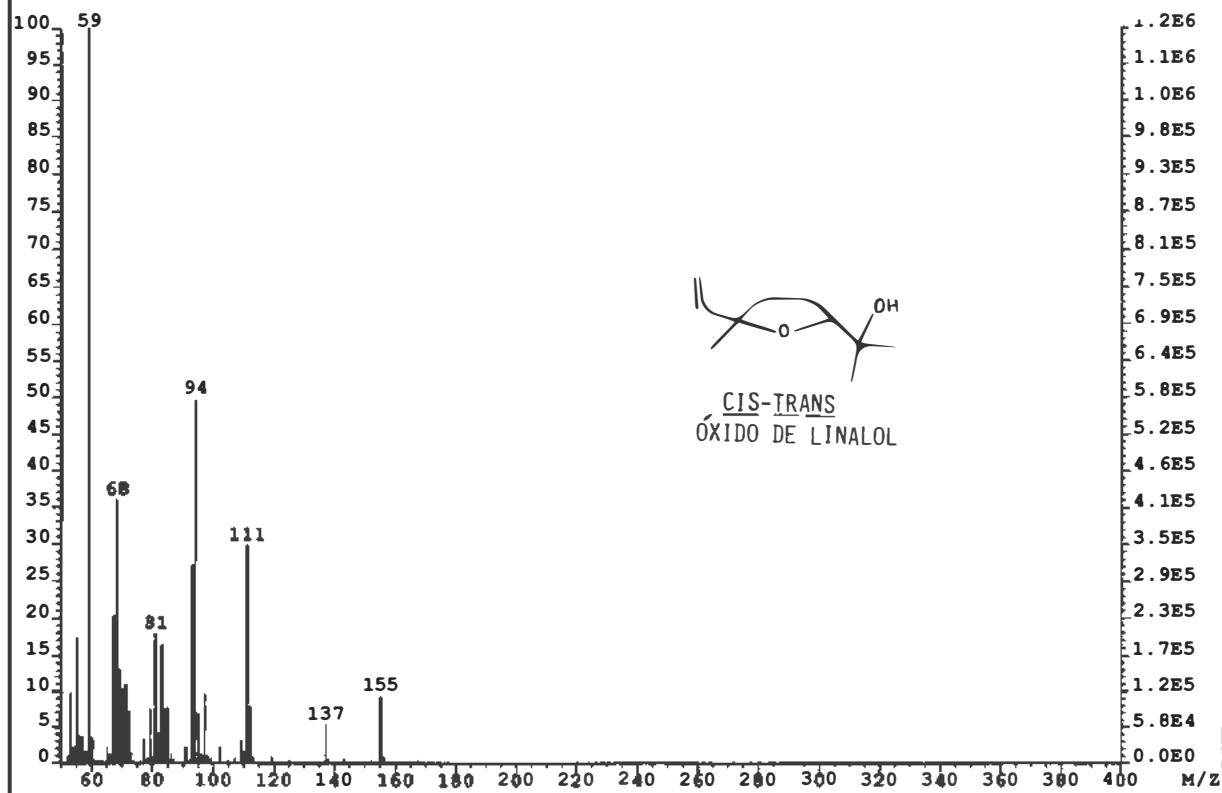
Hidrocarbonetos alifáticos - O óleo essencial de flores mostrou conter uma grande quantidade de hidrocarbonetos alifáticos. Foram identificados pentacosano, hexacosano, heptacosano e nonaconano. Os seus espectros apresentam a série homóloga de fragmentos com m/z 57, 71, 85, C_nH_{2n+1}, separados por 14 u.m.a., como sinais principais do espectro.



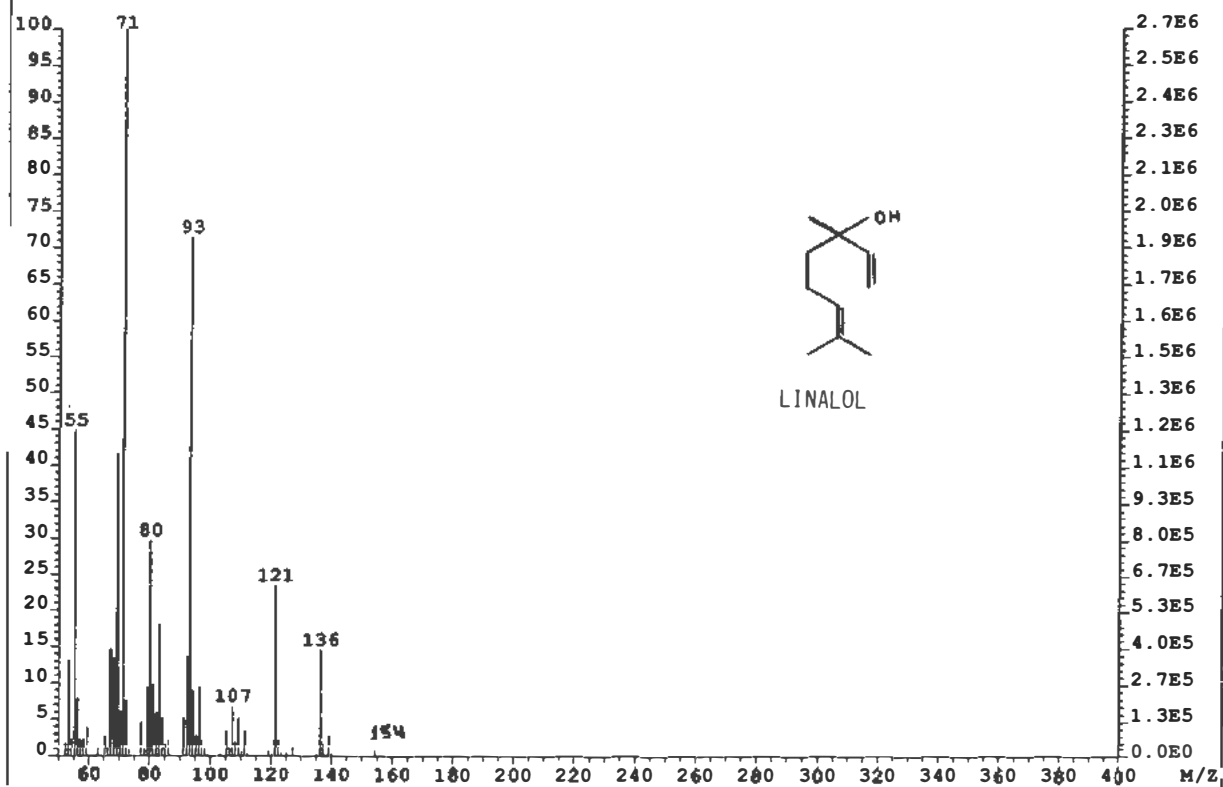
Cromatograma 04. Resultado da separação cromatográfica (CG) do óleo do óleo essencial de folhas de *P. guyanensis*.



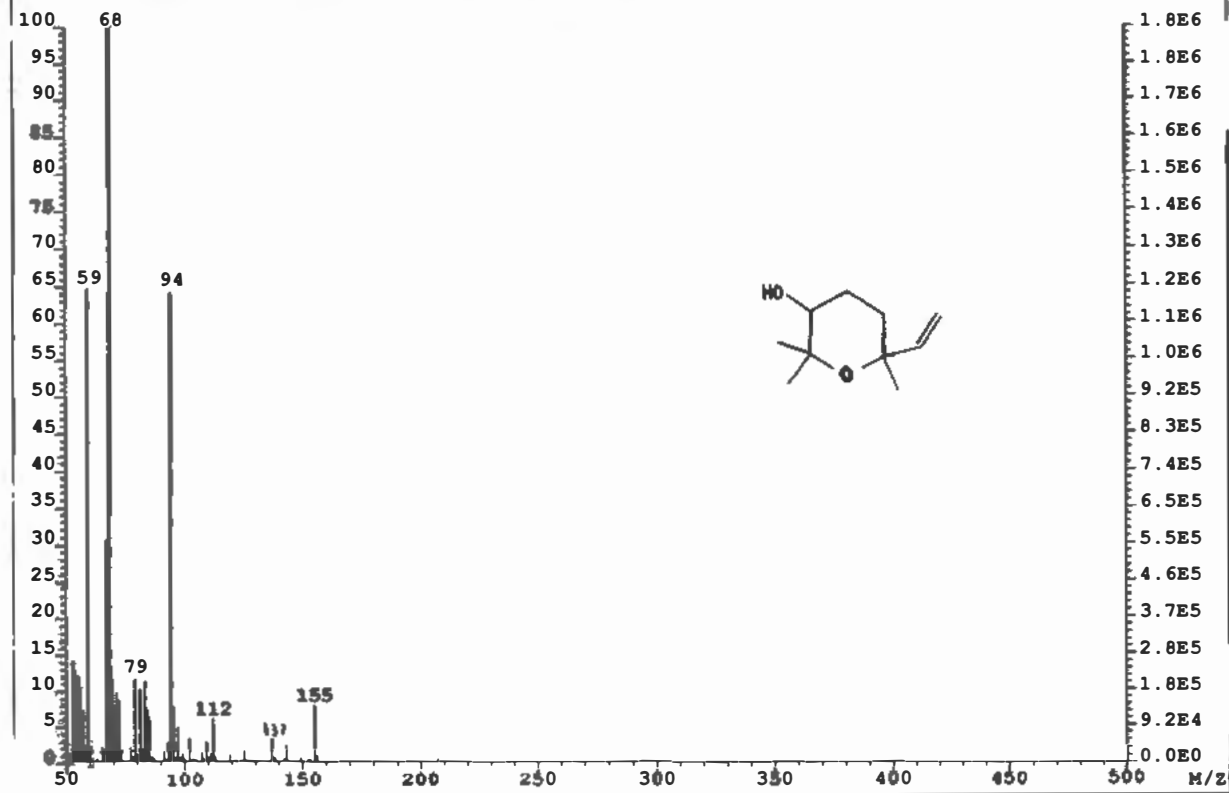
Espectro 21. Espectro de massas do óxido de linalol (I).



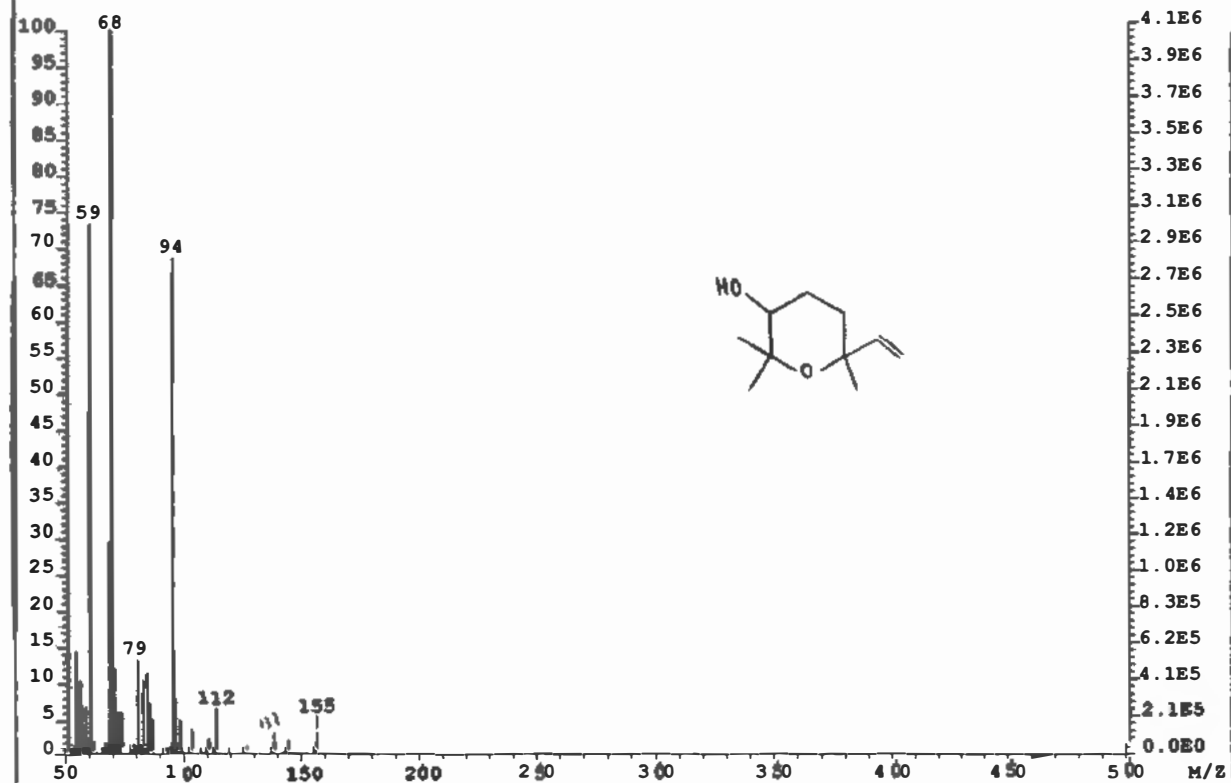
Espectro 22. Espectro de massas do óxido de linalol (II).



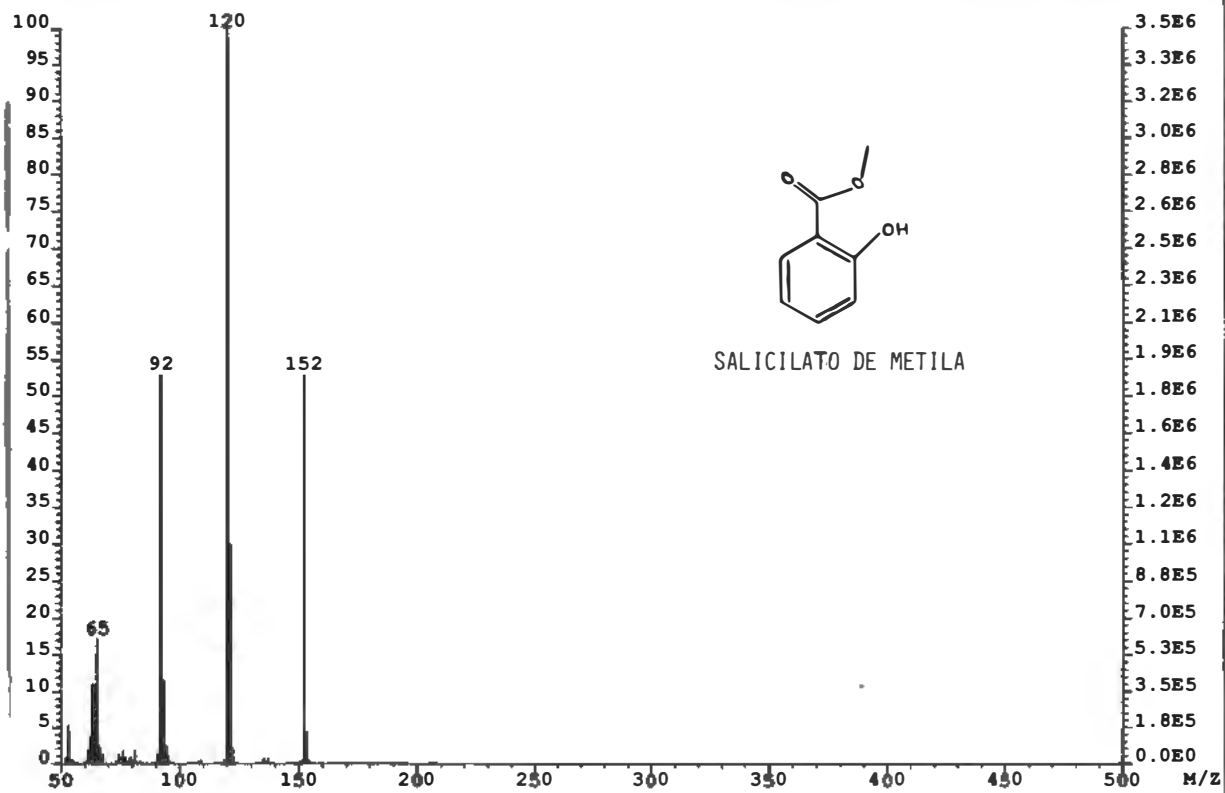
Espectro 23. Espectro de massas do linalol.



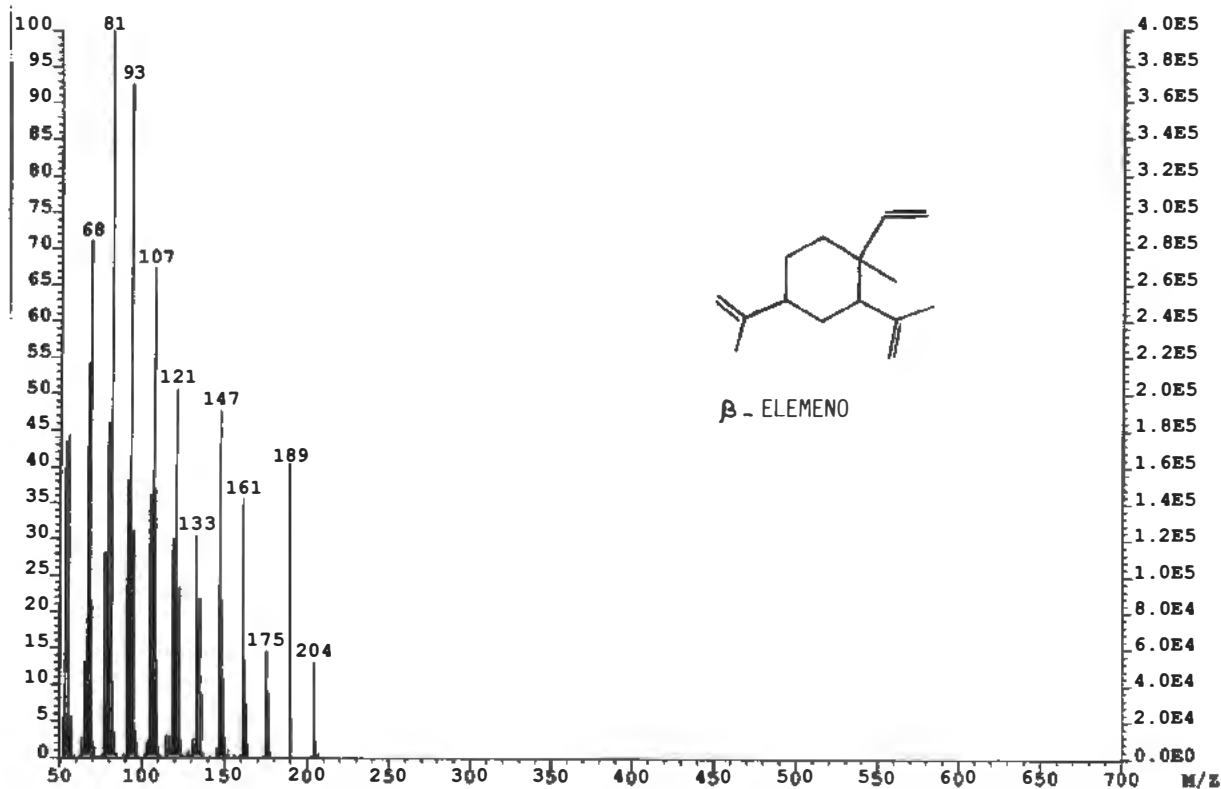
Espectro 24. Espectro de massas do 5-hidroxi-2,6,6-trime-
til-2-viniltetraidropirano (I).



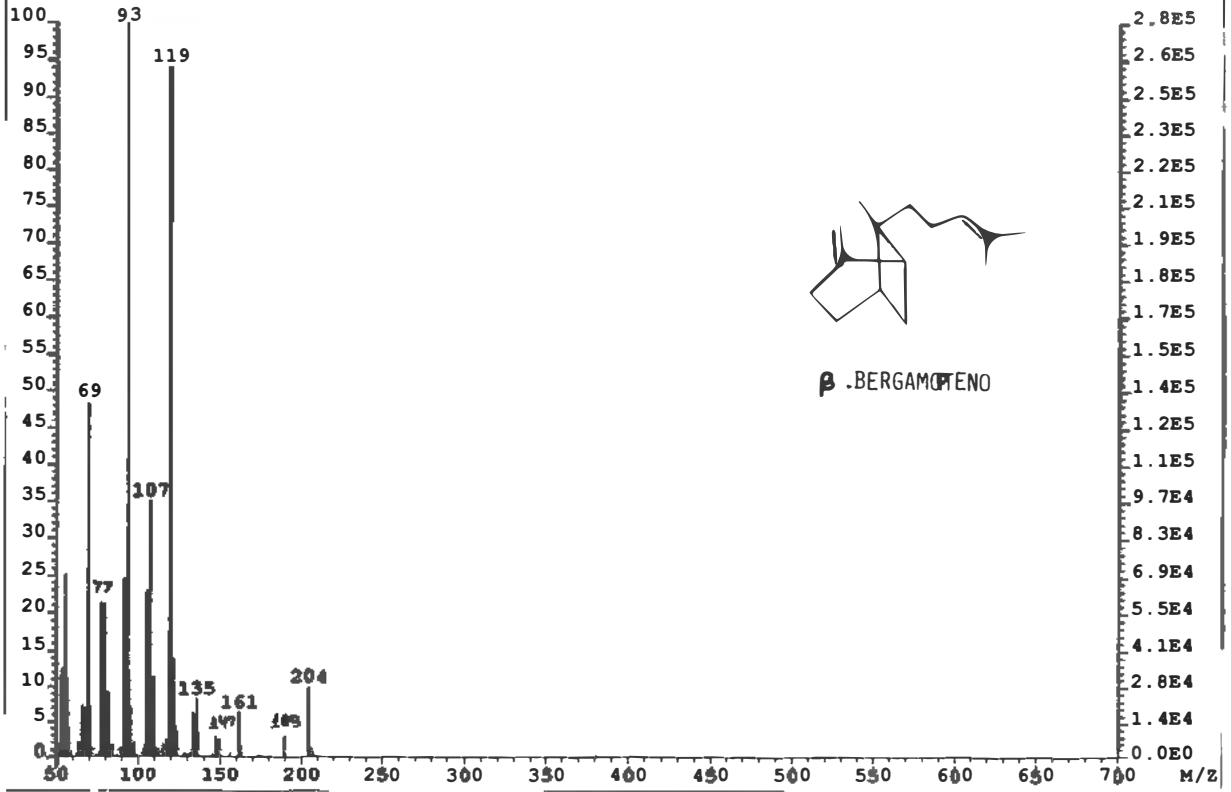
Espectro 25. Espectro de massas do 5-hidroxi-2,6,6-trime-
til-2-viniltetraidropirano (II).



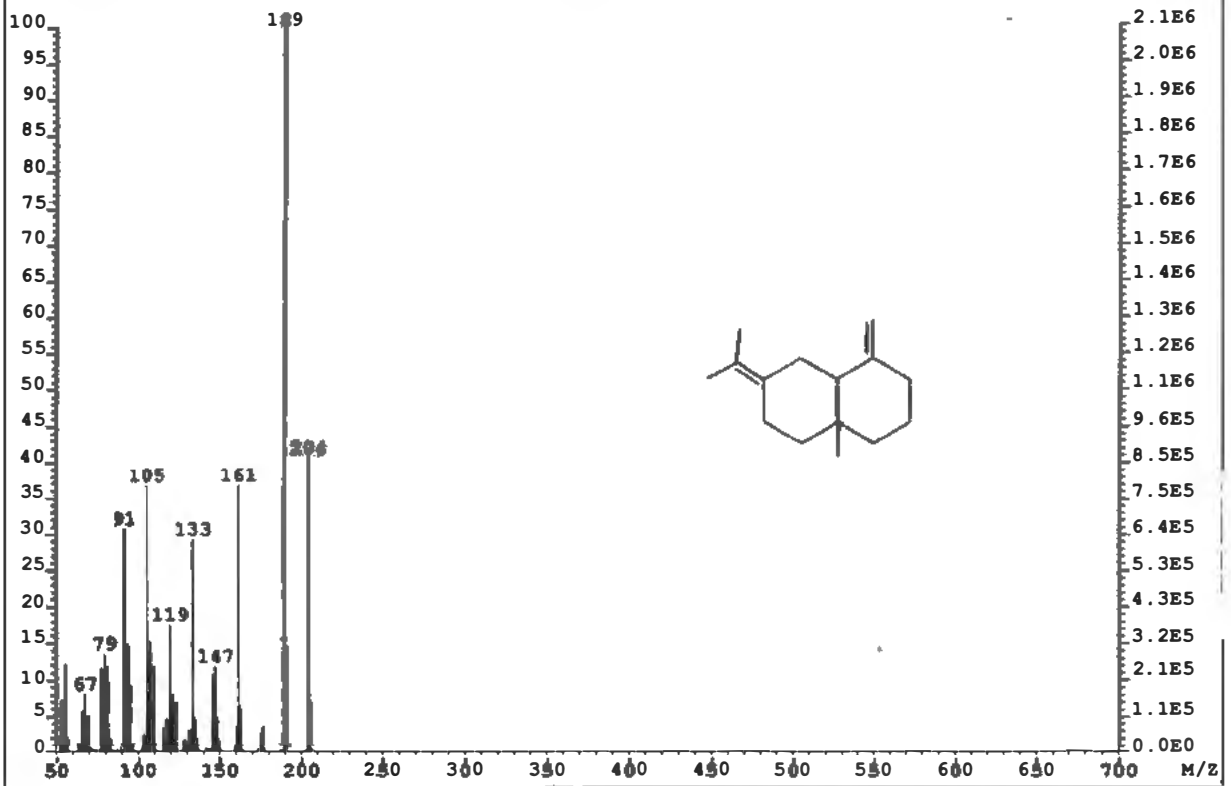
Espectro 26. Espectro de massas do salicilato de metila isolado do óleo essencial de folhas de



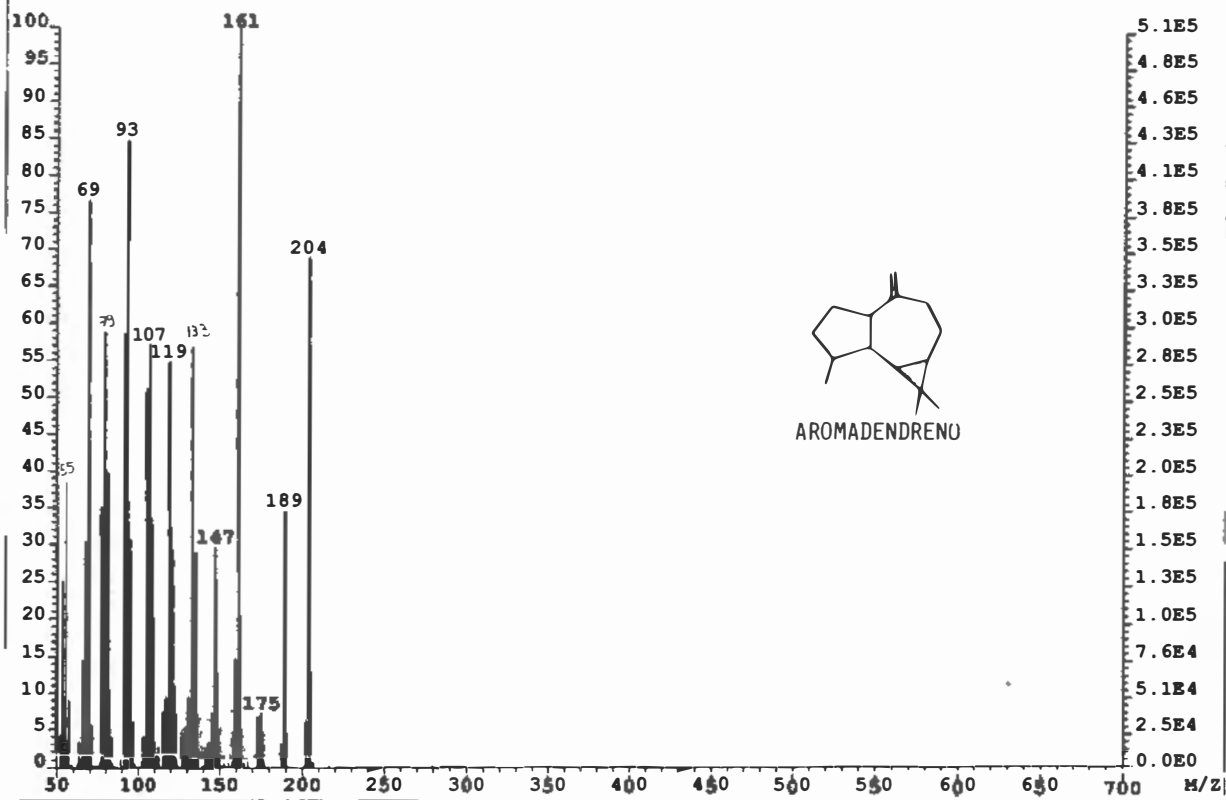
Espectro 27. Espectro de massas do β -elemeno.



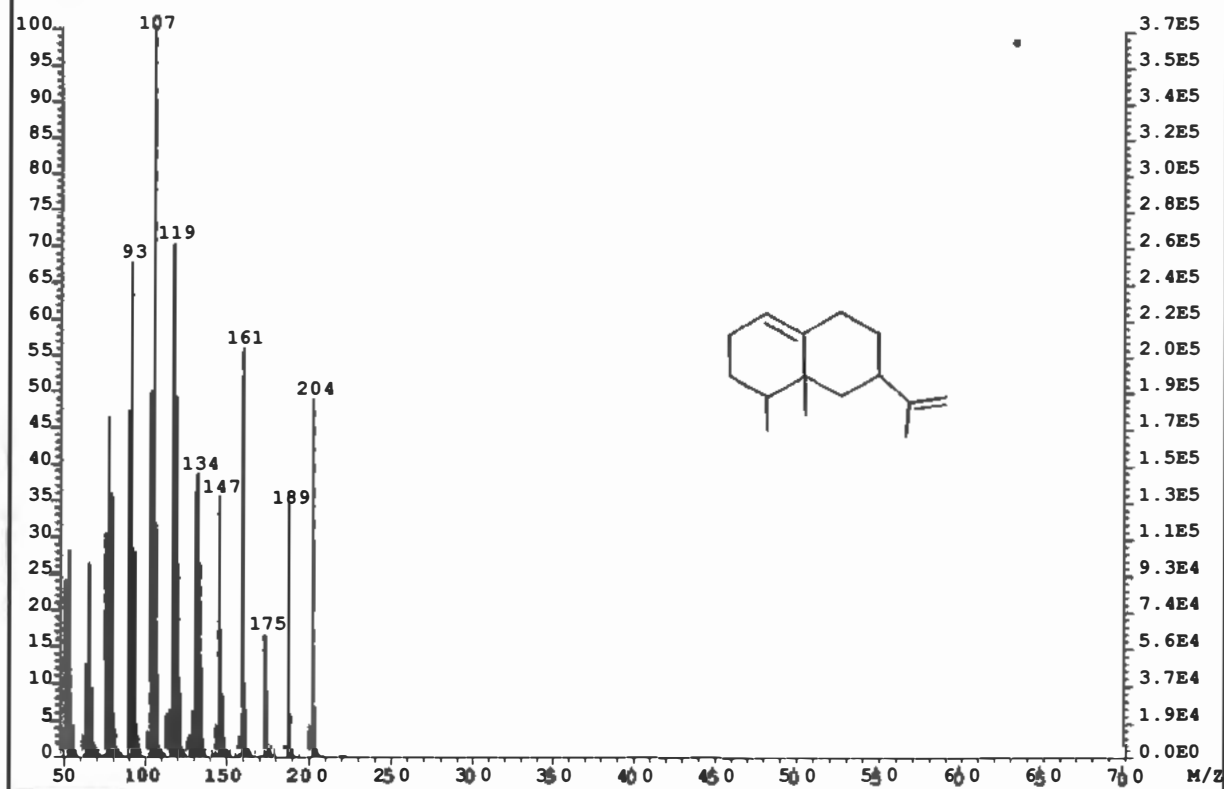
Espectro 28. Espectro de massas do β -bergamoteno.



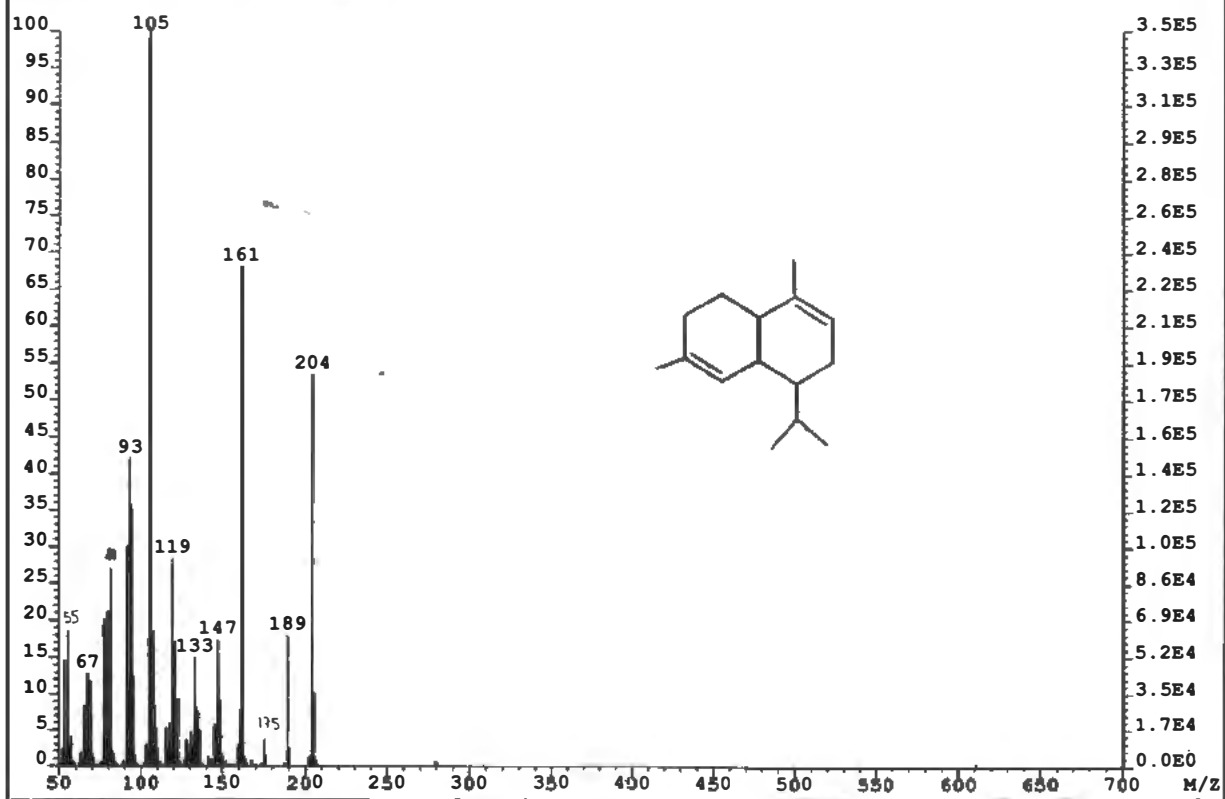
Espectro 29. Espectro de massas do sesquiterpenóide bicíclico I (isômero eudesmano/selinano).



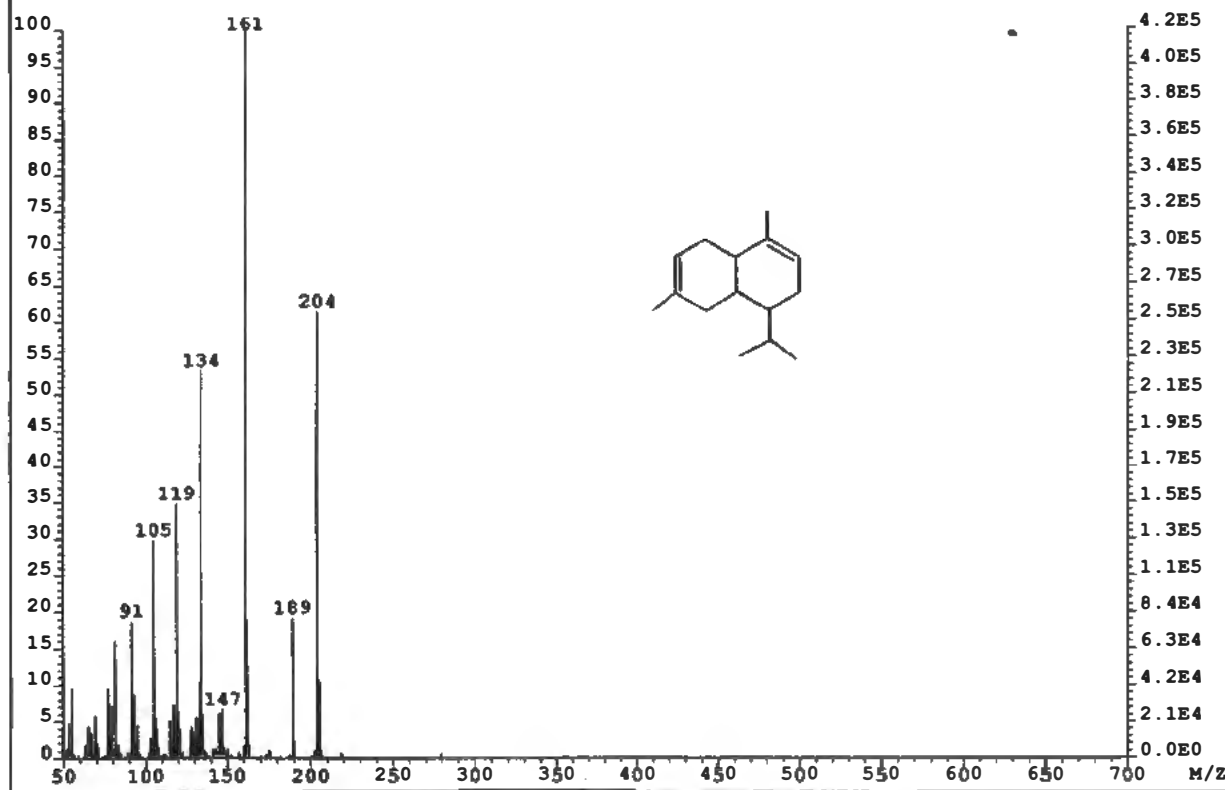
Espectro 30. Espectro de massas do aromadendrenu.



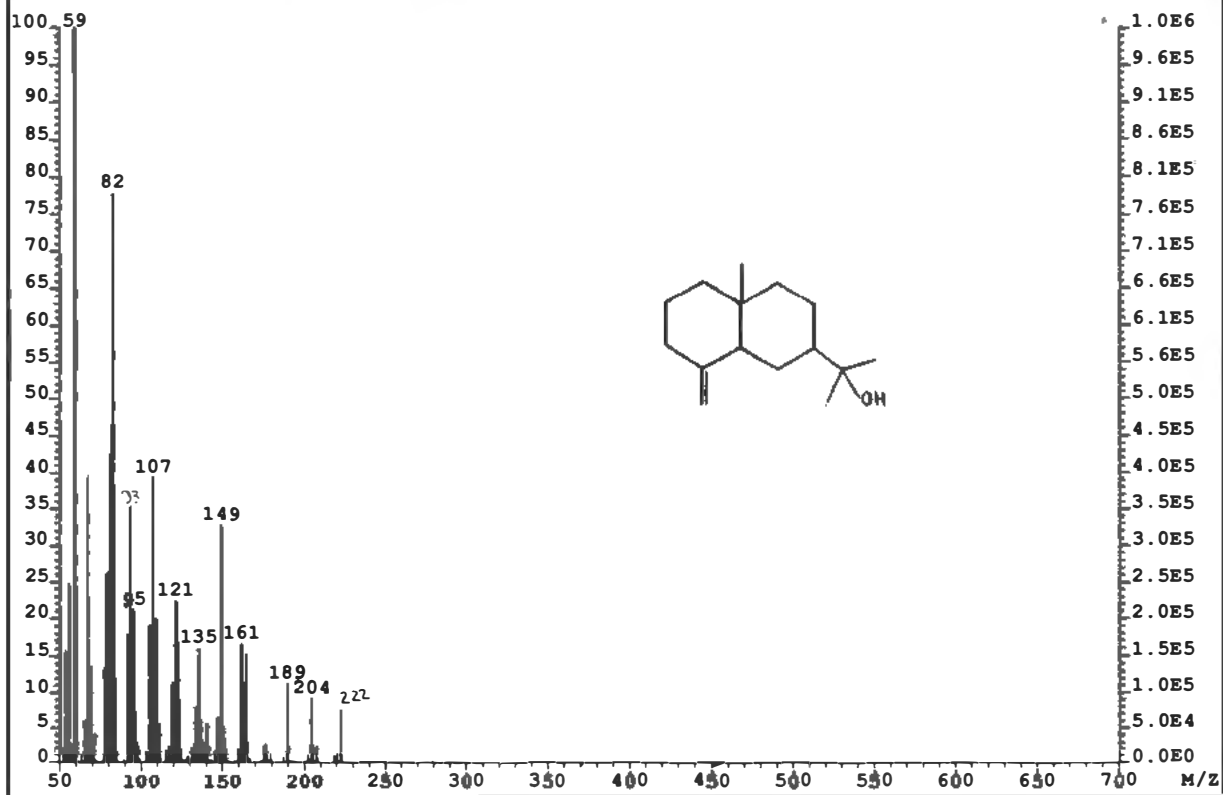
Espectro 31. Espectro de massas do sesquiterpenóide bicíclico II (isômero eremofilano/valencano).



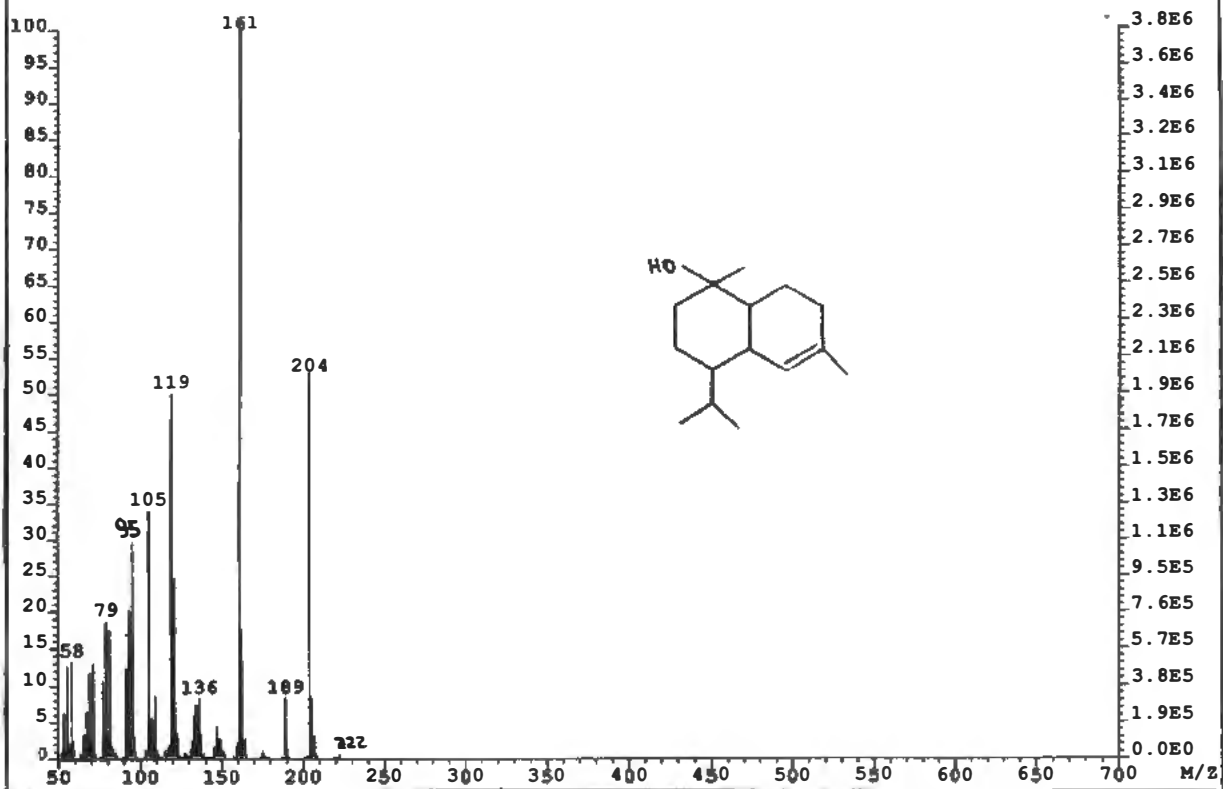
Espectro 32. Espectro de massas do sesquiterpenóide bicíclico III (isômero amorfano/cadinano/murolano/bulgarano).



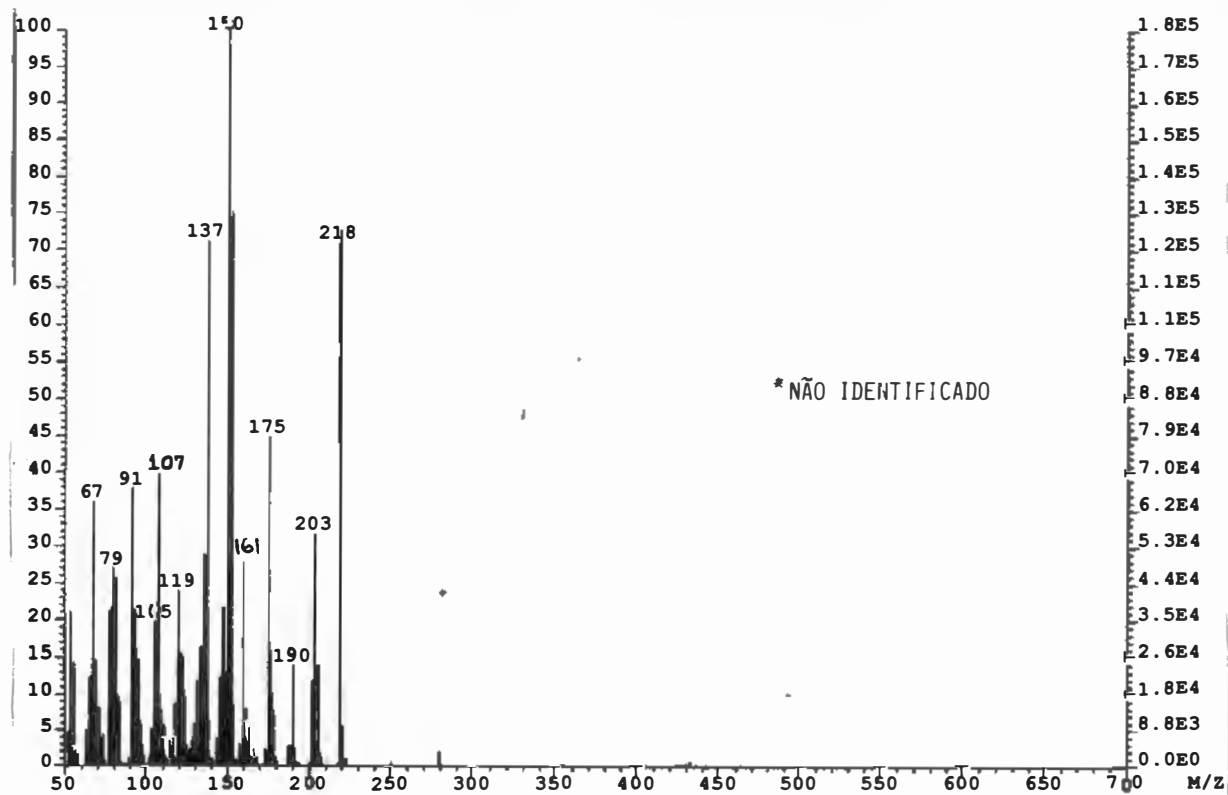
Espectro 33. Espectro de massas do sesquiterpenóide bicíclico IV (isômero amorfano/cadinano/murolano/bulgarano).



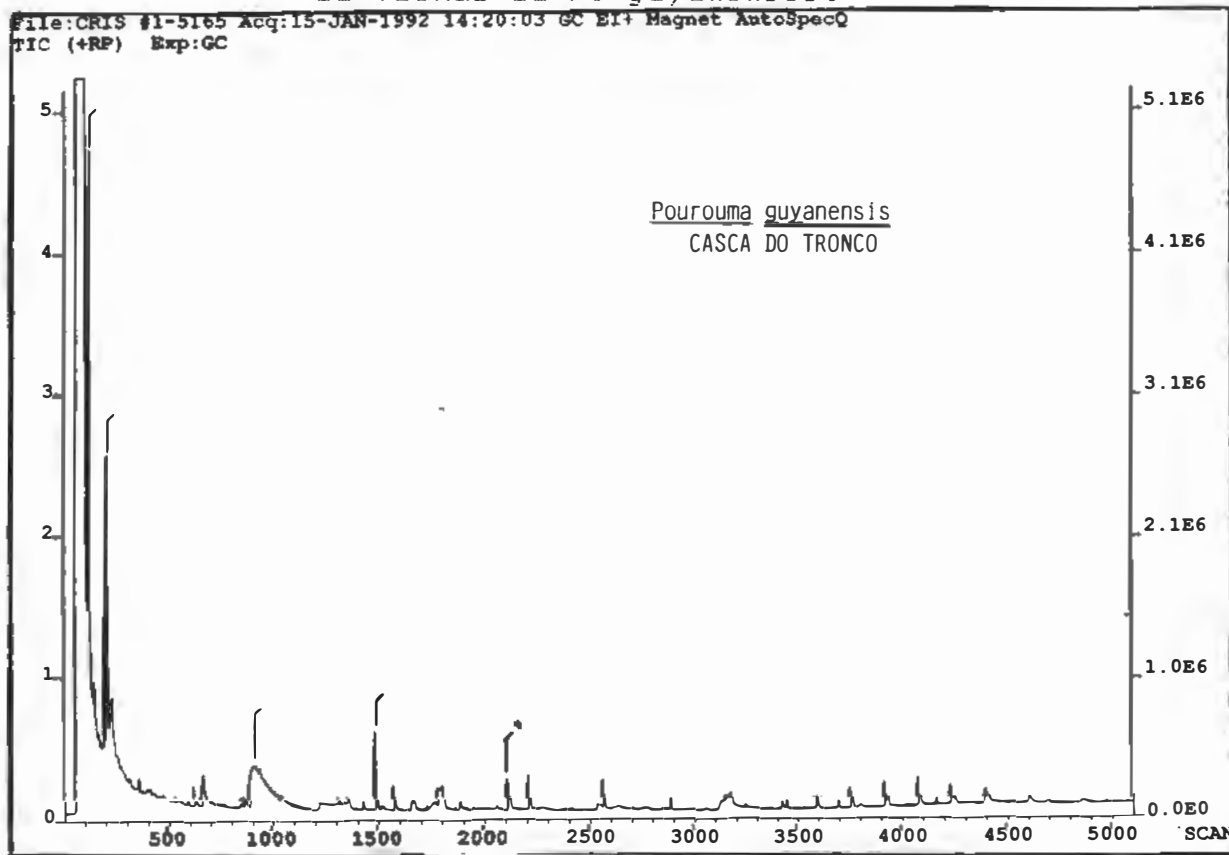
Espectro 34. Espectro de massas do sesquiterpenóide bicíclico V (isômero eudesmano/selinano).



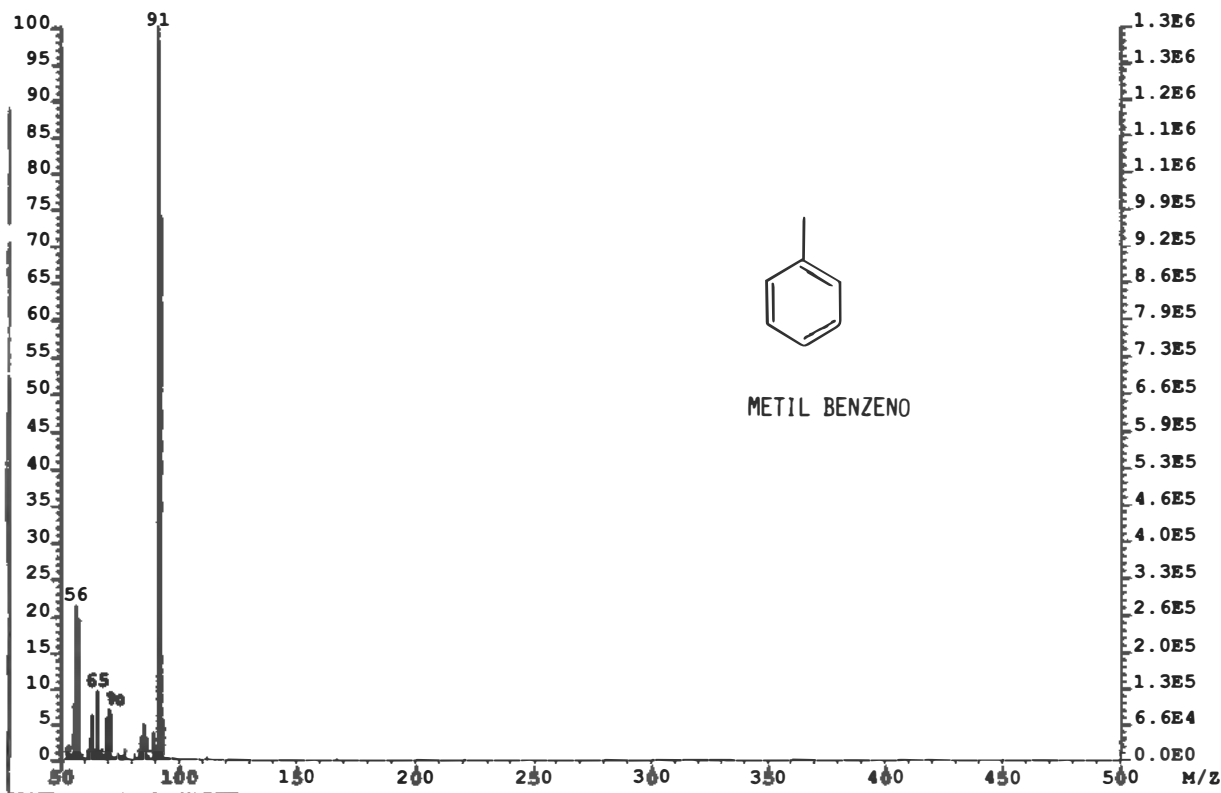
Espectro 35. Espectro de massas do sesquiterpenóide bicíclico VI (isômero amorfano/cadinano/muuroloano/bulgarano).



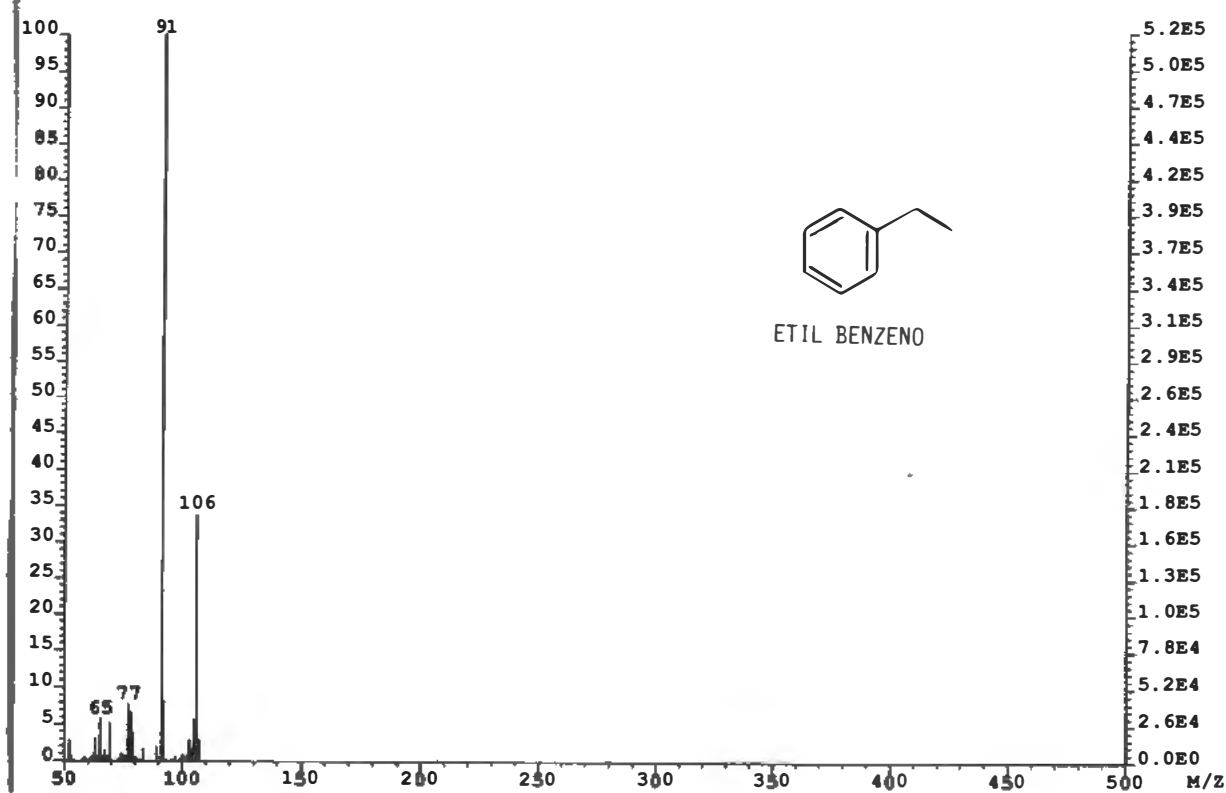
Espectro 36. Espectro de massas de um sesquiterpenóide I (não identificado) isolado do óleo essencial de folhas de *P. guyanensis*.



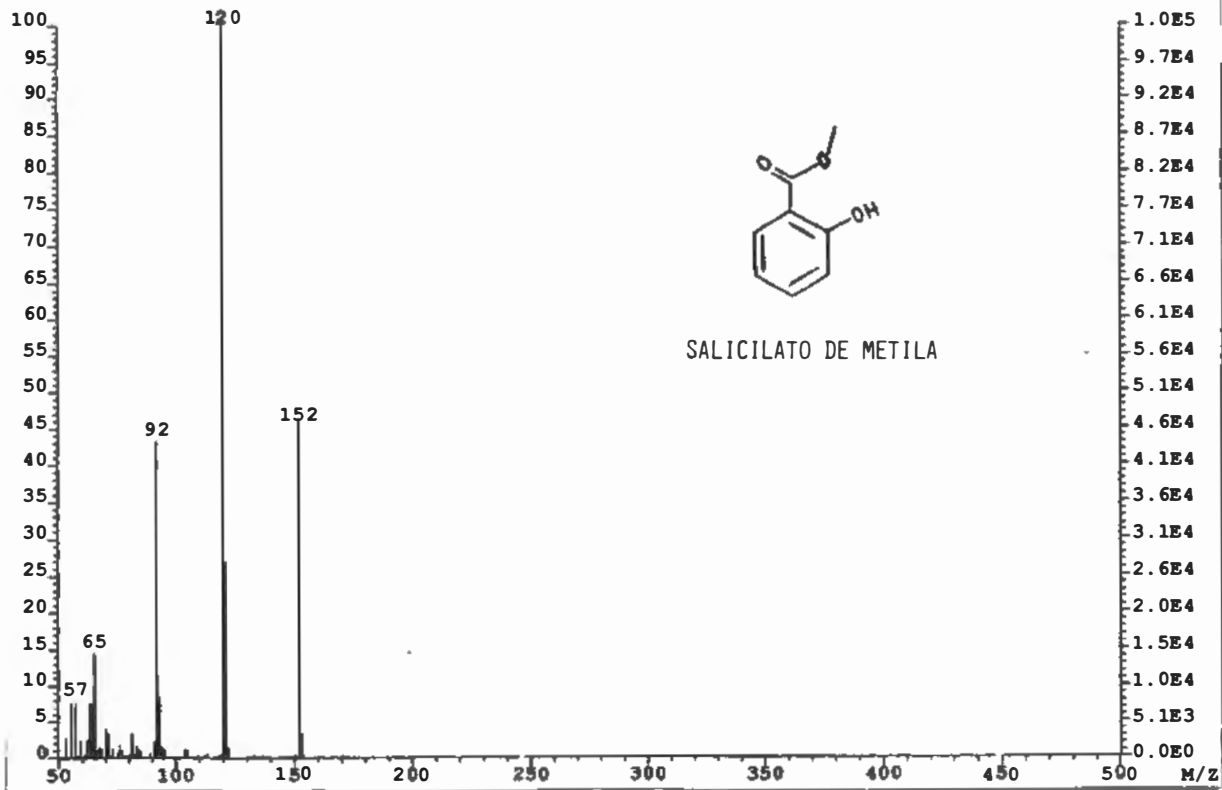
Cromatograma 05. Resultado da separação cromatográfica do óleo essencial de *P. guyanensis*.



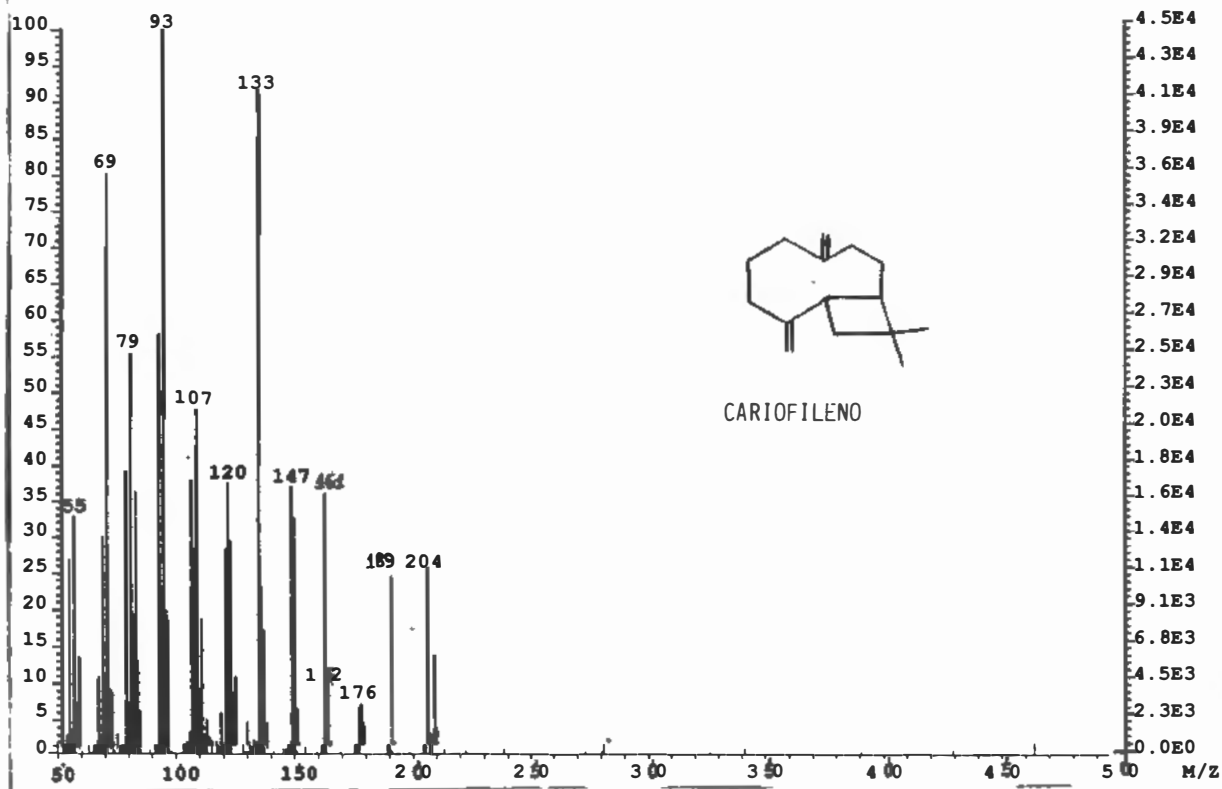
Espectro 37. Espectro de massas do tolueno.



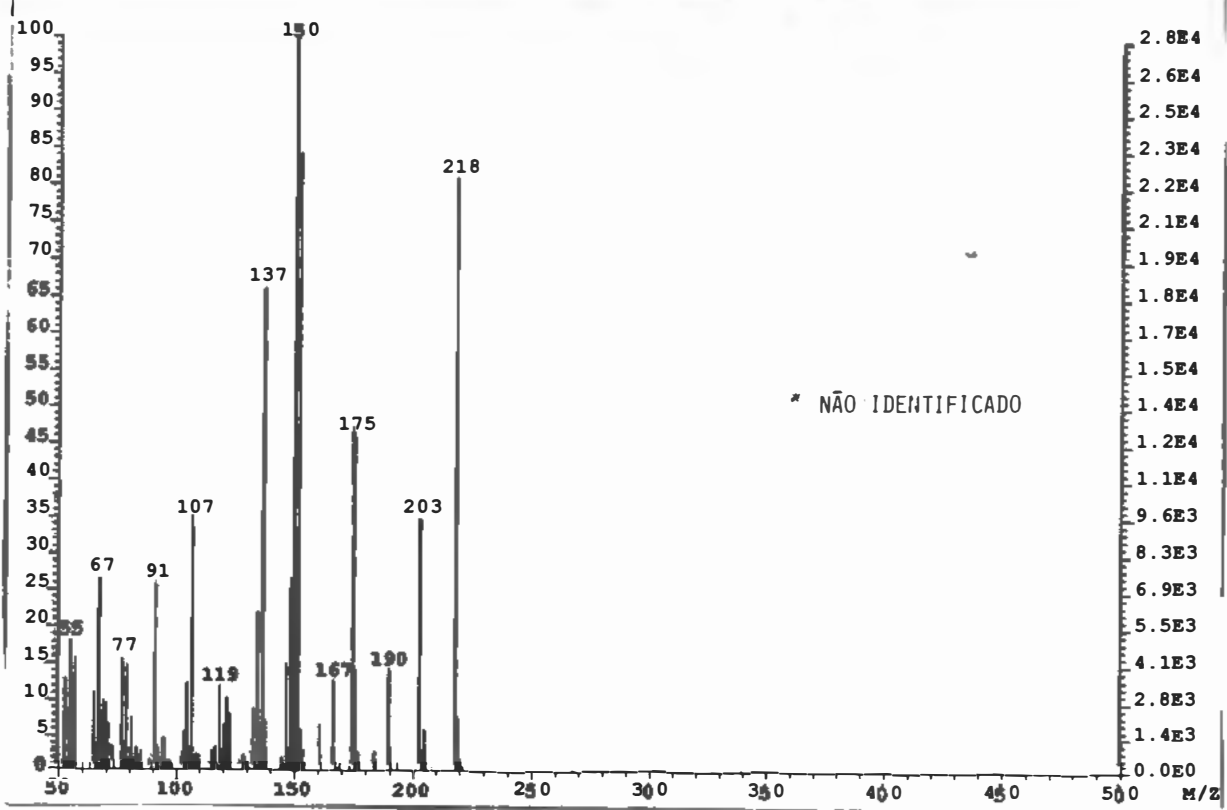
Espectro 38. Espectro de massas do etilbenzeno.



Espectro 39. Espectro de massas do salicilato de metila, isolado do óleo essencial de casca do tronco de *P. guyanensis*.

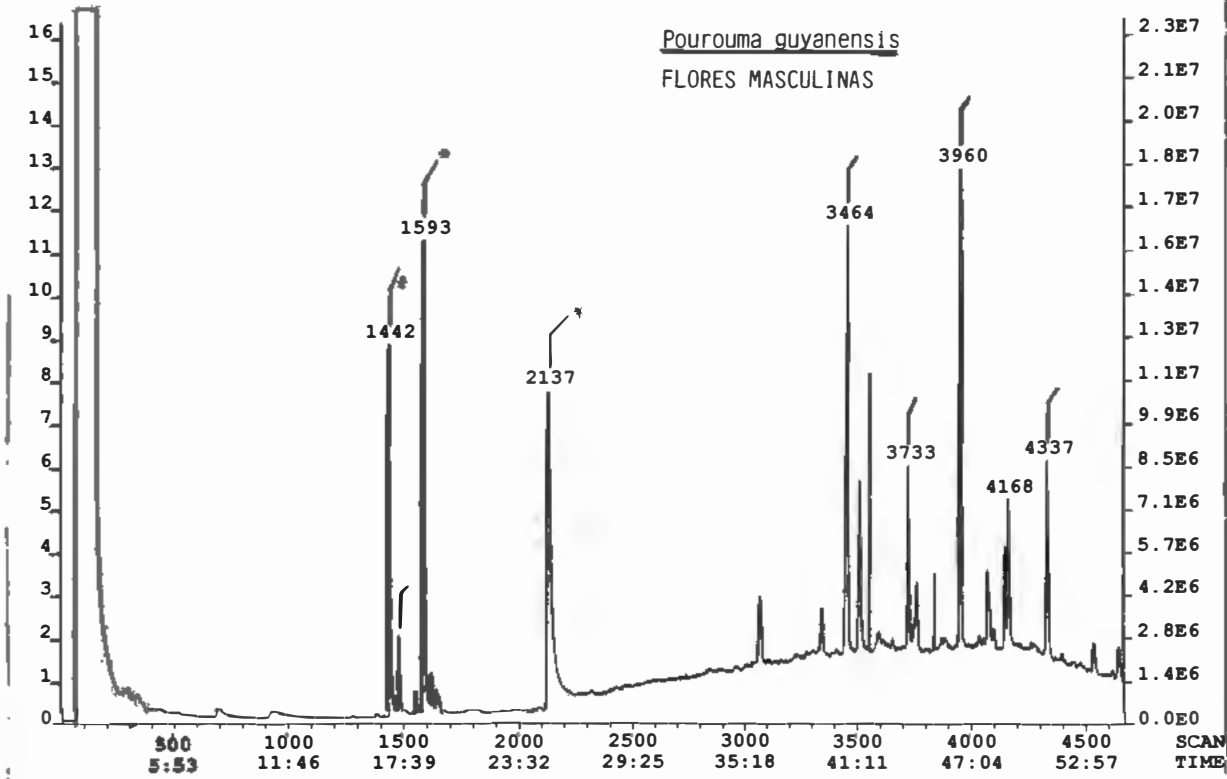


Espectro 40. Espectro de massas do cariofileno.

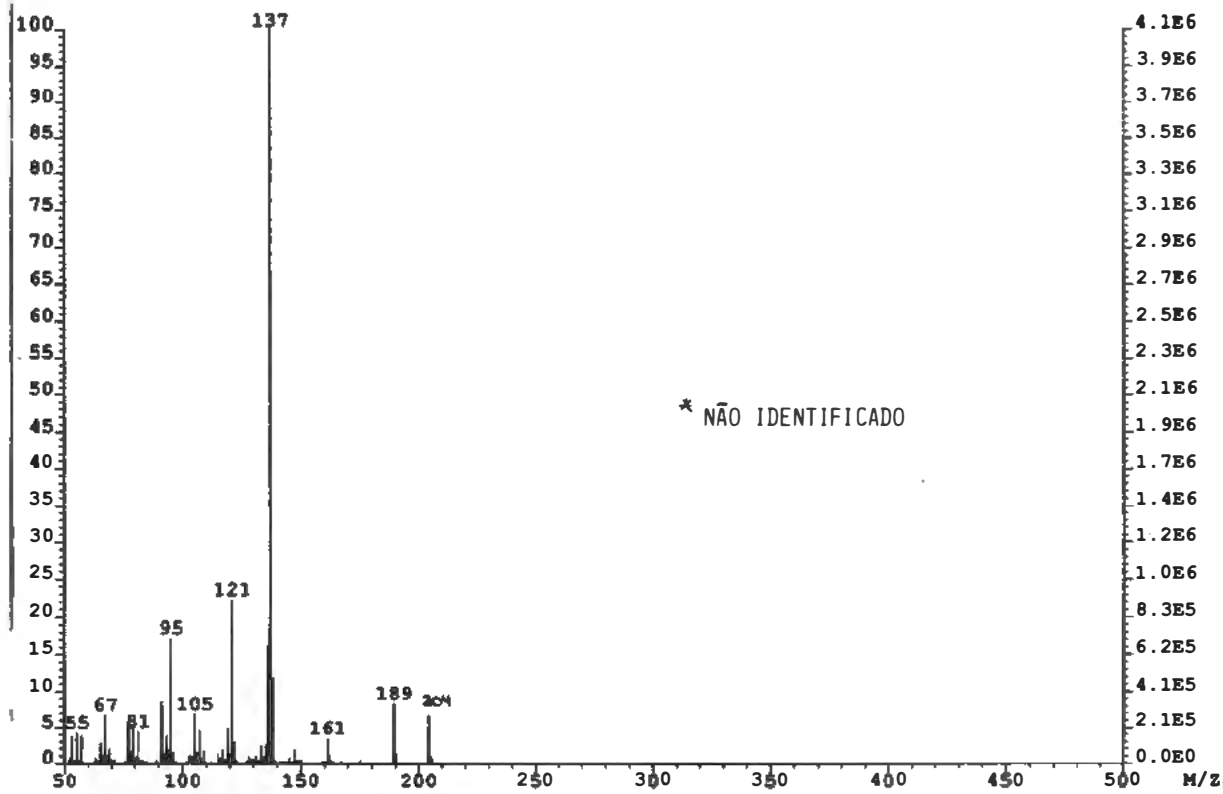


Espectro 41. Espectro de massas de um sesquiterpenóide I (não identificado) isolado do óleo essencial da casca do tronco de *P. guyanensis*.

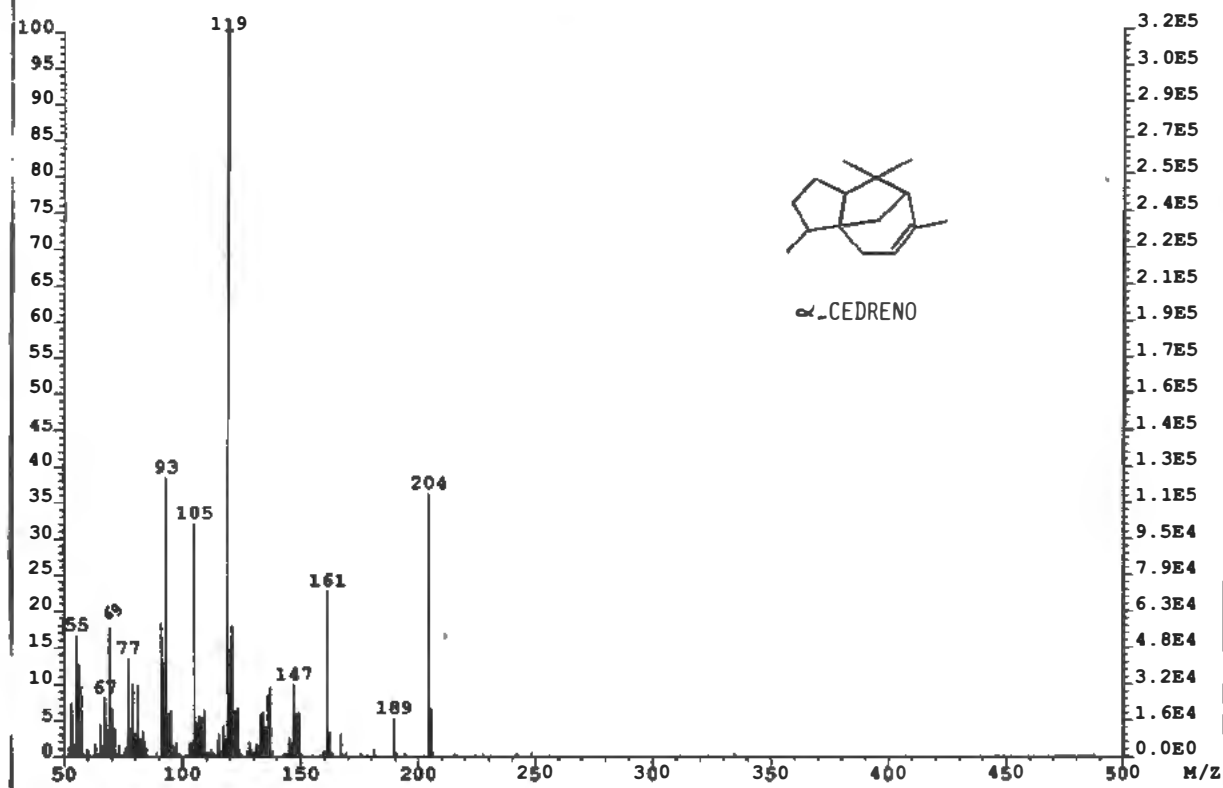
File:CRICG #1-4670 Acq:14-JAN-1992 13:35:30 GC EI+ Magnet AutoSpecQ
TIC (+RP) Exp:GC



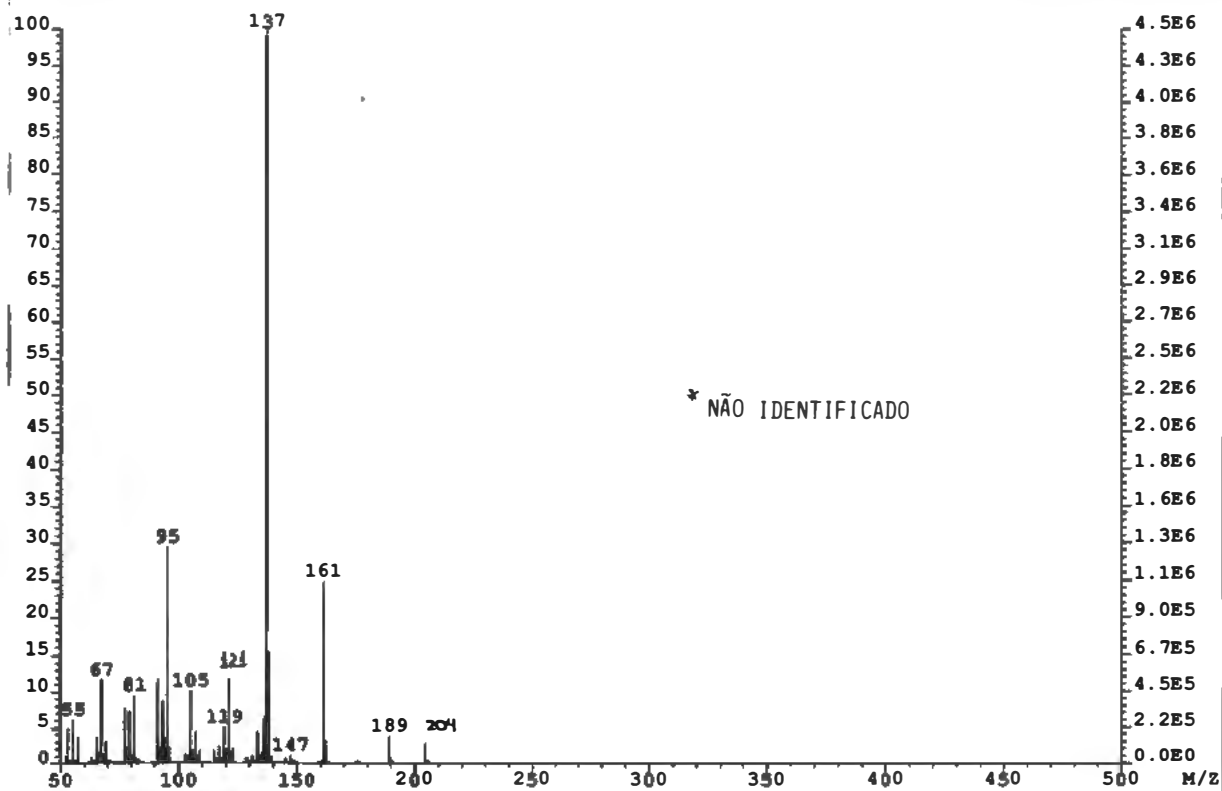
Cromatograma 06. Resultado da separação cromatográfica do óleo essencial de flores de *P. guyanensis*.



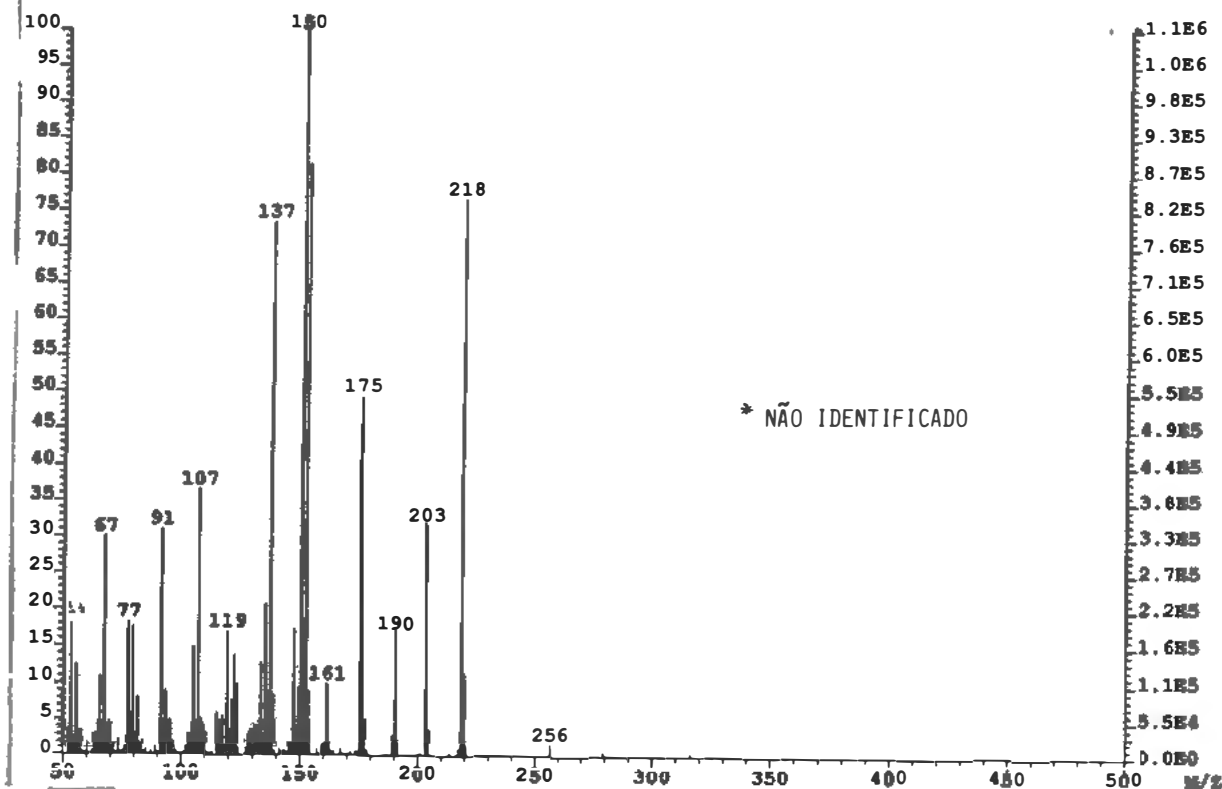
Espectro 42. Espectro de massas de um sesquiterpenóide II (não identificado) isolado do óleo essencial de flores de *P. guyanensis*.



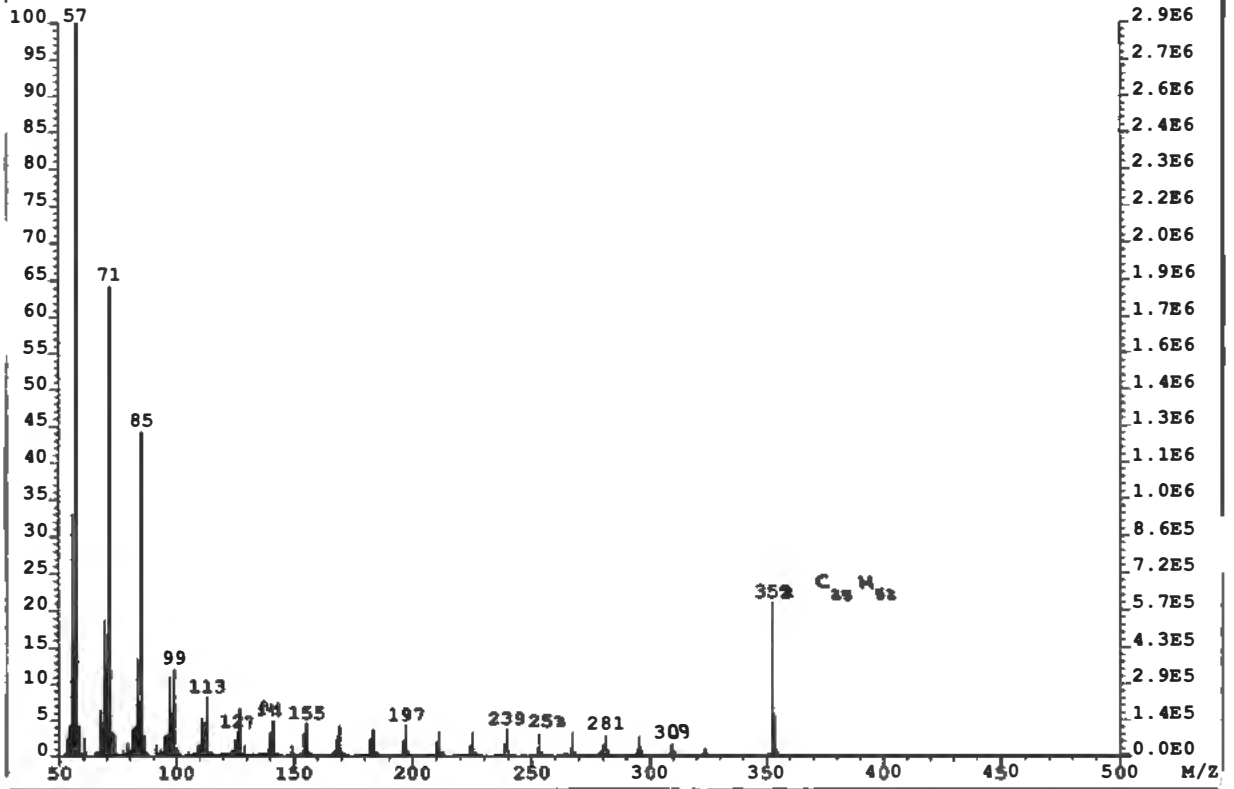
Espectro 43. Espectro de massas do α -cedreno.



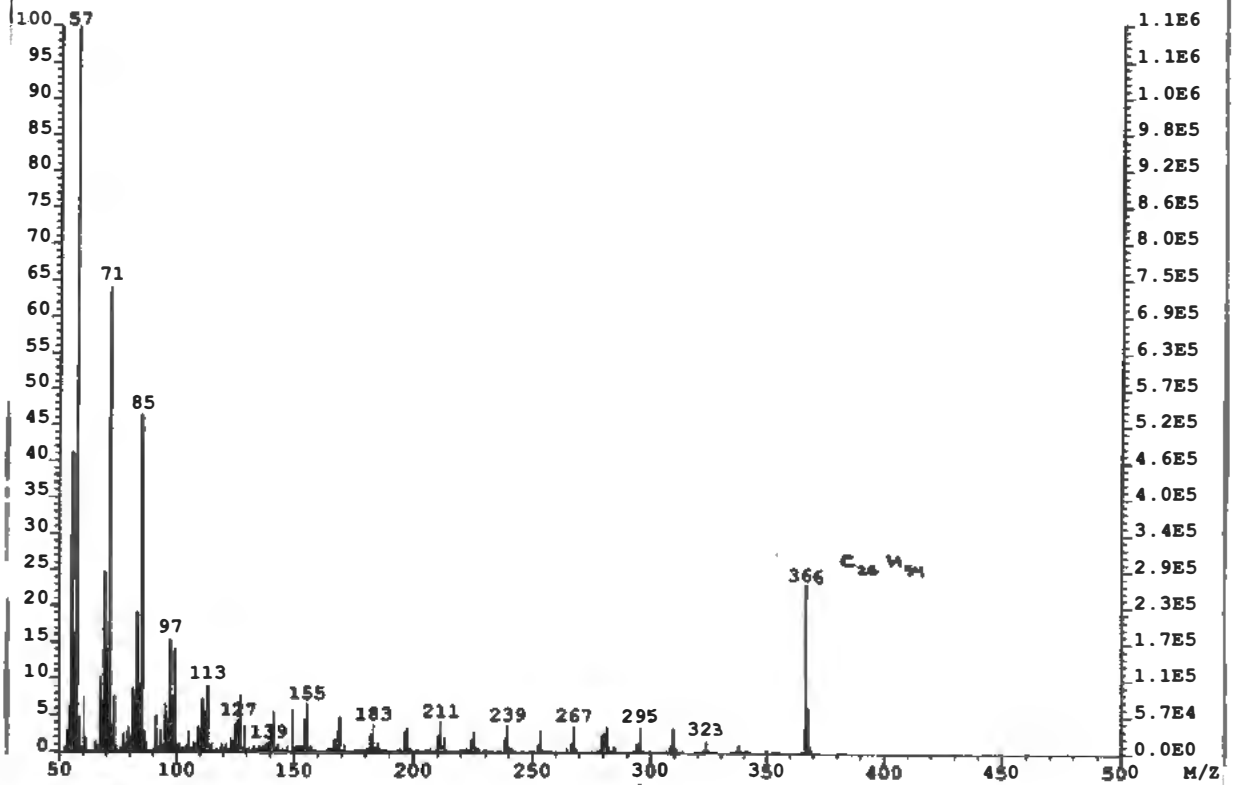
Espectro 44. Espectro de massas de um sesquiterpenóide III (não identificado) isolado do óleo essencial de flores de *P. guyanensis*.



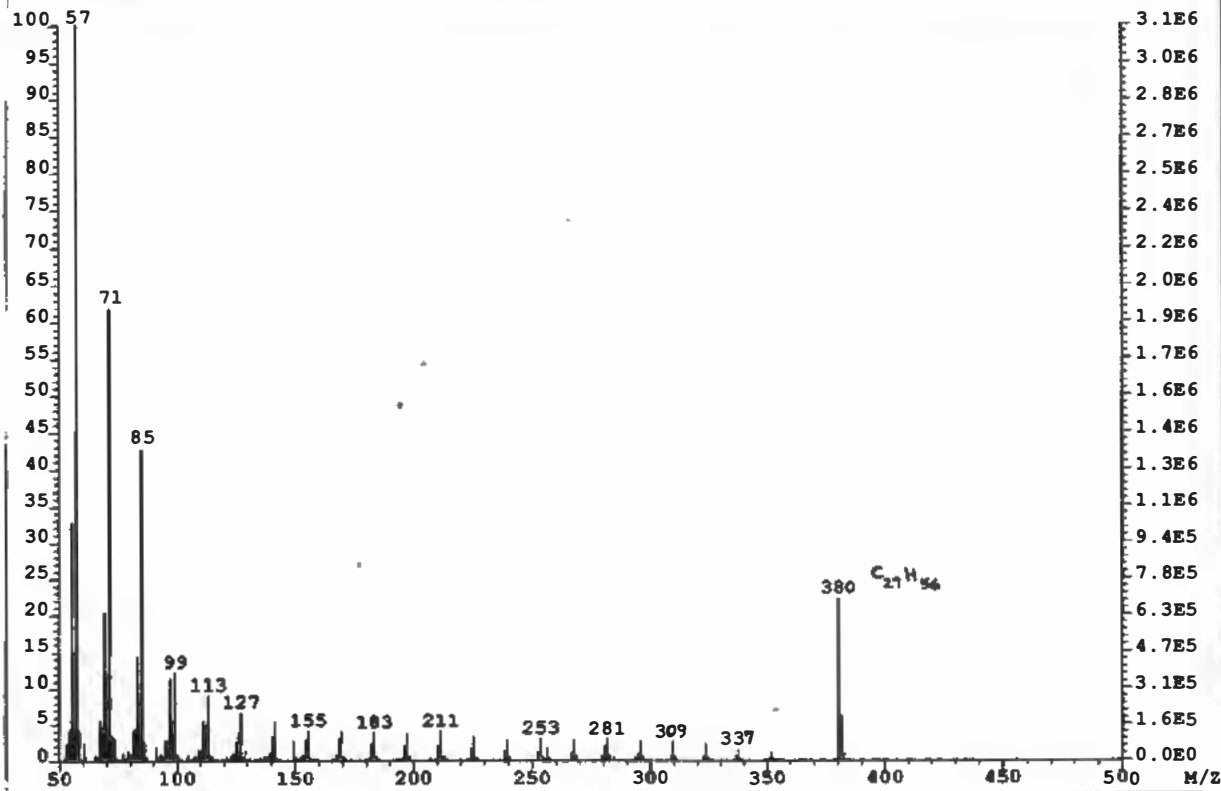
Espectro 45. Espectro de massas de um sesquiterpenóide I (não identificado) isolado do óleo essencial de flores de *P. guyanensis*.



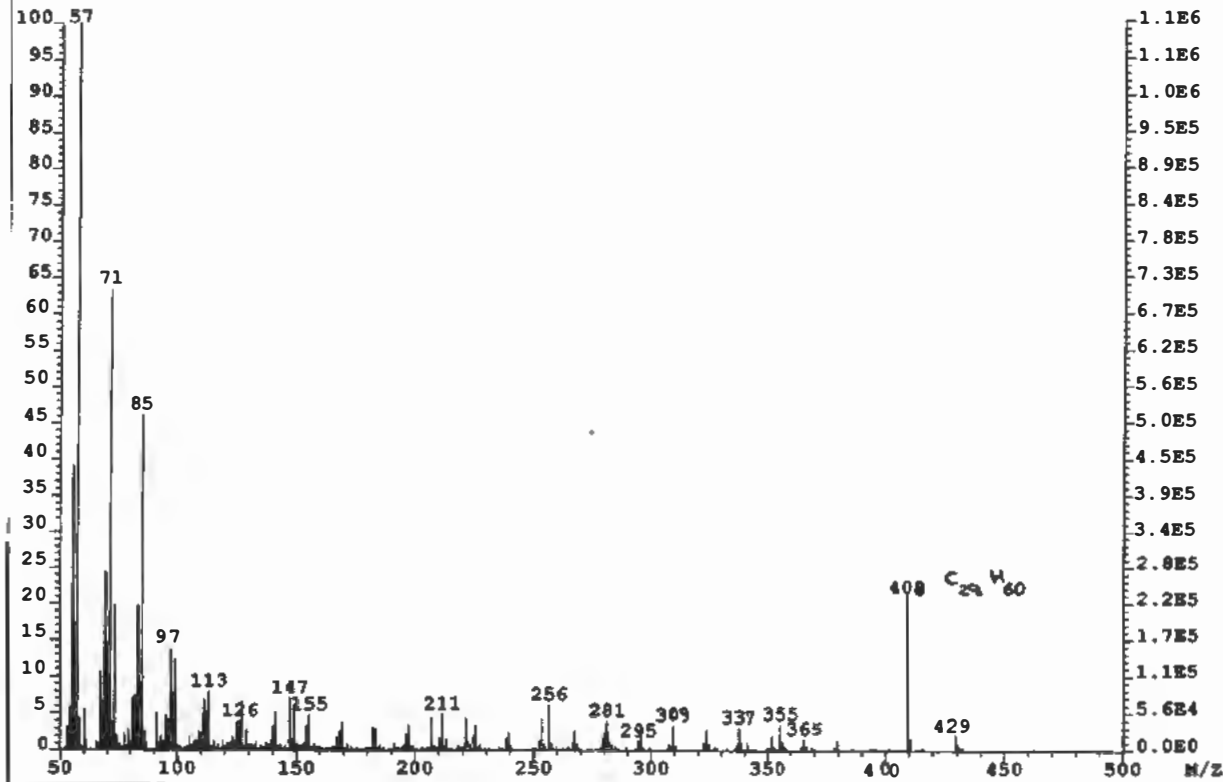
Espectro 46. Espectro de massas do pentacosano.



Espectro 47. Espectro de massas do hexacosano.

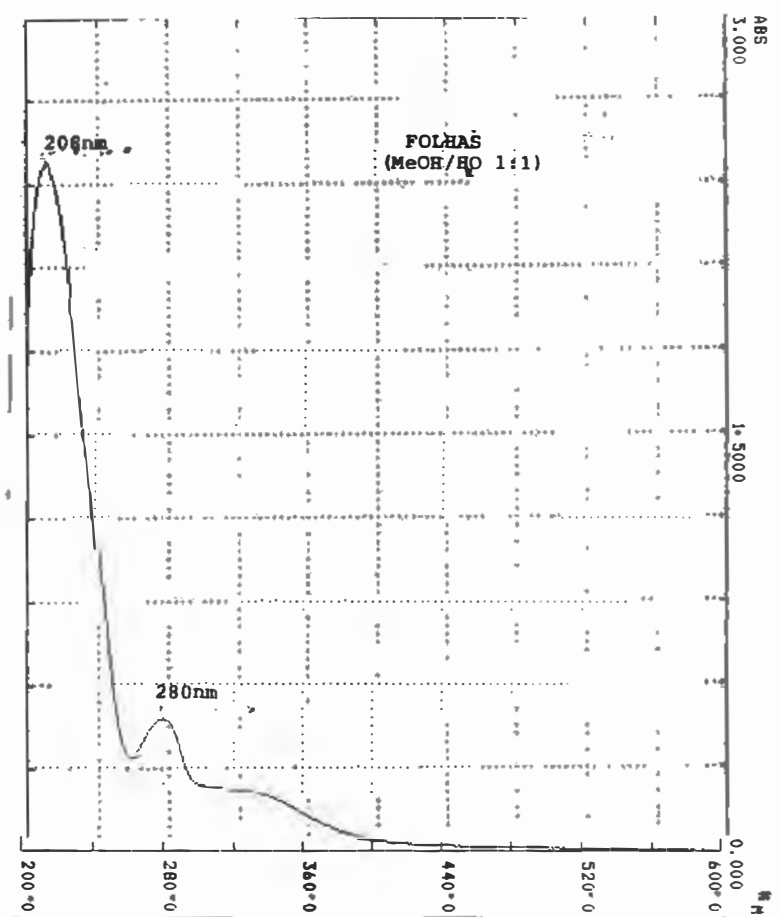


Espectro 48. Espectro de massas do heptacosano.

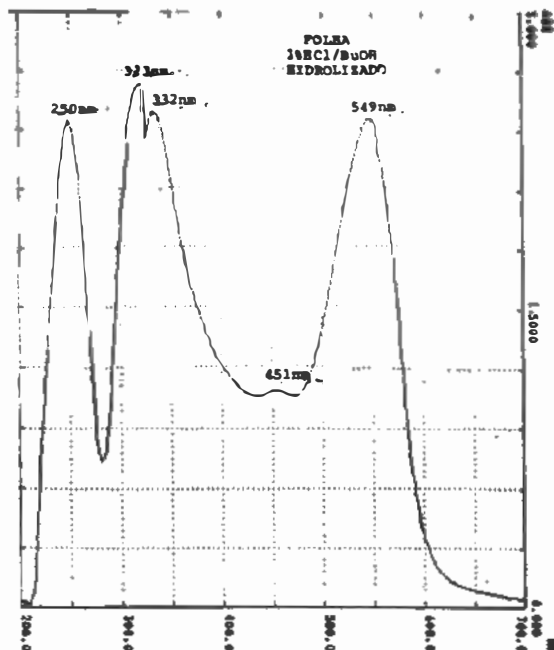


Espectro 49. Espectro de massas do nonacosano.

Polifenóis de *P. guyanensis*– Por meio da pesquisa de polifenóis realizada em folhas, casca dos ramos, ramos e sementes foi detectada a presença de proantocianidinas. A identificação fundamentou-se na hidrólise dos extratos hidroalcoólicos em solução de n-butanol/HCl 5% acompanhada de análise espectroscópica na região UV/visível (Espectros 50-51, páginas 81-82). O aparecimento do sinal em 549 nm sugere a formação das unidades antocianidínicas correspondentes. Além disso, foi observado em todos os extratos o aparecimento do sinal cujo máximo ocorria à 549 nm, sugerindo que todos os extratos apresentavam o mesmo tipo proantocianidina.



Espectro 50. Espectro na região do UV/Visível do extrato hidroalcoólico de folhas de *P. guyanensis*.



Espectro 51. Espectro na região do UV/Visível do extrato hidroalcoólico hidrolisado (1 % HCl/butanol) de folhas de *P. guyanensis*.

A análise quantitativa dos fenóis totais de *P. guyanensis* mostrou maior concentração na casca de ramos. Essa parte da planta exibiu um teor mais elevado de proantocianidinas na sua composição polifenólica (Gráfico 01, pág. 82).

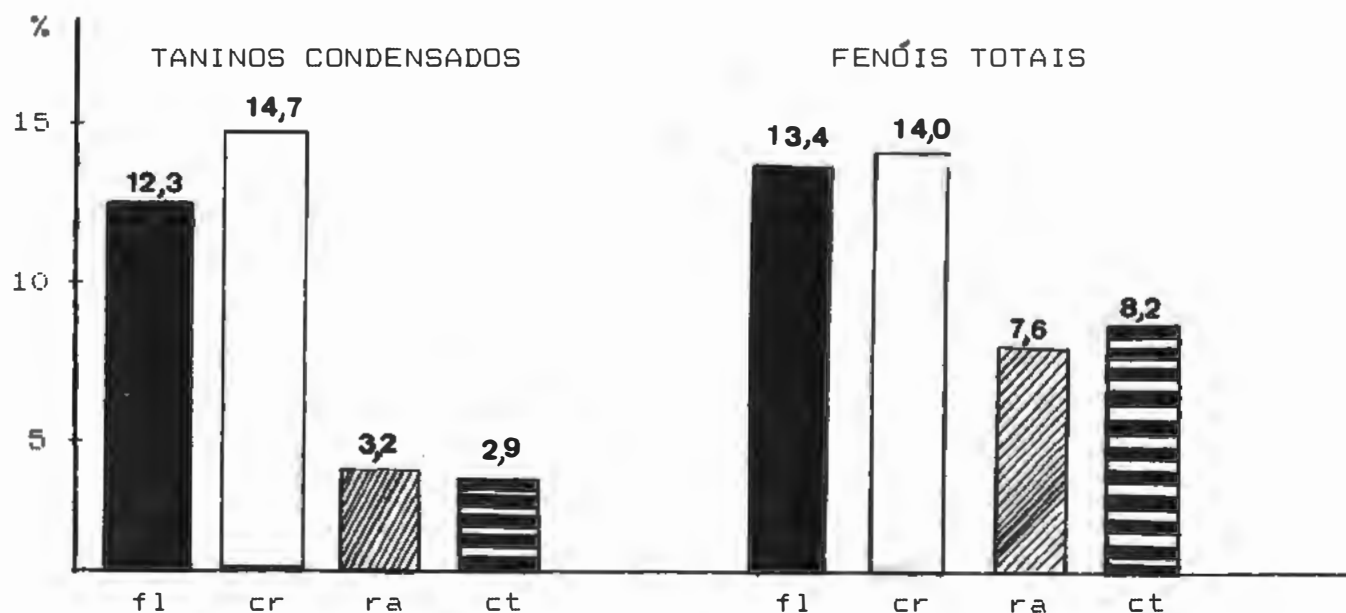
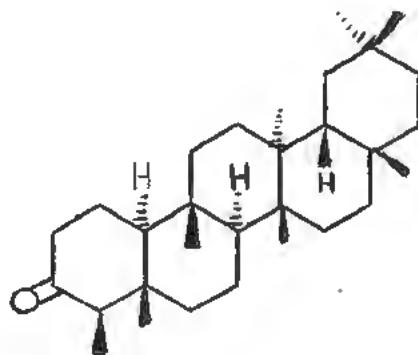


Gráfico 01. Teor de polifenóis em *P. guyanensis*

A ação antioxidante desses polifenóis vem sendo relacionada ao bloqueio de passos biossintéticos da via do ácido chiquímico. Esses passos reacionais são em sua maioria de natureza oxidativa e levam aos metabólitos especiais característicos do taxon. Esse fato em alguns grupos vegetais, principalmente aqueles localizados na diagonal tanífera do Diagrama de Dahlgren, pode estar relacionado com a sua menor diversidade micromolecular.¹⁰⁶

Constituintes do Extrato Hexânico de *P. guyanensis*

Friedelina [33Pg(III)] - As frações 33-34, eluídas em hexano/acetato de etila 5%, foram purificadas por simples lavagem com éter de petróleo. Obteve-se um material cristalino que deu reação positiva com vanilina sulfúrica. A análise dos dados espectrais sugeriu a estrutura:



33Pg(III)

O espectro de massas (Espectro 52, pág. 87) mostra um sinal relativo ao ion molecular com m/z 426 que está de acordo com a fórmula molecular $C_{30}H_{50}O$. O sinal base com m/z 273 corresponde a um fragmento típico do esqueleto de friedelanos saturados. O sinal com m/z 205 origina-se de uma das principais reações desses derivados do friedelano (Esquema 04, pág 86).¹⁰⁷ Análise comparativa do espectro de 33Pg(III) com o da friedelina sugere que possuam a mesma estrutura.⁸⁹

O espectro de RMN-¹H (Espectro 53, pág. 81) apresentou sinais intensos com integração para 21 átomos de hidrogênio. Os sinais podem ser alocados para sete metilas ligadas a carbono quaternário sp³ em 0,72 (3H); 0,86 (3H); 0,96 (3H); 0,99 (6H); 1,06 (3H) e 1,19 (3H). O sinal em δ 0,88 (3H) apresenta-se desdobrado em um dubleto de J 6,7 Hz e corresponde à metila em C₂₃. O sinal em δ 2,24 (1H) correspondente ao hidrogênio em C₄ apresenta-se desdobrado em um quateto de J 6,7 Hz, o que caracteriza um sistema de quatro núcleos acoplados (AX₃). Tal informação concorda plenamente com a estrutura proposta.

No espectro desacoplado de RMN-¹³C (Espectro 54, pág. 89) encontram-se assinalados 30 sinais correspondentes a uma substância de natureza triterpenoídica. O sinal em 213 ppm caracteriza de maneira inequívoca a presença de um grupo carbonila em anel de seis membros. Os sinais relativos aos seis átomos de carbono quaternários podem ser confirmados por simples análise do espectro, uma vez que, devido aos maiores tempos de relaxamento desses núcleos, os sinais aparecem com pequena intensidade

Pela técnica APT (Espectro 55, pág. 90) as multiplicidades dos sinais puderam ser determinadas:

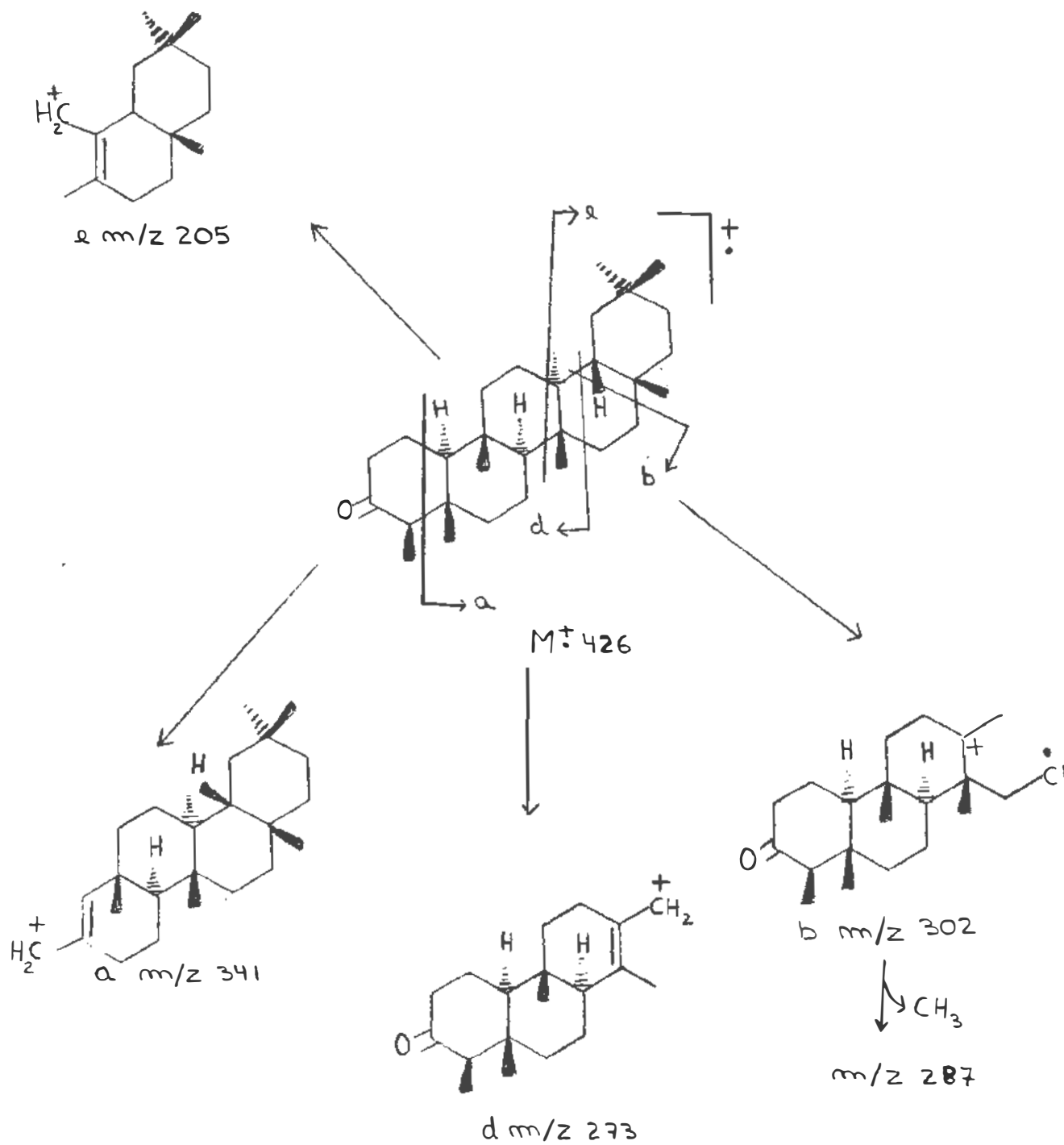
CH ₃	CH ₂	CH	C
δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)
6,7	18,1	42,7	28,0
14,5	22,2	53,0	29,9
17,8	30,4	58,1	37,3
18,6	32,3	59,4	38,2
20,1	32,7	----	39,6
31,7	35,2		42,0
32,0	35,5		----
34,9	35,9		
----	39,1		
	41,2		
	41,4		

C₈H₂₄	C₁₁H₂₂	C₄H₄	C₆

Conhecidas as multiplicidades, pode-se expandir a fórmula molecular $C_{30}H_{50}O$ para $C=O$, $(CH_3)_8$, $(CH_2)_{11}$, $(CH)_4$ e $(C)_6$. Nesse momento é possível caracterizar um esqueleto triterpenoídico, pentacíclico e saturado. A elucidação dessa substância foi confirmada pela comparação dos sinais no espectro de $RMN-^{13}C$ para 33Pg(III) e para friedelina¹⁰⁸ (Tabela 12, pág. 85).

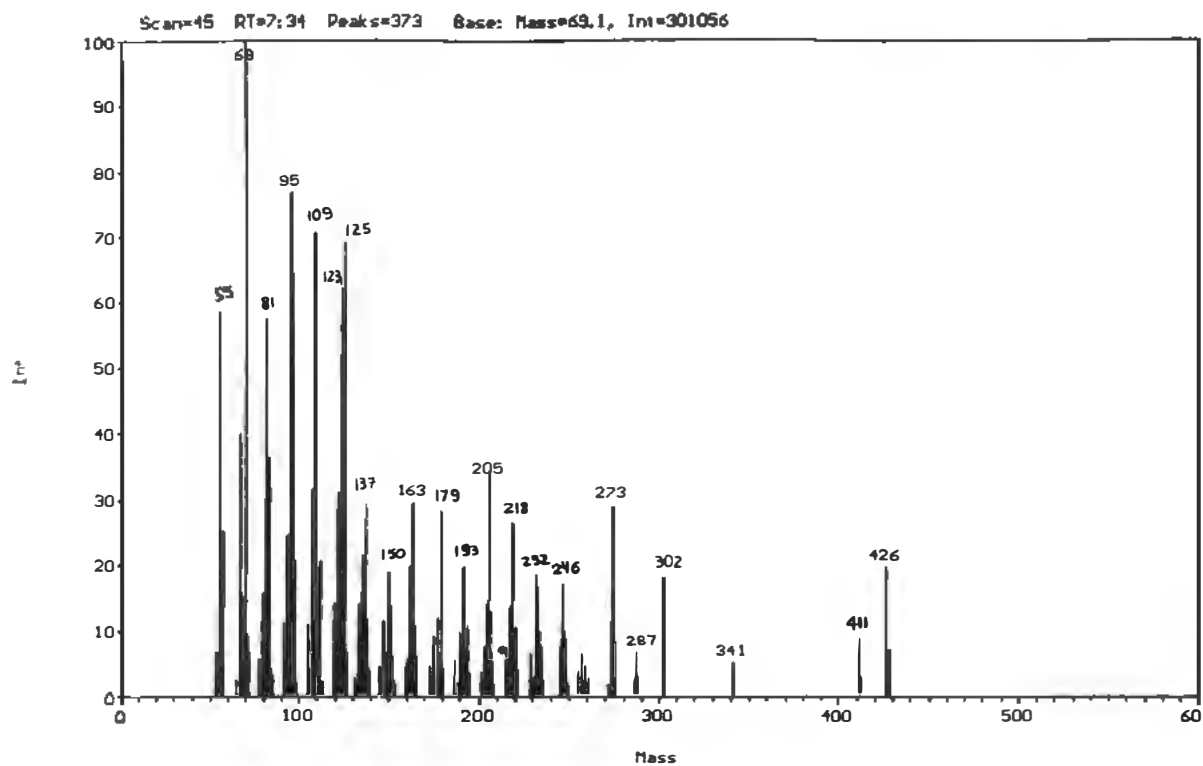
CARBONO	SUBSTANCIA		CARBONO	SUBSTANCIA	
	33Pg(III)	8		33Pg(III)	8
C-1	22,2	22,4	C-16	35,9	36,0
C-2	41,4	41,5	C-17	29,9	30,0
C-3	213,0	213,0	C-18	42,7	42,9
C-4	58,1	57,9	C-19	35,5	35,7
C-5	42,0	42,1	C-20	28,1	28,2
C-6	41,2	41,3	C-21	32,7	32,8
C-7	18,1	18,2	C-22	39,1	39,2
C-8	53,0	53,1	C-23	6,7	6,7
C-9	37,3	37,5	C-24	14,5	14,6
C-10	59,4	59,6	C-25	17,8	17,9
C-11	35,2	35,4	C-26	20,1	20,2
C-12	30,4	30,5	C-27	18,6	18,6
C-13	38,2	38,4	C-28	32,0	31,8
C-14	39,6	39,7	C-29	34,9	35,0
C-15	32,3	32,5	C-30	31,7	32,1

Tabela 12. Dados de $RMN-^{13}C$ para 33Pg(III) e a substância modelo friedelina (8).




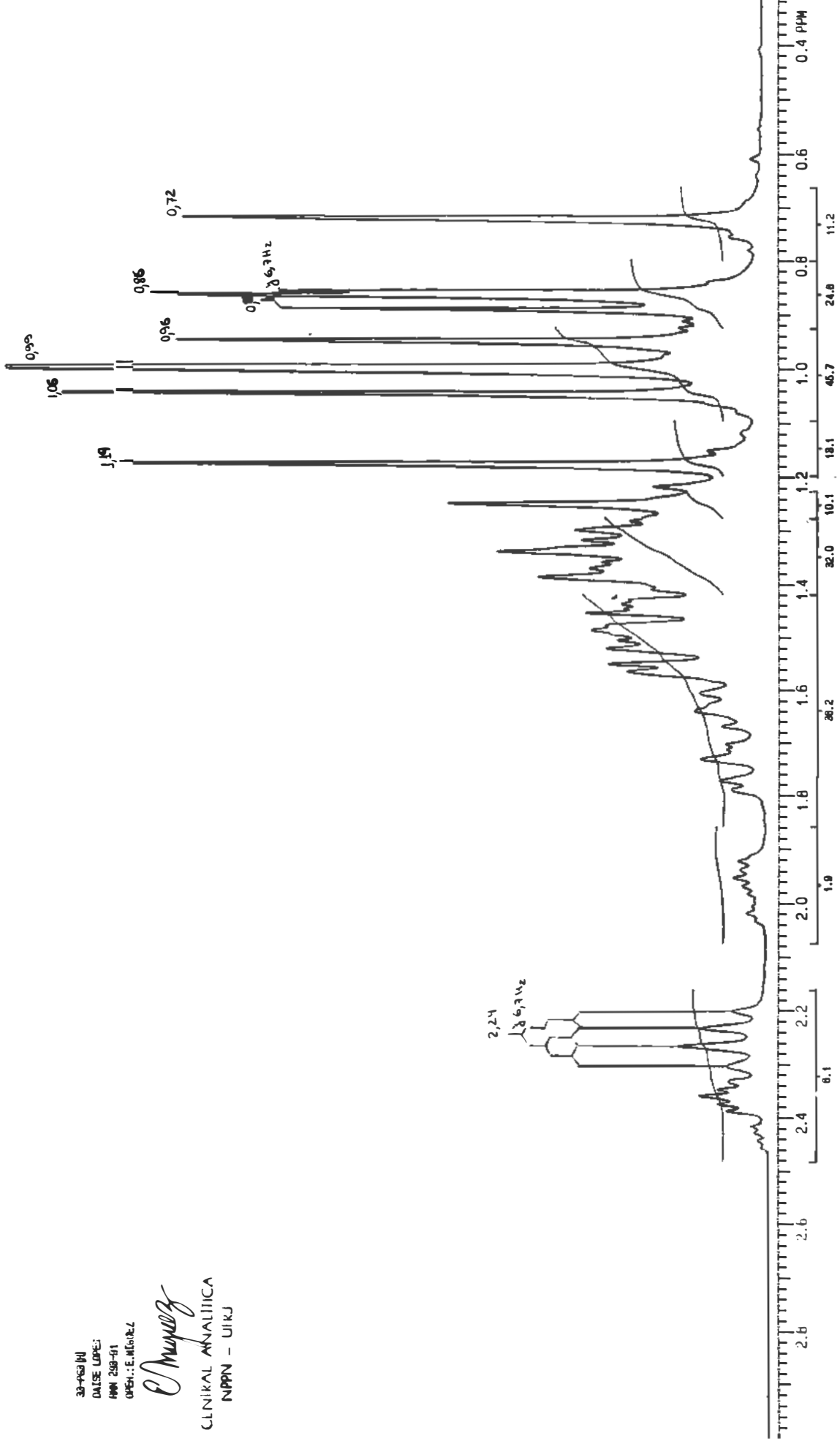
Esquema 04. Fragmentação provável da friedelina.

File: CRIS1 Description: MM 12F 70eV NPPN - DAISE LOPES-33P63
Creation Date: 21-5-1991 Time: 14:51:03
Minimum peak intensity: 2.00%



Espectro 52. Espectro de massas da Friedelina.

33-463 (U)
 DAISE LUPE:
 RMN 200-01
 OPER.: E. MICHIELZ

 CLINICAL ANALITICA
 NIPPON - UIRJ

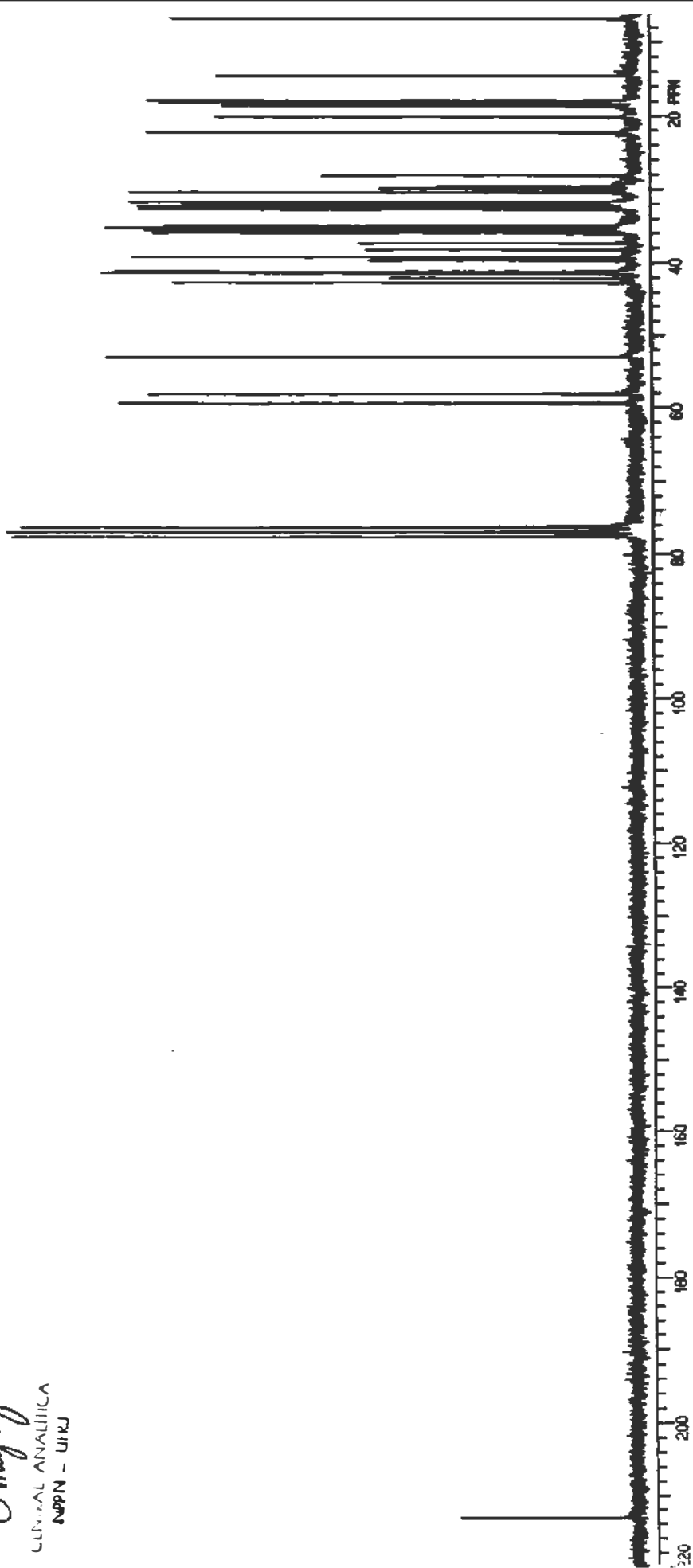


Espectro 53. Espectro de RMN-¹H da friedelina..

23-00216-18 (053)
DALBE LOPES
RMN 200-01
OPERA: E. MURIEZ

E. Murieez
LABORATORIO ANALITICO
NPPN - UFRJ

EXPANSAO NO VERSO



Espectro 54. Espectro desacoplado de RMN-¹³C da friedelina.

33 PG-3(MPT)
DAISE LOPES
RMN 203-01
OPEN...E...VIGUEZ

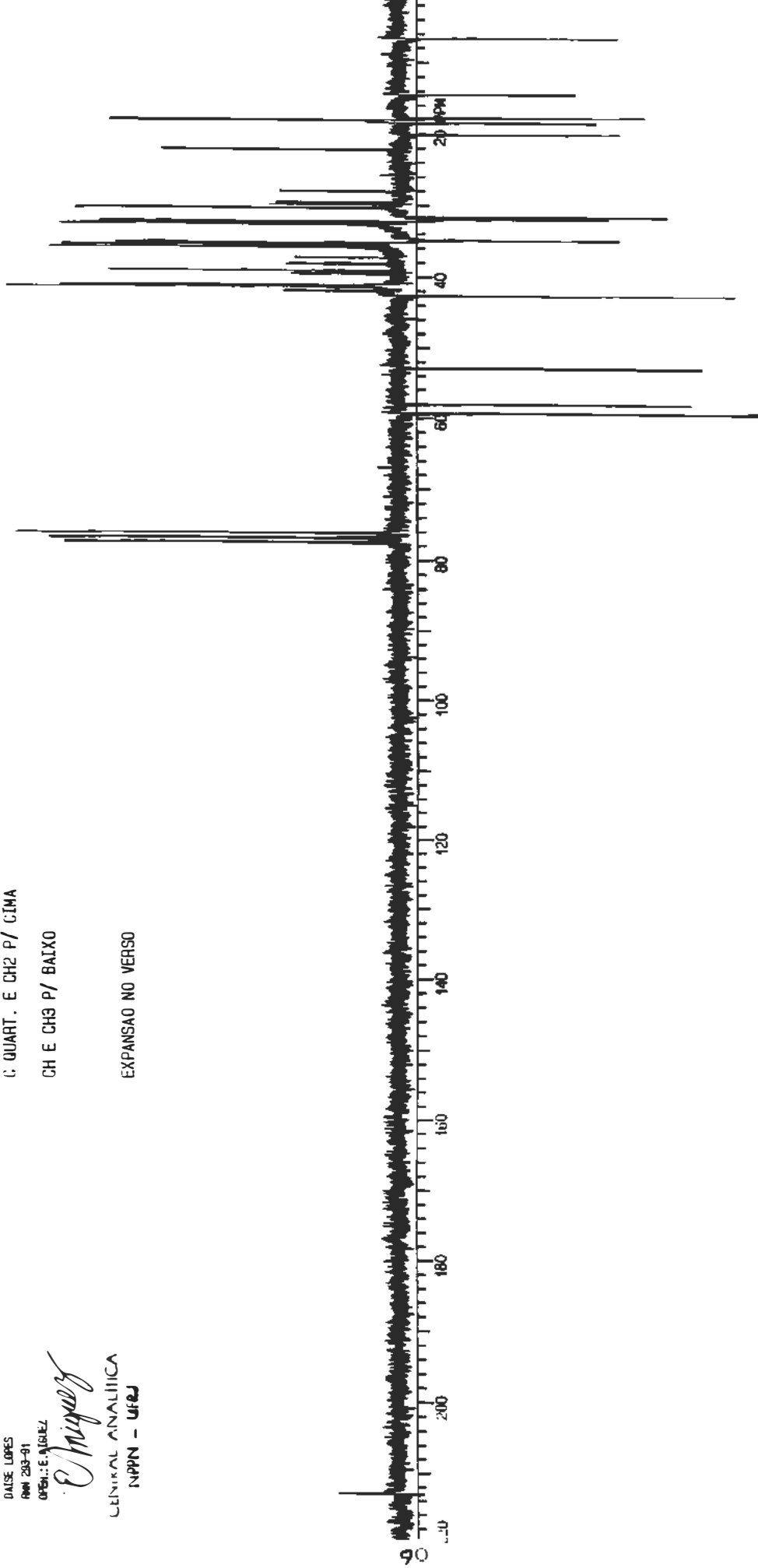
Chiquinho

CENTRAL ANALITICA
NIPPN - UFPE

C: QUART. E CH2 P/ CIMA

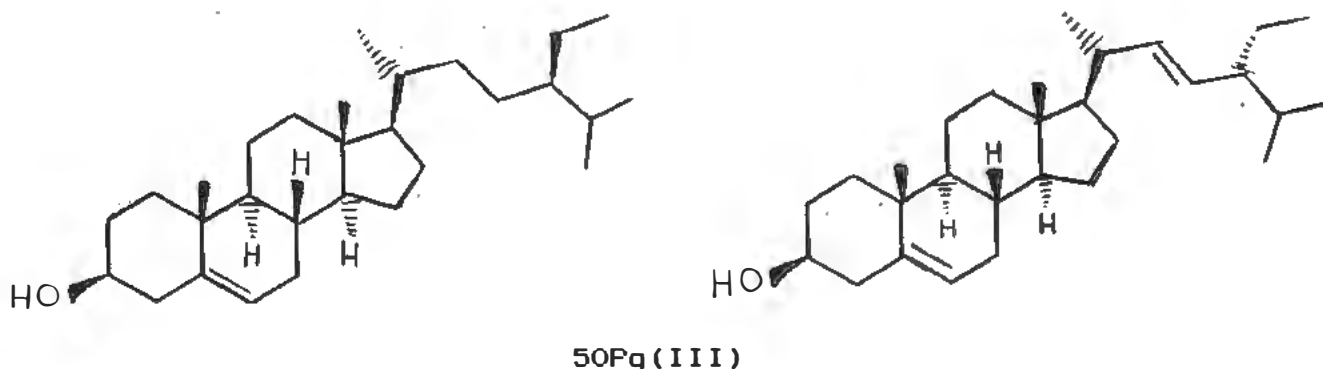
CH E CH3 P/ BAIXO

EXPANSAO NO VERSO



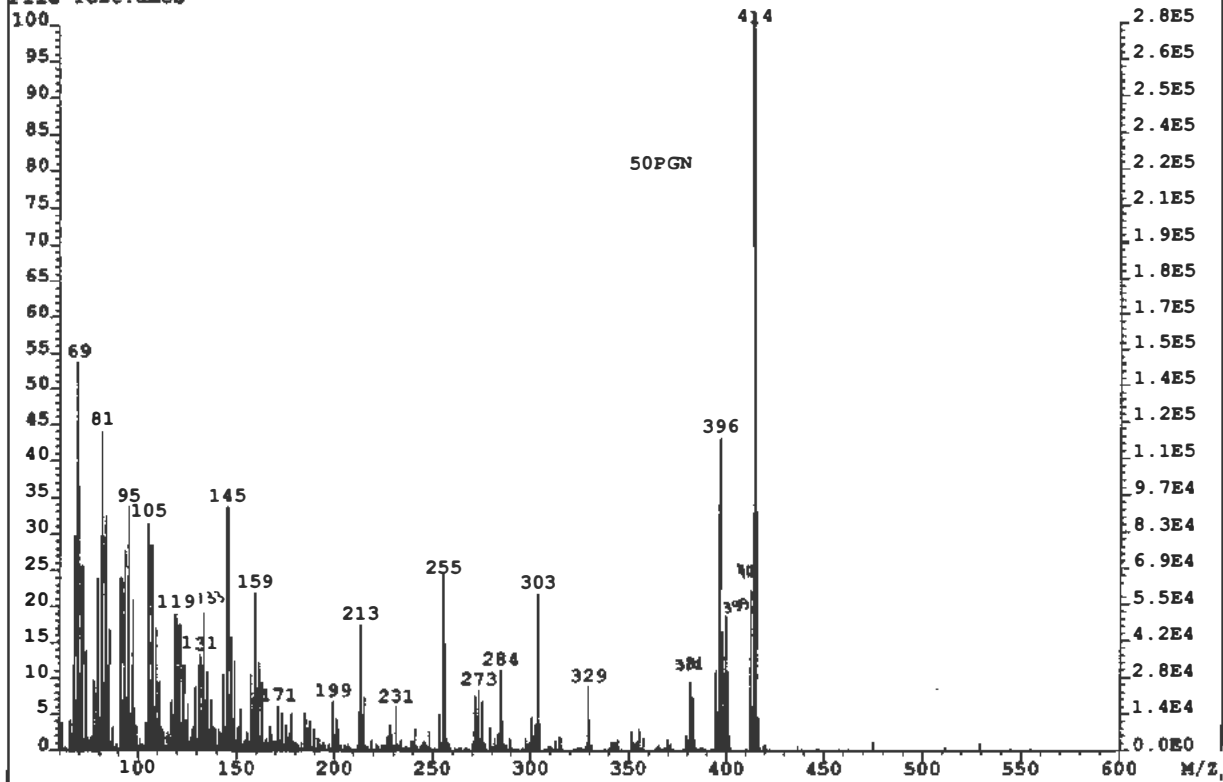
Espectro 55. Espectro APT RMN-¹³C da friedelina

Sitosterol e estigmasterol [50Pg(III)] - As frações 49-50, eluídas em hexano/acetato de etila 10%, foram purificadas por simples lavagem com hexano e deram reação positiva com vanilina sulfúrica. O conjunto dos dados de ponto de fusão, RMN-¹H e espectrometria de massas desse material sugeriu a presença da mistura:



O espectro de massas (Espectro 56, pág. 92) apresenta sinais referentes aos íons moleculares com m/z 414 e 412, de acordo com as fórmulas moleculares $C_{29}H_{53}O$ e $C_{29}H_{51}O$. A análise do espectro de RMN-¹H (Espectro 57, pág. 93) indicou a presença de seis sinais referentes aos hidrogênios metílicos, três dos quais encontravam-se desdobrados em dupletos a 0,81; 0,83 e 0,92 ppm. A presença de um multiplete a 3,52 ppm sugeriu a presença de um hidrogênio carbinólico. O sinal em 5,35 ppm indicou a presença de ligação dupla trissubstituída e os sinais em 5,15 e 5,02 ppm encontravam-se desdobrados em duplo dupletos sugerindo uma ligação dupla dissubstituída. A comparação dos dados de RMN-¹H de 50Pg(III) com os de substâncias modelo, sitosterol e estigmasterol, mostraram-se plenamente concordantes.^{89,109} Além disso, devido a presença dos sinais de intensidade fraca em 5,15 e 5,02 ppm pode-se observar que o estigmasterol se encontrava em menor proporção na mistura.

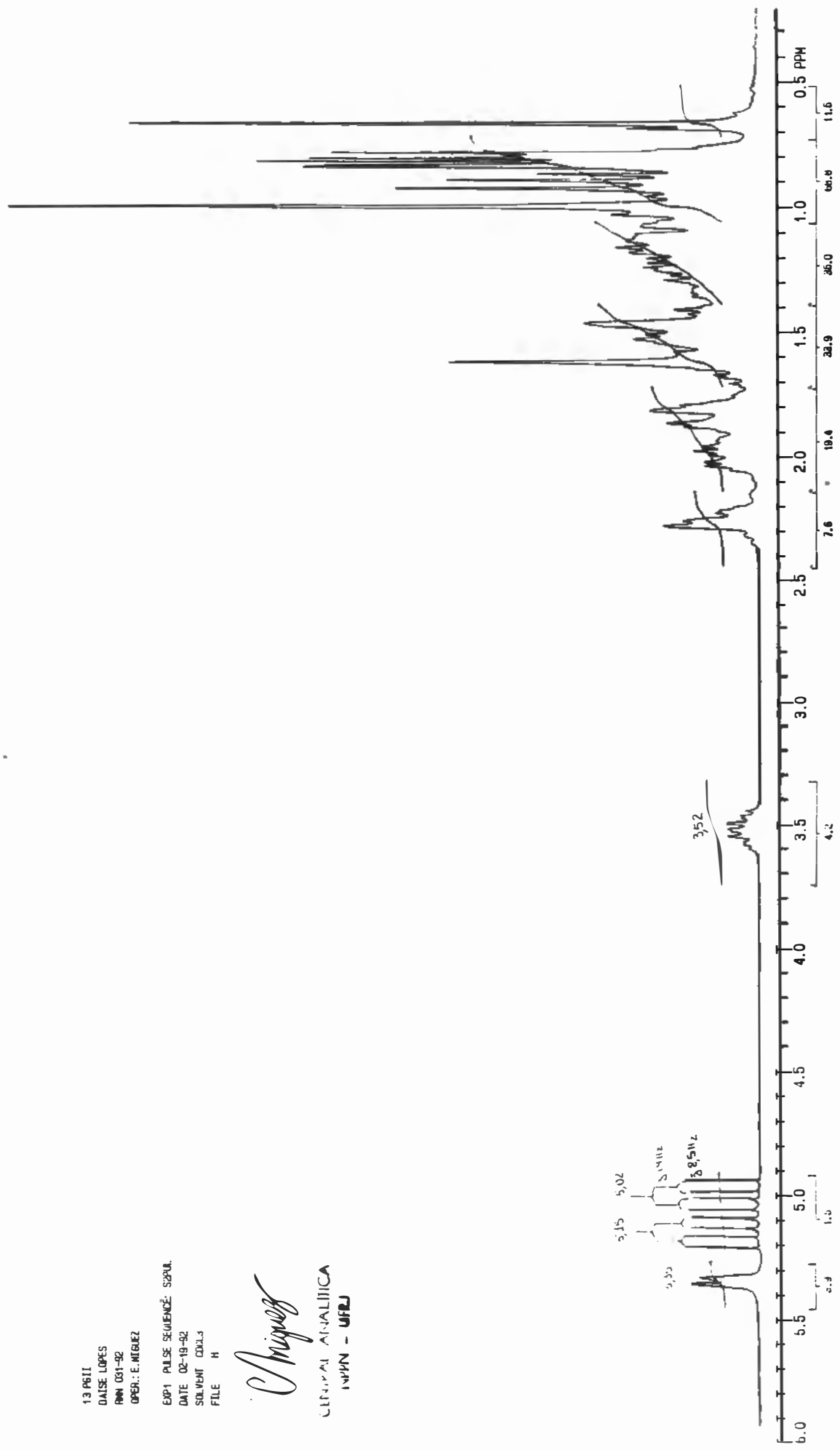
File:CRIS2 Ident:471 Acq: 6-NOV-1991 10:47:24 +15:48
AutoSpecQ EI+ Magnet BpI:277204 TIC:4525873
File Text:amos



Espectro 56. Espectro de massas da mistura sitosterol e estigmasterol isolada de *P. guyanensis*

13 PPTI
 DAISE LOPES
 RMN C01-92
 OPER.: E. MIEGUEZ
 EXP1 PULSE SEQUENCE: SPSMA
 DATE 02-19-92
 SOLVENT CDCL3
 FILE H


 CENTRO ANALITICA
 UNPM - UFBJ



Espectro 57. Espectro de RMN-¹H da mistura sitosterol e estigmasterol.

PARTE EXPERIMENTAL

Material e Métodos

Os pontos de fusão (p.f.) foram determinados em aparelho de Kofler com microscópio e não foram corrigidos.

Os espectros de massas de baixa resolução foram obtidos no espectrômetro VG AUTOSPEC utilizando feixe de íons de 70 eV.

Os cromatogramas foram obtidos em cromatógrafo com fase gasosa do tipo HP 5890 SERIE II, utilizando-se em todas análises coluna OV-101, 25m, temperatura do injetor 280 °C, programação da temperatura 40-240 °C, 4 °C/min., vazão do gás de arraste (He) 1ml/min. A injeção de amostra foi do tipo "split" numa razão de 1:50.

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em espectrômetros PERKIN-ELMER, modelos 137 e 783 de feixe duplo, usando pastilhas comprimidas de KBr anidro, ou filmes em células de NaCl. Os valores para as absorções foram medidos em unidade de número de ondas (cm^{-1}) e os espectros foram calibrados com filme de poliestireno utilizando os sinais em 3027, 1601 e 1028 cm^{-1} .

Os espectros na região do ultravioleta foram obtidos em aparelho do tipo BECKMAN DU-6, em solventes com grau de pureza espectroscópica.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H (200 MHz) e de ^{13}C (50 MHz) foram obtidos em aparelho VARIAN GEMINI 200, em solventes deuterados, usando TMS como padrão interno. A multiplicidade dos sinais foi obtida utilizando as técnicas DEPT e APT.

As separações cromatográficas foram efetuadas sobre gel de sílica do tipo ASTH (70-230 mesh) para coluna e do tipo G para camada fina e

sobre papel do tipo Whatman No.1. A visualização das substâncias foi feita utilizando radiação ultravioleta a 254nm, KOH 5% em metanol, vapores de iodo, revelador de Liebermann-Burchard, CeSO₄ 2% em ácido sulfúrico, vanilina 1% em ácido sulfúrico e oxalato de anilínio, seguidos de aquecimento segundo o caso.

Os critérios de pureza adotados foram: a observação do ponto de fusão e a obtenção de uma mancha única em cromatografia de camada delgada, utilizando-se sistemas de eluentes distintos.

A eliminação dos solventes dos extratos e das frações de colunas cromatográficas foi feita à pressão reduzida em evaporador rotatório BUCHI.

Os solventes utilizados na produção dos extratos, para as diferentes técnicas cromatográficas e para a recristalização das substâncias isoladas foram purificados por secagem e por destilação, constando de: éter de petróleo, hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e etanol. Outros solventes utilizados foram do grau P.A. As misturas de solvente foram feitas volume para volume (V/V).

Coleta e Preparo do Material Botânico

As espécies *Ficus insipida* Willdenow e *Pourouma guyanensis* Aublet foram coletadas e identificadas pelo Prof. Dr. Jorge Pedro Pereira Carauta. As exsicatas encontram-se no Herbário Alberto Castellanos (GUA), sob os números de registro 6300 e 6303, respectivamente.

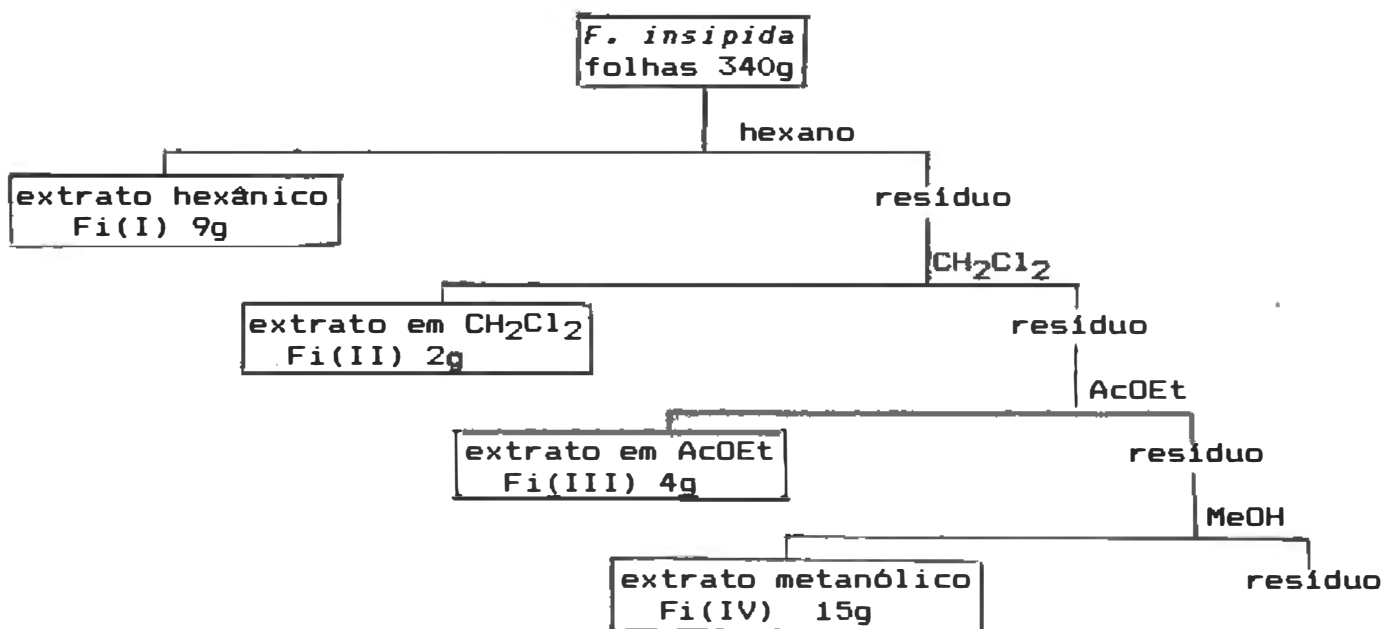
F. insipida foi coletado na sede da FEEMA, no Parque Nacional da Floresta da Tijuca, Município do Rio de Janeiro, RJ. *P. guyanensis* foi coletada na encosta da Serra do Mar, no Município de Mangaratiba, RJ.

Separadamente as folhas, as cascas e os ramos foram secos a sombra e a temperatura ambiente, sendo posteriormente moídos em moinho de facas e pesados. O que resultou em 340g de folhas, 300g de ramos e 164g de casca.

Obtenção dos Extratos

Folhas de *F. insipida* (340g) foram extraídas por maceração em hexano durante 30 dias com troca de solvente a cada 3 dias. A evaporação do solvente forneceu 9g de extrato hexânico [Fi(I)]. A seguir as folhas foram extraídas em sequência com diclorometano, com acetato de etila e com metanol, fornecendo respectivamente 2g de Fi(II), 4g de Fi(III) e 15g de Fi(IV). (Esquema 05, pág. 96).

Folhas de *P. guyanensis* (300g) foram extraídas com hexano, utilizando-se mesma técnica descrita para *F. insipida*. A evaporação do



Esquema 05. Extração de folhas de *Ficus insipida* com solventes de polaridades diferentes.

solvente forneceu 6g de extrato hexânico [Pg(III)]. Em seguida as folhas de *P. guyanensis* foram submetidas à extração com metanol, o que forneceu 11g de extrato metanólico [Pg(IV)].

ELUENTE	%	FRAÇÕES RECOLHIDAS	FRAÇÕES TRABALHADAS	CODIGO
Hexano	100,0	01-04	01	1Fi(I)
Hexano/AcOEt	1,0	05-06		
	1,5	07-08		
	2,0	09-11		
	2,5	12-13		
			12-14	14Fi(I)
	3,5	14-16		
	4,5	17-18		
			15-19	17Fi(I)
	6,0	19-21		
			20-22	20Fi(I)
	10,0	22-25		
	15,0	26-29		
	20,0	30-32		
	25,0	33-35		
	30,0	36-38	31-36	36Fi(I)
35,0	39-41			
40,0	42-45			
50,0	46-47			
75,0	48-49			
AcOEt	100,0	50		
AcOEt/MeOH	1,0	51		
	2,0	52		
	5,0	53		
	10,0	54		
	20,0	55		
	30,0	56		
	50,0	57		
	70,0	58		
MeOH	100,0	59		
MeOH/AcOH	2,0	60		

Tabela 13. Fracionamento do extrato hexânico de folhas de *F. insipida*, por cromatografia em coluna de gel de sílica.

Fracionamento dos Extratos

Ficus insipida

Extrato hexânico - O extrato hexânico de folhas de *F. insipida* (9g) foi fracionado por cromatografia em coluna de gel de sílica (270g), utilizando-se como eluente gradientes de hexano, acetato de etila e metanol. As frações obtidas foram reunidas em grupos segundo o seu comportamento em cromatografia de camada delgada em gel de sílica (Tabela 13, pág 97; Cromatograma 07, pág. 99).

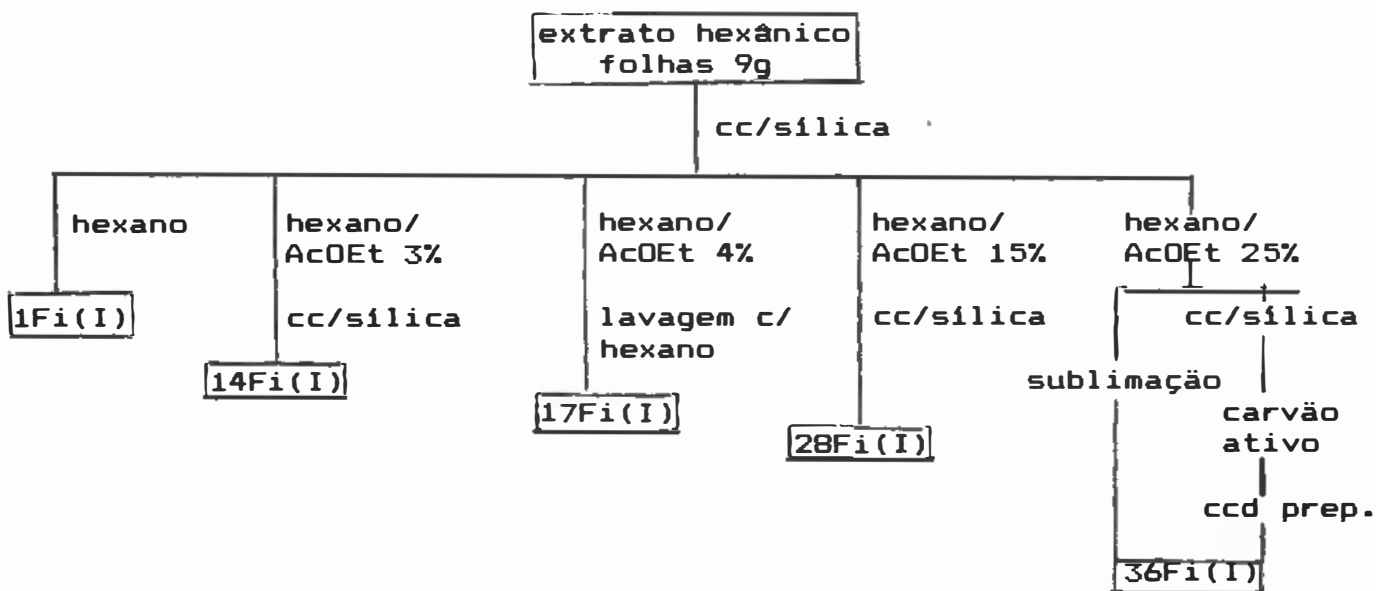
Essas frações (Esquema 06, pág. 99) foram trabalhadas para purificação de seus constituintes o que resultou no isolamento e identificação das substâncias: n-alcanos C₂₇-C₃₃, esqualeno, isohopenolactona, simiarenol, sitosterol, estigmasterol e psoraleno.

Extrato Metanólico - A concentração do extrato metanólico de *F. insipida* forneceu grande quantidade de um precipitado amorfo (3g) de cor bege, com grande teor de KCl, o qual foi codificado como 1Fi(IV).¹¹⁴

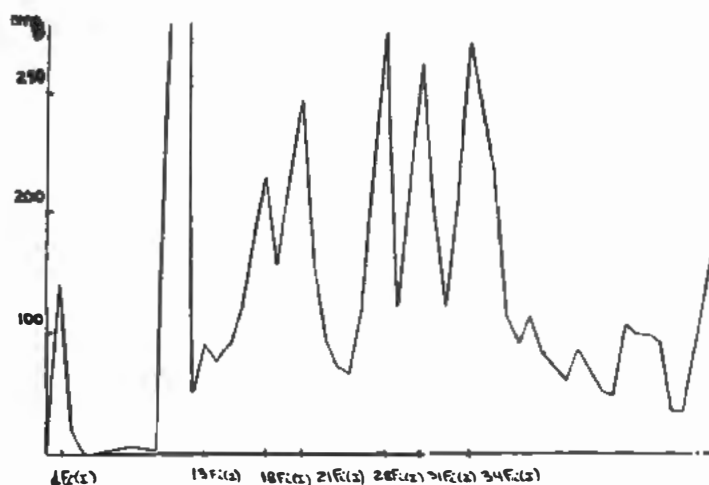
O resíduo seco separado do sal e solubilizado em MeOH/H₂O (3:2) foi fracionado por partição com solventes de polaridade crescente (Esquema 07, pág. 100). Após as extrações por partição, o material remanescente foi fracionado por cromatografia em coluna de gel de sílica desativada com 10% de água destilada (Tabela 14, pág. 100). Gradientes de polaridade crescente de CH₂Cl₂ e MeOH foram empregados como eluente nesse processo, o que resultou no isolamento de uma substância codificada como 6Fi(IV), identificada como sacarose.

A identificação de glicose, frutose e sacarose nas frações 5 e 6 foi feita por intermédio de cromatografia em papel com 4 sistemas de

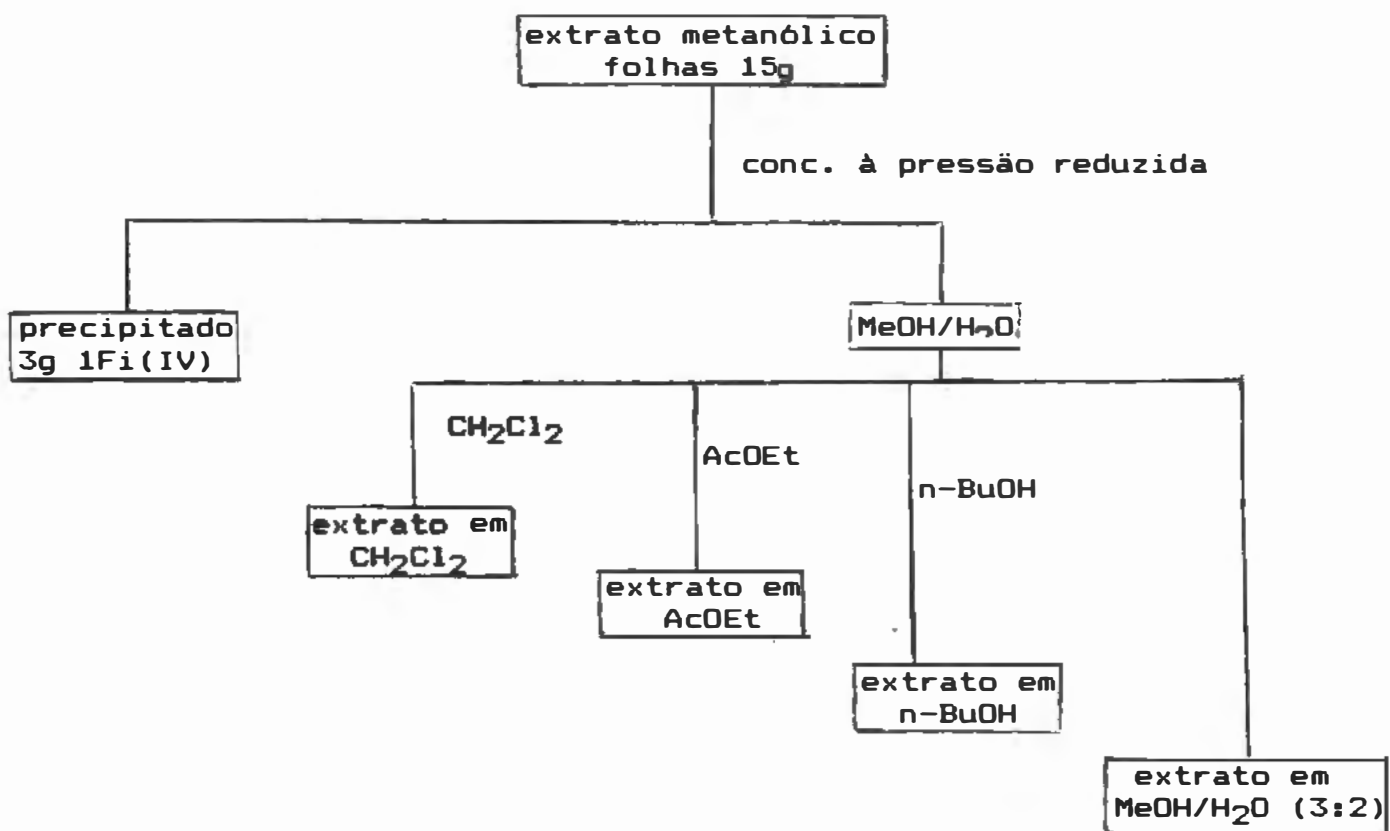
solventes diferentes: n-butanol/ácido acético/água (4:1:5), fase superior, 18h; n-butanol/piridina/água (6:3:1), miscíveis, 18h; n-butanol/etanol/água (5:1:4), fase superior, 16h; e acetato de etila/piridina/água (8:2:1), 20h. Os padrões utilizados foram xilose, galactose, arabinose, rhamnose, manose, glicose, frutose e sacarose. As substâncias foram reveladas com oxalato de anilínio sob aquecimento em estufa à 100 °C por 3 min.



Esquema 06. Isolamento e purificação das substâncias contidas no extrato hexânico de folhas de *Ficus insipida*.



Cromatograma 07. Separação cromatográfica do extrato hexânico de folhas de *Ficus insipida*.



Esquema 07. Fracionamento do extrato metanólico de folhas de *Ficus insipida*.

ELUENTE	FRAÇÕES RECOLHIDAS	CODIGO
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 60:40	1 2	
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 50:50	3	
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 40:60	4	
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 30:70	5	
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 20:80	6	6Fi(IV)
MeOH	7	

Tabela 14. Fracionamento do extrato MeOH/H₂O de folhas de *F. insipida*, por cromatografia em coluna de gel de sílica desativada com 10% de H₂O.

Pourouma guyanensis

Óleo essencial de *Pourouma guyanensis* - Flores masculinas, folhas e cascas foram, separadamente, reduzidas a pequenos fragmentos e submetidas a arraste com vapor d'água, com extração simultânea da fase aquosa com hexano, em aparelho de extração líquido/líquido modificado (Figura 14, pág. 102). O óleo obtido foi analisado através de cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas e a identificação das substâncias foi feita por comparação dos seus dados espectroscópicos com as informações da literatura e da biblioteca de espectros do espectrômetro usado. Os cromatogramas do óleo essencial de *P. guyanensis* e os espectros de massas correspondentes encontram-se representados nas páginas 65-80.

Deteccão de Polifenóis de *P. guyanensis*

A pesquisa de taninos gálicos, condensados e fenóis totais em folhas, cascas dos ramos, ramos e sementes seguiu os procedimentos descritos por Bate-Smith^{110,111} e Seikel¹¹². Os padrões utilizados para análise quantitativa desses polifenóis foram catequina e ácido gálico, submetidos as mesmas condições de análise de taninos condensados e gálicos, respectivamente.

Extrato hexânico - O extrato hexânico de folhas de *P. guyanensis* foi fracionado por cromatografia em coluna de gel de sílica, utilizando-se como eluente hexano, acetato de etila e metanol, em gradientes de polaridade crescente. As frações obtidas foram reunidas em grupos segundo o seu comportamento em cromatografia de camada

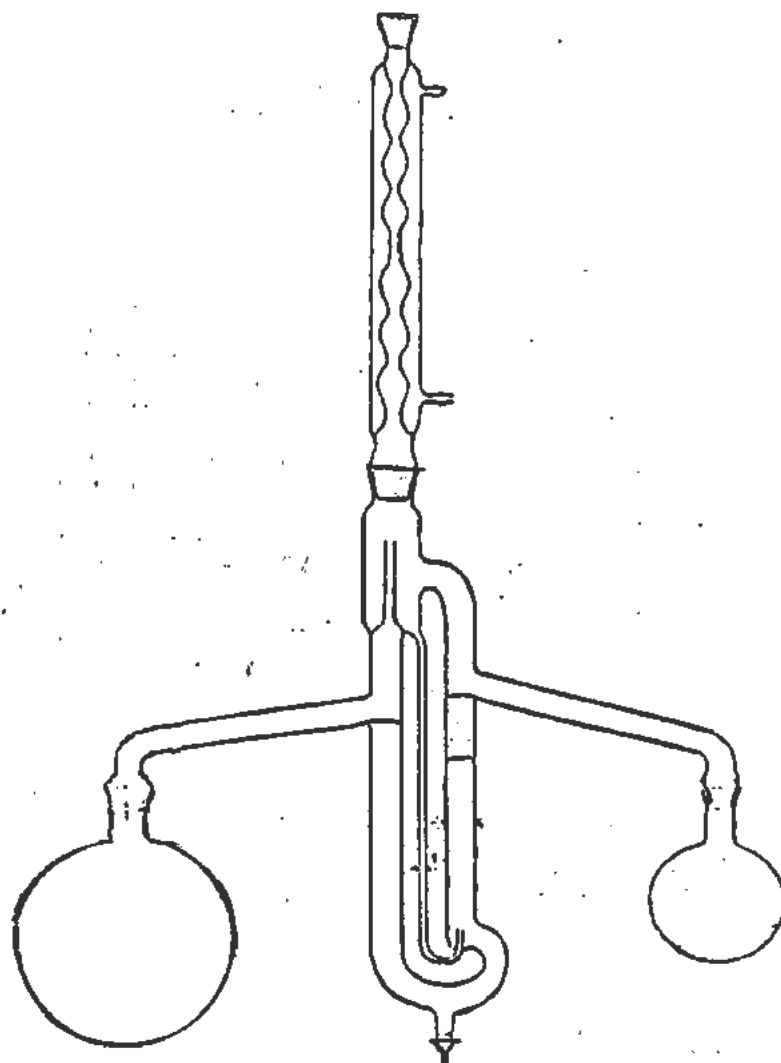


Figura 14. Extrator líquido/líquido modificado para obtenção de óleo essencial.

delgada em gel de sílica (Tabela 15, pág. 103). Essas frações foram trabalhadas para purificação de seus constituintes, o que resultou no isolamento das substâncias: friedelina, sitosterol, estigmasterol.

Extrato metanólico - Uma alíquota dessa fração foi submetida a hidrólise ácida com solução de HCl 1% em metanol, o que indicou a presença de proantocianidinas (taninos condensados).

ELUENTE	%	FRAÇÕES RECOLHIDAS	FRAÇÕES TRABALHADAS	CODIGO
Hexano	100,0	01-10		
Hexano/AcOEt	1,0	11-13		
	1,5	12-16		
	2,0	17-21		
	2,5	22-24		
	3,5	25-28		
	4,5	29-32	25-30	25PgIII
	5,0	33-39	33-34	33PgIII
	6,5	40-43		
	7,0	44-47		
	10,0	48-54	49-50	50PgIII
	15,0	55-56		
	20,0	57-60		
	30,0	61-62		
	40,0	63-64		
	50,0	65		
AcOEt	100,0	66		
AcOEt/MeOH	3,0	67		
	6,0	68		
	8,0	69		
	10,0	70		
	20,0	71		
	30,0	72		
MeOH	100,0	73		
MeOH/AcOH	2,0	74		

Tabela 15: Fracionamento do extrato hexânico de folhas de *P. guyanensis*, por cromatografia em coluna de gel de sílica.

Caracterização das Estruturas

Extrato hexânico de folhas de *Ficus insipida*

Esqualeno e n-alcenos (C₂₇-C₃₃) [1Fi(I)] - A fração 1 eluída em hexano (Tabela 13, pág. 97) apresentava cristais brancos (138mg) com ponto de fusão em 60-64 °C. Cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas indicou tratar-se de uma mistura. Os componentes foram identificados por comparação de seus dados espectroscópicos com os da literatura e com o banco de dados do espectrômetro VG AUTOSPEC (NPPN/UFRJ).

Isohopenolactona [14Fi(I)] - Da recromatografia das frações 12-14 eluídas em hexano/acetato de etila 3% (Tabela 13, pág. 97) foi isolado um material cristalino (13mg) com ponto de fusão em 172-174°C, solúvel em diclorometano.

E.M. m/z(abundância relativa): M⁺ 438(68); 423(14); 394(35); 379(8); 219(18); 203(9); 189(100); 175(46); 161(15); 147(14); 135(13); 121(26); 107(31); 95(29), 81(26); 67(15) e 55(21).

I.V. $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3437, 3074, 2968, 2933, 2893, 2864, 1806, 1725, 1644, 1481, 1459, 1378, 1350 e 882.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS): δ 0,69 (3H, d, J 1,0 Hz); 0,92 (3H, s); 0,98 (3H, s); 1,05 (3H, s); 1,48 (3H, s); 1,69 (3H, s); 4,38 (1H, dd, J 6,8 e 5,1 Hz); 4,67 (1H, m) e 4,69 (1H, m).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃, TMS): ppm 12,6 (CH₃); 15,0 (CH₃); 16,6 (CH₃); 16,9 (CH₃); 19,2 (CH₃), 19,6 (CH₂); 20,8 (CH₂); 21,3 (CH₂); 22,9 (CH₃); 23,8 (CH₂); 27,3 (CH₂), 32,5 (CH₂); 32,6 ((CH₂); 35,6 (C); 36,7 (CH₂); 40,1 (CH₂); 41,8 (C); 42,4 (C); 44,1 (C); 47,9 (CH), 48,5

(CH); 52,6 (CH); 53,8 (CH); 55,4 (C); 77,4 (CH); 109,5 (=CH₂); 148,1 (=C<) e 175,6 (C=O).

Simiarenol [17Fi(I)] - A purificação por simples lavagem com hexano das frações 15-19, eluídas da coluna em hexano/acetato de etila 4% (Tabela 13, pág. 97), possibilitou isolar um material cristalino (147mg), com ponto de fusão em 186-188 °C, solúvel em diclorometano.

E.M. m/z(abundância relativa): M⁺ 426(5); 411(3); 408(4); 393(2); 274(100); 259(68); 245(7); 231(15); 205(11); 191(6); 189(8); 175(9); 152(26); 134(39); 122(31); 107(25); 95(30); 81(24); 69(24) e 55(36).

I.V. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3520, 2950, 2880, 1475, 1455, 1380, 1370, 835 e 820.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS): δ 0,78 (3H, s); 0,83 (3H, d, J 6 Hz); 0,89 (3H, s); 0,89 (3H, d, J 6 Hz); 0,93 (3H, s); 1,01 (3H, s); 1,05 (3H, s); 1,14 (3H, s); 3,48 (1H, dd, J 3 e 1 Hz) e 5,64 (1H, m).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃, TMS): ppm 14,86 (CH₃); 15,61 (CH₃); 15,93 (CH₃); 17,72 (CH₃); 17,93 (CH₂); 19,78 (CH₂); 21,82 (CH₃); 22,78 (CH₃); 23,92 (CH₂); 25,32 (CH₃); 27,64 (CH₂); 28,18 (CH₂); 28,86 (CH₂); 28,94 (CH₃); 28,97 (CH₂); 29,58 (CH₂); 30,63 (CH); 34,02 (CH₂); 34,68 (C); 35,29 (CH₂); 38,46 (C); 39,17 (C); 40,66 (C); 42,65 (C); 44,11 (CH); 50,11 (CH); 51,60 (CH); 59,89 (CH); 76,16 (CH); 121,77 (CH); 141,85 (C).

Sitosterol e Estigmasterol [28Fi(I)] - Da recromatografia das frações 27-29, eluídas em hexano/acetato de etila 15% (Tabela 13, pág. 97), foi isolado um material cristalino (64mg) com ponto de fusão em 138-140 °C, solúvel em diclorometano.

E.M. m/z(abundância relativa): M⁺ 414(12); 412(3); 399(5); 396(52); 381(18); 329(4); 303(6); 275(16); 255(38); 213(23); 159(41); 145(66); 133(42); 119(37); 105(70); 95(53); 81(82); 69(48) e 55(100).

Psoraleno [36Fi(I)] - Substância obtida por sublimação à pressão reduzida (27mg) das frações 31-36, eluídas em hexano/acetato de etila 25%, formada por cristais brancos com ponto de fusão em 166-168 °C, solúvel em diclorometano.

E.M. m/z(abundância relativa): M⁺ 186(100); 158(83); 130(13); 102(25) e 76(11).

U.V. max (hexano): 331(0,545); 289(0,918) e 248(2,129).

Extrato hexânico de *Pourouma guyanensis*

Friedelina [33Pg(III)] - Por simples lavagem com éter de petróleo das frações eluídas em hexano/acetato de etila 5% (Tabela 15, pág.103) foi isolada uma substância cristalina (50mg), com ponto de fusão em 264-266 °C, solúvel em diclorometano.

E.M. m/z(abundância relativa): M⁺ 426(20); 411(8); 341(5); 302(18); 287(7); 273(29); 246(17); 232(16); 218(27); 205(33); 193(11); 179(28); 163(30); 150(14); 137(30); 125(69); 109(71); 95(77); 81(57); 69(100) e 55(59).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS): δ 0,72 (3H, s); 0,86 (3H, s); 0,88 (3H, d, J 6,7 Hz); 0,96 (3H, s); 0,99 (3H, s); 0,99 (3H, s); 1,06 (3H, s); 1,19 (3H, s) e 2,24 (1H, q, J 6,7 Hz)

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃, TMS): ppm 6,7 (CH₃); 14,5 (CH₃); 17,8 (CH₃); 18,1 (CH₂); 18,6 (CH₃); 20,1 (CH₃); 22,2 (CH₂); 28,0 (C); 29,9 (C); 30,4 (CH₂); 31,7 (CH₃); 32,0 (CH₃); 32,3 (CH₂); 32,7 (CH₂); 34,9 (CH₃); 35,2 (CH₂); 35,5 (CH₂); 35,9 (CH₂); 37,3 (C); 38,2 (C); 39,1

(CH₂): 39,6 (C); 41,2 (CH₂); 41,4 (CH₂); 42,0 (C); 42,7 (CH); 53,0 (CH); 58,1 (CH); 59,4 (CH) e 213,0 (C=O).

Sitosterol e estigmasterol [50Pg[III]] - As frações 49-50, eluídas em hexano/acetato de etila 10% (Tabela 15, pág. 103), forneceram 24mg de cristais em agulhas, prontamente solúveis em diclorometano, com ponto de fusão em 128-134 °C.

E.M. m/z(abundância relativa): M⁺ 414(100); 412(21); 399(18); 396(43); 381(8); 329(8); 303((21); 284(12); 273(8); 255(23); 231(6); 213(17); 199(7); 159(22); 145(33); 133(19); 119(19); 105(32); 95(34); 81(44); 69(54).

RMN-¹H (200 MHz; CDCl₃, TMS): δ 0,68 (3H, s); 0,69 (3H, s); 0,81 (3H, d, J 6,0 Hz); 0,83 (3H, d, J 6,0 Hz); 0,85 (3H, d, J 7,0 Hz); 0,92 (3H, d, J 6,0 Hz); 1,01 (3H, s); 3,5 (1H, m); 5,02 e 5,15 (2H, 2xddd) e 5,35 (1H, m).

ATIVIDADE BIOLÓGICA

Introdução

O grande desenvolvimento da quimioterapia anti-parasitária verificado especialmente a partir da década de 60, propiciando a síntese de agentes de elevada eficácia e seletividade, constituiu um dos principais fatores responsáveis pelo desinteresse observado nos últimos anos no estudo das plantas tidas como anti-helmínticas.

Produtos tradicionais e reconhecidamente úteis como o látex de algumas espécies de *Ficus* (*F. glabrata*, *F. doliaria* e *F. anthelmintica*) e o óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* (erva de Santa Maria), foram banidos da prática médica diante do aparecimento de novas especialidades farmacêuticas. No nosso país, essas plantas são utilizadas apenas na medicina popular e por grupos indígenas.

A luz dos novos conhecimentos foi analisada a ação anti-helmíntica do látex de *F. insipida*.

Por outro lado, o interesse na busca de novas substâncias fotossensibilizantes de origem vegetal se mantém. *Pourouma guyanensis*, por pertencer a uma família potencialmente produtora de fototoxinas, foi examinada no intuito de detectar essas substâncias.

Atividade Anti-helmíntica do Látex de *Ficus insipida*

Foi avaliada a atividade anti-helmíntica de *Ficus insipida* em camundongos naturalmente infectados com oxiurídeos *Syplacia obvelata* e *Aspiculuris tetraptera*, assim como com o cestóideo *Vampirolepis nana*.

Metodologia empregada

Foram utilizados camundongos com peso médio de 20g, de linhagem NIH da colônia mantida no Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Nas experiências os animais foram separados por sexo e mantidos em gaiolas de polipropileno (30x20x13 cm), tendo ao fundo um estrado de tela rígida (malha de 7x7mm) sobre folhas de papel absorvente, visando facilitar a coleta diária de fezes. A aplicação intragástrica foi realizada empregando-se uma sonda fina e flexível de polietileno. Utilizaram-se um tamis de malha 125µm e um microscópio estereoscópico do tipo WILD M-5.

O látex fresco de *F. insipida* foi coletado no final de fevereiro de 1992 e foi mantido em geladeira até a realização do ensaio. O látex foi aplicado por via intragástrica, durante três dias consecutivos, em volumes de 1ml, em doses correspondentes a 25ml/Kg, 10ml/Kg e 12,5ml/Kg, respectivamente. Observou-se um período de jejum de 4 a 6h antes de cada aplicação. As fezes eliminadas a cada período de 24h foram coletadas até o quinto e último dia dos testes, num total de 4 coletas. As fezes foram lavadas em água corrente através de tamis e examinadas ao microscópio. Durante os exames fecais, procedeu-se a contagem de oxiurídeos presentes e a coleta de proglótides de *Vampirolepis nana* eliminados, cujo peso úmido foi determinado em balança analítica. No último dia de testes, os animais foram sacrificados por inalação de vapores de éter etílico e necropsiados. Segmentos de *V. nana* foram retirados do intestino delgado e no intestino grosso fez-se a contagem de *Syplacia obvelata* e de *Aspicularis tetraptera* remanescentes no ceco e no colo, respectivamente.¹¹⁴

Como padrões de referência utilizou-se um lote 10 camundongos tratados com uma suspensão aquosa de nitroscanato (Lopatol, CIBA GEIGY), nas doses de 50mg/Kg no primeiro dia e de 100mg/Kg nos dias subsequentes. Nitroscanato é uma droga ativa tanto para oxiurídeos quanto para cestóides. Outro padrão de referência empregado em lote de 10 animais foi o Pamoato de pirantel (Combactrim, PFIZER), na dose de 10mg/Kg durante os três dias. Pamoato de pirantel é uma droga ativa para oxiurídeos. Todas as condições foram as mesmas adotadas para os lotes que receberam o látex, inclusive para o lote controle com 10 animais não tratados.

A avaliação do efeito anticestóide foi expressa em termos percentuais, considerando-se o peso dos proglótides eliminados nas fezes em relação ao peso total de segmentos (fecais + intestinais).

$$\% \text{ de atividade anti-cestóide} = \frac{\text{peso (mg) de proglótides eliminados nas fezes após o tratamento}}{\text{peso (mg) de proglótides eliminados após tratamento} + \text{peso (mg) de proglótides recuperados na necrópsia}}$$

A avaliação do efeito anti-nematóide foi expressa em termos percentuais considerando-se o número de vermes eliminados nas fezes em relação ao número total de vermes (fecais + intestinais).

$$\% \text{ de atividade anti-nematóide} = \frac{\text{no total de oxiurídeos eliminados nas fezes após o tratamento}}{\text{no total de oxiurídeos eliminados após tratamento} + \text{no total de oxiurídeos recuperados na necrópsia}}$$

A atividade anti-helmíntica do látex de *F. insipida* pode ser bem analisada nos dados registrados na Tabela 16, pág. 112.

A análise dos gráficos permite verificar que a atividade anti-helmíntica para *S. obvelata* foi inferior ao controle (Gráfico 02, pág. 113) e isso pode ser devido ao baixo nível de infecção do lote utilizado. Verificou-se uma tênue atividade para *A. tetraptera* (Gráfico 03, pág. 113), que mostrou uma eliminação espontânea quase nula. O gráfico 04 (pág. 113) permite verificar uma tênue atividade para *V. nana*.

De acordo com a Tabela 16 (pág. 112) pode-se notar um total de 60% de camundongos mortos ao final dos testes. Durante a necrópsia, constatou-se que esses animais apresentavam processos inflamatórios em alguns pontos dos intestinos.

Os vermes eliminados apresentavam seus corpos parcialmente digeridos, possivelmente devido a atividade enzimática de proteases vegetais.

O modelo de teste descrito acima, denominado Teste Crítico Controlado¹¹⁴, é importante na medida em que tem sido extensivamente utilizado na determinação da eficácia de diversos agentes anti-parasitários, dentre os quais alguns já se encontram introduzidos na terapêutica.

Comparando a elevada toxidez observada no látex de *F. insipida* e a tênue atividade anti-helmíntica em relação aos novos agentes anti-parasitários, deve ser energicamente desaconselhado o uso popular desse látex.

Detecção Biológica de Lectinas no Látex de *Ficus insipida*

As lectinas são proteases vegetais com propriedade hemaglutinante devido a capacidade de se ligarem a açúcares da membrana celular de

ANIMAL	DOSES												
	I	II			III								
		S	A	V	S	A	V	S	A	V	S	A	V
1	0	0	0	0	1,0	2,0	0	0	1,2	0	0	1,4	
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3	0	5,0	0,5	0	2,0	2,0	0	0	0	-	-	-	
4	0	1,0	0,2	0	104,0	3,0	0	3,0	0,2	0	0	6,0	
5	0	1,0	1,3	0	0	1,3	0	0	0,5	-	-	-	
6	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
7	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
8	0	3,0	2,1	0	1,0	0,3	-	-	-	-	-	-	
9	0	5,0	1,0	0	1,0	4,0	0	1,0	8,0	1,0	0	1,6	
10	0	0	0	0	1,0	0	-	-	-	-	-	-	
TOTAL		0	15,0	5,4	0	110,0	12,6	0	4,0	9,9	1,0	0	9,0
DIAS	1 ^o	2 ^o			3 ^o			4 ^o			5 ^o		

NECROPSIA

ANIMAL	CECO	COLO	TOTAL	N ^o	PESO
1	8,0	3,0	11,0	2	-
2	0	1,0	1,0	0	-
3	-	-	-	-	-
4	0	700,0*	700,0	19	19
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-
9	10,0	9,0	19,0	1000,0*	18
10	-	-	-	-	-

* estimativa

DOSES

I = 25,0 ml/Kg

II = 10,0 ml/Kg

III = 12,5 ml/kg

LEGENDA

S= *Syphacia obvelata*

A= *Aspicularis tetraptera*

V= *Vampirolepsis nana*

PADROES

PAMOATO DE FIRANTEL

PAMOATO DE FIRANTEL

NITROSCANATO

CONTROLE

S= 20,0%

A= 0,6%

V= 12,5% (4 animais)

% DE ATIVIDADE ANTI-HELMINTICA

S= 5,5%

A= 13,8%

V= 28,4%

Tabela 16. Resultados obtidos dos ensaios de atividade anti-helmintica do látex de *F. insipida* em camundongos.

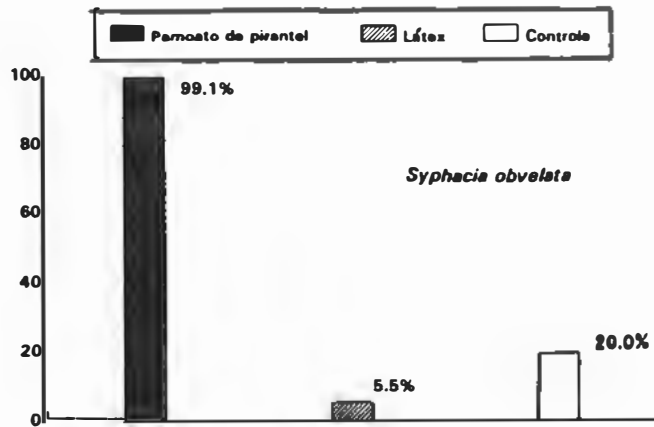


Gráfico 02. Influência do látex na eliminação de *S. obvelata* em camundongos.

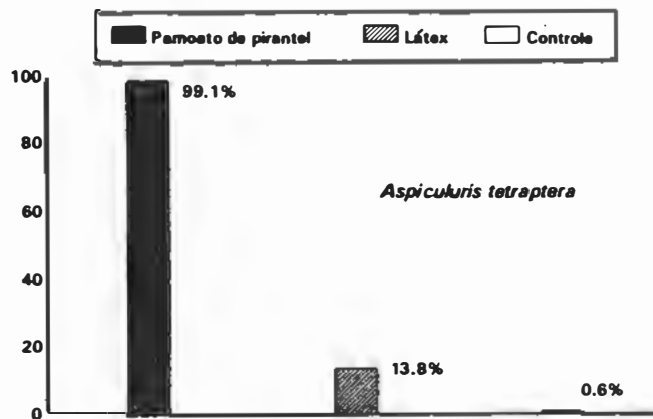


Gráfico 03. Influência do látex na eliminação de *A. tetraptera* em camundongos.

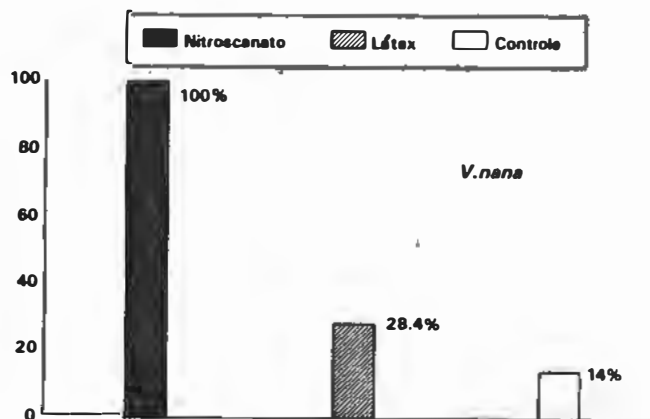


Gráfico 04. Influência do látex na eliminação de *V. nana* em camundongos.

eritrócitos.¹¹⁵ Essas substâncias ocorrem em teores elevados no látex de espécies de Euphorbiaceae (por exemplo, ricina em *Ricinus comunis*) e em sementes de espécies de Fabaceae (por exemplo, abrina em *Abrus precatorius*). Um detalhe que desperta atenção é a proximidade entre Moraceae, na qual se inclui a espécie estudada, e Euphorbiaceae. Ambas famílias foram incluídas por Dahlgren na superordem Malviflorae.

A ficina (EC 3.4.22.3) é uma enzima proteolítica que possui cisteína em seu centro ativo. Ela é comumente isolada do látex de *F. glabrata*¹¹⁶, sendo a enzima mais estudada dentre as isoladas do látex de figueiras. Estudos de sequenciamento de ácidos aminados, na região dos resíduos de cisteína e de histidina, relacionam essa protease à papaína, substância encontrada no látex de *Carica papaya*. Uma enzima de composição similar foi isolada de *F. anthelmintica*.¹¹⁷ De *F. carica* foi obtida uma outra protease que difere bastante na sua composição em ácidos aminados, muito embora possua uma unidade cisteína no seu centro ativo.

A ação hemaglutinante das ficinas vem sendo amplamente descrita na literatura¹¹⁸ e é por intermédio dessa propriedade que se tentou detectar a presença dessas proteases vegetais em *F. insipida*.

Metodologia

O látex foi coletado fazendo-se incisões nas extremidades verdes dos ramos de *F. insipida* e foi mantido em geladeira. O soro desse látex foi obtido por centrifugação a 2000 rpm durante 10 minutos. A fração formada na superfície foi separada, restando o soro do látex que foi submetido ao teste para avaliação de sua atividade hemaglutinante.

Hemácias de coelho foram escolhidas para o ensaio e após incubação com solução 0,25% de tripsina a 37°C por 1h e posteriormente lavadas com PBS ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} / \text{KH}_2\text{PO}_4 / \text{NaCl}$, pH 7,1). O padrão escolhido para a resposta hemaglutinante foi a concanavalina A na concentração inicial de 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Como controle foi utilizada uma suspensão de hemácias de coelho a 2% em uma solução de PBS-BSA ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} / \text{KH}_2\text{PO}_4 / \text{NaCl}$, pH 7,1, contendo 0,25% de albumina sérica bovina). Glicose, na concentração inicial de 10 mM, foi empregada como inibidor da reação de hemaglutinação.

A reação de hemaglutinação foi realizada em microplacas de sorologia com escavações, nas quais se distribuíram diferentes diluições do soro a dosar. Depositou-se em cada escavação solução salina (25 μl) e, a seguir, foi adicionado em uma das escavações soro do látex (25 μl). Após agitação cuidadosa, o conteúdo dessa escavação foi transferido sucessivamente para as outras escavações de modo a obter diluições progressivas do soro (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 e 1:256). Por último foi adicionada a suspensão de eritrócitos a 2% em PBS-BSA com leve agitação para misturar os reagentes, incubando-se por 1h à temperatura ambiente. Após esse período o resultado foi interpretado com base no aspecto do sedimento, o qual **apresentou a** forma de um "botão" nas reações negativas (hemácias + PBS e hemácias + concanavalina A + glicose) e a forma de um "lençol" **circular de** bordos irregulares nas reações fortemente positivas (hemácias + PBS + concanavalina A), aparecendo também casos intermediários (Esquema 08, pág.116).

As reações do látex, embora bem distintas do controle, não foram completamente hemaglutinantes em qualquer das diluições, o que

acontece com a concanavanina A até a diluição 1:32 (Esquema 08, pág. 116) Nas reações com soro do látex a hemaglutinação apresentou o aspecto intermediário desde a primeira diluição até 1:16. Essa situação pode ser devida a fatores, tais como a baixa concentração de lectinas no látex ou a menor capacidade hemaglutinante dessas proteases. Outros ensaios deverão ser feitos para delinear a capacidade hemaglutinante desse material, chegando inclusive a purificação das enzimas nele contidas.

	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
A								
B								
C								
D								

Esquema 08. Resultados do teste de hemaglutinação do soro do látex de *Ficus insipida* (A= controle, B= concavanina A, C= soro do látex, D= concavanina A + glicose).

Atividade Fotossensibilizante de *P. guyanensis*

A atividade biológica de furocumarinas lineares vem sendo relacionada à reações fotoquímicas com bases pirimidínicas do DNA. Embora o modo de ação dessas substâncias não esteja completamente elucidado, parece envolver modificações no DNA, RNA e possivelmente em proteínas.¹²⁰

P. guyanensis, por pertencer a uma família potencialmente produtora de fotoxinas foi examinada no intuito detectar-se essas substâncias.

A análise cromatográfica dos extratos em hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol mostraram em comum a fração fluorescente codificada 25Pg(III).

A atividade fotossensibilizante foi avaliada utilizando-se células de *Escherichia coli* em suspensão, irradiadas com U.V. a 365 nm, por períodos crescentes até se atingir a intensidade luminosa de 15 J/m^2 . O efeito pode ser medido através da capacidade de formação de colônias em meio de cultura sólido com agar.

A amostra 25Pg(III) foi utilizada na concentração $100 \mu\text{g/ml}$ em solução a 10^8 células de *E. coli* por ml. Como padrão utilizou-se psoraleno na concentração $4 \mu\text{g/ml}$. Como controle, todas as amostras foram analisadas na ausência de irradiação.

O único resultado positivo foi na amostra com psoraleno submetida a radiação ultravioleta, na qual observou-se a supressão do crescimento de colônias bacterianas.

CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico de folhas de *F. insipida* resultou na caracterização de dois triterpenóides pentacíclicos e um linear (simiarenol, isohopenolactona e esqualeno), dois esteróis (sitosterol e estigmasterol) e uma furanocumarina linear (psoraleno), além de n-alcenos (C₂₇-C₃₃), sacarose, frutose, glicose e cloreto de potássio. O triterpenóide denominado isohopenolactona é pela primeira vez descrito.

A pesquisa fitoquímica em *P. guyanensis* direcionou-se preferencialmente para o esclarecimento da composição das frações voláteis de flores masculinas, de folhas e da casca dos ramos, o que resultou na identificação de mono- e sesquiterpenóides (linalol, *cis*, *trans*-óxido de linalol, *cis*, *trans*-5-hidroxi-2,6,6-trimetil-2-viniltetraidropirano, aromadendreno, β-elemeno, α-cedreno, β-bergamopteno e cariofileno), salicilato de metila e hidrocarbonetos saturados (C₂₅-C₂₉).

A presença de taninos condensados (proantocianidinas) foi detectada no extrato hidroalcoólico de folhas, de casca dos ramos, de ramos e de sementes.

O estudo químico de folhas de *P. guyanensis* resultou no isolamento de um triterpenóide pentacíclico (friedelina) e dois esteróis (sitosterol e estigmasterol).

Com relação a atividade biológica dessas espécies, o valor terapêutico atribuído a *P. guyanensis* como cicatrizante e

anti-diarrréico é justificado pelas substâncias identificadas nessa espécie no presente estudo.

A fraca resposta anti-helmíntica de *F. insípida* aliada a sua elevada toxidez indica a impropriedade do seu uso pela população.

BIBLIOGRAFIA

01. KAPLAN, M.A.C., 1991 *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **86**, Suppl. II, 5
02. GOTTLIEB, O.R., 1992 *Quimica Nova* **15**(2), 167
03. BERG, C.C., 1989 Systematics and Phylogeny of the Urticales, em *Evolution, Systematics and Fossil History of The Hamamelidae*, Vol. 2 (P.R. Crane e J. Blackmore eds.), Clarendon Press, Oxford
04. TAKHTAJAN, A., 1969 *Flowering Plants - Origin and Dispersal*, Smithsonian Institution Press, Washington
05. DAHLGREN, R.M.T., 1980 *Bot. J. Linn. Soc.* **80**, 91
06. CRONQUIST, A., 1968 *The Evolution and Classification of Flowering Plants*, Columbia University Press, New York
07. CRONQUIST, A., 1981 *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, Columbia University Press, New York
08. BRUMMITT, R.K., 1992 *Vascular Plant Families and Genera*, Royal Botanic Gardens, Great Britain
09. CARAUTA, J.P.F., 1980 *Rodriguésia* **53**, 109
10. CARAUTA, J.P.F., 1989 *Albertoa* **2**, 1
11. BARROSO, G.M., GUIMARAES, E.F., ICHASO, C.L.F., COSTA, C.G. e FEIXOTO, A.L., 1978 *Sistemática de Angiospermas do Brasil*, Vol. 1, EDUSP, São Paulo
12. BERG, C.C., AKKERMANS, R.W.A.P. e VAN HEUSDEN, E.C.H., 1990 *Flora Neotropica* **51**, 1
13. JOLY, A.B., 1985 *Introdução à Taxonomia Vegetal*, Editora Nacional, São Paulo
14. PIO CORREA, M., 1984 *Dicionário das Plantas Uteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*, Vol. 5, IBDF, Rio de Janeiro
15. SPORNE, K.R., 1980 *New Phytol.* **85**, 419
16. GOTTLIEB, O.R., 1990 *Phytochemistry* **29**(1), 1715
17. PEREIRA, V.J., 1991 *Tese de Mestrado*, Instituto de Ciências Exatas, UFRRJ, Itaguaí
18. JOHNS, S.R., RUSSEL, J.H. e HEFFERMAN, M.L., 1965 *Tetrahedron Letters* **24**, 1987

19. RUSSEL, J.H., 1963 *Naturwiss.* **50**, 443
20. HERBERT, R.B. e MOODY, C.J., 1972 *Phytochemistry* **11**(3), 1184
21. VENKATACHALAM, S.R. e MULCHANDANI, N.B., 1982 *Naturwiss.* **69**(6), 287
22. RUSSEL, J.H. e HUNZIKER, H., 1969 *Tetrahedron Letters* **46**, 4035
23. OKAHARA, K., 1936 *Bull. Chem. Soc. Japan* **11**, 389
24. MOLISCH, H. *Ber. Deut. Botan. Ges.* **49**, 138
25. DALL'ACQUA, F., MARCIANI, S. e CHIARELOTTO, G., 1968 *Chemical Abstracts* **72**: 28842 m
26. MENDEZ, J., 1971 *Experientia* **27**(7), 758
27. AHMAD, F.I., AHMAD, S.A. e ZAMAN, A., 1971 *J. Indian Chem. Soc.* **48**(10), 979
28. YAROSH, E.A. e NIKONOV, G.K., 1971 *Khim. Prir. Soedin.* **7**(4), 521
29. YAROSH, E.A. e NIKONOV, G.K., 1973 *Khim. Prir. Soedin.* **9**(2), 269
30. EL-GAMAL, M.H.A., EL-BAY, F.K., EL-TAWILL, B.A.H. e GADALLA, K.Z., 1975 *Egypt J. Chem.* **18**(4), 767
31. ABU-MUSTAFA, E.A., EL-KHRISY, E.A.M. e KHATTAB, A.A., 1980 *Fitoterapia* **51**(5), 269
32. EL-BEIH, F.K.A. e EL-TAWIL, B.A.H., 1983 *Herba Hung.* **22**(2), 53
33. EL-GAMAL, M.H.A., EL-TAWIL, B.A.H. e FAYEZ, M.B.E., 1975 *Naturwiss.* **62**(10), 486
34. AHMAD, S.A., SIDDIQUI, S.A. e ZAMAN, A., 1976 *J. Indian Chem. Soc.* **53**(11), 1165
35. ABU-MUSTAFA, E.A., FAYEZ, M.B.E., EL-KHRISY, E.A. e KHATTAB, A.A., 1978 *Chemical Abstracts* **91**: 189814 m
36. ABU-MUSTAFA, E.A., EL-TAWIL, B.A.H. e FAYEZ, M.B.E., 1964 *Phytochemistry* **3**(6), 701
37. ABU-MUSTAFA, E.A., ABDEL-HAFEZ, O.M. e KHATTAB, A.A., 1985 *Fitoterapia* **56**(3), 184
38. EL-SAYYAD, S.M., SAYED, H.M. e MOUSA, S.A., 1986 *Bull. Pharm. Sci.* **9**(1), 164
39. CRAVEIRO, A.A., 1969 Tese de Mestrado, Instituto de Ciências Exatas, UFRRJ, Itaguai

40. ABDEL-WAHAB, S.M., EL-TOHAMY, S.F., SEIDA, A.A. e RASHWAN, D.A., 1989 *Bull. Fac. Pharm.* 27(1), 99
41. CHEN, C.T. e CHANG, C.Y., 1977 *Chemical Abstracts* 87: 19026 f
42. AGRAWAL, Y.K., 1977 *Chemical Abstracts* 87: 180649 w
43. SHRIVASTAVA, P.N., MISHRA, G.S. e SUKLA, Y.N., 1977 *Proc. Natl. Acad. Sci. India* 47(1), 1
44. JOSHI, K.C., FRAKASH, L. e SHAH, R.K., 1977 *J. Indian Chem. Soc.* 54(11), 1104
45. MERCHANT, J.R., BAKSHI, V.M. e ENGINEER, A.B., 1979 *Indian J. Chem.* 17B(1), 87
46. SINGHAL, R.K. e SAHARIA, H.S., 1980 *Herba Hung.* 19(2), 17
47. CHANDRA, S., LAL, J. e SABIR, M., 1979 *J. Indian Chem. Soc.* 56(12), 1269
48. BEHARI, M., GUPTA, C., ITOH, T. MATSUMOTO, T., 1982 *Indian J. Chem.* 21B(2), 170
49. ACHARYA, B.M., 1984 *Curr. Sci.* 53(19), 1034
50. ULTEE, A.J., 1922 *Bull Jardin Botan. Buitenzorg* 5, 241
51. SANTHAKUMARI, T.N. e PILLAY, P.P., 1960 *Chemical Abstracts* 54: 17933 e
52. SOLIMAN, G., SHABAN, M.A.M. e ATHNASIOS, A.K., 1962 *J. Chem. Soc.*, 4253
53. SHARMA, R.C., ZAMAN, A. e KIDWAI, A.R., 1963 *Indian J. Chem.* 1(8), 365
54. GALBRAITH, N.M., 1965 *Australian J. Chem.* 18(2), 226
55. WELLBURN, A.R e HEMMING, F.W., 1966 *Biochem. J.* 100(2), 23c
56. TS'ENG, K e YAO, T., 1966 *Chemical Abstracts* 64: 17353 b
57. RITCHIE, E., GALBRAITH, N.M., MILLER, C.J. e RAWSON, J.W.L., 1967 *Chemical Abstracts* 67: 61597 e
58. BEHARI, M., RANI, K.V., MATSUMOTO, T. e SHIMIZU, N., 1984 *Curr. Agric.* 8(1-2) 73
59. BASLAS, R.K. e AGHA, R., 1985 *Himalayan Chem. Pharm. Bull.* 2(1), 13
60. HIGA, M., 1987 *Chemical Abstracts* 109: 187306 p
61. MALIK, A., AHMED, W. e KHAN, A.Q., 1988 *Planta Medica* 54(5), 481

62. SWAMI, K.D., MALIK, G.S. e BISHT, N.P.S., 1989 *J. Indian Chem. Soc.* **66**(4), 288
63. AHMED, W., AHMED, Z., e MALIK, A., 1990 *Fitoterapia* **61**(4), 373
64. PUECH, A.A., REBEIZ, C.A., CATLIN, P.B. e CRANE, J.C., 1975 *J. Food Sci.* **40**(4), 775
65. AGRAWAL, S. e MISRA, K., 1977 *Chem. Scr.* **12**(1), 37
66. YADAVA, V.S., 1990 *Proc. Natl. Acad. Sci.* **60A**(3), 281
67. AHMAD, M., JAIN, N. e KAMIL, J. 1991 *Chemical Abstracts* **115**: 228348 y
68. SIEWEK, F., HERRMANN, K., GROTJAHN, L. e WRAY, V., 1985 *Z. Naturforsch.* **40C**(1-2), 8
69. ILYAS, M. e ILYAS, N., 1990 *Chemical Abstracts* **115**: 68445 x
70. AHMAD, M., 1990 *J. Chem. Res.* **12**, 396
71. KARRYEV, M.O. e KOMISSARENKO, N.F., 1980 *Chemical Abstracts* **94**: 171080 w
72. MORITA, N., NAKAOKI, T. e NISHINO, S., 1957 *J. Pharm. Soc. Japan* **77**, 110
73. BASLAS, R.K., 1979 *Curr Sci* **48**(3), 113
74. AMBIKE, S.H. e RAJARAMA, M.R., 1967 *Indian J. Pharm.* **29**(3), 91
75. BASLAS, R.K. e AGHA, R., 1985 *Himalayan Chem. Pharm. Bull.* **2**(1), 13
76. ANSENJO, C.F., 1939 *J. Pub. Health Trop. Med.* **15**, 141
77. PECKOLT, T., 1861 *Archiv. der Pharmazie* **155**, 31
78. MONCORVO, A., 1882 *The Lancet* **1**, 78
79. PECKOLT, G., 1942 *Revista da Flora Medicinal* **7**, 333
80. GERBER, C., 1913 *Compt. Rend.* **156**, 1917
81. MONAT-BIGGS, C.E.F., 1914 *Tr. Soc. Trop. Med. & Hyg.* **8**, 217
82. HALL, M.C. e AGUSTIN, D.L., 1929 *Am. J. Hyg.* **9**, 602
83. ROBBINS, B.H., 1930 *J. Biol. Chem.* **87**, 251
84. WALTI, A., 1938 *Chemical Abstracts* **33**: P 7833
85. JAFFE, W., 1942 *Revista Sanidad y Asistencia Social Caracas* **7**(6), 837

86. ENGLUND, P.T., KING, T.P., CRAIG, L.C. e WALTI, A., 1968 *Biochemistry* 7(1), 163
87. SGARBIERI, V.C., GUPTA, S.M., KRAMER, D.E. e WHITAKER, J.R., 1964 *J. Biol. Chem.* 239(7), 2170
88. OTTENSTEIN, B., LION, K. e DESSAUER, F., 1939 *Ann. Dermatol. Syphil.* 10, 32
89. McLAFFERTY, F.W., STAUFFER, D.B., 19 The Wiley / NBS Registry of Mass Spectral Data Vol 5, Willey Interscience,
90. OGUNKOYA, L., 1981 *Phytochemistry* 20(1), 121
91. BUDZIKIEWICZ, H., WILSON, J.M. e DJERASSI, C., 1963 *J. Am. Chem. Soc* 85, 3688
92. SHIOJIMA, K. e AGETA, H., 1990 *Chem. Pharm. Bull.* 38(2), 347
93. KIKUCHI, H., TENSHO, A., SHIMIZU, I., SHIOKAWA, H., KUNO, A., YAMADA, S., FUJIWARA, T. e TOMITA, K., 1983 *Chem. Lett.*, 603
94. WILKINS, A.L., BIRD, P.W. e JAGER, P.M., 1987 *Magne. Reson. in Chem.* 25, 503
95. McLEAN, S., PERPICK-DUMONT, M., REYNOLDS, W.F., JACOBS, H. e LACHMANSING, S.S., 1987 *Can. J. Chem.* 65, 2519
96. HEUPEL, R.C., 1985 *Phytochemistry* 24(12), 2929
97. KONDA, Y., IGUCHI, M., HARIGAYA, Y., TAKAYANAGI, H. e OGURA, H., 1990 *Tetrahedron Letters* 31(7), 5315
98. SHIOJIMA, K., MASUDA, K. e AGETA, H., 1990 *Chem. Pharm. Bull.* 38(1), 79
99. MATSUMOTO, H. e OHKURA, Y., 1978 *Chem. Pharm. Bull.* 26(11), 3433
100. ADAMS, R.P., GRANAT, M., HOGGE, L.R. e RUDLOF, E., 1979 *J. Chromat. Sci.* 17, 75
101. ALENCAR, J.W., CRAVEIRO, A.A., MATOS, J.F.A. e MACHADO, M.I.L., 1990 *Química Nova* 13(4), 282
102. DEVI, T. 19 Handbook of Terpenoids, Vol. I, CRC Press
103. OVERTON, K.H. (Senior Reporter), 1971 Specialist Periodical Reports, "Terpenoids and Steroids", Vol. 1, The Chemical Society, London
104. 1976 *Phytochemistry*, 15(1), 689
105. STENHAGEN, E., ABRAHAMSSON, S. e McLAFFERTY, F.W., 1974 Registry of Mass Spectral Data, Vols. 1-3, John Willey & Sons, London

106. GOTTLIEB, O.R., 1989 *Phytochemistry* **28**(10), 2545
107. HIROTA, H., MORIYAMA, Y. e TSUYUKI, T., 1975 *Bull. Chem. Soc. Japan* **48**(6), 1884
108. PRAKASH, O., ROY, R., GARG, H.S. e BHAKUNI, D.S., 1987 *Magn. Reson. in Chem.* **25**, 39
109. NES, W.D., NORTON, R.A. e BENSON, M., 1992 *Phytochemistry* **31**(3), 805
110. BATE-SMITH, E.C., 1972 *Phytochemistry* **11**(5), 1153
111. BATE-SMITH, E.C., 1973 *Phytochemistry* **12**(3), 905
112. FOLIN, O. e CIOCALTEU, V., 1927 *J. Biol. Chem.* **73**, 627
113. BACCAN, N., GODINHO, O.E.S., ALEIXO, L.M. e STEIN, E., 1988 *Introdução à semimicroanálise Quantitativa*, Editora da Unicamp, Campinas
114. AMORIN, A., 1987 Tese de Mestrado, Instituto de Biologia, UFRRJ, Itaguaí
115. CARLINI, C.R., BARCELLOS, G.B.S., BAETA-NEVES, A.D.V. e GUIMARAES, J.A., 1988 *Phytochemistry* **27**(1), 25
116. METRIONE, R.M., JOHNSTON, R.B. e SENG, R., 1967 *Archives of Biochemistry and Biophysics* **122**, 137
117. MARINI BETTOLO, I.G.B., ANGELETTI, P.V., SALVI, M.L., TENTORI, L. e VIVALDI, G., 1963 *Gazz. Chim. Ital.* **93**(10), 1239
118. MAKINODAN, T. e MACRIS, N.T., 1955 *J. Immunol.* **75**, 192
119. McLAFFERTY, F.W., 1980 *Interpretation of Mass Spectra*, University Science Books, California
120. SONG, P.S., TAPLEY, K.J., 1979 *Photochem. and Photobiol.* **29**, 1177
121. BORDIN, F., CARLASSARE, F., BACCICHETTI, F., GUIOTTO, A., RODIGHIERO, P., VEDALDI, D. e DALL'ACQUA, F., 1979 *Photochem. and Photobiol.* **29**, 1063