

CONSTITUÍNTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Ravenia infelix*
(RUTACEAE)

JESSICA ROHEM GUALBERTO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
DEZEMBRO – 2009

CONSTITUÍNTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Ravenia infelix*
(RUTACEAE)

JESSICA ROHEM GUALBERTO

Monografia apresentada ao Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do Grau de Licenciada em Química.

Orientador: Prof. Ivo José Curcino Vieira

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
DEZEMBRO – 2009

JESSICA ROHEM GUALBERTO

Constituintes químicos isolados de *Ravenia infelix* (Rutaceae)

Monografia apresentada ao Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do Grau de Licenciada em Química.

Campos dos Goytacazes, 03 de dezembro de 2009.

Aprovada por:

BANCA EXAMINADORA:

M. Sc. Lara Fonseca Barbosa (M. Sc., Ciências Naturais)-UENF

Prof. D. Sc. Edmilson José Maria (D. Sc., Química Orgânica) - UENF

Prof. D. Sc. Ivo José Curcino Vieira (D. Sc., Química Orgânica) – UENF
(Orientador)

***"Há homens que lutam um dia e são bons.
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
Esses são os imprescindíveis."***

Bertolt Brecht.

**Aos meus pais, Dalmo e Deize,
pelo incentivo e confiança
As minhas irmãs, Hiasmim e Andreza,
que sempre acreditaram em mim.
Ao meu marido Joziel,
Pelo amor e compreensão**

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado forças para que meus sonhos se tornassem realidade.

Ao prof. Ivo Curcino pela oportunidade e orientação para a realização deste trabalho.

Ao prof. Raimundo Braz pela ajuda na identificação das substâncias.

À Universidade Federal da Paraíba pela ajuda prestada ao realizar algumas análises de RMN ^1H e ^{13}C .

Ao meu amigo, Wagner, pela co-orientação durante a realização deste trabalho.

Aos colegas do laboratório pelos conhecimentos transmitidos.

Aos amigos de turma: Greici, Wagner, Ruth, Karen e Rafaela que foram imprescindíveis nessa nova etapa da minha vida.

As eternas amigas de repúblicas: Samara, Josane e Érika, por se tornarem irmãs que sempre me incentivaram.

As amigas de república: Fernanda, Layse, Sâmylla e Gisele, por todos os momentos compartilhados.

As minhas irmãs que acreditaram sempre na minha capacidade.

Aos meus pais que sonharam e lutaram sempre junto comigo.

Ao meu grande amor Joziel por ser meu incentivo e pela dedicação.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 A FAMÍLIA RUTACEAE	16
3.2 O GÊNERO <i>RAVENIA</i>	21
4 PARTE EXPERIMENTAL	24
4.1 MATERIAIS.....	24
4.2 METODOLOGIA.....	25
4.2.1 Coleta do material.....	25
4.2.2 Secagem e moagem	25
4.2.3 Preparação dos extratos brutos.....	25
4.2.4 Fracionamento cromatográfico do extrato RIH (6,2163g).....	26
4.2.5 Análise da fração RIH-4 (814,5mg).....	27
4.2.6 Análise da fração RIH4-1 (400,2mg).....	28
4.2.7 Análise da fração RIH-6 (534,7mg).....	29
4.2.8 Análise da fração RIH-10 (272,7mg).....	29
4.2.9 Identificação das substâncias.....	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
5.1 IDENTIFICAÇÃO DOS ESTERÓIDES 1 e 2.....	32
5.2 IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA 4.....	39
5.3 IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA 3.....	50
6 CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Metabólitos secundários isolados de <i>Ravenia esptabilis</i>	22
Figura 2 Metabólitos secundários isolados de <i>Ravenia infelix</i>	23
Figura 3 Fluxograma de obtenção dos extratos brutos do caule de <i>Ravenia infelix</i>	26
Figura 4 Fluxograma do fracionamento do extrato hexânico do caule.....	31
Figura 5 Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) da mistura dos esteróides β-sitosterol (1) e estigmasterol (2).....	34
Figura 6 Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) da mistura dos esteróides β-sitosterol (1) e estigmasterol (2).....	35
Figura 7 Ampliação da região de δ _C 56,73 a 11,82 do espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) da mistura dos esteróides β -sitosterol (1) e estigmasterol (2).....	36
Figura 8 CG/EM da mistura dos esteróides β -sitosterol (1) e estigmasterol (2).....	38
Figura 9 CG/EM da substância 4.....	41
Figura 10 Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) da substância 4.....	42
Figura 11 Ampliação da região de δ _C 141,42 a 111,48 do espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) da substância 4.....	43
Figura 12 Ampliação da região de δ _C 121,0 a 119,6 do espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) da substância 4.....	44
Figura 13 Ampliação da região de δ _C 112,6 a 110,8 do espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) da substância 4.....	45
Figura 14 Espectro de RMN ¹³ C-DEPT 135° da substância 4.....	46
Figura 15 Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) da substância 4.....	47
Figura 16 Ampliação da região de δ _H 8,10 a 7,88 do espectro de RMN ¹ H (500 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) da substância 4.....	48
Figura 17 Ampliação da região de δ _H 8,10 a 7,88 do espectro de RMN ¹ H (500 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) da substância 4.....	49
Figura 18 CG/EM da substância 4.....	52
Figura 19 Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) da substância 3.....	53
Figura 20 Ampliação da região de δ _C 138 a 110 do espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) da substância 3.....	54

Figura 21 Ampliação da região de δ_C 40 a 13 do espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) da substância 3	55
Figura 22 Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° da substância 3	56
Figura 23 Espectro de RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) da substância 3	57
Figura 24 Ampliação da região de δ_H 7,6 a 6,92 do espectro de RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) da substância 3	58
Figura 25 Ampliação da região de δ_H 5,48 a 2,03 do espectro de RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) da substância 3	59
Figura 26 Ampliação da região de δ_H 1,8 a 0,8 do espectro de RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) da substância 3	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Classificação Morfológica de Rutaceae segundo Engler (1931).....	17
Tabela 2 Classe de metabólitos secundários com suas atividades biológicas	21
Tabela 3 Extratos obtidos por maceração.....	26
Tabela 4 Estudo cromatográfico das frações coletadas de RIH	27
Tabela 5 Estudo cromatográfico das frações coletadas de RIH-4	28
Tabela 6 Estudo cromatográfico das frações coletadas de RIH-1	28
Tabela 7 Estudo cromatográfico das frações coletadas de RIH-6	29
Tabela 8 Estudo cromatográfico das frações coletadas de RIH-10	30
Tabela 9 Dados espectrais de RMN ¹³ C (100 MHz) dos esteróides sitosterol 1 e estigmasterol 2 , em CDCl ₃ . Os valores dos deslocamentos químicos δ _C estão em ppm	37
Tabela 10 Dados espectrais de RMN ¹ H (500 MHz) e ¹³ C (125 MHz) da substância 4 , em CDCl ₃ e comparação com valores de literatura para a substância carbozol 3-metilcarbazol. Os valores dos deslocamentos químicos δ _C estão em ppm e as constantes de acoplamento entre parêntesis estão em Hz.....	40
Tabela 11 Dados espectrais de RMN ¹ H (500 MHz) e ¹³ C (125 MHz) da substância 3 em CDCl ₃ e comparação com valores de literatura para a substância 3-farnesilindol. Os valores dos deslocamentos químicos δ _C estão em ppm e as constantes de acoplamento entre parêntesis estão em Hz.	51

LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS

δ	Deslocamento químico em partes por milhão
AcOet	Acetato de etila
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
CG/EM	Cromatografia de gás/espectro de massas
ddd	duploduploduplete
EM	Espectrometria de massas
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
Hex.	Hexano
Hz	Hertz
J	Constante de acoplamento
m	Multiplete
m/z	Relação massa/carga
MHz	Megahertz
RFH	Extrato hexânico das folhas de <i>Ravenia infelix</i>
RIH	Extrato hexânico do caule de <i>Ravenia infelix</i>
RMN ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN ^1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Simpleto
t	Triplete
td	Triplo duplete
UV	Ultravioleta

RESUMO

GUALBERTO, Jessica Rohem; **Constituintes químicos isolados de *Ravenia infelix* (Rutaceae)**. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, dezembro, 2009. Prof. Orientador Ivo José Curcino Vieira.

O presente trabalho descreve o estudo fitoquímico da espécie vegetal *Ravenia infelix* pertencente à família Rutaceae com o intuito de elucidar estruturas de micromoléculas presentes no caule desta planta.

O estudo de *Ravenia infelix* (Rutaceae) está também associado ao conhecimento da importância econômica, química, biológica e quimiosistemática que a família Rutaceae exerce.

Através da realização de técnicas cromatográficas foi possível isolar quatro substâncias, sendo elas dois esteróides conhecidos como: β -sitosterol e o estigmasterol, e dois alcalóides sendo eles: o alcalóide carbozol 3-metilcarbazol e o alcalóide indólico 3-farnesilindol. Ambos os esteróides bem como o alcalóide indólico 3-farnesilindol são constituintes inéditos encontrados na espécie *Ravenia infelix*.

A identificação estrutural das substâncias foi feita utilizando-se métodos espectroscópicos de RMN unidimensional ^1H e ^{13}C estabelecendo uma completa atribuição dos sinais de ^1H e ^{13}C das substâncias, espectrometria de massas e por comparação com dados da literatura.

ABSTRACT

GUALBERTO, Jessica Rohem; **Constituintes químicos isolados de *Ravenia infelix* (Rutaceae)**. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, December, 2009. Prof. Orientador Ivo José Curcino Vieira.

This work describes the phytochemical study of the species *Ravenia infelix* belonging to the family Rutaceae, aiming the isolation and structure determination of compounds from stalk of these plants.

The *Ravenia infelix* (Rutaceae) study is also related to knowledge of the economic, chemistry, biologic and system chemist importance about the Rutaceae family exert.

Trough the chromatographic techniques doing was possible isolate four compounds, has being two steroids, called β -sitosterol and stigmasterol and two alkaloids, named 3-methylcarbazole and 3-farmesyindole. The two steroids and alkaloids 3-farmesyindole are constituents isolated for the first time from the species *Ravenia infelix*.

The identifying structure of compound was making of spectroscopic methods such as ^1H and ^{13}C NMR, with the ad-dimensional techniques making the relation to sing of ^1H and ^{13}C of compounds, mass spectrometry and by compare with literature data.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, compreendendo mais de 50.000 espécies de plantas superiores, o que significa um total de 20-22% do total existente no planeta. Em função disso e, sobretudo pela grande tradição do uso das plantas medicinais pela medicina popular no Brasil, o interesse pelos estudos das propriedades medicinais das plantas, vem sendo explorado extensivamente pelos pesquisadores brasileiros e, mais recentemente, pela indústria farmacêutica, interessada em desenvolver novos medicamentos (CALIXTO e SIQUEIRA, 2008).

Estudos etnobotânicos de registro de plantas, seus usos e formas terapêuticas (plantas medicinais) por grupos humanos têm oferecido a base para diversos estudos, especialmente no campo da fitoquímica e farmacologia, inclusive como ferramenta para o descobrimento de novas drogas (ELISABESTKY, 1999).

Estudos etnobotânicos é a ciência que se ocupa do estudo do conhecimento e das conceituações desenvolvidas pelas sociedades a respeito do mundo vegetal, (AMOROZO, 1996).

Esta função da etnobotânica se torna ainda mais urgente quando se tratam de pesquisas na região da Mata Atlântica que representa atualmente uns dos ecossistemas mais devastados e ameaçados pela ocupação humana e pela exploração imobiliária (POSSE, 2007).

O estudo fitoquímico de espécies vegetais mostra-se cada vez mais necessário, pois auxilia no posicionamento sistemático (ordem, família, gênero, etc.) das espécies vegetais. Baseando-se neste fato, é que muitos pesquisadores têm direcionado seus trabalhos ao estudo fitoquímico de espécies vegetais com o intuito de contribuir morfologicamente aos gêneros em questão. O estudo fitoquímico também tem sido muito focado pelo fato de produtos encontrados na natureza revelarem uma gama quase que inacreditável de diversidade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas.

A família Rutaceae é um exemplo típico de família vegetal com problemas de posicionamento sistemático. Desde o início, a história da classificação da família

Rutaceae apresenta muita divisão e contradição entre seus diversos autores, principalmente quando as classificações eram feitas através de informações morfológicas e geográficas (POLATO, 1995).

A opção de conduzir pesquisas a partir da indicação de plantas utilizadas por comunidades encurta o percurso do desenvolvimento de uma nova droga, já que os pesquisadores dispõem, antes mesmo de iniciarem os estudos científicos, uma indicação de qual atividade biológica esta droga poderia apresentar (FUNARI e FERRO, 2005).

No entanto mesmo não se tendo nenhum conhecimento do uso de determinada espécie na medicina popular, como ocorre com a espécie *Ravenia infelix*, a investigação fitoquímica também é válida uma vez que estará contribuindo para confirmação ou construção do perfil químico do gênero e possível descoberta de novas substâncias.

As plantas são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de fármacos (ANDRADE, 2003). O fato que marcou a busca constante por medicamentos a partir de plantas foi o isolamento da morfina a partir da papoula (*Papaver somniferum*).

Poucas áreas de pesquisa cresceram tanto no Brasil, como as pesquisas com plantas. As publicações brasileiras na área de plantas passaram de 24 entre 1984-1986 para 1.431 entre 2002-2004, um crescimento de 60 vezes. O Brasil é o líder absoluto das publicações internacionais na área de plantas na América Latina (41,6%) (CALIXTO e SIQUEIRA, 2008).

Conhecendo-se as importâncias econômica, química, biológica e quimiossistemática que a família Rutaceae exerce, este trabalho teve como interesse estudar fitoquimicamente à espécie *Ravenia infelix* com o intuito de elucidar estruturas de micromoléculas presentes no caule que possam ser comparadas com as classes de metabólitos normalmente encontradas neste grupo de plantas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Tendo conhecimento do significativo número de metabólitos secundários da família Rutaceae que apresentam atividades biológicas ou farmacêuticas este trabalho tem como objetivo geral o estudo fitoquímico do extrato hexânico do caule da espécie *Ravenia infelix*, pertencente à família Rutaceae.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estudar fitoquimicamente o extrato hexânico do caule da espécie *Ravenia infelix* a fim de se obter um conhecimento maior sobre sua composição química.
2. Aprendizado de técnicas de purificação e de identificação de substâncias orgânicas de origem vegetal, utilizando-se técnicas cromatográficas convencionais.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A FAMÍLIA RUTACEAE

A família Rutaceae inclui cerca de 150 gêneros com mais de 1500 espécies largamente distribuídas pelas regiões tropicais e temperadas de todo o mundo, sendo mais abundantes na América tropical, Sul da África, Ásia e Austrália (POLATO, 1995). Segundo Albuquerque (1976) no Brasil existem cerca de 200 espécies.

A classificação botânica para a família Rutaceae apresentada por Engler (1931) considera a existência de sete subfamílias; Rutoideae, Toddalioideae, Aurantioideae (Citroideae), Spathelioideae, Dictyolonatoideae, Flindersioideae e Rhabdodendroideae. Porém a quimiosistemática desta família tem sido revisada pelo grupo de Produtos Naturais do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (DQ-UFSCar), baseando-se principalmente nos alcalóides derivados do ácido antranílico, cumarinas e limonóides. Estes estudos têm mostrado que a similaridade química entre as subfamílias Rutoideae e Toddalioideae é tão pronunciada que a separação dos dois grupos fica comprometida (FERRACIN, 1992).

A classificação morfológica de Rutaceae segundo Engler (1931) pode ser observada na **Tabela 1** que além de apresentar as sete subfamílias da família Rutaceae, apresenta as 10 tribos que se subdivide em 25 subtribos totalizando então 145 gêneros.

Tabela 1. Classificação Morfológica de Rutaceae segundo Engler (1931)

RUTACEAE			
Subfamília	Tribo	Subtribo	Gênero
Rutoideae	Xanthoxyleae	Evodiinae	<i>Jahnia, Pagetia,</i>
			<i>Boucahardatia, Bosistoa,</i>
			<i>Pleicocca, Xanthocylum,</i>
			<i>Fagara, Geijera,</i>
			<i>Comptonella, Evodia,</i>
		Lunasiinae	<i>Terminthodia, Boninia,</i>
			<i>Orixa, Melicope,</i>
			<i>Sarcomelipe, Pentacers,</i>
			<i>Plethadenia, Pelea,</i>
			<i>Decazyx, Hunsteinia</i>
Decatropidinae	Ruteae	<i>Lunasia</i>	
		<i>Decatropsis, Polyaster,</i>	
		<i>Megastigma</i>	
		<i>Medicosma, Peltostigma,</i>	
		<i>Choisyinae</i>	
Pitaviinae	<i>Choisya, Platydesma,</i>		
	<i>Dutaillyea</i>		
	<i>Pitavia,</i>		
Ruteae	Rutinae	<i>Boenninghausenia, Ruta,</i>	
		<i>Psilopeganum, Thamnosma,</i>	
Boroniae	Boroniinae	<i>Cneoridium</i>	
		<i>Dictamninae</i>	
		<i>Dictamnus</i>	
Boroniae	Boroniinae	<i>Boronia, Boronella,</i>	
		<i>Acradenia, Myrtopsis, Zieria,</i>	
		<i>Zieridium</i>	

		<i>Rossittia, Eriostemon, Crowea, Phebalium, Microcybe, Geleznovia, Pleurandropsis, Asterolasia, Philothea</i>
	Correinae	<i>Correa</i>
	Nematolepidinae	<i>Nematolepsis, Chorilaena</i>
	Diplolaeninae	<i>Diplolaena</i>
	Calodendrinae	<i>Calodendrum</i>
Diosmeae	Diosminae	<i>Barosma, Agathosma, Adenandra, Coleonema, Acmadenia, Diosma, Phyllosma, Macrostylis, Euchaetis</i>
	Empleurinae	<i>Empleuridium, Empleurum</i>
	Pilocarpinae	<i>Pilocarpus, Esenbeckia, Metrodorea</i>
Cusparieae	Cuspariinae	<i>Spiranthera, Almeiea, Euxylophora, Adiscanthus, Leptothyrsa, Ticorea, Lubaria, Rauia, Galipea, Raputia, Decagonocarpus, Erytrochiton, Cusparia, Naudinia, Ravenia, Monnieiria</i>
Dictyolomatoideae	Dictyolomateae	<i>Dictyoloma</i>
Flindersioideae	Flindersieae	<i>Flindersia, Chlorocylon</i>
Spathelioideae	Spathelieae	<i>Spathelia (Diomma)*</i>
	Phellodendrinae	<i>Phellodendron, Clausenopsis</i>
	Sohnreyiinae	<i>Sohnreyia**</i>

		Pteleinae	<i>Helietta, Balfourodendron, Ptelea, Travalia</i>
Toddalioideae	Toddalieae	Oriciinae	<i>Oricia, Diphasia</i>
		Toddaliinae	<i>Araliopsis, Sargentia, Casamiroa, Vepris, Toddalia, Toddaliopsis, Oriciopsis, Humblotiodendron, Acronychia, Baurella, Halfordia, Hortia, Skimmia</i>
		Amyridinae	<i>Amyris, Teclea, Stauranthus</i>
			<i>Glycosmis, Thoreldora, Micromelum, Murraya, Merrillia, Clausena, Pleiospermium,</i>
Aurantioideae (Citroideae)*		Hesperethusinae	<i>Hesperethusa, Luvunga, Triphasia, Wenzelia, Echinocitrus, Monanthocitrus, Atalantia, Lamiofrutex, Tetraconia</i>
		Citrinae	<i>Microcitrus, Eremocitrus, Poncirus, Citrus, Fortunella, Citropsis, Aegle, Swinglea, Balsamocitrus, Afraegle, Aeglopsis, Feroniella, Feronia</i>
Rhabdodendroideae	Rabdodendreae		<i>Rabdodendron</i>

* Modificações de Scholz (1964)

**Gênero posicionado em Spatheleae por Scholz (1964)

A família Rutaceae tem se destacado pelo fornecimento de vários metabólitos secundários, tais como: alcalóides (especialmente os derivados do ácido antranílico, que são compostos nitrogenados farmacologicamente ativos, encontrados predominantemente nas angiospermas), cumarinas (principalmente furano e pirano cumarinas), lignanas, limonóides, flavonóides, cromenos, terpenóides (mono e triterpenos) e óleos voláteis, o que tem atraído a atenção de vários grupos de pesquisadores devido à importância química, biológica e quimiosistemática de muitos desses metabólitos (WATERMAN, 1975).

Os alcalóides de Rutaceae são derivados do ácido antranílico (aminoácido cuja molécula consiste de um anel benzênico com dois grupos funcionais adjacentes, um ácido carboxílico e um grupo amina, sendo biosintetizado a partir do ácido corísmico), triptofano, fenilalanina e/ou tirosina, histidina, ácido nicotínico, ornitina e lisina (POLATO, 1995). A maior diversificação estrutural de alcalóides em plantas da família Rutaceae é representada pelos alcalóides 1-benzilisoquinolinos (derivado do ácido antranílico), que são encontrados em muitos gêneros, particularmente nas três maiores subfamílias: Rutoideae, Toddalioideae, Aurantioideae (ENGLER, 1931). Os alcalóides derivados do ácido antranílico são tidos como eminentes marcadores quimiotaxonômicos.

Algumas classes de metabólitos secundários isolados de espécies da família Rutaceae podem ser observadas na **Tabela 2** que relaciona a cada metabólito suas atividades biológicas (VIEIRA & KUMBO, 1990).

Tabela 2. Classe de metabólitos secundários com suas atividades biológicas

Metabólitos secundários	Atividade biológica
ALCALÓIDES	Hipotensiva Bloqueadora de gânglios Antibacteriana Antifúngica Antiacetilcolinesterase Antiinflamatória Anestésico local Moluscicida
CUMARINAS	Analgésica Anti-helmíntica Diurética Anticoagulante Anti-HIV Fotoxidase
LIGNANAS	Sinergista de inseticida Inibidores de germinação
ESTERÓIDES	Antiinflamatória Citotóxica

3.2 O GÊNERO *RAVENIA*

O gênero *Ravenia* (Rutaceae) pertence à tribo Cusparieae e subtribo Cuspariinae, é composto de quatro espécies com distribuição que vai desde o sudeste do Brasil até a América Central, mais precisamente Nicarágua e Cuba (ALBUQUERQUE, 1976).

Estudos químicos sobre a espécie *Ravenia espectralis* proporcionaram o isolamento de alcalóides 2-quinolônicos, furoquinolônicos e acridônicos (**Figura 1**). (BHATTACHARYYA, 1984)

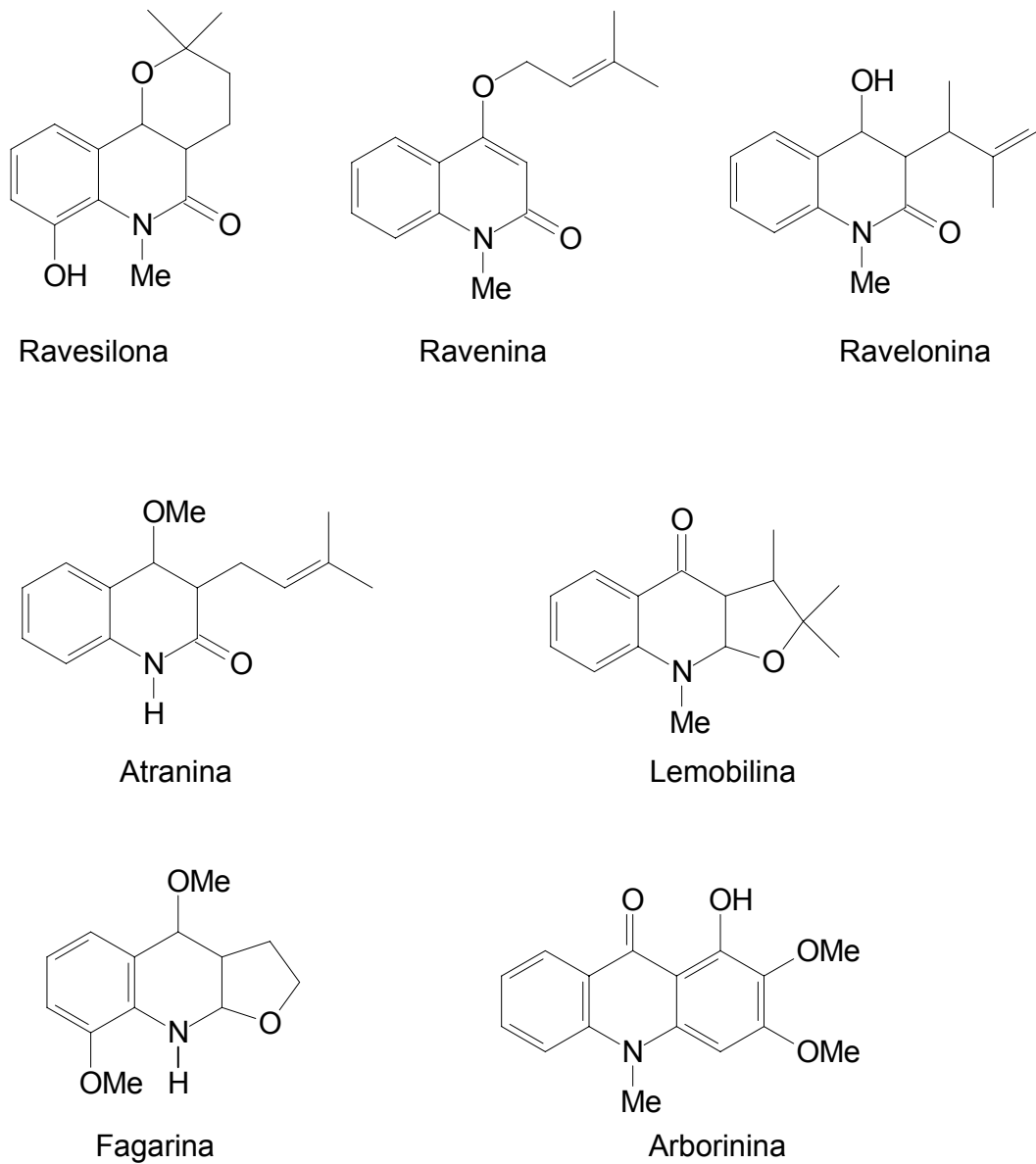


Figura 1. Metabólitos secundários isolados de *Ravenia espectralis*.

Um estudo da espécie *Ravenia infelix* realizado por Andrade (2003) proporcionou o isolamento de nove tipos de metabólitos secundários que estão relatados na **Figura 2**.

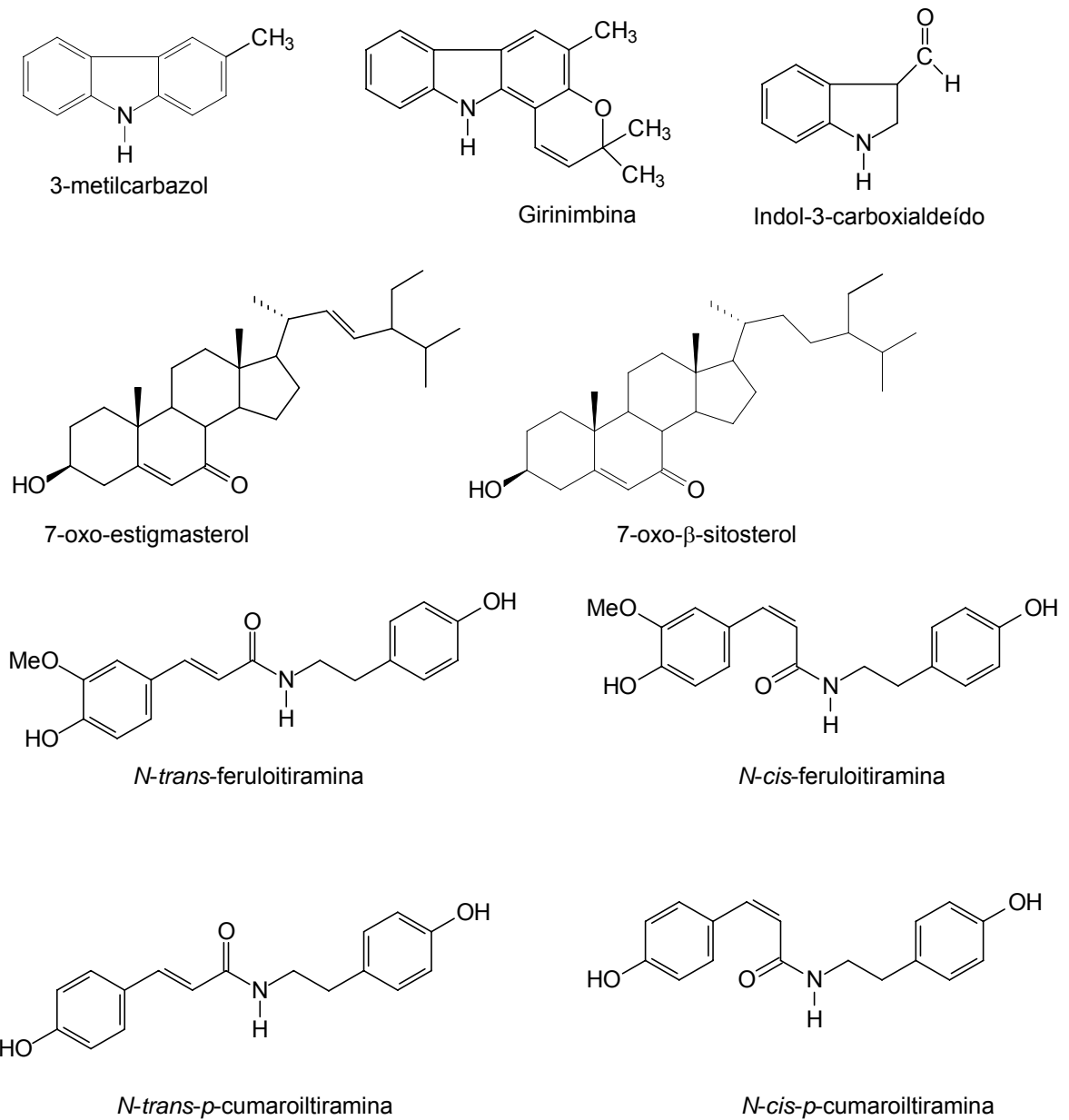


Figura 2. Metabólitos secundários isolados de *Ravenia infelix*

Estes metabólitos secundários consistem nos alcalóides indol-3-carboxialdeído, 3-metil-carbazol e pirano carbazol girinimbina; nos esteróides 7-oxo-estigmasterol e 7-oxo-β-sitosterol e nas amidas *N-trans*-feruloiltiramina, *N-cis*-feruloiltiramina.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAIS

Moinho de Martelos da marca Nogueira com rotação de 4000 RPM;

Evaporador rotativo da Fisatom 802 para preparação dos extratos brutos;

Espectrômetro modelo Eclipse da marca Jeol operando a uma frequência de 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C para registro dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear, também usou-se o equipamento operando a uma frequência de 500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C para registro dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear

Para realização dos espectros de RMN utilizou-se os solventes CDCl_3 e acetona- d_6 ;

Gel de sílica 60G (0,063-0,200mm) da MERCK para realização das separações cromatográficas em coluna;

Os solventes utilizados nas análises cromatográficas e nas sucessivas extrações foram solventes P.A. das marcas SYNTH e VETEC;

Cromatofolha de gel de sílica 60 F₂₅₄ para análises comparativas através de cromatografia em camada analítica;

Balança Analítica da marca QUIMIS tipo QIL A2104;

As cromatoplacas foram reveladas através da irradiação de luz na região do ultravioleta em comprimento de onda 254 e 365 nm e/ou com o revelador universal de vanilina (3 g de vanilina diluída em 135 mL de H_2O , 135 mL de etanol e ao final acrescentado 30 mL de H_2SO_4 concentrado), a solução foi estocada em um frasco âmbar e/ou reagente dragendorff;

CG/EM-QP-5050 A SHIMADZU, utilizando impacto de elétrons para obtenção dos espectros de massas.

4.2 METODOLOGIA

4.2.1 Coleta do material

A primeira etapa deste trabalho foi à coleta do material botânico da espécie vegetal *Ravenia infelix* (caule) realizada no mês de novembro de 2006 em Linhares (ES), onde sua exsicata encontra-se depositada com o código No. 269.

4.2.2 Secagem e moagem

O material foi seco a temperatura ambiente, e após seco, o caule foi moído usando um moinho de martelos e obtendo-se 2,04 Kg de caule triturado.

4.2.3 Preparação dos extratos brutos

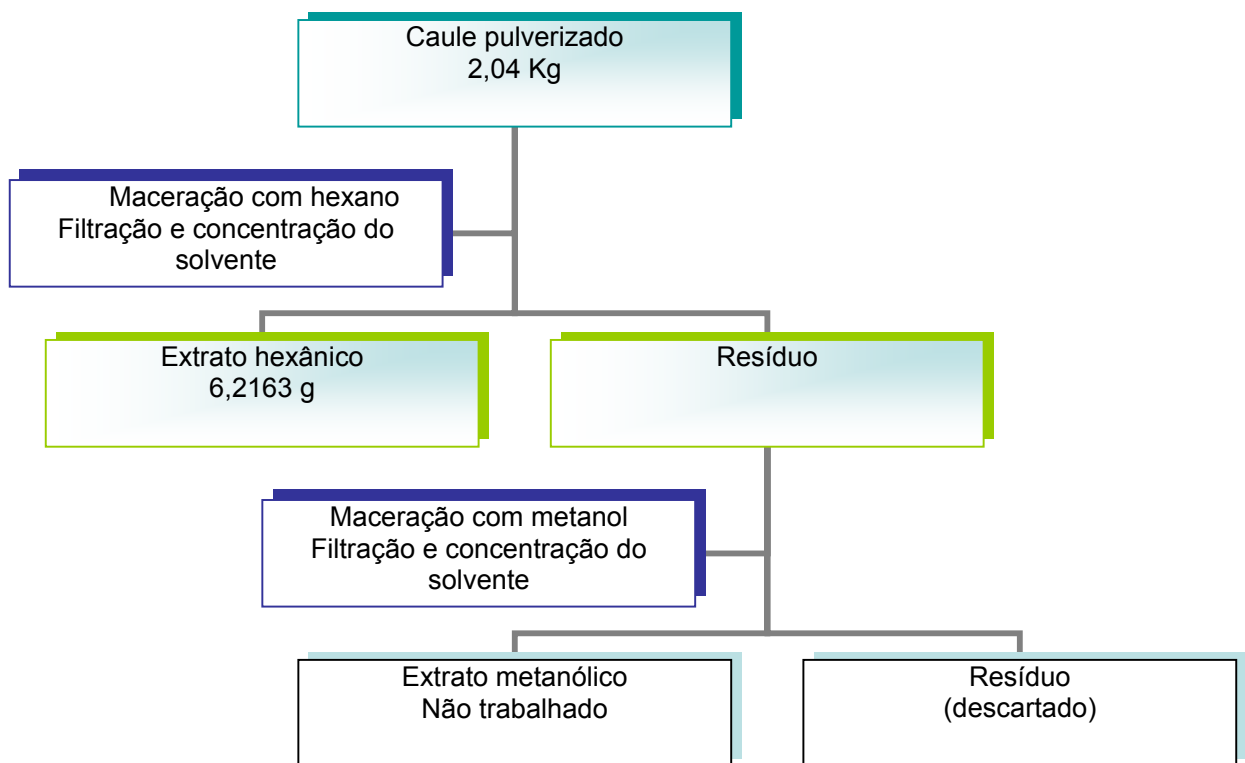
A extração dos componentes fixos foi feita a frio, através do processo de maceração usando em ordem crescente de polaridade os solventes orgânicos: hexano e metanol. O material vegetal foi colocado em contato com cerca de 3L de cada um dos solventes durante cinco dias, repetindo-se o processo três vezes para cada um dos tipos de solventes utilizados (**Tabela 3; Figura 3**).

Para a formação de extratos brutos, as soluções obtidas foram destiladas a pressão reduzida usando um evaporador rotativo.

Tabela 3. Extratos obtidos por maceração

Material	Peso seco	Solvente	Peso extrato	Código
Caule	2040g	Hexano	6,2163g	RIH
		Metanol	*	RIM

*extrato não trabalhado

**Figura 3.** Fluxograma de obtenção dos extratos brutos do caule de *Ravenia infelix*

4.2.4 Fracionamento cromatográfico do extrato RIH (6,2163g)

O extrato RIH originado do processo de maceração do caule de *Ravenia infelix* em hexano foi submetido a uma cromatografia em coluna empacotada com hexano e preenchida com gel de sílica. Utilizou-se como eluente hexano puro com gradiente de eluição até hexano:acetato de etila (3:7, v/v), onde foram coletadas 39 frações que,

através de CCDA reveladas com vanilina, foram reunidas em 12 novas frações. A **Tabela 4** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 4. Estudo cromatográfico das frações coletadas de RIH

Frações reunidas	Código	Quantidade (mg)	Substâncias
1	RIH-1	67,1	*
2--8	RIH-2	477,7	*
9--10	RIH-4	818,2	
11	RIH-6	534,7	
12	RIH-7	455,7	*
13	RIH-8	206,7	*
14	RIH-9	212	*
15	RIH-10	272,7	
16-18	RIH-11	496	*
19-23	RIH-12	473	*
24-30	RIH-14	727,2	*
31-39	RIH-17	672,8	*

* frações não trabalhadas

4.2.5 Análise da fração RIH-4 (818,2mg)

A fração RIH-4 (814,5mg) foi fracionada em coluna de sílica gel empacotada com hexano utilizando como eluente hexano puro com gradiente crescente de polaridade de eluição até hexano:acetato de etila (95:5, v/v) originando 51 frações. Após analisadas por CCDA que foi revelada usando vanilina, as frações que possuíam o mesmo Rf foram agrupadas gerando 3 frações que apresentam seu estudo cromatográfico na **Tabela 5**.

Tabela 5 Estudo cromatográfico das frações coletadas de RIH-4

Frações reunidas	Código	Quantidade (mg)	Substâncias
1-5	descartada		
6-18	RIH4-1	410,2	
19-37	RIH4-2	292,3	*
38-51	RIH4-3	37,1	*

*frações não trabalhadas

4.2.6 Análise da fração RIH4-1 (410,2mg)

A fração obtida RIH4-1 (400,2 mg) foi fracionada em coluna de sílica gel com os solventes hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade. Utilizando-se inicialmente hexano puro até hexano:acetato de etila (9:1, v/v). Esta coluna também foi empacotada com hexano. Após este procedimento foram obtidas 35 frações. As frações que apresentaram o mesmo Rf quando analisadas por CCDA após serem reveladas usando vanilina foram reunidas originando 6 novas frações, que tem seu estudo cromatográfico mostrado na **Tabela 6**.

Tabela 6 Estudo cromatográfico das frações coletadas de RIH4-1

Frações reunidas	Código	Quantidade (mg)	Substâncias
1-2	descartada		
3-4	RIH4.1-1	19,7	*
5-17	RIH4.1-2	305,9	*
18-20	RIH4.1-3	30,6	*
21-26	RIH4.1-4	48,2	*
27-32	RIH4.1-5	14,1	3
33-35	RIH4.1-6	16,3	*

* frações não trabalhadas

4.2.7 Análise da fração RIH-6 (534,7mg)

A fração RIH-6 (534,7mg) foi fracionada em coluna empacotada com hexano e preenchida com sílica gel. Como eluente utilizou-se hexano puro com gradiente crescente de polaridade até hexano:acetato de etila (9:1,v/v) originando 53 frações que após analisadas por CCAD foram agrupadas as frações que possuíam o mesmo Rf gerando então a 7 frações. A **Tabela 7** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 7 Estudo cromatográfico das frações coletadas de RIH-6

Frações reunidas	Código	Quantidade (mg)	Substâncias
2	RIH6-1	0,2	*
3	RIH6-2	2,8	*
4-17	RIH6-3	158,1	*
18	RIH6-5	3,6	*
19-43	RIH6-6	121,0	4
44-52	RIH6-8	248,8	*
53	RIH6-R	1,1	*

* frações não trabalhadas

4.2.8 Análise da fração RIH-10 (272,7mg)

A fração RIH-10 (272,7 mg) foi fracionada em coluna de sílica gel empacotada com hexano e eluída com os solventes hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade até hexano:acetato de etila (2:8,v/v). No final deste processo obteve-se 69 frações que foram reagrupadas conforme a igualdade de seu Rf obtido na CCDA originando 10 frações. A **Tabela 8** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 8 Estudo cromatográfico das frações coletadas de RIH-10

Frações reunidas	Código	Quantidade (mg)	Substâncias
1-2	descartada		
3-4	RIH10-1	2,6	*
5-6	RIH10-2	5,1	*
7	RIH10-3	35,0	1 + 2
8	RIH10-4	57,0	*
9-10	RIH10-5	18,5	*
11-14	RIH10-6	23,1	*
15-17	RIH10-7	3,5	*
18-34	RIH10-8	23,8	*
35-52	RIH10-9	19,8	*
53-69	RIH10-10	41,4	*

* frações não trabalhadas

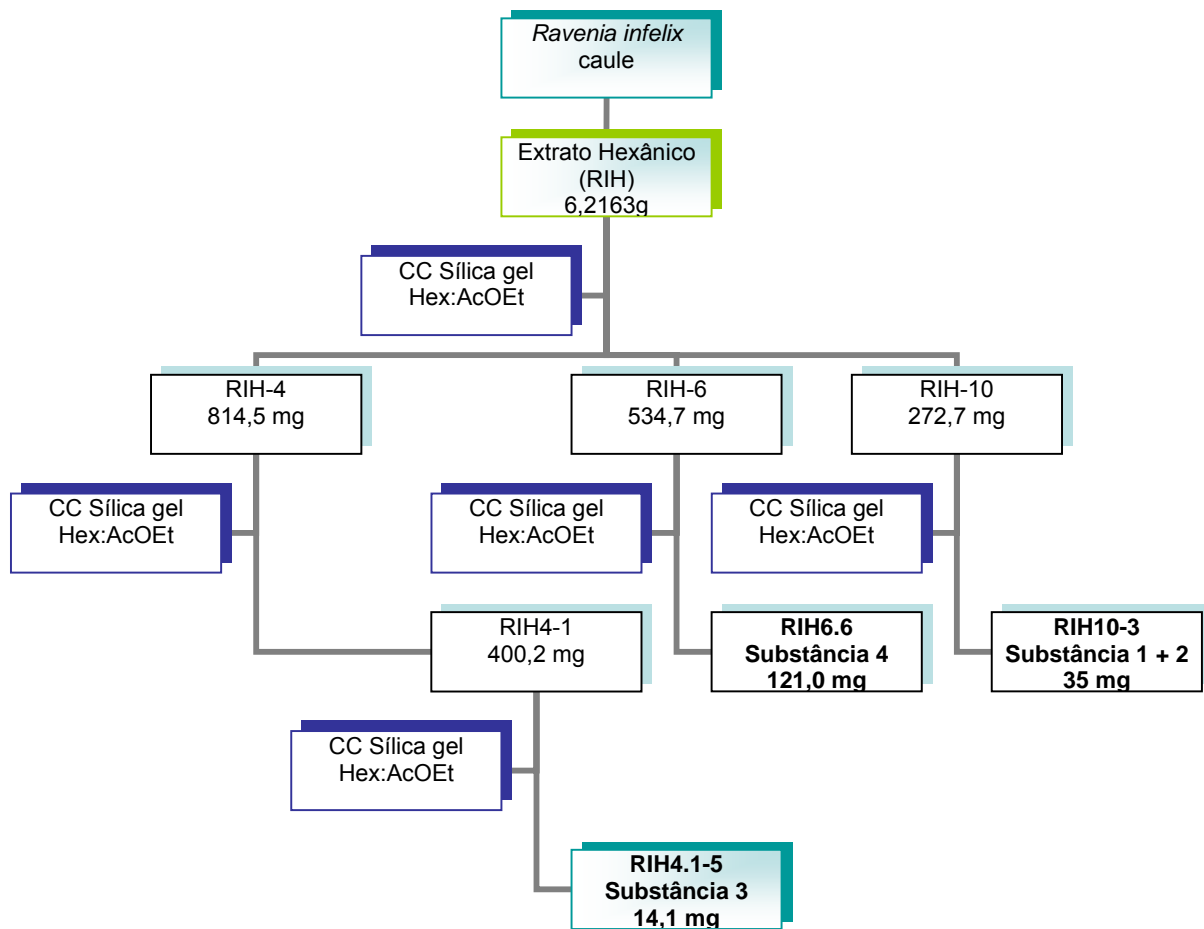


Figura 4 Fluxograma do fracionamento do extrato hexânico do caule

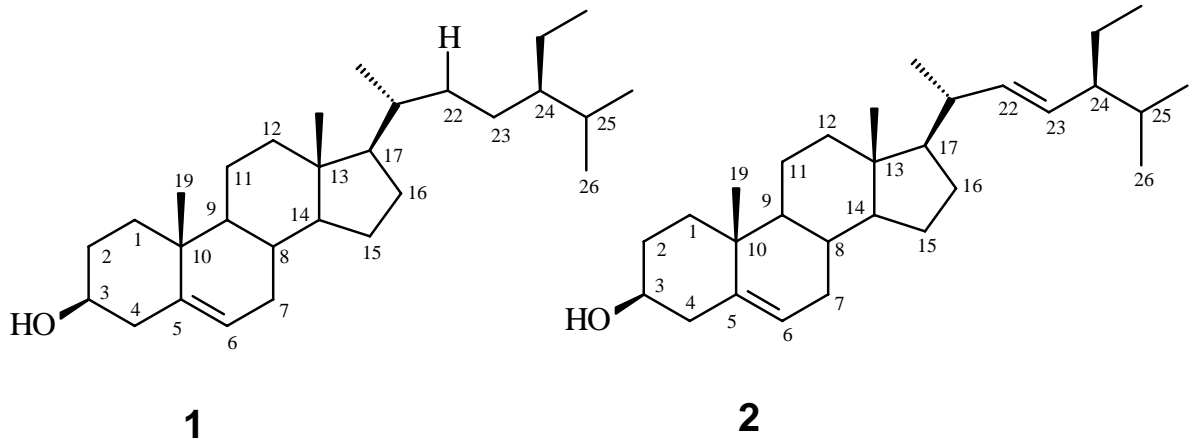
4.2.9 Identificação das substâncias

A avaliação do grau de pureza foi feita através de cromatografia em camada delgada analítica.

A identificação das substâncias isoladas foi realizada utilizando métodos espectrométricos de ressonância magnética nuclear (RMN ^1H e ^{13}C), e de massas (EM) e métodos cromatográficos (cromatografia em camada delgada analítica). (BREITMAIER, 1987; FRIEBOLIN, 1993; GOTTLIEB, 1967; SIZDAK, 1996)

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 IDENTIFICAÇÃO DOS ESTERÓIDES 1 E 2



Os esteróides são freqüentemente encontrados no reino vegetal, sendo que os mais comuns desta classe de substâncias são o β -sitosterol (**1**) e o estigmasterol (**2**).

No entanto, quase sempre estas substâncias ocorrem em misturas devido às suas semelhanças estruturais dificultando suas separações, por isso na maioria das vezes, suas identificações são feitas em misturas, através de CG/MS e RMN ^{13}C .

A análise dos espectros de RMN ^1H (**Figura 5, p. 34**) da mistura das substâncias **1** e **2** do extrato RIH10-3 de *R. infelix* mostra uma mistura dos esteróides β -sitosterol (**1**) e o estigmasterol (**2**), o qual apresentou um duplete de linhas largas em δ_{H} 5,34, relativo ao hidrogênio H-6; um multiplete em δ_{H} 3,52 relativo ao hidrogênio H-3 e ainda um grande acúmulo de sinais intensos na região de δ_{H} 2,44 a 0,67 do espectro, relativos aos vários grupos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos do esqueleto esteroidal do β -sitosterol (**1**).

Através da análise do espectro de RMN ^1H da mistura, pode-se ainda confirmar a presença do estigmasterol (**2**) notado pelas absorções dos hidrogênios vinílicos da

cadeia lateral em δ_H 5,03 (dd, $J = 8,8$ e $15,2$ Hz, H-22) e 5,14 (dd, $J = 8,8$ e $15,4$ Hz, H-23).

A distinção entre o β -sitosterol (**1**) (SEO *et al*, 1988) e o estigmasterol (**2**), pode ainda ser confirmada pelos sinais no espectro de RMN ^{13}C em δ_C 121,67 e 140,70 (C-6 e C-5) de ambas as estruturas e δ_C 129,24 e 138,27 (C-23 e C-22), presente apenas no estigmasterol (**2**) (**Figuras 6 e 7, p. 35 e 36 e Tabela 9**).

Os dados fornecidos pelos espectros de RMN 1H e RMN ^{13}C (**Figuras 5 – 7, p. 34-36**), permitiram uma completa atribuição dos sinais de cada esteróide com bastante coerência, além de comparação com os dados relatados na literatura para os dois esteróides (BREITEMEIER *et al*, 1987) o que colaborou para a confirmação das propostas estruturais apresentadas.

A análise por CG/MS da amostra (**Figura 8, p. 38**), revelou a presença da mistura dos dois esteróides β -sitosterol (**1**) e o estigmasterol (**2**) com razões de massa carga $m/z = 414$ e 412 , respectivamente, confirmando assim a presença da mistura dos dois esteróides.

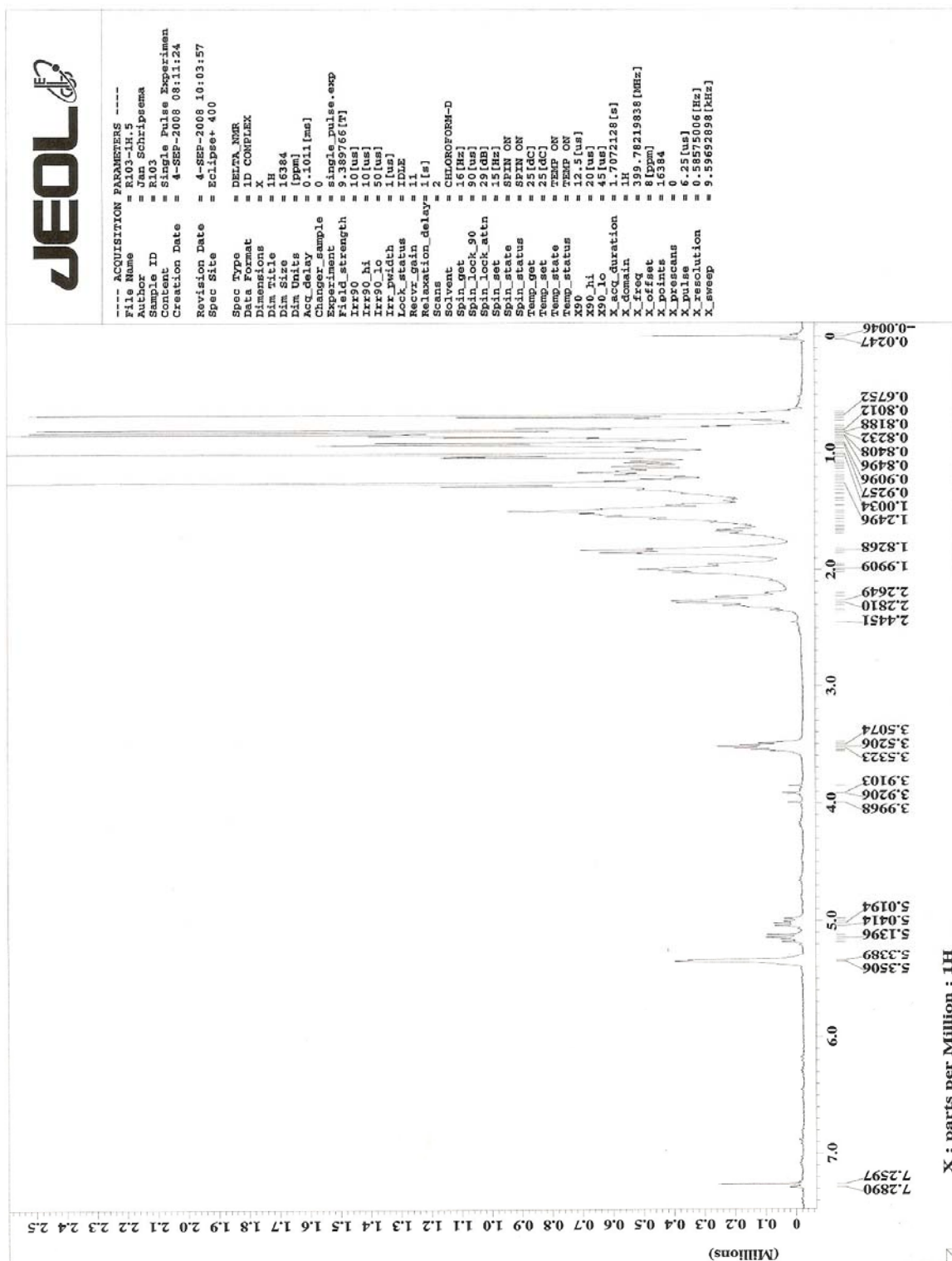


Figura 5. Espectro de RMN 1H (400 MHz, CDCl_3) da mistura dos esteróides β -sitosterol (1) e estigmasterol (2)

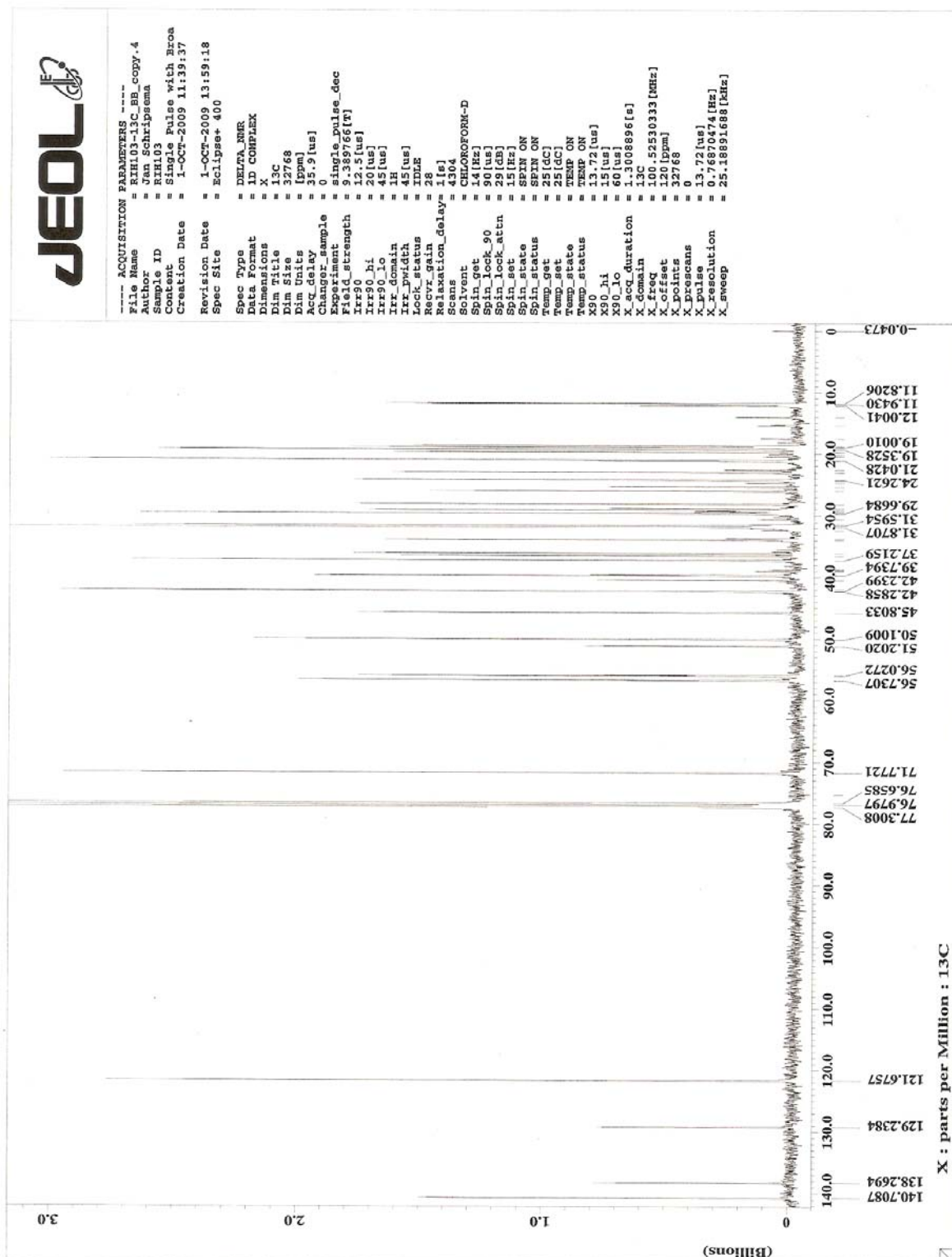


Figura 6. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da mistura dos esteróides β -sitosterol (1) e estigmasterol (2)

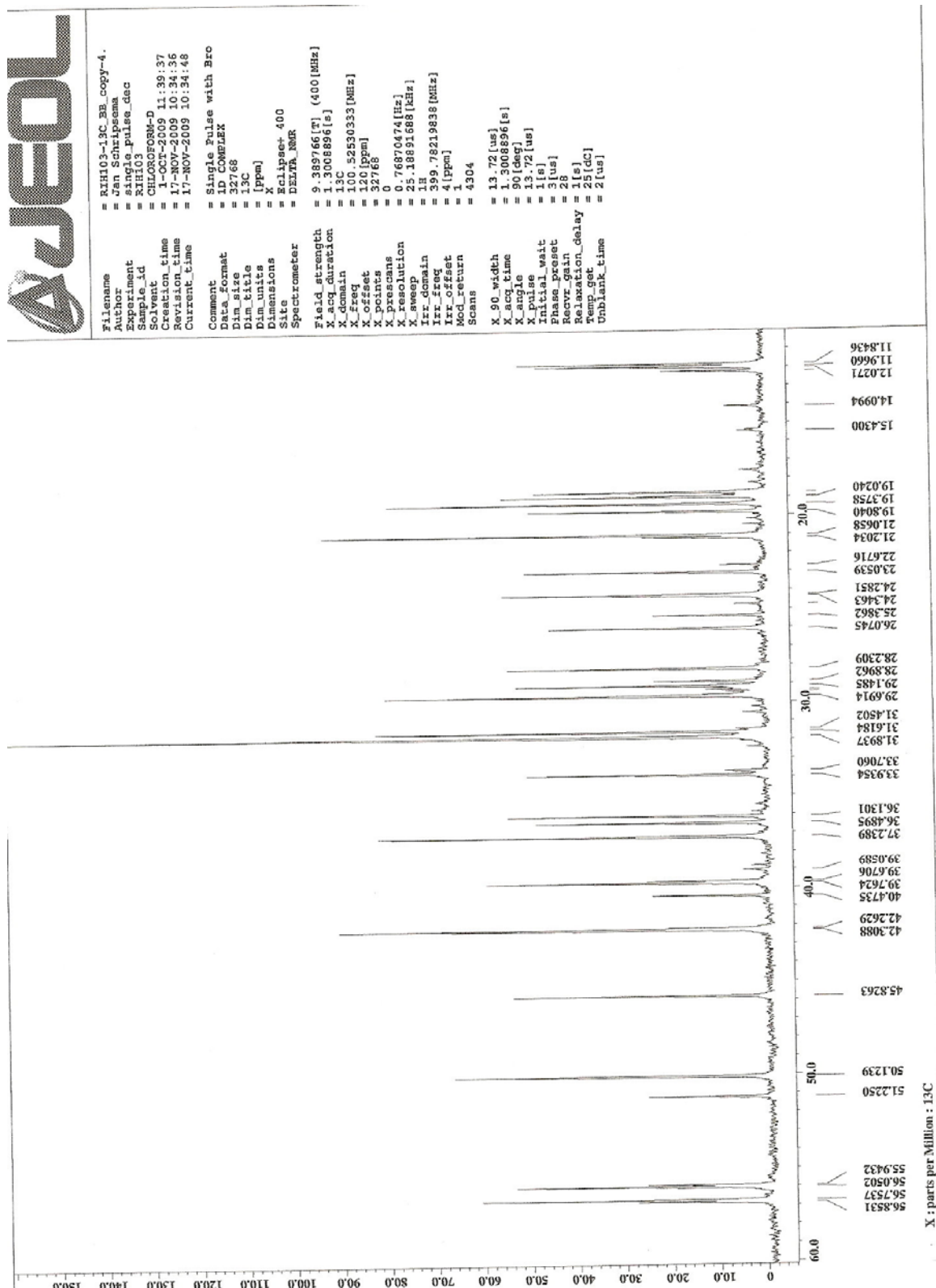


Figura 7. Ampliação da região de δ_c 60,00 a 11,82 do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da mistura dos esteróides β -sitosterol (**1**) e estigmasterol (**2**)

Tabela 9. Dados espectrais de RMN ^{13}C (100 MHz) dos esteróides sitosterol **1** e estigmasterol **2**, em CDCl_3 . Os valores dos deslocamentos químicos δ_{C} estão em ppm.

C	Sitosterol (1)	Estigmasterol (2)
1	37,22	37,22
2	31,59	31,59
3	71,77	71,77
4	42,28	42,28
5	140,70	140,70
6	121,68	121,68
7	34,00	34,00
8	31,87	31,87
9	50,10	50,10
10	36,50	36,50
11	21,04	21,04
12	39,73	39,73
13	42,28	42,28
14	56,73	56,73
15	24,26	24,26
16	29,00	29,00
17	56,02	56,02
18	12,00	12,00
19	19,35	19,35
20	39,73	39,73
21	19,00	19,00
22	31,87	138,27
23	26,10	129,24
24	45,80	51,20
25	29,67	31,59
26	19,35	21,04
27	19,35	19,35
28	24,26	24,26
29	11,82	11,94

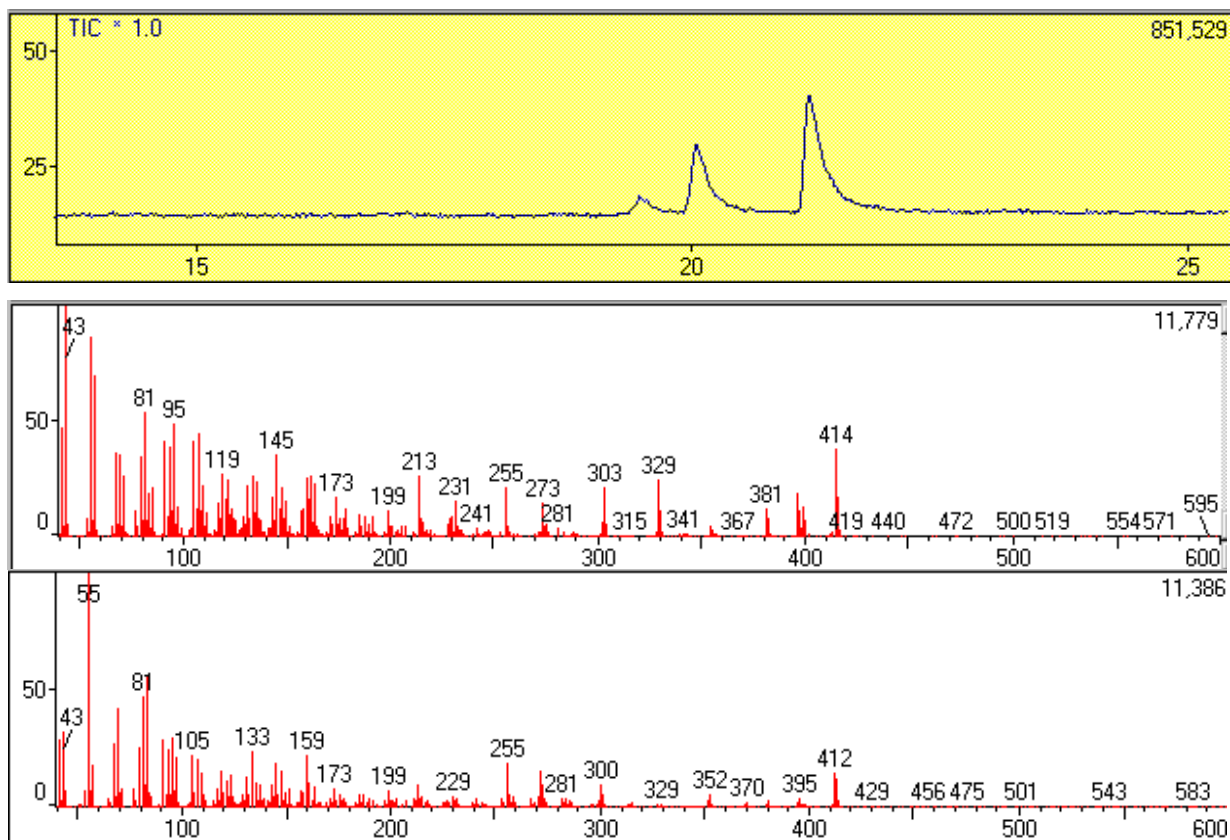
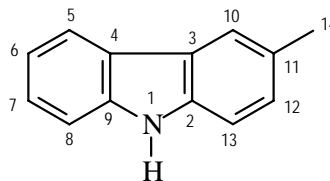


Figura 8. CG/MS da mistura dos esteróides β -sitosterol (1) e estigmasterol (2)

5.2 IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA 4



A análise da substância **4** revelou fluorescência sob radiação UV, coloração violeta quando revelada com vanilina sulfúrica e alaranjada quando revelada com o reagente de Dragendorff, indicando tratar-se de um alcalóide. O seu espectro de CG/MS (**Figura 9, p. 41**) apresentou o pico do íon molecular com razão m/z igual a 181 daltons, que juntamente com espectro de RMN ^{13}C e DEPT 135° (**Figuras 10 - 13 e 14, p. 42-45 e 46**) confirmam a presença de nitrogênio na molécula e compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}$.

O espectro de RMN ^1H (**Figura 15-17, p. 47-49**) apresentou sinais característicos de um esqueleto alcalóide carbazol. Os sinais em δ_{H} 8,06 (1H, ddd, $J= 8,0, 1,0$ e $0,5$ Hz); δ_{H} 7,14 (1H, ddd, $J= 8,0, 7,5$ e $1,0$ Hz); δ_{H} 7,35 (1H, ddd, $J= 8,0, 7,5$ e $1,0$ Hz) e δ_{H} 7,67 (1H, td, $J= 8,0$ e $1,0$ Hz) foram associados a hidrogênios acoplado entre si, de uma anel aromático *orto* dissubstituído; o sinal simples em δ_{H} 10,15 foi associado a um hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio. Os sinais em δ_{H} 7,90 (1H, m); δ_{H} 7,21 (1H, ddd, $J= 8,0, 2,0$ e $1,0$ Hz) e δ_{H} 7,39 (1H, d, $J= 8,0$ Hz) foram associados a três hidrogênios de um anel aromático trissubstituído, juntamente com um sinal simples integrando para três hidrogênios em δ_{H} 2,48, associado a um grupo metila ligado a anel aromático.

A análise dos dados obtidos permitiu sugerir para a substância **4**, a estrutura do alcalóide carbazol 3-metilcarbazol, uma vez que, comparando os valores dos deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C (**Figuras 10 e 15, p. 42 e 47**) da substância **4**, com os valores encontrados na literatura (CHAKRABARTY, et al, 1997), confirmou a identidade entre as substâncias (**Tabela 10, p. 40**).

Tabela 10. Dados espectrais de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância **4**, em CDCl_3 e comparação com valores de literatura para a substância carbazol 3-metilcarbazol. Os valores dos deslocamentos químicos δ_{C} estão em ppm e as constantes de acoplamento entre parêntesis estão em Hz.

	4		Literatura	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
C				
2	139,37	-	137,6	-
3	124,26	-	123,4	-
4	123,94	-	123,1	-
9	141,42	-	139,7	-
10	-	-		
11	128,70	-	128,6	-
CH				
3	-	-		
5	120,85	8,06 (ddd, 8,0, 1,0, 0,5)	120,2	8,06 (dd, 8, 0,8)
6	119,48	7,14 (ddd, 8,0, 7,5, 1,0)	119,1	7,22 (ddd, 8,0, 3,5, 4,5)
7	126,28	7,35 (ddd, 8,0, 7,5, 1,0)	125,6	7,4 (m)
8	111,73	7,67 (td, 8,0, 1,0)	110,5	7,4 (m)
10	120,81	7,90 (m)	120,2	7,89 (d, 1,5)
12	127,84	7,21 (ddd, 8,0, 2,0, 1,0)	127,1	7,25 (dd, 9,0, 1,5)
13	111,50	7,39 (d, 8,0)	110,2	7,32 (d, 8,0)
CH₃				
14	21,54	2,48 (s)	21,4	2,55 (s)

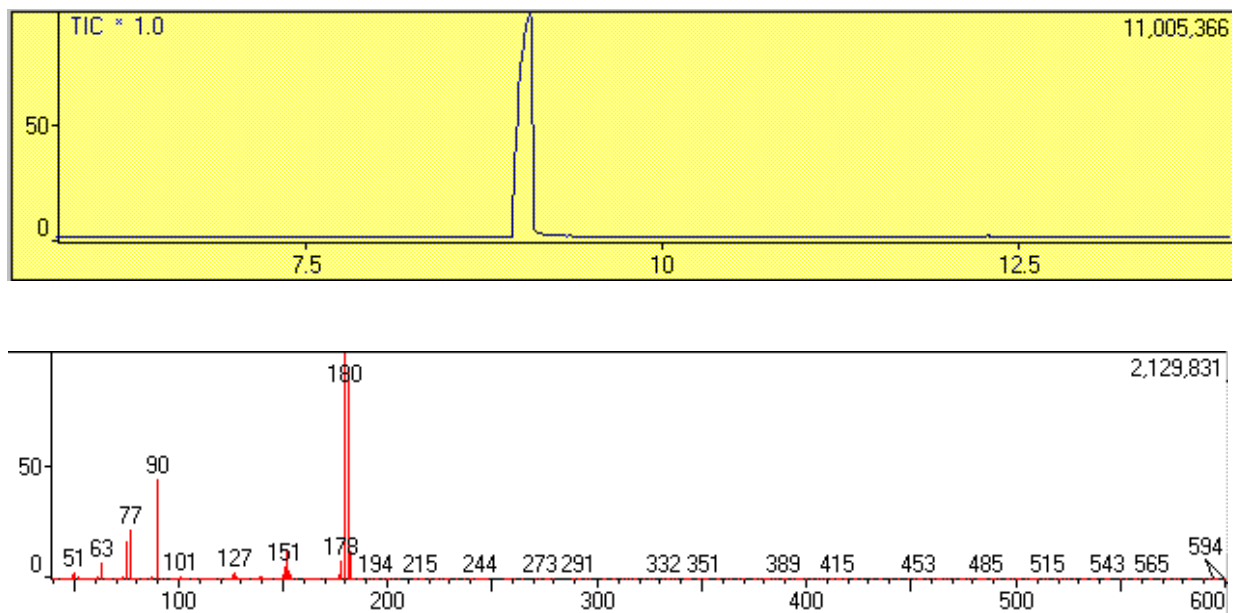


Figura 9. CG/MS da substância 4

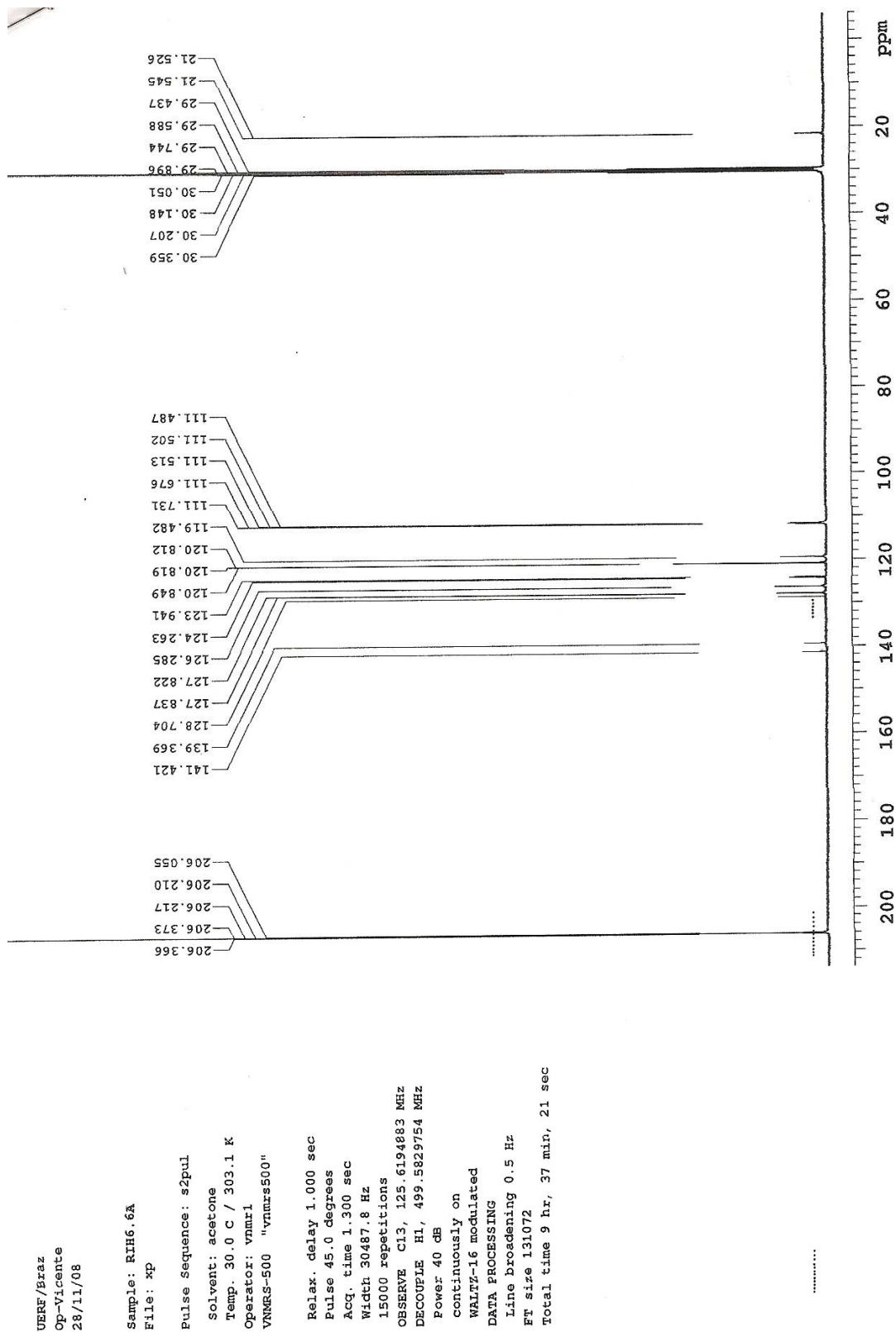


Figura 10. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, acetona- d_6) da substância 4

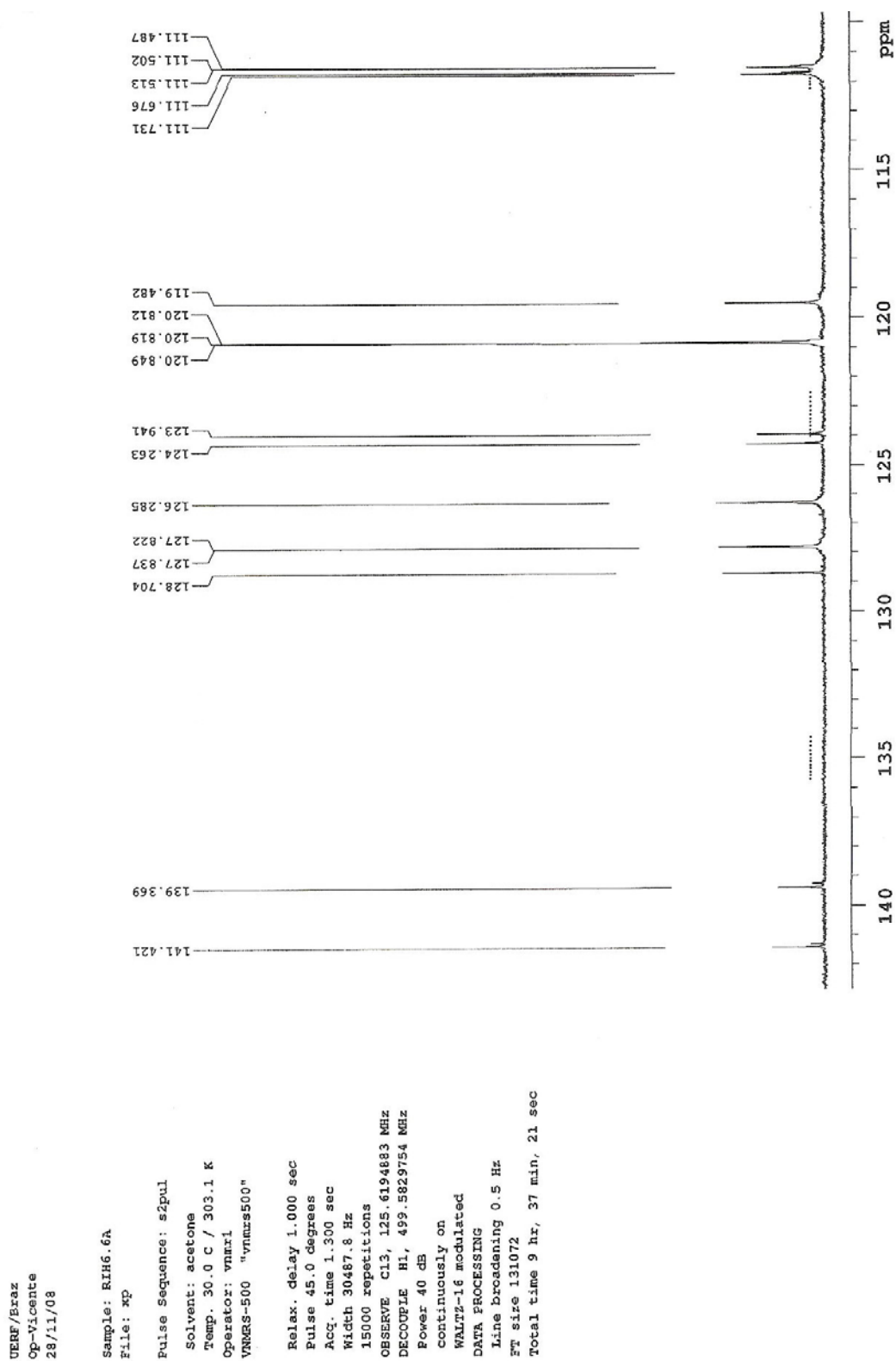


Figura 11 Ampliação da região de δ_c 141,42 a 111,48 do espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, acetona- d_6) da substância **4**.

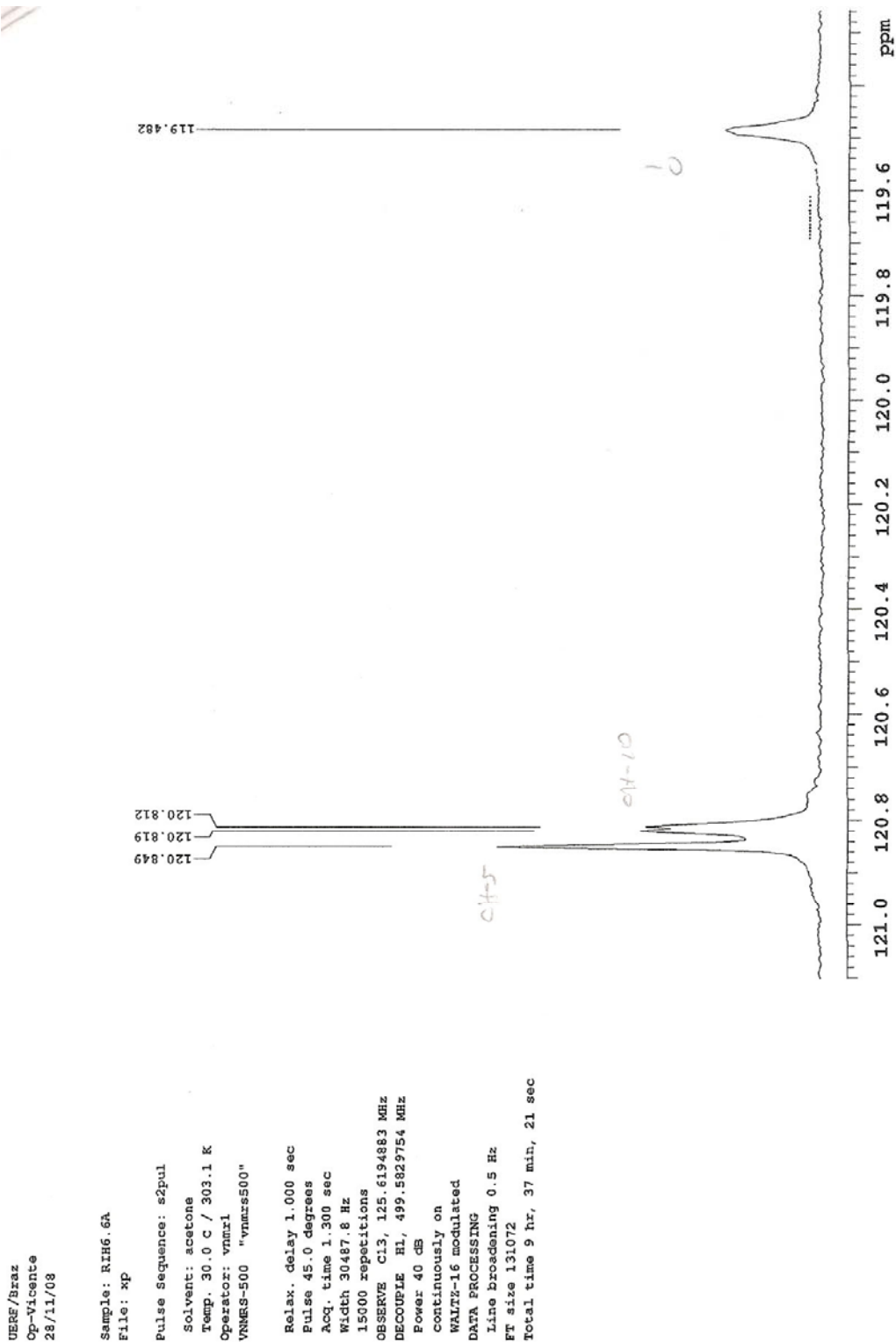


Figura 12. Ampliação da região de δ_c 121,0 a 119,6 do espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, acetona- d_6) da substância **4**.

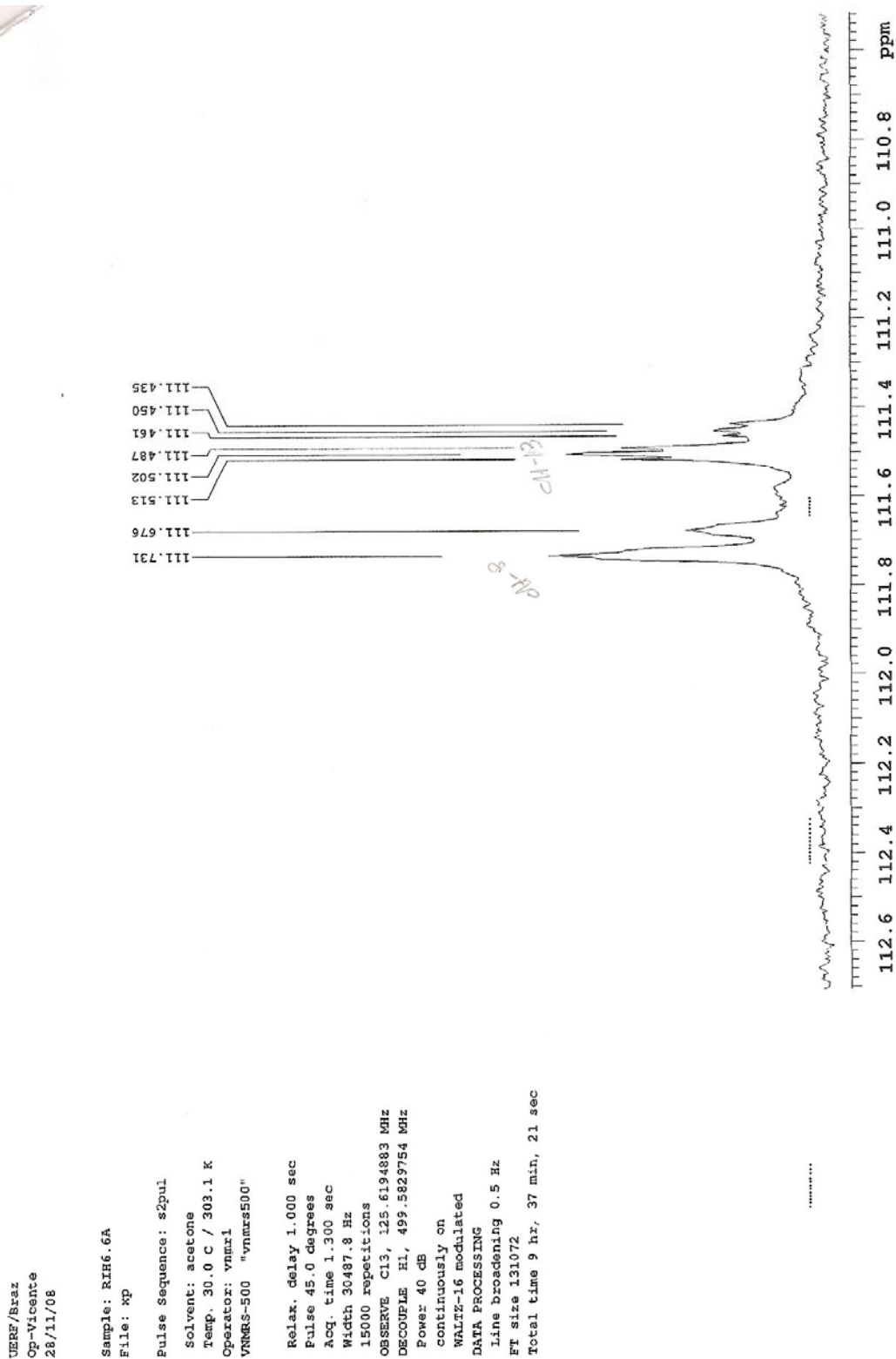


Figura 13. Ampliação da região de δ_c 112,6 a 110,8 do espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, acetona- d_6) da substância **4**.

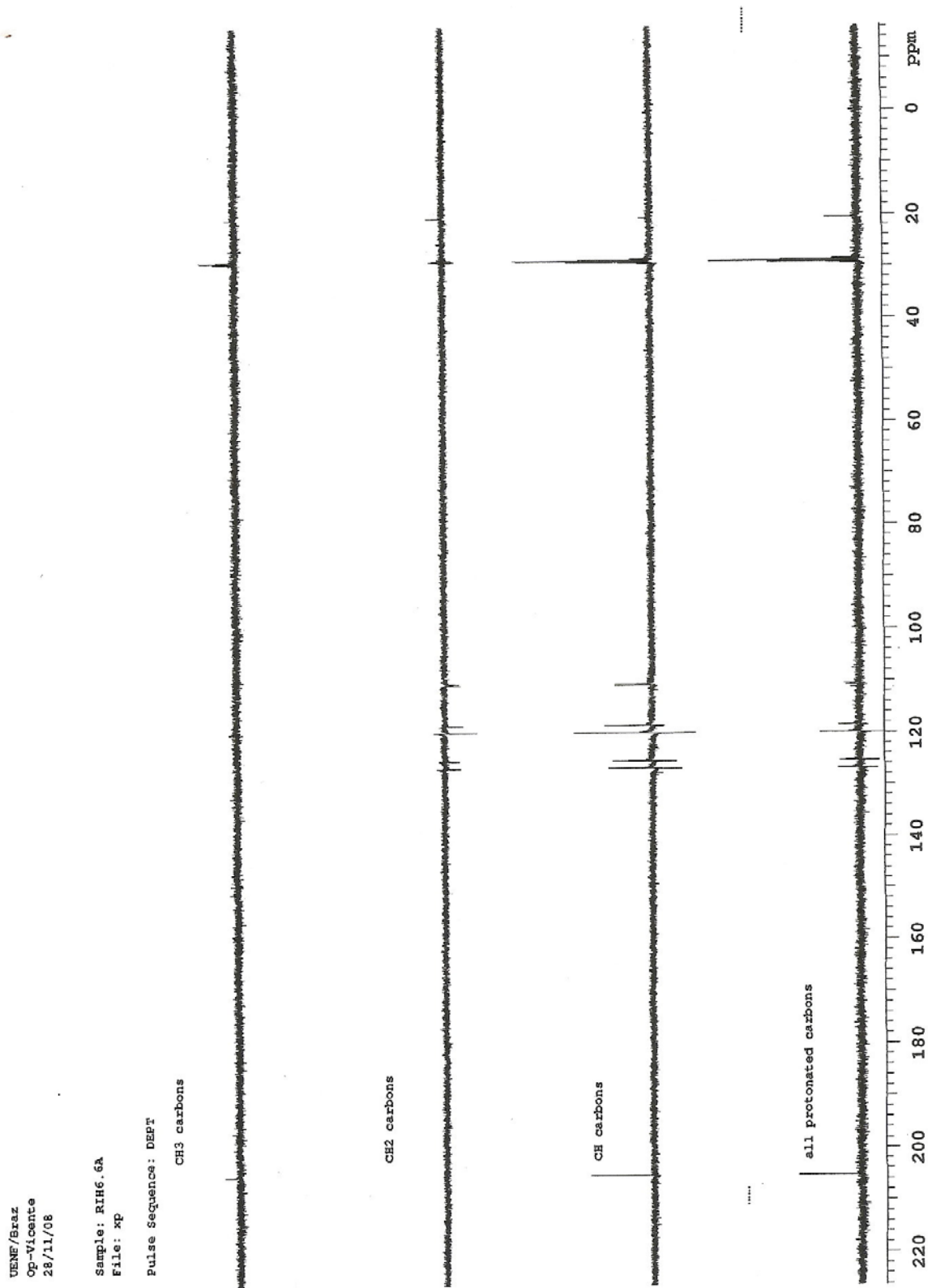


Figura 14. Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° da substância 4.

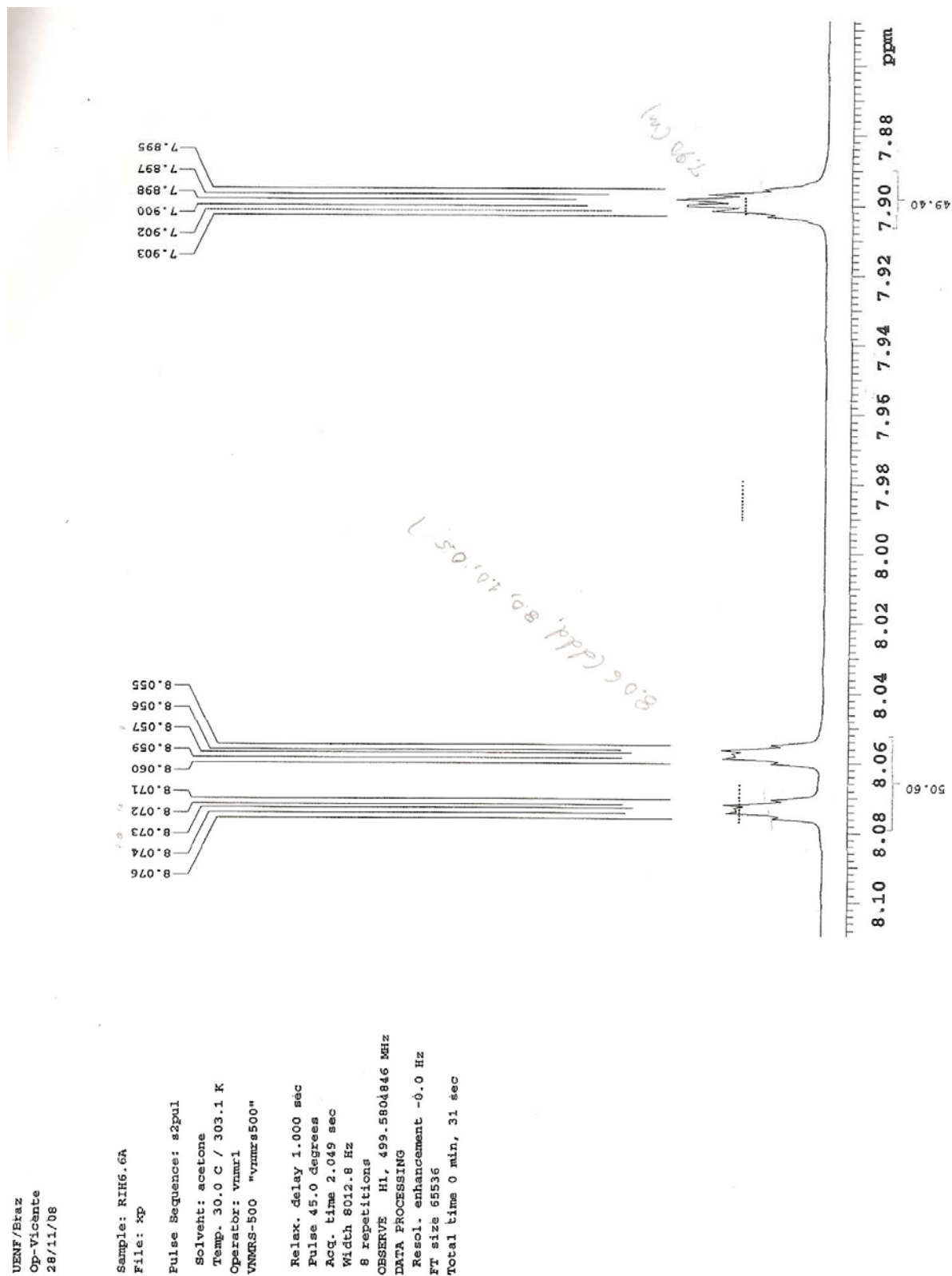


Figura 16. Ampliação da região de δ_{H} 8,10 a 7,88 do espectro de RMN ^1H (500 MHz, acetona- d_6) da substância **4**.

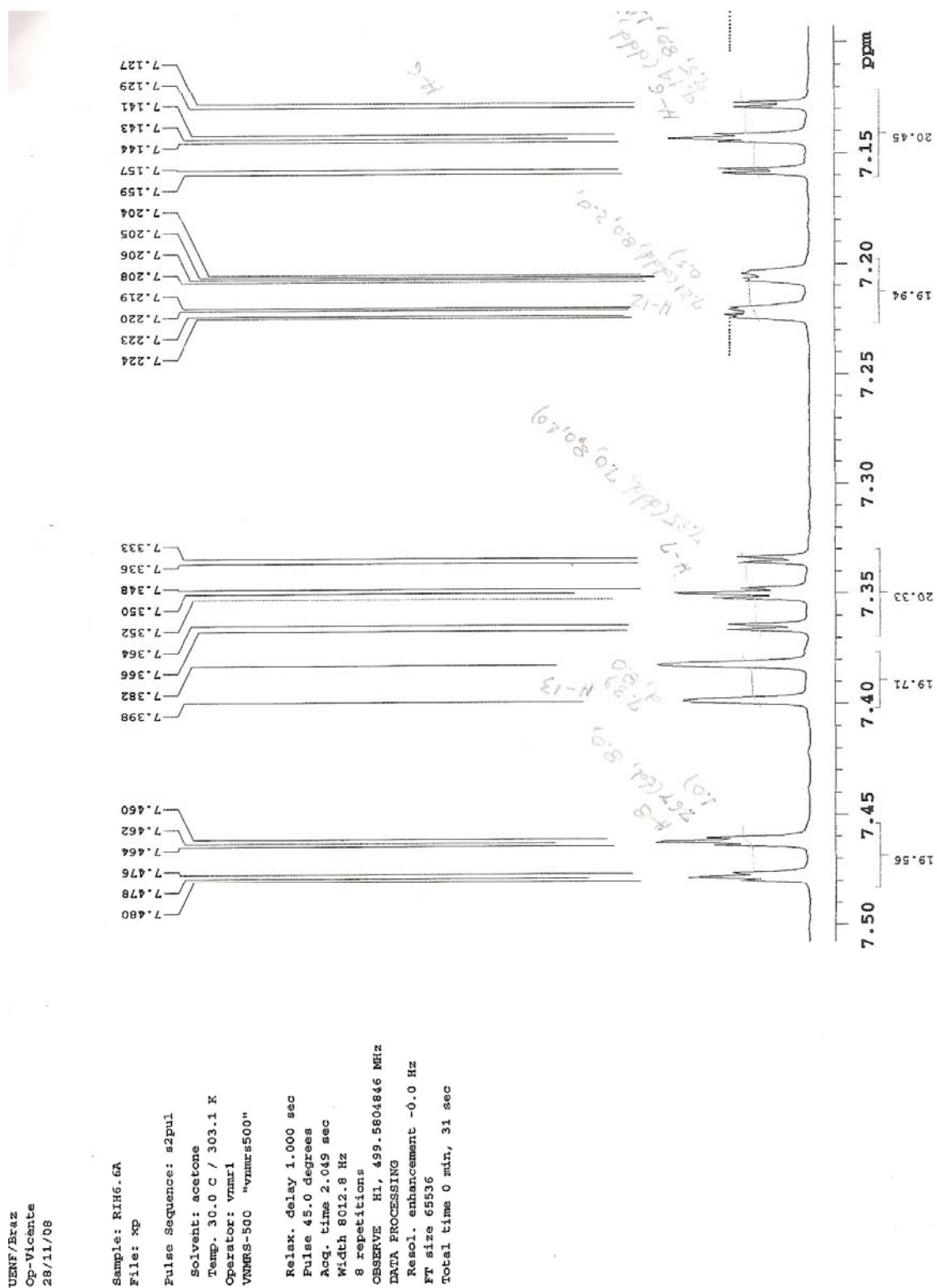
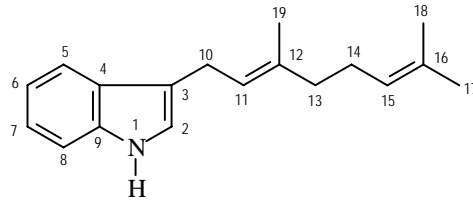


Figura 17. Ampliação da região de δ_{H} 8,10 a 7,88 do espectro de RMN ^1H (500 MHz, acetona- d_6) da substância **4**.

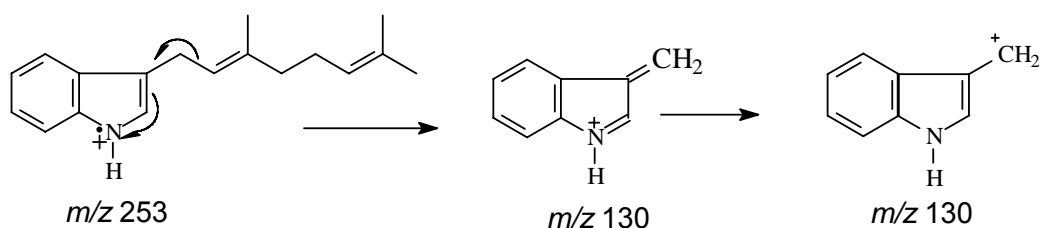
5.3 IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA 3



A análise da substância **3** revelou fluorescência sob radiação UV, coloração violeta quando revelada com vanilina sulfúrica e alaranjada quando revelada com o reagente de Dragendorff, indicando tratar-se de um alcalóide. O seu espectro de CG/MS (**Figura 18, p. 52**) apresentou o pico do íon molecular com razão m/z igual a 253 daltons, que juntamente com espectro de RMN ^{13}C e DEPT 135° (**Figuras 19 - 21 e 22, p. 53-55 e 56**) confirmam a presença de nitrogênio na molécula e compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}$.

O espectro de RMN ^1H (**Figura 23 - 26, p. 57-60**) apresentou sinais característicos de um esqueleto alcalóide indólico. O sinais em δ_{H} 7,58 (1H, ddd, $J= 7,0, 1,5$ e $1,0$ Hz); δ_{H} 7,08 (1H, ddd, $J= 7,5, 7,0$ e $1,0$ Hz); δ_{H} 7,16 (1H, ddd, $J= 8,0, 7,5$ e $1,0$ Hz) e δ_{H} 7,33 (1H, td, $J= 8,0$ e $1,0$ Hz) foram associados a hidrogênios acoplado entre si, de um anel aromático *orto* dissubstituído; o sinal simples largo em δ_{H} 7,84 foi associado a um hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio. A presença de um sinal múltiplo integrando para um hidrogênio em δ_{H} 6,92 (1H, m) foi associado a um hidrogênio de do núcleo indólico.

A unidade de farnesil ligada ao átomo de carbono C-3 do núcleo indólico foi confirmada através do espectro de massas (**Figura 18, p. 52**), o qual apresenta duas unidades isoprênicas ($\text{C}_{10}\text{H}_{17}$), e através do fragmento m/z 130, como descrito abaixo, característico para compostos indólicos.



A análise dos dados obtidos permitiu sugerir para a substância **3**, a estrutura do alcalóide indólico 3-farnesilindol, uma que, comparando os valores dos deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C (**Figuras 23 e 19, p. 57 e 53**) da substância **3**, com os valores encontrados na literatura (ZHU e GANESAN, 2002), confirmou a identidade entre as substâncias (**Tabela 11, p. 51**).

Tabela 11. Dados espectrais de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância **3**, em CDCl_3 e comparação com valores de literatura para a substância 3-farnesilindol. Os valores dos deslocamentos químicos δ_{C} estão em ppm e as constantes de acoplamento entre parêntesis estão em Hz.

	3		Literatura	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
C				
3	116,25	-	116,0	
4	127,56	-	127,4	
9	136,56	-	136,4	
12	135,63	-	135,6	
16	131,37	-	131,4	
CH				
2	121,14	6,92 (m)	121,2	6,87 (d, 1,5)
5	119,06	7,58 (ddd, 7,0, 1,5 e 1,0)	119,0	7,59 (d, 7,4)
6	119,15	7,08 (ddd, 7,5, 7,0 e 1,0)	119,1	7,05 (m)
7	121,93	7,16 (ddd, 8,0, 7,5 e 1,0)	121,9	7,18 (m)
8	110,93	7,33 (td, 8,0 e 1,0)	111,0	7,28 (d, 8,0)
11	122,92	5,40 (t, 7,0)	122,9	5,45 (dt, 1,5 e 6,6)
15	124,40	5,10 (t, 7,5)	124,4	5,15 (m)
CH₂				
10	24,01	3,45 (d, 7,0)	24,0	3,45 (d, 6,7)
13	39,70	2,03 (t, 8,0)	39,7	2,05 (m)
14	26,71	2,10 (dt, 8,0 e 7,5)	26,6	2,15 (m)
CH₃				
17	25,72	1,67 (d, 1,0)	25,7	1,68 (s)
18	17,71	1,52 (s)	17,7	1,6 (s)
19	16,07	1,74 (d, 0,5)	16,0	1,75 (s)

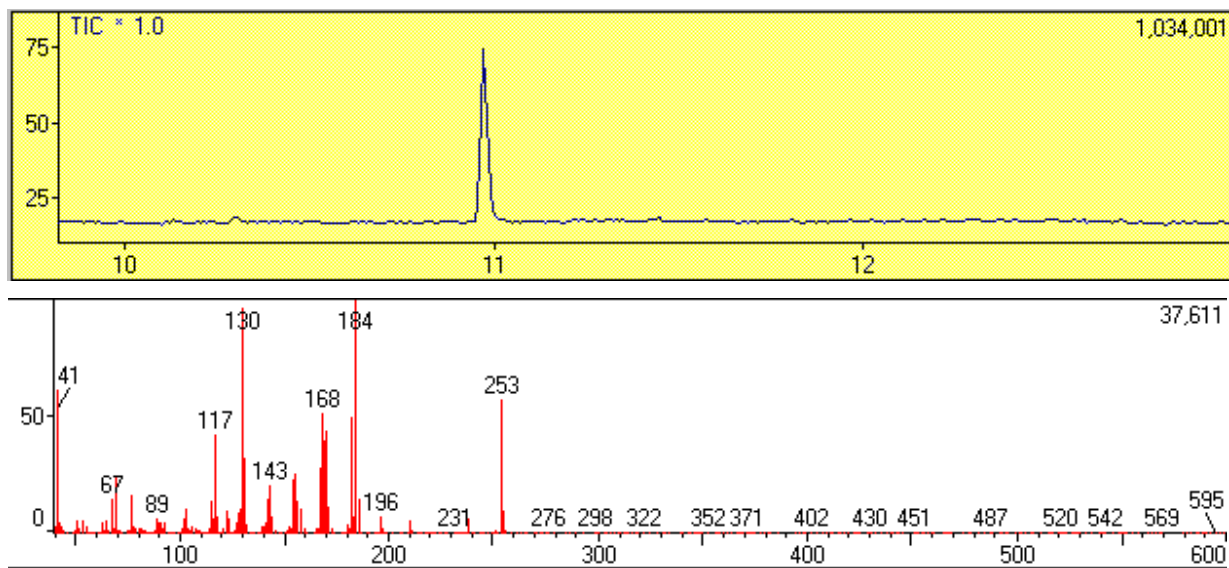


Figura 18. CG/MS da substância 3

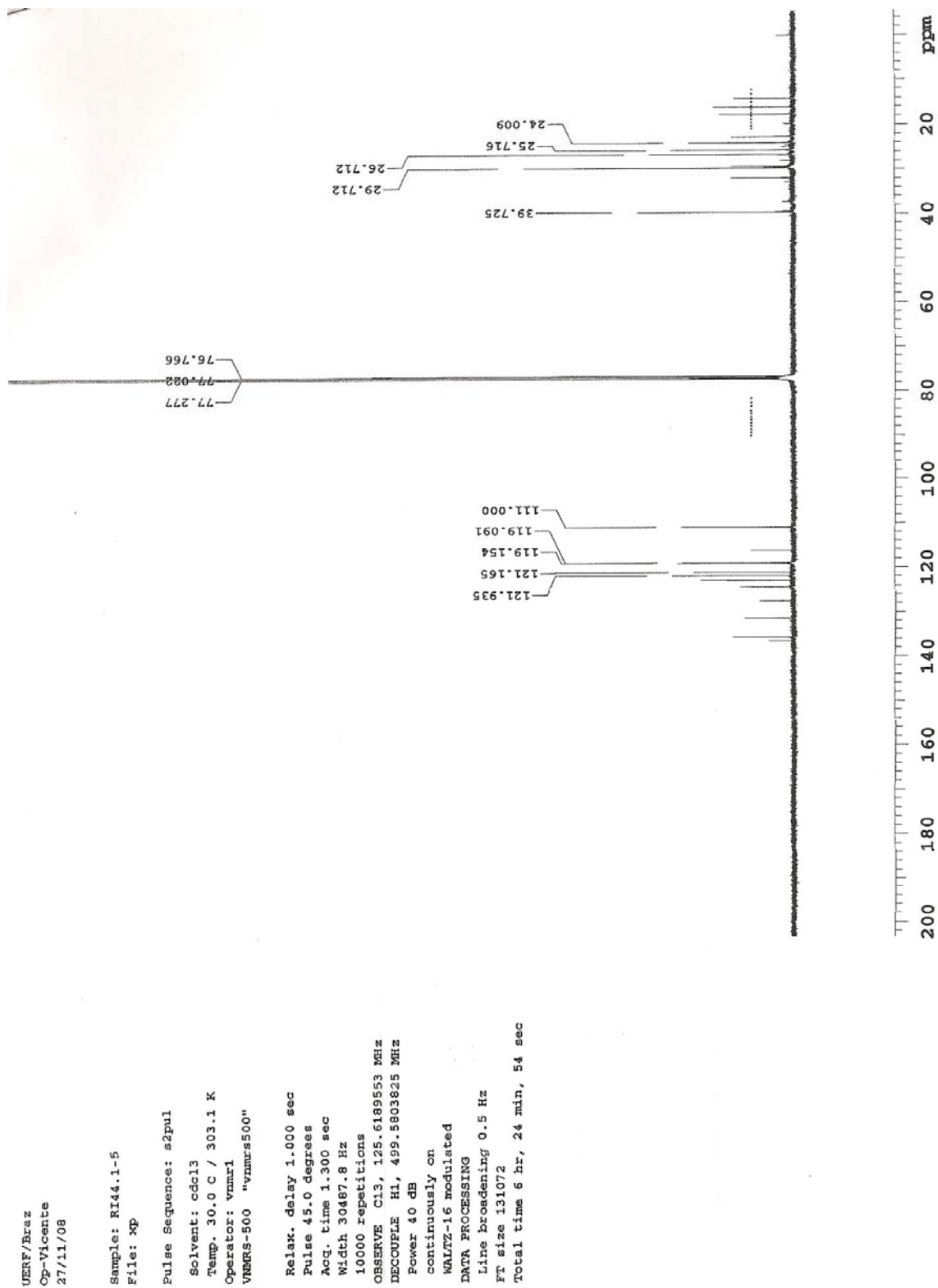


Figura 19. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância 3

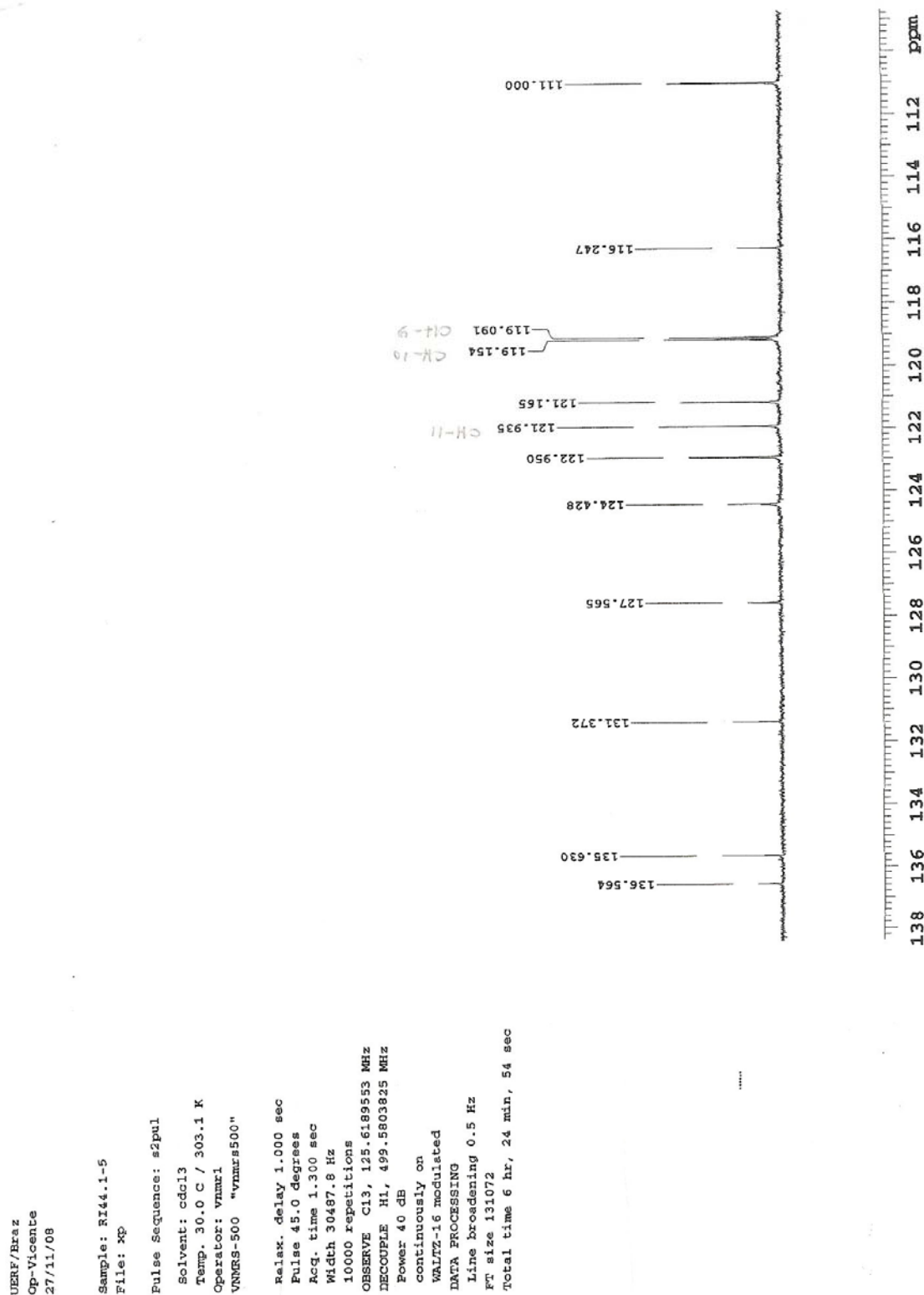


Figura 20. Ampliação da região de δ_c 138 a 110 do espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância **3**

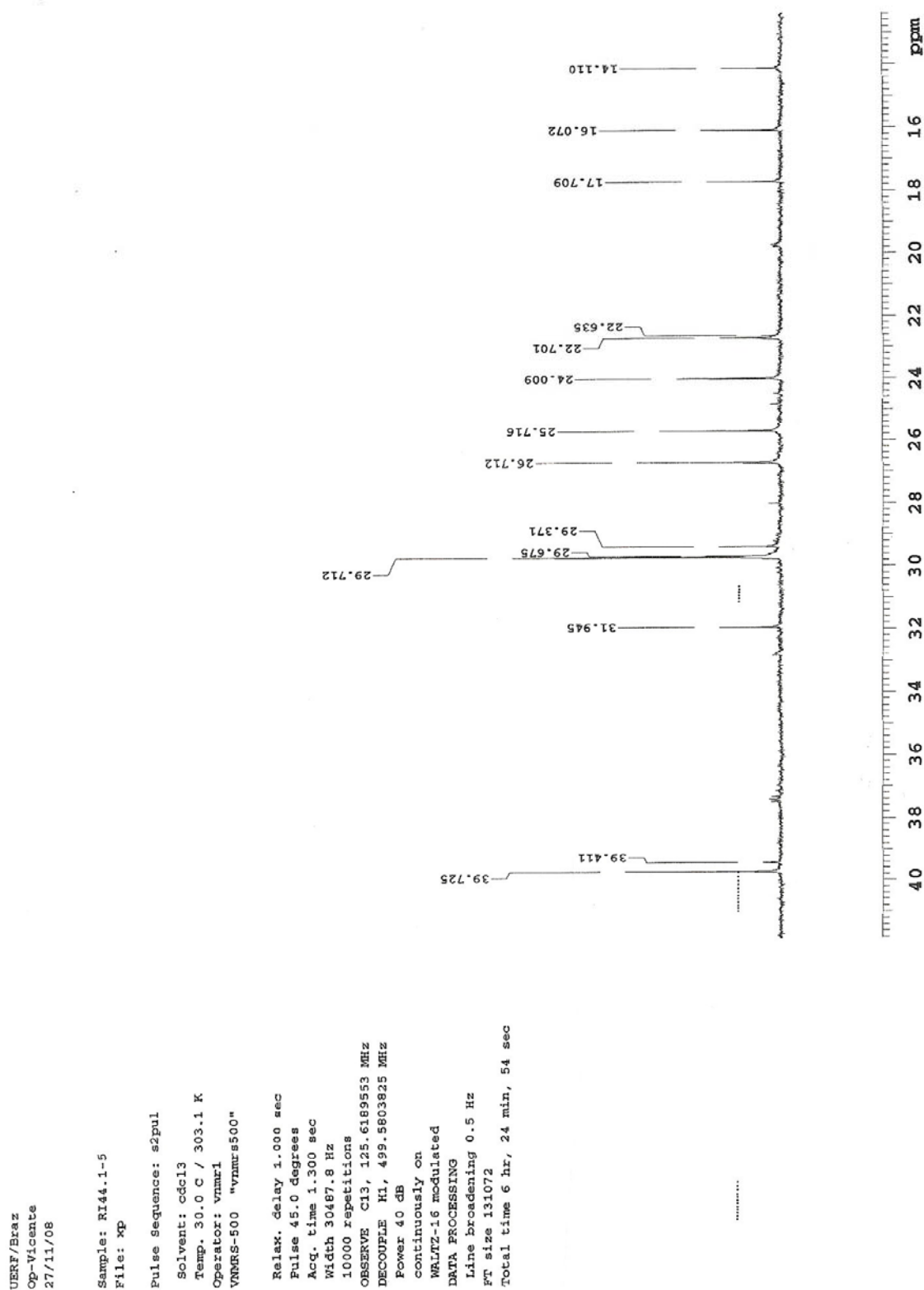


Figura 21. Ampliação da região de δ_c 40 a 13 do espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância **3**

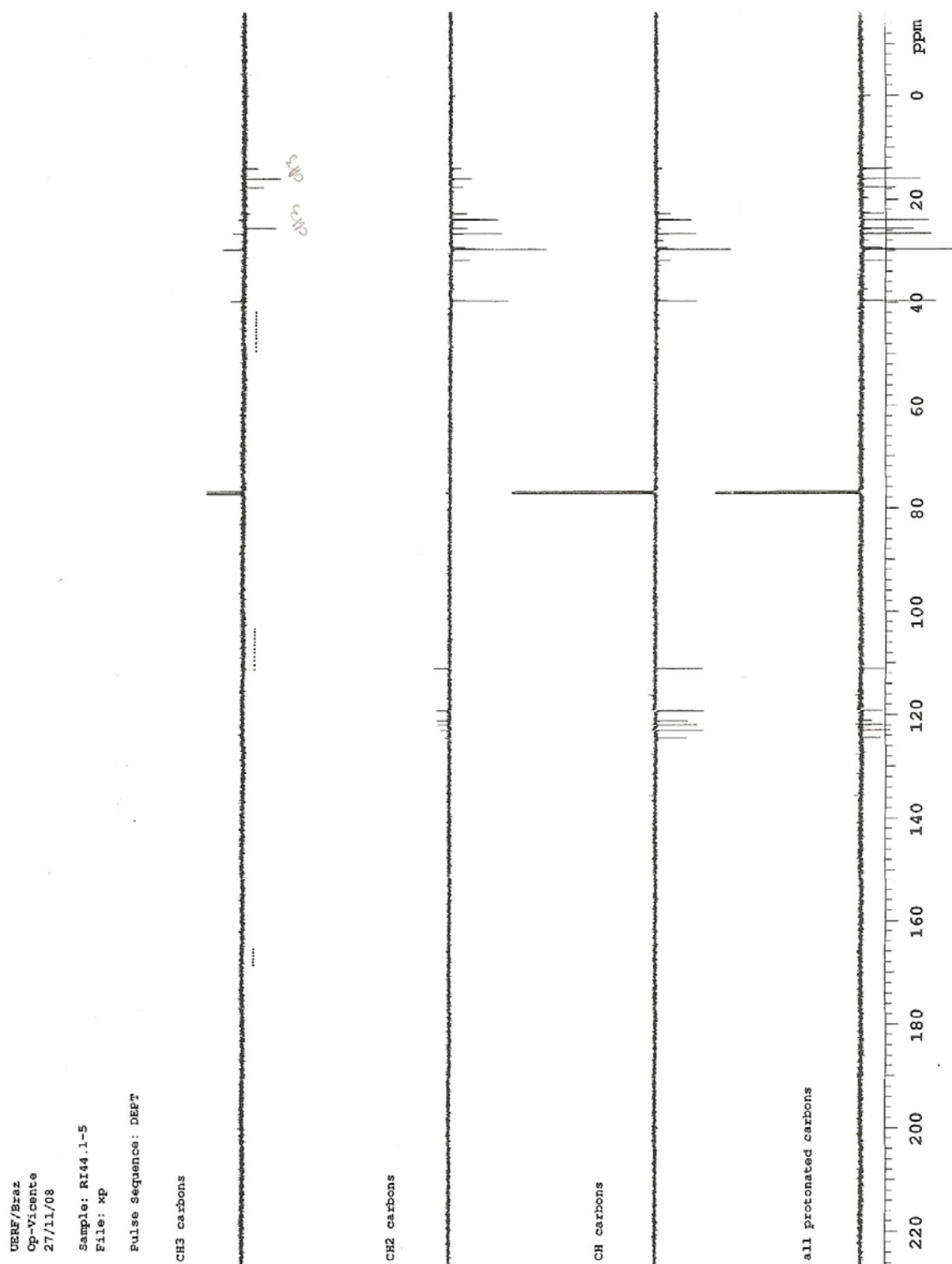


Figura 22. Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° da substância 3.

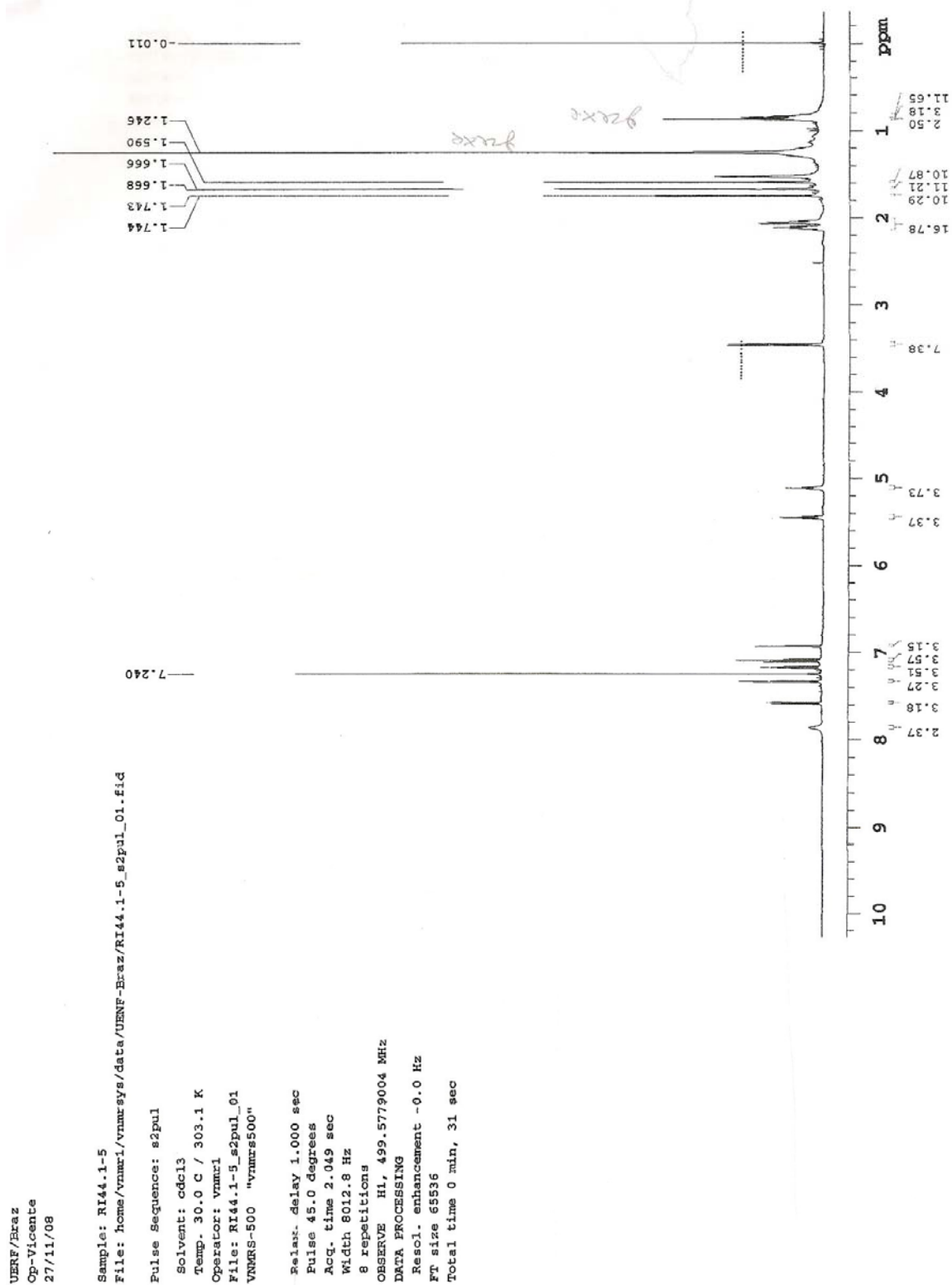


Figura 23. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância 3.

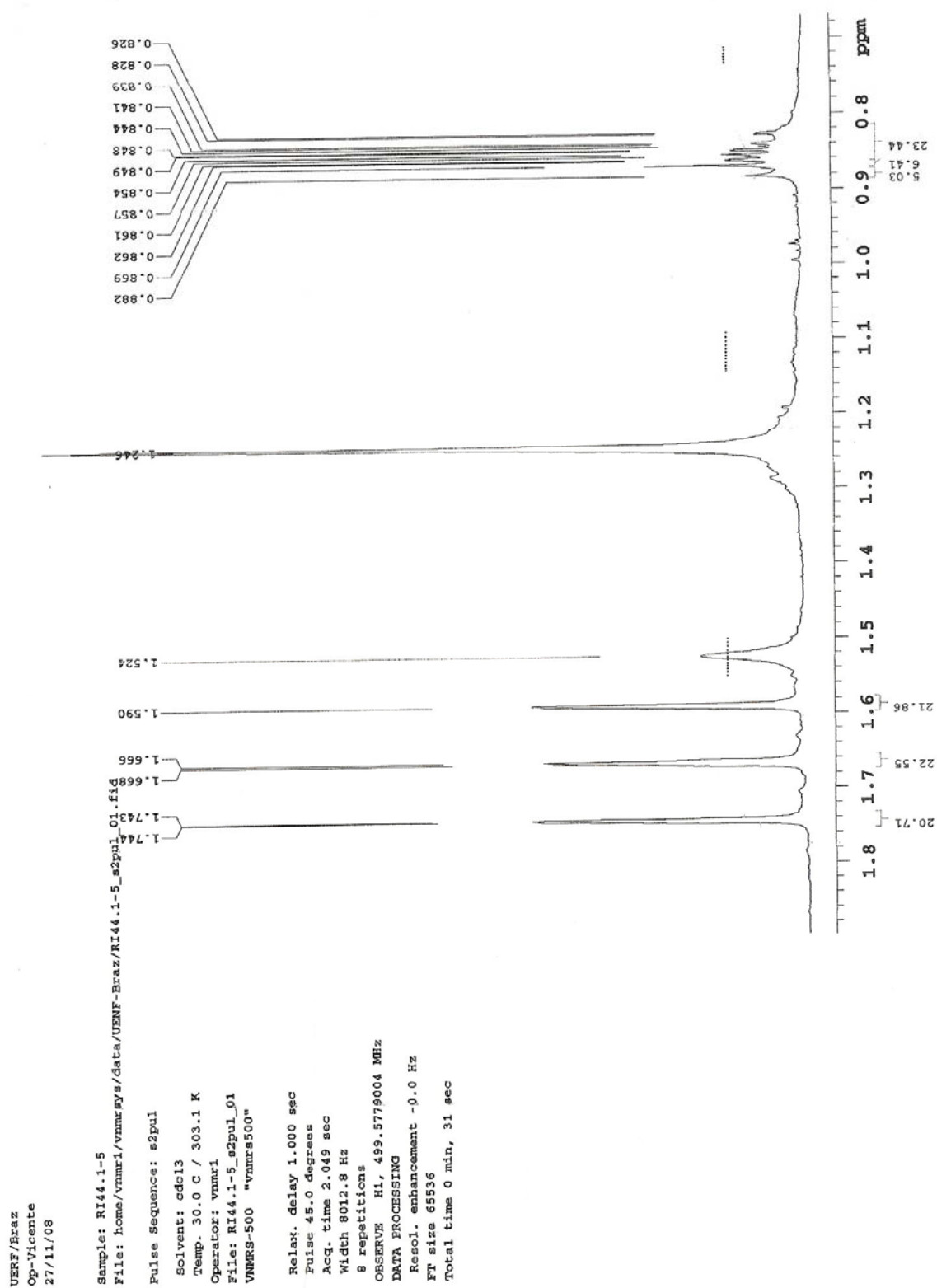


Figura 26. Ampliação da região de δ_H 1,8 a 0,8 do espectro de RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) da substância **3**.

6 CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico do caule de *Ravenia infelix* realizado neste trabalho levou ao isolamento de dois esteróides sendo eles o β -sitosterol e o estigmasterol e dois alcalóides que foram o alcalóide carbozol, 3-metilcarbozol e o alcalóide indólico 3-farnesilindol proporcionando portanto uma contribuição para a composição química da espécie e do gênero uma vez que ambos os esteróides identificados quanto o alcalóide indólico 3-farnesilindol são compostos inéditos identificados nesta espécie vegetal.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, B. W. P. (1976) Revisão taxonômica de Rutaceae do Estado do Amazonas. *Acta Amazônica*, n. 6, p. 1-67.

AMOROZO, M.C.M. (1996) A abordagem etnobotânica na pesquisa de plantas medicinais. In: DI STASI, L.C. *Plantas medicinais: arte e ciência*. São Paulo: UNESP, p. 47-68.

ANDRADE, M. R. (2003) Alcalóides de *Rutaceae*: Química e atividade biológica. São Carlos. Tese de doutorado. Universidade Federal de São Carlos.

BHATTACHARYYA, P.; CHOWDHURY, B. K. (1984) Ravesilone, a Quinolone Alkaloid from *Ravenia spectabilis*. *Phytochemistry*, v. 23, n. 8, p 1825-1826.

BREITMAIER, E., VOELTER, W. (1987) *Carbon-13 NMR Spectroscopy: High-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry* (3rd Ed) VCH, Weinheim.

CALIXTO, J. B.; SIQUEIRA, M. Jr. (2008) Desenvolvimento de Medicamentos no Brasil: Desafios. *Gazeta Médica da Bahia*, v. 78, n. 1, p. 98-106.

CHAKRBARTY, M; et al, (1997) Carbazole alkaloids from *Murraya koenigii*. *Phytochemistry*, v. 46, n. 4, p 751-755.

ELISABETSKY, E. (1999) Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. In: Simões, C.M.O.(org). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre: Ed.UFRGS; Florianópolis: Ed. UFSC, p.87-99.

ENGLER, A. (1931) *Rutaceae* In: Engler, A. Von; Prantl. K. .Die. Natürlichen Pflanzfamilien, 2ª ed. V. 19, p. 187-359; 458-459.

FERRACIN, R. J. (1992) *Estudo fitoquímico de Hortia arborea: Uma contribuição a quimiosistemática de Cusparieae*. São Carlos. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de São Carlos.

FRIEBOLIN, H. (1993) Basic One- and Two-Dimensional NMR Spectroscopy. 2 ed. VCH, Weinheim.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. (2005) Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, n. 2, p. 178-182.

GOTTLIEB, O. R.; BRAZ-FILHO, R.; CRAVEIRO, A. A.; ALENCAR, J. W. de. (1967) Introducción a la Espectrometría de Masas de substâncias Orgânicas. Secretaria general de La Organización de los Estados Americanos – Programa Regional de Desarrollo Científico y Washington- D.C.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. (1990) Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. *Phytochemistry* V. 29, P. 2351-2355.

MARQUES, L. C.; PETROVICK, P. R. (2004) Normatização da produção e comercialização de Fitoterápicos no Brasil. In: Simões, C.M.O.(org). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre: Ed. UFRGS; Florianópolis: Ed. UFSC.

NEWMAN, D. J. *et al.* (2002) Natural products and derivatives as leads to cell cycle pathway targets in cancer chemotherapy. *Curr Cancer Drug Targets*, n. 2, p. 279-308.

POLATO, E. A. P. (1995) Quimiosistemática de Rutaceae e estudo fitoquímico de *Neoraputia magnifica* var. *magnifica*. São Carlos, Tese de doutorado. Universidade Federal de São Carlos.

POSSE, J. C. (2007) Plantas medicinais utilizadas pelos usuários de SUS nos bairros de Paquetá e Santa Tereza: uma abordagem etnobotânica. Rio de Janeiro. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.

SEO S, UOMORI A, YOSHIMURA Y, TAKEDA K, SETO H, EBIZUKA Y, NOGUHI H, SANKAVA V. (1988) Biosyntheses of sitosterol, cycloartenol, an 24-methylenecycloartenol in tissue cultures of higher and of ergosterol in yeast from [1,2-¹³CH₂] and [2-¹³CH₃] acetate and [5-¹³CH₂]. *J Chem Soc Perkin Trans I*, p. 2407-2412.

SIZDAK, G. (1996) Mass Spectrometry for Biotechnology. Academic Press, New York.

TOLEDO, A. C. O., et al. (2003) Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. *Revista Lecta*, Bragança Paulista, v. 21, n. 1/2, p. 7-1.

VIEIRA, P. C.; KUMBO, I. (1990) Molluscicidal Quinoline Alkaloids from *Galipea bracteata*. *Phytochemistry*, v.29, n. 3, p. 813-815.

WATERMAN, P. G. (1975) Alkaloids of the Rutaceae: Their distribution and systematic significance. *Biochem. Syst. Ecol*, n. 3, p. 149-180.

ZHU, X; GANESAN, A. (2002) Regioselective Synthesis of 3-alkylindoles mediated by zinc triflate. *J. Org. Chem.* n 67, p. 2705-2708.