

SESQUITERPENOS DE *Ocotea lancifolia* (Lauraceae)

Maria José de Camargo, Mayker Lazaro Dantas Miranda, Camila Miyuki Kagamida, Edilene Delphino Rodrigues, Fernanda Rodrigues Garcez e Walmir Silva Garcez*

Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Química, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79070-900 Campo Grande – MS, Brasil.

Recebido em 20/11/12; aceite em 4/3/13; publicado na web em 24/5/13

SESQUITERPENES OF *Ocotea lancifolia* (Lauraceae). Six new eremophilane sesquiterpenes, (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremophil-9-en-12-oic acid (**1**), (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremophil-1(10)-en-12-oic acid (**2**), (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremophil-1(10)-en-2-oxo-12-oic acid (**3**), (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremophil-9-en-12,8 α -olide (**4**), (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremophil-9-en-12,8 β -olide (**5**) and (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremophil-9 α ,10 α -epoxy-12-oic acid (**6**), were isolated from the leaves of a specimen of *Ocotea lancifolia* (Lauraceae). Two other known sesquiterpenes, 4 β ,5 β ,7 β -eremophil-11-en-10 α -ol (**7**) reported for the first time in the genus *Ocotea*, and the aromadendrene sesquiterpene, spathulenol (**8**), were also isolated. Their structures were determined on the basis of spectral data (MS, IR, UV and NMR-1D and 2D) and subsequent comparisons with the literature.

Keywords: *Ocotea lancifolia* (Lauraceae); sesquiterpenes; eremophilane.

INTRODUÇÃO

Ocotea lancifolia Lauraceae é uma espécie popularmente conhecida por canela pilosa que ocorre no “Pantanal” e “Cerrado” de Mato Grosso do Sul, principalmente em matas ciliares ou em áreas próximas a regiões alagadas.¹ Em plantas do gênero *Ocotea* foram caracterizados metabólitos secundários das seguintes classes: alcaloides aporfínicos e benziltetraidroisquinolínicos, lignanas e neolignanas, benzopiranos, monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides.² Muitas espécies deste gênero são empregadas na medicina popular, sendo a elas atribuídas propriedades anti-reumáticas, depurativas, tônicas, estomáquicas e contra abscessos.³

No Paraguai, *O. lancifolia* é usada na medicina popular como “antiparasita” e há uma única descrição na literatura de estudos fitoquímicos do extrato alcaloídico desta planta coletada naquele país. Neste estudo foram isolados treze alcaloides, tendo sido também avaliadas as atividades destes *in vitro* contra a forma promastigota de *Leishmania amazonensis* e *Trypanosoma cruzi*.⁴

O presente trabalho aborda o estudo fitoquímico das folhas de um espécime de *O. lancifolia* coletado em Mato Grosso do Sul, o qual levou ao isolamento de oito sesquiterpenos, sendo seis deles inéditos.

PARTE EXPERIMENTAL

Instrumentação e procedimentos gerais

Para as técnicas de cromatografia em coluna foram utilizadas como fases estacionárias gel de sílica 70-230 mesh e 230-400 mesh e Sephadex LH-20. As análises por cromatografia em camada fina foram realizadas utilizando-se sílica gel 60 GF₂₅₄ e cromatofolhas de alumínio 60 F₂₅₄ da Merck. Como reveladores foram utilizados Sulfato de Cério [Ce(SO₄)₂] – solução a 2% em H₂SO₄ e luz UV₂₅₄. Os espectros de RMN foram obtidos em espectrômetro Bruker® DPX-300 (300/75MHz) e como solvente foi utilizado CDCl₃, de procedência CIL® (Cambridge Isotope Laboratories, Inc). Os espectros de massas de baixa resolução foram obtidos por impacto de elétrons a 70 eV e foram adquiridos em espectrômetro CG-EM - QP2010

PLUS SHIMADZU®, sendo a inserção das amostras realizada de modo hifenado. Os espectros de absorção na região do ultravioleta foram obtidos em espectrofotômetro modelo U-3000 da marca Hitachi, utilizando-se clorofórmio como solvente. As medidas de rotação óptica foram determinadas em polarímetro Perkin-Elmer 341. Os espectros de IV foram registrados em espectrômetro Bomem-Hartmann & Braun FT, tendo sido as amostras dissolvidas em CHCl₃ e preparadas sob a forma de filme.

Material vegetal

O material vegetal foi coletado pelo Prof. Dr. Walmir Silva Garcez (UFMS) em setembro de 2006, na região do Rio Guariroba no município de Campo Grande - Mato Grosso do Sul. A identificação da planta foi realizada pelo Dr. Flávio Macedo Alves, sendo uma exsicata (WG 206) incorporada no Herbário-CGMS, da UFMS.

Extração e isolamento das substâncias

As folhas (3 kg) foram secas, trituradas e extraídas exaustivamente com etanol à temperatura ambiente. As soluções resultantes após filtrações foram concentradas sob pressão reduzida, obtendo-se o extrato etanólico bruto das folhas (486 g). Este foi submetido à partição entre metanol/água (9:1) e hexano, originando, após evaporação dos solventes, os resíduos hexânico e hidrometanólico. Parte do resíduo hexânico (25 g) foi submetida a uma filtração em coluna de gel de sílica 70-230 mesh, eluída inicialmente com hexano e posteriormente com misturas de hexano/AcOEt e AcOEt/metanol em gradiente crescente de polaridade, sendo coletadas 16 frações. A fração OLH-4 (Hex/AcOEt 95:5, 150 mg), proveniente da coluna filtrante, foi cromatografada em coluna de gel de sílica 230-400 mesh, utilizando como eluente misturas de hexano e AcOEt em gradiente crescente de polaridade. Este procedimento resultou na obtenção dos compostos **1** (ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-9-en-12-oico, 4,6 mg) e **2** (ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-1(10)-en-12-oico, 8,2 mg). O estudo da fração OLH-5 (Hex/AcOEt 9:1, 100 mg), através dos mesmos procedimentos descritos acima, levou ao isolamento do composto **3** (ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-1(10)-en-2-oxo-12-oico, 14,4 mg). Os compostos **4** ((*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-9-en-12,8 α -olido, 12,4 mg)

*e-mail: walmir.garcez@ufms.br

e **5** (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-9-en-12,8 β -olido, 4,5 mg) foram obtidos da fração OHL-6 (Hex/AcOEt 8:2, 200 mg), após cromatografia em coluna de gel de sílica 230-400 *mesh*, utilizando como solvente hexano/AcOEt (9:1) em modo isocrático. A fração OHL-8 (Hex/AcOEt 7:3, 200 mg) foi fracionada também em gel de sílica 230-400 *mesh*, utilizando os solventes hexano e AcOEt em gradiente crescente de polaridade, levando ao isolamento do composto **6** (ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofilan-9 α ,10 α -epóxi-12-oico, 3,1 mg). O fracionamento da fração OHL-3 (hexano, 200 mg) em gel de sílica 230-400 *mesh*, utilizando misturas de hexano e AcOEt em gradiente crescente de polaridade, resultou no isolamento dos compostos **7** (4 β ,5 β ,7 β -eremofil-11-en-10 α -ol, 19,4 mg) e **8** (espatulenol, 12,4 mg).

Ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-9-en-12-oico (**1**): Óleo incolor, $[\alpha]_D^{23} + 8,5$ (CHCl₃; *c.* 0,88). IV (filme) ν_{\max} cm⁻¹: 3440; 2931; 1708 e 1199. EM (70 eV) *m/z* (intensidade relativa): 236 (18) (M⁺), 162 (100), 147 (62), 135 (40), 107 (90), 91 (70). RMN de ¹H e ¹³C: Tabela 1.

Ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-1(10)-en-12-oico (**2**): Óleo incolor, $[\alpha]_D^{23} + 3,6$ (CHCl₃; *c.* 0,48). EM (70 eV) *m/z* (intensidade relativa): 236 (22) (M⁺), 162 (100), 177 (10), 147 (80), 120 (50), 91 (60). RMN de ¹H e ¹³C: Tabela 1.

Ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-1(10)-en-2-oxo-12-oico (**3**): Óleo incolor, $[\alpha]_D^{23} - 4,7$ (CHCl₃; *c.* 0,18). IV (filme) ν_{\max} cm⁻¹: 3448; 2958; 2935; 1704; 1654; 1458 e 1199. EM (70 eV) *m/z* (intensidade relativa): 250 (20) (M⁺), 147 (100), 235 (15), 162 (50), 120 (40), 55 (20). RMN de ¹H e ¹³C: Tabela 1.

(*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -Eremofil-9-en-12,8 α -olido (**4**): Óleo incolor, $[\alpha]_D^{23} + 5,6$ (CHCl₃; *c.* 0,17). IV (filme) ν_{\max} cm⁻¹: 2920; 2850; 1770; 1731; 1454 e 1377. EM (70 eV) *m/z* (intensidade relativa): 234 (15) (M⁺), 110 (100), 207 (24), 121 (50), 91 (30), 81 (26). RMN de ¹H e ¹³C: Tabela 2.

(*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -Eremofil-9-en-12,8 β -olido (**5**): Óleo incolor, $[\alpha]_D^{23} - 3,8$ (CHCl₃; *c.* 0,38). IV (filme) ν_{\max} cm⁻¹: 2920; 2858; 1766; 1454 e 1161. EM (70 eV) *m/z* (intensidade relativa): 234 (20) (M⁺), 110 (100), 161 (40), 133 (45), 121 (50), 67 (20). RMN de ¹H e ¹³C: Tabela 2.

Ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofilan-9 α ,10 α -epóxi-12-oico (**6**): Óleo incolor, $[\alpha]_D^{23} + 5,4$ (CHCl₃; *c.* 0,38). EM (70 eV) *m/z* (intensidade relativa): 252 (10) (M⁺), 91 (100), 105 (70), 120 (60), 147 (57), 55 (72), 133 (20). RMN de ¹H e ¹³C: Tabela 2.

4 β ,5 β ,7 β -Eremofil-11-en-10 α -ol (**7**): Óleo incolor. $[\alpha]_D^{23} + 28,9$ (CHCl₃; *c.* 0,18) e Lit.⁵ $[\alpha]_D^{23} + 29,2$ (CHCl₃; *c.* 0,12). RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ_H (mult.; *J* em Hz; H): 1,27 (*m*, H-1); 1,46 (*m*, H-2); 1,32 (*m*, H-3); 2,38 (*dd*; 6,9 e 1,9 Hz; H-4); 0,91 (*m*, H-6); 2,20 (*dd*; 11,7 e 4,7 Hz; H-7); 1,58 (*m*, H-8); 1,41 (*m*, H-9); 4,67 (*sl*, H-12); 1,70 (*sl*, H-13); 0,84 (*sl*, H-14); 0,77 (*d*; 6,9 Hz; H-15). RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ_C : 36,7 (C-1), 22,9 (C-2), 32,7 (C-3), 38,7 (C-4), 41,1 (C-5), 36,7 (C-6), 33,3 (C-7), 26,7 (C-8), 30,1 (C-9), 73,1 (C-10), 150,4 (C-11), 108,1 (C-12), 20,9 (C-13), 15,4 (C-14), 15,3 (C-15).

Espatulenol (**8**): Óleo incolor. $[\alpha]_D^{23} + 7,2$ (CHCl₃; *c.* 0,20) e Lit.⁷ $[\alpha]_D^{23} + 7,2$ (CHCl₃; *c.* 1,3). RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ_H (mult.; *J* em Hz; H): 0,44 (*t*; 10,4 Hz; H-7); 0,69 (*m*, H-8); 1,02 (*s*, H-12); 1,03 (*s*, H-13); 4,64 (*sl*, H-14); 1,25 (*s*, H-15). RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ_C : 53,3 (C-1), 26,7 (C-2), 41,6 (C-3), 80,8 (C-4), 54,2 (C-5), 29,8 (C-6), 27,0 (C-7), 25,0 (C-8), 38,8 (C-9), 153,2 (C-10), 20,5 (C-11), 16,2 (C-12), 28,6 (C-13), 106,2 (C-14), 25,6 (C-15).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A substância **1** apresentou-se como um óleo incolor e em seu espectro de infravermelho destacaram-se uma banda larga em 3440 cm⁻¹, relativa a estiramento (O-H) de ácido carboxílico e uma banda em 1708 cm⁻¹, relativa a estiramento (C=O). O espectro de RMN de

¹³C apresentou um conjunto de quinze sinais, permitindo definir os seguintes grupos: uma carboxila, três metilas, cinco metilenos, dois carbonos não ligados a hidrogênios, sendo um deles quaternário e outro olefínico, e três metinos (sendo um deles olefínico). O espectro de massas de **1** apresentou pico do íon molecular (M⁺) em *m/z* 236, indicando, em conjunto com as informações presentes nos espectros de RMN de ¹³C e DEPT-135°, a fórmula molecular C₁₅H₂₄O₂. As características dos espectros de RMN (Tabela 1) juntamente com a relação carbono/hidrogênio constante na fórmula molecular levaram à proposta de que a substância **1** se tratava de um sesquiterpeno bicíclico e as evidências mencionadas a seguir indicaram possuir o esqueleto eremofilano.

O espectro de RMN ¹H de **1** apresentou dois dubletos em δ_H 0,76 (*J* = 6,7 Hz) e δ_H 1,16 (*J* = 7,1 Hz), referentes a duas metilas ligadas a carbonos metínicos, um singlete a δ_H 0,89, correspondente a uma metila ligada a carbono quaternário, e um sinal atribuível a um hidrogênio olefínico em δ_H 5,24 (*dd*, *J* = 5,8 e 1,3 Hz). O experimento HMBC (Esquema 1) apresentou correlações entre o sinal dos hidrogênios da metila em δ_H 1,16 e o dos carbonos metínicos a δ_C 44,3 e do carbono da carboxila a δ_C 182,7. Outras correlações observadas foram entre o hidrogênio referente ao sinal a δ_H 2,28 (*dq*, *J* = 12,2 e 7,1 Hz) e o carbono da carboxila (δ_C 182,7), o carbono da metila a δ_C 13,9 (δ_H 1,16) e o carbono metínico a δ_C 33,5, o qual mostrou estar ligado ao hidrogênio a δ_H 1,80 (*m*) no experimento HSQC. Estes dados indicaram que a carboxila encontra-se ligada a um carbono metínico, estando localizada na porção isopropílica de um esqueleto carbônico bicíclico do tipo eremofilano.

O experimento HSQC permitiu constatar que o carbono metilênico em δ_C 32,1 se correlaciona com os hidrogênios referentes aos sinais a δ_H 2,14 (*m*) e δ_H 1,85 (*m*), que são correlações compatíveis com a presença de um metileno alílico. Estes hidrogênios apresentaram correlações no experimento HMBC com os carbonos olefínicos a δ_C 117,2 (CH) e 146,6 (C) e com o carbono metínico a δ_C 33,5, indicando, portanto, a localização da ligação dupla entre C-9/C-10 do esqueleto eremofilano. O deslocamento químico de C-8 (δ_C 32,1) é compatível com os efeitos de desproteção dos dois grupos vizinhos, fundamentando assim a proposta estrutural para o composto **1**. No experimento NOESY foram observadas correlações entre os hidrogênios da metila a δ_H 0,89 (H-14) e o hidrogênio metínico a δ_H 2,28 (H-11), indicando que ambos estão espacialmente próximos. Desta forma, o composto **1** foi caracterizado como ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-9-en-12-oico (Figura 1), o qual está sendo descrito pela primeira vez. Deve-se ressaltar também que, embora sejam comuns em espécies de Asteraceae e de algumas outras famílias vegetais,⁵ sesquiterpenos tipo eremofilano são inéditos em *Ocotea*.

A substância **2** foi caracterizada em mistura com o composto **1** e o conjunto de quinze sinais listados nos espectros RMN de ¹³C mostrou valores de deslocamentos químicos muito semelhantes aos observados para o composto **1**. Da mesma forma que para este, os sinais foram relativos a uma carboxila, três metilas, cinco metilenos, dois carbonos não ligados a hidrogênio, sendo um quaternário e outro olefínico, e a quatro metinos (sendo um deles olefínico). O espectro de massas de **2** (M⁺ em *m/z* 236) é compatível com a fórmula molecular C₁₅H₂₄O₂, indicando tratar-se de um isômero do composto **1**. O experimento HMBC (Esquema 1) mostrou que os hidrogênios da metila a δ_H 1,14 (*d*, *J* = 7,1 Hz, H-13) acoplam com os carbonos metínicos a δ_C 34,8 (C-7) e δ_C 43,3 (C-11) e com o carbono da carboxila a δ_C 182,8, em um padrão muito semelhante ao observado para o composto **1**.

Estas considerações levaram à proposta de que **2** possui o mesmo esqueleto carbônico e uma estrutura isomérica de **1**, diferindo apenas na localização da ligação dupla. Os experimentos HMBC e HSQC permitiram efetuar as atribuições e correlações dos sinais de RMN de ¹H e ¹³C (Tabela 1), os quais se mostraram compatíveis com a

localização da ligação dupla entre C-1 (δ_C 120,8) e C-10 (δ_C 143,2). O experimento NOESY mostrou correlações entre os hidrogênios H-14 a δ_H 0,90 (*s*) e o hidrogênio H-11 a δ_H 2,43 (*m*), as quais permitiram definir, da mesma forma que em **1**, que os substituintes de C-7 e C-5 são *cis*. Desta forma, o sesquiterpeno **2** foi identificado como sendo

ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-1(10)-en-12-oico (Figura 1), o qual está sendo descrito pela primeira vez.

No espectro de infravermelho de **3** destacaram-se uma banda larga em 3448 cm^{-1} , relativa a estiramento (O-H) de ácido carboxílico, e de uma banda intensa centrada em 1704 cm^{-1} , relativa à carboxila

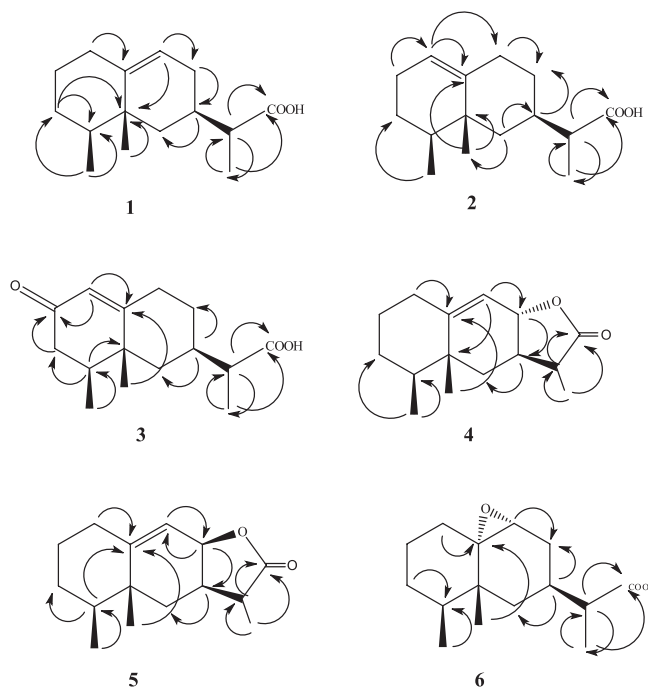
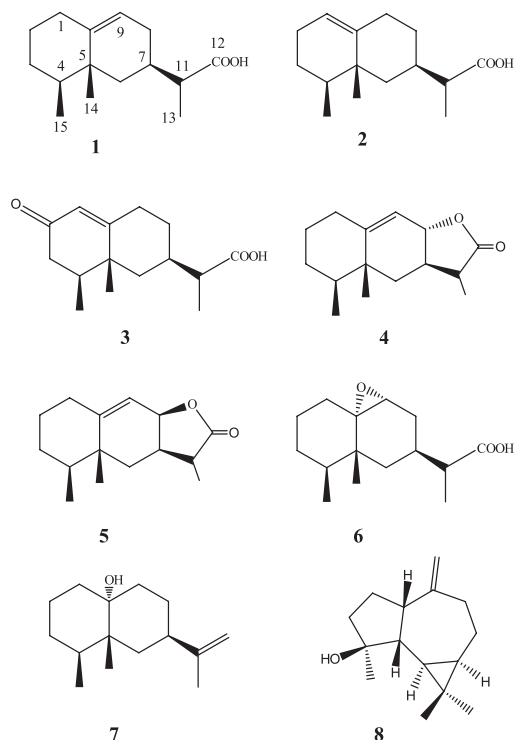


Figura 1. Sesquiterpenos isolados de *Ocotea lancifolia* (Lauraceae)

Esquema 1. Principais correlações observadas nos experimentos HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) dos sesquiterpenos de **1** a **6**

Tabela 1. Dados de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) dos compostos **1** a **3**

C/H	1		2		3	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ [<i>m</i> , J(Hz)]	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ [<i>m</i> , J(Hz)]	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ [<i>m</i> , J(Hz)]
1	30,5	1,90; <i>m</i> 1,73; <i>m</i>	120,8	5,30; <i>dd</i> ; (<i>J</i> = 5,4 e 1,5 Hz)	125,4	5,80; <i>sl</i>
2	29,2	1,72; <i>m</i> 1,21; <i>m</i>	28,0	1,93; <i>m</i> e 2,29; <i>m</i>	199,4	-
3	31,2	1,30; <i>m</i> 1,41; <i>m</i>	26,9	1,22; <i>m</i> e 1,43; <i>m</i>	42,0	2,10-2,30; <i>m</i>
4	38,7	1,62; <i>m</i>	36,7	1,50; <i>m</i>	35,9	2,17; <i>m</i>
5	39,2	-	37,6	-	39,9	-
6	37,4	1,87; <i>m</i> 0,90; <i>m</i>	37,8	1,30; <i>m</i> e 1,50 <i>m</i>	36,6	2,10-2,30; <i>m</i>
7	33,5	1,80; <i>m</i>	34,8	1,71; <i>m</i>	33,8	1,72; <i>m</i>
8	32,1	2,14; <i>m</i> 1,85; <i>m</i>	29,5	1,48; <i>m</i> e 1,61; <i>m</i>	27,9	1,60-1,80; <i>m</i>
9	117,2	5,24; <i>dd</i> ; (<i>J</i> = 5,8; 1,3 Hz)	25,5	1,95; <i>m</i>	28,8	1,73; <i>m</i> e 1,33; <i>m</i>
10	146,6	-	143,2	-	173,9	-
11	44,3	2,28; <i>dq</i> ; (<i>J</i> = 12,2; 7,1 Hz)	43,3	2,43; <i>m</i>	43,2	2,39; <i>m</i>
12	182,7	-	182,8	-	181,2	-
13	13,9	1,16; <i>d</i> ; (<i>J</i> = 7,1 Hz)	15,8	1,14; <i>d</i> ; (<i>J</i> = 7,1 Hz)	14,0	1,14; <i>d</i> ; (<i>J</i> = 6,6 Hz)
14	20,7	0,89; <i>s</i>	15,9	0,90; <i>s</i>	19,1	1,04; <i>s</i>
15	15,5	0,76; <i>d</i> ; (<i>J</i> = 6,7 Hz)	14,1	0,87; <i>d</i> ; (<i>J</i> = 7,1 Hz)	15,2	0,94; <i>d</i> ; (<i>J</i> = 6,6 Hz)

de ácido e de carbonila de cetona conjugada, consideravelmente mais intensa que a banda em 1654 cm^{-1} , relativa à ligação dupla carbono-carbono.

O espectro de RMN de ^1H da substância **3** mostrou três sinais relativos a metilas, em δ_{H} 0,94 ($d, J = 6,6\text{ Hz}$), δ_{H} 1,04 (s) e δ_{H} 1,14 ($d, J = 6,6\text{ Hz}$) e um singlete largo de um hidrogênio olefínico em δ_{H} 5,80. O espectro de RMN de ^{13}C de **3** (Tabela 1) apresentou um conjunto de 15 sinais, correspondendo a uma carbonila, uma carboxila, três metilas, quatro carbonos metilênicos, quatro metínicos e dois carbonos não ligados a hidrogênios, sendo um olefínico e um quaternário. O espectro de massas forneceu um pico do íon molecular (M^+) em m/z 250, o que permitiu propor para esta substância a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$. Considerando as características dos espectros de RMN, índice de deficiência de hidrogênio igual a cinco e os grupos citados, pôde-se admitir que a substância **3** seja um sesquiterpeno bicíclico. O conjunto de dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **3** tem grande semelhança com os observados para a substância **2** e a comparação dos dados de RMN ^{13}C destas substâncias permitiu avançar na proposta de que a substância **3** possui esqueleto eremofilano, diferenciando-se de **2** apenas por apresentar uma carbonila adicional.

A análise mais detalhada dos dados de RMN de ^{13}C (Tabela 1) destes compostos mostrou diferenças significativas entre os valores dos deslocamentos químicos relativos aos carbonos do anel A, indicando que a carbonila em **3** se encontra neste anel e, em vista de se tratar de uma carbonila conjugada (δ_{C} 199,4), com λ_{max} em 255 nm, deve se localizar em C-2. Os carbonos que sofreram desproteções significativas em relação aos do composto **2** foram C-1 (δ_{C} 125,4), C-2 (δ_{C} 199,4), C-3 (δ_{C} 42,0) e C-10 (δ_{C} 173,9). Estas diferenças, aliadas à multiplicidade de H-1 no espectro de RMN ^1H , que se apresentou como um singlete largo, corroboram com a proposta apresentada.

No experimento HMBC (Esquema 1) observou-se que os hidrogênios da metila a δ_{H} 1,14 (H-13) acoplam com o carbono da carboxila a δ_{C} 181,2 (C-12) e com os carbonos metínicos a δ_{C} 33,8 (C-7) e δ_{C} 43,2 (C-11). Da mesma maneira que, para os compostos **1** e **2**, estas correlações indicam que uma das metilas da porção isopropílica do esqueleto eremofilano encontra-se na forma de uma carboxila. Observou-se, através do experimento HMBC, também, que o hidrogênio a δ_{H} 5,82 (H-1) acopla com os carbonos a δ_{C} 39,9 (C-5) e δ_{C} 42,0 (C-3).

No experimento COSY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ foi possível confirmar o acoplamento entre os hidrogênios em δ_{H} 2,39 (H-11) e δ_{H} 1,72 (H-7), assim como entre os hidrogênios a δ_{H} 1,14 (H-13) e δ_{H} 2,39 (H-11), que são compatíveis com os substituintes de C-7 propostos.

Desta forma, o sesquiterpeno **3** foi caracterizado como sendo ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-1(10)-en-2-oxo-12-oico (Figura 1), que está sendo descrito pela primeira vez.

O espectro de RMN de ^1H de **4** apresentou três sinais relativos a metilas, sendo um singlete (δ_{H} 0,99, s) e dois dubletos (δ_{H} 0,82, $d, J = 6,6\text{ Hz}$) e (δ_{H} 1,25, $d, J = 7,4\text{ Hz}$) referentes aos hidrogênios de duas metilas ligadas a carbonos metínicos. Mostrou também um dublete em δ_{H} 5,41 ($J = 3,5\text{ Hz}$) relativo a hidrogênio ligado a carbono olefínico, e um duplo dublete em δ_{H} 4,82 ($J = 7,3$ e $3,5\text{ Hz}$). O espectro de RMN de ^{13}C de **4** apresentou um conjunto de 15 sinais (Tabela 2), correspondentes a uma carboxila, três metilas, quatro carbonos metilênicos, cinco metínicos e dois carbonos não ligados a hidrogênios, sendo um olefínico e um carbono quaternário. O espectro de massas de **4** apresentou o pico do íon molecular (M^+) em m/z 234, levando à fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$. Estes dados, aliados à presença de uma ligação dupla carbono-carbono e de uma carboxila na estrutura e ao índice de deficiência de hidrogênio igual a cinco, indicam que **4** se trata de um sesquiterpeno com esqueleto carbônico bicíclico. Admitindo-se que possua também um esqueleto eremofilano, o composto **4** difere

dos compostos **1-2** pela presença de um oxigênio ligado a carbono metínico sp^3 . O deslocamento químico do hidrogênio a δ_{H} 4,82, ligado ao referido carbono, indica uma desproteção compatível com uma localização alílica e com a participação num sistema lactônico. No espectro infravermelho de **4** foi observada uma banda em 1770 cm^{-1} , relativa a estiramento (C=O) de um grupo γ -lactona, confirmando a proposta acima. No experimento COSY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ foi possível observar o acoplamento entre os hidrogênios referentes aos sinais em δ_{H} 5,41 e δ_{H} 4,82, indicando a localização vicinal destes hidrogênios. O experimento HMBC (Esquema 1) para o composto **4** mostrou correlações que evidenciam a presença de uma carboxila semelhante à observada nos compostos **1-3**, na porção isopropílica do esqueleto eremofilano. Estes dados, associados ao valor do deslocamento químico do carbono carboxílico (δ_{C} 179,8) de **4**, que sofre efeito de proteção em relação ao observado para os compostos **1-3**, levaram à proposição de que **4** se trata de um sesquiterpeno com esqueleto eremofilano possuindo uma ligação dupla entre C9-C10 e uma γ -lactona entre C-12 e C-8. No experimento HMBC o hidrogênio referente ao sinal a δ_{H} 4,82 (H-8) apresentou correlação com o carbono metilênico a δ_{C} 35,5 (C-6), da mesma forma que o hidrogênio a δ_{H} 5,41 (H-9) se correlaciona com o carbono em δ_{C} 43,0 (C-7). A estereoquímica da junção do anel lactônico pôde ser definida pelas constantes de acoplamento dos hidrogênios envolvidos: o duplo dublete em δ_{H} 4,82 ($dd, J = 7,3$ e $3,5\text{ Hz}$), atribuído a H-8, e o dublete em δ_{H} 5,41 ($d, J = 3,5\text{ Hz}$), atribuído a H-9. Estes dados permitem deduzir que o valor da constante de acoplamento de H-8/H-7 é $7,3\text{ Hz}$, que é compatível com uma relação pseudo *trans*-diaxial. Admitindo-se que o composto **4** tem a mesma configuração em C-7 (δ_{C} 43,0) que os compostos precedentes (**1-3**), pôde-se definir, então, a estereoquímica relativa da referida junção como sendo $7\beta,8\alpha$.

Assim, o sesquiterpeno **4** foi caracterizado como sendo (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-9-en-12,8 α -olido (Figura 1), que está sendo descrito pela primeira vez.

No espectro de infravermelho de **5** foi observada, também, uma banda em 1766 cm^{-1} , de estiramento (C=O) de anel γ -lactônico.

O espectro de RMN de ^1H de **5** mostrou sinais muito semelhantes aos observados no espectro do composto **4**, com sinais relativos a três metilas [δ_{H} 0,93 (s); δ_{H} 0,81 ($d, J = 6,4\text{ Hz}$) e δ_{H} 1,17 ($d, J = 7,3\text{ Hz}$)], um dublete em δ_{H} 5,54 ($J = 5,3\text{ Hz}$), relativo a hidrogênio olefínico e um duplo dublete em δ_{H} 4,55 ($J = 5,3$ e $4,5\text{ Hz}$).

O espectro de RMN de ^{13}C apresentou um conjunto de 15 sinais (Tabela 2), os quais foram atribuídos a uma carboxila (δ_{C} 179,2), três metilas, quatro carbonos metilênicos, cinco metínicos, dentre os quais um é referente a um carbono carbinólico (δ_{C} 74,7) e outro é olefínico (δ_{C} 112,8), e a dois carbonos não hidrogenados, sendo um deles olefínico (δ_{C} 157,6).

Os dados de RMN e de infravermelho de **5** indicam que esta substância é um sesquiterpeno que possui também na sua estrutura uma γ -lactona e o espectro de massas, que apresentou o pico do íon molecular (M^+) a m/z 234, confirma a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$.

A comparação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C e de massas de **5** com os do sesquiterpeno **4** indicou grande semelhança estrutural e que estes compostos são isômeros. A análise mais detalhada destes dados mostrou uma sutil diferença estrutural entre os dois compostos, a qual resulta em pequenas diferenças de deslocamento químico dos carbonos C-7 (δ_{C} 34,2), C-6 (δ_{C} 29,8), C-9 (δ_{C} 112,8), C-11 (δ_{C} 40,4) e da metila C-13 (δ_{C} 9,3).

O experimento HMBC (Esquema 1) permitiu observar o acoplamento do hidrogênio olefínico H-9 (δ_{H} 5,54) com os carbonos em δ_{C} 32,2 (C-1), δ_{C} 34,2 (C-7), δ_{C} 38,5 (C-5) e δ_{C} 74,7 (C-8), e do hidrogênio carbinólico (δ_{H} 4,55, H-8) com C-6 (δ_{C} 29,8) e C-9 (δ_{C} 112,8).

O experimento COSY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ mostrou os acoplamentos entre os hidrogênios vizinhos H-9 (δ_{H} 5,54) e H-8 (δ_{H} 4,55) e entre H-8

Tabela 2. Dados de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) dos compostos **4 a 6**

C/H	4		5		6	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ [<i>m</i> , <i>J</i> (Hz)]
1	30,5	2,00; <i>m</i> e 1,90; <i>m</i>	32,2	2,29; <i>dd</i> ; (<i>J</i> = 12,7 e 4,7 Hz)	30,1	1,48; <i>m</i> e 1,83; <i>m</i>
2	28,3	1,79; <i>m</i> e 1,22; <i>m</i>	29,6	1,88; <i>m</i>	31,3	0,94; <i>m</i> e 0,99; <i>m</i>
3	32,5	1,35; <i>m</i> e 1,45; <i>m</i>	30,7	1,49; <i>ddd</i> ; (<i>J</i> = 11,3; 7,7 e 4,0 Hz) e 1,41; <i>m</i>	24,8	1,61; <i>m</i> e 1,75; <i>m</i>
4	39,5	2,22; <i>m</i>	38,4	1,52; <i>ddd</i> ; (<i>J</i> = 11,0; 6,4 e 4,0 Hz)	35,4	1,79; <i>ddd</i> ; (<i>J</i> = 11,7; 7,0 e 4,4 Hz)
5	37,2	-	38,5	-	37,6	-
6	35,5	1,64; <i>m</i>	29,8	1,74; <i>dd</i> ; (<i>J</i> = 14,0 e 4,3 Hz) e 0,92; <i>dd</i> ; (<i>J</i> = 14,0 e 9,2 Hz)	31,8	1,31; <i>m</i> e 1,36; <i>m</i>
7	43,0	2,50; <i>qt</i> ; (<i>J</i> = 7,3 Hz)	34,2	2,37; <i>m</i>	30,0	1,43; <i>m</i>
8	75,3	4,82; <i>dd</i> ; (<i>J</i> = 7,3 e 3,5 Hz)	74,7	4,55; <i>dd</i> ; (<i>J</i> = 5,3 e 4,5 Hz)	28,6	1,61; <i>m</i>
9	115,0	5,41; <i>d</i> ; (<i>J</i> = 3,5 Hz)	112,8	5,54; <i>d</i> ; (<i>J</i> = 5,3 Hz)	61,0	2,92; <i>dd</i> ; (<i>J</i> = 5,0 e 1,1 Hz)
10	152,4	-	157,6	-	65,5	-
11	39,8	1,37; <i>m</i>	40,4	2,85; <i>qt</i> ; (<i>J</i> = 7,1 Hz)	43,7	1,31; <i>m</i>
12	179,8	-	179,2	-	179,2	-
13	13,5	1,25; <i>d</i> ; (<i>J</i> = 7,4 Hz)	9,3	1,17; <i>d</i> ; (<i>J</i> = 7,3 Hz)	13,6	1,12; <i>d</i> ; (<i>J</i> = 7,0 Hz)
14	19,8	0,99; <i>s</i>	20,1	0,93; <i>s</i>	17,7	0,78; <i>d</i> ; (<i>J</i> = 7,0 Hz)
15	15,2	0,82; <i>d</i> ; (<i>J</i> = 6,6 Hz)	15,5	0,81; <i>d</i> ; (<i>J</i> = 6,4 Hz)	15,1	0,93; <i>s</i>

(δ_{H} 4,55) e H-7 (δ_{H} 2,37). Estas correlações são coerentes com as atribuições realizadas com base nos experimentos HMBC e HSQC e fundamentam a proposta de que **5** também possui o anel γ -lactônico entre C-7 e C-8.

Da mesma maneira que para a substância **4**, a definição da estereoquímica da junção do anel γ -lactona pôde ser definida pelas constantes de acoplamento dos hidrogênios H-8 (δ_{H} 4,55; *dd*; *J* = 5,3 e 4,5 Hz) e H-9 (δ_{H} 5,54; *d*; *J* = 5,3 Hz) e, conseqüentemente, da constante de acoplamento H-8/H-7 (*J* = 4,5 Hz). Este valor de constante de acoplamento indica que a relação entre H-8/H-7 é pseudo axial-equatorial (*cis*).

Desta forma, a substância **5** foi definida como sendo (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-9-en-12,8 β -olido (Figura 1), inédito na literatura.

O espectro de massas de **6** mostrou o íon molecular (M^+) a *m/z* 252, levando à fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_3$ e a um índice de deficiência de hidrogênio igual a quatro.

O espectro de RMN de ^1H para a substância **6** apresentou, entre outros, três sinais relativos a metilas [δ_{H} 0,78 (*d*, *J* = 7,0 Hz), δ_{H} 1,12 (*d*, *J* = 7,0 Hz) e δ_{H} 0,93 (*s*)], além de um duplo dubleto em δ_{H} 2,92 (*J* = 5,0 e 1,1 Hz).

O espectro de RMN de ^{13}C apresentou um conjunto de 15 sinais (Tabela 2), atribuídos a três metilas, uma carboxila, cinco carbonos metilênicos, quatro carbonos metínicos e dois carbonos quaternários. Observaram-se, neste espectro, sinais relativos a dois carbonos ligados a oxigênio (δ_{C} 61,0-CH e 65,5-C), indicando a presença de um grupo epóxido na estrutura. O experimento HSQC evidenciou que o hidrogênio correspondente ao sinal a δ_{H} 2,92 encontra-se ligado ao carbono correspondente ao sinal a δ_{C} 61,0, enquanto o experimento HMBC mostra que o referido hidrogênio é vicinal ao carbono a δ_{C} 65,5. Estes dados confirmam a existência do grupo epóxido na estrutura. O experimento HMBC (Esquema 1) para o

composto **6** mostrou ainda que os hidrogênios da metila a δ_{H} 1,12 (H-13) se correlacionam com os carbonos a δ_{C} 30,0 (C-7), δ_{C} 43,7 (C-11) e com o carbono da carboxila em δ_{C} 179,2 (C-12), evidenciando a presença do grupo 1-carboxi-etil, da mesma maneira que para os compostos **1-3**. Observou-se também que o hidrogênio em δ_{H} 2,92 (H-9) acopla com os carbonos em δ_{C} 28,6 (C-8) e δ_{C} 30,0 (C-7) e os hidrogênios da metila a δ_{C} 17,7 (H-14) se correlacionam com os carbonos em δ_{C} 37,6 (C-5) e em δ_{C} 65,5 (C-10). A análise destes dados levou a proposta de que o composto **6** se trata de um sesquiterpeno com esqueleto eremofilano, semelhante aos compostos relatados anteriormente, possuindo um epóxido em C-9/C-10 e o carbono 12 como uma carboxila de ácido.

No experimento NOESY de **6** foram observadas correlações entre os hidrogênios a δ_{H} 0,78 (H-14) e o hidrogênio a δ_{H} 1,31 (H-11), indicando que ambos estão espacialmente próximos. A estereoquímica para o grupo epóxido foi proposta com base no deslocamento químico de C-14 (δ_{C} 17,7), indicando uma relação *trans* na junção dos anéis (C-5 e C-10).

A análise dos dados de RMN do composto **6** mostraram-se compatíveis com a estrutura de um sesquiterpeno bicíclico com esqueleto eremofilano, correspondente ao ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofilan-9 α ,10 α -epóxi-12-oico (Figura 1), inédito na literatura.

As substâncias **7** e **8** (figura 1) foram identificadas através das análises dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , seguidas pela comparação com dados descritos na literatura, como sendo os sesquiterpenos 4 β ,5 β ,7 β -eremofil-11-en-10 α -ol (**7**)⁵ e o espatulenol (**8**).⁶ No processo de elucidação estrutural dos sesquiterpenos com esqueleto eremofilano **1 a 6**, os dados de RMN destes compostos foram comparados com os de compostos com estruturas semelhantes já descritos na literatura,⁷ observando-se compatibilidade entre os deslocamentos químicos.

CONCLUSÃO

O estudo químico das folhas de um espécime de *Ocotea lancifolia* coletadas na região do Rio Guariroba no município de Campo Grande – MS, Brasil, levou ao isolamento de oito sesquiterpenos (**1-8**). As substâncias ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-9-en-12-oico (**1**), ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-1(10)-en-12-oico (**2**), ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-1(10)-en-2-oxo-12-oico (**3**), (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-9-en-12,8 α -olido (**4**), (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofil-9-en-12,8 β -olido (**5**) e ácido (*rel*)-4 β ,5 β ,7 β -eremofilan-9 α ,10 α -epóxi-12-oico (**6**) são inéditas, enquanto 4 β ,5 β ,7 β -eremofil-11-en-10 α -ol (**7**) é inédito em Lauraceae e o espatulenol (**8**) já foi obtido de outras espécies vegetais. Este é o primeiro registro de isolamento de sesquiterpenos do tipo eremofilano em *Ocotea*, e o segundo em Lauraceae, havendo um relato em *Lindera strychnifolia*.⁵ Não foi caracterizada a presença de alcalóide na parte aérea da planta.

AGRADECIMENTOS

À FUNDECT-MS, CNPq, CAPES, CPq-PROPP/UFMS pelo apoio financeiro e ao Dr. F. M. Alves (DBI/UFMS) pela identificação do material botânico.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Espectros de RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, IV, UV/Visível, e experimentos HMBC, COSY, NOESY das substâncias isoladas de folhas

de *Ocotea lancifolia* estão disponíveis gratuitamente em <http://quimicanova.sbq.org.br>, na forma de arquivo PDF.

REFERÊNCIAS

1. Baitello, J. B.; *Acta Bot. Bras.* **2001**, *15*, 450.
2. Garcez, W. S.; Yoshida, M.; Gottlieb, O. R.; *Phytochemistry* **1995**, *39*, 815; Lordello, A. L. L.; Massayoshi, Y.; *Phytochemistry* **1997**, *46*, 741; Garcez, F. R.; Garcez, W. S.; Hamerski, L.; Miranda, A. C. M.; *Quim. Nova* **2010**, *33*, 1739; Garcez, F. R.; Silva, A. F. G.; Garcez, W. S.; Linck, G.; Matos, M. F. C.; Santos, E. C. S.; Queiroz, L. M. M.; *Planta Med.* **2011**, *77*, 383.
3. Marques, C. A.; *Floram.* **2001**, *8*, 540; Rizzini, C. T.; Mors, W. B.; *Botânica Econômica Brasileira*, EPU/EDUSP: São Paulo, 1976.
4. Fournet, A.; Ferreira, M. E.; Arias, A. R.; Guy, I.; Guinaudeau, H.; Heinzen H.; *Fitoterapia* **2007**, *78*, 382.
5. Itokawa, H.; Morita H.; Kobayashi, T.; Watanabe, K.; Itaka, Y.; *Chem. Pharm. Bull.* **1987**, *35*, 2860.
6. Tringali, C.; Piattelli, M.; Spatafora, C.; *Phytochemistry* **1995**, *40*, 831.
7. Amaral, L.; Filho, E. R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, *21*, 1450; Zhao, Y.; Schenk, D. J.; Takahashi, S.; Chappel, J.; Coates, R. M.; *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7428; Perez-Castorena, A. L.; Arciniegas, A.; Guzman, S. L.; Villaseñor, J. L.; de Vivar, A. R.; *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 1471.