

## Atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ do acetato de acantoaustralida

Lúcia R. Rocha Martins<sup>1</sup>, Lúcia E. Ranieri Cortez<sup>2</sup>, Benedito P. Dias-Filho<sup>3</sup>, Celso V. Nakamura<sup>3</sup>, Antônio G. Ferreira<sup>4</sup>, Diógenes A. Garcia Cortez<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Farmácia e Farmacologia, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900, Maringá, PR, Brasil,

<sup>2</sup>Centro Universitário de Maringá, Avenida Guedner 1610, Jd. Aclimação, 87050-390, Maringá, PR, Brasil,

<sup>3</sup>Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900, Maringá, PR, Brasil,

<sup>4</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, Caixa Postal 676, 13565-955, São Carlos, SP, Brasil,

<sup>5</sup>Departamento de Farmácia e Farmacologia, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900, Maringá, PR, Brasil

**RESUMO:** Do extrato hidroetanólico das partes aéreas de *Acanthospermum australe* (Asteraceae) foram identificados uma lactona diterpênica, o acetato de acantoaustralida (**1**) e dois flavonoides: quercetina (**2**) e crisosplenol D (**3**). As estruturas foram identificadas através de técnicas espectroscópicas de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , gHSQC, gHMBC, TOCSY, gNOESY, EM e pela comparação com dados da literatura.

**Unitermos:** *Acanthospermum australe*, Asteraceae, lactona diterpênica, flavonoides.

**ABSTRACT:** “ $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR assignments of acanthoaustralide-1-*O*-Acetate”. From the hydroethanolic extract of the aerial parts of *Acanthospermum australe* (Asteraceae) a diterpene lactone, acanthoaustralide-1-*O*-Acetate (**1**) and two flavonoids: quercetin (**2**) and chrysosplenol D (**3**) were identified. The structures were determined through the use of spectroscopic techniques such as NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ), gHSQC, gHMBC, TOCSY, gNOESY), MS and compared with the literature data.

**Keywords:** *Acanthospermum australe*, Asteraceae, diterpene lactone, flavonoids.

### INTRODUÇÃO

A família Asteraceae é cosmopolita, contando com aproximadamente 1.100 gêneros e 25.000 espécies amplamente distribuídas em todo o mundo e, no Brasil, relata-se a ocorrência de cerca de 180 gêneros. O gênero *Acanthospermum* compreende 4 espécies: *A. australe*, *A. hispidum*, *A. humile* e *A. xanthioides*. A espécie *Acanthospermum hispidum* tem sido muito utilizada em pesquisas de atividades biológicas, baseadas na utilização popular dessa espécie no Brasil e em várias partes do mundo (Morais et al., 2005; Tôrres et al., 2005; Noumi; Dibakto, 2000). Uma forte atividade antiviral *in vitro* e baixa citotoxicidade de *Acanthospermum hispidum* tem sido relatada em pesquisas, utilizando alfa herpes virus (Summerfield et al., 1997) e HIV-1-RT (Ali et al., 2002) em cultura de células. Em 2003, foram pesquisadas as atividades antimicrobiana (Fleischer et al., 2003) e antiplasmodial (Sanon et al., 2003) do extrato de *Acanthospermum hispidum*, obtendo-se diferentes níveis de atividade antimicrobiana sobre bactérias Gram positivas, além de relevante atividade sobre o agente etiológico da malária (Carvalho; Krettli, 1991; Carvalho

et al., 1991; Brandão et al., 1992).

A espécie *Acanthospermum australe* é um vegetal herbáceo, nativa da América tropical e amplamente dispersa no Brasil, onde cresce com grande vigor em solos agrícolas de campos e em cerrados de textura arenosa, pastagens e terrenos baldios. Popularmente, é conhecida como carrapichinho ou carrapicho-de-carneiro e seus ramos são amplamente empregados na forma de chás por infusão ou decocção, sendo considerada tônica, diaforética, eupéptica, vermífuga, antidiarréica, antimalárica, antibleorrágica, febrífuga e antianêmica (Lorenzi; Matos, 2002). Em 1987, Shimizu et al. (1987) relataram o uso de *A. australe* no tratamento de estagnações sangüíneas, reumatismos e artrites por via oral, além do uso externo em inchaços e hemorragias. Nesse trabalho, o extrato etanólico bruto de *A. australe* foi analisado quanto à atividade inibitória sobre a enzima aldose redutase em ratos.

Foi constatado por Carvalho et al. (1991) e por Krettli et al. (2001), que o extrato bruto de *Acanthospermum australe* foi parcialmente ativo contra *Plasmodium falciparum* em ratos infectados. Em 1997, Macedo et al. (1997) pesquisaram a atividade larvicida

do extrato de *Acanthospermum australe*, sobre larvas de *Aedes fluviatilis*. Mendes et al. (1999) pesquisaram a atividade moluscicida do extrato etanólico de *A. australe*. Portillo et al. (2001) pesquisaram a atividade anti-fúngica sobre fungos leveduriformes e dermatófitos do extrato de *A. australe*.

Bohlmann et al. (1981) constataram a presença de muitas lactonas sesquiterpênicas e diterpênicas, obtidas a partir das partes aéreas de *Acanthospermum australe*. Do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Acanthospermum australe* foram isolados os flavonóides: trifolina, hiperina, rutina, penduletina, axilarina, crisosplenol D e 5,7,4'-trihidroxí-3,6-dimetoxiflavona, quercetina, bem como o ácido cafeico (Debenedetti et al. 1987; Shimizu et al. 1987) e 6-metoxi flavonóides (Debenedetti et al., 1987). Em 1996, Matsunaga et al. (1996) isolaram um germacranolídeo, denominado acantostral, que apresentou atividade inibitória sobre tumores cancerosos.

Recentemente Martins et al. (2006) realizaram uma descrição morfoanômica do caule, da folha e do pó de *Acanthospermum australe*, contribuindo com dados para análise de seu perfil farmacognóstico.

Este artigo descreve o estudo químico das partes aéreas (caule, folhas, flores e frutos) de *Acanthospermum australe*, coletado em Campo Grande, Mato Grosso do Sul. A análise do extrato hidroetanólico (90:10 v/v) permitiu a identificação da lactona diterpênica conhecida como acetato de acantoaustralida (**1**) além dos flavonóides: quercetina (**2**) e crisosplenol D (**3**). A determinação

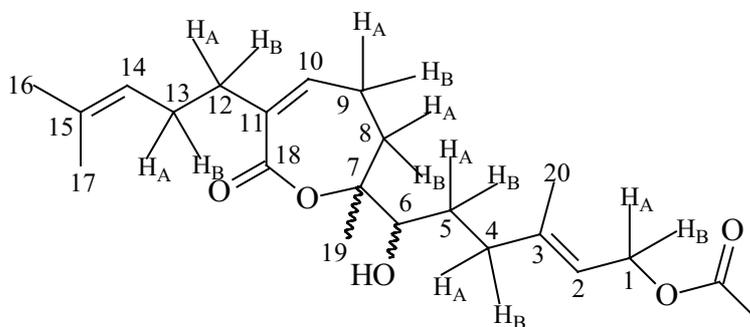
estrutural através da análise de dados espectrométricos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (1D e 2D) permitiu caracterizar a lactona diterpênica **1** e estabelecer a completa atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono. A determinação estrutural do flavonóide **3** permitiu eliminar o equívoco de atribuição feita pelo autor que isolou esta substância pela primeira vez (Wang et al. 1989).

## MATERIAL E MÉTODOS

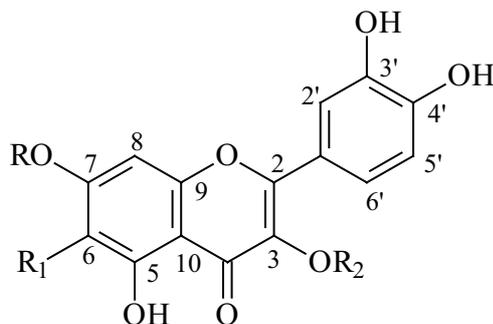
### Procedimentos experimentais gerais

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) e de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) foram registrados em equipamento BRUKER AVANCE, utilizando-se o sinal do TMS como referencial interno. O  $\text{CDCl}_3$  e  $\text{DMSO}-d_6$  foi usado como solvente e referência secundária. Os espectros de massa por *electrospray*, nos modos positivo e negativo, foram obtidos em espectrômetro de Micromass Quattro LC com interface API. Os espectros de UV foram obtidos no espectrômetro VARIAN Cary 1E e para os espectros na região do infravermelho foi utilizado o aparelho Nicolet Protégé.

As separações cromatográficas em coluna por adsorção foram realizadas utilizando-se a técnica de cromatografia em coluna com sílica gel 60 (70-230 mesh) e também no modo *flash* com sílica gel 60 (230-400 mesh ASTM, Merck). Foram também utilizadas CC em gel de SEPHADEX<sup>®</sup> LH-20 para a purificação de



**1**



**2**  $\text{R} = \text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$

**3**  $\text{R} = \text{R}_2 = \text{CH}_3$ ,  $\text{R}_1 = \text{OCH}_3$

**Tabela 1.** Dados de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) e RMN <sup>13</sup>C (100 MHz) de **1** e comparação com os deslocamentos químicos registrados na literatura (solvente CDCl<sub>3</sub>)\*

<b>1</b>						
C	H	$\delta_H^2$	$\delta_C$	gHSQC $\delta_H$	gHMBC $^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
1	1-A	4,60 (dd)	-	4,52 (dd; 8,3; 2,6)	-	-
	1-B	4,66 (dd)	61,1	4,63 (t; 14,2)	H2	-
2	2	5,38 (br.t)	120,1	5,38 (t; 14,9)	H1-A, H1-B	H4-A, H4-B, H20
3	-	-	141,9	-	H20, H4-A, H4-B	H1-A, H1-B, H5-A, H5-B
4	4-A	2,31 (m)	28,5	2,29 (m)	-	H2, H20, H6
	4-B	-	-	2,36 (m)	-	-
5	5-A	1,77 (m)	28,6	1,70 (m)	H6, H4-A, H4-B	-
	5-B	1,50 (m)	-	1,46 (m)	-	-
6	6	3,50 (dd)	76,7	3,49 (dd; 12; 1,7)	H5-A	H4-A, H4-B, H8-A, H19
7	-	-	84,7	-	H6, H19, H8-A	H9-A, H9-B
8	8-A	-	-	1,89 (m)	-	-
	8-B	-	31,4	2,13 (m)	H9-A, H9-B	H10, H6, H19
9	9-A	2,50 (m)	26,6	2,51 (m)	H8-A, H8-B, H10	-
	9-B	-	-	2,44 (m)	-	-
10	10	6,28 (br.t)	139,7	6,29 (t; 9,4)	H9-A	H8-A, H8-B, H12-A, H12-B
11	-	-	134,1	-	H12A, H12B, H10	H9-A, H9-B, H13-A, H13-B
12	12-A	2,15 (m)	36,6	2,24 (m)	H13-A	H14, H10
	12-B	-	-	2,52 (m)	-	-
13	13-A	-	27,5	2,10 (m)	H14, H12-A, H12-B	-
	13-B	-	-	2,15 (m)	-	-
14	14	5,09 (br.t)	123,9	5,09 (t; 12)	H13-A, H13-B	H17, H16, H12-A, H12-B
15	-	-	132,5	-	H17, H16	-
16	16	1,60 (br.s)	25,9	1,67 (s)	-	H17, H14
17	17	1,69 (br.s)	17,8	1,59 (s)	-	H16, H14
18	-	-	168,4	-	-	H10, H12-A, H12-B
19	19	1,35 (s)	19,4	1,34 (s)	-	H6
20	20	1,78 (br.s)	23,4	1,76 (s)	-	H2, H4-A, H4-B
(CH <sub>3</sub> COO)		2,06 (s)	21,1	2,06 (s)	-	-
C=O		-	171,2	-	H(CH <sub>3</sub> )	H1-A, H1-B

substâncias. Para as cromatografias em camada delgada analítica utilizou-se sílica-gel GF<sub>254</sub> Merck, e as placas foram reveladas sob luz ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 a 366 nm e pela utilização do revelador de Godin.

*Revelador de Godin.* Solução A: vanilina 1% (m/v) em etanol; Solução B: ácido perclórico 3% (v/v)

em água. No momento do uso, misturar as soluções A e B (1:1 v/v). Borrifar sobre a placa de CCD e aquecer a 100°C.

#### Material vegetal

As partes aéreas foram coletadas em abril de 2003,

**Tabela 2.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) de **2**, **3** e **M** (solvente DMSO- $d_6$ )<sup>\*</sup>

C	2	M	3	gHSQC	gHMBC	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
2	156,3	151,68	156,3			H-2'
3	135,9	137,64	137,8			OCH <sub>3</sub> (3)
4	176,0	178,18	178,4			
5	160,9	151,68	151,9			H-8
6	98,3	131,54	131,8			H-8, OCH <sub>3</sub> (6)
7	164,1	158,58	158,8		H-8	OCH <sub>3</sub> (7)
8	93,5	91,20	91,5	6,85 (s)		
9	156,3	155,95	151,9			
10	103,1	105,51	105,7			H-8
1'	122,1	120,73	120,7		H-2'	
2'	115,2	115,68	115,6	7,58 (d; 2,4)		H-6'
3'	145,2	145,26	145,6		H-2'	H-5'
4'	147,9	148,82	149,3		H-5'	H-2', H6'
5'	115,8	115,53	115,9	6,88 (d; 8,4)		
6'	120,2	120,61	120,9	7,48 (dd; 2,4; 8,4)	H-6'	
OCH <sub>3</sub> (3)		59,61	59,8	3,78 (s)		
OCH <sub>3</sub> (7)		56,41	56,6	3,90 (s)		
OCH <sub>3</sub> (6)		60,01	60,2	3,71 (s)		

<sup>\*</sup>Os sinais de carbonos C, CH e CH<sub>2</sub> foram reconhecidos pela análise comparativa dos espectros de DEPT 90° e 135°. O espectro de 2D COSY foi utilizado, os deslocamentos químicos e constantes de acoplamentos (J) dos sinais de hidrogênio foram deduzidos do espectro 1D de RMN<sup>1</sup>H.  $\delta_{\text{C}}$ : sinais observados no espectro obtido em DMSO- $d_6$ .

na periferia da cidade de Campo Grande/MS, identificadas pela Prof. Dra. Ubirazilda Maria Resende (Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – Departamento de Botânica) e uma exsicata foi depositada no herbário do Departamento de Botânica da Universidade Estadual de Maringá (HUM 10.508).

#### Obtenção dos extratos

O material vegetal (caule, folhas, flores e frutos), depois de seco em temperatura ambiente por uma semana, foi triturado em moinho de facas, obtendo-se 679 g de pó. O pó foi extraído pelo processo de remaceração com etanol:água (9:1 v/v) até o esgotamento total dos princípios ativos. O extrato hidroalcoólico foi evaporado em rotaevaporador a vácuo em temperatura de 40 °C até a eliminação total do solvente orgânico e liofilizado, obtendo-se 96,9 g do extrato bruto (EB),

sendo armazenado em freezer.

#### Isolamento dos constituintes

O EB (90 g) foi cromatografado em coluna empacotada com sílica gel à vácuo, utilizando-se como fase móvel solventes orgânicos de polaridade crescente: hexano; hexano:diclorometano (1:1 v/v); diclorometano; diclorometano:acetato de etila (1:1 v/v); acetato de etila; metanol e metanol:água (9:1 v/v). Foram obtidas 7 frações após a evaporação do solvente orgânico: (F1 = 4,92 g), (F2 = 5,29 g), (F3 = 2,74 g), (F4 = 7,96g), (F5 = 2,34 g), (F6 = 48,69 g), (F7 = 1,68 g).

Da fração F3 (1,16 g) foi cromatografada em coluna de sílica gel, utilizando-se como eluentes: hexano, hexano:diclorometano (98:2, 95:5, 90:10, 80:20, 50:50 v/v), diclorometano, diclorometano:acetato de etila (98:2, 95:5, 90:10, 80:20, 50:50 v/v), acetato de etila, acetato de

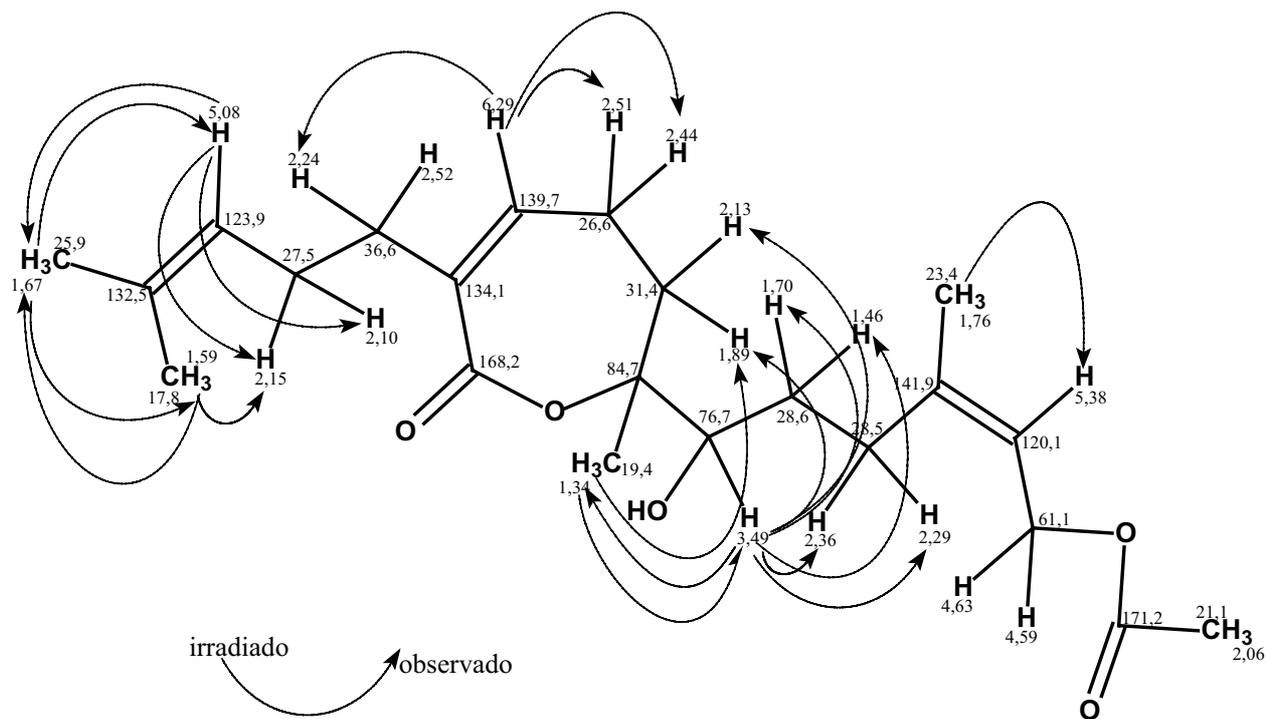


Figura 1. Correlações observadas em experimento de RMN NOE de 1.

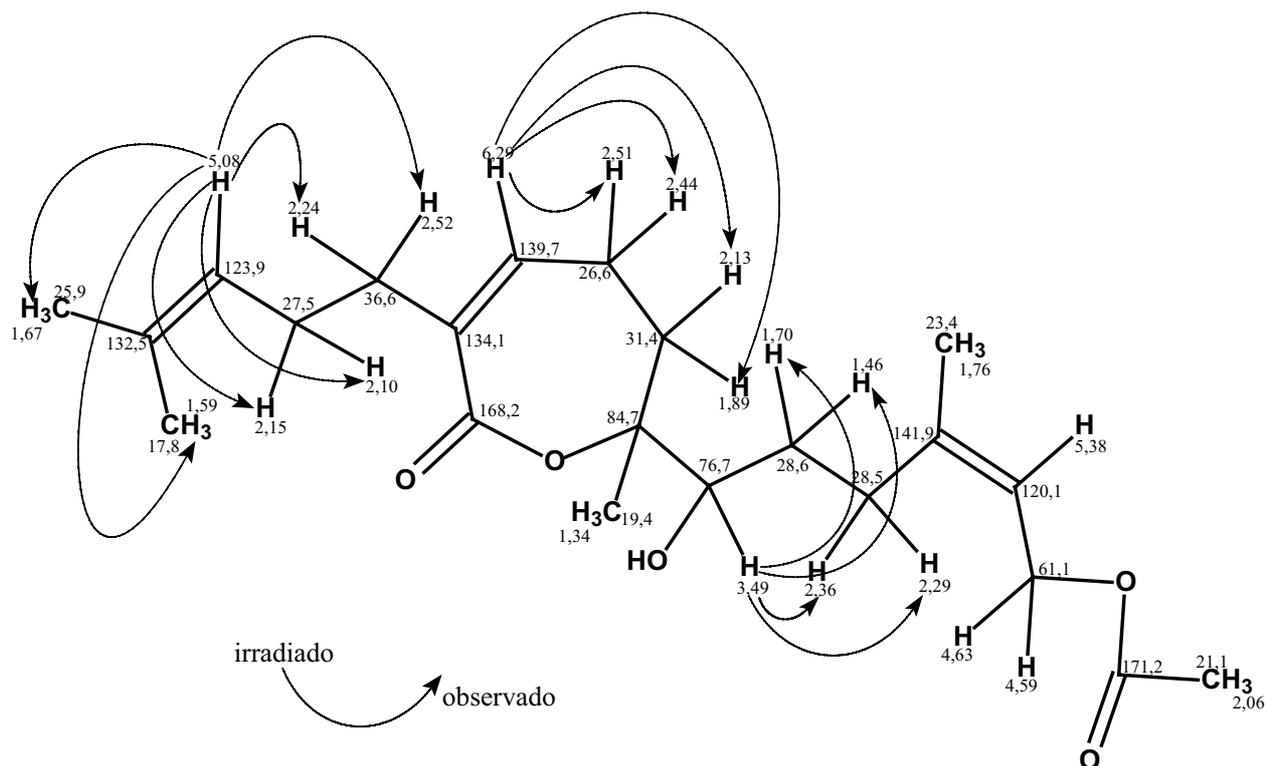


Figura 2. Correlações observadas em experimento de RMN TOCSY de 1.

etila:acetona (50:50 v/v), metanol e metanol:água (90:10 v/v), sendo obtidas 13 frações (D1-D13). A fração D9 (241 mg) foi recromatografada em coluna de sílica pelo método flash, em gradiente de polaridade: hexano; hexano: diclorometano (1:1 v/v); diclorometano; diclorometano: acetato de etila (96:4 e 90:10 v/v) e metanol, sendo obtidas 9 frações (D9A-D9I). A subfração D9C (5,6 mg) foi identificada como uma lactona diterpênica, o acetato de acantoaustralida (**1**).

Da fração F4 (2,12 g) foi fracionada em coluna cromatográfica de SEPHADEX LH-20, eluída clorofórmio:metanol (50:50 v/v). Frações de 20 mL foram coletadas e reunidas com base na análise com CCD em 9 frações (F4.1 a F4.9). A fração F4.5 (43 mg) foi recromatografada em coluna de SEPHADEX LH-20, em sistema isocrático, utilizando etanol:água (90:10 v/v) e forneceu a substância **2** pura (3 mg). A fração F4.8 (73 mg) foi recromatografada em coluna no método flash, utilizando-se como eluentes: clorofórmio, clorofórmio:acetato de etila (98:2, 95:5, 90:10, 80:20 e 50:50 v/v), acetato de etila e metanol, e forneceu a substância **3** pura (5 mg).

### Dados físicos das substâncias isoladas

*Acetato de acantoaustralida (1)*: Óleo amarelo-escuro, UV ( $\text{CHCl}_3$ )  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$  (log  $\epsilon$ ): 284 (1,26), 324 (1,08), 432 (1,69), 452 (1,88), 484 (1,51). IV:  $\text{vm}_{\text{max}}^{\text{NaCl}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3446, 2930, 1736, 1449, 1379, 1238, 1078, 1022. RMN de  $^1\text{H}$  (Tabela 1). RMN de  $^{13}\text{C}$  (Tabela 1). ESI-MS:  $m/z$  (int. rel.): 379  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 418 (13)  $[\text{M}+\text{k}]^+$ , 402 (100)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 342 (86)  $[\text{M}-\text{HOAc}]^+$ .

*Quercetina (2)*: Sólido amarelo, UV ( $\text{CH}_3\text{OH}$ )  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$  (log  $\epsilon$ ): 255 (1,57), 298 (0,77), 370 (1,23). RMN de  $^1\text{H}$  (Tabela 2). RMN de  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  (Tabela 2). ESI-MS:  $m/z$  (int. rel.): 301 (100)  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

*Crisosplenol D (3)*: Cristais amarelos, UV ( $\text{CH}_3\text{OH}$ )  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$  (log  $\epsilon$ ): 260 (1,63), 355 (1,63). RMN de  $^1\text{H}$  (Tabela 3). RMN de  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  (Tabela 3). ESI-MS:  $m/z$  (int. rel.): 359 (61)  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 344 (100)  $[\text{M}-\text{CH}_3]$ , 329 (60)  $[344-\text{CH}_3]$ .

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A substância **1** apresentou o pico do íon *quasi* molecular  $[\text{M}+\text{H}]^+$  em  $m/z$  379, no espectro de massas que, aliado aos dados obtidos de RMN  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  (Tabela 2), permitiu sugerir a fórmula molecular  $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_5$  e uma massa molecular de 378 u.m.a. As absorções na região do infravermelho em  $3446\text{ cm}^{-1}$  correspondentes a uma hidroxila e em  $1736\text{ cm}^{-1}$  e uma carbonila conjugada, sugerem ser a substância uma lactona diterpênica encontrada em substância já isolada no *Acanthospermum australe* (Bohlmann et al., 1981). O espectro de RMN  $^1\text{H}$  desta substância apresentou um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  2,06, correspondente a presença de uma metila de acetila, três grupos metil olefínicos em  $\delta_{\text{H}}$  1,67 ( $\text{CH}_3$ -16), 1,59 ( $\text{CH}_3$ -

17) e 1,76 ( $\text{CH}_3$ -20), além de um grupo metílico alifático em  $\delta_{\text{H}}$  1,34 (H-19). A presença de hidrogênios olefínicos pode ser observada em  $\delta_{\text{H}}$  6,29 (t,  $J$  9,4 Hz, H-10), em  $\delta_{\text{H}}$  5,09 (t,  $J$  12 Hz, H-14) e em 5,38 (t,  $J$  14,9 Hz, H-2), os dois últimos correspondentes a duas unidades isopentenila. A presença de um hidrogênio carbinólico pode ser observada em  $\delta_{\text{H}}$  3,49 (dd;  $J$  12,0 e 1,7 Hz, H-6). O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **1** mostrou sinais de hidrogênios metilênicos os quais são observados em H-1 [ $\delta_{\text{H-1A}}$  4,52 (dd,  $J$  8,3 e 2,6 Hz);  $\delta_{\text{H-1B}}$  4,63 (t,  $J$  14,2 Hz)], H-4 [ $\delta_{\text{H-4A}}$  2,29 (m);  $\delta_{\text{H-4B}}$  2,36 (m)], H-5 [ $\delta_{\text{H-5A}}$  1,70 (m);  $\delta_{\text{H-5B}}$  1,46 (m)], H-8 [ $\delta_{\text{H-8A}}$  1,89 (m);  $\delta_{\text{H-8B}}$  2,13 (m)], H-9 [ $\delta_{\text{H-9A}}$  2,51 (m);  $\delta_{\text{H-9B}}$  2,44 (m)], H-12 [ $\delta_{\text{H-12A}}$  2,24 (m);  $\delta_{\text{H-12B}}$  2,52 (m)] e H-13 [ $\delta_{\text{H-13A}}$  2,10 (m);  $\delta_{\text{H-13B}}$  2,15 (m)]. Correlações heteronucleares de carbono e hidrogênio observados nos espectros gHSQC ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ) e gHMBC ( $^{2,3}\text{J}_{\text{CH}}$ ) permitiram identificar os sinais dos carbonos hidrogenados e quaternários da lactona diterpênica. A posição do acetato no carbono C-1 e uma metila em C-7 foi confirmada através das interações heteronucleares de átomos dos hidrogênios metilênicos [ $\delta_{\text{H-1A}}$  4,52 (dd;  $J$  8,3; 2,6 Hz);  $\delta_{\text{H-1B}}$  4,63 (t;  $J$  14,2) com o carbono da carbonila do acetato em  $\delta_{\text{C}}$  171,2 e dos átomos de hidrogênio metílicos  $\delta_{\text{H-19}}$  1,34 (s) com o carbono C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  84,7) respectivamente, observados nos espectros gHSQC ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ) e gHMBC ( $^{2,3}\text{J}_{\text{CH}}$ ). A confirmação do grupo carbonila da lactona baseou-se também nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$ . A posição da hidroxila pode ser estabelecida pelo correlacionamento interação spin-spin entre os sinais de C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  76,7) e H-4 [ $\delta_{\text{H-4A}}$  2,29 (m);  $\delta_{\text{H-4B}}$  2,36 (m)], H-8 [ $\delta_{\text{H-8A}}$  1,89 (m);  $\delta_{\text{H-8B}}$  2,13 (m)], H-19 [ $\delta_{\text{H}}$  1,34 (s)]. A configuração dos carbonos C-7 e C-8 não puderam ser estabelecidas, mas a posição *cis* da metila em C-7 em relação aos átomos de hidrogênio H-6 [ $\delta_{\text{H-6}}$  3,49 (dd;  $J$  12; 1,7)], podem ser observados no espectro de gNOESY (Figura 1). Os deslocamentos químicos dos hidrogênios da substância **1** são similares aos encontrados na literatura para o acetato de acantoaustralida (Summerfield et al., 1997) (Tabela 1). Os experimentos de RMN 1D e 2D (gHSQC, gHMBC, TOCSY, gNOESY) permitiram atribuir os deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  que estão sendo relatados pela primeira vez para o acetato de acantoaustralida (Fig. 1 e 2). Esta atribuição é sem ambigüidades, permitindo inclusive fazer correções feitas pelo autor que isolou a substância **1** pela primeira vez.

Os flavonóides quercetina (**2**) e crisosplenol D (**3**), foram caracterizados principalmente com base nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  (Tabela 1) e por comparação com dados da literatura (Lallemand; Duteil, 1977; Semple et al., 1999). O espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **3** mostrou os sinais dos átomos de hidrogênio do anel A em  $\delta_{\text{H}}$  3,90 (s, MeO-7), 3,71 (s, MeO-6) 6,88 (s, H-8), do anel B em  $\delta_{\text{H}}$  7,58 (d;  $J$  2,4 Hz, H-2'), 6,88 (d;  $J$  8,4 Hz, H-5') e 7,48 (dd;  $J$  2,4 e 8,4 Hz, H-6') e do anel C em  $\delta_{\text{H}}$  3,78 (s, MeO-3). As informações fornecidas pelos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$ , DEPT 135 e 2D de correlação heteronuclear (gHSQC e gHMBC) confirmam

estas deduções e permitem a atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono C-2 e C-9 do crisosplenol D descrito por Wang et al. (1989) (M) (Tabela 2). Esta atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono de **3** baseou-se também nas correlações a longa distância entre carbono e hidrogênio ( $^2J_{CH}$  e  $^3J_{CH}$ ) observadas no espectro de gHMBC (Tabela 1).

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e CAPES pelas bolsas e apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

- Ali H, König GM, Khalid SA, Wright AD, Kaminsky R 2002. Evaluation of selected Sudanese medicinal plants for their in vitro activity hemoflagellates, selected bactéria, HIV-1-RT and tyrosine kinase inhibitory, and for citotoxicity. *J Ethnopharmacol* 83: 219-228.
- Bohlmann F, Jakupovic J, Dhar AK, King RM, Robinson H 1981. Two sesquiterpene and three diterpene lactones from *Acanthospermum australe*. *Phytochemistry* 20: 1081-1083.
- Brandao MGL, Grandi TSM, Rocha EMM, Sawyer DR, Krettli AU 1992. Survey of medicinal plants used as antimalarials in the amazon. *J Ethnopharmacol* 36: 175-182.
- Carvalho LH, Brandão MGL, Santos D, Lopes JLC, Krettli AU 1991. Antimalarial activity of crude extracts from Brazilian plants studied "in vivo" in *Plasmodium berghei*-infected mice and "in vitro" against *Plasmodium falciparum* in culture. *Braz J Med Biol Res* 24: 1113-1123.
- Carvalho LH, Krettli A U 1991. Antimalarial chemotherapy with natural-products and chemically defined molecules. *Mem I Oswaldo Cruz* 86: 181-184.
- Debenedetti S, Martino V, Palacios P, Coussio JD 1987. 6-Methoxy flavonoids from *Acanthospermum australe*. *J Nat Prod* 50: 325.
- Fleischer TC, Ameade EPK, Sawyer IK 2003. Antimicrobial activity of the leaves and flowering tops of *Acanthospermum hispidum*. *Fitoterapia* 74: 130-132.
- Krettli AU, Andrade-Neto VF, Brandão MGL, Ferrari WMS 2001. The search for new antimalarial drugs from plants used to treat fever and malaria or plants randomly selected: A review. *Mem I Oswaldo Cruz* 96: 1033-1042.
- Lallemand JY, Duteil M 1977. C-13 nmr-spectra of quercetin and rutin. *Org Magn Reson* 9: 179-180.
- Lorenzi H, Matos FJA 2002. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. São Paulo: Instituto Plantarum.
- Macedo ME, Consoli RAGB, Grandi TSM, Anjos AMG, Oliveira AB, Mendes NM, Queiroz RO, Zani CL 1997. Screening of Asteraceae (Compositae) plant extracts for larvicidal activity against *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae). *Mem I Oswaldo Cruz* 92: 565-570.
- Martins LRR, Mourão KSM, Albiero ALM, Cortez DAG, Dias-Filho BP, Nakamura CV 2006. Estudo morfoanatômico preliminar do caule e da folha de *Acanthospermum australe* (Loefl.) Kuntze (Asteraceae-Heliantheae). *Rev Bras Farmacogn* 16: 42-52.
- Matsunaga K, Saitoh M, Ohizumi Y 1996. Acanthostrin, a novel antineoplastic cis-cis-cis-germacranolide from *Acanthospermum australe*. *Tetrahedron Lett* 37: 1455-1456.
- Mendes NM, Queiroz RO, Grandi TSM, Anjos AMG, Oliveira AB, Zani CL 1999. Screening of Asteraceae (Compositae) Plant extracts for molluscicidal activity. *Mem I Oswaldo Cruz* 94: 411-412.
- Morais SM, Dantas JDP, Silva ARA, Magalhães EF 2005. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. *Rev Bras Farmacogn* 15: 169-177.
- Noumi E, Dibakto TW 2000. Medicinal plants used for peptic ulcer in the Bangangte region, western Cameroon. *Fitoterapia* 71: 406-412.
- Portillo A, Vila R, Freixa B, Adzet T, Cañigueral S 2001. Antifungal activity of Paraguayan plants used in traditional medicine. *J Ethnopharmacol* 76: 93-98.
- Sanon S, Azas N, Gasquet M, Ollivier E, Mahiou V, Barro N, Cuzin-Ouattara N, Traore AS, Esposito F, Balansard G, Timon-David P 2003. Antiplasmodial activity of alkaloid extracts from *Pavetta crassipes* (K. Schum) and *Acanthospermum hispidum* (DC), two plants used in traditional medicine in Burkina Faso. *Parasitol Res* 90: 314-317.
- Semple SJ, Nobbs SF, Pyke SM, Reynolds GD, Flower RLP 1999. Antiviral flavonoid from *Pterocaulon sphacelatum*, an Australian Aboriginal medicine. *J Ethnopharmacol* 68: 283-288.
- Shimizu M, Horie S, Arisawa M, Hayashi T, Suzuki S, Yoshizaki M, Kawasaki S, Ueno H, Morita N, Berganza LH, Ferro E, Basualdo I 1987. Chemical and pharmaceutical studies on medicinal plants in Paraguay. I. Isolation and identification of lens aldose reductase inhibitor from "Tapecué", *Acanthospermum australe* O.K. *Chem Pharm Bull* 35: 1234-1237.
- Summerfield A, Keil GM, Mettenleiter TC, Rziha HJ, Saalmüller A 1997. Antiviral activity of an extract from leaves of the tropical plant *Acanthospermum hispidum*. *Antiv Res* 36: 55-62.
- Tôres AR, Oliveira RAG, Diniz MFFM, Araújo EC 2005. Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios. *Rev Bras Farmacogn* 15: 373-380.
- Wang Y, Hamburger M, Gueho J, Hostettmann K 1989. Antimicrobial flavonoids from *Psidia trinervia* and their methylated and acetylated derivatives. *Phytochemistry* 28: 2323-2327.