

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA**

**TRITERPENOS, SAPONINAS E FLAVONOÍDES DE *LICANIA
ARIANAE* (CHRYSOBALANACEAE) E *ESCHWEILERA LONGIPES*
(LECYTHIDACEAE)**

PATRÍCIA MIRANDA DA COSTA

Seropédica, Rio de Janeiro

2003

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA**

**TRITERPENOS, SAPONINAS E FLAVONOÍDES DE *LICANIA
ARIANAE* (CHRYSOBALANACEAE) E *ESCHWEILERA LONGIPES*
(LECYTHIDACEAE)**

PATRÍCIA MIRANDA DA COSTA

Sob Orientação Do Professor
Dr. Mário Geraldo de Carvalho

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Doutora em Ciências. Área de
concentração Química
Orgânica.

Seropédica, Rio de Janeiro

2003

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA**

PATRÍCIA MIRANDA DA COSTA

Dissertação/ Tese submetida ao curso de Pós-Graduação em Ciências, área de concentração em Química Orgânica, como requisito parcial para obtenção do grau de **Magister Scientiae (Philosophiae Doctor)** em Doutora em Química Orgânica

DISSERTAÇÃO (TESE) APROVADA EM 11 /2003

Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho (DQUIM-ICE-UFRRJ)
(Orientador e Presidente)

Dr. Hélio de Matos Alves (Fac. Farmácia, UFRJ)

Dr^a. Alaíde de Sá Barreto (Fund. Oswaldo Cruz)

Dr^a. Sônia Regina de Souza (DQUIM-ICE-UFRRJ)

Dr. Heber dos Santos Abreu (IF-UFRRJ)

Dr^a. Áurea Eschevarria Aznar Neves de Lima (DQUIM-ICE-UFRRJ)

Dr. Carlos Maurício Rabello de Sant`Anna (DQUIM-ICE-UFRRJ)

Ficha Catalográfica

Costa, Patrícia Miranda

Triterpenos, Saponinas e Flavonóide de *Licania arianae* (Chrysobalanaceae) e *Eschweilera longipes* (Lecythidaceae).

Seropédica, Rio de Janeiro. Instituto de Ciências Exatas. 2003.

Tese de Doutorado.

Orientador:

Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho (DQUIM-ICE-UFRRJ)

Instituição:

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (ICE-DQ)

Dedico esta tese aos meus Filhos Tiago Miranda da Costa Bacha e Diana Flora Costa dos Santos Teixeira pela compreensão e carinho durante o Mestrado e Doutorado.

Aos meus pais Hildeberto Gomes da Costa e Enilda Miranda da Costa, pela dedicação e colaboração constante, durante o curso de Mestrado e Doutorado.

Ao Luís Henrique dos Santos Teixeira pela compreensão e carinho durante todo decorrer do curso.

AGRADECIMENTOS

-Ao Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho pela orientação, dedicação e amizade nestes anos de orientação.

-Ao Prof. Dr. Raimundo Braz-Filho pela cooperação e amizade durante esse trabalho.

-À Botânica Dr^a Ariane Luna Peixoto, IB-UFRRJ pela coleta do material vegetal de *Licania arianeae*.

-Ao Botânico Benedito Vitor Rabelo, IEPA-Macapá-Amapá pela coleta e identificação do material vegetal de *Eschweilera longipes*.

-À Prof^a Dr^a. Áurea Echevarria Aznar Neves Lima, pelo carinho, pela amizade e cooperação durante esse trabalho.

-Aos professores do curso de Pós-graduação em Química Orgânica da UFRRJ.

-Ao Prof. Dr. Jan Schipsema LPN-CCCT- UENF pelos espectros a 400MHz e pelos espectros de massas.

-Ao Prof. Dr. Marcos N. Eberlin Departamento de Química- UNICAMP pelos espectros de massas.

Ao Agrônomo Luís Henrique dos Santos Teixeira chefe da Reserva Biológica do Tinguã pelo apoio, confiança e carinho que me deu principalmente na etapa final. E também pela coleta do material vegetal de *Licania tomentosa*

Aos funcionários Eli, Áurea, Francis, Maurício, Carlão, Osmar, Fábio pela convivência amigável e boa vontade nos serviços prestados.

Aos colegas de laboratório Cássia, Ildomar, Juliana, Luciano, Luiz Roberto, Marli, Mário Sérgio, Tânia pelo companheirismo e amizade.

Aos colegas da Pós-graduação pela amizade e carinho.

Aos meus pais Enilda Miranda da Costa e Hildeberto Gomes da Costa pela compreensão, cooperação, carinho e amor.

Aos meus filhos Diana Flora e Tiago pela compreensão, carinho e amor que vocês me deram principalmente nesta etapa final.

Aos meus irmãos Antunes, Claudia, João Renato, Marcos, Nei e Rosângela pelo incentivo e apoio.

Ao CNPq pela bolsa de estudos concedidas e a FAPERJ e CAPES pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

	Pág
ÍNDICE GERAL-----	viii
ÍNDICE DE ESQUEMAS-----	-ix
ÍNDICE DE TABELAS-----	x
ÍNDICE DE FIGURAS-----	xi
ABREVIATURAS E SÍMBOLOS-----	xiv
RESUMO-----	xv
ABSTRACT-----	xvi

ÍNDICE GERAL

	Pág
Introdução	1
Revisão de Literatura	3
Características Botânicas e Estudo químico de <i>L. arianeae</i>	3
Características Botânicas da Família Chrysobalanaceae	3
Características da espécie <i>L. arianeae</i>	3
Estudo Químico de <i>L. arianeae</i>	6
Características Botânicas e Estudo Químico de <i>E. longipes</i>	15
Características Botânicas da Família Lecythidaceae	15
Características da espécie <i>E. longipes</i>	15
Estudo Químico de <i>E. longipes</i>	16
Proposta para a Biossíntese de Triterpenóides e Flavonóide	19
Biossíntese de Triterpenóides	19
Biossíntese de Flavonóides	23
Objetivos	25
Material e Métodos	26
Equipamentos e Reagentes de uso geral	26
Derivatizações de uso comum	26
Metilação com Diazometano	26
Acetilação com Anidrido Acético e Piridina	26
4.3 Isolamento e purificação dos constituintes de <i>Licania arianeae</i>	27
4.3.1 Material Vegetal	27
4.3.2. Elaboração dos Extratos	27
4.3.3. Extrato metanólico da madeira (LAMM)	27
4.3.4. Extrato metanólico das folhas (LAMF)	28
4.4. Isolamento e purificação dos constituintes de <i>Eschweilera longipes</i>	35
4.4.1. Material Vegetal	35
4.4.2. Elaboração dos Extratos	35
4.4.3. Extrato diclorometano das folhas (ELDF)	35
4.4.4. Extrato metanólico da madeira (ELMM)	36
Resultado e Discussão	39
5.1. Identificação Estrutural dos Constituintes Isolados de <i>L. arianeae</i>	39
5.1.1. Determinação estrutural da substância 1	40
5.1.2. Determinação estrutural da substância 2	53
5.1.3. Determinação estrutural da substância 3	63
5.1.4. Determinação estrutural da substância 4	79
5.1.5. Determinação estrutural da substância 5	84
5.1.6. Determinação estrutural da substância 6	89
5.1.7. Determinação estrutural da substância 7	96
5.2. Identificação Estrutural dos Constituintes Isolados de <i>E. longipes</i>	99
5.2.1. Determinação estrutural da substância 8	100
5.2.2. Determinação estrutural da substância 9	117
5.2.3. Determinação estrutural da substância 10	122
5.2.4. Determinação estrutural da substância 11	124
Conclusões	139
Referências Bibliográficas	140

4.4.2. Elaboração dos Extratos	35
4.4.3. Extrato diclorometano das folhas (ELDF)	35
4.4.4. Extrato metanólico da madeira (ELMM)	36
Resultado e Discussão	39
5.1. Identificação Estrutural dos Constituintes Isolados de <i>L. arianae</i>	39
5.1.1. Determinação estrutural da substância 1	40
5.1.2. Determinação estrutural da substância 2	53
5.1.3. Determinação estrutural da substância 3	63
5.1.4. Determinação estrutural da substância 4	79
5.1.5. Determinação estrutural da substância 5	84
5.1.6. Determinação estrutural da substância 6	89
5.1.7. Determinação estrutural da substância 7	96
5.2. Identificação Estrutural dos Constituintes Isolados de <i>E. longipes</i>	99
5.2.1. Determinação estrutural da substância 8	100
5.2.2. Determinação estrutural da substância 9	117
5.2.3. Determinação estrutural da substância 10	122
5.2.4. Determinação estrutural da substância 11	124
5. Conclusões	139
6. Referências Bibliográficas	140

ÍNDICE DE ESQUEMAS

	Pág
Esquema 1: Formação do isopentil pirofosfato à partir do acetil-CoA	20
Esquema 2: Biossíntese de triterpenos à partir do isopentil pirofosfato	21
Esquema 3: Formação de triterpenos das séries oleanano e ursano	22
Esquema 4: Proposta biossintética para flavonóides	24
Esquema 5: Elaboração dos extratos diclorometano e metanólico da madeira de <i>L. arianaeae</i>	30
Esquema 6: Elaboração dos extrato metanólico das folhas de <i>L. arianaeae</i>	31
Esquema 7: Fracionamento das frações clorofórmica, acetato de etila e metanólica da partição do extrato metanólico da madeira	32
Esquema 8: Fracionamento das frações clorofórmica e metanólica da partição do extrato metanólico das folhas de <i>L. arianaeae</i>	33
Esquema 9: Fracionamento da fração acetato de etila da partição do extrato metanólico das folhas de <i>L. arianaeae</i>	34
Esquema 10: Elaboração e fracionamento do extrato diclorometano das folhas de <i>E. longipes</i>	37
Esquema 11: Elaboração e fracionamento do extrato metanólico da madeira de <i>E. longipes</i>	38
Esquema 12: Interpretação do espectro de massas da substância 1	52
Esquema 13: Interpretação do espectro de massas obtido com IES usando $H_3CCN:H_2O$ (1:1 V/V)+ 1% NH_3 a 25 eV da substância 2	62
Esquema 14: Interpretação do espectro de massas da substância 3	77
Esquema 15: Interpretação do espectro de massas da substância 8	114
Esquema 16: Interpretação do espectro de massas Alta Resolução da substância 11a	138

ÍNDICE DE TABELAS

	Pág
Tabela 1: Constituintes químicos isolados de espécies do gênero <i>Licania</i>	7
Tabela 2: Constituintes químicos isolados de espécies do gênero <i>Eschweilera</i>	17
Tabela 3: Dados de IV da substância 1	41
Tabela 4: Dados de IV das substâncias 1a e 1b	41
Tabela 5: Dados de RMN ¹ H de 1 (200 MHz, Acetona-d ₆) e dos derivados 1a (200 MHz, Acetona-d ₆) e 1b (200 MHz, CDCl ₃)	42
Tabela 6: Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C (200 e 50,3 MHz, Acetona-d ₆) de 1 e RMN ¹³ C do derivado acetilado 1b (200 MHz, CDCl ₃) e comparação com modelo da literatura	43
Tabela 7: Valores usados para o cálculo do deslocamento químico do C-6 do anel A da substância 2	55
Tabela 8: Dados de IV das substâncias 2	56
Tabela 9: Dados de RMN ¹ H e ¹³ C (200MHz, 50,3 MHz; DMSO-d ₆ da substância 2 e comparação com modelos da literatura	56
Tabela 10: Dados de IV da substância 3	64
Tabela 11: Dados de RMN ¹ H e ¹³ C (400MHz e 200 MHz; piridina-d ₆ da substância 3 e comparação com modelo da literatura	64
Tabela 12: Dados de IV da substância 4	79
Tabela 13: Dados de RMN ¹³ C (200 MHz; piridina-d ₆ da substância 4 e comparação com dados da literatura	80
Tabela 14: Dados de IV da substância 5	84
Tabela 15: Dados de RMN ¹ H e ¹³ C (200MHz, 50,3 MHz; MeOD-d ₆ da mistura de substâncias 5a e 5b e comparação com modelos da literatura	85
Tabela 16: Dados de IV das substâncias 6	90
Tabela 17: Dados de RMN ¹³ C de 6 (200 MHz, MeOd-d ₆ e comparação com modelo da literatura	91
Tabela 18: Dados de IV da substância 7	96
Tabela 19: Dados de RMN ¹³ C de 7 (200 MHz, DMSO-d ₆) e comparação com modelo da literatura	96
Tabela 20: Dados de IV da substância 8	101
Tabela 21: Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C (400 e 100 MHz, piridina-d ₆) de 8 e comparação com modelo da literatura	102
Tabela 22: Dados de RMN de ¹³ C (50,3 MHz, DMSO-d ₆) de 9 e comparação com valores da literatura	118
Tabela 23: Dados de IV da substância 11 e 11a	126
Tabela 24: Dados de RMN ¹ H e ¹³ C (200MHz e 50,3MHz, CDCl ₃ e 400MHz e 100MHz, Piridina-d ₆) das substâncias 11 e 11a	127

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 1a: Foto das folhas de <i>L. arianeae</i>	4
Figura 1b: Foto do caule de <i>L. arianeae</i>	5
Figura 2: Estruturas das substâncias isoladas do gênero <i>Licania</i>	9
Figura 3: Foto da madeira de <i>E. longipes</i>	16
Figura 4: Estruturas das substâncias isoladas do gênero <i>Eschiweilera</i>	18
Figura 5: Espectro no IV da substância 1	44
Figura 6: Espectro de RMN ^1H (200MHz, Acetona- d_6) da substância 1	44
Figura 7: Espectro de RMN ^{13}C (BBD e DEPT) (50,3MHz, Acetona- d_6) da substância 1	45
Figura 8: Espectro de RMN 2D ^1H x ^1H -COSY (Acetona- d_6) da substância 1	46
Figura 9: Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C -COSY- $^1J_{\text{CH}}$ (Acetona- d_6) da substância 1	47
Figura 10: Espectro de massas da substância 1	48
Figura 11: Espectro no IV da substância 1a	48
Figura 12: Espectro de RMN ^1H (200MHz, CDCl_3) da substância 1a	49
Figura 13: Espectro de IV da substância 1b -	50
Figura 14: Espectro de RMN ^1H (200MHz, CDCl_3) da substância 1b	50
Figura 15: Espectro de RMN ^{13}C PND (50,3MHz, CDCl_3) da substância 1b	51
Figura 16: Espectro no IV da substância 2	57
Figura 17: Espectro de RMN ^1H (200MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da substância 2	57
Figura 18: Espectro de RMN ^{13}C PND (50,3MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da substância 2	58
Figura 19: Espectro de RMN ^{13}C DEPT (50,3MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da substância 2	59
Figura 20: Espectro de RMN 2D ^1H x ^{13}C -COSY- $^1J_{\text{CH}}$ ($\text{DMSO-}d_6$) da substância 2	60
Figura 21: Espectro de massas da substância 2	61
Figura 22: Espectro no IV da substância 3	65
Figura 23: Espectro de RMN ^1H (400MHz, Piridina- d_6) da substância 3	66
Figura 23a: Ampliação do espectro de RMN ^1H (400MHz, Piridina- d_6) da substância 3	67
Figura 23b: Ampliação do espectro de RMN ^1H (400MHz, Piridina- d_6) da substância 3	67
Figura 24: Espectro de RMN ^{13}C (100MHz, Piridina- d_6) da substância 3	68
Figura 24a: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (100MHz, Piridina- d_6) da substância 3	69
Figura 24b: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (100MHz, Piridina- d_6) da substância 3	69
Figura 24c: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (100MHz, Piridina- d_6) da substância 3	70
Figura 24d: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (100MHz, Piridina- d_6) da substância 3	70
Figura 25: Espectro de RMN ^{13}C APT(100MHz, Piridina- d_6) da substância 3	71
Figura 25a: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C APT(100MHz, Piridina- d_6) da substância 3	72

Figura 25b: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C APT(100MHz, Piridina- d_6) da substância 3	72
Figura 25c: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C APT(100MHz, Piridina- d_6) da substância 3	73
Figura 26: Espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (Piridina- d_6) da substância 3	73
Figura 26a: Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (Piridina- d_6) da substância 3	74
Figura 27: Espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ HMQC (Piridina- d_6) da substância 3	74
Figura 27a: Ampliação do espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ HMQC (Piridina- d_6) da substância 3	75
Figura 28: Experimento 2D NOESY da substância 3	75
Figura 29: Espectro de massas da substância 3	76
Figura 30: Espectro de IV da substância 4	81
Figura 31: Espectro de RMN ^{13}C BBD (50,3MHz, Piridina- d_6) da substância 4	81
Figura 32: Espectro de RMN ^{13}C DEPT (θ : 135° 50,3MHz, Piridina- d_6) da substância 4	82
Figura 33: espectro de RMN ^{13}C DEPT (θ : 90° 50,3MHz, Piridina- d_6) da substância 4	83
Figura 34: Espectro de IV da substância 5a e 5b	86
Figura 35: Espectro de RMN ^1H (100MHz, DMSO- d_6) da substância 5a e 5b	87
Figura 36: Espectro de RMN ^{13}C PND (50,3MHz, DMSO- d_6) da substância 5a e 5b	88
Figura 37: Espectro de IV da substância 6	92
Figura 38: Espectro de RMN ^1H (200MHz, MeOH- d_6) da substância 6	92
Figura 39: Espectro de RMN ^{13}C PND (50,3MHz, MeOH- d_6) da substância 6	93
Figura 40: Espectro de RMN ^{13}C DEPT (50,3MHz, Piridina- d_6) da substância 6	94
Figura 40a: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C DEPT (50,3MHz, Piridina- d_6) da substância 6	95
Figura 41: Espectro no IV da substância 7	97
Figura 42: Espectro de RMN ^1H (200MHz, Piridina- d_6) da substância 7	97
Figura 43: Espectro de RMN ^{13}C PND (50,3MHz, Piridina- d_6) da substância 7	98
Figura 44: Espectro de RMN ^{13}C DEPT (100MHz, Piridina- d_6) da substância 7	98
Figura 45: Espectro no IV da substância 8	103
Figura 46: Espectro de RMN ^1H (400MHz, MeOD- d_6) da substância 8	103
Figura 46a: Ampliação do espectro de RMN ^1H (400MHz, MeOD- d_6) da substância 8	104
Figura 46b: Ampliação do espectro de RMN ^1H (400MHz, MeOD- d_6) da substância 8	105
Figura 46c: Ampliação do espectro de RMN ^1H (400MHz, MeOD- d_6) da substância 8	105
Figura 47: Espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY da substância 8	106
Figura 47a: Ampliação do espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (MeOD- d_6) da substância 8	107

Figura 48: Espectro de RMN ^{13}C (100MHz, MeOD- d_6) da substância 8	108
Figura 48a: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (100MHz, MeOD- d_6) da substância 8	109
Figura 48b: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (100MHz, MeOD- d_6) da substância 8	110
Figura 49: Espectro de RMN ^{13}C DEPT(100MHz, MeOD- d_6) da substância 8	111
Figura 50: Espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^1J_{\text{CH}}$ HMQC (MeOD- d_6) da substância 8	112
Figura 51: Experimento 2D NOESY da substância 8	112
Figura 51a: Experimento 2D NOESY da substância 8	113
Figura 52: Espectro de massas da substância 8	113
Figura 53: Espectro no IV da substância 9	119
Figura 54: Espectro de RMN ^1H (200MHz, DMSO- d_6) da substância 9	120
Figura 55: Espectro de RMN ^{13}C DEPT (50,3MHz, DMSO- d_6) da substância 9	121
Figura 56: Espectro no IV da substância 10	123
Figura 57: Espectro de RMN ^1H (200MHz, CDCl_3) da substância 10	123
Figura 58: Espectro de IV da substância 11	128
Figura 59: Espectro no IV da substância 11a	128
Figura 60: Espectro de RMN ^1H (200MHz, CDCl_3) da substância 11a	129
Figura 61: Espectro de RMN ^{13}C PND (50,3MHz, CDCl_3) da substância 11a	130
Figura 62: Espectro de RMN ^{13}C BBD eDEPT (50,3MHz, CDCl_3) da substância 11a	131
Figura 63: Espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3) da substância 11a	132
Figura 64: Espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^1J_{\text{CH}}$ (CDCl_3) da substância 11a	133
Figura 64a: Ampliação do espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^1J_{\text{CH}}$ (CDCl_3) da substância 11a	134
Figura 65: Espectro de RMN 2D $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$: COLOC (CDCl_3) da substância 11a	135
Figura 66: Experimento 2D NOESY da substância 11a	136
Figura 67: Espectro de massas de Alta Resolução da substância 11a	137

ABREVIATURAS

1D	unidimensional
2D	bidimensional
AcOEt	acetato de etila
CC	cromatografia em coluna(a pressão atmosférica)
CCDA	cromatografia em camada delgada
CCDP	cromatografia em camada delgada preparativa
CDCl ₃	clorofórmio deuterado
COSY	correlation spectroscopy
DEPT	distortionless enhancement by polarization transfer
δ	deslocamento químico medido em ppm
d	dubleto
dd	duplo dubleto
EM	espectroscopia de massas
HMBC	heteronuclear multiple bond connectivity
HMQC	heteronuclear multiple quantum coherence
Hz	hertz
IV	infravermelho
J	constante de acoplamento
Lit.	literatura
M	multipleteo
M(l)	multipleteo largo
Me	metil
MeOH	metanol
MHz	megahertz
Min	minutos
mL	mililitro
m/z	relação massa-carga
P.F.	ponto de fusão
PND	próton noise decoupling
q	quarteto
RMN de ¹ H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN de ¹³ C	ressonância magnética nuclear de carbono-13
s	singleto
sl	singleto largo
t	tripleto

RESUMO

COSTA, Patrícia Miranda. **Triterpenos, saponinas e flavonoídes de *L. arianae* (Chrysobalanaceae) e *Eschweilera longipes* (Lecythidaceae)**, Seropédica: UFRRJ, 2003. 142p. (Dissertação, Doutorado em Química, Fitoquímica).

O fracionamento dos extratos das folhas e madeira de *L. arianae* através de processo de partição com solventes e técnicas cromatográficas conduziu ao isolamento dos ácidos 3 β ,6 β ,19 α -triidroxiursan-12-eno-28-óico, 3 β ,6 β ,24,19 α -tetraidroxiursan-12-eno-28-óico, 3 β -hidroxiolean-12-eno-28-óico, da 3,5,7-triidroxi, 4'-metoxi, 6-sulfonato, flavona, da 3 β -*O*- β -*D*-galactopiranosil-(6'-*p*-hidroxi-benzoíla)-ursan-12-eno-28-óico, da 1-metil glicose, e da mistura de flavonóides. As estruturas das substâncias foram deduzidas através da análise dos espectros de IV, RMN de ^1H e ^{13}C , incluindo experimentos 2D e espectro de massas das substâncias naturais e dos derivados. Este é o primeiro registro destes constituintes no gênero *Licania*. A flavona e saponina estão sendo descritos pela primeira vez na literatura.

As folhas e as cascas da espécie *E. longipes* foram submetidas a extração com solventes orgânicos e os extratos foram fracionados através de partição e técnicas cromatográficas. As frações reunidas foram submetidas a técnicas cromatográficas e cristalização. Esses processamentos conduziram ao isolamento dos ácidos 1 α ,2 β ,3 α ,19 α -tetraidroxiursan-12-eno-28-óico, da saponina 3 β -*O*- β -*D*-glicopiranosil-sitosterol e dos triterpenos fridelinol e 3 β ,24-diidroxifridelano. As estruturas das substâncias foram deduzidas através das técnicas citadas acima. Este é o primeiro registro desta saponina no gênero *Eschweilera*. O triterpeno 3 β ,24-diidroxifridelano foi descrito pela primeira vez na literatura (COSTA, P.M. & Carvalho, M. G., *Annais da Academia Brasileira de Ciências*, 2003).

Palavra chave: saponina, flavonoíde, triterpeno

ABSTRACT

COSTA, Patrícia Miranda. **Triterpenes, saponin e flavonoid of the *L. arianeae* (Chrysobalanaceae) e *Eschweilera longipes* (Lecythidaceae)**, Seropédica: UFRRJ, 2003. 142p. (Dissertation, Doctor in Chemistry, Phytochemistry).

Solvent partition and chromatographic fractionation of methanolic extract from the leaves and wood of *L. arianeae* lead to the isolation of triterpenes, one carbohydrate, saponin and flavonoid. $3\beta,6\beta,19\alpha$ -trihydroxiursa-12-en-28-oic acid, $3\beta,6\beta,24$ -trihydroxiursa-12-en-28-oic acid, 3,5,7-trihydroxi-4'-metoxi,6-flavone-(sulfonate), 3β -hydroxiolean-12-en-28-óico acid, 3β -O- β -D-galactopiranosyl-(6'-1 para hydroxi benzoil)-ursa-12-en-28-oic acid, 1-metyl glycopiranosyl and mixture of two flavonoids. The 3,5,7-trihydroxi-4'-metoxi,6-flavone-(sulfonate) and 3β -O- β -D-galactopiranosyl-(6'-1 para hydroxi benzoil)-ursa-12-en-28-oic acid are being described for the first time in the literature. The IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR and MS spectra analysis was used for structural determination.

The leaves and the bark from of *E. longipes* were extracted by organic solvent. The obtained extract by partition and chromatography were fractioned. This treatment lead to the isolation and the identification of five pentacyclic triterpene and one saponin. The structures were proposed by IR, ^1H and ^{13}C NMR spectral data of the original compound and their derivated contributed for identification. From the methanolic extract of the were isolated $1\alpha,2\beta,3\alpha,19\alpha$ -tetrahydroxiursa-12-en-28-oic acid, and the saponin 3β -O- β -D-glycopiranosyl-sitosterol. From the methanolic extract of the leaves were isolated fridelinol and the $3\beta,24$ -dihydroxifridelane a new triterpene. From the spectral data of derivatives was confirmed the propose structure to new triterpene (COSTA, P. M., 2003).

Key words: saponin. Flavonoid, triterpene

1. INTRODUÇÃO

Pouco se conhece sobre a química do gênero *Licania* e da família Chrysobalanaceae, pois esta é quase completamente inexplorada. Em 1960, a primeira investigação fitoquímica relacionava-se à pesquisa de flavonóides agliconas de Rosaceae (incluindo Chrysobalanaceae) onde revelou a presença de miricetina em *Chrysobalanus icaco* e *Licania rigida*. O único estudo químiossistemático de flavonóides da família Chrysobalanaceae foi realizado por Corandin (CORANDIN, I, 1985) referente a 31 espécies do gênero *Parinari*. Os poucos estudos químicos de Chrysobalanaceae mostraram uma predominância de flavonóides glicosilados de miricetina, quercetina e campferol.

Esta investigação químiossistemática do gênero *Parinari* evidenciou que as taxas Neotropical da América e Asiático deste gênero, um complexo de espécies estreitamente relacionadas, são quimicamente muito similares entre si desprovidas de miricetina. As espécies africanas se dividem em dois grupos baseados na presença e ausência de miricetina glicosilada. Já que a miricetina é considerada um caráter flavonóico primitivo, sugere-se que as espécies africanas produzindo esta substância representam um núcleo primitivo a partir do qual um grupo não miricetina teria sido envolvido dando origem, por subsequente expansão a leste e oeste, a duas linhas fitogeográficas desprovidas de miricetina: Ásia e região Neotropical da América. O gênero *Licania* é predominantemente neotropical, deste modo a ausência de miricetina em espécies de *Licania pittieri* (MENDEZ, J, 1995) poderia estar de acordo com as correlações químico/fitogeográficas da taxa desta família sugerem que a taxa neotropical tem padrão flavonóico ausente de miricetina glicosilada. Esta hipótese está de acordo com a proposta corrente para a evolução geográfica da família Chrysobalanaceae.

Entretanto a ocorrência de miricetina glicosilada em *L. carii* (MENDEZ, J, 1996) e *L. pyrifolia* (BILIA, A.R., 1996; BILIA, A.R., 1996; MENDEZ, J., 1996) sugere que as correlações químico/fitogeográficas entre e dentro do gênero desta família são provavelmente mais complexas do aquelas observadas por Corandin.

O resultado das investigações em *L. carii* (MENDEZ, J, 1996) concordam com a forte relação entre a família Chrysobalanaceae e Rosaceae. Deste modo, a presença de flavonóides e triterpenóides nas espécies *L. carii* poderiam justificar uma prévia classificação que inclui a família Chrysobalanaceae na família Rosaceae, e a inutilidade por um ponto de vista químico da separação.

A química do gênero *Eschweilera* e da família Lecythidaceae é pouco conhecida, já que também é quase completamente inexplorada.

Alguns constituintes com atividade farmacológica tem sido isolados de espécies desta família. Os trabalhos relacionados com o estudo químico de espécies desta família conduziram a identificação de constituintes como saponinas e triterpenos pentacíclicos (CARVALHO, M. G., 1998).

Considerada como a “família da castanha do Brasil”, a lecythidaceae possui pelo menos 287 espécies tipicamente tropicais com cerca de ¾ retringidas às regiões neotropicais. Como exemplo podemos citar o gênero *Gustavia*, que possui cerca de 40 espécies, entre as quais *Gustavia longifolia*.

Gustavia longifolia é a única espécie do gênero com estudo químico registrado na literatura, onde foram isolados esteróides, triterpenos pentacíclicos e ácidos graxos (EL SEEDI, H. R., 1999).

Os extratos do caule e cascas de *G. augusta* possuem atividade antiinflamatória (ROCHA, A F. I., 1986). Entretanto, a principal atividade atribuída pelos índios da Guiana francesa é no tratamento da Leishmaniose (GRENAND, P., 1987).

Os únicos trabalhos sobre o estudo químico encontrados na literatura referentes ao gênero *Eschweilera* (CARVALHO, M. G., 1995; CARVALHO, M. G., 1998; COSTA, P. M., 2003) reportam o isolamento de triterpenos pentecíclicos, esteróides, flavonóides e saponinas.

2.REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características Botânicas e Estudo Químico de *Licania arianeae*

2.1.1.Características Botânicas da Família Chrysobalanaceae

A família Chrysobalanaceae é pantropical, sobretudo americana e considerada por muitos autores como subfamília *Rosaceae*. São árvores e arbustos com folhas simples, inteiras, alternas, estipuladas, peninérveas. Receptáculo cupuliforme, constituindo um hipânquio. Cálice gamossépalo, com cinco lacínios. Corola com cinco pétalas livres, imbricadas, inseridas nos bordos do hipânquio. Androceu constituído de numerosos estames, todos férteis ou alguns reduzidos a estaminódios, distribuídos ao redor do bordo do hipânquio ou dispostos apenas de um lado; filetes filiformes, livres ou concrecidos em feixes, anteras rimosas, geralmente globosas. Ovário inserido no fundo do receptáculo ou na parede do hipânquio. Constituído de três carpelos, de um a bilocular, com dois óvulos basais; estilete lateral ou basal com estigma trilobado ou truncado. Drupa monosperma; semente sem endosperma, com embrião carnoso, com cotilédones plano-convexos.

2.1.2. Características da espécie *L. arianeae*

O gênero *Licania* é comum nos países sul americanos, como Venezuela e Brasil. No Brasil as espécies deste gênero são encontradas na floresta atlântica de regiões dos estados de Pernambuco, Espírito Santo, Rio de Janeiro e Minas Gerais, onde suas madeiras são usadas na construção civil em obras externas, como estacas, postes, dormentes e em obras hidráulicas. Um representante muito comum deste gênero é o “oitizeiro” (*L. Tomentosa*), árvore fornecedora de ótima sombra, sendo por isso a preferida para plantios em praças e jardins.

A espécie *L. arianeae* é conhecida popularmente como “quebra machado”. O espécime usado neste estudo foi coletado na Estrada da Farinha Seca (km 2.26), localizada na Reserva Florestal da Companhia vale do Rio Doce (C.V.R.D.), uma das remanescentes da Mata Atlântica do país no Município de Linhares, Espírito Santo. Uma excicata (nº 2892) encontra-se depositada no Herbário da RBR-IB-UFRRJ. A coleta e identificação foram feitas pela professora Dra Ariane Luna Peixoto, IB-UFRRJ.

O extrato hexânico e uma parte do extrato metanólico das folhas de *Licania arianeae* já foram estudadas anteriormente por L. F. de Oliveira onde foram isolados triterpenos pentecíclicos, saponinas e cromonas.(**Tabela 1, pág 7**) (**Fig 1, pág 5**)



Figura 1a:Foto das folhasde *Licania arianeae*

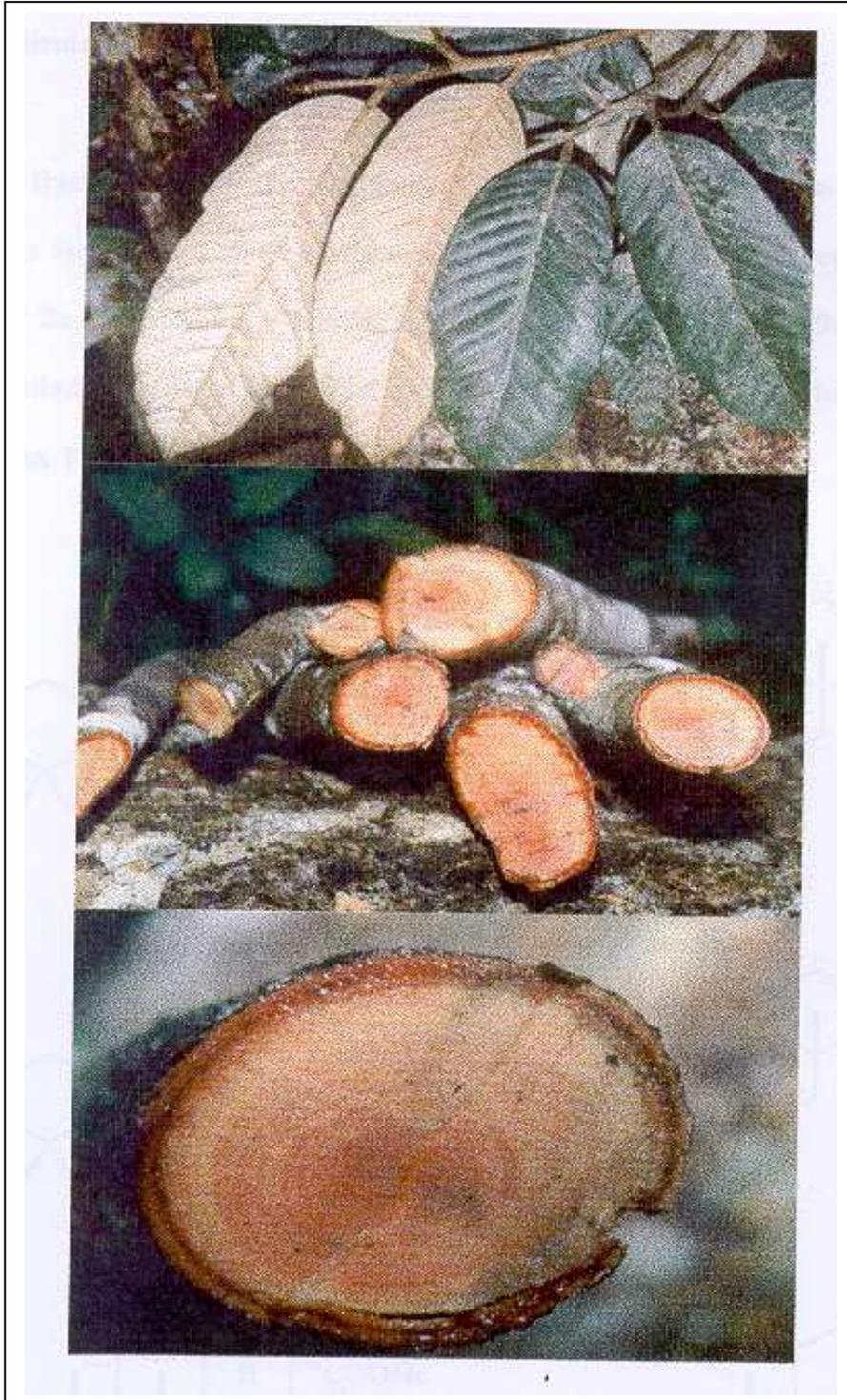


Figura 1b:Foto do caule e fruto da espécie *Licania arianae*

2.1.3. Estudo Químico de *Licania arianaeae* (Chrysobalanaceae)

A família Chrysobalanaceae é constituída de 17 gêneros contendo 420 espécies. Tendo como centro de dispersão a Amazônia, onde ocorrem cerca de 120 espécies (BARROSO et al 1991).

Espécies da família Chrysobalanaceae são largamente usadas na medicina popular tradicional na África e América do Sul. Este fato tem sido uma das razões para a realização de estudo químico de espécies desta família (MENDEZ et al 1997).

A literatura relata várias atividades biológicas com espécies desta família, como por exemplo:

O extrato metanólico das raízes secas de *Parinari cerataefolium* Prance (Chrysobalanaceae) é usado na inibição de ovoposição como um medidor de atividade antiacaricida e o extrato aquoso quente desta parte da planta é utilizado no folclore africano como anti-convulsionante numa mistura complexa com *Psorospirmum febrifugum* Spach (Hypericaceae) e *Heteromorpha trifoliata* L. (Apiaceae) como descrevem Worthley e Schott (1969). Eles relatam que o extrato EtOH 95% de *Coupeia paraensis* Benth (Chrysobalanaceae). Este último apresenta atividade antitumoral contra Leuk-P388. Foram isolados triterpenos, esteróides e flavonóides. O extrato aquoso quente de *Chrysobalanus icao* L. (Chrysobalanaceae) é usado no Brasil no tratamento de diabetes com atividade antihiperlipidêmica. O extrato das raízes de *Licania michauxii* Prance (BADISA et al, 2000) apresenta atividade citotóxica contra cultura de células HepG2 e antitumoral in vivo contra o Carcinoma de Cólon do tipo Caco-2.

Espécies desta família são ricas em flavonóides, triterpenos pentacíclicos e saponinas. Os triterpenos, tem sido conhecidos por possuírem atividade antiinflamatória, antiúlcera e antitumoral e por isso tem sido citados com frequência na literatura . Como exemplo as plantas contendo ácido ursólico e ácido oleanólico que tem sido usados no tratamento de doenças inflamatórias (RINGBOM et al, 1998).

Os trabalhos sobre o estudo químico encontrados na literatura referente ao gênero *Licania* reportam o isolamento de triterpenos das séries ursano, lupano e oleanano, esteróides, glicoesteróides, flavonóides e flavonóides glicosilados.

A tabela 1 relaciona as espécies estudadas do gênero *Licania* e as respectivas substâncias isoladas (**Figura 2, pág 9**).

TABELA 1: Constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Licania*

Espécies (Parte da planta)	Constituintes	Ref
<i>L. carii</i> (Folhas)	Ácido ursólico (1), ácido 2 α -hidroxiursólico (2), ácido oleanólico (3), ácido betulínico (4), sitosterol-3-O- β -D-glicopiranosil (5), 3-O-galactopiranosil-miricetina (6), 3-O-glicopiranosil-miricetina (7), 3-O-(2''-xilossil)-rhamnpiranosil miricetina (8), 3-O-rutinopiranosil-miricetina (9), 3'-metil-3-O-rutinopiranosil-miricetina (10), 3'-O-glicopiranosil-quercetina (11), 3-O-(2''-xilossil)-rhamnpiranosil-quercetina (12), 3-O-rutinopiranosil-quercetina (13), 3-O-galactopiranosil-quercetina (14)	MENDEZ et al 1997
<i>L. pittieri</i> (Folhas)	Ácido oleanólico (3), ácido ursólico (1), (+)- trans catequina (15), (-)-cis epicatequina (16), isoquercetina (17), quercetina (18), hiperina (19), quercitrina (20), 3-O-aranopiranosil quercetina (21)	MENDEZ et al 1995
<i>L. pyrifolia</i> (Folhas)	Ácido 2 α -hidroxi-3- β -O (3',4'-diidroxibenzoil)-lup-12-en-28-óico (22), ácido 2 α ,27-diidroxi-3 β -O-(3',4'-diidroxibenzoil) lup-12-en-28-óico (23), campferol (24), 3-O-rhamnoprinasil -campferol (25), 3-O-arabinopiranosil-campferol (26), 3-O-(2''-xilossil)-rhamnpiranosil-campferol (27), hipolaetina (28), 8-hidroxi-narigenina (29), 8-hidroxi-eriodictiol (30), quercetina (18), 3-O-(2''-xilossil)-rhamnpiranosil-quercetina (12), 3-O-rhamnpiranosil-quercetina (31), 3-O-arabinopiranosil-quercetina (21), miricetina (32), 3-O-(2''-xilossil)-rhamnpiranosil-miricetina (8), 3-O-rhamnpiranosil-miricetina (33), ácido 11 α -hidroxibetulínico (34), ácido 6 β -hidroxibetulínico (35)	BILIA et al 1996 MENDEZ et al 1996 BILIA et al 1996
<i>L. densiflora</i> (Folhas)	3',4'-dimetil 3-O-glicopiranosil miricetina (36), 8-hidroxi-4'-metil-narigenina (37), 3-O-(2''-O- α -L rhamnpiranosil)-rhamnpiranosil-miricetina (38)	BRACA et al 1999 BRACA et al 2001
<i>L. heteromorpha</i> (Folhas)	7-metil éter 3,4'-di-O- rhamnpiranosil-miricetina (39) 3,4'-di-O-rhamnpiranosil-miricetina (40), 4-metil éter 3-O-galactopiranosil-miricetina (41)	BRACA, A, 1999
<i>L. licaniaeflora</i> (Folhas)	Ácido oleanólico (2), ácido maslinico (42), ácido 3-O-arabinopiranosil-oleanólico(43), ácido betulínico(4), ácido arjunetino(44), tormentato de glicopiranosila (45), ácido pomólico (46), ácido 2 α -hidroxi-oleanólico (47)	BRACA, A, 2002
<i>L. intrapetiolaris</i> (Folhas)	Intrapetacina A (48), intrapetacina B (49), cucurbitacina B(50)	OBERLIES, N. H, 2001

<p><i>L. arianae</i> (Folhas)</p>	<p>Àcido 3α-hidroxi-ursa-12-en-28-óico (51), ácido 3α,24-diidroxi-olean-12-en-28-óico (52), ácido 3α,24-diidroxi-ursa-12-en-28-óico (53), ácido 3α,19α,24-triidroxi-ursa-12-en-28-óico (54), ácido 3β-hidroxi-olean-12-en-28-óico (55), ácido 3β-hidroxi-ursa-12-en-28-óico (56), ácido(3β-O-β-D-glicopiranosil-24-hidroxi-ursa-12-en-28-óico (57), ácido(3β-O-β-D-glicopiranosil-19α,24-diidroxi-ursa-12-en-28-óico (58), 5,7-diidroxi-2-dotricontanil-cromona (59), 5,7-diidroxi-2-untricontanil-cromona (60), 5,7-diidroxi-2-tricontanil-cromona (61), 5,7-diidroxi-2-noneicosanil-cromona (62), 5,7-diidroxi-6-cloro-2-dotricontanil-cromona (63), 5,7-diidroxi-6-cloro-2-untricontanil-cromona (64), 5,7-diidroxi-6-cloro-2-tricontanil-cromona (65), 5,7-diidroxi-6-cloro-2-noneicostanil-cromona (66),</p>	<p>CÂNDIDO, L. F. O de, 2000 CARVALHO, M. G. de 2003</p>
---------------------------------------	---	--

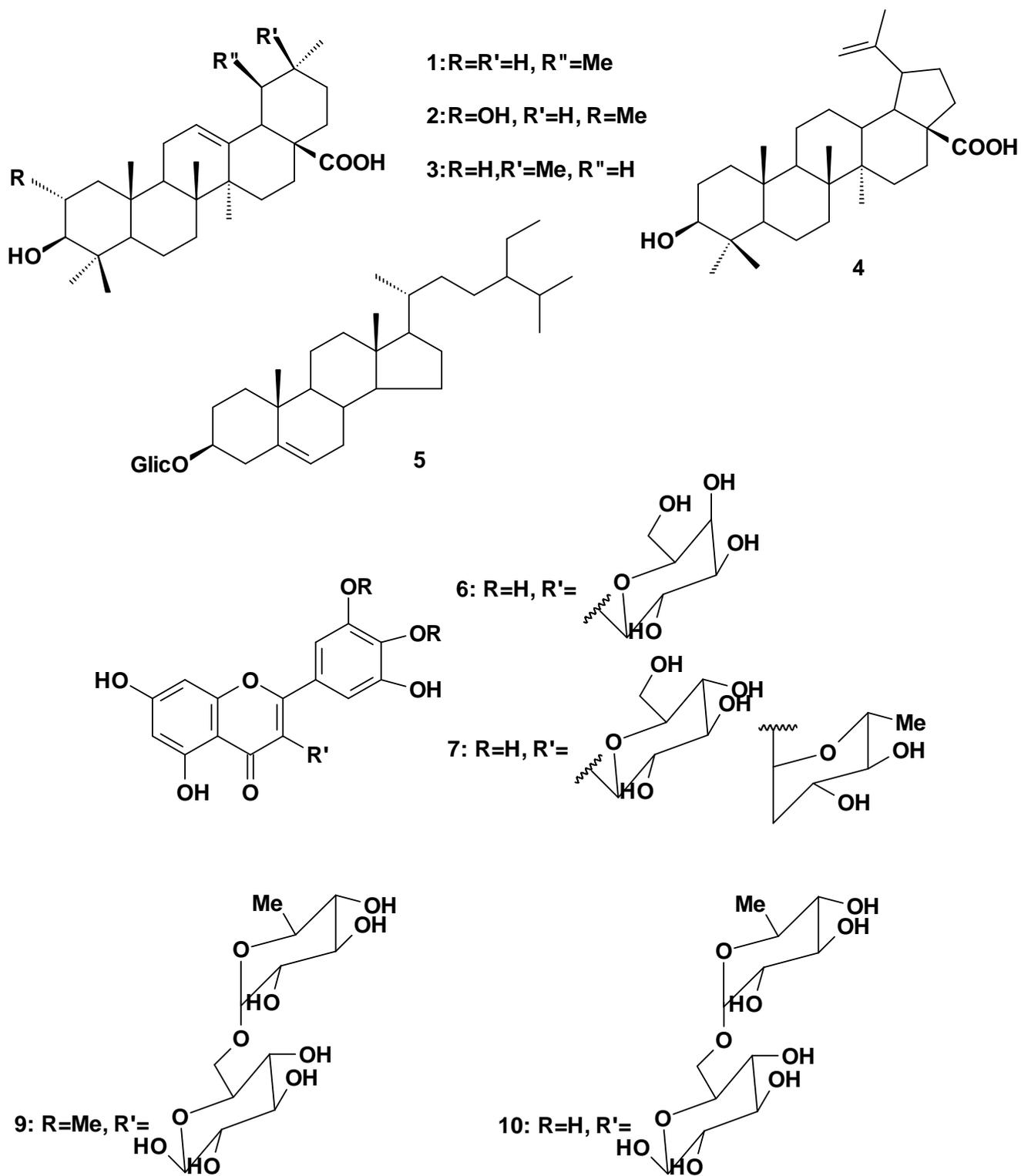
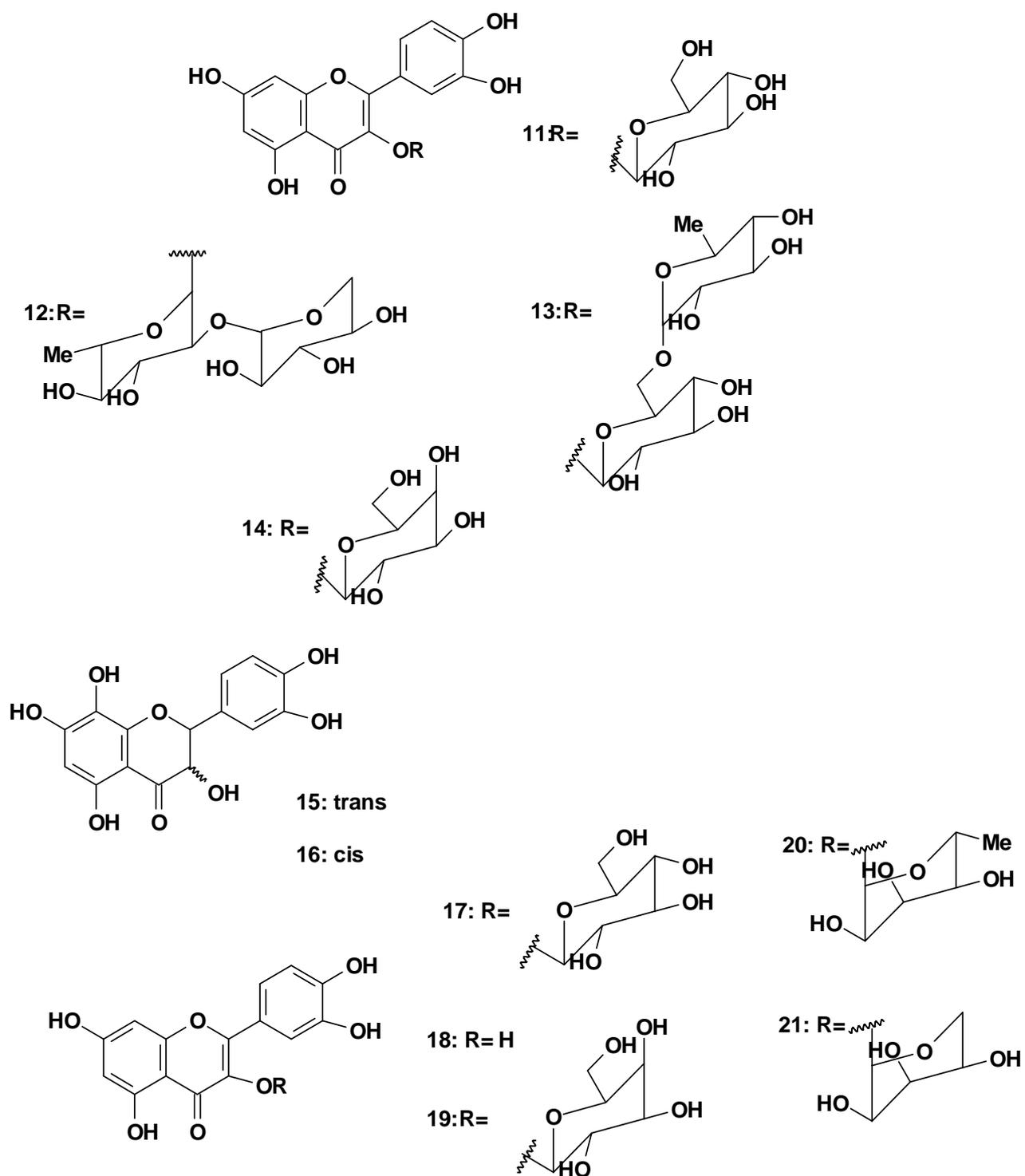
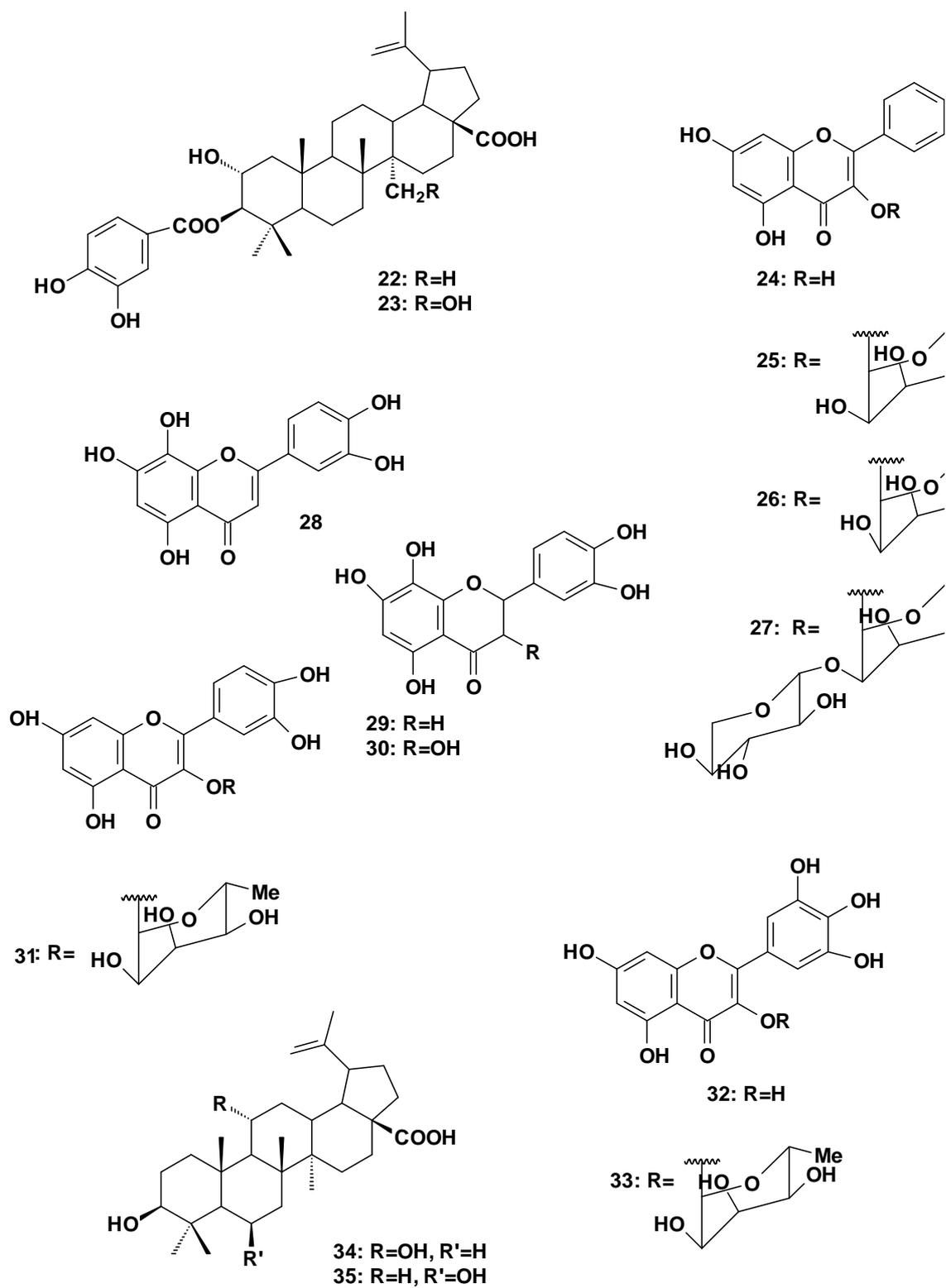


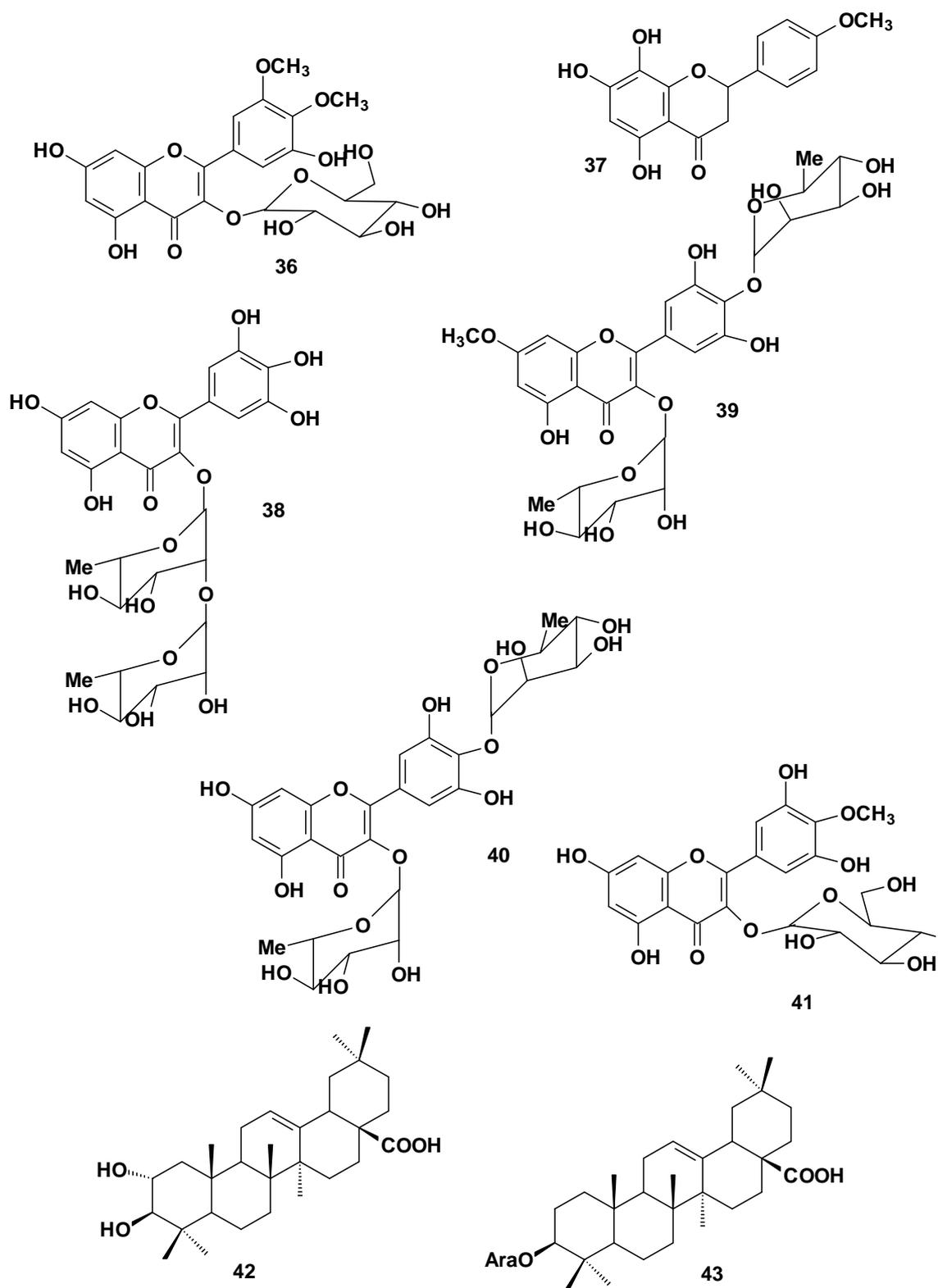
Figura 2: Estruturas das substâncias isoladas do gênero *Licania* (Tabela 1)



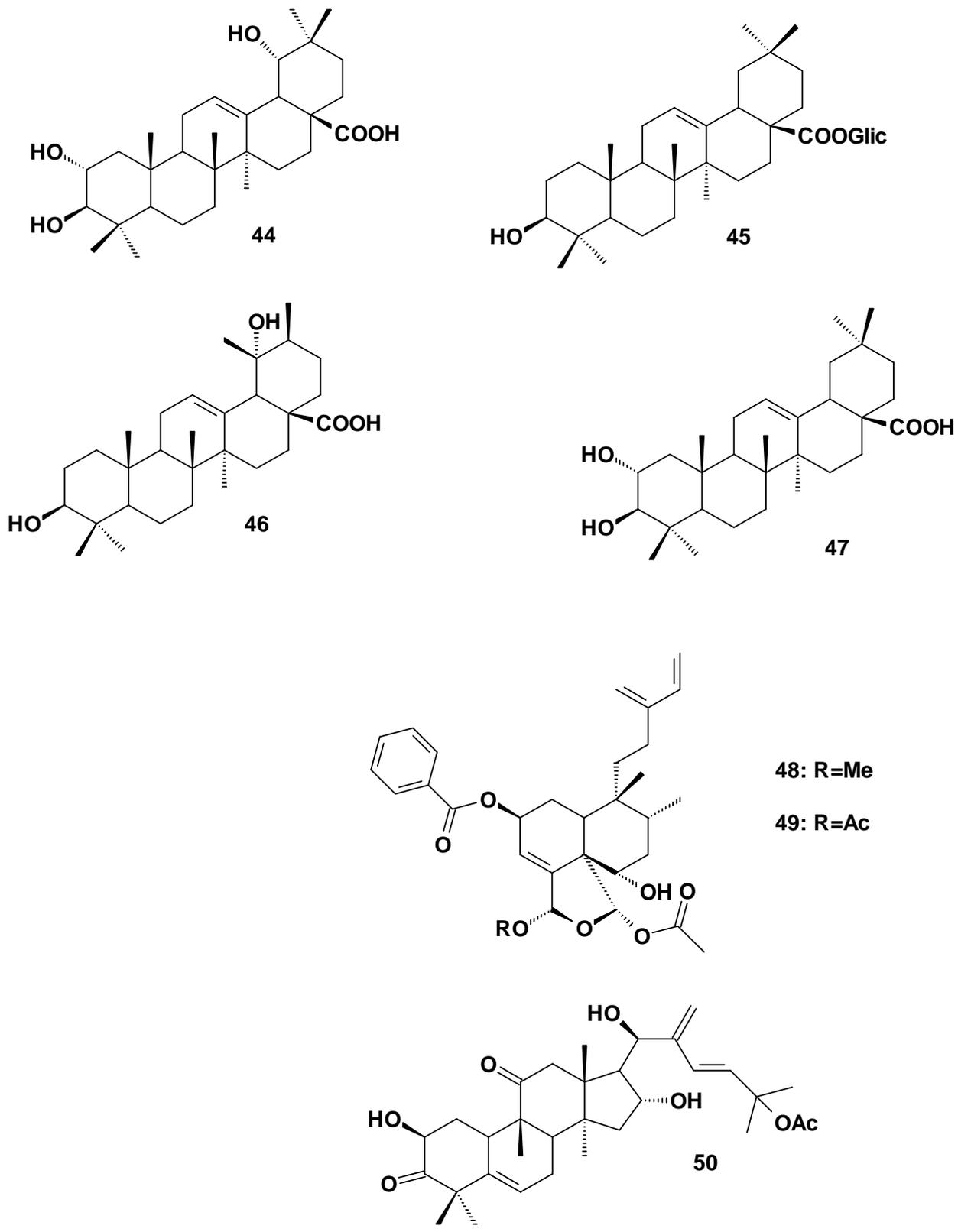
Continuação da **Figura 2**



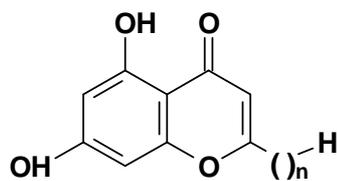
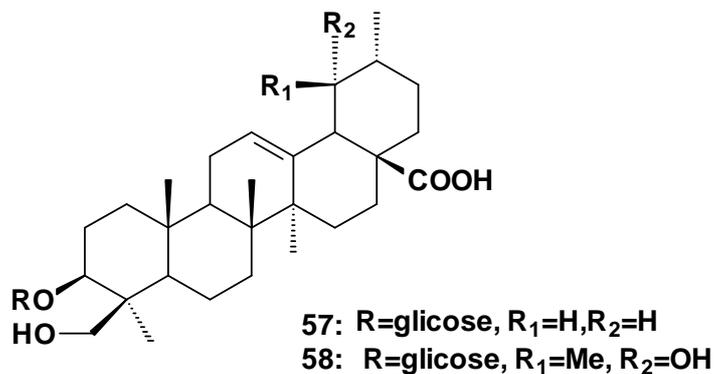
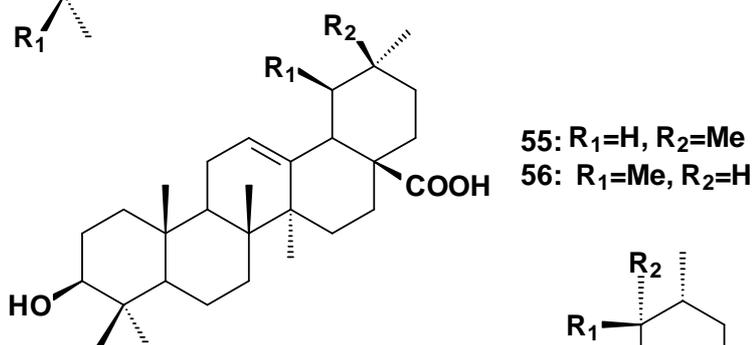
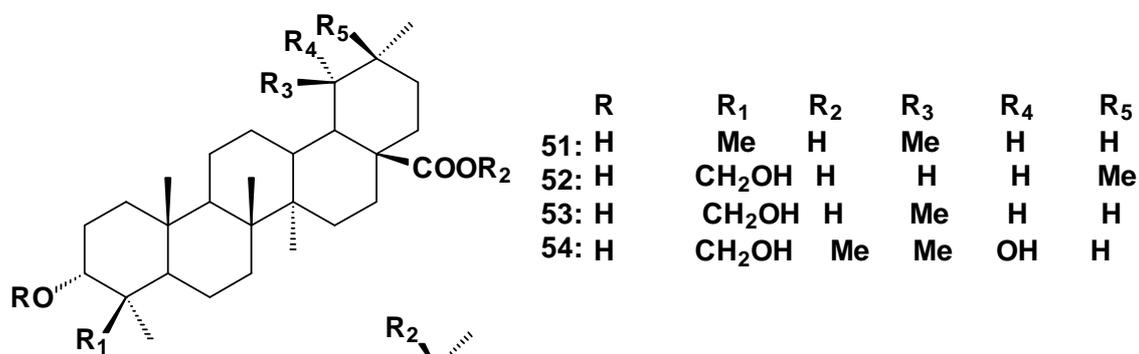
Continuação da **Figura 2**



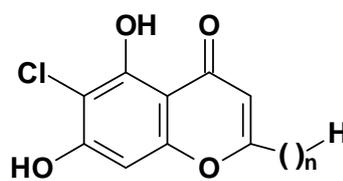
Continuação da **Figura 2**



Continuação da **Figura 2**



59: n=32
60: n=31
61: n=30
62: n=29



63: n=32
64: n=31
65: n=30
66: n=29

Continuação da **Figura 2**

2.2- Características Botânicas e Estudo Químico de *Eschweilera*

2.2.1- Características Botânicas da Família Lecythidaceae (JOLY, 1998)

Compreende esta família 24 gêneros restritos às regiões tropicais de todo o mundo e são especialmente abundantes nas matas tropicais das Américas. São todas plantas arbóreas, com folhas inteiras, de disposição alterna, com estípulas rudimentares. Flores isoladas ou inflorescências paniculadas, em geral cíclicas, hermafroditas, diclamídeas de simetria radial ou zigomorfas. Receptáculo desenvolvido. Cálice com 4 a 6 sépalas e corola em geral com 4 a 8 pétalas. Androceu formado por numerosos estames livres ou soldados na base em um andróforo. Ovário ínfero, com 2 a 6 carpelos e outros tantos lóculos, com muitos óvulos. Fruto seco, em geral pixídio com sementes aladas ou não e neste caso, não se abrindo (*Bertholletia*).

Exemplos freqüentes no Brasil: *Couratari*, o conhecido jequitibá das nossas matas; *Lecythis*, a interessante sapucaia com seus enormes pixídios; *Bertholletia*, a castanha-do-pará. Ao gênero *Holopyxidium* pertence a jarana da Amazônia e também desta região é conhecida a castanha-de-macaco do gênero *Couroupila*, bem como a castanha chamada cheru, do gênero *Allantoma*. Espécies do gênero *Eschweilera* fornecem madeira conhecida como matamatá.

2.2.2- Características da espécie *E. longipes*

O gênero *Eschiweilera* é comum nos países sul americanos, como Venezuela e Brasil. Espécies do gênero *Eschiweilera* ocorrem freqüentemente no norte e nordeste do Brasil e são usadas na indústria madeireira, em obras, em cercas e como combustível doméstico.

Um espécime da espécie *Eschiweilera longipes* usado neste estudo foi identificado pelo botânico Benedito Vítor Rabelo. O espécime foi coletado no Estado do Amapá. Uma excicata (nº 00358) se encontra depositada no Herbário amapaense do Museu Ângelo Moreira da Costa Lima-IEPA. Macapá, Amapá, Brasil.

O extrato hexânico das folhas de *Eschiweilera longipes* já foram estudadas anteriormente onde foram isolados triterpenos pentacíclicos, esteróides e saponinas (CARVALHO et al 1998). (Tabela 2, pág 17) (Fig 4, Pág 18) .



Figura 3:Foto da madeira de *Eschweilera longipes*

2.2.3-Estudo Químico de *Eschiweilera longipes* (Lecythidaceae)

A família Lecythidaceae é constituída de 25 gêneros com cerca de 400 espécies arbóreas que estão distribuídas em regiões pantropicais (JOLY, 1998).

Algumas espécies desta família como *Petersianthus macrocarpus* (MASSIOT et al 1992), *Barringtonia acutangula* (PAL et al 1991), *Gustavia augusta* (SOUZA et al 2001), *E. rabeliana* (CARVALHO et al 1995) tem sido estudada quimicamente. Alguns constituintes como triterpenos pentacíclicos que são conhecidos por apresentarem atividades antiinflamatória, antiúlcera e antitumoral. As saponinas isolads de espécies desta família são conhecidas por possuírem atividade farmacológicas, tais como antialergênica, antibacterial, antifúngica, antiinflamatória, antitumoral e antihepatotóxica. Estas informações tem contribuído para o desenvolvimento de estudos fitoquímicos e farmacológicos desta família. Os trabalhos relacionados com o estudo químico de espécies desta família conduziram a identificação de triterpenos pentacíclicos, saponinas, ácido elágico e alcalóides do tipo indolo [2,1-b] quinazolínicos.

Espécies do gênero *Eschiweilera* ocorrem freqüentemente no norte e nordeste do Brasil e são usadas na indústria madeireira, em obras, em cercas e como combustível doméstico. Trabalhos registrados na literatura sobre o estudo químico deste gênero revelam o isolamento de triterpenos pentacíclicos das cascas e folhas de *E. rabeliana* (CARVALHO et al 1995) e *E. longipes* (CARVALHO et al 1998 e COSTA et al 2003). (**Tabela 2, pág 17**) (**Fig 4, Pág 18**)

TABELA 2: Constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Eschiweilera*

Espécies (parte da planta)	Constituintes químicos	Ref
<i>E. rabeliana</i> Folhas	Fridelina (67), 3-epi-fridelinol (68), β -amirina (69)	CARVALHO et al 1995
<i>E. longipes</i> Folhas e Casca	Fridelina (67), fridelinol (68), cinamato de α -amirina (70), cinamato de β -amirina (71), α -amirenona (72), β -aminerona (73), 3-oxo-ursa-12(13)eno (74), oxo-olean-12(13)-eno (75), sitosterol (76), estigmasterol (77), α -tocoferol (78), tocotrienol (79), 3- α -hidroxilupeol (80), 3-- α -hidroxitaraxasterol (81)	CARVALHO et al 1998 COSTA et al 2003

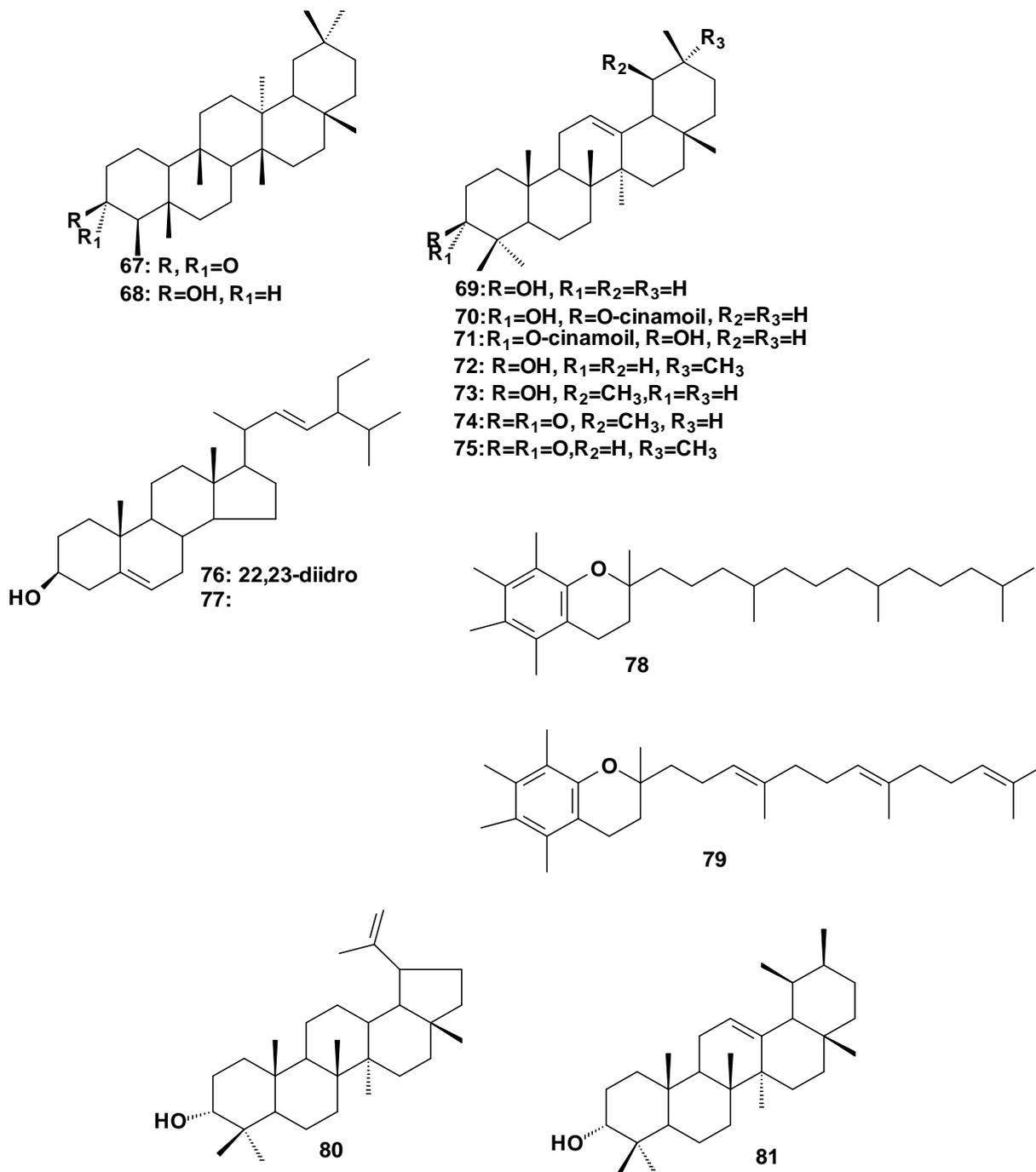


Figura 4: Estruturas das substâncias isoladas do gênero *Eschweilera*

2.3.Propostas Biossintéticas dos Constituintes Isolados das Plantas

A determinação estrutural das substâncias isoladas dependem das considerações biossintéticas das classes dos constituintes naturais. Em muitos casos seria difícil chegar na estrutura dos constituintes isolados apenas com as análises de dados físicos e químicos. As informações biossintéticas permitem prever padrões de substituição mais freqüente que aliados aos métodos físicos de análise orgânica, chega-se as estruturas dos constituintes.

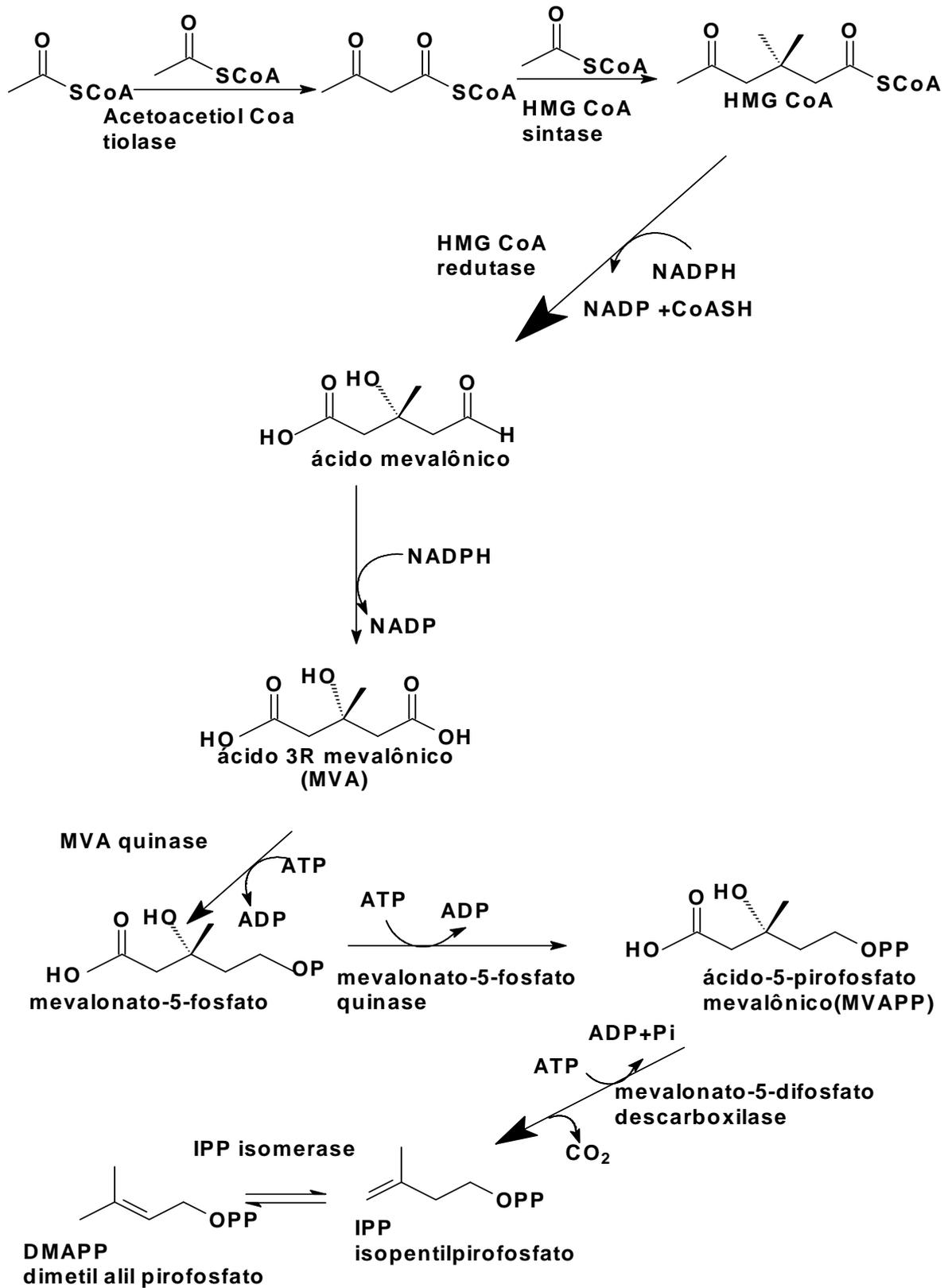
2.3.1.Biossíntese de Triterpenóides

Os compostos derivados de isoprenóides, incluem numerosos produtos naturais de diferentes esqueletos carbônicos . Estes esqueletos são derivados da condensação do dimetilalil pirofosfato (DMAPP) com o isoprenil pirofosfato (IPP). A formação do IPP passa pelo ácido (3R) mevalônico cuja formação envolve reação de condensação e redução (**Esquemas 1 e 2, pág, 20 e 21**).

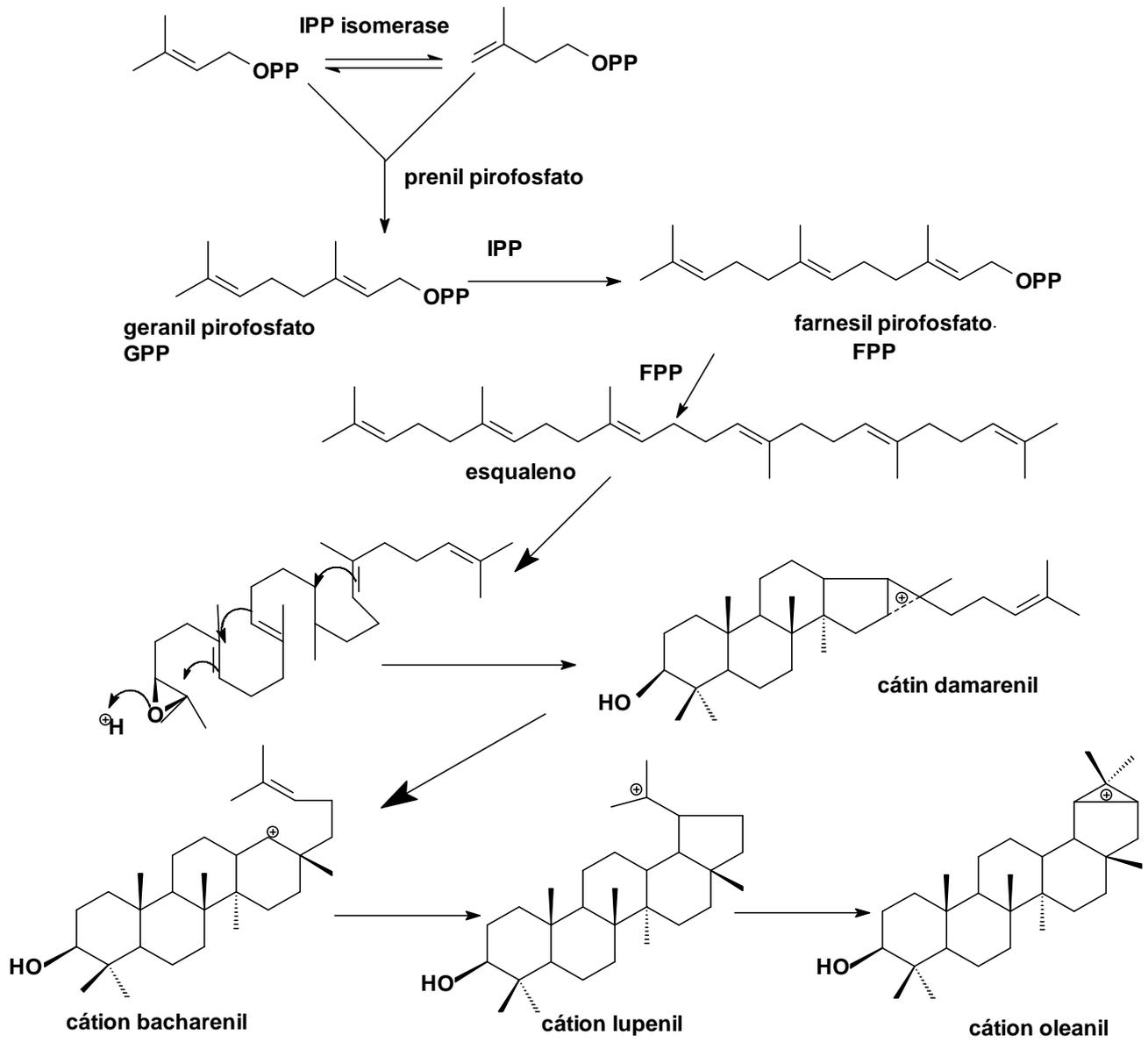
Em plantas superiores o oxido esqualeno é o intermediário biossintético comum de esteróides e triterpenos (ABE, I, 1993). Uma variedade de triterpenos tetracíclicos e pentacíclicos são considerados produtos da ciclização do oxiesqualeno. Estes terpenóides são convertidos a uma variedade de esteróides, triterpenóides e alcalóides esteroidais. Estes compostos são considerados como “metabólitos especiais”, por terem entre outras funções biológicas, a ação como defensores químicos contra patógenos e herbívoros.

A ciclização do esqualeno a triterpenos pentacíclicos provavelmente se processa via uma conformação pré-cadeira do oxiesqualeno (**Esquema 1, pág, 20**). Em princípio, o hidrogênio-iniciador da ciclização produz o cátion em C-20 tetracíclico damarenil e subsequente rearranjo formando o cátion pentacíclico oleanil via intermediários catiônicos bacharenil e lupenil. Finalmente, uma série de deslocamentos 1,2 de hidreto com eliminação do hidrogênio H-12 forma a estrutura do ursano ou oleanano com uma ligação dupla Δ (ABE, I, 1993) (**Esquema 3, pág, 22**).

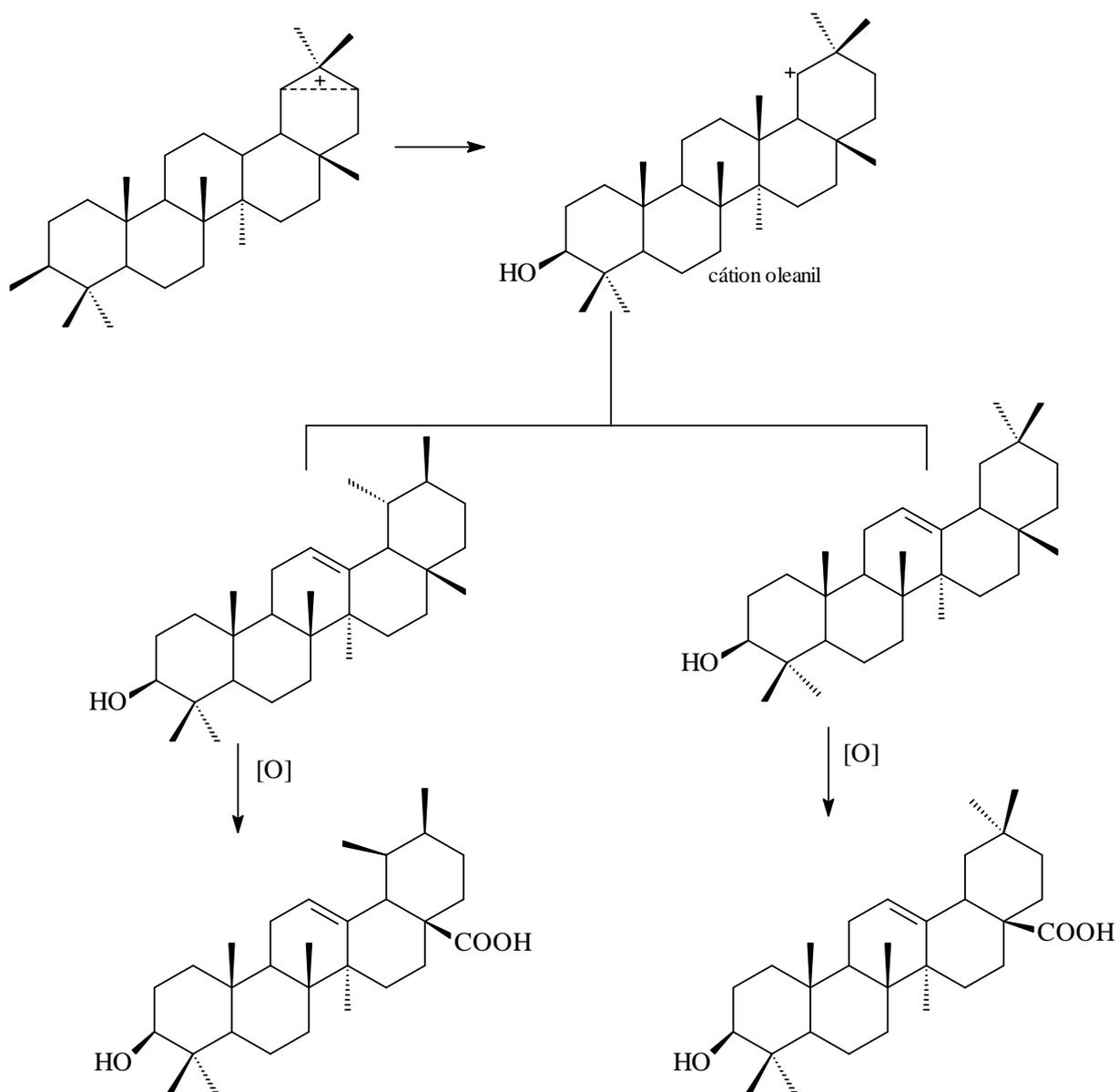
Esquema 1: Formação do isopentenil pirofosfato à partir do acetil-CoA.



Esquema 2: Biossíntese de triterpenos a partir do isopentenil pirofosfato



Esquema 3: Formação de triterpenos das séries oleanano e ursano



2.3.2. Biossíntese de Flavonóides

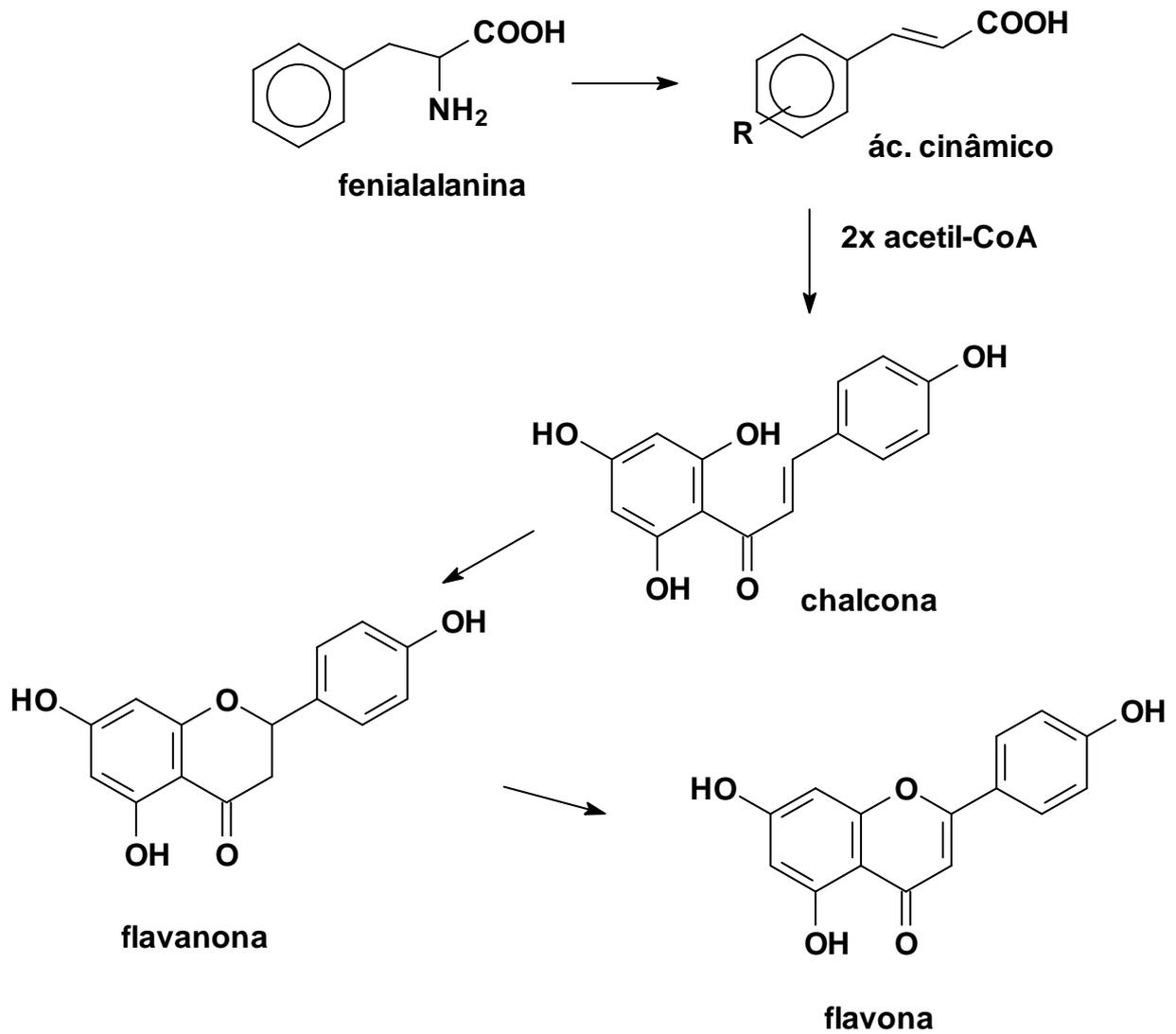
Estes compostos possuem uma estrutura básica comum C₆-C₃-C₆. são substâncias derivadas do ácido cinâmico mais 3 unidades de acetato. São conhecidos nas formas naturais ou de seus glicosídeos.

São compostos naturais formados por um núcleo benzopirano ou cromano ligado a um anel aromático formando o núcleo fundamental dos flavonóides que as vezes são citados como “fenil-benzopirano”. Na maioria das variedades de flavonóides, a biossíntese posiciona no mínimo 2 grupos hidroxílicos ligados nos carbonos C-5, C-7 e dependendo do grupo cinamoil original, pode ter oxigenações em 4', 3', 6' ou 3', 4', 5'.

Além das oxigenações mais frequentes nas posições C-5 e C-7 Anel A por hidroxilas fenólicas estes podem estar livres, eterificadas ou pode estar envolvida em ligação glicosídicas. A freqüência de variações de oxigenação em posições especiais provenientes dos precursores justifica a proposta de ação enzimática oxidativa. No caso da oxigenação do anel B dos flavonóides, a enzima E-2(E-cinamato oxigênio oxidoreductase) atua incluindo grupo OH em diferentes posições do flavonóide proveniente do hidroxicinamoil-CoA mais simples (PAL, B. C., 1991).

Estas considerações acima estão de acordo com o fato do anel B apresentar-se substituído na posição C-4' em 80% dos casos, podendo ser C-3', C-4' ou menos freqüentemente em C-3', C-4' e C-5'. Sendo freqüente também o grupo OCH₃. As posições C-2' e C-6' raramente apresentam-se substituídas. **(Esquema 4, pág 24)**

ESQUEMA 4: Proposta biossintética para flavonoídes



3. OBJETIVOS

a) Isolar e identificar os principais metabólitos especiais da madeira e das folhas de *Licania arianae*.

b) Isolar e identificar os principais metabólitos especiais da madeira e das folhas de *Eschweilera longipes*.

c) Testar as atividades biológicas das principais substâncias isoladas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Equipamentos e Reagentes de uso geral

Os pontos de fusão foram determinados em placa de aquecimento MEL-TEMP II, Laboratory Devices USA, utilizando capilar, sem correção dos valores. Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro Perkin-elmer 1600/1605 FT-IR em KBr e/ ou filmes de NaCl. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear, ^1H e ^{13}C (incluindo experimentos em 2D) foram registrados em espectrômetros Bruker Ac-200 (200 MHz) e JEOL JNM-GX-400(400 MHz). Como padrão interno foi usado o tetrametilsilano.

Os espectros de massas foram obtidos por impacto de elétrons (70 eV) em aparelho Varian VG Autospec Autospectrometer (UNICAMP).

As cromatografias em coluna foram realizadas tendo como suporte sephaqdex LH-20 (Sigma, USA) e sílica gel (200-400 e 70-230 mesh, Vetec). Foram usadas placas de sílica gel 60 PF₂₅₄ Merck e Vetec para cromatografia em camada fina (CCF) e como reveladores foram utilizados, além de detecção por irradiação ultravioleta (254 e 366 nm), reagentes de Liebermann-Burchard; soluções de AlCl_3 -ETOH (1%), sulfato cérico (1%)- H_2SO_4 (10%). Alguns solventes comerciais foram destilados antes de serem utilizados.

4.2. Derivatizações de uso comum

A preparação de Derivados das substâncias isoladas das espécies estudadas facilitou a análise dos dados espectrais devido ao aumento da solubilidade em clorofórmio.

4.2.1. Metilação com Diazometano

A solução de diazometano foi preparada de acordo com o VOGEL, pág. 433, e adicionada gotas em excesso nas substâncias dissolvidas em MeOH. O solvente foi evaporado fornecendo os derivados metilados.

Substância (mg)	Quantidade (mg)	Produto(mg)
1	30	1a (25)

4.2.2. Acetilação com Anidrido Acético e Piridina

As substâncias foram dissolvidas com anidrido acético e piridina (1:1) e deixaram-se a mistura em repouso por 48 horas e então lavadas com água destilada gelada e extraídas com clorofórmio e seco com sulfato de sódio anidro. Após evaporação do solvente em evaporador rotivo sob vácuo obtiveram-se os derivados acetilados.

Substância	Quantidade (mg)	Produto(mg)
1	30	1b (20)
11	50	11a (48)

4.3. Isolamento e Purificação dos Constituintes Químicos de *Licania arianeae*

4.3.1.-Material Vegetal

O material em estudo pertence a um espécime de *Licania* (Chrysobalanaceae) coletado pela botânica Ariane Luna Peixoto (Depto de Botânica, IB-UFRRJ). O espécime foi coletado na Estrada da Farinha seca (km 2.26), localizada na Reserva florestal da Companhia Vale do rio Doce (C.V.R.D.), Município de Linhares, Espírito Santo. Uma excicata (nº 2892) se encontra depositada no Herbário da RBR-IB-UFRRJ. É conhecida popularmente como “quebra machado” e classificado como *Licania arianeae* e foi identificadaa por Ghrilleant. Prance, N. Y. Botanical Garden.

4.3.2. Elaboração dos Extratos

A madeira seca e moída (1000g) foi submetida a extração com diclorometano e metanol através de maceração. Os resíduos dos extratos foram obtidos pela destilação do solvente em evaporador rotativo, obtendo-se 85,8g de material do extrato diclorometano LAMD (*Licania Arianeae*, Madeira, Diclorometano) e 372,8g de material do extrato metanólico LAMM (*Licania Arianeae*, Madeira, Metanol). **(Esquema 5, pág 30)**

As folhas secas e moídas (2893,3g) foram submetidas a extração com hexano e metanol através de maceração. Os resíduos dos extratos foram obtidos pela destilação dos solventes em evaporador rotativo, obtendo-se 45,0g de material do extrato hexânico LAFH (*Licania Arianeae*, Folhas, Hexano) e 240,48g de material do extrato metanólico LAFM (*Licania Arianeae*, Madeira, Metanol). **(Esquema 6, pág 31)**

4.3.3. Extrato metanólico da madeira(LAMM)

O extrato metanólico (LAMM) foi obtido pela extração com metanol através de maceração e o resíduo após concentração em evaporador rotativo forneceu 342,9g de extrato. O resíduo do extrato foi submetido a processo de partição com sistema de solventes clorofórmio/metanol:água 80:20 e acetato de etila/metanol:água 80:20. **(Esquema 6, pág 31)**

A fração clorofórmica (LAMMC, 52,8g) obtida da partição do extrato metanólico foi fracionada através de cromatografia em coluna de sílica gel, usando como fase móvel inicial diclorometano seguido da mistura com acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade até metanol (100%). Foram obtidas 73 frações de 250ml cada uma e concentradas em evaporador rotativo. Estas frações foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de sílica gel e reunidas em grupos. O grupo de frações 60-73 foi submetida à cristalização em metanol fornecendo a substância **1(PF 263°, 30mg)** **(Esquema 7, pág 32)**. Análise dos espectros de IV e RMN ¹H e ¹³C dessa fração permitiu identificar um triterpeno. Após reação de metilação com diazometano obteve-se o derivado metilado **1a(PF 232°, 15mg)** **(Esquema 7, pág 32)**.

A fração acetato de etila (LAMMA, 83,9g) obtida do extrato metanólico foi fracionada através de cromatografia em coluna de sílica gel, usando como fase móvel inicial diclorometano seguido da mistura com acetato de etila e metanol em ordem crescente de

polaridade até metanol (100%). Foram obtidas 86 frações de 250ml cada uma e concentradas em evaporador rotativo. Estas frações foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de sílica gel e reunidas em grupos. O grupo de frações 16-24 foi submetido a cromatografia em coluna sob pressão usando como fase móvel clorofórmio e metanol, aumentando a polaridade até metanol puro. Foram coletadas 25 frações que foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de sílica gel e reunidas em grupos. Os espectros de IV e RMN¹H e ¹³C revelou que esta substância era idêntica a substância **1** isolada da fração clorofórmica. Após reação de acetilação com anidrido acético e piridina obteve-se o derivado acetilado **1b**(PF 222°, 30mg) (**Esquema 7, pág 32**).

O grupo de frações 23-48 foi submetido a uma filtração em sephadex usando metanol como eluente, coletando-se 10 frações de 10ml cada uma. Os espectros de IV, RMN¹H e ¹³C da fração 8-10 revelou a presença de uma substância aromática **2**(PF298°, 20mg) (**Esquema 7, pág 32**).

A fração metanólica (LAMMM, 131,9g) obtida da partição do extrato metanólico foi fracionada através de cromatografia em coluna de sílica gel, usando como fase móvel inicial acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 132 frações de 250ml cada uma e concentradas em evaporador rotativo. Estas frações foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de sílica gel e reunidas em grupos. O grupo de frações 16-25 foi submetido a cromatografia em coluna rápida usando como fase móvel clorofórmio e metanol com aumentando a polaridade até metanol puro. Foram coletadas 22 frações de 50ml cada uma que foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de sílica gel e reunidas em grupos. Os espectros de IV e RMN¹H e ¹³C da fração 16-19 revelou que esta substância era idêntica a substância **1** isolada da fração clorofórmica e da fração acetato de etila. Os espectros de IV, RMN¹H e ¹³C da fração 20-22 revelou a presença do triterpeno **3**(PF 289°, 30mg) (**Esquema 7, pág 32**).

O grupo de frações 32-43 foi submetida a filtração em sephadex usando metanol como eluente. Foram coletadas 20 frações de 10ml cada uma que foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de sílica gel e reunidas em grupos. Os espectros de IV e RMN¹H e ¹³C da fração 14-20 revelou a presença de uma substância aromática idêntica à **2**(PF 298°, 20mg) isolada da fração acetato de etila.

A fração 51-80 foi submetida a uma extração com metanol/hexano:éter etílico e a água mãe foi concentrada e filtrada em sephadex obtendo-se 10 frações de 10ml cada uma. Os espectros de IV e RMN¹H e ¹³C da fração 3-4 revelou a presença da β-D-glicose (**Esquema 7, pág 32**).

4.3.4. Extrato metanólico das folhas(LAMF)

O extrato metanólico (LAFM) foi obtido conforme o **Esquema 5** foi submetido a partição com sistema de solventes clorofórmio/metanol:água 80:20 e acetato de etila/metanol:água 80:20. (**Esquema 6, pág 31**)

A fração clorofórmica (LAFMC, 51,8g) obtida do extrato metanólico foi submetida a processo de extração com metanol/hexano:éter etílico. A fração LAFMC-hex/éter foi fracionada através de cromatografia em coluna de sílica gel, usando como fase móvel inicial diclorometano seguido de mistura com acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade até metanol (100%). Foram obtidas 48 frações de 250ml cada uma e

concentradas em evaporador rotativo. Estas frações foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de sílica gel e reunidas em grupos. O grupo de frações 19-22 foi submetida à cristalização em metanol fornecendo a substância **4(PF 288°C, 50mg) (Esquema 8, pág 33)**. A análise dos espectros de IV e RMN¹ H e ¹³ C dessa substância permitiu identificá-lo como um triterpeno. Após reação de acetilação com anidrido acético e piridina de uma porção desta fração (30mg) obteve-se o derivado acetilado **4a (25mg) (Esquema 8, pág 33)**.

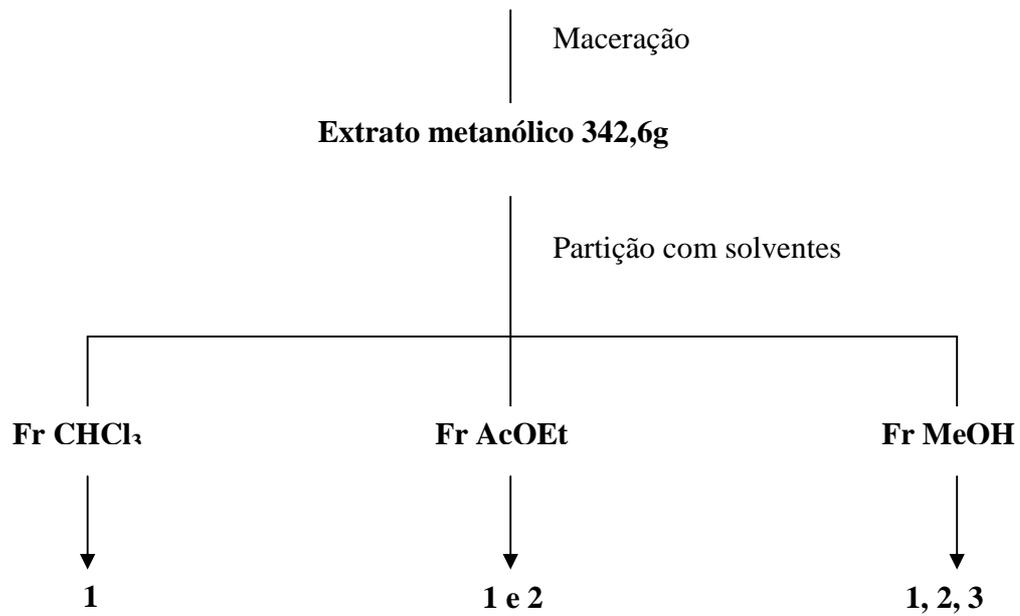
A fração acetato de etila (LAFMA, 54,9g) obtida do extrato metanólico foi fracionada através de cromatografia em coluna de sílica gel, usando como fase móvel inicial diclorometano seguido da mistura com acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade até metanol (100%). Foram obtidas 76 frações de 250ml cada uma e concentradas em evaporador rotativo. Estas frações foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de sílica gel e reunidas em grupos. O grupo de frações 8-21 foi submetida a filtração com sephadex usando como fase móvel metanol. Foram coletadas 25 frações que foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de sílica gel e reunidas em grupos. A análise dos espectros de IV e RMN¹ H e ¹³ C da fração 5 revelou que esta substância corresponde a uma mistura de flavonóides **5 e 6 (10mg, 276°C) (Esquema 9, pág 34)**.

O grupo de frações 5-7 foi submetido a uma filtração em sephadex usando metanol como eluente, coletando-se 13 frações de 10ml cada uma. A análise dos espectros de IV, RMN¹ H e ¹³ C da fração 9-11 permitiu identificar a presença de uma saponina **7(PF 288°C 20mg) (Esquema 9, pág 34)**. Após reação de metilação com diazometano forneceu o derivado metilado **7a(20mg) (Esquema 9, pág 34)**. A fração metanólica (LAFMM, 18,9g) obtida da partição do extrato metanólico foi fracionada através de cromatografia em coluna de sílica gel, usando diclorometano como fase móvel inicial seguido de mistura acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade até metanol (100%). Foram obtidas 32 frações de 250ml cada uma e concentradas em evaporador rotativo. Estas frações foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de sílica gel e reunidas em grupos. O grupo de frações 20-24 foi submetida a cristalização em metanol:acetona. A análise dos espectros de IV e RMN¹ H e ¹³ C desta fração permitiu identificar a presença de um carboidrato **8(PF 277°C, 40mg) (Esquema 8, pág 33)**

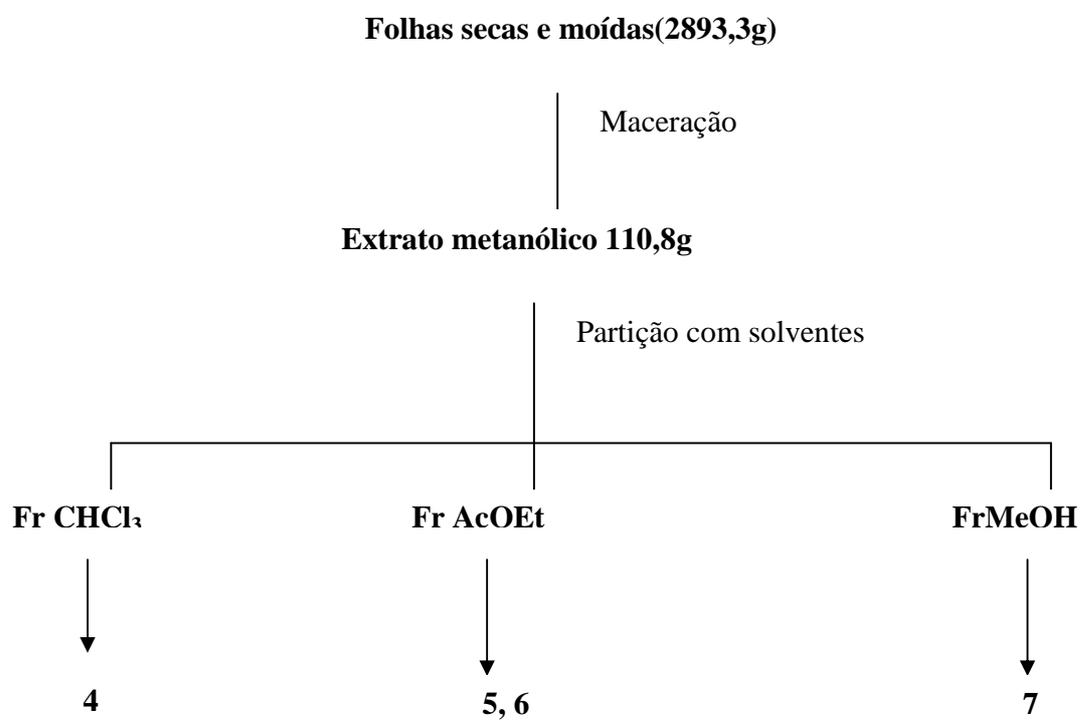
ESQUEMA 5: Elaboração dos extratos diclorometano e metanólico da madeira de

L. arianeae

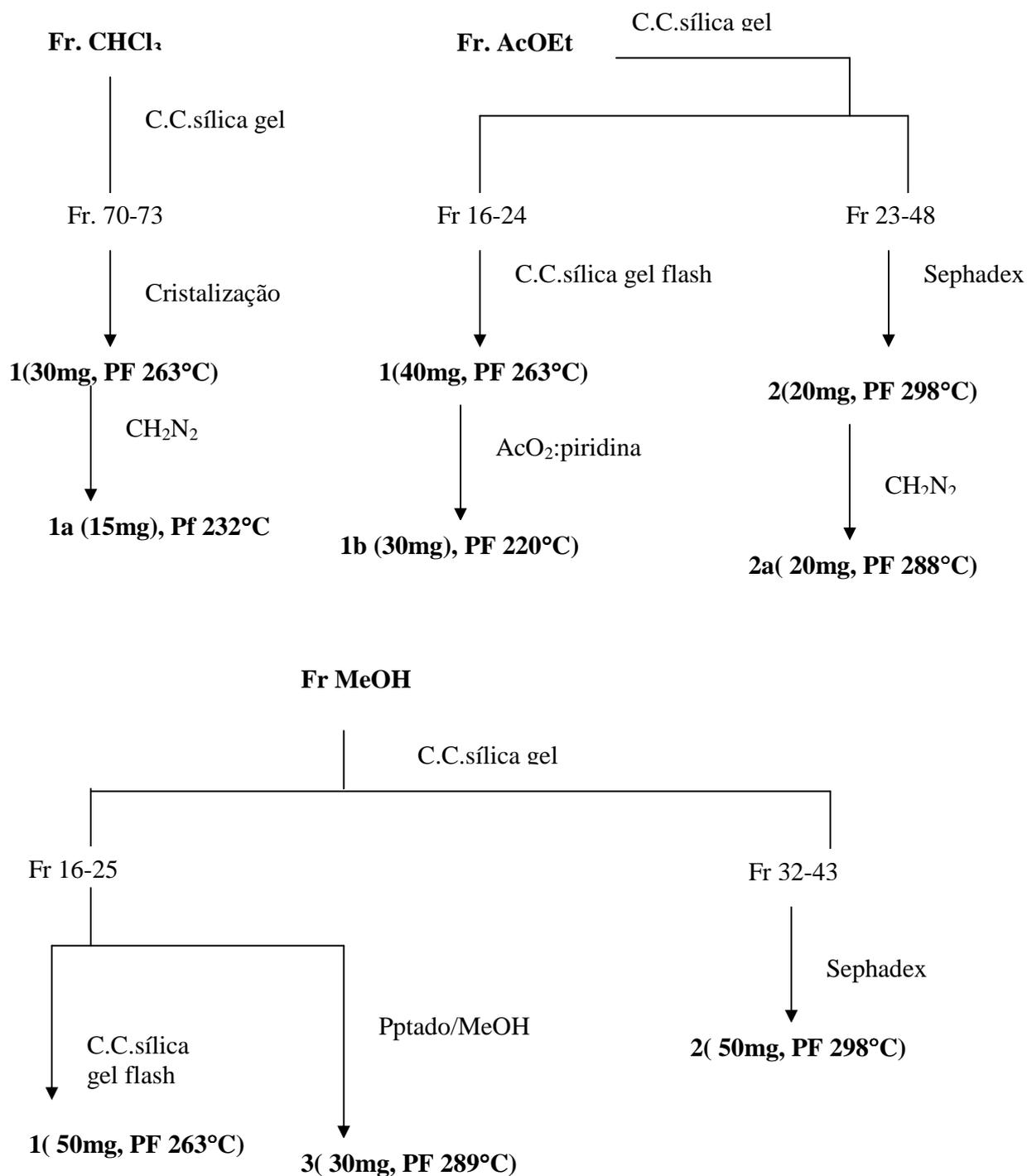
Madeira seca e moída (1000,0g)



ESQUEMA 6: Elaboração do extrato metanólico das folhas de *L. arianae*

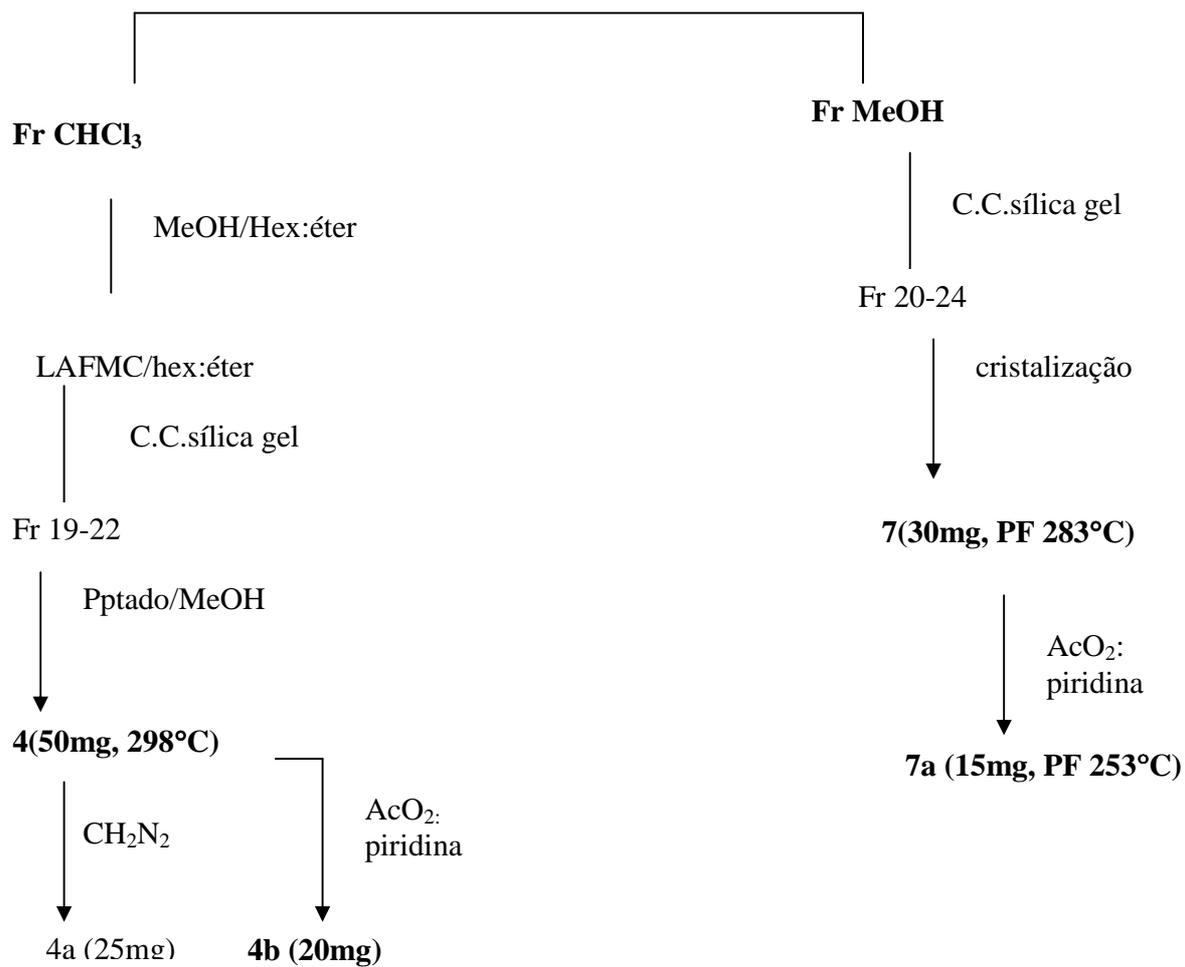


ESQUEMA 7: Fracionamento das frações clorofórmica, acetato de etila e metanólica do extrato metanólico da madeira de *L. arianeae*

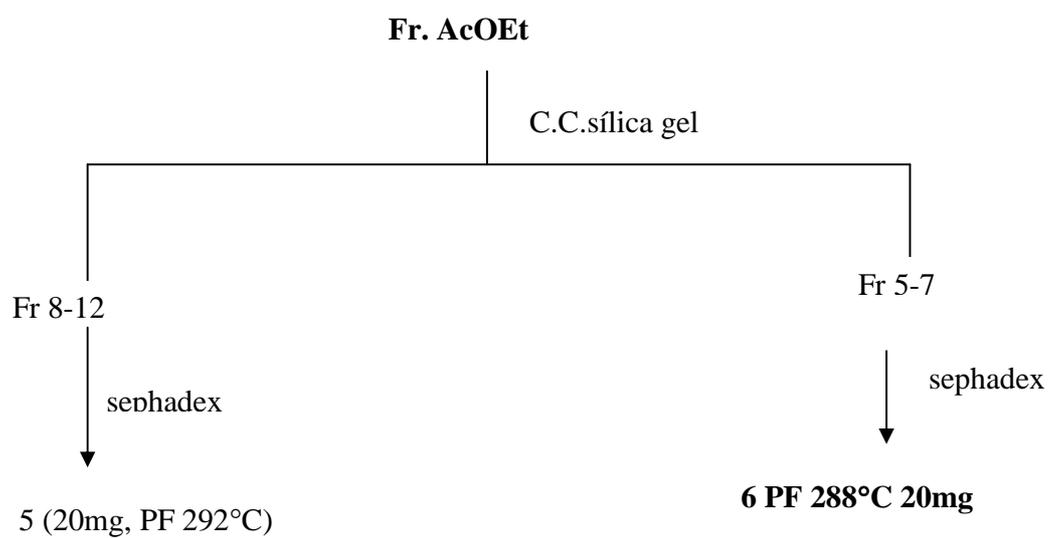


ESQUEMA 8: Fracionamento das frações clorofórmica e metanólica do extrato

metanólico das folhas de *L. arianeae*



ESQUEMA 9: Fracionamento da fração acetato de etila do extrato metanólico das folhas de *L. arianae*



4.4. Isolamento e Purificação dos Constituintes Químicos de *Eschweilera longipes*

4.4.1. Material Vegetal

O material em estudo (pertence a um espécime da família Lecythidaceae) foi coletado e identificado pelo botânico Benedito Vítor Rabelo. O espécime foi coletado no Estado do Amapá. Uma excicata (n° 00358) se encontra depositada no Herbário amapaense do Museu Ângelo Moreira da Costa Lima-IEPA. Macapá, Amapá, Brasil.

4.4.2-Elaboração dos Extratos

As cascas secas e moídas (1200g) foram submetidas a extração com hexano e metanol através de maceração. Os resíduos dos extratos foram obtidos pela destilação do solvente em evaporador rotativo, obtendo-se 8,8g do extrato hexânico (ELCH, *Eschweilera Longipes*, Casca, Hexano (estudado anteriormente) (CARVALHO, M. G., 1998) e 102,4g do extrato metanólico (ELCM, *Eschweilera Longipes*, Casca, Metanol). (**Esquema 10, pág 37**)

As folhas secas e moídas (700g) foram submetidas a extração com diclorometano e metanol através de maceração. Os resíduos dos extratos foram obtidos pela destilação dos solventes em evaporador rotativo, obtendo-se 21,0g do extrato diclorometano (ELFD, *Eschweilera Longipes*, Folhas, Diclorometano) e 145,8 g do extrato metanólico (ELFM, *Eschweilera Longipes*, Folha, Metanol). (**Esquema 11, pág 38**)

4.4.3. Fracionamento do extrato metanólico da casca(ELCM)

O resíduo do extrato foi submetido a processo de partição com sistema de solventes diclorometano/metanol:água 80:20 e acetato de etila/metanol:água 80:20. (**Esquema 10, pág 37**)

A fração diclorometano (ELCMD, 32,8g) obtida do extrato metanólico foi fracionada através de cromatografia em coluna de sílica gel, usando como fase móvel inicial diclorometano, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 83 frações de 250ml cada uma e concentradas em evaporador rotativo. Estas frações foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de sílica gel e reunidas em grupos. O grupo de frações 9-17 foi submetido à cromatografia em coluna de sílica gel usando acetato de etila e mistura com metanol até metanol puro e obteve-se a substância **8 (PF 283°, 30mg)** (**Esquema10, pág 37**). A análise dos espectros de IV e RMN ¹H e ¹³C dessa substância permitiu identificá-lo como de um triterpeno. O grupo de frações 72-80 foi submetido à cristalização em metanol fornecendo a substância **9 (PF 293°, 30mg)** (**Esquema 10, pág 37**). A análise dos espectros de IV e RMN ¹H e ¹³C dessa substância permitiu identificá-la como uma saponina.

A fração acetato de etila (ELCMA, 83,9 g) obtida do extrato metanólico foi fracionada através de cromatografia em coluna de sílica gel, usando diclorometano como fase móvel inicial seguido de mistura com acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade até metanol (100%). Foram obtidas 86 frações de 250 ml cada uma e concentradas em evaporador rotativo. Estas frações foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de sílica gel e reunidas em grupos. O grupo de frações

16-24 foi submetido a cromatografia em coluna rápida usando clorofórmio como fase móvel inicial e mistura com metanol aumentando a polaridade até metanol puro.

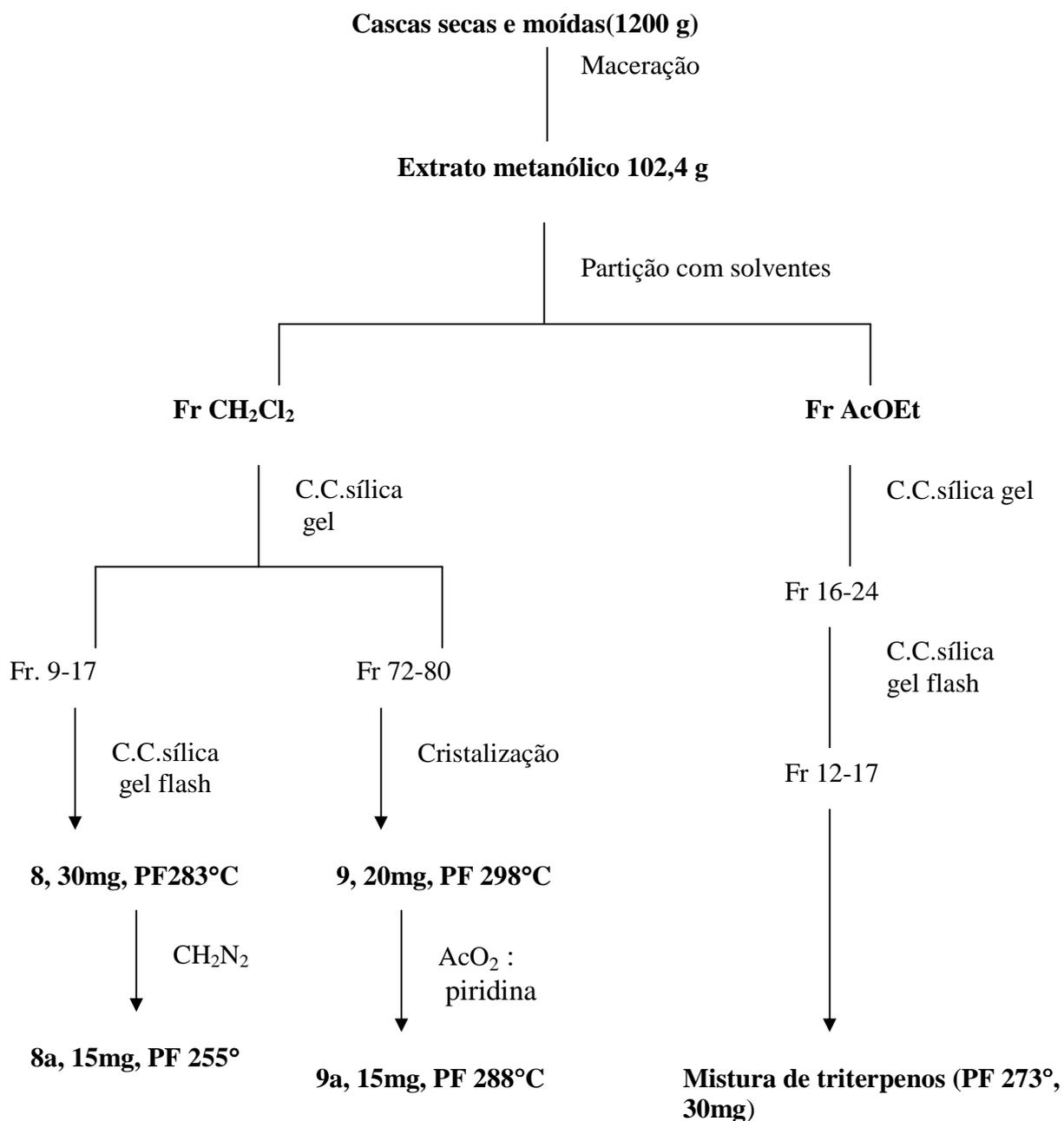
4.4.4. Extrato diclorometânico das folhas(ELFD)

O extrato obtido com diclorometano (ELFD) foi submetido a processo de fracionamento cromatográfico em coluna de sílica gel, usando como fase móvel inicial diclorometano seguido de mistura com acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade até metanol (100%) (**Esquema 11, pág 38**). Foram obtidas 99 frações de 250 ml cada uma e concentradas em evaporador rotativo. Estas frações foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de sílica gel e reunidas em grupos. O grupo de frações 8-11 foi submetido à cristalização em metanol fornecendo a substância **10 (PF 279°C, 20mg)** (**Esquema 11 , pág 38**). A análise dos espectros de IV e RMN ¹H e ¹³C dessa substância permitiu identificar a presença do triterpeno **10 (PF 279°C, 20mg)**.

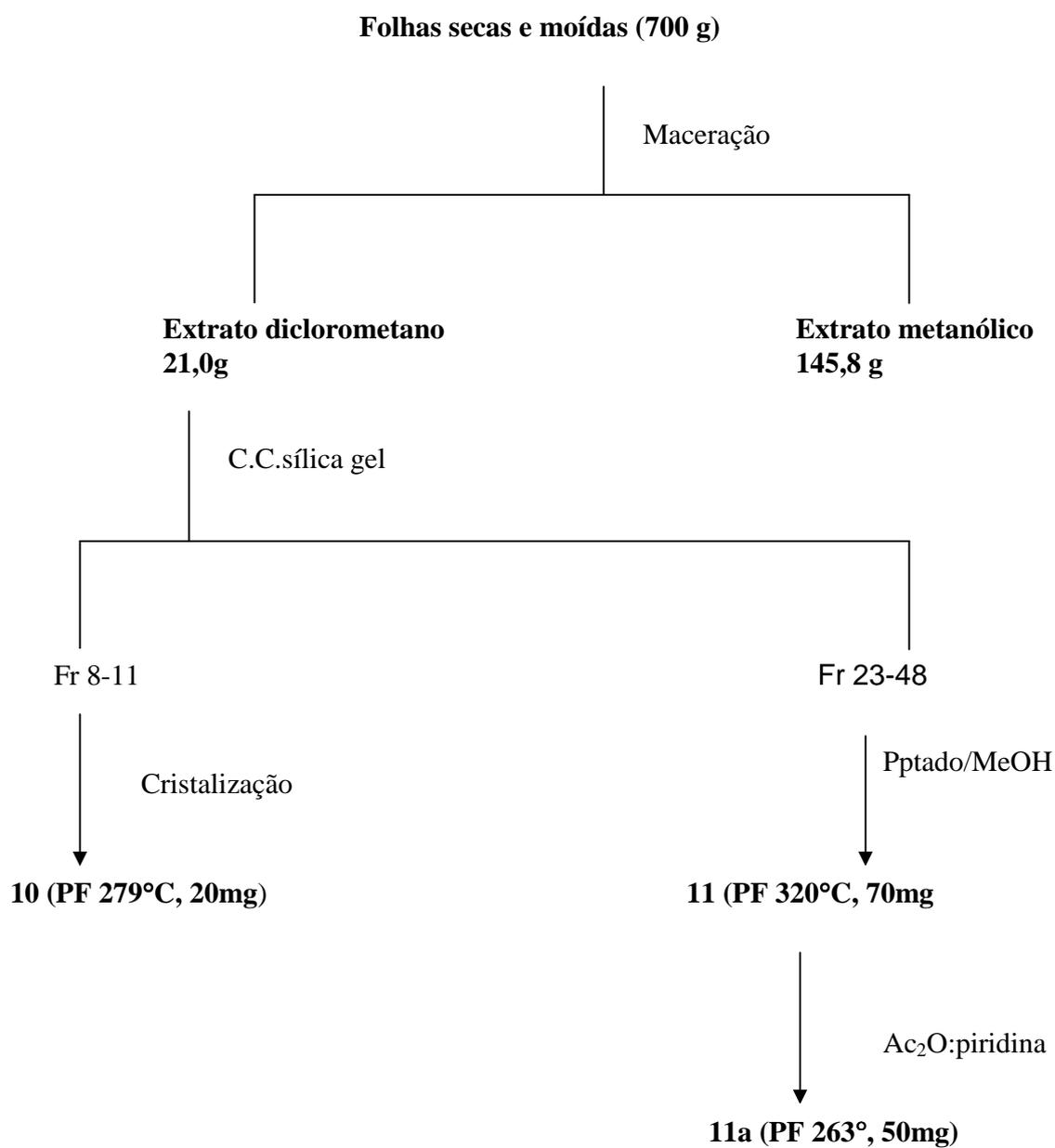
O grupo de frações 23-48 foi submetido à cristalização em metanol fornecendo a substância **11 (PF 320°C, 70mg)** (**Esquema 11, pág 38**).

ESQUEMA 10: Elaboração e fracionamento do extrato metanólico da casca de

E. longipes

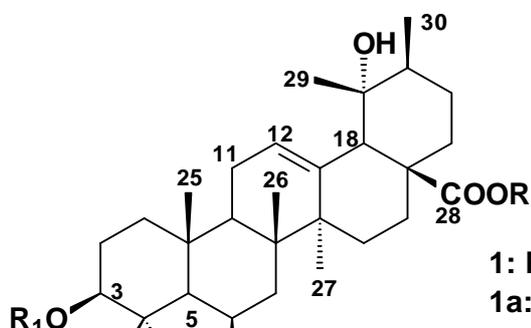
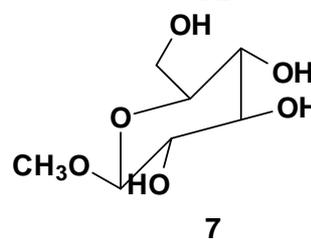
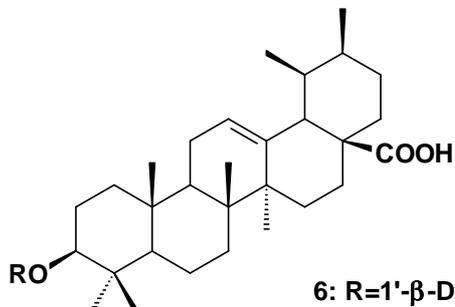
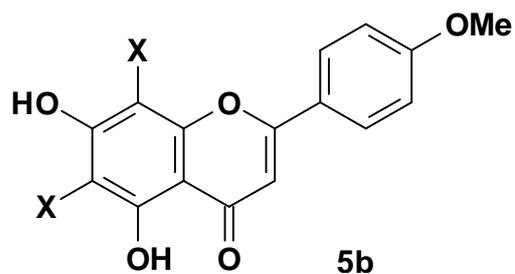
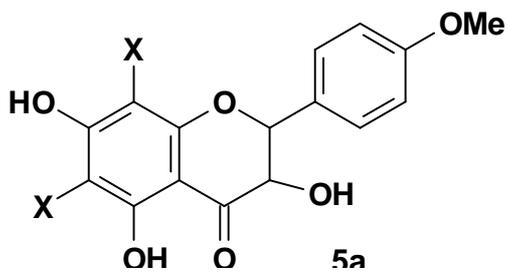
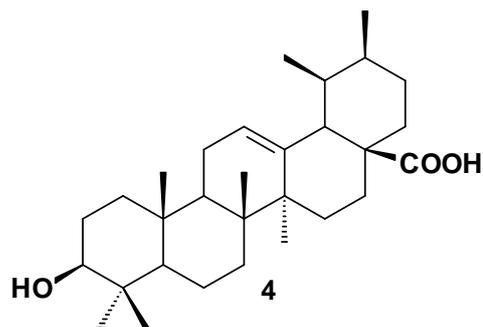
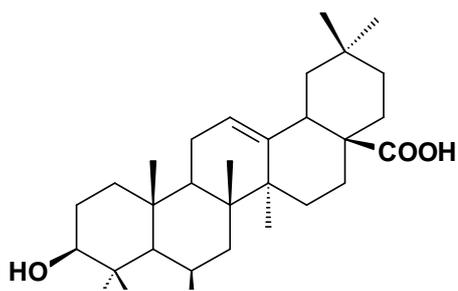
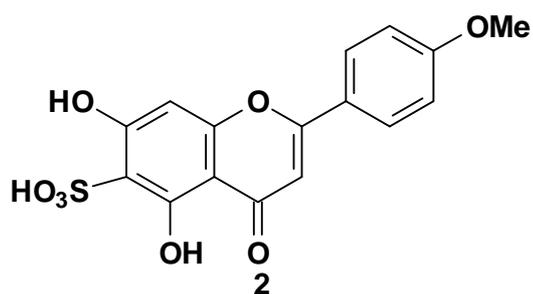
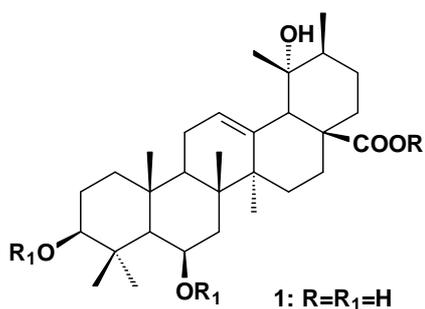


ESQUEMA 11: Elaboração e fracionamento do extrato diclorometânico das folhas de *E. longipes*



5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Identificação Estrutural dos Constituintes Isolados de *L. arianeae*



Triterpenos com grupo hidroxila no carbono C-3 na posição β são mais comuns do que os com o grupo hidroxila na posição α . Uma forma de identificar a estereoquímica relativa deste carbono é avaliar as feições dos sinais dos hidrogênios H-3 dos epímeros que está relacionada com os valores das constantes de acoplamento. Quando a hidroxila está na posição β o sinal do hidrogênio carbinólico é mais largo [m(l), $J_{H,H}$ maiores ($J_{a,a}$, $J_{a,e}$)] e quando a hidroxila está na posição α o sinal do hidrogênio carbinólico tem feição de um singlete [s(l), $J_{H,H}$ pequeno ($J_{a,e}$, $J_{e,e}$)].

Outra diferença a ser observada é o deslocamento químico do carbono C-3. quando a hidroxila está na posição axial α o C-3 absorve em campo mais alto ($\delta_C 75 \pm 2$) do que quando está na posição β (equatorial) ($\delta_C 78 \pm 2$).

Os espectros de RMN de ^{13}C de **1** utilizando a técnica DEPT (**Fig 7, pág45**) e espectro totalmente desacoplado (**Fig 7, pág 45**) permitiram reconhecer os sinais correspondentes a carbonos primários (7 CH_3), secundários (8 CH_2) e terciários (7 CH).

A presença do grupo carboxílico do ácido e da ligação dupla trissubstituída em **1** e a formação dos derivados metilado (**1a, Fig 12, pág 49**) e acetilado (**1b, Fig 14, pág 50**) foram confirmados pelos espectros de IV de cada derivado. (**Tabela 3 e 4 pag 41, Fig12 e 14, pág 49 e 50**)

O espectro de RMN de 1H a 200MHz (**tabela 5, Fig 7, pág 42**) de **1** mostrou sinal do hidrogênio geminal ao grupo hidroxila em $\delta_H 3,27$ ppm como um multipletto. Sugerindo que o hidrogênio H-3 está na posição axial, conseqüentemente o grupo hidroxila está na posição equatorial (β). O espectro de RMN de 1H exibiu também um singlete centrado em $\delta_H 2,40$ ppm característico do hidrogênio H-18 de ácido 19 α , 28-óico.

Os deslocamentos químicos de C-12 ($\delta_C 128,4$ ppm) e C-13 ($\delta_C 138,4$ ppm) estão de acordo com a dupla em 12(13). O grupo metila CH_3 -19 exerce efeito γ de proteção sobre o C-13 caracterizando a série urso-12-eno. A presença do grupo hidroxila em C-19 é confirmado pelos sinais $\delta_C 72,6$ ppm (C-19) e $\delta_{CH} 53,9$ ppm (C-18). A presença do grupo hidroxila em C-6 é confirmado pelos sinais em $\delta_C 67,6$ ppm característico de um CH carbinólico (C-6) e $\delta_{CH} 56,1$ ppm (C-5). O sinal em $\delta_C 183,78$ ppm está compatível com a carbonila de ácido e os valores dos carbonos vizinhos ao C-28 estão de acordo com a localização da carbonila nesta posição. Os experimentos 2D ($^1H \times ^1H$ COSY, $^1H \times ^{13}C$ -COSY $^nJ_{CH}$, n=1,2,3)(**Fig 8, pág 46, Fig 9 e Fig 10, pág 47 e 48**) contribuíram para obter a multiplicidade dos carbonos e fazer as atribuições do δ_C e δ_{CH} . (**Tabela 6, pág 43**). Estes dados foram comparados com os deslocamentos químicos de carbono-13 de modelo da literatura¹ (**Tabela 6, pág 43**). A presença no espectro de massas do pico do íon molecular M^+ 488 (5%) além dos fragmentos m/z 442 (100%), 453 (70%), 264(5%), 246 (20%), 206

(50%), 146 (100%) (**Esquema 12, pág 52, Fig 10, pág 48**) permitiu confirmar a proposta do ácido 3 β ,6 β ,19 α triidroxí-ursa-12-en-28-óico para **1**. Esta substância está registrada na literatura e foi isolada de *Uncaria tomentosa* (Willd) (MAHATO, S. B., 1994)

As reações feitas para obter derivados do composto **1** serviram para confirmar a estrutura proposta. A reação de metilação com diazometano forneceu o éster metílico **1a** e obteve-se os deslocamentos químicos de hidrogênio deste derivado metilado **1a** apresentou o sinal de CH₃ ligado ao oxigênio do grupo éster em $\delta_H = 3,62$ ppm (singleto), (**Fig 13, pág 50**) (**Tabela 5, pág 42**). A reação de acetilação com anidrido acético e piridina forneceu o produto acetilado **1b** que por análise do espectros de RMN ¹H revelou a presença de sinais de acetoxilas δ_H 2,04 ppm, além da mudança dos deslocamentos dos hidrogênios em comparação com a substância original (**Fig 15, pág 51**). (**Tabela 5, pág 42**). A análise do espectro de RMN ¹³C revelou a presença dos sinais dos grupos acetoxilas (δ_C 21,9, 22,7 e 171,6. (**Fig 15, pág 51**) (**Tabela 6, pág 43**).

TABELA 3:Dados de IV da substância **1**

$\nu^{KBr}(cm^{-1})$	Atribuições de 1
3571 e 3420	Estiramento OH
2929 e 2869	Estiramento CH (sp ³)
1690	Estiramento C=O
1460	Estiramento C=C

TABELA 4: Dados de IV do derivado metilado **1a** e do derivado acetilado **1b**

$\nu^{KBr}(cm^{-1})$	Atribuições de 1a	$\nu^{KBr}(cm^{-1})$	Atribuições de 1b
3451	Estiramento OH	3539	Estiramento OH
2935	Estiramento CH (sp ³)	2932	Estiramento CH (sp ³)
1695 e 1643	Estiramento C=O	1719	Estiramento C=O
1513	Deformação CH ₂ C=C	1458	Deformação CH ₂ C=C

TABELA 5: Dados de RMN ¹H de **1**(200 MHz, Acetona-d₆) e dos derivados **1a** (200 MHz, Acetona-d₆) e **1b**(200 MHz, CDCl₃)

δ_H MULT. J(Hz)	1	δ_H MULT. J(Hz)	1a	δ_H MULT. J(Hz)	1b
5,28(d, 3,2Hz)	H-12	5,40(d, 3,2Hz)	H-12	5,36(d, 3,2Hz)	H-12
3,11(d, 3,7Hz)	H-3	3,74(d, 3,7Hz)	H-3	3,58(d, 3,7Hz)	H-3

4,52(s)	H-6	4,56(s)	H-6	4,52(m)	H-6
1,08(s)	H-23	1,08(s)	H-23	1,08(s)	H-23
0,94(s)	H-24	0,94(s)	H-24	0,94(s)	H-24
0,91(s)	H-25	0,91(s)	H-25	0,91(s)	H-25
1,04(s)	H-26	1,04(s)	H-26	1,04(s)	H-26
1,31(s)	H-27	1,31(s)	H-27	1,31(s)	H-27
1,20(s)	H-29	1,20(s)	H-29	1,20(s)	H-29
1,27(s)	H-30	1,27(s)	H-30	1,27(s)	H-30
		3,61(s)	OCH ₃	2,65(s) e 2,73(s)	CH ₃ C=O

TABELA 6: Dados de RMN de ¹H e ¹³C (200 e 50,3 MHz, Acetona-d₆) de **1** e RMN¹³C do derivado acetilado **1b**(200 MHz, CDCl₃) em comparação com modelo da literatura (MAHATO, S. B., 1994).

C	δ _C 1	δ _H , ¹ J _{CH} ¹ Hx ¹³ C-COSY	^{2,3} J _{CH}	δ _C 1b	δ _C Lit
---	-------------------------	--	--------------------------------	--------------------------	--------------------

		(1)			
1	37,9	1,53(s)		37,9	41,7
2	28,1	2,0(s)		28,8	27,4
3	78,4	3,11(d; 3,7 Hz)		81,4	78,8
4	39,2			39,1	39,7
5	56,1	0,76		56,2	56,4
6	67,6	4,52(s)		69,1	67,8
7	41,0	1,679d; 5,7 Hz)		41,6	41,3
8	39,8			39,6	40,5
9	47,9	1,55		48,3	48,3
10	36,7			36,9	37,1
11	23,7	1,98		24,3	24,1
12	128,4	5,29(d; 3,2Hz)		130,0	128,4
13	138,4			137,6	139,3
14	41,0			41,2	42,6
15	26,4			28,0	29,3
16	25,8			26,0	26,5
17	47,7	1,71		48,0	48,5
18	53,9	2,549s)		53,4	54,7
19	72,6			73,7	72,8
20	42,0	1,51		42,3	42,4
21	27,7			26,5	27,0
22	40,9			40,8	38,5
23	17,1	1,08		18,9	17,1
24	27,6	0,94		28,0	28,1
25	16,0	0,91		17,4	16,8
26	17,6	1,04		18,4	18,8
27	24,1	1,31		24,3	24,7
28	179,1			184,4	180,7
29	26,7	1,20		26,5	27,2
30	16,8	1,27		16,7	16,6
CH ₃ C=O				21,9 e 22,7	

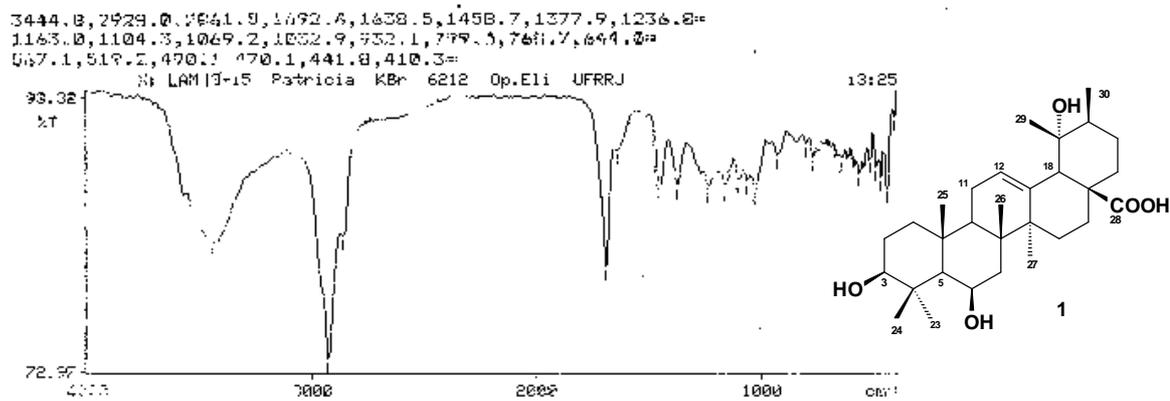


Figura 5: Espectro no IV da substância **1**

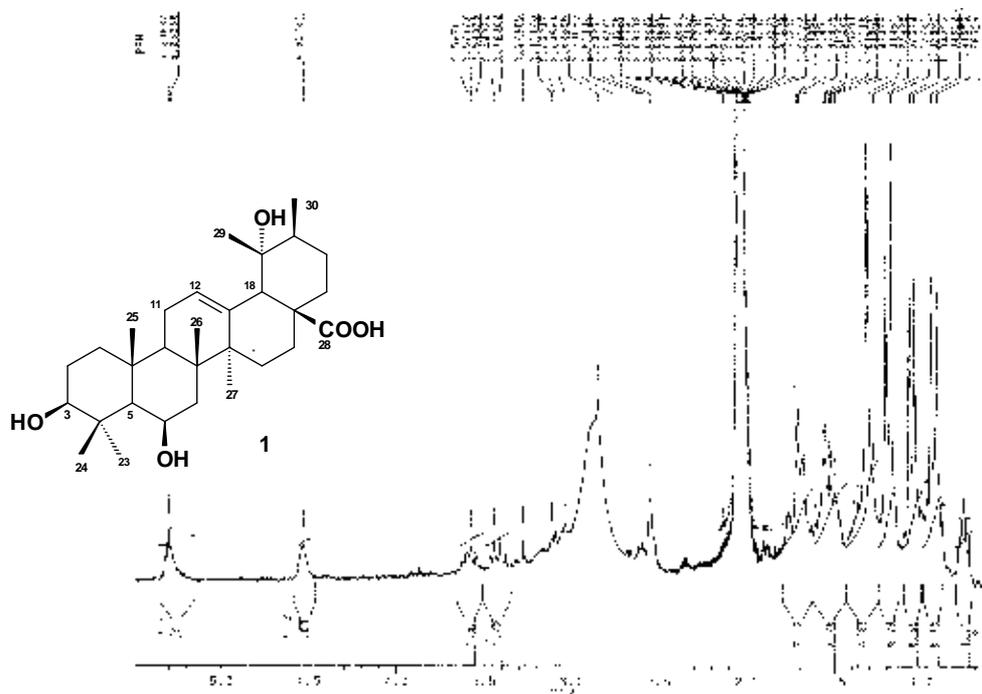


Figura 6: Espectro de RMN ^1H (200MHz, Acetona- d_6) da substância **1**

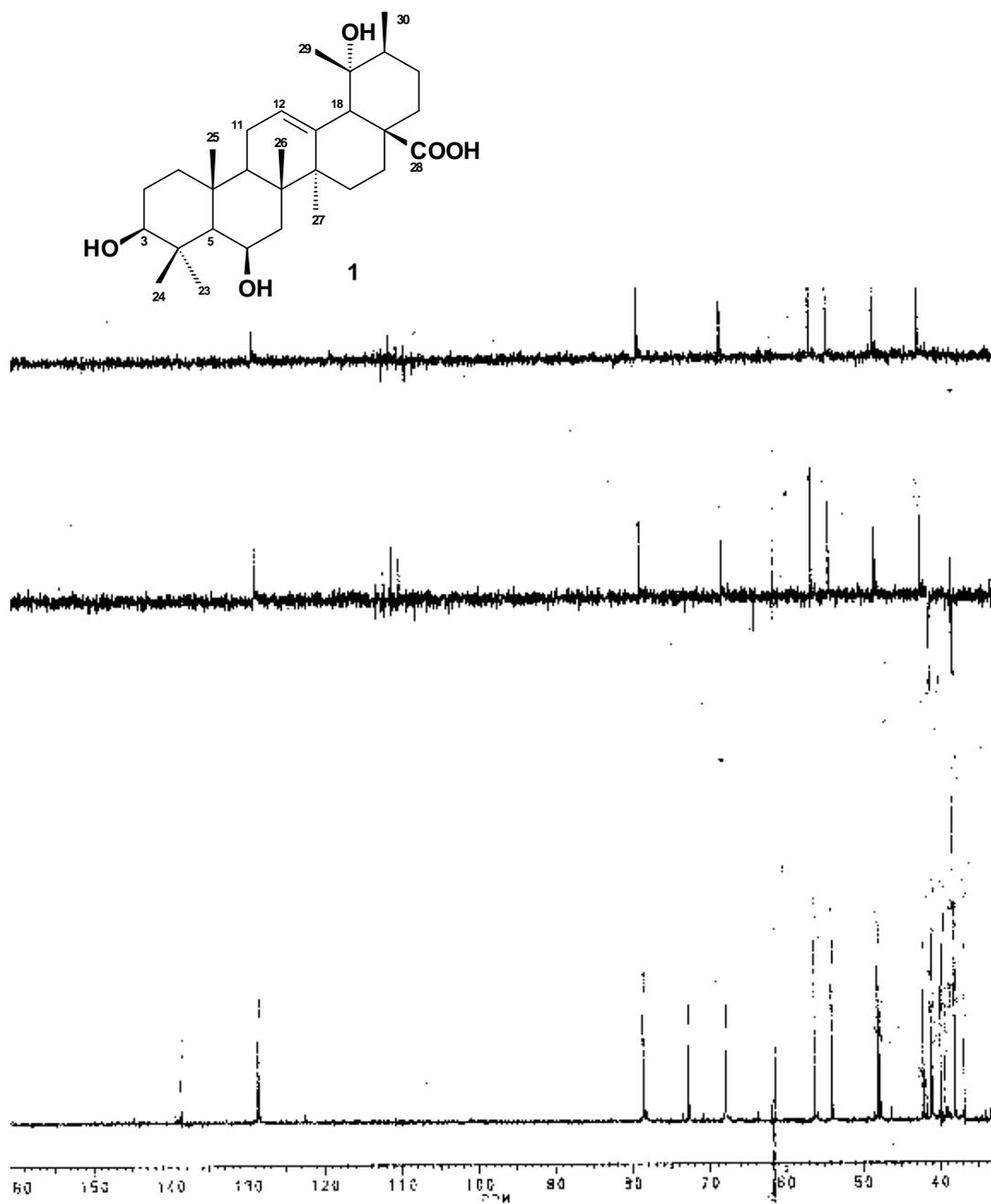


Figura 7: Espectro de RMN ^{13}C DEPT (50,3MHz, Acetona- d_6) da substância **1**

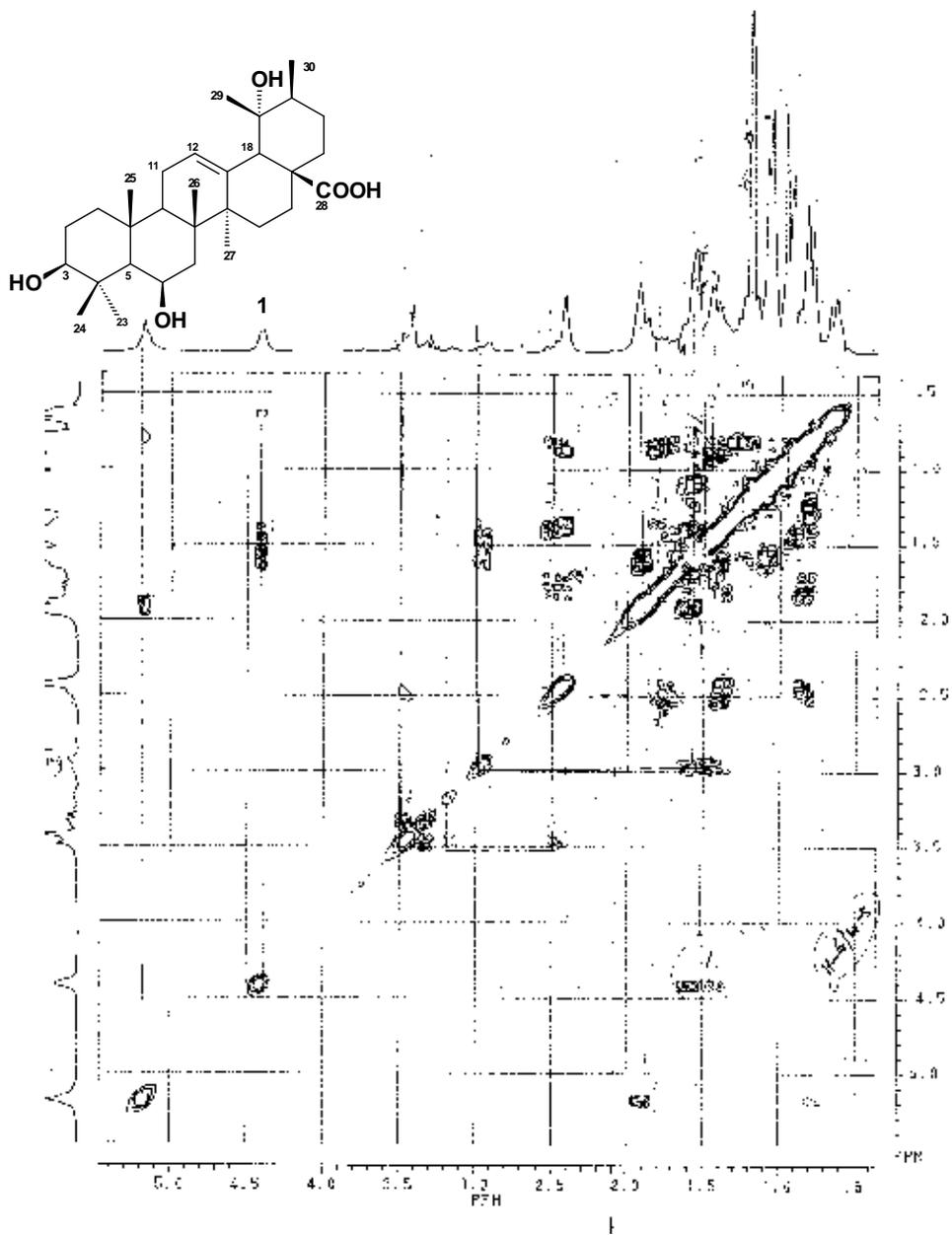


Figura 8: Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (Acetona- d_6)- da substância **1**

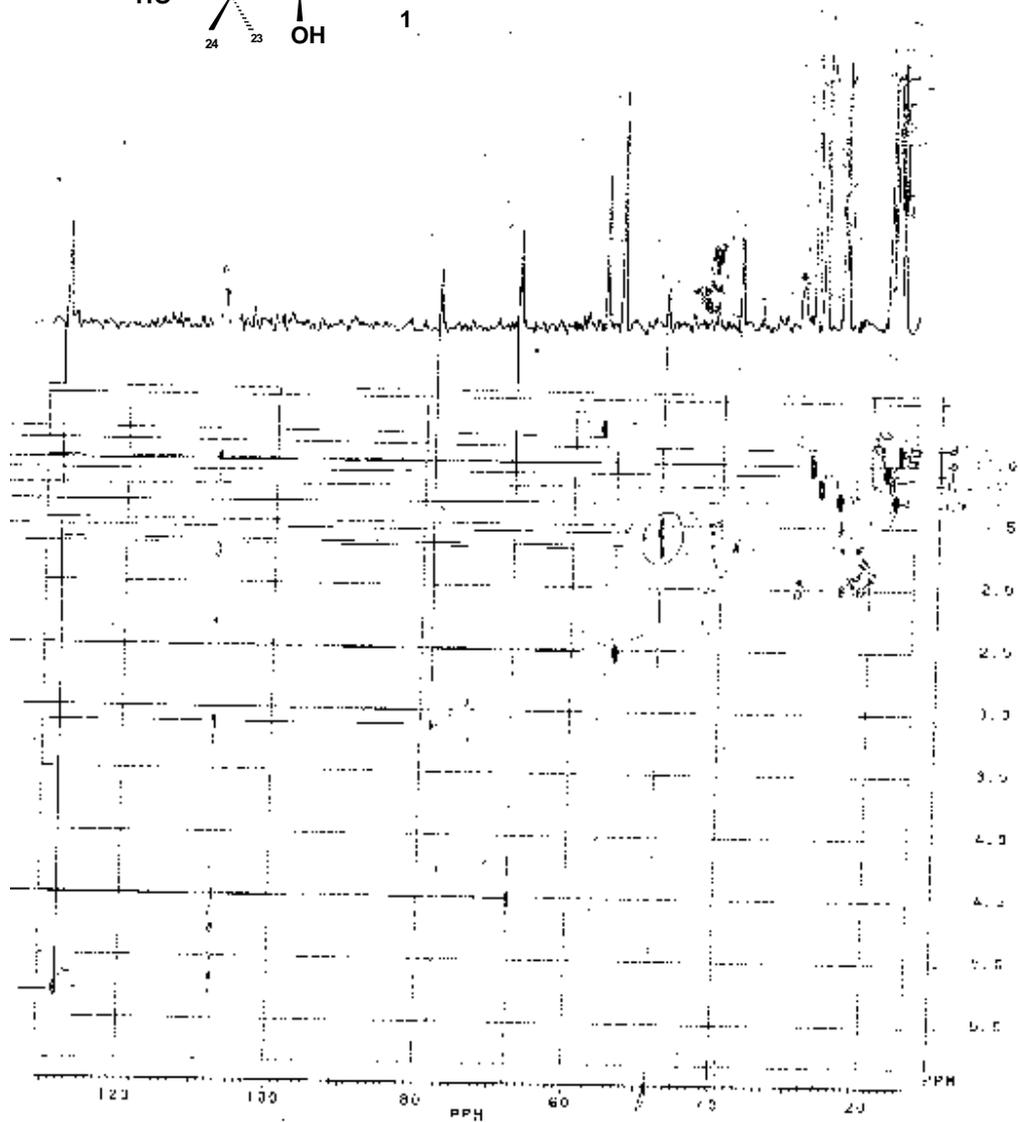
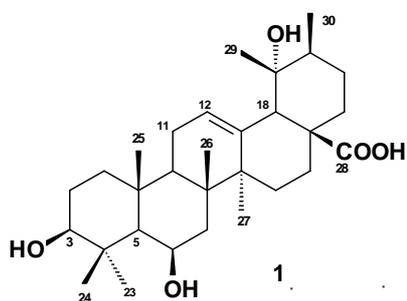


Figura 9: Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY (200MHz, Acetona- d_6) da substância 1

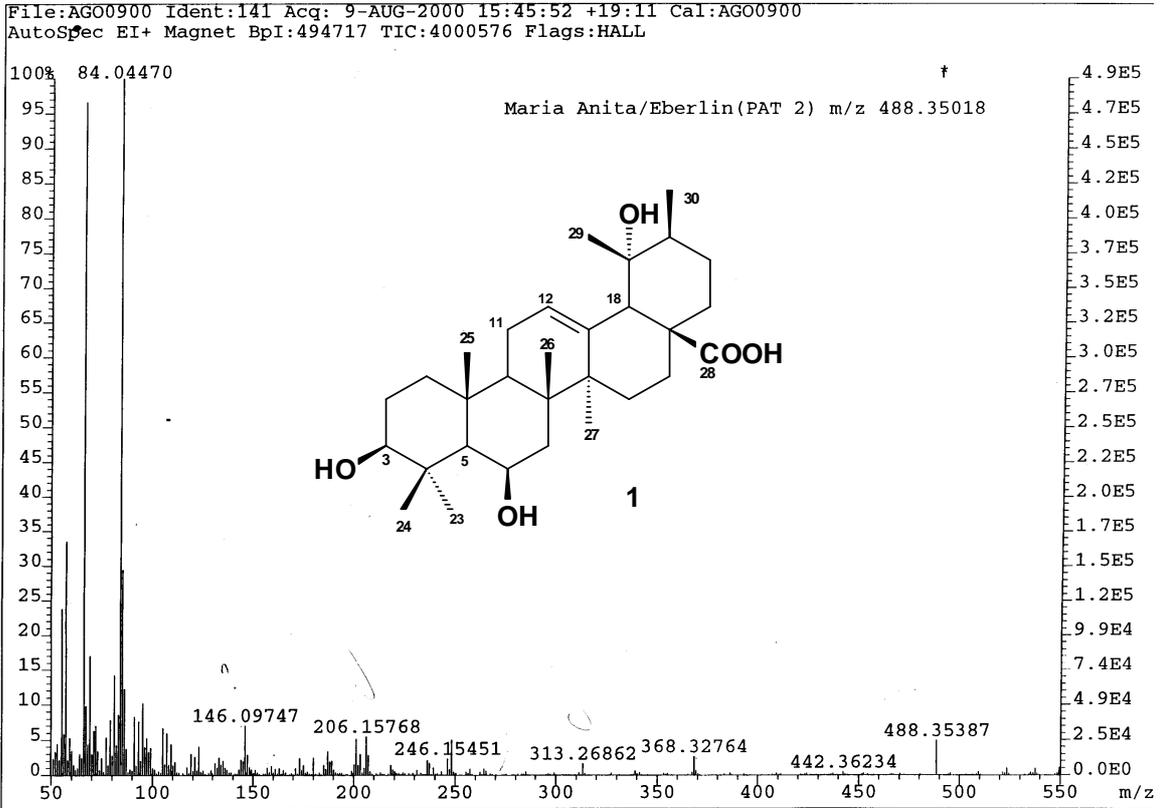


Figura 10: Espectro massas da substância 1

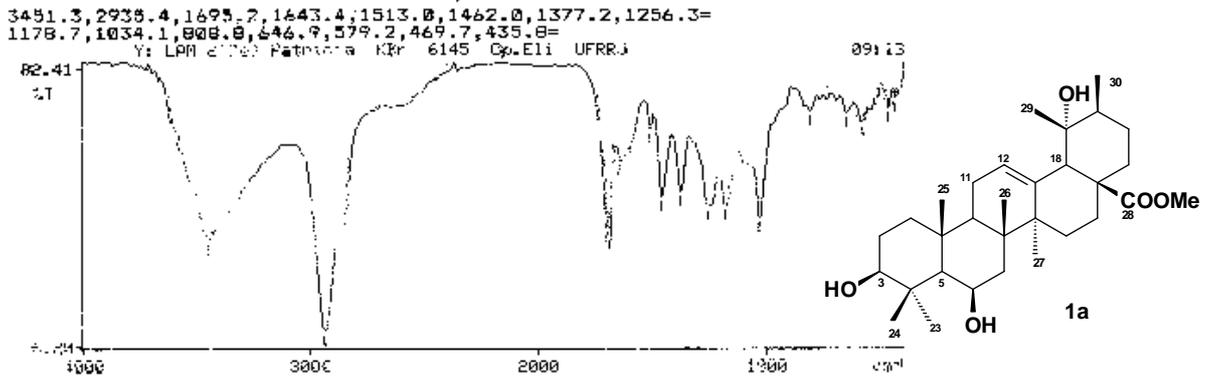


Figura 11: Espectro de IV da substância 1a

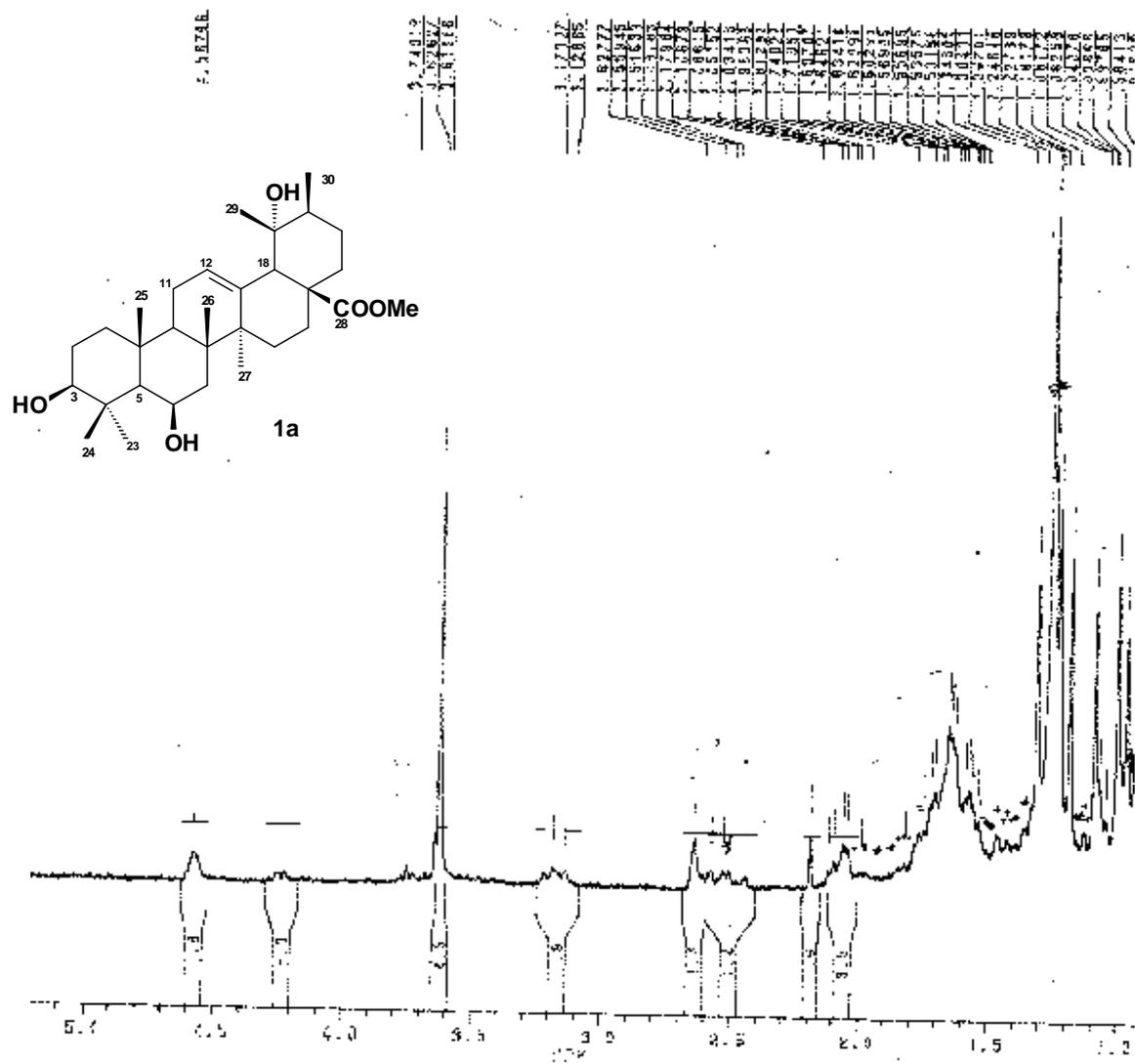


Figura 12: Espectro RMN ^1H (200MHz, CDCl_3) da substância **1a**

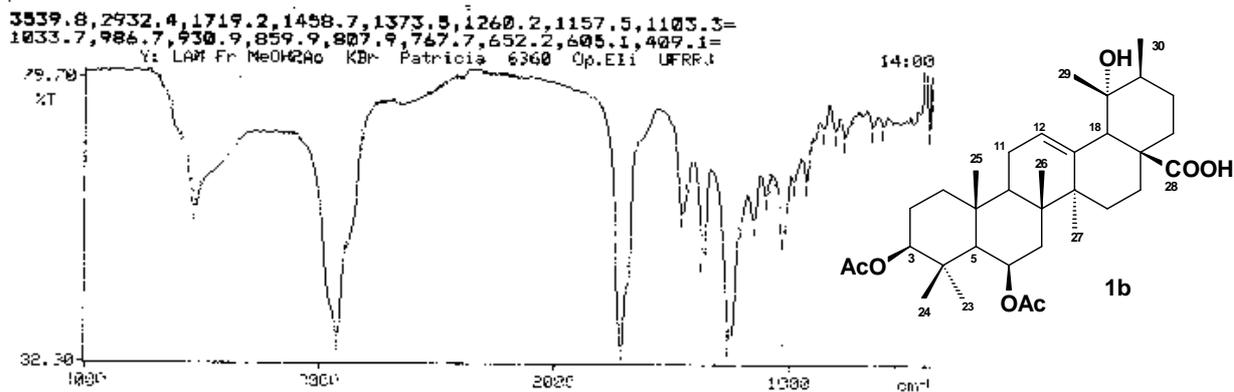


Figura 13: Espectro de IV da substância 1b

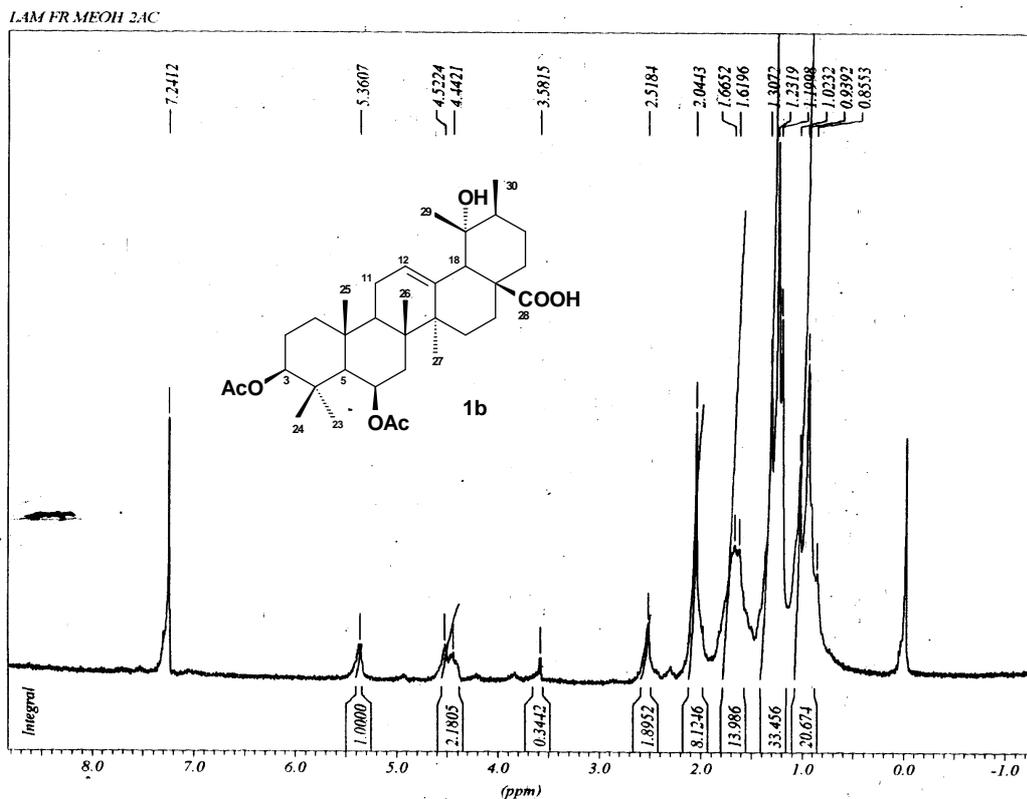


Figura 14: Espectro RMN ^1H (200MHz, CDCl_3) da substância 1b

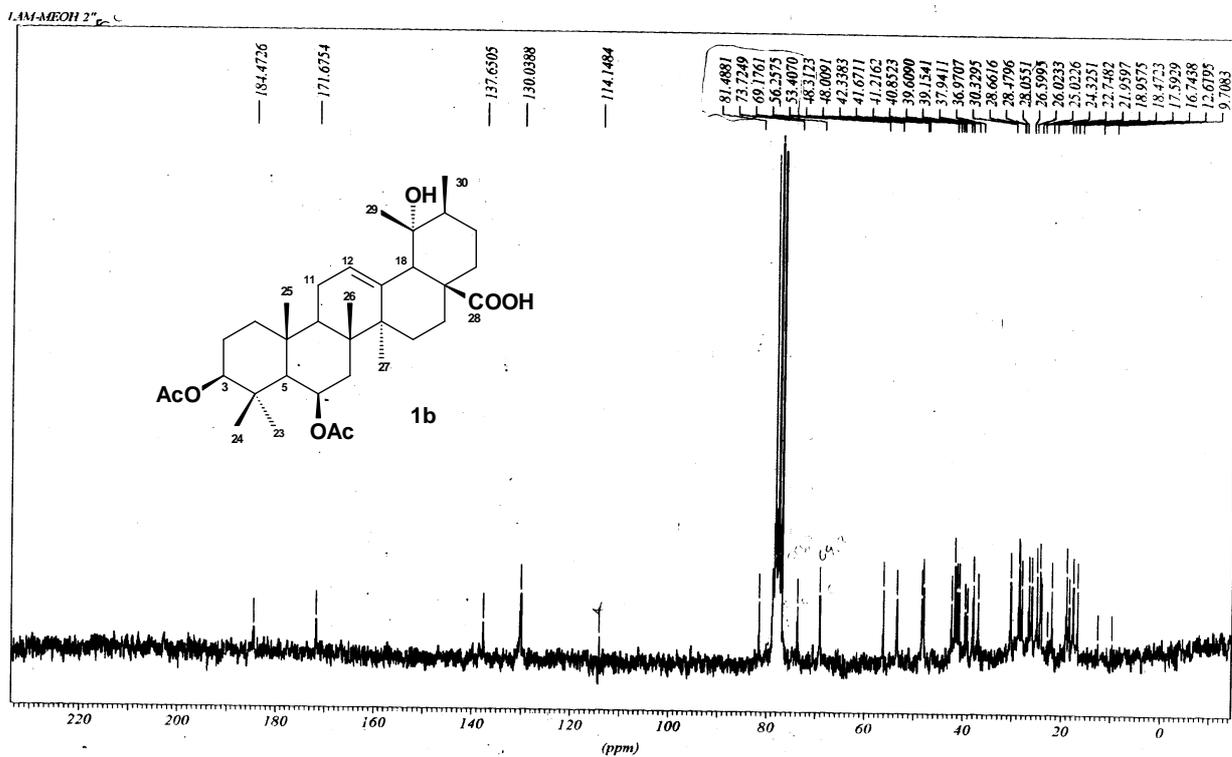
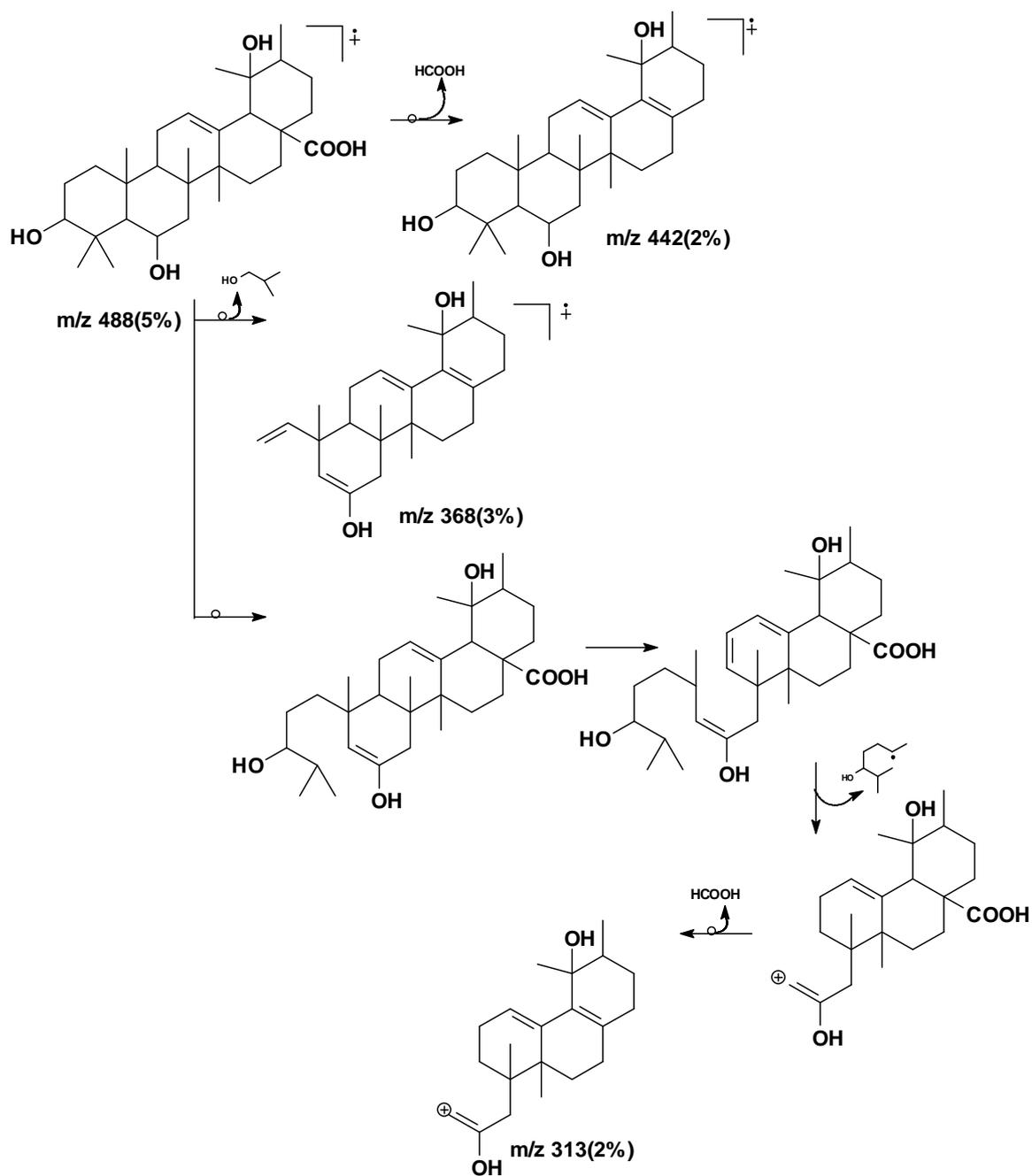
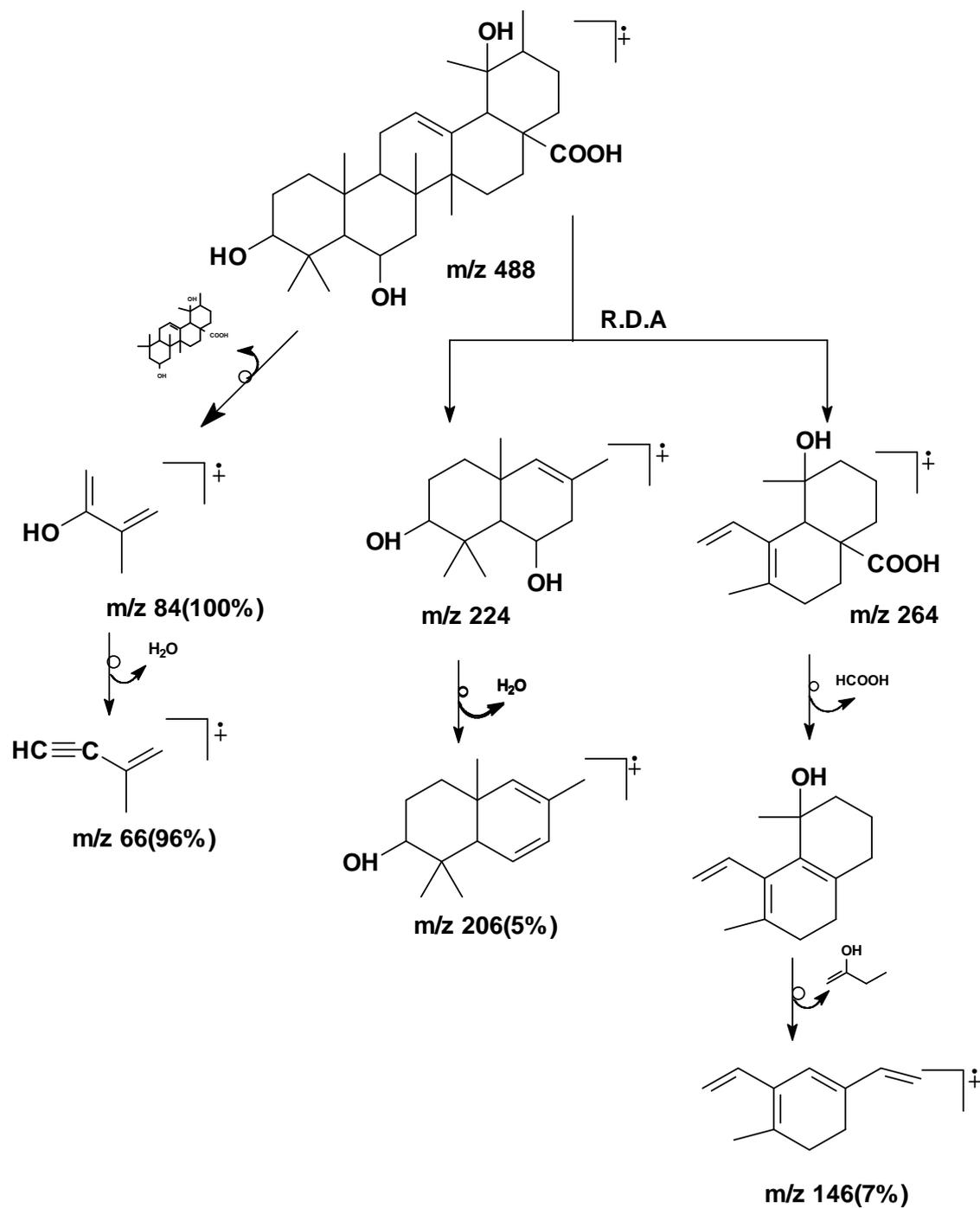


Figura 15: Espectro RMN ^{13}C (200MHz, CDCl_3) da substância **1b**

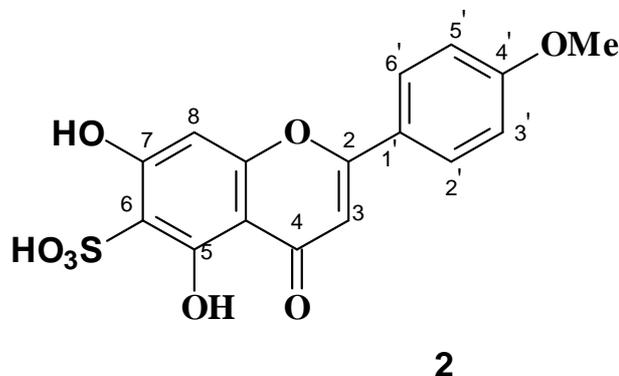
Esquema 12: Interpretação do espectro de massas as substância **1**



Continuação do esquema 12



5.1.2. Determinação estrutural da substância 2



A presença do grupo carbonila, fenol do anel aromático e a ligação C-O são confirmados pelo espectro de IV (**Tabela 8, Fig 17, pág 56 e 57**).

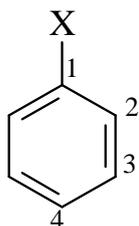
O espectro de RMN de ^1H a 200MHz (**Fig 18, pág 58**) de **2** mostrou sinais de hidrogênios aromáticos em δ_{H} 6,62 ppm(s, 1H), 6,98 ppm(s, 1H), 8,2 ppm(d; 7,9Hz, 2H) e 7,20 ppm(d; 7,9Hz, 2H), sinais de hidrogênios em ponte com a carbonila (δ_{H} 11,7 ppm e δ_{H} 12,9 ppm) e um sinal em δ_{H} 3,85 correspondente ao grupo metoxila. Os sinais de 2H constituem um sistema AA'BB' de um anel para substituído e conjugado, contendo um grupo metoxila. Isto permitiu propor dois anéis aromáticos de uma enona. O espectro de RMN de ^{13}C (BBD e DEPT)(**Fig 19, pág 59 e Fig 20, pág 60**) exibiu sinais de carbonos quaternários aromáticos oxigenados e quatro sinais de CH sendo dois intensos para 2CH (128,2 e 114,7) e dois com intensidade para 1CH (103,4 e 94,1). Estes valores estão compatíveis com a estrutura de um flavonóide contendo quatro substituintes. A ausência do deslocamento químico do carbono C-6 (δ_{C} 98,8 ppm) de um flavonóide com CH nesta posição (indicado pela rota biossintética (**Esquema 4, pág 24**) conduziu a proposta do flavonóide 5,6,7-4'-substituído. O δ_{CH} 103 e δ_{H} 6,61 são compatíveis a posição 3 livre.

O tratamento desta substância com CH_2N_2 não formou o éter metílico esperado e isto sugeriu que os grupos fenólicos não estão livres. O valor de δ_{CH} 114,7 (δ_{CH} 3', 5') é compatível com OCH_3 em 4'. Estas observações permitiram sugerir grupo capaz de fazer ponte com o H-O fenólico em 5 e 7 restando a posição 8 livre. O que está correto com o δ_{CH} 94,1 de deslocamento químico de C-8 de flavonóides 5,7 diidroxil no anel A. A alta polaridade desta substância (solúvel apenas em DMSO) consultando a frequência na literatura de grupos sulfatos (OSO_3K) ligados no anel A de flavonóides foi proposto inicialmente a 6-sulfato-5,7-diidroxil-4'-metoxi-flavona ou 5,6,7-triidroxilflavona. A ausência do δ_{C} em 131,1-131,3 do C-6 oxigenado deixou dúvida nesta proposta. A presença do δ_{C} 114,0 (C quaternário) e o valor do íon molecular 364(15%) e o m/z 363 (100%) presentes no espectro MS/MS (3,3 eV) conduziu a eliminação das propostas acima e sugeriu um grupo SO_3H ligado no C-6. Os picos em m/z 267 e 268 são compatíveis com a perda

deste grupo (80 u) (**Esquema 13, pág 62**) que inclusive justifica as propriedades citadas acima. O δ_C 114,0 ppm está compatível com o deslocamento químico do C-6 substituído por este grupo. Esta afirmação pode ser confirmada usando a regra empírica de cálculo de deslocamento químico de carbonos do anel aromático substituído = $128,5 + \Delta\delta$. (**Tabela 7, pág 55**)

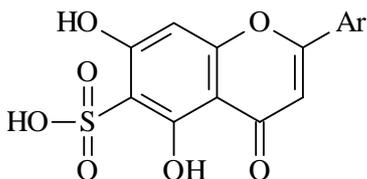
Tabela 7: Valores do cálculo de deslocamento químico de carbonos do anel aromático

X	C-1	C-2	C-3	C-4
OH	+26,6	-12,7	+1,6	-7,3
SO ₂ NH ₂	+15,3	-2,9	+0,4	+3,3
OAr	+29,0	-9,4	+1,6	-5,3
Ar-C=O	+9,9	+1,5	-0,2	=3,8



$$\delta_{C-C}: 128,5 + 15,3 + 2x(-12,7) - 5,3 - 0,2$$

$$\delta_{C-C} = 143,8 - 3,09 = 112,9$$



O valor 112,9 é próximo do observado no espectro de RMN ¹³C (BBD, **Fig 19, pág 58**) de **2**. Esta observação justifica a proposta da 5,7-diidroxi-6-sulfonil-4'-metoxi-flavona para **2** sendo uma substância nova na literatura. A tabela 9 mostra os deslocamentos químicos dos carbonos e hidrogênios de **2** e o esquema 11 mostra as estruturas dos íons fragmentários desta substância.

Considerando a possibilidade do aparecimento do pico $M^+/2$ devido a $[M+2H]^{++}$ no sistema de ionização elétrons poderia se atribuir o pico m/z 283 para este íon fragmentário. Isto seria compatível com uma biflavona (duas unidades ligadas C-6 C-6) com M^+ 566. esta possibilidade foi descartada pela presença dos picos em m/z 263(20%) e 248(100%) e o não aparecimento do pico 566 u (**Fig 21, pág 60**). Outro argumento para descartamos esta proposta é o dado do carbono quaternário C-6 que seria 103 ppm e o observado é 114 ppm, compatível para o grupo sulfonato proposto.

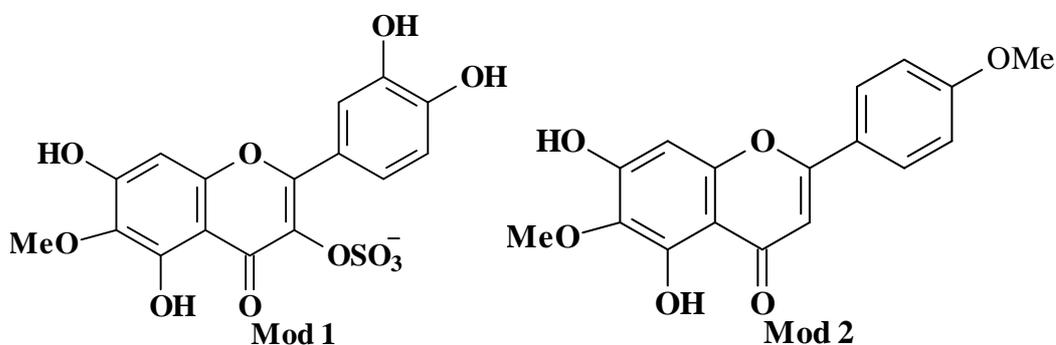
A comparação dos dados de RMN ¹³C de **2** com modelos da literatura (ACHENBACH, H., 1988 e BRACA, A, 1999) serviu para confirmar a proposta estrutural deste flavonóide

TABELA 8: Dados de IV da substância **2**

$\nu^{\text{KBr}}_{\text{máx}} (\text{cm}^{-1})$	Atribuições de 2
3437	Estiramento OH
2926	Estiramento CH (CH ₃)
1632	Estiramento C=O,
1584, 1514, 158	Estiramento C=C
1378	Deformação CH de CH ₃
1315, 1115, 1032	Estiramento S-O

TABELA 9: Dados de RMN ¹H e ¹³C (200MHz, 50,3 MHz; DMSO-d₆ das substâncias **2** e **2a** em comparação com modelos da literatura

	2	2	Mod 1	Mod 2
C	δ_{C}	$\delta_{\text{H}} [^1\text{J}_{\text{CH}}, ^1\text{H}\times^{13}\text{C-COSY}]$	δ_{C}	δ_{C}
2	160,3		156,6	163,7
3	103,4	6,61(s)	132,0	102,4
4	182,1		178,0	182,1
5	162,4		152,3	152,8
6	114,0		131,1	131,3
7	163,3		157,0	157,1
8	94,1	6,67(s)	93,6	94,2
9	156,9		151,3	152,4
10	103,4		104,5	104,5
1'	122,6			121,1
2'	128,2	8,14(d; 7,9Hz)		128,4
3'	114,7	7,21(d; 7,9 Hz)		115,7
4'	160,8			161,0
5'	114,7	7,21(d; 7,9 Hz)		115,7
6'	128,2	8,14(d; 7,9Hz)		128,4
OCH ₃	55,6	2,94(s)		



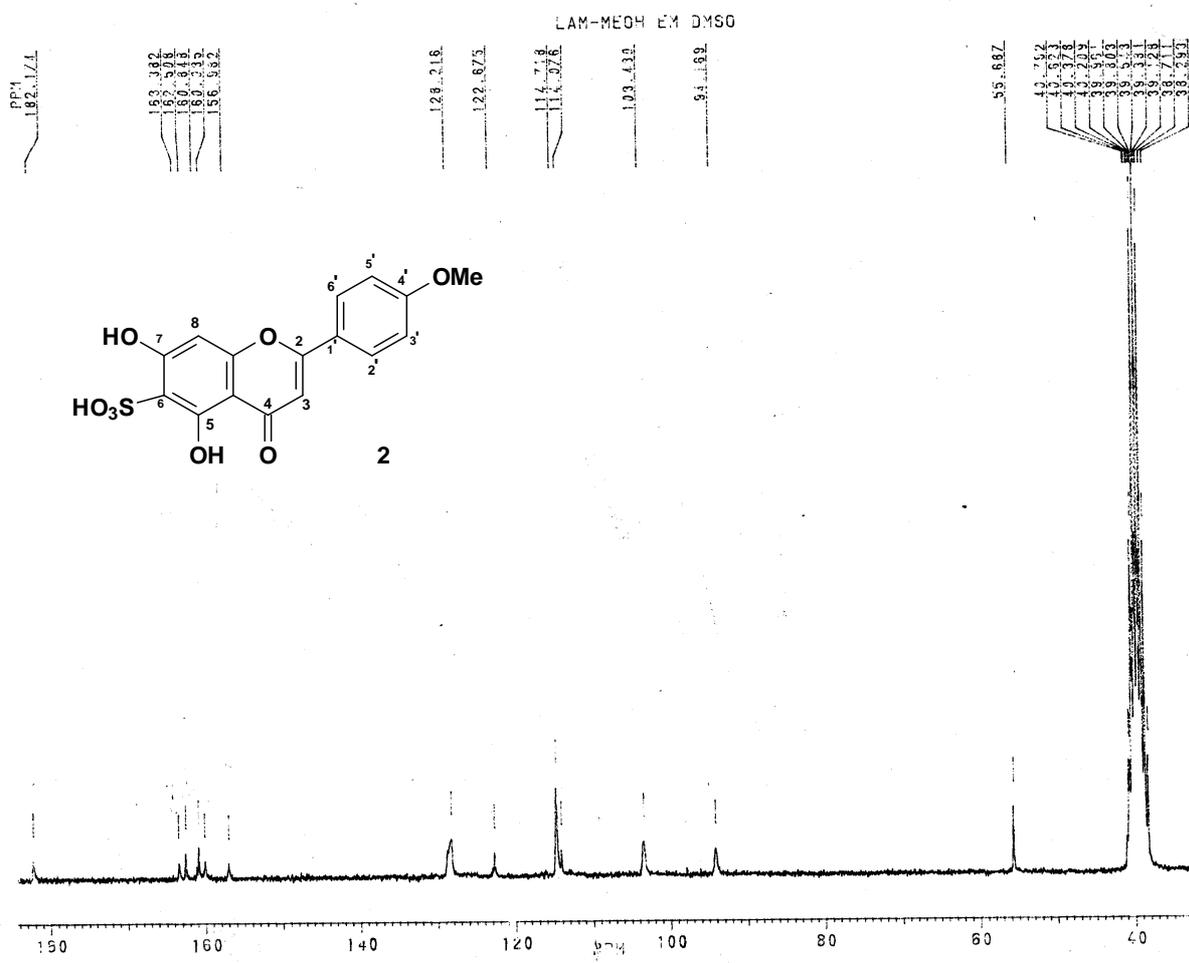


Figura 18: Espectro de RMN ¹³C (50,3MHz, DMSO-d₆)- da substância 2

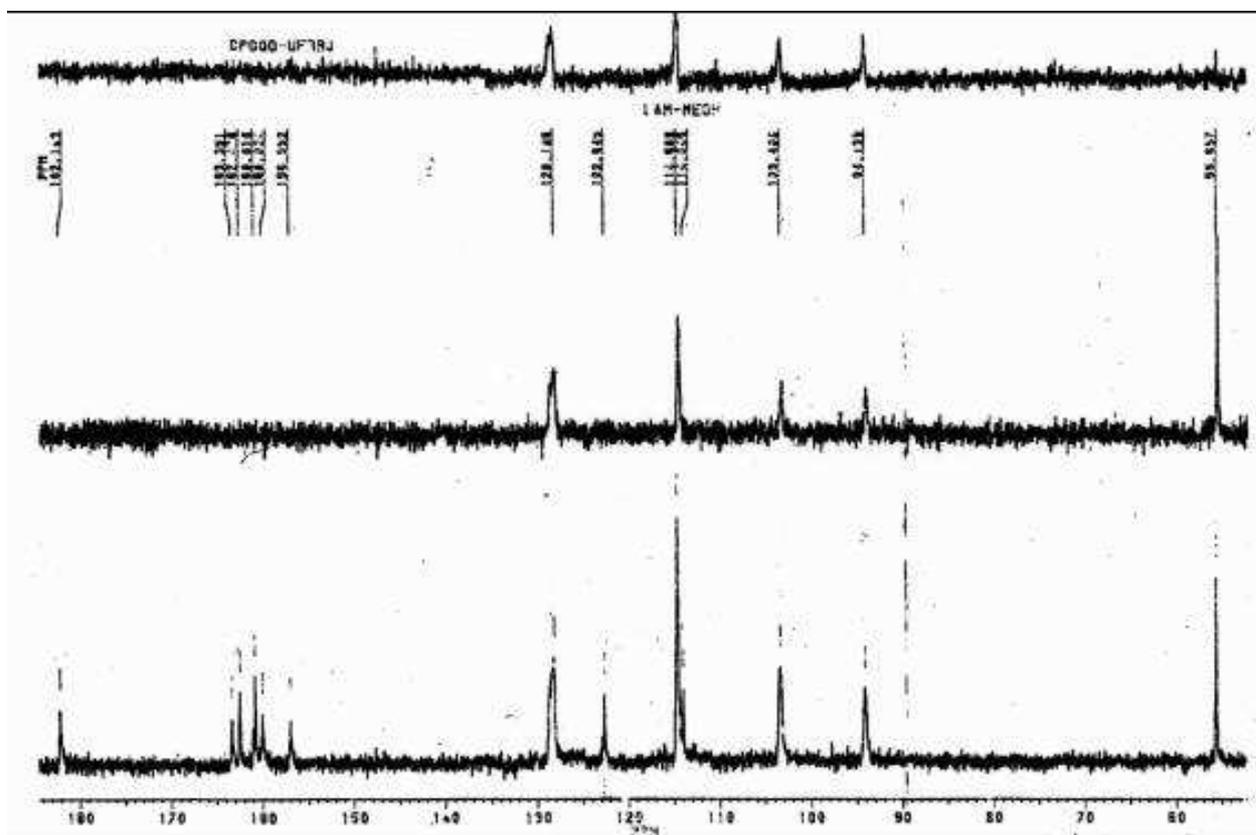
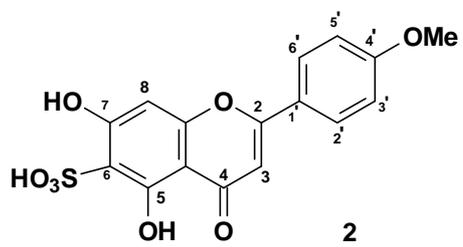


Figura 19: Espectro de RMN ^{13}C DEPT(50,3MHz, DMSO- d_6)- da substância **2**

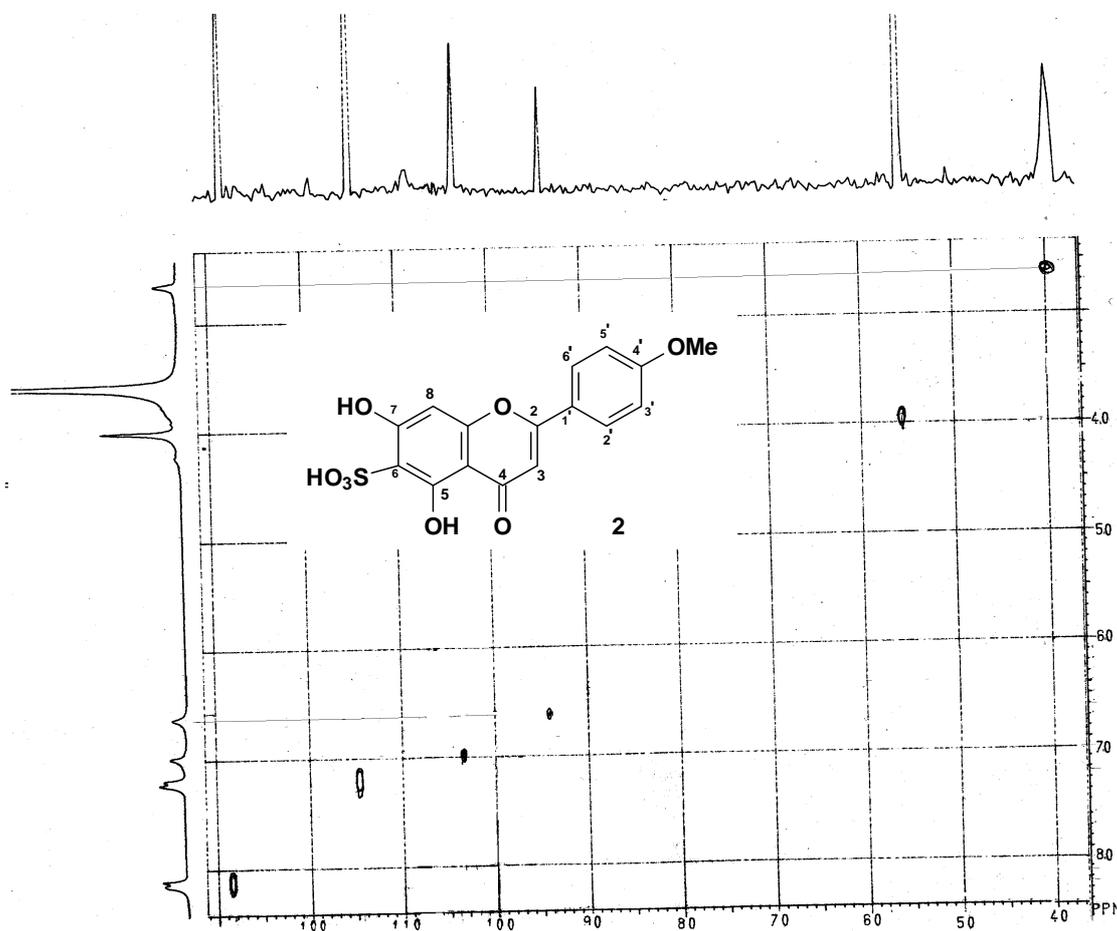


Figura 20: Espectro 2D $^1\text{H}\times^{13}\text{C}$ -COSY da substância **2**

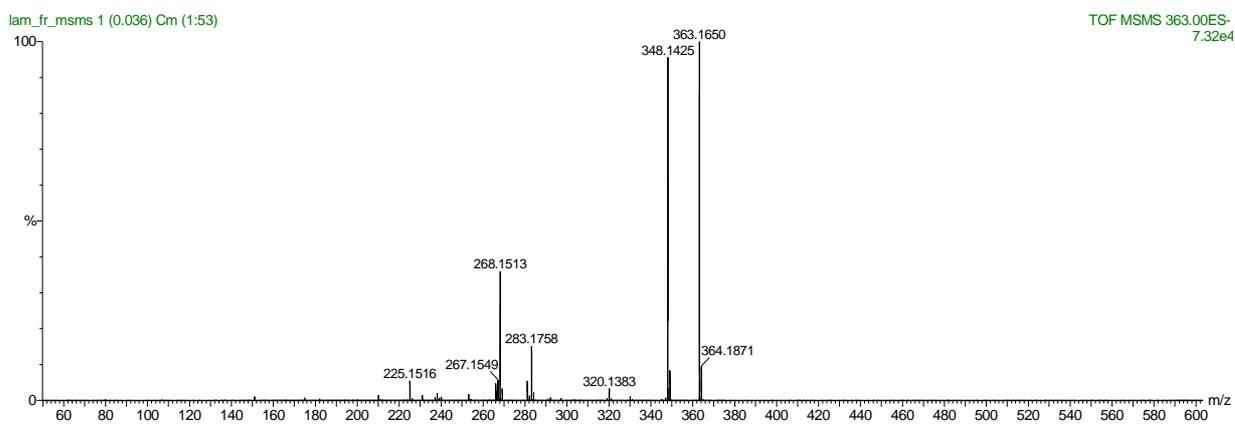
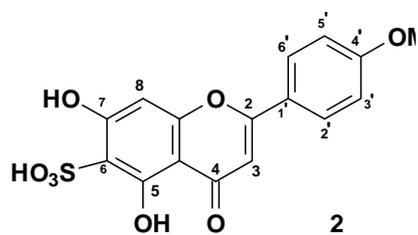
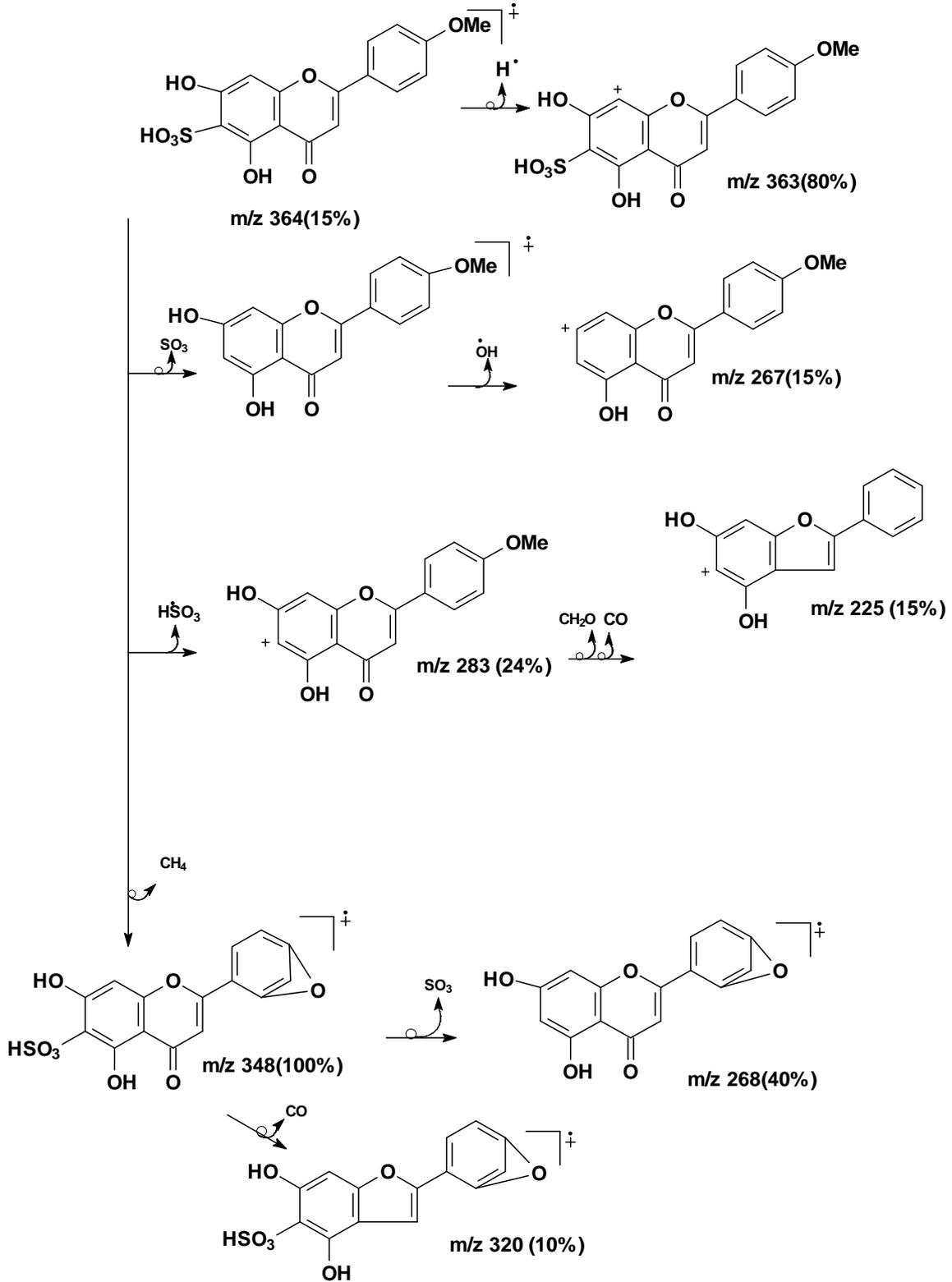
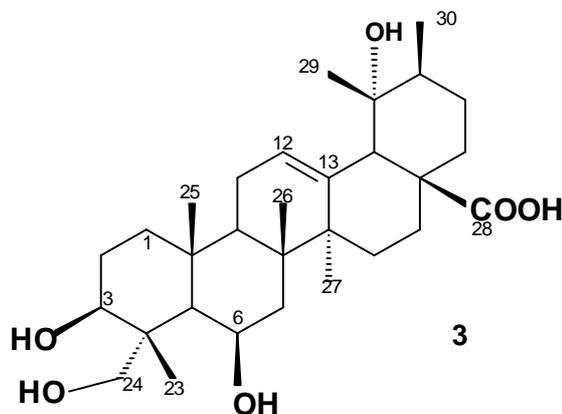


Figura 21: Espectro de massas da substância 2

Esquema 13: Interpretação do espectro de massas da substância 2



5.1.3. Determinação estrutural da substância 3



A presença do grupo carboxílico e álcool são indicados pelo espectro de IV (**Tabela 10, Fig 64, pág.**).

Os espectros de RMN ^1H (**Fig 23, pág 66**) e ^{13}C apresentaram sinais na região de carbonos de grupos metílicos, de carbonos carbinólicos e de dupla ligação. A contagem do número de CH_3 , CH_2 , CH e C com base na interpretação dos espectros de RMN ^{13}C (BBD e DEPT) (**Fig 24, pág 68, Fig 24a-24d, Pág 69-70, Fig 25, pág 71, 25a-25c, pág 72 - 73**) e a feição dos sinais no espectro de RMN ^1H permitiu propor a estrutura de um triterpeno pentacíclico. Os sinais de δ_{C} em 180,0(CO_2), 73,1, 67,4(CH), 123,9(=CH), 144,0(=C), 66,8 e 46,3(CH_2) permitiram sugerir OH em CH_2OH e um grupo carbonila na estrutura do triterpeno. O espectro de RMN de ^1H a 200MHz (**Fig 23, pág 66, 23a-23b, pág 67, Tabela 11, pág 64**) de **3** mostrou quatro sinais de hidrogênio carbinólico 3,80, 4,36 e 4,39 que acopla com o hidrogênio do sinal em 4,07. Os sinais 4,39 e 4,07 são representantes de 2H geminados e os demais são de hidrogênios que acoplam com os hidrogênios metilênicos de carbono sp^3 não oxigenados. O sinal em 3,10 pode ser atribuído ao H-3 axial do triterpeno (**Fig 26, pág 73, Fig 26a, pág 74, Fig 27, pág 74, Fig 27a, pág 75**). Os sinais de NOE (**Fig 29, pág 76**) entre os H-24 e H-3 confirma a vizinhança entre estes grupos.

Os deslocamentos químicos de C-12 (δ_{C} 123,9 ppm) e C-13 (δ_{C} 144,0 ppm) estão de acordo com a dupla em 12(13) característico do esqueleto do oleanano.

A comparação dos deslocamentos químicos de carbono-13 de **3** com modelo da literatura (MAHATO, S. B., 1994) (**Tabela 11, pág 64**) permitiu confirmar a localização dos grupos. A presença no espectro de massas do pico do íon molecular M^+ 488 (2%) além dos fragmentos m/z 407 (40%), 287 (30%), 248(100%), 203 (90%), 189 (20%), (**Esquema 14, pág 77, Fig 29, pág 76**) permitiu confirmar a proposta do ácido $3\beta,6\beta,23$ - triidroxi-olean-12-en-28-óico para **3**.

TABELA 10: Dados de IV a substância **3**

$\nu^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$	Atribuições de 3
3614 e 3457	Estiramento OH
2944	Estiramento CH (C-sp ³)
1700	Estiramento C=O
1462	Estiramento C=C
1384	Deformação CH de CH ₃
1267	Deformação C-O

TABELA 11: Dados de RMN ¹H (400 MHz; piridina-d₆) e ¹³C (200MHz piridina-d₆) da substância **3** em comparação com modelo da literatura (MAHATO, S. B., 1994)

C	3 δ_{C}	3 HMBC	3 HMQC	3 NOESY	Lit δ
1	42,5	1,91(m)			41,1
2	28,1	2,12(m)			28,3
3	73,1	3,30(dd, J=4,3 e 10,2Hz)		H-23	73,3
4	43,8				44,0
5	49,1	1,72(m)		H-6	49,3
6	67,4	4,36(s)		H-5	67,5
7	42,3	1,81(m)		H-25	41,1
8	39,0				39,2
9	48,5	1,92(m)			48,7
10	36,8				36,9
11	23,5	2,15(m)			23,7
12	123,9	5,50(s)			122,9
13	144,0				144,2
14	41,9				42,7
15	27,7	1,93(m)			28,3
16	23,7	1,80(m)			23,9
17	46,5	1,26(m)			46,6
18	42,0	2,30(dd, J= 4,4 e 9,9Hz)		H-12 e H-30	42,0
19	46,3	1,79			46,4
20	30,8				30,9
21	34,0	1,14(m)			34,2
22	33,0	1,76(m)			33,2
23	66,8	4,07 e 4,39 (d, J=10,2Hz)		H-3	67,1
24	14,5	1,67			14,7
25	17,3	1,63			17,4
26	18,4	1,58			18,6
27	26,1	1,24			26,2
28	180,0				180,2
29	23,6	0,96			23,7
30	33,0	0,91			33,2

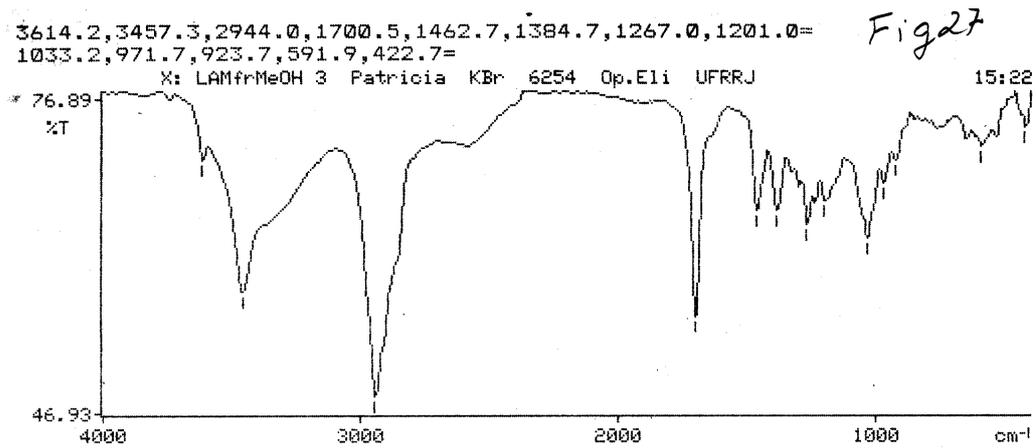


Figura 22: Espectro de IV da substância 3

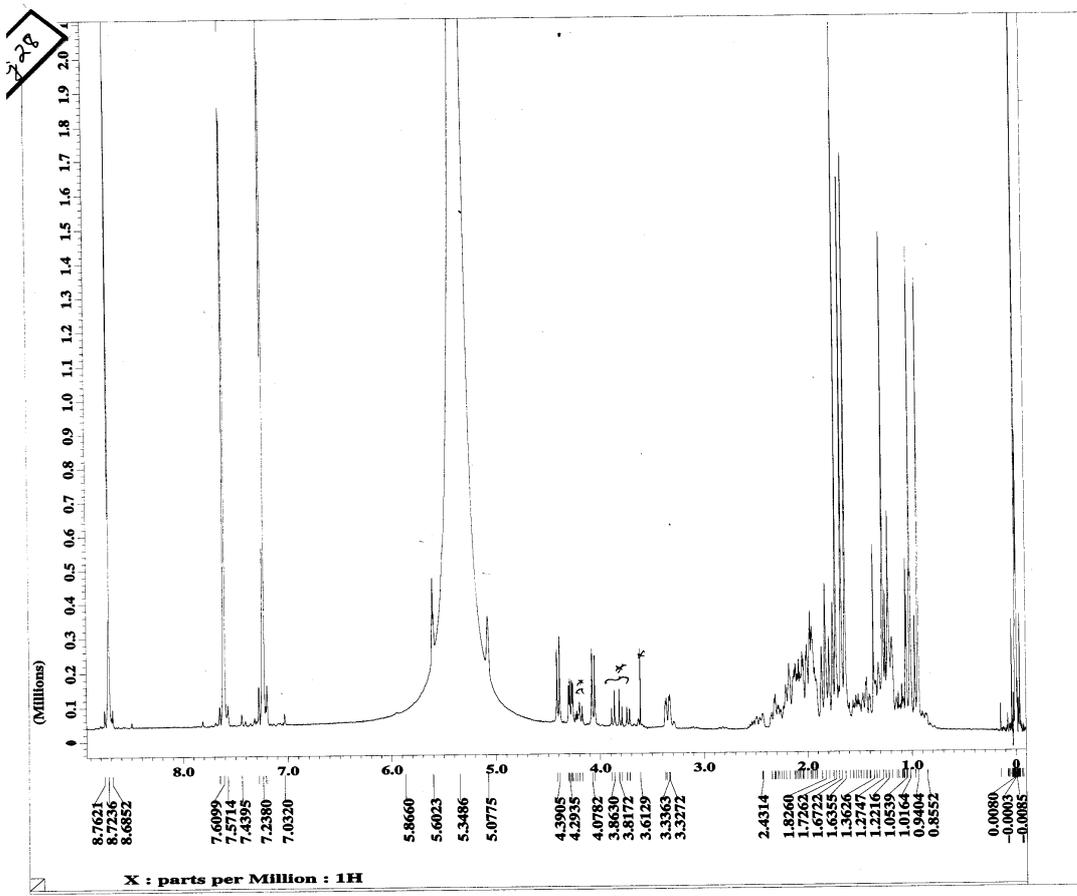


Figura 23: Espectro de RMN ^1H (400MHz, Piridina- d_6) - da substância 3

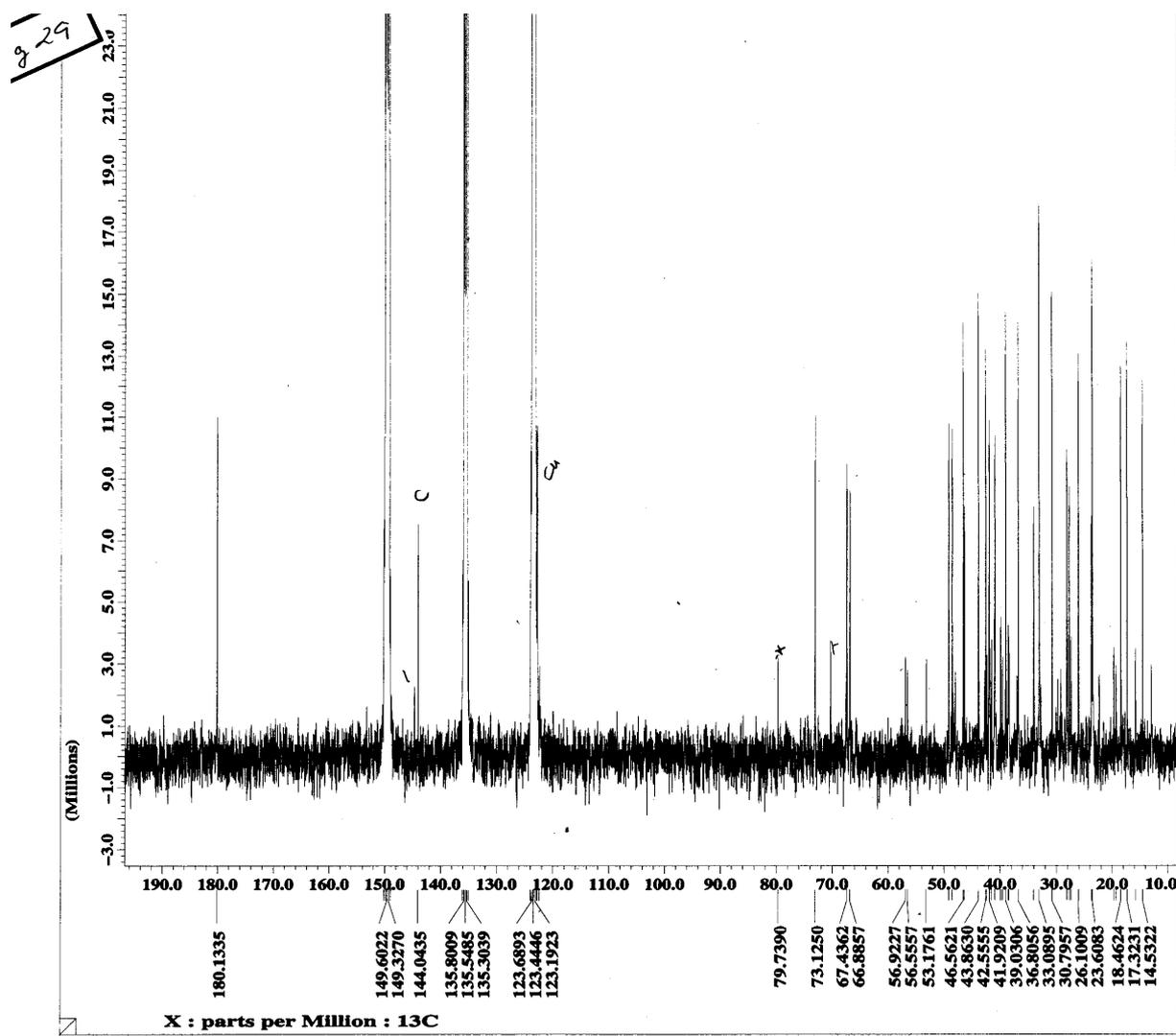


Figura 24:Espectro de RMN ^{13}C (100MHz,Piridina- d_6) da substância 3

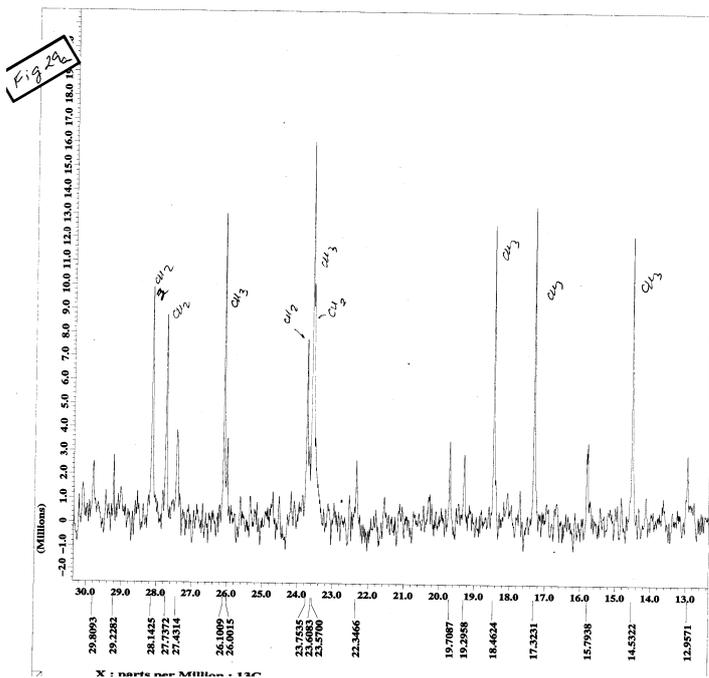


Figura 24a:Ampliação do Espectro de RMN ^{13}C (100MHz, Piridina- d_6) da substância 3

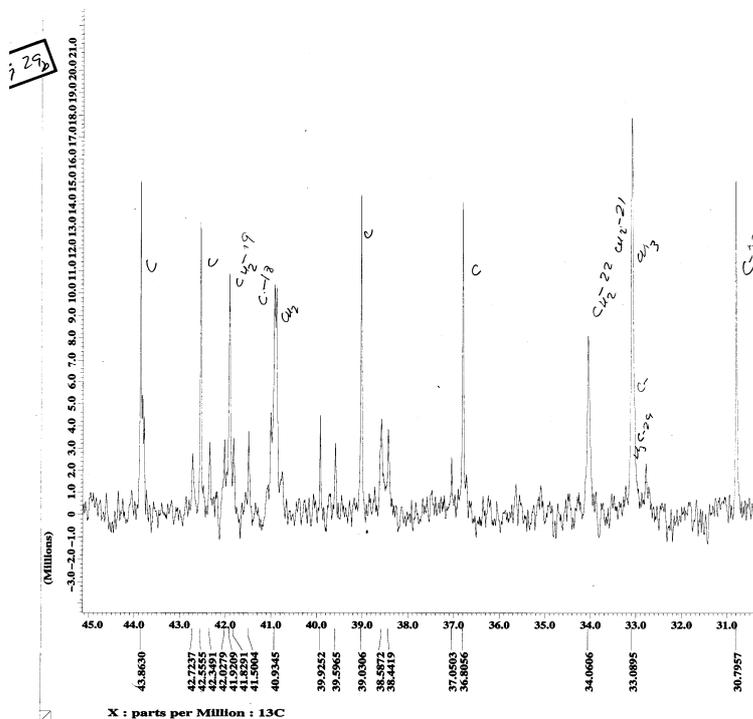


Figura 24b:Ampliação do Espectro de RMN ^{13}C (100MHz, Piridina- d_6) da substância 3

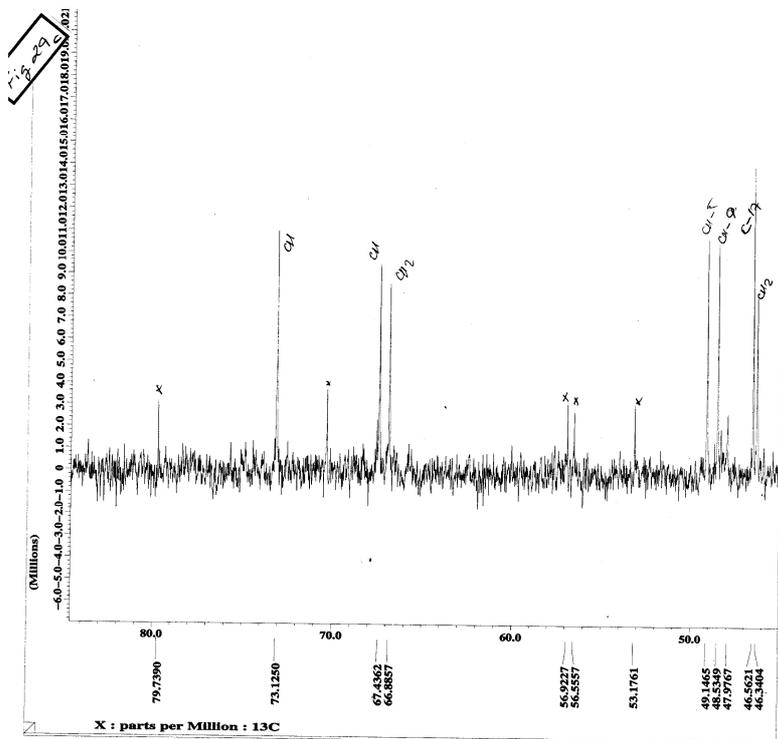


Figura 24c:Ampliação do Espectro de RMN ^{13}C (100MHz,Piridina- d_6) da substância 3

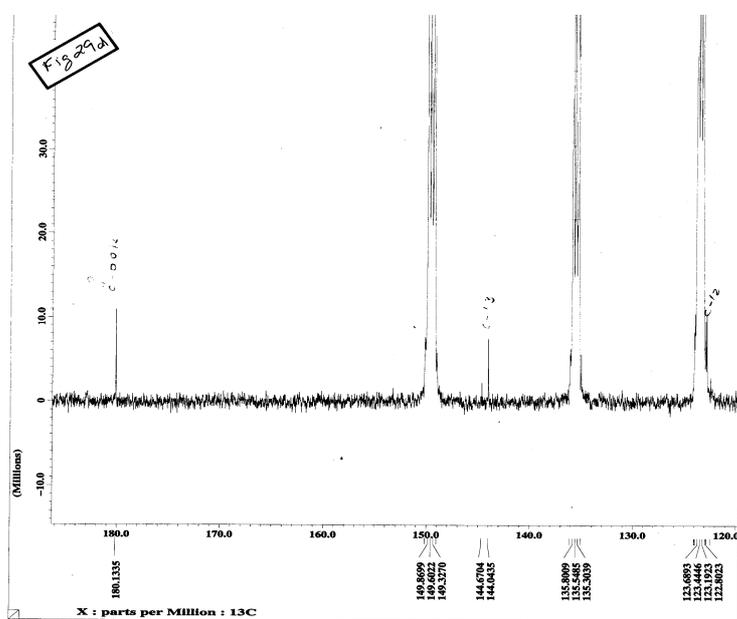


Figura 24d:Ampliação do Espectro de RMN ^{13}C (100MHz,Piridina- d_6) da substância 3

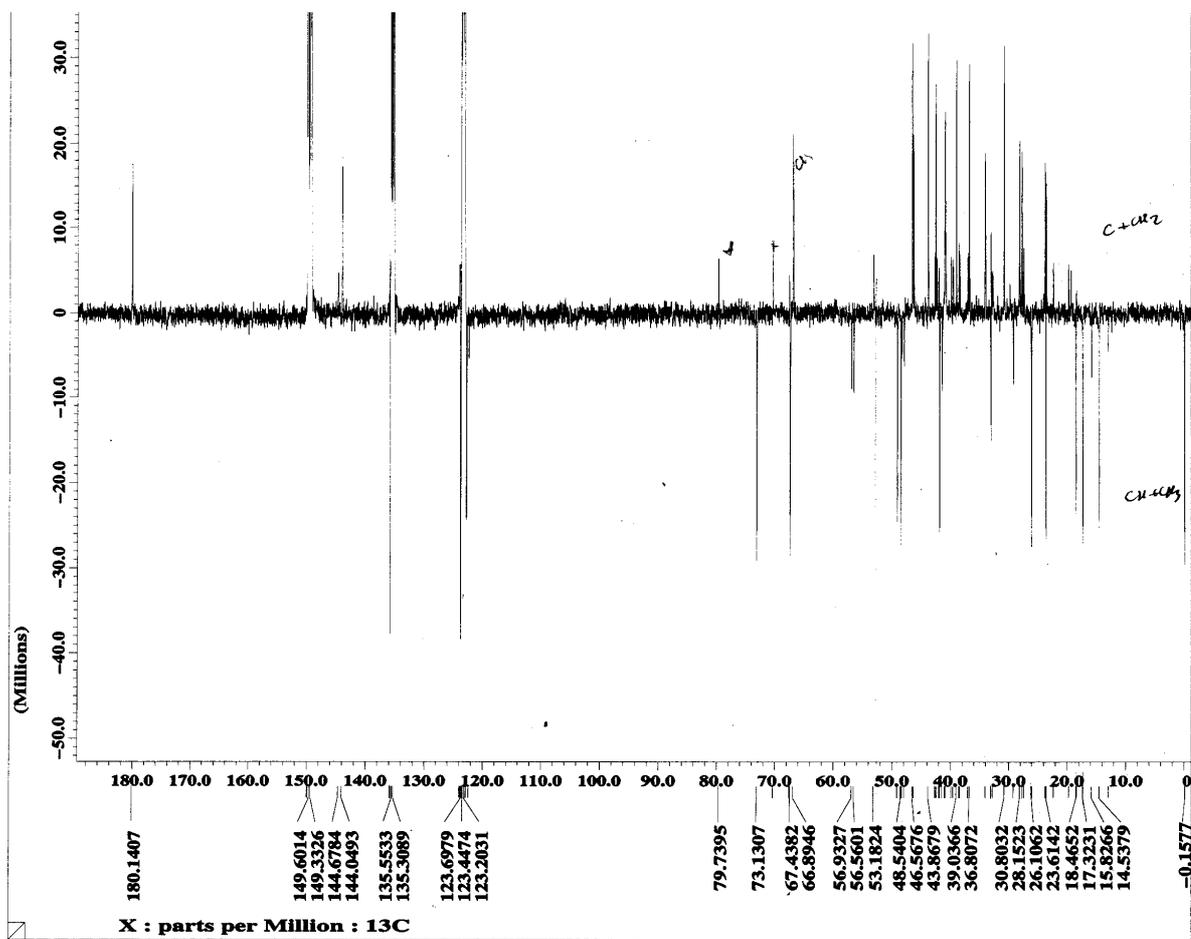


Figura 25: Espectro de RMN ^{13}C DEPT (100MHz, Piridina- d_6) da substância 3

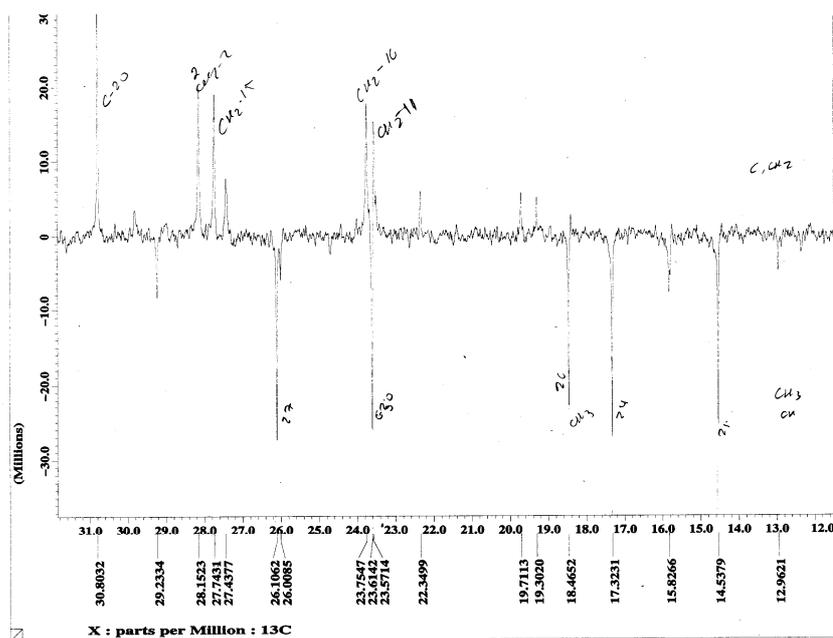


Figura 25a:Ampliação do espectro de RMN ¹³C DEPT (100MHz,Piridina-d₆) da substância 3

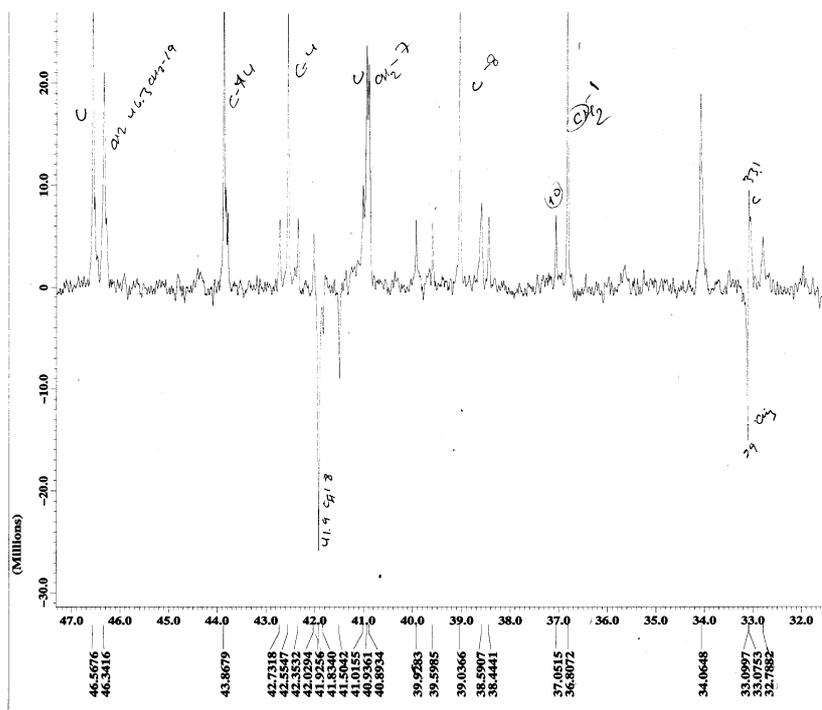


Figura 25b:Ampliação do espectro de RMN ¹³C DEPT (100MHz,Piridina-d₆) da substância 3

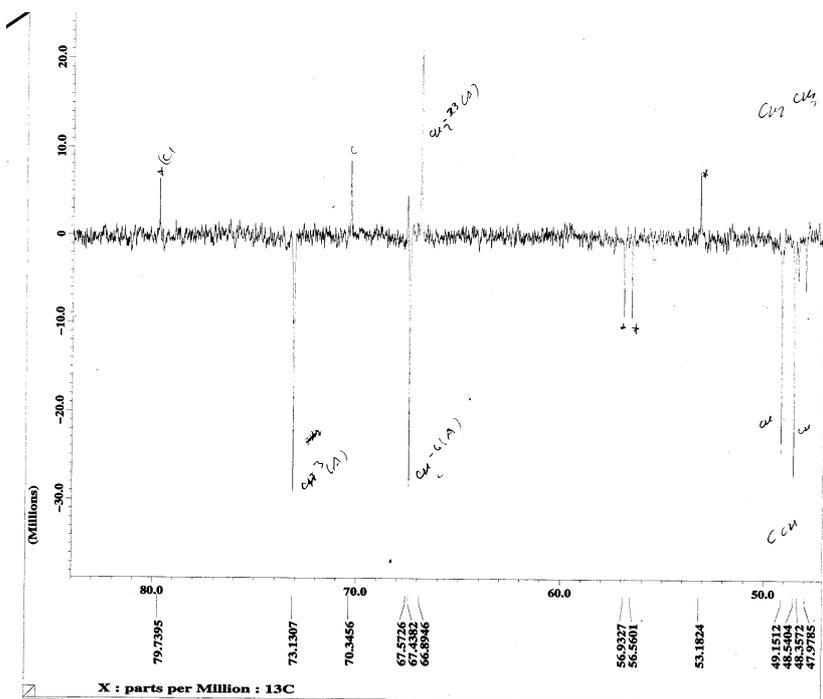


Figura 25c:Ampliação do espectro de RMN ^{13}C DEPT (100MHz,Piridina- d_6) de 3

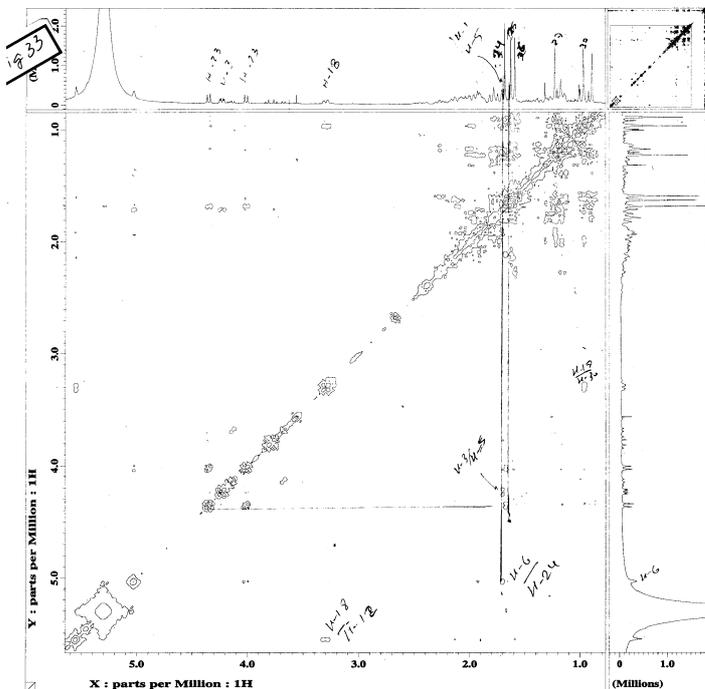


Figura 26:Experimento 2D $^1\text{H}\times^1\text{H}$ -COSY 400MHz da substância 3

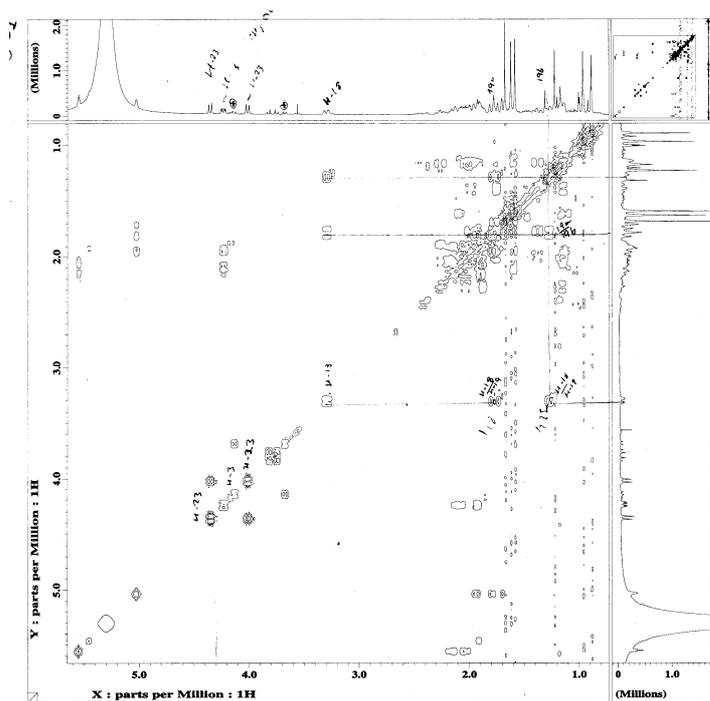


Figura 26a:Ampliação do experimento 2D $^1\text{H}\times^1\text{H}$ -COSY 400MHz da substância 3

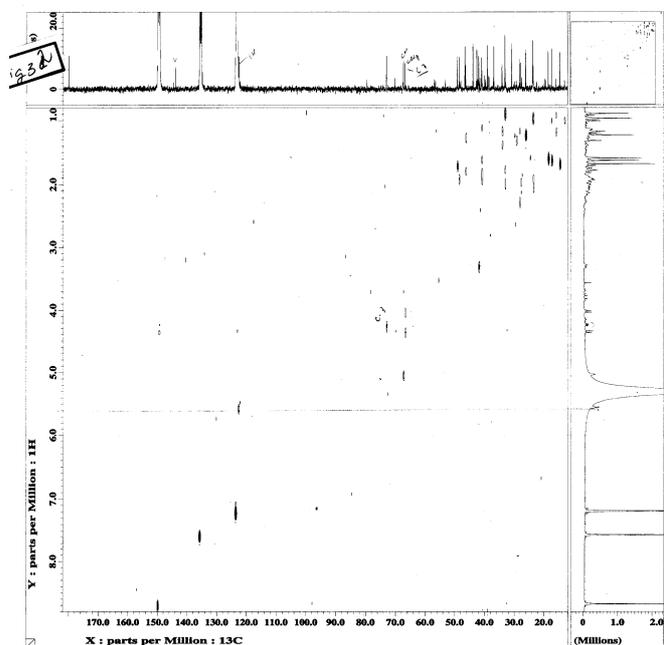


Figura 27:Experimento 2D HMQC $^1\text{H}\times^{13}\text{C}$ - $^1\text{J}_{\text{CH}}$ 400MHz da substância 3

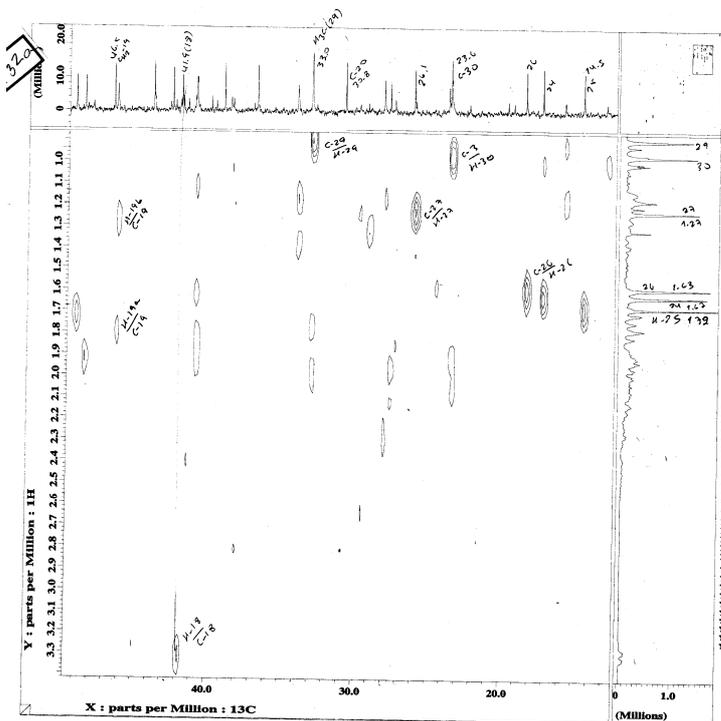


Figura 27a:Ampliação do experimento 2D HMQC da substância 3

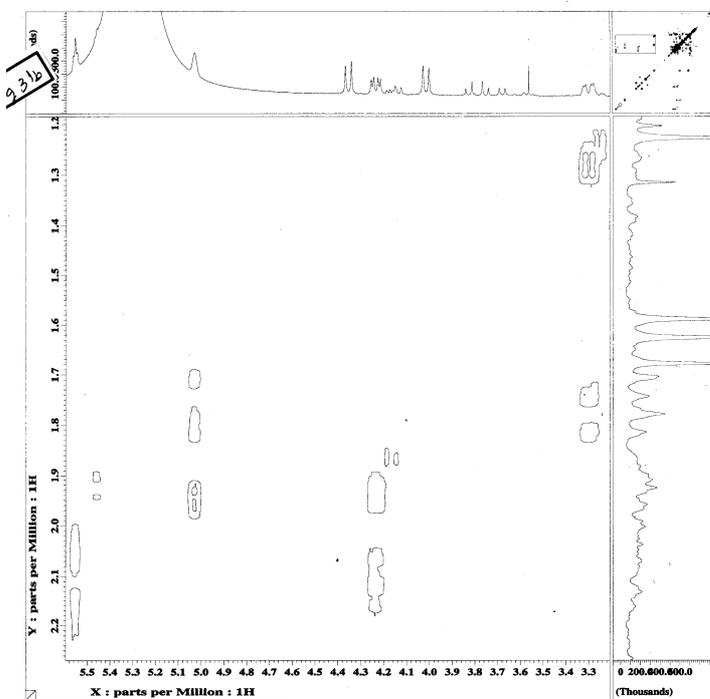
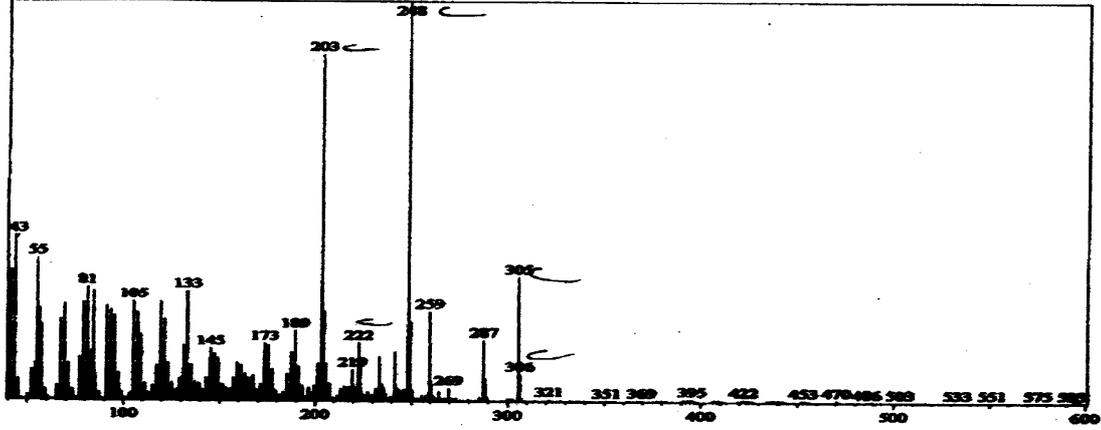


Figura 28: Experimento 2D NOESY da substância 3

Scan # : (1702 - 1867) B.G. Scan # : (1033 - 1307)
Mass Peak # : 557 Ret. Time : (17.175 - 18.550)
Base Peak : 248.15 (211892)



Scan # : (2319 - 2581) B.G. Scan # : (1059 - 1332)
Mass Peak # : 301 Ret. Time : (22.317 - 24.500)
Base Peak : 305.15 (41737)

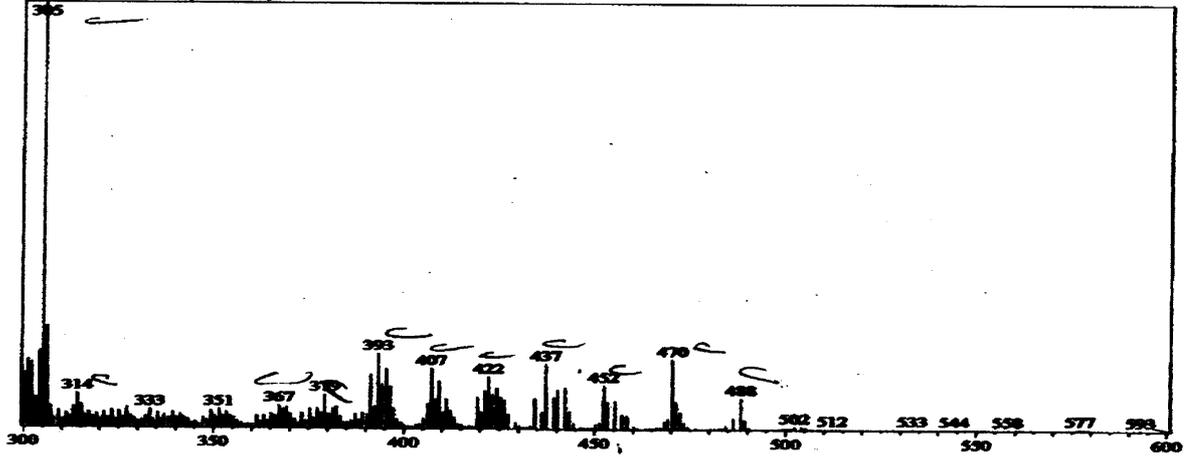
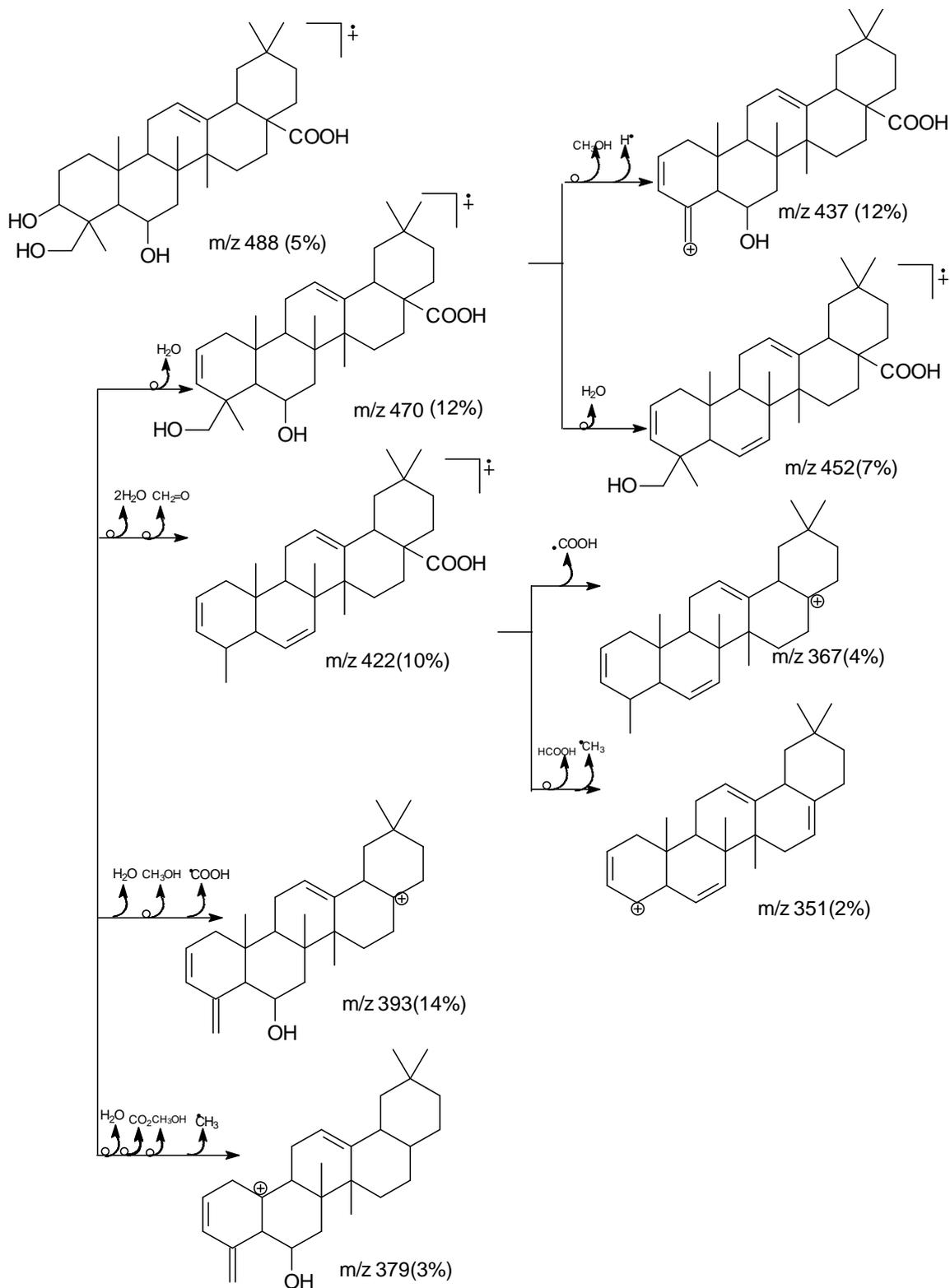
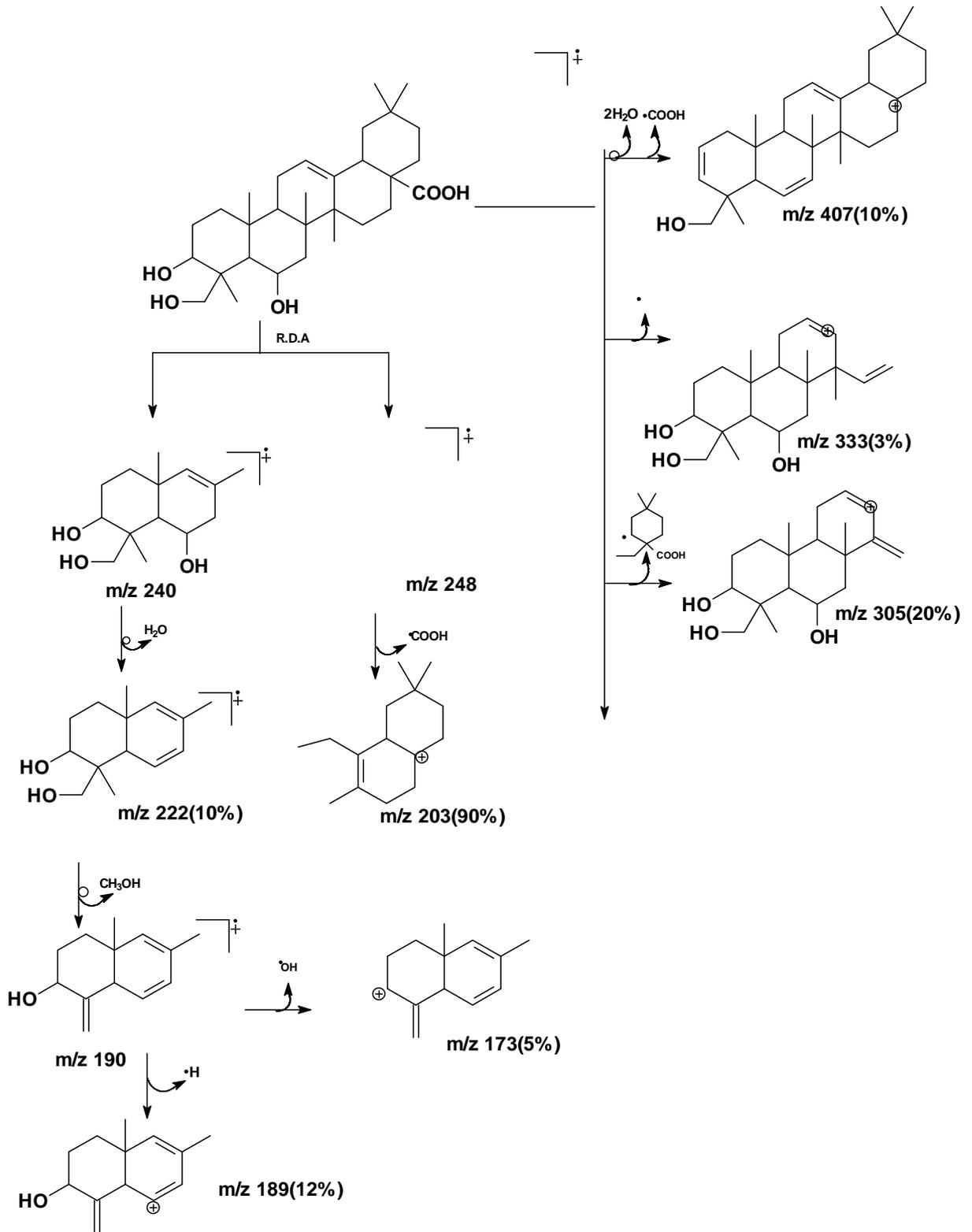


Figura 29: Espectro de massas da substância 3

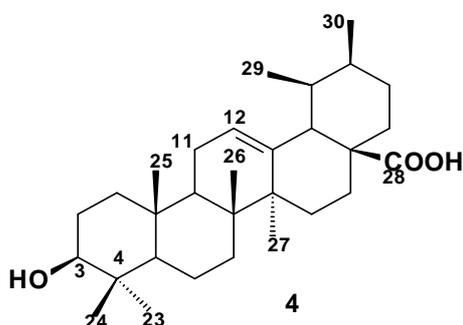
ESQUEMA 14: Interpretação do espectro de massas da substância 3



Continuação do esquema 14



5.1.4. Determinação estrutural da substância 4



A presença do grupo carboxílico do ácido e da ligação dupla trissubstituída são confirmados pelo espectro de IV (**Tabela 12, Fig 30, pág 79, 81**).

Os espectros de RMN de ^{13}C (**Fig 31, pág 81 e 32, pág, 82**) de **4** utilizando a técnica DEPT e espectro totalmente desacoplado (**Fig 32, pág 82, 33, pág, 83**) permitiram reconhecer os sinais correspondentes a carbonos primários (6 CH_3), secundários (10 CH_2) e terciários (6 CH) e propor a estrutura de um triterpeno pentacíclico.

Os deslocamentos químicos de C-12 (δ_{C} 122,9 ppm) e C-13 (δ_{C} 138,6 ppm) estão de acordo com a dupla em 12(13) característico do esqueleto do ursano. Os sinais em δ_{C} 180,0 (CO_2H), 77,4 (CHO) e os sinais em 55,7, 52,4 e 47,8 x2 estão compatíveis com o triterpeno da série ursano contendo a carbonila no C-28. A comparação dos deslocamentos químicos de carbono 13 de **4** com modelo da literatura (MAHSATO, S. B., 1994) (**Tabela 13, pág 80**) permitiu confirmar a proposta do ácido 3 β -hidroxi-ursa-12-en-28-óico para **4**, já registrado na literatura isolado das folhas desta espécie (CÂNDIDO, L. F. O., 2000).

TABELA 12: Dados de IV da substância **4**

$\nu^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$	Atribuições de 4
3424	Estiramento OH
2927	Estiramento $\text{CH}(\text{sp}^3)$
1693	Estiramento $\text{C}=\text{O}$
1425	Deformação $\text{C}=\text{C}$ de $\text{CH}-\text{CH}_2=$
1270	Estiramento $\text{C}-\text{O}$

TABELA 13: Dados de RMN ^{13}C (200 MHz; piridina- d_6) da substância **4** em comparação com modelo da literatura(CÂNDIDO, L. F. O., 2000)

	4	Lit
C	δ_{C}	δ
1	42,5	38,9
2	28,1	27,3
3	77,3	78,3
4	43,8	38,8
5	55,7	55,4
6	18,4	18,4
7		33,0
8	39,0	39,9
9	47,9	47,5
10	36,8	37,1
11	23,5	23,7
12	125,0	125,4
13	144,0	138,3
14	41,9	42,0
15	27,7	28,8
16	23,7	24,3
17	47,2	48,1
18	52,4	52,8
19	38,6	39,2
20	38,6	38,3
21	30,8	30,9
22	33,0	36,7
23		25,3
24	14,5	15,6
25	17,3	15,8
26		16,9
27	26,1	27,5
28	180,0	177,8
29	23,6	23,6
30		21,2

3424.8,2927.8,1693.4,1458.0,1382.8,1276.6,1032.3,996.2,761.1,661.1=

X: LAMAFCL1 Patricia KBr 7328 Op:Carlos UFRRJ

15:45

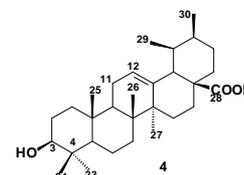
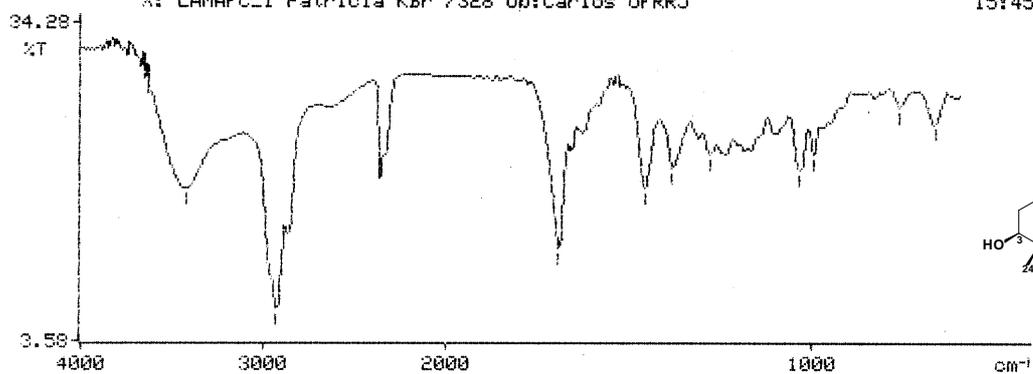


Figura 30: Espectro no IV da substância **4**

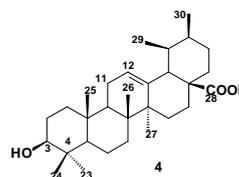
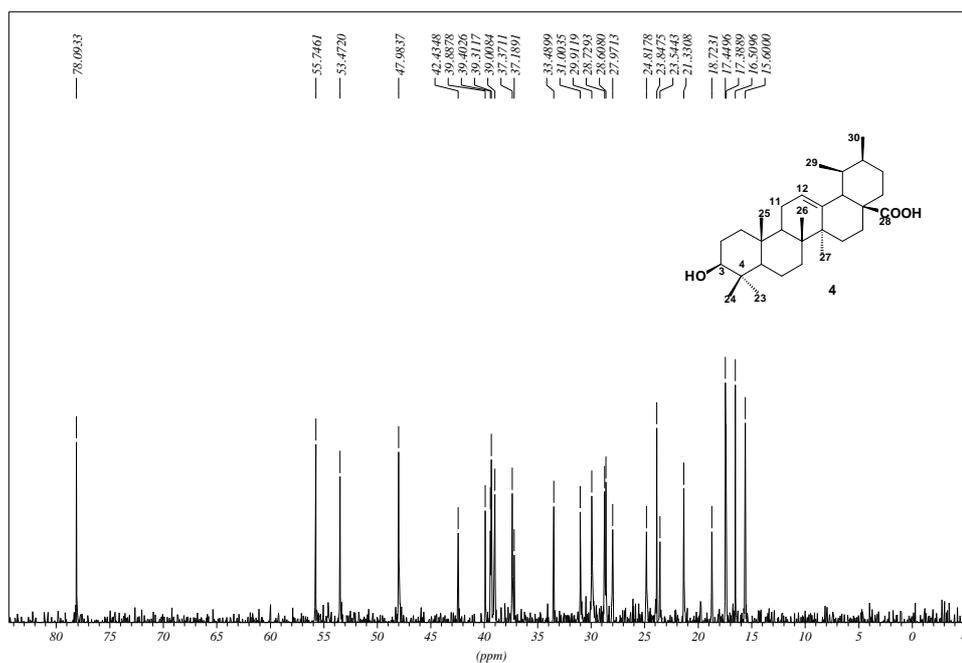


Figura 31: Espectro de RMN ^{13}C (50MHz, piridina- d_6) da substância **4**

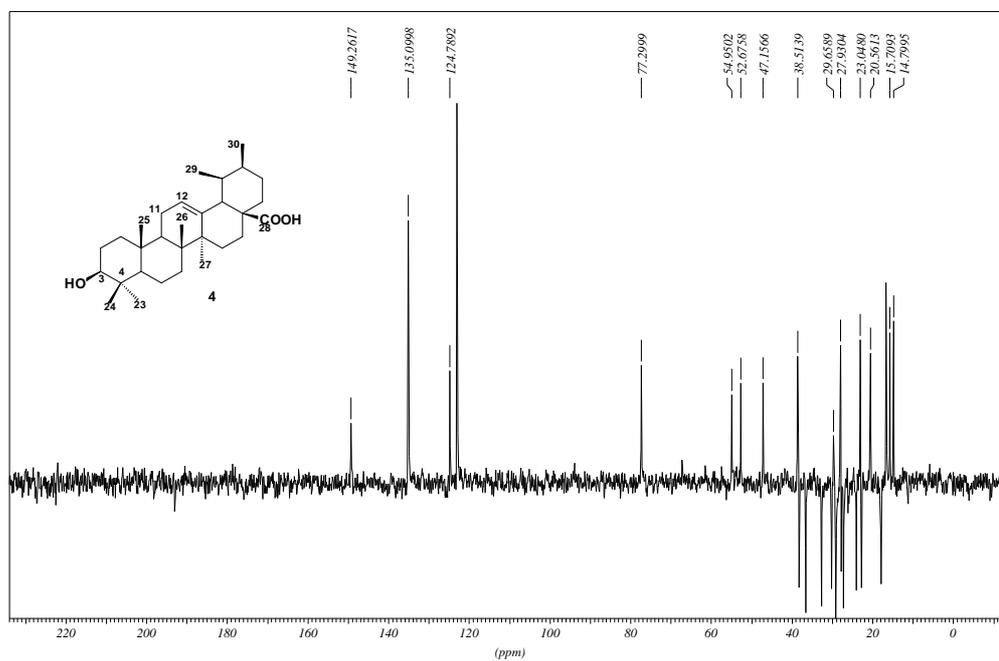


Figura 32: Espectro de RMN ^{13}C DEPT ($\theta, 135^\circ$ 50,3MHz, Piridina- d_6) da substância **4**

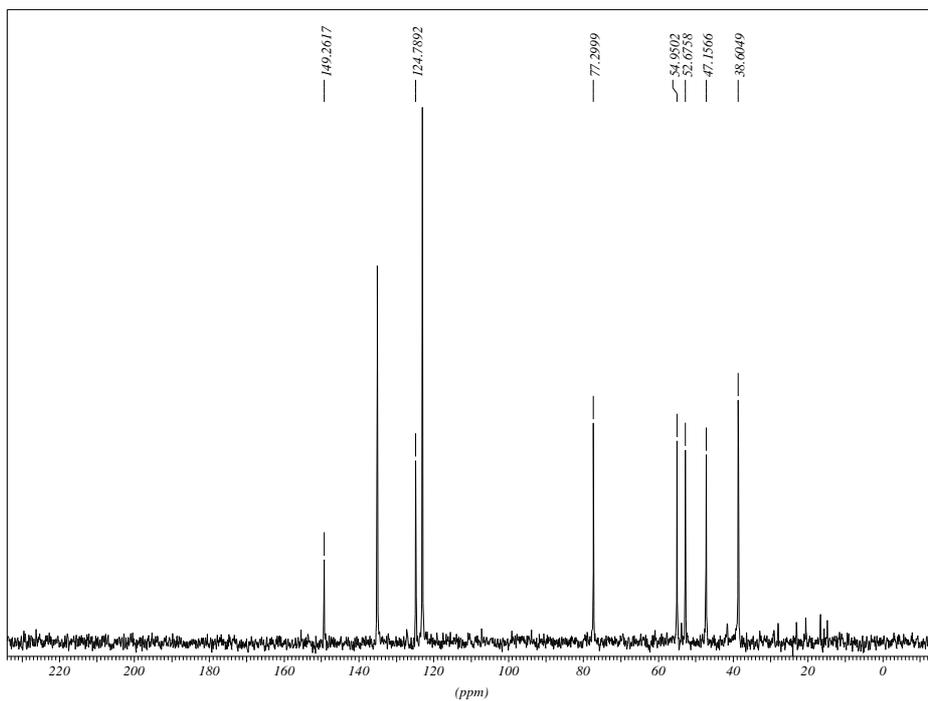
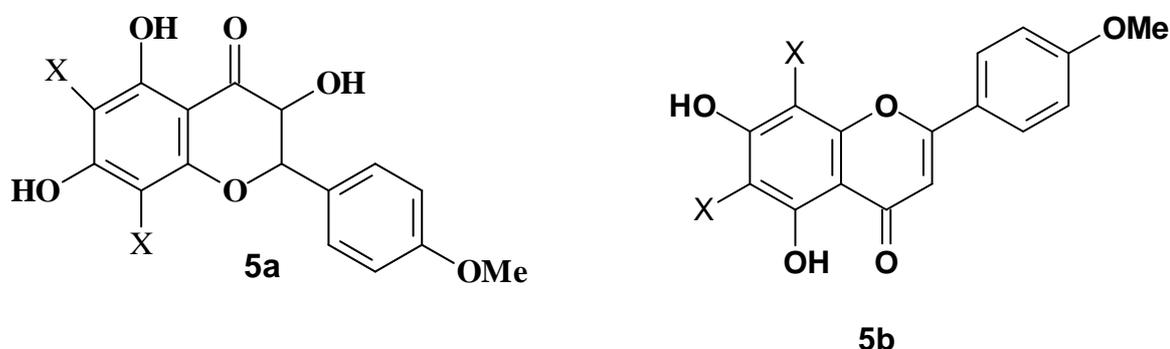


Figura 33: Espectro de RMN ¹³C DEPT (θ,90° 50,3MHz, Piridina-d₆) da substância **4**

5.1.5. Identificação da mistura de flavonoídes 5



A presença da ligação dupla do anel aromático é confirmado pelo espectro de IV (Tabela 14, Fig 34, pág 84 e 86).

O espectro de RMN ^1H (Fig 35, pág 87) apresentou quatro sinais duplos em 8,0 (2H), 7,5 (2H) que são dubletos para a substância **2** compatíveis com uma flavona. Os outros sinais em δ_{H} 7,1 (d, 2H) e 6,41 (d, 2H) são compatíveis com os sinais do sistema AA'BB' da flavanona. Os sinais em 6,1 (s) e 5,4 (m) justifica a proposta da mistura de flvanonol e flavona contendo os carbonos 6 e 8 com grupo substituinte não identificado. Estes dados entretanto permitiu sugerir a presença de flavonóide com o anel A oxigenado como a hipoloetina já isolado de *Licania*. Estudos adicionais devem ser feito com esta fração para conclusão da estrutura.

O espectro de RMN de ^{13}C (Fig 36, pág 88, Tabela 15, pág 85) apresentou sinais em δ_{C} 127,9 ppm e 114,3 e 113,7 ppm característico de um sistema AA'BB' além dos sinais de duas metoxilas em δ_{C} 54,9 e 55,3. O valor encontrado para o C-3 em δ_{C} 89,1 sugere uma oxidação neste carbono e o valor de δ_{CH} 76,3 para C-3. A proposta de uma mistura de um flavanonol e uma flavona com substituintes nos carbonos C-6 e C-8 não pode ser definido porque os dados não foram suficientes para se determinar quais são os substituintes.

TABELA 14: Dados de IV da mistura de substâncias **5a** e **5b**

$\nu^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$	Atribuições de 5a e 5b
3743 e 3439	Estiramento OH
1631, 1585, 1514, 1458	Estiramento C=C
1372	Deformação CH_3

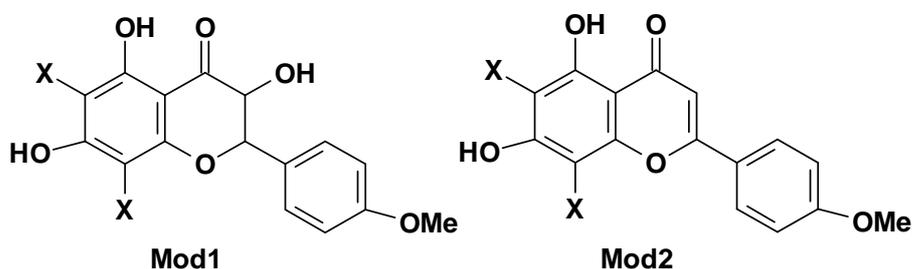


Tabela 15: Dados de RMN ^1H (200 MHz em DMSO) e ^{13}C (50,3 MHz em DMSO) da mistura de flavonóides comparados com modelos da literatura (VELANDIA, J. R., 2002).

	5a	Mod 1	5b	Mod 2	5^a	5b
C	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{H}
2	89,2	85,0	161,7	162,0	5,5(d)	
3	76,8	74,0	104,8	103,4	5,,3(d)	6,1(s)
4	195	194,2	180,0	182,9		
5	160,0	156,2	160,0	158,0		
6						
7						
8						
9						
10	104,0	100,0	104,0	103,0		
1'	130,9	130,0	122,6	122,0		
2', 6'	127,9	128,7	127,9	128,0	7,1(d,2H)	8,0(d,2H)
3', 5'	113,7	113,4	113,6	114,4	6,97(d,2H)	7,5(d,2H)
4'	159,0	158,0	159,6	160,0		

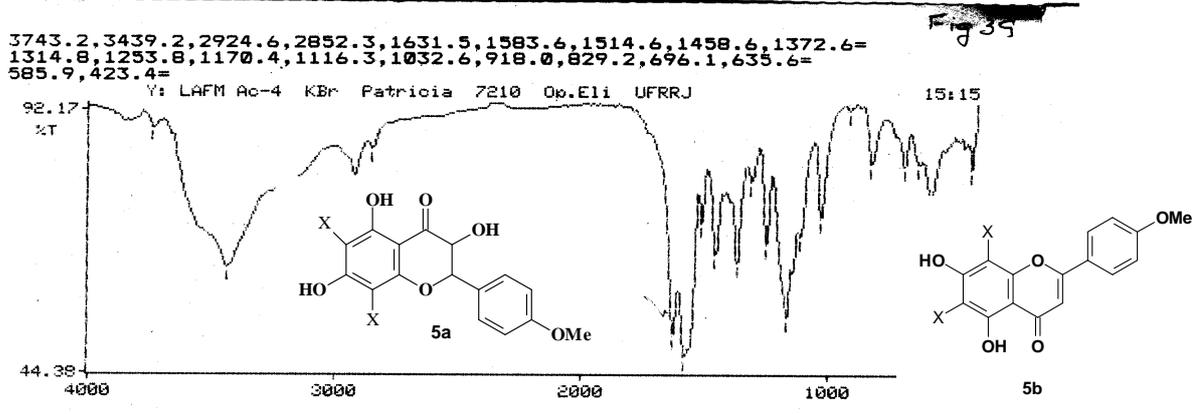


Figura 34: Espectro no IV da mistura das substâncias 5a e 5b

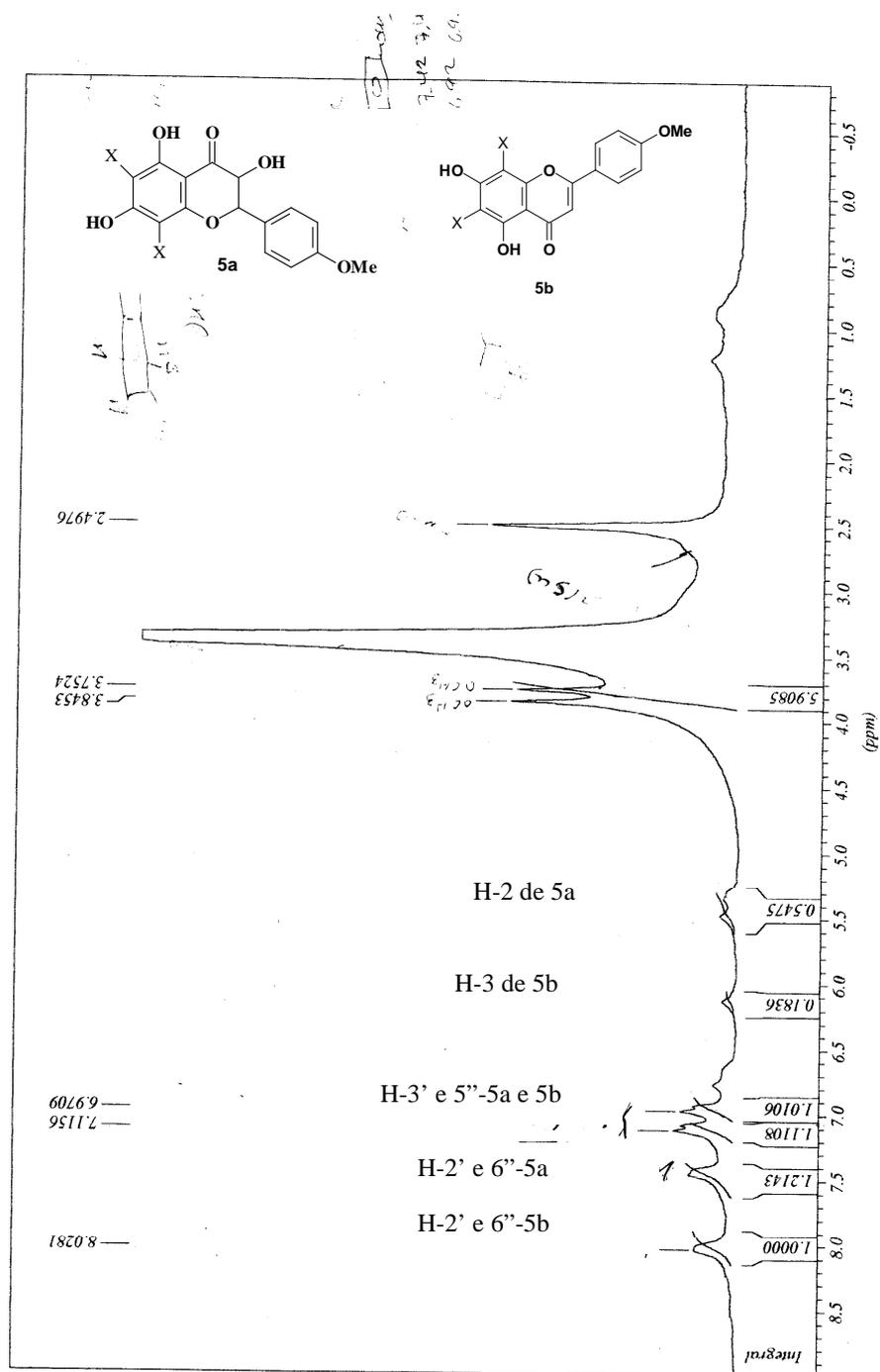


Figura 35: Espectro de RMN ^1H (200MHz DMSO- d_6) da mistura das substâncias **5a** e **5b**

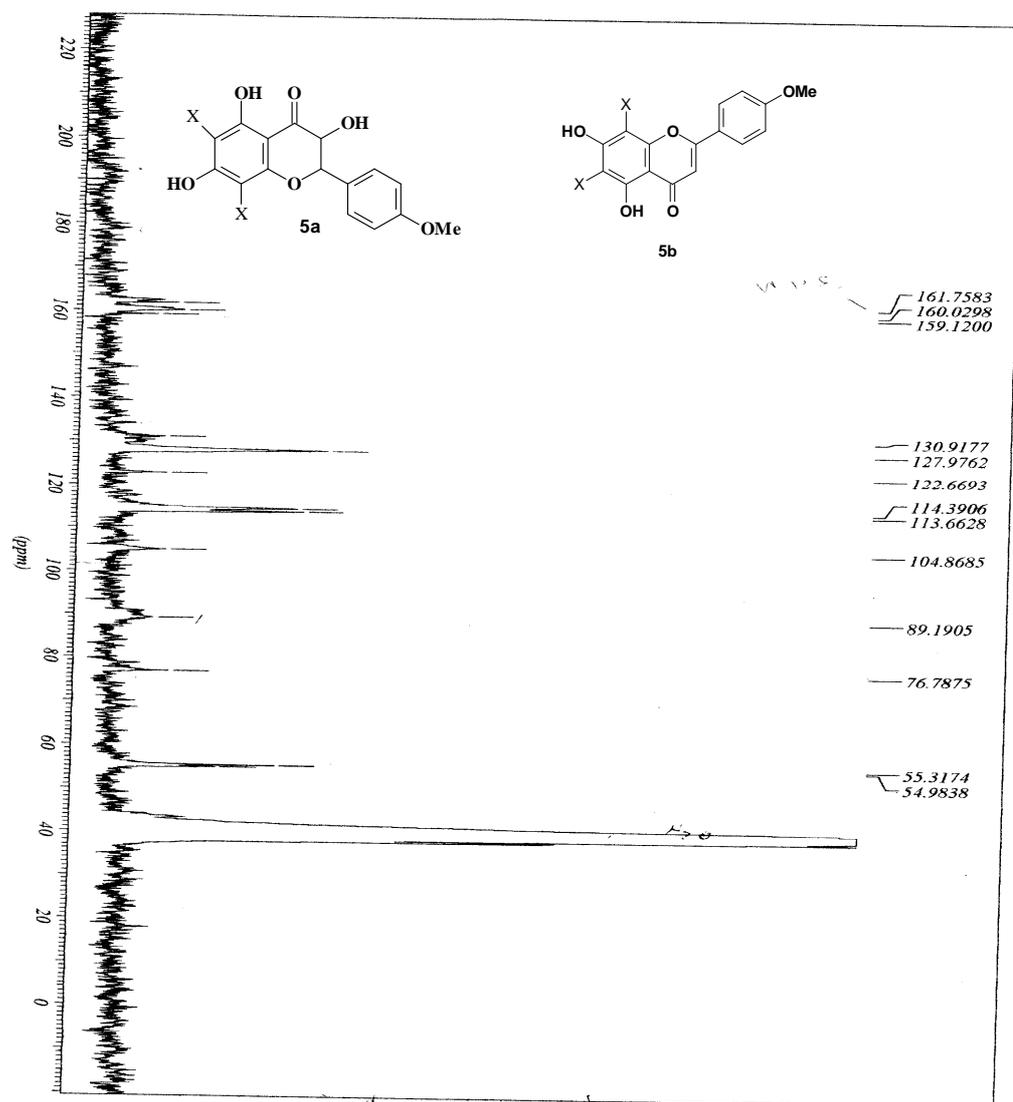
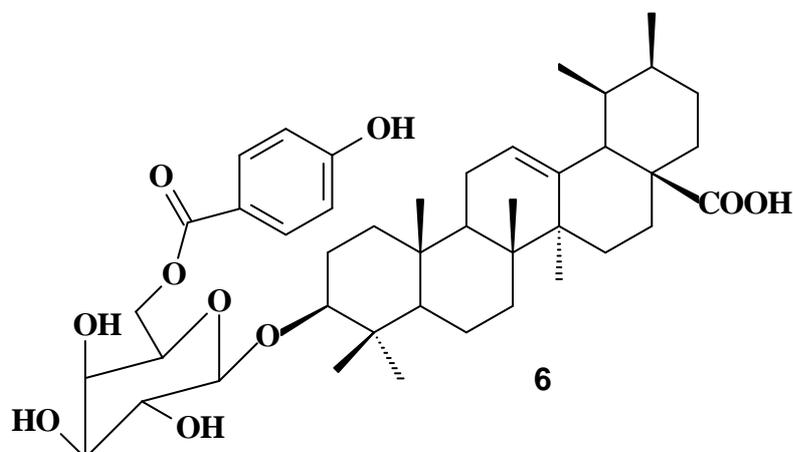


Figura 36: Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz DMSO- d_6) da mistura das substâncias **5a** e **5b**

5.1.6. Determinação estrutural da substância 6



Os espectros de RMN de ^{13}C de **6** utilizando a técnica DEPT (**Fig 40, pág 94, 40a, pág 95**) e espectro totalmente desacoplado (**Fig 39, pág 93**) permitiram reconhecer os sinais correspondentes a carbonos primários (7 CH_3), secundários (10 CH_2) e terciários (12 CH).

A presença do grupo carboxílico do ácido, do grupo hidroxila e da ligação dupla trissubstituída da substância natural são confirmados pelo espectro de IV (**Tabela 16, pag 90, Fig 37, pág 92**).

O espectro de RMN de ^1H a 200MHz (**Fig 38, pág 92**) de **6** mostrou sinal do hidrogênio carbinólico em δ_{H} 3,78 ppm como um multiplete. Sugerindo que o hidrogênio H-3 está na posição axial, conseqüentemente o grupo hidroxila está na posição equatorial (β). O espectro de RMN de ^1H exibiu também sinais de hidrogênios carbinólicos entre 3,00 ppm e 4,60 ppm e o sinal em 4,94 ppm que pode ser atribuído a uma unidade de açúcar. Além desses sinais o espectro de RMN de ^1H exibiu sinais (δ_{H} 6,53, 6,74 e 7,15) característico de um sistema aromático par substituído, os sinais estão atribuídos no espectro Fig 39. O espectro de RMN ^{13}C (BBD e DEPT) (**Fig 39, Pág 93, Fig 40, pág 94**) foram mais informativos. A baixa solubilidade e a presença de H_2O na amostra analisada diminuiu a resolução do RMN ^1H .

A análise dos espectro de RMN ^{13}C (**Fig 39, pág 93**) e DEPT (**Fig 40, pág 94**) revelaram os deslocamentos químicos dos C-12 (δ_{C} 126,6 ppm) e C-13 (δ_{C} 139,8 ppm) que estão de acordo com a dupla em 12(13). O grupo metila ligado no C-19 exerce efeito γ de proteção sobre o C-13 caracterizando a série urso-12-eno. O sinal em δ_{C} 183,78 ppm e os valores dos dos deslocamentos químicos dos carbonos vizinhos ao C-28 estão de acordo com a localização da carbonila nesta posição. A unidade de açúcar galactose foi proposta com base na comparação dos deslocamentos químicos de carbonos (δ_{C} 106,6, 72,1, 74,9, 71,8, 78,0, 65,4) com padrões da literatura (CÂNDIDO, L. F. O, 2000, VELANDIA, J. R., 2002 e BREITMAYER, 1989). O valor do deslocamento químico do CH_2 em 65,4 ppm permite sugerir a presença de um substituinte nesta posição caso contrário o CH_2 seria δ_{C} 61,8. Isto justifica localizar o grupo aromático ligado no C-6 por meio de ligação éster (**Tabela 17, pág 91**). Os sinais adicionais de deslocamento químico de carbonos na região

de aromático 130,0(x2), 115,9(x2) de CH e 156,0, 131,2 de carbonos quaternários aliado ao valor de δCO_2 em 174,2 permite propor a presença do p-hidroxibenzoil ligado certamente no C-6' da unidade de açúcar. O sinal em 91,2 de CH é compatível com o deslocamento químico do CH-3 da saponina triterpênica natural com o carboidrato nesta posição. A presença dos sinais adicionais em 90,4 (CH), 65,3 (CH₂), 174,2(CO₂) e 139,8 (C) permitiu sugerir mistura de duas saponinas que, certamente, formem diferentes unidades de açúcar. O espectro de massas deve confirmar a estrutura proposta.

Estes dados em comparação dos deslocamentos químicos de carbono 13 de **6** com modelo da literatura (**Tabela 17, pág 91**) permitiu sugerir a presença do ácido 3-O- β -D-galactopiranosil-6'-(p-hidroxibenzoil)-ursa-12-en-28-óico na amostra analisada.

TABELA 16:Dados de IV da substância **6**

$\nu^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$	Atribuições de 6
3416	Estiramento OH
2929	Estiramento CH (sp ³)
1639	Estiramento C=O
1517, 1452	Estiramento C=C
1230, 1170	Estiramento C-O

TABELA 17: Dados de RMN¹³C de **6**(200 MHz, MeOd-d₆em comparação com modelo da literatura (CÂNDIDO, L. F. O, 2000, VELANDIA, J. R., 2002 e BREITMAiER, 1987). .

C	δ_C 6	δ_C Ref	C	δ_C 6 (galactose)	δ_C Ref
1	38,3	38,8	1'	106,6	106,5
2	26,9	27,3	2'	72,1	71,9
3	90,4	78,8	3'	74,9	75,2
4	46,0	38,8	4'	71,8	71,9
5	56,9	55,5	5'	78,0	77,5
6	19,3	18,4	6'	65,4	62,5
7	31,9	33,0	C	δ_C 6 (p-hidroxibenzoil)	δ_C Ref
8	40,7	39,6	1''	131,2	139,8
9	45,9	47,5	2'',6''	130,0	129,2
10	37,9	37,0	4''	156,8	152,3
11	25,1	23,3	3'',5''	115,8	115,4
12	126,5	125,5	7''	174,1	167,7
13	139,8	138,0			
14	43,2	42,0			
15	29,2	28,2			
16	25,1	24,3			
17	46,0	48,1			
18	54,4	52,8			
19	40,5	39,1			
20	40,1	38,8			
21	31,9	30,7			
22	34,4	36,7			
23	28,4	28,2			
24	16,2	15,5			
25	17,1	15,7			
26	18,0	16,9			
27	24,5	23,6			
28	183,9	177,7			
29	18,1	16,9			
30	21,7	21,2			
OCH ₃					
MeC=O					

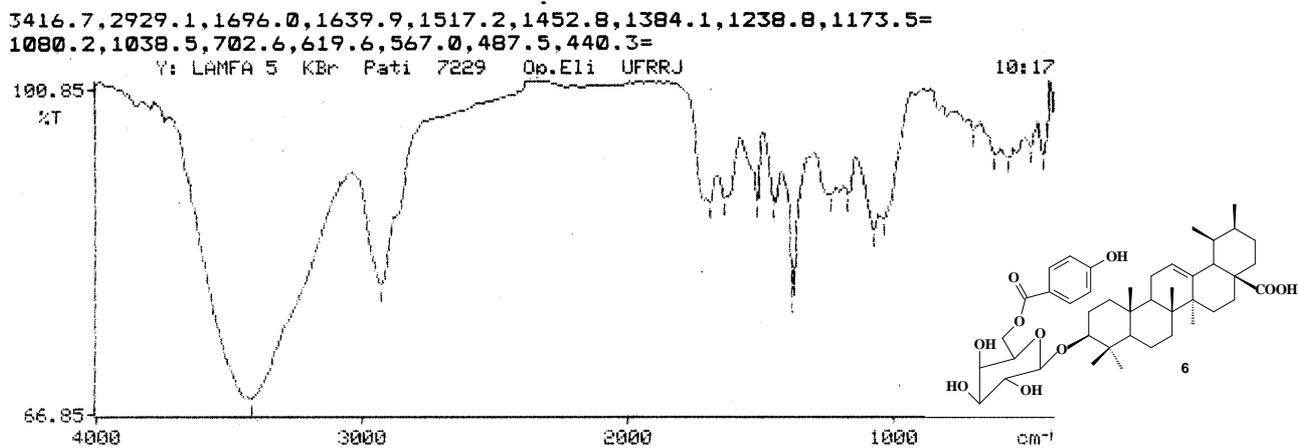


Figura 37: Espectro no IV da substância 6

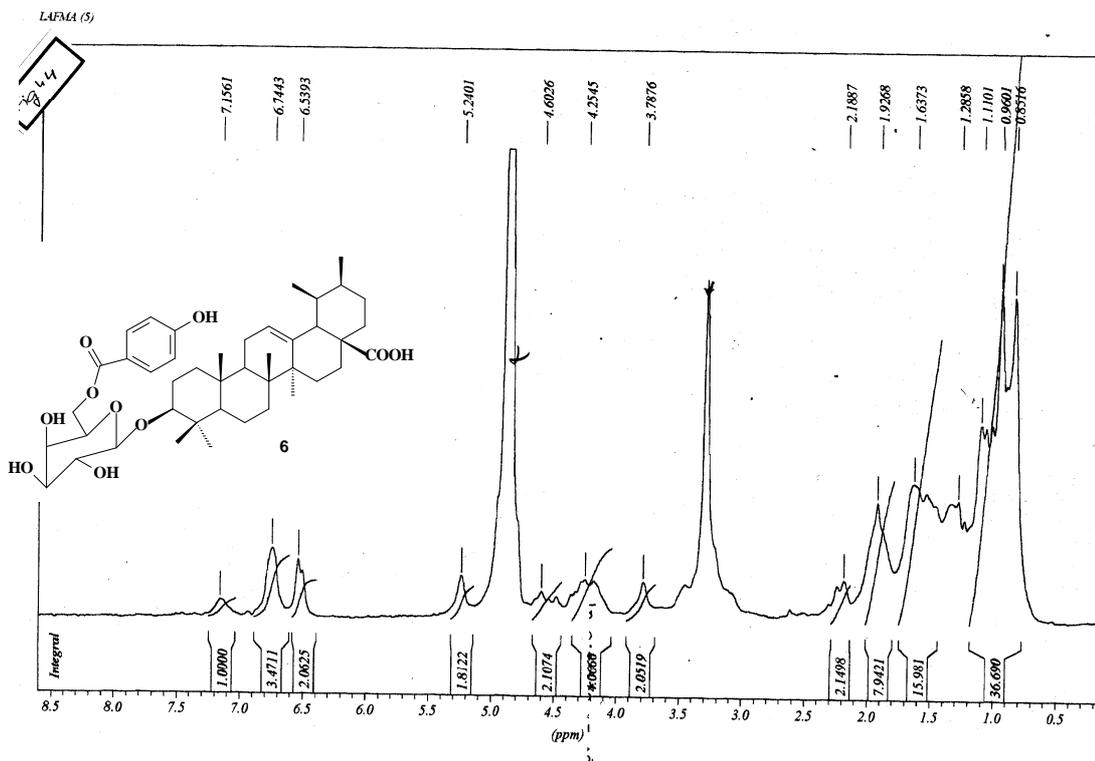


Figura 38: Espectro de RMN ¹H (200MHz, MeOD-d₆) da substância 6

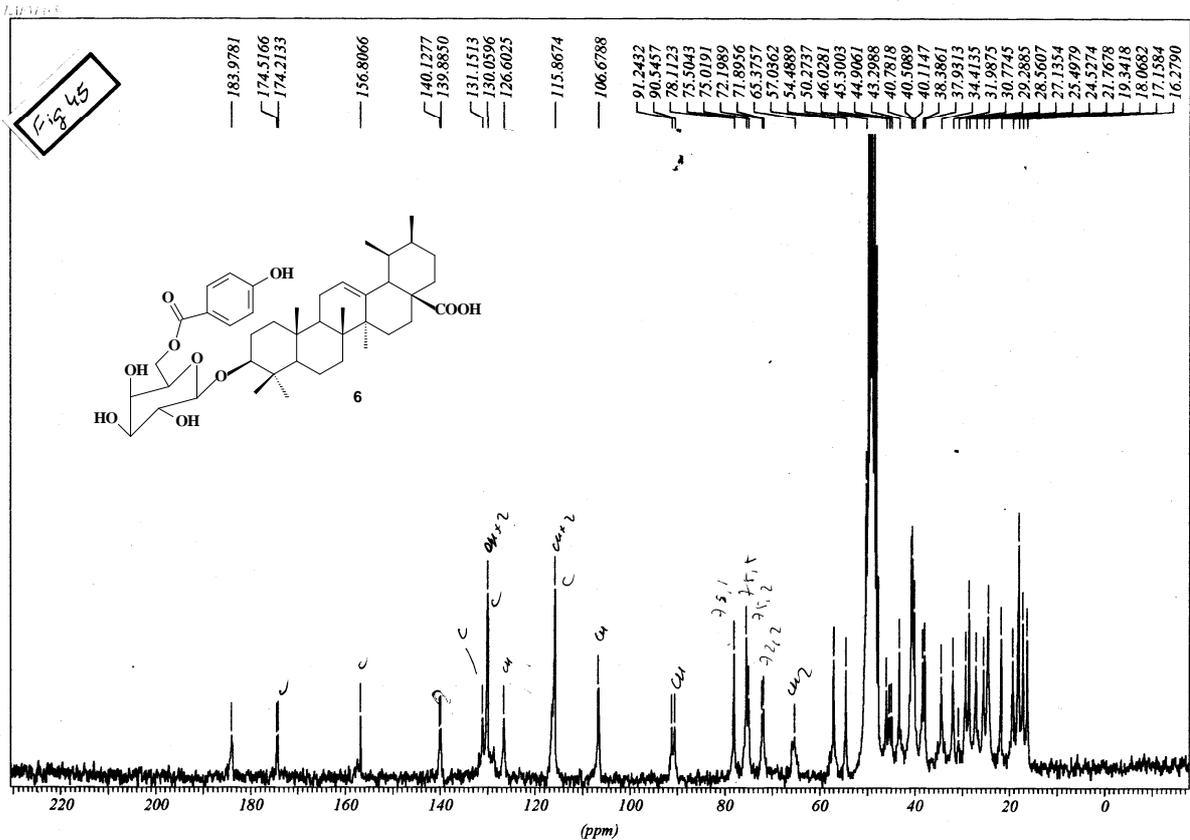


Figura 39: Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, MeOD- d_6) da substância 6

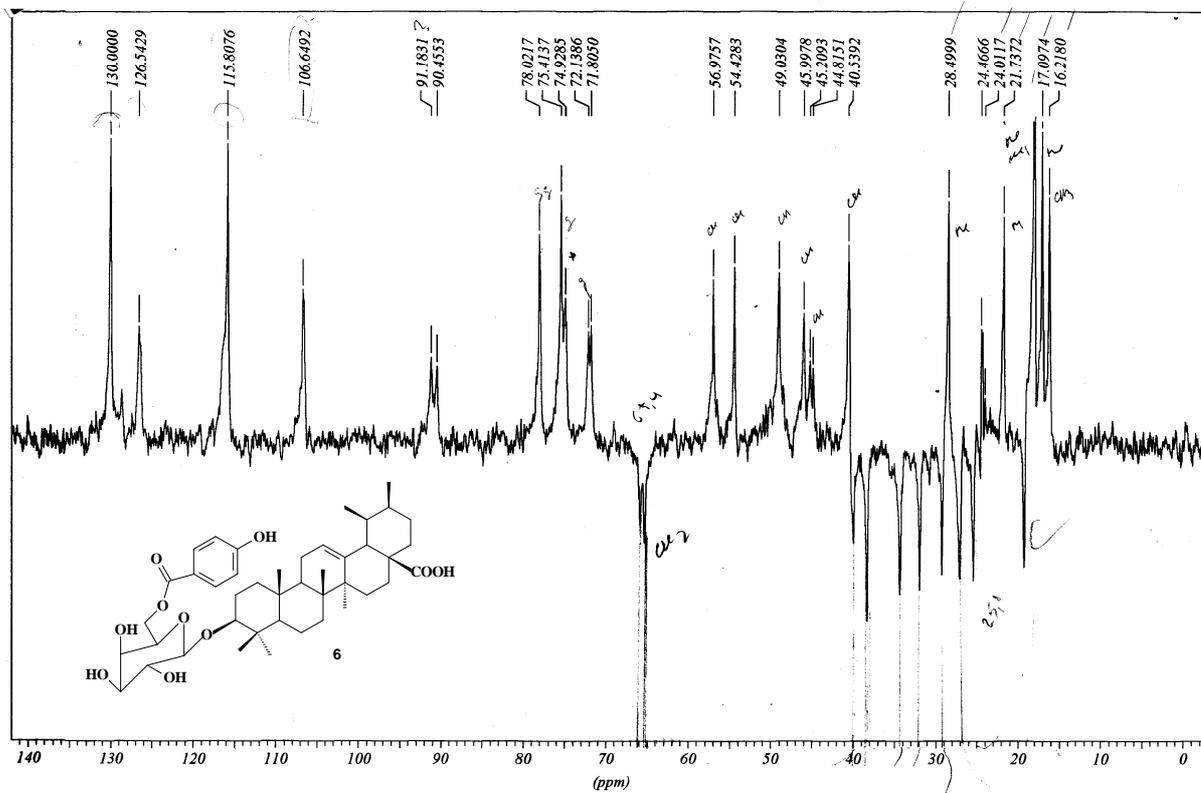


Figura 40: Espectro de RMN ^{13}C DEPT (θ : 135° 50,3 MHz, MeOD- d_6) da substância **6**

L83145

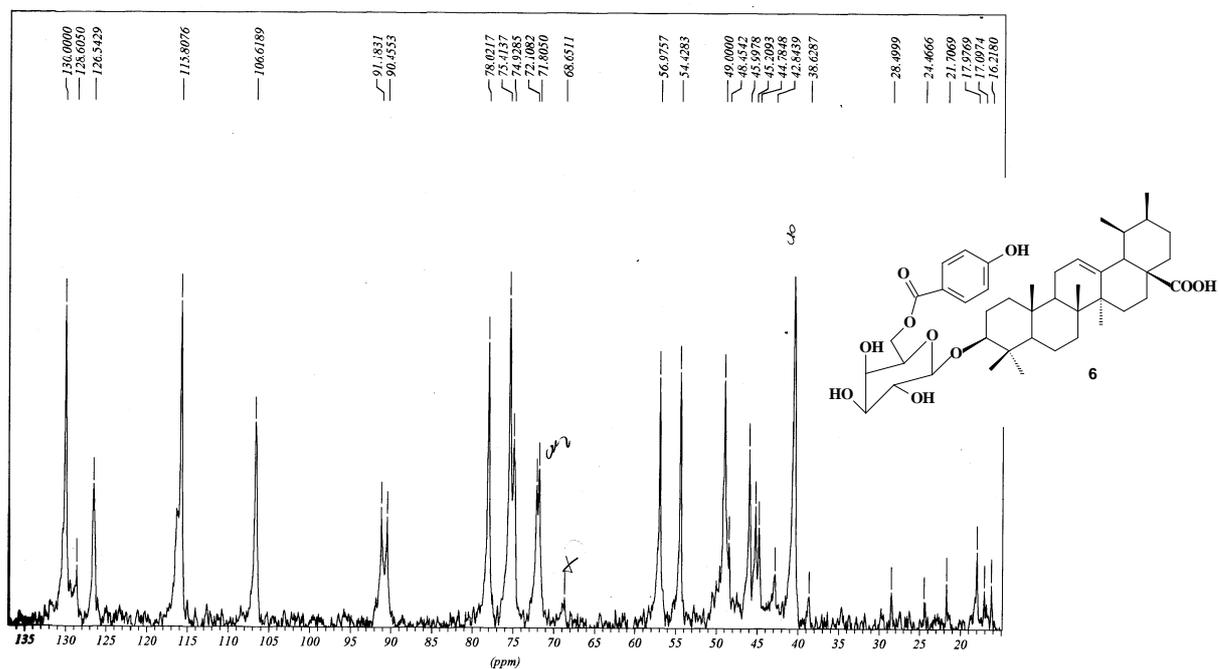
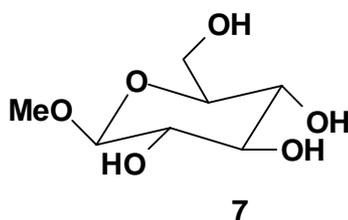


Figura 40 a: Amplicação do espectro de RMN ^{13}C DEPT (θ : 90° 50,3 MHz, MeOD- d_6) da substância **6**

5.1.7. Determinação estrutural da substância 7



A presença dos grupos hidroxilas foram confirmados pelo espectro de IV (**Tabela 18** pág 96 , **Fig 41**, pág 97).

O espectro de RMN de ^1H a 200MHz (**Fig 42**, pág 97 de 7 mostrou sinais de hidrogênios carbinólicos entre 3,75 ppm e 4,60 ppm, sugerindo tratar-se de um carboidrato. Além desses sinais o espectro de RMN de ^1H exibiu sinal (δ_{H} 4,70) característico de um hidrogênio anomérico. (**Tabela 19**, pág 96)

Os espectros de RMN de ^{13}C de 7 utilizando a técnica DEPT (**Fig 44**, pág 98) e espectro totalmente desacoplado (**Fig 43**, pág 98) permitiram reconhecer os sinais correspondentes a carbonos primários (1 CH_3), secundários (1 CH_2) e terciários (5 CH). O deslocamento químico de C-1 (δ_{C} 105,1 ppm) presente no espectro de RMN ^{13}C (PND e DEPT) está de acordo com um carbono anomérico C-1. Os demais sinais em δ_{C} 62,4, 71,2, 74,7, 77,5, 77,6 CH são compatíveis com os valores da β -D glicose. O sinal do grupo metoxila em δ_{C} 57,2 sugeriu a glicose metilada no C-1. estes dados em comparação com dados dos deslocamentos químicos de carbono 13 registrados na literatura⁵ permitiu identificar a 1 β -D-metil-glicose para 7 .(**Tabela 19**, pág 96).

TABELA 18:Dados no IV da substância 7

$\nu^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$	Atribuições de 7
3416	Estiramento OH
2929	Estiramento CH (sp^3)
1696	Estiramento C=O

TABELA 19: Dados de RMN ^{13}C de 7(200 MHz, DMSO- d_6) em comparação com modelo da literatura (BREITMAIER, 1987).

C	δ_{C} 7	δ_{C} Ref
1	105,1	103,4
2	73,6	73,4
3	74,7	75,2
4	71,2	70,0
5	77,6	75,2
6	62,8	61,4
OCH_3	57,2	57,5

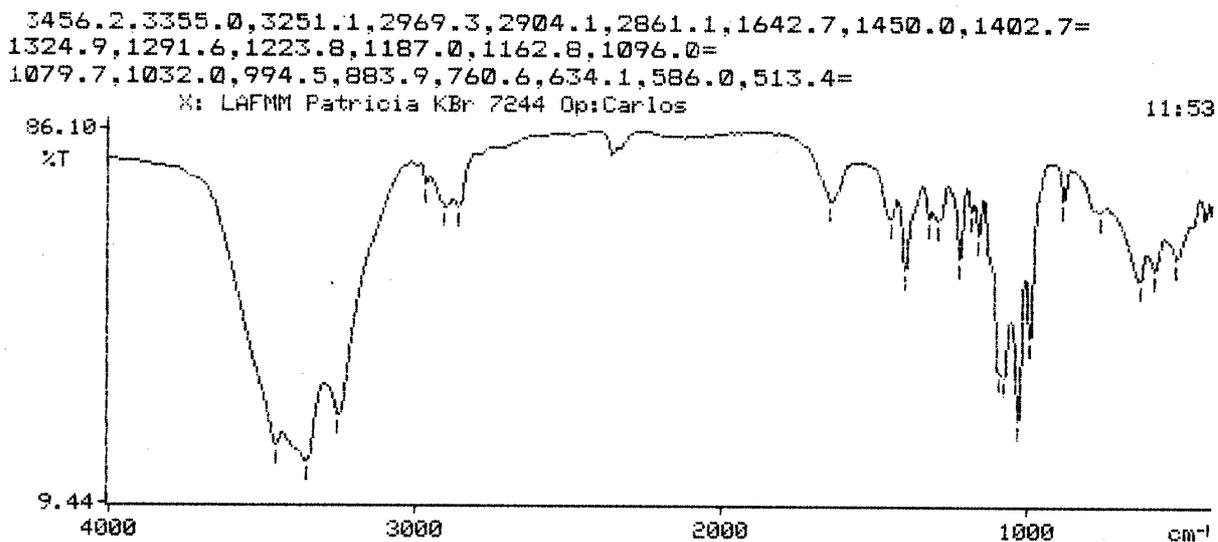


Figura 41: Espectro no IV da substância 7

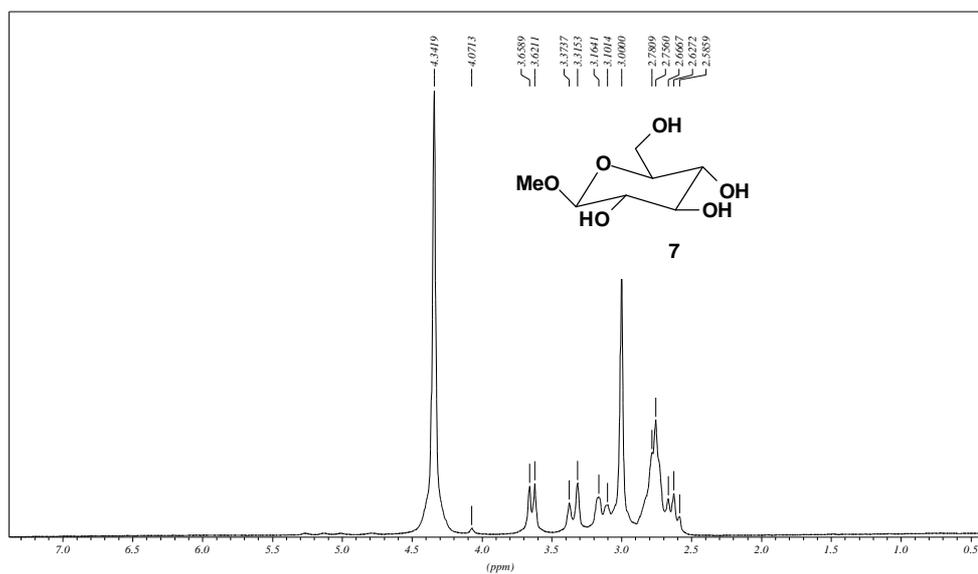


Figura 42: Espectro de RMN ^1H (200MHz, MeOD- d_6) da substância 7

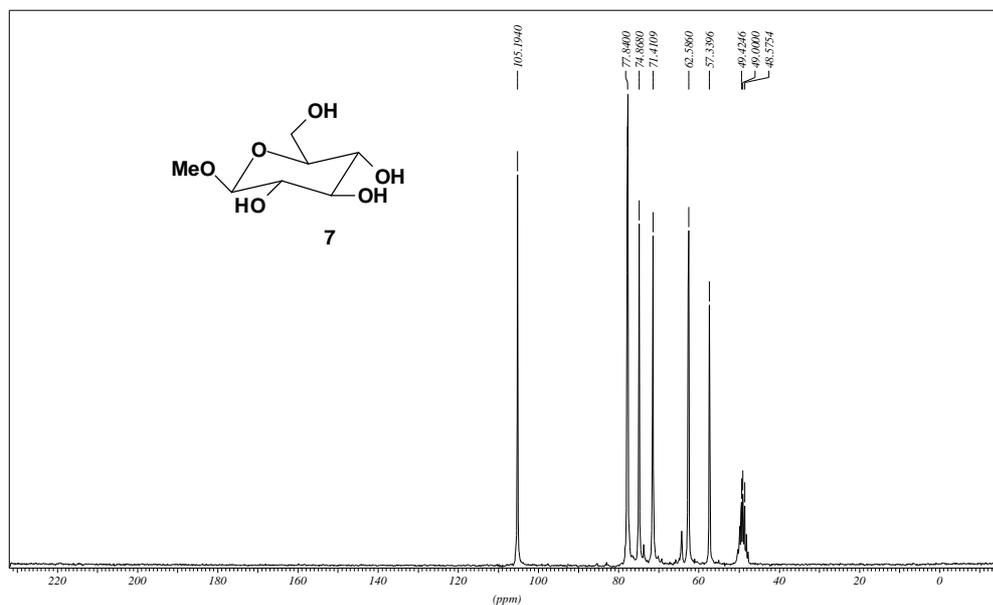
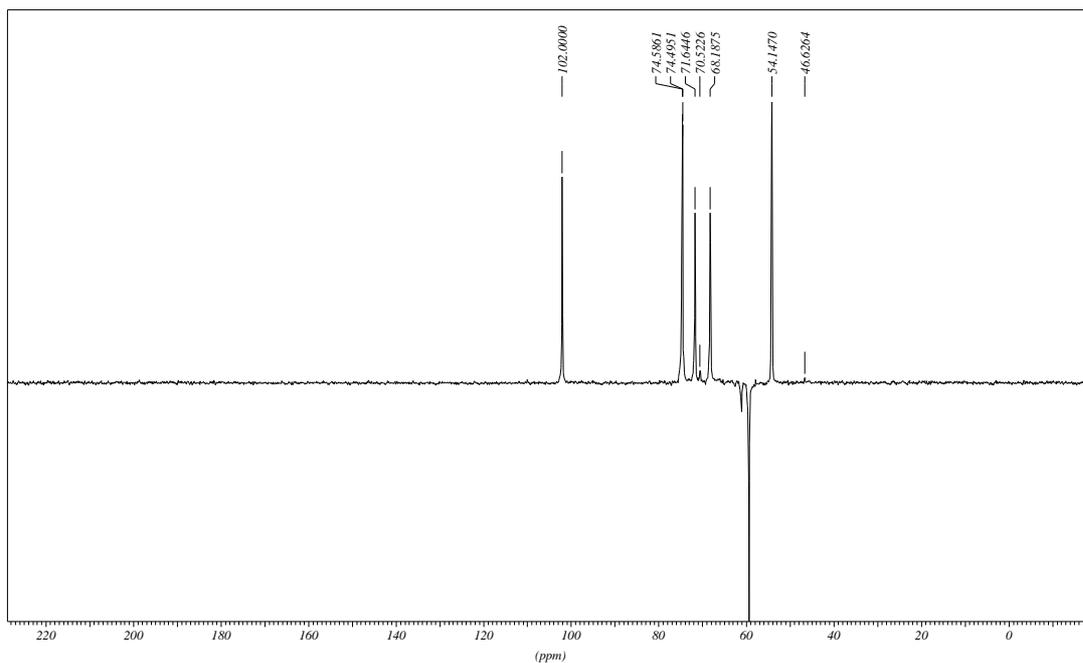
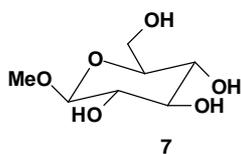
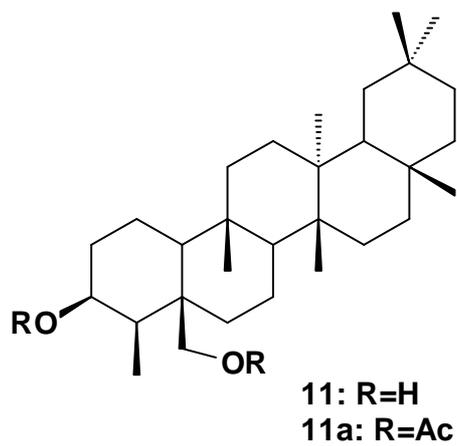
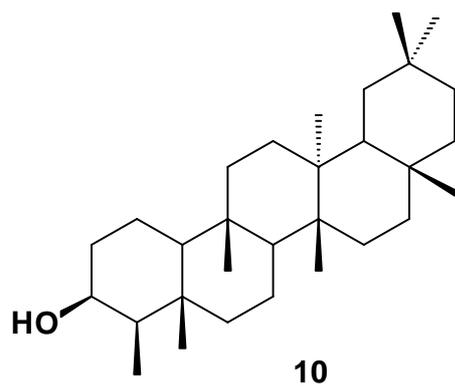
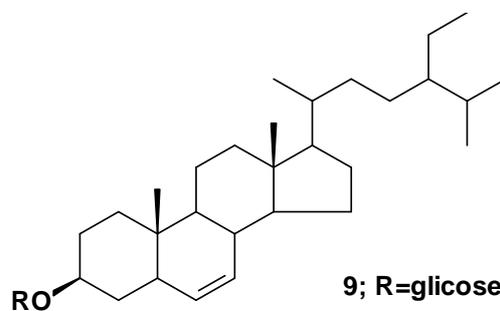
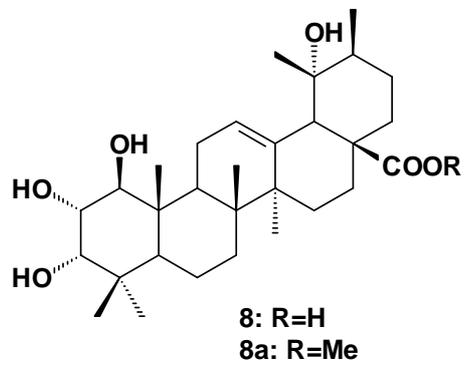


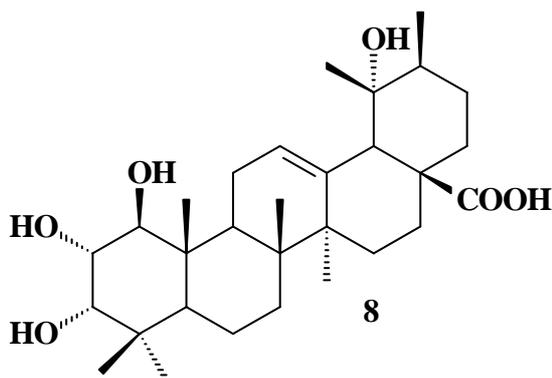
Figura 43: Espectro de RMN ^{13}C DEPT (θ : 135° 50,3 MHz, MeOD- d_6) da substância 7



5.2. Identificação Estrutural dos Constituintes Isolados de *E. longipes*



5.2.1. Determinação estrutural da substância 8

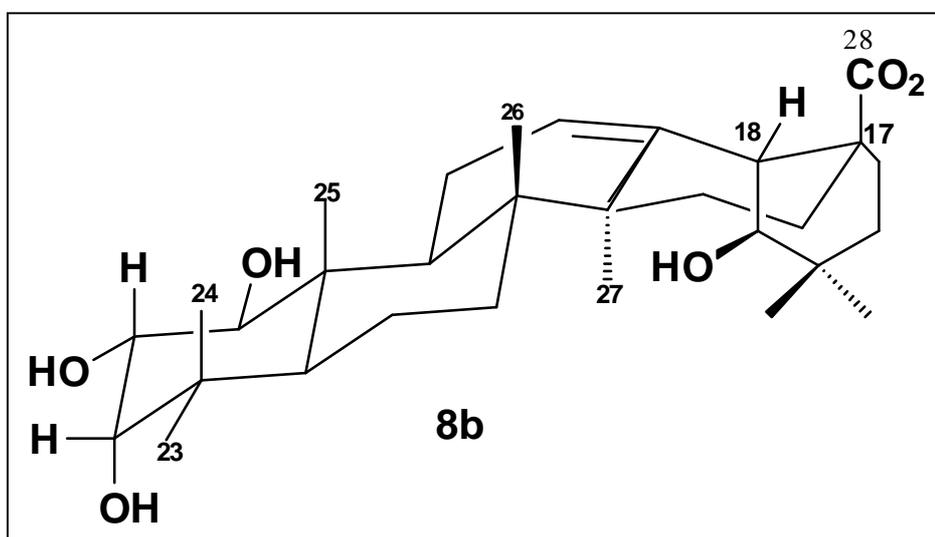


A presença do grupo carboxílico do ácido, álcool e cadeia carbônica podem ser sugeridos pelo espectro de IV (Tabela 21, Fig 45 , pág 102 e 103).

O espectro de RMN de ¹H a 100MHz (Fig 46, pág 103, Fig 46a-46c, pág 104-105) de 8 mostrou sinais de hidrogênio em δ_H 3,39 (d, 8,4Hz, H-1), 3,63 (dd, J=8,4 e 3,2Hz, H-2) e 3,45 (d, J=3,2Hz, H-1), além de um singleto largo em δ_H 5,20 atribuído ao H-12. (Tabela 21, Fig 46-46c, pág 103-105). O espectro 2D ¹Hx¹H-COSY mostra sinais de acoplamento entre o dd (3,62) e dois sinais dubletos (3,93 e 3,45). Isto mostra que estes hidrogênios estão ligados a carbonos vizinhos (Fig 47, pág 106).

Os espectros de RMN de ¹³C de 8 utilizando a técnica DEPT (Fig 49, pág 111) e espectro totalmente desacoplado (Fig 48, pág 108, 48a-48b, pág 109, 110) permitiram reconhecer os sinais correspondentes a carbonos primários (7 CH₃), secundários (7 CH₂) e terciários (7CH). Os deslocamentos químicos de C-12 (δ_C 129,3 ppm) e C-13 (δ_C 137,3 ppm) estão de acordo com a dupla em 12(13) característico do esqueleto do ursano.). A presença dos grupos hidroxilas em C-1, C-2 e C-3 foram confirmados pelos sinais em δ_C 79,9 (C-1), 70,4 (C-2) e 79,3 (C-3) característicos de CH carbinólicos. Os sinais em δ_C 180,0 e 71,2 ppm estão coerentes com a localização da carbonila no C-28 e uma hidroxila no C-19. Os experimentos 2D [¹H x ¹H COSY (Fig 47, pág 106), HMBC (Fig 50, pág 112) e NOESY (Fig 51-51a, pág 113) contribuíram para confirmar a estrutura da substância e fazer as atribuições dos deslocamentos químicos dos carbonos e hidrogênios. (Tabela 21, pág 101). Estes dados foram comparados com os deslocamentos químicos de hidrogênio com modelo da literatura (COSTA, P.M., 2003) (Tabela 21, pág 102). O M⁺ no espectro de massas 504 (10%) além dos picos em m/z 264 (45%), 264 (35%), 246(15%), 201 (45%), 173 (20%) e 146 (100%), (Esquema 15, pág 114, Fig 52, pág 113) permitiu confirmar a proposta do ácido 1 β ,2 α ,3 α ,19 β - tetrahidroxi-ursa-12-en-28-óico para 8. Os valores das constantes de acoplamento e dos deslocamentos químicos de carbono-13 e os

sinais de interações espaciais ^1H , ^1H detectados no experimento 2D permitiram propor a estereoquímica relativa **8b** para **8**.



Este triterpeno está registrado na literatura e foi isolado de *Rosa sterilis* (MAHATO S. B., 1994). A ocorrência desta substância em *E. longipes* foi divulgada na literatura (COSTA, P. M., 2003)

TABELA 20:Dados de IV da substância **8**

$\nu^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$	Atribuições de 8
3416	Estiramento OH
2929	Estiramento CH (sp^3)
1696	Estiramento C=O
1173	Deformação C-O

TABELA 21: Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (400 e 100 MHz, Metanol- d_6) de **8** e em comparação com modelo da literatura (MAHATO, S. B., 1994 e COSTA, P. M., 2003).

C	$\delta_{\text{C } 8}$ (MeOD- d_6)	HMBC (8)	NOESY	$^1\text{H}_x^1\text{H-COSY}$	Lit Piridina- d_6
1	79,9	3,39(d, J=8,4Hz)	H-5, H-9	H-2	4,11(d, J=9,5Hz)
2	70,4	3,63(dd, J=8,4 e 3,2 Hz)	H-24, H-25	H-1 e H-3	4,15(dd, J= 9,5 e 2,8Hz)
3	79,3	3,45(d, J=3,2Hz)	H-24, H-23	H-2	3,869d, J=2,8Hz)
4	41,8				
5	48,9	1,3(m)			
6	19,7				
7	34,1				
8	42,4				
9	49,1	2,1(m)			2,38(dd, J=11,0 e 6,6Hz)
10	42,0				
11	27,0		H-25		
12	129,3	5,20(sl)	H-18		5,70(t, J=3,4Hz)
13	137,3				
14	44,3				
15	28,2				
16	26,5				
17	48,2				
18	54,5	2,47(s)	H-29		3,05 (s)
19	72,2				
20	42,9				
21	29,6				
22	38,9				
23	29,0	0,96(s)	H-3		1,279s)
24	22,3	0,87(s)	H-2		0,94(s)
25	12,9	1,00(s)	H-2		1,25(s)
26	17,7	0,78(s)			1,22(s)
27	24,9	1,34(s)			1,68(s)
28	180,0				
29	27,0	1,18			1,42(s)
30	16,5	0,92(d, J=6,6Hz)			1,11(s)

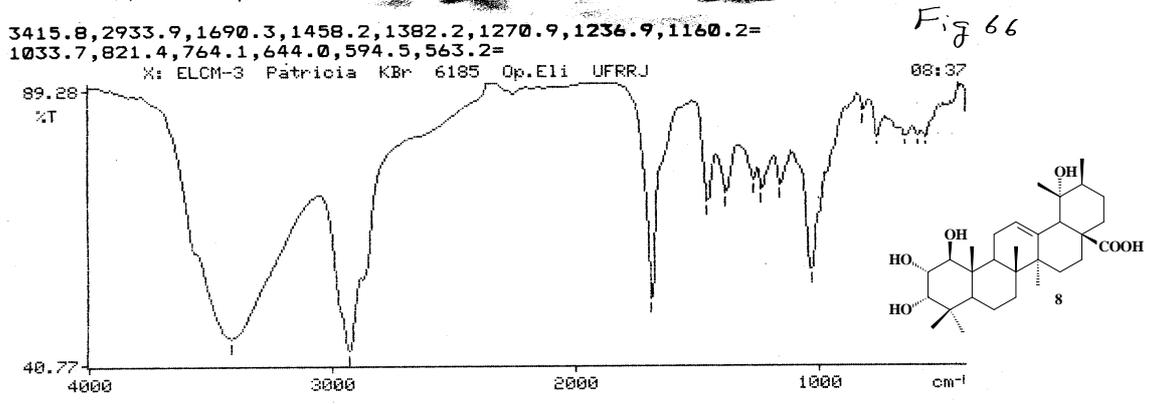


Figura 45: Espectro no IV da substância 8

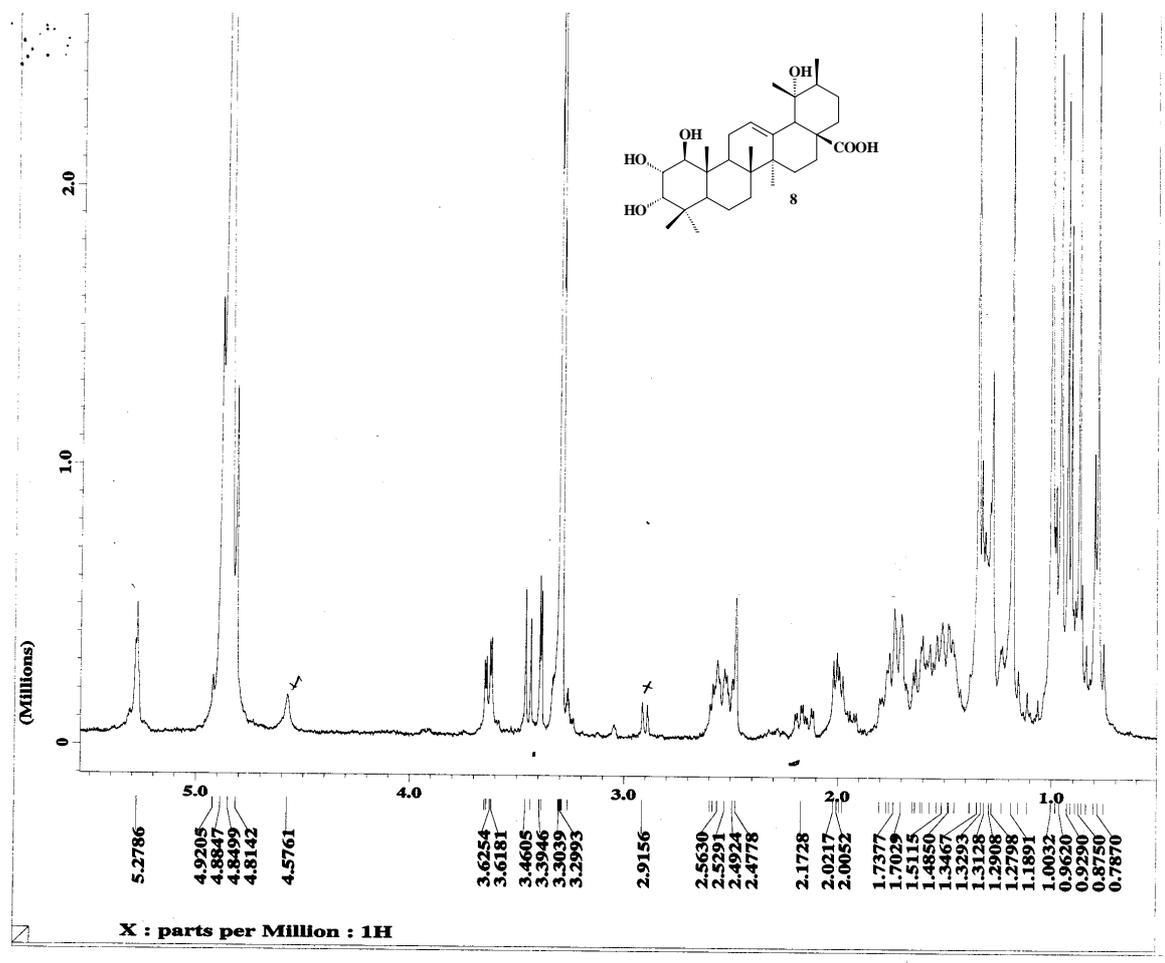


Figura 46: Espectro de RMN 1H (400MHz - MeOD d 1) da

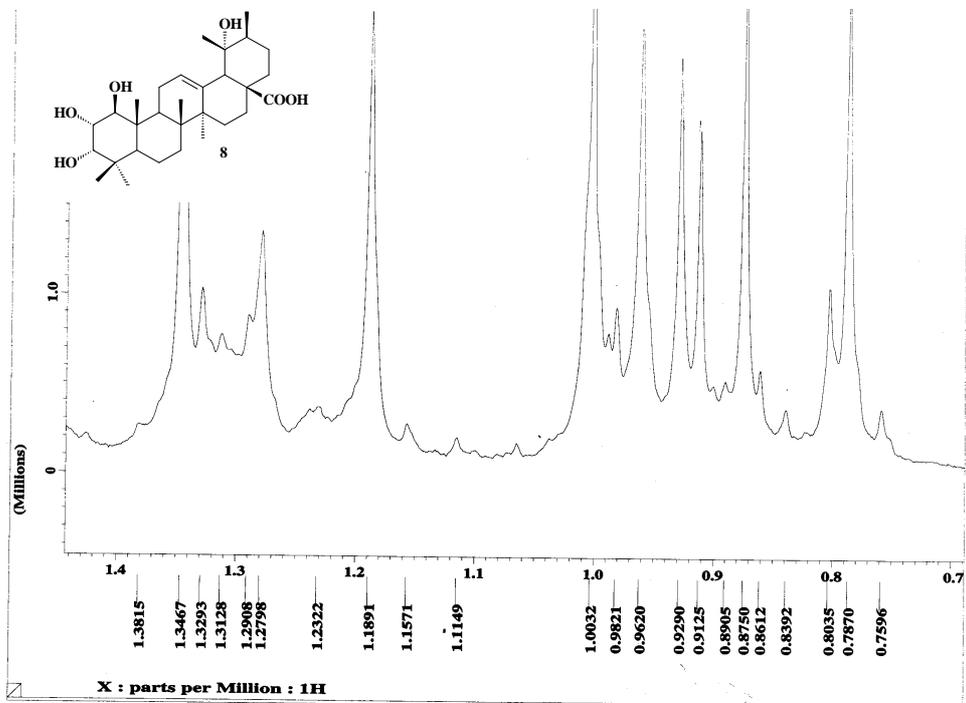


Figura 46a: Ampliação do espectro de RMN ^1H (400MHz, MeOD- d_6)

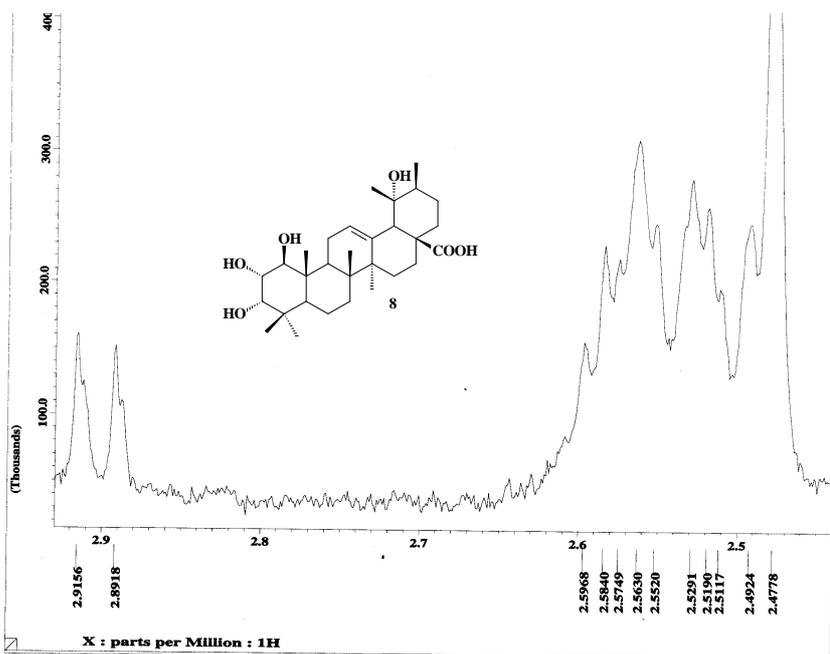


Figura 46b: Ampliação do espectro de RMN ^1H (400MHz, MeOD- d_6)da

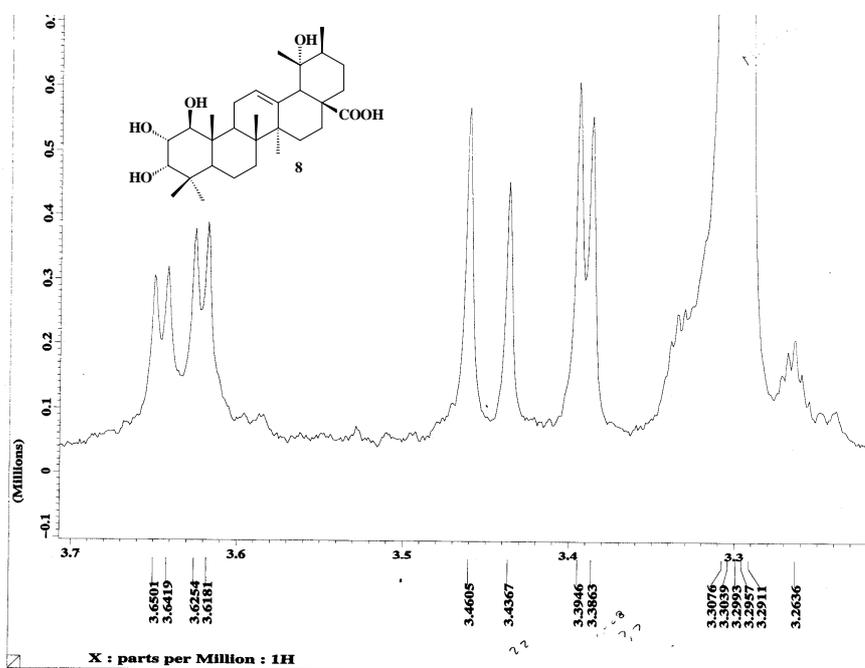


Figura 46c: Ampliação do espectro de RMN ^1H (400MHz,

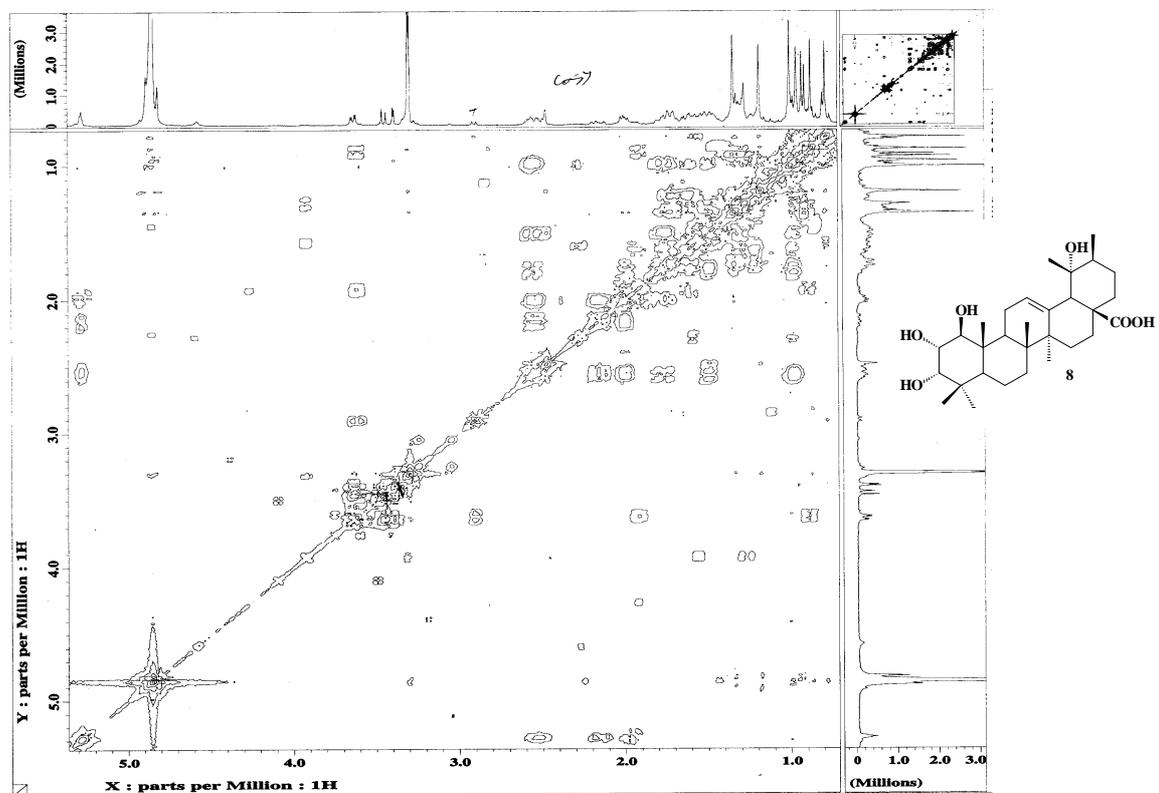


FIGURE 47. Expansion of 1H-1H COSY (400MHz, MeOD, 1) of 8.

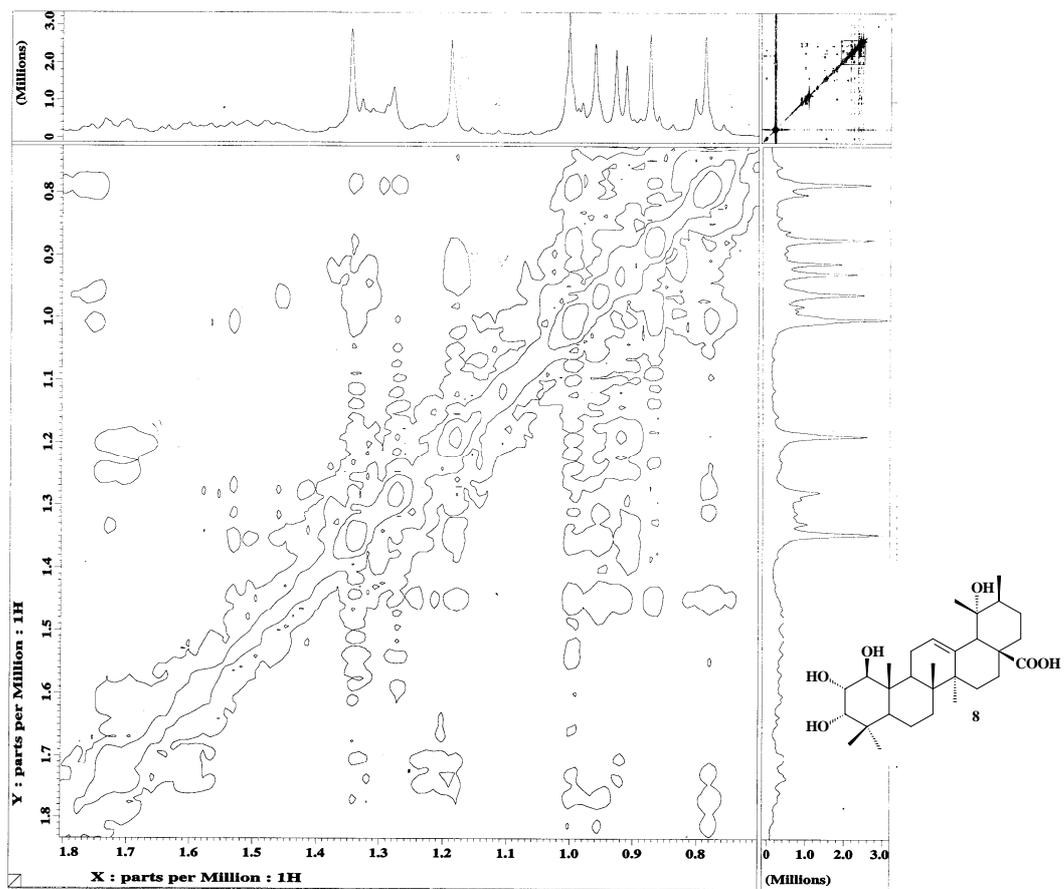


Figura 47: Aplicação do espectro 2D ¹H-¹H COSY de

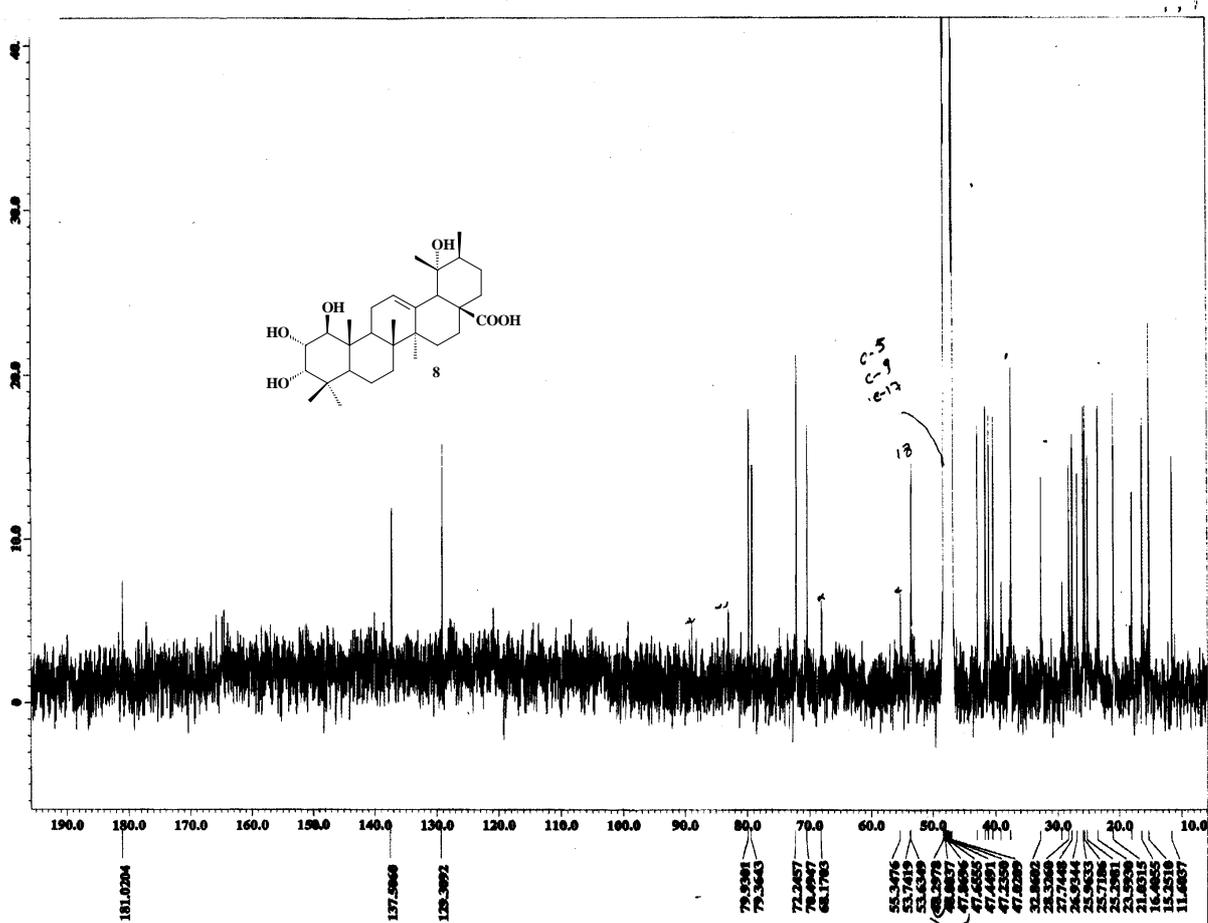


Figure 49: Spectrum de DMF ^{13}C (200 MHz, MOD 1) de

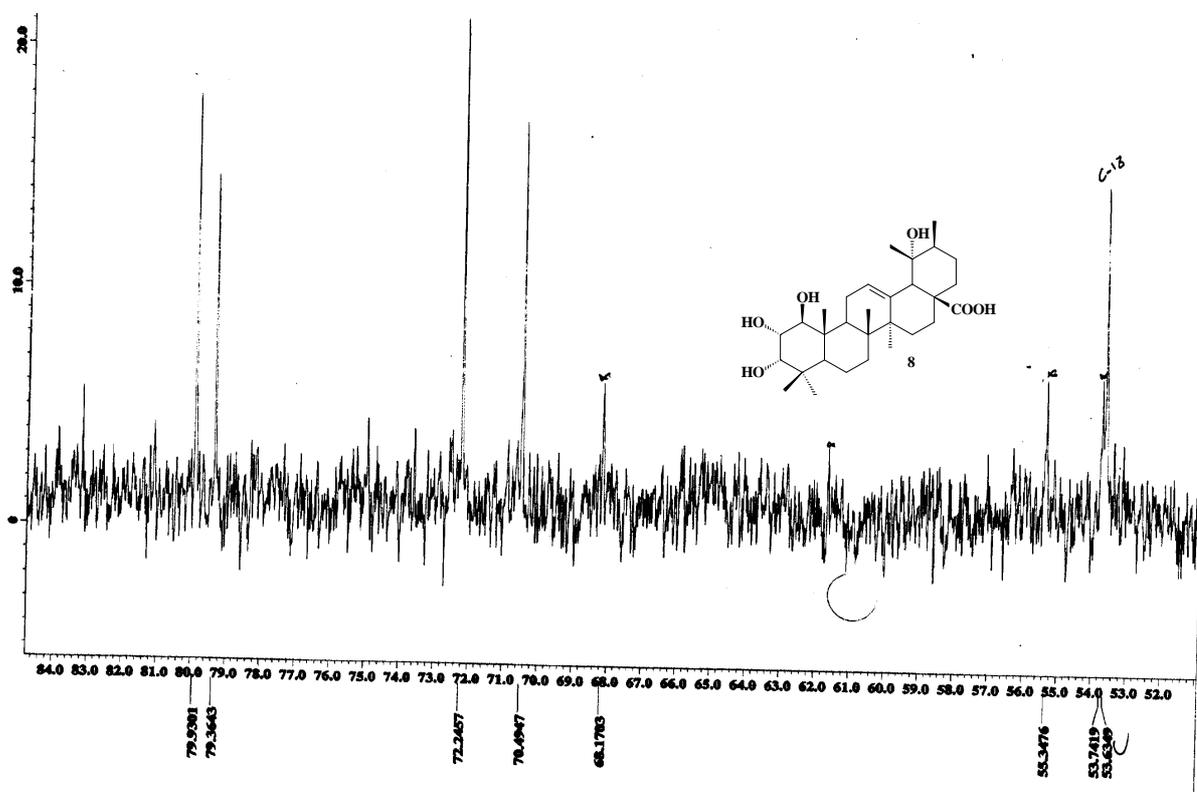


Figura 48a: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (200MHz, $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) de 1.

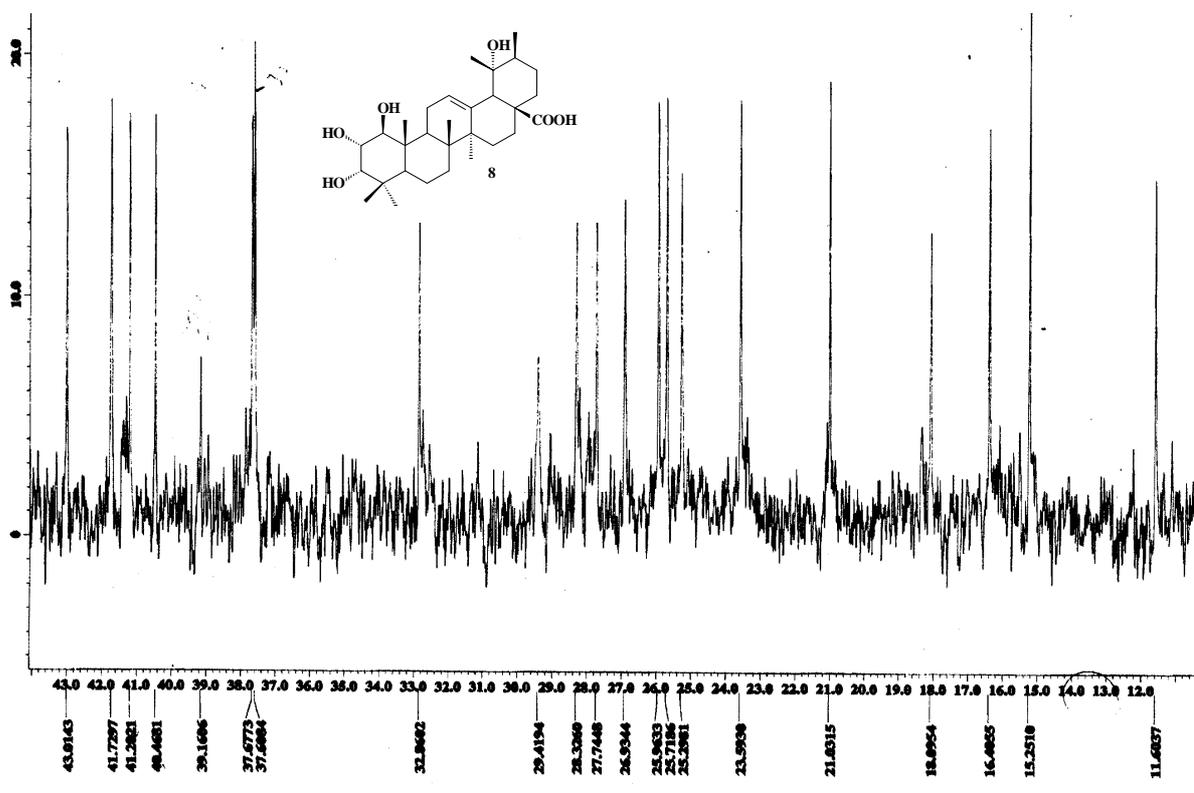


Figura 48b: Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (200MHz,

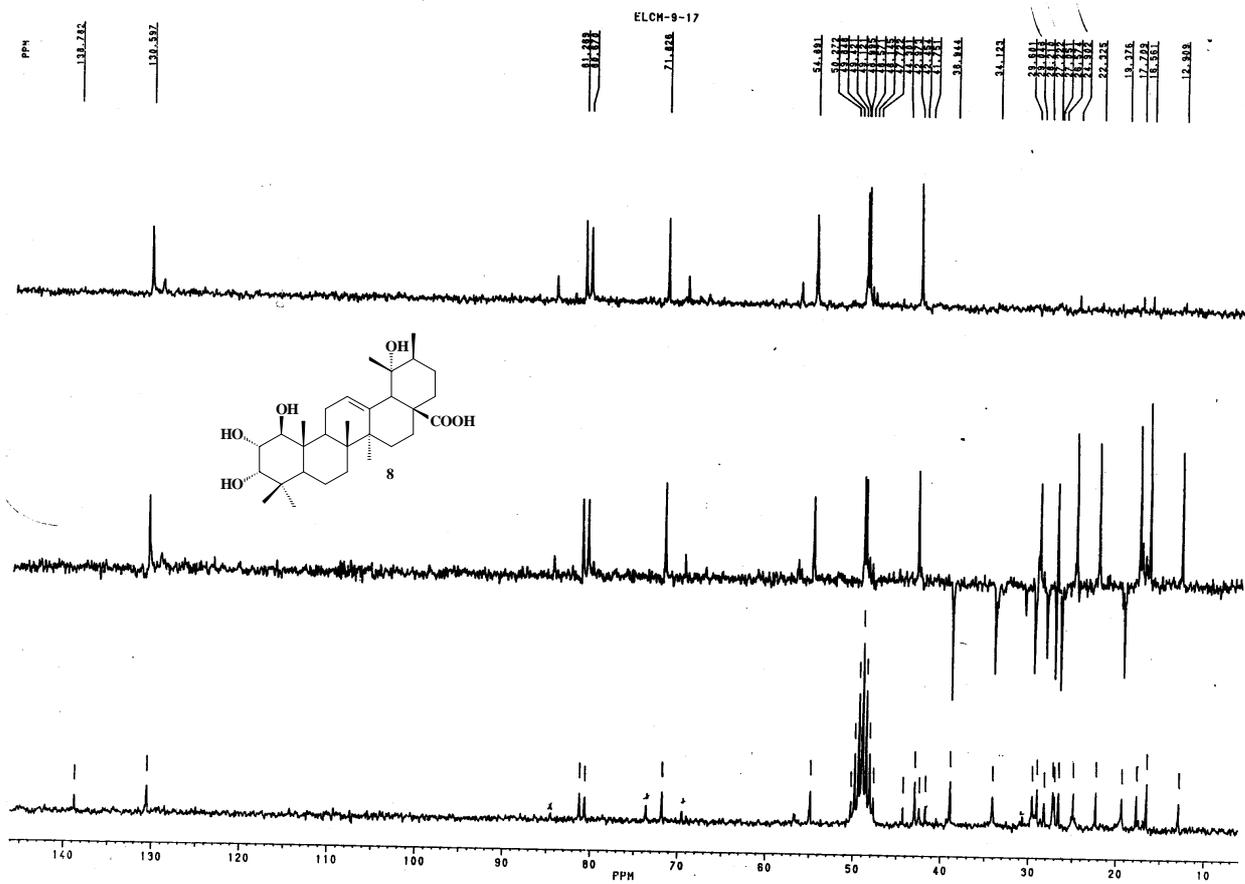


Figure 40: Expansion of DMN ^{13}C DEPT (90MHz, MeOD- d_4) of

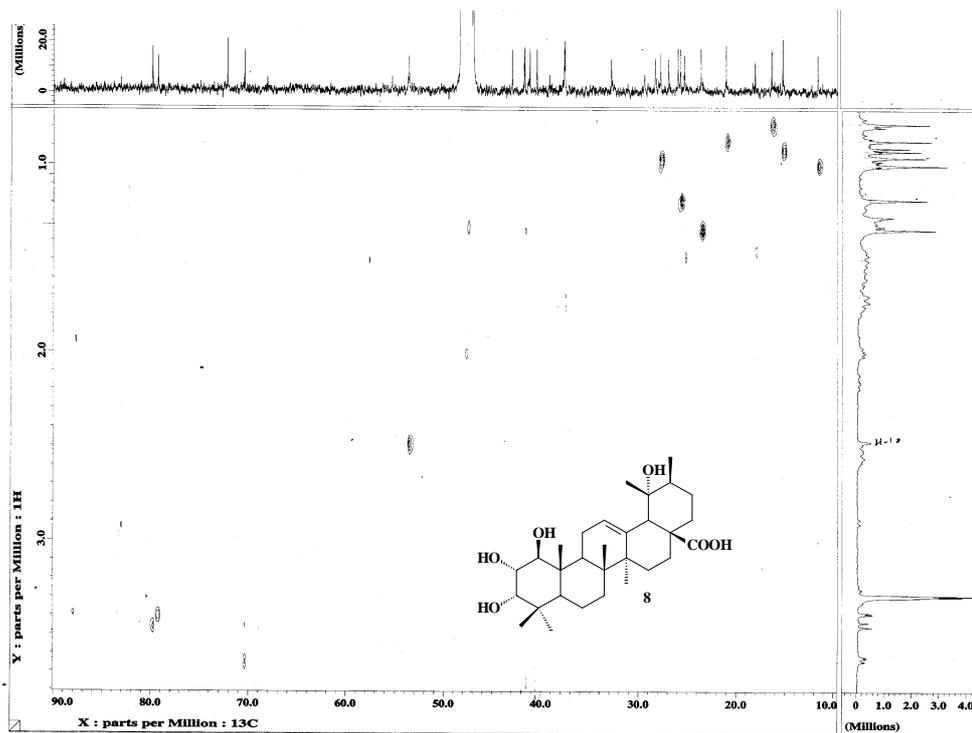


Figure 50: Espectre 2D HMQC de substance 8

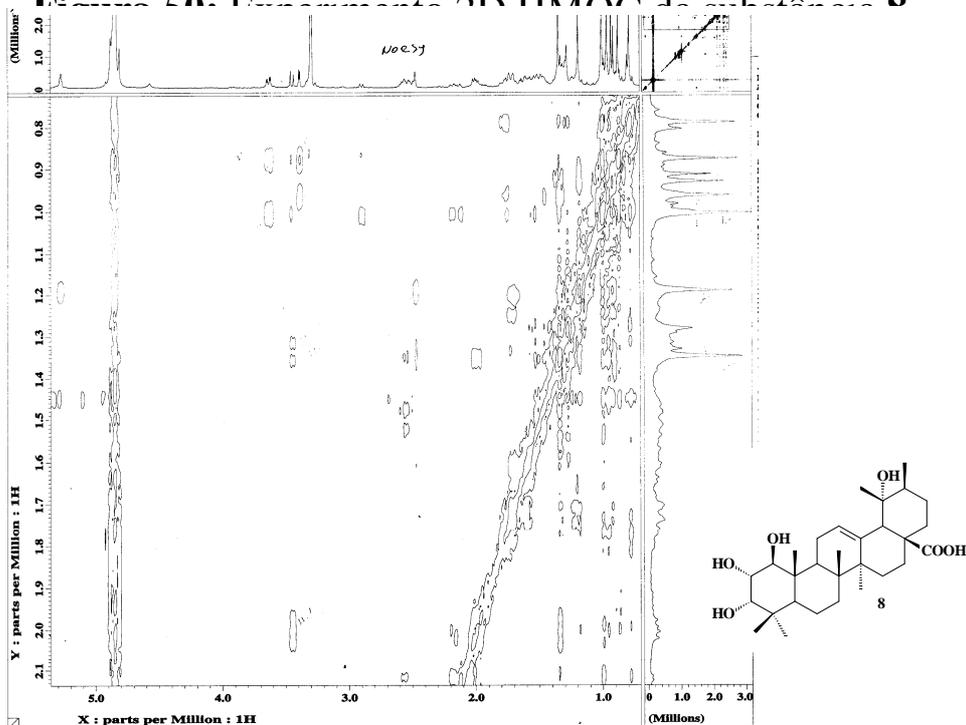


Figure 51: Espectre 2D NOESY de substance 8

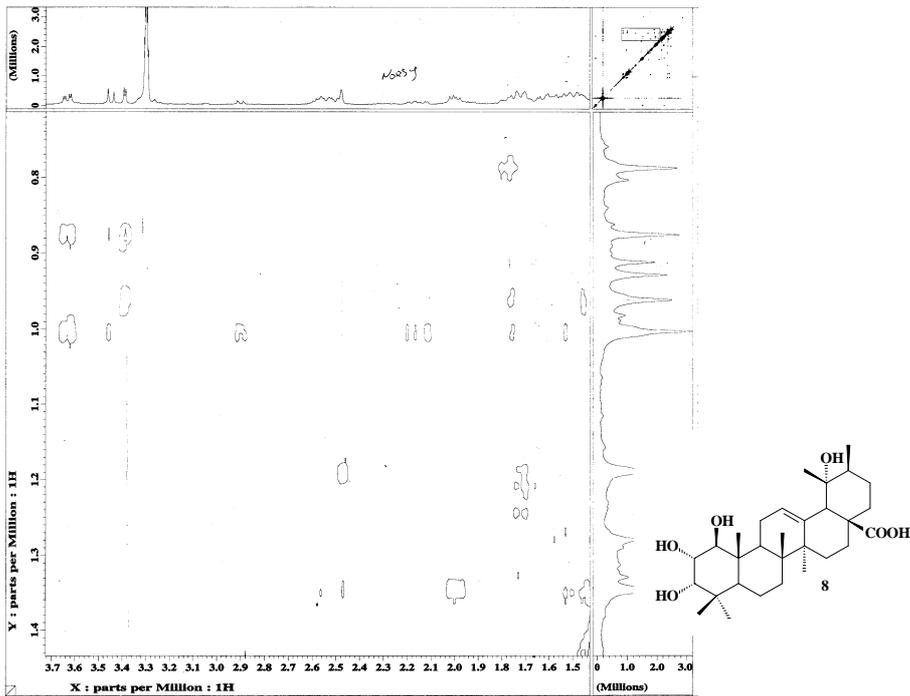


Figura 51: Ampliação de correlações 2D NOESY de substância 8

Scan # : (2084 - 2440) B.G. Scan # : (1409 - 1676)
 Mass Peak # : 265 Ret. Time : (20.358 - 23.325)
 Base Peak : 486.20 (2638)

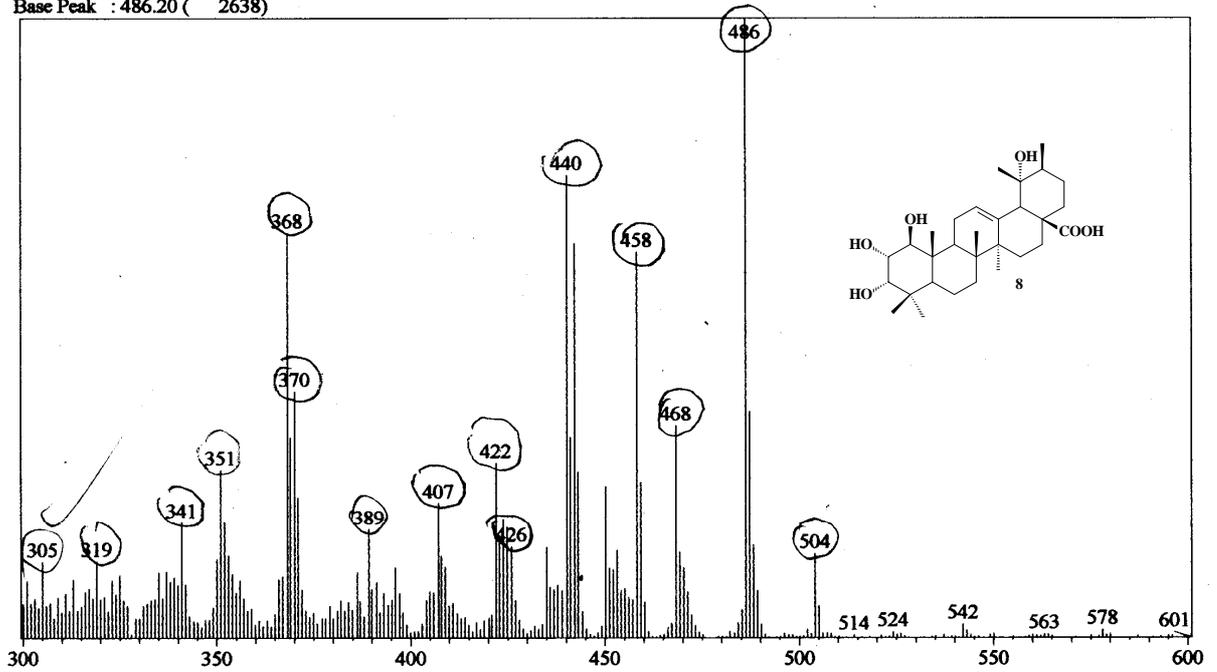
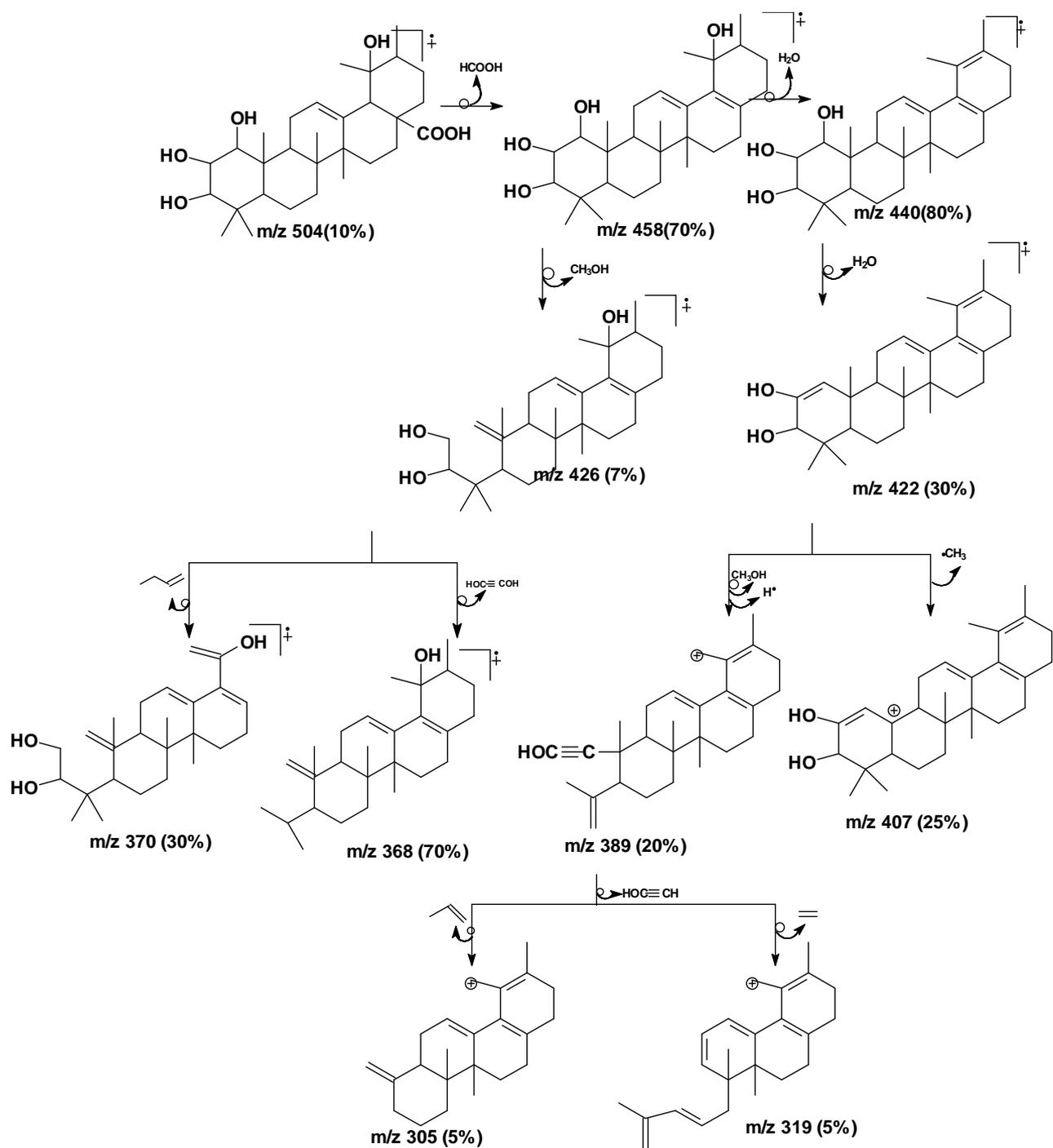
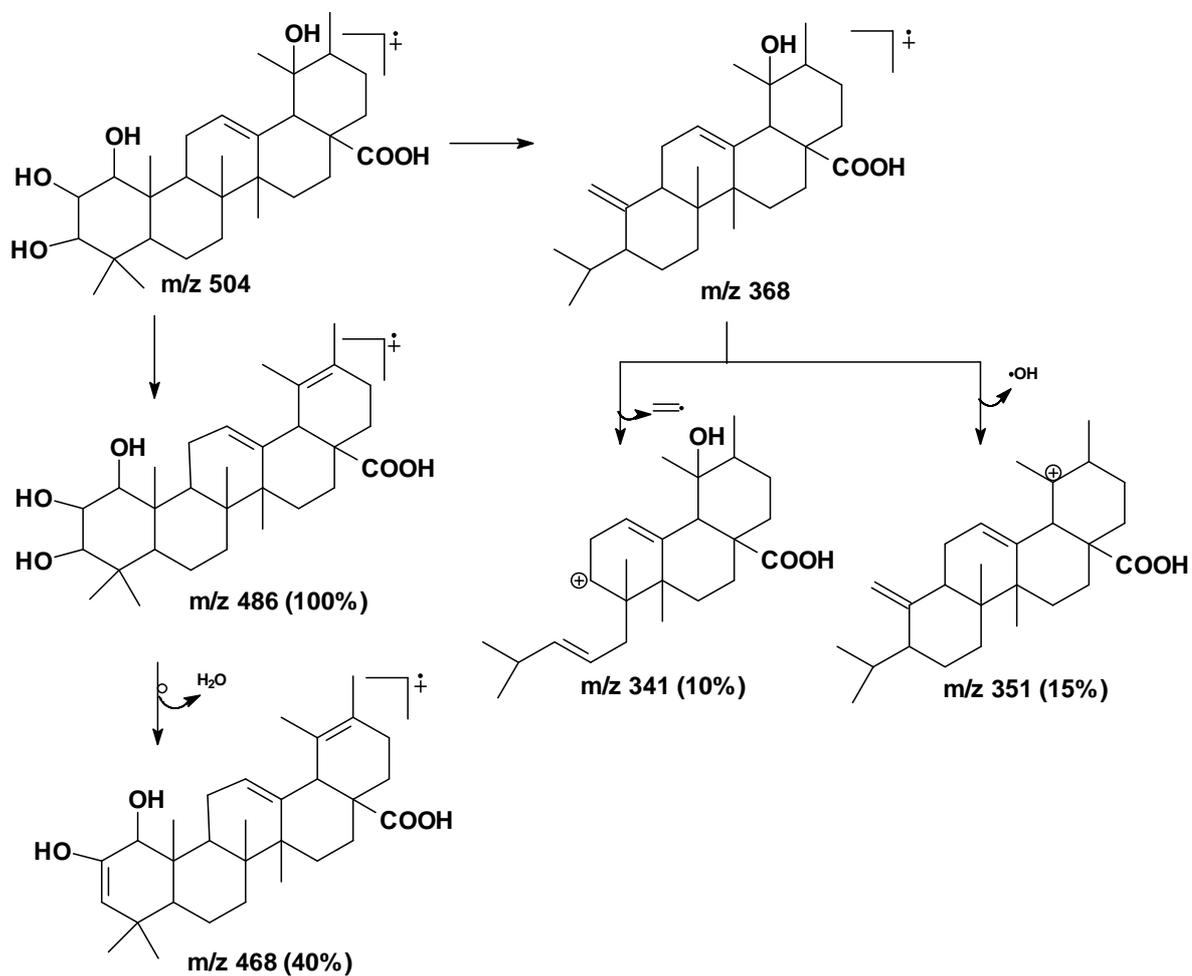


Figura 52: Espectro de massas de substância 8

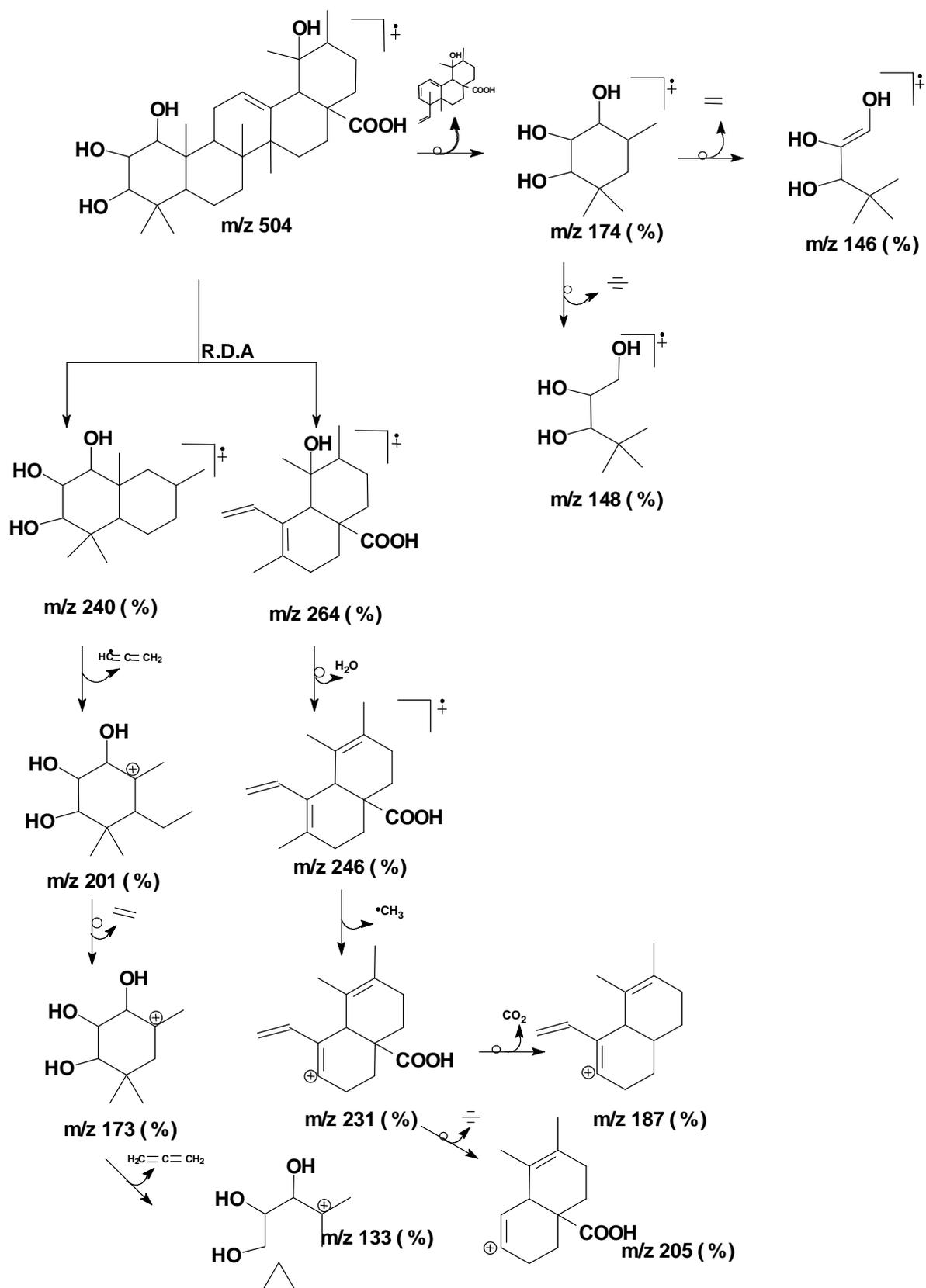
Esquema 15: Fragmentos de massas da substância **8**



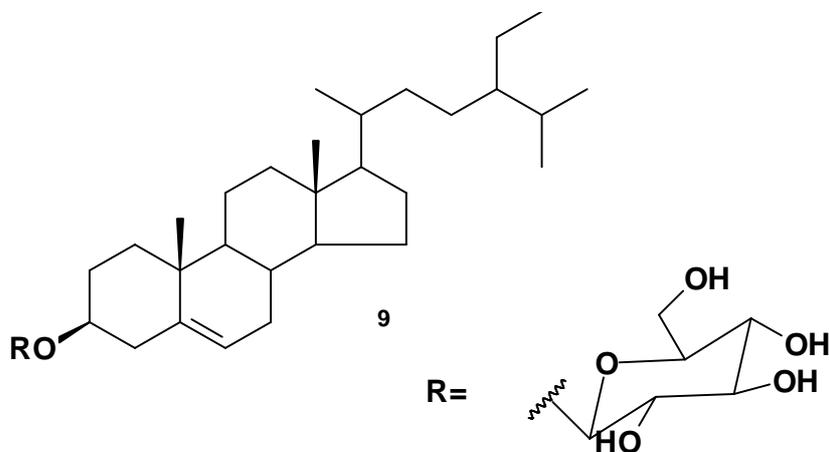
Continuação do esquema 15



Continuação do esquema 15



5.2.2. Determinação Estrutural da substância 9



A substância **9** foi identificada através dos sinais presentes no espectro de IV (**Fig 53, pág 198**), RMN ^1H (**Fig 54, pág 120**) e RMN ^{13}C DEPT (**Fig 55, pág 121**). O espectro de IV apresentou bandas de ν_{CH} (CH_2 , CH_3 , CH) e $\nu_{\text{C-O}}$ de álcool.

O espectro de RMN ^1H apresentou sinais em δ_{H} 5,32 (s) correspondente ao hidrogênio olefínico H-6; 3,59(m) correspondente ao H-3 além dos sinais referentes aos hidrogênios carbinólicos da unidade de açúcar.

Os espectros de RMN de ^{13}C de **9** BBD e DEPT (**Fig, 54 pág 120 e Fig 55, pág 121**) permitiram reconhecer os sinais correspondentes a carbonos primários (6 CH_3), secundários (12 CH_2) e terciários (12 CH).

Os deslocamentos químicos de C-6 (δ_{C} 121,3 ppm) e C-5 (δ_{C} 140,4 ppm) estão de acordo com a dupla em 6(5) característico do esqueleto do sitosterol. A presença dos grupos hidroxilas em C-2', C-3' e C-4', C-5' e C-6' da unidade de açúcar foram confirmados pelos sinais dos deslocamentos químicos em δ_{C} 71,2, 74,7, 77,5, 77,6, 62,4 e o sinal do carbono anomérico C-1' em δ_{C} 100,8 permitiu propor a unidade de glicose ligada no C-3. (**Tabela 22, pág 118**). A comparação dos deslocamentos químicos de carbono-13 de **9** com modelo da literatura (CARVALHO, M. G., 1998) permitiu confirmar a proposta do 3 β -O- β D- glicopiranosil sitosterol para **9**. O isolamento desta saponina em *E. longipes* foi divulgada na literatura (COSTA, P. M., 2003).

TABELA 22: Dados de RMN de ^{13}C (50,3 MHz, DMSO- d_6) de **9** em comparação com modelo da literatura (COSTA, P. M., 2003).

C	$\delta_{\text{C } 9}$	Ref
1	38,2	37,25
2	31,1	31,64
3	76,7	71,81
4	40,3	42,24
5	140,4	140,73
6	121,2	121,72
7	31,4	31,84
8	31,4	31,04
9	49,6	50,12
10	38,0	36,40
11	20,6	21,08
12	39,9	39,78
13	41,9	42,24
14	56,2	56,75
15	23,9	24,30
16	29,2	28,24
17	55,4	56,75
18	11,8	11,87
19	19,1	19,38
20	35,5	36,16
21	19,7	19,03
22	33,3	33,94
23	36,2	34,12
24	45,8	45,83
25	27,8	26,03
26	18,6	18,76
27	18,9	19,81
28	22,6	23,06
29	11,81	11,99
	Glicose	Glicose
1'	100,8	101,0
2'	73,4	73,2
3'	76,7	75,9
4'	70,1	69,8
5'	76,9	77,4
6'	61,1	60,7

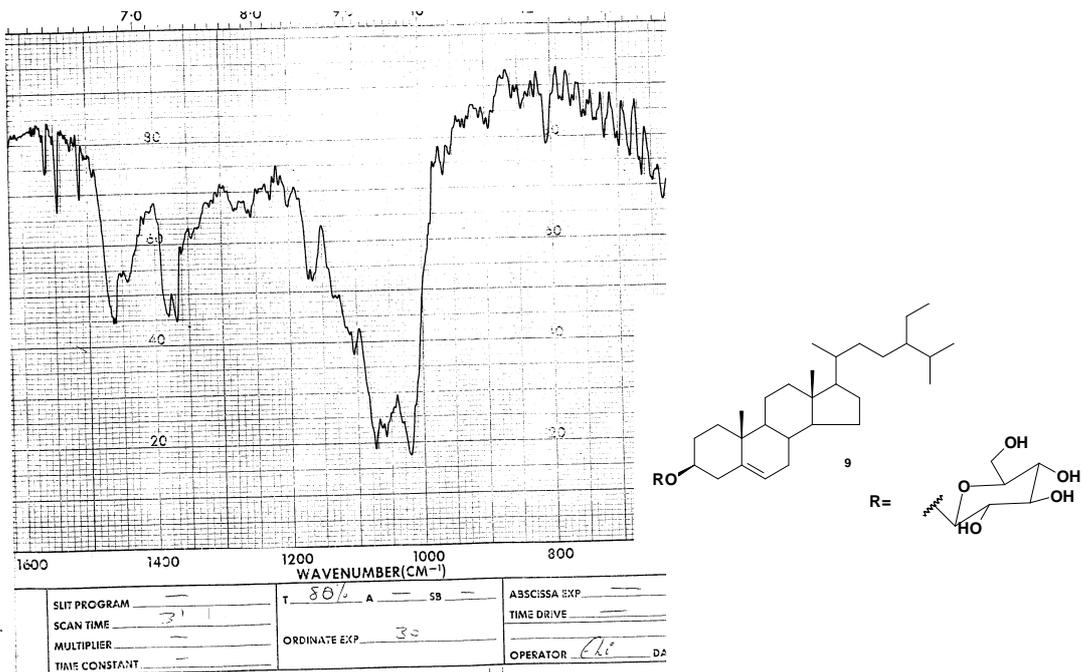
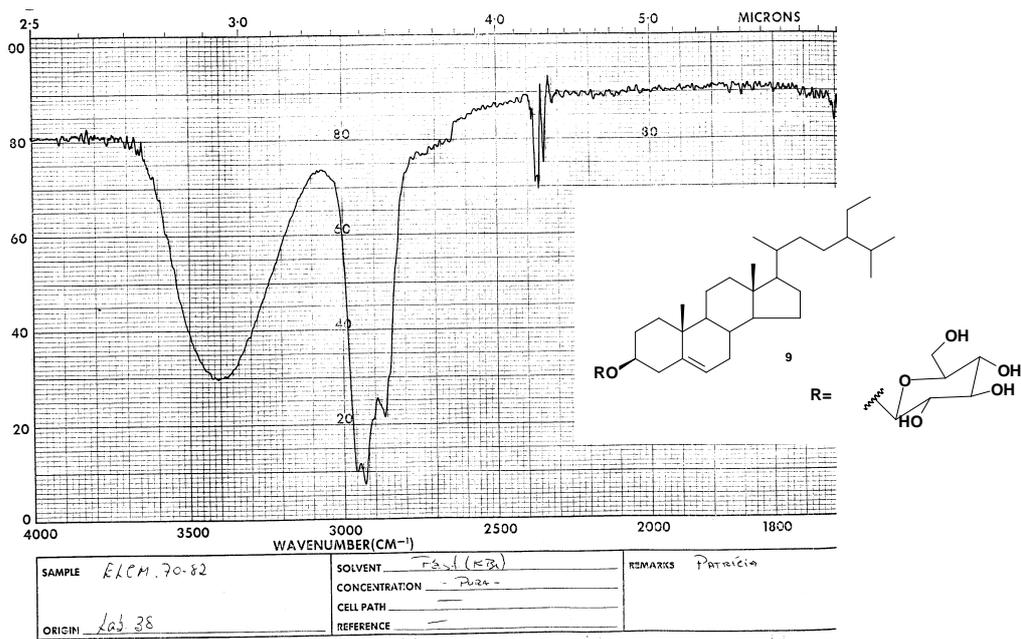


Figura 53: Espectro no IV da substância 9

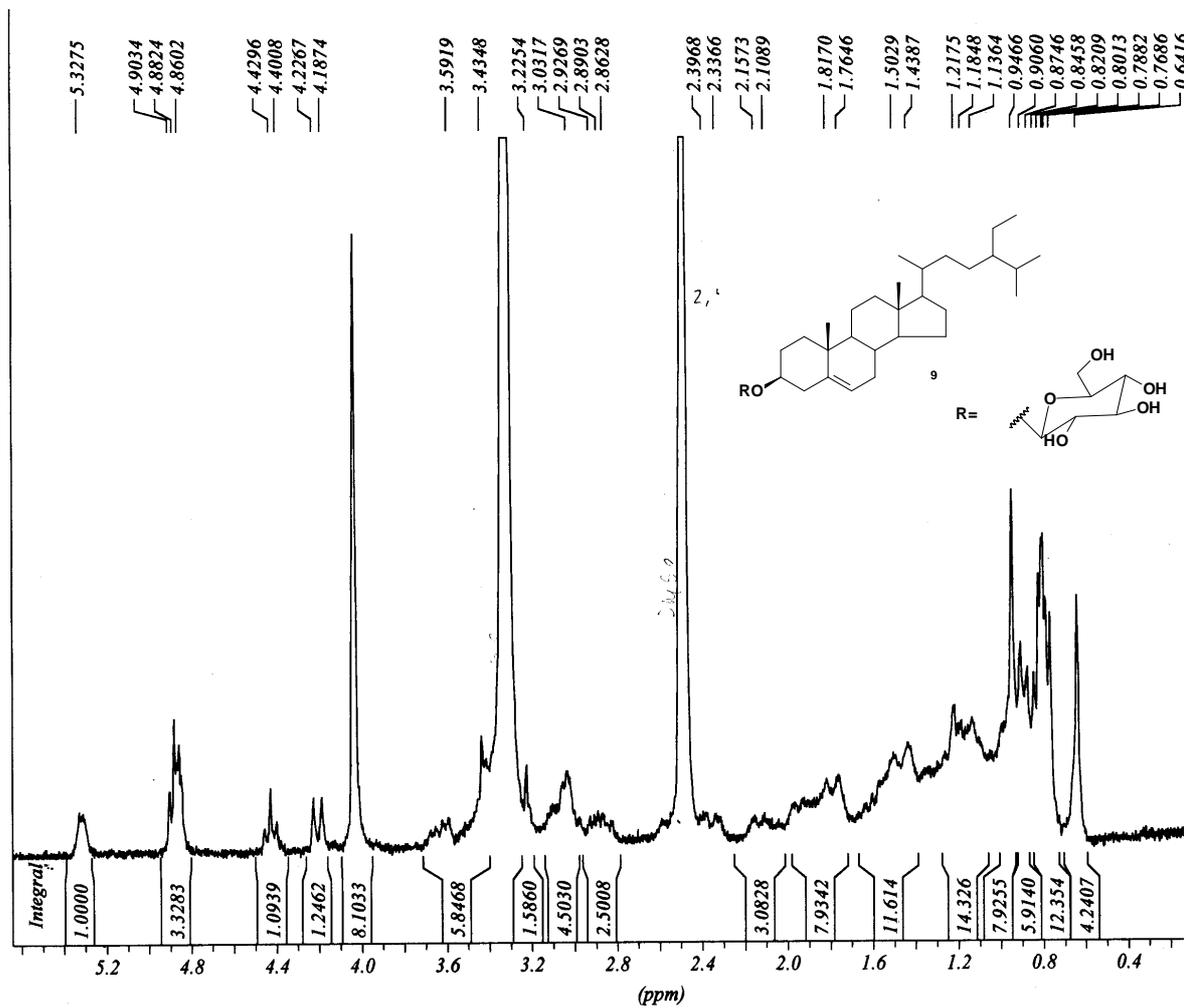
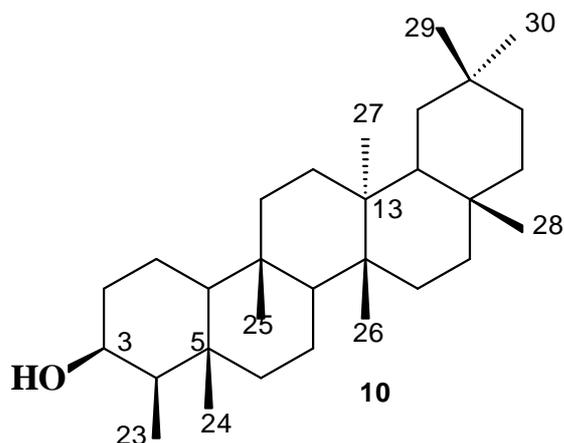


Figura 54: Espectro de RMN ¹H (DMSO-d₆, 200MHz) da substância 9

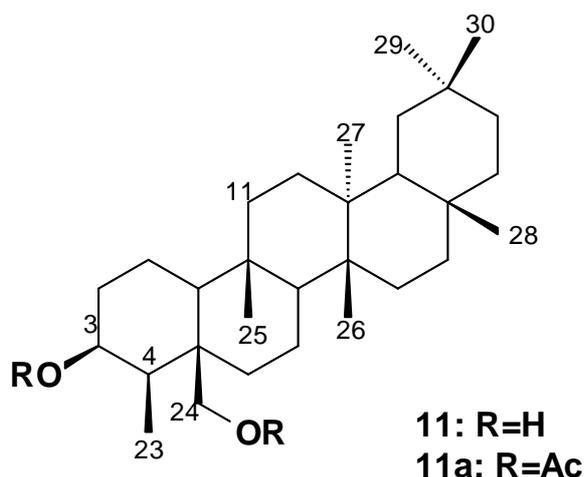
5.2.3. Determinação estrutural da substância 10



Os espectros de IV (**Fig 56, pág 123**) e RMN ^1H (**Fig 57, pág 123**) de **10** permitiram reconhecer os sinais que estão de acordo com o triterpeno da série fridelano. Comparação do PF (278°C) e Rf em CCDA permitiu sugerir para **10** a estrutura do fridelinol.

O espectro de RMN de ^1H a 200MHz (**Fig 57, pág 123**) do fridelinol revelou a presença do sinal do hidrogênio geminal ao grupo hidroxila em δ_{H} 3,27 ppm como um multiplete. Sugerindo que o hidrogênio H-3 está na posição axial, conseqüentemente o grupo hidroxila está na posição equatorial (β).

5.2.4. Determinação estrutural das substâncias 11 e 11a



O espectro de IV (**Fig 60, pág 129, Tabela 23, pág 126**) de **11** mostrou bandas de absorções correspondente ao grupo hidroxila em 3450cm^{-1} ν_{OH} , $\nu_{\text{C-O}}$ 1100 e 1050cm^{-1} e banda forte em 2950 e 2960cm^{-1} ν_{CH} sugerindo um triterpeno com álcool primário e secundário. Devido a dificuldade de dissolução em CDCl_3 levou ao preparo do derivado acetilado **11a**, pelo tratamento com anidrido acético e piridina (1:1) (**Tabela 24, Fig 61, pág 127 e 130**)

O espectro de RMN ^1H (**Fig 62, pág 131**) de **11a** revelou sete sinais singletos de metilas terciárias de um triterpeno pentacíclico e dois sinais em δ_{H} 1,96(s,3H) e 2,00 (s,3H) do grupo acetoxila. Os sinais em δ_{H} 4,40 e 4,60(d, $J=13\text{Hz}$) são típicos de dois hidrogênios metilênicos. O H-3 está representado pelo sinal que aparece em δ_{H} 4,94 (dl, $J=2,4\text{Hz}$).

A análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C HBBDD e DEPT de **11a**(**Fig 63, pág 132**) e DEPT (**Fig 64,pág 133**) foi usada para identificar os sinais correspondentes a carbonos quaternários, dois monoxigenados (δ_{CH} 74,5 e δ_{CH_2} 65,1) além dos sinais de sete metilas, onze metilênicos, quatro metínicos e dois grupos acetoxilas (δ 170,1, 170,0, 21,2 e 21,1).

Estes dados levaram a proposta da fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ ($\text{O}=\text{C}-\text{CH}_3$) $_2$ que foi confirmada pelo espectro de massas de alta resolução com M^+ 528,41740 Da [calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2(\text{O}_2\text{CCH}_3)_2$].

Estes dados, aliados a análise dos experimentos 2D [$^1\text{Hx}^1\text{H}$ -COSY (**Fig 65, pág 134**), $^1\text{Hx}^{13}\text{C}$ -COSY $^{-n}J_{\text{CH}}$, $n=1,2,3$ (**Fig 66, pág 136, 67, pág 137**) e comparação com dados da literatura para o acetato de fridelinol (AHMAD, V. U., 1994 e COSTA, P. M., 2003) mostrou a ausência do sinal em δ 15,7 referente ao C-24. Esta observação e a diferença dos deslocamentos químicos de C-5 e C-6 de 12 e do acetato de fridelinol levou a localização do grupo acetoxila no C-24. Os picos presentes no espectro de massas de alta resolução em m/z 455(21,5%, $\text{M}^- \text{CH}_2\text{OCOCH}_3$), 395(8,3%, $\text{M}^- \text{CH}_2\text{OCOCH}_3 + \text{HOCOCH}_3$),

344(33,9%), 274(17,3%), 255(15%) e 205(23,8%) (**Fig 67, pág 137, Esquema 16, pág 138**) sugeriu a presença de dois grupos acetoxilas em C-3 e C-24. O NOE observado entre H-24/H-25, H-24/H-23, H-24/H-1 no espectro de NOESY (**Fig 67, pág 137**) de **11a** foi usado para confirmar a estrutura do novo triterpeno **11** como sendo o 3 β ,24-dihidroxi-fridelandano. (**Tabela 24, pág 127**). A divulgação deste novo triterpeno está registrado na literatura (COSTA, P. M., 2003).

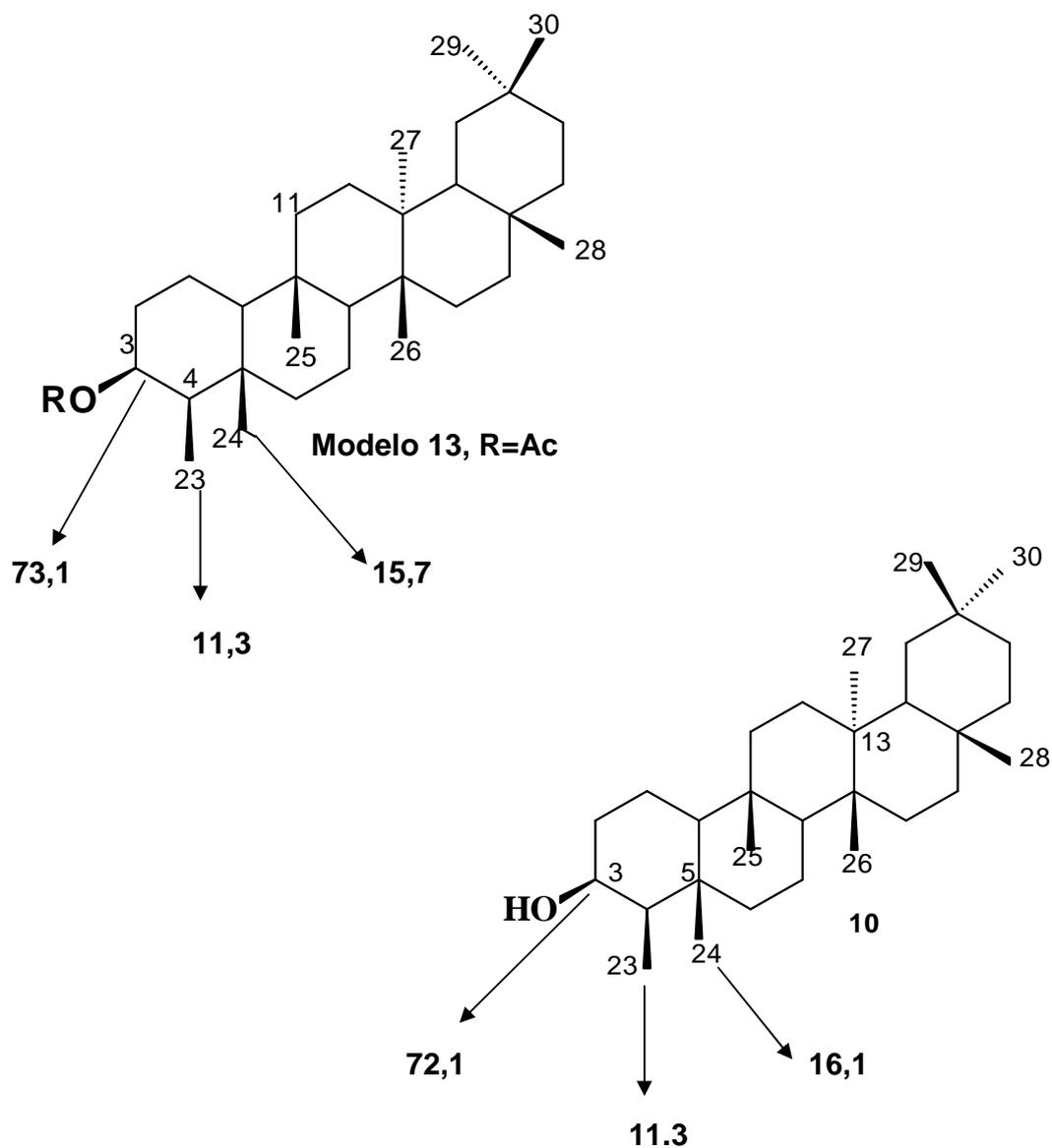


TABELA 23:Dados de IV da substância **11**

$\nu^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$	Atribuições de 11	Atribuições de 11a
3408	Estiramento OH	
2939, 2864	Estiramento CH (sp^3)	Estiramento CH (sp^3)
1732		Estiramento(C=O)

TABELA 24: Dados de RMN ^1H e ^{13}C de **11** (400MHz e 100MHz, piridina- d_6) e **11a** (200MHz e 50,3 MHz CDCl_3) comparados com dados da literatura (AHAMAD, V. U., 1994 e COSTA, P. M., 2003)

C	δ_{C} 11a	δ_{H} ($1J_{\text{CH}}$) 11a	$^{2,3}J_{\text{CH}}$ 11a	δ_{C} 11	δ_{H} 11
1	16,3	1,45	H-3	17,1	
2	32,1	1,90, 1,55		40,3	
3	74,2	4,94(d, J=2,4Hz)	H-23	74,7	5,25(sl)
4	48,5	1,5(md)	H-24, H-23	49,1	
5	40,6			41,4	
6	35,8	2,3(dl), 1,5 (m)	H-24	36,0	2,3(d, J=14Hz)
7	17,6	1,40		19,3	
8	53,1	1,30(dl)	H-27, H-6, H-7	53,8	
9	36,9			36,8	
10	61,1	1,1(m)	H-25	61,6	
11	35,7	1,2-1,5(m)	H-25	36,5	
12	30,6			31,4	
13	38,3			37,6	
14	39,5		H-26	39,9	
15	32,0			32,5	
16	35,9	1,4(m), 1,0(m)		35,6	
17	29,9			30,7	
18	42,7	1,6(DD)	H-28 e H-27	43,6	
19	35,2	1,3(m), 2,3(13Hz)		35,6	2,0(dd, J=14,1 e 2,4 Hz)
20	28,1			28,8	
21	32,7			32,9	
22	39,2	0,9(d), 1,4(m)	H-28	39,0	
23	13,7	0,92(d, J=7Hz)	H-4	14,8	1,09(d, J=14Hz)
24	65,1	4,40, 4,6 (d, J= 13Hz)		65,8	4,61, 4,90 (d, J=14 Hz)
25	18,3	0,85(s)		18,4	0,88(s)
26	18,6	0,96(s)		18,9	1,04(s)
27	20,1	0,96(s)	H-8	20,8	1,07(s)
28	32,0	1,13(s)		33,6	1,18(s)
29	35,0	0,91(s)		35,6	0,90(s)
30	31,7	0,96(s)		32,7	1,00(s)
Meço	21,2	1,96, 2,0			
MeCO	170,1 e 170,0		MeCO		

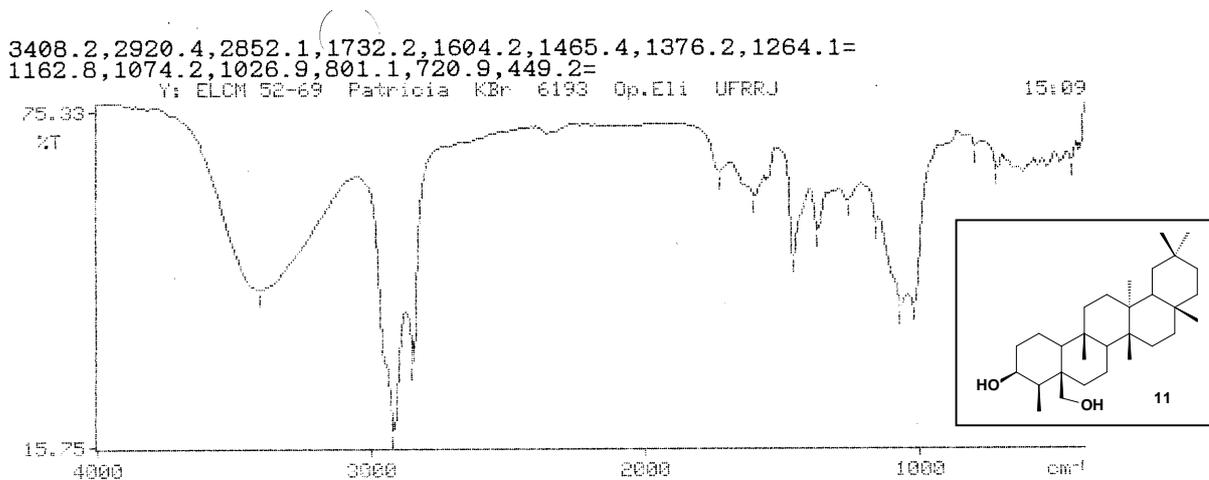


Figura 58: Espectro no IV da substância 11

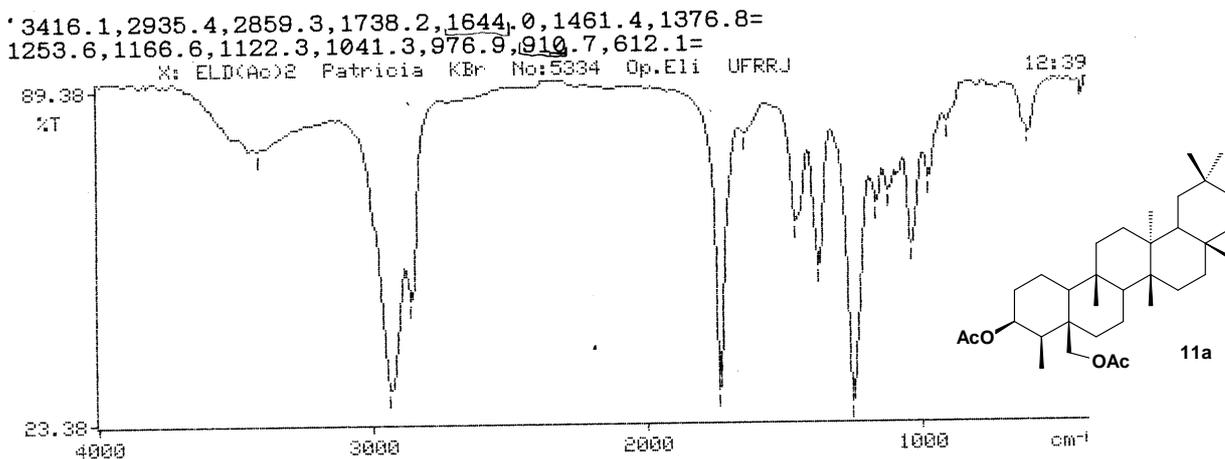


Figura 59: Espectro no IV da substância 11a

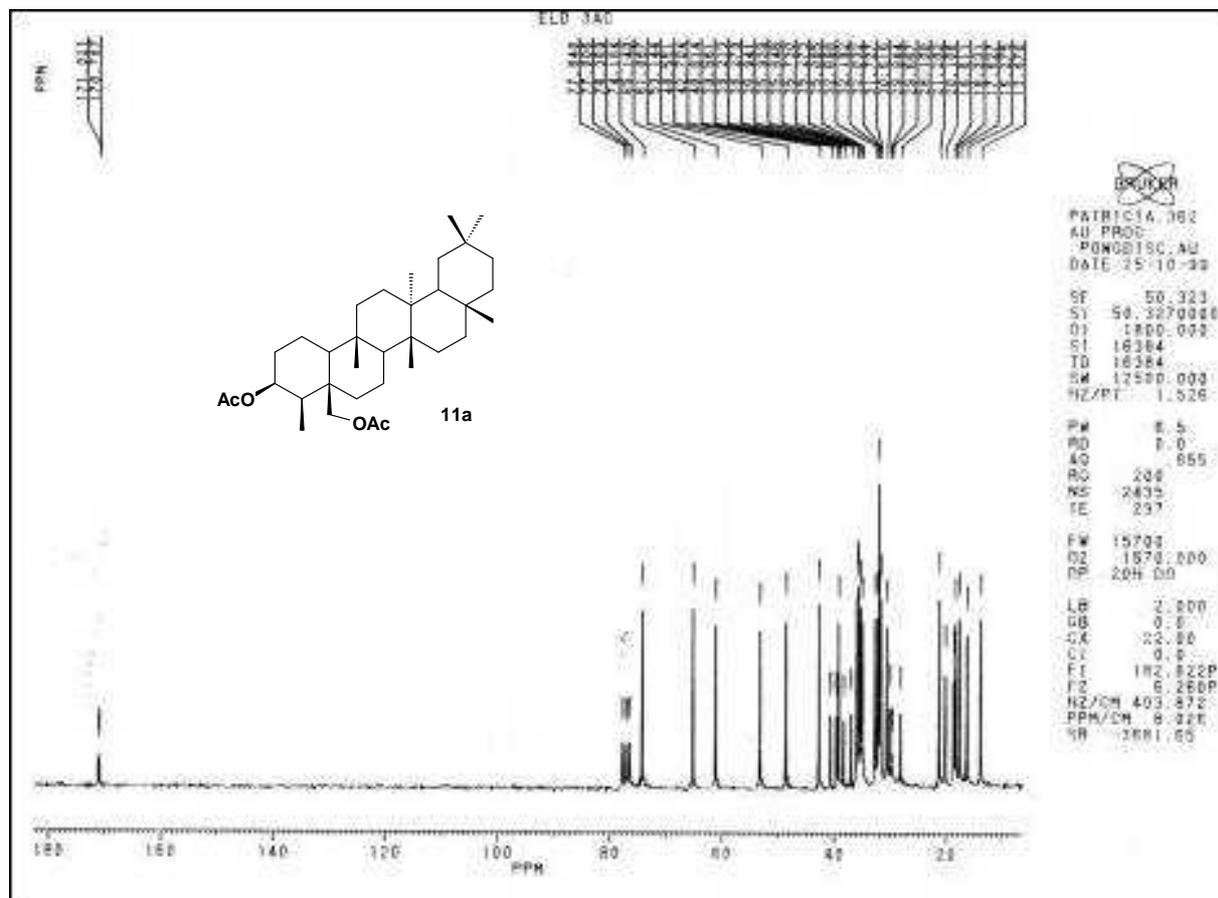


Figura 61: Espectro de RMN ^{13}C PND (50,3MHz, CDCl_3) da substância **11a**

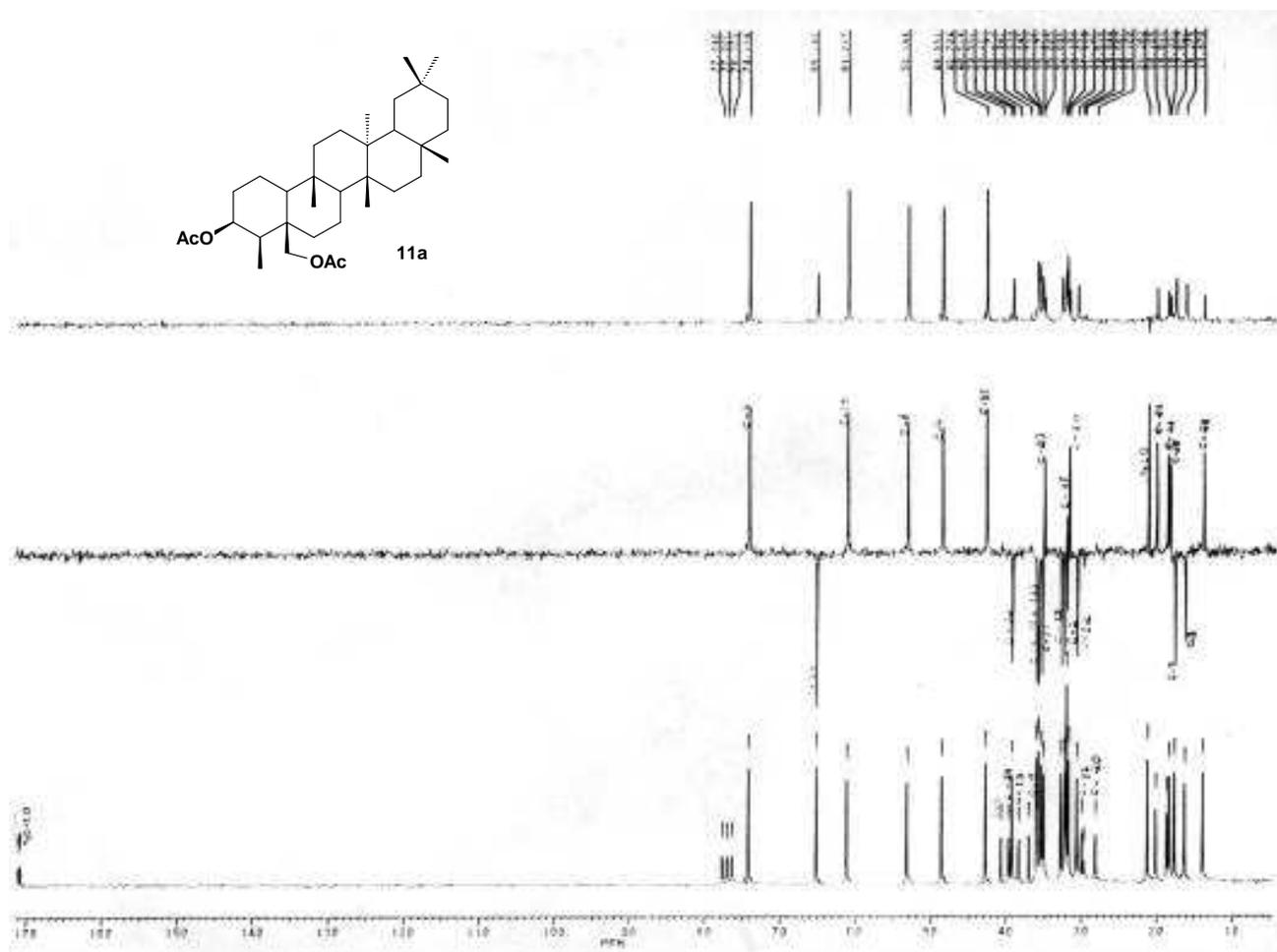


Figura 62: Espectro de RMN ^{13}C DEPT (50,3MHz, CDCl_3) da substância **11a**

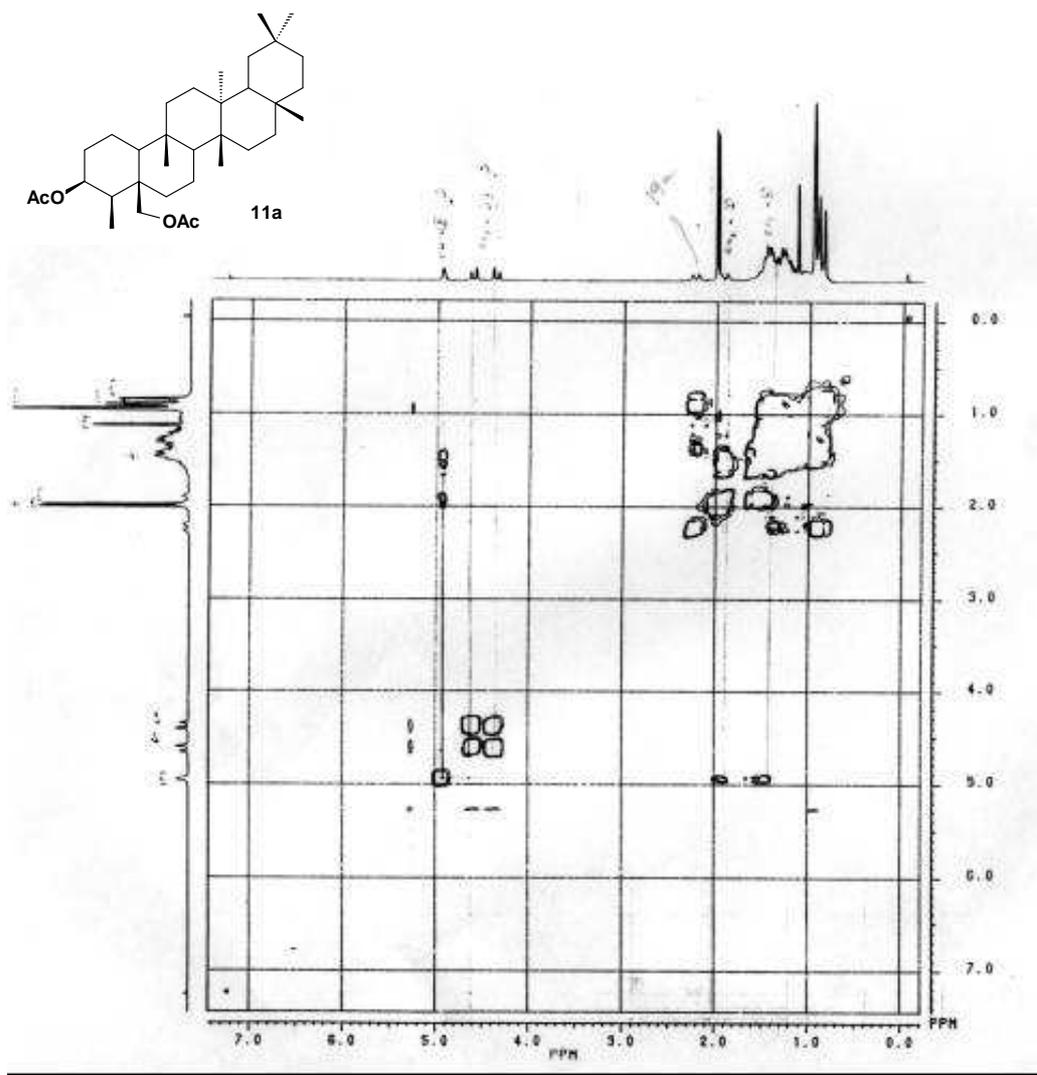


Figura 63: Espectro 2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3)- da substância **11a**

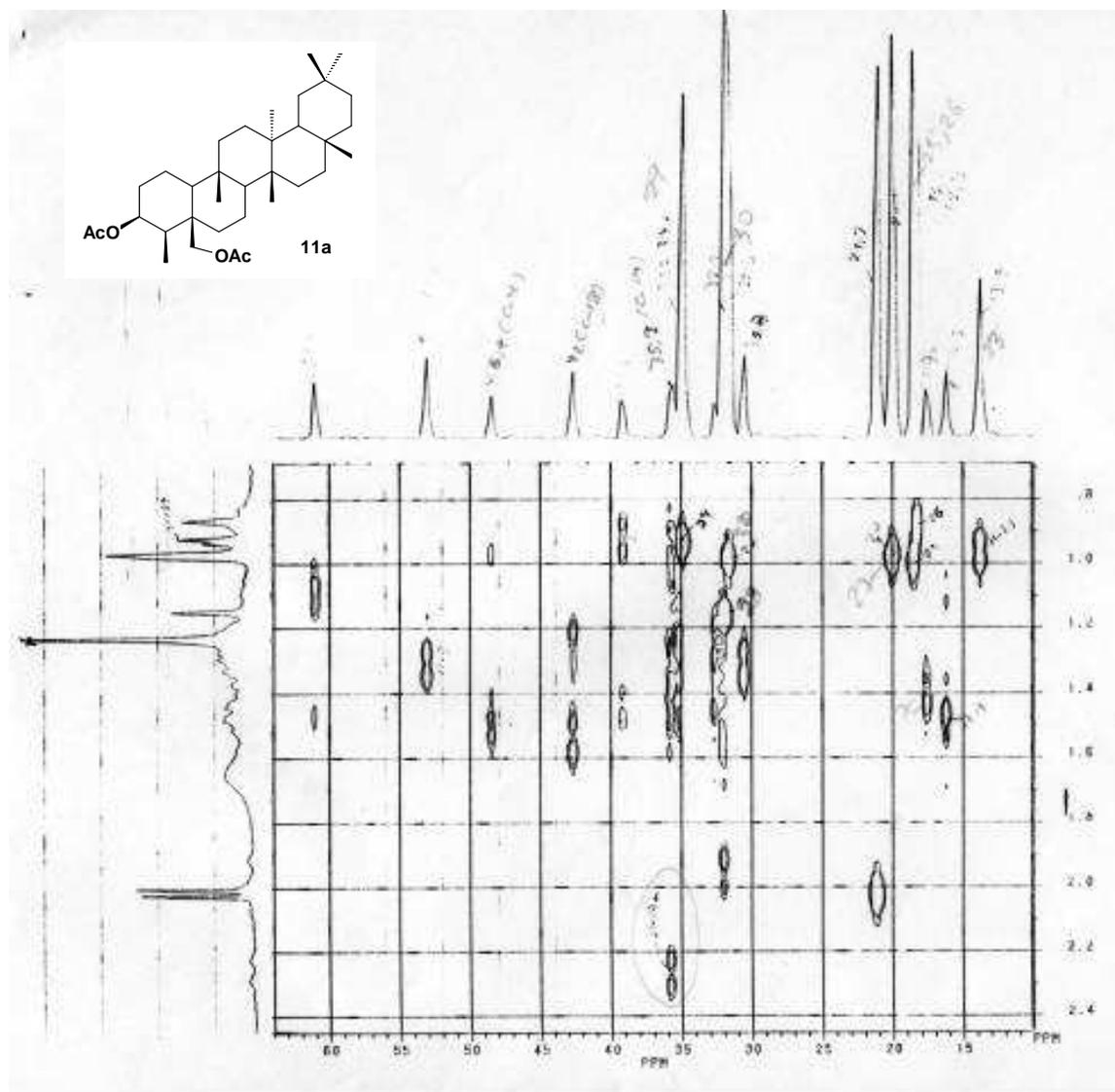


Figura 64: Espectro 2D $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ (CDCl_3)- da substância **11a**

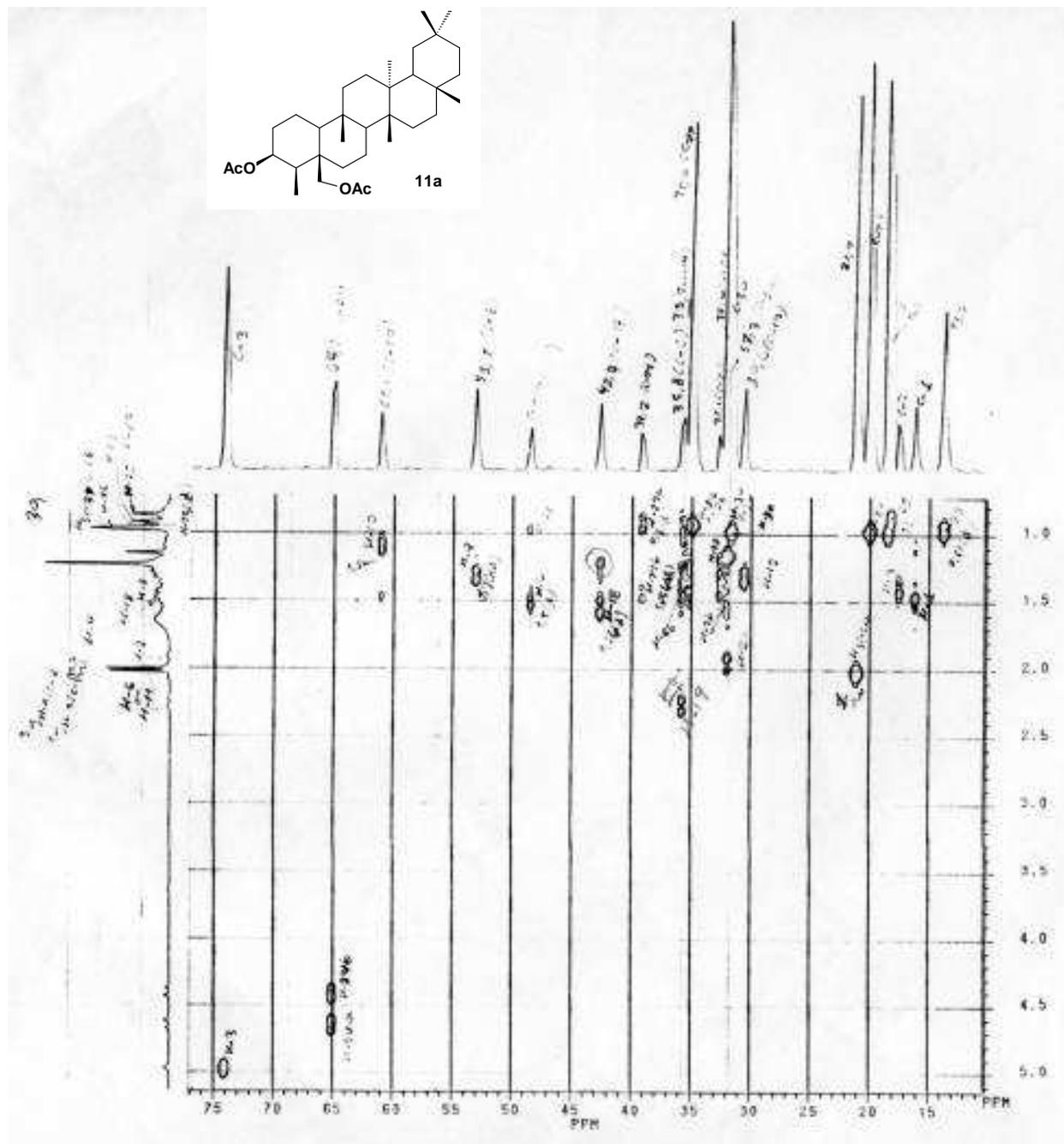


Figura 64a: Ampliação do Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ (CDCl_3)- da substância **11a**

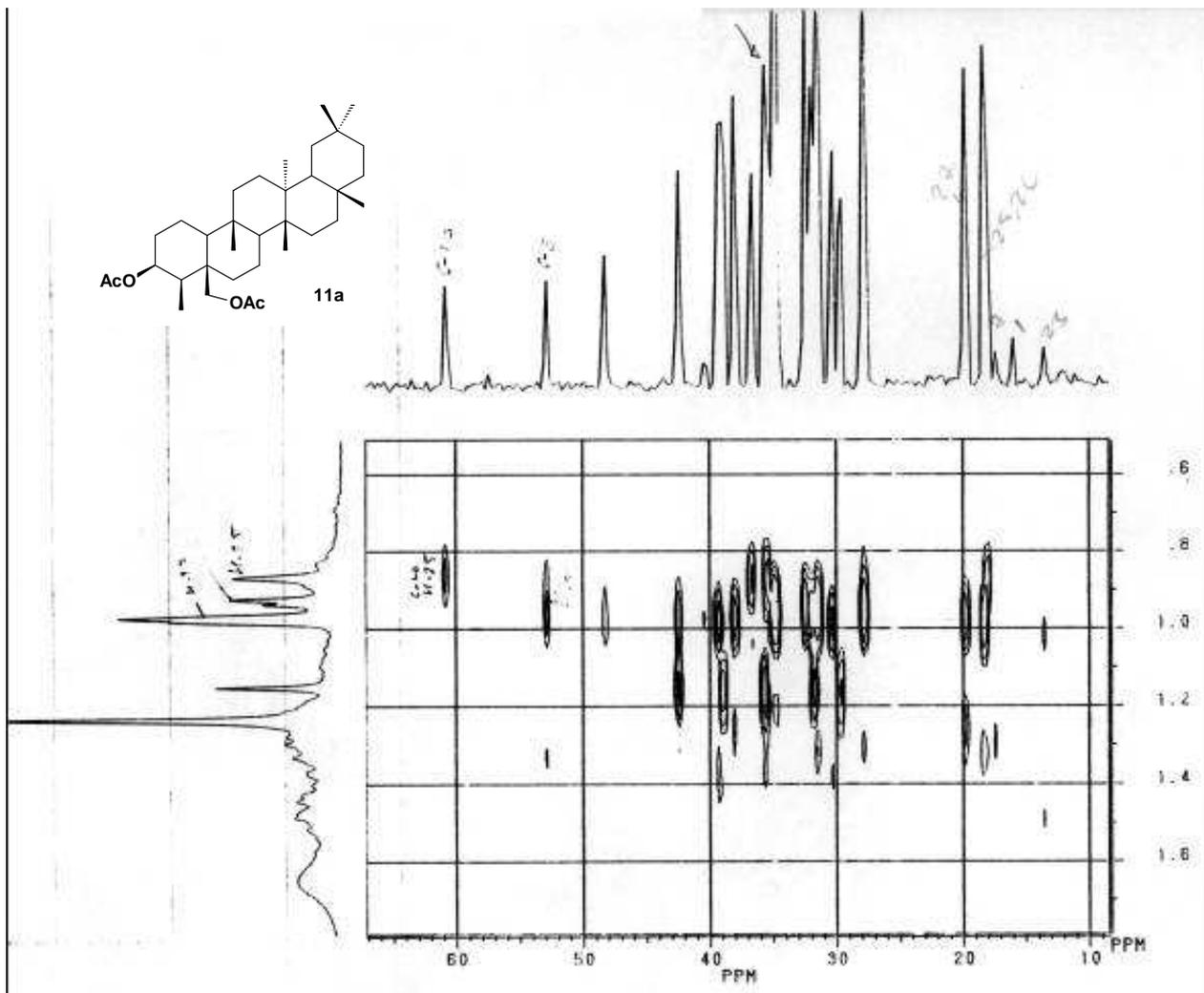


Figura 65: Espectro 2D $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^{2,3}J_{\text{CH}}$ (CDCl_3)- da substância **11a**

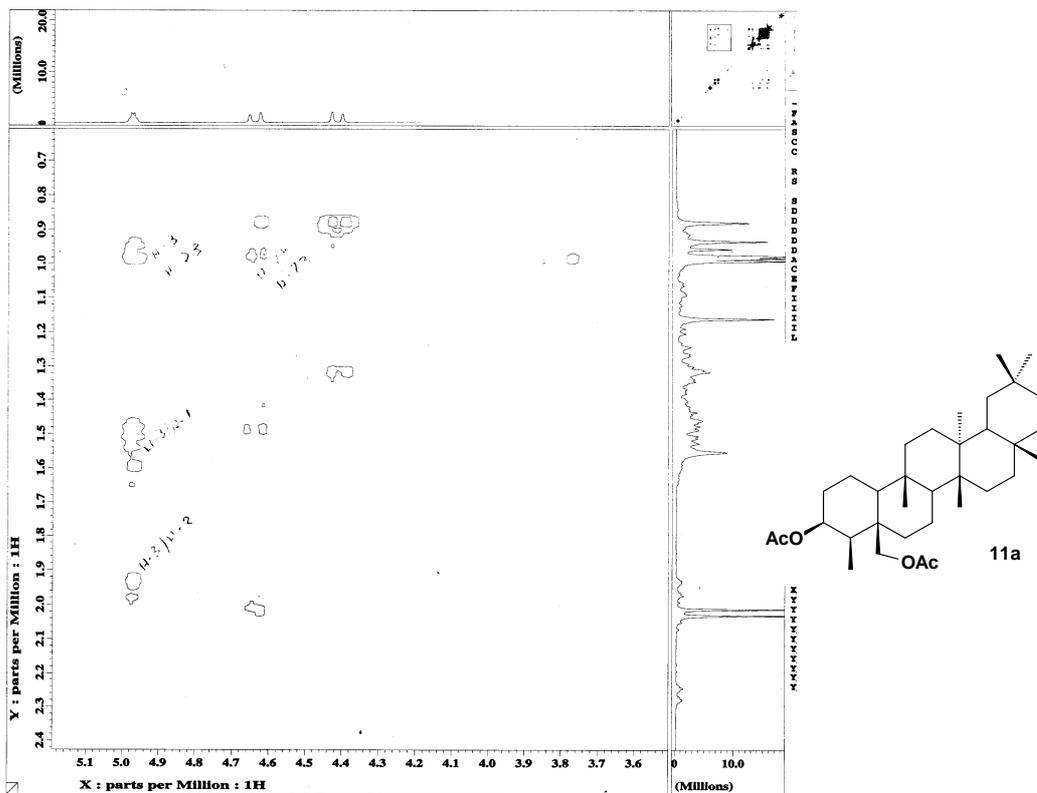


Figura 66: Espectro de NOESY da substância **11a**

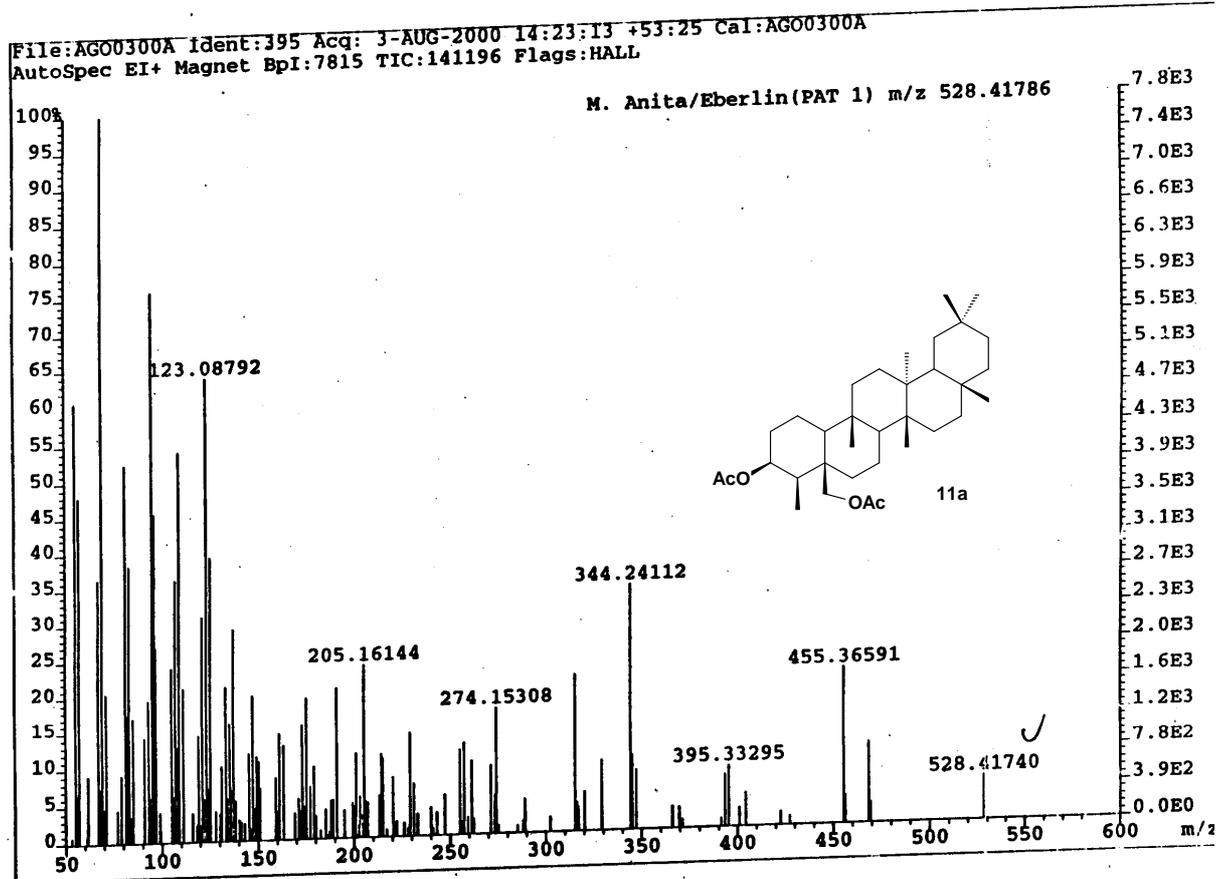
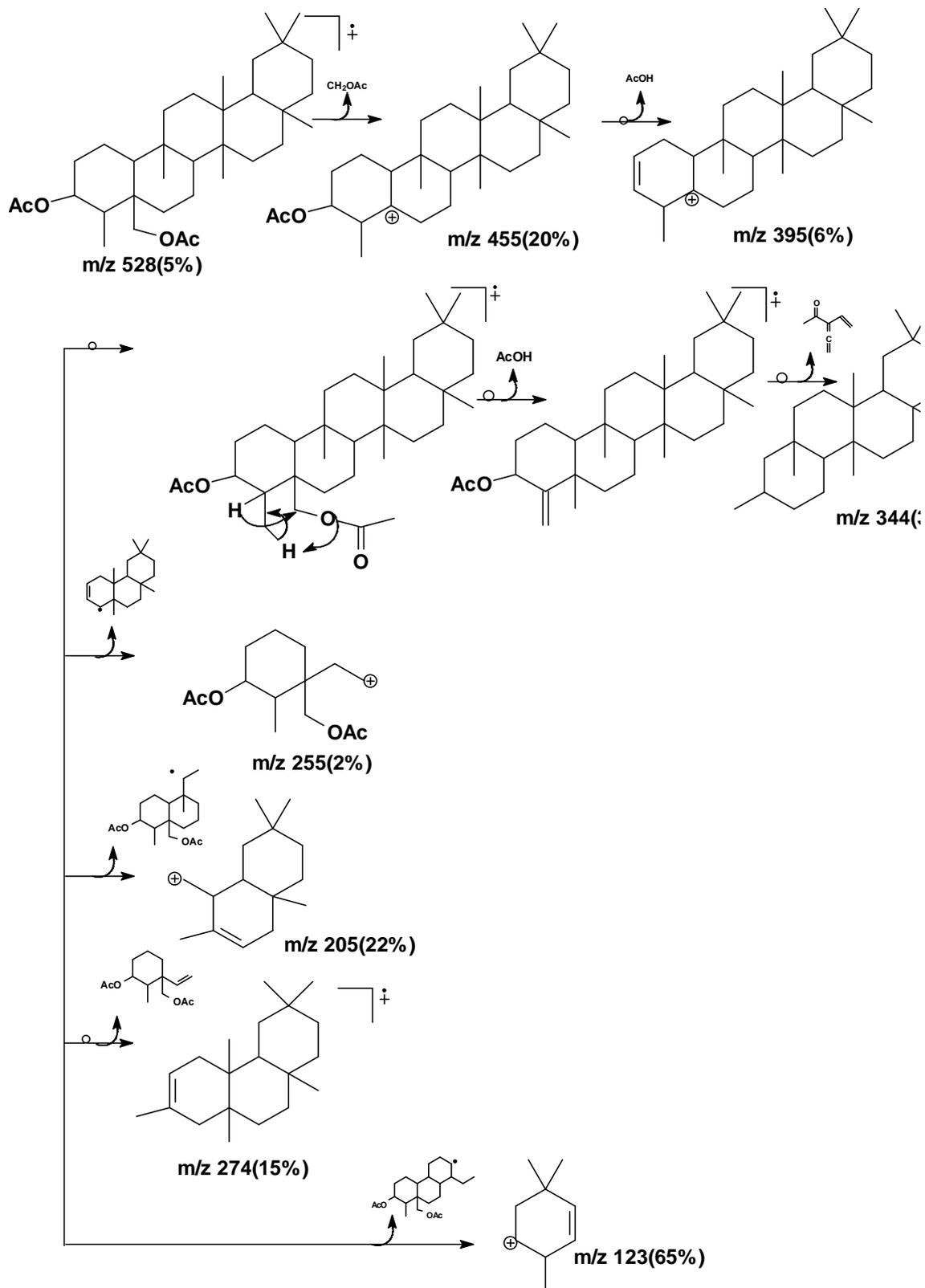


Figura 67: Espectro de massas da substância 11a

Esquema 16: Fragmentos de massas da substância 11a



6-CONCLUSÃO

Este trabalho levou ao isolamento de três substâncias registradas pela primeira vez na literatura, além de substâncias que não tinham sido isoladas nos gêneros.

São poucos os estudos químicos sobre os gêneros *Licania* e *Eschweilera*, por esta razão o interesse em estudar outras espécies dos gêneros.

Além disso a literatura revelou que alguns constituintes isolados das espécies estudadas tanto do gênero *Licania* como do gênero *Eschweilera* apresentaram atividade farmacológica.

7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abe, I.; Rohmer, M.; Prestwich, G. D., Enzymatic Cyclization of squalene and oxidosqualene to sterols and triterpenes chemical *Reviews* **1993**, 93(6), 2189-2206.
- Ahmad, V. U.; Rahman, A. U. **1994**, *Handbook of Natural Products Data*, Elsevier, N. Y. Vol. 2, 568.
- Badisa, R. B.; Chaudhuri, S. K.; Pilarinou, E.; Rutkoski, N. J.; Hare, J.; levenson, C. W., *Licania michauxii* Prance root extract induces hsp 70 m RNA and necrotic cfell death in cultured human hepatoma and collon carcinoma cell lines, *Cancer* **2000**, 149(1-2), 61-68.
- Barroso, G. M., Sistemática de Angiosperma do Brasil, Viçosa, *Imprensa Universitária*, UFV, **1991**, Vol 2, 15-17.
- Bilia, A. R.; Ciampi, L.; Mendez, J.; Morelli, I., New Triterpenes and Others Constituents of *L. pyrifolia*, *Rev. Ital. EPPOS* **1996**, 7(20), 17.
- Bilia, A. R.; Mendez, J.; Morelli, I., New Lupane Derivatives from the leaves of *L. pyrifolia*, *J. Nat. Prod.* **1996**, 59(3), 297-300.
- Braca, A.; Bilia, A. R.; Mendez, J.; Morelli, I., Three flavonoids from *L. densiflora*, *Phytochemistry* **1999**, 51(8), 1125-1128.
- Braca, A.; Bilia, A. R.; Mendez, J.; Morelli, I., Myricetin glycosides from *L. densiflora*, *Fitoterapia* **2001**, 72(2), 182-185.
- Braca, A.; Tommasi, N. de.; Mendez, J.; Morelli, I.; Pizza, C., Three flavonoids *L. heteromorpha*, *Phytochemistry* **1999**, 51(8), 1121-1124.
- Braca, A.; Sortino, C.; Politi, M.; Morelli, I.; Mendez, J., Antioxidant activity of flavonoids from *L. licaniaeflora*, *J. Ethnopharmacology* **2002**, 79(3), 379-381.
- Braca, A.; Sortino, C.; Mendez, J.; Morelli, I., Triterpenes from *L. licaniaeflora*, *Fitoterapia* **2001**, 72(5), 585-587.
- Breitmaier, E., Voeltr, W. *Carbon-13 NMR Spectroscopy*, 3^a Ed, (federal Republic of Germany, **1987**, 1990, 379.
- Cândido, L. F. O. de, Triterpenos e Cromonas isolados das folhas de *L. arianae*, *Tese de Mestrado-PPQO-UFRRJ*, **2000**, pgs 43-70.
- Carvalho, M. G de; Cândido, L. F. O de; Costa, P. M.da; Rumjanek, V. M., Chromones Isolated from *L. arianae* (Chrysobalanaceae), *J. Nat. Prod Res* (aceito 2003)
- Carvalho, M. G. de; Almeida, M. E. L. de; Hauptli, M. B.; Meleiro, L. A. C., Triterpenos Isolados de *Eschwewilera rabeliana* Mori (Lecythidaceae), *Rev. Univ. Rural, Sér. Ciências Exatas e da Terra* **1995**, 17(1-2), 33-36.

Carvalho, M. G. de; Velandia, J. R.; Oliveira, L. F. de; Bezerra, F. B., Triterpenes Isolated from *Eschweilera longipes* Miers (Lecythidaceae), *Química Nova* **1998**, 21(6), 740-743.

Coradin, I.; Grannasi, D. E.; Prance, A. T.; Chemosystematic studies in the Chrysobalanaceae: Flavonoids in *Parinari*, *Brittonia*, **1995**, 37 (2), 169-178.

Costa, P. M. da; Carvalho, M. G. de, New Triterpene Isolated from *Eschweilera longipes* (Lecythidaceae), *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **2003**, 75(1), 21-25.

El-Seedi, H. R.; Zayed, M. F.; Morono, F. G.; Trossell, K. B. G.; *Rev. Latinoam. Quim.* **1999**, 27, 56.

Guang, L. Y.; Gray, A. I.; Waterman, P. G. pentacyclic triterpenes From the Fruits of *Rosa sterilis*, *Journal of Natural Product* **1989**, 52(1), 162-166.

Grenand, P; Moretti, C.; Jacquemin, H.; *Pharmacopées traditionnelles en Guyane. (Créoles, Palikur, Wayãpi)*; Éditions de l'ORSTOM; Institut François de Recherche Scientifique Pour Le Développement en Coopération; Paris. **1987**.

Joly, A. B., *Botânica Introdução à Taxonomia Vegetal*, Ed. Nacional **1998**, 374-376.

Mahato, S. B.; Kundu, A. P., ¹³C NMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids- A compilation and some salient features, *Phytochemistry* **1994**, 37(6), 1517-1575.

Massiot, G.; Chen, X.; Lanand, C.; Le Men-Olivier, L.; Delano, C.; Viari, A.; Vigny, P.; Duval, J., Saponins from stem bark of *Petersianthus macrocarpus*, *Phytochemistry* **1992**, 31(10), 3571-76.

Mendez, J.; Bilia, A. R.; Ciampi, L.; Morelli, I., Phytochemical Investigation of *Licania* genus: Flavonoids from *L. pyrifolia*, *Acta Pharm. Helv.* **1996**, 71(3), 199-204.

Mendez, J.; Bilia, A. R.; Morelli, I., Phytochemical Investigation of *Licania* genus: Flavonoids and Triterpenoids from *L. carii*, *Acta Pharm. Helv.* **1997**, 71, 191-197.

Mendez, J.; Bilia, A. R.; Morelli, I., Phytochemical Investigation of *L. pittieri*, *Acta Pharm. Helv.* **1995**, 70, 223-226.

Oberlies, N. H.; Burges, J. P.; Navarro, H. A.; Pinos, R. E.; Soejarto, D. D.; Farnsworth, N. R.; Kinghorn, A. D.; Wani, M. C.; Wall, M. E., Bioactive Constituents of roots of *L. intrapetiolaris*, *J. Nat. Prod.* **2001**, 64(4), 496-501.

Pal, B. C.; Achari, B.; Price, K. R., A triterpenoid glucoside from *Barringtonia acutangula*, *Phytochemistry* **1991**, 30(12), 4177-179.

Ringbom, T.; Segura, L.; Noreen, Y.; Perera, P.; Bohlin, L., Ursolic acid from *Plantago major*, a Selective Inhibitor of Cyclooxygenase-2 Catalized Prostaglandin Biosynthesis, *J. Nat. Prod.* **1998**, 61(10), 1212-12215.

Rocha, A. F. I. da; Silva, e. A; *Resumos da 38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o progresso da Ciência, 1986*, 963.

Souza, A. D. L. de; Rocha, A. F. A. da; Pinheiro, M. L.B.; Andrade, C. H. S.W. De, Galotta, A. L. A. Q. de; Santos, M. P. S. S. do, Constituintes Químicos de *Gustavia augusta* L. (Lecythidaceae), *Química Nova* **2001**

Velandia, J. R., Carvalho, M. G. de, Braz-Filho, R., Werle, A. A, Biflanoid and glucopyranosil derivatives from *Ouratea semisserrata*. *Phytochemical Analysis*, **2002**, *18*, 283-292.

Worthley, E. G.; achott, C. D., Biologically-active compounds in some Flowering plants, *Life Sci* **1969**, 8(Pt 1), 225-238.