

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE

VOLUME 1

Metabólitos secundários e avaliação de atividades biológicas de *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill. (Cucurbitaceae) e espécies do gênero *Ziziphus* Mill. (Rhamnaceae).

Carlos Henrique Corrêa dos Santos

2018



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Volume 1

Metabólitos secundários e avaliação de atividades biológicas de *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill. (Cucurbitaceae) e espécies do gênero *Ziziphus* Mill. (Rhamnaceae).

Carlos Henrique Corrêa dos Santos

Sob orientação do

Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho

E coorientação do

Prof. Dr. Ludger A. Wessjohann

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Química**, no curso de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química.

Seropédica, RJ

Outubro de 2018

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Cm Corrêa dos Santos, Carlos Henrique, 1989-
Metabólitos secundários e avaliação de atividades
biológicas de *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill.
(Cucurbitaceae) e espécies do gênero *Ziziphus* Mill.
(Rhamnaceae). / Carlos Henrique Corrêa dos Santos. -
2018.
209 f.

Orientador: Mário Geraldo de Carvalho.
Coorientador: Ludger Wessjohann.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Química,
2018.

1. *Siolmatra brasiliensis*. 2. *Ziziphus*. 3.
saponinas. 4. alcaloides ciclopeptídicos. 5.
atividades biológicas. I. de Carvalho, Mário Geraldo,
1952-, orient. II. Wessjohann, Ludger, -, coorient.
III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

CARLOS HENRIQUE CORRÊA DOS SANTOS

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química.

TESE APROVADA EM 19/10/2018



Mário Geraldo de Carvalho. Dr. IQ - UFRRJ
(Orientador)



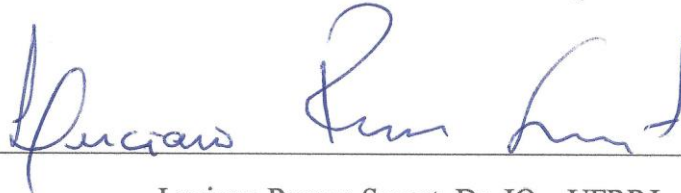
Gilda Guimarães Leitão. Dr^a. IPPN – UFRJ



Jorge Maurício David. Dr. IQ – UFBA



Alessandra Leda Valverde. Dr^a. IQ - UFF



Luciano Ramos Suzart. Dr. IQ – UFRRJ

Douglas Siqueira de Almeida Chaves. Dr. ICBS – UFRRJ (Suplente)

Dedicatória

*Dedico este trabalho aos meus pais, Jandir e
Maria Helena, por todo amor, carinho e
apoio, amo vocês!!!*

*“Nada na vida deve ser temido, somente compreendido.
Agora é hora de compreender mais para temer menos”*

Marie Skłodowska Curie

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus por todas as oportunidades e por todas as pessoas maravilhosas que tive o imenso prazer de conhecer.

Aos meus pais, Jandir e Maria Helena, às minhas irmãs Crislene e Cecília e minha sobrinha Nicolle por todo o apoio, amor e carinho, que foi essencial para que esse sonho se concretizasse.

Ao Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho por toda orientação e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Ludger Wessjohann e Dr^a. Katrin Franke do *Leibniz Institute of Plant Biochemistry*, IPB - Halle (Saale) – Alemanha, pelas orientações e ensinamentos durante o período de doutorado sanduíche, assim como a toda a equipe técnica do instituto pelo apoio.

A Prof. Dr^a. Rosane Nora Castro pelo auxílio, exemplo de profissionalismo e amizade.

Ao Prof. Dr. Raimundo Braz Filho pelas dicas, ensinamentos e excelente convívio.

A Prof^a. Dr^a. Amanda Martins Baviera (FCF – UNESP – Araraquara – SP) e seu grupo de pesquisa, pela parceria e disposição na ajuda dos ensaios anti-glicação *in vitro*.

Aos colegas do LQPN, Débora, Mirza, Ilna, Kathlyn e Carol pela amizade e pelos bons momentos no laboratório, e aos amigos do PPGQ pela amigável convivência.

Aos meus bons amigos do Mato Grosso pela sincera amizade e amor, pelo qual sou eternamente grato.

Aos queridos amigos do Rio, Pedro (*in memoriam*), Leandro, Jader, Emanuel, Fabio e Elias pela amizade sincera e pelo companheirismo.

Aos meus estimados colegas e amigos do IPB pelos ótimos momentos, amizade e companheirismo durante o período em Halle.

Aos técnicos e professores do IQ-UFRRJ por todos os ensinamentos e auxílio na realização das análises.

À CAPES (bolsa DS e PDSE) (o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001), FAPERJ e CNPq pelo apoio financeiro.

E a todos que de qualquer maneira contribuíram para que esse trabalho fosse realizado,
meu muito obrigado!

SANTOS, Carlos Henrique Corrêa dos. **Metabólitos secundários e avaliação de atividades biológicas de *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill. (Cucurbitaceae) e espécie do gênero *Ziziphus* Mill. (Rhamnaceae).** 2018. 211p Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

RESUMO: Vinte substâncias foram isoladas do extrato bruto hidroetanólico do caule de *Siolmatra brasiliensis*, suas estruturas foram determinadas por análises extensivas de RMN e EM-AR-ESI. Foram identificados cinco flavonoides, duas lignanas, um fitoesterol glicosilado e sete *nor*-cucurbitacinas já descritas na literatura além de um derivado fenólico e quatro saponinas de esqueleto do tipo damarano inéditas na literatura científica (siolmatrina e siolmatrosídeos II-V, respectivamente). Foram avaliadas as atividades antinociceptiva e anti-glicação *in vitro* do extrato bruto e frações da espécie. Sugere-se que a presença de saponinas do tipo damarano e *nor*-cucurbitacinas sejam responsáveis pela atividade antinociceptiva conferida ao extrato e especialmente fração em acetato de etila e que as substâncias fenólicas sejam responsáveis pela atividade anti-glicação conferida especialmente a fração em clorofórmio. Incluíram-se nesse trabalho quatro espécies do gênero *Ziziphus* para avaliação de atividades biológicas, onde *Z. joazeiro* e *Z. glaziovii* apresentaram resultados promissores de inibição bacteriana de *Aliivibrio fischeri* e *Bacillus subtilis* e todos os extratos apresentaram atividades citotóxicas significantes frente a linhagens celulares PC-3 e HT-29. Desessete substâncias foram isoladas da fração em clorofórmio do extrato metanólico do caule de *Z. glaziovii*, sendo uma xantona, uma lignana, dois triterpenos do tipo lupano, quatro do tipo ceanotano e um fitosterol glicosilado já descritos na literatura além de sete saponinas do tipo damarano inéditas na literatura científica (ziziglaziovigenina, ziziglaziovigenina 3-*O*- α -L-arabinopiranosídeo, ziziglaziovigenina-3-*O*- α -L-arabinofuranosil-(1-2)- α -L-arabinopiranosídeo, ziziglaziovigenina 3-*O*- β -D-glicopiranosil-(1-3)- α -L-arabinopiranosídeo, 16,22:16,30-diepóxi-20-hidroxidamar-24-metilideno 3-*O*- β -D-apiofuranosil-(1-3)-*O*-[6-(3-metóxi-4-hidroxibenzoato)- β -D-glicopiranosil-(1-2)]- β -D-glicopiranosil-(1-2)- β -D-glicopiranosídeo, 16,22-epóxi-15,16,20-trihidroxidamar-24-metilideno-3-*O*- β -D-apiofuranosil-(1-3)-*O*-[6-(3-metóxi-4-hidroxibenzoato)- β -D-glicopiranosil-(1-2)]- β -D-glicopiranosil-(1-2)- β -D-glicopiranosídeo e 16,22:16,30-diepóxi-20-hidroxidamar-24-metilideno 3-*O*- α -L-arabinofuranosil-(1-2)-*O*-[4-*O*-sódio-sulfato- β -D-glicopiranosil-(1-3)]- α -L-arabinopiranosídeo). As substâncias foram avaliadas quanto à atividade antibacteriana, onde o ácido epigouânico e ácido alfitólico mostraram bons resultados frente a *B. subtilis* (IC₅₀ de 20 e 12 μ M, respectivamente). As substâncias apresentaram pouca ou nenhuma atividade

citotóxica nas concentrações testadas (0,01 e 10 μ M). A análise de CLUE-EM-EM da fração alcaloídica do extrato bruto do caule de *Z. joazeiro* possibilitou a identificação de oito alcaloides ciclopeptídicos do tipo Ib, onde as estruturas foram sugeridas por propostas de fragmentação de massas.

Palavras chave: *Siolmatra brasiliensis*, *Ziziphus*, triterpenoides, alcaloides ciclopeptídicos, atividades biológicas.

SANTOS, Carlos Henrique Corrêa dos. **Secondary metabolites and evaluation of biological activities of *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill. (Cucurbitaceae) and species from *Ziziphus* Mill. genus (Rhamnaceae).** 2018. 211p. Thesis (Ph.D. in Chemistry). Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

ABSTRACT: Twenty compounds were isolated from the crude hydroethanolic stem extract of *Siolmatra brasiliensis*, the structures were assigned by extensive NMR and HR-ESI-MS analyses. Five flavonoids, two lignans, one glycosylated phytosterol and seven *nor*-cucurbitacins already described in the literature were identified, along with a previously undescribed phenolic derivative and four dammarane-type saponins (siolmatrin and siolmatrosides II-V). The antinociceptive and *in vitro* antiglycation activities of the crude extract and fractions from the species were evaluated. It is suggested that the presence of dammarane-type saponins and *nor*-cucurbitacins are responsible for the observed antinociceptive activity of the extract and especially the ethyl acetate fraction, on the other hand, the identified phenolic compounds may be responsible for the anti-glycation activity observed specially in the chloroform fraction. Four species of *Ziziphus* were included in this project to evaluate biological activities, in which, *Z. joazeiro* and *Z. glaziovii* presented promising results of bacterial inhibition of *Aliivibrio fischeri* and *Bacillus subtilis*, and all extracts showed significant cytotoxic activities against PC-3 and HT-29. Seventeen compounds were isolated from the chloroform fraction of *Z. glaziovii* stem extract, one xanthone, one lignan, two lupane-type triterpenes, four ceanothane-type triterpenes and one glycosylated phytosterol, besides seven previously undescribed dammarane-type saponins (ziziglaziovigenin, ziziglaziovigenin 3-*O*- α -L-arabinopyranoside, ziziglaziovigenin-3-*O*- α -L-arabinofuranosyl-(1-2)- α -L-arabinopyranoside, ziziglaziovigenin 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1-3)- α -L-arabinopyranoside, 16,22:16,30-diepoxy-20-hydroxydammar-24-methylidene 3-*O*- β -D-apiofuranosyl-(1-3)-*O*-[6-(3-methoxy-4-hydroxybenzoate)- β -D-glucopyranosyl-(1-2)]- β -D-glucopyranosyl-(1-2)- β -D-glucopyranoside, 16,22-epoxy-15,16,20-trihydroxydammar-24-methylidene 3-*O*- β -D-apiofuranosyl-(1-3)-*O*-[6-(3-methoxy-4-hydroxybenzoate)- β -D-glucopyranosyl-(1-2)]- β -D-glucopyranosyl-(1-2)- β -D-glucopyranoside e 16,22:16,30-diepoxy-20-hydroxydammar-24-methylidene 3-*O*- α -L-arabinofuranosyl-(1-2)-*O*-[4-*O*-sodiumsulphate- β -D-glucopyranosyl-(1-3)]- α -L-arabinopyranoside. The compounds evaluated for antibacterial activity, where *epigouanic* acid and *alphaltolic* acid showed good inhibition of *B. subtilis* (IC₅₀ of 20 and 12 μ M, respectively). The isolated compounds presented up to a 10 μ M concentration, none or weak cytotoxic activity. UHPLC-MS-MS analysis of the

alkaloidal fraction from the crude stem extract of *Z. joazeiro* stem allowed the identification of eight Ib-type cyclopeptide alkaloids, the structures were suggested by mass fragmentation proposals.

Keywords: *Siolmatra brasiliensis*, *Ziziphus*, triterpenoids, cyclopeptide alkaloids, biological activities.

Índice de figuras

Figura 1. Biomas brasileiros.....	23
Figura 2. Espécie <i>Siolmatra brasiliensis</i> (Cogn.) Baill.....	38
Figura 3. Substâncias isoladas de <i>Siolmatra brasiliensis</i>	75
Figura 4. Substâncias isoladas de <i>Siolmatra brasiliensis</i> (continuação).....	76
Figura 5. Estrutura da substância Sb1, sakuranetina.....	77
Figura 6. Estrutura da substância Sb2, 3', 7-dimetil diidroquercetina.....	79
Figura 7. Estrutura da substância Sb3, ramnocitrina.....	80
Figura 8. Estrutura da substância Sb4, 7-metil-aromadendrina.....	81
Figura 9. Estrutura da substância Sb5, naringenina.....	83
Figura 10. Estrutura da substância Sb6, 4,4'-dihidróxi-3, 3', 9-trimetóxi-9,9'-epóxilignana. ..	84
Figura 11. Propostas de fragmentações de massas da substância Sb6 (ie. 70 eV).....	86
Figura 12. Estrutura da substância Sb7, epímeros α e β da 3,3'-dimetóxi- 4,9,4'-trihidróxi-9,9'-epóxilignana.	88
Figura 13. Propostas de fragmentações de massas da amostra Sb7 (ie. 70 eV).....	90
Figura 14. Estrutura da substância Sb8, daucosterol.....	91
Figura 15. Estrutura da substância Sb9, cayaponosídeo A ₁	93
Figura 16. Estrutura da substância Sb10, cayaponosídeo A.....	95
Figura 17. Estrutura da substância Sb11, 25-acetoxi-2-(β -D-glicopiranosiloxi)-3,16R,20,22-tetrahidróxi-29-norcucurbita-1,3,5(10)-trien-11-ona.....	97
Figura 18. Estrutura da substância Sb12, cayaponosídeo C.....	99
Figura 19. Estrutura da substância Sb13, cayaponosídeo C ₃	101
Figura 20. Estrutura da substância Sb14, cayaponosídeo D.....	103
Figura 21. Estrutura da substância Sb15, cayaponosídeo B.....	105
Figura 22. Estrutura da substância Sb16, siolmatrina.....	109
Figura 23. Estrutura do derivado acetilado de Sb16.....	110
Figura 24. Estrutura da substância Sb17, siolmatrosídeo II.....	112
Figura 25. Estrutura da substância Sb18, siolmatrosídeo III.....	114
Figura 26. Estrutura da substância Sb19, siolmatrosídeo IV.....	116
Figura 27. Estrutura da substância Sb20, siolmatrosídeo V.....	120
Figura 28. Estrutura do derivado acetilado de Sb20.....	122
Figura 29. Substâncias isoladas de <i>Ziziphus glaziovii</i>	125
Figura 30. Substâncias isoladas de <i>Ziziphus glaziovii</i> (continuação).....	126
Figura 31. Estrutura da substância Zg1, lichenxantona.....	128
Figura 32. Estrutura da substância Zg2, ácido betulínico.....	129
Figura 33. Estrutura da substância Zg3, ácido epigouanico.....	131
Figura 34. Correlações-chave para o assinalamento do anel 16,23:16,30-diepóxi de Zg4.	133
Figura 35. Estrutura da substância Zg4, ziziglaziovigenina.....	133
Figura 36. Estrutura da substância Sb5, ácido alfitólico.....	135
Figura 37. Estrutura da substância Zg6, ácido ceanótico.....	137
Figura 38. Estrutura da substância Zg7, (+)-lioniresinol.....	139
Figura 39. Estrutura da substância Zg8, ácido cyphostemmico A.....	141

Figura 40. Estrutura da substância Zg9, ácido ceanotétrico.....	143
Figura 41. Estrutura da substância Zg10, ziziglaziovigenina 3- <i>O</i> - β -D-arabinopiranosídeo....	145
Figura 42. Estrutura da substância Zg11, ziziglaziovigenina-3- <i>O</i> - α -L-arabinofuranosil-(1-2)- α -L-arabinopiranosídeo.....	147
Figura 43. Estrutura da substância Zg12, ziziglaziovigenina 3- <i>O</i> - β -D-glicopiranosil-(1-3)- α -L-arabinopiranosídeo.....	149
Figura 44. Correlações-chave para a determinação da configuração relativa do anel 16,22:16,30-diepóxi de Zg13.	152
Figura 45. Estrutura da substância Zg13, 16,22:16,30-diepóxi-20-hidróxidamar-24-metilideno 3- <i>O</i> - β -D-apiofuranosil-(1-3)- <i>O</i> -[6-(3-metóxi-4-hidróxibenzoato)- β -D-glicopiranosil-(1-2)]- β -D-glicopiranosídeo.....	152
Figura 46. Correlações-chave para a determinação da configuração relativa do anel 15,16-dihidróxi-16,22-epóxi de Zg14.....	155
Figura 47. Estrutura da substância Zg14, 16,22-epóxi-15, 16, 20-trihidróxidamar-24-metilideno 3- <i>O</i> - β -D-apiofuranosil-(1-3)- <i>O</i> -[6-(3-metóxi-4-hidróxibenzoato)- β -D-glicopiranosil-(1-2)]- β -D-glicopiranosídeo.....	156
Figura 48. Estrutura da substância Zg15, jujubogenina 3- <i>O</i> - α -L-arabinofuranosil-(1-2)- <i>O</i> -[4- <i>O</i> -sódio-sulfato- β -D-glicopiranosil-(1-3)]- α -L-arabinopiranosídeo.	160
Figura 49. Estrutura da substância Zg16, 16,22:16,30-diepóxi-20-hidróxidamar-24-metilideno 3- <i>O</i> - α -L-arabinofuranosil-(1-2)- <i>O</i> -[4- <i>O</i> -sódio-sulfato- β -D-glicopiranosil-(1-3)]- α -L-arabinopiranosídeo.....	162
Figura 50. Expansão do cromatograma de CLUE-EM de ZjC-FAIc (7 – 12 min).	164
Figura 51. Núcleo principal de alcaloide ciclopeptídico do tipo Ib.....	166
Figura 52. Proposta de fragmentação de massas de ZjC-ACP1.....	167
Figura 53. Proposta de fragmentação de massas de ZjC-ACP2.....	168
Figura 54. Proposta de fragmentação de massas de ZjC-ACP3.....	169
Figura 55. Proposta de fragmentação de massas de ZjC-ACP4.....	170
Figura 56. Proposta de fragmentação de massas de ZjC-ACP5.....	171
Figura 57. Proposta de fragmentação de massas de ZjC-ACP6.....	172
Figura 58. Proposta de fragmentação de massas de ZjC-ACP7.....	173
Figura 59. Proposta de fragmentação de massas de ZjC-ACP8.....	174
Figura 60. Efeitos dos extratos e frações de <i>S. brasiliensis</i> na formação de AGEs fluorescentes em sistema-modelo <i>in vitro</i> de glicação proteica.	183

Índice de tabelas

Tabela 1. Espécies de <i>Ziziphus</i> Mill. coletadas.	49
Tabela 2. Extratos obtidos das espécies de <i>Ziziphus</i>	50
Tabela 3. Fases móveis utilizadas no fracionamento de Sb-FC.	51
Tabela 4. Grupos formados pela reunião das frações de SB-FC.	52
Tabela 5. Fases móveis utilizadas no fracionamento de Sb-FA.	56
Tabela 6. Grupos formados pela reunião das frações de Sb-FA.	57
Tabela 7. Fases móveis empregadas no fracionamento de ZgC-FC.	60
Tabela 8. Grupos formados pela reunião das frações de ZgC-FC.	61
Tabela 9. Dados de RMN da substância Sb1 (500 MHz, CDCl ₃).	78
Tabela 10. Dados de RMN da substância Sb2 (500 MHz, CDCl ₃).	79
Tabela 11. Dados de RMN da substância Sb3 (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).	80
Tabela 12. Dados de RMN da substância Sb4 (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).	82
Tabela 13. Dados de RMN da substância Sb5 (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).	83
Tabela 14. Dados de RMN da substância Sb6 (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).	85
Tabela 15. Dados de RMN dos epímeros da substância Sb7 (500 MHz, CDCl ₃).	89
Tabela 16. Dados de RMN da substância Sb8 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	92
Tabela 17. Dados de RMN da substância Sb9 (500 MHz, C ₅ D ₅ N).	94
Tabela 18. Dados de RMN da substância Sb10 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	96
Tabela 19. Dados de RMN da substância Sb11 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	98
Tabela 20. Dados de RMN da substância Sb12 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	100
Tabela 21. Dados de RMN da substância Sb13 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	102
Tabela 22. Dados de RMN da substância Sb14 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	104
Tabela 23. Dados de RMN da substância Sb15 (500 MHz, C ₅ D ₅ N).	106
Tabela 24. Dados de RMN da substância Sb16 (400 MHz, CD ₃ OD).	109
Tabela 25. Dados de RMN do derivado acetilado de Sb16 (500 MHz, CDCl ₃).	110
Tabela 26. Dados de RMN da substância Sb17 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	112
Tabela 27. Dados de RMN da substância Sb18 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	114
Tabela 28. Dados de RMN da substância Sb19 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	117
Tabela 29. Dados de RMN da substância Sb20 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	120
Tabela 30. Dados de RMN do derivado acetilado de Sb20 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	122
Tabela 31. Dados de RMN da substância Zg1 (400 MHz, CDCl ₃).	128
Tabela 32. Dados de RMN da substância Zg2 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	129
Tabela 33. Dados de RMN da substância Zg3 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	131
Tabela 34. Dados de RMN da substância Zg4 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	133
Tabela 35. Dados de RMN da substância Zg5 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	135
Tabela 36. Dados de RMN da substância Zg6 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	137
Tabela 37. Dados de RMN da substância Zg7 (400 MHz, CDCl ₃).	139
Tabela 38. Dados de RMN da substância Zg8 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	141
Tabela 39. Dados de RMN da substância Zg9 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	143
Tabela 40. Dados de RMN da substância Zg10 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	145
Tabela 41. Dados de RMN da substância Zg11 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	147

Tabela 42. Dados de RMN da substância Zg12 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	149
Tabela 43. Dados de RMN da substância Zg13 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	153
Tabela 44. Dados de RMN da substância Zg14 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	157
Tabela 45. Dados de RMN da substância Zg15 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	160
Tabela 46. Dados de RMN da substância Zg16 (400 MHz, C ₅ D ₅ N).	163
Tabela 47. Picos de alcaloides ciclopeptídicos de ZjC-FAlc identificados por CLUE-EM...165	
Tabela 48. Picos detectados no espectro de massas sequencial (EM ²).	165
Tabela 49. Propostas de alcalóides ciclopeptídicos identificados em ZjC-FAlc.....	175

Índice de gráficos

Gráfico 1. Efeito antinociceptivo de Sb-EBHE no modelo da placa quente.....	176
Gráfico 2. Efeito antinociceptivo de Sb-FC no modelo da placa quente.	177
Gráfico 3. Efeito antinociceptivo de Sb-FA no modelo da placa quente.	178
Gráfico 4. Efeito antinociceptivo de Sb-FB no modelo da placa quente.	179
Gráfico 5. Efeito antinociceptivo do cayapanosídeo D no modelo da placa quente.	179
Gráfico 6. Efeito antinociceptivo do siolmatrosídeo I no modelo da placa quente.....	180
Gráfico 7. Atividade antibacteriana dos extratos de <i>Ziziphus</i> frente a <i>B. subtilis</i>	185
Gráfico 8. Atividade antibacteriana das frações de ZgC-EBM frente a <i>B. subtilis</i>	186
Gráfico 9. Atividade antibacteriana das substâncias isoladas de <i>Z. glaziovii</i> frente a <i>B. subtilis</i>	187
Gráfico 10. Atividade antibacteriana dos extratos de <i>Ziziphus</i> frente a <i>A. fischeri</i>	188
Gráfico 11. Atividade antibacteriana das substâncias isoladas de <i>Z. glaziovii</i> frente a <i>A. fischeri</i>	189
Gráfico 12. Atividade citotóxica dos extratos de <i>Ziziphus</i> frente a linhagem HT-29.	190
Gráfico 13. Atividade citotóxica das frações de ZgC-EBM frente a linhagem HT-29.....	191
Gráfico 14. Atividade citotóxica das substâncias isoladas de <i>Z. glaziovii</i> frente a linhagem HT-29.	192
Gráfico 15. Atividade citotóxica dos extratos de <i>Ziziphus</i> frente a linhagem PC-3.....	193
Gráfico 16. Atividade citotóxica das frações de ZgC-EBM frente a linhagem PC-3.	194
Gráfico 17. Atividade citotóxica das substâncias isoladas de <i>Z. glaziovii</i> frente a linhagem PC-3.....	195

Lista de abreviações

δ_H	deslocamento químico de 1H
δ_C	deslocamento químico de ^{13}C
$^1J_{H-C}$	acoplamento heteronuclear (hidrogênio-carbono) direto
$^{2,3}J_{H-C}$	acoplamento heteronuclear (hidrogênio-carbono) a duas/três ligações
AcOEt	acetato de etila
BuOH	<i>n</i> -butanol
CCDA	cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	cromatografia em camada delgada preparativa
CG-EM	C romatografia G asosa acoplada à E spectrometria de M assas
COSY	<i>C</i> orrelation <i>S</i> pectroscop <i>Y</i>
d	diâmetro
<i>d</i>	duplete
<i>dd</i>	duplo-duplete
<i>ddd</i>	duplo duplo-duplete
DEPTQ	<i>D</i> istortionless <i>E</i> nhancement by <i>P</i> olariton <i>T</i> ransfer with retention of <i>Q</i> uaternaries
DEPT-135	<i>D</i> istortionless <i>E</i> nhancement by <i>P</i> olariton <i>T</i> ransfer with proton pulse at 135°
<i>dl</i>	duplete largo
DMSO- <i>d</i> ₆	dimetilsulfóxido deuterado
<i>dt</i>	duplo tripleto
EM-AR-ESI	E spectrometria de M assas de A lta R esolução com Ionização por <i>E</i> letronspray
Glc	Glicopiranosídeo
HMBC	<i>H</i> eteronuclear <i>M</i> ultiple <i>B</i> ound <i>C</i> orrelation
HSQC	<i>H</i> eteronuclear <i>S</i> ingle <i>Q</i> uantum <i>C</i> oherence
Hz	Hertz
i.e. 70 eV	ionização por impacto de elétrons a 70 elétron-volt
<i>J</i>	constante de acoplamento
<i>m</i>	multiplete
<i>m/z</i>	relação massa/carga
Me	metila
MeOH	metanol
MHz	Mega Hertz

Mult.	multiplicidade
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
p.	página (s)
Rf	Fator de retenção (do inglês <i>Retention factor</i>)
Ram	Ramnopiranosídeo
ROESY	<i>Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy</i>
RMN	R essonância M agnética N uclear
<i>s</i>	simpleto
Sb-EBHE	Extrato Bruto Hidroetanólico do caule de <i>S. brasiliensis</i>
Sb-FA	Fração acetato de etila de <i>S. brasiliensis</i>
Sb-FB	Fração butanólica de <i>S. brasiliensis</i>
Sb-FC	Fração clorofórmica de <i>S. brasiliensis</i>
<i>sl</i>	simpleto largo
<i>t</i>	tripleto
<i>td</i>	triplo dupleto
Tr	tempo de retenção
vol.	volume
Xil	xilopiranosídeo
ZgC-EBM	Extrato Bruto Metanólico do Caule de <i>Z. glaziovii</i>
ZgC-FA	Fração Acetato de etila do caule de <i>Z. glaziovii</i>
ZgC-FB	Fração Butanólica do caule de <i>Z. glaziovii</i>
ZgC-FC	Fração Clorofórmica do caule de <i>Z. glaziovii</i>
ZgC-FH	Fração Hexânica do caule de <i>Z. glaziovii</i>
ZjC-AlcF	Fração alcaloídica do caule de <i>Z. joazeiro</i>
ZjC-EBM	Extrato Bruto Metanólico do Caule de <i>Z. joazeiro</i>

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	22
2. CUCURBITACEAE	23
2.1. Metabólitos secundários e atividades biológicas da família Cucurbitaceae	24
2.2. O gênero <i>Siolmatra</i> Cogn.	38
2.3. <i>Siolmatra brasiliensis</i> (Cong.) Baill.	38
2.3.1. Classificação taxonômica de <i>Siolmatra brasiliensis</i>	39
3. RHAMNACEAE.....	39
3.1. O gênero <i>Ziziphus</i> Mill.	40
3.1.1. Classificação taxonômica das espécies de <i>Ziziphus</i>	40
3.2. Metabólitos secundários e atividades biológicas do gênero <i>Ziziphus</i> Mill.....	41
4. OBJETIVOS.....	47
4.1. Objetivo geral	47
4.2. Objetivos específicos	47
5. PARTE EXPERIMENTAL.....	48
5.1. Materiais	48
5.2. Equipamentos.....	48
5.3. Material vegetal	49
5.3.1. <i>Siolmatra brasiliensis</i> (Cogn.) Baill.	49
5.3.2. Espécies de <i>Ziziphus</i> Mill.	49
5.4. Preparação dos extratos	50
5.5. Isolamento de metabólitos secundário de <i>Siolmatra brasiliensis</i>	50
5.5.1. Procedimentos cromatográficos com Sb-FC.	51
5.5.2. Procedimentos cromatográficos com Sb-FA	56
5.5.3. Procedimentos cromatográficos com Sb-FB	59
5.6. Isolamento de metabólitos secundários de <i>Ziziphus</i> Mill.	60
5.6.1. Fracionamento do extrato de <i>Ziziphus glaziovii</i> Warm.	60
5.6.2. Procedimentos cromatográficos com ZgC-FC.....	60
5.6.3. Extração ácido-base de <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.	65
5.7. Metodologia de ensaios biológicos.....	66
5.7.1. Atividade antinociceptiva	66
5.7.2. Atividade anti-glicação <i>in vitro</i>	66
5.7.3. Atividade antibacteriana	66

5.7.4. Atividade citotóxica	68
5.8. Dados experimentais das substâncias isoladas de <i>Siomatra brasiliensis</i>	68
5.9. Dados experimentais das substâncias isoladas de <i>Ziziphus glaziovii</i>	71
6. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	74
6.1. Metabólitos secundários isolados de <i>Siolmatra brasiliensis</i> (Cogn.) Baill.	74
6.2. Elucidação estrutural dos metabólitos secundários isolados de <i>Siolmatra brasiliensis</i> 77	
6.2.1. Elucidação estrutural da substância Sb1	77
6.2.2. Elucidação estrutural da substância Sb2	78
6.2.3. Elucidação estrutural da substância Sb3	79
6.2.4. Elucidação estrutural da substância Sb4	81
6.2.5. Elucidação estrutural da substância Sb5	82
6.2.6. Elucidação estrutural da substância Sb6	83
6.2.7. Elucidação estrutural da substância Sb7	87
6.2.8. Elucidação estrutural da substância Sb8	91
6.2.9. Elucidação estrutural da substância Sb9	93
6.2.10. Elucidação estrutural da substância Sb10.....	94
6.2.11. Elucidação estrutural da substância Sb11.....	96
6.2.12. Elucidação estrutural da substância Sb12.....	98
6.2.13. Elucidação estrutural da substância Sb13.....	100
6.2.14. Elucidação estrutural da substância Sb14.....	103
6.2.15. Elucidação estrutural da substância Sb15.....	104
6.2.16. Elucidação estrutural da substância Sb16.....	107
6.2.17. Elucidação estrutural da substância Sb17.....	111
6.2.18. Elucidação estrutural da substância Sb18.....	113
6.2.19. Elucidação estrutural da substância Sb19.....	115
6.2.20. Elucidação estrutural da substância Sb20.....	118
6.3. Elucidação estrutural dos metabólitos isolados de <i>Ziziphus glaziovii</i> Warm.	124
6.3.1. Elucidação estrutural da substância Zg1	127
6.3.2. Elucidação estrutural da substância Zg2.....	128
6.3.3. Elucidação estrutural da substância Zg3	130
6.3.4. Elucidação estrutural da substância Zg4.....	132
6.3.5. Elucidação estrutural da substância Zg5	134
6.3.6. Elucidação estrutural da substância Zg6.....	136

6.3.7. Elucidação estrutural da substância Zg7	138
6.3.8. Elucidação estrutural da substância Zg8	139
6.3.9. Elucidação estrutural da substância Zg9	142
6.3.10. Elucidação estrutural da substância Zg10	144
6.3.11. Elucidação estrutural da substância Zg11	146
6.3.12. Elucidação estrutural da substância Zg12	148
6.3.13. Elucidação estrutural da substância Zg13	150
6.3.14. Elucidação estrutural da substância Zg14	154
6.3.15. Elucidação estrutural da substância Zg15	158
6.3.16. Elucidação estrutural da substância Zg16	161
6.4. Alcalóides ciclopeptídicos de <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.	164
7. AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS	176
7.1. Atividades biológicas de <i>Siolmatra brasiliensis</i> (Cogn.) Baill.	176
7.1.1. Avaliação da atividade antinociceptiva (modelo de placa quente)	176
7.1.2. Atividade anti-glicação <i>in vitro</i>	181
7.2. Atividades biológicas das espécies de <i>Ziziphus</i> Mill.	184
7.2.1. Atividade antibacteriana	184
7.2.2. Atividade citotóxica	189
8. CONCLUSÕES	197
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	199

1. INTRODUÇÃO

Os produtos naturais têm sido utilizados pela humanidade desde tempos antigos devido a suas aplicações para cura e alívio de enfermidades e doenças, como mecanismos de defesa de pragas, entre outras inúmeras utilizações. Civilizações antigas, como egípcia e chinesa, tem seu desenvolvimento atrelado à utilização dos produtos naturais pelos seus povos e a história do Brasil também possui grande vínculo com a utilização dos produtos naturais sendo a extração e comércio do pau-brasil [*Caesalpinia echinata* Lam., com uma nova classificação sugerida para *Paubrasilia echinata* Lam. (GAGNON et al., 2016)] uma das primeiras atividades realizadas em solo brasileiro (VIEGAS et al, 2006).

A interação com os povos primitivos e indígenas, os quais tinham um enorme conhecimento das propriedades das plantas, foi um dos principais fatores para o descobrimento de substâncias tóxicas ou medicamentosas da natureza, como os curares que eram drogas obtidas de algumas espécies de *Strychnos* e *Chondrodendron* africanas e americanas, respectivamente, utilizadas para envenenar flechas para caça e pesca (VIEGAS et al, 2006).

O Brasil é conhecido mundialmente por sua vasta biodiversidade, sendo a maior do mundo, distribuída em uma área de 8.511.996 km² onde se encontram seis biomas (**Figura 1**) (mata atlântica, caatinga, cerrado, floresta amazônica, pantanal e os pampas), uma área costeira de 7.491 km que abriga três ecossistemas marinhos e doze regiões hidrográficas. Dos biomas brasileiros, o cerrado e a mata atlântica já são considerados “hotspots” de biodiversidade (que são, por definição, biomas que sofrem perda acentuada de sua vegetação endêmica) devido a acelerada perda de diversidade biológica causada principalmente pela agricultura, pecuária e urbanização (VALLI et al., 2018).

O Brasil tem um potencial muito grande na pesquisa de produtos naturais e explorar de forma consciente e eficaz esses biomas, juntamente com informações obtidas com os povos nativos (povos indígenas, quilombolas e ribeirinhos, por exemplo) diante de seu conhecimento sobre as plantas medicinais de cada região (etnobotânica e etnofarmacologia) são fatores importantes para que a pesquisa com produtos naturais tenha êxito nas suas buscas e também contribua para maior entendimento de seu ecossistema incluindo a preservação e uso consciente das espécies.



Figura 1. Biomas brasileiros.

Fonte: http://siscom.ibama.gov.br/monitora_biomass/ acesso em agosto de 2018.

2. CUCURBITACEAE

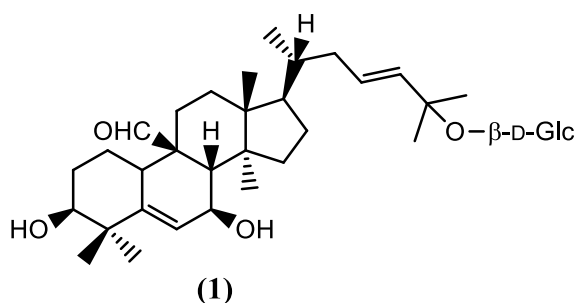
Cucurbitaceae compreende uma família de grande importância econômica devido a suas frutas e legumes mundialmente comercializados como o melão (*Cucumis melo* L.), melancia (*Citrullus lanatus*), abóbora (gênero *Cucurbita*), pepino (*Cucumis sativus*), chuchu (*Sechium edule*), entre outros. A família engloba cerca de 118 gêneros e 825 espécies (JEFFREY, 2005) distribuídas nos trópicos úmidos ou áridos do Velho e Novo mundo, especialmente em florestas úmidas da América do Sul e florestas, campos e savanas da África, com espécies bem adaptadas a áreas desérticas deste continente. Nas Américas são citados 53 gêneros nativos com aproximadamente 325 espécies (LIMA, 2010). No Brasil, as cucurbitáceas estão representadas por cerca de 200 espécies distribuídas em 30 gêneros (BARROSO et al, 1978).

As cucurbitáceas são caracterizadas por serem trepadeiras herbáceas ou lenhosas, perenes ou anuais, raramente arbustos (*Acanthosicyos*) ou árvores (*Dendrosicyos*), com tubérculos subterrâneos ou superficiais que se formam pelo entumescimento do hipocótilo (LIMA, 2010).

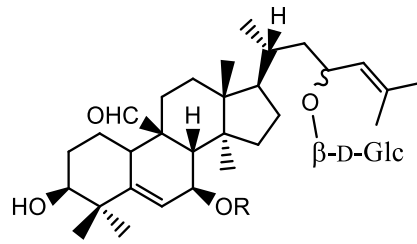
2.1. Metabolitos secundários e atividades biológicas da família Cucurbitaceae

Há vários relatos de isolamento e elucidação estrutural de cucurbitacinas e saponinas em espécies de cucurbitáceas, ambos de esqueleto triterpênico, testados para diversos fins farmacológicos e biológicos. Os estudos químicos e farmacológicos feitos com a espécie *Momordica charantia* L. (conhecida popularmente por melão-de-São-Caetano) são os mais numerosos dentro da família Cucurbitaceae. Estudos etnobotânicos confirmam seu uso para os mais variados fins farmacológicos como: antidiabético, abortivo, contraceptivo, antimalárico, dor abdominal, pedra nos rins, laxativo, pneumonia, psoríase, reumatismo, febre entre outras (GROVER & YADAV, 2004). Devido ao seu uso ser difundido no mundo inteiro, estudos fitoquímicos foram realizados por vários pesquisadores e a maioria descreve o isolamento e elucidação estrutural de triterpenoides com esqueleto cucurbitano (cucurbitacinas) e saponinas triterpênicas.

Cinco cucurbitacinas foram isoladas de *M. charantia*, incluindo o glicosídeo ainda não descrito nomeado momordicosídeo U (**1**), que foi testado quanto a sua capacidade de secreção de insulina *in vitro*, apresentando atividade moderada ($0,0065 \pm 0,0002 \mu\text{g}$ de insulina/ 1×10^6 células) (MA et al., 2010).



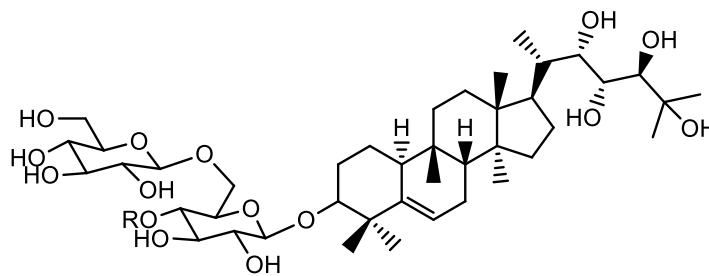
Em outro estudo, cinco triterpenoides foram isolados de *M. charantia* e testados quanto sua estimulação de secreção de insulina *in vitro*, verificando que as substâncias momordicina II (**2**) e Kuguaglicosídeo G (**3**) em doses de 10 e 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ estimularam de maneira significativa a secreção de insulina em comparação com o veículo, DMSO em tampão de Krebs Ringer (KELLER et al., 2011).



(2) R = H

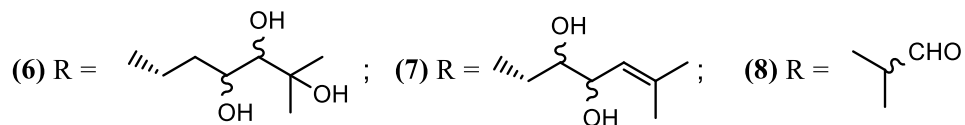
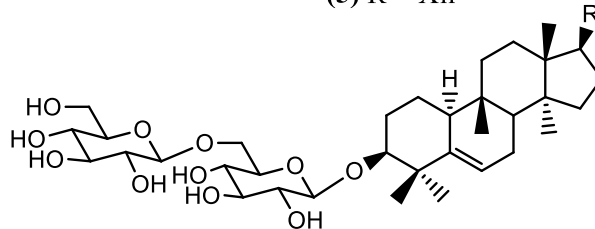
(3) R = β-D-Glc

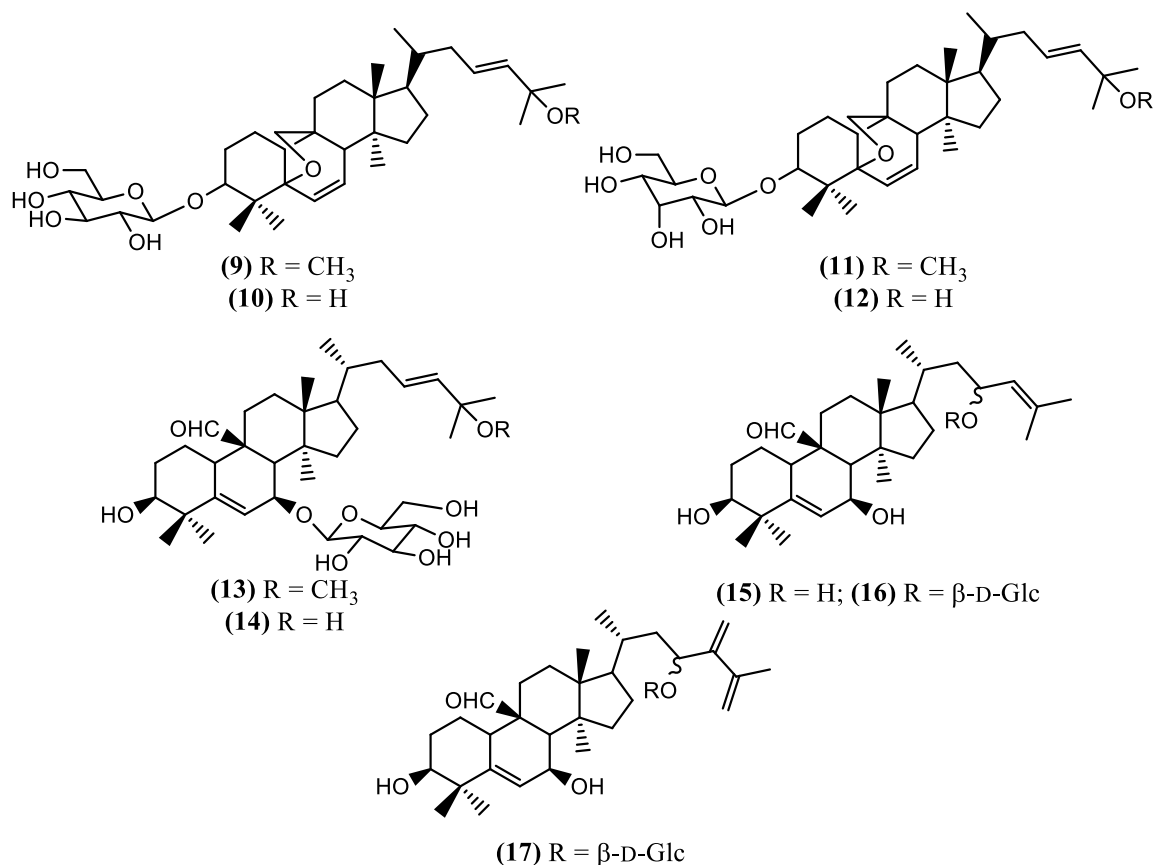
Os aspectos farmacológicos de *M. charantia* foram revisados onde associou-se a presença de glicosídeos triterpênicos (saponinas) dos frutos, sementes e vinhas da espécie com a sua atividade antidiabética. A fração rica em saponinas [contendo momordicosídeos A, B, C, D, E, F1, F2, G, I, K, L (1-14) e momordicinas I, II e III (15-17)] apresentou efeitos insulínomiméticos *in vitro* (RAMAN & LAU, 1996).



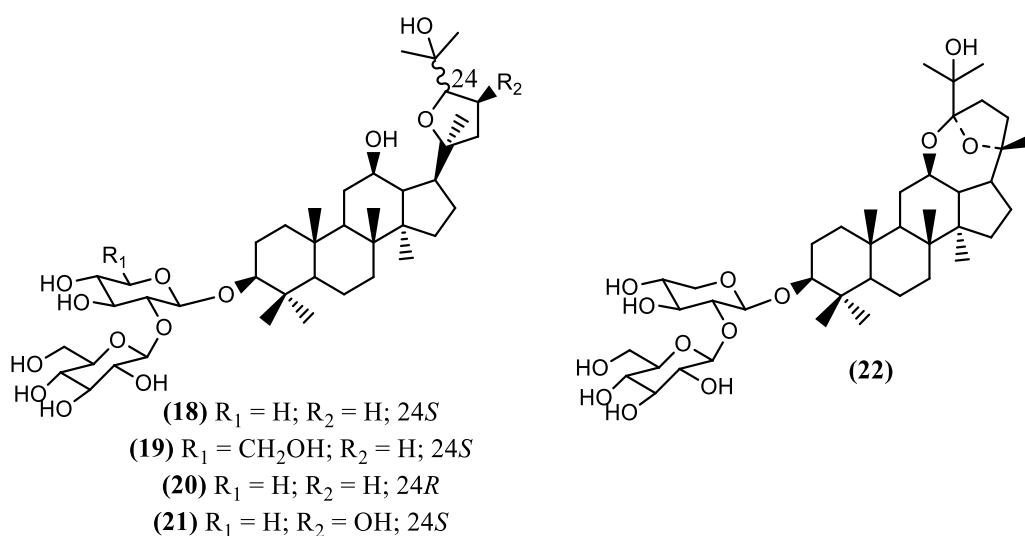
(4) R = H

(5) R = Xil

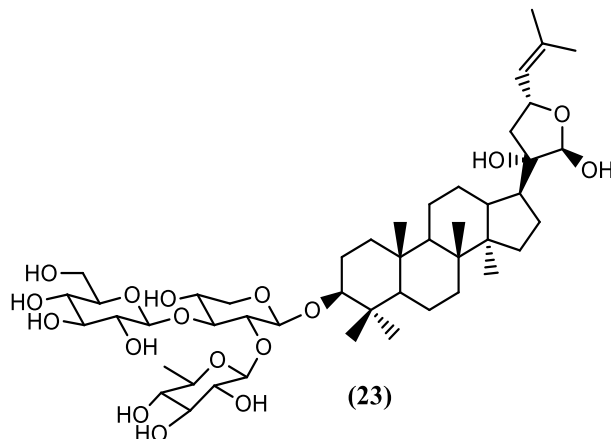




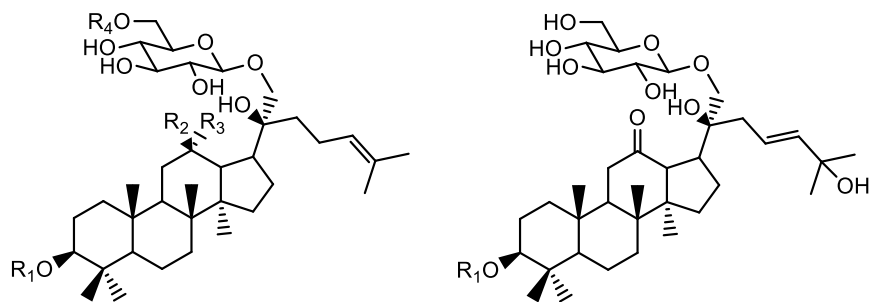
Outra espécie muito estudada na família Cucurbitaceae é *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino que tem uso na medicina popular chinesa para os mais variados fins, como reduzir os níveis de colesterol, regular a pressão sanguínea, fortalecer o sistema imunológico, tratar bronquites, gastrites crônicas e reduzir inflamações. O estudo químico das partes aéreas de *G. pentaphyllum* levou ao isolamento de cinco saponinas do tipo ocotilona, juntamente com mais dez saponinas de esqueleto damarano, que foram nomeadas de Gynosídeos A-E (18 – 22) (LIU et al, 2004).



Outros estudos realizados com a espécie *G. pentaphyllum* permitiram o isolamento de uma saponina do tipo gypenosídeo, nomeado de Phanosídeo (**23**), que promove liberação potencial de insulina em testes *in vitro* e *in vivo* (NORBERG et al., 2004).



Sete saponinas do tipo damarano foram isoladas da espécie *G. pentaphyllum*, nomeadas gypenosídeos VN1 – VN7 (**24** – **30**), e as testadas quanto sua citotoxicidez frente a quatro tipos de linhagens tumorais (pulmão, cólon, mama e ovário) onde todas as substâncias apresentaram atividade moderada (IC_{50} $19,6 \pm 1,1$ a $43,1 \pm 1,0$ μ M). Já frente à linhagem celular de leucemia promielocítica aguda as substâncias **24**, **29** e **30** foram pouco ativas. As demais apresentaram menor atividade (KY et al., 2010).

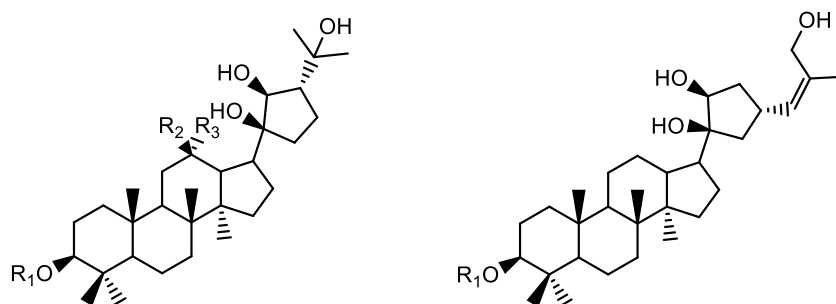


(24) $R_1 = S_1$; $R_2 + R_3 = H$; $R_4 = S_3$

(27)

(25) $R_1 = S_1$; $R_2 + R_3 = O$; $R_4 = H$

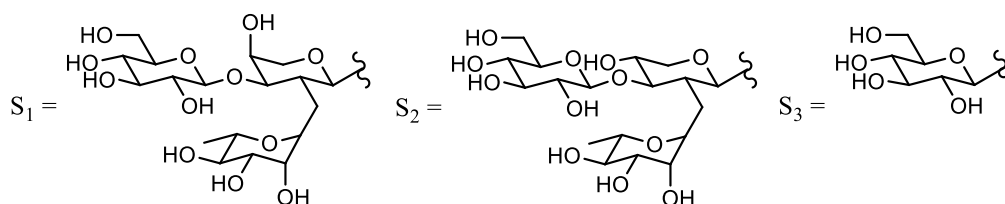
(24) $R_1 = S_2$; $R_2 + R_3 = O$; $R_4 = H$



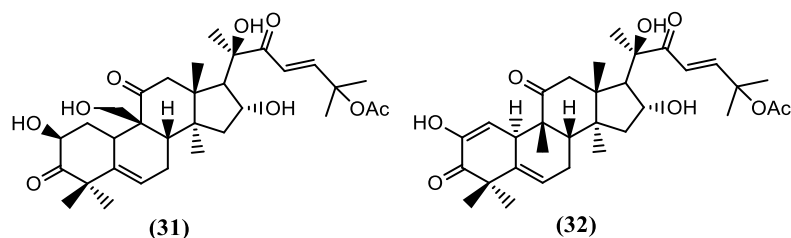
(28) $R_1 = S_1$; $R_2 = OH$; $R_3 = H$

(30) $R_1 = S_1$

(29) $R_1 = S_2$; $R_2 + R_3 = O$

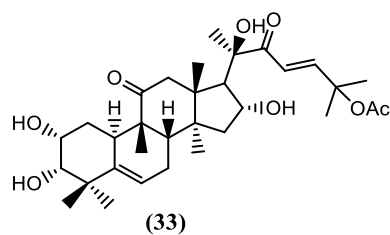


ALGHASHAM (2013) descreve num artigo de revisão uma série de cucurbitacinas e suas propriedades antitumorais promissoras. Dentre as várias citadas, a cucurbitacina A (31), E (32) e Q (33) apresentaram atividades significativas contra linhagem celulares de câncer de pulmão.



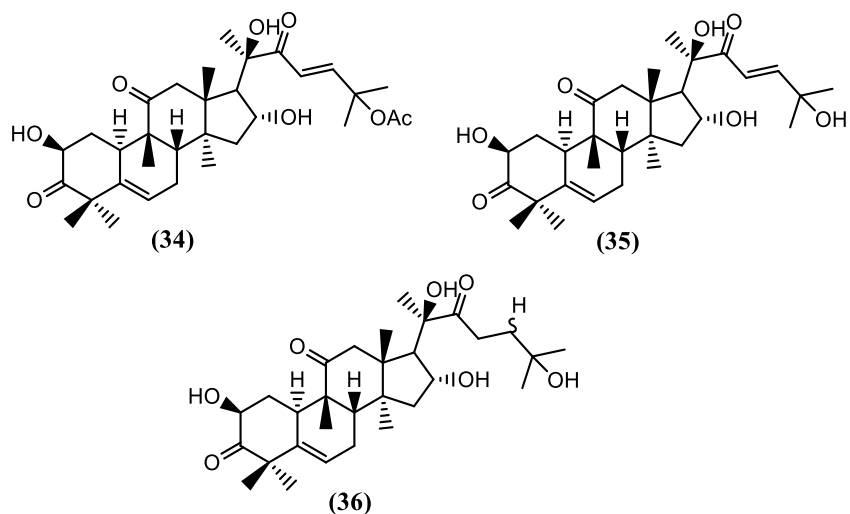
(31)

(32)

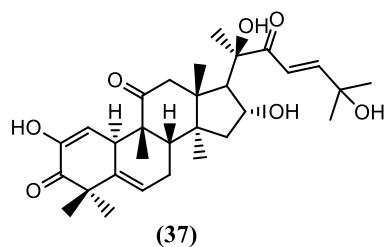


(33)

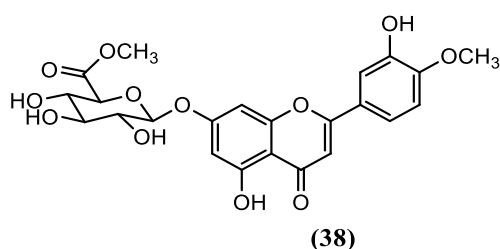
As cucurbitacinas B (**34**) e D (**35**) apresentaram efetiva ação contra linhagens celulares de leucemia e linfoma e a diidrocurcubitacina B (**36**) apenas apresentou ação contra leucemia.



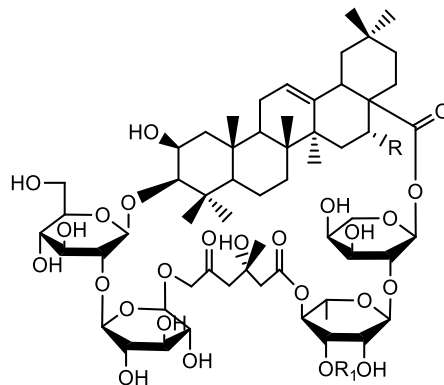
As cucurbitacinas B (**34**), E (**32**), D (**35**), I (**37**) e a diidrocurcubitacina B (**36**) apresentaram atividade citotóxica contra linhagens de câncer de mama.



DU & CUI (2007) descreveram o isolamento de uma nova flavona glicosilada, o éster metílico de diosmetina-7-*O*- β -D-glucoronídeo (**38**) dos frutos de *Luffa cylindrica*.



Da espécie *Actinostemma lobatum* MAXIM isolaram-se seis bisdesmosídeos que foram testados quanto seu efeito citotóxico frente a células de câncer humano (carcinoma, pulmão e câncer gástrico) onde as substâncias lobatosídeo L (**39**), dexilosiltubeimosídeo III (**40**) e tubeimosídeo III (**41**) mostraram atividade citotóxica significativa (IC_{50} 8,25 a 36,85 μ M) (LI et al., 2012).

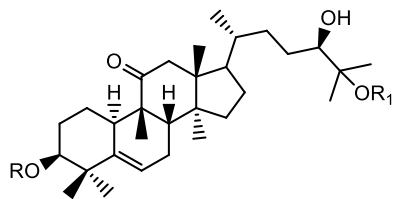


(39) R = OH; R₁ = R = β-D-Glc

(40) R = OH; R₁ = H

(41) R = OH; R₁ = β-D-Xil

Nove triterpenoides com esqueleto cucurbitano foram isolados das raízes de *Bryonia dioica* Jacq. e testados quanto a sua atividade anti-inflamatória e efeitos antitumorais. Todas as substâncias apresentadas, bryoniosídeos A-G (42-48), cabenosídeo D (49) e bryoamarida (50) e as agliconas dos bryanosídeo A (51), E (40) e F (41), apresentaram atividade anti-inflamatória significativa frente às formas testadas (inflamação induzida por 13-acetato de 12-*O*-tetradecanoilforbol e ativação precoce de antígeno de vírus Epstein-Barr) (UKIYA et al., 2002).



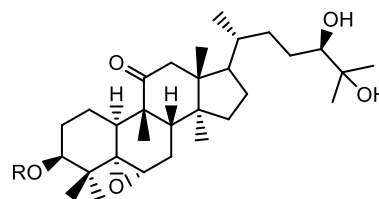
(42) R = H; R₁ = R = β-D-GlcGlc

(43) R = α-L-Ram-(1-2)-β-D-Glc; R₁ = H

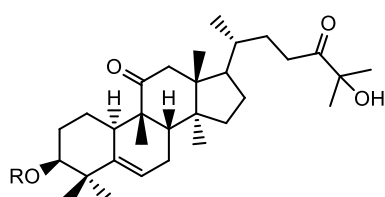
(44) R = α-L-Ram-(4-Ac)-(1-2)-β-D-Glc; R₁ = H

(49) R = β-D-Glc; R₁ = H

(51) R = R₁ = H



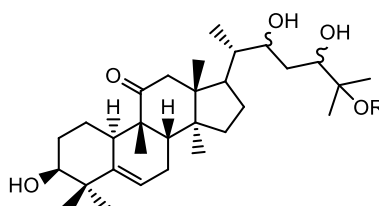
(45) R = β-D-Glc



(47) R = β-D-Glc

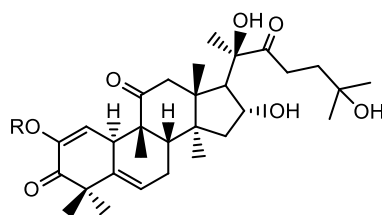
(48) R = α-L-Ram-(1-2)-β-D-Glc

(41) R = H



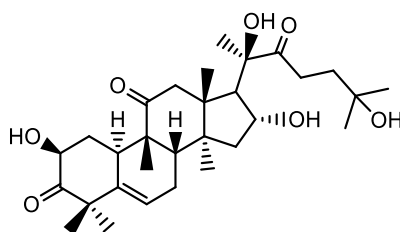
(46) R = β-D-Glc

(40) R = H



(50) R = β-D-Glc

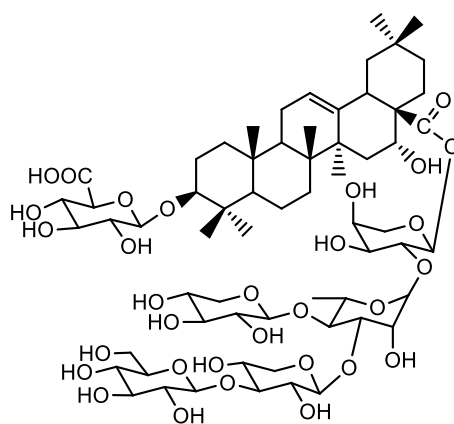
Dois triterpenoides de esqueleto cucurbitano de um extrato com atividade anti-inflamatória das raízes de *Cayaponia tayuya* (Vell.) Cogn. As substâncias diidrocurbitacina B (**36**) e curbitacina R (**52**) foram testadas em variados modelos experimentais de dor e inflamação (inflamação de pata induzida por carragenina, fosfolipase A₂ e serotonina, e inflamação de orelha induzida por TPA) apresentando resultados satisfatórios com doses variando entre 0,5 e 4 mg/kg e inibições de inflamação variando de 39% a 73% (RECIO et al., 2004).



(52)

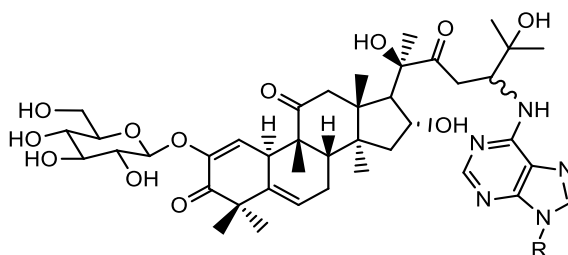
Num estudo com a espécie *Cucurbita foetidissima* H. B. K., descreve-se o isolamento e elucidação estrutural de uma saponina triterpênica majoritária, foetidissimosídeo B (**53**) onde avaliou-se a sua habilidade de potencializar a citotoxicidade *in vitro* da cisplatina em

células de câncer de cólon humano, não apresentando atividade significativa (GAIDI et al., 2000).



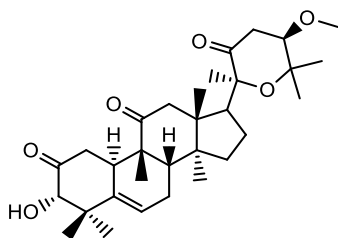
(53)

Dos frutos da espécie *Cucurbita pepo* cv *dayangua*, dois triterpenoides de esqueleto cucurbitano, cucurbitaglicosídeo A (54) e B (55), que apresentaram citotoxicidade contra células de carcinoma epitelial com IC₅₀ de 17,2 e 28,4 µg.mL⁻¹, respectivamente (WANG et al., 2008).

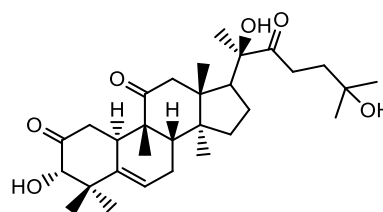


(54) R = Ribose
(55) R = H

Estudos fitoquímicos com a espécie *Dendrosicyos socotrana* Balf.f., considerada a única espécie em forma de árvore da família Cucurbitaceae, levaram ao isolamento de uma isocucurbitacina com cadeia lateral incomum, nomeada dendrocina (56), juntamente com o isolamento da isocucurbitacina R (57) (HUSSEIN et al., 2004).



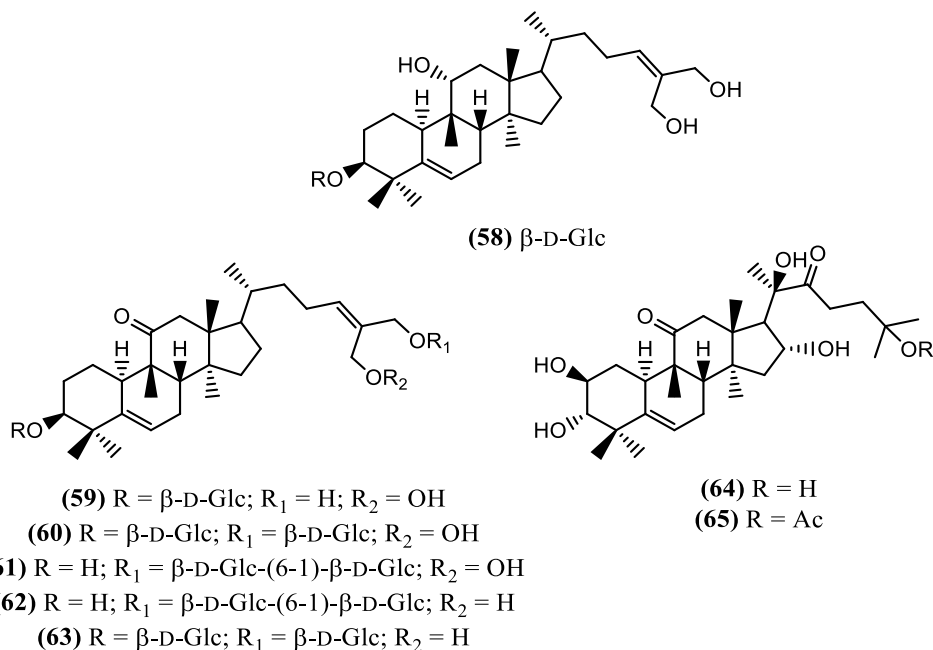
(56)



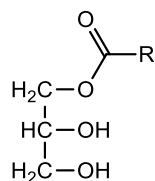
(57)

Num estudo fitoquímico com a espécie *Hemsleya jinfushanensis* L. T. Shen descreve-se o isolamento e elucidação estrutural de quatro glicosídeos com esqueleto cucurbitano, jinfushanosídeos A – D (58 – 61), juntamente com quatro cucurbitacinas já descritas na

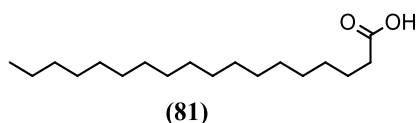
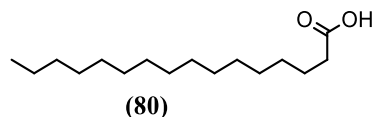
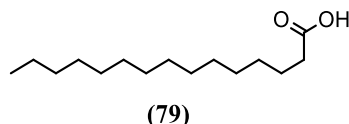
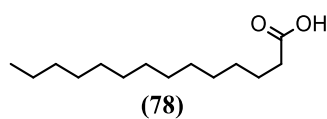
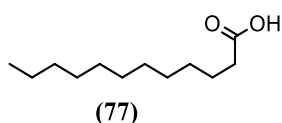
literatura científica, carnosiflosídeo I (**62**), scandenosídeo R8 (**63**), diidrocurbitacina F (**64**) e 25-O-acetil-23,24-diidrocurbitacina F (**65**). As substâncias **58** – **64** foram testadas quanto a sua capacidade de inibir agregação plaquetária em coelhos induzida pelo fator de agregação plaquetária (PAF), onde as substâncias **58**, **62**, **63** e **64** apresentaram inibição fraca, com percentual de agregação variando entre 42,7% e 48,6% a 270 μ M (CHEN et al., 2005).



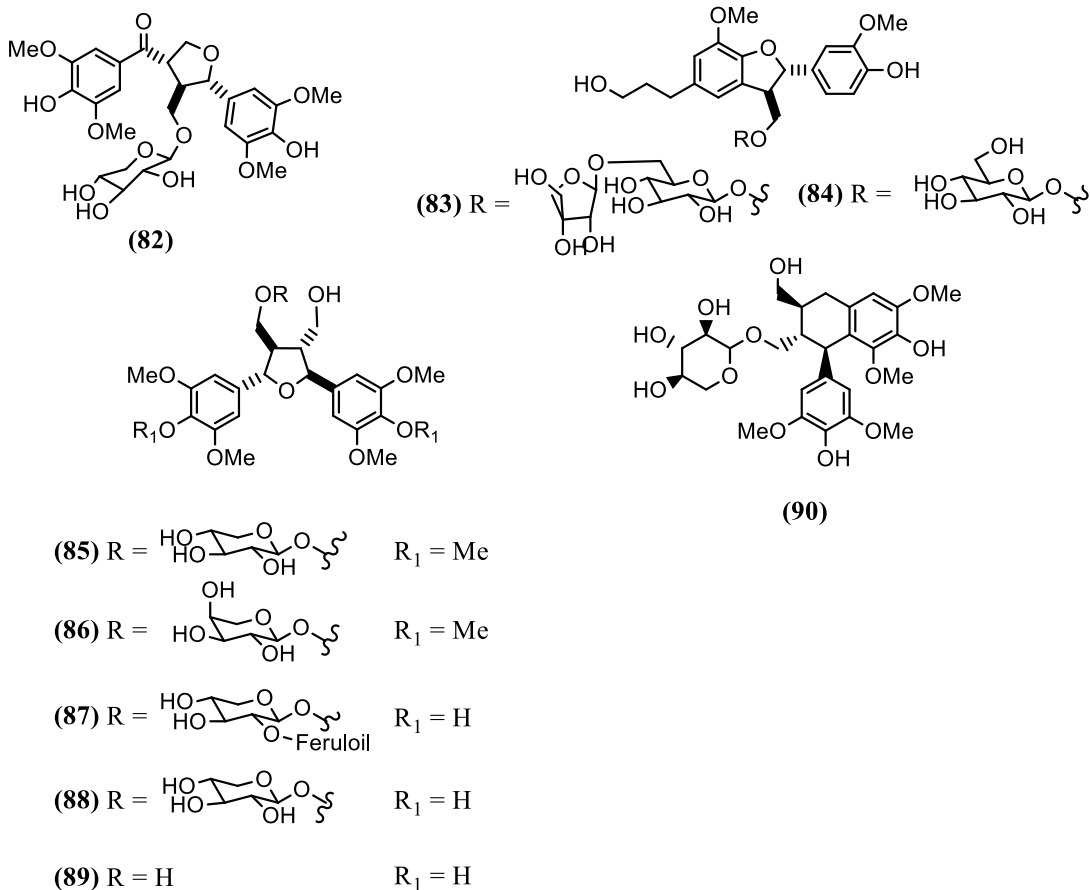
Procedimentos cromatográficos com o extrato apolar das raízes de *Ibervillea sonora* Greene descrevem o isolamento de onze monoglicerídeos [1-monopalmitina (**66**); 1-monomargarato de glicerila (**67**); 1-monostearina (**68**); 1-monononadecilato de glicerila (**69**); 1-monoaraquidato de glicerila (**70**); 1-monobehenato de glicerila (**71**); 1-monotricosanoato de glicerila (**72**); 1-monotetracosanoato de glicerila (**73**); 1-monopentacosanoato de glicerila (**74**); 1-monohexacosanoato de glicerila (**75**); 1-monooctacosanoato de glicerila (**76**)] e cinco ácidos graxos [ácido láurico (**77**); ácido mirístico (**78**); ácido pentadecanóico (**79**); ácido palmítico (**80**); ácido esteárico (**81**)] juntamente com a atividade hipoglicemiante do extrato diclorometânico, das frações provenientes do extrato (F1 – F10 e SF1 – SF5), dos monoglicerídeos e dos ácidos graxos. A fração SF1 apresentou a maior atividade dentre as amostras testadas (concentração de 150 mg/kg e glicose sanguínea calculada em $15,7 \pm 1,4$ mg/dL em 240 minutos, mais pronunciada que a tolbutamida usada como controle), os monoglicerídeos e ácidos graxos, isoladamente, não apresentaram atividade hipoglicemiante significativa, mas quando combinados em proporções iguais (75:75 mg/kg) a atividade é comparável com a atividade da fração SF1 (HERNÁNDEZ-GALICIA et al., 2007).



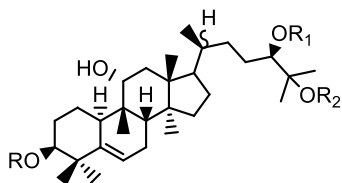
- | | |
|--|--|
| (66) R = CH ₂ -(CH ₂) ₁₂ -CH ₂ -CH ₃ | (72) R = CH ₂ -(CH ₂) ₁₈ -CH ₂ -CH ₃ |
| (67) R = CH ₂ -(CH ₂) ₁₃ -CH ₂ -CH ₃ | (73) R = CH ₂ -(CH ₂) ₁₉ -CH ₂ -CH ₃ |
| (68) R = CH ₂ -(CH ₂) ₁₄ -CH ₂ -CH ₃ | (74) R = CH ₂ -(CH ₂) ₂₀ -CH ₂ -CH ₃ |
| (69) R = CH ₂ -(CH ₂) ₁₅ -CH ₂ -CH ₃ | (74) R = CH ₂ -(CH ₂) ₂₁ -CH ₂ -CH ₃ |
| (70) R = CH ₂ -(CH ₂) ₁₆ -CH ₂ -CH ₃ | (75) R = CH ₂ -(CH ₂) ₂₂ -CH ₂ -CH ₃ |
| (71) R = CH ₂ -(CH ₂) ₁₇ -CH ₂ -CH ₃ | (76) R = CH ₂ -(CH ₂) ₂₄ -CH ₂ -CH ₃ |



Procedimentos cromatográficos resultaram no isolamento de cinco lignanas glicosiladas, (8*R*, 7'*S*, 8'*R*)-3, 5, 3', 5'-tetrametóxi-4, 4'-dihidróxi-7-oxolariciresinol-9'-*O*-β-D-xilopiranosídeo (**82**), álcool (7*S*, 8*R*)-diidrodeidroconiferílico-9-*O*-β-D-apiofuranosil-(1→6)-*O*-β-D-glicopiranosídeo (**83**), (7*S*, 8*R*, 7'*S*, 8'*R*)-4,4'-dimetóxihuazhongilexina 9-*O*-β-D-xilopiranosídeo (**85**), (7*S*, 8*R*, 7'*S*, 8'*R*)-4,4'-dimetóxihuazhongilexina 9-*O*-α-L-arabinopiranosídeo (**86**) e (7*S*, 8*R*, 7'*S*, 8'*R*)-huazhongilexina 9-*O*-(2-feruloil)-β-D-glicopiranosídeo (**87**), juntamente com quatro substâncias conhecidas, álcool (7*R*, 8*S*)-diidrodeidrodiconiferílico 9-*O*-β-D-glicopiranosídeo (**84**), 9-*O*-β-D-xilopiranosídeo do icariol A2 (**88**), huazhongilexina (**89**) e nudiposídeo (**90**), das folhas de *Neoalsomitra integrifoliola* (Cogn.) Hutch. As substâncias **83**, **84**, **89** e **90** apresentaram atividade anti-inflamatória fraca (SU et al., 2008).



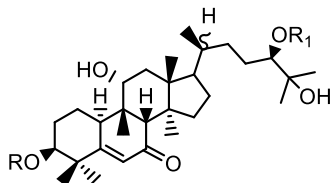
O estudo fitoquímico dos frutos de *Siraitia grosvenorii* (Swingle) Lu & Zhang permitiu o isolamento de seis glicosídeos, mogrosídeo II B **(91)**, 11-deoximogrosídeo III **(92)**, 7-oxomogrosídeo II E **(93)**, 7-oxomogrosídeo V **(94)**, 11-oxomogrosídeo II A₁ **(95)** e 11-oxomogrosídeo IV A **(96)**, e dois descritos de ocorrência natural pela primeira vez, mogrosídeo II A₁ **(97)** e mogrosídeo III A₂ **(98)**. As substâncias isoladas foram testadas quanto a sua inibição do antígeno precoce do vírus Epstein-Barr (*herpesvírus* humano 4) induzida por TPA e todos apresentaram resultados satisfatórios (346 – 400 de razão molar/32 pmol de TPA), próximos ao controle (β -caroteno) (AKIHISA et al., 2007).



(91) R = H; R₁ = β-D-Glc-(1-6)-β-D-Glc; R₂ = H

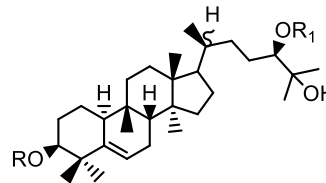
(92) R = β-D-Glc; R₁ = H; R₂ = β-D-Glc

(93) R = β-D-Glc-(1-6)-β-D-Glc; R₁ = β-D-Glc;
R₂ = H

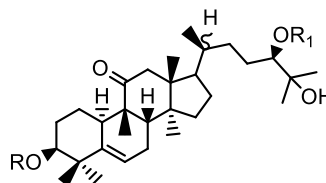


(95) R = β-D-Glc; R₁ = β-D-Glc

(96) R = β-D-Glc-(1-6)-β-D-Glc; R₁ =
β-D-Glc-(1-6)-β-D-Glc-(1-2)-β-D-Glc



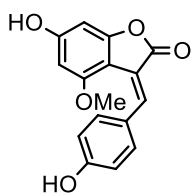
(94) R = β-D-Glc; R₁ = β-D-Glc-(1-6)-β-D-Glc



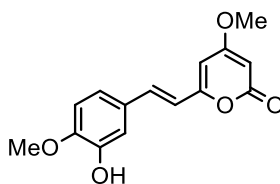
(97) R = H; R₁ = β-D-Glc-(1-6)-β-D-Glc

(98) R = β-D-Glc-(1-6)-β-D-Glc; R₁ = β-
D-Glc-(1-6)-β-D-Glc

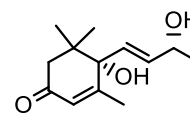
O fracionamento biomonitorado do extrato metanólico das sementes de *Trichosanthes kirilowii* MAXIM. para a inibição do fator indutor de hipóxia-1α – 1 (HIF-1) e fator nuclear κB (NF-κB), levou ao isolamento de uma isoaurona rara, 4',6-dihidróxi-4-metóxiisoaurona (**99**), juntamente com mais três substâncias já descritas na literatura, cucurbitacina B (**34**), 6-(3-hidróxi-4-metóxiestiril)-4-metóxi-2*H*-piran-2-ona (**100**) e blumenol A (**101**). As substâncias isoladas inibiram significativamente HIF-1 e NF-κB (com IC₅₀ variando entre 0,27-15,8 e 0,061-12,3 μM, respectivamente), sugerindo que a atividade de inibição de crescimento de células tumorais, presentes em *Trichosanthes kirilowii*, está associado com a inibição dos fatores HIF-1 e NF-κB (DAT et al., 2010).



(99)



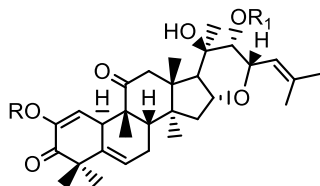
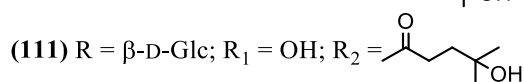
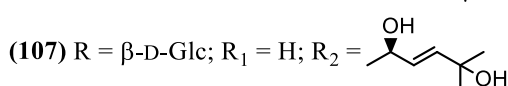
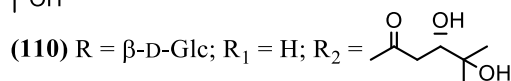
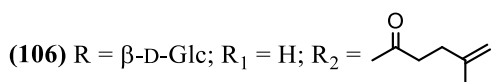
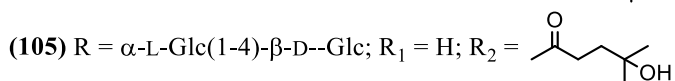
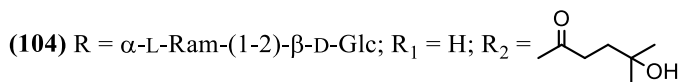
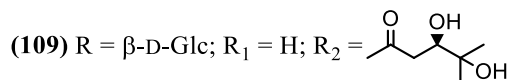
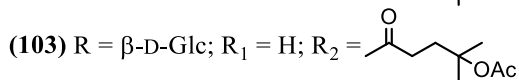
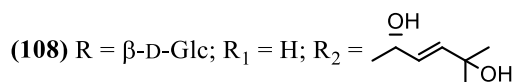
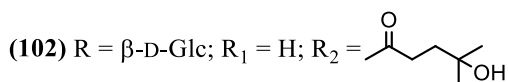
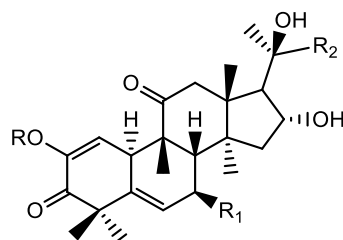
(100)



(101)

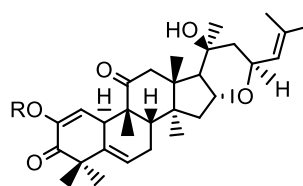
Ainda no gênero *Trichosanthes*, o estudo dos frutos de *Trichosanthes tricuspidata* Lour. conduziram ao isolamento e elucidação estrutural de quatorze glicosídeos cucurbitanos (khekadaengosídeos A – E (**104-108**), F – J (**111 – 115**), M – N (**118 – 119**), cucurbitacina J 2-*O*-β-glicopiranosídeo (**109**) e cucurbitacina K 2-*O*-β-glicopiranosídeo (**110**)), um glicosídeo hexanorcucurbitano [khekadaengosídeo K (**116**)] e um glicosídeo octanorcucurbitano, khekadaengosídeo L (**117**), juntamente com dois glicosídeos cucurbitanos já descritos

[cucurbitacina L 2-*O*- β -glicopiranosídeo (**102**) e cucurbitacina L 25-*O*-acetil-2-*O*- β -glicopiranosídeo (**103**)] (KANCHANAPOOM et al., 2002).

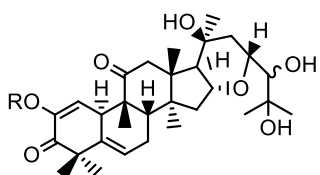


(112) R = β -D-Glc; R₁ = H

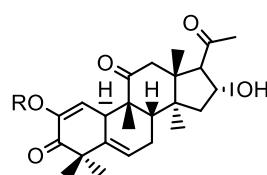
(114) R = β -D-Glc; R₁ = OH



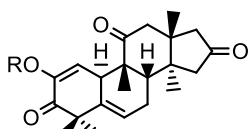
(113) R = β -D-Glc



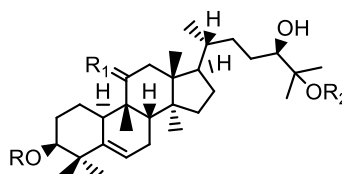
(115) R = α -L-Ram-(1-2)- β -D-Glc



(116) R = β -D-Glc



(117) R = α -L-Ram-(1-2)- β -D-Glc



(118) R = β -D-Glc; R₁ = R₂ = α -L-Ram-(1-2)- β -D-Glc

(119) R = β -D-Glc; R₁ = O R₂ = α -L-Ram-(1-2)- β -D-Glc

2.2. O gênero *Siolmatra* Cogn.

O gênero *Siolmatra* foi criado por Baillon em 1885, com o intuito de reclassificar a espécie *Siolmatra brasiliensis* que pertencia ao gênero *Alsomitra*, que agora se encontra restrito ao Velho Mundo (África e Asia), que apresentava alta heterogeneidade. O nome *Siolmatra* é um anagrama de *Alsomitra*, de onde teve origem (ROBINSON & WUNDERLIN, 2005).

2.3. *Siolmatra brasiliensis* (Cong.) Baill.

A espécie *Siolmatra brasiliensis* (**Figura 2**) é uma planta trepadeira conhecida popularmente como “taiuiá” ou “cipó-tauá” e é usada popularmente como analgésico (para dor de dente), suas raízes são tidas como depurativas e antissifilítica e o caule possui propriedades antidiabéticas (POTT & POTT, 1994; SANTOS et al., 2016).

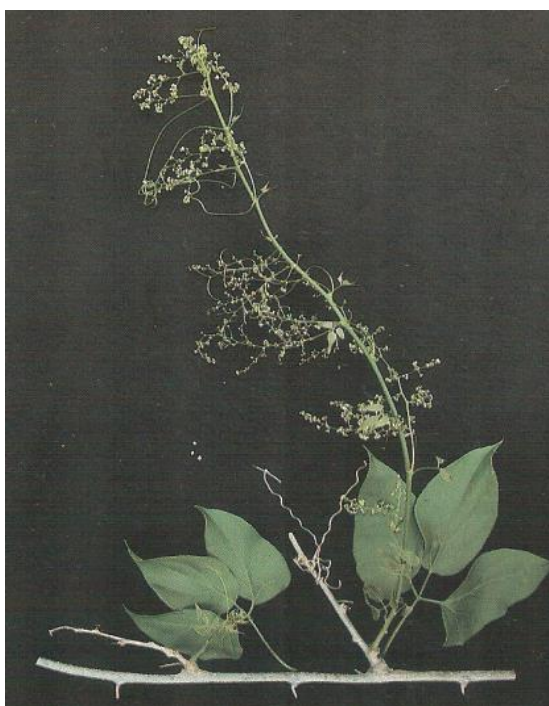


Figura 2. Espécie *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill.

Fonte: POTT & POTT, 1994.

Alguns estudos preliminares foram realizados com a espécie *S. brasiliensis*. Numa avaliação da toxidez aguda do extrato etanólico do caule de *S. brasiliensis* em ratos, concluiu-se que o extrato é seguro quando utilizado em doses de 10 a 100 mg/kg, também avaliaram a toxidez do extrato bruto etanólico frente a células de Sarcoma 180 (S180), concluindo-se que o extrato é tóxico na concentração de 5 mg.mL⁻¹ em células de Sarcoma 180 e nas

concentrações de 2,5 e 5 mg.mL⁻¹ sobre macrófagos (com percentual de 46 e 36%, respectivamente) (LIMA et al., 2006; LIMA et al., 2010).

O estudo com a espécie foi continuado do projeto realizado no mestrado onde se descreveu o isolamento de quatro triterpenoides, sendo três *nor*-cucurbitacinas (cayaponosídeos A₁, B₄ e D) e uma saponina de esqueleto do tipo damarano 3-*O*-β-D-gentiobiosil-26-*O*-β-D-glicopiranosil-20-hidróxidamar-24-eno (siolmatrosídeo I) além da avaliação da atividade antidiabética em ratos com diabetes induzida por estreptozotocina, onde se concluiu que, quando ratos com diabetes induzida por estreptozotocina eram tratados com o extrato bruto hidroetanólico da espécie, os mesmos apresentavam diminuição da hipoglicemia e glicosúria e aumento do glicogênio hepático (SANTOS et al., 2016).

2.3.1. Classificação taxonômica de *Siolmatra brasiliensis*.

Reino: Plantae

Classe: Tracheophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Cucurbitales

Família: Cucurbitaceae

Gênero: *Siolmatra*

Espécie: *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill

Fonte: <https://www.gbif.org/species/7317597> acesso em outubro de 2018.

3. RHAMNACEAE

Plantas da família Rhamnaceae são um grupo de árvores, arbustos e plantas trepadeiras cosmopolitanas que são agrupadas em aproximadamente 50 gêneros e 900 espécies. São caracterizadas por flores com estames opostos à pétala e tendência ao xeromorfismo (adaptação a climas secos) (RICHARDSON et al., 2000). Plantas dessa família Rhamnaceae são de importância pouco notável no Brasil se levado em conta o número de espécies e sua utilização que se concentra, sobretudo, em espécies ornamentais ou de frutos comestíveis (SOUZA & LORENZI, 2005). No Brasil são encontrados cerca de 14 gêneros da família Rhamnaceae com aproximadamente 47 espécies (LIMA, 2000).

3.1. O gênero *Ziziphus* Mill.

O gênero *Ziziphus* compreende um importante gênero da família Rhamnaceae. Este gênero contém aproximadamente 100 espécies distribuídas na sua maioria na América tropical, África, região mediterrânea, Indo-Malaia, Austrália, Paquistão e Índia (UR-RAHMAN et al, 2001), a grafia *Zizyphus* também é utilizado, porém o nome original *Ziziphus* tem sido utilizado universalmente nos últimos 50 anos (BRUMMITT, 2000).

O gênero *Ziziphus* possui várias espécies medicinais difundidas ao redor do mundo, com destaque para a espécie *Ziziphus jujuba* Mill., conhecida por “jujuba”, uma espécie muito utilizada na medicina tradicional chinesa, que tem seu uso difundido para várias finalidades farmacológicas como calmante (atuando no sistema nervoso central), para problemas gastrointestinais, fraqueza, hepatite, infecções de pele, febre, faringite, bronquite, câncer, entre outras (PLASTINA, 2016). No Brasil, a espécie mais representativa e conhecida deste gênero é *Ziziphus joazeiro* Mart. conhecida popularmente como “juazeiro”, comumente encontrada na caatinga nordestina, utilizada popularmente contra febre, infecções do trato respiratório, bronquite crônica, entre outras enfermidades (LEAL et al., 2010).

No Brasil há a ocorrência de aproximadamente nove espécies do gênero, sendo distribuídas em todas as regiões, exceto no sul do país (LIMA, 2000).

Estudos de relações filogenéticas sugerem a re colocação de espécies sul-americanas de *Ziziphus* (como as utilizadas neste trabalho) para gênero *Sarcomphalus* Griseb., que havia sido descontinuado (HAUENSCHILD et al., 2016). Tal sugestão, até o momento, não foi aprovada por toda a comunidade científica.

3.1.1. Classificação taxonômica das espécies de *Ziziphus*.

Reino: Plantae

Filo: Tracheophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Rosales

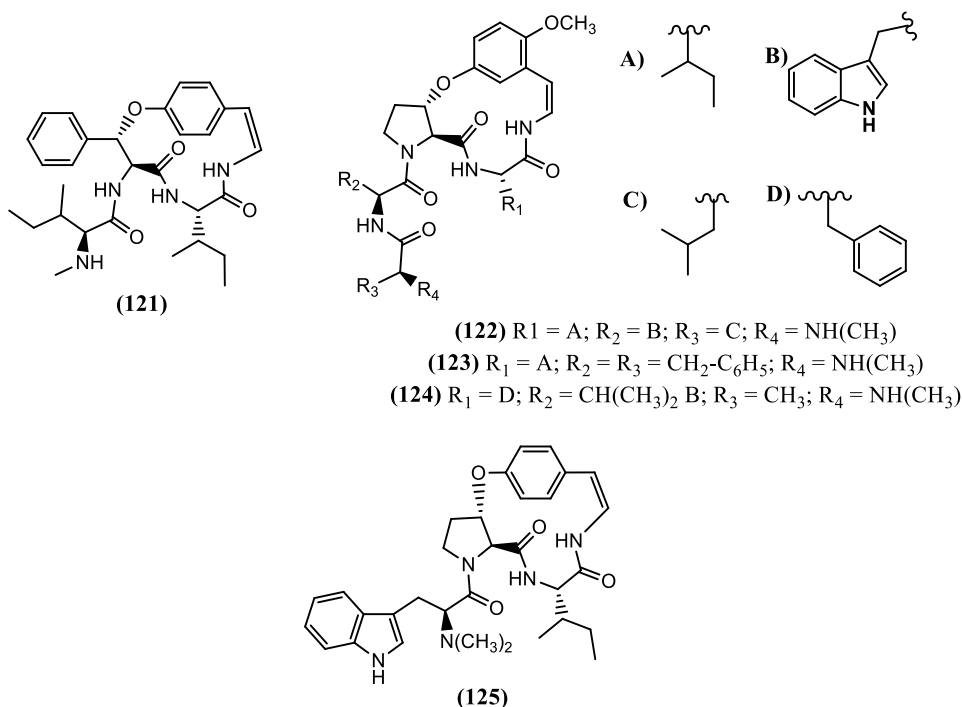
Família: Rhamnaceae

Gênero: *Ziziphus* Mill.

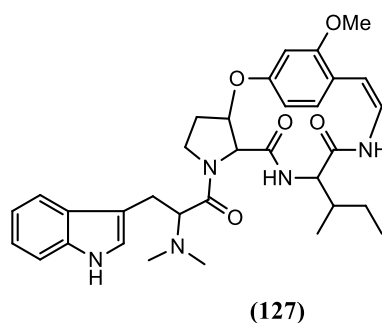
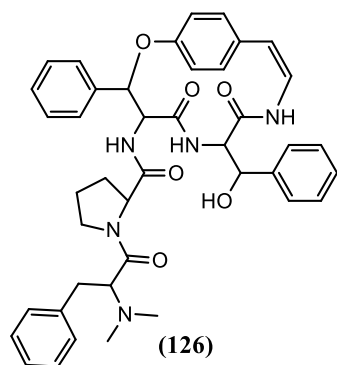
Fonte: <https://www.gbif.org/species/3039411> acesso em outubro de 2018.

3.2. Metabólitos secundários e atividades biológicas do gênero *Ziziphus* Mill.

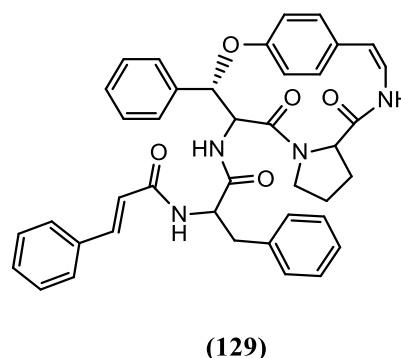
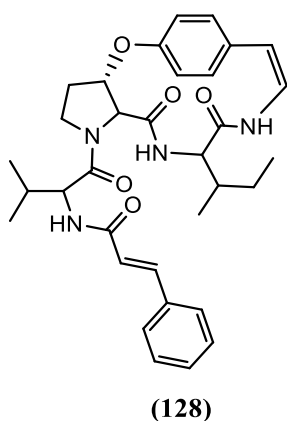
Devido à variada gama de atividades farmacológicas atribuídas a espécies desse gênero, vários estudos sobre a composição de metabólitos secundários têm sido executados por vários grupos de pesquisa ao redor do mundo. Como exemplo, num estudo das raízes de *Ziziphus mauritiana* Lam. (PANSEETA et al., 2011) que descreve o isolamento dos alcaloides ciclopeptídicos (ACPs) mauritina L (**121**) e M (**122**), nummuralinas H (**123**) e B (**124**) e hemsina A (**125**) que apresentaram atividade antiplasmódica (IC_{50} variando de 3,7-10,3 μ M) e antimicobacteriana (substâncias **122** e **123** apresetaram IC_{50} de 72,8 e 4,5 μ M, respectivamente).



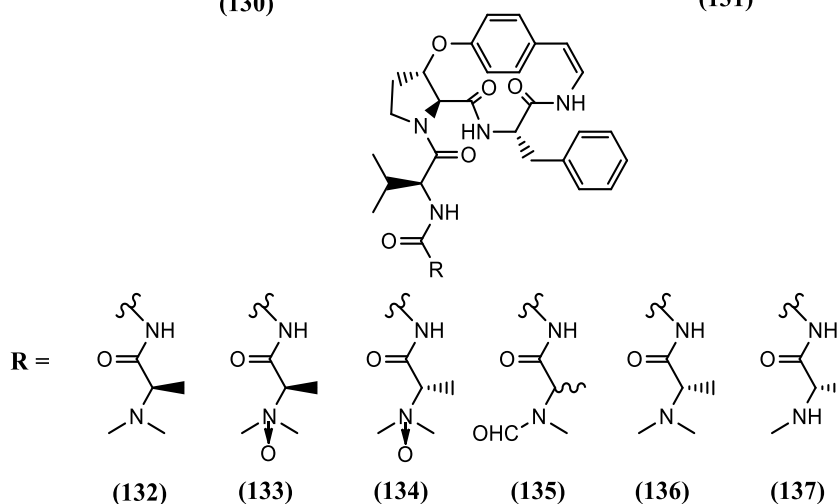
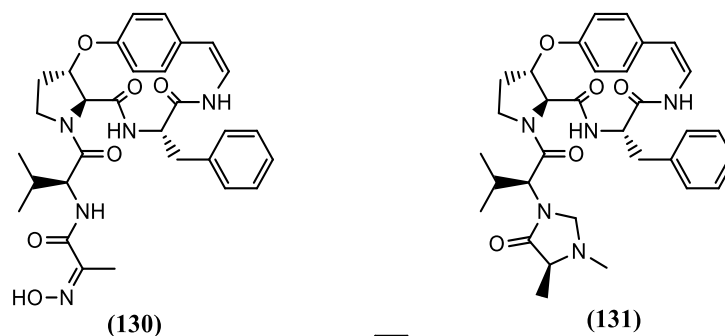
Estudo realizado com a espécie *Zizyphus oxyphylla* Edgew descreve o isolamento e elucidação estrutural de um ACP de quatorze membros (quatorze átomos formando o ciclo principal), ao qual se nomeou oxyphyllina A (**126**), juntamente com a nummularina R (**127**) (UR-RAHMAN et al., 2007).



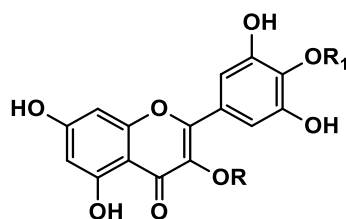
Outro estudo promovido com a espécie *Z. oxyphylla* e descreve o isolamento de dois ACPs de 14 membros, oxyphyllina B (**128**) e C (**129**) das cascas e raízes da espécie juntamente com mais 13 ACP's já descritos na literatura. Todos foram testados quanto a sua atividade antibacteriana frente a cepas gram-positivas e gram-negativas onde a oxyphyllina B se mostrou mais eficaz que as demais com valores de MIC variando de 5 a 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (KALEEM et al., 2012).



Seis ACPs do tipo Ia-3 foram isolados a partir do estudo fitoquímico efetuado no extrato do caule de *Ziziphus apetalata* Hook. F. (HAN et al., 2011) denominados de apetalina A (**130**), apetalina B (**131**), epimauritina A (**132**), *N*-óxido da epimauritina A (**133**), *N*-óxido da mauritina A (**134**), apetalina C (**135**) e os ACP's já conhecidos como mauritina A (**136**) e mauritina F (**137**) testando-os quanto a sua capacidade antidepressiva em camundongos, citotoxicidade e inibição *in-vitro* de 11 β -hidróxiesteroide desidrogenase (11 β -HSD). Apenas **134** apresentou atividade significativa para inibição de 11 β -HSD com IC₅₀ de 52,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ em humanos e 31,2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ em camundongos.

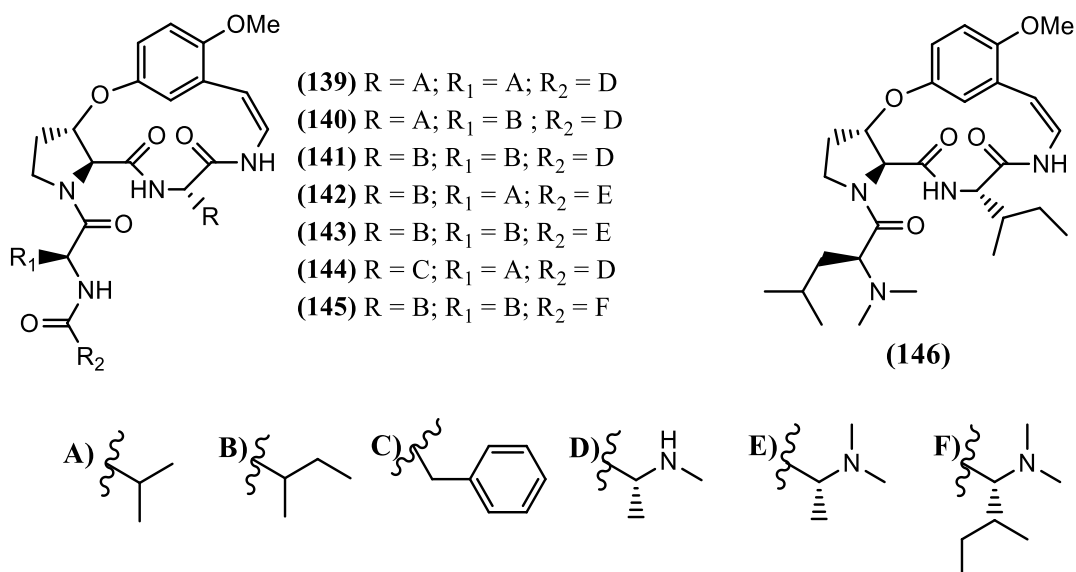


No estudo fitoquímico com as partes aéreas de *Ziziphus incurva* Roxb., isolou-se um flavonoide triglicosilado nomeado de bayarina (**138**), juntamente com seis flavonoides e duas saponinas já descritas na literatura (DEVKOTA et al., 2013).

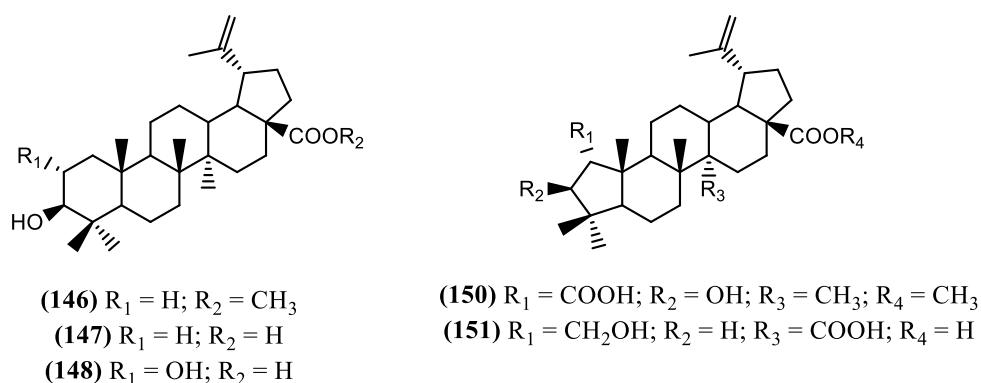


(138) R = Ram-(1-2)-Xil; R₁ = Ram

KANG e colaboradores (2015) descrevem O fracionamento cromatográfico do extrato das raízes de *Ziziphus jujuba* Mill. permitiram o isolamento e elucidação estrutural de cinco ACPs do tipo Ib, jubaninas F-J (**139** – **143**) juntamente com os substâncias já conhecidos, nummularina B (**144**), daechuina-S3 (**145**) e mucronina (**146**). As substâncias **139-141** e **144** foram testadas quanto a sua capacidade antiviral frente ao vírus da diarreia epidêmica suína (PEDv, sigla em inglês). Os ACPs **140**, **141** e **144** apresentaram resultados significantes com valores de concentração efetiva (EC₅₀) de 13,41, 4,49 e 6,17 μM, respectivamente.

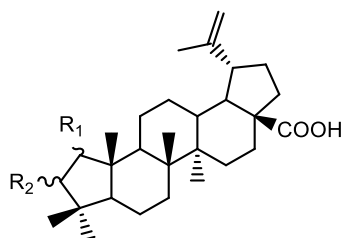


Espécies de *Ziziphus* comumente apresentam também em sua composição triterpenoides, principalmente do tipo lupano (derivados do ácido betulínico), ceanotano e damarano (comumente na forma de saponinas). Como exemplo, num estudo sobre o potencial antibacteriano do extrato em diclometano das cascas do caule de *Ziziphus joazeiro* Mart., onde realizou-se um fracionamento bioguiado com ensaios em 17 cepas bacterianas (incluindo algumas sensíveis e resistentes a metilciclina) de onde isolaram cinco triterpenos, três do tipo lupano conhecidos como betulinato de metila (**146**), ácido betulínico (**147**) e ácido alfitólico (**148**) e dois do tipo ceanotano conhecidos como ceanotato de metila (**150**) e ácido epigouanico (**151**). As substâncias **150** e **151** apresentaram os menores valores de MIC para algumas das cepas testadas (ATCC 29213, ATC 33591^{MRS}, ATCC 12228 e PVL+S. *aureus*^{MRS}) variando de 16 a 32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) (LEAL et al., 2010).

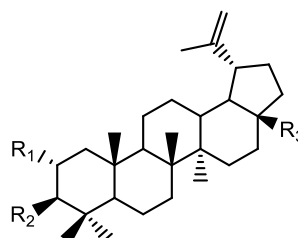


Nove triterpenoides do tipo ceanotano e lupano (alguns na forma de ésteres) foram isolados das cascas da raiz de *Ziziphus cambodiana* Pierre, ácido 3-*O*-vanilliceanótico (**152**), ácido zizyberanólico (**153**), ácido ceanótico (**154**), lupeol (**155**), betulinaldeído (**156**), ácido betulínico (**147**), ácido 2-*O*-*E*-*p*-cumaroilalfitólico (**157**), ácido alfitólico (**148**) betulinaldeído (**154**). Os triterpenoides foram testados quanto a sua capacidade antiplasmódica frente a

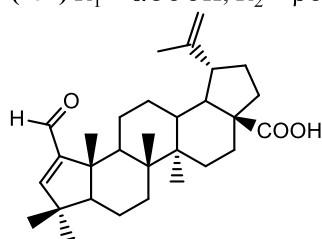
Plasmodium falciparum, onde **152**, **157** e **158** apresentaram atividades significantivas com IC_{50} de 3,7, 0,9 e 3,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, a capacidade antimicobateriana (frente a *Mycobacterium tuberculosis*) das substâncias também foi testada onde todas as substâncias foram ativas, com exceção da substância (**155**), com valores de MIC variando de 12,5 a 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (SUKSAMRARN et al., 2006).



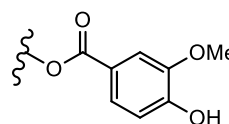
(152) $R_1 = \alpha\text{COOH}$; $R_2 = \beta\text{A}$
 (153) $R_1 = \beta\text{CHO}$; $R_2 = \alpha\text{OH}$
 (154) $R_1 = \alpha\text{COOH}$; $R_2 = \beta\text{OH}$



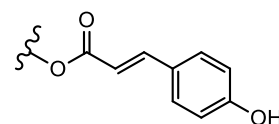
(155) $R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{OH}$; $R_3 = \text{CH}_3$
 (156) $R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{OH}$; $R_3 = \text{CHO}$
 (157) $R_1 = \text{B}$; $R_2 = \text{OH}$; $R_3 = \text{COOH}$



(158)

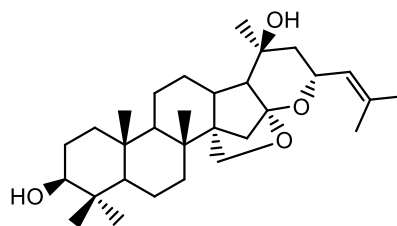


(A)



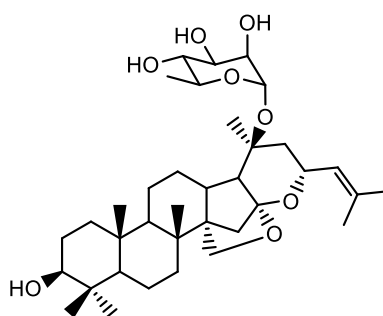
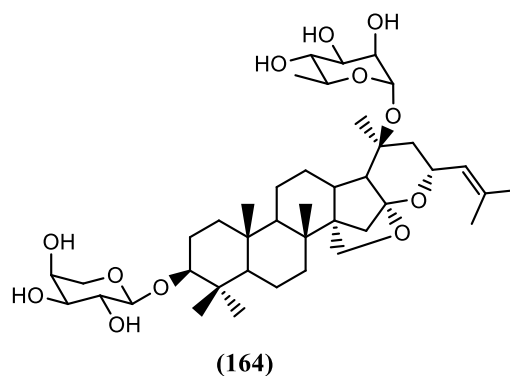
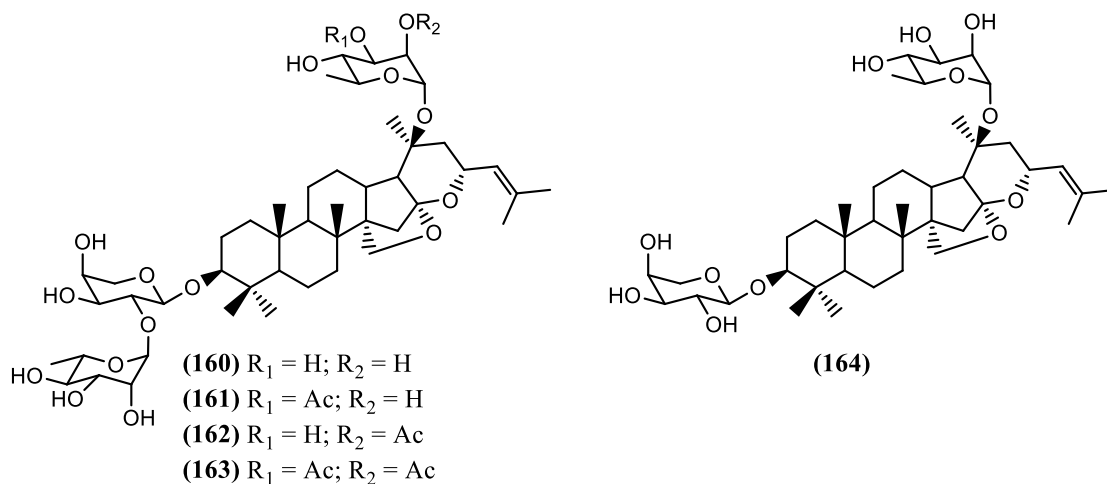
(B)

Saponinas do tipo damarano também são comumente isoladas de espécies do gênero *Zizyphus*, onde encontra-se, na sua maioria, saponinas com porção aglicona da jujubogenina (**159**) (KURIHARA et al., 1988).



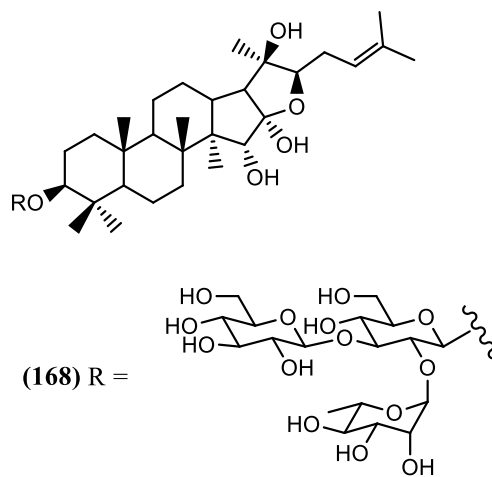
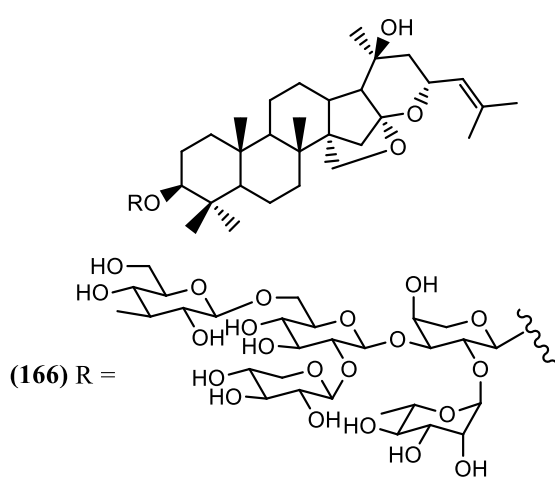
(159)

Num trabalho de isolamento de metabolitos das folhas frescas de *Zizyphus jujuba* se descreve o isolamento de quatro saponinas com aglicona jujubogenina, jujubasaponinas I-III (**160** – **162**) e ziziphina (**163**), além da hidrólise enzimática de (**160**) fornecendo as saponinas (**164**) e (**165**). As substâncias foram testadas quanto a capacidade anti adoçante onde as substâncias **161** e **162** apresentaram o efeito desejado (solução de 1 nM das substâncias, quando aplicada na boca de voluntários, suprimiu completamente o sabor adocicado de solução de sucrose 0,4 M) (YOSHIKAWA et al., 1991).



(165)

Quatro saponinas de esqueleto damarano, semelhante às anteriores, foram isoladas das cascas da raiz de *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (RENAULT et al., 1997), sendo nomeadas jujubosídeos A-B (**166-167**) e lotosídeos I-II (**168-169**).



As revisões apresentadas para a família Cucurbitaceae e gênero *Ziziphus* apresentam uma gama variada de metabólitos secundários, com destaque para os triterpenoides, que possuem atividades biológicas promissoras para variados fins, como citotóxico e anti-inflamatório, por exemplo. A busca de metabólitos secundários presentes em espécies da flora brasileira tem instigado vários grupos de pesquisa no Brasil e no mundo devido a sua vasta biodiversidade, logo, faz-se necessário promover o conhecimento da composição química dessas espécies buscando sua utilização de maneira sustentável para fins medicinais, nutricionais, controle de pragas, entre outras.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

i. Efetuar o estudo fitoquímico e avaliação das atividades biológicas de *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill. (Cucurbitaceae) e espécies do gênero *Ziziphus* Mill. (Rhamnaceae) selecionadas visando o isolamento e elucidação estrutural de metabólitos secundários.

4.2. Objetivos específicos

i. Avaliar a composição química de metabólitos secundários das espécies selecionadas;

ii. Utilizar de metodologias de análises físicas de substâncias orgânicas (RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, EM, UV, IV, etc) para se elucidar inequivocadamente as estruturas das substâncias;

iii. Avaliar atividades biológicas dos extratos, frações e metabólitos isolados das espécies buscando se estabelecer uma correlação entre a presença dos metabólitos com as atividades biológicas.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Materiais

Os solventes utilizados nos procedimentos cromatográficos foram de grau analítico (P. A.) Vetec ou Dinâmica. Utilizou-se solventes deuterados (CDCl_3 , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, $\text{DMSO-}d_6$ e CD_3OD) da marca Tedia ou Deutero nos experimentos de RMN.

Os adsorventes utilizados para os processos cromatográficos foram gel de sílica 60 (70 – 230 e 230 - 400 mesh) da Vetec ou Silicycle.

Os procedimentos de CCDA foram realizados em cromatoplaça Silicycle ou Merck com fator de revelação F_{254} . Utilizou-se para revelação das cromatoplaças irradiação com luz ultravioleta (254 e 366 nm) e reagente de vanilina sulfúrica com posterior aquecimento.

Nos procedimentos de cromatografia de exclusão molecular utilizou-se Sephadex LH – 20 da Sigma-Aldrich.

5.2. Equipamentos

Os espectros de RMN (1D e 2D) foram obtidos em espectrômetro Bruker AVANCE II, 9,4 T (400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C), espectrômetro de RMN com 11,5 T (500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C), espectrômetro Agilent DD2 400 NMR (399,915 e 100,569 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente) e experimentos de TOCSY seletivo foram realizados em espectrômetro Varian VNMRS 600 MHz (^1H), na central analítica do IQ-UFRRJ ou no *Leibniz Institute of Plant Biochemistry*. O tratamento dos espectros de RMN foi realizado no software MestreNova (Mestrelab Research S.L.) versão 9.0.1-13254.

Os espectros de massas com ionização por impacto de elétrons (70 eV) foram obtidos em equipamento CG-EM-QP2010 Plus da Shimadzu na Central Analítica do Departamento de Química da UFRRJ.

Os espectros de massas de alta resolução com ionização por *eletronspray* foram obtidos em um espectrômetro Orbitrap Elite Mass (ThermoFischer Scientific, Bremen, Alemanha) no *Leibniz Institute of Plant Biochemistry*. Os espectros foram tratados em software Xcalibur 2.2 SP1.48.

5.3. Material vegetal

5.3.1. *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill.

O caule de *S. brasiliensis* foi coletado no município de Jangada – Mato Grosso, nas proximidades do Posto Foz do Iguaçu, no distrito de Nova Jangada (BR-364/BR-163), uma amostra testemunho foi identificada pela Prof^a. MSc. Vali Joana Pott, do departamento de Biologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. A amostra foi depositada no herbário da mesma instituição sob número CGMS: 31.643.

5.3.2. Espécies de *Ziziphus* Mill.

Coletaram-se folhas e caule de quatro espécies de *Ziziphus* (**Tabela 1**). Folhas e caule de *Ziziphus joazeiro* Mart. foram coletados no campus da UFRRJ, uma amostra testemunho foi depositada no herbário central da UFRRJ sob número: RBR 39319.

Folhas e caules de *Ziziphus glaziovii* Warm. e *Ziziphus platyphylla* Reissek foram coletadas na Reserva Natural da Vale do Rio Doce em Linhares – ES e identificadas por Domingos Antônio Folli (biólogo da reserva), uma amostra testemunho de cada espécie foi depositada no herbário central da UFRRJ sob números: RBR 39317 e RBR 39318, respectivamente.

Folhas e caule de *Ziziphus oblongifolia* foram coletados no município de Cuiabá – MT, às margens do rio Coxipó, em setembro de 2015 sob a supervisão da Prof^a. Dr^a. Virgínia Cláudia da Silva. Uma amostra testemunho foi coletada e depositada no herbário central da Universidade Federal de Mato Grosso sob número: 42.854.

Tabela 1. Espécies de *Ziziphus* Mill. coletadas.

Espécie	Caule	Folhas	Local de Coleta
<i>Z. joazeiro</i> Mart.	1,72 kg	712 g	Campus da UFRRJ (Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil)
<i>Z. glaziovii</i> Warm.	1,57 kg	397 g	Reserva Natural da Vale (Linhares, Espírito Santos, Brasil)
<i>Z. platyphylla</i> Reissek	1,46 kg	277 g	Reserva Natural da Vale (Linhares, Espírito Santo, Brasil)
<i>Z. oblongifolius</i> S. Moore*	2,10 kg	762 g	Margens do rio Coxipó (Cuiabá, Mato Grosso, Brasil)

* Sinonímia de *Ziziphus mistol* Grieseb.

5.4. Preparação dos extratos

O caule de *S. brasiliensis* foi coletado e seco a temperatura ambiente e então triturados e pesados, totalizando 2,07 kg de material botânico seco. Submeteu-se o material botânico à percolação com mistura hidroalcoólica de etanol:água (7:3) (6 L). Retirou-se o percolato periodicamente e submeteu-se o mesmo à evaporação em evaporador rotativo para a retirada do solvente e estufa de circulação até secagem do extrato. Foram realizados três ciclos de extração de onde obteve-se 236 g de extrato bruto hidroetanólico da espécie (**Sb-EBHE**).

Os materiais botânicos das espécies de *Ziziphus* foram secos a temperatura ambiente e moídos mecânico de facas. Após a moagem, o material foi submetido à maceração a frio com metanol, retirou-se periodicamente a solução que foi concentrada sob pressão reduzida que, após retirada total do solvente, forneceram as quantidades descritas na tabela abaixo (**Tabela 2**):

Tabela 2. Extratos obtidos das espécies de *Ziziphus*.

Espécie	Órgão	Massa de material (kg)	Massa de extrato obtida (g)
<i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.	Caule	1,72	134,75
	Folhas	0,71	45,34
<i>Ziziphus glaziovii</i> Warm.	Caule	1,57	81,25
	Folhas	0,40	31,33
<i>Ziziphus platyphylla</i> Reissek	Caule	1,46	67,81
	Folhas	0,28	23,43
<i>Ziziphus oblongifolius</i> S. Moore	Caule	2,10	60,70
	Folhas	0,76	105,30

5.5. Isolamento de metabólitos secundário de *Siolmatra brasiliensis*.

149 g do **Sb-EBHE** foram submetidos à partição líquido-líquido. Solubilizou-se os 149 g do extrato em 1 L de solução MeOH:H₂O (1:1), transferiu-se a amostra para funil de decantação e extraiu-se com solventes orgânicos de diferentes polaridades de maneira exaustiva. Usou-se CHCl₃ (0,8 L), AcOEt (1,2 L) e BuOH (2 L) obtendo-se, assim, após evaporação do solvente em evaporador rotativo com pressão reduzida, as frações clorofórmica (**Sb-FC**) (17 g, 11,4%), acetato de etila (**Sb-FA**) (8,4 g, 5,6%) e *n*-butanólica (**Sb-FB**) (26,7 g, 17,9) e a fração residual (**Sb-FR**) (79,19 g, 53,2%).

5.5.1. Procedimentos cromatográficos com Sb-FC.

16 g de **Sb-FC** foram submetidas à cromatografia em coluna de gel de sílica 60 (70 – 230 mesh, h = 46 cm, d = 4,5 cm) com gradiente de solventes orgânicos conforme a tabela a seguir (**Tabela 3**).

Tabela 3. Fases móveis utilizadas no fracionamento de **Sb-FC**.

Fase móvel	Volume (L)	Fase móvel	Volume (L)
Hex	0,5	CHCl ₃ :AcOEt (6:4)	0,6
Hex:CHCl ₃ (9:1)	0,5	CHCl ₃ :AcOEt (3:7)	1,0
Hex:CHCl ₃ (8:2)	0,4	CHCl ₃ :AcOEt (2:8)	1,0
Hex:CHCl ₃ (7:3)	0,5	CHCl ₃ :AcOEt (1:9)	0,8
Hex:CHCl ₃ (6:4)	0,4	AcOEt	2,0
Hex:CHCl ₃ (1:1)	0,5	AcOEt:MeOH (95:5)	1,4
Hex:CHCl ₃ (4:6)	1,0	AcOEt:MeOH (9:1)	0,6
Hex:CHCl ₃ (3:7)	0,5	AcOEt:MeOH (8:2)	1,8
Hex:CHCl ₃ (2:8)	1,5	AcOEt:MeOH (7:3)	0,4
Hex:CHCl ₃ (1:9)	0,5	AcOEt:MeOH (6:4)	1,2
CHCl ₃	1,3	AcOEt:MeOH (1:1)	0,8
CHCl ₃ :AcOEt (95:5)	4,3	AcOEt:MeOH (3:7)	0,6
CHCl ₃ :AcOEt (9:1)	0,6	AcOEt:MeOH (2:8)	0,6
CHCl ₃ :AcOEt (8:2)	3,1	AcOEt:MeOH (1:9)	0,2
CHCl ₃ :AcOEt (7:3)	0,9	MeOH	1,0

Coletaram-se 232 frações de aproximadamente 125 mL cada. As frações foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida e então analisadas em CCDA utilizando radiação ultravioleta (254 e 365 nm) e solução de vanilina-H₂SO₄ como reveladores.

Após análises as frações foram reunidas por similaridade de R_f em 30 grupos (**Sb-C1** a **Sb-C30**) conforme a tabela a seguir (**Tabela 4**).

Tabela 4. Grupos formados pela reunião das frações de **SB-FC**.

Grupo	Frações reunidas	Massa (mg)	Grupo	Frações reunidas	Massa (mg)
Sb-C1	1	977,6	Sb-C16	84 – 87	150,4
Sb-C2	2	11,4	Sb-C17	88 – 96	220,9
Sb-C3	3 – 5	17	Sb-C18	97 – 100	77,9
Sb-C4	6 – 9	13,8	Sb-C19	101 – 109	551,7
Sb-C5	10 – 16	94,8	Sb-C20	110 – 117	361,8
Sb-C6	17 – 18	40,3	Sb-C21	119 – 129	527,1
Sb-C7	19 – 25	149,8	Sb-C22	130 – 140	389,8
Sb-C8	26 – 32	1028,8	Sb-C23	141 – 150	512,6
Sb-C9	33 – 38	423,1	Sb-C24	151 – 160	276,5
Sb-C10	40 – 45	236,5	Sb-C25	161 – 169	1913,3
Sb-C11	46 – 52	158,8	Sb-C26	170 – 176	1505,6
Sb-C12	53 – 66	228,7	Sb-C27	177 – 188	943,6
Sb-C13	67 – 71	236,8	Sb-C28	189 – 199	696,8
Sb-C14	72 – 80	703,7	Sb-C29	200 – 216	1165,8
Sb-C15	81 – 83	62,1	Sb-C30	217 – 232	540,9

5.5.1.1. Fracionamento de **Sb-C10**

Submeteu-se o grupo **Sb-C10** (236 mg) à cromatografia em coluna de gel de sílica (230 – 400 mesh, h = 24 cm; d = 2 cm) empregando-se como fase móvel, gradiente de $\text{CHCl}_3:\text{AcOEt}$ (95:5 a 0:10, 100 mL cada).

Coletaram-se 85 frações de aproximadamente 10 mL que foram analisadas em CCDA e agrupadas por similaridade de Rf.

Submeteu-se, então, a fração **Sb-C10.5** (frações 26-35, 60 mg) à cromatografia em coluna de gel de sílica (230 – 400 mesh, h = 22,5 cm, d = 2,2 cm) com eluição em gradiente de $\text{CHCl}_3:\text{AcOEt}$ (98:2 a 92:8, 50 mL cada) de onde coletaram-se 22 frações de aproximadamente 6 mL. As frações 14 a 18 (13 mg), provenientes desta separação, apresentaram-se com uma mancha majoritária que foi isolada por CCDP eluída em sistema de $\text{CHCl}_3:\text{AcOEt}$ (97:3) fornecendo, ao final da extração da mancha, 7 mg da flavanona conhecida como sakuranetina (7 mg, **Sb1**).

5.5.1.2. Fracionamento de **Sb-C12/Sb-C13 (450 mg)**

Reuniu-se as frações **Sb-C12** e **Sb-C13** (450 mg), pois as mesmas apresentavam em CCDA algumas manchas com Rf semelhantes. Submeteu-se as amostras totalizando 450 mg à cromatografia em coluna de gel de sílica 60 (70 – 230 mesh) com eluição em gradiente de $\text{CHCl}_3:\text{AcOEt}$ (98:2 a 94:6, 100 mL cada) de onde coletaram-se 75 frações de

aproximadamente 6 mL. Após análises em CCDA reuniu-se as frações semelhantes por similaridade de Rf.

Submeteu-se o grupo **Sb-C12.5** (30 mg) à cromatografia em coluna de Sephadex – LH20 (h = 22 cm, d = 2 cm) com fase móvel em CHCl₃:MeOH (9:1, 200 mL) de onde coletaram-se 25 frações de aproximadamente 5 mL cada. Após análises em CCDA as frações 9 e 18 apresentaram-se puras e foram submetidas à análises de RMN ¹H e ¹³C. A fração 9 (6 mg, **Sb2**) foi identificada como sendo o flavanonol 4',7-*O*-dimetil-diidroquercetina e a fração 18 (8 mg, **Sb3**) como sendo o flavonol ramnocitrina, ambos já descritos na literatura científica. A cromatografia do grupo Sb-C11 em coluna de Sephadex – LH20 nos mesmos parâmetros do grupo anterior, forneceu novamente (7 mg) do flavonol ramnocitrina.

5.5.1.3. Fracionamento de Sb-C14

Submeteu-se o grupo Sb-C14 (100 mg) à cromatografia em coluna de Sephadex – LH20 nos mesmos parâmetros dos grupos anteriores (200 mL de solução eluente), de onde coletaram-se 23 frações de aproximadamente 5 mL cada. Após analisadas em CCDA as frações 15 e 23 apresentaram-se puras e foram submetidas a análises de RMN ¹H e ¹³C. A fração 15 (6 mg, **Sb4**) foi identificada como sendo o flavanonol 7-*O*-metil-aromadendrina e a fração 23 (9 mg, **Sb5**) como sendo a flavanona naringenina.

5.5.1.4. Fracionamento de Sb-C19

Submeteu-se o grupo **Sb-C19** (523 mg) à cromatografia em coluna de Sephadex – LH20 (h = 30 cm, d = 2 cm), utilizando-se como fase móvel mistura de CHCl₃:MeOH (7:3, 150 mL). Coletaram-se 23 frações de aproximadamente 5 mL que foram submetidas à análises em CCDA e posteriormente agrupadas por similaridade de Rf.

O subgrupo **Sb-C19.3** (297 mg) foi fracionado por cromatografia em coluna de gel de Sephadex-LH20 (h = 30 cm, d = 2 cm) empregando-se como fase móvel mistura de CHCl₃:MeOH (9:1, 100 mL). Coletaram-se 10 frações de aproximadamente 5 mL. Submeteram-se as amostras à análises em CCDA e agruparam-se por similaridade de Rf.

Analisou-se o subgrupo **Sb-C19.3.2** (214 mg) em CCDA onde o mesmo apresentou manchas majoritária, optando-se então por submeter-se o grupo à cromatografia em coluna de gel de sílica (70 – 230 mesh, h = 25 cm, d = 2 cm) e empregando-se como fase móvel gradiente de CHCl₃:AcOEt (9:1 a 6:4, 150 mL cada). Coletaram-se 50 frações de

aproximadamente 5 mL. Submeteram-se as amostras à análise em CCDA e reuniram-se por similaridade de Rf.

O grupo **Sb-C19.3.2.2** apresentou-se com manchas majoritárias optando-se então por submeter o grupo à CCDP em placa de gel de sílica 60 F₂₅₄ e empregando-se como fase móvel um sistema de CHCl₃:AcOEt (8:2) coletando-se ao final do processo uma mancha majoritária que foi extraída da fase estacionária com mistura de CHCl₃:MeOH (8:2) (11 mg, **Sb6**). Após análises de RMN ¹H e ¹³C e CG-EM a substância foi identificada como sendo uma lignana do tipo dibenzilbutirolactol conhecida por 3,4'-dihidróxi-4,9,3'-trimetóxi-9,9'-epóxilignana.

5.5.1.5. Fracionamento de Sb-C20

Submeteu-se o grupo **Sb-C20** (360 mg) à cromatografia em coluna de Sephadex – LH20 (h = 26 cm, d = 2 cm) com eluição isocrática de CHCl₃:MeOH (9:1, 150 mL), coletaram-se 23 frações de aproximadamente 5 mL cada. As amostras foram submetidas à análise em CCDA e agrupadas por similaridade de Rf.

O grupo **Sb-C20.5** (75 mg) apresentou mancha majoritária sendo então submetido à cromatografia em coluna de gel de sílica 60 (230 – 400 mesh, h = 23 cm, d = 1,5 cm) com eluição isocrática com mistura de CHCl₃:AcOEt (1:1, 150 mL). Coletaram-se 20 frações de aproximadamente 5 mL cada, onde a fração 11 apresentou-se quase pura, optando-se então por fazer uma filtração em coluna de gel de sílica (230 – 400 mesh) onde se aplicou a amostra com a fase estacionária seca e então aplicou-se a fase móvel, CHCl₃:AcOEt (6:4), para retirada da substância pura (13 mg, **Sb7**).

Após análises de RMN ¹H e ¹³C e CG-EM a substância **Sb7** foi identificada como sendo a lignana do tipo dibenzilbutirolactol 4,9,4'-trihidróxi-3,3'-dimetóxi-9,9'-epóxilignana.

5.5.1.6. Fracionamento de Sb-C24

O grupo **Sb-C24** (276 mg) foi solubilizado em mistura de CHCl₃:MeOH (1:1) onde houve a precipitação de um sólido esbranquiçado que foi lavado com acetona quente totalizando 43 mg do precipitado, que por CCDA apresentou-se puro.

Após análises de RMN ¹H e ¹³C (uni e bidimensionais) a amostra foi identificada como sendo o esteroide glicosilado conhecido como daucosterol (β -sitosterol 3-O- β -D-glicopiranosídeo) (55 mg, **Sb8**).

5.5.1.7. Fracionamento de Sb-C25

Submeteu-se o grupo **Sb-C25** (1,9 g) à cromatografia em coluna de Sephadex – LH20 (h = 27 cm; d = 2 cm) com eluição isocrática de CHCl₃:MeOH (9:1, 300 mL), coletaram-se 30 frações de aproximadamente 8 mL cada.

Após análise em CCDA, reuniram-se as frações por similaridade de R_f em seis grupos (**Sb-C25.1 – Sb-C25.6**).

O grupo **Sb-C25.2** (frações 9 – 12, 475 mg) foi submetido à cromatografia no sistema Isolera Four ACI™ (Accelerate Chromatography Isolation) com coluna Snap KP-Sil 25g, eluição isocrática de CH₂Cl₂:MeOH (9:1, 25 mL.min⁻¹). Coletaram-se 25 frações de 11 mL cada que foram analisadas por CCDA, onde a fração 12 apresentou-se pura e através de análises de RMN ¹H e ¹³C (uni e bidimensionais) identificou-se a amostra como sendo a cucurbitacina cayaponosídeo A₁ (13 mg, **Sb9**).

O grupo **Sb-C25.4** (frações 17 – 19, 115 mg) também foi submetido à cromatografia no sistema Isolera Four ACI™ com coluna Snap Ultra 10g, eluição em gradiente de CHCl₃:MeOH (95:5 – 8:2, 15 mL.min⁻¹). Coletaram-se 50 frações de 15 mL cada que foram analisadas em CCDA, onde as frações 24, 33 e 35 se apresentaram puras. Após análises de RMN uni e bidimensionais, as frações foram identificadas como sendo as cucurbitacinas cayaponosídeo A (19 mg, **Sb10**) 25-acetoxi-2-(β-D-glicopiranosiloxi)-3,16*R*,20,22-tetrahidróxi-29-norcucurbita-1,3,5(10)-trien-11-ona (6 mg, **Sb11**) e cayaponosídeo C (8 mg, **Sb12**).

5.5.1.8. Fracionamento de Sb-C26.

Submeteu-se o grupo **Sb-C26** (1,5 g) à cromatografia em coluna de Sephadex – LH20 (h = 25 cm; d = 2 cm) com eluição isocrática de CHCl₃:MeOH (9:1, 250 mL), coletaram-se 25 frações de aproximadamente 8 mL cada. Após análise em CCDA, reuniram-se as frações conforme suas devidas similaridades de R_f.

O subgrupo **Sb-C26.5** (frações 18 – 19, 165 mg) foi submetido à cromatografia no sistema Isolera Four ACI™ com coluna Snap Ultra 10g, eluição em sistema de CH₂Cl₂:MeOH (95:5 – 8:2, 10 mL.min⁻¹). Coletaram-se 40 frações de 12 mL que foram analisadas em CCDA onde a fração 53 se apresentou pura, após análises de RMN ¹H e

DEPTQ, identificou-se a mesma como sendo a cucurbitacina conhecida como cayaponosídeo C₃ (14 mg, **Sb13**).

O grupo **Sb-C26.6** (frações 20 – 22, 150 mg) foi submetido à cromatografia em coluna de Sephadex – LH20 (h = 30 cm, d = 2 cm) com eluição isocrática em MeOH (200 mL). Coletaram-se 28 frações de aproximadamente 7 mL cada. Após análises em CCDA, as amostras foram agrupadas por similaridade de Rf.

O grupo **Sb-C26.6.2** (109 mg) foi submetido à cromatografia no sistema Isolera Four ACI™ com coluna Snap KP-Sil 25g e eluição em gradiente de CH₂Cl₂:MeOH (95:5 – 6:4, 25 mL.min⁻¹). Coletaram-se 50 frações de 10 mL. Após analisadas em CCDA as frações 35-38 (substância **Sb14**) apresentaram-se puras, após as análises de RMN ¹H e DEPTQ, identificou-se a substância **Sb14** como sendo a *nor*-cucurbitacina como cayaponosídeo D (6 mg, **Sb14**).

5.5.2. Procedimentos cromatográficos com Sb-FA

7,5 gramas de **Sb-FA** foram submetidas à cromatografia em coluna de gel de sílica (70 – 230 mesh, h = 28 cm, d = 4,5 cm). Eluiu-se a coluna com mistura de CH₂Cl₂:MeOH (95:5) a (0:100) conforme a tabela abaixo (**Tabela 5**).

Tabela 5. Fases móveis utilizadas no fracionamento de **Sb-FA**

Fase móvel	Volume (L)	Fase móvel	Volume (L)
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (95:5)	1,4	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (1:1)	1,0
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (9:1)	1,4	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (4:6)	0,6
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (85:15)	1,0	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (3:7)	0,4
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (8:2)	1,0	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (2:8)	0,8
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (75:25)	0,6	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (1:9)	0,6
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (7:3)	1,0	MeOH	0,5
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (6:4)	1,2	MeOH + 1% MeCOOH	0,8

Coletaram-se 75 frações de aproximadamente 125 mL que foram concentradas em evaporador rotativo, analisadas em CCDA e então reunidas por similaridade de Rf de acordo com abaixo (**Tabela 6**), nas frações 29-32 identificou-se a presença majoritária da *nor*-cucurbitacina isolada na fração CHCl₃, cayaponosídeo D (**Sb14**) (≈ 1,1 g).

Tabela 6. Grupos formados pela reunião das frações de **Sb-FA**.

Grupo	Frações reunidas	Massa (g)	Grupo	Frações reunidas	Massa (g)
Sb-A1	1 – 6	0,046	Sb-A8	33 – 35	0,227
Sb-A2	7 – 10	0,217	Sb-A9	36 – 40	0,697
Sb-A3	12 – 13	0,104	Sb-A10	41 – 46	0,396
Sb-A4	14 – 18	0,350	Sb-A11	47 – 54	0,544
Sb-A5	19 – 21	0,141	Sb-A12	55 – 65	0,339
Sb-A6	22 – 25	0,700	Sb-A13	66 – 69	0,195
Sb-A7	26 – 28	0,663	Sb-A14	70 – 75	0,106

5.5.2.1. Fracionamento de Sb-A2

Submeteu-se o grupo **Sb-A2** (217 mg) à cromatografia em coluna de Sephadex-LH20 (h = 35 cm, d = 2 cm) eluindo-se com sistema isocrático de CH₂Cl₂:MeOH (9:1, 300 mL). Coletaram-se 20 frações de aproximadamente 10 mL. Houve a precipitação de um sólido amarelado nas frações finais (17-19, 13 mg) que foi identificada como a flavanona naringenina por comparação (Rf e RMN ¹H) com a substância **Sb5**.

5.5.2.2. Fracionamento de Sb-A4

Submeteu-se o grupo **Sb-A4** (350 mg) à cromatografia em coluna de Sephadex-LH20 (h = 35 cm, d = 2 cm) com eluição em sistema isocrático de CH₂Cl₂:MeOH (9:1, 200 mL). Coletaram-se 15 frações de aproximadamente 10 mL cada, que foram analisadas por CCDA. Submeteu-se as frações iniciais (3-7, 48 mg) à cromatografia em sílica (70 – 230 mesh, h = 20 cm, d = 1,5 cm) com eluição em sistema isocrático de CH₂Cl₂:MeOH (85:15) de onde isolou-se a *nor*-cucurbitacina cayaponosídeo A₁, identificada por comparação de Rf e espectro de RMN ¹H da substância **Sb9**.

5.5.2.3. Fracionamento de Sb-A5

Submeteu-se o grupo **Sb-A5** (141 mg) à cromatografia em coluna de Sephadex-LH20 nas mesmas condições do grupo anterior (**Sb-A4**) (200 mL de eluente). Coletaram-se 16 frações de aproximadamente 10 mL cada que foram analisadas em CCDA e reunidas por similaridade de Rf em 3 grupos (**Sb-A5.1** – **Sb-A5.3**). Submeteu-se o grupo **Sb-A5.2** (30 mg) à cromatografia em gel de sílica (230 – 400 mesh, h = 12 cm, d = 1 cm) com eluição em sistema isocrático de CH₂Cl₂:MeOH (85:15, 50 mL) de onde isolou-se, na fração 9-10 (12

mg) o *nor*-cucurbitacina cayaponosídeo C₃ que foi comparada por Rf e espectro de RMN ¹H com a substância **Sb13**.

5.5.2.4. Fracionamento de Sb-A6

Submeteu-se o grupo **Sb-A6** (700 mg) à coluna de gel de sílica (h = 26 cm, d = 2 cm, 230 – 400 mesh) com gradiente de CH₂Cl₂:MeOH (9:1 – 6:4, 100 mL cada) de onde coletaram-se 35 frações de aproximadamente 12 mL cada. Analizou-se as amostras por CCDA e reuniram-se as frações em 3 grupos (**Sb-A6.1** – **Sb-A6.2**), então submeteu-se o grupo **Sb-A6.2** (102 mg) à cromatografia em coluna de gel de sílica (h = 21 cm, d = 1 cm, 230 – 400 mesh) com eluição em sistema isocrático de CH₂Cl₂:MeOH (85:15, 100 mL) de onde isolou-se, nas frações 6-8 (22 mg), a *nor*-cucurbitacina cayaponosídeo B (36 mg, **Sb15**).

5.5.2.5. Fracionamento de Sb-A7

Submeteu-se o grupo **Sb-A7** (663 mg) à cromatografia de adsorção com gel de sílica (230 – 400 mesh, h = 19 cm, d = 3 cm) com eluição em gradiente de CH₂Cl₂:MeOH (85:15 e 8:2, 200 mL cada) de onde coletaram-se 28 frações de aproximadamente 10 mL cada. Analisaram-se as amostras em CCDA e agrupou-se em seis grupos por similaridade de Rf (**Sb-A7.1** – **Sb-A7.6**). Submeteu-se o grupo **Sb-A7.5** (210 mg) à CLAE semi-preparativa nas seguintes condições: coluna Phenomenex C₁₈ (30 cm x 10 mm x 5 µm), eluição isocrática em sistema de H₂O:MeOH (55:45), UV em 280 nm, fluxo de 3,5 mL.min⁻¹, ocorrendo a eluição de uma substância em 7 minutos que foi identificada como um derivado fenólico 4-[2-(*p*-hidróxifenil)-1-oxoetil]-3-*O*-β-D-glicopiranosil-5-hidróxibenzoato de metila, nomeado siolmatrina (17 mg, **Sb16**).

5.5.2.6. Fracionamento de Sb-A9

Submeteu-se o grupo **Sb-A9** (840 mg) à cromatografia de exclusão molecular (Sephadex-LH20) com eluição isocrática com sistema de CHCl₃:MeOH (7:3) coletando-se 20 frações de aproximadamente 15 mL cada. Após analisadas em CCDA, agrupou-se as frações por similaridade de Rf em quatro grupos (**Sb-A9.1** – **Sb-A9.4**). Submeteu-se o grupo **Sb-A9.2** (164 mg) à cromatografia de adsorção em gel de sílica (230 – 400 mesh, h = 20 cm, d = 1 cm,) com eluição isocrática em sistema de CHCl₃:MeOH (6:4, 250 mL) coletando-se 22 frações de 10 mL onde nas frações de 17-18 identificou-se uma saponina de esqueleto damarano, 20,26-dihidróxi-damar-24-eno 3-*O*-β-D-glicopiranosil-(1-2)-β-D-glicopiranosídeo, nomeada siolmatrosídeo II (27 mg, **Sb17**).

5.5.2.7. Fracionamento de Sb-A11

Submeteu-se o grupo **Sb-A11** (602 mg) à cromatografia em fase reversa (C₁₈) (h = 15 cm, d = 2 cm) com eluição em gradiente com sistemas MeOH:H₂O (7:3 – 9:1, 100 mL cada) de onde coletaram-se 30 frações de aproximadamente 10 mL cada. Após analisadas em CCDA, agruparam-se as frações em cinco grupos (**Sb-A11.1** – **Sb-A11.5**). O grupo **Sb-A11.3** (frações 16 – 18) apresentou uma substância majoritária que foi identificada por análise de RMN como outra saponina de esqueleto do tipo damarano identificada como 20-hidróxidamar-24-eno 3-*O*-[β-D-glicopiranosil-(1-2)-β-D-glicopiranosil]-26-*O*-β-D-glicopiranosídeo, nomeada de siolmatrosídeo III (47 mg, **Sb18**).

5.5.2.8. Fracionamento de Sb-A12

Submeteu-se o grupo **Sb-A12** (339 mg) à cromatografia em fase reversa (C₁₈, h = 15 cm, d = 2 cm) com eluição em gradiente com sistemas MeOH:H₂O (7:3 – 10:0, 100 mL cada) de onde coletaram-se 31 frações de aproximadamente 10 mL cada. Após analisadas em CCDA, agruparam-se as frações em seis grupos (**Sb-A12.1** – **Sb-A12.6**). Submeteu-se o grupo **Sb-A12.2** (20 mg) à cromatografia de exclusão molecular (Sephadex-LH20) com eluição isocrática com MeOH de onde isolou-se mais uma saponina de esqueleto do tipo damarano identificada como 20-hidróxidamar-24-eno 3-*O*-[β-D-glicopiranosil-(1-6)-β-D-glicopiranosil-(1-2)-β-D-glicopiranosil]-26-*O*-β-D-glicopiranosil-(1-6)-β-D-glicopiranosídeo, nomeada de siolmatrosídeo V (28 mg, **Sb20**). O grupo **Sb-A12.3** (28 mg) apresentou-se praticamente puro em CCDA e, após análises espectroscópicas, foi identificado como outra saponina do tipo damarano, 20-hidróxidamar-24-eno 3-*O*-[β-D-glicopiranosil-(1-2)-β-D-glicopiranosil]-26-*O*-β-D-glicopiranosil-(1-6)-β-D-glicopiranosídeo, nomeada de siolmatrosídeo IV (35 mg, **Sb19**).

5.5.3. Procedimentos cromatográficos com Sb-FB

Submeteu-se 2 g de **Sb-FB** à cromatografia em coluna de Sephadex – LH20 (h = 41 cm, d = 3,5 cm) com eluição isocrática com sistema de MeOH:H₂O (7:3, 500 mL). Coletaram-se 45 frações de aproximadamente 10 mL cada. As frações foram secas e analisadas em CCDA com comparação com padrões das saponinas isoladas na fração anterior (**Sb-FA**), sendo possível identificar as substâncias **Sb18**, **Sb19** e **Sb20** como majoritárias na fração **Sb-FB**.

5.6. Isolamento de metabólitos secundários de *Ziziphus* Mill.

Após as avaliações das atividades antibacterianas (p. 170 e 173) e citotóxica (p. 175) optou-se pelo estudo fitoquímico de espécies que apresentaram boas atividades e que não possuíssem muitos estudos registrados na literatura quanto a sua composição de metabólitos secundários. Sendo assim, devido a eficiente atividade de inibição de *Bacillus subtilis* e atividade citotóxica frente a linhagem celular HT-29, optou-se por efetuar os procedimentos cromatográficos para o isolamento de metabólitos secundários do extrato metanólico do caule de *Ziziphus glaziovii* Warm. (**ZgC-EBM**).

5.6.1. Fracionamento do extrato de *Ziziphus glaziovii* Warm.

ZgC-EBM (60 g) foi suspenso em mistura de metanol e água (7:3) (1 L), inserido em funil de separação e então extraído exaustivamente com *n*-hexano, CHCl₃, AcOEt e BuOH. Cada fração foi concentrada sob pressão reduzida fornecendo 5,07 (**ZgC-FH**), 18,0 (**ZgC-FC**), 8,40 (**ZgC-FA**) e 16,28 (**ZgC-FB**) gramas de cada fração, respectivamente.

5.6.2. Procedimentos cromatográficos com **ZgC-FC**

Incorporou-se 17 gramas da fração de **ZgC-FC** a mesma quantidade de gel de sílica (70-230 mesh) e então submeteu-se a pastilha à cromatografia em coluna aberta (h = 46 cm, d = 5 cm) utilizando-se como fase móvel CH₂Cl₂ e MeOH nas proporções e quantidades descritas na tabela abaixo (**Tabela 7**).

Tabela 7. Fases móveis empregadas no fracionamento de **ZgC-FC**.

Fase móvel	Volume (L)	Fase Móvel	Volume (L)
CH ₂ Cl ₂	1,30	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (85:15)	1,00
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (98:2)	0,75	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (8:2)	1,25
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (96:4)	2,00	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (75:25)	1,25
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (94:6)	1,50	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (7:3)	1,75
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (92:8)	1,25	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (6:4)	0,75
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (9:1)	1,00	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (1:1)	1,00
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (87,5:12,5)	1,00	CH ₂ Cl ₂ :MeOH (3:7)	1,00

Coletaram-se 205 frações de aproximadamente 70 mL cada. As frações, após concentradas sob pressão reduzida, foram analisadas em CCDA onde utilizou-se para

visualização luz ultravioleta (254 e 366 nm) e solução de vanilina-H₂SO₄. Na fração 5 houve precipitação de um sólido amarelado que foi analisado por RMN (1D e 2D) e EM-AR-ESI que foi identificado como uma xantona conhecida por liquenxantona (8 mg, **Zg1**), um precipitado esbranquiçado foi retirado da fração 89 e identificado como daucosterol (16 mg), os dados espectroscópicos foram comparados também com a substância **Sb8** isolada de *S. brasiliensis*. De acordo com sua similaridade, as frações da coluna clássica foram agrupadas formando-se 28 grupos (ZgC-C1 – ZgC-C28) como mostrado abaixo (**Tabela 8**).

Tabela 8. Grupos formados pela reunião das frações de **ZgC-FC**.

Grupo	Frações reunidas	Massa (mg)	Grupo	Frações reunidas	Massa (g)
ZgC-C1	30 – 36	149	ZgC-C15	102 – 109	150
ZgC-C2	37 – 42	561	ZgC-C16	110 – 113	112
ZgC-C3	43 – 44	280	ZgC-C17	114 – 121	310
ZgC-C4	45 – 49	314	ZgC-C18	122 – 131	417
ZgC-C5	50 – 59	290	ZgC-C19	132 – 135	203
ZgC-C6	60 – 64	212	ZgC-C20	136 – 141	243
ZgC-C7	65 – 68	166	ZgC-C21	142 – 151	889
ZgC-C8	69 – 71	100	ZgC-C22	152 – 161	638
ZgC-C9	73 – 76	126	ZgC-C23	162 – 171	747
ZgC-C10	77 – 79	150	ZgC-C24	172 – 177	643
ZgC-C11	80 – 82	167	ZgC-C25	178 – 181	610
ZgC-C12	83 – 86	214	ZgC-C26	183 – 188	430
ZgC-C13	87 – 91	244	ZgC-C27	189 – 192	419
ZgC-C14	92 – 101	245	ZgC-C28	193 – 207	312

Os grupos então foram submetidos à diferentes metodologias cromatográficas a fim de se isolar os metabólitos secundários presentes nos mesmos.

5.6.2.1. Fracionamento cromatográfico de ZgC-C2

Submeteu-se o grupo **ZgC-C2** (561 mg) à cromatografia em coluna aberta com gel de sílica 60 (70 – 239 mesh), usou-se uma mistura de CH₂Cl₂:AcOEt (6:4) como fase móvel. Coletaram-se 24 frações que foram analisadas por CCDA, na fração 18 (e frações próximas)

houve a precipitação de um sólido branco que foi analisado por RMN (1D e 2D) e identificado como sendo ácido betulínico (160 mg, **Zg2**).

5.6.2.2. Fracionamento cromatográfico de **ZgC-C3**

Submeteu-se o grupo **ZgC-C3** (280 mg) à cromatografia em coluna aberta empregando-se gel de sílica 60 (h = 18cm, d = 2,5 cm, 230 – 400 mesh) como fase estacionária e mistura de CH₂Cl₂:MeOH (95:5) como fase móvel. 30 frações de aproximadamente 8 mL foram coletadas, analisadas em CCDA e reunidas de acordo com sua similaridade de R_f em 4 grupos (**ZgC-C3.1** – **ZgC-C3.4**).

Houve a precipitação de um sólido esbranquiçado em **ZgC-C3.4**, separou-se o mesmo do restante da amostra e lavou-se com metanol. Após análise em CCDA e análise de EM-ESI o precipitado foi submetido a EM-AR-ESI e análises de RMN (1D e 2D) e identificado como sendo ácido *epigouanico* A (92 mg, **Zg3**).

Submeteu-se **ZgC-C3.4** (120 mg) à cromatografia em coluna aberta com gel de sílica 60 (70 – 230 mesh) como fase estacionária e mistura de CH₂Cl₂:AcOEt (8:2 – 1:1) como fase móvel. Coletaram-se 40 frações de aproximadamente 5 mL cada, que foram analisadas em CCDA. As frações 33 a 38 apresentaram uma mancha azulada quando submetidas à reagente de vanilina-H₂SO₄, submeteu-se então a amostra à espectroscopia de RMN e EM-AR-ESI. Após análises a amostra foi identificada como sendo um novo triterpeno do tipo damarano nomeado ziziglaziovigenina (25-hidróxijubogenina) (8 mg, **Zg4**).

5.6.2.3. Fracionamento cromatográfico de **ZgC-C4**

Submeteu-se **ZgC-C4** (314 mg) à cromatografia de exclusão molecular (Sephadex-LH20) em coluna aberta (h = 41 cm, d = 3,5 cm) utilizando-se mistura de CH₂Cl₂:MeOH (9:1) como fase móvel. Coletaram-se 40 frações de aproximadamente 5 mL cada, na fração 38 houve a precipitação de um sólido que foi analisado por EM-AR-ESI e RMN (1D e 2D) sendo identificado como ácido ceanótico (130 mg, **Zg5**). Após analisadas em CCDA, as frações foram agrupadas em 3 subgrupos (**ZgC-C4.1** – **ZgC-C4.3**), identificou-se no subgrupo **ZgC-C4.2** a ziziglaziovigenina (comparação feita por CCDA com o padrão isolado da fração anterior). O subgrupo **ZgC-C4.3** (37 mg) foi submetido a cromatografia em coluna aberta com gel de sílica 60 (230 – 400 mesh) (h = 35 cm, d = 1,5 cm), utilizou-se como fase móvel uma mistura de CH₂Cl₂:AcOEt (7:3, 200 mL). Coletaram-se 20 frações de aproximadamente

8 mL que foram analisadas em CCDA, a fração 8 apresentou-se pura então foi analisada por EM-AR-ESI e RMN (1D e 2D) e identificada como ácido alfitólico (11 mg, **Zg6**).

5.6.2.4. Fracionamento cromatográfico de **ZgC-C5**.

Submeteu-se o subgrupo **ZgC-C5** (290 mg) à cromatografia de exclusão molecular (Sephadex-LH20, h = 40 cm, d = 3,5 cm) com eluição em mistura de CH₂Cl₂:MeOH (9:1). Coletaram-se 42 frações de aproximadamente 5 mL cada. As frações foram analisadas em CCDA e identificou-se nas frações finais (38 a 42) a presença de ácido ceanótico (comparações feitas por CCDA com o padrão isolado do grupo **ZgC-C4** e RMN).

5.6.2.5. Fracionamento cromatográfico de **ZgC-C10**.

Submeteu-se o grupo **ZgC-C10** (150 mg) à cromatografia de exclusão molecular (Sephadex-LH20, h = 42 cm, d = 1,5 cm) com eluição isocrática em CH₂Cl₂:MeOH (9:1). 20 frações de aproximadamente 5 mL cada foram coletadas e analisadas em CCDA, as frações 13-17 foram reunidas e submetidas à purificação em gel de sílica (230 – 400 mesh) com eluição em CH₂Cl₂:MeOH (9:1) o que forneceu a lignana (+)-lioniresinol (17 mg, **Zg7**).

Os grupos seguintes (**ZgC-C11** e **ZgC-C12**) apresentaram a mesma substância majoritária que foi identificada por EM-AR-ESI e RMN (1D e 2D) como sendo ácido cyphostemmico A (229 mg, **Zg8**).

5.6.2.6. Fracionamento cromatográfico de **ZgC-C14**.

Submeteu-se o grupo **ZgC-C14** (245 mg) à cromatografia de exclusão molecular (Sephadex-LH20, h = 40 cm, d = 3,5 cm) com eluição isocrática de CHCl₃:MeOH (9:1). Coletaram-se 25 frações de aproximadamente 10 mL cada. Após analisadas em CCDA, as frações 10-13 foram reunidas e submetidas à purificação em coluna aberta de gel de sílica 60 (70 – 230 mesh) com eluição em CHCl₃:MeOH (9:1) o que forneceu ziziglaziovigenina 3-*O*- α -L-arabinopiranosídeo (13 mg, **Zg9**), um derivado glicosilado inédito da aglicona **Zg4**. As frações 18-19 (28 mg) apresentaram uma substância majoritária, submeteu-se então a amostra à CLAE preparativa (Coluna ODS; fase móvel A: H₂O + 1% de ácido fórmico, B: ACN + 1% de ácido fórmico; gradiente: 0-2 min 20% B > 16 min 60% B > 17 min 100% B > 20 min 100% B > 21 min 20% B, fluxo de 3,5 mL.min⁻¹) de onde coletou-se uma substância eluída em 15,9 min e identificada como sendo ácido ceanotétrico (13 mg, **Zg10**).

5.6.2.7. Fracionamento cromatográfico de ZgC-C18.

Submeteu-se o grupo **ZgC-C18** (417 mg) à cromatografia de exclusão molecular (Sephadex-LH20, h = 40 cm, d = 3,5 cm) com eluição isocrática em MeOH. Coletaram-se 25 frações de aproximadamente 8 mL cada. Após analisadas em CCDA, reuniram-se as frações 14-16 (90 mg) e submeteu-se à cromatografia em coluna aberta com gel de sílica (230 – 400 mesh) empregando-se mistura de CH₂Cl₂:MeOH (85:15) como fase móvel, 20 frações de 5 mL foram coletadas e analisadas em CCDA. As frações de 8 a 10 apresentaram-se puras então foram submetidas a EM-AR-ESI e espectroscopia de RMN (1D e 2D) de onde identificou-se outra saponina derivada da aglicona Zg4, ziziglaziovigenina 3-*O*- α -L-arabinofuranosil-(1-2)- α -L-arabinopiranosídeo (9 mg, **Zg11**).

5.6.2.8. Fracionamento cromatográfico de ZgC-C21.

Submeteu-se o grupo **ZgC-C21** (889 mg) à cromatografia de exclusão molecular (Sephadex-LH20, h = 40 cm, d = 3,5 cm) com eluição em MeOH. Coletaram-se 34 frações de aproximadamente 8 mL cada que foram analisadas em CCDA. Reuniram-se as frações 14-16 (220 mg) e submeteu-se à cromatografia em coluna aberta com gel de sílica (70 – 230 mesh) com eluição em mistura de CHCl₃:MeOH (9:1). Coletaram-se 45 frações de aproximadamente 5 mL. As frações 19 a 23 se apresentaram puras quando analisadas em CCDA então submeteu-se à EM-AR-ESI e espectroscopia de RMN (1D e 2D). Identificou-se a amostra como sendo outra saponina derivada da aglicona Zg4, inédita na literatura científica, ziziglaziovigenina 3-*O*- β -D-glicopiranosil-(1-3)- α -L-arabinopiranosídeo (23 mg, **Zg12**).

5.6.2.9. Fracionamento cromatográfico de ZgC-C23.

Submeteu-se o grupo **ZgC-C23** (747 mg) à cromatografia de exclusão molecular (Sephadex-LH20, h = 40 cm, d = 3,5 cm) com eluição em MeOH. Coletaram-se 33 frações que foram analisadas em CCDA e divididas em 3 subgrupos (ZgC-C23.1 – ZgC-C23.3).

Submeteu-se **ZgC-C23.1** (390 mg) (frações 14 a 21) à cromatografia em coluna aberta com gel de sílica de fase reversa (C₁₈, h = 26 cm, d = 4 cm) e fase móvel em MeOH:H₂O (7:3). 34 frações de aproximadamente 10 mL foram coletadas, as frações 9-10 foram reunidas e submetidas à purificação em gel de sílica 60 (70 – 230 mesh) com eluição em sistema de CHCl₃:MeOH:H₂O (65:30:5) o que forneceu a saponina inédita 16,22:16,30-diepóxi-20-hidroxidamar-24-metilideno 3-*O*- β -D-apiofuranosil-(1-3)-*O*-[6-(3-metóxi-4-hidróxibenzoato)- β -D-glicopiranosil-(1-2)]- β -D-glicopiranosil-(1-2)- β -D-glicopiranosídeo (13 mg, **Zg13**). As

frações 15-18 (39 mg) foram submetidas à purificação como descrito anteriormente fornecendo outra saponina inédita 6,22-diepóxi-15, 16, 20-trihidroxidamar-24-metilideno 3-*O*-β-D-apiofuranosil-(1-3)-*O*-[6-(3-metóxi-4-hidroxibenzoato)-β-D-glicopiranosil-(1-2)]-β-D-glicopiranosil-(1-2)-β-D-glicopiranosídeo (9 mg, **Zg14**).

Submeteu-se o subgrupo **ZgC-C23.2** (210 mg) à cromatografia em coluna aberta nos mesmos parâmetros do subgrupo anterior (ZgC-C23.1). Coletaram-se 29 frações de aproximadamente 10 mL cada. Após análises das frações em CCDA as frações 17-19 (30 mg) foram reunidas e purificadas em coluna aberta com gel de sílica 60 (70 – 230 mesh) com eluição em CHCl₃:MeOH:H₂O (65:30:5) fornecendo a saponina de esqueleto damarano já descrita na literatura 16,23:16,30-diepóxi-20-hidroxidamar-24-eno 3-*O*-α-L-arabifuranosil-(1-2)-*O*-[4-*O*-sulfo-β-D-glicopiranosil-(1-3)]-α-L-arabipiranosídeo (8 mg, **Zg15**). As frações 21-24 apresentaram-se puras em análise de CCDA e foram submetidas a EM-AR-ESI e análises de RMN (1D e 2D) sendo possível identificar uma saponina inédita na literatura científica 16,22:16,30-diepóxi-20-hidroxidamar-24-metilideno 3-*O*-α-L-arabifuranosil-(1-2)-*O*-[4-*O*-sódio sulfato-β-D-glicopiranosil-(1-3)]-α-L-arabipiranosídeo (11 mg, **Zg16**).

5.6.3. Extração ácido-base de *Ziziphus joazeiro* Mart.

Submeteu-se o extrato bruto metanólico do caule de *Z. joazeiro* (**ZjC-EBM**) à extração ácido-base como alternativa para o isolamento de alcaloides ciclopeptídicos. Suspendeu-se 118,5 gramas de **ZjC-EBM** em aproximadamente 700 mL de água destilada, acidificou-se a solução com HCl (2 M) a pH 1-2 e em seguida extraiu-se a solução acidificada com AcOEt (4 x 250 mL), basificou-se a solução ácida com solução de amônia (NH₃) a pH 8-9 e extraiu-se então com CHCl₃ (4 x 250 mL) de modo a obter-se a fração alcaloídica da espécie **ZjC-FAIc** (523 mg). Analisou-se a amostra em CCDA utilizando-se reagente de Dragendorff e por CLUE-EM (MS¹ e MS²). Purificou-se a fração em cromatografia de adsorção em gel de sílica com eluição isocrática com sistema de CHCl₃:MeOH (9:1) de onde coletaram-se 19 frações que foram analisadas em CCDA submetida a reagente de Dragendorff. Quatro frações (9 – 12) apresentaram resultado positivo e foram reunidas totalizando 15 mg.

As análises de EM-AR-ESI com fragmentação sequencial permitiram a identificação de oito alcaloides ciclopeptídicos do tipo Ib.

5.7. Metodologia de ensaios biológicos

5.7.1. Atividade antinociceptiva

A avaliação da atividade antinociceptiva do extrato, frações e algumas substâncias isoladas de *S. brasiliensis* foram realizadas pela Dr^a. Thais B. S. Giorno sob supervisão da Prof^a. Dr^a. Patrícia Dias Fernandes (CCS – ICB – UFRJ).

Ratos foram tratados com extrato ou frações (10, 30 e 100 mg.kg⁻¹), substâncias isoladas (1, 3 e 10 mg.kg⁻¹), veículo (DMSO 5%) ou morfina (2,5 mg.kg⁻¹) e colocados em aparelho de placa quente (Insight, Brasil) mantida em temperatura constante (55°C ± 0,5°C), gravou-se o tempo de latência até os animais começarem a demonstrar estímulo (pulos, lambidas ou tremores, por exemplo). Mediu-se o tempo antes do tratamento (linha de base, média de 60 e 30 minutos antes do tratamento) e 30, 60, 90, 120 e 180 minutos após o tratamento com extrato, frações ou substâncias. O resultado do teste é expresso como aumento percentual de aumento da linha de base, calculado pela fórmula: (latência x 100)/(linha de base – 100), e também a área sobre a curva (ASC).

5.7.2. Atividade anti-glicação *in vitro*

A avaliação da atividade anti-glicação *in vitro* foi realizada na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP, Câmpus de Araraquara – SP) sob a supervisão da Prof^a. Dr^a. Amanda Martins Baviera. A metodologia para avaliação da atividade anti-glicação *in vitro* foi realizada de acordo com MEEPRON e colaboradores (2013), com algumas modificações. Incubou-se uma solução de albumina sérica bovina (BSA, 10 mg.mL⁻¹) com solução de glicose (0,5 M) em tampão fosfato 0,1 M (pH 7,4) contendo 0,02% de azida sódica a 37°C por 30 dias, contendo ou não Sb-EBHE, Sb-FC, Sb-FA e Sb-FB (em concentrações 0,5, 0,25, 0,125 e 0,062 mg.mL⁻¹). Aminoguanidina (AG, 1 mM) foi usada como controle positivo anti-glicação. O extrato ou as frações foram solubilizados em DMSO, não ultrapassando a concentração de 5% de DMSO no meio de incubação. Alíquotas foram retiradas em 10, 20 e 30 dias de incubação para a estimativa dos produtos finais de glicação avançada (sigla em inglês AGEs, *Advanced Glycation Endproducts*), via monitoramento dos AGEs fluorescentes, nos comprimentos de onda de 355 e 430 nm para excitação e emissão, respectivamente.

5.7.3. Atividade antibacteriana

As atividades antibacterianas foram realizadas pela técnica Anke Dettmer sob supervisão da Dr^a. Katrin Franke no *Leibniz Institute of Plant Biochemistry*.

5.7.3.1. *Bacillus subtilis*

Avaliou-se a atividade antibacteriana frente a *B. subtilis* 168 (DSM 10) por ensaio turbidimétrico. Uma pré-cultura em 100 mL de meio de levedura triptona (LT) foi incubada a 37°C por 24 horas sob agitação (120 rpm). Posteriormente a densidade microbiana foi ajustada para a absorção do meio a 612 nm. O ensaio foi realizado em placa de 96 poços de fundo transparente (Greiner Bio-one) em um volume final de 200 µL de meio LT contendo 1% de DMSO em cada poço (100 µL de suspensão bacteriana diluída e 100 µL da solução teste). A placa tampada foi incubada por 16 horas a 37°C sob agitação (80 rpm) e a absorção da solução foi determinada a 612 nm usando-se leitor de microplaca TecanGeniousPro. Os resultados (valor médio ± desvio padrão, n = 6) são dados como valores relativos (% de inibição) em comparação com o controle negativo (crescimento da bacteriano com 1% de DMSO sem nenhum tratamento). Os extratos foram testados nas concentrações de 50 e 500 µg.mL⁻¹, como controle positivo usou-se cloranfenicol (1 e 10 µM).

5.7.3.2. *Alivibrio fischeri*

Utilizou-se a cepa DSM507 (lote 1209), para cada teste incubou-se uma nova solução estoque de glicerol em 25 mL de meio Boss (meio específico para crescimento de bactérias luminescentes) a 100 rpm e 23°C por 16-18 horas e então diluiu-se com meio Boss fresco para um número de células apropriado (valor de luminescência entre 30.000 e 50.000 ULR). Realizou-se o ensaio em placa de 96 poços de fundo escuro e reto (cellGradeTMpremium, Sterile R) em um volume final de 200 µL de meio Boss contendo 1% de DMSO em cada poço (100 µL de solução bacteriana diluída e 100 µL de solução teste). Incubaram-se as placas no escuro a 23°C e 100% de umidade, sem tampa e sem agitação por 24 horas. A bioluminescência (obtida em unidades de luminescência relativa, ULR) é dependente da densidade celular e foi determinada após 24 horas usando-se leitor de microplacas TecanGeniousPro. Portanto, toda a faixa de comprimento de onda foi detectada por 1000 ms sem agitação prévia para evitar efeitos secundários de oxigênio. Os resultados (valor médio ± desvio padrão, n = 6) são dados como valores relativos (% de inibição) em comparação com o controle negativo (crescimento bacteriano, 1% de DMSO, sem nenhum tratamento). Valores negativos indicam uma elevação da luminescência / aumento do crescimento bacteriano.

5.7.4. Atividade citotóxica

A atividade citotóxica dos extratos, frações e substâncias isoladas foram avaliadas frente a linhagens celulares de câncer de próstata humano (PC-3) e adenocarcinoma colorretal humano (HT-29). Os ensaios foram realizados pela técnica Martina Lerbs sob a supervisão do Prof. Dr. Goran Kaluđerović no *Leibniz Institute of Plant Biochemistry*.

Cultivou-se a linhagem PC-3 em meio RPMI 1640 com L-glutamina e bicarbonato de sódio (Sigma-Aldrich, R8758), 10% de soro fetal bovino (Sigma-Aldrich, F2442), solução de penicilina-estreptomicina (Sigma-Aldrich, P4333, 10.000 unidade por mL de penicilina e 100 mg.mL⁻¹ de estreptomicina). Cultivou-se a linhagem HT-29 em meio de Eagle modificado por Dulbelcco com 1000 mg.L⁻¹ de glicose, L-glutamina e bicarbonato de sódio (Sigma-Aldrich, D6046), 10% de soro fetal bovino (Sigma-Aldrich, F2442), solução de penicilina-estreptomicina (Sigma-Aldrich, P4333, 10.000 unidades de penicilina por mL e 100 mg.mL⁻¹ de estreptomicina). Cultivou-se ambas as linhagens celulares a 37°C em incubador humidificado com atmosfera de 5% de CO₂. Mediu-se os experimentos em placa de 6 poços onde inseriu-se 2 mL de meio contendo 1 x 10⁵ células (MOREJON et al., 2017). Testou-se os extratos e frações nas concentrações de 0,05 e 50 µg.mL⁻¹ e as substâncias isoladas nas concentrações de 0,01 e 10 µM). Avaliou-se a viabilidade celular por ensaios com MTT (brometo de 3-(4, 5-dimetiltiazol-2-yl)-2, 5-difenil tetrazolium) e CV (cristal violeta) após 72 horas de incubação. Utilizou-se digitonina (10 µM) como controle positivo (C+) para o ensaio. Mediu-se a absorbância das soluções dos poços com leitor automático de microplacas a 540 nm com comprimento de onda de referência de 670 nm. Os resultados são apresentados como porcentagem dos valores de controle obtidos de culturas não tratadas (C-).

5.8. Dados experimentais das substâncias isoladas de *Siomatra brasiliensis*

Sakuranetina (Sb1)

(2S)-5-hidróxi-2-(4-hidróxifenil)-7-metóxi-2,3-diidrochromen-4-ona); Sólido amarelado. RMN ¹H e ¹³C (500 MHz, CDCl₃) (Tabela 9, p. 78)

7-metil-3-metóxi-diidroquercetina (Sb2)

3,5-dihidróxi-2-(4-hidróxi-3-metóxfenil)-7-metóxi-2,3-diidrochromen-4-ona; Sólido amarelado. RMN ¹H e ¹³C (500 MHz, CDCl₃) (Tabela 10, p. 79)

Ramnocitrina (Sb3)

3,5-dihidróxi-2-(4-hidróxifenil)-7-metóxicromen-4-ona. Sólido amarelado. RMN ¹H e ¹³C (500 MHz, DMSO-*d*₆) (Tabela 11, p. 80)

7-metil-aromadendrina (Sb4)

3,5-dihidróxi-2-(4-hidróxifenil)-7-metóxi-2,3-diidrochromen-4ona. Sólido amarelado. RMN ¹H e ¹³C (500 MHz, DMSO-*d*₆) (Tabela 12, p. 82)

Naringenina (Sb5)

5,7-dihidróxi-2-(4-hidróxifenil)-2,3-diidrochromen-4-ona. Sólido amarelado. RMN ¹H e ¹³C (500 MHz DMSO-*d*₆) (Tabela 13, p. 83).

4,4'-dihidróxi-3,3',9-trimetóxi-9,9'-epóxilignana (Sb6)

Pasta incolor. EM *m/z* 374 [M]⁺ (15), 163 (60), 137 (100). RMN ¹H e ¹³C (500 MHz, DMSO-*d*₆) (Tabela 14, p. 85)

4,4',9-trihidróxi-3,3'-dimetóxi-9,9'-epóxilignana (Sb7)

Pasta incolor. EM *m/z* 374 [M-H₂O]⁺ (3), 137 (70), 81 (100). RMN ¹H e ¹³C (500 MHz, DMSO-*d*₆) (Tabela 15, p. 89)

Daucosterol (Sb8)

Sólido esbranquiçado. RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, C₅D₅N) (Tabela 16, p. 92)

Cayaponosídeo A₁ (Sb9)

Sólido amorfo amarronzado. RMN ¹H e ¹³C (500 MHz, C₅D₅N) (Tabela 17, p. 94)

Cayaponosídeo A (Sb10)

Sólido amorfo amarronzado. RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, C₅D₅N) (Tabela 18, p. 96).

25-acetoxi-2-(β-d-glicopiranosiloxi)-3,16*R*,20,22-tetrahidróxi-29-norcucurbita-1,3,5(10)-trien-11-ona (Sb11)

Sólido amorfo amarelado. RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, C₅D₅N) (Tabela 19, p. 98).

Cayaonosídeo C (Sb12)

Sólido amorfo amarelado. RMN ^1H e ^{13}C (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (Tabela 20, p. 100).

Cayaonosídeo C₃ (Sb13)

Sólido amorfo amarelado. RMN ^1H e ^{13}C (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (Tabela 21, p. 102).

Cayaonosídeo D (Sb14)

Sólido amorfo amarelado. RMN ^1H e ^{13}C (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$). (Tabela 22, p. 104)

Cayaonosídeo B (Sb15)

Sólido amorfo amarelado. RMN ^1H e ^{13}C (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (Tabela 23, p. 106).

Siolmatrina (Sb16)

4-[2-(*p*-hidróxifenil)-1-oxoetil]-3-*O*- β -D-glicopiranosil-5-hidróxibenzoato de metila. IV (cm^{-1}) (ATR-FT) 3300 ($\nu_{\text{O-H}}$), 2922 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1690 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1600, 1515 e 1450 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1070 e 1021 ($\nu_{\text{C-O}}$), 825 ($\delta_{\text{C-H}}$). UV λ_{max} (MeOH) nm (ϵ) 225 (196.4) 288 (146.4). EM-AR-ESI m/z 463,1235 [M-H] $^-$ (calcd. para $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{O}_{11}$, 463,1246). RMN ^1H e ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) (Tabela 24, p. 109).

Siolmatrosídeo II (Sb17)

20,26-dihidroxidamar-24-eno 3-*O*- β -D-glicopiranosil-(1-2)- β -D-glicopiranosídeo. EM-AR-ESI m/z 783,4908 [M-H] $^-$ (calcd. para $\text{C}_{42}\text{H}_{71}\text{O}_{13}$, 783,4900). RMN ^1H e ^{13}C (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) Tabela 26, p. 112).

Siolmatrosídeo III (Sb18)

20-hidroxidamar-24-eno 3-*O*- β -D-glicopiranosil-(1-2)- β -D-glicopiranosil-26-*O*- β -D-glicopiranosídeo. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 1,75$ (c 0,3, MeOH). EM-AR-ESI m/z 969,5427 [M+Na] $^+$ (calcd. para $\text{C}_{48}\text{H}_{82}\text{O}_{18}\text{Na}$, 969,5399). RMN ^1H e ^{13}C (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (Tabela 27, p. 114).

Siolmatrosídeo IV (Sb19)

20-hidroxidamar-24-eno 3-*O*- β -D-glicopiranosil-(1-2)- β -D-glicopiranosil-26-*O*- β -D-glicopiranosil-(1-6)- β -D-glicopiranosídeo. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -8,34$ (c 0,25, MeOH). EM-AR-ESI m/z

1131,5947 [M+Na]⁺ (calcd. para C₅₄H₉₂O₂₃Na, 1131,5927). RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, C₅D₅N) (Tabela 28, p. 117).

Siolmatrosídeo V (Sb20)

20-hidróxidamar-24-eno 3-*O*-[β-D-glicopiranosil-(1-6)-β-D-glicopiranosil-(1-2)-β-D-glicopiranosil]-26-*O*-β-D-glicopiranosil-(1-6)-β-D-glucopiranosídeo. [α]_D²⁵ -15,2 (c 0,25, MeOH). EM-AR-ESI 1293,6473 [M+Na]⁺ (calcd. para C₆₀H₁₀₂O₂₈Na). RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, C₅D₅N) (Tabela 29, p. 120)

5.9. Dados experimentais das substâncias isoladas de *Ziziphus glaziovii*

Liquenxanthona (Zg1)

Sólido amorfo amarelado. EM-AR-ESI *m/z* 287,0914 [M+H]⁺ (calcd. para C₁₆H₁₅O₅, 287,0914). RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, CDCl₃) (Tabela 31, p. 128).

Ácido betulínico (Zg2)

Sólido amorfo esbranquiçado. EM-AR-ESI *m/z* 455,3505 [M-H]⁻ (calcd. para C₃₀H₄₇O₃, 455,3531). RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, C₅D₅N) (Tabela 32, p. 129).

Ácido epigouânico (Zg3)

Sólido amorfo esbranquiçado. EM-AR-ESI *m/z* 485,3254 [M-H]⁻ (calcd. para C₃₀H₄₅O₅, 485,3272). RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, C₅D₅N) (Tabela 33, p. 131).

Ziziglaziovigenina (Zg4)

16,23:16,30-diepóxi-20,25-dihidróxidamarano. Sólido amorfo esbranquiçado. [α]_D²⁵ -25,9 (c 0,21, MeOH). EM-AR-ESI *m/z* 491,3733 [M+H]⁺ (calcd. para C₃₀H₅₁O₅, 491,3731). RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, C₅D₅N) (Tabela 34, p. 133).

Ácido alfitólico (Zg5)

Sólido amorfo esbranquiçado. EM-AR-ESI *m/z* 495,3431 [M+Na]⁺ (calcd. para C₃₀H₄₈O₄Na, 495,3445). RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, C₅D₅N) (Tabela 35, p. 135)

Ácido ceanótico (Zg6)

Sólido amorfo esbranquiçado. EM-AR-ESI *m/z* 485,3251 [M-H]⁻ (calcs. para C₃₀H₄₅O₅, 485,3272). RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, C₅D₅N) (Tabela 36, p. 137)

(+)-lyoniresinol (Zg7)

Sólido amorfo amarronzado. EM-AR-ESI m/z 443,1660 $[M+Na]^+$ (calcd. para $C_{22}H_{28}O_8Na$, 443,1676). RMN 1H e ^{13}C (400 MHz, $CDCl_3$) (Tabela 37, p. 139)

Ácido cyphostemmico A (Zg8)

Sólido amorfo esbranquiçado. EM-AR-ESI m/z 501,3198 $[M-H]^-$ (calcd. para $C_{30}H_{45}O_6$, 501,3222). RMN 1H e ^{13}C (400 MHz, C_5D_5N) (Tabela 38, p. 141)

Ácido ceanotétrico (Zg9)

Sólido amorfo esbranquiçado. EM-AR-ESI m/z 515,3018 $[M-H]^-$ (calcd. para $C_{30}H_{43}O_7$, 515,3014). RMN 1H e ^{13}C (400 MHz, C_5D_5N) (Tabela 39, p. 143)

Ziziglaziovigenina 3-O- α -L-arabinopiranosídeo (Zg10)

16,23:16,30-diepóxi-20,25-dihidroxidamarano 3-O- α -L-arabinopiranosídeo. Sólido amorfo esbranquiçado. $[\alpha]_D^{25}$ -15,3 (c 0,23, MeOH). EM-AR-ESI m/z 623,4133 $[M+H]^+$ (calcd. para $C_{35}H_{59}O_9$, 623,4154). RMN 1H e ^{13}C (400 MHz, C_5D_5N) (Tabela 40, p. 145)

Ziziglaziovigenina 3-O- α -L-arabinofuranosil-(1-2)- α -L-arabinopiranosídeo (Zg11)

16,23:16,30-diepóxi-20,25-dihidroxidamarano 3-O- α -L-arabinofuranosil-(1-2)- α -L-arabinopiranosídeo. Sólido amorfo amarelado. $[\alpha]_D^{25}$ -18,1 (c 0,35, MeOH). EM-AR-ESI m/z 777,4368 $[M+Na]^+$ (calcd. para $C_{40}H_{66}O_{13}Na$, 777,4396). RMN 1H e ^{13}C (400 MHz, C_5D_5N) (Tabela 41, p. 147).

Ziziglaziovigenina 3-O- β -D-glicopiranosil-(1-3)- α -L-arabinopiranosídeo (Zg12)

16,23:16,30-diepóxi-20,25-dihidroxidamarano 3-O- β -D-glicopiranosil-(1-3)- α -L-arabinopiranosídeo. Sólido amorfo esbranquiçado. $[\alpha]_D^{25}$ -14,8 (c 0,38, MeOH). EM-AR-ESI m/z 785,4651 $[M+H]^+$ (calcd. para $C_{41}H_{69}O_{14}$, 785,4682). RMN 1H e ^{13}C (400 MHz, C_5D_5N) (Tabela 42, p. 149).

16,22:16,30-diepóxi-20-hidróxidamar-24-metilideno 3-O-β-D-apiofuranosil-(1-3)-O-[6-(3-metóxi-4-hidróxibenzoato)-β-D-glicopiranosil-(1-2)]-β-D-glicopiranosil-(1-2)-β-D-glicopiranosídeo (Zg13)

Sólido amorfo esbraquiçado. $[\alpha]_D^{27}$ -24,2 (*c* 0,3, MeOH). EM-AR-ESI *m/z* 1253,5944 [M-H]⁻ (calcd. para C₆₂H₉₃O₂₆, 1253,5961). RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, C₅D₅N) (Tabela 43, p. 153).

16,22-epóxi-15,16,20-trihidróxidamar-24-metilideno-3-O-β-D-apiofuranosil-(1-3)-O-[6-(3-metóxi-4-hidróxibenzoato)-β-D-glicopiranosil-(1-2)]-β-D-glicopiranosil-(1-2)-β-D-glicopiranosídeo (Zg14)

Sólido amorfo esbranquiçado. $[\alpha]_D^{27}$ -21,3 (*c* 0,6, MeOH). EM-AR-ESI *m/z* 1271,6069 [M-H]⁻ (calcd. para C₆₂H₉₅O₂₇, 1271,6066). RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, C₅D₅N) (Tabela 44, p. 157).

16,23:16,30-diepóxi-20-hidróxidamar-24-eno 3-O-α-L-arabinofuranosil-(1-2)-O-[4-O-sódio sulfato-β-D-glicopiranosil-(1-3)]-α-L-arabinopiranosídeo (Zg15)

Sólido amorfo amarelado. EM-AR-ESI *m/z* 977,4424 [M-Na]⁻ (calcd. para C₄₆H₇₃O₂₀S, 977,4416) e *m/z* 1023,4215 [M+Na]⁺ (calcd. para C₄₆H₇₃O₂₀Na₂S, 1023,4211). RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, C₅D₅N) (Tabela 45, p. 160)

16,22:16,30-diepóxi-20-hidróxidamar-24-metilideno 3-O-α-L-arabinofuranosil-(1-2)-O-[4-O-sódio-sulfato-β-D-glicopiranosil-(1-3)]-α-L-arabinopiranosídeo (Zg16)

Sólido amorfo esbranquiçado. $[\alpha]_D^{26}$ -6.02 (*c* 0.3, MeOH). EM-AR-ESI *m/z* 991,4578 [M-Na]⁻ (calcd. para C₄₇H₇₅O₂₀S, 991,4572) e *m/z* 1037,4415 [M+Na]⁺ (calcd. para C₄₇H₇₅O₂₀Na₂S, 1037,4367). RMN ¹H e ¹³C (400 MHz, C₅D₅N) (Tabela 46, p.163).

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1. Metabólitos secundários isolados de *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill.

Os procedimentos cromatográficos envolvendo as frações de Sb-EBHE permitiram, o isolamento e elucidação estrutural de cinco flavonoides já descritos na literatura científica, sendo duas flavanonas, sukaranetina (**Sb1**) e naringenina (**Sb5**), dois diidroflavonóis, 7-metil aromadendrina (**Sb4**) e 7-metil-3'-metóxi diidroquercetina (**Sb2**) e um flavonol ramnocitrina (**Sb3**), duas lignanas do tipo dibenzilbutirolactol, também já descritas na literatura científica, 3,9,3'-trimetóxi-4,4'-dihidróxi-9,9'-epóxilignana (**Sb6**) e 3, 3'-dimetóxi- 4, 9, 4'-trihidróxi- 9, 9'-epóxilignana (**Sb7**), um esteroide glicosilado conhecido por daucosterol (**Sb8**), seis *nor*-cucurbitacinas, cayaponosídeos A₁ (**Sb9**), A (**Sb10**), B (**Sb15**), C (**Sb12**), C3 (**Sb13**), D (**Sb14**) e 25-acetoxi-2-(β-D-glicopiranosiloxi)-3,16*R*,20,22-tetrahidróxi-29-norcucurbita-1,3,5(10)-trien-11-ona (**Sb11**), um derivado fenólico inédito na literatura científica nomeado siolmatrina (**Sb16**) e quatro saponinas de esqueleto damarano, siolmatrosídeos II (**Sb17**), III (**Sb18**), IV (**Sb19**) e V (**Sb20**) também inéditas na literatura científica (**Figuras 3 e 4**).

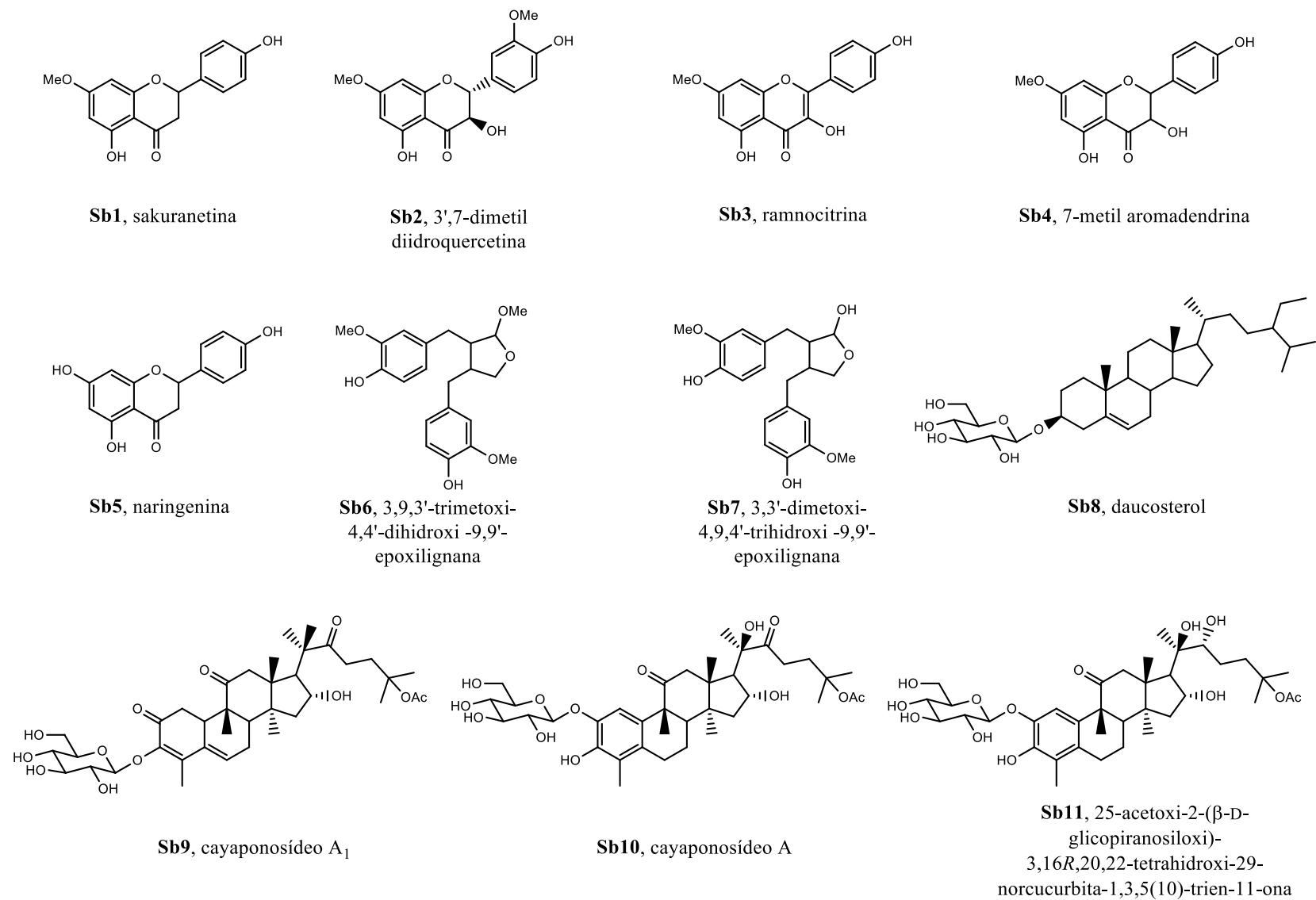
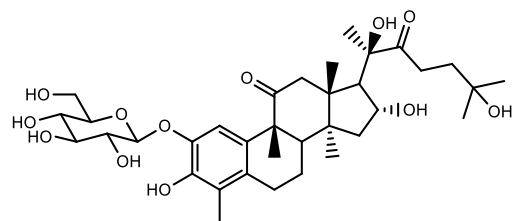
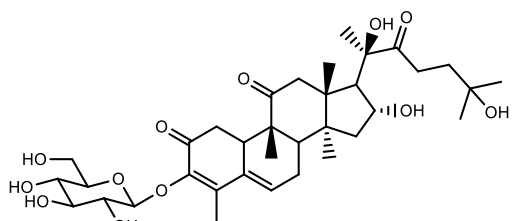


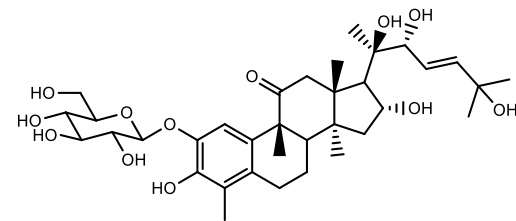
Figura 3. Substâncias isoladas de *Siolmatra brasiliensis*.



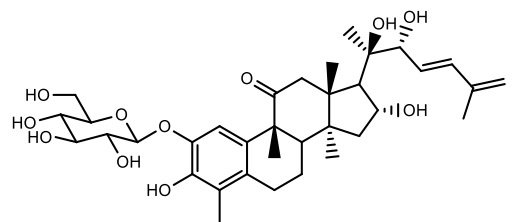
Sb12, cayaponosídeo C



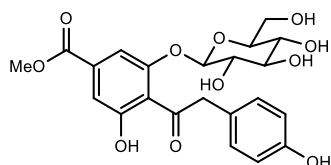
Sb13, cayaponosídeo C₃



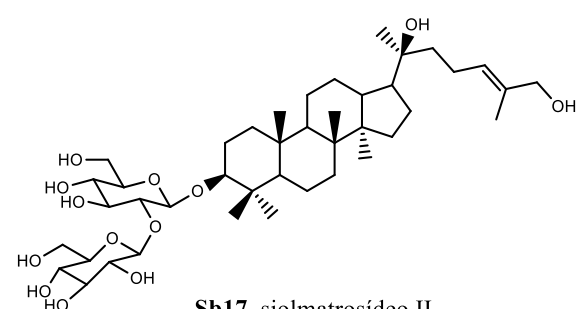
Sb14, cayaponosídeo D



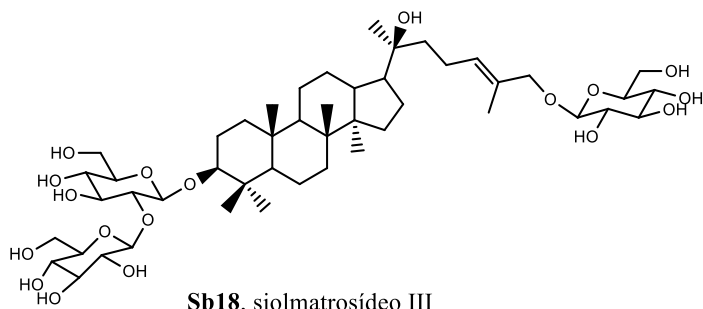
Sb15, cayaponosídeo B



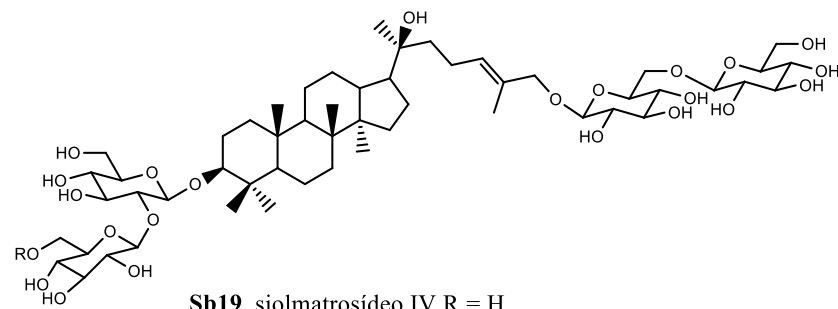
Sb16, siolmatrina



Sb17, siolmatrosídeo II



Sb18, siolmatrosídeo III



Sb19, siolmatrosídeo IV R = H

Sb 20, siolmatrosídeo V R = β -D-Glc

Figura 4. Substâncias isoladas de *Siolmatra brasiliensis* (continuação)

6.2. Elucidação estrutural dos metabólitos secundários isolados de *Siolmatra brasiliensis*

6.2.1. Elucidação estrutural da substância **Sb1**

A substância **Sb1** foi isolada na forma de um sólido de cor amarelada. A amostra foi submetida a experimentos de RMN ^1H (**Figura 1**, vol. II, p. 10) onde apresentou padrão de sinais característicos de flavonoides, como por exemplo os sinais em δ_{H} 5,35 (*dd*, 3 e 13,1 Hz, H-2) e δ_{H} 3,10 (*dd*, 13,1 e 17,15 Hz, H-3a) e 2,79 (*dd*, 3 e 17,15 Hz, H-3b), além dos grupos metoxila em δ_{H} 3,81 (*s*, OMe-7) e hidroxila quelada em δ_{H} 12,03 (OH-5). Na região mais desprotegida do espectro nota-se a presença dos hidrogênios que compõe o sistema aromático da flavanona como δ_{H} 6,04 (*d*, 2,3 Hz, H-6) e δ_{H} 6,08 (*d*, 2,4 Hz, H-8) referentes ao anel A da flavanona e os hidrogênios do sistema AA'BB' do anel B em δ_{H} 6,89 (*d*, 8,4 Hz, H-2'/H-6') e δ_{H} 7,33 (*d*, 8,6 Hz, H-3'/H-5').

No espectro de DEPTQ (**Figura 2**, vol. II, p. 11) observa-se a presença dos sinais referentes à carbonila em δ_{C} 196,1 (C-4), da metoxila em δ_{C} 55,7 e dos carbonos do sistema AA'BB' do anel B da flavanona em δ_{C} 115,6 (C-2'/C-6') e δ_{C} 128,0 (C-3'/C-5').

A posição do grupamento metoxila foi determinada por experimento de NOESY 2D (**Figura 3**, vol. II, p. 12) onde nota-se a interação dos hidrogênios da metoxila com H-6 e H-8 do Anel A da flavanona.

Os resultados das análises e atribuição dos dados de RMN (**Tabela 9**) dão informações pertinentes para a elucidação estrutural da substância, sendo que a estrutura proposta já é descrita na literatura científica como a flavanona conhecida por sakuranetina (**Figura 5**) (VASCONCELOS et al., 1998).

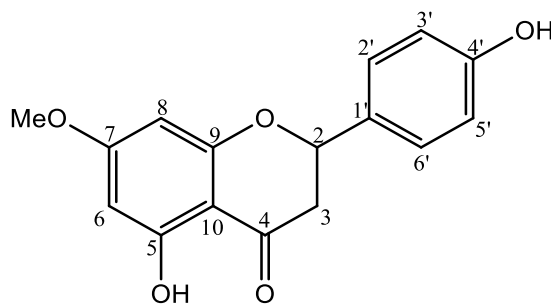


Figura 5. Estrutura da substância **Sb1**, sakuranetina.

Tabela 9. Dados de RMN da substância **Sb1** (500 MHz, CDCl₃).

C	Experimental		Referência*	
	δ_C mult.	δ_H (mut., J em Hz)	δ_C	δ_H (mult. J em Hz)
2	78,9 CH	5,36 (dd, 3 e 13,1)	80,0	5,36 (dd, 3,2 e 13,1)
3	43,1 CH ₂	3,10 (dd, 13,1 e 17,15) 2,79 (dd, 3 e 17,15)	43,2	3,09 (dd, 13,1 e 17,2) 2,78 (dd, 3,2 e 17,2)
4	196,1 C	-	196,0	-
5	164,1 C	-	164,2	-
6	95,1 CH	6,08 (d, 2,3)	95,1	6,08 (d, 2,3)
7	167,9 C	-	168,0	-
8	94,2 CH	6,04 (d, 2,3)	94,2	6,05 (d, 2,3)
9	162,8 C	-	162,9	-
10	103,1 C	-	103,1	-
1'	130,4 C	-	130,5	-
2'	127,9 CH	7,33 (d, 8,4)	128,0	7,34 (d, 8,4)
3'	115,6 CH	6,89 (d, 8,6)	115,6	6,89 (d, 8,6)
4'	156,1 C	-	156,1	-
5'	115,6 CH	6,89 (d, 8,6)	115,6	6,89 (d, 8,6)
6'	127,9 CH	7,33 (d, 8,4)	128,0	7,34 (d, 8,4)
OMe-7	55,7 CH ₃	3,81 (s)	55,7	3,81 (s)

* VASCONCELOS et al., 1998 (300 MHz, CDCl₃).

6.2.2. Elucidação estrutural da substância **Sb2**

A substância **Sb2** foi isolada na forma de cristais amarelados. Nota-se na análise do espectro de RMN ¹H (**Figura 4**, vol. II, p. 13) a presença de sinais característicos de flavonoides como em δ_H 6,13 (s, H-6) e δ_H 6,07 (s, H-8) referentes aos hidrogênios do anel A do flavonoide, respectivamente. Os sinais em δ_H 7,05 (sl, H-2'), 7,00 (d, 8 Hz, H-5') e 7,07 (dd, 1,5 e 8 Hz, H-6') juntamente com os sinais do espectro de DEPTQ (**Figura 5**, vol. II, p. 14) δ_C 114,6 (CH-2'), 109,7 (CH-5') e 121,1 (CH-6'), revelam a presença de um sistema ABC no anel B do flavonoide. A classe do flavonoide foi determinada pelos sinais em 5,02 (d, 12 Hz, H-2) e 4,57 (d, 12 Hz, H-3) juntamente com os sinais em 83,6 (CH-2) e 72,4 (CH-3), característicos de diidroflavonol.

A posição das metoxilas foi determinada pelo espectro de NOESY (2D) (**Figura 6**, vol. II, p. 15) onde uma metoxila ligada ao C-7 (δ_H 3,83, s) apresenta interação espacial com os prótons aromáticos H-6 e H-8 e a metoxila em C-3' interage espacialmente com o próton H-6'. Após a análise dos dados de RMN (**Tabela 10**) foi possível determinar a estrutura da substância como sendo o diidroflavonol já descrito na literatura, 7-metil-3'-metoxi diidroquercetina (**Figura 6**) (BALZA & TOWERS, 1984).

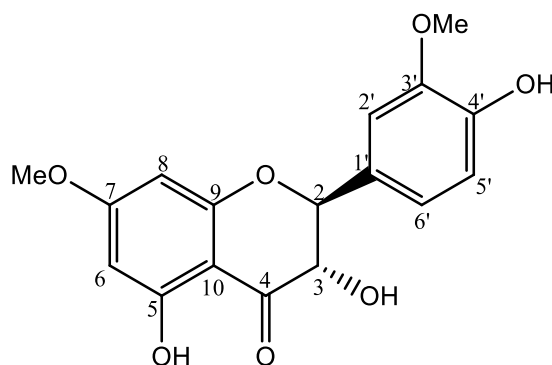


Figura 6. Estrutura da substância **Sb2**, 3', 7-dimetil diidroquercetina.

Tabela 10. Dados de RMN da substância **Sb2** (500 MHz, CDCl₃).

C	Experimental		Referência*	
	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C	δ_H (mult.)
2	83,6 CH	5,02 (<i>d</i> , 12)	84,9	5,03 (<i>d</i>)
3	72,4 CH	4,57 (<i>d</i> , 12)	73,3	4,55 (<i>dd</i>)
4	195,9 C	-	198,6	-
5	163,6 C	-	164,9	-
6	95,5 CH	6,08 (<i>s</i>)	96,0	6,07 (<i>d</i>)
7	168,8 C	-	169,5	-
8	94,7 CH	6,13 (<i>s</i>)	94,9	6,13 (<i>d</i>)
9	162,9 C	-	164,1	-
10	100,8 C	-	102,2	-
1'	127,8 C	-	129,6	-
2'	114,6 CH	7,06 (<i>sl</i>)	112,7	7,08 (<i>d</i>)
3'	146,7 C	-	148,3	-
4'	146,7 C	-	148,6	-
5'	109,7 C	7,00 (<i>d</i> , 8)	115,7	6,99 (<i>d</i>)
6'	121,1 CH	7,07 (<i>dd</i> , 1,5 e 8)	122,3	7,05 (<i>dd</i>)
OMe-7	56,0 CH ₃	3,83 (<i>s</i>)	56,6	3,81 (<i>s</i>)
OMe-3'	55,8 CH ₃	3,96 (<i>s</i>)	56,4	3,93 (<i>s</i>)

*BALZA & TOWERS, 1984 (100 MHz, acetona-*d*₆).

6.2.3. Elucidação estrutural da substância **Sb3**

A substância **Sb3** foi isolada na forma de um sólido de cor amarelada. A análise do espectro de RMN ¹H (Figura 7, vol. II, p. 16) apresentou sinais compatíveis com esqueleto de um flavonóide, como por exemplo, os dupletos em δ_H 6,93 (*d*, 8,8 Hz, H-2'/H6') e δ_H 8,08 (*d*, 8,5 Hz, H-3'/H-5') referentes ao sistema aromático AA'BB' do anel B do flavonóide. Os sinais em δ_H 6,74 (*sl*, H-8) e δ_H 6,35 (*sl*, H-6) referentes aos e do anel A do flavonóide. Um sinal de grupamento metoxila em δ_H 3,86 (*s*, 3H) e os sinais de hidroxila fenólica em δ_H 9,51 (OH-4') e hidroxila quelada em δ_H 12,47 (OH-5).

Pelo espectro de DEPTQ (**Figura 8**, vol. II, p. 17) pode-se verificar a presença de sinais semelhantes aos sinais do flavonoide anterior (**Figura 10**) onde a diferença está na ausência de sinais em δ_C 78,9 e 43,1 e a presença de sinais de carbonos sp^2 em δ_C 147,2 e 135,9 referentes à dupla ligação entre os carbonos C-2 e C-3 onde ocorre a presença de uma hidroxila em C-3 aumentando o valor do deslocamento químico.

A posição da metoxila foi, novamente, atribuída com base no espectro de NOESY 2D (**Figura 9**, vol. II, p. 18) da amostra onde ocorre interação entre o sinal da metoxila e os hidrogênios H-6 e H-8 do anel A do flavonol.

Após análise dos espectros de RMN 1D e 2D juntamente com os dados já descritos na literatura (**Tabela 11**) tornou-se possível a identificação do flavonol conhecido por ramnocitrina (**Figura 7**).

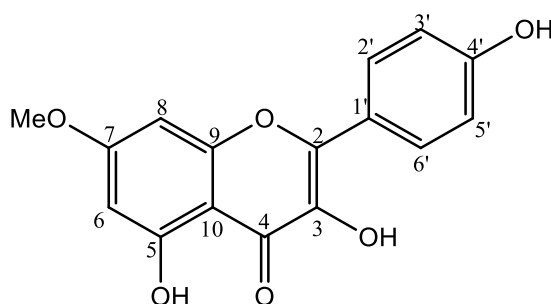


Figura 7. Estrutura da substância **Sb3**, ramnocitrina.

Tabela 11. Dados de RMN da substância **Sb3** (500 MHz, DMSO- d_6).

C	Experimental		Referência*	
	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C	δ_H (mult., J em Hz)
2	147,2 C	-	147,2	-
3	136,0 C	-	135,9	-
4	176,0 C	-	176,0	-
5	160,3 (-	160,3	-
6	97,4 CH	6,35 (<i>sl</i>)	97,4	6,32 (<i>d</i> , 2,0)
7	164,9 C	-	164,9	-
8	92,0 CH	6,74 (<i>sl</i>)	92,1	6,71 (<i>d</i> , 2,0)
9	156,1 C	-	156,1	-
10	104,0 C	-	104,0	-
1'	121,6 C	-	121,0	-
2'	129,6 CH	8,08 (<i>d</i> , 8,5)	129,4	8,06 (<i>d</i> , 8,5)
3'	115,4 CH	6,93 (<i>d</i> , 8,8)	115,4	6,92 (<i>d</i> , 8,5)
4'	159,3 C	-	159,3	-
5'	115,4 CH	6,93 (<i>d</i> , 8,8)	115,4	6,92 (<i>d</i> , 8,5)
6'	129,6 CH	8,08 (<i>d</i> , 8,5)	129,4	8,06 (<i>d</i> , 8,5)
OMe-7	56,0 CH ₃	3,86 (<i>s</i>)	-	3,84 (<i>s</i>)

* SILVA et al, 2009 (500 MHz, DMSO- d_6).

6.2.4. Elucidação estrutural da substância Sb4

A substância **Sb4** foi isolada na forma de um sólido amarelado. Observa-se no espectro de RMN ^1H (**Figura 10**, vol. II, p. 19) da amostra um padrão de sinais semelhantes aos dos flavonoides anteriores, como o sinal em δ_{H} 7,32 (*d*, 8,15 Hz, H-2'/H-6') e 6,78 (*d*, 8,5 Hz, H-3'/H-5') referentes aos hidrogênios do sistema AA'-BB' do anel B do flavonoide. Os sinais em 6,10 (*sl*, H-6) e 6,08 (*d*, 1,9 Hz, H-8) são característicos de anel A tetrassubstituído. A classe do flavonoide foi caracterizada pelos sinais em δ_{H} 5,10 (*d*, 6 Hz, H-2) referente ao H-2 do anel B, juntamente com o sinal em 4,64 (*dd*, 6,3 e 11,35 Hz, H-3) referente ao H-3 e um sinal incomum em δ_{H} 5,81 (*d*, 6 Hz, OH-3) referente à hidroxila em C-3 do diidroflavonol.

Os sinais em δ_{C} 83,0 (C-2) e 71,5 (C-3) no espectro de DEPTQ (**Figura 11**, vol. II, p. 20) também auxiliaram na definição do tipo de flavonoide, sendo estes característicos de diidroflavonois.

A posição do grupo metoxila foi determinado por experimento de NOESY (2D) (**Figura 12**, vol. II, p. 21) onde o sinal da metoxila δ_{H} 3,78 (*s*) tem interação espacial com os prótons H-6 e H-8 em δ_{H} 6,10 (*sl*) e 6,09 (*d*, 1,9 Hz), respectivamente, sendo então posicionada no carbono 7 do anel A do diidroflavonol.

Após análise dos dados (**Tabela 12**) foi possível identificar a substância como sendo o diidroflavonol já descrito na literatura, 7-metil-aromadendrina (**Figura 8**) (AGRAWAL, 1989).

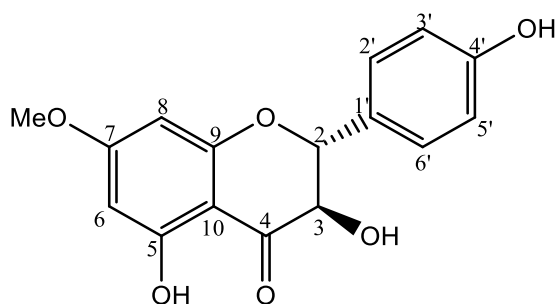


Figura 8. Estrutura da substância **Sb4**, 7-metil-aromadendrina.

Tabela 12. Dados de RMN da substância **Sb4** (500 MHz, DMSO-*d*₆).

C	Experimental		Referência*
	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C
2	83,0 CH	5,10 (<i>d</i> , 11,3)	83,1
3	71,5 CH	4,64 (<i>dd</i> , 6,3 e 11,3)	71,7
4	198,5 C	-	198,5
5	162,5 C	-	163,1
6	94,9 CH	6,12 (<i>sl</i>)	95,0
7	167,5 C	-	167,7
8	93,8 CH	6,10 (<i>d</i> , 2)	93,9
9	162,5 C	-	162,6
10	101,4 C	-	101,4
1'	127,4 C	-	127,5
2'	129,5 CH	7,32 (<i>d</i> , 8,5)	129,6
3'	114,9 CH	6,79 (<i>d</i> , 8,5)	115,0
4'	157,8 C	-	157,9
5'	114,9 CH	6,79 (<i>d</i> , 8,5)	115,0
6'	129,5 CH	7,32 (<i>d</i> , 8,5)	129,5
OMe-7	55,9 CH ₃	3,78 (<i>s</i>)	-
OH-3	-	5,80 (<i>d</i> , 6,5)	-

*AGRAWAL, 1989 (25 MHz, DMSO-*d*₆).

6.2.5. Elucidação estrutural da substância **Sb5**

A substância **Sb5** foi isolada na forma de um sólido amarelado. As análises de RMN mostraram sinais semelhantes aos dos flavonoides descritos anteriormente. No espectro de RMN ¹H (**Figura 13**, vol. II, p. 22) nota-se a presença de sinais característico de sistema AA'-BB' típico de flavonoides em δ_H 7,30 (*d*, 7,6 Hz, H-2'/H-6') e δ_H 6,79 (*d*, 7,25 Hz, H-3'/H-5') e um sinal em 5,88 (*sl*, H-6/H-8) referentes ao anel A do flavonoide. A classe do flavonoide foi definida a partir dos sinais em δ_H 5,44 (*dd*, 2,4 e 12,9 Hz, H-2), δ_H 3,24 (*dd*, 14 e 16 Hz, H-3a) e δ_H 2,68 (*d*, 17 Hz, H-3b) característicos de flavanonas.

O espectro de DEPTQ (**Figura 14**, vol. II, p. 23) também apresenta sinais característicos de flavonoides como δ_C 128,31 (C-2'/C-6') e δ_C 115,15 (C-3'/C5') do sistema AA'-BB' do anel B, δ_C 95,77 (C-6) e δ_C 94,95 (C-8) e δ_C 166,64 (C-7) e 162,92 (C-9) além dos sinais δ_C 78,04 (C-2) e δ_C 41,95 (C-3) característicos de flavanonas.

Após as análises dos espectros e comparação com dados da literatura (MARKHAM & TERNAL, 1976) (**Tabela 13**), foi possível identificar a substância **Sb5** como a flavanona conhecida como naringenina (**Figura 9**).

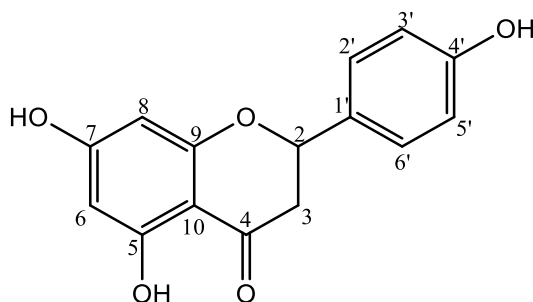


Figura 9. Estrutura da substância **Sb5**, naringenina.

Tabela 13. Dados de RMN da substância **Sb5** (500 MHz, DMSO-*d*₆).

C	Experimental		Referência*
	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C
2	78,4 CH	5,43 (<i>dd</i> , 3 e 13)	78,2
3	42,0 CH ₂	3,26 (<i>dd</i> , 13 e 17) 2,68 (<i>dd</i> , 3 e 17)	42,0
4	196,4 C	-	195,6
5	163,5 C	-	163,3
6	95,8 CH	5,88 (<i>sl</i>)	95,8
7	166,6 C	-	166,4
8	94,9 CH	5,88 (<i>sl</i>)	94,9
9	162,9 C	-	162,7
10	101,7 C	-	101,9
1'	128,8 C	-	128,9
2'	128,3 CH	7,30 (<i>d</i> , 7,6)	127,6
3'	115,1 CH	6,78 (<i>d</i> , 7,2)	115,1
4'	157,7 C	-	157,4
5'	115,1 CH	6,78 (<i>d</i> , 7,2)	115,1
6'	128,3 CH	7,30 (<i>d</i> , 7,6)	127,6

* MARKHAM & TERNAI, 1976 (25 MHz, DMSO-*d*₆).

6.2.6. Elucidação estrutural da substância **Sb6**

A amostra **Sb6** foi isolada na forma de uma pasta transparente. No espectro de RMN ¹H (**Figura 16**, vol. II, p. 25) e de DEPTQ (**Figura 17**, vol II, p. 26) nota-se a presença de sinais típicos de dois anéis aromáticos de sistemas ABC, com sinais em δ_H 6,67 (*sl*, H-2), 6,66 (*d*, 9 Hz, H-5) e 6,53 (*dd*, 2 e 9 Hz, H-6), e os sinais do segundo anel em 6,60 (*sl*, H-2'), 6,64 (*d*, 9 Hz, H-5') e 6,46 (*dd*, 2 e 9 Hz, H-6'). Sinais em δ_H 4,64 (*s*, H-9) acoplando com carbono em δ_C 109,9 (C-9) e δ_H 3,83 (*t*, 7,9 Hz, H-9'a) e 3,46 (*t*, 8,7 Hz, H-9'b) acoplando com um único carbono em δ_C 71,4 (C-9') deram indícios de presença de anel heterocíclico, com o auxílio do espectro de HSQC (**Figura 18**, vol. II, p. 27), que também permitiu observar as interações dos sinais de hidrogênio diastereotópicos 7, 7' e 9' com seus respectivos carbonos a ¹J_{H-C}.

No espectro de HMBC (**Figura 19**, vol. II, p. 28) observaram-se sinais de interação a $^{2,3}J_{H-C}$ que foram importantes para a definição da estrutura, como por exemplo, as interações entre os hidrogênios aromáticos H-2 (δ_H 6,67) com o carbono C-7 (δ_C 38,0), e H-2' (δ_H 6,60) com C-7' (δ_C 38,0), as interações entre H-9 (δ_H 4,64) com C-7 (δ_C 38,0), C-8 (δ_C 52,5), C-8' (δ_C 46,1) e C-9' (δ_C 71,4) foram muito úteis na elucidação da estrutura do heterociclo, além das outras interações importantes assinaladas no espectro.

As posições das metoxilas foram determinadas com o auxílio do espectro de NOESY (2D) (**Figura 20**, vol. II, p. 29) onde observou-se a interação espacial entre os sinais em δ_H 3,72 (*s*, OMe-3) com 6,67 (*sl*, H-2), 3,71 (*s*, OMe-3') com 6,60 (*sl*, H-2') e 3,14 (*s*, OMe-9) com 4,64 (*s*, H-9).

A substância **Sb6** foi submetida a experimento de CG-EM e o cromatograma obtido (**Figura 21**, vol. II, p. 30) apresentou dois picos majoritários em 21,84 min (58,6%) e 21,87 min (30,57%) e seus espectros de massas (**Figuras 22 e 23**, respectivamente, vol. II, p. 30) apresentaram picos íon-molecular em m/z 374 e padrões de fragmentações semelhantes, sendo possível a presença de epímeros da mesma substância. As propostas de fragmentação de massas da substância (**Figura 11**) justificam alguns dos fragmentos majoritários.

Após as análises de RMN uni e bidimensionais, e CG-EM e comparação com dados da literatura (CHEN et al., 2009) (**Tabela 14**), foi possível identificar a mostra como sendo a lignana do tipo dibenzilbutirolactol, 4,4'-dihidróxi-3, 3', 9-trimetóxi-9,9'-epóxilignana (**Figura 10**).

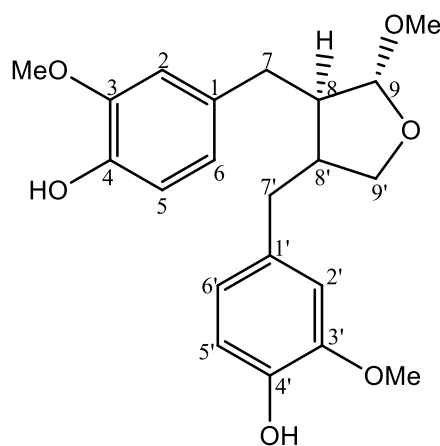


Figura 10. Estrutura da substância **Sb6**, 4,4'-dihidróxi-3, 3', 9-trimetóxi-9,9'-epóxilignana.

Tabela 14. Dados de RMN da substância **Sb6** (500 MHz, DMSO-*d*₆).

C	HSQC		Referência*	
	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C	δ_H (mult., J em Hz)
1	131,5 C	-	133,1	-
2	112,9 CH	6,67 (<i>sl</i>)	112,7	6,57 (<i>d</i> , 2)
3	147,5 C	-	146,3	-
4	144,7 C	-	146,8	-
5	115,4 CH	6,66 (<i>d</i> , 9)	115,6	6,80 (<i>d</i> , 8,5)
6	121,1 CH	6,53 (<i>dd</i> , 2 e 9)	123,0	6,61 (<i>dd</i> , 2 e 8,5)
7	38,0 CH ₂	2,53 (<i>dd</i> , 9 e 14)	40,2	2,44 (<i>dd</i> , 7,5 e 14)
		2,36 (<i>dd</i> , 7 e 14)		2,66 (<i>dd</i> , 7,5 e 14)
8	52,5 CH	2,00 (<i>dd</i> , 7 e 14)	47,4	2,15 (<i>m</i>)
9	109,0 CH	4,64 (<i>s</i>)	111,4	4,70 (<i>d</i> , 1)
1'	131,0 C	-	135,3	-
2'	112,6 CH	6,60 (<i>sl</i>)	116,2	6,62 (<i>d</i> , 2)
3'	147,5 C	-	145,4	-
4'	144,7 C	-	147,9	-
5'	115,4 CH	6,64 (<i>d</i> , 9)	112,0	6,68 (<i>d</i> , 8)
6'	120,7 CH	6,46 (<i>dd</i> , 2 e 9)	121,4	6,50 (<i>dd</i> , 2 e 8)
7'	38,0 CH ₂	2,42 (<i>d</i> , 7)	40,2	2,55 (<i>m</i>)
				2,75 (<i>m</i>)
8'	46,0 CH	2,06 (<i>ddd</i> , 7, 7,8 e 22,4)	54,1	2,15 (<i>m</i>)
9'	71,4 CH ₂	3,83 (<i>t</i> , 8)	73,5	3,62 (<i>t</i> , 8,5)
		3,46 (<i>t</i> , 8,5)		3,97 (<i>t</i> , 8,5)
OMe-3	55,6 CH ₃	3,72 (<i>s</i>)	57,2	3,86 (<i>s</i>)
OMe-9	54,4 CH ₃	3,14 (<i>s</i>)	56,2	3,33 (<i>s</i>)
OMe-3'	55,6 CH ₃	3,71 (<i>s</i>)	57,4	3,83 (<i>s</i>)

*CHEN et al., 2009 (500 MHz, CDCl₃).

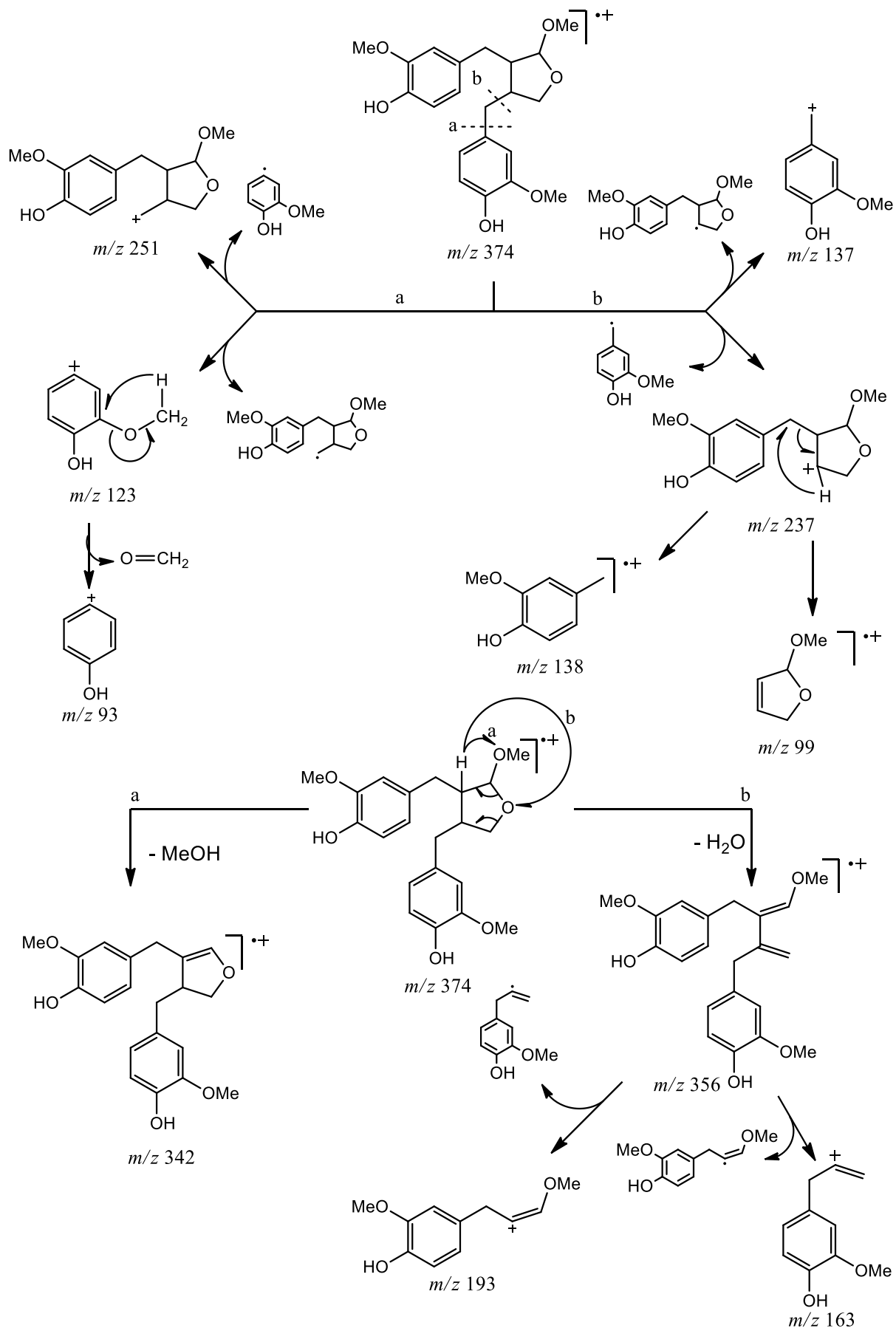


Figura 11. Propostas de fragmentações de massas da substância **Sb6** (ie. 70 eV).

6.2.7. Elucidação estrutural da substância Sb7

A amostra **Sb7** também foi isolada como uma pasta incolor. Após as análises de RMN ^1H (**Figura 24**, vol. II, p. 31) e DEPTQ (**Figura 25**, vol. II, p. 32) notou-se a semelhança do padrão de sinais da amostra com a substância **Sb6** e, pelo espectro de DEPTQ, que a amostra apresenta uma possível mistura de epímeros devido a presença de sinais de menor intensidade em regiões próximas aos sinais majoritários da substância. As vizinhanças dos prótons, principalmente do anel lactônico, puderam ser observadas no espectro de COSY (**Figura 26**, vol. II, p. 33).

Os espectros de HSQC (**Figura 27**, vol. II, p. 34) e HMBC (**Figura 28**, vol. II, p. 35) e NOESY (**Figura 29**, vol. II, p. 36) auxiliaram na confirmação das interações a $^1J_{\text{H-C}}$ e $^{2,3}J_{\text{H-C}}$ e homonuclear entre prótons da molécula como assinalado nos mesmos. A principal diferença entre a presente amostra e a anterior consiste na ausência do sinal em δ_{H} 3,14 (s) e δ_{C} 54,4 (CH_3) correspondente ao grupamento metoxila ligado ao carbono C-9 da amostra **Sb6**.

Submeteu-se a amostra à CG-EM (**Figura 30**, vol. II, p. 37) e observou-se, além de dois picos bem próximos 1 e 2, respectivamente, em 21,5 e 21,6 minutos indicando uma possível mistura epimérica, o pico em m/z 342, referente ao pico molecular subtraído de uma molécula de água $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]$ nos picos 1 e 2 (**Figuras 31 e 32**, vol. II, p. 37). Propostas de fragmentação para justificar os picos mais intensos serviram para se justificar a estrutura da proposta (**Figura 13**).

Após as análises de RMN e CG-EM, foi possível elucidar a estrutura da amostra como sendo uma lignana, também do tipo dibenzilbutirolactol, já descrita na literatura científica, 3,3'-dimetóxi-4,9,4'-trihidróxi-9,9'-epóxilignana (**Figura 12**), possivelmente também em mistura de epímeros como descrito por BARRERO e colaboradores (1994) que propõem diferentes sinais de ^1H e ^{13}C para os epímeros α e β (**Tabela 15**).

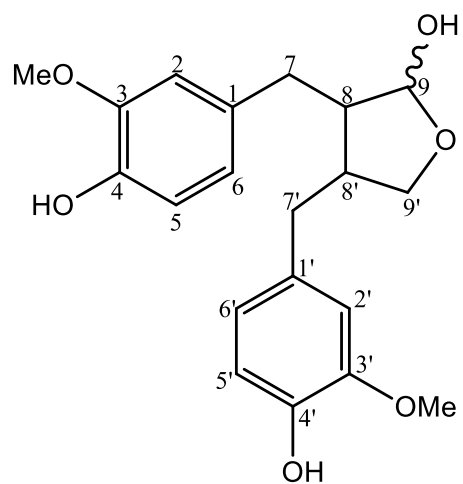


Figura 12. Estrutura da substância **Sb7**, epímeros α e β da 3,3'-dimetóxi- 4,9,4'-trihidróxi- 9,9'-epóxilignana.

Tabela 15. Dados de RMN dos epímeros da substância **Sb7** (500 MHz, CDCl₃).

C	Experimental				Referência*	
	HSQC (α)		HSQC (β)		$\delta_{C(\alpha)}/\delta_{C(\beta)}$	$\delta_{H(\alpha)}/\delta_{H(\beta)}$ (mult., J em Hz)
-	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)		
1	132,0 C	-	131,4 C	-	132,67/132,33	-
2	111,0 CH	6,61 (<i>sl</i>)	110,9 CH	6,44 (<i>sl</i>)	111,62/111,29	6,42-6,81 (<i>m</i>)
3	146,33 C	-	146,3 C	-	146,58	-
4	143,8 C	-	143,8 C	-	144,00/143,95	-
5	114,2 CH	6,81 (<i>d</i> , 9)	114,0 CH	6,78 (<i>d</i> , 9)	114,41/114,24	6,42-6,81 (<i>m</i>)
6	121,2 CH	6,64 (<i>dd</i> , 2 e 9)	121,2 CH	6,56 (<i>dd</i> , 2 e 9)	121,42/121,58	6,42-6,81 (<i>m</i>)
7a	33,5 CH ₂	2,62 (<i>m</i>)	38,4 CH ₂	2,66 (<i>dd</i> , 7 e 14) 2,42 (<i>m</i>)	33,46/39,21	2,37-2,80 (<i>m</i>)
7b		2,80 (<i>m</i>)				
8	51,9 CH	2,46 (<i>m</i>)	52,9 CH	2,18 (<i>m</i>)	51,82/52,85	1,94-2,18 (<i>m</i>)
9	98,9 CH	5,25 (<i>s</i>)	103,4 CH	5,25 (<i>s</i>)	98,92/103,46	5,23 (<i>m</i>)
OMe-3	55,7 CH ₃	3,80 (<i>s</i>)	55,7 CH ₃	3,80 (<i>s</i>)	55,73	3,76 (<i>s</i>)
1'	132,6 C	-	132,3 C	-	132,01/131,49	-
2'	111,4 CH	6,73 (<i>sl</i>)	111,1 CH	6,51 (<i>sl</i>)	111,29/111,12	6,42-6,81 (<i>m</i>)
3'	146,4 C	-	146,4 C	-	146,45	-
4'	144,0 C	-	143,9 C	-	143,95/143,80	-
5'	114,2 CH	6,83 (<i>d</i> , 9)	114,1 CH	6,80 (<i>d</i> , 9)	114,34/114,16	6,42-6,81 (<i>m</i>)
6'	121,4 CH	6,74 (<i>dd</i> , 2 e 9)	121,5 CH	6,61 (<i>dd</i> , 2 e 9)	121,23	6,42-6,81 (<i>m</i>)
7'	38,8 CH ₂	2,78 (<i>m</i>) 2,45 (<i>m</i>)	39,3 CH ₂	2,61 (<i>m</i>)	38,76/38,33	2,37-2,80 (<i>m</i>)
8'	42,8 CH	2,05 (<i>m</i>)	45,7 CH	2,16 (<i>m</i>)	42,87/45,74	1,94-2,18 (<i>m</i>)
9'	72,7 CH ₂	3,60 (<i>t</i> , 7,9) 4,11 (<i>t</i> , 7,9)	72,4 CH ₂	4,04 (<i>t</i> , 9) 3,83 (<i>m</i>)	72,62/72,32	4,09 (<i>t</i> , 8)/4,00 (<i>dd</i> , 7 e 8,5) 3,57 (<i>t</i> , 8)/3,47 (<i>m</i>)
OMe-3'	55,8 CH ₃	3,86 (<i>s</i>)	55,8 CH ₃	3,86 (<i>s</i>)	55,89	3,82 (<i>s</i>)/3,83 (<i>s</i>)

* BARRERO et al., 1994 (300 MHz, CDCl₃).

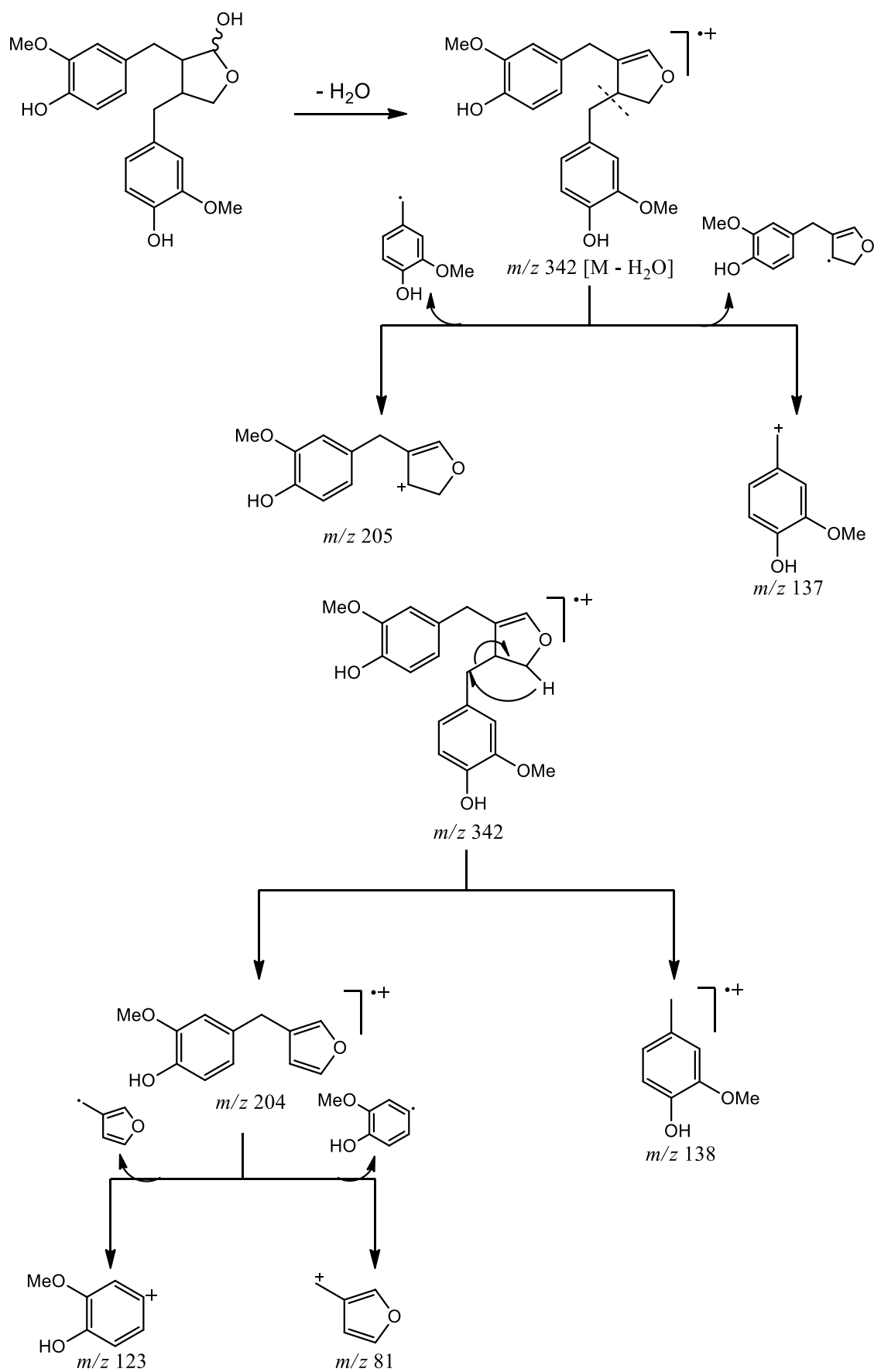


Figura 13. Propostas de fragmentações de massas da amostra **Sb7** (ie. 70 eV).

6.2.8. Elucidação estrutural da substância Sb8

A substância **Sb8** foi isolada pela precipitação de um sólido esbranquiado. No espectro de RMN ^1H (**Figura 33**, vol. II, p. 38) nota-se a presença de sinais característicos de triterpenos esteroidais como a série de metilas agrupadas entre δ_{H} 0,65 – 0,99. Observaram-se também os sinais em 2,48 (*m*) e 2,74 (*dd*, 2,7 e 13,2 Hz) característico dos hidrogênios diastereotópicos (H-4) vizinhos do centro assimétrico C-3 e dupla ligação C-5/C-6. Uma unidade glicosídica foi detectada pela presença de sinal em δ_{H} 5,06 (*d*, 6,3 Hz) característico de próton de carbono anomérico, visível no espectro de DEPTQ (**Figura 34**, vol. II, p. 39) em δ_{C} 102,8 (CH-1'). Algumas vizinhanças dos prótons puderam ser observadas no espectro de COSY (**Figura 35**, vol. II, p. 40). Os hidrogênios diastereotópicos puderam ser identificados através da expansão do espectro de HSQC (**Figura 36**, vol. II, p. 41). Os sinais identificados no espectro de DEPTQ foram atribuídos com exceção do sinal em δ_{C} 30,4 (CH₂) que pode ser atribuído a algum material graxo presente na substância. A posição do glicosídeo pode ser identificada pelo sinal de $^3J_{\text{H-C}}$ entre o próton anomérico H-1' e C-3, através de sinais observados no espectro de HMBC (**Figura 37**, vol. II, p. 42). Após análise dos dados espectroscópicos e comparação com dados da literatura (**Tabela 16**) (KOJIMA et al., 1990) a amostra **Sb8** foi identificada como sendo o esteroide glicosilado conhecido como daucosterol (ou 3-*O*- β -D-glicopiranosil β -sitosterol) (**Figura 14**).

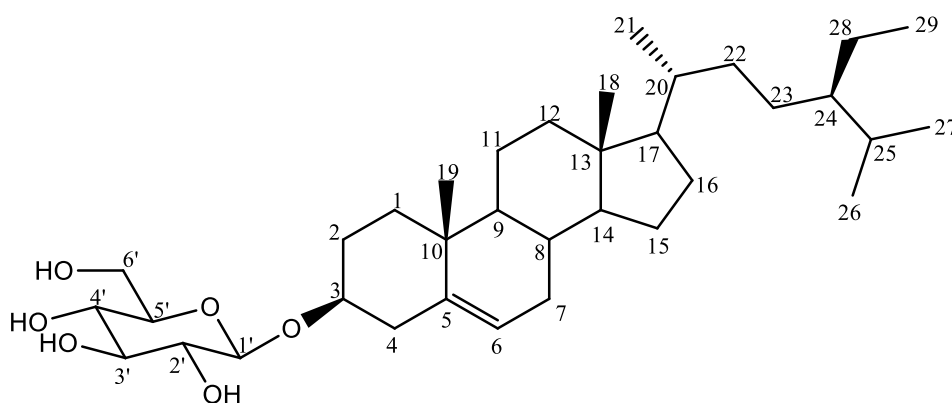


Figura 14. Estrutura da substância **Sb8**, daucosterol.

Tabela 16. Dados de RMN da substância **Sb8** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC		Referência*	
	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C	δ_H (mult.)
1	37,7 CH ₂	0,98 (m), 1,72 (m)	37,6 ²	-
2	30,5 CH ₂	1,74 (m), 2,13 (m)	30,3 ²	-
3	78,4 CH	3,98 (m)	78,3	3,97 (m)
4	39,6 CH ₂	2,48 (m), 2,74 (dd; 2,8 e 13)	39,4	2,38 (m) 2,63 (m)
5	141,2 C	-	141,0	-
6	122,2 CH	5,34 (m)	122,0 ²	-
7	32,4 CH ₂	1,89 (m)	32,2 ²	-
8	32,3 CH	1,36 (m)	32,1 ²	-
9	50,6 CH	0,90 (m)	50,4 ²	-
10	37,2 C	-	37,0 ²	-
11	21,5 CH ₂	1,42 (m)	21,4 ¹⁻²	-
12	40,2 CH ₂	1,11 (m), 1,96 (m)	40,0 ²	-
13	42,7 C	-	42,7	-
14	57,1 CH	0,93 (m)	57,0 ²	-
15	24,8 CH ₂	0,96 (m), 1,55 (m)	24,6 ²	-
16	28,8 CH ₂	1,25 (m), 1,83 (m)	28,7 ²	-
17	56,5 CH	1,11 (m)	56,3 ¹⁻²	-
18	12,2 CH ₃	0,66 (s)	12,0	0,66 (s)
19	19,7 CH ₃	0,93 (s)	19,3	0,94 (s)
20	36,7 CH	1,38 (m)	36,5 ²	-
21	19,5 CH ₃	0,99 (d; 6,3)	19,1	0,99 (d)
22	34,4 CH ₂	1,07 (m), 1,39 (m)	34,3 ²	-
23	26,6 CH ₂	1,24 (m)	26,4 ²	-
24	46,3 CH	0,99 (m)	46,1 ¹⁻²	-
25	29,7 CH	1,68 (m)	29,5 ¹⁻²	-
26	19,7 CH ₃	0,90 (d; 7,5)	19,5 ¹	0,90 (d)
27	20,3 CH ₃	0,87 (m)	20,1 ¹	0,87 (d)
28	23,6 CH ₂	1,28 (m)	23,4 ¹⁻²	-
29	12,4 CH ₃	0,89 (m)	12,2 ¹	0,89 (t)
1'	102,8 CH	5,06 (d; 7,8)	102,6	4,95 (d)
2'	75,6 CH	4,07 (m)	75,4 ¹⁻²	-
3'	78,7 CH	4,00 (m)	78,7 ²	-
4'	71,9 CH	4,27 (m)	71,7	4,31 (t)
5'	78,8 CH	4,32(m)	78,5 ¹	-
6'	63,0 CH ₂	4,41 (dd; 5,3 e 12), 4,57 (dd; 2 e 12)	62,9	4,59 (dd)

* KOJIMA et al., 1990 (400 MHz, C₅D₅N); ¹ Sinais sobrepostos; ² Dados espectroscópicos de RMN ¹H não divulgados.

6.2.9. Elucidação estrutural da substância Sb9

A amostra **Sb9** foi isolada na forma de um sólido amorfo de coloração amarelada. No espectro de RMN ^1H (**Figura 38**, vol. II, p. 43) observou-se a presença de uma série de simpletos em δ_{H} 1,08 (*s*, Me-19), 1,19 (*s*, Me-18), 1,41 (*s*, Me-30), 1,48 (*s*, Me-26), 1,52 (*s*, Me-27), 1,60 (*s*, Me-21), 1,93 (*s*, Ac-25) e 2,24 (*s*, Me-28), além dos sinais em δ_{H} 5,75 (*d*, 7,2 Hz, H-1') juntamente com sinais entre δ_{H} 3,98 – 4,52 (*m*) indicando a presença de uma porção glicosídica na amostra. No espectro de DEPTQ (**Figura 39**, vol. II, p. 44) observou-se a presença de um sinal em δ_{C} 103,82, característico de carbono anomérico, confirmando a presença da porção glicosídica na amostra. Sinais observados em δ_{C} 146,1 (C-3), 142,4 (C-5), 132,8 (C-4) e 130,3 (C-6) indicam a presença de um sistema insaturado conjugado com um grupo carbonila em 195,1 (C-2), confirmado pelo experimento de UV (**Figura 43**, vol. II, p. 48) com máximo de absorção em 300 nm. A presença de um grupo acetoxila foi confirmada pelos sinais em δ_{C} 170,5, característico de carbonila de função éster, e δ_{C} 22,6, característico de metila α -carbonila, e do sinal de $^2J_{\text{H-C}}$ entre o próton da metila em δ_{H} 1,93 (*s*) e o carbono da carbonila, observada via espectro de HMBC (**Figura 42**, vol. II, p. 47). Os hidrogênios diastereotópicos da estrutura foram identificados pelo experimento de HSQC (**Figura 41**, vol. II, p. 46).

Após as análises dos dados de RMN (**Tabela 17**), a substância **Sb9** foi identificada como sendo a *nor*-cucurbitacina conhecida como cayaponosídeo A₁ (HIMENO et al., 1993) (**Figura 15**).

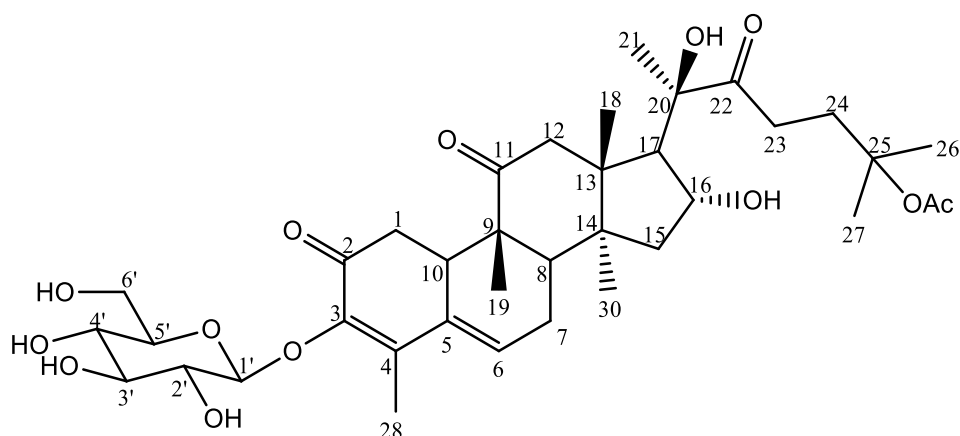


Figura 15. Estrutura da substância **Sb9**, cayaponosídeo A₁.

Tabela 17. Dados de RMN da substância **Sb9** (500 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC		HMBC	Ref.*
-	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	$^{2,3}J_{H-C}$	δ_C
1	39,8 CH ₂	2,54 (<i>d</i> , 14,4), 2,66 (<i>dd</i> , 4,4 e 14,4)		40,7
2	195,1 C	-		197,1
3	145,8 C	-		147,1
4	132,6 C	-		134,3
5	142,6 C	-		145,8
6	130,3 CH	6,17 (<i>s</i>)		132,6
7	25,3 CH ₂	2,13 (<i>m</i>), 2,36 (<i>m</i>)		26,7
8	42,6 CH	1,98 (<i>m</i>)		44,5
9	48,9 C	-		50,8
10	36,5 CH	3,08 (<i>m</i>)		37,8
11	213,0 C	-		215,8
12	49,4 CH ₂	2,81 (<i>d</i> , 14,5), 3,08 (<i>m</i>)		50,6
13	51,0 C	-		52,4
14	48,7 C	-		50,3
15	46,6 CH ₂	1,70 (<i>d</i> , 12,9), 1,91 (<i>m</i>)		47,6
16	70,5 CH	4,98 (<i>m</i>)		72,1
17	59,4 CH	2,89 (<i>d</i> , 7,2)		60,4
18	20,6 CH ₃	1,19 (<i>s</i>)	12, 13, 14, 17	21,4
19	19,7 CH ₃	1,08 (<i>s</i>)	8, 9, 10	20,6
20	80,4 C	-		81,6
21	25,9 CH ₃	1,60 (<i>s</i>)	17, 20	26,4
22	215,8 C	-		217,3
23	32,6 CH ₂	3,10 (<i>m</i>), 3,32 (<i>m</i>)		33,6
24	35,6 CH ₂	2,35 (<i>m</i>), 2,46 (<i>m</i>)		36,6
25	81,9 C	-		83,9
26	26,2 CH ₃	1,49 (<i>s</i>)	24, 25, 27	27,0
27	26,2 CH ₃	1,52 (<i>s</i>)	24, 25, 26	27,1
28	13,7 CH ₃	2,24 (<i>s</i>)	3, 4, 5	14,4
30	18,6 CH ₃	1,41 (<i>s</i>)	8, 13, 14, 15	19,6
1'	103,7 CH	5,75 (<i>d</i> , 7,2)	3	-
2'	76,2 CH	4,28 (<i>m</i>)		-
3'	78,7 CH	4,31 (<i>m</i>)		-
4'	71,6 CH	4,31 (<i>m</i>)		-
5'	79,1 CH	3,96 (<i>m</i>)		-
6'	62,7 CH ₂	4,38 (<i>m</i>), 4,51 (<i>d</i> , 12)		-
Ac	22,5 CH ₃	1,93 (<i>s</i>)	Ac	23,1
	170,6 C	-		173,2

* HIMENO et al., 1993 (400 MHz, CD₃OD).

6.2.10. Elucidação estrutural da substância **Sb10**

A substância **Sb10** foi isolada na forma de um sólido amorfo de coloração amarelada. No espectro de RMN ¹H (**Figura 44**, vol. II, p. 49) observa-se um padrão de sinais característico de esqueleto triterpênico semelhante aos presentes na amostra anterior (**Sb9**). Nota-se, primeiramente, a presença de sete sinais de metilas ligadas a carbonos quartenários

em δ_H 1,24 (s, Me-18), 1,47 (s, Me-26/Me-27), 1,49 (s, Me-19), 1,57 (s, Me-21), 1,90 (s, Ac-25) e 2,30 (s, Me-28) sendo que estes mantêm acoplamento a $^1J_{H-C}$ visto no espectro de HSQC (**Figura 46**, vol. II, p. 51) com os sinais em δ_C 20,14, 26,30, 29,63, 25,71, 22,52 e 12,19, respectivamente. Um sinal de próton ligado a carbono aromático é observado em 7,34 (s) mantendo correlação direta com um carbono sp^2 em δ_C 114,1. Observa-se um sinal em δ_H 5,40 (d, 7 Hz) referente ao próton do carbono anomérico da unidade glicosídica da substância que tem acoplamento direto ($^1J_{H-C}$) com o sinal em δ_C 105,7, referente ao próprio carbono anomérico.

Com o auxílio do espectro de HSQC e HMBC (**Figura 47**, vol. II, p. 52) foi possível, também, diferenciar e identificar os hidrogênios diastereotópicos da substância, assim como os carbonos quaternários oxigenados e as vizinhanças dos grupos metílicos da estrutura. O espectro de DEPTQ (**Figura 45**, vol. II, p. 50) auxiliou na definição inequívoca das multiplicidades dos carbonos da substância. A interpretação dos espectros de RMN (**Tabela 18**), incluindo a comparação com dados literatura (HIMENO et al., 1992), possibilitaram a identificação da substância **Sb10** como sendo a *nor*-cucurbitacina conhecida como cayaponosídeo A (**Figura 16**) isolada da espécie *Cayaponia tayuya*.

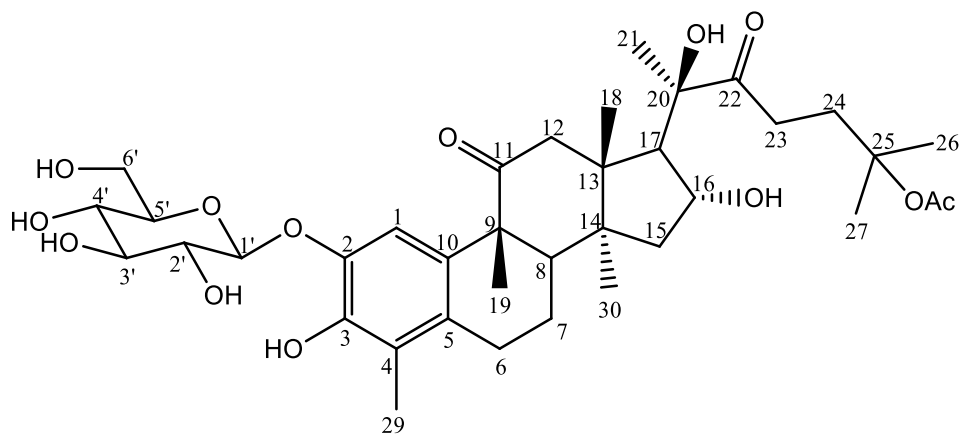


Figura 16. Estrutura da substância **Sb10**, cayaponosídeo A.

Tabela 18. Dados de RMN da substância **Sb10** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC	HMBC	Ref.*	
-	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	${}^{2,3}J_{H-c}$	
			δ_C	
1	114,1 CH	7,34 (s)	2, 10, 9	114,3
2	144,8 C	-		145,5
3	145,7 C	-		145,8
4	124,7 C	-		125,7
5	130,9 C	-		132,2
6	24,6 CH ₂	2,57 (dd, 8 e 17), 2,82 (m)		25,6
7	19,9 CH ₂	1,89 (m), 2,17 (m)		21,1
8	43,1 CH	2,13 (m)		44,9
9	50,8 C	-		53,0
10	129,6 C	-		130,8
11	214,6 C	-		217,9
12	51,6 CH ₂	2,97 (m)		52,8
13	51,3 C	-		52,1
14	49,4 C	-		50,6
15	46,4 CH ₂	1,83 (m), 2,04 (m)		47,2
16	70,6 CH	4,94 (t, 7,4)		72,3
17	59,4 CH	2,89 (d, 7)		60,6
18	20,1 CH ₃	1,24 (s)	12, 13, 14, 17	21,2
19	29,6 CH ₃	1,49 (s)	8, 9, 10	30,0
20	80,5 C	-		81,7
21	25,7 CH ₃	1,57 (s)	20	26,3
22	215,7 CH	-		217,5
23	32,5 CH ₂	3,09 (m), 3,30 (m)		33,6
24	35,6 CH ₂	2,30 (m), 2,40 (m)		36,6
25	81,9 C	-		83,9
26	26,2 CH ₃	1,47 (s)	24, 25, 27	27,0
27	26,3 CH ₃	1,47 (s)	24, 25, 26	27,1
28	12,2 CH ₃	2,30 (s)	3, 4, 5	12,3
30	20,6 CH ₃	1,24 (s)	14, 15	20,9
1'	105,7 CH	5,40 (d, 7)	2	-
2'	75,1 CH	4,26 (m)		-
3'	78,6 CH	4,28 (m)		-
4'	71,1 CH	4,41 (m)		-
5'	79,0 CH	3,98 (m)		-
6'	62,2 CH ₂	4,47 (dd, 3,6 e 12), 4,59 (dd, 1,76 e 12)		-
Ac	22,5	1,90 (s)	Ac	23,1
	170,6	-		173,2

* HIMENO et al., 1992 (400 MHz, CD₃OD).

6.2.11. Elucidação estrutural da substância **Sb11**

A amostra **Sb11** foi isolada na forma de um sólido amorfo de coloração amarelada. No espectro de RMN ¹H (**Figura 48**, vol. II, p. 53) nota-se a presença de sinais característicos de triterpenos, como os sinais em δ_H 1,27 (s, Me-18), 1,36 (s, Me-30), 1,49 (s, Me-19/Me-21),

1,51 (*s*, Me26/Me-27) e 2,32 (*s*, Me-28), referentes a série de metilas presentes no esqueleto, além de sinal em δ_H 1,93 (*s*, Ac-25) indicando a presença de um grupo acetil, como na substância anterior (**Sb9**). Uma série de multipletos entre δ_H 1,53 – 2,81, referentes aos hidrogênios alifáticos, além do sinal em δ_H 5,43 (*d*, 7 Hz) característico de hidrogênio de carbono anomérico, indicando a presença de uma porção glicosídica na substância. No espectro de DEPTQ (**Figura 49**, vol. II, p. 54) as funções observadas no espectro de RMN 1H são confirmadas através dos sinais em δ_C 12,8 (Me-28), 20,1 (Me-18), 20,6 (Me-30), 26,4 (Me-26), 26,7 (Me-27) e 29,8 (Me-19), confirmando a presença das metilas. Os sinais em δ_C 170,6 e 22,6 confirmam a presença de metila α -carbonila na substância.

O espectro de HSCQ e HMBC (**Figuras 50 e 51**, vol. II, p. 55 e 56) auxiliaram na determinação das interações a $^1J_{H-C}$ e $^{2,3}J_{H-C}$, além de auxiliar na determinação dos hidrogênios diastereotópicos presentes na substância.

Após as análises detalhadas dos espectros de RMN (**Tabela 19**), a estrutura de **Sb11** foi identificada como sendo a *nor*-cucurbitacina 25-acetoxi-2-(β -D-glicopiranosiloxi)-3,16*R*,20,22-tetrahidroxi-29-norcucurbita-1,3,5(10)-trien-11-ona (**Figura 17**), já isolada na espécie *Cyclanthera pedata* Scrabs (TOMMASI et al., 1996).

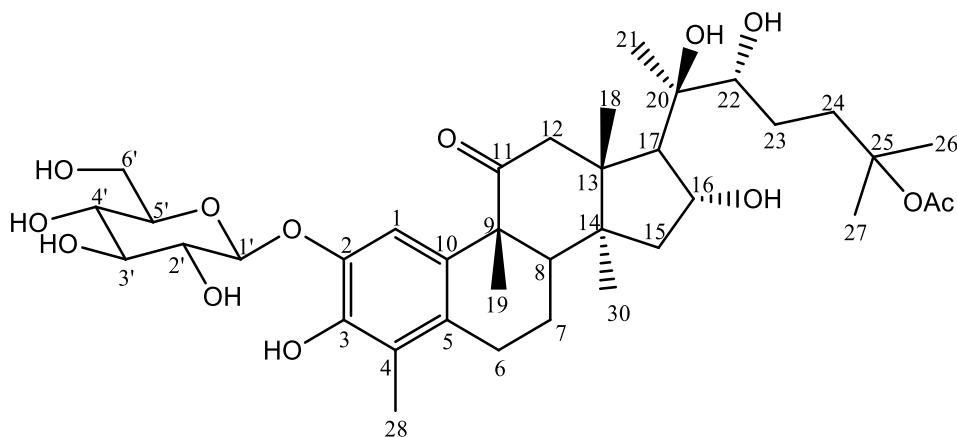


Figura 17. Estrutura da substância **Sb11**, 25-acetoxi-2-(β -D-glicopiranosiloxi)-3,16*R*,20,22-tetrahidroxi-29-norcucurbita-1,3,5(10)-trien-11-ona .

Tabela 19. Dados de RMN da substância **Sb11** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC		HMBC	Ref.*
	δ_C mult.	δ_H (mult., <i>J</i> em Hz)	$^{2,3}J_{H-C}$	δ_C
1	114,8 CH	7,37 (<i>s</i>)	10	113,5
2	144,8 C	-		145,6
3	146,1 C	-		144,5
4	124,7 C	-		124,8
5	131,3 C	-		132,0
6	24,7 CH ₂	2,60 (<i>m</i>), 2,81 (<i>m</i>)		24,8
7	20,0 CH ₂	1,91 (<i>m</i>), 2,18 (<i>m</i>)		20,3
8	43,1 CH	2,17 (<i>m</i>)		43,7
9	51,4 C	-		51,6
10	129,8 C	-		129,5
11	214,8 C	-		217,0
12	52,1 CH ₂	2,95 (<i>m</i>)		52,0
13	51,2 C	-		51,8
14	49,6 C	-		49,5
15	45,9 CH ₂	1,98 (<i>m</i>), 2,12 (<i>m</i>)		45,4
16	71,5 CH	5,23 (<i>m</i>)		71,8
17	56,6 CH	2,81 (<i>m</i>)		57,0
18	20,1 CH ₃	1,27 (<i>s</i>)	8, 9	19,1
19	29,8 CH ₃	1,50 (<i>s</i>)	10	29,8
20	76,6 C	-		80,0
21	26,4 CH ₃	1,51 (<i>s</i>)	17, 20	26,0
22	81,4 CH	3,94 (<i>m</i>)		78,8
23	26,3 CH ₂	1,91 (<i>m</i>), 2,08 (<i>m</i>)		27,8
24	39,6 CH ₂	2,02 (<i>m</i>), 2,47 (<i>m</i>)		37,0
25	82,7 C	-		82,5
26	26,7 CH ₃	1,51 (<i>s</i>)	24, 25, 27	25,0
27	26,7 CH ₃	1,51 (<i>s</i>)	24, 25, 26	26,5
28	12,3 CH ₃	2,33 (<i>s</i>)	3, 4, 5	11,8
30	20,6 CH ₃	1,36 (<i>s</i>)	13, 14	19,7
1'	106,1 CH	5,44 (<i>d</i> , 7,3)		104,8
2'	75,3 CH	4,26 (<i>m</i>)		74,3
3'	78,8 CH	4,29 (<i>m</i>)		78,2
4'	71,2 CH	4,43 (<i>m</i>)		71,0
5'	79,2 CH	3,99 (<i>m</i>)		70,8
6'	62,3 CH ₂	4,50 (<i>m</i>), 4,60 (<i>m</i>)		62,5
Ac	22,7 CH ₃	1,94 (<i>s</i>)	Ac	21,9
	170,6 C	-		172,0

* TOMMASI et al., 1996. (500 MHz, CD₃OD).

6.2.12. Elucidação estrutural da substância **Sb12**

A substância **Sb12** foi isolada na forma de um sólido amorfo de coloração amarelada. O espectro de RMN ¹H da amostra (**Figura 52**, vol. II, p. 57) apresenta sinais característicos de triterpenos como observado nas substâncias anteriores, como as metilas em δ_H 1,22 (*s*, Me-18), 1,24 (*s*, Me-30), 1,37 (*s*, Me-26), 1,37 (*s*, Me-27), 1,47 (*s*, Me-19) e 1,55 (*s*, Me-21),

além metila em δ_H 2,31 (*s*, Me-28) característica de metila ligada a carbono sp^2 . Um duplete, característico de hidrogênio de carbono anomérico, em δ_H 5,42 (*d*, 7,2 Hz, H-1') e uma série de sinais entre δ_H 3,99 – 4,91 dão indício da presença de uma unidade glicosídica na substância. No espectro de DEPTQ (**Figura 53**, vol. II, p. 58) confirmou-se a presença das metilas em δ_C 20,6 (Me-30), 20,2 (Me-18), 25,6 (Me-21), 29,6 (Me-19), 30,0 (Me-26) e 30,2 (Me-27) e a metila ligada a carbono sp^2 em δ_C 12,2 (Me-28), confirmou-se também, a presença de porção glicosídica que esta representada pelos sinais em δ_C 105,7 (C-1') referente ao carbono anomérico. Detectou-se também a presença de carbonos sp^2 pelos sinais em 114,1 (C-1), 144,8 (C-2), 145,7 (C-3), 124,4 (C-4), 130,9 (C-5) e 129,6 (C-10), além de duas carbonilas em δ_C 214,5 (C-22) e 216,5 (C-11). Os dados espectroscópicos observados (**Tabela 20**) permitiram identificar a amostra como a *nor*-cucurbitacina, conhecida como cayaponosídeo C (**Figura 18**) (HIMENO et al., 1992) onde a substância difere-se da substância **Sb10** somente no grupo hidroxila ligado ao carbono 25 no lugar do grupo carboxila.

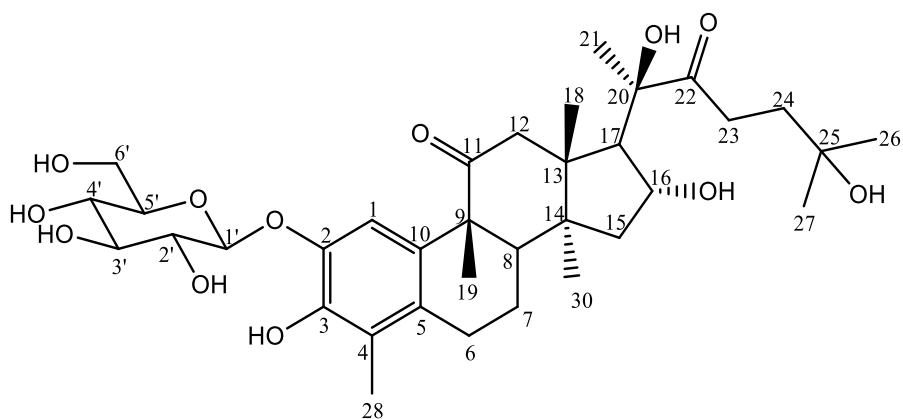


Figura 18. Estrutura da substância **Sb12**, cayaponosídeo C.

Tabela 20. Dados de RMN da substância **Sb12** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC		Ref.*
	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	
-			δ_C
1	114,1 CH	7,34 (s)	114,4
2	144,8 C	-	145,5
3	145,7 C	-	145,8
4	124,4 C	-	125,7
5	130,9 C	-	132,2
6	24,2 CH ₂	2,59 (m), 2,81 (m)	25,6
7	19,9 CH ₂	1,86 (m), 2,17 (m)	21,1
8	43,1 CH	2,13 (m)	44,9
9	51,4 C	-	53,0
10	129,6 C	-	130,8
11	214,5 C	-	218,1
12	51,6 CH ₂	2,93 (m)	52,8
13	51,3 C	-	52,1
14	49,6 C	-	50,6
15	46,4 CH ₂	1,82 (m), 2,03 (m)	47,2
16	71,2 CH	4,41 (m)	72,3
17	59,1 CH	2,92 (m)	60,3
18	20,2 CH ₃	1,22 (s)	21,2
19	29,6 CH ₃	1,47 (s)	30,0
20	80,4 C	-	81,7
21	25,6 CH ₃	1,55 (s)	26,2
22	216,5 CH	-	217,8
23	33,0 CH ₂	3,25 (m), 3,47 (m)	33,9
24	38,6 CH ₂	2,20 (m)	38,9
25	69,4 C	-	71,6
26	30,2 CH ₃	1,37 (s)	30,2
27	30,0 CH ₃	1,37 (s)	30,0
28	12,2 CH ₃	2,31 (s)	12,3
30	20,6 CH ₃	1,24 (s)	20,9
1'	105,7 CH	5,42 (d, 7,2)	-
2'	75,2 CH	4,26 (m)	-
3'	78,6 CH	4,28 (m)	-
4'	71,2 CH	4,91 (m)	-
5'	79,1 CH	3,99 (m)	-
6'	62,2 CH	4,48 (m), 4,60 (m)	-

* HIMENO et al., 1992 (400 MHz, CD₃OD).

6.2.13. Elucidação estrutural da substância **Sb13**

A amostra **Sb13** foi isolada na forma de um sólido amorfo de coloração marrom-amarelado. Após análises de RMN ¹H (**Figura 54**, vol. II, p. 59) e DEPTQ (**Figura 55**, vol. II, p. 60) foi possível ver a semelhança entre a mesma e a substância **Sb9** devido a presença do conjunto de sinais em δ_C 146,1, 132,8, 142,4 e 130,2 referentes aos carbonos sp² 3, 4, 5 e 6 respectivamente, juntamente com o sinal em δ_C 195,1, característico de carbonila conjugada a

sistema dienico. O sistema dienona, assim como na substância **Sb9**, foi confirmado pelo espectro de UV (**Figura 59**, vol. II, p. 64) onde apresentam um máximo de absorção em 300 nm, característico para esse tipo de cromóforo. A diferença observada entre essa substância e **Sb9**, está na ausência do grupamento acetil ligado em C-25, deduzida pelo deslocamento químico em δ_C 64,9, onde na substância **Sb9**, devido ao efeito retirador mais acentuado do grupamento carboxílico, o deslocamento químico do carbono 25 ocorre em δ_C 81,9.

Os espectros de HSQC (**Figura 57**, vol. II, p. 62) auxiliou na identificação dos hidrogênios diastereotópicos da substância e o espectro de HMBC (**Figura 58**, vol. II, p. 63) foi muito útil para o assinalamento das vizinhanças das metilas para a caracterização do esqueleto cucurbitano.

Os dados de RMN (**Tabela 21**) juntamente com o espectro de UV corroboram para que a substância seja identificada como sendo a cucurbitacina, já descrita na literatura científica, cayaponosídeo C_3 (**Figura 19**) (HIMENO et al., 1993) já isolada da espécie *Cayaponia tayuya*.

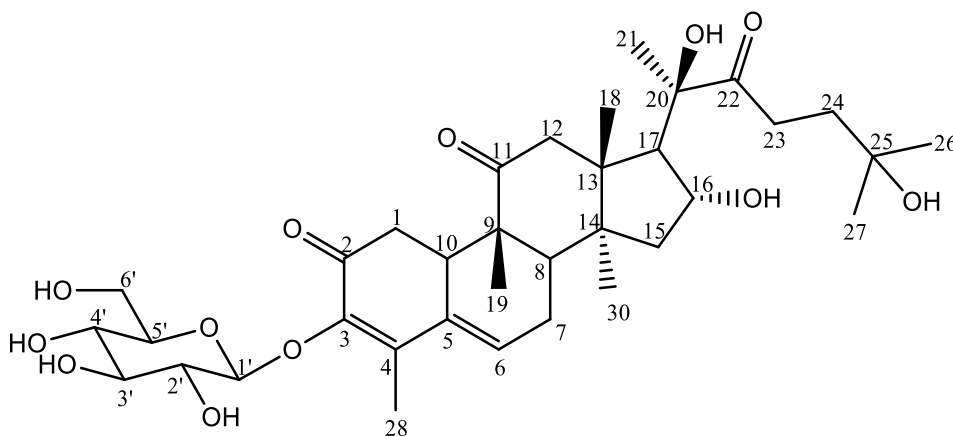


Figura 19. Estrutura da substância **Sb13**, cayaponosídeo C_3 .

Tabela 21. Dados de RMN da substância **Sb13** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC	HMBC	Ref.*
-	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	${}^{2,3}J_{H-C}$
-	δ_C	δ_C	δ_C
1	40,0 CH ₂	2,55 (<i>d</i> , 15) 2,65 (<i>dd</i> ; 4 e 14,5)	40,7
2	195,2 C	-	197,1
3	146,1 C	-	147,1
4	132,8 C	-	134,3
5	142,4 C	-	145,8
6	130,3 CH	6,16 (<i>s</i>)	130,6
7	25,4 CH ₂	2,10 (<i>m</i>) 2,32 (<i>m</i>)	26,7
8	42,7 CH	1,98 (<i>d</i> ; 15 Hz)	44,6
9	51,4 C	-	50,6
10	36,7 CH	4,17 (<i>m</i>)	37,8
11	212,8 C	-	215,8
12	49,5 CH ₂	2,78 (<i>d</i> ; 15,2 Hz) 3,06 (<i>m</i>)	50,8
13	51,1 C	-	52,4
14	49,0 C	-	50,4
15	46,8 CH ₂	1,70 (<i>d</i> ; 12,9 Hz) 1,90 (<i>m</i>)	47,7
16	70,5 CH	4,94 (<i>m</i>)	72,2
17	59,1 CH	2,92 (<i>d</i> ; 6,95 Hz)	60,2
18	20,6 CH ₃	1,17 (<i>s</i>)	13 21,4
19	19,7 CH ₃	1,07 (<i>s</i>)	8, 9, 10 20,7
20	80,4 C	-	81,6
21	25,8 CH ₃	1,59 (<i>s</i>)	17, 20 26,4
22	216,4 C	-	218,0
23	33,1 CH ₂	3,28 (<i>m</i>) 3,47 (<i>m</i>)	33,9
24	38,8 CH ₂	2,18 (<i>m</i>)	39,0
25	69,4 C	-	71,6
26	30,5 CH ₃	1,38 (<i>s</i>)	24, 25, 27 30,2
27	30,4 CH ₃	1,38 (<i>s</i>)	24, 25, 26 30,0
28	13,8 CH ₃	2,23 (<i>s</i>)	3, 4, 5 14,4
30	18,7 CH ₃	1,39 (<i>s</i>)	8, 14 19,7
1'	104,0 CH	5,74 (<i>d</i> ; 7,25)	-
2'	76,4 CH	4,26 (<i>m</i>)	-
3'	78,9 CH	4,29 (<i>m</i>)	-
4'	71,7 CH	4,31 (<i>m</i>)	-
5'	79,3 CH	3,95 (<i>m</i>)	-
6'	62,9 CH ₂	4,26 (<i>dd</i> , 5 e 11,6) 4,51 (<i>d</i> , 11,6)	-

* HIMENO et al., 1993 (400 MHz, CD₃OD).

6.2.14. Elucidação estrutural da substância Sb14

A amostra **Sb14** foi isolada na forma de um sólido amorfo de coloração amarelada. Observa-se no espectro de RMN ^1H (**Figura 60**, vol. II, p. 65) a presença de sinais característicos de metilas de esqueletos triterpênicos em δ_{H} 1,26 (*s*, Me-18), 1,34 (*s*, Me-30), 1,48 (*s*, Me-19/Me-21), 1,50 (*s*, Me-26/Me-27) e 2,32 (*s*, Me-28). O sinal em δ_{H} 5,42 (*d*, 7,5 Hz, H-1') indica a presença de uma porção glicosídica na substância. Observou-se também a presença de prótons de carbonos sp^2 em δ_{H} 6,36 (*d*, 15,5 Hz, H-24), 6,50 (*dd*, 5,3 e 15,5 Hz, H-23) e 7,34 (*s*, H-1).

No espectro de DEPTQ (**Figura 61**, vol. II, p. 66) os sinais de grupos metílicos correspondentes aos observados no espectro de RMN ^1H são confirmados pelos sinais em δ_{C} 12,2 (Me-28), 20,0 (Me-30), 20,6 (Me-18), 25,0 (Me-21), 29,8 (Me-19), 31,0 (Me-26) e 31,1 (Me-27). Além dos sinais em δ_{C} 106,0 (CH-1') confirmando a presença de um carbono anomérico da porção glicosídica da substância. Os sinais em δ_{C} 114,9 (CH-1), 126,2 (CH-23) e 142,1 (CH-24) confirmaram a presença de carbonos metínicos sp^2 . Outros sinais também auxiliaram na confirmação de algumas funções presentes na substância, como δ_{C} 214,8 (C-11), característico de grupo carbonila, a presença de um anel aromático com os sinais em δ_{C} 146,1 (C-3), 144,7 (C-2), 131,3 (C-5) e 129,7 (C-4), e alguns carbonos oxigenados em 76,6 (C-20), 70,2 (C-25), 71,7 (CH-16) e 82,3 (CH-22), além dos sinais dos carbonos oxigenados da porção glicosídica entre 62,3 – 79,2. Os dados de RMN juntamente com comparação com a literatura (HIMENO et al., 1992) (**Tabela 22**) permitiu identificar a substância como sendo a *nor*-cucurbitacina conhecida por cayaponosídeo D (**Figura 20**).

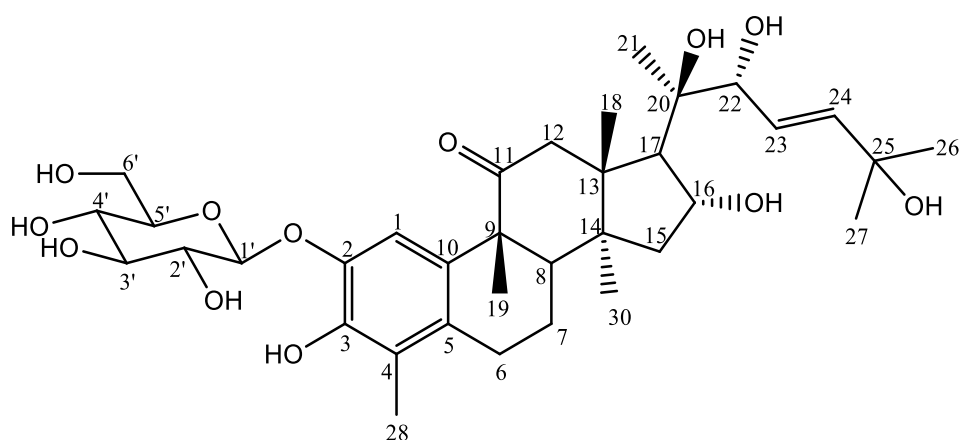


Figura 20. Estrutura da substância **Sb14**, cayaponosídeo D.

Tabela 22. Dados de RMN da substância **Sb14** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC		Ref.*
	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	
1	114,9 CH	7,34 (s)	114,3
2	144,7 C	-	145,4
3	146,1 C	-	145,7
4	124,7 C	-	125,7
5	131,3 C	-	132,2
6	24,7 CH ₂	2,58 (dd, 8 e 18), 2,78 (m)	25,6
7	20,0 CH ₂	1,91 (m), 2,11 (m)	21,0
8	43,1 CH	2,78 (d, 5,5)	44,8
9	51,6 C	-	52,8
10	129,7 C	-	130,8
11	214,8 C	-	218,2
12	51,8 CH ₂	2,84 (d, 11)	52,9
13	51,1 C	-	52,8
14	49,4 C	-	50,6
15	45,6 CH ₂	1,94 (m), 2,12 (m)	46,2
16	71,7 CH	5,28 (m)	73,0
17	56,6 CH	2,16 (m)	57,4
18	20,6 CH ₃	1,34 (s)	21,0
19	29,8 CH ₃	1,48 (s)	29,9
20	76,6 C	-	77,9
21	25,0 CH ₃	1,48 (s)	24,8
22	82,3 CH	4,24 (m)	82,6
23	126,2 CH	6,51 (dd, 5,3 e 15,6)	127,0
24	142,1 CH	6,36 (d, 15,6)	142,3
25	70,2 C	-	72,0
26	31,0 CH ₃	1,50 (s)	30,8
27	31,1 CH ₃	1,50 (s)	30,9
28	12,2 CH ₃	2,33 (s)	12,3
30	20,0 CH ₃	1,26 (s)	20,7
1'	106,0 CH	5,42 (d, 7,5)	-
2'	75,2 CH	4,22 (m)	-
3'	78,7 CH	4,27 (m)	-
4'	71,2 CH	4,39 (m)	-
5'	79,2 CH	3,97 (m)	-
6'	62,3 CH ₂	4,52 (m), 4,57 (m)	-

* HIMENO et al, 1992 (400 MHz, CD₃OD).

6.2.15. Elucidação estrutural da substância Sb15

A substância **Sb15** foi isolada na forma de um sólido amorfo amarronzado. Na análise de RMN ¹H (**Figura 62**, vol. II, p. 67) observa-se a presença de seis simpletos referente a grupos metílicos em δ_H 1,31 (s, Me-30), 1,36 (s, Me-18), 1,50 (s, Me-19), 1,52 (s, Me-19), 1,82 (s, Me-27) e 2,32 (s, Me-28), sinais referentes a ligação dupla dissustituída em 6,36 (dd, 5,5 e 16 Hz, H-23) e 6,83 (d, 16 Hz, H-24), dois simpletos largos referentes a um metilideno

em 4,96 e 5,02 (*sl*, H-26), um próton em carbono sp^2 também foi detectado em 7.36 (*s*, H-1) e também um próton de carbono anomérico em 5,41 (*d*, 7,5 Hz, H-1'). O espectro de DEPTQ (**Figura 63**, vol. II, p. 68) confirmou os grupamentos citados anteriormente e ainda apresentou um sinal referente a carbonila em δ_C 214,7 (C-11), dois sinais de carbono terciário oxigenado em 71,6 (C-16) e 80,9 (C-22) e ainda os sinais dos carbonos oxigenados do glicosídeo (106,1, 75,2, 79,2, 71,1, 78,7 e 62,3). Os prótons diastereotópicos da substância foram assinalados com auxílio do espectro de COSY e HSQC (**Figuras 64 e 65**, vol. II, p. 69 e 70). A porção glicosídica da substância ligada ao carbono 2 da aglicona foi definida através de experimento bidimensional HMBC (**Figura 66**, vol. II, p. 71) onde observou-se uma interação a longa distância ($^3J_{H-C}$) entre o próton anomérico e o sinal em 144,8 (C-2). Dessa maneira, a extensiva análise dos experimentos de RMN uni e bidimensionais (**Tabela 23**) possibilitou a identificação da substância **Sb15** como sendo uma *nor*-cucurbitacina conhecida como cayaponosídeo B (**Figura 21**) (HIMENO et al., 1992).

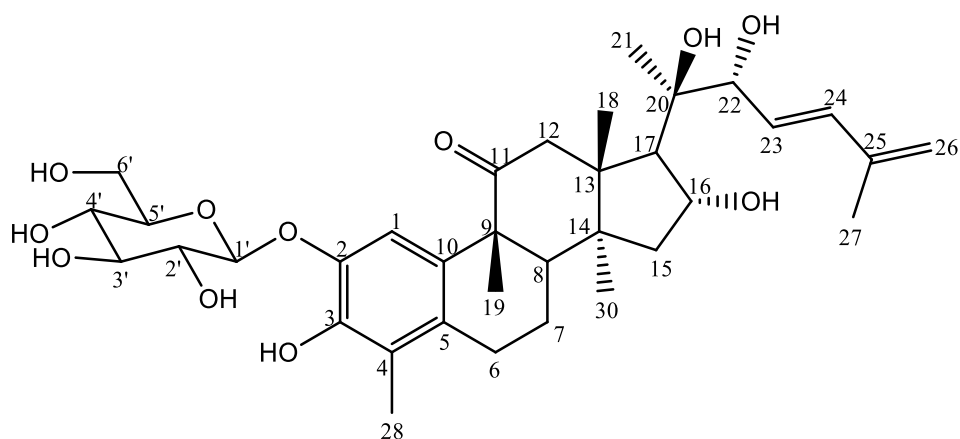


Figura 21. Estrutura da substância **Sb15**, cayaponosídeo B.

Tabela 23. Dados de RMN da substância **Sb15** (500 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC		HMBC	Ref.*
	δ_c mult.	δ_H (mult., J em Hz)	$^{2,3}J_{H-C}$	δ_c
1	114,8 CH	7,36 (s)	2, 3, 10 e 9	114,3
2	144,8 C	-		145,5
3	146,1 C	-		145,8
4	124,7 C	-		125,7
5	131,2 C	-		132,3
6	24,7 CH ₂	2,61 (dd, 8,2 e 19,1); 2,84 (m)	7	25,6
7	20,0 CH ₂	1,94 (m); 2,19 (m)	6	21,1
8	43,1 CH	2,16 (m)		44,8
9	51,2 C	-		52,8
10	129,8 C	-		130,8
11	214,7 C	-		218,1
12	51,9 CH ₂	2,94 (s)	18, 9, 11	53,0
13	51,4 C	-		52,7
14	49,6 C	-		50,6
15	46,0 CH ₂	1,99 (d, 13,1); 2,14 (m)		46,4
16	71,6 CH	5,31 (t, 6,9)		73,0
17	57,0 CH	2,87 (d, 6,8)		57,8
18	20,7 CH ₃	1,37 (s)	17	21,1
19	29,9 CH ₃	1,51 (s)	8, 9, 10, 11	29,9
20	76,8 C	-		78,0
21	24,0 CH ₃	1,52 (s)	17	24,3
22	80,9 CH	4,79 (sl)		82,2
23	131,4 CH	6,36 (dd, 5,4 e 15,8)	22, 25	130,4
24	134,2 CH	6,83 (d, 15,5)	22, 25, 27	136,5
25	142,7 C	-		143,8
26	126,3 CH ₂	4,96 (sl), 5,02 (sl)	24, 27	117,5
27	19,1 CH ₃	1,82 (s)	24, 25, 26	19,6
28	12,3 CH ₃	2,32 (s)	3, 4, 5	12,3
30	20,0 CH ₃	1,32 (s)	8, 12, 14	20,7
1'	106,1 CH	5,41 (d, 7,5)	2	
2'	75,2 CH	4,24 (m)		
3'	79,2 CH	3,96 (m)		
4'	71,1 CH	4,41 (m)		
5'	78,7 CH	4,27 (m)		
6'	62,3 CH ₂	4,47 (m), 4, 58 (m)		

* HIMENO et al., 1992 (400 MHz, CD₃OD).

6.2.16. Elucidação estrutural da substância Sb16

A substância **Sb16** foi isolada na forma de um sólido amorfo amarronzado. A análise de EM-AR-ESI (**Figura 67**, vol. II, p. 72) em modo negativo apresentou um pico correspondente ao íon molecular desprotonado de 463.1248 [M-H]⁻ compatível com a fórmula molecular C₂₂H₂₃O₁₁ (calcd. *m/z* 463,1246). O espectro de UV (**Figura 68**, vol. II, p. 72) apresenta um máximo de absorção em 288 e 225 nm, já o espectro de IR (**Figura 69**, vol. II, p. 73) apresenta bandas de absorção em 3200 – 3450 cm⁻¹ (ν_{OH}), estiramento de grupo metilênico em 2922 cm⁻¹ (ν_{as} CH₂), estiramento de grupo carbonílico em 1690 e 1615 cm⁻¹ (ν_{C=O}), estiramento de ligação carbono-oxigênio em 1070 e 1021 cm⁻¹ (ν_{C-O}), estiramento de ligação sp² carbono-carbono indicativa de presença de anel aromático em 1600, 1515 e 1450 cm⁻¹ (ν_{C=C}), além de banda sugerindo anel 1,4-dissubstituído em 825 cm⁻¹ (δ_{C-H}). O Espectro de RMN ¹H (**Figura 70**, vol. II, p. 74) apresentou sinais referentes a prótons de anel aromático com acoplamento em *meta* em δ_H 6,17 (*d*, 1,9 Hz, H-2) e 6,14 (*d*, 1,9 Hz, H-4), sinais referentes a anel aromático dissubstituído em *para* em 6,98 (*d*, 8,4 Hz, H-2'/H-6') e 6,55 (*d*, 8,4 Hz, H-3'/H-5'), um sinal de grupamento metoxílico em 3,82 (*s*), um grupamento metilênico α-carbonílico em 3,09 (*s*, H-7') e também um sinal pertencente a próton de carbono anomérico em 4,90 (*d*, 8 Hz, H-1''). Nos espectros de RMN ¹³C e DEPT 135° (**Figuras 71 e 72**, vol. II, p. 75 e 76) confirmaram-se a presença de tais grupos e ainda sinais de carbonilas de éster em δ_C 172,6 e 174,6, confirmadas via espectro de HMBC (**Figura 75**, vol. II, p. 79) devido a interação a longa distância entre os prótons do grupo metoxílico com as carbonilas. Notou-se também nos espectros de RMN ¹³C e DEPT 135° algumas duplicações dos sinais, assim como no espectro de RMN ¹H.

Devido às duplicações de sinais observadas nos espectros da substância, optou-se pelo preparo do derivado acetilado onde 8 mg da amostra foram solubilizados em 1 mL de piridina e adicionou-se então 1 mL de anidrido acético, a mistura foi deixada sob agitação magnética durante 24 horas. Ao final da reação, adicionou-se à reação 3 mL de água gelada e extraiu-se com CHCl₃ (3 x 5 mL). A fase orgânica foi seca sob pressão reduzida e submetida à análise de RMN uni e bidimensional (**Tabela 25**) e EM-AR-ESI. A análise de EM-AR-ESI (**Figura 77**, vol. II, p. 81) permitiu identificar um pico de íon molecular aduto com sódio de *m/z* 739,1874 [M+Na]⁺, compatível com a fórmula molecular C₃₄H₃₆O₁₇Na, confirmando a inserção de seis grupamentos acetoxílicos na substância após a reação de acetilação. No espectro de RMN ¹H (**Figura 78**, vol. II, p. 82) observa-se a presença das mesmas porções presentes na substância original como os prótons aromáticos com acoplamento *meta* em δ_H

6,19/6,20 (*d*, 2 Hz, H-2), 6,12/6,14 (*d*, 2 Hz, H-5), os prótons do anel aromático *para*-substituído em 7,21/7,25 (*d*, 8,5 Hz, H-2'/H-6') e 6,92/6,96 (*d*, 8,5 Hz, H-3'/H-5'), o grupo metilênico α -carbonila em 3,02 e 3,25/3,08 e 3,29 (*d*, 14,3 Hz, H-7'), o grupo metoxílico em 3,78/3,79 (*s*) e o próton do carbono anomérico do glicosídeo em 5,19/5,22 (*d*, 8 Hz, H-1"). No espectro de DEPTQ (**Figura 79**, vol. II, p. 83), nota-se novamente a duplicação dos sinais assim como no espectro de RMN ^1H . Os sinais observados nos espectros de HSQC, HMBC e ROESY do derivado acetilado (**Figuras 81, 82 e 83**, vol. II, p. 85, 86 e 87), estão de acordo com as informações obtidas do produto natural. Os dados de EM-AR-ESI e RMN do produto natural (**Tabela 24**) e do derivado acetilado (**Tabela 25, Figura 23**) permitiram propor a estrutura da substância **Sb16** como sendo 4-[2-(*p*-hidróxifenil)-1-oxoetil]-3-*O*- β -D-glicopiranosil-5-hidroxibenzoato de metila, nomeado siolmatrina (**Figura 22**), que está sendo descrita pela primeira vez na literatura científica. As duplicações dos sinais observadas nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C podem ter sido causadas por efeitos de atropoisomerismo entre os grupos ligados a C-3 (β -D-glicopiranosídeo) e C-4 [2-(*p*-hidroxifenil)-1-oxoetil] que, por serem grupos volumosos, tem sua rotação impedida, causando assim diferentes efeitos anisotrópicos.

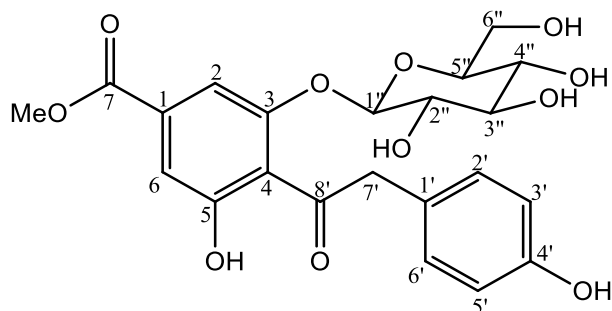


Figura 22. Estrutura da substância **Sb16**, siolmatrina.

Tabela 24. Dados de RMN da substância **Sb16** (400 MHz, CD₃OD).

C	HSQC	HMBC	ROESY
-	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	$^2,3J_{H-C}$
-			$^1H \leftrightarrow ^1H$
1	107,7/107,8 C	-	
2	96,60/96,98 CH	6,17 (<i>d</i> , 1,9)	2, 4, 5, 7
3	157,89/158,02 C	-	
4	104,42/104,60 C	-	
5	157,89/158,02 C	-	
6	91,58/91,62 CH	6,14 (<i>m</i>)	2, 3, 4, 7
7	172,55/174,63 C	-	
OMe	56,79 CH ₃	3,82 (<i>s</i>)	7
1'	125,40 C	-	
2'	132,50/132,52 CH	6,98 (<i>d</i> , 8,4)	4', 6', 7'
3'	115,76/115,79 CH	6,55 (<i>d</i> , 8,4)	1', 4', 5'
4'	157,30/157,33 C	-	
5'	115,76/115,79 CH	6,55 (<i>d</i> , 8,4)	1', 3', 4'
6'	132,50/132,52 CH	6,98 (<i>d</i> , 8,4)	2', 4', 7'
7'	41,94/42,10 CH ₂	3,09 (<i>s</i>)	
8'	197,36/197,44 C	-	
1''	101,70/101,74 CH	4,90 (<i>d</i> , 8)	3, 2''
2''	74,08/74,14 CH	3,51 (<i>m</i>)	
3''	77,35/77,42 CH	3,46 (<i>m</i>)	
4''	71,33 CH	3,35 (<i>m</i>)	
5''	78,50/78,59 CH	3,43 (<i>m</i>)	
6''	62,42/62,45 CH ₂	3,63 (<i>m</i>), 3,86 (<i>m</i>)	

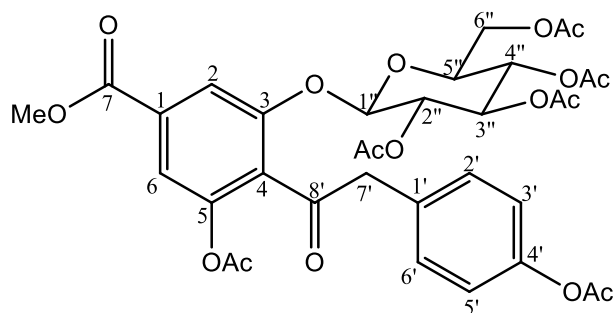


Figura 23. Estrutura do derivado acetilado de **Sb16**.

Tabela 25. Dados de RMN do derivado acetilado de **Sb16** (500 MHz, CDCl₃).

C	HSQC	COSY	HMBC	ROESY	
-	δ_C mult.	δ_H (mult., <i>J</i> em Hz)	1H - 1H	$^{2,3}J_{H-C}$	$^1H \leftrightarrow ^1H$
1	104,9/104,7 C	-	-	-	-
2	99,2/98,9 C	-	-	-	-
3	155,4/155,1 CH	6,23 (<i>d</i> , 2)/ 6,24 (<i>d</i> , 2)	-	2, 4, 5, 7	OMe, 1''
4	103,4/103,1 C	-	-	-	-
5	150,0 CH	6,17 (<i>d</i> , 2)/ 6,18 (<i>d</i> , 2)	-	3, 4, 7	OMe
6	91,4/91,2 C	-	-	-	-
7	169,3/170,6 C	-	-	-	-
OMe	56,1 CH ₃	3,84/3,82 (<i>s</i>)	-	7	3, 5
1'	129,9/129,7 C	-	-	-	-
2'	131,8/131,7 CH	7,28 (<i>d</i> , 8,5)/7,25 (<i>d</i> , 8,5)	3'	4', 6'	3', 7'
3'	121,15/121,22 CH	7,00 (<i>d</i> , 8,5)/6,96 (<i>d</i> , 8,5)	2'	1', 4', 5'	2'
4'	150,0/149,9 C	-	-	-	-
5'	121,15/121,22 CH	7,00 (<i>d</i> , 8,5)/6,96 (<i>d</i> , 8,5)	6'	1', 3', 4'	6'
6'	131,8/131,7 CH	7,28 (<i>d</i> , 8,5)/7,25 (<i>d</i> , 8,5)	5'	1', 4'	5', 7'
7'	40,10/40,13 CH ₂	3,02 (<i>d</i> , 14,3), 3,25 (<i>d</i> , 14,3) 3,08 (<i>d</i> , 14,3), 3,29 (<i>d</i> , 14,3)	-	4, 2', 6', 8'	2', 6'
8'	190,2 C	-	-	-	-
1''	99,5/99,4 CH	5,23 (<i>d</i> , 7,8)/5,26 (<i>d</i> , 7,4)	2''	2, 2'	3
2''	70,7/70,4 CH	5,37 (<i>m</i>)	1'', 3''	-	-
3''	72,5/72,4 CH	5,31 (<i>m</i>)	2'', 4''	-	-
4''	68,25/68,28 CH	5,16 (<i>m</i>)	3'', 5''	-	-
5''	72,3/72,1 CH	3,90 (<i>m</i>)	4'', 6''	-	-
6''	61,9/61,8 CH ₂	4,21 (<i>m</i>)	5''	-	-
Ac	20,5-21,2 CH ₃ 167,8-171,2 C	2,06-2,30 (<i>s</i>)	-	-	-

6.2.17. Elucidação estrutural da substância Sb17

A amostra **Sb17** foi isolada na forma de um sólido amorfo amarronzado. A análise de EM-AR-ESI em modo negativo (**Figura 84**, vol. II, p. 88) apresentou dois picos de íons moleculares, um desprotonado de m/z 783,4901 $[M-H]^-$ e outro como íon aduto com íon formiato de m/z 829,4960 $[M+HCOO]^-$, compatíveis com as fórmulas moleculares $C_{42}H_{71}O_{13}$ (calcd. m/z 783,4900) e $C_{43}H_{73}O_{15}$, respectivamente. O espectro de RMN 1H (**Figura 85**, vol. II, p. 89) apresentou sinais característicos de saponinas triterpênicas, como a série de simpletos em δ_H 0,78 (Me-19), 0,94 (Me-30), 0,98 (Me-18), 1,12 (Me-28), 1,30 (Me-29), 1,44 (Me-21) e 1,87 (Me-27), além de dois sinais de prótons de carbono anomérico em 4,95 (d , 7,6 Hz, H-1') e 5,40 (d , 7,6 Hz, H-1'') e um sinal característico de próton olefínico em 5,85 (m , H-24). No espectro de DEPTQ (**Figura 86**, vol. II, p. 90) observa-se também a presença das metilas em δ_C 16,8 (C-19), 17,1 (C-30), 16,0 (C-18), 28,4 (C-28), 16,8 (C-29), 26,4 (C-21) e 14,3 (C-27), também observa-se a presença dos carbonos anoméricos em 105,4 (C-1') e 106,3 (C-1''), dois carbonos sp^2 em 125,8 (C-24) e 136,3 (C-25), um carbono quaternário oxigenado em 74,4 (C-20), um carbono metilênico oxigenado em 68,4 (C-26) e um carbono metínico oxigenado 89,3 (C-3) (com exceção dos carbonos oxigenados dos glicosídeos). Com o auxílio do espectro de HSQC (**Figura 87**, vol. II, p. 91) foi possível assinalar corretamente os hidrogênios diastereotópicos presentes na aglicona e nos glicosídeos. As posições dos glicosídeos na molécula foram determinadas com auxílio do espectro de HMBC (**Figura 88**, vol. II, p. 92) onde observou-se duas interações a longa distância dos prótons do carbono anomérico, H-1' mostra correlação a $^3J_{H-C}$ com carbono 3 da aglicona (δ_C 89,3) e H-1'' apresenta correlação com δ_C 83,6 (C-2'), caracterizando assim uma ligação interglicosídica (β -D-sophorose), os dados também foram comparados com modelos da literatura (YANG et al., 1983). Após a extensiva análise dos dados de EM-AR-ESI e RMN (**Tabela 26**) identificou-se a substância como sendo uma saponina de esqueleto tipo damarano inédita na literatura científica, 20,26-dihidroxidamar-24-eno 3-*O*- β -D-glicopiranosil-(1-2)- β -D-glicopiranosídeo, que foi nomeada como siolmatrasídeo II (**Figura 24**). A saponina possui a mesma aglicona que a saponina identificada no trabalho desenvolvido durante o mestrado (SANTOS et al., 2016) diferenciando-se apenas pelo número e arranjo das porções glicosídicas na estrutura.

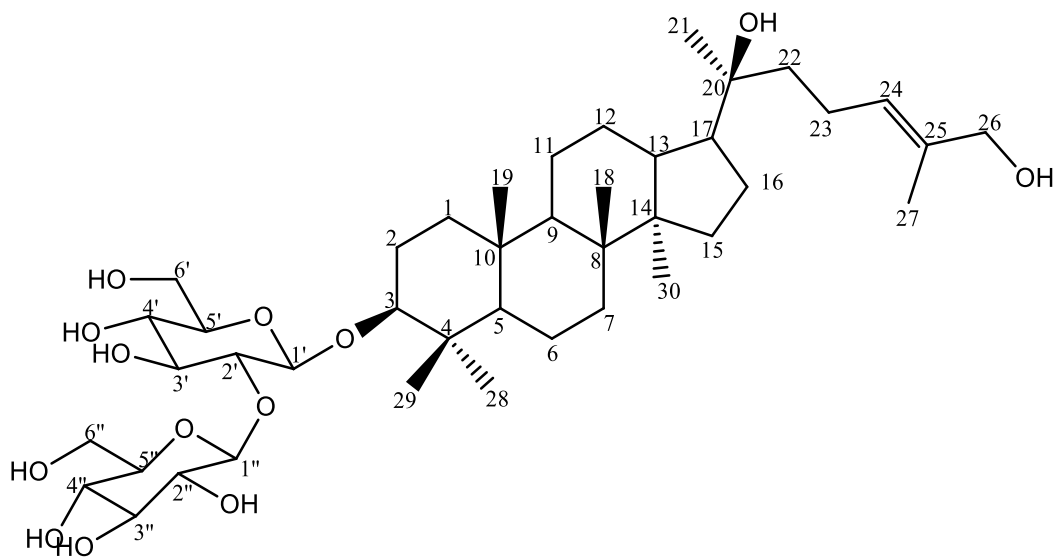


Figura 24. Estrutura da substância **Sb17**, siolmatrosídeo II.

Tabela 26. Dados de RMN da substância **Sb17** (400 MHz, C₅D₅N).

C		HSQC	HMBC
-	δ_c mult.	δ_H (mult., J em Hz)	$^{2,3}J_{H-C}$
1	39,6 CH ₂	0,78 (m), 1,48 (m)	
2	27,1 CH ₂	1,85 (m), 2,24 (m)	
3	89,3 CH	3,30 (dd, 4,2 e 11,4)	
4	40,1 C	-	
5	56,7 CH	0,68 (d, 13)	
6	18,7 CH ₂	1,35 (m), 1,48 (m)	
7	32,0 CH ₂	1,11 (m), 1,60 (m)	
8	40,9 C	-	
9	51,3 CH	1,31 (m)	
10	37,2 C	-	
11	22,2 CH ₂	1,17 (m), 1,42 (m)	
12	25,7 CH ₂	1,94 (m)	
13	42,8 CH	1,84 (m)	
14	51,0 C	-	
15	36,0 CH ₂	1,21 (m), 1,48 (m)	
16	28,4 CH ₂	2,10 (m)	
17	50,6 CH	1,98 (m)	
18	16,0 CH ₃	0,94 (s)	7, 8, 9, 14
19	16,8 CH ₃	0,78 (s)	1, 5, 9, 10;
20	74,4 C	-	
21	26,4 CH ₃	1,44 (s)	17, 20, 22
22	42,1 CH ₂	1,84 (m)	20, 24
23	23,2 CH ₂	2,48 (m)	
24	125,8 CH ₃	5,85 (m)	27
25	136,3 C	-	
26	68,4 CH ₂	4,33 (m)	24, 25, 27
27	14,3 CH ₃	1,87 (s)	24, 25, 26
28	28,4 CH ₃	1,30 (s)	3, 4, 5, 29
29	16,9 CH ₃	1,12 (s)	3, 4, 5, 28

30	17,1 CH ₃	0,98 (<i>s</i>)	8, 13, 14, 15
1'	105,4 CH	4,95 (<i>d</i> , 7,6)	3
2'	83,6 CH	4,28 (<i>m</i>)	
3'	78,4 CH	3,95 (<i>m</i>)	
4'	71,9 CH	4,17 (<i>m</i>)	
5'	77,5 CH	4,15 (<i>m</i>)	
6'	63,0 CH ₂	4,49 (<i>m</i>)	
1''	106,3 CH	5,40 (<i>d</i> , 7,6)	2'
2''	75,5 CH	4,08 (<i>m</i>)	
3''	78,3 CH	4,27 (<i>m</i>)	
4''	71,9 CH	4,36 (<i>m</i>)	
5''	78,6 CH	3,96 (<i>m</i>)	
6''	63,1 CH ₂	4,40 (<i>m</i>), 4,60 (<i>m</i>)	

6.2.18. Elucidação estrutural da substância Sb18

A substância **Sb18** foi isolada como um sólido amorfo esbraquiçado. Observa-se no espectro de EM-AR-ESI em modo positivo (**Figura 89**, vol. II, p. 93) o pico do íon aduto com sódio em m/z 969,5427 $[M+Na]^+$ compatível com a fórmula molecular C₄₈H₈₂O₁₈Na (calcd. m/z 969,5399). Observa-se no espectro de RMN ¹H (**Figura 90**, vol. II, p. 94) o mesmo padrão de sinais obtidos para a saponina descrita anteriormente (**Sb17**). Na análise do espectro de RMN ¹³C (**Figura 91**, vol. II, p. 95) observou-se a presença de um sinal de carbono anomérico adicional em δ_C 105,2 (C-1'), 106,1 (C-1'') e 103,6 (C-1''') que apresentaram correlação a ¹J_{H-C} com os prótons em 4,93 (*d*, 7,8 Hz, H-1'), 5,40 (*d*, 7,5 Hz, H-1'') e 4,91 (*d*, 7,8 Hz, H-1'''), respectivamente (assinalados via espectro de HSQC, **Figura 93**, vol. II, p. 97). No espectro de HMBC (**Figura 94**, vol. II, p. 98) observa-se as interações a longa distância entre os prótons dos carbonos anoméricos onde observou-se a presença da mesma ligação interglicosídica entre o H-1'' e 83,3 (C-2') juntamente com a ligação entre o H-1' e o carbono em 89,4 (C-3) da aglicona, observou-se adicionalmente a correlação a longa distância (³J_{H-C}) entre H-1''' com o carbono metilênico em δ_C 75,4 (C-26) da aglicona, essas ligações foram confirmadas com auxílio do espectro de ROESY (**Figura 95**, vol. II, p. 99) onde observou-se as interações espaciais homonucleares entre H-1' e 3,30 (*dd*, 4,3 e 11,5 Hz, H-3), H-1'' e 4,28 (*m*, H-2') e H-1''' com 4,08 – 4,23 (*m*, H-26). Com o auxílio do espectro de COSY, TOCSY 2D (**Figuras 92 e 96**, vol. II, p. 96 e 100, respectivamente), ¹³C e comparação com modelos da literatura foi possível confirmar a presença de três unidades de β -D-glicopiranoses, sendo assim, os dados de RMN 1D e 2D (**Tabela 27**) possibilitaram a identificação da substância **Sb18** como 20-hidroxidamar-24-eno 3-O-[β -D-glicopiranosil-(1-

2)-β-D-glicopiranosil]-26-O-β-D-glicopiranosídeo, nomeada de siolmatrosídeo III (**Figura 25**), saponina triterpênica do tipo damarano inédita na literatura científica.

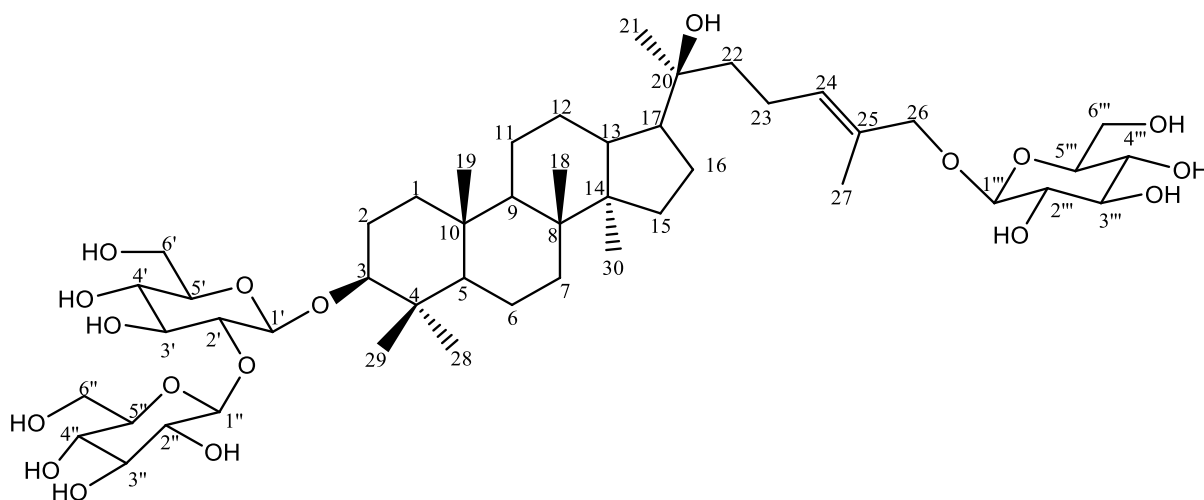


Figura 25. Estrutura da substância **Sb18**, siolmatrosídeo III.

Tabela 27. Dados de RMN da substância **Sb18** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC	COSY	HMBC	ROESY	
-	δ_C mult.	δ_H (mult., <i>J</i> em Hz)	1H - 1H	$^{2,3}J_{H-C}$	$^1H \leftrightarrow ^1H$
1	39,3 (CH ₂)	0,77 (<i>m</i>), 1,49 (<i>m</i>)	2		
2	26,9 (CH ₂)	1,86 (<i>m</i>), 2,25 (<i>dd</i> , 5,5 e 17,5)	1, 3		
3	89,0 (CH)	3,32 (<i>dd</i> , 5,5 e 15)	2	4, 28, 29, 1'	1, 2, 5, 28
4	39,8 (C)	-			
5	56,4 (CH)	0,71 (<i>dl</i> , 14)	6	4, 10, 29	1, 28
6	18,5 (CH ₂)	1,36 (<i>m</i>), 1,48 (<i>m</i>)	5, 7		
7	35,7 (CH ₂)	1,23 (<i>m</i>), 1,49 (<i>m</i>)	6		
8	40,7 (C)	-			
9	51,0 (CH)	1,31 (<i>m</i>)	11		5, 30
10	37,0 (C)	-			
11	22,1 (CH ₂)	1,19 (<i>m</i>), 1,46 (<i>m</i>)	9, 12		
12	25,6 (CH ₂)	1,86-1,97 (<i>m</i>)	11, 13		
13	42,8 (CH)	1,75-1,85 (<i>m</i>)	12, 17		18
14	50,7 (C)	-	-		
15	31,7 (CH ₂)	1,11 (<i>m</i>), 1,59 (<i>m</i>)	16		
16	23,0 (CH ₂)	2,37-2,49 (<i>m</i>)	15, 17		
17	50,4 (CH)	1,97 (<i>m</i>)	13, 16		21
18	15,7 (CH ₃)	0,95 (<i>s</i>)	-	7, 8, 14	7, 13, 19
19	16,5 (CH ₃)	0,80 (<i>s</i>)	-	1, 5, 9, 10	18, 29
20	74,0 (C)	-	-		
21	26,0 (CH ₃)	1,41 (<i>s</i>)	-	17, 20, 22	17
22	41,6 (CH ₂)	1,76-1,84 (<i>m</i>)	23		
23	28,1 (CH ₂)	1,39 (<i>m</i>), 2,09 (<i>m</i>)	22, 24		
24	129,3 (CH)	5,76 (<i>m</i>)	23		
25	132,1 (C)	-	-		

26	75,2 (CH ₂)	4,28 (<i>m</i>), 4,54 (<i>m</i>)	-		
27	14,2 (CH ₃)	1,84 (<i>s</i>)	-	24, 25, 26	
28	28,1 (CH ₃)	1,31 (<i>s</i>)	-	3, 4, 5, 29	3, 5, 19, 29
29	16,6 (CH ₃)	1,14 (<i>s</i>)	-	3, 4, 5, 28	9, 19, 28
30	16,8 (CH ₃)	0,99 (<i>s</i>)	-	8, 13, 14,15	
OH-20	-	5,14 (<i>s</i>)	-	17, 20, 21, 22	
1'	105,1 (CH)	4,97 (<i>o</i>)		3	3
2'	83,5 (CH)	4,27 (<i>m</i>)			
3'	78,6 (CH)	4,28 (<i>m</i>)			
4'	71,6 (CH)	4,18 (<i>m</i>)			
5'	78,3 (CH)	3,96 (<i>m</i>)			
6'	62,9 (CH ₂)	4,40 (<i>m</i>), 4,58 (<i>m</i>)			
1''	106,1 (CH)	5,40 (<i>d</i> , 7,6)		2'	2'
2''	77,2 (CH)	4,16 (<i>m</i>)			
3''	78,0 (CH)	4,28 (<i>m</i>)			
4''	71,7 (CH)	4,37 (<i>m</i>)			
5''	78,4 (CH)	3,94 (<i>m</i>)			
6''	62,7 (CH ₂)	4,48-4,52 (<i>m</i>)			
1'''	103,6 (CH)	4,93 (<i>d</i> , 7,6)		26, 3'''	
2'''	75,2 (CH)	4,09 (<i>m</i>)			
3'''	78,6 (CH)	4,28 (<i>m</i>)			
4'''	71,7 (CH)	4,28 (<i>m</i>)			
5'''	78,5 (CH)	3,97 (<i>m</i>)			
6'''	62,8 (CH ₂)	4,40 (<i>m</i>), 4,58 (<i>m</i>)			

(o) sobreposto ao sinal da água.

6.2.19. Elucidação estrutural da substância Sb19

A substância **Sb19** foi isolada na forma de um sólido amorfo esbranquiçado. A análise do EM-AR-ESI (**Figura 97**, vol. II, p. 101) mostra um pico de íon aduto com sódio de m/z 1131,5947 $[M+Na]^+$, compatível com a fórmula molecular $C_{54}H_{92}O_{23}Na$ (calcd. m/z 1131,5927). A análise de RMN 1H (**Figura 98**, vol. II, p. 102) indica a presença de sete grupos metílicos, todos como simpletos em δ_H 0,75 (Me-19), 0,95 (Me-18), 0,97 (Me-30), 1,12 (Me-29), 1,30 (Me-28), 1,39 (Me-21) e 1,80 (Me-27), quatro prótons de carbono anomérico em 4,95 (*d*, 8 Hz, H-1'''), 4,94 (*d*, 7,2 Hz, H-1'), 5,13 (*d*, 8 Hz, H-1''') e 5,39 (*d*, 7,6 Hz, H-1''), um próton metínico oxigenado na aglicona em 3,29 (dd, 4,9 e 11,6 Hz, H-3) e um próton de carbono sp^2 em 5,5 (t, 3,8 Hz, H-24). As presenças dessas porções foram confirmadas por experimentos de RMN ^{13}C , DEPT-135 e HSQC (**Figuras 99, 100 e 102**, vol. II, p. 103, 104 e 106, respectivamente). Esses dados corroboram para que a substância em questão seja mais uma saponina de esqueleto do tipo damarano como as descritas anteriormente (**Sb17**). A presença de um sinal adicional de carbono/próton anomérico em comparação com a saponina descrita anteriormente, mais a diferença de massa de 162,052

unidades de massa indica a presença de mais um grupo glicosídico na estrutura. O arranjo das quatro porções glicosídicas foi definido com base nos experimentos de HMBC, (**Figuras 103**, vol. II, p. 107) e comparação com alguns modelos da literatura (YOSHIKAWA et al., 1997) como sendo uma unidade de sophorose [β -D-glicopiranosil-(1-2)- β -D-glicopiranosídeo] ligada ao carbono 3 da aglicona e uma unidade de gentiobiose [β -D-glicopiranosil-(1-6)- β -D-glicopiranosídeo] ligada ao carbono 26 da aglicona. As correlações a longa distância entre o próton anomérico H-1' (4,94, *d*, 7,2 Hz) e o carbono 3 da aglicona mais a correlação $^3J_{H-C}$ entre o próton anomérico H-1'' (5,39, *d*, 7,6 Hz) e o carbono 2' (δ_C 83,3) do primeiro glicosídeo mais as correlações a $^3J_{H-C}$ entre o próton anomérico H-1''' (4,85, *d*, 8 Hz) com o carbono 26 da aglicona e o próton anomérico H-1'''' (5,13, *d*, 8 Hz) com o carbono 6''' (δ_C 70,0) corroboram com a proposta da estrutura. Os demais prótons metínicos oxigenados dos glicosídeos foram assinalados com base nos experimentos de COSY e TOCSY 2D (**Figuras 101 e 104**, vol. II, p. 105 e 108, respectivamente). Com base nos dados de EM-AR-ESI e RMN 1D e 2D (**Tabela 28**), a substância foi identificada como uma saponina de esqueleto do tipo damarano com a aglicona idêntica as descritas anteriormente (**Sb17 e Sb18**) com a adição de mais uma porção β -D-glicopiranosídeo. A substância **Sb19** está sendo descrita pela primeira vez na literatura científica que foi nomada de siolmatrosídeo IV (**Figura 26**), 20-hidróxidamar-24-eno 3-*O*-[β -D-glicopiranosil-(1-2)- β -D-glicopiranosil]-26-*O*-[β -D-glicopiranosil-(1-6)]- β -D-glicopiranosídeo.

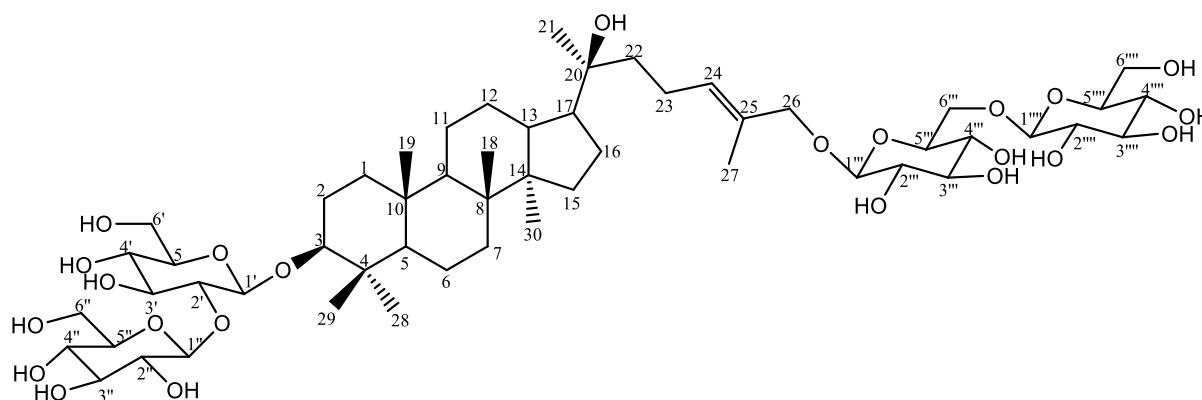


Figura 26. Estrutura da substância **Sb19**, siolmatrosídeo IV.

Tabela 28. Dados de RMN da substância **Sb19** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC	COSY	HMBC	
-	δ_C mult.	δ_H (mult., <i>J</i> em Hz)	1H - 1H $^{2,3}J_{H-C}$	
1	39,3 CH ₂	0,77 (<i>m</i>), 1,46 (<i>m</i>)	2	
2	26,8 CH ₂	1,87 (<i>m</i>), 2,25 (<i>m</i>)	1, 3	
3	89,0 CH	3,29 (<i>dd</i> , 4,9 e 11,6)	2	
4	39,7 C	-		
5	56,4 CH	0,69 (<i>dl</i> , 11,6)	6	
6	18,4 CH ₂	1,36 (<i>m</i>), 1,49 (<i>m</i>)	5, 7	
7	35,6 CH ₂	1,20 (<i>m</i>), 1,47 (<i>m</i>)	6	
8	40,6 C	-		
9	50,9 CH	1,30 (<i>m</i>)	11	
10	36,9 C	-		
11	21,8 CH ₂	1,18 (<i>m</i>), 1,42 (<i>m</i>)	9, 12	
12	25,3 CH ₂	1,93 (<i>m</i>)	11, 13	
13	42,5 CH	1,91 (<i>m</i>)	12, 17	
14	50,6 C	-		
15	31,6 CH ₂	1,09 (<i>m</i>), 1,57 (<i>m</i>)	16	
16	28,1 CH ₂	1,38 (<i>m</i>), 2,05 (<i>m</i>)	15, 17	
17	50,2 CH	1,96 (<i>m</i>)	13, 16	
18	15,6 CH ₃	0,94 (<i>s</i>)		7, 8, 9, 14
19	16,4 CH ₃	0,78 (<i>s</i>)		1, 5, 9, 10
20	74,0 C	-		
21	26,0 CH ₃	1,40 (<i>s</i>)		17, 20, 22
22	41,6 CH ₂	1,77 (<i>m</i>)	23	
23	22,9 CH ₂	2,42 (<i>m</i>)	22, 24	
24	129,3 CH	5,78 (<i>t</i> , 3,8 Hz)	23	
25	132,0 C	-		
26	75,2 CH ₂	4,29 (<i>m</i>), 4,57 (<i>m</i>)		
27	14,3 CH ₃	1,84 (<i>s</i>)		24, 25, 26
28	28,1 CH ₃	1,30 (<i>s</i>)		3, 4, 5, 28
29	16,6 CH ₃	1,12 (<i>s</i>)		3, 4, 5, 29
30	16,8 CH ₃	0,97 (<i>s</i>)		8, 13, 14, 15
1'	105,1 CH	4,94 (<i>d</i> , 7,2 Hz)		3
2'	83,3 CH	4,28 (<i>m</i>)		
3'	78,3 CH	4,32 (<i>m</i>)		
4'	71,5 CH	4,18 (<i>m</i>)		
5'	78,1 CH	3,95 (<i>m</i>)		
6'	62,7 CH ₂	4,39 (<i>m</i>), 4,50 (<i>m</i>)		
1''	106,0 CH	5,39 (<i>d</i> , 7,6)		2'
2''	77,2 CH	4,16 (<i>m</i>)		
3''	77,9 CH	4,27 (<i>m</i>)		
4''	71,6(CH	4,35 (<i>m</i>)		
5''	78,3 CH	3,93 (<i>m</i>)		
6''	62,7 CH ₂	4,39 (<i>m</i>), 4,50 (<i>m</i>)		
1'''	103,5 CH	4,85 (<i>d</i> , 8)		26
2'''	75,0 CH	4,02 (<i>m</i>)		
3'''	78,5 CH	4,20 (<i>m</i>)		
4'''	71,7 CH	4,33 (<i>m</i>)		
5'''	77,1 CH	4,05 (<i>m</i>)		

6'''	70,0 CH ₂	4,36 (<i>m</i>), 4,85 (<i>m</i>)	
1''''	105,4 CH	5,13 (<i>d</i> , 8)	6'''
2''''	75,2 CH	4,07 (<i>m</i>)	
3''''	78,4 CH	4,26 (<i>m</i>)	
4''''	71,6 CH	4,26 (<i>m</i>)	
5''''	78,5 CH	3,95 (<i>m</i>)	
6''''	62,8 CH	4,52-4,60 (<i>m</i>)	

6.2.20. Elucidação estrutural da substância Sb20

A substância **Sb20** foi isolada na forma de um sólido amorfo amarelado. A análise do EM-AR-ESI em modo positivo (**Figura 105**, vol. II, p. 109) mostrou um pico íon molecular aduto com sódio de m/z 1293,6473 $[M+Na]^+$, compatível com a fórmula molecular $C_{60}H_{102}O_{28}Na$ (calcd. m/z 1293,6473). No espectro de RMN 1H (**Figura 106**, vol. II, p. 110) observa-se o mesmo padrão de sinais das saponinas descritas anteriormente (**Sb17**, **Sb18** e **Sb19**) como o simpletos das metilas em δ_H 0,81 (Me-19), 0,94 (Me-19), 0,98 (Me-30), 1,17 (Me-28), 1,32 (Me-29), 1,40 (Me-21) e 1,85 (Me27), o próton metínico oxigenado em 3,30 (*dd*, 4,6 e 11,6 Hz, H-3), o próton ligado a carbono sp^2 em 5,79 (*t*, 7,2 Hz, H-24) e cinco prótons de carbono anomérico em 4,86 (*d*, 7,2 Hz, H-1''''), 4,95 (*d*, 7,2 Hz, H-1'), 5,13 (*d*, 7,8 Hz, H-1'''''), 5,14 (*d*, 7,8 Hz, H-1''') e 5,36 (*d*, 7,6 Hz, H-1''). A presença desses grupamentos foi confirmada pelos espectros de RMN ^{13}C , DEPT 135° e HSQC (**Figuras 107**, **108** e **110**, vol. II, p. 111, 112 e 114, respectivamente). O padrão de sinais apresentados sugere a estrutura de mais uma saponina de esqueleto damarano de aglicona idêntica às anteriores com a adição de cinco glicosídeos distribuídos em duas cadeias, uma ligada ao carbono 3 (δ_C 89,2) e outra ligada ao carbono 26 (δ_C 75,2), devido aos sinais de correlação a longa distância observados no espectro de HMBC (**Figura 111**, vol. II, p. 115) entre o próton anomérico H-1' e o carbono 3 (δ_C 89,2) e o próton diepodiepérico H-1'''' e o carbono 26 (δ_C 75,2). A posição das demais porções glicosídicas foi assinalada com o auxílio dos experimentos de HMBC, ROESY (**Figura 111** e **112**, vol. II, p. 115 e 116, respectivamente) e pelas diferenças de descolamento químico observadas no espectro de RMN ^{13}C . A sequência de ligações glicosídicas do carbono 3 foi definida devido à correlação a $^3J_{H-C}$ entre H-1'' e o carbono 2' (δ_C 83,4) e do H-1'''' com o carbono 6'' (δ_C 69,9), além das interações espaciais entre seus respectivos prótons. A segunda sequência glicosídica (ligada ao carbono 26) foi definida da mesma forma devido aos sinais de correlação a longa distância entre o próton anomérico H-1'''' e o carbono 6'''' (δ_C 69,9).

Devido a grande sobreposição dos sinais, principalmente para a definição das porções glicosídicas, optou-se pela preparação do derivado acetilado da substância **Sb20** onde 10 mg da substância foram solubilizados em 1 mL de piridina e 1 mL de anidrido acético, a mistura foi agitada por 24 horas sob agitação magnética contínua. Ao final do período adicionou-se então 2-3 mL de água gelada até o turvamento da solução que foi então extraída com CHCl_3 (3 x 5 mL). A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 e então concentrada sob pressão reduzida e purificada por cromatografia de adsorção (gel de sílica, 70-230 mesh) com eluição isocrática de $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (95:5) totalizando 8 mg do produto acetilado. Submeteu-se o produto à análise de EM-AR-ESI (**Figura 114**, vol. II, p. 118) onde observa-se o pico do íon molecular com dois átomos de sódio de m/z 1015,4092 $[\text{M}+2\text{Na}]^{++}$, compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{94}\text{H}_{136}\text{O}_{45}\text{Na}_2$, confirmando a inserção de dezessete grupamentos acetílicos na substância. No espectro de RMN ^1H (**Figura 115**, vol. II, p. 119) observa-se a presença das metilas em δ_{H} 0,98 (*s*, Me-18), 0,86 (*s*, Me-19), 1,16 (*s*, Me-21), 1,61 (*s*, Me-27), 1,04 (*s*, Me-28), 0,84 (*s*, Me-29) e 0,89 (*s*, Me-30), além de um simpleto em 1,21 proveniente de algum material graxo. A análise dos espectros de RMN ^{13}C , DEPT-135 e HSQC do derivado acetilado (**Figuras 116, 117 e 119**, vol. II, p. 120, 121 e 123) permitiram identificar o mesmo esqueleto básico do produto natural, resguardando as diferenças de deslocamento químico causada pela inserção dos grupos acetílicos pela reação. Como previsto, a acetilação ocasionou uma diferença significativa na aparência do espectro, principalmente na região dos prótons oxigenados dos glicosídeos. O assinalamento inequívoco das porções glicosídicas pôde ser feito com maior certeza pela análise dos espectros de COSY, HMBC e TOCSY 2D (**Figuras 118, 120 e 121**, vol. II, p. 122, 124 e 125). As correlações a longa distância ($^3J_{\text{H-C}}$) observadas no produto natural também foram observadas no derivado acetilado. O espectro de TOCSY 2D forneceu informações importantes para o assinalamento do sistema de spins dos glicosídeos, onde na sua ampliação (**Figura 122**, vol. II, p. 126) observa-se bem o sistema do próton anomérico H-1'' (δ_{H} 4,65 *d*, 8 Hz), sendo possível verificar a presença de interação a $^6J_{\text{H-H}}$ com o próton H-5'' (δ_{H} 3,59 *m*), observou-se então o sistema de correlação de spins do próton H-5'' onde foi possível observar a correlação (também observada no espectro de COSY) com os prótons em δ_{H} 3,60 (*m*, H-6''a) e 3,80 (*m*, H-6''b), esses prótons por sua vez apresentam correlação direta ($^1J_{\text{H-C}}$) com o carbono metilênico em δ_{C} 67,8 (C-6''), valor consideravelmente deslocado, se comparado com carbonos metilênicos livres, como C-6' (δ_{C} 62,7). Essas informações, assim como a interação a $^3J_{\text{H-C}}$ entre H-1''' (δ_{H} 4,79 *d*, 8 Hz) e C-6'', auxiliaram na proposta de outra porção glicosídica ligada em C-6''. Dessa maneira, a extensiva análise dos dados de EM-AR-ESI e RMN do produto natural (**Tabela 29**) e derivado acetilado (**Figura 28, Tabela 30**), a

substância **Sb20** foi identificada como uma saponina bidesmosídica do tipo damarano inédita na literatura científica, 20-hidróxidamar-24-eno 3-*O*-[β -D-glicopiranosil-(1-6)]- β -D-glicopiranosil-(1-2)- β -D-glicopiranosil]-26-*O*-[β -D-glicopiranosil-(1-6)]- β -D-glicopiranosídeo, nomeado de siolmatrosídeo V (**Figura 27**). Há a possibilidade de inversão dos grupos glicosídicos com três porções glicosídicas ligadas a C-26 e duas ligadas a C-3. Uma análise mais detalhada com espectrometria de massas sequencial (MS²) poderá ser útil para o assinalamento.

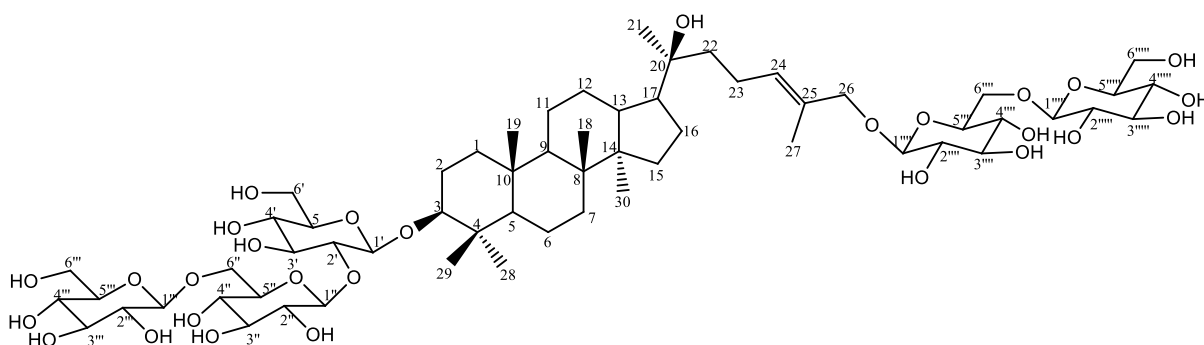


Figura 27. Estrutura da substância **Sb20**, siolmatrosídeo V.

Tabela 29. Dados de RMN da substância **Sb20** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC	COSY	HMBC	ROESY
-	δ_C mult.	δ_H (mult., <i>J</i> em Hz)	^{2,3} <i>J</i> _{H-C}	¹ H \leftrightarrow ¹ H
1	39,3 CH ₂	0,77 (<i>m</i>), 1,48 (<i>m</i>)	2	
2	26,8 CH ₂	1,89 (<i>m</i>), 2,24 (<i>m</i>)	1, 3	
3	89,2 CH	3,30 (<i>dd</i> , 4,6 e 11,6)	2	4, 28, 29, 1'
4	39,8 C	-		
5	56,5 CH	0,70 (<i>d</i> , 11,6)	6	4, 10, 19
6	18,4 CH ₂	1,39-1,51 (<i>m</i>)	5, 7	9
7	35,6 CH ₂	1,20 (<i>m</i>), 1,47 (<i>m</i>)	6	
8	39,8 C	-		
9	51,0 CH	1,31 (<i>m</i>)	11	5
10	36,9 C	-		
11	21,8 CH ₂	1,17 (<i>m</i>), 1,43 (<i>m</i>)	9, 12	
12	25,3 CH ₂	1,86-1,96 (<i>m</i>)	11, 13	
13	42,5 CH	1,92 (<i>m</i>)	12, 17	
14	50,6 C	-		
15	31,6 CH ₂	1,09 (<i>m</i>), 1,58 (<i>m</i>)	16	
16	28,1 CH ₂	1,39 (<i>m</i>), 2,07 (<i>m</i>)	15, 17	
17	50,2 CH	1,96 (<i>m</i>)	13, 16	
18	15,7 CH ₃	0,94 (<i>s</i>)		7, 8, 9, 14
19	16,4 CH ₃	0,81 (<i>s</i>)		1, 5, 9, 10
20	74,0 C	-		
21	26,0 CH ₃	1,40 (<i>s</i>)		17, 20, 22
22	41,6 CH ₂	1,74-1,81 (<i>m</i>)	23	

23	22,9 CH ₂	2,36-2,46 (<i>m</i>)	22, 24		
24	129,3 CH	5,79 (<i>t</i> , 7,2)	23		
25	132,0 C	-			
26	75,2 CH ₂	4,27 (<i>m</i>); 4,61 (<i>m</i>)			
27	14,3 CH ₃	1,85 (<i>s</i>)		24, 25, 26	
28	16,7 CH ₃	1,17 (<i>s</i>)		3, 4, 5, 29	19
29	28,2 CH ₃	1,32 (<i>s</i>)		3, 4, 5, 28	
30	16,8 CH ₃	0,98 (<i>s</i>)		8, 13, 14, 15	
1'	105,0 CH	4,95 (<i>d</i> , 7,2)	2'	3	3, 3', 5'
2'	83,4 CH	4,30 (<i>m</i>)	1'		
3'	78,4 CH	4,34 (<i>m</i>)			
4'	71,6 CH	4,20 (<i>m</i>)			
5'	78,4 CH	3,95 (<i>m</i>)			
6'	62,8 CH ₂	4,39 (<i>m</i>), 4,54 (<i>m</i>)			
1''	105,7 CH	5,36 (<i>d</i> , 7,6)	2''	2'	2', 3'', 5''
2''	76,7 CH	4,08 (<i>m</i>)	1''		
3''	78,4 CH	4,22 (<i>m</i>)			
4''	71,7 CH	4,35 (<i>m</i>)			
5''	77,2 CH	4,04 (<i>m</i>)			
6''	69,9 CH ₂	4,48 (<i>dd</i> , 4,4, 11,2), 4,80 (<i>dd</i> , 2,6, 11,4) ^a			
1'''	105,3 CH ^a	5,14 (<i>d</i> , 7,8) ^a	2'''	6''	6''
2'''	75,2 CH	4,06 (<i>m</i>)	1'''		
3'''	78,4 CH	4,20 (<i>m</i>)			
4'''	71,5 CH	4,20 (<i>m</i>)			
5'''	78,0 CH	3,95 (<i>m</i>)			
6'''	62,7 CH ₂	4,39 (<i>m</i>), 4,54 (<i>m</i>)			
1''''	103,8 CH	4,86 (<i>d</i> , 7,6)	2''''	26	26
2''''	75,0 CH	4,01 (<i>m</i>)	1''''		
3''''	78,4 CH	4,20 (<i>m</i>)			
4''''	71,5 CH	4,25 (<i>m</i>)			
5''''	77,0 CH	4,07 (<i>m</i>)			
6''''	69,9 CH ₂	4,36 (<i>m</i>), 4,85 (<i>dd</i> , 1,8, 11,4) ^a			
1'''''	105,4 CH ^a	5,13 (<i>d</i> , 7,8)	2'''''	6''''	6''''
2'''''	75,2 CH	4,06 (<i>m</i>)	1'''''		
3'''''	78,0 CH	4,22 (<i>m</i>)			
4'''''	71,5 CH	3,95 (<i>m</i>)			
5'''''	78,3 CH	3,97 (<i>m</i>)			
6'''''	62,8 CH ₂	4,39 (<i>m</i>), 4,54 (<i>m</i>)			

^a Podem estar trocados.

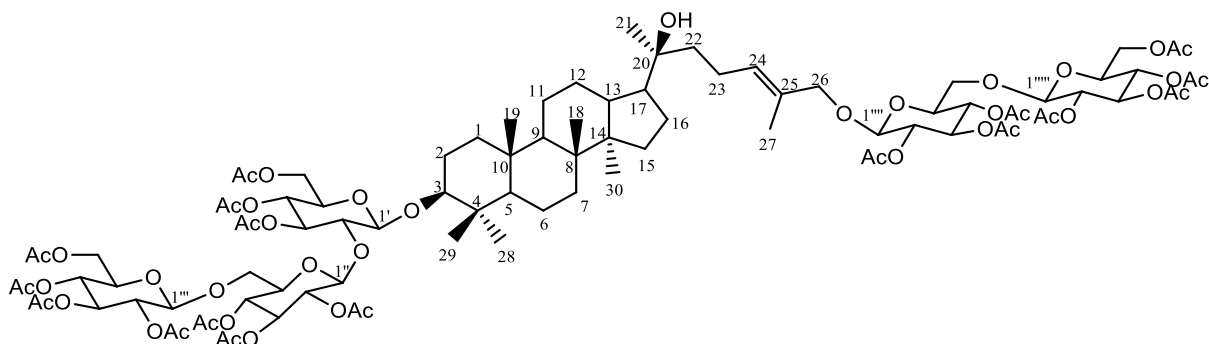


Figura 28. Estrutura do derivado acetilado de **Sb20**.

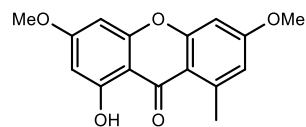
Tabela 30. Dados de RMN do derivado acetilado de **Sb20** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC	COSY	HMBC	TOCSY
-	δ_C mult.	δ_H (J em Hz)	1H - 1H	$^{2,3}J_{H-C}$
1	39,1 CH ₂	0,96 (m), 1,66 (m)	2	
2	27,6 CH ₂	1,25 (m), 1,86 (m)	1, 3	
3	91,7 CH	3,09 (dd, 4,5 e 11,3)	2	4, 28, 29, 1'
4	39,5 C	-		
5	56,2 CH	0,75 (dl, 11,5)	6	
6	18,1 CH ₂	1,45 (m), 1,56 (m)	5, 7	
7	35,2 CH ₂	1,30 (m), 1,54 (m)	6	
8	40,4 C	-		
9	50,6 CH	1,31 (m)	11	
10	36,8 C	-		
11	22,3 CH ₂	1,28 (m)		
12	26,3 CH ₂	1,68 (m), 2,03 (m)		
13	42,3 CH	1,64 (m)		
14	50,3 C	-		
15	31,2 CH ₂	1,09 (m), 1,59 (m)		
16	24,8 CH ₂	1,53 (m), 1,74 (m)		
17	49,8 CH	1,74 (m)		
18	15,5 CH ₃	0,98 (s)		7, 8, 9, 14
19	16,2 CH ₃	0,86 (s)		1, 5, 9, 10
20	75,2 C	-		
21	25,3 CH ₃	1,16 (s)		17, 20, 21
22	40,2 CH ₂	1,50 (m)		
23	21,5 CH ₂	1,49 (m), 2,12 (m)	23	
24	129,9 CH	5,34 (t, 7,1)	24	
25	130,3 C	-		
26	74,9 CH ₂	3,95 (d, 11,6), 4,19 (d, 11,8)		
27	13,6 CH ₃	1,61 (s)		24, 25, 26
28	27,4 CH ₃	1,05 (s)		3, 4, 5, 29
29	16,3 CH ₃	0,84 (s)		3, 4, 5, 28
30	16,4 CH ₃	0,89 (s)		8, 13, 14, 15
1'	103,9 CH	4,42 (d, 7,8)		3
2'	76,0 CH	3,86 (m)	2'	2', 3', 4', 5'

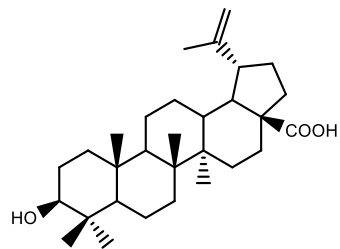
3'	72,8 CH	5,17 (m)	1'		
4'	69,2 CH	4,95 (m)			
5'	73,1 CH	3,66 (m)			
6'	62,7 CH ₂	4,05 (dd, 2,5 e 11,7), 4,32 (dd, 6,2 e 12)			
1''	100,2 CH	4,65 (d, 8)	2''	2'	2'', 3'', 5''
2''	71,6 CH	4,84 (m)	1''		
3''	73,9 CH	5,10 (m)			
4''	71,7 CH	3,77 (m)			
5''	74,2 CH	3,59 (m)			
6''	67,8 CH ₂	3,59 (m), 3,80 (m)			
1'''	100,3 CH	4,79 (d, 8)	2'''	6''	2''', 3''', 4''', 5'''
2'''	71,3 CH	4,98 (m)	1'''		
3'''	72,9 CH	5,18 (m)			
4'''	69,2 CH	3,82 (m)			
5'''	71,9 CH	3,77 (m)			
6'''	61,8 CH ₂	4,11 (dd, 2,4 e 6,6), 4,27 (d, 4,8)			
1''''	98,5 CH	4,46 (d, 8)	2''''	26	2'''', 3'''', 4'''', 5''''
2''''	71,3 CH	4,96 (m)	1''''		
3''''	72,8 CH	5,18 (m)			
4''''	71,6 CH	3,84 (m)			
5''''	73,2 CH	3,64 (m)			
6''''	68,3 CH ₂	3,60 (m), 3,86 (m)			
1'''''	100,7 CH	4,58 (d, 7,8)	2'''''	1''''	2''''', 3''''', 4''''', 5'''''
2'''''	71,1 CH	5,00 (m)	1'''''		
3'''''	72,8 CH	5,17 (m)			
4'''''	69,2 CH	5,09 (m)			
5'''''	71,3 CH	3,68 (m)			
6'''''	61,8 CH ₂	4,11 (dd, 2,4 e 6,6), 4,27 (d, 4,8)			

6.3. Elucidação estrutural dos metabólitos isolados de *Ziziphus glaziovii* Warm.

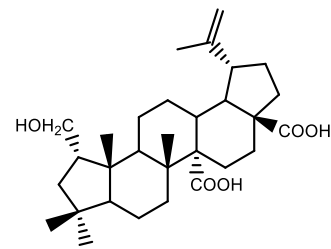
Os procedimentos cromatográficos realizados com a fração em CHCl₃ do extrato bruto metanólico do caule de *Z. glaziovii* possibilitaram o isolamento e elucidação estrutural de dezessete substância sendo uma xantona conhecida por lichenxantona (**Zg1**), uma lignana conhecida como (+)-lioniresinol (**Zg7**), dois triterpenos do tipo lupano conhecidos por ácido betulínico (**Zg2**) e ácido alfitólico (**Zg5**), quatro triterpenos do tipo ceanotano, ácido epigouânico (**Zg3**), ácido ceanótico (**Zg6**), ácido cyphostemmico A (**Zg8**) e ácido ceanotétrico (**Zg9**), um triterpeno do tipo dammarano inédito na literatura científica, ziziglaziovigenina (25-hidróxi-jujubogenina) (**Zg4**) e três saponinas derivadas dessa aglicona, ziziglaziovigenina 3-*O*- α -L-arabinopiranosídeo (**Zg10**), ziziglaziovigenina 3-*O*- α -L-arabinofuranosil-(1-2)- α -L-arabinopiranosídeo (**Zg11**) e ziziglaziovigenina 3-*O*- β -D-glicopiranosil-(1-2)- α -L-arabinopiranosídeo (**Zg12**), duas saponinas com esqueleto 16,22:16,30-diepóxi apresentando uma porção 3-metóxi-4-hidróxibenzoato na posição 6''', 16,22:16,30-diepóxi-20-hidróxidamar-24-metilideno 3-*O*- β -D-apiofuranosil-(1-3)-*O*-[6-(3-metóxi-4-hidróxibenzoato)- β -D-glicopiranosil-(1-2)]-glicopiranosil-(1-2)- β -D-glicopiranosídeo (**Zg13**) e 16,22-epóxi-15, 16, 20-trihidróxidamar-24-metilideno 3-*O*- β -D-apiofuranosil-(1-3)-*O*-[6-(3-metóxi-4-hidróxibenzoato)- β -D-glicopiranosil-(1-2)]-glicopiranosil-(1-2)- β -D-glicopiranosídeo (**Zg14**) e duas saponinas com porções glicosídicas sulfatadas na posição 4''', 16,23:16,30-diepóxi-20-hidróxidamar-24-eno 3-*O*- α -L-arabinofuranosil-(1-2)-*O*-[4-*O*-sódio sulfato- β -D-glicopiranosil-(1-3)]- α -L-arabinopiranosídeo (**Zg15**) e 16,22:16,30-diepóxi-20-hidróxidamar-24-metilideno 3-*O*- α -L-arabinofuranosil-(1-2)-*O*-[4-*O*-sódio sulfato- β -D-glicopiranosil-(1-3)]- α -L-arabinopiranosídeo (**Zg16**) (**Figuras 29** e **30**), além do esteroide glicosilado daucosterol, já descrito anteriormente (substância **Sb8**). As substâncias foram elucidadas com auxílio de experimentos de EM-AR-ESI e técnicas uni e bidimensionais de RMN.



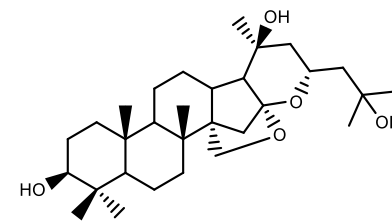
Zg1, lichenxantona



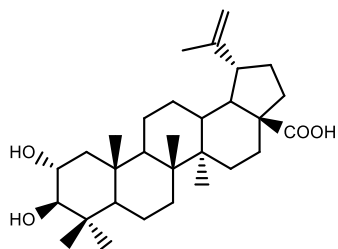
Zg2, ácido betulínico



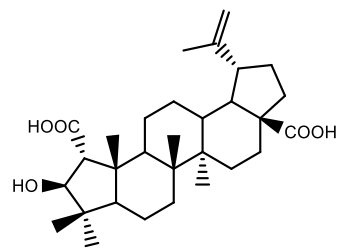
Zg3, ácido epigouanico



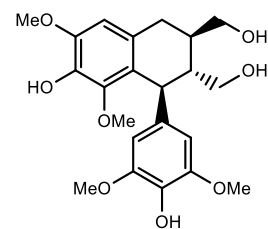
Zg4, ziziglaziovigenina



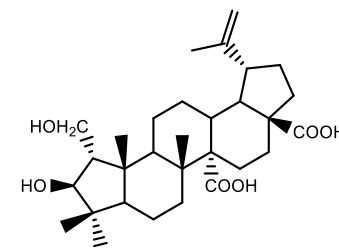
Zg5, ácido alfitólico



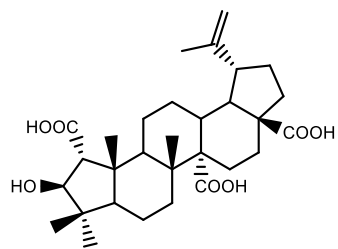
Zg6, ácido ceanótico



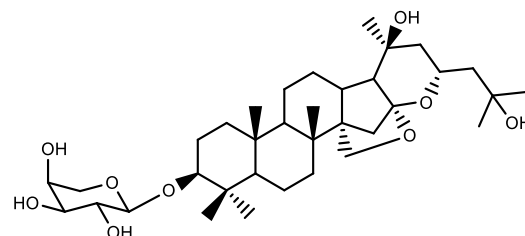
Zg7, (+)-lioniresinol



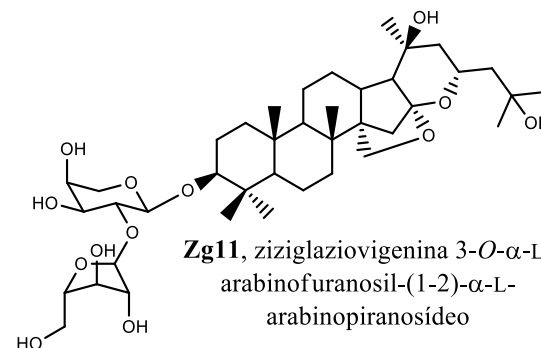
Zg8, ácido cyphostemmico A



Zg9, ácido ceanotétrico



Zg10, ziziglaziovigenina 3-O-α-L-arabinopiranosídeo



Zg11, ziziglaziovigenina 3-O-α-L-arabinofuranosil-(1-2)-α-L-arabinopiranosídeo

Figura 29. Substâncias isoladas de *Ziziphus glaziovii*.

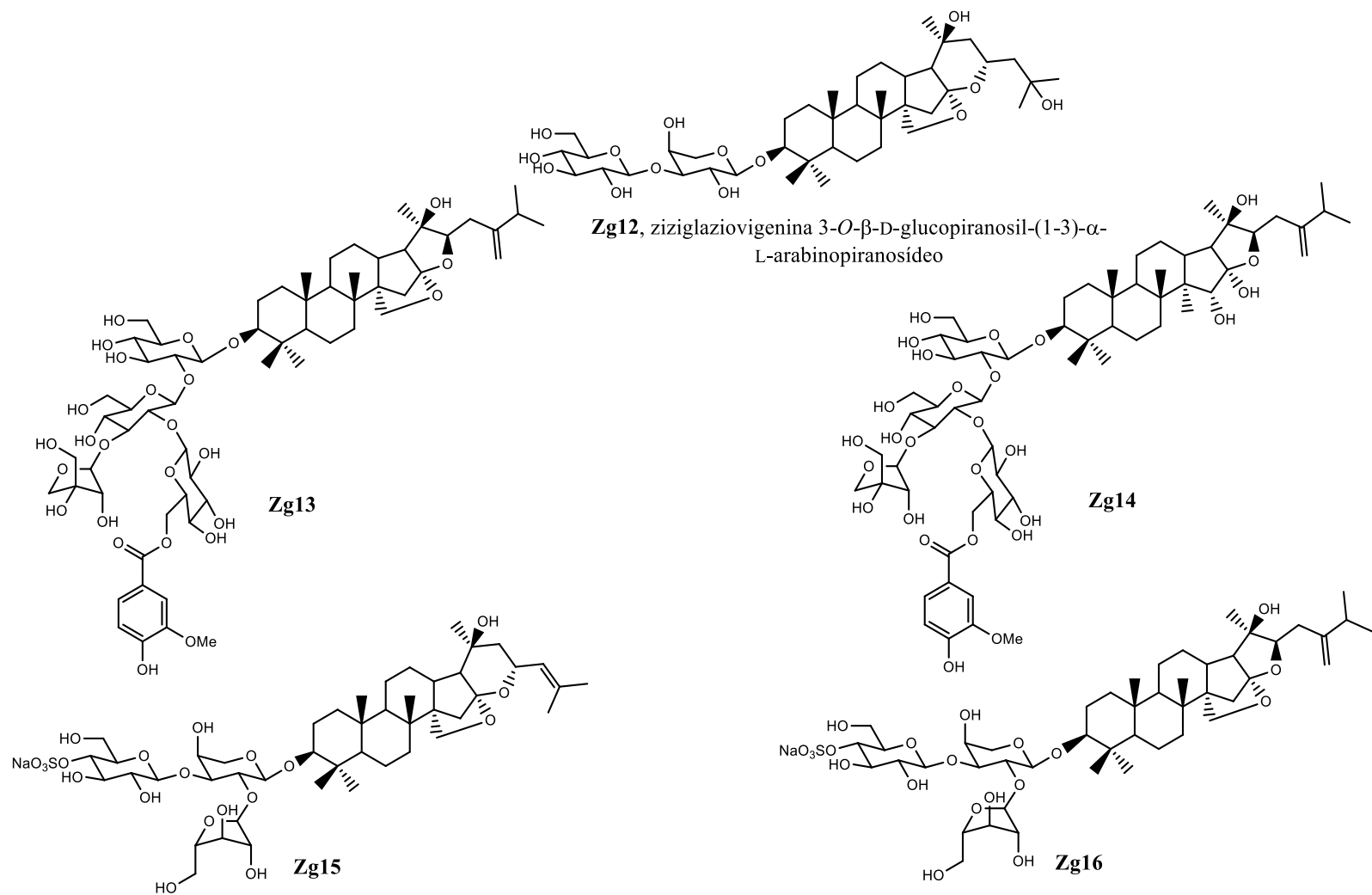


Figura 30. Substâncias isoladas de *Ziziphus glaziovii* (continuação).

6.3.1. Elucidação estrutural da substância Zg1

A substância **Zg1** foi isolada como um sólido amarelado amorfo, a análise de EM-AR-ESI (**Figura 123**, vol. II, p. 127) apresentou um pico de íon molecular protonado de m/z 287,0914 $[M+H]^+$ compatível com a fórmula molecular $C_{16}H_{15}O_5$ (calcd. m/z 287,0914). No espectro de RMN 1H (**Figura 124**, vol. II, p. 128) observa-se a presença de sinais de quatro prótons de sistema aromático com acoplamento em meta em δ_H 6,29 (*d*, 1,5 Hz, H-2), 6,32 (*d*, 1,5 Hz, H-4), 6,65 (*dd*, 0,6 e 1,7 Hz, H-7) e 6,67 (*d*, 1,7 Hz, H-5), dois sinais de metoxila em 3,86 (*s*, OMe-3) e 3,90 (*s*, OMe-6), um sinal de grupo metílico ligado a carbono sp^2 de anel aromático em 2,84 (*s*, Me-8) e um sinal de próton de grupo hidróxílico em 13,38 (*s*, OH-1). No espectro de RMN ^{13}C e DEPT-135 (**Figura 125 e 126**, vol. II, p. 129 e 130) observou-se a presença dos grupamentos descritos anteriormente, como a série de carbonos metínicos de sistema aromático em δ_C 96,7 (C-2), 92,0 (C-4), 115,7 (C-7) e 98,4 (C-5), os carbonos dos grupos metoxílicos em 55,7 (OMe-3) e 55,6 (OMe-6), o grupo metílico ligado a carbono de anel aromático sp^2 em 23,4 (Me-8), além de carbonos sp^2 oxigenados e uma carbonila em 182,3 (C-9). A posição do grupo OMe-3 foi assinalada com base no espectro de HMBC (**Figura 129**, vol. II, p. 133), onde uma correlação a $^3J_{H-C}$ entre os seus prótons e o carbono 165,7 (C-3), da mesma maneira o grupo metoxílico OMe-6 mostrou uma correlação a longa distância com o carbono 163,7 (C-6). Essas propostas foram também confirmadas devido a interações espaciais observadas no espectro de NOESY (**Figura 130**, vol. II, p. 134) entre o grupo metoxílico OMe-3 e os prótons de sistema aromático H-2 e H-3, e do grupo OMe-6 com H-5 e H-7. Após as análises de RMN (**Tabela 31**) e EM-AR-ESI a substância **Zg1** foi identificada como sendo uma xantona já descrita na literatura científica como liquexantona (**Figura 31**) (JIMÉNEZ et al., 1989). Xantonas desse tipo são comumente biossintetizadas por fungos via uma ciclização de intermediário policetídico que resulta em uma estrutura com uma metila ligada ao carbono 8 (POGAM & BOUSTIE, 2016). A presença desse metabólito pode estar relacionada com a presença de líquens no caule que podem não ter sido retirados antes do processamento do material botânico.

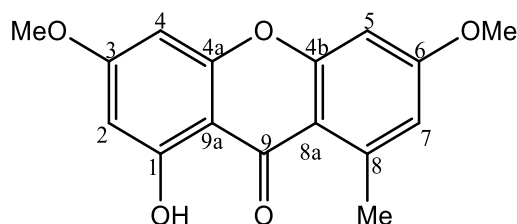


Figura 31. Estrutura da substância **Zg1**, lichenxantona.

Tabela 31. Dados de RMN da substância **Zg1** (400 MHz, CDCl₃).

C	HSQC		Referência*	
	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C	δ_H (J em Hz)
-				
1	163,7 C	-	163,88	-
2	96,7 CH	6,29 (<i>d</i> , 1,5)	96,81	6,30 (<i>d</i> , 2,3)
3	165,7 C	-	165,94	-
4	92,0 CH	6,32 (<i>d</i> , 1,5)	92,09	6,34 (<i>d</i> , 2,3)
4a	156,9 C	-	157,06	-
4b	159,7 C	-	159,52	-
5	98,4 CH	6,67 (<i>d</i> , 1,7)	98,53	6,69 (<i>d</i> , 2,4)
6	163,7 C	-	163,89	-
7	115,4 CH	6,65 (<i>dd</i> , 0,6, 1,7)	115,45	6,66 (<i>m</i>)
8	143,4 C	-	143,60	-
8a	112,9 C	-	113,05	-
9	182,3 C	-	182,51	-
9a	104,1 C	-	104,2	-
OMe-3	55,7 CH ₃	3,86 (<i>s</i>)	55,65	3,87 (<i>s</i>)
OMe-6	55,6 CH ₃	3,90 (<i>s</i>)	55,60	3,89 (<i>s</i>)
OH-1	-	13,38 (<i>s</i>)	-	13,25 (<i>s</i>)
Me-8	23,4 CH ₃	2,84 (<i>s</i>)	23,31	2,83 (<i>s</i>)

* JIMÉNEZ et al., 1989 (250 MHz, CDCl₃).

6.3.2. Elucidação estrutural da substância **Zg2**

A substância **Zg2** foi isolada na forma de um sólido amorfo de cor esbranquiçada. Na análise de EM-AR-ESI em modo negativo (**Figura 131**, vol. II, p. 135) apresentou um pico de m/z 455,3505 [M-H]⁻ compatível com a fórmula molecular C₃₀H₄₇O₃ (calcd. m/z 455,3531). No espectro de RMN ¹H (**Figura 132**, vol. II, p. 136), observa-se a presença de seis grupos metílicos em δ_H 1,23 (*s*, Me-23), 1,07 (*s*, Me-24), 0,83 (*s*, Me-25), 1,02 (*s*, Me-26), 1,08 (*s*, Me-27) e 1,80 (*s*, Me-30), prótons de carbono metilênico terminal em 4,78 (*s*, H-29a) e 4,96 (*sl*, H-29b) e um próton de carbono metínico oxigenado em 3,46 (*t*, 8 Hz, H-3). A interpretação do espectro de RMN ¹³C e HSQC (**Figuras 133 e 135**, vol. II, p. 137 e 139) permitiu confirmar esses grupos pelos sinais de metilas em δ_C 28,7 (Me-23), 16,4 (Me-24), 16,4 (Me-25), 16,3 (Me-26), 14,9 (Me-27) e 19,5 (Me-30), além de sinal de carbono metilênico terminal em 109,9 (Me-29), de carbono metínico oxigenado em 78,1 (C-3), e

grupo carboxila de ácido carboxílico em 178,8 (C-28) e um carbono quaternário sp^2 em 151,3 (C-20). Análises dos espectros de COSY e HMBC (**Figuras 134 e 136**, vol. II, p. 138 e 142) auxiliaram na determinação das vizinhanças dos grupos, assim como o posicionamento do grupo metilênico e da carboxila. Dessa maneira, as análises dos dados de RMN (**Tabela 32**) permitiram identificar a substância **Zg2** como sendo o triterpeno pentacíclico do tipo lupano conhecido como ácido betulínico (**Figura 32**). Esse ácido triterpenico tem sido encontrado em espécies de *Ziziphus* (KANG et al., 2016a; LEAL et al., 2010).

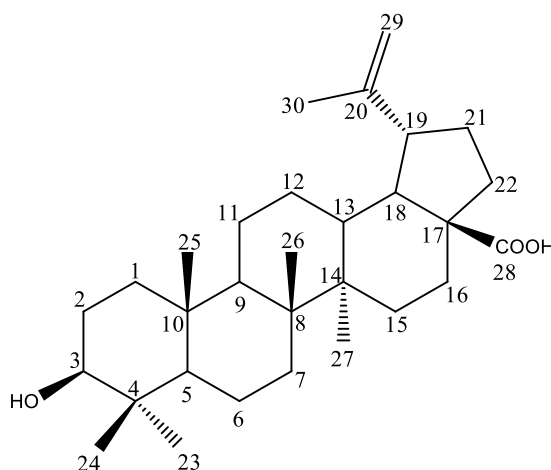


Figura 32. Estrutura da substância **Zg2**, ácido betulínico.

Tabela 32. Dados de RMN da substância **Zg2** (400 MHz, C_5D_5N).

C	HSQC		Referência*	
-	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C	δ_H (mult., J em Hz)
1	39,3 CH ₂	0,97 (m), 1,67 (td, 3,5 e 13,0)	39,5	1,66 (td, 13,0 e 3,0)
2	28,3 CH ₂	1,86 (m)	28,3	1,87 (m)
3	78,1 CH	3,46 (t, 8)	78,1	3,46 (t, 7,8)
4	39,5 C	-	39,3	-
5	55,9 CH	0,83 (m)	55,9	0,82 (m)
6	18,8 CH ₂	1,41 (m), 1,55 (m)	18,8	1,41 (m), 1,56 (m)
7	34,8 CH ₂	1,41 (m)	34,8	1,40 (m), 1,42 (m)
8	41,1 C	-	41,1	-
9	50,9 CH	1,36 (m)	51,0	1,39 (m)
10	37,5 C	-	37,5	-
11	21,2 CH ₂	1,21 (m), 1,43 (m)	21,2	1,21 (m), 1,42 (m)
12	26,1 CH ₂	1,22 (m), 1,94 (m)	26,1	1,93 (m)
13	38,6 CH ₂	2,75 (dt, 3,6 e 11,9)	38,6	2,74 (td, 11,4 e 3,2)
14	42,8 C	-	42,9	-
15	30,3 CH ₂	1,54 (m), 2,25 (m)	30,3	1,28 (m), 1,90 (m)
16	32,9 CH ₂	1,57 (m), 2,64 (m)	32,9	1,56 (m), 2,63 (td, 12,7 e 3,0)
17	56,6 C	-	56,6	-
18	49,8 CH	1,77 (t, 11,4)	49,8	1,76 (dd, 11,4 e 11,4)
19	47,8 CH	3,55 (dt, 5,4 e 11,5)	47,8	3,54 (td, 5,0 e 11,4)
20	151,3 C	-	151,3	-

21	31,2 CH ₂	1,55 (<i>m</i>), 2,27 (<i>m</i>)	31,2	1,52 (<i>m</i>), 2,24 (<i>m</i>)
22	37,6 CH ₂	1,57 (<i>m</i>), 2,26 (<i>m</i>)	37,6	1,59 (<i>m</i>), 2,26 (<i>m</i>)
23	28,7 CH ₃	1,23 (<i>s</i>)	28,7	1,23 (<i>s</i>)
24	16,4 CH ₃	1,07 (<i>s</i>)	16,4	1,06 (<i>s</i>)
25	16,4 CH ₃	0,83 (<i>s</i>)	16,4	0,83 (<i>s</i>)
26	16,3 CH ₃	1,02 (<i>s</i>)	16,3	1,01 (<i>s</i>)
27	14,9 CH ₃	1,08 (<i>s</i>)	14,9	1,07 (<i>s</i>)
28	178,8 C	-	178,9	-
29	109,9 CH ₂	4,78 (<i>s</i>), 4,96 (<i>sl</i>)	109,9	4,95 (<i>s</i>), 4,77 (<i>s</i>)
30	19,5 CH ₃	1,80 (<i>s</i>)	19,5	1,79 (<i>s</i>)

* KANG et al., 2016a (400 MHz, C₅D₅N).

6.3.3. Elucidação estrutural da substância Zg3

A substância **Zg3** foi isolada na forma de um sólido esbranquiçado. A análise de EM-AR-ESI (**Figura 137**, vol. II, p. 141) mostrou um pico de íon molecular desprotonado de m/z 485,3254 [M-H]⁻, compatível com a fórmula molecular C₃₀H₄₅O₅ (calcd. m/z 485,3272). No espectro de RMN ¹H (**Figura 138**, vol. II, p. 142) observa-se a presença de cinco sinais de metilas em δ_H 0,90 (Me-23), 0,94 (Me-24), 0,92 (Me-25), 1,20 (Me-26) e 1,92 (Me-30) que se correlacionam diretamente com os carbonos 33,7, 26,9, 20,2, 18,2 e 19,3, respectivamente (observado no espectro de HSQC, **Figura 142**, vol. II, p. 146), além de sinal de grupo metilênico terminal em 4,83 e 5,06 (*sl*, H-29) e um grupo metilênico hidróxilado em 3,70 (*t*, 10,3 Hz, H-2a) e 4,20 (*dd*, 4,2 e 10,2 Hz, H-2b) acoplados diretamente ao carbono 62,4 (C-2). Nos espectros RMN ¹³C (BBD e DEPT-135) (**Figura 138 e 139**, vol. II, p. 142 e 143) foi possível identificar os grupos citados além de dois sinais de carbonilas de ácido carboxílico em 178,7 (C-27) e 179,3 (C-28). Com o auxílio do espectro de COSY (**Figura 141**, vol. II, p. 145) foi possível determinar a presença de um anel pentacíclico no anel A do triterpeno devido a interação entre os prótons H-1 e H-2, e H-1 e H-3 e a ausência de sinal de interação ¹H-¹H entre os prótons H-2 e H-3. A posição do grupamento hidróximetilênico foi assinalada com ajuda do espectro de NOESY (**Figura 144**, vol. II, p. 148) onde o mesmo apresentou sinais de interação espacial com os prótons em δ_H 1,47 (*m*, H-5) e 2,44 (*dd*, 3,3 e 12 Hz, H-9), todos estando em posição axial nos devidos ciclos. A análise extensiva dos dados de RMN (1D e 2D) (**Tabela 33**) e os dados de EM-AR-ESI auxiliaram na elucidação da substância **Zg3** como sendo um triterpenoide do tipo ceanotano conhecido como ácido *epigouânico* (**Figura 33**), já isolado na espécie *Ziziphus joazeiro* e *Cyphostemma adenocaula* (Vitaceae) (LEAL et al., 2010; CHOUNA et al., 2016).

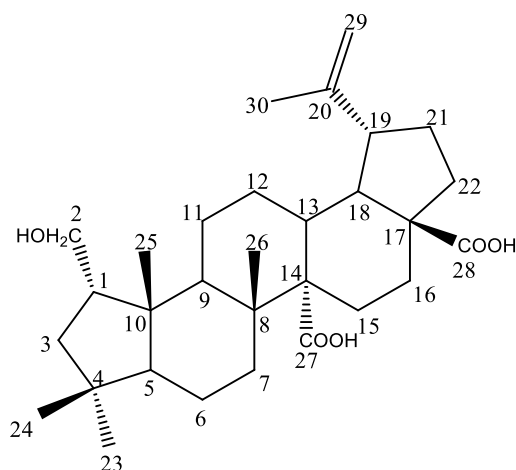


Figura 33. Estrutura da substância **Zg3**, ácido epigouânico.

Tabela 33. Dados de RMN da substância **Zg3** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC	COSY	HMBC	NOESY	Ref.*
-	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	1H - 1H	$^1H \leftrightarrow ^1H$	δ_C
1	53,3 CH	2,06 (m)	2, 3	2, 25	52,4
2	62,4 CH ₂	3,70 (t, 10,3), 4,20 (dd, 4,2, 10,2)	1	1, 5, 9,	63,3
3	42,1 CH ₂	1,95 (m), 2,14 (d, 14)	1		42,3
4	38,0 C	-			38,8
5	57,8 CH	1,47 (m)	6	4, 6, 9, 10, 23, 24, 25	2, 7, 9, 24
6	19,1 CH ₂	1,33 (m)	5, 7		19,6
7	38,0 CH ₂	1,87 (m), 1,99 (m)	6		38,5
8	41,2 C	-			41,7
9	43,9 CH	2,44 (dd, 3,3, 12)	11	8, 10, 11, 14, 26, 25	2, 5
10	48,2 C	-			49,9
11	23,7 CH ₂	1,56 (m), 1,60 (dd, 4,3, 12)	9, 12		24,2
12	26,6 CH ₂	2,03 (m), 2,75 (m)	11, 13	11, 13	27,1
13	40,5 CH	3,00 (td, 4,6, 12,1)	18, 12	14, 15, 17, 18, 27	26
14	60,3 C	-			61,1
15	29,0 CH ₂	1,96 (m), 2,55 (dd, 3,5, 9,7)	16	13, 14	29,3
16	35,4 CH ₂	1,95 (m), 2,93 (dd, 3,4, 9,3)	15		35,8
17	56,6 C	-			57,5
18	52,4 CH	2,20 (t, 11,2)	13, 19	13, 14, 16, 17, 19, 20, 28	53,0
19	47,9 CH	3,70 (m)	18, 21	21	21, 29
20	151,2 C	-			151,7
21	31,2 CH ₂	1,53 (m), 2,28 (m)	19, 22		31,6
22	37,8 CH ₂	1,87 (m), 2,03 (m)	21		38,4
23	33,7 CH ₃	0,91 (s)		3, 4, 5, 24	3, 6
24	26,9 CH ₃	0,95 (s)		3, 4, 5, 23	3, 5
25	20,2 CH ₃	0,92 (s)		1, 5, 9, 10	1, 6, 26

26	18,2 CH ₃	1,20 (s)		7, 8, 9, 14	13, 15, 25	18,3
27	178,7 CO	-				179,5
28	179,3 CO	-				178,7
29	110,3 CH ₂	4,83 (sl), 5,06 (sl)	30	19, 30	18, 19, 30	110,4
30	19,3 CH ₃	1,93 (s)	29	19, 29, 30	19, 20, 29	19,3

* CHOUNA et al., 2016 (500 MHz, CD₃OD:CDCl₃ 1:1).

6.3.4. Elucidação estrutural da substância Zg4

A substância **Zg4** foi isolada na forma de um sólido esbranquiçado amorfo. A análise de EM-AR-ESI (**Figura 145**, vol. II, p. 149) apresentou dois picos relacionados ao ion molecular em m/z 491,3733 [M+H]⁺ e 473,3627 [M-H₂O]⁺ compatíveis com a formula molecular C₃₀H₅₁O₅ (calcd. m/z 491,3731) e C₃₀H₄₉O₄ (calcd. m/z 473,3625), respectivamente, além do pico em m/z 981,7399, referente ao pico de íon dimérico [2M+H] de fórmula molecular C₆₀H₁₀₁O₁₀. No espectro de RMN ¹H (**Figura 146**, vol. II, p. 150) observa-se a presença de sete sinais de metilas em δ_H 1,09 (s, Me-18), 0,80 (s, Me-19), 1,37 (s, Me-21), 1,51 (s, Me-26/Me-27), 1,20 (s, Me-28) e 1,03 (s, Me-29), um sinal de grupo metilênico oxigenado em 4,15 (dd, 1,8 e 7,4 Hz, H-30a) e 4,23 (d, 7,3 Hz, H-30b), além de dois sinais de CH metínico oxigenado em 3,43 (m, H-3) e 4,87 (td, 2,6 e 8,9 Hz, H-23), todos esses grupamentos tiveram a presença confirmada pelos experimentos de RMN ¹³C e HSQC (**Figuras 147 e 148**, vol. II, p.151 e 152). Esses espectros mostraram sinais de interações a ¹J_{H-C} com os carbonos metílicos em δ_C 18,9 (Me-18), 16,4 (Me-19), 30,2 (Me-21), 30,4 (Me-26), 30,7 (Me-27), 28,6 (Me-28) e 16,4 (Me-29), carbono metilênico em 65,9 (C-30) e os carbonos metínicos em 77,9 (C-3) e 69,2 (C-23). Foi possível identificar também dois carbonos quaternários oxigenados em 68,5 (C-20) e 69,8 (C-25), além de um carbono quaternário em δ_C 110,6 compatível a um carbono acetal (C-16). A análise do espectro de HMBC (**Figura 151**, vol. II, p 155) permitiu avaliar as posições dos grupos metílicos na estrutura e assim propor a estrutura de um triterpeno do tipo damarano. A configuração relativa do anel 16,23:16,30-diepóxi (**Figura 34**) foi determinada a partir dos sinais de NOE obtidos no espectro de NOESY 2D (**Figura 152**, vol. II, p. 156) onde verifica-se a presença de correlações espaciais entre os hidrogênios do carbono 15 em δ_H 1,49 (m, H-15a) e 2,46 (d, 8,3 Hz, H-15b) com o próton do carbono 23 (δ_H 4,87 d, 2,6 e 8,9 Hz) e dos hidrogênios oximetilênicos 30 com o hidrogênio 17 em δ_H 1,36 (m). A estrutura proposta para a substância **Zg4** foi identificada como sendo um derivado do triterpeno jujubogenina (KURIHARA et al,

1988) hidroxilado na posição 25, a proposta é baseada na correlação a longa distância ($^3J_{H-C}$) dos grupos metílicos 26 e 27 (δ_H 1,51 s) com o carbono 25 (δ_C 69,8). A substância está sendo descrita pela primeira vez na literatura científica, nomeada como ziziglaziovigenina (25-hidróxijubogenina) (**Figura 35**), seus dados de RMN estão descritos na **Tabela 34**.

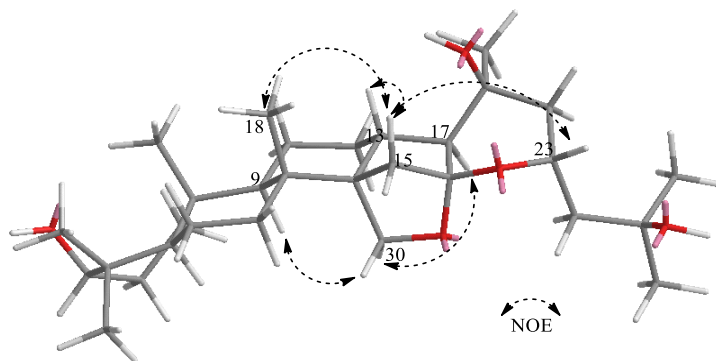


Figura 34. Correlações-chave para o assinalamento do anel 16,23:16,30-diepóxi de **Zg4**.

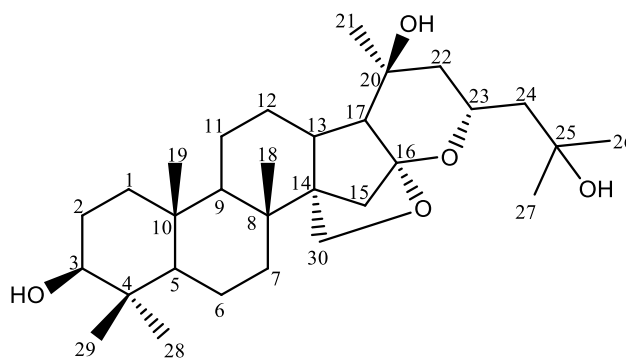


Figura 35. Estrutura da substância **Zg4**, ziziglaziovigenina.

Tabela 34. Dados de RMN da substância **Zg4** (400 MHz, C_5D_5N).

C	HSQC	COSY	HMBC	NOESY	Ref.*
-	δ_C mult.	δ_H (mult., <i>J</i> em Hz)	1H - 1H	$^2,3J_{H-C}$	$^1H \leftrightarrow ^1H$
1	38,9 CH ₂	0,91 (<i>m</i>), 1,64 (<i>m</i>)	1, 2		38,9
2	28,2 CH ₂	1,85 (<i>m</i>)	1, 3		27,9
3	77,9 CH	3,43 (<i>m</i>)	2, OH-3	29, 28	2, 5, 28
4	39,6 C	-			39,5
5	56,0 CH	0,77 (<i>dl</i> , 12,2)	6	29, 6	3, 7, 9, 28
6	18,7 CH ₂	1,43 (<i>m</i>), 1,56 (<i>m</i>)	5, 7		18,4
7	36,1 CH ₂	1,41 (<i>m</i>), 1,58 (<i>m</i>)	6		36,1
8	37,6 C	-			37,6
9	53,1 CH	0,93 (<i>m</i>)	11	8, 10, 19	5, 15, 30
10	37,6 C	-			37,6
11	21,8 CH ₂	1,35 (<i>m</i>), 1,60 (<i>m</i>)	9, 12		21,7
12	28,5 CH ₂	1,78 (<i>m</i>), 1,93 (<i>m</i>)	11, 13		13
13	37,1 CH	2,84 (<i>m</i>)	12, 17,	12, 15, 18, 21,	12, 15, 18,

				30	OH-20	21	
14	53,9 C	-					53,7
15	36,7 CH ₂	1,49 (<i>m</i>), 2,46 (<i>d</i> , 8,3)		15	13, 14, 16, 30	6, 7, 9, 18, 23	37,0
16	110,6 C	-					110,6
17	54,1 CH	1,37 (<i>m</i>)		12, 13			53,7
18	18,9 CH ₃	1,10 (<i>s</i>)			7, 8, 9, 14	7, 13, 15, 19	18,4
19	16,4 CH ₃	0,81 (<i>s</i>)			1, 5, 9, 10	2, 18, 29,	16,3
20	68,5 C	-					68,6
21	30,2 CH ₃	1,37 (<i>s</i>)			17, 20, 22	13, 22	30,0
22	46,4 CH ₂	1,61 (<i>m</i>), 1,82 (<i>m</i>)		23			45,2
23	69,2 CH	4,87 (<i>td</i> , 2,6 e 8,9)		22, 24	15, 24, 26/27	15, 22, 24, 26/27	68,7
24	49,2 CH ₂	1,80 (<i>m</i>), 2,12 (<i>dd</i> , 9 e 14,4)		23	22, 23, 25, 26, 27	22, 23, 26/27	126,8
25	69,8 C	-					134,3
26	30,4 CH ₃	1,51 (<i>s</i>)			24, 25, 27	15, 23, 24	25,8
27	30,7 CH ₃	1,51 (<i>s</i>)			24, 25, 26	15, 23, 24	18,8
28	28,6 CH ₃	1,20 (<i>s</i>)			3, 4, 5, 29	6, 29,	28,6
29	16,4 CH ₃	1,04 (<i>s</i>)			3, 4, 5, 28	19, 28,	16,3
30	65,9 CH ₂	4,15 (<i>dd</i> , 1,8 e 7,4), 4,23 (<i>d</i> , 7,3)		13	13, 14, 16	9, 7, 15	65,9
OH-3	-	5,76 (<i>d</i> , 5,4)		2	2, 3, 4		-
OH-20	-	5,95 (<i>s</i>)			17, 20, 21, 22	21, 22, 13	-
OH-25	-	5,28 (<i>s</i>)			24, 25, 26/27		-

* KURIHARA et al., 1988 (500 MHz, C₅D₅N).

6.3.5. Elucidação estrutural da substância **Zg5**

A substância **Zg5** também foi isolada na forma de um sólido amorfo esbranquiçado. A análise de EM-AR-ESI (**Figura 153**, vol. II, p. 157) mostrou um pico de íon aduto em m/z 495,3431 [M+Na]⁺, compatível com a fórmula molecular C₃₀H₄₈O₄Na (calcd. m/z 495,3445). No espectro de RMN ¹H (**Figura 154**, vol. II, p. 158) observa-se a presença de seis simpletos de alta intensidade indicando a presença de seis metilas em δ_H 1,27 (*s*, Me-23), 1,07 (*s*, Me-24), 0,92 (*s*, Me-25), 1,06 (*s*, Me-26/Me-27) e 1,79 (*s*, Me-30) que, de acordo com o espectro HSQC (**Figura 158**, vol. II, p. 162), apresentam correlação direta com os carbonos 17,5 (C-23), 29,2 (C-24), 17,7 (C-25), 16,8 (C-26), 15,2 (C-27) e 19,4 (C-30), além de dois sinais de próton de carbono metínico oxigenado em δ_H 4,11 (*m*) e 3,41 (*d*, 9,4 Hz, H-3) que se correlacionam com os carbonos em δ_C 69,2 e 84,2, respectivamente e um par de prótons metilênicos terminais em 4,78 (*sl*, H-29a) e 4,95 (*sl*, H-29b) com o carbono sp² em 110,3 (C-29). A substância apresenta os mesmos padrões de sinais presentes na substância **Zg2** (ácido betulínico) com a diferença, observada no experimento de EM-AR-ESI e RMN (**Tabela 35**),

de um grupo hidroxilílico a mais ligado na posição 2. Sendo assim, a substância **Zg5** foi identificada como sendo um ácido triterpênico do tipo lupano conhecido como ácido alfitólico (**Figura 36**) (KANG et al., 2016a).

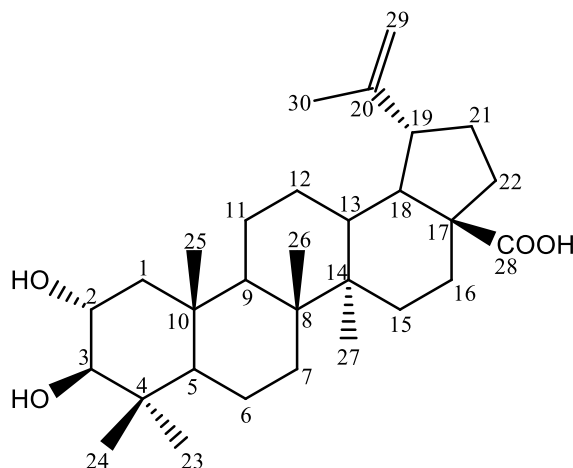


Figura 36. Estrutura da substância **Sb5**, ácido alfitólico.

Tabela 35. Dados de RMN da substância **Zg5** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC		δ_C	Referência
	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)		δ_H (mult., J em Hz)
1	48,6 CH ₂	1,24 (m), 2,33 (dd, 4,5 e 12,4)	48,6	1,29 (m), 2,34 (dd, 4,5 e 12,5)
2	69,2 CH	4,11 (m)	69,1	4,14 (m)
3	84,2 CH	3,41 (d, 9,4)	84,1	3,42 (d, 9,4)
4	40,3 C	-	40,3	-
5	56,4 CH	0,99 (d, 11,0)	56,4	1,01 (m)
6	19,2 CH ₂	1,40 (m), 1,56 (m)	19,2	1,43 (m), 1,56 (m)
7	35,1 CH ₂	1,36-1,57 (m)	35,1	1,39 (m), 1,47 (m)
8	41,5 C	-	41,5	-
9	50,1 CH	1,50 (m)	50,1	1,50 (m)
10	38,0 C	-	37,9	-
11	21,7 CH ₂	1,22 (m), 1,50 (m)	21,7	1,22 (m), 1,52 (m)
12	26,4 CH ₂	1,20 (m), 1,93 (m)	26,4	1,18 (m), 1,95 (m)
13	38,9 CH	2,73 (dt, 3,5 e 12)	39,0	2,74 (dt, 3,4 e 12,1)
14	43,2 C	-	43,2	-
15	30,6 CH ₂	1,25 (m), 1,86 (dd, 4 e 13,6)	30,6	1,25 (m), 1,88 (m)
16	33,2 CH ₂	1,56 (m), 2,63 (td, 3,4 e 12,8)	33,2	1,56 (m), 2,65 (m)
17	57,0 C	-	56,9	-
18	50,1 CH	1,78 (m)	50,1	1,75 (dd, 11,3 e 11,3)
19	47,9 CH	3,54 (td, 4,8 e 11)	48,6	3,55 (td, 4,8 e 11,2)
20	151,6 C	-	151,6	-
21	31,5 CH ₂	1,55 (m), 2,25 (m)	31,5	1,54 (m), 2,24 (m)
22	37,9 CH ₂	1,57 (m), 2,25 (m)	38,9	1,59 (m), 2,27 (m)
23	29,6 CH ₃	1,27 (s)	29,6	1,28 (s)
24	17,8 CH ₃	1,07 (s)	17,8	1,08 (s)
25	18,0 CH ₃	0,92 (s)	18,0	0,92 (s)
26	16,8 CH ₃	1,06 (s)	16,8	1,06 (s)

27	15,2 CH ₃	1,06 (<i>s</i>)	15,2	1,06 (<i>s</i>)
28	179,2 CO	-	179,2	-
29	110,3 CH ₂	4,78 (<i>sl</i>), 4,95 (<i>sl</i>)	110,4	4,79 (<i>s</i>), 4,95 (<i>s</i>)
30	19,8 CH ₃	1,79 (<i>s</i>)	19,8	1,80 (<i>s</i>)

* KANG et al., 2016a (600 MHz, C₅D₅N).

6.3.6. Elucidação estrutural da substância **Zg6**

A substância **Zg6** também foi isolada na forma de um sólido amorfo de cor esbranquiçada. Na análise de EM-AR-ESI em modo negativo (**Figura 161**, vol. II, p. 165) observa-se a presença de dois picos envolvendo o íon molecular desprotonado em m/z 485,3251 [M-H]⁻ e íon aduto com formiato de m/z 531,3305 [M+HCOO]⁻, compatíveis com as fórmulas moleculares C₃₀H₄₅O₅ (calcd. m/z 485,3272) e C₃₁H₄₇O₇, respectivamente. No espectro de RMN ¹H (**Figura 162**, vol. II, p. 166) observa-se novamente a presença de uma série de metilas em δ_H 1,43 (*s*, Me-23), 1,28 (*s*, Me-24), 1,39 (*s*, Me-25), 1,15 (*s*, Me-26), 1,08 (*s*, Me-27) e 1,66 (*s*, Me-30) sugerindo outra estrutura triterpênica para a substância. Observou-se também a presença de próton α -carboxílico em 3,21 (*s*, H-1), próton de carbono metínico oxigenado em 4,28 (*s*, H-3) e próton de carbono metilênico terminal em 4,66 (*sl*, H-29a) e 4,86 (*sl*, H-29-b). A análise do espectro de HSQC (**Figura 166**, vol. II, p. 170) permitiu assinalar os sinais descritos anteriormente aos seus respectivos carbonos em δ_C 31,2 (C-23), 20,3 (C-24), 18,8 (C-25), 17,0 (C-26), 15,1 (C-27), 19,5 (C-30), 67,0 (C-1), 87,4 (C-3) e 109,7 (C-29). No espectro de RMN ¹³C e DEPT 135° (**Figura 163 e 164**, vol. II, p. 167 e 168) foi possível observar ainda a presença de duas carbonilas de ácido carboxílico em δ_C 178,0 (C-2) e 178,8 (C-28), a posição dessas carbonilas foi assinalada com o auxílio do espectro de HMBC (**Figura 167**, vol. II, p. 171) onde observa-se uma interação entre C-2 com H-1 e H-3 a ²J_{H-C} e ³J_{H-C}, respectivamente e de C-28 com δ 1,69 (*t*, 11,9 Hz, H-18) a ³J_{H-C}, justificando a carboxila na posição 28. A análise extensiva dos espectros de RMN uni e bidimensionais (**Tabela 36**) permitiram identificar a substância **Zg6** como um triterpeno pentacíclico do tipo ceanotano conhecido como ácido ceanótico (**Figura 37**) (KANG et al., 2016a).

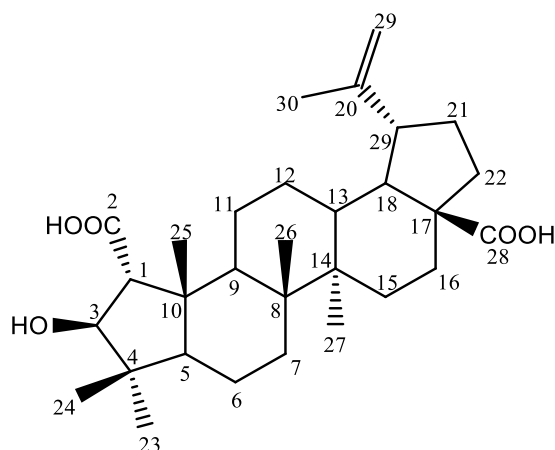


Figura 37. Estrutura da substância **Zg6**, ácido ceanótico.

Tabela 36. Dados de RMN da substância **Zg6** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC		Referência*	
	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C	δ_H (mult., J em Hz)
1	67,0 CH	3,21 (s)	67,0	3,19 (s)
2	178,0 CO	-	178,0	-
3	84,7 CH	4,82 (s)	84,7	4,81 (s)
4	43,5 C	-	43,8	-
5	57,0 CH	2,22 (m)	57,0	-
6	19,1 CH ₂	1,46-1,55 (m)	19,1	-
7	34,7 CH ₂	1,45 (m), 1,53 (m)	34,7	-
8	43,5 C	-	43,5	-
9	45,0 CH	2,20 (m)	45,1	-
10	49,6 C	-	49,6	-
11	24,2 CH ₂	1,59 (dd, 4,2 e 12,6), 2,10 (d, 13,7)	24,2	-
12	26,2 CH ₂	1,32 (dd, 4,2 e 13,2), 1,95 (m)	26,2	-
13	39,1 CH	2,78 (td, 3,4 e 8,2)	39,1	2,76 (td, 11,5 e 2,5)
14	42,1 C	-	42,1	-
15	30,5 CH ₂	1,23 (dt, 3,2 e 13,6), 1,91 (m)	30,5	-
16	32,9 CH ₂	1,47 (m), 2,60 (dt, 3,4 e 12,8)	32,9	-
17	56,6 C	-	56,6	-
18	49,7 CH	1,69 (t, 11,9)	49,7	-
19	47,6 CH	3,49 (m)	47,6	3,49 (m)
20	150,1 C	-	151,2	-
21	31,2 CH ₂	1,49 (m), 2,23 (m)	31,3	-
22	37,5 CH ₂	1,52 (m), 2,22 (m)	37,5	-
23	31,4 CH ₃	1,43 (s)	31,5	1,42 (s)
24	20,3 CH ₃	1,28 (s)	20,3	1,27 (s)
25	18,8 CH ₃	1,39 (s)	18,8	1,38 (s)
26	17,0 CH ₃	1,15 (s)	17,0	1,15 (s)
27	15,1 CH ₃	1,08 (s)	15,1	1,07 (s)
28	178,8 CO	-	178,8	-
29	109,7 CH ₂	4,66 (sl), 4,86 (sl)	109,8	4,66 (s), 4,85 (s)
30	19,5 CH ₃	1,66 (s)	19,6	1,66 (s)

* KANG et al., 2016a (600 MHz, C₅D₅N).

6.3.7. Elucidação estrutural da substância **Zg7**

A amostra **Zg7** foi isolada na forma de uma goma de coloração amarronzada. A análise de EM-AR-ESI (**Figura 168**, vol. II, p. 172) mostrou dois picos relacionados aos íons adutos em m/z 443,1660 $[M+Na]^+$ e 863,3436 $[2M+Na]^+$, compatíveis com as fórmulas moleculares $C_{22}H_{28}O_8Na$ (calcd. m/z 443,1676) e $C_{44}H_{56}O_{16}Na$, respectivamente. No espectro de RMN 1H (**Figura 169**, vol. II, p. 173) observa-se a presença de um padrão de sinais diferentes do observado para os triterpenos descritos anteriormente, sendo indicativo de uma classe diferente de metabólitos. Nota-se a presença de dois sinais de prótons de sistemas aromáticos em δ_H 6,35 (*s*, H-2'/H-6') e 6,45 (*s*, H-2), além de sinais de metoxilas em 3,30 (*s*, OMe-5), 3,79 (*s*, OMe-3'/OMe-5') e 3,88 (*s*, OMe-3). No espectro de RMN ^{13}C e DEPT-135 (**Figura 170 e 171**, vol. II, p. 174 e 175) observou-se a presença de uma série de carbonos sp^2 , incluindo sp^2 oxigenados, compatíveis com a presença de dois anéis aromáticos, além de três carbonos metilênicos em 33,5 (C-7), 63,9 (C-9') e 66,7 (C-9) e três carbonos metínicos em 40,4 (C-8'), 43,1 (C-7') e 49,5 (C-8). No espectro de HSQC (**Figura 173**, vol. II, p. 176) observa-se as correlações diretas entre carbonos e hidrogênios sendo possível assinalar os prótons diastereotópicos da estrutura como o C-7 ligado aos hidrogênios em δ_H 2,58 (*dd*, 4,4 e 15,2 Hz, H-7a) e 2,66 (*dd*, 11,6 e 15,2 Hz, H-7a), C-9 com os prótons em 3,62 (*dd*, 6,7 e 10,9 Hz, H-9a) e 3,74 (*dd*, 4 e 7,8 Hz, H-9b) e C-9' com os prótons em 3,56 (*dd*, 6 e 11 Hz, H-9'a) e 3,78 (*m*, H-9'b). No espectro de COSY (**Figura 172**, vol. II, p. 176) observa-se sinais de interações homonucleares entre os hidrogênios diastereotópicos H-7 e H-9 com o próton em δ_H 1,90 (*m*, H-8) e dos prótons H-7' e H-9' com o próton em 1,75 (*m*, H-8'). A posição das metoxilas na estrutura foi assinalada com o auxílio do experimento de HMBC (**Figura 174**, vol. II, p. 178) onde observou-se sinais de interação a $^3J_{H-C}$ entre OMe-3 com o carbono sp^2 oxigenado em δ_C 146,2 (C-3), OMe-5 com o carbono em 145,5 e as metoxilas OMe-3' e OMe-5' com o carbono em 146,7 (C3'/C-5'), além da interação homonuclear espacial entre os prótons das metoxilas e os prótons de sistema aromático reveladas pelos sinais observados no espectro de NOESY 2D (**Figura 175**, vol. II, p. 179). Os dados de RMN (**Tabela 37**) auxiliaram na identificação da substância **Zg7** como sendo a lignana do tipo ariltetralina conhecida por (+)-lioniresinol (**Figura 38**) (ITOH et al., 2010).

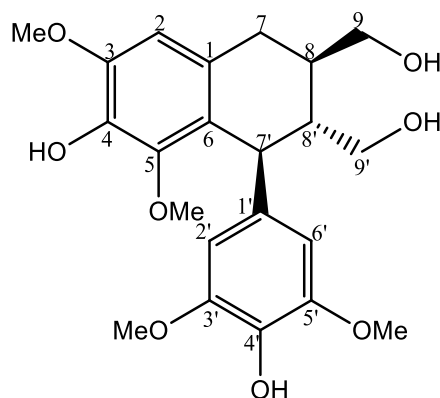


Figura 38. Estrutura da substância Zg7, (+)-lionirosinol.

Tabela 37. Dados de RMN da substância Zg7 (400 MHz, CDCl₃).

		HSQC		Referência*	
-	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C	δ_H (mult., J em Hz)	
1	128,6 C	-	128,7		
2	105,9 CH	6,45 (s)	106,0	6,45 (s)	
3	146,2 C	-	146,2	-	
4	137,0 C	-	137,1	-	
5	145,5 C	-	145,6	-	
6	125,2 C	-	125,3	-	
7	33,5 CH ₂	2,66 (dd, 11,6 e 15,2) 2,58 (dd, 4,4 e 15,2)	33,7	2,68 (dd, 11,5 e 15,3) 2,59 (dd, 3,8 e 15,3)	
8	49,5 CH	1,75 (m)	49,6	1,77 (m)	
9	66,7 CH ₂	3,62 (dd, 6,7 e 10,9) 3,74 (dd, 4 e 7,8)	66,9	3,64 (dd, 6,9 e 10,7) 3,77 (dd, 4,6 e 10,7)	
1'	138,2 C	-	138,4	-	
2'	105,4 CH	6,35 (s)	105,4	6,34 (s)	
3'	146,7 C	-	146,8	-	
4'	132,8 C	-	132,9	-	
5'	146,7 C	-	146,8	-	
6'	105,4 CH	6,35 (s)	105,4	6,34 (s)	
7'	43,1 CH	4,01 (d, 7,6)	43,3	4,01 (d, 7,6)	
8'	40,4 CH	1,91 (m)	40,5	1,91 (m)	
9'	63,9 CH ₂	3,56 (dd, 6 e 11) 3,78 (m)	64,0	3,58 (dd, 6,1 e 11,5) 3,81 (dd, 3,8 e 11,5)	
OMe-3	56,1 CH ₃	3,88 (s)	56,2	3,88 (s)	
OMe-5	59,5 CH ₃	3,30 (s)	59,6	3,29 (s)	
OMe-3'	56,4 CH ₃	3,79 (s)	56,5	3,80 (s)	
OMe-5'	56,4 CH ₃	3,79 (s)	56,5	3,80 (s)	

* ITOH et al., 2010 (500 MHz, CDCl₃).

6.3.8. Elucidação estrutural da substância Zg8

A substância **Zg8** foi isolada na forma de um sólido amorfo amarelado. A análise de EM-AR-ESI em modo negativo (**Figura 176**, vol. II, p. 180) apresentou um pico de íon molecular desprotonado de m/z 501,3198 [M-H]⁻ compatível com a fórmula molecular

$C_{30}H_{45}O_6$ (calcd. m/z 501,3222). No espectro de RMN 1H (**Figura 177**, vol. II, p. 181) observa-se novamente a presença de sinais indicativos de esqueleto triterpênico do tipo lupano como cinco sinais de metilas em δ_H 1,05 (*s*, Me-23), 1,23 (*s*, Me-24), 1,39 (*s*, Me-25), 1,26 (*s*, Me-26) e 1,93 (*s*, Me-30), dois simpletos característicos de carbono metilênico terminal em 4,83 (*sl*, H-29a) e 5,07 (*sl*, H-29b) e um próton de carbono metínico oxigenado em δ_H 4,69 (*s*, H-3). Os espectros de RMN ^{13}C (BBD e DEPT-135) (**Figuras 178 e 179**, vol. II, p. 182 e 183), apresentaram sinais compatíveis com os grupamentos citados anteriormente e observou-se ainda sinais que permitiram propor a presença de duas carbonílas de ácido carboxílico em δ_C 178,6 (C-27) e 179,2 (C-28) e um carbono metilênico oxigenado em 61,8 (C-2). Com o auxílio do espectro de COSY (**Figura 180**, vol. II, p. 184) foi possível determinar as interações homonucleares dos anéis do triterpeno como do sinal em 2,34 (*m*, H-1) com os prótons do carbono metilênico oxigenado em 3,78 (*m*, H-2a) e 4,31 (*dd*, 4,3 e 10,6 Hz, H-2b). Esses dados permitiram definir o anel A do triterpeno como um anel pentacíclico (característico de triterpenos do tipo ceanotano). Com o auxílio do espectro de HSQC (**Figura 181**, vol. II, p. 185) foi possível definir as correlações heteronucleares diretas hidrogênio-carbono ($^1J_{H-C}$). No espectro de HMBC (**Figura 182**, vol. II, p. 186) observou-se sinais de interações heteronucleares a longa distância ($^{2,3}J_{H-C}$) sendo possível definir a posição dos grupamentos de ácido carboxílico devido aos sinais de interação entre C-27 e o hidrogênio em 2,99 (*m*, H-13) e do C-28 com o hidrogênio em 2,20 (*t*, 11,2 Hz, H-18). A configuração relativa dos grupos metílicos e metilênicos foram determinados com auxílio do espectro de ROESY 2D (**Figura 183**, vol. II, p. 187) onde observou-se a interação entre os prótons H-2 com o próton em δ_H 2,40 (*dd*, 2,6 e 12,3 Hz, H-9). Dessa maneira, a substância **Zg8** foi identificada, através dos dados de RMN (**Tabela 38**), como sendo o triterpeno do tipo ceanotano, conhecido como ácido cyphostemmico A (**Figura 39**), registrada na literatura por ter sido isolada da espécie *Cyphostemma adenocaula* (Vitaceae) (CHOUNA et al., 2016).

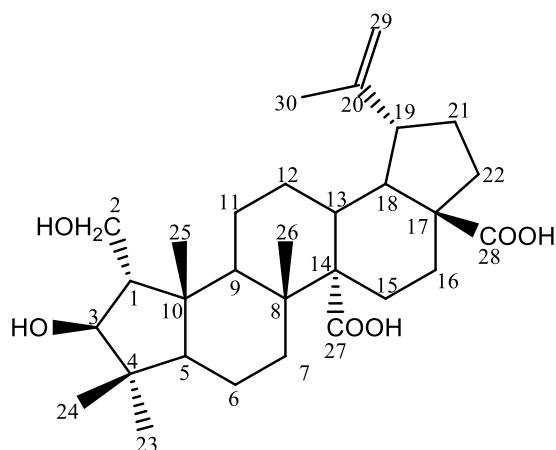


Figura 39. Estrutura da substância Zg8, ácido cyphostemmico A.

Tabela 38. Dados de RMN da substância Zg8 (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC		COSY ¹ H- ¹ H	HMBC ^{2,3} J _{H-C}	NOESY ¹ H↔ ¹ H	Ref.* δ _c
	δ _c mult.	δ _H (mult., J em Hz)				
1	62,7 CH	2,34 (m)	2	2, 3, 4, 5, 10, 25	2, 3, 25	60,9
2	61,8 CH ₂	3,78 (m), 4,31 (dd, 4,3 e 10,6)	1, 2	1, 3	1, 9, 5,	61,1
3	85,1 CH	4,69 (s)		1, 4, 5, 10, 23, 24	1, 2, 23	84,8
4	43,3 C	-				42,5
5	58,8 CH	1,56 (m)	6			58,2
6	19,2 CH ₂	1,47-1,59 (m)	5, 7			18,2
7	37,7 CH ₂	1,53 (m), 2,29 (m)	6			37,0
8	41,3 C	-				40,4
9	43,5 CH	2,40 (dd, 2,6 e 12,3)	11	8, 10, 11, 25, 26	5, 7, 12	42,9
10	46,7 C	-				45,8
11	24,0 CH ₂	1,50 (m), 1,62 (m)	9, 12			23,2
12	26,6 CH ₂	2,00 (m), 2,73 (m)	11, 12, 13			25,7
13	40,6 CH	2,99 (m)	12, 18	12, 14, 17, 18, 27	12, 26	38,9
14	60,4 C	-				59,8
15	28,8 CH ₂	1,96 (m), 2,56 (m)	15, 16			27,8
16	35,4 CH ₂	1,98 (m), 2,93 (m)	15, 16			34,5
17	56,6 C	-				56,3
18	52,4 CH	2,20 (t, 11,2)	18, 19	13, 14, 16, 17, 19, 20, 28	16	51,6
19	47,9 CH	3,70 (m)	18, 21	20, 21	21	47,2
20	151,1 C	-				150,5
21	31,1 CH ₂	1,54 (m), 2,28 (m)	19, 21, 22			30,2
22	37,9 CH ₂	1,91 (m), 2,05 (m)	21, 22			37,2
23	33,1 CH ₃	1,05 (s)		3, 4, 5, 24	3, 24	31,8
24	20,4 CH ₃	1,23 (s)		3, 4, 5, 23	23	18,9
25	19,9 CH ₃	1,39 (s)		1, 5, 9, 10,	1, 24, 26	18,4
26	18,3 CH ₃	1,26 (s)		7, 8, 9, 14	13, 15, 25	17,9
27	178,6 C	-				178,2

28	179,2 C	-				177,1
29	110,2 CH ₂	4,83 (<i>sl</i>), 5,07 (<i>sl</i>)	30	19, 30	19, 30	108,9
30	19,3 CH ₃	1,93 (<i>s</i>)	19, 29	29	18, 29	17,9

* CHOUNA et al., 2016 (125 MHz, CD₃OD:CDCl₃ 1:1).

6.3.9. Elucidação estrutural da substância **Zg9**

A substância **Zg9** foi isolada na forma de um sólido amorfo de cor branca. Na análise de EM-AR-ESI (**Figura 184**, vol. II, p. 188) em modo negativo observa-se dois picos que envolvem o íon molecular desprotonado em m/z 515,3018 [M-H]⁻ e 1031,6105 [2M-H]⁻, compatíveis com as fórmulas moleculares C₃₀H₄₃O₇ (calcd. m/z 515,3014) e C₆₀H₈₇O₁₄, respectivamente. No espectro de RMN ¹H (**Figura 185**, vol. II, p. 180) observa-se novamente a presença de sinais característicos de esqueleto triterpênico, sendo similar aos isolados e descritos anteriormente, como quatro sinais pertencentes a cinco metilas em δ_H 1,29 (*s*, Me-23/Me-26), 1,25 (*s*, Me-24), 1,46 (*s*, Me-25) e 1,83 (*s*, Me-30), dois simpletos característicos dos prótons metilênicos oxigenados em 4,67 (*sl*, H-29a) e 5,00 (*sl*, H-29b) e o próton do carbono metínico oxigenado em 4,82 (*s*, H-3). No espectro de RMN ¹³C e DEPT-135 (**Figuras 186 e 187**, vol. II, p. 190 e 191) observa-se o mesmo padrão de sinais da substância descrita anteriormente (**Zg8**) com a adição de mais um sinal de carbonila de ácido carboxílico em 178,0 (C-2), 178,5 (C-27) e 179,3 (C-28). Com o auxílio do espectro de COSY (**Figura 188**, vol. II, p. 192) foi possível definir as vizinhanças dos prótons na estrutura. As correlações heteronucleares diretas (¹J_{H-C}) foram definidas com auxílio do espectro de HSQC (**Figura 189**, vol. II, p. 193) onde, por exemplo, observa-se a correlação do próton em 4,82 (*s*) com o carbono em 84,6 (H-3/C-3), dos prótons metilênicos terminais (H-29) com o carbono sp² em δ_C 110,1. A posição das carboxilas, novamente, foram definidas com auxílio do espectro de HMBC (**Figura 190**, vol. II, p. 194) onde observaram-se as correlações a ^{2,3}J_{H-C} do próton H-1 (δ_H 3,25 *s*) e H-3 com o C-2, H-13 (3,01 *dt*, 4,5 e 12,8 Hz) com C-27 e H-18 (2,21 *m*) com C-28. A configuração relativa dos grupos metílicos foi assinalada com a análise do espectro de ROESY (**Figura 191**, vol. II, p. 195). Os dados analisados (**Tabela 39**) forneceram informações pertinentes para que a substância **Zg9** fosse identificada como mais um ácido triterpênico do tipo ceanotano conhecido como ácido ceanotétrico (**Figura 40**) (LI et al., 1997).

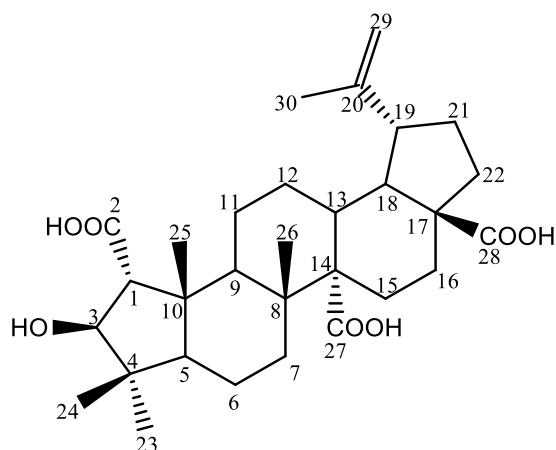


Figura 40. Estrutura da substância Zg9, ácido ceanotétrico.

Tabela 39. Dados de RMN da substância Zg9 (400 MHz, C₅D₅N).

C		HSQC	COSY	HMBC	ROESY	Ref.*
-	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	$^1H-^1H$	$^{2,3}J_{H-C}$	$^1H \leftrightarrow ^1H$	δ_C
1	67,1 CH	3,25 (s)	3	2, 3, 4, 5, 10, 25	3, 11, 25	67,1
2	178,0 C	-				178,0
3	84,6 CH	4,82 (s)	1	1, 2, 4, 5, 23, 24	1, 5, 23	84,6
4	43,7 C	-				43,7
5	57,1 CH	2,21 (m)	6			57,2
6	19,1 CH ₂	-	5, 7			19,2
7	37,7 CH ₂	1,52 (m), 2,27 (m)	6			37,7
8	41,6 C	-				41,6
9	46,0 CH	2,66 (dd, 2,4 e 12,5)	11	1, 8, 10, 11, 14, 25, 26	5, 11	46,1
10	50,1 C	-				50,1
11	24,3 CH ₂	1,72 (dq, 4,5 e 12,8), 2,30 (m)	9, 12		26	24,3
12	27,0 CH ₂	2,08 (m), 2,81 (dq, 4,8 e 12,9)	11, 13			27,0
13	40,5 CH	3,01 (td, 4,5 e 12,8)	12, 18	12, 14, 17, 18, 27	12, 26	40,5
14	60,3 C	-				60,3
15	28,8 CH ₂	1,93 (m), 2,56 (m)	16	27		28,9
16	35,4 CH ₂	1,95 (m), 2,92 (m)	15	28		35,4
17	56,6 C	-				56,6
18	52,3 CH	2,21 (m)	13, 19	28		52,3
19	47,8 CH	3,66 (m)	18, 21	18, 21, 29	13, 17, 21, 29, 30	47,8
20	151,0 C	-				151,0
21	31,1 CH ₂	1,50 (m), 2,28 (m)	19, 22			31,1
22	37,7 CH ₂	1,89 (m), 2,15 (m)	21			37,7
23	31,4 CH ₃	1,29 (s)		3, 4, 5, 24	3, 5	31,4
24	20,3 CH ₃	1,25 (s)		3, 4, 5, 23	25	20,3
25	19,4 CH ₃	1,46 (s)		1, 5, 9, 10	1, 24	19,5
26	18,1 CH ₃	1,29 (s)		7, 8, 9, 14	11, 13	18,1
27	178,5 C	-				178,5

28	179,3 C	-			179,3
29	110,1 CH ₂	4,67 (<i>sl</i>), 5,00 (<i>sl</i>)	19, 30	18, 19, 30	110,1
30	19,4 CH ₃	1,83 (<i>s</i>)	19, 20, 30	19, 30	19,5

* LI et al., 1997 (360 MHz, C₅D₅N).

6.3.10. Elucidação estrutural da substância Zg10

A substância **Zg10** foi isolada na forma de um sólido amorfo de coloração amarelada. A análise de EM-AR-ESI (**Figura 192**, vol. II, p. 196) revelou a presença de três picos relacionados aos íons moleculares protonados em m/z 605,4030 [M+H-H₂O]⁺, 623,4133 [M+H]⁺ e 1245,8195 [2M+H]⁺, compatíveis com as fórmulas moleculares C₃₅H₅₇O₈ (calcd. m/z 605,4048), C₃₅H₂₉O₉ (calcd. m/z 623,4154) e C₇₀H₁₁₇O₁₈, respectivamente. No espectro de RMN ¹H (**Figura 193**, vol. II, p. 197) observa-se a presença de um padrão de sinais iguais ao da substância **Zg4** (ziziglaziovigenina) descrita anteriormente, com a adição de um duplete em δ_H 4,79 (*d*, 7, H-1') e uma série de sinais na região mais desprotegida do espectro (3,80-4,80) indicando a presença de uma unidade de sacarídeo ligada a estrutura. No espectro de RMN ¹³C (BBD) e DEPT-135 (**Figuras 194 e 195**, vol. II, p. 198 e 199), observa-se também a semelhança com a aglicona **Zg4** com adição do sinal de carbono anomérico em δ_C 107,5 (C-1') e dos carbonos metínicos oxigenados do monossacarídeo. Com o auxílio do espectro de COSY (**Figura 196**, vol. II, p. 200) foi possível determinar as vizinhanças dos prótons tanto da aglicona como do sacarídeo. Com a análise do espectro de HSQC (**Figura 197**, vol. II, p. 201) foi possível determinar inequivocadamente os deslocamentos químicos dos prótons do sacarídeo como a correlação a ¹J_{H-C} do próton e carbono anomérico. A porção sacarídica da substância foi determinada de acordo com os deslocamentos químicos observados, principalmente os de ¹³C e comparação com dados da literatura, sendo definida como uma porção α -L-arabinopiranosose. Sua posição foi determinada com o auxílio dos espectros de HMBC e ROESY (**Figuras 198 e 199**, vol. II, p. 202 e 203) onde observou-se a interação a ³J_{H-C} entre o próton H-1' com o carbono 3 da aglicona (δ_C 88,5) e da interação espacial entre H-1' e H-3 (δ_H 3,33 *dd*, 4,4 e 11,7 Hz). Assim, as análises dos espectros da substância **Zg10** (**Tabela 40**) permitiram identifica-la como sendo um triterpenoide de esqueleto do tipo damarano inétido na literatura científica, ziziglaziovigenina 3-O- α -L-arabinopiranosídeo (**Figura 41**).

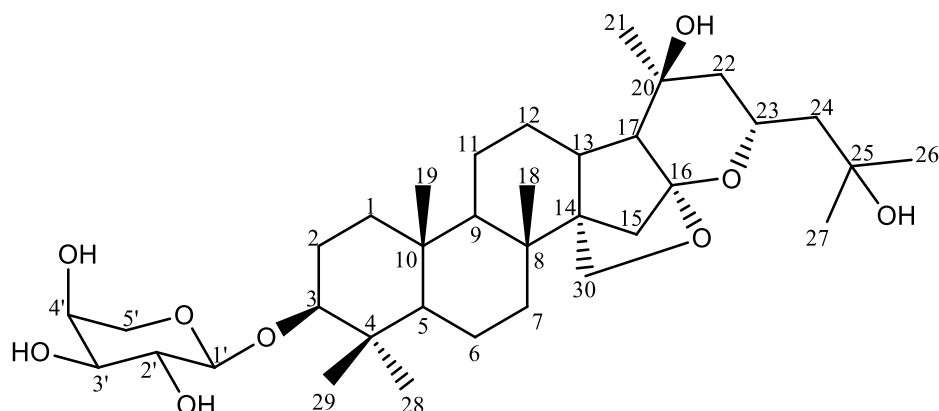


Figura 41. Estrutura da substância **Zg10**, zizigliovigenina 3-O-β-D-arabinopiranosídeo.

Tabela 40. Dados de RMN da substância **Zg10** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC	COSY	HMBC	NOESY	
-	δ _C mult.	δ _H (mult., J em Hz)	¹ H- ¹ H	^{2,3} J _{H-C}	¹ H↔ ¹ H
1	38,7 CH ₂	0,86 (<i>dd</i> , 3,5 e 13,1), 1,60 (<i>m</i>)	2		
2	26,8 CH ₂	1,87 (<i>m</i>), 2,21 (<i>dd</i> , 4 e 13,6)	1, 3		3
3	88,5 CH	3,33 (<i>dd</i> , 4,4 e 11,7)	2	28, 29, 1, 1'	2
4	39,7 C	-	-		
5	56,1 CH	0,72 (<i>m</i>)	6	28	9
6	18,3 CH ₂	1,35 (<i>m</i>), 1,47 (<i>m</i>)	5, 7		
7	36,1 CH ₂	1,40 (<i>m</i>), 1,48 (<i>m</i>)			
8	37,6 C	-	-		
9	53,0 CH	0,90 (<i>m</i>)	11		5
10	37,3 C	-	-		
11	21,8 CH ₂	1,30 (<i>m</i>), 1,56 (<i>m</i>)	9		
12	28,5 CH ₂	1,79 (<i>m</i>), 1,92 (<i>m</i>)			
13	37,1 CH	2,81 (<i>m</i>)	12, 17	12, 15, 19, 21	15, 18, 21
14	54,1 C	-	-	-	-
15	36,7 CH ₂	1,48 (<i>m</i>), 2,44 (<i>d</i> , 8,5)		13, 14, 16, 30	13
16	110,5 C	-	-	-	-
17	53,9 CH	1,36 (<i>m</i>)	13		
18	18,9 CH ₃	1,06 (<i>s</i>)		7, 8, 9, 14	13
19	16,3 CH ₃	0,75 (<i>s</i>)		1, 5, 9, 10	28
20	68,5 C	-	-	-	-
21	30,2 CH ₃	1,36 (<i>s</i>)		17, 20, 22	13
22	46,3 CH ₂	1,61 (<i>m</i>), 1,83 (<i>m</i>)	23		23
23	69,2 CH	4,85 (<i>td</i> , 3 e 10,2)	22, 24		22, 26, 27
24	49,2 CH ₂	1,80 (<i>m</i>), 2,11 (<i>dd</i> , 8,9 e 14,3)	23	22, 23, 25, 26, 27	22, 23, 26/27
25	69,8 C	-	-	-	-
26	30,4 CH ₃	1,50 (<i>s</i>)		24, 25, 27	23
27	30,7 CH ₃	1,50 (<i>s</i>)		24, 25, 26	23
28	16,8 CH ₃	0,96 (<i>s</i>)		3, 4, 5, 29	29
29	28,1 CH ₃	1,24 (<i>s</i>)		3, 4, 5, 28	19, 28
30	65,9 CH ₂	4,17 (<i>m</i>), 4,25 (<i>d</i> , 8,5)			9, 12
1'	107,5 CH	4,79 (<i>d</i> , 7)	2'	3, 3', 5'	29, 2', 5'
2'	72,9 CH	4,44 (<i>t</i> , 7,8)	1',3'		1',3'

3'	74,6 CH		4,18 (<i>m</i>)	2',4'	2', 4'
4'	69,6 CH		4,36 (<i>m</i>)	3',5'	3', 5'
5'	66,8 CH ₂	3,83 (<i>dd</i> , 2,5 e 12,9), 4,33 (<i>m</i>)		4'	1', 3'
OH-20	-		5,95 (<i>s</i>)		17, 20, 22 21

6.3.11. Elucidação estrutural da substância Zg11

A substância **Zg11** foi isolada a forma de um sólido amorfo esbranquiçado. O espectro de EM-AR-ESI (**Figura 200**, vol. II, p. 204) apresentou dois picos referentes ao íon aduto de m/z 777,4368 $[M+Na]^+$, referente ao aduto da substância com sódio, e m/z 1531,8860 $[2M+Na]^+$ referente ao íon aduto dimérico com sódio, compatíveis com as fórmulas moleculares $C_{40}H_{66}O_{13}Na$ (calcd. m/z 777,4396) e $C_{80}H_{132}O_{26}Na$, respectivamente. Observa-se no espectro de RMN 1H (**Figura 201**, vol. II, p. 205) novamente o mesmo padrão de sinais da aglicona **Zg4** com a adição sinais característicos de porções glicosídicas como os sinais dos prótons de carbonos anoméricos em δ_H 4,91 (*d*, 6,3 Hz, H-1') e 6,18 (*sl*, H-1''). A mesma informação foi obtida nos espectros de RMN ^{13}C (BBD) e DEPT-135 (**Figuras 202 e 203**, vol. II, p. 206 e 207), pela presença de dois sinais de carbonos 106,0 (C-1') e 109,9 (C-1'') além dos sinais dos carbonos metínicos e metilênicos dos sacarídeos entre δ_C 65-88. A interação dos prótons e carbonos anoméricos foi confirmada pelo espectro de HSQC (**Figura 205**, vol. II, p. 209) que também permitiu o assinalamento inequívoco dos grupos metínicos e metilênicos dos sacarídeos. A posição dos sacarídeos na estrutura foi assinalada com auxílio dos sinais no espectro de HMBC (**Figura 206**, vol. II, p. 210) onde observaram-se interações a $^3J_{H-C}$ entre o próton de carbono anomérico H-1' com o carbono 3 da aglicona (δ_C 88,8) e do próton H-1'' com o carbono 2 do primeiro sacarídeo (δ_C 76,2). Obtiveram-se as mesmas informações pelo espectro de ROESY (**Figura 207**, vol. II, p. 211) cujos sinais são compatíveis com as interações espaciais de H-1' e H-3 (δ_H 3,26 *dd*, 4,4 e 12 Hz) e do próton H-1'' com o próton H-2' (δ_H 4,46 *dd*, 6,3 e 8,3 Hz). Os sacarídeos presentes na substância foram definidos com base nos experimentos descritos e comparações com modelos da literatura (**Tabela 41**) (LI et al., 2014). Assim, a substância **Zg11** foi identificada como sendo um triterpenoide de esqueleto do tipo damarano, inédito na literatura, ziziglaziovigenina-3-*O*- α -L-arabinofuranosil-(1-2)- α -L-arabinopiranosídeo (**Figura 42**).

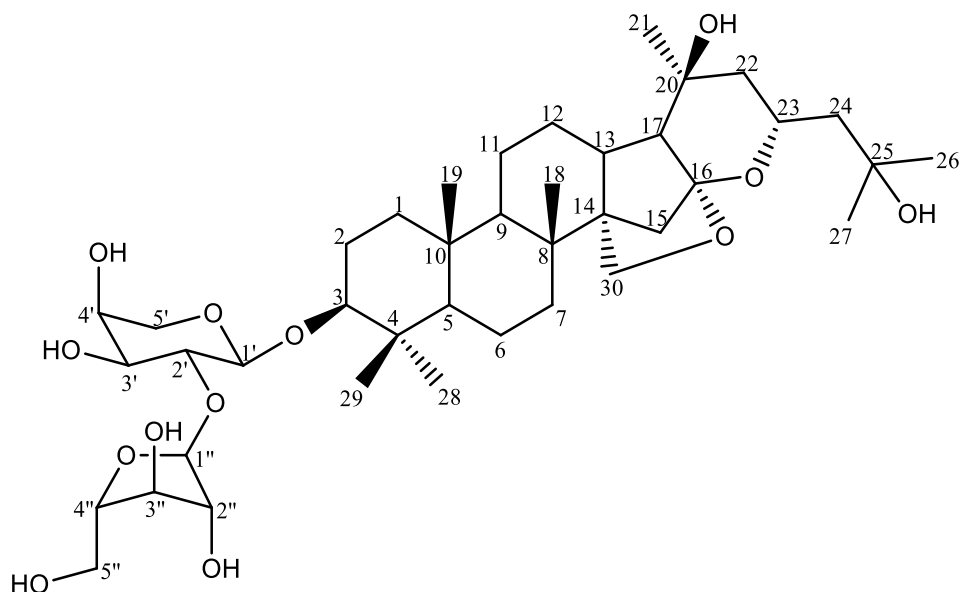


Figura 42. Estrutura da substância **Zg11**, ziziglaziovigenina-3-*O*- α -L-arabinofuranosil-(1-2)- α -L-arabinopiranosídeo.

Tabela 41. Dados de RMN da substância **Zg11** (400 MHz, C₅D₅N).

C		HSQC	COSY	HMBC	ROESY
-	δ_c mult.	δ_H (mult., <i>J</i> em Hz)	1H - 1H	$^{2,3}J_{H-C}$	$^1H \leftrightarrow ^1H$
1	38,7 CH ₂	0,80 (<i>m</i>), 1,60 (<i>m</i>)	2		
2	26,7 CH ₂	1,83 (<i>m</i>), 2,14 (<i>m</i>)	1, 3		
3	88,8 CH	3,26 (<i>dd</i> , 4,4 e 12)	2	4, 28, 29, 1'	1, 2, 5, 28, 1'
4	39,6 C	-			
5	56,0 CH	0,66 (<i>dl</i> , 11,3)	6		3, 9
6	18,3 CH ₂	1,31 (<i>m</i>), 1,45 (<i>m</i>)	5, 7		
7	36,0 CH ₂	1,35 (<i>m</i>), 1,48 (<i>m</i>)	6		
8	37,5 C	-			
9	53,0 CH	0,87 (<i>m</i>)	11		5, 11, 15
10	37,2 C	-			
11	21,8 CH ₂	1,33 (<i>m</i>), 1,53 (<i>m</i>)	9, 12		
12	28,5 CH ₂	1,78 (<i>m</i>), 1,81 (<i>m</i>)	11, 13		
13	37,1 CH	2,82 (<i>m</i>)	12, 17		18, 21, 15
14	53,9 C	-	-		
15	36,7 CH ₂	1,47 (<i>m</i>), 2,44 (<i>d</i> , 8,3)	-		13, 18
16	110,6 C	-	-		
17	54,1 CH	1,36 (<i>m</i>)	13		
18	18,8 CH ₃	1,04 (<i>s</i>)	-	7, 8, 9, 14	13, 15, 19
19	16,3 CH ₃	0,71 (<i>s</i>)	-	1, 5, 9, 10	1, 2, 18, 29
20	68,5 C	-	-		
21	30,2 CH ₃	1,36 (<i>s</i>)	-	17, 20, 22	13, 22
22	46,3 CH ₂	1,61 (<i>m</i>), 1,83 (<i>m</i>)	23		
23	69,2 CH	4,87 (<i>m</i>)	22, 24		15, 24, 26/27
24	49,2 CH ₂	1,81 (<i>m</i>), 2,11 (<i>m</i>)	23		23, 26/27
25	69,8 C	-	-		
26	30,4 CH ₃	1,50 (<i>s</i>)	-	24, 25, 27	24
27	30,7 CH ₃	1,50 (<i>s</i>)	-	24, 25, 26	24

28	28,0 CH ₃	1,23 (<i>s</i>)	-	3, 4, 5, 29	3, 5, 29, 1'
29	16,8 CH ₃	0,98 (<i>s</i>)	-	3, 4, 5, 28	2, 19, 29
30	65,8 CH ₂	4,18 (<i>m</i>), 4,28 (<i>m</i>)	-		15
1'	106,0 CH	4,91 (<i>d</i> , 6,3)	2'	3, 3', 5'	3, 28, 2', 3', 5'
2'	76,2 CH	4,46 (<i>dd</i> , 6,3 e 8,3)	1', 3'		1', 3', 1'', 2''
3'	73,6 CH	4,24 (<i>m</i>)	2', 4'		
4'	68,6 CH	4,30 (<i>m</i>)	3', 5'		
5'	65,9 CH ₂	3,78 (<i>m</i>), 4,31 (<i>m</i>)	4'		
1''	109,9 CH	6,18 (<i>sl</i>)	2''	2', 3'', 4''	29, 1', 2', 2''
2''	81,0 CH	5,05 (<i>m</i>)	1'', 3''	3'', 4''	2', 1'', 3''
3''	78,7 CH	4,87 (<i>m</i>)	2'', 4''	2''	2'', 4''
4''	88,3 CH	4,96 (<i>m</i>)	3'', 5''	3''	3''
5''	62,8 CH ₂	4,20-4,32 (<i>m</i>)	4''		

6.3.12. Elucidação estrutural da substância **Zg12**

A substância **Zg12** foi isolada na forma de um sólido amorfo de cor amarelada. No espectro de EM-AR-ESI (**Figura 208**, vol. II, p. 212) observa-se a presença de dois picos relacionados aos íons moleculares protonados de m/z 785,4641 $[M+H]^+$ e 767,4547 $[M+H-H_2O]^+$, compatíveis com as fórmulas moleculares C₄₁H₆₉O₁₄ (calcd. m/z 785,4682) e C₄₁H₆₇O₁₃, respectivamente. No espectro de RMN ¹H (**Figura 209**, vol. II, p. 213) observa-se novamente o mesmo padrão de sinais observado para a aglicona **Zg4**, assim como no espectro de ¹³C e DEPT-135 (**Figuras 210 e 211**, vol. II, p. 214 e 215). Em adição aos sinais da aglicona, observou-se a presença de dois sinais de prótons de carbonos anoméricos em δ_H 4,76 (*d*, 7,4 Hz, H-1') e 5,40 (*d*, 7,8 Hz, H-1'') que apresentam correlação direta a ¹J_{H-C} com os carbonos em δ_C 107,4 (C-1') e 106,4 (C-1''), respectivamente, quando analisado o espectro de HSQC (**Figura 213**, vol. II, p. 217). A análise do espectro de COSY (**Figura 212**, vol. II, p. 216) possibilitou a verificar as correlações dos prótons adjacentes da aglicona, assim como a dos sacarídeos. A análise do espectro de HMBC (**Figura 214**, vol. II, p. 218) permitiu propor a localização das unidades de sacarídeos devido às interações heteronucleares a ³J_{H-C} observadas entre o próton de carbonos anomérico H-1' com o carbono 3 da aglicona (δ_C 88,5) e do próton H-1'' com o carbonon 3' (δ_C 84,2). Os dados obtidos dos espectros de COSY, HSQC, HMBC e comparação com modelos da literatura (YIN et al 2006) possibilitaram a identificação das duas porções sacarídicas como sendo uma α -L-arabinopiranosose com uma porção de β -D-glicopiranosose ligada ao carbono 3', assim, a substância **Zg12** foi identificada como um triterpenoide do tipo damarano, zizigliovigenina 3-O- β -D-glicopiranosil-(1-3)- α -L-arabinopiranosídeo (**Figura 43**) que esta sendo descrito pela primeira vez na literatura científica. Os dados de RMN estão descritos na **Tabela 42**.

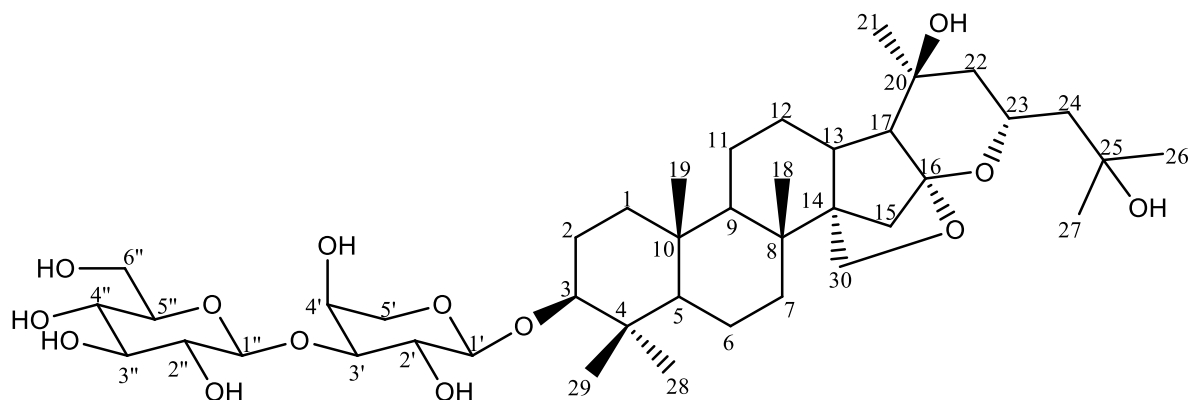


Figura 43. Estrutura da substância **Zg12**, zizigliovigenina 3-*O*- β -D-glicopiranosil-(1-3)- α -L-arabinopiranosídeo.

Tabela 42. Dados de RMN da substância **Zg12** (400 MHz, C₅D₅N).

C		HSQC	COSY	HMBC	NOESY
-	δ_C mult.	δ_H (mult., <i>J</i> em Hz)	1H - 1H	$^{2,3}J_{H-C}$	$^1H \leftrightarrow ^1H$
1	38,7 CH ₂	0,83 (<i>m</i>), 1,56 (<i>m</i>)	2		
2	26,8 CH ₂	1,87 (<i>m</i>), 2,17 (<i>m</i>)	1, 3		
3	88,5 CH	3,34 (<i>dd</i> , 4,4 e 11,8)	2		5, 29, 1'
4	39,8 C	-	-		
5	56,1 CH	0,71 (<i>m</i>)	6		3, 9
6	18,3 CH ₂	1,39 (<i>m</i>), 1,49 (<i>m</i>)	5, 7		
7	36,1 CH ₂	1,40 (<i>m</i>), 1,55 (<i>m</i>)	6		
8	37,6 C	-	-		
9	53,0 CH	0,89 (<i>dd</i> , 3 e 12,3)	11		5, 11
10	37,3 C	-	-		
11	21,8 CH ₂	1,32 (<i>m</i>), 1,55 (<i>m</i>)	9, 12		
12	28,5 CH ₂	1,78 (<i>m</i>), 1,92 (<i>m</i>)	11, 13		
13	37,1 CH	2,82 (<i>m</i>)	12, 17		11, 12, 18, 21
14	53,9 C	-	-		
15	36,7 CH ₂	1,48 (<i>m</i>), 2,44 (<i>d</i> , 8,2)	-		
16	110,6 C	-	-		
17	54,1 CH	1,37 (<i>m</i>)	13		
18	18,9 CH ₃	1,06 (<i>s</i>)	-	7, 8, 9, 14	19
19	16,3 CH ₃	0,73 (<i>s</i>)	-	1, 5, 9, 10	18
20	68,5 C	-	-		
21	30,2 CH ₃	1,37 (<i>s</i>)	-	17, 20, 22	
22	46,3 CH ₂	1,61 (<i>m</i>), 1,83 (<i>m</i>)	23		
23	69,2 CH	4,86 (<i>m</i>)	22, 24		15, 26/27
24	49,2 CH ₂	1,80 (<i>m</i>), 2,12 (<i>m</i>)	23		
25	69,8 C	-	-		
26	30,4 CH ₃	1,51 (<i>s</i>)	-	24, 25, 27	23, 24
27	30,7 CH ₃	1,51 (<i>s</i>)	-	24, 25, 26	23, 24
28	16,8 CH ₃	0,98 (<i>s</i>)	-	3, 4, 5, 29	29
29	28,0 CH ₃	1,28 (<i>s</i>)	-	2, 4, 5, 28	3, 28
30	65,9 CH ₂	4,19 (<i>m</i>), 4,26 (<i>m</i>)	-		
1'	107,4 CH	4,76 (<i>d</i> , 7,4)	2'	3, 2'	3, 2', 3'
2'	71,9 CH	4,61 (<i>t</i> , 8,6)	1', 3'	1'	1' 3'

3'	84,2 CH	4,24 (<i>m</i>)	2', 4'	1''	2'
4'	69,3 CH	4,46 (<i>sl</i>)	3', 5'		
5'	67,0 CH ₂	3,75 (<i>dl</i> , 11,5), 4,22 (<i>m</i>)	4'	1'	
1''	106,4 CH	5,40 (<i>d</i> , 7,8)	2''	3'	2''
2''	75,8 CH	4,05 (<i>t</i> , 8,3)	1'', 3''	1''	1'', 3''
3''	78,4 CH	4,26 (<i>m</i>)	2'', 4''	1''	
4''	71,6 CH	4,25 (<i>m</i>)	3'', 5''		
5''	78,7 CH	4,02 (<i>m</i>)	4'', 6''		
6''	62,7 CH ₂	4,40 (<i>dd</i> , 5,3 e 11,9), 4,57 (<i>dd</i> , 2,5 e 11,9)	5''		
OH-20	-	5,96 (<i>s</i>)	17	17, 20, 22	13, 21

6.3.13. Elucidação estrutural da substância Zg13

A substância **Zg13** foi isolada na forma de um sólido amorfo esbranquiçado. A análise de EM-AR-ESI em modo negativo (**Figura 216**, vol. II, p. 220) mostrou dois picos relacionados com íon molecular desprotonado em m/z 1253,5944 $[M-H]^-$ e íon aduto com cloreto de m/z 1289,5712 $[M+Cl]^-$ compatíveis com as fórmulas moleculares C₆₂H₉₃O₂₆ (calcd. m/z 1253,5961) e C₆₂H₉₄O₂₆Cl, respectivamente. No espectro de RMN ¹H (**Figura 217**, vol. II, p. 221) observa-se sinais característicos de esqueleto triterpênico como os de metilas em δ_H 1,02 (*s*, Me-18), 0,70 (*s*, Me-19), 1,45 (*s*, Me-21), 1,03 (*d*, 6,9 Hz, Me-26/Me-27), 1,03 (*s*, Me-28) e 1,25 (*s*, Me-29) e do próton em carbono metínico oxigenado em 3,22 (*dd*, 4,5 e 11,9 Hz, H-3). Alguns sinais diferem das substâncias descritas anteriormente sugerindo um esqueleto triterpênico diferente, como sinais de hidrogênio de carbono metilênico de uma vinilidina em 4,96 e 5,18 (*sl*, H-24a) pois apresentaram correlação a ³J_{H-C} (segundo sinais observados no espectro de HMBC, **Figura 222**, vol. II, p. 226) com os carbonos em δ_C 153,4 (C-24) e 34,1 (C-25), sugerindo uma cadeia lateral diferente das demais saponinas isoladas, as metilas 26 e 27 também apresentaram correlação a longa distância com C-25. A interpretação do espectro de COSY (**Figura 220**, vol. II, p. 224) possibilitou a confirmação das vizinhanças dos hidrogênios 22 em δ_H 4,68 (*dd*, 2,5 e 9,5) com o hidrogênio 23 em δ_H 2,61 (*dl*, 15,2) e 2,89 (*dd*, 9,6 e 15,5) e também das metilas 26 e 27 em δ_H 1,03 (*d*, 6,9 Hz) com o hidrogênio em 25 em 2,40 (*m*), caracterizando a cadeia lateral da aglicona. Na análise do espectro de ROESY (**Figura 223**, vol. II, p. 227) (**Figura 44**) observou-se interação espacial entre H-30 (δ_H 4,21 *m*) com H-9 (δ_H 0,75 *m*) e também de H-22 com H-17 (δ_H 2,11 *d*, 7,3 Hz), Me-21 e H-23, tais informações foram sugestivas para a definição da estereoquímica relativa do anel 16,22:16,30-diepóxi, assim como as correlações espaciais das metilas que foram utilizadas para a definição da configuração relativa do esqueleto triterpênico. Observa-se também no espectro de RMN ¹H a presença de sinais característicos

de prótons anoméricos em δ_H 4,71 (*d*, 7,7 Hz, H-1'), 5,40 (*d*, 7,8 Hz, H-1''), 5,66 (*d*, 8,2 Hz, H-1''') e 6,08 (*d*, 4,3 Hz, H-1''''), os sinais dos carbonos foram identificados também nos espectros de ^{13}C (BBD) e DEPT-135 (**Figuras 218 e 219**, vol. II, p. 222 e 223) em δ_C 104,5 (C-1'), 102,6 (C-1''), 104,2 (C-1''') e 111,3 (C-1''''), cujas correlações diretas a $^1J_{H-C}$ foram confirmadas pelo espectro de HSQC (**Figura 221**, vol. II, p. 225). A posição das porções sacarídicas na substância foram definidas com o auxílio do espectro de HMBC onde observaram-se as interações a $^3J_{H-C}$ entre o próton anomérico H-1' e o carbono 3 da aglicona em δ_C 88,5, o próton H-1'' apresentou correlação a longa distância com o carbono 2' (δ_C 83,1), H-1''' apresentou correlação a $^3J_{H-C}$ com carbono 2'' (δ_C 80,4) e H-1'''' apresentou correlação a $^3J_{H-C}$ com carbono 3'' (δ_C 87,9), os sacarídeos foram identificados como sendo três grupos β -D-glicopiranoses e um β -D-apiofuranose pelos deslocamentos químicos, especialmente dos de ^{13}C quando comparados a modelos da literatura (HIGUCHI et al., 1984) e valores de J , principalmente dos prótons dos carbonos anoméricos. Além dos quatro sacarídeos, uma porção 3-metóxi-4-hidróxibenzoato foi identificada estando ligada ao carbono 6''' (δ_C 64,5/ δ_H 5,13 *m*) que apresenta valores de deslocamento químico de hidrogênio desprotegido justificando a presença do grupo retirador (carboxila), a posição também foi definida com auxílio o espectro de TOCSY 2D (**Figura 224**, vol. II, p. 228), onde foi possível observar a rede de spins nucleares (no caso do sacarídeo β -D-glc''') e identificar uma interação a $^5J_{H-H}$ com do hidrogênio anomérico H-1''' com H-5''' (δ_H 4,12 *m*), que apresenta interação no espectro de COSY (1H - 1H) com H-6''', tal informação também foi observada no espectro de HMBC onde observa-se um sinal de acoplamento a $^3J_{H-C}$ entre os prótons do carbono 6''' (δ_H 5,13 *m*) e o carbono da carbonila (C-7'''). No espectro de RMN 1H observa-se os sinais característicos de anel aromático trissubstituído em δ_H 7,90 (*d*, 1,9 Hz, H-2'''), 7,30 (*d*, 8,3 Hz, H-5''') e 8,11 (*dd*, 1,9 e 8,3 Hz, H-6''') e da metoxila em 3,79 (*s*, OMe-3), os carbonos de sistema aromático oxigenados foram identificados no espectro de RMN ^{13}C em δ_C 148,3 (C-3'''), 153,1 (C-4''') e o sinal referente a carboxila da porção ester foi identificada em 166,9 (C-7'''). A diferença significativa dos valores de deslocamentos químicos dos prótons de carbonos anoméricos possibilitou a execução de experimento de TOCSY seletivo (**Figura 225**, vol. II, p. 229) onde, após as devidas irradiações, é possível observar as vizinhanças de cada próton. Tais dados também puderam ser observados no espectro de TOCSY 2D (**Figura 224**, vol. II, p. 228) que fornece informações pertinentes para o assinalamento da aglicona do triterpeno. Assim, a substância **Zg13** foi identificada como sendo uma saponina de esqueleto do tipo damarano inédita na literatura científica como sendo 16,22:16,30-diepóxi-20-hidróxidamar-24-metilideno 3-*O*- β -D-apiofuranosil-(1-3)-*O*-[6-(3-metóxi-4-hidróxibenzoato)-

β -D-glicopiranosil-(1-2)]- β -D-glicopiranosil-(1-2)- β -D-glicopiranosídeo (Figura 45). Os dados de RMN uni e bidimensionais estão descritos na Tabela 43.

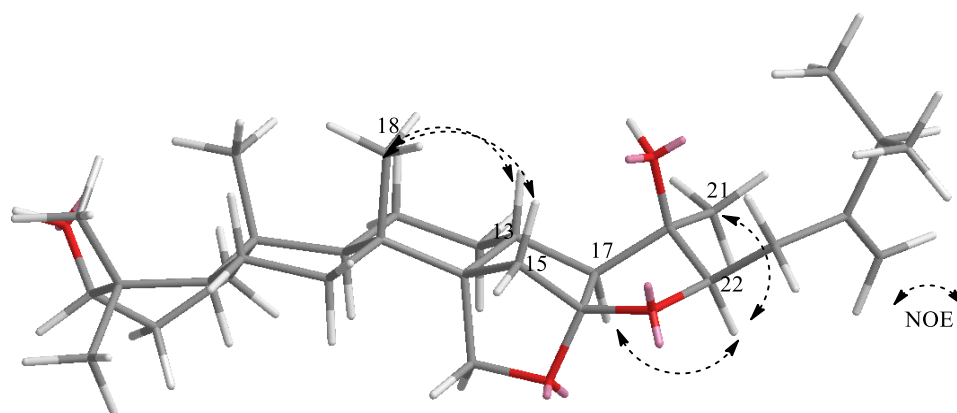


Figura 44. Correlações-chave para a determinação da configuração relativa do anel 16,22:16,30-diepóxi de **Zg13**.

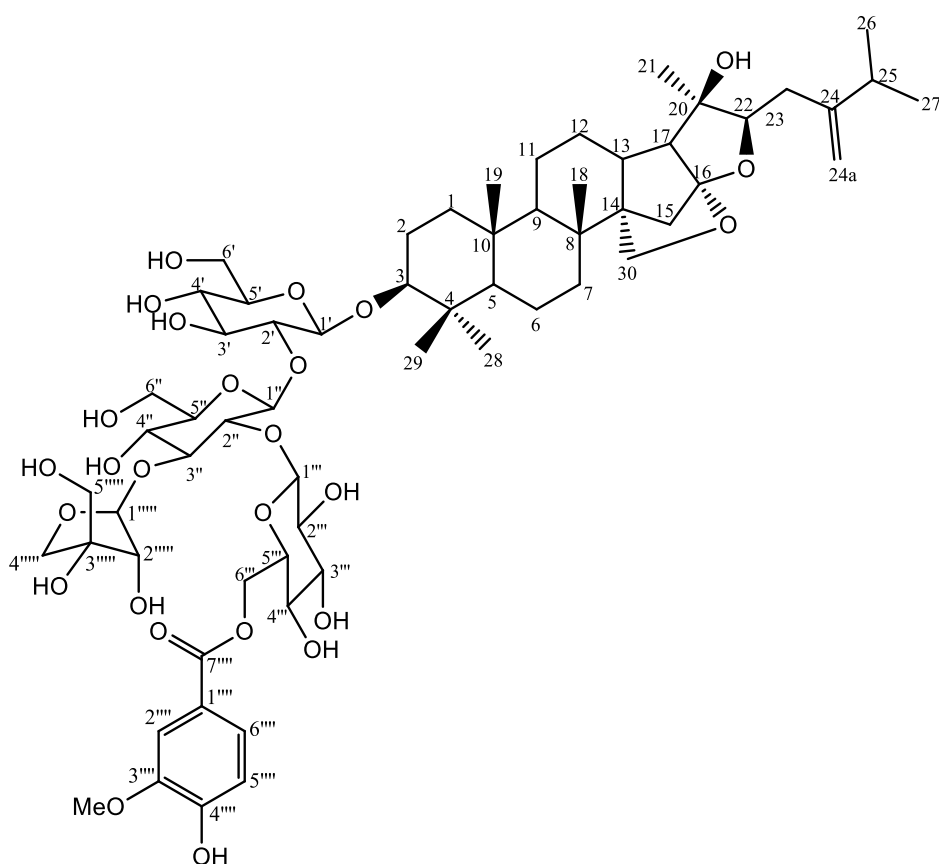


Figura 45. Estrutura da substância **Zg13**, 16,22:16,30-diepóxi-20-hidróxidamar-24-metilideno 3-*O*- β -D-apiofuranosil-(1-3)-*O*-[6-(3-metóxi-4-hidróxibenzoato)- β -D-glicopiranosil-(1-2)]- β -D-glicopiranosídeo-(1-2)- β -D-glicopiranosídeo.

Tabela 43. Dados de RMN da substância **Zg13** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC		COSY	HMBC	ROESY
	δ_C mult.	δ_H (mult., J em Hz)	$^1H-^1H$	$^{2,3}J_{H-C}$	$^1H \leftrightarrow ^1H$
1	38,7 CH ₂	0,75 (m), 1,47 (m)	2		
2	26,6 CH ₂	1,79 (m), 2,18 (m)	1, 3		
3	88,5 CH	3,22 (dd, 4,5 e 11,9)	2	4, 28, 29, 1'	2, 5, 28, 1'
4	39,5 C	-			
5	55,9 CH	0,64 (dl, 11,5)	6	4, 10, 28	1, 3, 6, 9, 28
6	18,2 CH ₂	1,30 (m), 1,46 (m)	5, 7		
7	36,0 CH ₂	1,29 (m), 1,47 (m)	6		
8	37,0 C	-			
9	52,4 CH	0,75 (m)	11		
10	37,0 C	-			
11	21,4 CH ₂	1,22-1,49 (m)	9, 12		
12	27,5 CH ₂	1,71-1,89 (m)	11, 13		
13	37,3 CH	2,68 (m)	12, 17		12, 15, 18,
14	56,7 C	-			
15	38,9 CH ₂	1,75 (d, 8,5), 2,13 (d, 8,5)		13, 14, 16, 17	13, 18, 30
16	118,4 C	-			
17	62,2 CH	2,11 (d, 7,3)	13		22
18	18,8 CH ₃	1,02 (s)		7, 8, 9, 14	13, 15, 19
19	16,4 CH ₃	0,70 (s)		1, 5, 9, 10	2, 18, 29
20	76,0 C	-			
21	23,9 CH ₃	1,45 (s)		17, 20, 22	17, 22, 23, 30
22	92,8 CH	4,68 (dd, 2,5 e 9,5)	23		17, 21, 23
23	34,7 CH ₂	2,61 (dl, 15,2), 2,89 (dd, 9,6 e 15,5)	22, 24	22, 24, 24a, 25	21, 22
24	153,4 C	-	23		
24a	108,6 CH	4,96 (o), 5,18 (sl)		24, 25	22
25	34,1 CH	2,40 (m)	26, 27		26, 27
26	21,8 CH ₃	1,03 (d, 6,9)	25	24, 25, 27	25
27	21,9 CH ₃	1,03 (d, 6,9)	25	24, 25, 26	25
28	16,7 CH ₃	1,05 (s)		3, 4, 5, 29	
29	28,0 CH ₃	1,25 (s)		3, 4, 5, 28	
30	65,8 CH ₂	4,21 (m)			21
1'	104,5 CH	4,81 (d, 7,7)	2'	3	3, 28, 2', 3', 4'
2'	83,1 CH	4,02 (t, 8,5)	1', 3'		1', 3', 1''
3'	78,3 CH	4,33 (m)	2', 4'		
4'	71,0 CH	4,06 (m)	3', 5'		
5'	77,8 CH	3,84 (m)	4', 6'		
6'	62,8 CH ₂	4,32 (m), 4,52 (dl, 11,8)	5'		
1''	102,6 CH	5,40 (d, 7,8)	2''	2'	2', 3'', 4'', 5''
2''	80,4 CH	4,34 (t, 8)	1'', 3''		
3''	87,9 CH	4,09 (m)	2'', 4''		
4''	69,7 CH	4,11 (m)			
5''	77,5 CH	3,72 (m)	3'', 5''		
6''	62,2 CH ₂	4,30-4,39 (m)	4''		
1'''	104,2 CH	5,66 (d, 8,2)	2'''	2''	2'', 2''', 5'''
2'''	75,7 CH	4,21 (m)	1''', 3'''		

3'''	78,3 CH	4,32 (<i>m</i>)	2''', 4'''	
4'''	71,2 CH	4,22 (<i>m</i>)	3'''	
5'''	75,7c CH	4,12 (<i>m</i>)	6'''	
6'''	64,5 CH ₂	5,13 (<i>m</i>)	5'''	7'''
1''''	121,7 C	-		
2''''	113,5 CH	7,90 (<i>d</i> , 1,9)		1''''', 3''''', 4''''', 6''''', 7'''''
3''''	148,3 C	-		
4''''	153,1 C	-		
5''''	116,5 CH	7,30 (<i>d</i> , 8,3)		1''''', 3''''', 4''''', 6'''''
6''''	125,1 CH	8,11 (<i>dd</i> , 1,9 e 8,3)		7'''''
7''''	166,9 C	-		2''''', 3''''', 7'''''
OMe	55,9 CH ₃	3,79 (<i>s</i>)		5'''''
1''''''	111,3 CH	6,08 (<i>d</i> , 4,3)	2''''''	3'', 1''', 2''''''
2''''''	77,3 CH	4,87 (<i>m</i>)	1''''''	3'', 4''''''
3''''''	80,1 C	-	-	
4''''''	74,8 CH ₂	4,28 (<i>m</i>), 4,78 (<i>d</i> , 9,2)		5''''''
5''''''	64,0 CH ₂	4,12 (<i>m</i>)		
OH-20	-	6,18 (<i>sl</i>)		17, 20, 22
OH-5'		5,84 (<i>sl</i>)		
OH-3'		5,69 (<i>sl</i>)		
OH-5''		5,68 (<i>sl</i>)		

6.3.14. Elucidação estrutural da substância Zg14

A substância **Zg14** foi isolada na forma de um sólido amorfo esbranquiçado. A análise de EM-AR-ESI em modo negativo (**Figura 226**, vol. II, p. 230) apresentou um pico de íon molecular desprotonado de m/z 1271,6069 [M-H]⁻ e um pico de íon aduto com formiato de m/z 1317,6099 [M+HCOO]⁻ compatíveis com as fórmulas moleculares C₆₂H₉₅O₂₇ (calcd. m/z 1271,6066) e C₆₃H₉₇O₂₉, respectivamente. No espectro de RMN ¹H (**Figura 227**, vol. II, p. 231) observa-se a presença de sinais semelhantes a substância **Zg13**, assim como nos espectros de RMN ¹³C (BBD) e DEPT-135 (**Figuras 228 e 229**, vol. II, p. 232 e 233), com a adição de sinal de uma metila em δ_H 1,48 (*s*, Me-30) que apresenta correlação a ¹J_{H-C} com δ_C 10,3 (C-30) (via espectro de HSQC, **Figura 231**, vol. II, p. 235) sugerindo a abertura do anel 16,30-epóxi, outro sinal diferente da saponina Zg13 foi detectado em δ_H 4,54 (*s*, H-15) ligado ao carbono carbinólico representado pelo sinal em δ_C 76,8 (C-15) permitindo propor uma hidroxilação na posição 15 da estrutura, justificando a diferença observada no espectro de massas. A cadeia sacarídica da saponina foi determinada por comparação com o espectro de RMN ¹H e ¹³C da substância **Zg13** sendo a mesma porção sacarídica. A posição da cadeia sacarídica foi determinada pelo espectro de HMBC (**Figura 232**, vol. II, p. 236) onde

observou-se um sinal de correlação a $^3J_{H-C}$ entre δ_H 4,83 (*d*, 7,9 Hz, H-1') com o carbono em δ_C 88,5 (C-3). A configuração relativa da metila em 30 foi determinada por experimento de ROESY (**Figura 233**, vol. II, p. 237) onde observou-se um sinal de interação espacial com o sinal em δ_H 2,38 (*d*, 11,5 Hz, H-17), atribuiu-se ao grupo hidroxílico ligado ao carbono 15 a posição α devido à interação espacial entre seu próton com o sinal da metila 18 em δ_H 1,04 (*s*, Me-18) e o próton metínico 13 em δ_H 2,58 (*m*, H-13) (**Figura 46**). Assim como a substância **Zg13**, a porção 3-metóxi-4-hidróxibenzoato está ligada ao carbono 6''' devido ao sinal de correlação a $^3J_{H-C}$ entre δ_H 5,13 (*m*, H-6''') e o carbono em δ_C 166,8 (C-7'''). Os espectros de TOCSY 2D e TOCSY seletivo (**Figuras 234 e 235**, vol II, p. 238 e 239) forneceram praticamente as mesmas informações da substância **Zg13**. Assim, com base nos dados de RMN uni e bidimensionais (**Tabela 44**) a substância **Zg14** foi determinada como sendo uma saponina de esqueleto do tipo damarano, 16,22-epóxi-15,16,20-trihidróxidamar-24-metilideno-3-*O*- β -D-apiofuranosil-(1-3)-*O*-[6-(3-metóxi-4-hidróxibenzoato)- β -D-glicopiranosil-(1-2)]- β -D-glicopiranosil-(1-2)- β -D-glicopiranosídeo (**Figura 47**), que está sendo descrita pela primeira vez na literatura científica.

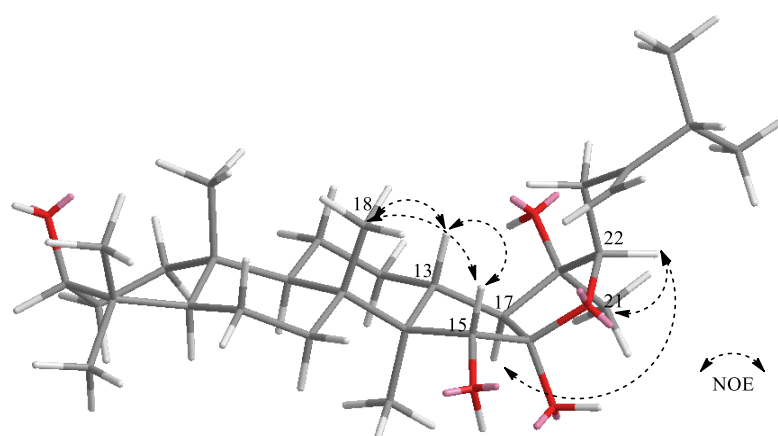


Figura 46. Correlações-chave para a determinação da configuração relativa do anel 15,16-dihidróxi-16,22-epóxi de **Zg14**.

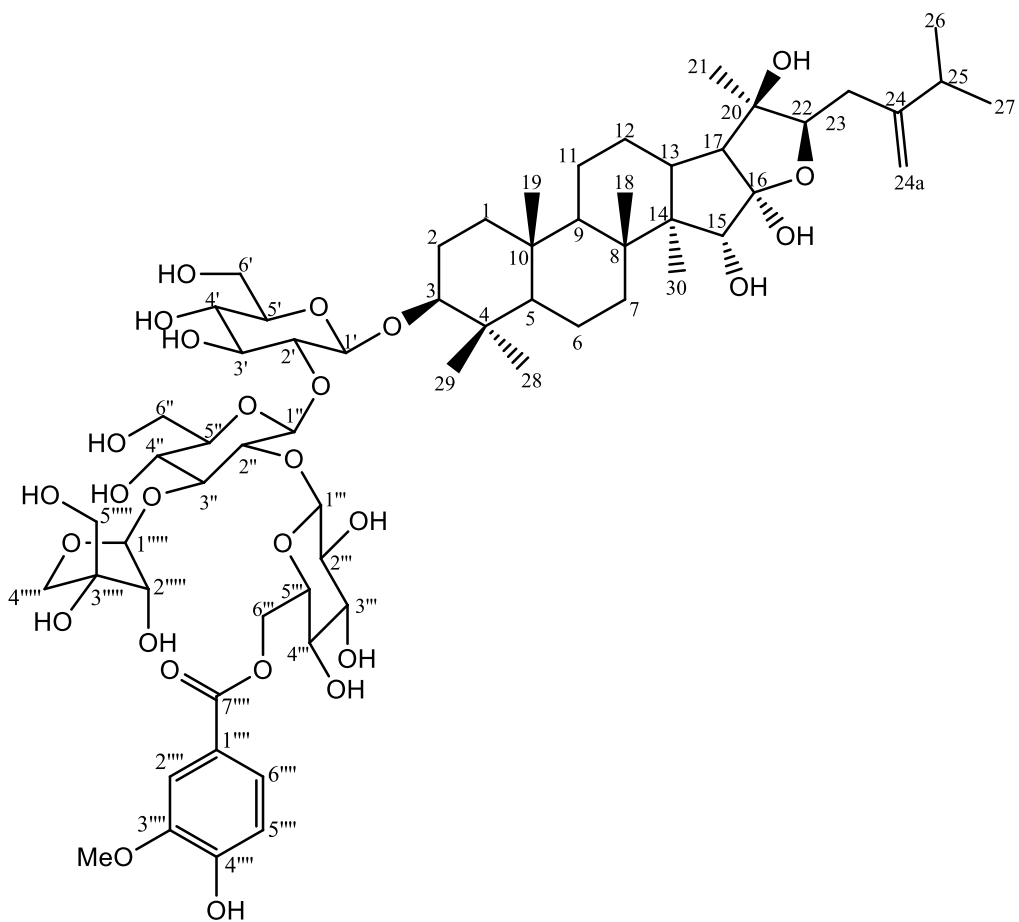


Figura 47. Estrutura da substância **Zg14**, 16,22-epóxi-15, 16, 20-trihidroxidamar-24-metilideno 3-*O*- β -D-apiofuranosil-(1-3)-*O*-[6-(3-metóxi-4-hidróxibenzoato)- β -D-glicopiranosil-(1-2)]- β -D-glicopiranosídeo-(1-2)- β -D-glicopiranosídeo.

Tabela 44. Dados de RMN da substância **Zg14** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC		COSY	HMBC	ROESY
	δ_C	δ_H (J em Hz)	$^1H-^1H$	$^{2,3}J_{H-C}$	$^1H \leftrightarrow ^1H$
1	39,4 CH ₂	0,84 (m), 1,46 (m)	2		
2	26,8 CH ₂	1,80 (m), 2,20 (m)	1, 3		
3	88,5 CH	3,29 (dd, 4,4, 11,7)	2	28, 29, 1'	1, 2, 19, 28, 1'
4	39,6 C	-	-		
5	56,3 CH	0,76 (m)	6		
6	18,3 CH ₂	1,31 (t, 7), 1,46 (m)	5, 7	5	
7	36,6 CH ₂	1,83 (m)	6		
8	41,4 C	-	-		
9	51,2 CH	1,43 (m)	11		30
10	37,1 C	-	-		
11	21,7 CH ₂	1,26 (m), 1,46 (m)	9, 12		
12	26,8 CH ₂	1,48 (m), 2,06 (m)	11, 13		
13	36,3 CH	2,58 (m)	12, 17		12, 15, 18, 21
14	53,4 C	-	-		
15	76,8 CH	4,54 (s)	-	8, 14, 16, 30	13, 18
16	110,8 C	-	-		
17	63,0 CH	2,38 (d, 11,5)	13	16, 21	21, 30
18	16,2 CH ₃	1,04 (s)	-	7, 8, 9, 14	13, 15, 17, 19
19	16,7 CH ₃	0,74 (s)	-	1, 5, 9, 10	3, 18, 29
20	78,3 C	-	-		
21	27,1 CH ₃	1,62 (s)	-	17, 20, 22	17, 22, 23
22	87,0 CH	4,36 (m), 4,62 (dd, 2,4 e 9,8)	23		17, 21, 23
23	34,1 CH ₂	2,63 (d, 15,9), 2,84 (dd, 9,8 e 15,9)	22	16, 22, 24, 24a, 25	22, 26
24	154,1 C	-	-		
24a	108,2 CH ₂	4,98 (s), 5,20 (s)	-	25	26/27
25	34,0 CH	2,42 (m)	26, 27	24, 24a, 26/27	26, 27
26	21,9 CH ₃	1,03 (d, 6,8)	25	24, 25, 27	25
27	21,9 CH ₃	1,03 (d, 6,7)	25	24, 25, 26	25
28	27,9 CH ₃	1,23 (s)	-	3, 4, 5, 29	19, 28
29	16,6 CH ₃	1,03 (s)	-	3, 4, 5, 28	9
30	10,3 CH ₃	1,48 (s)	-	7, 8, 14, 15	7, 12, 17
1'	104,5 CH	4,83 (d, 7,9)	2'	3, 5'	2', 4'
2'	83,1 CH	4,03 (m)	1', 3'		
3'	78,2 CH	4,32 (m)	2', 4'		
4'	71,1 CH	4,06 (m)	3', 5'		
5'	77,8 CH	3,86 (m)	4', 6'		3', 6'
6'	62,8 CH ₂	4,34 (m), 4,53 (dd, 2,4 e 15,4)	6'		
1''	102,6 CH	5,39 (d, 7,7)	2''	2'	2', 5''
2''	80,3 CH	4,34 (m)			1', 1''
3''	87,7 CH	4,10 (m)			
4''	69,7 CH	4,11 (m)	5''		

5''	77,3 CH	3,73 (<i>m</i>)	4'', 6''	1'', 2'', 6''
6''	62,0 CH ₂	4,30-4,38 (<i>m</i>)	5''	
1'''	104,1 CH	5,66 (<i>d</i> , 7,7)	2'''	2''
2'''	75,6 CH	4,21 (<i>m</i>)	1'''	2'', 5'''
3'''	78,3 CH	4,31 (<i>m</i>)		
4'''	71,1 CH	4,24 (<i>m</i>)		
5'''	75,7 CH	4,12 (<i>m</i>)		
6'''	64,3 CH ₂	5,13 (<i>m</i>)	5'''	
1''''	121,7 C	-		
2''''	113,5 CH	7,89 (<i>d</i> , 1,9)	1''''	3''''
			4''''	6''''
			7''''	OMe
3''''	148,2 C	-		
4''''	153,1 C	-		
5''''	116,4 CH	7,31 (<i>d</i> , 8,2)	6''''	1''''
6''''	125,1 CH	8,11 (<i>dd</i> , 1,9 e 8,2)	5''''	3''''
OMe	55,9 CH ₃	3,78 (<i>s</i>)		4''''
7''''	166,8 C	-		5''''
1'''''	111,3 CH	6,08 (<i>d</i> , 4,4)	2'''''	3''
2'''''	77,3 CH	4,87 (<i>d</i> , 4,4)	1'''''	4'''''
3'''''	80,1 C	-		3'', 2'''''
4'''''	74,8 CH ₂	4,29 (<i>m</i>), 4,72 (<i>d</i> , 9,2)		1'''''
5'''''	64,1 CH ₂	4,09-4,12 (<i>m</i>)		5'''''
				4'''''

6.3.15. Elucidação estrutural da substância Zg15

A substância **Zg15** foi isolada na forma de um sólido amorfo amarelado. No espectro de EM-AR-ESI em modo negativo (**Figura 237**, vol. II, p. 2402) observa-se um pico em m/z 977,4424 para fórmula molecular C₄₆H₇₃O₂₀S (calcd. m/z 977,4421), correspondente ao íon molecular [M-Na]⁻, cuja proposta de um átomo de enxofre e a diferença de 80 unidades, após considerações das análises de RMN ¹³C e a quantidade de oxigênio, justifica a proposta de uma unidade sulfônica adicional. A análise de massas em modo positivo (**Figura 236**, vol. II, p. 2402) mostra um pico íon aduto com sódio de m/z 1023,4215 [M+Na]⁺, cuja diferença de 46 unidades pode ser justificada pelo íon molecular (M, sal como sulfonato de sódio) em aduto com sódio, sendo compatível com fórmula molecular C₄₆H₇₃O₂₀Na₂S (calcd. m/z 1023,4206). No espectro de RMN ¹H (**Figura 238**, vol. II, p. 241) nota-se novamente a presença de uma série de metilas em δ_H 1,06 (*s*, Me-18), 0,70 (*s*, Me-19), 1,38 (*s*, Me-21), 1,67 (*s*, Me-26), 1,69 (*s*, Me-27), 1,27 (*s*, Me-28) e 1,06 (*s*, Me-29), sugerindo a estrutura de outro triterpenoide. Observa-se outros sinais relevantes como um próton de carbono sp² em δ_H 5,53 (*dt*, 1,5 e 8,2 Hz, H-24), dois prótons metínicos oxigenados em 3,23 (*dd*, 4,4 e 11,8 Hz, H-3) e 5,19 (*m*, H-23), e três sinais referentes a prótons de carbono anomérico em 4,78 (*d*, 7,2 Hz, H-1'), 6,08 (*d*, 2,8 Hz, H-1'') e 5,07 (*d*, 7,8 Hz, H-1''') que sugerem a presença de três

porções sacarídicas. No espectro de RMN ^{13}C (BBD) e DEPT-135 (**Figuras 239 e 240**, vol. II, p. 242 e 243) observam-se os sinais referentes aos grupos descritos anteriormente como os das metilas em δ_{C} 19,2 (Me-18), 16,7 (Me-19), 30,4 (Me-21), 25,9 (Me-26), 18,7 (Me-27), 28,1 (Me-28) e 16,9 (Me-29) e os carbonos anoméricos dos sacarídeos em δ_{C} 106,1 (C-1') 110,5 (C-1'') e 105,1 (C-1'''). A análise do espectro de HSQC (**Figura 241**, vol. II, p. 244) permitiu o assinalamento inequívoco dos carbonos com seus devidos prótons assim como a definição dos hidrogênios diastereotópicos da substância. As vizinhanças dos prótons foram definidas com base na análise do espectro de COSY (**Figura 241**, vol. II, p. 244). A posição dos sacarídeos na substância foi definida com o auxílio do espectro de HMBC (**Figura 243**, vol. II, p. 246), onde observou-se os sinais de acoplamento a $^3J_{\text{H-C}}$ entre o próton de carbono anomérico H-1' com o carbono 3 da aglicona (δ_{C} 89,1), o segundo sacarídeo foi proposto estar ligado ao primeiro sacarídeo pela presença do sinal de correlação espacial observada no espectro de ROESY (**Figura 244**, vol. II, p. 247) entre o próton anomérico H-1'' e o próton 2' do primeiro sacarídeo em δ_{H} 4,47 (*m*, H-2') e o próton anomérico H-1''' apresentou correlação a $^3J_{\text{H-C}}$ com carbono 3 do primeiro sacarídeo em δ_{C} 83,9 (C-3'), os sinais de correlação espacial entre os prótons anoméricos e os prótons dos carbonos onde os sacarídeos estão ligados puderam ser observados no espectro de ROESY confirmando a proposta. Pelo espectro de ROESY também pode-se confirmar a configuração relativa do anel 16,23:16,30-diepóxi da estrutura onde observou-se a correlação entre o próton em H-23 com δ_{H} 1,53 (*m*, H-15a) e 2,48 (*d*, 8,2 Hz, H-15b), assim como a configuração relativa das metilas da substância. As unidades de carboidrato da substância foram identificados como sendo uma α -L-arabipirranose, uma α -L-arabinofuranose e uma β -D-4-sódio sulfato-glicopirranose por análise dos experimentos de RMN (onde a presença do grupo sulfato ligada ao carbono 4''' do glicosídeo causa um efeito desblindante, deslocando o valor de hidrogênio e carbono para δ_{H} 5,19 *m*, e δ_{C} 76,0, respectivamente), também pelos valores de massas observadas nos experimentos de EM-AR-ESI e comparação com modelos da literatura (HIGUCHI et al, 1984). A substância isolada (**Tabela 45**) trata-se de uma saponina do tipo damarano semelhante a uma já isolada de *Z. joazeiro*, porém, os autores descrevem a porção sulfato da substância como OSO_3^- , assim, a substância **Zg15** foi identificada como sendo uma saponina do tipo damarano, 16,23:16,30-diepóxi-20-hidróxidamar-24-eno 3-*O*- α -L-arabinofuranosil-(1-2)-*O*-[4-*O*-sódio sulfato- β -D-glicopiranosil-(1-3)]- α -L-arabinopiranosídeo (**Figura 48**).

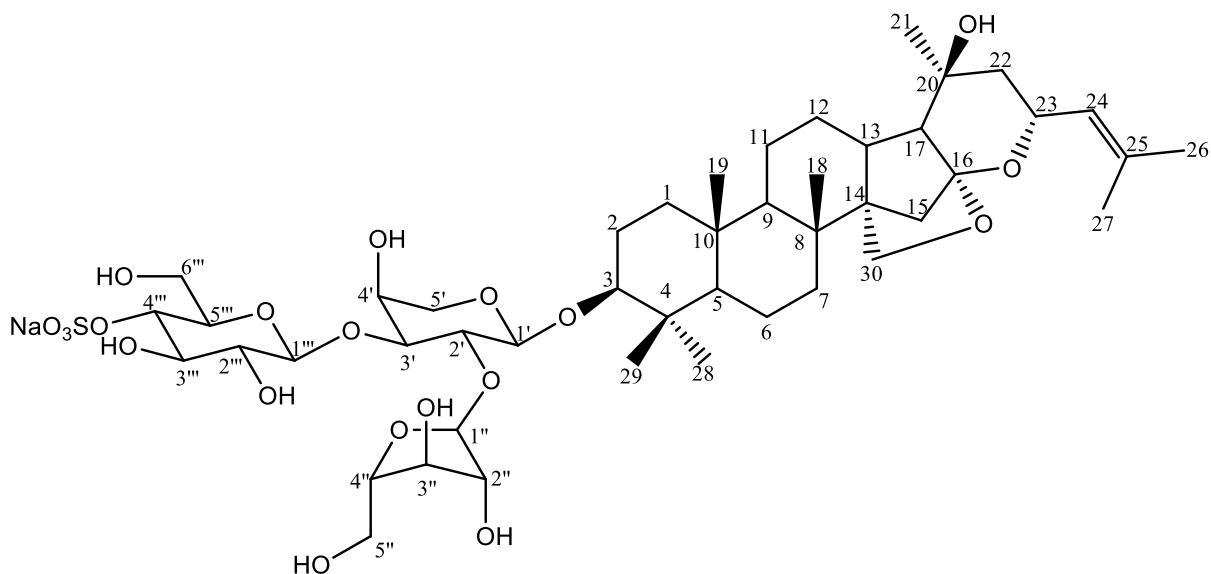


Figura 48. Estrutura da substância **Zg15**, jujubogenina 3-*O*- α -L-arabinofuranosil-(1-2)-*O*-[4-*O*-sódio-sulfato- β -D-glicopiranosil-(1-3)]- α -L-arabinopiranosídeo.

Tabela 45. Dados de RMN da substância **Zg15** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC	COSY	HMBC	ROESY	
-	δ_C mult.	δ_H (mult., <i>J</i> em Hz)	1H - 1H	$^2,3J_{H-C}$	$^1H \leftrightarrow ^1H$
1	39,1 CH ₂	0,77 (<i>m</i>), 1,55 (<i>m</i>)	2		
2	27,2 CH ₂	1,81 (<i>m</i>), 2,12 (<i>m</i>)	1, 3		
3	89,1 CH	3,23 (<i>dd</i> , 4,4 e 11,8)	2	28, 1'	1, 28, 1'
4	40,2 C	-	-		
5	56,5 CH	0,66 (<i>dl</i> , 11,6)	6		6, 9, 28
6	18,7 CH ₂	1,30-1,40 (<i>m</i>)	5, 7		
7	36,4 CH ₂	1,35 (<i>m</i>), 1,50 (<i>m</i>)	6		
8	37,9 C	-	-		
9	53,4 CH	0,88 (<i>ddl</i> , 3 e 13)	11		5, 11, 12
10	37,6 C	-	-		
11	22,1 CH ₂	1,32 (<i>m</i>), 1,52 (<i>m</i>)	9, 12		
12	28,5 CH ₂	1,77 (<i>m</i>), 1,92 (<i>m</i>)	11, 13		15
13	37,5 CH	2,82 (<i>m</i>)	12, 17		12, 15, 18, 21
14	54,1 C	-	-		
15	37,3 CH ₂	1,53 (<i>m</i>), 2,48 (<i>d</i> , 8,2)	-	14, 30	17, 18
16	110,9 C	-	-		
17	54,4 CH	1,38 (<i>m</i>)	13		13, 15
18	19,2 CH ₃	1,06 (<i>s</i>)	-	7, 8, 9, 14	13, 15, 19
19	16,7 CH ₃	0,70 (<i>s</i>)	-	1, 5, 9, 10	11, 12, 18
20	68,9 C	-	-		
21	30,4 CH ₃	1,38 (<i>s</i>)	-	17, 20, 22	
22	45,9 CH ₂	1,55-1,82 (<i>m</i>)	23		23
23	69,0 CH	5,19 (<i>m</i>)	22, 24		15, 22
24	127,5 CH	5,53 (<i>dt</i> , 1,5 e 8,2)	23		23, 26/27
25	134,5 C	-	-		
26	25,9 CH ₃	1,67 (<i>sl</i>)	-	25	23

27	18,7 CH ₃	1,69 (<i>sl</i>)	-	25	24
28	28,1 CH ₃	1,27 (<i>s</i>)	-	3, 4, 5, 29	3, 5, 29
29	16,9 CH ₃	1,06 (<i>s</i>)	-	3, 4, 5, 28	
30	66,4 CH ₂	4,20-4,28 (<i>m</i>)	-		9, 12, 17
1'	106,1 CH	4,78 (<i>d</i> , 7,2)	2'	3	3', 5'
2'	77,3 CH	4,47 (<i>m</i>)	1', 3'		3'
3'	83,9 CH	4,15 (<i>m</i>)	2', 4'		2', 4', 5'
4'	69,1 CH	4,39 (<i>m</i>)	3', 5'		3', 4'
5'	66,4 CH ₂	3,71 (<i>dl</i> , 8,5), 4,19 (<i>m</i>)	4'		1', 3', 4'
1''	110,5 CH	6,08 (<i>d</i> , 2,8)	2''		2', 2''
2''	84,1 CH	5,02 (<i>dd</i> , 2,8 e 7,4)	1'', 3''		1'', 4''
3''	78,2 CH	4,88 (<i>dd</i> , 5,2 e 7,4)	2'', 4''		1'', 4''
4''	85,3 CH	4,79 (<i>m</i>)	3'', 5''		5''
5''	62,4 CH ₂	4,23 (<i>m</i>), 4,33 (<i>m</i>)	4''		3'', 4''
1'''	105,1 CH	5,07 (<i>d</i> , 7,8)	2'''		3', 3''', 5'''
2'''	75,5 CH	3,92 (<i>t</i> , 8,5)	1''', 3'''		4'''
3'''	76,9 CH	4,37 (<i>m</i>)	2''', 4'''		1''', 5'''
4'''	76,0 CH	5,19 (<i>m</i>)	3''', 5'''		2'''
5'''	76,6 CH	3,82 (<i>dt</i> , 2,7 e 9,8)	4'''		1''', 3''', 6'''
6'''	61,9 CH ₂	4,28 (<i>m</i>), 4,48 (<i>m</i>)			5'''

6.3.16. Elucidação estrutural da substância Zg16

A substância **Zg16** foi isolada na forma de um sólido amorfo de coloração amarelada. A análise de EM-AR-ESI em modo positivo (**Figura 246**, vol. II, p. 249) revelou um pico de íon aduto com sódio de m/z 1037,4415 $[M+Na]^+$ (calc 1037,4362) compatível com a fórmula molecular $C_{47}H_{75}O_{20}Na_2S$, já a análise em modo negativo (**Figura 247**, vol. II, p. 249) mostrou um pico de íon molecular de m/z 991,4578 $[M-Na]^-$ (calc. 991,4578) compatível com a fórmula molecular $C_{47}H_{75}O_{20}S$, como no caso de Zg15. O espectro de RMN ¹H (**Figura 248**, vol. II, p. 250) apresentou sinais semelhantes a aglicona da substância **Zg13**, como as metilas em δ_H 1,01 (*s*, Me-18), 0,69 (*s*, Me-19), 1,45 (*s*, Me-21), 1,03 (*d*, 6,7 Hz, Me-26/Me-27), 1,27 (*s*, Me-28) e 1,04 (*s*, Me-29), além dos sinais pertencentes aos prótons do carbono metilênico terminal em 4,87 e 5,18 (*sl*, H-24), permitindo sugerir uma vinilidina de prótons metilênicos oxigenado em 4,18 (*m*, H-30), dois prótons metínicos oxigenados em 3,24 (*dd*, 4,2 e 11,9 Hz, H-3) e 4,68 (*dd*, 2,4 e 9,4 Hz, H-22) e três sinais de prótons de carbonos anoméricos em 4,77 (*d*, 7,1 Hz, H-1'), 6,08 (*d*, 2,8 Hz, H-1'') e 5,70 (*d*, 7,7 Hz, H-1'''). Nos espectros de RMN ¹³C e DEPT-135 (**Figura 249 e 250**, vol. II, p. 251 e 252) confirmou-se a presença dos grupamentos citados anteriormente e observou-se a presença de um carbono quaternário mono-oxigenado em δ_C 76,4 (C-20), um di-oxigenado em 118,8 (C-16) e um carbono quaternário sp^2 em 153,7 (C-24). Com o auxílio do espectro de HSQC (**Figura 252**,

vol. II, p. 254) foi possível atribuir os prótons diastereotópicos da substância assim como a correlações diretas ($^1J_{H-C}$) dos grupos citados anteriormente. A posição dos sacarídeos foi atribuída pelos sinais observados no espectro de HMBC (**Figura 253**, vol. II, p. 255) onde o próton de carbono anomérico H-1' apresentou sinal de correlação a $^3J_{H-C}$ com o carbono em δ_C 89,1 (C-3), o próton anomérico H-1'' com o carbono 2 do primeiro sacarídeo em δ_C 77,3 (C-2') e o terceiro próton anomérico (H-1''') apresentou correlação a $^3J_{H-C}$ com o carbono 3 do primeiro sacarídeo em δ_C 84,0 (C-3'). Assim como na substância **Zg13**, a configuração relativa do anel 16,30:16,22-diepóxi foi atribuída com base na observação dos sinais de correlação espacial do espectro de ROESY (**Figura 254**, vol. II, p. 256) onde observa-se a presença de um sinal de interação entre o próton H-22 com os prótons H-17 (δ_H 2,10, *m*), H-21 e H-23 (δ_H 2,62, *dl*, 15,2 Hz e 2,89, *dd*, 9,1 e 15,2 Hz) e o próton H-30 apresentou correlação espacial com H-9 (δ_H 0,73, *m*) e H-17. A porção -OSONa foi deduzida pelas diferenças observadas nos espectros de EM-AR-ESI em modo negativo e positivo, além da mesma observação de desblindagem nos deslocamentos químicos do carbono metínico CH-4''' (δ_C 76,1/ δ_H 5,16 *m*) observada na substância **Zg15**. Dessa maneira, a substância **Zg16** foi identificada como sendo 16,22:16,30-diepóxi-20-hidroxidamar-24-metilideno 3-*O*- α -L-arabinofuranosil-(1-2)-*O*-[4-*O*-sódio-sulfato- β -D-glicopiranosil-(1-3)]- α -L-arabinopiranosídeo (**Figura 49**), os dados de RMN uni e bidimensionais estão descritos na **Tabela 46**.

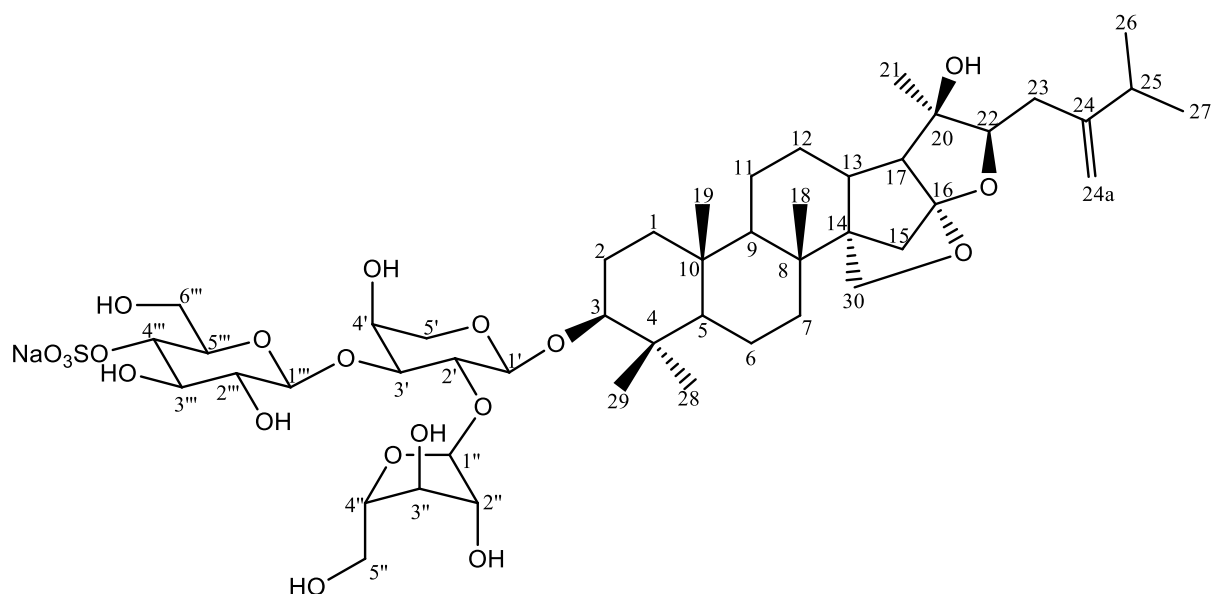


Figura 49. Estrutura da substância **Zg16**, 16,22:16,30-diepóxi-20-hidroxidamar-24-metilideno 3-*O*- α -L-arabinofuranosil-(1-2)-*O*-[4-*O*-sódio-sulfato- β -D-glicopiranosil-(1-3)]- α -L-arabinopiranosídeo.

Tabela 46. Dados de RMN da substância **Zg16** (400 MHz, C₅D₅N).

C	HSQC		COSY	HMBC	ROESY
	δ_C mult.	δ_H (mult., <i>J</i> em Hz)	¹ H- ¹ H	^{2,3} J _{H-C}	¹ H \leftrightarrow ¹ H
1	39,1 CH ₂	0,77 (<i>m</i>), 1,54 (<i>m</i>)	2		2, 3
2	27,1 CH ₂	1,81 (<i>m</i>), 2,11 (<i>m</i>)	1, 3		1, 3
3	89,1 CH	3,23 (<i>dd</i> , 4,2 e 11,9)	2	2, 4, 29, 1'	1, 2, 5, 28, 1'
4	40,2 C	-			
5	56,5 CH	0,64 (<i>dl</i> , 11,2)	6	19	3, 6, 7
6	18,6 CH ₂	1,30 (<i>m</i>), 1,43 (<i>m</i>)	5, 7		
7	36,4 CH ₂	1,29 (<i>m</i>), 1,43 (<i>m</i>)	6		
8	38,0 C	-			
9	52,9 CH	0,73 (<i>m</i>)	11		30
10	37,4 C	-			
11	21,7 CH ₂	1,25 (<i>m</i>), 1,46 (<i>m</i>)	9, 12		
12	27,9 CH ₂	1,70 (<i>m</i>), 1,88 (<i>m</i>)	11, 13		
13	37,6 CH	2,69 (<i>m</i>)	12, 17	14, 17, 20, 30	12, 15, 18
14	57,0 C	-			
15	39,2 CH ₂	1,74 (<i>m</i>), 2,14 (<i>m</i>)			13, 18
16	118,8 C	-			
17	62,6 CH	2,10 (<i>m</i>)	13		
18	19,1 CH ₃	1,02 (<i>s</i>)		7, 8, 9, 14	13, 15, 19
19	16,8 CH ₃	0,69 (<i>s</i>)		1, 5, 9, 10	1, 2, 18
20	76,4 C	-			
21	24,2 CH ₃	1,45 (<i>s</i>)		17, 20, 22	15, 22
22	93,2 CH	4,68 (<i>dd</i> , 2,4 e 9,4)	23		17, 21, 23
23	35,1 CH ₂	2,62 (<i>dl</i> , 15,2), 2,89 (<i>dd</i> , 9,1 e 15,2)	22		21
24	153,7 C	-			
24a	108,9 CH ₂	4,87 (<i>sl</i>), 5,18 (<i>sl</i>)		23, 24, 25	26/27
25	34,5 CH	2,40 (<i>m</i>)	26/27	24, 24a, 26/27	26/27
26	22,2 CH ₃	1,03 (<i>d</i> , 6,7)	25	24, 25, 27	24, 25
27	22,2 CH ₃	1,03 (<i>d</i> , 6,7)	25	24, 25, 26	24, 25
28	28,2 CH ₃	1,27 (<i>s</i>)		3, 4, 5, 29	3, 5, 29
29	16,9 CH ₃	1,05 (<i>s</i>)		3, 4, 5, 28	19, 28
30	66,0 CH ₂	4,18 (<i>m</i>)			9, 17
1'	106,1 CH	4,77 (<i>d</i> , 7,1)	2'	3	3, 2', 5'
2'	77,3 CH	4,47 (<i>m</i>)	1', 3'		
3'	84,0 CH	4,16 (<i>m</i>)	2', 4'		
4'	69,1 CH	4,41 (<i>m</i>)	3', 5'		
5'	66,4 CH ₂	3,70 (<i>d</i> , 12,1), 4,16 (<i>m</i>)	4'		
1''	110,5 CH	6,08 (<i>d</i> , 2,8)	2''	2'	2', 2'', 3'', 4''
2''	84,1 CH	5,01 (<i>dd</i> , 2,6 e 5,3)	1'', 3''		
3''	78,2 CH	4,87 (<i>dd</i> , 5,3 e 7,4)	2'', 4''		
4''	85,3 CH	4,78 (<i>m</i>)	3'', 5''		
5''	62,4 CH ₂	4,23 (<i>m</i>), 4,32 (<i>m</i>)	4''		
1'''	105,0 CH	5,07 (<i>d</i> , 7,7)	2'''	3'	2', 2''', 3''', 5'''
2'''	75,5 CH	3,93 (<i>t</i> , 8,5)	1''', 3'''		
3'''	76,9 CH	4,37 (<i>m</i>)	2''', 4'''		
4'''	76,1 CH	5,16 (<i>m</i>)	3''', 5'''		

5'''	76,6 CH	3.81 (m)	4''', 6'''
6'''	61,9 CH ₂	4,30 (m), 4,47 (m)	5'''

6.4. Alcalóides ciclopeptídicos de *Ziziphus joazeiro* Mart.

A análise de CLUE-EM da fração alcaloídica do caule de *Z. joazeiro* (**ZjC-FAlc**) foi realizada em modo de aquisição dependente de dados (fragmentação sequencial de todos os picos detectados), o tempo de corrida cromatográfica foi de 27 minutos com energia de colisão normalizada de 45 eV, onde o cromatograma (**Figura 50**) apresentou uma série de picos que foram analisados pelos valores de fragmentos detectados no EM¹ e EM² em modo positivo.

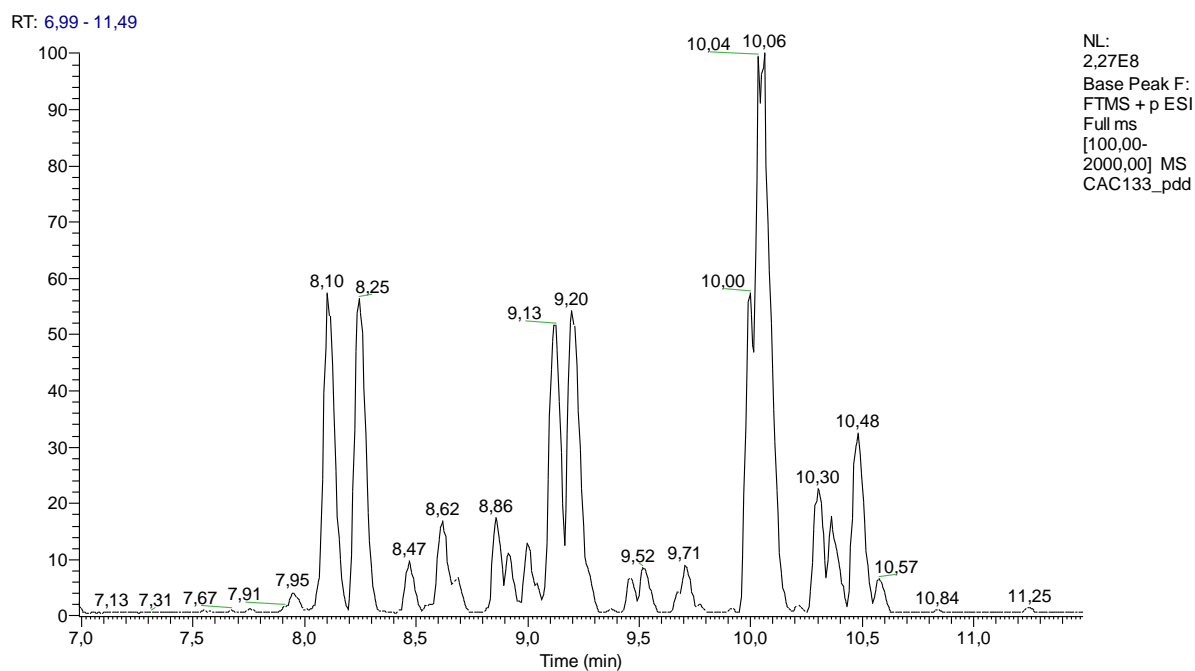


Figura 50. Expansão do cromatograma de CLUE-EM de **ZjC-FAlc** (7 – 12 min).

Alcaloides ciclopeptídicos, encontrados em espécies do gênero *Ziziphus*, apresentam um padrão de fragmentação característico em condições de ionização por electrospray (KANG et al., 2016b) devido às ligações peptídicas entre os ácidos aminados presentes na estrutura. Os picos identificados como ACPs estão descritos na Tabela a seguir (**Tabela 47**).

Tabela 47. Picos de alcaloides ciclopeptídicos de **ZjC-FAlc** identificados por CLUE-EM.

Tr (min)	<i>m/z</i> [M+H]	F.M.	Δ ppm	Código	Anexo (Vol. II)
8,86	558,3284	C ₂₉ H ₄₄ N ₅ O ₆ ⁺	-0,753	ZjC-ACP1	p. 258
9,13	592,3114	C ₃₂ H ₄₂ N ₅ O ₆ ⁺	-2,719	ZjC-ACP2	p. 258
10,00	648,3742	C ₃₆ H ₅₀ N ₅ O ₆ ⁺	-2,284	ZjC-ACP3	p. 259
10,06	662,3894	C ₃₇ H ₅₂ N ₅ O ₆ ⁺	-2,809	ZjC-ACP4	p. 259
10,30	682,3585	C ₃₉ H ₄₈ N ₅ O ₆ ⁺	-2,067	ZjC-ACP5	p. 260
10,37	696,3734	C ₄₀ H ₅₀ N ₅ O ₆ ⁺	-3,088	ZjC-ACP6	p. 260
10,48	716,3423	C ₄₂ H ₄₆ N ₅ O ₆ ⁺	-2,709	ZjC-ACP7	p. 261
10,57	730,3583	C ₄₃ H ₄₈ N ₅ O ₆ ⁺	-2,233	ZjC-ACP8	p. 261

Os picos identificados como sendo ACPs no espectro de massas tiveram seus espectros de massas sequenciais analisados (EM²) (**Tabela 48**), de onde foi possível prever os padrões de fragmentação de cada ACP.

Tabela 48. Picos detectados no espectro de massas sequencial (EM²).

Código	EM ¹ <i>m/z</i> [M+H]	EM ² <i>m/z</i> [M+H]	Anexo (Vol. II)
ZjC-ACP1	558,3282	374,2080; 346,2131; 233,1290; 216,1024; 204,1024	p. 262
ZjC-ACP2	592,3114	408,1918; 380,1973; 233,1289; 216,1023; 204,1023	p. 263
ZjC-ACP3	648,3742	370,2074; 346,2125; 275,1756; 247,1806; 233,1286; 216,1021; 204,1021	p. 264
ZjC-ACP4	662,3894	374,2075; 346,2126; 289,1912; 261,1963; 233,1287; 216,1021; 204,1021	p. 265
ZjC-ACP5	682,3585	521,2761; 374,2076; 346,2127; 309,1600; 281,1651; 233,1287; 216,1022; 204,1022	p. 266
ZjC-ACP6	696,3734	521,2758; 374,2074; 346,2125; 323,1754; 295,1805; 233,1285; 216,1020; 204,1021	p. 267
ZjC-ACP7	716,3423	555,2603; 408,1917; 380,1971; 309,1600; 281,1651; 233,1288; 216,1023; 204,1023	p. 268
ZjC-ACP8	730,3583	555,2594; 408,1911; 380,1966; 323,1752; 295,1804; 233,1285; 216,1019; 204,1016	p. 269

Com a proposta de ions resultantes da fragmentação, representados pelos picos no espectro de EM² relacionados na tabela acima foi possível realizar a proposta de oito alcaloides ciclopeptídicos do tipo Ib (**Figura 51**). Segundo Cydzik e colaboradores (2011) as fragmentações do esqueleto ciclopeptídico se iniciam geralmente com a protonação de um átomo de nitrogênio de uma porção amida que enfraquece a ligação N-CO do ácido aminado, sendo assim, nas propostas de fragmentação sugeridas para os alcaloides ciclopeptídicos

identificados, iniciamos a fragmentação com a protonação do átomo de nitrogênio na posição 19, que enfraquece a ligação N-CO do ácido aminado ligado a R₁ ocasionando um rearranjo 1,3-sigmatrópico de hidrogênio e saída da cadeia lateral (R₁) como molécula neutra, a porção do anel principal de 13 membros gera um dos picos mais abundantes observados cujo valor de *m/z* depende do valor de massa do grupo R₂ (isoleucina/leucina ou fenilalanina) e outra proposta envolve uma clivagem radicalar da ligação N¹⁹-C²⁰, gerando a formação de um cátion-radical da cadeia lateral que posteriormente perde uma molécula de monóxido de carbono.

As fragmentações subsequentes ao rearranjo 1,3-sigmatrópico envolvem a perda de uma molécula de monóxido de carbono que causa a abertura do anel de 13 membros e subsequente perda de mais um ácido aminado pela clivagem da ligação N³-C⁴ causada por mais um rearranjo 1,3-sigmatrópico de hidrogênio formando um pico de *m/z* 233, a perda de uma molécula de amônia (NH₃) gera a formação do pico de *m/z*. Os dois últimos picos (*m/z* 233 e 216) são comuns em todos os ACPs identificados por serem estes do tipo Ib (KANG et al., 2016b). As propostas de fragmentações de todos os ACPs identificados pela análise de CLUE-EM/EM estão representadas nas figuras abaixo (**Figuras 52 – 59**).

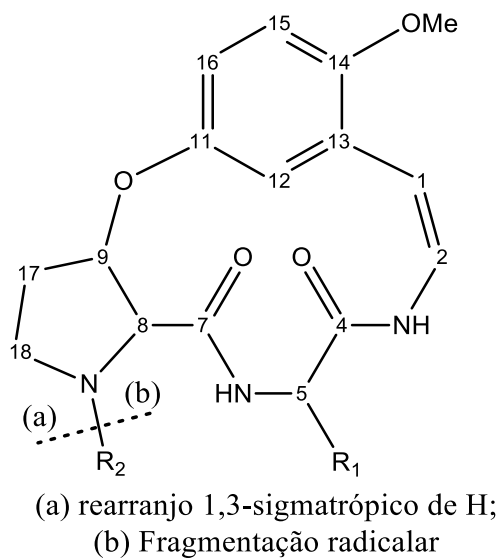


Figura 51. Núcleo principal de alcaloide ciclopeptídico do tipo Ib.

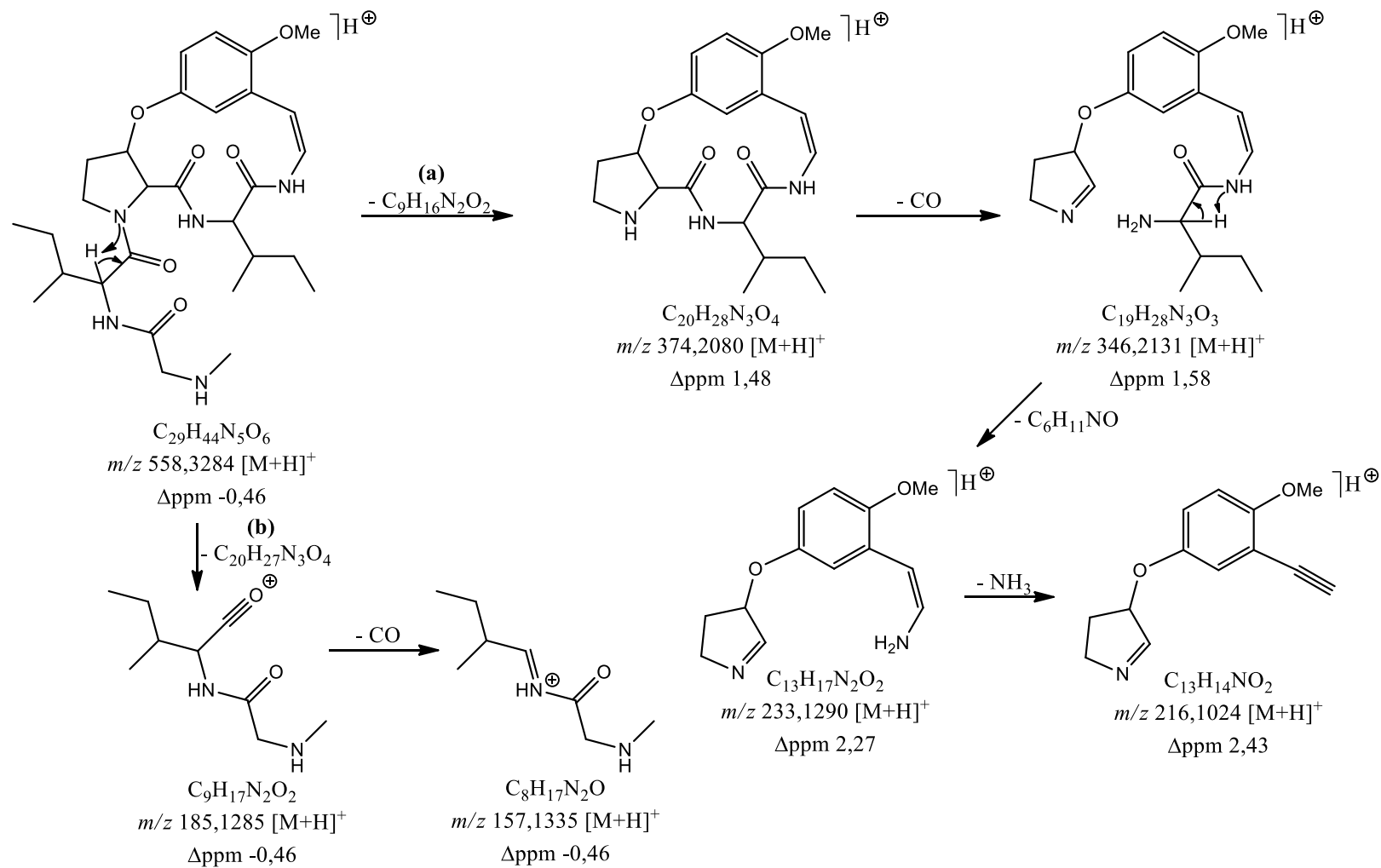


Figura 52. Proposta de fragmentação de massas de **ZjC-ACPI1**.

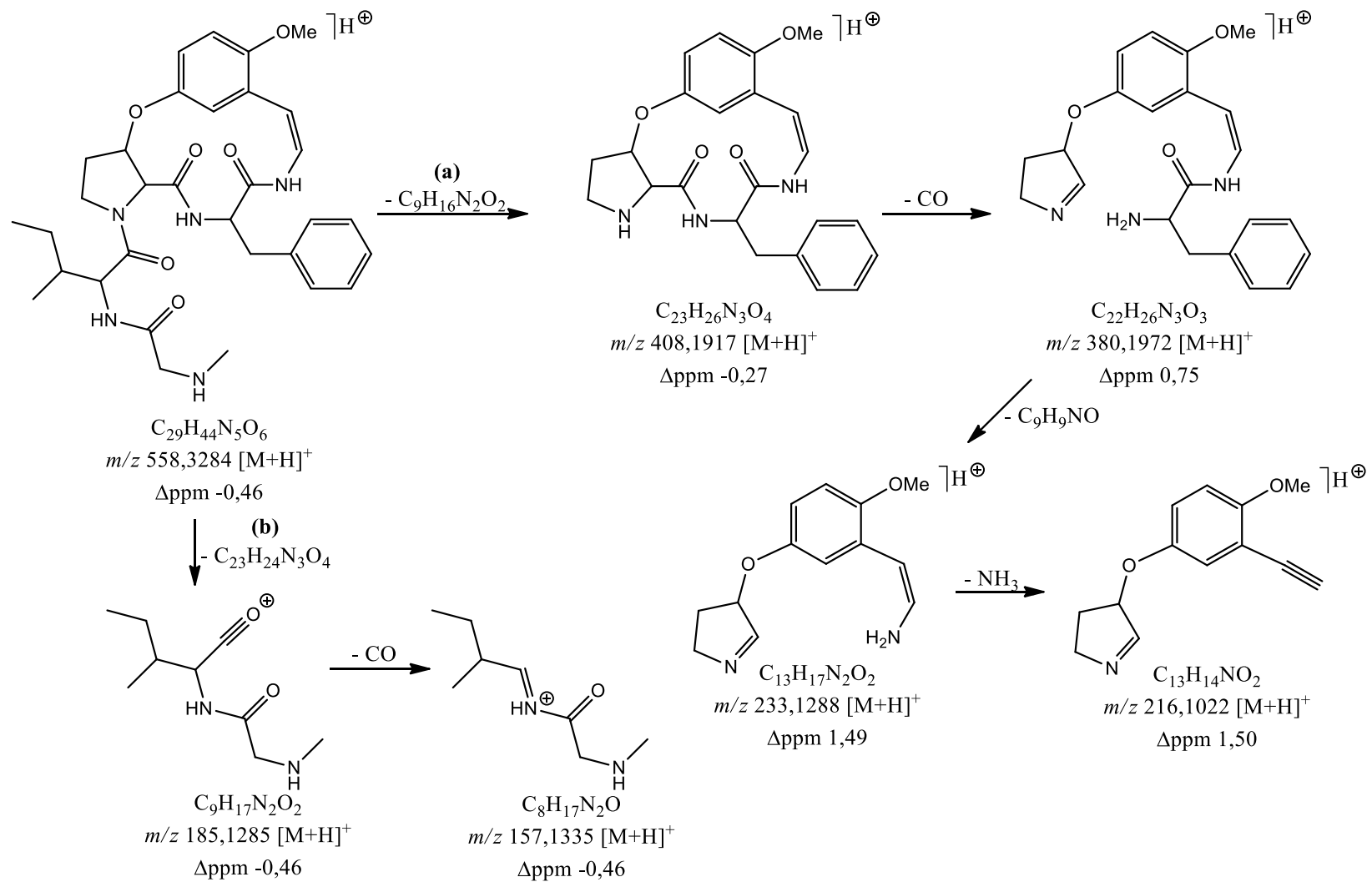


Figura 53. Proposta de fragmentação de massas de **ZjC-ACP2**.

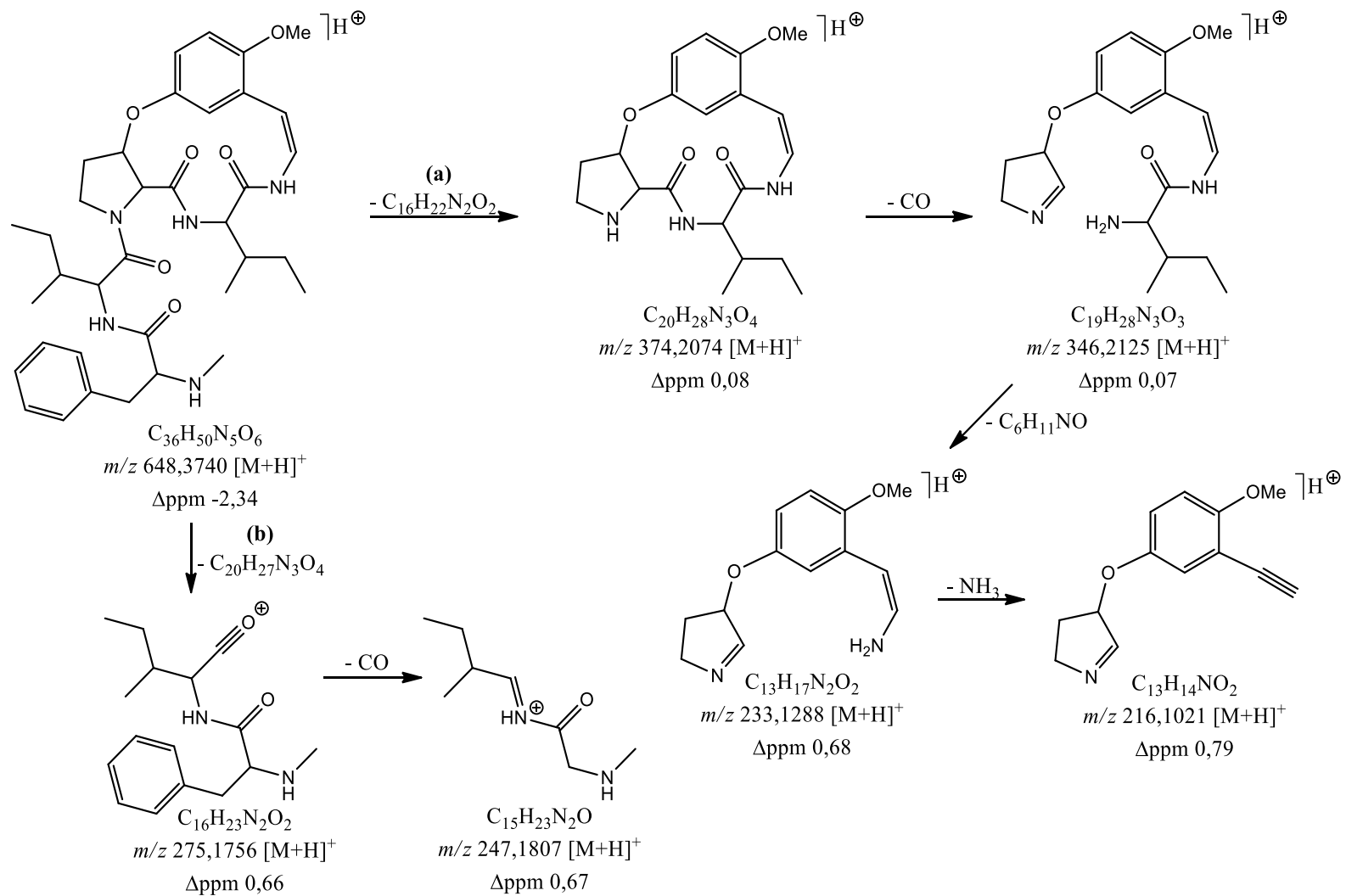


Figura 54. Proposta de fragmentação de massas de **ZjC-ACP3**.

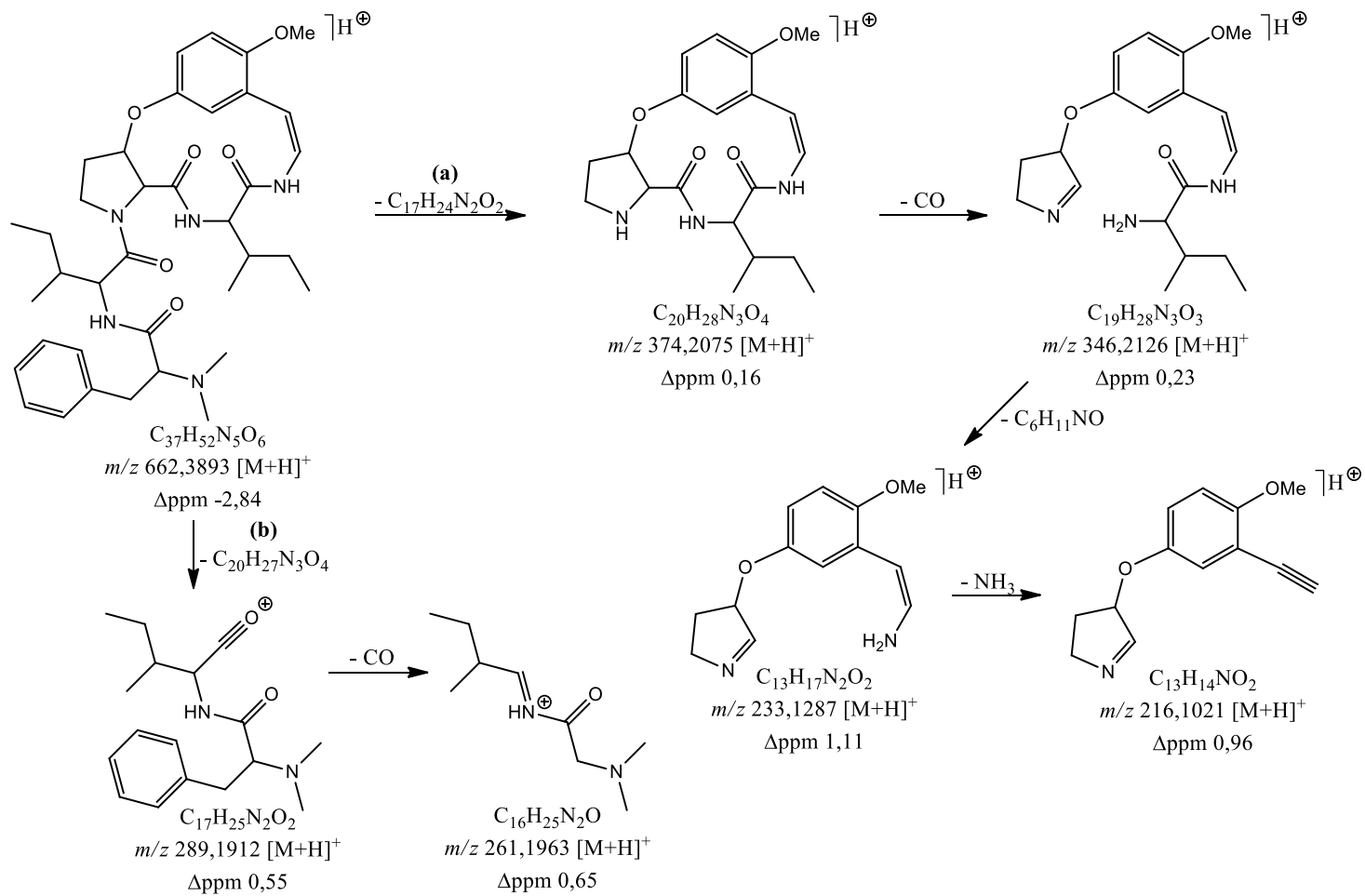


Figura 55. Proposta de fragmentação de massas de **ZjC-ACP4**.

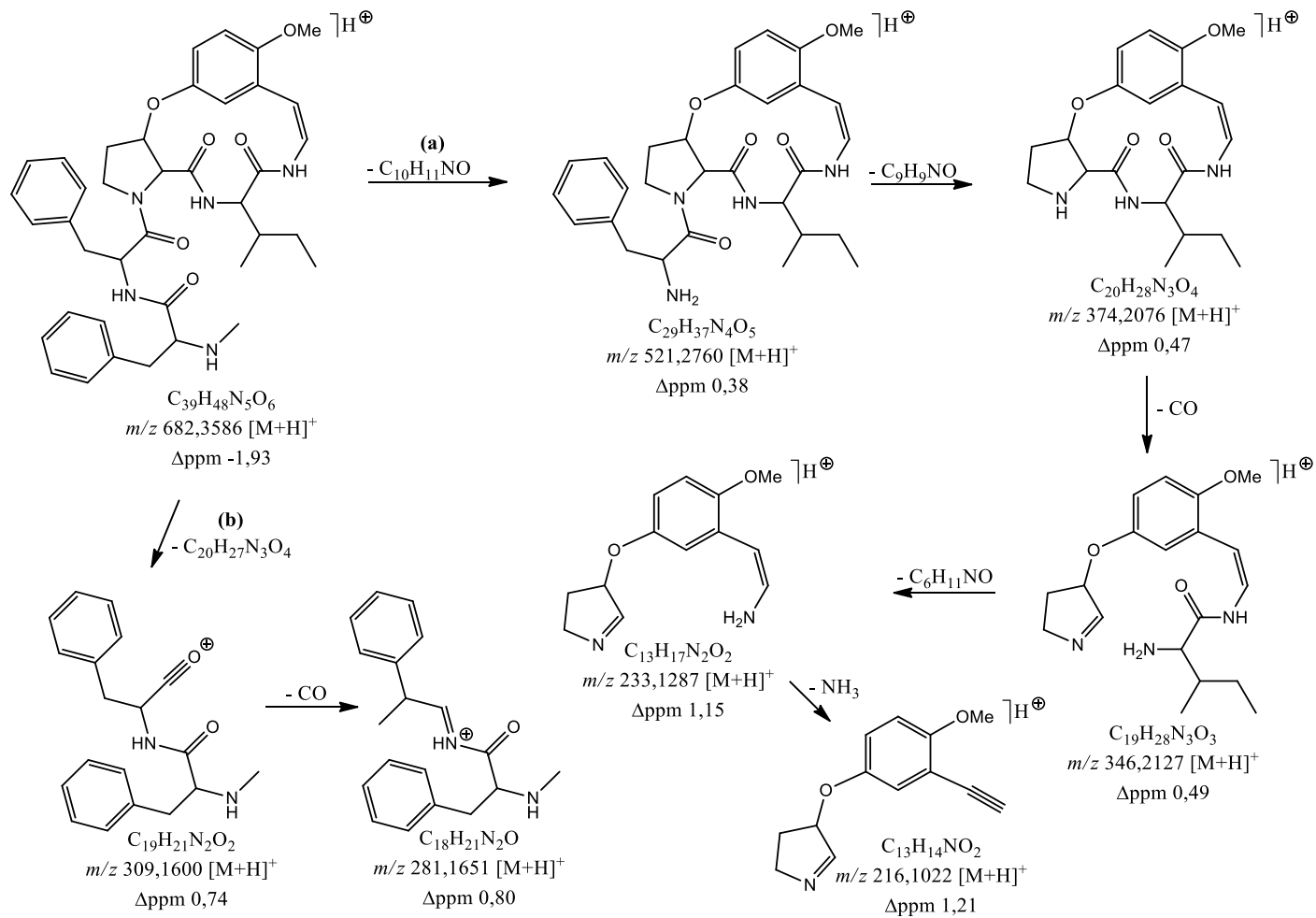


Figura 56. Proposta de fragmentação de massas de **ZjC-ACP5**.

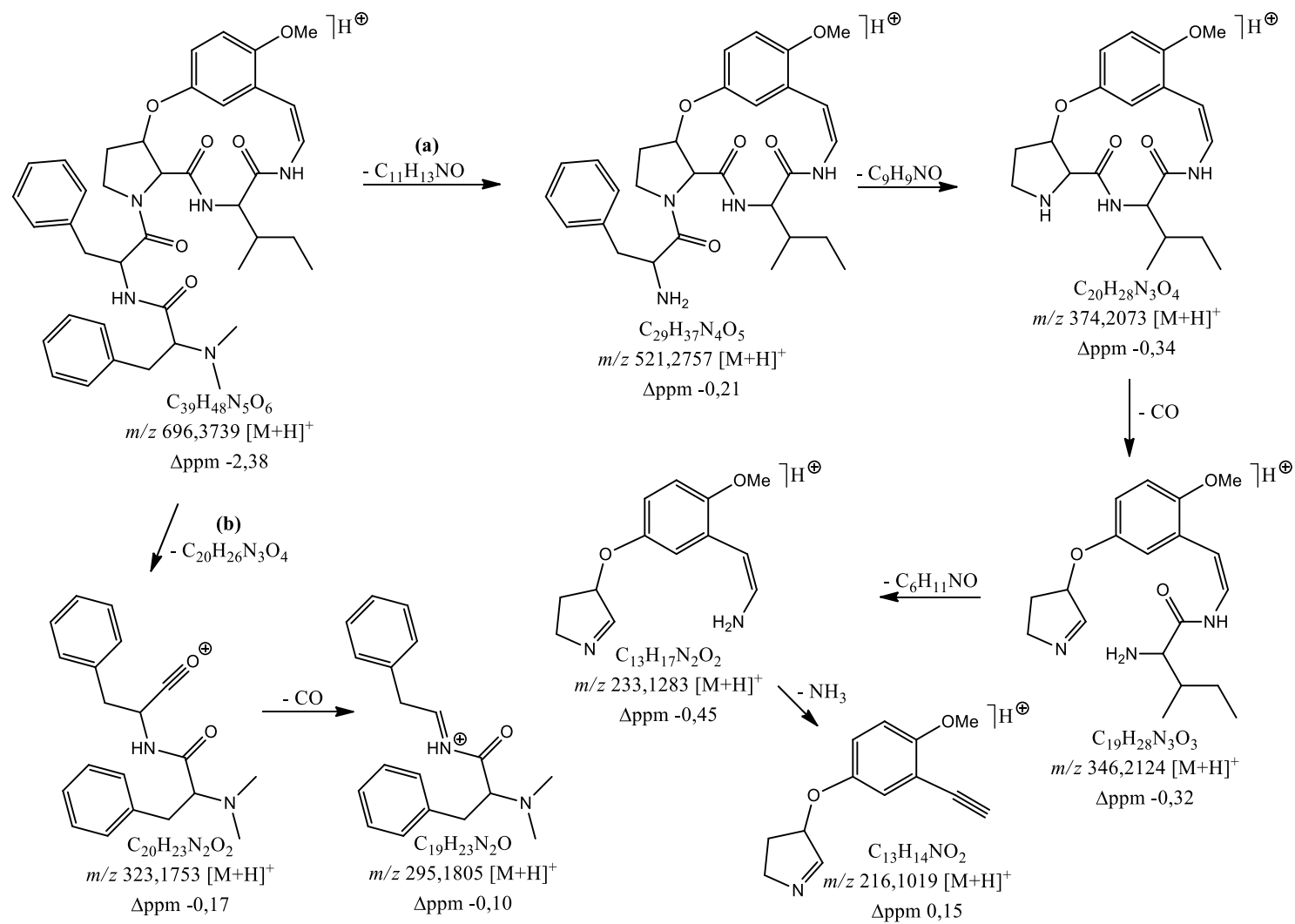


Figura 57. Proposta de fragmentação de massas de **ZjC-ACP6**.

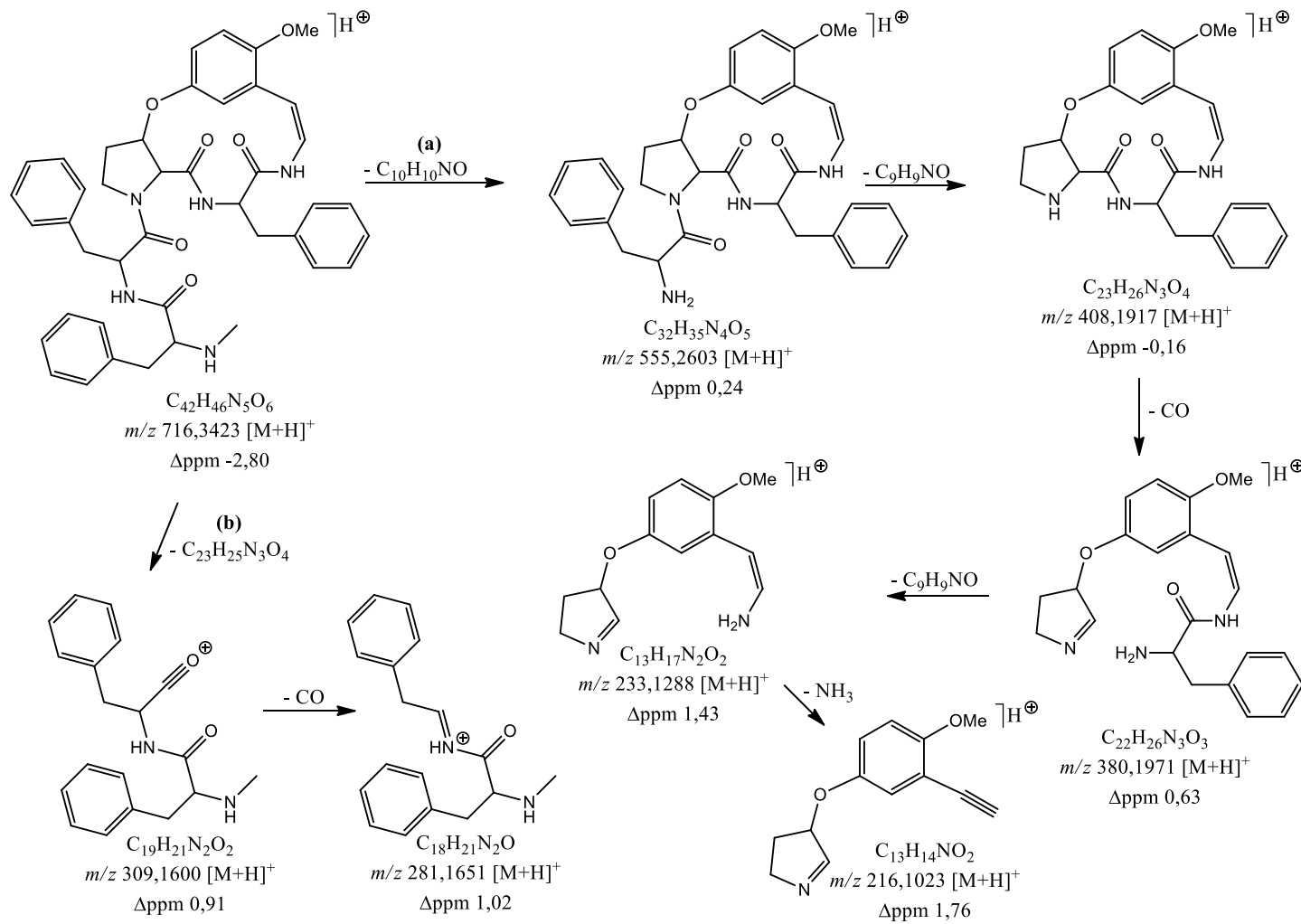


Figura 58. Proposta de fragmentação de massas de ZjC-ACP7.

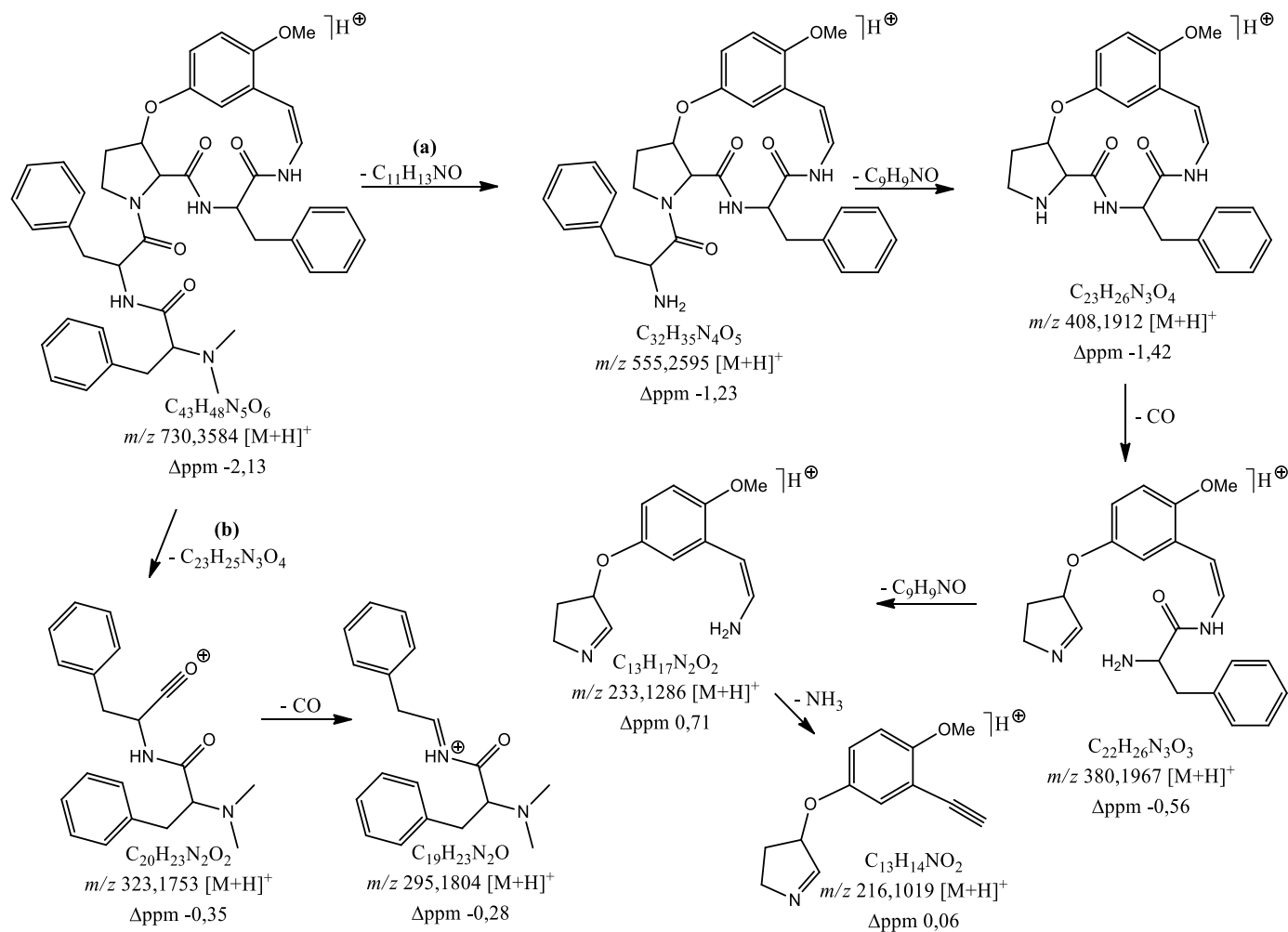


Figura 59. Proposta de fragmentação de massas de ZjC-ACP8.

É importante ressaltar que a identificação inequívoca dos ACPs presentes na fração só seria possível por co-injeção de padrões puros dos ACPs isolados e devidamente elucidados ou por análises de RMN (uni e bidimensional) sendo que, devido ao baixo rendimento da fração alcaloídica pura (aproximadamente 15 mg da fração alcaloídica total, **ZjC-FAlc**), o isolamento não foi possível. As estruturas sugeridas na tabela abaixo (**Tabela 49**) apresentam unicamente resíduos de isoleucina (ligadas na cadeira lateral R₁ ou R₂) sendo também possível que as mesmas sejam resíduos de leucina, característica que só pode ser observada por análises de RMN ou hidrólise com posterior comparação em CG ou CLAE.

Tabela 49. Propostas de alcalóides ciclopeptídicos identificados em **ZjC-FAlc**.

Codigo	m/z [M+H]	Substância sugerida	Referência
ZjC-ACP1	558,3282	jubanina G	KANG et al., 2015
ZjC-ACP2	592,3114	nummularina B	KANG et al., 2015
ZjC-ACP3	648,3742	paliurina D	LIN et al., 2000
ZjC-ACP4	662,3894	paliurina C	LIN et al., 2000
ZjC-ACP5	682,3585	nummuralina H	LEE et al., 2001
ZjC-ACP6	696,3734	jubanina A	TSCHESCHE et al., 1976
ZjC-ACP7	716,3423	nummularina O	PANDEY et al, 1986
ZjC-ACP8	730,3583	jubanina B	TSCHESCHE et al., 1976

7. AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS

7.1. Atividades biológicas de *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill.

7.1.1. Avaliação da atividade antinociceptiva (modelo de placa quente)

Os animais foram tratados com o extrato hidroetanólico (**Sb-EBHE**), fração em clorofórmio (**Sb-FC**), fração em acetato de etila (**Sb-FA**), fração em *n*-butanol (**Sb-Fb**), nas doses de 10, 30 ou 100 mg.kg⁻¹. Os efeitos antinociceptivos da substância foram comparados com o da morfina, na dose de 2,5 mg.kg⁻¹.

Como pode ser observado no **Gráfico 1**, o grupo de animais tratados com o **Sb-EBHE** apresentou, na dose de 10, 30 e 100 mg.kg⁻¹, nos tempos de 120 e 150 minutos após a sua administração, mostraram um efeito antinociceptivo com percentual de aumento em relação à linha de base de 56,2%, 79,2%, (10 mg.kg⁻¹), 54,7%, 77,5% (30 mg.kg⁻¹) e 69,7%, 65,4% (100 mg.kg⁻¹), respectivamente, sendo superior aos valores da morfina (gráfico da esquerda).

Quando os resultados expressos em tempo de latência ao longo do tempo foram convertidos em um gráfico em forma de área sob a curva (ASC) foi observado que o tratamento com o **Sb-EBHE** nas doses de 10, 30 e 100 mg.kg⁻¹ apresentou um efeito antinociceptivo. Foi observado que **Sb-EBHE**, nas três doses testadas, foi capaz de aumentar a ASC se comparada com o grupo tratado com o veículo.

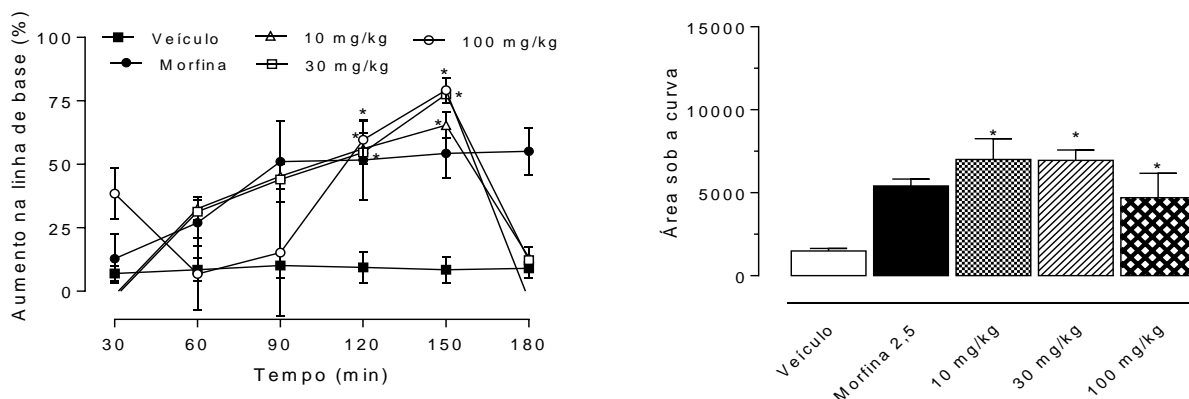


Gráfico 1. Efeito antinociceptivo de **Sb-EBHE** no modelo da placa quente.

Os animais foram pré-tratados oralmente com o veículo (água destilada), morfina (2,5 mg.kg⁻¹) ou Sb-EBHE (10, 30 ou 100 mg.kg⁻¹) 30 minutos antes do experimento. Os resultados são expressos como média ± d.p. do percentual de aumento em relação à linha de base (n = 6-8) (gráfico da direita) ou área sob a curva (ASC) (gráfico da esquerda) calculada pelo Prism Software 5.0. A significância estatística de $p < 0,05$ foi calculada entre os grupos tratados com o Sb-EBHE ou morfina e o veículo (*) e entre os grupo tratado com o Sb-EBHE e a morfina (#) por ANOVA seguida do pós-teste de Bonferroni.

O **Gráfico 2** mostra que o grupo de animais tratados com a fração em clorofórmio (**Sb-FC**) apresentou, nas doses de 10, 30 e 100 mg.kg⁻¹ no tempo de 90 minutos após a sua administração, um efeito antinociceptivo com percentual de aumento em relação à linha de base de 67,0 %, 68,5%, e 65,3, respectivamente, sendo superior aos valores da morfina (gráfico da esquerda).

Quando os resultados expressos em tempo de latência ao longo do tempo foram convertidos em um gráfico em forma de área sob a curva (ASC) foi observado que o tratamento com **Sb-FC** nas doses de 10, 30 e 100 mg.kg⁻¹ apresentou um efeito antinociceptivo. Foi observado também que **Sb-FC**, nas três doses testadas, foi capaz de aumentar a ASC se comparada com o grupo tratado com o veículo.

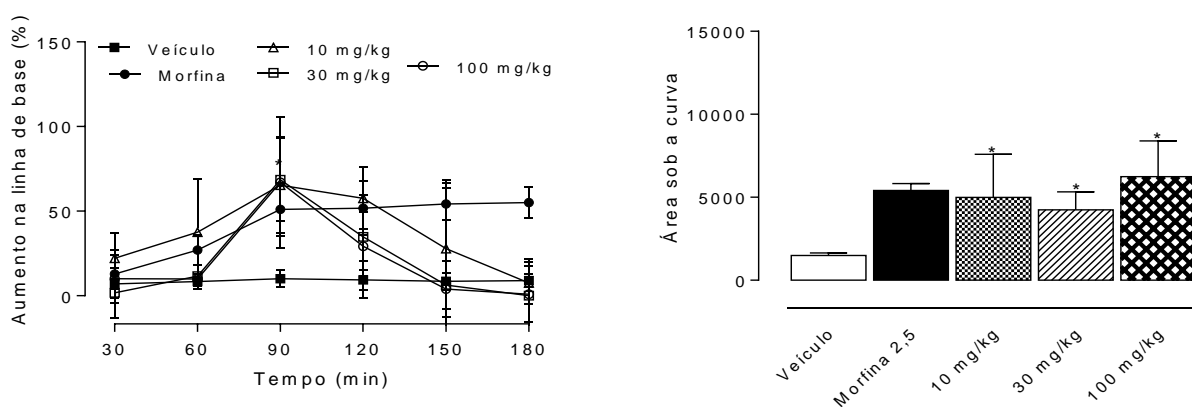


Gráfico 2. Efeito antinociceptivo de **Sb-FC** no modelo da placa quente.

Os animais foram pré-tratados oralmente com o veículo (água destilada), morfina (2,5 mg.kg⁻¹) ou **Sb-FC** (10, 30 ou 100 mg.kg⁻¹) 30 minutos antes do experimento. Os resultados são expressos como média ± d.p. do percentual de aumento em relação à linha de base (n= 6-8) (gráfico da direita) ou área sob a curva (ASC) (gráfico da esquerda) calculada pelo Prism Software 5.0. A significância estatística de p < 0,05 foi calculada entre os grupos tratados com **Sb-FC** ou morfina e o veículo (*) e entre os grupo tratado com o **Sb-FC** e a morfina (#) por ANOVA seguida do pós-teste de Bonferroni.

No **Gráfico 3**, o grupo de animais tratados com a fração em acetato de etila (**Sb-FA**) apresentou, na dose de 30 mg.kg⁻¹ nos tempos de 60 e 150 minutos e 100 mg.kg⁻¹, no tempo de 90 e 120 minutos após a sua administração, mostraram um efeito antinociceptivo com percentual de aumento em relação à linha de base de 41,5 %, 52,1%, (30 mg.kg⁻¹) e 26,9% e 34,8% (100 mg.kg⁻¹) , respectivamente, sendo superior aos valores da morfina (gráfico da esquerda).

Quando os resultados expressos em tempo de latência ao longo do tempo foram convertidos em um gráfico em forma de área sob a curva (ASC) foi observado que o tratamento com **Sb-FA** nas doses de 10, 30 e 100 mg.kg⁻¹ apresentou um efeito antinociceptivo dose-dependente e também foi observado que **Sb-FA**, nas três doses testadas, foi capaz de aumentar a ASC se comparada com o grupo tratado com o veículo. As doses de 30 e 100 mg.kg⁻¹ também foram capazes de aumentar a ASC em relação ao grupo tratado com morfina (gráfico da direita).

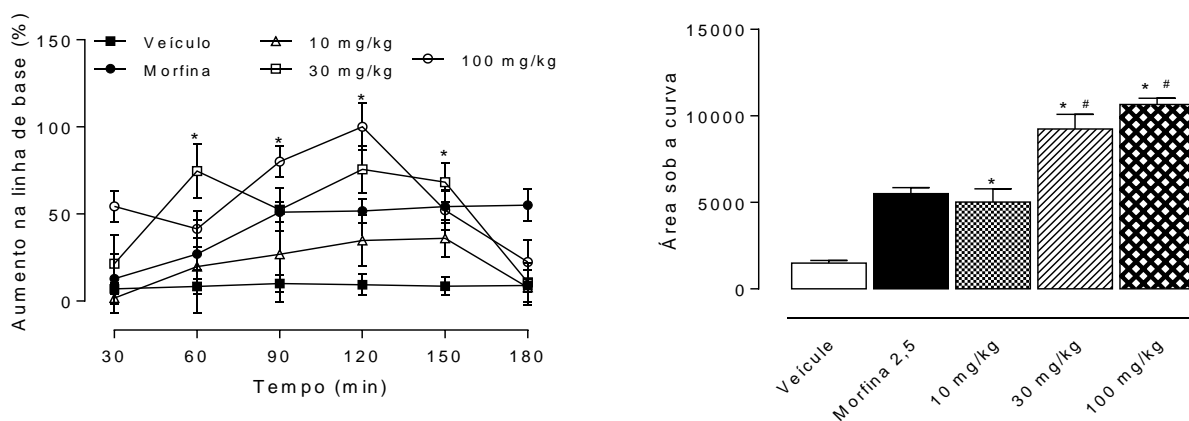


Gráfico 3. Efeito antinociceptivo de **Sb-FA** no modelo da placa quente.

Os animais foram pré-tratados oralmente com o veículo (água destilada), morfina (2,5 mg.kg⁻¹) ou Sb-FA (10, 30 ou 100 mg.kg⁻¹) 30 minutos antes do experimento. Os resultados são expressos como média ± d.p. do percentual de aumento em relação à linha de base (n = 6-8) (gráfico da direita) ou área sob a curva (ASC) (gráfico da esquerda) calculada pelo Prism Software 5.0. A significância estatística de p < 0,05 foi calculada entre os grupos tratados com Sb-FA ou morfina e o veículo (*) e entre os grupo tratado com Sb-FA e a morfina (#) por ANOVA seguida do pós-teste de Bonferroni.

Já no **Gráfico 4**, o grupo de animais tratados com a fração em n-butanol (**Sb-FB**) apresentou, na dose de 30 mg.kg⁻¹ nos tempos de 90 e 120 minutos e 100 mg.kg⁻¹, no tempo de 150 minutos após a sua administração, mostraram um efeito antinociceptivo com percentual de aumento em relação à linha de base de 59,4%, 81,3%, (30 mg.kg⁻¹) e 47,4% (100 mg.kg⁻¹), respectivamente, sendo superior aos valores da morfina (gráfico da esquerda).

Quando os resultados expressos em tempo de latência ao longo do tempo foram convertidos em um gráfico em forma de área sob a curva (ASC) foi observado que o tratamento com **Sb-FB** nas doses de 10, 30 e 100 mg.kg⁻¹ apresentou um efeito antinociceptivo dose-dependente e novamente as três doses testadas foram capazes de aumentar a ASC se comparada com o grupo tratado com o veículo.

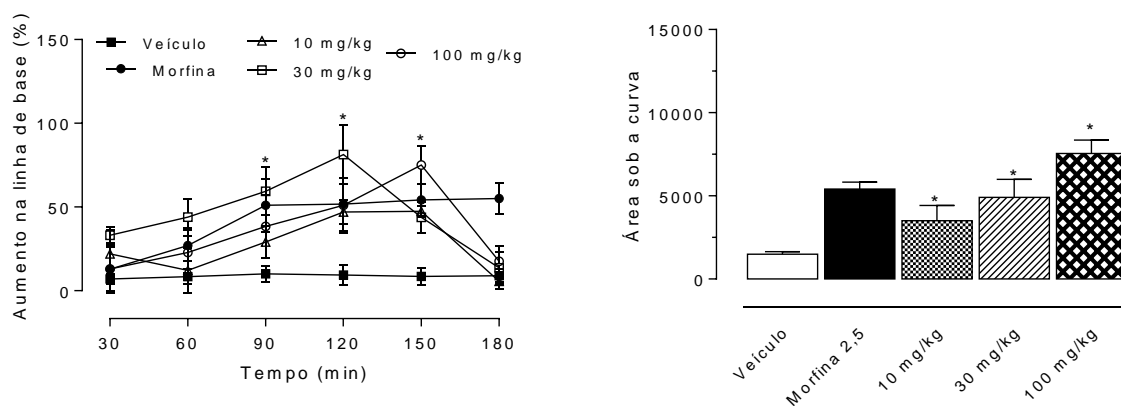


Gráfico 4. Efeito antinociceptivo de **Sb-FB** no modelo da placa quente.

Os animais foram pré-tratados oralmente com o veículo (água destilada), morfina ($2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$) ou Sb-FB ($10, 30$ ou 100 mg.kg^{-1}) 30 minutos antes do experimento. Os resultados são expressos como média \pm d.p. do percentual de aumento em relação à linha de base ($n = 6-8$) (gráfico da direita) ou área sob a curva (ASC) (gráfico da esquerda) calculada pelo Prism Software 5.0. A significância estatística de $p < 0,05$ foi calculada entre os grupos tratados com Sb-FB ou morfina e o veículo (*) e entre os grupo tratado com Sb-FB e a morfina (#) por ANOVA seguida do pós-teste de Bonferroni.

O **Gráfico 5**, mostra que o grupo de animais tratados com o cayapanosídeo D não foi capaz de aumentar o percentual em relação a linha de base (gráfico da esquerda). Porém, quando os resultados expressos em tempo de latência ao longo do tempo foram convertidos em um gráfico em forma de área sob a curva (ASC) foi observado que o tratamento com cayapanosídeo D nas doses de $1, 3$ e 10 mg.kg^{-1} apresentou um efeito antinociceptivo (gráfico da direita).

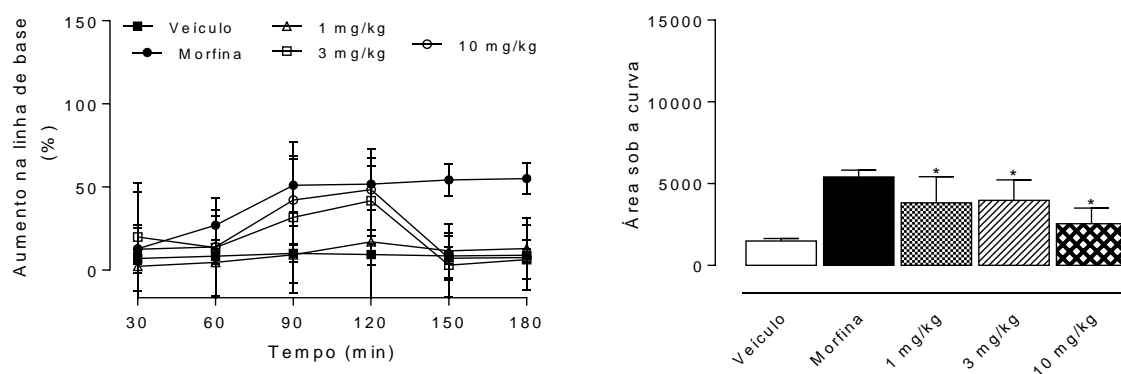


Gráfico 5. Efeito antinociceptivo do cayapanosídeo D no modelo da placa quente.

Os animais foram pré-tratados oralmente com o veículo (água destilada), morfina ($2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$) ou cayapanosídeo D ($1, 3$ ou 10 mg.kg^{-1}) 30 minutos antes do experimento. Os resultados são expressos como média \pm d.p. do percentual de aumento em relação à linha de base ($n=6-8$) (gráfico da direita) ou área sob a curva (ASC) (gráfico da esquerda) calculada pelo Prism Software 5.0. A significância estatística de $p < 0,05$ foi

calculada entre os grupos tratados com o Cayp. D ou morfina e o veículo (*) e entre os grupos tratados com o Cayp. D e a morfina (#) por ANOVA seguida do pós-teste de Bonferroni.

O **Gráfico 6**, mostra que o grupo de animais tratados com siolmatrosídeo I (SANTOS, 2016) apresentou, na dose de 3 mg.kg⁻¹ nos tempos de 120 e 150 minutos e 10 mg.kg⁻¹, no tempo de 90, 120 e 150 minutos após a sua administração, mostraram um efeito antinociceptivo com percentual de aumento em relação à linha de base de 59,9%, 89,7% e 56,4% (3 mg.kg⁻¹) e 68,8% e 67,3% (10 mg.kg⁻¹), respectivamente, sendo superior aos valores da morfina (gráfico da esquerda).

Quando os resultados expressos em tempo de latência ao longo do tempo foram convertidos em um gráfico em forma de área sob a curva (ASC) foi observado que o tratamento com siolmatrosídeo I, nas doses de 3 e 10 mg.kg⁻¹, apresentou um efeito antinociceptivo. A dose de 3 e 10 mg.kg⁻¹ também foram capazes de aumentar a ASC em relação ao grupo tratado com morfina (gráfico da direita).

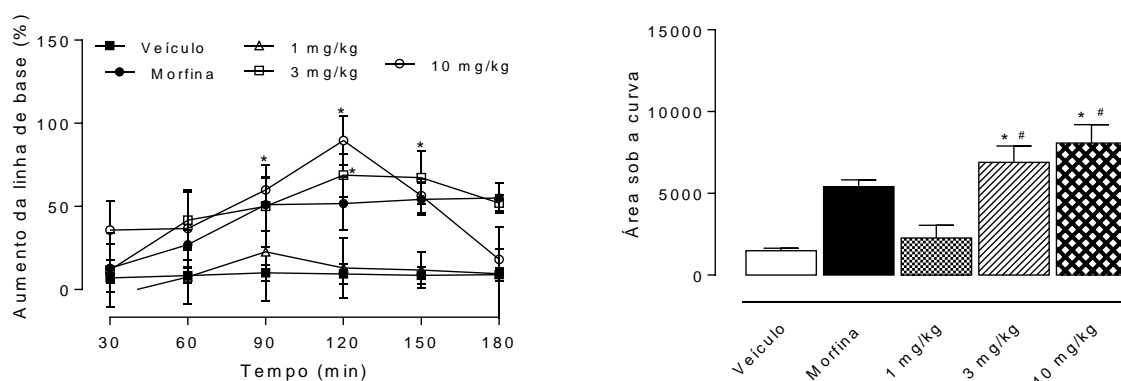


Gráfico 6. Efeito antinociceptivo do siolmatrosídeo I no modelo da placa quente.

Os animais foram pré-tratados oralmente com o veículo (água destilada), morfina (2,5 mg.kg⁻¹) ou siolmatrosídeo I (1, 3 ou 10 mg.kg⁻¹) 30 minutos antes do experimento. Os resultados são expressos como média ± d.p. do percentual de aumento em relação à linha de base (n = 6-8) (gráfico da direita) ou área sob a curva (ASC) (gráfico da esquerda) calculada pelo Prism Software 5.0. A significância estatística de p < 0,05 foi calculada entre os grupos tratados com o Sap ou morfina e o veículo (*) e entre os grupo tratado com o Sap e a morfina (#) por ANOVA seguida do pós-teste de Bonferroni.

A avaliação da atividade antinociceptiva do extrato, frações e algumas substâncias isoladas de *Siolmatra brasiliensis* mostra que o extrato bruto (**Sb-EBHE**) tem ação antinociceptiva, porém estatisticamente não superior a morfina (controle positivo), após o fracionamento do extrato observa-se o aumento considerável da atividade antinociceptiva na fração **Sb-FA** (a 30 e 100 mg.kg⁻¹) o que pode indicar uma maior atividade antinociceptiva das substâncias presentes na fração em comparação com as substâncias identificadas nas

outras frações. Cucurbitacinas apresentam uma variada gama de atividades biológicas, como mostrado na revisão da literatura, alguns estudos sobre a atividade anti-inflamatória concluíram que as cucurbitacinas auxiliam na inibição da síntese de produtos da ciclooxigenase, advindas da via do ácido araquidônico (PETERS et al., 1997). O teste com a *nor*-cucurbitacina isolada mostrou um efeito antinociceptivo só quando comparado ao veículo, o que pode indicar um efeito sinérgico das substâncias de **Sb-FA** na atividade antinociceptiva. As saponinas do tipo damarano também são alvo de investigação quanto a atividade anti-inflamatória, alguns estudos relacionam a atividade com a supressão da produção de óxido nítrico em genes relacionados à inflamação em células RAW 264.7 estimulados por lipopolisacarídeos (LPS) (LI et al., 2018), tal fato pode também estar ligado a atividade antinociceptiva observada em **Sb-FA** e **Sb-FB**.

7.1.2. Atividade anti-glicação *in vitro*

A formação excessiva e acúmulo de AGEs estão intimamente relacionados com o estabelecimento das complicações do diabetes mellitus, sendo uma das principais consequências do estresse glico-oxidativo subsequente à manutenção da hiperglicemia (GIACCO & BROWNLEE, 2010). Os AGEs são formados, na sua maioria, por reações não enzimáticas envolvendo grupos carbonila de açúcares redutores (glicose e frutose, principalmente) e grupos amino livres de proteínas via reação de Maillard. A cascata reacional deste processo envolve etapas que, até certo ponto, são reversíveis até a formação dos produtos de Amadori; estes sofrem processos oxidativos formando substâncias dicarbonílicas altamente reativas (e.g. glioxal, metilglioxal e 3-deoxiglicosona) que, por sua vez, sofrem reações de desidratação e rearranjos, formando os AGEs, que se depositam nos tecidos afetados pelo excesso de glicose (VINSON & HOWARD, 1996; SINGH et al., 2014).

Uma vez que a formação dos AGEs se dá em várias etapas, impedimento ou bloqueio em sua formação por variados mecanismos pode ocorrer durante todo o processo. Os mecanismos envolvidos na inibição da formação de AGEs ocorrem principalmente, via diminuição na produção de radicais livres que ocorre durante o processo de glicação, diminuição na produção de bases de Schiff e produtos de Amadori, eliminação de metilglioxal (espécie dicarbonílica altamente reativa), bloqueio na formação de *crosslink* entre AGEs, quelatação de metais de transição que são associados com a produção de AGEs, e bloqueio da função dos receptores de AGEs com posterior diminuição do desenvolvimento de estresse oxidativo e inflamação (YEH et al., 2017).

Na avaliação da prevenção de formação de AGEs fluorescentes com extratos e frações de *S. brasiliensis* (**Figura 60**), observa-se que o extrato bruto hidroetanólico (**Sb-EBHE**) apresentou, a $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$, potencial inibitório na formação de AGEs próximo ao efeito do controle anti-glicação utilizado (aminoguanidina, 1 mM) durante os 30 dias de incubação. Observa-se também que para a fração clorofórmica, o efeito de inibição na formação de AGEs foi mais acentuado, nas concentrações de $0,5$ e $0,25 \text{ mg.mL}^{-1}$, até mesmo em relação à aminoguanidina. Já para a fração butanólica, a concentração de $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$, também apresentou atividade próxima àquela da aminoguanidina. A fração em acetato de etila (**Sb-FA**) não apresentou atividade significativa em relação à inibição na formação de AGEs, durante os 30 dias de tratamento, sugerindo que essa fração rica em *nor*-cucurbitacinas não é eficaz na prevenção/atenuação de formação de AGEs.

Com exceção da fração **Sb-FA**, as demais apresentaram comportamento de inibição na formação de AGEs, de forma concentração-dependente. Alguns metabólitos secundários podem ser associados à inibição na formação dos AGEs por variados mecanismos de ação. Na fração **Sb-FC**, a presença dos flavonoides e lignanas (substâncias fenólicas) pode estar ligada diretamente à inibição na formação de AGEs; alguns estudos correlacionam a presença de substâncias fenólicas, tal como o flavonoide kampferol, com a prevenção na formação de AGEs, devido a sua capacidade antioxidante e inibidora na formação de espécies reativas de oxigênio (YANG et al., 2018, YEH et al., 2017). MOTOMURA e colaboradores (2009) avaliaram o efeito do extrato de *Astragalus membranaceus* Bunge, na formação de AGEs em sistema-modelo *in vitro*, concluindo que as saponinas do tipo cicloartano presentes seriam as responsáveis pela inibição da formação de *N*-(carbóximetil)-lisina e pentosidina; ambos os AGEs estão diretamente relacionados às complicações do diabetes mellitus devido ao seu acúmulo nos tecidos. As saponinas presentes em **Sb-FB**, embora de outro tipo, podem estar relacionadas à capacidade de *Siolmatra brasiliensis* em inibir a formação de AGEs.

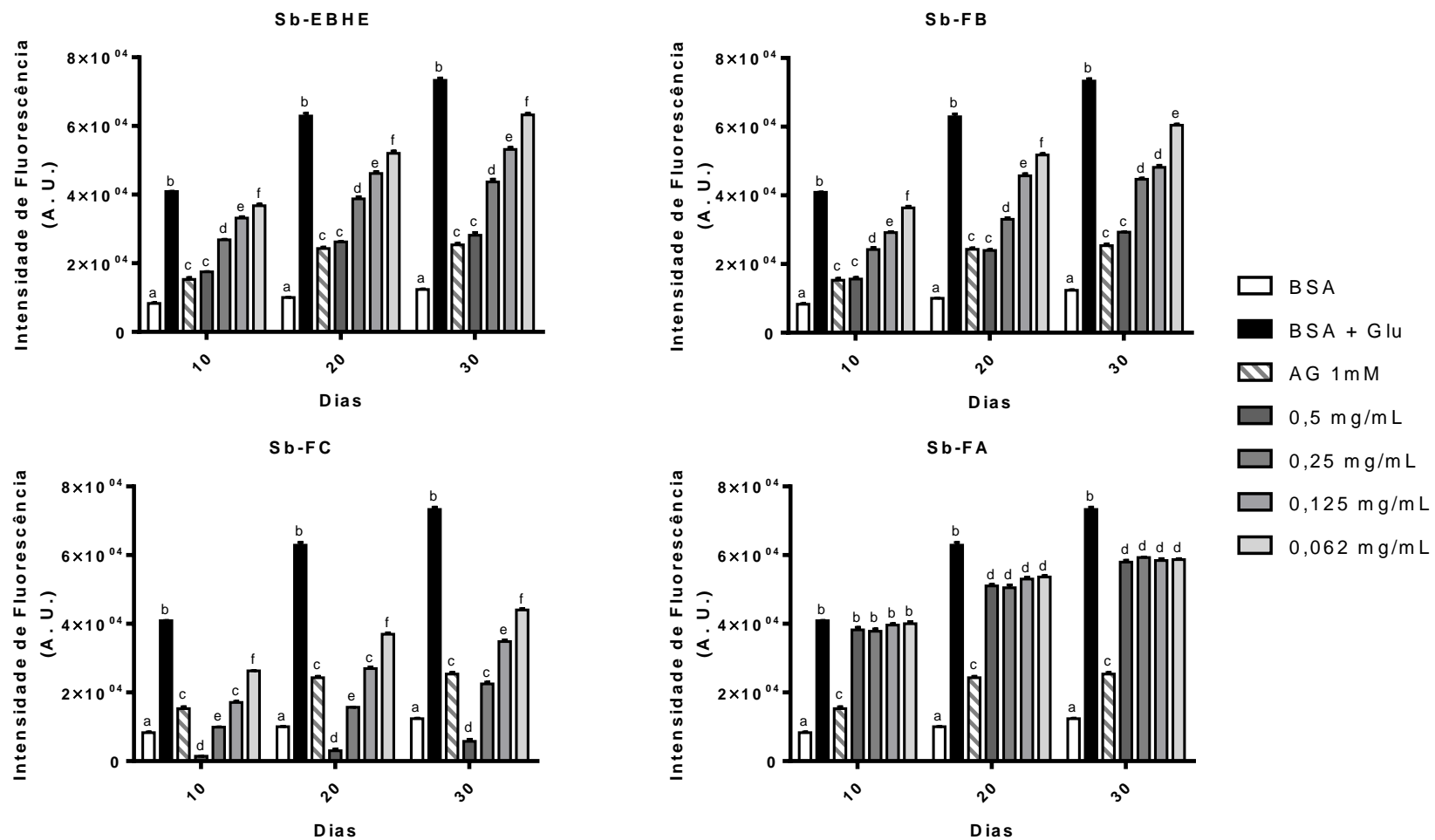


Figura 60. Efeitos dos extratos e frações de *S. brasiliensis* na formação de AGEs fluorescentes em sistema-modelo *in vitro* de glicação proteica. Valores são expressos em média \pm desvio padrão. Diferenças entre os grupos foram consideradas estatisticamente diferentes se $p < 0,05$ e foram analisadas com ANOVA de uma via seguido por teste Student-Newman-Keuls. Médias que não compartilham a mesma letra apresentam diferenças.

7.2. Atividades biológicas das espécies de *Ziziphus* Mill.

Os extratos das espécies de *Ziziphus* foram submetidos a atividades antibacteriana (contra *Bacillus subtilis* e *Aliivibrio fischeri*) e citotóxica [frente a linhagem celular de adenocarcinoma colorretal humano (HT-29) e de câncer prostático humano (PC-3)], as atividades foram avaliadas no Departamento de Química Bioorgânica do *Leibniz Institute of Plant Biochemistry*, Halle (Saale) - Alemanha. Avaliou-se também as atividades antifúngicas (frente a *Septoria tritici*, *Botrytis cinerea* e *Phytophthora infestans*) e anti-helmíntica (frente a *Caenorhabditis elegans*), porém, não houveram resultados positivos nas concentrações testadas.

7.2.1. Atividade antibacteriana

7.2.1.1. *Bacillus subtilis*

Observa-se no **Gráfico 7** as respectivas inibições dos extratos do caule e folhas das espécies de *Ziziphus*, sendo que os extrato do caule e folhas de *Z. glaziovii* apresentaram maior inibição da cepa bacteriana na maior concentração testada ($500 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Os extratos do caule e folhas de *Z. joazeiro* e das folhas de *Z. platyphylla* apresentaram atividade de inibição fraca (36 – 46%). Observa-se também a presença de altos valores de desvio padrão nas análises que foram ocasionados devido a aglomeração das bactérias no meio de cultura o que torna difícil a manutenção da heterogeneidade da cultura no momento do plaqueamento das mesmas nas microplacas de 96 poços. Valores de inibição negativos indicam que o tratamento aumentou a proliferação bacteriana no meio de cultura e/ou interferência da coloração dos extratos na leitura.

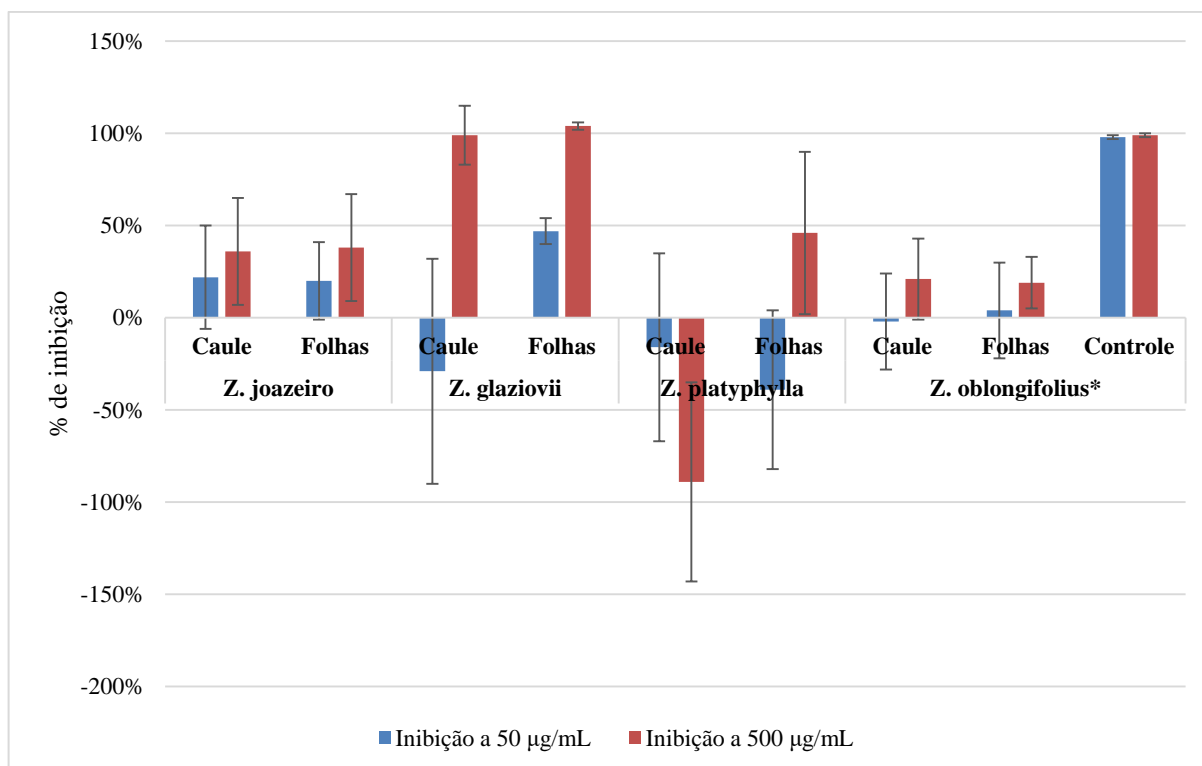


Gráfico 7. Atividade antibacteriana dos extratos de *Ziziphus* frente a *B. subtilis*.

Após a partição líquido-líquido do extrato bruto do caule de *Z. glaziovii*, as frações (em CHCl₃, AcOEt e BuOH) foram submetidas a ensaio de inibição de *B. subtilis* (**Gráfico 8**). A fração em CHCl₃ apresentou atividade inibitória alta ($\approx 87 \pm 3\%$) na maior concentração testada ($500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), esse resultado sugere que as substâncias de média polaridade podem ser responsáveis pela atividade antibacteriana conferida ao extrato.

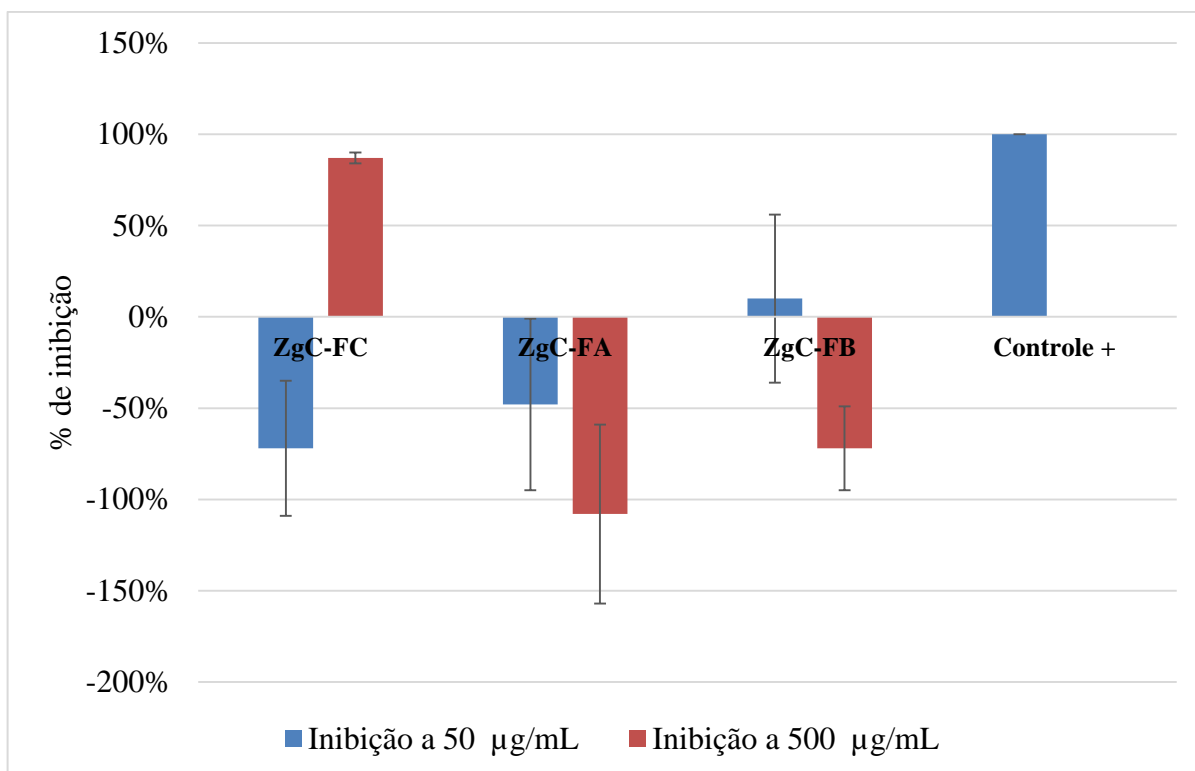


Gráfico 8. Atividade antibacteriana das frações de **ZgC-EBM** frente a *B. subtilis*.

Após os procedimentos cromatográficos realizados com **ZgC-FC** de *Z. glaziovii*, todas as substâncias isoladas (com exceção do fitoesterol daucosterol) foram submetidas a avaliação da atividade antibacteriana nas concentrações de 1 e 100 µM. Observa-se pelos resultados (**Gráfico 9**) que as substâncias **Zg3** e **Zg5** (ácido epigouanico e ácido alfitólico, respectivamente) inibiram praticamente todo o crescimento bacteriano a 100 µM, procedeu-se então com o cálculo do IC₅₀ para essas duas substâncias onde testou-se a inibição de *B. subtilis* em oito concentrações diferentes (1, 5, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 µM) obtendo-se um valor de IC₅₀ para as substâncias **Zg3** e **Zg5** de 20 e 12 µM, respectivamente.

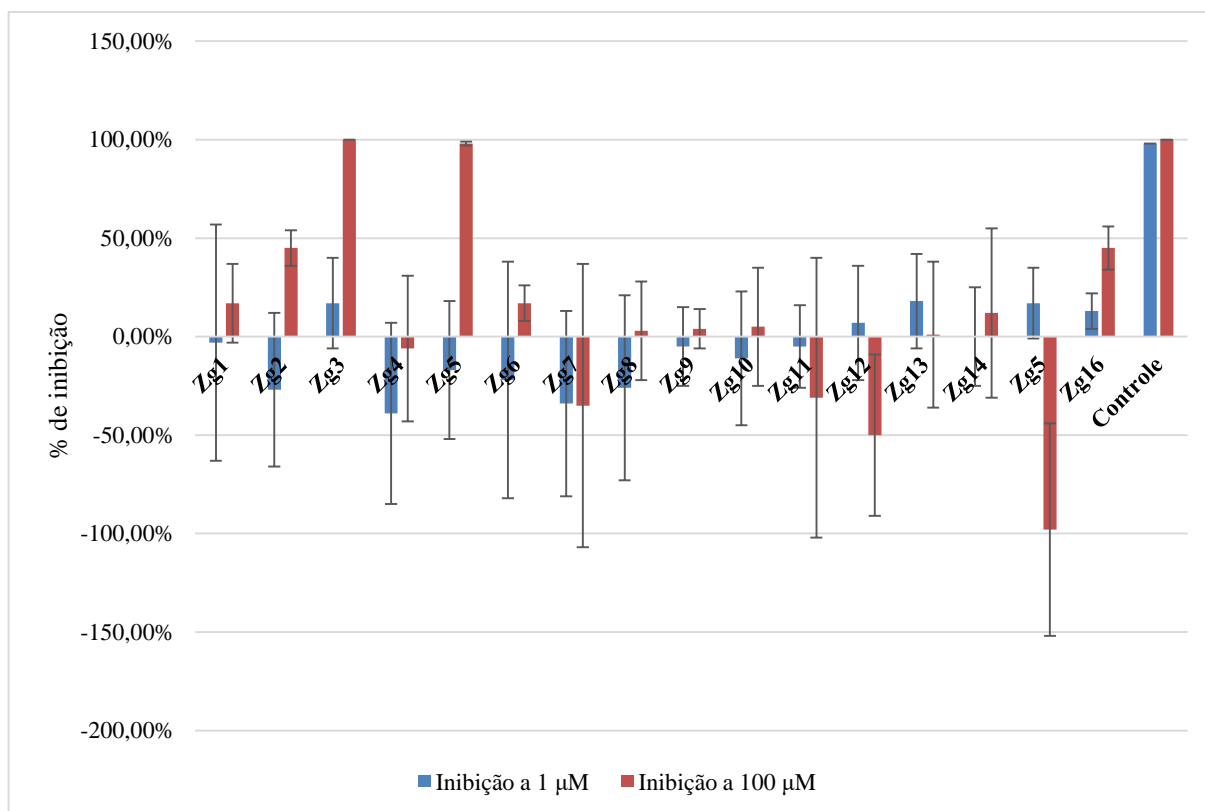


Gráfico 9. Atividade antibacteriana das substâncias isoladas de *Z. glaziovii* frente a *B. subtilis*.

7.2.1.2. *Aliivibrio fischeri*

A. fischeri é uma bactéria Gram-negativa, não-patogênica, comumente encontrada em animais marinhos, devido a sua facilidade de estabelecer relações simbióticas pois conferem aos mesmos a bioluminescência necessária para que eles vivam em grandes profundidades onde há ausência de luz. Os extratos de *Ziziphus* foram testados nas concentrações de 50 e 500 µg.mL⁻¹, cloranfenicol (1 e 10 µM) foi usado como controle positivo.

Observa-se no **Gráfico 10** que frente a cepa bacteriana Gram-negativa, os extratos do caule e folhas de *Z. joazeiro* foram totalmente ativos a 500 µg.mL⁻¹, o extratos das folhas das outras espécies apresentaram atividade moderada, também a 500 µg.mL⁻¹ (62 – 68%).

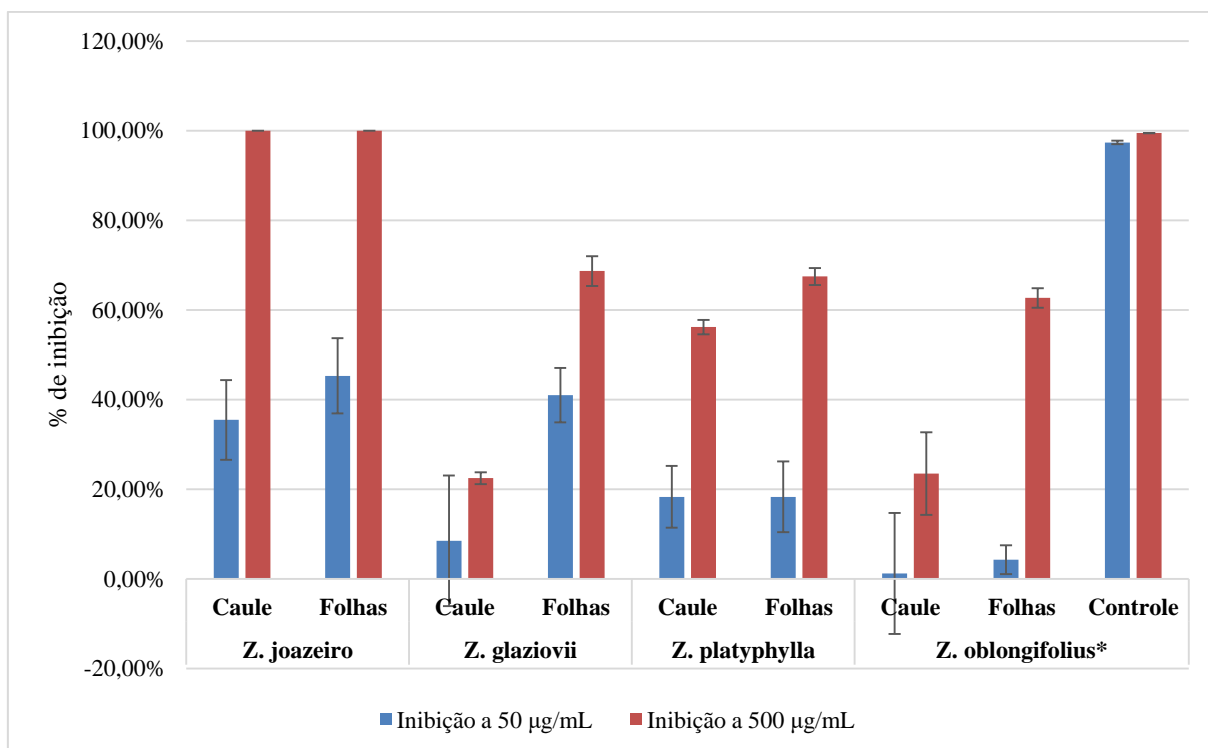


Gráfico 10. Atividade antibacteriana dos extratos de *Ziziphus* frente a *A. fischeri*.

Após os procedimentos cromatográficos e elucidação estrutural dos metabólitos de **ZgC-FC**, submeteu-se as substâncias isoladas à atividade de inibição frente a *A. fischeri* (**Gráfico 11**). Observa-se que nenhuma substância testada inibiu totalmente o crescimento bacteriano na maior concentração testada (100 µM), apenas as substâncias **Zg5** (ácido alfitólico), **Zg6** (ácido ceanótico), **Zg11** (ziziglaziovigenina 3-*O*- α -L-arabinofuranosil-(1-2)- α -L-arabinopiranosídeo) e **Zg12** (ziziglaziovigenina 3-*O*- β -D-glicopiranosil-(1-3)- α -L-arabinopiranosídeo) apresentaram inibição moderada (42 – 53%) na concentração de 100 µM.

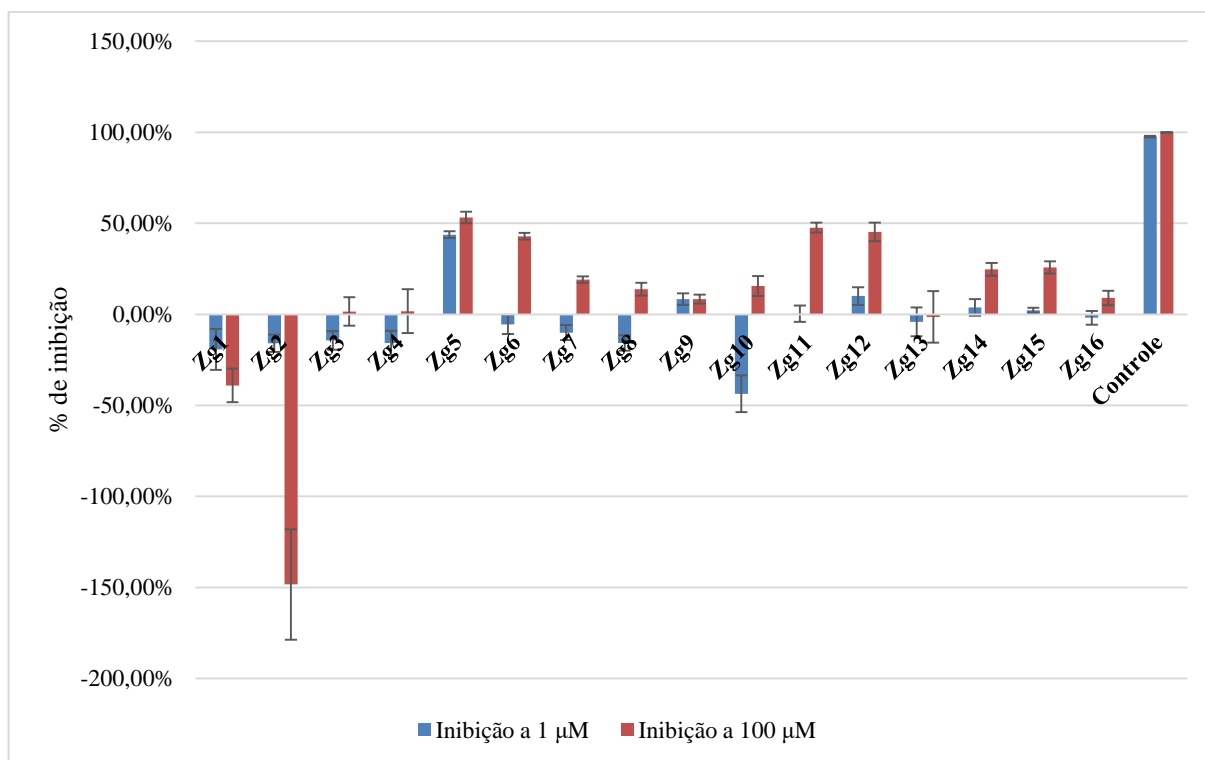


Gráfico 11. Atividade antibacteriana das substâncias isoladas de *Z. glaziovii* frente a *A. fisheri*.

7.2.2. Atividade citotóxica

Na avaliação da atividade citotóxicas dos extratos frente a linhagem celular HT-29 (**Gráfico 12**) observa-se que todos os extratos apresentaram atividade citotóxica na maior concentração testada ($50 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e em ambos os métodos de viabilidade testados (MTT e CV) [% de sobrevivência: 2,6 a -1,2% (MTT) e 1,4 a -0,5% (CV)].

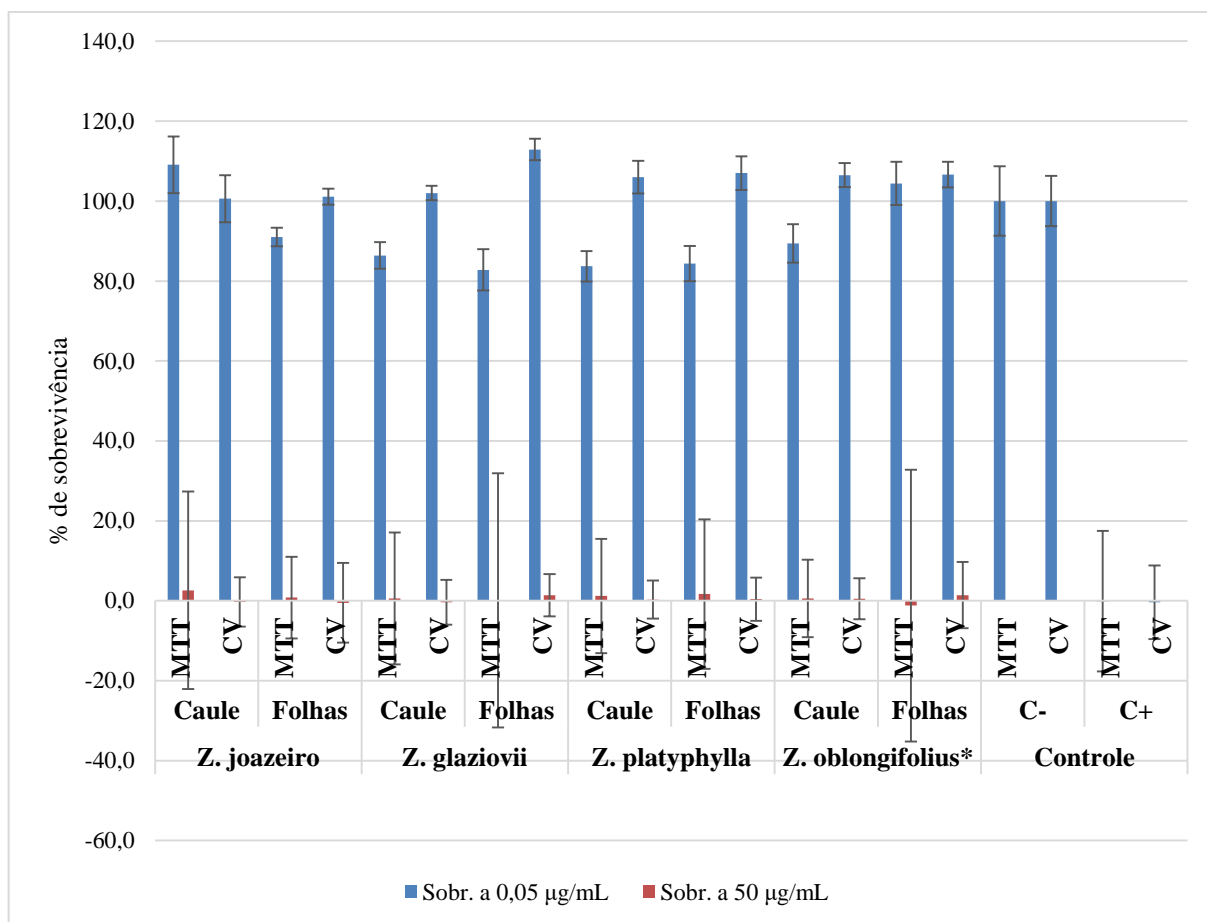


Gráfico 12. Atividade citotóxica dos extratos de *Ziziphus* frente a linhagem HT-29.

Na avaliação da citotoxicidade das frações provenientes da partição líquido-líquido de **ZgC-EBM (Gráfico 13)** observa-se que todas as frações apresentaram atividade citotóxica alta frente a linhagem HT-29 a 50 µg.mL⁻¹ [% de sobrevivência: 0,7 a 0,4% (MTT) e -41,7 a -32,2% (CV)]. Valores negativos de percentual de sobrevivência celular podem estar ligados a coloração do extrato que altera a coloração do meio de cultura, causando desvios na leitura no comprimento de onda adequado.

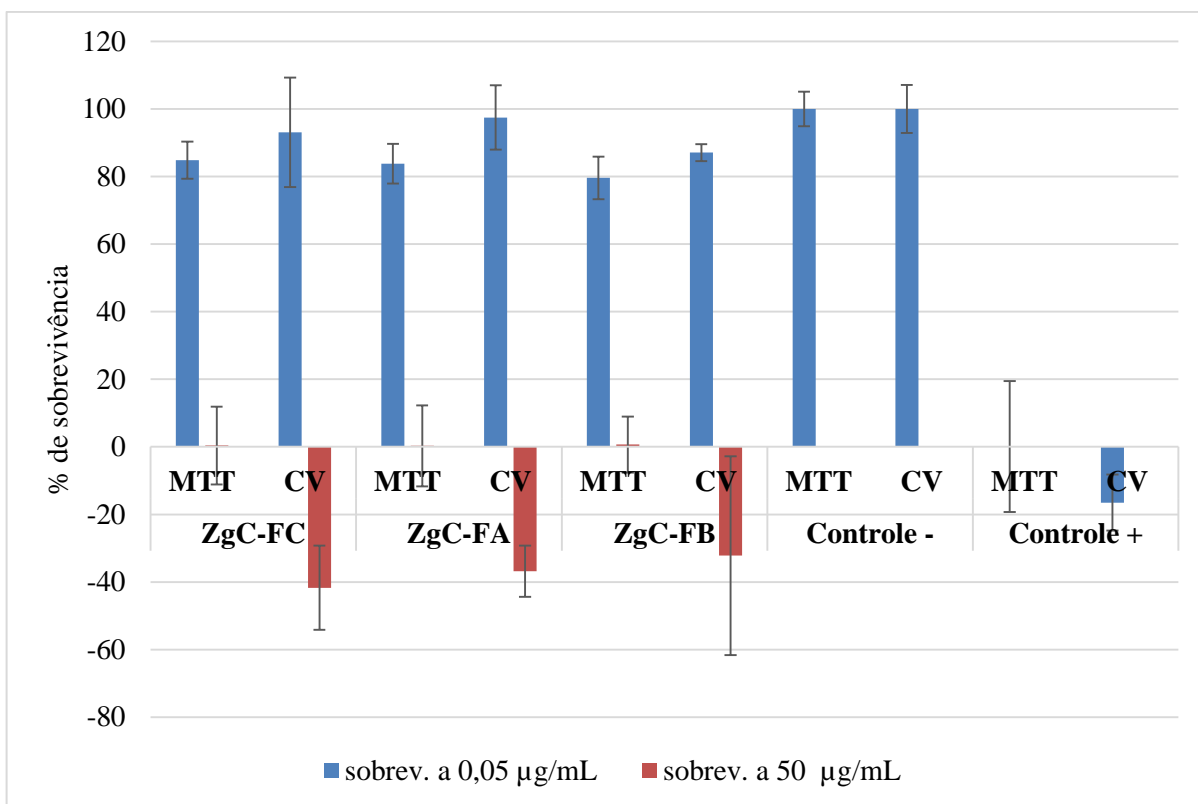


Gráfico 13. Atividade citotóxica das frações de **ZgC-EBM** frente a linhagem HT-29.

Submeteu-se posteriormente as substâncias isoladas de **ZgC-FC** à avaliação de atividade citotóxica frente a linhagem HT-29 (**Gráfico 14**). Nenhuma das substâncias testadas apresentaram atividade citotóxica alta nas concentrações testadas (0,01 e 10 µM), observou-se porem citotoxidez moderada das substâncias **Zg2** (ácido betulínico, $52 \pm 22\%$ a 10 µM, MTT), **Zg4** (ziziglaziovigenina, $68,1 \pm 13,4\%$ a 10 µM, MTT) e **Zg6** (ácido ceanótico, $63,2 \pm 6,7\%$ a 10 µM, MTT).

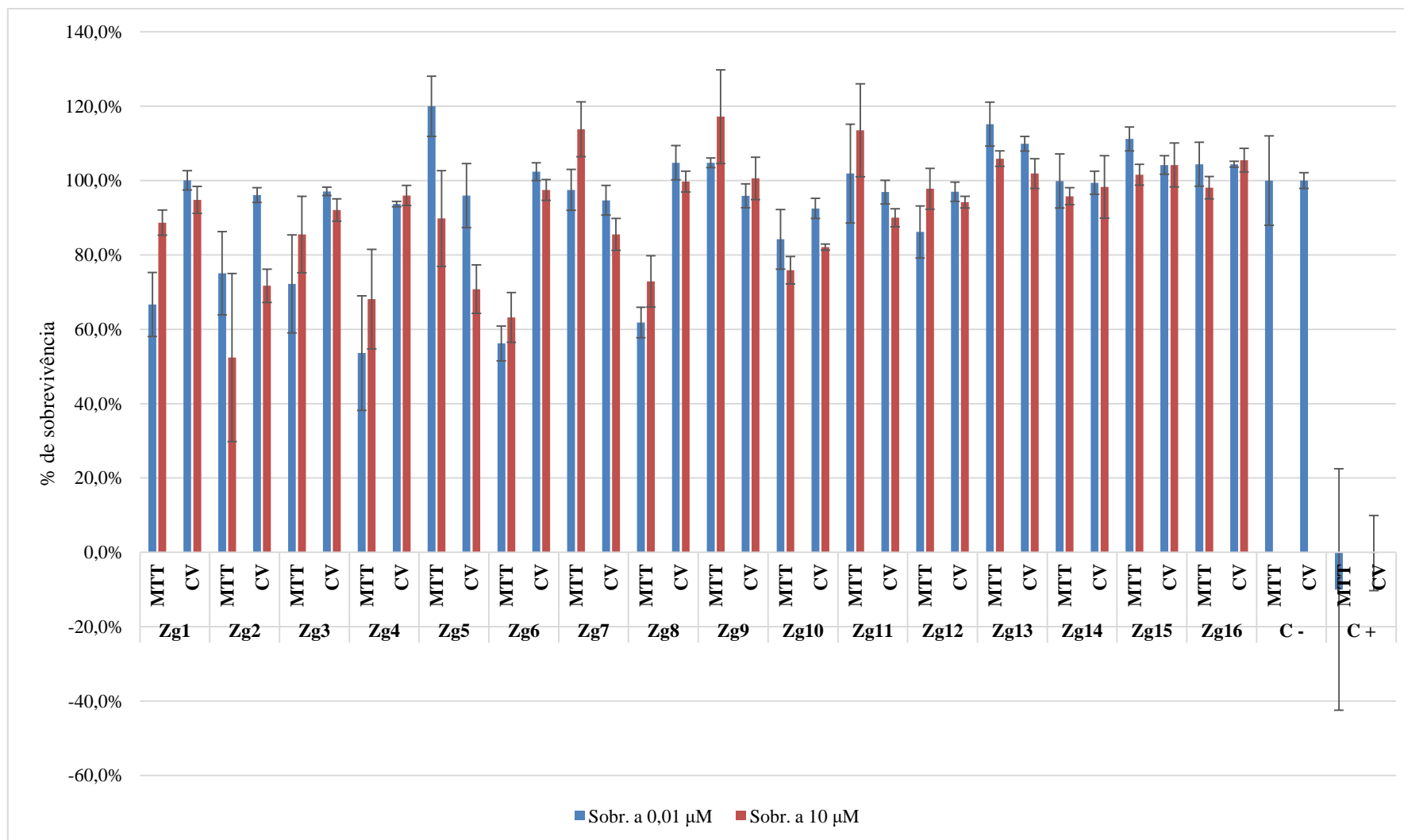


Gráfico 14. Atividade citotóxica das substâncias isoladas de *Z. glaziovii* frente a linhagem HT-29.

Os extratos testados também foram bastante ativos frente a linhagem PC-3 (**Gráfico 15**) onde todos (com exceção do extrato do caule de *Z. glaziovii*, em ensaio de MTT) obtiveram baixa percentagem de sobrevivência (inferiores a 12%) na concentração de 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. O alto percentual de sobrevivência no ensaio de viabilidade com MTT obtido com o extrato do caule de *Z. glaziovii* pode ter sido ocasionado por erro de pipetagem ou de contagem das células, mas não se descarta também um mecanismo diferente de citotoxicidade visto que MTT é um método de viabilidade que mede atividade enzimática através da redução do sal de MTT a formazam pela desidrogenase mitocondrial presente nas células vivas e o ensaio de CV mede a quantidade de material celular aderente viável (ŚLIWKA et al., 2016).

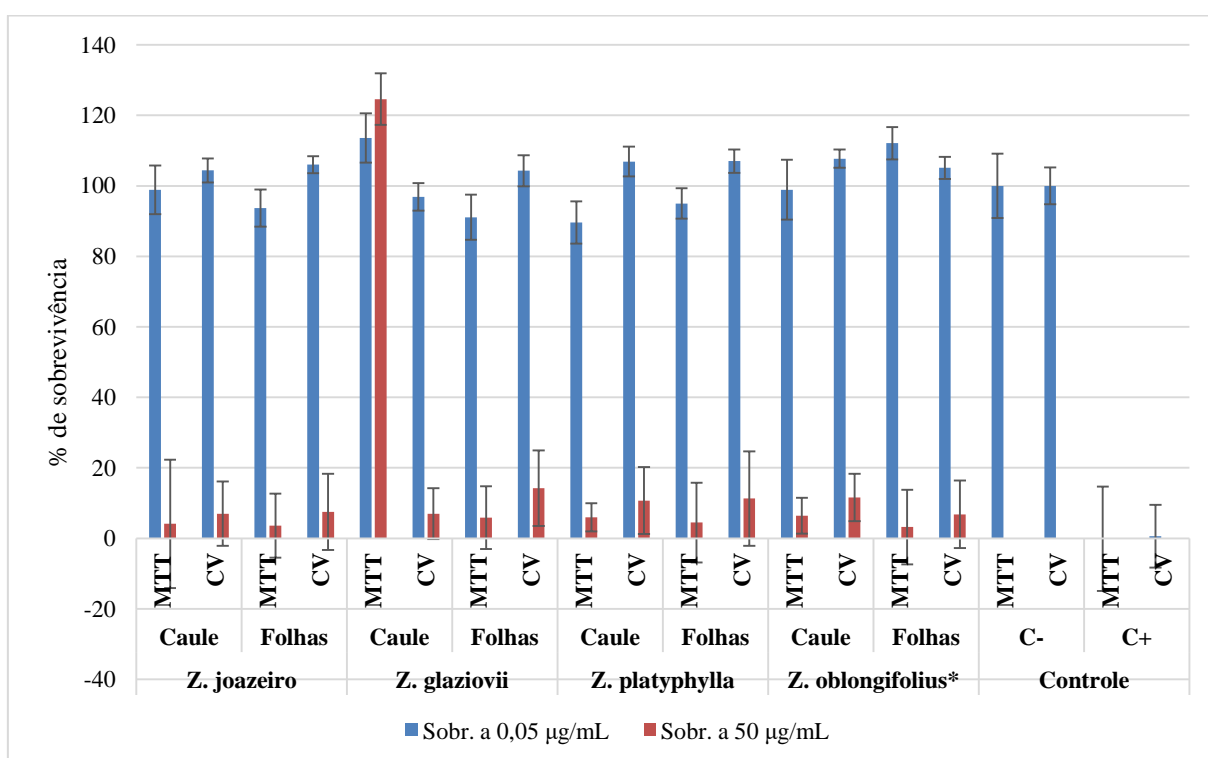


Gráfico 15. Atividade citotóxica dos extratos de *Ziziphus* frente a linhagem PC-3.

Na avaliação das frações de **ZgC-EBM** observa-se também a citotoxicidade alta das frações a 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (**Gráfico 16**), com percentual de sobrevivência de 6,3 a 2,8% (MTT) e 20,9 a 15,5% (CV).

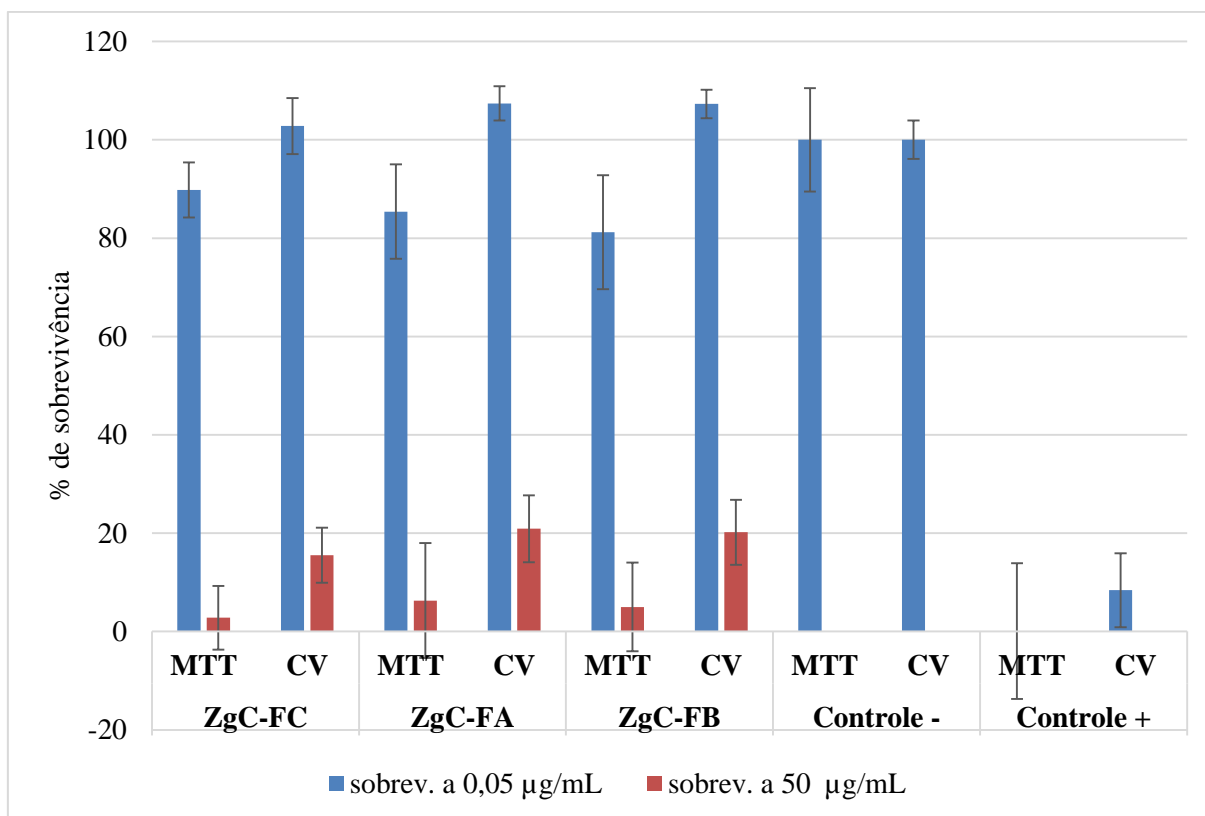


Gráfico 16. Atividade citotóxica das frações de **ZgC-EBM** frente a linhagem PC-3.

Frente a linhagem PC-3, as substâncias isoladas de **ZgC-FC** também não apresentaram citotoxicidade elevada (**Gráfico 17**). Apenas a substância **Zg2** (ácido betulínico) apresentou percentagem de inibição inferior a 70% ($66 \pm 7\%$ a $10 \mu\text{M}$, MTT; $64 \pm 4,6\%$ a $10 \mu\text{M}$, CV).

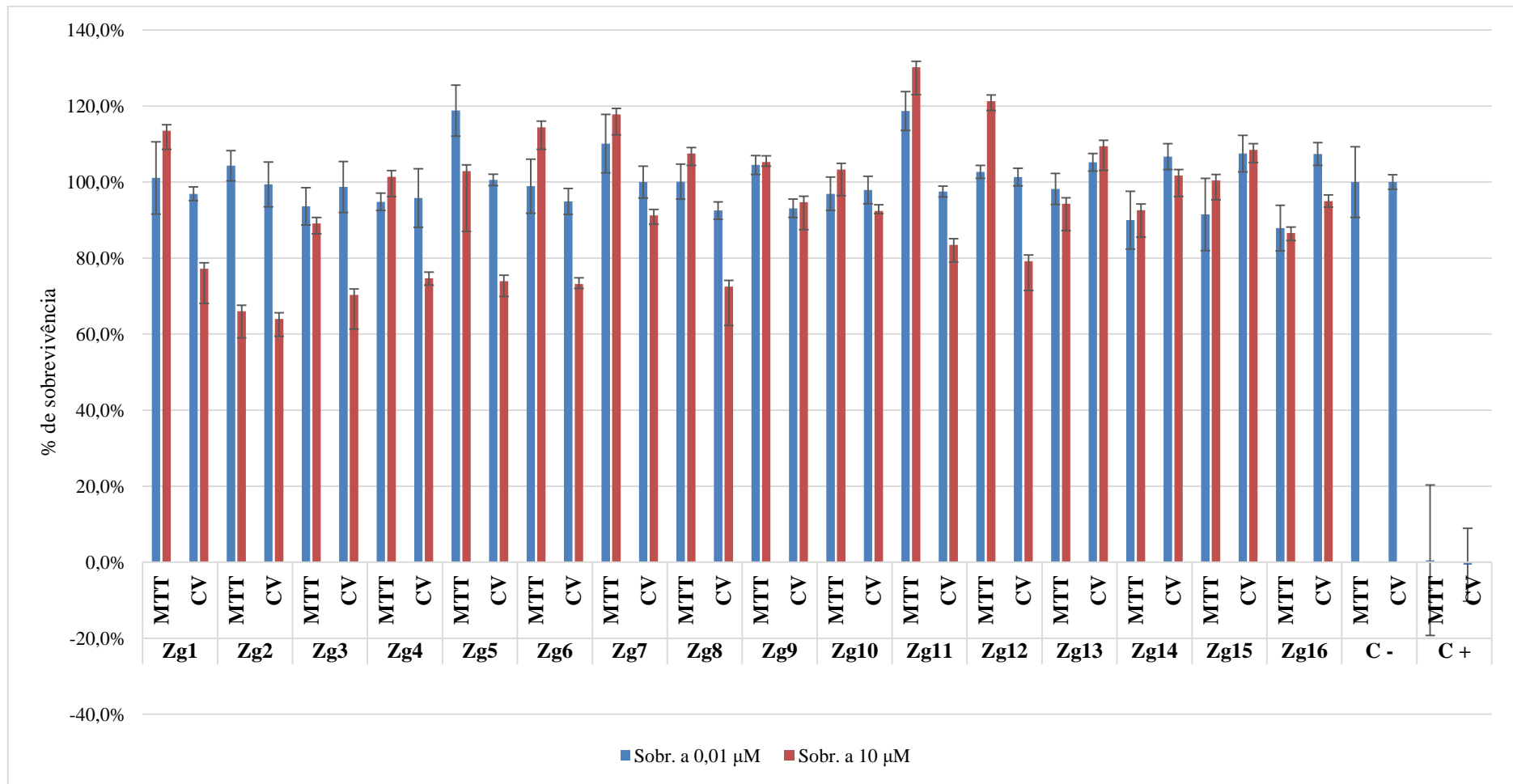


Gráfico 17. Atividade citotóxica das substâncias isoladas de *Z. glaziovii* frente a linhagem PC-3.

A alta citotoxicidade observada na avaliação dos extratos e frações não foi observada nas substâncias isoladas quando testadas a 0,01 e 10 μM o que sugere que a atividade citotóxica observada nos extratos e frações pode estar relacionado a um efeito sinérgico das substâncias presentes nos mesmos que aumenta o poder citotóxico do extrato ou fração. Cabe salientar também que a falta de atividades antifúngica e anti-helmíntica pode sugerir que o extrato e frações apresentam toxicidade seletiva frente a certos microorganismos e células tumorais.

8. CONCLUSÕES

Com o auxílio de procedimentos cromatográficos e uso de métodos físicos de análise orgânica foi possível isolar e determinar as estruturas de vinte substâncias do extrato bruto hidroetanólico do caule de *Siolmatra brasiliensis*, sendo que cinco delas estão sendo descritas pela primeira vez na literatura científica (siolmatrina e siolmatrosídeos II-V). Esses metabolitos estão de acordo com os que comumente encontrados em espécies da família Cucurbitaceae, na sua maioria triterpenoides (cucurbitacinas e saponinas do tipo damarano); são informações que podem contribuir com estudos de quimiotaxonomia/quimiosistemática da família. Na avaliação de atividade antinociceptiva dos extratos e frações de *S. brasiliensis* conclui-se que **Sb-FA** possui atividade antinociceptiva superior ao extrato, demais frações da espécie e até mesmo ao controle positivo, sugerindo que o sinergismo entre as substâncias identificadas (substâncias fenólicas, *nor*-cucurbitacinas e saponinas) aumentem a atividade de maneira dose-dependente. Os resultados apresentados são promissores quanto a atividade antinociceptiva, podendo sugerir o uso da espécie como alternativa para tratamento de dor, como já descrito em algumas referências citadas. Na avaliação da atividade anti-glicação *in vitro* dos extratos e frações de *S. brasiliensis* observou-se a prevenção da formação de AGEs pelo extrato e frações (com exceção de **Sb-FA**) de maneira dose dependente, com destaque para **Sb-FC** sugerindo que as substâncias fenólicas identificadas no trabalho atuam de maneira efetiva na prevenção da formação de AGEs por mecanismos de ação antioxidante, inibição de formação de espécies reativas de oxigênio e inibição de formação de metilglioxal (espécie carbonilada altamente reativa). As saponinas identificadas podem estar relacionadas a inibição de AGEs por **Sb-FB** pela capacidade de inibição da via do glioxal, como já descrito na literatura. Tais resultados corroboram com os resultados encontrados no trabalho desenvolvido durante o mestrado e dá suporte para a continuidade da investigação da formação de AGEs em modelo *in vivo*.

Na triagem de atividades biológicas realizadas com as espécies de *Ziziphus* selecionadas, observou-se atividades antibacterianas e citotóxicas promissoras, resultados esperados, considerando que algumas espécies do gênero apresentam indicações populares para variados fins terapêuticos. A ausência de atividades anti-helmíntica e antifúngica podem indicar uma toxidez seletiva frente a determinados organismos.

Os procedimentos cromatográficos com o a fração em CHCl_3 do extrato bruto do caule de *Z. glaziovii* aliado a métodos físicos de análise orgânica, permitiram o isolamento e

elucidação estrutural de dezessete substâncias, sendo sete inéditas na literatura científica, incluindo um novo esqueleto triterpênico do tipo damarano (derivado hidroxilado da jujubogenina, nomeado de ziziglaziovigenina). As substâncias isoladas estão de acordo com os metabólitos comumente encontrados em espécies do gênero *Ziziphus*, sendo triterpenoides do tipo ceanotano, lupano e damarano. Na avaliação antibacteriana das substâncias isoladas, observou-se que o ácido epigouânico e ácido alfitólico apresentaram as maiores atividades frente a *B. subtilis* sugerindo que essas substâncias podem estar diretamente ligadas a alta atividade antibacteriana conferida ao extrato e fração em CHCl_3 . As substâncias não apresentaram atividade citotóxica satisfatória nas concentrações testadas (0,01 e 10 μM), o que sugere um efeito citotóxico sinérgico das substâncias no extrato e também nas frações. Esse é o primeiro estudo com a espécie *Z. glaziovii* e as informações obtidas podem servir para estudos quimiotaxonomicos com o gênero além de fornecer informações que podem servir para a utilização da espécie, seja como agente antibacteriano e/ou fonte de saponinas para a utilização em sabões e detergentes como já é feito em algumas espécies de *Ziziphus*.

A extração ácido-base executada no extrato metanólico do caule de *Ziziphus joazeiro* levou a proposta de identificação por CLUE-EM-EM de oito alcaloides ciclopeptídicos do tipo Ib já descritos na literatura, cujas estruturas foram propostas pelos valores de massa obtidos em experimento de EM^1 e fragmentações obtidas por EM^2 e comparação com dados da literatura científica. O assinalamento inequívoco da estrutura somente seria possível com análises uni e bidimensionais de RMN, o que não foi possível de executar devido ao baixo rendimento da fração alcaloídica pura, tal problema pode ser contornado com a realização de extração ácido-base em uma quantidade maior de extrato bruto da espécie.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, P. K. Carbon-13 NMR of flavonoids. *Studies in Organic Chemistry*. v. 39, p. 95-182, 1989.

AKIHISA, T.; HAYAKAWA, Y.; TOKUDA, H.; BANNO, N.; SHIMIZU, N.; SUZUKI, T.; KIMURA, Y. Cucurbitane Glycosides from the Fruits of *Siraitia grosvenorii* and their Inhibitory Effects on Epstein – Barr Virus Activation. *Journal of Natural Products*. v. 70, p. 783-788, 2007.

ALGHASHAM, A. A. Cucurbitacins: A promising target for câncer therapy. *International Journal of Health Sciences*. v. 7, n. 1, p. 67-69, 2013.

BALZA, F.; TOWERS, G. H. N. Dihydroflavonols of *Artemisia dracunculus*. *Phytochemistry*. v. 23 (10), p. 2333-2337, 1984.

BARROSO, G. M. Sistemática de angiospermas do Brasil. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1978. v. 1.

BARRERO, A. F.; HAÏDOUR, A.; DORADO, M. M.; GRAVALOS, D. G.; QUESADA, T. G. Lignans from the wood of *Abies pinsapo*. *Journal of Natural Products*. v. 57 (6), p. 713-719, 1994.

BRUMMITT, R. K. Report of the Committee for Spermatophyta: 50. *Taxon*. v. 49 (4), p. 799-808, 2000.

CHEN, J. C.; NIU, X. M.; LI, Z. R.; QIU, M. H. Four New Cucurbitane Glycosides from *Hemsleya jinfushanensis*. *Planta Medica*. v. 71, p. 983-986, 2005.

CHEN, X. Q.; LI, Y.; HE, J.; WANG, K.; LI, M. M.; PAN, Z. H.; PENG, L. Y.; CHENG, X.; ZHAO, Q. S. Four New Lignans from *Viburnum foetidum* var. *foetidum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. v. 57 (10), p. 1129-1131, 2009.

CHOUNA, J. R.; NARDELLA, F.; LENTA, B. N.; VONTHRON-SÉNÉCHEAU, C.; NKENG-EFOUET-ALANGO, P.; SEWALD, N. Ceanothane-Type triterpenoids from *Cyphostemma adenocaulis*. *Archives of Pharmacal Research*. p. 1-6, 2016.

CYDZIK, M.; RUDOWSKA, M.; STEFANOWICZ, P.; SZEWCZUK, Z. The competition of charge remote and charge direct fragmentation mechanisms in quaternary

ammonium salt derivatized peptides – an isotopic exchange study. *Journal of the American Society of Mass Spectrometry*. v. 22 (12), p. 2103-2107, 2011.

DAT, N. T.; JIN, X.; HONG, Y. S.; LEE, J. J. An Isoaurone and Other Constituents from *Trichosanthes kirilowii* Seeds Inhibit Hypoxia-Inductible Factor – 1 and Nuclear Factor – κ B. *Journal of Natural Products*. v. 73, p. 1167-1169, 2010.

DEVKOTA, H. P.; WATANABE, T.; YAHARA, S. Flavonoids and saponins from *Zizyphus incurva*. *Natural Products Research*. v. 27 (8), p. 697-701, 2013.

DU, Q. & CUI, H. A new flavone glycoside from the fruits of *Luffa cylindrical*. *Phytoterapia (Phytochemical communication)*. v. 78, p. 609-610, 2007.

GAGNON, E.; BRUNEAU, A.; HUGHES, C. E.; de QUEIROZ, L. P.; LEWIS, G. P. A new generic system for the pantropical *Caesalpinia* group (Leguminosae). *PhytoKeys*. v. 71, pp. 1-160, 2016.

GAIDI, G.; MAROUF, A.; HANQUET, B.; BAUER, R.; CORREIA, M.; CHAUFFERT, B.; LACAILLE-DUBOIS, M. A. A New Major Triterpene Saponin From the Roots of *Cucurbita foetidissima*. *Journal of Natural Products*. v. 63, p. 122-124, 2000.

GIACCO, F.; BROWNLEE, M. Oxidative Stress and Diabetic Complications. *Circulation Research*. v. 107 (9), p. 1058-1070, 2010.

GROVER, J. K.; YADAV, S. P. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 93, p. 123-132, 2004.

HAN, J.; JI, C. J.; HE, W. J.; SHEN, Y.; LENG, Y.; XU, W. Y.; FAN, J. T.; ZENG, G. Z.; KONG, L. D.; TAN, N. H. Cyclopeptide Alkaloids from *Zizyphus apetala*. *Journal of Natural Products*. v. 74, p. 2571-2575, 2011.

HAUENSCHILD, F.; MATUSZAK, S.; MUELLNER-RIEHL, A. N.; FAVRE, A. Phylogenetic relationships within the cosmopolitan buckthorn family (Rhamnaceae) support the resurrection of *Sarcomphalus* and the description of *Pseudozizyphus* gen. nov. *Taxon*. v. 65 (1), p. 47-64, 2016.

HERNÁNDEZ-GALICIA, E.; CALZADA, F.; ROMAN-RAMOS, R.; ALARCÓN-AGUILAR, F. Monoglycerides and Fatty acids from *Ibervillea sonorea* Root: Isolation and Hypoglycemic Activity. *Planta medica*. v. 73, p. 236-240, 2007.

HIGUCHI, R.; KUBOTA, S.; KOMORI, T.; KAWASAKI, T.; PANDEY, V. B.; SINGH, J. P.; SHAH, A. H. Triterpenoid saponins from the bark of *Zizyphus joazeiro*. *Phytochemistry*. v. 23 (11), p. 2597-2600, 1984.

HIMENO, E.; NAGAO, T.; HONDA, J.; OKABE, H.; IRINO, N.; NAKASUMI, T. Structures of Cayaponosides A, B, C and D, Glucosides of New *nor*-cucurbitacins in the Roots of *Cayaponia tayuya*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. v. 40 (10), p. 2885-2887, 1992.

HIMENO, E.; NAGAO, T.; HONDA, J.; OKABE, H.; IRINO, N.; NAKASUMI, T. Structures of New Non-aromatized *nor*-cucurbitacin Glucosides in the Roots of *Cayaponia tayuya*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. v. 41 (5), p. 986-988, 1993.

HUSSEIN, H. A.; ABDEL-HALIM, O. B.; MARWAN, E. S. M.; EL-GAMAL, A. A.; MOSANA, R. Dendocyn: an isocucurbitacin with novel cyclic side chain from *Dendrosicyos socotrana*. *Phytochemistry*. v. 65, p. 2551-2556, 2004.

ITOH, T.; TSUKANE, M.; KOIKE, M.; NAKAMURA, C.; OHGUCHI, K.; ITO, M.; AKAO, Y.; KOSHIMIZU, S.; NOZAWA, Y.; WAKIMOTO, T.; NUKAYA, H.; SUWA, Y. Inhibitory Effects of Whisky Congeners on IgE-Mediated Degranulation in Rat Basophilic Leukemia RBL-2H3 Cells and Passive Cutaneous Anaphylaxis Reaction in Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 58, p. 7149-7157, 2010.

JEFFREY, C. A new system of Cucurbitaceae. *Botanicheskii Zhurnal*. v. 90, p. 332-335, 2005.

JIMÉNEZ, C.; MARCOS, M.; VILLAVERDE, M. C.; RIQUEIRA, R.; CASTEDO, L.; STERMITZ, F. A Chromone from *Zanthoxylum* species. *Phytochemistry*. v. 28 (7), p. 1992-1993, 1989.

KALEEM, W. A., NISAR, M.; ZIA-UL-HAQ, M.; ADHIKARI, A.; DE FEO, V. New 14-Membered Cyclopeptide Alkaloids from *Zizyphus oxyphylla* Edgew. *International Journal of Molecular Sciences*. v. 13, p. 11520-11529, 2012.

KALEEM, W. A.; NISAR, M.; KHAN, H.; RAUF, A. Pharmacological and Phytochemical Studies of Genus *Zizyphus*. *Middle-East Journal of Scientific Research*. v. 21 (8), p. 1243-1263, 2014.

KANCHANAPOOM, T.; KASAI, R.; YAMASAKI, K. Cucurbitane, hexanorcucurbitane and octanorcucurbitane glycosides from fruits of *Trichosanthes tricuspidata*. *Phytochemistry*. v. 59, p. 215-228, 2002.

KANG, K. B.; MING, G.; KIM, G. J.; HA, T-K-Q.; CHOI, H.; OH, W. K.; SUNG, S. H. Jubanines F-J, cyclopeptides alkaloids from the roots of *Zizyphus jujuba*. *Phytochemistry*. v. 119, p. 90-95, 2015.

KANG, K. B.; KIM, J. W.; OH, W. K.; KIM, J.; SUNG, S. H. Cytotoxic Ceanothane- and Lupane-Type Triterpenoids from the Roots of *Zizyphus jujuba*. *Journal of Natural Products*. v. 79, p. 2364-2375, 2016a.

KANG, K. B.; JANG, D. S.; KIM, J.; SUNG, S. H. UHPLC-ESI-qTOF-MS Analysis of Cyclopeptide Alkaloids in the seeds of *Zizyphus jujuba* var. *spinosa*. *Mass Spectrometry Letters*. v. 7 (2), p. 45-49, 2016b.

KELLER, A. C.; MA, J.; KAVALIER, A.; HE, K.; BRILLANTES, A. M. B.; KENNELLY, E. J. Saponins from the traditional medicinal plant *Momordica charantia* stimulate insulin secretion *in vitro*. *Phytomedicine*. v. 19, p. 32-37, 2011.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris**. *Phytochemistry*. v. 29 (7), p. 2351-2355, 1990.

KY, P. T.; HUONG, P. T.; MY, T. K.; ANH, P. T.; KIEM, P. V.; MINH, C. V.; CUONG, N. X.; THAO, N. P.; NHIEM, N. X.; HYUN, J. H.; KANG, H. K.; KIM, Y. H. Dammarane-Type Saponins from *Gynostemma pentaphyllum*. *Phytochemistry*. v. 71, p. 994-1001, 2010.

KURIHARA, Y.; OOKUBO, K.; TASAKI, H.; KODAMA, H.; AKIYAMA, Y.; YAGI, A.; HALPERN, B. Studies on taste modifiers. I. Purification and structure determination of sweetness inhibiting substances in leaves of *Zizyphus jujuba*. *Tetrahedron*. v. 44 (1), p. 61-66, 1988.

LEAL, I. C. R.; SANTOS, K. R. N.; ITABAIANA Jr., I.; ANTUNES, O. A. C.; PORZEL, A.; WESSJOHANN, L.; KUSTER, R. M. Ceanothane and Lupane Type Triterpenes from *Zizyphus joazeiro* – An Anti-Staphylococcal Evaluation. *Planta Medica*. v. 76, p. 47-52, 2010.

LEE, S. S.; SU, W. C.; LIU, K. C. S. C. Cyclopeptide Alkaloids from stems of *Paliurus ramossisimus*. *Phytochemistry*. v. 58, p. 1271-1276, 2001.

LI, D.; CAO, J.; BI, X.; XIA, X.; LI, W.; ZHAO, Y. New dammarane-type triterpenoids from the leaves of *Panax notoginseng* and their protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity. *Journal of Ginseng Research*. v. 38 (1), p. 28-33, 2014.

LI, J.; WANG, R. F.; ZHOU, Y.; HU, H. J.; YANG, Y. B.; YANG, L.; WANG, Z. T. Dammarane-type triterpene oligoglycosides from the leaves and stems of *Panax notoginseng* and their anti-inflammatory activities. *Journal of Ginseng Research*. Disponível online, 2018.

LI, W.; CAO, J.; TANG, Y.; ZHANG, L.; XIE, Q.; SHEN, H.; ZHAO, Y. Cyclic bisdesmosides from *Actinostemma lobatum* MAXIM (Cucurbitaceae) and their *in vitro* cytotoxicity. *Fitoterapia*. v. 83, p. 147-152, 2012.

LI, X. C.; CAI, L.; WU, C. D. Antimicrobial compounds from *Ceanothus americanus* against oral pathogens. *Phytochemistry*. v. 46 (1), p. 97-102, 1997.

LIMA, A. P.; BARBOSA, C. E. S.; PEREIRA, F. C.; VILANOVA-COSTA, C. A. S. T.; RIBEIRO, A. S. B. B.; SILVA, H. D.; AZEVEDO, N. R.; GOMES-KLEIN, V. L.; SILVEIRA-LACERDA, E. P. *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill., Cucurbitaceae, acute toxicity in mice. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 20 (6), p. 917-921, 2010.

LIMA, A. P.; PEREIRA, F. C.; VILANOVA-COSTA, C. A. S. T.; RIBEIRO, A. S. B. B. SILVEIRA-LACERDA, E. P. Avaliação da atividade antitumoral e citotóxica da planta *Siolmatra brasiliensis*. *Revista eletrônica de Farmácia*. v. 3, p. 44-46, 2006.

LIMA, L. F. P. Estudos taxonômicos e morfológicos em Cucurbitaceae brasileira. Tese de doutorado (doutorado em botânica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul - RS. 230p. 2010.

LIMA, R. B. A família Rhamnaceae no Brasil, taxonomia e diversidade. Tese de Doutorado (Pós-graduação em Botânica). Universidade de São Paulo, São Paulo - SP. 292p. 2000.

LIN, H. Y.; CHEN, C. H.; YOU, B. J.; LIU, K. C. S. C.; LEE, S. S. Cyclopeptide Alkaloids from *Paliurus ramossissimus*. *Journal of Natural Products*. v. 63, p. 1338-1343, 2000.

LIU, W. Y.; ZHANG, W. D.; CHEN, H. S.; GU, Z. B.; LI, T. Z.; CHEN, W. S. New triterpenoid saponins from bulbs of *Bolbostemma paniculatum*. *Planta medica*. v. 70, p. 458-464, 2004.

LIU, X.; YE, W.; MO, Z.; YU, B.; ZHAO, S.; WU, H.; CHE, C.; JIANG, R.; MAK, T. C. W.; HSIAO, W. L. W. Five New Ocotillone-Type Saponins from *Gynostemma pentaphyllum*. *Journal of Natural Products*. v. 67, p. 1147-1151, 2004.

MA, J.; WHITTAKER, P.; KELLER, A. C.; MAZZOLA, E. P.; PAWAR, R. S.; WHITE, K. D.; CALLAHAN, J. H.; KENNELLY, E. J.; KRYNITSKY, A. J.; RADER, J. I. Cucurbitane-type Triterpenoids from *Momordica charantia*. *Planta medica*. v. 76, p. 1758-1761, 2010.

MARKHAM, K. R. & TERNAI, B. ¹³C NMR of Flavonoids – II, Flavonoids other than flavone and flavonol aglycones. *Tetrahedron*. v. 32 (21), p. 2607-2612, 1976.

MEEPROM, A.; SOMPONG, W.; CHAN, C. B.; ADISAKWATTANA, S. Isoferulic acid, a new anti-glycation agente, inhibits fructose- and glucose-mediated protein glycation *in vitro*. *Molecules*. v. 18 (6), p. 6439-6454, 2013.

MOREJON, M. C.; LAUB, A.; KALUDEROVIĆ, G. N.; PUENTES, A. R.; HMEDAT, A. N.; OTERO-GONZALES, A. J.; RIVERA, D. G.; WESSJOHANN, L. A. A Multicomponent Macrocyclization Strategy to Natural Product-like Cyclic Peptides: Synthesis and Anticancer Evaluation of Surfactin and Mycosubtilin Analogues. *Organic and Biomolecular Chemistry*. v. 15, p. 3628-3637, 2017.

MOTOMURA, K.; FUJIWARA, Y.; KIYOTA, N.; TSURUSHIMA, K.; TAKEYA, M.; NOHARA, T.; NAGAI, R.; IKEDA, T. Astragalosides Isolated from the Root as *Astragalus Radix* Inhibit the Formation of Advanced Glycation End Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 57, p. 7666-7672, 2009.

NORBERG, A.; HOA, N. K.; LIEPINSH, E.; PHAN, D. V.; THUAN, N. D.; JÖRNVALL, H.; SILLARD, R.; ÖSTENSON, C. G. A novel insulin-releasing substance, Phanoside, from the plant *Gynostemma pentaphyllum*. *The Journal of biological Chemistry*. v. 279 (40), p. 41361-41367, 2004.

PANDEY, V. B.; DWIVEDI, S. P. D.; SHAH, A. H.; ECKHARDT, G. Nummularine-O, a cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus nummularia*. *Phytochemistry*. v. 25 (11), p. 2690-2691, 1986.

PANSEETA, P.; LOMCHOEY, K.; PRABPAI, S.; KONGSAEREE, P.; SUKSAMRARN, A.; RUCHIRAWAT, S.; SUKSAMSARN, S. Antiplasmodial and antimycobacterial cyclopeptide alkaloids from the root of *Zizyphus mauritiana*. *Phytochemistry*. v. 72, p. 909-915, 2011.

PETERS, R. R.; FARIAS, M. R.; RIBEIRO-DO-VALE, R. M. Anti-Inflammatory and Analgesic Effects of Cucurbitacins from *Wilbrandia ebracteata*. *Planta Medica*. v. 63, p. 525-528, 1997.

PLASTINA, P. Pharmacological Aspects of Jujubes. *Pharmacologia*. v. 7 (5), p. 243-255, 2016.

POGAM, P. L.; BOUSTIE, J. Xanthones of Lichen Source: A 2016 update. *Molecules*. v. 21 (2), p. 294-324, 2016.

POTT, A & POTT V. J. Plantas do Pantanal. Brasília: Embrapa, 1994. 320p.

RAMAN, A.; LAU, C. Anti-diabetic properties and phytochemistry of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). *Phytomedicine*. v. 2 (4), p. 349-362, 1996.

RECIO, M. C.; PRIETO, M.; BONUCCELI, M.; ORSI, C.; MÁÑES, S.; GINER, R. M.; CERDÁ-NICOLÁS, M.; RÍOS, J. L. Anti-Inflammatory Activity of two Cucurbitacin Isolated from *Cayaponia tayuya* Roots. *Planta Medica*. v. 70, p. 414-420, 2004.

RENAULT, J. H.; GHEDIRA, K.; THEPENIER, P.; LEVAUD, C.; ZECHES-HANROT, M.; Le MEN-OLIVIER, L. Dammarane Saponins from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry*. v. 44 (7), p. 1321-1327, 1997.

RICHARDSON, J. E.; FAY, M. F.; CRONK, Q. C. B.; BOWMAN, D.; CHASE, M. W. A phylogenetic analysis of Rhamnaceae using *rbcL* and *trnL-F* plastid DNA sequence. *American Journal of Botany*. v. 87 (9), p. 1309-1324, 2000.

ROBINSON, G. L.; WUNDERLIN, R. P. Revision of *SIOLMATRA* (CUCURBITACEAE: ZANONIEAE). *SIDA, Contributions to Botany*. v. 21 (4), p. 1961-1969, 2005.

SANTOS, C. H. C.; BORGES, I. P.; SILVA, V. C.; SOUSA Jr., P. T.; KAWASHITA, N. H.; BAVIERA, A. M.; CARVALHO, M. G. A new dammarane saponin and other triterpenoids from *Siolmatra brasiliensis* and evaluation of the antidiabetic activity of its extract. *Pharmaceutical Biology*. v. 25, p. 1-9, 2016.

SILVA, T. M. S.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R. Estudo Espectroscópico em Elucidação Estrutural de Flavonóides de *Solanum jabrense* AGRA & NEE e *S. paludosum* MORIC. *Química Nova*. v. 32 (5), p. 1119-1128, 2009.

SINGH, V. P.; BALI, A.; SINGH, N.; JAGGI, A. S. Advanced glycation end products and diabetic complications. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*. v. 18 (1), p. 1-14, 2014.

ŚLIWKA, L.; WIKTORSKA, K.; SUCHOCKI, P.; MILCZAREK, M.; MIELCZAREK, S.; LUBELSKA, K.; CIERPIAŁ, T.; ŁYŻWA, P.; KIEŁBASIŃSKI, P.; JAROMIN, A.; FLIS, A.; CHILMONCZYK, Z. The Comparison of MTT and CV Assays for the Assessment of Anticancer Agent Interactions. *Plos One*. v. 11 (5): e0155772, 2016.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. 640p.

SU, D.; TANG, W.; HU, Y.; LIU, Y.; YU, S.; MA, S.; QU, J.; YU, D. Lignan Glycosides from *Neosalsomitra integrifoliola*. *Journal of Natural Products*. v. 71, p. 784-788, 2008.

SUKSAMRARN, S.; PANSEETA, P.; KUNCHANAWATTA, S.; DISTAPORN, T.; RUKTASING, S.; SUKSAMRARN, A. Ceanothane- and Lupane-Type Triterpenes with Antiplasmodial and Antimycobacterial Activities from *Ziziphus cambodiana*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. v. 54 (4), p. 535-537, 2006.

TSCHESCHE, R.; KHOKHAR, I.; WILHELM, H.; ECKHARDT, G. Jubanin-A und Jubanin-B, neue cyclopeptidalkaloide aus *Ziziphus jujuba*. *Phytochemistry*. v. 15 (4), 541-542, 1976.

TOMMASI, N.; DE SIMONE, F.; SPERANZA, G.; PIZZA, C. Studies on the Constituents of *Cyclanthera pedate* (Caigua) Seeds: Isolation and Characterization of Six New Cucurbitacin Glycosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 44, p. 2020-2025, 1996.

TSUNG-REN, Y.; KASAI, R.; ZHOU, J.; TANAKA, O. Dammarane saponins of leaves and seeds of *Panax notoginseng*. *Phytochemistry*. v. 22 (6), p. 1473-1478, 1983.

UKIYA, M.; AKIHISA, T.; YASUKAWA, K.; TOKUDA, H.; TORIUMI, M.; KOIKE, K.; KIMURA, Y.; NIKAIDO, T.; AOI, W.; NISHINO, H.; TAKIDO, M.; Anti-Inflammatory and Anti-Tumor-Promoting Effects of Cucurbitane Glycosides from the Roots of *Bryonia dioica*. *Journal of Natural Products*. v. 65, p. 179-183, 2002.

UR-RAHMAN, I.; KHAN, M. A.; ARFAN, M.; AKHTAR, G.; KHAN, L.; AHMAD, V. U. A new 14-membered cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus oxyphylla*. *Natural Products Research*. v. 21 (3), p. 243-253, 2007.

UR-RAHMAN, I.; KHAN, M. A.; KHAN, G. A.; KHAN, L.; AHMAD, V. U. Cyclopeptide Alkaloids of *Zizyphus* Species. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*. v. 23 (4), p. 268-277, 2001.

VALLI, M.; RUSSO, H. M.; BOLZANI, V. S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. v. 90 (1), p. 763-778, 2018.

VASCONCELOS, J. M. J.; SILVA, A. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S. Chromones and Flavanones from *Artemisia campestris* Subsp. *maritima*. *Phytochemistry*. v. 49 (5), p. 1421-1424, 1998.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*. v. 29 (2), p. 326-337, 2006.

VINSON, J. A.; HOWARD, T. B. Inhibition of protein glycation and advanced glycation end products by ascorbic acid and other vitamins and nutrients. *Journal of Nutritional Biochemistry*. v. 7, p. 659-663, 1996.

WANG, D. C.; XIANG, H.; LI, D.; GAO, H. Y.; CAI, H.; WU, L. J.; DENG, X. M. Purine-containing cucurbitane triterpenoids from *Cucurbita pepo cv dayangua*. *Phytochemistry*. v. 69, p. 1434-1438, 2008.

WANG, Y.; DING, B.; LUO, D.; CHEN, L. Y.; HOU, Y. L.; DAI, Y.; YAO, X. S. New triterpene glycosides from *Ziziphi Spinosa* Semen. *Fitoterapia*. v. 90, p. 185-191, 2013.

YANG, R.; WANG, W. X.; CHEN, H. J.; HE, Z. C.; JIA, A. Q. The inhibition of advanced glycation end-products by five fractions and three main flavonoids from *Camellia nitidissima* Chi flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 57 (17), p. 7666-7672, 2018.

YANG, T. R.; KASAI, R.; ZHOU, J.; TANAKA, O. Dammarane saponins of leaves and seeds of *Panax notoginseng*. *Phytochemistry*. v. 22 (6), p. 1473-1478, 1983

YEH, W. J.; HSIA, S. M.; LEE, W. H.; WU, C. H. Polyphenols with antiglycation activity and mechanism of action: A review of recent findings. *Journal of Food and Drug Analysis*. v. 25, p. 84-92, 2017.

YIN, F.; ZHANG, Y.; YANG, Z.; CHENG, Q.; HU, L. Triterpene Saponins from *Gynostemma cardiospermum*. *Journal of Natural Products*. v. 69 (10), p. 1394-1398, 2006.

YOSHIKAWA, K.; SHIMONO, N.; ARIHARA, S. Antisweet Substances, Jujubasaponins I-III from *Zizyphus jujuba*, Revised Structure of Ziziphin. *Tetrahedron Letters*. v. 32 (48), p. 7059-7062, 1991.

YOSHIKAWA, K.; SHIMONO, N.; ARIHARA, S. Antisweet Natural Products. 1) Jujubasaponins IV, V and VI from *Zizyphus jujuba* Mill. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. v. 40 (9), p. 2275-2278, 1992.

YOSHIKAWA, M.; MURAKAMI, T.; UENO, T.; HIROKAWA, N.; YASHIRO, K.; MURAKAMI, N.; YAMAHARA, J.; MATSUDA, H.; SAJIOH, R.; TANAKA, O. Bioactive Saponins and Glycosides. IX1) Notoginseng (2): Structures of five New Dammarane-Type Triterpenes Oligoglycosides, Notoginsenosides-E, -G, -H, -I, and -J, and a Novel Acetylenic

Fatty Acid Glycoside, Notoginsenic Acid β -Sophoroside, from the Dried Root of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. v. 45 (6), p. 1056-1062, 1997.