

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

TRITERPENOS E CROMONAS ISOLADOS DAS FOLHAS DE

Licania arianae (Chrysobalanaceae)

Lucilene Faustina de Oliveira Cândido

Seropédica, Rio de Janeiro

2000

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

TRITERPENOS E CROMONAS ISOLADOS DAS FOLHAS DE

Licania arianae (Chrysobalanaceae)

Lucilene Faustina de Oliveira Cândido

Sob Orientação do Professor

Dr. Mário Geraldo de Carvalho

Dissertação submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de Mestre em
Ciências. Área de Concentração em Química
Orgânica.

Seropédica, Rio de Janeiro

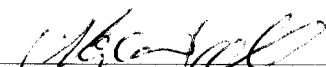
2000

TRITERPENOS E CROMONAS ISOLADOS DAS FOLHAS DE

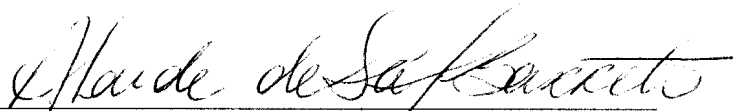
Licania arianeae (Chrysobalanaceae)

Lucilene Faustina de Oliveira Cândido

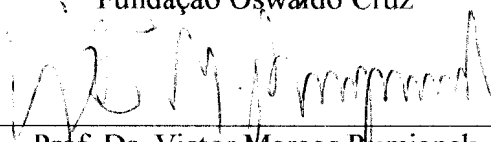
Aprovado em 20 / 07 / 2000



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



Dr.ª Alaíde de Sá Barreto
Fundação Oswaldo Cruz



Prof. Dr. Victor Marcos Rumjanek
DQ - UFRRJ



Prof.ª Dr.ª Rosane Nora de Castro
DQ - UFRRJ
(Suplente)

Ao Autor e Consumador da minha fé,
Jesus Cristo,

"E não há salvação em nenhum outro;
Porque abaixo do céu não existe nenhum outro nome,
dado entre os homens, pelo qual importa
que sejamos salvos".

Atos 4: 12

BIOGRAFIA

Eu, Lucilene Faustina de Oliveira Cândido, sou filha de Antônio Fernandes de Oliveira e Vanderli Faustina de Oliveira, nasci em Conselheiro Pena, no Estado de Minas Gerais, em 11 de janeiro de 1975, e me casei com Laércio Cândido de Jesus em 06 de fevereiro de 1999.

Graduei-me em Engenharia Química no ano de 1998 pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Durante a graduação fui bolsista de iniciação científica do CNPq, no Departamento de Química, setor de Química Orgânica.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida.

Ao Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho pelo incentivo, dedicação, e cuidado nestes anos de orientação.

Ao Prof. Dr. Raimundo Braz-Filho pela cooperação, simpatia e incentivo.

À botânica Ariane Luna Peixoto pela coleta e identificação do material vegetal de *Licania arianae*.

À Prof^a. Dr^a Áurea Echevarria Aznar Neves Lima, pela amizade e exemplo.

A todos os professores pertencentes ao Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica da UFRRJ.

Ao Prof. Dr. Adolfo Henrique Müller- Departamento de Química- UFPA pelos espectros de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos.

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

Ao Dr. D. G. I. Kingston, da Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, USA, pela facilidade no uso dos equipamentos.

À CAPES pela bolsa de estudos concedida e a FAPERJ pelo suporte financeiro.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela minha formação profissional e oportunidade de realização deste trabalho.

Aos queridos amigos; André, Andressa, Cristina, Rosane, Janaina, Raquel, Javier, Ana Beatriz, Patrícia Félix, Patrícia Miranda, Tânia, Rogéria, Cássia, José Milton, Carlão, Daniela, Alaíde, Ana Paula, Denise, Roberto, Andréia, Geizi, Márcia, Marcos, Heloísa e Paulo.

Aos amigos da ABU-Rural e igreja: Janice, Cássia, Andréia, Márcia, Valéria, Marcus, Carlinhos, Jefé, Lia, Júnior (s), Patrícia, Jonas, Rute, Abner, Calebe, Pastor David, Almerinda, Diquinho, Ana Luísa, Iamara, Luís, Lilian, Liliane, Alim, Babú, Adriana, Jucelane, aos amigos da 4ª Igreja Presbiteriana de Taguatinga-DF: Jadyane, Rita, Valéria, Simone, Gleyziene, Waldes, Gisley, aos pastores e esposas e a todos os outros pela sinceridade e orações a Deus.

As colegas dos alojamentos da Pós-graduação e do alojamento F2-103, pela acolhida amável.

À minha maravilhosa família; Antônio, Vanderli, Valdirene, Alex, Everton e Emilly.

À minha nova família; Elmira, Isabel, Cristiane e Fábio pela compreensão e ajuda.

Ao meu amado Laércio Cândido pela incansável paciência durante os períodos de distância e pelo amor incondicional.

ÍNDICE GERAL

Índice Geral	viii
Índice de Esquemas	xi
Índice de Tabelas	xii
Índice de Figuras	xiv
Abreviaturas	xix
Resumo	xxi
Abstract	xxii
Objetivo	xxii i
1. Introdução	1
1.1. Características botânicos da família Chrysobalanacea	4
1.2. Constituintes químicos isolados do gênero <i>Licania</i> .	7
1.3. Espécies brasileiras da família Chrysobalanaceae ameaçadas de extinção	17
1.4. Características da espécie <i>Licania arianeae</i>	18
1.5. Constituintes químicos isolados de <i>Licania arianeae</i>	20

I. Parte experimental	26
II. 1. Materiais e métodos	26
II.2. Material vegetal	27
II.3. Elaboração dos extratos	28
II.4. Isolamento e purificação dos constituintes químicos dos extratos	28
a) Extrato hexânico das folhas	28
b) Extrato metanólico das folhas	30
II.5. Preparação dos derivados das substâncias isoladas	32
a) Metilação com diazometano	32
b) Acetilação	33
c) Oxidação com dicromato de potássio	33
III. Biogênese de triterpenos	38
IV. Biogênese de cromonas	45
V. Determinação estrutural das substâncias isoladas de <i>L. arianeae</i>	47
V. 1. Determinação estrutural de 1	48
V.2. Determinação estrutural de 2 + 3	52
V.3. Determinação estrutural de 4	58
V.4. Determinação estrutural de 5 + 6	59
V.5. Determinação estrutural de 7 + 8	64
V.6. Determinação estrutural de 9 ₁ a 10 ₄	67

VI.	<u>Conclusão</u>	77
VII.	<u>Referências Bibliográficas</u>	78

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1: Elaboração dos extratos hexânico e metanólico das folhas de <i>Licania arianae</i>	34
Esquema 2: Fracionamento do extrato hexânico (LAFH) das folhas de <i>Licania arianae</i>	35
Esquema 3: Reações de transformação do ácido 3 α ,24-diidroxi-12-oleanen-28-óico (2)	36
Esquema 4: Fracionamento do extrato metanólico (LAFM) das folhas de <i>Licania arianae</i>	37
Esquema 5: Conversão do acetil-CoA em isopentenil pirofosfato	40
Esquema 6: Rota geral da biossíntese de terpenóides a partir do isopentenil pirofosfato.	41
Esquema 7: Ciclização do esqualeno e formação de triterpenos pentacíclicos	42
Esquema 8: Caminho biossintético dos constituintes de <i>Licania arianae</i>	43
Esquema 9: Caminho biossintético dos constituintes de <i>Licania arianae</i>	44
Esquema 10: Caminho biossintético dos constituintes de <i>Licania arianae</i> .	46
Esquema 11: Interpretação do espectro de massas dos derivados metilados 9a e 10a.	76

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Nomenclatura das substâncias naturais 1 - 8, 9 ₁₋₄ e 10 ₁₋₄	25
Tabela 2: Produtos obtidos nas reações de derivatização	34
Tabela 3: RMN de ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) da substância 1	50
Tabela 4: Dados de IV da da substância 1	50
Tabela 5: Dados de RMN de ¹³ C (50.3 MHz, CDCl ₃) da substância 1. Obtidos através dos espectros totalmente desacoplados (PND) e DEPT (θ= 90° e 135°) em CDCl ₃	51
Tabela 6: Dados de RMN de ¹³ C (50.3 MHz, CDCl ₃) das substâncias 2, 2a, 2b, 2c e 3a. Obtidos através dos espectros totalmente desacoplados (PND) e DEPT (θ= 90° e 135°) em CDCl ₃ e TMS como referência interna	55
Tabela 7: RMN de ¹ H (200Mhz) e ¹³ C (50,3MHz) da substância 2. Obtidos dos espectros 2D (¹ Hx ¹³ C-COSY)	56
Tabela 8: Dados de IV das substâncias 2 + 3.	56
Tabela 9: Dados de RMN de ¹³ C (50.3 MHz, Piridina-d ₆) de 2 obtidos através dos espectros totalmente desacoplado (PND) e DEPT (θ: 90 e 135°) em CDCl ₃ e TMS como referência interna, comparados com modelos da literatura	57

Tabela. 10: Dados de RMN de ^{13}C (50.3 MHz, Piridina- d_6) de 4a, 4b, 5 e 6 Obtidos através dos espectros totalmente desacoplado (PND) e DEPT (θ : 90 e 135°) em CDCl_3 e TMS como referência interna	61
Tabela 11. Dados de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de 5a e 6a	62
Tabela 12. Comparação dos deslocamentos químicos de carbono de 5a/6a, 1, 2, 7 e modelos da literatura para justificar a estereoquímica relativa de C-3, 4, 23 e 24	63
Tabela.13: Dados de RMN de ^{13}C (50.3 MHz, CDCl_3) de 7 e 8 Obtidos através dos espectros totalmente desacoplado (PND) e DEPT (θ :90 e 135°) em CDCl_3 e TMS como referência interna	66
Tabela.14: Comparação dos deslocamentos químicos dos carbonos de 9 + 10 e modelo Mo-11 da literatura ²⁰ .	68
Tabela.15: Atribuição dos deslocamentos químicos de 9a comparados com valores da literatura (Mo-12 ¹⁹)	71
Tabela 16: Valores de δ de C, CH, CH_2 e CH_3 atribuídos para a cromona natural 9 e os valores restante para 10	72
Tabela 16: Valores de deslocamentos químicos de carbono e hidrogênio de 10, 10a, 9 e 9a	75

ÍNDICE FIGURAS

Fig. 1: Características morfológicas de gêneros da família Chrysobalanaceae. (A)- <i>Chrysobalanus sp.</i> : flor completa e flor seccionada (B). <i>Couepia sp.</i> : flor(C). <i>Licania sp.</i> : flor (D). <i>Parinari sp.</i> : flor (E)	16
Fig. 2; Folhas e tronco da espécie <i>Licania arianeae</i>	19
Fig. 3: Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) DEPT ($\theta:90$ e 135°) da substância 1	81
Fig. 4: Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz,) da substância 1 totalmente desacoplado (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	82
Fig. 5: Espectro de RMN ^1H (200 MHz,) da substância 1 registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	83
Fig. 6: Espectro de IV da substância 1 em KBr.	84
Fig. 7: Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) DEPT ($\theta:90$ e 135°) das substâncias 2 + 3	85
Fig. 8: Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz,) das substâncias 2 + 3 totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	86
Fig. 9: Espectro de RMN ^1H (200 MHz) das substâncias 2 + 3 registrado em Piridina e TMS como referência interna	87
Fig. 10: Espectro de RMN $^1\text{H}\times^1\text{H}$ -COSY das substâncias 2 + 3 registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna	88

- Fig. 11: Espectro de RMN $^1\text{Hx}^{13}\text{C}$ -COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ das substâncias 2 + 3 registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 89
- Fig. 12: Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz,) da substância 2a + 3a totalmente desacoplado (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 90
- Fig. 13: Espectro de RMN $^1\text{Hx}^{13}\text{C}$ -COSY da substância 2b registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 91
- Fig. 14: Espectro de RMN de ^{13}C (100,6 MHz,) da substância 2c totalmente desacoplado (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 92
- Fig 15: Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz,) e DEPT ($\theta = 90^\circ$ e 135°) da substância 2a + 3a totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 93
- Fig. 16: Espectro de IV das substâncias 2 + 3 em KBr 84
- Fig. 17: Espectro de RMN ^{13}C (100,6 MHz, CDCl_3) DEPT ($\theta: 90$ e 135°) das substâncias 4 registrado em CDCl_3 94
- Fig. 18: Espectro de RMN ^{13}C (100,6 MHz,) da substância 4a totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 95
- Fig. 19: Espectro de RMN de ^{13}C (100,6 MHz,) da substância 4a + 3a (expandido) totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 96
- Fig. 20: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) da substância 4b (expandido) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 97
- Fig. 21: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) da substância 4b (expandido) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 98

- Fig. 22: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) da substância 4b registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 99
- Fig. 23: Espectro de RMN ^{13}C (100,6 MHz,) da substância 4b totalmente desacoplado (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 100
- Fig. 24: Espectro de RMN ^{13}C (100,6 MHz,) da substância 4b (expandido) totalmente desacoplado (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 101
- Fig. 25: Espectro de IV das substâncias 5a + 6a em KBr 102
- Fig. 26: Espectro de IV das substâncias 7a + 8a em KBr 102
- Fig. 27: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz,) das substâncias 5a + 6a totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 103
- Fig. 28: Espectro de RMN $^1\text{Hx}^{13}\text{C}$ -COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ das substâncias 5a + 6a registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 104
- Fig. 29: Espectro de RMN de $^1\text{Hx}^{13}\text{C}$ -COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ (expandido) das substâncias 5a + 6a registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 105
- Fig. 30: Espectro de RMN $^1\text{Hx}^{13}\text{C}$ - COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ (expandido) das substâncias 5a + 6a registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 106
- Fig. 31: Espectro de RMN $^1\text{Hx}^{13}\text{C}$ - COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ (expandido) das substâncias 5a + 6a registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 107
- Fig. 32: Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz,) das substâncias 7a + 8a totalmente desacoplado (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 108
- Fig. 33: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) (expandido) das substâncias 7a + 8a totalmente desacoplado (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 109

- Fig. 34: Espectro de RMN ^1H (200 MHz) das substâncias 7a + 8a registrado em COCl_3 e TMS como referência interna 1110
- Fig. 35: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) (expandido) das substâncias $9_{1-4} + 10_{1-4}$ registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 111
- Fig. 36: Espectro de RMN e ^1H (400 MHz) das substâncias $9_{1-4} + 10_{1-4}$ registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 112
- Fig. 37: Espectro de RMN ^{13}C (100,6 MHz,) das substâncias $9_{1-4} + 10_{1-4}$ totalmente desacoplado (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 113
- Fig. 38: Espectro de RMN ^{13}C (100,6 MHz, CDCl_3) DEPT ($\theta:135^\circ$) das substâncias $9_{1-4} + 10_{1-4}$. 114
- Fig. 39: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) das substâncias $9a_{1-4} + 10a_{1-4}$ registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 115
- Fig. 40: Espectro de RMN $^1\text{Hx}^1\text{H}$ -COSY (400 MHz) das substâncias $9_{1-4} + 10_{1-4}$ (expandido) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 116
- Fig. 41: Espectro de RMN $^1\text{Hx}^1\text{H}$ -COSY (400 MHz) das substâncias $9a_{1-4} + 10a_{1-4}$ registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 117
- Fig. 42: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz,) das substâncias $9a_{1-4} + 10a_{1-4}$ totalmente desacoplado (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna 118
- Fig. 43: Espectro de RMN HMQC das substâncias $9a_{1-4} + 10a_{1-4}$ 119
- Fig. 44: Espectro simulado de RMN ^{13}C das substâncias $9a_{1-4} + 10a_{1-4}$ usando o programa ACD II da Virginia Polytechnic Institute and State University - USA 120
- Fig. 45: Espectro de RMN HMBC das substâncias $9a_{1-4} + 10a_{1-4}$. 121

Fig. 46: Espectro de RMN HMBC das substâncias $9a_{1-4} + 10a_{1-4}$ (expandido)	122
Fig. 47: Espectro de RMN HMBC das substâncias $9a_{1-4} + 10a_{1-4}$ (expandido)	123
Fig. 48: Espectro de RMN HMBC das substâncias $9a_{1-4} + 10a_{1-4}$ (expandido)	124
Fig. 49: Estrutura e dados de RMN 1H e ^{13}C propostas para 10a	71
Fig. 50: Estrutura proposta para 10 e 10a em comparação às estruturas dos modelos Mo-13 e Mo-14	74
Fig. 51: Espectro de RMN HMQC das substâncias $9_{1-4} + 10_{1-4}$	125
Fig. 52: Espectro de massas FAB das substâncias $9a_{1-4} + 10a_{1-4}$	126
Fig. 53: Espectro de massas FAB das substâncias $9a_{1-4} + 10a_{1-4}$.(expandido)	127
Fig. 54: Espectro de RMN HMQC das substâncias $9_{1-4} + 10_{1-4}$ (expandido)	128
Fig. 55: Espectro de RMN HMBC das substâncias $9a_{1-4} + 10a_{1-4}$.	129
Fig. 56: Espectro de RMN HMBC das substâncias $9a_{1-4} + 10a_{1-4}$.	130
Fig. 57: Espectro de RMN de $^1H \times ^1H$ - COSY das substâncias $9a_{1-4} + 10a_{1-4}$ (expandido) registrado em $CDCl_3$ e TMS como referência interna.	131

ABREVIATURAS

1D	unidimensional
2D	bidimensional
AcOEt	acetato de etila
ACD II	simulação de espectro de RMN de ^{13}C (Virginia Tech-USA)
CC	cromatografia em coluna (a pressão atmosférica)
CCDA	cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	cromatografia em camada delgada preparativa
CDCl_3	clorofórmio deuterado
COSY	correlation spectroscopy
DEPT	distortionless enhancement by polarization transfer
δ	deslocamento químico medido em ppm
d	dubleto
dd	duplo dubleto
EM	espectroscopia de massas
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HMQC	hetero multinuclear quantum coherence

Hz	hertz
IV	infravermelho
J	constante de acoplamento
Lit.	literatura
m	multipleteo
m(l)	multipleteo largo
Me	metil
MeOH	metanol
MHz	megahertz
min	minutos
mL	mililitro
m/z	relação massa-carga
P.F.	ponto de fusão
Py	piridina
PND	proton noise decoupling
q	quarteto
RMN de ^1H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN de ^{13}C	ressonância magnética nuclear de carbono-13
s	singleto
sl	singleto largo
t	tripleto

RESUMO

Os extratos obtidos com hexano e metanol das folhas de *Licania arianae* (Chrysobalanaceae) foram fracionados através de técnicas cromatográficas e partição com solventes e forneceram os ácidos triterpênicos 3 α -hidroxi-urs-12-en-28-óico, 3 α ,24-diidroxi-olean-12-en-28-óico, 3 α ,24-diidroxi-urs-12-en-28-óico, 3 α , 19 α -24 triidroxi-urs-12-en-28-óico, 3 β -hidroxi-olean-12-en-28-óico e 3 β -hidroxi-urs-12-en-28-óico, as saponinas ácido 3 β -O- β -D-glicopiranosil-24-hidroxi-urs-12-en-28-óico e o ácido 3 β -O- β -D-glicopiranosil- 19 α ,24-diidroxi-urs- 12-en-28-óico, e as cromonas 5,7-diidroxi-2-dotricontil-cromona,. 5,7-diidroxi-2-untricontil-cromona, 5,7-diidroxi-2-tricontil-cromona, 5,7-diidroxi-2-noneicosil-cromona, 5,7-diidroxi-6-cloro-2-dotricontil-cromona,. 5,7-diidroxi-6-cloro-2-untricontil-cromona, 5,7-diidroxi-6-cloro-2-tricontil-cromona e 5,7-diidroxi-6-cloro-2-noneicosil-cromona. As estruturas das substâncias foram deduzidas através da análise dos espectros de IV e de RMN ^1H e ^{13}C , incluindo experimentos 2D ($^1\text{Hx}^1\text{H}$ -COSY e $^1\text{Hx}^{13}\text{C}$ -COSY, ^nJcH) e de massas das substâncias naturais, de derivados acetilados e metilados e comparação com dados da literatura. As análises do espectro de EM-FAB do éter metílico da mistura de cromonas permitiu definir as estruturas das cromonas naturais. Os ácidos 3 α -hidroxitriterpenóides, as saponinas e as cromonas foram isolados, pela primeira vez de espécies deste gênero

ABSTRACT

Solvent partition and chromatographic fractionation of the hexane and methanolic extracts from the leaves of *Licania arianeae* afforded the pentacyclic triterpenes 3α -hydroxy-urs-12-en-28-oic acid, 3α -24-dihydroxy-olean-12-en-28-oic acid, $3\alpha,19\alpha$ -24-trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid, 3β -hydroxy-olean-12-en-28-oic acid and 3β -hydroxy-urs-12-en-28-oic acid, the saponins 3β -O- β -D-glucopyranosyl-24-hydroxy-urs-12-en-28-oic acid and 3β -O- β -D-glucopyranosyl- $19\alpha,24$ -dihydroxy-urs-12-en-28-oic acid, and the chromones 5,7-diidroxi-2-dotricontyl-chromone, 5,7-diidroxi-2-untricontyl-chromone, 5,7-diidroxi-2-tricontyl-chromone, 5,7-diidroxi-2-noneicosyl-chromone, 5,7-diidroxi-6-cloro-2-dotricontyl-chromone, 5,7-diidroxi-6-cloro-2-untricontyl-chromone, 5,7-diidroxi-6-cloro-2-tricontyl-chromone, 5,7-diidroxi-6-cloro-2-noneicosyl-chromone. The structures were defined by 1R and ^1H and ^{13}C -NMR (1D and 2D) spectral analysis of the natural substances and acetyl and methyl derivatives along with comparison with literature data. The FAB-MS spectral analysis of the chromone methyl ethers were used to define the structures of the natural chromones. The 3α -hydroxytriterpenes acids, saponins and chromones have been isolated for the first time from the *Licania* genus.

OBJETIVO

A necessidade de estimular pesquisas sobre plantas brasileiras e plantas cultiváveis no país com vista a descoberta de substâncias com atividade fisiológicas, é um fato evidente no meio científico mundial. Considerando-se o desenvolvimento de uma pesquisa como algo de primordial importância para o crescimento de um país, torna-se pois, enriquecedora a possibilidade de estar contribuindo para o propósito de definir nossas riquezas vegetais a partir do conhecimento químico dos metabólitos secundários das folhas de *Licania arianae*, já que este é o primeiro estudo fitoquímico realizado nesta espécie.

1. Introdução

Pouco se conhece sobre a química do gênero *Licania* e da família Chrysobalanaceae, pois esta é quase completamente inexplorada. A primeira investigação fitoquímica foi realizada em 1960 e relacionava-se à pesquisa de flavonóides agliconas de Rosaceae (incluindo Chrysobalanaceae) que revelou a presença de miricetina em duas *laxas* chrysobalanóides *Chrysobalanus icaco* e *Licania rígida*. O único estudo quimiosistemático de flavonóides da família Chrysobalanaceae foi realizado por Corandin¹ e col. em 1985, analisando 31 espécies do gênero *Parinari*. Os poucos estudos químicos de espécies de Chrysobalanaceae revelaram presença de glicosídeo dos flavonóides: quercetina (pág. 10), campferol (pág 11) e miricetina (pág 13).

A investigação quimiosistemática do gênero *Parinari* evidenciou que a miricetina é considerada um caráter flavonoídico primitivo e sugere-se que as espécies africanas produzem esta substância e representam, portanto, um núcleo primitivo. Com base na presença e ausência de miricetina glicosilada as espécies africanas dividem-se em dois grupos. Um grupo não-miricetínico teria evoluído dando origem, por subsequente expansão a leste e oeste, a duas linhas fitogeográficas (a neotropical da América e a asiática) que constituem-se em um complexo de espécies estreitamente relacionadas e desprovidas de miricetina: O gênero *Licania* é predominantemente neotropical, deste modo

a ausência de miricetina em espécies de *Licania pittieri*² (Chrysobalanaceae), reportada por Mendez e col., 1995, poderia estar de acordo com as correlações químico/fitogeográficas da taxa desta família que sugerem que a taxa neotropical tem um padrão flavonoídico ausente de miricetina glicosilada. Esta hipótese está de acordo com a proposta corrente para a evolução geográfica da Chrysobalanaceae. Entretanto a ocorrência de miricetina glicosilada em *Licania caril*³ e *Licania pyrifolia*^{4,5} e ⁶, sugere que as correlações química/fitogeográficas entre e dentro do gênero desta família são provavelmente mais complexas do que aquelas observadas por Coradin e col¹.

De acordo com Mendez⁵, o resultado das investigações em *Licania carii* concordam com a forte relação entre as famílias Chrysobalanaceae e Rosaceae. Deste modo, a presença de flavonóides e triterpenóides nas espécies *L. carii* poderiam justificar uma prévia classificação que inclui a família Chrysobalanaceae na família Rosaceae, e a inutilidade, do ponto de vista químico, da separação.

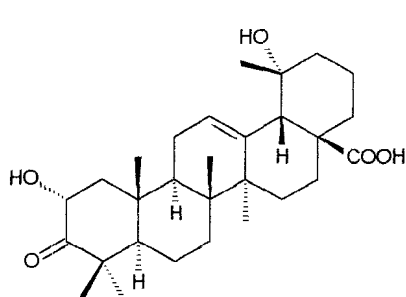
Espécies da família Chrysobalanaceae são largamente usadas na medicina tradicional da África e América do Sul³. O extrato metanólico das raízes secas de *Parinari curataefolium* Planch (Chrysobalanaceae) é usado na inibição de ovoposição como um medidor de atividade antiacaricida. O chá destas raízes misturado com extratos de *Psorospermum febrifugum* Spach. (Hypericaceae) e *Heteromorpha trifoliata* L. (Apiaceae) é utilizado no folclore africano devido à atividade anticonvulsionante. A decocção das cascas secas da *P. curataefolium* é empregada em dor de dente e a decocção das raízes secas misturadas com *Terminalia sericea* Burch. (Combretaceae), *Carica papaya* L. (Caricaceae) e *Citrus limon* Burmann (Rutaceae) tem atividade antibactericida e usadas contra doenças venéreas. O extrato etanólico 95% de *Coupeia paraensis* Benth.

(Chrysobalanaceae) contém triterpenos, esteróides e flavonóides e apresenta atividade antitumoral contra Leuk-P 388³. O chá de *Chrysobalanus icao* L. (Chrysobalanaceae) tem atividade antihiperlicêmica e é usado no Brasil em tratamento de diabetes. Este material compõe uma droga comercial que é constituída de derivados do diterpeno ácido kauren-16-en-19-óico com potente atividade contra o vírus HIV. E o extrato etanólico 95% de *Licania heteromorpha* Benth. é citotóxico contra cultura de células CA-9KB e antitumoral *in vivo* contra carcinoma do cólon 38 e melanoma B16³. A espécie *Licania rígida* é usada no nordeste brasileiro na alimentação de gado. No México e América Central a espécie *Licania arborea* é utilizada na indústria de tintas e vernizes⁷.

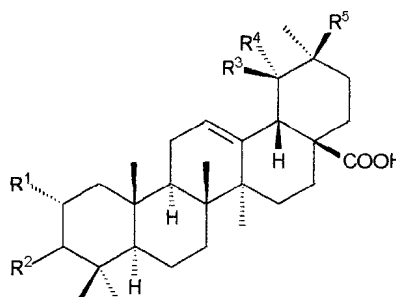
Estudos biológicos estão sendo feitos para avaliar as atividades citotóxica e antitumoral de *Licania caril* (Chrysobalanaceae) de derivados flavonóides e triterpenóides isolados³.

A presença de triterpenos em Chrysobalanaceae tem sido constatada com frequência e o estudo das propriedades farmacológicas desta classe de substância tem recebido interesse particular. Os triterpenos são conhecidos por possuírem atividade antiinflamatória, antiúlcera e antitumoral⁸. O extrato metanólico de *Geum japonicum* Thunb (Rosaceae), planta usada na medicina chinesa tradicional como diurético, revelou significativa atividade inibidora da protease HIV-1, devido à presença dos triterpenos ácido 2 α ,19 α -dihidroxi-3-oxo-12-ursen-28-óico (I), ácido ursólico (II), ácido epipomólico (III), ácido maslínico (IV), ácido euscápico (V) e ácido tormentico (VI) 9. O ácido pomólico (VIII), isolado de *Rosa woodsii* Linsl. (Rosaceae) e *Hyptis capitata* Jacq. (Labiatae), tem sido considerado também um agente anti-HIV¹⁰.

Muitas plantas contendo ácido ursólico (II) e ácido oleanólico (VII) tem sido usadas na medicina tradicional no tratamento de doenças inflamatórias. Estes ácidos foram isolados do extrato hexânico de *Plantago major* L. (Plantaginaceae) e a eles tem sido atribuída função de inibição da liberação de histamina bem como de lipooxigenase e de ciclooxigenase-2 na biossíntese de prostaglandina⁸.



I



	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
II	H	β-OH	CH ₃	H	H
III	H	α-OH	CH ₃	OH	H
IV	α-OH	β-OH	H	H	CH ₃
V	α-OH	α-OH	CH ₃	OH	H
VI	α-OH	β-OH	CH ₃	OH	H
VII	H	β-OH	H	H	CH ₃
VIII	H	β-OH	CH ₃	OH	H

I.1. Características Botânicas da Família Chrysobalanaceae

A família Chrysobalanaceae é pantropical, sobretudo americana e considerada por muitos autores como subfamília de *Rosaceae*. É constituída de 17 gêneros contendo 420 espécies. O centro de dispersão de suas espécies é na Amazônia, onde ocorrem 120 das 420 espécies¹¹.

São árvores e arbustos com folhas simples, inteiras, alternas, estipuladas, penínervas. Flores andróginas, raramente polígamas, ordenadas em cimeiras ou em panículas terminais. Receptáculo cupuliforme, constituindo um hipânquio. Cálice gamossépalo, com cinco lacínios. Corola com cinco pétalas livres, imbricadas, inseridas nos bordos do hipânquio (Fig. 1, pág. 16). Androceu constituído de numerosos estames, todos férteis ou alguns reduzidos a estaminódios, distribuídos ao redor do bordo do hipânquio (Fig 1, B) ou dispostos apenas de um lado; filetes filiformes, livres ou concrecidos em feixes, anteras rimosas, geralmente globosas. Ovário inserido no fundo do receptáculo ou na parede do hipânquio (Fig 1, D). constituído de três carpelos, de uni a bilocular, com dois óvulos basais; estilete lateral ou basal (Fig 1, D e E), com estigma trilobado ou truncado. Drupa monospérmica; semente sem endosperma, com embrião carnoso, com cotilédones plano-convexos. Distingue-se de *Rosaceae* pelo estilete basal ou lateral e pelos óvulos eretos.

Podemos distinguir os seguintes gêneros:

1. Ovário inserido no fundo do receptáculo. Flores actinomorfas
- 1'. Ovário inserido na parede do hipânquio (Fig. 1, D). Flores zigomorfas
2. Filetes pilosos, concrecidos em grupos *Chrysobalanus* L.
- 2'. Filetes glabros, livres entre si *Licania* Aubl.
3. Ovário bilocular
- 3'. Ovário unilocular
4. Folhas com cavidades estomatais pubescentes na face abaxial. Endocarpo espessado, com superfície rugosa e com duas lacunas basais. Epicarpo verrucoso *Parinari* Aubl.

- 4'. Sem o conjunto de caracteres *Exellodendron* Prance.
5. Filetes livres entre si
- 5'. Filetes unidos, em sua maior extensão, numa espécie de lígula *Acioa* Aubl.
6. De 3 a 10 estames. Fruto com sulcos longitudinais *Hiriella* L.
- 6'. Mais de 10 estames. Fruto sem sulcos longitudinais *Couepia* Aubl.

De acordo com Watson e col¹² a família Chrysobalanaceae é não-cianogênica. Não possuem ácido elágico, alcalóides ou iridóides. Estão presentes proantocianidinas (cianidina ou delfinidina) e flavonóides (campferol, quercetina e miricetina, ou quercetina e miricetina, ou ainda campferol e quercetina) e sacarose (em *Licania* e *Parinari*).

Taxonomicamente 12 a família Chrysobalanaceae é classificada em:

Subclasse Dicotyledonae

Reino: Plantae

Filo: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem. Rosales

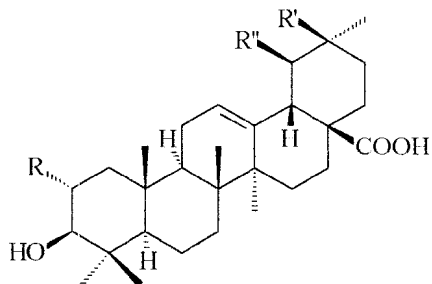
Gênero: 17 - *Acioa*, *Atuna*, *Bafodeya*, *Chrysobalanus*, *Coupeia*, *Dactyhlenia*, *Exellodendron*, *Grangeria*, *Hirtella*, *Hunga*, *Kostermanthus*, *Licania*, *Magnistipula*, *Maranthes*, *Neocarya*, *Parastemon*, *Parinari*.

Espécies: 420

1.2. Constituintes Químicos Isolados do Gênero *Licania*

Os estudos fitoquímicos encontrados na literatura referentes ao gênero *Licania* reportam o isolamento de triterpenos das séries ursano e lupano, glicosilsterol e outros esteróides, flavonóides e glicosilflavonóides isolados das folhas de *Licania caril*³, *L. pittieri*², *L. pyrifolia*^{4,5} e ⁶, *L. densiflora*¹³ e *L. heteromorpha*¹⁴.

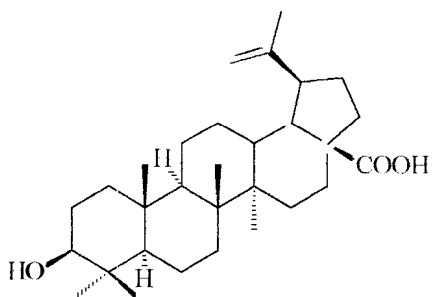
Da espécie *Licania carii* Cardozo, árvore de 18 a 20m, uma nova espécie neotropical descoberta e coletada em 1992 no Parque Nacional Henry Pittier, Estado de Aragua, Venezuela, foram isoladas as substâncias abaixo³:



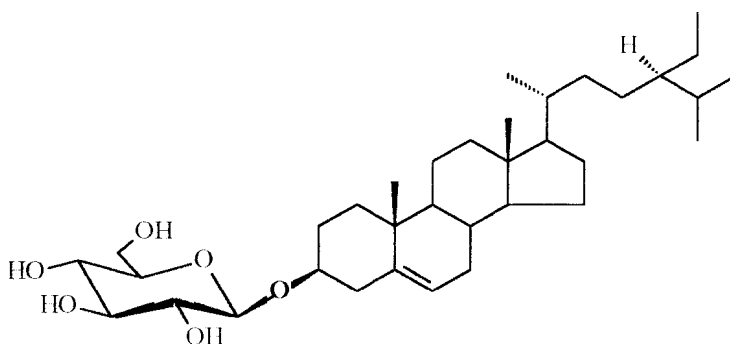
II: Ácido ursólico, R=H; R'=H; R''=CH₃

IX: Ácido 2 α -hidroxiursólico, R=OH; R'=H; R''=CH₃

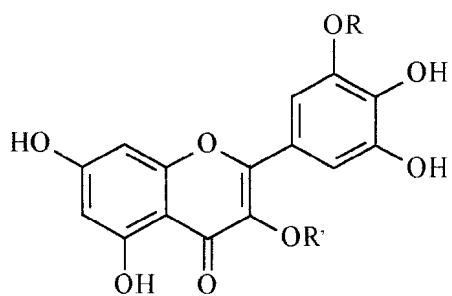
Ir: Ácido maslínico, R=OH; R' = CH₃; R''=H



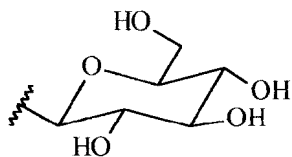
X: Acido betulínico XI:



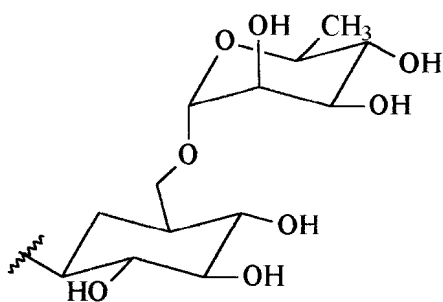
β -sitosterol-3-O-glicosídeo

**XII**

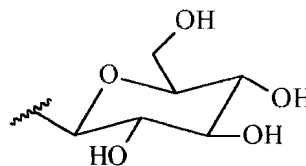
XIIa: Miricetina-3-galactosídeo,
R=H; R'= β -D-galactopyranosyl



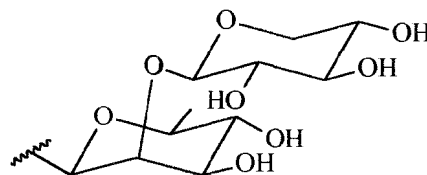
XIIId: Miricetina-3'-metil-3-rutinosídeo,
R=CH₃; R'= β -D-rutinosyl



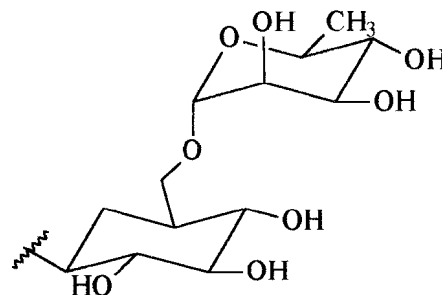
XIIb: Miricetina-3-glicosídeo,
R=H; R'= β -D-glucopyranosyl

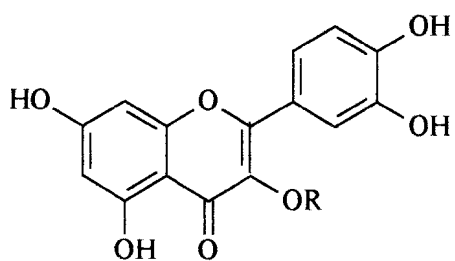


XIIc: Miricetina-3-(2''-xilosil)ramnosídeo,
R=H; R'= β -D-xilopiranosilramnosil



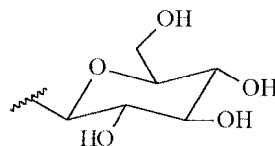
XIIe: Miricetina-3-rutinosídeo,
R=H; R'= β -D-rutinosyl



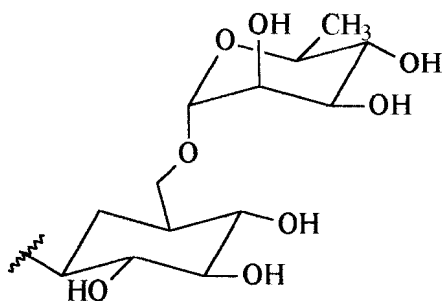


XIII

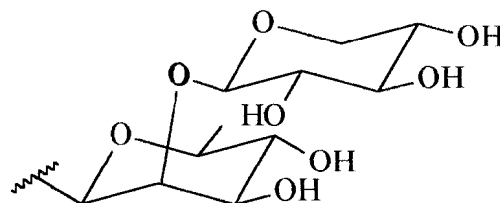
XIIIb: Quercetina-3-glicosídeo,
R=



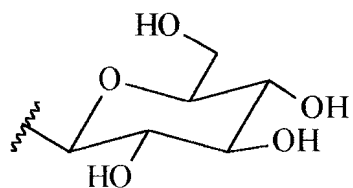
XIIIa: Rutina,
R=



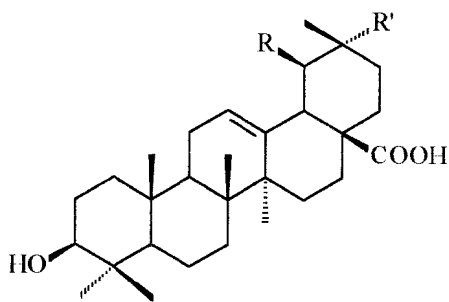
XIIIc: Quercetina-3-(2''-xilosil)ramnosídeo,
R=



XIII d: Quercetina-3-galactosídeo,
R=

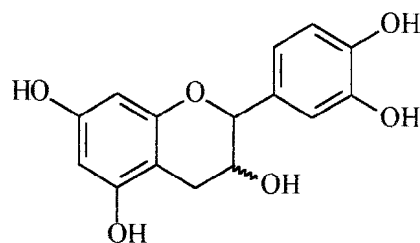


Da espécie *Licania pittieri* Prance, árvore de mais de 15 m, também coletada em 1992 no Parque Nacional Henry Pittier, foram isoladas as substâncias²:



VII: Ácido oleanólico, R=H; R'=CH₃

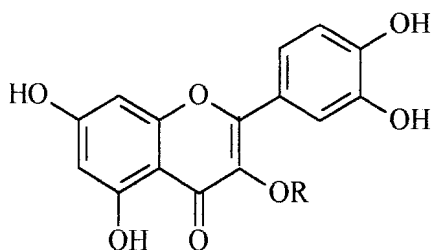
II: Ácido ursólico, R=CH₃; R'=H



XIV

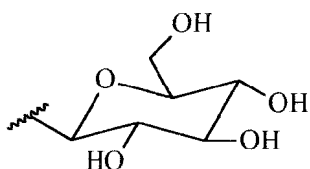
XIVa: (+)-Catequina, Trans

XIVb: (-)-Epicatequina, Cis



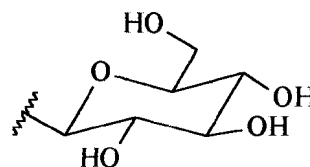
XIII

XIIIb: Isoquercetina, R=

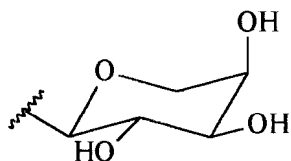


XIIIg: Quercetina, R=H

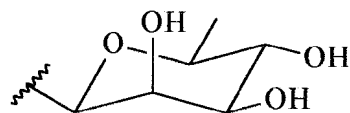
XIIIId: Hiperina, R=



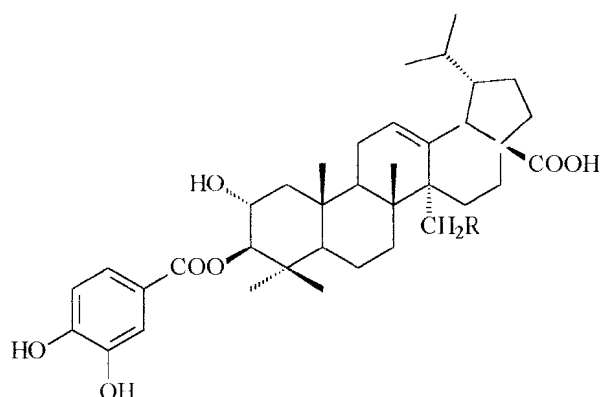
XIIIe: Quercetina-3-arabinopiranosídeo,
R=



XIIIf: Quercitrina, R=



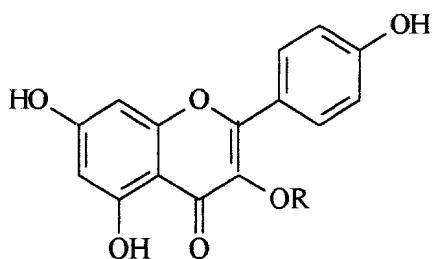
Da espécie *Licania pyrifolia* Grisebach, árvore pequena abundantemente cultivada em Apure, Aragua, Bolivar, Carabobo (Venezuela) e regiões da Amazônia devido aos frutos comestíveis conhecidos por “Merecure”, foram isoladas as substâncias^{4,5,6}:



XV

XVa: Ácido 2 α ,3 β -diidroxilup-12-en-28-óico-3-(3',4'-diidroxibenzoil éster, R=H

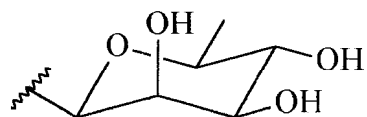
XVb: Ácido 2 α ,3 β ,27-triidroxilup-12-en-28-óico-3-(3',4'-diidroxibenzoil éster, R=OH



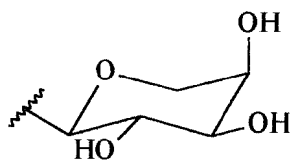
XVI

XVIa: Campferol, R=H

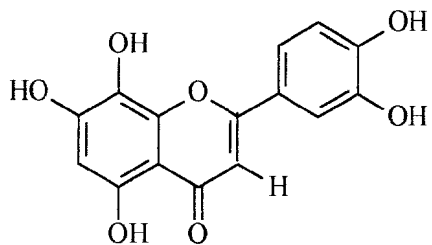
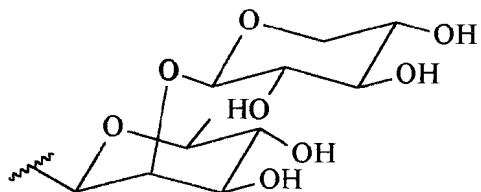
XVIb: Campferol-3-ramnosídeo, R=



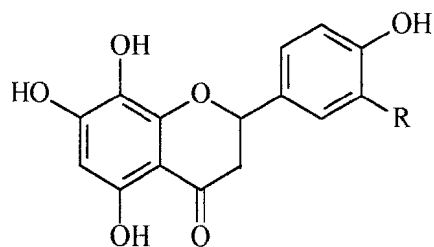
XVIc: Campferol-3-arabinosídeo
R=



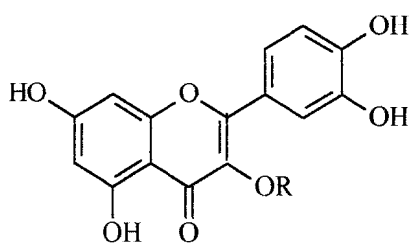
XVIId: Campferol-3-(2''-xilosil)-ramnosídeo, R =



XVII
Hipolaetina

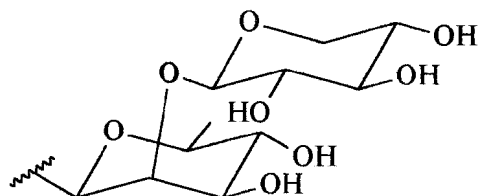


XVIIIa: 8-hidroxi-naringenina, R=H
XVIIIb: 8-hidroxi-eriodictiol, R=OH

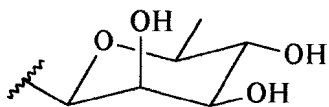


XIIIg Quercetina, R=H

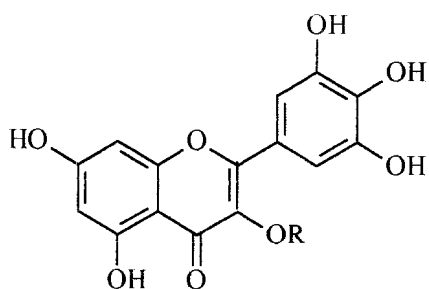
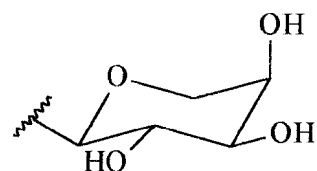
XIIIc: Quercetina-3-(2''-xilosil)ramnosídeo, R=



XIIIb: Quercetina-3-ramnosídeo,
R =

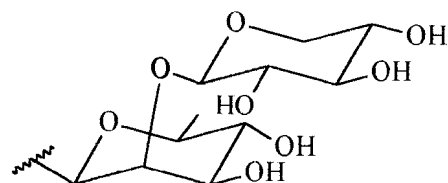


XIIIc: Quercetina-3-arabinosídeo,
R =

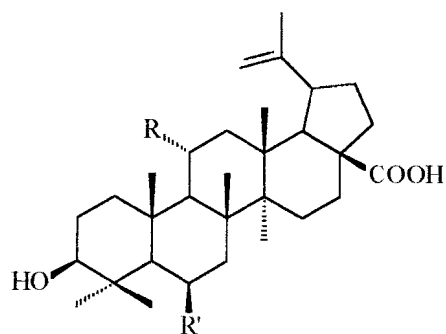
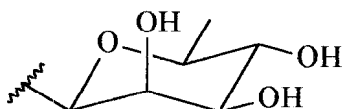


XIIg: Miricetina, R=H

XIIc: Miricetina-3-(2''-xilosil)-ramnosídeo,
R =



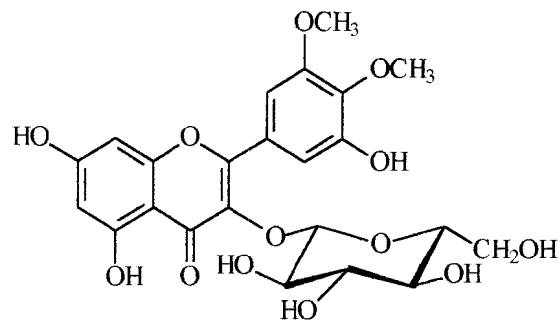
XIIIf: Miricetina-3-ramnosídeo,
R =



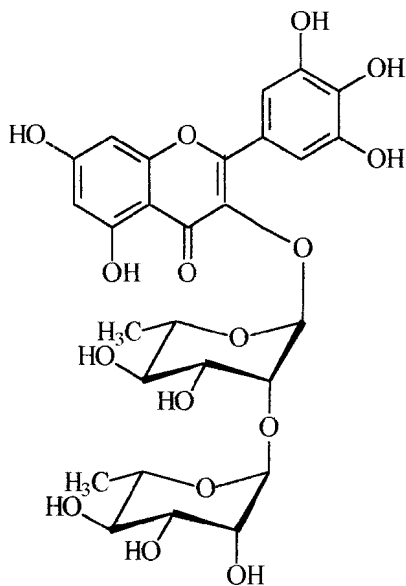
XIXa: Ácido 11 α -hidroxibetulinico, R=OH, R'=H

XIXb: Ácido 6 β -hidroxibetulinico, R=H, R'=OH

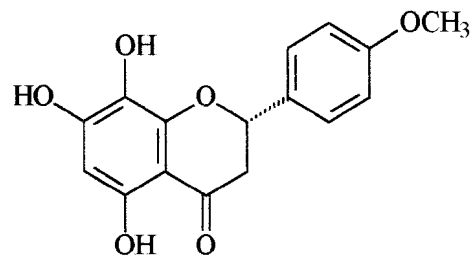
Da espécie *Licania densiflora* Kleinhoonte, sinônimo de *Licania kamukuensis* Standley, árvore de 30m de florestas da Venezuela, Brasil e Guianas, conhecida na Venezuela como “Merecurillo”, foram isoladas as substâncias¹³:



XX: 3',4'-dimetil-3-*O*-β-D-glicopiranosil miricetina

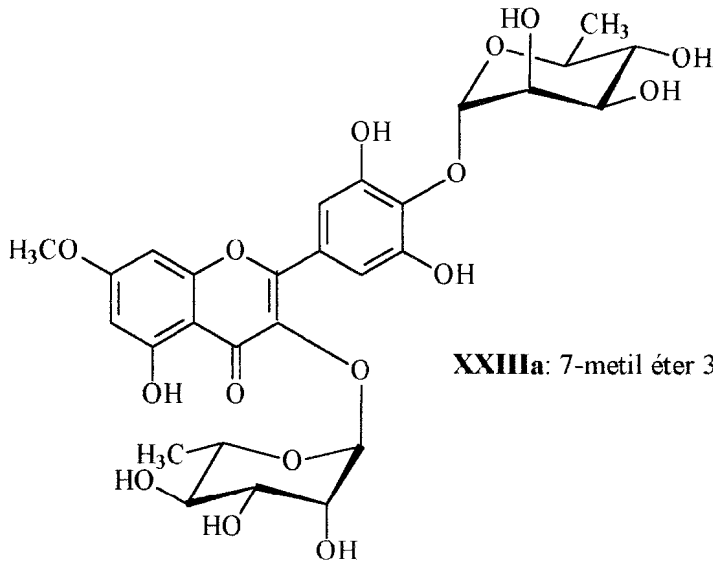


XXII: 3-*O*-α-L-(2''-*O*-α-L-ramnopiranosil)-epiramnopiranosil miricetina

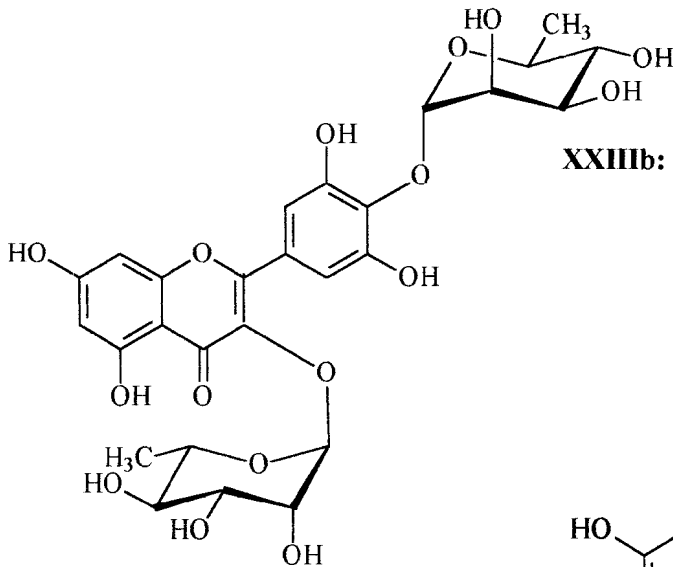


XXI: 8-hidroxi-4'-metoxinaringenina

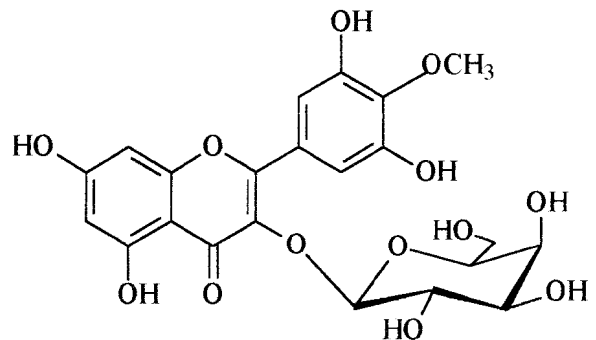
Da espécie *Licania heteromorpha* Bentham, árvore da floresta amazônica, foram isoladas as substâncias¹⁴:



XXIIIa: 7-metil éter 3,4'-di-*O*- α -L-ramnopiranosil miricetina



XXIIIb: 3,4'-di-*O*- α -L-ramnopiranosil miricetina



XXIV: 4'-metil éter 3-*O*- β -D-galactopiranosil miricetina

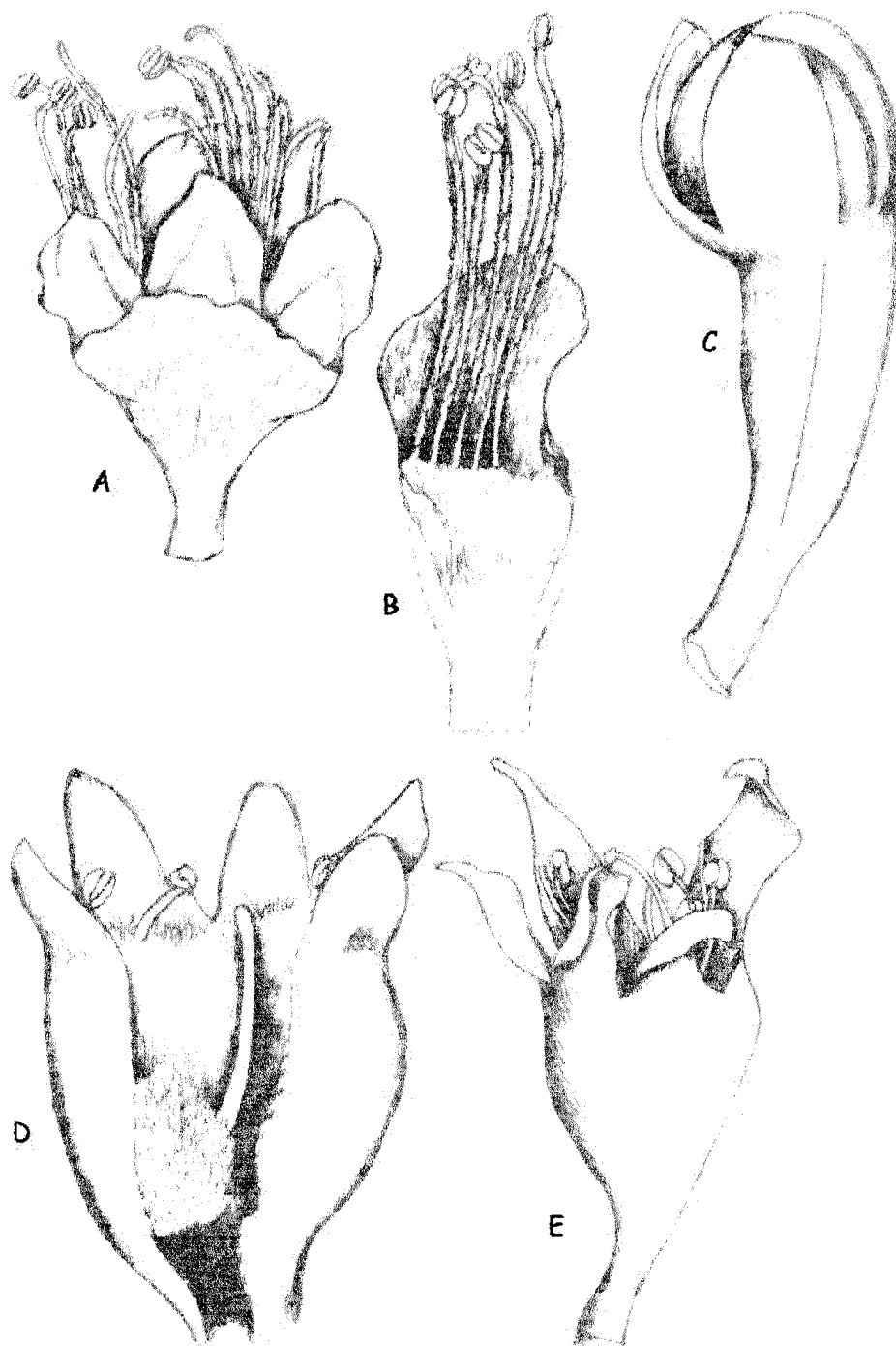


Fig. 1. Características morfológicas de gêneros da família Chrysobalanaceae. (A)- *Chrysobalanus* sp.: flor completa e flor seccionada (B). *Couepia* sp.: flor(C). *Licania* sp.: flor (D). *Parinari* sp.: flor (E).

1.3. Espécies Brasileiras da Família Chrysobalanaceae Ameaçadas de Extinção

O IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio-Ambiente) tornou público a Lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção¹⁵ e entre elas estão incluídas algumas das espécies da família Chrysobalanaceae. Na relação abaixo o IBAMA faz a indicação da localidade e a situação atual das espécies.

- *Coupeia schottii* Fritsch ; nome popular: "oiti-Boi". (Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia). Categoria: Vulnerável.
- *Hirtella insignis* Briquet et Prance. (Bahia). Categoria: Em perigo.
- *Hirtella parviunguis* Prance. (Bahia). Categoria: Em perigo.
- *Hirtella samtosii* Prance. (Bahia). Categoria: Em perigo.
- *Licania aracaensis* Prance. (Amazonas). Categoria: Em perigo.
- *Licania bellingtonii* Prance. (Rondônia). Categoria: Em perigo.
- *Licania indurata* Pilger. Nome popular: "milho-cozido". (São Paulo). Categoria: Em perigo.
- *Parinari brasiliensis* (Schott) Hook. (Rio de Janeiro, Minas Gerais). Categoria: Em perigo.

1.4. Características da espécie *Licania arianae* Prance

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

A espécie *Licania arianae* é conhecida popularmente como "quebra machado". O espécimen (Fig 2, pág 19) de *Licania arianae* usado neste estudo foi coletado no dia 22 de novembro de 1993, na Estrada da Farinha Seca (Km 226), localizada na Reserva Florestal da Companhia Vale do Rio Doce (C.VRD.) e é um dos remanescentes de Mata Atlântica do país no município de Linhares, Espírito Santo. Uma excicata (nº 2892) encontra-se depositada no Herbário da RBR-IB-UFRRJ. A coleta do espécimen foi feita pela Professora Ariane Luna Peixoto, IB - UFRRJ.

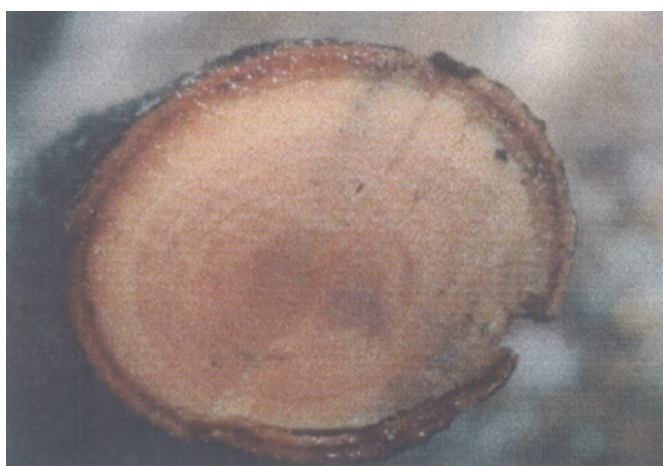
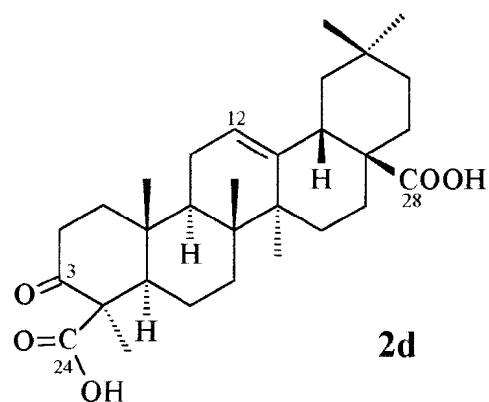
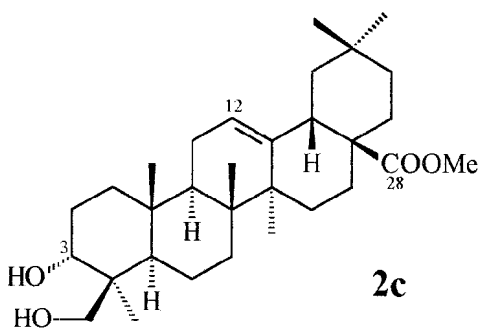
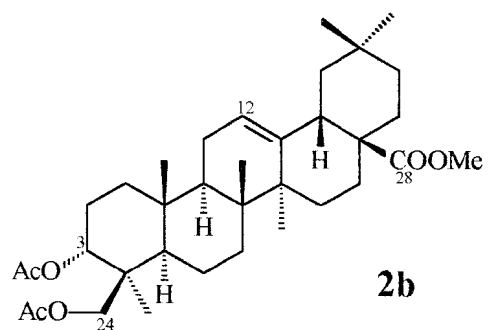
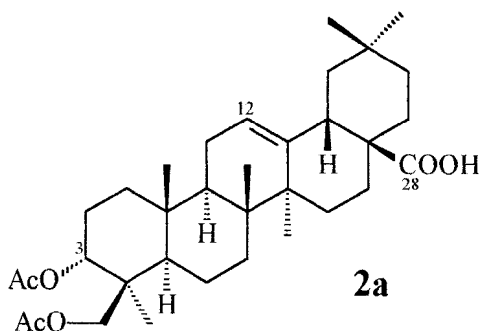
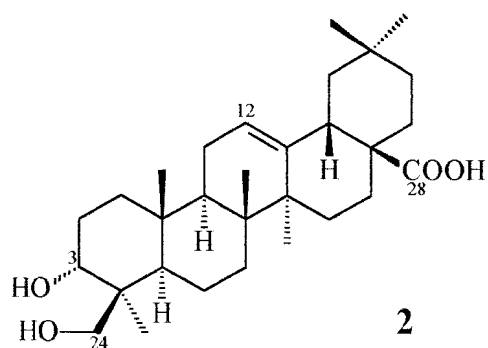
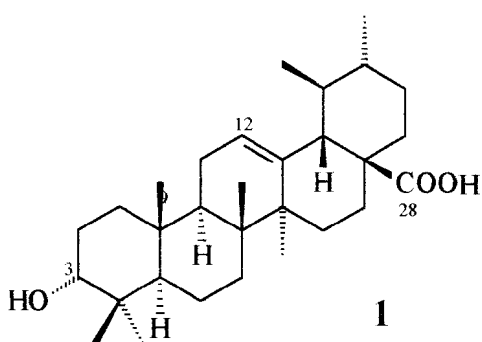
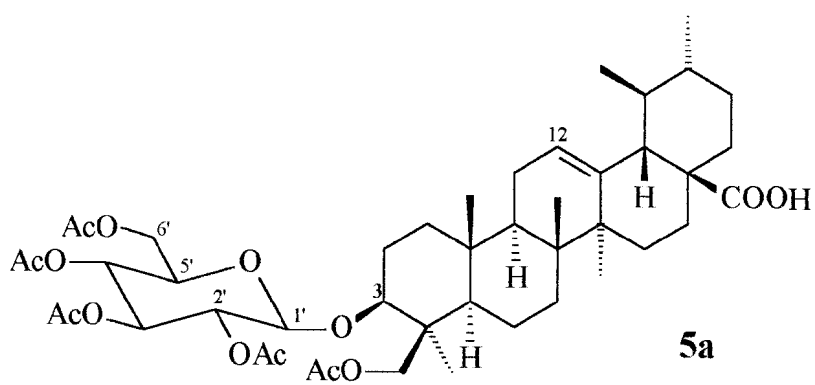
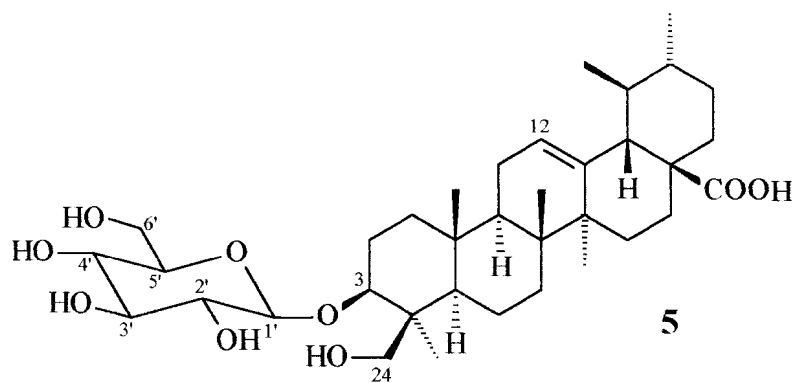
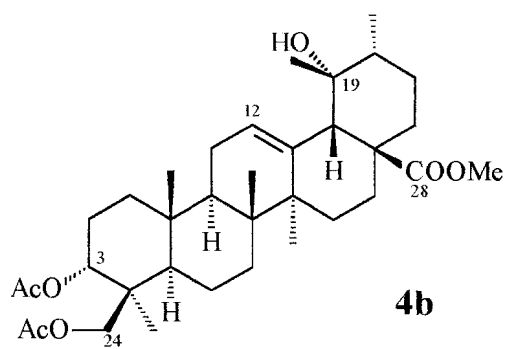
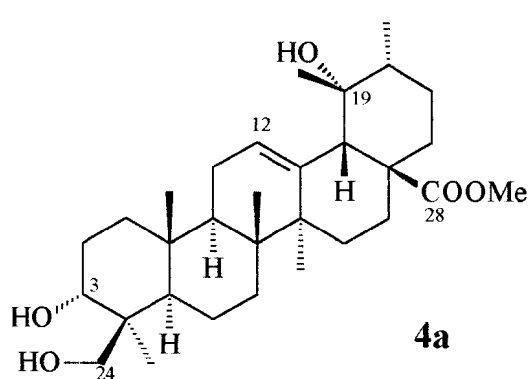
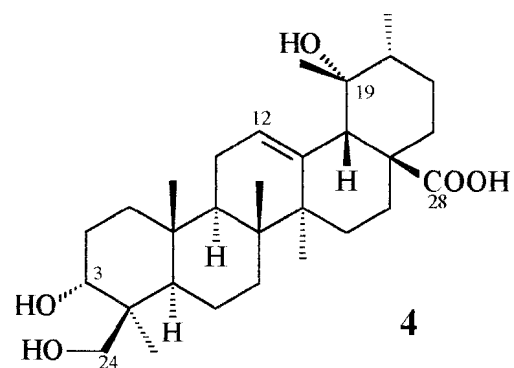
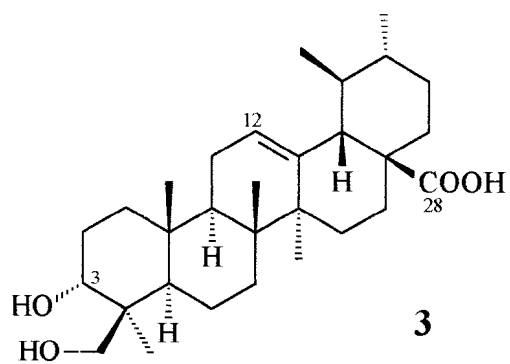


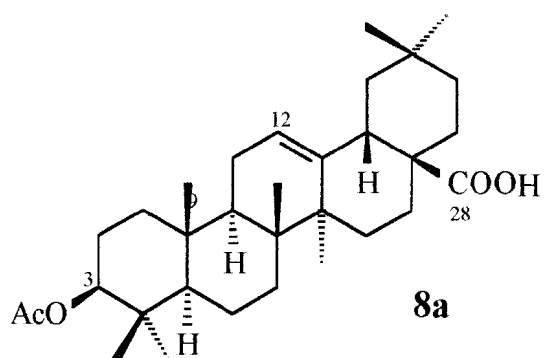
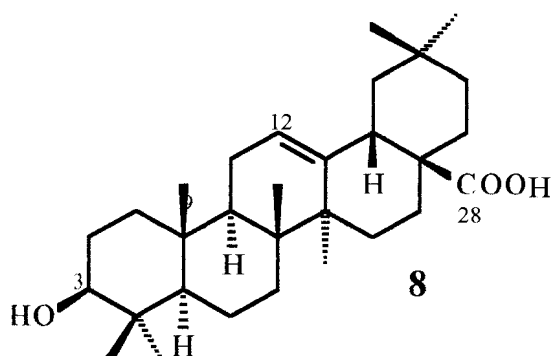
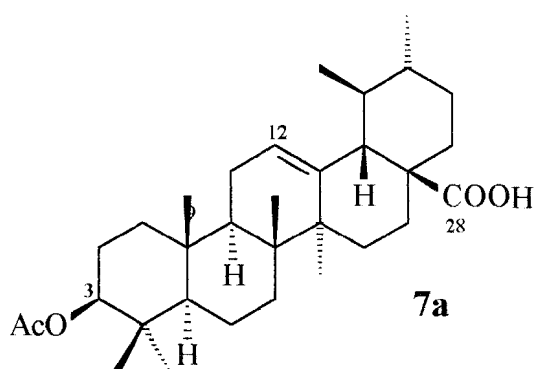
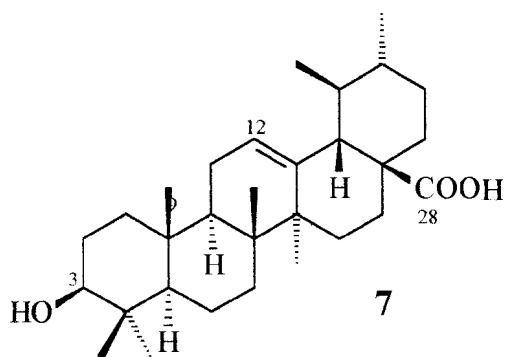
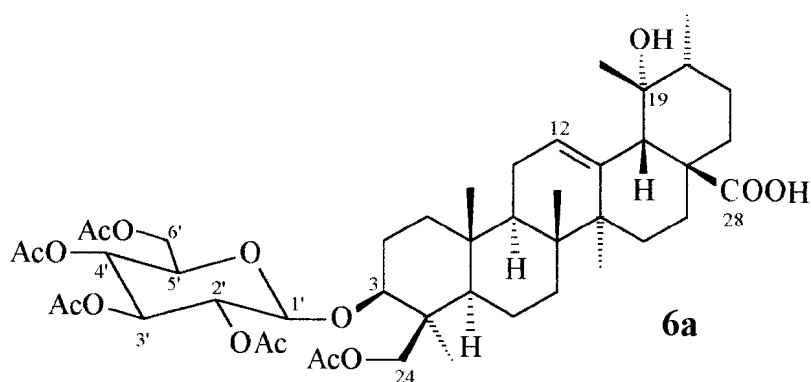
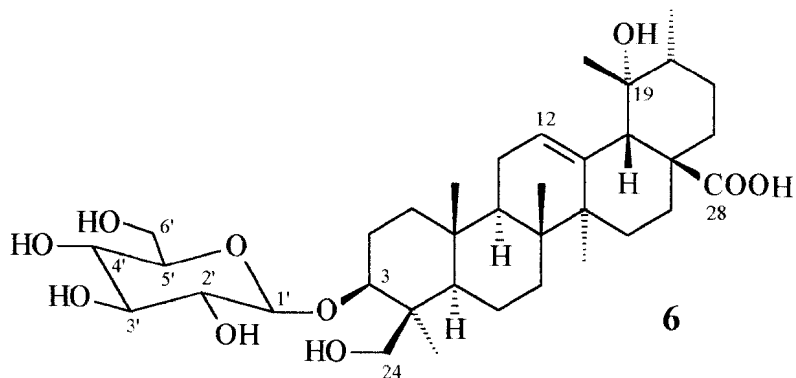
Fig. 2.: Folhas e tronco da espécie *Licania arianae*.

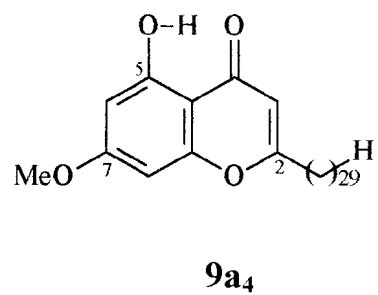
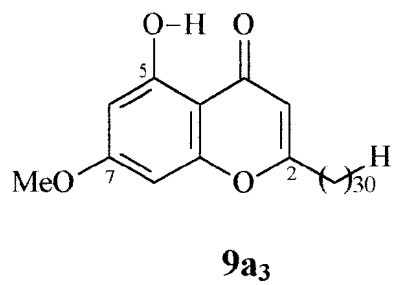
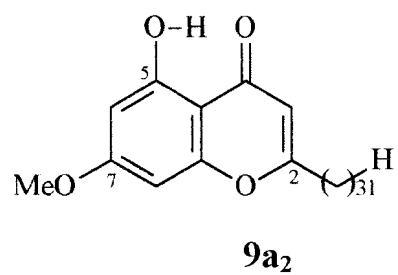
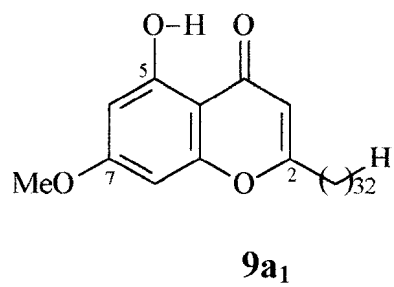
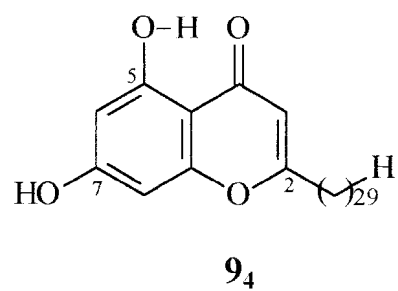
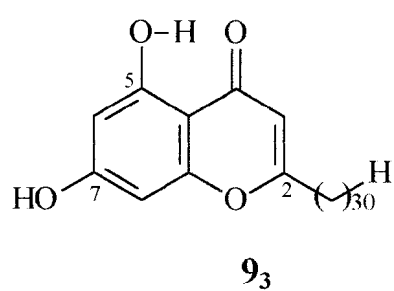
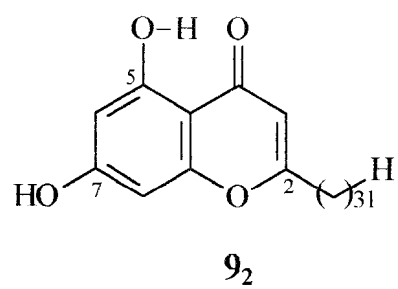
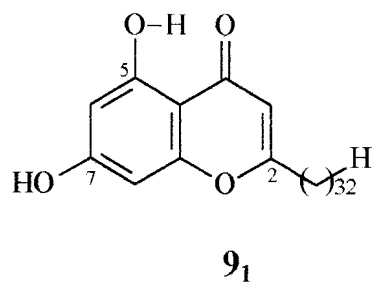
I.5. Constituintes Químicos Isolados de *Licania arianeae*

O fracionamento cromatográfico dos extratos das folhas de *Licania arianeae* permitiu o isolamento das substâncias naturais **1** a **10₄**, e preparação dos derivados acetilados: **2a**, **4a**, **5a**, **6a**, **7a** e **8a**, metilados: **2c**, **9a₁**, **9a₂**, **9a₃**, **9a₄**, **10a₁**, **10a₂**, **10a₃** e **10a₄**, acetilado-metilado: **2b** e **4b** e oxidado: **2d**. A nomenclatura das substâncias **1** a **10₄** é mostrada na Tabela 1, pág.25.









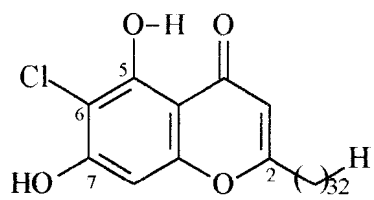
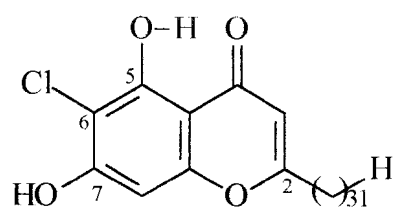
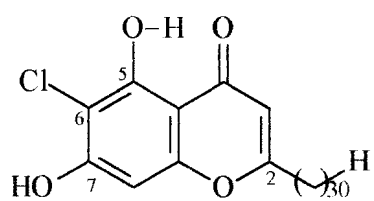
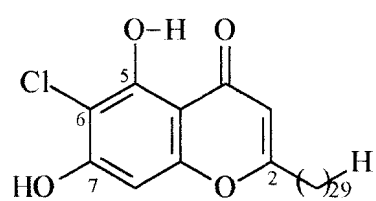
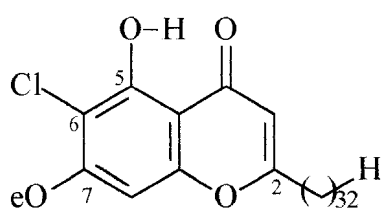
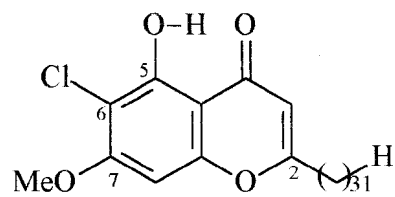
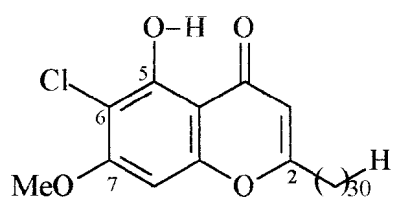
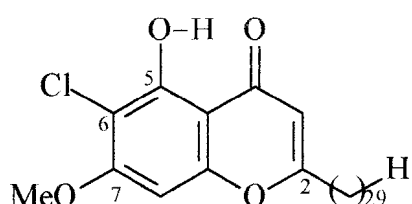
10₁10₂10₃10₄10a₁10a₂10a₃10a₄

Tabela 1: Nomenclatura das substâncias naturais 1-8, 9₁₋₄ e 10₁₋₄.

Substância natural	Nome
1	ácido 3 α -hidroxi-urs-12-en-28-óico
2	ácido 3 α ,24-diidroxi-olean-12-en-28-óico
3	ácido 3 α ,24-diidroxi-urs-12-en-28-óico
4	ácido 3 α ,19 α ,24 triidroxi-urs-12-en-28-óico
5	ácido 3 β - <i>O</i> - β - <i>D</i> -glicopiranosil-24-hidroxi-urs-12-en-28-óico
6	ácido 3 β - <i>O</i> - β - <i>D</i> -glicopiranosil-19 α ,24-diidroxi-urs-12-en-28-óico
7	ácido 3 β -hidroxi-olean-12-en-28-óico
8	ácido 3 β -hidroxi-urs-12-en-28-óico
9 ₁	5,7-diidroxi-2-dotricontil-cromona
9 ₂	5,7-diidroxi-2-untricontil-cromona
9 ₃	5,7-diidroxi-2-tricontil-cromona
9 ₄	5,7-diidroxi-2-noneicosil-cromona
10 ₁	5,7-diidroxi-6-cloro-2-dotricontil-cromona
10 ₂	5,7-diidroxi-6-cloro-2-untricontil-cromona
10 ₃	5,7-diidroxi-6-cloro-2-tricontil-cromona
10 ₄	5,7-diidroxi-6-cloro 2-noneicosil-cromona

II. PARTE EXPERIMENTAL:

II.1. Materiais e Métodos

Os pontos de fusão (PF) foram determinados em placa aquecedora de Kofler e não foram corrigidos. Os solventes de grau analítico da Merck, Grupo Químico e Vetec, após destilação, foram utilizados para extrações, partições e sistemas cromatográficos.

Os espectros de absorção na região do IV foram registrados em espectrômetro Perkin Elmer FT - IR 1600 em pastilhas de KBr. Os valores para as absorções foram medidos em unidades de números de ondas (cm^{-1}) e os espectros calibrados com filme de poliestireno de 0,5 mm de espessura, utilizando a absorção em 1601 cm^{-1} como referência.

Os espectros de RMN (1D) e (2D) foram registrados em um espectrômetro Bruker AC-200 (^1H : 200 MHz, ^{13}C : 50,3 MHz, FT) e UN-400 (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz), utilizando-se como solvente CDCl_3 , MeOD, DMSO- d_6 e TMS como referência interna. O espectro simulado de RMN ^{13}C foi realizado com o programa ACD II da Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, USA Os espectros de RMN COLOC e HETCOSY das saponinas foram registrados em um espectrômetro Bruker AC-200 (^1H : 200 MHz, ^{13}C : 50,3 MHz, FT) da Universidade do Ceará. Os solventes utilizados foram CDCl_3 e Py- d_5 com TMS como referência interna. Os deslocamentos químicos foram

medidos em unidades ppm (δ) da frequência aplicada e as áreas relativas dos picos de absorção obtidas por integração eletrônica.

Para cromatografia em coluna sob pressão atmosférica, CCDA (espessura de 0,25 mm) e CCDP (espessura de 1,0 mm) utilizou-se como adsorvente sílica gel 60 da Merck. As placas analíticas foram reveladas pela irradiação UV (254 nm) e por exposição aos vapores de iodo. A cromatografia preparativa centrífuga foi eluída em um Chromatotron da Harrison Research

Os espectros de massas foram registrados em um espectrômetro VG Quatro-Gc 8000 Triploquadropolo/GD/MS-MS - da Fisions Instruments.

II.2. Material Vegetal

O material em estudo pertence a uma nova espécie da família Chrysobalanaceae identificada pela botânica Ariane Luna Peixoto (Depto de Botânica, IB-UFRRJ) e classificado como *Licania arianae*, conhecida popularmente como "quebra machado".

O material vegetal foi coletado na Estrada da Farinha Seca (Km 226), localizada na Reserva Florestal da Companhia Vale do Rio Doce (C.VRD.), Município de Linhares, Espírito Santo. Uma excicata (n° 2892) se encontra depositada no Herbário da RBR-IB-UFRRJ.

11.3. Elaboração dos Extratos

As folhas secas e moídas (2,89 Kg) foram submetidas a extração com hexano e metanol através de maceração. Os resíduos dos extratos foram obtidos pela destilação dos solventes em evaporador rotativo, obtendo-se 45,0 g de material do extrato hexânico LAFH (*Licama arianae*, folha, hexano) e 240,48 g de material do extrato metanólico LAFM (*Licania arianae*, folha, metanol) (Esquema 1, pág 34).

II.4. Isolamento e Purificação dos Constituintes Químicos dos Extratos

a) Extrato Hexânico das Folhas (LAFH)

O fracionamento do extrato hexânico através de partição com solventes orgânicos e técnicas cromatográficas como coluna de sílica gel, cromatografia em camada preparativa normal e centrífuga (Esquema 2, pág35) forneceu uma mistura de ésteres alifáticos e os 3 α -hidroxitriterpenóides (1,2, 3 e 4).

O extrato hexânico (45,0 g) foi submetido a partição no sistema de solventes hexano/metanol:água 80:20, obtendo-se as frações metanólica (LAFHM *Licania arianae*, folha, hexano, metanol,) e hexânica (LAFHH- *Licania arianae*, folha, hexano, hexano).

A fração hexânica (LAFHH, 24.4 g), foi submetida à cromatografia filtrante em sílica gele eluída com solventes orgânicos de polaridade crescente (hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol), obtendo-se 4 frações [LAFHHH (*Licania arianae*, folha,

hexano, hexano, hexano), LAFHHD (*Licania arianae*, folha, hexano, hexano, diclorometano), LAFHHA (*Licania arianae*, folha, hexano, hexano, Acetato de etila), LAFHHM (*Licania arianae*, folha, hexano, hexano, metanol)]. Estas frações foram concentradas em evaporador rotativo e monitoradas por cromatografia em camada fina analítica de sílica gel.

A fração acetato de etila (LAFHHA 3,76 g) foi fracionada em coluna de sílica gel e recolhidas 249 frações de 10 mL. O grau de pureza das frações foi acompanhado através de cromatografia em camada fina de sílica gele revelada em UV (254nm) e vapor de iodo.

As frações semelhantes foram reunidas e fracionadas através de cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP). O grupo de frações LAFHHA 11-96 (Esquema 2, pág. 35) forneceu 17,9 má (PF - 237°C) de um ácido que com a análise dos dados espectrométricos de IV, RMN de ^1H e ^{13}C foi identificado como ácido-3 α -hidroxi-urs-12-en-28-óico (I).

A fração metanólica (LAFHM, 20.4 g) obtida da partição do extrato hexânico foi fracionada em coluna de sílica gel usando diclorometano e metanol em polaridade crescente e forneceu 205 frações de 150 mL. As frações foram reunidas através de análise em cromatografia em camada delgada de sílica gel e, de acordo com a placa revelada em vapores de iodo, foram reunidas em grupos de frações. O grupo de frações LAFHM 85-112 forneceu um precipitado (300 má) correspondente à mistura dos triterpenos 2, 3 e 4 que foram identificados após a obtenção dos derivados pela análise dos dados espectrométricos de RMN de ^1H e ^{13}C , como o ácido 3 α ,24-dihidroxi-olean-12-en-28-óico

(2), ácido 3 α ,24-dihidroxi-urs-12-en-28-óico (3) e ácido 3 α ,19,24-trihidroxi-urs-12-en-28-óico (4).

Posteriormente, a substância 2 (PF - 239°C) foi submetida a reações para a obtenção de derivados que proporcionaram dados destinados à confirmação estrutural (Esquema 3, pág.36). A acetilação de 150 mg de 2 por tratamento com anidrido acético e piridina, numa proporção 1:1, durante 24 horas a temperatura ambiente, e posterior extração de rotina (pág. 33) e purificação em coluna de sílica gel forneceu o produto acetilado 2a (73.0 mg) (PF = 240°C). O derivado acetilado 2a também foi submetido à reação de metilação com diazometano para produzir 2b (61,7 mg). Através da reação de metilação (70 mg de 2) com diazometano em éter preparado antes do uso a partir do Diazald, foi obtido o produto metilado 2c (70 mg) (PF = 235°C). A oxidação de 50 mg de 2, dissolvida em clorofórmio, com dicromato de potássio, a temperatura ambiente, seguida por purificação por cromatografia em coluna de sílica gel, forneceu o produto oxidado 2d (23.3 mg).

b) Extrato Metanólico das Folhas (LAFM)

O extrato metanólico (LAFM) foi obtido pela extração com metanol através de maceração e o resíduo, após concentração em evaporador rotativo forneceu 240,48g de extrato. Uma porção do extrato metanólico correspondendo a 130.42g foi submetida a partição com o sistema de solventes clorofórmio/metanol:água 80:20 (Esquema 4, pág.37).

O resíduo da solução clorofórmica (LAFMC- *Licania arianae*, folha metanol, clorofórmio) foi fracionado em coluna de sílica gel.

A fração clorofórmica (LAFMC) obtida do extrato metanólico foi fracionada através de cromatografia em coluna de sílica gel, usando como fases móveis em ordem crescente de polaridade diclorometano, acetato de etila e metanol. Foram obtidas 53 frações de 250 mL cada e concentradas em evaporador rotativo. Estas frações foram analisadas através de cromatografia em camada fina de sílica gele reunidas em grupos.

A fração LAFMC 7-12 foi submetida a cromatografia em coluna rápida em sílica gel, usando-se como eluente clorofórmio, aumentando a polaridade até metanol puro. Foram coletadas 9 frações de 1125 mL cada, que foram concentradas em evaporador rotativo. O espectro de RMN ^1H da fração LAFMC 7-12-3P (7.1 mg) revelou a presença de uma mistura de substâncias aromáticas (91 a 104). A fração LAFMC 7-12-3P foi submetida a uma reação de metilação com diazometano e forneceu os derivados 9a₁ a 10a₄ (6.5 mg) (PF 174-176 °C).

A fração LAFMC 13-20 (3.78 g) foi submetida a cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando-se como eluente diclorometano, aumentando a polaridade até metanol puro. Foram coletadas 47 frações de 125 mL cada e estas foram concentradas em evaporador rotativo. Posteriormente a análise em cromatografia de camada fina analítica foram reunidas em grupos de frações. Estas frações foram submetidas a análise espectrométrica (1V, RMN ^1H e ^{13}C). A fração LAFMC 13-6 (124,1 mg) foi acetilada com anidrido acético em presença de piridina. Eluiu-se esta fração através de uma coluna filtrante com solventes

de polaridade crescente como CH_2Cl_2 , CHCl_3 , AcOEt e MeOH, coletando-se 44 frações de 10 mL. As frações foram analisadas por cromatografia em camada fina e reunidas. A fração 1-10 com código LAFMC 13A-I (31.6 mg) analisada através de espectros de RMN ^1H e ^{13}C , revelou a presença de mistura dos acetatos dos ácidos oleanólico e ursólico (7a e 8a), PF 200 -202 °C.

A fração LAFMC 21-22 (337.5 mg) foi submetida a uma reação de acetilação com anidrido acético e piridina. A fração 21-22 acetilada (LAFMC 21 A), foi fracionada por cromatografia preparativa circular centrífuga (Chromatotron), usando como eluente diclorometano, acetato de etila e metanol, obtendo-se 27 frações de 25 mL cada.

A análise dos dados espectrométricos de IV e RMN ^1H e ^{13}C da fração LAFMC 21A-2, permitiu a identificação de duas saponinas como componentes de uma mistura de derivados acetilados (5a e 6a) (113,1 mg) das saponinas triterpênicas naturais 5 (ácido 3β -O- β -D-glicopiranosil-24-hidroxi-urs-12-en-28-óico) e 6 (ácido 3β -O- β -D-glicopiranosil-19 α ,24-diidroxi-urs-12-en-28-óico), PF 119-120 °C.

II.5. Preparação dos Derivados das Substâncias Isoladas

a) Metilação com diazometano

O diazometano foi preparado a partir de uma solução etérea de N-metil-N-nitroso-p-tolueno-sulfonamida (Diazald®) tratada com uma solução de KOH e mantida em banho de

gelo. A amostra a ser metilada (Tabela 2, pág 34) foi dissolvida em éter e tratada com excesso de diazometano.

b) Acetilação

A reação de acetilação foi realizada utilizando-se 1mL de anidrido acético e 1mL de piridina para 40 mg de material. A mistura reacional foi mantida em repouso durante 24 horas. A seguir adicionou-se água destilada gelada e extraiu-se o material com clorofórmio. A solução clorofórmica foi neutralizada com ácido clorídrico 10%, para eliminar a piridina, lavou-se com água destilada, secou-se com sulfato de sódio anidro e concentrou-se em evaporador rotativo, sob vácuo (Tabela 2, pág 34).

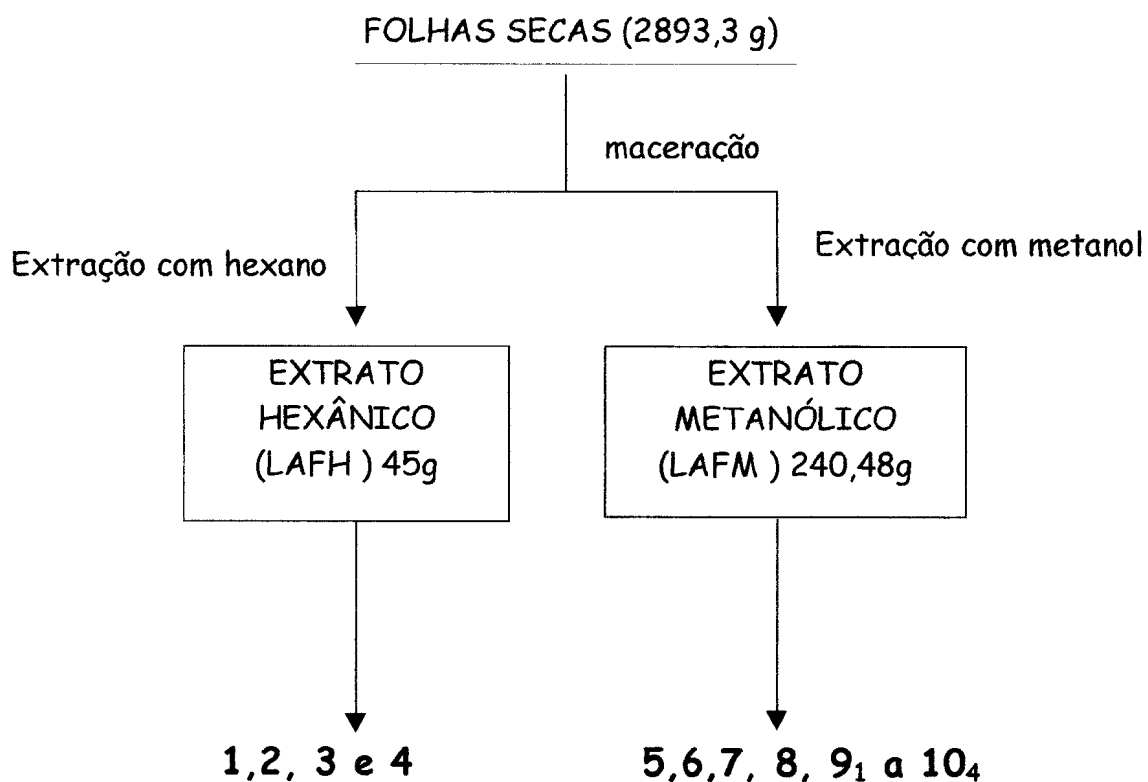
c) Oxidação

A reação de oxidação foi realizada utilizando-se uma solução saturada de $K_2Cr_2O_7$ em ácido acético. Solubilizou-se a amostra em ácido acético com agitação magnética. Adicionou-se em banho de gelo 2 mL de H_2SO_4 à solução de $K_2Cr_2O_7$. Adicionou-se, cuidadosamente em excesso, a solução de $K_2Cr_2O_7$ à amostra com agitação durante 5 min. A indicação de término da reação de oxidação foi observada pela mudança de coloração de laranja para verde no meio reacional. Adicionou-se água para precipitar a amostra e o precipitado secou-se em pistola (Tabela 2, pág 34).

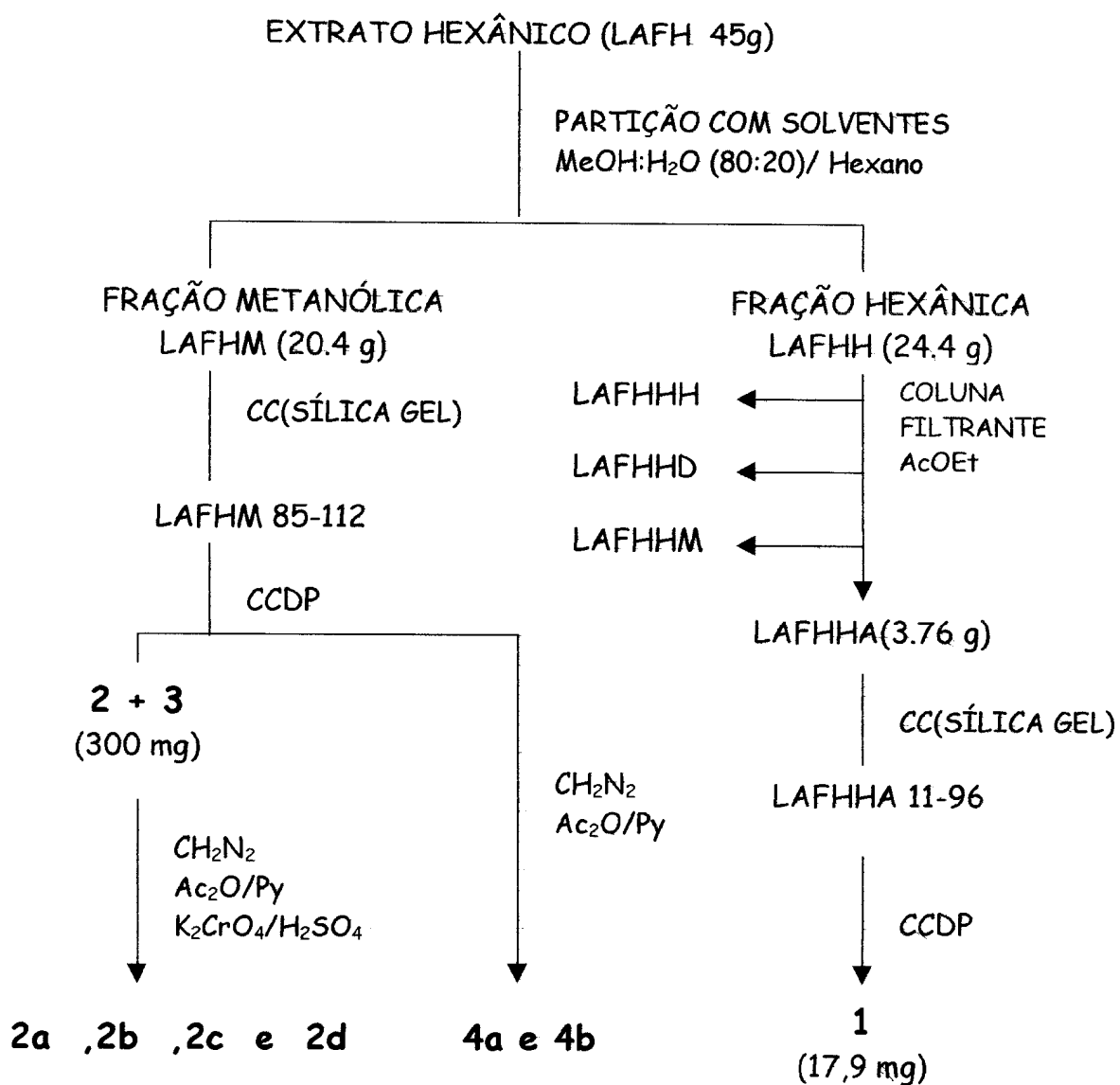
Tabela 2: Produtos obtidos nas reações de derivatização

Substância natural	Quantidade (mg)	reagente	Produto(quantidade)
2	150	Ac ₂ O/Py	2a (73,0 mg)
	70	CH ₂ N ₂	2c (70,0 mg)
	50	K ₂ Cr ₂ O ₇ /H ₂ SO ₄	2d (23,3 mg)
9 ₁ a 10 ₄	7,1	CH ₂ N ₂	9a ₁ a 10a ₄ (6,5 mg)

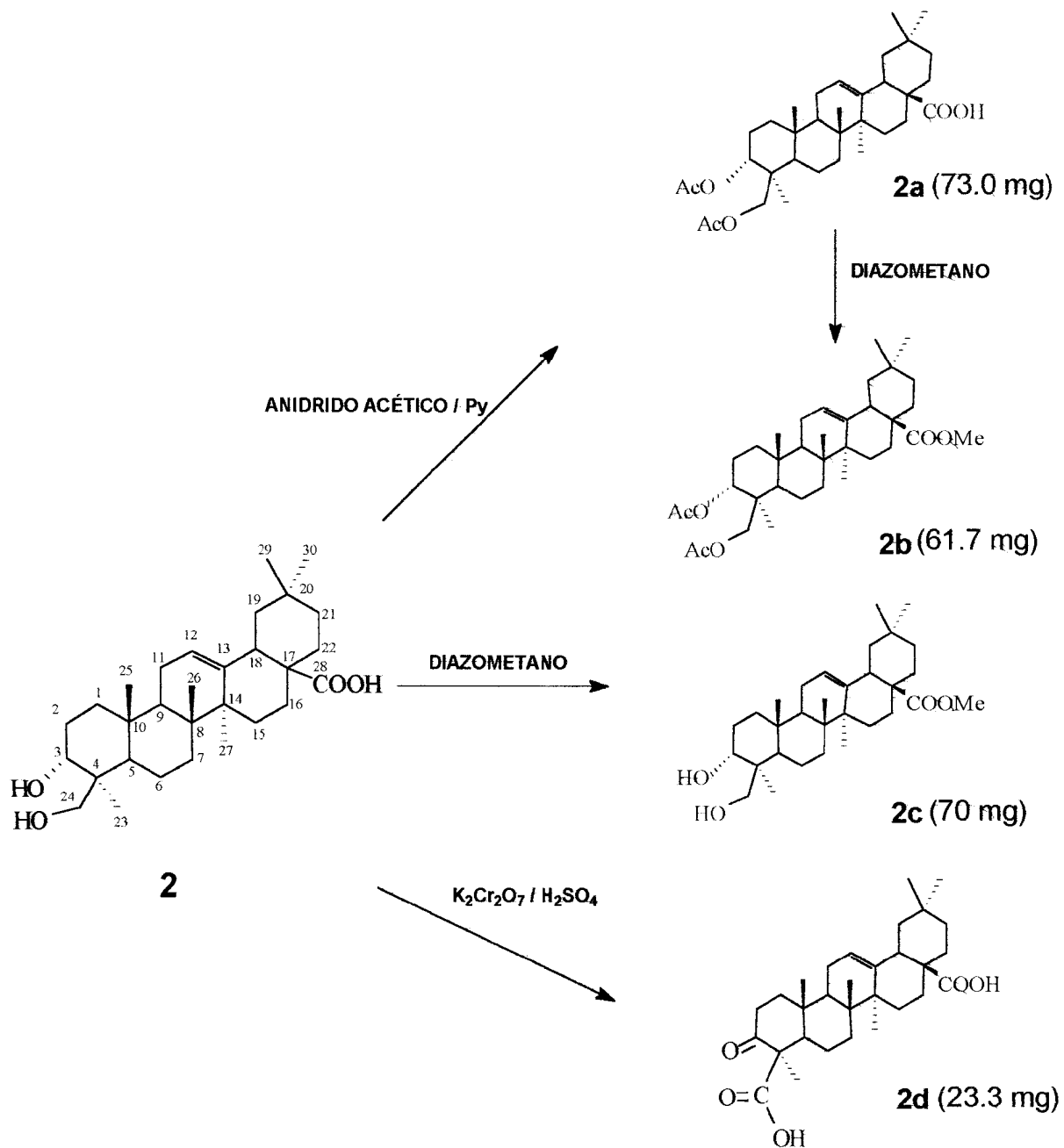
Esquema 1: Elaboração dos extratos hexânico e metanólico das folhas de *Licania arianae*.



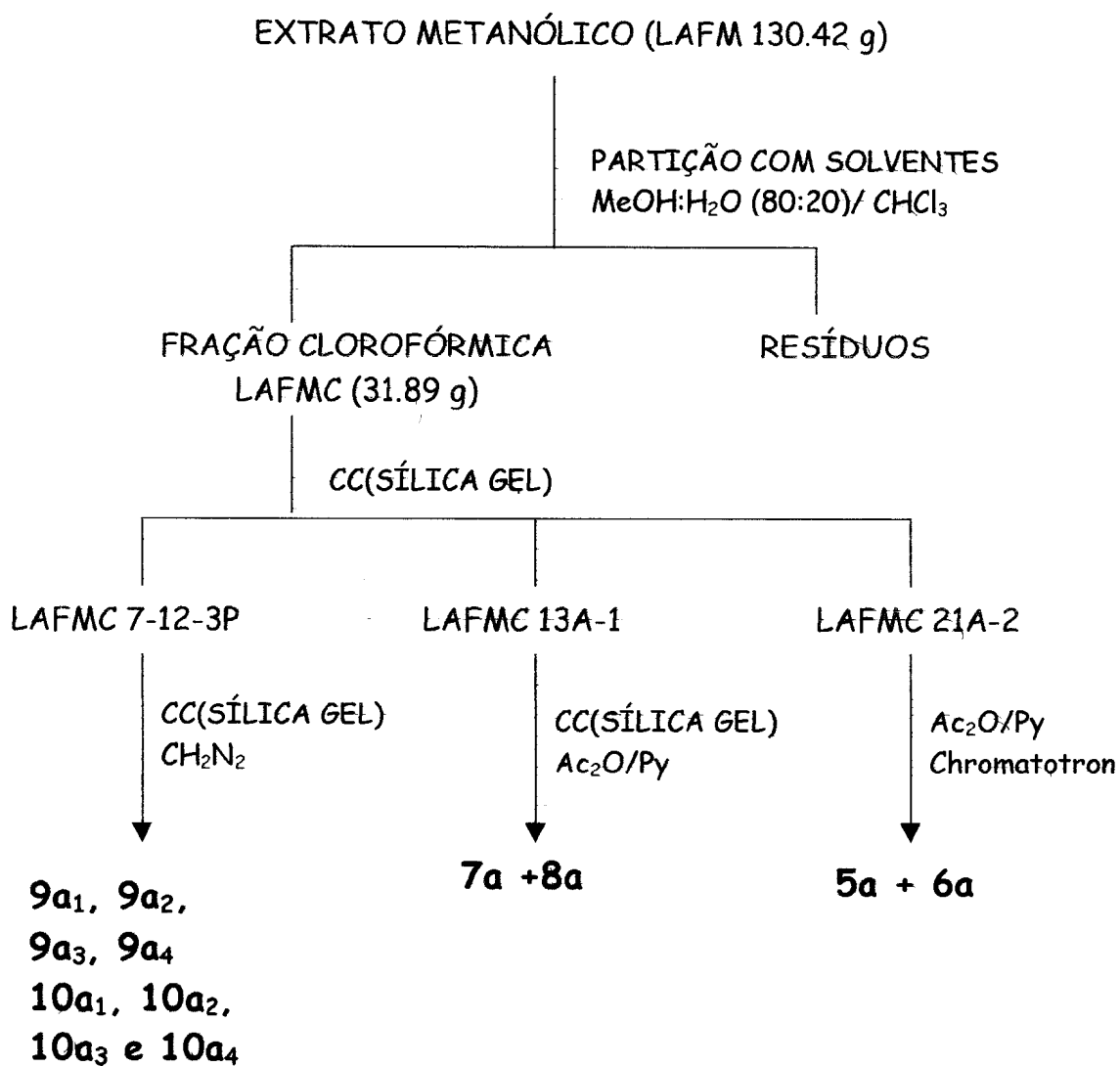
Esquema 2: Fracionamento do extrato hexânico (LAFH) das folhas de *Licania arianaeae*.



Esquema 3: Reações de transformação do ácido 3 α ,24-dihidroxi-olean-12-en-28-óico (**2**).



Esquema 4: Fracionamento do extrato metanólico (LAFM) das folhas de *Licania arianeae*.



III. Biogênese de Triterpenos

O entendimento da biossíntese dos constituintes isolados da planta facilita a determinação estrutural destas substâncias. No caso dos triterpenóides a correlação biossintética aliada às informações obtidas com os métodos físicos de análise orgânica constituem a base fundamental para as propostas estruturais.

Na biossíntese de compostos isoprenóides, que incluem numerosos produtos naturais de diferentes esqueletos, os estes esqueletos carbônicos são derivados da condensação do dimetilalil pirofosfato (DMAPP) com isopentenil pirofosfato (IPP). O precursor do IPP é o ácido (3R) mevalônico (Esquemas 5 e 6, pág. 40 e 41).

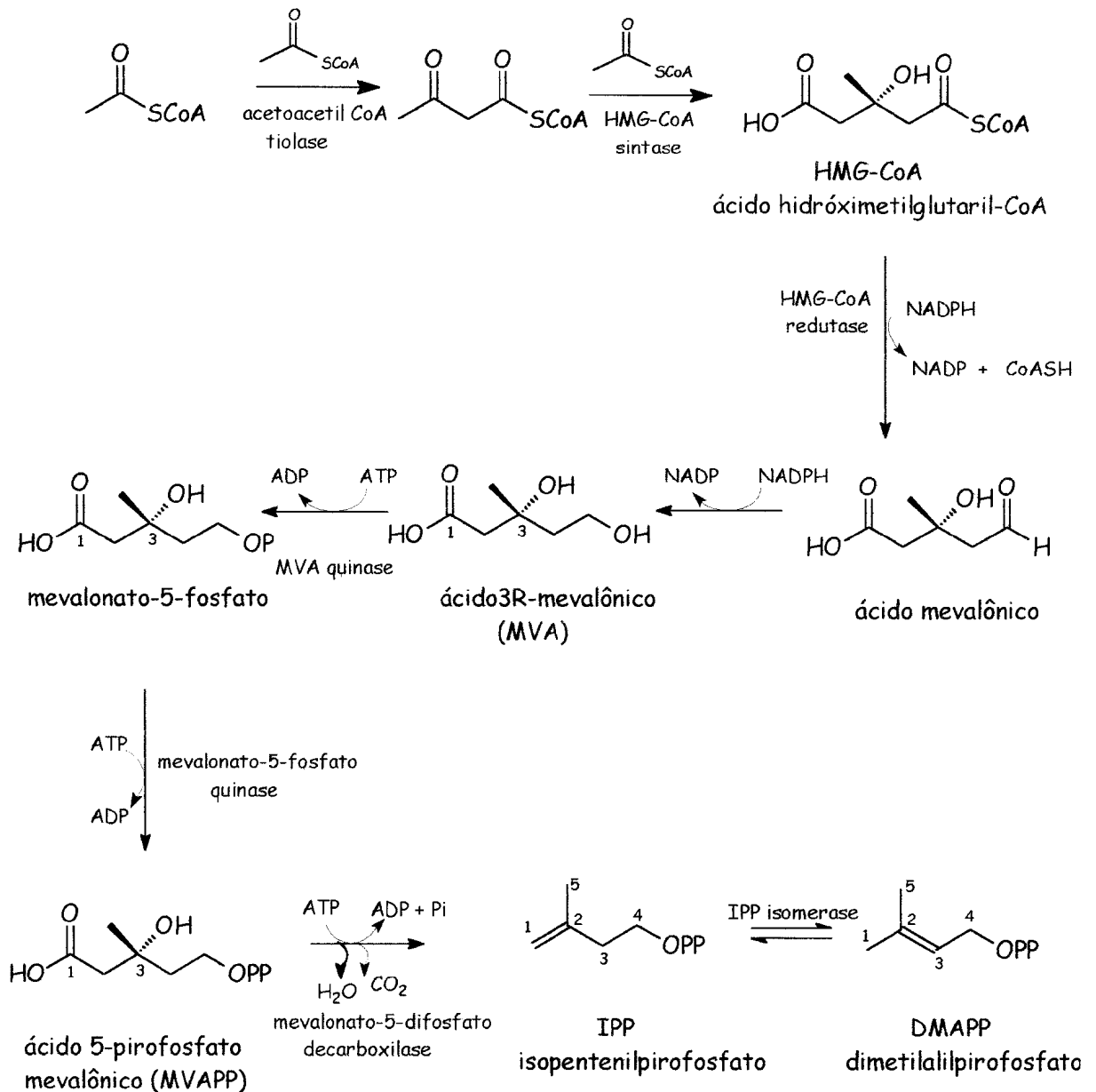
Em plantas superiores o oxidoesqualeno é o intermediário biossintético comum de esteróides e triterpenos¹⁶. Uma variedade de triterpenos tetracíclicos e pentacíclicos amplamente distribuída em plantas é considerada produto da ciclização do oxidoesqualeno. Algumas plantas contém grandes quantidades de triterpenos em suas e resinas. Estas substâncias são consideradas como metabólitos especiais, agindo como defensores químicos contra patógenos e herbívoros.

A ciclização do esqualeno a triterpenos pentacíclicos como a β -amirina (olean-12-en-3 β -ol) e α -amirina (urs-12-en-3 β -ol) provavelmente se processa através de uma

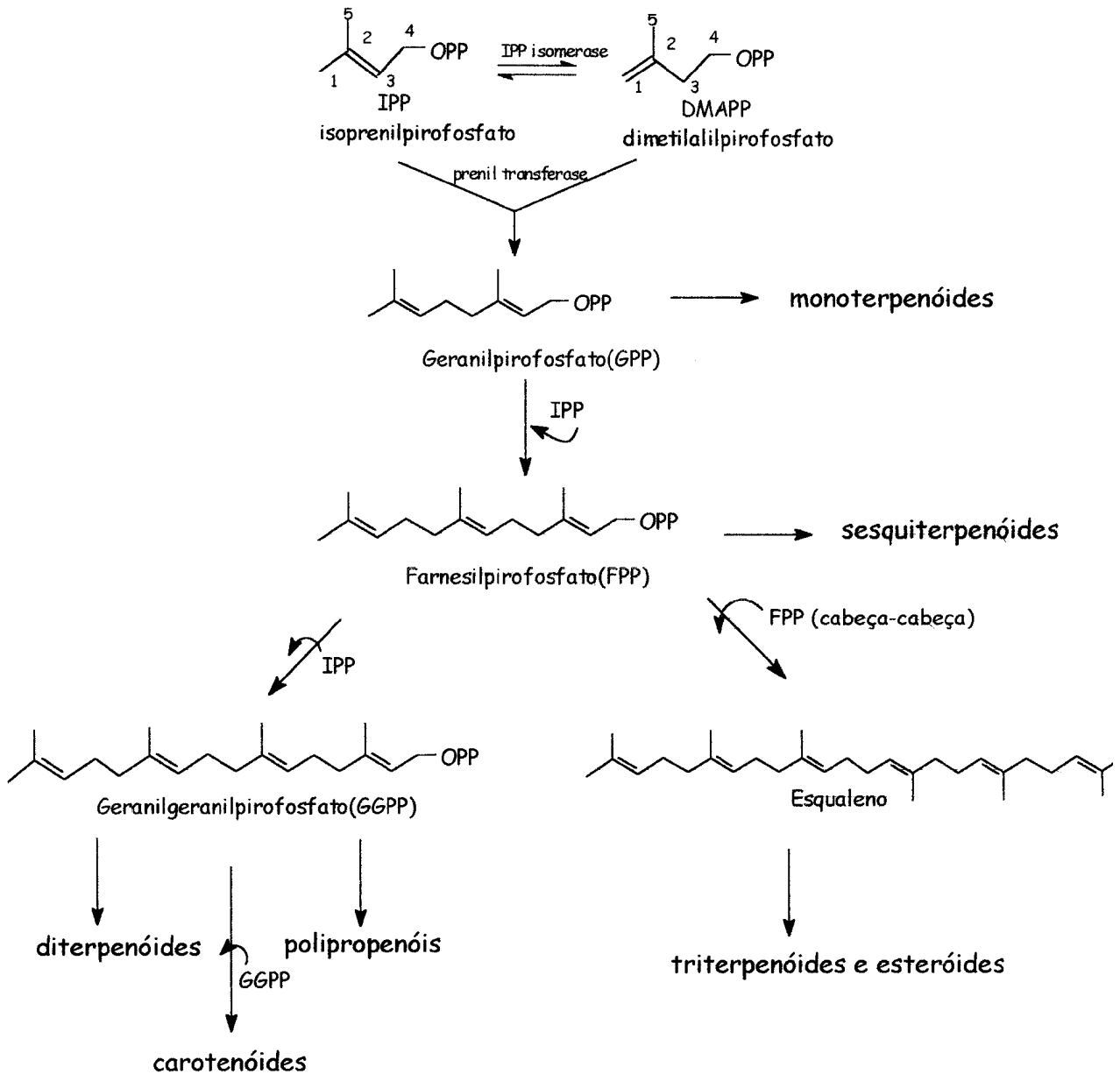
conformação pré-cadeira do oxidoesqualeno (Esquema 7, pág 42). Em princípio, o hidrogênio iniciador da ciclização produz o cátion C-20 tetraélcico damarenil, e subsequente rearranjo forma o cátion pentacíclico oleanil via intermediários catiônicos bacharenil e lupenil. Finalmente, uma série de deslocamentos 1,2 de hidreto com eliminação do hidrogênio H-12 forma a estrutura do ursano ou oleanano com uma ligação dupla Δ^{12} .

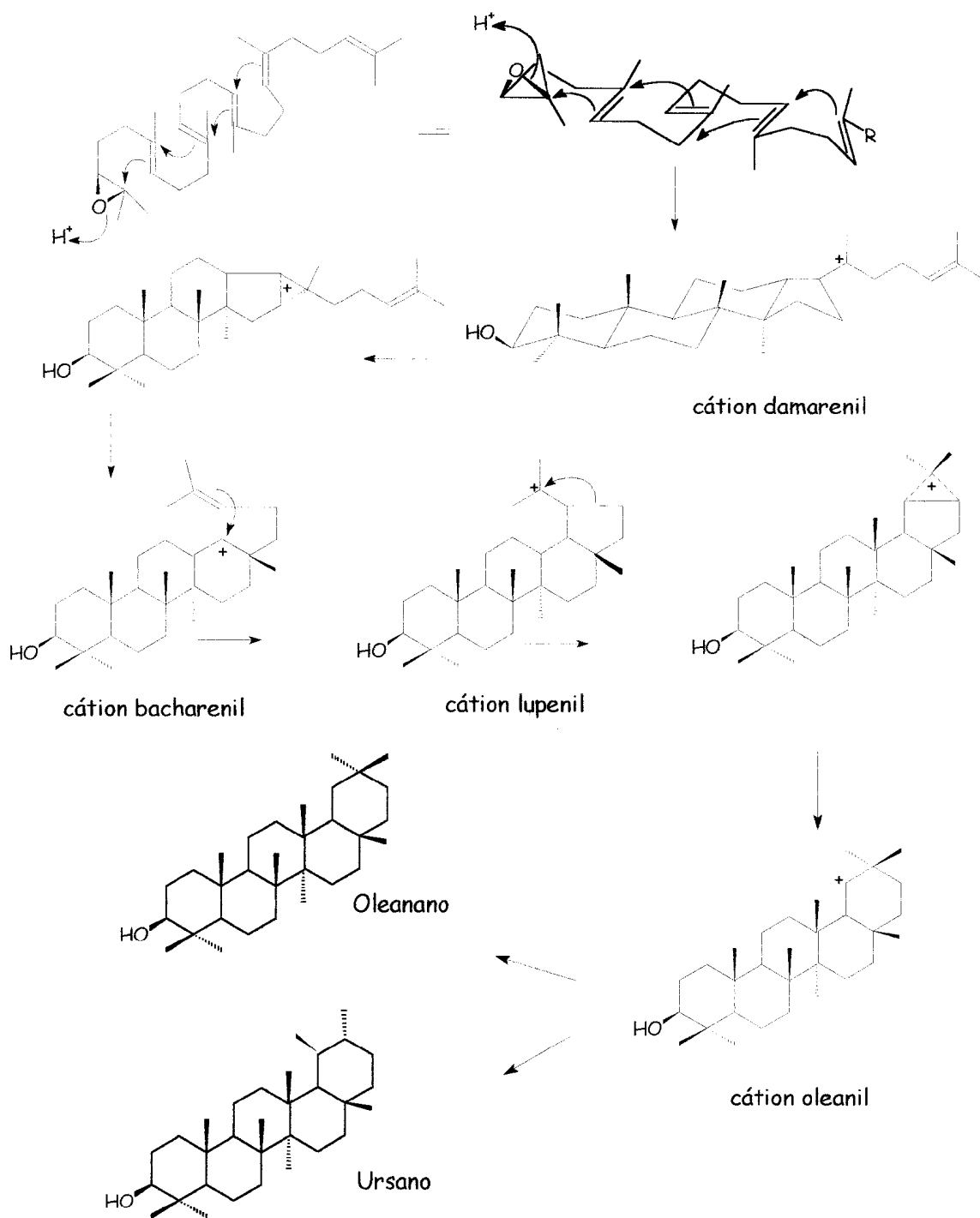
Nos esquemas 8 e 9 (págs.43 e 44) são mostradas as propostas biossintéticas das substâncias isoladas de *Licania arianae*.

Esquema 5: Conversão do acetil-CoA em isopentenil pirofosfato.

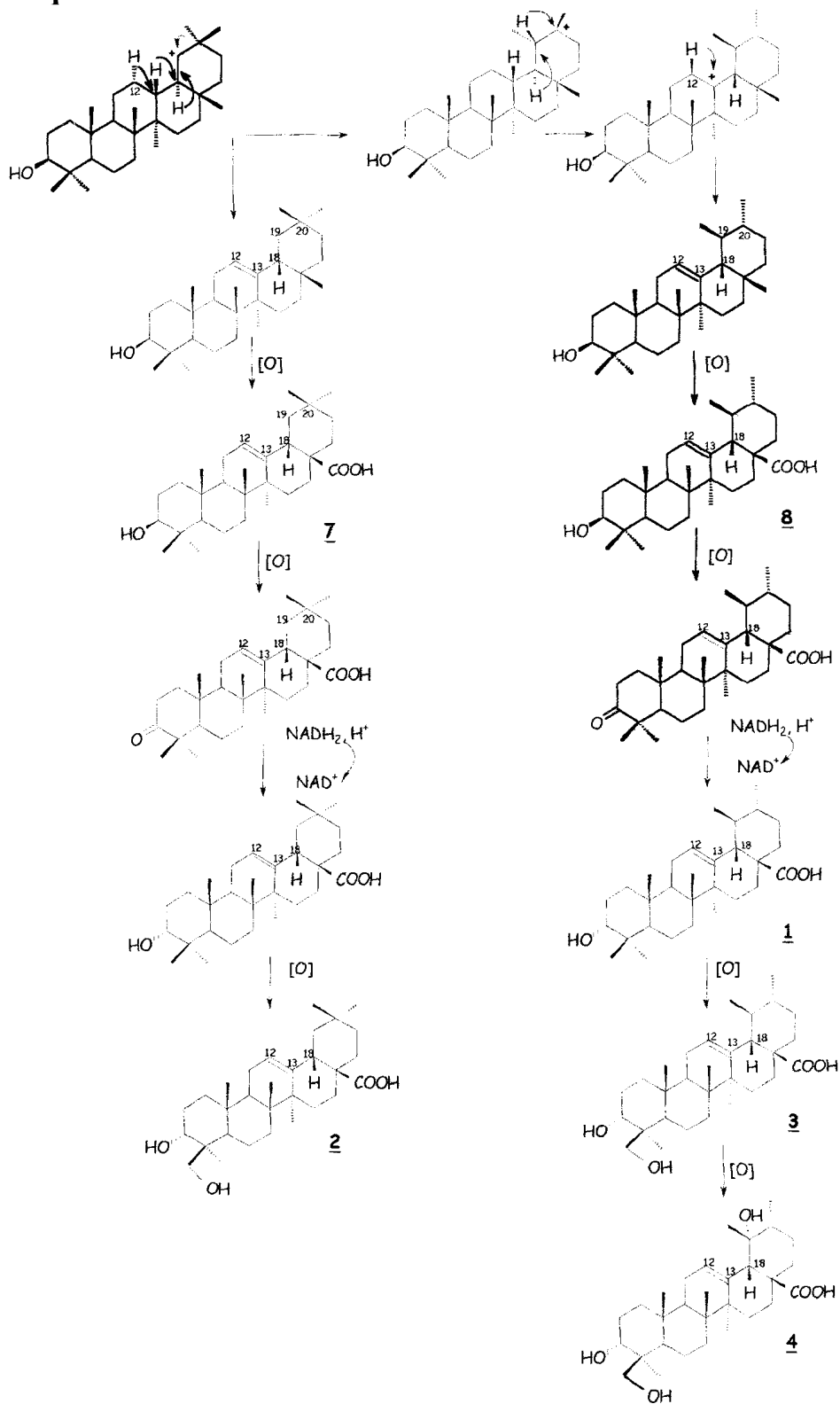


Esquema 6: Rota geral da biossíntese de terpenóides a partir do isopentenil pirofosfato.

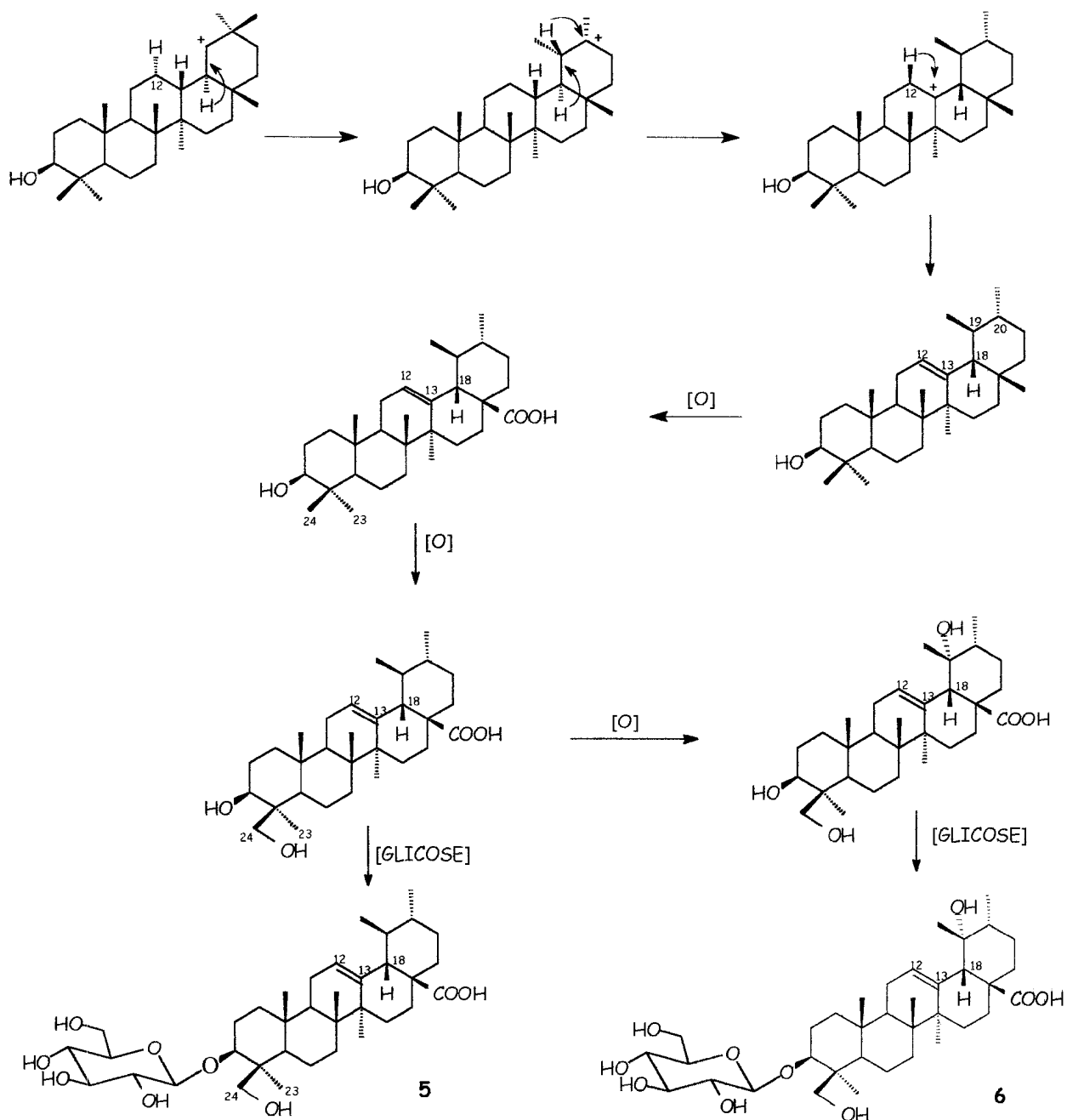


Esquema 7: Ciclização do esqualeno e formação de triterpenos pentacíclicos.

Esquema 8: Caminho bioossintético dos constituintes de *Licania arianae*.



Esquema 9: Caminho biossintético dos constituintes de *Licania arianeae*.



IV. Biogênese de Cromonas

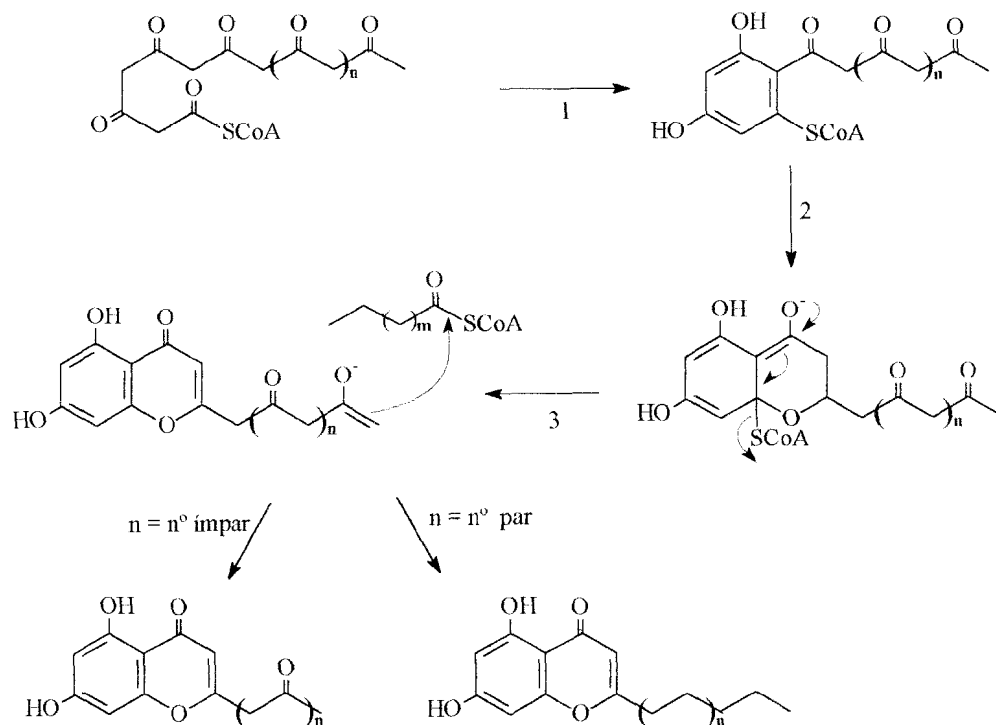
A biossíntese das cromonas isoladas pode ser proposta considerando como precursor o acetato envolvendo reações de aldolização de três unidades de acetato e condensação de Claisen de outras duas unidades de acetato. No Esquema 10 (pág. 42) é indicada a proposta biossintética para as cromonas, onde n é o número de unidades acetato que corresponde ao tamanho da cadeia alifática. Quando a cadeia tem um número par de carbonos pode-se propor que n corresponde ao número de unidades de acetato do ácido que inclui a cadeia. Quando a cadeia tem número ímpar de carbonos pode-se propor uma condensação de Claisen com um ácido de número ímpar de carbonos. Estes ácidos se formam a partir do ácido de número par de carbonos que sofre oxidação no carbono α e posteriormente uma descarboxilação.

Graeme e Robert²⁴ fizeram investigações sobre a rota biossintética do cripto sporiopsinol (2-prop-1-enil-3,5-dicloro-1,4-dihidroxiciclopent-2-en-1-oriato de metila) e da isocumarina, 5-cloro-3,4-diidro-8-hidroxi-6-metoxi-3-metilisocumarina, usando ácido acético marcado ($\text{H}_3\text{C}-^{14}\text{CO}_2\text{H}$) em cultura do fungo *Periconia macrospinosa*. A rota biossintética do criptosporiopsinol é proposta como proveniente de isocumarinas. Nesta análise foi verificado que em cultura de *P. macrospinosa* com cloreto há formação de diidroxiiocumarina e seu 6-metóxiderivado (3,4-diidro-8-hidroxi-6-metoxi-3-

metilisocumarina) e não há formação do derivado clorado. Sugere-se que a metilação deve ser uma etapa de detoxificação como prevenção na elaboração do metabólito. Observou-se também que em meio de cultura normal (sem cloreto) há formação de criptosporiopsinol e uma grande quantidade de 6-metóxi-8-hidróxi-5-clorodiidroisocumarina. Nesta avaliação os autores confirmaram a rota biossintética da isocumarina e não definiram a etapa biológica de cloração e revelando a necessidade de estudos posteriores.

No caso das cromonas isoladas de *Licania arianae* a proposta via acetato é adequada e semelhante às isocumarinas e, certamente, as etapas de formação, inclusive dos produtos clorados são elaboradas por fungos existentes no material estudado.

Esquema 10: Caminho Biossintético dos Constituintes de *Licania arianae*.



1. Aldolização envolvendo três unidades de acetato.
2. Aldolização e condensação de Claisen envolvendo outras duas unidades de acetato.
3. n unidades de acetato respondendo pelo tamanho da cadeia.

V. Determinação Estrutural das Substâncias isoladas de *L. arianae*

Atualmente a forma mais eficaz de se identificar e determinar estruturas de triterpenos tem sido através da análise de espectros de RMN de ^{13}C (PND e DEPT) e de ^1H aliada às informações biossintéticas, e em alguns casos, são úteis as dos espectros de massas¹⁷.

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

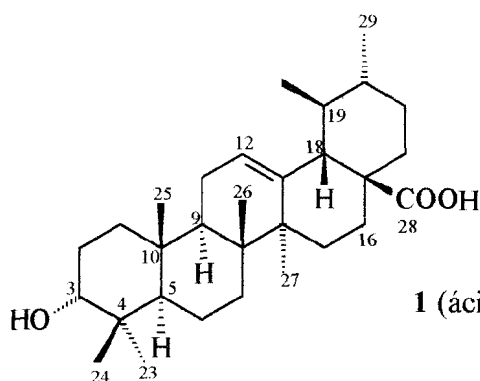
Outra diferença a ser observada é o deslocamento químico do carbono C-3. Quando a OH está em posição axial (α) o C-3 absorve em campo mais alto ($\delta_c 75 \pm 2$) do que quando em posição equatorial (β) ($\delta_c 78 \pm 2$).

Além da diferença dos deslocamentos químicos do C-3 devido ao efeito α os carbonos 1 e 5 sofrem proteção devido à interação γ -gauche do grupo hidroxila em posição axial sobre estes carbonos. Outro ponto a ser considerado é a alteração do deslocamento químico do carbono 24 que tem maior deslocamento químico quando o grupo hidroxila está em posição axial, Isto acontece devido à ausência do efeito γ -syn entre a hidroxila e a metila.

No caso dos $3\beta,24$ -diidroxí e $3\alpha,24$ -diidroxiterpenóides, os efeitos são os mesmos conduzindo a significativa alteração dos deslocamentos químicos dos carbonos 3 e 23. Para localizar o grupo OH no C-24 basta observar a ausência do sinal do grupo metila ($\delta_c = 28,0$ ppm) e a presença do sinal de metileno em torno de 65 ppm (Tabela 12, pág. 63).

V.1. Determinação Estrutural da Substância 1

Os espectros de RMN de ^{13}C de 1 utilizando a técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer, $\phi = 135^\circ$, Fig. 3, pág 81) e espectro totalmente desacoplado (Fig4, pág.82), permitiram reconhecer os sinais correspondentes a carbonos primários (7 CH_3), secundários (9 CH_2) e terciários (7 CH).



1 (ácido 3α -hidroxí-urs-12-en-28-óico)

O espectro de RMN de ^1H a 200 MHz de 1 (fig.5, pág. 83) mostrou sinal do hidrogênio geminal ao grupo hidroxila em $\delta\text{H} = 3,30$ ppm como um singlete largo. Isto sugere que o hidrogênio H-3 está em posição equatorial, conseqüentemente o grupo hidroxila está em posição axial. O espectro de RMN de ^1H exibiu também um dubleto ($J = 10,56$ Hz) como resultado do acoplamento com um único hidrogênio H-19, centrado em $\delta\text{H} = 2,2$ ppm, característico de H-18 de ácido ursólico.

A análise dos valores dos deslocamentos químicos dos carbonos contribuíram, também, para a proposta da estrutura do ácido triterpenóico da série 3α -urseno baseada nas seguintes informações:

- a) O número de CH_3 , CH e CH_2 é compatível com o derivado do urseno.
- b) Os deslocamentos químicos dos carbonos 12 ($\delta\text{c} 125,6$ ppm) e 13 ($\delta\text{c} 137,9$ ppm) estão de acordo com a ligação dupla em 12(13). O grupo metila H3C-19 exerce o efeito 7-gauche sobre o C-13 e isto caracteriza a série urs-12-eno.
- c) A presença dos sinais de CH-19 em $\delta\text{c} 39,02$ e CH-18 em $\delta\text{c} 52,5$ e a ausência do sinal de CH_2 em $\delta\text{c} 46,0 \pm 2$ (correspondente a CH_2 -19 na série oleaneno).
- d) Os deslocamentos químicos em $\delta\text{c} 76,14$ (CH-O), $33,02$ (CH_2) e $48,87$ (CH) são compatíveis com a configuração α para o grupo hidroxila em C-3.
- e) O sinal em $\delta\text{c} 183,78$ é compatível com o grupo carbonila de ácido e os valores dos δc dos carbonos vizinhos ao C-28 estão de acordo com a localização da carboxila nesta posição, que pode ser verificado por comparação com modelos da literatura da tabela 5 (pág 51) e tabela 9 (pág. 57).

f) A presença do grupo carboxílico do ácido e da ligação dupla trissubstituída são confirmados pelo espectro de IV (Fig. 6, pág. 84) Tabela 4 (pág.50).

A comparação dos deslocamentos químicos de carbono-13 de **1** com modelos da literatura (Tabela 5, pág.51), permitiu confirmar a proposta do ácido 3 α -hidroxi-urs-12-en-28-óico para **1**. Os dados de RMN de ^1H e de IV e as atribuições de **1** são mostrados o nas tabelas 3 e 4, pág.50).

Tabela 3: RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) da substância **1**

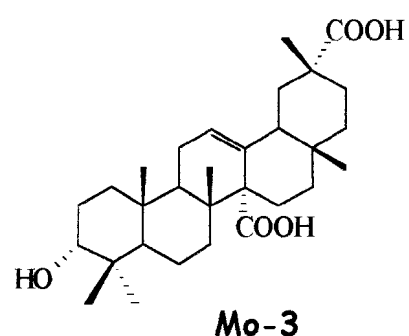
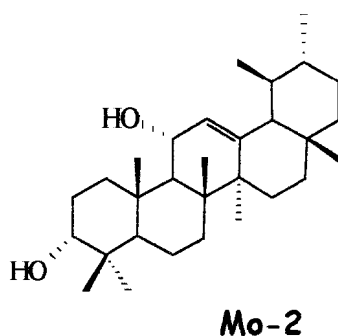
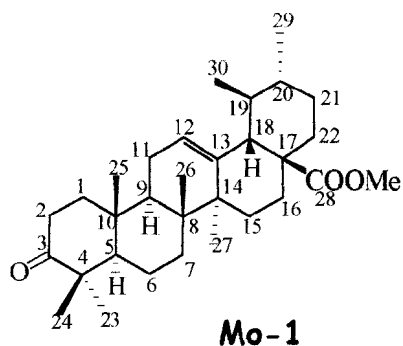
δ_{H} MULT. J(Hz)	H
5.27 (m)	H-12
3.44 (d, 7 Hz)	H-3 (eq.)
2.2 (dl, 12.0 Hz)	H-18
1.09 (s)	H-27
0.95 (s)	H-25
0.93 (s)	H-24
0.84 (s)	H-23
0.74 (s)	H-26
0.92 (d)	H-30
0.86 (d)	H-29

Tabela 4: Dados de IV da substância **1**

$\nu_{\text{MÁX}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1})	ATRIBUIÇÃO
3500	estiramento OH
2930	estiramento CH(sp^3)
1700	estiramento C=O
1460	deformação CH_2
1640	estiramento C=C
1383	deformação CH_3
1166	estiramento CO

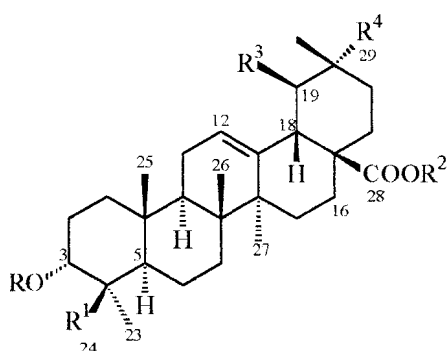
Tabela.5: Dados de RMN de ^{13}C (50.3 MHz, CDCl_3) da substância **1**. Obtidos através dos espectros totalmente desacoplados(PND) e DEPT ($\theta : 90$ e 135°) em CDCl_3

C	1	Mo-1	Mo-2	Mo-3
1	33.02	39.4	33.5	36.2
2	25.12	34.2	25.4	27.3
3	76.14	217.8	76.0	75.8
4	39.55	47.4	37.5	39.9
5	48.87	55.4	48.8	48.5
6	18.18	19.7	18.2	18.0
7	32.77	32.6	35.2	32.7
8	37.27	39.1	43.5	37.0
9	47.26	46.8	55.8	47.9
10	36.97	36.6	38.2	37.0
11	23.17	23.6	68.4	22.5
12	125.64	125.4	128.7	126.8
13	137.96	138.4	142.9	135.8
14	41.92	42.2	42.2	55.5
15	27.94	28.1	27.9	21.7
16	24.07	24.3	27.7	25.2
17	47.89	48.2	33.6	32.7
18	52.51	53.0	58.1	46.4
19	39.02	39.0	39.4	38.1
20	38.81	38.9	39.3	42.0
21	30.65	30.7	31.1	27.2
22	36.75	36.7	41.3	35.1
23	28.28	26.6	28.7	28.2
24	22.25	21.5	22.4	22.3
25	15.25	15.2	16.6	16.1
26	17.03	16.9	18.0	17.9
27	23.70	23.5	23.3	185.5
28	183.78	178.0	28.6	27.8
29	17.03	17.1	17.5	183.0
30	21.20	21.2	21.3	19.3



V.2. Determinação Estrutural das Substâncias 2 + 3

Os espectros de RMN ^{13}C de 2 utilizando a técnica DEPT (Fig7, pág. 85) e espectro totalmente desacoplado (Fig.8, pág.86), permitiram reconhecer os sinais correspondentes a carbonos primários (6 CH_3), secundários (11 CH_2) e terciários (5 CH).



	R	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
2	H	CH_2OH	H	H	CH_3
2a	Ac	CH_2OAc	H	H	CH_3
2b	Ac	CH_2OAc	CH_3	H	CH_3
2c	H	CH_2OH	CH_3	H	CH_3
3	H	CH_2OH	H	CH_3	H
3a	Ac	CH_2OAc	H	CH_3	H

O espectro de RMN ^1H a 200 MHz (fig.9, pág. 87) de 2 mostrou sinal do H-3 geminal ao grupo hidroxila em $\delta\text{H} = 4,43$ ppm como um singlete largo. Isto sugeriu que o grupo hidroxila está em posição axial. O espectro de RMN ^1H exibiu também um duplo dubleto ($J = 10,56; 10,56$ Hz) como resultado do acoplamento com dois hidrogênios H-19, centrado em $\delta\text{H} = 3,3$ ppm, característico de H-18 de triterpenóides tipo oleanano, o sinal do hidrogênio H-12 olefinico em $\delta\text{H} = 5,48$ ppm como um singlete largo, resultado do acoplamento com os dois hidrogênios H-11 e o sinal dos dois hidrogênios carbinólicos H-24 em $\delta\text{H} = 4,07$ ppm como dublete ($J = 16,7$ Hz) e $\delta\text{H} = 3,81$ ppm como dublete ($J = 10,7$ Hz), resultado do acoplamento entre os hidrogênios H-24.

Através da aplicação de técnicas bidimensionais de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio ($^1\text{H}_x^1\text{H}$ -COSY) é demonstrada claramente a relação vicinal do H-

18 com dois hidrogênios H-19 e a relação geminal dos hidrogênios H-24 (Fig. 10, pág. 88). A aplicação de técnicas bidimensionais de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13 ($^1\text{Hx}^{13}\text{C-COSY}$), permite deduzir as relações entre os carbonos e hidrogênios a uma ligação (1JCH) (Fig. 11, pág.89) e confirmar os deslocamentos químicos dos hidrogênios dos respectivos carbonos na molécula.

As reações feitas para obter derivados do composto 2 (Esquema 3, pág. 36) serviram para confirmar as estruturas propostas.

A reação de acetilação com anidrido acético e piridina forneceu o produto 2a que permitiu confirmar por análise de RMN ^{13}C a presença de grupamentos hidroxila nos carbonos C-3 [δ_c 70.04 (2) deslocado para δ_c 73.48 (2a)] e C-24 [δ_c 65.77 (2) para δ_c 66.68 (2a)] (Tabela 6, pág 55) e a presença dos sinais dos grupos acetoxila (δ_c 22.3, 170.7 e 171.2) no espectro de RMN ^{13}C (Fig 8, pág. 80 e Fig 12, pág. 90). Através da reação de metilação com diazometano obteve-se o produto 2b que apresentou o sinal-de CH_3 ligado ao oxigênio do grupo éster em $\delta\text{H} = 3,6$ ppm (singleto), (fig. 13, pág91). A presença da carboxila no carbono C-28 é confirmada pela variação do deslocamento químico deste carbono de δ_c 180.25 para δ_c 178,13 (Tabela 6, pág55). A reação de metilação do composto 2 com diazometano forneceu o éster metílico 2c e obteve-se os deslocamentos químicos deste derivado cujos dados estão registrados na literatura (Tabela 6, pág.55. Fig 14, pág.92).

Os deslocamentos químicos para os-carbonos ligados a hidrogênios foram obtidos a partir da interpretação dos espectros de experiências bidimensionais de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono-13, modulados com valores de constantes de

acoplamento (J) através de uma ligação ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$:HETCOSY) ou duas e três ligações ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^2\text{J}_{\text{CH}}$ e $^3\text{J}_{\text{CH}}$:COLOC) (Tabela 7, pág 56, Fig. 10, 11 e 13, págs.88, 89 e 91).

Os dados de IV (Fig. 16, pág. 84) e as atribuições de 2 são mostrados na tabela 8 (pág56). A comparação dos dados de RMN de ^{13}C de 2 com deslocamentos químicos dos carbonos dos triterpenos (Mo-4, Mo-5 e Mo-6) descritos na literatura¹⁸ (tabela 9, pág57) serviu para verificar as diferenças nos deslocamentos químicos dos carbonos 1, 3 e 4 vizinhos ao átomo de carbono que sustenta o grupo hidroxila. As mudanças nos deslocamentos químicos estão de acordo com os efeitos decorrentes da vizinhança espacial dos grupos. Estas observações facilitaram as atribuições dos deslocamentos químicos de 2 e derivados 2a, 2b e 2c (Tabela 6, pag. 55).

Os sinais adicionais presentes nos espectros da fração 2a correspondem ao triterpeno 3a identificado como impureza na fração acetilada (Fig. 12 e 15, pág. 90 e 93).

A diferença nos deslocamentos químicos dos carbonos sp^2 (δ_{CH} : 125,6 e δ_{C} 137,8) permite caracterizar 3a como pertencente à série dos ursanos. Outro valor característico deste ursano é o δ_{CH} em 39,3 ppm (CH-19) (Tabela 6, pag. 55).

A presença de triterpenos tipo oleanano e ursano com mesmo padrão de oxigenação é comum em frações contendo estas substâncias naturais. No caso, certamente estão presentes os triterpenos ácidos 3α -24-diacetil-urs-12-en-28-óico e 3α -24-diacetil-olean-12-en-28-óico em mistura. Como descrito no início deste capítulo, os espectros de RMN ^{13}C permitem identificá-los na mistura.

Tabela.6: Dados de RMN de ^{13}C (50.3 MHz, CDCl_3) das substâncias **2**, **2a**, **2b**, **2c** e **3a** obtidos através dos espectros totalmente desacoplados (PND) e DEPT ($\theta: 90^\circ$ e 135°) em CDCl_3 e TMS como referência interna.

C	2 *	2a	2b	2c	3a
1	33.90	36.76	36.61	36.60	37.70
2	26.50	27.53	27.90	27.91	27.90
3	70.04	73.48	73.31	70.61	73.40
4	43.90	36.76	45.55	42.65	36.70
5	50.17	50.68	50.60	48.06	50.70
6	19.13	18.15	18,17	18.29	18.15
7	33.80	32.62	32.75	33.08	32.62
8	39.47	39.52	40.22	39.01	39.52
9	48.12	47.46	47.35	47.44	47.30
10	37.56	36.70	32.63	39.01	36.76
11	24.10	23.52	23.25	23.67	23.41
12	122.66	122.42	122.12	125.45	125.58
13	144.83	143.50	143.62	143.0	137.82
14	42.23	41.55	41.55	41.08	41.86
15	28.34	27.90	27.58	27.92	27.90
16	23.85	27.53	23.54	23.31	23.51
17	46.50	46.47	46.59	46.80	47.80
18	42.04	40.85	41.16	49.57	52.30
19	46.71	45.88	45.84	45.30	39.30
20	31.01	30.64	30.60	30.61	38.70
21	34.29	33.28	33.75	33.08	30.64
22	33.31	33.04	32.63	32.74	36.7
23	23.85	23.52	22.96	21.67	23.52
24	65.77	66.68	66.66	66.40	66.60
25	16.15	15.57	15.47	16.73	15.50
26	17.45	16.96	16.80	16.99	16.90
27	26.50	26.03	25.93	27.2	23.52
28	180.25	184.16	178.13	178.15	184.10
29	33.31	33.04	32.92	33.05	16.90
30	23.68	23.41	23.63	24.17	21.30
$\text{H}_3\text{C}-\text{CO}$		22.80	22.3	51.4	21.3
$\text{H}_3\text{C}-\text{C}=\text{O}$		170,7 e 171.2	170.7 e 171.2	-	170.7
$\text{H}_3\text{C}-\text{O}$		-	-	-	21.3

*Espectro realizado em Piridina- d_5

Tabela 7: RMN de ^1H (200Mhz) e ^{13}C (50,3MHz) da substância **2**. Obtidos dos espectros 2D ($^1\text{H}\times^{13}\text{C}$ -COSY).

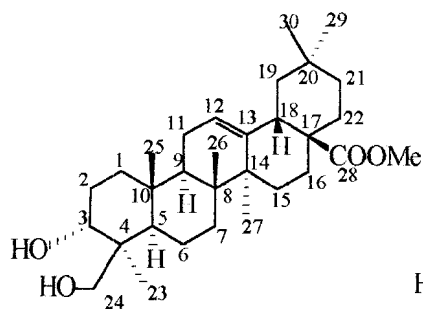
$^1\text{H}\times^{13}\text{C}$ -COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$			$^1\text{H}\times^{13}\text{C}$ -COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (COLOC)			
C	δ_{C}	δ_{H}	C	δ	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
12	122.66	5.49(sl)	13	144.83		3H-27(δ_{H} 1.62)
3	70.01	4.43(sl)	4	43.90	3H-23(δ_{H} 1.68)	
5	50.17	1.85	14	42.23	3H-27(δ_{H} 1.18)	3H-26(δ_{H} 1.02)
29	33.31	0.90(s)	8	39.47	3H-26(δ_{H} 1.02)	3H-27(δ_{H} 1.18)
27	26.50	1.18(s)	10	37.56	3H-25(δ_{H} 0.96)	
23	23.85	1.62(s)	21	34.29		3H-29(δ_{H} 0.90)
30	23.68	0.97(s)	29	33.31		3H-30(δ_{H} 0.97)
26	17.45	1.02(s)	20	30.01	3H-29(δ_{H} 0.90)	
					3H-30(δ_{H} 0.97)	
25	16.15	0.96(s)	15	28.34		3H-27(δ_{H} 1.18)
			30	23.68		3H-29(δ_{H} 0.90)

Tabela 8: . IV. $\nu_{\text{MAX}}^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$ das substâncias **2 + 3**.

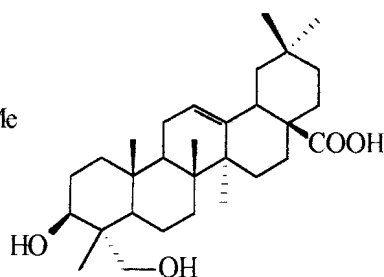
$\nu_{\text{MAX}}^{\text{KBr}}(\text{cm}^{-1})$	ATRIBUIÇÃO
3500	estiramento OH
2940	estiramento CH(sp ³)
1710	estiramento C=O
1460	deformação CH ₂
1380	deformação CH ₃
1120	estiramento CO

Tabela.9: Dados de RMN de ^{13}C (50.3 MHz, Piridina- d_5) de **2** Obtidos através dos espectros totalmente desacoplados(PND) e DEPT ($\theta : 90$ e 135°) em CDCl_3 e TMS como referência interna, comparados com modelos da literatura.

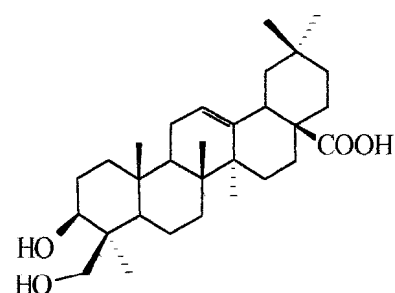
C	2	Mo-4	Mo-5	Mo-6
1	33.90	33.9	38.9	38.8
2	26.50	26.4	27.6	28.5
3	70.01	70.0	73.7	80.3
4	43.9	43.9	42.9	43.3
5	50.17	50.1	48.8	56.5
6	19.13	19.1	18.7	19.1
7	33.80	33.6	33.6	33.6
8	39.47	39.9	39.8	39.8
9	48.12	48.1	48.2	48.3
10	37.56	37.5	37.3	37.3
11	24.10	24.0	23.8	24.1
12	122.66	123.0	122.7	122.7
13	144.83	144.1	145.0	145.1
14	42.23	42.0	42.2	42.2
15	28.34	28.1	28.4	28.5
16	23.85	23.5	23.8	23.8
17	46.50	47.0	46.7	46.8
18	42.04	41.9	42.0	42.1
19	46.71	46.1	46.5	46.6
20	31.01	30.8	31.0	31.0
21	34.29	34.0	34.3	34.3
22	33.31	32.8	33.3	33.3
23	23.85	23.4	68.2	23.7
24	65.74	65.8	13.1	64.6
25	16.15	15.9	16.0	16.0
26	17.45	17.1	17.5	17.3
27	26.50	26.1	26.2	26.2
28	180.25	177.9	180.4	180.4
29	33.31	33.1	33.3	33.3
30	23.68	23.7	23.8	23.8



Mo-4



Mo-5

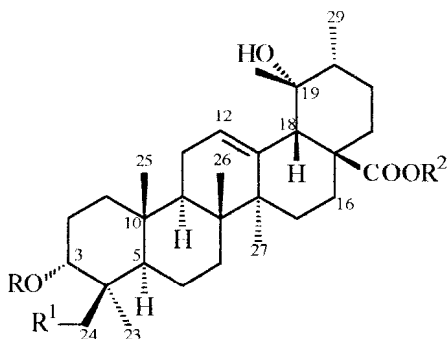


Mo-6

V.3. Determinação Estrutural da Substância 4

O estudo de outras frações cromatográficas da porção metanólica permitiu o isolamento do ácido 3 α ,19 α -24-triidroxi-urs-12-en-28-óico (4).

A estrutura deste triterpeno pentacíclico (4) foi identificada através da análise dos dados espectrais, principalmente RMN ^1H (200 e 400 MHz) e RMN ^{13}C (50 e 100 MHz) dos derivados metilado (4a) e do acetato do éster metílico (4b), envolvendo a comparação dos dados de RMN ^{13}C com valores descritos na literatura (Tabela 10, pág. 61).



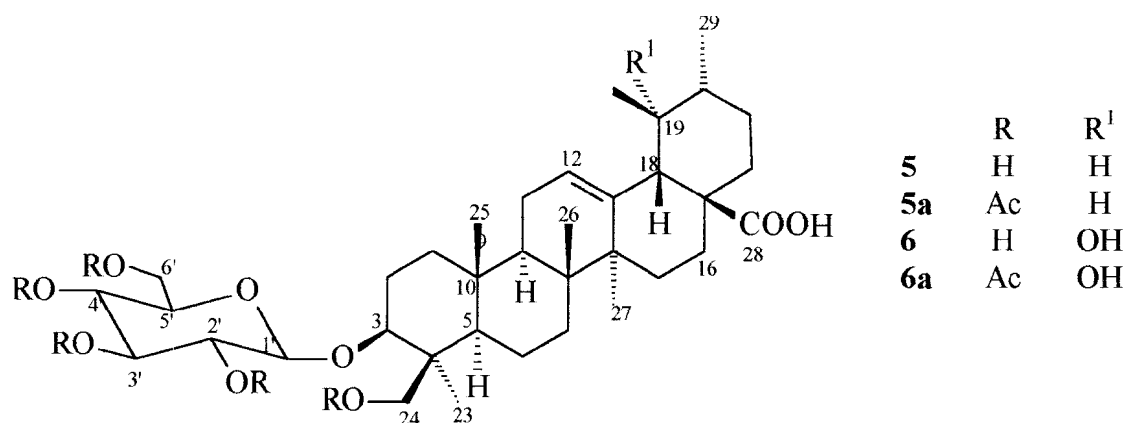
	R	R ¹	R ²
4	H	OH	H
4a	H	OH	CH ₃
4b	Ac	O Ac	CH ₃

A identificação de 4 foi feita de forma semelhante à de 2. Os espectros de RMN de ^{13}C (100MHz) de 4a utilizando a técnica PND e DEPT (Fig 17, pág. 94) e espectro totalmente desacoplado (Fig. 18, pág.95 e Fig. 19, pág.96), permitiram reconhecer os sinais correspondentes a carbonos primários, secundários e terciários e identificar 4 como um triterpeno pentacíclico da série ursano tendo como impureza o derivado do ácido ursólico (2b). O espectro de RMN de ^1H a 400 MHz (Figs. 20, 21 e 22, págs. 97 a 99) de 4b mostrou sinal do hidrogênio do grupo metóxi em $\delta\text{H} = 3,61$ ppm representado por um singlete, 4,94

(sl, H-3), 5,28 (m, H-12) e os dubletes em 3,95 e 4,2(H-24). A presença do ácido 3 α -OH-ursólico (2b) é confirmada pelos sinais em 5,2 (m, H-12), 3,6 (H₃C-O) e pelo sinal do H-18 em 2,85 (dl). A intensidade do sinal em 4,9 revela a integração para maior quantidade de H-3 do que o sinal em 5,2 (H-12) o que está de acordo com a mistura do 3 α -OH-acetilado. O sinal em 2,6 (si) corresponde ao H-18 de (4b) devido à presença do grupo hidroxila ligado ao C-19. Esta função é confirmada pela presença do sinal em 73,1 ppm do carbono quaternário (Fig 17 e 19, pág. 94 e 96). Os sinais de CH em 70,6 e 137,95 ppm confirmam a presença de 2a na amostra analisada.

A tabela 10, pág 61(Figs. 23 e 24, págs. 100 e 101) mostra a comparação dos deslocamentos químicos de 4 com os valores dos modelos descritos na literatura e confirma a proposta do ácido 3 α , 19 α , 24-triidroxi-urs-12-en-28-óico (4)

V.4. Determinação Estrutural da Mistura de Substâncias (5a+6a)



A análise dos dados espectrométricos de IV(Fig. 25, pág. 102) e RMN ^1H e ^{13}C do produto de acetilação da fração LAFMC 21A-2 e comparação com espectros dos componentes identificados (4a, 4b) acima permitiu a identificação de 5a e 6a como componentes de uma mistura. Estes constituintes correspondem aos derivados acetilados das saponinas triterpênicas naturais 5 (ácido $3\beta\text{-O-}\beta\text{-D-glicopiranosil-24-hidroxi-urs-12-en-28-óico}$) e 6 (ácido $3\beta\text{-O-}\beta\text{-D-glicopiranosil-1\%t,24-diidroxi-urs-12-en-28-óico}$) que foram identificados através da análise dos dados espectrométricos dos derivados acetilados 5a + 6a.

A comparação dos dados de RMN de ^{13}C da mistura (5a + 6a) com os valores descritos na literatura para os ácidos 24-hidroxiursólico e 24-hidroxipomólico (Tabela 10, pág.61) serviu para identificar a aglicona. Os deslocamentos químicos em δH 90,6 e 102,9 no espectro de RMN de ^{13}C (Fig 27, pág. 103) foram atribuídos ao C-3 (desprotegido) da aglicona e um carbono anomérico de carboidrato, respectivamente. O espectro 2D (^1H x $^{13}\text{C-COSY-}^1\text{JCH}$) revelou as correlações dos sinais correspondentes aos carbonos C-3 (δc 90,6) e o hidrogênio H-3 (δH 3.30, m), C-18 (δc 52.6 e 52.9) e o H-18 (δH 2.30,dl (5a), e 2.53, s (6a)) e do C-1' (δc 102.9) com H-1' (δH 4.50, d, $\text{J}=9.0$ Hz) (Fig 28 a 31,pág. 104 a 107, Tabela 11, pág. 62). O valor da constante de acoplamento de 1' revela tratar-se de um $1'\beta\text{-O-glicosídeo}$ e o deslocamento químico do C-3 como um $3\beta\text{-O-glicosídeo}$. A comparação dos deslocamentos químicos dos CH do carboidrato com os valores da literatura 22 Mo-8a, pág 61, (unidade de açúcar do iridóide) permitiu identificar este carboidrato como a β , D-glicose.

Tabela.10: Dados de RMN de ^{13}C (50.3 MHz, Piridina- d_5) de **4a**, **4b**, **5** e **6** Obtidos através dos espectros totalmente desacoplados (PND) e DEPT (θ : 90 e 135°) em CDCl_3 e TMS como referência interna.

C	4a	4b	5	6	Mo-7	Mo-8	5 e 6	Mo-8a
1	33.1	33.7	38.7	38.7	38.2	33.1	Glicose	
2	25.1	26.2	27.9	25.2	27.5	25.2	C	δ_c
3	70.6	73.35	90.6	90.6	80.7	70.6	1'	102.9
4	42.0	42.2	47.0	47.0	42.5	42.7	2'	72.7
5	49.5	50.8	55.4	50.5	55.7	49.5	3'	73.4
6	18.5	18.2	18.0	18.0	18.3	18.7	4'	68.8
7	32.9	32.7	32.6	32.8	33.0	32.9	5'	73.0
8	40.0	40.5	40.2	40.2	39.3	40.0	6'	66.4
9	47.4	47.6	47.6	47.4	47.4	47.1		
10	36.8	37.0	36.6	36.6	36.5	36.8		
11	23.7	23.7	23.4	23.9	23.4	23.7		
12	129.1	129.0	125.7	129.1	125.2	129.1		
13	138.0	138.0	137.8	137.8	137.6	137.9		
14	39.6	39.5	41.8	41.8	41.8	41.1		
15	28.1	27.9	29.6	27.9	29.9	28.2		
16	25.6	23.7	24.5	25.8	24.0	25.5		
17	47.8	47.7	47.8	47.8	47.9	47.9		
18	53.2	53.1	52.7	52.4	52.7	53.2		
19	73.1	73.6	38.9	76.9	38.9	73.1		
20	41.1	41.4	38.7	40.9	38.7	41.1		
21	26.9	27.6	30.5	27.3	30.5	26.0		
22	37.4	36.5	36.6	37.3	36.5	37.4		
23	21.7	21.5	22.3	15.3	22.4	21.6		
24	66.4	65.7	66.5	66.5	64.4	65.5		
25	15.6	15.9	15.3	16.5	15.8	15.6		
26	16.1	16.9	16.9	16.5	16.7	16.5		
27	24.6	23.8	23.5	24.5	23.4	24.6		
28	178.4	178.0	183.6	183.8	177.9	178.2		
29	27.9	28.2	21.3	27.1	16.9	27.4		
30	16.7	17.2	16.3	16.9	21.1	16.1		
MeO-28	51.6	-	-	-	-	-		
H ₃ CCO	-	21.9	-	-	-	-		
AcO	-	171.0 e 171,2	-	-	-	-		

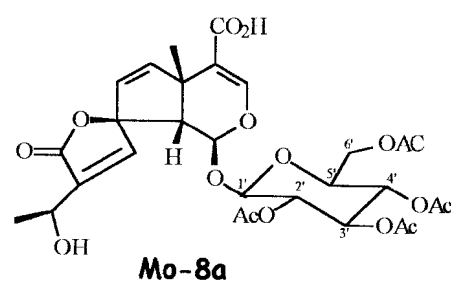
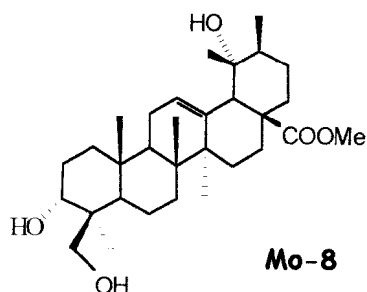
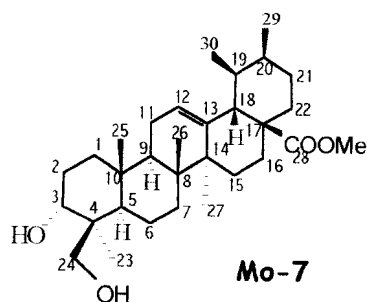


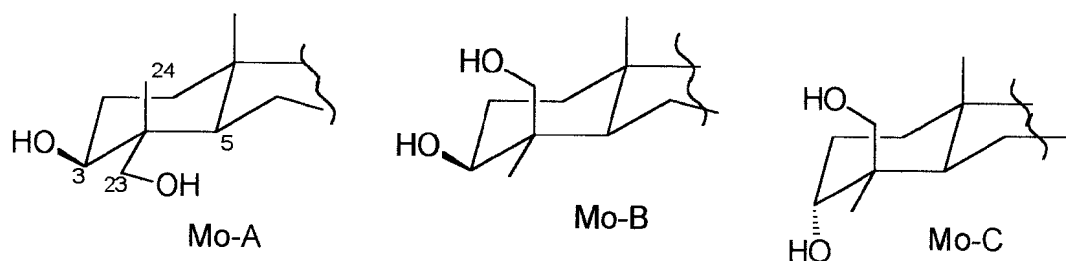
Tabela. 11: Dados de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **5a** e **6a**.

C	δ_{C} 5a	δ_{C} 6a	$\delta_{\text{H}}(^1\text{J}_{\text{CH}})$ 5a	$\delta_{\text{H}}(^1\text{J}_{\text{CH}})$ 6a
1	38.7	38.6	-	-
2	27.9	25.4	-	-
3	90.6	90.6	3.2(m)	3.2(m)
4	41.04	41.04	-	-
5	55.5	-	0.81	0.81
6	18.3	18.1	-	-
7	32.7	32.8	-	-
8	39.53	40.4	-	-
9	47.7	47.5	1.4(m)	1.4(m)
10	37.4	36.7	-	-
11	23.5	23.7	-	-
12	125.8	129.2	5.23(s)	5.34(s)
13	137.8	137.8	-	-
14	41.9	41.9	-	-
15	29.7	27.9	1.15(m)	1.15(m)
16	24.1	25.4	-	-
17	47.9	47.6	-	-
18	52.9	52.6	2.28(m)	2.53(s)
19	39.1	73.2	0.9(m)	-
20	39.7	41.08	1.20(m)	1.3(m)
21	30.6	27.7	-	-
22	36.7	37.4	1.6(m)	1.6(m)
23	21.9	15.4	0.90	0.90
24	66.6	66.6	3.8 e4.20(m)	3.8 e4.20(m)
25	15.5	16.4	0.90	0.94
26	16.6	16.1	0.94	0.94
27	23.5	24.6	1.3-1.04	1.3-1.04
28	183.6	183.8	-	-
29	21.9	27.4	1.3-1.04	1.3-1.04
30	17.0	16.9	0.77-0.90	0.77-0.90
1'	102.9	102.9	4.60(d)	4.60(d)
2'	72.9	72.9	5.10(m)	5.10(m)
3'	73.4	73.4	5.1-4.9(m)	5.1-4.9(m)
4'	68.6	68.6	5.03(m)	5.03(m)
5'	71.7	71.6	3.8(m)	3.8(m)
6'	62.1	62.1	4.2(m), 4.0(m)	4.2(m), 4.0(m)
CH ₃	20.6-21.1	20.6-21.1	2.1-1.99(m)	2.1-1.99(m)
O-C=O	169.4-179.7	169.4-179.7	-	-

A análise detalhada do espectro 2D (^1H x ^{13}C -COSY) (Fig. 27, 28 e 30, págs. 103, 104 e 106) da fração e comparação com modelos da literatura (Tabela 10, pág. 61) permitiu fazer as atribuições dos deslocamentos químicos dos hidrogênios de **5a** e **6a** (tabela 11, pág. 62).

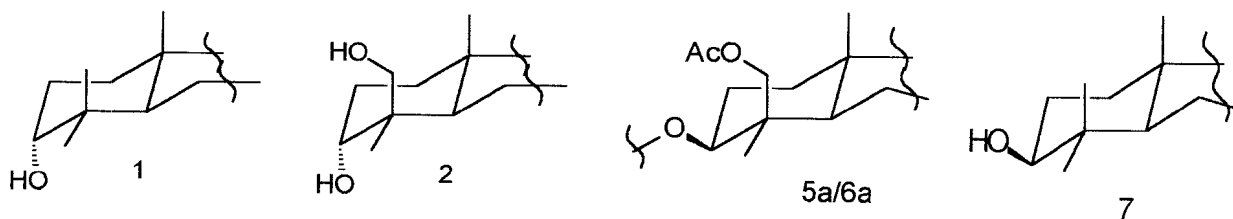
A definição da estereoquímica relativa de C-3 foi deduzida através de comparações dos deslocamentos químicos dos carbonos vizinhos à hidroxila (Tabela 12, pág. 63) com modelos da literatura. Esta comparação revela que os valores mais próximos são os do 3 β -O-,24-OH. Estas diferenças são resultantes dos efeitos exercidos pelos grupos sobre os carbonos vizinhos conforme descrito no início deste capítulo²³.

Tabela 12: Comparação dos deslocamentos químicos de carbono de **5a/6a**, **1**, **2**, e **7** e modelos da literatura para justificar a estereoquímica relativa de C-3, 4, 23 e 24.



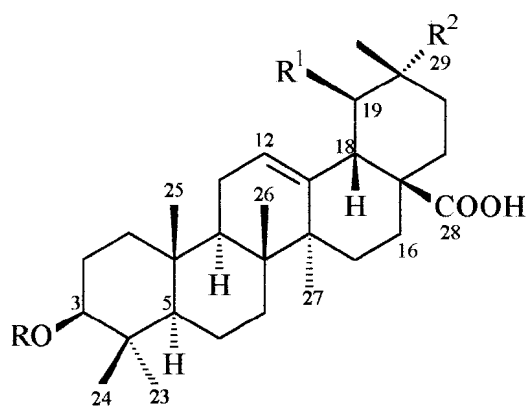
C	Mo-A	Mo-B	Mo-C	5a/6a	2	1	7
1	39,0	<u>38,2</u>	<u>33,1</u>	38,7	33.9	33.02	38.1
2	26,3	27,5	52,5	27,9	26.5	25.12	23.6
3	74,2	<u>80,7</u>	<u>70,6</u>	90,6*	<u>70.04</u>	76.14	80.9
4	43,8	42,5	42,7	41,0	43.9	39.55	37.8
5	48,0	<u>55,7</u>	<u>49,5</u>	55,5	50.17	48.87	55.3
10	37,1	36,5	36,8	37,4	37.56	36.97	36.8
23	65,5	<u>22,4</u>	<u>21,6</u>	21,9	23.85	<u>28.28</u>	<u>28.1</u>
24	12,7	64,6	65,5	66,6	65.77	22.25	16.7
25	15,6	15,8	15,6	15,5	16.15	15.25	15.4

* valor do acetato.



V.5. Determinação Estrutural da Mistura de Substâncias 7+8

A análise dos dados espectrométricos de IV (Fig. 26, pág. 102) e RMN de ^1H e de ^{13}C do acetato da fração permitiu a identificação do ácido 3β -hidroxi-urs-12-en-28-óico em mistura com o ácido 3β -hidroxi-olean-12-en-28-óico. As estruturas destes triterpenos foram deduzidas principalmente através da comparação dos dados de RMN de ^{13}C da mistura (7a + 8a) com os valores descritos na literatura para os ácidos 3β -hidroxiursólico e 3β -hidroxioleanólico (Tabela 13, pág 66, Fig. 32 e 33, págs. 108 e 109) 18.



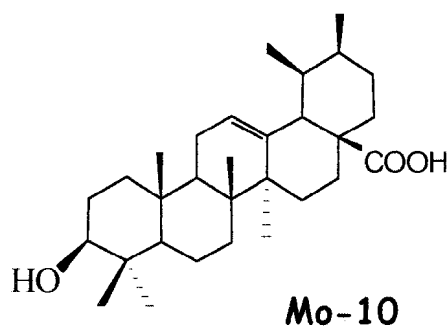
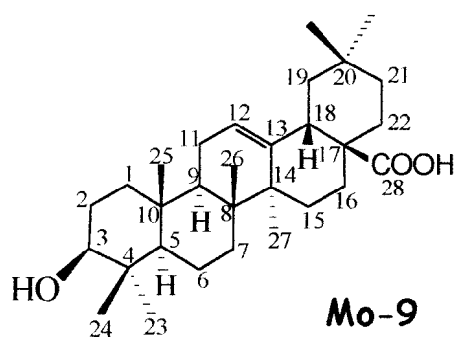
	R	R ¹	R ²
7	H	H	CH ₃
7a	Ac	H	CH ₃
8	H	CH ₃	H
8a	Ac	CH ₃	H

O espectro de RMN ^1H a 200 MHz (Fig.34, pág.110) de 7a + 8a mostrou sinal do hidrogênio geminal ao grupo acetoxi em $\delta\text{H} = 4,47$ ppm como um duplo dubleto ($J = 7,78$; $7,78$ Hz). Isto sugeriu que o hidrogênio H-3 está em posição axial e conseqüentemente o grupo acetoxi está em posição equatorial. O sinal do hidrogênio H-12 olefinico em $\delta\text{H} = 5,21$ ppm se apresenta como um singlete largo. O espectro de RMN de ^1H exibiu também um dubleto ($J = 10,56$ Hz) como resultado do acoplamento com um único hidrogênio H-19, centrado em $\delta\text{H} = 2,7$ ppm, característico de H-18 de triterpenóides tipo ursano de 7a O

espectro de RMN ^1H exibiu também um duplo dubleto como resultado do acoplamento com dois hidrogênios H-19, centrado em $\delta_{\text{H}} = 2,8$ ppm, característico de H-18 de triterpenóides tipo oleanano de **8a**. e em $\delta_{\text{H}} = 2,02$ ppm como singlete da metila do acetato, no espectro (Fig 34, pág.110).

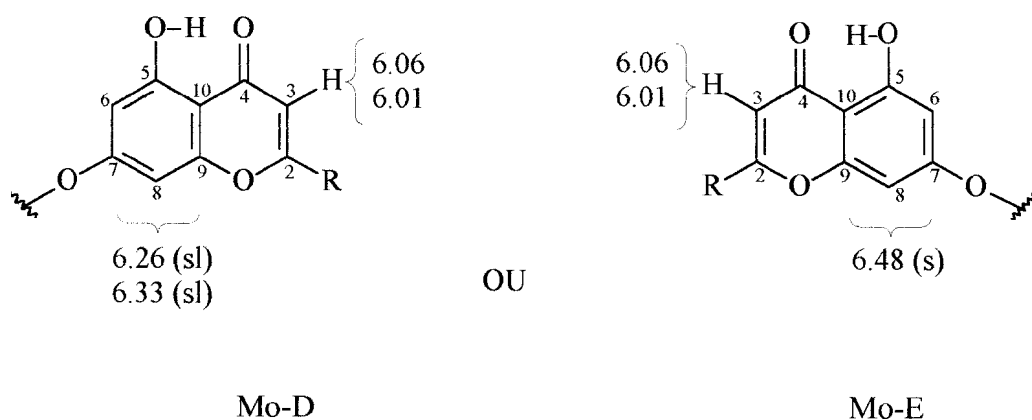
Tabela.13: Dados de RMN ^{13}C (50.3 MHz, CDCl_3) de **7** e **8** Obtidos através dos espectros totalmente desacoplados (PND) e DEPT (θ : 90 e 135°) em CDCl_3 e TMS como referência interna.

C	7	Mo-9 ¹⁸	8	Mo-10 ¹⁸
1	38.1	38,5	38.00	38,9
2	23.6	27,4	23.10	27,3
3	80.9	78,7	80.75	78,3
4	37.8	38,7	36.57	38,8
5	55.3	55,2	52.22	55,4
6	18.2	18,3	17.90	18,4
7	32.8	32,6	32.62	33,0
8	39.2	39,3	39.26	39,9
9	47.5	47,6	47.24	47,5
10	36.8	37,0	37.49	37,1
11	23.3	23,1	23.46	16,9
12	125.3	122,1	125.48	125,4
13	143.7	143,4	137.76	138,3
14	41.8	41,6	41.61	42,0
15	27.7	27,7	30.41	28,8
16	23.5	23,4	23.81	24,3
17	46.5	46,6	47.73	48,1
18	41.3	41,3	55.08	52,8
19	45.9	45,8	38.81	39,2
20	30.7	30,6	38.65	38,3
21	33.8	33,8	27.91	30,9
22	32.4	32,3	36.73	36,7
23	28.1	28,1	27.91	28,3
24	16.7	15,6	16.55	15,6
25	15.4	15,3	16.90	15,8
26	16.8	16,8	15.38	16,9
27	25.9	26,0	23.46	27,5
28	184.0	181,0	184.29	177,8
29	33.1	33,1	16.92	23,6
30	23.7	23,6	21.15	21,2
CO	171.1	-	171.89	-
CH3	21.3	-	21.08	-



V.6. Determinação Estrutural das Substâncias 9₁₋₄ a 10₁₋₄

O espectro de RMN de ^1H de 9 + 10 apresenta sinais de hidrogênios aromáticos em δH 6.48(s), 6.33(sl), 6.26 (sl), 6.08(s) e 6.01(s) (Fig 35 e 36, págs. 111 e 112) e dois sinais de hidrogênios em ponte com a carbonila (δH 12.76 e 12.68). Estes valores de deslocamentos químicos permitem sugerir a estrutura parcial abaixo cujos deslocamentos químicos de hidrogênios aromáticos são compatíveis para o sistema benzopiran-4-ona constituindo a estrutura das cromonas, como mostrado abaixo no Mo-D e Mo-E.



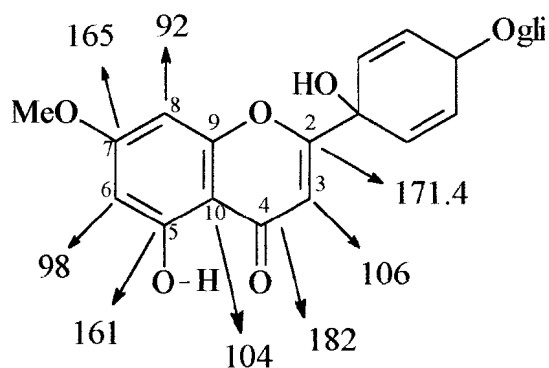
Os sinais em δH 2.66 (t, 8.4 Hz) e 2.57 (t, 8.0 Hz) correspondem a hidrogênios de CH_2 alílicos que podem ser atribuídos ao carbono da cadeia alquílica R. Os sinais adicionais em δH 1.73 (m), 1.19 (m) e 0.89 são compatíveis com a cadeia normal do grupo R. A localização desta cadeia em C-2 é proposta com base nos sinais de acoplamento a

duas e três ligações observadas no espectro 2D (HMBC) entre os H dos tripletes citados acima e os carbonos 2 (δ_c 172.1) e 3 (107.9) [Fig. 56, pág 130].

Os espectros de RMN de ^{13}C ((PND, Fig 37, pág. 113 e DEPT, Fig 38, pág. 114) apresentam sinais de C e CH que estão de acordo com as estruturas parciais acima. Esta dedução pode ser confirmada comparando os deslocamentos químicos de carbono-13 de 9 + 10 com o modelo Mo-11²⁰ na Tabela 14 abaixo).

Tabela 114: Comparação dos deslocamentos químicos de carbono de 9 + 10 e modelo Mo-11 da literatura²⁰.

C	CH	
157.6	170.5	108.3
158.3	170.6	107.8
160.5	182.4	99.3
162.3	182.6	94.0
162.5		



Mo-11

Para confirmar o padrão de oxigenação do anel aromático e o número de hidroxila não quelada, a fração foi metilada com diazometano e foram obtidos os ésteres metílicos. Os espectros de RMN de ^1H (Fig 39, pág. 115) apresentaram sinais em δH 12.8 e 12.7 (HO em ponte), e cinco sinais de hidrogênios aromáticos com feições compatíveis com as estruturas parciais Mo-D e Mo-E δH 6.01 e 6.06 (s, H-3), 6.42 (s, H-6 ou H-8), dois

dupletos 6.32 e 6.33 (d, 2.0 Hz) e dois singletos em 3.86 e 3.95 correspondentes a duas metoxilas. A ausência de sinais de OCH_3 nos espectros de RMN de ^1H de 9 + 10 (Fig. 36, pág. 112) revela que há duas hidroxilas fenólicas livres.

Estes dados corroboraram com o esqueleto cromona na amostra. O espectro 2D (^1H - ^1H -COSY, Fig 41 e 57, pág 117 e 131) revela os acoplamentos entre os dupletos aromáticos e entre os hidrogênios da cadeia alifática.

Os espectros de RMN ^{13}C do éter metílico (Fig 42, pág. 1118) possui sinais que confirmam a presença de dois grupos metoxílicos aromáticos e sinais de CH em 108 x 2, 97.9, 95.7 e 92.4. A dedução da multiplicidade destes carbonos foi verificada pela intensidade dos mesmos e pelos sinais de interação $^1\text{J}_{\text{CH}}$, revelados no espectro 2D (^1H - ^{13}C -COSY, HMQC) do derivado (Fig. 43, pág. 119). Os cálculos dos deslocamentos químicos da cromona com cadeia alifática, usando o programa ACD II, forneceu a Fig. 44, pág 120, cujos valores foram comparados com os da substância metilada e com o modelo Mo-1219 para fazer as atribuições dos deslocamentos químicos de carbono do éter metílico 9a (Tabela 15, pág.71). Verificou-se que sobravam valores de deslocamentos químicos próximos aos atribuídos a 9a Esta observação conduziu a dedução da presença de uma mistura de cromonas na amostra. A interpretação dos espectros 2D, ^1H - ^{13}C -COSY, HMBC [(Fig. 43, 45 a 48, págs. 119, 121 a 124) ($^{2,3}\text{J}_{\text{CH}}$)] permitiu confirmar as atribuições do componente 9a (tabela 16, pág 72) e identificar os valores que sobravam para serem atribuídos ao outro componente: Os valores de δC 182.0, 170.5, 158.1, 106.0 e δCH e 108.0 e 92.4, que estão ligados aos hidrogênios em δH 6.43 (s) e 6.01 (s), dos sinais de OCH_3 (δc 56.7 e δH 3.9) e um sinal triplo em 2.6 de CH_2 ligado ao carbono 2 (outra cadeia alquílica).

Isto fez confirmar a proposta da existência de mistura de cromonas na amostra identificadas como 9 e 10 e os ésteres metílicos como 9a e 10a. Os sinais que sobraram foram atribuídos ao componente 10. Os sinais restantes são compatíveis com a estrutura 10a que possui um grupo em C-6 ainda não definido (Fig 49, pág 66). A possibilidade de propor um dímero foi descartada porque há cinco H aromáticos e duas metoxilas e, entretanto, no acoplamento das unidades restaria um substituinte.

A análise adicional do espectro de RMN de ^{13}C e HMQC de 9 + 10 (Fig. 37, 38, 40 e 51 págs. 113, 114, 116 e 125) serviu para verificar a presença de sinais compatíveis com a cromona natural (9) e verificar os valores dos sinais restantes para o outro componente (10). A tabela 16 (pág 72) mostra a relação dos deslocamentos químicos dos C, CH, CH_2 e CH_3 de 9 e os restantes que devem ser atribuídos a 10.

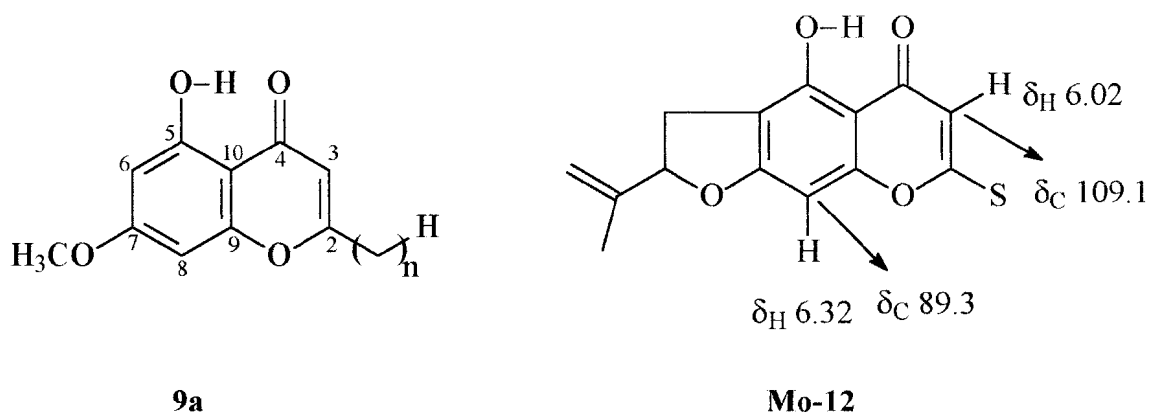


Tabela.15: Atribuição dos deslocamentos químicos de **9a** comparados com valores da literatura (Mo-12¹⁹).

C	δ_C	$\delta_H(^1J_{CH})$	$\delta_H(^{2,3}J_{CH})$	δ_H calculado	δ_C Mo-12	δ_H
2	171.0	-	H-1' ; H-3	175.1	167.9	-
3	108.0	6.06(s)	H-1'	104.6	107.1	6.02
4	182.4	-	-	181.9	188.3	-
5	160.0	-	H-O	156.4	159.1	-
6	97.8	6.32(d,2.0Hz)	H-O	97.9	108.8	-
7	165.3	-	OCH ₃	165.3	166.6	-
8	95.4	6.35(d,2.0Hz)	-	91.7	89.3	6.33
9	161.5	-	-	161.4	157.3	-
10	104.0	-	H-O, H-3	103.9	105.9	-
1'	34.2	2.56(t)	-	37.8	-	-
2'	26.7	1.7	-	22.5	-	-
(CH ₂)	31.9, 29.7, 22.0	1.24	-	31	-	-
CH ₃	14.1	0.88	-	26.7	-	-
OH		12.7	-	14.1	-	-
OCH ₃	55.6	3.86	-	55.8	-	-

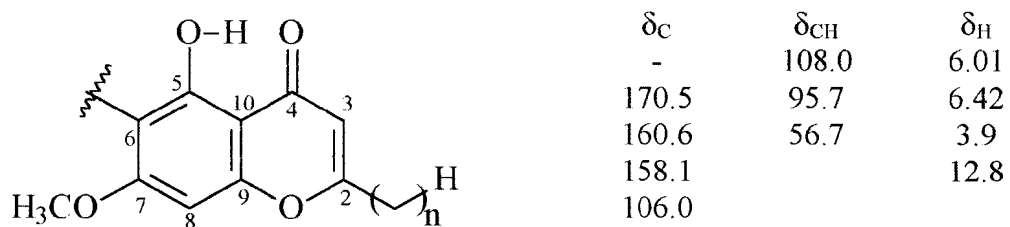


Fig. 49 : Estrutura e dados de RMN de ¹H e ¹³Cpropostas para **10a**.

Tabela 16: Valores de δ para C, CH, CH₂ e CH₃ atribuídos para a cromona natural 9 e os valores restante para 10.

9			9 + 10		10		
C	CH	δ_H	δ_C	δ_H	C	CH	δ_H
182.5	108.3	6.09	14.1	2.55	182.3	107.9	6.01 (s)
170.52	99.3	6.26	34.2	2.67	170.5	99	6.49(s)
162.5	94.0	6.32	34.0		162.3		12.7
160.5			31.9		157.3		
158.2			29.7-28.9				
105			26.7		106.0		
			22.7				

O espectro de massas com técnica FAB (matriz NBA) de 9a + 10a forneceu os picos de massa/carga em m/z 233, 219, 177 e 167 (Esquema 11, pág. 76) que confirma a presença da estrutura parcial proposta inicialmente. O valor m/z 640 é compatível com a forma molecular C₄₂H₇₂O₄ que após a subtração de C₁₀H₇O₄ (cromona) resta C₃₂H₆₅ que corresponde à cadeia dotricontila ligada a C-2 (Fig. 49 pag. 71). Este valor de massas e os picos em m/z 626, 612 e 598 (que diferem do anterior em 14, 28 e 42 unidades, respectivamente, Esquema 11, pág. 76) foram atribuídos a quatro componentes na amostra 9a₁, e 9a₂, 9a₃ e 9a₄, caracterizados como 5-hidroxi-7-metoxi-2-dotricontil-cromona, 5-hidroxi-7-metoxi-untricontil-cromona, 5-hidroxi-7-metoxi-tricontil-cromona e 5-hidroxi-7-metoxi-2-noneicosil-cromona, respectivamente. Pode-se assim definir as estruturas das

cromonas naturais 9₁ (5,7-diidroxi-2-dotricontil cromona), 9₂ (5,7-diidroxi-2-untricontil-cromona), 9₃ (5,7-diidroxi-2-tricontil cromona) e 9₄ (5,7-diidroxi-2-noneicosil cromona).

A diferença de 34 unidades entre os picos adicionais (m/z 674, 660, 646 e 632) revelados no espectro de massas (fig.52 e 53, pág. 126 e 127) e os valores do M⁺ de 9a₁ (640), 9a₂ (620), 9a₃ (612) e 9a₄ (598) permitiu propor um átomo de cloro na unidade da cromona 10a. Esta proposta é confirmada pela presença dos picos m e m+2 (na relação 3:1) de cada pico adicional que corresponde aos íons tiagmentários contendo os isótopos Cl³⁵ e Cl³⁷. Os picos em m/z 253/255, 239/241 e 267/269 correspondem aos íons fragmentários de 10a (Esquema 11, pág 76).

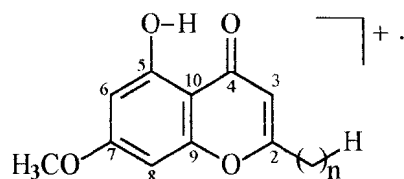
Para confirmar esta proposta utilizou-se os modelos Mo-13 e Mo-14 (Fig. 50, pág 74) descritos na literatura²¹ para comparar os valores dos deslocamentos químicos de carbono atribuídos a 10a (Fig. 49, pág 71). O valor em δc 106.0 (C) pode ser atribuído ao C-6 que sustenta o cloro. O valor em δ5c 95.7 corresponde a um carbono ligado ao H aromático (δ3H 6.4 s), Fig 51 (pág. 125) e é compatível com C-8 (modelo Mo-13 e 14). Os demais valores de δc 182.5, 170.5 e 158.1 e δCH em 107.9 (correlacionados com H-3, δH 6.01) são adequados para a estrutura proposta para 10a. O deslocamento químico de C-10 está ausente no espectro de 9a + 10a, e entretanto, o espectro de RMN de ¹³C de 9 + 10 (Fig. 37, pág. 113, Tabela 17, pág. 75) possui dois valores δc 106.0 e 105.0 (protegidos) que correspondem a estes carbonos das cromonas naturais. O valor em δCH 99.3 (Fig 51, 54, 55 e 56, págs. 125, 128, 129 e 130) pode ser, também, atribuído ao C-8 de 10, em analogia ao modelo Mo-13 (pág. 74).

cloro-2-untricontil cromona), **10₃**(5,7-diidroxi--6-cloro-2-tricontil cromona) e **10₄** (5,7-diidroxi--6-cloro-2-noneicosil cromona).

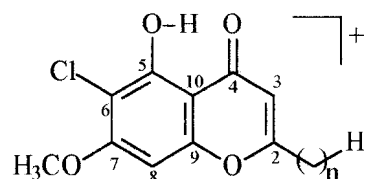
Tabela 17: valores de deslocamentos químicos de carbono e hidrogênio de **10**, **10a**, **9** e **9a**.

C	10		10a		9		9a	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
2	170.5	-	170.0	-	170.52	-	171.0	-
3	107.9	6.01(s)	108.0	6.1	108.3	6.09(s)	108.0	6.06(s)
4	182.3	-	182.4	-	182.5	-	182.4	-
5	162.3	-	160.6	-	160.5	-	160.0	-
6	106.0	-	104.0	-	99.3	6.26	97.8	6.32(d, 2Hz)
7	157.6	-	158.1	-	158.2	-	165.3	-
8	99.3	6.48(s)	95.7	6.42	94.0	6.32(s)	92.4	6.35(d, 2Hz)
9	162.5	-	160.7	-	162.3	-	161.5	-
10	106.0	-	-	-	105.0	-	104	-
1'	34.1	2.55	34.1	2.6	34.2	2.55	34.2	2.55(t)
2'	26.7	1.74	26.7	1.7	26.7	1.74	26.7	1.7
CH ₂	22.7		22.7	1.24	22.7		22.0	1.24
CH ₂	29.7-28.9	1.24	29.7-28.7	-	29.7-28.9	1.24	31.9-29.7	-
CH ₃	14.1	0.86	14.1	0.89	14.1	0.86	14.1	0.89
OCH ₃	-	-	56.7	3.95	-	-	55.6	3.86
OH		12.8	-	12.8	-	12.7	-	12.7

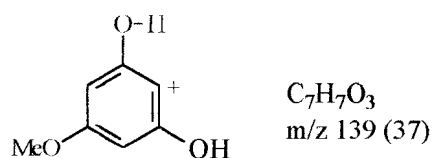
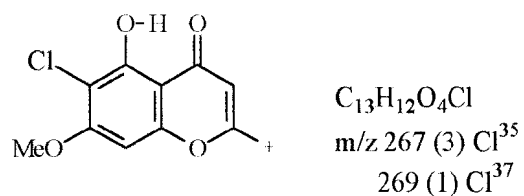
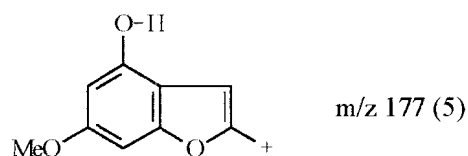
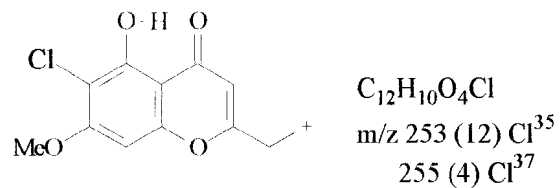
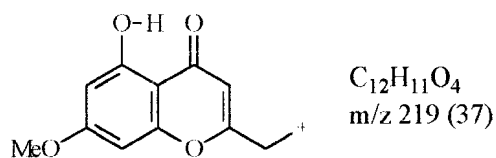
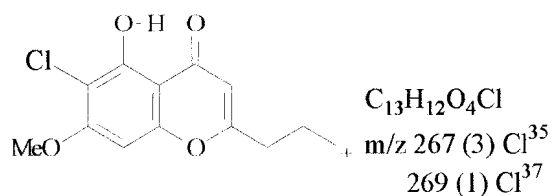
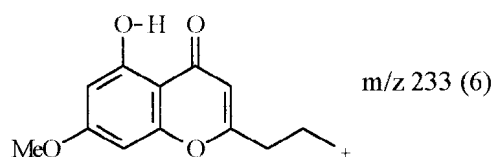
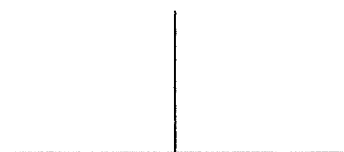
Esquema 11: Interpretação do espectro de massas (FAB matriz NBA) dos derivados metilados **9a** e **10a**.

**9a**

	n	FM	M ⁺
9a₁ :	32	C ₄₂ H ₇₂ O ₄	640
9a₂ :	31	C ₄₁ H ₇₀ O ₄	626
9a₃ :	30	C ₄₀ H ₆₈ O ₄	612
9a₄ :	29	C ₃₉ H ₆₆ O ₄	598

**10a**

	n	FM	M ⁺ /M+2 (3:1)
10a₁ :	32	C ₄₂ H ₇₁ O ₄ Cl	674/676
10a₂ :	31	C ₄₁ H ₆₉ O ₄ Cl	660/662
10a₃ :	30	C ₄₀ H ₆₇ O ₄ Cl	646/648
10a₄ :	29	C ₃₉ H ₆₅ O ₄ Cl	632/634



VI. Conclusão

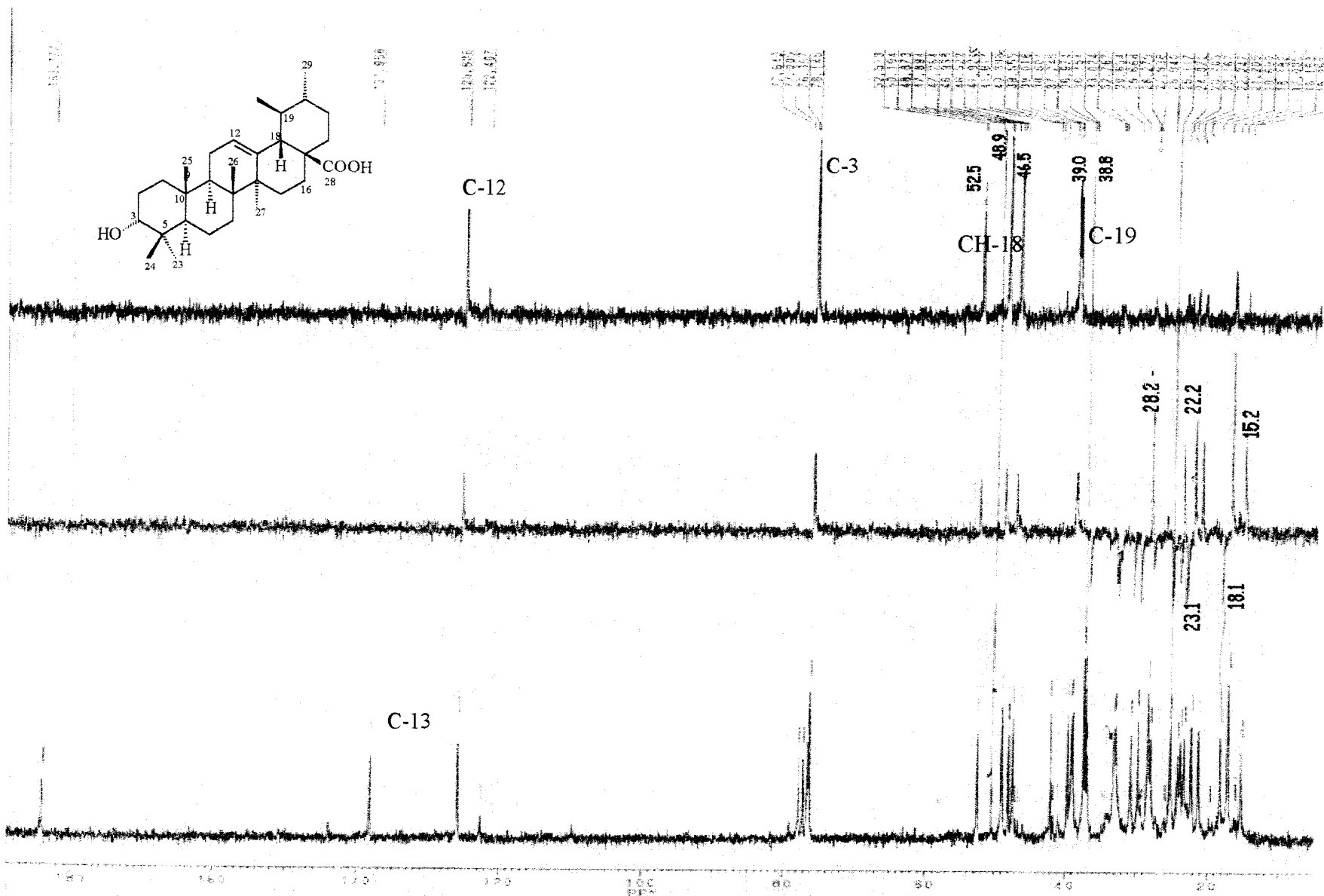
Este é o primeiro estudo fitoquímico das folhas de *Licania arianae*, espécie da família Chrysobalanaceae. Foram isoladas das folhas de *Licania arianae* seis triterpenos pentacíclicos, duas saponinas, oito cromonas, sendo quatro não-cloradas e quatro cloradas. Quatro dos triterpenos isolados possuem a característica incomum de apresentarem um grupo hidroxila no carbono C-3 na posição α . Também foram isoladas novas saponinas e o ácido epipomólico com hidroxila em posição α , que não foi encontrado na literatura. As cromonas isoladas são inéditas e como o trabalho foi realizado com folhas as cromonas cloradas podem ter sido sintetizadas por fungos, já que a literatura cita que fungos podem elaborar substâncias cloradas e não cloradas.

VII. Referências Bibliográficas

1. Coradin, I., Grannasi, D.E., Prance, A. T., Chemosystematic studies in the Chrysobalanaceae: Flavonoids in *Parinari*, *Brittonia*, **1985**, 37 (2), 169-178.
2. Mendez, J., Bilia, A. R., Morelli, I.; Phytochemical Investigation of *Licania* genus; Flavonoids and Triterpenoids from *Licania pittieri*, *Pharmaceutica. Acta Helvetiae.*, **1995**, 70, 223- 226.
3. Mendez, J., Bilia, A. R., Morelli, I., Phytochemical investigation of *Licania* genus: Flavonoids and Triterpenoids, from *Licania carii*. *Pharmaceutica. Acta Helvetiae.*, **1996**, 71, 191-197.
4. Bilia, A.R.; Ciampi, L.; Mendez, J.; Morelli, I.; New Triterpenes and Other Constituents of *Licania pyrifolia*, *Rivista Italiana EPPOS*, **1996**, 7 (20), 17.
5. Mendez, J., Bilia, A. R., Ciampi, L.; Morelli, I. ; Phytochemical Investigation of *Licania* genus: Flavonoids from *Licania pyrifolia*., *Pharmaceutica. Acta Helvetiae.*, **1996**, 71 (3), 199- 204.
6. Bilia, A.R.; Mendez, J.; Morelli, I.; New Lupane Derivatives from The Leaves of *Licania pyrifolia*, *Journal Natural Products*, **1996**, 59 (3), 297- 300.
7. Worthley, E.G.; Schott, C.D.; Biologically-active Compounds in Some Flowering Plants. *Life sci*, **1969**, 8 (Pt1), 225-238.

8. Ringbom, T.; Segura, L.; Noreen, Y.; Perera, P. e Bohlin, L.; Ursolic Acid from *Plantago major*, a Selective Inhibitor of Cyclooxygenase-2 Catalized Prostaglandin Biosynthesis, *Journal Natural Products*, **1998**, 61 (10), 1212-1215.
9. Xu,H.; Zeng,F.;Wan.M.; Sim,K.; Anti-HIV: Triterpene Acids from *Geum japonicum*, *Journal Natural Products.*, **1996**, 59 (7), 643-645.
10. Kashiwada, Y.; Wang, H.; Nagao, T.; Kitanaka, S.; Yasuda, I.; Anti-AIDS. 30. Anti-HIV Activity of Oleanolic Acid, Pomolic Acid, and Structurally Related Triterpenoids, *Journal Natural Products.*, **1998**, 61 (9), 1090-1095.
11. Barroso, G.M.; Sistemática de Angiosperma do Brasil, Viçosa, Imprensa Universitária, UFV, Vol 2, **1991**, 15-17.
12. Watson, L., e Dallwitz, M.;J. (1992 em diante). "The families of Flowering Plants: Descriptions, Illustrations, Identification, and Information Retrieval". Versão: 19 de agosto de **1999**. <http://biodiversity.uno.edu/delta/>.
13. Braca, Bilia, Mendez, Morelli, Tree flavonoids from *Licania densiflora*, *Phytochemistry*. 51; **1999**; 1125-1128.
14. Braca, Tommasi,N., Mendez, Morelli, Pizza, C. Tree flavonoids from *Licania heteromorpha*, *Phytochemistry* , 51, **1999**; 1121-1124.
15. IBAMA – Linhas De Atuação- Através da Portaria nº 37-N, de 3 de abril de **1992**. Lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção. <http://www.ibama.gov.br/atuação/conserbi/flora/bio04.htm>
16. Abe, I.; Rohmer,M.; Prestwich, G. D. Enzymatic Cyclization of Squalene and Oxidosquale to Sterols and Triterpenes, *Chemical Reviews*, . Vol 93, **1993**, Nº 6, 2189-2206.

17. Olea, R.G.; Roque, F.N.; Análise de Misturas de Triterpenos por RMN de ^{13}C , *Química Nova*, **1990**, 13 (4), 278-281.
18. Mahato, S.B.; Kundu, A.P.; ^{13}C NMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids - A Compilation and Some Salient Features. *Phytochemistry*, **1994**, 37, 1517.
19. Baba, K.; Kawanishi, H.; Tanizuchi, M.; Kozanna, M. Chromone Glucosides from *Cnidium japonicum*, *Phytochemistry*, **1994**, 35; 221-225.
20. Markham, K.R.; Chiari, V.M.; Carbon-13 NMR Spectroscopy of Flavonoids. In J.B. Harbone and I.J. Mabry (ed), *The Flavonoids: Adv. In Research*, Chapman & Hall, London, **1982**.
21. Velandia, J.R.; Carvalho, M.G. and Braz-Filho, R.; Novel Trichloro- and Tetrachloroisoflavone Isolated from *Ouratea semiserrata*, *Natural Products Letters*, **1998**, 12 (3), 191-198.
22. Barreto, A. de S., Carvalho, M. G. de, Nery, I. de A., Gonzaga, L. and Kaplan, M. A. C.; Chemical Constituents from *Himatanthus articulata*; *Journal. Brazilian. Chemical. Society*. **1998** 9 (5), 430-34.
23. Kahnowski, H., Berger, S. and Braun, S.; Carbon-13 NMR Spectroscopy, J. Wiley & Sons Ltda, N.Y., **1988**, 119.
24. Henderson, G. B. e Hill, R. A.; The Biosynthesis of Chlorine-containing Metabolites of *Periconia macrospinosa*, *Journal. Chemical. Society Perkin Trans*, 1, **1982**, 3037-38.



CP 666.07
 AC PRD
 POWCD
 DATE 26
 50
 1000
 12000
 600
 150
 201
 15
 100
 100

Fig. 3: Espectro de RMN de ¹³C (50,3 MHz, CDCl₃) DEPT (θ: 90 e 135°) da substância 1.

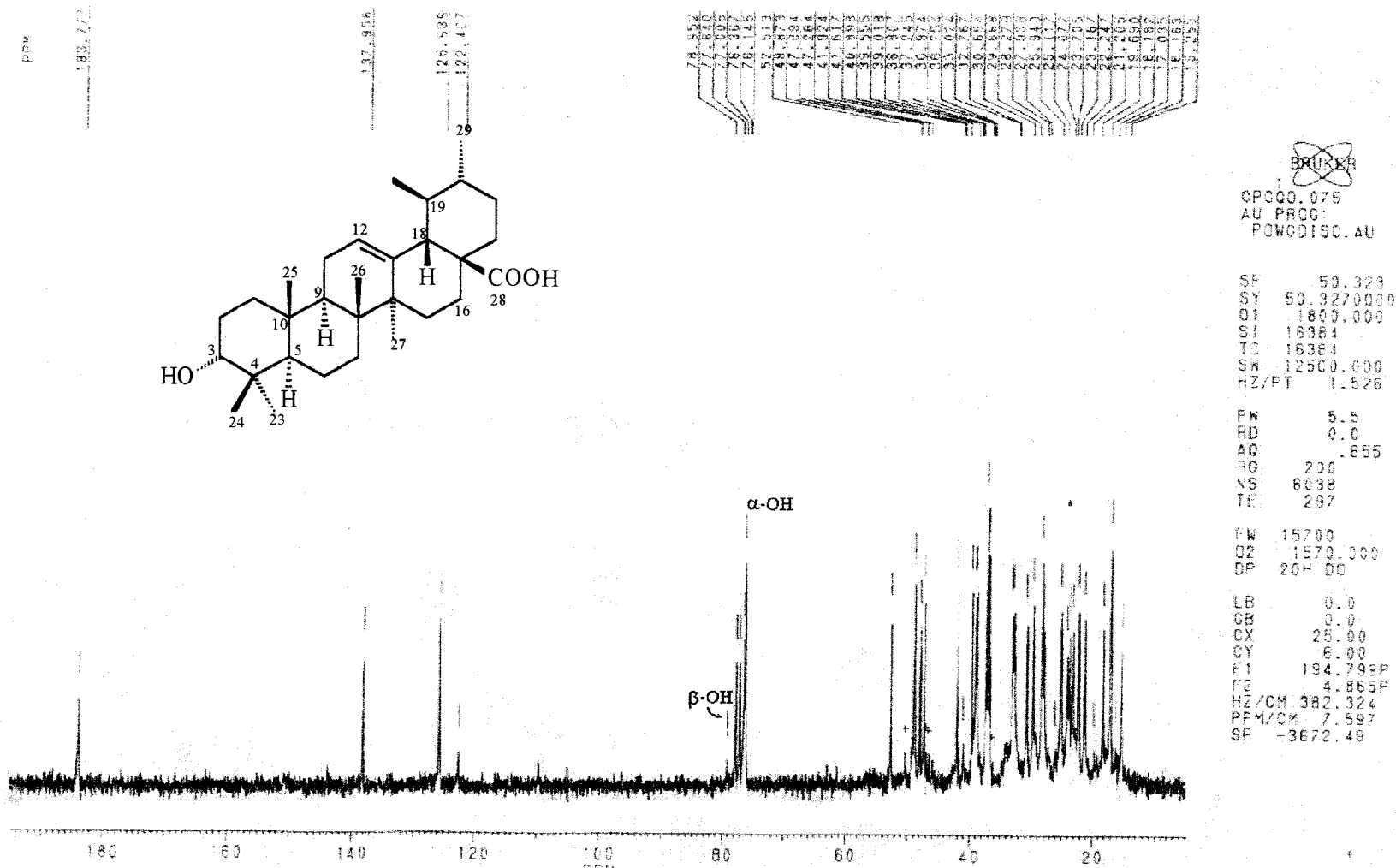


Fig. 4: Espectro de RMN de ^{13}C (50,3 MHz,) da substância 1 totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

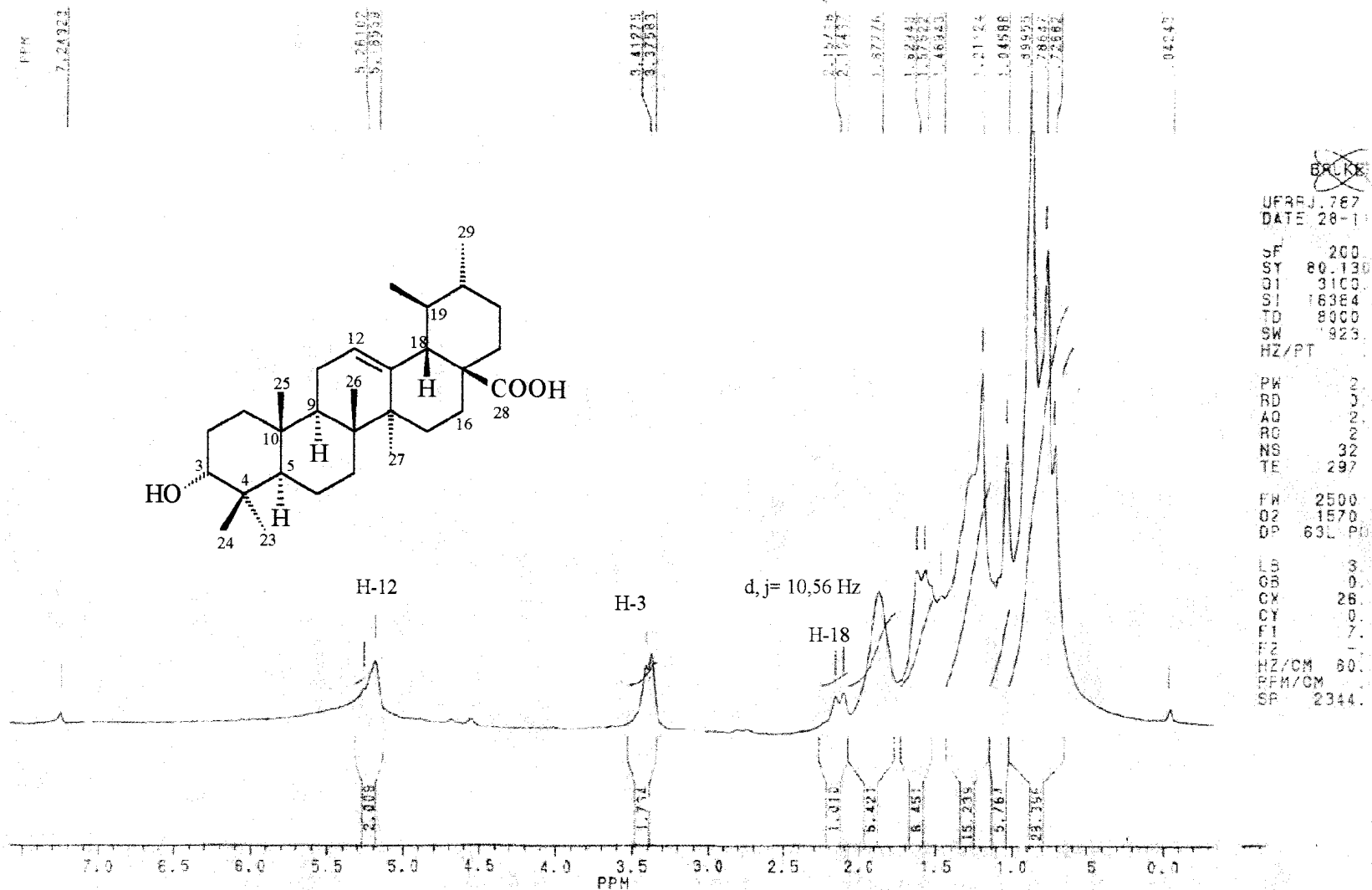


Fig. 5: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz,) da substância 1 registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

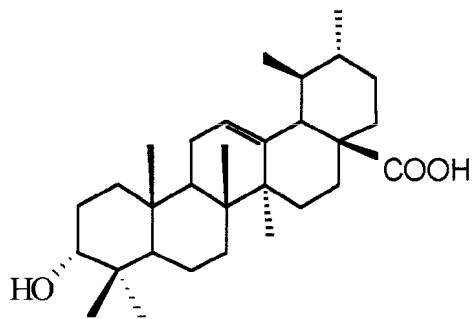
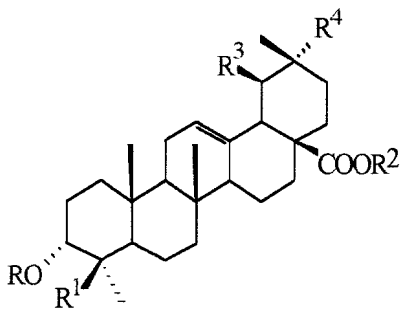
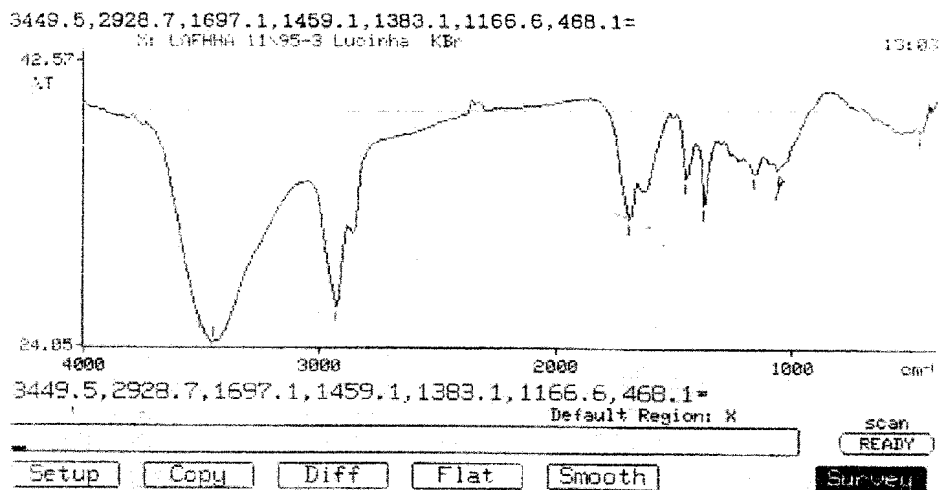


Fig 6: Espectro de IV da substância 1 em KBr.



	R	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
2	H	CH ₂ OH	H	H	CH ₃
3	H	CH ₂ OH	H	CH ₃	H

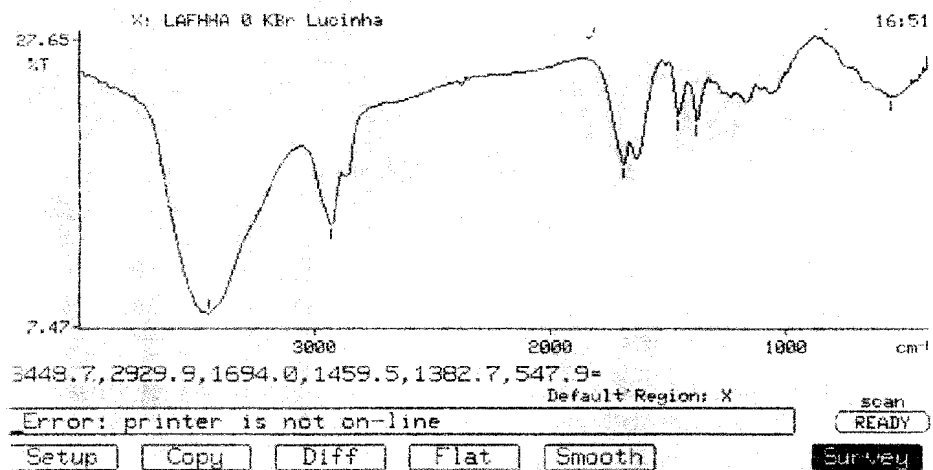


Fig. 16: Espectro de IV das substâncias 2 + 3 em KBr.

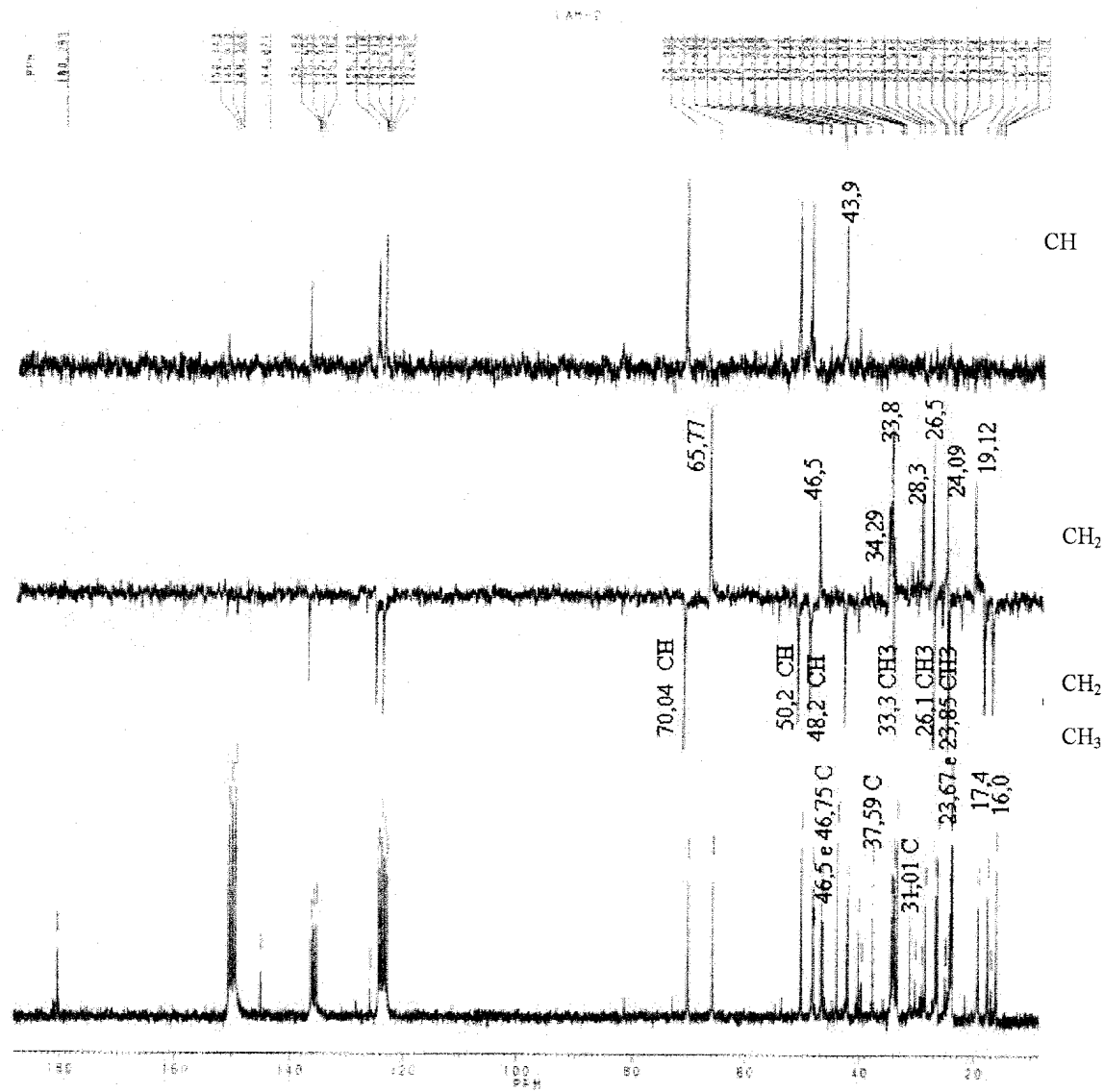
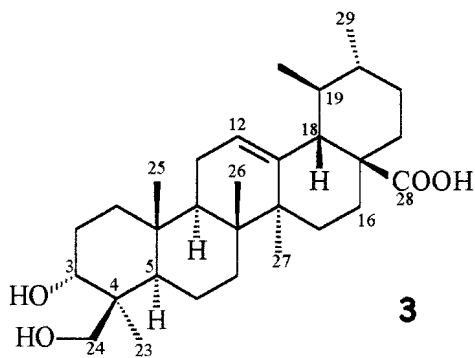
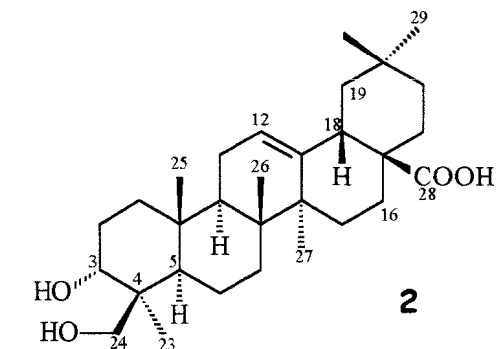
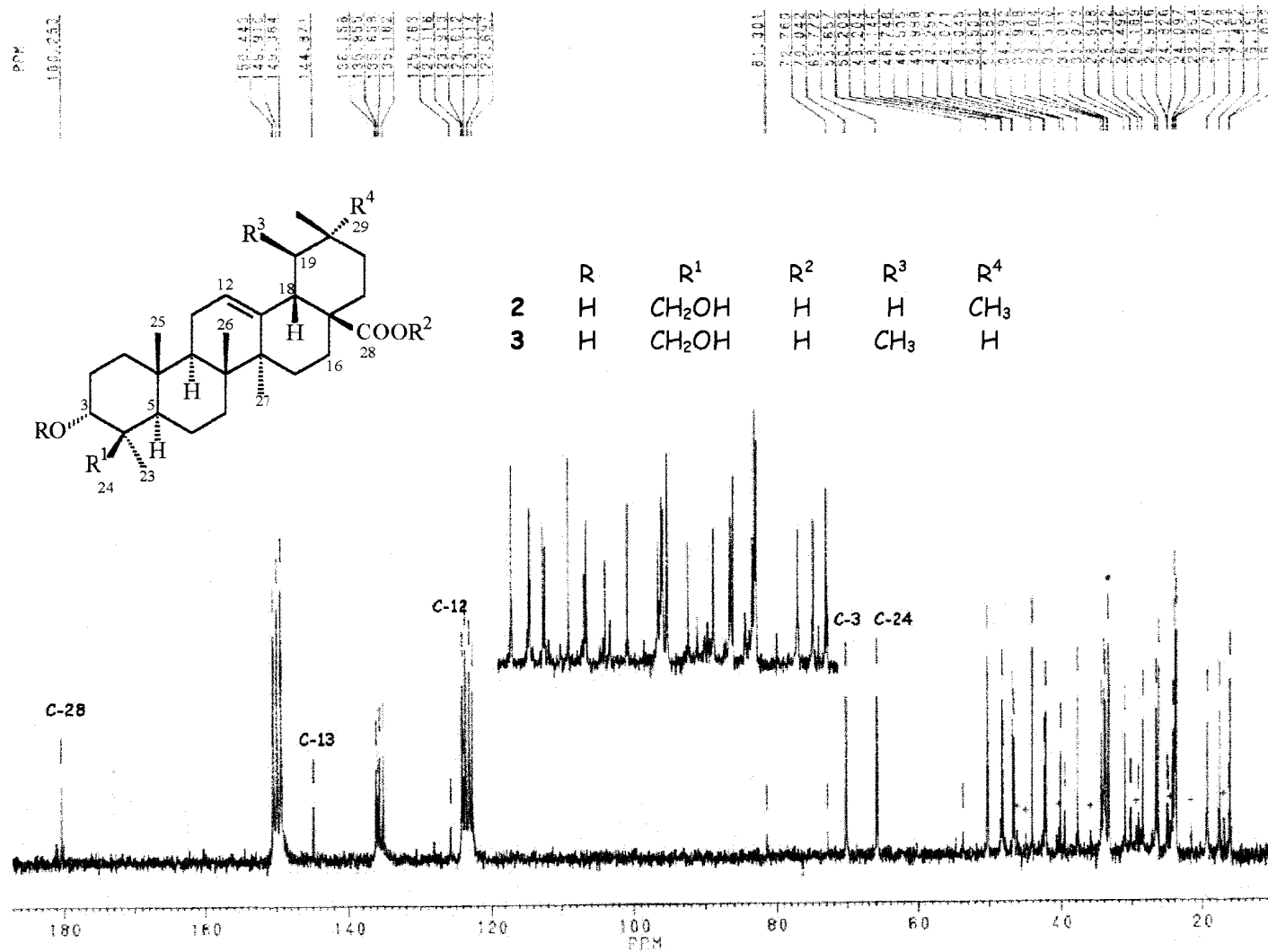



Fig. 7: Espectro de RMN de ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) DEPT (θ : 90 e 135°) das substâncias 2 + 3.




 UFRJ. 872
 AU PRG:
 POWDISC.AU

SF 50.323
 SY 50.3270000
 O1 1800.000
 SI 16384
 TD 16384
 SW 2500.000
 HZ/PT 1.526

PW 6.5
 RD 0.0
 AQ .655
 RG 200
 NS 3724
 TE 297

FW 15700
 O2 1570.000
 OF 20H D0

LB 0.0
 GB 0.0
 CX 28.00
 CY 6.00
 F1 187.165P
 F2 9.986P
 HZ/CM 342.912
 PPM/CM 6.814
 SR -3773.54

Fig. 8: Espectro de RMN de ¹³C (50,3 MHz,) das substâncias **2** + **3** totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

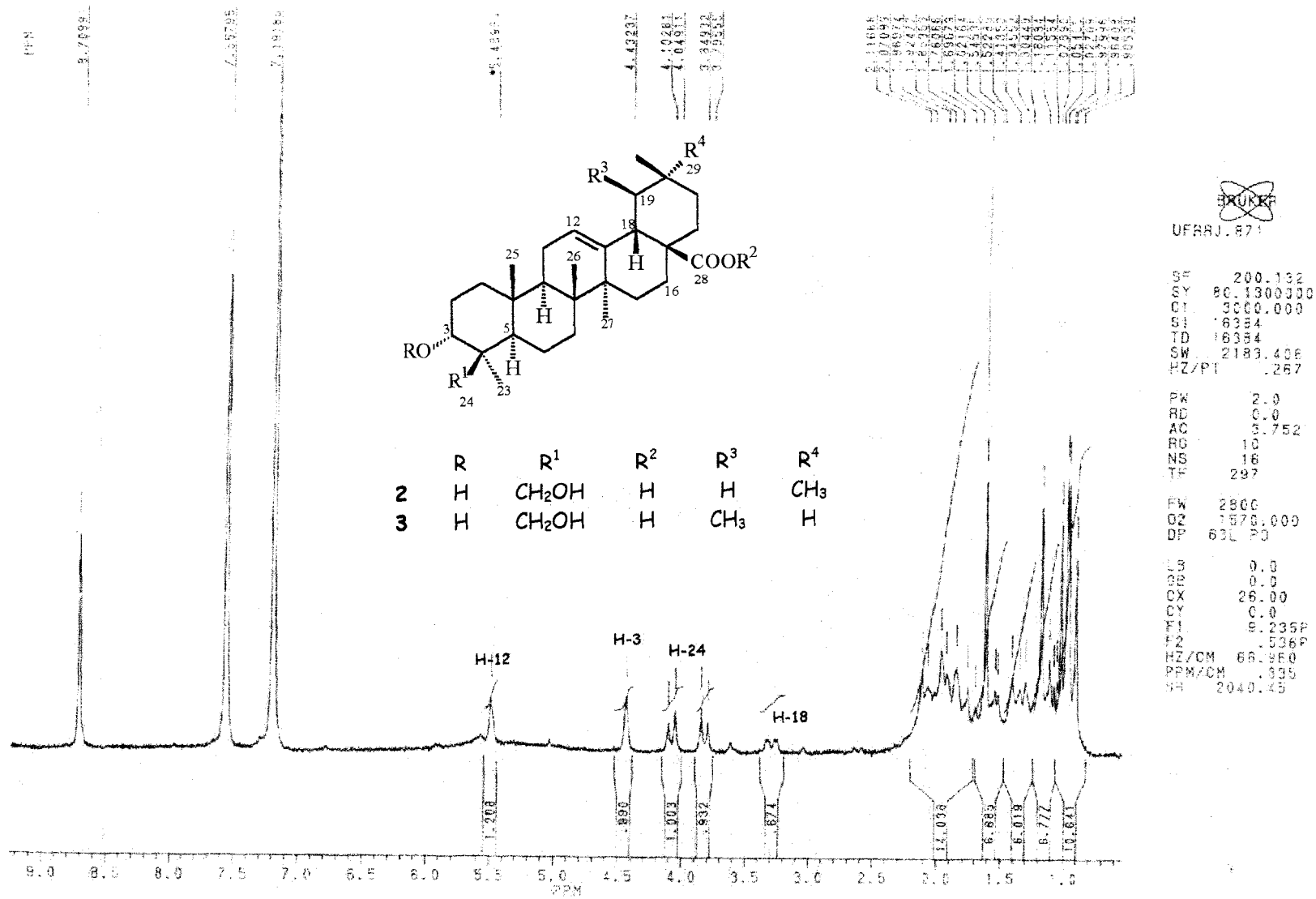


Fig. 9: Espectro de RMN de ¹H (200 MHz) das substâncias 2 + 3 registrado em Piridina e TMS como referência interna.

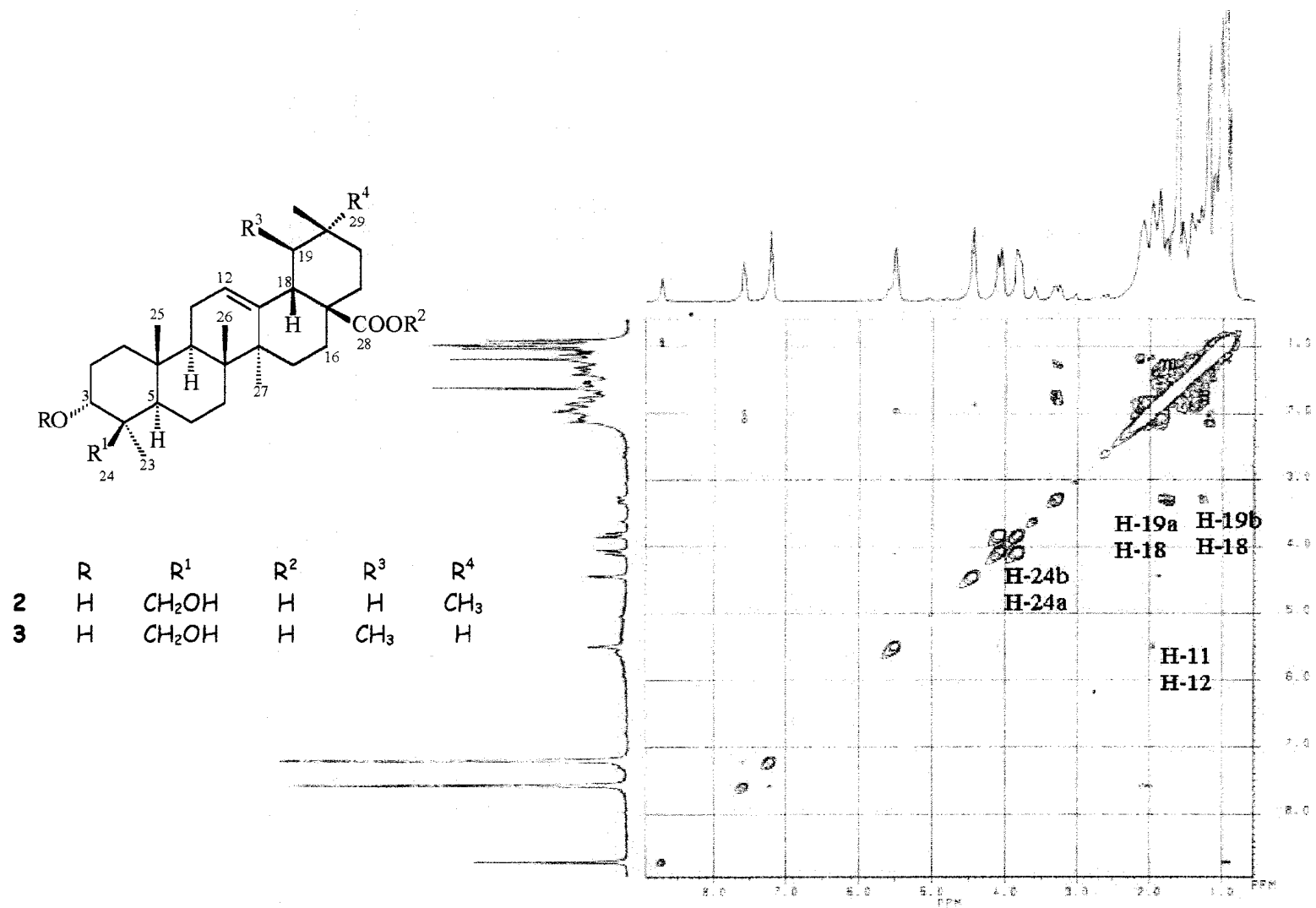
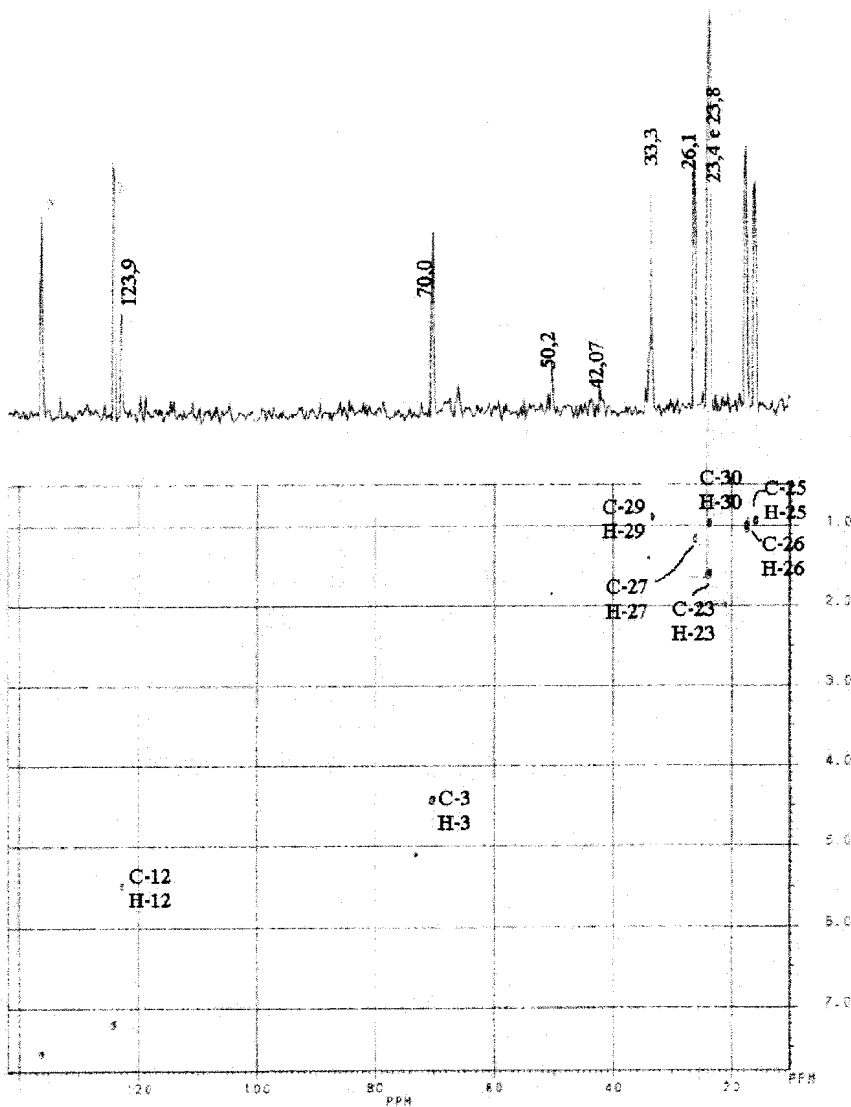
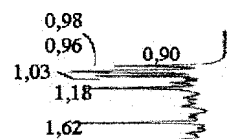
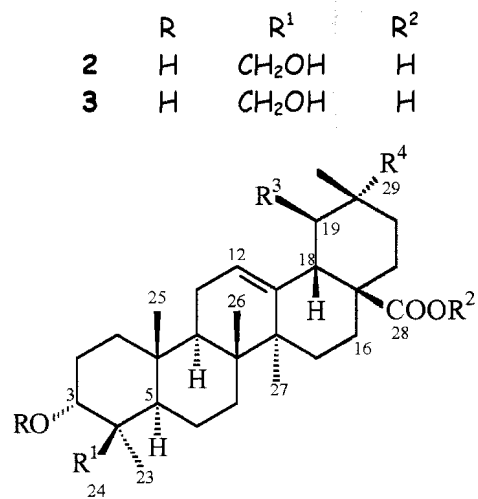


Fig. 10: Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY das substâncias **2** + **3** registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.



80000
 HZ
 71.780
 MHz
 12500.000
 SWH
 1091.703
 NUC
 13C

512 2348
 511 1312
 SW2 12500.000
 SW1 1091.703
 NUC

WDW2 S
 WDW1 S
 SSB2 S
 SSB1 S
 MOD S
 P1 M ROW: 141.551P
 P2 M ROW: 10.178P
 AND COLUMN: 7.787P
 P1 4.57P

D1	1.0000000
D2	0H
D3	30.0
D4	0.0000000
D5	10.0
D6	0.0000000
D7	6.0
D8	0.019200
D9	0.0
D10	0.0
D11	40
D12	0
D13	200
D14	0.0002250

Fig. 11: Espectro de RMN de ¹H x ¹³C - COSY-¹J_{CH} das substâncias 2 + 3 registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

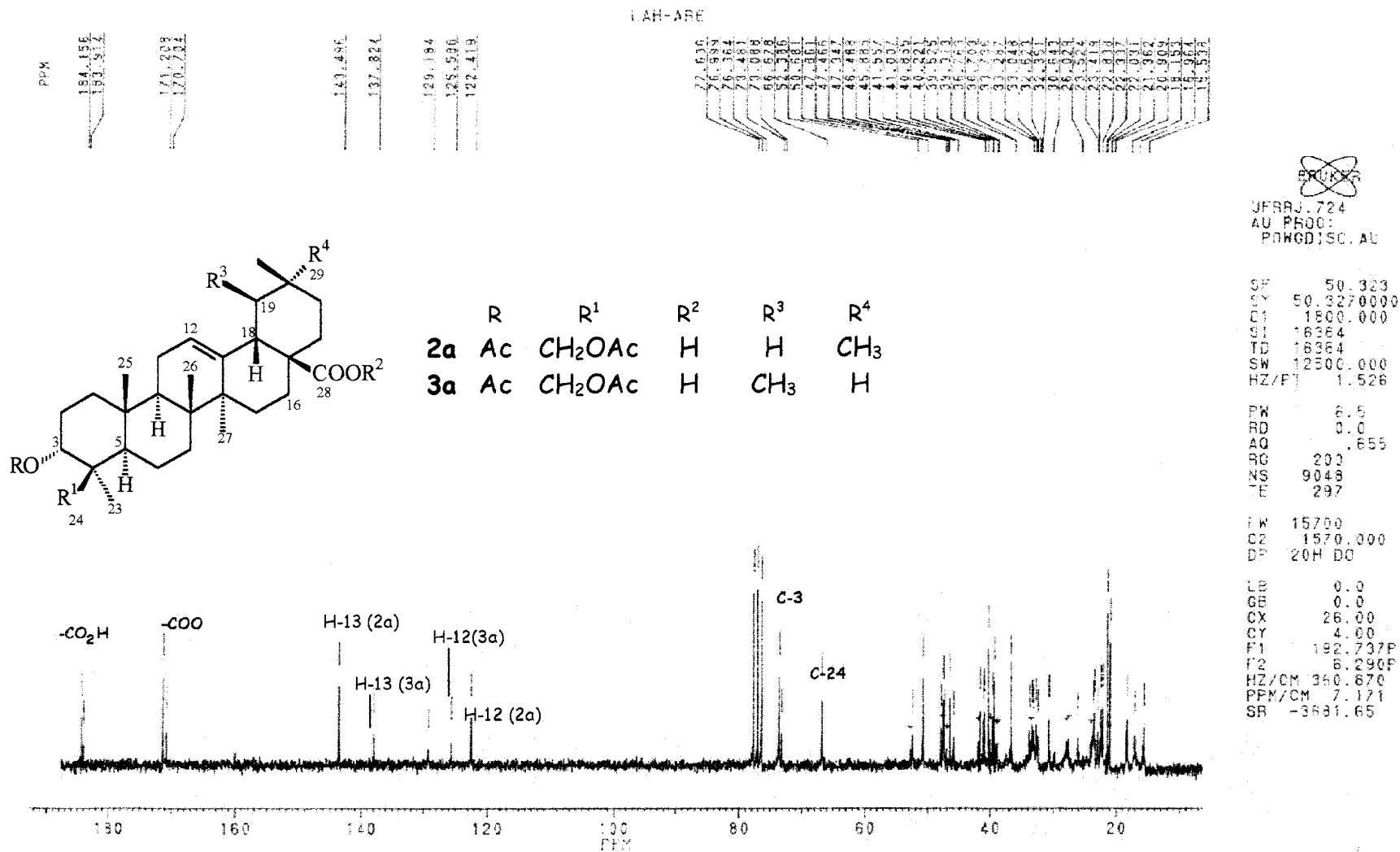


Fig. 12: Espectro de RMN de ¹³C (50,3 MHz,) da substância **2a** + **3a** totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

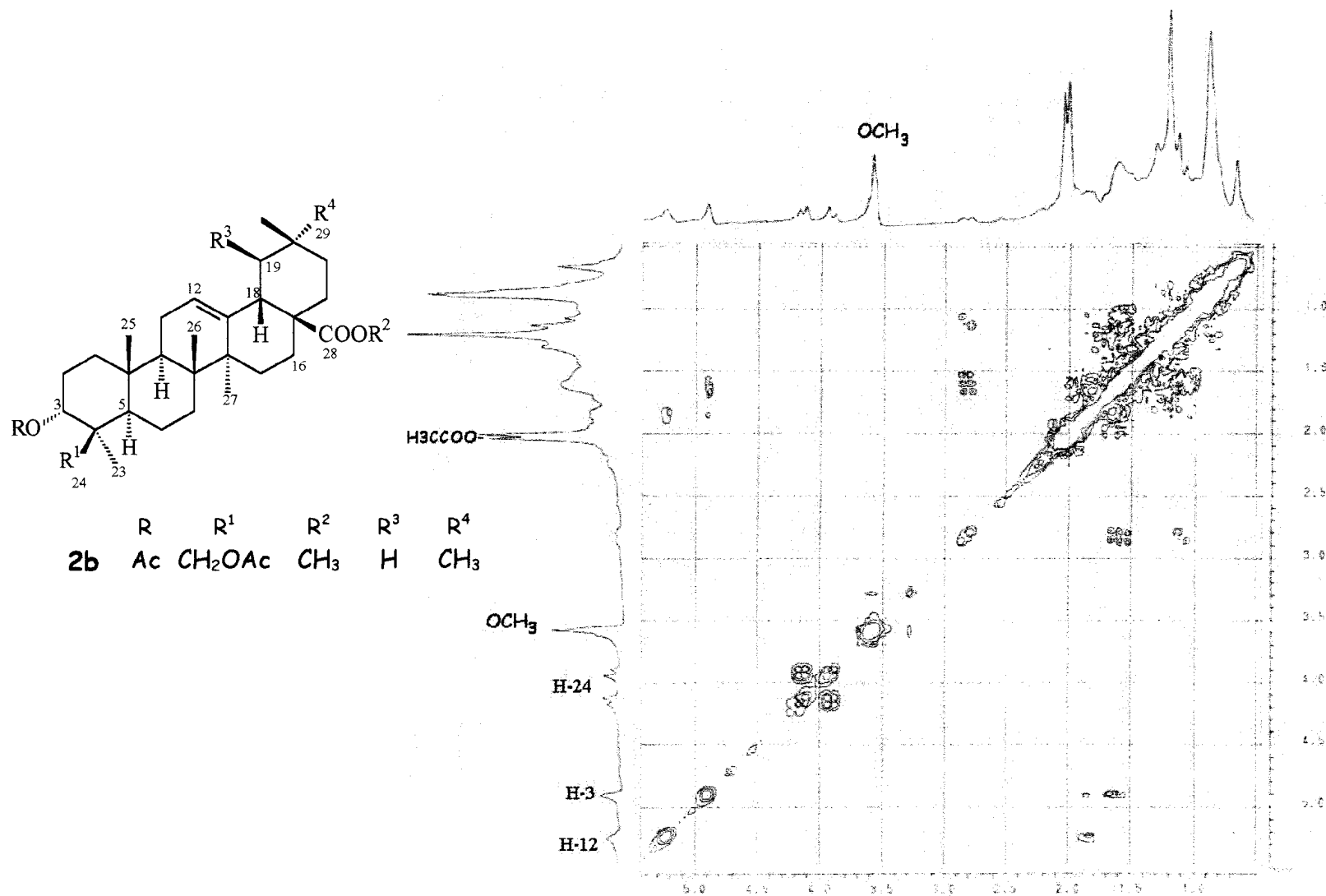


Fig. 13: Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY da substância **2b** registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

100 OBSERVE

OBSERVE C13

FREQUENCY 100.628 MHz
SPECTRAL WIDTH 25000.0 Hz
ACQUISITION TIME 1.133 sec
RELAXATION DELAY 1.000 sec
PULSE WIDTH 6.2 Usec
AMBIENT TEMPERATURE
NO. REPETITIONS 968
DECUPLE H1
HIGH POWER ON
DECOUPLER CONTINUOUSLY ON

DOUBLE PRECISION ACQUISITION
DATA PROCESSING
LINE BROADENING 1.0 Hz
FT SIZE 65536
TOTAL ACQUISITION TIME 35 minutes

Virginia Tech 500 NMR Facility

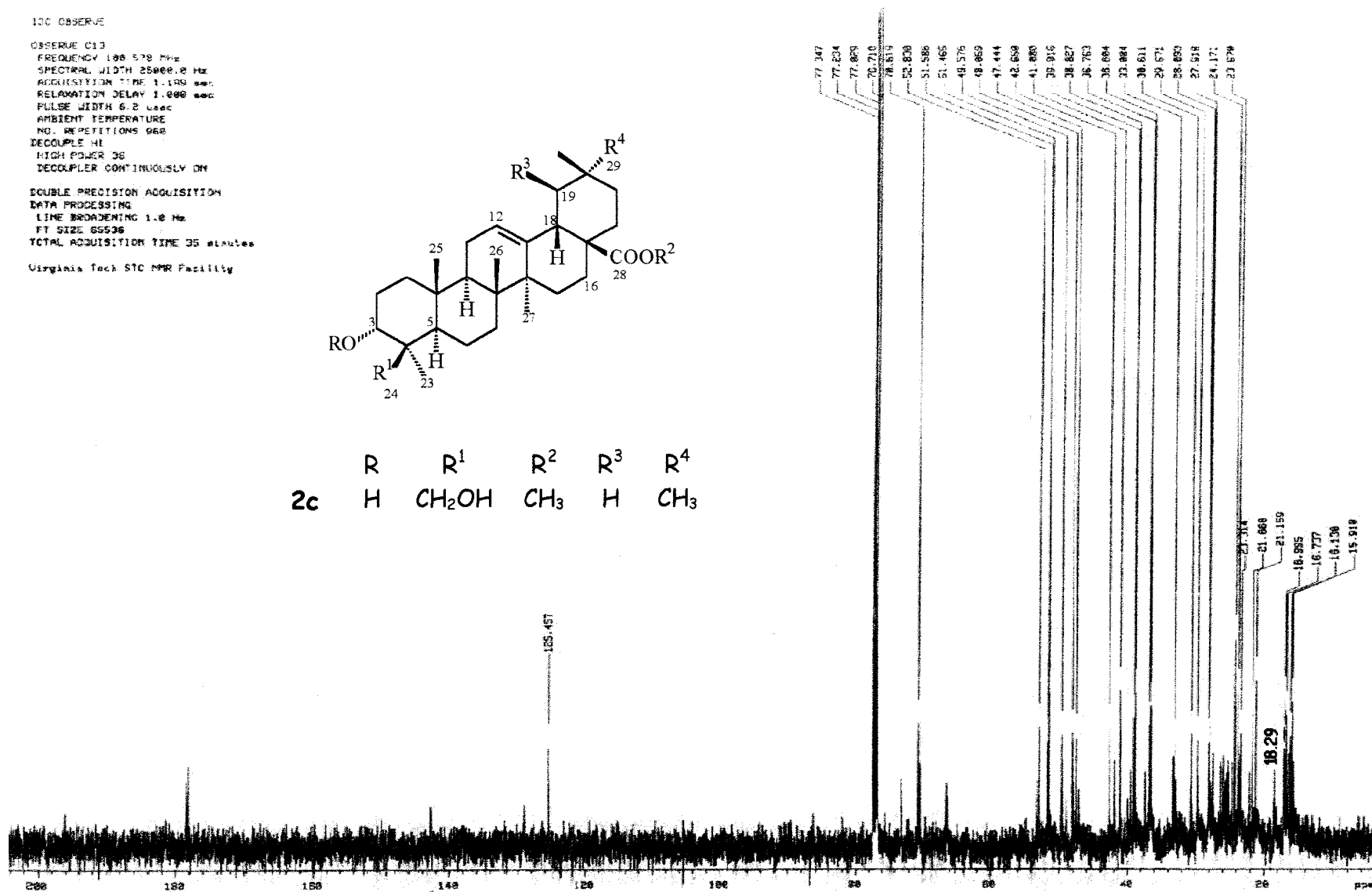
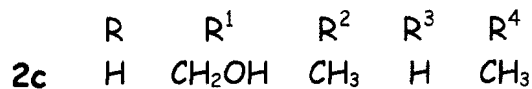
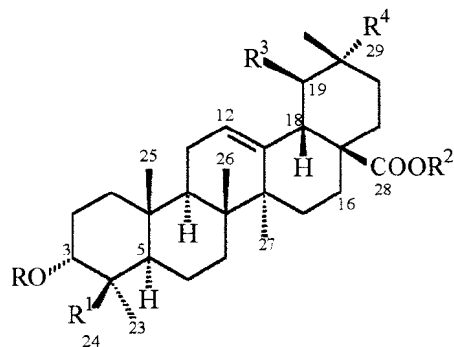


Fig. 14: Espectro de RMN de ¹³C (100,6 MHz,) da substância 2c totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

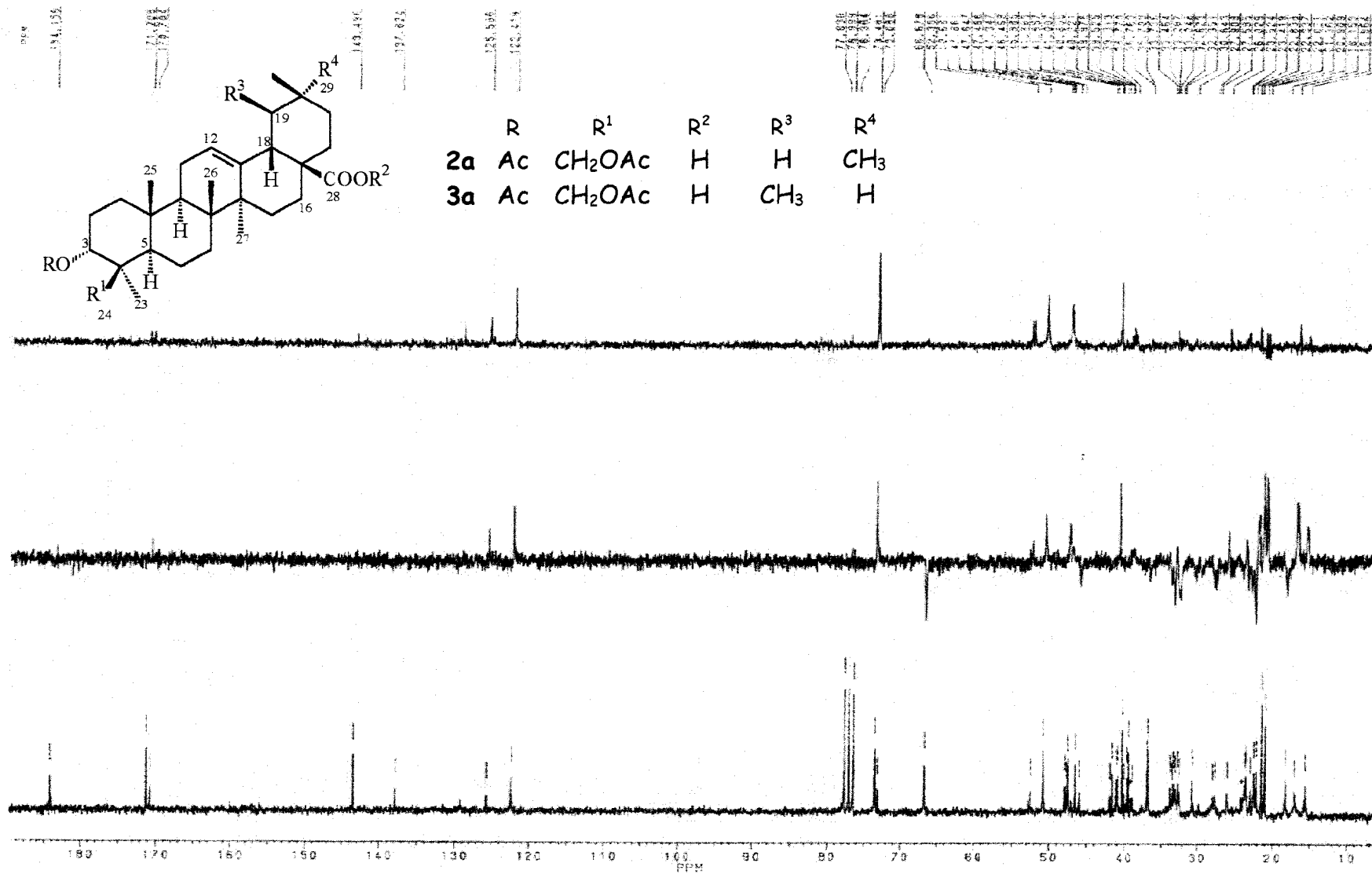


Fig. 15: Espectro de RMN de ¹³C (50,3 MHz) e DEPT (θ : 90 e 135°) das substâncias **2a** + **3a** registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

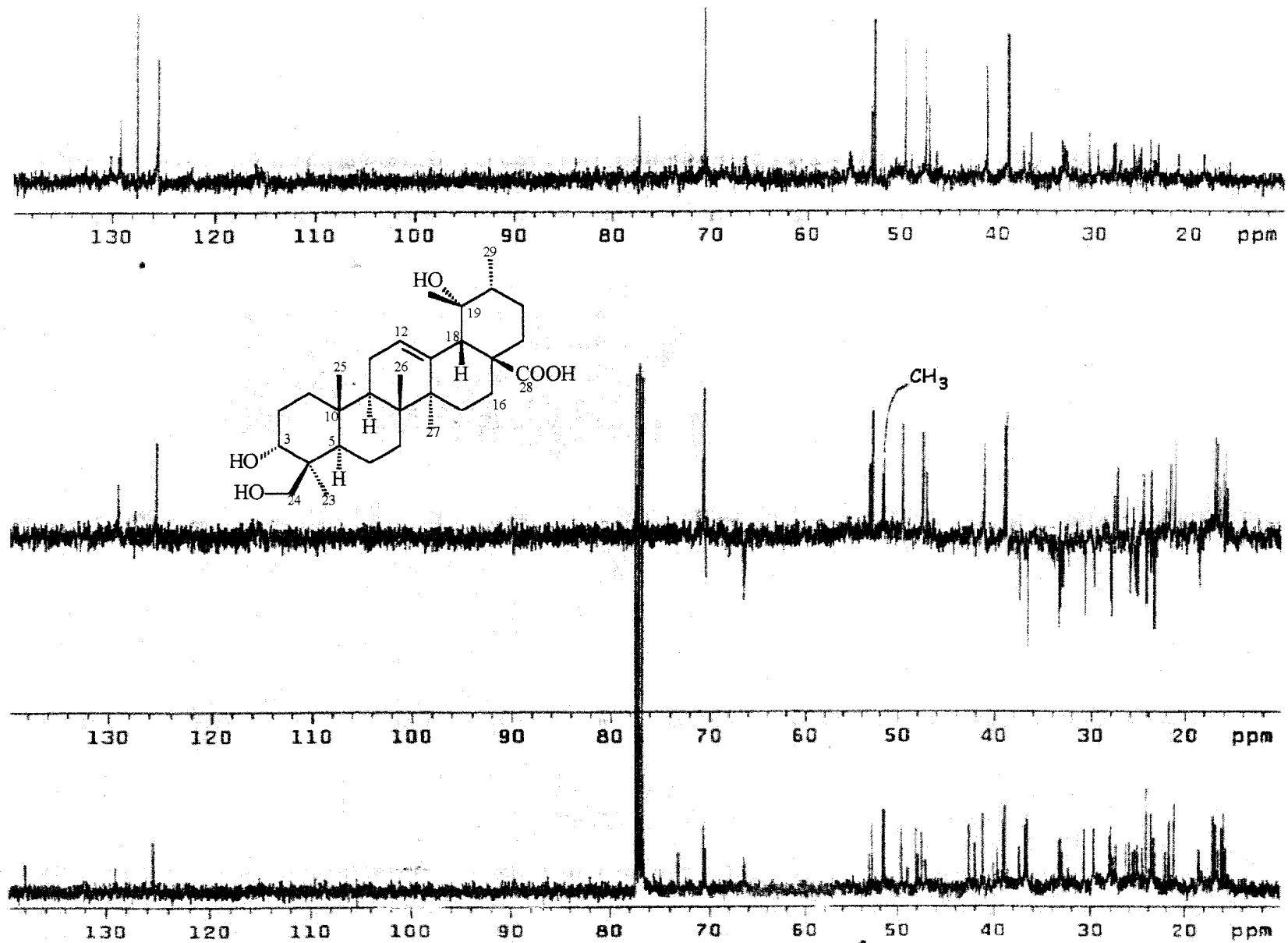


Fig. 17: Espectro de RMN de ^{13}C (100,6 MHz, CDCl_3) DEPT (θ : 90 e 135°) da substância 4 registrado em CDCl_3 .

LAHM-102-Me
 OBSERVE C13
 FREQUENCY 100.528 MHz
 SPECTRAL WIDTH 25000.0 Hz
 ACQUISITION TIME 1.139 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 8.2 usec
 AMBIENT TEMPERATURE
 NO. REPETITIONS 1152
 DECOUPLE H1
 HIGH POWER 36
 DECOUPLER CONTINUOUSLY ON

DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 LINE BROADENING 1.0 Hz
 FT SIZE 65536
 TOTAL ACQUISITION TIME 42 minutes
 Apr 17 97
 Virginia Tech STC NMR Facility

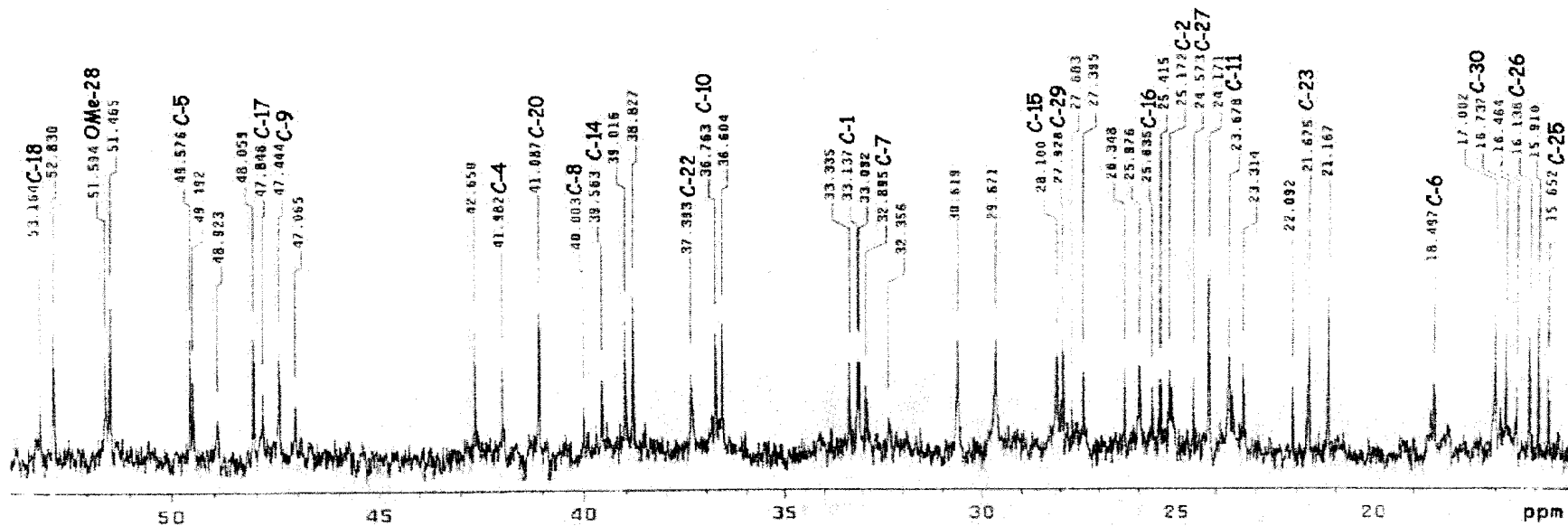
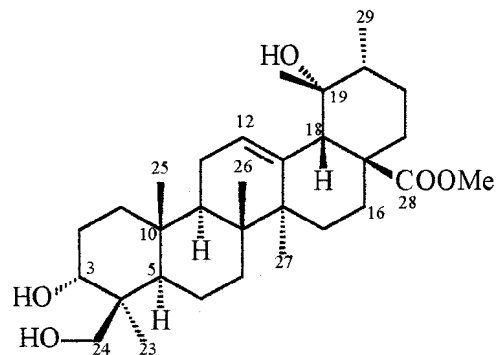
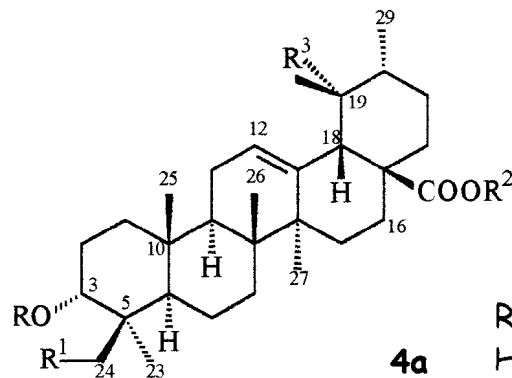


Fig 18: Espectro de RMN de ^{13}C (100,6 MHz,) da substância **4a** totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

LAHM-102-Me
 OBSERVE C13
 FREQUENCY 100.578 MHz
 SPECTRAL WIDTH 25000.0 Hz
 ACQUISITION TIME 1.188 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 6.2 usec
 AMBIENT TEMPERATURE
 NO. REPETITIONS 1152
 DECOUPLE H1
 HIGH POWER 36
 DECOUPLER CONTINUOUSLY ON

DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 LINE BROADENING 1.0 Hz
 FT SIZE 65536
 TOTAL ACQUISITION TIME 42 minutes
 Apr 17 97
 Virginia Tech STC NMR Facility



	R	R ¹	R ²	R ³
4a	H	OH	CH ₃	OH
3a	H	OH	CH ₃	H

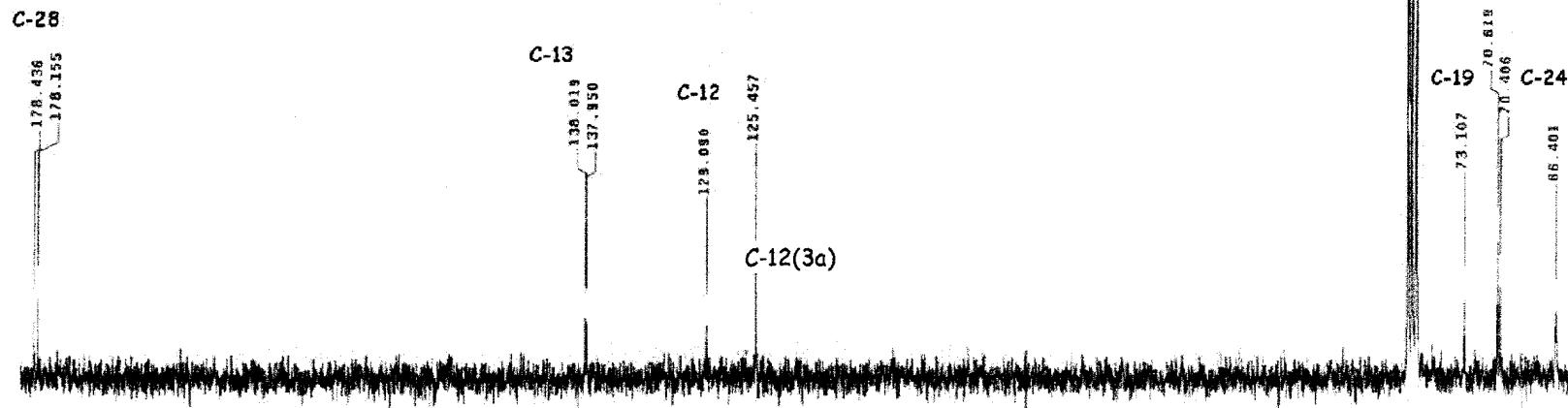


Fig 19: Espectro de RMN de ¹³C (100,6 MHz,) da substância **4a** + **3a** (expandido) totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

LAFMM-142-Acme-1
 OBSERVE H1
 FREQUENCY 399.951 MHz
 SPECTRAL WIDTH 5000.0 Hz
 ACQUISITION TIME 3.244 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 3.4 usec
 AMBIENT TEMPERATURE
 NO. REPETITIONS 32
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 FT SIZE 65536
 TOTAL ACQUISITION TIME 2 minutes
 Jun 12 97
 Virginia Tech STC NMR Facility

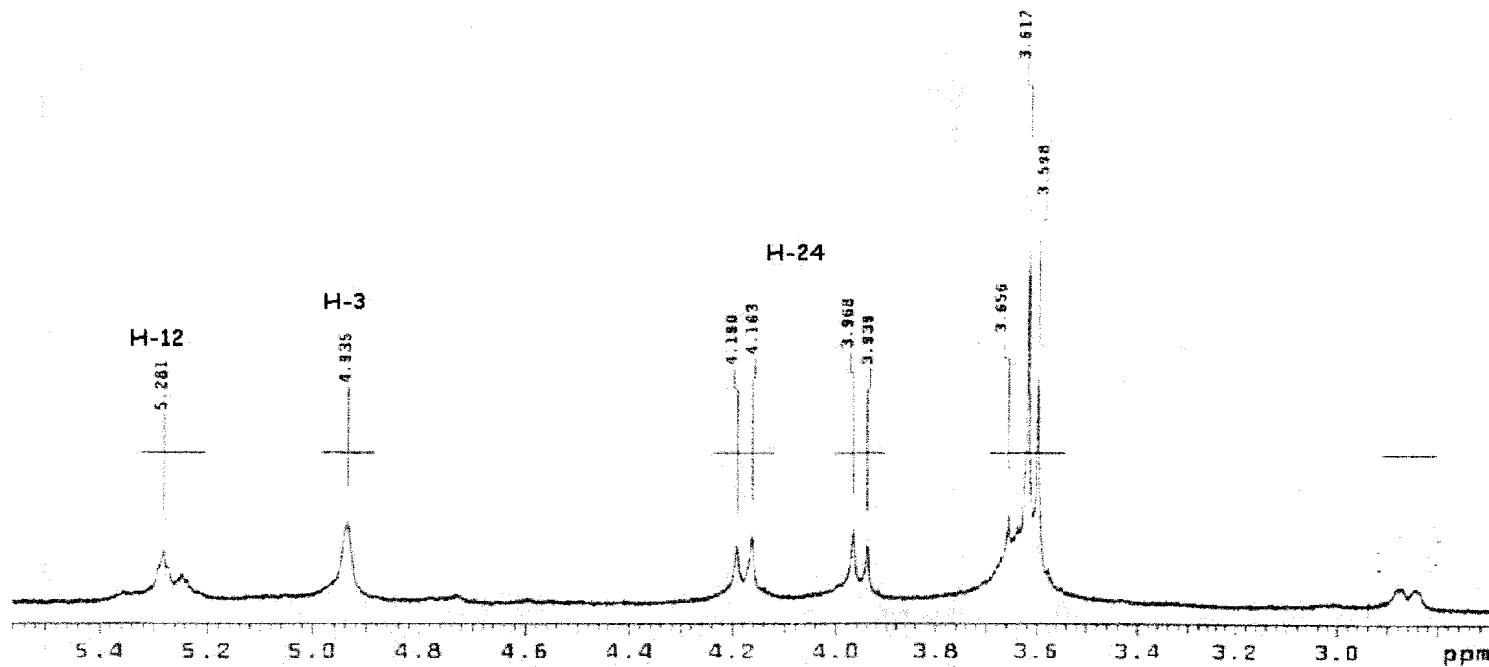
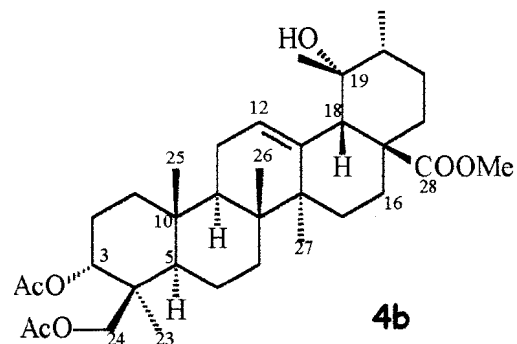
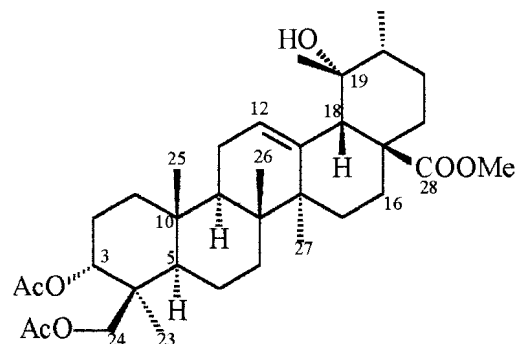


Fig. 20: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) da substância **4b** (expandido) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

LAFM-102-Ac-Me
 OBSERVE H1
 FREQUENCY 399.951 MHz
 SPECTRAL WIDTH 5000.0 Hz
 ACQUISITION TIME 3.744 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 2.1 usec
 AMBIENT TEMPERATURE
 NO. REPETITIONS 32
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 FT SIZE 65536
 TOTAL ACQUISITION TIME 2 minutes
 May 4 97
 Virginia Tech STC NMR facility



4b

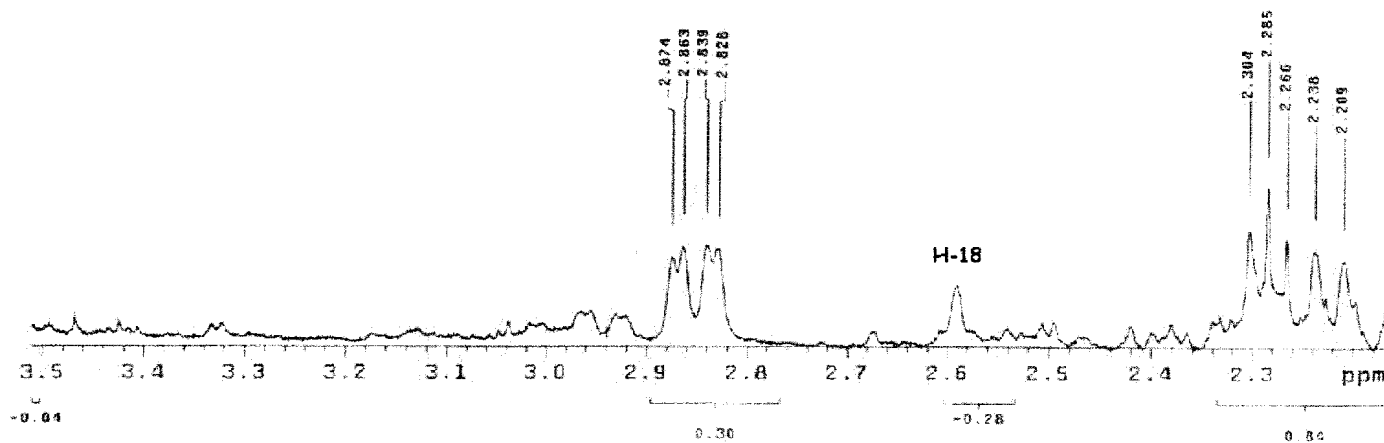


Fig. 21: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) da substância **4b** (expandido) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

STANDARD-AH-OBSERVE
 OBSERVE H1
 OBSERVE FREQ 399.851 MHz
 ACQUISITION FREQ 500.136 MHz
 ACQUISITION TIME 0.05744 sec
 RELAXATION DELAY 2.000 sec
 RELAXATION DELAY 0.000 sec
 RESOLUTION 0.000 Hz
 RESOLUTION 0.000 Hz
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 TOTAL ACQUISITION TIME 2 minutes
 REAL ACQUISITION TIME 2 minutes
 Virginia Tech STC NMR Facility

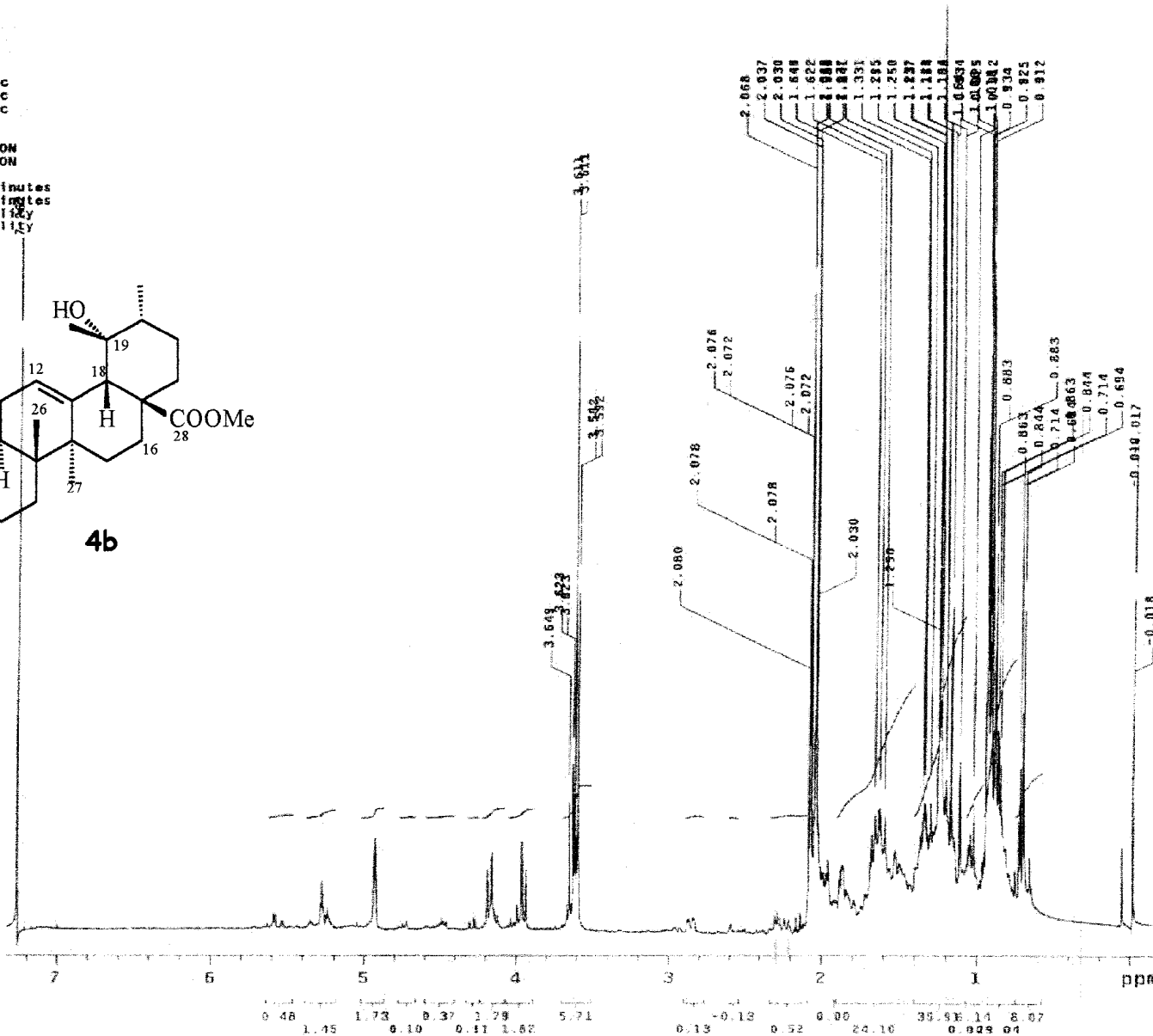
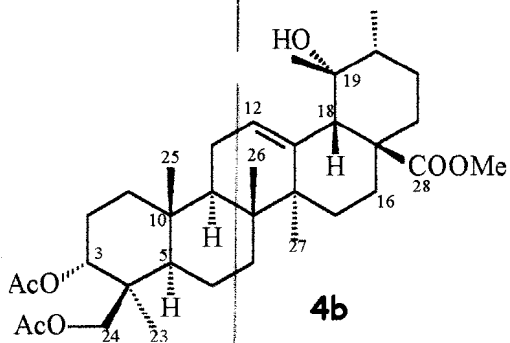


Fig. 22: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) da substância **4b** registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

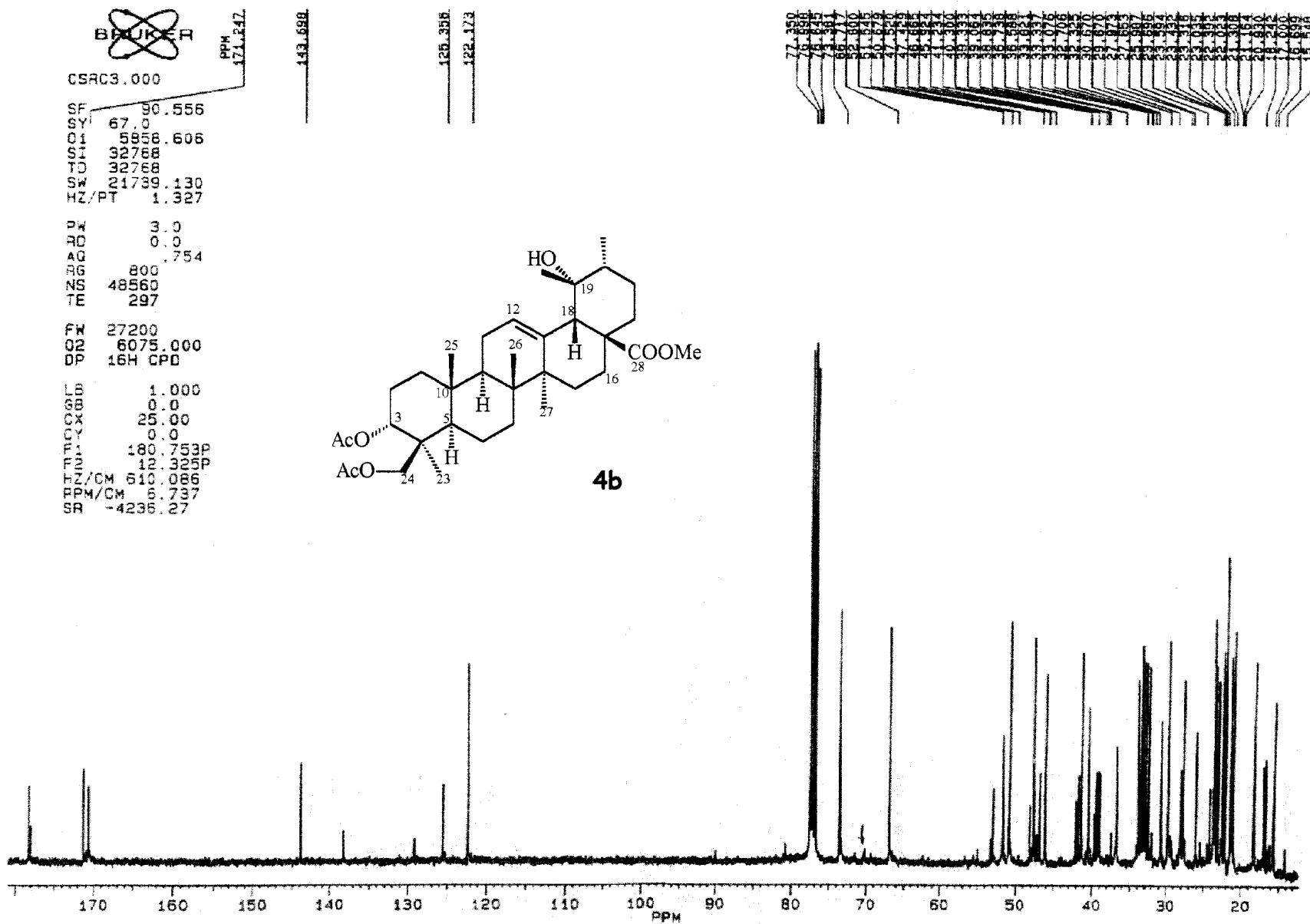


Fig 23: Espectro de RMN de ^{13}C (100,6 MHz,) da substância **4b** totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

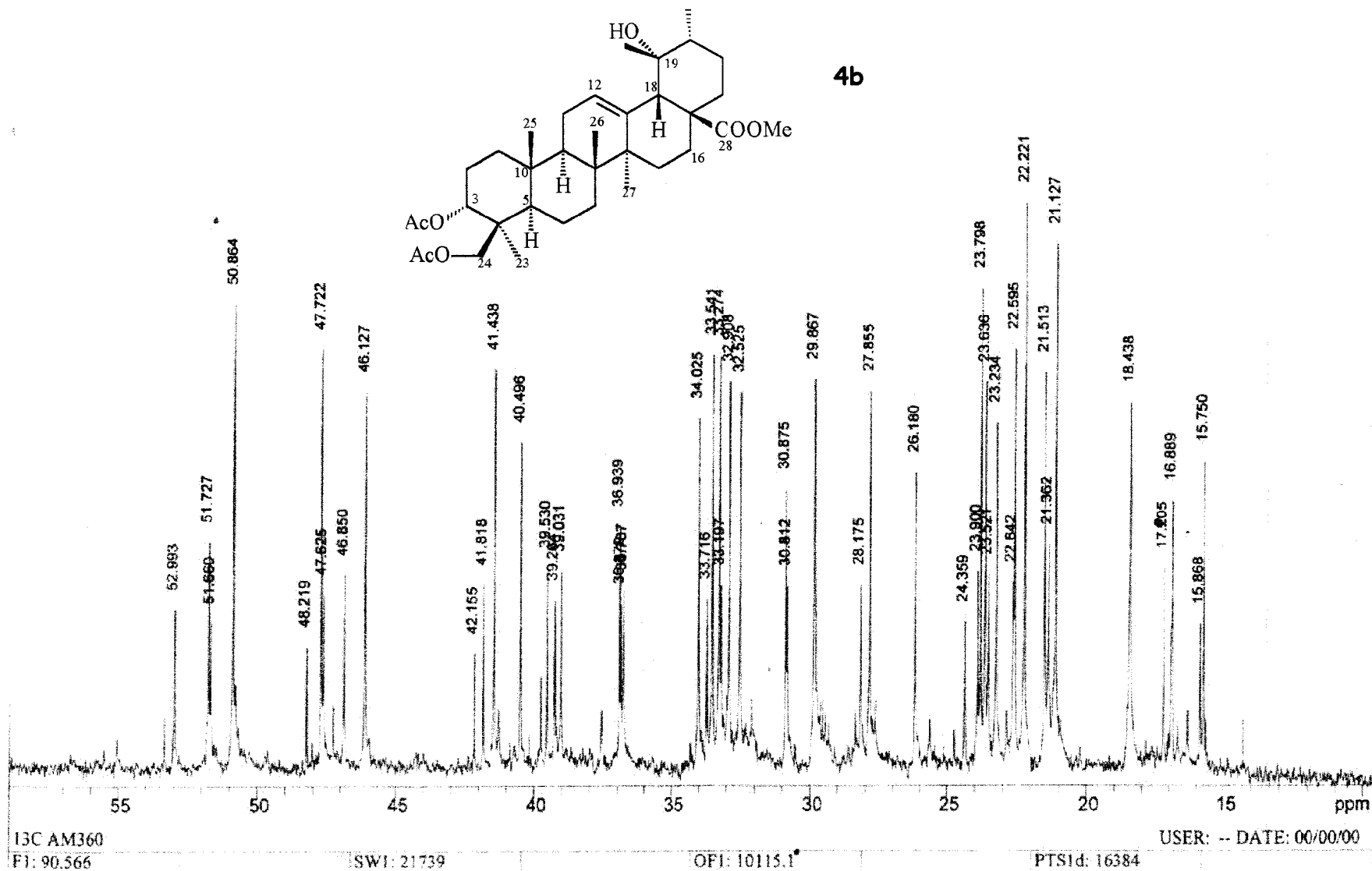


Fig 24: Espectro de RMN de ^{13}C (100,6 MHz) da substância **4b** (expandido) totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

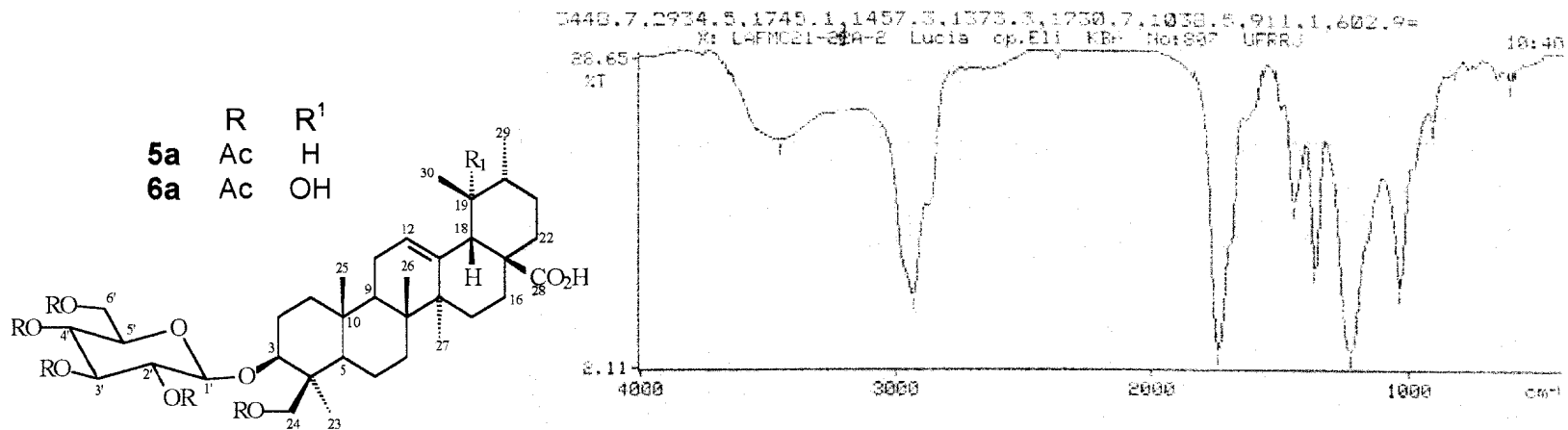


Fig. 25: Espectro de IV das substâncias **5a** + **6a** em KBr.

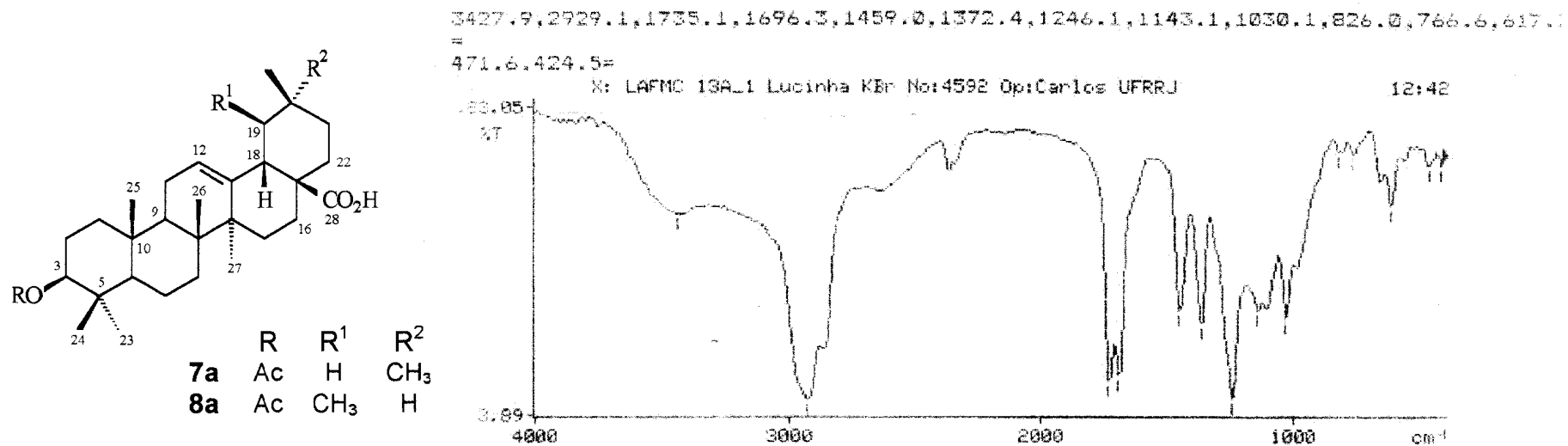


Fig. 26: Espectro de IV das substâncias **7a** + **8a** em KBr.

LAB RMN UFPA
 MARIO CARVALHO
 UFPA
 LAFMC 21A-2 (CDCL3)
 RMN 243C98
 OPERADOR MARCAL
 15.06.98

AMOSTRA= 30,8 MG

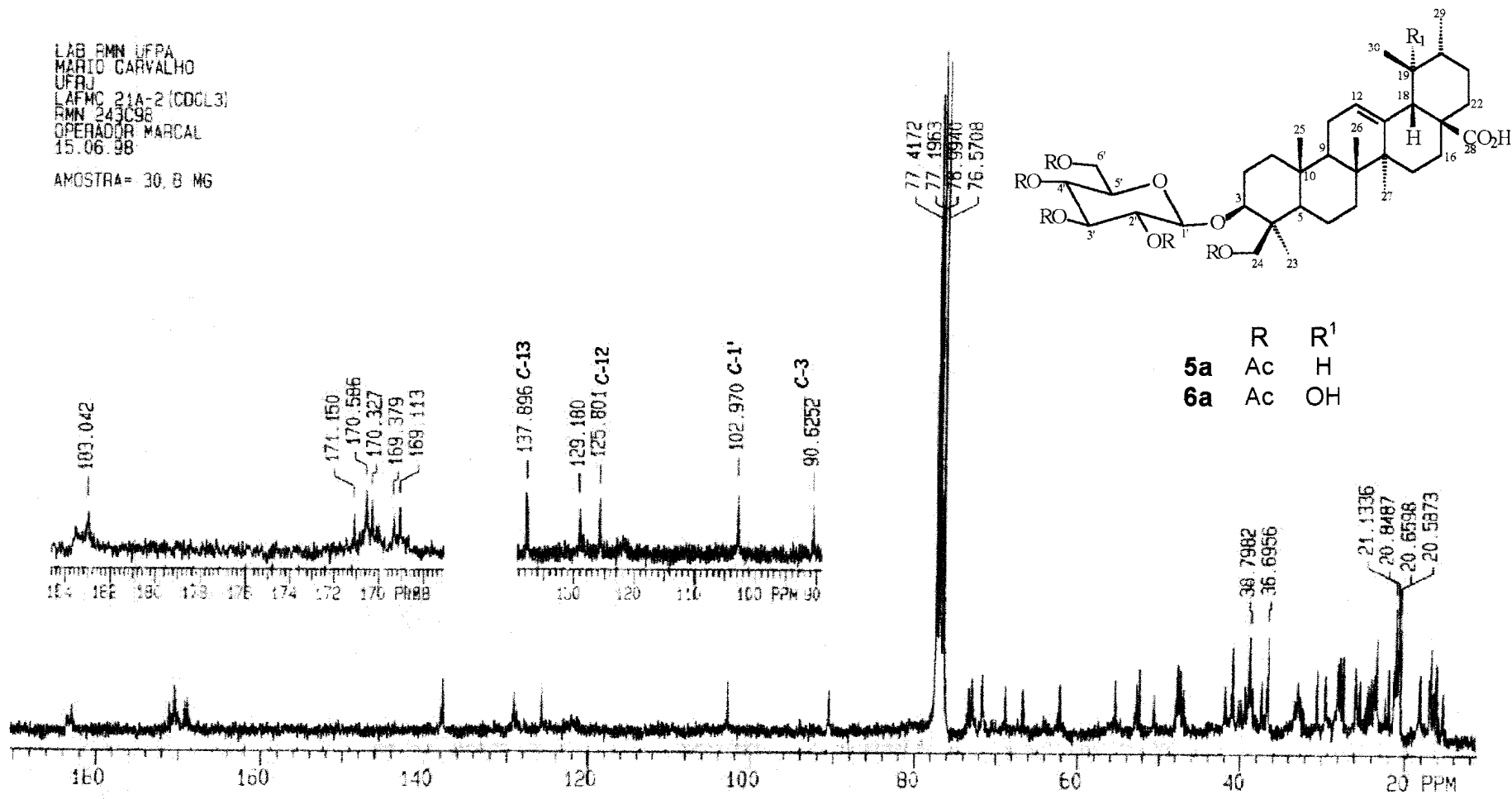


Fig 27: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz,) das substâncias **5a** + **6a** totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

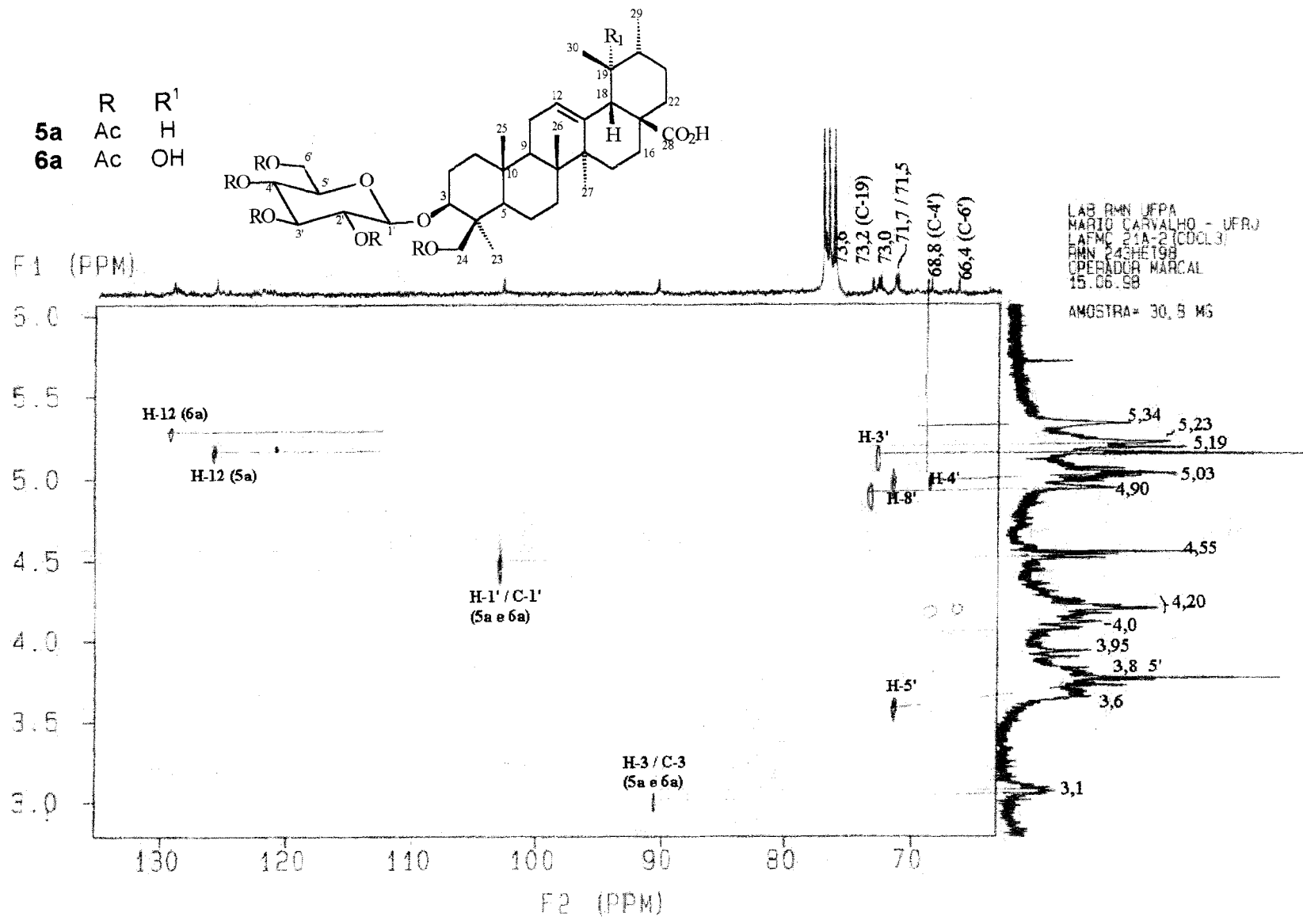


Fig. 28: Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ das substâncias **5a** + **6a** registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

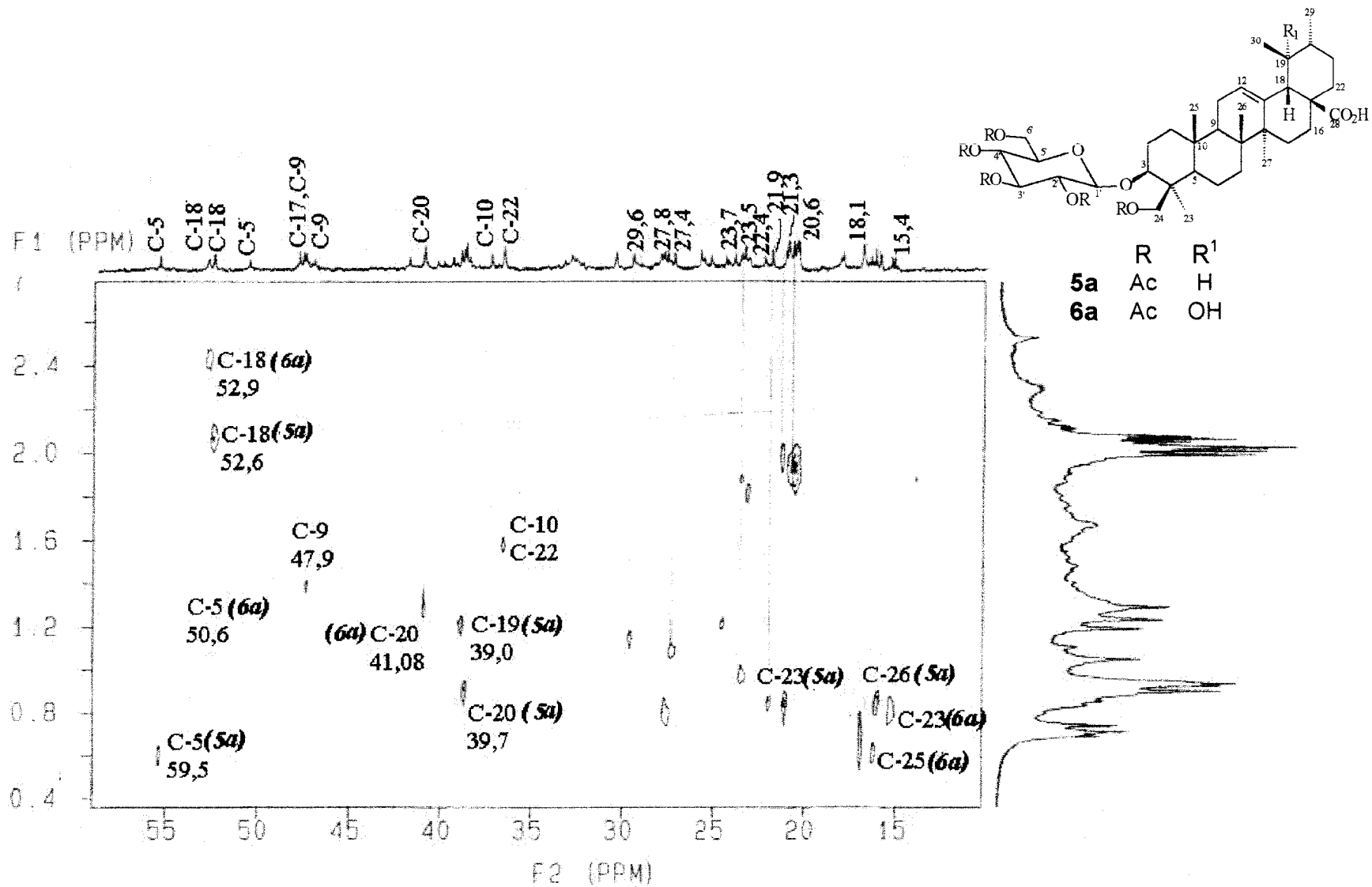


Fig. 29: Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY- $^1J_{\text{CH}}$ (expandido) das substâncias **5a** + **6a** registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

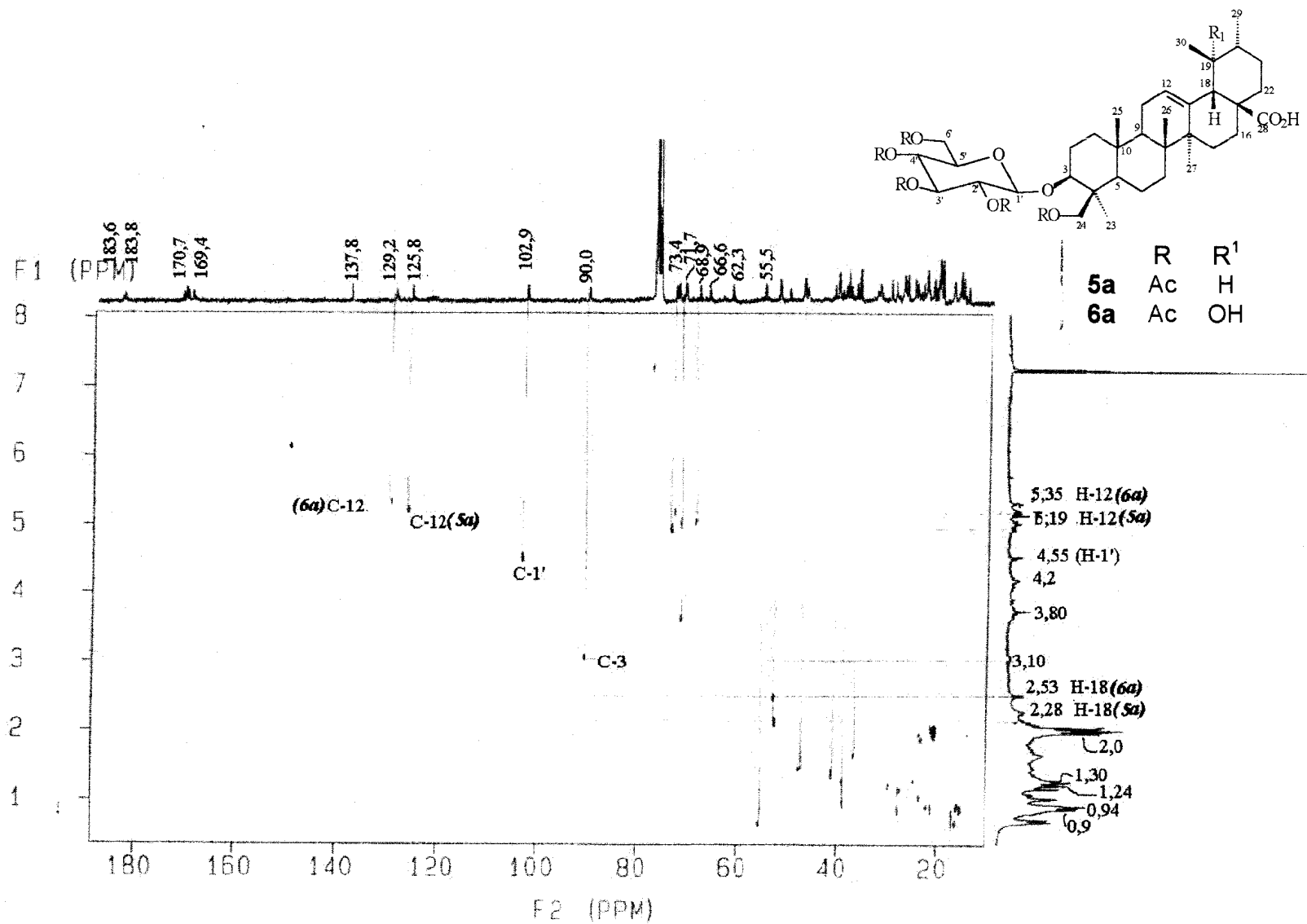


Fig. 30: Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY- $^1J_{\text{CH}}$ (expandido) das substâncias **5a** + **6a** registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

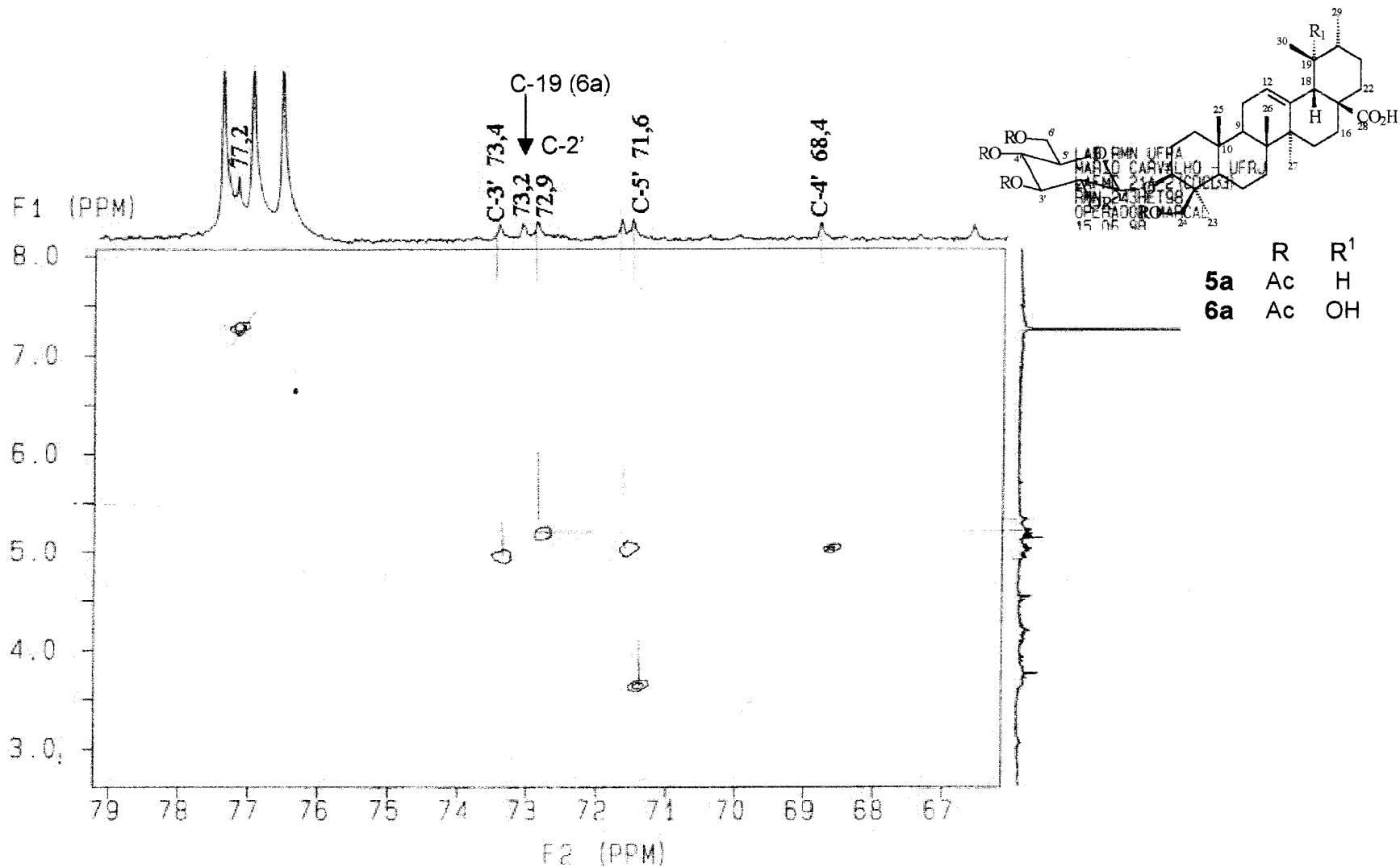


Fig. 31: Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ (expandido) das substâncias **5a** + **6a** registrado em CDCl_3 TMS como referência interna.

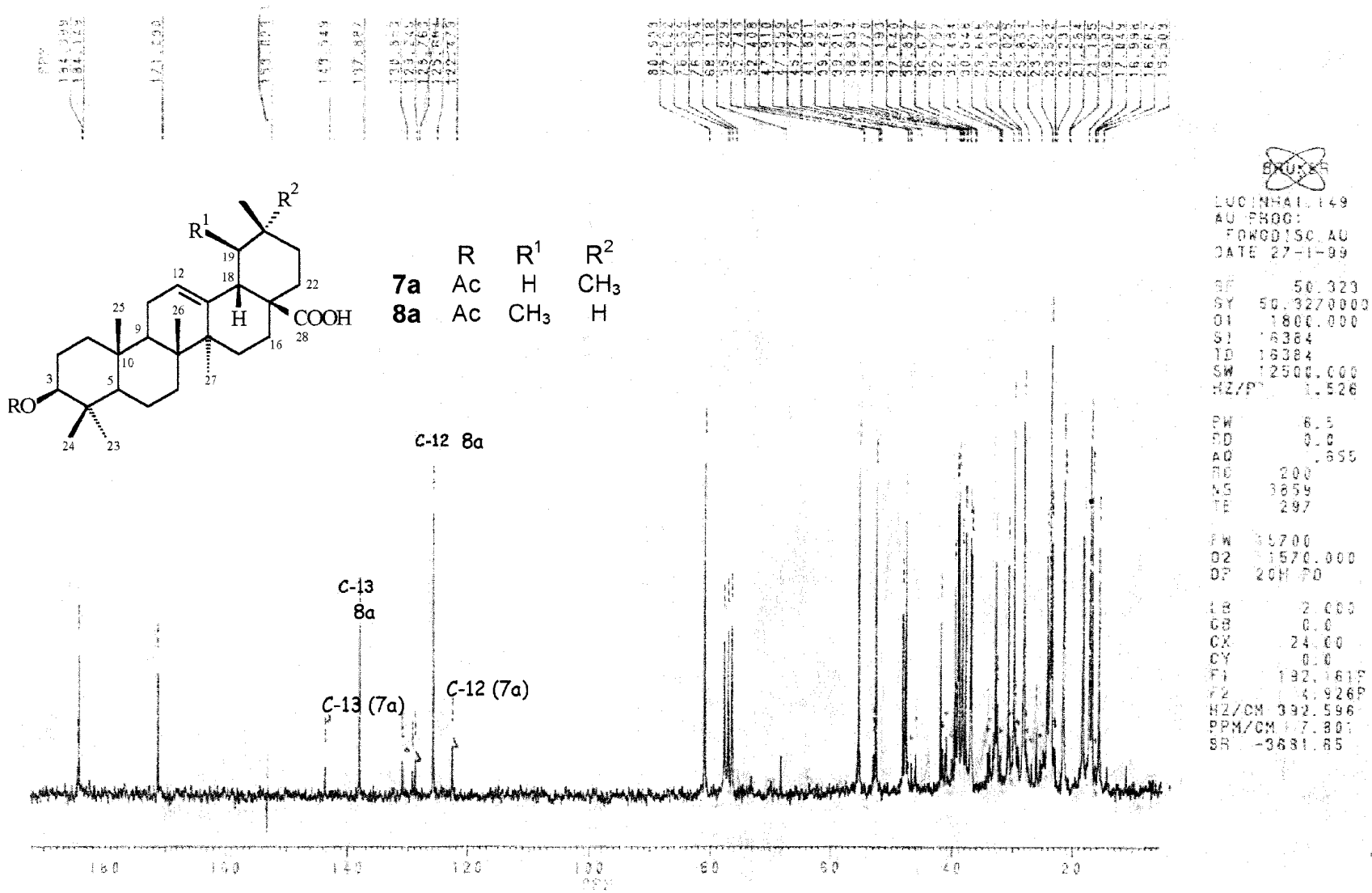
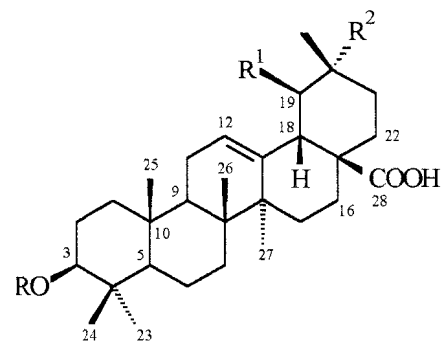


Fig 32: Espectro de RMN de ¹³C (50,3 MHz,) das substâncias 7a + 8a totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



	R	R ¹	R ²
7a	Ac	H	CH ₃
8a	Ac	CH ₃	H

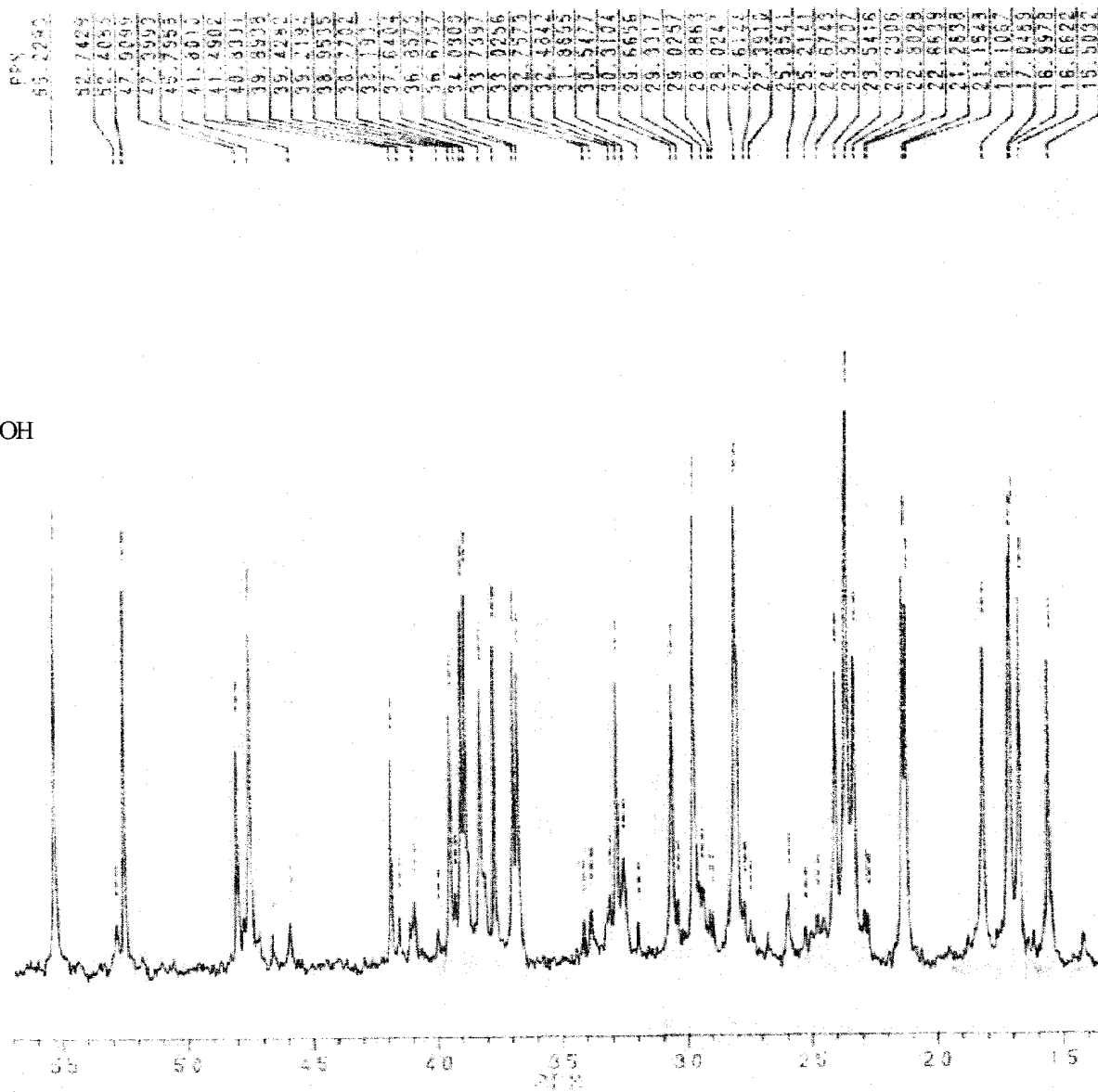


Fig 33: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz),(expandido) das substâncias **7a** + **8a** totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

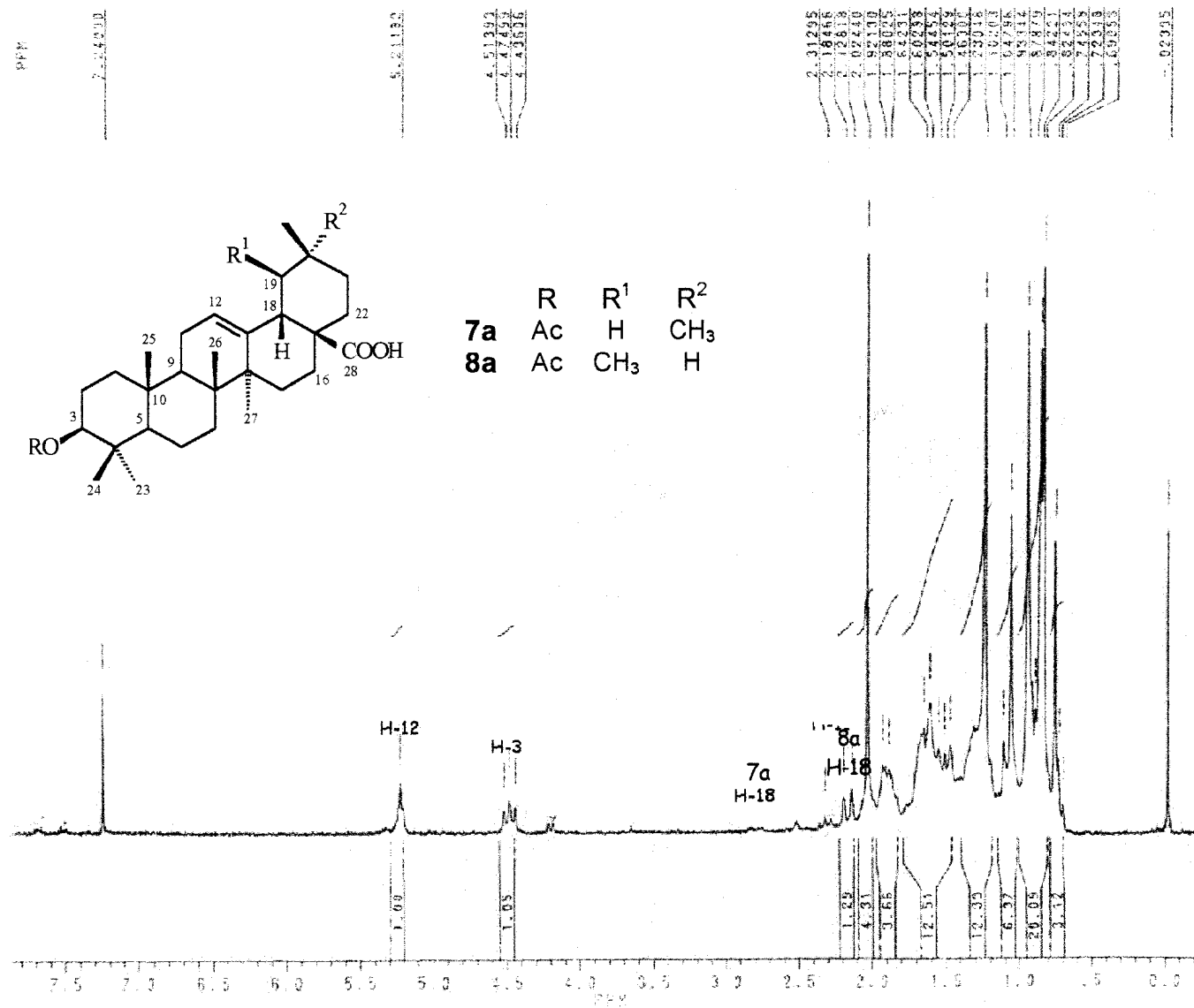
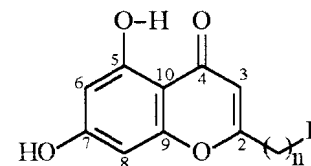
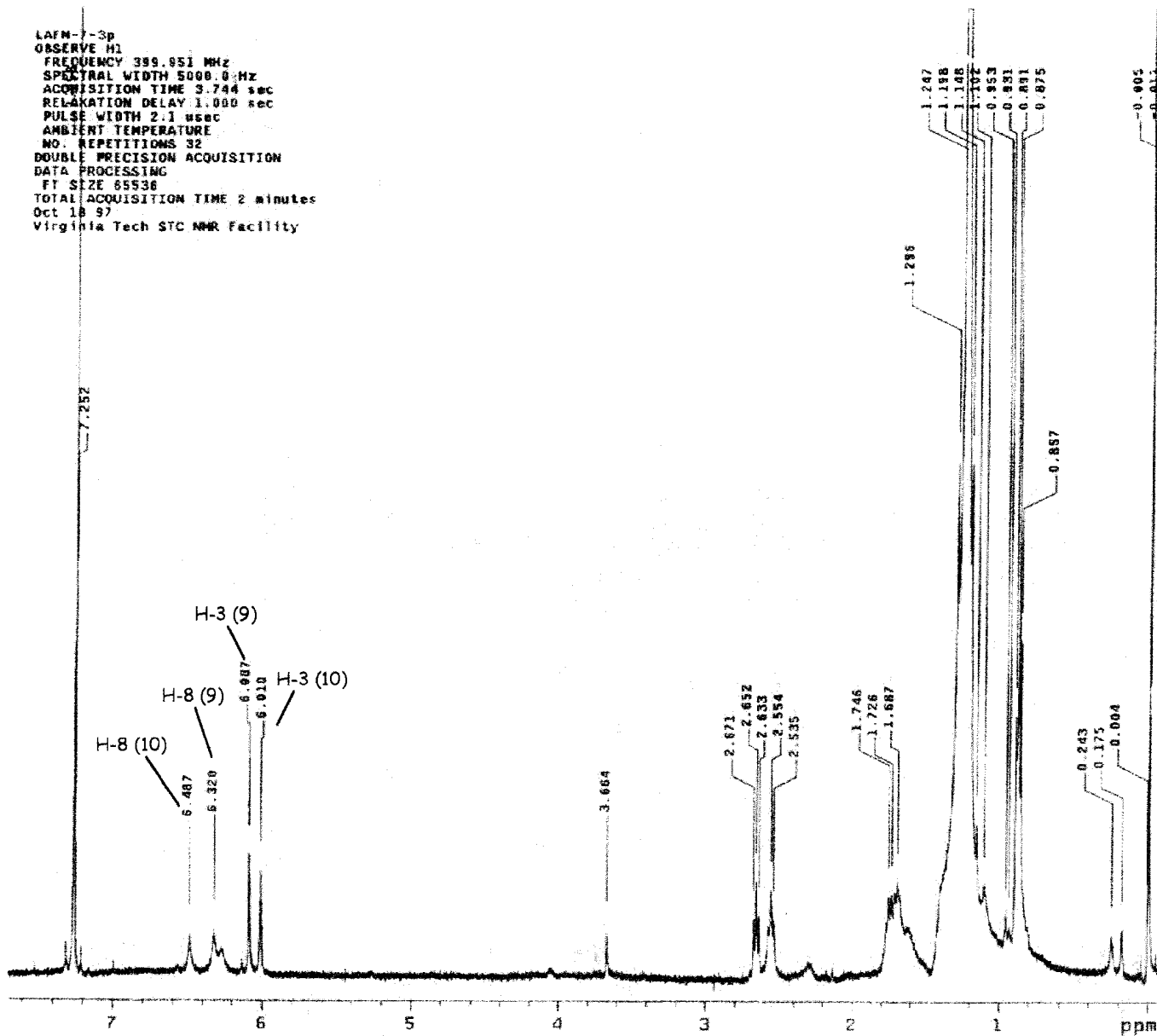


Fig. 34: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) das substâncias **7a** + **8a** registrado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

LAFM-7-3p
 OBSERVE H1
 FREQUENCY 399.951 MHz
 SPECTRAL WIDTH 5000.0 Hz
 ACQUISITION TIME 3.744 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 2.1 usec
 AMBIENT TEMPERATURE
 NO. REPETITIONS 32
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 FT SIZE 85936
 TOTAL ACQUISITION TIME 2 minutes
 Oct 18 97
 Virginia Tech STC NMR Facility



9

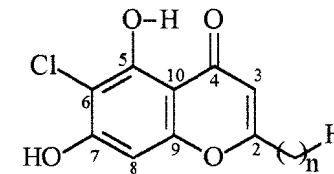
n Fórmula

9₁: 32, C₄₁H₇₀O₄

9₂: 31, C₄₀H₆₈O₄

9₃: 30, C₃₉H₆₆O₄

9₄: 29, C₃₈H₆₄O₄



10

n Fórmula

10₁: 32, C₄₁H₆₉O₄Cl

10₂: 31, C₄₀H₆₇O₄Cl

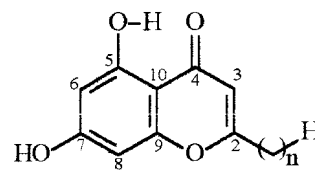
10₃: 30, C₃₉H₆₅O₄Cl

10₄: 29, C₃₈H₆₃O₄Cl

Fig. 35: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) (expandido) das substâncias 9₁₋₄ + 10₁₋₄ registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

Bruker Data

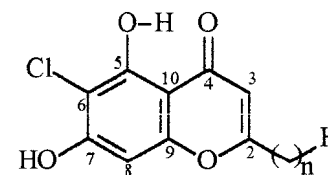
PULSE SEQUENCE bruker
 OBSERVE UNKNOWN
 FREQUENCY 360.140 MHz
 SPECTRAL WIDTH 8024.1 Hz
 ACQUISITION TIME 5.439 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 6.0 usec
 FIRST PULSE WIDTH 12.2 usec
 TEMPERATURE 24.0 deg. C
 NO. REPETITIONS 64
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 FT SIZE 55536
 TOTAL ACQUISITION TIME 6 minutes
 04-17-97
 Virginia Tech STC NMR Facility



9

n Fórmula

- 9₁: 32, C₄₁H₇₀O₄
- 9₂: 31, C₄₀H₆₈O₄
- 9₃: 30, C₃₉H₆₆O₄
- 9₄: 29, C₃₈H₆₄O₄



10

n Fórmula

- 10₁: 32, C₄₁H₆₉O₄Cl
- 10₂: 31, C₄₀H₆₇O₄Cl
- 10₃: 30, C₃₉H₆₅O₄Cl
- 10₄: 29, C₃₈H₆₃O₄Cl

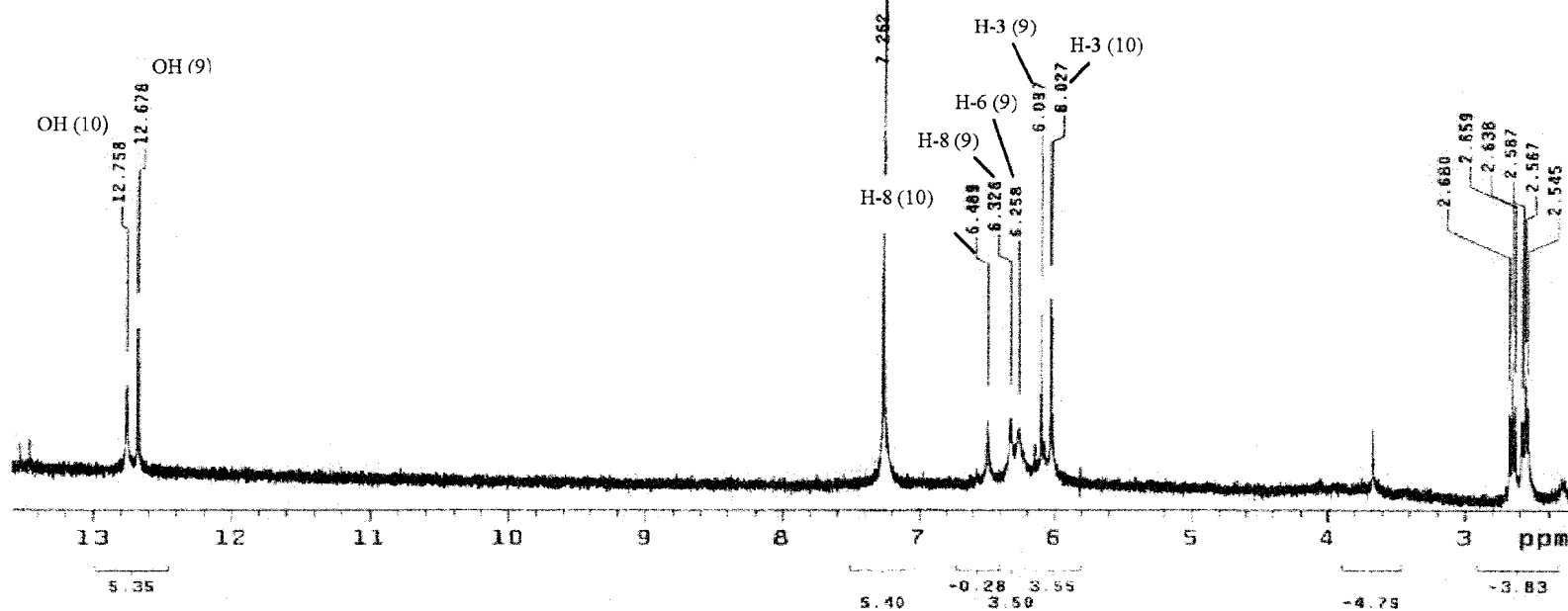
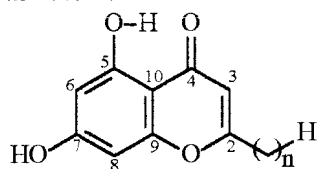


Fig. 36: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) das substâncias 9₁₋₄ + 10₁₋₄ registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

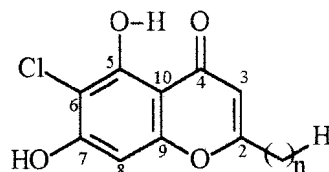
LAFM-7-3p
 PULSE SEQUENCE bruker
 OBSERVE UNKNOWN
 FREQUENCY 80.562 MHz
 SPECTRAL WIDTH 21739.1 Hz
 ACQUISITION TIME 0.754 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 3.0 usec
 FIRST PULSE WIDTH 12.5 usec
 TEMPERATURE 24.0 deg. C.



9

n Fórmula

- 9₁: 32, C₄₁H₇₀O₄,
- 9₂: 31, C₄₀H₆₈O₄,
- 9₃: 30, C₃₉H₆₆O₄,
- 9₄: 29, C₃₈H₆₄O₄,



10

n Fórmula

- 10₁: 32, C₄₁H₆₉O₄Cl,
- 10₂: 31, C₄₀H₆₇O₄Cl,
- 10₃: 30, C₃₉H₆₅O₄Cl,
- 10₄: 29, C₃₈H₆₃O₄Cl,

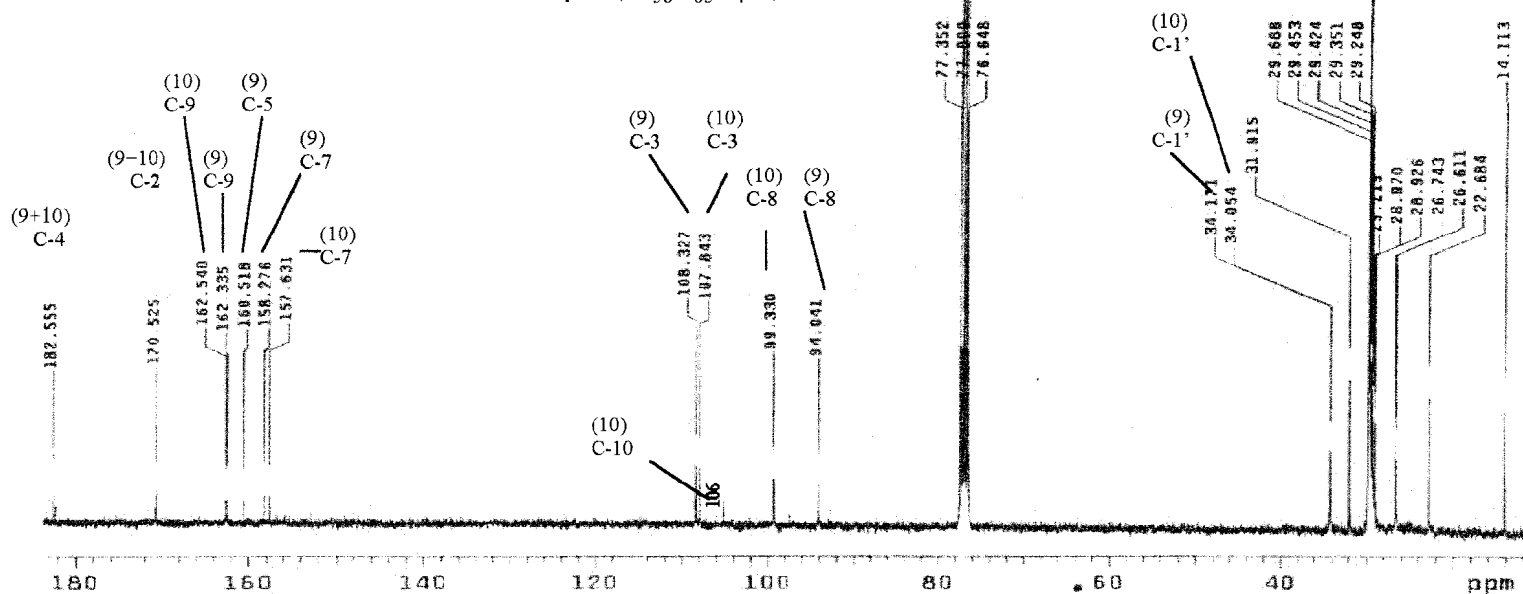
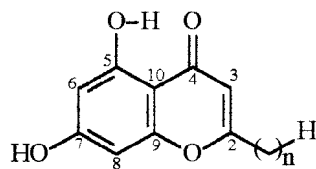
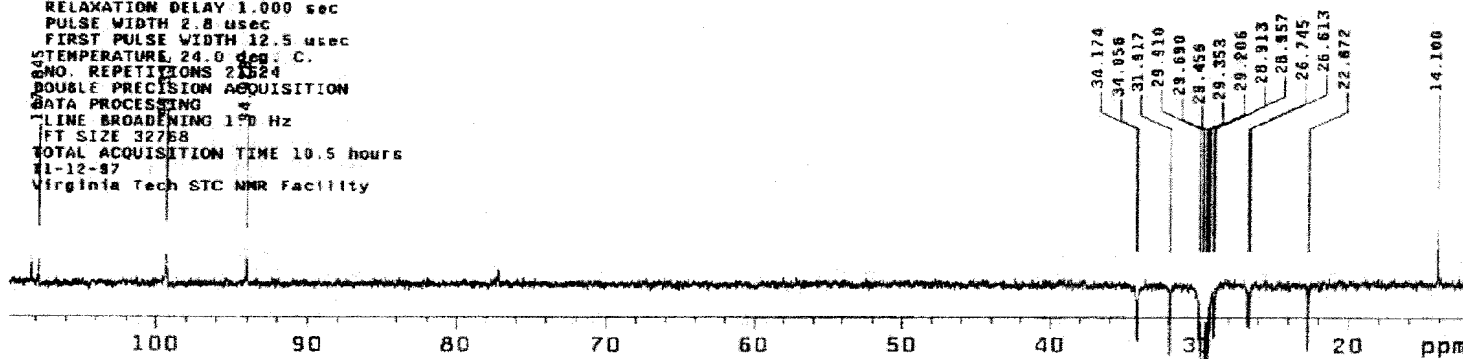


Fig. 37: Espectro de RMN de ¹³C (100,6 MHz,) das substâncias 9₁₋₄ + 10₁₋₄ totalmente desacoplados (PND) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

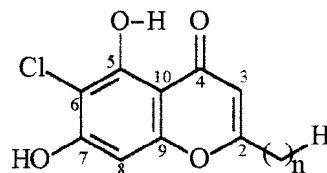
LAFM-7-3p
 PULSE SEQUENCE bruker
 OBSERVE UNKNOWN
 FREQUENCY 90.562 MHz
 SPECTRAL WIDTH 21739.1 Hz
 ACQUISITION TIME 0.754 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 2.8 usec
 FIRST PULSE WIDTH 12.5 usec
 TEMPERATURE 24.0 deg. C.
 SMO REPEATITIONS 21524
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 LINE BROADENING 170 Hz
 FT SIZE 32768
 TOTAL ACQUISITION TIME 10.5 hours
 11-12-97
 Virginia Tech STC NMR Facility



9

n Fórmula

- 9₁: 32, C₄₁H₇₀O₄,
- 9₂: 31, C₄₀H₆₈O₄,
- 9₃: 30, C₃₉H₆₆O₄,
- 9₄: 29, C₃₈H₆₄O₄,



10

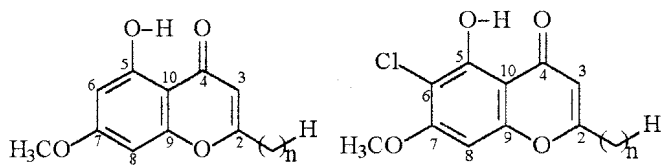
n Fórmula

- 10₁: 32, C₄₁H₆₉O₄Cl,
- 10₂: 31, C₄₀H₆₇O₄Cl,
- 10₃: 30, C₃₉H₆₅O₄Cl,
- 10₄: 29, C₃₈H₆₃O₄Cl,

100 90 80 70 60 50 40 30 20 ppm

Fig. 38: Espectro de RMN de ¹³C (100,6 MHz, CDCl₃) DEPT (θ: 135°) das substâncias 9₁₋₄ + 10₁₋₄.

LARM-7-3p Me
 OBSERVE H1
 FREQUENCY 399.952 MHz
 SPECTRAL WIDTH 8339.8 Hz
 ACQUISITION TIME 3.745 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 2.1 usec
 AMBIENT TEMPERATURE
 NO. REPETITIONS 32
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 FT SIZE 65536
 TOTAL ACQUISITION TIME 2 minutes
 Nov 29 97
 Virginia Tech STC NMR Facility



9a

n Fórmula
9a₁: 32, C₄₂H₇₂O₄,
9a₂: 31, C₄₁H₇₀O₄,
9a₃: 30, C₄₀H₆₈O₄,
9a₄: 29, C₃₉H₆₆O₄,

10a

n Fórmula
10a₁: 32, C₄₂H₇₁O₄Cl,
10a₂: 31, C₄₁H₆₉O₄Cl,
10a₃: 30, C₄₀H₆₇O₄Cl,
10a₄: 29, C₃₉H₆₅O₄Cl,

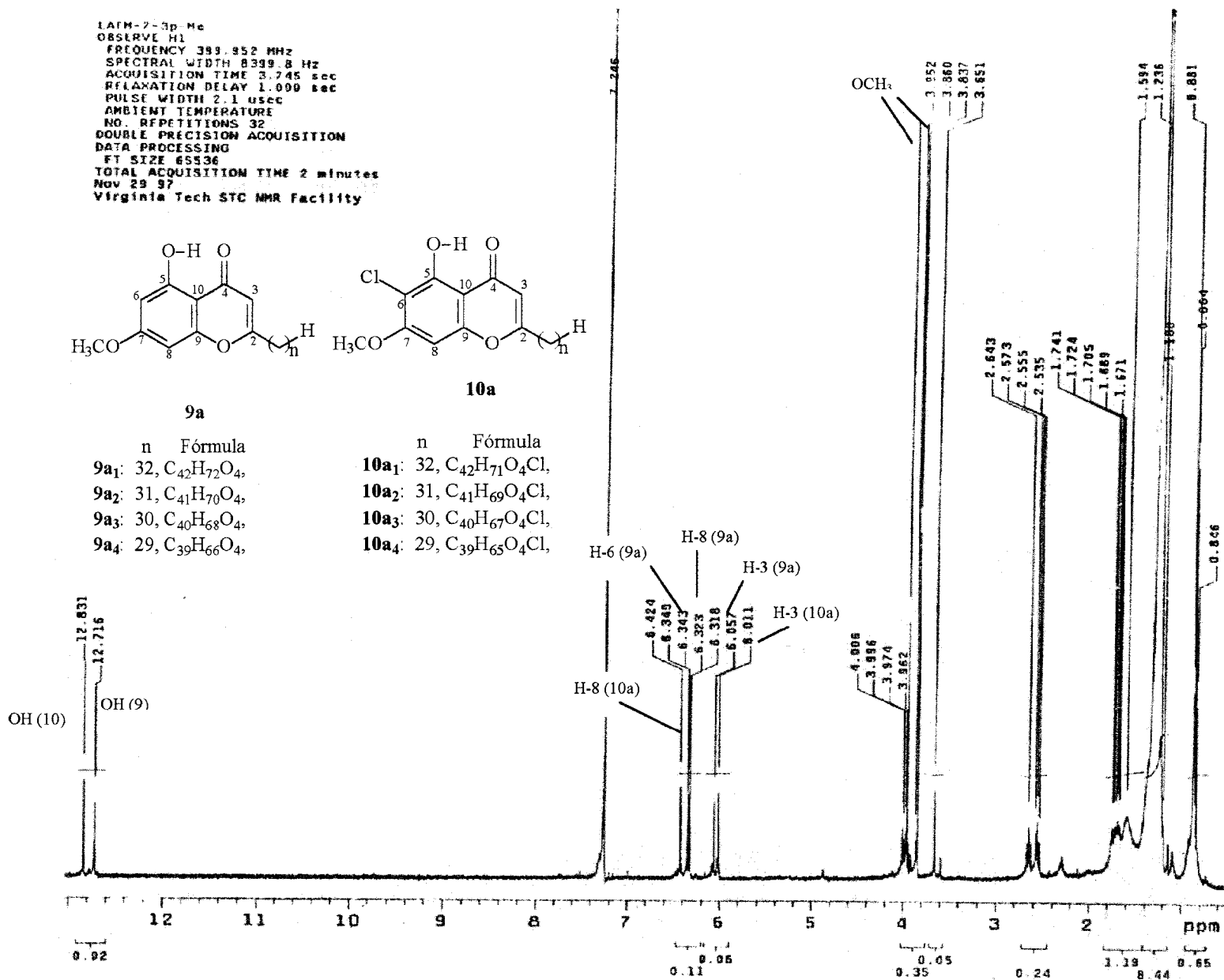
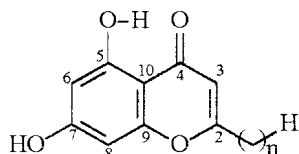


Fig. 39: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) das substâncias **9a₁₋₄** + **10a₁₋₄** registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.

```

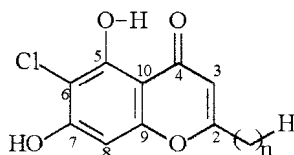
exp3 haqc
SAMPLE DEC. & VT
date Oct 23 97 dfrq 100.578
solvent CDCl3 dn C13
file /olddata/~ dpwr 30
organic/data/kings/ dof 1211.6
ton/Gar268-LAFM-7-- de nm
3p-MMBC-10-24-87 dm ccp
ACQUISITION dmf 15000
sfrq 399.952 dseq garpl
tn H1 dres 1.0
at 0.244 pwx 20.0
np 4086 pwxlvl 57
sw 8388.8 homo n
fb 4600 temp 27.0
ss 16 PROCESSING
tpwr 54 sb 0.163
pw 8.5 sbs -0.081
dl 1.200 wtfile
tof 1380.0 proc ft
nl 32 fn 4096
ct 32 math f
clock n
gain 14 werr
null 0 wexp
j 140.0 wbs
abond y wnt
tau0 0.055 2D PROCESSING
catfig nn gfl 0.040
satpw 0 gfl not used
satdy 0 wtfile
catfrq 0 procl lp
FLAGS fnl 4096
ll n
ln n
dp y
hc nn
2B ACQUISITION
swl 22629.5
nl 377
DISPLAY
sp 2237.3
wp 586.6
vs 600
sc 63
wc 120
hzmm 4.88
fs 500.00
rfl 388.9
rff 0
th 2
lms 1.000
al cdc ph
2D DISPLAY
spl 9588.2
wpl 7926.4
sc2 0
wc2 120
rfl 9
rffl -502.9

```



9

n Fórmula

9₁: 32, C₄₁H₇₀O₄,9₂: 31, C₄₀H₆₈O₄,9₃: 30, C₃₉H₆₆O₄,9₄: 29, C₃₈H₆₄O₄,

10

n Fórmula

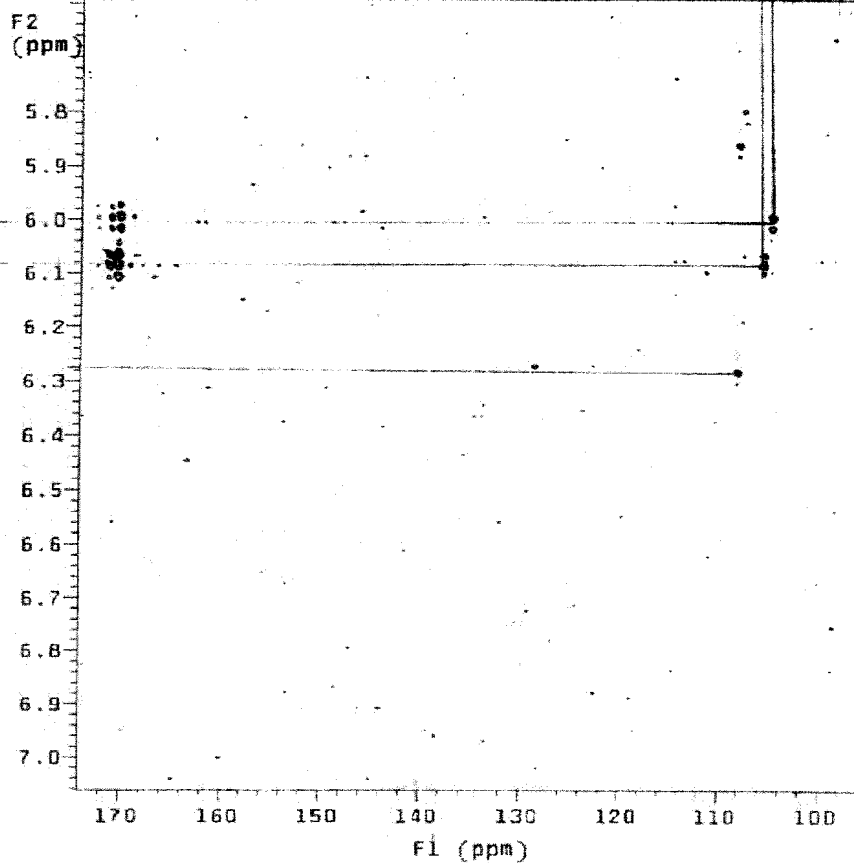
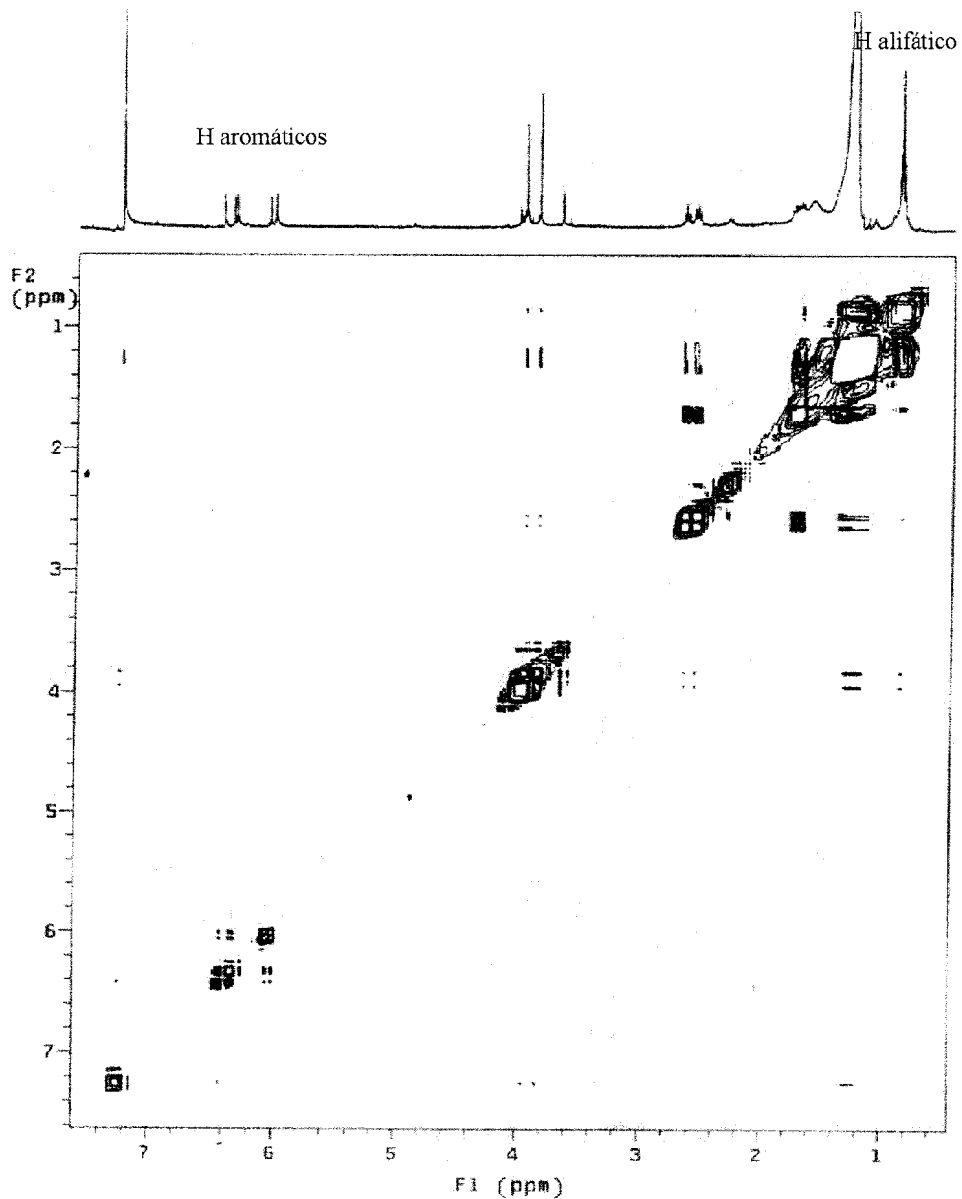
10₁: 32, C₄₁H₆₉O₄Cl,10₂: 31, C₄₀H₆₇O₄Cl,10₃: 30, C₃₉H₆₅O₄Cl,10₄: 29, C₃₈H₆₃O₄Cl,

Fig. 40: Espectro de RMN de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY (400 MHz) das substâncias 9₁₋₄ + 10₁₋₄ (expandido) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



STANDARD IN OBSERVE

exp3 relayh

SAMPLE
 date Nov 29 97
 solvent CDCl3
 file /home/org-
 anic/date/kingston-
 /Ger189-LAFM-7-3pM-
 e-COSY-11-29-97

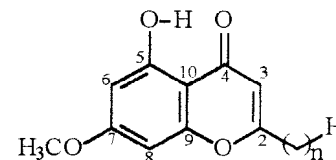
ACQUISITION
 sfrq 399.452
 tn H1
 at 0.244
 np 4096
 sw 6389.8
 fb 4600
 bs 8
 ss 2
 tpwr 54
 pw 8.5
 pl 8.5
 dl 1.000
 tof 1380.0
 nt 8
 ct 8
 tau 0
 relay 0
 alock n
 gain 12

FLAGS
 fi n
 in n
 dp y
 hc nn

2D ACQUISITION
 sw1 8239.8
 n1 512
 phase 0

DISPLAY
 sp 162.2
 wp 2884.7
 vs 500
 sc 80
 wc 140
 hzmm 20.81
 is 500.00
 rfi 0
 rfp -400.0
 th 4
 ins 1.000

ai cdc av
 2D DISPLAY
 spl 174.5
 wpl 2884.3
 sc2 8
 wc2 140
 rfi1 0
 rfp1 -400.0



9a

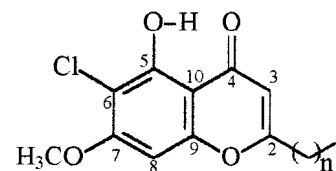
n Fórmula

9a₁: 32, C₄₂H₇₂O₄,

9a₂: 31, C₄₁H₇₀O₄,

9a₃: 30, C₄₀H₆₈O₄,

9a₄: 29, C₃₉H₆₆O₄,



10a

n Fórmula

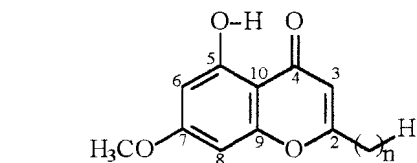
10a₁: 32, C₄₂H₇₁O₄Cl,

10a₂: 31, C₄₁H₆₉O₄Cl,

10a₃: 30, C₄₀H₆₇O₄Cl,

10a₄: 29, C₃₉H₆₅O₄Cl,

Fig. 41: Espectro de RMN de ¹H x ¹H – COSY (400 MHz) das substâncias 9a₁₋₄ + 10a₁₋₄ registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna.



9a

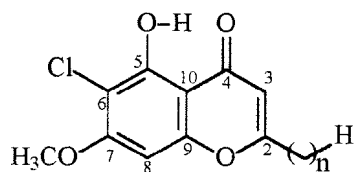
n Fórmula

9a₁: 32, C₄₂H₇₂O₄

9a₂: 31, C₄₁H₇₀O₄

9a₃: 30, C₄₀H₆₈O₄

9a₄: 29, C₃₉H₆₆O₄



10a

n Fórmula

10a₁: 32, C₄₂H₇₁O₄Cl

10a₂: 31, C₄₁H₆₉O₄Cl

10a₃: 30, C₄₀H₆₇O₄Cl

10a₄: 29, C₃₉H₆₅O₄Cl

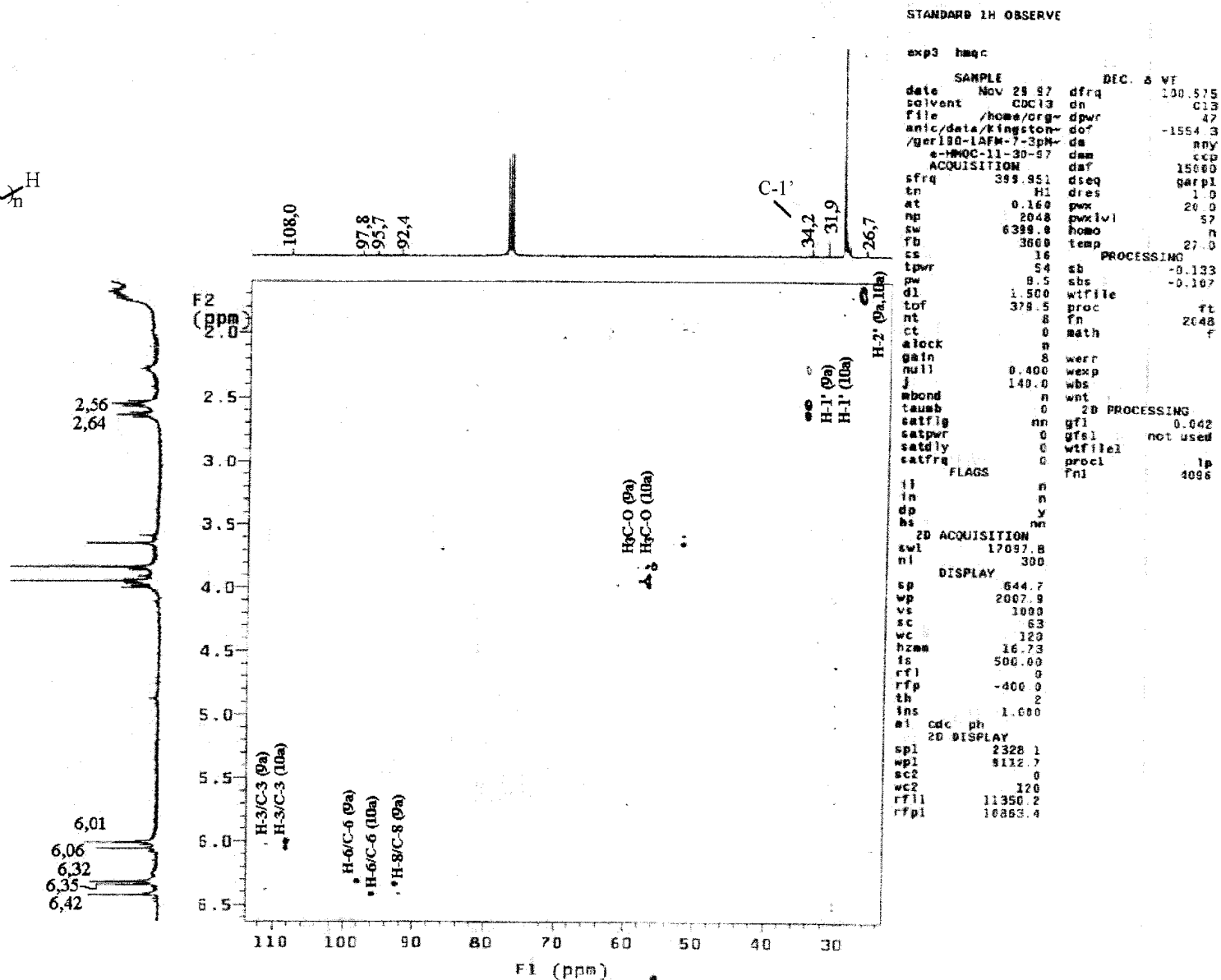


Fig. 43: Espectro de RMN HMOC das substâncias 9a₁₋₄ + 10a₁₋₄.

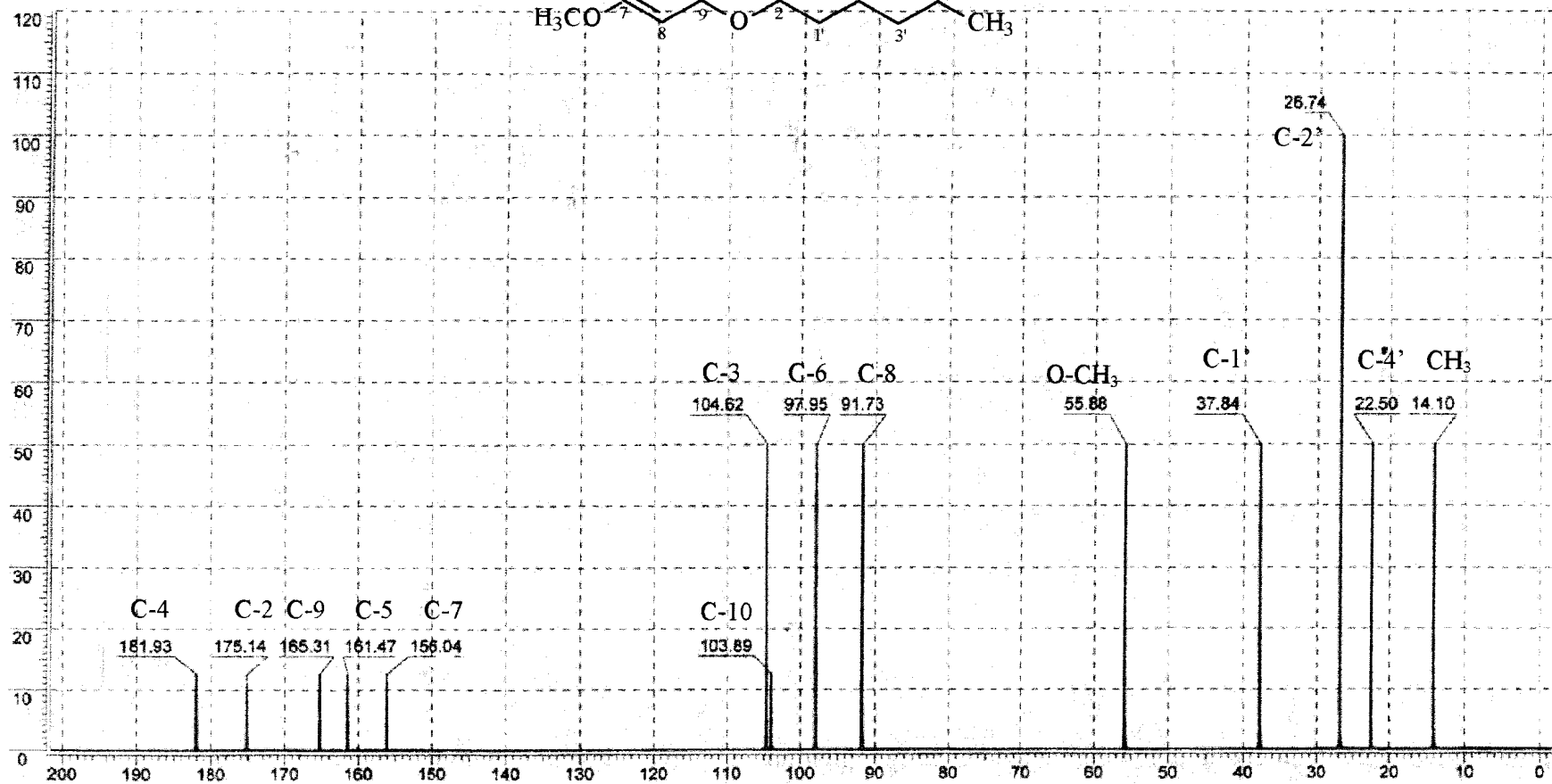
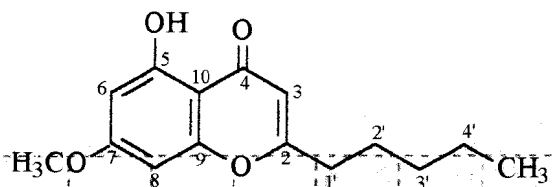
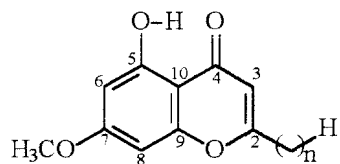


Fig. 44: Espectro simulado de RMN de ^{13}C das substâncias $9\mathbf{a}_{1-4} + 10\mathbf{a}_{1-4}$ usando o programa ACD II da Virginia Polytechnic Institute and State University - USA.



9a

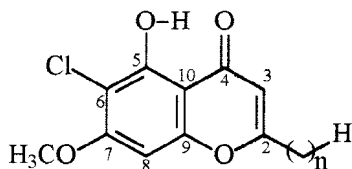
n Fórmula

9a₁: 32, C₄₂H₇₂O₄,

9a₂: 31, C₄₁H₇₀O₄,

9a₃: 30, C₄₀H₆₈O₄,

9a₄: 29, C₃₉H₆₆O₄,



10a

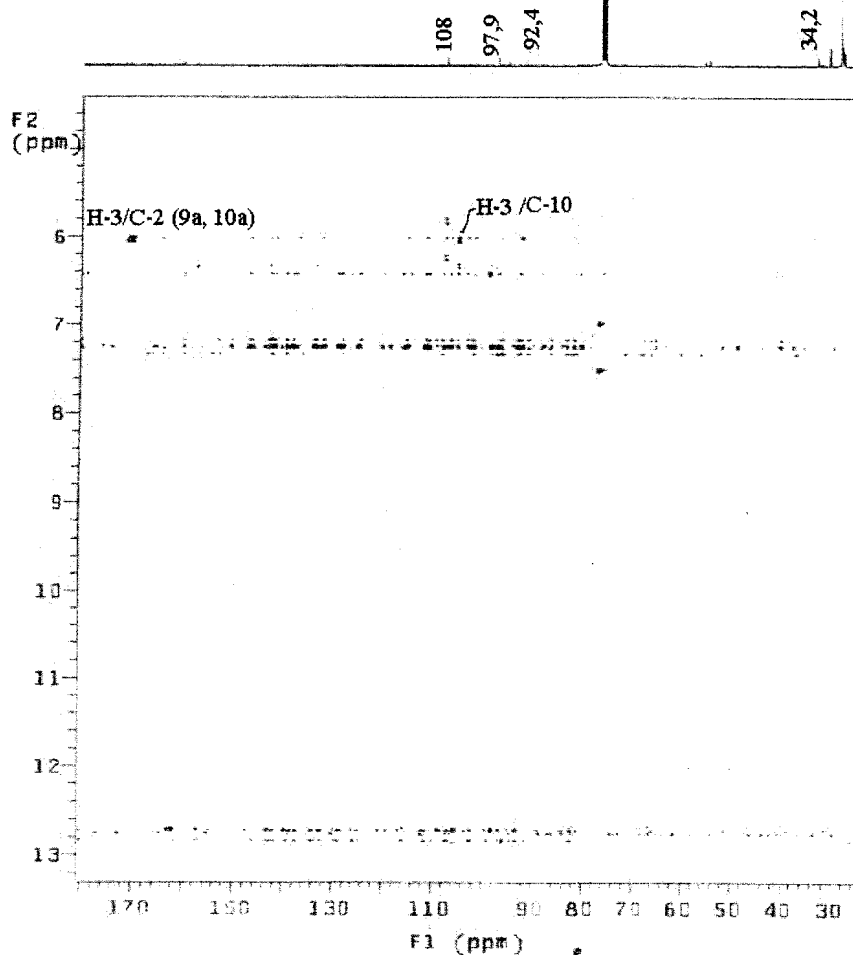
n Fórmula

10a₁: 32, C₄₂H₇₁O₄Cl,

10a₂: 31, C₄₁H₆₉O₄Cl,

10a₃: 30, C₄₀H₆₇O₄Cl,

10a₄: 29, C₃₉H₆₅O₄Cl,



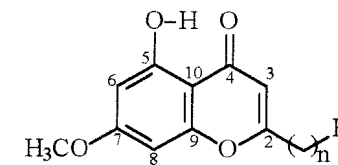
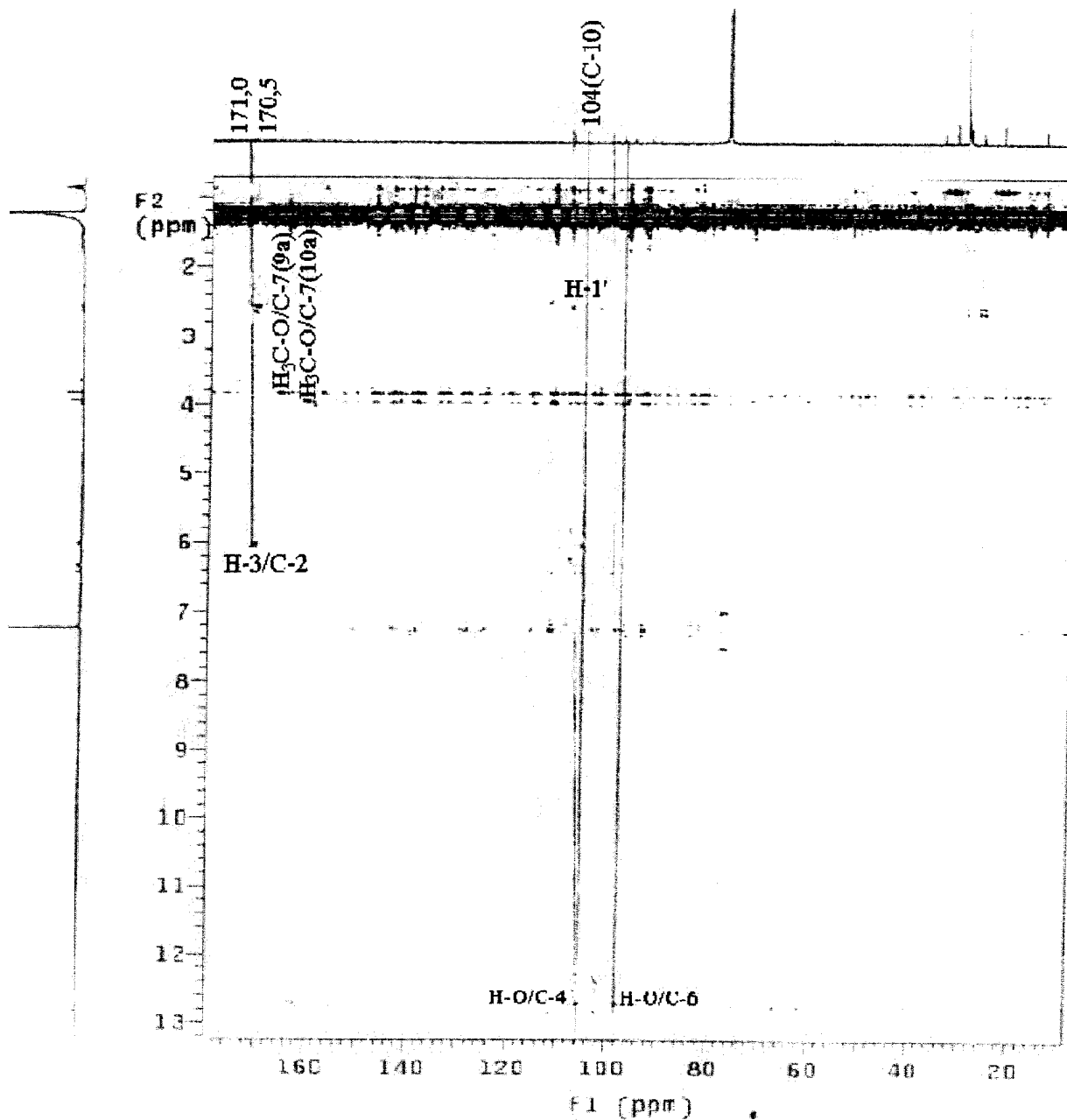
STANDARD IN OBSERVE

```

exp3 hmgc
SAMPLE
date Nov 29 97 dfrq DEC. & VT
solvent CDCl3 dn 100.578
file /home/org- dpwr 30
anic/data/kingston- dof 1211.6
/Gen191-LAFN-7-3pm- da
a-HMBC-11-30-97 dam nnn
ACQUISITION dmf ccp 15000
sfrq 393.551 dseq garpl
tn H1 dres 1.0
at 0.160 pwx 20.0
np 2048 pwxlvl 57
sw 6399.0 homo n
rb 3600 temp 27.0
ss 16 PROCESSING
tpwr 54 sb 0.107
pw 8.5 sbs -0.053
dl 1.200 wffile
lor 379.5 proc ft
nt 32 fn 2048
ct 32 math r
alock n
gain 8 werr
null 0 wexp
j 140.8 wbs
mbond y wnt
taumb 0.055 20 PROCESSING
satffg nn gfl 0.640
satpwr 0 gfl1 not used
satdly 0 wtfile1
satfrq 0 procl lp
FLAGS fnl 4086
il n
in n
dp y
hs nn
2D ACQUISITION
sw1 22623.5
at 377
DISPLAY
sp 1770.6
wp 3546.6
vs 1300
sc 63
wc 120
hzam 29.56
is 500.00
rf1 0
rfp -406.0
th 2
ins 1.000
a1 cdc ph
2D DISPLAY
sp1 2455.8
wp1 15688.0
sc2 0
wc2 120
rf11 0
rfp1 -502.9

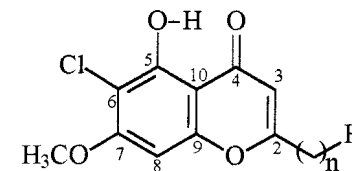
```

Fig. 45: Espectro de RMN HMBC das substâncias 9a₁₋₄ + 10a₁₋₄.



9a

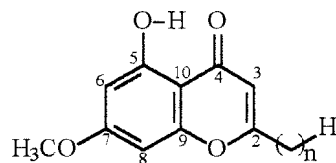
n	Fórmula
9a₁ : 32,	C ₄₂ H ₇₂ O ₄ ,
9a₂ : 31,	C ₄₁ H ₇₀ O ₄ ,
9a₃ : 30,	C ₄₀ H ₆₈ O ₄ ,
9a₄ : 29,	C ₃₉ H ₆₆ O ₄ ,



10a

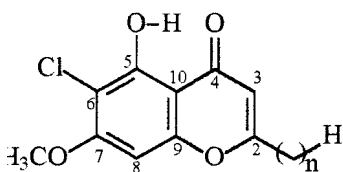
n	Fórmula
10a₁ : 32,	C ₄₂ H ₇₁ O ₄ Cl,
10a₂ : 31,	C ₄₁ H ₆₉ O ₄ Cl,
10a₃ : 30,	C ₄₀ H ₆₇ O ₄ Cl,
10a₄ : 29,	C ₃₉ H ₆₅ O ₄ Cl,

Fig. 46: Espectro de RMN HMBC das substâncias **9a₁₋₄** + **10a₁₋₄** (expandido).



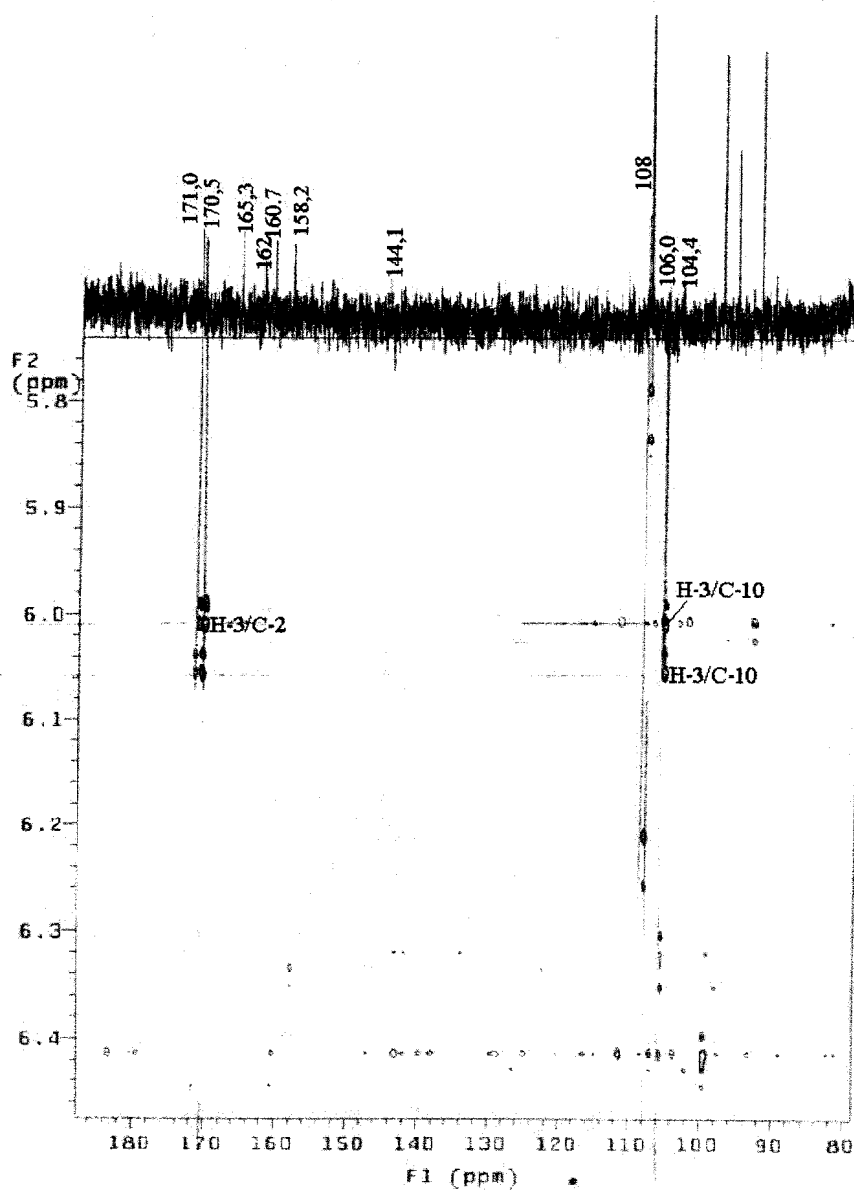
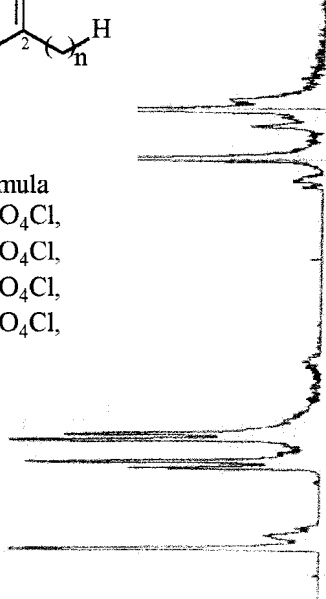
9a

- n Fórmula
 9a₁: 32, C₄₂H₇₂O₄
 9a₂: 31, C₄₁H₇₀O₄
 9a₃: 30, C₄₀H₆₈O₄
 9a₄: 29, C₃₉H₆₆O₄



10a

- n Fórmula
 10a₁: 32, C₄₂H₇₁O₄Cl
 10a₂: 31, C₄₁H₆₉O₄Cl
 10a₃: 30, C₄₀H₆₇O₄Cl
 10a₄: 29, C₃₉H₆₅O₄Cl

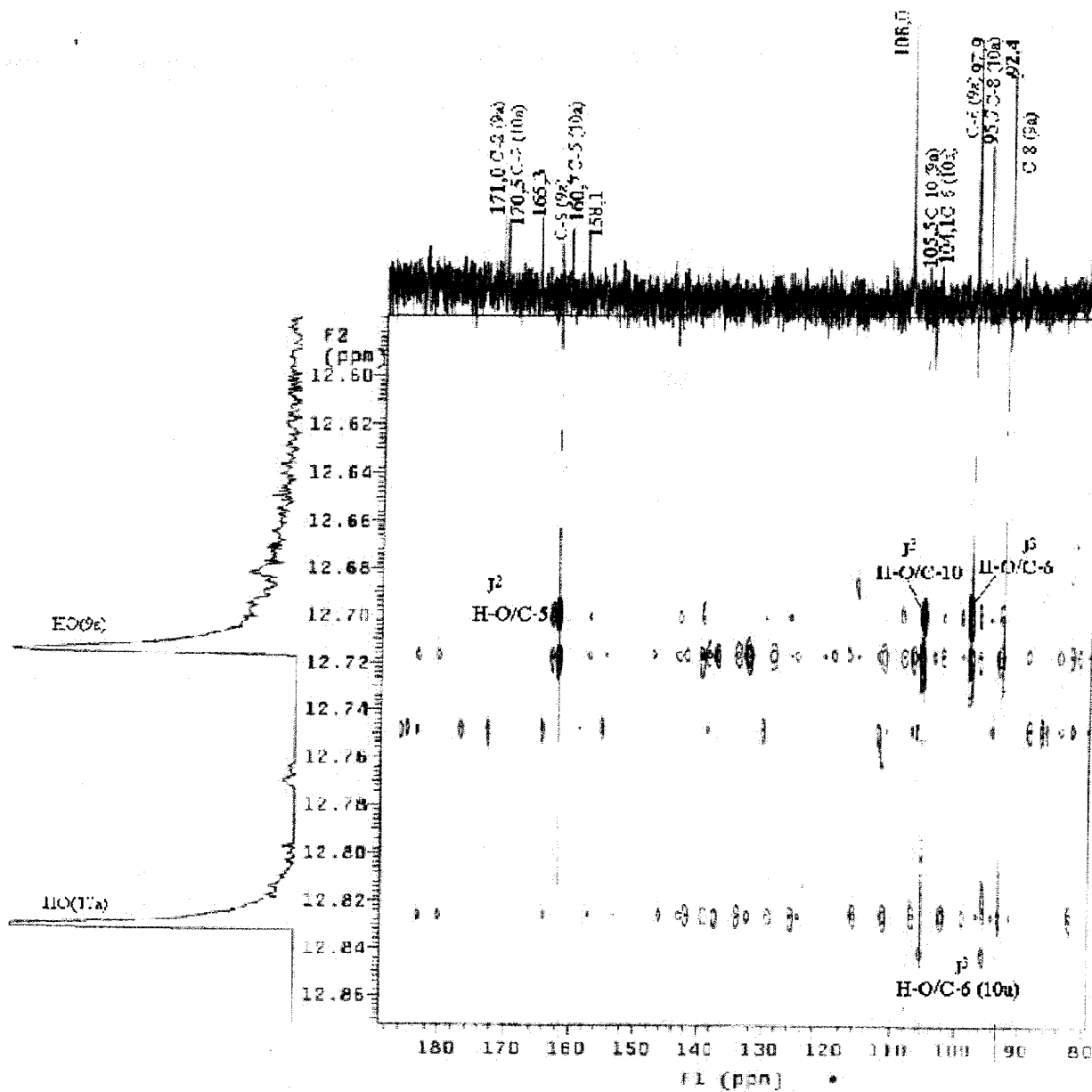


STANDARD 1H OBSERVE

```

exp3 hmqc
SAMPLE
date Nov 28 97 dfrq 100.578
solvent CDCl3 dn 30
file /home/org-dpwr
anic/data/kingston-dof 1211.6
/GER181-LAFN-7-3pH-dm nnn
e-HMBC-11-30-97 dms ccp
ACQUISITION dmf 16800
sfrq 389.951 dseq garpl
tn H1 dres 1.0
at 0.160 pwx 20.0
np 2048 pwxvl 57
sw 6389.0 homo n
fb 3600 temp 27.0
ss 16 PROCESSING
lpwr 54 sb 0.107
pw 8.5 sbs -0.053
dl 1.200 wfile
tof 379.5 proc rt
nt 32 fn 2048
ct 32 math f
alock n
gain 8 werr
null 8 wexp
j 140.0 wbs
mbond y wnt
laumb 0.055 2D PROCESSING
satflg nn gfl 9.040
satpwr 0 gfl not used
satdly 0 wfile
satfrq 0 procl
flags fml 4086
ii n
in n
dp y
hs nn
2D ACQUISITION
swi 22629.5
ni 377
DISPLAY
sp 2288.0
wp 284.0
vs 1300
sc 63
wc 120
hzmm 2.45
ls 500.00
rfl 0
rfp -400.0
th 2
ins 1.000
a1 cdc ph
2D DISPLAY
spl 7921.0
wpl 10844.4
sc2 0
wc2 120
rfl1 0
rfpl -502.9
  
```

Fig. 47: Espectro de RMN HMBC da mistura das substâncias 9a₁₋₄ + 10a₁₋₄ (expandido).

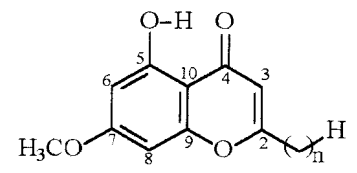


STANDARD 1H OBSERVE

```

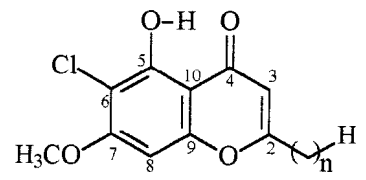
NAME 9a
data Nov 29 97
solvent CDCl3
file /home/org-
anic/data/kingston-
/Ger191-LAFM-7-3pM-
e-NMBC-11-30-97
ACQUISITION
sfrq 300.151
in MI
nt 1.169
sp 2446
sw 0.399.8
fb 3600
ss 1.6
tpr 5.4
pw 8.5
d1 1.200
tof 27.5
nt 37
ct 32
alock n
gain 8
nu1 8
j 140.0
abond y
laumb 0.055
satflg mp
satpwr 0
satdly 0
satfrq 0
-----
NAME 10a
2D ACQUISITION
sw 1.200
nt 37
-----
NAME 10a
DISPLAY
sp 5021.5
wp 118.8
vs 1300
sc 63
vc 120
hzmm 6.99
ls 300.00
rf1 0
rfp -400.0
th 2
ins 1.000
ai cdc ph
2D DISPLAY
sp1 7887.3
wp1 11910.7
xc2 0
wc2 120
rf1 0
rfpl -500.9

```



9a

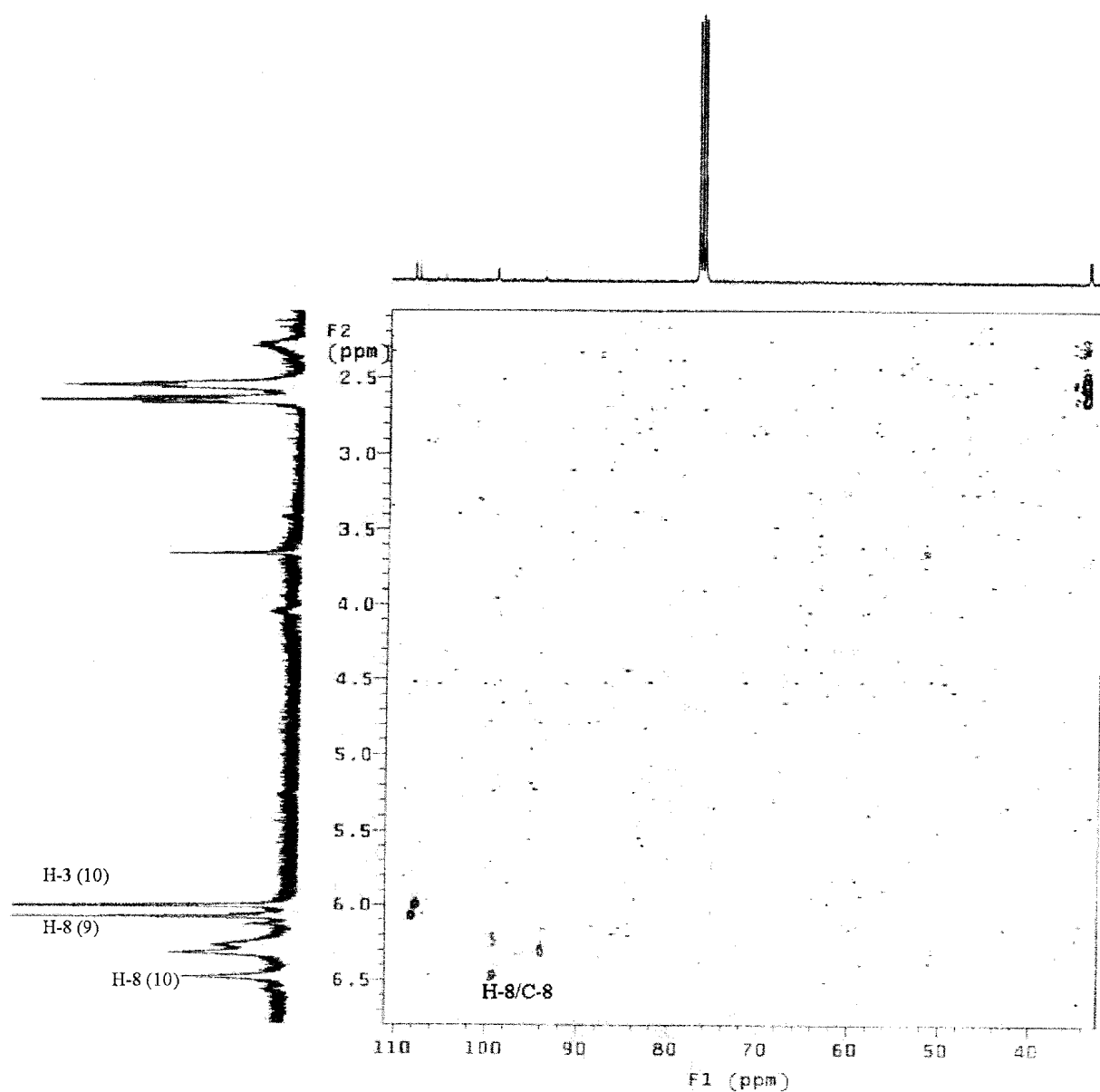
- n Fórmula
- 9a₁: 32, C₄₂H₇₂O₄,
 - 9a₂: 31, C₄₁H₇₀O₄,
 - 9a₃: 30, C₄₀H₆₈O₄,
 - 9a₄: 29, C₃₉H₆₆O₄,



10a

- n Fórmula
- 10a₁: 32, C₄₂H₇₁O₄Cl,
 - 10a₂: 31, C₄₁H₆₉O₄Cl,
 - 10a₃: 30, C₄₀H₆₇O₄Cl,
 - 10a₄: 29, C₃₉H₆₅O₄Cl,

Fig. 48: Espectro de RMN HMBC das substâncias 9a₁₋₄ + 10a₁₋₄ (expandido).

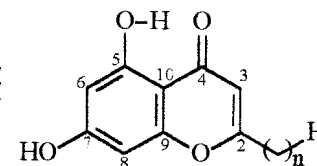


STANDARD 1H OBSERVE

```

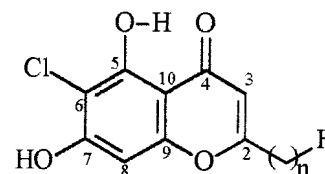
exp3 hmqc
SAMPLE
date Oct 23 97
solvent CDCl3
file /olddata/
organic/data/kingst
ton/Gen267-LAFM-7-
3p-HMQC-10-24-97
ACQUISITION
sfrq 399.952
in H1
at 0.244
np 4096
sw 8399.8
fb 4600
ss 16
tpwr 54
pw 8.5
d1 1.500
tof 1380.0
nt 8
ct 0
alock n
gain 14
null 0.400
j 140.0
mbond n
tamb 0
satfg nn
satpw 0
satdy 0
satfrq 0
FLAGS
il n
in n
dp y
hs nn
2D ACQUISITION
sw1 17097.8
ni 300
DISPLAY
sp 825.7
wp 1891.7
vs 400
sc 63
wc 120
hzam 15.76
ie 500.00
rf1 388.9
rfp 0
th 2
ins 1.000
al cdc:ph
2D DISPLAY
sp1 3255.8
wp1 7909.8
sc2 0
wc2 120
rf11 0
rfp1 -502.8

```



9
n Fórmula

- 9₁: 32, C₄₁H₇₀O₄,
- 9₂: 31, C₄₀H₆₈O₄,
- 9₃: 30, C₃₉H₆₆O₄,
- 9₄: 29, C₃₈H₆₄O₄.



10

n Fórmula

- 10₁: 32, C₄₁H₆₉O₄Cl,
- 10₂: 31, C₄₀H₆₇O₄Cl,
- 10₃: 30, C₃₉H₆₅O₄Cl,
- 10₄: 29, C₃₈H₆₃O₄Cl,

Fig. 51: Espectro de RMN HMQC das substâncias 9₁₋₄ + 10₁₋₄

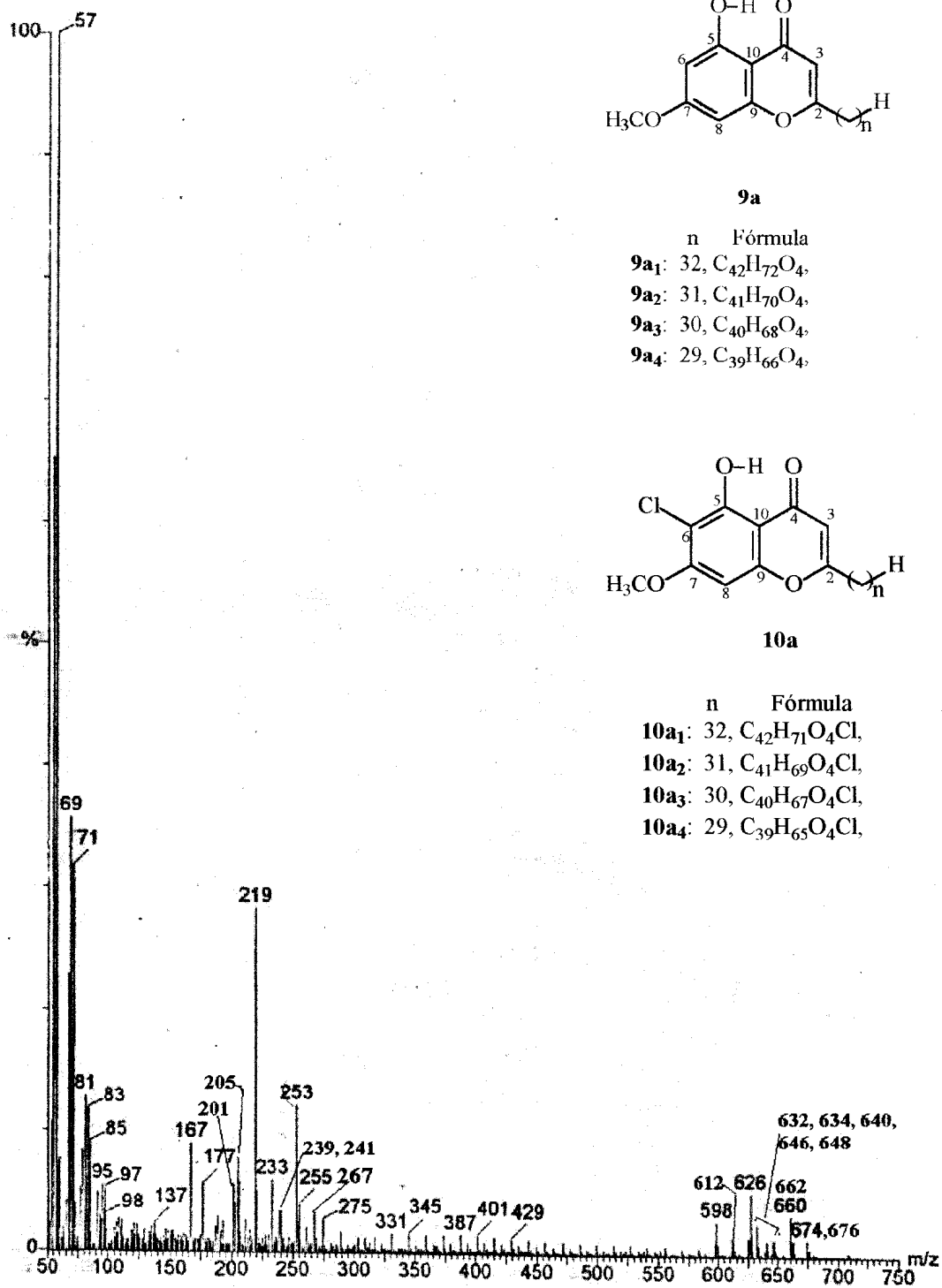


Fig. 52: Espectro de massas FAB das substâncias **9a₁₋₄** + **10a₁₋₄**.

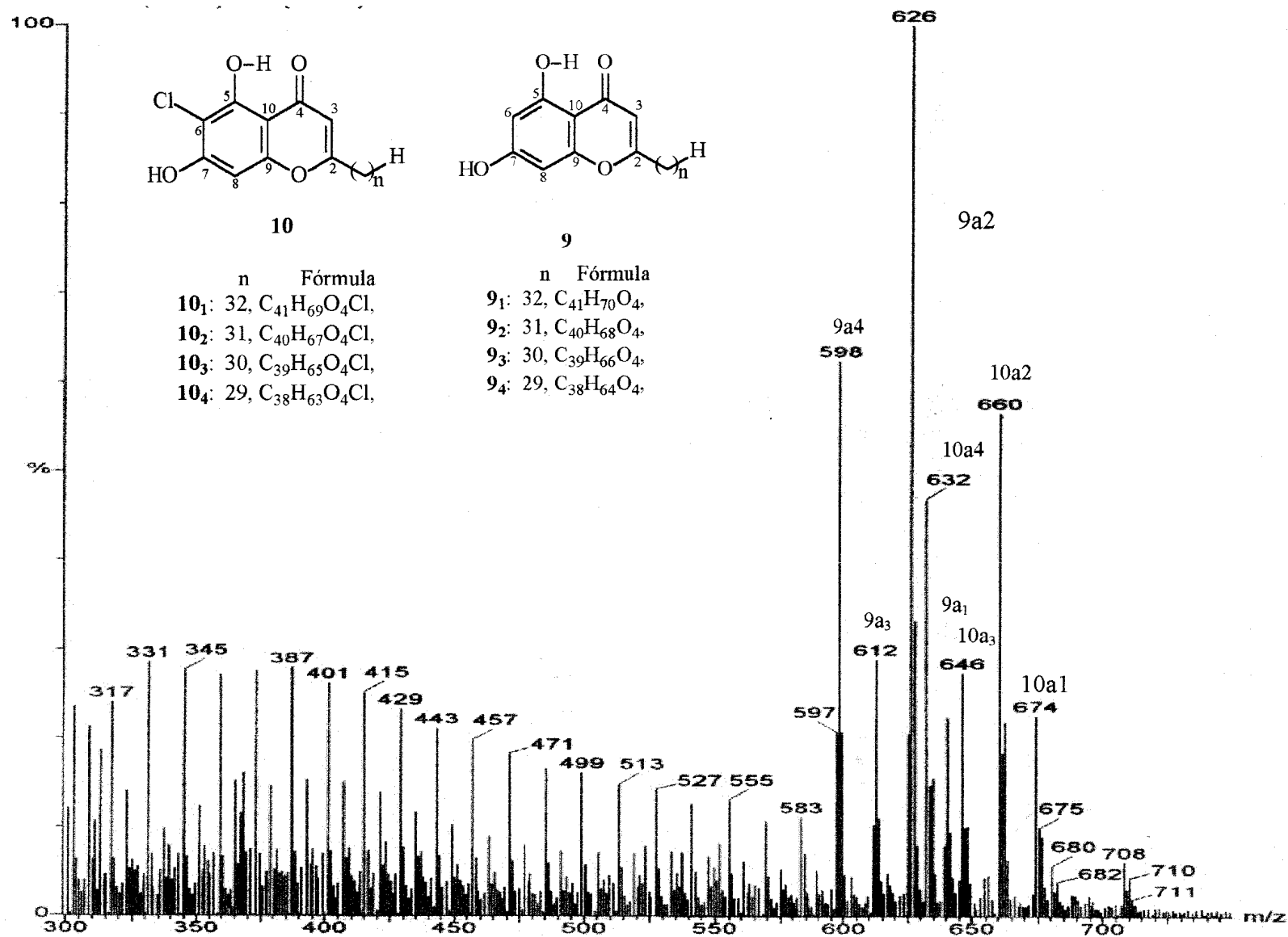
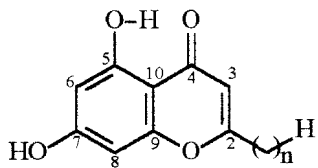


Fig.: 53: Espectro de massas FAB das substâncias 9₁₋₄ a 10₁₋₄ (expandido).



9

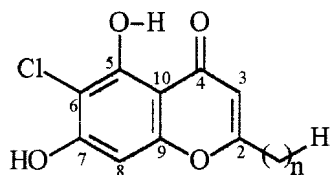
n Fórmula

9₁: 32, C₄₁H₇₀O₄,

9₂: 31, C₄₀H₆₈O₄,

9₃: 30, C₃₉H₆₆O₄,

9₄: 29, C₃₈H₆₄O₄,



10

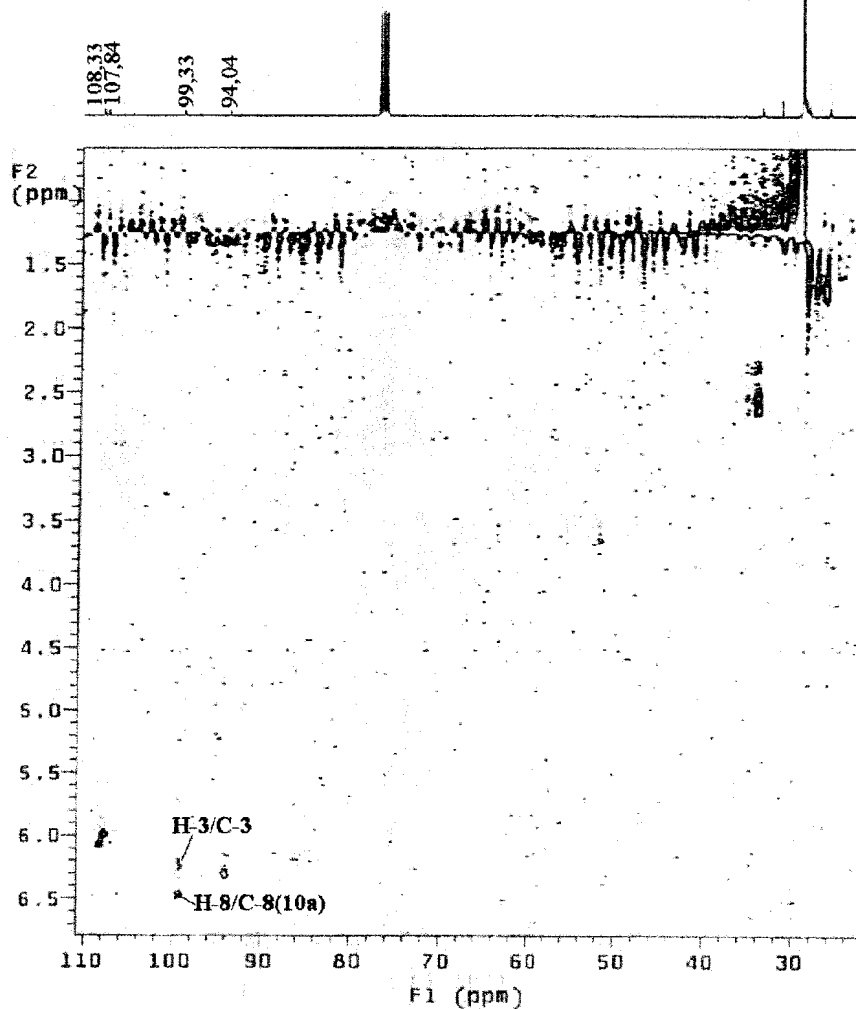
n Fórmula

10₁: 32, C₄₁H₆₉O₄Cl,

10₂: 31, C₄₀H₆₇O₄Cl,

10₃: 30, C₃₉H₆₅O₄Cl,

10₄: 29, C₃₈H₆₃O₄Cl,



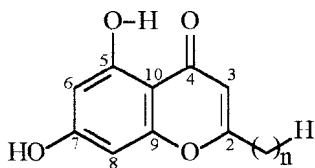
STANDARD 1H OBSERVE

```

exp3 hmgc
SAMPLE
date Oct 23 97 dfrq 100.575
solvent CDCl3 dn C13
file /olddata/~ dpwr 47
organic/data/kings~ dof -1554.3
ton/Ger267-LAFM-7~ de nny
3p-HMQC-10-24-97 dnm ccp
ACQUISITION dmf 15000
sfrq 398.852 dseq garpl
tn H1 dres 1.0
at 0.244 pwx 20.0
np 4086 pwxlvl 57
sw 6388.8 homo n
fb 4680 temp 27.0
ss 16 PROCESSING
tpwr 54 sb -0.203
pw 8.5 sbs -0.163
d1 1.500 wtfile
tof 1380.0 proc ft
nt 8 fn 4096
cc 0 math r
clock n
gain 14 verr
null 0.400 wexp
j 140.0 wsg
mbond n wnt
taumb 0 2D PROCESSING
satfig nn gfl 0.842
satpwr 0 gfs1 not used
satily 0 wtfile1
satfrq 0 procl ip
FLAGS fml 4096
ll n
in n
dp y
hs nn
2D ACQUISITION
sw1 17097.8
ni 300
DISPLAY
sp 234.8
wp 2478.5
vs 400
sc 63
wc 120
hzam 20.65
ls 500.00
rf1 388.8
rtp 0
th 2
inc 1.000
al cdc ph
2D DISPLAY
spl 2220.1
wpl 8920.6
sc2 0
wc2 120
rf11 0
rfpl -502.8

```

Fig. 54: Espectro de RMN HMQC das substâncias 9₁₋₄ + 10₁₋₄ (expandido).



9

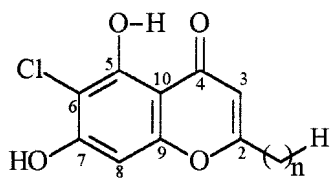
n Fórmula

9₁: 32, C₄₁H₇₀O₄,

9₂: 31, C₄₀H₆₈O₄,

9₃: 30, C₃₉H₆₆O₄,

9₄: 29, C₃₈H₆₄O₄,



10

n Fórmula

10₁: 32, C₄₁H₆₉O₄Cl,

10₂: 31, C₄₀H₆₇O₄Cl,

10₃: 30, C₃₉H₆₅O₄Cl,

10₄: 29, C₃₈H₆₃O₄Cl,

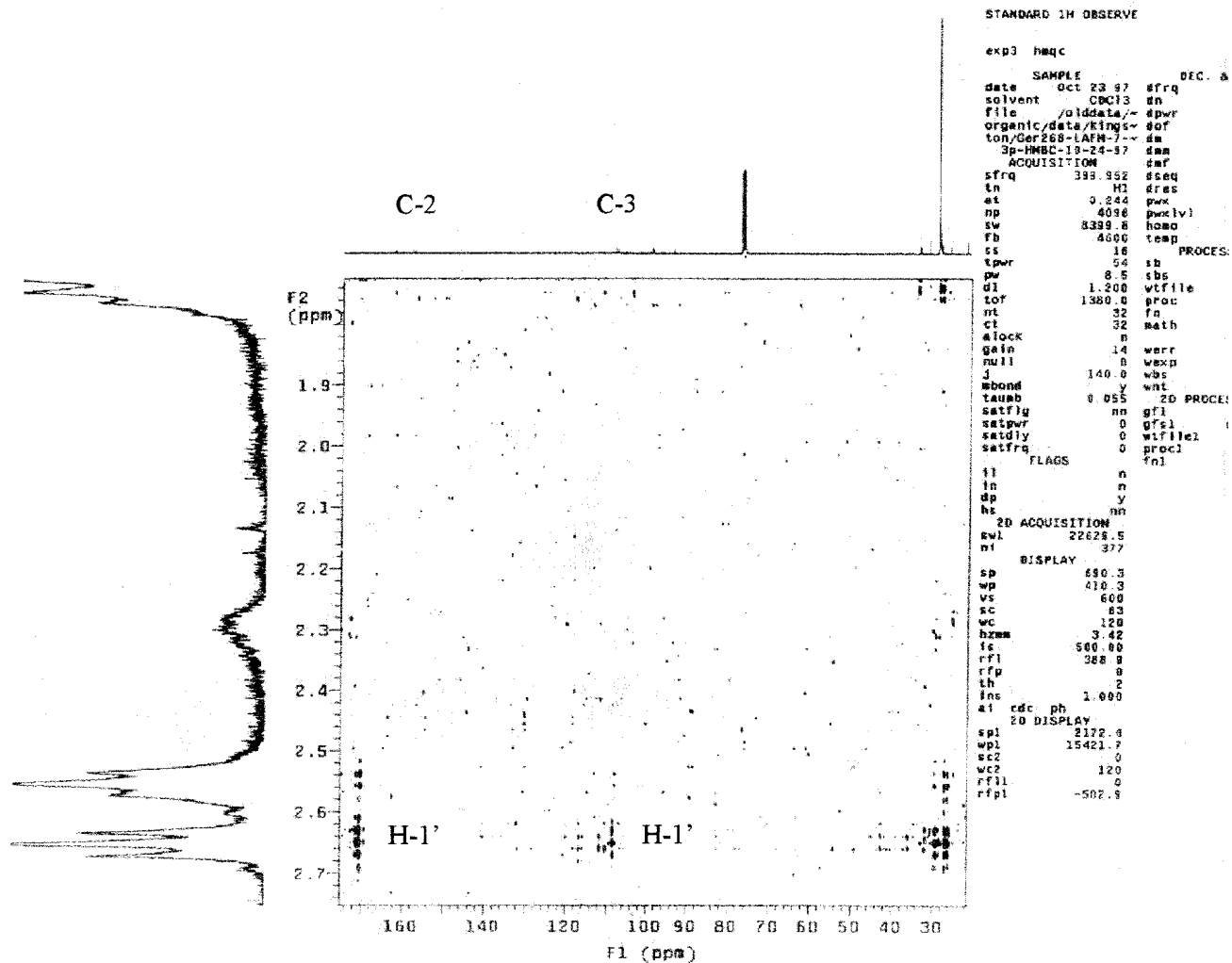
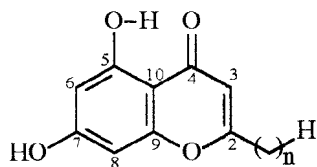


Fig. 55: Espectro de RMN HMBC das substâncias 9₁₋₄ a 10₁₋₄.



9

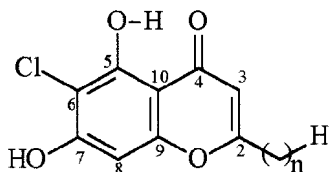
n Fórmula

9₁: 32, C₄₁H₇₀O₄

9₂: 31, C₄₀H₆₈O₄

9₃: 30, C₃₉H₆₆O₄

9₄: 29, C₃₈H₆₄O₄



10

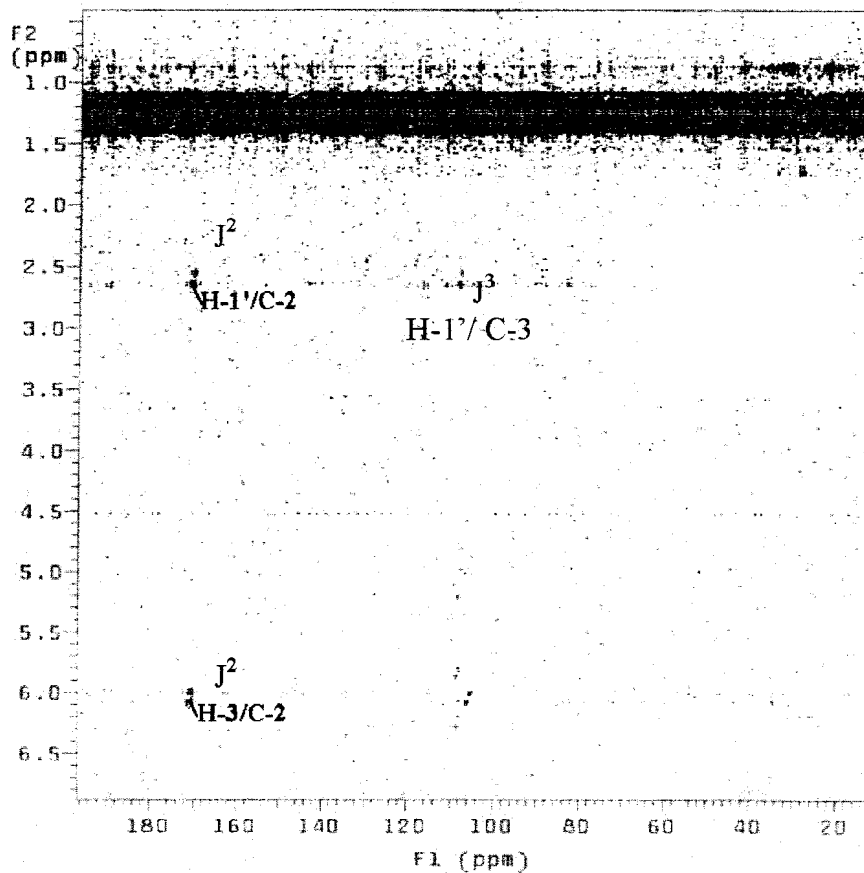
n Fórmula

10₁: 32, C₄₁H₆₉O₄Cl

10₂: 31, C₄₀H₆₇O₄Cl

10₃: 30, C₃₉H₆₅O₄Cl

10₄: 29, C₃₈H₆₃O₄Cl

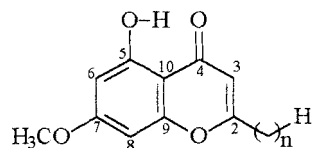


STANDARD 1H OBSERVE

```

exp3 haqc
SAMPLE
date Oct 23 97 dfrq 100.578
solvent CDC13 dn C13
file /olddata/~ dpwr 30
organic/data/kings~ dof 1211.6
ton/Gen268-LAFN-7~ dm nnn
3p-HMBC-10-24-97 dms ccp
ACQUISITION dmf 15000
sfrq 399.952 dseq garpl
in H1 dres 1.0
at 0.244 pwr 20.0
np 4096 pwx lvi 57
sw 8395.8 hmcw n
fb 4600 temp 27.0
ss 16
tpwr 54 sb PROCESSING
pw 8.5 sbs 0.163
dl 1.200 wfile -0.081
tcf 1380.0 proc ft
nt 32 fn 4096
ct 32 math f
alock n
gain 14 werr
null 0 waxp
J 140.0 wbs
mbond y wnt
tauwb 0.055 2D PROCESSING
satlg nn gfl 0.040
satpwr 0 gfs1 not used
saldly 0 wtfile1
satfrq 0 procl ip
FLAGS fml 4096
il n
in n
dp y
hs nn
2D ACQUISITION
swl 22629.5
nt 377
DISPLAY
sp 165.1
wp 2585.2
vs 500
sc 63
wc 120
hzmm 21.54
fs 500.00
rfi 388.9
rfp 0
th 2
ins 1.000
at cdc ph
2D DISPLAY
sp1 1265.9
wp1 18494.9
sc2 0
wc2 120
rfi1 0
rfp1 -502.9
  
```

Fig. 56: Espectro de RMN HMBC das substâncias 9₁₋₄ + 10₁₋₄



9a

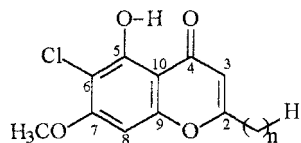
n Fórmula

9a₁: 32, C₄₂H₇₂O₄

9a₂: 31, C₄₁H₇₀O₄

9a₃: 30, C₄₀H₆₈O₄

9a₄: 29, C₃₉H₆₆O₄



10a

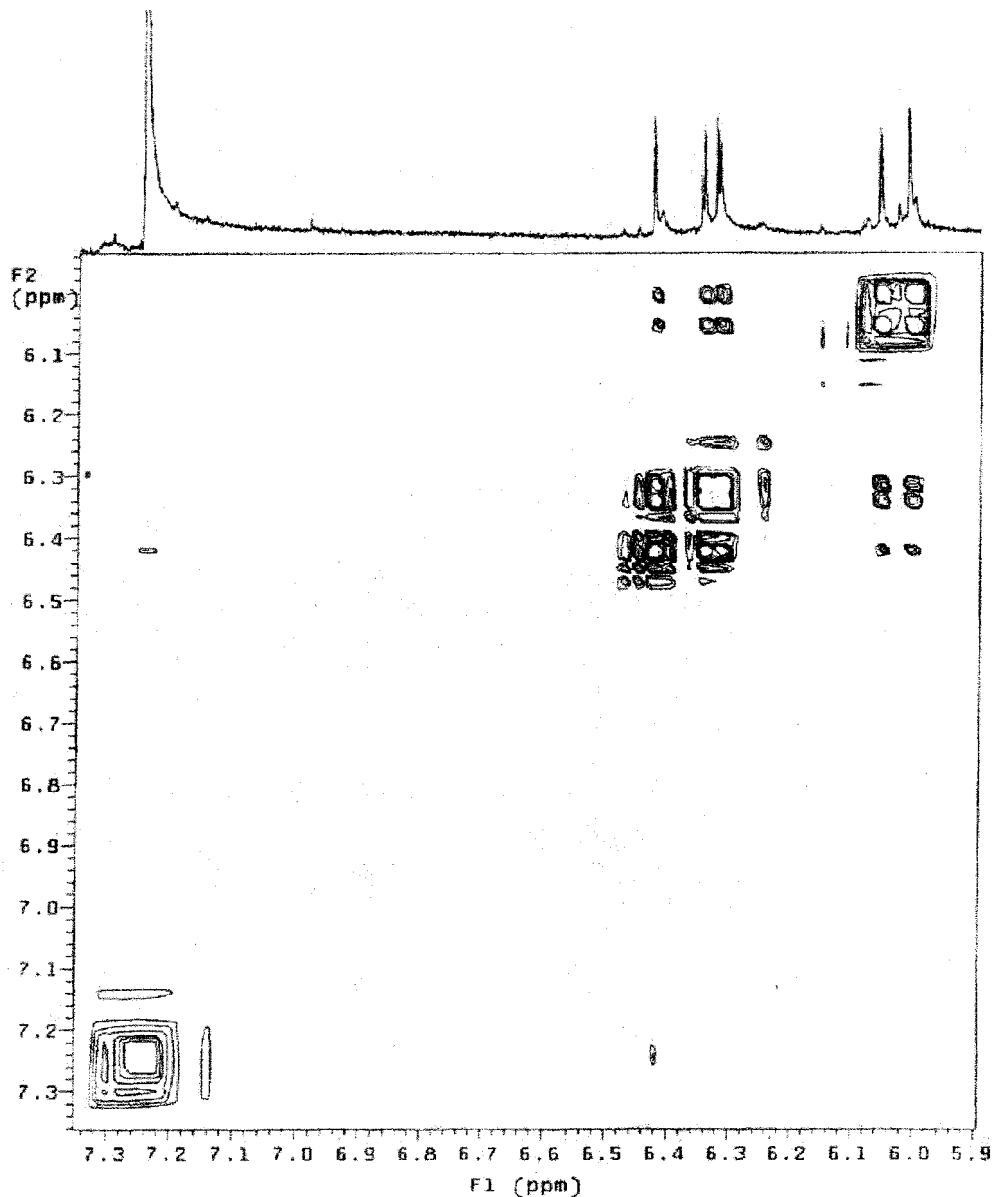
n Fórmula

10a₁: 32, C₄₂H₇₁O₄Cl

10a₂: 31, C₄₁H₆₉O₄Cl

10a₃: 30, C₄₀H₆₇O₄Cl

10a₄: 29, C₃₉H₆₅O₄Cl



STANDARD 1H OBSERVE

exp3 relayh

```

SAMPLE          DEC. & VT
date: Nov 28 97 dfrq          399.952
solvent CDC13  dn            M3
file /home/org/ dpwr         36
anic/data/kingston/ dof      1
/Ger183-LAFM-7-30M/ dm       nnt
a-COSY-11-28-97  dam         4
ACQUISITION     dmf          201
sfrq           399.952  dseq
tn            H1        dres          1 1
at            0.244     homo          1
np            4096
sw            8398.8    PROCESSING
fb            4500     sb           not used
ds            8        wffile
ss            2        proc          f1
lpwr          54      fa           4096
pw            8.5     math          1
pl            8.5
dl            1.000   werr
tof           1388.0  wexp
nt            8       wds
ct            8       wnt
tau           0       2D PROCESSING
relay         0       sb1          0.030
alock        0       sbst1       not used
gain         12      wffile1
                proc1          f1
                fml          4896
                nn
2D ACQUISITION
sw1           8398.8
a1            512
phase         0
DISPLAY
sp            2374.0
wp            578.4
vs            500
sc            80
wc            140
hzam         4.07
fs            500.00
rf1           0
rfp          -400.0
th            4
fns           1.000
a1           CDC MV
                2D DISPLAY
spl           2357.6
wpl           582.7
sc2           0
wc2           140
rf11          0
rfp1         -400.0

```

Fig. 57: Espectro de RMN de ¹H x ¹H - COSY das substâncias 9a₁ a 10a₄ (expandido) registrado em CDCl₃ e TMS como referência interna