

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE PLANTAS DO NORDESTE:
CONSTITUINTES QUÍMICOS DO *Combretum Leprosum* Mart.

VALDIR ALVES FACUNDO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

FORTALEZA - CEARÁ

1991

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE PLANTAS DO NORDESTE: CONSTITUENTES QUÍMICOS DO *Combretum Leprosum* Mart.

VALDIR ALVES FACUNDO

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FORTALEZA - 1991

Esta Dissertação foi apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.


Valdir Alves Facundo

TESE APROVADA EM: 28 / 06 / 91.

EXAMINADORES:


Prof. Carlos Humberto S. Andrade
Orientador


Profª Telma Lêda Gomes de Lemos
Universidade Federal do Ceará


Prof. Raimundo Braz Filho
Univ. Federal Rural do Rio de Janeiro

O trabalho apresentado nesta Dissertação foi realizado sob a orientação dos Profs. Carlos Humberto Sousa Andrade e Edilberto Rocha Silveira.

À minha mãe, D. Raimunda a quem
tudo devo, com todo amor.

À minha irmã, Luzimar.

À minha esposa, Antonha e meu
finho Pedro.

AGRADECIMENTOS

Aos professores membros do comitê de Tese:

Carlos Humberto Sousa Andrade, por sua dedicação, estímulo e amizade no transcorrer da orientação deste trabalho.

Edilberto Rocha silveira, grande pesquisador, amigo, idealizador e fonte de consulta útil para a conclusão desta dissertação.

Raimundo Braz Filho (UFRR,RJ) , pela valiosa colaboração na elucidação das estruturas das substâncias isoladas.

Telma Lêda Gomes de Lemos, pelas palavras de estímulo, informações e sugestões importantes.

Aos professores, Mirian Pinheiro de Sousa e Francisco José Queiroz Monte pelas informações e sugestões inestimáveis, e ao professor Afrânio Gomes Fernandes (UFCE) pela classificação do material em estudo e informações botânicas contidas no texto.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação e Graduação em Química da UFCE, pela contribuição da nossa formação acadêmica.

A meu amigo, Júlio Sancho Linhares T. Militão (UFRo), pela amizade e confiança que motivaram a continuação deste trabalho.

Ao professor Charles D. Hufford (Departamento de Farmacognosia, Universidade de Mississipi, EUA), pela utilização da Central Analítica na obtenção dos espectros, e valiosa sugestões por ocasião da sua estada em Fortaleza.

Aos colegas funcionários do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, pela colaboração na parte experimental deste trabalho.

Aos colegas da Pós-Graduação pela amizade demonstrada durante o decorrer deste curso.

Ao CNP_q , CAPES e FINEP, pela concessão dos recursos financeiros.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema	Pagina
01. Proposta para os principais caminhos de fragmentação de C1, C1 - 1 no espectrômetro de massas.....	19
02. Transformações químicas de C1.....	42
03. Proposta para os principais caminhos de fragmentação de C1 - 2, C1 - 3, e C1 - 4 no espectrômetro de massas.....	43
04. Proposta para os principais caminhos de fragmentação de C1r e C1r - 1 no espectrômetro de massas.....	63
05. Proposta para os principais caminhos de fragmentação de C1 - 13 no espectrômetro de massas.....	88
06. Proposta para os principais caminhos de fragmentação de C1 - 6 e C1 - 19 no espectrômetro de massas.....	104
07. Isolamento dos constituintes químicos das folhas de <u>Combretum leprosum</u>	120
08. Isolamento dos constituintes químicos das raízes do <u>Combretum leprosum</u>	121

LISTA DE FIGURAS

Figura	página
01. Espectro no I.V. de C1.....	16
02. Espectro de RMN - ^1H de C1 (300 MHz).....	17
03. Espectro de massas de C1.....	18
04. Espectro de RMN - ^{13}C de C1 (75MHz).....	20
05. Espectros de massas de C1-1.....	25
06. Espectro de RMN - ^{13}C de C1-1.....	26
07. Espectro no I.V. de C1-1.....	27
08. Espectro de RMN - ^1H de C1-1 (300 MHz).....	28
09. Espectro no I.V. de C1-2.....	32
10. Espectro de massas de C1-2.....	33
11. Espectro de RMN - ^{13}C de C1-2 (75 MHz).....	34
12. Espectro no I.V. de C1-3.....	35
13. Espectro de RMN - ^1H de C1-3 (300 MHz).....	36
14. Espectro no I.V. de C1-4.....	37
15. Espectro de RMN - ^{13}C de C1-4 (75 MHz).....	38
16. Espectro de RMN - ^1H de C1-4 (300 MHz).....	39
17. Espectro de massas de C1-3.....	40
18. Espectro de massas de C1-4.....	41
19. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HECTOR) de C1.....	47
20. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear HECTOR) de C1-1.....	48

21. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HECTOR) de C1.....	49
22. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HECTOR) de C1-3.....	50
23. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HECTOR) de C1-4.....	51
24. Espectro bidimensional (2D) $^{13}\text{C} - ^{13}\text{C}$ (INADEQUATE) de C1.....	52
25. Espectro no I.V. de C1r.....	57
26. Espectro de RMN - ^1H de C1r (90 MHz).....	58
27. Espectro de RMN - ^{13}C de C1r (75 MHz).....	59
28. Espectro de RMN - ^{13}C de C1r, utilizando a técnica DEPT.....	60
29. Espectro de massas de C1r.....	61
30. Espectro de massas de C1r-1.....	62
31. Espectro de RMN - ^1H de C1r-1 (300 MHz).....	68
32. Espectro de RMN - ^{13}C de C1r-1, utilizando a técnica DEPT.....	69
33. Espectro de RMN - ^1H bidimensional (2D) de correlação homonuclear (COSY OU HOMOCOR) de C1r-1.....	70
34. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HECTOR) de C1r.....	72
35. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HECTOR) de C1r-1.....	73
36. Espectro no I.V. de C1-13.....	83
37. Espectro de massas de C1-13.....	84
38. Espectro de RMN - ^{13}C de C1-13 (75 MHz).....	85
39. Espectro de RMN - ^{13}C de C1-13, utilizando a técnica DEPT.....	86

40. Espectro de RMN - ^1H de C1-13 (300 MHz).....	87
41. Espectro de RMN - ^1H bidimensional (2D) de correlação homonuclear COSY OU HOMOCOR) de C1-13.....	89
42. Espectro no I.V. de C1-6.....	93
43. Espectro no I.V. de C1-19.....	94
44. Espectro de RMN - ^1H de C1-6 (300 MHz).....	95
45. Espectro de RMN - ^1H de C1-19 (90 MHz).....	96
46. Espectro de massas de C1-6.....	97
47. Espectro de massas de C1-19.....	98
48. Espectro de RMN - ^{13}C de C1-6 (75 MHz).....	99
49. Espectro de RMN - ^{13}C de C1-19 (75)MHz).....	100
50. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HECTOR) de C1-6.....	106
51. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HECTOR) de C1-19.....	109

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
01. Deslocamentos Químicos dos Carbonos (δ) de Cl Registrados em CD_3COCD_3 e TMS como Referência Interna....	15
02. Deslocamentos Químicos de $\text{RMN-}^{13}\text{C}$ (δ) de Cl, seus Derivados e Triterpenos da Série Lupano Descritos na Literatura.....	23
03. Deslocamentos Químicos dos Grupos Metila de Cl e de Triterpenos da Série Lupano Descritos na Literatura.	44
04. Correlação dos Átomos de Carbono da Molécula de Cl..	52
05. Deslocamentos Químicos dos Prótons e Carbonos ^{13}C obtidos por Correlação Heteronuclear (HETCOR).....	53
06. Deslocamentos Químicos dos Carbonos (δ) de Clr Registrados em CD_3OD e TMS como Referência Interna.....	55
07. Dados Espectrais de $\text{RMN-}^1\text{H}$ de Clr e Clr-1.....	67
08. Deslocamentos Químicos de $\text{RMN-}^{13}\text{C}$ (δ) de Clr, Clr-1 e Triterpenos Ácidos da Série Oleanano descritos na Literatura.....	74
09. Deslocamentos Químicos dos Prótons e Carbonos ^{13}C (δ) obtidos por Correlação Heteronuclear (HETCOR).....	75
10. Deslocamentos Químicos dos Carbonos (δ) de Cl-13 Registrados em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ e TMS como Referência Interna..	78
11. Comparação dos Deslocamentos Químicos de $\text{RMN-}^{13}\text{C}$ de Cl-13 e do Ácido Mólico.....	81

12. Dados Espectrais de RMN- ¹ H de Cl-6 e Cl-19 (a 300 em CD ₃ COCD ₃ e CD ₃ OD, respectivamente) e TMS como Referência Interna.....	91
13. Deslocamentos Químicos de RMN- ¹³ C (δ) de Cl-6, Quercetina e Derivados Metoxilados.....	101
14. Deslocamentos Químicos de Prótons e Carbonos 13 (δ) obtidos por Correlação Heteronuclear (HETCOR).....	103
15. Deslocamentos Químicos de RMN- ¹³ C (δ) de Cl-19 e Derivados Glicosídeos de Quercetina, descritos na Literatura.....	107

LISTA DE QUADROS

Quadro	Página
01. Metabólitos Secundários Isolados do Gênero <i>Combretum</i> descritos na Literatura.....	4
02. Estruturas das Substâncias Isoladas do Gênero <i>Combretum</i>	8

RESUMO

O presente trabalho relata o estudo dos constituintes químicos do Combretum leprosum Mart., usando-se como material de partida os extratos hexânicos e etanólico das folhas e raízes.

Cinco substâncias, três triterpenos (Cl, Clr e Cl-13) e dois flavonóides (Cl - 6 e Cl - 19) foram isolados do Combretum leprosum.

Cl, isolado dos extratos hexânico e etanólico das folhas, foi caracterizado como um triterpeno, inédito, da série lupano e, através de transformações químicas, quatro derivados foram obtidos: Cl - 1, Cl - 2, Cl - 3 e Cl - 4.

Clr, isolado do extrato etanólico das raízes, foi identificado como o ácido arjunólico e seu derivado diacetilado foi obtido através de reação química.

Cl - 13, isolado do extrato etanólico das folhas, foi reconhecido como o ácido mólico. De acordo com a literatura o mesmo já foi isolado de várias espécies do gênero Combretum.

Cl - 6 e Cl - 19, isolados do extrato etanólico das folhas, foram caracterizadas como dois flavonóides derivados da quercetina.

As estruturas foram determinadas com base em métodos espectroscópicos (I.V., RMN - ^1H , RMN - ^{13}C , RMN 2D e E.M.), algumas transformações químicas e por comparação com dados da literatura.

ABSTRACT

This work reports the analysis of the chemical constituents of Combretum leprosum Mart., using hexane and ethanol extractive from leaves and roots as starting material.

Five compounds, three triterpenes (C1, C1r and C1 - 13), and two flavonoids have been fully characterized (C1 - 6 and C1 - 19).

C1, was isolated from both hexane and ethanol extractives from leaves and characterized as a new triterpene belonging to the lupane series. From C1, four derivatives: C1 - 1, C1 - 2, C1 - 3, and C1 - 4 were obtained through chemical derivatization.

C1r, isolated from the ethanol extract of roots was identified as arjunolic acid. Its diacetyl derivative was obtained through acetylation reaction.

C1 - 13, isolated from ethanol extract of leaves was identified as mollie acid. according to the literature mollie acid has been isolated from several species from Combretum genus.

C1 - 6 and C1 - 19, both isolated from the ethanolic extract of leaves were characterized as flavonoid derivatives of quercetin.

Structure determination was done based on spectrometric methods (I.R., ^1H NMR, ^{13}C NMR, 2D NMR and M.S.), chemical derivatization and compounds to data from literature.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS.....	vi
LISTA DE ESQUEMAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xii
LISTA DE QUADROS.....	xiii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. Considerações botânicas sobre a espécie estudada e levantamento bibliográfico do gênero <i>Combretum</i>	3
3. Considerações estruturais dos constituintes químicos isolados do <i>Combretum leprosum</i> Mart.....	12
3.1 - Determinação estrutural de Cl.....	12
3.2 - Determinação estrutural de Clr.....	54
3.3 - Determinação estrutural de Cl-13.....	77
3.4 - Determinação estrutural de Cl-6 e Cl-19.....	90
4. Parte Experimental.....	110
4.1 - Introdução.....	110
4.2 - Isolamento dos constituintes químicos das folhas do <i>Combretum leprosum</i>	112
4.2.1 - Obtenção do extrato hexânico das folhas....	112
4.2.2 - Elaboração do extrato hexânico.....	112
4.2.3 - Elaboração do eluato acetato de etila.....	113
4.2.4 - Elaboração das frações 27 a 35.....	113
	xvi

4.3 - Obtenção do extrato etanólico das folhas.....	114
4.3.1 - Elaboração do extrato etanólico das folhas	114
4.3.2 - Elaboração do eluato clorofórmico.....	115
4.3.3 - Elaboração das frações 17 a 42.....	115
4.3.4 - Elaboração do eluato acetato de etila.....	116
4.3.5 - Elaboração do grupo G-1.....	117
4.3.6 - Elaboração do grupo G-2.....	117
4.3.7 - Elaboração do grupo G-3.....	118
4.4 - Isolamento dos constituintes químicos das raízes do Combretum leprosum	118
4.4.1 - Obtenção do extrato etanólico das raízes..	118
4.4.2 - Elaboração do extrato etanólico das raízes	118
4.5 - Obtenção dos derivados de Cl.....	122
4.5.1 - Cl-1, Diacetilado de Cl.....	122
4.5.2 - Cl-2, Oxidação de Cl-1.....	122
4.5.3 - Cl-3, Oxidação de Cl-1.....	122
4.5.4 - Cl-4, Hidrólise de Cl-3.....	123
4.6 - Obtenção do derivado diacetilado de Clr.....	124
4.7 - Hidrólise de Cl-19.....	124
5. Características físicas e químicas das substâncias <u>isola</u> das do Combretum leprosum e seus derivados.....	125
5.1 - Cl.....	125
5.1.1 - Diacetato de Cl (Cl-1).....	126
5.1.2 - Oxidação de Cl (Cl-2).....	127
5.1.3 - Oxidação de Cl (Cl-3).....	127
5.1.4 - Hidrólise de Cl-3 (Cl-4).....	129
5.2 - Clr.....	130

5.2.1 - Triacetato de Clr (Clr-1).....	131
5.3 - Cl-13.....	132
5.4 - Cl-6.....	133
5.5 - Cl-19.....	134
6. Referências bibliográficas.....	135

INTRODUÇÃO

A família Combretaceae é constituída por dezenove gênero e mais de seiscentas espécies. Seus gêneros são encontrados nas regiões tropicais e subtropical.

Estudos químicos da família Combretaceae revelaram a presença de taninos, flavonóides, triterpenos e derivados do ácido gálico e elágico.^{1,2}

O gênero Combretum, largamente distribuído, compreende duzentas e cinquenta espécies, 10% dos quais são bastantes utilizada na prática da medicina popular da África, Índia e tailândia, no tratamento de diversas doenças como; cancer, lepra, febres tropicais, cólicas etc.^{3,4,5}

B. C. Rogers, Universidade de Durban-África do sul, tem realizado estudo fitoquímico do gênero Combretum originário da África⁶, tendo obtido uma série de glicosídeos triterpênicos, 1 α -hidroxi, como possíveis marcadores quimiossistemáticos.

De acordo com Renato Braga⁷ existem três espécies de Combretum no Ceará, Combretum sp; Combretum leprosum e Combretum lanceolatum, sendo Combretum leprosum a mais comum dentre eles. Esta espécie foi escolhida para estudo fitoquímico visando a identificação dos constituintes químicos e com vistas as possíveis aplicações farmacológicas e quimiossistemáticas.

— Todas estas considerações justificam o estudo da planta e conferem maior relevo ao nosso objetivo que é contribuir para o conhecimento químico da flora Nordeste.

Este trabalho contém métodos, técnicas e conclusões obtidas a partir

do estudo químico da referida espécie, distribuídos como se segue:

- 1- Introdução
- 2- Considerações botânicas sobre a espécie estudada e levantamento bibliográfica
- 3- Relata a determinação estrutural dos constituintes químicos isolados, através de métodos espectroscópicos, transformações e comparação com dados da literatura.
- 4- Diz respeito a parte experimental, onde se faz a descrição dos processos que levaram ao isolamento, purificação das substâncias isoladas e obtenção de derivados.
- 5- É concernente aos dados físicos e químicos das substâncias isoladas e dos derivados.
- 6- Refere-se as referências bibliográficas.

2. CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS SOBRE A ESPÉCIE ESTUDADA E LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO DO GÊNERO COMBRETUM BI

Combretum leprosum Mart. (Combretaceae) é popularmente conhecida como mofumbo.

É um arbusto lenhoso, muito ramificado, semi-sarmentoso. Folhas opostas, pecioladas, inteiras, ovadas ou oblongas, agudas na base, membranosas, escabrosas. Flores dispostas em panículas terminais, pequenas e amarelas. Samara aveludada, pequena.

Suas folhas e entrecasca apresentam propriedades hemostáticas, sudoríficas e calmantes⁷.

Seu habitat cobre todo Nordeste do Brasil sendo mais frequente nos baixios, beira de rios e quebrados de serra.

O gênero Combretum compreende o maior da família Combretaceae, com 250 espécies. O estudo químico de algumas espécies revelou a presença de fenantrenos substituídos, 9, 10 - dihidrofenantrenos, bibenzilas, combretastantina, flavonóides e triterpenos (Quadro 1 , página 4).

Quadro 1. Metabólitos Secundários Isolados do Gênero Combretum Descritos na Literatura

Substâncias	Estruturas	Espécies	Ref.
Fenantrenos Substituídos			
2,6-dihidroxi-3,4,7-trimetoxifenantreno	(1)	<u>C. apiculatum</u>	1
4,6,7-trihidroxi-2,3-dimetoxifenantreno	(2)	<u>C. apiculatum</u>	1
4,7-dihidroxi-2,3,6-trimetoxifenantreno	(3)	<u>C. molle</u>	9
7-hidroxi-2,4,6-trimetoxifenantreno	(4)	<u>C. psidioides</u>	8
7-hidroxi-2,3,4,6-tetrametoxifenantreno	(5)	<u>C. psidioides</u>	8
2,7-dihidroxi-3,4,6-trimetoxifenantreno	(6)	<u>C. psidioides</u>	8
2,6,7-trihidroxi-3,4-dimetoxifenantreno	(7)	<u>C. psidioides</u>	8
9,10-dihidrofenantreno			
4,7-dihidroxi-2,6-dimetoxi-9,10-dihidrofenantreno	(8)	<u>C. apiculatum</u>	1
4,7-dihidroxi-2,3,6-trimetoxi-9,10-dihidrofenantreno	(9)	<u>C. apiculatum</u>	1
2,6-dihidroxi-3,4,7-trimetoxi-9,10-dihidrofenantreno	(10)	<u>C. apiculatum</u>	1
4,6,7-trihidroxi-2,3-dimetoxi-9,10-dihidrofenantreno	(11)	<u>C. molle</u>	9
2,6-dihidroxi-3,4,7-trimetoxi-9,10-dihidrofenantreno	(12)	<u>C. molle</u>	9
7-hidroxi-2,3,4,6-tetrametoxi-9,10-dihidrofenantreno	(13)	<u>C. psidioides</u>	8
7-hidroxi-2,4,6-trimetoxi-9,10-dihidrofenantreno	(14)	<u>C. psidioides</u>	8

Quadro 1. Metabólitos Secundários Isolados do Gênero Combretum Descritos na Literatura

Substâncias	Estruturas	Espécies	Ref.
2,7-dihidroxi-3,4,6-trimetoxi-9,10-dihidrofenantreno	(15)	<u>C. psidióides</u>	8
2,6,7-trihidroxi-3,4-dimetoxi-9,10-dihidrofenantreno	(16)	<u>C. psidióides</u>	8
Bibenzilas			
3,4'-dihidroxi-4,5-dimetilbibenzila	(17)	<u>C. molle</u>	9
4'-hidroxi-3,4,5-trimetoxibibenzila	(18)	<u>C. psidióides</u>	8
4,4'-dihidroxi-3,5-dimetoxibibenzila	(19)	<u>C. psidióides</u>	8
Combretastantin - A-1	(20)	<u>C. cafferum</u>	3
Combretastantin - A-2	(21)	<u>C. cafferum</u>	10
Combretastantin - A-3	(22)	<u>C. cafferum</u>	10
Combretastantin - B-1	(23)	<u>C. cafferum</u>	3
Combretastantin - B-2	(24)	<u>C. cafferum</u>	10
Combretastantin - B-3	(25)	<u>C. cafferum</u>	2
Combretastantin - B-4	(26)	<u>C. cafferum</u>	2
Flavonóides			
5-hidroxi-3,3',4',5',7-pentametoxi-flavonol	(27)	<u>C. quadrangulare</u>	5
3',5-dihidroxi-3,4',7-trimetoxi-flavonol	(28)	<u>C. quadrangulare</u>	5

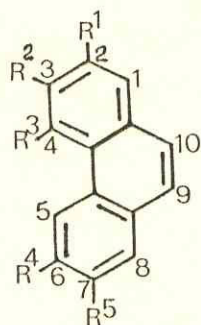
Quadro 1. Metabólitos Secundários Isolados do Gênero Combretum Descritos na Literatura

Substâncias	Estruturas	Espécies	Ref.
5-hidroxi-2-(4'-hidróxi-3',5'-dimetoxifenil)-3,7-dimetoxi-4H-1-benzopiran-4-ona	(29)	<u>C. quadrangulare</u>	5
2-(4'-benzilox-3',5-dimetoxifenil)-5,7-dihidroxi-3-metoxi-4H-1-benzopiran-4-ona	(30)	<u>C. quadrangulare</u>	5
2-(4'-beziloxi-3',5'-dimetoxifenil)-5-hidroxi-3,7-dimetoxi-4H-1-benzopiran-4-ona	(31)	<u>C. quadrangulare</u>	5
5,7,4'-trihidroxi-flavonol	(32)	<u>C. imberbe</u>	11 e 12
Triterpenos			
Ácido mólico	(33)	<u>C. molle</u>	13
Ácido mólico 3- β -D-glicosídeo	(34)	<u>C. molle</u>	14
Ácido mólico 3- β -D-xilosídeo	(35)	<u>C. molle</u>	13
Ácido mólico α -L-arabinosídeo	(36)	<u>C. molle</u>	15
Ácido jéssico	(37)	<u>C. eleagnóides</u>	16
Ácido jéssico α -L-arabinosídeo	(38)	<u>C. eleagnóides</u>	17
Ácido jéssico 1 α , 11 α - óxido	(39)	<u>C. eleagnóides</u>	17

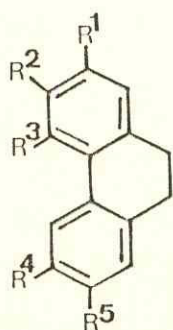
Quadro 1. Metabolitos Secundários Isolados do Gênero Combretum Descritos na Literatura

Substâncias	Estruturas	Espécies	Ref.
Ácido imbérbico	(40)	<u>C. imberbe</u>	11
Ácido 23-hidroxiimbérbico-23-O- α -L-4-acetilraminopi nosídeo	(41)	<u>C. padióides</u>	18
Ácido 23-dihidroxiimbérbico-3-O- α -L-raminopiranosil- 23-O- α -L-4-acetilraminopiranosídeo	(42)	<u>C. padióides</u>	18
Ácido 23-hidroxiimbérbico-3-O- α -L-raminopiranosil- 23-O- α -L-raminosídeo	(43)	<u>C. padióides</u>	18
1 α -3 β ,23,29-tetrahidroxiolean-12-ene-3-O- α -L-rami nopiranosil-23-O- α -L-4-acetilraminopiranosídeo	(44)	<u>C. padióides</u>	18
1 α -3 β ,23,29-tetrahidroxiolean-12-ene-3-O- α -L-rami nopiranosil-23-O- α -L-raminopiranosídeo	(45)	<u>C. imberbe</u>	11 e 19
Ácido betulínico	(46)	<u>C. imberbe</u>	11 e 20
Fridelina	(47)	<u>C. imberbe</u>	11 e 20

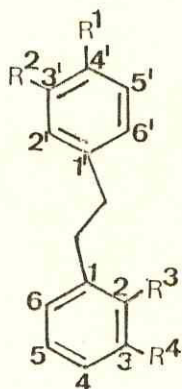
Quadro 2. Estruturas das substâncias isoladas do gênero Combretum



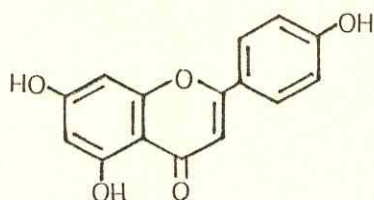
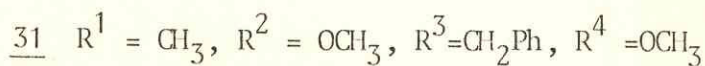
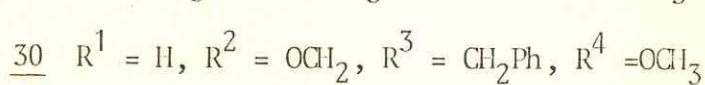
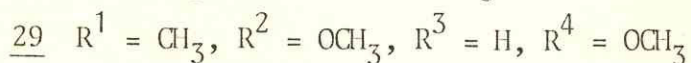
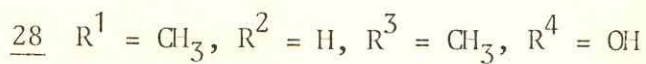
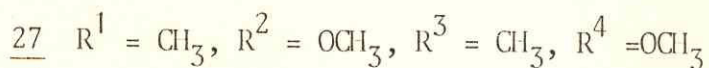
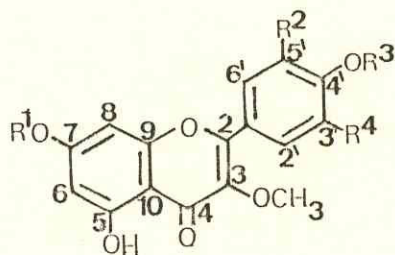
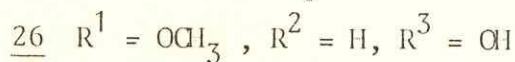
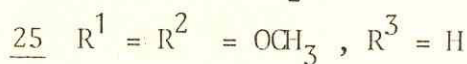
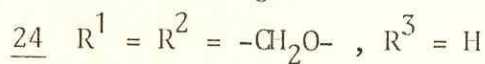
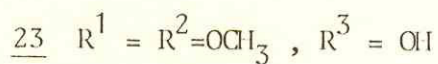
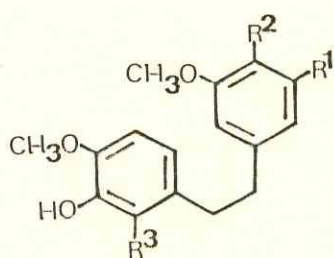
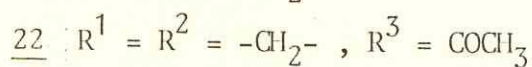
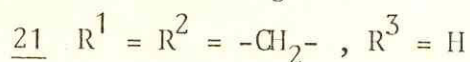
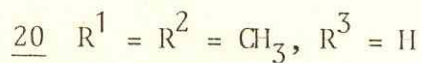
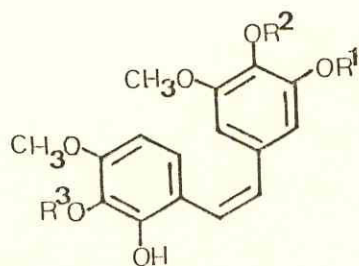
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
<u>1</u>	OH	OMe	OMe	OH	OMe
<u>2</u>	OMe	OMe	OH	OH	OH
<u>3</u>	OMe	OMe	OH	OMe	OH
<u>4</u>	OMe	H	OMe	OMe	OH
<u>5</u>	OMe	OMe	OMe	OMe	OH
<u>6</u>	OH	OMe	OMe	OMe	OH
<u>7</u>	OH	OMe	OMe	OMe	OH



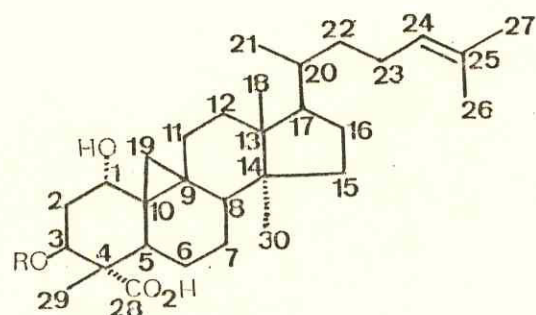
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
<u>8</u>	OMe	H	OH	OMe	OH
<u>9</u>	OMe	OMe	OH	OMe	OH
<u>10</u>	OH	OMe	OMe	OH	OMe
<u>11</u>	OMe	OMe	OH	OH	OH
<u>12</u>	OH	OMe	OMe	OH	OMe
<u>13</u>	OMe	OMe	OMe	OMe	OH
<u>14</u>	OMe	H	OMe	OMe	OH
<u>15</u>	OH	OMe	OMe	OMe	OH
<u>16</u>	OH	OMe	OMe	OMe	OH



	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
<u>17</u>	OH	OMe	OMe	OH
<u>18</u>	OMe	OMe	OMe	OH
<u>19</u>	OMe	OH	OH	OH



Cont. do Quadro 2.

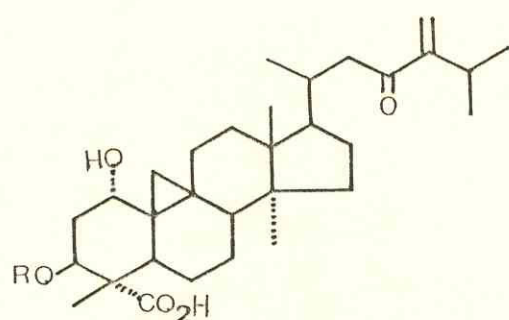


33 R = H

34 R = β - D - Glicose

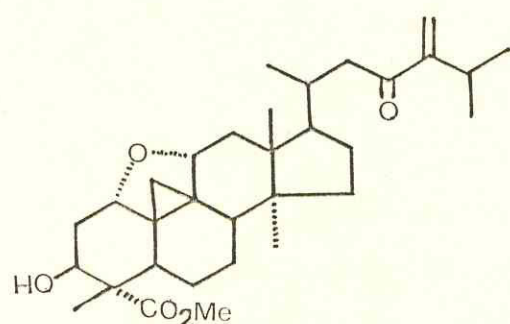
35 R = β - D - Xilose

36 R = α - L - Arabinose

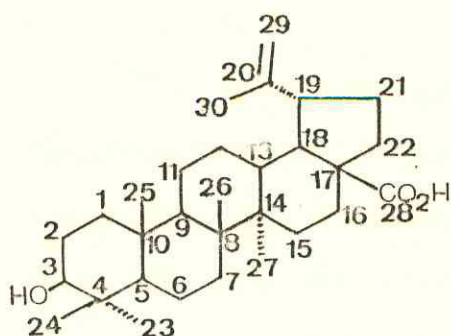
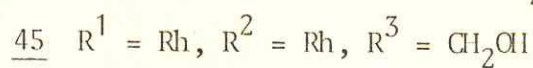
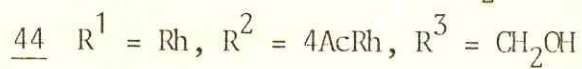
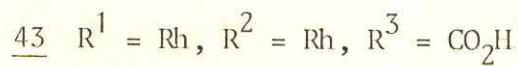
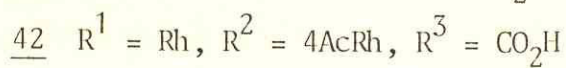
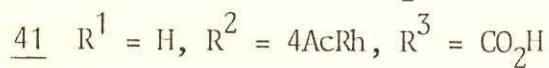
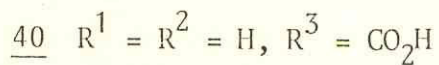
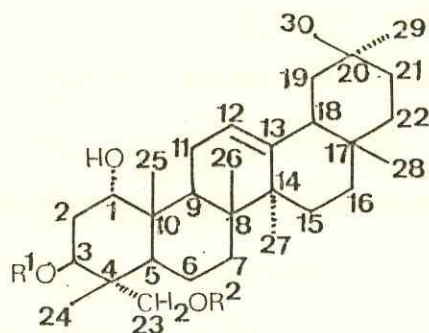


37 R = H

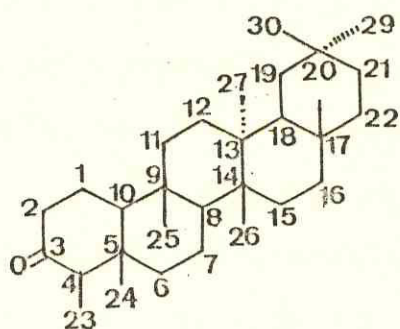
38 R = α - L - Arabinopiranoose



39



46



47

3. CONSIDERAÇÕES ESTRUTURAIS DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DO *Combretum leprosum* Mart.

Do espécime estudado foram isoladas cinco substâncias, duas de natureza flavonoídica e três de natureza triterpenoídica, que receberam as siglas, Cl, Cl-13, Clr, Cl-6 e Cl-19. A determinação estrutural destas substâncias envolveu a análise de dados espectrais complementada com algumas reações químicas para preparação de derivados e análise espectrométrica desses derivados.

3.1 Determinação Estrutural de Cl.

Esta substância apresentou reação positiva quando tratada com reagente de Liebermann-Burchard (coloração vermelha a violeta) característica de teste positivo para triterpeno. É um sólido cristalino incolor, ponto de fusão 270°C , solúvel em acetona, revelou uma mancha uniforme quando cromatografada em camada delgada de sílica.

O espectro na região do infravermelho (Fig. 1, pág. 16), revelou sua natureza alifática e apresentou absorções, entre outras, em $3150\text{--}3650\text{cm}^{-1}$ de grupo OH, assim como absorções em 3060 e 1635, 880 e 890cm^{-1} de ligação dupla carbono-carbono.

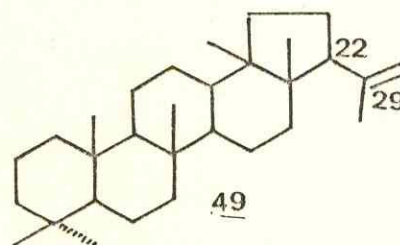
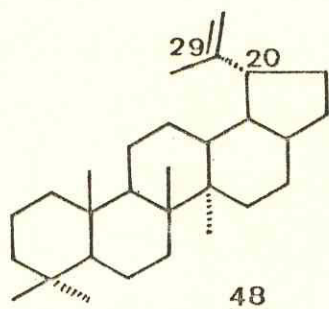
O espectro de RMN ^1H a 300MHz (Fig. 2, pág. 17) exibiu a presença de seis metilas ligadas a carbonos terciários [1,08 (3H, s), 1,07 (3H, s), 1,50 (3H, s), 1,36 (3H, s), 1,60 (3H, s), 1,66 δ]. Uma absorção em 4,91 (1H, sl) pode ser relacionada a um próton de um grupo isopropenil, juntamente com as absorções em 4,75 δ (2H, sl)

e 1,70 δ (3H, s). O outro próton que absorveu em 4,71 δ em conjunto com as absorções em 3,88 δ (1H, dd, J = 11,3 e 4,8Hz) e 3,43 δ (1H, dd, J = 11,2 e 4,0Hz) foram relacionados a prótons metínicos carbônicos, confirmados no espectro de RMN - ^{13}C (Fig. 4, pág. 20) através das absorções 78,7, 67,8 e 76,3 δ .

Os dois sinais relacionados aos prótons olefínicos sugeriram que o grupo isopropenil pertence a um esqueleto lup-20 (29)-eno (48) e não a um hop-22 (29) - eno (49) que seria observado como um único singlete largo²¹.

O espectro de massas (Fig. 3, pág. 18) apresentou o pico do íon molecular 458 daltons, sugerindo a fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_3$. Esta fórmula é compatível com a de um triterpeno trihidroxilado da série lupano. Esta sugestão está de acordo com o esquema de fragmentação proposto para Cl (Esquema 1, pág. 19).

No Espectro de RMN ^{19}C totalmente desacoplado (Fig. 4, pág. 20) as sete metilas absorvem em 27,9; 19,4; 17,9; 17,3; 16,7; 16,8 e 12,0 δ dois picos absorvendo em 150,9 e 109,9 δ confirmaram a existência de uma ligação dupla carbono-carbono terminal.



Na Tabela 1, pág. 15), estão representados os valores dos deslocamentos químicos dos átomos de carbonos não-protonados, mono-, di- e triprotonados, revelados pela análise comparativa do espectro de RMN ^{13}C totalmente desacoplado e o APT (Fig. 4, pág. 20) confirmando, portanto, a fórmula molecular sugerida.

A previsão biogenética, deslocamento químico no espectro de RMN ^{13}C em 78,7 δ permitiu a localização de uma hidroxila na posição C-3^{22, 25} (50).

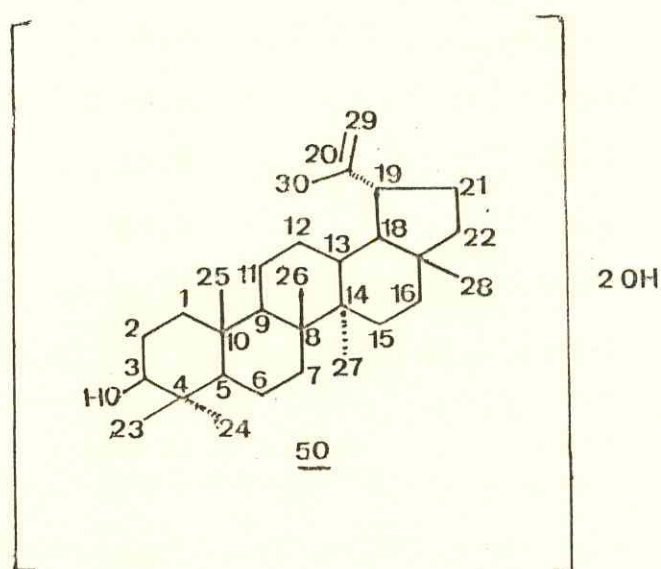


Tabela 1. Deslocamentos Químicos dos Carbonos (δ) de C1 registrados em CD_3COCD_3 e TMS como Referência Interna.

C	CH	CH_2	CH_3
150,9	78,7	109,3	27,9
49,4	76,3	42,6	19,4
44,5	67,8	41,5	17,9
40,7	56,7	41,5	17,3
40,6	51,4	37,7	16,8
37,3	48,4	30,5	16,7
	48,3	28,3	12,0
	37,1	25,7	
		21,6	
6C	3 (CH-O) + 5 (CH)	9 (CH_2)	7 (CH_3)
			$\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_3$



Figura 1. Espectro no I.V. de Cl (Fase KBr).

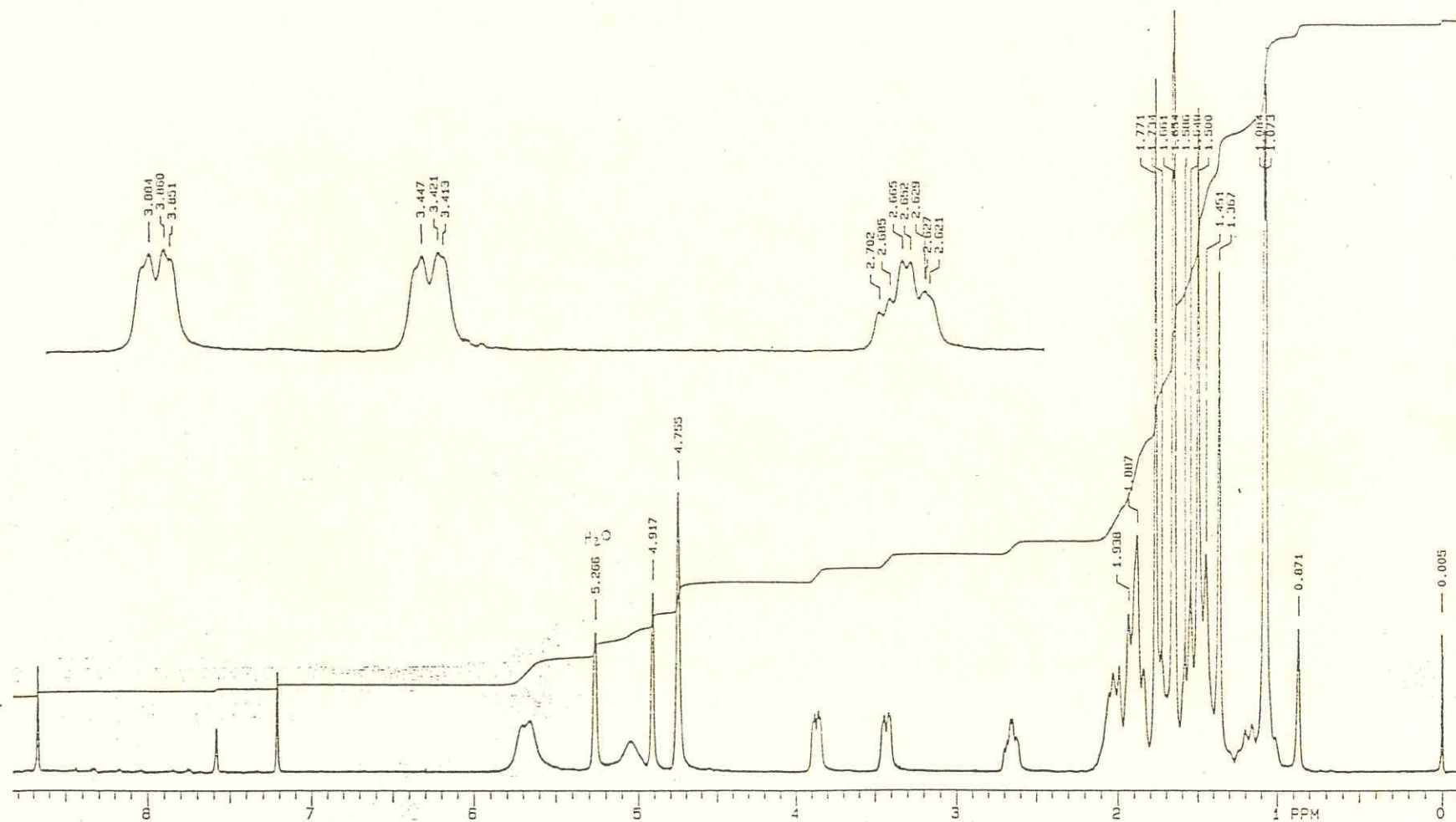


Figura 2. Espectio de RMN- ^1H de C1 (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

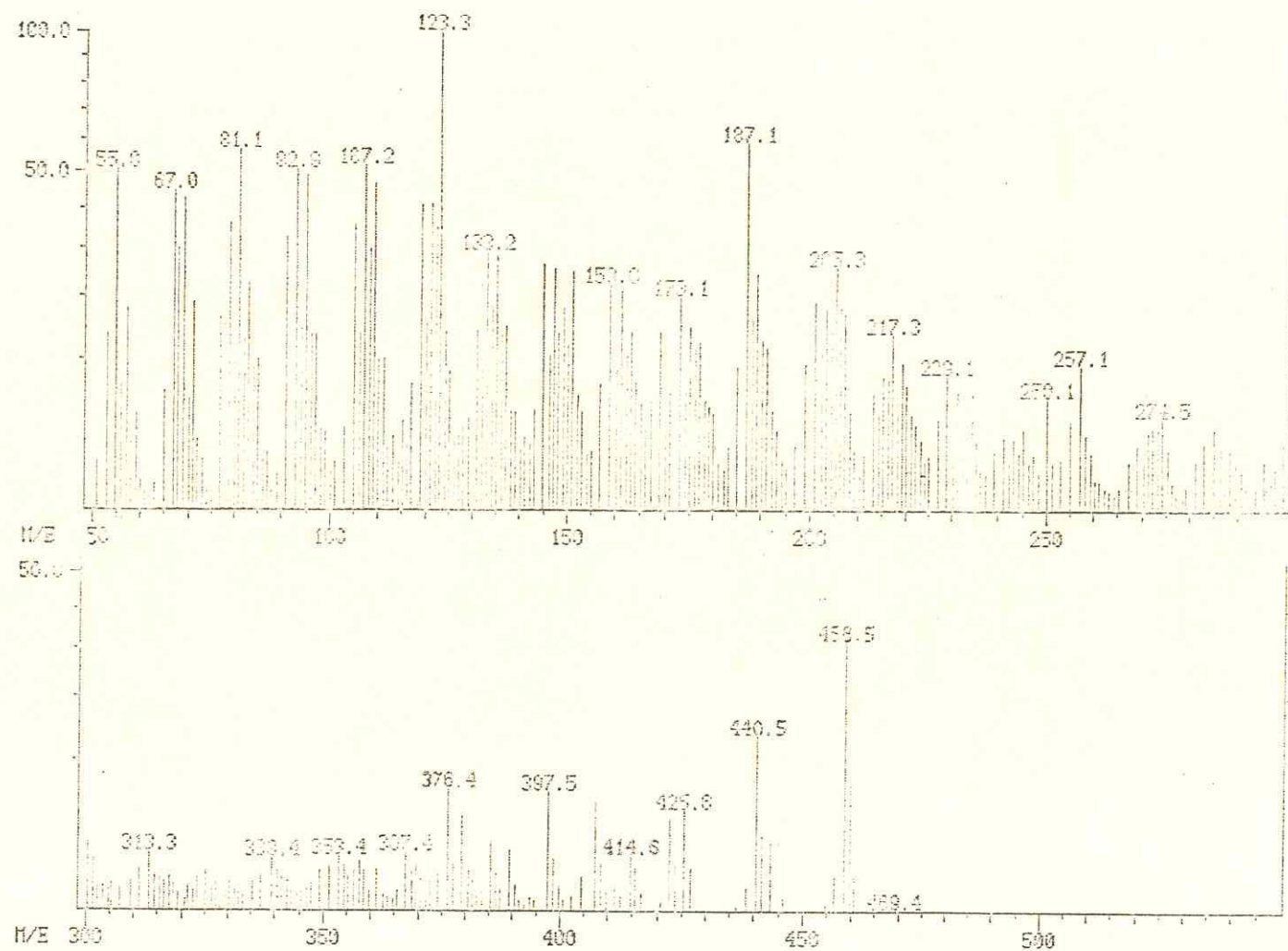
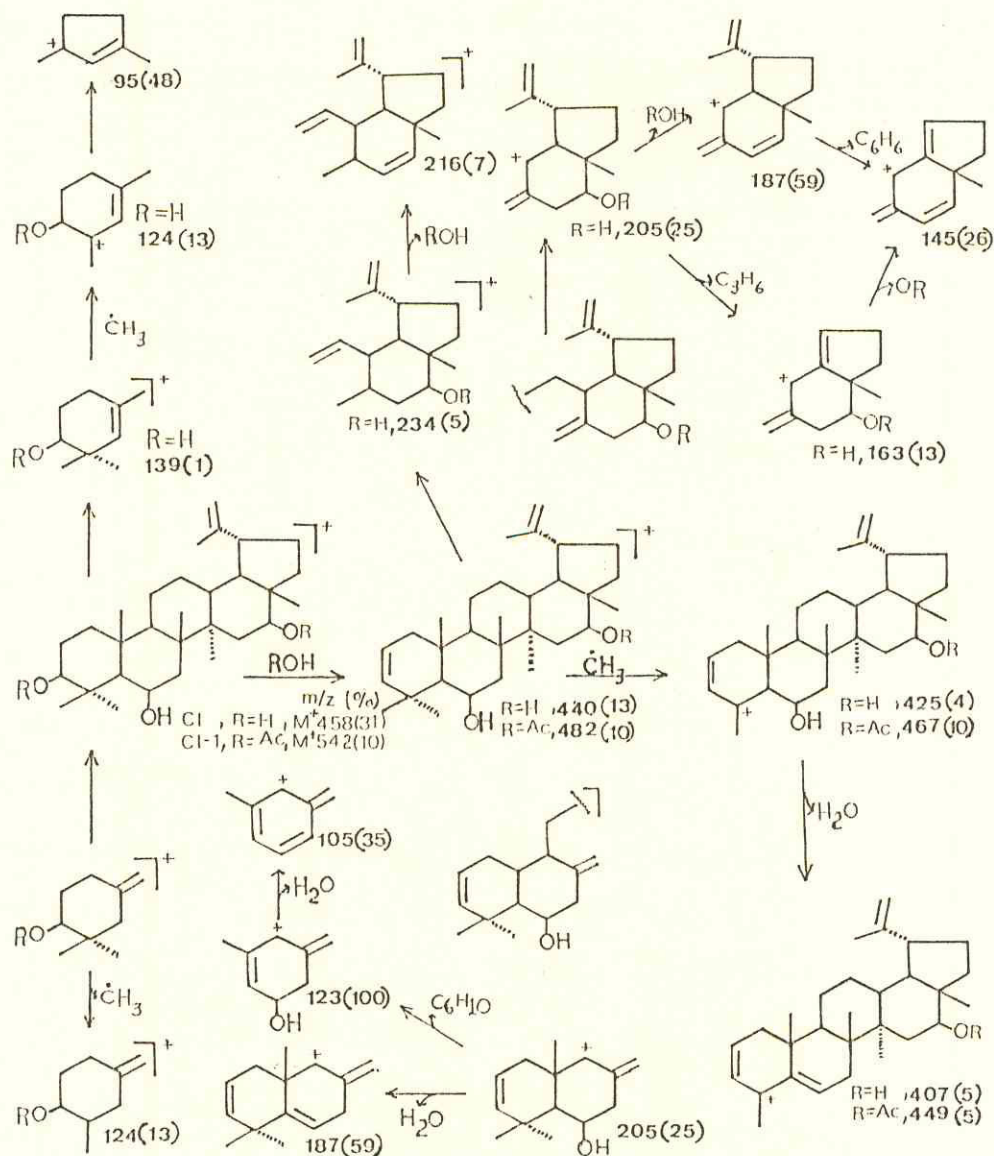


Figura 3. Espectro de Massas de Cl.

Esquema 1. Proposta para os possíveis caminhos de fragmentação de Cl e Cl-1 no espectrometro de massas.



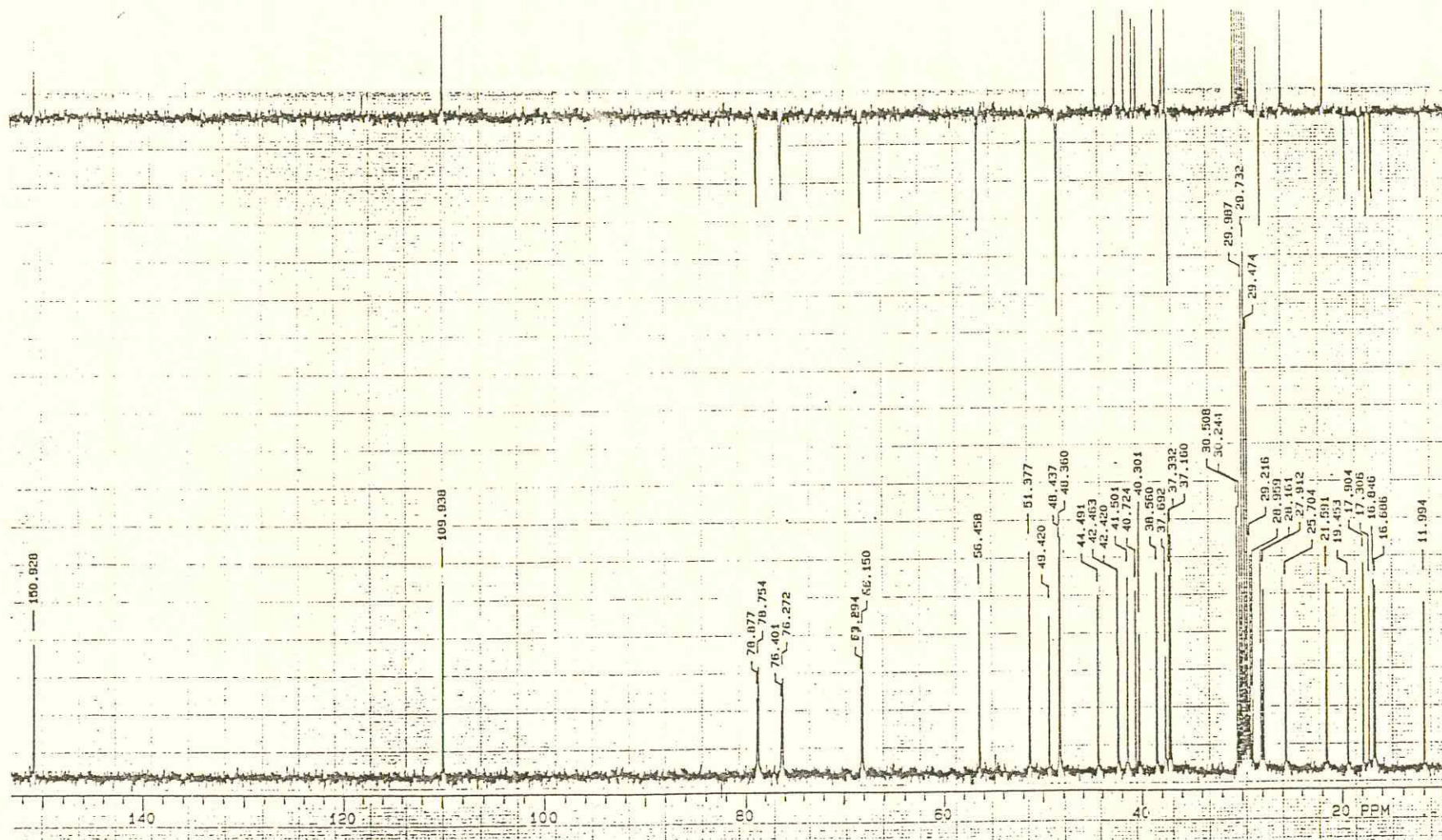


Figura 4. Espectro de RMN- ^{13}C de C1 (75 MHz, CD_3COCD_3 , δ).

O tratamento de Cl com piridina e anidrido-acético a temperatura ambiente forneceu como produto uma substância cristalina incolor denominado Cl-1 (Esquema 2, pág. 42), solúvel em clorofórmio, ponto de fusão 110 - 111°C.

O espectro de massas deste derivado Cl-1 (Fig. 5, pág. 25) forneceu o pico correspondente ao íon molecular 542 daltons, revelando aumento de 84 daltons em relação ao peso molecular da substância original, correspondendo, portanto, a um derivado diacetilado.

Observou-se no espectro de RMN ^{13}C de Cl-1 (Fig. 6, pág. 26) a permanência da absorção em 68,6 δ relacionada ao carbono ligado a hidroxila que não foi acetilada, sugerindo portanto que esta hidroxila encontra-se localizada em posição estericamente impedida.

Estes resultados estão de acordo com o espectro na região do infravermelho de Cl-1 (Fig. 7, pág. 27), onde observou-se o aparecimento de duas bandas de absorções em 1710 e 1760 cm^{-1} , correspondentes aos estiramentos das carbonilas dos grupos acetila e a permanência de uma absorção larga em 3540 cm^{-1} correspondente ao estiramento da hidroxila não-acetilável.

O espectro de RMN ^1H a 300MHz de Cl-1 (Fig. 8, pág. 28) mostrou sinais em 4,82 δ (1H, dd, $J = 11,4$ e $4,8\text{Hz}$) e 4,40 δ (1H, dd, $J = 11,2$ e $4,2\text{Hz}$) que foram atribuídos aos prótons ligados aos carbonos que sustentam os grupos acetato e uma absorção em 4,49 δ (1H, sl) relacionado ao próton ligado ao carbono da hidroxila não-acetilável.

Os deslocamentos químicos nos espectros de RMN - ^1H ,

4,75 δ (1H, sl) e 4,49 δ (1H, sl) de Cl e Cl-1, respectivamente relacionados aos prótons ligados ao carbono da hidroxila que não foi acetilada, mostraram-se bastantes semelhantes aos deslocamentos químicos dos prótons metínicos carbinólicos dos derivados 6- β -hidroxilupano descritos na literatura²⁶, 4,60 δ (1H, sl), portanto sugerindo a presença de um grupo 6- β -hidroxil em Cl e Cl-1, justificando o fato desta hidroxila não ter sido acetilada nas condições em que as outras foram, pois esta posição é bastante impedida estericamente²⁴.

No esquema de fragmentação no espectrômetro de massas, proposto para Cl e Cl-1 (Esquema 1, pág. 19) os picos com razão de massa sobre carga 234, 216, 205 e 187 daltons, sugeriram a presença de uma hidroxila no anel D ou E.

Ao observar-se os deslocamentos químicos e os padrões de acoplamentos dos prótons ligados aos carbonos que sustentam os grupos acetato de Cl-1 no espectro de RMN ^1H , 4,82 e 4,40 δ (dd, $J_{\text{ax/ax}} \sim 11,0$ e $J_{\text{ax/eq}} \sim 4,0\text{Hz}$) conclui-se que os mesmos deverão estar ligados a carbonos vizinhos a carbonos quaternários ocupando posição axial. Como sugerimos acima que uma das hidroxilas de Cl deverá estar localizada no anel D ou E, existem portanto três possibilidades para a localização da terceira hidroxila C-15, C-16 e C-22.

Ao comparar-se os deslocamentos químicos dos espectros de RMN ^{13}C de Cl e do derivado diacetilado Cl-1 (Tabela 2, pág. 23) verificou-se que praticamente não ocorreu diferença significativa entre o carbono - 21 do composto hidroxilado Cl e o derivado diacetilado Cl-1, descartando a possibilidade da hidroxila estar localiza

Tabela 2. Deslocamentos químicos de NMR ^{13}C de Cl, seus derivados e triterpenos da série lupano descritos na literatura.

C	Cl	Cl-1	Cl-2	Cl-3	Cl-4	54	55	56	57
1	41,5	40,4	35,7	35,7	37,7	39,6	42,5	43,0	41,6
2	28,9	23,8	33,0	23,4	28,1	34,6	34,4	34,5	27,8
3	78,7	80,8	216,2 ^a	79,9	77,7	216,8	216,8	216,7	78,8
4	40,6	38,6	49,9	43,5	43,9	47,2	48,9	49,0	39,4
5	56,7	55,6	67,0	65,1	65,6	54,9	56,6	56,6	56,1
6	67,8	68,6	212,3	211,1	212,2	19,7	69,7	69,7	18,4
7	42,6	42,1	53,7	52,0	52,5	33,9	42,1	42,2	35,8
8	40,7	40,1	48,3	44,4	44,4	41,4	40,7	40,0	43,0
9	51,4	50,5	51,4	50,1	50,5	50,0	50,6	50,7	56,1
10	37,3	37,5	45,4	36,5	38,3	36,8	36,8	36,8	39,7
11	21,6	20,9	23,2	21,3	21,5	22,0	21,8	21,3	70,8
12	25,7	24,7	26,1	24,2	24,9	28,7	28,7	25,2	39,8
13	37,1	36,6	39,2	37,2	37,5	37,7	36,8	37,2	37,4
14	44,3	44,3	49,3	47,3	47,8	43,6	43,9	42,2	43,2
15	37,7	33,5	46,6	33,4	38,7	27,6	27,7	27,5	28,1
16	76,3	79,0	216,0 ^a	78,4	75,7	35,6	35,6	35,5	35,8
17	49,4	47,5	58,5	47,5	49,5	44,6	44,6	43,2	43,5
18	48,3	47,8	51,3	47,8	48,1	48,3	48,5	48,3	47,7
19	48,4	47,3	49,4	47,5	48,1	49,7	50,1	48,0	45,0
20	150,9	149,7	150,4	149,4	150,5	73,4	73,4	150,3	29,2
21	30,5	29,7	30,4	29,7	30,3	29,7	29,1	29,8	22,2
22	38,5	37,6	42,9	39,4	40,1	40,2	40,2	39,9	40,5
23	27,9	27,5	26,2	27,3	27,8	26,7	24,9	25,0	28,6
24	17,9	18,1	23,7	19,2	19,5	21,0	23,7	23,7	15,7
25	19,4	17,7	18,3	16,3	16,5	16,0	17,5	17,0	17,5
26	16,8	16,8	18,5	16,1	16,3	16,0	17,0	17,1	16,5
27	16,7	16,2	17,7	15,9	16,2	14,8	15,2	14,8	14,8
28	12,0	12,7	19,2	12,7	12,3	19,2	19,2	18,0	18,5
29	109,9	109,9	112,9	110,2	110,2	31,6	31,7	109,4	15,5
30	17,3	19,3	20,9	17,1	17,4	24,8	25,2	19,3	23,1
CH ₃ CO		21,3		21,2					
CH ₃ CO		170,9		170,8					

a, os valores podem estar trocados.

da na posição C-22.

Porém verificou-se que ocorreu uma diferença no deslocamento químico (4,2ppm proteção), do carbono - 15 de Cl-1, com relação ao C-15 de Cl, sugerindo a localização da hidroxila em C-16, visto que a posição de absorção de C-14 de Cl-1 é idêntica a do Cl, fato que não seria possível se a hidroxila estivesse ligada no C-15.

Outros derivados foram preparados (Esquema 2, pág. 42) com a finalidade de confirmar as posições e a estereoquímica das hidroxilas de Cl.

A oxidação de Cl com PCC forneceu como produto um sólido branco amorfo denominado, Cl-2, solúvel em clorofórmio, ponto de fusão 110 - 112°C.

O espectro na região do I.V. de Cl-2 (Fig. 9, pág. 32) apresentou uma banda larga e intensa centrada em 1715cm^{-1} , sugerindo o estiramento de três carbonilas. A presença de uma banda fina em 3400cm^{-1} , estiramento de hidroxila livre, presente neste espectro pode perfeitamente ser atribuída a presença de água na amostra.

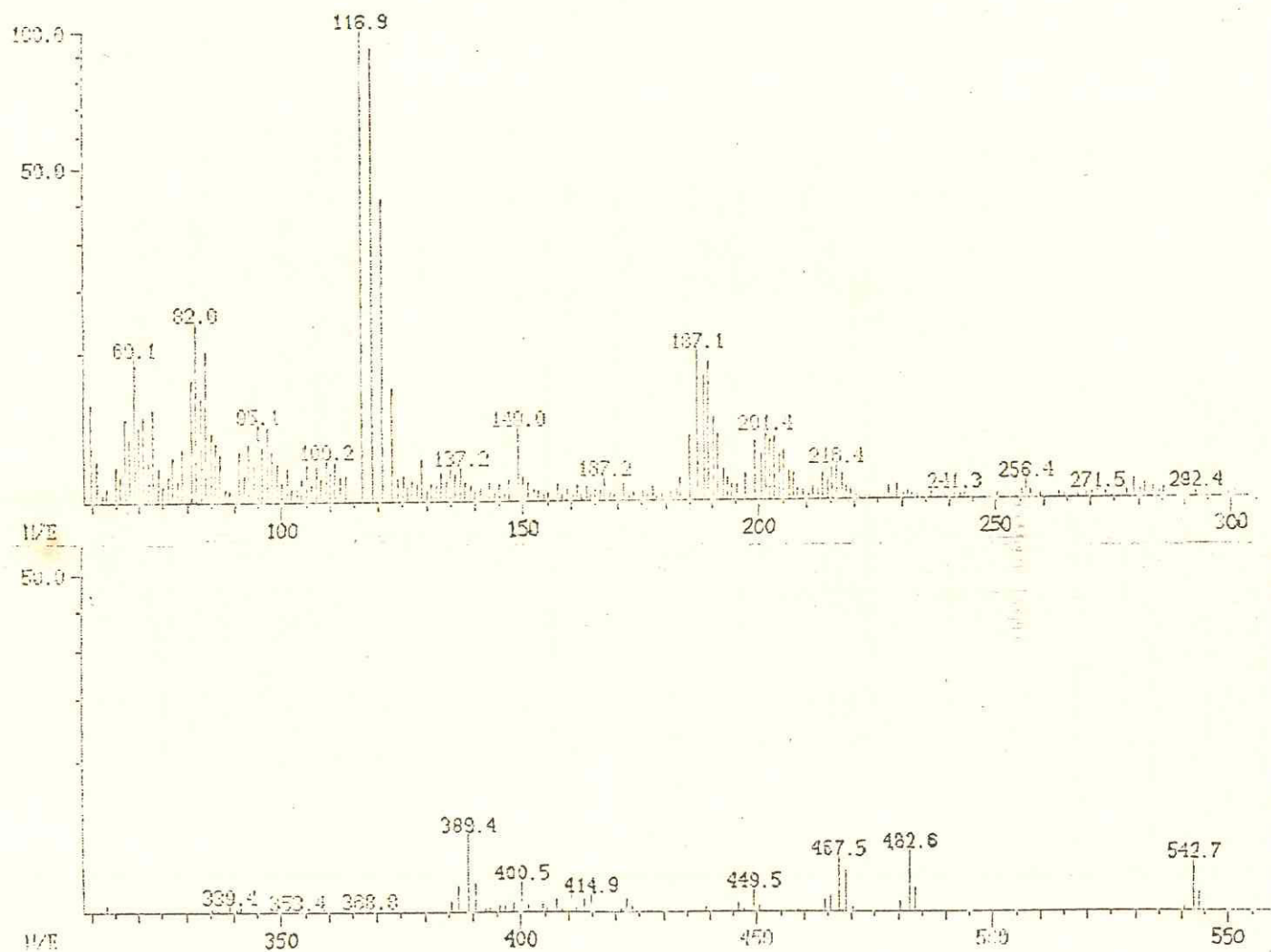


Figura 5. Espectro de Massas de Cl-1.

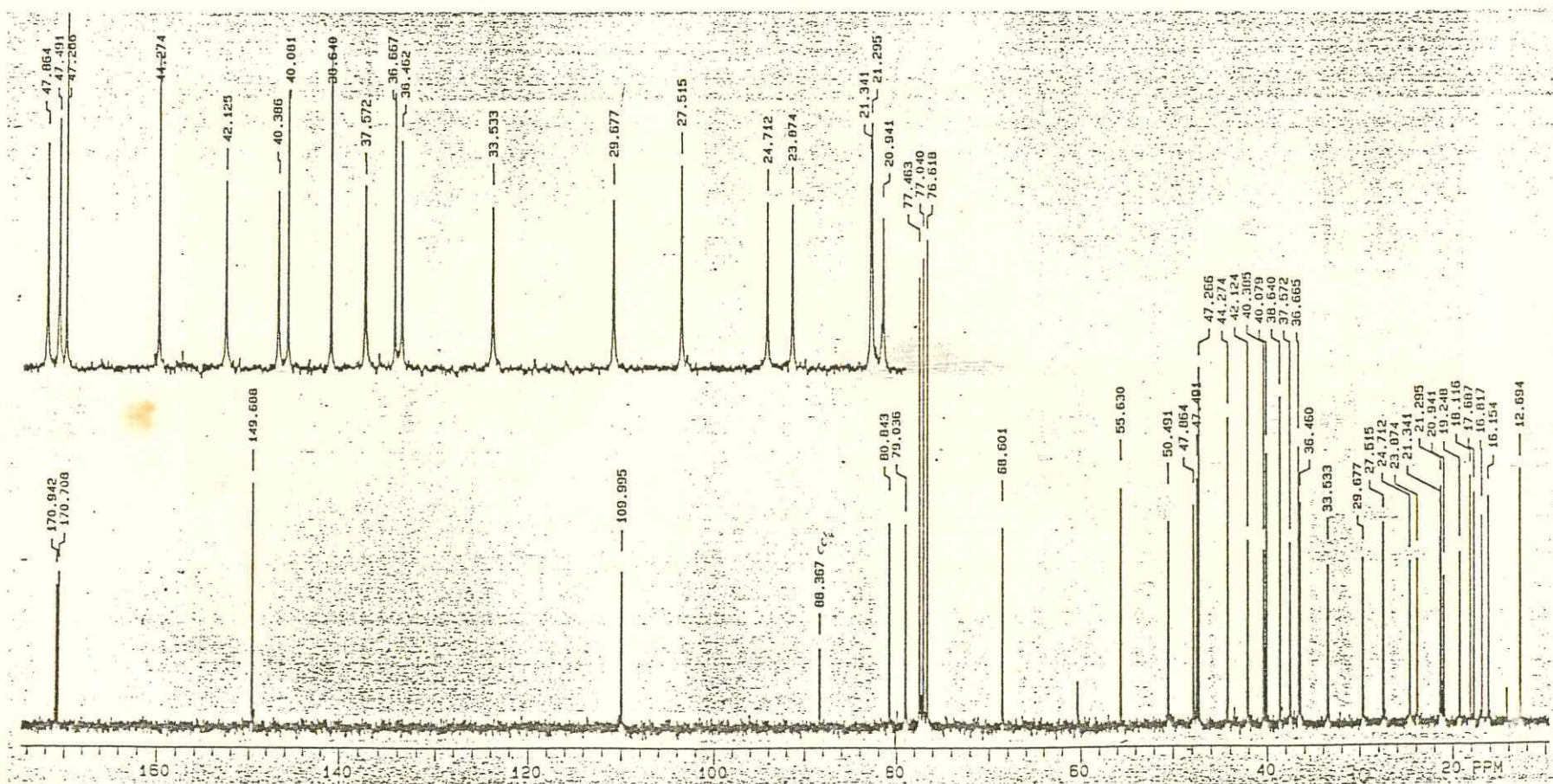


Figura 6. Espectro de RMN-¹³C de Cl-1 (75 MHz, CDCl₃, δ).

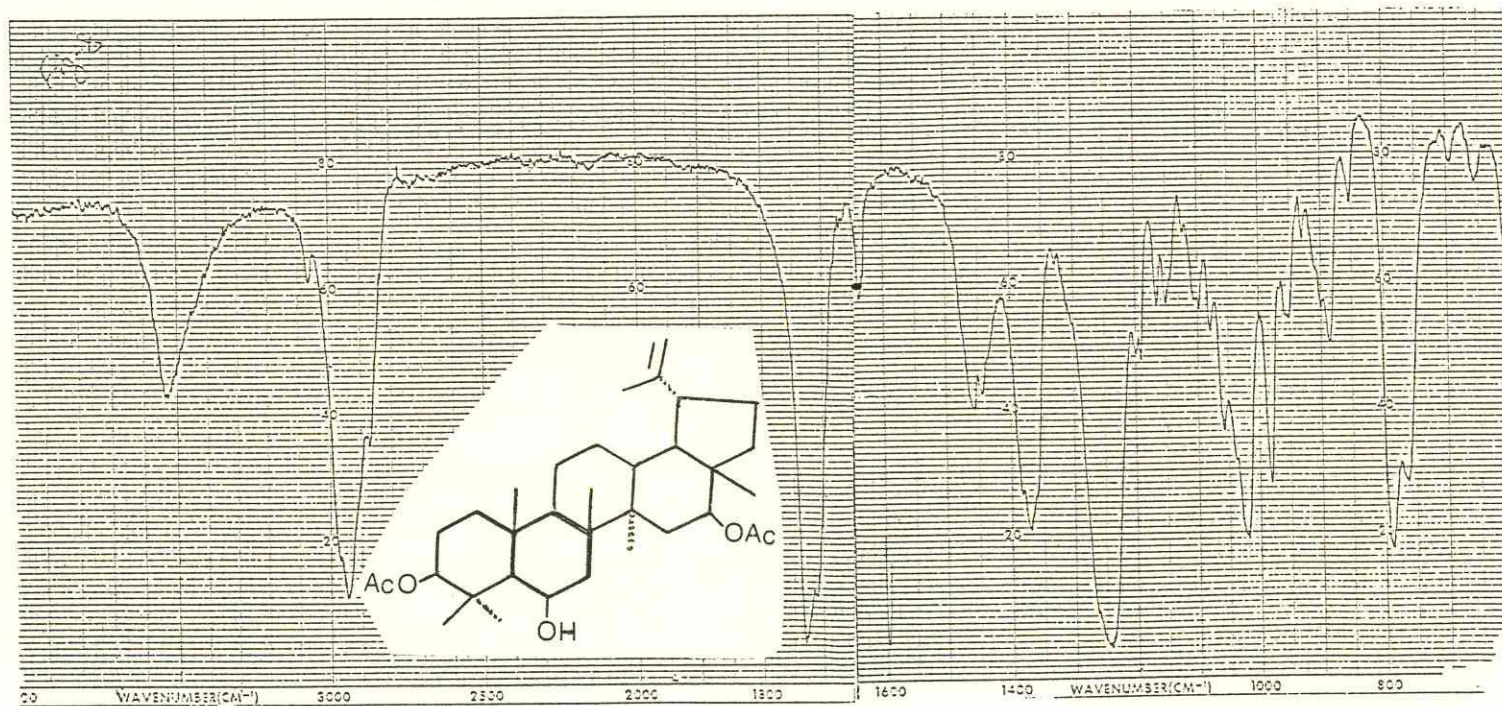


Figura 7. Espectro no I.V. de Cl-1 (Fase: KBr).

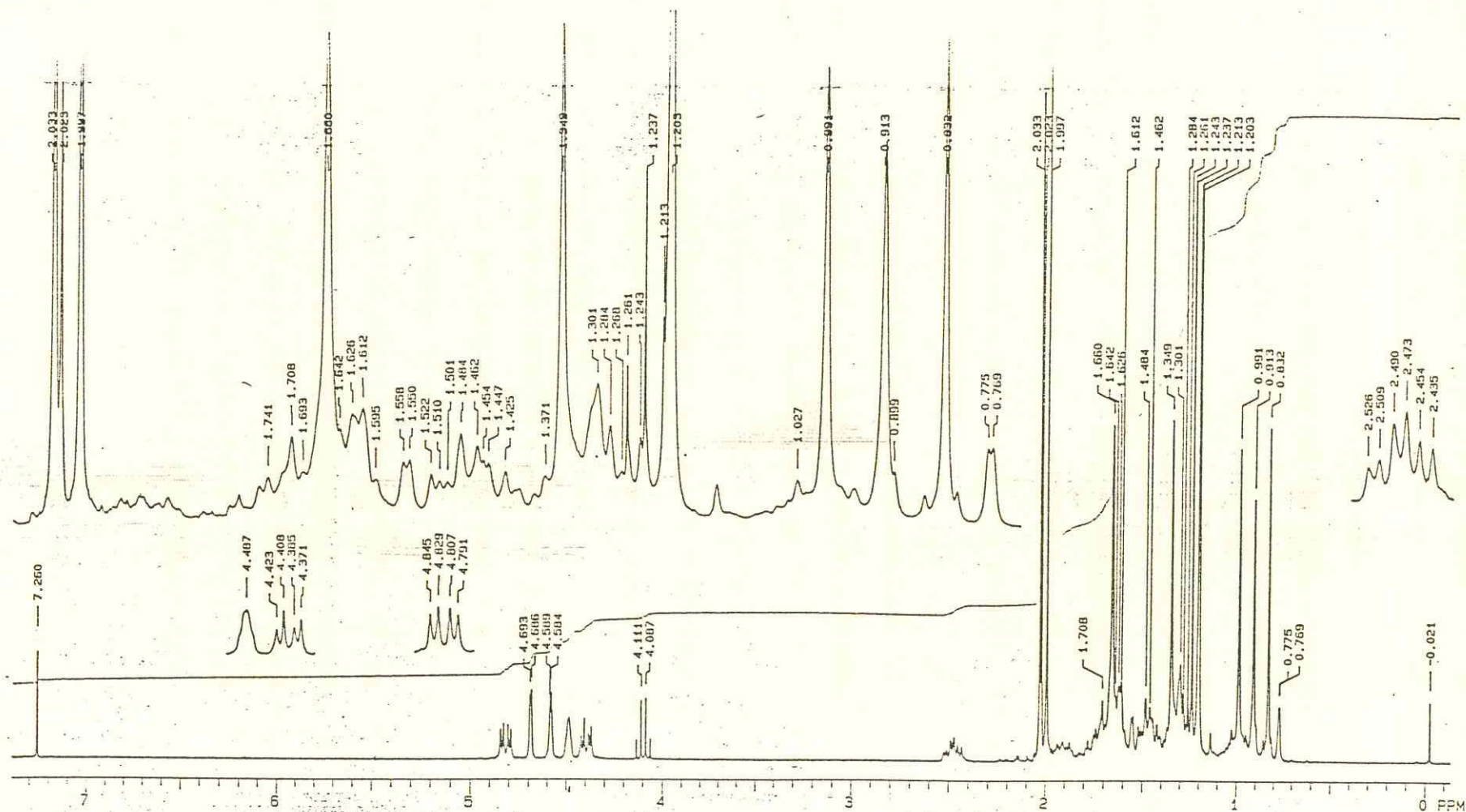


Figura 8. Espectro de RMN- ^1H de Cl-1 (300 MHz, CDCl_3 , δ).

O espectro de massas de Cl-2 (Fig. 10, pág. 33), apresentou o pico do íon molecular 452 daltons, portanto, seis daltons a menos que o pico do íon molecular do composto original sugerindo, assim, que as hidroxilas foram todas oxidadas.

A observação no espectro de RMN ^{13}C totalmente desacoplado (Fig. 11, pág. 34) de três absorções 216,2; 212,3 e 216,0 δ relacionadas aos carbonos carbonílicos juntamente com o desaparecimento de três absorções em 78,7, 76,3 e 67,8 δ de carbonos ligados a hidroxilas, confirmaram a oxidação dos grupos hidroxilados da substância original.

A oxidação do derivado diacetilato Cl-1 resultou como produto de reação um sólido branco amorfo denominado, Cl-3, solúvel em clorofórmio, ponto de fusão 158 - 160°C.

O espectro na região do I.V. de Cl-3 (Fig. 12, pág. 35) evidenciou o desaparecimento da banda relacionada ao estiramento de grupo OH e apresentou uma banda dupla centrada em 1718 cm^{-1} sugerindo a presença de carbonila cetônica.

O espectro de RMN ^1H a 300MHz de Cl-3 (Fig. 13, pág. 36), mostrou a ausência da absorção em 4,49 δ do próton metínico carbonílico do derivado diacetilado Cl-1.

O derivado diacetilado oxidado, Cl-3, foi então submetido a uma hidrólise alcalina com KOH/MeOH fornecendo um sólido branco, denominado Cl-4, solúvel em acetona, ponto de fusão 253 - 258°C.

O espectro na região do I.V. (Fig. 14, pág. 37), apresentou absorções em 3150-3600 cm^{-1} , estiramento OH e 1710 cm^{-1} estiramento de carbonila.

O espectro de RMN ^{13}C a 75MHz totalmente desacoplado de Cl-4 (Fig. 15, pág. 38) exibiu absorções em 75,7 e 77,7 δ que foram atribuídos aos carbonos ligados a hidroxila e uma absorção em 212,2 δ relacionada a um carbono carbonílico cetônico.

O espectro de RMN ^1H a 300MHz de Cl-4 (Fig. 16, pág. 39) deixou de exibir os sinais relacionados às metilas dos grupos acetila. Por outro lado, voltou a exibir as absorções em 3,90 δ e 3,42 δ dos prótons ligados a carbonos hidroxilados, confirmando portanto a desacetilação do derivado Cl-3.

Com a obtenção destes derivados foi possível confirmar as posições e estereoquímica das hidroxilas do composto original.

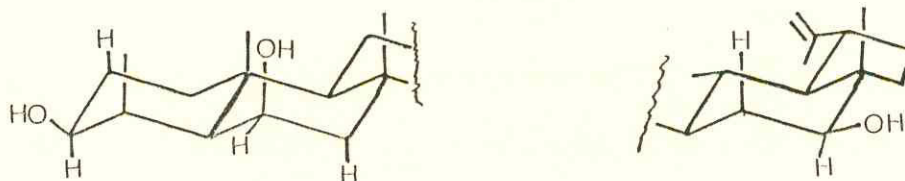
A confirmação da hidroxila na posição C-3 pode ser facilmente observada quando comparamos os deslocamentos químicos dos carbonos C-2, C-4 (Tabela 2, pág. 23) do composto original com o derivado oxidado Cl-2. Verificou-se que ocorreu uma desproteção nestes átomos de carbonos no derivado Cl-2 em relação aos mesmos átomos de carbonos do composto original. A desproteção dos carbonos C-2 e C-4 se deve a um efeito α de carbonila em C-3.

Quanto a estereoquímica da hidroxila em C-3 a posição equatorial foi nitidamente favorecida depois da análise dos espectros de RMN ^1H da substância original e dos derivados Cl-1, Cl-3 e Cl-4 através do padrão de acoplamento dos prótons carbinólicos H-3 (dd, $J_{ax/eq}$, $J \approx 4,0\text{Hz}$, respectivamente).

No esquema de fragmentação proposto para Cl-2, Cl-3 e Cl-4 (Esq. 3, pág. 43) a partir de seus espectros de massas (Fig. 10, 17 e 18, pág. 33, 40, 41, respectivamente), são comuns os fragmentos com razão de massa sobre carga 121 e 203 daltons.

Como estes derivados têm em comum uma função carbonila, sugerimos que a hidroxila do composto original deverá estar localizada no anel B, C-6 ou C-7, ocupando posição axial, que pode ser justificada pelo fato da mesma não ter sido acetilada nas mesmas condições que as outras, já que estas posições são bastante impedidas estericamente²⁴.

Como se havia sugerido a localização da hidroxila na posição C-6 com base em comparação de dados descritos na literatura (pág. 22), pode-se agora confirmar esta sugestão através da comparação dos deslocamentos químicos de RMN ¹³C do composto original com o derivado oxidado na posição C-6 (Cl-2) (Tab. 2, pág. 23) onde verifica-se que os carbonos adjacentes a carbonila (C-5 e C-7) sofreram uma desproteção de aproximadamente 10,3 e 11,1ppm, respectivamente, relacionada a um efeito α da carbonila.



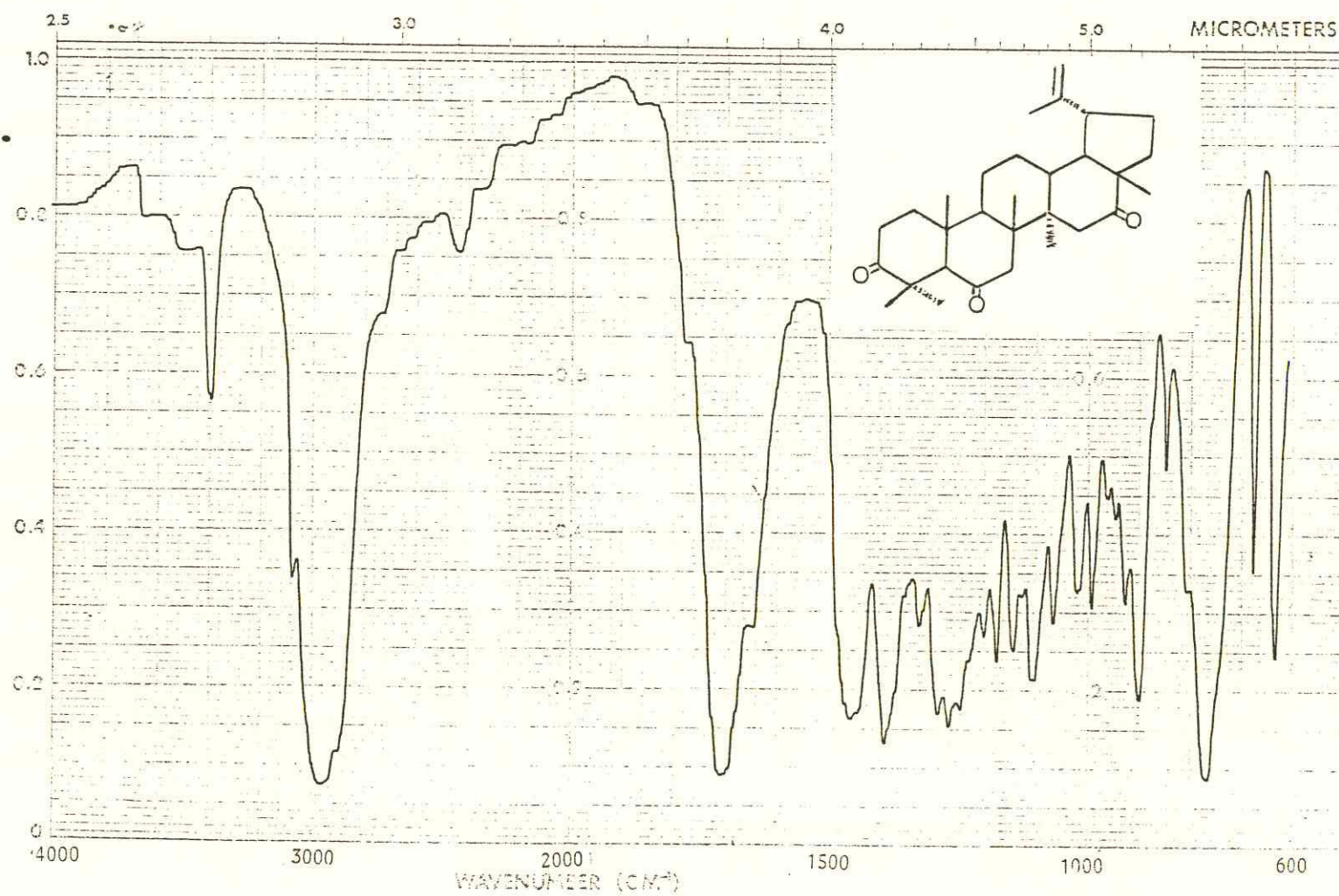
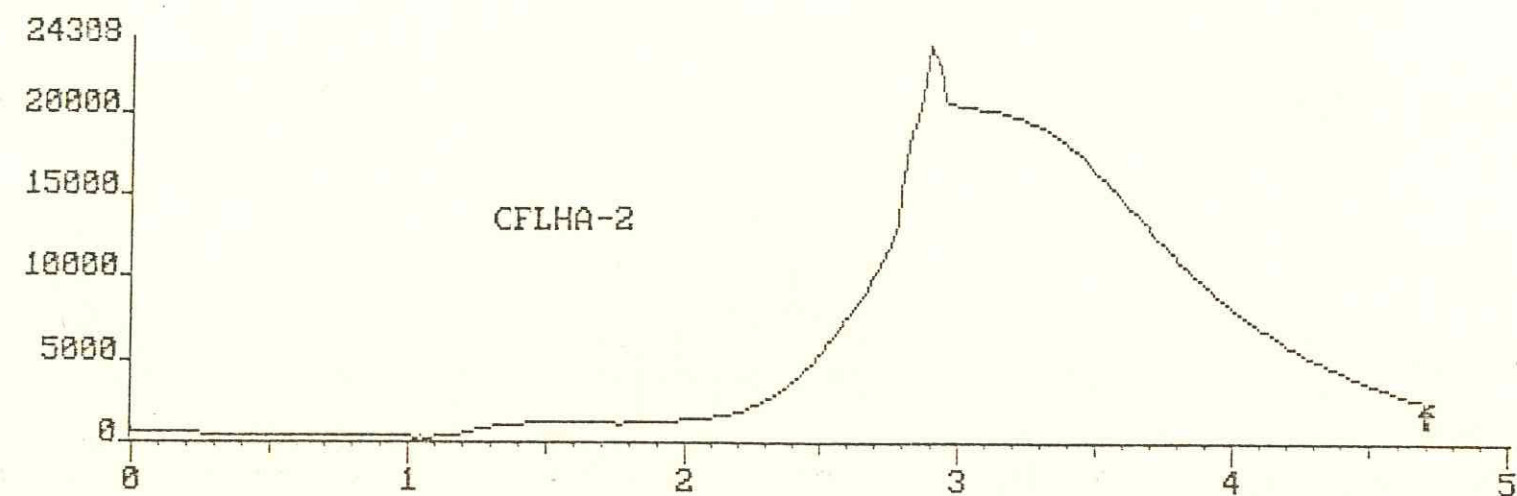


Figura 9. Espectro no I.V. de Cl-2 (Fase: KBr).

28811



Scan at 4.7

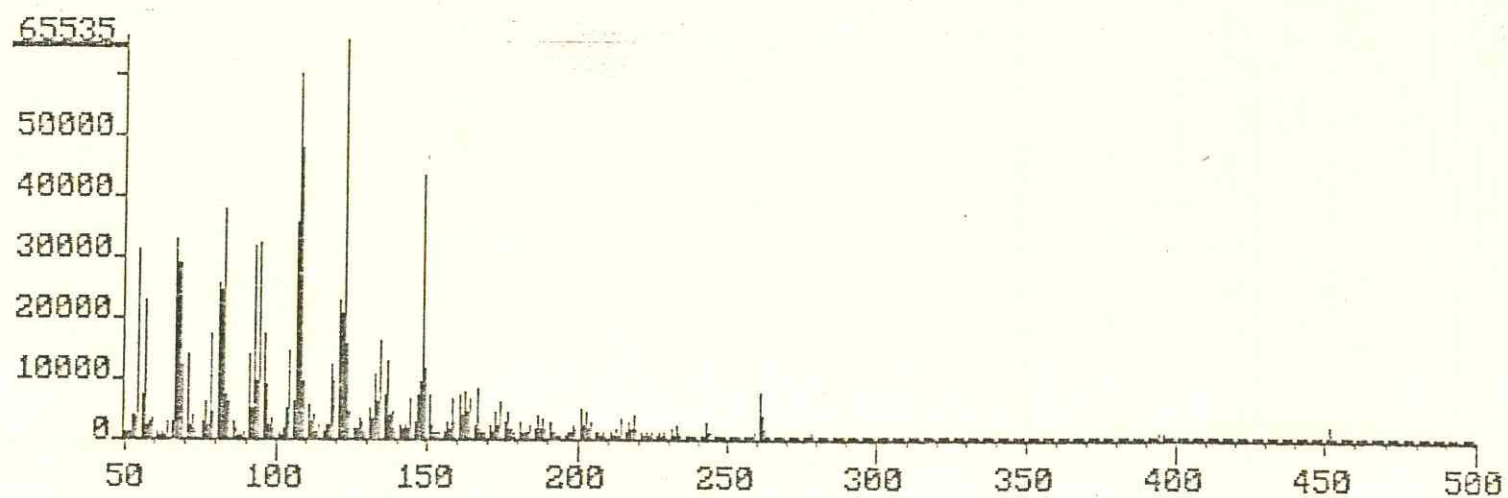


Figura 10. Espectro de Massas de Cl-2.

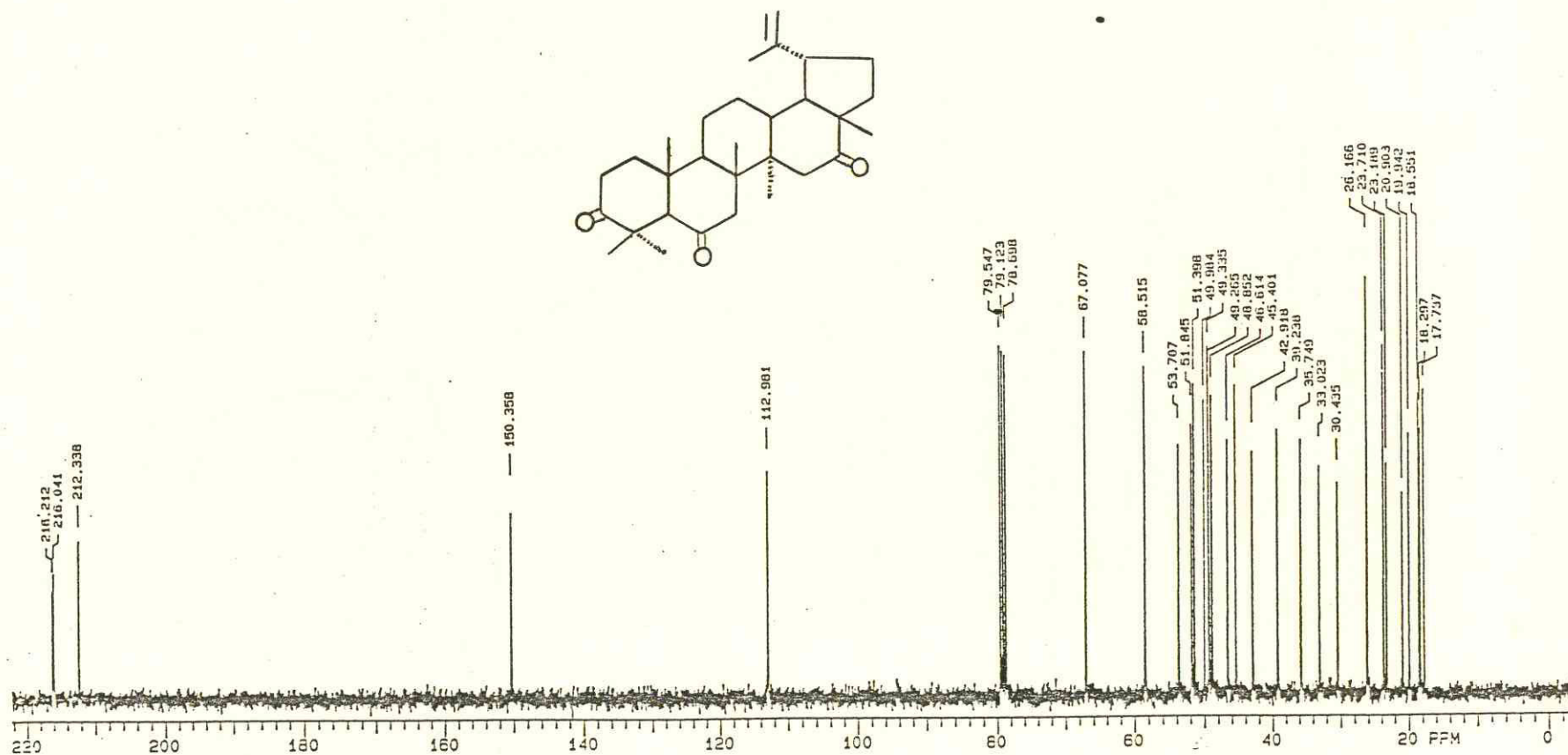


Figura 11. Espectro de RMN-¹³C de Cl-2 (75 MHz, CDCl₃, δ).

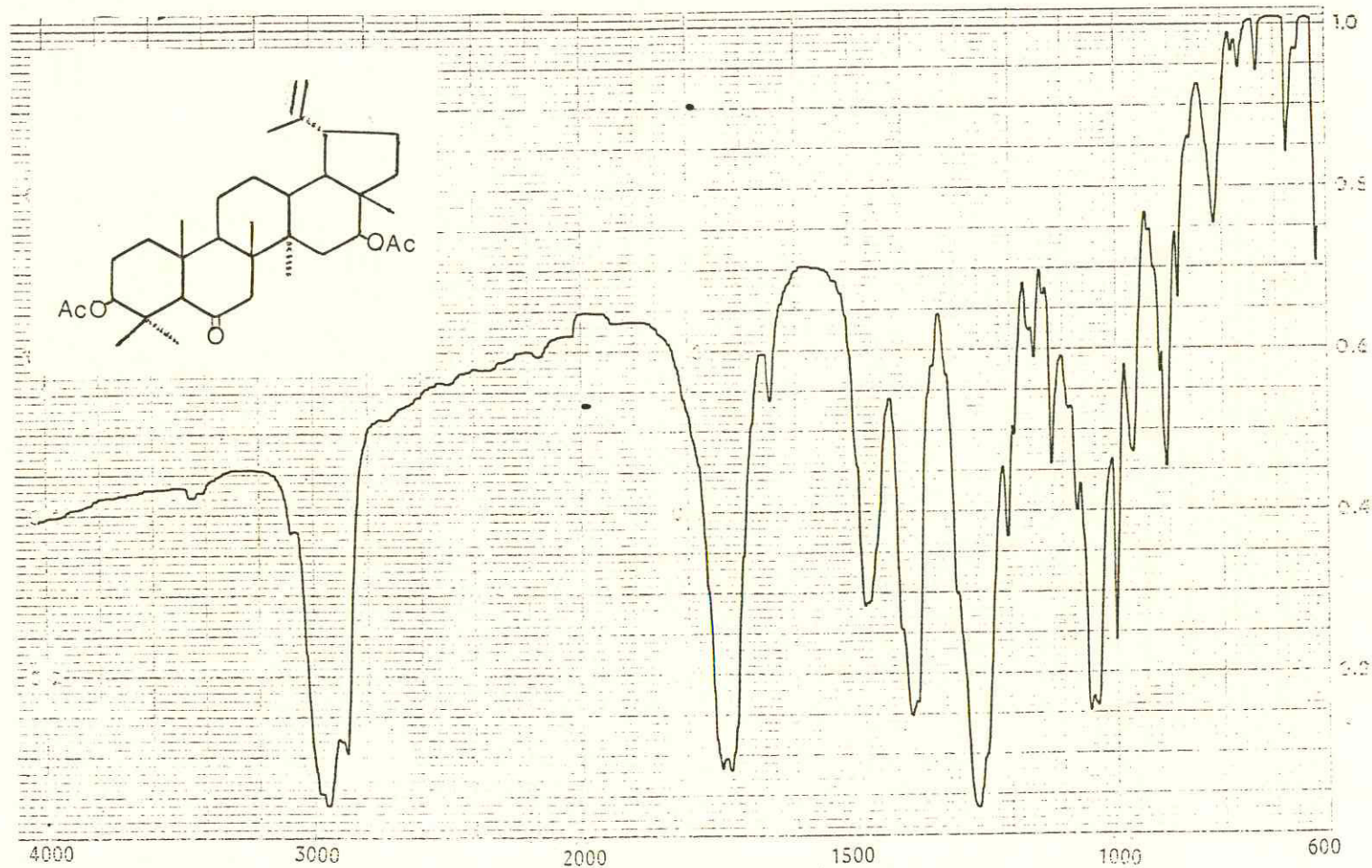


Figura 12. Espectro no I.V. de Cl-3 (Fase KBr).

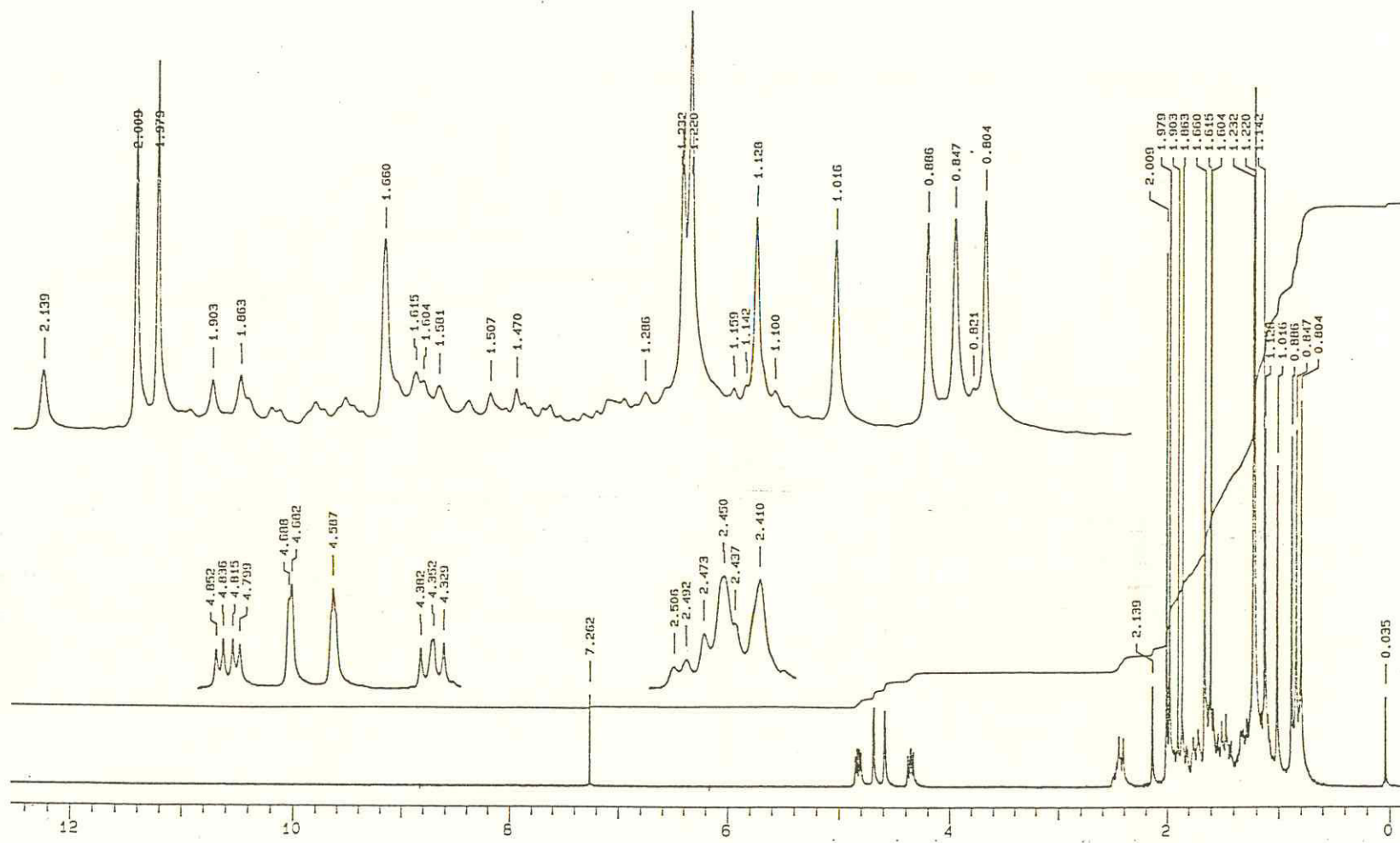


Figura 13. Espectro de RMN-¹H de Cl-3 (300 MHz, CDCl₃, δ).

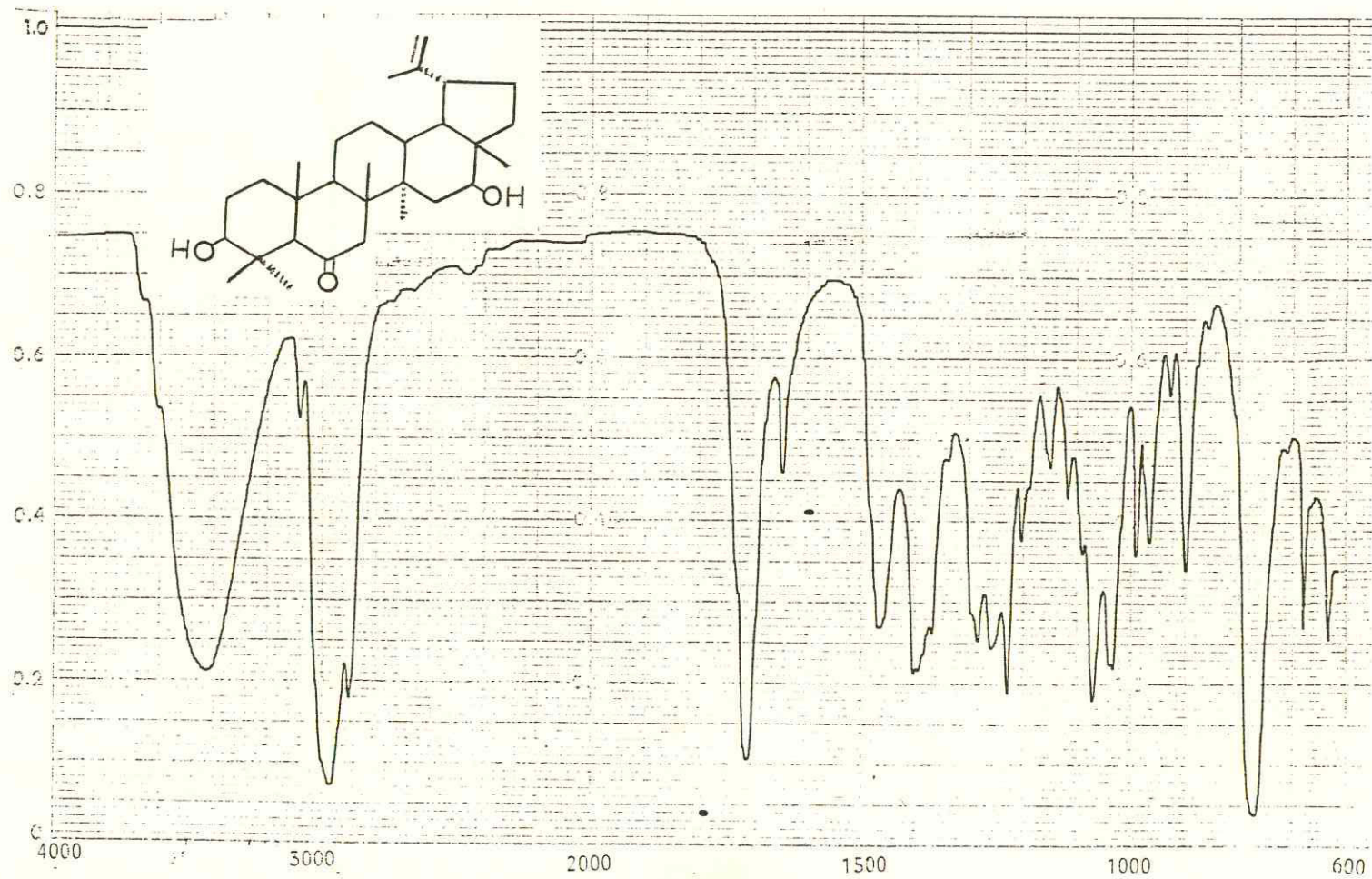


Figura 14. Espectro no I.V. de Cl-4.

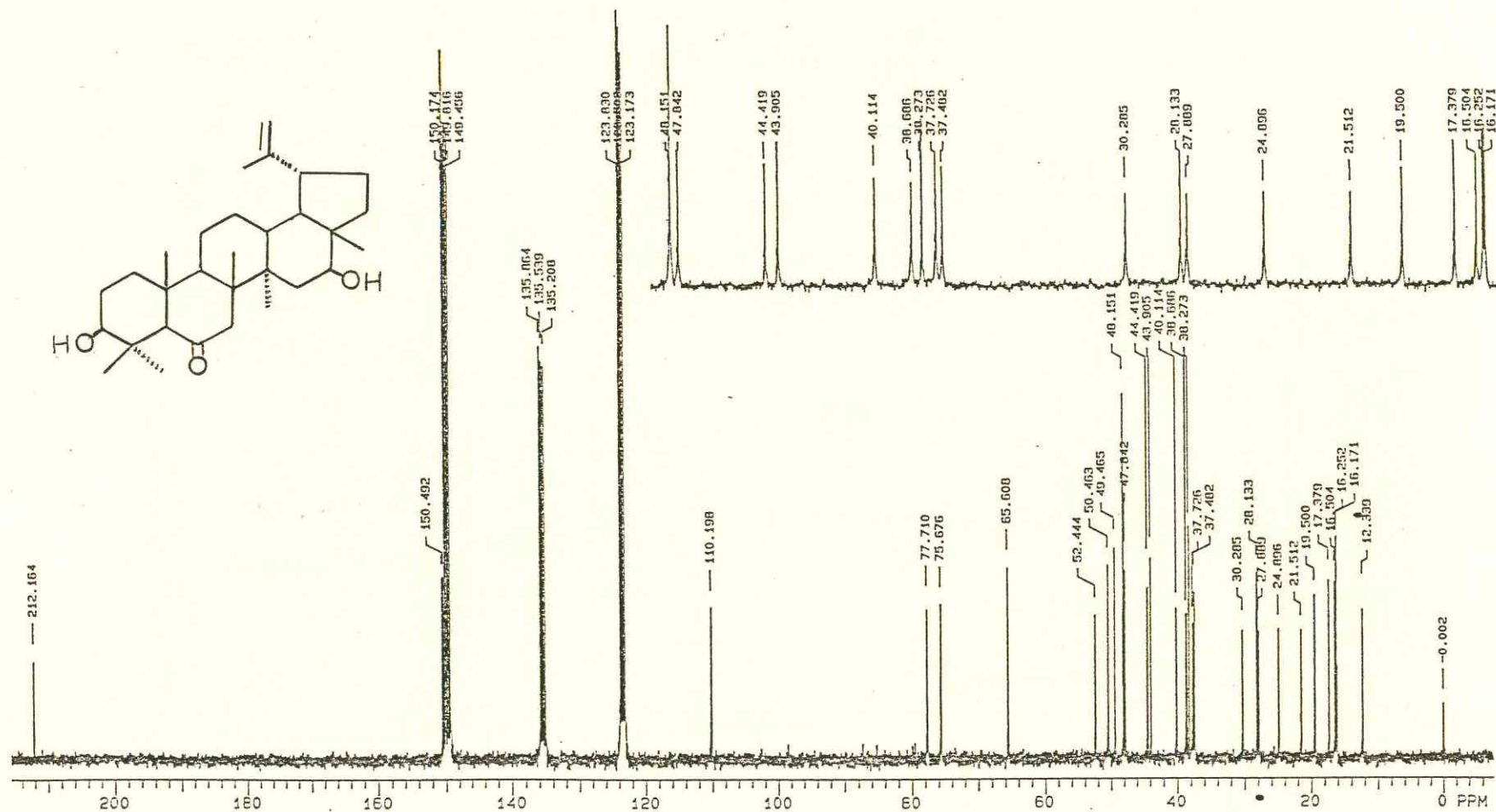


Figura 15. Espectro de RMN-¹³C de Cl-4 (75 MHz, C₅D₅N, δ).

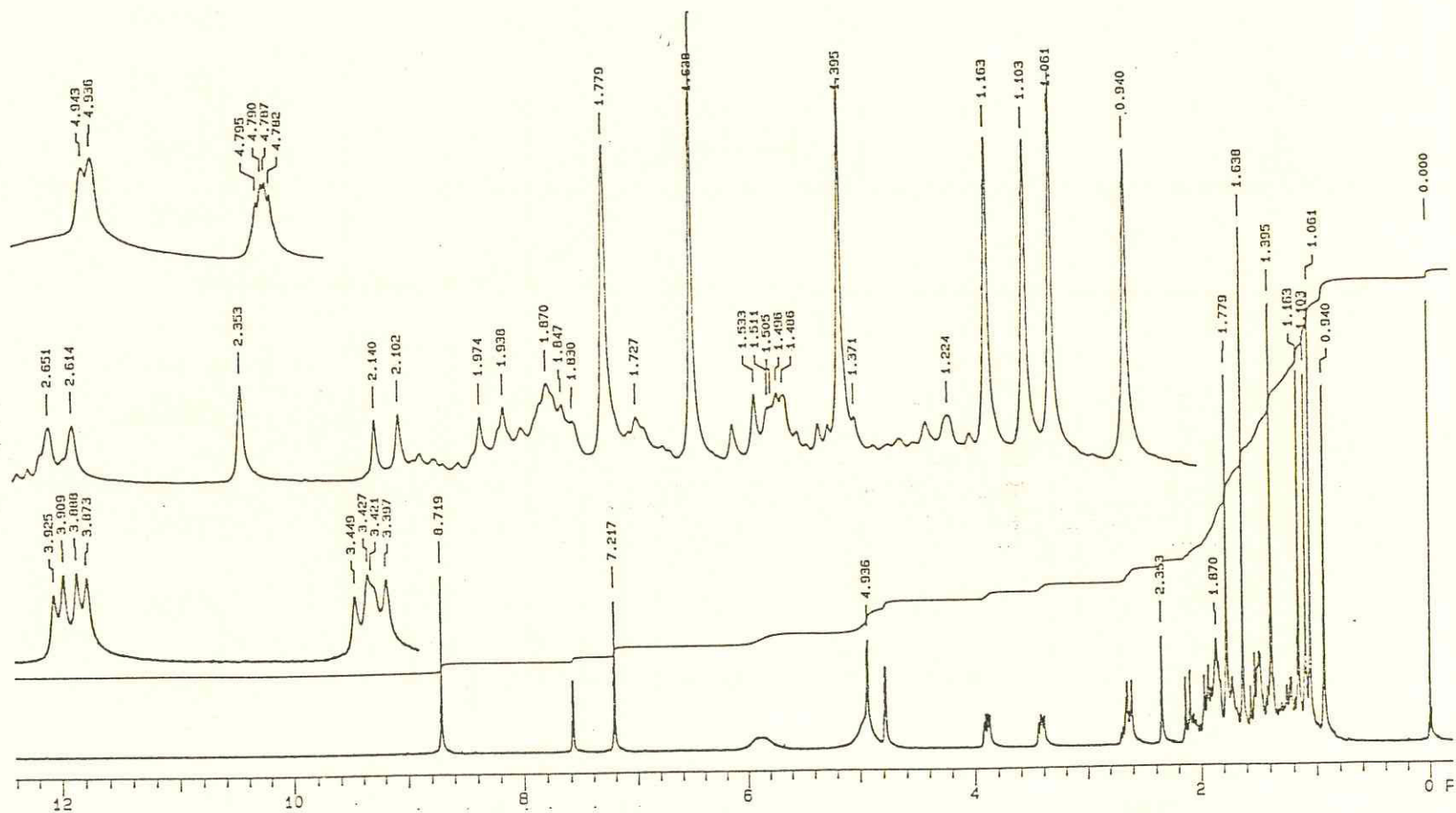
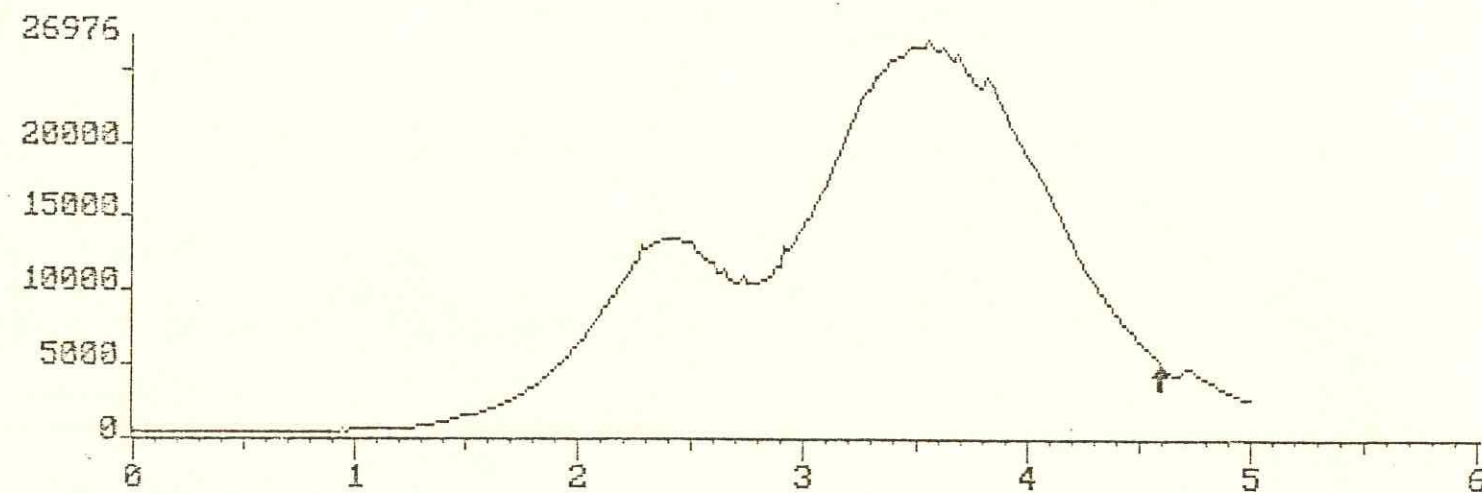


Figura 16. Espectro de RMN- ^1H de Cl-4 (300MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ).



Scan at 4.6

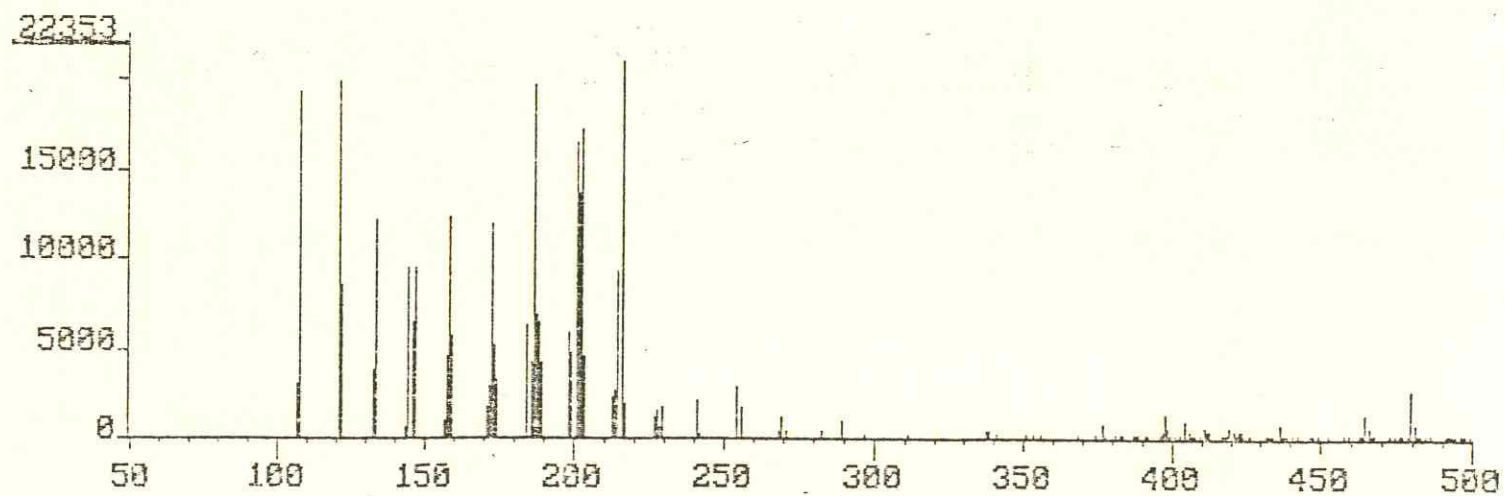
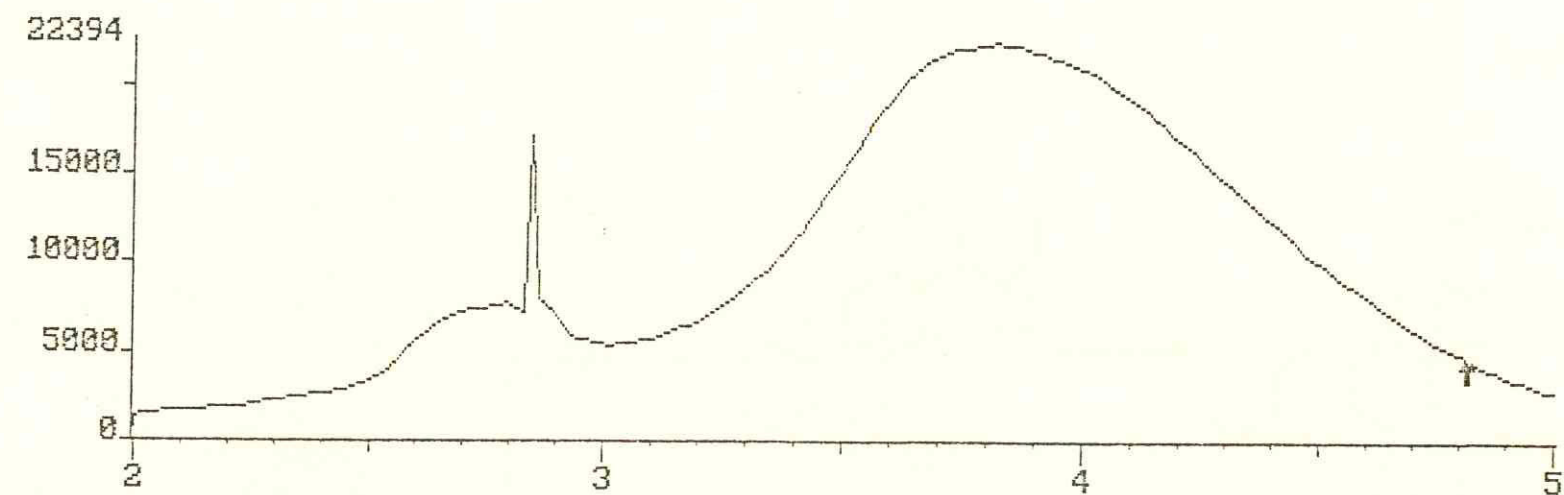


Figura 17. Espectro de Massas de Cl-3.



Scan at 4.81667

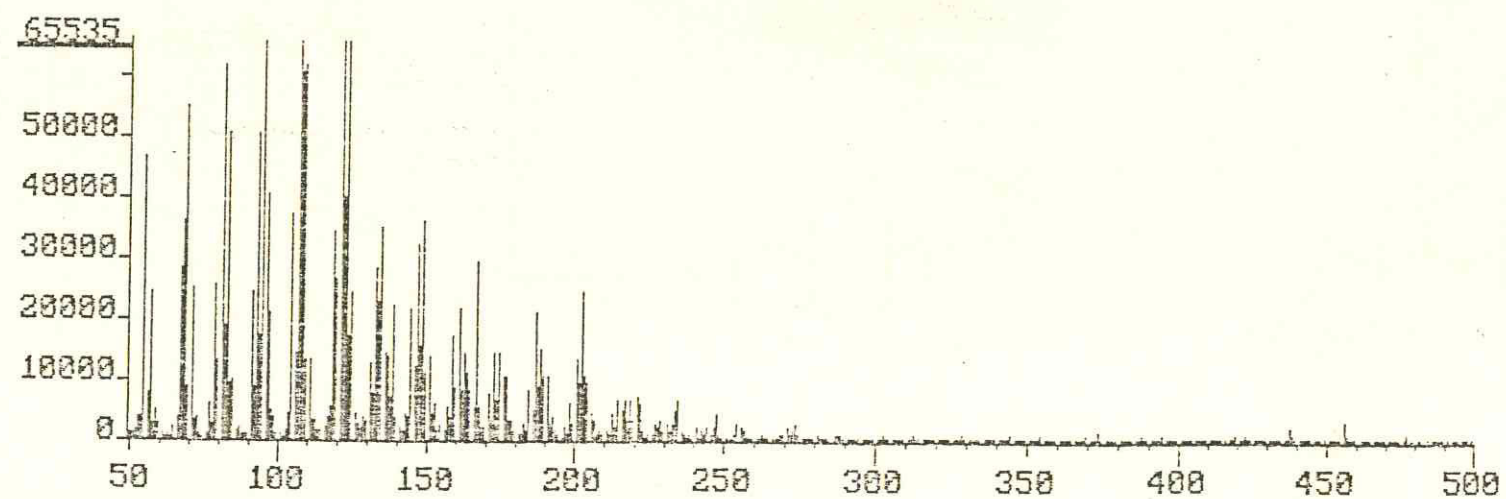
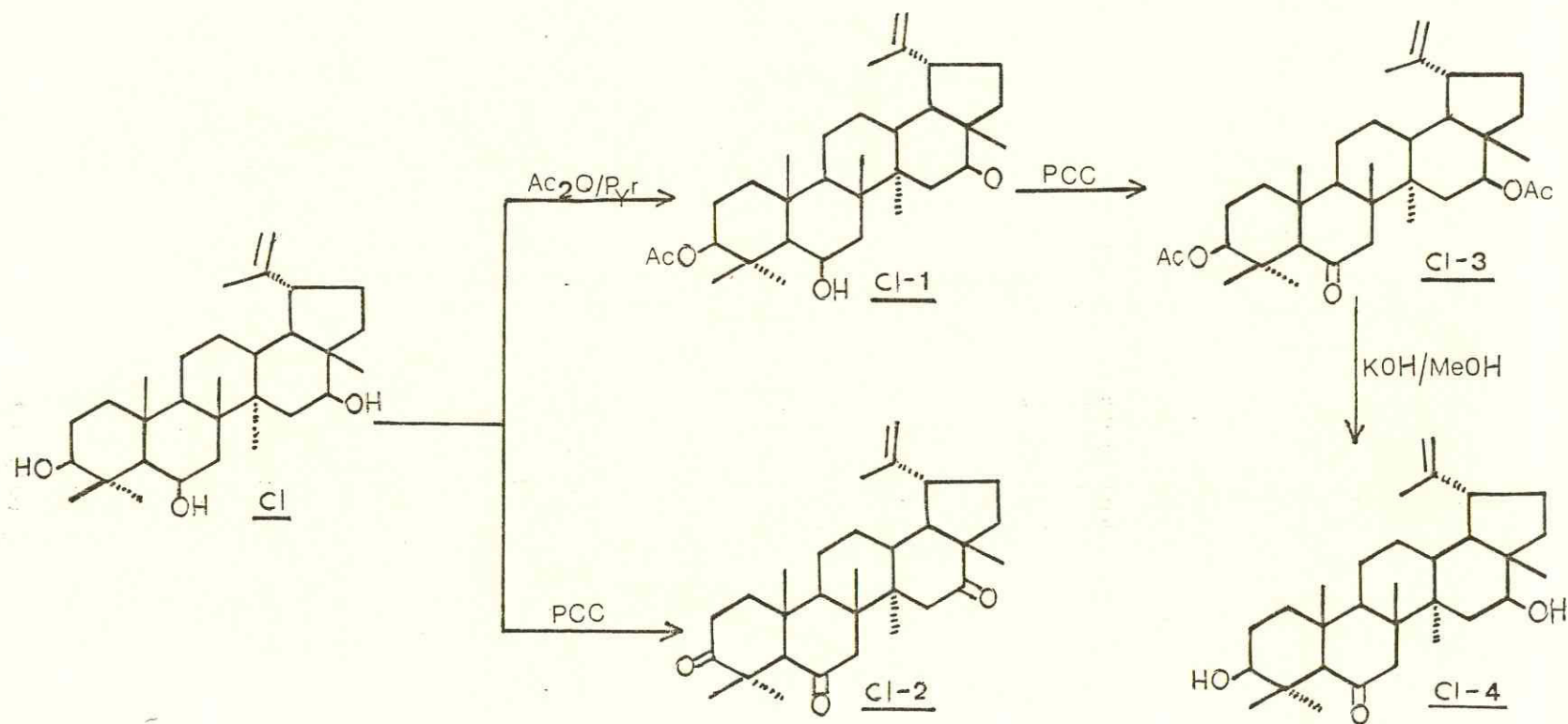


Figura 18. Espectro de Massas de Cl-4.

Esquema 2. Transformações químicas de Cl.



Esquema 3. Proposta para os possíveis caminhos de fragmentação de Cl-2, Cl-3, Cl-4 no espectrômetro de massas.

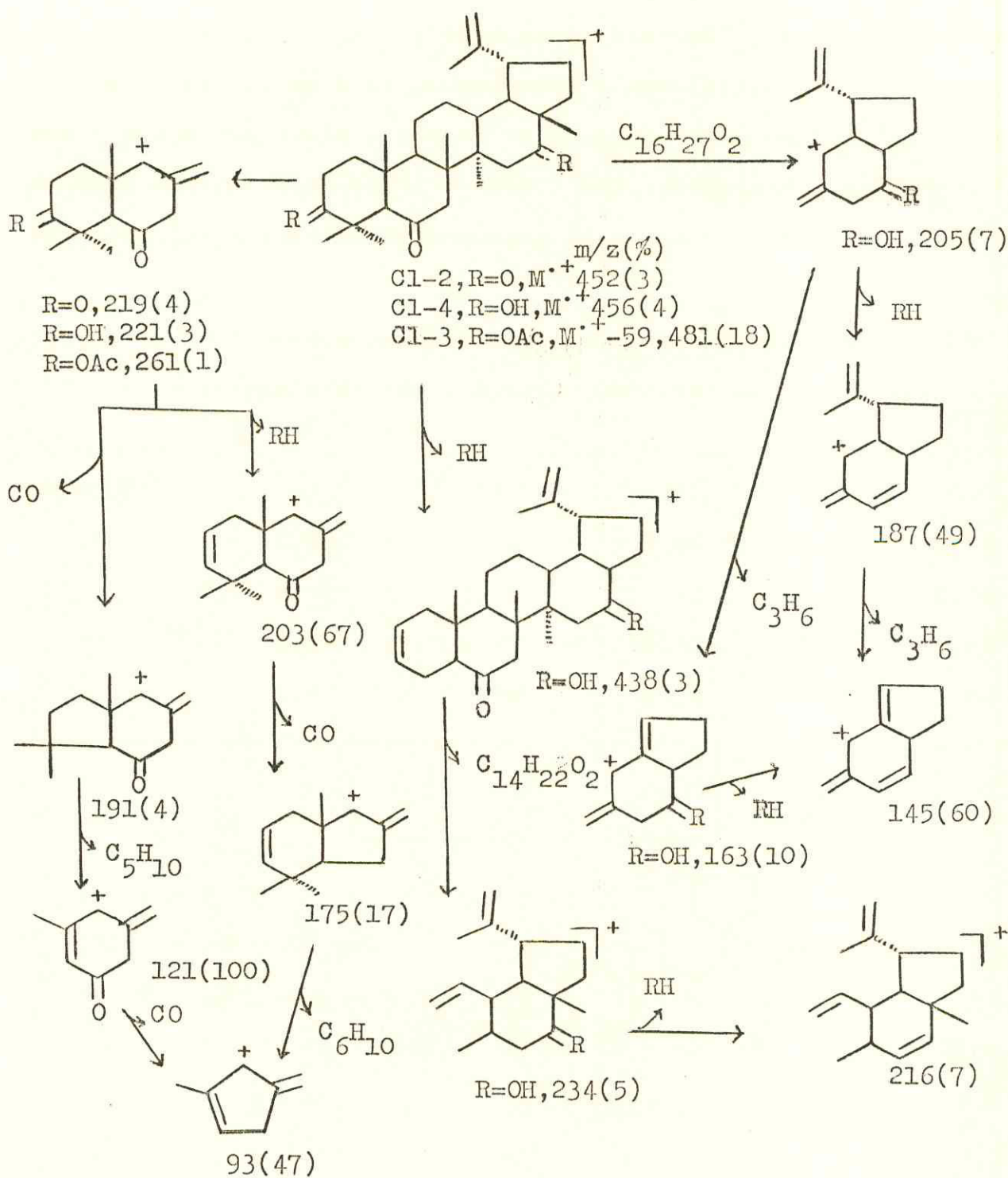
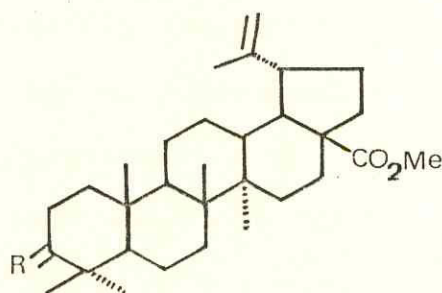
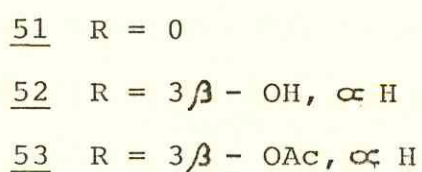


Tabela 3. Deslocamentos Químicos dos Grupos Metila de Cl e de Tri-
terpenos da Série Lupano descritos na Literatura.

COMPOSTO	23	24	25	26	27
<u>51</u>	1,06	1,00	0,96	0,91	0,96
<u>52</u>	0,95	9,76	0,82	0,91	0,96
<u>53</u>	0,85	0,85	0,85	0,91	0,95
C1	1,08	1,36	1,50	1,60	1,07



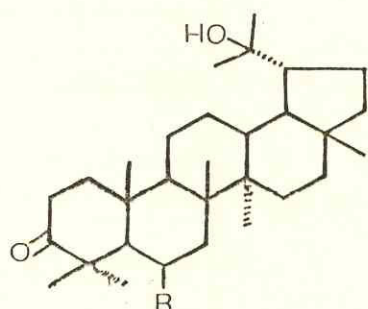
A terceira hidroxila sugerida na posição C-16 foi ponderada através da comparação dos dados espectrais de RMN ^{13}C de Cl e Cl-2 (Tab. 2, pág. 23). Os carbonos vizinhos a carbonila do derivado Cl-2, C-15 e C-17, foram deslocados para campo baixo passando de 37,7 δ para 46,6 δ e de 49,4 δ para 58,5 δ , respectivamente, atribuído a um efeito α da carbonila, enquanto que os carbonos β a carbonila C-14 e C-18 foram deslocados também para campo baixo passando de 44,3 δ para 49,3 δ e de 48,3 δ para 51,8 δ , respectivamente.

Com relação a estereoquímica da hidroxila em C-16 decidimos localizá-la na posição equatorial depois de analisarmos nos espectros de RMN ^1H os padrões de acoplamentos dos prótons metínicos carbinólicos ($J_{ax/ax} \approx 11,0$ e $J_{ax/eq} \approx 4,0\text{Hz}$) dos derivados Cl-1, Cl-3 e Cl-4.

Todas estas afirmações e mais a comparação dos dados espectrais de RMN ^{13}C da substância original, seus derivados com triterpenos da série lupano (54, 55, 56, 57) descritos na literatura^{23, 25} (Tab. 2, pág. 23) conduziu a proposição 3 β , 6 β , 16 β - trihidroxilup-20 (29) - eno para Cl, estrutura 58. Trata-se de um triol triterpênico, da série lupano, não descrito na literatura. Seus derivados 3 β , 16 β - diacetoxi - 6 β - hidroxilup-20 (29) - eno (Cl-1), 59, lup-20 (29) - eno - 3,6, 16 - triona (Cl-2), 60. 3 β , 16 β - diacetoxilup-20 (29) - en - 6 - ona (Cl-3), 61 e 3 β , 16 β - dihidroxilup-20 (29) - en - 6 - ona (Cl-4), 62 também não encontram-se descritos na literatura.

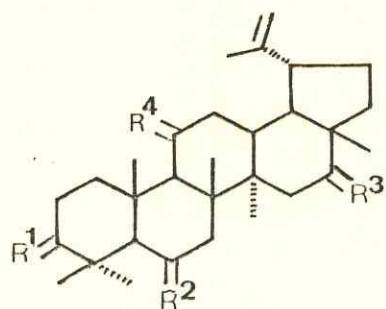
Os espectros bidimensionais - (2D) de correlação heteronuclear ^{13}C - ^1H (HECTOR) de Cl (Fig. 19, pág. 47) e de seus derivados Cl-1 (Fig. 20, pág. 48) Cl-2 (Fig. 21, pág. 49), Cl-3 (Fig. 22, pág. 50) e Cl-4 (Fig. 23, pág. 51), obtidos por modulação de J_{CH} de ^1H e ^{13}C protonados (Tab. 5, pág. 53).

A estrutura 58 para Cl foi confirmada através da determinação da conectividade carbono-carbono, utilizando a técnica bidimensional (INADEQUATE) (Incredible Natural Abundance Double Quantum Transfer Experiment) (Fig. 24, pág. 52). Esta análise permitiu reconhecer as interações entre os átomos de carbonos da molécula (Tab. 4, pág. 52).



54 R = H

55 R = OH



56 $\text{R}^1 = 0, \text{R}^2 = \text{OH}, \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{H}$

57 $\text{R}^1 = 0, \text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{H}, \text{R}^4 = \text{OH}$

58 $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{R}^3 = \beta \text{ OH}, \text{R}^4 = \text{H}$

59 $\text{R}^1 = \text{R}^3 = \beta \text{ OAc}, \text{R}^2 = \beta \text{ OH}, \text{R}^4 = \text{H}$

60 $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{R}^3 = 0, \text{R}^4 = \text{H}$

61 $\text{R}^1 = \text{R}^3 = \beta \text{ OAc}, \text{R}^2 = 0, \text{R}^4 = \text{H}$

62 $\text{R}^1 = \text{R}^3 = \beta \text{ OH}, \text{R}^2 = 0, \text{R}^4 = \text{H}$

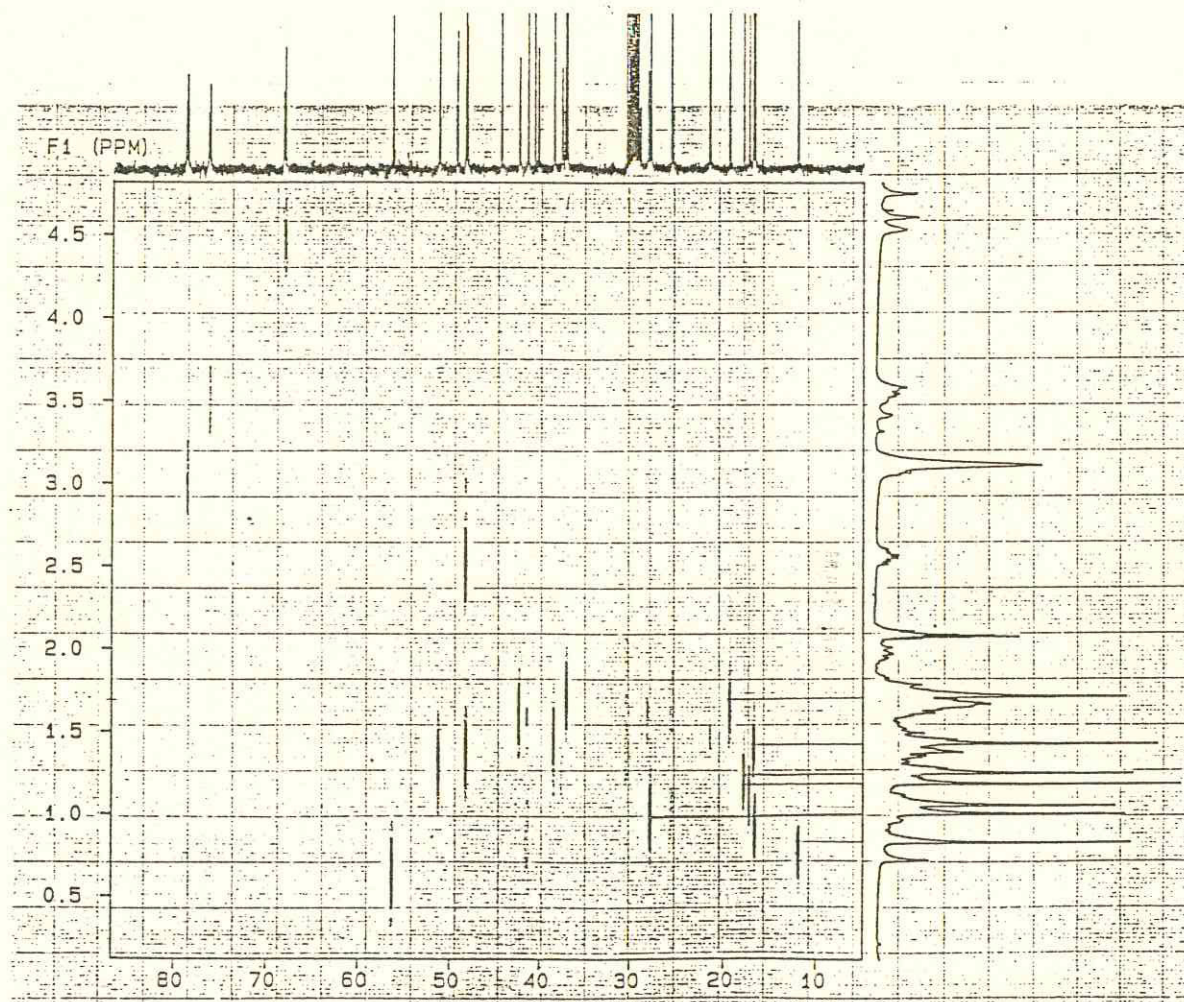


Figura 19. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HETCOR) de ^{13}C , obtido por modulação de $^1\text{J}_{\text{CH}}$.

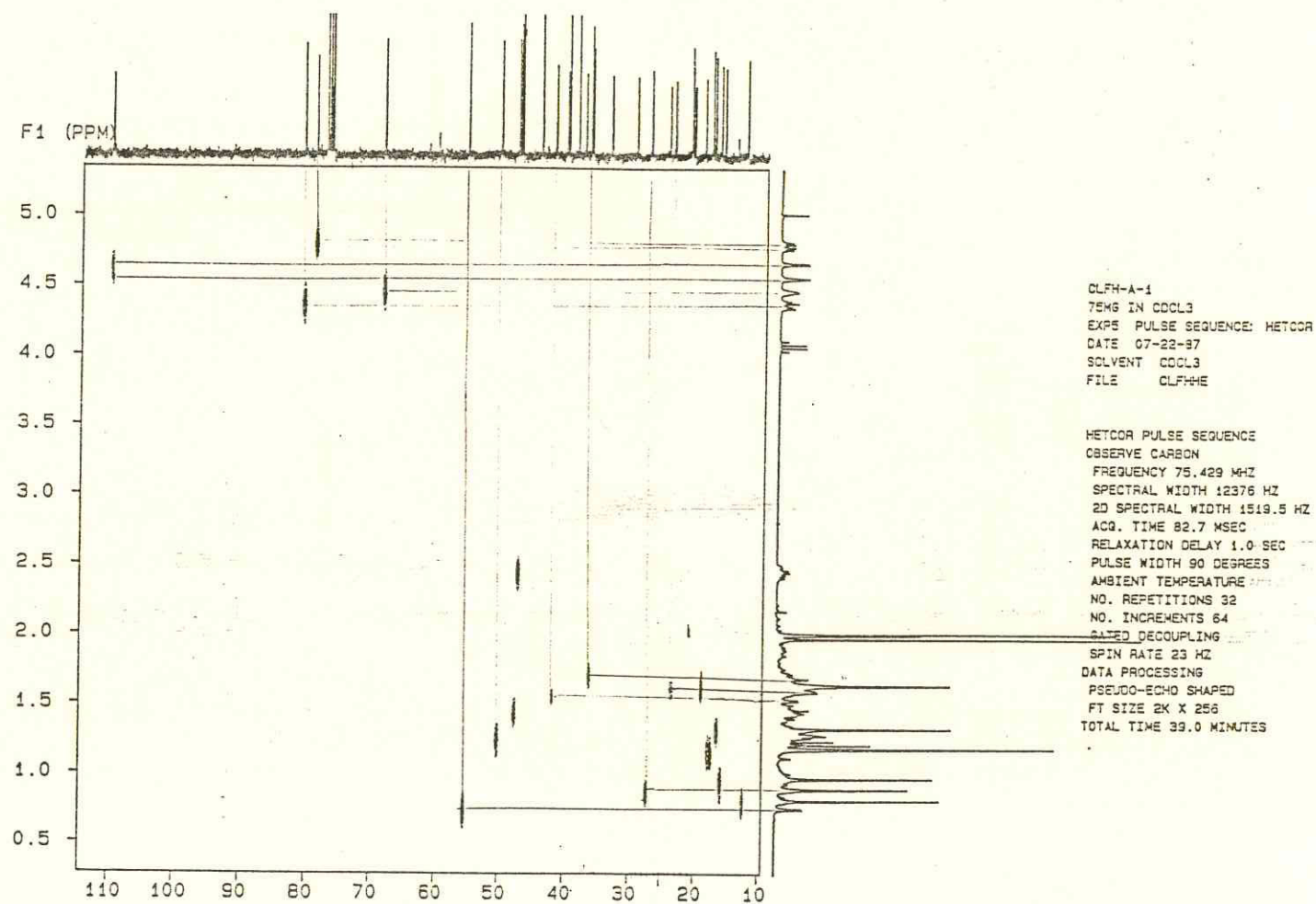


Figura 20. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HETCOR) de Cl-1, obtido por modulação de $^1J_{CH}$.

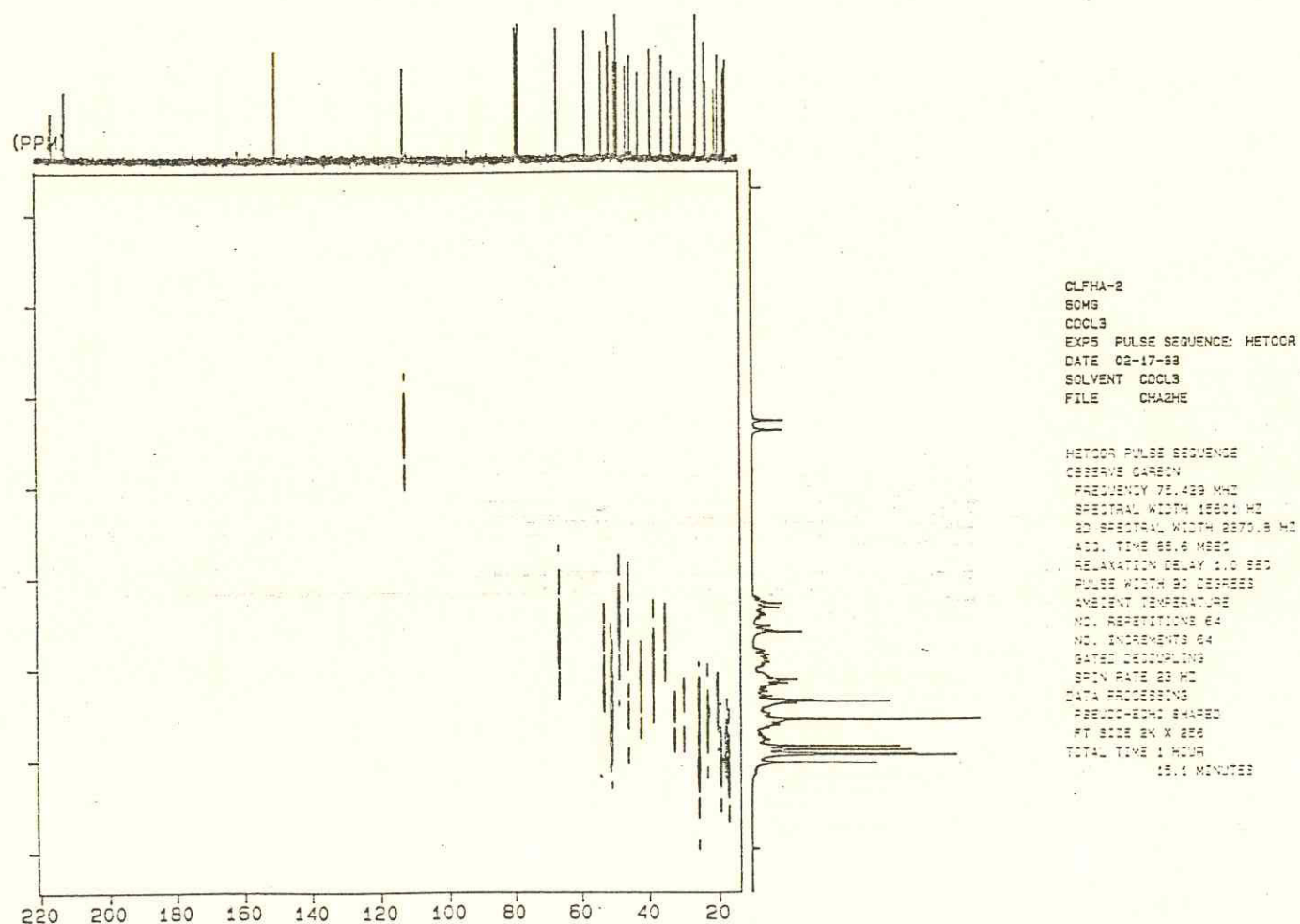


Figura 21. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HETCOR) de Cl-2, obtido por modulação de $^1J_{CH}$.

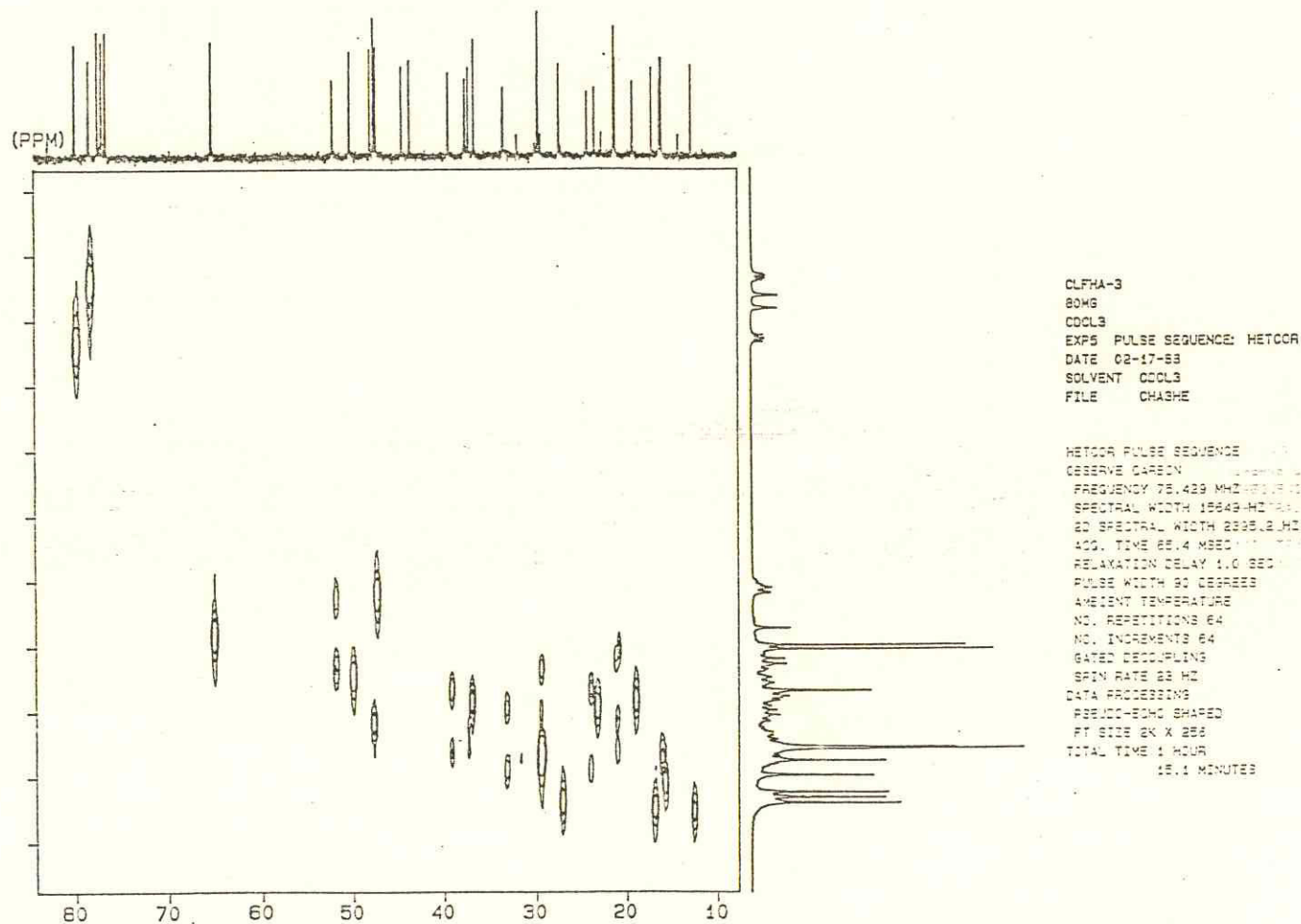


Figura 22. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HETCOR) de Cl-3, obtido por modulação de $^1\text{J}_{\text{CH}}$.

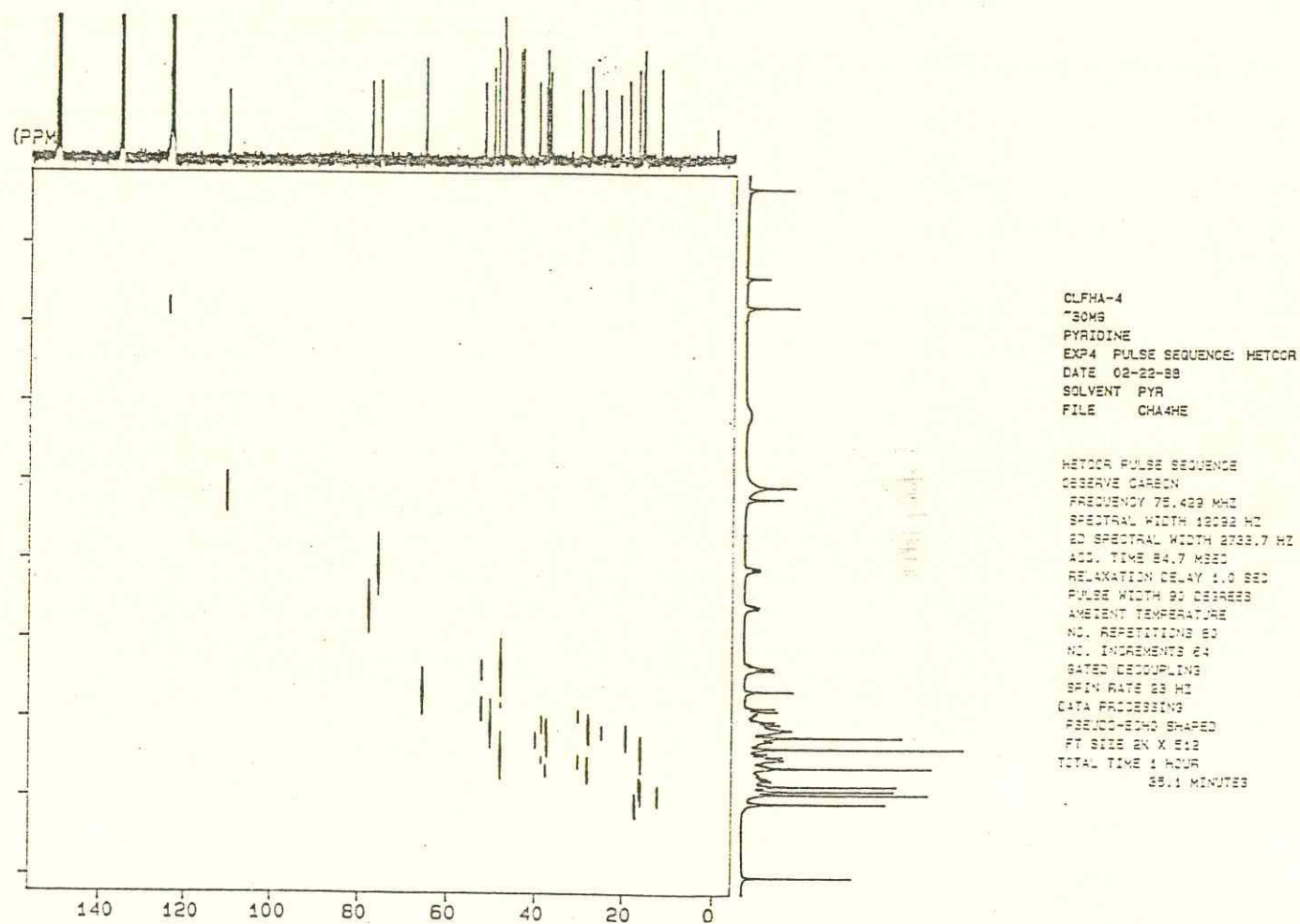


Figura 23. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HETCOR) de Cl-4, obtido por modulação de $^1J_{CH}$.

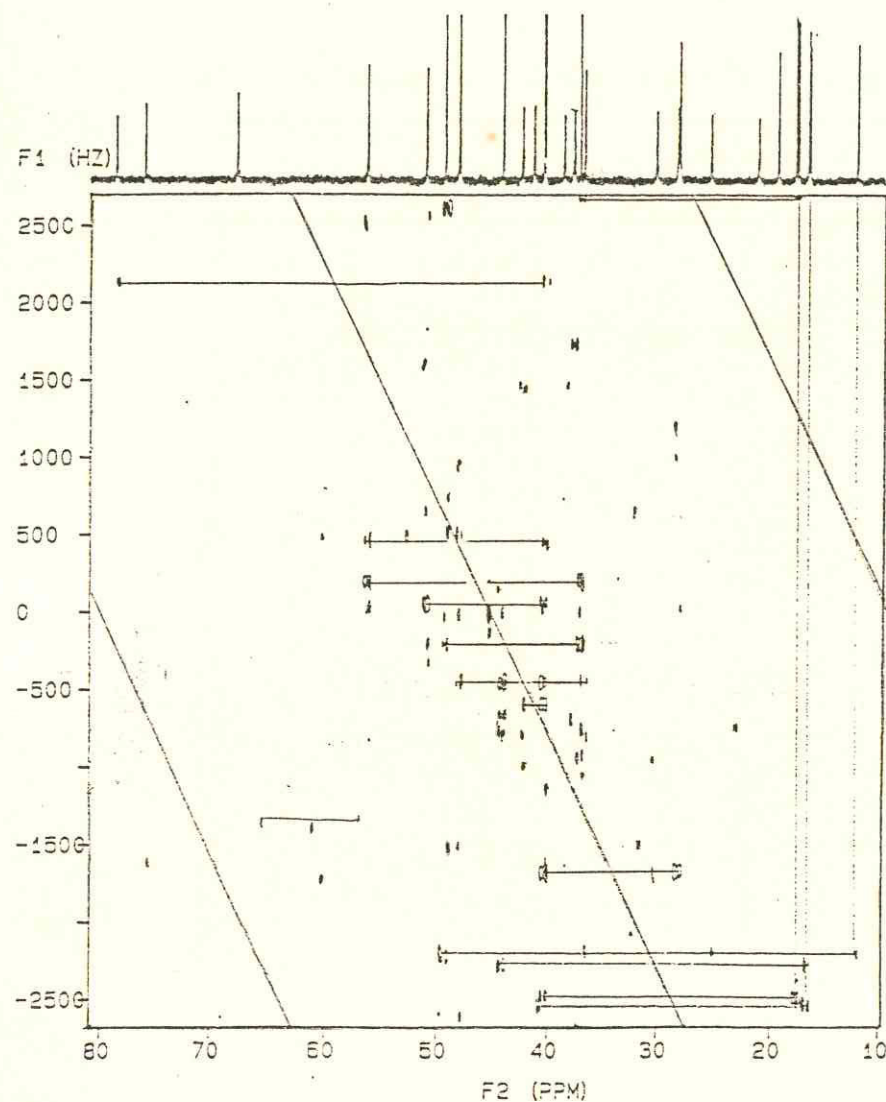


Tabela 4. Encadeamento Carbono-Carbono

Carbono	RMN ^{13}C (DEPT)	Encadeamento
1	41,5(t)	2 e 10
2	29,8(t)	1 e 3
3	78,7(d)	2 e 4
4	40,6(s)	3 e 5
5	56,7(d)	4,6 e 10
6	67,8(d)	5 e 7
7	42,6(t)	6 e 8
8	40,7(s)	7,9,14 e 26
9	51,4(d)	8,10 e 11
10	37,5(s)	1,5,9 e 25
11	21,6(t)	9 e 12
12	25,7(t)	11 e 13
13	37,1(d)	12,14 e 18
14	44,5(s)	8,13,15 e 27
15	37,7(t)	14 e 16
16	76,3(d)	15 e 17
17	49,4(s)	16,18,22 e 28
18	48,3(d)	13,17 e 19
19	48,4(d)	18,20 e 21
20	150,9(s)	10,9,29 e 30
21	30,5(t)	19 e 22
22	38,5(t)	21 e 17
23	27,9(q)	4
24	17,4(q)	4
25	19,4(q)	10
26	16,8(q)	8
27	16,7(q)	14
28	12,0(q)	17
29	109,9(d)	20
30	17,3(q)	20

Figura 24. Espectro de RMN ^{13}C Bidimensional
(2D) (inadequate) de Cl.

Tabela 5. Deslocamentos químicos dos ^1H e ^{13}C (6) obtidos por correlação heteronuclear (HETCOR)

C	C1		C1-1		C1-2		C1-3		C1-4	
	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C
1		41,5(t)		40,4(t)		35,7(t)		35,7(t)		37,7(t)
2		29,8(t)		23,8(t)		33,0(t)		23,4(t)		28,1(t)
3	3,43	78,7(d)	4,40	80,8(d)		216,2(s)	4,35	79,9(d)	3,42	77,7(d)
4		40,6(s)		38,6(s)		49,9(s)		43,5(s)		43,9(s)
5	0,87	56,7(d)	0,77	55,6(d)	2,36	67,0(d)	2,14	65,1(d)	2,35	65,0(d)
6	4,75	67,8(d)	4,49	68,6(d)		212,3(s)		211,1(s)		212,2(s)
7		42,6(t)		42,1(t)	2,43-1,84	53,7(t)	2,43-1,85	52,0(t)	2,63-2,12	52,5(t)
8		40,7(s)		40,1(s)		48,8(s)		44,4(s)		44,4(s)
9		51,4(d)		50,5(d)		51,4(d)		50,1(d)		50,5(d)
10		37,3(s)		37,5(s)		45,4(s)		36,5(s)		38,3(s)
11		21,6(t)		23,8(t)		23,2(t)		21,3(t)		21,5(t)
12		25,7(t)		24,7(t)		26,1(t)		24,2(t)		24,9(t)
13		37,1(d)		36,6(d)		39,2(d)		37,2(d)		37,5(d)
14		44,3(s)		44,3(s)		49,3(s)		47,3(s)		47,8(s)
15		37,7(t)		33,5(t)		46,6(t)		33,4(t)		38,7(t)
16	3,88	76,3(d)	4,82	70,9(d)		216,0(s)	4,82	78,4(d)	3,90	75,7(d)
17		49,4(s)		47,5(s)		58,5(s)		47,5(s)		49,5(s)
18	1,45	48,3(d)	1,45	47,8(d)	1,30	51,8(d)	1,30	47,8(d)		48,1(d)
19	2,55	48,4(d)	2,43	47,3(d)	2,50	49,4(d)	2,30	47,5(d)	2,55	48,1(d)
20		150,9(s)		149,7(s)		150,4(s)		149,4(s)		150,5(s)
21		30,5(t)		29,7(t)		30,4(t)		29,7(t)		30,3(t)
22		38,5(t)		37,6(t)		42,9(t)		39,4(t)		40,1(t)
23	1,08	27,9(q)	0,91	27,5(q)	1,05	26,2(q)	0,89	27,3(q)	1,64	27,8(q)
24	1,36	17,4(q)	1,24	18,1(q)	1,42	23,7(q)	1,66	19,2(q)	1,78	19,5(q)
25	1,50	19,4(q)	1,24	17,7(q)	1,09	18,3(q)	1,23	16,3(q)	1,10	16,5(q)
26	1,60	16,8(q)	1,34	16,8(q)	1,13	18,5(q)	1,13	16,1(q)	1,16	16,3(q)
27	1,07	16,7(q)	0,99	16,2(q)	0,95	17,7(q)	1,02	15,9(q)	1,64	16,2(q)
28	1,66	12,0(q)	0,83	12,7(q)	1,04	19,2(q)	0,80	12,7(q)	1,06	12,3(q)
29	4,91-4,75	109,9(d)	4,69-4,58	109,9(d)	4,71-4,60	112,9(d)	4,68-4,56	110,2(d)	4,94-4,80	110,2(d)
30	1,70	17,3(q)	1,66	19,3(q)	1,62	20,9(q)	0,85	17,1(q)	0,94	17,4(q)

3.2 Determinação Estrutural de Clr.

Esta substância apresentou reação positiva quando tratada como reagente de Liebermann-Burchard (coloração vermelha-violeta) característica de triterpeno. É um sólido branco cristalino, solúvel em metanol, ponto de fusão acima de 300°C e revelou uma mancha uniforme quando cromatografada em camada delgada de sílica.

O espectro na região do infravermelho (Fig. 25, pág. 57) revelou sua natureza alifática apresentando absorções em torno de 3000cm^{-1} e ausência de absorções na faixa de $1500\text{-}1600\text{cm}^{-1}$. Bandas em $3150\text{-}3600\text{cm}^{-1}$, estiramento OH e 1695cm^{-1} estiramento $\text{C}=\text{O}$, sugeriram a presença de um grupo carboxila, bem como absorções em 1685 (inflexão) e 775cm^{-1} devido, provavelmente, a ligação dupla carbono-carbono trissubstituída.

O espectro de RMN ^1H 300MHz (Fig. 26, pág. 58) mostrou a presença de seis metilas ligadas a carbonos terciários: 1,10 (3H, s) 0,92 (3H, s) 0,88 (6H, s) 0,71 (3H, s) e 0,55 δ (3H, s). Foram ainda observadas absorções relacionadas a prótons metínicos carbinólicos 3,49 (1H, sl) e 3,18 δ (1H, d, $J = 9,3\text{Hz}$), prótons metilênicos carbinólicos 3,31 (1H, d, $J = 10,8\text{Hz}$), 3,05 δ (1H, d, $J = 10,8\text{Hz}$) e uma absorção com feição aproximada de um tripleto que pode ser perfeitamente relacionada a um próton olefínico de ligação dupla carbono-carbono trissubstituída 5,18 δ .

O espectro de RMN ^{13}C (75MHz) totalmente desacoplado (Fig. 27, pág. 59) exibiu trinta linhas espectrais correspondentes a seis grupos CH_3 , dez grupos CH_2 , seis grupos CH e oito carbonos não

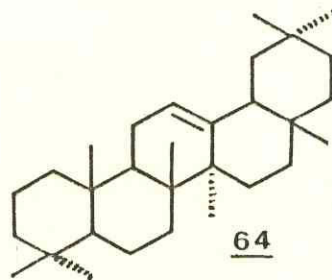
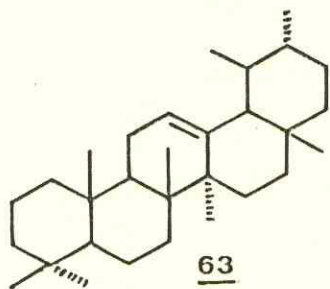
protonados, Tabela 6 abaixo, revelados pela análise comparativa do espectro totalmente desacoplado e dos dados fornecidos pela utilização da técnica DEPT = distortionless Enhancement by Polarization (Fig. 28, pág. 60). Observa-se também absorção em 178,5 δ , que foi relacionada a uma carbonila de ácido carboxílico e absorções em 75,5; 67,3 e 63,9 δ de carbonos ligados a hidroxilas.

Tabela 6. Deslocamentos Químicos dos Carbonos (δ) de Clr registrados em CD_3OD e TMS como Referência Interna.

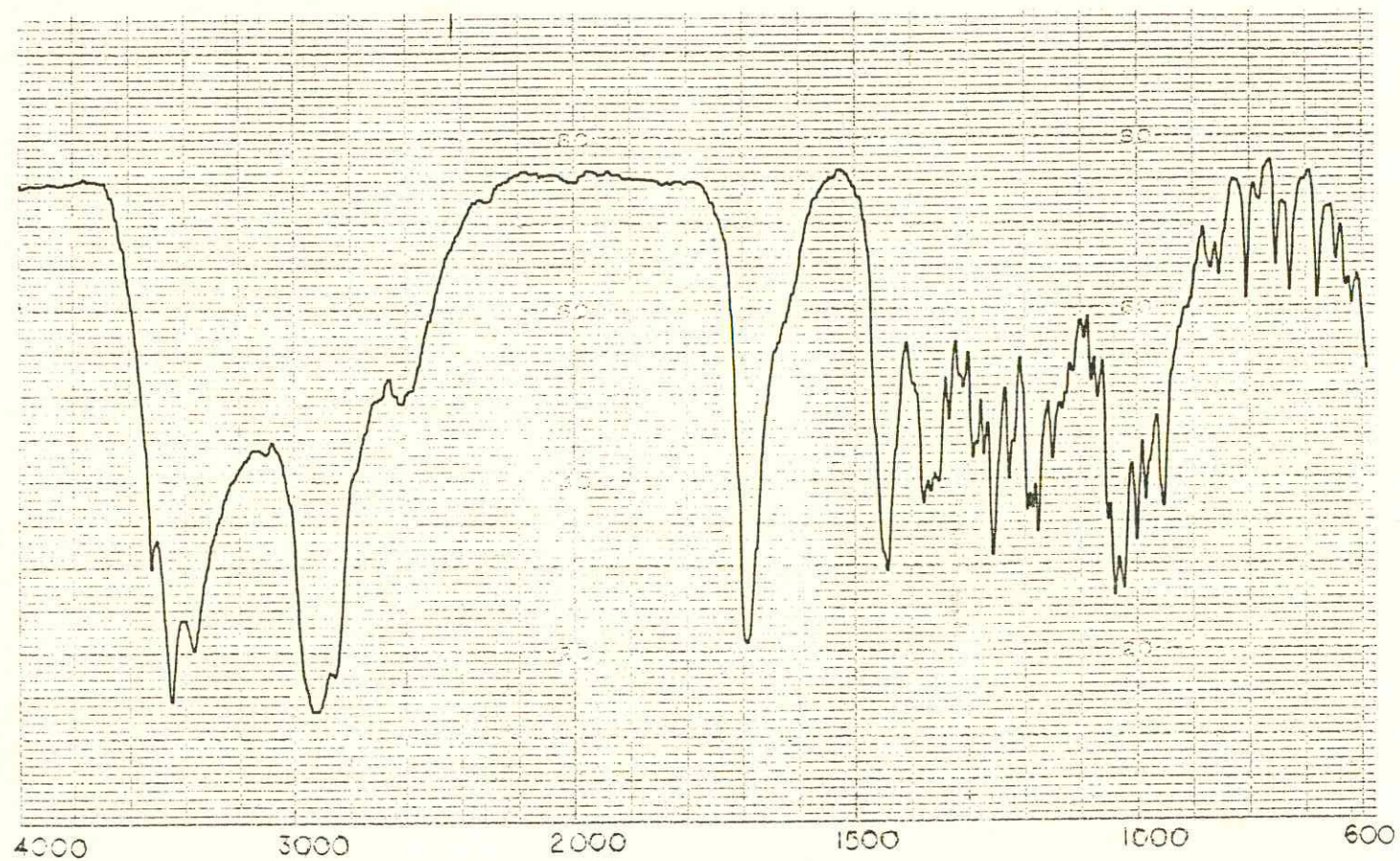
C	CH	CH ₂	CH ₃
178,5	121,4	63,9	32,8
143,9	75,5	46,5	25,6
45,4	67,3	45,6	23,3
42,4	47,0	33,3	16,8
41,3	46,0	32,0	16,7
39,1	40,7	31,8	13,6
37,3		27,1	
30,3		22,9	
		22,5	
		17,4	
$(CO_2H)C_7$	$(CHOH)_2(CH)_4$	$(CH_2OH)(CH_2)_9$	$(CH_3)_6$
$C_{30}H_{48}O_5$			

Clr foi acetilado com piridina e anidrido acético, obtendo-se um sólido branco denominado Clr-1, ponto de fusão 150°C.

Os espectros de massas de Clr (Fig. 29, pág. 61) e de Clr-1 (Fig.30, pág. 62) exibiram os picos referentes aos íons moleculares em 488 e 614 daltons, respectivamente. Observou-se portanto, através da diferença entre os picos dos íons moleculares que Clr-1 corresponde ao triacetato de Clr. Verificou-se ainda que ambos exibiram fragmentações características de triterpenos pentacíclico Δ^{12} -insaturado das séries ursano e oleano (63 e 64)²⁷ (Esquema 4, pág. 63).



O espectro de RMN - ^1H permitiu propor o esqueleto oleanano para Clr, através das absorções relacionadas as metilas ligadas a carbonos terciários em 1,10 (3H, s), 0,92 (3H, s), 0,88 (6H, s), 0,71 (3H, s) e 0,55 δ (3H, s). A confirmação do esqueleto oleanano para Clr foi verificada através do espectro de RMN - ^{13}C (Fig. 27, pág. 59) através das absorções em 121,4 e 143,9 δ que foram atribuídas aos carbonos C-12 e C-13, respectivamente, compatíveis com dados da literatura^{28, 29} para o esqueleto oleanano, e ainda pelo



Fifura 25. Espectro no I.V. (Fase KBr) de Clr.

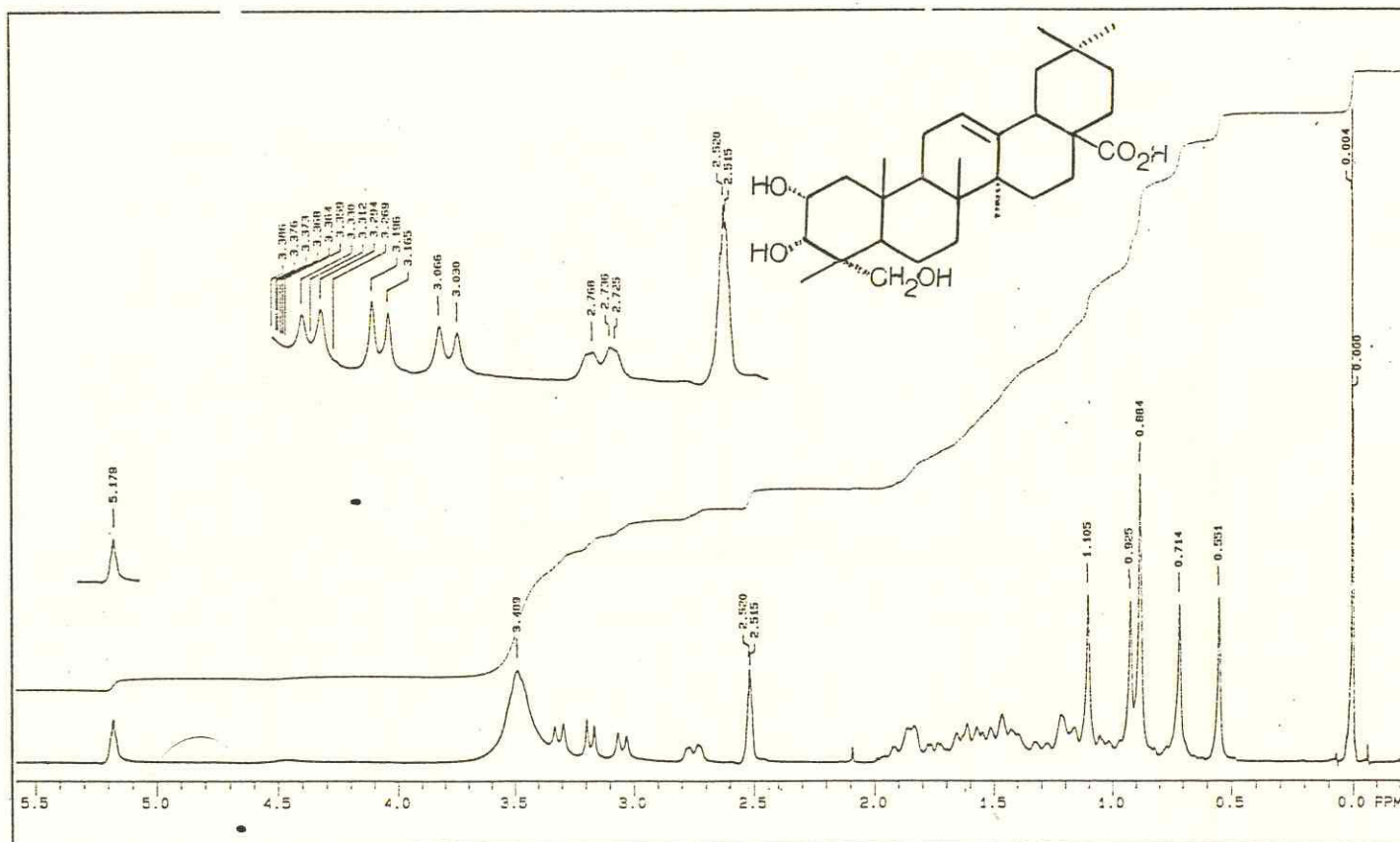


Figura 26. Espectro de RMN ^1H (300 MHz DMSO-d_6) de Clr.

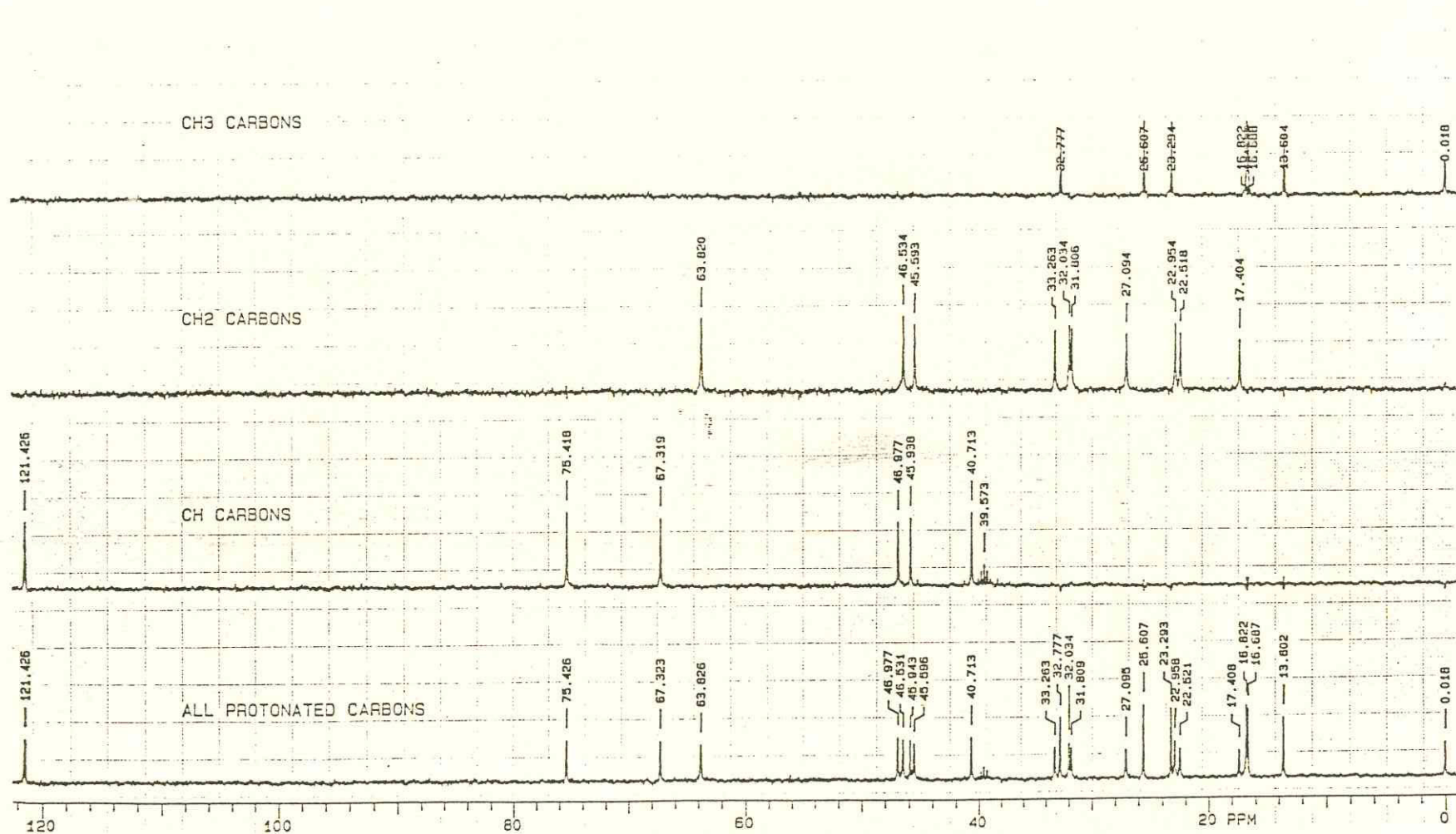


Figura 28. Espectro de RMN- ^{13}C dos carbonos protonados de Clr, modulados por técnica DEPT (75 MHz, DMSO, δ).

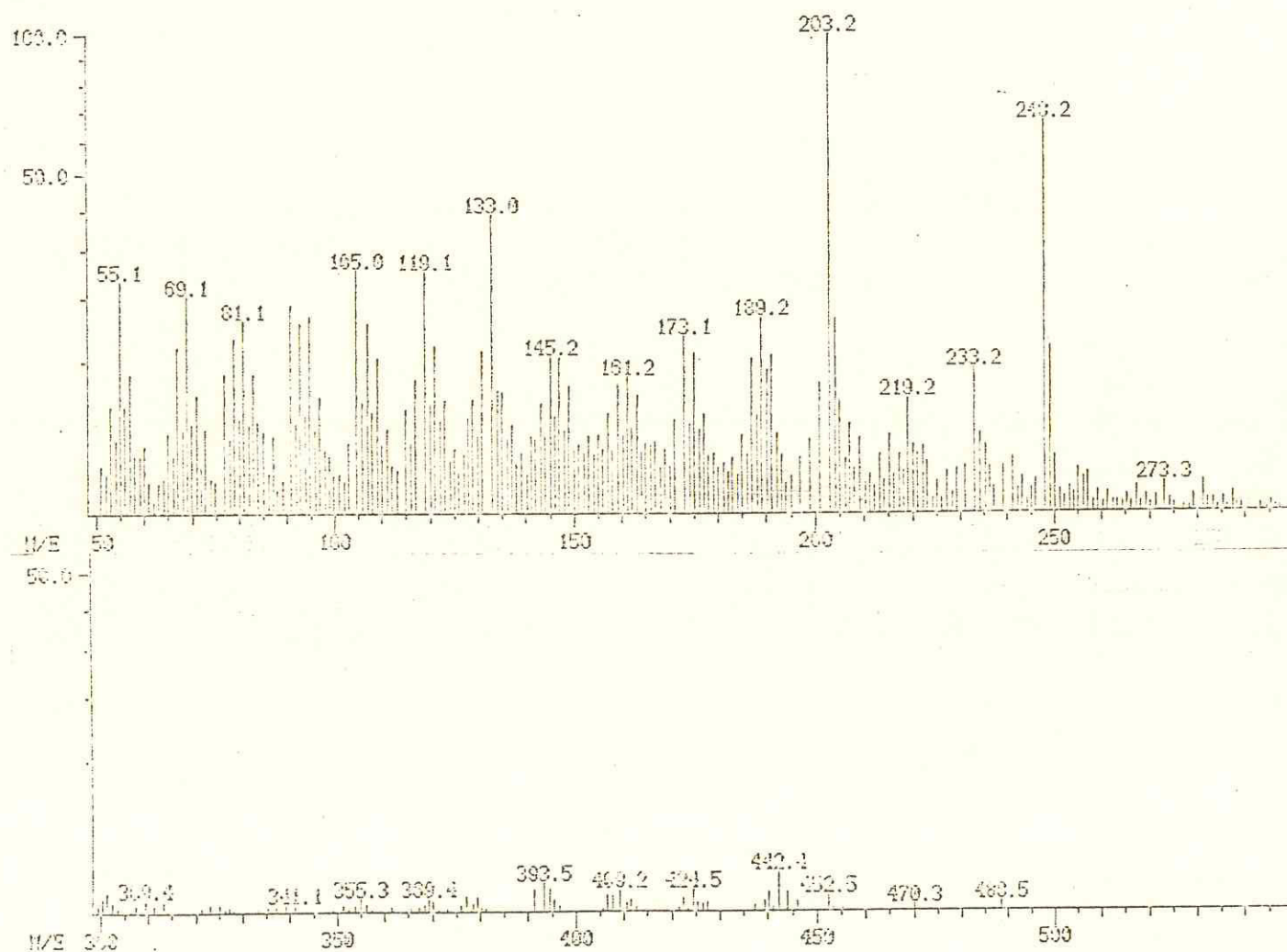


Figura 29. Espectro de Massas de Clr.

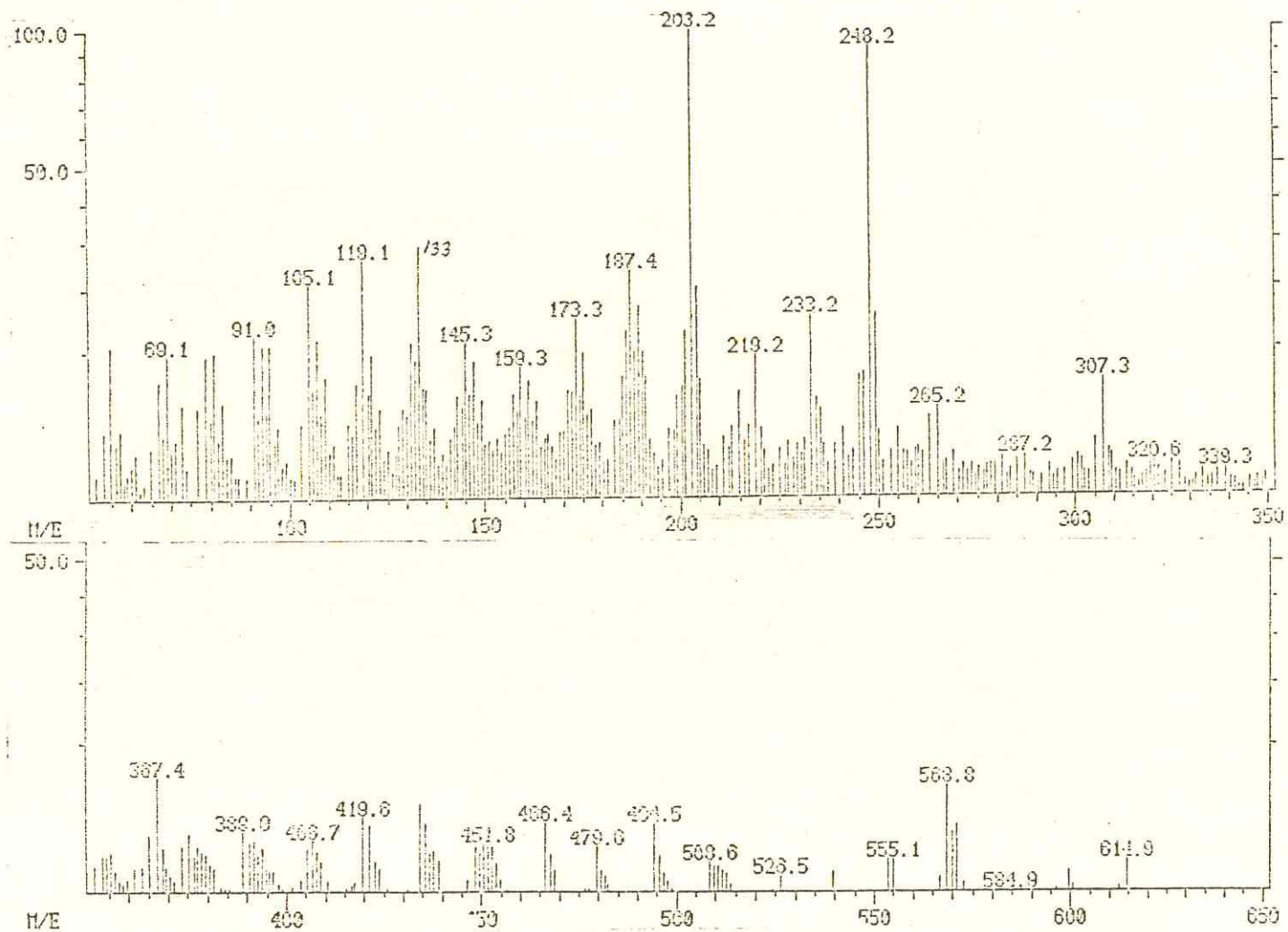
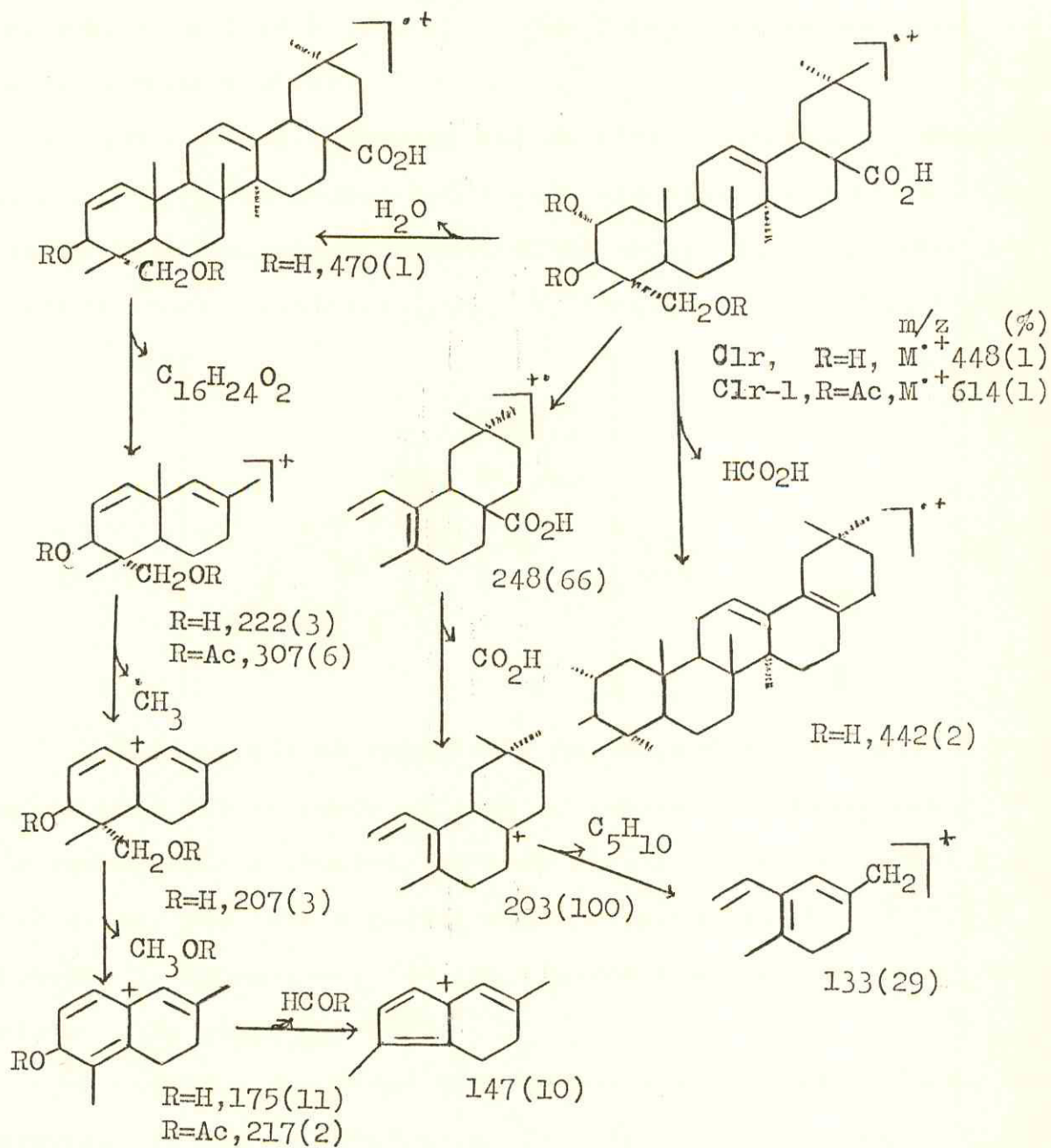


Figura 30. Espectro de Massas de Clr-1.

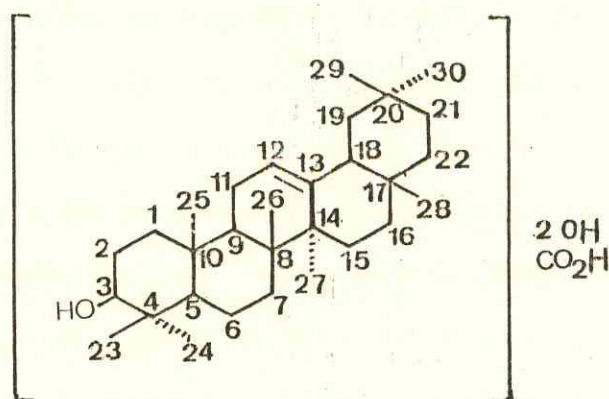
Esquema 4. Proposta para os possíveis caminhos de fragmentação de Clr e Clr-1 no espectrômetro de massas.



espectro de RMN - ^{13}C , utilizando a técnica DEPT (Fig. 28, pág. 60), pela presença de somente 3CH sp^3 não oxigenados.

O espectro de RMN ^1H (300MHz) de Clr-1 (Fig. 31, pág. 68) evidenciou a acetilação total de Clr através das absorções 1,98 (3H, s), 2,02 (3H, s) e 2,09 δ (3H, s) que foram relacionadas com as metilas dos grupos acetila.

O pico do íon molecular 488 daltons, sugerindo fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_5$, os grupos funcionais discutidos e o apoio na biossíntese de triterpenos ³⁰, fortemente apoiaram o esqueleto tri terpenoídico ácido, trihidroxilado Δ^{12} - oleaneno para Clr, 65.



A confirmação da existência de uma hidroxila ligada a carbono primário foi verificada através da análise dos espectros de RMN ^{13}C (utilizando a técnica DEPT) de Clr (Fig. 28, pág. 60) e de Clr-1 (Fig. 32, pág. 69) a partir das absorções 63,3 δ e 65,2 δ , relacionadas a carbonos metilênicos ligados respectivamente a uma hidroxila e a um grupo acetila.

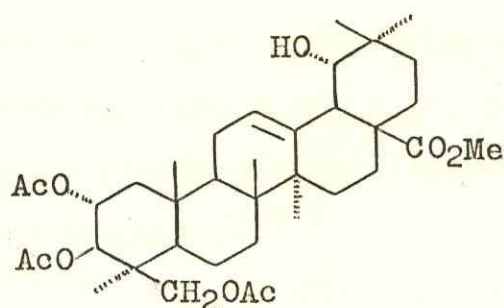
A presença de apenas seis grupos metilas evidenciadas pelos espectros de RMN ^1H (300MHz) de Clr (Fig. 26, pág. 58) e de Clr-1

(Fig. 31, pág. 68) indicou que duas metilas foram oxidadas. Por outro lado, o esquema de fragmentação proposto para Clr e Clr-1 (Esq. 4, pág. 63) através dos picos m/z 248 (66%) e 203 (110%) daltons sugeriu que a função carboxila deverá estar localizada no anel D ou E, enquanto que os anéis A e/ou B contêm três hidroxilas. Estas observações e mais a presença de um sinal simples em campo alto no espectro de RMN 1H de Clr e de Clr-1 em 0,71 e 0,74 δ , respectivamente, atribuídos aos prótons dos grupamentos metila mais protegido, Me-26 (Tabela 7, pág. 67) sugeriram a localização do grupo carboxila em C-17^{31, 32, 33}.

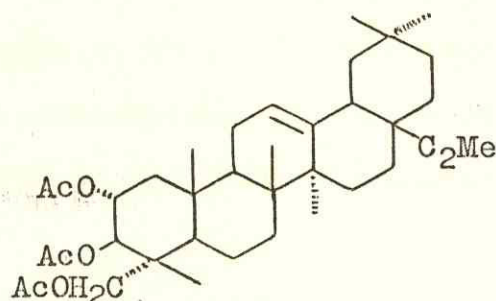
As absorções no espectro de RMN 1H de Clr em 3,31 (1H, d, $J = 10,8\text{Hz}$) e 3,05 δ (1H, d, $J = 10,8\text{Hz}$) foram atribuídas aos hidrogênios metilênicos de um sistema AB do grupo CH_2OH . Este grupo teria tido sua origem na oxidação biossintética provavelmente em C-4. Enquanto que no espectro RMN 1H de Clr-1 (Fig. 31, pág. 68) exibiu um par de dubletos em 3,84 (1H, $J = 12,0\text{Hz}$) e 3,58 δ (1H, $J = 12,0\text{Hz}$) característico de grupo metilênico não equivalente $23\text{-CH}_2\text{OAc}$ ³⁴.

No sericiato de metila triacetilado 66 onde o grupo acetila encontra-se ligado a posição C-24 os prótons do grupo CH_2OAc apresentam-se como um singlete em 4,18 δ , e portanto ocupando posição axial, enquanto que no arjunolato de metila triacetilado 67, estes prótons no C-23, posição equatorial, exibem um par de dubletos centrados em 3,65 δ ($J = 11,0\text{Hz}$)³⁵. "Esta diferença no deslocamento químico e no padrão de acoplamento dos prótons equatorial e axial de grupo CH_2OAc em C-4 é significativa e pode ser usado para estabelecer a configuração destes substituintes em triterpenos pentacíclicos".³⁵

Portanto, concluiu-se que a hidroxila ligada a carbono primário de Clr encontra-se localizada na posição C-23, ou seja, ocupando a posição equatorial.



66



67

As outras hidroxilas deverão estar localizadas virtualmente em C-2 e C-3, ambas ocupando posição equatorial. Esta conclusão foi possível através da análise do espectro de RMN ^1H de Clr-1, onde observou-se absorções em 5,16 (1H, dt, $J=10,2$ e $5,4$ Hz) e 5,08 δ (1H, d, $J = 10,2$ Hz) atribuídas, respectivamente, aos prótons H-2 e H-3, com a constante de acoplamento característica de uma interação axial-axial.

A análise do espectro de RMN ^1H (300MHz) bidimensional (2D) de correlação homonuclear H-H (COSY ou HOMOCOR) de Clr-1 (Fig. 33, pág. 70) permitiu a confirmação das interações entre os diversos sistemas de prótons da molécula, destacando-se principalmente os acoplamentos $\text{H}_\text{A}-23$ e $\text{H}_\text{B}-23$ de um sistema AB, a interação axial-

axial entre H-2 e H-3 e a posição axial de H-18. Na Tabela 7, abaixo, estão relacionados os deslocamentos químicos, multiplicidade e as constantes de acoplamentos de alguns prótons de Clr e Clr-1.

Através das informações até aqui descritas e comparação dos dados espectrais com triterpenos ácidos da série oleanano (70, 71, 72), registrados na literatura^{36, 37, 38} (Tabela 8, pág. 74) propomos para Clr e Clr-1, respectivamente, as estruturas 68 e 69, referentes ao ácido 2 α , 3 β , 23-trihidroxiolean-12 - en - 28 - óico e seu derivado triacetilado, o primeiro citado na literatura como o ácido arjunólico³⁹.

Tabela 7. Dados Espectrais de RMN ^1H de Clr e Clr-1

Prótons	Deslocamentos Químicos,	Multiplicidade,	J = Hz
	Clr	Clr-1	
H-2	3,49 sl	5,16 dt (10,2 e 5,4)	
H-3	3,18 d (9,3)	5,08 (10,2)	
H-12	5,18 t	5,27 t	
H-18	2,75 dd (10,4)	2,85 dd (10,4)	
H _a -23	3,31 d (10,8)	3,84 (12,0)	
H _b -23	3,05 d (10,8)	3,58 d (12,0)	
H-24	0,55 s	0,93 s	
H-25	0,92 s	1,08 s	
H-26	0,71 s	0,74 s	
H-27	1,10 s	1,12 s	
H-29	0,88 s	0,88 s	
H-30	0,88 s	0,91 s	

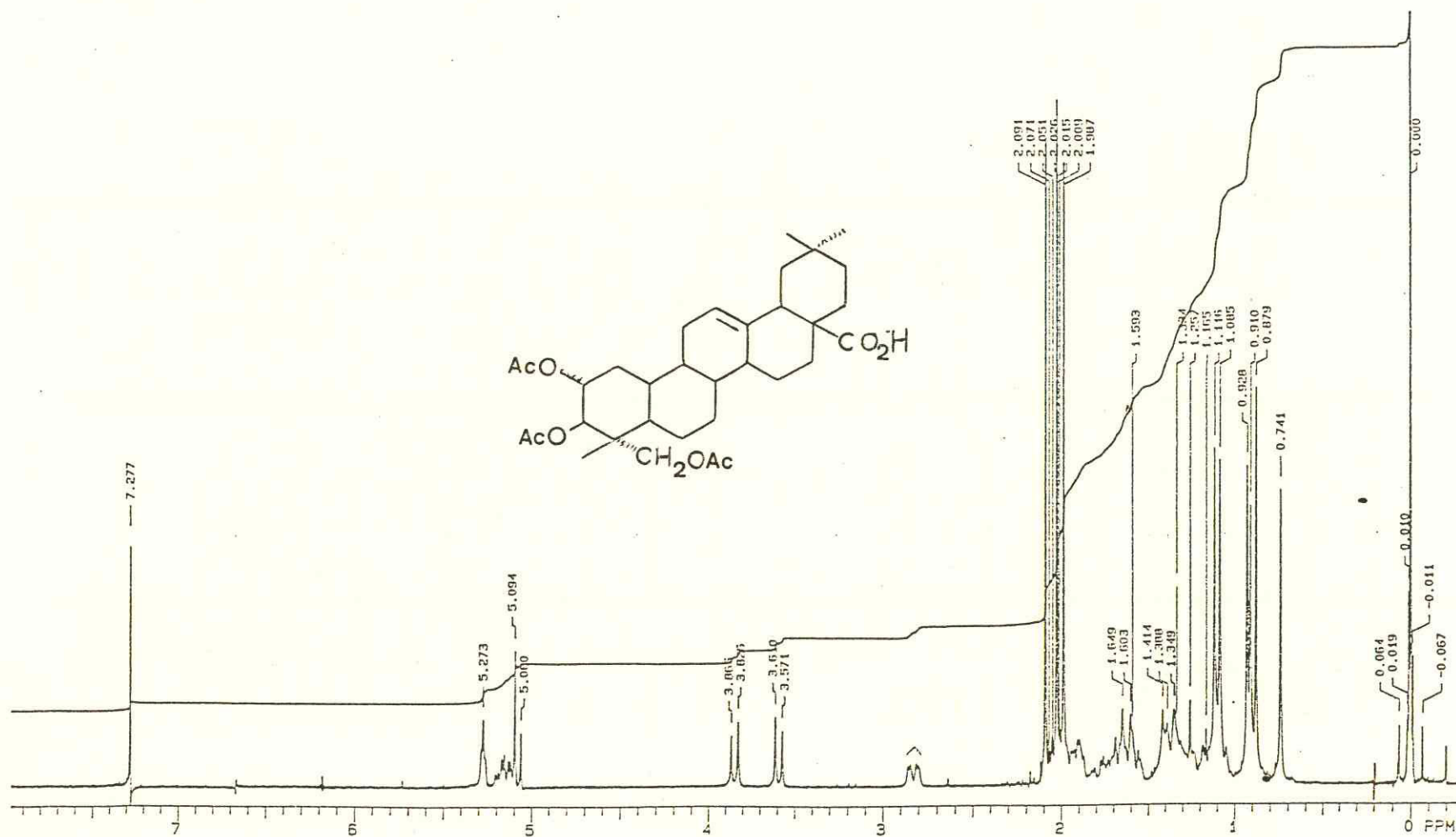


Figura 31. Espectro de RMN-¹H de Clr-1 (300 MHz, CDCl₃, δ).

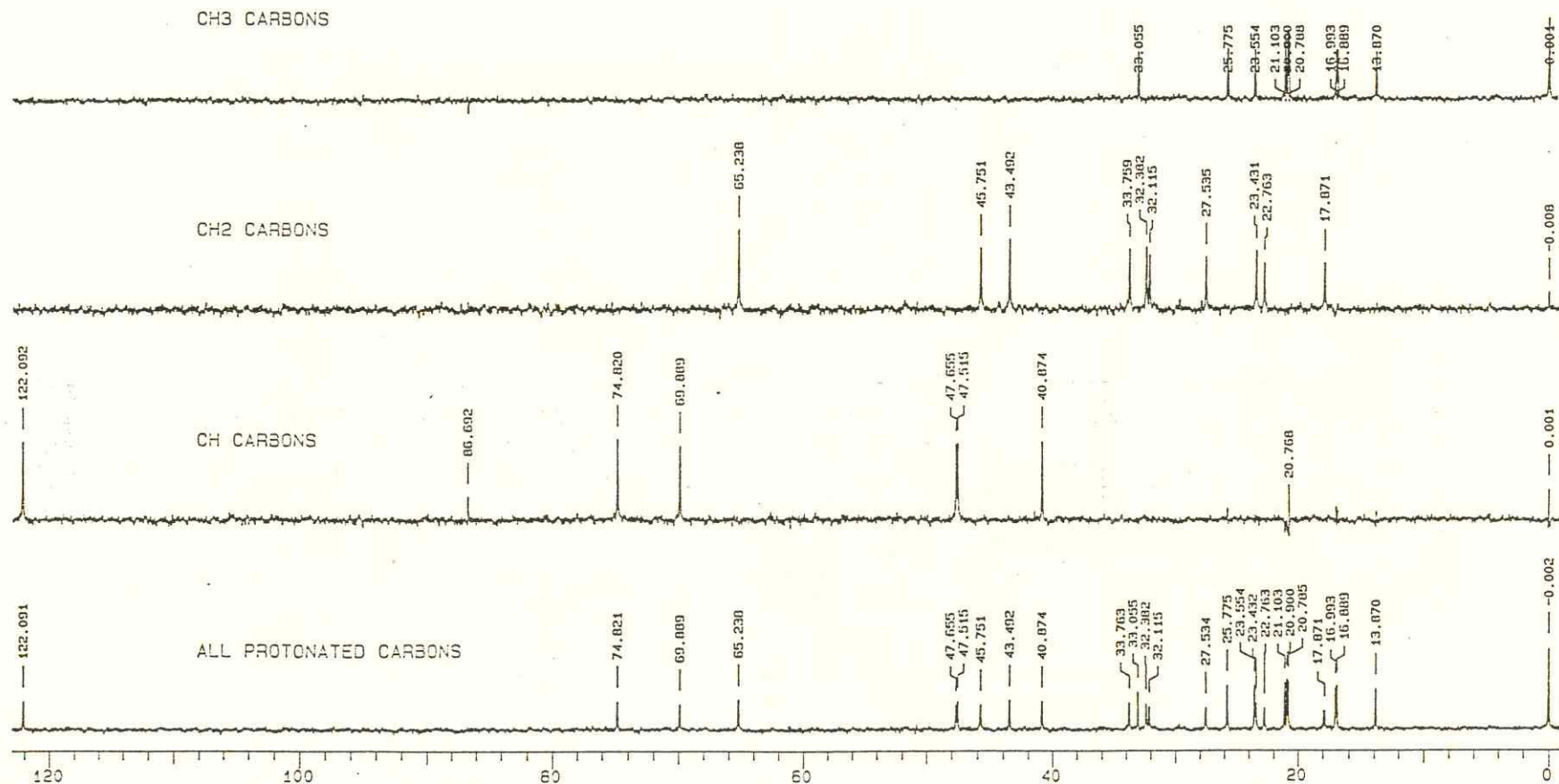


Figura 32. Espectro de RMN- ^{13}C dos carbonos protonados de Clr-1, modulados pela técnica DEPT (75 MHz, CDCl_3 , δ).

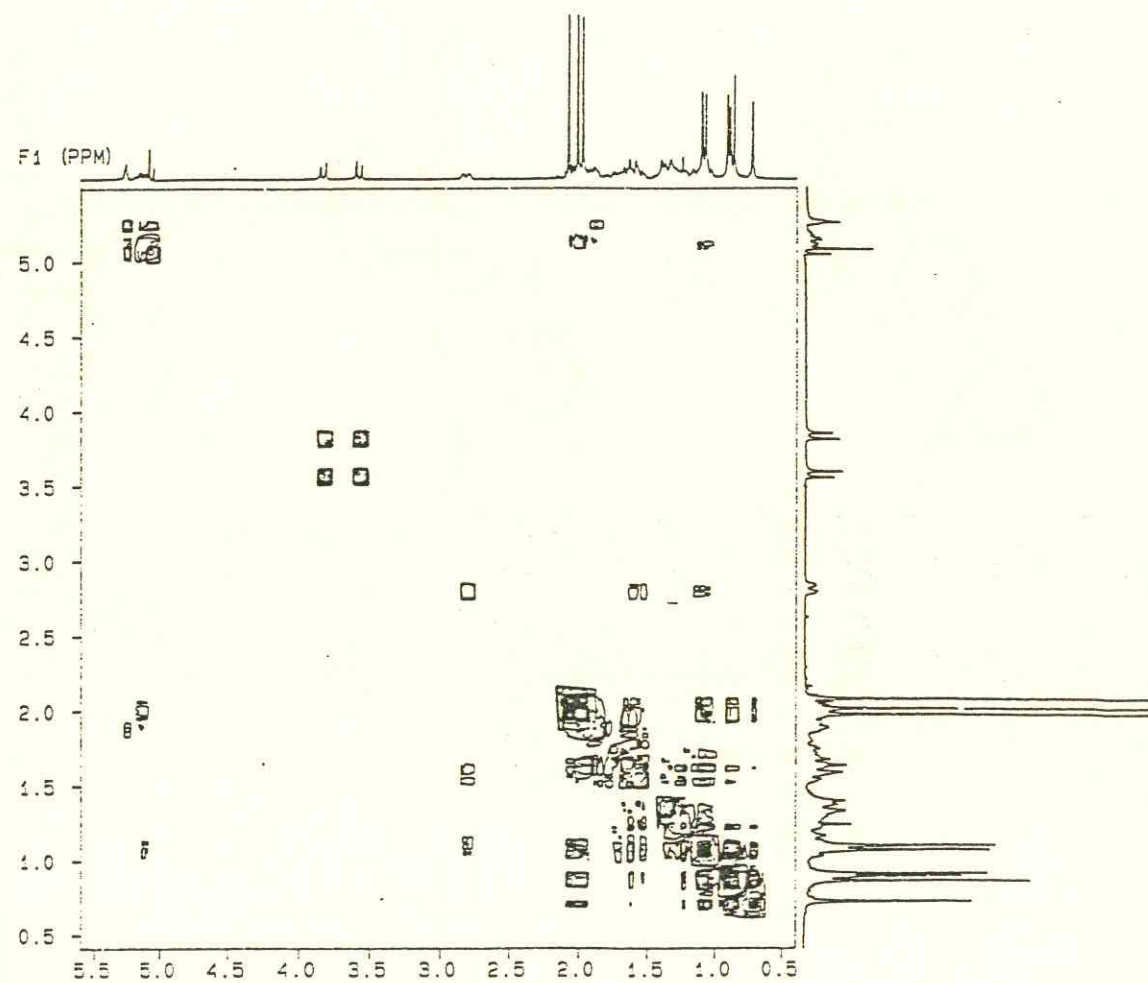
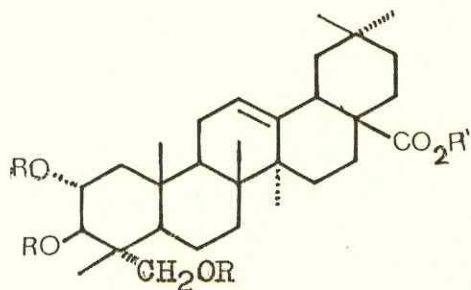


Figura 33. Espectro de RMN- ^1H bidimensional (2D) de correlação homonuclear (COSY ou HOMOCOR) de Clr-1.

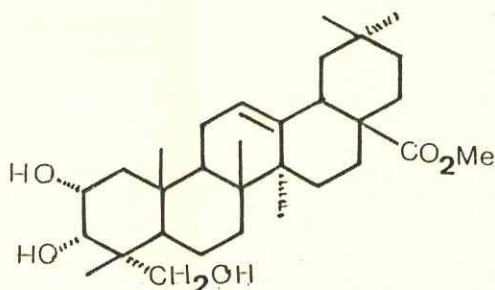
Os espectros bidimensionais (2D) de correlação heteronuclear ^{13}C - ^1H (HECTOR) de Clr (Fig. 34, pág. 72) e de Clr-1 (Fig. 35, pág. 73) obtidos por modulação de $^1J_{\text{CH}}$, permitiu estabelecer corretamente os deslocamentos químicos dos átomos de ^1H - ^{13}C protonados (Tabela 9, pág. 75).



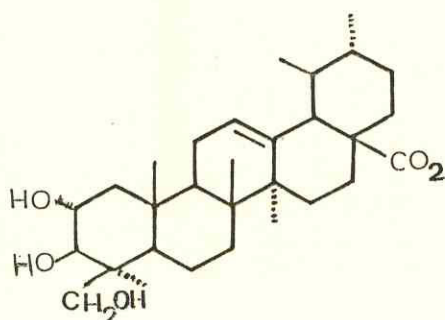
68 $\text{R} = \text{R}' = \text{H}$

69 $\text{R} = \text{AC}, \text{R}' = \text{H}$

70 $\text{R} = \text{H}, \text{R}' = \text{Me}$



71



72

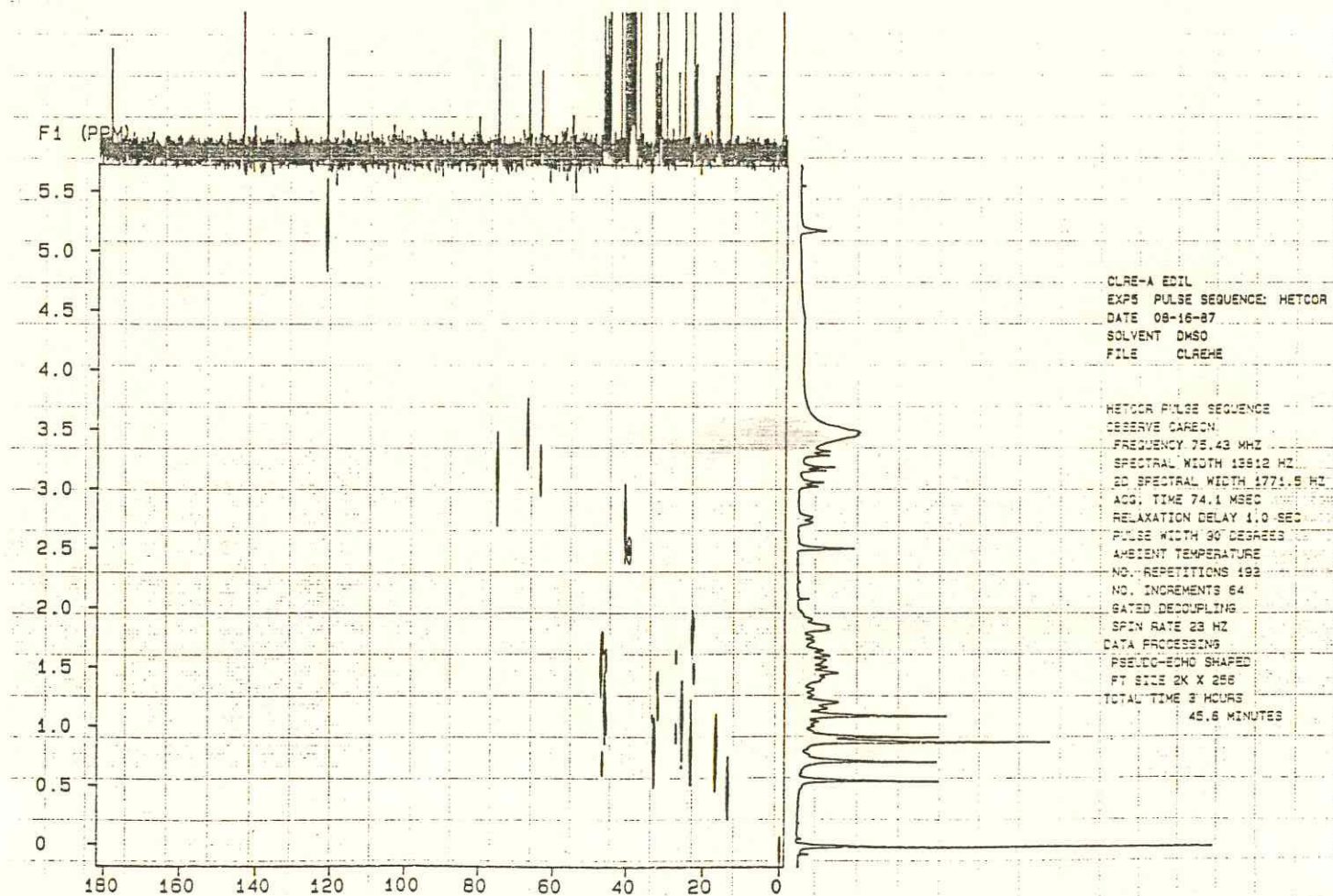


Figura 34. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HETCOR) de Clr

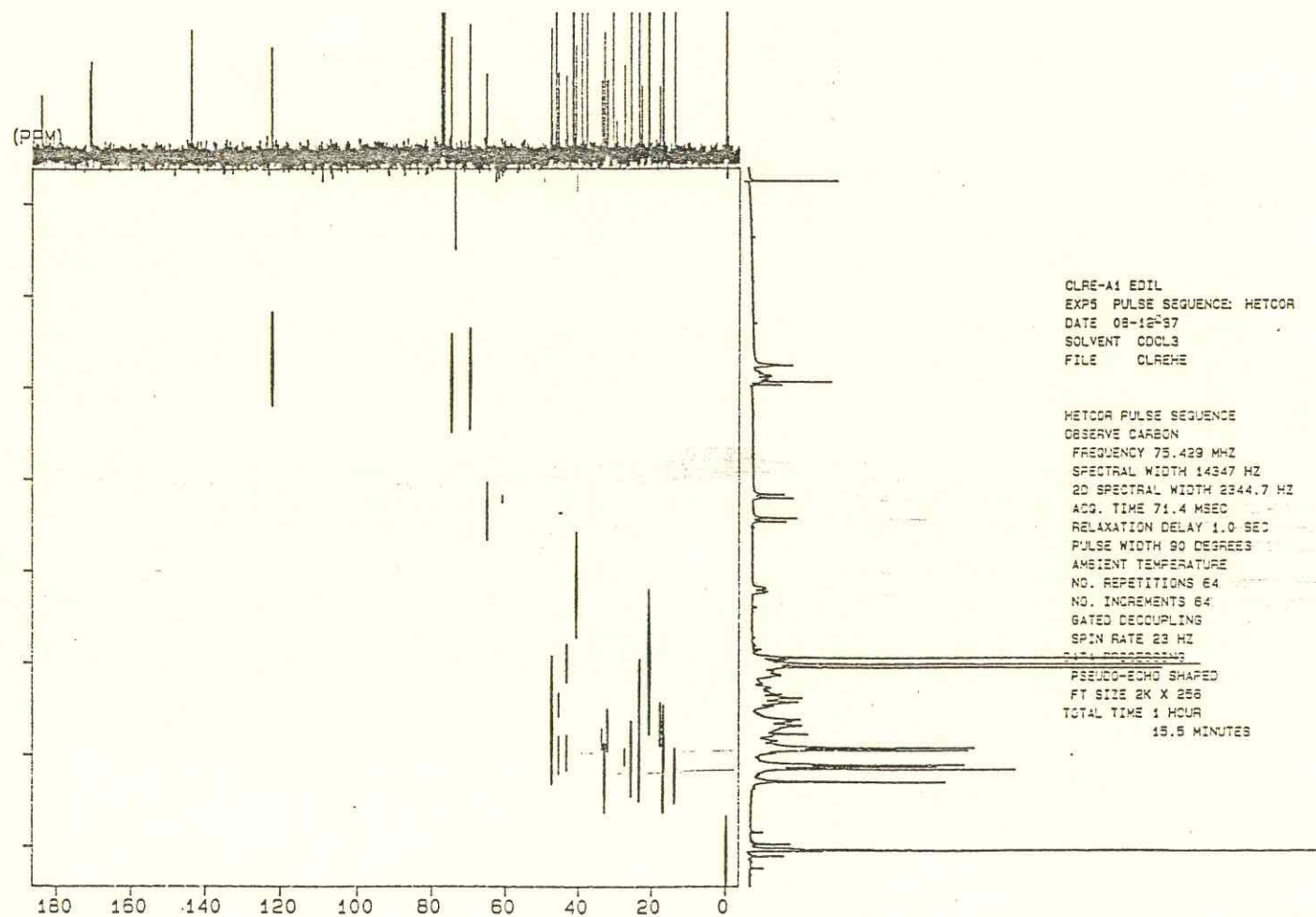


Figura 35. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HETCOR) de Clr-1, obtido por modulação de $^1J_{CH}$.

Tabela 8. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (δ) de Clr, Clr-1 e triterpe-
nos ácidos da série oleanano descritos na literatura.

Carbono	Clr	Clr-1(69)	70	71	72
1	46,5	43,5	46,2	41,4	46,1
2	67,3	69,9	68,9	66,2	67,7
3	75,5	74,8	80,7	73,3	84,2
4	42,4	41,9	42,6	41,4	42,5
5	47,0	47,6	49,4	48,6	53,3
6	17,4	17,9	18,5	18,2	18,0
7	32,0 ^a	32,1	32,5	32,7	32,6
8	39,1	39,3	39,5	39,3	40,8
9	46,0	47,5	47,8	47,4	46,8
10	37,3	37,5	38,4	38,0	39,2
11	22,9	23,4	23,5	23,4	24,9
12	121,4	122,1	122,3	121,9	127,2
13	143,9	143,7	144,0	143,7	138,2
14	41,3	41,5	41,9	41,6	41,1
15	27,1	27,5	27,8	27,5	28,6
16	22,5	22,8	23,2	22,9	25,4
17	45,9	46,5	46,9	46,6	47,7
18	40,7	40,7	41,4	41,1	55,3
19	45,6	45,8	46,0	45,7	71,9
20	30,3	30,7	30,8	30,6	41,3
21	33,3	33,8	34,0	33,7	27,7
22	31,8 ^a	32,4	32,5	32,2	37,1
23	63,9	65,2	70,3	22,0	25,2
24	13,6	13,9	12,9	65,5	64,2
25	16,7	16,9	17,0	16,6	21,8 ^b
26	16,8	17,0	17,1	16,6	14,6
27	25,6	25,8	26,2	25,9	22,3
28	178,5	184,1	178,4	178,2	180,6
29	32,8	33,0	33,2	33,0	23,0
30	23,3	23,5	23,8	23,5	15,7 ^b
OH_3	-	-	51,6	51,4	-
COO	-	170,9	-	-	-
		170,5			
		170,4			
		21,1			
		20,8			
		20,8			

a,b, os valores podem estar trocados

Como já era esperado, a análise do espectro de RMN- ^1H do derivado triacetilado revelou os deslocamentos químicos para campo baixo das absorções dos prótons carbinólicos da substância original quando comparadas com os sinais correspondentes no espectro de RMN- ^1H do derivado acetilado (Tabela 7, pág. 67).

Com relação aos deslocamentos químicos nos espectros de RMN- ^{13}C de Clr e Clr-1, observamos que ocorreu deslocamento para campo alto ($\sim 3\text{ppm}$), efeito γ do grupo acetila ligado no carbono-2 em relação a C-1 (Tabela 8, pág. 74).

Tabela 9. Deslocamentos Químicos dos ^1H e ^{13}C (δ) obtidos por Correlação Heteronuclear (HETCOR).

CARBONO	Clr		Clr-1	
	<u>H</u>	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>C</u>
1	0,75	46,5	1,05	43,5
2	3,49	67,3	5,16	69,9
3	3,18	75,5	5,08	74,8
5	1,60	47,0	1,64	47,6
9	1,00	46,0	1,59	47,5
12	5,18	121,4	5,27	122,1
18	2,75	40,7	2,83	40,7
19	1,60	45,6	1,60	45,8
23	3,31 e 3,05	63,9	3,84 e 3,58	65,2
24	0,55	13,6	0,93	13,9
25	0,92	16,7	1,08	16,9
26	0,71	16,8	0,74	17,0
27	1,10	25,6	1,12	25,8
29	0,88	32,8	0,88	33,0
30	0,88	23,3	0,91	23,5

A análise dos espectros de massas de Clr (Fig. 29, pág. 61) e de Clr-1 (Fig. 30, pág. 62), através do esquema de fragmentações para ambas substâncias, estão de acordo com a proposta estrutural lançada para Clr (68) e Clr-1 (69).

Com relação ao ponto de fusão de Clr, verificamos que o mesmo está acima de 300° . Porém, na literatura, o ponto de fusão do ácido arjunólico está registrado como sendo $332-334^{\circ}\text{C}^{39}$, portanto acima de 300°C .

3.3 Determinação Estrutural de Cl-13.

A substância designada Cl-13 apresentou-se como um sólido branco solúvel em metanol, ponto de fusão $210 - 213^{\circ}\text{C}$, apresentou teste positivo para triterpeno quando tratada com reagente de Liebermann-Burchard.

Seu espectro na região do infravermelho (Fig. 36, pág. 83) registrou bandas de absorções em 3500 cm^{-1} , estiramento de hidroxila livre, 3360 cm^{-1} estiramento de hidroxila associada, 1695 cm^{-1} estiramento de carbonila e 1650 cm^{-1} estiramento de ligação dupla carbono-carbono.

O espectro de massas (Fig. 37, pág. 84) apresentou o pico do íon molecular 472 daltons, sugerindo fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4$.

O espectro de RMN ^{13}C totalmente desacoplado (Fig. 38, pág. 85) exibiu trinta linhas espectrais, correspondentes a seis grupos CH_3 , dez grupos CH_2 , sete grupos CH e sete carbonos não protonados (Tabela 10, pág. 78), revelados pela análise comparativa do espectro totalmente desacoplado e dos dados fornecidos pela utilização da técnica DEPT = Distortionless Enhancement by Polarization (Fig. 39, pág. 86). através desta análise comparativa foi possível confirmar a fórmula molecular sugerida acima.

Duas das sete insuficiências deduzidas pela fórmula molecular, foram justificadas pelas absorções no espectro de RMN ^{13}C em 130,8, 125,8 δ atribuídas a carbonos sp^2 de ligação dupla carbono-carbono e pela absorção 180,3 δ devido a um carbono sp^2 carbonílico.

Os outros cinco graus de insuficiências foram relacionados com a presença de cinco anéis na molécula, sendo que um dos anéis

correspondente a um ciclopropano. A presença do anel ciclopropano foi sugerida depois da análise do espectro de RMN ^1H (Fig. 40, pág. 87) onde verificou-se a existência de duas absorções em 0,88 e 0,55 δ com valor de "J" = 3,9 Hz, características deste sistema de anel⁴⁰.

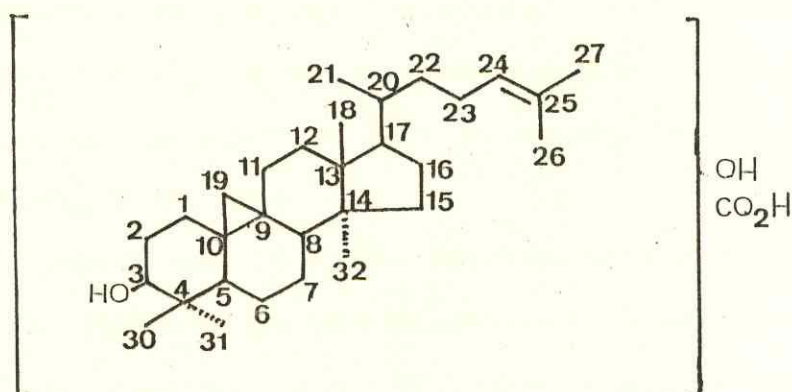
Tabela 10. Deslocamentos Químicos dos Carbonos (δ) de C1-13 registrados em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ e TMS como Referência Interna.

C	CH	CH_2	CH_3
180,3	125,8	38,7	25,9
130,8	72,6	36,7	19,5
55,7	70,8	35,9	18,5
49,2	52,6	33,3	18,4
45,6	48,2	33,4	17,7
30,3	37,1	29,8	9,8
20,8	26,2	28,4	
		26,2	
		25,8	
		25,3	
$\text{C}_5(=\text{C})\text{CO}_2\text{H}$	$(\text{CH})_4(\text{HCOH})_2(=\text{CH})$	$(\text{CH}_2)_{10}$	$(\text{CH}_3)_6$
$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4$			

Um grupamento isopropilideno foi identificado também no espectro de RMN ^1H através das absorções 5,24 δ (1H, t1, J = 5,4 Hz) correspondente a um próton olefínico de ligação dupla carbono-carbono trissubstituída e absorções em 1,72 e 1,70 δ de duas metilas ligadas a carbono sp^2 .

Ainda no espectro de RMN ^1H foram identificadas outras três metilas ligadas a carbonos terciários 1,64 (3H, s), 1,05 (3H, s) e 1,00 δ (3H, s), um sinal correspondente a uma metila ligada a carbono secundário em 0,96 δ (3H, d, $J = 6,0$ Hz) e duas absorções em 5,54 (1H, $J = 11,1$ Hz) e 3,91 δ (1H, sl) que foram atribuídas a prótons metínicos carbinólicos, confirmados no espectro de RMN ^{13}C , através dos picos em 72,6 e 70,8 δ .

Estas informações, e o fato do mesmo apresentar reação positiva para triterpeno, além do apoio na biossíntese de triterpenos, permitiu propor que o composto em estudo seja um triterpeno ácido dihidroxilado, cujo esqueleto carbônico pertence a série dos cicloartanos.



A presença de apenas seis metilas evidenciadas pelos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C indicou que uma das metilas foi oxidada. Por outro lado, no esquema de fragmentação proposto para Cl-13 (Esquema 5, pág. 88) a presença dos picos m/z 286, 361, 206, 343 e 248 daltons sugeriu que a outra hidroxila e a metila que foi oxidada

da a carboxila, encontram-se localizadas no anel A.

Sugerimos a localização da segunda hidroxila em C-1 depois de verificarmos que os prótons do anel propânico do ácido magiferólico (73) absorvem em 0,37 e 0,58 δ ⁵⁴, enquanto os prótons do anel propânico de Cl-13 absorvem em 0,55 e 0,88 δ . Estes deslocamentos para campo baixo é explicado pela presença da hidroxila em C-1⁵⁴.

A confirmação das hidroxilas em C-3 e C-1 foi evidenciada depois da análise do espectro de RMN ¹H bidimensional (2D) (Fig. 41, pág. 89) de correlação homonuclear H-H (COSY ou HOMOCOR) onde verificamos que as absorções em 3,91 (1H, sl) e 5,54 δ (1H, d, J = 11,1 Hz), relacionadas aos prótons H-1 axial e H-3 equatorial, respectivamente, estão acoplando com os prótons do carbono-2. Esta análise também nos credenciou a propor a estereoquímica das respectivas hidroxilas como sendo 1- α OH e 3- β OH.

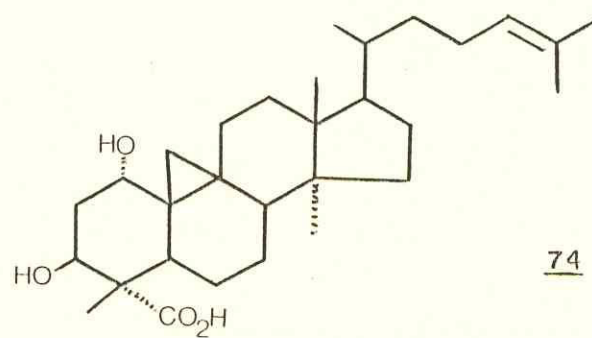
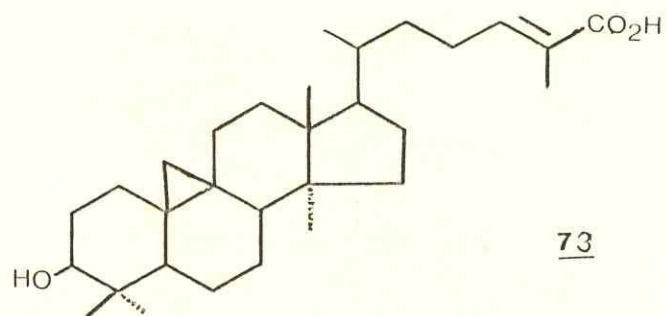
Quanto a metila que foi oxidada biossinteticamente a carboxila, propomos ter sido a Me-30. Uma absorção no espectro de RMN ¹³C em 9,8 δ relacionada a metila mais protegida Me-31 confirmou a presença da carboxila em C-4⁵⁵.

De acordo com os dados apresentados até aqui sobre Cl-13, conclui-se que trata-se de uma substância já descrita na literatura denominada. 4 α -Carboxi-4 β , 14, α -dimetil-9 β , 19 - ciclo-5 α -Coolest-24-ene-1 α , 3 β -diol (ácido mólico), 74, isolado de outras plantas do mesmo gênero^{13, 41}. A confirmação foi feita através da comparação dos dados espectrais de RMN ¹³C de Cl-13 e do referido ácido (Tabela 11, pág. 81), e ainda por comparação do ponto de fusão de Cl-13, 210 - 213°C (Lit.¹³ 210 - 212°C).

Tabela 11. Comparação dos Deslocamentos Químicos de RMN ^{13}C de Cl-13 e do Ácido Mólico 74.

CARBONO	Cl-13	74	CARBONO	Cl-13	74
1	72,6	72,8	16	28,4	28,4
2	38,7	38,5	17	52,6	52,8
3	70,7	70,4	18	18,4	18,3
4	55,7	55,7	19	29,8	29,9
5	37,7	37,7	20	36,2 *	36,3
6	23,4	23,4	21	19,5	19,6
7	25,8	25,9	22	36,7 *	36,3
8	48,2	48,2	23	25,3	25,5
9	20,9	21,1	24	125,8	125,9
10	30,3	30,5	25	130,8	130,8
11	26,2	26,5	26	25,9	25,9
12	35,9	36,9	27	17,7	17,8
13	45,6	45,8	30	180,3	179,9
14	49,2	49,3	31	9,8	9,6
15	35,3	33,5	32	18,5	18,7

* Estes valores podem estar trocados.



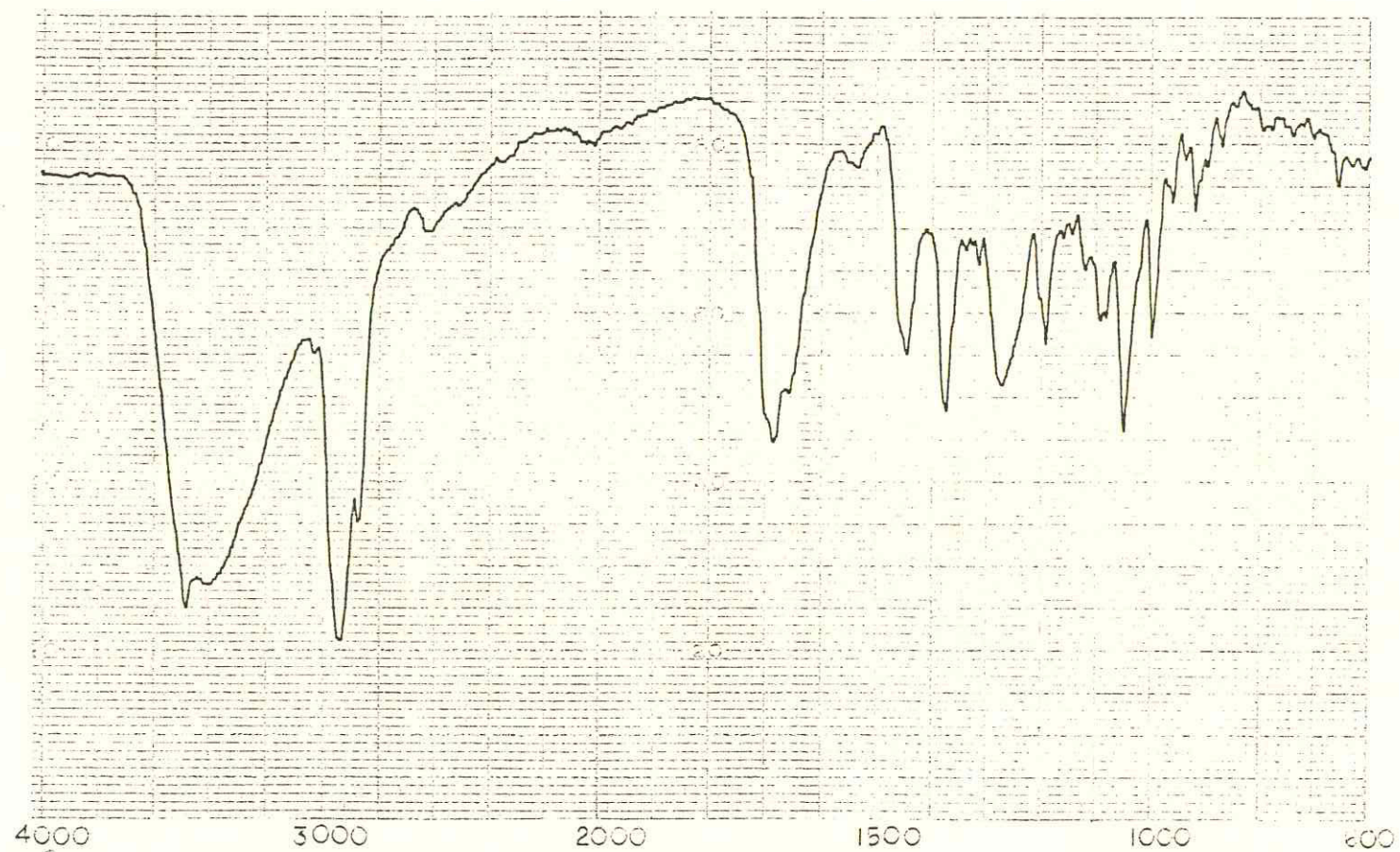


Figura 36. Espectro no I.V. de Cl-13 (Fase KBr).

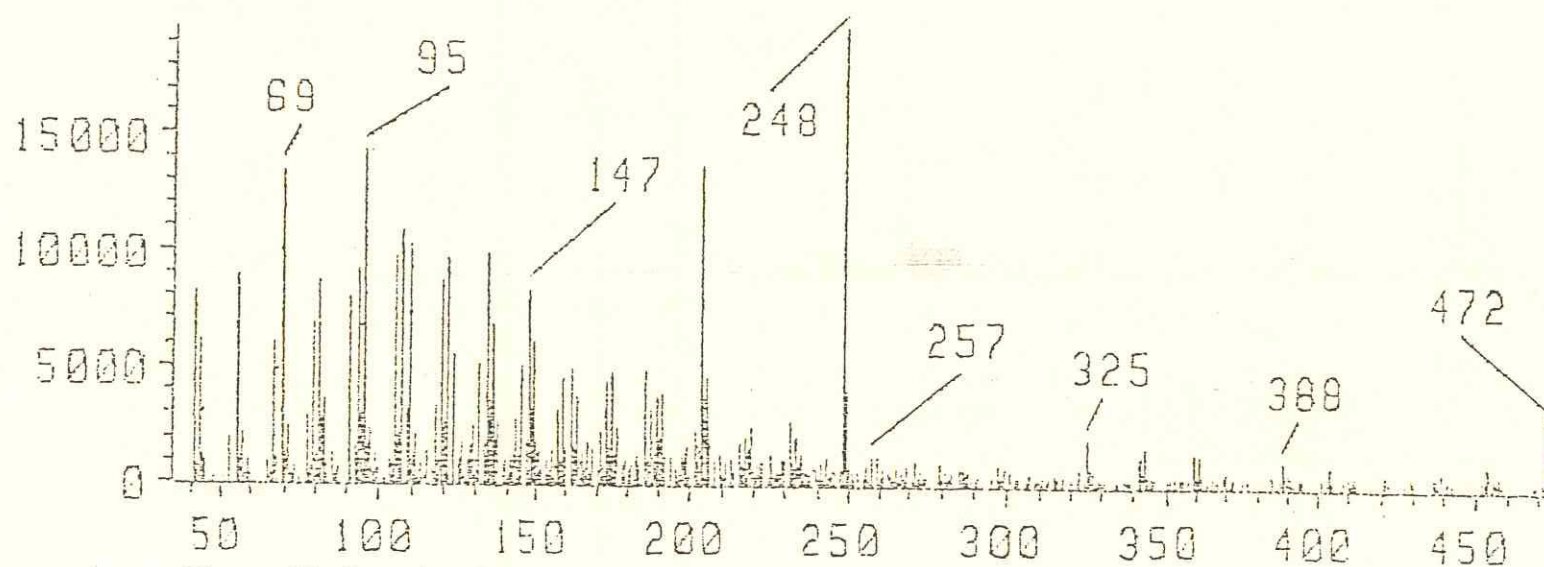


Figura 37. Espectro de massas de Cl-13.

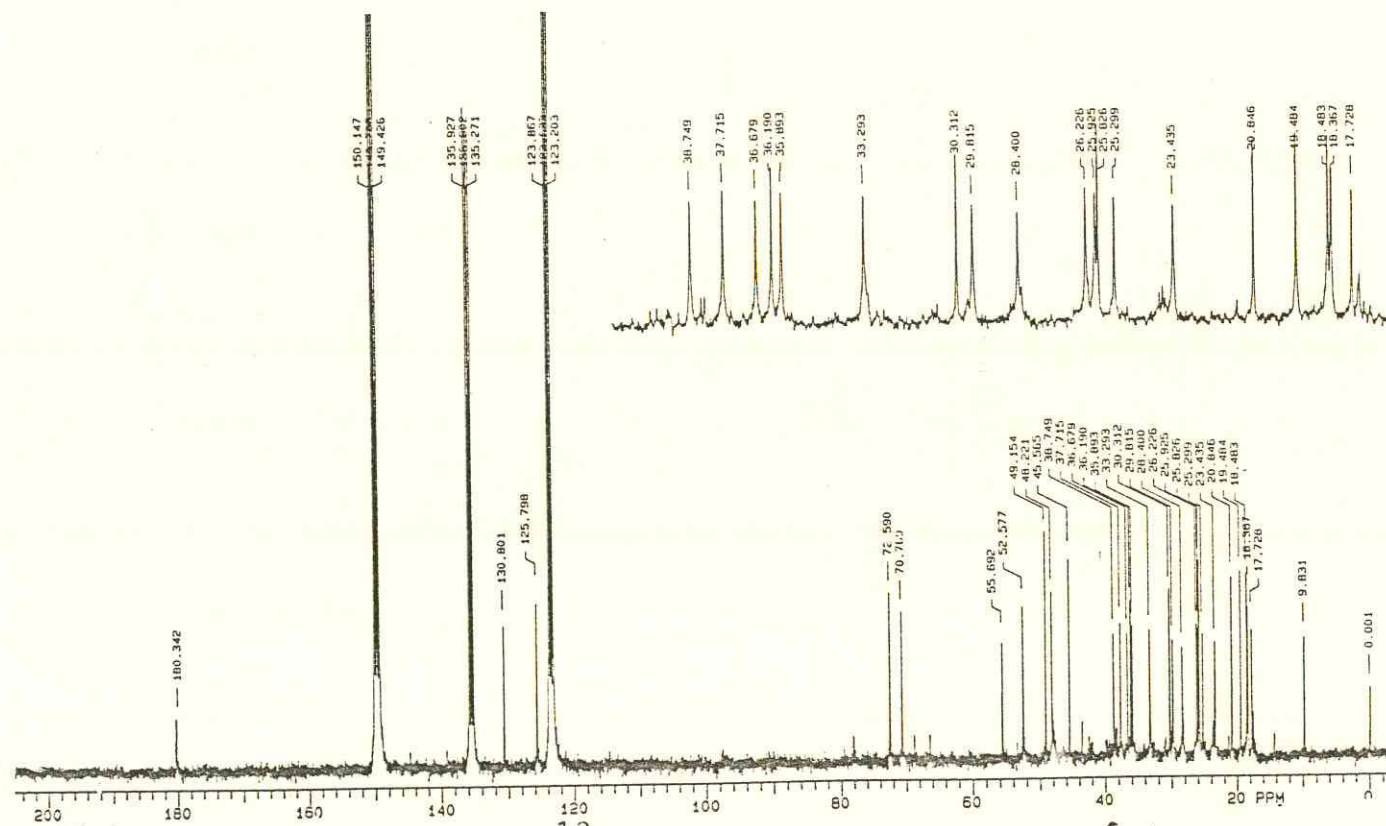


Figura 38. Espectro de RMN- ^{13}C de C1-13 (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ).

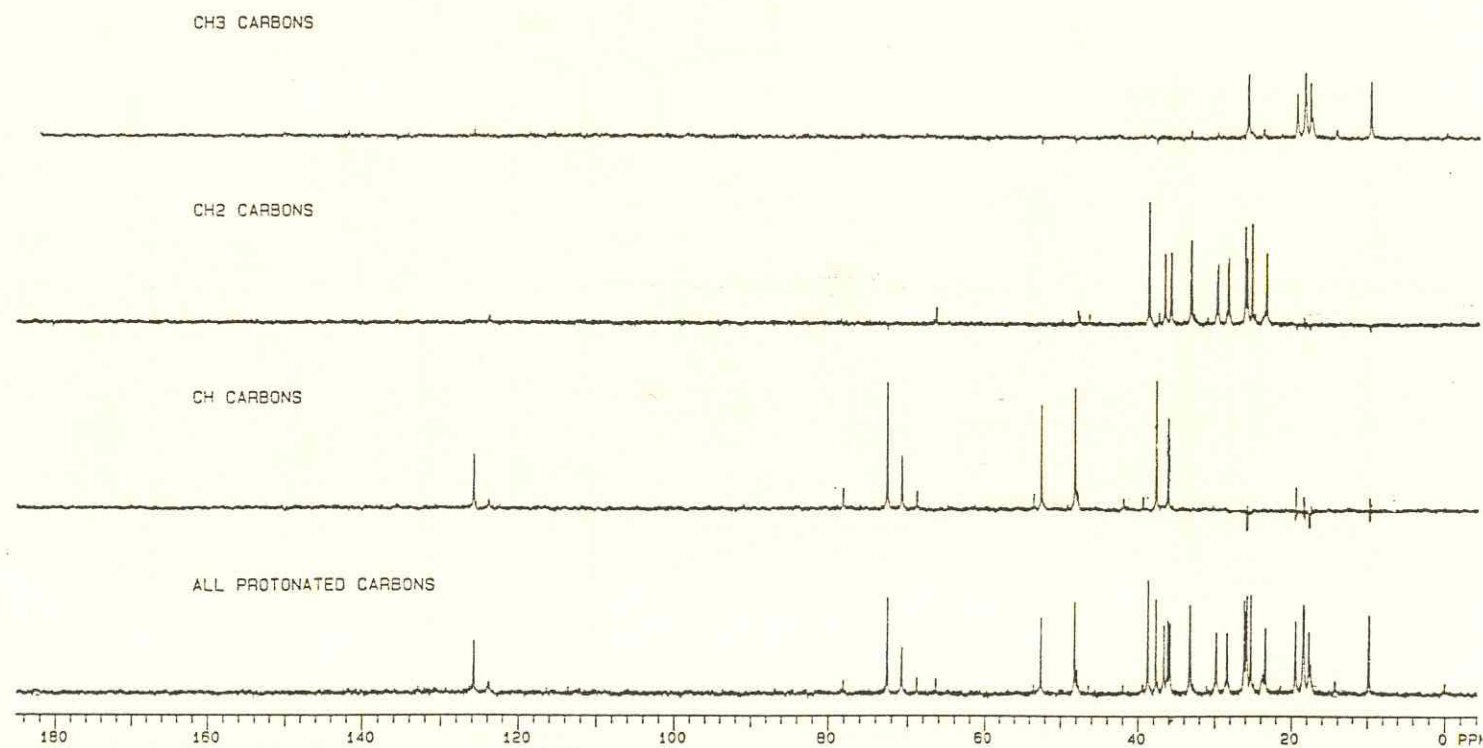


Figura 39. Espectro de RMN- ^{13}C dos carbonos protonados de Cl-13, modulados pela técnica DEPT. (75 MHz, $\text{C}_5\text{N}_5\text{D}$, δ).

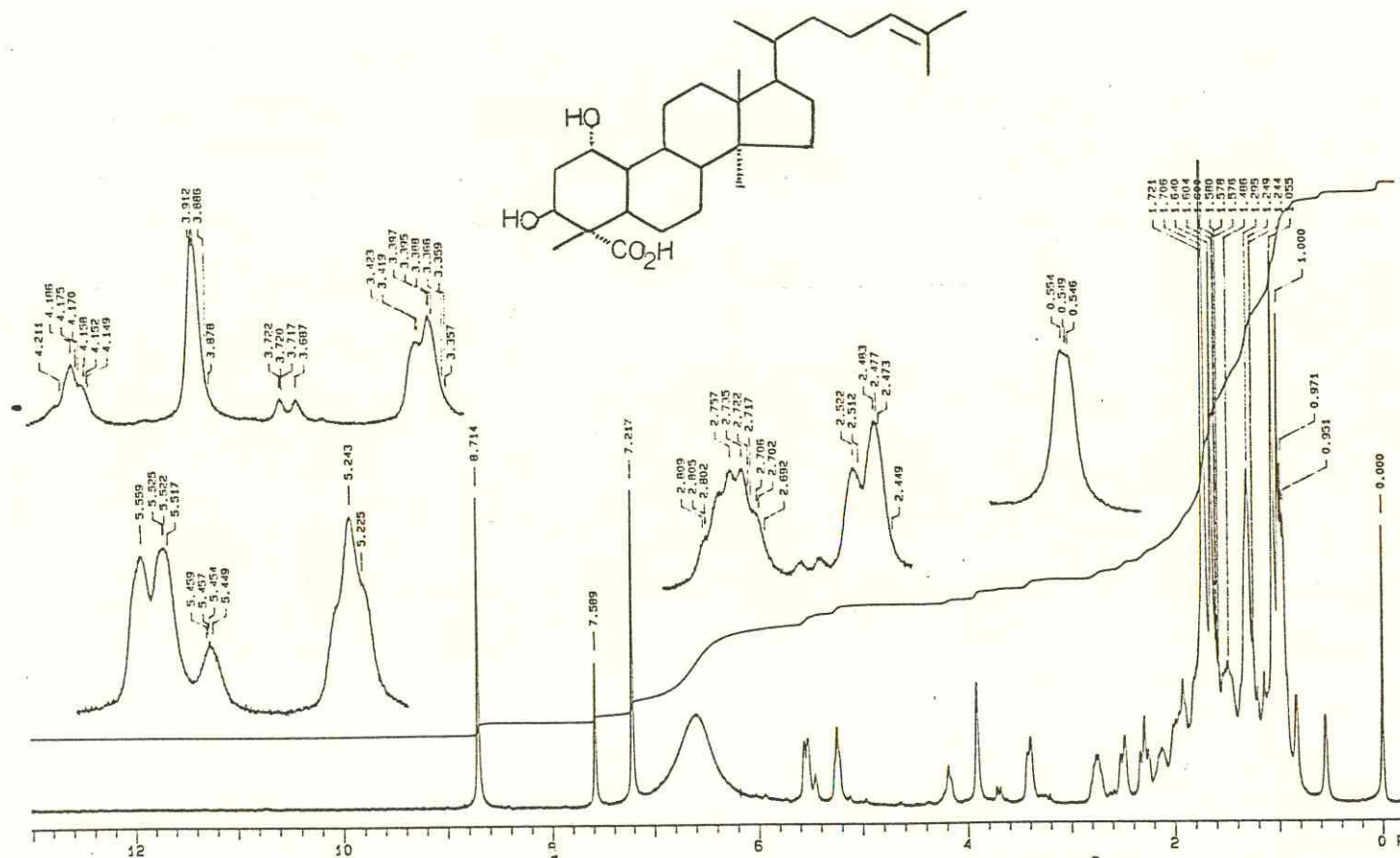
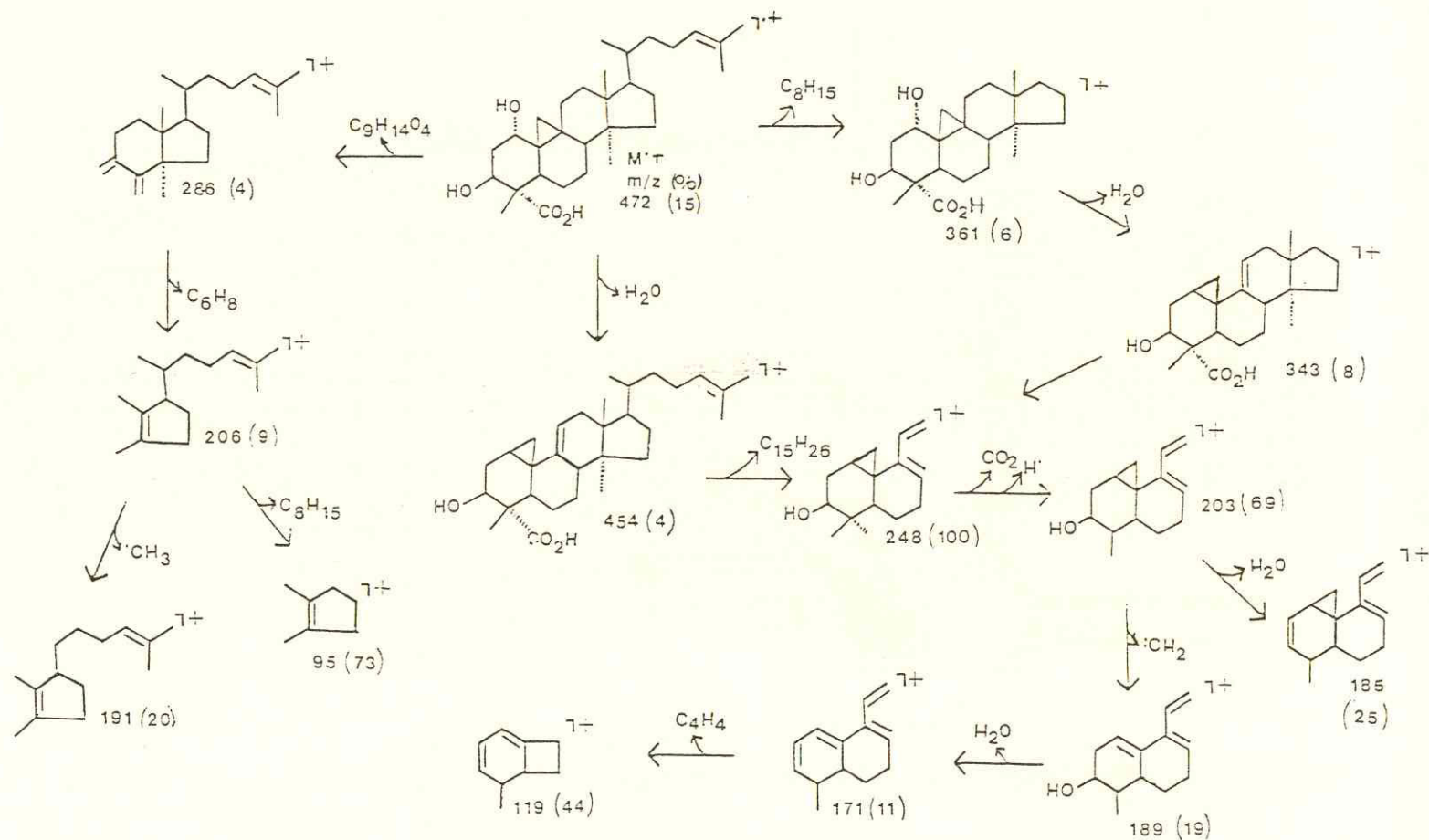


Figura 40. Espectro de RMN- ^1H de Cl-13 (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ).

Esquema 4. Proposta para os possíveis caminhos de fragmentação de Cl-13 no espectrômetro de massas.



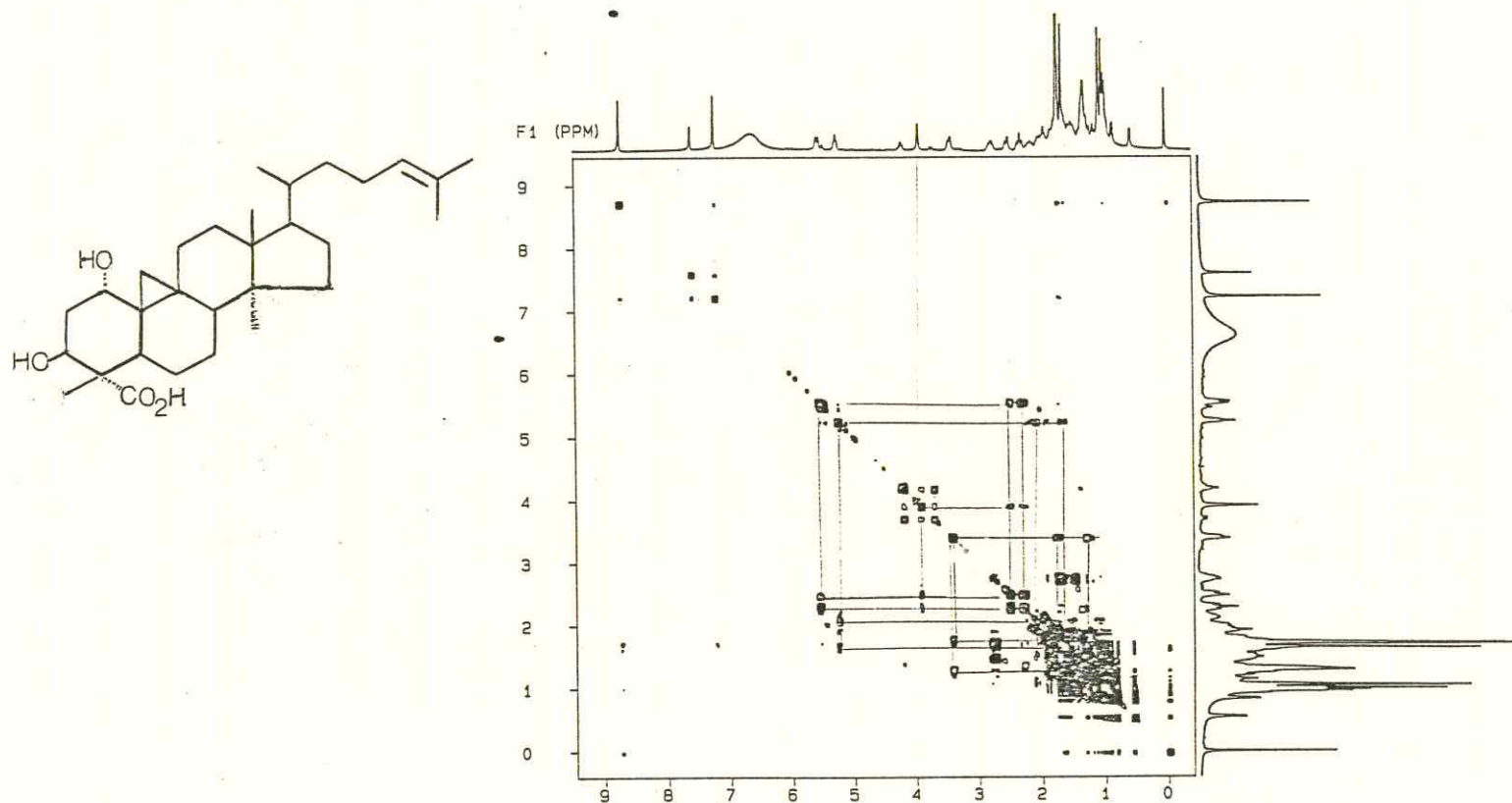


Figura 41. Espectro de RMN- ^1H bidimensional (2D) de correlação homonuclear (COSY ou HOMOCOR) de C1-13.

3.4 Determinação Estrutural de Cl-6 e Cl-19.

Cl-6 e Cl-19 são compostos cristalinos, amarelos esverdeados, que apresentam coloração púrpura escura, quando o spot cromatográfico é exposto a luz ultravioleta. Cl-6 é solúvel em acetona, ponto de fusão 258°C , enquanto Cl-19 é pouco solúvel no mesmo solvente e apresenta ponto de fusão 183°C .

Apresentaram coloração vermelha em presença de ácido clorídrico concentrado e magnésio metálico, indicando teste positivo para flavonóides.

Os espectros na região do infravermelho de Cl-6 (Fig. 42, pág. 93) apresentaram absorção de carbonila conjugada em 1675 cm^{-1} , e absorções em 3010, 1610 e 1510 , relacionados a anel aromático.

Os espectros de RMN ^1H de Cl-6 (Fig. 44, pág. 95) e de Cl-19 (Fig. 45, pág. 96) mostraram-se bastante semelhantes na região de $6,10$ a $7,90\delta$, sugerindo, portanto, que ambas substâncias apresentam o mesmo padrão de acoplamento nos anéis aromáticos. Nesta região, para ambos espectros, observamos três absorções duplas em $7,68$, $6,48$ e $6,24\delta$ com valor de "J" bem pequeno ($\sim 2\text{ Hz}$) e duas absorções duplas em $7,55$ e $6,99\delta$, com $J = 8,4$ e $2,1\text{ Hz}$. Estas absorções com as respectivas constantes de acoplamentos podem ser perfeitamente associadas aos prótons aromáticos de um sistema flavonoídico semelhantes ao da quercetina ⁷⁵⁴².

De acordo com a literatura no sistema de prótons aromáticos da quercetina, ocorrem os seguintes acoplamentos:

$J_{\text{H6-H8}} = 2,5\text{ Hz}$, $J_{\text{H2'-'H6'}}$ e $J_{\text{H6'-'H5'}} = 7,3\text{ Hz}$. As absorções no anel A ocorrem em campo baixo $6,70$ a $7,50\delta$, em relação aos prótons do

anel B⁴². Estes dados estão em concordância com os dados apresentados para Cl-6 e Cl-19, Tabela 12, abaixo:

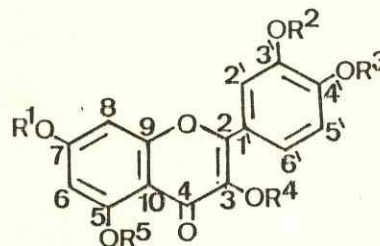
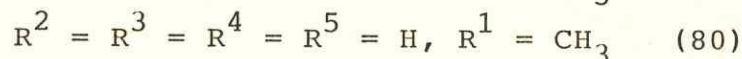
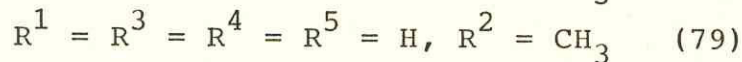
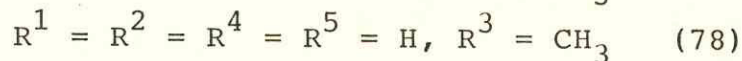
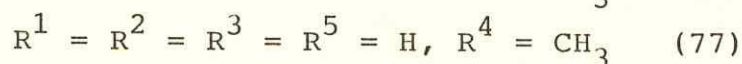
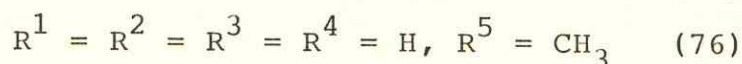
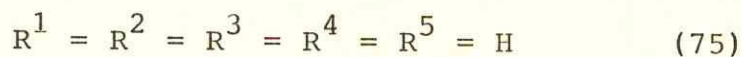
Tabela 12. Dados Espectrais de RMN¹H da Cl-6 e Cl-19 a 300 em CD₃COCD₃ e 90 MHz, em CD₃OD, respectivamente, TMS como Referência Interna.

PRÓTON -	DESLOCAMENTO QUÍMICO, MULTIPLICIDADE (CONSTANTE DE ACOPAMENTO Hz)	
	Cl-6	Cl-19
H-6	6,20 d (2,1)	6,20 d (2,1)
H-8	6,40 d (2,1)	6,36 d (2,1)
H-2'	7,67 d (2,1)	7,54 d (2,1)
H-6'	7,55 dd (8,4 e 2,1)	7,50 dd (8,4 e 2,1)
H-5'	6,90 d (8,4)	6,92 d (8,4)
OCH ₃	3,80 s	-
H-1"	-	5,36 s
H-2"	-	4,24 d (1,2)
H-3"	-	3,79 d (3,0)
H-4"	-	3,75 d (3,0)
H-5"	-	3,40 m
CH ₃	-	1,06 d (6,0)

O espectro de massas de Cl-6 (Fig. 46, pág. 97) exibiu o pico do íon molecular $m/z = 316$ daltons, sugerindo fórmula molecular C₁₆H₁₂O₇, enquanto que o espectro de massas de Cl-19 (Fig. 47, pág. 98) apresentou o pico M^{•+} com razão de massa sobre carga 448 daltons.

Os espectros de RMN ^{13}C totalmente desacoplado (PND) de Cl-6 (Fig. 48, pág. 99) e de Cl-19 (Fig. 49, pág. 100) revelaram a presença de 15 carbonos sp^2 , sendo que no espectro de Cl-6 foi observado uma absorção em $58,9\delta$ relacionada a uma metoxila. No espectro de Cl-19 foi ainda observado mais seis absorções, quatro na região de carbonos hidroxilados $73,3, 72,1, 72,0$ e $71,9\delta$, uma na região de carbono anomérico $103,5\delta^{43}$ e a outra em $17,7\delta$ que foi relacionada a um grupamento metila. Através destas informações sugerimos que Cl-6 seja um derivado metoxilado da quercetina e Cl-19 um glicosídeo da mesma, e portanto apresentando fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$.

Com a sugestão de que Cl-6 seja um derivado metoxilado da quercetina, resta-nos propor a localização da metoxila no núcleo flavônico. Existem, portanto, cinco possibilidades para esta localização 76, 77, 78, 79 e 80.



A absorção no espectro de RMN ^1H , de Cl-6 em $12,76\delta$ relacionada a uma hidroxila fenólica "peri" a carbonila⁴⁴ exclui a possibilidade da metoxila estar localizada na posição 5, descartando a estrutura 76 para Cl-6.

Como não foi possível a obtenção do espectro de ultravioleta desta substância, que certamente auxiliaria na localização da

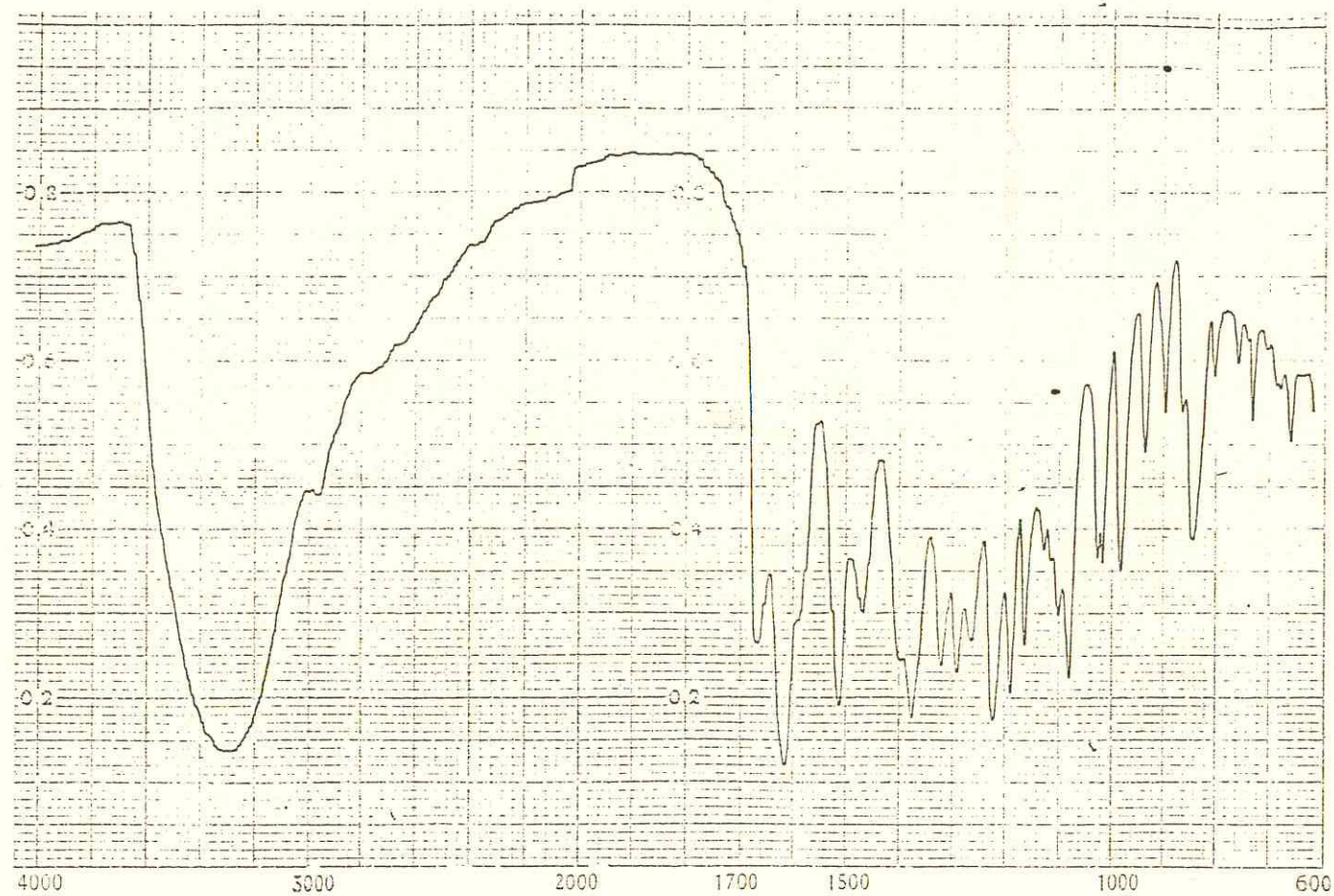


Figura 42. Espectro no I.V. de Cl-6 (Fase KBr).

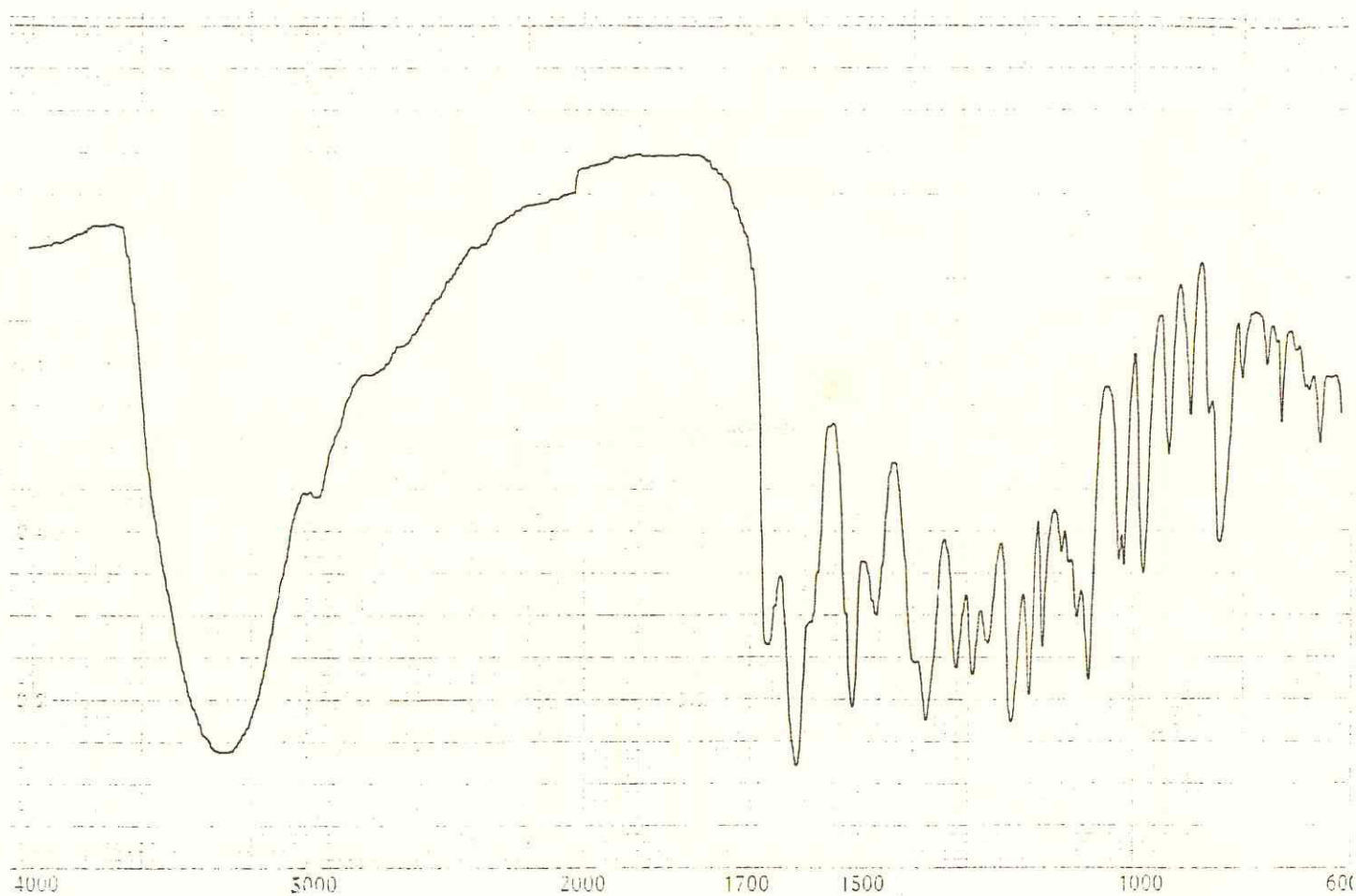


Figura 43. Espectro no I.V. de Cl-19 (Fase KBr).

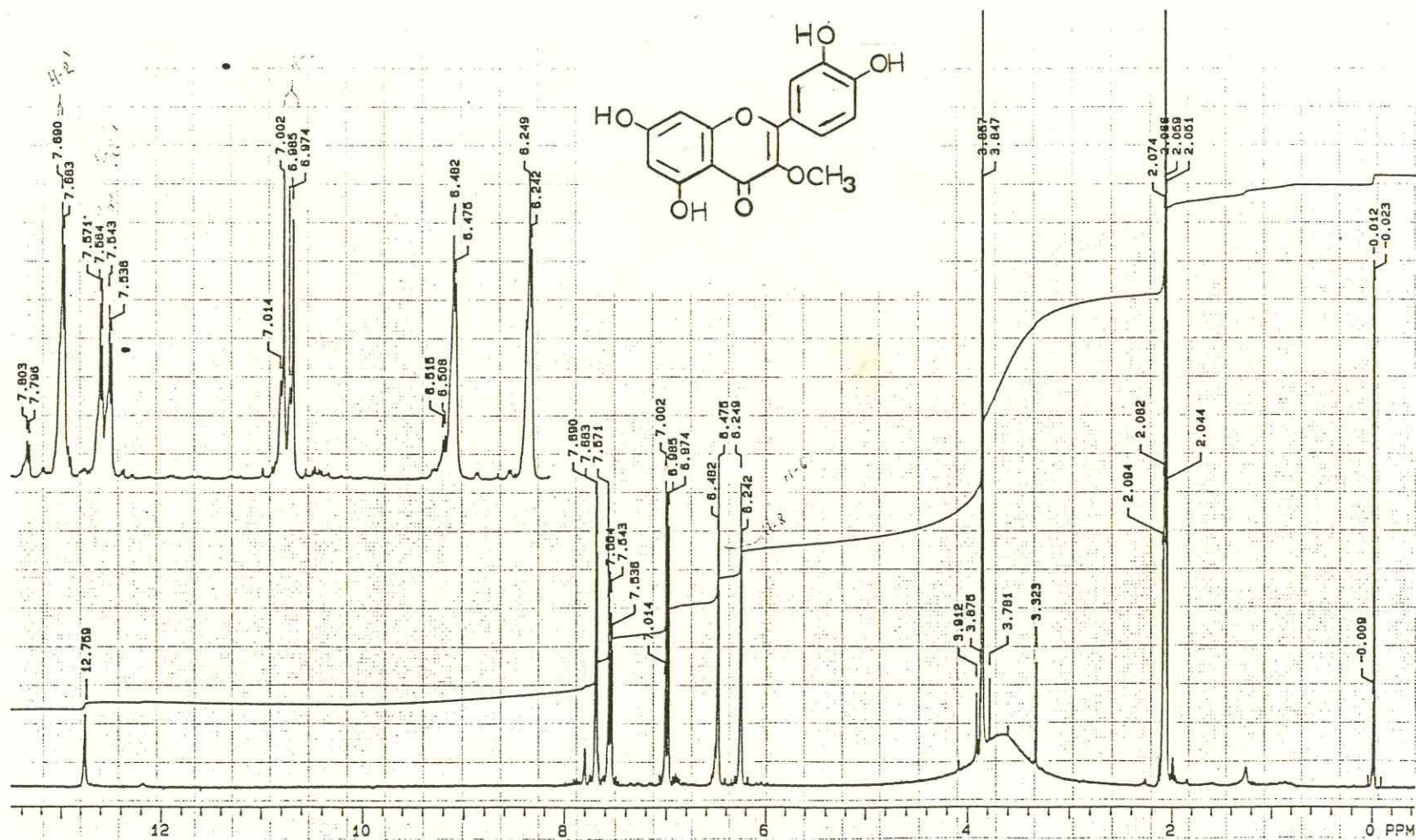


Figura 44. Espectro de RMN-¹H de Cl-6 (300 MHz, CD₃COCD₃, δ).

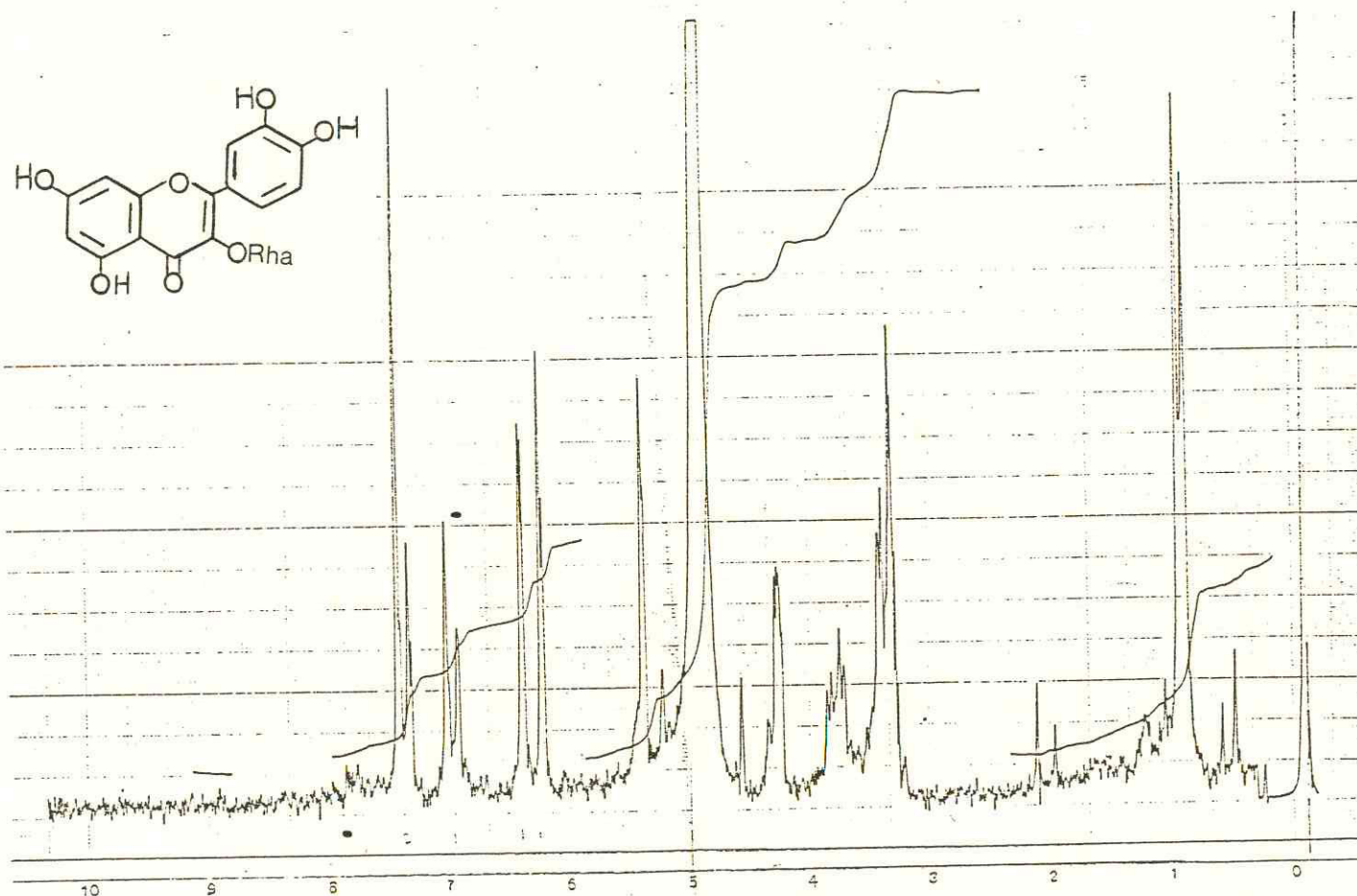


Figura 45. Espectro de RMN ^1H de Cl-19 (90 MHz, CD_3OD , δ).

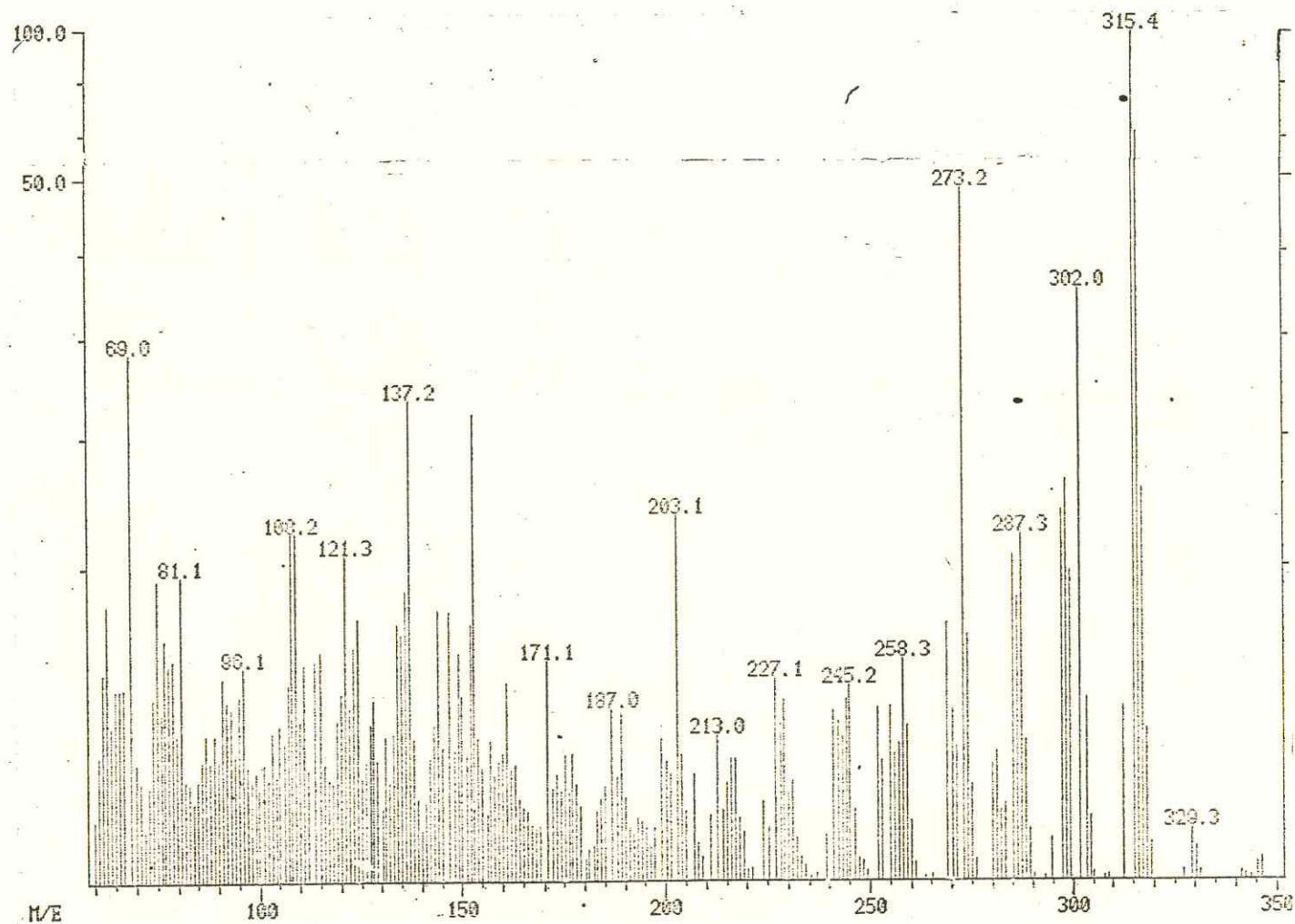


Figura 46. Espectro de Massas de Cl-6.

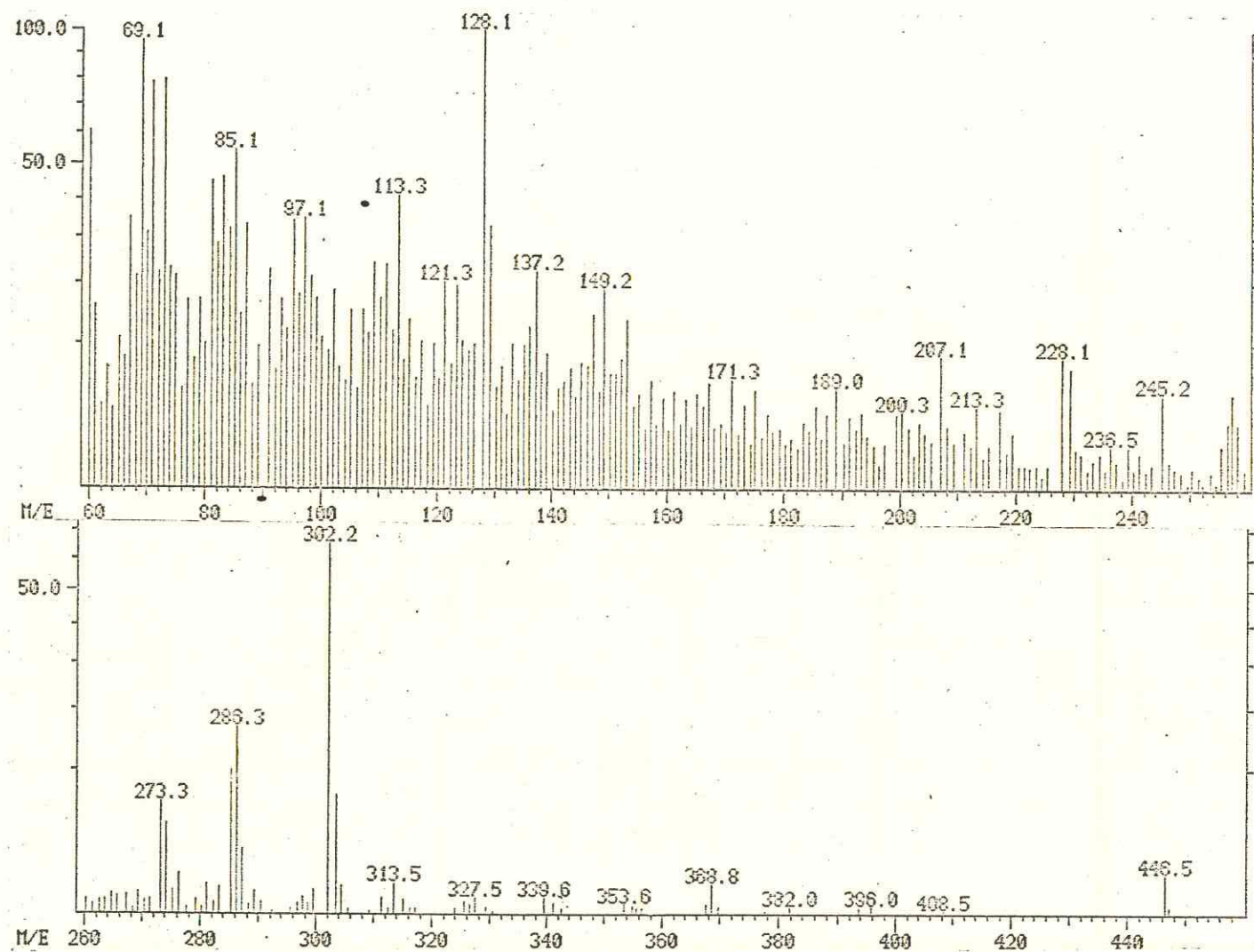


Figura 47. Espectro de Massas de Cl-19.

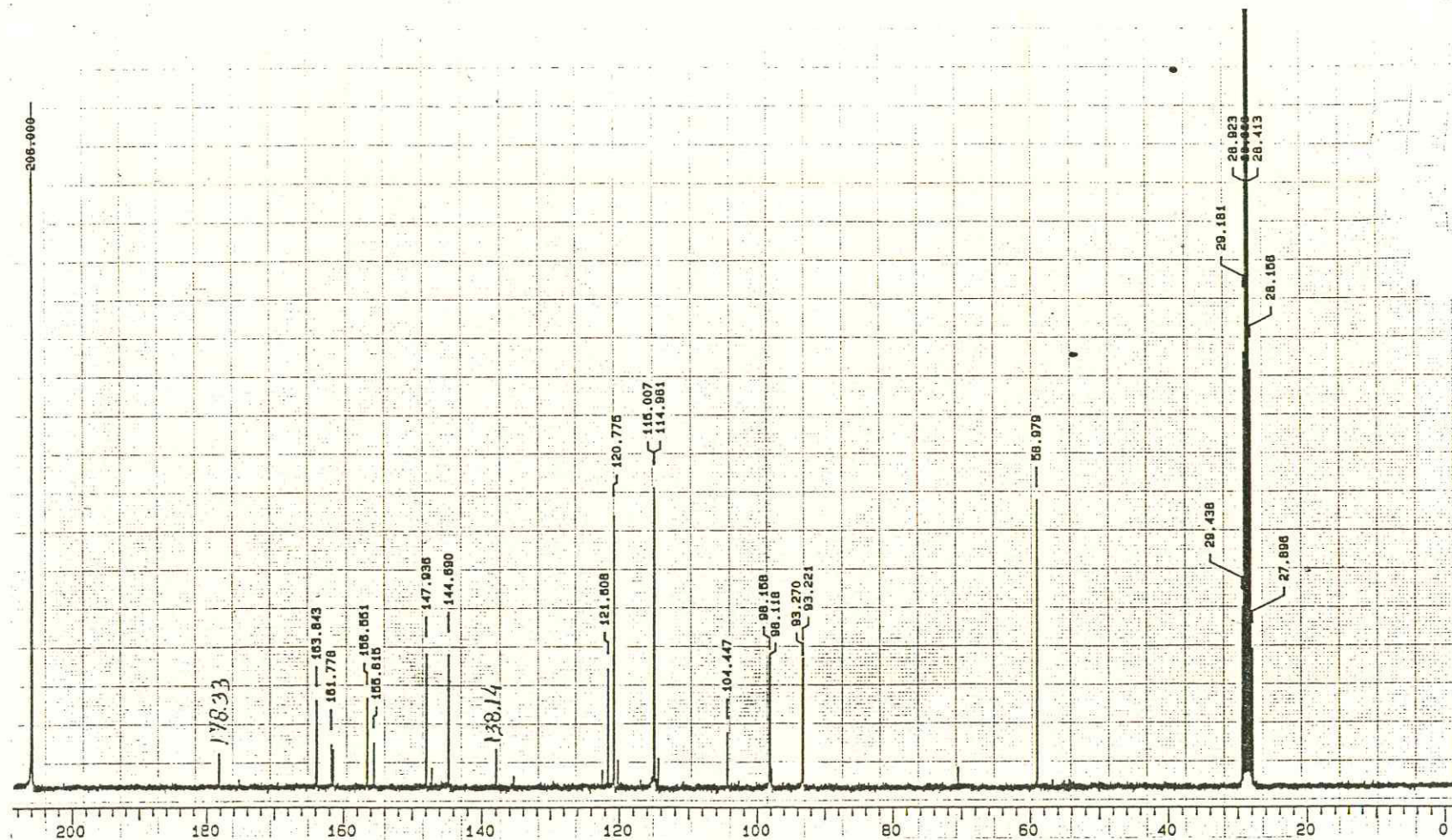


Figura 48. Espectro de RMN- ^{13}C de Cl-6 (75 MHz, CD_3COCD_3 , δ).

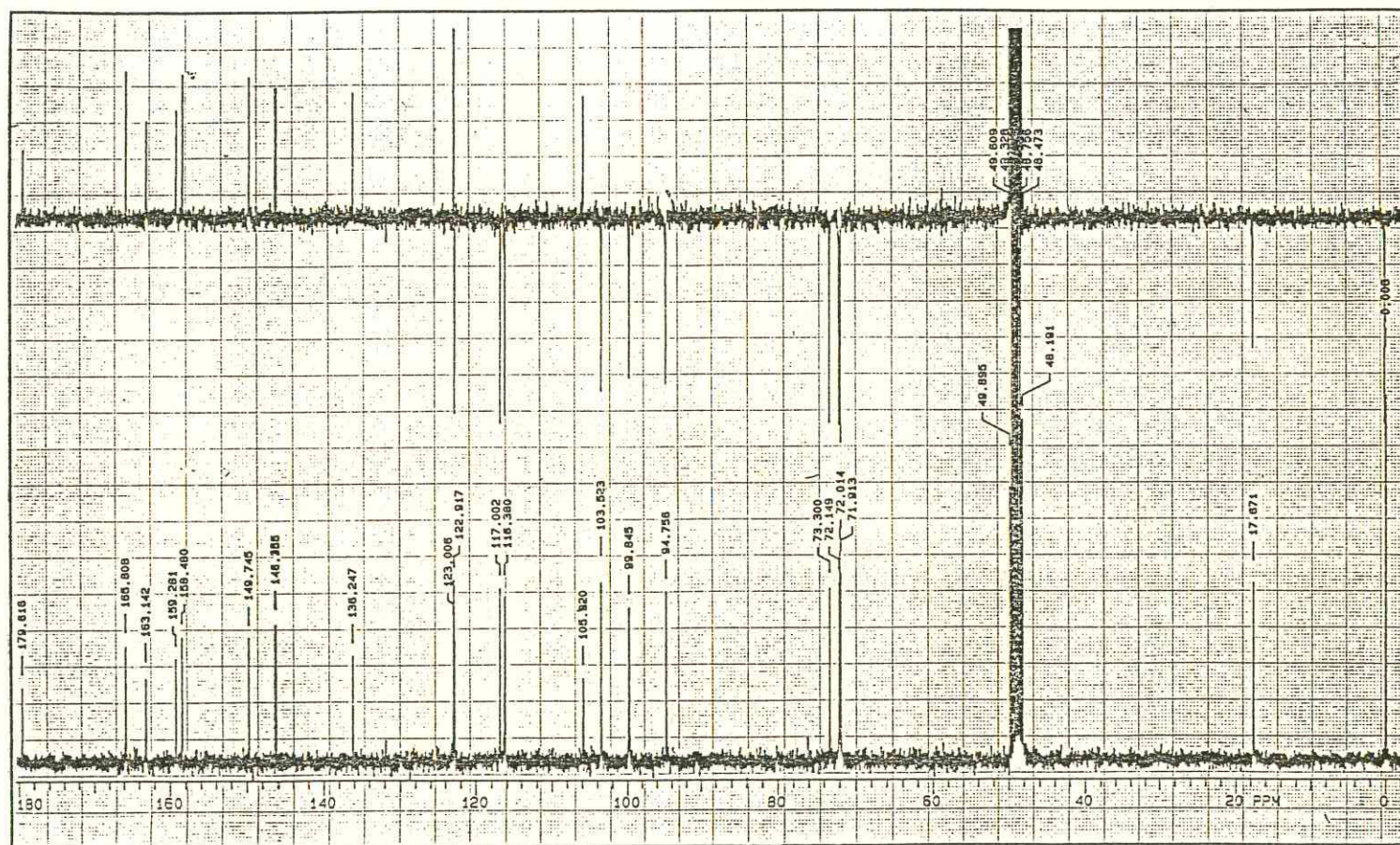


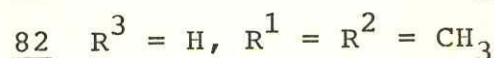
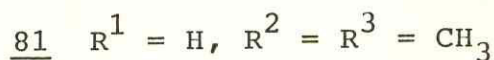
Figura 49. Espectro de RMN- ^{13}C de Cl-19 (75 MHz, CD_3OD , δ).

metoxila, procuramos então localizá-la através da comparação dos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C de Cl-6 com dados descritos na literatura para a quercetina 75⁴⁵ e derivados metoxilados da mesma ⁴⁶ 76, 79, 80, 81 e 82 (Tabela 13).

Tabela 13. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (δ) de Cl-6, Quercetina e Derivados Metoxilados.

CARBONO	Cl-6 (77)	75	81	76	82	79	80
2	155,6	146,7	155,3	142,1	146,7	147,1	147,3
3	138,1	135,6	138,2	137,7	136,4	136,1	136,0
4	178,3	175,7	178,1	171,1	176,0	176,3	175,9
5	161,7	160,7	161,6	160,6	160,4	161,2	160,4
6	98,1	98,2	98,8	96,0	97,4	98,6	97,4
7	163,8	163,9	164,4	162,6	164,9	164,4	164,9
8	93,2	93,4	93,8	94,8	91,8	93,9	91,8
9	156,5	156,2	156,6	158,1	156,0	156,8	156,0
10	104,4	103,0	104,5	105,2	104,0	103,5	103,7
1'	122,6	122,0	122,6	122,4	123,4	122,6	121,9
2'	115,0	115,3	115,2	114,6	114,8	112,7	115,2
3'	144,7	145,0	146,6	145,1	146,7	149,4	145,0
4'	147,9	147,6	150,3	147,1	149,4	147,9	147,8
5'	114,9	115,6	111,8	115,7	111,7	116,0	115,6
6'	120,7	120,0	120,5	119,3	119,8	122,6	120,1
7-OCH ₃					55,6		55,9
3'-OCH ₃						56,2	
3-OCH ₃	58,9		59,8				
4'-OCH ₃			55,7		55,9		
5-OCH ₃				56,0			

Através da análise da Tabela 13, pág. 101, verificamos que quando a metoxila encontra-se localizada na posição C-3, estruturas 77 e 81 sua absorção é em torno de 59 δ . Localizada em outra posição, carbonos - 5, 7, 3' ou 4', estruturas 76, 82, 79 e 80, passa a absorver em torno de 56 δ . Verificamos ainda que nos compostos onde não tem uma hidroxila na posição C-3, estruturas 75, 82, 79 e 80, o carbono-2 absorve em torno de 147 δ . Com a introdução de uma metoxila no carbono-3, a absorção correspondente ao carbono-2 se desloca para campo baixo, 155 δ , estruturas 77 e 81, ocorrendo, portanto, uma diferença significativa ($\Delta = 8,0$ ppm). Com relação a estrutura 76 onde o carbono-2 absorve em 142 δ , a proteção de 4 ppm, pode ser justificado pela presença da metoxila em C-5, impedindo portanto, a quelação da carbonila. Através dos dados apresentados até aqui, sugerimos a estrutura 77 para Cl-6, onde a metoxila encontra-se na posição C-3.



Outras justificativas para a localização da metoxila no carbono-3 foram: o desenvolvimento de coloração púrpura escura na mancha cromatográfica quando esta é exposta a luz ultravioleta⁴⁷ e o aparecimento no espectro de massas (Fig. 46, pág. 97), do pico m/z 273 daltons relacionado ao fragmento $M^{+} - 43$ (Esq. 6, pág. 104).

Portanto, sugerimos que Cl-6 trata-se de um derivado metoxilado da quercetina denominado 3 - OMe - 5, 7, 3', 4' - tetrahidroxiflavona (77) já descrito na literatura ⁴⁸.

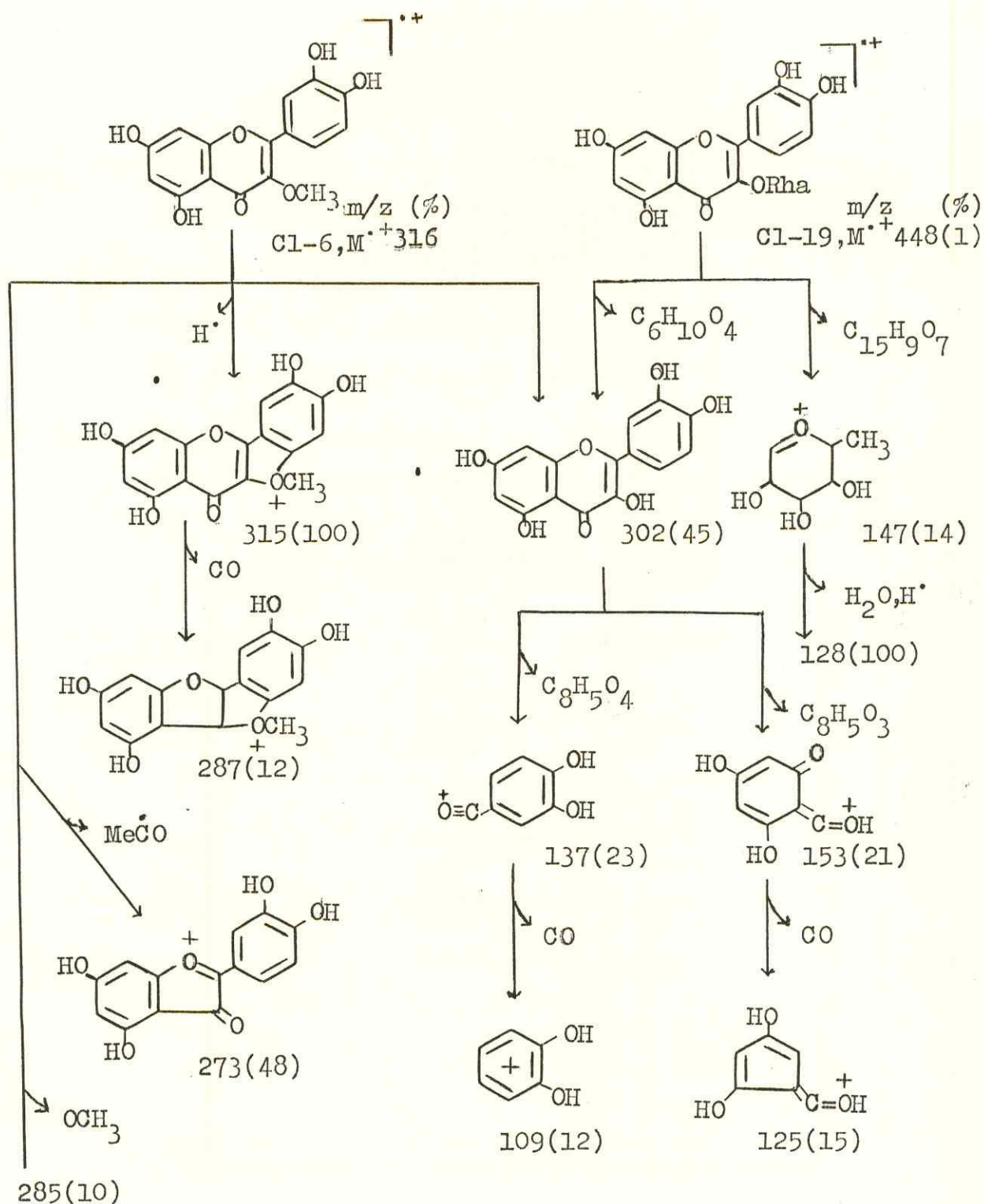
O espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$ (HECTOR) de Cl-6 (Fig. 50, pág. 105), obtido por modulação de J_{CH} , permitiu a confirmação dos sistemas de substituição dos anéis A e B e estabelecer corretamente os deslocamentos químicos dos átomos de ^1H e ^{13}C protonados (Tab. 14).

Tabela 14. Deslocamentos químicos dos ^1H e ^{13}C (δ) obtidos por Correlação Heteronuclear (HECTOR).

C	Cl-6		Cl-19	
	H	C	H	C
2		155,6		159,2
3		138,1		136,2
4		178,3		179,6
5		161,7		163,1
6	6,20 d (2,1)	98,1	6,20 d (2,1)	99,8
7		163,8		164,8
8	6,40 d (2,1)	93,2	6,36 d (2,1)	94,7
9		156,5		158,4
10		104,4		105,9
1'		122,6		123,0
2'	7,67 d (2,1)	115,0	7,54 d (2,1)	117,0
3'		144,7		146,3
4'		147,9		149,7
5'	6,90 d (8,4)	114,9	6,92 d (8,4)	116,3
6'	7,55 dd (8,4 e 2,1)	120,7	7,50 dd (8,4 e 2,1)	122,9
OCH ₃	3,80 s	58,9		-
1"			5,36 s	103,5
2"			4,24 d (1,2)	72,0
3"			3,79 d (3,0)	72,1
4"			3,75 d (3,0)	73,3
5"			3,40 m	71,9
6"			1,06 d (6,0)	17,6

Com relação ao ponto de fusão de Cl-6, 183°C está em perfeita concordância com o ponto de fusão descrito na literatura 183°C ⁴⁹.

Esquema 6. Proposta para os possíveis caminhos de fragmentação de Cl-6 e Cl-19 no espectrômetro de massas.



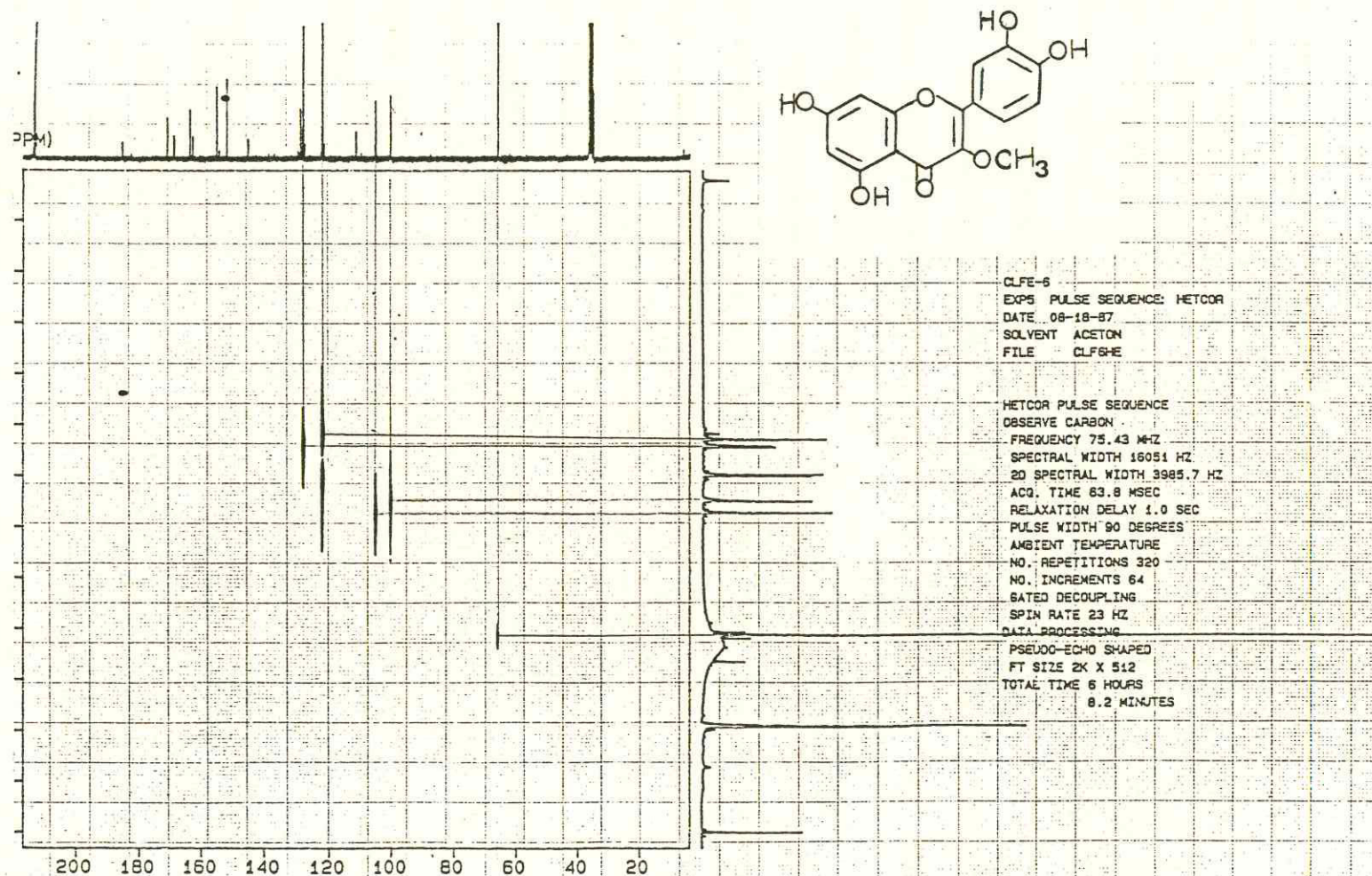


Figura 50. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HETCOR) de Cl-6, obtido por modulação de $^1J_{CH}$.

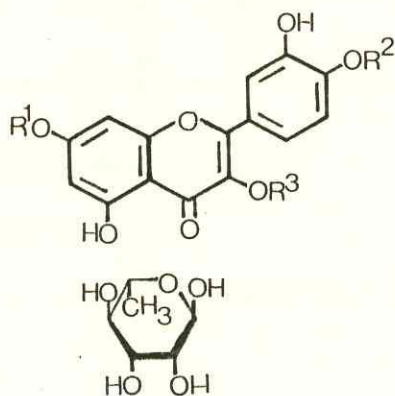
Cl-19 foi submetida a hidrólise ácida e análise por cromatografia em papel, utilizando-se como eluente n-butanol, ácido acético e água (60: 15: 25) sendo possível constatar a presença de raminose.

A unidade de α - L - Raminose foi confirmada por comparação das absorções no espectro de RMN ^1H (Fig. 45, pág. 96), do próton H-1 $5,36\delta$ (1H, s) e da metila da raminose $1,06\delta$ (3H, d, $J = 6$ Hz) com dados descritos na literatura^{50, 51, 52}.

O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 49, pág. 100) apresentou as absorções relacionadas aos carbonos da raminose em $103,5, 73,3, 72,1, 72,0, 71,9$ e $17,7\delta$.

Com relação a localização da raminose sugerimos a posição C-3 estrutura 86 depois de verificarmos que esta substância apresenta coloração púrpura escura quando seu spot cromatográfico é exposto à luz ultravioleta, que exclui a possibilidade de hidroxila em C-3⁴⁷.

Levando-se em consideração as análises acima descritas fizemos uma comparação dos dados espectrais de RMN ^{13}C de Cl-19 com derivados heterosídeos da quercetina (83, 84, 85, 86) descritos na literatura⁴⁶ (Tab. 15, pág. 107).



83 $R_1 = \text{Glc}, R_2 = \text{H}_3 = \text{H}$

84 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{Glc}, R_3 = \text{H}$

85 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{Ara}$

86 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{Rha}$

87 α - L - Raminose

Tabela 15. Deslocamentos Químicos de RMN ^{13}C (δ) de Cl - 19 e Derivados Glicosídeos da Quercetina Descritos na Literatura.

CARBONO	83	84	85	86*	Cl - 19**
2	147,9	146,4	156,8	157,5	159,2
3	125,9	126,5	133,6	135,6	136,2
4	175,9	176,3	177,8	178,0	179,6
5	160,3	161,0	161,2	161,6	163,1
6	98,9	98,7	98,7	99,0	99,8
7	162,8	164,3	164,1	164,4	164,8
8	94,5	93,9	93,5	93,9	94,7
9	155,7	156,7	156,4	156,7	158,4
10	104,7	103,5	104,1	104,5	105,9
1'	121,9	125,8	121,1	121,2	123,0
2'	115,5 ^a	115,7	115,6	115,9	117,0
3'	145,0	147,0	145,0	145,4	146,3
4'	147,9	147,0	148,4	148,7	149,7
5'	115,7 ^a	117,0	115,8	116,1	116,3
6'	120,1	120,0	121,6	121,2	122,9
1"	100,3	102,2	108,1	102,2	103,5
2"	73,2	73,7	82,1	70,8	72,0
3"	77,2	77,5	77,3	70,4	72,1
4"	69,9	70,5	86,2	71,7	73,3
5"	76,5	77,5	61,0	70,8	71,9
6"	60,9	61,4	-	17,8	17,6

* Solvente DMSO - d_6

** Solvente CD_3OD

a, estes valores podem ser invertidos.

De acordo com a Tabela 15 verificamos que a introdução de uma unidade de açúcar na posição C-3 desloca o carbono-2 de 147 δ para 157 δ , portanto uma desproteção da ordem de 10 ppm. Enquanto que a introdução de uma unidade de açúcar em qualquer outra posição, C-7, C-3' ou C-4' praticamente não provoca nenhuma modificação significativa.

Verificamos também através da literatura que quando a posição C-5 está glicosilada a absorção do carbono-4 é deslocado para campo alto. Este deslocamento é da ordem de 6 ppm⁴⁶.

Por outro lado verificamos que os deslocamentos químicos da substância 86, onde a raminose encontra-se localizada na posição C-3, foram bem próximos aos deslocamentos químicos de Cl-19, ocorrendo algumas pequenas diferenças provavelmente devido aos diferentes solventes utilizados.

Estes dados permitiram propor a estrutura da 3 α -L-ORha - quercetina (Quercetrina) (86) para Cl-19.

A literatura relata seu isolamento de Lycopersicum esculentum MIL e ponto de fusão 181 - 184⁵⁹ compatível com o ponto de fusão de Cl-19, 183°C.

O espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear ¹³C ¹H (HECTOR) de Cl-19 (Fig. 51, pág. 109) obtido por modulação de J_{CH}, permitiu a confirmação dos sistemas de substituição dos anéis A e B e estabelecer corretamente os deslocamentos químicos dos átomos de ¹H e ¹³C protonados (Tab. 14, pág. 103).

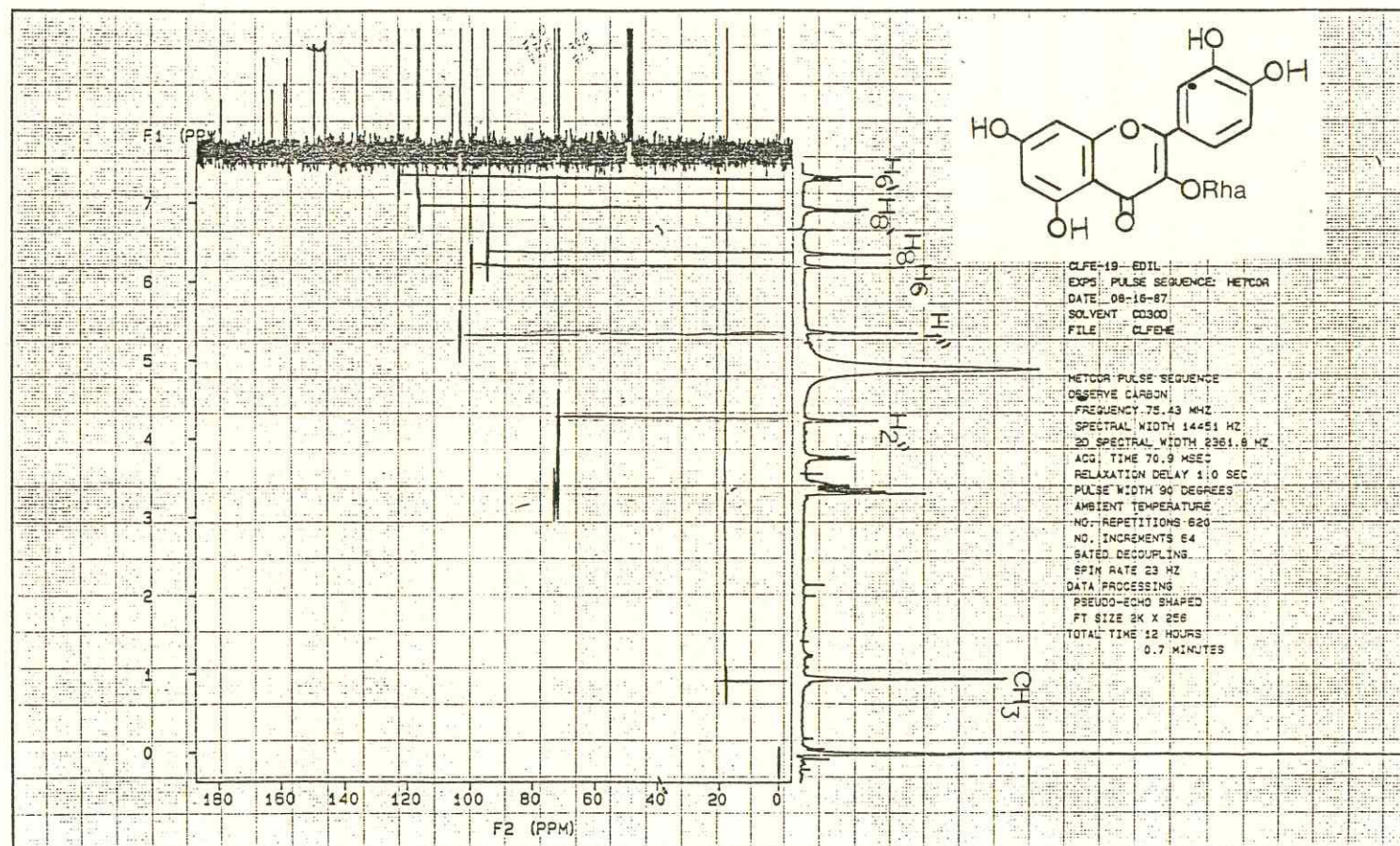


Figura 51. Espectro bidimensional (2D) de correlação heteronuclear (HETCOR) de Cl-19, obtido por modulação de $^1J_{CH}$.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Introdução

No processo de isolamento dos constituintes químicos de Combretum leprosum Mart. Utilizou-se as seguintes partes da planta: folhas e raízes. A planta foi colhida em 12 de julho de 1985, na localidade de Cocalzinho no Município de Viçosa-CE. As respectivas exsiccatas estão depositadas no Herbário do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, onde foram botanicamente identificados.

Nas separações por cromatografia em coluna foram utilizados como fase fixa os seguintes materiais: sílica gel GF 254 da Merck e Kieselgel 60HF sob pressão. O comprimento e diâmetro das colunas variaram de acordo com a quantidade das substâncias a serem isoladas e do adsorvente utilizado.

Nas cromatografias em camada fina utilizou-se sílica gel H (Artigo 7.761) da MERCK. As revelações das substâncias nas placas foram feitas, conforme o caso, com auxílio de iluminação por lâmpada ultravioleta UVSL-25 MINERALIGHT de dois comprimentos de onda (254nm e 366nm) e com pulverização da solução de etanol: ácido acético, ácido sulfúrico na proporção 80:10:10.

Como eluente foram usados: hexano, clorofórmio, acetato de etila, metanol, intercalados com as respectivas misturas binárias de modo a obter polaridade crescente.

Os espectros de absorção na região do infravermelho

(I.V.) foram registrados em espectrômetro PERKIN-ELMER, mod. 720, utilizando pastilha de HBr.

Os espectros de ressonância magnética nuclear protônica (RMN ^1H) foram obtidos em:

- Espectrômetro VARIAN mod. EM 360 (60 MHz)
- Espectrômetro VARIAN mod. VXR-300 (300 MHz)

Os deslocamentos químicos (δ) foram descritos em relação ao tetrametilsilano (TMS) como padrão interno, utilizando CDCl_3 , CD_3COCD_3 , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ou DMSO-d_6 como solvente. O deslocamento das bandas foram indicadas segundo a convenção s (sinal simples), d (sinal duplo), dd (duplo sinal duplo), t (sinal triplo) e m (sinal múltiplo).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN ^{13}C) foram registrados em:

- Espectrômetro VARIAN mod. VXR-300 (^{13}C 75 MHz).

Os deslocamentos químicos (δ) foram descritos em relação ao tetrametilsilano (TMS), como padrão interno utilizando CDCl_3 , CD_3COCD_3 , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ e DMSO-d_6 como solvente.

Os espectros de massas (EM) foram registrados em:

- Espectrômetro CH-5 da VARIAN.

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho de microdeterminação marca METTLER mod. FP 52.

4.2 Isolamento dos Constituintes Químicos das Folhas de Combretum leprosum (Esquema 7, pág. 120).

4.2.1 Obtenção do Extrato Hexânico das Folhas.

2,7 kg de folhas secas trituradas foram submetidas a extração com hexano a temperatura ambiente (3 x 5 litros). A destilação do solvente sob pressão reduzida forneceu 58,30g de extrato.

4.2.2 Elaboração do Extrato Hexânico (55,00 g).

O fracionamento inicial do extrato hexânico foi obtido por meio de filtração através de sílica (500 g) colocado em funil de separação (coluna filtrante) e eluição rápida com hexano, clorofórmio e acetato de etila. Os eluatos após concentrados em evaporador rotativo apresentaram os seguintes resultados:

Eluatos	Pesos (g)
Hexânico	20,00
Clorofórmio	12,92
acetato de Etila	5,15

Os eluatos hexânico e clorofórmio não foram estudados por apresentarem-se como misturas complexas de difícil separação.

4.2.3 Elaboração do Eluato Acetato de Etila.

O eluato acetato de etila (5,15 g) foi submetido ao processo de cromatografia de adsorção em coluna sendo adsorvido em 100 g de sílica gel. A sequência de eluição utilizada encontra-se mostrada abaixo:

Eluente	Concentração	Frações
Hexano		1 - 6
Hexano/Clorofórmio	90:10	7 - 10
Hexano/Clorofórmio	50:50	11 - 18
Clorofórmio		19 - 26
Clorofórmio/Ac. de Etila	90:10	27 - 35
Clorofórmio/Ac. de Etila	80:20	36 - 57
Acetato de Etila		58 - 60

4.2.4 Elaboração das Frações 27 a 35.

Nestas frações observou-se a presença de uma substância sólida. Comparadas por cromatografia em camada delgada de sílica foram reunidas, fornecendo 1,42 g de material. Através de recristalização em éter etílico foi possível obter-se 800,0 mg de um sólido cristalino incolor de ponto de fusão 270°C, denominado Cl (Esq. 7).

Em virtude das pequenas quantidades de material e por

apresentarem-se como misturas complexas às demais frações foram abandonadas.

4.3 Obtenção do Extrato Etanólico das Folhas.

As folhas (3,7 kg) após terem sido submetidas à extração com hexano foram extraídas com etanol a temperatura ambiente (3 x 5 litros). A evaporação do solvente sob pressão reduzida forneceu 320 g de resíduo escuro.

4.3.1 Elaboração do Extrato Etanólico das Folhas.

O extrato etanólico das folhas (200 g) foram submetidas ao processo de filtração por partição tendo sido utilizado (700 g) de sílica gel como adsorvente. O sistema foi eluído exaustivamente com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol.

Os eluatos, após concentrados em evaporador rotativo, apresentaram os seguintes resultados:

Eluato	Peso (g)
Hexânico	18,23
Clorofórmio	62,15
Acetato de Etila	42,00
Metanol	46,60

Os eluatos hexânico e metanólico foram estudados, porém não conduziu ao isolamento de nenhuma substância química.

4.3.2 Elaboração do Eluato Clorofórmico.

O eluato clorofórmico (51,0g) foram submetidos ao processo de cromatografia de adsorção em coluna, sendo adsorvidos em 500 g de sílica gel. A sequência de eluição encontra-se demonstrada abaixo:

Eluente	Concentração	Frações
Hexano		1 - 3
Clorofórmio		4 - 16
Clorofórmio/Ac. de Etila	95:5	17 - 42
Acetato de Etila		43 - 52
Metanol		53 - 65

4.3.3 Elaboração das Frações 17 a 42.

Nestas frações observou-se a presença de uma substância sólida. Por comparação em cromatografia em camada delgada de sílica foram reunidas fornecendo 9,3 g de material. Através de recristalização em éter etílico obteve-se 5,00 g de um sólido cristalino incolor. Logo em seguida, por comparação do ponto de fusão e cromatografia

tografia em camada delgada de sílica, verificou-se tratar-se da mesma substância já isolada do extrato hexânico, a qual foi denominada Cl.

As demais frações não foram elaboradas por serem misturas bastantes complexas e/ou representarem pequenas quantidades.

4.3.4 Elaboração do Eluato Acetato de Etila.

O eluato acetato de etila (42 g) foi submetido ao processo de cromatografia de adsorção em coluna, sendo adsorvido 100 g de sílica gel. A ordem de eluição encontra-se demonstrada abaixo:

Eluente	Concentração	Frações
Hexano/Clorofórmio	50:50	1 - 2
Clorofórmio		3 - 10
Clorofórmio/Ac. de Etila	95:05	11 - 15
Clorofórmio/Ac. de Etila	90:10	16 - 25
Clorofórmio/Ac. de Etila	80:20	26 - 28
Clorofórmio/Ac. de Etila	70:30	29 - 33
Clorofórmio/Ac. de Etila	60:40	34 - 40
Clorofórmio/Ac. de Etila	50:50	41 - 58
Clorofórmio/Ac. de Etila	40:60	59 - 60
Acetato de Etila		61 - 70

As frações foram comparadas por cromatografia em camada delgada de sílica e reunidas em três grupos. A sequência demonstrada abaixo representam os grupos que conduziram ao isolamento de substâncias puras. As demais frações apresentaram-se como misturas complexas, não conduzindo ao isolamento de nenhuma substância pura.

Grupos	Frações
G - 1	7 - 25
G - 2	26 - 47
G - 3	55 - 57

4.3.4.1 Elaboração do Grupo G - 1.

A cromatografia em camada delgada de sílica desta fração revelou tratar-se de uma mistura de três substâncias. Uma pequena porção desta fração foi diluída em etanol e em seguida adicionada magnésio metálico e ácido clorídrico concentrado (HCl/Mg). A solução que antes era amarela esverdeada tornou-se vermelha, indicativo de teste positivo para flavonóides.

Através de cromatografia de adsorção sobre uma coluna de 80 g de sílica gel de placa, acondicionado em uma coluna de capacidade para 125 ml, e utilizando nitrogênio como gás de pressão para ajustar o fluxo, foi possível separar 210 mg de um composto sólido amarelo esverdeado, denominado Cl-6. Os outros dois

compostos apresentaram-se em pequenas quantidades e não foi possível seus isolamentos.

4.3.4.2 Elaboração do Grupo G - 2.

Após várias lavagens desta fração com acetato de etila gelado, resultou 300 mg de um sólido branco amorfo o qual foi denominado C1 - 13 (Esquema 7, pág. 120).

4.3.4.3 Elaboração do Grupo G - 3.

Esta fração quando dissolvida em metanol, precipitou um sólido amarelo esverdeado, pela adição lenta de acetona. O precipitado foi filtrado e em seguida lavado várias vezes com acetona fornecendo 423 mg do composto denominado C1 - 19 (Esquema 7, pág. 120).

4.4 Isolamento dos Constituintes Químicos das Raízes do Combretum leprosum (Esquema 8, pág. 121).

4.4.1 Obtenção do Extrato Etanólico das Raízes.

As raízes do Combretum leprosum (2,8 kg) já extraídas com hexano foram submetidas a extração com etanol a temperatura ambiente (3 x 5 litros). A destilação do solvente sob pressão reduzida forneceu 127,00 g de um resíduo vermelho.

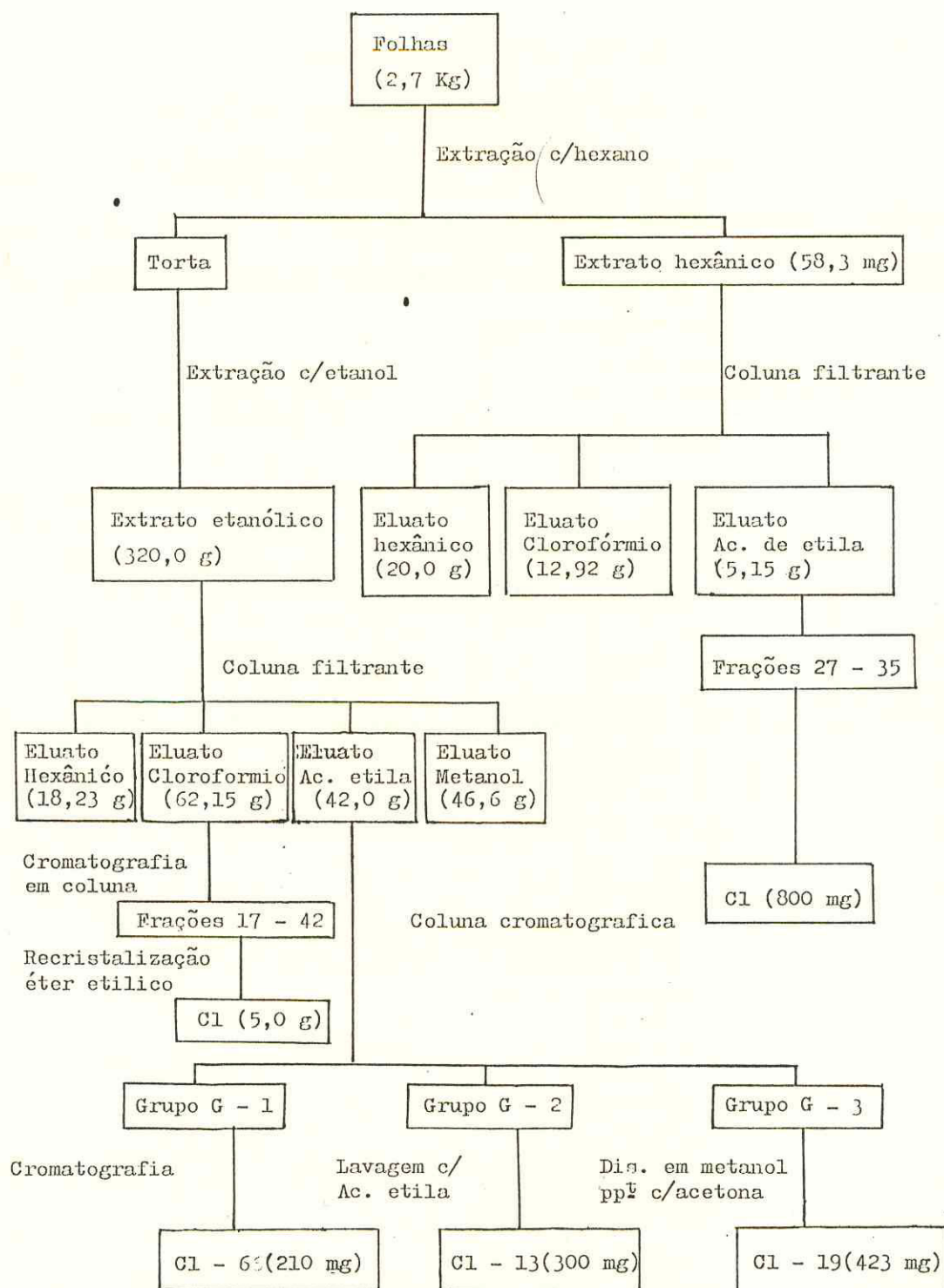
4.4.2 Elaboração do Extrato Etanólico das Raízes.

O extrato etanólico (640g) foram submetidas ao processo de filtração por partição tendo sílica gel (600 g) como adsorvente. O sistema foi eluído exaustivamente com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. Os eluatos após concentrados em evaporador rotativo apresentaram os seguintes resultados:

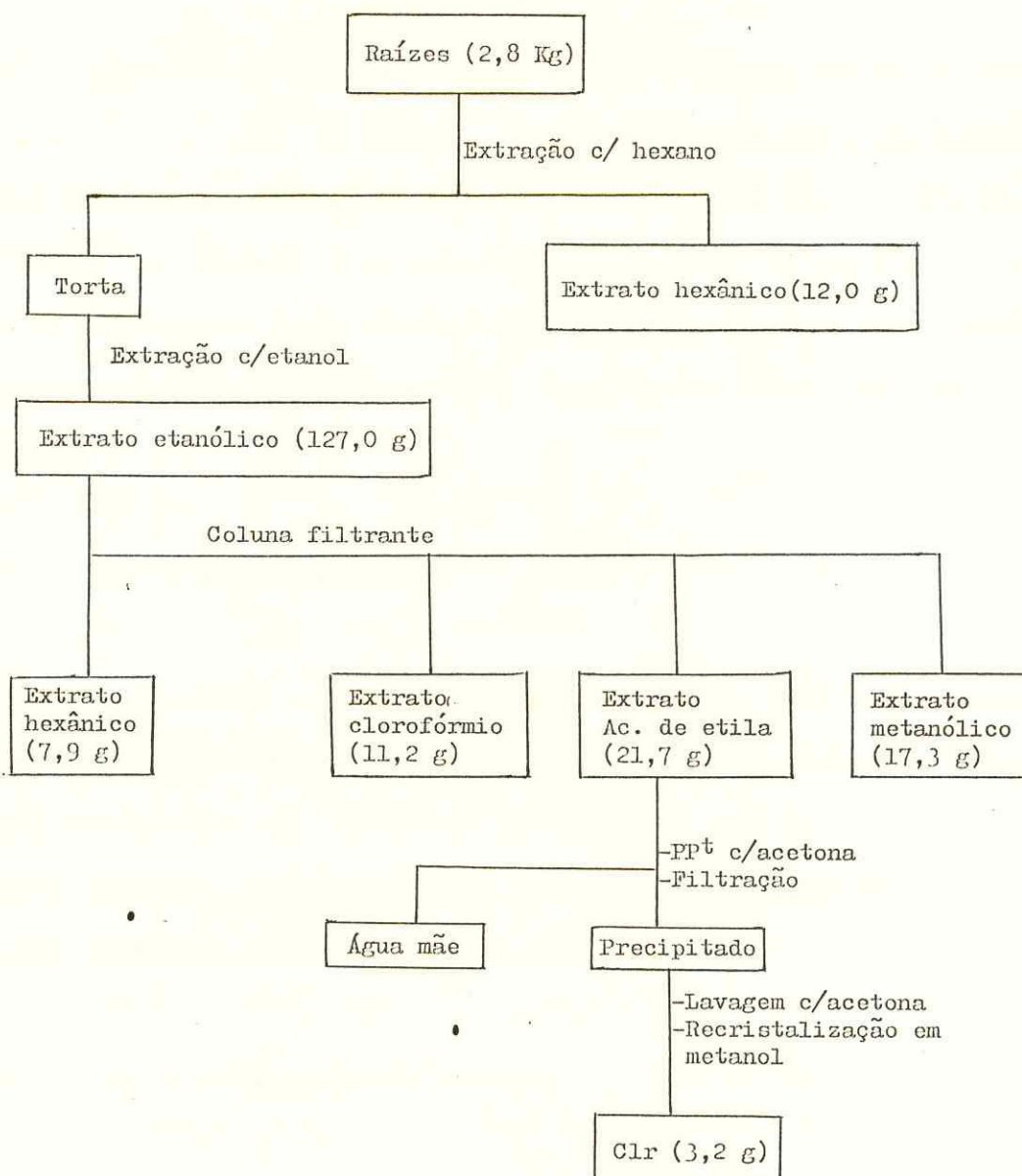
Eluato	Peso (g)
Hexano	7,9
Clorofórmio	11,2
Ac. de etila	21,7
Metanol	17,3

O eluato acetato de etila apresentou um precipitado que por lavagem com acetona resultou em um sólido branco, que foi denominada Clr. Os demais eluatos não foram estudados.

Esquema 7. Isolamento dos constituintes químicos das folhas de Combretum leprosum



Esquema 8. Isolamento dos constituintes químicos das raízes do Combretum leprosum.



4.5 Obtenção dos Derivados de Cl.

4.5.1 Cl-1 (diacetilato de Cl).

A Cl (200 mg) foi dissolvida, a frio, em anidrido acético-piridina (5:1). Após 24 horas, o material foi vertido sobre gelo e a mistura reacional extraída exaustivamente com éter etílico. A solução etérea foi lavada com solução aquosa HCl 3% para eliminar a presença de piridina. Após destilação do solvente e purificação em coluna cromatográfica de sílica gel, forneceu o derivado acetilado Cl-1 (175 mg).

4.5.2 Cl-2 (Cl oxidado).

A Cl (300 mg) dissolvido em CH_2Cl_2 (170 ml) tratada com PCC (330 mg) por 2 horas, sob agitação e à temperatura ambiente. A mistura reacional foi filtrada e extraída com éter etílico. A evaporação do solvente e purificação em coluna cromatográfica de sílica forneceu o produto oxidado Cl-2 (205 mg).

4.5.3 Cl-3 (oxidação de Cl-1).

A Cl-1 (120 mg) dissolvido em CH_2Cl_2 (70 ml) foi tratada com PCC (140 mg) por duas horas sob agitação e a temperatura ambiente. A mistura reacional foi filtrada e extraída com éter etílico. Após evaporação do solvente e purificação em coluna cromatográfica de sílica, obteve-se o produto oxidado Cl-3 (94,3 mg).

4.5.4 Cl-4 (Cl-3 hidrolisado)

A Cl-3 (70,0 mg) foi dissolvido em uma solução saturada de álcool etílico e KOH (70 ml). A mistura foi mantida sob refluxo por três horas. Após evaporação do solvente orgânico adicionou-se 70 ml de água destilada e a parte orgânica foi extraída com éter etílico. Após evaporação do solvente e purificação em coluna cromatográfica de sílica, obteve-se o produto hidrolisado Cl-4 (51,3 mg).

4.6 Obtenção do Derivado Triacetilado de Clr.

A Clr (150 mg) foi dissolvido, a frio, em anidrido acético-piridina (5:1). Após 24 horas, o material foi vertido sobre gelo e a mistura reacional extraída exaustivamente com éter etílico. A solução etérea foi lavada com solução aquosa de HCl 3% para eliminar a presença de piridina. Após destilação do solvente e purificação em coluna cromatográfica de sílica gel, obteve-se o derivado triacetilado Clr-1 (100 mg).

4.7 Hidrólise de Cl-19.

A Cl-19 (5 mg) foi submetida a uma hidrólise ácida com ácido trifluoroacético (2,5 ml) 4,0 N, em ampola selada, por um período de três horas na estufa a 100°C. O material foi em seguida levado a secar sob pressão reduzida por coevaporação do ácido trifluoroacético em metanol (5 x 3 ml). A mistura foi então dissolvida em 1 ml de metanol e comparada com padrões de açúcares, por

cromatografia em camada delgada de sílica e cromatografia em papel. O eluente utilizado como fase móvel foi uma mistura de álcool isopropílico, acetato de etila e água (7:2:1) e como revelador utilizou-se orcinol sulfúrico. De acordo com a coloração e o valor do R_f o açúcar proveniente da hidrólise foi identificado como sendo raminose.

5. Características Físicas e Químicas das Substâncias Isoladas de Combretum Leprosum e seus Derivados.

5.1 Cl

Aspecto: cristais incolores

Recristalização: éter etílico

Solubilidade: acetona

Teste Microquímico: Liebermann-Burchard positivo (vermelho a violeta)

Ponto de Fusão: 270°C

I.V. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): (Fig. 1, pág. 16): 3650 - 3150, 3060, 2940, 1635, 1455, 1370, 1030, 890 e 740.

E.M. m/z (%) (Fig. 3, pág. 18): 458 (31,0), 440 (13,0), 425 (4,0), 407 (5,0), 234 (5,0), 216 (7,0), 205 (25,0), 187 (59,0), 163 (13,0), 145 (26,0), 139 (1), 124 (13,0), 123 (100,0), 105 (35,0), 95 (48,0).

RMN ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 MHz) δ (multiplicidade, J, atribuição) (Fig. 2, pág. 17): 1,36 (s, Me-24), 1,08 (s, Me-23), 1,50 (s, Me-25), 1,60 (s, Me-26), 1,07 (s, Me-27), 1,66 (s, Me-28), 1,70 (s, Me-30), 4,91 (sl, H_a -29), 4,75 (sl, H_b -29), 3,43 (dd, 11,2 e 4,0, H-3), 3,88 (dd, 11,3 e 4,8, H-16), 4,75 (sl, H-6).

RMN ^{13}C (CD_3COCD_3 , 75 MHz) δ (multiplicidade, atribuição) (Fig. 4, pág. 20): 41,5 (t, C-1), 28,9 (t, C-2), 78,7 (d, C-3), 40,6 (s, C-4), 56,7 (d, C-5), 67,8 (d, C-6), 42,6 (t, C-7), 40,7 (s, C-8), 51,4 (d, C-9), 37,3 (s, C-10), 21,6 (t, C-11), 25,7 (t, C-12), 37,1 (d, C-13), 44,3 (s, C-14), 37,7

(t, C-15), 76,3 (d, C-16), 49,4 (s, C-17), 48,3 (d, C-18), 48,4 (d, C-19), 150,9 (s, C-20), 30,5 (t, C-21), 38,5 (t, C-22), 27,9 (q, Me-23), 17,9 (q, Me-24), 19,4 (q, Me-25), 16,8 (q, Me-26), 16,7 (q, Me-27), 12,0 (q, Me-28), 109,9 (t, C-29), 17,3 (q, Me-30).

5.1.1 Diacetilado de Cl (Cl-1)

Aspecto: cristais incolores

Recristalização: éter etílico

Solubilidade: clorofórmio

Ponto de Fusão: 110-111°C

I.V. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): (Fig. 7, pág. 27): 3540, 3060, 2945, 1740, 1710, 1689, 1455, 1370, 1030, 890 e 760.

E.M. m/z (%): (Fig. 5, pág. 2): 542 (10,0), 482 (10,0), 467 (10,0), 449 (5,0), 216 (7,0), 187 (25,0), 123 (15,0).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ (multiplicidade, J, atribuição) (Fig. 8, pág. 28): 4,40 (dd, 11,4 e 4,8, H-3), 4,82 (dd, 11,4 e 4,8, H-16), 4,49 (sl, H-6), 4,70 e 4,58 (2sl, 2H-29), 0,91 (s, Me-23), 1,24 (s, Me-24), 1,24 (s, Me-25), 1,34 (s, Me-26), 0,99 (s, Me-27), 0,83 (s, Me-28), 1,66 (s, Me-30).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 300 MHz) δ (multiplicidade, atribuição) (Fig. 6, pág. 26): 40,4 (t, C-1), 23,8 (t, C-2), 80,8 (d, C-3), 38,6 (s, C-4), 55,6 (d, C-5), 68,6 (d, C-6), 42,1 (t, C-7), 40,1 (s, C-8), 50,5 (d, C-9), 37,5 (s, C-10), 20,9 (t, C-11), 2,7 (t, C-12), 36,6 (d, C-13), 44,4 (s, C-14), 35,5 (t, C-15), 79,0 (d, C-16), 47,5 (s, C-17), 47,8 (d, C-18), 47,3 (d, C-19), 149,7 (s, C-20), 29,7 (t, C-21), 37,6 (t,

C-22), 27,5 (q, Me-23), 18,1 (q, Me-24), 17,7 (q, Me-25), 16,8 (q, Me-26), 16,2 (q, Me-27), 12,7 (q, Me-28), 109,9 (t, C-29), 19,3 (q, Me-30), 21,3 (q, $\underline{\text{CH}_3\text{CO}}$), 170,9 (s, $\underline{\text{CH}_3\text{CO}}$).

5.1.2 Oxidado de Cl (Cl-2)

Aspecto: sólido branco amorfo

Solubilidade: clorofórmio

Ponto de Fusão: 110-112°C

I.V. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) (Fig. 9, pág. 32): 3040, 2990, 1710, 1650, 1460, 1395, 1030, 850, 770.

E.M. m/z (%) (Fig. 10, pág. 33): 452 (3,0), 219 (4,0), 203 (67,0), 191 (4,0), 121 (50,0), 93 (45,0).

RMN ^1H (CDDl_3). δ (multiplicidade, J, atribuição) (ver Fig. 21, pág. 49): 4,71 e 4,60 (2sl, 2H-29), 2,36 (s, H-5), 1,05 (s, Me-23), 1,42 (s, Me-24), 1,09 (s, Me-25), 1,13 (s, Me-26), 0,95 (s, Me-27), 1,04 (s, Me-28), 1,62 (s, Me-30).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ (multiplicidade, J, atribuição) (Fig. 11, pág. 34): 35,7 (t, C-1), 33,0 (t, C-2), 216,2 (s, C-3), 49,9 (s, C-4), 67,0 (d, C-5), 212,3 (s, C-6), 53,7 (t, C-7), 48,8 (s, C-8), 51,4 (d, C-9), 45,4 (s, C-10), 23,2 (t, C-11), 26,1 (t, C-12), 39,2 (d, C-13), 49,3 (s, C-14), 46,6 (t, C-15), 216,0 (s, C-16), 58,5 (s, C-17), 51,8 (d, C-18), 49,4 (d, C-19), 150,4 (s, C-20), 30,4 (t, C-21), 42,9 (t, C-22), 26,2 (q, Me-23), 23,7 (q, Me-24), 18,3 (q, Me-25), 18,5 (q, Me-26), 17,7 (q, Me-27), 19,9 (q, Me-28), 112,9 (t, C-29), 20,9 (q, Me-30).

5.1.3 Oxidado de Cl-1 (Cl-3).

Aspecto: sólido branco amorfo

Solubilidade: clorofórmio

Ponto de Fusão: 158-160°C

I.V. $\checkmark_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) (Fig. 12, pág. 35): 3040, 2990, 1721, 1712, 1650, 1495, 1395, 1050, 1040, 890.

E.M. m/z (%) (Fig. 17, pág. 40): 203 (83,0), 216 (100,0), 187 (90,0), 121 (100,0), 175 (17,0).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ (multiplicidade, J, atribuição) (Fig. 13, pág. 36): 4,68 e 4,59 (2 sl, 2H-29), 4,35 (dd, 9,0 e 7,9, H-3), 4,82 (dd, 11,1 e 4,8, H-16), 2,14 (s, H-5), 0,89 (s, Me-23), 1,66 (s, Me-24), 1,23 (s, Me-25) 1,13 (s, Me-26), 1,02 (s, Me-27), 0,80 (s, Me-28), 0,85 (s, Me-30).

RMN ^{13}C (CDCl_3), δ (multiplicidade, atribuição) (ver Fig. 22, pág. 50): 37,5 (t, C-1), 23,4 (t, C-2), 79,9 (d, C-3), 43,5 (s, C-4), 65,1 (d, C-5), 52,0 (t, C-7), 44,4 (s, C-8), 50,1 (s, C-9), 36,5 (s, C-10), 21,3 (t, C-11), 24,2 (t, C-12), 37,2 (d, C-13), 47,3 (s, C-14), 33,4 (t, C-15), 78,4 (d, C-16), 47,5 (s, C-17), 47,8 (d, C-18), 47,5 (d, C-19), 29,7 (t, C-21), 39,4 (t, C-22), 27,3 (q, Me-23), 19,2 (q, Me-24), 16,3 (q, Me-25), 16,1 (q, Me-26) 15,9 (q, Me-27), 12,7 (q, Me-28).

5.1.4 Hidrolisado de Cl-3 (Cl-4).

Aspecto: sólido branco amorfo

Solubilidade: acetona

Ponto de Fusão: 253-258°C

I.V. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) (Fig. 14, pág. 37): 3600-3200, 3040, 2990, 1710, 1650, 1480, 1380, 1080, 1045, 780.

E.M. m/z (%) (Fig. 18, pág. 41): 456 (4,0), 438 (3,0), 22 (3,0), 216 (7,0) 203 (37,0), 187 (31,0), 175 (32), 121 (100,0).

RMN ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 MHz) δ (multiplicidade, J, atribuição) (Fig. 16, pág. 39): 4,94 e 4,80 (2 sl, 2H-29), 3,90 (dd, 10,9 e 4,8, H-16), 3,42 (dd, 8,7 e 6,6, H-3), 2,35 (s, H-5), 1,64 (s, Me-23), 1,78 (s, Me-24), 1,10 (s, Me-25), 1,16 (s, Me-26), 1,64 (s, Me-27), 1,06 (s, Me-28), 0,94 (s, Me-30).

RMN ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 75 MHz) δ (multiplicidade, atribuição) (Fig. 15, pág. 38): 37,7 (t, C-1), 28,1 (t, C-2), 77,7 (d, C-3), 43,9 (s, C-4), 65,9 (d, C-5), 212,2 (s, C-6), 52,5 (t, C-7), 44,4 (s, C-8), 50,5 (d, C-9), 38,3 (s, C-10), 21,5 (t, C-11), 24,9 (t, C-12), 37,5 (d, C-13), 47,8 (s, C-14), 38,7 (t, C-15), 75,7 (d, C-16), 49,5 (s, C-17), 48,1 (d, C-18), 48,1 (d, C-19), 150,5 (s, C-20), 30,3 (t, C-21), 40,1 (t, C-22), 27,8 (q, Me-23), 19,5 (q, Me-24), 16,5 (q, Me-25), 16,3 (q, Me-26), 16,2 (q, Me-27), 12,3 (q, Me-28), 110,2 (t, C-29), 17,4 (q, Me-30).

Aspecto: sólido cristalino incolor

Recristalização: etanol

Solubilidade: metanol

Teste Microquímico: Liebermann-Burchard positivo vermelho
à violeta).

Ponto de Fusão: acima de 300°C

I.V. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}), (Fig. 25, pág. 57): 3150 - 3600, 3040, 2990, 1695, 1685, (inflecção), 1015, 1040, 750.

E.M. m/z (%) (Fig. 29, pág. 61): 488 (2,0), 470 (1,0), 248 (66,0), 222 (3,0), 207 (3,0), 175 (11,0), 203 (100,0).

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz), δ (multiplicidade, J, atribuição) (Fig. 26, pág. 58): 5,18 (t1, H-12), 3,49 (sl, H-2), 3,31 (d, 10,0, H_a -23), 3,05 (d, 10,0, H_b -23), 3,18 (d, 9,0, H-3), 0,55 (s, Me-24), 0,92 (s, Me-25), 0,71 (s, Me-26), 1,10 (s, Me-27), 0,88 (s, Me-29), 0,88 (s, Me-30).

RMN ^{13}C (DMSO-d_6 , 75 MHz), δ (multiplicidade, atribuição) (Fig. 27, pág. 59): 46,5 (t, C-1), 67,3 (d, C-2), 75,5 (d, C-3), 42,4 (s, C-4), 47,0 (d, C-5), 17,4 (t, C-6), 32,0 (t, C-7), 39,1 (s, C-8), 46,0 (d, C-9), 37,3 (s, C-10), 22,9 (t, C-11), 121,4 (d, C-12), 142,9 (s, C-13), 41,3 (s, C-14), 27,1 (t, C-15), 22,5 (t, C-16), 45,9 (s, C-17), 40,7 (d, C-18), 45,6 (t, C-19), 30,3 (s, C-20), 33,3 (t, C-21), 31,8 (t, C-22), 63,9 (t, C-23), 13,6 (q, Me-24), 16,7 (q, Me-25), 16,8 (q, Me-26), 25,6 (q, Me-27), 178,5 (s, C-28), 32,8 (q, Me-29), 23,3 (q, Me-30).

5.2.1 Triacetilado de Clr (Clr-1)

Aspecto: sólido branco amorfo

Solubilidade: clorofórmio

Ponto de Fusão: 150°C

E.M. m/z (%) (Fig. 30, pág. 62): 614 (5,0), 307 (10,0), 248 (66), 203 (100,0), 145 (10,0), 133 (29,0).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz), δ (multiplicidade, J, atribuição) (Fig. 31, pág. 68): 5,27 (t, H-12), 5,16 (dt, 10,2 e 5,4, H-2), 5,08 (d, 10,2, H-3), 3,84 (d, 12,0, H_a -23), 3,58 (d, 12,0, H_b -23), 0,93 (s, Me-24), 1,08 (s, Me-25), 0,74 (s, Me-26), 1,12 (s, Me-28), 0,88 (s, Me-29), 0,91 (s, Me-30).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz), δ (multiplicidade, atribuição) (Fig. 32, pág. 69): 43,5 (t, C-1), 69,9 (d, C-2), 74,8 (d, C-3), 41,9 (s, C-4), 47,6 (d, C-5), 17,9 (t, C-6), 32,1 (t, C-7), 39,3 (s, C-8), 47,5 (d, C-9), 37,9 (s, C-10), 23,4 (t, C-11), 122,1 (d, C-12), 143,7 (s, C-13), 41,5 (s, C-14), 27,5 (t, C-15), 22,8 (t, C-16), 46,5 (s, C-17), 40,7 (d, C-18), 45,8 (t, C-19), 30,7 (s, C-20), 33,8 (t, C-21), 32,4 (t, C-22), 65,2 (t, C-23), 13,9 (q, Me-24), 16,9 (q, Me-25), 17,0 (q, Me-26), 25,8 (q, Me-27), 184 (s, C-28), 33,0 (q, Me-29), 23,5 (q, Me-30), 170,9, 170,5, 170,4 ($3\text{CO}_2\text{CH}_3$), 21,1, 20,8 ($3\text{CO}_2\text{CH}_3$).

Aspecto: sólido branco amorfo

Solubilidade: metanol

Ponto de Fusão: 210-213°C

Teste Microquímico: Liebermann-Burchard positivo vermelho
à violeta).

I.V. $\bigvee_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) (Fig. 36, pág. 83): 3500, 3360, 1695, 1650, 1450, 1390, 1050, 780.

E.M. m/z (%) (Fig. 37, pág. 84): 472 (15,0), 454 (4,0), 361 (6,0), 343 (8,0), 286 (4,0), 248 (100,0), 216 (9,0), 206 (9,0), 191 (20,0), 185 (25,0).

RMN ^1H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 MHz), δ (multiplicidade, J, atribuição) (Fig. 40, pág. 87): 5,24 (t1, 5,4, H-24), 5,54 (d, 11,1, H-3), 3,91 (s1, H-1), 2,50 (d1, 11,1, H-2, eq), 2,29 (t, 11,1, H-2ax), 1,64 (s, Me-18), 0,96 (d, 6,0, Me-21), 1,72 (s, Me-26), 1,70 (s, Me-27), 1,00 (s, Me-31), 1,05 (s, Me-32).

RMN ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 75 MHz), δ (multiplicidade, J, atribuição) (Fig. 39, pág. 86): 72,6 (d, C-1), 38,7 (t, C-2), 70,7 (d, C-3), 55,7 (s, C-4), 37,7 (d, C-5), 23,4 (t, C-6), 25,8 (t, C-7), 48,2 (d, C-8), 20,9 (s, C-9), 30,3 (s, C-10), 26,2 (t, C-11), 35,9 (t, C-12), 45,6 (s, C-13), 49,2 (s, C-14), 35,3 (t, C-15), 28,4 (t, C-16), 52,6 (d, C-17), 18,4 (q, C-18), 29,8 (t, C-19), 36,2 (d, C-20), 19,5 (q, C-21), 36,7 (t, C-22), 25,3 (t, C-23), 125,8 (d, C-24), 130,8 (s, C-25), 25,9 (q, C-26), 17,7 (q, C-27), 9,8 (q, C-31), 180,3 (s, C-30), 18,5 (q, 32).

Aspecto: cristais amarelos esverdeados

Recristalização: acetona

Solubilidade: acetona

Teste Microquímico: reação com Mg/HCl, positivo para fla
vonóides (coloração vermelha)

Ponto de Fusão: 258°C

I.V. $\checkmark_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) (Fig. 42, pág. 93): 3480 - 3000, 2820,
1675, 1610, 1580, 1480, 1390, 1310, 1230, 1040.

E.M. m/z (%) (Fig. 46, pág. 97): 316 (80,0), 315 (100,0),
302 (35,0), 287 (12,0), 273 (48,0), 153 (21,0), 137
(23,0), 109 (12,0).

RMN ^1H (CD_3COCD_3 , 300 MHz), δ (multiplicidade, J, atri
buição) (Fig. 44, pág. 95): 7,67 (d, 2,1, H-2'), 7,55
(dd, 8,4 e 2,1, H-6'), 6,90 (d, 8,4, H-5'), 6,40 (d, 2,1,
H-8), 6,20 (d, 2,1, H-6), 3,80 (s, OCH₃).

RMN ^{13}C (CD_3COCD_3 , 75 MHz), δ (multiplicidade, J, atribui
ção) (Fig. 48, pág. 99): 155,6 (s, C-2), 138 (s, C-3),
178 (s, C-4), 161,7 (s, C-5), 98 (d, C-6), 163 (s, C-7),
93,2 (d, C-8), 156,5 (s, C-9), 104,4 (s, C-10), 122,6 (s,
C-1'), 115,0 (d, C-2'), 144,7 (s, C-3), 147,9 (s, C-4'),
114,9 (d, C-5), 120,7 (d, C-6), 58,9 (t, OCH₃).

Aspecto: cristais amarelos esverdeados

Recristalização; metanol

Solubilidade: metanol

Teste Microquímico: reação com Mg/Hcl, positivo para flavonóides (coloração vermelha).

Ponto de Fusão: 185°C

I.V. $\frac{\text{KBr}}{\text{max}}$ (cm^{-1}), (Fig. 43, pág. 94): 3600-3010, 2980, 1675, 1610, 1510, 1480, 1400, 1390, 1220, 1090.

E.M. m/z (%) (Fig. 47, pág. 98): 448 (2,0), 302 (45,0), 153 (21,0), 137 (23,0), 125 (15,0), 109 (12,0), 147 (14,0), 128 (100,0).

RMN¹H (CD_3OD , 90 MHz), δ (multiplicidade, J, atribuição) (Fig. 45, pág. 96): 7,50 (dd, 8,4 e 2,1, H-6'), 7,54 (d, 2,1, H-2'), 6,92 (d, 8,4, H-5'), 6,36 (d, 2,1, H-8), 6,20 (d, 2,1, H-6), 5,36 (s, H-1"), 4,24 (d, 1,2, H-2"), 3,79 (d, 3,0, H-3"), 3,75 (d, 3,0, H-4"), 3,40 (m, H-5"), 1,06 (d, 6,0, H-6").

RMN ¹³C (CD_3OD , 75 MHz), (multiplicidade, atribuição) (Fig. 49, pág. 100): 159,2 (s, C-2), 136,2 (s, C-3), 179 (s, C-4), 163,1 (s, C-5), 99,8 (d, C-6), 164,8 (s, C-7), 94,7 (d, C-8), 158,4 (s, C-9), 105,9 (s, C-10), 123,0 (s, C-1'), 117,0 (d, C-2'), 146,3 (s, C-3'), 149,7 (s, C-4'), 116,3 (d, C-5'), 122,9 (d, C-6'), 103,5 (d, C-1"), 72,0 (d, C-2"), 72,1 (d, C-3"), 73,3 (d, C-4"), 71,9 (d, C-5"), 17,6 (q, CH_3).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. R.M. Letcher and L.R.M. Nhamo, *J. Chem. Soc. (C)*, 3070 (1971).
2. G.R. Pettit, S.B. Singh, J.M. Schmidt, M.L. Niven, E. Hamel, and C.M. Lin, *J. Nat. Prod.*, **51**, 517 (1988).
3. G.R. Pettit, S.B. Singh, L.M. Niven, E. Hamel, and J.M. Schmidt, *J. Nat. Prod.*, **50**, 119 (1987).
4. A.V. Ogan (Dep. Biochem. Univ. Nigeria, NSukka, Nigeria). *Planta Médica*, **21** (2), 210 (1972).
5. I.R. Castleden, S.R. Hall, S.N. Nimgirawath, S. Thadani, and A.H. White, *Aust. J. Chem.*, **38**, 1177 (1985).
6. J.D. Carr and C.B. Rogers, *S. Afr. J. bot.*, **53** (2), 173 (1987).
7. R. Braga. "Plantas do Nordeste Especialmente do Ceará" Escola de Agricultura, Mossoró V, **42**, 39 (1976).
8. R.M. Letcher and L.R.M. Nhamo, *J. Chem. Soc. Perkin I*, 2942 (1972).
9. R.M. Letcher, L.R.M. Nhamo, and I.T. Gumino, *J. Chem. Soc. Perkin I* 206 (1972).
10. G.R. Pettit and S.B. Singh, *Can. J. Chem.*, **65**, 2390 (1987).
11. C.B. Rogers and G. Subramony, *Phytochemistry*, **27**, 531 (1988).
12. K.R. Markham and B. Ternai, *Tetrahedron*, **32**, 2607 (1976).
13. K.R. Pegel and C.B. Rogers, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1711 (1985).
14. K.R. Pegel and C.B. Rogers, *Tetrahedron Letters*, 4299 (1976).
15. C.B. Rogers and I. Thevan, *Phytochemistry*, **25**, 1759 (1986).
16. R. Osborne and K.H. Pegel, *Phytochemistry*, **23**, 635 (1984).

17. R. Osborne and K.H. Pegel, *S. Afr. J. Chem.*, **38**, 83 (1985).
18. C.B. Rogers, *J. Nat. Prod.*, **52**, 528 (1989).
19. S.C. Parkrashi, J. Bhattacharyya, S. Mookerjee, T.B. Samanta, and H. Vorbrüggen, *Phytochemistry*, **7**, 461 (1968).
20. T. Kjkuchi and T. Toyoda, *Tetrahedron Letters*, **33**, 3181 (1967).
21. W.H. Hui and M.M. Li, *J. Chem. Soc. Perkin I*, 23 (1976).
22. G. Savana, M. Bruno, B. Rodriguez, and J.L. Marco, *Phytochemistry*, **26**, 3305 (1987).
23. A.P. Dantanarayana, N.S. Kuman, P.M. Muthukuda, and I. Mohamed, *Phytochemistry*, **21**, 2065 (1982).
24. A.P. Dnatantarayana, N.S. Kuman, and M.U.S. Sultanbawa, *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, 2717 (1981).
25. A.G. González, B.M. Fraga, P. González, M. Manta, G.D. Monache, G.B.M. Bettolo, J.F. de Melo, and O. Gonçalves, *Phytochemistry*, **21**, 470 (1982).
26. H.T. Cheung and D.G. Willianson, *Tetrahedron*, **25**, 119 (1969).
27. H. Budzikiewicz, J.M. Wilson and C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 3688 (1963).
28. M.E.O. Matos, M.P. Souza, M.I.L. Machado, and R. Braz Filho, *Phytochemistry*, **25**, 1419 (1986).
29. S.S. Tomita and Y.K. Toni, *Tetrahedron Letters*, **7**, (1975).
30. M.C. Wani, J.P. Schaumberg, H. Taylor, J.B. Tompson, and M.E. Wall, *J. Nat. Prod.*, **46**, 537 (1983).
31. H.T. Cheung and D.G. Willaimson, *Tetrahedron*, **25**, 119 (1969).

32. M. Shamma, R.E. Glick, and R.O. Mumma, *Org. Chem.*, **27**, 4512 (1962).
33. B. Tursch, R. Saboir, R. Ottinger, and G. Chiurdoglu, *Tetrahedron Letters*, **71** (1975).
34. H. Kojima and H. Ogura, *Phytochemistry*, **25**, 729 (1986).
35. G.S.R.S. Rao, S. Prasanna, V.P.S. Kumar and B. Yadagri, *Indian J. Chem.*, **25 B**, 113 (1986).
36. T. Furuya, Y. Orihara and C. Hayashi, *Phytochemistry*, **26**, 715 (1987).
37. H. Kojima, H. Tominaga, S. Sato and H. Ogura, *Phytochemistry*, **26**, 1107 (1987).
38. P.J. Houghton and L.M. Lian, *Phytochemistry*, **25**, 1939 (1986).
39. L.R. Row and G.S.R. Rao, *Tetrahedron Letters*, **27**, 12 (1960).
40. T.J. de Pascual, J.G. Urones, I.S. Marcos, P. Basabe, M.J.S. Cuadrado, and F. Moro, *Phytochemistry*, **26**, 1767 (1987).
41. C.B. Rogers, *Phytochemistry*, **28**, 279 (1989).
42. T.J. Mabry, J. Kagan and H. Rosler, *Phytochemistry*, **4**, 177 (1965).
43. N.A. Matwioff and T.B. Walker, *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 5807 (1976).
44. T.J. Mabry, J. Kagan and H. Rosler, *Phytochemistry*, **4**, 487 (1965).
45. K.R. Markhan, B. Ternai, R. Stanley, H. Geiger and T.J. Mabry, *Tetrahedron*, **34**, 1389 (1978).

46. K.R. Markahn and M.V. Chari, "in Flavonoids Advances in Research" (J.B. Harbone and T.J. Mabry, eds), Chapman and Hall, London (1982).
47. T.J. Mabry, K.R. Markahn and B.M. Tomas. "The Systematic Identification of Flavonoids". Springer Heidelberg, N.York (1970).
48. C.W. Glennie, J.B. Harbone, G.D. Rowley, and C.J. Marchant, *Phytochemistry*, **10**, 2413 (1971).
49. T.K. Chambalov, G.M. Nungalieva, L.T. Praskinina, *Chem. Abs.*, **72**, 75648 (1969).
50. Ken Yasukawa and M. Takido, *Phytochemistry*, **26**, 1224 (1987).
51. R. Tschesche, S. Delhvi, S. Sepulveda and E. Briitmaier, *Phytochemistry*, **18**, 867 (1979).
52. T. Brasseur and L. Angenot, *Phytochemistry*, **27**, 1487 (1988).
53. M. Wu and R. C. Burrell, *Arch. Biochem. Biophys.*, **74**, 114 (1958).
54. R.H. Takata and P.J. Scheuer, *Tetrahedron*, **32**, 1077 (1976).
55. A. Marie, T.N. Mpond, J.D. Connolly and D.S. Rycnoft, *Phytochemistry*, **29**, 994 (1990).