

MARCELO CAVALCANTE DUARTE

**CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Maytenus distichophylla* Mart. ex
Reissek**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS
E SINTÉTICOS BIOATIVOS**

João Pessoa - PB

2013

MARCELO CAVALCANTE DUARTE

**CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Maytenus distichophylla* Mart. ex
Reissek**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS. Área de Concentração: FARMACOQUÍMICA

ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Josean Fechine Tavares

João Pessoa - PB

2013

D812c Duarte, Marcelo Cavalcante.
Constituintes químicos de *Maytenus distichophylla* Mart. ex
Reissek / Marcelo Cavalcante Duarte.-- João Pessoa, 2013.
144f. : il.
Orientador: Marcelo Sobral da Silva
Coorientador: Josean Fachine Tavares
Tese (Doutorado) – UFPB/CCS
1. Produtos naturais. 2. *Maytenus distichophylla*.
3. Celastraceae. 4. Triterpenos. 5. Alcaloides Sesquiterpenos.
6. Piridinicos.

UFPB/BC

CDU: 547.9(043)

MARCELO CAVALCANTE DUARTE

Aprovado em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

**Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva
(Orientador)**

**Prof. Dr. Eudes da Silva Velozo
(Universidade Federal da Bahia)
(Examinador Externo)**

**Prof. Dr. Sebastião José de Melo
(Universidade Federal de Pernambuco)
(Examinador Externo)**

**Prof(a). Dra. Barbara Viviana de Oliveira Santos
(Universidade Federal da Paraíba)
(Examinadora Interna)**

**Prof(a). Dra. Celidarque da Silva Dias
(Universidade Federal da Paraíba)
(Examinadora Interna)**

DEDICATÓRIAS

*Aos meus pais Manoel Cavalcante e Assis e Francisca Neta Cavalcante
por educar e ter me ensinado a enfrentar as adversidades da vida.*

*A minha esposa Karla Rodrigues Durand pelo apoio e compreensão na
minha vida social e acadêmica.*

*Aos meus amados filhos Andrey Matheus Durand Araujo e a Filipe
Durand Cavalcante pelo Carinho e o amor
Durante minha vida social e acadêmica*

*A minha irmã Marcia Rejane Cavalcante Duarte e ao meu Sobrinho
Joan Luiz Cavalcante da Silva pelo carinho .*

*A minha sogra Edite Rodrigues Durand e a todos da família
pelo apoio e compreensão*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar força e coragem, acima de tudo, saúde, para poder vencer mais esta etapa na minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva, por ter me aceitado como seu orientando no momento mais que eu precisei na vida, e pelos ensinamentos, dedicação, conselhos, seriedade e paciência da forma como conduziu esta orientação, além da boa convivência dentro e fora do laboratório.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Josean Fachine Tavares que ficou sempre do meu lado e que também me ajudou bastante nos ensinamentos teóricos e práticos no dia a dia, além da valiosa contribuição durante a elaboração desta Tese.

Ao meu colega, irmão e amigo Vicente Carlos de Oliveira Costa, por ter também sido o meu terceiro orientador, e que deu uma grande contribuição durante a elaboração desta Tese.

Ao meu amigo Raimundo Nonato, pelos ensinamentos, apoio e incentivos no dia-dia.

Ao companheiro José Crispim Duarte também pelo apoio e incentivo.

Ao amigo e colega Alexandro Fernandes Marinho pelo apoio e incentivos no dia dia.

À Profa. Dra. Maria de Fátima Agra do LTF/UFPB pela identificação da espécie em estudo.

Ao Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho, por ter me ajudado é uma grande honra para mim receber suas sugestões e contribuição técnico-científica para o engrandecimento deste trabalho.

A todos os Professores que fizeram parte desta banca, por ter aceitado, que pelos os seus conhecimentos e experiência as suas sugestões irá enriquecer cada vez mais esse trabalho.

A prof(a). Dra Barbara Viviana de Oliveira Santos, por ter sempre me incentivado e orientado nas horas que precisei, o meu muito obrigado.

Ao Prof(a). Dra. Bagnólia Araújo da Silva, que implantou as bases do conhecimento da Farmacologia para a minha pessoa além de outros conhecimentos Técnicos Científico e pela amizade, incentivo e estímulo que sempre me deu.

A Prof(a). Dra. Marianna Vieira Sobral Castello Branco, pelo incentivo e apoio.

Ao meu grande amigo Severino Francisco Alves (seu Bio), por ter me recebido bem todas as vezes que precisei e pela sua amizade e incentivo.

Ao meu grande amigo Gilmário Moreira Lima, pelos seus ensinamentos e incentivo que sempre me deu.

A todos os meus amigos, Wellington Lima Navarro, José Wanderley da Silva, pelo apoio e incentivo.

A Sócrates Golzio, pela imensa contribuição a mim prestada no laboratório de RMN e na parte de informática nos momentos em que precisei.

A todos os meus colegas e amigos pós-graduandos do Laboratório de Fitoquímica e Farmacologia do LTF, em especial, a minha turma de Mestrado 2008 pela boa convivência durante e depois das disciplinas.

Àos alunos de Iniciação Científica., pessoas fundamentais na elaboração deste trabalho, além do seu excelente desempenho, dedicação, seriedade e organização que sempre teve na bancada. Sem o seu empenho, tudo seria mais difícil.

A Fábio Souza pelo apóio, competência e amizade e que fez parte deste trabalho, sempre presente nos momentos em que precisei.

A todos os Pós-Graduandos pela boa convivência no laboratório.

Aos funcionários da limpeza, Dona Avani, Mônica, Dinho, Chico, Sr. Manoel, Luiz e Adriano por estarem sempre presentes e dispostos a ajudar.

Ao pessoal da manutenção Sr. Ivan, Luciano e Bambam que sempre estiveram prontos pra me atender sempre que solicitados.

A todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADO!!!

MARCELO CAVALCANTE DUARTE

RESUMO

RESUMO

A família Celastraceae distribui-se nas regiões tropical e subtropical, incluindo no norte da África, América do Sul e Ásia, particularmente na China. É constituída por 98 gêneros e aproximadamente 1200 espécies, sendo que no Brasil, esta família é representada por quatro gêneros: *Maytenus* Juss., *Austroplenckia* Lund., *Franhofera* Mart. e *Salacia* Mart.. O gênero *Maytenus* é um dos maiores da família Celastraceae e, no Brasil, são reconhecidas 76 espécies. *Maytenus distichophylla* Mart. ex Reissek é utilizada na medicina popular para o tratamento de úlceras estomacais e é bem adaptada ao semi-árido nordestino do Brasil. Não há nenhum relato de estudo fitoquímico e farmacológico com essa espécie. O objetivo desse trabalho foi contribuir com o estudo fitoquímico de plantas do Nordeste Brasileiro através do isolamento e identificação dos constituintes químicos das folhas e raízes de *Maytenus distichophylla*. Para tanto foi utilizado cromatografias de adsorção e partição em colunas, cromatografias em camada delgada analítica e preparativa. *M. distichophylla* foi coletada no município de Maturéia- PB, e identificada pela Prof. Dra. Maria de Fátima Agra. O pó obtido das folhas e raízes foi submetido à maceração com metanol durante 72 horas, obtendo-se a solução metanólica, que foi concentrada em rotaevaporador obtendo-se o extrato metanólico. O extrato das folhas foi particionado gerando as fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila. A fase clorofórmica e acetato de etila foi submetida a procedimentos cromatográficos isolando seis triterpenos pentacíclicos conhecidos da série friedelano, 3β -friedelinol, friedelina, 3-oxo- 12α -hidroxifriedelano, 3-oxo-29-hidroxifriedelano, 3-oxo- 30β -hidroxifriedelano e um novo produto natural o $6\beta,12\alpha$ -dihidroxi-friedelan-1 α -3,16,21-triona denominado maytensifolona. A fase clorofórmica das raízes de *M. distichophylla*, foi submetida a Cromatografia Líquida de Média Pressão. O grupo de frações 115-121 foi submetida a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência obtendo-se dois alcaloides sesquiterpenos piridinicos conhecidos a wilforina e ebinifolina. Dessa forma, esses dados corroboram com a constituição química de outras espécies de *Maytenus* e contribuem para o conhecimento químico de *M. distichophylla*.

Palavras-chave: *Maytenus distichophylla*, celastraceae, Triterpenos, Alcaloides sesquiterpenos.pirimidinicos

ABSTRACT

ABSTRACT

The family Celastraceae is distributed in tropical and subtropical regions, including North Africa, South America and Asia, particularly in China. It consists of 98 genera and about 1200 species, and in Brazil, this family is represented by four genera: *Maytenus* Juss., *Austroplenckia* Lund., *Franchofera* Mart. and *Salacia* Mart. The genus *Maytenus* is one of the largest family Celastraceae, and in Brazil, 76 species are recognized. *Maytenus distichophylla* Mart. Reissek former is used in folk medicine to treat stomach ulcers and is well adapted to semi-arid Northeast of Brazil. There are no reports of phytochemical and pharmacological study with this species. The aim of this work was to contribute to the phytochemical study of plants of the Brazilian Northeast through the isolation and identification of chemical constituents from leaves and roots of *Maytenus distichophylla*. Was used for both adsorption and partition chromatography on columns, thin layer chromatography on analytical and preparative. *M. distichophylla* was collected in the municipality of Maturéia-PB, and identified by Prof. Dr. Maria de Fátima Agra. The powder obtained from the leaves and roots was subjected to maceration with methanol for 72 hours to yield the methanolic solution which was concentrated on rotaevaporator to give the methanol extract. Leaf extract was partitioned generating phases hexane, chloroform and ethyl acetate. The chloroform phase and ethyl acetate was subjected to chromatographic procedures known pentacyclic triterpenes six isolating the series friedelano, 3 β -friedelinol, friedelina 3-oxo-12 α -hidroxifriedelano 3-oxo-29 α -hidroxifriedelano 3-oxo-30 β -hidroxifriedelano and a new natural product the 6 β , 12 α -dihydroxy-friedelan-1 en-3,16,21-trione called maytensifolona. The chloroform phase roots of *M. distichophylla* was subjected to Medium Pressure Liquid Chromatography. The group of fractions 115-121 was subjected to High Performance Liquid Chromatography obtaining two sesquiterpene pyridine alkaloids known to wilforina and ebinifolina. Thus, these data corroborate the chemical composition of other species of *Maytenus* and contribute to the chemical knowledge of *M. distichophylla*.

Keywords: *Maytenus distichophylla*, celastraceae, Triterpenes, Alkaloids sesquiterpene pyrimidine.

LISTA DE FIGURAS

Figura.1. Alcaloides isolados de <i>Papaver somniferum</i>	4
Figura.2. Estruturas químicas de alguns salicilatos	4
Figura.3. Estrutura do ácido betulínico e do Bevirimat.	5
Figura.4. Alguns triterpenos pentacíclicos biologicamente ativos	7
Figura.5. Mapa de distribuição da família Celastraceae no mundo	7
Figura.6. Primeiras substâncias isoladas de plantas da família Celastraceae	9
Figura.7. Sesquiterpenos agarofuranos isolados da família Celastraceae	9
Figura.8. Alguns triterpenos pentacíclicos isolados de espécies de <i>Maytenus</i>	11
Figura.9. Fotos de <i>Maytenus distichophylla</i> em seu hábitat natural.	12
Figura.10. Cromatograma da Fração (115-121) nas proporções de solventes (48:52 H ₂ O:MeCN)	28
Figura.11. Espectro de IV de Md-1 em pastilha de KBr.....	32
Figura.12. Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz) de Md-1 obtido em CDCl ₃	32
Figura.13. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (200 MHz) de Md-1 obtido em CDCl ₃ na região de 1,90 a 0,70 ppm.....	33
Figura.14. Espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz) de Md-1 obtido em CDCl ₃	33
Figura.15. Expansão do espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz) de Md-1 obtido em CDCl ₃ na região de 75 a 0,0 ppm.....	34
Figura.16.: Espectro RMN de ¹ H (200 MHz) de Md-2 obtido em CDCl ₃	37
Figura.17. Expansão do espectro RMN de ¹ H (200 MHz) de Md-2 obtido em CDCl ₃ na região de 1,22 a 0,66 ppm.....	37
Figura.18. Espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz) de Md-2 obtido em CDCl ₃	38
Figura.19. Expansão do espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz) de Md-2 obtido em CDCl ₃ na região de 80 a 5 ppm.....	38
Figura.20. Espectro de IV de Md-3 em pastilha de KBr.....	41

Figura.21. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de Md-3 obtido em CDCl_3	41
Figura.22. Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de Md-3 obtido em CDCl_3 na região de 2,7 a 0,7 ppm.....	42
Figura.23. Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de Md-3 obtido em CDCl_3 na região de 4,2 a 3,2 ppm.....	42
Figura.24. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) de Md-3 obtido em CDCl_3	43
Figura.25. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) de Md-3 obtido em CDCl_3 na região de 70 a 5,0 ppm.....	43
Figura.26. Espectro de IV de Md-4 em pastilha de KBr.....	46
Figura.27. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de Md-4 obtido em CDCl_3	46
Figura.28. Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de Md-4 obtido em CDCl_3 na região de 3,5 a 0,6 ppm.....	47
Figura.29. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) de Md-4 obtido em CDCl_3	47
Figura.30. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) de Md-4 obtido em CDCl_3 na região de 62,0 a 6,0 ppm.....	48
Figura.31. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-5 obtido em CDCl_3	51
Figura.32. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-5 obtido em CDCl_3 na região de 2,4 a 0,7 ppm	51
Figura.33. Expansão do espectro RMN de ^1H (500 MHz) de Md-5 obtido em CDCl_3 na região de 4,25 a 3,10 ppm.....	52
Figura.34. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-5 obtido em CDCl_3	52
Figura.35. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-5 obtido em CDCl_3 na região de 214 a 211 ppm e 80 a 55 ppm	53
Figura.36. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-5 obtido em CDCl_3 na região de 70 a 5 ppm e 211 a 215 ppm	53
Figura.37. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-5 obtido em CDCl_3 na região de 75 a 5,0 ppm.....	54
Figura.38. Correlações observadas no NOESY de Md-6	56
Figura.39. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3	58

Figura.40. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 2,1 a 0,5 ppm.....	58
Figura.41. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3	59
Figura.42. : Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 220 a 90 ppm.....	59
Figura.43. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 80 a 5,0 ppm.....	60
Figura.44. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3	60
Figura.45. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 35 a 65 ppm	61
Figura.46. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 a 125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 5 a 40 ppm.....	61
Figura.47. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 6 a 26 ppm.....	62
Figura.48. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3	62
Figura.49. . Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 Hz) de Md-6 em CDCl_3 na região de 49 a 63 ppm.....	63
Figura.50. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-6 em CDCl_3 na região de 210.5 a 217.0 ppm.....	63
Figura.51. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 125 MHz) de Md-6 em CDCl_3 na região de 5 a 65 ppm.....	64
Figura.52. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-6 em CDCl_3 na região de 25 a 46 ppm	64
Figura.53. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3	65
Figura.54. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 2,9 a 0,7 ppm	65
Figura.55. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3	66
Figura.56 Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 2,8 a 0,5 ppm	66

Figura.57. Correlações observadas no NOESY de Md-7	69
Figura.58. Espectro de IV de Md-7 obtido em pastilha de KBr	71
Figura.59 Espectro de massas de alta resolução de Md-7 obtido por ESI ⁺	71
Figura.60. Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz) de Md-7 obtido em CDCl ₃ com gotas de piridina.....	72
Figura.61. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz) de Md-7 obtido em CDCl ₃ com gotas de piridina na região de 1,4 a 0,7 ppm.....	72
Figura.62. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz) de Md-7 obtido em CDCl ₃ com gotas de piridina na região de 4,5 a 1,5 ppm	73
Figura.63. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz) de Md-7 obtido em CDCl ₃ com gotas de piridina na região de 8,5 a 5,0 ppm.....	73
Figura.64. Espectro de RMN de ¹³ C (125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl ₃ com gotas de piridina.....	74
Figura.65. Expansão do espectro de RMN de ¹³ C (125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl ₃ com gotas de piridina na região de 215 a 90 ppm.	74
Figura 66. Expansão do espectro de RMN de ¹³ C (125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl ₃ com gotas de piridina na região de 80 a 10 ppm	75
Figura 67. Espectro de correlação de ¹ H x ¹³ C HMQC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl ₃ com gotas de piridina na região de 0,0 a 150 ppm	75
Figura 68. Expansão do espectro de correlação de ¹ H x ¹³ C HMQC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl ₃ com gotas de piridina na região de 65 a 80 ppm.....	76
Figura 69. Expansão do espectro de correlação de ¹ H x ¹³ C HMQC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl ₃ com gotas de piridina na região de 6,0 a 32 ppm	76
Figura 70. Expansão do espectro de correlação de ¹ H x ¹³ C HMQC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl ₃ com gotas de piridina na região de 36 a 62 ppm.....	77
Figura 71. Expansão do Espectro de correlação de ¹ H x ¹³ C HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl ₃ com gotas de piridina na região de 190 a 220 ppm	77
Figura 72. Expansão do espectro de correlação de ¹ H x ¹³ C HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl ₃ com gotas de piridina na região de 5 a 60 ppm	78
Figura 73: Expansão do espectro de correlação de ¹ H x ¹³ C HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl ₃ com gotas de piridina na região de 25 a 80 ppm	78

Figura 74. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 62 a 74 ppm.....	79
Figura 75. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 20 a 34 ppm.....	79
Figura 76. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 15 a 50 ppm.....	80
Figura 77. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 46 a 48 ppm.....	80
Figura 78. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 25 a 80 ppm.....	81
Figura.79. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de Md-7 em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 8,5 a 0,0 ppm.....	81
Figura 80. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 2,9 a 0,7 ppm.....	82
Figura 81. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina	82
Figura 82. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de Md-7 obtidos em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 2,6 a 0,6 ppm	83
Figura 83. Espectro de IV de Md-8 em pastilha de KBr.....	87
Figura 84 Espectro de massas por ESI^+ de Md-8	87
Figura 85. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3	88
Figura 86. Expansão do espectro RMN de ^1H (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 3,0 a 1,1 ppm	88
Figura 87. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 8,75 a 7,45 ppm.....	89
Figura 88. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 6,8 a 2,8 ppm.....	89
Figura 89. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3	90
Figura 90. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 200 a 10 ppm.....	90
Figura 91. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 76 a 20 ppm.....	91

Figura 92. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 56 a 84 ppm	91
Figura 93. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 10 a 55 ppm	92
Figura 94. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 115 a 155 ppm	92
Figura 95. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-8 em CDCl_3	93
Figura 96. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 20 a 100 ppm	93
Figura 97. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 120 a 175 ppm	94
Figura 98. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 20 a 100 ppm	94
Figura 99. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 155 a 185 ppm	95
Figura 100. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3	95
Figura 101. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 7,0 a 0,5 ppm	96
Figura 102. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 9,4 a 6,4 ppm	96
Figura 103. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3	97
Figura 104. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 5,7 a 3,0 ppm	97
Figura 105. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 2,7 a 0,7 ppm	98
Figura 106. Espectro de IV de Md-9 obtido em pastilha de KBr	102
Figura 107. Espectro de massas por ESI^+ de Md-9	102
Figura 108. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-9 obtido em CDCl_3	103
Figura 109. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-9 obtido em CDCl_3 na região de 2,5 a 0,8 ppm	103

- Figura 110.** Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-9 obtido em CDCl_3 na região de 7,0 a 3,0 ppm..... **104**
- Figura 111.** Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-9 obtido em CDCl_3 na região de 9,4 a 7,2 ppm..... **104**
- Figura 112.** Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-9 obtido em CDCl_3 **105**
- Figura 113.** Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-9 obtido em CDCl_3 na região de 78 a 18 ppm..... **105**
- Figura 114.** Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-9 obtido em CDCl_3 na região de 185 a 85 ppm..... **106**

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema.1. Obtenção e particionamento do extrato metanólico bruto das folhas de <i>Maytenus distichophylla</i> Mart. ex Reissek.....	19
Esquema.2. Processo cromatográfico da Fase Clorofórmica e Isolamento de seus constituintes químicos das folhas.....	22
Esquema.3. Processo cromatográfico da Fase Acetato de Etila das folhas e Isolamento de seus constituintes químicos	24
Esquema.4. Obtenção e particionamento do extrato metanólico bruto das Raízes de <i>Maytenus distichophylla</i>	26
Esquema 5. Processo cromatográfico da Fase cloroformica das raízes obtido, por CLAE e Isolamento de seus constituintes químicos.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela.1. Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Md-1 com os dados da literatura para 3 β -hidroxifriedelano em CDCl_3 (SALAZAR, <i>et al</i> , 2000).....	31
Tabela.2. Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Md-2 com os dados da literatura para 3-oxo-friedelano (MARTINEZ <i>et al</i> , 2011)	36
Tabela.3. Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Md-3 com os dados da literatura para 3-oxo-12 α -hidroxifriedelano (OLIVEIRA, 2007).....	40
Tabela.4. Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Md-4 com os dados da literatura para 3-oxo-29-hidroxifriedelano (ALVES <i>et al</i> ., 2000).	45
Tabela.5. Comparação dos dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3) de Md-3 e Md-5 com dados da literatura para 3-oxo-12 α -hidroxifriedelano (OLIVEIRA, 2007)	50
Tabela.6. Dados de RMN de ^{13}C e ^1H (500 MHz) em CDCl_3 de Md-6	57
Tabela.7. Dados de RMN de ^{13}C e ^1H (500 MHz) de Md-7 em CDCl_3	70
Tabela 8. Dados de RMN (500 MHz) em CDCl_3 de Wilforina J em Hz e δ em ppm	86
Tabela 9. Dados de RMN (500 MHz) em CDCl_3 de Ebinifolina W-I, J em Hz e δ em ppm	101

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Fracionamento cromatográfico da Fase Clorofórmica.....	20
Quadro.2. Fracionamento cromatográfico da Fase Acetato de Etila	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

APT	Attached Proton Test
HBBD	Broad Band Decoupled
CC	Cromatografia em Coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CG-EM	Cromatografia Liquida em Arranjo de Diodo
COSY	CORrelation Spectroscopy
<i>d</i>	Duplete
<i>dd</i>	Duploduplete
ESI	Ionização por electron spray
EMB ...	Extrato metánolico bruto das folhas e Raizes de <i>Maytenus distichophylla</i>
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HRESI-MS	High Resolution Eletron Spray Ionization Mass Spectra
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m</i>	Multiplete
MeOH	Metanol
Mo	Modelo
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
PPM	Partes por milhão
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono treze
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
MD	<i>Maytenus distichophylla</i>
<i>s</i>	Singlete
<i>sl</i>	Simpleto largo
<i>t</i>	Triplete
TTPC	Triterpenos Pentacíclicos
LB	Libermann-Buchard

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	2
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	6
2.1 Considerações sobre a família Celastraceae	6
2.2 Considerações sobre o gênero <i>Maytenus</i>	10
2.3 Considerações sobre a espécie <i>Maytenus distichophylla</i> Mart. ex Reissek	11
3. OBJETIVOS	14
3.1. Geral	14
3.2. Específicos	14
4 EXPERIMENTAL:	16
4.1 Materiais e Equipamentos Utilizados	16
4.2 Material Vegetal	18
4.2.1 <i>Maytenus distichophylla</i>	18
4.3 Processamento do Material Vegetal	18
4.3.1 Obtenção do extrato metanólico bruto das folhas de <i>Maytenus distichophylla</i> Mart. ex Reissek	18
4.3.2 Particionamento do Extrato Metanólico Bruto das folhas de <i>Maytenus distichophylla</i> . Mart. ex Reissek	19
4.3.3 Isolamento dos constituintes químicos da Fase Clorofórmica das folhas de <i>Maytenus distichophylla</i> Mart. ex Reissek.	20
4.3.4 Isolamento dos constituintes químicos da Fase Acetato de Etila das folhas de <i>Maytenus distichophylla</i> Mart. ex Reissek.	22
4.3.5 Obtenção do extrato metanólico bruto das Raízes de <i>Maytenus distichophylla</i> Mart. ex Reissek.	25
4.3.6 Particionamento do Extrato Metanólico Bruto das Raízes de <i>Maytenus distichophylla</i> .	25
4.3.7 Isolamento dos constituintes químicos da Fase cloroformica das Raízes de <i>Maytenus distichophylla</i> Mart. ex Reissek.	26
4.3.8 Desenvolvimento Cromatográfico da Fração 115-121	27
5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1. Constituintes químicos isolados das folhas e de raízes de <i>M.distichophylla</i> Mart. ex Reissek.	30
5.1.1 Identificação estrutural de Md-1	30
5.1.2 Identificação estrutural de Md-2	35
5.1.3. Identificação estrutural de Md-3	39
5.1.4. Identificação estrutural de Md-4	44
5.1.5. Identificação estrutural de Md-5	49
5.1.6. Identificação estrutural de Md-6	55
5.1.7. Determinação estrutural de Md-7	67
5.1.8. Identificação estrutural de Md-8	84
5.1.8. Identificação estrutural de Md-9	99
6.0 CONCLUSÕES	108
7.0 REFERÊNCIAS	110

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Desde antigos períodos na história o uso de plantas medicinais está presente não só devido ao seu caráter alimentar, mas, também, às suas propriedades fitoterápicas, cosméticas e agroquímicas. O alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas podem ser considerados a primeira forma de utilização dos produtos naturais na medicina popular (JÚNIOR, BOLZANI, 2006).

No decorrer de sua história, o ser humano absorveu informações sobre o ambiente que o cerca e, sem dúvida, esse acervo baseou-se na observação constante e sistemática dos fenômenos característicos da natureza e na experimentação empírica desses recursos. A preocupação com o desvendamento e resgate do conhecimento referente ao uso que outros povos fazem dos elementos de seu ambiente natural, vem desde a antiguidade. Neste, enquadra-se os conhecimentos relativos ao mundo vegetal, onde será feito um recorte especial para o estudo das plantas medicinais. Sabe-se que o uso das espécies vegetais com fins de tratamento e cura de doenças e sintoma se perpetuou na história da civilização humana e chegou até os dias atuais, sendo amplamente utilizada por grande parte da população mundial como eficaz fonte terapêutica (JORGE, MORAIS, 2002)

A natureza, de um modo geral, é a responsável pela produção da maioria das substâncias orgânicas conhecidas, entretanto, o reino vegetal é responsável pela maior parcela da diversidade química conhecida e registrada na literatura. A variedade e a complexidade das micromoléculas que constituem os metabólitos secundários de plantas e organismos marinhos ainda é inalcançável por métodos laboratoriais. Isto seria a consequência direta de milhões de anos de evolução, atingindo um refinamento elevado de formas de proteção e resistência às intempéries do clima, poluição e predadores (MONTANARI E BOLZANI, 2001).

Os produtos naturais têm se mostrado uma fonte abundante de moléculas bioativas, uma vez que a diversidade estrutural é fundamental na pesquisa para atingir diferentes alvos biológicos, observa-se a importância do estudo de produtos naturais, considerando que, durante os milhões de anos da evolução biológica a seleção natural realizou um processo de química combinatória inigualável (YUNES, CECHINEL FILHO, 2001). Diversas fontes de produtos naturais têm sido utilizadas

na obtenção de medicamentos, incluindo as plantas terrestres, os microorganismos, organismos marinhos, vertebrados e invertebrados terrestres (NEWMAN *et al.*, 2000).

O uso de princípios ativos de produtos naturais na forma de preparações brutas predominou na terapêutica até o século XIX. A partir daí, com o desenvolvimento das técnicas de isolamento de substâncias puras dos produtos naturais, principalmente das técnicas de separação cromatográfica e, também, dos métodos de elucidação estrutural, foi possível isolar e identificar os princípios ativos dos produtos naturais usados na medicina popular (SILVA *et al.*, 2003). Os estudos de produtos naturais impulsionaram o desenvolvimento das técnicas de separação, dos métodos espectroscópicos de elucidação e das técnicas de síntese que constituem o fundamento da química orgânica contemporânea. Além do uso terapêutico, havia o interesse na obtenção de corantes, polímeros, fibras, colas, óleos, aromatizantes e perfumes a partir de fontes naturais (CROTEAU *et al.*, 2000). Produtos naturais continuam estimulando o desenvolvimento da química orgânica, ocasionando avanços em metodologias de síntese na busca de análogos com melhores características farmacológicas e farmacocinéticas do que o produto natural original (HARVEY, 2008).

Em 1804, o farmacêutico Friedrich Sertürner isolou o primeiro composto puro com atividade biológica a partir de uma planta, a morfina (Figura 1, Pág. 4), um dos constituintes do ópio, que é o suco extraído de frutos imaturos de *Papaver somniferum* (SILVA *et al.*, 2003; LI E VEREDAS, 2009). A morfina é empregada na terapêutica atual como analgésico opioíde e utilizada no tratamento de dores intensas e constantes como as provocadas por alguns tipos de câncer. Além da morfina, outros alcaloides foram isolados de *Papaver somniferum*, dentre eles a papaverina e a codeína (Figura 1, Pág 4). A codeína é obtida comercialmente por semi-síntese a partir da morfina e utilizada como antitussígeno e analgésico opioide (SHUMACHER *et al.*, 2005). Em 1828, Buchner isolou a salicina das cascas de *Salix alba*. Em 1860 Kolbe e Lauteman sintetizaram o ácido salicílico e, em 1898, Felix Holman sintetizou o ácido acetilsalicílico (AAS) (Figura 2, Pág 4) (YUNES E CECHINEL FILHO, 2001). Assim, foi obtido o primeiro fármaco sintético a partir da otimização de um produto natural.

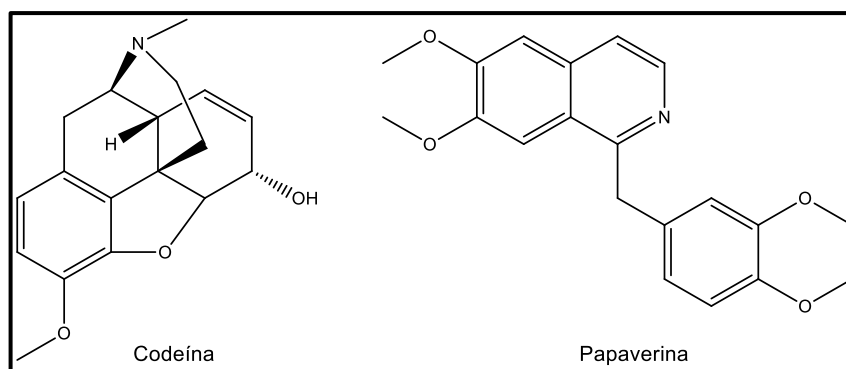


Figura 1. Alcaloides isolados de *Papaver somniferum*

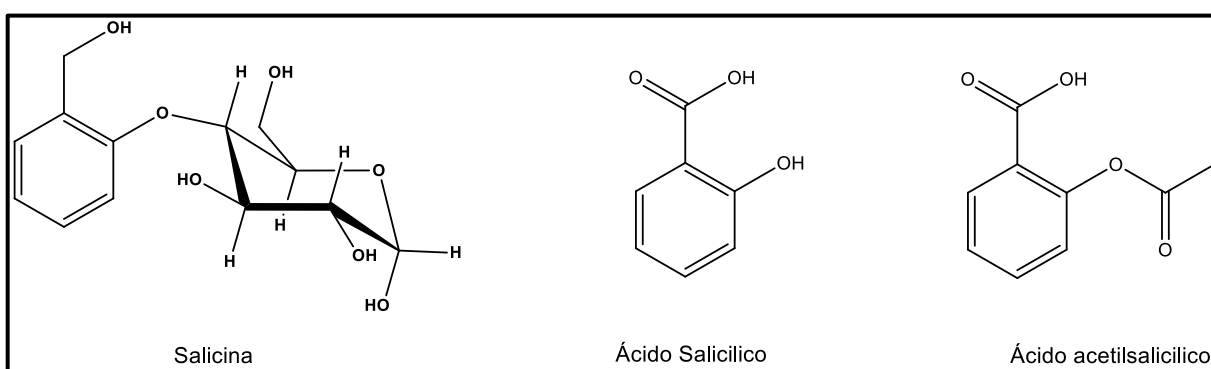


Figura 2. Estruturas químicas de alguns salicilatos utilizados no manejo da dor

As indústrias farmacêuticas produziram e desenvolveram uma variedade de antibióticos. Com a resistência bacteriana resultou na ineficiência de fármacos utilizados no combate a doenças infecciosas, causando sérios problemas de saúde pública. Por este motivo, há muitos testes antibacterianos e antifúngicos com o uso de substâncias e extratos oriundos de plantas como meio alternativo para a descoberta de novas moléculas com este potencial (ROJAS *et al.*, 2003; BOUZADA *et al.*, 2009; PACHECO *et al.*, 2010).

Recentes estudos utilizando extratos e substâncias isoladas de plantas, mostraram que estes apresentam grande potencial como antioxidante (SANTOS *et al.*, 2009; VASCONCELOS *et al.*, 2009; ALMEIDA *et al.*, 2010), antimicrobiano (SANTOS *et al.*, 2010; PACHECO *et al.*, 2010), larvicida (SANTOS *et al.*, 2009; VASCONCELOS *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2009; DAMASCENO *et al.*, 2011), leishmanicida (ALVARENGA *et al.*, 2008; DELGADO-MÉNDEZ *et al.*, 2008), tripanomicida (LIAO *et al.*, 2008), anti-inflamatório (SOSA *et al.*, 2007) e antitumoral (CHÁVEZ *et al.*, 1999; RUFINO *et al.*, 2009; VAZDEKIS *et al.*, 2009; DE ALMEIDA *et al.*, 2010).

Vários derivados de produtos naturais encontram-se em estudos clínicos ou pré-clínicos. O antiviral bevirimat (Figura 3), um análogo do triterpeno pentacíclico ácido betulínico (Figura 3), apresentou bons resultados nos estudos clínicos de fase IIa e IIb (LEE, 2010). Kashiwada e colaboradores (1996) isolaram o ácido betulínico de *Syzygium claviflorum* observaram a atividade anti-HIV do composto. A partir daí foram obtidos vários análogos e realizados estudos da relação estrutura atividade (QIAN *et al.*, 2010), o bevirimat apresentou potente atividade contra o vírus HIV-1 e foi o primeiro composto da classe de inibidores da maturação do vírus HIV.

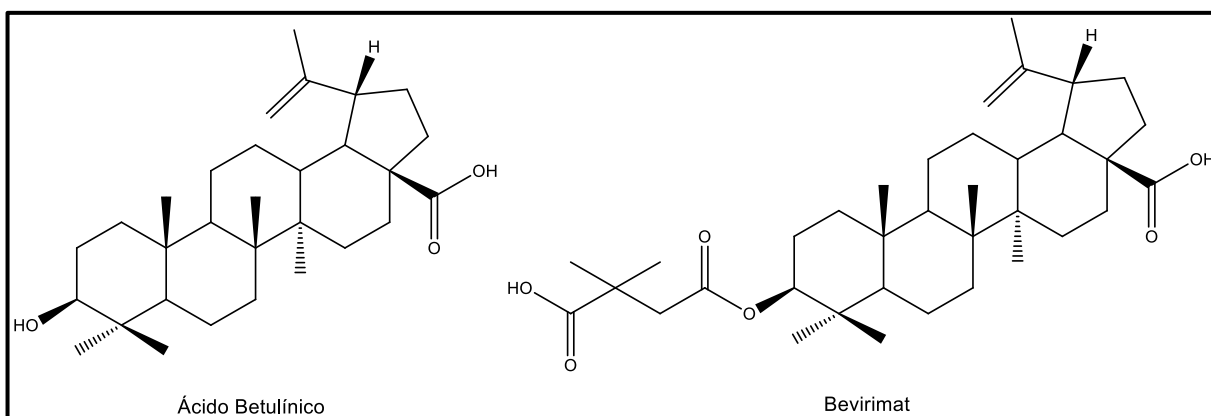


Figura 3. Estrutura do ácido betulínico e do Bevirimat

Os terpenos constituem o grupo mais numeroso de metabólitos secundários, com mais de 40.000 moléculas diferentes (GARCÍA, CARRIL, 2009), com função de defesa da planta ou atração de organismos benéficos (THOLL, LEE, 2011).

Dentre os terpenóides, os triterpenos pentacíclicos (TTPC) são metabólitos secundários encontrados em maior abundância em plantas da família Celastraceae e neste contexto temos com enfoque estudar a espécie *Maytenus distichophylla*.

FUNDAMENTAÇÃO
TEÓRICA

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Considerações sobre a família Celastraceae

A família Celastraceae é pantropical e distribui-se nas regiões tropical e subtropical, incluindo no norte da África, América do Sul e Ásia (Figura 5, Pág 7), particularmente na China (SPIVEY *et al.*, 2002; DUARTE *et al.*, 2010). É constituída por 98 gêneros e aproximadamente 1200 espécies (SIMMONS *et al.*, 2008), sendo que, no Brasil, essa família é representada por quatro gêneros: *Maytenus* Juss., *Austroplenckia* Lund., *Franhofera* Mart. e *Salacia* Mart. (OLIVEIRA *et al.*, 2006a). Além dos atributos medicinais, plantas dessa família apresentam características ornamentais em função da semelhança de suas folhas e frutos com o “azevinho”, utilizado em decorações de natal no hemisfério norte tendo, por essa razão, sido introduzida no paisagismo (SILVA, 2007).

As plantas dessa família se apresentam como árvores ou arbustos, armados ou inermes, com folhas simples, alternas ou opostas, com ou sem estípulas. Flores, geralmente, pequenas, ordenadas em inflorescências axilares racemosas ou cimosas. Flores andróginas ou unissexuadas por aborto, com pétalas imbricadas, livres entre si. Quatro a cinco estames; epissépalos, dispostos nos bordos ou sob os bordos de um disco carnosos; anteras rimosas. Ovário súpero, formado de dois a cinco carpelos bi ou pentalocular, assentado sobre o disco ou envolvido por ele; cada lóculo do ovário, com um a dois óvulos, raramente mais, com intertegumentos. Fruto capsular, drupáceo, samaróide ou bacáceo; semente, em geral, com arilo de colorido vivo, com ou sem endosperma carnosos; embrião axial, reto, com cotilédones membranosos, brancos, lineares ou oblongos e eixo radícula-hipocórito mais ou menos curvos (BARROSO, 1984).

As primeiras pesquisas químicas sobre Celastraceae tiveram início no fim do século passado, com o isolamento de um glicosídeo cardiotônico da raiz de *Evonymus atropurpurea*, e posteriormente, em 1912, verificou-se a presença de dulcitol nestas plantas (FURLAN, 1985), (Figura 6, Pág.9)

O celastrol e a pristimerina (Figura 6, Pág.9) foram isoladas de *Celastrus scandens* em 1939 e *Pristimera indica*, respectivamente, apresentam coloração avermelhada e com acentuadas propriedades antitumorais e antineoplásicas (LIMA *et al.*, 2006).

As principais classes de substâncias isolados são triterpenos (RAVELO *et al.*, 2008; DE SOUSA *et al.*, 2008) sesquiterpenos (RAVELO *et al.*, 2008; BAZZOCCHI *et al.*, 2008), alcaloides (DE SOUSA *et al.*, 2008), flavonoides (DE SOUSA *et al.*, 2008) e esteroides glicosilados (DUARTE, *et al.*, 2010). Dentre essas classes, os triterpenos pentacíclicos são os mais abundantes, dentre os quais destacam-se: friedelanos, oleananos, ursanos e lupanos. Vários triterpenos pentacíclicos e seus derivados foram relatados na literatura por apresentarem atividade biológica. Atividades anti-inflamatória, analgésica e antipirética foram atribuídas ao 3-oxo-friedelano (friedelina) (ANTONISAMY *et al.*, 2011). O ursano α -amirina apresentou atividade bactericida (ABREU *et al.*, 2011) e atividades urolítica, atividade antioxidante, anti-inflamatória, hepatoprotetora e antilipêmica foram observadas para o lupeol (SUDHAHAR *et al.*, 2008), (Figura 4, Pág, 7).

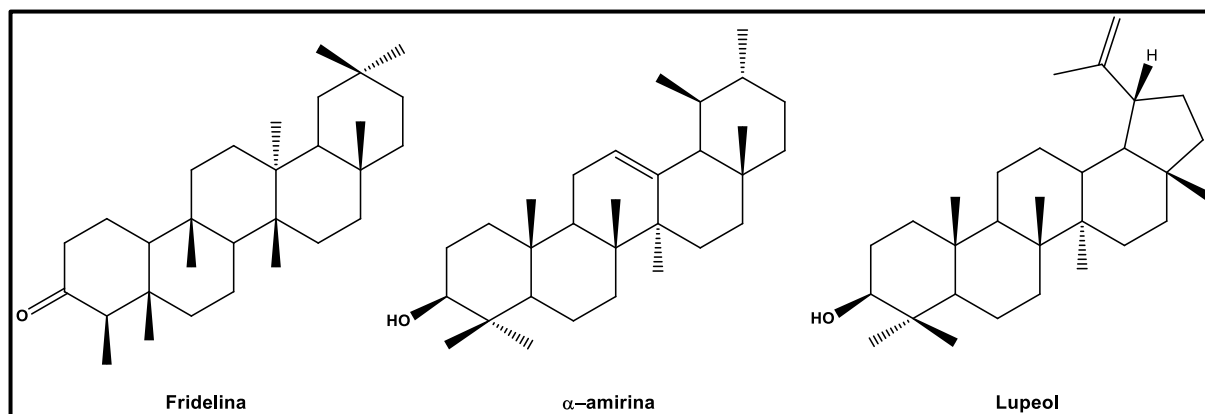


Figura 4. Alguns triterpenos pentacíclicos biologicamente ativos.

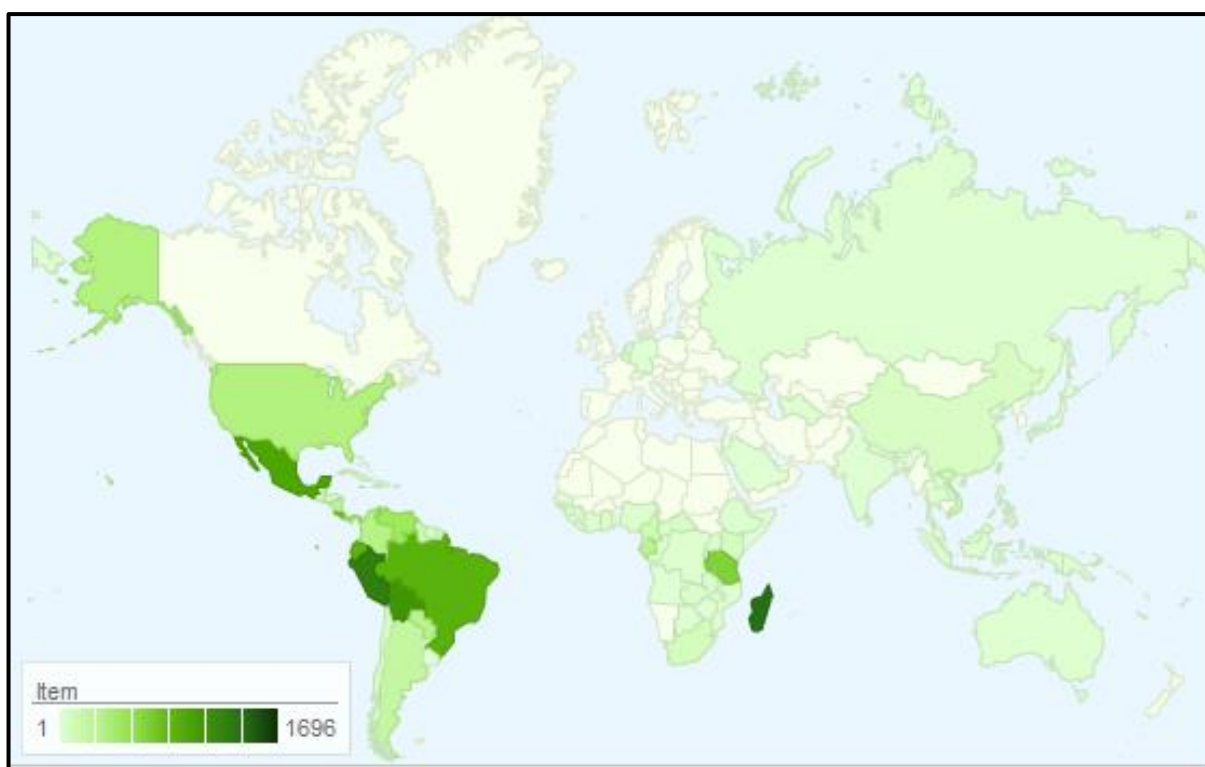


Figura 5. Mapa de distribuição da família Celastraceae representada em verde (<http://www.tropicos.org/Name/maps>).

A família também apresentou diterpenos do tipo labdano glicosilados (KOYAMA et al. 2010). Há sesquiterpenos do tipo agarofuranos nesta família com atividade inseticidas, anticarcinogenicos, atividade imunossupressiva, anti-HIV, (SPIVEY, WESTON, AND WOODHEAD, et al 2002). Outros sesquiterpenos agarofuranos apresentaram atividades anti-inflamatória e citotóxicas (CARROLL, et al 2009) (Figura 7, Pág.9).

Trabalhos realizados com raízes de *Maytenus vitisidaea* levaram ao isolamento de vários TTPC, como 15 α -hidroxitingenona e tingenona. Pela comprovada ação citotóxica da tingenona, 15 α -hidroxitingenona foi testada e apresentou também atividade antitumoral frente a células tumorais humanas (DE ALMEIDA et al., 2010).

O conhecimento aprofundado da família Celastraceae, através de estudos integrados nas áreas de botânica, química, farmacologia e outras ciências afins é de grande importância para dar suporte e longevidade ao uso de espécies vegetais desta família, ao considerar sua grande riqueza metabólica e a possibilidade de desenvolvimento de novos fármacos.

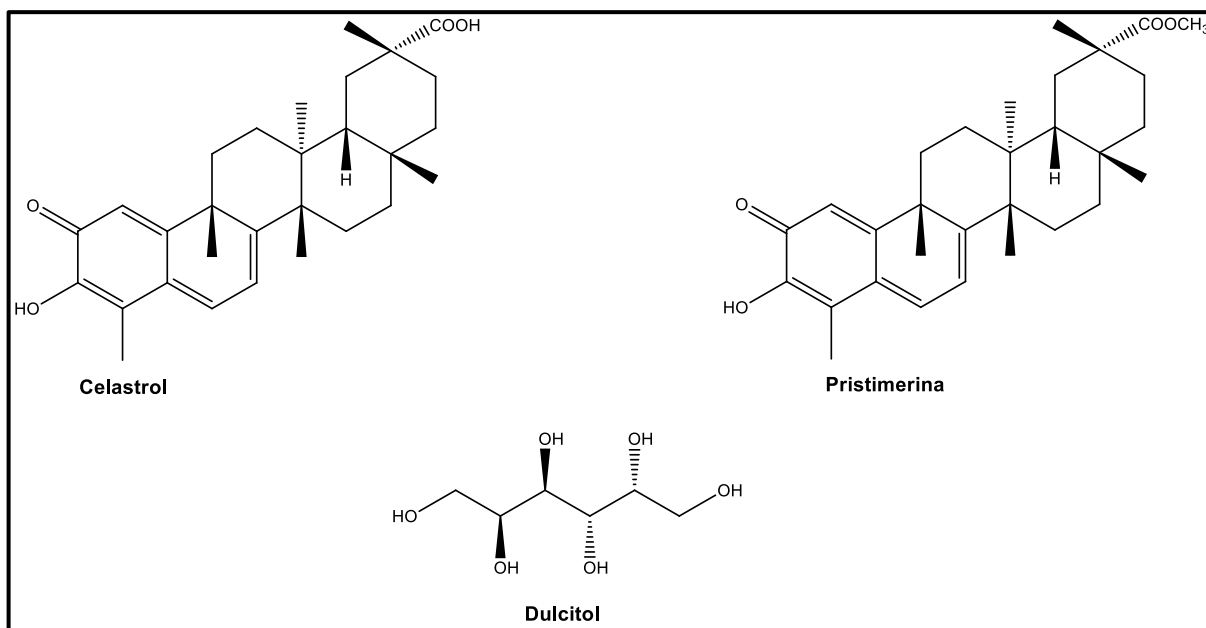


Figura 6. Primeiras substâncias isoladas de plantas da família Celastraceae

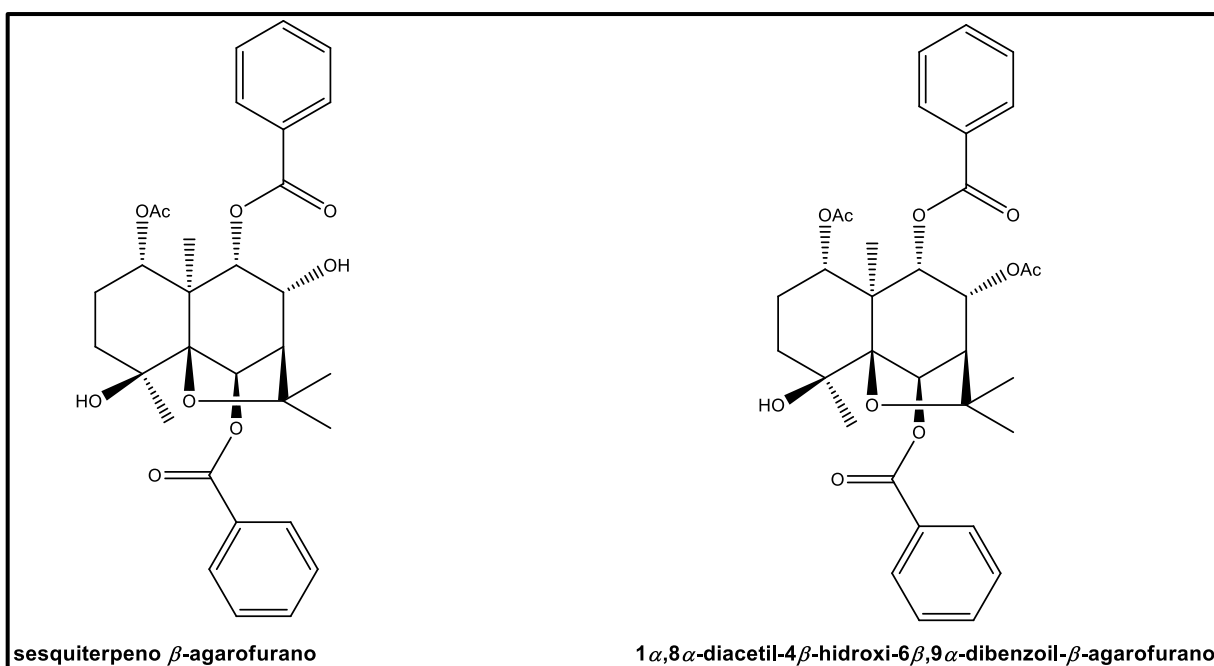


Figura 7. Sesquiterpenos agarofuranos isolados da família Celastraceae

2.2 Considerações sobre o gênero *Maytenus*

O gênero *Maytenus* é um dos maiores da família Celastraceae (SANTOS *et al.*, 2007) e, no Brasil, são reconhecidas 76 espécies de *Maytenus* (NIERO *et al.*, 2011).

As espécies *Maytenus ilicifolia*, Martius ex Reiss e *M. aquifolium* Mart. constituem exemplos de plantas da família Celastraceae que são amplamente utilizadas na medicina popular brasileira. São ingeridas na forma de infusão aquosa para o tratamento de úlcera gástrica e outras afecções intestinais (OLIVEIRA, 2004). As cascas de *Maytenus rigida* são utilizadas para o tratamento de inflamação, úlcera e diarreia (SANTOS *et al.*, 2007).

Os gêneros mais conhecidos desta família são: *Trypterium*, *Maytenus*, *Evonymus* e *Celastrus*. Esse gênero possui muitas substâncias bioativas características, como triterpenos diméricos (atividade citotóxica), sesquiterpenos alcaloides piridínicos (ação imunossupressiva e repelentes para insetos), sesquiterpenos poliésteres (propriedade antitumoral), flavonoides (atividade antioxidante), além de maytansinóides e triterpenoquinonas (atividade antileucêmica e antitumoral) (GONZÁLEZ, 1996; SOUZA-FORMIGONI *et al.*, 1991; SHIROTA *et al.*, 1994; MADRIGAL *et al.*, 1985). Várias espécies de *Maytenus* são utilizadas na medicina popular contra úlceras estomacais (OLIVEIRA, 2004). O exemplo mais clássico é a utilização do extrato seco de folhas de *M. ilicifolia* (espinheira santa) empregado na produção de um fitoterápico utilizado como protetor gástrico. Existem estudos que sugerem o uso de *M. robusta* em substituição à *M. ilicifolia* que encontra-se em estágio de extinção devido ao uso indiscriminado no Brasil (DE ANDRADE *et al.*, 2007).

Morita e colaboradores (2008) em seus estudos com cascas das raízes de *Maytenus chuchuhuasca*, isolaram quatro triterpenos quinonametídeos, pristimerina (Figura 8, Pág, 11), tingenona, 22 β -hidroxitingenona e celastrol, e dois triterpenos aromáticos, 6-oxo-pristimerol e 3-metil-6-oxo-tingenol. Os quinonametídeos apresentaram inibição da proteína tubulina na mitose celular, podendo sugerir atividade citotóxica e antitumoral.

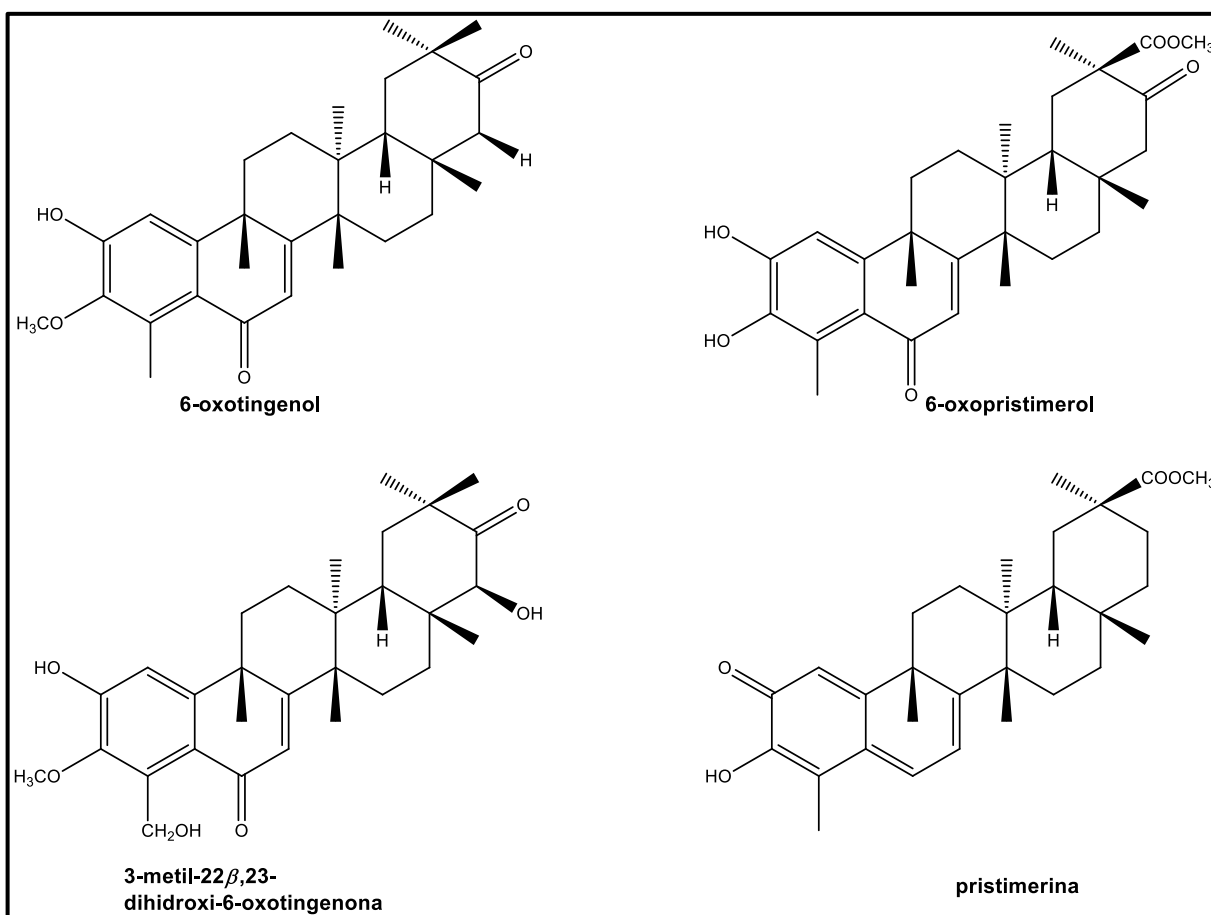


Figura 8. Alguns triterpenos pentacíclicos isolados de espécies de *Maytenus*

2.3 Considerações sobre a espécie *Maytenus distichophylla* Mart. ex Reissek

M. distichophylla (Figura 9, pág. 12) é uma espécie utilizada na medicina popular para o tratamento de úlceras estomacais e é bem adaptada ao semi-árido nordestino do Brasil. A espécie é conhecida popularmente como espinheira santa e, morfologicamente, é uma árvore de médio porte, a espécie apresenta de 6 a 12 m de altura e devido ao seu porte, tem tido utilização ornamental e, pelo interesse pela fauna, é também recomendada para a composição de reflorestamentos heterogêneos destinados ao repovoamento de áreas degradadas. Dados da literatura relatam que não há estudo fitoquímico com essa espécie, dessa forma nesse trabalho estudaremos a espécie com ênfase no isolamento de substâncias.



Figura 9. Fotos de *Maytenus distichophylla* em seu hábitat natural. (Fonte: Tavares, J. F)

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Contribuir com o conhecimento químico de plantas do Nordeste Brasileiro através do isolamento e identificação dos constituintes químicos das folhas e raízes de *Maytenus distichophylla* Mart. ex Reissek da família Celastraceae.

3.2. Específicos

- Isolar os constituintes químicos das folhas e raízes de *Maytenus distichophylla* através de métodos fitoquímicos;
- Identificar e/ou elucidar constituintes químicos das folhas e raízes de *Maytenus distichophylla*;
- Contribuir com a ampliação do conhecimento químico do gênero *Maytenus* através da caracterização de novas moléculas.

METODOLOGIA

4 EXPERIMENTAL:

4.1 Materiais e Equipamentos Utilizados

a) Cromatografias de adsorção em colunas foram realizadas em colunas de vidro de comprimentos e diâmetros variados, utilizando como adsorvente sílica gel da Merck, 7734, com partículas 0,063-0,200 mm de diâmetros;

b) Cromatografias em Camada Delgada Analítica e Preparativa (CCDA e CCDP) foram preparadas com sílica gel 60 PF₂₅₄ artigo 7749, Merck, suspensa em água destilada (1:2), espalhada sobre placas de vidro por meio de um cursor “Quick fit” que conferia a camada espessuras de 0,25 e 1,00 mm, respectivamente. As cromatoplas obtidas eram secas ao ar livre e, em seguida, ativadas em estufa a 110 °C durante duas horas;

c) As revelações das cromatoplas foram realizadas por exposição a luz ultravioleta, por meio do aparelho Mineralight, modelo UVGL-58 com dois comprimentos de onda (254 e 366 nm), para os dois tipos de cromatografia quando as substâncias apresentaram cromóforos, e reveladas com vapores de iodo em uma câmara saturada;

d) Os espectros de absorção na região de infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro, VARIAN e BUCHI 100MB, na faixa de 4000 a 400 cm⁻¹, utilizando pastilhas de KBr (0,5 mg da amostra/ 100 mg de KBr);

e) Os pontos de fusão das amostras foram determinadas em aparelho digital para ponto de fusão, marca Microquímica, modelo MQAPF-302, com bloco de platina em microscópio óptico tipo “Kopfle”, marca REICHERT, modelo R3279, com temperatura que varia de 0 a 350° C. Os valores obtidos não foram corrigidos.

f) Foram usados para a identificação dos trierpenos pentacíclicos o teste de Libermann-Buchard que serve para a identificação também de esteroides.

g) Os espectros de RMN foram registrados em espectrômetros VARIAN SYSTEM, operando a 500 MHz para hidrogênio (RMN ^1H) e 125 MHz para carbono-13 (RMN ^{13}C), e VARIAN MERCURY operando a 200 MHz para hidrogênio (RMN ^1H) e 50 MHz para carbono-13 (RMN ^{13}C). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz. As multiplicidades das RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: *s* (singleto), *s/* (singleto largo), *d* (dubleto), *dd* (duplo dubleto), *t* (triplete), *tl* (triplete largo) *q* (quadruplete) e *m* (multiplete);

h) Os solventes utilizados foram hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puro ou em misturas binárias, seguindo gradiente crescente de polaridade, utilizando para análises solventes da Merck, Vetec, solventes grau HPLC e solventes deuterados.

i) O Equipamento utilizado para o desenvolvimento cromatográfico dos alcaloides sesquiterpenos pirimidínicos foi um CLAE-DAD e média pressão.

Quadro 1. Cromatógrafos e condições utilizadas nos experimentos.

Equipamento	Módulos
CLAE-DAD Marca: SHIMADZU Modelo Série 10A vp	Detector: SPD-M10A vp 2 Bombas: LC-6AD Injetor: Rheodyne Interface (Comunicação): SCL-10A vp Coluna: C18 (150 mm X 4,6 mm e 5 μm de tamanho de partícula) ShimPack - Shimadzu Fluxo: 1 mL/min Temperatura: 40 °C

I) Aparelho de Média Pressão BÜCHI Pump Manager C-615/605

4.2 Material Vegetal

4.2.1 *Maytenus distichophylla*

Maytenus distichophylla Mart. ex Reissek foi coletada no município de Maturéia, estado da Paraíba. O material botânico foi identificado pela Prof. Dra. Maria de Fátima Agra, do setor de botânica do Centro de Biotecnologia, uma exsicata da planta está depositada no herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB) da Universidade Federal da Paraíba sob número AGRA 7448.

4.3 Processamento do Material Vegetal

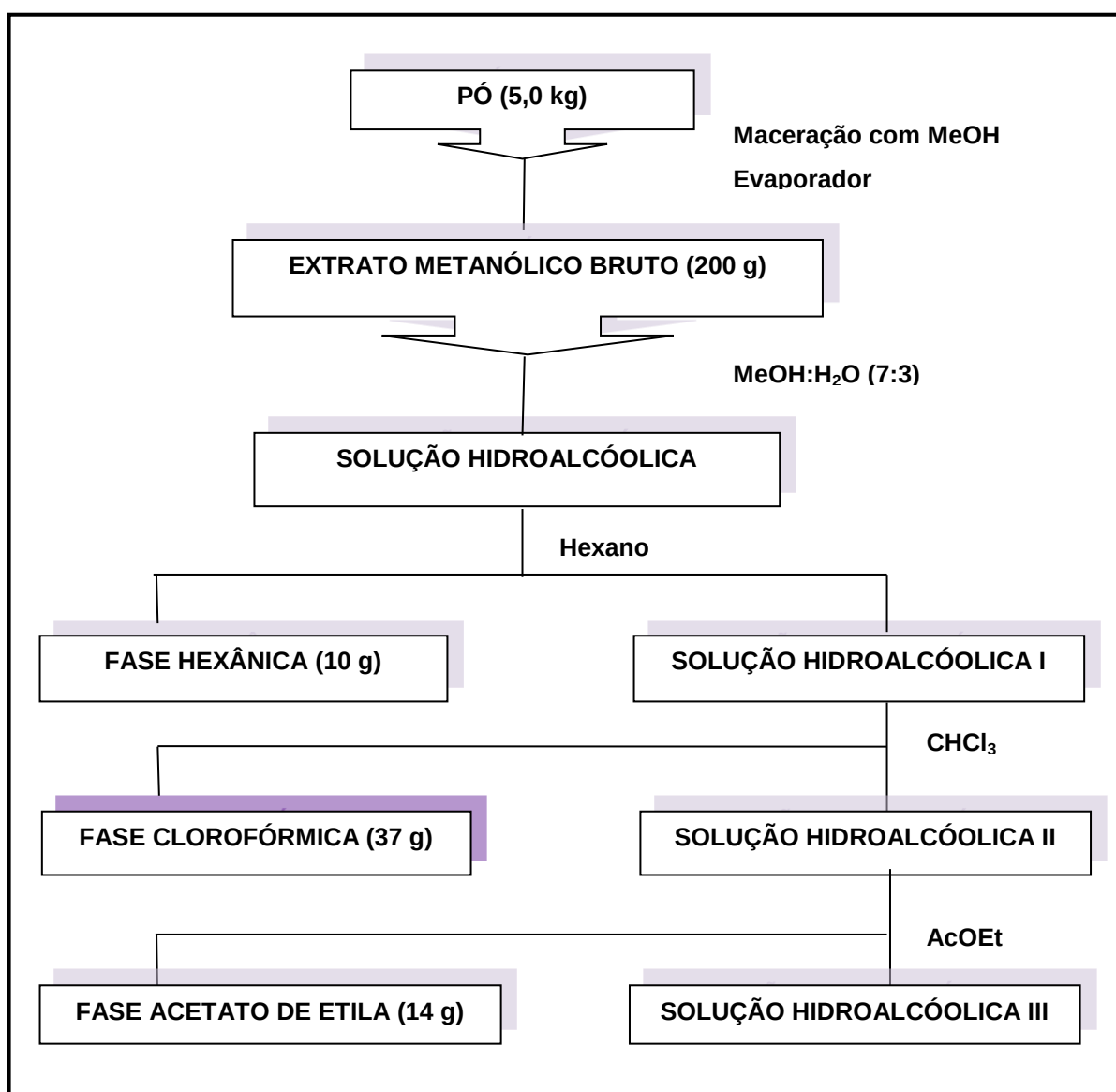
O material vegetal (5,0 Kg), das folhas e (1,0kg) das raízes foi desidratado em estufa com ar circulante à temperatura de 40 °C durante 72 horas. Após secagem, foi submetido a um processo de pulverização em moinho mecânico, obtendo-se o pó da planta.

4.3.1 Obtenção do extrato metanólico bruto das folhas de *Maytenus distichophylla* Mart. ex Reissek

O pó obtido (4 Kg) foi submetido à maceração com metanol durante 72 horas. Esse processo de maceração foi repetido três vezes, obtendo-se assim solução metanólica. Após a extração, a solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida e a uma temperatura de 40 °C obtendo-se o extrato metanólico bruto EMB (200 g).

4.3.2 Particionamento do Extrato Metanólico Bruto das folhas de *Maytenus distichophylla*. Mart. ex Reissek

Parte deste extrato (100 g) foi suspenso em metanol-água (7:3) e, em seguida, submetido a sucessivas partições líquido/líquido com solventes de diferentes polaridades, fornecendo as frações hexânica (10 g), clorofórmica (37 g) e acetato de etila (14 g), respectivamente (Esquema 1, pág. 19).



Esquema 1. Obtenção e particionamento do extrato metanólico bruto das folhas de *Maytenus distichophylla* Mart. ex Reissek.

4.3.3 Isolamento dos constituintes químicos da Fase Clorofórmica das folhas de *Maytenus distichophylla* Mart. ex Reissek.

Uma alíquota da fase clorofórmica (5,0 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica (CC) utilizando sílica gel como adsorvente e como eluentes, hexano, Acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias em grau crescente de polaridade. Foram obtidas 204 frações de 100 mL cada. (Quadro 7, pág. 20)

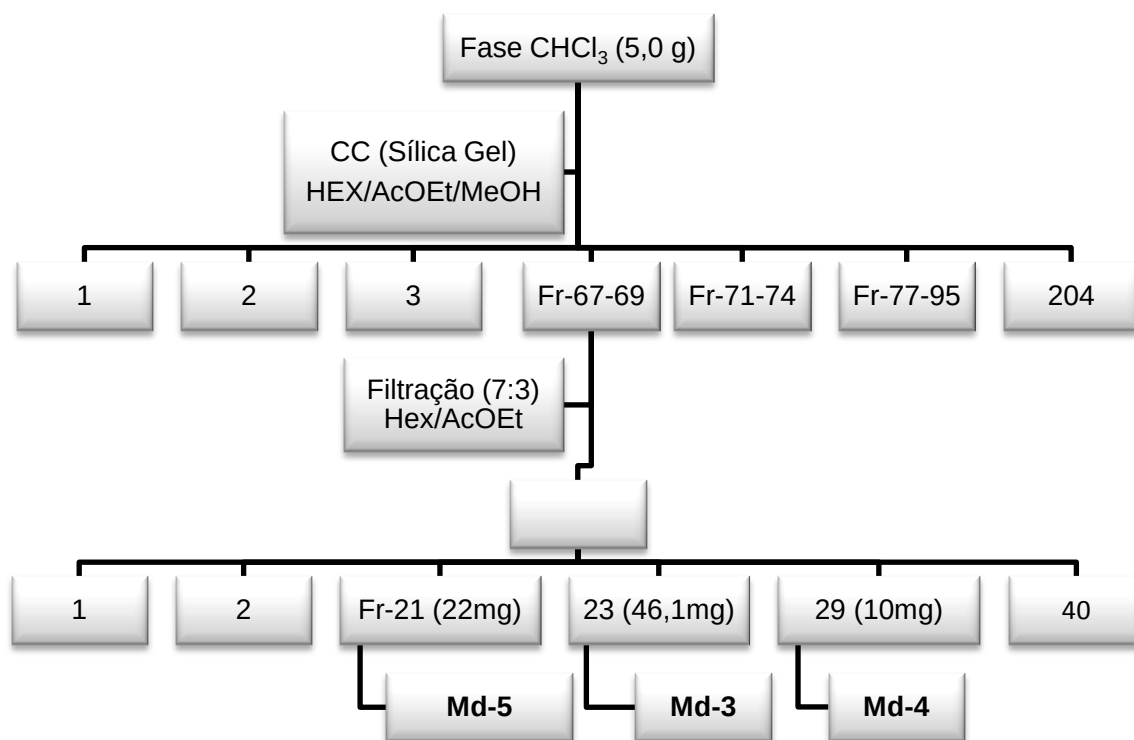
Quadro 1. Fracionamento cromatográfico da Fase Clorofórmica

Frações	Solvente	Proporção %
1-24	Hexano	100
25-56	Hexano – AcOEt	90 : 10
57-67	Hexano – AcOEt	80 : 20
68-81	Hexano – AcOEt	70 : 30
82-92	Hexano – AcOEt	60 : 40
93-103	Hexano – AcOEt	50 : 50
104-113	Hexano – AcOEt	40 : 60
114-124	Hexano – AcOEt	30 : 70
125-140	Hexano – AcOEt	20 : 80
141-153	Hexano – AcOEt	10 : 90
154-167	AcOEt	100
168-174	AcOEt – MeOH	90 : 10
175-183	AcOEt – MeOH	80 : 20
184-204	AcOEt – MeOH	70 : 30

A fração reunida após CCDA 67-69 (82,3 mg) e em seguida filtrada utilizando-se como adsorvente sílica Gel, e os solventes utilizados, hexano e acetato de etila como eluentes puros ou em misturas binárias em grau crescente de polaridade. O filtrado obtido com 30% de Hexano/Acetato de etila foi recromatografado em sílica gel obtendo-se 40 frações, essas frações que foram monitoradas por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA), eluídas novamente em hexano e acetato de etila, reveladas de acordo com as substâncias que possui cromóforos em câmara saturada com vapores de iodo e lâmpada ultravioleta e reunidas de acordo com os seus respectivos Fatores de retenção (R_fs). As frações 21, 23 e a reunião 25-29 foram analisadas em CCDA foram submetidas à Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono treze (RMN ^1H e ^{13}C) e codificadas como Md-3, Md-4 e Md-5.

A fração 21 foi reunida após CCDA (22 mg) apresentou-se na forma de cristais brancos, após submissão a recristalização com acetona. Após recristalização a amostra foi submetida à Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono treze (RMN ^1H e ^{13}C) e foi codificada como Md-5. A fração 23 (46,1 mg) apresentou-se na forma de cristais brancos, após recristalização com acetona a amostra foi submetida à Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono treze (RMN ^1H e ^{13}C) e codificada como Md-3.

A fração f25-29 (10 mg) apresentou na forma de cristais brancos com ponto de fusão 146,9–147,4°C e foi submetida a Ressonância Magnética Nuclear e foi codificada como Md-4 (Esquema 2, Pág. 22).



Esquema 2. Processo cromatográfico da Fase Clorofórmica e Isolamento de seus constituintes químicos.

4.3.4 Isolamento dos constituintes químicos da Fase Acetato de Etila das folhas de *Maytenus distichophylla* Mart. ex Reissek.

A Fase acetato de etila (14,0g) foi submetida a uma coluna cromatográfica (CC) utilizando sílica gel como adsorvente e como fase móvel, hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias em grau crescente de polaridade. Foram obtidas 217 frações de 100 mL cada. (Quadro 2, Pág. 23).

Quadro 2. Fracionamento cromatográfico da Fase Acetato de Etila

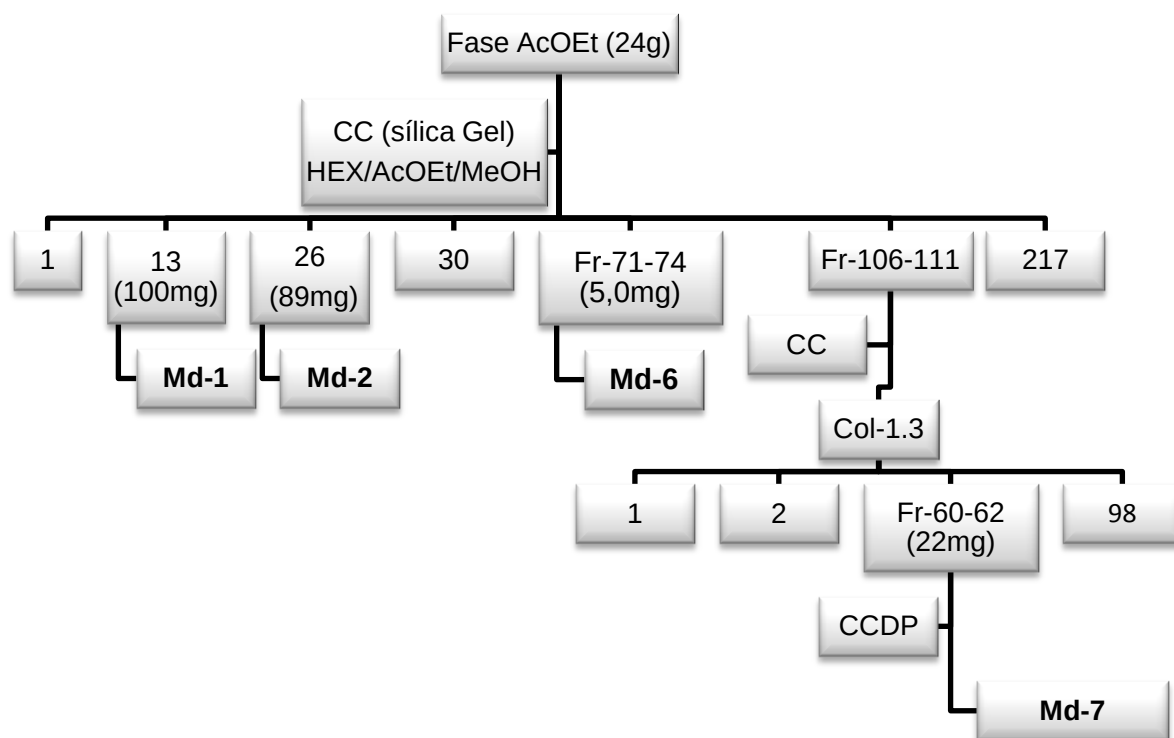
Frações	Solvente	Proporção%
1-8	Hexano	100
9-38	Hexano – AcOEt	90 : 10
39-62	Hexano – AcOEt	80 : 20
63-74	Hexano – AcOEt	70 : 30
75-101	Hexano – AcOEt	60 : 40
102-112	Hexano – AcOEt	50 : 50
113-121	Hexano – AcOEt	40 : 60
122-134	Hexano – AcOEt	30 : 70
135-145	Hexano – AcOEt	20 : 80
146-160	Hexano – AcOEt	10 : 90
161-169	AcOEt	100
170-190	AcOEt – MeOH	90 : 10
191-204	AcOEt – MeOH	80 : 20
205-216	AcOEt – MeOH	70 : 30

A fração 13 (100,0 mg), apresentou-se na forma de cristais brancos ponto de fusão 271-273 °C, após recristalização com acetona, a amostra foi submetida à Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono treze (RMN ^1H e ^{13}C) e foi codificada como Md-1.

A fração 26 (89,0 mg) apresentou-se na forma de cristais brancos com ponto de fusão 251-252 °C, após cristalização com acetona, a amostra foi caracterizada em Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono treze (RMN ^1H e ^{13}C) e foi codificada como Md-2

A fração 106-111 (22,0 mg) apresentou-se na forma de cristais brancos, submetida a uma cromatografia de camada delgada preparativa (CCDA) e recristalização com acetona. Após recristalização a amostra foi submetida à Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono treze (RMN ^1H e ^{13}C) e foi codificada como Md-7.

A fração 71-74 (5,0 mg) apresentou-se na forma de cristais brancos, submetida a recristalização. Após recristalização a amostra foi submetida à Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono treze (RMN ^1H e ^{13}C) e foi codificada como Md-6



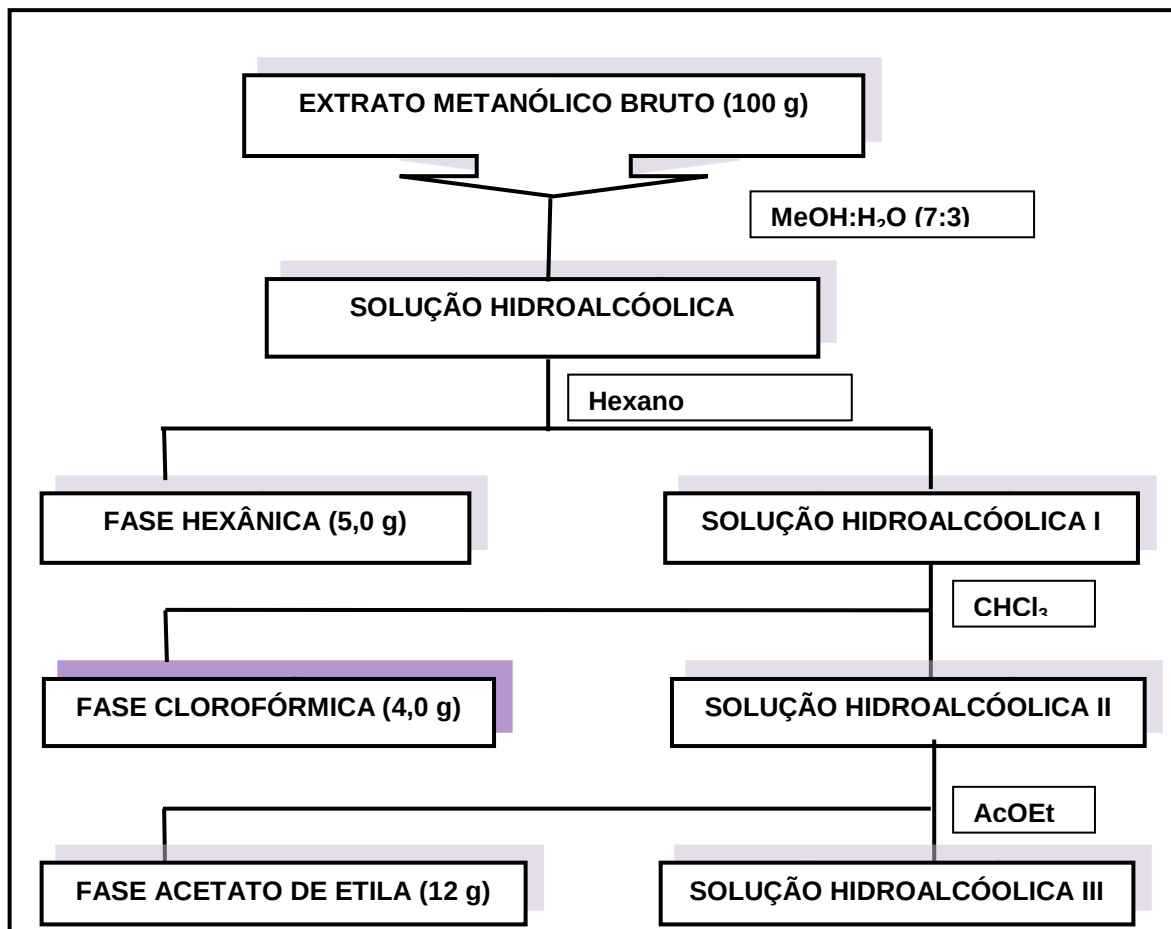
Esquema 3. Processo cromatográfico da Fase Acetato de Etila e Isolamento de seus constituintes químicos.

4.3.5 Obtenção do extrato metanólico bruto das Raízes de *Maytenus distichophylla* Mart. ex Reissek.

O pó obtido (1,0 Kg) foi submetido à maceração exaustiva com metanol durante 72 horas. Esse processo de maceração foi repetido três vezes, obtendo-se a solução metanólica que foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida e a uma temperatura de 40 °C obtendo-se o extrato metanólico bruto EMB (400 g).

4.3.6 Particionamento do Extrato Metanólico Bruto das Raízes de *Maytenus distichophylla*.

Parte deste extrato (100 g) foi suspenso em metanol-água (7:3) e, em seguida, submetido a sucessivas partições líquido/líquido com solventes de diferentes polaridades, fornecendo as frações hexânica (5,0 g), clorofórmica (4,0 g) e acetato de etila (12,0 g), respectivamente (Esquema 4, Pág. 26).

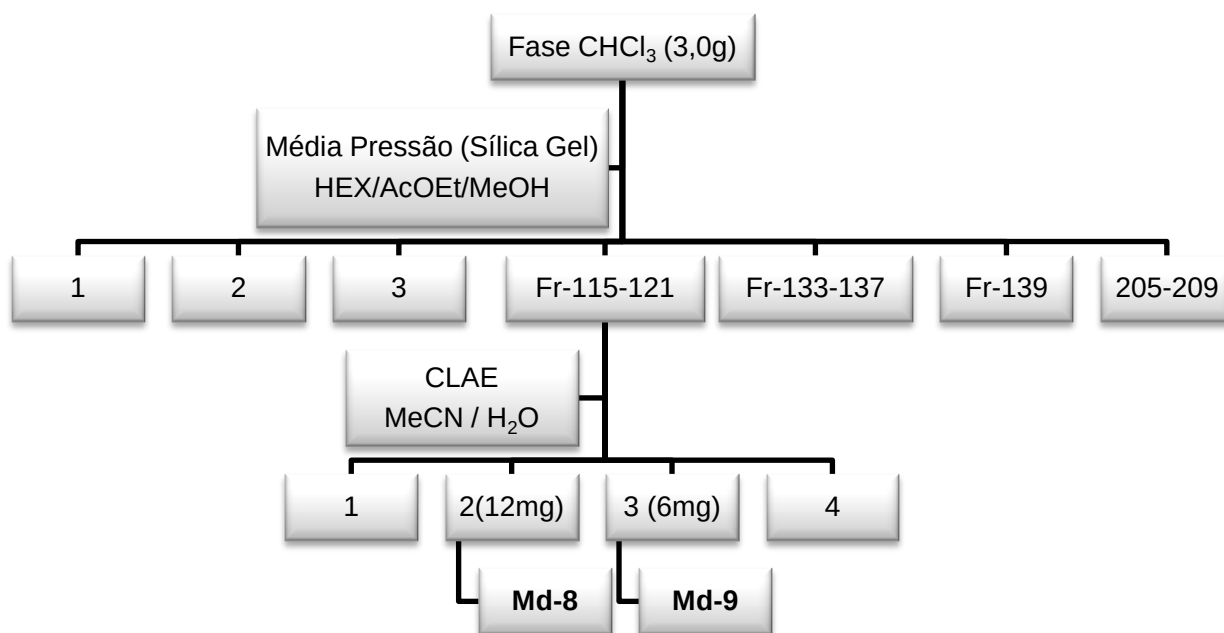


Esquema 4 - Obtenção e particionamento do extrato metanólico bruto das Raízes de *Maytenus distichophylla*

4.3.7 Isolamento dos constituintes químicos da Fase cloroformica das Raízes de *Maytenus distichophylla* Mart. ex Reissek.

Uma alíquota da Fase cloroformica (3,0 g) foi submetida a uma cromatografia de media pressão, utilizando aparelho BUCHI Pump Manager C-615/605, utilizando sílica gel como adsorvente e como eluentes, hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias em grau crescente de polaridade. Foram obtidas 209 frações de 20 mL cada e reunidos de acordo com os seu respectivos fatores de retenção (RFs).

As fração 115-121 (46,1 mg) foi submetida a uma Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) coletando-se 4 picos majoritários de forma isocrática utilizando acetonitrila / água como fase movel, onde os picos 2 e 4 foram caracterizados.



Esquema 5. Processo cromatográfico da fase clorofórmica obtido por CLAE e Isolamento de seus constituintes químicos.

4.3.8 Desenvolvimento Cromatográfico da Fração 115-121.

O pico 2 (10 mg), Md-8 e Pico-4 (6,0 mg) foi submetida a Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono treze (RMN ^1H e ^{13}C) para identificação estrutural (Esquema 5, Pág 27).

Na eluição por gradiente no CLAE-DAD foi utilizado um sistema de bombeamento a baixa pressão cuja fase móvel foi resultante da mistura binária de H_2O e MeCN. Na eluição isocrática no CLAE-DAD foi utilizado um sistema de bombeamento a baixa pressão cuja fase móvel foi resultante da mistura binária de H_2O e MeCN. As corridas analíticas foram feitas nas seguintes proporções: (48:52 | $\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$),.

As análises foram feitas em 45 min a temperatura de 40°C, fluxo de 1 mL/min em uma Coluna C:18 – ACE de 250 mm de comprimento com 4,6 mm de diâmetro interno e 5 µm de tamanho de partícula, pré-coluna C:18 com 4,6 mm de diâmetro interno e 5 µm de tamanho de partícula. Os cromatogramas por sistema de eluição isocrático de solventes, da fração 115-121 apresentou as seguintes informações: no método (48:52 | H₂O:MeCN) foram observados a presença de 15 picos sendo 4 majoritários e coletados com tempo de retenção de 4,8; 23,2; 35,6; e 47,3 min; (Figura 10, Pág. 28). Esses resultados mostraram os cromatogramas e as proporções de solventes e os sistemas de eluição que apresentou melhor resolução entre os picos foi o método (48:52 | H₂O:MeCN).

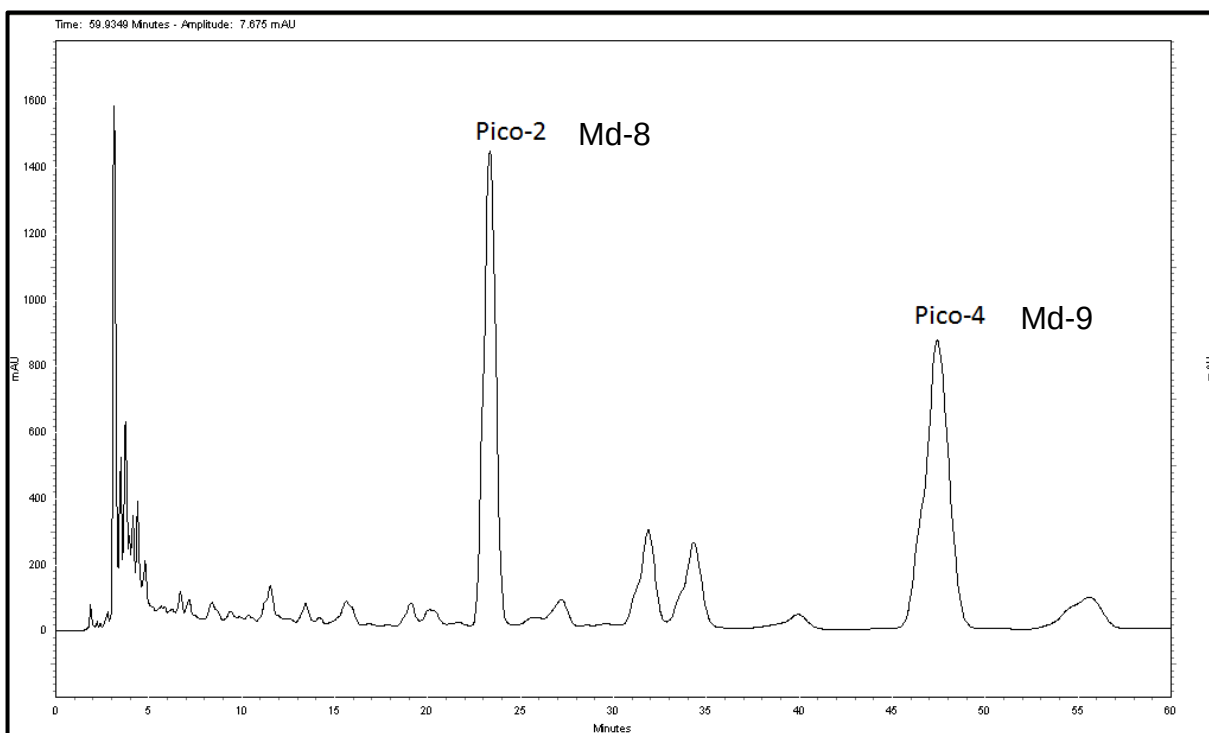


Figura 10. Cromatogramas da Fração (115-121) nas proporções de solventes (48:52 H₂O:MeCN).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Constituintes químicos isolados das folhas e de raízes de *M.distichophylla* Mart. ex Reissek.

5.1.1 Identificação estrutural de Md-1

A substância codificada como Md-1 foi isolada como cristais brancos, com ponto de fusão 271-276 °C e teste positivo para o reagente Libermann-Buchard (LB). Solúvel em clorofórmio, pesando 100,0 mg e rendimento de 0,0025%.

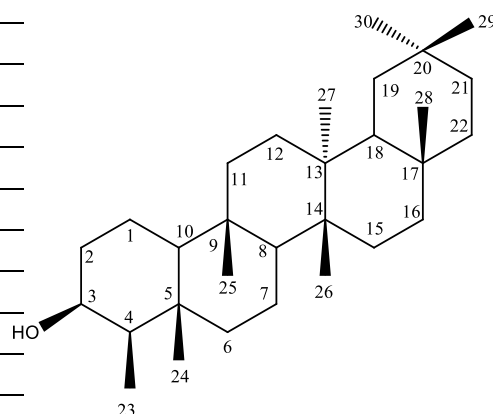
O espectro na região do IV (Figura 11, Pág. 32) de Md-1 apresentou bandas de absorção em 3.477 cm^{-1} característica de estiramento de ligação OH de hidroxila, em 2.931 cm^{-1} característica de estiramento assimétrico da ligação CH de grupos CH_2 alifáticos, em 2.866 cm^{-1} característica de estiramento simétrico da ligação CH de grupos CH_2 e CH_3 alifáticos.

O espectro de RMN de ^1H de Md-1 (Figuras 12 e 13, Págs. 32 e 33) apresentou um sinal em δ_{H} 3,71 característico de hidrogênio carbinólico. Na região entre δ_{H} 0,83 e 1,14 foi observado um envelope de hidrogênios com multiplicidades resolvidas e não resolvidas, sendo oito singletos atribuídos a grupos metilas com deslocamentos químicos compatíveis para triterpenos friedelanos (SALAZAR *et al.*, 2000).

No espectro de RMN de ^{13}C utilizando a técnica APT (Figuras 14 e 15, Pág. 33 e 34) observou-se a presença de 30 sinais. Destes, oito foram atribuídos a carbonos metílicos, onze metilênicos, cinco metínicos e seis a carbonos não hidrogenados. Os sinais em δ_{C} 49,1, 53,1, 61,3, 42,7 são característicos de carbonos metínicos C-4, C-8, C-10 e C-18, respectivamente de triterpenos friedelanos (SALAZAR *et al.*, 2000). O deslocamento químico em δ_{C} 72,7 é condizente com a inserção de hidroxila em C-3. Os dados de RMN de ^{13}C obtidos para Md-1 foram comparados com dados da literatura (SALAZAR *et al.*, 2000) e encontram-se na (Tabela 1, Pág 31). Assim pode identificar Md-1 como sendo o 3 β -hidroxi-friedelano (3 β -friedelinol). Já isolado em outras espécies de *Maytenus*, porém o primeiro relato para *M. distichophylla*.

Tabela 1: Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Md-1 com os dados da literatura para 3 β -hidroxifriedelano em CDCl_3 (SALAZAR, *et al*, 2000).

Nº	Tipo de carbono	δ_c^* de Md-1 em CDCl_3	δ_c^* (SALAZAR, 2000) em CDCl_3
1	CH_2	15,7	16,1
2	CH_2	36,0	36,1
3	CH	72,7	71,5
4	CH	49,1	49,6
5	C	38,34	38,0
6	CH_2	41,6	41,9
7	CH_2	17,5	17,6
8	CH	53,1	53,2
9	C	37,0	37,1
10	CH	61,3	61,6
11	CH_2	35,5	35,6
12	CH_2	30,6	30,6
13	C	37,8	38,3
14	C	39,6	39,6
15	CH_2	32,3	32,3
16	CH_2	35,3	35,9
17	C	30,0	30,0
18	CH	42,7	42,8
19	CH_2	35,1	35,3
20	C	28,1	28,1
21	CH_2	32,7	32,8
22	CH_2	39,2	39,2
23	CH_3	11,6	12,0
24	CH_3	16,3	16,5
25	CH_3	18,2	18,3
26	CH_3	20,1	20,1
27	CH_3	18,6	18,6
28	CH_3	32,0	32,1
29	CH_2	35,0	35,0
30	CH_3	31,7	31,8



Solvente * CDCl_3

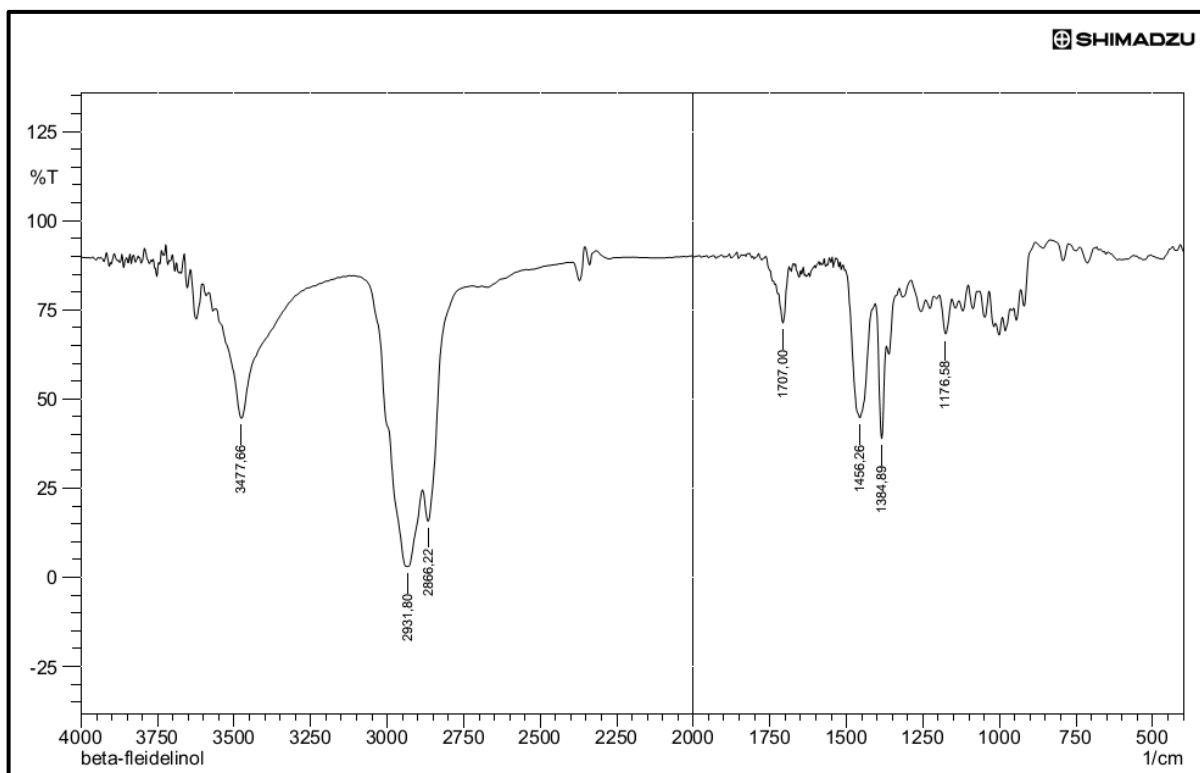


Figura 11. Espectro de IV de Md-1 em pastilha de KBr.

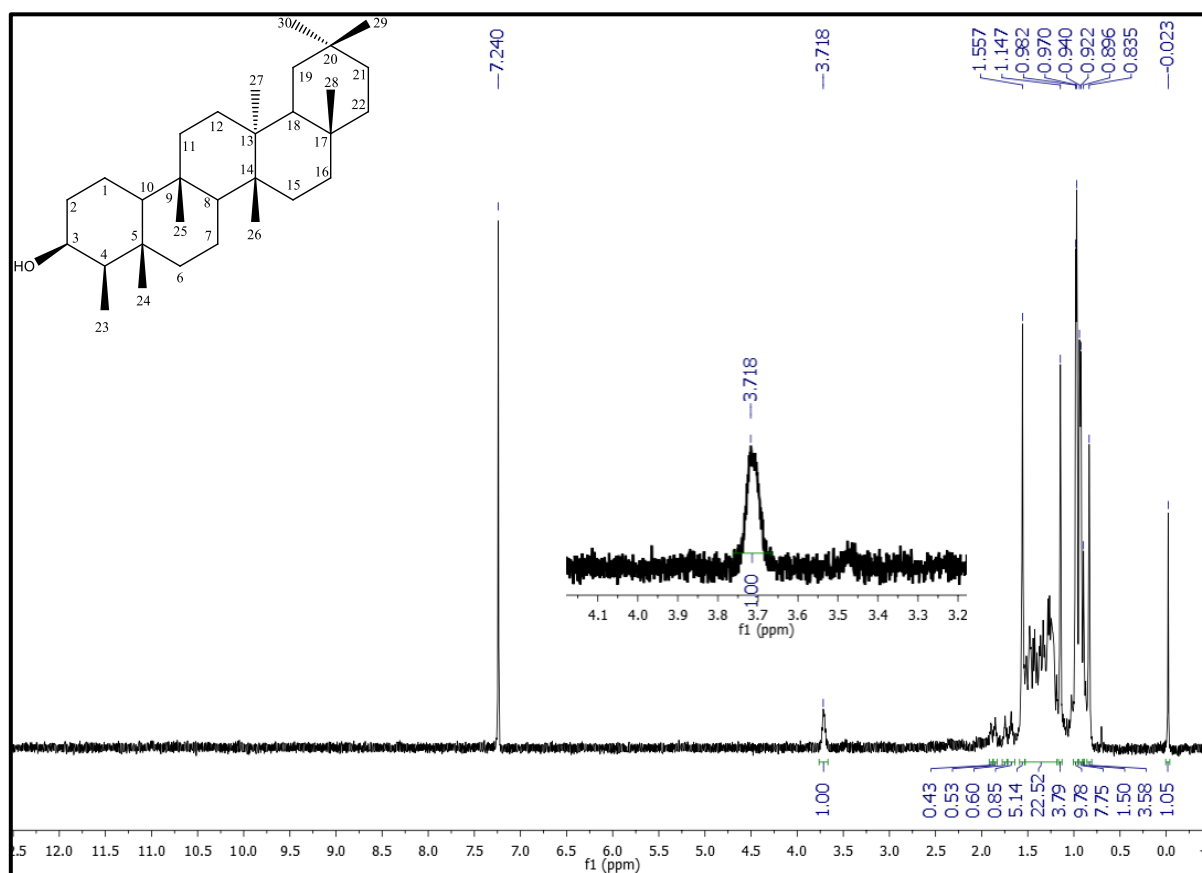


Figura 12: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de Md-1 obtido em CDCl_3

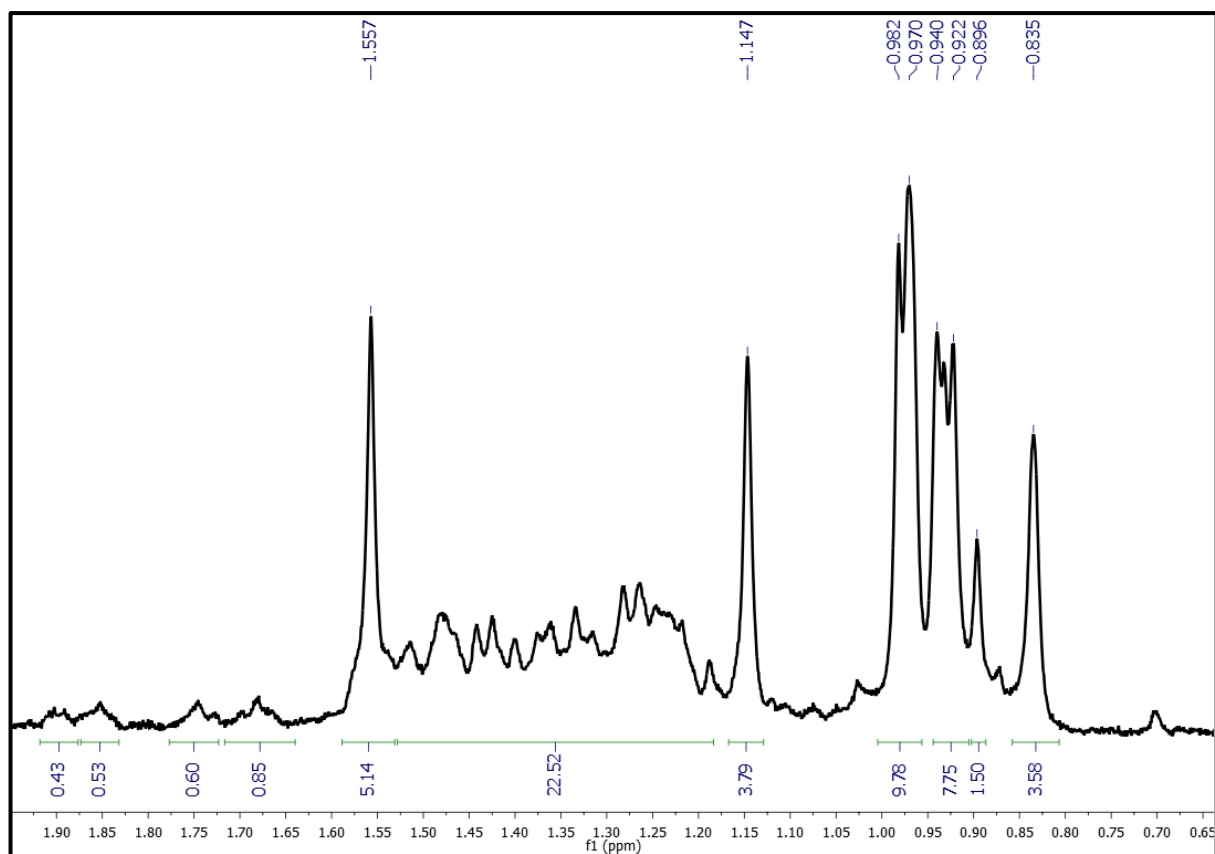


Figura 13: Expansão do espectro de RMN de ¹H (200 MHz) de Md-1 obtido em CDCl₃ na região de 1,90 a 0,70 ppm

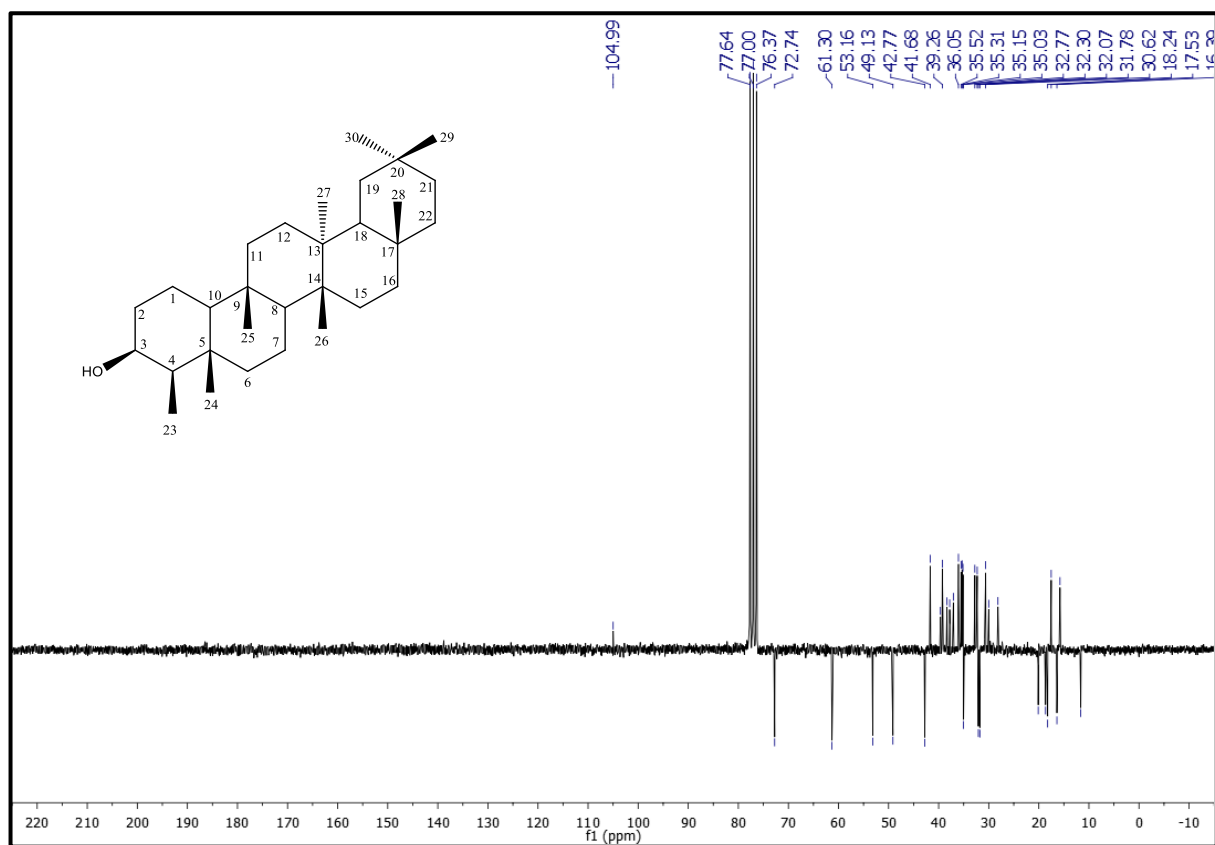


Figura 14: Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz) de Md-1 obtido em CDCl₃

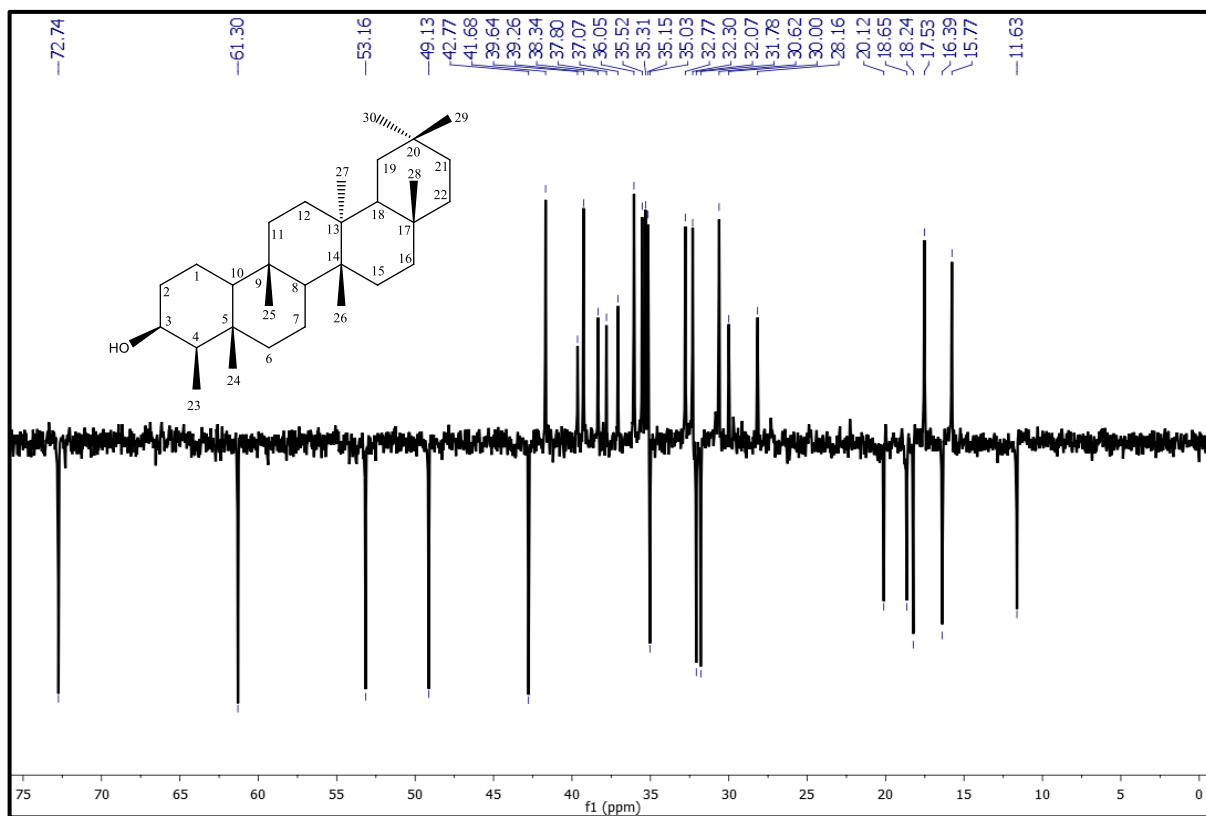


Figura 15: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) de Md-1 obtido em CDCl_3 na região de 75 a 0,0 ppm

5.1.2 Identificação estrutural de Md-2

A substância codificada como Md-2 foi isolada como cristais brancos, com ponto de fusão 251-254 °C e teste positivo para o reagente Libermann-Buchard (LB). Solúvel em clorofórmio, pesando 89,0 mg e rendimento de 0,0022%.

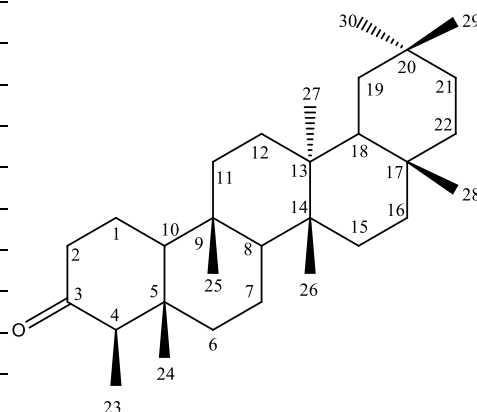
No espectro de RMN de ^1H (Figuras 16 e 17, Pág. 37) foi possível observar um envelope de hidrogênios na região de 0,69 a 2,5 ppm sendo sete singletos referentes a grupos metilas em δ_{H} 0,69, 0,86, 0,92, 0,97, 1,02, 1,15 e 1,19 e um dubleto em δ_{H} 0,84 ($J = 6,4$ Hz) sinais estes, característicos de triterpenos friedelanos (MARTINEZ *et al.*, 2011).

No espectro de RMN de ^{13}C utilizando a técnica APT (Figuras 18 e 19, Pág. 38) observou-se 30 sinais. Destes, oito foram atribuídos a átomos de carbono metílicos, onze metilênicos, quatro metínicos e sete carbonos não hidrogenados. Os sinais em δ_{C} 58,1, 53,0, 59,4, 42,7 são característicos dos carbonos metínicos C-4, C-8, C-10 e C-18, respectivamente de triterpenos friedelanos (SALAZAR *et al.*, 2000). O sinal observado em δ_{C} 213,32 juntamente com o deslocamento químico da metila em δ_{C} 6,8 infere uma carbonila em C-3. Esses sinais são condizentes com esqueleto de triterpenos friedelanos.

A comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Md-2 com dados da literatura (MARTINEZ *et al.*, 2011) permitiu identificar Md-2 como sendo o 3 oxo-friedelano, comumente conhecido como fridelina. Esse triterpeno tem ampla ocorrência no gênero *Maytenus*, porem é o primeiro relato para *M. distichophylla*.

Tabela 2: Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Md-2 com os dados da literatura para 3-oxo-friedelano (MARTINEZ *et al*, 2012).

Nº	Tipo de carbono	δ_c^* de Md-2 em CDCl_3	δ_c^* (MARTINEZ, <i>et al</i> , 2012) em CDCl_3
1	CH_2	22,2	22,3
2	CH_2	41,5	41,5
3	CH	213,3	21,3
4	CH	58,1	58,2
5	C	42,1	42,1
6	CH_2	41,2	41,3
7	CH_2	18,2	18,2
8	CH	53,0	53,1
9	C	37,4	37,4
10	CH	59,4	59,5
11	CH_2	35,0	35,0
12	CH_2	30,4	30,5
13	C	38,2	38,3
14	C	39,6	39,7
15	CH_2	32,3	32,4
16	CH_2	35,9	36,0
17	C	30,4	30,1
18	CH	42,7	42,8
19	CH_2	35,3	35,3
20	C	28,1	28,1
21	CH_2	32,7	32,7
22	CH_2	39,2	39,2
23	CH_3	6,8	6,8
24	CH_3	14,6	14,6
25	CH_3	17,9	17,9
26	CH_3	20,2	20,2
27	CH_3	18,6	18,6
28	CH_3	32,0	32,1
29	CH_2	35,0	35,0
30	CH_3	31,7	31,7



Solvente * CDCl_3

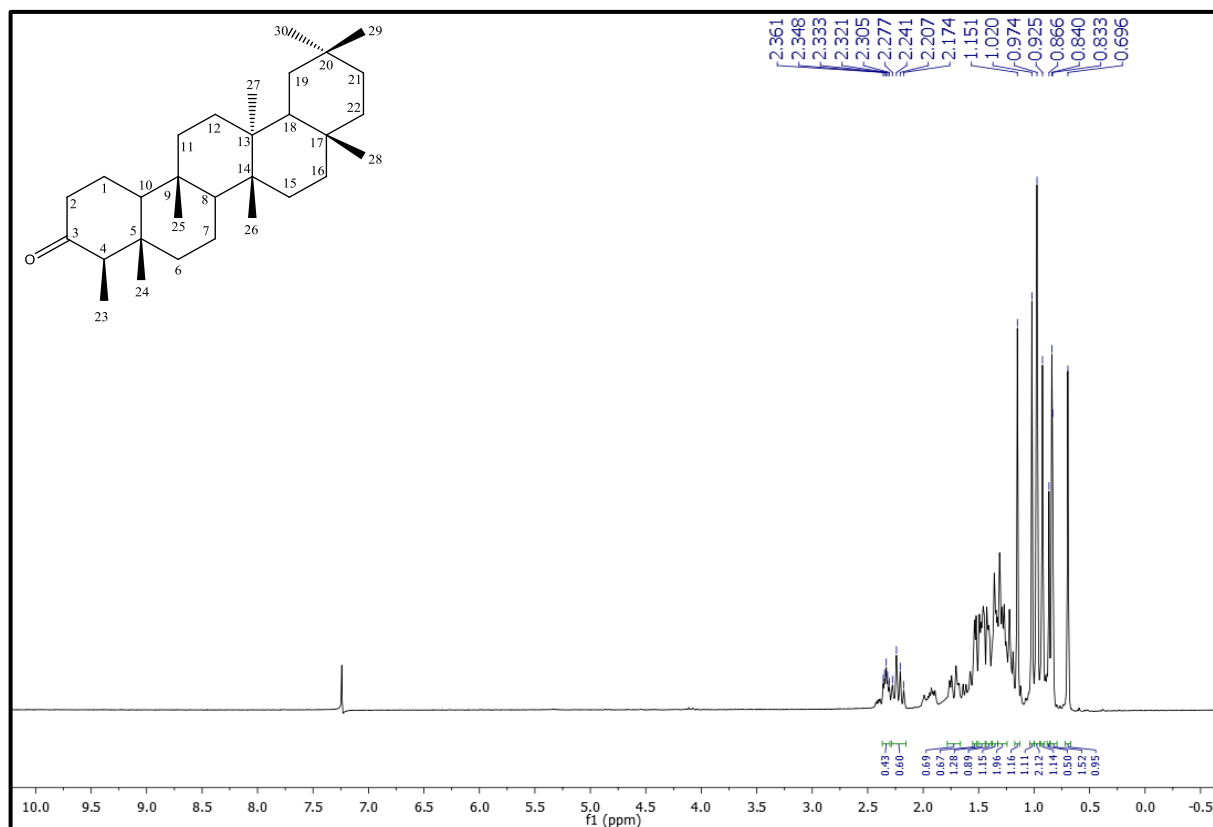


Figura 16: Espectro RMN de ^1H (200 MHz) de Md-2 obtido em CDCl_3

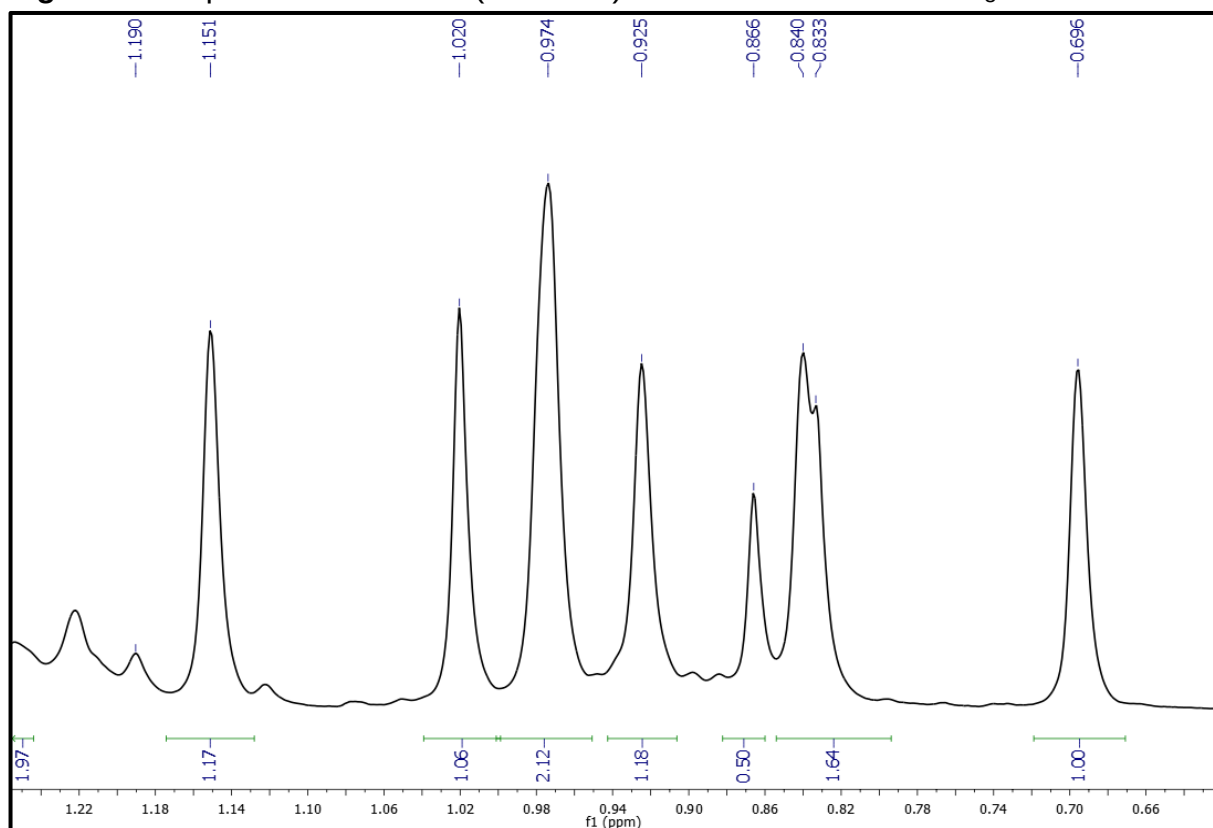


Figura 17: Expansão do espectro RMN de ^1H (200 MHz) de Md-2 obtido em CDCl_3 na região de 1,22 a 0,66 ppm

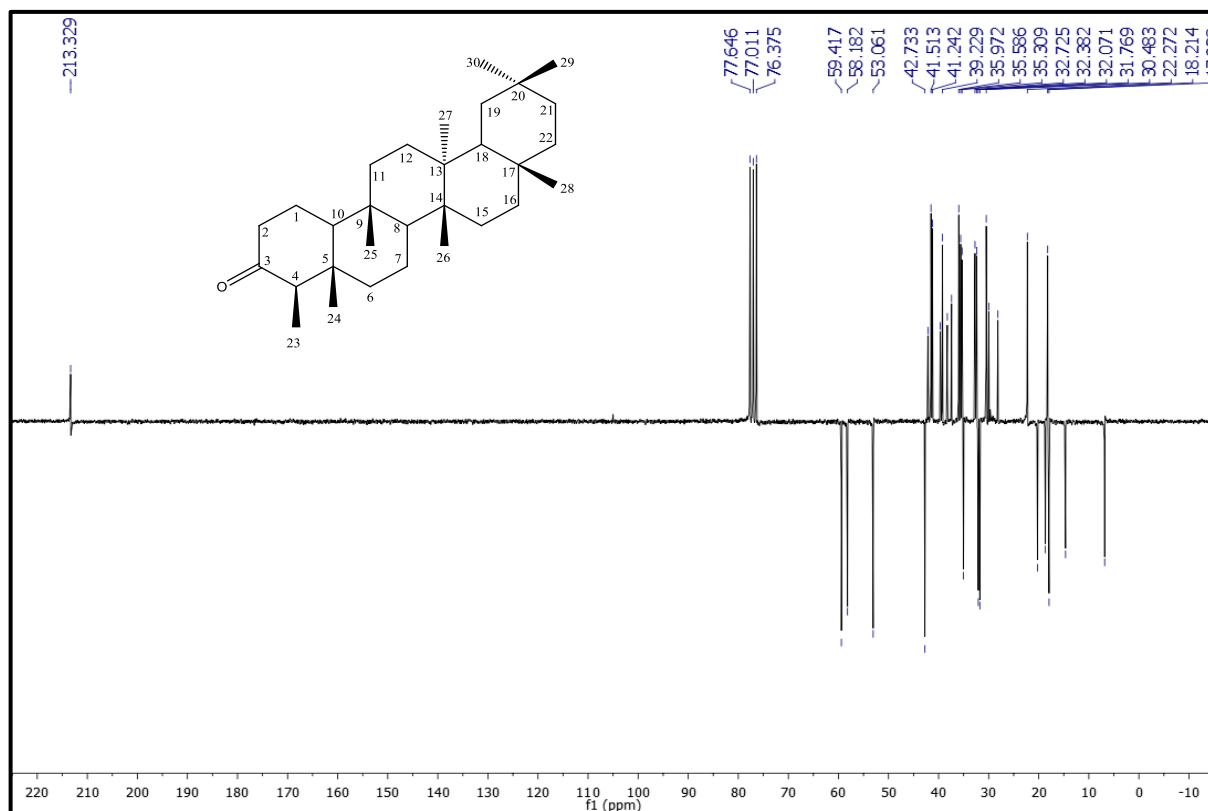


Figura 18: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) de Md-2 obtido em CDCl_3

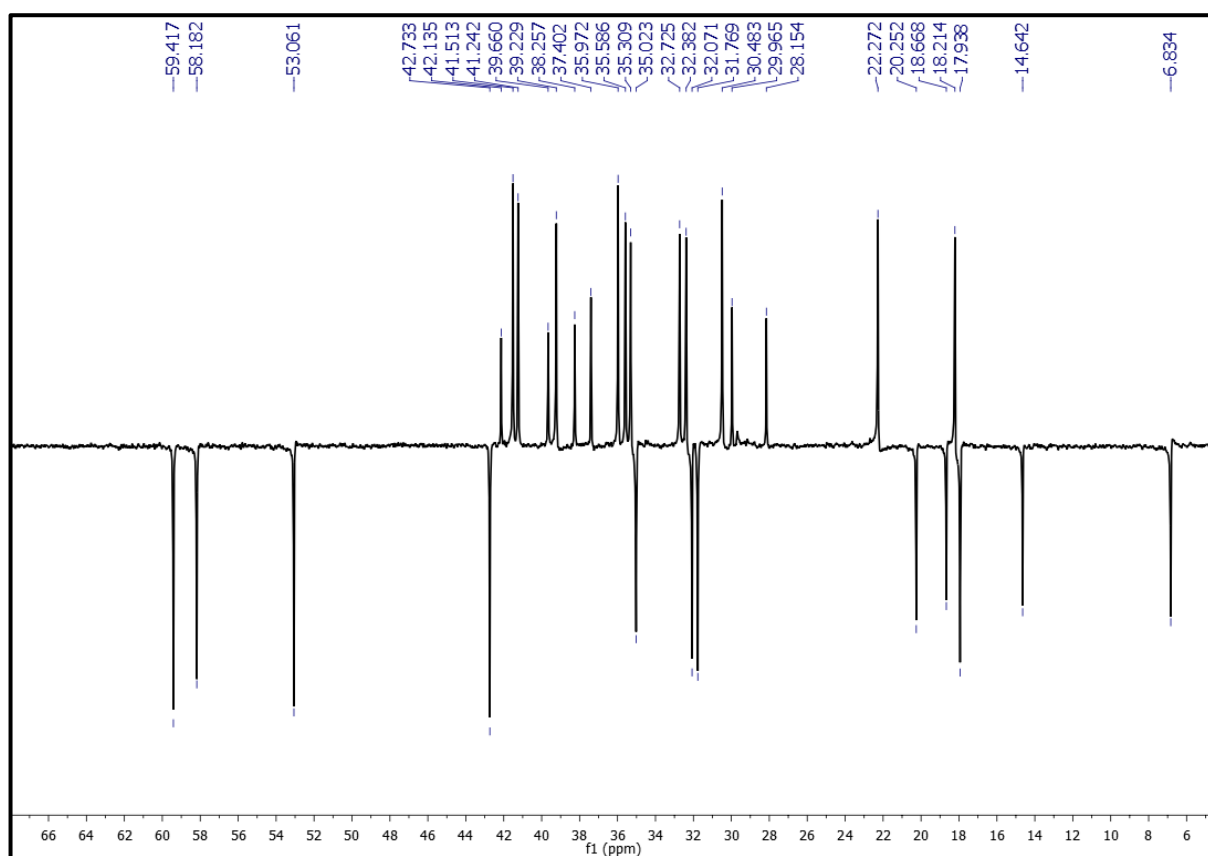


Figura 19: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) de Md-2 obtido em CDCl_3 na região de 80 a 5 ppm

5.1.3. Identificação estrutural de Md-3

A substância codificada como Md-1 foi isolada como cristais brancos e teste positivo para o reagente Libermann-Buchard (LB). Solúvel em clorofórmio, pesando 43,0 mg e rendimento de 0,0010%.

O espectro na região de IV (Figura 20, Pág. 41) de Md-3 apresentou bandas de absorção em 3.512 cm^{-1} correspondente a estiramento da ligação OH, $2.968\text{--}2.937\text{ cm}^{-1}$ características de estiramento simétrico e assimétrico da ligação CH de substâncias alifáticas, 1.716 cm^{-1} característica de estiramento de ligação carbonila de cetona e 1.456 e 1.384 cm^{-1} características de deformação angular no plano de ligação simples CH de substâncias alifáticas. Apresentou também bandas em torno de 1.060 cm^{-1} , correspondente a estiramento de ligação C-O de álcool primário.

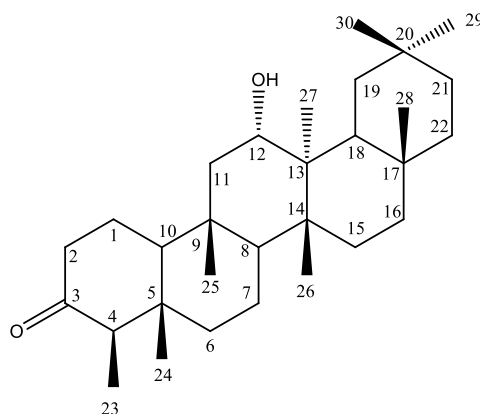
O espectro de RMN de ^1H (Figuras 21 a 23, Págs. 41 e 42) apresentou seis singletos entre δ_{H} 0,72 e 1,33 relativos a sete metilas, δ_{H} 0,72; δ_{H} 0,86; δ_{H} 0,90; δ_{H} 0,96; δ_{H} 1,06; δ_{H} 1,21, e um dubleto em δ_{H} 0,86 ($J = 6,6\text{ Hz}$). Esses deslocamentos químicos são condizentes com triterpenos da serie friedelano (OLIVEIRA, 2007). Além desses observou-se também o sinal em δ_{H} 3,95 (dd, $J = 4,4$ e $11,2$) característico de hidrogênio oximetínico.

A análise do espectro de RMN de ^{13}C com o auxílio da técnica APT (Figuras 24 e 25, Pág. 43) indicou a presença de 30 sinais. Destes, oito sinais foram atribuídos a CH_3 , dez CH_2 , quatro CH e sete C. O sinal em δ_{C} 7,04 juntamente com o deslocamento químico em 213,1 corrobora com deslocamentos químicos de triterpenos friedelanos com carbonila em C-3. Observou-se também o sinal em 72,1 que, por comparação com a literatura foi atribuído a inserção de uma hidroxila em C-12. Os valores da constante de acoplamento do H-12 inferem a hidroxila em posição equatorial. A comparação dos dados de RMN de ^{13}C com os dados da literatura (OLIVEIRA, 2007) (Tabela 3, Pág. 41), permitiu identificar Md-3 como sendo 3-oxo-12 α -hidroxifriedelano. Sendo este o primeiro relato para *M. distichophylla*.

Tabela 3: Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Md-3 com os dados da literatura para 3-oxo-12 α -hidroxifriedelano (OLIVEIRA, 2007).

Nº	Tipo de carbono	δ_c^* de Md-3 em CDCl_3	δ_c^* (OLIVEIRA, 2007) em CDCl_3
1	CH_2	22,5	22,3
2	CH_2	41,5	41,4
3	C	213,1	212,7
4	CH	58,3	58,1
5	C	42,1	41,9
6	CH_2	41,3	41,2
7	CH_2	18,3	18,1
8	CH	53,1	52,9
9	C	38,4	38,2
10	CH	59,5	59,4
11	CH_2	47,5	47,4
12	CH	72,1	72,7
13	C	45,4	45,3
14	C	40,6	40,4
15	CH_2	33,6	33,4
16	CH_2	36,2	36,1
17	C	31,0	30,8
18	CH	44,2	44,2
19	CH_2	38,4	38,4
20	C	28,6	28,4
21	CH_2	32,7	32,7
22	CH_2	39,7	39,6
23	CH_3	7,0	6,8
24	CH_3	14,8	14,6
25	CH_3	19,5	19,3
26	CH_3	20,7	20,5
27	CH_3	11,6	11,6
28	CH_3	31,9	31,8
29	CH_3	35,2	34,9
30	CH_3	31,9	31,9

Solvente * CDCl_3



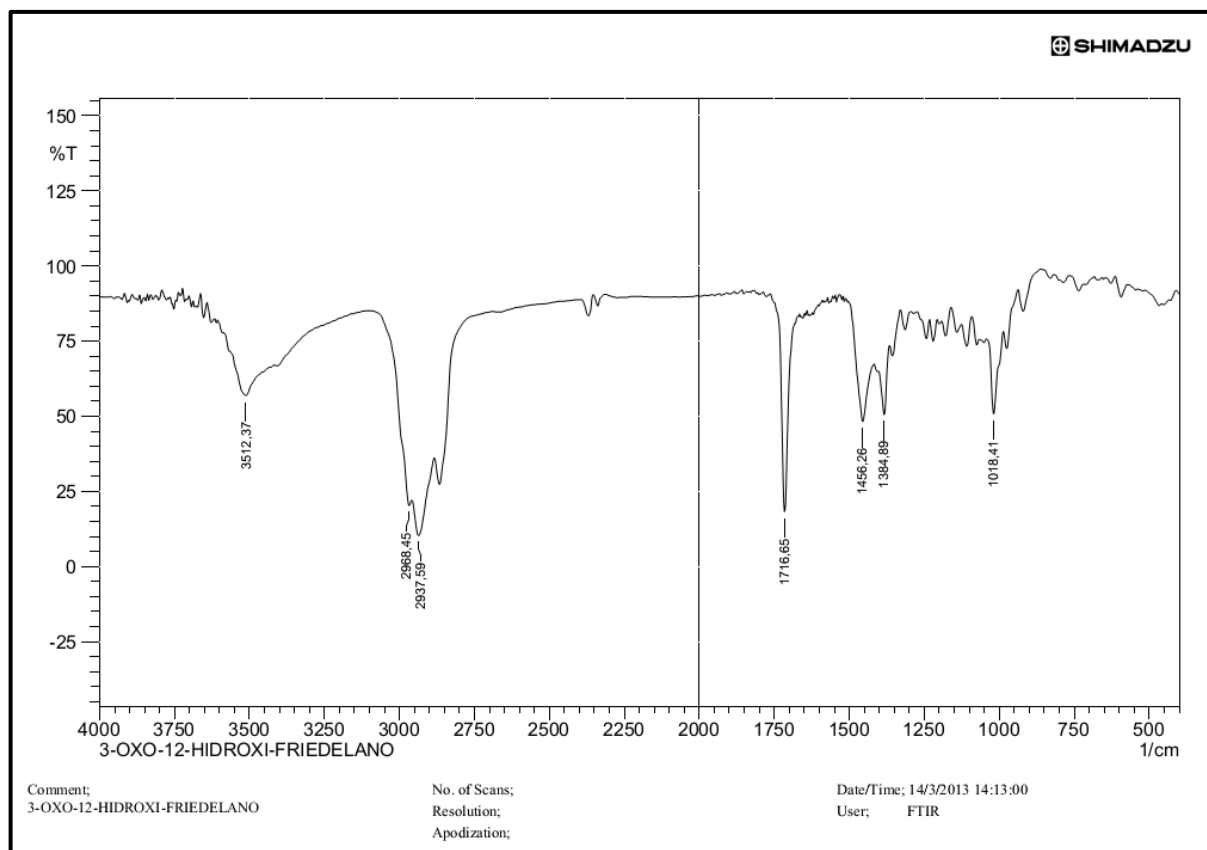


Figura 20: Espectro de IV de Md-3 em pastilha de KBr.

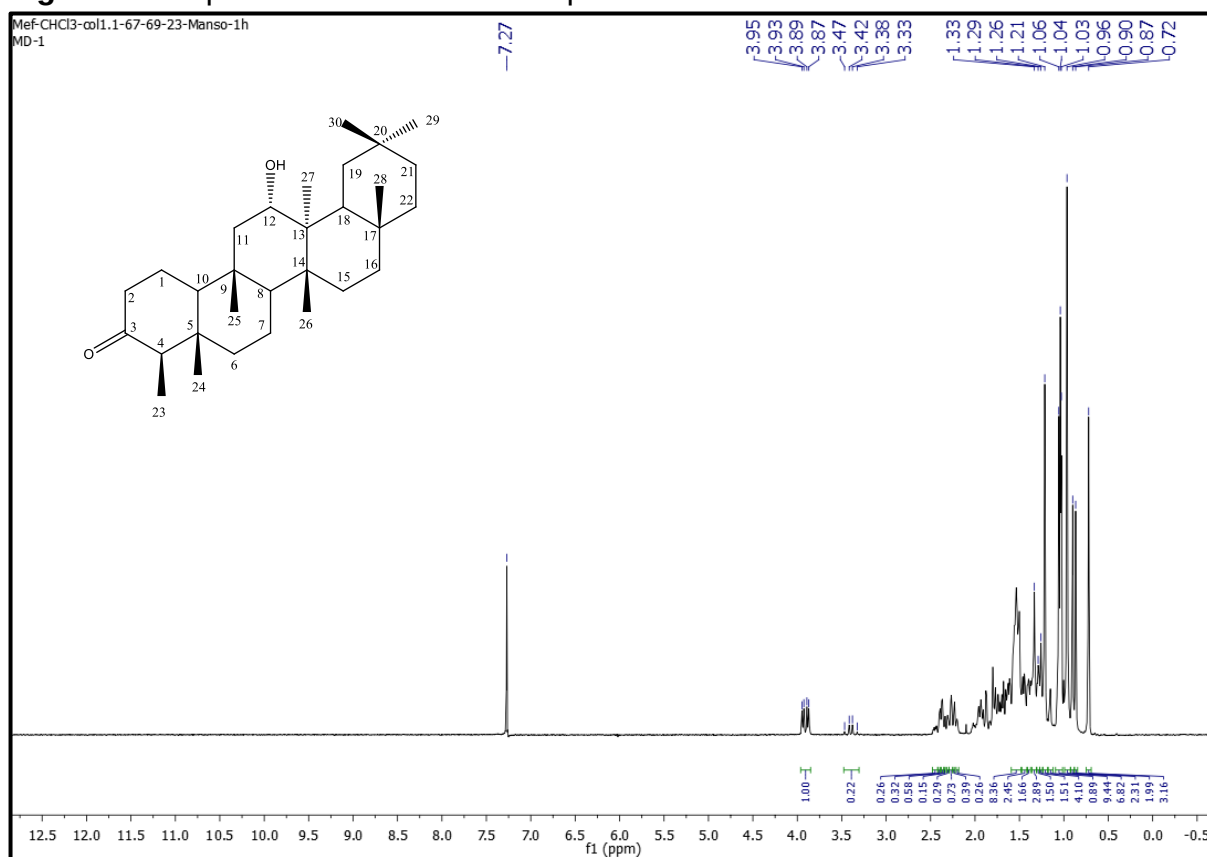


Figura 21: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de Md-3 obtido em CDCl_3

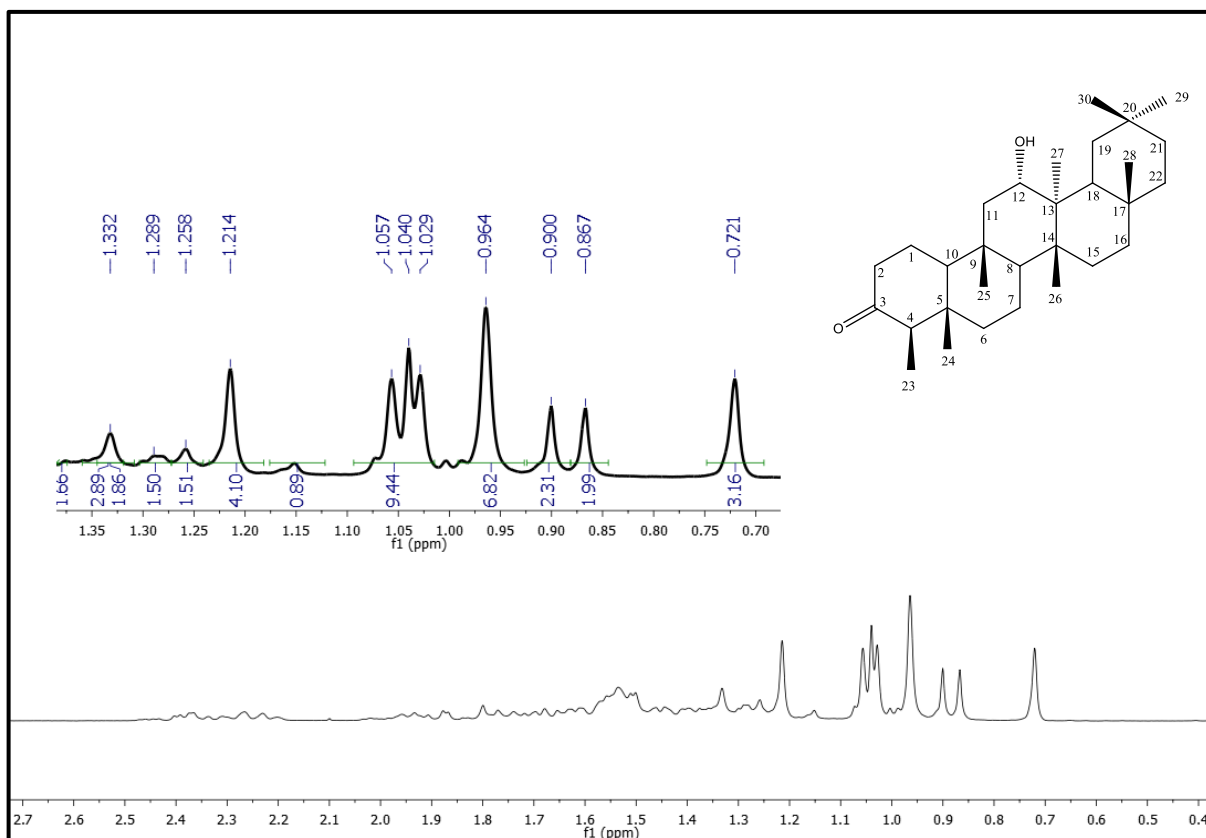


Figura 22: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de Md-3 obtido em CDCl_3 na região de 2,7 a 0,7 ppm

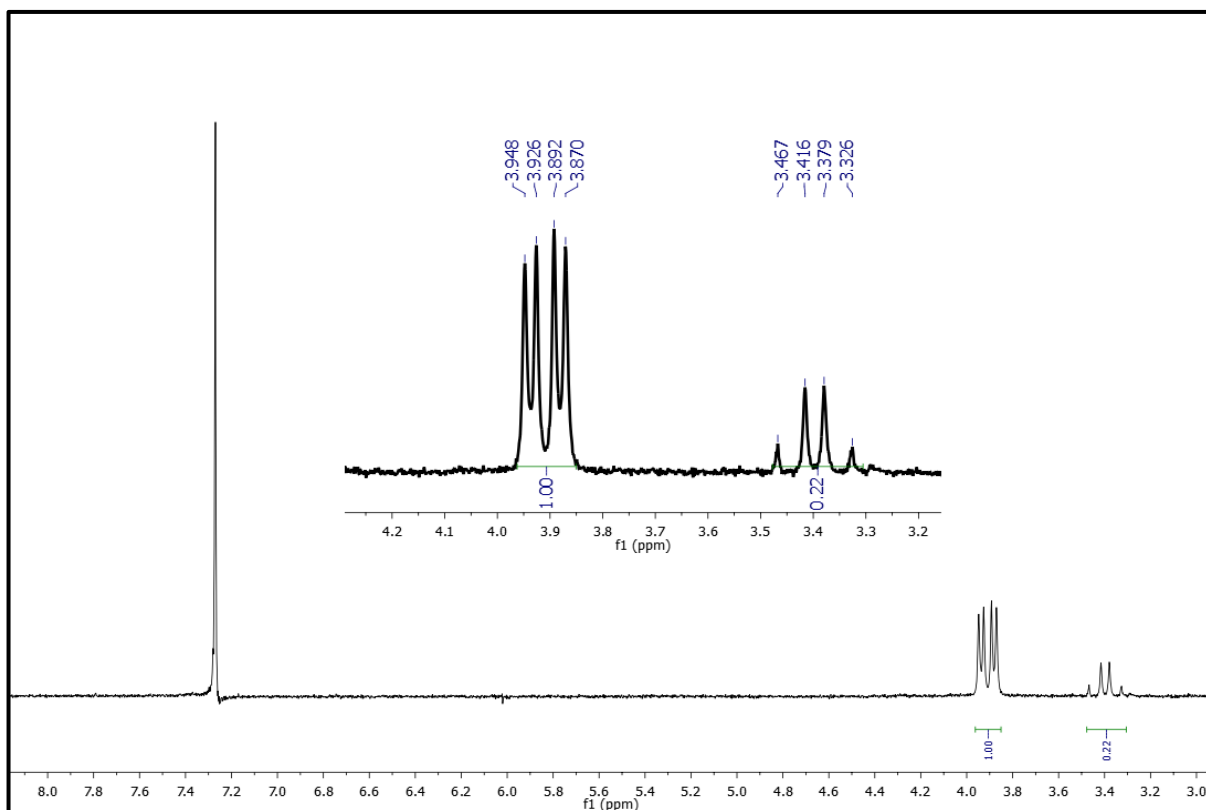


Figura 23: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de Md-3 obtido em CDCl_3 na região de 4,2 a 3,2 ppm

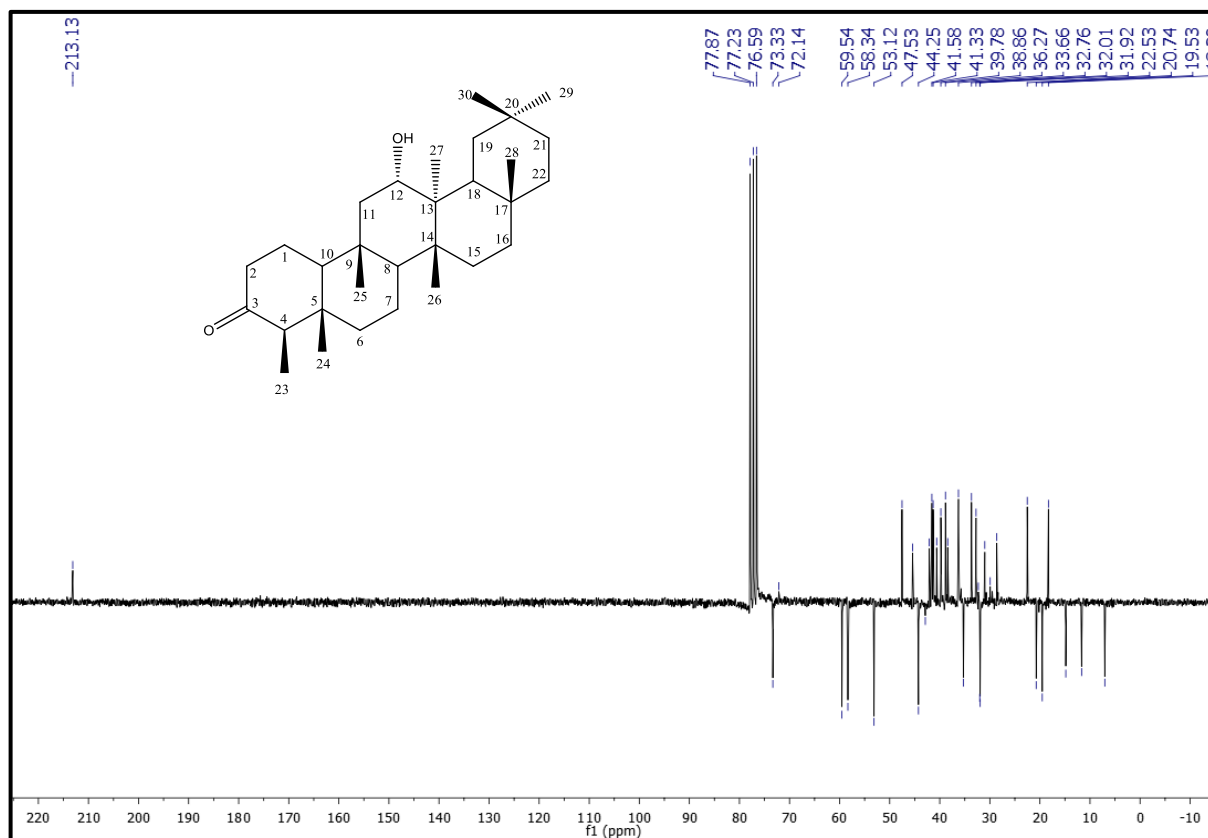


Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) de Md-3 obtido em CDCl_3

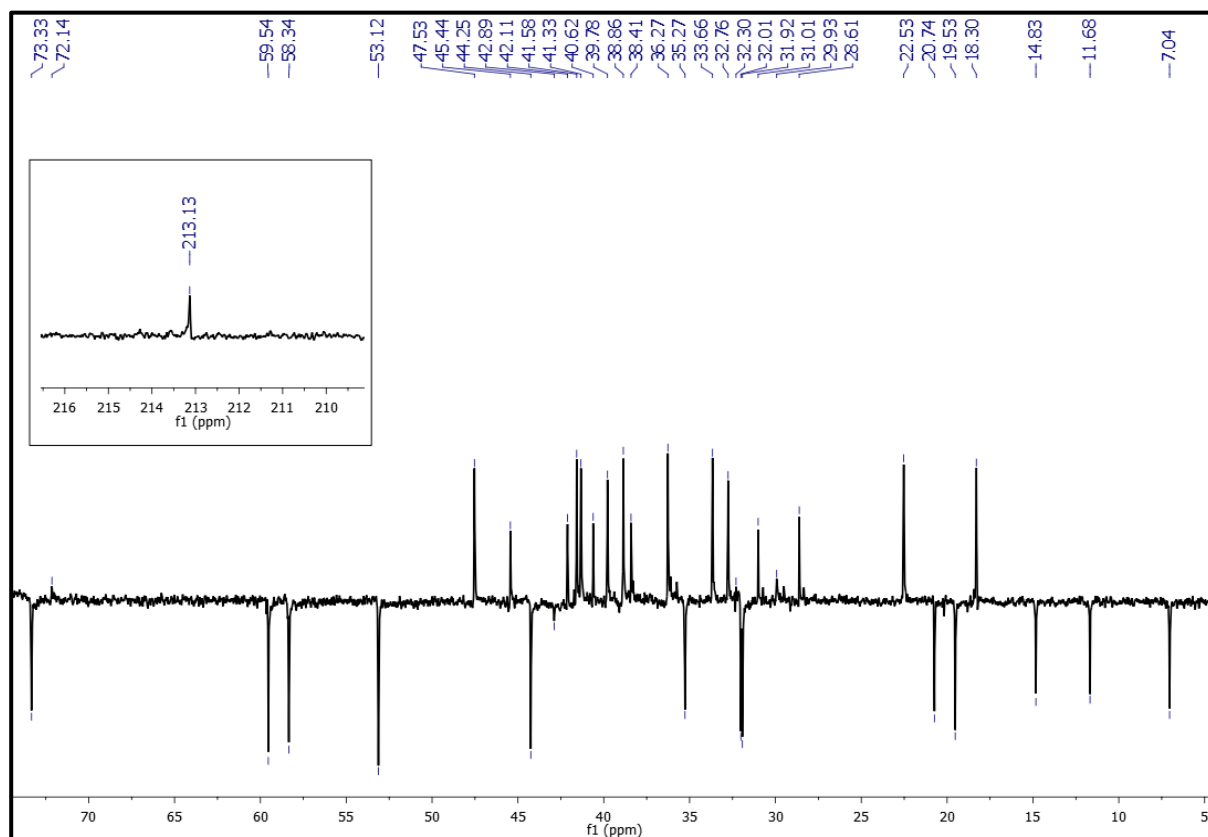


Figura 25: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) de Md-3 obtido em CDCl_3 na região de 70 a 5 ppm

5.1.4. Identificação estrutural de Md-4

A substância codificada como Md-4 foi isolada a partir da fase clorofórmica obtendo como cristais de coloração branca e em formato de agulha com ponto de fusão 146,9–148,4°C, solúvel em clorofórmio, pesando 10,0 mg e rendimento 0,0002% e apresentou teste positivo frente a reagente LB.

O espectro na região do IV (Figura 26, Pág. 46) de Md-4 apresentou bandas de absorção em 3.506 cm^{-1} correspondente a estiramento da ligação OH, $2.929\text{--}2.866\text{ cm}^{-1}$ características de estiramento simétrico e assimétrico da ligação CH de substâncias alifáticas, 1.708 cm^{-1} característica de estiramento de ligação CO de cetona e 1.456 e 1.386 cm^{-1} características de deformação angular no plano de ligação simples CH de substâncias alifáticas. Apresentou também bandas em torno de 1.058 cm^{-1} , correspondente a estiramento de ligação C-O de álcool.

O espectro de RMN de ^1H (Figuras 27 e 28, Págs. 46 e 47) apresentou seis singletos entre δ_{H} 0,68 e 1,35 relativos a seis metilas, δ_{H} 0,68; δ_{H} 0,83; δ_{H} 0,85; δ_{H} 0,92; δ_{H} 1,22 δ_{H} 1,18 e um dubleto em δ_{H} 0,86 ($J = 6,6\text{ Hz}$). Esses sinais são condizentes com triterpenos da série friedelano (ALVES, 2000). Observou-se também o sinal em δ_{H} 3,23 característica de hidrogênio oximetilenico.

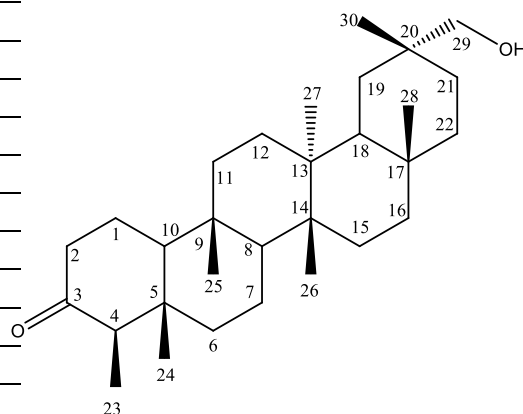
A análise do espectro de RMN de ^{13}C utilizando a técnica APT (Figuras 29 e 30, Págs. 47 e 48) foi possível observar a presença de 30 sinais. Destes, sete foram atribuídos a CH_3 , doze CH_2 , quatro CH e sete C. O sinal em δ_{C} 6,83, juntamente com o sinal em 213,3 e comparação com Md-1, Md-2 e Md-3 corroboram com deslocamentos químicos de triterpenos da serie friedelano (ALVES et al., 2000). Observou-se também o sinal em δ_{C} 74,60, que comparado com a literatura foi atribuído a C-29 (ALVES et al., 2000).

A comparação dos dados de RMN de ^{13}C com a literatura (Tabela 4, Pág. 46), permitiu identificar Md-4 como sendo 3-oxo-29-hidroxifriedelano. Substância comum em espécies de *Maytenus*, porem esse é o primeiro relato para *M. distichophylla*.

Tabela 4: Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Md-4 com os dados da literatura para 3-oxo-29-hidroxifriedelano (ALVES *et al.*, 2000).

Nº	Tipo de carbono	δ_c^* de Md-4	δ_c^* (ALVES <i>et al.</i> , 2000) em CDCl_3
1	CH_2	22,2	22,6
2	CH_2	41,1	41,2
3	C	21,3	212,1
4	CH	58,1	58,1
5	C	42,1	41,1
6	CH_2	41,4	41,4
7	CH_2	18,1	18,1
8	CH	53,3	53,3
9	C	37,3	37,3
10	CH	59,3	59,3
11	CH_2	35,5	35,5
12	CH_2	29,6	29,7
13	C	39,8	39,8
14	C	38,1	38,1
15	CH_2	32,6	32,6
16	CH_2	35,7	35,8
17	C	28,3	29,7
18	CH	41,7	41,7
19	CH_2	30,5	30,5
20	C	33,0	33,0
21	CH_2	27,7	27,7
22	CH_2	39,4	39,4
23	CH_3	6,8	6,7
24	CH_3	14,6	14,5
25	CH_3	17,8	17,8
26	CH_3	18,4	18,3
27	CH_3	20,7	20,6
28	CH_3	32,0	32,0
29	CH_2	74,6	74,6
30	CH_3	25,7	25,7

Solvente * CDCl_3



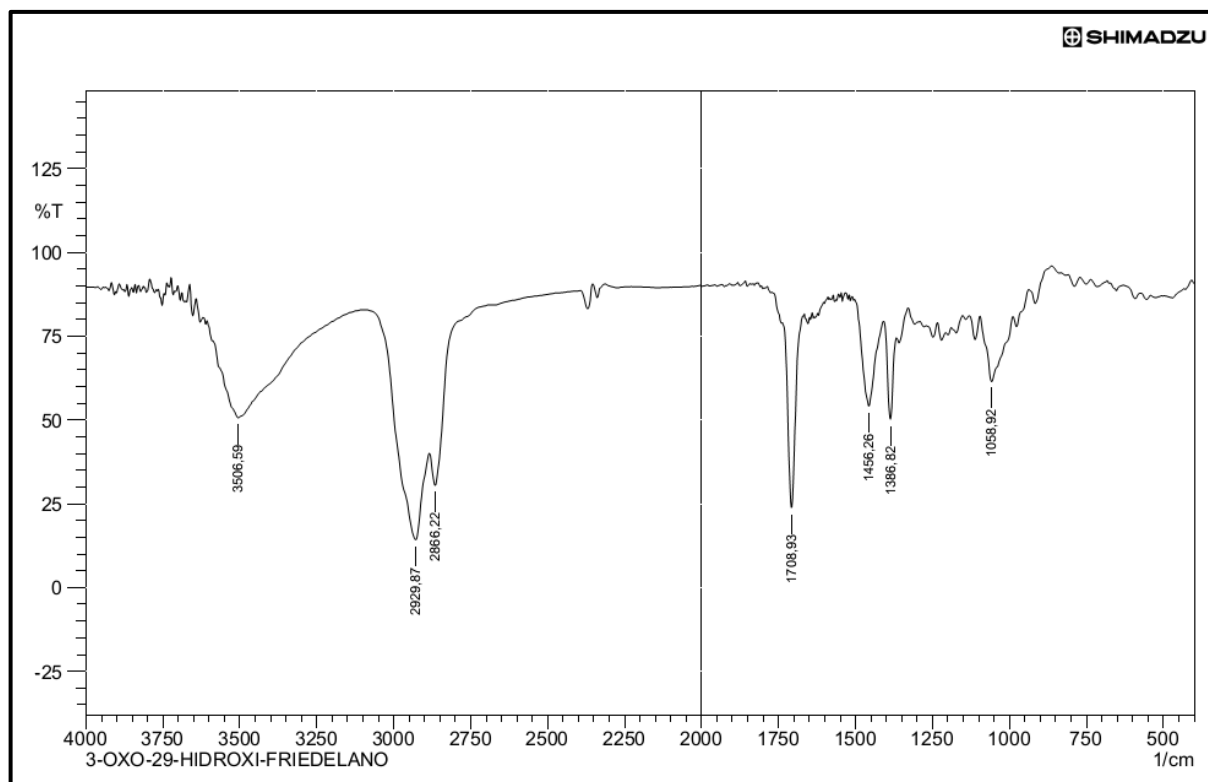


Figura 26. Espectro de IV de Md-4 em pastilha de KBr.

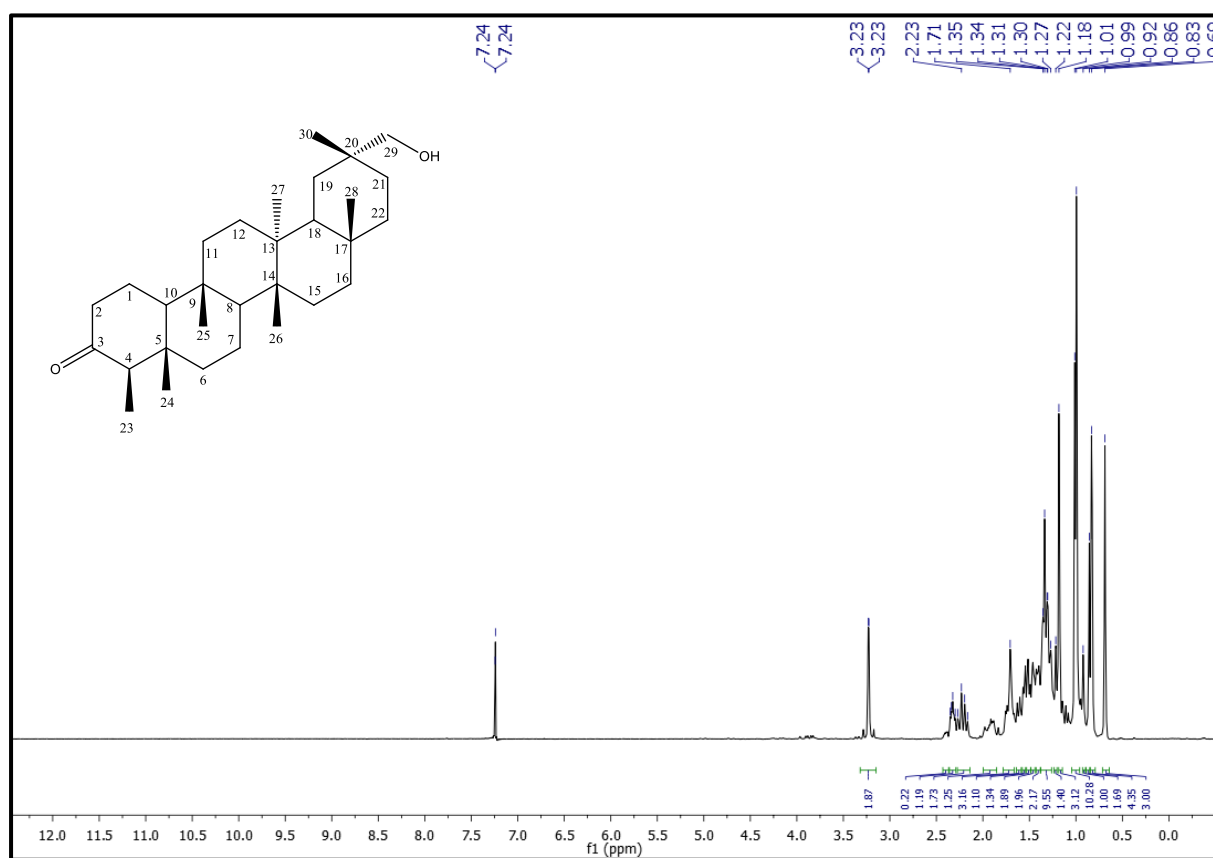


Figura 27: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de Md-4 obtido em CDCl_3

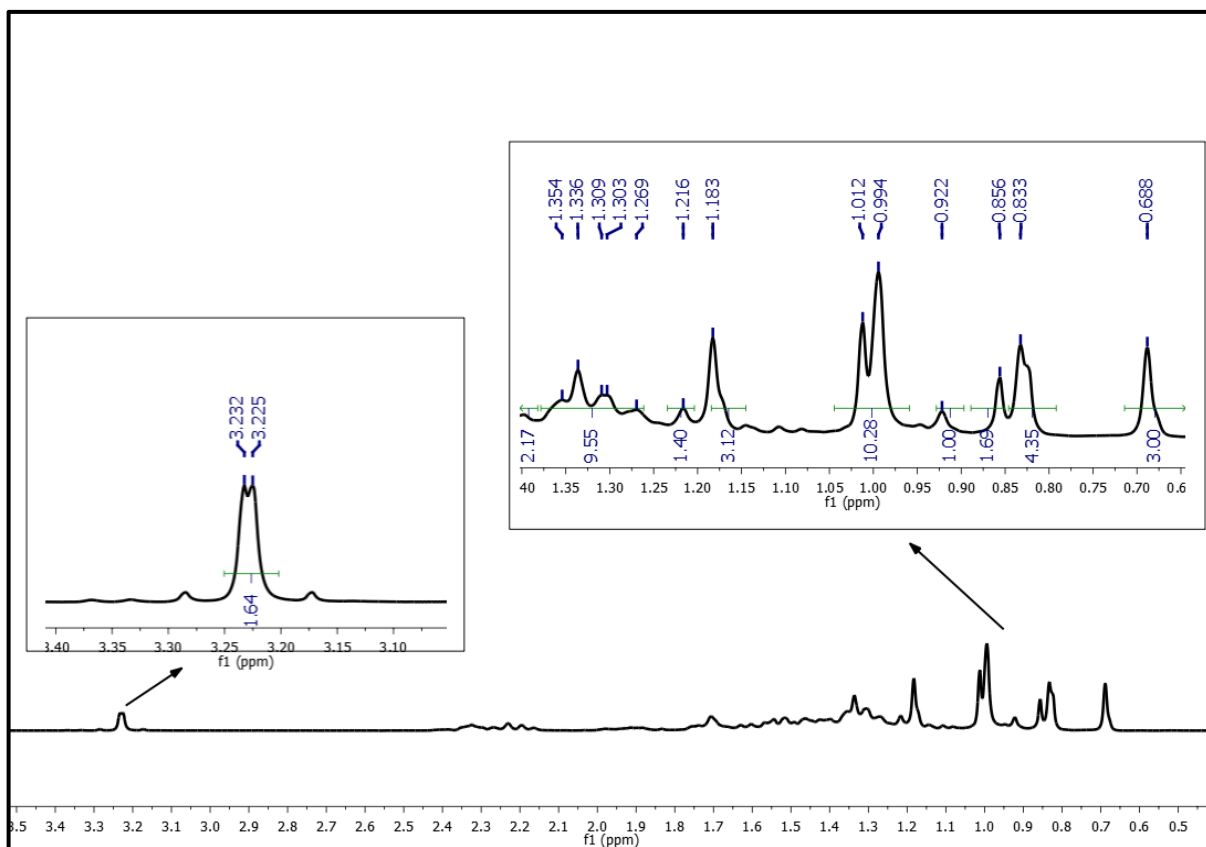


Figura 28: Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz) de Md-4 obtido em CDCl_3 na região de 3,5 a 0,6 ppm

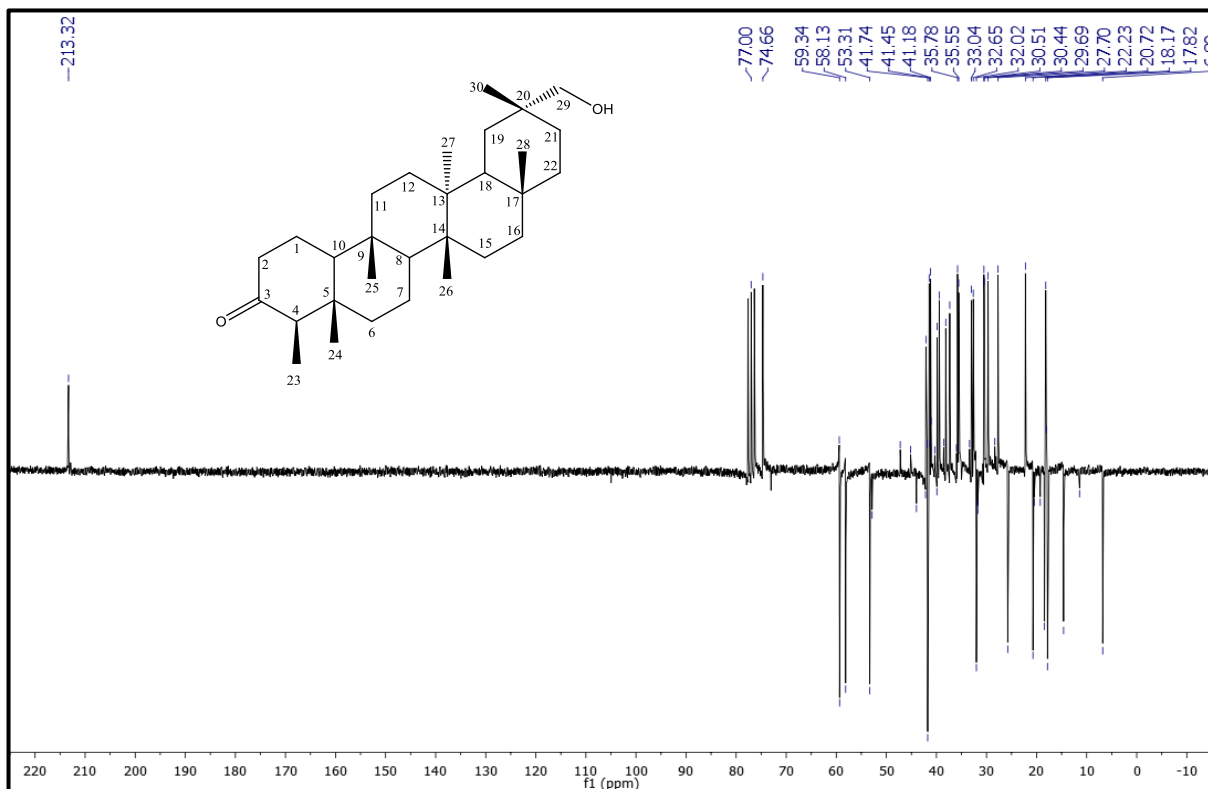


Figura 29: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) de Md-4 obtido em CDCl_3

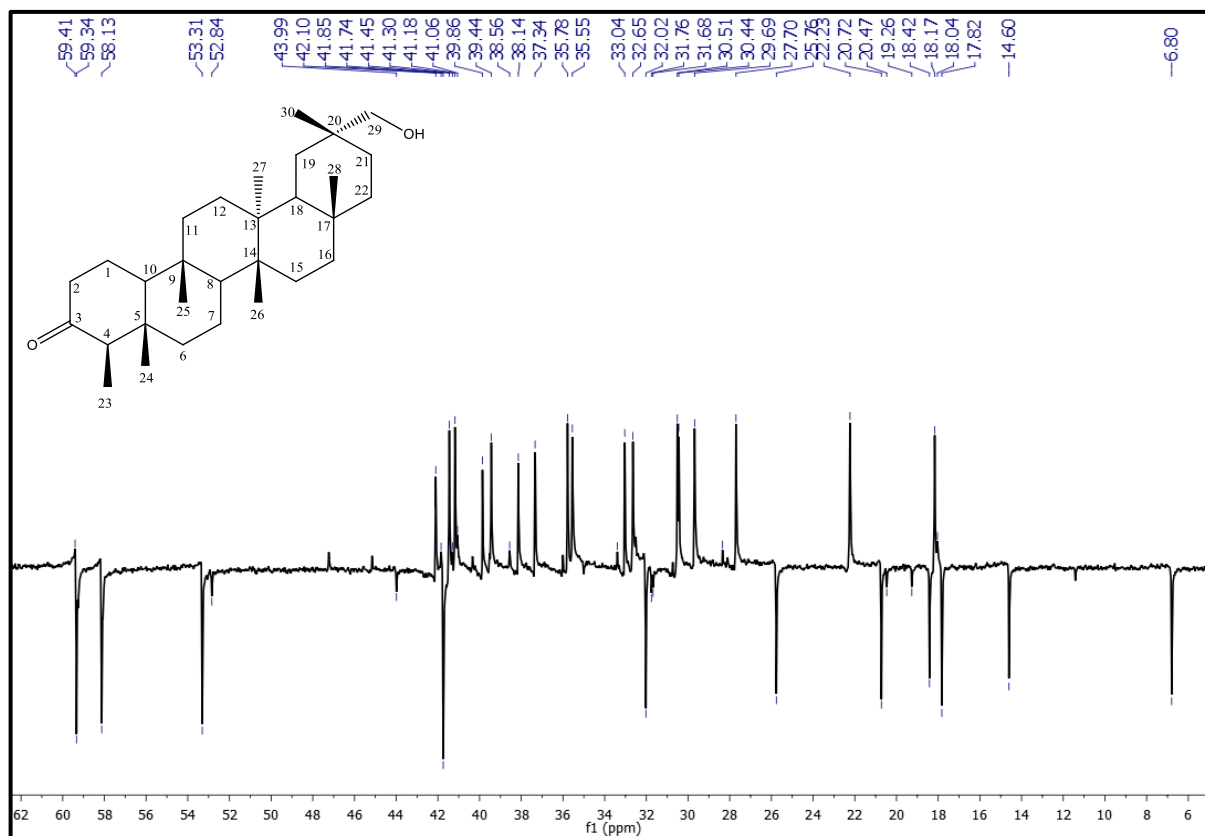


Figura 30: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) de Md-4 obtido em CDCl_3 na região de 62 a 6,0 ppm

5.1.5. Identificação estrutural de Md-5

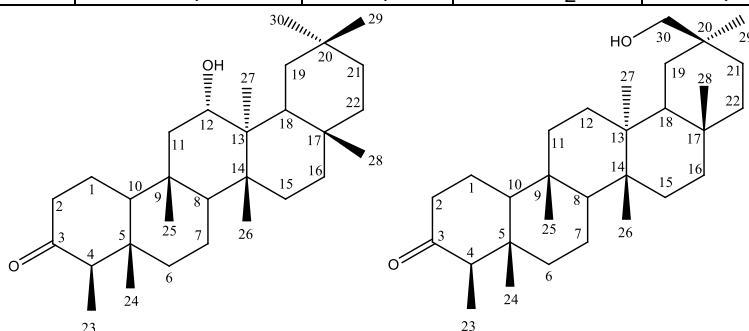
A mistura codificada como Md-5 foi obtida a partir da fase clorofórmica como pó amorfo branco, solúvel em clorofórmio, pesando 22,0 mg, rendimento 0,0005% e apresentou teste positivo frente a reagente LB.

O espectro de RMN de ^1H (Figuras 31 e 32, Pág. 51) apresentou vários multipletos na região entre δ_{H} 0,69 e 2,36, sugerindo tratar-se de uma mistura de triterpenos. Observou-se dois dubletos em δ_{H} 3,41 ($J = 10,5$ e 3,39 ($J = 10,5$) (Figura 33, Pág 52) característicos de átomos de hidrogênios oximetilênicos (MAGALHÃES *et al.*, 2011).

O espectro de RMN de ^{13}C apresentou 58 sinais (Figuras 34 e 35, Págs, 52 e 53). Os sinais com maior intensidade quando comparados com Md-3 viu-se tratar da mesma substância. Os demais sinais foram semelhantes a Md-4, exceto o deslocamento químico em 71,9 que comparado com a literatura foi atribuído a C-30 em Md-5. O sinal em 74,1 foi atribuído a C-29 em Md-4. Assim Md-5 foi identificado como 3-oxo-30 β -hidroxifriedelano, o epímero de Md-4 que está sendo relatado pela primeira vez em *M. distichophylla*. Os deslocamentos químicos de Md-3, Md-4, Md-5 e dados da literatura estão compilados na tabela 5.

Tabela 5: Comparação dos dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3) de Md-3 e Md-5 com dados da literatura para 3-oxo-12 α -hidroxifriedelano (OLIVEIRA, 2000) e 3-oxo-30 β -hidroxifriedelano (MAGALHÃES, 2011).

N ^a	Tipo de Carbono	δ_c Md-3	(OLIVEIRA, 2000) em CDCl_3	δ_c Md-4	Tipos de carbono	δ_c Md-5	(MAGALHÃES <i>et al</i> , 2011) em CDCl_3
1	CH ₂	22,5	22,3	22,2	CH ₂	22,2	22,2
2	CH ₂	41,5	41,4	41,1	CH ₂	41,5	41,5
3	C	213,1	212,7	21,3	C	213,1	213,3
4	CH	58,3	58,1	58,1	CH	58,1	58,1
5	C	42,1	41,9	42,1	C	42,7	42,1
6	CH ₂	41,3	41,2	41,4	CH ₂	41,1	41,2
7	CH ₂	18,3	18,1	18,1	CH ₂	18,2	18,2
8	CH	53,1	52,9	53,3	CH	53,0	53,0
9	C	38,4	38,2	37,3	C	37,0	37,4
10	CH	59,5	59,4	59,3	CH	59,4	59,4
11	CH ₂	47,5	47,4	35,5	CH ₂	35,5	35,5
12	CH	72,1	72,7	29,6	CH ₂	29,3	29,7
13	C	45,4	45,3	39,8	C	39,5	39,7
14	C	40,6	40,4	38,1	C	38,1	38,3
15	CH ₂	33,6	33,4	32,6	CH ₂	32,6	32,1
16	CH ₂	36,2	36,1	35,7	CH ₂	29,3	29,7
17	C	31,0	30,8	28,3	C	29,3	29,9
18	CH	44,2	44,2	41,7	CH	42,7	42,6
19	CH ₂	38,4	38,4	30,5	CH ₂	30,5	30,5
20	C	28,6	28,4	33,0	C	33,4	33,3
21	CH ₂	32,7	32,7	27,7	CH ₂	28,1	28,1
22	CH ₂	39,7	39,6	39,4	CH ₂	39,5	39,7
23	CH ₃	7,0	6,8	6,8	CH ₃	6,8	6,8
24	CH ₃	14,8	14,6	14,6	CH ₃	14,6	14,6
25	CH ₃	19,5	19,3	17,8	CH ₃	18,1	18,0
26	CH ₃	20,7	20,5	18,4	CH ₃	18,5	18,5
27	CH ₃	11,6	11,6	20,7	CH ₃	19,9	19,9
28	CH ₃	31,9	31,8	32,0	CH ₃	31,8	32,1
29	CH ₃	35,2	34,9	74,6	CH ₃	28,9	28,9
30	CH ₃	31,9	31,9	25,7	CH ₂	71,9	71,9



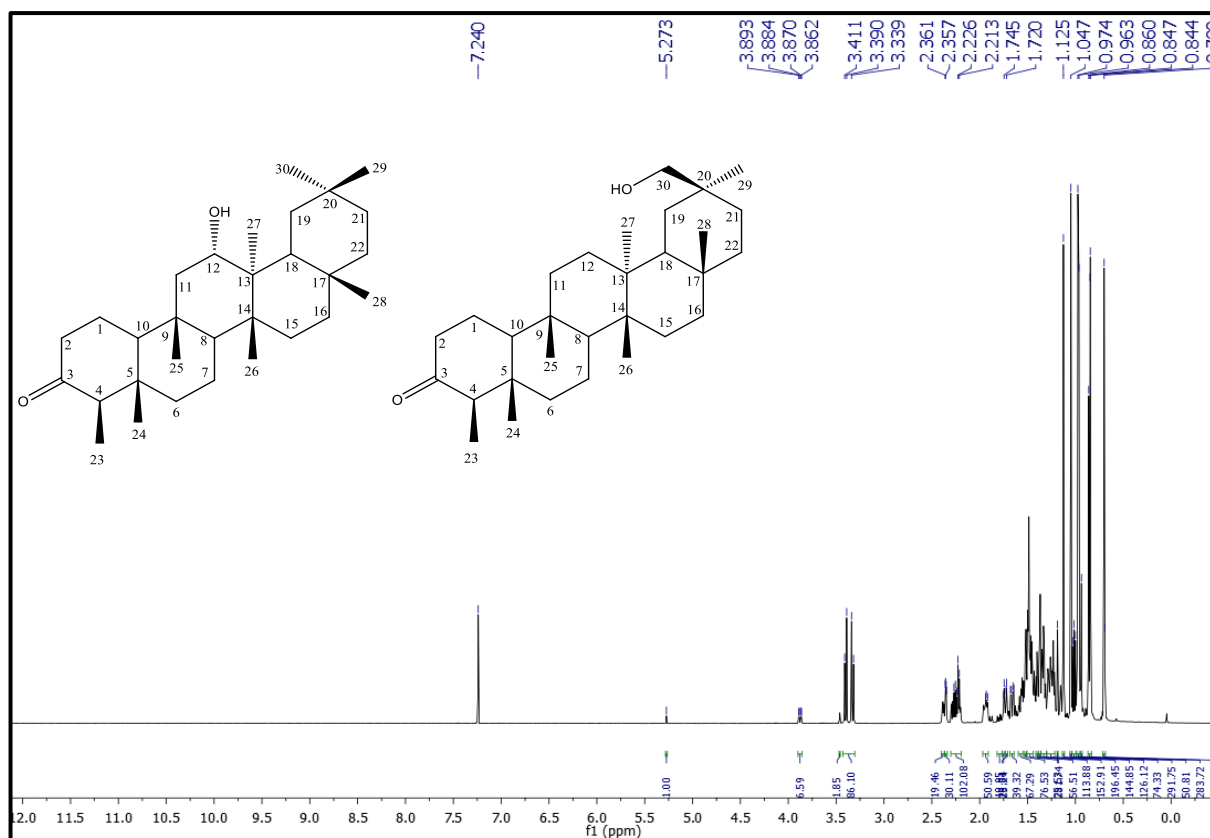


Figura 31. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-5 obtido em CDCl_3

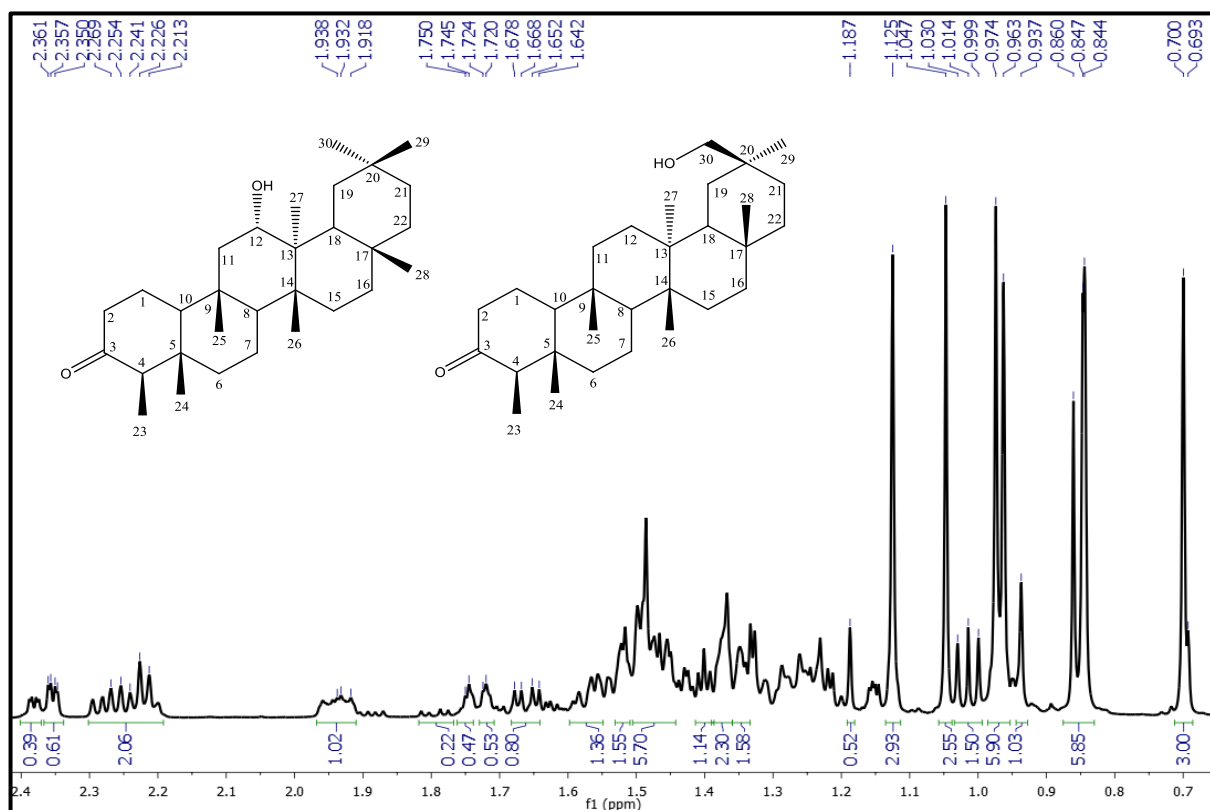


Figura 32 Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-5 obtido em CDCl_3 na região de 2,4 a 0,7 ppm

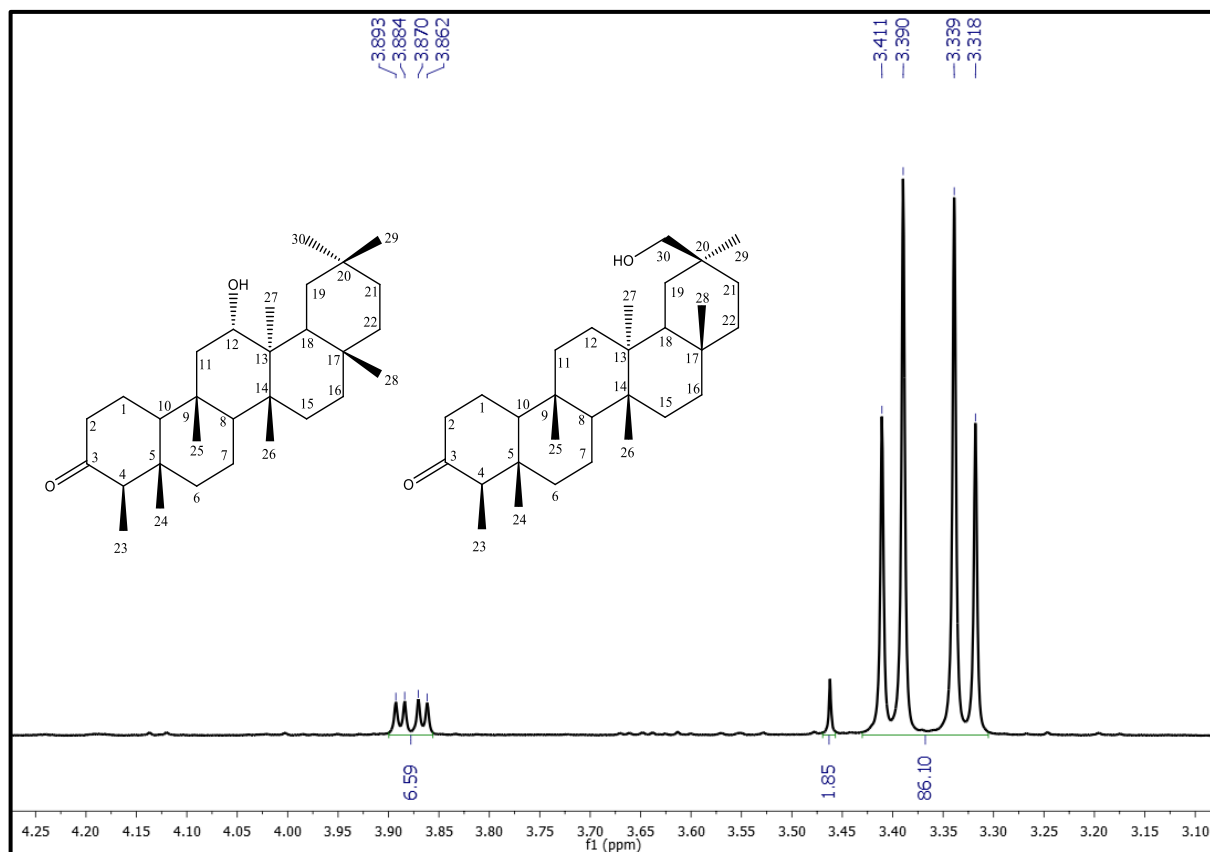


Figura 33: Expansão do espectro RMN de ^1H (500 MHz) de Md-5 obtido em CDCl_3 na região de 4,25 a 3,10 ppm

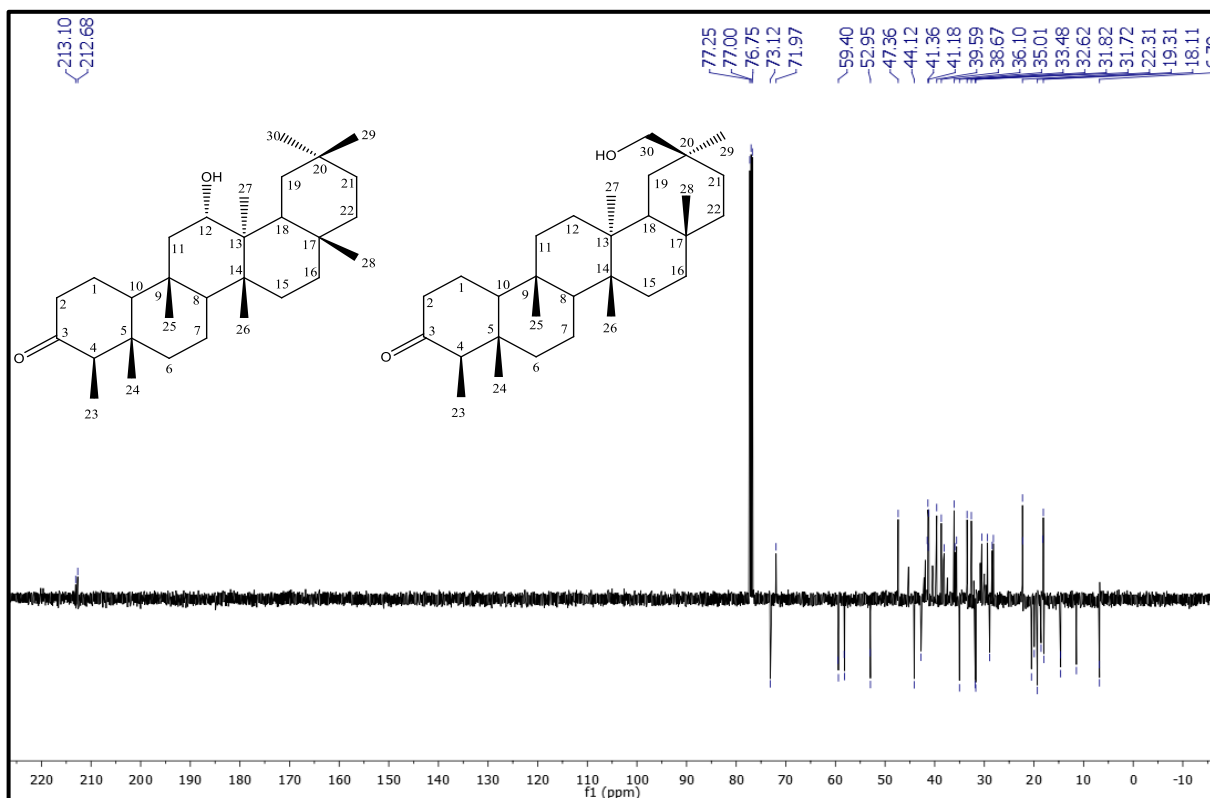


Figura 34: Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-5 obtido em CDCl_3

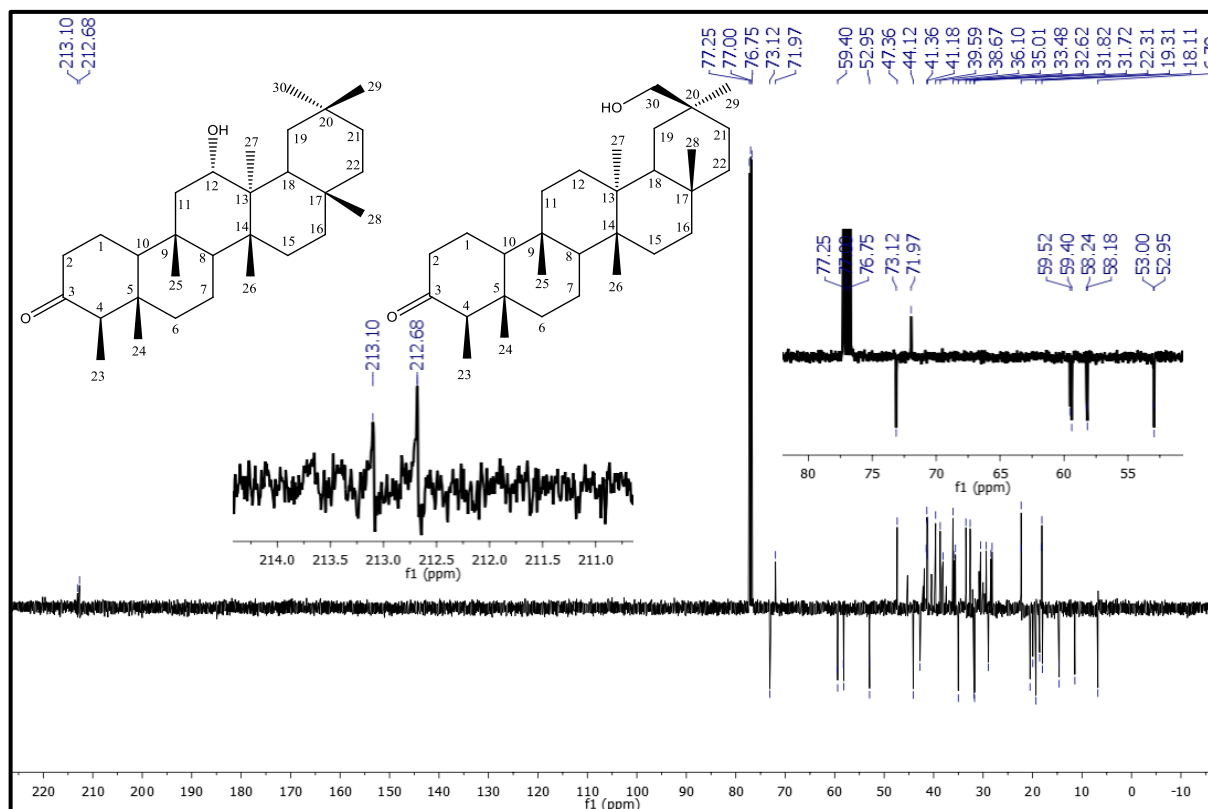


Figura 35: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-5 obtido em CDCl_3

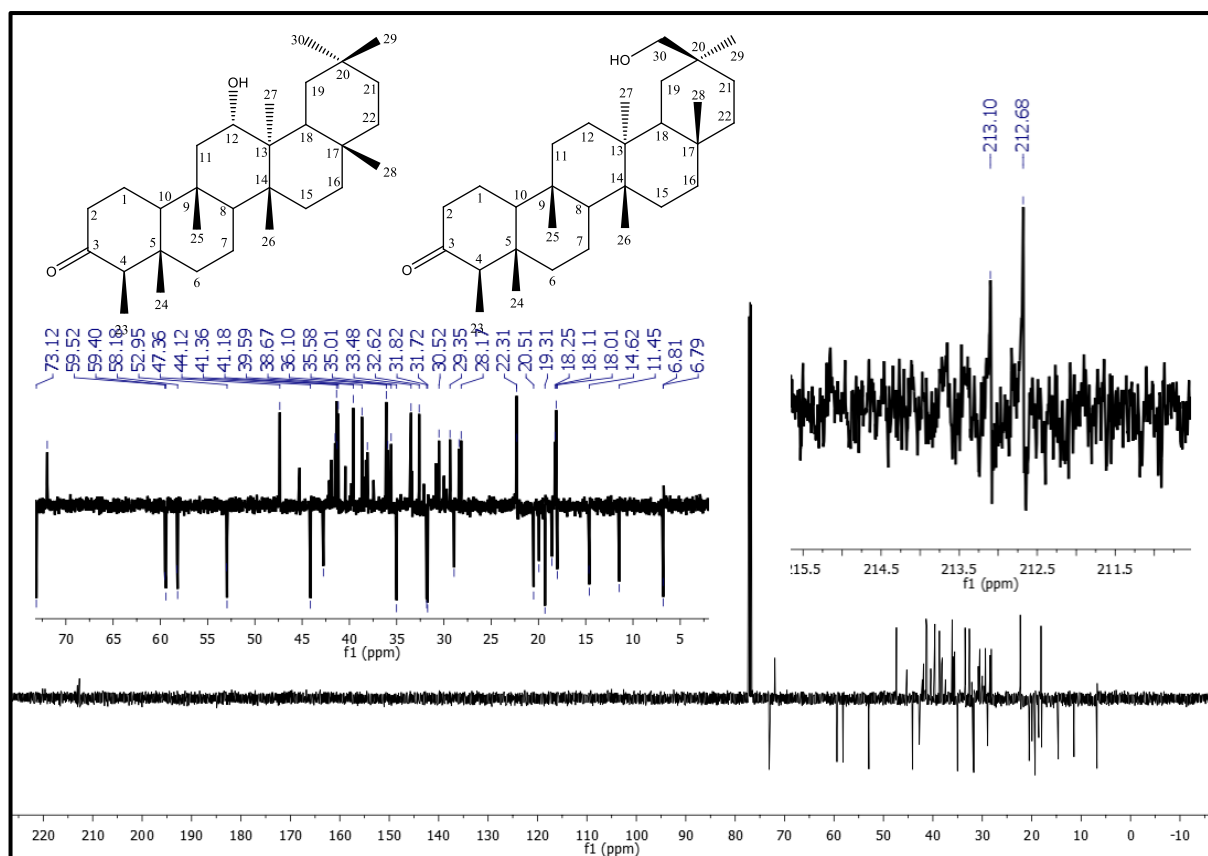


Figura 36: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-5 obtido em CDCl_3 na região de 70 a 5 e 215 a 211,5 ppm

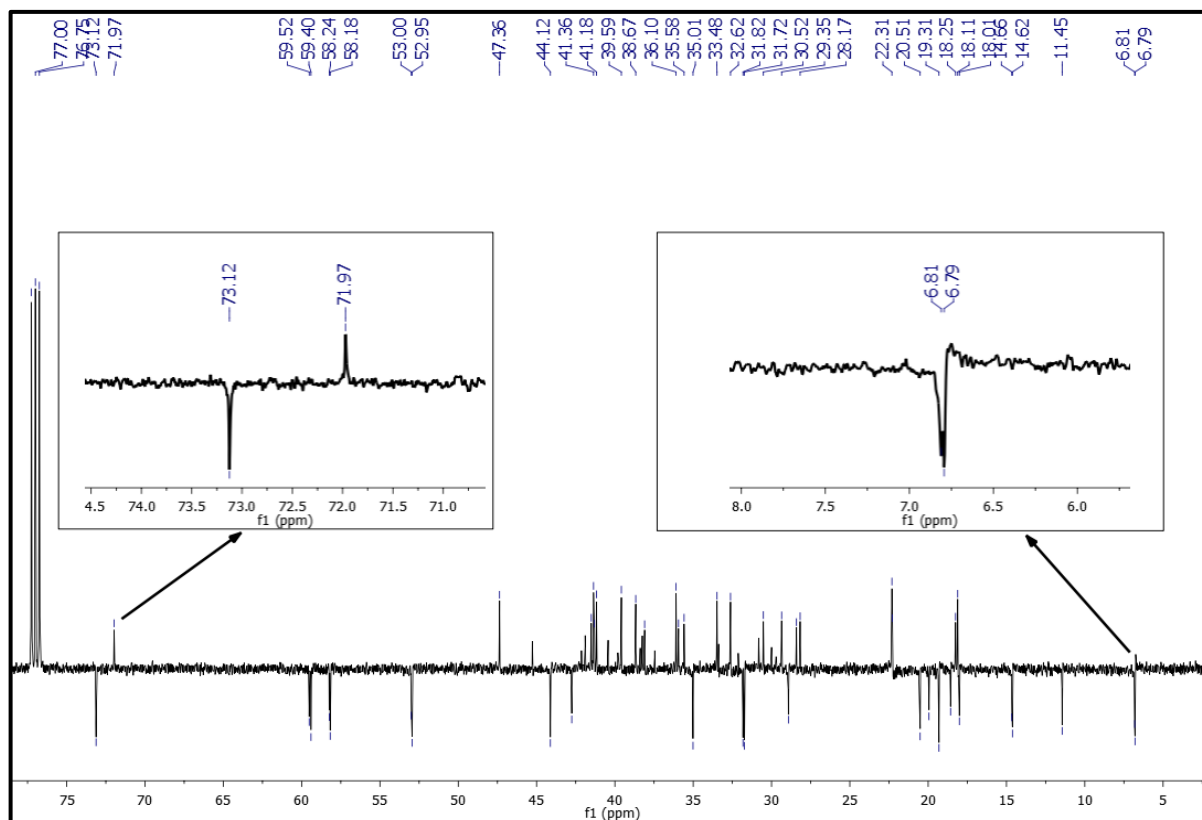


Figura 37: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-5 obtido em CDCl_3 na região de 75 a 5,0 ppm

5.1.6. Identificação estrutural de Md-6

A substância codificada como Md-6 foi isolado da Fase Acetato de Etila, como cristais branco pesando 5,0 mg e com rendimento 0,0001%. Apresentou resultado positivo frente ao teste LB.

O espectro de RMN de ^1H (Figuras 39 e 40, Pág. 58) apresentou sinais entre δ_{H} 0,69 e 1,37, sendo sete metilas, δ_{H} 0,69; δ_{H} 0,85; δ_{H} 0,87; δ_{H} 1,02; δ_{H} 1,16; δ_{H} 1,22; δ_{H} 1,37 e um duplete em δ_{H} 0,89 ($J = 6,0$ Hz). Esses sinais corroboram com triterpenos da serie friedelanos.

A análise do espectro de RMN de ^{13}C utilizando a técnica de APT (Figuras 41, 42 e 43, Págs. 59 e 60) indicou a presença de 30 sinais, sendo oito CH_3 , dez CH_2 , quatro CH e oito C . O sinal em δ_{C} 6,8, juntamente com o deslocamento químico em 212,0 é compatível com triterpenos friedelanos com carbonila em C-3. Os deslocamentos químicos de Md-6 foram semelhantes ao de Md-3. Porém a presença do sinal δ_{C} 214,1 é sugestivo que Md-6 seja o produto oxidado naturalmente de Md-3.

Correlações diretas entre H e C foram observadas no espectro de HMQC (Figuras 44 a 47, Págs. 60 e 62) e estão compiladas na Tabela 6 (Pág. 57).

No espectro de HMBC (Figuras 48 a 52, Págs. 62 a 64) foi possível observar as seguintes correlações. O sinal em δ_{H} 0,89 (H-23) com δ_{C} 212,0 (C-3), δ_{C} 53,1 (C-5) e δ_{C} 58,0 (C-4). Essas correlações confirmaram as atribuições feitas no espectro de RMN ^{13}C com a inserção da carbonila em C-3. Observou-se também correlação do sinal em δ_{H} 2,61 (2H-11) (Figuras 50 e 51, Págs. 63 e 64) com δ_{C} 214,1 (C-12), δ_{C} 59,3 (C-10), δ_{C} 43,9 (C-9) além de uma correlação do sinal em δ_{H} 1,37 (H-27) com δ_{C} 55,53 (C-13), δ_{C} 36,28 (C-18) e δ_{C} 214,1 (C-12), confirmando a atribuição feita a H-27 e a carbonila em C-12. Observou-se ainda uma correlação de δ_{H} 0,71 (H-24) com 59,3 (C-9) confirmando a atribuição feita a C-9, a correlação de 1,17 (H-28) com 36,6 (C-18) confirmando a atribuição feita a C-18 e de 0,86 (H-25) com δ_{C} 43,8 (C-11) confirmando a atribuição feita a C-11. As demais correlações estão compiladas na Tabela 6 (Pág. 57).

As correlações entre hidrogênios geminados e vicinais foram observados no COSY e sua expansão (Figuras. 53 e 54, Pág, 65). As demais correlações estão compiladas na Tabela 6, (Pág.57).

No espectro NOESY e sua expansão (Figura 55 e 56, Pág. 66), observou-se as correlações de H-6 com H-8 e 3H-23 com 3H-24. As demais correlações observadas nesse espectro são mostradas na tabela 6 (Pág. 57)

De acordo com os dados de RMN de ^{13}C unidimensional e bidimensional, permitiu identificar Md-6 como sendo 3, 12-oxo-friedelano, porem esse é o primeiro relato para *M. distichophylla*.

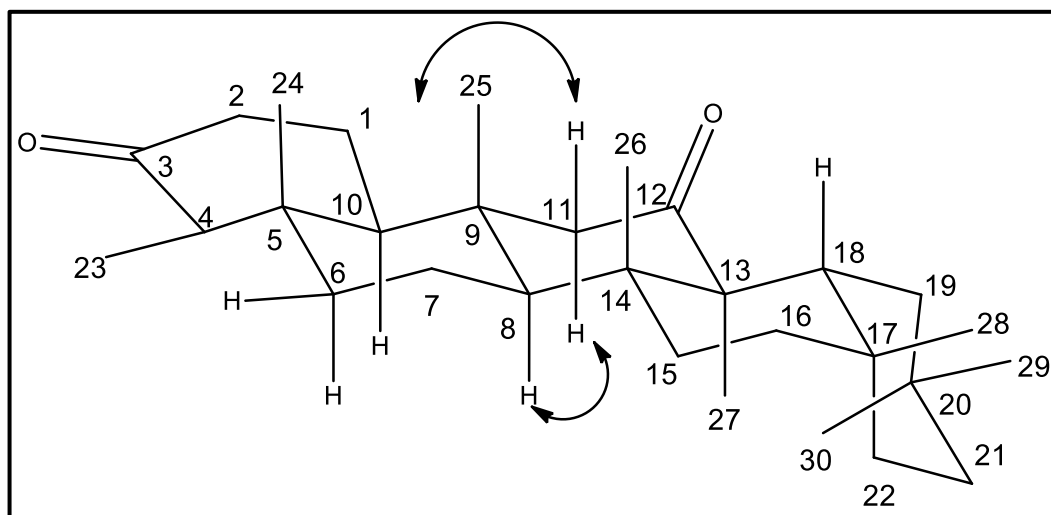
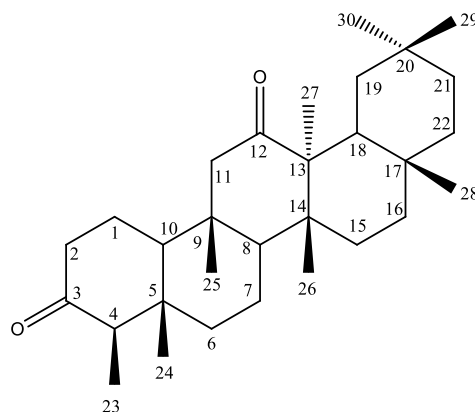


Figura 38. Correlações observadas no NOESY de Md-6

Tabela 6: Dados de RMN de ^{13}C e ^1H (500 MHz) em CDCl_3 de Md-6

N ^a	Tipos de Carbonos	δ_{C}
1	CH_2	22,3
2	CH_2	41,0
3	C	212,0
4	CH	58,1
5	C	42,2
6	CH_2	41,1
7	CH_2	18,5
8	CH	53,1
9	C	36,2
10	CH	59,3
11	CH_2	41,1
12	C	214,1
13	C	55,5
14	C	43,9
15	CH_2	31,9
16	CH_2	35,6
17	C	28,3
18	CH	36,6
19	CH_2	35,3
20	C	29,7
21	CH_2	31,9
22	CH_2	39,1
23	CH_3	6,8
24	CH_3	14,5
25	CH_3	18,1
26	CH_3	18,5
27	CH_3	19,9
28	CH_3	31,8
29	CH_3	35,3
30	CH_3	31,9

Solvente * CDCl_3 

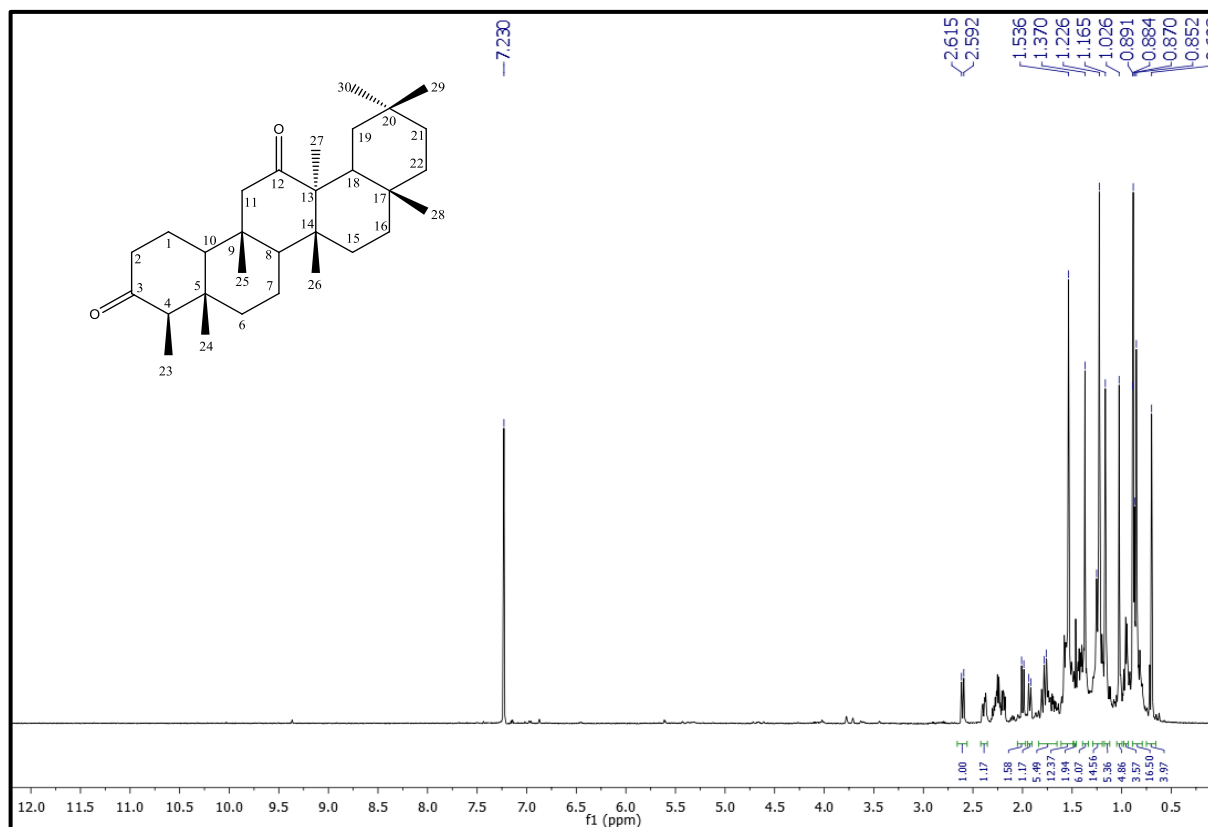


Figura 39: Espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3

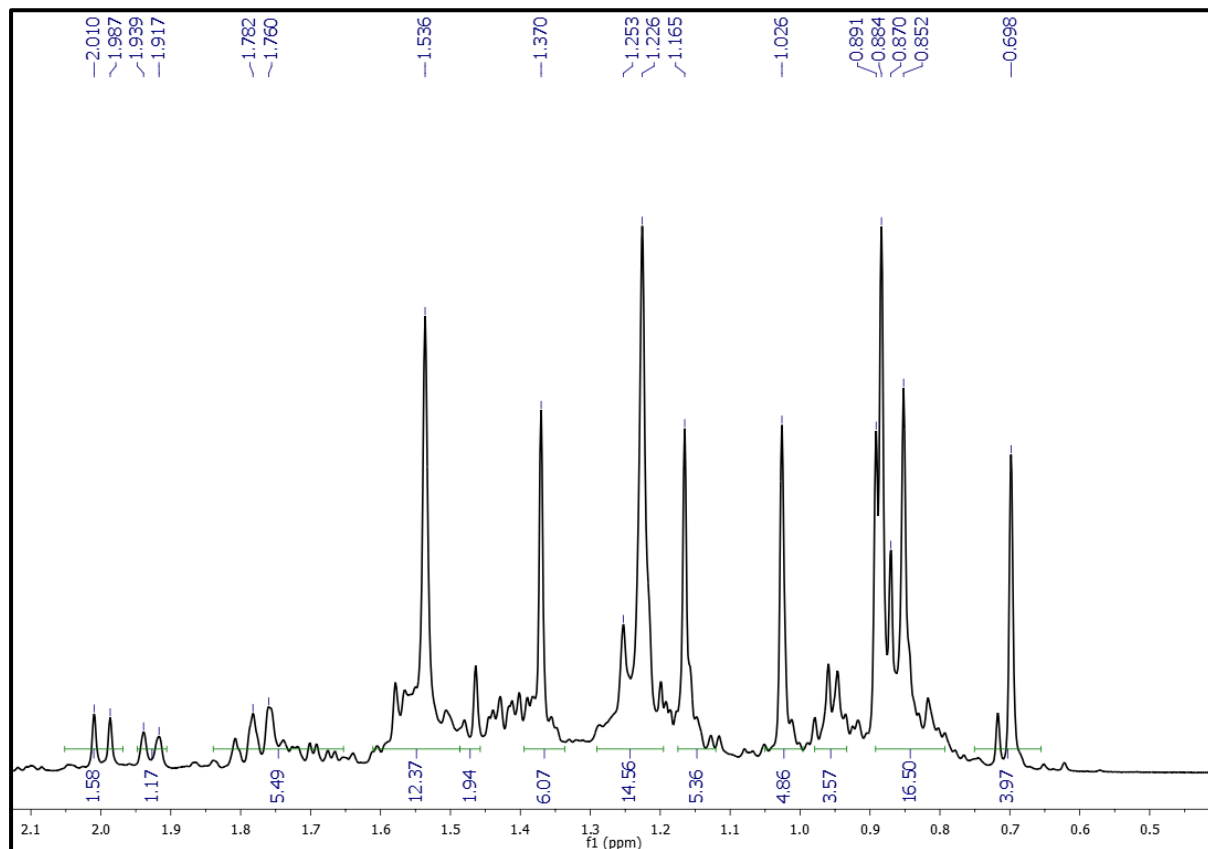


Figura 40: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 2.1 a 0.5 ppm

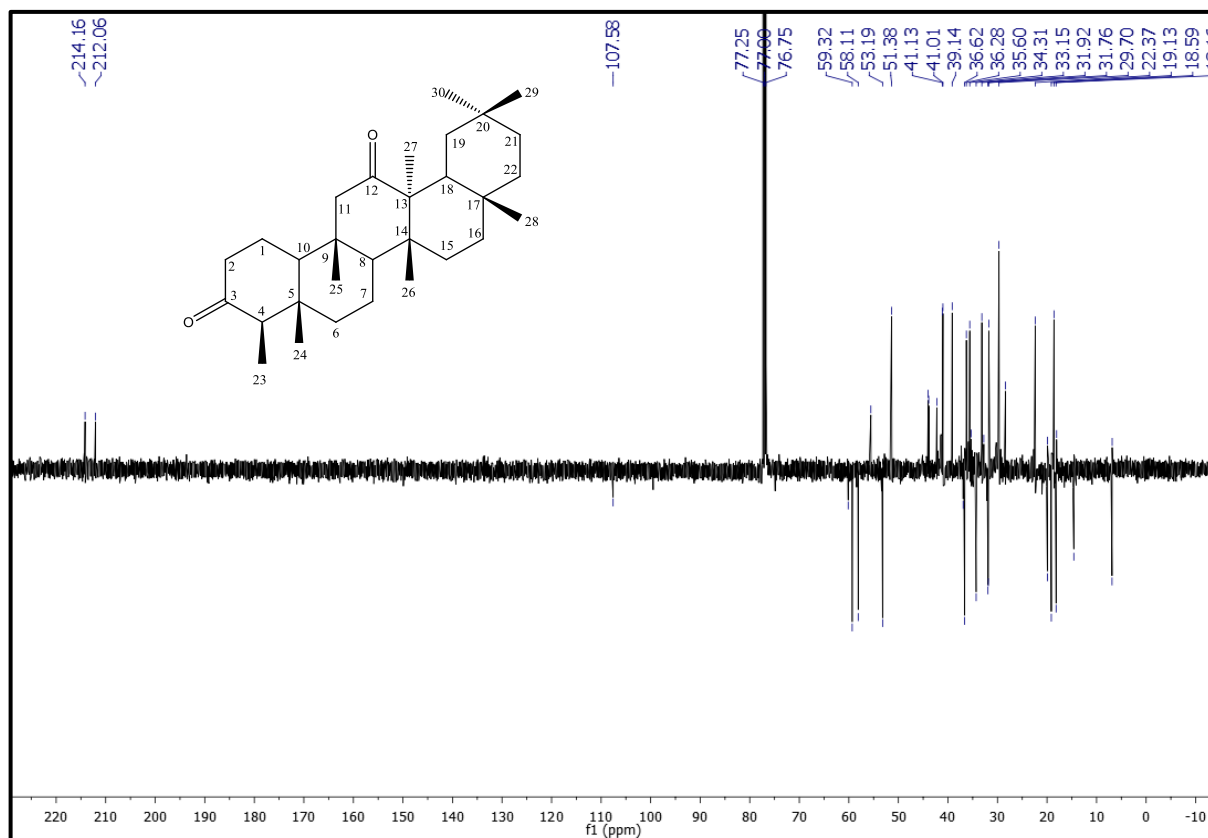


Figura 41: Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3

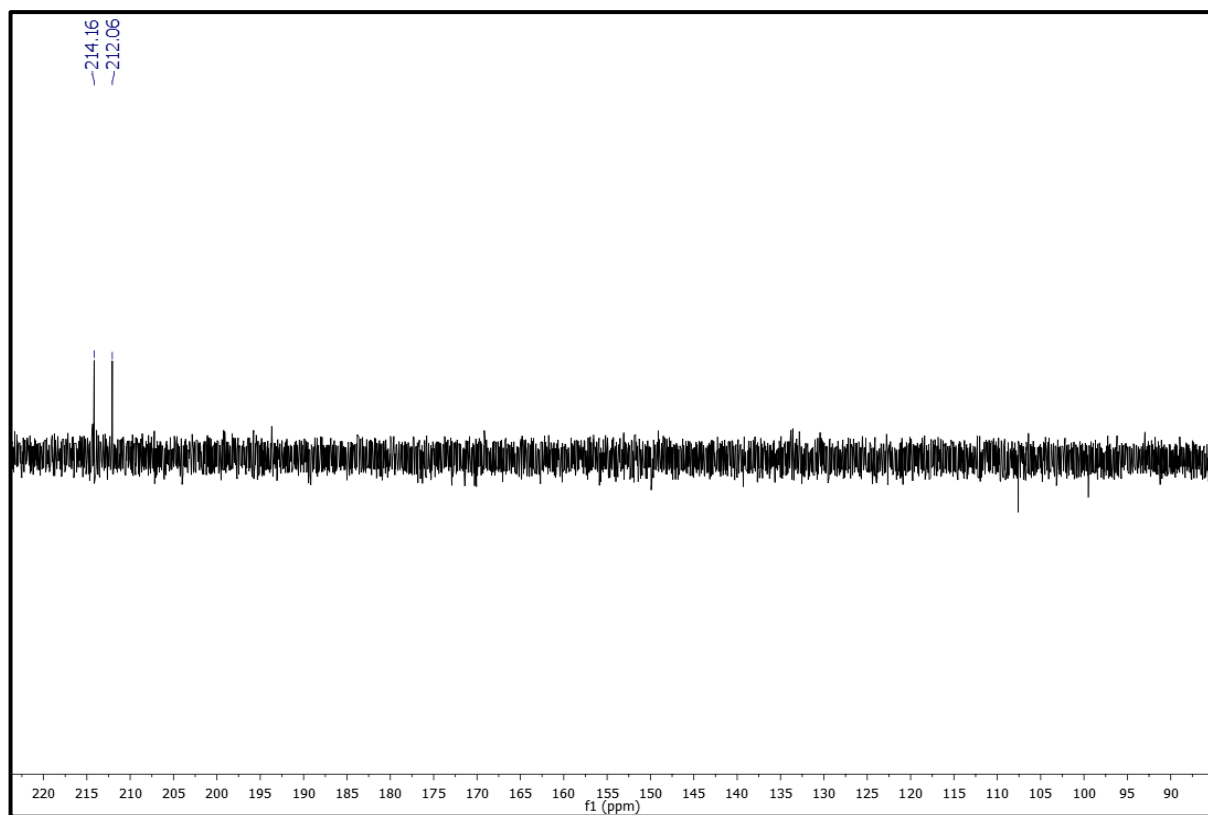


Figura 42: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 220 a 90 ppm

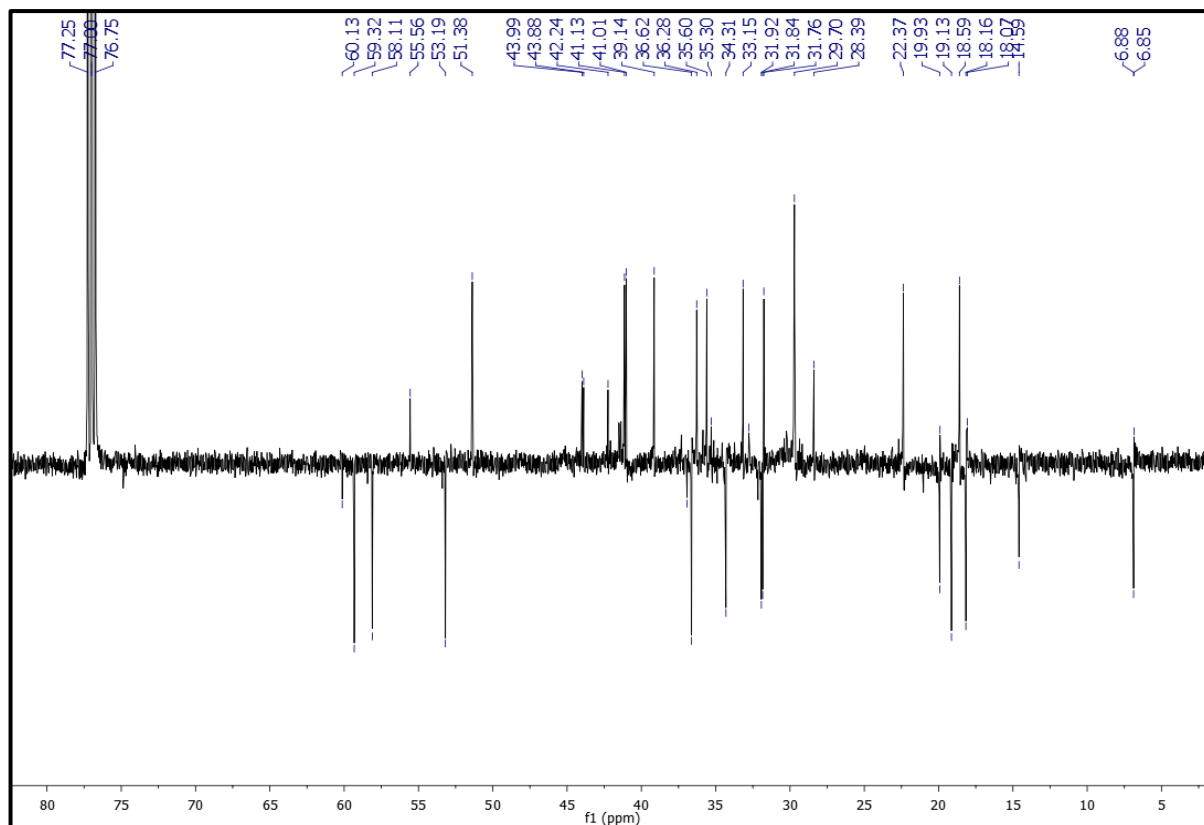


Figura 43: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 80 a 5,0 ppm

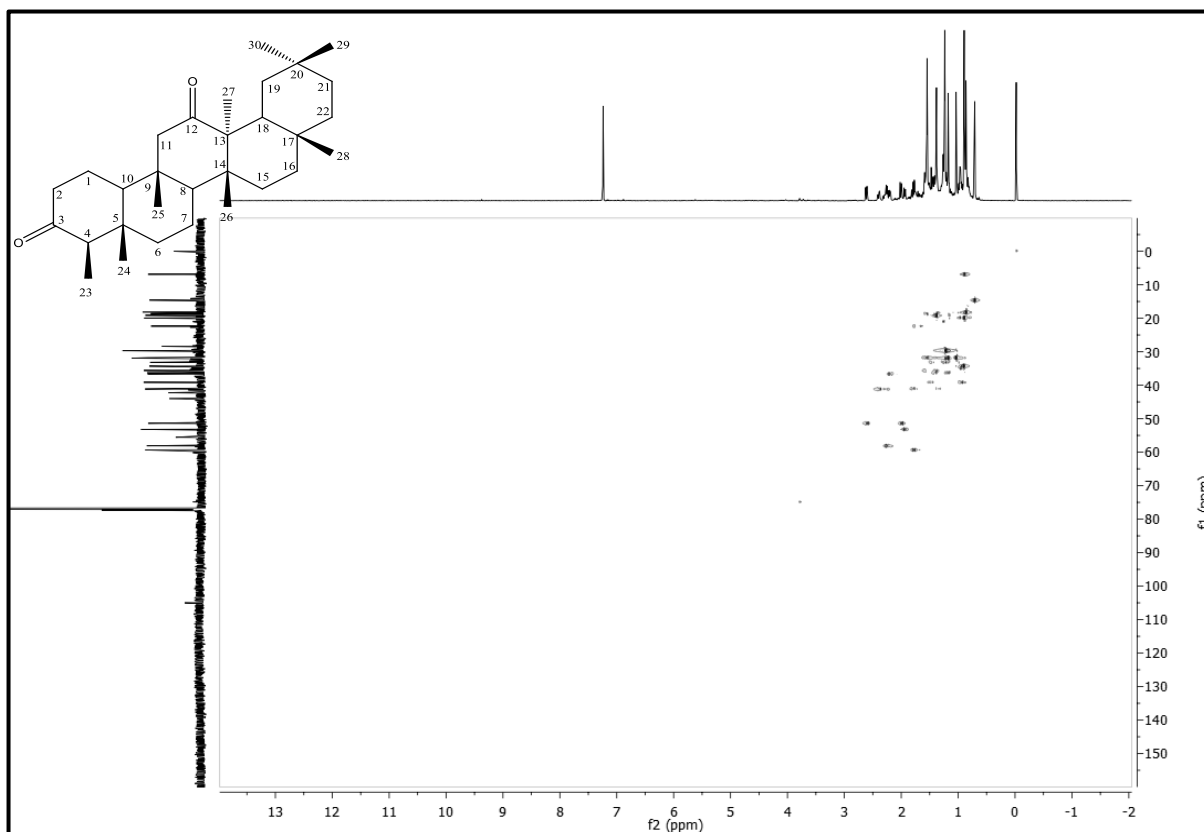


Figura 44. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3

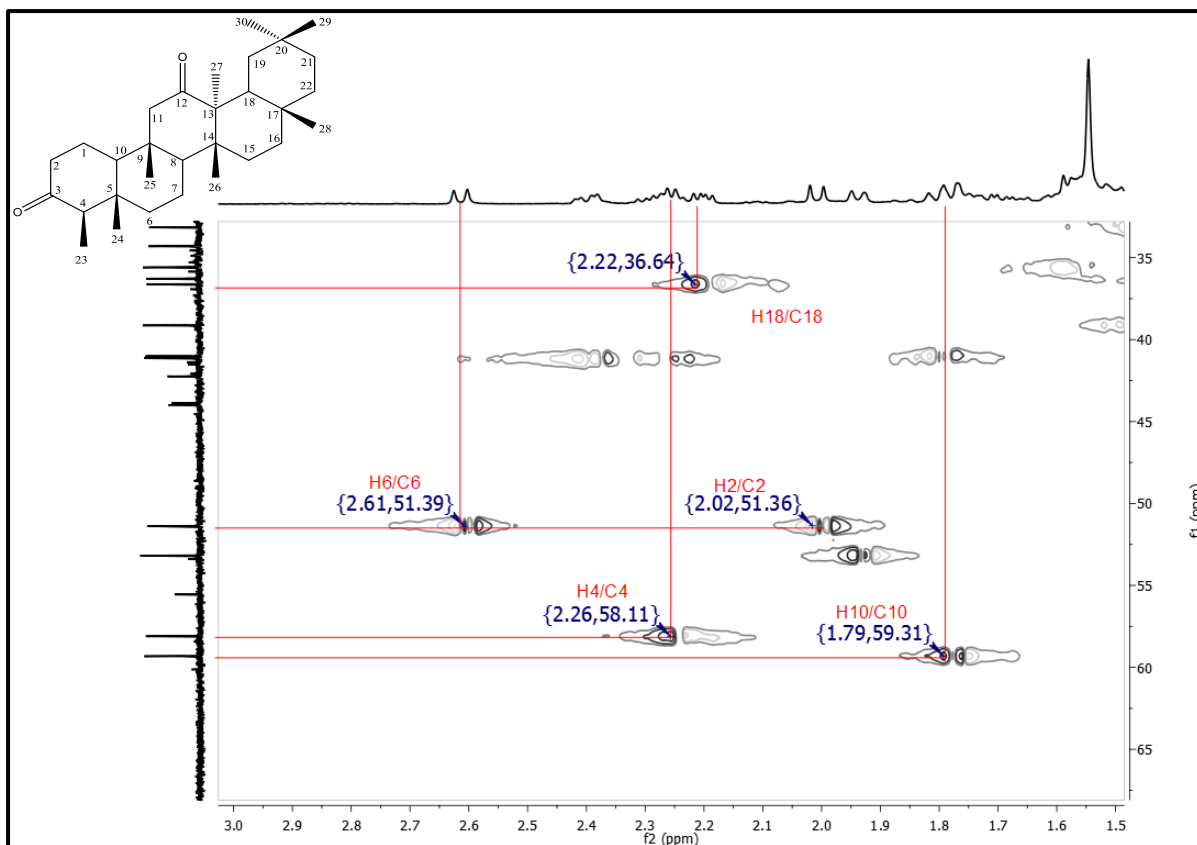


Figura 45. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 35 a 65 ppm

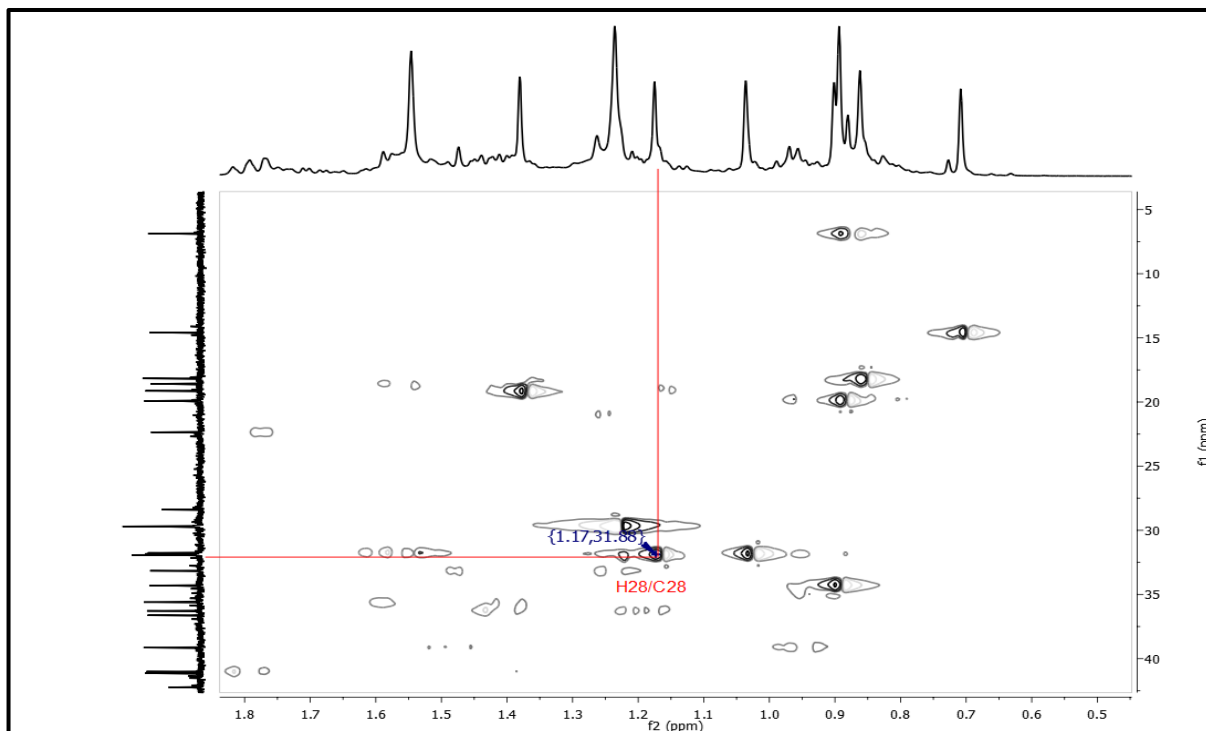


Figura 46. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 a 125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 5 a 40 ppm

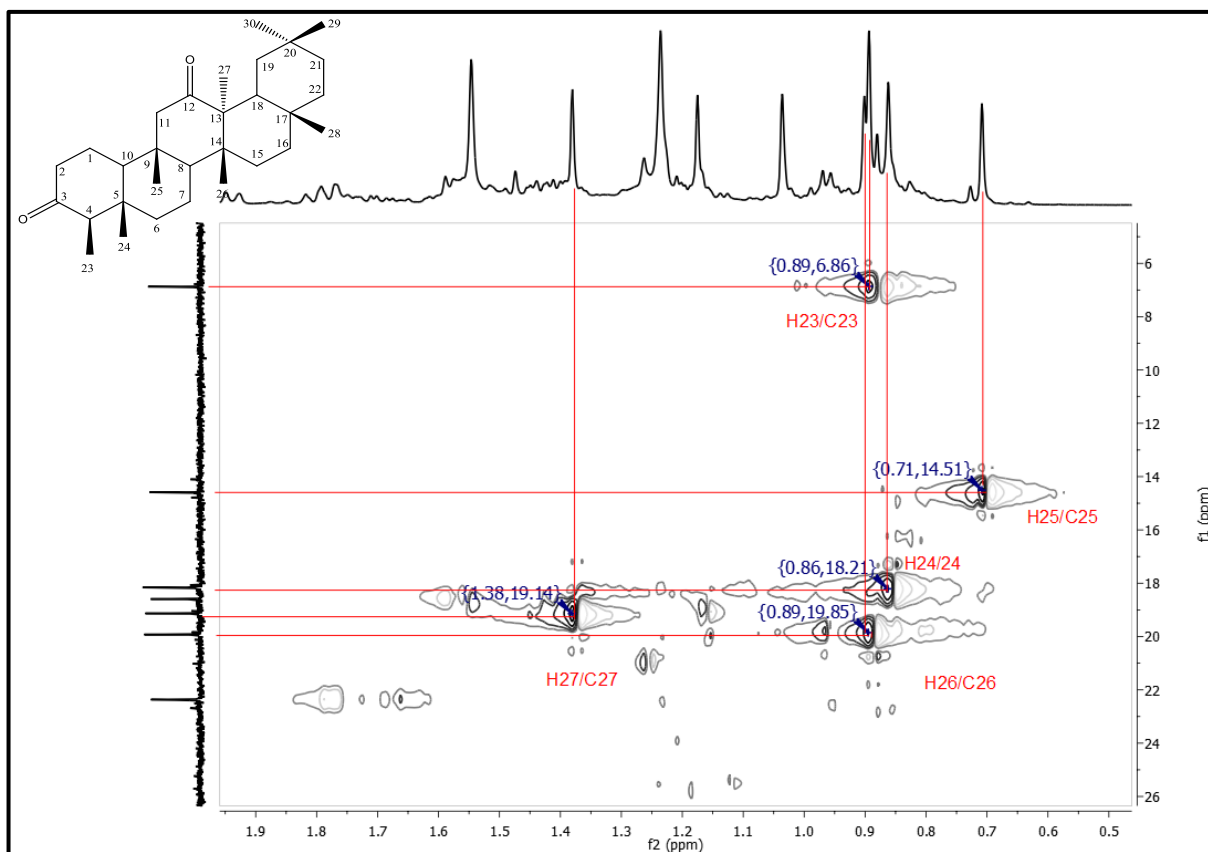


Figura 47. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 6 a 26 ppm

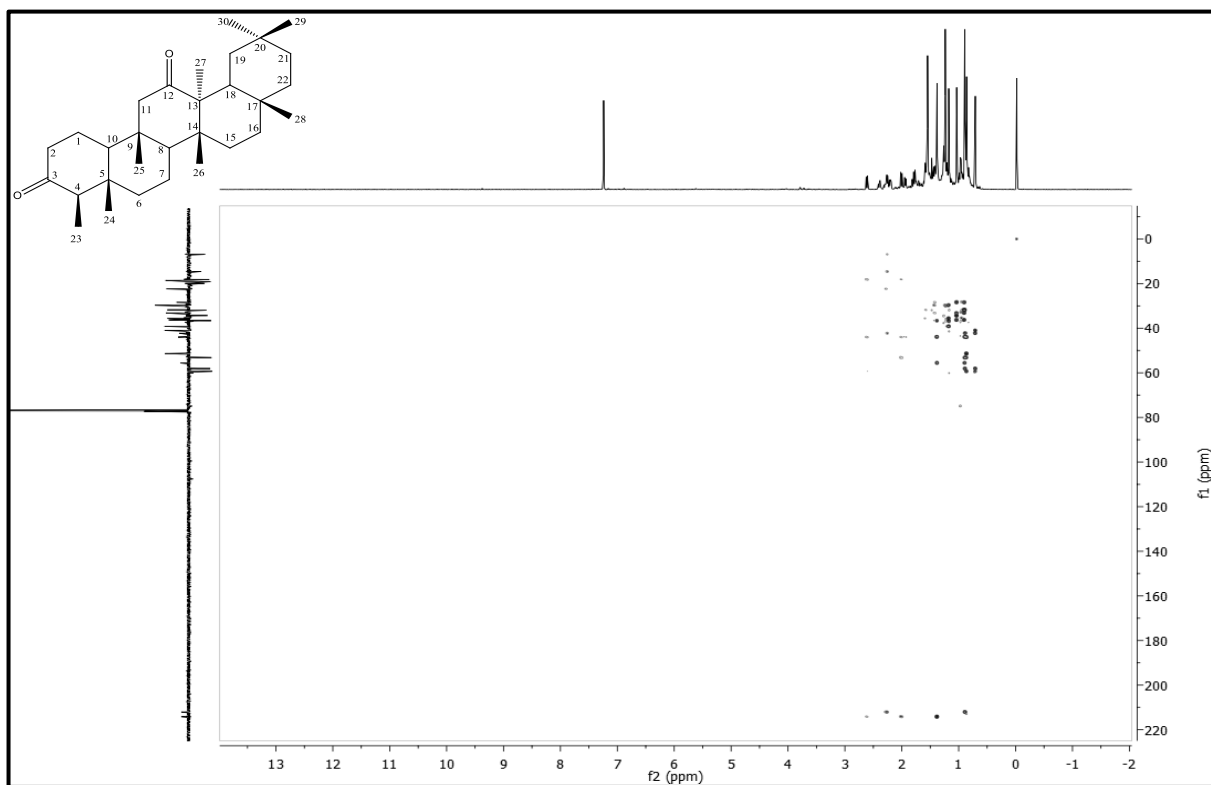


Figura 48. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3

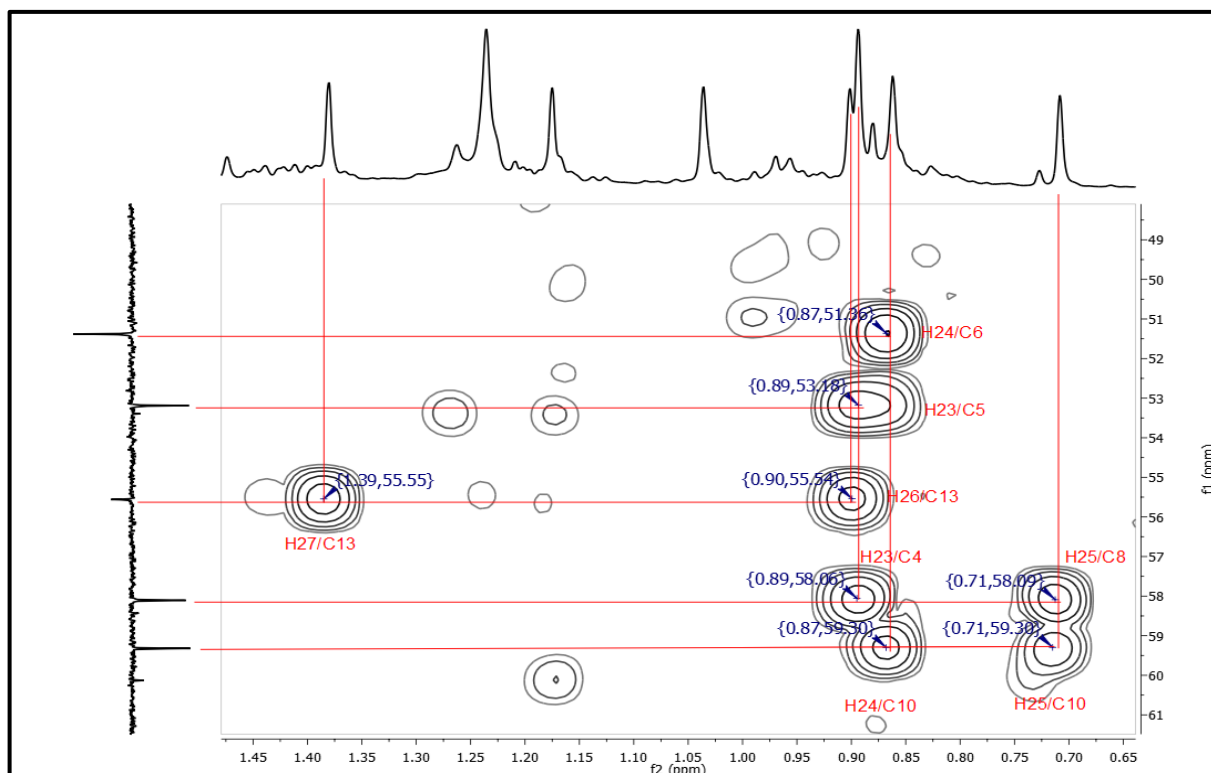


Figura 49. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-6 em CDCl_3 na região de 49 a 63 ppm

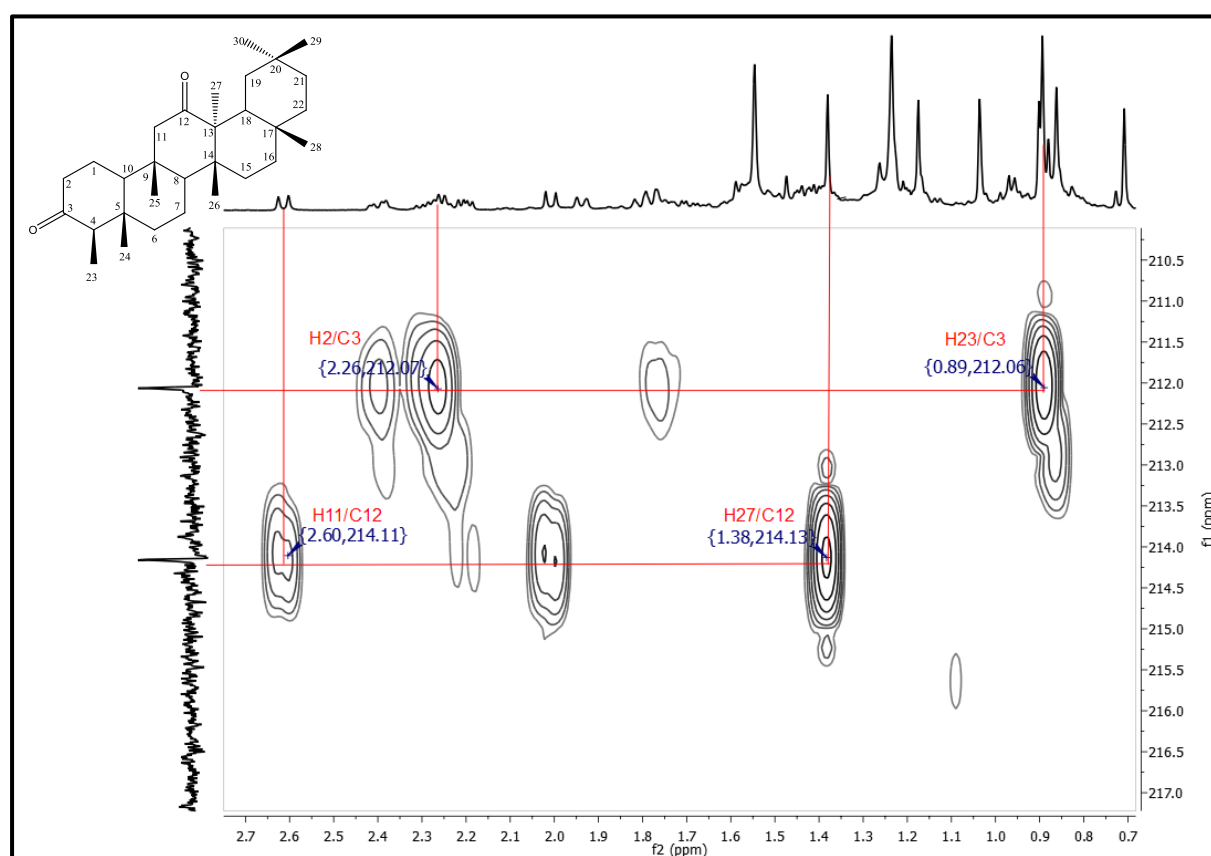


Figura 50. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-6 em CDCl_3 na região de 210.5 a 217.0 ppm

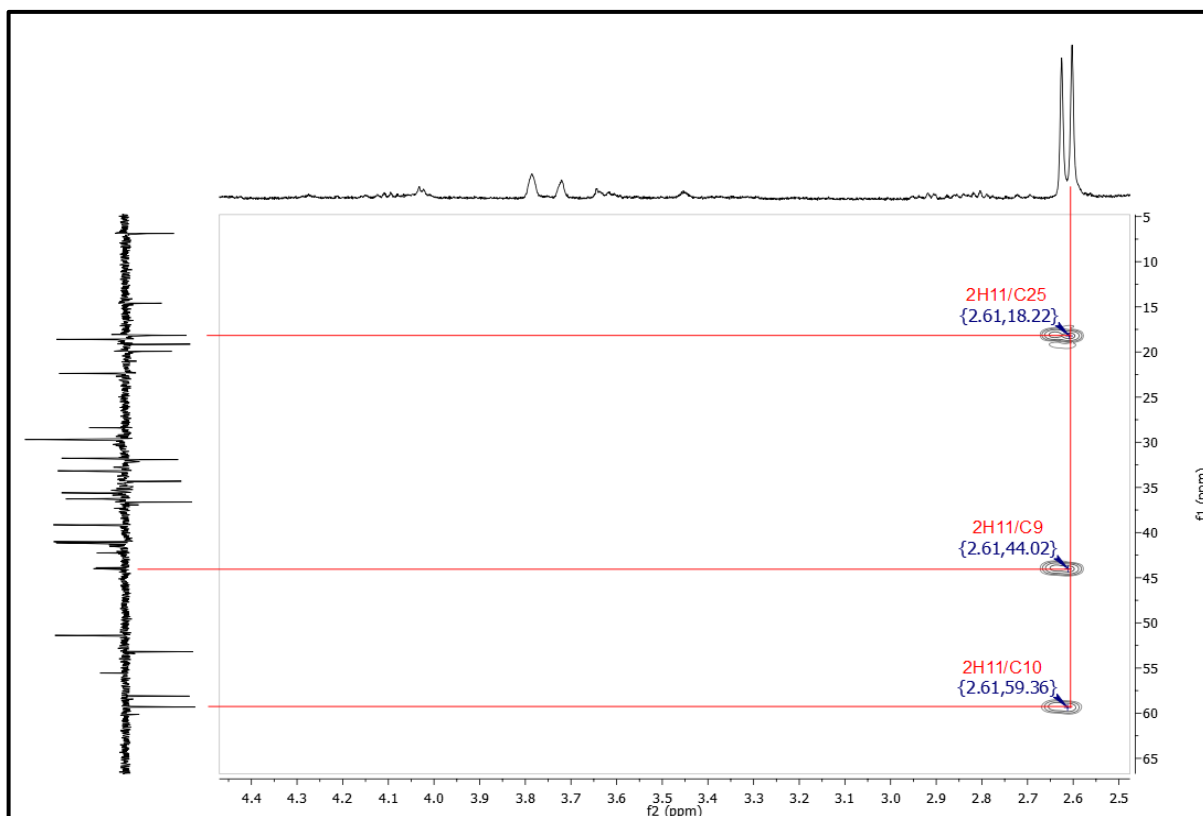


Figura 51. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 125 MHz) de Md-6 em CDCl_3 na região de 5 a 65 ppm

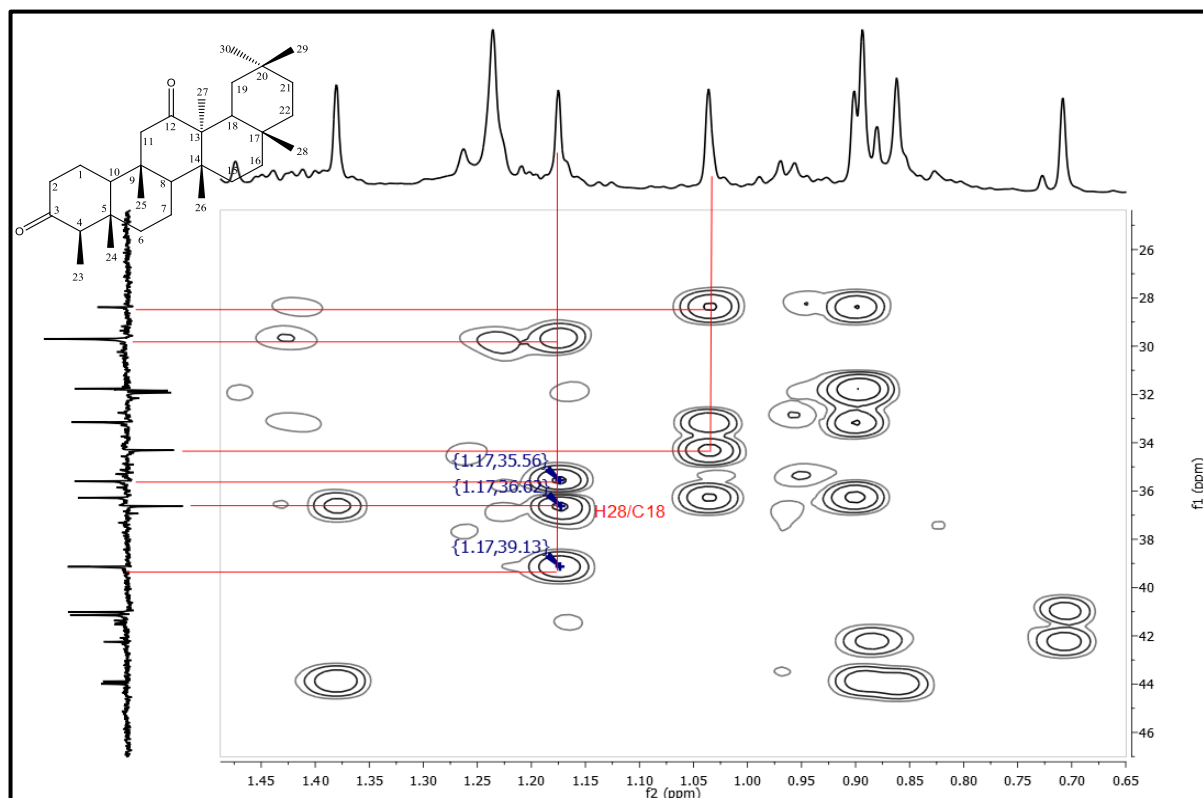


Figura 52. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 MHz) de Md-6 em CDCl_3

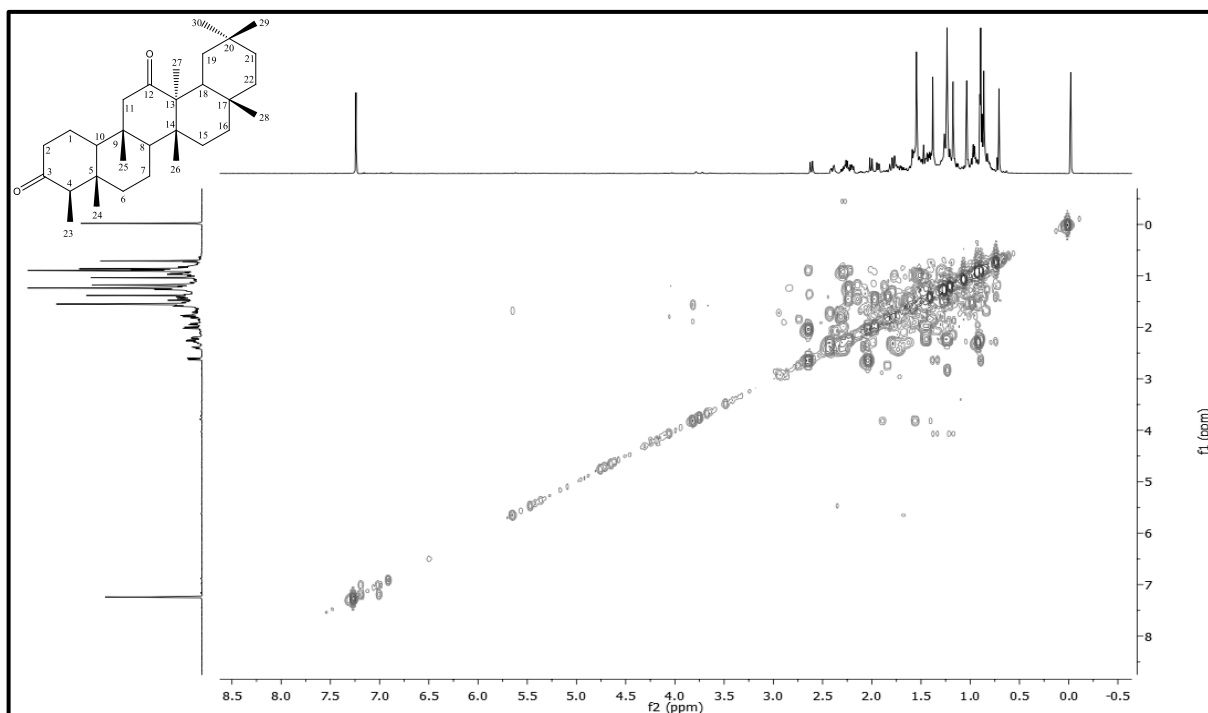


Figura 53. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3

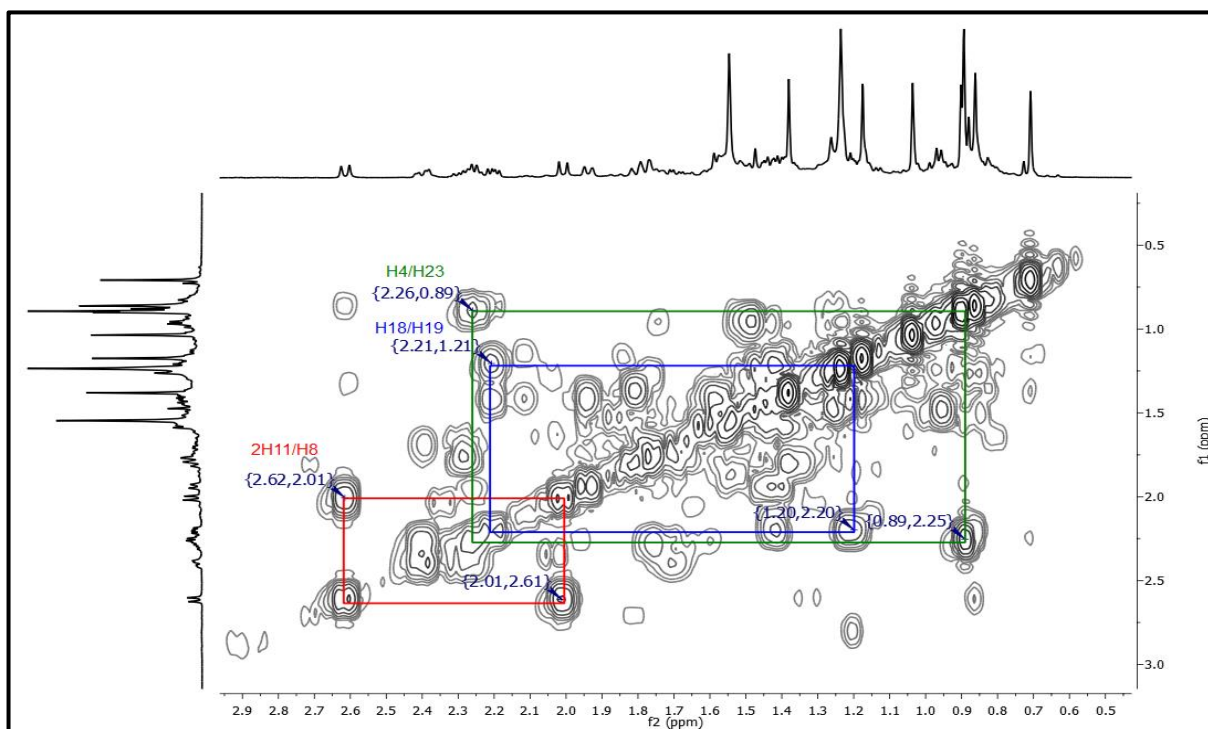


Figura 54. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 2,9 a 0,7 ppm

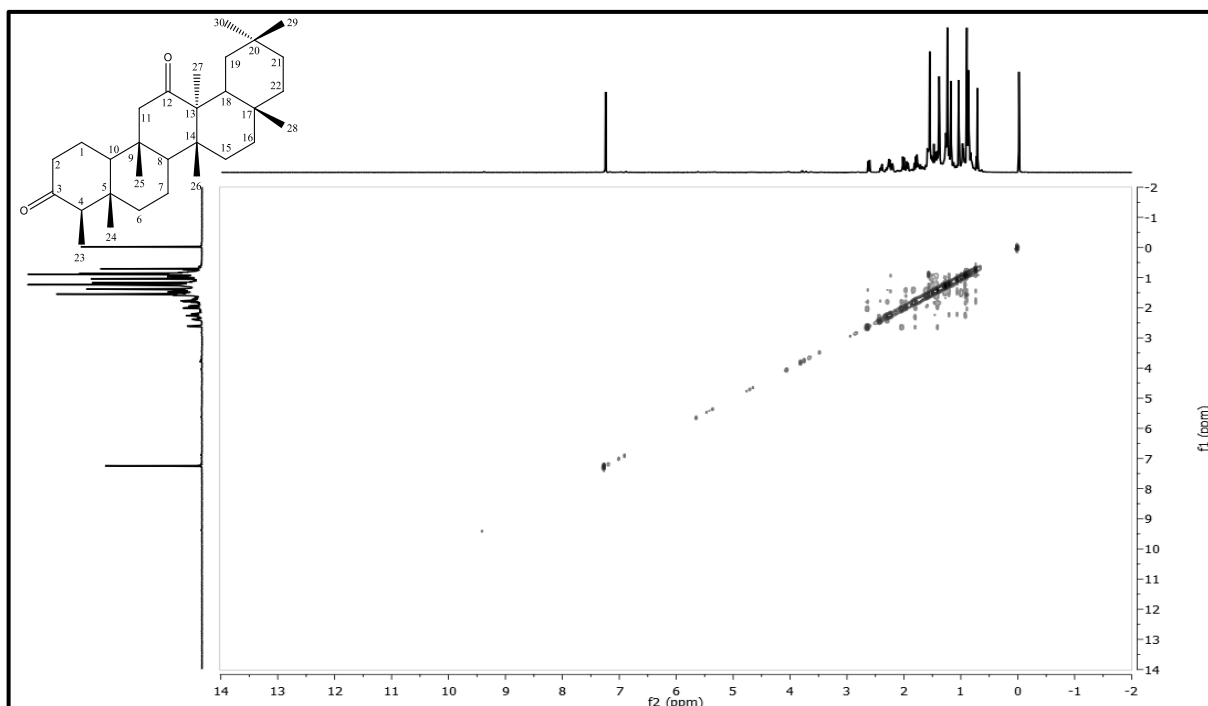


Figura 55. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3

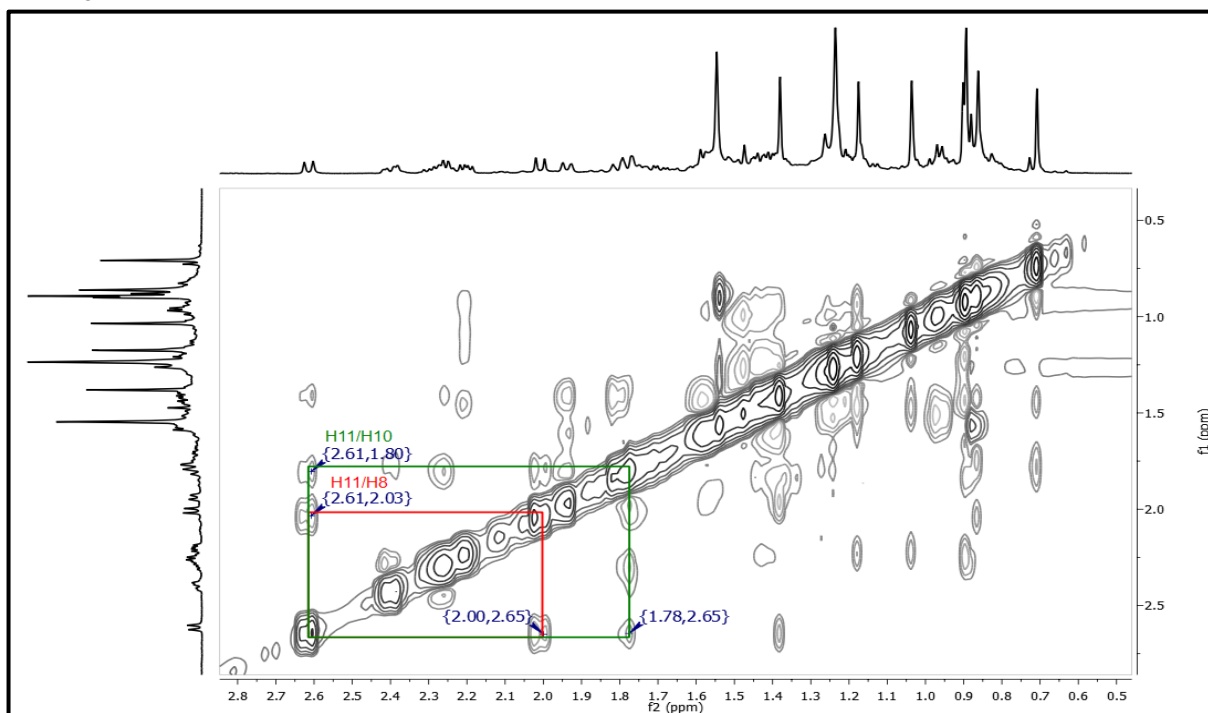


Figura 56. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de Md-6 obtido em CDCl_3 na região de 2,8 a 0,5 ppm

5.1.7. Determinação estrutural de Md-7

A substância codificada como Md-7 foi isolado como um solido amorfo branco com ponto de fusão 310 a 312,5 °C, e $[\alpha]_D^{20} +1.4$ (c. 0,001 CHCl₃). O espectro no IV (Figura 49, Pág 72) mostrou bandas de absorção na região de 3.419 cm⁻¹, característicos de grupos hidroxilas, e na região 1.720 cm⁻¹ característico de carbonilas de cetona e uma banda em 1.458 cm⁻¹ característico de carbonila α , β insaturadas.

O espectro de massas de alta resolução foi obtido por ESI⁺ ionização apresentou o pico catiônico molecular $[M + H]^+$ 485.3306, compatível com a forma molecular C₃₀H₄₄O₅, (Figura 59, Pág 71).

No espectro de RMN ¹H (Figura 60 e 61, Pág 72) observou-se os sinais em, δ_H 0,740 (s), 0,886 (s), 1,113 (s), 0,840 (s), 1,093 (s), 0,911 (s), 1,043 (s) e 1,169 (d, $J = 6,5$), atribuídos a oito metilas. De acordo com a literatura o dubleto em 1,169 é consistente com CH₃-23 de triterpenos da serie friedelano com instauração entre C-1 e C-2. (NOZAKI *et al*, 1991). Observou-se ainda os sinais em δ_H 6,65 (d, $J = 10,5$) e 5.92 (dd, $J = 10.5$ e 3.0) atribuídos a H-1 e H-2 (Figura 63, Pág 73) e os sinais em δ_H 3.63 (dd, $J = 9.5$ e 5.0) e 3.94 (dd, $J = 11.0$ e 4.0) que foram atribuídos a H-6ax e H-12ax (Figura 62, Pág 73), inferindo dessa forma, a orientação equatorial para as hidroxilas ligadas em C-6 e C-12 respectivamente.

O espectro de RMN ¹³C-APT (Figura 64, Pág 74) mostrou 29 sinais correspondentes a 30 átomos de carbonos: oito metílicos, cinco metilênicos, oito metínicos e nove não hidrogenados condizentes com esqueleto de triterpenos do tipo friedelano. Os sinais em δ_C 200,87, 146,28 e 130,14 (Figura 65, Pág 74) foram atribuídos a C-3, C-1 e C-2, respectivamente de um sistema carbonílico α , β insaturado de triterpenos friedelanos (NOZAKI *et al*, 1991). Os sinais em δ_C 77.25 e 69.32 foram atribuídos a C-6 e C-12 respectivamente (Figura 66, Pág 75) (NOZAKI *et al*, 1991) A localização das hidroxilas em C-6 e C-12 é corroborada pelo deslocamento químico em 8.69 correspondente à metila CH₃-25 e CH₃-27, ambas sofrendo efeito γ de proteção. Ainda nesse espectro foram observados os sinais em 214.24 e 218.13 atribuidos aos carbonos C-16 e C-21. (NOZAKI *et al*, 1991).

No espectro HMQC foi possível observar as correlações dos sinais em δ_H 3.63 (H-6) com δ_C 77.25 (C-6) e de δ_H 3.94 (H-12) com δ_C 69.32 (C-12) (Figura 68 e 69, Pág 76), além das correlações de 1.18 (CH₃-23) com 9.7 (C-23) e de 2.23 com 57.7 que foi atribuído a H-4/C-4 (Figura 69 e 70 ,Pág 76 e 77). As demais correlações são mostradas na Tabela 7, (Pág 70).

No espectro HMBC as seguintes correlações foram observadas: δ_H 2.23 (H-4) com os carbonos em δ_C 200.87, 49.10, 60.35 e 8.69 confirmando as atribuições de C-3, C-5, C-10 e CH₃-24, (Figura 72, Pág 78) respectivamente. 0.74 (CH₃-24) com os carbonos em δ_C 77.25 e 57.72 correspondentes a C-6 e C-4, respectivamente. δ_H 2.07 (H-10) com o carbono em 19.79 (CH₃-25), (Figura 73, Pág 78) e de 0.89 (CH₃-25) com os carbonos em δ_C 48.19, 36.66 e 45.37 (Figura 73 e 63, Pág 78) que foram atribuídos a C-8, C-9 e C-11, respectivamente. δ_H 1.40 (H-8) com os carbonos em δ_C 19.93 e 49.56 (CH₃-26 e C-15) (Figura 76, Pág 80), respectivamente. δ_H 1.85/1.18 (2H-11) com 69.32 (C-12), (Figura 72, Pág 78). δ_H 0.84 (CH₃-27) com 44.66 (C-18) e com 69.32 (C-12), (Figura 78, Pág 81). 2.26/2.07 (H-15) com os carbonos em δ_C 214.24 e 19.23, (Figura 72, Pág 78) que foram atribuídos a C-16 e CH₃-26, respectivamente. 2.44 (H-18) com os carbonos em δ_C 29.05 (CH₃-28) e 39.58 (C-19), (Figura 72, Pág 78). 1.09 (CH₃-28) com os carbonos em δ_C 47.16 e 47.12 (C-22 e C-17), (Figura 77, Pág 80) respectivamente. 2.04/1.81 (H-19) com os carbonos em δ_C 42.29, 28.39, e 24.37 atribuídos aos carbonos C-20, CH₃-29 e CH₃-30, (Figura 75, Pág 79), respectivamente. δ_H 0.91 (CH₃-29) com 218.13 (C-21), (Figura 69 e 71, Pág 76 e 77) e com 26.40 (CH₃-30). As demais correlações estão na Tabela 7 (Pág .72).

As correlações entre hidrogênios geminados e vicinais foram observados no COSY e suas expansões (Figura. 79 e 80, Pág. 81 e 82) e estão compiladas na Tabela 7, (Pág.70).

As estereoquímicas relativas foram determinadas através do NOESY e estão mostradas na (Figura 81 e 82, Pág 82 e 83) confirmando a orientação equatorial das hidroxilas inseridas em C-6 e C-12. Através da análises de todos os dados espectroscópicos e comparações com a literatura foi possível determinar Md-7 como sendo 6 β ,12 α -dihidroxi-friedelan-1 α -3,16,21-triona um novo produto natural nomeado como maytensifolona.



Tabela 7: Dados de RMN de ^{13}C e ^1H (500 MHz) de Md-7 em CDCl_3

N ^a	Tipos de Carbonos	HMQC		HMBC	
		δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1	CH ₂	146.28	6.65 (d, 10.5)	-----	-----
2	CH ₂	130.14	5.92 (dd, 10.5, 3.0)	-----	-----
3	C	200.87	-----	H-4	3H-23
4	CH	57.72	2.23 (q)	3H-23	3H-24-
5	C	49.10	-----	H-4; 3H-24	2H-7; 3H-24; 3H-25
6	CH ₂	77.25	3.63 (dd, 9.5, 5.0)	2H-7	3H-24
7	CH ₂	28.67	1.49 (m), 1.46 (m)	-----	-----
8	CH	48.19	1.40 (m)	-----	-----
9	C	36.66	-----	H-8; 2H-11; 3H-25	2H-7
10	CH	60.35	2.08 (m)	-----	H-4; 3H-24; 3H-25
11	CH ₂	45.37	1.82 (m), 1.17 (m)	-----	3H-25
12	C	69.32	3.94 (dd, 11.0, 4.0)	2H-11	3H-27
13	C	39.97	-----	3H-27	H-8; 2H-15; 3H-26
14	C	45.56	-----	3H-26	3H-27
15	CH ₂	49.56	2.24 (d, 19.0) 2.06 (d, 19.0)	-----	3H-26
16	CH ₂	214.24	-----	2H-15	3H-28
17	C	47.12	-----	3H-28	
18	CH	44.66	2.46 (m)	2H-19	H-11a; 3H-27; 3H-28
19	CH ₂	39.58	2.03 (m), 1.82 (m)	-----	3H-29; 3H-30
20	C	42.29	-----	2H-19; 3H-29; 3H-30	-----
21	CH ₂	218.13	-----	-----	2H-19; 3H-29; 3H-30
22	CH ₂	47.16	2.46 (m)	-----	3H-28
23	CH ₃	9.80	1.17 (d, 6.5)	H-4	-----
24	CH ₃	8.69	0.74 (s)	-----	H-4
25	CH ₃	19.57	0.89 (s)	-----	H-8; H-11b
26	CH ₃	19.93	1.11 (s)	-----	H-8; 2H-15
27	CH ₃	8.69	0.84 (s)	-----	H-18
28	CH ₃	29.07	1.09 (s)	-----	2H-22
29	CH ₃	28.39	0.91 (s)	-----	H-19b; 3H-30
30	CH ₃	26.40	1.04 (s)	-----	2H-19; 3H-29

^a Data obtained at 500 MHz in $\text{CDCl}_3 + \text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (δ em ppm, J em Hz).

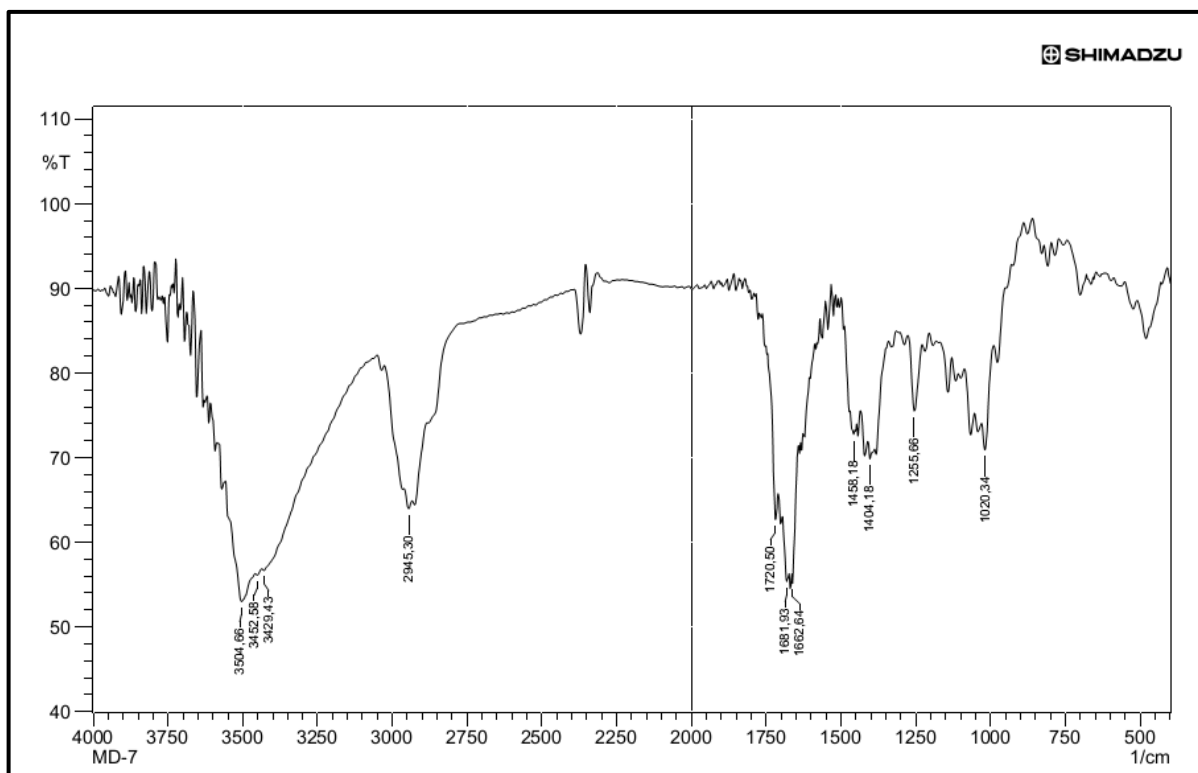


Figura 58. Espectro de IV de Md-7 obtido em pastilha de KBr

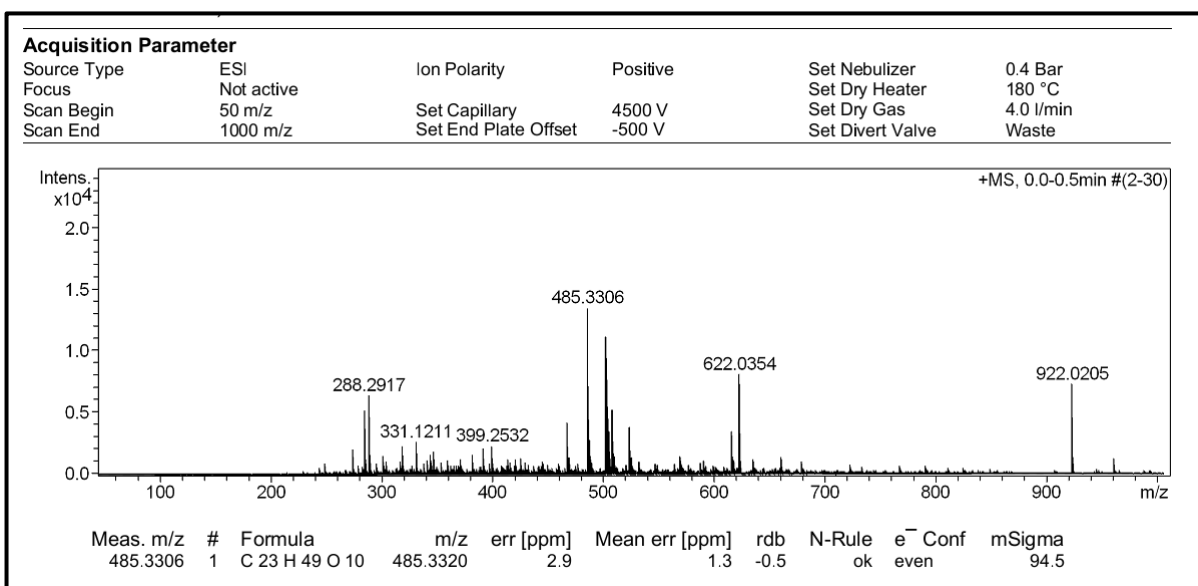


Figura 59. Espectro de massas de alta resolução de Md-7 obtido por ESI⁺.

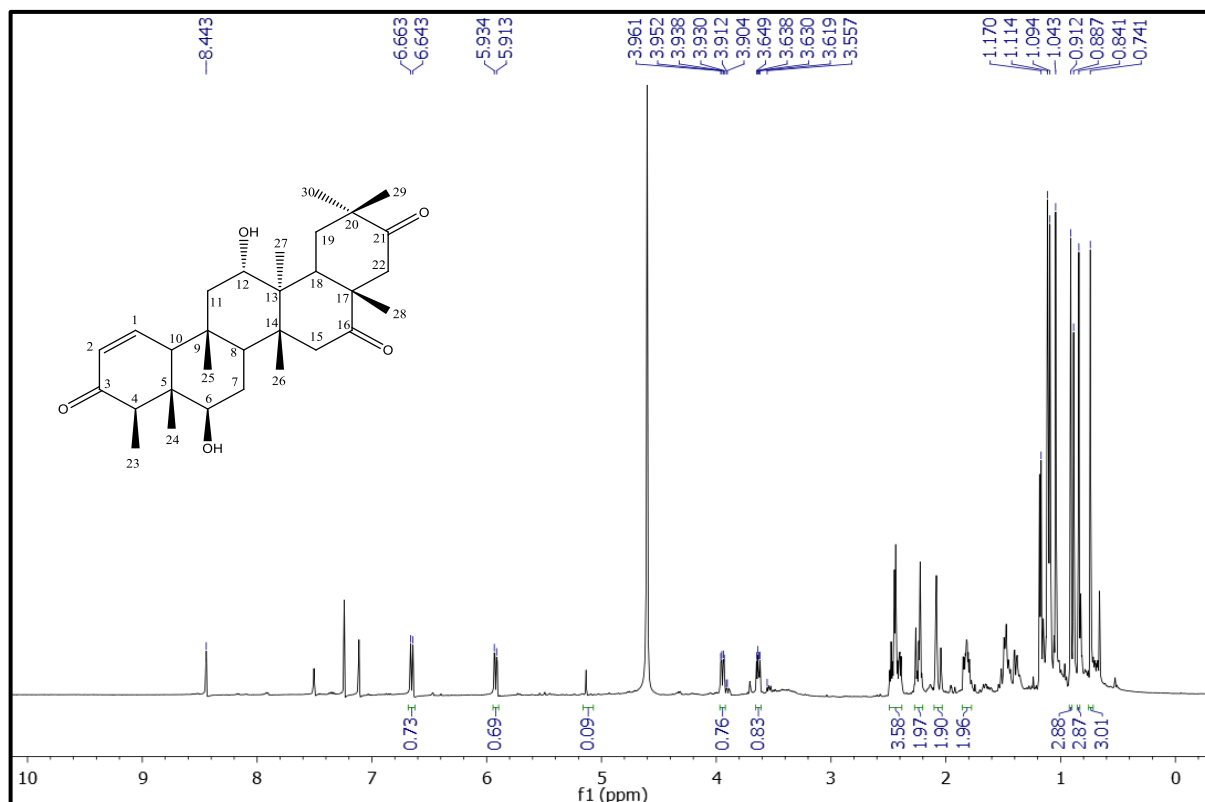


Figura 60: Espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina

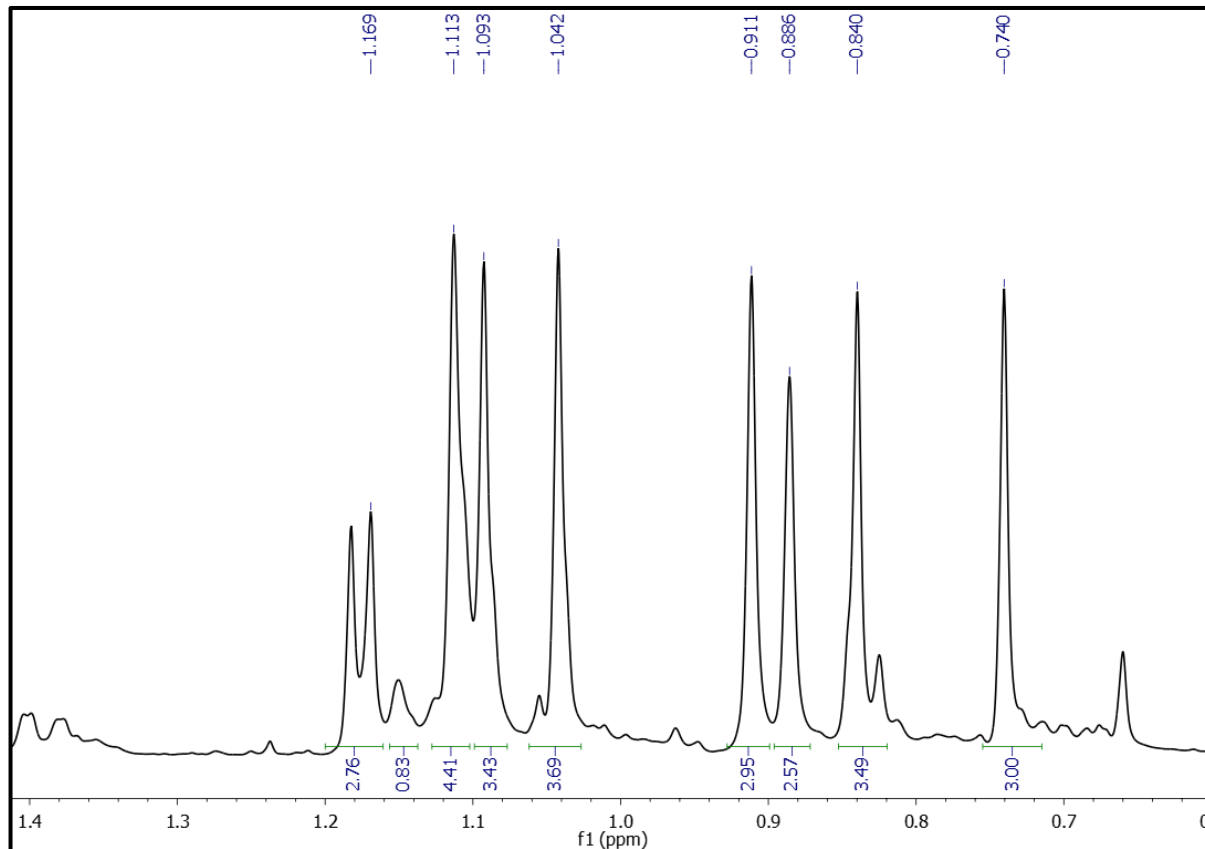


Figura 61 :Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 1,4 a 0,7 ppm

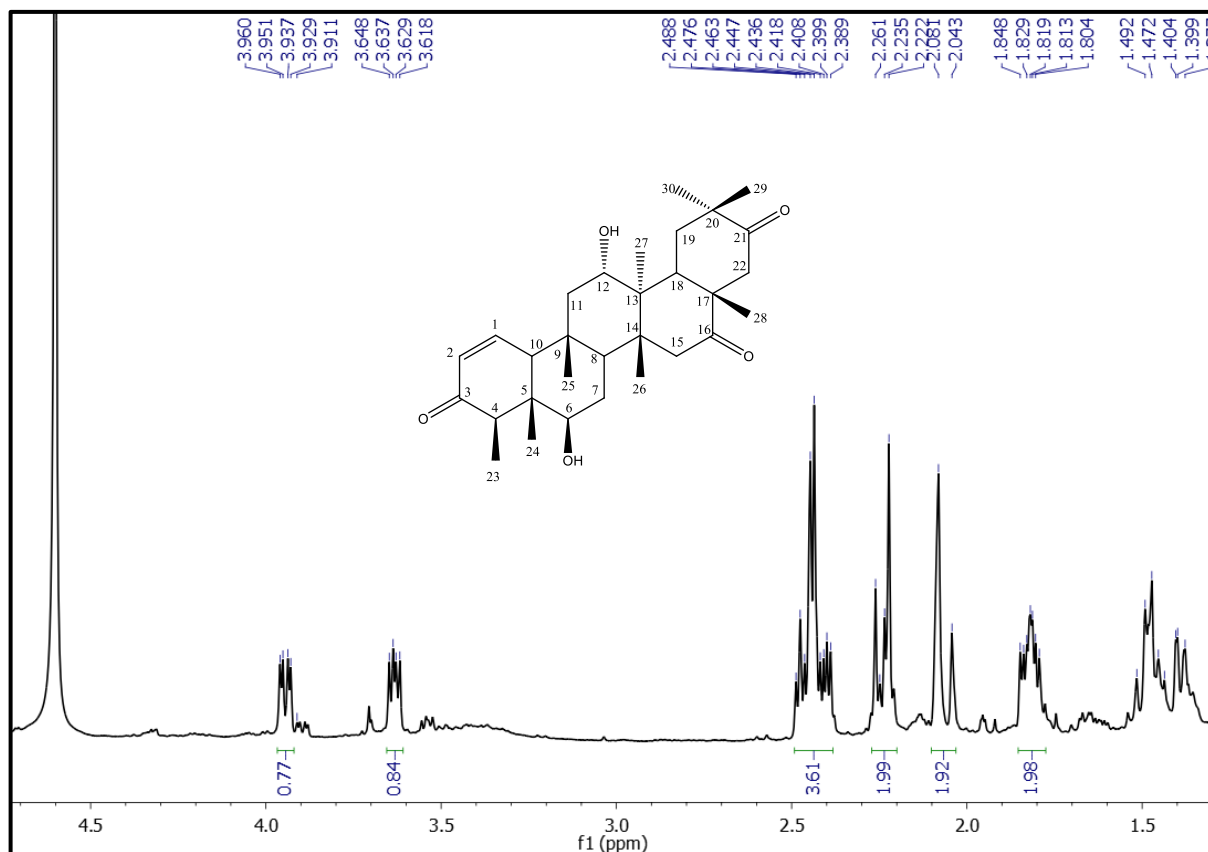


Figura 62: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 4,5 a 1,5 ppm

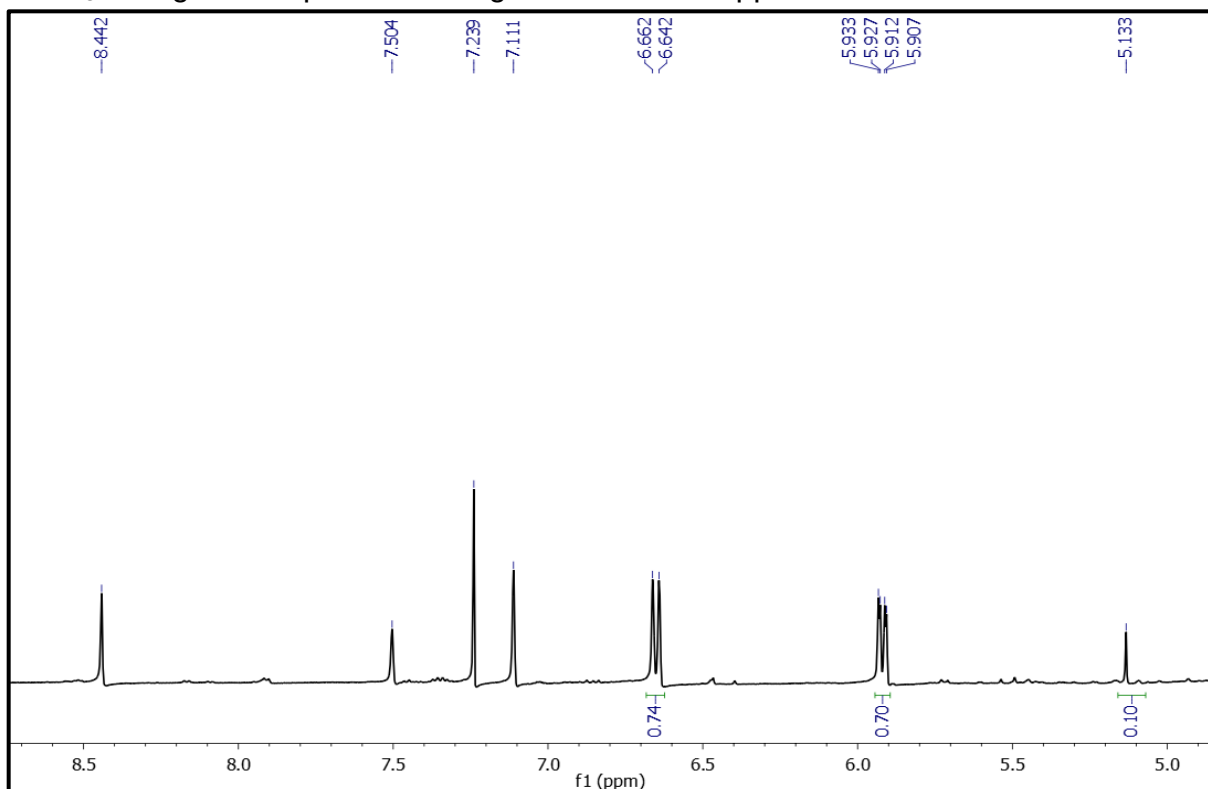


Figura 63. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 8,5 a 5,0 ppm

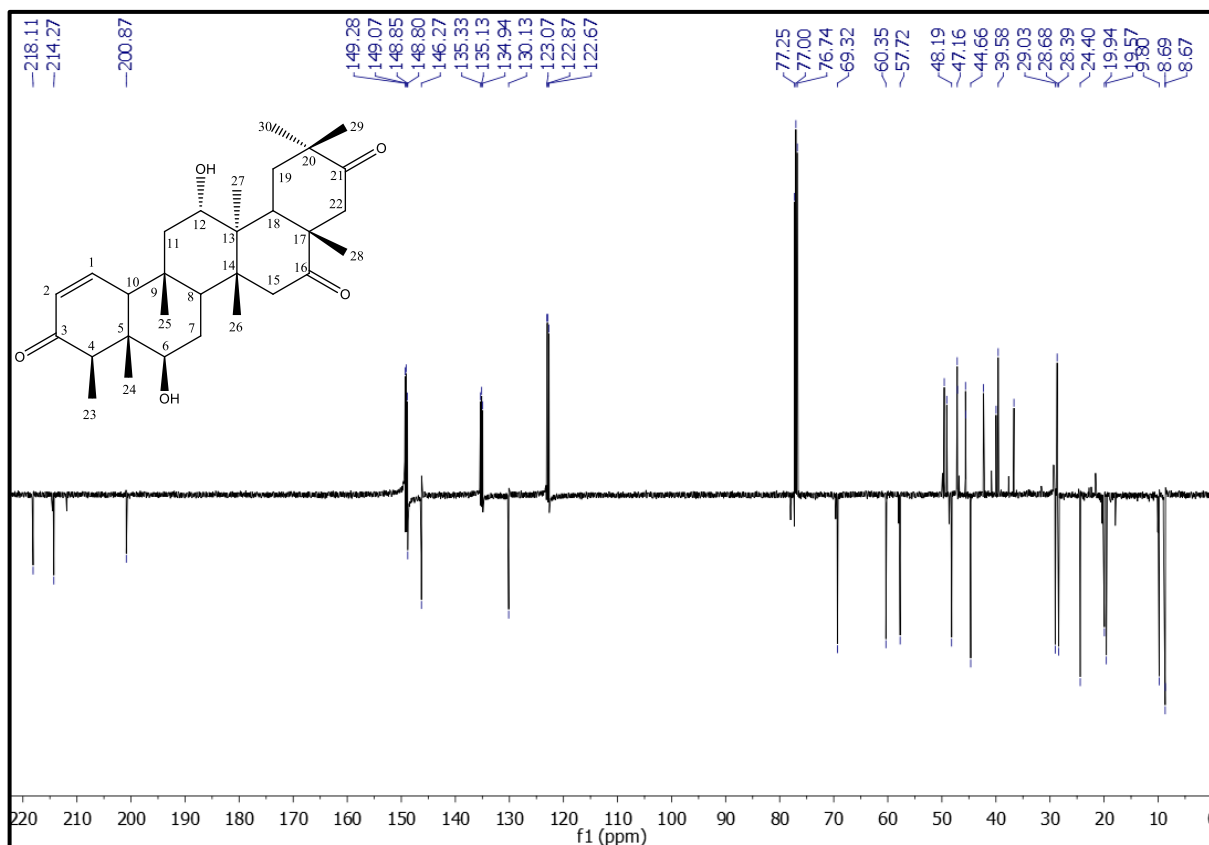


Figura 64: Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina

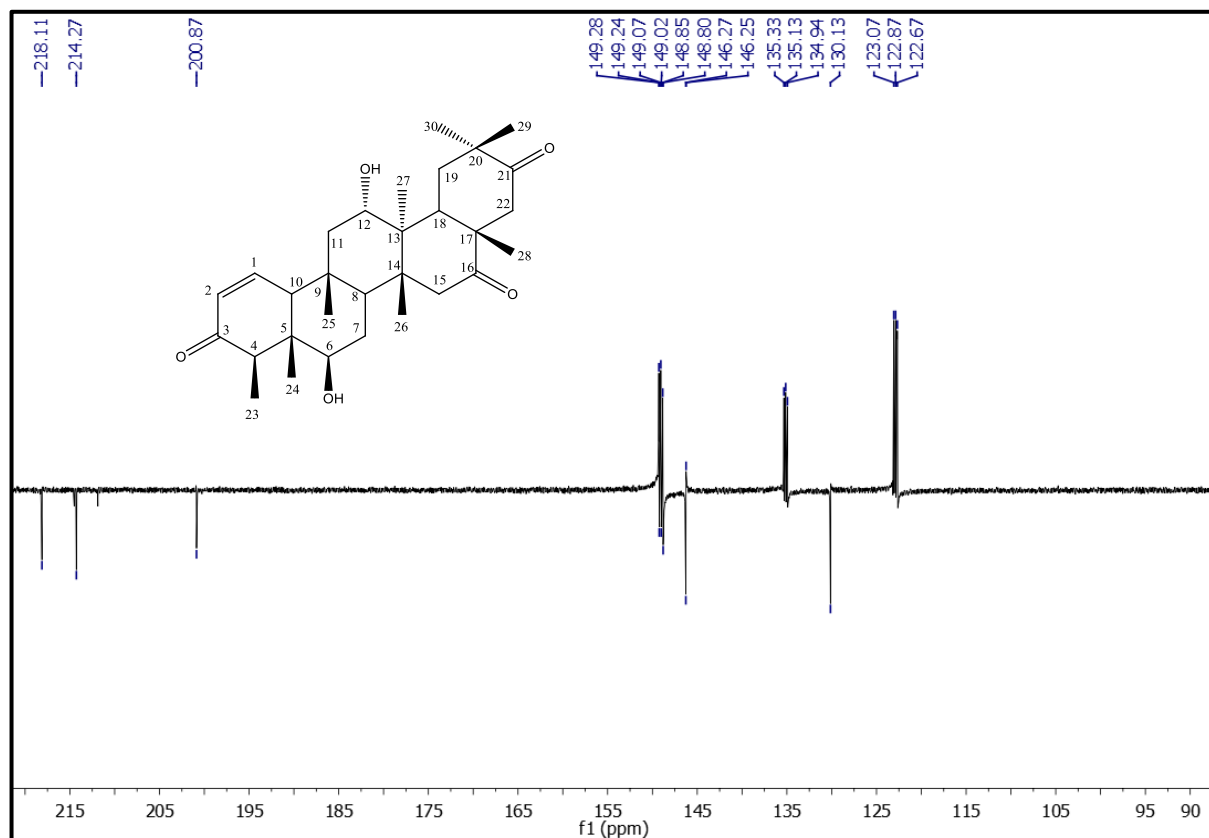


Figura 65: Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 215 a 90 ppm

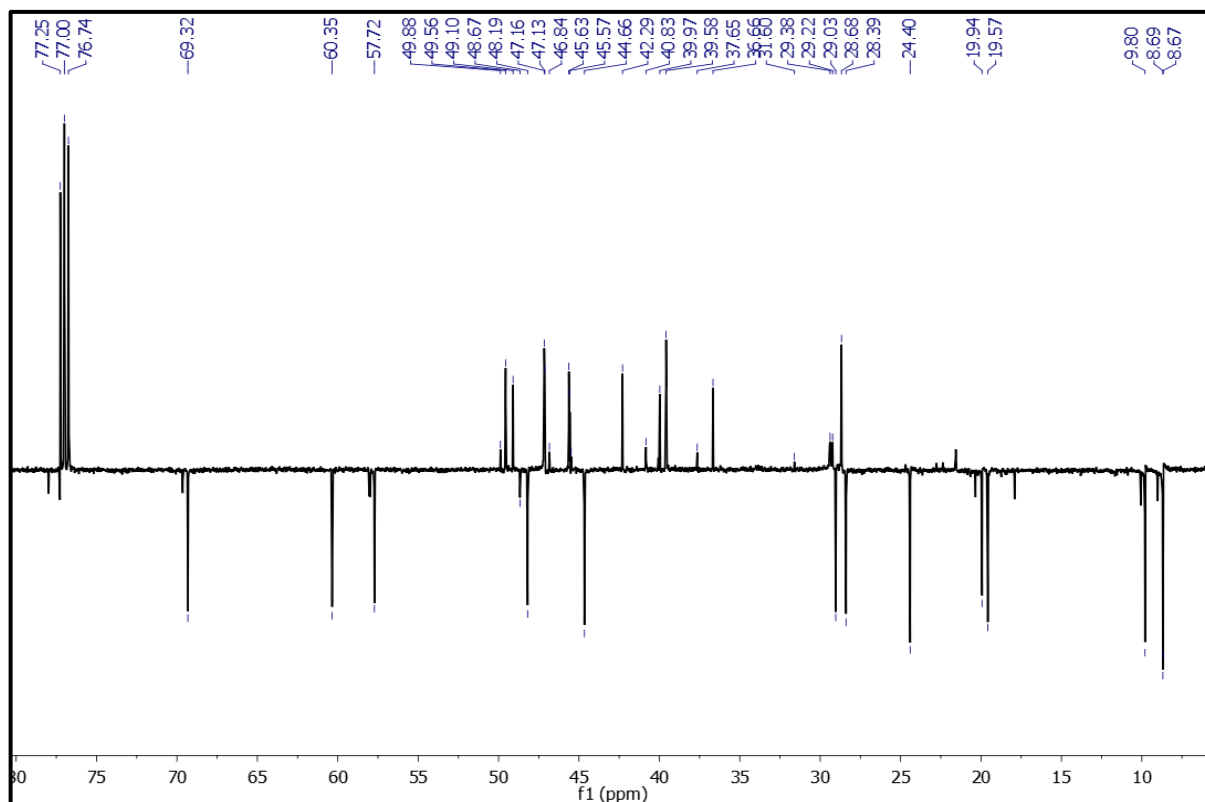


Figura 66. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 80 a 10 ppm

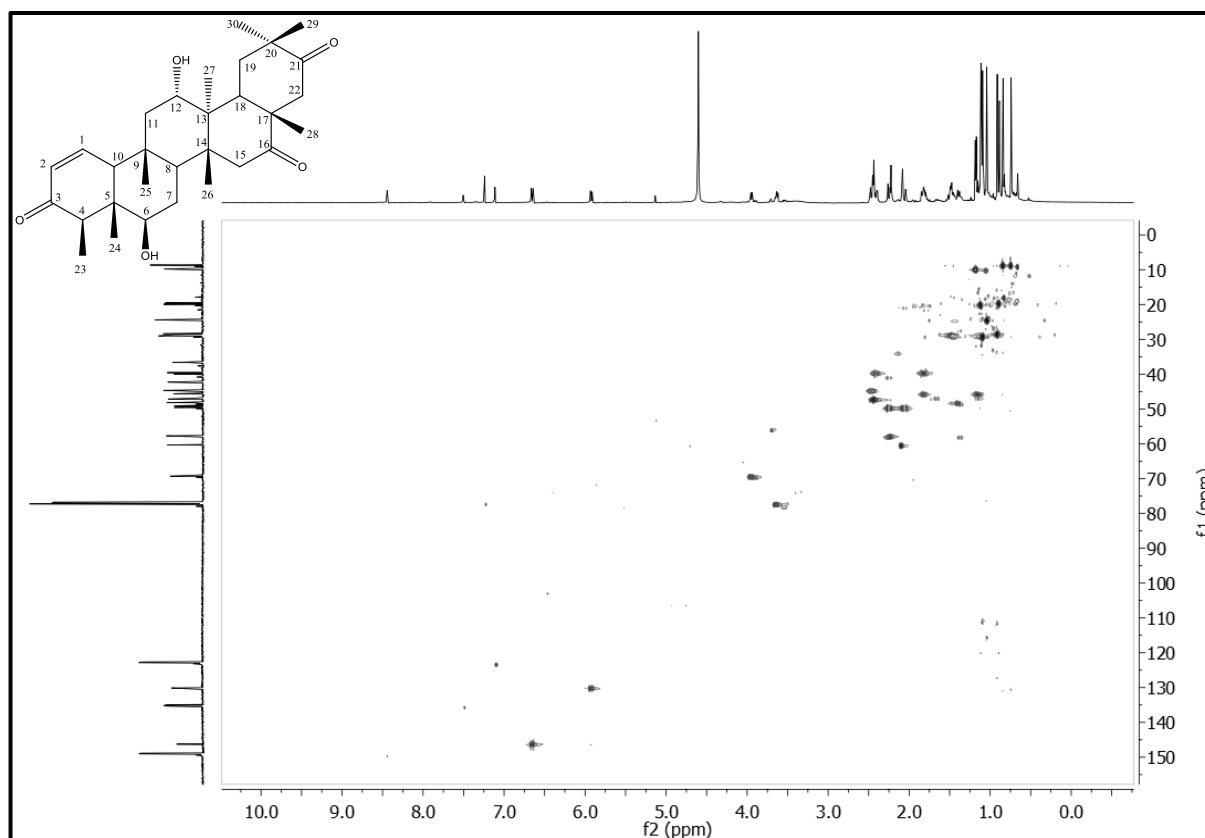


Figura 67. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 0,0 a 150 ppm

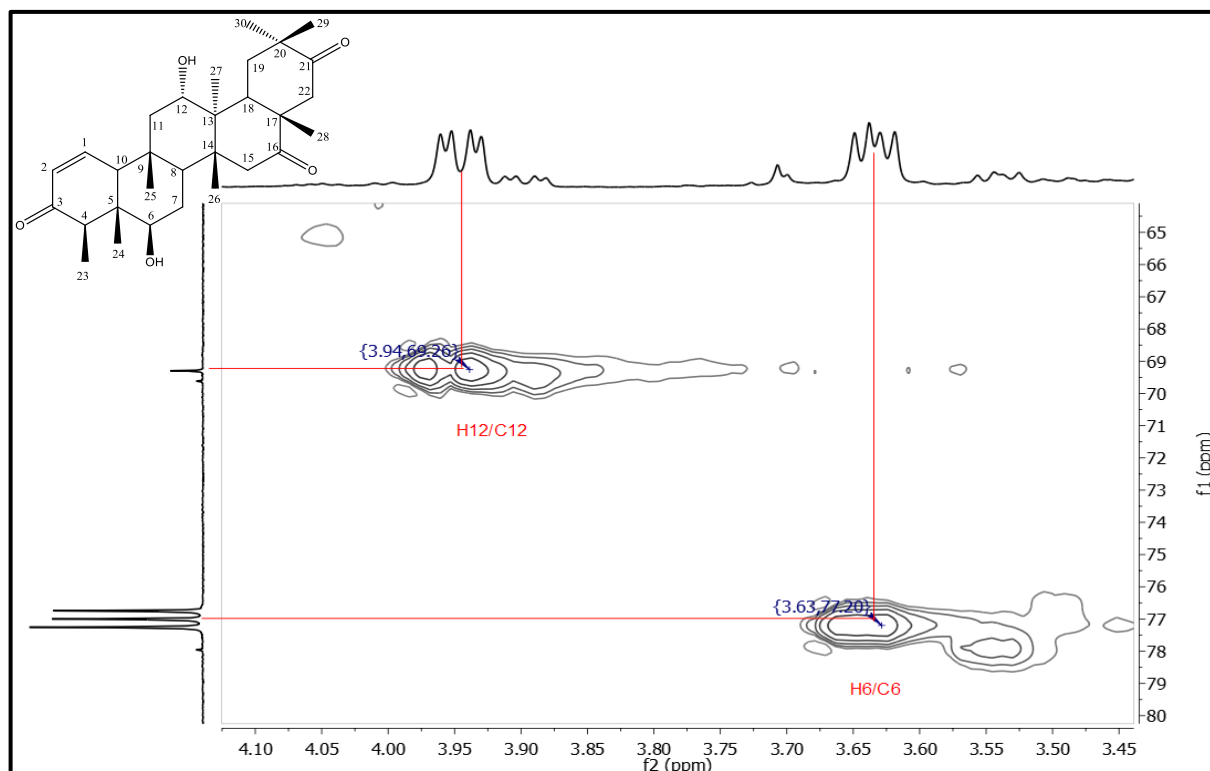


Figura 68. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 65 a 80 ppm

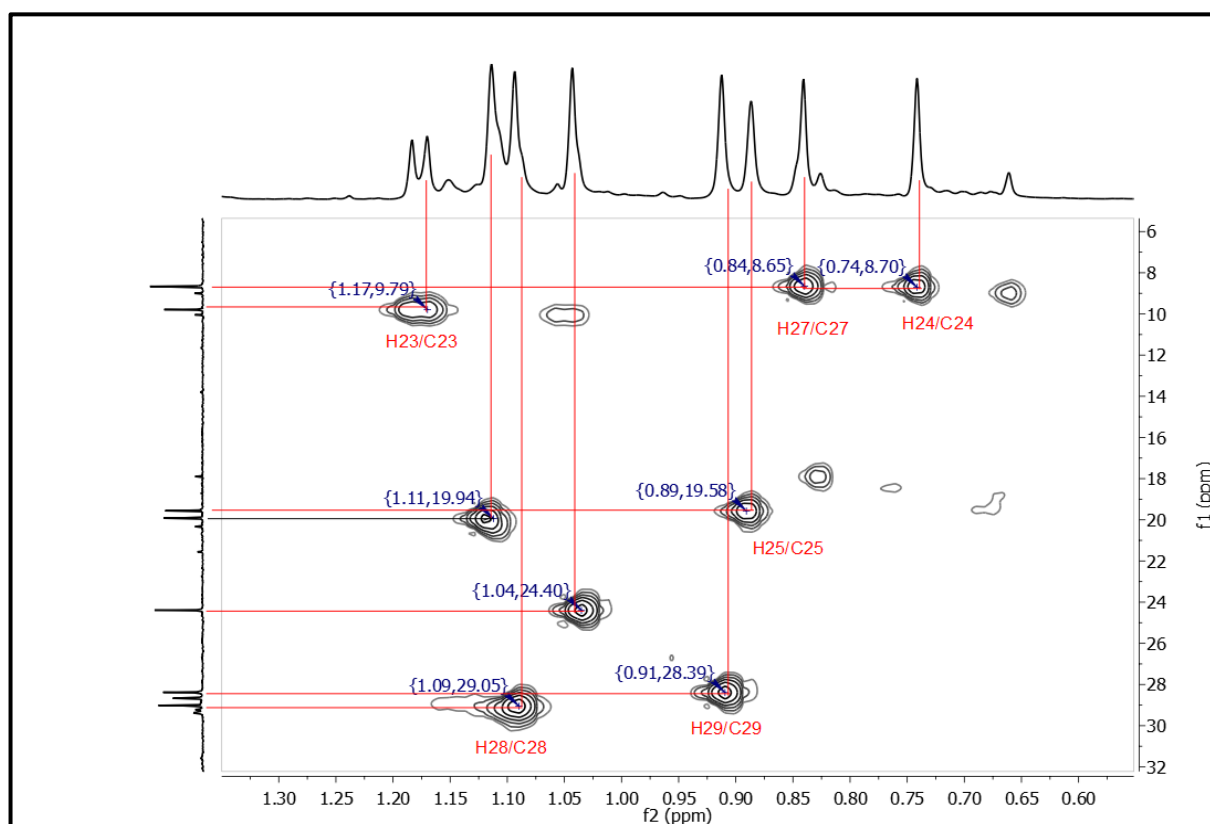


Figura 69. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 6,0 a 32 ppm

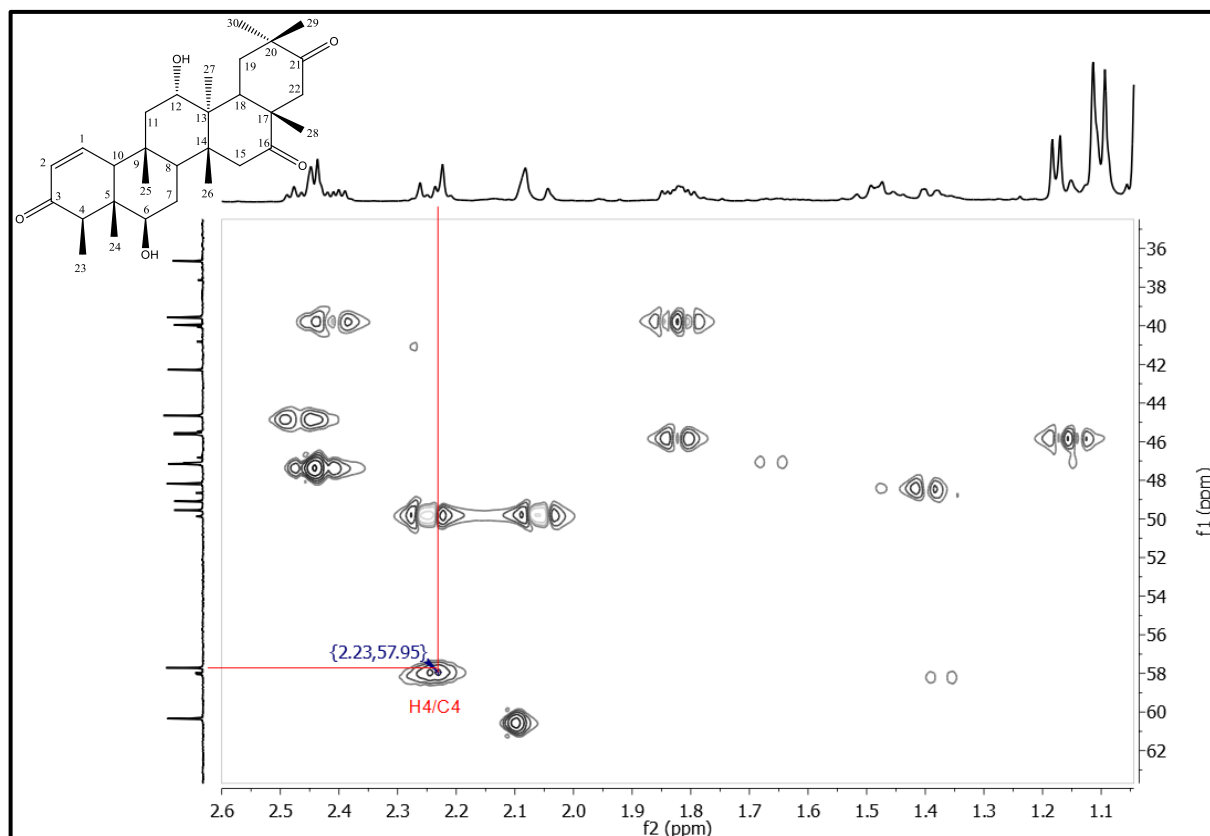


Figura 70. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 36 a 62 ppm

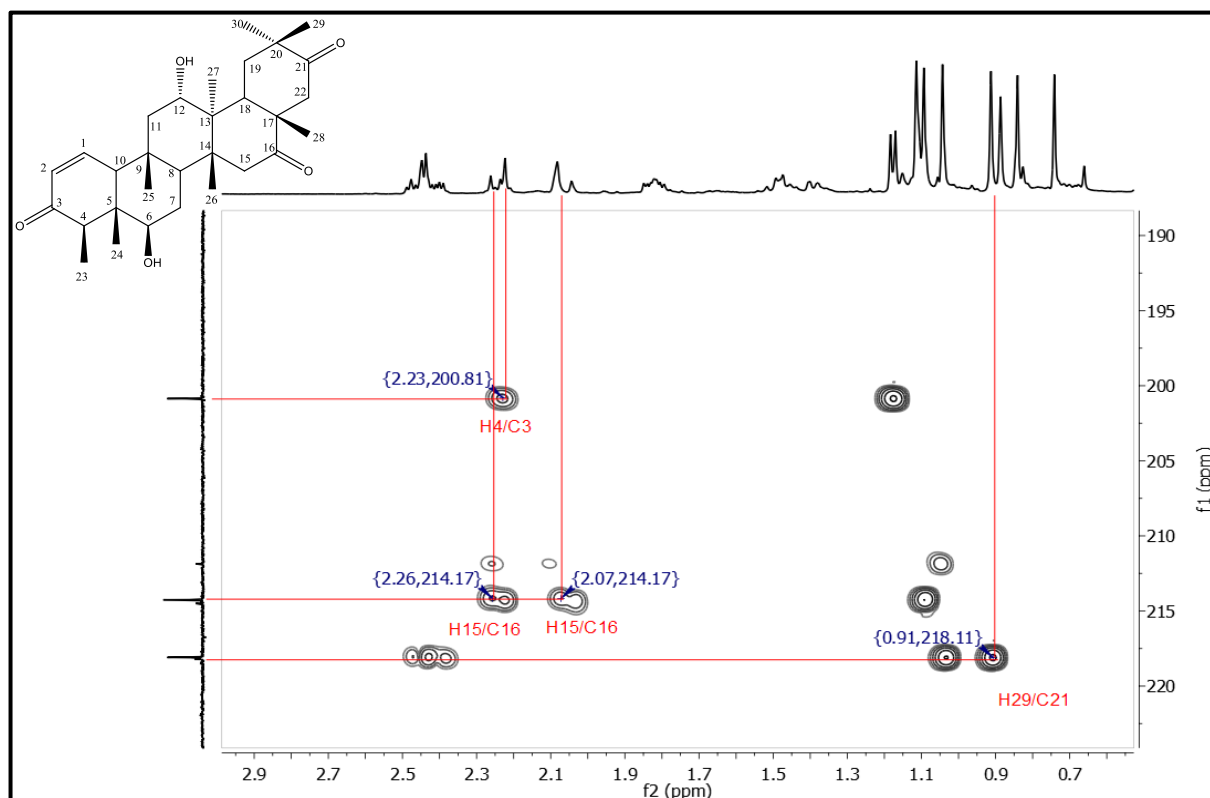


Figura 71. Expansão do Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 190 a 220 ppm

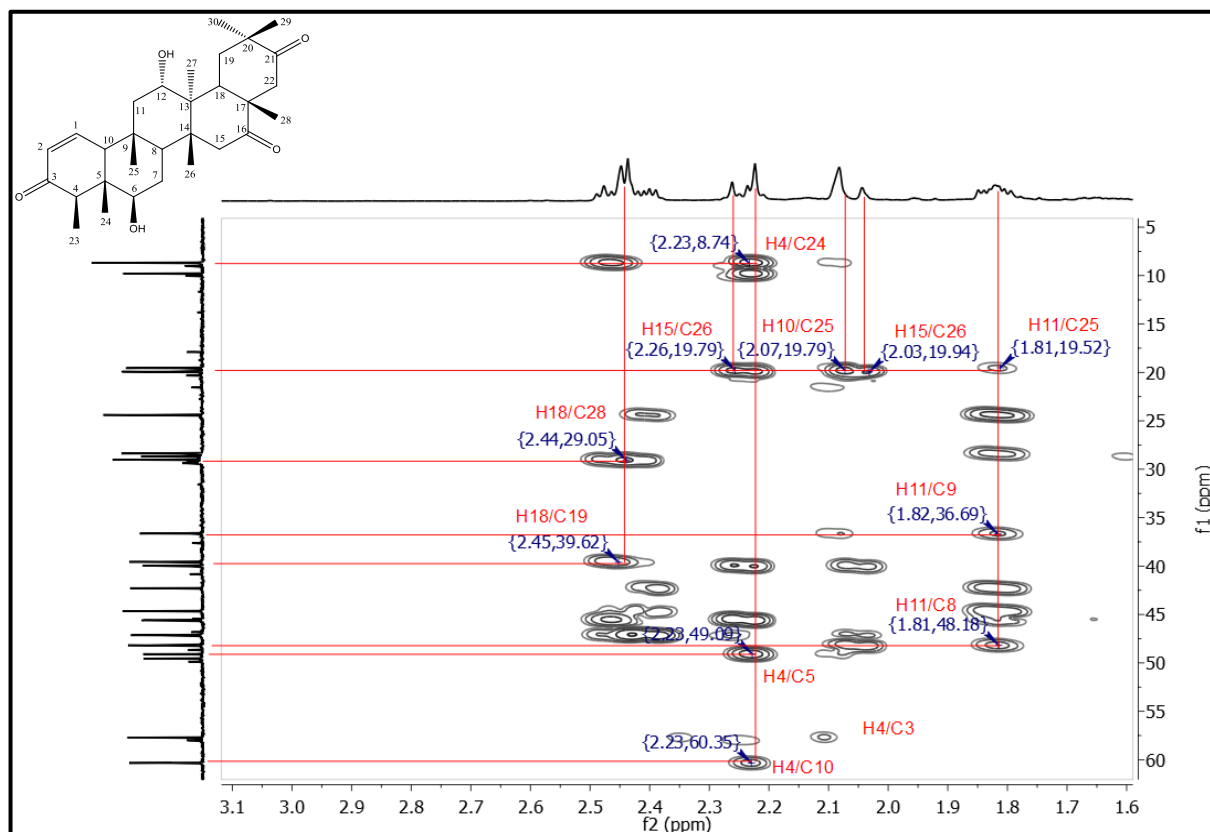


Figura 72. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 5 a 60 ppm

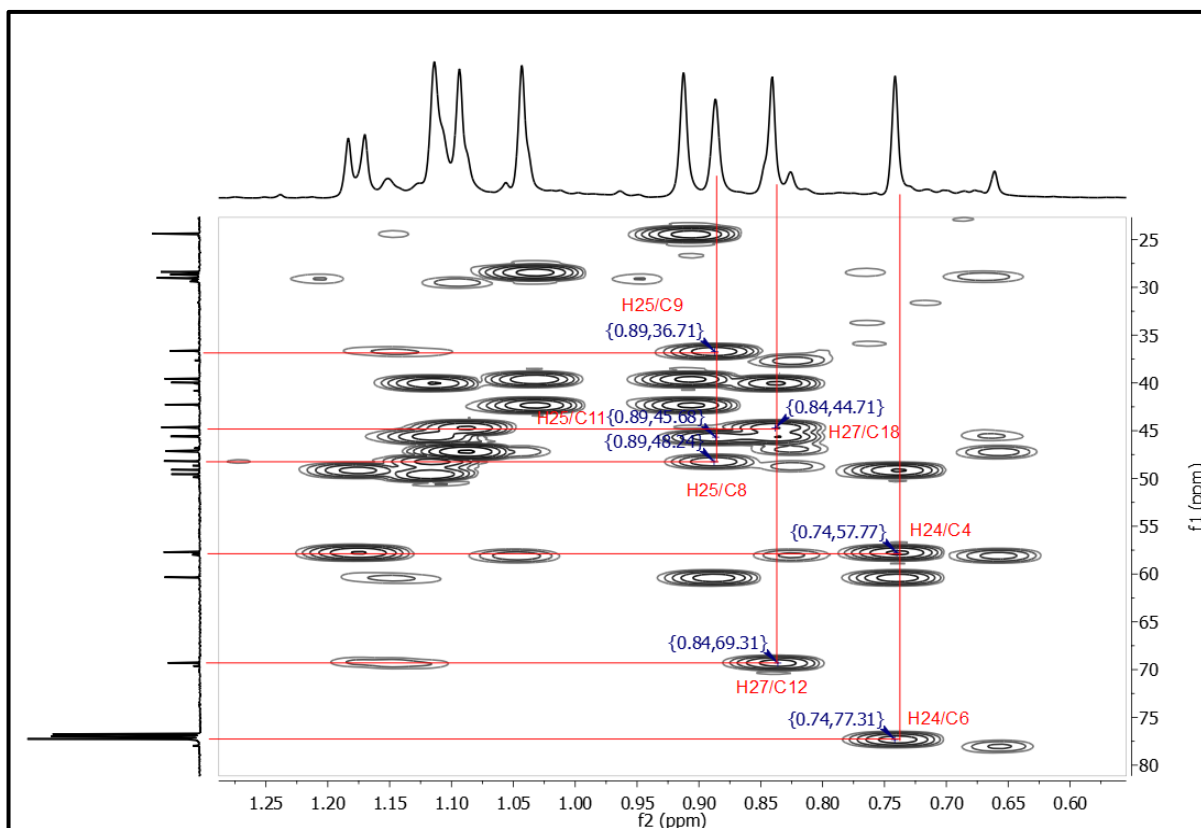


Figura 73. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 25 a 80 ppm

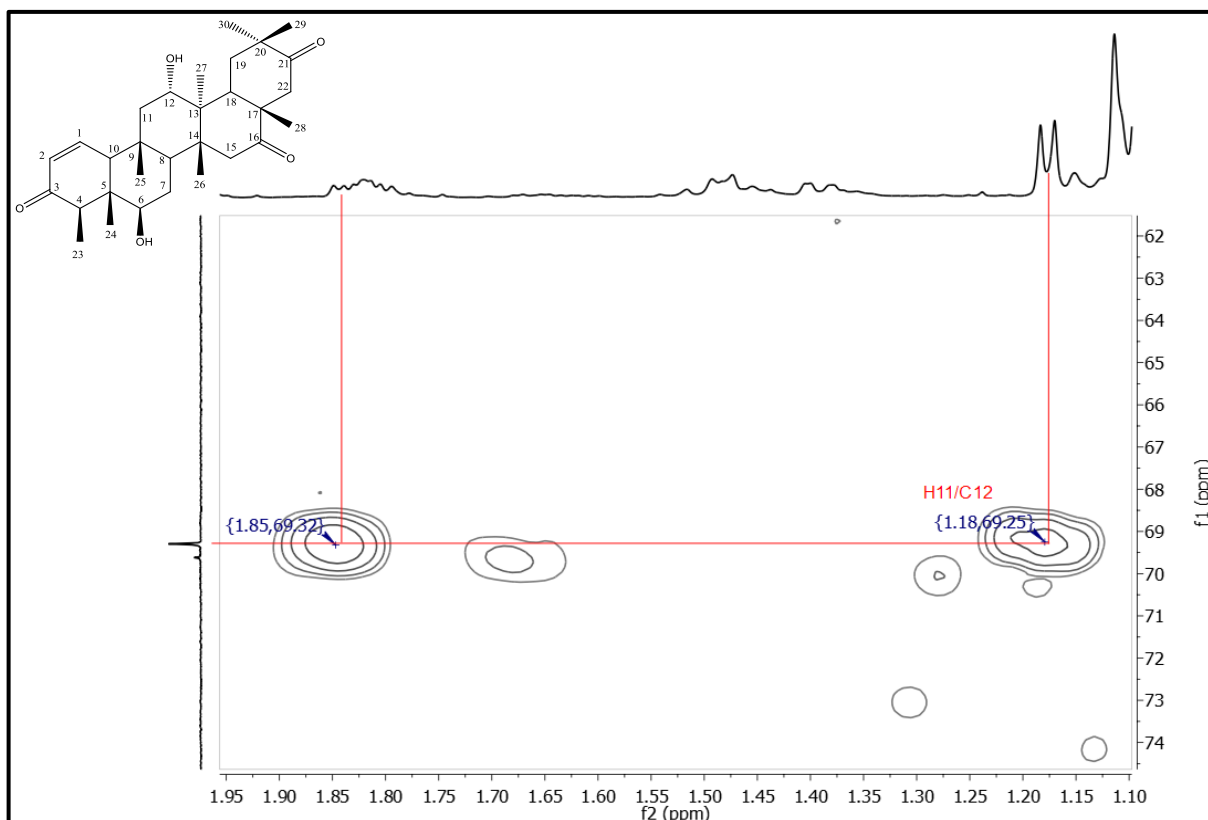


Figura 74. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 62 a 74 ppm

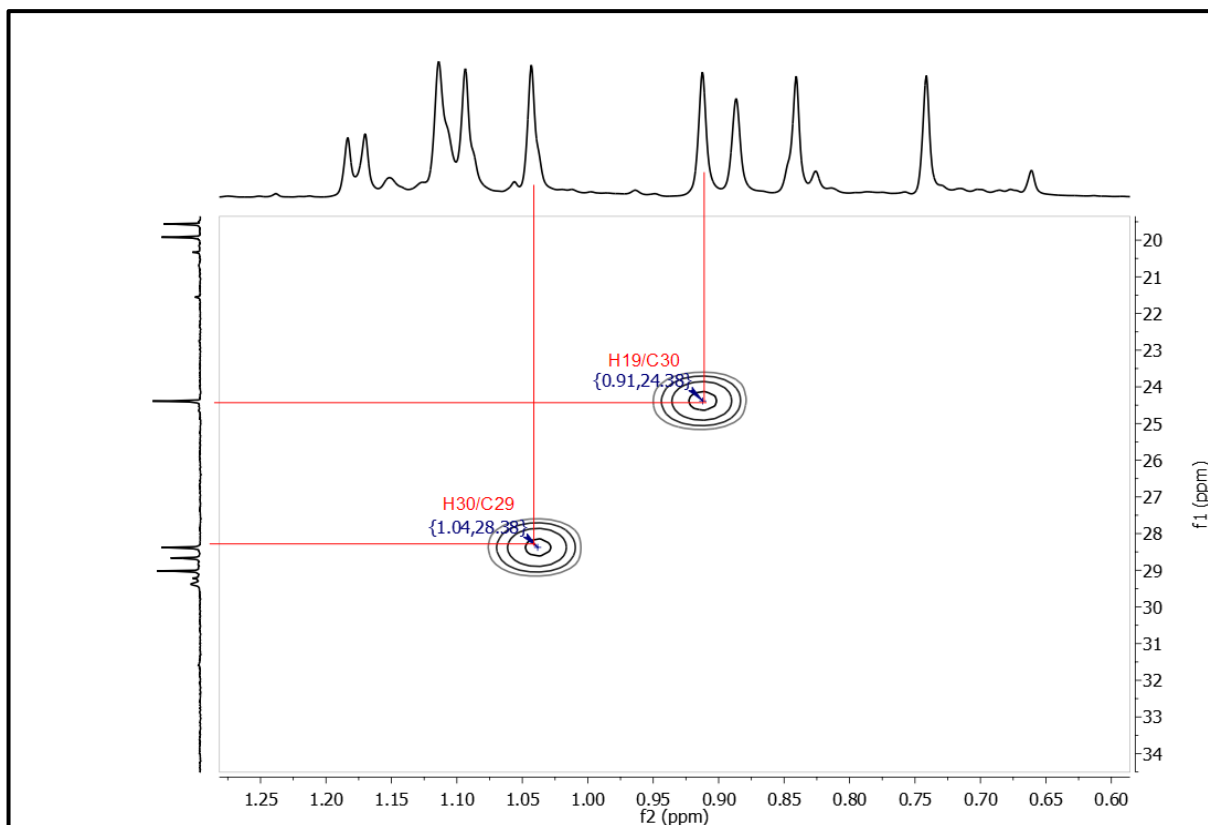


Figura 75. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 20 a 34 ppm

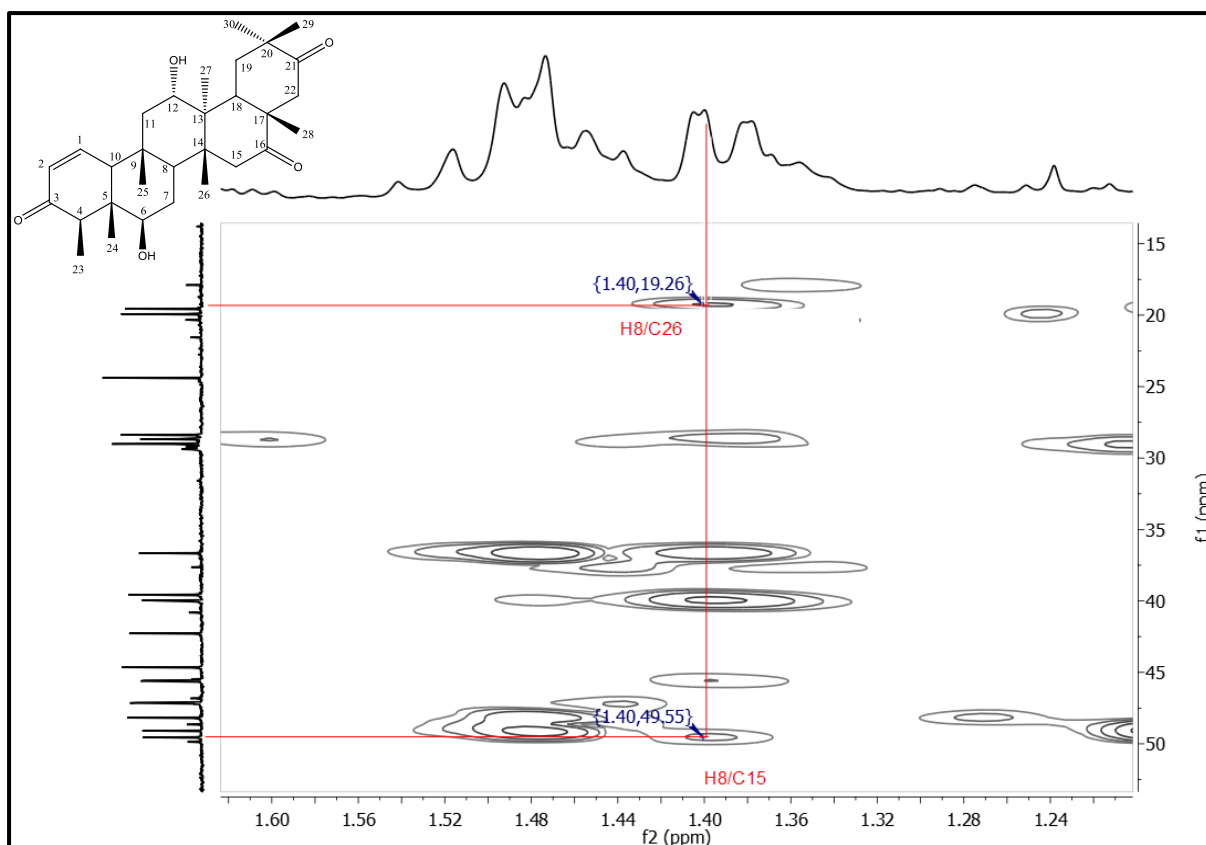


Figura 76. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 15 a 50 ppm

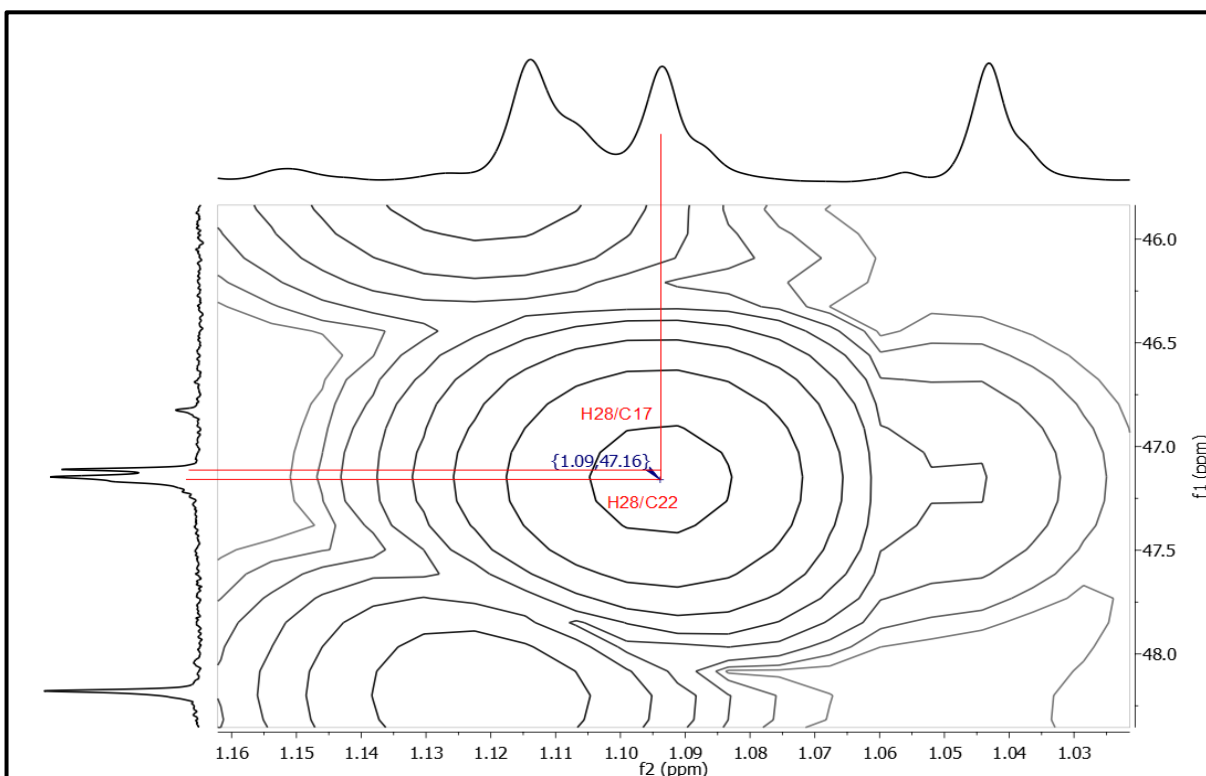


Figura 77. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 46 a 48 ppm

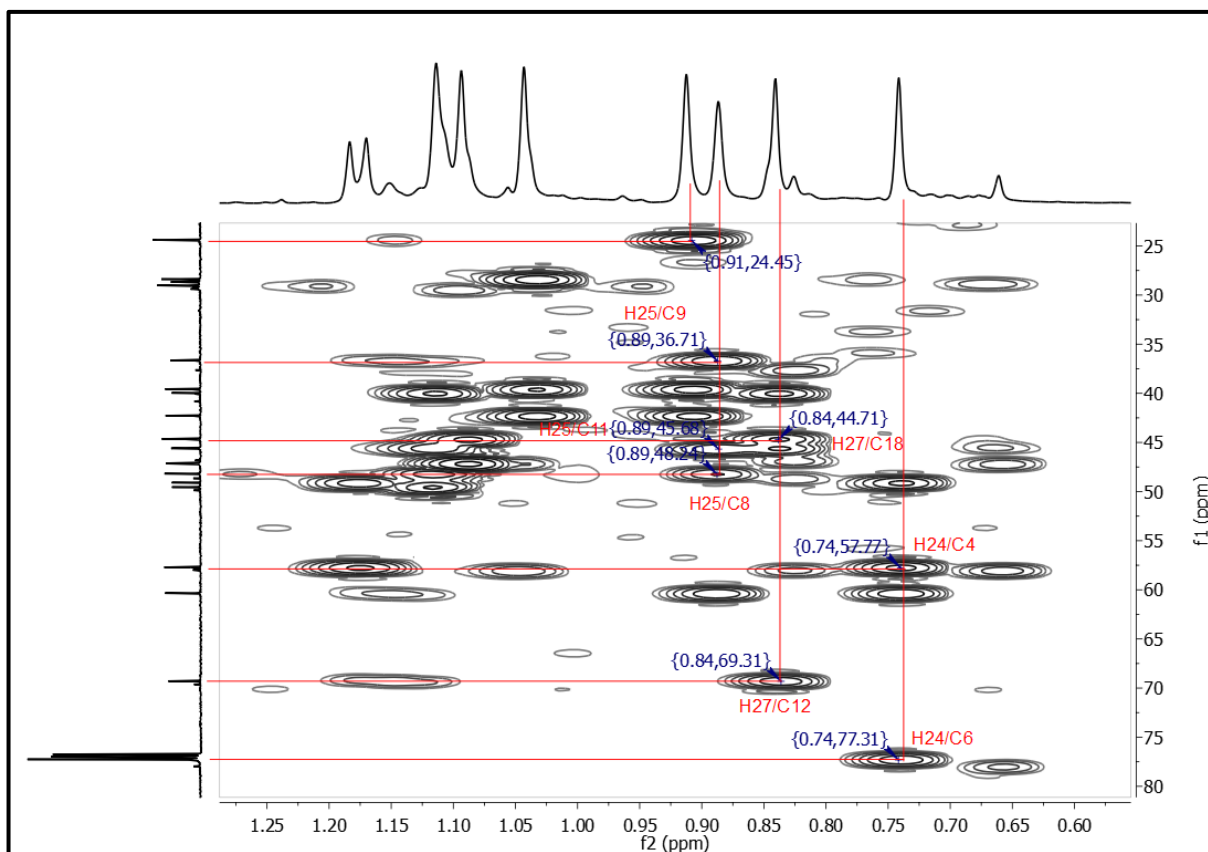


Figura 78. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 25 a 80 ppm

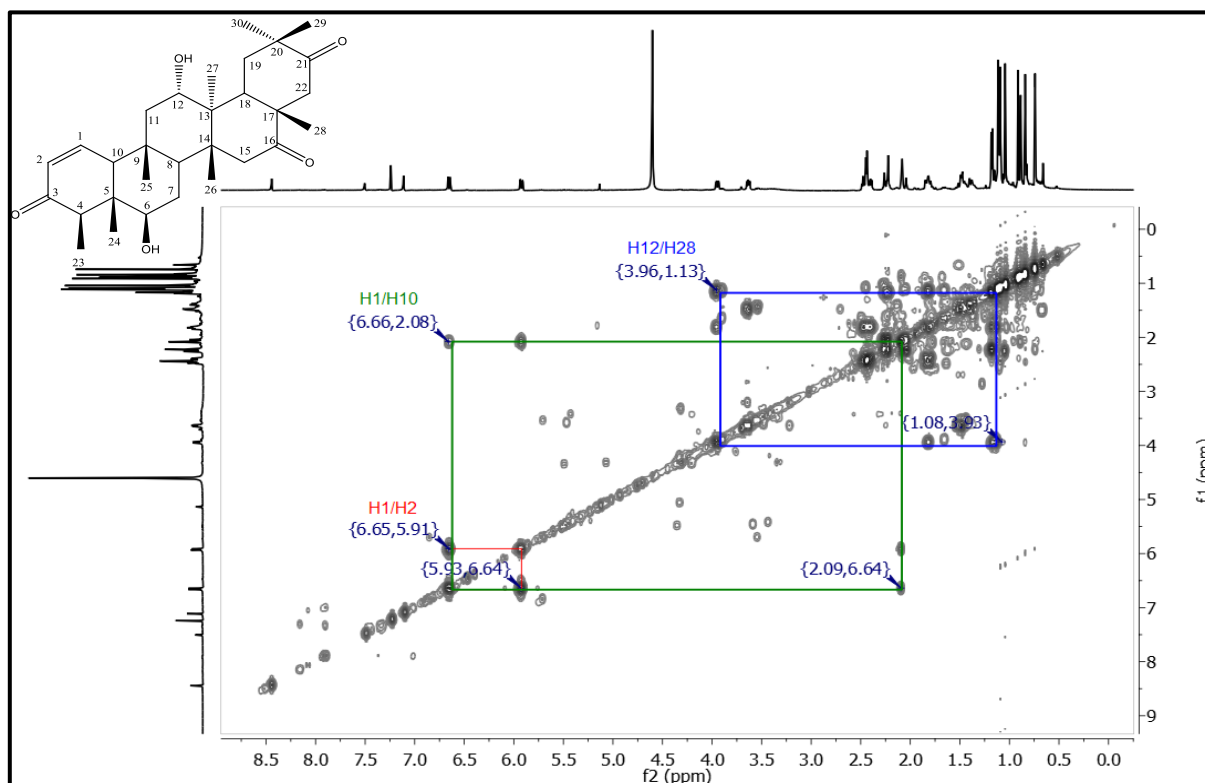


Figura 79. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de Md-7 em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 8,5 a 0,0 ppm

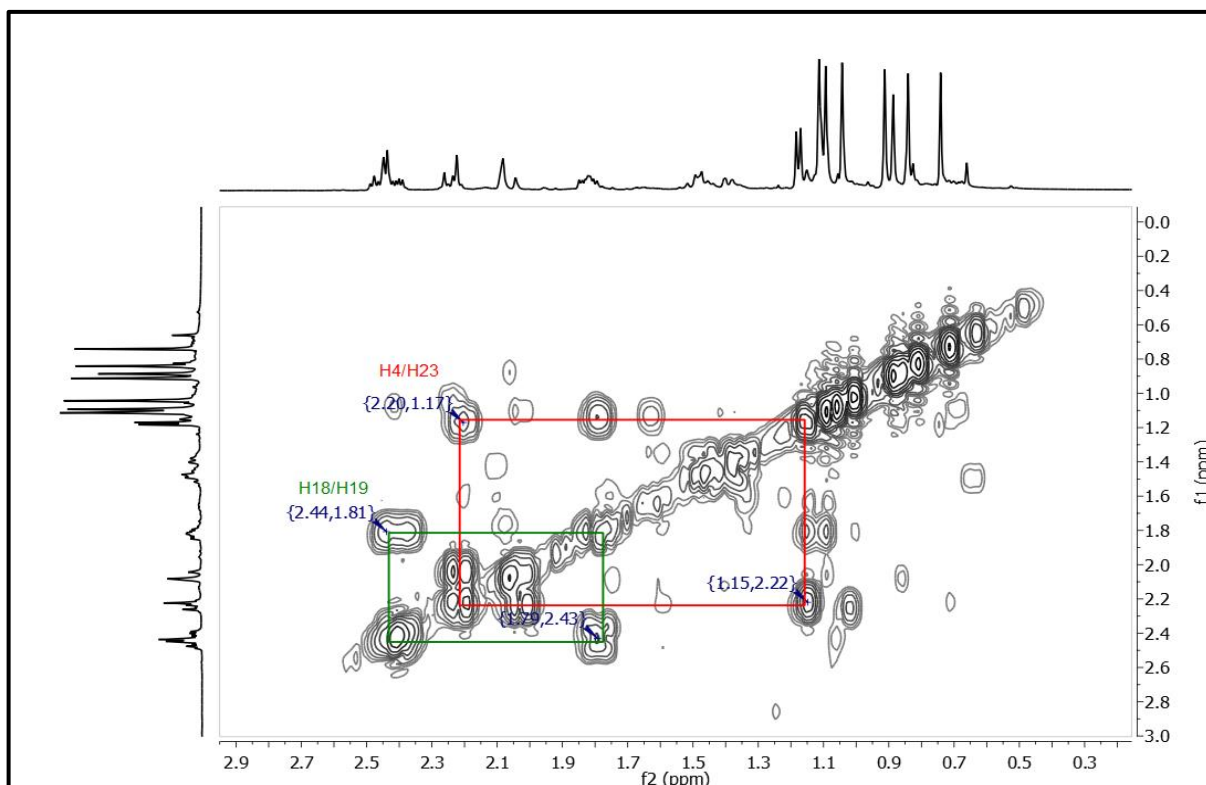


Figura 80. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de Md-7 obtido em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 2,9 a 0,7 ppm

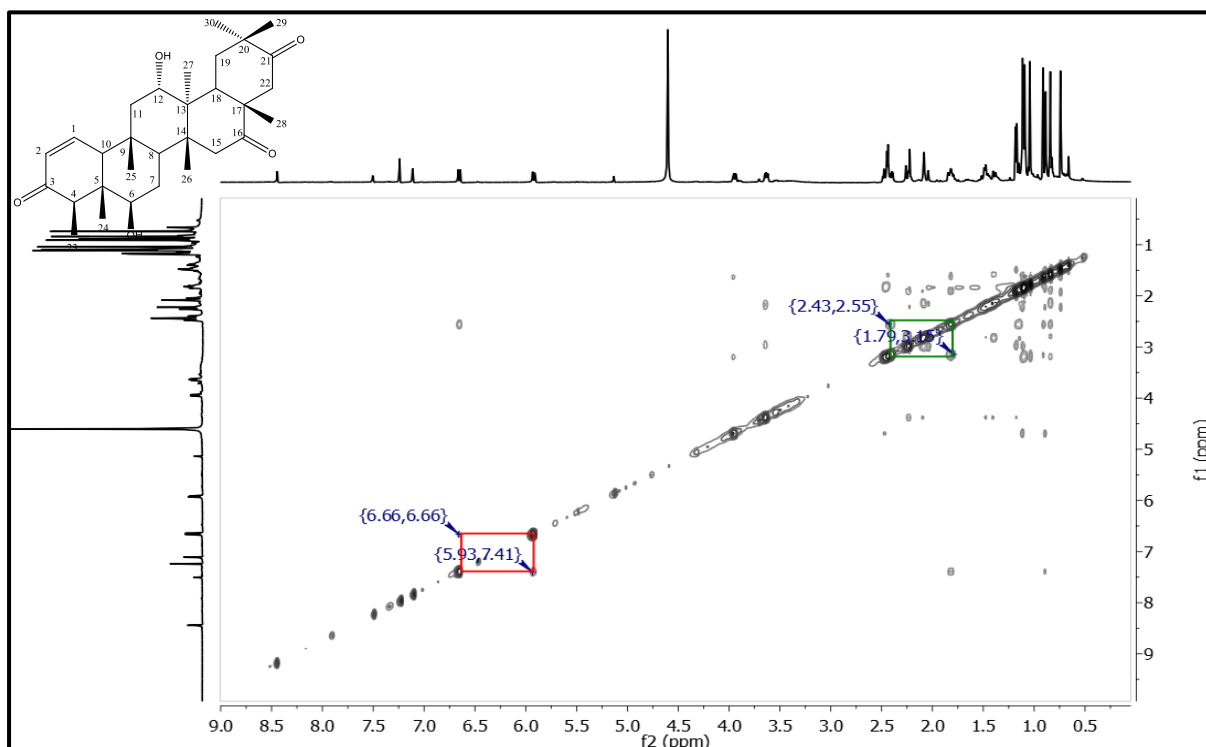


Figura 81. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de Md-7 e obtido em CDCl_3 com gotas de piridina

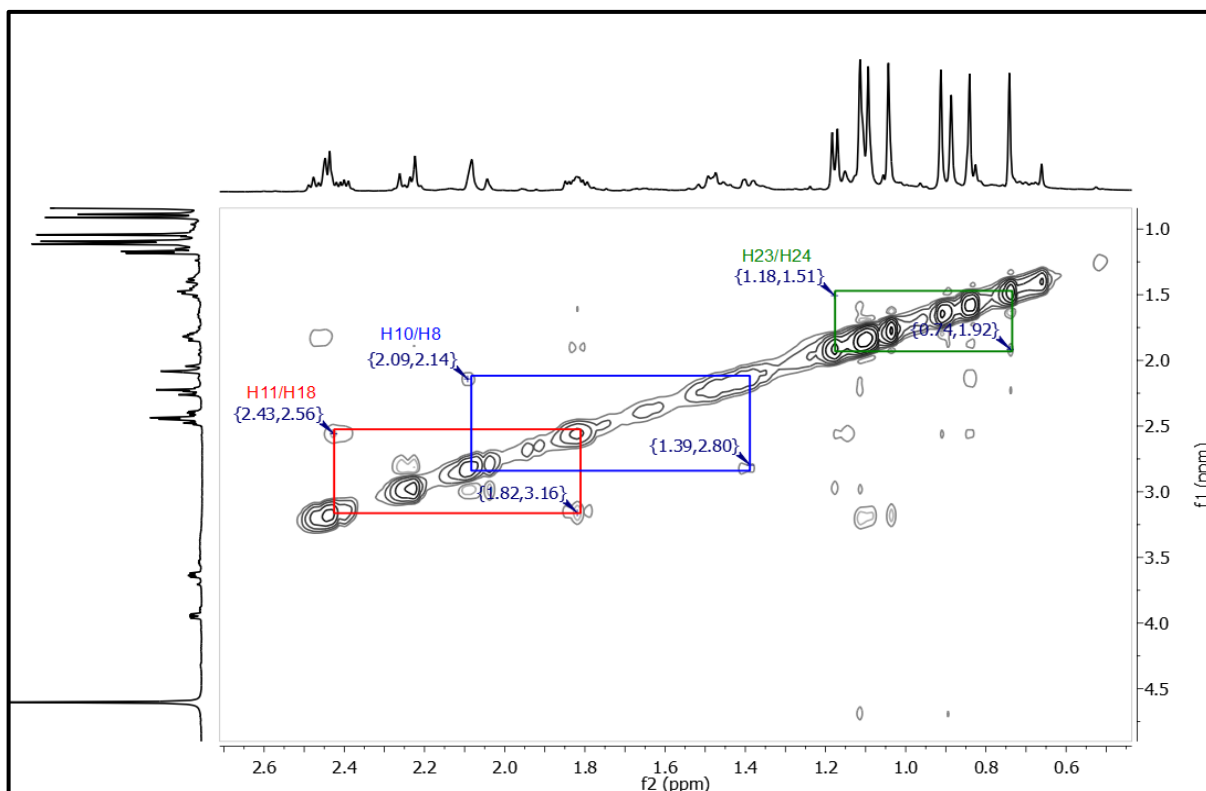


Figura 82. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de Md-7 obtidos em CDCl_3 com gotas de piridina na região de 2,6 a 0,6 ppm

5.1.8. Identificação estrutural de Md-8

A substância codificada como Md-8 foi isolada como um sólido amarelo, solúvel em clorofórmio, pesando 12,0 mg e rendimento 0,00042%.

No espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 83, Pág., 87) observaram-se bandas de absorção na região de $3.500\text{-}3.200\text{ cm}^{-1}$ (banda larga) característica de estiramento (-OH). Apresentou também absorções na região de $1.600\text{-}1.440\text{ cm}^{-1}$ referente a deformação axial da ligação carbono-carbono de anel aromático. Também foi relevante à observação de banda em torno de 1.750 cm^{-1} que sugere a existência de estiramento de C=O de carbonila de éster. Observou-se também bandas de absorção na região de $1.300\text{-}1.000$ referente as vibrações assimétricas acopladas de C-C(=O)-O e O-C-C.

No espectro de massas por ionização com eletro spray de Md-8, observou-se um pico de íons molecular $m/z = 824,3$ compatível com a fórmula molécula $\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{O}_{18}\text{N}$ da substância em estudo.

O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) mostrou a presença de cinco metilas de grupo acetoxil (δ_{H} 1,83; 2,14; 2,15; 2,16 e 1,92), (Figuras 85 a 88, Pág. 88 e 89), duas metilas em carbono não hidrogenado com deslocamento químico em δ_{H} 1,65 (s) e 1,66 d, $J = 1,5\text{ Hz}$) e uma metila dubleto além de um grupo benzoato (δ_{H} 7,61 t, $J = 7,5\text{ Hz}$ e 7,50 t, $J = 7,5\text{ Hz}$), (Figura 87, Pág 89). Pode-se observar também os sinais em δ_{H} 8,30 [dd, $J = 2,0$ e $8,0\text{ Hz}$], 7,26 [dd, $J = 5,0$ e $8,0\text{ Hz}$] e 8,74 [dd, $J = 2,0$ e $5,0\text{ Hz}$], sinais estes característicos de um anel piridinico 2,3-dissubstituído além dos sinais em δ_{H} 5,88 (d, $J = 4,0\text{ Hz}$), 5,35 (dd, $J = 2,5$ e $4,5\text{ Hz}$), 5,41 (d, $J = 6,0\text{ Hz}$), 4,66 (d, $J = 13,5\text{ Hz}$) 5,34 (d, $J = 13,5\text{ Hz}$). Comparando esse padrão de hidrogenação com a composição química de espécies de *Maytenus*, foi possível sugerir que Md-8 tratava-se de um alcaloide sesquiterpeno piridinico.

O espectro de RMN ^{13}C utilizando a técnica APT (125 MHz, CDCl_3) de Md-8 revelou a presença de três carbonos metílicos (δ_{C} 23,70; 18,90; 18,80), (Figura 90, Pág 90), sete carbonos oximetínicos (δ_{C} 73,4; 70,2; 74,9; 73,7; 51,1; 69,8 e 70,9), (Figura 90 e 91, Pág 90 e 91) cinco carbonilas de éster (δ_{C} 167,9; 168,8; 169,4; 169,8 e 169,4), quatro carbonos quaternários (δ_{C} 93,7; 84,4; 70,9 e 52,1), um grupo benzoato (δ_{C} 165,31; 133,42; 129,47; 129,12 e 128,47), e um grupamento piridinico

(δ_C 164,1; 124,4; 138,6; 121,1; 153,1 (Figuras 89 e 90, Pág., 90). Comparação desses deslocamentos químicos com modelos da literatura foi possível identificar Md-8 como um alcaloide sesquiterpeno piridinico com ocorrência na família Celastraceae (NAKAGAWA *et al.*, 2004).

As correlações diretas obtidas no espectro de HMQC (500 e 125 MHz, $CDCl_3$) de Md-8 são apresentadas na tabela 8, (Pág, 86).

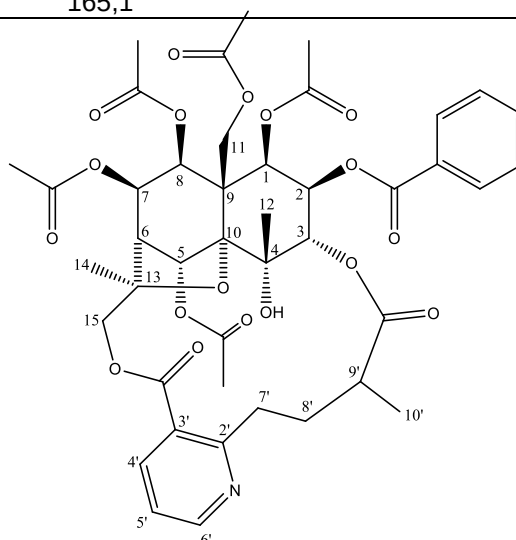
O espectro de RMN $^1H \times ^{13}C$ -HMBC (500 MHz, $CDCl_3$) de Md-8 mostrou correlações entre o hidrogênio em δ_H 1,65 (H-12) e os carbonos em δ_C 75,9 (C-3), 70,9 (C-4) e 93,7 (C-10), (Figuras 95 a 99, Págs. 93 a 95). Correlações entre os hidrogênios em δ_H 5,40 (H-8) e o carbono em δ_C 52,53 (C-9) confirmam o hidrogênio H-4. Observou-se ainda as correlações cruzadas na expansão do espectro de HMBC entre o hidrogênio H-14 (δ_H 1,66) e os carbonos C-13 em δ_C 84,4 ($^2J_{CH}$), C-15 e C-6 em δ_C 69,7 e 51,1 ($^3J_{CH}$), respectivamente. De maneira análoga, percebeu-se a correlação $^3J_{CH}$ entre o hidrogênio H-11 (δ_H 4,60) e o carbono C-8 em δ_C 70,9 e entre o hidrogênio H-4' (δ_H 8,30) e os carbonos C-2' e C-6' em δ_C 164,1 e 153,1 ($^3J_{CH}$), respectivamente. Correlações entre H-10' (δ_H 1,23) e C-11' (δ_C 175,1), H-9' (δ_H 2,40) e C-2' (δ_C 164,1) e H-15 (δ_H 3,82 / 5,75) e C-12' (δ_C 166,8), também foram observados. Estes fatos indicaram claramente que a estrutura macrocíclica é formada por ligações éster entre o núcleo hidroagarofurano e o núcleo piridínico em posições C-3 e C-15. Estas correlações são apresentadas na tabela 8, (Pág., 86).

As correlações entre hidrogênios geminados e vicinais foram observados no COSY e suas expansões (Figura. 100 a 102, Pág. 95 a 96) e estão compiladas na Tabela 8, (Pág.86).

As estereoquímicas relativas foram determinadas através do NOESY e estão mostradas na (Figura 90 a 91, Pág 90 a 91) confirmando a orientação equatorial das hidroxilas inseridas em C-6 e C-12. A compilação dos dados de RMN ^1H , ^{13}C , uni e bidimensionais do composto Md-8 em comparação com os valores obtidos na literatura (Tabela 8, Pág., 86), permitiu identificar este composto como sendo a wilforina, substância esta relatada pela primeira vez nesta espécie. Esse tipo de substância tem ocorrência em espécies de *Maytenus* e várias atividades farmacológicas já foram relatadas para os mesmos, com destaque para atividade inseticida e citotóxica.

Tabela 8. Dados de RMN (500 MHz) em CDCl_3 de Wilforina. *J* em Hz e δ em ppm

	HMQC ^1H	^{13}C	HMBC	COSY	Mo-1
1	5,75 (d, $J = 3,4$)	73,4		H-2	73,8
2	5,46 (t, $J = 3,0$)	70,2		H-3	70,2
3	5,13 (d, $J = 2,5$)	75,9	C-10, C-11'	4-OH	75,9
4	-----	70,9			70,5
5	6,88 (s)	73,7	C-13		74,0
6	2,35 (d, $J = 4,0$)	51,1			50,6
7	5,50 (d, $J = 4,0$; 5,5)	69,8		H-6	69,1
8	5,40 (d, $J = 5,5$)	70,9			70,5
9	-----	52,1			52,8
10	-----	93,7			93,6
11	4,60 (d, $J = 13,5$)	60,6	C-9, C-10	H-11	60,2
	5,52 (d, $J = 13,5$)				
12	1,65 (s)	23,7	C-10, C-3, C-4		19,0
13	-----	84,4			83,6
14	1,66 (s)	18,9	C-6, C-13		23,7
15	3,82 (d, $J = 12,0$)	69,7	C-13	H-15	70,3
	5,75 (m)				
2'	-----	164,1			164,1
3'	-----	124,4			124,4
4'	8,30 (dd, $J = 2,0$; 8,0)	138,6	C-6',	H-6', H-5'	138,7
5'	7,26 (dd, $J = 5,0$; 8,0)	121,1		H-6'	121,4
6'	8,74 (dd, $J = 2,0$; 5,0)	153,1	C-4' C-5'		153,2
7'	2,95 (m) ; 3,90 (m)	33,2	C-2'	H-8'	33,3
8'	1,99 (m)	33,4			33,4
9'	2,40 (m)	38,4			38,4
10'	1,23 (d, $J = 7,0$)	18,8	C-11', C-9'C-8'	H-9'	19,0
11'	-----	175,1			172,0
12'	-----	166,8			167,1;
1-OAc	1,83 (s)	167,9/20,5			167,9/20,5
5-OAc	2,14 (s)	168,8/21,,7			168,8/21,7
7-OAc	2,15 (s)	169,4/21,2			169,4/21,2
8-OAc	2,16 (s)	169,8/20,8			169,8/20,8
11-OAc	1,92 (s)	169,4/21,1			170,3/21,2
2-OBz					
orto	8,07 (dd, $J = 0,5$;8,0)	129,9		Meta	129,9
meta	7,50 (t, $J = 7,5$)	128,7		orto	128,8
para	7,59 (t, $J = 7,5$)	133,7			133,8
ipso	-----	128,8			128,7
C=O	-----	165,1			164,0



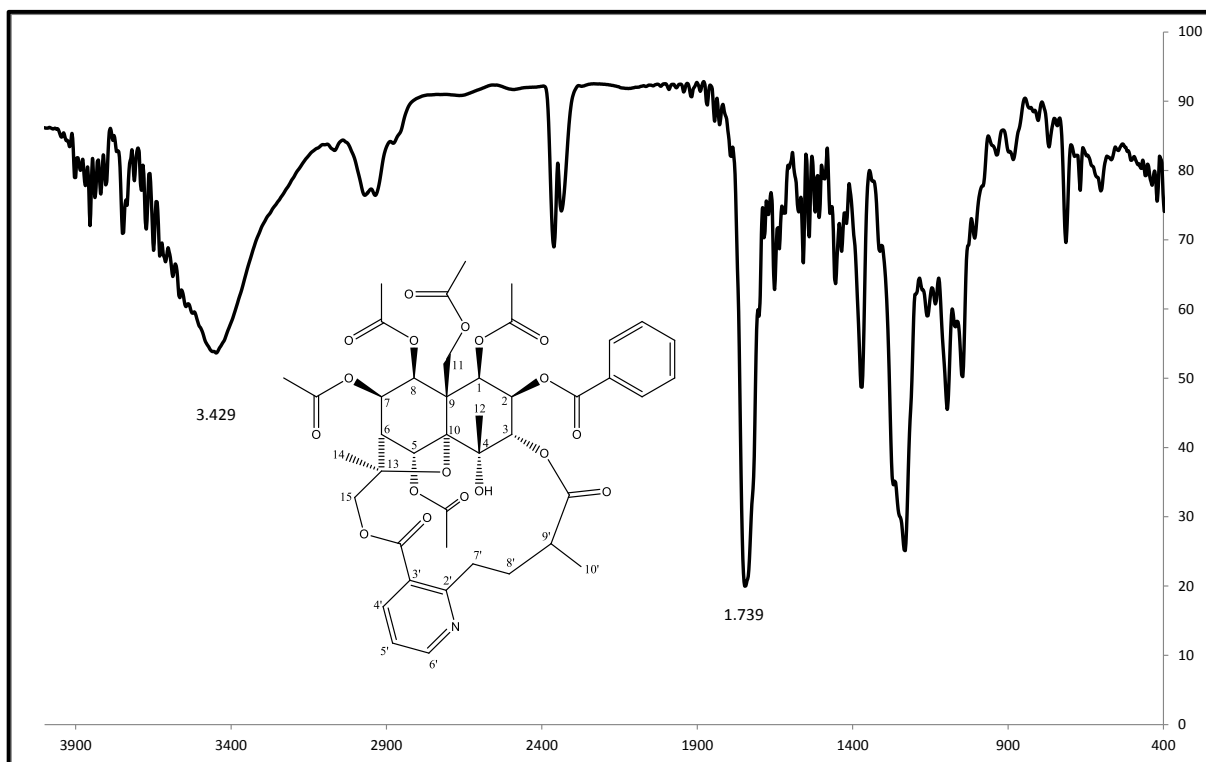


Figura 83. Espectro de IV de Md-8 em pastilha de KBr

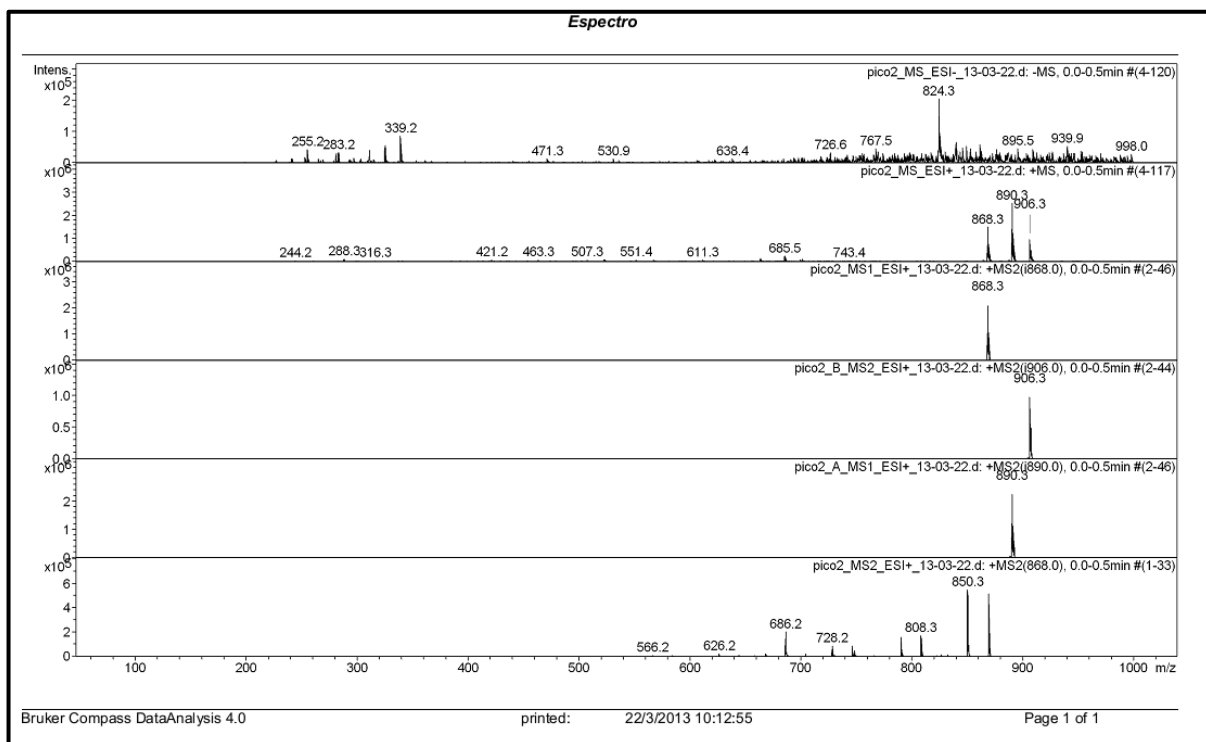


Figura 84. Espectro de massas por ESI⁺ de Md-8

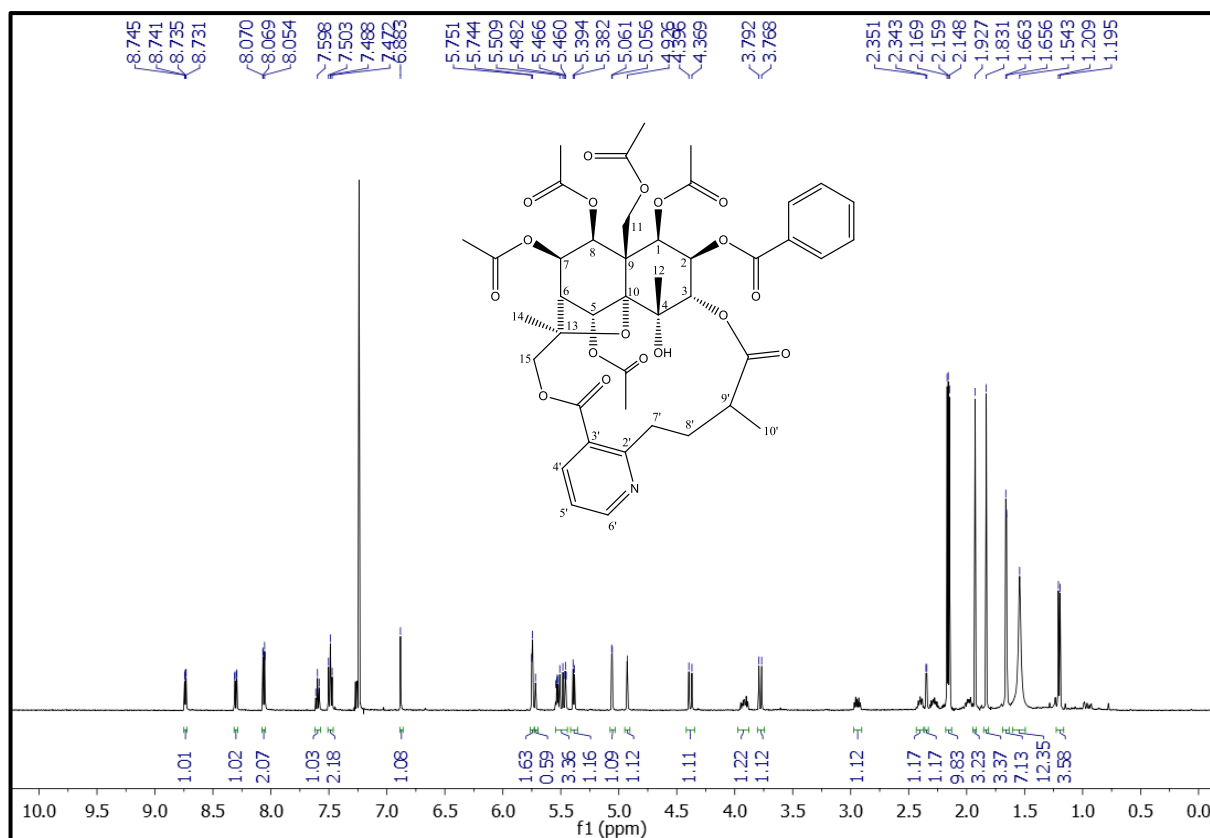


Figura 85: Espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3

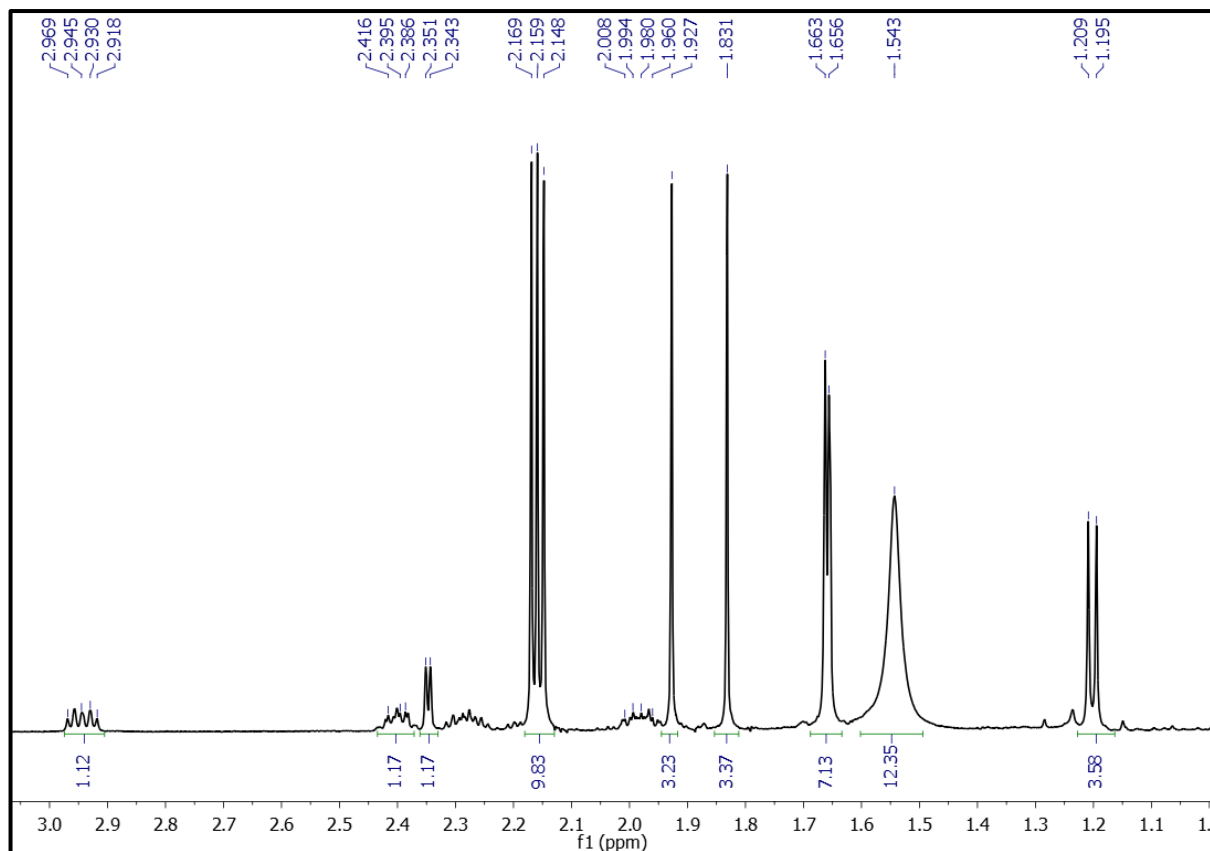


Figura 86: Expansão do espectro RMN de ^1H (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 3,0 a 1,1 ppm

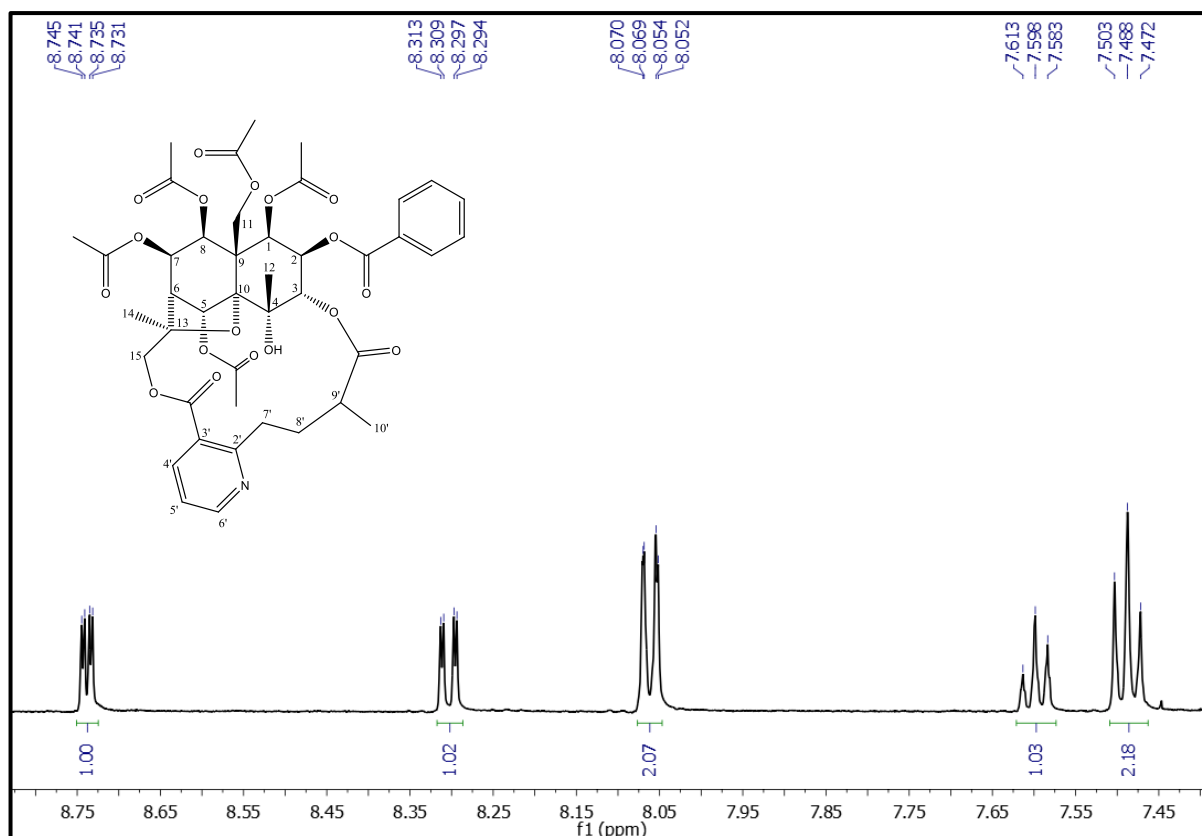


Figura 87: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 8,75 a 7,45 ppm

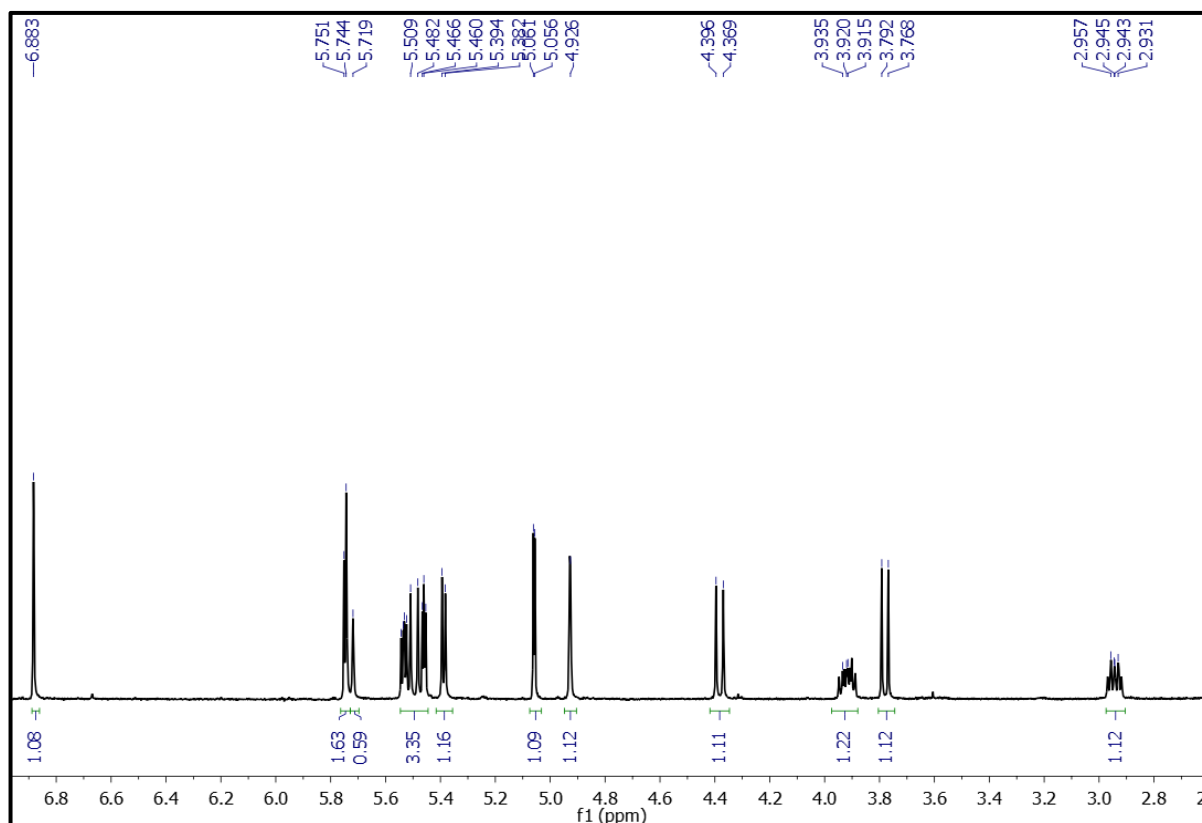


Figura 88: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 6,8 a 2,8 ppm

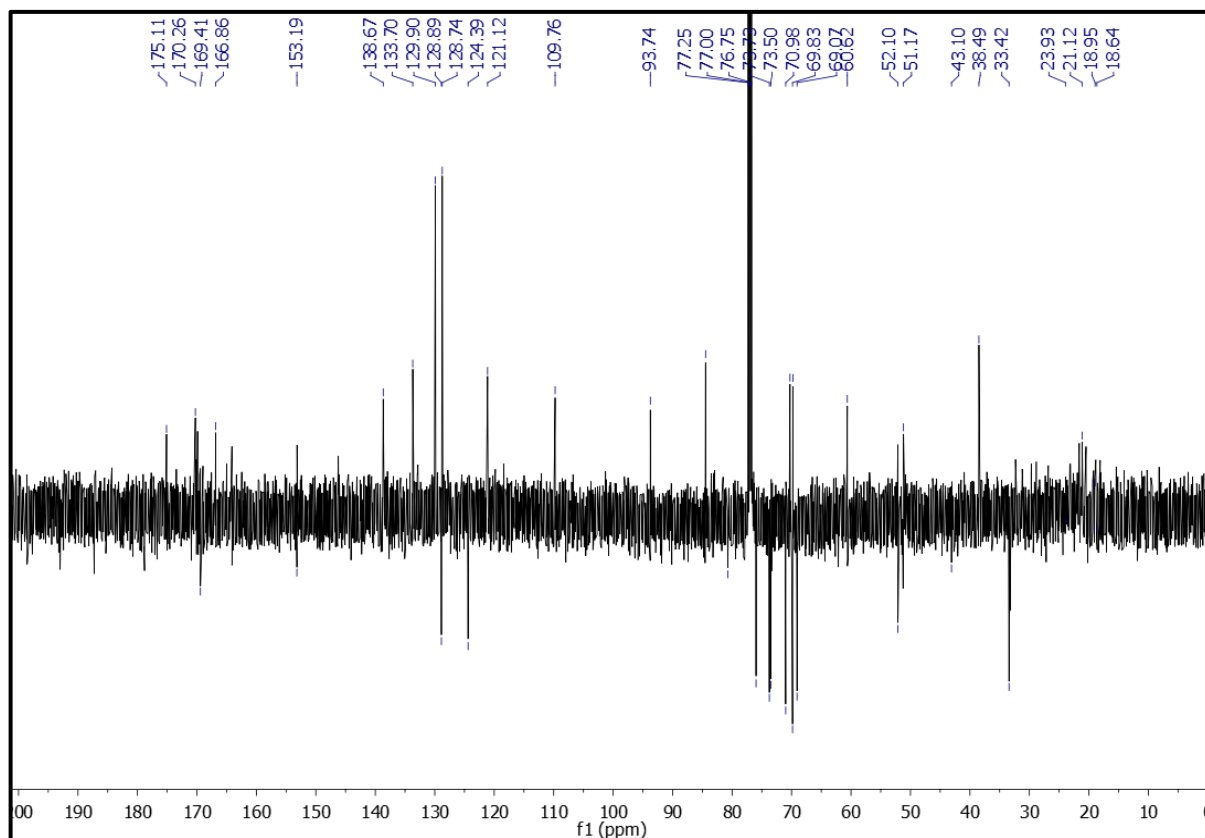


Figura 89: Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3

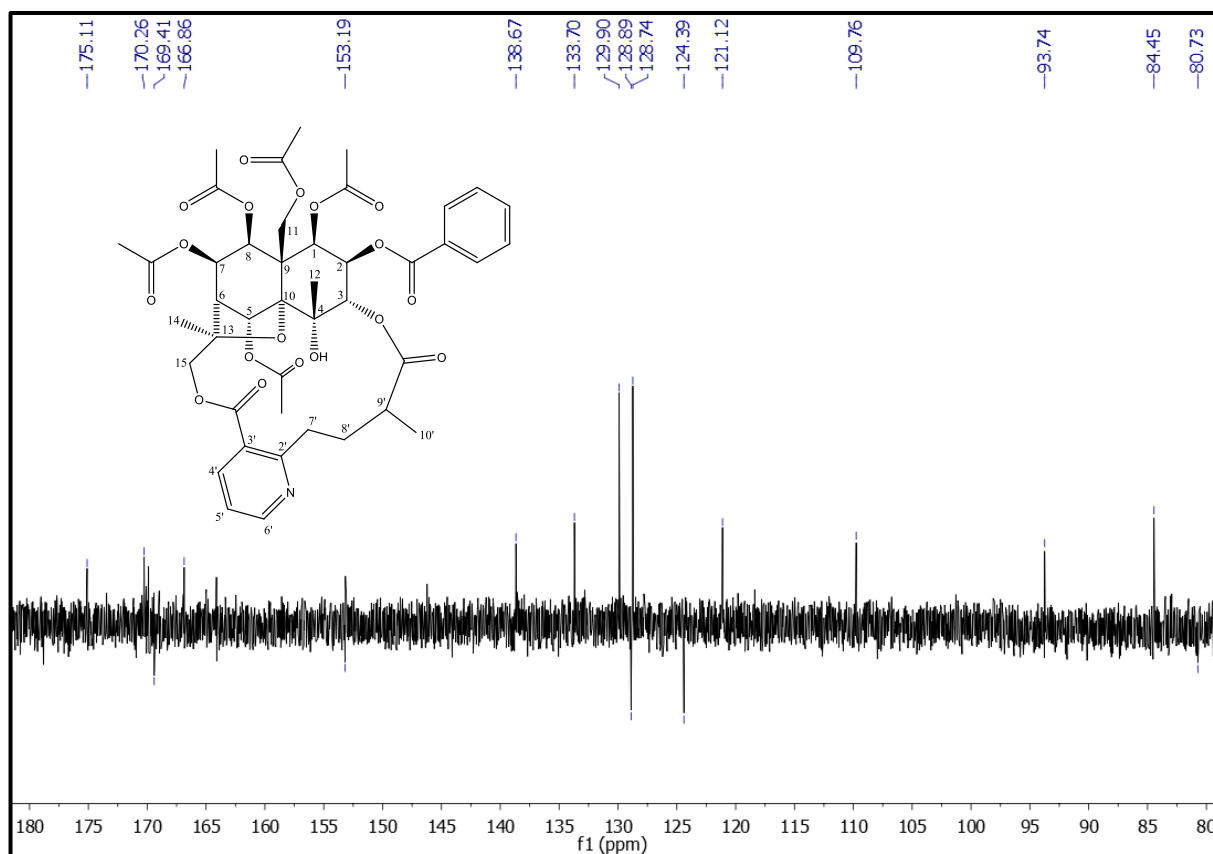


Figura 90. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 200 a 10 ppm

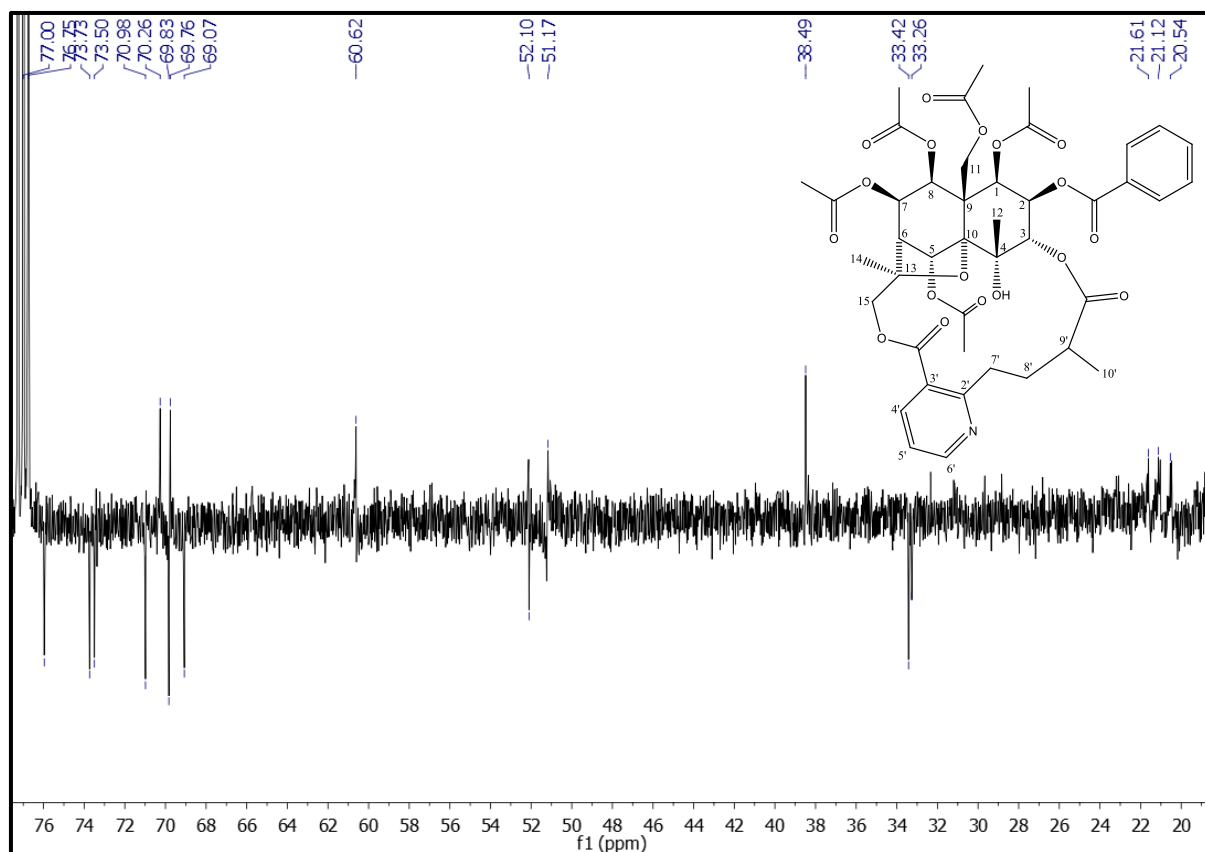


Figura 91 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 76 a 20 ppm

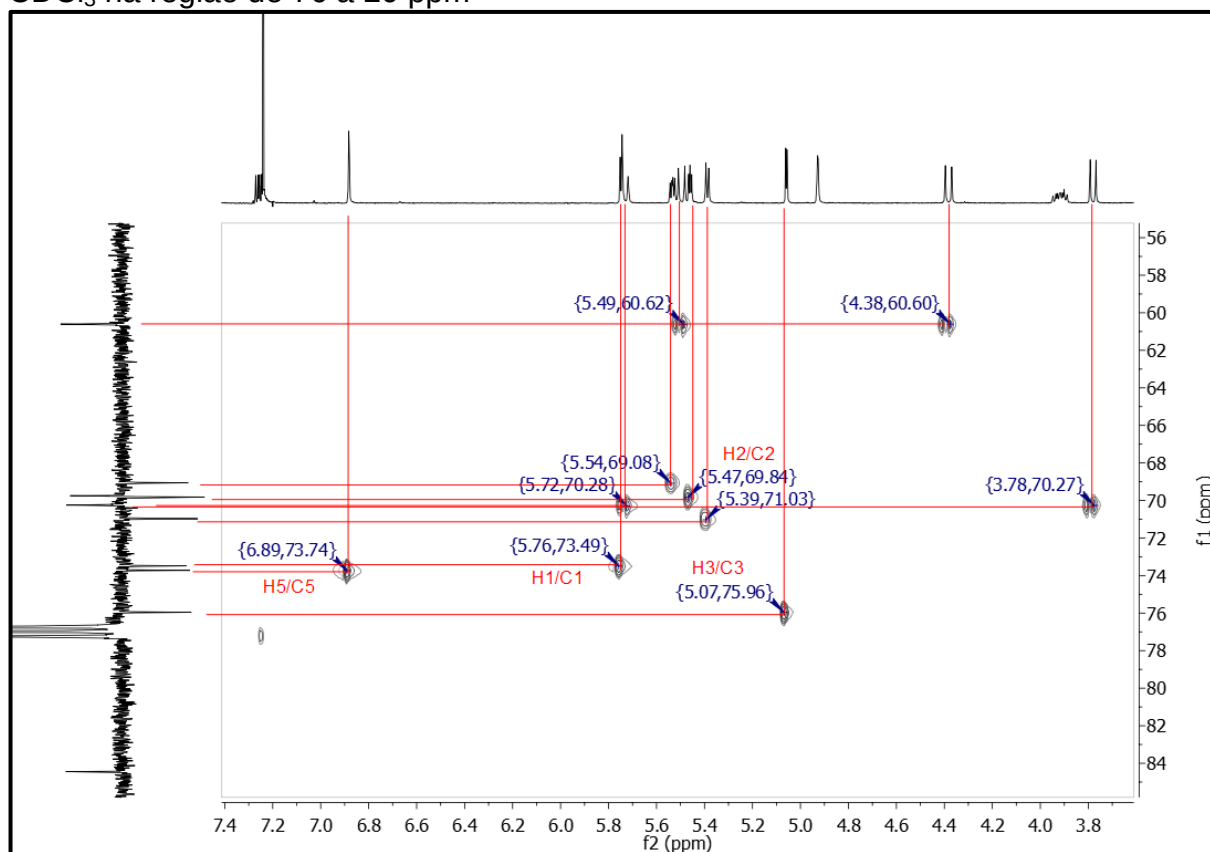


Figura 92. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 56 a 84 ppm

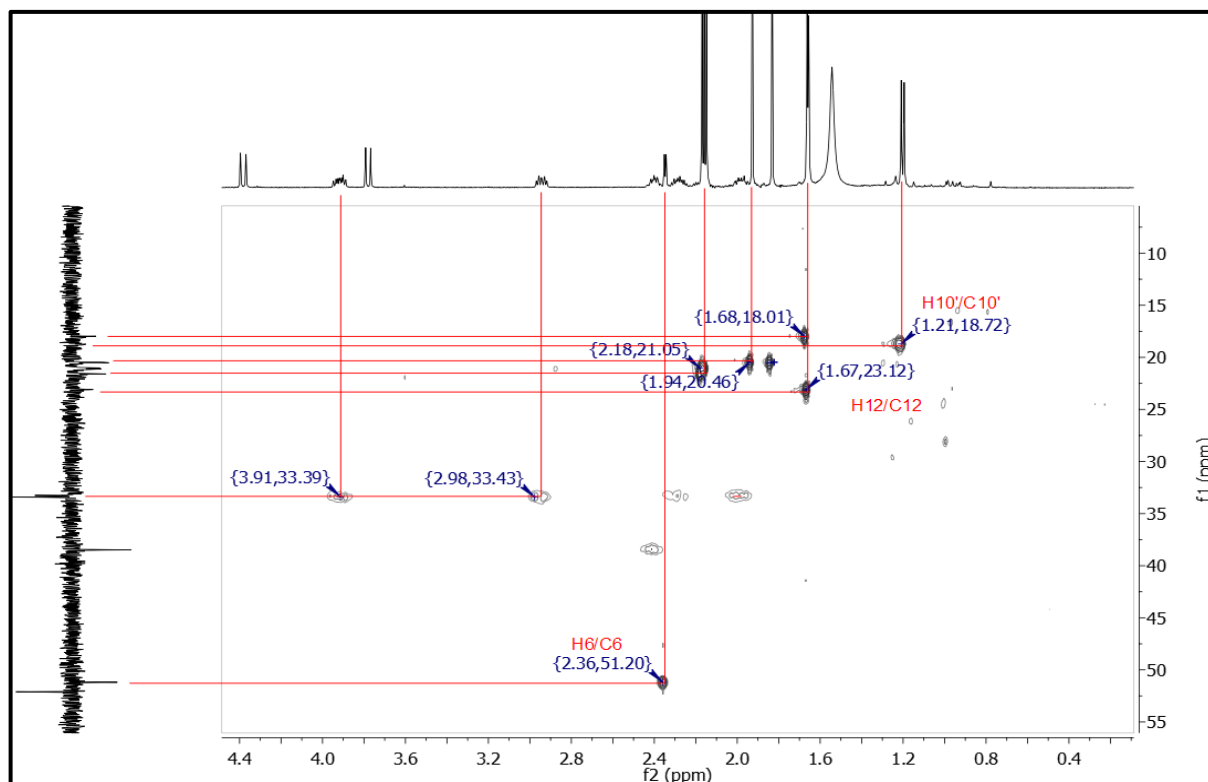


Figura 93. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 10 a 55 ppm

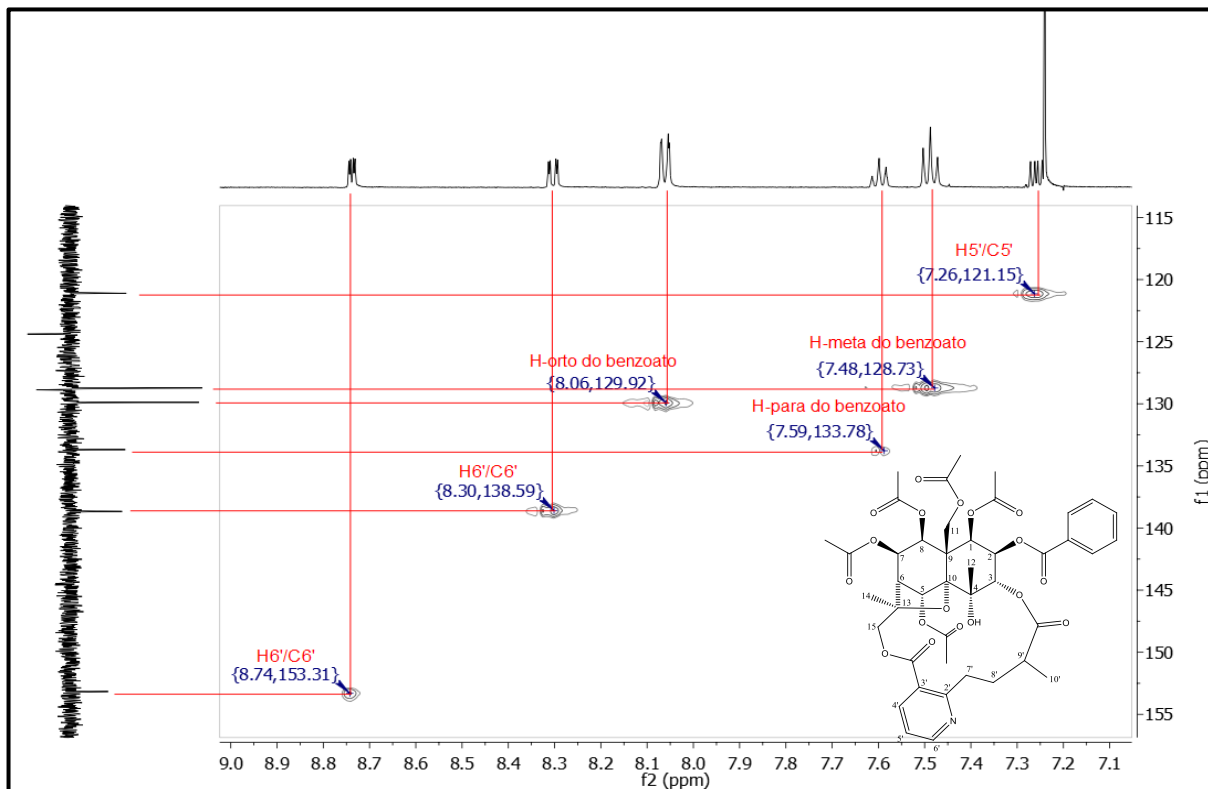


Figura 94. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 115 a 155 ppm

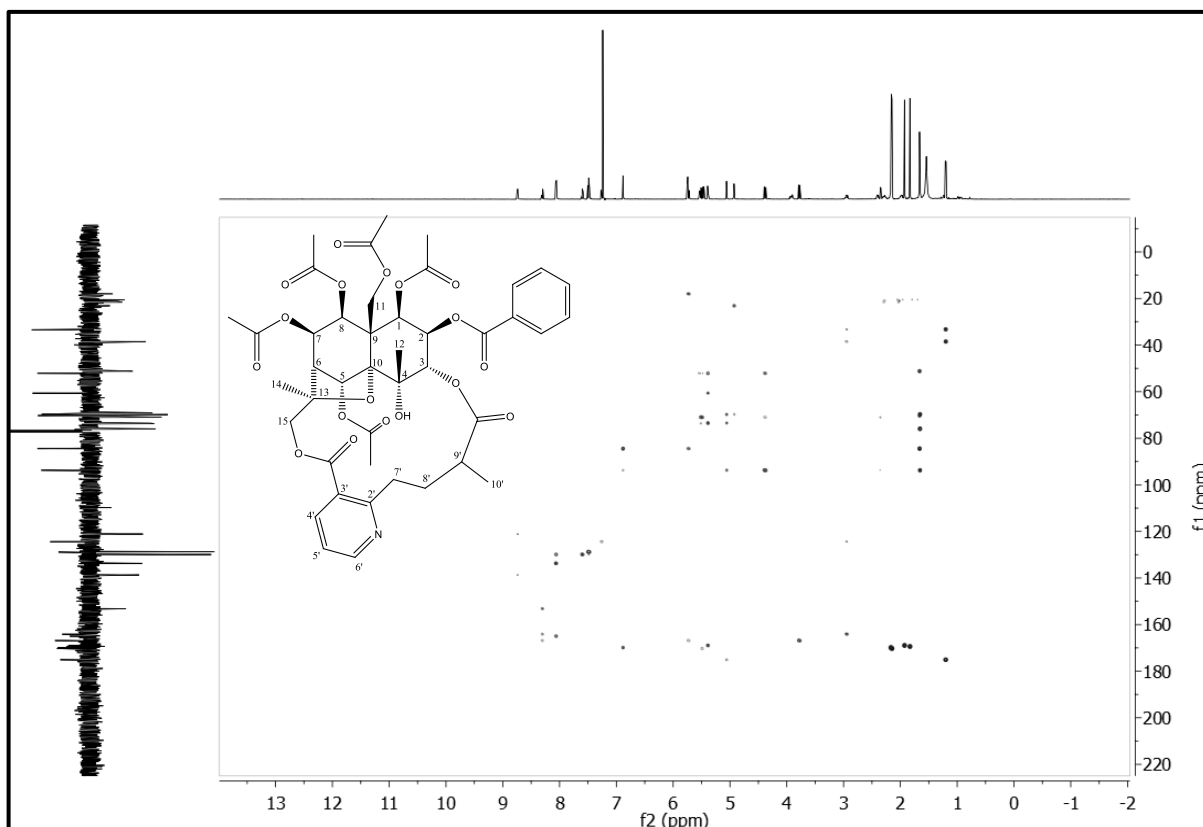


Figura 95. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 125 MHz) de Md-8 em CDCl_3

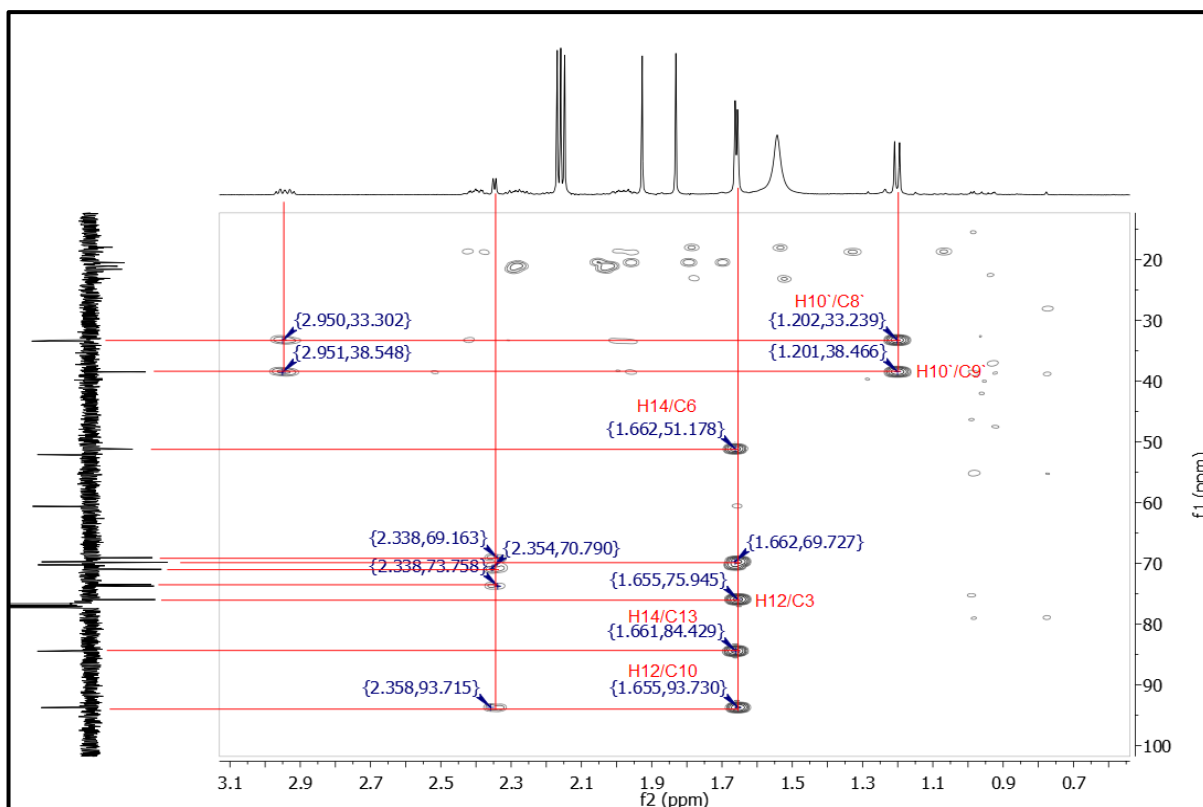


Figura 96. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 20 a 100 ppm

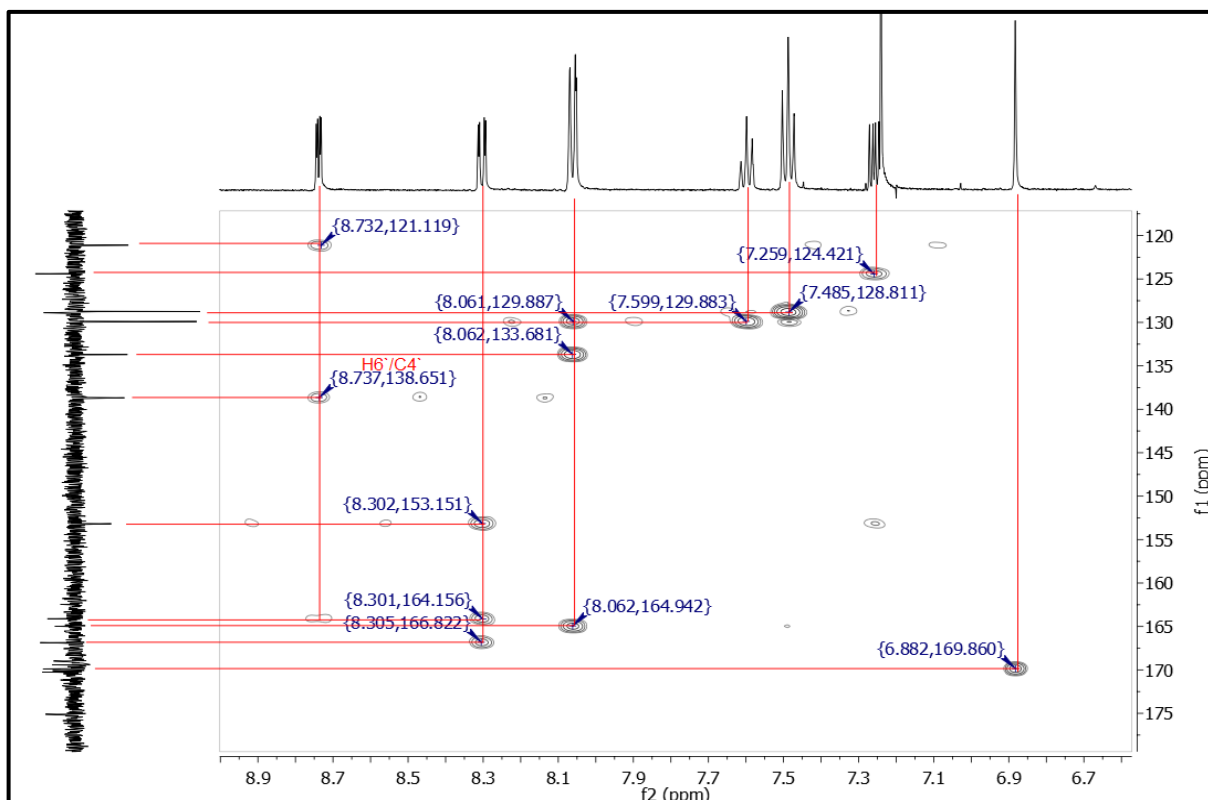


Figura 97. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 120 a 175 ppm

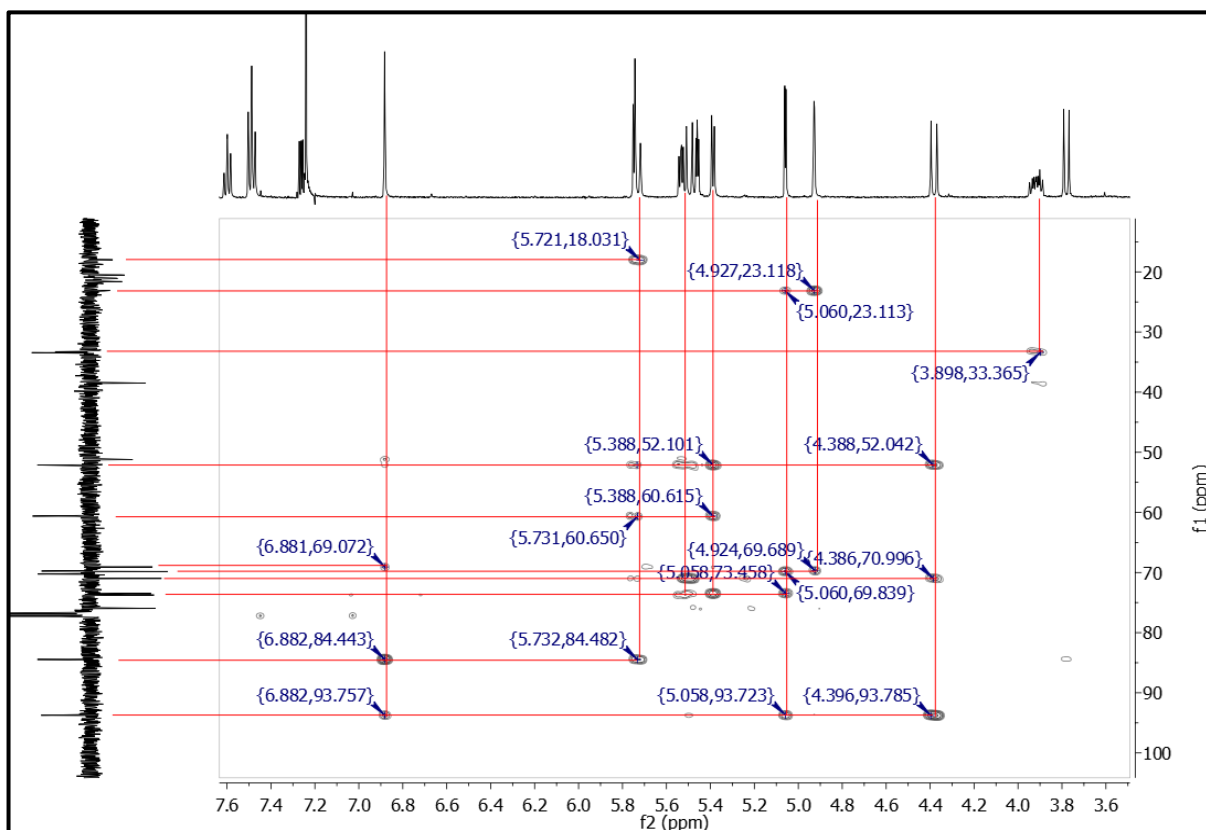


Figura 98. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 20 a 100 ppm

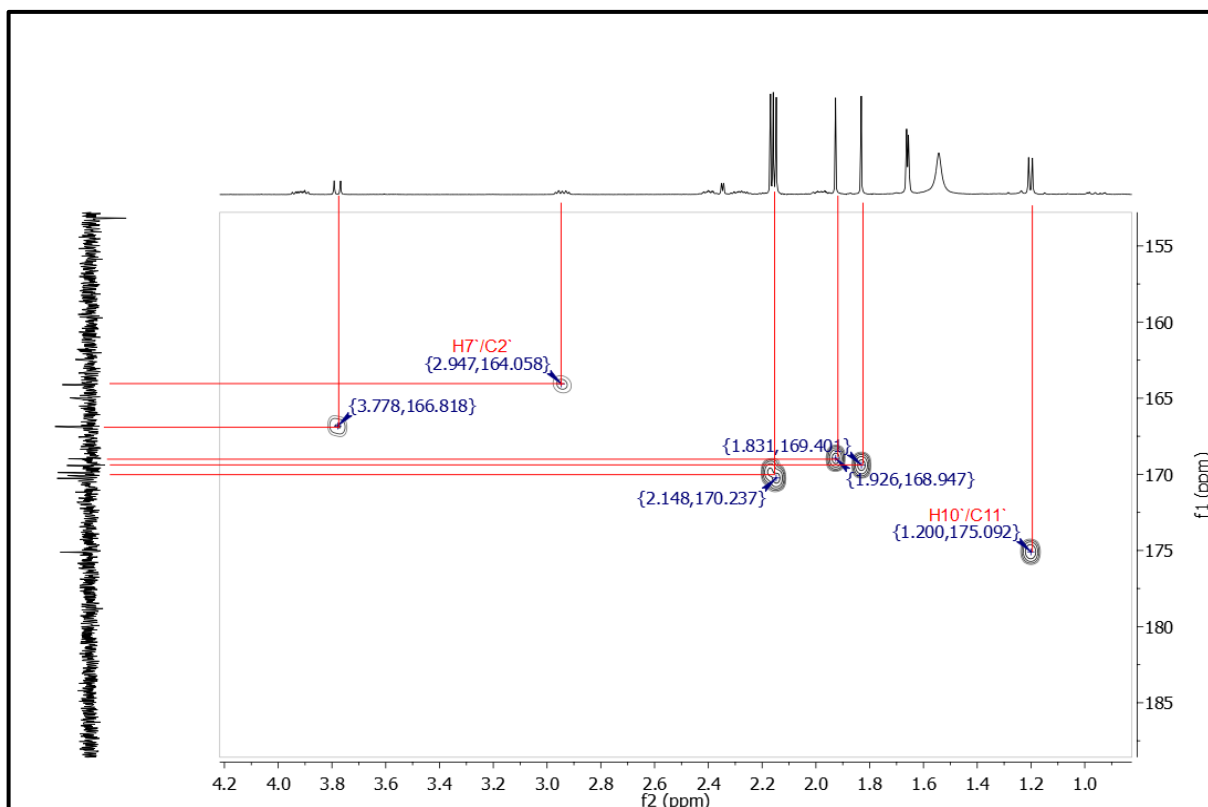


Figura 99. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 155-185 ppm

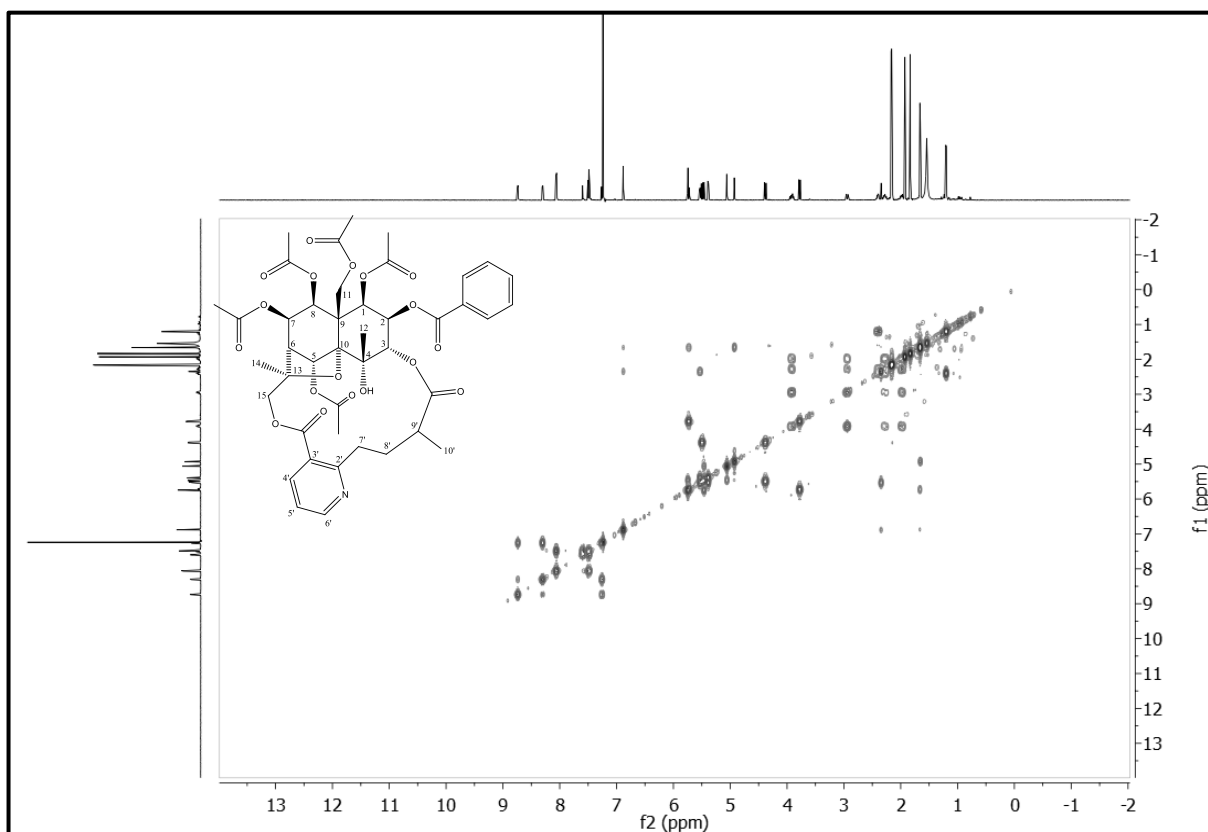


Figura 100. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3

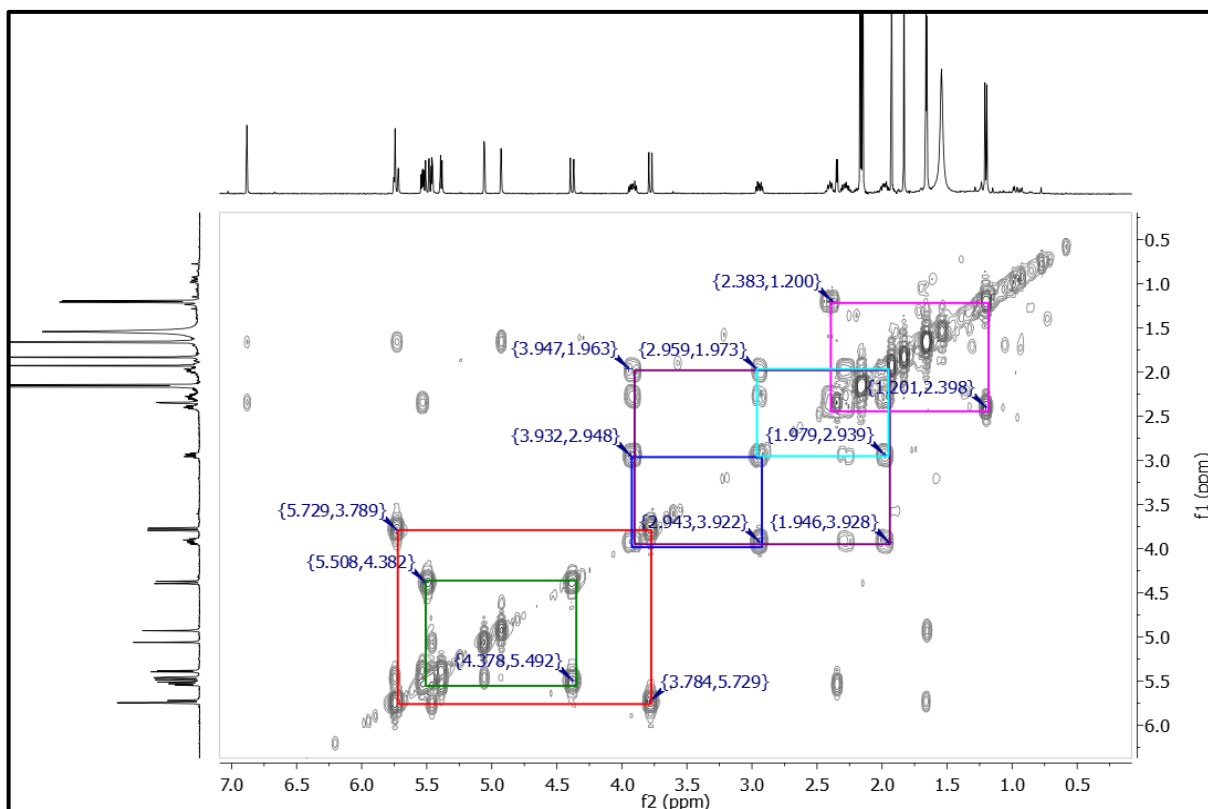


Figura 101. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl₃ na região de 7,0 a 0,5 ppm

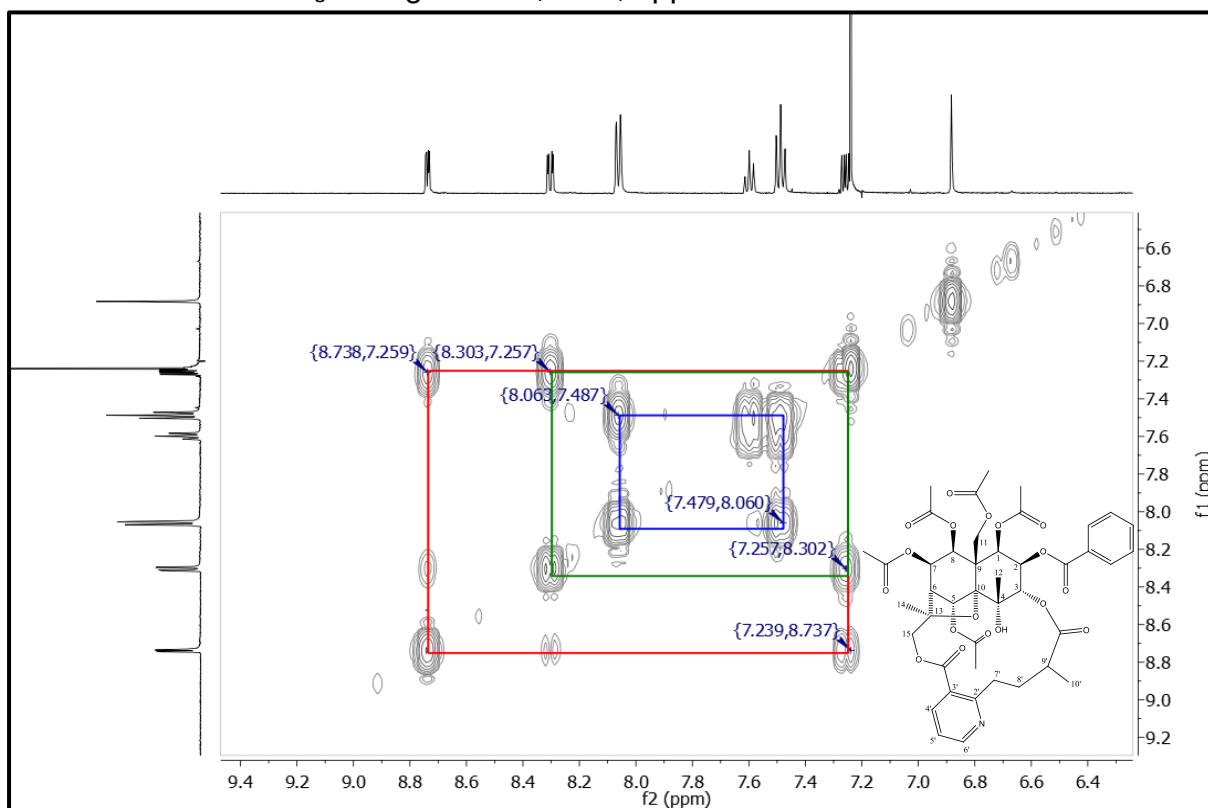


Figura 102. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl₃ na região de 9,4 a 6,4 ppm

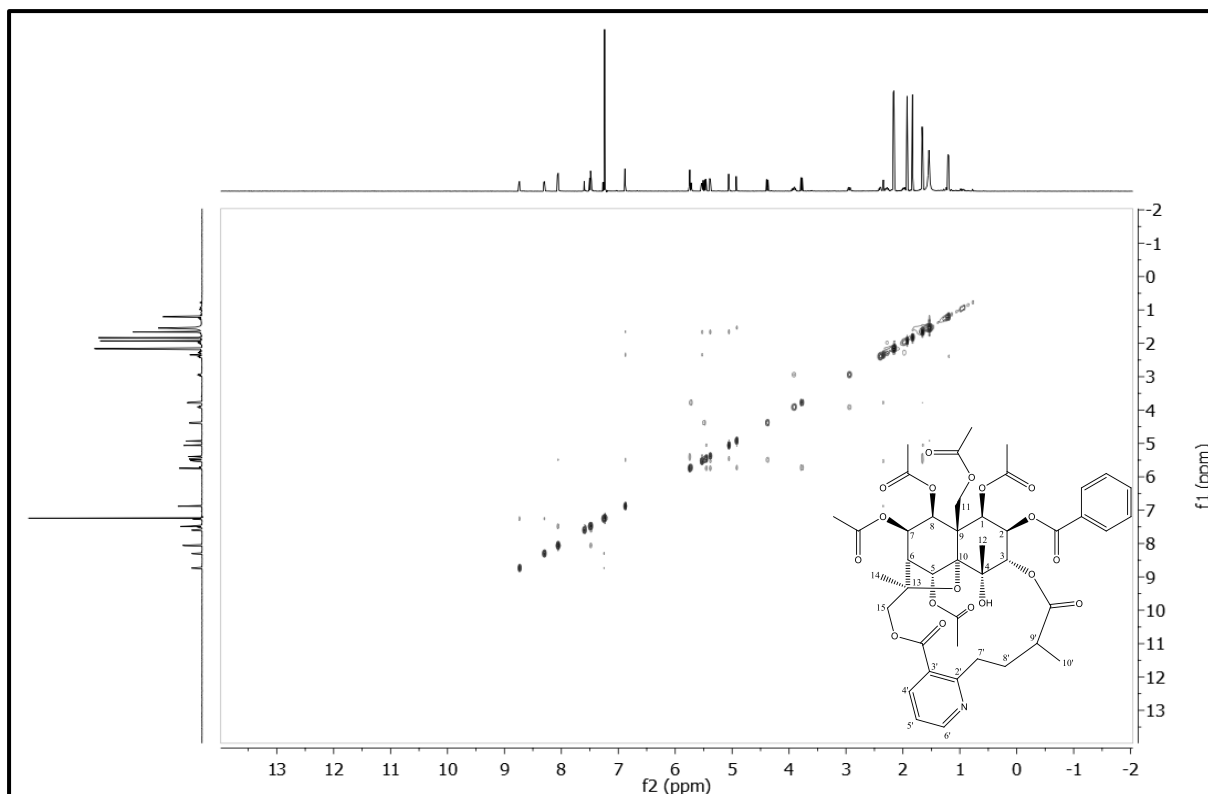


Figura 103. Espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3

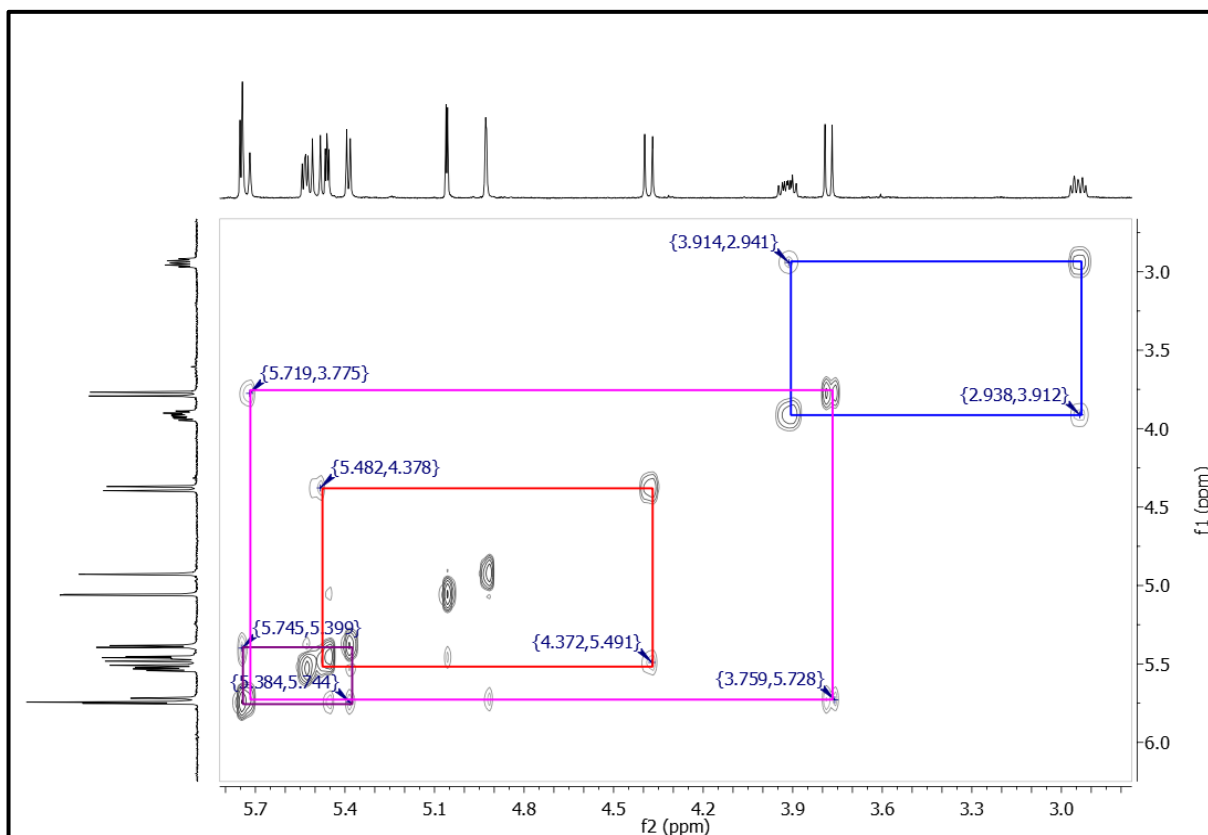


Figura 104. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 5,7 a 3,0 ppm

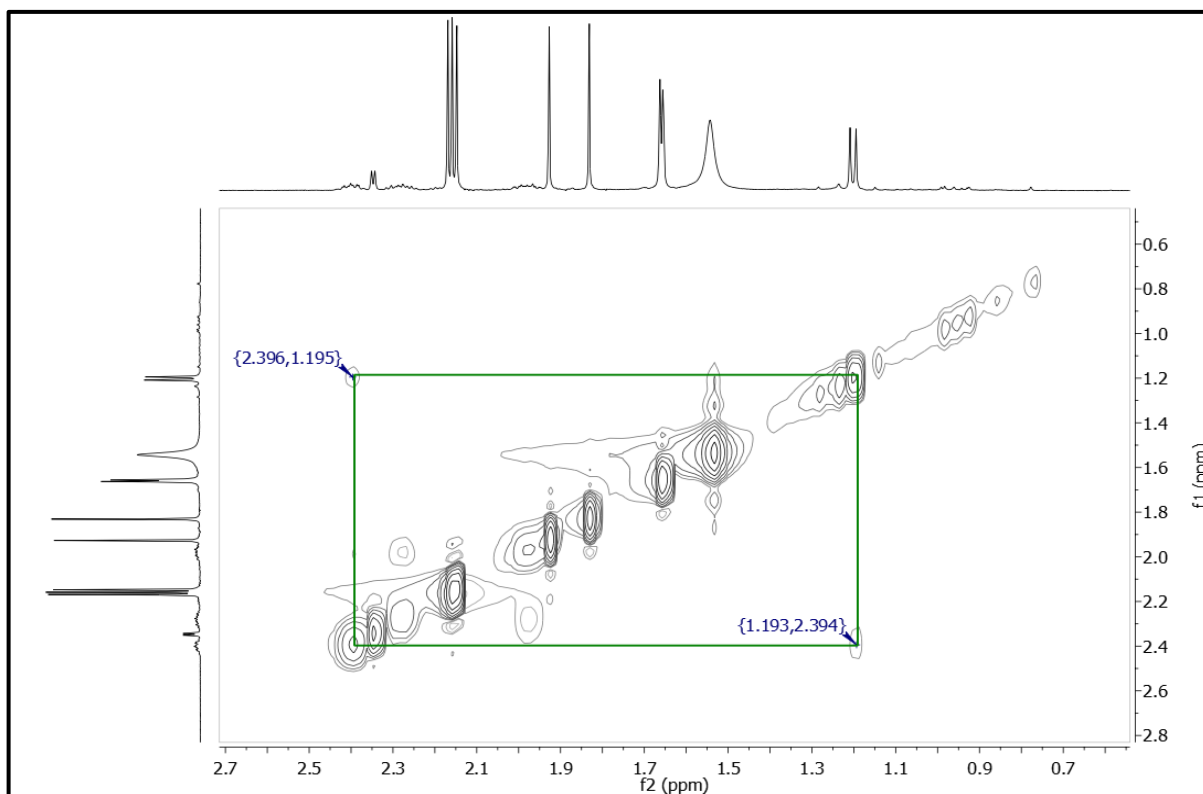


Figura 105. Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz) de Md-8 obtido em CDCl_3 na região de 2,7 a 0,7 ppm

5.1.8. Identificação estrutural de Md-9

A substância codificada como Md-9 foi isolada como um sólido amarelo, solúvel em clorofórmio, pesando 10,0 mg e rendimento 0,0002%.

No espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 106, Pág, 102) observou-se bandas de absorção na região de $3.500-3.200\text{ cm}^{-1}$ (banda larga) característica de estiramento (-OH). Apresentou também absorções na região de $1.600-1.440\text{ cm}^{-1}$ referente a deformação axial da ligação carbono-carbono de anel aromático. Também foi relevante à observação de banda em torno de 1.750 cm^{-1} que sugere a existência de estiramento de C=O de carbonila de éster. Observou-se também bandas de absorção na região de $1.300-1.000$ referente as vibrações assimétricas acopladas de C-C(=O)-O e O-C-C.

No espectro de massas obtido por ESI^+ (Figura 107, Pág 102) observou-se o pico em $m/z = 912,3$ que foi compatível com a forma molecular $\text{C}_{47}\text{H}_{52}\text{O}_{18}\text{N}$

O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) mostrou a presença de hidrogênios em quatro grupos acetatos δ_{H} 1,34 (s); 2,12 (s); 2,17 (s); 2,22(s), (Figura 108 e 109, Pág 103) e dois grupos benzoato [δ_{H} 7,31 (m), e 7,49 (m) e 7,76 (dd), ($J = 1,0$ e 8,0 Hz)] e [δ_{H} 8,07 (dd), ($J = 0,5$ e 8,0 Hz) e 7,50 (t), ($J = 7,5$) e 7,59 (t), ($J = 7,5$ Hz)] (Figura 111, Pág 104), dois hidrogênios metílicos [δ_{H} 1,67 (d), $J = 1,0$ Hz) e 1,71 (s), (Figura 109, Pág 103) quatro conjuntos de hidrogênio metilênicos (δ_{H} 4,60 (d), $J = 13,5$ Hz / 5,67 (d), $J = 13,5$ Hz / 3,80 (d), $J = 12,0$ Hz e 5,79 (d), $J = 12,0$ Hz / 3,01 (m), e 3,90 (m), (Figura 110, Pág 104) e sete hidrogênios oximetínicos [δ_{H} 6,10 (d), $J = 3,0$ Hz, 5,51 (dd), $J = 2,5$ e 4,0; 5,13 (d), ($J = 2,5$ Hz), 6,94 (s), 2,38 (d), $J = 4,0$ Hz, 5,54 d, $J = 4,0$ e 6,0 Hz e 5,44 (d), $J = 5,5$ Hz)] (Figura 110, Pág 104). Também mostrou um grupamento piridina 2,3-dissubstituído (δ_{H} 8,43 (d), $J = 6,5$ Hz, 7,37 m e 8,78 (s), (Figuras 108 e 111, Pág 104) 1 m), (Figuras 108 e 109, Pág.103). Os deslocamentos químicos apresentados também são semelhantes aos de Md-8 e são compatíveis com os sesquiterpenos alcaloides piridinicos com ocorrência em espécies de *Maytenus*. Comparando esses deslocamentos químicos percebe-se que em Md-9 existe um grupo benzoil a mais do que em Md-8. Esse benzoil a mais foi inserido em C-1, haja vista que o deslocamento químico do hidrogênio da metila do

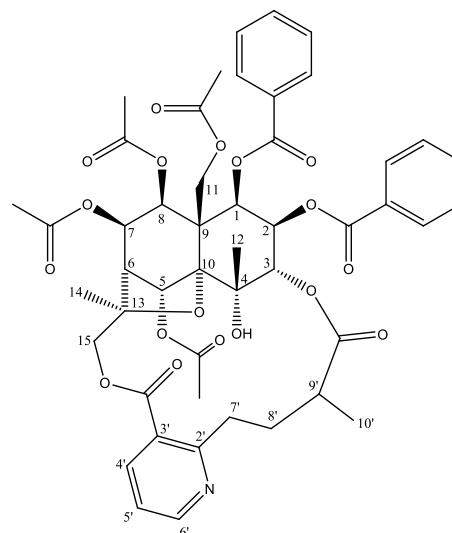
acetato em C-8 sofreu uma proteção e foi registrada em 1,34 ppm. Essa proteção se deve ao efeito anisotrópico do benzoil em C-1.

O espectro de RMN ^{13}C utilizando a técnica APT (125 MHz, CDCl_3) de Md-9 revelou a presença de três carbonos metílicos (δ_{C} 23,70; 17,90; 18,70), (Figura 112 e 13, Pág 106), sete carbonos metínico (δ_{C} 73,4; 70,2; 74,9; 73,7; 51,1; 69,8 e 70,9), e quatro carbonilas de ester (δ_{C} 167,9; 168,8; 169,8 e 169,4), (Figura 113 e 114, Pág 106) quatro carbonos quaternários (δ_{C} 93,7; 84,4; 70,9 e 52,1), dois grupo benzoato (δ_{C} 164,9; 133,3; 129,4; 129,0 e 128,7), e (δ_{C} 164,79; 133,7; 129,9; 128,8 e 128,7) um grupamento piridinico (δ_{C} 164,1; 124,4; 138,6; 121,1; 153,1) (Figuras 112, 113 e 114, Pág 106 e 107). Todos os deslocamentos químicos comparados com a literatura estão compilados na Tabela 9.

Através da análises de todos os dados espectroscópicos e comparações com a literatura (ITOKAWA *et al.*, 1993), foi possível determinar Md-9 como sendo Ebinifolina, um alcaloide sesquiterpeno piridinico que está sendo isolado pela primeira vez na espécie.

Tabela 9. Dados de RMN (500 MHz) em CDCl_3 de Ebinifolina W-I., J em Hz e δ em ppm

	HMQC		Mo-1
	^1H	^{13}C	
1	6,10 (d, $J = 3,5$)	73,2	73,4
2	5,51 (dd, $J = 2,5; 4,0$)	70,2	70,5
3	5,13 (d, $J = 2,5$)	76,1	75,9
4	-----	71,6	69,8
5	6,94 (s)	73,6	73,8
6	2,38 (d, $J = 4,0$)	51,1	51,1
7	5,54 (d, $J = 4,0; 6,0$)	68,8	69,0
8	5,44 (d, $J = 5,5$)	71,4	71,6
9	-----	52,4	52,5
10	-----	93,7	93,8
11	4,60 (d, $J = 13,5$)	60,6	60,8
	5,67 (d, $J = 13,5$)		
12	1,67 (d, $J = 1,0$)	23,0	23,1
13	-----	84,5	84,7
14	1,71 (s)	17,9	17,9
15	3,80 (d, $J = 12,0$)	69,9	70,3
	5,79 (d, $J = 12,0$)		
2'	-----	164,7	164,0
3'	-----	124,4	124,0
4'	8,43 (d, $J = 6,5$)	138,6	138,7
5'	7,37 (m)	121,1	121,2
6'	8,78 (sl)	153,1	153,2
7'	3,01 (m); 3,90 (m)	33,2	33,4
8'	2,01 (m); 2,32 (m)	33,4	33,3
9'	2,42 (m)	38,2	38,5
10'	1,24 (d, $J = 6,5$)	18,7	18,8
11'	-----	174,2	175,1
12'	-----	164,9	166,9
1-OBz			
<i>orto</i>	7,76 (dd, $J = 1,0; 8,0$)	129,4	129,6
<i>meta</i>	7,31 (m)	128,7	128,8
<i>para</i>	7,49 (m)	133,3	133,3
<i>ipso</i>		129,0	129,3
C=O	-----	164,9	165,0
5-OAc	2,17 (s)	169,7/20,9	169,9/21,6
7-OAc	2,12 (s)	170,3/21,2	170,0/20,9
8-OAc	1,34(s)	168,9/20,8	168,9/19,8
11-OAc	2,20 (s)	169,9/21,1	170,4/21,2
2-OBz			
<i>orto</i>	8,07 (dd, $J = 0,5; 8,0$)	129,9	129,9
<i>meta</i>	7,50 (t, $J = 7,5$)	128,7	128,8
<i>para</i>	7,59 (t, $J = 7,5$)	133,7	133,8
<i>ipso</i>	-----	128,8	128,7
C=O	-----	164,7	164,0



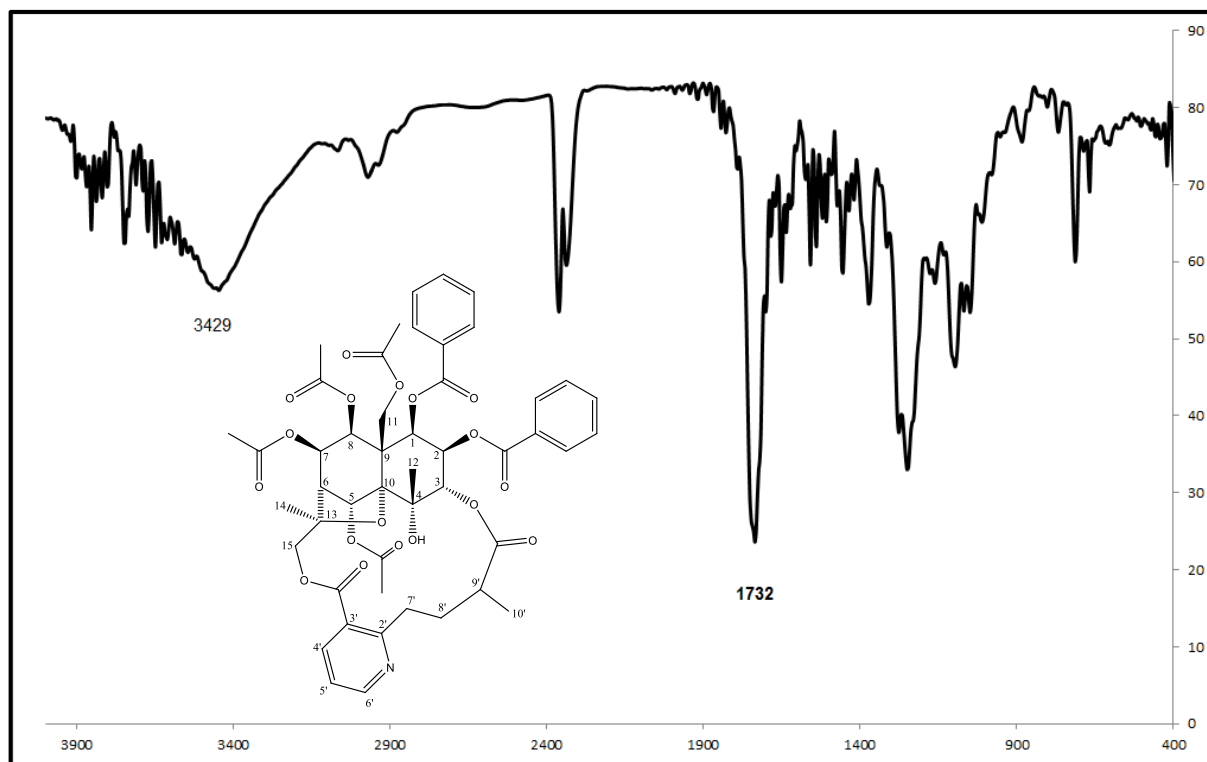


Figura 106. Espectro de IV de Md-9 obtido em pastilha de KBr

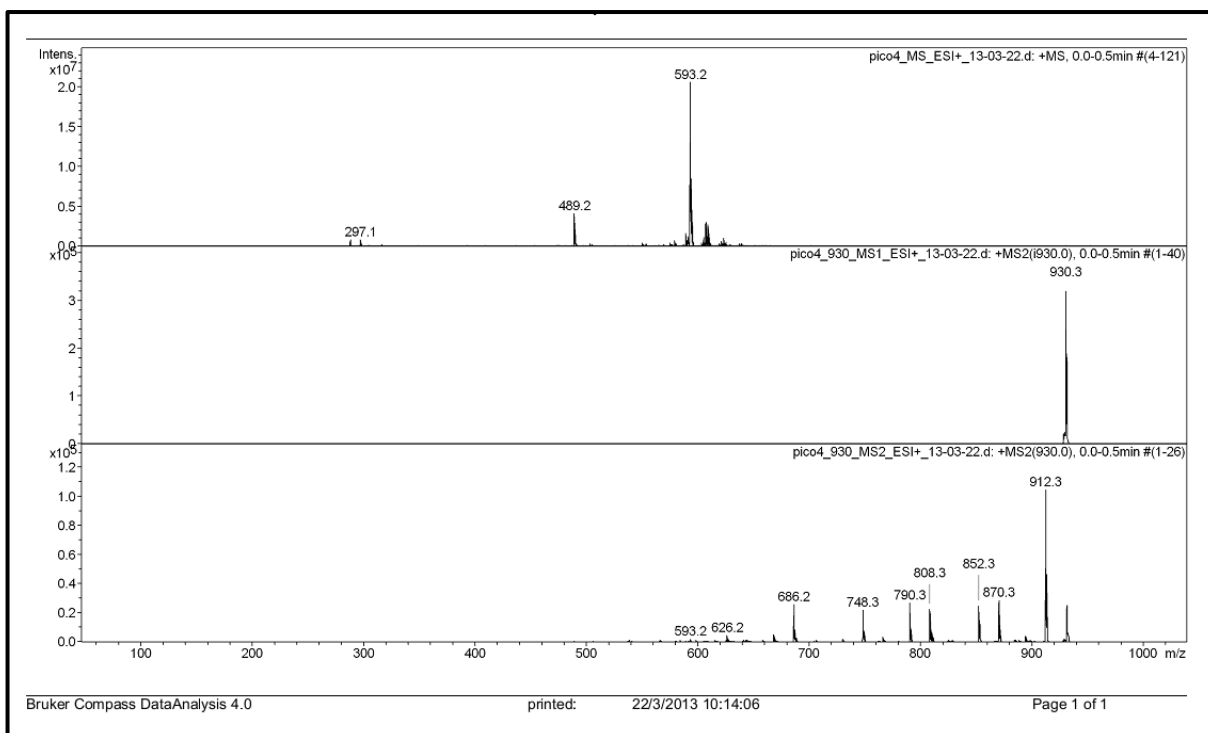


Figura 107. Espectro de massas por ESI⁺ de Md-9

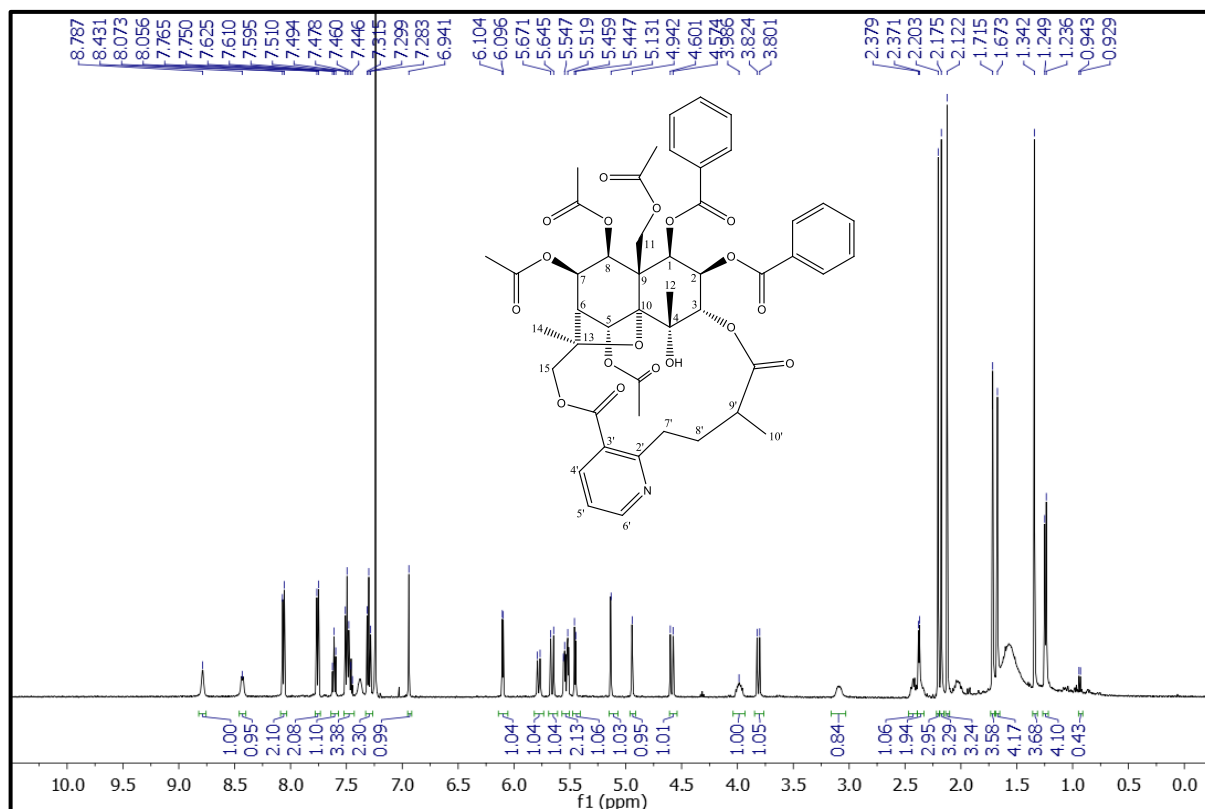


Figura 108. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-9 obtido em CDCl_3

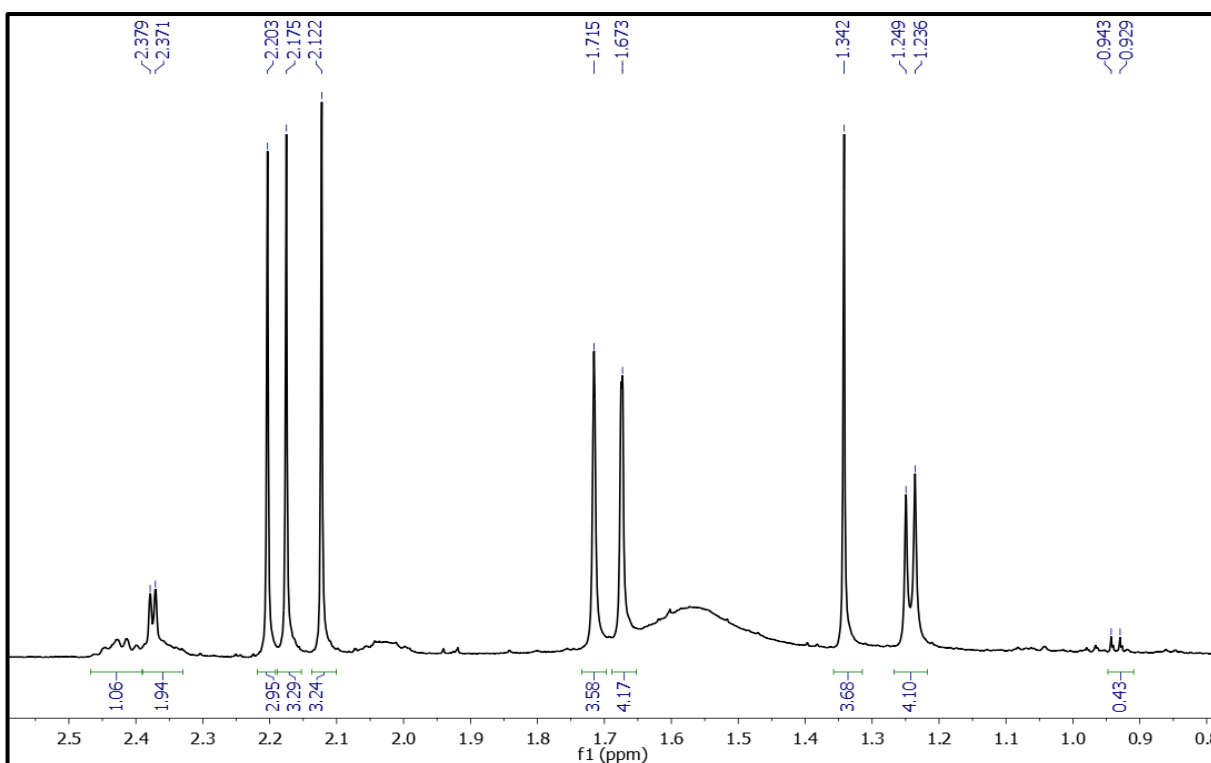


Figura 109. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-9 obtido em CDCl_3 na região de 2,5 a 0,8 ppm

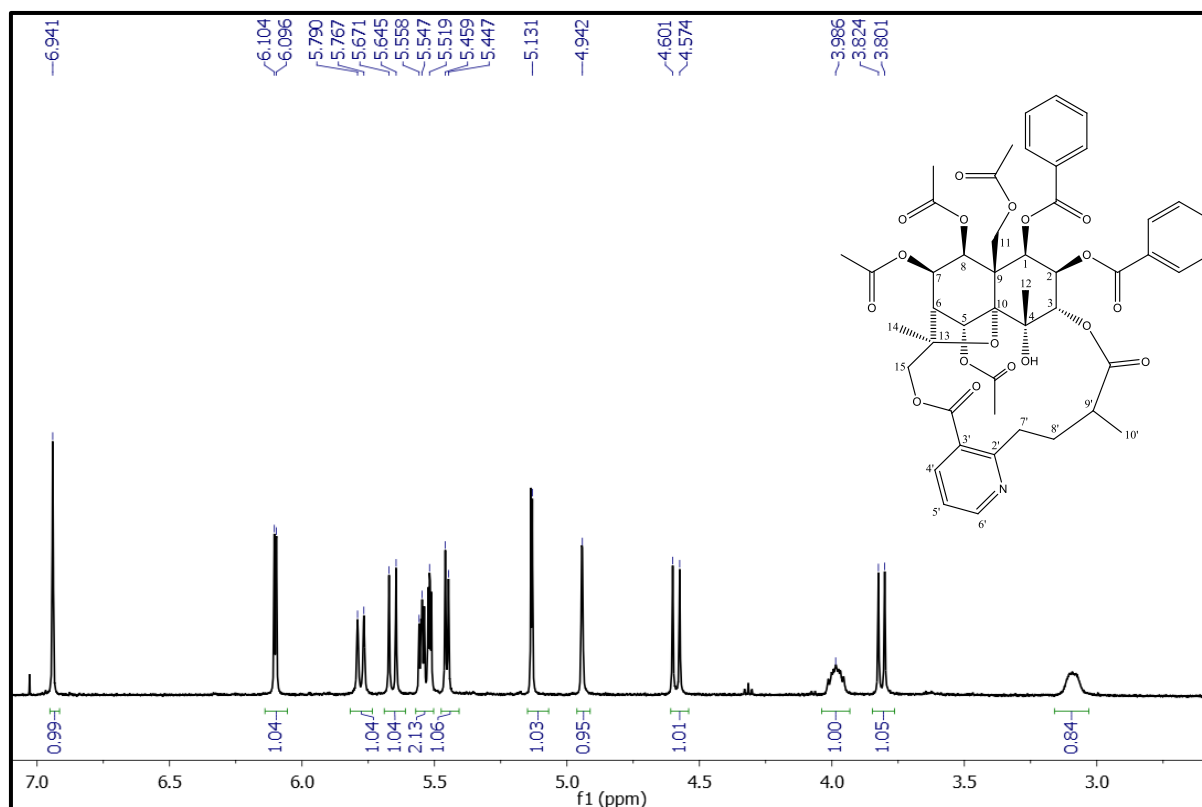


Figura 110. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-9 obtido em CDCl_3 na região de 7,0 a 3,0 ppm

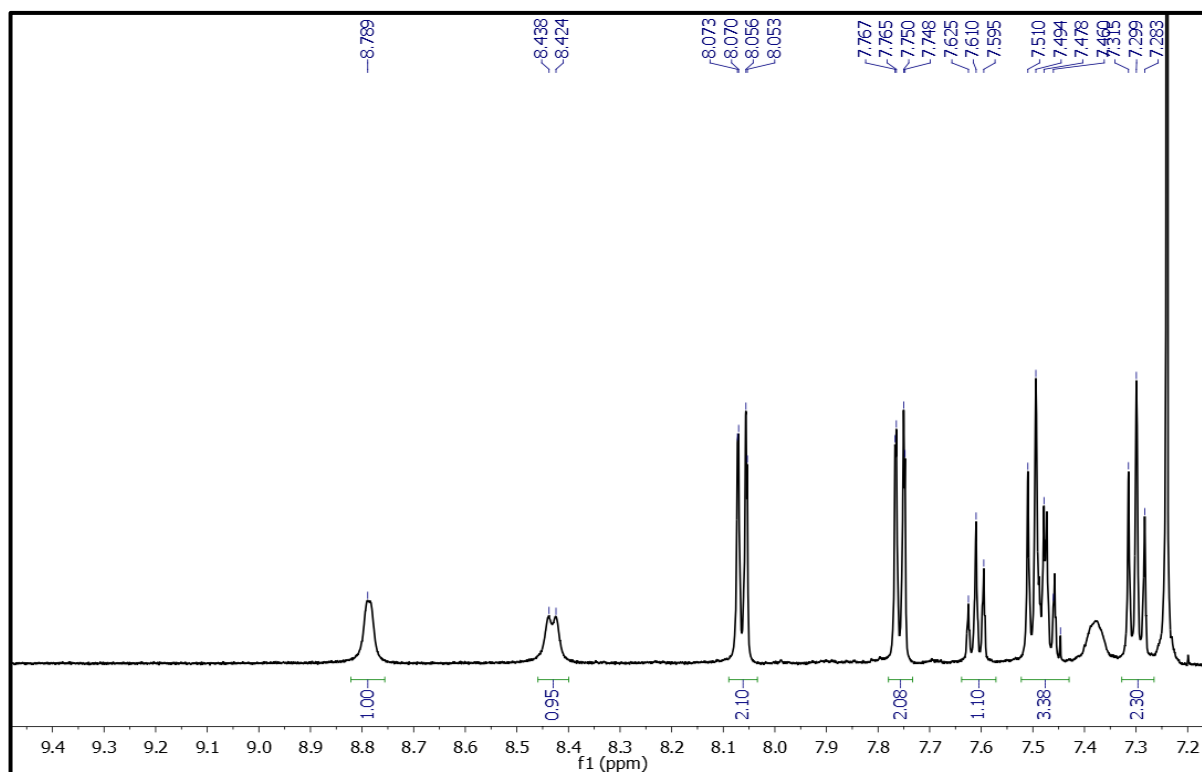


Figura 111. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz) de Md-9 obtido em CDCl_3 na região de 9,4 a 7,2 ppm

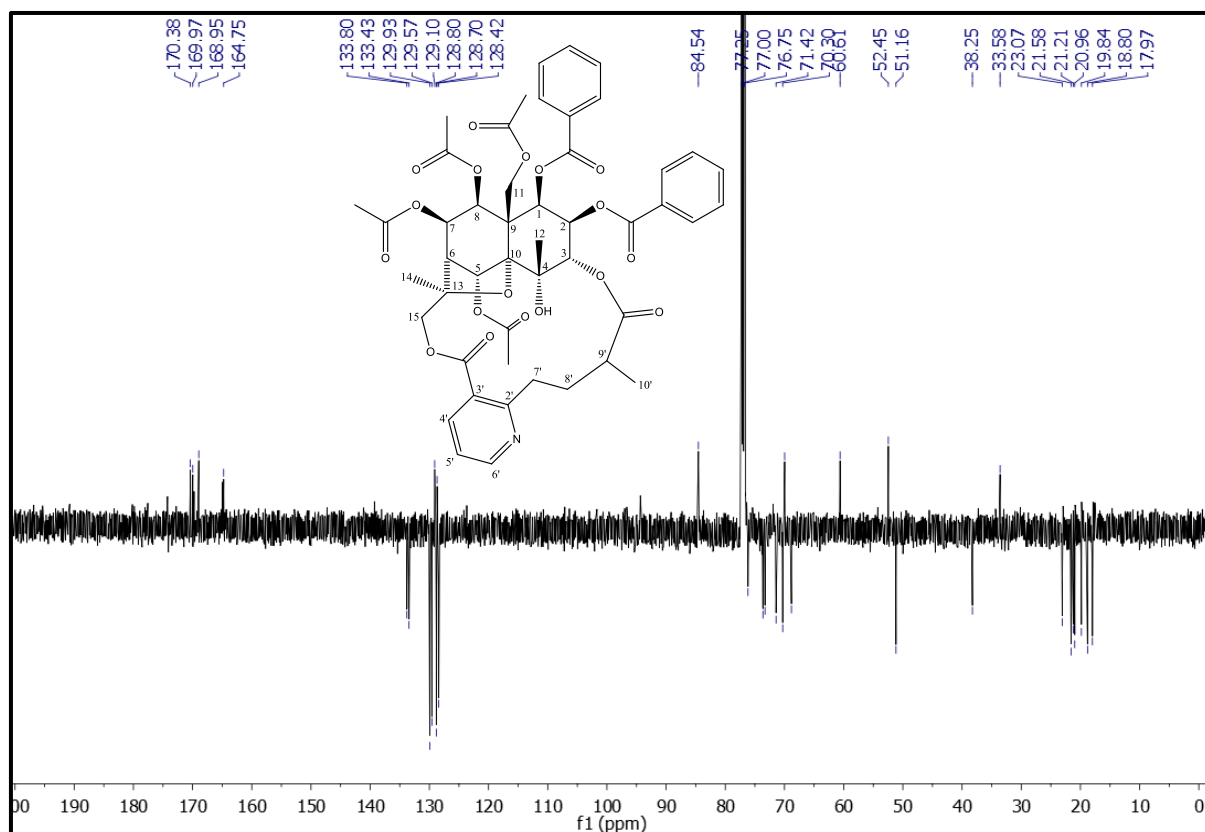


Figura 112. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-9 obtido em CDCl_3

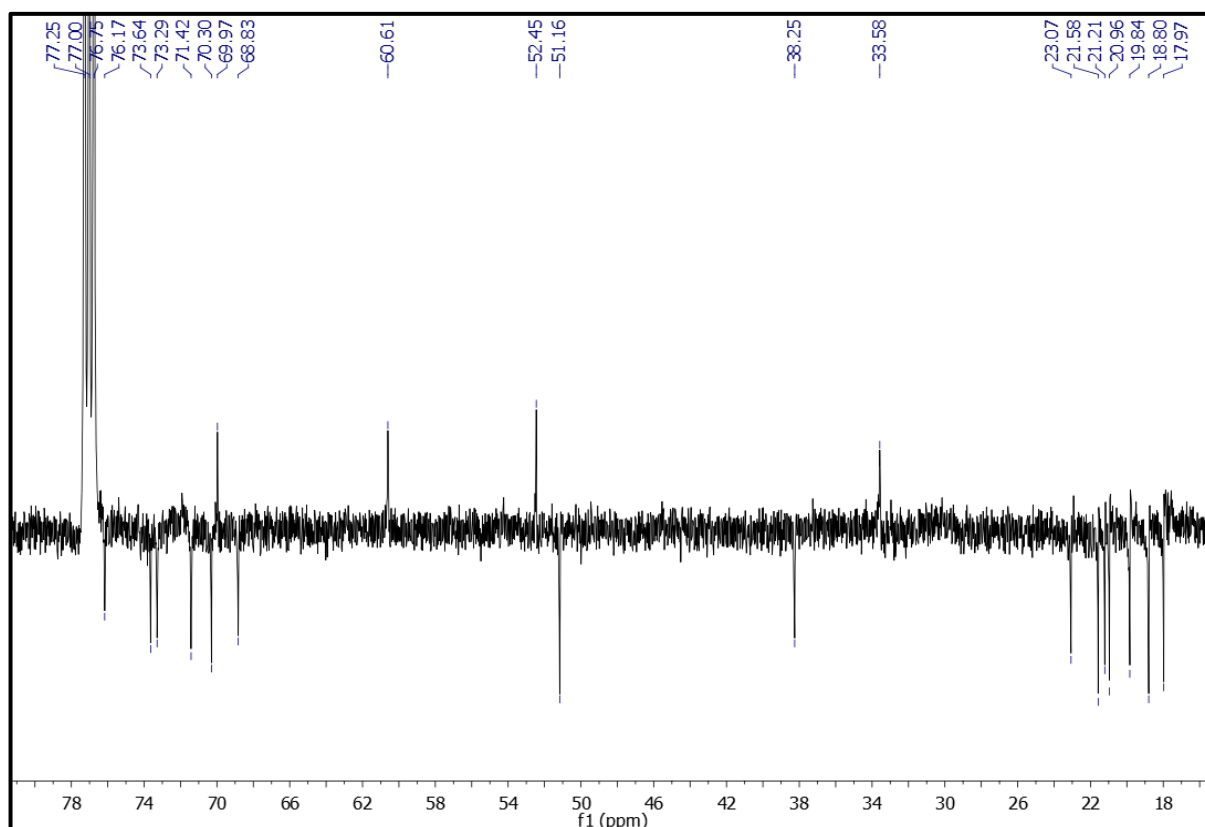


Figura 113. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-9 obtido em CDCl_3 na região de 78 a 18 ppm

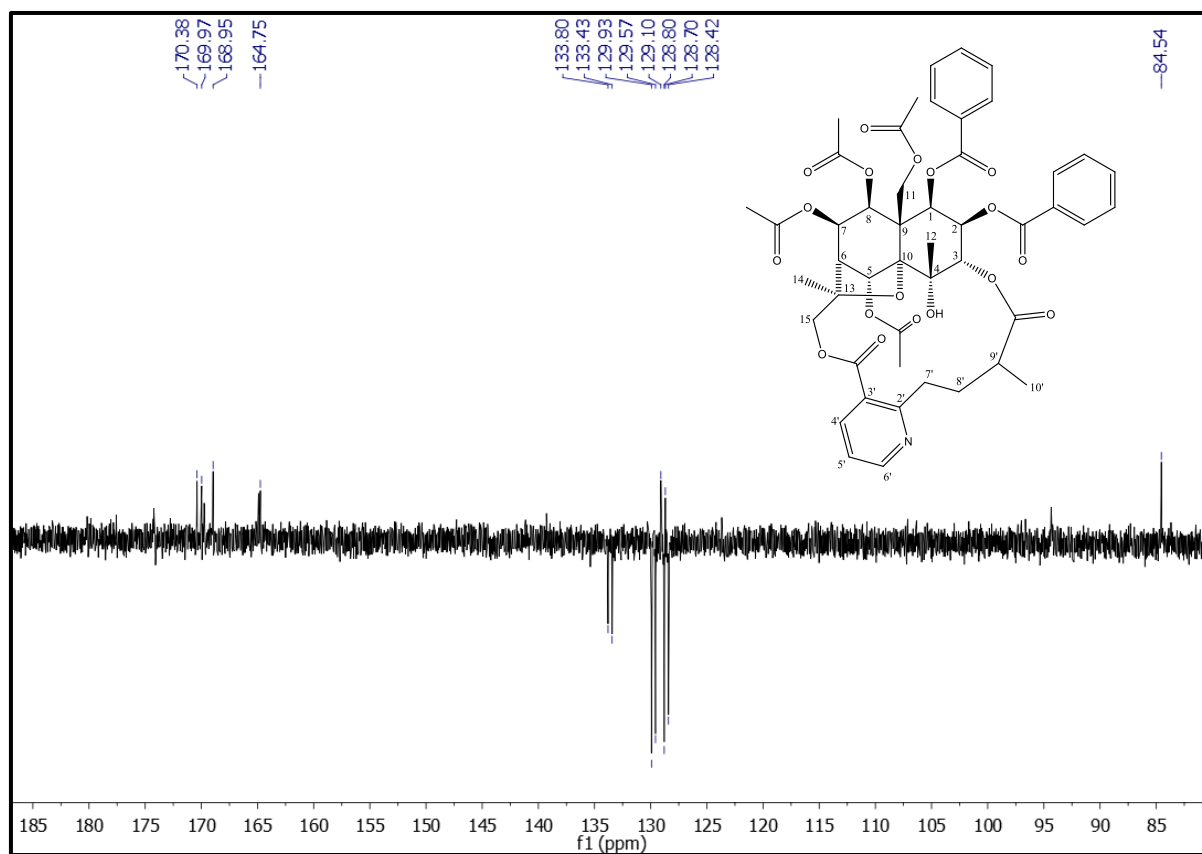


Figura 114. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) de Md-9 obtido em CDCl_3 na região de 185 a 85 ppm

CONCLUSÕES

6.0 CONCLUSÕES

Com o estudo fitoquímico das folhas e das raízes de *Maytenus distichophylla* conclui-se que:

A partir das folhas foram isolados e caracterizados sete triterpenos, sendo seis conhecidos na literatura, 3β -hidroxifriedelano, 3-oxo-friedelano, 3-oxo- 12α -hidroxifriedelano, 3-oxo-29-hidroxifriedelano, 3-oxo- 30β -hidroxifriedelano, 3, 12-oxo-friedelano e um que está sendo relatada pela primeira vez, o $6\beta,12\alpha$ -dihidroxifriedelan-1 ϵ -3,16,21-triona.

A partir das raízes foram isolados e caracterizados dois alcaloides sesquiterpenicos piridínicos o Wilforine e Ebinifolina.

Esses dados são compatíveis com a composição química de espécies do gênero *Maytenus* e contribuem para a ampliação do seu conhecimento químico

REFERÊNCIAS

7.0 REFERÊNCIAS

ABREU, V. G. C.; TAKAHASHI, J. A.; DUARTE, L. P.; PILÓ-VELOSO, D.; SALES JUNIOR, P. A.; ALVES, R. O.; ROMANHA, A. J.; ALCÂNTARA, A. F. C. Evaluation of the bactericidal and trypanocidal activities of triterpenes isolated from the leaves, stems, and flowers of *Lychnophora pinaster*. *Rev. Bras. Farmacogn.*, 21, 615-621, **2011**.

ALMEIDA, M. C. S.; ALVES, L. A.; SOUZA, L. G. S.; MACHADO, L. L.; MATOS, M. C.; OLIVEIRA, M. C. F.; LEMOS, T. L. G.; BRAZ-FILHO, R.. Flavonóides e outras substâncias de *Lippia siloides* e suas atividades antioxidantes. *Química Nova*, 33 (9), p. 1877-1881, **2010**.

ALVARENGA, N.; CANELA, N.; GÓMEZ, R.; YALUFF, G.; MALDONADO, M.. Leishmanicidal activity of *Maytenus illicifolia* roots. *Fitoterapia*, 79, p. 381–383, **2008**.

ALVES, J. S.; CASTRO, J. C. M.; FREIRE, M. O.; CUNHA, E. V. L.; FILHO, J. M. B.; SILVA, M. S.; Complete assignment of the ^1H and ^{13}C NMR spectra of four triterpenes of the ursane, lupane and friedelane groups. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 38, p. 201-206, **2000**

ANTONISAMY, P.; DURAIPANDIYAN, V.; IGNACIMUTHU, S. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of friedelin isolated from *Azima tetra-canha* Lam. in mouse and rat models. *J. Pharm. Pharmacol.*, 63, 1070-1077, **2011**.

AVILLA, J.; TEIXIDÒ, A.; VELÁZQUEZ, N. A.; FERRO, E.; CANELA, R. "Insecticidal activity of *Maytenus species* (Celastraceae) nortriterpene quinone methides against codling moth, *Cydia pomonella*(L.) (Lepidoptera: Tortricidae)". *J. Agric. Food Chem.*, 48, 88-92, **2001**.

BARROSO, G.M. Sistemática de Angiospermas do Brasil. Viçosa, Imprensa da Universidade Federal de Viçosa, v. 2, **1984**.

BAZZOCCHI, I. L.; TORRES-ROMERO, D.; KING-DÍAZ, B.; JIMÉNEZ, I. A.; LOTINA-HENNSSEN, B. "Sesquiterpenes from *Celastrus vulcanicola* Photosynthetic Inhibitors". *J. Nat. Prod.*, 71, 1331-1335, **2008**.

BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; NOGUEIRO, M.; KONNO, T. U. P.; DUARTE, G. G.; SCIO, E.. Antibacterial, cytotoxic and phytochemical screening of some traditional medicinal plants in Brazil. *Pharmaceutical Biology*, 47 (1), p. 44-52, **2009**.

CARROLL, A. R.; DAVIS, R. A.; ADDEPALLI, R.; FECHNER, G. A.; GUYMER, G. P.; FORSTER, P. I.; QUINN, R. J. Cytotoxic agarofurans from the seeds of the Australian rainforest vine *Celastrus subspicata*. *Phytochemistry Letters* 2. 163–165, **2009**.

CHÁVEZ, H.; ESTÉVEZ-BRAUN, A.; RAVELO, A. G.; GONZÁLEZ, A. G. New phenolic and Quinone-Methide triterpenes from *Maytenus amazonica*. *Journal Natural Products*, 62, p. 434-436, **1999**.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural Products (Secondary Metabolites). In: Buchanan, B.B.; Gruissem, W.; Jones, R.L. *Biochemistry and molecular biology of plants*. Rockville: American Society of Plant Physiologists, **2000**. 1367p.

DAMASCENO, E. I. T.; SILVA, J. K. R.; ANDRADE, E. H. A.; SOUZA, P. J. C.; MAIA, J. G. S.. Antioxidant capacity and larvicidal activity of essential oil and extracts from *Lippia grandis*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21(1), p. 78-85, **2011**.

DE ALMEIDA, M. T. R.; RIOS-LUCI, C.; PADRÓN, J. M.; PALERMO, J. A.. Antiproliferative terpenoids and alkaloids from the roots of *Maytenus vitis-idaea* and *Maytenus spinosa*. *Phytochemistry*, 71, p. 1741-1748, **2010**.

DE ANDRADE, S. F.; LEMOS, M.; COMUNELLO, E.; NOLDIN, V. F.; CECHINEL FILHO, V.; NIERO, R. Evaluation of the antiulcerogenic activity of *Maytenus robusta* (Celastraceae) in different experimental ulcer models. *J. Ethnopharmacol.*, 113(2), 252-257, 2007.

DE SOUSA, D. P.; SILVA, M. S.; MEDEIROS, V. M.; FOLLY, M. A. B.; TAVARES, J. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. "Alkaloid, flavonoids, and pentacyclic triterpenoids of *Maytenus obtusifolia* Mart.". *Biochem. System. Ecol.*, 36, 500-503, **2008**.

DELGADO-MÉNDEZ, P.; HERRERA, N.; CHÁVEZ, H.; ESTEVEZ-BRAUN, A.; RAVELO, A. G.; CORTES, F.; CASTANYS, S. GAMARRO, F.. New terpenoids from *Maytenus apurimacensis* as MDR reversal agents in the parasite. *Leishmania. Bioorganic e Medicinal Chemistry*, 16, p. 1425-1430, **2008**.

DUARTE, L. P. "Estudo químico, estrutural e da atividade antibacteriana de triterpenos pentacíclicos isolados dos galhos e raízes de *Austroplenckia populnea*". Tese de Doutorado. Departamento de Química. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte MG. **2000**.

DUARTE, L. P.; FIGUEIREDO, R. C.; DE SOUZA, G. F.; SOARES, D. B. S.; RODRIGUES, S. B. V.; SILVA, F. C.; SILVA, G. D. F.. Chemical constituents of *Salacia elliptica* (Celastraceae). Química Nova, 22(4), p. 900-903, **2010**.

FERREIRA, M. G. P. R.; KAYANO, A. M.; SILVA-JARDIM, I.; SILVA, T. O.; ZULIANI, J. P.; FACUNDO, V. A.; CALDERON, L. A.; ALMEIDA-E-SILVA, A.; CIANCAGLINI, P.; STÁBELI, R. G. Antileishmanial activity of 3-(3,4,5-trimethoxyphenyl) propanoic acid purified from Amazonian *Piper tuberculatum* Jacq., Piperaceae, fruits. Braz. J. Pharmacogn. 20 (6), p.1003-1006, **2010**.

FURLAN, M. Estudo químico de *Maytenus evonymoides* Reiss. São Paulo [Tese – Mestrado – Universidade de São Paulo], **1985**.

GARCÍA, A. A.; CARRIL, E, P. U.. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal, 2 (3), p. 119-145, **2009**.

GONZÁLEZ, A. G.; AMARO, J. A. L. & GURIÉRREZ, J. L. Ver. Latinoamer. Quím., v. 17, n. 1/2, p. 56-58, **1986**.

GONZALEZ, A.G.; ALVARENGA, N.L.; ESTÉVEZ-BRAUN, A.;RAVELO, A.G.; BAZZOCCHI, I.L. "Structure and absolute configuration of triterpenedimers from *Maytenus scutioides*", Tetrahedron, 52, 9597-9608, **1996**.

GONZALEZ, A.G.; TINCUSI, B.M.; BAZZOCCHI, I.L.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; KONOSHIMA, T.; JIMÉNEZ, I.A.; RAVELO, A.G. "Anti-tumor promoting effects of sesquiterpenes from *Maytenus cuzcoina* (Celastraceae)". Bioorg. Med. Chem., 8, 1773-1778, **2000**.

HAN, B. H.; PARK, M. K.; RYU, J. H.; PARK, J. H.; NAOKI, H.; HAN, Y. N.; HUH, B. H.; Polyester Type Sesquiterpene Alkaloids from *Euonymus japonica* (Structures of euojaponine-D,-F,-G,-J and -K), Ach. Pharm. Res, 12(4), p. 306-309,**1989**

HARVEY, A. L. Natural products in drug discovery. Drug Disc. Today,13, 894-901, **2008**.

JORGE, S. S. A., MORAES, R. G.. Etnobotânica de Plantas Medicinais. In: I seminário Mato-Grossense de Etnobiologia e Etnoecologia & II Seminário Centro-Oeste de Plantas Medicinais. 1, 89-98, **2002**

JÚNIOR, C. V.; BOLZANI, V. S.. Os produtos Naturais e a Química Medicinal Moderna. Química Nova, São Paulo, 29, p. 326-337, **2006**.

KASHIWADA, Y.; HASHIMOTO, F.; COSENTINO, L. M.; CHEN, CH.; GARRETT, P. E.; LEE, KH. Betulinic acid and dihydrobetulinic acid derivatives as potent anti-HIV agents. J. Med. Chem., 39, 1016-1017, **1996**.

KOYAMA, Y; MATSUNAMI, K.; OTSUKA, H; SHINZATO, T; TAKEDA, Y. Microtropiosides A–F:ent-Labdane diterpenoid glucosides from the leaves of *Microtropis japonica* (Celastraceae)., Phytochemistry 71. 675–681, **2010**.

LEE, KH. Discovery and development of natural product-derived chemotherapeutic

LI, J. WH.; VEDERAS, J. C. Drug Discovery and Natural Products: End of an Era or an Endless Frontier? *Science*, 325, 161-165, **2009**.

LIAO, L. M.; SILVA, G. A.; MONTEIRO, M. R.; ALBUQUERQUE, S.. Trypanocidal activity of quinonemethide triterpenoids from *Cheiloclinium cognatum* (Hippocrateaceae). Journal of Biosciences, 63(3-4), p. 207-210, **2008**.

MADRIGAL, R.V.; ZILKOWSKI, B.W.; SMITH, C.R. "Structure-activity-relationships among maytansinoids in their effect on the european corn-borer, *Ostrinia Nubilalis* (Hubner) (Lipidoptera, Pyralidae)". J. Chem. Ecol., 11(4), 501-506, **1985**.

MAGALHÃES, C. G.; FERRARI, F. C.; GUIMARÃES, D. A. S.; SILVA, G. D. F.; DUARTE, L. P.; FIGUEIREDO, R. C.; FILHO, A. V.. *Maytenus salicifolia*: triterpenes isolated from stems and antioxidant property of extracts from aerial parts. Revista Brasileira de Farmacognosia, 21, p. 415-419, **2011**

MARTINEZ, C. E.; LOZADA, M. C.; ORTEGA, S. H.; VILLARREAL, M. L.; GNECCO, D.; ENRÍQUEZ, R. G.; REYNOLDS, W. ¹H and ¹³C NMR characterization of new cycloartane triterpenes from *Mangifera indica*. Magnetic Resonance in Chemistry, 50, p. 52-57, **2012**

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S., Planejamento racional de Fármacos baseado em produtos naturais. Química Nova, v. 24, n. 1, p. 105-111, **2001**

MORITA, H.; HIRASAWA, Y.; MUTO, A.; YOSHIDA, T.; SEKITA, S.; SHIROTAB, O.. Antimitotic quinoid triterpenes from *Maytenus chuchuhuasca*. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 18, p.1050-1052, **2008**.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. The influence of natural products upon drug discovery. *Nat Prod Rep.*, 17, 215-234, **2000**.

NIERO, R.; Andrade, S. F.; Cechinel Filho, V. A Review of the ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of plants of the *Maytenus* Genus. *Curr. Pharm. Des.*, 17, 1851-1871, **2011**.

NOZAKI, H.; MATSUURA, Y. HIRONO, S.; KASAI, R.; TADA, T.; NAKAYAMA, M.; LEE.. Maytensifolin-C, a friedelane alcohol from *Maytenus diversifolia*, *Phytochemistry*, 30, p. 3819-3821, **1991**

OLIVEIRA, D. M. “Estudo fitoquímico e farmacológico de raízes de *Maytenus acanthophylla* Reissek (Celastraceae)”. Dissertação de mestrado. Departamento de Química. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG. **2004**.

OLIVEIRA, D. M. “Estudo fitoquímico e farmacológico de raízes de *Maytenus acanthophylla* Reissek (Celastraceae)”. Dissertação de mestrado. Departamento de Química. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG. **2004**.

OLIVEIRA, M. L. G.; DUARTE, L. P.; SILVA, G. D. F.; FILHO, S. A. V.; KNUPP, V. F.; ALVES, F. G. P.. 3-oxo-12 α -hydroxyfriedelane from *Maytenus gonoclada*: structure elucidation by ^1H and ^{13}C chemical shift assignments and 2D-NMR spectroscopy, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 45, p. 895-898, **2007**

OLIVEIRA, D. M.; SILVA G. D. F.; DUARTE, L. P.; FILHO, S. A. V.. Chemical constituents isolated from roots of *Maytenus acanthophylla* Reissek (Celastraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 34, p. 661-665, **2006a**.

PACHECO, A. G.; SILVA, T. M.; MANFRINI, R. M.; SALLUM, W. S. T.; DUARTE, L. P.; PILÓ-VELOSO, D.; ALCÂNTARA, A. F. C.; KNUPP, V. F. Estudo químico e atividade antibacteriana do caule de *Aristolochia esperanzae* Kuntze (Aristolochiaceae). *Química Nova*, 33(8), p. 1649-1652, **2010**.

QIAN, K.; KUO, RY.; CHEN, CH.; HUANG, L.; MORRIS-NATSCHKE, S. L.; LEE, KH. Anti-AIDS agents 81. Design, synthesis, and structure-activity relationship study of betulinic acid and moronic acid derivatives as potent HIV maturation inhibitors. *J. Med. Chem.* 53, 3133-3141, **2010**.

RAVELO, A. G.; DELGADO-MÉNDEZ, P.; HERRERA, N.; CHÁVEZ, H.; ESTÉVEZ-BRAUN, A. CORTES, F.; CASTANY, S.; GAMARRO, F. "New terpenoids from *Maytenus apurimacensis* MDR reversal agents in the parasite *Leishmania*". *Bioorg. Med. Chem.*, 16, 1425-1430, **2008**.

RAVELO, A. G.; DELGADO-MÉNDEZ, P.; HERRERA, N.; CHÁVEZ, H.; ESTÉVEZ-BRAUN, A. CORTES, F.; CASTANY, S.; GAMARRO, F. "New terpenoids from *Maytenus apurimacensis* MDR reversal agents in the parasite *Leishmania*". *Bioorg. Med. Chem.*, 16, 1425-1430, **2008**.

ROJAS, R.; BUSTAMANTE, B.; BAUER, J.; FERNANDEZ, I.; ALBAN, J.; LOCK, O. Antimicrobial activity of selected Peruvian plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 88, p. 199-204, **2003**.

RUFINO, J. L.; WEINERT, P. L.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L. Flow-injection spectrophotometric determination of tetracycline and doxycycline in pharmaceutical

SALAZAR, G. C. M.; SILVA, G. D. F.; DUARTE, S. A.; FILHO, V.; LULA, I. S.. Two epimeric friedelane triterpenes isolated from *Maytenus truncata* Reiss: ^1H and ^{13}C chemical shift assignments. *Magnetic Resonance in chemistry*, 38, p. 977-980, **2000**

SANTOS, E. L.; COSTA, E. V.; MARQUES, F. A.; VAZ, N. P.; MAIA, B. H. L. N. S.; MAGALHÃES, E. G.; TOZZI, A. M. A.. Toxicidade e atividade antioxidantes de flavonóides das cascas das raízes de *Lonchocarpus filipes*. *Química Nova*, 32(9), p. 225-2258, **2009**

SANTOS, J. C.; OLIVEIRA, C. A. N.; VARELLA, L.; MATOS, A. P.; TEREZA, A. P.; LEITE, A. C.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; GRAÇAS, M. F.; PIRANI, J. R.. Constituintes químicos e atividade antimicrobiana dos extratos de *Dilodendron bipinnatum* (Sapindaceae). *Química Nova*, 33 (10), p. 2080-2082, **2010**.

SANTOS, V. L.; Costa, V. B. M.; Agra, M. F.; Silva, B. A.; Batista, L. M. "Pharmacological studies of ethanolic extracts of *Maytenus rigida* Mart (Celastraceae) in animal models". *Rev. Bras. Farmacogn.*, 17, 336-342, **2007**.

SHIROTA, A; MORITA, H.; TAKEYA, K. & ITOKAWA, H. Cytotoxic aromatic triterpenes from *Maytenus ilicifolia* and *Maytenus chuchuhuasca*. *Journal of Natural Products*, v. 57, n. 12, p. 1675-1681, **1994**.

SHUMACHER, A. M.; BASBAUM, A. I.; WAY, W. L. Analgésicos e Antagonistas Opióides. In: Katzung, B. G. Farmacologia: Básica & Clínica/[revisão de conteúdo Penildon Silva]. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., **2005**. 991p.

SILVA, S. R. S. Estudo químico e avaliação do potencial farmacológico e herbicida de *Maytenus imbricata* Mart. Ex Reissek. Belo Horizonte, Departamento de Química, ICEx, UFMG, Tese de Doutorado, 226 p, **2007**.

SILVA, T. H. A.; ALVES, R. J.; PRADO, M. A. F. Gênese dos Fármacos. In: Gomes, M. J. V. M.; Reis, A. M. M. Ciências farmacêuticas: uma abordagem em farmácia hospitalar. 1 ed. São Paulo: Editora Atheneu, **2003**.

SIMMONS, M. P.; CAPPA, J. J.; ARCHER, R. H.; FORD, A. J.; EICHSTEDT, D.; CLEVINGER, C. C.. Phylogeny of the Celastraceae (Celastraceae) and the relationships of *Catha edulis* (qat) inferred from morphological characters and nuclear and plastid genes. Molecular Phylogenetics and Evolution, 48, p. 745-757, **2008**.

SOSA, S.; MORELLI, C. F.; TUBARO, A.; CAIROLI, P.; SPERANZA, G.; MANITTO, P.. Anti-inflammatory activity of *Maytenus senegalensis* root extracts and of maytenoic acid. Phytomedicine, 14, p. 109–114, **2007**.

SOUZA-FORMIGONI, M.L.O.; OLIVEIRA, M.G.M.; MONTEIRO, M.G.; DA SILVEIRA-FILHO, N.G.; BRAZ, S. & CARLINI, E.A. – Antiulcerogenic effects of two species in laboratory animals. Journal of Ethnopharmacology, v. 34, n. 1, p. 21-27, **1991**.

SOUZA-FORMIGONI, M.L.O.; OLIVEIRA, M.G.M.; MONTEIRO, M.G.; DA SILVEIRA-FILHO, N.G.; BRAZ, S. & CARLINI, E.A. – Antiulcerogenic effects of two species in laboratory animals. Journal of Ethnopharmacology, v. 34, n. 1, p. 21-27, **1991**.

SPIVEY A. C.; WESTON, M.; WOODHEAD, S.. Celastraceae sesquiterpenoids: biological activity and synthesis. Chemical Society Reviews, 31, p. 43-59, **2002**.

SPIVEY, A.C., WESLON, M., WOODHEAD, S. Chemical Society Reviews, v. 31, p. 43, **2002**.

SUDHAHAR, V.; VEENA, C. K.; VARALAKSHMI, P. Antirolithic effect of lupeol and lupeol linoleate in experimental hyperoxaluria. J. Nat. Prod., 71, 1509-1512, **2008**.

THOLL, D.; LEE, S. TERPENE SPECIALIZED METABOLISM IN ARABIDOPSIS THALIANA. American Society of Plant Biologists. The Arabidopsis book, 9, p. 2-28, **2011**.

VASCONCELOS, J. N.; LIMA, J. Q.; LEMOS, T. L. G.; OLIVEIRA, M. C. F.; ALMEIDA, M. M. B.; ANDRADE-NETO, M.; MAFEZOLI, J.; ARRIAGA, A. M. C.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZ-FILHO, R.. Estudo químico e biológico de *Tephrosia toxicaria* Pers. Química Nova, 32(2), p. 382-386, **2009**.

VAZDEKIS, N. E. J.; CHÁVEZ, H.; ESTÉVEZ-BRAUN, A.; RAVELO, A. G.. Triterpenoids and a lignan from the aerial parts of *Maytenus apurimacensis*. Journal of Natural Products, 72, p. 1045-1048, **2009**.

YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. Breve Análise Histórica da Química de Plantas Medicinais: Sua Importância na Atual Concepção de Fármaco Segundo os Paradigmas Ocidental e Oriental. In: Yunes, R. A.; Calixto, J.B. Plantas Medicinais Sob a Ótica da Química Medicinal Moderna. Chapecó: Argos – Editora Universitária. **2001**, 523p.